

(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2020-523319

(P2020-523319A)

(43) 公表日 令和2年8月6日 (2020. 8. 6)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 K 16/28 (2006. 01)	C O 7 K 16/28	4 B O 6 4
C O 7 K 16/18 (2006. 01)	C O 7 K 16/18 Z N A	4 C O 7 6
C O 7 K 19/00 (2006. 01)	C O 7 K 19/00	4 C O 8 4
C 1 2 N 15/13 (2006. 01)	C 1 2 N 15/13	4 H O 4 5
C 1 2 N 15/62 (2006. 01)	C 1 2 N 15/62 Z	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 214 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-567691 (P2019-567691)	(71) 出願人	519333446
(86) (22) 出願日	平成30年6月7日 (2018. 6. 7)		シルバーバック セラピューティックス
(85) 翻訳文提出日	令和2年1月30日 (2020. 1. 30)		インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/036554		アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9
(87) 国際公開番号	W02018/227018		, シアトル, フェアービュー アヴェ
(87) 国際公開日	平成30年12月13日 (2018. 12. 13)		ニュー ノース 5 0 0, スイート 6
(31) 優先権主張番号	62/516, 638		0 0
(32) 優先日	平成29年6月7日 (2017. 6. 7)	(74) 代理人	110002077
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		園田・小林特許業務法人
		(72) 発明者	トンプソン, ピーター アームストロン
			グ
			アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9
			, シアトル, フェアービュー アヴェ
			ニュー ノース 5 0 0, スイート 6
			0 0
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫調節化合物の抗体コンジュゲートおよびその使用

(57) 【要約】

線維性疾患、自己免疫疾患または自己炎症性疾患などの疾患の治療に使用するための免疫調節化合物の抗体コンジュゲートおよび薬学的組成物が本明細書に開示される。開示されるコンジュゲートは、とりわけ、例えば TGFβR1、TGFβR2、TNKS、TNIK または mTOR を調節することにより、線維性疾患、自己免疫疾患または自己炎症性疾患の治療で有用である。

【選択図】 図 1 A

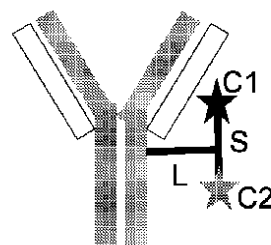


FIGURE 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) 星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞、有足細胞および免疫細胞から選択される細胞に対して活性を有する免疫調節化合物と；

b) 第 1 の抗原結合ドメインおよび Fc ドメインを含む抗体コンストラクトであって、第 1 の抗原結合ドメインが第 1 の抗原に特異的に結合し、第 1 の抗原が、L R R C 1 5、カドヘリン 1 1、P D P N、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、M A D C A M、ネフリン、ポドシン、I F N A R 1、B D C A 2、C D 3 0、c - K I T、F A P、C D 7 3、C D 3 8、P D G F R β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、G A R P、エンドシアリン、C T G F、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、C D 4 0、P D - 1、T I M - 3、T N F R 2、D E C 2 0 5、D C I R、C D 8 6、C D 4 5 R B、C D 4 5 R O、M H C クラス I I、C D 2 5、M M P 1 4、G P X 8 および F 2 R L 2 からなる群から選択される抗原との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する抗体コンストラクトと；

c) 抗体コンストラクトを免疫調節化合物に結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物と共有結合的に結合しており、場合により免疫調節化合物対抗体コンストラクトのモル比が 8 未満であるリンカーとを含むコンジュゲート。

【請求項 2】

a) 星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞、有足細胞および免疫細胞から選択される細胞に対して活性を有する免疫調節化合物と；

b) 第 2 の化合物と；

c) 免疫調節化合物および活性を有する第 2 の化合物に共有結合的に結合した 1 ~ 1 0 0 個の直鎖非水素原子を含むスペーサーと；

d) 第 1 の抗原結合ドメインおよび Fc ドメインを含む抗体コンストラクトであって、i) 第 1 の抗原結合ドメインが第 1 の抗原に特異的に結合し、第 1 の抗原が、L R R C 1 5、カドヘリン 1 1、P D P N、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、M A D C A M、ネフリン、ポドシン、I F N A R 1、B D C A 2、C D 3 0、c - K I T、F A P、C D 7 3、C D 3 8、P D G F R β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、G A R P、エンドシアリン、C T G F、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、C D 4 0、P D - 1、T I M - 3、T N F R 2、D E C 2 0 5、D C I R、C D 8 6、C D 4 5 R B、C D 4 5 R O、M H C クラス I I、C D 2 5、M M P 1 4、G P X 8 および F 2 R L 2 からなる群から選択される抗原との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する抗体コンストラクトと；

e) 抗体コンストラクトを免疫調節化合物、第 2 の化合物またはスペーサーに結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物、第 2 の化合物またはスペーサーと共有結合的に結合しており；場合により免疫調節化合物対抗体コンストラクトのモル比が 8 未満であるリンカーとを含むコンジュゲート。

【請求項 3】

第 2 の化合物が E 3 ユビキチンリガーゼに結合する、請求項 2 に記載のコンジュゲート。

【請求項 4】

第 2 の化合物が第 2 の免疫調節化合物である、請求項 2 に記載のコンジュゲート。

【請求項 5】

第 2 の免疫調節化合物と免疫調節化合物が同じである、請求項 4 に記載のコンジュゲート。

【請求項 6】

a) 星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞、有足細胞および免疫細胞から

選択される細胞に対して活性を有する免疫調節化合物と；

b) 第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインを含む抗体コンストラクトであって、

i i) 第1の抗原結合ドメインが第1の抗原に特異的に結合し、第1の抗原がタンパク質複合体、タンパク質コンフォーマー、転写後修飾または翻訳後修飾を含む抗体コンストラクトと；

c) 抗体コンストラクトを免疫調節化合物に結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物と共有結合的に結合しており、場合により免疫調節化合物対抗体コンストラクトのモル比が8未満であるリンカーとを含むコンジュゲート。

【請求項7】

第1の抗原が、スプライスバリエーションから生じる融合タンパク質の転写後修飾を含む、請求項6に記載のコンジュゲート。

【請求項8】

第1の抗原が、翻訳後修飾またはタンパク質コンフォーマー、場合によりCD45RBスプライスバリエーションまたはCD45ROスプライスバリエーションである、請求項6に記載のコンジュゲート。

【請求項9】

第1の抗原がインテグリンペアのタンパク質複合体である、請求項6に記載のコンジュゲート。

【請求項10】

インテグリンペアが $\alpha v \beta 6$ である、請求項9に記載のコンジュゲート。

【請求項11】

免疫調節化合物が、タンパク質標的に結合する第1の部分と、E3ユビキチンリガーゼに結合する第2の部分とを含む、請求項1または6から10のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項12】

第1の部分が、1～25個または5～20個の直鎖非水素原子を含むスペーサーを介して第2の部分に共有結合的に結合している、請求項11に記載のコンジュゲート。

【請求項13】

第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についてのコンジュゲートのKdが、約100nM未満であり、第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての非コンジュゲート抗体コンストラクトのKdの約100倍以下である、請求項1から12のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項14】

FcドメインとFc γ 受容体の結合についてのコンジュゲートのKdが、FcドメインとFc γ 受容体の結合についての非コンジュゲート抗体コンストラクトのKdの2倍、5倍または10倍以下である、請求項1から13のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項15】

FcドメインとFc γ 受容体の結合についてのコンジュゲートのKdが、Fc γ 受容体の結合についての非コンジュゲート抗体コンストラクトのKdの100倍超であり、FcドメインとFcRn受容体の結合についてのコンジュゲートのKdが、FcドメインとFcRn受容体の結合についての非コンジュゲート抗体コンストラクトのKdの約2倍、5倍または10倍以下である、請求項1から13のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項16】

FcドメインとFcRn受容体の結合についてのコンジュゲートのKdが、FcドメインとFcRn受容体の結合についての非コンジュゲート抗体コンストラクトについてのKdの約2倍、5倍または10倍以下である、請求項1から14のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項17】

FcドメインがFcヌルである、請求項1から13のいずれか一項に記載のコンジュゲ

10

20

30

40

50

ート。

【請求項 18】

抗体コンストラクトが、第2の抗原に結合する第2の結合ドメインをさらに含む、請求項1から17のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 19】

コンジュゲートに結合した免疫調節化合物が、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を低下させる、請求項11から18のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 20】

コンジュゲートの免疫調節化合物が、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の分解を増加させることによって、タンパク質標的の活性を低下させる、請求項11から19のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

10

【請求項 21】

コンジュゲートの免疫調節化合物が、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を増加させる、請求項11から18のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 22】

コンジュゲートの免疫調節化合物が、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を変化させる、請求項11から18のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

20

【請求項 23】

コンジュゲートの免疫調節化合物が、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現していない細胞と比較して、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を変化させる、請求項11から18のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 24】

コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を増加させ、第1の部分がA2aR、PP2A、PPAR γ 、ビタミンD受容体(VDR)またはKCA3.1のアゴニストである、請求項11から18または22から23のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

30

【請求項 25】

コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を低下させ、第1の部分がキナーゼ阻害剤、イオンチャネルアンタゴニストまたはPARP1阻害剤である、請求項11から19または22から23のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 26】

コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内の標的タンパク質分解を増加させることによって、タンパク質標的の活性を低下させ、第1の部分がキナーゼ阻害剤、イオンチャネルアンタゴニストまたはPARP1阻害剤である、請求項11から19または22から23のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

40

【請求項 27】

免疫調節化合物が、星細胞または筋線維芽細胞の線維形成活性を低下させる、請求項11から19または22から23のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 28】

免疫調節化合物が、免疫細胞の活性化を低下させる、または1つもしくは複数の炎症促進メディエーターの産生を減少させる、請求項11から19または22から23のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 29】

免疫細胞の免疫抑制活性または免疫寛容原性活性を増加させる、請求項11から18ま

50

たは 22 から 23 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 30】

免疫調節化合物が TGFβRI、TGFβRII、TNKS または TNIK の阻害剤である、請求項 1 から 5、12 から 19 または 22 から 23 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 31】

第 2 の抗原が、免疫細胞免疫調節標的のアнтаゴニストまたは免疫細胞もしくは組織上の免疫チェックポイント標的のアゴニストである、請求項 17 から 30 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 32】

第 2 の抗原が、TNFR2、CD40、CD86、PD-1、TIM3、BTLA、DEC205、DCIR、CD45RB、CD45RO、HLA DR、CD38、CD73、GARP、BDCA2、PD-L1 または CD30 との少なくとも 80% の配列同一性を含む、請求項 17 から 31 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 33】

第 2 の結合ドメインが、Fc ドメインの C 末端で抗体コンストラクトに結合している、請求項 17 から 31 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 34】

第 2 の結合ドメインが、抗体コンストラクトの軽鎖の C 末端に結合している、請求項 17 から 31 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 35】

第 1 の抗原が、カドヘリン 11、LRRC15 および FAP からなる群から選択される、請求項 1 から 34 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 36】

免疫調節化合物が、TGFβRI、TGFβRII、TNKS または TNIK の阻害剤である、請求項 35 に記載のコンジュゲート。

【請求項 37】

Fc ドメインが Fc ヌルである、請求項 35 から 36 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 38】

第 2 の抗原が CD40 または PD-L1 である、請求項 17 から 37 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 39】

第 1 の抗原結合ドメインが CD40 アンタゴニストである、請求項 1 から 5 または 10 から 21 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 40】

第 2 の結合ドメインが、

a) Fc ドメインー第 2 の結合ドメイン融合タンパク質として；

b) 軽鎖ー第 2 の結合ドメイン融合タンパク質として；または

c) 第 1 のポリペプチドリンカーを介したコンジュゲーションによって、

Fc ドメインまたは第 1 の抗原結合ドメインの軽鎖に結合している、請求項 18 から 32 または 35 から 39 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 41】

Fc ドメインが、

a) Fc ドメインー第 1 の抗原結合ドメイン融合タンパク質として；または

b) 第 2 のポリペプチドリンカーを介したコンジュゲーションによって、

第 1 の抗原結合ドメインに結合している、請求項 1 から 40 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 42】

Fc ドメインが、第 2 の結合ドメインーFc ドメインー第 1 の抗原結合ドメイン融合タ

10

20

30

40

50

ンパク質として、第2の結合ドメインと第1の抗原結合ドメインの両方に結合している、請求項17から40のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項43】

第1の抗原結合ドメインが、第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質として、Fcドメインと第2の結合ドメインの両方に結合している、請求項17から40のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項44】

a) 第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインが抗体を構成し、第2の結合ドメインが単鎖可変断片(s c F v)を構成する；または

b) 第2の結合ドメインおよびFcドメインが抗体を構成し、第1の抗原結合ドメインが単鎖可変断片(s c F v)を構成する、請求項17から40のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

10

【請求項45】

Fcドメインが、Fcドメインの野生型配列と比較して少なくとも1つのアミノ酸残基変化を含むFcドメイン変異体である、請求項1から44のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項46】

Fcドメイン変異体が、野生型Fcドメインと比較して変化した親和性でFc受容体に結合する、請求項45に記載のコンジュゲート。

【請求項47】

Fcドメイン変異体が、野生型Fcドメインと比較して低下した親和性でFc受容体に結合する、請求項45に記載のコンジュゲート。

20

【請求項48】

FcRn受容体に対するFcドメイン変異体の親和性が、FcRn受容体に対する野生型Fcドメインの親和性の10分の1未満ではない、請求項45に記載のコンジュゲート。

【請求項49】

Fcドメインが、

a) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してN297A、N297G、N297QまたはN297G；

30

b) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してK322A/L234A/L235A；

c) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してL234F/L235E/P331S N296A；および

d) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してP329G/L234A/L235A

からなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸残基変化を含む、請求項1から48のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項50】

Fcドメインが、カバット番号付けにおいてS228P/L235E/P329Gを含むIgG4 Fcドメインを含む、請求項1から48のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

40

【請求項51】

免疫調節化合物が、PI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2aRアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCa3.1アゴニスト、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1アンタゴニスト、TGFβRI阻害剤、TGFβRII阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニスト

50

である、請求項 1 から 23 および 27 から 50 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 52】

免疫調節化合物が、タクロリムス、ラパマイシン、エベロリムス、AZD8055、フィルゴチニブ、トファシチニブ (tofacitinib)、セロンセルチブ、AMG1、AMG2、ロシグリタゾン、ロベグリタゾンまたは非PO₄受容フィンゴリמודアナログである、請求項 1 から 23 または 26 から 51 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 53】

第 1 の抗原結合ドメインが、第 1 の抗原に特異的に結合する抗体由来の単鎖可変断片を含む、請求項 1 から 52 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 54】

第 1 の抗原結合ドメインが、表 1 に示される配列のセットとの少なくとも 80 % の配列同一性を有する 6 つの CDR のセットを含む、請求項 1 から 53 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 55】

第 1 の抗原結合ドメインが、

a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 6 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

b) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 12 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

c) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 17 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 18 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

d) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 22 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 24 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

e) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

f) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 36 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

g) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 38 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 42 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

h) 配列番号 43 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 44 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 46 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 48 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

i) 配列番号 49 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 50 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 51 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 52 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 53 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

50

v) 配列番号 124 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 125 のアミノ酸配列

を含むHCDR2、配列番号126のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号127のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号128のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号129のアミノ酸配列を含むLCDR3；

w) 配列番号 130 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 131 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 132 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 133 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 134 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 135 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

x) 配列番号 136 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 137 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 138 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 139 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 140 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 141 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

y) 配列番号 142 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 143 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 144 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 145 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 146 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 147 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

z) 配列番号 148 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 149 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 150 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 151 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 152 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 153 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

aa) 配列番号154のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号155のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号156のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号157のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号158のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号159のアミノ酸配列を含むLCDR3；

bb) 配列番号160のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号161のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号162のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号163のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号164のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号165のアミノ酸配列を含むLCDR3；

cc) 配列番号166のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号167のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号168のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号169のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号170のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号171のアミノ酸配列を含むLCDR3；

dd) 配列番号172のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号173のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号174のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号175のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号176のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号177のアミノ酸配列を含むLCDR3；

e e) 配列番号 178 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 179 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 180 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 181 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 182 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 183 のアミノ酸配列を含む L C D R 3；

ff) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 185 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 186 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 187 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 188 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 189 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

g g) 配列番号 190 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 191 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 192 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 193 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 194 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 195 のアミノ酸配列を含む L C D R 3；

h h) 配列番号 196 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 197 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 198 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 199 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 200 のアミノ酸配列を含む LCDR2、お

uu) 配列番号 275 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 276 のアミノ酸配

50

列を含むHCDR2、配列番号277のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号278のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号279のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号280のアミノ酸配列を含むLCDR3；

vv) 配列番号281のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号282のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号283のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号284のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号285のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号286のアミノ酸配列を含むLCDR3；

ww) 配列番号287のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号288のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号289のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号290のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号291のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号292のアミノ酸配列を含むLCDR3；

xx) 配列番号293のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号294のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号295のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号296のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号297のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号298のアミノ酸配列を含むLCDR3；

yy) 配列番号440のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号441のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号442のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号443のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号444のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号445のアミノ酸配列を含むLCDR3；

zz) 配列番号446のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号447のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号448のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号449のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号450のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号451のアミノ酸配列を含むLCDR3；

aaa) 配列番号452のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号453のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号454のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号455のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号456のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号457のアミノ酸配列を含むLCDR3；

bbb) 配列番号458のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号459のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号460のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号461のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号462のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号463のアミノ酸配列を含むLCDR3；

ccc) 配列番号464のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号465のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号466のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号467のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号468のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号469のアミノ酸配列を含むLCDR3；

ddd) 配列番号470のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号471のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号472のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号473のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号474のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号475のアミノ酸配列を含むLCDR3；または

eee) 配列番号476のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号477のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号478のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号479のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号480のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号481のアミノ酸配列を含むLCDR3

との少なくとも80%の配列同一性を有するCDRのセットを含む、請求項1から54のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項56】

第2の結合ドメインが、第2の抗原に特異的な抗体由来の単鎖可変断片を含む、請求項18から55のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項57】

第2の結合ドメインが、配列番号85～配列番号298として表1に示されるCDRの

10

20

30

40

50

セットとの少なくとも８０％の配列を有する６つのＣＤＲのセットを含む、請求項１８から５６のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項５８】

第２の抗原結合ドメインが、

a) 配列番号８５のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号８６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号８７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号８８のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号８９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号９０のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

b) 配列番号９１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号９２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号９３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号９４のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号９５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号９６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

c) 配列番号９７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号９８のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号９９のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１００のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

d) 配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１０６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１０７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１０８のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

e) 配列番号１０９のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１１０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１１１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１１２のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１１４のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

f) 配列番号１０９のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１１０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１１１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１１７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

g) 配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１２０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１２２のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

h) 配列番号１２４のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１２５のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１２８のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１２９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

i) 配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１３１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１３２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１３５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

j) 配列番号１３６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１３９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１４０のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１４１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

k) 配列番号１４２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１４３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１４４のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１４５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、配列番号１４６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、および配列番号１４７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３；

l) 配列番号１４８のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、配列番号１４９のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、配列番号１５０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、配列番号１５１の

10

20

30

40

50

y) 配列番号 226 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 227 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 228 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 229 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 230 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 231 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

z) 配列番号 232 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 234 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 235 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 236 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 237 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 238 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

aa) 配列番号 239 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 240 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 241 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 242 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 243 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 244 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

bb) 配列番号 245 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 246 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 247 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 248 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 249 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 250 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

cc) 配列番号 251 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 252 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 253 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 254 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 255 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 256 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

dd) 配列番号 257 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 258 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 259 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 260 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 261 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 262 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

ee) 配列番号 263 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 264 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 265 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 266 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 267 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 268 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

ff) 配列番号 269 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 270 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 271 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 272 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 273 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 274 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

gg) 配列番号 275 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 276 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 277 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 278 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 279 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 280 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

hh) 配列番号 281 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 282 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 283 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 284 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 285 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 286 のアミノ酸配列を含む LCDR3；

ii) 配列番号 287 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 288 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 289 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 290 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 291 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 292 のアミノ酸配列を含む LCDR3；または

jj) 配列番号 293 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 294 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 295 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 296 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 297 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 298 のアミノ酸配列を含む LCDR3

との少なくとも 80% の配列同一性を有する 6 つの CDR のセットを含む、請求項 18 から 57 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

10

20

30

40

50

【請求項 59】

第1の抗原結合ドメインが、表2に示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有する抗体重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、請求項1から5または12から58のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 60】

第1の抗原結合ドメインが、

a) 配列番号300のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号299のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

b) 配列番号301のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号299のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

c) 配列番号302のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号303のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

d) 配列番号304のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号305のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

e) 配列番号306のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号307のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

f) 配列番号308のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号309のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

g) 配列番号310のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号311のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

h) 配列番号312のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号313のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

i) 配列番号314のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号315のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

j) 配列番号316のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号317のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

k) 配列番号318のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号320のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

l) 配列番号319のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号320のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

m) 配列番号321のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号322のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

n) 配列番号323のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号324のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L配列；

o) 配列番号325のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_H配列および配列番号326のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するV_L

10

20

30

40

50

f f) 配列番号 3 5 2 のアミノ酸配列との少なくとも 80 % の配列同一性を有する V_H

50

v v) 配列番号 379 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 380 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

mm) 配列番号 413 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 414 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する

50

V_L 配列；

n n n) 配列番号 4 1 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 1 6 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

o o o) 配列番号 4 1 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 1 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

p p p) 配列番号 4 1 9 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 2 0 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

q q q) 配列番号 4 2 1 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 2 2 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

r r r) 配列番号 4 2 3 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 2 4 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

s s s) 配列番号 4 2 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 2 6 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

t t t) 配列番号 4 2 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 2 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

u u u) 配列番号 4 2 9 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 3 0 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

v v v) 配列番号 4 3 1 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 3 2 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

w w w) 配列番号 4 3 3 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 3 4 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

x x x) 配列番号 4 3 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 3 6 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

y y y) 配列番号 4 8 2 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 8 3 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

z z z) 配列番号 4 8 4 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 8 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する

V_L 配列；

a a a a) 配列番号 4 8 6 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 8 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

b b b b) 配列番号 4 8 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 8 9 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；または

c c c c) 配列番号 4 9 0 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 4 9 1 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列

を含む、請求項 1 から 5 または 1 2 から 5 9 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

10

20

30

40

50

【請求項 6 1】

第 2 の結合ドメインが、配列番号 3 5 2 ～配列番号 4 3 6 として表 2 に示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアとの少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、請求項 1 8 から 6 0 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 6 2】

第 2 の抗原結合ドメインが、

a) 配列番号 3 5 2 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 5 3 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

b) 配列番号 3 5 4 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 5 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

c) 配列番号 3 5 6 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 5 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

d) 配列番号 3 5 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 5 9 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

e) 配列番号 3 5 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 6 0 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

f) 配列番号 3 6 1 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

g) 配列番号 3 6 3 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 6 4 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

h) 配列番号 3 6 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 6 6 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

i) 配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 6 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

j) 配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

k) 配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

l) 配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 7 1 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

m) 配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 7 2 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

n) 配列番号 3 7 4 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 3 7 3 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_L 配列；

o) 配列番号 3 7 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する V_H 配

10

20

30

40

50

e e) 配列番号 407 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 408 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

f f) 配列番号 409 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 410 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

g g) 配列番号 411 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 412 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

h h) 配列番号 413 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 414 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

i i) 配列番号 415 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 416 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列； 10

j j) 配列番号 417 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 418 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

k k) 配列番号 419 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 420 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

l l) 配列番号 421 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 422 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列； 20

m m) 配列番号 423 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 424 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

n n) 配列番号 425 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 426 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

o o) 配列番号 427 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 428 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列； 30

p p) 配列番号 429 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 430 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

q q) 配列番号 431 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 432 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；

r r) 配列番号 433 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 434 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列；または

s s) 配列番号 435 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_H 配列および配列番号 436 のアミノ酸配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V_L 配列 40

を含む、請求項 18 から 61 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 63】

a) 第 2 の結合ドメインー F c ドメインー第 1 の抗原結合ドメイン融合タンパク質の第 1 の抗原結合ドメインが、配列番号 1 ～配列番号 298 として表 1 に示される CDR のセットまたは配列番号 299 ～配列番号 436 として表 2 に示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアとの少なくとも 80% の配列同一性を有する 6 つの CDR のセットを含み；

b) 第 2 の結合ドメインー F c ドメインー第 1 の抗原結合ドメイン融合タンパク質の第 50

2の結合ドメインが、配列番号85～配列番号299として表に示されるCDRのセットまたは配列番号352～配列番号436として表2に示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有する6つのCDRのセットを含み；

c) 第2の結合ドメインーFcドメインー第1の抗原結合ドメイン融合タンパク質のFcドメインが、

i. (i) 配列番号437～配列番号439のいずれか1つとの少なくとも80%の配列同一性；または

ii. a) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してN297A、N297G、N297QまたはN297G；

b) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してK322A/L234A/L235A；

c) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してL234F/L235E/P331S N296A；

d) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してP329G/L234A/L235A；および

e) カバット番号付けにおいてS228P/L235E/P329Gを含むIgG4 Fcドメイン

からなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸残基変化を含む、

請求項42に記載の第2の結合ドメインーFcドメインー第1の抗原結合ドメイン融合タンパク質。

【請求項64】

a) 第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質の第1の抗原結合ドメインが、配列番号1～配列番号299として表1に示されるCDRのセットまたは配列番号299～配列番号436として表2に示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有する6つのCDRのセットを含み；

b) 第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質の第2の結合ドメインが、配列番号85～配列番号299として表1に示されるCDRのセットまたは配列番号352～配列番号436として表2に示される重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有する6つのCDRのセットを含み；

c) 第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質のFcドメインが、

i. (i) 配列番号437～配列番号439のいずれか1つとの少なくとも80%の配列同一性；または

ii. a) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してN297A、N297G、N297QまたはN297G；

b) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してK322A/L234A/L235A；

c) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してL234F/L235E/P331S N296A；

d) カバット番号付けのEUインデックスにおいて、および配列番号437に対してP329G/L234A/L235A；および

e) カバット番号付けにおいてS228P/L235E/P329Gを含むIgG4 Fcドメイン

からなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸残基変化を含む、

請求項43に記載の第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質。

10

20

30

40

50

【請求項 65】

第1の抗原が、星細胞、有足細胞または筋線維芽細胞によって発現される抗原である、請求項1から64のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 66】

第2の抗原が、星細胞、有足細胞または筋線維芽細胞によって発現される抗原である、請求項18から65のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 67】

請求項1から66のいずれか一項に記載のコンジュゲートと、薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物。

【請求項 68】

それを必要とする対象のための治療方法であって、治療的有效用量の請求項1から66のいずれか一項に記載のコンジュゲートまたは請求項67に記載の薬学的組成物を投与することを含む方法。

【請求項 69】

対象が自己免疫疾患、炎症性疾患または線維性疾患を有する、請求項68に記載の方法。

【請求項 70】

コンジュゲートが、静脈内投与、皮膚投与、皮下投与される、または患部で注射される、請求項68から69のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 71】

対象へのコンジュゲートの投与後、対象において炎症が減少する、請求項68から70のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 72】

対象へのコンジュゲートの投与後、対象において線維症が減少する、請求項68から70のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 73】

対象へのコンジュゲートの投与後、対象において免疫抑制が増加する、請求項68から70のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 74】

対象へのコンジュゲートの投与後、対象において免疫寛容が増加する、請求項68から70のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 75】

第1の抗原が、カドヘリン11、LRRC15およびFAPからなる群から選択される、請求項72に記載の方法。

【請求項 76】

免疫調節化合物が、TGFBRI、TGFBRII、TNKSまたはTNIKの阻害剤である、請求項72または75のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 77】

FcドメインがFcヌルである、請求項68から76のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 78】

薬学的に許容される投与単位の薬学的有効量の請求項1から66のいずれか一項に記載のコンジュゲートまたは請求項67に記載の薬学的組成物を含むキット。

【請求項 79】

線維性疾患を有する対象を治療する方法であって、

a) TGFBRI、TGFBRII、TNKSまたはTNIKの阻害剤またはアンタゴニストから選択される免疫調節化合物と；

b) 第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインを含む抗体コンストラクトであって、第1の抗原結合ドメインが第1の抗原に特異的に結合し、第1の抗原が、LRRC15、PDGFRβ、インテグリンαvβ1、インテグリンαvβ3、インテグリンαvβ6、インテグリンαvβ8、エンドシアリン、FAP、ADAM12、MMP14、PDPN

10

20

30

40

50

、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗体コンストラクトと；

c) 抗体コンストラクトを免疫調節化合物に結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物と共有結合的に結合しており、免疫調節化合物対抗体コンストラクトのモル比が20未満であるリンカーとを含むコンジュゲートを含む治療的有效用量の薬学的組成物を対象に投与することを含む方法。

【請求項80】

FcドメインがFcヌルである、請求項79に記載の方法。

【請求項81】

線維性疾患を有する対象を治療する方法であって、

10

a) 免疫調節化合物と；

b) 第2の化合物と；

c) 免疫調節化合物および活性を有する第2の化合物に共有結合的に結合した1～100個の直鎖非水素原子を含むスペーサーと；

d) 第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインを含む抗体コンストラクトであって、第1の抗原結合ドメインが第1の抗原に特異的に結合し、第1の抗原が、LRRC15、PDGFRβ、インテグリンαvβ1、インテグリンαvβ3、インテグリンαvβ6、インテグリンαvβ8、エンドシアリン、FAP、ADAM12、MMP14、PDPN、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗体コンストラクトと；

e) 抗体コンストラクトを免疫調節化合物、第2の化合物またはスペーサーに結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物、第2の化合物またはスペーサーと共有結合的に結合しているリンカーとを含むコンジュゲートを含む治療的有效用量の薬学的組成物を対象に投与することを含む方法。

20

【請求項82】

FcドメインがFcヌルである、請求項81に記載の方法。

【請求項83】

第2の化合物がE3ユビキチンリガーゼに結合する、請求項81から82のいずれか一項に記載の方法。

【請求項84】

30

E3ユビキチンリガーゼが、Von Hippel-Lindau E3ユビキチンリガーゼ(VHL)、セレブロン、マウス二重微小染色体2ホモログ(MDM2)、AMFR、APC/Cdc20、APC/Cdh1、C6orf157、Cbl、CBL1、CHFR、CHIP、DTL(Cdt2)、E6-AP、HACE1、HECTD1、HECTD2、HECTD3、HECW1、HECW2、HERC2、HERC3、HERC4、HERC5、HUWE1、HYD、ITCH、LNX1、マホグニン(mahogunin)、MARCH-I、MARCH-II、MARCH-III、MARCH-IV、MARCH-VI、MARCH-VII、MARCH-VIII、MARCH-X、MEKK1、MIB1、MIB2、MyCBP2、NEDD4、NEDD4L、パーキン、PELI1、Pirh2、PJA1、PJA2、RFFL、RFPD2、Rictor、RNF5、RNF8、RNF19、RNF190、RNF20、RNF34、RNF40、RNF125、RNF128、RNF138、RNF168、SCF/?-TrCP、SCF/FBW7、SCF/Skp2、SHPRH、SIAH1、SIAH2、SMURF1、SMURF2、TOPORS、TRAF6、TRAF7、TRIM63、UBE3B、UBE3C、UBR1、UBR2、UHRF2、WWP1、WWP2またはZNRF1からなる群から選択される、請求項83に記載の方法。

40

【請求項85】

E3ユビキチンリガーゼがVHLまたはセレブロンである、請求項84に記載の方法。

【請求項86】

第1の抗原がカドヘリン11、LRRC15またはFAPである、請求項81から85

50

のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 87】

線維性疾患が、癒着性関節包炎、動脈壁硬化、関節線維症、心房線維症、硬変、クローン病、膠原性線維腫、嚢胞性線維症、デスモイド型線維腫症、デュピュイトラン拘縮、弾性線維腫、心内膜心筋線維症、腱鞘線維腫、グリア瘢痕、突発性肺線維症、ケロイド、縦隔線維症、骨髄線維症、項部線維腫、腎性全身性線維症、陳旧性心筋梗塞、ペイロニー病、肺線維症、進行性塊状線維症、放射線誘発性肺障害、後腹膜線維症、瘢痕および強皮症／全身性硬化症からなる群から選択される、請求項 79 から 86 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 88】

免疫調節化合物が、TGF β R1 アンタゴニストまたは TGF β R2 アンタゴニストである、請求項 79 から 87 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 89】

抗体コンストラクトが抗体である、請求項 79 から 88 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 90】

抗体が LRR C15 または FAP に特異的に結合する、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

抗体が、配列番号 318 ～配列番号 335 または配列番号 482 ～配列番号 491 として示される重鎖可変領域配列のペアから選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、請求項 90 に記載の方法。

【請求項 92】

自己免疫疾患、炎症性疾患または線維症を治療するための医薬の調製における請求項 1 から 66 のいずれか一項に記載のコンジュゲートの使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

優先権

本出願は、その全内容が本明細書に参照により援用される、2017年6月7日に出願された米国仮特許出願第 62 / 516638 号に基づく米国特許法第 119 条 (e) の下での優先権の利益を主張するものである。

【背景技術】

【0002】

自己免疫疾患および自己炎症性疾患は、体の正常な部分に対する免疫系の異常な応答から生じ得る。自己免疫疾患では、適応免疫系が体自身の組織を攻撃し得る。例えば、自己免疫疾患の 1 つの特徴は、患者の正常な組織での抗原に対する自己抗体の産生であり得る。持続性炎症が自己免疫疾患の別の症状であり、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性エリテマトーデスおよび多発性硬化症などの一般的な自己免疫疾患の発病において役割を果たし得る。自己免疫疾患の治療は、一般的に免疫系の活動を低下させることに焦点を当てるが、多くの患者は、現在の治療法に反応できないまたは疾患が治療に抵抗性になる。よって、新たなより耐久性のある治療が必要である。

【0003】

線維症は、修復または反応過程での臓器または組織における過剰な線維性結合組織または瘢痕組織の形成であり得る。線維症は、典型的には炎症または損傷の結果として、肺、腎臓、肝臓、心臓および脳を含み得る体内の多くの組織で起こり得る。瘢痕組織は動脈をブロックし、関節を固定化し、内臓に損傷を与え、これが生体機能を維持する体の能力に悪影響を及ぼし得る。毎年、線維症の損傷効果により、数百万人が入院している。しかしながら、線維性疾患を治療するための現在の治療法は不足しているまたは欠点を有する。よって、線維性疾患のための代替のまたは改善された治療がかなり必要とされている。

【発明の概要】

【0004】

種々の態様では、免疫調節化合物と；第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインを含む抗体コンストラクトであって、第1の抗原結合ドメインが第1の抗原に特異的に結合し、第1の抗原が、カドヘリン11、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスIIおよびCD25、ならびにこれらの断片からなる群から選択される抗原との少なくとも80%の配列同一性を有する抗体コンストラクトと；抗体コンストラクトを免疫調節化合物に結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物と共有結合的に結合しており、場合により免疫調節化合物対抗体コンストラクトのモル比が8未満であるリンカーとを含むコンジュゲートの組成物が提供される。いくつかの態様では、第1の抗原が、LRRC15、カドヘリン11、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25、MMP14、GPX8およびF2RL2から選択される。いくつかの態様では、第1の抗原がFAP、LRRC15、カドヘリン11 (CDH11) およびTNFR2から選択される。いくつかの態様では、免疫調節化合物が、星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞、有足細胞または免疫細胞に対して活性を有する。いくつかの態様では、免疫調節化合物が、星細胞、筋線維芽細胞または免疫細胞に対して活性を有する。

【0005】

種々の態様では、コンジュゲートが、免疫調節化合物と；第2の化合物と；免疫調節化合物および第2の化合物に共有結合的に結合した1~100個の直鎖非水素原子を含むスペーサーと；第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインを含む抗体コンストラクトであって、第1の抗原結合ドメインが第1の抗原に特異的に結合し、第1の抗原が、カドヘリン11、PDPN、LRRC15、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25、LRRC15、MMP14、GPX8およびF2RL2、ならびにこれらの断片からなる群から選択される抗原との少なくとも80%の配列同一性を有する抗体コンストラクトと；抗体コンストラクトを免疫調節化合物、第2の化合物またはスペーサーに結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物、第2の化合物またはスペーサーと共有結合的に結合しているリンカーとを含む。いくつかの態様では、第2の化合物がE3ユビキチンリガーゼに結合する。いくつかの態様では、第2の化合物が第2の免疫調節化合物である。いくつかの態様では、第2の免疫調節化合物と免疫調節化合物が同じである。いくつかのさらなる態様では、第1の抗原が、カドヘリン11、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25およびLRRC15から選択される。いくつかの態様では、第1の抗

原が、FAP、LRRC15、カドヘリン11およびTNFR2から選択される。いくつかの態様では、免疫調節化合物が、星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞、有足細胞または免疫細胞に対して活性を有する。いくつかの態様では、免疫調節化合物が、星細胞、筋線維芽細胞または免疫細胞に対して活性を有する。

【0006】

種々の態様では、コンジュゲートが、免疫調節化合物と；第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインを含む抗体コンストラクトであって、第1の抗原結合ドメインが第1の抗原に特異的に結合し、第1の抗原がタンパク質複合体、タンパク質コンフォーマー、転写後修飾または翻訳後修飾を含む抗体コンストラクトと；抗体コンストラクトを免疫調節化合物に結合するリンカーであって、抗体コンストラクトと共有結合的に結合しており、免疫調節化合物と共有結合的に結合しており、免疫調節化合物対抗体コンストラクトのモル比が8未満であるリンカーとを含む。いくつかの態様では、第1の抗原が、翻訳後修飾またはタンパク質コンフォーマー、例えばCD45RBスプライスバリエーションまたはCD45ROスプライスバリエーションである。いくつかの態様では、第1の抗原がインテグリンペアのタンパク質複合体である。いくつかの態様では、インテグリンペアが $\alpha v \beta 6$ を含む。

10

【0007】

いくつかの態様では、免疫調節化合物が、タンパク質標的に結合する第1の部分と、E3ユビキチンリガーゼに結合する第2の部分とを含む。いくつかの態様では、第1の部分が、5〜20個の直鎖非水素原子を含むスペーサーを介して第2の部分に共有結合的に結合している。いくつかの態様では、免疫調節化合物の存在下（免疫調節化合物が抗体コンストラクトに結合している場合）での第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についてのKdが、約100nM未満であり、免疫調節化合物の非存在下（すなわち、免疫調節化合物が抗体コンストラクトに結合していない）での第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についてのKdの約100倍以下である。いくつかの態様では、免疫調節化合物の存在下（すなわち、免疫調節化合物が抗体コンストラクトに結合している）でのFcドメインとFc γ 受容体の結合についてのKdが、免疫調節化合物の非存在下（すなわち、免疫調節化合物が抗体コンストラクトに結合していない）でのFcドメインとFc γ 受容体の結合についてのKdの2倍、5倍または10倍に等しいまたはそれ以下である。いくつかの態様では、FcドメインとFc γ 受容体の結合についてのKdが、免疫調節化合物の非存在下でのIgG1FcドメインとFc γ 受容体の結合についてのKdの100倍超であり、免疫調節化合物の存在下でのFcドメインとFcRn受容体の結合についてのKdが、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFcRn受容体の結合についてのKdの約2倍、5倍または10倍に少なくとも等しいまたは少なくともそれ以下である。いくつかの態様では、免疫調節化合物の存在下でのFcドメインとFcRn受容体の結合についてのKdが、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFcRn受容体の結合についてのKdの約2倍、5倍または10倍に少なくとも等しいまたは少なくともそれ以下である。いくつかの実施形態では、FcドメインがFc μ ルである。

20

30

【0008】

いくつかの態様では、抗体コンストラクトが、第2の結合ドメインをさらに含む。いくつかの態様では、コンジュゲートの免疫調節化合物が、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を低下させる。いくつかの態様では、コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内の標的タンパク質分解を増加させることによって、タンパク質標的の活性を低下させる。いくつかの態様では、コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を増加させる。いくつかの態様では、コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を変化させる。いくつかの態様では、コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現していない細胞と比較して、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標

40

50

的の活性を変化させる。いくつかの態様では、コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を増加させ、第1の部分A2aR、PP2A、PPARG、ビタミンD受容体(VDR)またはKCA3.1のアゴニストである。いくつかの態様では、コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内のタンパク質標的の活性を低下させ、第1の部分キナーゼ阻害剤、イオンチャネルアンタゴニストまたはPARP1阻害剤である。いくつかの態様では、コンジュゲートが、細胞表面上で第1の抗原、第2の抗原または両方を発現している細胞内の標的タンパク質分解を増加させることによって、タンパク質標的の活性を低下させ、第1の部分キナーゼ阻害剤、イオンチャネルアンタゴニストまたはPARP1阻害剤である。いくつかの態様では、コンジュゲートが、星細胞または筋線維芽細胞の線維形成活性を低下させる。いくつかの態様では、コンジュゲートが、活性化免疫細胞の活性化を低下させる、または1つもしくは複数の炎症促進メディエーターの産生を減少させる。いくつかの態様では、コンジュゲートが、免疫細胞の免疫抑制活性または免疫寛容原性活性を増加させる。いくつかの態様では、第2の結合ドメインが第2の抗原に特異的に結合する。いくつかの態様では、第2の抗原が、免疫細胞免疫調節標的のアンタゴニストまたは免疫細胞もしくは組織上の免疫チェックポイント標的のアゴニストである。いくつかの態様では、第2の抗原が、TNFR2、CD40、CD86、PD-1、TIM3、BTLA、DEC205、DCIR、CD45RB、CD45RO、HLA-DR、CD38、CD73、GARP、BDCA2またはCD30との少なくとも80%の配列同一性を含む。いくつかの態様では、第2の抗原が、TNFR2、CD40、CD86、PD-1、PD-L1、TIM3、BTLA、DEC205、DCIR、CD45RB、CD45RO、HLA-DR、CD38、CD73、GARP、BDCA2またはCD30との少なくとも80%の配列同一性を含む。いくつかの態様では、第2の結合ドメインが、FcドメインのC末端で抗体コンストラクトに結合している。いくつかの態様では、第2の結合ドメインが、抗体コンストラクトの軽鎖のC末端に結合している。いくつかの態様では、対象へのコンジュゲートの投与後、対象において炎症が減少する。いくつかの態様では、対象へのコンジュゲートの投与後、対象において線維症が減少する。いくつかの態様では、対象へのコンジュゲートの投与後、対象において免疫抑制が増加する。いくつかの態様では、対象へのコンジュゲートの投与後、対象において免疫寛容が増加する。いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインがCD40アンタゴニストである。いくつかの態様では、第2の結合ドメインが、a) Fcドメイン-第2の結合ドメイン融合タンパク質として；b) 軽鎖-第2の結合ドメイン融合タンパク質として；またはc) 第1のリンカーを介したコンジュゲーションによって、Fcドメインまたは第1の抗原結合ドメインの軽鎖に結合している。

【0009】

いくつかの態様では、Fcドメインが、a) Fcドメイン-第1の結合ドメイン融合タンパク質として；またはb) 第2のリンカーを介したコンジュゲーションによって、第1の抗原結合ドメインに結合している。

【0010】

いくつかの態様では、Fcドメインが、第2の結合ドメイン-Fcドメイン-第1の抗原結合ドメイン融合タンパク質として、第2の結合ドメインと第1の抗原結合ドメインの両方に結合している。いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインが、第2の結合ドメイン-第1の抗原結合ドメイン-Fcドメイン融合タンパク質として、Fcドメインと第2の結合ドメインの両方に結合している。いくつかの態様では、a) 第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインが抗体を構成し、第2の結合ドメインが単鎖可変断片(s c F v)を構成する；または(b) 第2の抗原結合ドメインおよびFcドメインが抗体を構成し、第1の抗原結合ドメインが単鎖可変断片(s c F v)を構成する。いくつかの態様では、Fcドメインが、Fcドメインの野生型配列と比較して少なくとも1つのアミノ酸残基変化を含むFcドメイン変異体である。いくつかの態様では、Fcドメイン変異体が、野生型Fcドメインと比較して変化した親和性でFc受容体に結合する。いくつかの態様で

は、Fcドメイン変異体が、野生型Fcドメインと比較して低下した親和性でFc受容体に結合する。いくつかの態様では、FcRn受容体に対するFcドメイン変異体の親和性が、FcRn受容体に対する野生型Fcドメインの親和性と少なくとも同等の親和性である、またはその10分の1ではない。いくつかの態様では、Fcドメインが、a) カバット番号付けにおいて、および配列番号437に対してN297A；b) カバット番号付けにおいて、および配列番号437に対してN296G N297A；c) カバット番号付けにおいて、および配列番号437に対してK322A/L234A/L235A N296A；d) カバット番号付けにおいて、および配列番号437に対してL234F/L235E/P331S N296Aからなる群から選択される少なくとも1つのアミノ酸残基変化を含む。いくつかの態様では、Fcドメインが、カバット番号付けにおいてS228P/L235E/P329Gを含むIgG4 Fcドメインを含む。

10

【0011】

いくつかの態様では、免疫調節化合物の存在下での第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についてのKdが、免疫調節化合物の非存在下での第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についてのKdの約2倍、5倍、10倍または50倍以下である。いくつかの態様では、免疫調節化合物の存在下でのFcドメインとFc受容体の結合についてのKdが、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFc受容体の結合についてのKdの約2倍、5倍、10倍または50倍以下である。いくつかの態様では、免疫調節化合物の存在下での第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についてのKdが、免疫調節化合物の非存在下での第2の結合ドメインと第2の抗原の結合についてのKdの約2倍、5倍、10倍または50倍以下である。いくつかの態様では、免疫調節化合物が、PI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2aRアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCA3.1アゴニスト、TGFβR阻害剤（例えば、TGFβR1および/またはTGFβR2阻害剤）、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1アンタゴニスト、タンキラーゼ（TNKS）アンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストである。いくつかの態様では、免疫調節化合物が、タクロリムス、ラパマイシン、エベロリムス、AZD8055、フィルゴチニブ、トファシチニブ（Tofacitinib）、セロンセルチブ、AMG1、AMG2、ロシグリタゾン、ロベグリタゾンまたは非PO4受容フィンゴリמודアナログである。いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインが、第1の抗原に特異的な抗体由来の単鎖可変断片を含む。いくつかの態様では、抗体コンストラクトの第1の抗原結合ドメインが、CDR残基の割り当てがIMGT（国際免疫遺伝学情報システム）により定義される表1に示されるCDRのセットとの少なくとも80%の配列同一性を有する6つのCDRのセットを含む。いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインが、配列番号1のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号2のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号3のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号4のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号5のアミノ酸配列を含むLC DR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含むLC DR3；配列番号7のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号8のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号9のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号10のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号11のアミノ酸配列を含むLC DR2、および配列番号12のアミノ酸配列を含むLC DR3；配列番号13のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号14のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号15のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号16のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号17のアミノ酸配列を含むLC DR2、および配列番号18のアミノ酸配列を含むLC DR3；配列番号19のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号20のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号21のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号22のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号23のアミノ酸配列を含むLC DR2、および配列番号24のアミノ酸配列を含むLC DR3；配列番号25のアミノ酸配

20

30

40

50

50

50

50

番号 282 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 283 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 284 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 285 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 286 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 287 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 288 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 289 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 290 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 291 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 292 のアミノ酸配列を含む LCDR3；または配列番号 293 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 294 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 295 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 296 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 297 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 298 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 440 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 441 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 442 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 443 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 444 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 445 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 446 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 447 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 448 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 449 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 450 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 451 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 452 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 453 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 454 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 455 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 456 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 457 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 458 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 459 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 460 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 461 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 462 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 463 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 464 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 465 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 466 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 467 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 468 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 469 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 470 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 471 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 472 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 473 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 474 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 475 のアミノ酸配列を含む LCDR3；または配列番号 476 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 477 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 478 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 479 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 480 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 481 のアミノ酸配列を含む LCDR3 との少なくとも 80% の配列同一性を有する CDR のセットを含む。

【0012】

いくつかの態様では、第 2 の結合ドメインが、第 2 の抗原に特異的な抗体由来の単鎖可変断片を含む。いくつかの態様では、第 2 の結合ドメインが、配列番号 85～配列番号 298 として表 1 に示される CDR のセットとの少なくとも 80% の配列同一性を有する 6 つの CDR のセットを含む。いくつかの態様では、第 2 の結合ドメインが、配列番号 85 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 86 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 87 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 88 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 89 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 90 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 91 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 94 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 95 のアミノ酸配列を含む LCDR2、および配列番号 96 のアミノ酸配列を含む LCDR3；配列番号 97 のアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 98 のアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 99 のアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 100 のアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 101

0
20
40
60

50

ノ酸配列を含むHCDR1、配列番号270のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号271のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号272のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号273のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号274のアミノ酸配列を含むLCDR3；配列番号275のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号276のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号277のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号278のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号279のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号280のアミノ酸配列を含むLCDR3；配列番号281のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号282のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号283のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号284のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号285のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号286のアミノ酸配列を含むLCDR3；配列番号287のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号288のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号289のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号290のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号291のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号292のアミノ酸配列を含むLCDR3；または配列番号293のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号294のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号295のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号296のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号297のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号298のアミノ酸配列を含むLCDR3との少なくとも80%の配列同一性を含む。

10

【0013】

いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインが、表2に示される可変領域重鎖および可変領域軽鎖のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有する可変領域重鎖および可変領域軽鎖を含む。いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインが、表2に示される可変領域重鎖および可変領域軽鎖のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有する可変領域重鎖および可変領域軽鎖のペアを含む。いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインが、表2に示される可変領域重鎖および可変領域軽鎖のペアの非CDR領域との少なくとも80%の配列同一性を有する可変領域重鎖および可変領域軽鎖のペアを含む。

20

【0014】

いくつかの態様では、第1の抗原結合ドメインが、配列番号300のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号299のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号301のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号299のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号302のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号303のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号304のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号305のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号306のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号307のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号308のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号309のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号310のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号311のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号312のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号313のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号314のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号315のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号316のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号317のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号318のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVH配列および配列番号320のアミノ酸配列との少なくとも80%の配列同一性を有するVL配列；配列番号319のアミノ酸配列との

30

40

50

50

50

0
20
30
40

40

50

50

50

の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 397 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 398 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 399 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 400 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 401 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 402 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 403 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 404 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 405 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 406 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 407 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 408 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 409 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 410 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 411 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 412 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 413 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 414 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 415 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 416 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 417 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 418 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 419 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 420 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 421 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 422 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 423 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 424 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 425 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 426 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 427 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 428 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 429 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 430 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 431 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 432 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；配列番号 433 のアミノ酸配列との
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 434 のアミノ酸配列と
 の少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列；または配列番号 435 のアミノ酸配
 列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V H 配列および配列番号 436 のアミノ酸
 配列との少なくとも 80% の配列同一性を有する V L 配列を含む。

【0017】

いくつかの態様では、第 2 の結合ドメインー F c ドメインー第 1 の抗原結合ドメイン融
 合タンパク質が、配列番号 1 ～配列番号 436 または配列番号 440 ～配列番号 481 の
 いずれか 1 つとの少なくとも 80% の配列同一性を含む第 2 の結合ドメインー F c ドメ
 インー第 1 の抗原結合ドメイン融合タンパク質の第 1 の抗原結合ドメイン；配列番号 85 ～
 配列番号 299、配列番号 352 ～配列番号 436 のいずれか 1 つとの少なくとも 80%
 の配列同一性を含む第 2 の結合ドメインー F c ドメインー第 1 の抗原結合ドメイン融
 合タンパク質の第 2 の結合ドメイン；および配列番号 437 ～配列番号 439 もしくはそのい
 ずれかの断片、または本明細書に記載される F c ドメインもしくはその断片のいずれか 1

つとの少なくとも80%の配列同一性を含む第2の結合ドメインーFcドメインー第1の抗原結合ドメイン融合タンパク質のFcドメインを含む。

【0018】

いくつかの態様では、本明細書に記載される特許請求の範囲の第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質が、配列番号1～配列番号436または配列番号440～配列番号481として表1に示されるCDRのセットとの少なくとも80%の配列同一性を有する6つのCDRのセットを含む第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質の第1の抗原結合ドメイン；配列番号85～配列番号299、配列番号352～配列番号436またはそのいずれかの断片として表1に示されるCDRのセットとの少なくとも80%の配列同一性を有するCDRのセットを含む第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質の第2の結合ドメイン；および配列番号437～配列番号439もしくはそのいずれかの断片、または本明細書に記載されるFcドメインもしくはその断片のいずれか1つとの少なくとも80%の配列同一性を含む第2の結合ドメインー第1の抗原結合ドメインーFcドメイン融合タンパク質のFcドメインを含む。

10

【0019】

いくつかの態様では、第1の抗原が、星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞、有足細胞または免疫細胞によって発現される抗原である。いくつかの態様では、第1の抗原が、星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞または有足細胞によって発現される抗原である。いくつかの態様では、第1の抗原が、星細胞または筋線維芽細胞によって発現される抗原である。いくつかの態様では、第1の抗原が、星細胞、筋線維芽細胞または有足細胞によって発現される抗原である。いくつかの態様では、第2の抗原が、星細胞または筋線維芽細胞によって発現される抗原である。

20

【0020】

種々の態様では、本明細書に記載されるいずれかの抗体コンストラクトまたは部分のアミノ酸配列をコードする単離核酸が提供される。

【0021】

いくつかの態様では、本明細書に記載される抗体コンストラクトをコードする核酸を含むベクターが提供される。

【0022】

いくつかの態様では、本明細書に記載される抗体コンストラクトをコードする核酸を含むベクターを含む宿主細胞が提供される。

30

【0023】

いくつかの態様では、哺乳動物細胞である宿主細胞が提供される。

【0024】

種々の態様では、コンジュゲートを作製する方法であって、抗体コンストラクトが産生されるように宿主細胞を培養することと、次いで、少なくとも1つの免疫調節化合物およびリンカーを抗体コンストラクトに結合してコンジュゲートを形成することを含む方法が提供される。

【0025】

種々の態様では、本明細書に記載されるいずれかのコンジュゲートと、薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物が提供される。

40

【0026】

種々の態様では、それを必要とする対象のための治療方法であって、治療的有效用量の本明細書に記載されるコンジュゲートまたは本明細書に記載される薬学的組成物を投与することを含む方法が提供される。いくつかの態様では、対象が線維性疾患、自己免疫疾患または炎症性疾患を有する。いくつかの態様では、薬学的組成物またはコンジュゲートが、静脈内投与、皮膚投与、皮下投与される、または患部で注射される。いくつかの態様では、薬学的組成物またはコンジュゲートが静脈内投与される。いくつかの態様では、薬学的組成物またはコンジュゲートが皮下投与される。

50

【0027】

種々の態様では、キットが、薬学的に許容される投与単位の薬学的有効量の本明細書に記載されるいずれかのコンジュゲートまたは本明細書に記載されるいずれかの薬学的組成物を含む。

【0028】

参照による援用

本明細書で言及される全ての刊行物、特許および特許出願は、あたかも各個々の刊行物、特許または特許出願が参照により援用されることが具体的かつ個別的に示されているのと同程度に本明細書に参照により援用される。

【0029】

本開示の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲に詳細に示される。本開示の原理が利用される例示的な態様を示す以下の詳細な説明、および付随する図面を参照することによって、本開示の特徴および利点のより良い理解が得られるだろう。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1A】抗体コンストラクト、リンカー（L）、免疫調節化合物（C1）、スペーサー（S）および第2の化合物（C2）を含むコンジュゲートのいくつかのフォーマットを示す図である。

【図1B】抗体コンストラクト、リンカー（L）、免疫調節化合物（C1）、スペーサー（S）および第2の化合物（C2）を含むコンジュゲートのいくつかのフォーマットを示す図である。

【図1C】抗体コンストラクト、リンカー（L）、免疫調節化合物（C1）、スペーサー（S）および第2の化合物（C2）を含むコンジュゲートのいくつかのフォーマットを示す図である。

【図2】コントロール抗体のみおよび抗ジゴキシンコンジュゲートコントロールと比較した、LRRC15コンジュゲート（切断可能なリンカーを介してTGFβR阻害剤に結合したLRRC15抗体）によるTGFβ/SMA Dシグナル伝達経路の阻害を示す図である。

【図3A】TGFβR2-VHL PROTAC抗HER2抗体コンジュゲートによるTFGβR2の分解についてのアッセイの結果を示す図である。

【図3B】TGFβR2-VHL PROTAC抗HER2抗体コンジュゲートによるTFGβR2の分解についてのアッセイの結果を示す図である。

【図3C】TGFβR2-VHL PROTAC抗HER2抗体コンジュゲートによるTFGβR2の分解についてのアッセイの結果を示す図である。

【図4A】VHLまたはセレブロンE3結合部分を有するPROTACを含む抗体コンジュゲートによるTFGβR2の抗原標的化分解についてのアッセイの結果を示す図である。

【図4B】VHLまたはセレブロンE3結合部分を有するPROTACを含む抗体コンジュゲートによるTFGβR2の抗原標的化分解についてのアッセイの結果を示す図である。

【図5A】プロテアソーム阻害剤を添加したまたは添加しない、TGFβR2/TGFβR1-VHL PROTACの存在下でのTGFβR2およびTGFβR1の細胞レベルについてのアッセイの結果を示す図である。

【図5B】プロテアソーム阻害剤を添加したまたは添加しない、TGFβR2/TGFβR1-VHL PROTACの存在下でのTGFβR2およびTGFβR1の細胞レベルについてのアッセイの結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0031】

本発明の好ましい実施形態を本明細書で示し、記載してきたが、このような実施形態は単なる例として提供されることが当業者に明らかである。ここで、本発明から逸脱するこ

10

20

30

40

50

となく、多数の変動、変化および置換が当業者に思い浮かぶだろう。本明細書に記載される本発明の実施形態の種々の代替を本発明の実施に使用してもよいことが理解されるべきである。以下の特許請求の範囲が本発明の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲の範囲内の方法および構造ならびにこれらの均等物がそれによって網羅されることが意図されている。

【0032】

毎年、線維症、自己免疫疾患および自己炎症性疾患の損傷効果により、数百万人が入院している。線維症は、修復または反応過程での臓器または組織における過剰な線維性結合組織または瘢痕組織の形成である。線維症は、典型的には炎症または損傷の結果として、肺、肝臓、腎臓、心臓および脳を含む体内の多くの組織で起こり得る。瘢痕組織は動脈をブロックし、関節を固定化し、内臓に損傷を与え、生体機能を維持する体の能力に大きな被害をもたらす。自己免疫疾患および自己炎症性疾患は、体の正常な部分に対する免疫系の異常な応答、または例えば、感染症に対する免疫応答の欠如から生じ得る。自己免疫疾患では、免疫系が、戦う感染症または外来侵入物の代わりに、体自身の組織を攻撃する自己抗体を産生し得る。移植臓器または組織の急性または慢性免疫媒介拒絶反応は、未だ対処されていない必要性がある別の領域である。移植片拒絶反応は、移植レシピエントの免疫系が、移植臓器または組織を外來物とみなし、移植臓器または組織を攻撃し、移植臓器または組織の不全をもたらし得る過程である。線維症、自己免疫疾患、自己炎症性疾患および移植のための市販の治療が存在するが、これらの治療は、これらの治療は限られた効率を有する。よって、線維性疾患、自己免疫疾患、自己炎症性疾患および移植片拒絶反応のための代替のまたは改善された治療がかなり必要とされている。

10

20

【0033】

本開示は、自己免疫疾患、自己炎症性疾患および／または線維性疾患の治療または予防に使用するための抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲート（「コンジュゲート」または「抗体コンジュゲート」とも呼ばれる）および薬学的組成物を提供する。特定の実施形態では、抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートおよび薬学的組成物が、線維性疾患の治療または予防に使用される。特定の実施形態では、抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートおよび薬学的組成物が、自己免疫疾患の治療または予防に使用される。特定の実施形態では、抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートおよび薬学的組成物が、自己炎症性疾患の治療または予防に使用される。

30

【0034】

標的化薬物療法を開発することの課題には、主要な薬理的標的に対する高い選択性を達成すること、および毒性を最小化しながら、疾患の、長期の標的阻害または調節を維持することが含まれる。これらの2つの課題の克服で、最大の治療有効性および最小の全身毒性を有する薬学的製品を開発することが可能である。これらの2つの課題に対処する1つの手法は、コンジュゲートした薬物の活性を妨害することなく、薬物を局所的領域または標的化組織に送達することができるコンジュゲートを開発することである。いくつかの実施形態では、コンジュゲートの標的化態様が、線維性疾患、自己免疫疾患、自己炎症性疾患または移植片拒絶反応をさらに阻害または調節することができる。

40

【0035】

線維性疾患、自己免疫疾患、自己炎症性疾患または移植片拒絶反応を阻害または調節することができる治療法が現在必要とされているので、本開示は、この必要性および関連する必要性に対処するコンジュゲート、薬学的組成物および方法を提供する。

【0036】

定義

特に定義しない限り、本明細書に使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当該技術分野で当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書で参照される全ての特許および刊行物が、参照により援用される。

【0037】

本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」および「t

50

h e」は、文脈上明白に他の意味に解釈すべき場合を除いて、複数指示対象を含む。

【0038】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、特異的抗原に、特異的に結合する、または免疫学的に反応性である免疫グロブリン分子を指す。抗体は、例えば、遺伝子操作された、ポリクローナル、モノクローナル、およびこれらの抗原結合断片を含むことができる。抗体は、例えば、マウス、キメラ、ヒト化、ヘテロコンジュゲート (h e t e r o c o n j u g a t e)、二重特異性、ダイアボディ、トリアボディまたはテトラボディであることができる。抗原結合断片は、例えば、F a b'、F (a b')₂、F a b、F v、r I g G および s c F v を含むことができる。

【0039】

本明細書で使用される場合、「抗原結合ドメイン」は、抗原に特異的に結合する分子の領域を指す。抗原結合ドメインは、抗体または抗体断片の抗原結合部分であり得る。抗原結合ドメインは、抗原に特異的に結合する能力を保持することができる抗体の1つまたは複数の断片であり得る。抗原結合ドメインは、抗原結合断片であり得る。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインが、単一抗原を認識することができる。抗原結合ドメインは、例えば、2つまたは3つの抗原を認識することができる。

【0040】

本明細書で使用される場合、「標的結合ドメイン」は、抗体または抗原に結合することができる非抗体由来の抗原結合ドメインを含むコンストラクトを指す。

【0041】

「標的化部分」という用語は、他の非標的分子と比較して標的分子に対する選択的親和性を有する構造を指す。標的化部分は標的分子に結合する。標的化部分は、例えば、抗体、ペプチド、リガンド、受容体またはこれらの結合部分を含み得る。標的分子は、生物学的受容体または細胞の他の構造などの抗原であり得る。

【0042】

「リンカーペイロード」または「L P」は、リンカーに結合した免疫調節化合物（複数可）を指す。

【0043】

本明細書で使用される場合、「F c ドメイン」は、抗体または F c 受容体に結合することができる非抗体由来の F c ドメインであり得る。

【0044】

本明細書で使用される場合、「F c ヌル (n u l l)」は、F c γ 受容体のいずれかとの弱い結合を示す〜結合を全く示さないドメインを指す。いくつかの実施形態では、F c ヌルドメインまたは領域が、1000分の1以下への、F c γ 受容体に対する結合親和性の減少（例えば、K d の増加）を示す。

【0045】

本明細書で使用される場合、抗体相互作用に関する「認識する」は、抗体またはその部分の抗原結合ドメインと抗原との間の特異的会合または結合を指す。

【0046】

本明細書で使用される場合、「配列同一性」、「同一性」および「同一」は、文脈に従って、それぞれ、DNA、RNA、ヌクレオチド、アミノ酸またはタンパク質配列と別のDNA、RNA、ヌクレオチド、アミノ酸またはタンパク質配列との間の同一性を指す。配列同一性は、第1の配列と第2の配列の配列同一性の割合に関して表され得る。参照DNA配列に関するパーセント (%) 配列同一性は、配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後の参照DNA配列のDNAヌクレオチドと同一である候補配列のDNAヌクレオチドの割合である。参照アミノ酸配列に関するパーセント (%) 配列同一性は、配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入して最大のパーセント配列同一性を達成した後の参照アミノ酸配列のアミノ酸残基と同一である候補配列のアミノ酸残基の割合であり、いずれの保存的置換も配列同一性の一部とみなさない。

【0047】

本明細書で使用される場合、天然 L-鏡像異性的アミノ酸についての略語は慣用的なものであり、以下の通りであり得る：アラニン (A、Ala)；アルギニン (R、Arg)；アスパラギン (N、Asn)；アスパラギン酸 (D、Asp)；システイン (C、Cys)；グルタミン酸 (E、Glu)；グルタミン (Q、Gln)；グリシン (G、Gly)；ヒスチジン (H、His)；イソロイシン (I、Ile)；ロイシン (L、Leu)；リジン (K、Lys)；メチオニン (M、Met)；フェニルアラニン (F、Phe)；プロリン (P、Pro)；セリン (S、Ser)；スレオニン (T、Thr)；トリプトファン (W、Trp)；チロシン (Y、Tyr)；バリン (V、Val)。特に指定しない限り、X はいずれかのアミノ酸を示すことができる。いくつかの態様では、X がアスパラギン (N)、グルタミン (Q)、ヒスチジン (H)、リジン (K) またはアルギニン (R) であり得る。

10

【0048】

「塩」または「薬学的に許容される塩」という用語は、当該技術分野で周知の種々の有機対イオンおよび無機対イオンから誘導される塩を指す。薬学的に許容される酸付加塩は、無機酸および有機酸で形成され得る。塩を誘導することができる無機酸には、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが含まれる。塩を誘導することができる有機酸には、例えば、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などが含まれる。薬学的に許容される塩基付加塩は、無機塩基および有機塩基で形成され得る。塩を誘導することができる無機塩基には、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、アルミニウムなどが含まれる。塩を誘導することができる有機塩基には、例えば、一級、二級および三級アミン、天然に存在する置換アミンを含む置換アミン、環状アミン、塩基性イオン交換樹脂など、具体的には例えばイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミンおよびエタノールアミンが含まれる。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される塩基付加塩が、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、カルシウムおよびマグネシウム塩から選択される。

20

【0049】

「C_{x~y}」という用語は、アルキル、アルケニルまたはアルキニルなどの化学部分と併せて使用される場合、鎖内に x~y 個の炭素を含む基を含むことを意図している。例えば、「C_{x~y} アルキル」という用語は、トリフルオロメチルおよび 2, 2, 2-トリフルオロエチル等などのハロアルキル基を含む、鎖内に x~y 個の炭素を含む直鎖アルキルおよび分岐鎖アルキル基を含む、置換または非置換飽和炭化水素基を指す。

30

【0050】

「C_{x~y} アルケニル」および「C_{x~y} アルキニル」という用語は、上記のアルキルと長さおよび可能な置換が類似であるが、それぞれ少なくとも 1 つの二重結合または三重結合を含む置換または非置換不飽和脂肪族基を指す。

【0051】

本明細書で使用される「炭素環」という用語は、環の各原子が炭素である飽和、不飽和または芳香環を指す。炭素環には、3~10 員単環式環、6~12 員二環式環および 6~12 員架橋環が含まれる。二環式炭素環の各環は、飽和、不飽和および芳香環から選択され得る。例示的实施形態では、芳香環、例えばフェニルが、飽和または不飽和環、例えばシクロヘキサン、シクロペンタンまたはシクロヘキセンと縮合していてもよい。二環式炭素環には、原子価が許す飽和、不飽和および芳香族二環式環のいずれの組み合わせも含まれる。二環式炭素環には、4-5 縮合環系、5-5 縮合環系、5-6 縮合環系および 6-6 縮合環系などの環サイズのいずれの組み合わせも含まれる。例示的炭素環には、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、アダマンチル、フェニル、インダニルおよびナフチルが含まれる。

40

【0052】

50

【 0 0 5 3 】

【 0 0 5 4 】

【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態では、置換基が、本明細書に記載されるいずれかの置換基、例えば：ハロゲン、ヒドロキシ、オキソ（=O）、チオキソ（=S）、シアノ（-CN）、ニトロ（-NO₂）、イミノ（=N-H）、オキシモ（=N-OH）、ヒドラジノ（=N-NH₂）、-R^b-OR^a、-R^b-OC(O)-R^a、-R^b-OC(O)-OR^a、-R^b-OC(O)-N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)₂、-R^b-C(O)R^a、-R^b-C(O)OR^a、-R^b-C(O)N(R^a)₂、-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)C(O)OR^a、-R^b-N(R^a)C(O)R^a、-R^b-N(R^a)S(O)_tR^a（式中、tは1または2である）、-R^b-S(O)_tR^a（式中、tは1または2である）、-R^b-S(O)_tOR^a（式中、tは1または2である）および-R^b-S(O)_tN(R^a)₂（式中、tは1または2である）；ならびにそのいずれもアルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、オキソ（=O）、チオキソ（=S）、シアノ（-CN）、ニトロ（-NO₂）、イミノ（=N-H）、オキシモ（=N-OH）、ヒドラジン（=N-NH₂）、-R^b-OR^a、-R^b-OC(O)-R^a、-R^b-OC(O)-OR^a、-R^b-OC(O)-N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)₂、-R^b-C(O)R^a、-R^b-C(O)OR^a、-R^b-C(O)N(R^a)₂、-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂、-R^b-N(R^a)C(O)OR^a、-R^b-N(R^a)C(O)R^a、-R^b-N(R^a)S(O)_tR^a（式中、tは1または2である）、-R^b-S(O)_t

R^a (式中、 t は 1 または 2 である)、 $-R^b-S(O)_tOR^a$ (式中、 t は 1 または 2 である) および $-R^b-S(O)_tN(R^a)_2$ (式中、 t は 1 または 2 である) によって置換されていてもよいアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、アラルケニル、アラルキニル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、ヘテロアリールおよびヘテロアリールアルキル (式中、各 R^a は、水素、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、ヘテロアリールまたはヘテロアリールアルキルから独立に選択され、各 R^a は、原子価が許せば、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、オキソ ($=O$)、チオキソ ($=S$)、シアノ ($-CN$)、ニトロ ($-NO_2$)、イミノ ($=N-H$)、オキシモ ($=N-OH$)、ヒドラジン ($=N-NH_2$)、 $-R^b-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-R^a$ 、 $-R^b-OC(O)-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-C(O)R^a$ 、 $-R^b-C(O)OR^a$ 、 $-R^b-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)OR^a$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)R^a$ 、 $-R^b-N(R^a)S(O)_tR^a$ (式中、 t は 1 または 2 である)、 $-R^b-S(O)_tR^a$ (式中、 t は 1 または 2 である)、 $-R^b-S(O)_tOR^a$ (式中、 t は 1 または 2 である) および $-R^b-S(O)_tN(R^a)_2$ (式中、 t は 1 または 2 である) で置換されていてもよく；各 R^b は直接結合、または直鎖もしくは分岐アルキレン、アルケニレンもしくはアルキニレン鎖から独立に選択され、各 R^c は直鎖もしくは分岐アルキレン、アルケニレンまたはアルキニレン鎖である) を含み得る。

10

20

【0056】

適切な場合、置換基自体が置換されていてもよいことが当業者によって理解されるだろう。「非置換である」と特に明記されていない限り、本明細書における化学部分への言及は、置換変異体を含むと理解される。例えば、「ヘテロアリール」基または部分への言及は、特に指定しない限り、置換変異体と非置換変異体の両方を暗に含む。

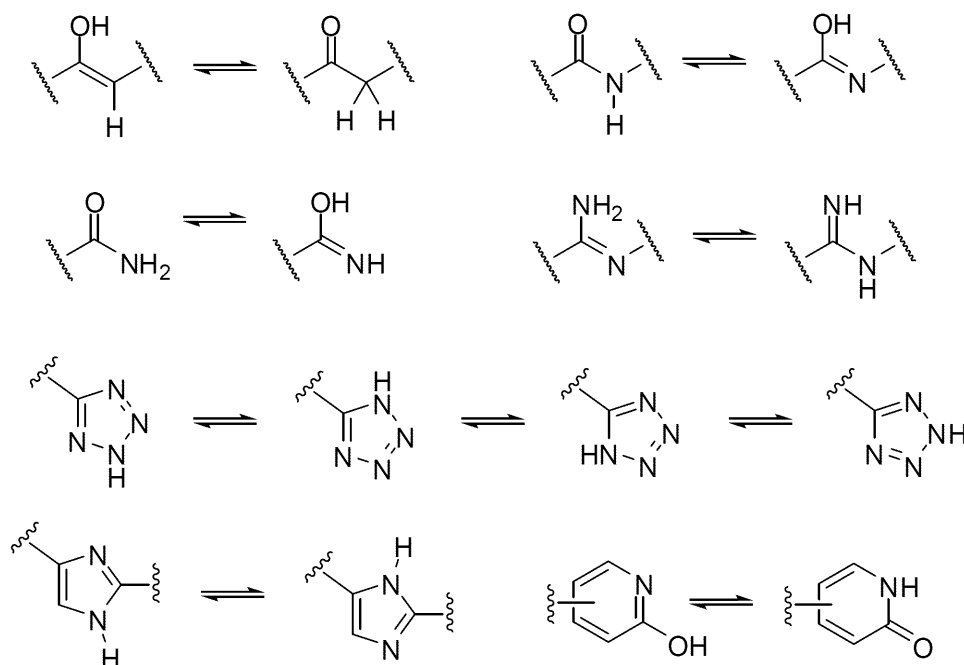
【0057】

炭素-炭素二重結合または炭素-窒素二重結合を有する化学実体は、Z 形態または E 形態 (またはシス形態もしくはトランス形態) で存在し得る。さらに、いくつかの化学実体は、種々の互変異性形態で存在し得る。特に指定しない限り、本明細書に記載される化学実体は、全ての Z 形態、E 形態および互変異性形態も含むことを意図している。

30

【0058】

「互変異性体」は、分子のある原子から同分子の別の原子へのプロトン移動が可能な分子を指す。本明細書に提示される化合物が、特定の実施形態では、互変異性体として存在する。互変異性が可能な状況では、互変異性体の化学平衡が存在する。互変異性体の正確な比は、物理状態、温度、溶媒および pH を含むいくつかの因子に依存する。互変異性平衡のいくつかの例として以下が挙げられる：



10

【0059】

20

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される化合物が、例えば、 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C および／または ^{14}C の含有量が濃縮された、異なる濃縮同位体形態で使用される。1つの特定の実施形態では、化合物が少なくとも1つの位置で重水素化される。このような重水素化形態は、米国特許第5846514号および同第6334997号に記載される手順によって生成することができる。米国特許第5846514号および同第6334997号に記載されるように、重水素化により、代謝安定性およびまたは有効性が改善され、よって薬物の作用持続時間が増加し得る。

【0060】

30

別途指定のない限り、本明細書に示される構造は、1つまたは複数の同位体濃縮原子の存在においてのみ異なる化合物を含むことを意図している。例えば、重水素またはトリチウムによる水素の置換、または ^{13}C —もしくは ^{14}C —濃縮炭素による炭素の置換を除いて本構造を有する化合物は、本開示の範囲内にある。

【0061】

本開示の化合物は、場合によりこのような化合物を構成する1つまたは複数の原子で、非天然割合の原子同位体を含む。例えば、化合物は、例えば、重水素(^2H)、トリチウム(^3H)、ヨウ素-125(^{125}I)または炭素-14(^{14}C)などの同位体で標識され得る。 ^2H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}C 、 ^{12}N 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{16}N 、 ^{16}O 、 ^{17}O 、 ^{14}F 、 ^{15}F 、 ^{16}F 、 ^{17}F 、 ^{18}F 、 ^{33}S 、 ^{34}S 、 ^{35}S 、 ^{36}S 、 ^{35}Cl 、 ^{37}Cl 、 ^{79}Br 、 ^{81}Br 、 ^{125}I による同位体置換が全て考えられる。本発明の化合物の全ての同位体変種が、放射性であろうとなかろうと、本発明の範囲内に包含される。

40

【0062】

特定の実施形態では、本明細書に開示される化合物が、いくつかまたは全ての ^2H 原子で置換された ^1H 原子を有する。重水素含有化合物についての合成方法は、当該技術分野で知られており、単なる非限定的な例として、以下の合成方法を含む。

【0063】

重水素置換化合物は、Dean, Dennis C. ; 編者. Recent Advances in the Synthesis and Applications of Radiolabeled Compounds for Drug Discovery and Development. [In: Curr., Pharm. Des.

50

、2000;6(10)] 2000、110頁;George W.;Varma, Rajender S. The Synthesis of Radiolabeled Compounds via Organometallic Intermediates、Tetrahedron、1989、45(21)、6601~21;およびEvans, E. Anthony. Synthesis of radiolabeled compounds、J. Radioanal. Chem.、1981、64(1~2)、9~32に記載されるような種々の方法を使用して合成される。

【0064】

重水素化出発物質は、容易に入手可能であり、本明細書に記載される合成方法を受けて、重水素含有化合物の合成を提供する。多数の重水素含有試薬およびビルディングブロックが、Aldrich Chemical Co.などの化学販売業者から市販されている。

10

【0065】

本発明で有用な化合物には、これらの化合物の結晶および非晶質形態、薬学的に許容される塩、ならびに例えば、多形、擬多形(pseudopolymorph)、溶媒和物、水和物、非溶媒和多形(無水物を含む)、立体配座多形および化合物の非晶質形態を含む同じ活性型を有するこれらの化合物の活性代謝産物、ならびにこれらの混合物も含まれる。

【0066】

本明細書で使用される「非経口投与」および「非経口投与される」という句は、通常注射による、経腸および局所投与以外の投与様式を意味し、限定されないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、脊髄内および胸骨内注射ならびに点滴を含む。

20

【0067】

「薬学的に許容される」という句は、健全な医学的判断の範囲内で、適度なベネフィット／リスク比に相応して、過度の毒性、刺激、アレルギー反応または他の問題もしくは合併症なしにヒトおよび動物の組織と接触して使用するのに適している化合物、材料、組成物および／または剤形を指すために本明細書で使用される。

【0068】

本明細書で使用される「薬学的に許容される賦形剤」または「薬学的に許容される担体」という句は、液体もしくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒またはカプセル化材料などの薬学的に許容される材料、組成物またはビヒクルを意味する。各担体は、製剤の他の成分と適合性であり、患者に有害でないという意味で「許容され」なければならない。薬学的に許容される担体として働くことができる材料のいくつかの例としては、以下が挙げられる：(1)ラクトース、グルコースおよびスクロースなどの糖類；(2)コーンスターチおよびジャガイモデンプンなどのデンプン；(3)セルロース、ならびにカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロースなどのその誘導体；(4)粉末状トラガカント；(5)麦芽；(6)ゼラチン；(7)タルク；(8)カカオ脂および坐剤ワックスなどの賦形剤；(9)落花生油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油および大豆油などの油；(10)プロピレングリコールなどのグリコール；(11)グリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコールなどのポリオール；(12)オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなどのエステル；(13)寒天；(14)水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；(15)アルギン酸；(16)発熱性物質除去蒸留水；(17)等張生理食塩水；(18)リンゲル液；(19)エチルアルコール；(20)リン酸バッファー溶液；および(21)薬学的製剤に使用される他の非毒性適合性物質。

30

40

【0069】

本明細書で使用される場合、「結合した」は、2つ以上の基の間の結合、すなわち共有結合を指す。あるいは、「結合した」は、リンカー、例えば抗原結合ドメインをFcドメインに結合して抗体コンストラクトを形成するリンカーを介した、2つ以上の基の会合を

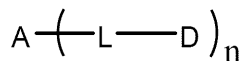
50

指し得る。融合は、インフレーションで発現される2つの別個のドメインの核酸配列を指し得る。例えば、結合ドメインは、融合として、または抗体コンストラクトを形成するリンカーを介したコンジュゲーションによって結合され得る。例えば、抗体コンストラクトの一部を第2の結合ドメインと融合して、融合タンパク質として第2の結合ドメインを含む抗体コンストラクトを作製することができる。融合タンパク質は、抗体コンストラクトの残りをコードする核酸配列とインフレーションで発現される第2の結合ドメインをコードする核酸配列の結果であり得る。融合タンパク質は、抗体コンストラクトの一部を結合ドメインと結合する結合ドメインまたは近接するタンパク質配列を含む、抗体コンストラクトをコードするインフレーション遺伝子ヌクレオチド配列の結果であり得る。別の例として、第2の結合ドメインをリンカーを介して抗体コンストラクトに結合することができ、ここではリンカーが結合ドメインに結合（例えば、コンジュゲート）しており、リンカーが抗体コンストラクトの残りに結合（例えば、コンジュゲート）している。結合ドメインを化学コンジュゲーションによってリンカーに結合することができ、抗体コンストラクトの残りを化学コンジュゲーションによってリンカーに結合することができる。結合ドメインは、本明細書に記載される第2の結合ドメインおよび／または第3の結合ドメインであり得る。さらに、結合ドメインは、Fcドメインに結合して、Fcドメインとの融合として第1の抗原結合ドメインを産生し得る本明細書に記載される抗体コンストラクトを産生する第1の抗原結合ドメインであり得、第1の抗原結合ドメインはリンカーに結合することができ、リンカーはFcドメインに結合することができる。本明細書で使用される場合、「免疫調節化合物」は、標的に結合する小分子または実体を指し得る。免疫調節化合物は、標的に結合することができ、標的の機能を活性化し得る実体、または標的に結合し、標的の機能を阻害することができる実体であり得る。標的はタンパク質標的であり得る。タンパク質標的の機能の阻害は、ユビキチン媒介分解の増加の結果であり得る。ユビキチン媒介分解は、タンパク質標的のユビキチン媒介分解であり得る。免疫調節化合物は、炎症を減少させ、免疫応答を減少させ、線維症を減少させ得る、またはこれらのいずれかの組み合わせであり得る。

【0070】

抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの抗体コンストラクト

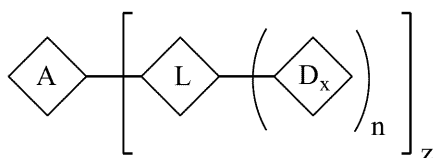
コンジュゲートで免疫調節化合物と共に使用され得る抗体コンストラクトが本明細書に開示される。特定の実施形態では、本開示の免疫調節化合物を、直接またはリンカー基を介して免疫調節化合物に結合（例えば、コンジュゲート）して、抗体コンジュゲートを形成する。特定の実施形態では、抗体コンジュゲートが、以下の式：



（式中、Aは抗体コンストラクトであり、Lはリンカーであり、Dは1つまたは複数の免疫調節化合物、例えば1、2、3または4つの化合物であり、nは1～20である）によって表される。特定の実施形態では、nが1～10、例えば1～9、例えば1～8、例えば2～8、例えば1～6、例えば3～5または例えば約2である。特定の実施形態では、nが4である。いくつかの実施形態では、nが平均である。

【0071】

本明細書に開示される免疫調節化合物と共に使用され得る抗体コンストラクトも本明細書に開示される。特定の実施形態では、免疫調節化合物を直接またはリンカー基を介して本開示の抗体コンストラクトに結合して、抗体コンジュゲートを形成する。特定の実施形態では、抗体コンジュゲートが、以下の式：



10

20

30

40

50

(式中、



は抗体コンストラクトであり、Lはリンカーであり、Dは免疫調節化合物であり、xは1～20であり得（各このようなxは異なる免疫調節化合物を表す）、nは1～20であり得、zは1～20であり得る）
によって表され得る。

【0072】

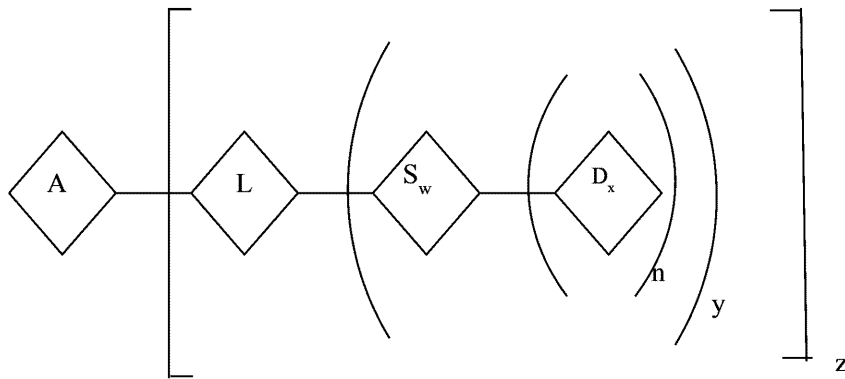
いくつかの実施形態では、xが1であり得、nが1であり得、zが1～10、例えば1～9、例えば1～8、例えば2～8、例えば1～6、例えば3～5または例えば約2であり得る。特定の実施形態では、zが4であり得る。

【0073】

いくつかの実施形態では、Dが免疫調節化合物（IMC）であり得、xが1～20であり得、nが1～20であり得、zが1～20であり得る。

【0074】

特定の実施形態では、抗体コンジュゲートが、以下の式：



20

(式中、



は抗体コンストラクトであり、Lはリンカーであり、Sはスペーサーであり、Dは免疫調節化合物であり、xは1～20であり得（各xは別個の免疫調節化合物を表す）、nは1～20であり得、wは1～20であり得、yは1～20であり得、zは1～20であり得る）
によって表され得る。

【0075】

いくつかの実施形態では、xが1であり得、nが2であり、yが1であり得、zが1～10、例えば1～9、例えば1～8、例えば2～8、例えば1～6、例えば3～5または例えば2であり得る。特定の実施形態では、zが4であり得る。

【0076】

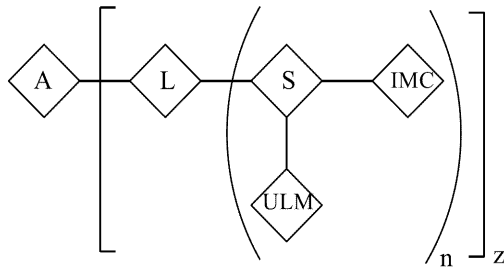
いくつかの実施形態では、Dが免疫調節化合物（IMC）であり得、xが1～20であり得、nが1～20であり得、wが1～20であり得、yが1～20であり得、zが1～20であり得る。

【0077】

いくつかの実施形態では、Dが、式：

30

40

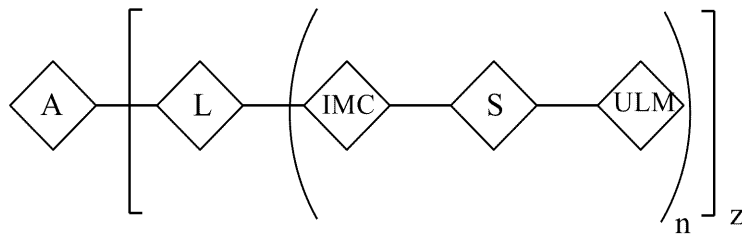


によって表される、スペーサー（S）を介してE3ユビキチンリガーゼ結合部分（ULM）に共有結合的に結合され得る免疫調節化合物（IMC）を含み得、リンカー（L）がスペーサー（S）に共有結合的に結合され得、 n が1～20であり得、 z が1～20であり得るタンパク質分解標的化キメラ（PROTAC）であり得る。

10

【0078】

いくつかの実施形態では、Dが、式：

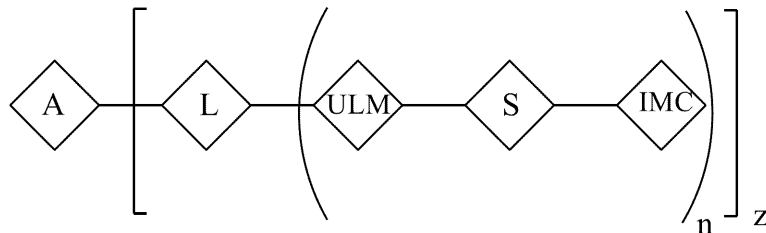


20

によって表される、スペーサー（S）を介してE3ユビキチンリガーゼ結合部分（ULM）に共有結合的に結合され得る免疫調節化合物（IMC）を含み得、リンカー（L）が免疫調節化合物（IMC）に共有結合的に結合され得、 n が1～20であり得、 z が1～20であり得るタンパク質分解標的化キメラ（PROTAC）であり得る。

【0079】

いくつかの実施形態では、Dが、式：



30

によって表される、スペーサー（S）を介してE3ユビキチンリガーゼ結合部分（ULM）に共有結合的に結合され得る免疫調節化合物（IMC）を含み得、リンカーLがユビキチンE3リガーゼ部分（ULM）に共有結合的に結合され得、 n が1～20であり得、 z が1～20であり得るタンパク質分解標的化キメラ（PROTAC）であり得る。

【0080】

いくつかの実施形態では、免疫調節化合物を直接またはリンカー基を介して抗体コンストラクトにコンジュゲートして、抗体コンジュゲート（「コンジュゲート」）を形成し、これが、これらの参考文献の各々全体が本明細書に参照により援用される、米国特許第9254339号、米国特許第9144615号、米国特許第8821850号、米国特許第8808679号、米国特許第8685383号、米国特許第8524214号または米国特許出願公開第2011/0243892号（米国出願番号第13/163080号）に開示されるいずれかのコンジュゲートの形をとり得る。本明細書で使用される場合、「力価」は、一般的に測定された生理活性であり得、EC50またはIC50として定量化され得る。力価は、効果を及ぼすために必要とされるコンジュゲートまたは化合物の量を指し得る。例えば、異なる免疫調節化合物と比較して、効果を達成するのに必要とする免疫調節化合物の量が少ない免疫調節化合物の力価を、より大きい力価を有するとみなす

40

50

ことができる。さらに、異なる免疫調節化合物は、反応を生み出すのにより多量の異なる免疫調節化合物を要するので、低い力価とみなすことができる。生理活性組成物の力価はある濃度範囲にわたって測定され得、測定される生物応答の一定割合を誘発または阻害するのに必要とされるモル濃度として報告することができる。例えば、アッセイで観察される最大活性の50%を刺激するのに必要とされる濃度は有効濃度50 (EC50) として、90%活性を刺激するのに必要とされる濃度はEC90として、または10%活性を刺激するのに必要とされる濃度はEC10として報告され得る。例えば、生物活性の50%最大阻害をもたらすのに必要とされるアンタゴニストの濃度は阻害濃度50 (IC50) として、90%を阻害するのに必要とされる濃度はIC90として、または10%を阻害するのに必要とされる濃度はIC10として報告され得る。これは、所与のバイオアッセイについてそのECまたはIC値の比較により、モルベースで生理活性化合物の力価の比較を可能にし得る。例えば、コントロールのEC50またはIC50より300倍以上大きいEC50またはIC50を有する免疫調節化合物は、50%生物応答を達成するためにコントロールと比較して300倍高いまたは300倍超高い濃度を必要とし、コントロールの300分の1以下の力価を有する。そのため、コントロール化合物のEC50またはIC50の約300倍以下のEC50またはIC50を有する免疫調節化合物は、50%最大生物応答を達成するためにコントロール化合物より300倍以下高い濃度を必要とし、EC50またはIC50の100倍以下は、100倍以下高い濃度を必要とし、EC50またはIC50の10倍以下は、コントロールの濃度の10倍以下を必要とする。免疫調節化合物の力価は、コントロールの力価の300倍以上、100倍以上または10倍以上にあり得る。

10

20

【0081】

本明細書で使用される場合、「コントロール化合物」は、リンカー結合および抗体コンジュゲーション前の免疫調節化合物を指す、またはE3ユビキチンリガーゼ結合部分を含むコンジュゲートの場合、コントロール化合物は、c) E3ユビキチンリガーゼ部分に結合したb) 第2のリンカーに結合したa) 免疫調節化合物を指す。いくつかの実施形態では、コンジュゲート中の免疫調節化合物の力価またはタンパク質結合が保持され得る、または増加し得る。いくつかの実施形態では、コンジュゲートとしての免疫調節化合物のタンパク質標的についての K_d が、コントロール化合物の100倍、25倍、10倍または2倍以下である。いくつかの実施形態では、コンジュゲートとしての免疫調節化合物のEC50またはIC50が、コントロール化合物の300倍、50倍、10倍または2倍以下である。いくつかの実施形態では、EC50またはIC50がコントロール化合物と等しいまたはそれより低く、コンジュゲートによる免疫調節の力価増加を示す。

30

【0082】

本開示の抗体コンストラクトは、例えば2、3、4、5、6、7、8、9、10個またはそれ以上の抗原結合ドメインを含み得る。抗体コンストラクトは、各抗原結合ドメインが同じ抗原を認識することができる2つの抗原結合ドメインを含み得る。抗体コンストラクトは、各抗原結合ドメインが異なる抗原を認識することができる2つの抗原結合ドメインを含み得る。抗原結合ドメインは、抗原結合ドメインのための支持フレームワークである足場にあり得る。抗原結合ドメインは非抗体足場にあり得る。抗原結合ドメインは抗体足場にあり得る。抗体コンストラクトは足場中に抗原結合ドメインを含み得る。抗体コンストラクトはFc融合タンパク質産物を含み得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトがFc融合タンパク質産物である。抗原結合ドメインは、線維性疾患、自己免疫疾患または自己炎症性疾患に関連する抗原に特異的に結合し得る。抗原結合ドメインは、線維性疾患、自己免疫疾患または自己炎症性疾患に関連する抗原と少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%同一である抗原に特異的に結合し得る。抗原結合ドメインは、抗原提示細胞上の抗原に特異的に結合し得る。抗原結合ドメインは、T細胞上の抗原に特異的に結合し得る。抗原結合ドメインは、

40

50

T細胞上の抗原と少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%同一である抗原に特異的に結合し得る。

【0083】

本明細書に記載されるコンジュゲートは、例えば免疫調節化合物と、抗体コンストラクトと、抗体コンストラクトを免疫調節化合物に結合するリンカーとを含むことができる。コンジュゲートの抗体コンストラクトは、例えば第1の抗原結合ドメインおよびFcドメインを含むことができ、第1の抗原結合ドメインは第1の抗原に結合する。第1の抗原は、例えばカドヘリン11、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFRB、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスIIまたはCD25との約50%、約60%、約70%、約80%または約90%または約100%の配列同一性を有することができる。いくつかの態様では、第1の抗原が、カドヘリン11、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25、LRRC15およびカドヘリン11から選択される。いくつかの実施形態では、第1の抗原が、カドヘリン11、PDPN、LRRC15、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25、MMP14、GPX8およびF2RL2から選択される。いくつかの実施形態では、第1の抗原が、カドヘリン11、FAP、TNFR2またはLRRC15から選択される。いくつかの態様では、第1の抗原が、LRRC15、FAP、カドヘリン11およびTNFR2から選択される。

【0084】

特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、免疫細胞、例えばT細胞、B細胞およびAPC、星細胞、内皮細胞、上皮細胞、腫瘍細胞、線維芽細胞、線維細胞、有足細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞または線維症の発病に関連する他の細胞上の抗原と少なくとも80%同一である抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、T細胞、APCおよび/またはB細胞上の抗原と少なくとも80%同一である抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、PD-1、GARP、CD25、PD-L1またはTNFR2からなる群から選択される抗原と少なくとも80%同一である抗原に特異的に結合し得る。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、星細胞、内皮細胞、線維芽細胞、線維細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、有足細胞または線維症の発病に関連する細胞上の抗原と少なくとも80%同一である抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、エンドシアリン、FAP、ADAM12、LRRC15、MMP14、PDPN、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗原と少なくとも80%同一である抗原に特異的に結合し得る。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、FAP、ADAM12、LRRC15、MMP14、PDPN、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗原と少なくとも80%同一である抗原に特異的に結合し得る。

10

20

30

40

50

【0085】

特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、T細胞、B細胞、星細胞、内皮細胞、腫瘍細胞、APC、線維芽細胞、線維細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、有足細胞または線維症の発病に関連する他の細胞上の抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、T細胞、APCおよび／またはB細胞上の抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、PD-1、GARP、CD25、PD-L1またはTNFR2からなる群から選択される抗原に特異的に結合し得る。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、星細胞、内皮細胞、線維芽細胞、線維細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、有足細胞または線維症の発病に関連する細胞上の抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、エンドシアリン、FAP、ADAM12、LRRC15、MMP14、PDPN、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗原に特異的に結合し得る。特定の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、FAP、ADAM12、LRRC15、MMP14、PDPN、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗原に特異的に結合する。

10

【0086】

抗体コンストラクトの結合ドメインは、抗原上の特定のアミノ酸配列に結合することができるだけでなく、特定のタンパク質複合体、タンパク質コンフォメーション、タンパク質コンフォーマー、転写後修飾または翻訳後修飾についての特異性を示すこともできる。例えば、コンジュゲートの結合ドメインの抗原は、スプライスジャンクション、タンパク質複合体、タンパク質コンフォーマーまたは翻訳後修飾を含むことができる。結合ドメインによって特異的に認識され得るスプライスバリエーション抗原の非限定的な例は、EGFRviiiスプライスバリエーションの結合ドメインである。翻訳後修飾またはタンパク質コンフォーマーによって産生される特異的抗原の結合ドメインのいくつかの非限定的な例は、CD45RBまたはCD45ROのスプライスバリエーションの結合ドメインであり得る。タンパク質複合体に結合することができる結合ドメインの非限定的な例は、 $\alpha v \beta 6$ などの特異的インテグリンペアに結合することができる結合ドメインであり得る。例えば、結合ドメインは、 $\alpha v \beta 6$ に密に結合することができるが、個々のサブユニットまたは異なるサブユニットとペアリングした一方のサブユニットには弱くしか結合できないまたは全く結合できない。これらの種類の結合ドメインのいくつかの追加の非限定的な例としては、抗CD45RB抗体、抗CD45RO抗体、抗 $\alpha v \beta 6$ 抗体および抗 $\alpha v \beta 8$ 抗体を挙げることができる。

20

30

【0087】

抗原はPDCD1であり得る。PDCD1遺伝子は、T細胞炎症活性を抑制することによって免疫系を下方制御し、自己寛容を促進することにおいて重要な役割を果たす細胞表面受容体を担う細胞表面受容体である、PD-1およびCD279（分化抗原群279）としても知られる、プログラム細胞死タンパク質1をコードする。PD-1は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞表面受容体であり、T細胞およびプロB細胞上で発現される。PD-1は、免疫チェックポイントであり、リンパ節で抗原特異的T細胞のアポトーシス（プログラム細胞死）を促進しながら、同時に調節性T細胞（抗炎症性、抑制性T細胞）のアポトーシスを減少させる二重の機構によって自己免疫を防ぐ。

40

【0088】

抗原はTNFRSF4であり得る。TNFRSF4遺伝子は、CD28とは異なり、休止ナイーブT細胞上で構成的に発現されない受容体のTNFRスーパーファミリーのメンバーである、TNFRSF4（腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー、メンバー4）としても知られる、OX40をコードする。OX40は、活性化後24～72時間後に発現される二次共刺激免疫チェックポイント分子であり；そのリガンドであるOX40Lも、休止抗原提示細胞では発現されないが、活性化後に発現される。OX40の発現は、T細胞の完全活性化に依存する；CD28がなければ、OX40の発現は遅延し、4分の1の

50

レベルとなる。

【0089】

抗原はCD27であり得る。CD27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。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、TNF受容体スーパーファミリーのメンバーである。この受容体は、T細胞免疫の生成および長期維持に必要とされる。これはリガンドCD70に結合し、B細胞活性化および免疫グロブリン合成の調節で重要な役割を果たす。この受容体は、NF-κBおよびMAPK8/JNKの活性化をもたらすシグナルを変換する。アダプタータンパク質TRAF2およびTRAF5は、この受容体のシグナル伝達プロセスを媒介することが示されている。アポトーシス促進タンパク質であるCD27結合タンパク質(SIVA)がこの受容体に結合することができ、この受容体によって誘導されるアポトーシスで重要な役割を果たすと考えられている。

10

【0090】

抗原はIL2RAであり得る。IL2RA遺伝子は、活性化T細胞、活性化B細胞、いくつかの胸腺細胞、骨髄前駆体および乏突起膠細胞上に存在するI型膜貫通タンパク質である、IL2RA(インターロイキン2受容体α鎖)としても知られる、CD25をコードする。IL2RAは、ほとんどのB細胞腫瘍、いくつかの急性非リンパ性白血病、神経芽細胞腫、肥満細胞症および腫瘍浸潤リンパ球で発現される。これはHTLV-1の受容体として機能し、結果として成人T細胞リンパ腫/白血病の腫瘍性細胞上で発現される。sIL-2Rと呼ばれるその可溶性形態がこれらの疾患で上昇する場合があります、時折疾患進行を追跡するために使用される。

20

【0091】

抗原はTNFRSF18であり得る。TNFRSF18遺伝子は、腫瘍壊死因子受容体(TNFR)スーパーファミリーのメンバーであるタンパク質である、TNFRSF18(腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー18)およびAITR(活性化誘導性TNFRファミリー受容体)としても知られる、GITR(グルココルチコイド誘導TNFR関連タンパク質)をコードする。GITR(グルココルチコイド誘導腫瘍壊死因子受容体)は、T調節性細胞の抑制活性の阻害およびTエフェクター細胞の生存の延長に関与することが示されている表面受容体分子である。

【0092】

抗原はLAG-3であり得る。LAG-3(リンパ球活性化遺伝子3)遺伝子は、T細胞機能に対する多様な生物学的効果を有する細胞表面分子をコードする。LAG-3は免疫チェックポイント受容体である。免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーに属するLAG3タンパク質は、D1~D4と呼ばれる4つの細胞外Ig様ドメインを有する503アミノ酸I型膜貫通タンパク質を含む。LAG-3は、活性化T細胞、ナチュラルキラー細胞、B細胞および形質細胞様樹状細胞上で発現される。

30

【0093】

抗原はGARPであり得る。GARP(糖タンパク質A反復優勢)は、刺激されたTregクローンの表面上に存在するが、Thクローン上には存在しないロイシンリッチリピートを含む膜貫通タンパク質である。

【0094】

抗原は4-1BBであり得る。4-1BBは、活性化Tリンパ球上で発現される、TNFスーパーファミリーに属する2型膜貫通糖タンパク質である。4-1BBは、活性化T細胞によって発現され得る。4-1BB発現は、樹状細胞、B細胞、濾胞性樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、顆粒球および炎症部位の血管壁の細胞上に見られ得る。

40

【0095】

抗原はICOSであり得る。ICOS(誘導T細胞共刺激因子)遺伝子は、活性化T細胞上で発現されるCD28スーパーファミリー共刺激分子をコードする。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、CD28およびCTLA-4細胞表面受容体ファミリーに属する。ICOSはホモダイマーを形成し、細胞-細胞シグナル伝達、免疫応答および細胞増殖の調節で重要な役割を果たす。

50

【0096】

抗原はCD70であり得る。CD70は、T細胞リンパ腫およびB細胞リンパ腫などの高度に活性化されたリンパ球上で発現される。CD70は、腫瘍壊死因子(TNF)リガンドファミリーに属するサイトカインである。このサイトカインはTNFRSF27/CD27のリガンドである。これは、活性化TおよびBリンパ球上の表面抗原であって、休止TおよびBリンパ球上の表面抗原ではない。CD70は、共刺激T細胞の増殖を誘導し、細胞溶解性T細胞の産生を増強し、T細胞活性化に寄与する。このサイトカインはまた、B細胞活性化、ナチュラルキラー細胞の細胞傷害性機能および免疫グロブリン合成の調節で役割を果たすことも報告されている。

【0097】

抗原はPDGFR β であり得る。PDGFR β (β 型血小板由来増殖因子受容体) 遺伝子は、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内チロシンキナーゼドメインからなる膜貫通タンパク質である、典型的な受容体チロシンキナーゼをコードする。成熟グリコシル化PDGFR β タンパク質の分子質量は約180kDaである。

【0098】

抗原はCD73であり得る。エクトー5'-ヌクレオチダーゼ(エクトー5'-NT、EC3.1.3.5)として知られる、CD73(分化抗原群73)は、ほとんどの組織に見られるグリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)結合70kDa細胞表面酵素である。CD73は一般的にAMPをアデノシンに変換するよう働く。エクトー5'-ヌクレオチダーゼ(5'-リボヌクレオチドホスホヒドロラーゼ; EC3.1.3.5)は、中性pHで、プリン5'-モノヌクレオチドのヌクレオシドへの変換を触媒し、好ましい基質はAMPである。酵素は、原形質膜の外面にグリコシルホスファチジルイノシトール結合によって結合した2つの同一の70kDサブユニットのダイマーからなる。酵素はリンパ球分化のマーカーとして使用される。

【0099】

抗原はCD38であり得る。サイクリックADPリボースヒドロラーゼとしても知られる、CD38(分化抗原群38)は、CD4⁺、CD8⁺、Bリンパ球およびナチュラルキラー細胞を含む多くの免疫細胞(白血球)の表面上に見られる糖タンパク質である。CD38はまた、細胞接着、シグナル伝達およびカルシウムシグナル伝達でも機能する。CD38機能の喪失は、免疫応答障害、代謝障害、およびおそらく自閉症に関連する社会的健忘症を含む行動修飾に関連している。CD38タンパク質は細胞活性化のマーカーである。これは、HIV感染症、白血病、骨髄腫、固形腫瘍、II型糖尿病および骨代謝、ならびにいくつかの遺伝的に決定される状態と結び付けられている。CD38は、中枢神経系内のオキシトシンの放出を調節する酵素を産生する。

【0100】

抗原はインテグリン $\alpha v \beta 3$ であり得る。インテグリン $\alpha v \beta 3$ は、ビトロネクチンの受容体である種類のインテグリンである。インテグリン $\alpha v \beta 3$ は、インテグリン αV およびインテグリン $\beta 3$ (CD61)の2つの成分からなり、血小板によって発現される。インテグリン $\alpha v \beta 3$ は、マクロファージまたは樹状細胞上の食作用のための受容体である。

【0101】

抗原はインテグリン $\alpha v \beta 8$ であり得る。VN受容体であるインテグリン $\alpha v \beta 8$ は、細胞増殖の潜在的な負の制御因子として特定される。 $\beta 8$ の細胞質ドメインは、配列が多様であり、他の αv 関連インテグリン β サブユニット($\beta 1$ 、 $\beta 3$ 、 $\beta 5$ および $\beta 6$)の高度に相同な細胞質ドメインとの全てのアミノ酸配列同一性を欠く。 $\beta 8$ 細胞質ドメインは、機能が多様である。 $\alpha v \beta 8$ は、分布が制限されており、非増殖細胞型で最も高度に発現される。

【0102】

抗原はCD248であり得る。CD248はエンドシアリンをコードする。エンドシアリンは、細胞-細胞接着プロセスだけでなく、宿主防御でも役割を果たすC型レクチン膜

10

20

30

40

50

貫通受容体の新規なファミリーである「第XIV群」のメンバーである。エンドシアリンは、胚、子宮の血管新生ならびに腫瘍発生および増殖に関連している。

【0103】

抗原はFAPであり得る。FAP（線維芽細胞活性化タンパク質 α ）は、ヒトではFAP遺伝子によってコードされる170kDaメラノーマ膜結合ゼラチナーゼタンパク質である。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、セリンプロテアーゼファミリーに属するホモダイマー膜内在性ゼラチナーゼである。これは、上皮がんの反応性間質線維芽細胞、治癒している創傷の肉芽組織、ならびに骨肉腫および軟組織肉腫の悪性細胞で選択的に発現される。このタンパク質は、発達、組織修復および上皮発癌中の線維芽細胞増殖または上皮-間葉系相互作用の制御に関与していると考えられている。

10

【0104】

抗原はLRRC15であり得る。15含有ロイシンリッチリピートまたはLIBとしても知られる、LRRC15は、1型1回膜貫通タンパク質である。

【0105】

抗原はADAM12であり得る。ADAM12は、ディスインテグリンおよびメタロプロテアーゼである。これは、特に細胞融合の初めで、骨格筋再生に関与することが報告されている。これは、 α -アクチニン-2およびシンデカンおよびRACK1と相互作用する；この相互作用は、ADAM12の細胞膜へのPKC依存性移行に必要とされる。

【0106】

抗原はMMP14であり得る。MMP14は、コラーゲンなどの細胞外マトリックスの種々の成分を分解するエンドペプチダーゼである。これは、プロゼラチナーゼAを活性化する。MMP14は、PTK7を切断することによって、アクチン細胞骨格認識に関与し得る。MMP14は、MMP15の活性化を介して細胞増殖および移動遊走の正の制御因子として作用し、プロMMP2と会合して血管結合組織の形成に関与する。

20

【0107】

抗原はF2RL2であり得る。F2RL2は、ホスホイノシチド加水分解を刺激するGタンパク質に共役した活性化トロンビンの受容体である。

【0108】

抗原はインテグリン αv であり得る。インテグリン αv サブユニットは、5つのインテグリン β サブユニット、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 、 $\beta 5$ 、 $\beta 6$ または $\beta 8$ のうちの1つと会合して、5つの異なる $\alpha v \beta$ ヘテロダイマーを形成する。細胞表面上のインテグリン $\alpha v \beta$ ヘテロダイマーは、コラーゲン、フィブリノーゲン、フィブロネクチンおよびビトロベクチンなどの細胞接着タンパク質と相互作用する。これらの相互作用は、細胞接着または遊走、特に腫瘍転移で重要な役割を果たす。

30

【0109】

抗原はインテグリン $\alpha v \beta 6$ であり得る。インテグリン $\alpha v \beta 6$ は、TGF- β の細胞外マトリックス（ECM）タンパク質フィブロネクチン、ビトロネクチン、テネイシンおよび潜在関連ペプチド（LAP）の受容体である上皮特異的インテグリンである。インテグリン $\alpha v \beta 6$ は、健康な成人上皮では発現されないが、創傷治癒中およびがんで上方制御される。インテグリン $\alpha v \beta 6$ は、侵入を調節し、アポトーシスを阻害し、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の発現を調節し、TGF- $\beta 1$ を活性化することが示されている。

40

【0110】

抗原はカドヘリン11であり得る。カドヘリン11は、カルシウム依存性細胞-細胞接着を媒介する膜内在性タンパク質であるカドヘリンスーパーファミリーのII型古典的カドヘリンである。成熟カドヘリンタンパク質は、大きなN末端細胞外ドメイン、1回膜貫通ドメイン、および小さな高度に保存されたC末端細胞質ドメインで構成される。II型（非定型）カドヘリンは、I型カドヘリンに特異的なHAV細胞接着認識配列の欠如に基づいて定義される。カドヘリン11は、骨芽細胞株で発現され、骨芽細胞分化中に上方制御される。

50

【0111】

抗原はPDPNであり得る。PDPN（ポドプラニン）は、ヒト組織中での多様な分布を有するI型膜内在性糖タンパク質である。PDPNの生理的機能をそのムチン型特性に関連付けることができる。あるいは、異なるアイソフォームをコードするスプライシング転写変異体が特定されている。

【0112】

抗原はMADCAMであり得る。MADCAM（粘膜血管アドレシン細胞接着分子）は、骨髄細胞上の白血球 β 7インテグリンLPAM-1（ $\alpha 4 \beta 7$ ）、L-セ렉チンおよびVLA-4（ $\alpha 4 \beta 1$ ）と相互作用して、白血球を粘膜および炎症組織に向ける内皮細胞接着分子である。MADCAMは、免疫グロブリンファミリーのメンバーである。

10

【0113】

抗原はネフリンであり得る。ネフリンは、腎臓の糸球体濾過障壁で機能する、細胞接着分子の免疫グロブリンファミリーのメンバーである。ネフリンは、腎臓組織で発現され、このタンパク質は、糸球体有足細胞のスリット膜（slit diaphragm）で見られるI型膜貫通タンパク質である。スリット膜は、尿の形成でアルブミンおよび他の血漿高分子を排除することができる限外濾過膜である。ネフリンをコードする遺伝子の突然変異は、重度のタンパク尿ならびにスリット膜および足突起の喪失を特徴とする、フィンランド型先天性ネフローゼ1をもたらし得る。

【0114】

抗原はポドシンであり得る。ポドシン（NPHS2）は、糸球体透過性を調節することができるタンパク質である。ポドシンをコードする遺伝子の突然変異は、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群を引き起こし得る。

20

【0115】

抗原はIFNAR1であり得る。IFNAR1（インターフェロン α および β 受容体サブユニット1）は、インターフェロン α および β の受容体の2つの鎖の一方を形成するI型膜タンパク質である。IFNAR1の結合および活性化はヤヌスプロテインキナーゼを刺激し、これが今度はSTAT1およびSTAT2を含むいくつかのタンパク質をリン酸化する。IFNAR1はまた、抗ウイルス因子としても機能することができる。

【0116】

抗原はBDCA2であり得る。BDCA2（インターフェロン α および β 受容体サブユニット1）は、形質細胞様樹状細胞（PDC）上で選択的に発現されるII型C型レクチン受容体であり、抗原捕捉およびインターフェロンI型の産生の調節に関与する。

30

【0117】

抗原はCD30であり得る。CD30（TNF受容体スーパーファミリーメンバー8）は、活性化TおよびB細胞によって発現されるが、休止TおよびB細胞によっては発現されない。TRAF2およびTRAF5がCD30と相互作用し、NF- κ Bの活性化をもたらすシグナル伝達を媒介することができる。CD30は、アポトーシスの正の制御因子であり、自己反応性CD8エフェクターT細胞の増殖能力を制限し、体を自己免疫から保護することも示されている。CD30をコードする遺伝子の2つの選択的スプライシング転写変異体が、CD30の異なるアイソフォームの翻訳をもたらすことが報告されている。

40

【0118】

抗原はc-KITであり得る。c-KIT（KITがん原遺伝子受容体チロシンキナーゼ/CD117）は、MGF（幹細胞因子としても知られる、マスト細胞増殖因子）の3型膜貫通受容体である。c-KITをコードする遺伝子の突然変異は、消化管間質腫瘍、マスト細胞疾患、急性骨髄性白血病および限局性白皮症に関連している。異なるアイソフォームをコードする複数の転写変異体が、c-KITをコードする遺伝子で見出されている。

【0119】

抗原はCTGFであり得る。CTGF（結合組織増殖因子）は、血管内皮細胞によって

50

分泌されるマイトジェンである。CTGFは、軟骨細胞増殖および分化、多くの細胞型での細胞接着で役割を果たし、血小板由来増殖因子に関連している。CTGFをコードする遺伝子における一定の多型は、全身性硬化症の高い発生率と関連付けられている。

【0120】

抗原はCD40であり得る。分化抗原群40（CD40）は、腫瘍壊死因子受容体（TNF-R）ファミリーのメンバーである。CD40は、単球、マクロファージ、Bリンパ球、樹状細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、線維芽細胞および上皮などの正常細胞、ならびにB細胞リンパ腫および多くの種類の固形腫瘍を含む腫瘍細胞で構成的に発現され得る50 kDa細胞表面糖タンパク質であり得る。CD40の発現は、IL-1 β p、IFN- γ 、GM-CSFおよびLPS誘導シグナル伝達イベントに応じて抗原提示細胞で増加し得る。

10

【0121】

抗原はTIM-3であり得る。TIM-3（T細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有-3）は、T細胞抑制性受容体として機能することができる。Tim-3のガレクチン9誘導は、Tim-3+ Th1細胞で細胞死を誘導し、実験的自己免疫性脳脊髄炎を改善することができる。Tim-3欠損マウスとTim-3-Ig融合タンパク質で処置したマウスの両方が、抗原特異性寛容の誘導の欠損を示すので、Tim-3はまた、寛容の誘導にも必要とされ得る。概して、TIM-3は、Th1およびTc1 T細胞応答の持続時間および大きさを制限するよう特異的に機能する免疫チェックポイント受容体である。

20

【0122】

抗原はTNFR2であり得る。TNFRSF1B（腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー1B）およびCD120bとしても知られる、TNFR2（腫瘍壊死因子受容体2）は、I型1回膜貫通タンパク質および4システインリッチドメイン（CRD）リピートを含むTNFRスーパーファミリーのメンバーである。完全長膜アンカー形態に加えて、可溶性TNFR2は、（1）完全膜アンカー形態のタンパク質分解処理を介した脱落、および（2）TNFR2の細胞外ドメインをコードする選択的スプライシングメッセージからの翻訳の2つの異なる機構を介して生成され得る。TNFR2は、TNF α に対する高い親和性およびホモトリマーリンホトキシン α に対する約5分の1の親和性を有する受容体である。TNFR2（腫瘍壊死因子受容体II型）およびTNF受容体1は、E3ユビキチンリガーゼ活性を有する2つの抗アポトーシスタンパク質、c-IAP1およびc-IAP2の動員を媒介するヘテロ複合体を形成する。c-IAP1は、抗アポトーシスシグナルを媒介するTNF受容体関連因子2のユビキチン化および分解によってTNF誘導アポトーシスを増強することができる。マウスにおけるノックアウト試験が、抗酸化経路を刺激することによってニューロンをアポトーシスから保護することにおけるTNFR2の役割を示唆している。

30

【0123】

抗原はDEC205であり得る。DEC205は、主に樹状細胞によって発現されるI型細胞表面タンパク質である。DEC205は、リンパ組織のT細胞領域の指状嵌入樹状細胞、骨髄由来DC、ランゲルハンス細胞上で、ならびにマクロファージおよびT細胞上で低レベルで見られる。DEC205は、樹状細胞の成熟中に上方制御され得る。DEC-205はまた、B細胞によって中程度に発現されることも示されており、プレB細胞からB細胞への移行中に上方制御され得る。構造的に、DEC205ファミリーは、システインリッチN末端ドメイン、引き続いてフィブロネクチンII型ドメインおよび複数の糖鎖認識ドメイン（CRD）を特徴とする。DEC205は10個のCRDを有する。1回膜貫通ドメインに、短い細胞質側末端が続く。

40

【0124】

抗原はDCIRであり得る。DCIR（樹状細胞免疫受容体／CLEC4A）は、C型レクチン／C型レクチン様ドメイン（CTL／CTLD）スーパーファミリーのメンバーである。DCIRは、細胞接着、細胞-細胞シグナル伝達、糖タンパク質代謝回転などの

50

多様な機能、ならびに炎症および免疫応答における役割を有することができる。コードされる2型膜貫通タンパク質は、炎症および免疫応答で役割を果たすことができる。異なるアイソフォームをコードする複数の転写変異体が、DCIRをコードする遺伝子で特定されている。

【0125】

抗原はCD86であり得る。CD86（分化抗原群86）は、免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーであるI型膜タンパク質である。CD86は、抗原提示細胞によって発現され、T細胞の細胞表面の2つのタンパク質、CD28抗原および細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4のリガンドである。CD86とCD28抗原の結合は、T細胞の活性化のための共刺激シグナルである。CD86タンパク質と細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4の結合は、T細胞活性化を負に調節し、免疫応答を減少させる。

10

【0126】

抗原はCD45RBまたCD45RB/ROであり得る。CD45RBは、エクソン5スプライシングによるCD45のアイソフォームである。CD45RBは、末梢B細胞、ナイーブT細胞、胸腺細胞、マクロファージおよび樹状細胞上で発現される220kD糖タンパク質である。CD45RBは、TCRおよびBCRシグナル伝達で役割を果たすことができる。T細胞が活性化し、ナイーブからメモリー細胞に進行するので、CD45RB発現が下方制御される。さらに、異なるサイトカインプロファイルを分泌する機能的に異なるCD4+T細胞サブセットを、CD45RB強度によって分離することができる。CD45の主なリガンドはガレクチン-1、CD2、CD3、CD4およびThy-1である。CD45RBと対照的に、CD45ROは、CD45AおよびCD45Bアイソフォームを下方制御するので、エフェクターまたはメモリーT細胞上で発現される抗原アイソフォームである。

20

【0127】

抗体の抗原結合ドメインは、1つまたは複数の軽鎖（L）CDRと、1つまたは複数の重鎖（H）CDRとを含み得る。例えば、抗体の抗体結合ドメインは、以下のうちの1つまたは複数を含み得る：軽鎖相補性決定領域1（LCDR1）、軽鎖相補性決定領域2（LCDR2）または軽鎖相補性決定領域3（LCDR3）。別の例については、抗体結合ドメインが、以下のうちの1つまたは複数を含み得る：重鎖相補性決定領域1（HCDR1）、重鎖相補性決定領域2（HCDR2）または重鎖相補性決定領域3（HCDR3）。追加の例として、抗体の抗体結合ドメインは、以下のうちの1つまたは複数を含み得る：LCDR1、LCDR2、LCDR3、HCDR1、HCDR2およびHCDR3。別の例として、抗体の抗体結合ドメインは、以下の6つ全てを含み得る：LCDR1、LCDR2、LCDR3、HCDR1、HCDR2およびHCDR3。

30

【0128】

抗体コンストラクトの抗原結合ドメインは、それだけに限らないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体もしくはその機能的（抗原結合）断片、例えば重鎖可変ドメイン（V_H）および軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む抗原に特異的に結合するいずれかのドメインから選択され得る、またはDARPin、アフィマー（affimer）、アビマー（avimer）、ノッチン、モノボディ、アフィニティークランプ（affinity clamp）、外部ドメイン、受容体外部ドメイン、受容体、サイトカイン、リガンド、免疫サイトカイン、T細胞受容体、二環式ペプチド、フィノマー（fynomer）もしくは組換えT細胞受容体であり得る。

40

【0129】

抗体コンストラクトの抗原結合ドメインは、抗原に結合する特定の抗原結合ドメインであって、それだけに限らないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体もしくはその機能的断片、例えば重鎖可変ドメイン（V_H）および軽鎖可変ドメイン（V_L）から選択される抗原結合ドメインと少なくとも80%同一であり得る、またはDARPin、アフィマー、アビマー、ノッチン、モノボディ、アフィニティークランプ、外部ドメイン、受容体外部ドメイン、受容体、サイトカイン、リガンド、免疫サイトカイン、

50

T細胞受容体、二環式ペプチド、フィノマー、アンチカリン (a n t i c a l i n)、V N A Rもしくは組換えT細胞受容体であり得る。

【0130】

特定の実施形態では、抗体コンストラクトが、Fc受容体と相互作用するFc領域の部分であり得るFcドメインを含むFc領域を含む。抗体コンストラクトのFcドメインは、免疫細胞上に見られるFc受容体 (FcR) と相互作用し得る。Fcドメインはまた、エフェクター分子と細胞との間の相互作用を媒介し、免疫系の活性化をもたらすことができる。Fc領域は、IgG、IgAまたはIgD抗体アイソタイプに由来してもよく、抗体の重鎖の第2および第3の定常ドメインに由来する2つの同一のタンパク質断片を含み得る。IgG抗体アイソタイプに由来するFc領域では、Fc領域が、FcR媒介下流効果に必須であり得る高度に保存されたN-グリコシル化部位を含み得る。Fc領域はIgMまたはIgE抗体アイソタイプに由来してもよく、Fc領域は3つの重鎖定常ドメインを含み得る。

【0131】

Fcドメインは異なる種類のFcRと相互作用し得る。異なる種類のFcRには、例えばFcγRI、FcγRII、FcγRIIA、FcγRIIB、FcγRIIIA、FcγRIIIB、FcαRI、FcμR、FcεRI、FcεRIIおよびFcRnが含まれ得る。FcRは、例えばBリンパ球、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、好中球、濾胞性樹状細胞、好酸球、好塩基球、血小板およびマスト細胞を含む一定の免疫細胞の膜上に位置し得る。いったんFcRがFcドメインによって会合されると、FcRは、例えば受容体媒介エンドサイトーシスを介した抗原-抗体複合体のクリアランス、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (ADCC)、抗体依存性細胞媒介性食作用 (ADCP)、ならびに分泌、エキソサイトーシスおよび細胞代謝の変化をもたらし得る原形質膜を通したシグナルのリガンド誘発伝達を含む機能を開始し得る。FcRは、細胞表面で抗体および多価抗原によって凝集されると、シグナルを伝達し得る。FcRと免疫受容体活性化チロシンモチーフ (ITAM) の凝集は、SRCファミリーチロシンキナーゼおよびSYKファミリーチロシンキナーゼを順次活性化し得る。ITAMは、2回反復YxxL配列が隣接している7個の可変残基を含む。SRCおよびSYKキナーゼは、伝達シグナルを一般的な活性化経路と結び付け得る。

【0132】

いくつかの実施形態では、Fcドメインまたは領域が、1つまたは複数のFc受容体に対する減少した結合親和性を示すことができる。いくつかの実施形態では、Fcドメインまたは領域が、1つまたは複数のFcγ受容体に対する減少した結合親和性を示すことができる。いくつかの実施形態では、Fcドメインまたは領域が、FcRn受容体に対する減少した結合親和性を示すことができる。いくつかの実施形態では、Fcドメインまたは領域が、Fcγ受容体およびFcRn受容体に対する減少した結合親和性を示すことができる。いくつかの実施形態では、FcドメインがFcヌルドメインまたは領域である。本明細書で使用される場合、「Fcヌル」は、Fcγ受容体のいずれかに対して弱い結合を示すまたは全く結合を示さないドメインを指す。いくつかの実施形態では、Fcヌルドメインまたは領域が、1000分の1への、Fcγ受容体に対する結合親和性の減少 (例えば、kdの増加) を示す。

【0133】

Fcドメインは、1つまたは複数、2つ以上、3つ以上、または4つ以上の、FcドメインとFc受容体の結合を減少させるアミノ酸置換を有し得る。特定の実施形態では、Fcドメインが、FcγRI (CD64)、FcγRIIA (CD32)、FcγRIIIB (CD16a)、FcγRIIIB (CD16b) またはこれらのいずれかの組み合わせとの減少した結合を示す。Fc受容体に対するFcドメインまたは領域の結合親和性を減少させるために、Fcドメインまたは領域は、Fc受容体に対するFcドメインまたは領域の親和性を減少させる効果を有する1つまたは複数の置換を含み得る。特定の実施形態では、1つまたは複数の置換が、カバット番号付けのEUインデックスによるE233

P、L 2 3 4 V、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、L 2 3 5 E、Δ G 2 3 6、G 2 3 7 A、E 3 1 8 A、K 3 2 0 A、K 3 2 2 A、A 3 2 7 G、A 3 3 0 SまたはP 3 3 1 Sに対応する I g G 1 重鎖突然変異のうちのいずれか 1 つまたは複数を含む。

【0134】

いくつかの実施形態では、F c ドメインまたは領域が、野生型 I g G 1 配列から修飾された I g G 1 アイソフォームの配列を含むことができる。修飾は、カバット番号付けの E U インデックスによる L 2 3 5 V / F 2 4 3 L / R 2 9 2 P / Y 3 0 0 L / P 3 9 6 L (I g G 1 V L P L L) を含む 5 つの異なるアミノ酸残基などの 2 つ以上のアミノ酸残基での置換を含むことができる。修飾は、カバット番号付けの E U インデックスによる S 2 3 9 D / I 3 3 2 E (I g G 1 D E) を含む 2 つの異なるアミノ酸残基などの 2 つ以上のアミノ酸残基での置換を含むことができる。修飾は、カバット番号付けの E U インデックスによる S 2 9 8 A / E 3 3 3 A / K 3 3 4 A (I g G 1 A A A) を含む 3 つの異なるアミノ酸残基などの 2 つ以上のアミノ酸残基での置換を含むことができる。

10

【0135】

いくつかの実施形態では、F c ドメインまたは領域が、野生型 I g G 配列から修飾された I g G アイソフォームの配列を含むことができる。いくつかの実施形態では、F c ドメインまたは領域が、野生型 I g G 1 配列から修飾された I g G 1 アイソフォームの配列を含むことができる。いくつかの実施形態では、修飾が、全ての F c γ 受容体に対する I g G F c ドメインまたは領域の結合親和性を減少させる 1 つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットの E U インデックスによる E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A または E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / Δ G 2 3 6 などの E 2 3 3、L 2 3 4 および L 2 3 5 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる L 2 3 5 V / F 2 4 3 L / R 2 9 2 P / Y 3 0 0 L / P 3 9 6 L (I g G 1 V L P L L) などの L 2 3 5、F 2 4 3、R 2 9 2、Y 3 0 0 および P 3 9 6 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる P 2 3 8 A などの P 2 3 8 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる D 2 6 5 A などの D 2 6 5 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる N 2 9 7 A などの N 2 9 7 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる A 3 2 7 Q などの A 3 2 7 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる P 2 3 9 A などの P 3 2 9 の置換であり得る。

20

【0136】

いくつかの実施形態では、I g G F c ドメインまたは領域が、野生型または参照 I g G F c ドメインと比較して、F c γ R 1 に対する結合親和性を減少させる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む。修飾は、カバットの E U インデックスによる F 2 4 1 A などの F 2 4 1 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる F 2 4 3 A などの F 2 4 3 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる V 2 6 4 A などの V 2 6 4 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる D 2 6 5 A などの D 2 6 5 の置換を含むことができる。

30

【0137】

いくつかの実施形態では、I g G F c ドメインまたは領域が、野生型または参照 I g G F c ドメインと比較して、F c γ R 1 に対する結合親和性を増加させる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む。修飾は、カバットの E U インデックスによる A 3 2 7 Q / P 3 2 9 A などの A 3 2 7 および P 3 2 9 の置換を含むことができる。

40

【0138】

いくつかの実施形態では、修飾が、F c γ R I I および F c γ R I I I A 受容体に対する I g G F c ドメインまたは領域の結合親和性を減少させる 1 つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットの E U インデックスによる D 2 7 0 A などの D 2 7 0 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる Q 2 9 5 A などの Q 2 9 5 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる A 2 3 7 S などの A 3 2 7 の置換であり得る。

【0139】

50

いくつかの実施形態では、修飾が、FcγRIIおよびFcγRIIIA受容体に対するIgG Fcドメインまたは領域の結合親和性を増加させる1つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットのEUインデックスによるT256AなどのT256の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるK290AなどのK290の置換であり得る。

【0140】

いくつかの実施形態では、修飾が、FcγRII受容体に対するIgG Fcドメインまたは領域の結合親和性を増加させる1つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットのEUインデックスによるR255AなどのR255の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるE258AなどのE258の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるS267AなどのS267の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるE272AなどのE272の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるN276AなどのN276の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるD280AなどのD280の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるH285AなどのH285の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるN286AなどのN286の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるT307AなどのT307の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるL309AなどのL309の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるN315AなどのN315の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるK326AなどのK326の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるP331AなどのP331の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるS337AなどのS337の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるA378AなどのA378の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるE430などのE430の置換であり得る。

【0141】

いくつかの実施形態では、修飾が、FcγRII受容体に対するIgG Fcドメインまたは領域の結合親和性を増加させ、FcγRIIIA受容体に対する結合親和性を減少させる1つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットのEUインデックスによるH268AなどのH268の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるR301AなどのR301の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるK322AなどのK322の置換であり得る。

【0142】

いくつかの実施形態では、修飾が、FcγRII受容体に対するIgG Fcドメインまたは領域の結合親和性を減少させるが、FcγRIIIA受容体に対する結合親和性に影響を及ぼさない1つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットのEUインデックスによるR292AなどのR292の置換であり得る。修飾は、カバットのEUインデックスによるK414AなどのK414の置換であり得る。

【0143】

いくつかの実施形態では、修飾が、FcγRII受容体に対するIgG Fcドメインまたは領域の結合親和性を減少させ、FcγRIIIA受容体に対する結合親和性を増加させる1つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットのEUインデックスによるS298AなどのS298の置換であり得る。修飾は、S239D/I332E/A330LなどのS239、I332およびA330の置換であり得る。修飾は、S239D/I332EなどのS239およびI332の置換であり得る。

【0144】

いくつかの実施形態では、修飾が、FcγRIIIA受容体に対するIgG Fcドメインまたは領域の結合親和性を減少させるが、FcγRII受容体に対する結合親和性に影響を及ぼさない1つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットのEUインデックスによるS239AなどのS239の置換であり得る。修飾は、カバットのEUイ

ンデックスによる E 2 6 9 A などの E 2 6 9 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる E 2 9 3 A などの E 2 9 3 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる Y 2 9 6 F などの Y 2 9 6 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる V 3 0 3 A などの V 3 0 3 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる A 3 2 7 G などの A 3 2 7 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる K 3 3 8 A などの K 3 3 8 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる D 3 7 6 A などの D 3 7 6 の置換であり得る。

【0145】

いくつかの実施形態では、修飾が、F c γ R I I I A 受容体に対する I g G F c ドメインまたは領域の結合親和性を増加させるが、F c γ R I I 受容体に対する結合親和性に影響を及ぼさない1つまたは複数のアミノ酸の置換を含む。修飾は、カバットの E U インデックスによる E 3 3 3 A などの E 3 3 3 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる K 3 3 4 A などの K 3 3 4 の置換であり得る。修飾は、カバットの E U インデックスによる A 3 3 9 T などの A 3 3 9 の置換であり得る。修飾は、S 2 3 9 D / I 3 3 2 E などの S 2 3 9 および I 3 3 2 の置換であり得る。

【0146】

いくつかの実施形態では、I g G F c ドメインまたは領域が、野生型または参照 I g G F c ドメインと比較して、F c R n に対する結合親和性を減少させる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。修飾は、カバットの E U インデックスによる H 4 3 5 A などの H 4 3 5 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる I 2 5 3 A などの I 2 5 3 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる H 3 1 0 A などの H 3 1 0 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる I 2 5 3 A / H 3 1 0 A / H 4 3 5 A などの I 2 5 3 、H 3 1 0 および H 4 3 5 の置換を含むことができる。

【0147】

修飾は、野生型または参照 I g G F c ドメインに対して、F c R n に対する I g G F c ドメインの結合親和性を増加させる1つのアミノ酸残基の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる V 3 0 8 P などの V 3 0 8 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる M 4 2 8 L などの M 4 2 8 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる N 4 3 4 A またはカバットの E U インデックスによる N 4 3 4 H などの N 4 3 4 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる T 2 5 0 Q および M 4 2 8 L などの T 2 5 0 および M 4 2 8 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる M 4 2 8 L および N 4 3 4 S 、N 4 3 4 A または N 4 3 4 H などの M 4 2 8 および N 4 3 4 の置換を含むことができる。修飾は、カバットの E U インデックスによる M 2 5 2 Y / S 2 5 4 T / T 2 5 6 E などの M 2 5 2 、S 2 5 4 および T 2 5 6 の置換を含むことができる。修飾は、P 2 5 7 L 、P 2 5 7 N 、P 2 5 7 I 、V 2 7 9 E 、V 2 7 9 Q 、V 2 7 9 Y 、A 2 8 1 S 、E 2 8 3 F 、V 2 8 4 E 、L 3 0 6 Y 、T 3 0 7 V 、V 3 0 8 F 、Q 3 1 1 V 、D 3 7 6 V および N 4 3 4 H から選択される1つまたは複数のアミノ酸の置換であり得る。F c R n との相互作用に影響を及ぼす I g G F c ドメインの他の置換は、米国特許第 9 8 0 3 0 2 3 号（その開示が本明細書に参照により援用される）に開示されている。

【0148】

本開示の抗体は、全てジスルフィド結合によって共有結合的に結合された2つの同一の軽タンパク質鎖および2つの同一の重タンパク質鎖からなり得る。軽鎖および重鎖のN末端領域が一緒になって抗体の抗原認識部位を形成し得る。構造的には、抗体の種々の機能は、離散したタンパク質ドメイン（すなわち、領域）に限定され得る。抗原を認識し、これに結合することができる部位は、重鎖および軽鎖のN末端の可変重鎖領域および可変軽鎖領域内にあり得る3つの相補性決定領域（CDR）である。定常ドメインは、抗体の一般的なフレームワークを提供し、抗体と抗原の結合に直接的には関与しない可能性がある

が、抗体依存性細胞傷害への抗体の参加などの種々のエフェクター機能に関与し、Fc受容体に結合し得る。定常ドメインはFc領域を形成し得る。定常ドメインはFcドメインを含み得る。天然軽鎖可変領域および天然重鎖可変領域のドメインは同じ一般的な構造を有し得、各可変ドメインは、CDRによって接続された、その配列がいくぶん保存され得る4つのフレームワーク領域を含み得る。4つのフレームワーク領域は、βシートコンフォメーションを大いにとり、CDRは、βシート構造を接続し、いくつかの態様では、その一部を形成するループを形成することができる。各鎖のCDRは、フレームワーク領域によって近位に保持され得、他の鎖のCDRと共に、抗原結合部位の形成に寄与し得る。

【0149】

抗体コンストラクトは、天然または元のアミノ酸配列に対するアミノ酸配列の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の修飾、および特定の実施形態では、40、35、30、25、20、15または10個以下の修飾を有するアミノ酸配列の軽鎖を含み得る。抗体コンストラクトは、天然または元のアミノ酸配列に対するアミノ酸配列の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の修飾、および特定の実施形態では、40、35、30、25、20、15または10個以下の修飾を有するアミノ酸配列の重鎖を含み得る。抗体コンストラクトの抗体は、異なる免疫グロブリンのクラス、例えばIgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMに割り当てられ得るいずれかの種類の抗体を含み得る。いくつかの異なるクラスは、アイソタイプ、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2にさらに分割され得る。抗体は、軽鎖および重鎖、通常2つ以上の鎖をさらに含み得る。野生型IgG4ーヒンジ領域とペアリングしたIgG4 Fcドメインを有する抗体は、鎖交換を受けることができ、二価抗体の一方のアームが解離し、異なる抗原特異性を有する別のIgG4抗体の鎖とペアリングする。鎖交換は、IgG4 FcドメインとIgG4ヒンジのS228P突然変異をペアリングすることによって防止され得る。

【0150】

参照抗体の例示的重鎖配列を使用して、残基変異体および突然変異体を特定することができる。ヒトIgG1重鎖の例示的重鎖配列は、ヒトIgG1抗体のものであり、以下を含むことができる：ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSSGLYSLSSSVVTVPSSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKKVEPKSCDKTHTCTCPPCPAPELLEGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFQNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号437）。ヒトIgG2重鎖の例示的重鎖参照配列は、以下を含むことができる：ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSSGLYSLSSSVVTVPS SNFGTQTYTCNVNDHKPSNTKVKDKTVE RKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTFRVVS VLT TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKKGQPREPQVYTLPPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPMLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号438）。ヒトIgG4重鎖の例示的重鎖参照配列は、以下を含むことができる：ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSSGLYSLSSSVVTVPS SSSSLGTQTYTCNVNDHKPSNTKVKDKRVE SKYGP PCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDV S QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAAKTKP

REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS
IEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番
号439)。

【0151】

異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常領域 (Fc) は、それぞれ α 、 δ 、 ϵ 、 γ および μ であり得る。軽鎖は、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいてカップ (κ) またはラムダ (λ) のいずれかのうち的一方であり得る。Fc 領域は、Fc ドメインを含み得る。Fc 受容体は、Fc ドメインに結合し得る。Fc ドメインは、配列番号437に含まれる、ヒト IgG1 のアミノ酸残基216～447を含むことができる。Fc ドメインは、配列番号438に含まれる、ヒト IgG2 のアミノ酸残基216～442を含むことができる。Fc ドメインは、配列番号439に含まれる、IgG4 のアミノ酸残基216～44を含むことができる。

10

【0152】

抗体コンストラクトは、抗原結合抗体断片を含み得る。抗体断片は、(i) Fab 断片、 V_L 、 V_H 、 C_L および C_{H1} ドメインからなる一価断片；(ii) $F(ab')_2$ 断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片を含む二価断片；および(iii) 抗体の単一アームの V_L ドメインおよび V_H ドメインからなるFv断片を含み得る。Fv断片の2つのドメイン、 V_L および V_H は、別個の遺伝子によってコードされ得るが、合成リンカーによって連結されて、 V_L 領域および V_H 領域がペアリングして一価抗体を形成する単一タンパク質鎖として作製され得る。

20

【0153】

$F(ab')_2$ および Fab' 部分は、組換え的に、または免疫グロブリン (例えば、モノクローナル抗体) をペプシンおよびパインなどのプロテアーゼで処理することによって産生され得、2つのH鎖の各々のヒンジ領域間に存在するジスルフィド結合の近くで免疫グロブリンを消化することによって産生される抗体断片を含み得る。Fab断片はまた、軽鎖の定常ドメインおよび重鎖の第1の定常ドメイン (C_{H1}) を含み得る。Fab'断片は、抗体ヒンジ領域の1つまたは複数のシステインを含む重鎖 C_{H1} ドメインのカルボキシル末端に数個の残基が付加されている点がFab断片とは異なり得る。

30

【0154】

Fvは、完全な抗原認識および抗原結合部位を含む最小の抗体断片であり得る。この領域は、密な非共有結合会合の1つの重鎖可変ドメインおよび1つの軽鎖可変ドメインのダイマーからなり得る。この配置では、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用して、 V_H-V_L ダイマーの表面上の抗原結合部位を規定し得る。結合は結合部位全体の親和性よりも低い親和性となり得るが、単一可変ドメイン (または抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分) は抗原を認識し、これに結合し得る。

【0155】

抗体は、Fc ドメインを含むFc 領域を含み得る。抗体のFc ドメインは、免疫細胞上に見られるFcRと相互作用し得る。Fc ドメインはまた、エフェクター分子と細胞との間の相互作用を媒介し、免疫系の活性化をもたらし得る。IgG、IgAおよびIgD抗体アイソタイプでは、Fc 領域が、抗体の重鎖の第2の定常ドメインおよび第3の定常ドメインに由来し得る2つの同一のタンパク質断片を含み得る。IgMおよびIgE抗体アイソタイプでは、Fc 領域が、3つの重鎖定常ドメインを含み得る。IgG抗体アイソタイプでは、Fc 領域が、FcR媒介下流効果に重要となり得る高度に保存されたN-グリコシル化部位を含み得る。

40

【0156】

本明細書で使用される抗体は、「キメラ」または「ヒト化」であり得る。キメラまたはヒト化形態の非ヒト (例えば、マウス) 抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小の配列を含み得るキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖またはその断片 (Fv、Fab

50

、F a b '、F (a b ')₂ または抗体の他の標的結合サブドメインなど) であり得る。一般に、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み得、C D R領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに相当し、フレームワーク領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域 (F c) の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものを含み得る。

【0157】

本明細書に記載される抗体はヒト抗体であり得る。本明細書で使用される場合、「ヒト抗体」は、例えばヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体を含むことができ、ヒト免疫グロブリンライブラリーからまたは内因性の免疫グロブリンを発現しない1つもしくは複数のヒト免疫グロブリンについてトランスジェニックな動物から単離された抗体を含み得る。ヒト抗体は、機能的内因性免疫グロブリンを発現することができないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現し得るトランスジェニックマウスを使用して産生され得る。選択されたエピトープを認識する完全ヒト抗体は、誘導選択を使用して産生され得る。この手法では、選択された非ヒトモノクローナル抗体、例えばマウス抗体を使用して、同じエピトープを認識する完全ヒト抗体の選択を誘導し得る。

【0158】

本明細書に記載される抗体は二重特異性抗体または二重可変ドメイン抗体 (D V D) であり得る。二重特異性抗体およびD V D抗体は、少なくとも2つの異なる抗原に対する結合特異性を有することができる、モノクローナルの、通常はヒトまたはヒト化、抗体であり得る。

【0159】

本明細書に記載される抗体は、誘導体化抗体であり得る。例えば、誘導体化抗体は、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、既知の保護／ブロック基による誘導体化、タンパク質切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質との結合によって修飾され得る。

【0160】

本明細書に記載される抗体は、対応する野生型配列に対して、少なくとも1つの定常領域媒介生物学的エフェクター機能を変化させるよう修飾された配列を有し得る。例えば、いくつかの実施形態では、抗体を、非修飾抗体に対して、少なくとも1つの定常領域媒介生物学的エフェクター機能を減少させる、例えばF c受容体 (F c R) との結合を減少させるよう修飾することができる。F c R結合は、例えばF c R相互作用に必要な特定の領域で抗体の免疫グロブリン定常領域セグメントを突然変異させることによって減少させられ得る。

【0161】

本明細書に記載される抗体またはF cドメインは、非修飾抗体またはF cドメインに対して少なくとも1つの定常領域媒介生物学的エフェクター機能を獲得または改善する、例えばF c γ R相互作用を増強するよう修飾され得る。例えば、対応する野生型定常領域よりも高い親和性でF c γ R I I A、F c γ R I I Bおよび／またはF c γ R I I I Aに結合する定常領域を有する抗体は、本明細書に記載される方法により産生され得る。対応する野生型F cドメインよりも高い親和性でF c γ R I I A、F c γ R I I Bおよび／またはF c γ R I I I Aに結合するF cドメインは、本明細書に記載される方法により産生され得る。

【0162】

抗体コンストラクトは、少なくとも1つのアミノ酸残基の修飾を有する抗体を含み得る。修飾は、置換、付加、突然変異、欠失などであり得る。抗体修飾は、非天然アミノ酸の挿入であり得る。

【0163】

抗体コンストラクトは、免疫細胞 (例えば、T細胞、B細胞もしくはA P C)、星細胞、上皮細胞、線維芽細胞、線維細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、有足細胞または線

10

20

30

40

50

維症の発病に関連する他の細胞などの免疫細胞上の抗原に特異的に結合する抗原結合ドメインを含み得る。抗体コンストラクトは、抗原との特異的結合を促進する1つまたは複数のCDRを含む抗原結合ドメインを含み得る。抗原結合ドメインは、それぞれ表1または表2に示されるCDRのセットまたは可変領域のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有するCDRのセットまたは可変領域のペアを含み得る。

【0164】

抗体コンストラクトは、抗原に結合する抗原結合ドメインであって、表1に示されるCDRのセットとの少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有するCDRのセットを含む抗原結合ドメインを含み得る。抗体コンストラクトは、抗原に結合する抗原結合ドメインであって、a) 配列番号1のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号2のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号3のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号4のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号5のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含むLCDR3；b) 配列番号7のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号8のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号9のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号10のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号11のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号12のアミノ酸配列を含むLCDR3；c) 配列番号13のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号14のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号15のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号16のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号18のアミノ酸配列を含むLCDR3；d) 配列番号19のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号21のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号22のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号23のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号24のアミノ酸配列を含むLCDR3；e) 配列番号25のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号26のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号27のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号28のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号29のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号30のアミノ酸配列を含むLCDR3；f) 配列番号31のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号32のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号33のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号34のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号36のアミノ酸配列を含むLCDR3；g) 配列番号37のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号38のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号39のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号40のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号42のアミノ酸配列を含むLCDR3；h) 配列番号43のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号44のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号45のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号46のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号47のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号48のアミノ酸配列を含むLCDR3；i) 配列番号49のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号50のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号51のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号52のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号53のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号54のアミノ酸配列を含むLCDR3；j) 配列番号55のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号56のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号57のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号58のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号59のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号60のアミノ酸配列を含むLCDR3；k) 配列番号61のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号62のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号63のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号64のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号65のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号66のアミノ酸配列を含むLCDR3；l) 配列番号67のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号68のアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号69のアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号70のアミノ酸配列を含む

10

20

30

40

50

50

50

50

ノ酸配列を含むL C D R 1、配列番号462のアミノ酸配列を含むL C D R 2、および配列番号463のアミノ酸配列を含むL C D R 3；c c c) 配列番号464のアミノ酸配列を含むH C D R 1、配列番号465のアミノ酸配列を含むH C D R 2、配列番号466のアミノ酸配列を含むH C D R 3、配列番号467のアミノ酸配列を含むL C D R 1、配列番号468のアミノ酸配列を含むL C D R 2、および配列番号469のアミノ酸配列を含むL C D R 3；d d d) 配列番号470のアミノ酸配列を含むH C D R 1、配列番号471のアミノ酸配列を含むH C D R 2、配列番号472のアミノ酸配列を含むH C D R 3、配列番号473のアミノ酸配列を含むL C D R 1、配列番号474のアミノ酸配列を含むL C D R 2、および配列番号475のアミノ酸配列を含むL C D R 3；またはe e e) 配列番号476のアミノ酸配列を含むH C D R 1、配列番号477のアミノ酸配列を含むH C D R 2、配列番号478のアミノ酸配列を含むH C D R 3、配列番号479のアミノ酸配列を含むL C D R 1、配列番号480のアミノ酸配列を含むL C D R 2、および配列番号481のアミノ酸配列を含むL C D R 3との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を含む抗原結合ドメインを含み得る。

【0165】

抗体コンストラクトは、1つまたは複数の可変ドメインを含む抗原結合ドメインを含み得る。抗体コンストラクトは、軽鎖可変ドメイン (V_L ドメイン) を含む抗原結合ドメインを含み得る。結合ドメインは、表2に示されるいずれかの V_L 配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する軽鎖可変領域を含み得る。抗体コンストラクトは、重鎖可変ドメイン (V_H ドメイン) を含む抗原結合ドメインを含み得る。抗原結合ドメインは、表2に示されるいずれかの V_H 配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する重鎖可変領域を含み得る。抗原結合ドメインは、表2に示される可変領域のペアとの少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアを含むことができる。抗原結合ドメインは、表2に示される可変領域のペアの非C D R 領域との少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域のペアを含むことができる。

【0166】

抗体コンストラクトは、抗原に特異的に結合する抗原結合ドメインであって、a) 配列番号300のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号299のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する V_L 配列；b) 配列番号301のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号299のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する V_L 配列；c) 配列番号302のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号303のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する V_L 配列；d) 配列番号304のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号305のアミノ酸配列との少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または

50

50

50

50

50

50

50

列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 434 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_L 配列； y y y) 配列番号 435 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 436 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_L 配列； z z z) 配列番号 482 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 483 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_L 配列； a a a a) 配列番号 484 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 485 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_L 配列； b b b b) 配列番号 486 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 487 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_L 配列； c c c c) 配列番号 488 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 489 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_L 配列；または d d d d) 配列番号 490 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 491 のアミノ酸配列との少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または少なくとも 100 % の配列同一性を有する V_L 配列を含む抗原結合ドメインを含み得る。

【0167】

本明細書に記載される抗体コンストラクトは、表 1 および／または表 2 の配列を含み得る。抗体コンストラクトは、表 1 に示される CDR セットのセレット (select) から選択される 6 つの CDR のセットを含み得る。抗体コンストラクトは、表 2 に示される可変領域のペアから選択される可変領域のペアを含み得る。

表 1: 抗体 CDR

抗体	領域	配列番号	配列:
GITR に対する抗体	HCDR1	1	SYGMH
	HCDR2	2	VIWYEGSNKYYADSVKG
	HCDR3	3	GGSMVRGDYYYGMDV
	LCDR1	4	RASQGISSALA
	LCDR2	5	DASSLES
	LCDR3	6	QQFNSYPYT
LAG-3 に対する抗体	HCDR1	7	DYYWN
	HCDR2	8	EINHRGSTNSNPSLKS
	HCDR3	9	GYSDYEYNWFDP
	LCDR1	10	RASQSISSYLA
	LCDR2	11	DASNRAT
	LCDR3	12	QQRSNWPLT
ウトミルマブ (Utomilumab) (CD137)	HCDR1	13	GYSFSTYW
	HCDR2	14	IYPGDSYT
	HCDR3	15	ARGYGIFDY
	LCDR1	16	NIGDQY
	LCDR2	17	QDK
	LCDR3	18	ATYTGFGLAV
4G8	HCDR1	19	GFTFSSYA
	HCDR2	20	ISGSGGST
	HCDR3	21	AKGWLGNFYD
	LCDR1	22	QSVRSY
	LCDR2	23	GAS
	LCDR3	24	QQGQVIPPT
4B9	HCDR1	25	GFTFSSYA
	HCDR2	26	IIGSGAST
	HCDR3	27	AKGWFGGFNY
	LCDR1	28	QSVTSSY
	LCDR2	29	VGS
	LCDR3	30	QQGIMLPPT
28H1	HCDR1	31	GFTFSSHA
	HCDR2	32	IWASGEQ
	HCDR3	33	AKGWLGNFYD
	LCDR1	34	QSVRSY
	LCDR2	35	GAS
	LCDR3	36	QQGQVIPPT
オンツキシズマブ (Ontuxizumab) (エンドシアリン)	HCDR1	37	GYTFTDYV
	HCDR2	38	INPYDDDT
	HCDR3	39	ARRGNSYDGYFDYSMDY
	LCDR1	40	QNVGTA
	LCDR2	41	SAS
	LCDR3	42	QQYTNYPMYT
リヌクマブ (Rinucumab) (PDGFR β)	HCDR1	43	GGSTITSSSY
	HCDR2	44	IYYRGST
	HCDR3	45	ARQNGAARPSWFDP

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列:
	LCDR1	46	QSISSY
	LCDR2	47	GAS
	LCDR3	48	QHYGISPFT
MADCAM に対する抗体 1	HCDR1	49	GYTFTSYG
	HCDR2	50	ISVYSGNT
	HCDR3	51	AREGSSSSGDYYYGMDV
	LCDR1	52	QSLHTDGTYY
	LCDR2	53	EVS
	LCDR3	54	MQNIQLPWT
MADCAM に対する抗体 2	HCDR1	55	GYTFTSYG
	HCDR2	56	ISVYSGNT
	HCDR3	57	AREGSSSSGDYYYGMDV
	LCDR1	58	QSLLYSDGKTY
	LCDR2	59	EVS
	LCDR3	60	MQSIQLPWT
パムレブルマブ (Pamrevlumab) (CTGF)	HCDR1	61	GFTFSSYG
	HCDR2	62	IGTGGGT
	HCDR3	63	ARGDYYGSGSFFDC
	LCDR1	64	QGISSW
	LCDR2	65	AAS
	LCDR3	66	QQYNSYPPT
PDPN に対する抗体 1	HCDR1	67	GYTFTSYTIH
	HCDR2	68	YINPGSGYTNYNEKFQD
	HCDR3	69	WDRGY
	LCDR1	70	RSSQTIVHSNGNTYLE
	LCDR2	71	KVSNRFS
	LCDR3	72	FQGSHVPYT
PDPN に対する抗体 2	HCDR1	73	GFTFSNYG
	HCDR2	74	ISAGGDKT
	HCDR3	75	AKTSR
	LCDR1	76	TGNIGSNY
	LCDR2	77	RDD
	LCDR3	78	HSYSSGIV
ナタリズマブ (インテグリン α)	HCDR1	79	GFNIKDTY
	HCDR2	80	IDPANGYT
	HCDR3	81	AREGYYGNYGVYAMDY
	LCDR1	82	QDINKY
	LCDR2	83	YTS
	LCDR3	84	LQYDNLWT
Zinbryta(商標) (ダクリズマブ)	HCDR1	85	GYTFTSYR
	HCDR2	86	INPSTGYT
	HCDR3	87	ARGGGVFDY
	LCDR1	88	SSSISY
	LCDR2	89	TTS
	LCDR3	90	HQRSTYPLT
TNFR2変異体1に対する抗体	HCDR1	91	GYTFTDYN
	HCDR2	92	INPNYEST

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列:
	HCDR3	93	RDKGWYFDV
	LCDR1	94	SSVKN
	LCDR2	95	YTS
	LCDR3	96	QQFTSSPYT
TNFR2変異体2に対する抗体	HCDR1	97	GFSLSTSGMG
	HCDR2	98	IWWDDDK
	HCDR3	99	ARLTGTRYFDY
	LCDR1	100	QDINKF
	LCDR2	101	YTS
	LCDR3	102	LQYGNLWT
TNFR2変異体3に対する抗体	HCDR1	103	GYTFTDYS
	HCDR2	104	INTETGEP
	HCDR3	105	ATYYGSSYVPDY
	LCDR1	106	QNVGTA
	LCDR2	107	WTS
	LCDR3	108	QYSDYPYT
TNFR2変異体4に対する抗体	HCDR1	109	GYTFTDY
	HCDR2	110	WVDPEYGS
	HCDR3	111	ARDDGSYSFPDY
	LCDR1 (メジャー)	112	QNINKY
	LCDR2 (メジャー)	113	YTS
	LCDR3 (メジャー)	114	LQYVNLLT
	LCDR1 (マイナー)	115	ENVVTY
	LCDR2 (マイナー)	116	GAS
	LCDR3 (マイナー)	117	QGYSYPYT
ブレセルマブ (CD40)	HCDR1	118	GGSISSPGYY
	HCDR2	119	IYKSGST
	HCDR3	120	TRPVVRYFGWFDP
	LCDR1	121	QGISSA
	LCDR2	122	DAS
	LCDR3	123	QQFNSYPT
DEC-205 変異体 1 に対する抗体	HCDR1	124	GFTFSNYG
	HCDR2	125	IWYDGSNK
	HCDR3	126	ARDLWGWFYDY
	LCDR1	127	QSVSSY
	LCDR2	128	DAS
	LCDR3	129	QQRNWPPLT
DEC-205 変異体 2 に対する抗体	HCDR1	130	GDSFTTYW
	HCDR2	131	IYPGSDST
	HCDR3	132	TRGDRGVYDY
	LCDR1	133	QGISRW
	LCDR2	134	AAS

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列:
TNFR2 に対する抗体 5	LCDR3	135	QQYNSYPRT
	HCDR1	136	GFSLSTSGMG
	HCDR2	137	IWWDDDK
	HCDR3	138	ARITGTRYFDY
	LCDR1	139	QDINKF
	LCDR2	140	YTS
	LCDR3	141	LQYGNLWT
Fun1 (CD86)	HCDR1	142	GYSFTDYN
	HCDR2	143	IDPYYGGT
	HCDR3	144	ARWDYRYDDGRAYVMD
	LCDR1	145	QSVLYSSNQKNY
	LCDR2	146	WAS
	LCDR3	147	HQYLYSWT
hzFun1	HCDR1	148	GYSFTDYN
	HCDR2	149	IDPYYGGT
	HCDR3	150	ARWDYRYDDGRAYVMD
	LCDR1	151	QSVLYSSNQKNY
	LCDR2	152	WAS
	LCDR3	153	HQYLYSWT
CD45RB/RO に対する抗体 1	HCDR1	154	GYTFTNYII
	HCDR2	155	FNPYNHGT
	HCDR3	156	ARSGPYAWFDT
	LCDR1	157	QNIGTS
	LCDR2	158	SSS
	LCDR3	159	QQSNTWPFT
CD45RB/RO に対する抗体 2	HCDR1	160	GYTFTNYII
	HCDR2	161	FNPYNHGT
	HCDR3	162	ARSGPYAWFDT
	LCDR1	163	QNIGTS
	LCDR2	164	SSS
	LCDR3	165	QQSNTWPFT
CD45RB に対する抗体	HCDR1	166	GFTFSNYG
	HCDR2	167	IWYDGSKK
	HCDR3	168	ARGGGDFDF
	LCDR1	169	QSVSGNY
	LCDR2	170	GAS
	LCDR3	171	QQYGKWPPLT
MHC-DR に対する抗体 1	HCDR1	172	GFSLSTSGVG
	HCDR2	173	IDWDDDK
	HCDR3	174	ARSPRYRGAFDY
	LCDR1	175	ESNIGNNY
	LCDR2	176	DNN
	LCDR3	177	QSYDLIRHV
MHC-DR に対する抗体 2	HCDR1	178	GFSLSTSGVG
	HCDR2	179	IDWDDDK
	HCDR3	180	ARSPRYRGAFDY
	LCDR1	181	ESNIGNNY

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列:
DE8	LCDR2	182	DNN
	LCDR3	183	QSYDMNVH
	HCDR1	184	GFSLSTSGMG
	HCDR2	185	IYWDDK
	HCDR3	186	ARSSHYGYGYGGYFDV
	LCDR1	187	ESIHSYGNSF
	LCDR2	188	LAS
エタラシズマブ (インテグリン $\alpha v \beta 3$)	LCDR3	189	QQNNEPWT
	HCDR1	190	GFTFSSYD
	HCDR2	191	VSSGGGST
	HCDR3	192	ARHLHGSFAS
	LCDR1	193	QSISNFL
	LCDR2	194	YRS
avb8 に対する抗体	LCDR3	195	QSGSWPLT
	HCDR1	196	GFVFSRYW
	HCDR2	197	INPDSSTI
	HCDR3	198	ASLITTEDY
	LCDR1	199	QDINSY
	LCDR2	200	YAN
インテツムマブ (Intetumumab)	LCDR3	201	LQYDEFPYT
	HCDR1	202	GFTFSRYT
	HCDR2	203	ISFDGSNK
	HCDR3	204	AREARGSYAFDI
	LCDR1	205	QSVSSY
	LCDR2	206	DAS
インテグリン αv に 対する抗体	LCDR3	207	QQRSNWPPFT
	HCDR1	208	GYTFSSFW
	HCDR2	209	INPRSGYT
	HCDR3	210	ASFLGRGAMDY
	LCDR1	211	QDISNY
	LCDR2	212	YTS
インテグリン $\alpha v \beta 6$ 変異体 1 に対する抗体	LCDR3	213	QQGNTFPYT
	HCDR1	214	GGSISSGVYY
	HCDR2	215	IYYSGST
	HCDR3	216	AREGPLRGDYYYGLDV
	LCDR1	217	QTISSRY
	LCDR2	218	GAS
オレクルマブ (CD73)	LCDR3	219	QQYGSSPRT
	HCDR1	220	GFTFSSYA
	HCDR2	221	ISGSGGRT
	HCDR3	222	ARLG YGRVDE
	LCDR1	223	LSNIGRNP
	LCDR2	224	LDN
CD73 に対する抗体	LCDR3	225	ATWDDSHPGWT
	HCDR1	226	GFTFSNYG
	HCDR2	227	ILYDGSNK
	HCDR3	228	ARGGSSWYPDSFDI

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列:
	LCDR1	229	QGISSW
	LCDR2	230	AAS
	LCDR3	231	QQYNSYPLT
ダラツムマブ (CD38)	HCDR1	232	GFTFNSFA
	HCDR2	234	ISGSGGGT
	HCDR3	235	AKDKILWFGEPVFDY
	LCDR1	236	QSVSSY
	LCDR2	237	DAS
	LCDR3	238	QRSNWPPT
バテリズマブ (Vatelizumab) (インテグリン $\alpha 2$)	HCDR1	239	GFSLTNYG
	HCDR2	240	IWARGFT
	HCDR3	241	ARANDGVYYAMDY
	LCDR1	242	QSSVNY
	LCDR2	243	DTS
	LCDR3	244	QQWTTNPLT
ベドリズマブ (インテグリン $\alpha 4\beta 7$)	HCDR1	245	GYTFTSYW
	HCDR2	246	IDPSESNT
	HCDR3	247	ARGGYDGDWY AIDY
	LCDR1	248	QSLAKSYGNTY
	LCDR2	249	GIS
	LCDR3	250	LQGTHQPYT
エトロリズマブ (Etrolizumab)	HCDR1	251	GFFITNNY
	HCDR2	252	ISYSGST
	HCDR3	253	ARTGSSGYFDF
	LCDR1	254	ESVDDL
	LCDR2	255	YAS
	LCDR3	256	QQGNSLPNT
アニフロルマブ (Anifrolumab) (IFNAR1)	HCDR1	257	GYIFTNYW
	HCDR2	258	IYPGDS DI
	HCDR3	259	ARHDIEGFDY
	LCDR1	260	QSVSSSF
	LCDR2	261	GAS
	LCDR3	262	QQYDSSAIT
BIIB059 (BDCA2)	HCDR1	263	GFTFTYTMS
	HCDR2	264	PGDSFGY
	HCDR3	265	TRDIYYNYGAWFAY
	LCDR1	266	QSVDYDGD SY
	LCDR2	267	AAS
	LCDR3	268	QQANEDPRT
ブレンツキシマブ ドチンのブレンツキ シマブ (CD30)	HCDR1	269	GYTFTDY
	HCDR2	270	IYPGSGNT
	HCDR3	271	ANYGNYWFAY
	LCDR1	272	QSVDFDGD SY
	LCDR2	273	AAS
	LCDR3	274	QGSNEDPWT
イラツムマブ (Iratumumab)	HCDR1	275	GGSFSA YY
	HCDR2	276	INHGGGT

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列:
(CD30)	HCDR3	277	ASLTAY
	LCDR1	278	QGISSW
	LCDR2	279	AAS
	LCDR3	280	QQYDSYPIT
c-KIT に対する抗体	HCDR1	281	GYTFTSYN
	HCDR2	282	IYSGNGDT
	HCDR3	283	ARERDTRFGN
	LCDR1	284	ESVDIYGNSF
	LCDR2	285	LAS
	LCDR3	286	QQNNEDPYT
Opdivo(商標) (ニボルマブ)	HCDR1	287	GITFSNSG
	HCDR2	288	IWYDGSKR
	HCDR3	289	ATNDDY
	LCDR1	290	QSVSSYL
	LCDR2	291	DAS
	LCDR3	292	QQSSNWPRT
Keytruda(商標) (ペンブロリズマブ)	HCDR1	293	GYTFTNYY
	HCDR2	294	INPSNGGT
	HCDR3	295	ARRDYRFDMGFDY
	LCDR1	296	KGVSTSGYSY
	LCDR2	297	LAS
	LCDR3	298	QHSRDLPLT
LRRC15に対する抗体M25	HCDR1	440	SYWIE
	HCDR2	441	EILPGSDTTNYNEKFKD
	HCDR3	442	GNYRAWFGY
	LCDR1	443	RASQDISNYLN
	LCDR2	444	YTSRLHS
	LCDR3	445	QQGEALPWT
LRRC15に対する抗体huAD208.4.1	HCDR1	446	DYYIH
	HCDR2	447	LVYPYIGGTNYNQKFKG
	HCDR3	448	GDNKYDAMDY
	LCDR1	449	RASQSVSTSSYSYMH
	LCDR2	450	YASSLES
	LCDR3	451	EQSWEIRT
LRRC15に対する抗体huAD208.12.1	HCDR1	452	NYWMH
	HCDR2	453	MIHPNSGSTKHNEKFRG
	HCDR3	454	SDFGNRYWYFDV
	LCDR1	455	RASQSSSNLH
	LCDR2	456	YVSQSI
	LCDR3	457	QQSNSWPFT
LRRC15に対する抗体huAD208.14.1	HCDR1	458	DYYIH
	HCDR2	459	LVYPYIGGSSYNQQFKG
	HCDR3	460	GDNNYDAMDY
	LCDR1	461	RASQSVSTSTYNYMH
	LCDR2	462	YASNLES
	LCDR3	463	HHTWEIRT
LRRC15に対する抗	HCDR1	464	SYGVH

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列:
体hu139.10	HCDR2	465	VIWAGGSTNYNSALMS
	HCDR3	466	HMITEDYYGMDY
	LCDR1	467	KSSQSLLNSRTRKNYLA
	LCDR2	468	WASTRES
	LCDR3	469	KQSYNLPT
LRRC15に対する抗体muAD210.40.9	HCDR1	470	NYWLG
	HCDR2	471	DIYPGGGNTYYNEKLKG
	HCDR3	472	WGDKKGNFYAY
	LCDR1	473	TASSSVYSSYLH
	LCDR2	474	STSNLAS
	LCDR3	475	HQYHRSPT
LRRC15に対する抗体muAD209.9.1	HCDR1	476	NFGMN
	HCDR2	477	WINLYTGEPTFADDFKG
	HCDR3	478	KGETYYRYDGFAY
	LCDR1	479	RSSKSLLHSNGNTHLY
	LCDR2	480	RMSNLAS
	LCDR3	481	MLLEYPYT

10

20

表 2: 抗体 V_H 配列および V_L 配列

抗体	領域	配列番号	配列
TRX518 (GITR)	V _L	299	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVGTNVAWY QQKPGQAPRLLIYSASYRYSGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQYNTDPLTFGGGTKVEIK
	V _H	300	QVTLRSGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVG WIRQPPGKALEWLAHIWWDDDKYYNPSLKSRLTIS KDTSKNQVVLTMNMDPVDATATYYCARTRRYFPFA YWGQGTLLTVTVSS
	V _H	301	QVTLRSGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVG WIRQPPGKALEWLAHIWWDDDKYYQPSLKSRLTIS KDTSKNQVVLTMNMDPVDATATYYCARTRRYFPFA YWGQGTLLTVTVSS
LAG-3 に対す る抗体	V _H	302	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSDYYWN WIRQPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRLTSLD TSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWF DPWGQGTLLTVTVSS
	V _L	303	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIK
4-1BB 変異体 1 に対する抗体	V _H	304	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSGYYWS WIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRTISVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPNGYDWY FDLWGRGTLLTVTVSS
	V _L	305	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGTKVEIK
4-1BB 変異体 2 に対する抗体	V _H	306	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYWMS WVRQAPGKGLEWVADIKNDGSYTNYPSTLNRFITIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELTGTWG QGTMVTVSS
	V _L	307	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLSSGNQKN YLAWYQQKPGQPPKLLIYYASTRQSGVPDRFSGSGS GTDFTLTISSLQAEDVAVYYCLQYDRYPFTFGQGTK LEIK
ウトミルマブ	V _H	308	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISW VRQMPGKGLEWMGKIYPGDSYTNYSFQGGQVTIS ADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDYW GGGTLLTVTVSS
	V _L	309	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQ QKPGQSPVLVIYQDKNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTI SGTQAMDEADYYCATYTGFGSLAVFGGGTKLTVL
ボルセツズマ ブ (Vorsetuzumab) (CD70)	V _H	310	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGM NWVRQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYADAFKGRV TMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDYGDY GMDYWGQGTITVTVSS
	V _L	311	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFM HWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESVGPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSREVPWTFGQGTKVE IK

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
リヌクマブ	V _H	312	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSITSSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYRGSTNYPNPSLKSRTISVDSKNQFYLVSSVTAVDTAVYYCARQNGAARPSWFDPWGQGTLLTVSS
	V _L	313	EIVLTQSPDTISLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQKQPGQAPRLLIYGASSRVTGIPDRFSVSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGISPFTFGPGTKVDIR
オレクルマブ (CD73)	V _H	314	EVQLLESQGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAYSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGRITYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGYGRVDEWGRGTLTVSS
	V _L	315	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGLSNIGRNPVNWYQQLPGTAPKLLIYLDNLRLSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCATWDDSHPGWTFGGGTKLTVL
オンツキシズ マブ (エンドシアリン)	V _H	316	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTASGYTFTDYVIHWVKQPPGRGLEWIGYINPYDDDTTYNQKFKGRVTMLVDTSSNTAYLRLSSVTAEDTAVYYCARRGNSYDGYFDYSMDYWGSGTPVTSS
	V _L	317	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQNVGTAVAWLQQTTPGKAPKLLIYSASNRYTGVPSTRFSGSGTDTYFTISLQPEDATYYCQYTNYPMYTFGGGTKVQIK
FAP 変異体 1 に対する抗体	V _H	318	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSVTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKGRI TINPDTSKNQFYLVKSVTPEDA AVYYCARDSSILYGDYWGQGTLLTVSS
	V _H	319	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSVTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKGRI TINPDTSKNQFYLVKSVTPEDA AVYYCARDSSILYGDYWGQGTLLTVS
	V _L	320	QAVLTQPSLSASPGASASLTCTLPSGINVGTYRIFWFQKPGSPPPQYLLSYKSDSDNHQSGVPSRFGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSAWVFGGGTKLTVL
FAP 変異体 2 に対する抗体	V _H	321	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNRGGTNYAQKFQGRVT MTRDTSIATAYMELSRRLSDDTAVYYCATASLKIAA VGTFCDCWGQGTLLTVSS
	V _L	322	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALSKQYAFWFQKQPGQAPILVIYQDTKRPSGIPGRFSGSSSGTTVTLTISGAQADDEADYYCQSADSSGTYVFGTGTKVTVL
FAP 変異体 3 に対する抗体	V _H	323	EVQLVETGGGVVQPGSLRLSCAASGFSFSTHGMYWVRQPPGKGLEWVAVISYDGSDKKYADSVKGRFTISRDNKNTVYLEMSSVRAEDTALYYCFRRDAFDLWGQGTMTVSS
	V _L	324	SYVLTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQKQSGQAPVLVIYEDTKRPSGIPERFSGSSSGTMTLTI SGAQVEDEADYYCYSTDSSGNYWVFGGGTEVTVL

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
FAP 変異体 4 に対する抗体	V _H	325	EVQLVESGGGLVEPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMN WVRQAPGKGLEWVGRIKTKSDGGTTDYAAPVRGRF SISRDDSKNTLFLEMNSLKTEDTAIYYCFITVIVVSSE SPLDHWGQGTLTVTVSS
	V _L	326	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDELPKQYAYWYQ QKPGQAPVLVIYKDRQRPSPGIPERFSGSSSGTTVTLT SGVQAEDEADYYCQSAYSINTYVIFGGGTKLTVL
FAP 変異体 5 に対する抗体	V _H	327	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWISYISSGSSYTNADSVKGRFTISR DNAKKSIVYLEVNGLTVEDTAVYYCARVRYGDREM ATIGGFDFWGQGTLLTVTVSS
	V _L	328	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQ QSPGQAPVLVIYKDSERPSPGIPERFSGSSSGTTVTLT ISGVQAEDEADYYCQSADSGGTSRIFGGGTKLTVL
FAP 変異体 6 に対する抗体	V _H	329	QVQLQESGPGLVRSTETLSLTCLVSGDSINSHYWSW LRQSPGRGLEWIGYIYYTGPTNYPNPSLKSRSISLGT SKDQFSLKLSSVTAADTARYYCARNKVFWRGSDFY YYMDVWGKGTITVTVSS
	V _L	330	EIVLTQSPGTLSSLGERATLSCRASQSLANNYLAWY QKPGQAPRLMYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQFVTSHHMYIFGQGTKVEIK
FAP 変異体 7 に対する抗体	V _H	331	HVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSNNYYW GWIRQTPGKGLEWIGSIYYSGSTNYPNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGARWQARPA TRIDGVAFDIWGQGTMTVTVSS
	V _H	332	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSNNYYW GWIRQTPGKGLEWIGSIYYSGSTNYPNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGARWQARPA TRIDGVAFDIWGQGTMTVTVSS
	V _H	333	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDWSRSG YYLPDYWGQGTLLTVTVSS
	V _L	334	ETTLTQSPGTLSPGERATLSCRASQTVTRNYLAW YQQKPGQAPRLMYGASNRAAGVPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQFGSPYTFGQGTKVEIK
	V _L	335	DVVMVTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLSHNGYNY LDWYLQRPQGSPHLLIFLGSNRASGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPPTFGQGTKVEI K
GITR に対する 抗体	V _H	336	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVIWEYSNKKYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVR GDYYYGMDVWGQGTITVTVSS
	V _L	337	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYCQQFNSTPYTFGQGTKLEIK

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
4G8	V _H	338	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFY WGQGTLLTVSS
	V _L	339	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWY QQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLT ISRLEPEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK
4B9	V _H	340	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNY WGQGTLLTVSS
	V _L	341	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWY QQKPGQAPRLLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFTLT TISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK
28H1	V _H	342	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSW VRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFY WGQGTLLTVSS
	V _L	343	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWY QQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLT ISRLEPEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK
MADCAM に 対する抗体 1	V _H	344	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGIN WVRQAPGQGLEWMGWISVYSGNTNYAQKVQGRV TMTADTSTSTAYMDLRSLRSDDTAVYYCAREGSSSS GDYYYGMDVWGQGTITVTVSS
	V _L	345	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHTDGT LYWYLQKPGQPPQLLIYEVSNRFGVDPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQNIQLPWTFGQGTKV EIK
MADCAM に 対する抗体 2	V _H	346	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYTFTSYGID WVRQAPGQGLEWMGWISVYSGNTNYAQKLQGRVT MSTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREGSSSSG DYYYGMDVWGQGTITVTVSS
	V _L	347	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSNQSLLYSDGKTY LFWYLQKPGQPPQLLIYEVSNRFGVDPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSIQLPWTFGQGTKVE IK
パムレブルマ ブ (CTGF)	V _H	348	EGQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVSGIGTGGGTYSTDSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDMAVYYCARGDYYGSGS FFDCWGQGTLLTVSS
	V _L	349	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT TISSLQPEDFATYYCQQYNSTPPTFGQGTKLEIK
ナタリズマブ	V _H	350	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYIH WVRQAPGQRLWGMGRIDPANGYTKYDPKFQGRVTI TADTSASTAYMELSSLRSEDEAVYYCAREGYGNY GVYAMDYWGQGTLLTVSS
	V _L	351	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKTSQDINKYMAWY QQTPGKAPRLLIHYTSALQPGIPSRFSGSGSGRDTYF TISSLQPEDATYYCLQYDNLWTFGQGTKVEIK

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
TNFR2 変異体 1 に対する抗 体	V _H	352	EVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMD WVKQSHGKSLEWIGDINPNYESTSYNQKFKGKATLT VDKSSSTAYMEVRSLSLTSEDYAVFYCARDKGWYFDV WGAGTTVTVSS
	V _L	353	ENVLTQSPAISASLGEKVTMSCRASSSVKNMYWY QQKSDASPKLWIYYTSNLA PGV PARFSGSGSGNSYS LTISSMEGEDAATYYCQQTSSPYTFGGGKLEIK
TNFR2 変異体 2 に対する抗 体	V _H	354	QVTLLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGV WIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKFYNP SLKSQLTISK DTSRNQVFLKLT SVVTADTATYYCARLTGTRYFDY WGQGTTLTVSS
	V _L	355	DVQMTQSPSSLSASLGKVTITCKASQDINKFI AWY QHKPGKGPRLLIHYTSTLQPGIPSKFSGSGSGRDYSFS ISNLEPEDIATYYCLQYGNLWTFGGGKLEIT
TNFR2 変異体 3 に対する抗 体	V _H	356	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSMHW VKQAPGKGLKWMGWINTETGEPTYADDFKGRFAFS SETSTSTAYLQINN LKNDDTTTYFCATYYGSSYVPD YWGQGTSLTVSS
	V _L	357	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAW YQHKPGQSPKLLIYWTSSRHTGVPDRFTGSGSGTEFT LTISNVQSEDLADYFCHQYSDYPYTFGGGKLEIK
TNFR2 変異体 4 に対する抗 体	V _H	358	EVQLQQSGPEVGRPGSSVKISCKASGYTFTDYIMHW VKQSPGQGLEWIGWVDPEYGSTDYAEKFKKKATLT ADTSSNTAYIQLSSLTSEDYATYFCARDDGSYSPFDY WGQGVMTVSS
	V _L (メジャー)	359	DIQMTQSPSSLSASLGDKVTITCQASQNINKYIAWYQ QKPGKAPRLLI RYTSTLES GTPSRFSGSGSGRDYSFSI SNVESEDIASYYCLQYVNL LTFGAGTKLEIK
	V _L (マイナ ー)	360	NIVMTQSPKSMMSVGERVTLTCKASENVVTYVSW YQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDF TLTISSVQAEDLADYHCGQGYSPYTFGGGKLEIK
TNFR2 変異体 5 に対する抗 体	V _H	361	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMS WVRQAPGKGLEWVA VISENGSDTYADSVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDRGGA VS YFDVWGQGTSLTVSS
	V _L	362	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSYLAWY QQKPGKAPKLLIYAASSLES GVP SRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNL PYTFGQGTKVEIKRT
GARP 変異体 1 に対する抗体	V _H	363	MAVLALLFCLVTFPSCILSQVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTG YGINWVRQPPGKGLEWLGMIWSD GSTDYNSVLT SRLRISKDNSNSQVFLKMNSLQVDDT ARYYCARDRNYYDYDGAMDYWGQGTSVTVSS
	V _L	364	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTG YGINWV RQPPGKGLEWLGMIWSDGSTDYNSVLT SRLRISKDN SNSQVFLKMNSLQVDDTARYYCARDRNYYDYDGA MDYWGQGTSVTVSS

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
GARP 変異体 2 に対する抗体	V _H	365	MKFPSQLLLFLLFRITGHI CDIQVTQSSSYLSVSLGDR VTITCKASDHIKNWLAWYQQKPGIAPRLLVSGATSL EAGVPSRFSGSGSGKNFTLSITSLQTEDVATYYCQQY WSTPWTFGGGTLEIR
	V _L	366	DIQVTQSSSYLSVSLGDRVTITCKASDHIKNWLAWY QQKPGIAPRLLVSGATSL EAGVPSRFSGSGSGKNFTL SITSLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGGTLEIR
GARP 変異体 3 に対する抗体	V _H	367	EVQLVQPGAELRNSGASVKVSCASGYRFTSYID WVRQAPGQGLEWMGRIDPEDGGTKYAQKFQGRVT FTADTSTSTAYVELSSLRSEDTAVYYCARNEWETVV VGDLMEY EYEWGQGTQVTVSS
	V _L	368	DIQMTQSPSTLSASLGDRVTITCQASQSISSYLAWYQ QKPGQAPKLLIYGASRLQTGVPSRFSGSGSGTSFTLTI SGLEAEDAGTYCQQYDSLPTVTFGQGTKEVK
	V _L	369	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCQASQSISSYLAWYQ QKPGQAPKLLIYGASRLQTGVPSRFSGSGSGTSFTLTI SGLEAEDAGTYCQQYASAPVTFGQGTKEVK
	V _L	370	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCQASQSISSYLAWYQ QKPGQAPKLLIYGTSRLKTGVPSRFSGSGSGTSFTLTI SGLEAEDAGTYCQQYYSAPVTFGQGTKEVK
	V _L	371	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCQASQTISSFLAWYH QKPGQPPKLLIYRASIPQTGVPSRFSGSGSGTSFTLTI GGLEAEDAGTYCQQYVSAPVTFGQGTKEVK
	V _L	372	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCQASQSISSYLAWYQ QKPGQAPNIIYGASRLKTGVPSRFSGSGSGTSFTLTI SGLEAEDAGTYCQQYASVPVTFGQGTKEVK
CD73 に対する 抗体	V _L	373	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKEVK
	V _H	374	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAVILYDGSNKYYPD SVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYP DSFDIWGQGTMTVSS
ドラツムマブ (CD38)	V _H	375	EVQLLES GGGLVQPGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGE VFDYWGGQGLTVSS
	V _L	376	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKEVK
エタラシズマ ブ	V _H	377	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSYDMS WVRQAPGKGLEWVAKVSSGGGSTYYLDTVQGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHLHGSFA SWGQGT TVTVSS
	V _L	378	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCQASQSI SNFLHWYQ QRPGQAPRLIYRSQISGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQSGSWPLTFGGGTKEVK

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
インテツムマ ブ	V _H	379	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSRYTMH WVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYVDSVKGRFTI SRDENSENTLYLQVNILRAEDTAVYYCAREARGSYAF DIWGQGTMTVTSS
	V _L	380	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIK
インテグリン $\alpha v \beta 8$ に対す る抗体	V _H	381	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFVFSRYWMS WVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTSSLKDRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASLITTEDYWG QGTITVTSS
	V _L	382	EIVLTQSPSSLSLSPGERVTITCKASQDINSYLSWYQQ KPGKAPKLLIYYANRLVDGVPARFSGSGSGQDYTLT ISSLEPEDFAVYYCLQYDEFPTYTFGGGKLEIKR
インテグリン αv に対する 抗体	V _L	383	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDISNYLAWYQ QKPGKAPKLLIYYTSKIHSGVPSRFSGSGSGTDYFTI SSLQPEDIATYYCQQGNTFPYTFGQGTKVEIK
	V _H	384	QVQLQQSGGELAKPGASVKVSCKASGYTFSSFWMH WVRQAPGQGLEWIGYINPRSGYTEYNEIFRDKATMT TDTSTSTAYMELSSLRSEDFAVYYCASFLGRGAMDY WGQGTITVTSS
インテグリン $\alpha v \beta 6$ 変異体 1 に対する抗 体	V _H	385	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGVYYW TWIRQHPGNGLEWIGYIYSGSTSYNPSLKSRVTISV DTSKKQFSLNLTSTVTAADTAVYYCAREGPLRGDYY YGLDVWGQGTITVTSS
	V _L	386	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRAGQTISSRYLAWY QQKPGQAPRPLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPRTFGQGTKVEIK
インテグリン $\alpha v \beta 6$ 変異体 2 に対する抗 体	V _H	387	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYW SWIRQHPGKGLEWIGYIYSGSTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAMYYCARYRGPAAARG DFYYFGMDVWGQGTITVTSS
	V _L	388	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASIFCKSSQSLLNSDGKTY LCWYLQKPGQPQLLIYEVSNRFSGVDPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGIQLPWAFFGQGTK VEIK
インテグリン $\alpha v \beta 6$ 変異体 3 に対する抗 体	V _H	389	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVIWYGGSNKYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLAARR GDYYYYGMDVWGQGTITVTSS
	V _L	390	SSELTQDPVVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYLSWYQ QKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSNSGNTASLT ITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLFGGGTKLTVL
インテグリン $\alpha v \beta 6$ 変異体 4 に対する抗 体	V _H	391	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYW SWIRQHPGKGLEWIGYIYSGRTYNNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVATGRADYH FYAMDVWGQGTITVTSS
	V _L	392	SYELTQPSSSVSPGQTARITCSGDVLAKKSARWFH QKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFSGSSSGTTVTLTI SGAQVEDEAAYYCYSAADNNLVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
Zinbryta(商標) (ダクリズマブ) (CD25)	V _H	393	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYRMH WVRQAPGGGLEWIGYINPSTGYTEYNQKFKDKATIT ADESTNTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGGGVFDYW GQGTLLTVSS
	V _L	394	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCSASSISYMHWYQQ KPGKAPKLLIYTTSNLASGVPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQPDDEFATYYCHQRSTYPLTFGQGTKVEVK
ブレセルマブ (CD40)	V _H	395	QLQLQESGPGLLKPSETLSLTCTVSGGSISSPGYYGG WIRQPPGKGLEWIGSIYKSGSTYHNPSLKSRTISVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTRPVVRVYFGWFD WGQGTLLTVSS
	V _L	396	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCQQFNSYPTFGQGTKVEIK
DEC-205 変異 体 1 に対する 抗体	V _H	397	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMY WVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLWGW YFDYWGQGTLLTVSS
	V _L	398	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFATYYCQQRNWPLTFGGGTKVEIK
DEC-205 変異 体 2 に対する 抗体	V _H	399	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGDSFTTYWIGW VRQMPGKGLEWMGHIYPGDSDTIYSPFQQQVTISAD KSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCTRGRGVVDYWG QGTLLTVSS
	V _L	400	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISRWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISGLQPEDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK
TNFR2 に対す る抗体 5	V _H	401	QVTLKESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSSTSGMGVG WIRQPPGKALEWLAHIWDDDKFYNPSTLKSRLTISK DTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARITGTRYFDY WGQGTLLTVSS
	V _L	402	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDINKFIAWYQ QKPGKAPKLLIHYTSTLQPGVPSRFSGSGSGTDYFT ISSLPEDIATYYCLQYGNLWTFGGGTKVEIK
Fun1	V _H	403	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTDYNMN WVKQSNQGSLEWIGNIDPYYGGTSYNQKFKGKATL TVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCARWDYRYDD GRAYVVMDFWGQGTSTVTVSS
	V _L	404	ELQMTQSPSSLAASAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQK NYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPRFTGS GSGTHFTLLTVSSVQAEDLAVYYCHQYLYSWTFGGG TNLEIK
hzFun1	V _H	405	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNM NWVRQAPGGGLEWMGNIDPYYGGTSYNQKFKGRV TMTRDTSISTAYMELSLRLSDDTAVYYCARWDYRY DDGRAYVVMDFWGQGTSTVTVSS

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
	V _L	406	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNQKN YLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGS GTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTKL EIK
CD45RB/RO に 対する抗体 1	V _H	407	EVQLVESGAIEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYIIHW VKQEPGQGLEWIGYFNPYNHGTYNEKFKGRATLT ANKSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPYAWFDT WGQGTTVTVSS
	V _L	408	DILLTQSPATLSLSPGERATFSCRASQNIQTSIQWYQQ KTNGAPRLIRSSSESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFAVYYCQQSNTWPFTFGQGQTKLEIK
CD45RB/RO に 対する抗体 2	V _H	409	EVQLVESGAIEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYIIHW VKQEPGQGLEWIGYFNPYNHGTYNEKFKGRATLT ANKSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPYAWFDT WGQGTTVTVSS
	V _L	410	DILLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNIQTSIQWYQ QKPGQAPRLIRSSSESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTISL LEPEDFAVYYCQQSNTWPFTFGQGQTKLEIK
CD45RB に対 する抗体	V _H	411	QCQVQLVESGGGVVQPGRSLRVSCASGFTFSNYG MHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKKIFYADSVKG RFTISRDNQNTLSLQMSLRSEDVAVYYCARGGGD FDFWGQGLTVTVSS
	V _L	412	KIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSGNYLAW YQQRPGQAPRLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFT LTISLQSEDFAVYYCQYQGWPLTFGGGQTKVEIK
MHC-DR に対 する抗体 1	V _H	413	QVQLKESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTSGVGVG WIRQPPGKALEWLALIDWDDDKYYSTSLKTRLTISK DTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARSPRYRGAFT YWGQGLTVTVSS
	V _L	414	DIVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSESIGNNNYVQWY QQLPGTAPKLLIYDNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AITGLQSEDEADYYCQSYDLIRHVFGGGTKLTVLG
MHC-DR に対 する抗体 2	V _H	415	QVQLKESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTSGVGVG WIRQPPGKALEWLALIDWDDDKYYSTSLKTRLTISK DTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARSPRYRGAFT YWGQGLTVTVSS
	V _L	416	DIVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSESIGNNNYVQWY QQLPGTAPKLLIYDNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASL AITGLQSEDEADYYCQSYDMNVHVFGGGTKLTVLG
バテリズマブ	V _H	417	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGIIHWI RQPPGKGLEWLGVIWARGFTNYSALMSRLTISKDN SKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARANDGVYYAMD YWGQGLTVTVSS
	V _L	418	DFVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCSAQSSVNYIHWYQ QKPDQAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYFT ISSLEAEDAATYYCQQTNTPLTFQGQTKVEIK
ベドリズマブ	V _H	419	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKSGSYTFTSYWM HWVRQAPGQRLEWIGEIDPSESNTNQNQFKGRVTL TVDISASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGYDGDW YAIDYWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
	V _L	420	DVVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLAKSYGNTY LSWYLQKPGQSPQLLIYGISNRFSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGTHQPYTFGQGTKVE IK
エトロリズマ ブ	V _H	421	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFFITNNYWG WVRQAPGKGLEWVGYSYSGSTSYNPSLKSRTISR DTSKNFTYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGSSGYFDF WGQGLTVTVSS
	V _L	422	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVDDLHWY QQKPGKAPKLLIKYASQSIGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQGNLNPNTFGQGTKVEIK
アニフロルマ ブ	V _H	423	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYIFTNYWIAW VRQMPGKGLESMGHIYPGDSDIRYSPSFQGGQVTISAD KSITTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHDIEGFDYWG RGTGLTVTVSS
	V _L	424	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSFFAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRLSGSGSGTDFTL TITRLEPEDFAVYYCQQYDSSAITFGQGTRLEIK
BIIB059	V _H	425	DVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYTMSW VRQAPGKGLEWVATISPGDSFGYYYPDSVQGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRDIIYNYGA WFAYWGQGLTVTVSS
	V _L	426	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDDYDGSY MNWYQQKPGKAPKLLIYAASLTESGVPSPRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQANEDPRTFGQGTKVE IK
ブレンツキシ マブベドチン のブレンツキ シマブ	V _H	427	QIQLQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITW VKQKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKYNEKFKGKATLT VDTSSSTAFLMQLSSLTSEDYAVYFCANYGNWYFAY WGQGTQVTVSA
	V _L	428	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDYSY MNWYQQKPGQPPKVLIIYAASNLESGLPARFSGSGSG TDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDPWTFGGGTLK EIK
イラツムマブ	V _H	429	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWS WIRQPPGKGLEWIGDINHGGGTNYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLNSTVAADTAVYYCASLTAYWGQGS LTVTVSS
	V _L	430	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQGISSWLWYQ QKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQYDSYPITFGQGTRLEIK
c-KIT に対す る抗体	V _H	431	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYNMH WVRQAPGQGLEWMGVISYSGNGDTSYNQKFKGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARERDTRFGN WGQGLTVTVSS
	V _L	432	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDIYGNFSM HWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGLVPDRFSGSGSGT DFTLTISLQAEADVAVYYCQQNNEDPYTFGGGTLKVE IK
Opdivo(商標) (ニボルマブ)	V _H	433	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMH WVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFT ISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWG QGTGLTVTVSS

10

20

30

40

抗体	領域	配列番号	配列
	V _L	434	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRAIGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK
Keytruda(商標) (ペンブロリズ マブ)	V _H	435	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYM YWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRV TLTDSSTTTAYMELKSLQFDD TAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSS
	V _L	436	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYL HWYQQKPGQAPRLLIYLAISYLESGVPARFSGSGSGT DFTLTISLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIK
LRRC15 に対 する抗体 huM25	V _H	482	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYKFSSYWIE WVKQAPGQGLEWIGELPGSDTTNYNEKFKDRATFT SDTSINTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDRGNYRAW FGYWGQGTITVTVSS
	V _L	483	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGGAVKFLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDTLT ISSLPEDFAVYYCQGEALPWTFGGGTKVEIK
LRRC15 に対 する抗体 huAD208.4.1	V _H	484	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTDYYIHW VKQAPGQGLEWIGLVYPYIGGTNYNQKFKGKATLT VDTSTTTAYMEMSSLRSEDTAVYYCARGDNKYDA MDYWGQGTITVTVSS
	V _L	485	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSSYSYM HWYQQKPGQPPKLLIKYASSLESGVPDRFSGSGSGT DFTLTISLQ AEDVAVYYCEQSWERTFGGGTKVEIK
LRRC15 に対 する抗体 huAD208.12.1	V _H	486	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYYWMH WVKQAPGQGLEWIGMIHPNSGSTKHNEKFRGKATLT TVDESTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSDFGNYR WYFDVWGQGTITVTVSS
	V _L	487	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSSNNLHWYQ QKPGQAPRVLIKYSQISGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKLEIK
LRRC15 に対 する抗体 huAD208.14.1	V _H	488	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTDYYIHW VKQAPGQGLEWIGLVYPYIGGSYNQQFKGKATLT VDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDNNYDAM DYWGQGTITVTVSS
	V _L	489	DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSTNYM HWYQQKPGQPPKLLVKYASNLESGVPDRFSGSGSG TDFTLTISS QAEDVAVYYCHHTWEIRTFGGGKVEIK
LRRC15 に対 する抗体 hu139.10	V _H	490	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLTSYGVHW VRQATGKGLEWLGVIWAGGSTNYSALMSRLTISK ENAKSSVYLQMNSLRAGDTAMYYCATHMITEDYY GMDYWGQGTITVTVSS
	V _L	491	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSRTRKN YLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGS GTDFTLTISS LQAEDVAVYYCKQSYNLPTFGGGTKVEIK

10

20

30

40

いくつかの実施形態では、結合ドメインが、その抗原に結合することによって免疫応答を調節することができる。結合ドメインは、細胞型または組織の抗原に結合することによって、細胞型または組織の活性を調節することができる。その抗原に結合することによって免疫応答を調節することができる結合ドメインのいくつかの非限定的な例は、樹状細胞の免疫活性を調節することができるDEC-205結合ドメインもしくはDCIR結合ドメイン、または線維化組織部位の筋線維芽細胞の免疫活性を調節することができるFAP結合ドメインである。結合ドメインの他の非限定的な例は、LRRC15結合ドメイン、TNFR2結合ドメインまたはカドヘリン11結合ドメインである。

【0169】

種々の実施形態では、結合ドメインが、本明細書に記載される抗体コンストラクトの第1の抗原結合ドメインであり得る。第1の抗原結合ドメインは、疾患組織上の抗原に結合することができ、それによって体内の疾患部位に結合または連結した免疫調節化合物を標的化することができる。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、線維症の部位の星細胞または筋線維芽細胞上で発現される抗原を認識することができる。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、滑膜線維芽細胞、腸上皮細胞および有足細胞などの、組織特異的炎症および自己免疫の部位の細胞上で発現される抗原を認識することができる。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、移植された臓器の細胞上で発現される抗原を認識することができる。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインの抗原、例えばカドヘリン11、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta$ 、ネフリン、ポドシン、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、c-KITまたはインテグリン $\alpha v \beta 6$ が、星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞または有足細胞上に見られ得る。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインの抗原、例えばカドヘリン11、LRRC15、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta$ 、ネフリン、ポドシン、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、c-KITまたはインテグリン $\alpha v \beta 6$ が、星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞または有足細胞上に見られ得る。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインの抗原、例えばカドヘリン11、LRRC15、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta$ 、ネフリン、ポドシン、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、c-KIT、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、MMP14、GPX8またはF2RL2が、星細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、上皮細胞または有足細胞上に見られ得る。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインの抗原がカドヘリン11、LRRC15またはFAPである。いくつかの実施形態では、第1の抗原結合ドメインの抗原がTNFR2である。他の実施形態では、第1の抗原結合ドメインが、BDCA2、CD30、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスIIまたはCD25などの免疫細胞上の抗原に結合することができる。

【0170】

第2の抗原結合ドメイン

本明細書に記載されるコンジュゲートは、第1の抗原結合ドメインと第2の抗原結合ドメインとを含む抗体コンストラクトを含むことができる。第2の抗原結合ドメインは、第1の抗原結合ドメインが結合した抗原と同じまたはこれとは異なる抗原に結合することができる。第2の抗原結合ドメインは、抗体または抗体断片の抗原結合部分であり得る。第2の抗原結合ドメインは、抗原に特異的に結合する能力を保持することができる抗体の1つまたは複数の断片であり得る。第2の抗原結合ドメインは、いずれかの抗原結合断片であり得る。第2の抗原結合ドメインは、第2の抗原結合ドメインのための支持フレームワークである足場中にあり得る。第2の抗原結合ドメインは、足場中の第2の抗原結合ドメインを含み得る。

【0171】

いくつかの実施形態では、第2の抗原が、TNFR2、CD40、CD86、PD-1、TIM3、BTLA、DEC205、DCIR、CD45RB、CD45RO、HLADR、CD38、CD73、GARP、BDCA2またはCD30から選択される。いくつかの実施形態では、第2の抗原が、TNFR2、CD40、CD86、PD-1、TIM3、BTLA、DEC205、DCIR、CD45RB、CD45RO、HLADR、CD38、CD73、GARP、BDCA2、PD-L1またはCD30から選択される。

【0172】

第2の抗原結合ドメインは、例えばTNFR2との約50%、約60%、約70%、約80%または約90%の配列同一性を有し得る。第2の抗原結合ドメインは、例えば免疫細胞免疫調節標的のアンタゴニスト、例えば免疫細胞上に見られ得る、または免疫細胞型、例えば抗原提示細胞および免疫組織上の細胞表面抗原の内部移行を媒介することができる免疫チェックポイント標的のアゴニストであり得る。第2の抗原結合ドメインは、例えばCD40、CD86のアンタゴニスト、PD-1、TIM-3もしくはBTLAのアゴニスト、またはDEC-205との結合ドメインであり得る。第2の抗原結合ドメインは、例えばCD40、CD86もしくはPD-L1のアンタゴニスト、PD-1、TIM-3もしくはBTLAのアゴニスト、またはDEC-205との結合ドメインとの約50%、約60%、約70%、約80%または約90%の配列同一性を有し得る。第2の抗原結合ドメインは、抗体コンストラクトおよび第1の抗原結合ドメインをコードする単一コンストラクトから発現され得る。

【0173】

第2の抗原結合ドメインは、抗原認識部分、すなわち、抗原、すなわち、エピトープなどの標的に抗原認識部分の認識および結合を付与するのに十分な抗体の抗原決定可変領域を含む抗体の部分の指し得る抗原結合ドメインを含み得る。第2の抗原結合ドメインは、抗体の抗原結合ドメインを含み得る。

【0174】

Fvは、完全な抗原認識および抗原結合部位を含む最小の抗体断片であり得る。この領域は、密な非共有結合会合の1つの重鎖可変ドメインおよび1つの軽鎖可変ドメインのダイマーからなり得る。この配置では、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用して、V_H-V_Lダイマーの表面上の抗原結合部位を規定し得る。結合部位全体の親和性よりも低い親和性であるが、単一可変ドメイン（または抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分）は抗原を認識し、これに結合し得る。

【0175】

第2の抗原結合ドメインは、それだけに限らないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体もしくはその機能的断片、例えば重鎖可変ドメイン（V_H）および軽鎖可変ドメイン（V_L）、単鎖可変断片（scFv）、DARPin、アフィマー、アビマー、ノッチン、モノボディ、アフィニティークランプ、外部ドメイン、受容体外部ドメイン、受容体、サイトカイン、リガンド、免疫サイトカイン、T細胞受容体、アンチカリン、VNAR、二環式ペプチドまたは組換えT細胞受容体から選択される特異的抗原結合ドメインと少なくとも80%同一であり得る。

【0176】

第2の抗原結合ドメインを抗体コンストラクトに結合することができる。例えば、抗体コンストラクトの一部を第2の抗原結合ドメインと融合して、融合タンパク質として第2の抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトを作製することができる。融合タンパク質は、抗体コンストラクトの残りをコードする核酸配列とインフレームで発現される第2の抗原結合ドメインをコードする核酸配列の結果であり得る。融合タンパク質は、抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトをコードするインフレーム遺伝子ヌクレオチド配列または抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトの近接するタンパク質配列の結果であり得る。別の例として、第2の抗原結合ドメインを抗体コンストラクトの一部に結合するこ

とができる。第2の抗原結合ドメインを、化学的コンジュゲーションによって抗体コンストラクトの一部に結合することができる。第2の抗原結合ドメインをFc領域の末端に結合することができる。第2の抗原結合ドメインをFcドメインの末端に結合することができる。第2の抗原結合ドメインを抗体コンストラクトの一部の末端に結合することができる。第2の抗原結合ドメインを抗体の末端に結合することができる。第2の抗原結合ドメインを抗体の軽鎖に結合することができる。第2の抗原結合ドメインを抗体の軽鎖の末端に結合することができる。第2の抗原結合ドメインを抗体の重鎖に結合することができる。第2の抗原結合ドメインを抗体の重鎖の末端に結合することができる。末端はC末端であり得る。抗体コンストラクトを1、2、3および／または4つの第2の抗原結合ドメインに結合することができる。第2の抗原結合ドメインは、抗体コンストラクトを、例えば特定の細胞または細胞型に向け得る。抗原、例えば免疫細胞上で発現される抗原、または線維性疾患、自己免疫疾患もしくは自己炎症性疾患に関連する抗原を認識するために、抗体コンストラクトの第2の抗原結合ドメインを選択することができる。抗原はペプチドまたはその断片であり得る。抗原は、免疫細胞上で発現され得る。抗原は抗原提示細胞上で発現され得る。抗原は樹状細胞、マクロファージまたはB細胞上で発現され得る。複数の第2の抗原結合ドメインを抗体コンストラクトに結合する場合、第2の抗原結合ドメインは同じ抗原に結合し得る。複数の第2の抗原結合ドメインが抗体コンストラクトの一部である場合、第2の抗原結合ドメインは異なる抗原（複数可）に結合し得る。

【0177】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンストラクトが、免疫細胞に特異的な第2の抗原に対する第2の結合ドメインを含むことができる。いくつかの実施形態では、第2の結合ドメインが、第2の結合ドメインを有さない本明細書に記載されるコンジュゲートと比較して、コンジュゲートの免疫調節活性をさらに増加させることができる。第2の結合ドメインのいくつかの非限定的な例は、CD40とのCD40Lの結合をブロックすることができる非活性化CD40結合ドメイン、またはPD-1とのPD-L1もしくはPD-L2の結合をブロックすることなくPD-1シグナルを増加させることができるPD-1結合ドメインであり得る。

【0178】

いくつかの実施形態では、第2の結合ドメインが、TNFRSF結合ドメイン上の結合を保持して、適切な免疫調節で標的化を可能にしながら、抗体コンストラクトのFcドメインのC末端または第1の抗原結合ドメインの軽鎖のC末端でscFvとしてTNFRSFメンバーに結合して、アゴニズムの欠如を付与することができる。

【0179】

第2の結合ドメインは、配列番号85～配列番号298として表1に示されるCDRのセットとの少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも100%の配列同一性を有する6つのCDRのセットを含むことができる。第2の結合ドメインは、a) 配列番号85のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号86のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号87のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号88のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号89のアミノ酸配列を含むLC DR2、および配列番号90のアミノ酸配列を含むLC DR3；b) 配列番号91のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号92のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号93のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号94のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号95のアミノ酸配列を含むLC DR2、および配列番号96のアミノ酸配列を含むLC DR3；c) 配列番号97のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号98のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号99のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号100のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号101のアミノ酸配列を含むLC DR2、および配列番号102のアミノ酸配列を含むLC DR3；d) 配列番号103のアミノ酸配列を含むHC DR1、配列番号104のアミノ酸配列を含むHC DR2、配列番号105のアミノ酸配列を含むHC DR3、配列番号106のアミノ酸配列を含むLC DR1、配列番号107のアミノ酸配列を含むLC DR

50

50

酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 2 7 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 ; g g) 配列番号 2 7 5 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 7 6 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 2 7 7 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 2 7 8 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 2 7 9 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 2 8 0 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 ; h h) 配列番号 2 8 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 8 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 2 8 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 2 8 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 2 8 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 2 8 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 ; i i) 配列番号 2 8 7 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 8 8 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 2 8 9 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 2 9 0 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 2 9 1 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 2 9 2 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 ; または j j) 配列番号 2 9 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 9 4 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 2 9 5 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 2 9 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 2 9 7 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 2 9 8 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する C D R のセットを含むことができる。

10

【0180】

抗体コンストラクトは、抗原に特異的に結合する第 2 の結合ドメインであって、配列番号 3 5 2 ~ 配列番号 4 3 6 として表 2 に示される可変領域のペアとの少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する可変領域のペアを含む第 2 の結合ドメインを含み得る。抗体コンストラクトは、抗原に特異的に結合する第 2 の結合ドメインであって、a) 配列番号 3 5 2 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 3 5 3 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_L 配列 ; b) 配列番号 3 5 4 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 3 5 5 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_L 配列 ; c) 配列番号 3 5 6 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 3 5 7 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_L 配列 ; d) 配列番号 3 5 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 3 5 9 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_L 配列 ; e) 配列番号 3 5 8 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_H 配列、および配列番号 3 6 0 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 % または少なくとも 1 0 0 % の配列同一性を有する V_L 配列 ; f) 配列番号 3 6 1 のアミノ酸配列との少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なく

20

30

40

50

50

50

50

40

抗体コンストラクトへのリンカーの結合

50

ばれ得る。本明細書に記載される抗体コンジュゲートは、リンカー、例えばペプチドリッカーを含み得る。本明細書に記載されるコンジュゲートおよび方法のリンカーは、コンジュゲートの活性部分（例えば、活性部分には、抗原結合ドメイン、Fcドメイン、標的化結合ドメイン、抗体、免疫モジュレーター、阻害剤などが含まれる）と、抗原などの同族結合パートナーであり得る標的の結合に影響を及ぼさない可能性がある。リンカーは、コンジュゲートの異なる部分間、例えば抗体コンストラクトと本開示の化合物（免疫調節化合物）との間の結合を形成することができる。特定の実施形態では、抗体コンジュゲートが複数のリンカーを含む。抗体コンジュゲートが複数のリンカーを含む特定の実施形態では、リンカーが同じリンカーであっても異なるリンカーであってもよい。

【0182】

リンカーは、抗体コンストラクトとリンカーとの間の結合によって、抗体コンストラクトと結合、すなわち共有結合的に結合され得る。リンカーは、抗線維症関連抗原抗体コンストラクトとリンカーとの間の結合によって抗線維症関連抗原抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、抗自己免疫関連抗原抗体コンストラクトとリンカーとの間の結合によって抗自己免疫関連抗原抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、抗自己炎症性関連抗原抗体コンストラクトとリンカーとの間の結合によって抗自己炎症性関連抗原抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、抗APC（抗原提示細胞）分子抗体とリンカーとの間の結合によって抗APC分子抗体と共有結合的に結合され得る。例えば、リンカーは、抗体コンストラクトのアミノ酸配列の末端と共有結合的に結合され得る、または抗体コンストラクトの側鎖修飾、例えばリジン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン酸、非天然アミノ酸残基、グルタミンもしくはグルタミン酸残基の側鎖と共有結合的に結合され得るだろう。リンカーは、抗体コンストラクトのFc領域のアミノ酸配列の末端と共有結合的に結合され得る、または抗体コンストラクトのFc領域の側鎖修飾、例えばリジン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン酸、非天然アミノ酸残基、グルタミンもしくはグルタミン酸残基の側鎖と共有結合的に結合され得る。リンカーは、抗体コンストラクトのFcドメインのアミノ酸配列の末端と共有結合的に結合され得る、または抗体コンストラクトのFcドメインの側鎖修飾、例えばリジン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン酸、非天然アミノ酸残基、グルタミンもしくはグルタミン酸残基の側鎖と共有結合的に結合され得る。

【0183】

リンカーは、ヒンジシステインで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、軽鎖定常ドメインリジンで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、軽鎖の操作されたシステインで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、Fc領域リジンで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、Fcドメインリジンで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、Fc領域システインで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、Fcドメインシステインで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、操作された軽鎖グルタミンで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、軽鎖内で操作された非天然アミノ酸で抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、重鎖内で操作された非天然アミノ酸で抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、重鎖のリジンで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。リンカーは、重鎖の操作されたシステインで抗体コンストラクトと共有結合的に結合され得る。アミノ酸は、例えばコンジュゲートのリンカーの結合で、本明細書に記載される抗体コンストラクトのアミノ酸配列中で操作され得る。操作されたアミノ酸を既存のアミノ酸の配列に付加してもよい。操作されたアミノ酸を、アミノ酸の配列の1つまたは複数の既存のアミノ酸と置換してもよい。

【0184】

リンカーは、スルフヒドリル基を介して抗体コンストラクトにコンジュゲートされ得る。リンカーは、一級アミンを介して抗体コンストラクトにコンジュゲートされ得る。リン

10

20

30

40

50

カーは、ケトン基を免疫調節化合物上のアルコキシアミンで修飾することによって形成されたオキシム基と反応する抗体コンストラクト上の非天然アミノ酸との間に作り出される結合であり得る。

【0185】

いくつかの実施形態では、操作されたシステインが、リンカーをこのような操作されたシステインに結合することができるように、抗体コンストラクトに導入される。例えば、操作されたシステインを、カバットのE U番号付けによるT 1 1 4（重鎖）、A 1 4 0（重鎖）、L 1 7 4（重鎖）、L 1 7 9（重鎖）、T 1 8 7（重鎖）、T 2 0 9（重鎖）、S 2 3 9（重鎖）、V 2 6 2（重鎖）、G 3 7 1（重鎖）、Y 3 7 3（重鎖）、E 3 8 2（重鎖）、S 4 0 0（重鎖）、S 4 2 4（重鎖）、N 4 3 4（重鎖）、Q 4 3 8（重鎖）、I 1 0 6（軽鎖）、R 1 0 8（軽鎖）、A 1 1 8（重鎖）、R 1 4 2（軽鎖）、K 1 4 9（軽鎖）および／またはV 2 0 5（軽鎖）でI g G（典型的にはI g G 1）に導入することができる。

10

【0186】

いくつかの実施形態では、1つまたは複数のリンカーが本明細書に記載される部位で抗体コンストラクトと共有結合的に結合している場合、抗体コンストラクトのF cドメインがF c受容体に結合することができる。特定の実施形態では、リンカーと結合した抗体コンストラクトまたはT G F β R 1阻害剤と結合したリンカーと結合した抗体コンストラクトが、抗体のF cドメインがF c受容体と結合する能力を保持する。特定の実施形態では、リンカーと結合した抗体コンストラクトまたはT G F β R 2阻害剤と結合したリンカーと結合した抗体コンストラクトが、抗体のF cドメインがF c受容体と結合する能力を保持する。特定の実施形態では、リンカーと結合した抗体コンストラクトまたはT N K S阻害剤と結合したリンカーと結合した抗体コンストラクトが、抗体のF cドメインがF c受容体と結合する能力を保持する。特定の実施形態では、リンカーと結合した抗体コンストラクトまたはT N I Kと結合したリンカーと結合した抗体コンストラクトが、抗体のF cドメインがF c受容体と結合する能力を保持する。特定の実施形態では、リンカーが本明細書に記載される部位で抗体コンストラクトと結合している場合、リンカーと結合した抗体コンストラクトまたは免疫調節化合物と結合したリンカーと結合した抗体コンストラクトの抗原結合ドメインが、その抗原に結合することができる。特定の実施形態では、リンカーが本明細書に記載される部位で抗体コンストラクトと結合している場合、リンカーと結合した抗体コンストラクトまたは免疫調節化合物と結合したリンカーと結合した抗体コンストラクトの第2の抗原結合ドメインが、その抗原に結合することができる。

20

30

【0187】

特定の実施形態では、リンカーまたは本明細書に開示される免疫調節化合物と結合したリンカーが、2 2 1、2 2 4、2 2 7、2 2 8、2 3 0、2 3 1、2 2 3、2 3 3、2 3 4、2 3 5、2 3 6、2 3 7、2 3 8、2 3 9、2 4 0、2 4 1、2 4 3、2 4 4、2 4 5、2 4 7、2 4 9、2 5 0、2 5 8、2 6 2、2 6 3、2 6 4、2 6 5、2 6 6、2 6 7、2 6 8、2 6 9、2 7 0、2 7 1、2 7 2、2 7 3、2 7 5、2 7 6、2 7 8、2 8 0、2 8 1、2 8 3、2 8 5、2 8 6、2 9 1、2 9 2、2 9 3、2 9 4、2 9 5、2 9 6、2 9 7、2 9 8、2 9 9、3 0 0、3 0 2、3 0 5、3 1 3、3 1 8、3 2 3、3 2 4、3 2 5、3 2 7、3 2 8、3 2 9、3 3 0、3 3 1、3 3 2、3 3 3、3 3 5、3 3 6、3 9 6、または4 2 8（F cドメインのアミノ酸残基の番号付けは、カバットのE Uインデックスに従う）から選択されるI g G 1 F cドメインのアミノ酸残基に結合していてもよい。

40

【0188】

特定の実施形態では、リンカーまたは本明細書に開示される免疫調節化合物と結合したリンカーが、2 2 1、2 2 4、2 2 7、2 2 8、2 3 0、2 3 1、2 2 3、2 3 3、2 3 4、2 3 5、2 3 6、2 3 7、2 3 8、2 3 9、2 4 0、2 4 1、2 4 3、2 4 4、2 4 5、2 4 7、2 4 9、2 5 0、2 5 8、2 6 2、2 6 3、2 6 4、2 6 5、2 6 6、2 6 7、2 6 8、2 6 9、2 7 0、2 7 1、2 7 2、2 7 3、2 7 5、2 7 6、2 7 8、2 8

50

0、281、283、285、286、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、302、305、313、318、323、324、325、327、328、329、330、331、332、333、335、336、396、または428（Fcドメインのアミノ酸残基の番号付けは、カバットのEUIンデックスに従う）から選択されるIgG1 Fcドメインのアミノ酸残基に結合していてもよい。

【0189】

いくつかの実施形態では、免疫調節化合物と結合したリンカーが抗体コンストラクトと結合している場合、第1の抗原に対する第1の抗原結合ドメインの K_d が保持され得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下での抗体コンストラクトの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d より約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約30倍、約35倍、約40倍、約45倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍または約120倍大きくなり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d は、10nM未満であり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d は、100nM未満、50nM未満、20nM未満、5nM未満、1nM未満または0.1nM未満であり得る。

【0190】

免疫調節化合物と結合したリンカーが抗体コンストラクトと結合している場合、第2の抗原に対する第2の抗原結合ドメインの K_d が保持され得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下での抗体コンストラクトの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d より約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約30倍、約35倍、約40倍、約45倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍または約120倍大きくなり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d は、10nM未満であり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d は、100nM未満、50nM未満、20nM未満、5nM未満、1nM未満または0.1nM未満であり得る。

【0191】

免疫調節化合物と結合したリンカーが抗体コンストラクトと結合している場合、第1の抗原についての第1の抗原結合ドメインの K_d は保持され得、第2の抗原についての第2の抗原結合ドメインの K_d は保持され得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下での抗体コンストラクトの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d より約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約30倍、約35倍、約40倍、約45倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍または約120倍大きくなり得、免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下での抗体コンストラクトの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d より約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約30倍、約35倍、約40倍、約45倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍または約120倍大きくなり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体

コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d は10 nM未満であり得、免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d は10 nM未満であり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第1の抗原結合ドメインと第1の抗原の結合についての K_d は、100 nM未満、50 nM未満、20 nM未満、5 nM未満、1 nM未満または0.1 nM未満であり得、免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの第2の抗原結合ドメインと第2の抗原の結合についての K_d は、100 nM未満、50 nM未満、20 nM未満、5 nM未満、1 nM未満または0.1 nM未満であり得る。

10

【0192】

免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFc受容体の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFc受容体の結合についての K_d より約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約30倍、約35倍、約40倍、約45倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍または約120倍大きくなり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFc受容体の結合についての K_d は、10 nM未満であり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFc受容体の結合についての K_d は、10 μ M未満、1 μ M未満、100 nM未満、50 nM未満、20 nM未満、5 nM未満、1 nM未満または0.1 nM未満であり得る。

20

【0193】

免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFc γ 受容体の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFc γ 受容体の結合についての K_d と等しいまたはその2倍、5倍もしくは10倍以上となり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFc γ 受容体の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFc γ 受容体の結合についての K_d の約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約30倍、約35倍、約40倍、約45倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍または約120倍以上となり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFc γ 受容体の結合についての K_d は、10 nM未満であり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFc γ 受容体の結合についての K_d は、10 μ M未満、1 μ M未満、100 nM未満、50 nM未満、20 nM未満、5 nM未満、1 nM未満または0.1 nM未満であり得る。

30

【0194】

免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFcRn受容体の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFcRn受容体の結合についての K_d と少なくとも等しいまたは少なくともその約2倍、5倍もしくは10倍以下となり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFcRn受容体の結合についての K_d は、免疫調節化合物の非存在下でのFcドメインとFcRn受容体の結合についての K_d と少なくとも等しいまたは少なくともその約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約30倍、約35倍、約40倍、約45倍、約50倍、約60倍、約70倍、約80倍、約90倍、約100倍、約110倍もしくは約120倍以下となり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFcRn受容体の結合についての K_d は、10 nM未満であり得る。免疫調節化合物の存在下での抗体コンス

40

50

トラクト免疫調節化合物コンジュゲートのFcドメインとFcRn受容体の結合についての K_d は、10 μ M未満、1 μ M未満、100 nM未満、50 nM未満、20 nM未満、5 nM未満、1 nM未満または0.1 nM未満であり得る。

【0195】

いくつかの実施形態では、免疫調節化合物と抗体コンストラクトの共有結合的結合後、Fcドメイン活性（例えば、Fc受容体の特異的プロファイルとの結合）が保持され得る。種々の実施形態では、Fcドメインが、FcRnについての保持された K_d 、または動物におけるコンジュゲートによる半減期の保持によって決定して、FcRnとの結合を保持することができる。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトのFcドメインが、Fc γ 受容体についての保持された K_d 、またはFc γ 受容体の特異的セットを発現している細胞でFc γ 受容体媒介活性をもたらす保持された能力によって決定して、Fc γ 受容体との結合を保持することができるが、コンジュゲートの結合ドメインの抗原はそうではない。

10

【0196】

いくつかの実施形態では、コンジュゲートの抗体コンストラクトのFcドメインを、Fc γ 受容体との結合を欠くよう選択することができ、これは結合アッセイ、細胞ベースのアッセイまたはこれらの組み合わせによってこの結合の欠如を保持することが示され得る。

【0197】

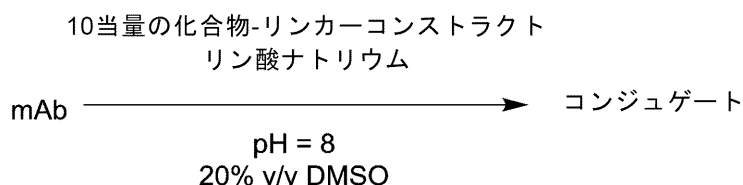
リジンベースのバイオコンジュゲーション

20

抗体コンストラクトを、リジンベースのバイオコンジュゲーション（bioconjugation）を介してリンカーにコンジュゲートすることができる。抗体コンストラクトを、適切なバッファー、例えば約2 mg/mL～約10 mg/mLの濃度のリン酸塩、ホウ酸塩、PBS、ヒスチジン、トリス-酢酸塩中で交換することができる。本明細書に記載される、適切な当量数のアミノピラジニカルボキサミド化合物およびリンカー、リンカーペイロードのコンストラクトを、攪拌しながら溶液として添加することができる。リンカーペイロードの物理特性に応じて、リンカーペイロードの添加前に、共溶媒を導入して、溶解度を促進することができる。観察される反応性に応じて、反応物を室温で2時間～約12時間攪拌することができる。反応の進行をLC-MSによって監視することができる。いったん反応が完了していると思われたら、残っているリンカーペイロードを適用可能な方法によって除去し、抗体コンジュゲートを所望の製剤バッファー中で交換することができる。以下のスキームA（コンジュゲート＝抗体コンジュゲート）に従って、a b抗体（mAb）およびリンカーペイロード、例えば10当量で始めて、リジン結合コンジュゲートを合成することができる。モノマー含有量および薬物-抗体コンストラクト比（モル比）は、本明細書に記載される方法によって決定することができる。

30

スキームA.



40

【0198】

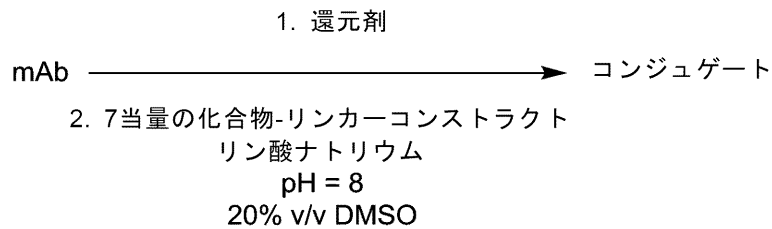
システインベースのバイオコンジュゲーション

抗体コンストラクトを、システインベースのバイオコンジュゲーションを介してリンカーにコンジュゲートすることができる。抗体コンストラクトを、適切な当量数の還元剤、例えばジチオトレイトールまたはトリス（2-カルボキシエチル）ホスフィンを用いて、適切なバッファー、例えば約2 mg/mL～約10 mg/mLの濃度のリン酸塩、ホウ酸塩、PBS、ヒスチジン、トリス-酢酸塩中で交換することができる。結果として生じた溶液を、所望の還元をもたらすのに適した量の時間および温度で攪拌することができる。

50

アミノピラジンカルボキサミド化合物およびリンカーのコンストラクトを、攪拌しながら溶液として添加することができる。リンカーペイロードの物理特性に応じて、リンカーペイロードの添加前に、共溶媒を導入して、溶解度を促進することができる。観察される反応性に応じて、反応物を室温で約1時間～約12時間攪拌することができる。反応の進行を液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)によって監視することができる。いったん反応が完了していると思われたら、残っている遊離リンカーペイロードを適用可能な方法によって除去し、抗体コンジュゲートを所望の製剤バッファー中で交換することができる。以下のスキームB(コンジュゲート=抗体コンジュゲート)に記載される条件を使用して、抗体(mAb)およびリンカーペイロード、例えば7当量で始めて、このようなシステインベースのコンジュゲートを合成することができる。モノマー含有量および薬物-抗体比は、本明細書に記載される方法によって決定することができる。

10



【0199】

20

免疫調節化合物

免疫調節化合物は、タンパク質標的に結合し、タンパク質標的の機能を活性化することができる小分子、大分子もしくは他の分子、またはタンパク質標的に結合し、タンパク質標的の機能を阻害することができる実体などの化合物であり得る。いくつかの実施形態では、免疫調節化合物が核酸ではない。いくつかの実施形態では、免疫調節化合物が、細胞内タンパク質標的に結合する。

【0200】

いくつかの実施形態では、免疫調節化合物を、ユビキチン媒介タンパク質標的破壊を増加させるように設計することができる。増加したユビキチン媒介タンパク質標的破壊は、E3ユビキチンリガーゼのタンパク質サブユニットに結合する小分子(複数可)を使用することができる。細胞のユビキチンプロテアソーム媒介タンパク質分解系は、複数のユビキチン分子と標的タンパク質上のリジン残基の共有結合を含み、それによって細胞プロテアソームによる分解のために標的タンパク質を標識する。ユビキチン分子をタンパク質標的に結合する方法は、典型的には、1)ユビキチンを活性化するE1酵素と、2)E2酵素(これは次の3)に活性化ユビキチンを転移する)と、3)標的タンパク質へのユビキチン結合を触媒するマルチサブユニットE3酵素リガーゼとの3つの酵素およびステップを含む。

30

【0201】

特異的E3リガーゼのサブユニットタンパク質に結合することができる小分子のいくつかの例を「PROTAC」と呼ぶことができ、これらは治療用途でユビキチンプロテアソーム系を利用して選択されたタンパク質標的を分解することができる。PROTACは、タンパク質標的に結合する小分子を含むことができ、リンカーによって、E3リガーゼサブユニットに結合することができる小分子と共有結合的に結合していることがある。ユビキチンプロテアソーム経路の酵素的機構を利用することによって、タンパク質標的阻害の力価を増加させることができる。しかしながら、現在のPROTACは、2つの課題に直面し得る：1)そのサイズが細胞内への効率的送達をより困難にするおそれがあり、2)強力なタンパク質標的阻害の全身送達、薬物によって通常示されるオンターゲットまたはオフターゲット毒性を悪化させるおそれがある。本明細書に開示されるコンジュゲートを、ユビキチンプロテアソーム経路を利用するという利益を維持しながら、これらの困難を克服するよう設計することができる。

40

50

【0202】

免疫調節化合物は、例えば免疫応答を寛容化する、抑制する、阻止する、迂回させる、または患者組織、患者細胞もしくは患者抗原に対する炎症反応を低下させることができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される免疫調節化合物が、例えばPI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2aアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCa3.1アゴニスト、TGFβR1阻害剤、TGFβR2阻害剤、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストであり得る。

10

【0203】

いくつかの実施形態では、免疫調節化合物が、例えばPI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC(ORAI1)阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARγアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2、A2aアゴニスト、ビタミンD受容体(VDR)アゴニストまたはGLI1阻害剤であり得る。

【0204】

いくつかの実施形態では、免疫調節化合物が、TGFβR1阻害剤、TGFβR2阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストである。

20

【0205】

いくつかの実施形態では、TGFβR1キナーゼの阻害剤が、その開示が本明細書に参照により援用される、米国特許出願公開第2018/0127426号、米国特許第8080568号、国際公開第2012/002680号、国際公開第2009/009059号、国際公開第2007/076127号、国際公開第2007076086号、国際公開第2006026306号、Bioorg. Med. Chem.、2014、22、2724~2732およびJ. Med. Chem. 2014、57、4213~4238に開示されるものを含む。

【0206】

いくつかの実施形態では、TGFβR2キナーゼの阻害剤が、その開示が本明細書に参照により援用される、国際公開第2015/136073号、Bioorg. Med. Chem. Lett.、2013、23、3248~3252、Acta Cryst.、2016、D72、658~674、国際公開第2016/020864号、米国特許出願公開第2014/0249135号、米国特許出願公開第20120225061号に開示されるもの、および3-アミノ-6-(4-(アミノメチル)フェニル)-N-(4-モルホリノピリジン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミドなどの化合物を含む。

30

【0207】

いくつかの実施形態では、TNKSの阻害剤が、その開示が本明細書に参照により援用される、中国特許第107226808号、欧州特許第3313177号、米国特許第9505749号、米国特許出願公開第2015/0045368号、国際公開第2014/036022号、国際公開第2017/076484号、国際公開第2018/046933号、国際公開第2018/003962号、Eur. J. Med. Chem.、2017、142、506~522に開示されるものを含む。

40

【0208】

いくつかの実施形態では、TNIKの阻害剤が、その開示が本明細書に参照により援用される、米国特許出願公開第2016/0264555号、国際公開第2015/083833号、米国特許出願公開第2010/0216795号、米国特許出願公開第20100137386号、Med. Chem. Commun.、2015、6、1564~1572およびBioorg. Med. Chem. Lett.、2013、23、569~

50

573に開示されるものを含む。

【0209】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、全身性エリテマトーデスを治療することができる。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートにコンジュゲートした化合物がTLR7アンタゴニストであり得る。

【0210】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、肥満細胞症／色素性蕁麻疹（urticaria pigmentosa）を治療することができる。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がc-KITキナーゼ阻害剤であり得る。

10

【0211】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、本明細書に記載される線維性疾患を治療することができる。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がKCa3.1アゴニストであり得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物が、GS-0976などのACC阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がASK1阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がTGFB β R1阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がTGFB β R2阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がTNKS阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がTNIK阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がGLI1阻害剤であり得る。

20

【0212】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、多発性硬化症を治療することができる。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトにコンジュゲートしてコンジュゲートを形成する化合物がフィンゴリモドであり得る。

30

【0213】

免疫調節化合物とその標的または標的タンパク質の結合によって、筋線維芽細胞、免疫細胞または両方で発現されるタンパク質の活性が増加し得る。いくつかの非限定的な例としては、CGS-21680などのアデノシン受容体A2Raのアゴニスト、またはFTY720および誘導されたアナログなどのホスファターゼPP2Aの活性を増加させるスフィンゴシン-1アナログである免疫調節化合物が挙げられる。

【0214】

免疫調節化合物とその標的またはタンパク質標的の結合によって、筋線維芽細胞、免疫細胞または両方で発現されるタンパク質標的の機能が阻害され得る。免疫調節化合物のいくつかの非限定的な例としては、免疫細胞におけるラバマイシン、LISTなどのmTORキナーゼのプロテインキナーゼ阻害剤；筋線維芽細胞、免疫細胞または両方における3-アミノ-6-(4-(アミノメチル)フェニル)-N-(4-モルホリノピリジン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミドなどのTGFB β R2キナーゼの阻害剤；免疫細胞におけるデュベリシブ、TG100713およびPF04691502などのPI3K γ とPI3K δ の一方または両方の阻害剤；ならびに筋線維芽細胞、免疫細胞または両方におけるKY-05009およびNCB-0846[4-((2-((4-(アミノメチル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-6-イル)アミノ)キナゾリン-8-イル)オキシ)シクロヘキサン-1-オール]などのTNIKの阻害剤が挙げられる。

40

【0215】

免疫調節化合物は、標的または標的タンパク質との共有結合によって標的阻害を媒介す

50

ることができる。標的タンパク質を阻害することができる免疫調節化合物の非限定的な例は、TGFβR1キナーゼの活性部位に結合することができる化合物であり得る。標的タンパク質を阻害することができる免疫調節化合物の非限定的な例は、TGFβR2キナーゼの活性部位に結合することができる化合物であり得る。標的タンパク質を阻害することができる免疫調節化合物の非限定的な例は、TNKSの活性部位に結合することができる化合物であり得る。標的タンパク質を阻害することができる免疫調節化合物の非限定的な例は、TNIKの活性部位に結合することができる化合物であり得る。

【0216】

免疫調節化合物は、タンパク質標的に結合することができ、筋線維芽細胞、免疫細胞または両方で発現される標的タンパク質の分解を媒介することによって、タンパク質標的の機能を阻害することができる。免疫調節化合物の非限定的な例としては、上記のTGFβR1、TGFβR2、TNKSおよびTNIKの阻害剤が挙げられる。免疫調節化合物の非限定的な例としては、(S)-2-アミノ-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)ベンジル)-N5-(2-(3-((S)-1-((2S, 4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3, 3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ-3-オキソプロボキシ)エチル)ペンタンジアミド(化合物1. 1)などのVHL結合部分または3-アミノ-6-(4-(2-((2S)-2-アミノ-6-(2-((2-(2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1, 3-ジオキソイソインドリン-4-イル)オキシ)アセトアミド)ヘキサジアミド)エチル)フェニル)-N-(4-モルホリノピリジン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミド(化合物1. 2)などのセレブロン結合部分などのE3ユビキチンリガーゼ結合部分と共有結合的に結合したまたは結合した上記のTGFβR1、TGFβR2、TNKSおよびTNIKの阻害剤がさらに挙げられる。VHLに結合する他の化合物は、国際公開第2013/106643号に開示されるものなどのヒドロキシプロリン化合物、ならびに米国特許出願公開第2016/0045607号、国際公開第2014/187777号、米国特許出願公開第2014/0356322号および米国特許第9249153号に開示される他の化合物であり得る。セレブロンに結合する他の化合物には、サリドマイド、レナリドミド、ボマリドミドおよびこれらのアナログが含まれる。セレブロンに結合する他の小分子化合物、例えば米国特許出願公開第2016/0058872号および米国特許出願公開第2015/0291562号に開示される化合物も知られている。

【0217】

いくつかの実施形態では、E3ユビキチンリガーゼ結合部分が第2の部分であり得る。いくつかの実施形態では、E3ユビキチンリガーゼ結合部分が、Von Hippel-Lindau E3ユビキチンリガーゼ(VHL)、セレブロン、マウス二重微小染色体2ホモログ(MDM2)、AMFR、APC/Cdc20、APC/Cdh1、C6orf157、Cbl、CBL1、CHFR、CHIP、DTL(Cdt2)、E6-AP、HACE1、HECTD1、HECTD2、HECTD3、HECW1、HECW2、HERC2、HERC3、HERC4、HERC5、HUWE1、HYD、ITCH、LNX1、マホグニン、MARCH-I、MARCH-II、MARCH-III、MARCH-IV、MARCH-VI、MARCH-VII、MARCH-VIII、MARCH-X、MEKK1、MIB1、MIB2、MycBP2、NEDD4、NEDD4L、パーキン、PELI1、Pirh2、PJA1、PJA2、PFFL、RFWD2、Rictor、RNF5、RNF8、RNF19、RNF190、RNF20、RNF34、RNF40、RNF125、RNF128、RNF138、RNF168、SCF/β-TrCP、SCF/FBW7、SCF/Skp2、SHPRH、SIAH1、SIAH2、SMURF1、SMURF2、TOPORS、TRAF6、TRAF7、TRIM63、UBE3B、UBE3C、UBR1、UBR2、UHRF2、WWP1、WWP2、またはZNF1などのE3ユビキチンリガーゼに結合することができる。

【0218】

本明細書に記載されるコンジュゲートは、標的細胞内の免疫調節化合物のタンパク質標的の活性を変化させることができる。

【0219】

種々の実施形態では、コンジュゲートが、第1の抗原結合ドメイン、第2の抗原結合ドメインまたはこれらの組み合わせを含む細胞内の免疫調節化合物のタンパク質標的の活性を増加させることができる。

【0220】

種々の実施形態では、コンジュゲートが、第1の抗原結合ドメイン、第2の抗原結合ドメインまたはこれらの組み合わせを含む細胞内の免疫調節化合物のタンパク質標的の活性を低下させることができる。コンジュゲートは、第1の抗原結合ドメイン、第2の抗原結合ドメインまたはこれらの組み合わせを含む細胞内の標的タンパク質分解を増加させることによって、免疫調節化合物のタンパク質標的の活性を低下させることができる。

10

【0221】

免疫細胞、筋線維芽細胞または炎症組織へのコンジュゲートの抗原標的化送達によって、免疫調節化合物の全身毒性を低下させることができる。いくつかの非限定的な例は、 $TGF\beta R1$ 、 $TGF\beta R2$ またはmTORキナーゼを阻害することができる免疫調節化合物である。免疫細胞または筋線維芽細胞へのコンジュゲートの抗原標的化送達によって、免疫調節の力価を増加させることができる。いくつかの非限定的な例は、より大きな非結合免疫調節化合物または第1の部分の比較的低い細胞透過性により、第2の部分またはE3ユビキチンリガーゼ結合部分と結合した免疫調節化合物または第1の部分を使用して標的タンパク質分解を促進することができるコンジュゲートで構成され得る。

20

【0222】

いくつかの態様では、本開示は、線維症を治療する方法であって、本明細書に記載される免疫調節化合物または塩を、それを必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。いくつかの態様では、本開示は、線維症を治療する方法であって、本明細書に記載される免疫調節化合物または塩を含むコンジュゲートを、それを必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。

【0223】

本明細書に記載される免疫調節化合物の塩、特に薬学的に許容される塩が本開示に含まれる。十分に酸性の官能基、十分に塩基性の官能基または両方の官能基を有する本開示の免疫調節化合物は、いくつかの無機塩基、ならびに無機および有機酸のいずれかと反応して塩を形成し得る。あるいは、本質的に帯電している免疫調節化合物、例えば四級窒素有するものは、適切な対イオン、例えば臭化物、塩化物またはフッ化物、特に臭化物などのハロゲン化合物と塩を形成し得る。

30

【0224】

本明細書に記載される免疫調節化合物は、いくつかの場合、ジアステレオマー、光学異性体または他の立体異性形態として存在し得る。本明細書に提示される免疫調節化合物は、全てのジアステレオマー、光学異性体およびエピマー形態ならびにこれらの適切な混合物を含む。立体異性体の分離は、クロマトグラフィーにより、またはジアステレオマーを形成し、再結晶もしくはクロマトグラフィーにより分離することにより、またはこれらのいずれかの組み合わせにより行われ得る。（この開示について本明細書に参照により援用される、Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, 「Enantiomers, Racemates and Resolutions」、John Wiley And Sons, Inc.、1981）。立体異性体は立体選択的合成によっても得ることができる。

40

【0225】

本明細書に記載される方法およびコンジュゲートおよび組成物は、免疫調節化合物の非晶質形態ならびに結晶形態（多形としても知られる）の使用を含む。本明細書に記載される免疫調節化合物は、薬学的に許容される塩の形態であり得る。さらに、同じ種類の活性

50

を有するこれらの免疫調節化合物の活性代謝産物が本開示の範囲に含まれる。さらに、本明細書に記載される免疫調節化合物は、非溶媒和形態ならびに水、エタノールなどの薬学的に許容される溶媒による溶媒和形態で存在し得る。本明細書に提示される免疫調節化合物の溶媒和形態も本明細書に開示されるとみなされる。

【0226】

特定の実施形態では、免疫調節化合物または塩が、例えば親化合物のヒドロキシルがエステルもしくは炭酸塩として提供される、または親化合物に存在するカルボン酸がエステルとして提供されるプロドラッグであり得る。「プロドラッグ」という用語は、生理的条件下で、本開示の薬学的薬剤に変換される化合物を包含することを意図している。プロドラッグを作製する1つの方法は、生理的条件下で加水分解されて所望の分子を明らかにする1つまたは複数の選択された部分を含めることである。他の実施形態では、プロドラッグが、宿主動物の特異的標的細胞などの宿主動物の酵素活性によって変換される。例えば、エステルまたは炭酸塩（例えば、アルコールまたはカルボン酸のエステルまたは炭酸塩およびホスホン酸のエステル）が、本開示の好ましいプロドラッグである。

10

【0227】

プロドラッグがインビボで代謝されて免疫調節化合物を生成する、本明細書に記載される化合物のプロドラッグ形態が、特許請求の範囲内に含まれる。いくつかの場合、本明細書に記載される免疫調節化合物のいくつかが別の誘導体または活性化合物のプロドラッグであり得る。

【0228】

プロドラッグは通常、いくつかの状況で、親薬物よりも投与するのが容易であり得るので、有用である。プロドラッグは、例えば経口投与によって生体利用可能となり得るが、親はそうではない。プロドラッグは、親薬物に対して化合物の細胞透過性を増強するのを助け得る。プロドラッグはまた、親薬物よりも改善した薬学的組成物への溶解度を有し得る。プロドラッグは、部位特異的組織への薬物輸送を増強するまたは細胞内での薬物滞留を増加させる修飾剤として使用するための可逆性薬物誘導体として設計され得る。

20

【0229】

特定の実施形態では、プロドラッグが、細胞内の条件下で、例えば酵素的または化学的に、親化合物に変換され得る。特定の実施形態では、親化合物が、細胞内の条件下で帯電され得る、例えばプロドラッグの加水分解から生じる、酸性部分を含む。特定の実施形態では、プロドラッグが、いったん細胞膜を通過して細胞内に行くと、親化合物に変換される。特定の実施形態では、親化合物が、減少した親油性および増加した親水性などの、プロドラッグに対して減少した細胞膜透過性特性を有する。

30

【0230】

特定の実施形態では、酸性部分を有する親化合物が、酸性部分を有さない同化合物よりも長い持続時間、細胞内に保持される。

【0231】

酸性部分を有する親化合物は、酸性部分を有さない同化合物に対して、細胞内に保持され得る、すなわち、薬物滞留が10%以上、例えば15%以上、例えば20%以上、例えば25%以上、例えば30%以上、例えば35%以上、例えば40%以上、例えば45%以上、例えば50%以上、例えば55%以上、例えば60%以上、例えば65%以上、例えば70%以上、例えば75%以上、例えば80%以上、例えば85%以上、または90%以上でさえあり得る。

40

【0232】

いくつかの実施形態では、プロドラッグの設計が、薬学的薬剤の親油性を増加させる。いくつかの実施形態では、プロドラッグの設計が有効な水溶解度を増加させる。例えば、その開示について全てが本明細書により援用される、Fedoraら、Am. J. Physiol.、269:G210~218(1995);McLoedら、Gastroenterol.、106:405~413(1994);Hochhausら、Biomed. Chrom.、6:283~286(1992);J. LarsenおよびH. B

50

undgaard、Int. J. Pharmaceutics、37、87 (1987) ; J. Larsenら、Int. J. Pharmaceutics、47、103 (1988) ; Sinkulaら、J. Pharm. Sci.、64:181~210 (1975) ; T. HiguchiおよびV. Stella、Pro-drugs as Novel Delivery Systems、A. C. S. Symposium Seriesの第14巻 ; およびEdward B. Roche、Bioreversible Carriers in Drug Design、American Pharmaceutical Association and Pergamon Press、1987を参照されたい。別の実施形態によると、本開示は、上に定義される化合物を生成する方法を提供する。化合物は従来技術を使用して合成され得る。有利には、これらの化合物は、容易に入手可能な出発物質から簡便に合成される。

10

【0233】

本明細書に記載される化合物の合成に有用な合成化学変換および方法は、当該技術分野で知られており、例えば、R. Larock、Comprehensive Organic Transformations (1989) ; T. W. GreeneおよびP. G. M. Wuts、Protective Groups in Organic Synthesis、第2版 (1991) ; L. FieserおよびM. Fieser、Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis (1994) ; およびL. Paquette編、Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis (1995) に記載されるものを含む。

20

【0234】

リンカー

本明細書に記載される免疫調節化合物および塩は、リンカー、例えば切断可能なリンカーまたは非切断可能なリンカーと共有結合的に結合している。特定の実施形態では、リンカーが、抗体とも共有結合的に結合しており、抗体コンジュゲートまたはコンジュゲートと呼ばれる。本明細書に記載されるコンジュゲートのリンカーは、コンジュゲートまたは抗体コンストラクトの活性部分、例えば第1の抗原結合ドメイン、Fcドメイン、第2の抗原結合ドメイン、抗体、免疫調節化合物、アンタゴニスト、アゴニストなどと、抗原などの同族結合パートナーであり得る標的の結合に影響を及ぼさない可能性がある。コンジュゲートは複数のリンカーを含むことができる。これらのリンカーは同じリンカーであっても異なるリンカーであってもよい。本明細書に記載されるリンカーは、2つの小分子結合部分を結合し、結合した小分子を抗体に結合する多機能性リンカーであり得る。

30

【0235】

リンカーは、短い、柔軟性、剛性、切断可能、非切断可能、親水性または疎水性であり得る。リンカーは、柔軟性のセグメントまたは剛性のセグメントなどの異なる特性を有するセグメントを含むことができる。リンカーは、細胞外環境に対して化学的に安定である、例えば血流中で化学的に安定であることができる、または安定でない結合を含み得る。リンカーは、細胞内で特異的にまたは非特異的に切断されるおよび／または破壊するまたは崩壊するよう設計された結合を含むことができる。切断可能なリンカーは、酵素に感受性であり得る。切断可能なリンカーは、プロテアーゼなどの酵素によって切断され得る。切断可能なリンカーは、バリナーシトルリンペプチドまたはバリナーアラニンペプチドを含むことができる。バリナーシトルリンまたはバリナーアラニン含有リンカーは、ペンタフルオロフェニル基を含むことができる。バリナーシトルリンまたはバリナーアラニン含有リンカーは、スクシンイミド基を含むことができる。バリナーシトルリンまたはバリナーアラニン含有リンカーは、パラアミノ安息香酸 (PABA) 基を含むことができる。バリナーシトルリン、バリナーアラニン (VA) またはグリシン-グリシン-フェニルアラニン-グリシン (GGFG) テトラペプチドを含むリンカーは、PABA基およびペンタフルオロフェニル基を含むことができる。ペプチドベースのリンカーは、PABA基およびスクシンイミド基を含むことができる。

40

50

【0236】

非切断可能なリンカーはプロテアーゼ非感受性であり得る。非切断可能なリンカーは、マレイミドカプロイルリンカーであり得る。マレイミドカプロイルリンカーは、N-マレイミドメチルシクロヘキサノー1-カルボキシレートを含むことができる。マレイミドカプロイルリンカーは、スクシンイミド基を含むことができる。リンカーはマレイミドカプロイル基および1つまたは複数のポリエチレングリコール分子の組み合わせであり得る。リンカーはマレイミド-PEG4リンカーであり得る。リンカーは、スクシンイミド基を含むマレイミドカプロイルリンカーおよび1つまたは複数のポリエチレングリコール分子の組み合わせであり得る。リンカーは、ポリエチレングリコール分子に結合したマレイミドを含むことができ、ポリエチレングリコールがより多くのリンカー柔軟性を可能にすることができる、または使用され得る。

10

【0237】

リンカーはまた、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、ポリエーテル、ポリエステルまたはポリアミド基（複数可）を含むことができる、ならびに／あるいはポリアミノ酸、ポリペプチド、切断可能なペプチドまたはアミノベンジルカルバメートを含むことができる。リンカーは、一端にマレイミド、他端にN-ヒドロキシスクシンイミジルエステルを含むことができる。リンカーは、アセチル化されたN末端アミンを有するリジン、およびバリニンシトルリン切断部位を含むことができる。リンカーは、微生物トランスグルタミナーゼによって作り出される結合であり得、この結合は、グルタミン側鎖のアシル基とリジン鎖の一級アミンとの間の結合形成を触媒する酵素の結果として、アミン含有部分と、グルタミンを含むよう操作された部分との間に作り出され得る。リンカーは反応性一級アミンを含むことができる。リンカーは、ソルターゼAリンカーであり得る。ソルターゼAリンカーは、LPXTG（配列番号492）認識モチーフをN末端GGGモチーフと融合して天然アミド結合を再生するソルターゼA酵素によって作り出され得る。そのため、作り出されたリンカーは、LPXTG認識モチーフに結合した部分を、N末端GGGモチーフに結合した部分と結合することができる。

20

【0238】

本明細書に記載されるコンジュゲートでは、免疫調節化合物または塩が、リンカーによって抗体コンストラクトに結合している。化合物または塩をコンジュゲートの抗体に結合するリンカーは、短い、長い、疎水性、親水性、柔軟性もしくは剛性であり得る、またはそれぞれ独立に、リンカーが異なる特性を有するセグメントを含み得るように上記特性のうちの1つまたは複数を含むセグメントで構成され得る。リンカーは、2つ以上の化合物または塩を抗体上の単一部位と共有結合的に結合するよう多価であっても、単一化合物または塩を抗体上の単一部位と共有結合的に結合するよう一価であってもよい。

30

【0239】

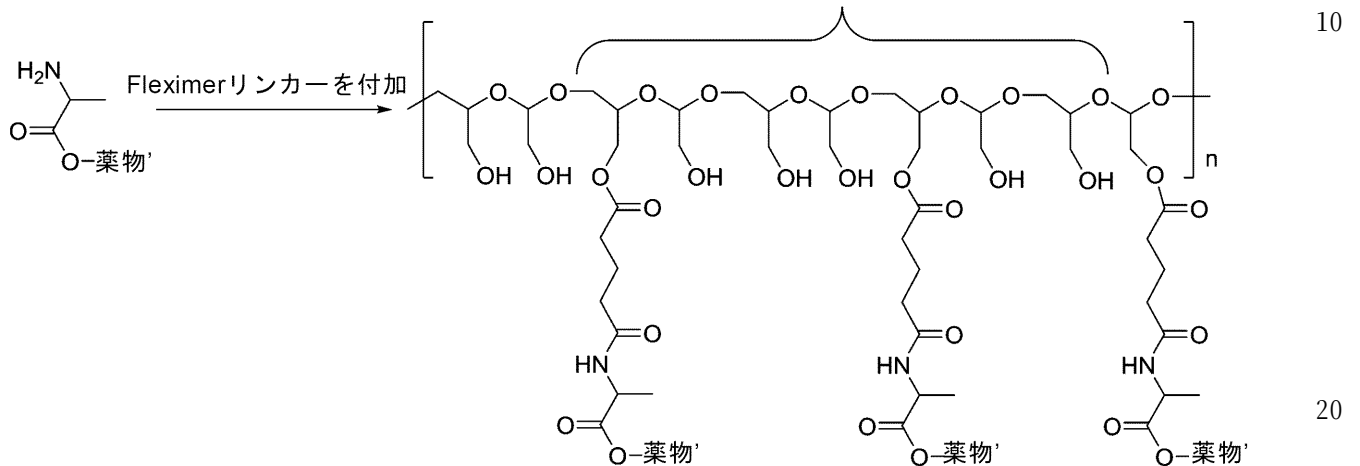
当業者によって認識されるように、リンカーは、リンカーと抗体コンストラクトと化合物との間の共有結合によって免疫調節化合物を抗体に結合し得る。本明細書で使用される場合、「リンカー」という表現は、(i) リンカーを免疫調節化合物に共有結合的に結合することができる官能基およびリンカーを抗体に共有結合的に結合することができる官能基を含む非コンジュゲート形態のリンカー；(ii) リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合することができる官能基を含み、免疫調節化合物と共有結合的に結合している、またはその逆である部分的にコンジュゲートした形態のリンカー；および(iii) 免疫調節化合物と抗体コンストラクトの両方と共有結合的に結合している完全にコンジュゲートした形態のリンカーを含むことを意図している。一実施形態は、細胞表面受容体または腫瘍細胞上で発現される腫瘍関連抗原に結合する抗体を、リンカーまたはリンカー-免疫調節化合物が抗体に共有結合的に結合する条件下で、本明細書に記載されるリンカーまたはリンカー-免疫調節化合物と接触させることによって形成されるコンジュゲートに関する。一実施形態は、リンカーまたはリンカー-免疫調節化合物が抗体と共有結合的に結合する条件下で、本明細書に記載されるリンカーまたはリンカー-免疫調節化合物を接触させることによって形成されるコンジュゲートを作製する方法に関する。

40

50

【0240】

多くの免疫調節化合物を抗体コンストラクト（例えば、抗体）に結合するために使用され得る例示的多価リンカーが記載される。例えば、Fleximer（登録商標）リンカー技術は、優れた物理化学特性を有する高DAR ADCを可能にする能力を有する。以下に示されるように、Fleximer（登録商標）リンカー技術は、エステル結合の配列を介して、薬物分子を可溶化ポリアセタール骨格に組み込むことに基づく。この方法は、優れた物理化学特性を維持しながら、高負荷コンジュゲート（DAR最大20）を与える。



薬物=免疫調節化合物

【0241】

上のスキームに示されるFleximer（登録商標）リンカー技術を利用するために、脂肪族アルコールが免疫調節化合物に存在することができる、または脂肪族アルコールを免疫調節化合物に導入することができる。次いで、アルコール部分をアラニン部分にコンジュゲートし、次いで、これをFleximer（登録商標）リンカーに合成的に組み込む。インビトロでのADCのリボソームプロセッシングによって、親アルコール含有薬物が放出される。

【0242】

例として、および限定されないが、本明細書に記載されるコンジュゲートに含まれ得るいくつかの切断可能なリンカーおよび非切断可能なリンカーを以下に記載する。

【0243】

切断可能なリンカーは、インビトロおよびインビボで切断可能であり得る。切断可能なリンカーは、化学的または酵素的に不安定または分解可能な結合を含むことができる。切断可能なリンカーは、細胞質中での還元、リソソーム中での酸性条件への曝露、または細胞内の特異的プロテアーゼもしくは他の酵素による切断などの細胞内の過程に依存して、免疫調節化合物を遊離することができる。切断可能なリンカーは、化学的または酵素的に切断可能である1つまたは複数の化学結合を組み込むことができるが、リンカーの残りは非切断可能であり得る。

【0244】

リンカーは、ヒドラゾンおよび／またはジスルフィド基などの化学的に不安定な基を含むことができる。化学的に不安定な基を含むリンカーは、血漿といくつかの細胞質画分との間で異なる特性を利用することができる。ヒドラゾン含有リンカーについて免疫調節化合物放出を促進することができる細胞内条件は、エンドソームおよびリソソームの酸性環境であり得るが、ジスルフィド含有リンカーは、高いチオール濃度、例えばグルタチオンを含むことができるサイトゾルで還元され得る。化学的に不安定な基を含むリンカーの血

漿安定性は、化学的に不安定な基の近くに置換基を使用して立体障害を導入することによって増加され得る。

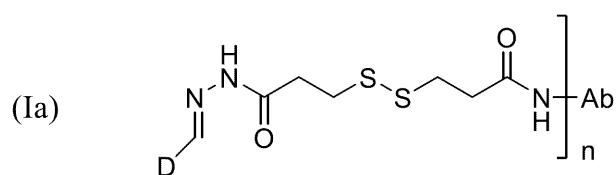
【0245】

ヒドラゾンなどの酸に不安定な基は、血液の中性pH環境（pH7.3～7.5）で全身循環中インタクトなままであることができ、いったん抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートが細胞の穏やかに酸性のエンドソーム（pH5.0～6.5）およびリソソーム（pH4.5～5.0）画分に内部移行すると、加水分解を受けて、免疫調節化合物を放出することができる。このpH依存性放出機構は、薬物の非特異的放出に関連し得る。リンカーのヒドラゾン基の安定性を増加させるために、化学修飾、例えば置換によってリンカーを変化させて、循環中での最小限の損失でリソソーム中でのより効率的な放出を達成するよう調整することを可能にすることができる。

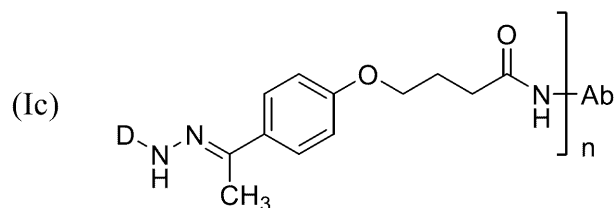
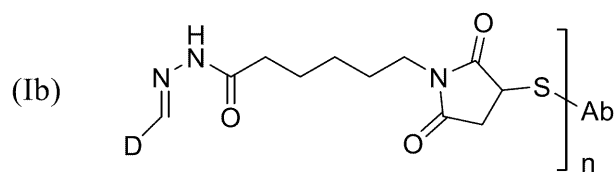
10

【0246】

ヒドラゾン含有リンカーは、追加の酸に不安定な切断部位および／または酵素的に不安定な切断部位などの追加の切断部位を含むことができる。例示的ヒドラゾン含有リンカーを含む抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートは、例えば以下の構造を含むことができる：



20



30

（式中、それぞれ、Dは免疫調節化合物であり、Abは抗体コンストラクトであり、nは抗体コンストラクトと結合したリンカー（LP）と結合した化合物の数を表す）。リンカー（Ia）などの一定のリンカーでは、リンカーが2つの切断可能な基—ジスルフィドおよびヒドラゾン部分を含むことができる。このようなリンカーについては、非修飾遊離免疫調節化合物の有効な放出が、酸性pHまたはジスルフィド還元と酸性pHを必要とし得る。（Ib）および（Ic）などのリンカーは、単一ヒドラゾン切断部位で有効であり得る。

40

【0247】

リンカーに含まれ得る他の酸に不安定な基には、シス—アコニチル含有リンカーが含まれる。シス—アコニチル化学は、アミド結合と並置されたカルボン酸を使用して、酸性条件下でアミド加水分解を加速することができる。

【0248】

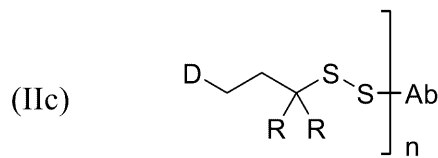
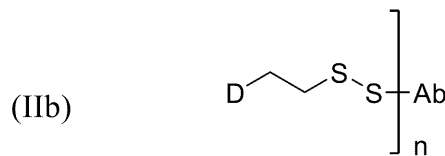
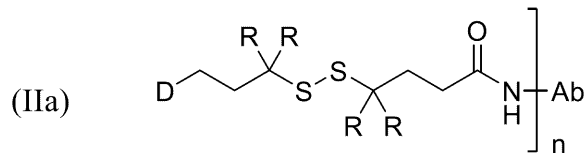
切断可能なリンカーはまた、ジスルフィド基を含むことができる。ジスルフィドは、生理的pHで熱力学的に安定であることができ、サイトゾルが細胞外環境と比較して有意に多い還元環境を提供し得る細胞内への内部移行で免疫調節化合物を放出するよう設計することができる。ジスルフィド含有リンカーが循環中で適度に安定であり、サイトゾルで免疫調節化合物を選択的に放出することができるように、ジスルフィド結合の切断は（還元

50

型) グルタチオン (G S H) などの細胞質チオール補助因子の存在を必要とし得る。細胞内酵素タンパク質ジスルフィドイソメラーゼまたはジスルフィド結合を切断することができる同様の酵素も、細胞内でのジスルフィド結合の優先的な切断に寄与することができる。G S Hは、約 $5 \mu\text{M}$ という有意に低濃度の循環中の最も豊富な低分子量チオールである G S F またはシステインと比較して $0.5 \sim 10 \text{ mM}$ の濃度範囲で細胞中に存在することができる。不規則な血流が低酸素状態をもたらし得る腫瘍細胞は、還元酵素の増強した活性、それゆえ、いっそう高いグルタチオン濃度をもたらし得る。ジスルフィド含有リンカーのインビボ安定性は、リンカーの化学修飾、例えばジスルフィド結合に隣接した立体障害の使用によって増強され得る。

【0249】

例示的ジスルフィド含有リンカーを含む抗体コンジュゲートは、以下の構造を含むことができる：



(式中、それぞれ、Dは免疫調節化合物であり、Abは抗体コンストラクトであり、nは抗体コンストラクトと結合したリンカー (LP) と結合した化合物の数を表し、Rは各出現で、例えば水素またはアルキルから独立に選択される)。ジスルフィド結合に隣接した立体障害を増加させることによって、リンカーの安定性を増加させることができる。

【0250】

使用することができる別の種類のリンカーは、酵素によって特異的に切断されるリンカーである。例えば、リンカーは、リソソーム酵素によって切断され得る。このようなリンカーはペプチドベースであり得る、または酵素の基質として作用することができるペプチド性領域を含むことができる。ペプチドベースのリンカーは、化学的に不安定なリンカーよりも血漿および細胞外環境で安定であり得る。

【0251】

リソソームタンパク質分解酵素は、内因性阻害剤およびリソソームと比較して不利に高い血液の pH 値のために血液で極めて低い活性を有し得るので、ペプチド結合は優れた血清安定性を有することができる。抗体コンストラクトからの免疫調節化合物の放出は、リソソームプロテアーゼ、例えばカテプシンおよびプラスミンの作用によって起こることができる。これらのプロテアーゼは、一定の腫瘍組織中で高レベルで存在し得る。リンカーはリソソーム酵素によって切断可能であり得る。リソソーム酵素は、例えばカテプシン B、 β -グルクロニダーゼまたは β -ガラクトシダーゼであり得る。

【0252】

切断可能なペプチドは、G l y - P h e - L e u - G l y、A l a - L e u - A l a - L e u、G l y - G l y - P h e - G l y などのテトラペプチド、または V a l - C i t、V a l - A l a および P h e - L y s などのジペプチドから選択され得る。ジペプチドは、より長いペプチドと比較して低い疎水性を有することができる。

【0253】

10

20

30

40

50

種々のジペプチドベースの切断可能なリンカーを本明細書に記載される抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートに使用することができる。

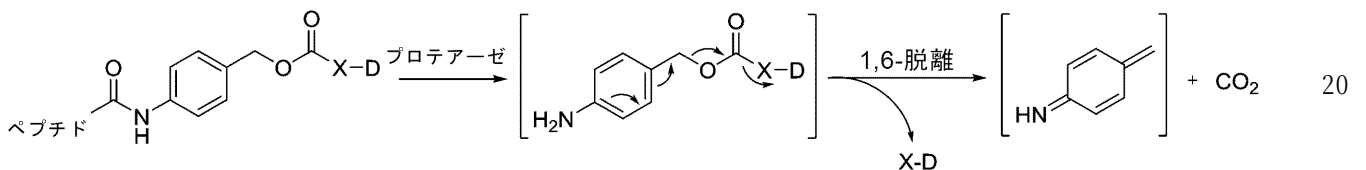
【0254】

酵素的に切断可能なリンカーは、免疫調節化合物を酵素切断部位から空間的に分離する自壊性スペーサーを含むことができる。免疫調節化合物とペプチドリンカーの直接結合によって、免疫調節化合物のアミノ酸付加物のタンパク質分解性放出がもたらされ、それによってその活性が損なわれ得る。自壊性スペーサーの使用によって、アミド結合加水分解で完全に活性な化学的に修飾されていない免疫調節化合物の脱離が可能になり得る。

【0255】

ある自壊性スペーサーは二官能性パラアミノベンジルアルコール基であり得、これがアミノ基を介してペプチドに結合して、アミド結合を形成することができ、一方、アミン含有免疫調節化合物を、カルバメート官能基を介してリンカーのベンジル性ヒドロキシル基に結合（してp-アミノベンジルカルバメート、PABCをもたらし）することができる。得られたプロ免疫調節化合物は、プロテアーゼ媒介切断で活性化されて、1,6-脱離反応をもたらし、非修飾免疫調節化合物、二酸化炭素およびリンカー基の残遺物を放出することができる。以下のスキームは、p-アミノベンジルカルバメートの断片化および免疫調節化合物の放出を示している：

10



20

（式中、X-Dは非修飾免疫調節化合物を表す）。

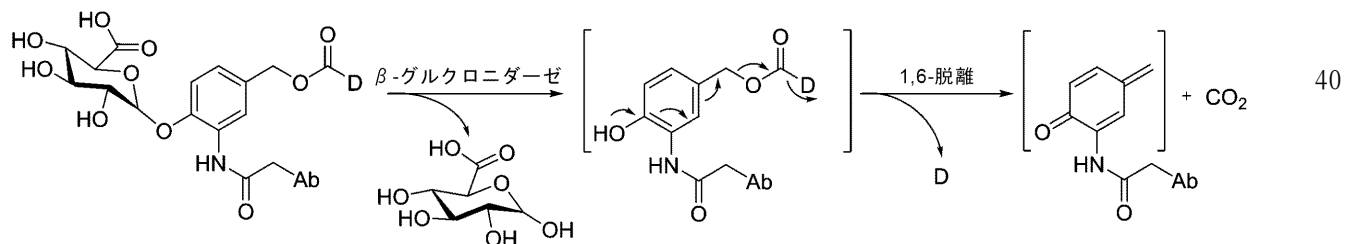
【0256】

この自壊性基の複素環式変異体も記載されている。

【0257】

酵素的に切断可能なリンカーはβ-グルクロン酸ベースのリンカーであり得る。免疫調節化合物の容易な放出は、リソソーム酵素β-グルクロニダーゼによるβ-グルクロニドグルコシド結合の切断を介して実現され得る。この酵素はリソソーム内に豊富に存在し、いくつかの腫瘍型では過剰発現され得るが、細胞外での酵素活性は低くなり得る。β-グルクロン酸ベースのリンカーを使用して、β-グルクロニドの親水性の性質により、抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートが凝集を受ける傾向を回避することができる。特定の実施形態では、β-グルクロン酸ベースのリンカーが、抗体コンストラクトを疎水性免疫調節化合物に結合することができる。以下のスキームは、β-グルクロン酸ベースのリンカーを含む抗体コンストラクト（Ab）免疫調節化合物コンジュゲートからの免疫調節化合物（D）の放出を示している：

30



40

【0258】

オーリスタチン、カンプトテシンおよびドキシソルビシンアナログ、CBIマイナーグループバインダーおよびサイムベリン（psymberin）などの薬物を抗体に結合するのに有用な種々の切断可能なβ-グルクロン酸ベースのリンカーが記載されている。これらのβ-グルクロン酸ベースのリンカーが、本明細書に記載されるコンジュゲートに使用

50

され得る。特定の実施形態では、酵素的に切断可能なリンカーが β -ガラクトシドベースのリンカーである。 β -ガラクトシドはリソソーム内に豊富に存在するが、細胞外での酵素活性は低い。

【0259】

さらに、フェノール基を含む化合物を、フェノール性酸素を介してリンカーと共有結合的に結合することができる。1つのこのようなリンカーは、ジアミノエタン「スペースリンク (Space Link)」を伝統的な「PABO」ベースの自壊性基と併せて使用する方法に依存して、フェノールを送達する。

【0260】

切断可能なリンカーは非切断可能な部分もしくはセグメントを含むことができる、および／または切断可能なセグメントもしくは部分を非切断可能なリンカーに含めてこれを切断可能にすることができる。単なる例として、ポリエチレングリコール (PEG) および関連するポリマーは、ポリマー骨格に切断可能な基を含むことができる。例えば、ポリエチレングリコールまたはポリマーリンカーは、ジスルフィド、ヒドラゾンまたはジペプチドなどの1つまたは複数の切断可能な基を含むことができる。

10

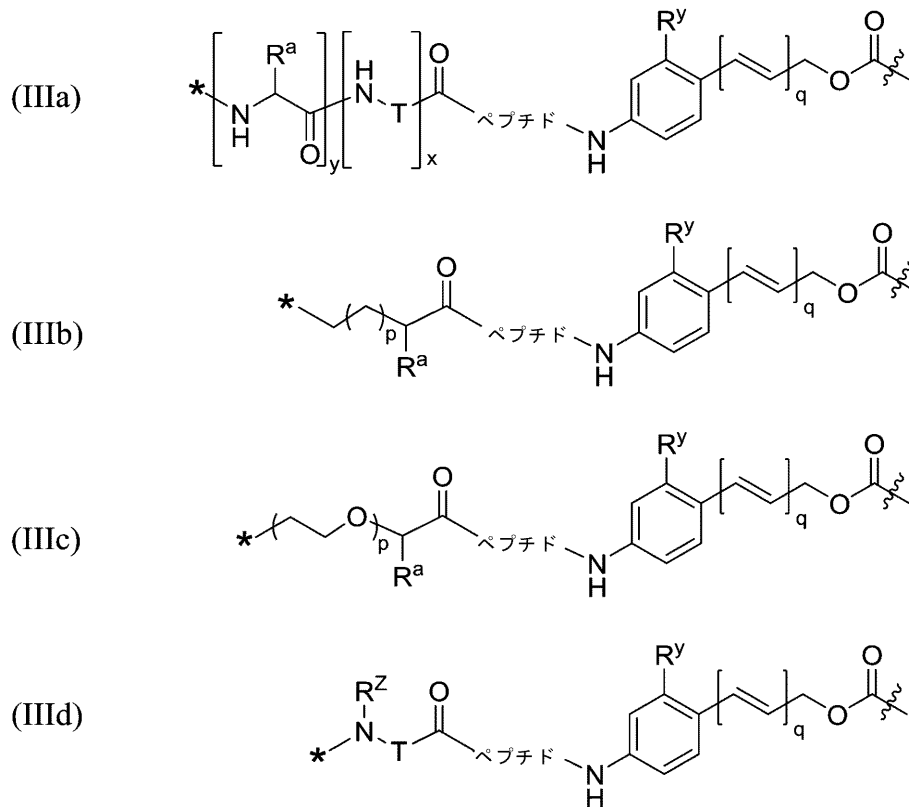
【0261】

リンカーに含めることができる他の分解可能な結合は、PEGカルボン酸または活性化PEGカルボン酸と免疫調節化合物上のアルコール基の反応によって形成されるエステル結合を含むことができ、このようなエステル基は生理的条件下で加水分解して免疫調節化合物を放出することができる。加水分解的に分解可能な結合は、それだけに限らないが、ポリマーの末端およびオリゴヌクレオチドの5'ヒドロキシル基に、それだけに限らないが、炭酸結合；アミンとアルデヒドの反応から得られるイミン結合；アルコールとリン酸基の反応によって形成されるリン酸エステル結合；アルデヒドとアルコールの反応生成物であるアセタール結合；ホルメートとアルコールの反応生成物であるオルトエステル結合；およびホスホロアミデートによって形成されるオリゴヌクレオチド結合を含むことができる。

20

【0262】

リンカーは、酵素的に切断可能なペプチド部分を含むことができる、例えば構造式 (I I I a)、(I I I b)、(I I I c) もしくは (I I I d) :



10

20

30

50

またはその塩（式中、ペプチドはリソソーム酵素によって切断可能なペプチド（ $N \rightarrow C$ と示される、ペプチドはアミノおよびカルボキシ「末端」を含む）を表し； T は1つまたは複数のエチレングリコール単位またはアルキレン鎖またはこれらの組み合わせを含むポリマーを表し； R^a は水素、アルキル、スルホネートおよびメチルスルホネートから選択され； R^y は水素または $C_1 \sim 4$ アルキル- $(O)_r$ - $(C_1 \sim 4$ アルキレン) $_s$ - G^1 または $C_1 \sim 4$ アルキル- $(N)-[(C_1 \sim 4$ アルキレン)- $G^1]$ $_2$ であり； R^z は $C_1 \sim 4$ アルキル- $(O)_r$ - $(C_1 \sim 4$ アルキレン) $_s$ - G^2 であり； G^1 は SO_3H 、 CO_2H 、PEG 4~32または糖部分であり； G^2 は SO_3H 、 CO_2H またはPEG 4~32部分であり； r は0または1であり； s は0または1であり； p は0~5の範囲の整数であり； q は0または1であり； x は0または1であり； y は0または1であり；



はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表し；*はリンカーの残りとの結合点を表す）

を含むリンカーである。

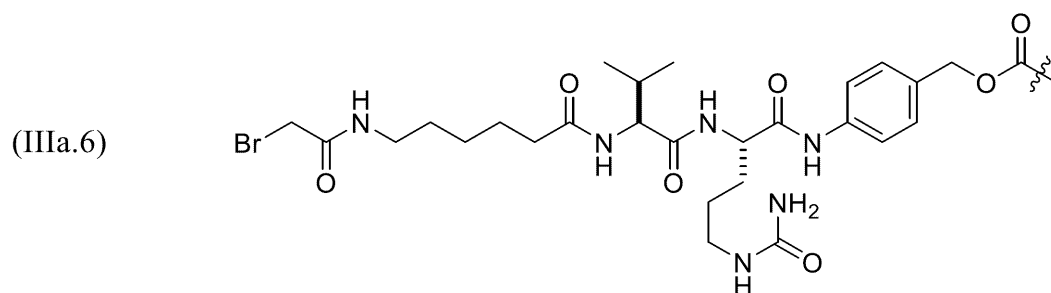
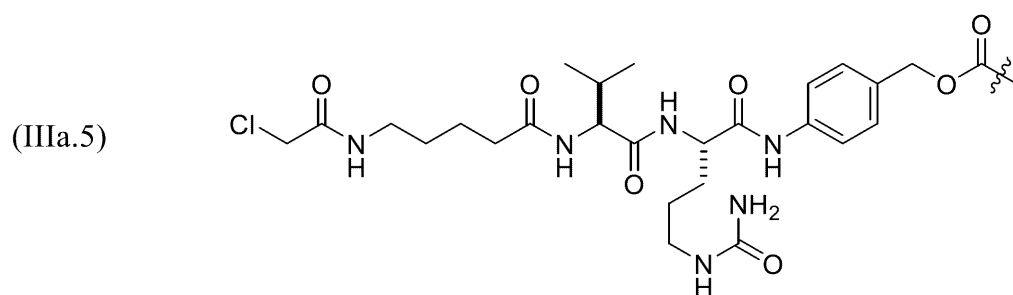
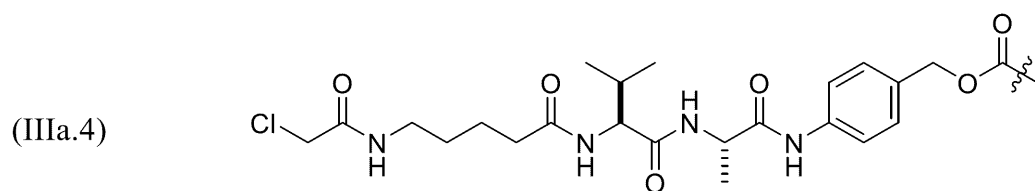
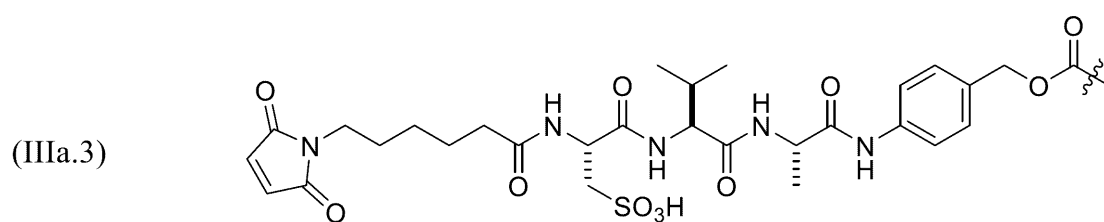
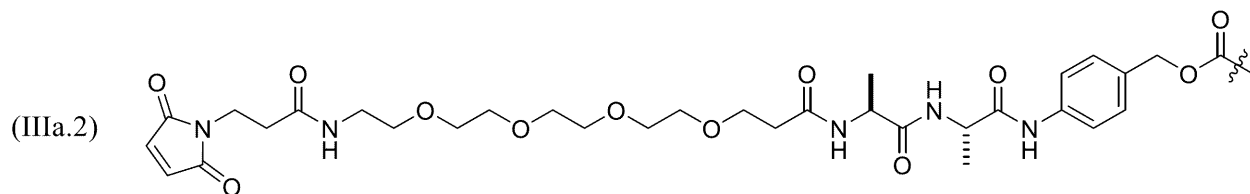
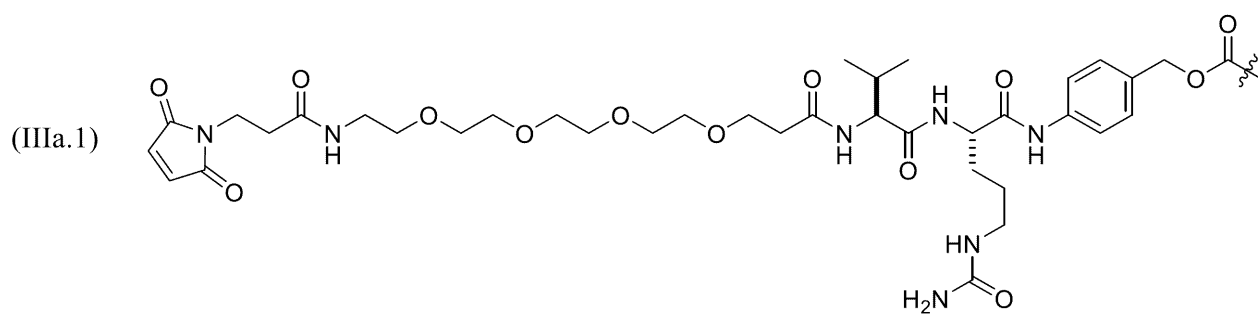
【0263】

特定の実施形態では、ペプチドがトリペプチドまたはジペプチドから選択され得る。特定の実施形態では、ジペプチドが Val-Cit；Cit-Val；Ala-Ala；Ala-Cit；Cit-Ala；Asn-Cit；Cit-Asn；Cit-Cit；Val-Glu；Glu-Val；Ser-Cit；Cit-Ser；Lys-Cit；Cit-Lys；Asp-Cit；Cit-Asp；Ala-Val；Val-Ala；Phe-Lys；Lys-Phe；Val-Lys；Lys-Val；Ala-Lys；Lys-Ala；Phe-Cit；Cit-Phe；Leu-Cit；Cit-Leu；Ile-Cit；Cit-Ile；Phe-Arg；Arg-Phe；Cit-Trp；および Trp-Cit、またはその塩から選択され得る。

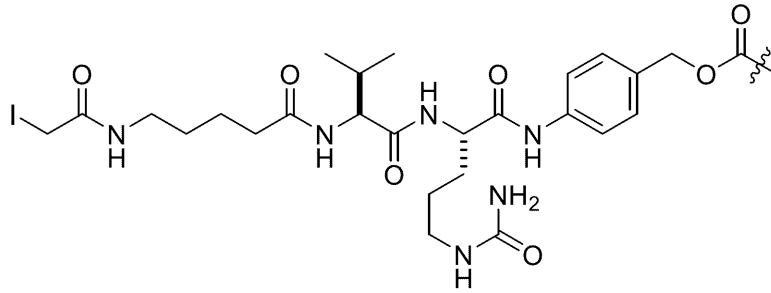
【0264】

本明細書に記載されるコンジュゲートに含めることができる構造式（IIIa）によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含むことができる（示されるよ

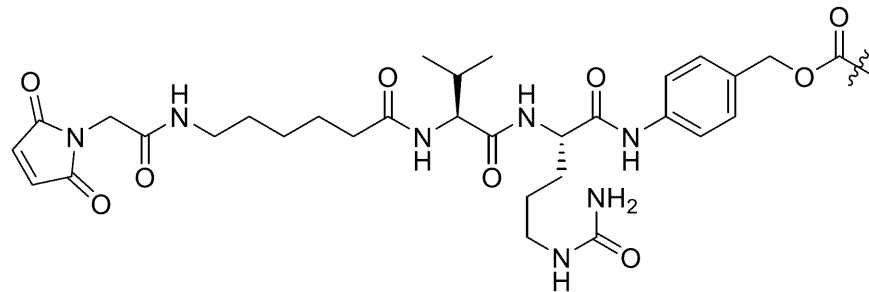
うに、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含む）：



(IIIa.7)



(IIIa.8)



(式中、

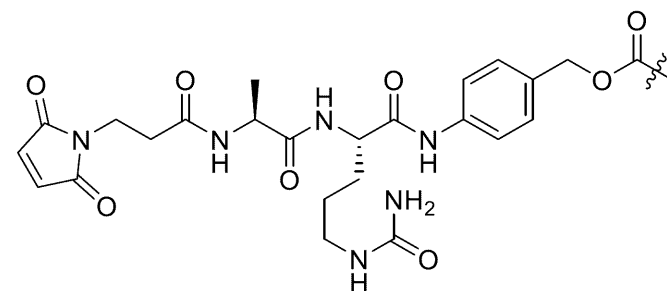


はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

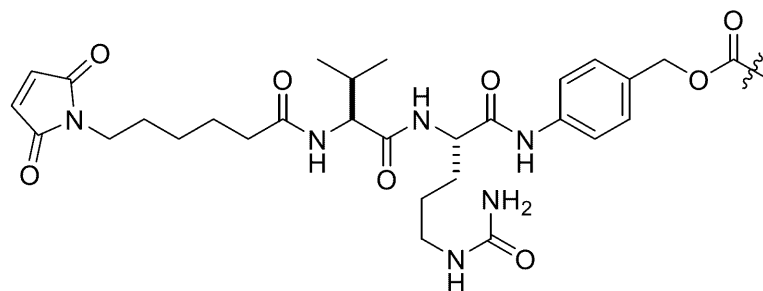
【0265】

本明細書に記載されるコンジュゲートに含めることができる構造式 (IIIb)、(IIIc) または (IIId) によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含むことができる (示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含むことができる) :

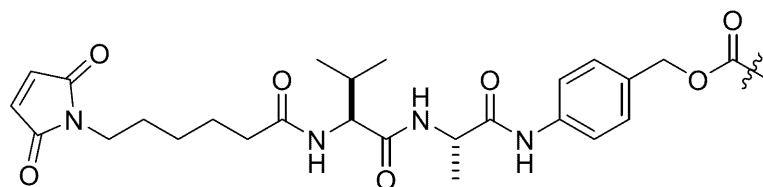
(IIIb.1)



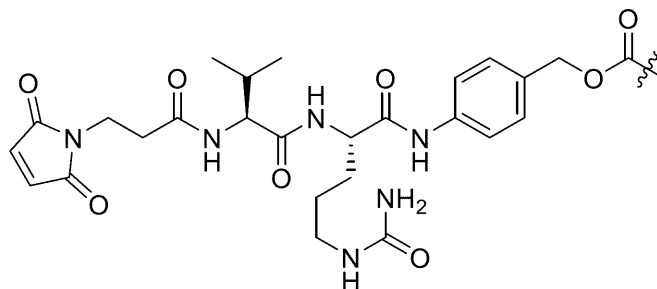
(IIIb.2)



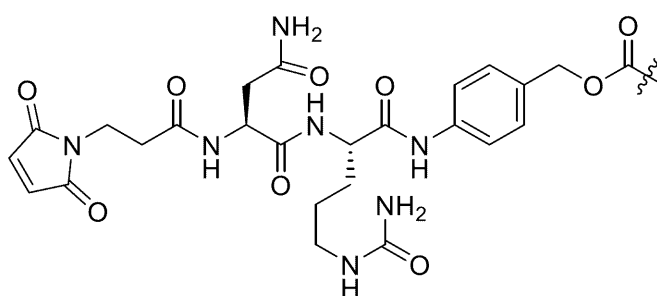
(IIIb.3)



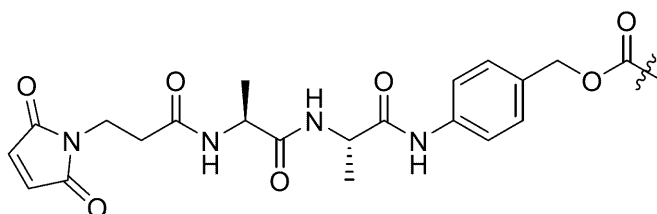
(IIIb.4)



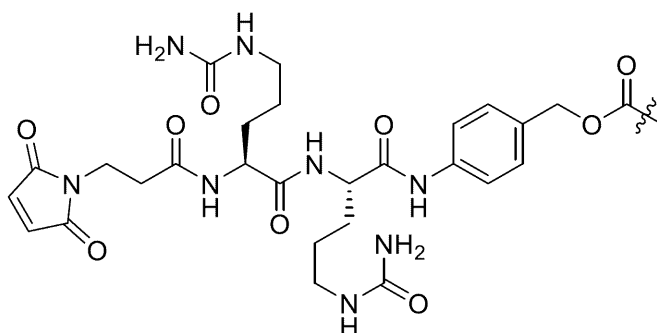
(IIIb.5)



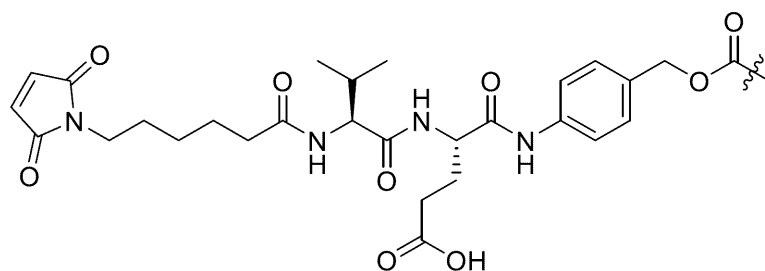
(IIIb.6)



(IIIb.7)



(IIIb.8)



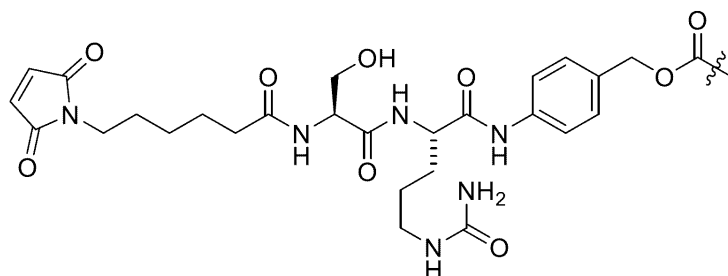
10

20

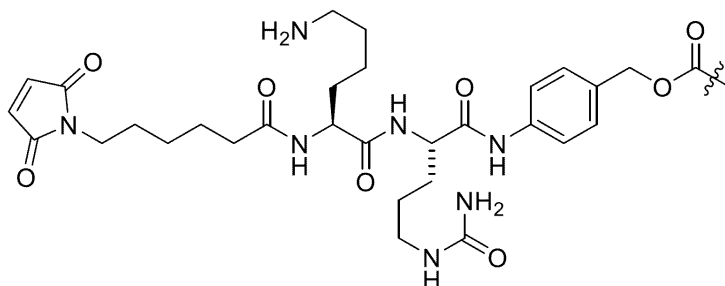
30

40

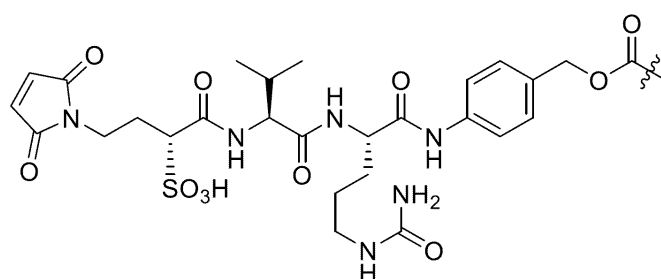
(IIIb.9)



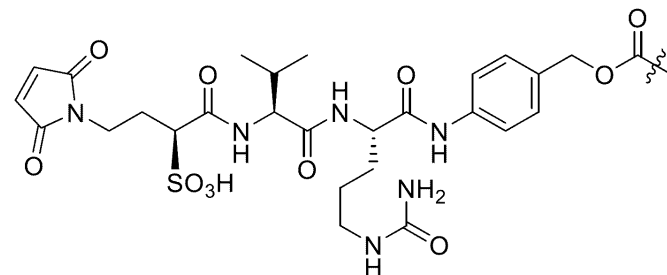
(IIIb.10)



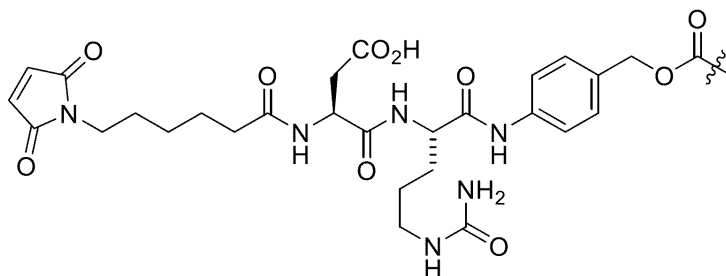
(IIIb.11)



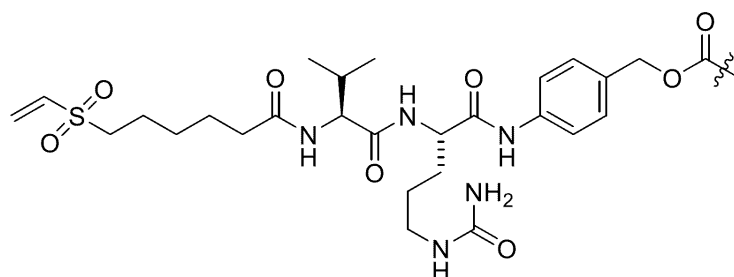
(IIIb.12)



(IIIb.13)



(IIIb.14)



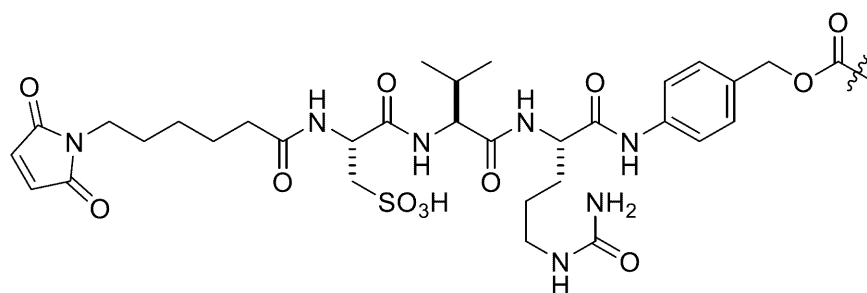
10

20

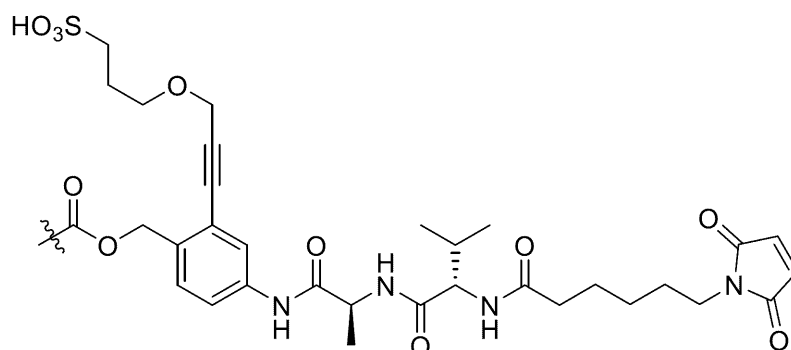
30

40

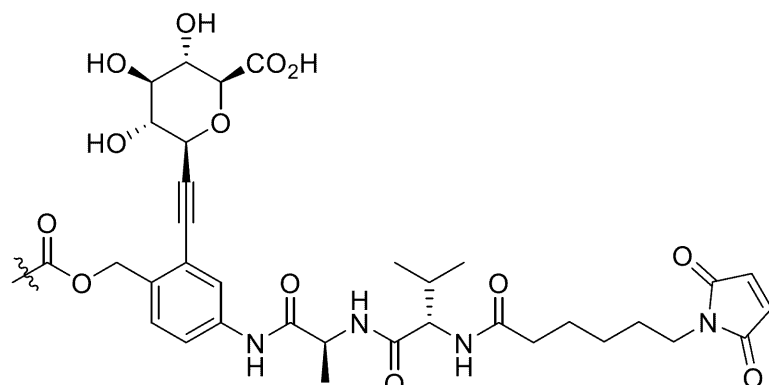
(IIIb.15)



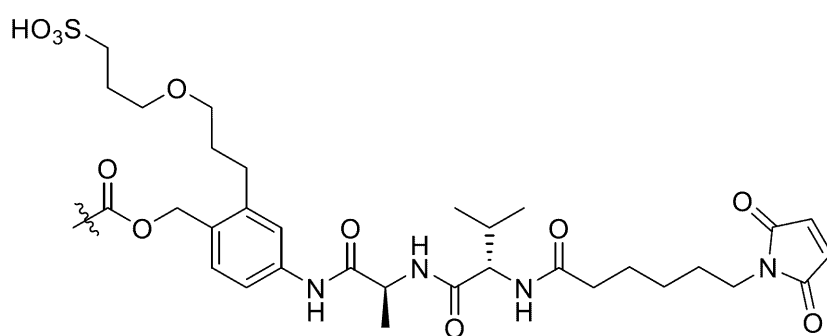
(IIIb.16)



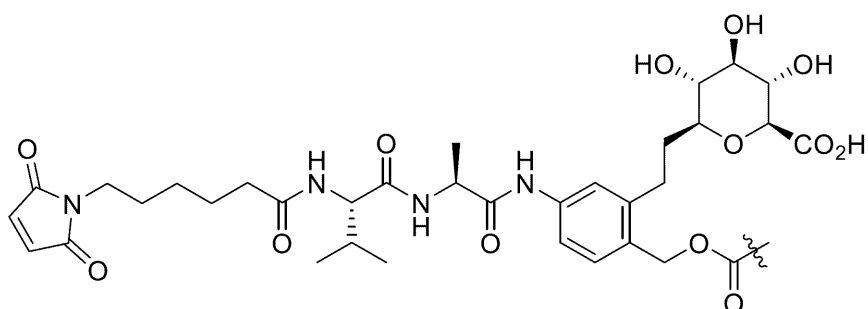
(IIIb.17)



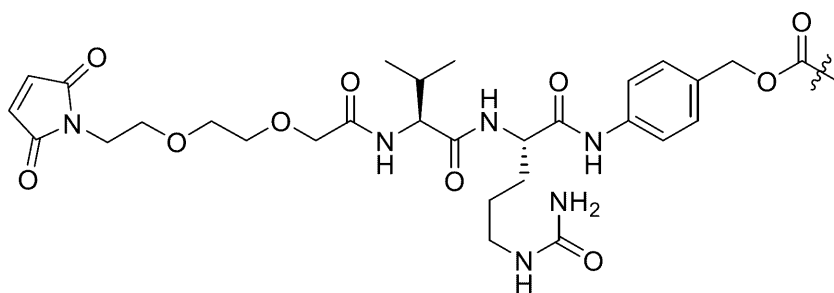
(IIIb.18)



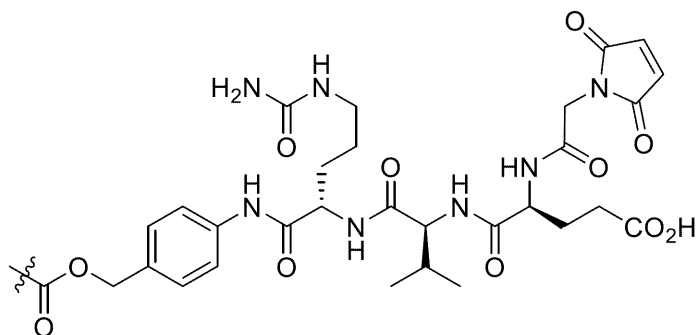
(IIIb.19)



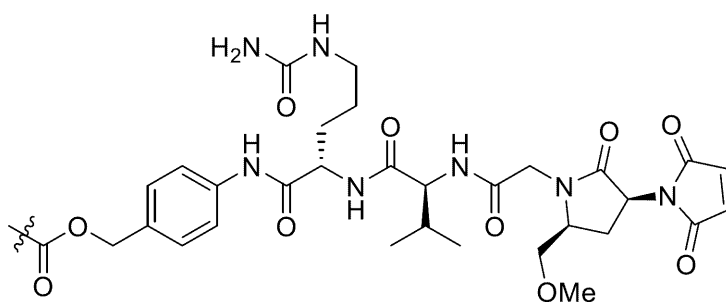
(IIIc.1)



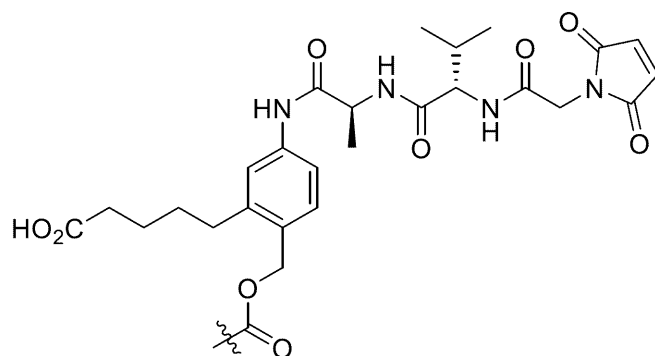
(IIIc.2)



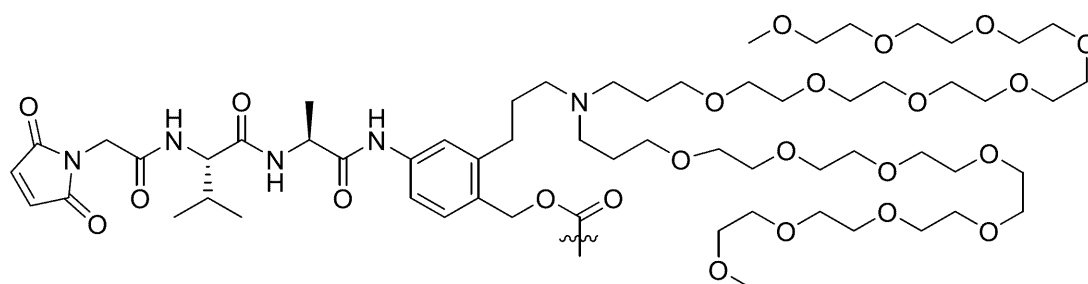
(IIIc.3)



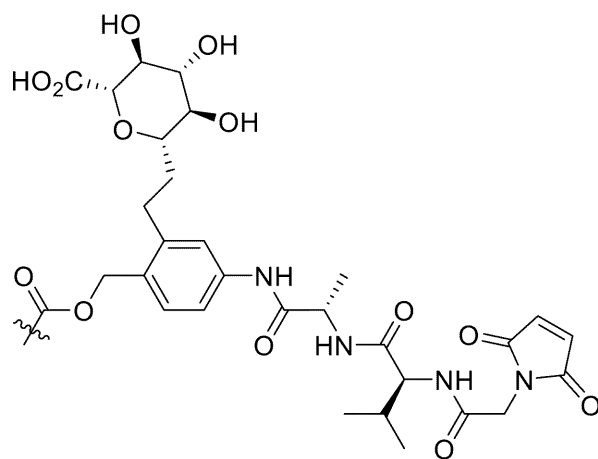
(IIIc.4)



(IIIc.5)

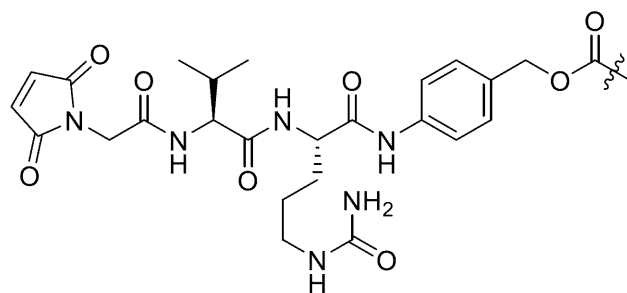


(IIIc.6)



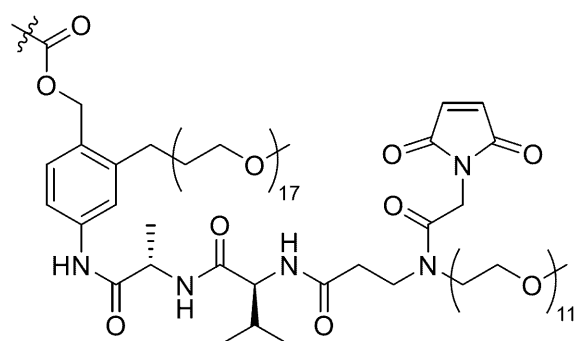
10

(IIIc.7)



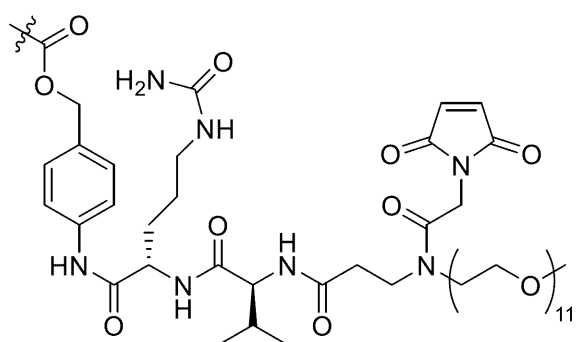
20

(IIIId.1)



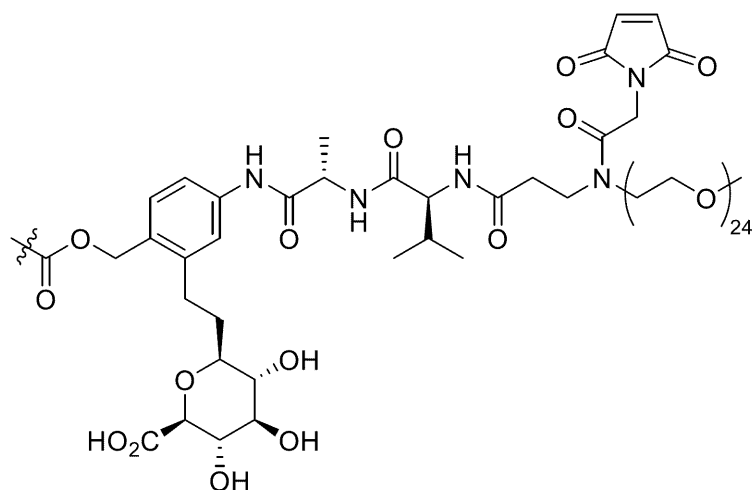
30

(IIIId.2)



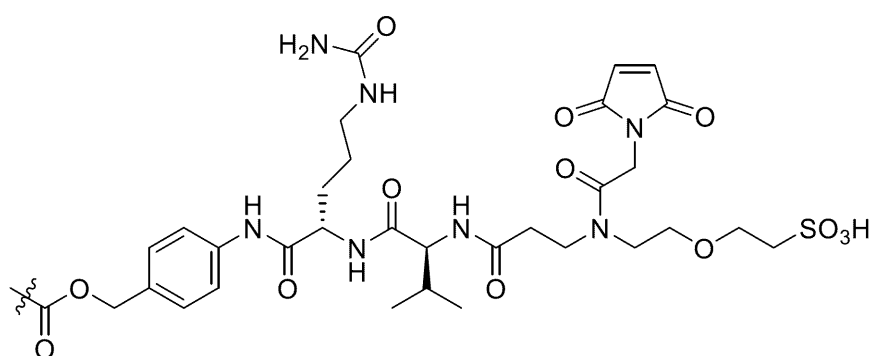
40

(IIIId.3)



10

(IIIId.4)



20

(式中、



はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

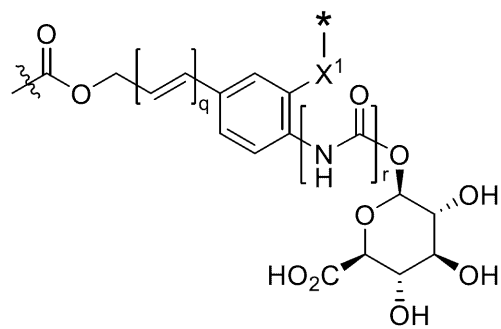
【0266】

リンカーは、酵素的に切断可能な糖部分を含むことができる、例えば構造式 (IV a)

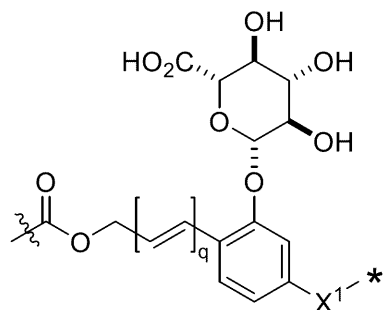
30

、(IV b)、(IV c)、(IV d) または (IV e) :

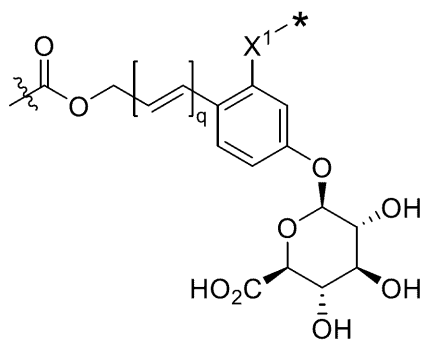
(IVa)



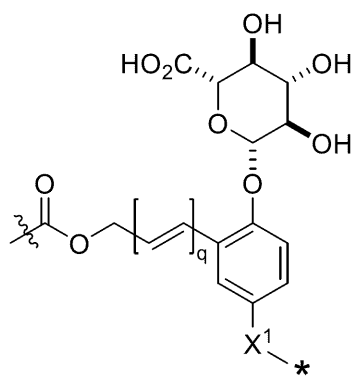
(IVb)



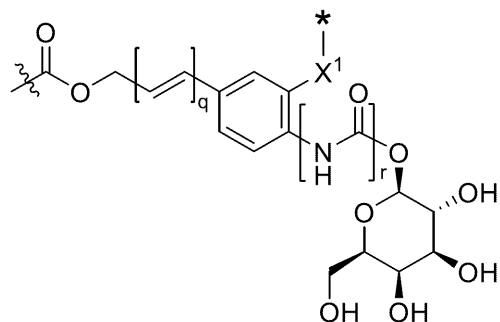
(IVc)



(IVd)



(IVe)



またはその塩（式中、 q は 0 または 1 であり； r は 0 または 1 であり； X^1 は CH_2 、 O 50

またはNHであり；



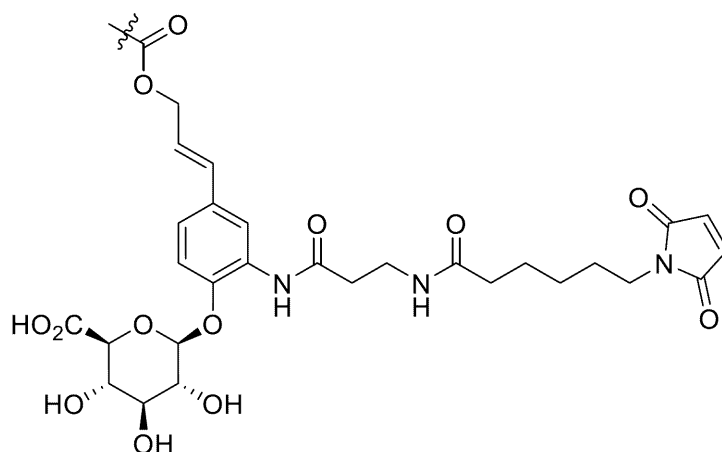
はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表し；*はリンカーの残りとの結合点を表す)

を含むリンカーである。

【0267】

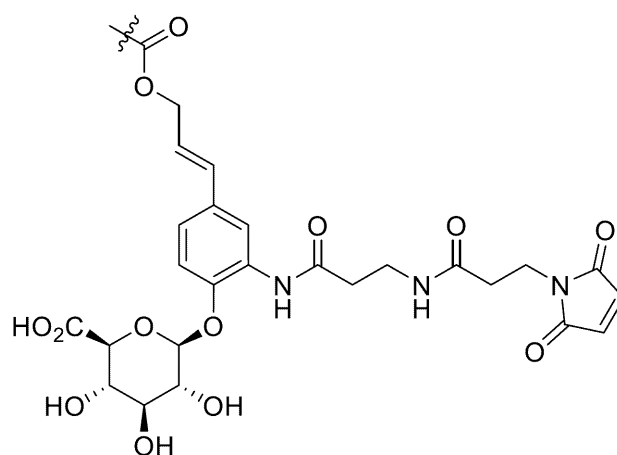
本明細書に記載される抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートに含まれ得る構造式(IVa)によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含むことができる(示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含む)：

(IVa.1)



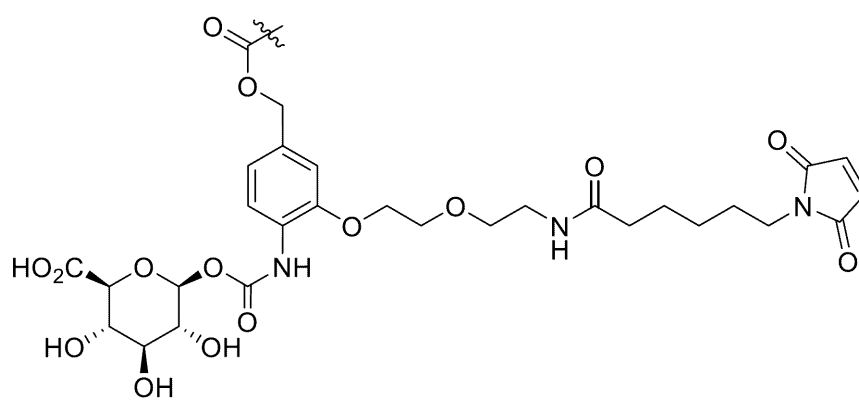
10

(IVa.2)



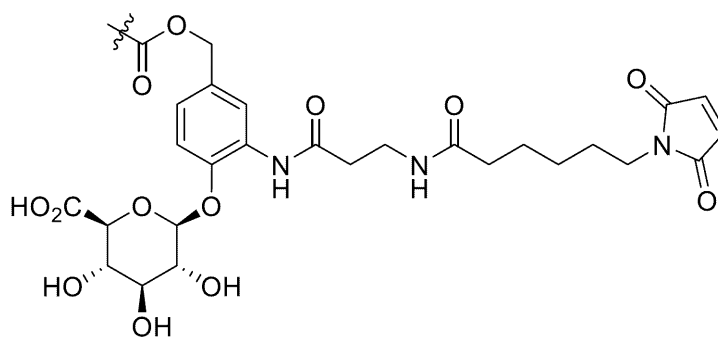
20

(IVa.3)



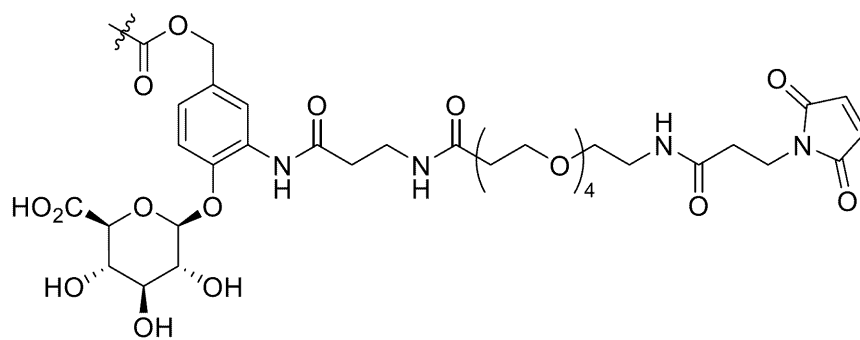
30

(IVa.4)

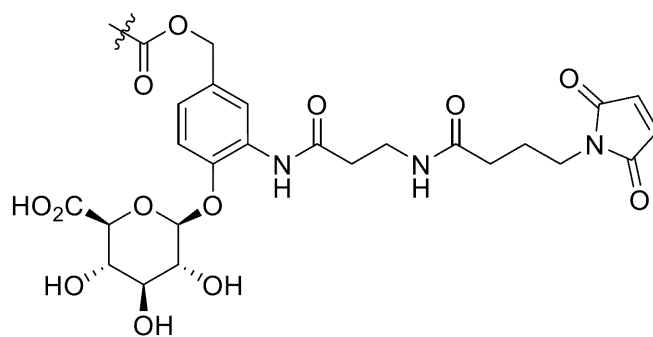


40

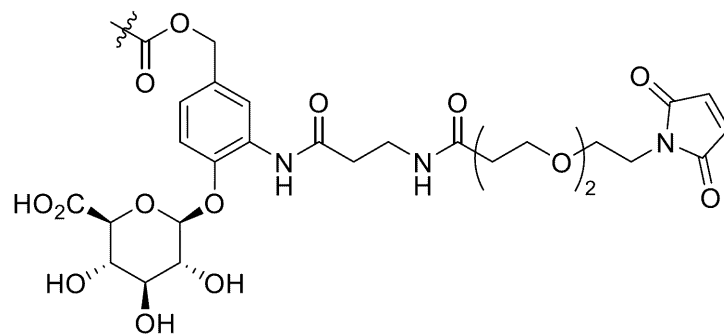
(IVa.5)



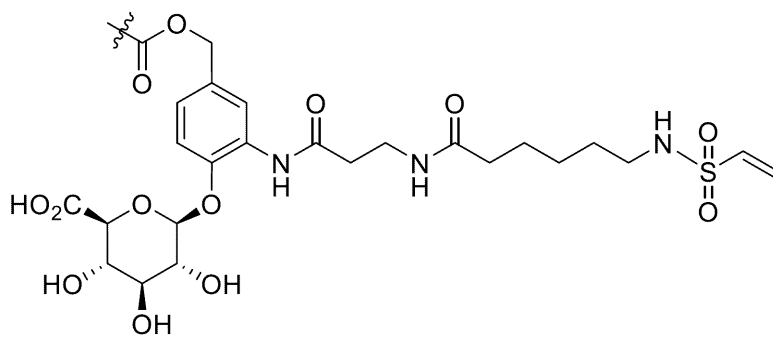
(IVa.6)



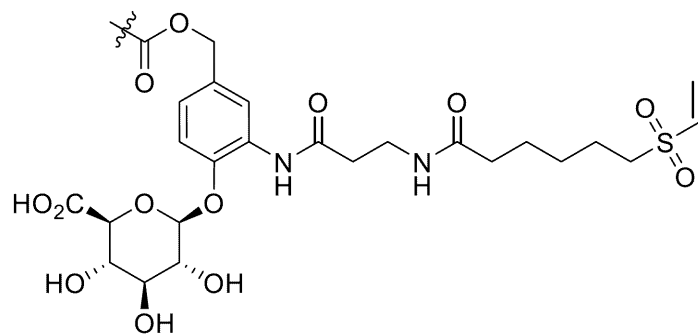
(IVa.7)



(IVa.8)



(IVa.9)



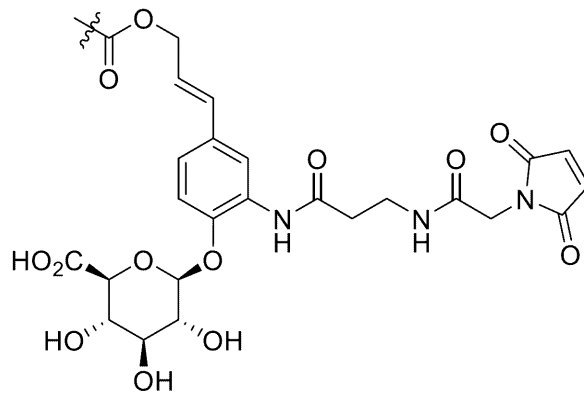
10

20

30

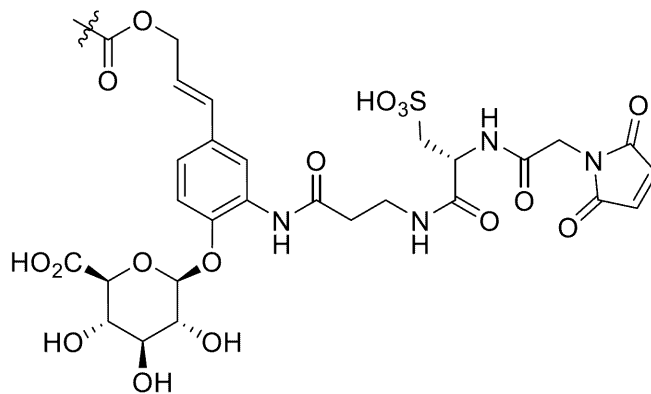
40

(IVa.10)



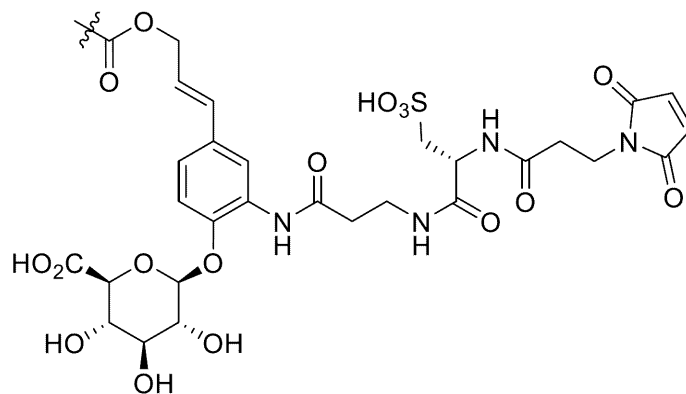
10

(IVa.11)



20

(IVa.12)



30

(式中、



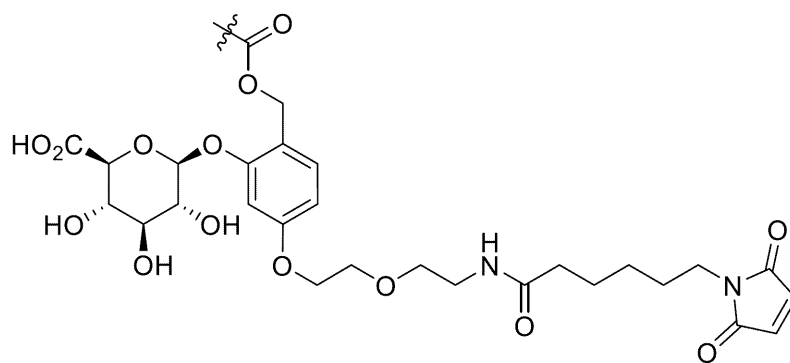
はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

【0268】

本明細書に記載されるコンジュゲートに含まれ得る構造式(IVb)によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含むことができる(示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含む)：

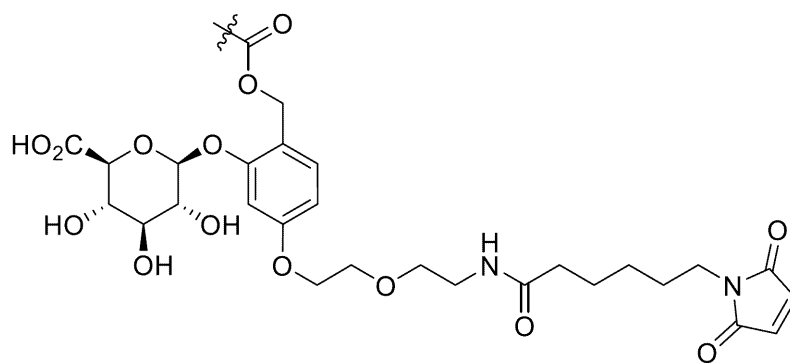
40

(IVb.1)



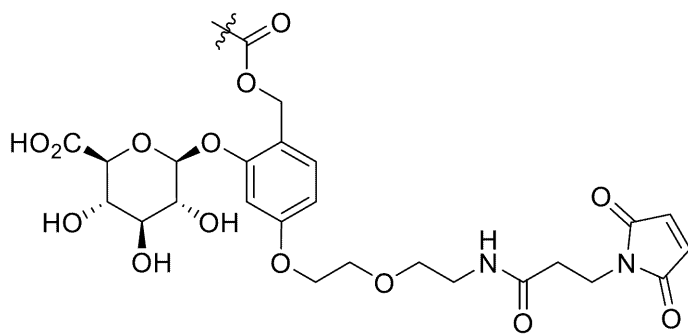
10

(IVb.1)

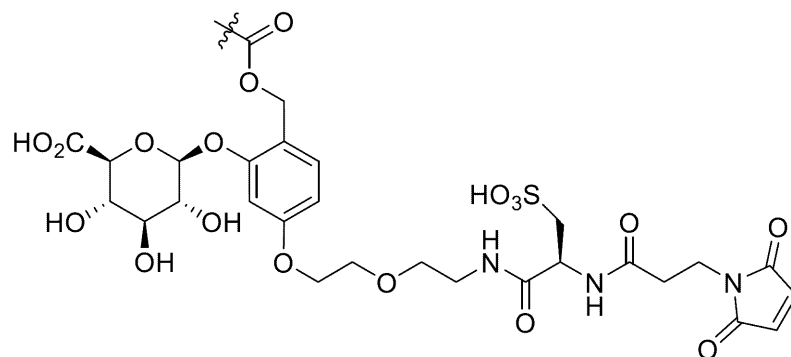


20

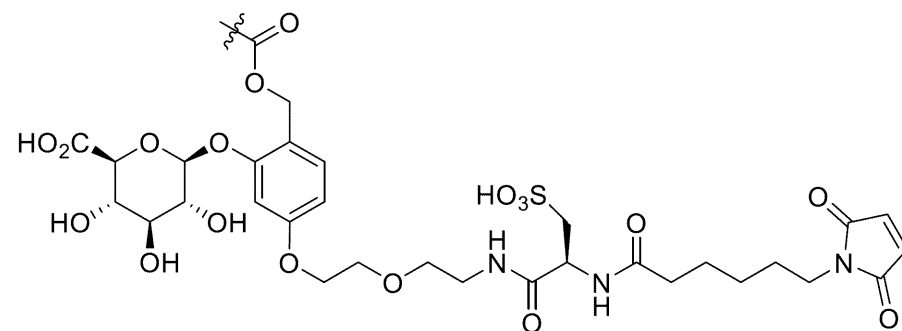
(IVb.2)



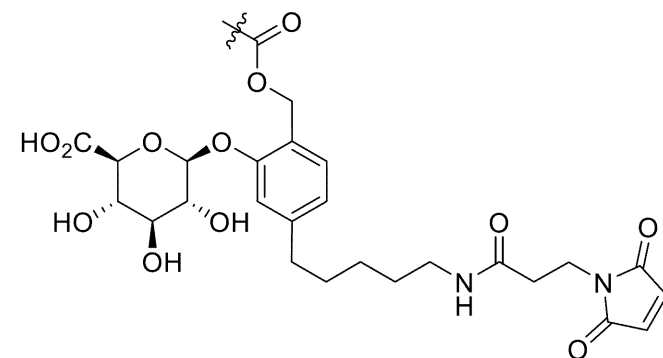
(IVb.3)



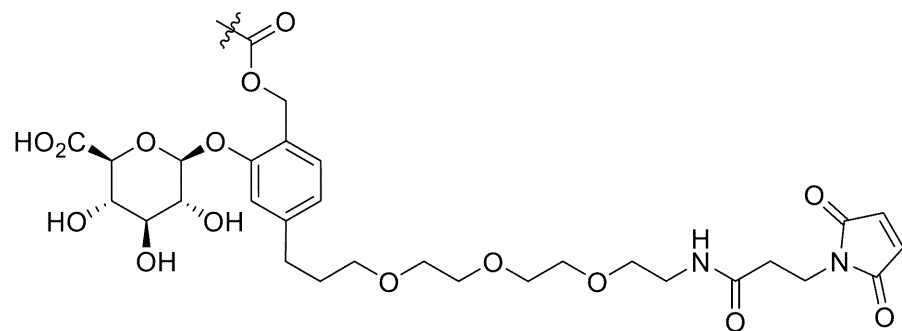
(IVb.4)



(IVb.5)



(IVb.6)

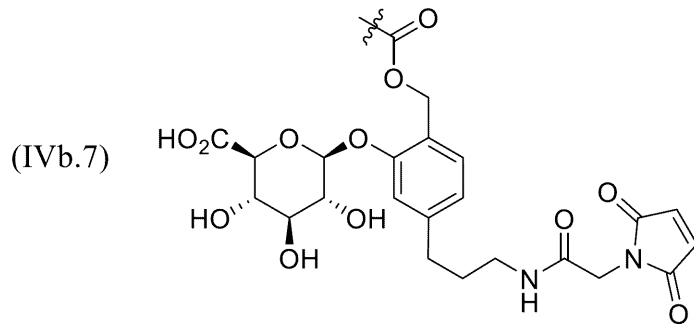


10

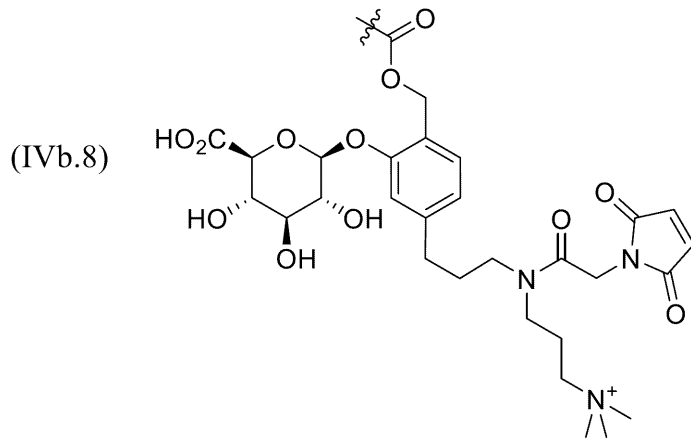
20

30

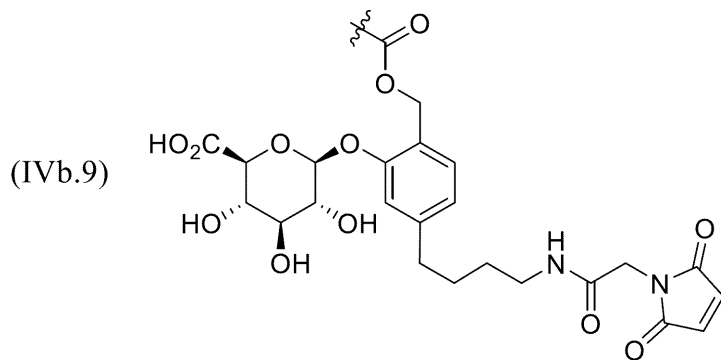
40



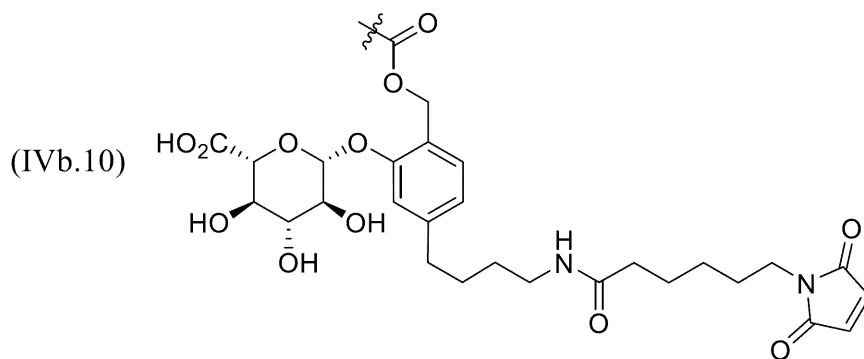
10



20



30



40

(式中、



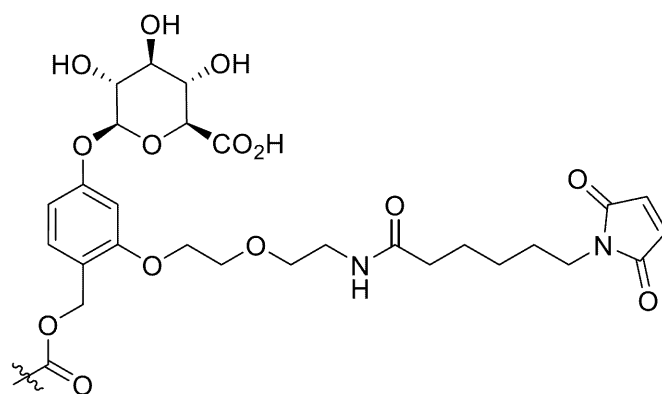
はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

【0269】

本明細書に記載されるコンジュゲートに含まれ得る構造式(IVc)によるリンカーの例示の実施形態は、以下に示されるリンカーを含む(示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含む)：

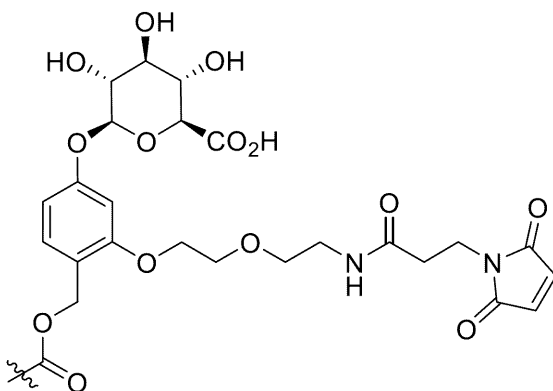
50

(IVc.1)



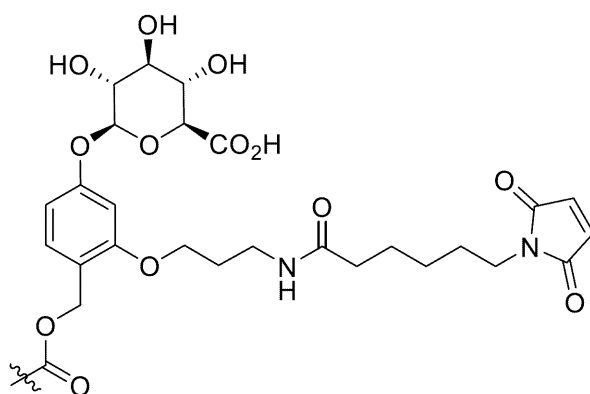
10

(IVc.2)



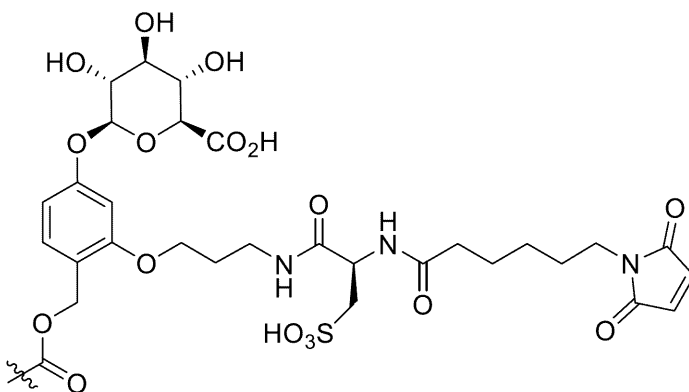
20

(IVc.3)



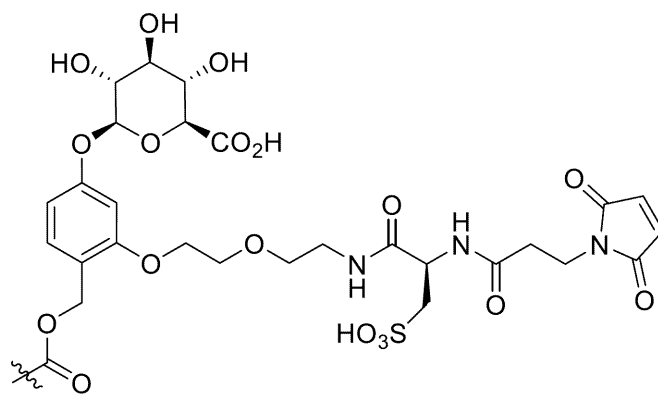
30

(IVc.4)



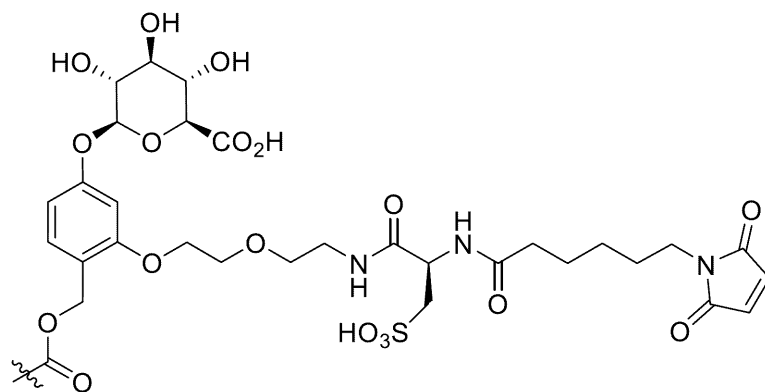
40

(IVc.5)



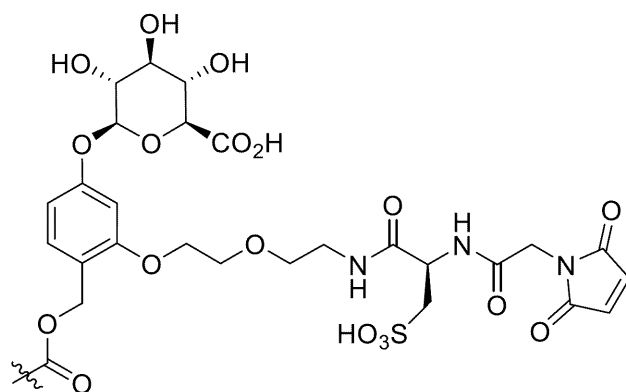
10

(IVc.6)



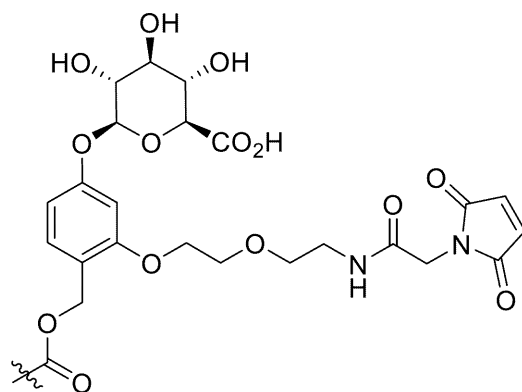
20

(IVc.7)



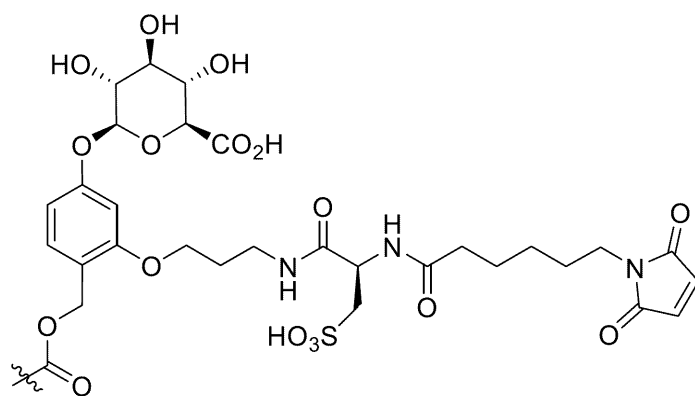
30

(IVc.8)



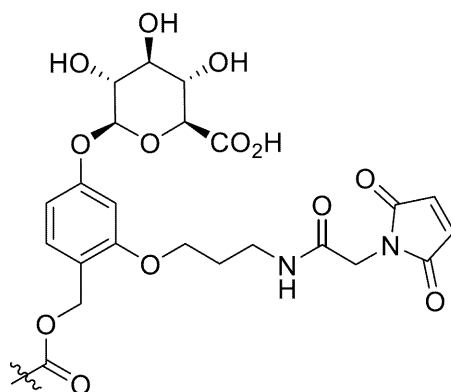
40

(IVc.9)



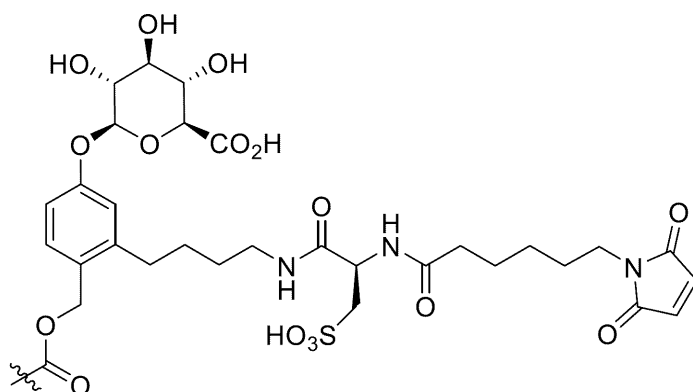
10

(IVc.10)



20

(IVc.11)



30

(式中、



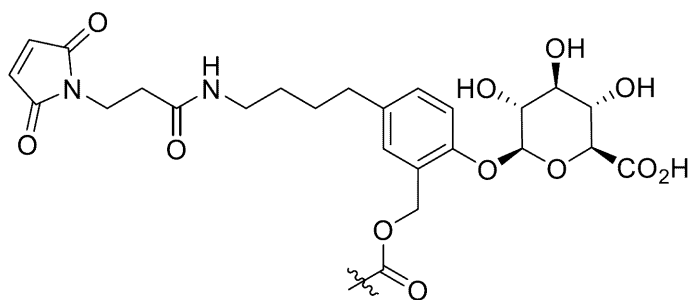
はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

【0270】

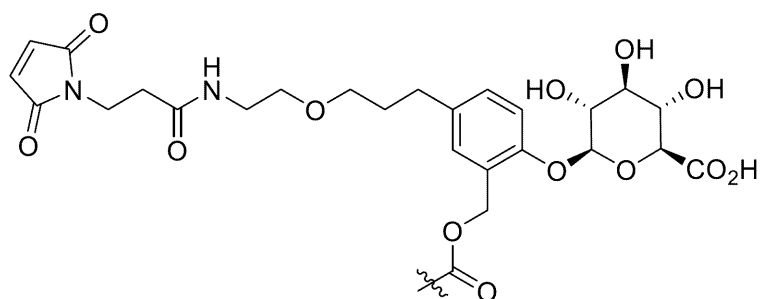
本明細書に記載されるコンジュゲートに含まれ得る構造式(IVd)によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含む(示されるように、リンカーは、リンカーを抗体に共有結合的に結合するのに適した基を含む)：

40

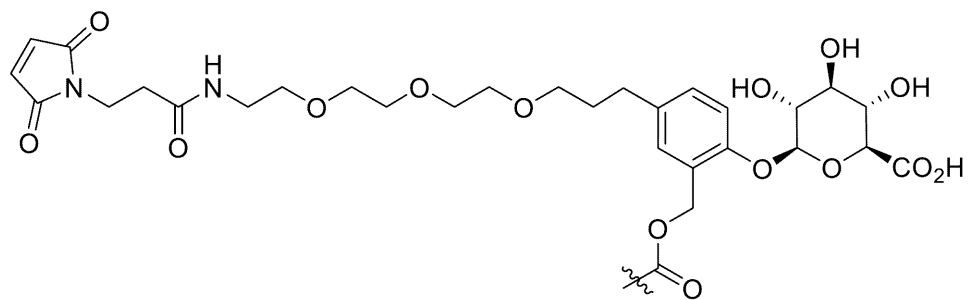
(IVd.1)



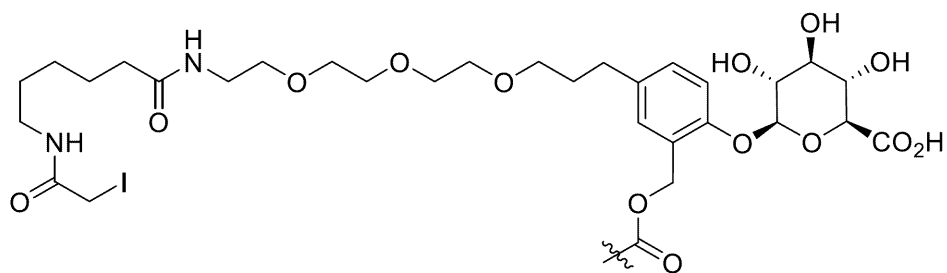
(IVd.2)



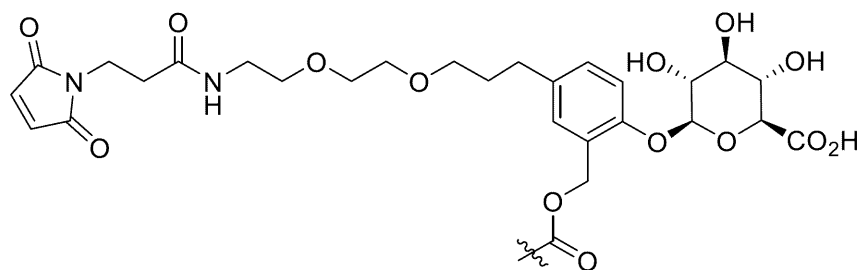
(IVd.3)



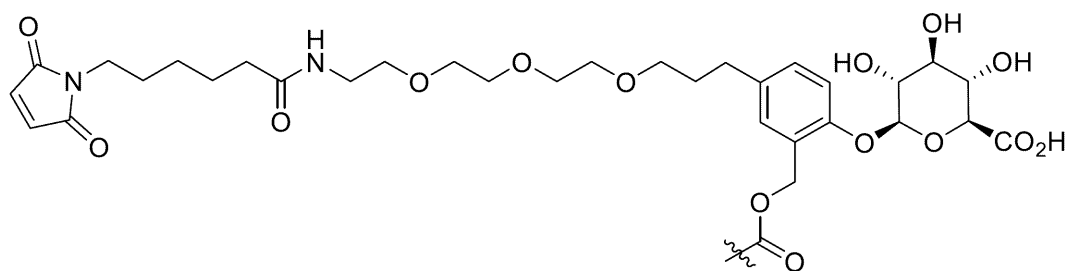
(IVd.4)



(IVd.5)



(IVd.6)



10

20

30

40

50

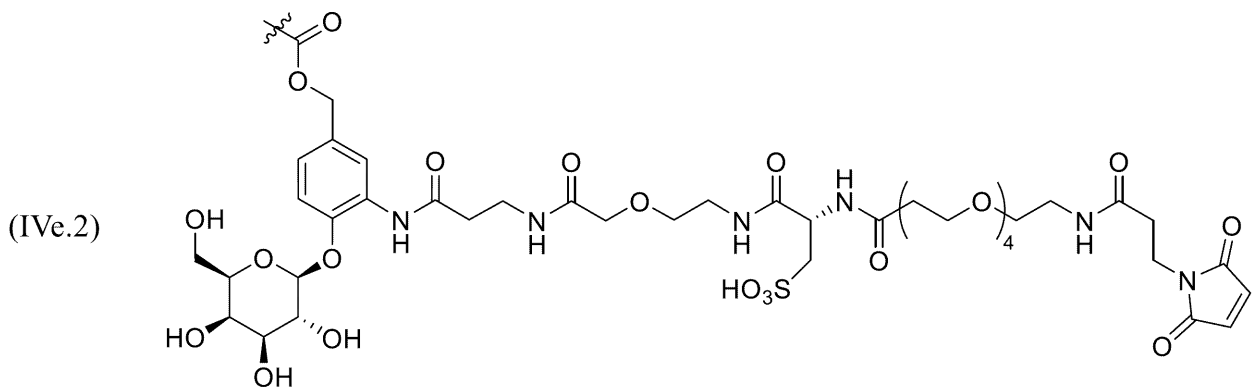
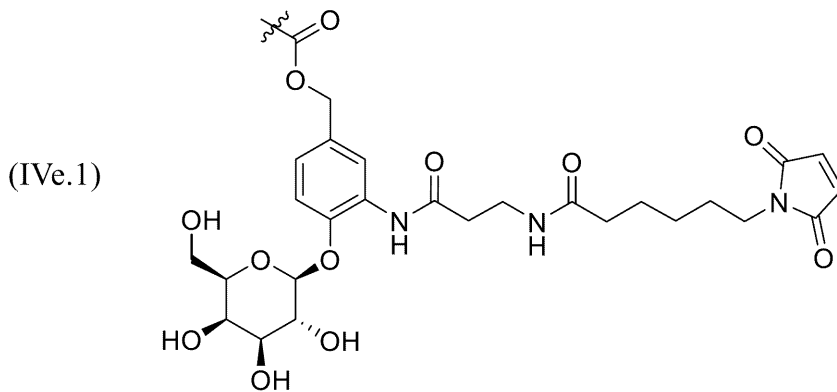
(式中、



はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

【0271】

本明細書に記載されるコンジュゲートに含まれ得る構造式 (IVe) によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含む (示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含む) :



(式中、



はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

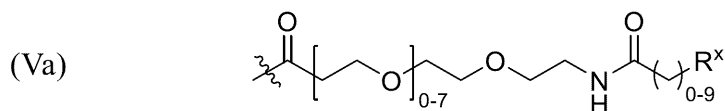
【0272】

切断可能なリンカーは一定の利点を提供することができるが、本明細書に記載されるコンジュゲートに含まれるリンカーは切断可能である必要はない。非切断可能なリンカーについては、免疫調節化合物放出は、血漿といくつかの細胞質画分との間の異なる特性に依存しない可能性がある。免疫調節化合物の放出は、抗原媒介エンドサイトーシスを介した抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートの内部移行、および抗体コンストラクトが細胞内タンパク質分解を介してアミノ酸レベルまで分解され得るリソソーム画分への送達後に起こることができる。この過程によって、免疫調節化合物によって形成される免疫調節化合物誘導体、リンカー、およびリンカーが共有結合的に結合していたアミノ酸残基が放出され得る。非切断可能なリンカーを含む抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートからの免疫調節化合物誘導体は、切断可能なリンカーを含む抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートと比較して親水性で、膜透過性が小さく、小さなバースタンダー効果および少ない非特異的毒性をもたらし得る。非切断可能なリンカーを含む抗体コン

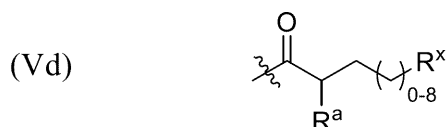
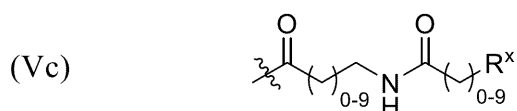
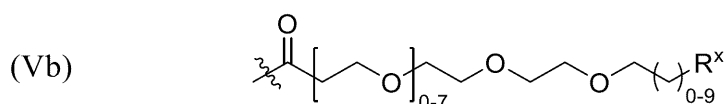
ストラクト免疫調節化合物コンジュゲートよりも循環中でより大きな安定性を有することができる。非切断可能なリンカーは、アルキレン鎖であり得る、あるいは例えばポリアルキレングリコールポリマー、アミドポリマーに基づくようなポリマーであり得る、あるいはアルキレン鎖、ポリアルキレングリコールおよび／またはアミドポリマーのセグメントを含むことができる。リンカーは、1～6個のエチレングリコール単位を有するポリエチレングリコールセグメントを含むことができる。

【0273】

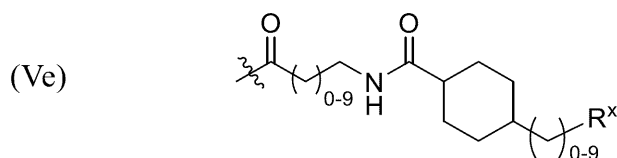
リンカーは、インビボで非切断可能であり得る、例えば、以下の式：



10



20



またはその塩（式中、R^aは水素、アルキル、スルホネートおよびメチルスルホネートから選択され；R^xはリンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合することができる官能基を含む部分であり；

30



はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す）
によるリンカーであり得る。

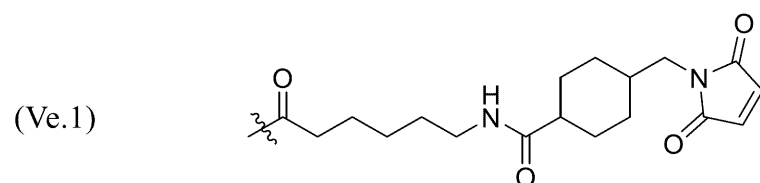
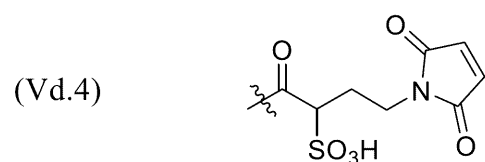
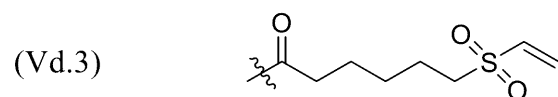
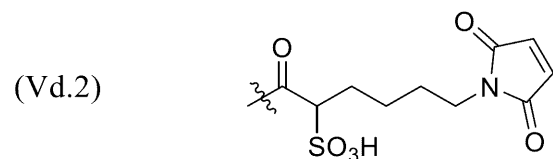
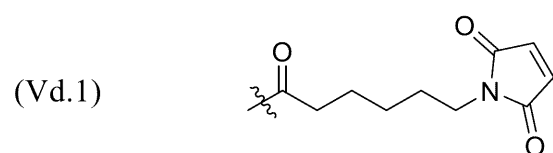
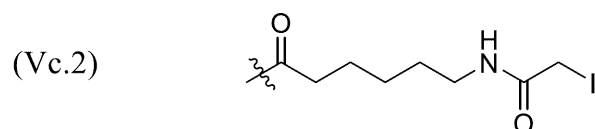
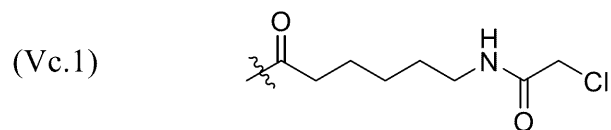
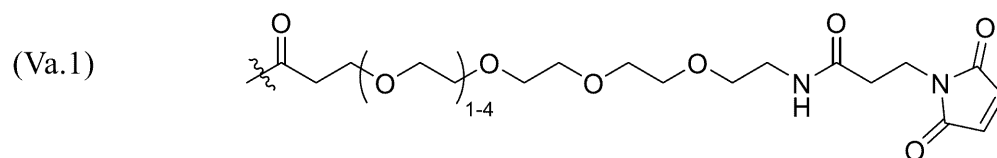
【0274】

本明細書に記載されるコンジュゲートに含まれ得る構造式（Va）～（Ve）によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含む（示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含み、

40



は免疫調節化合物またはその塩との結合点を表す：



(式中、



はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

【0275】

リンカーを抗体に結合するために使用される結合基は求電子性であり、例えば、マレイミド基、活性化ジスルフィド、活性エステル、例えばNHSEステルおよびHOBtエステル、ハロホルメート、酸ハロゲン化物、アルキルおよびベンジルハロゲン化物、例えばハロアセトアミドを含むことができる。本開示により使用することができる「自己安定化」マレイミドおよび「架橋ジスルフィド」に関連する最先端技術も存在する。

【0276】

抗体コンジュゲーション条件下で自発的に加水分解して改善した安定性を有するコンジュゲートをもたらす「自己安定化」マレイミド基の一例を以下の概略図に示す。よって、

10

20

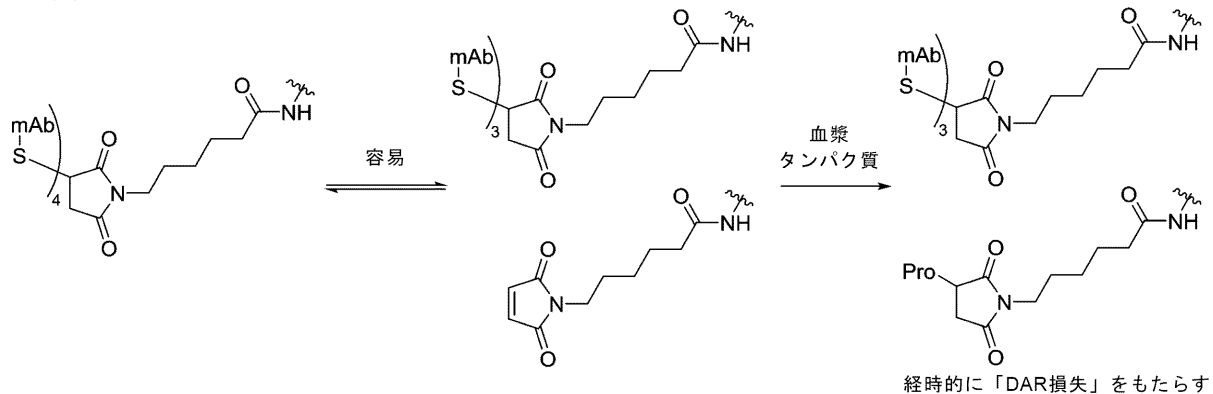
30

40

50

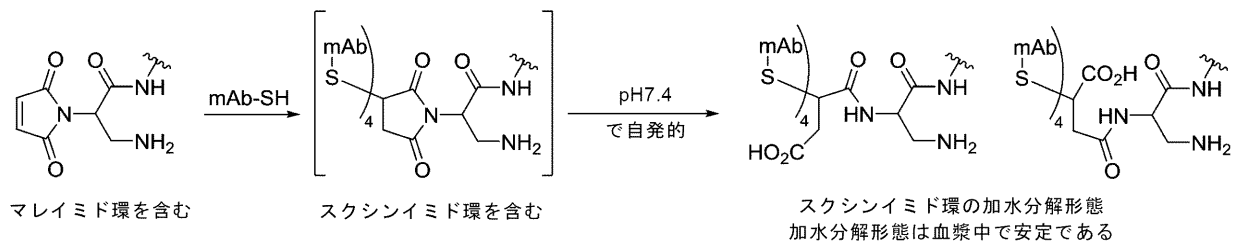
マレイミド結合基を抗体のスルフィドヒドリルと反応させて、中間体スクシンイミド環を得る。結合基の加水分解形態は、血漿タンパク質の存在下での脱コンジュゲーション (d e c o n j u g a t i o n) に耐性である。

正常系:



10

自己安定化結合:

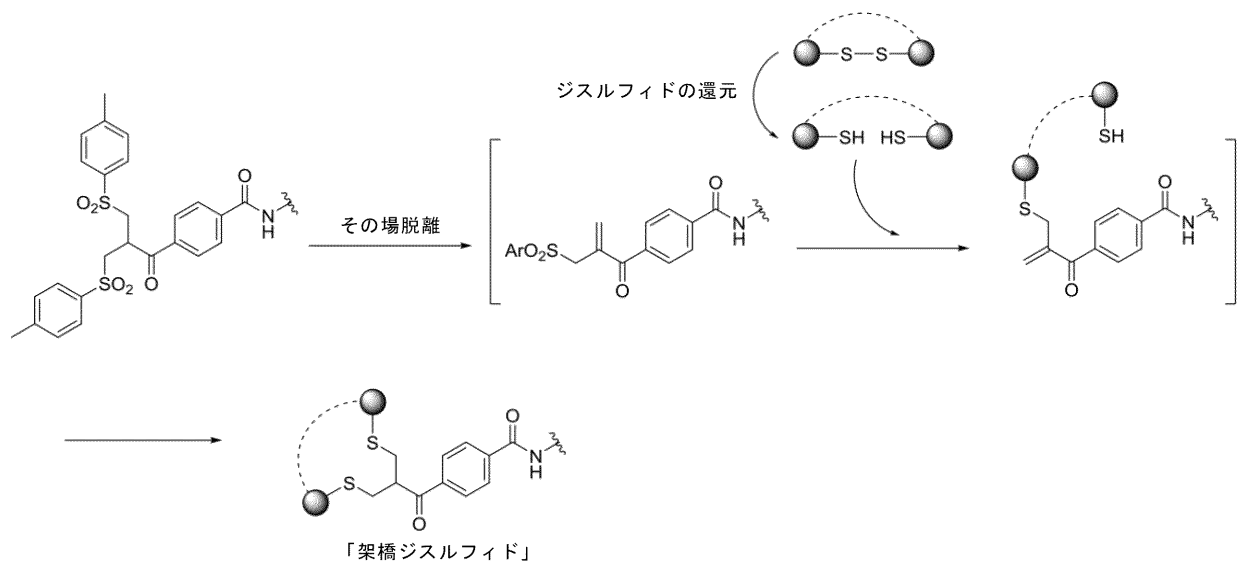


20

【0277】

天然ヒンジジスルフィド結合の還元から誘導されるスルフィドヒドリル基のペアを架橋する方法が開示されており、これを以下の概略図に示す。この方法の利点は、I g Gの完全な還元 (スルフィドヒドリルの4つのペアをもたらす)、引き続いて4当量のアルキル化剤との反応によって、均質なDAR4コンジュゲートを合成することができることである。「架橋ジスルフィド」を含むコンジュゲートも増加した安定性を有することが主張されている。

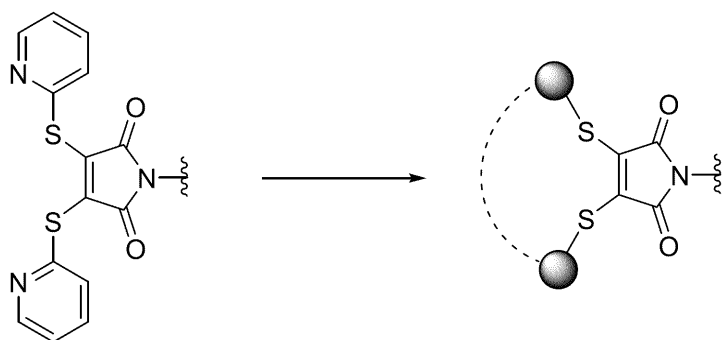
30



40

【0278】

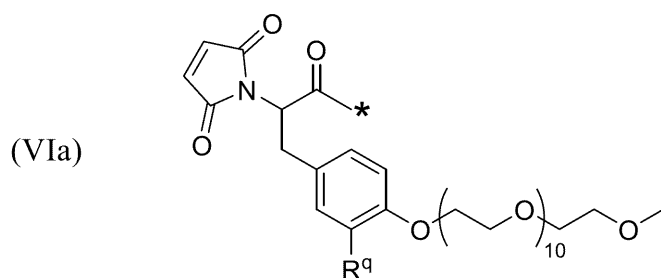
同様に、以下に示されるように、スルフィドヒドリル基のペアを架橋することができるマレイミド誘導体が開発されている。



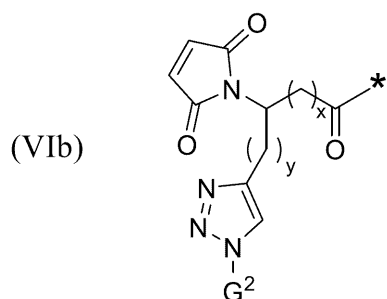
10

【 0 2 7 9 】

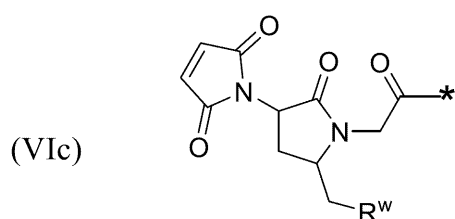
結合部分は、以下の構造式（V I a）、（V I b）もしくは（V I c）：



20



30



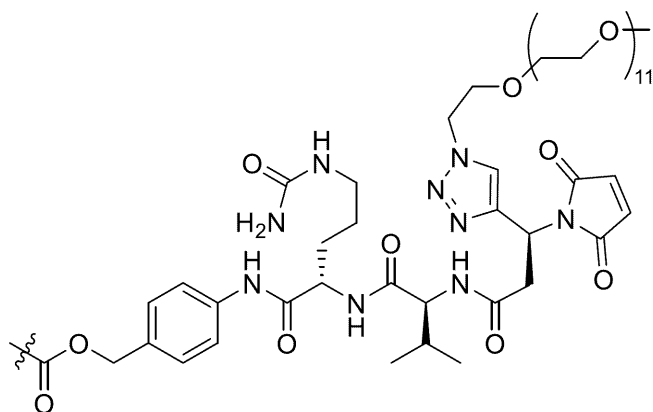
またはその塩（式中、 R^q はHまたは $-O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$ であり； x は0または1であり； y は0または1であり； G^2 は $-CH_2CH_2CH_2SO_3H$ または $-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$ であり； R^w は $-O-CH_2CH_2SO_3H$ または $-NH(CO)-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{12}-CH_3$ であり；*はリンカーの残りとの結合点を表す）を含むことができる。

【 0 2 8 0 】

本明細書に記載されるコンジュゲートに含めることができる構造式（V I a）および（V I b）によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含むことができる（示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含むことができる）：

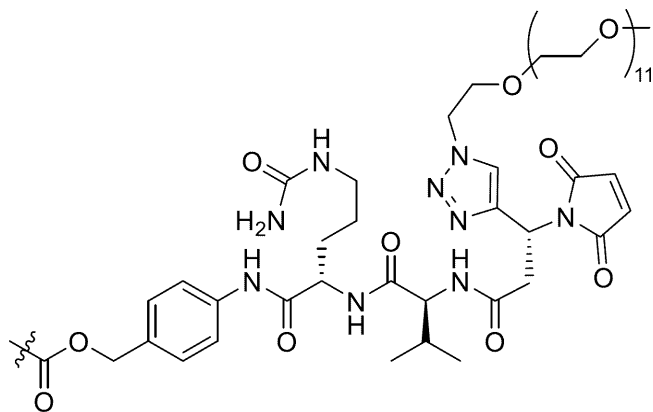


(VIb.1)



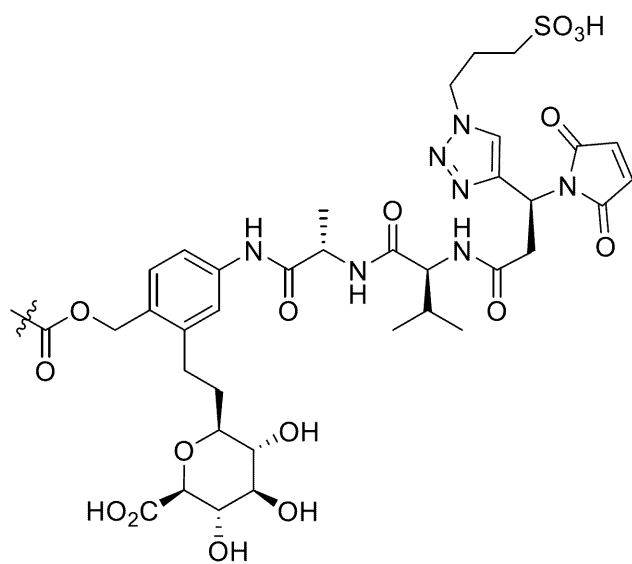
10

(VIb.2)



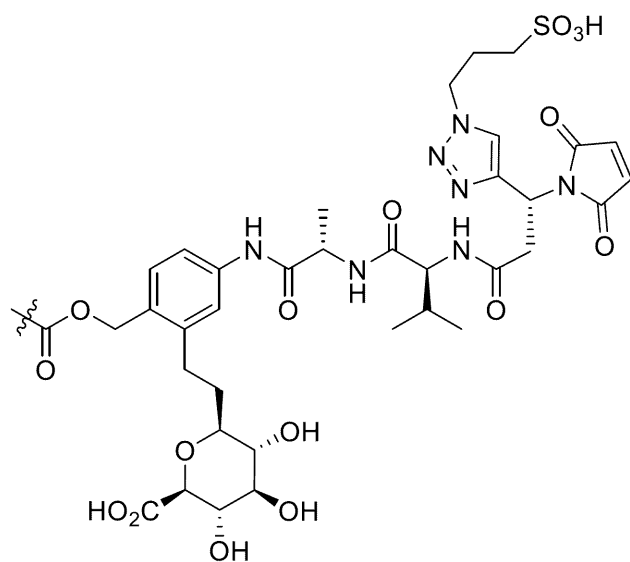
20

(VIb.3)



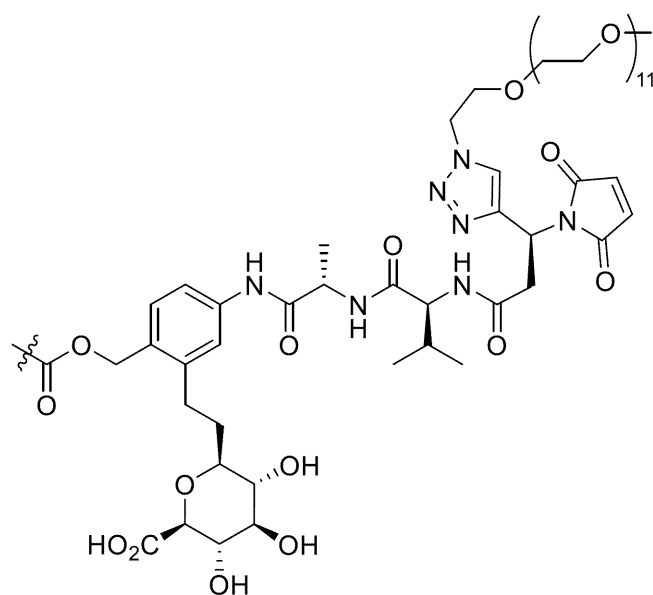
30

(VIb.4)



10

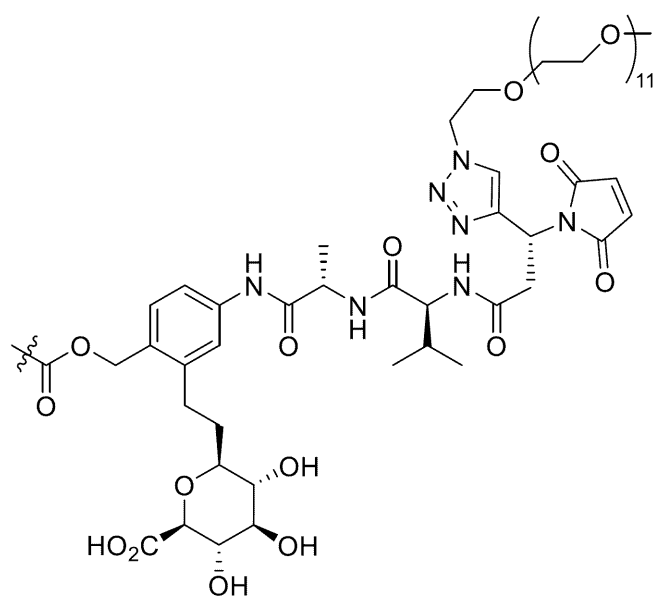
(VIb.6)



20

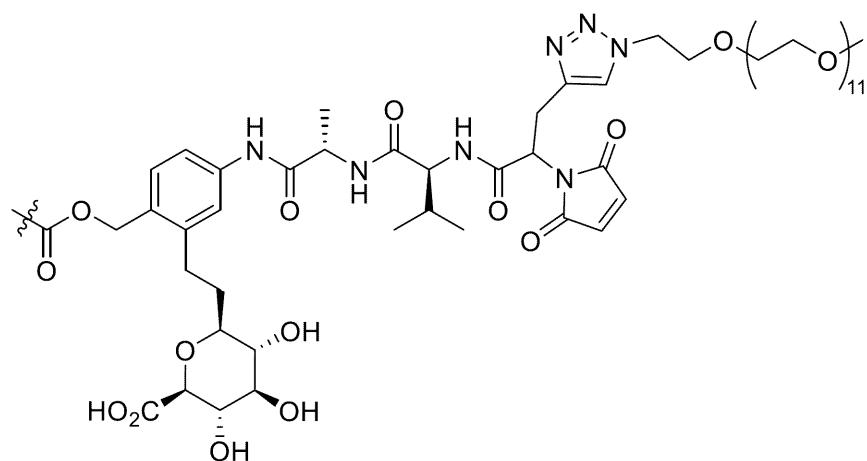
30

(VIIb.7)



40

(VIIb.8)



10

(式中、



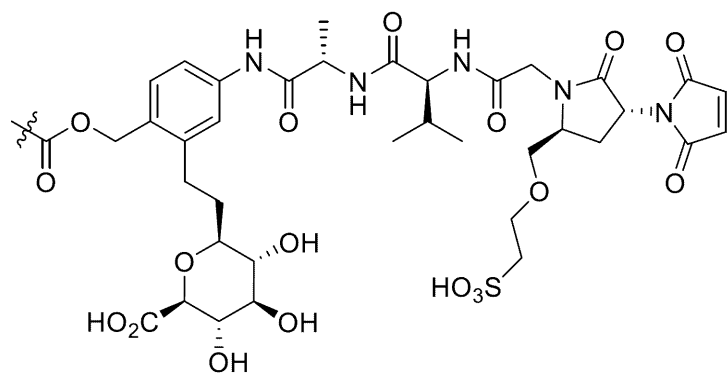
はリンカーと免疫調節化合物またはその塩の結合点を表す)。

【0281】

本明細書に記載される抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートに含めることができる構造式(VIc)によるリンカーの例示的实施形態は、以下に示されるリンカーを含むことができる(示されるように、リンカーは、リンカーを抗体コンストラクトに共有結合的に結合するのに適した基を含むことができる)：

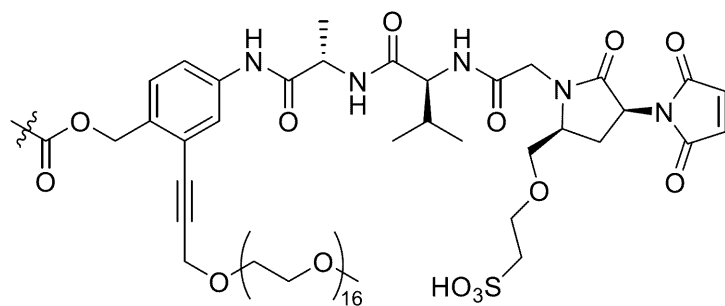
20

(VIc.1)



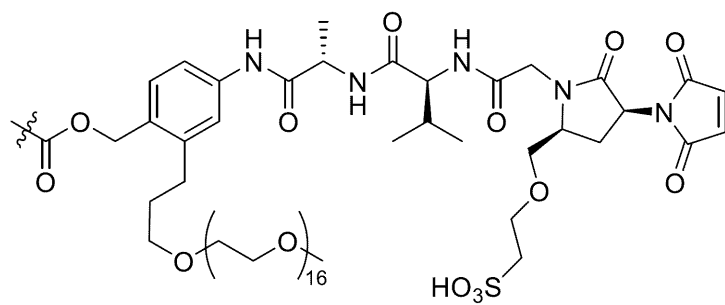
10

(VIc.2)



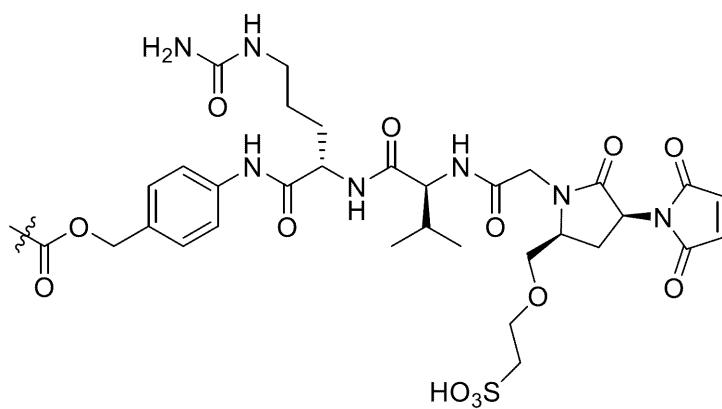
20

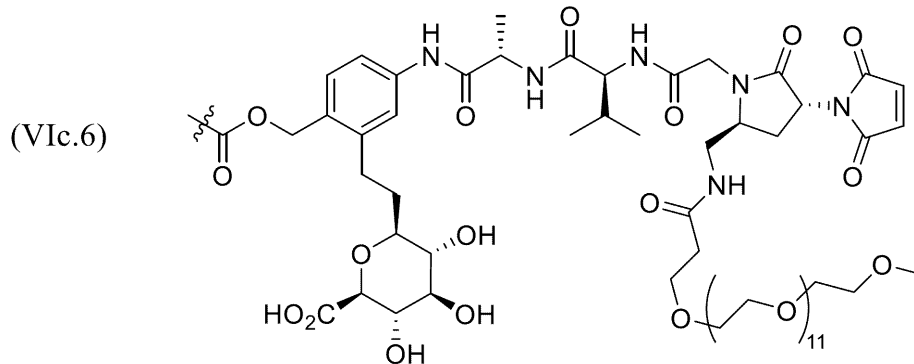
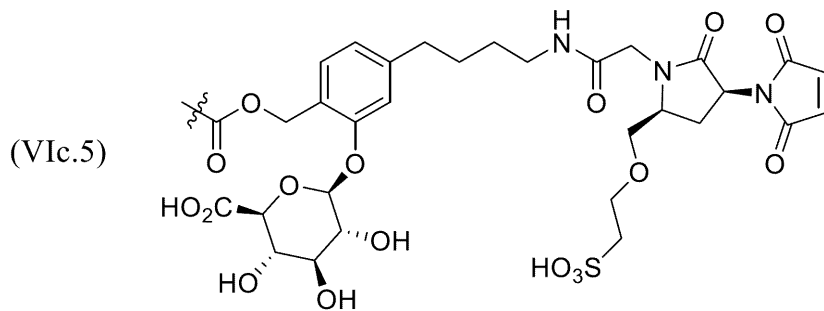
(VIc.3)



30

(VIc.4)





(式中、



はリンカーと免疫調節化合物または塩の結合点を表す)。

【0282】

当業者によって知られているように、特定のコンジュゲートのために選択されたリンカーは、それだけに限らないが、抗体との結合部位（例えば、リジン、システインまたは他のアミノ酸残基）、ファーマコフォアおよび薬物の親油性を含む種々の因子によって影響を及ぼされ得る。コンジュゲートのために選択された特異的リンカーは、特異的抗体／薬物組み合わせのためにこれらの異なる因子のバランスをとろうとすべきである。

【0283】

例えば、細胞傷害性化合物のコンジュゲートは、抗原陽性腫瘍細胞の近くに存在するバイスタンダー抗原陰性細胞の死滅をもたらすことが観察されている。コンジュゲートによるバイスタンダー細胞死滅の機構は、コンジュゲートの細胞内プロセシング中に形成される代謝産物が役割を果たし得ることを示した。抗原陽性細胞でコンジュゲートの代謝によって産生される中性細胞傷害性代謝産物がバイスタンダー細胞死滅で役割を果たすように思われるが、荷電代謝産物が膜を通して培地中に拡散するのが防がれ得るので、バイスタンダー死滅に影響を及ぼすことができない。特定の実施形態では、リンカーが、コンジュゲートの細胞代謝産物によって引き起こされる放出免疫調節化合物またはその誘導体によって引き起こされるバイスタンダー効果を弱めるように選択される。特定の実施形態では、リンカーが、免疫調節化合物のバイスタンダー効果を増加させるように選択される。特定の実施形態では、リンカーが、同じプロセスであるが、免疫調節化合物代謝産物に適用されるプロセスから得られるバイスタンダー効果を増加させるよう選択される。増加されたバイスタンダー効果は、線維性疾患、自己免疫疾患または自己炎症性疾患を治療するための周囲細胞に対する増加された効果であり得る。

【0284】

リンカーの特性は、使用および／または貯蔵の条件下でのコンジュゲートの凝集にも影響を及ぼし得る。典型的には、文献で報告されるコンジュゲートは、1抗体分子当たり3～4個以下の薬物分子を含む。特に、薬物とリンカーの両方が疎水性であった場合、コンジュゲートの凝集により、より高い薬物抗体比（「DAR」）を得ようとする試みは通常

失敗した。多くの例では、3～4より高いDARは、力価を増加させる手段として有益となり得た。免疫調節化合物が疎水性の性質である例では、特に3～4超のDARが望まれる例で、コンジュゲート凝集を減少させる手段として、比較的親水性であるリンカーを選択することが望ましくなり得る。よって、特定の実施形態では、リンカーが、貯蔵および／または使用中にコンジュゲートの凝集を減少させる化学部分を組み込む。リンカーは、荷電基または生理的pH下で帯電する基などの極性または親水性基を組み込んで、コンジュゲートの凝集を減少させ得る。例えば、リンカーは、生理的pHで脱プロトン化する塩もしくは基、例えばカルボキシレート、またはプロトン化する塩もしくは基、例えばアミンなどの荷電基を組み込み得る。

【0285】

10

特定の実施形態では、貯蔵または使用中のコンジュゲートの凝集が、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって決定すると、約40%未満である。特定の実施形態では、貯蔵または使用中のコンジュゲートの凝集が、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって決定すると、35%未満、例えば約30%未満、例えば約25%未満、例えば約20%未満、例えば約15%未満、例えば約10%未満、例えば約5%未満、例えば約4%未満またはそれ以下である。

【0286】

特定の実施形態では、ユビキチンリガーゼ結合部分または第2の部分を、本明細書に記載されるコンジュゲートの免疫調節化合物または第1の部分に結合することができる。ユビキチンリガーゼ結合部分を、1～20の範囲の直鎖非水素原子数を有するスペーサーを介して、免疫調節化合物に結合することができる。ユビキチンリガーゼ結合部分を、エーテル、アミド、アルカン、アルケン、アルキン、ケトン、ヒドロキシル、カルボン酸、チオエーテル、スルホキシドおよびスルホンなどの官能基を有するスペーサーを介して、免疫調節化合物に結合することができる。ユビキチンリガーゼ結合部分を、芳香族、複素芳香族、環式、二環式および／または三環式部分を含むリンカーによって、免疫調節化合物に結合することができる。

20

【0287】

リンカーおよびリンカーと免疫調節化合物のリンカー共有結合部位は切断可能であっても非切断可能であってもよい。リンカーは、Kd測定、細胞ベースのアッセイでの変化した標的タンパク質機能、または両方によって決定して、免疫調節化合物が標的結合を喪失しない可能性があり、免疫調節活性を喪失しない可能性がある部位で免疫調節化合物に結合した非切断可能なリンカーであり得る。リンカー長は、標的タンパク質についてのコンジュゲートの免疫調節化合物の活性を最適化するように変化させることができる。このようなリンカーは短い、柔軟性、剛性、疎水性または親水性であり得る。リンカーは、柔軟性のセグメントまたは剛性のセグメントなどの異なる特性を有するセグメントを含むことができる。リンカーは細胞外環境に対して化学的に安定であり得る。非限定的な例はマレイミドカプロイルリンカーであり得る。マレイミドカプロイルリンカーはN-マレイミドメチルシクロヘキサノール-1-カルボキシレートを含むことができる。リンカーは、マレイミドカプロイル基と1つまたは複数のポリエチレングリコール分子の組み合わせであり得る。

30

40

【0288】

リンカー（L）は、抗体コンストラクト（例えば、抗体）と共有結合的に結合していてもよい5～100個の直鎖非水素原子を含むことができ、a）免疫調節化合物と共有結合的に結合していてもよい；b）第2の化合物（C2）と共有結合的に結合していてもよい5～100個の直鎖非水素原子を含むスペーサー（S）と共有結合的に結合していてもよい免疫調節化合物（C1）と共有結合的に結合していてもよい（図1C）；c）免疫調節化合物（C1）と共有結合的に結合していてもよい5～100個の直鎖非水素原子を含むスペーサー（S）と共有結合的に結合していてもよい第2の化合物（C2）と共有結合的に結合していてもよい（図1B）；またはd）C1およびC2と共有結合的に結合していてもよいスペーサーと共有結合的に結合していてもよい（図1A）。b）～d）のいくつ

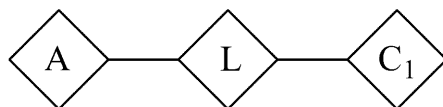
50

かの実施形態では、 C_2 がE3ユビキチンリガーゼ結合部分であり得る。第2の化合物は、結合活性、免疫調節活性または異なる生物活性などの活性を有する。

【0289】

リンカー（L）は、抗体コンストラクト（A）（抗体など）と共有結合的に結合していてもよく、

i)

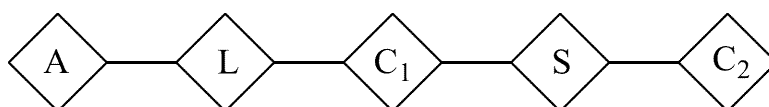


(VII)

10

のように免疫調節化合物（ C_1 ）と共有結合的に結合していてもよい、または

i i)

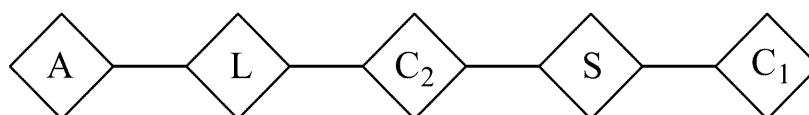


(VIII)

のように第2の免疫調節化合物（ C_2 ）と共有結合的に結合した5～100個の直鎖非水素原子を含むスペーサー（S）とそれ自体が共有結合的に結合していてもよい免疫調節化合物（ C_1 ）と共有結合的に結合していてもよい、または

20

i i i)

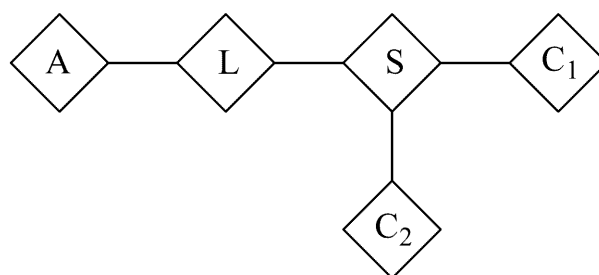


(IX)

のように第1の免疫調節化合物（ C_1 ）と共有結合的に結合した5～100個の直鎖非水素原子を含むスペーサー（S）と共有結合的に結合していてもよい免疫調節化合物（ C_2 ）と共有結合的に結合していてもよい、または

30

i v)



(X)

40

のように2つの免疫調節化合物（ C_1 および C_2 ）と共有結合的に結合した5～100個の直鎖非水素原子を含むスペーサー（S）と共有結合的に結合していてもよい5～100個の直鎖非水素原子を含むことができる。

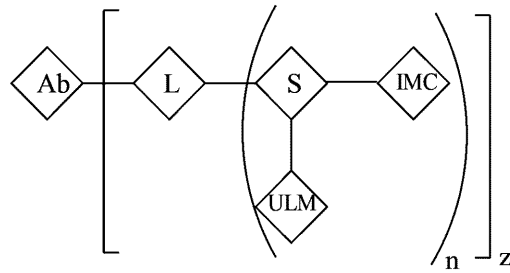
【0290】

いくつかの実施形態では、 C_2 は、 C_1-S-C_2 が一緒になってタンパク質分解標的化キメラ（PROTAC）複合体（タンパク質分解標的化モジュールまたはPTMとも呼ばれる）を形成することができるようなE3ユビキチンリガーゼ結合部分である。

【0291】

50

いくつかの実施形態では、式：



(XI)

10

によって表されるように、免疫調節化合物（IMC）などのタンパク質標的化部分が、スペーサー（S）を介してE3ユビキチンリガーゼ結合部分（ULM）と共有結合的に結合しており、リンカー（L）がスペーサー（S）と共有結合的に結合しており、nが1～20であり、zが1～20である。

【0292】

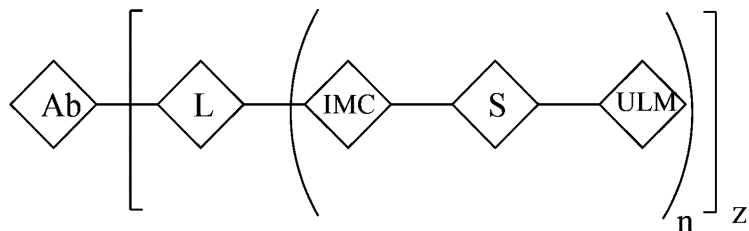
いくつかの実施形態では、Lが切断可能なリンカーである。切断可能なリンカーは、リンカーの節で上に記載されるペプチドリンカーまたは他の切断可能なリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、Lが非切断可能なリンカーである。いくつかの実施形態では、コンジュゲートのFcドメインがFcヌルである。いくつかの実施形態では、FcドメインがFcγ受容体に結合することができる野生型IgGである。いくつかの実施形態では、FcドメインがFc受容体に結合することができ、コンジュゲートのFcドメインとFc受容体の結合についてのK_dが、コントロール抗体コンストラクトとFc受容体の結合についてのK_dの約100倍以下であり、コントロール抗体コンストラクトが非コンジュゲート抗体コンストラクトである。いくつかの実施形態では、コンジュゲートのIMCとタンパク質活性部位の結合についてのK_dが、コントロール化合物とタンパク質活性部位の結合についてのK_dの100倍以下である、またはコンジュゲートのIMCのIC50がコントロール化合物のIC50の300倍以下であり、コントロール化合物が遊離IMCである。

20

30

【0293】

いくつかの実施形態では、式：



(XII)

40

によって表されるように、免疫調節化合物（IMC）などのタンパク質標的化部分が、スペーサー（S）を介してE3ユビキチンリガーゼ結合部分（ULM）と共有結合的に結合しており、リンカー（L）がタンパク質標的化部分と共有結合的に結合しており、nが1～20であり、zが1～20である。

【0294】

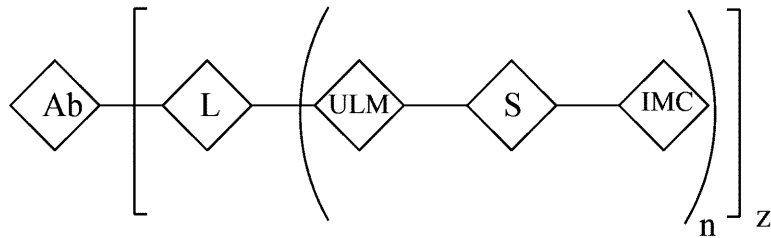
いくつかの実施形態では、Lが切断可能なリンカーである。切断可能なリンカーは、リンカーの節で上に記載されるペプチドリンカーまたは他の切断可能なリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、Lが非切断可能なリンカーである。いくつかの実施形態では、コンジュゲートのFcドメインがFcヌルである。いくつかの実施形態では、Fcドメ

50

インがFcγ受容体に結合することができる野生型IgGである。いくつかの実施形態では、FcドメインがFc受容体に結合することができ、コンジュゲートのFcドメインとFc受容体の結合についての K_d が、コントロール抗体コンストラクトとFc受容体の結合についての K_d の約100倍以下であり、コントロール抗体コンストラクトが非コンジュゲート抗体コンストラクトである。いくつかの実施形態では、コンジュゲートのIMCとタンパク質活性部位の結合についての K_d が、コントロール化合物とタンパク質活性部位の結合についての K_d の100倍以下である、またはコンジュゲートのIMCのIC50がコントロール化合物のIC50の300倍以下であり、コントロール化合物が遊離IMCである。

【0295】

いくつかの実施形態では、式：



(XIII)

によって表されるように、免疫調節化合物（IMC）などのタンパク質標的化部分が、スペーサー（S）を介してE3ユビキチンリガーゼ結合部分（ULM）と共有結合的に結合しており、リンカーLがユビキチンE3リガーゼ部分（ULM）と共有結合的に結合しており、nが1～20であり、zが1～20である。

【0296】

いくつかの実施形態では、Lが切断可能なリンカーである。切断可能なリンカーは、リンカーの節で上に記載されるペプチドリンカーまたは他の切断可能なリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、Lが非切断可能なリンカーである。いくつかの実施形態では、コンジュゲートのFcドメインがFcヌルである。いくつかの実施形態では、FcドメインがFcγ受容体に結合することができる野生型IgGである。いくつかの実施形態では、FcドメインがFc受容体に結合することができ、コンジュゲートのFcドメインとFc受容体の結合についての K_d が、コントロール抗体コンストラクトとFc受容体の結合についての K_d の約100倍以下であり、コントロール抗体コンストラクトが非コンジュゲート抗体コンストラクトである。いくつかの実施形態では、コンジュゲートのIMCとタンパク質活性部位の結合についての K_d が、コントロール化合物とタンパク質活性部位の結合についての K_d の100倍以下である、またはコンジュゲートのIMCのIC50がコントロール化合物のIC50の300倍以下であり、コントロール化合物が遊離IMCである。

【0297】

特定の実施形態では、E3ユビキチンリガーゼ結合部分が、スペーサーを介して、本明細書に記載されるコンジュゲートの免疫調節化合物などのタンパク質標的化部分と結合している。特定の実施形態では、E3ユビキチンリガーゼ結合部分を、1～25または1～20の範囲の直鎖非水素原子数を有するスペーサーを介してタンパク質標的化部分に結合することができる。特定の実施形態では、スペーサーが、5～20個または5～15個の直鎖非水素原子数を有する。スペーサーは、典型的には非切断可能である。

【0298】

E3ユビキチンリガーゼ結合部分を、エーテル、アミド、アルカン、アルケン、アルキン、ケトン、ヒドロキシル、カルボン酸、チオエーテル、スルホキシドおよびスルホンなどの官能基を有するタンパク質標的化部分のスペーサーに結合することができる。E3ユ

10

20

30

40

50

ビキチンリガーゼ結合部分を、芳香族、複素芳香族、環式、二環式および／または三環式部分を含むスペーサーを介して、タンパク質標的化部分のスペーサーに結合することができる。

【0299】

スペーサー長は、標的タンパク質についてのタンパク質標的化部分の活性を最適化するように変化させることができる。いくつかの実施形態では、スペーサーが非切断可能であり、1～25、1～20、1～15、5～25、5～20または5～15の直鎖非水素原子長を有する、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、 $-(CH_2O)-$ 、 $-(CH_2CH_2O)-$ 、 $-(CH_2OCH_2)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-NH-$ および $-O-$ のセグメントを含む。スペーサーは場合により、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_2 \sim C_8$ アルケニル、 $C_2 \sim C_8$ アルキニル、 $-(CH_2O)_{n-1}H$ 、 $-(CH_2CH_2O)_{n-1}H$ 、 $-(CH_2O)_{n-1}CH_3$ 、 $-C(O)OH$ または $-NH_2$ （式中、 $n-1$ は1～8である）で置換されていてもよく、場合によりさらに反応基 R^X を含んで、エーテル、アミド、アルカン、アルケン、アルキン、ケトン、ヒドロキシル、カルボン酸、チオエーテル、スルホキシドおよびスルホンなどの官能基を形成して、リンカー（L）との結合を形成してもよい。いくつかの実施形態では、スペーサーが非置換ではない。いくつかの実施形態では、スペーサーが R^X で置換されている。

【0300】

スペーサーは $C_1 \sim C_{25}$ アルキレンまたは置換されていてもよい $C_1 \sim C_{25}$ ヘテロアルキレンであり得、ヘテロアルキレンは、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH_2-$ および $-C(O)NH-$ から独立に選択される1つまたは複数の基が散在した $C_1 \sim C_{24}$ アルキレン鎖である。スペーサーはまた場合により、アミド結合、エステル結合、エーテル結合、カルボネート結合、カルバメート結合またはチオエーテル結合などの官能基を形成することができる反応性基 R^X で置換されていてもよく；このような反応性基は、例えばアミノ基；カルボキシル基；アルデヒド基；アジド基；アルキンおよびアルケン基；ケトン；カルボネート；シアノおよびスクシンイミジルなどの脱離基と結合したカルボニル官能基ならびにヒドロキシル基であり得る。いくつかの実施形態では、 R^X が $-NH_2-$ 、 $-S$ またはマレイミドであり得る。いくつかの実施形態では、 R^X が $-NH_2$ である。スペーサーはまた場合により、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_2 \sim C_8$ アルケニル、 $C_2 \sim C_8$ アルキニル、 $-(CH_2O)_{n-1}H$ 、 $-(CH_2CH_2O)_{n-1}H$ 、 $-(CH_2O)_{n-1}CH_3$ 、 $-C(O)OH$ または $-NH_2$ （式中、 $n-1$ は1～8である）で置換されていてもよい。いくつかの実施形態では、スペーサーが非置換ではない。いくつかの実施形態では、スペーサーが R^X で置換されている。

【0301】

特定の実施形態では、スペーサー（S）が、式 $-C(O)N(R^{100})R^{101}C(O)N(R^{100})-$ 、 $-C(O)R^{101}C(O)-$ 、 $-C(O)R^{101}N(R^{100})-$ 、 $-N(R^{100})R^{101}C(O)-$ 、 $-N(R^{100})C(O)R^{101}C(O)-$ 、 $-N(R^{100})C(O)R^{101}N(R^{100})-$ 、 $-N(R^{100})R^{101}C(O)N(R^{100})-$ 、 $-N(R^{100})C(O)R^{101}C(O)N(R^{100})-$ 、 $-N(R^{100})C(O)R^{101}N(R^{100})C(O)-$ および $-C(O)N(R^{100})R^{101}C(O)N(R^{100})-$ を有し；各 R^{100} がHまたは $C_1 \sim C_3$ アルキルから独立に選択され、 R^{101} が、各場合で、リンカー（L）との結合のために反応性部分 R^X で置換されていてもよい、 $-C_1 \sim C_{25}$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_{25}$ アルケニレン、 $-C_1 \sim C_{25}$ アルキンレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アルキレン $(CH_2O)_n$ $C_1 \sim C_{15}$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アルキレン $((CH_2OCH_2)_n$ $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アルキレン $(CH_2CH_2O)_n$ $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アルケニレン $((CH_2O)_n$ $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アルケニレン $(CH_2CH_2O)_n$ $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アルケニレン $((CH_2OCH_2)_n$ $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アルキレン $(CH_2O)_n$ $C_1 \sim C_{12}$ アルケニレン、 $-C_1 \sim C_{12}$ アル

キレンー $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルケニレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキレンー $(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルケニレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{O})_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{O})_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルケニレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルケニレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルケニレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{O})_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー、 $-\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンー $(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキニレンーであり、 n が 0～8 である。 R^{X} は、アミド結合、エステル結合、エーテル結合、カルボネート結合、カルバメート結合またはチオエーテル結合を形成することができる反応性基であり得；このような反応性基は、例えばアミノ基；カルボキシル基；アルデヒド基；アジド基；アルキンおよびアルケン基；ケトン；カルボネート；シアノおよびスクシンイミジルなどの脱離基と結合したカルボニル官能基ならびにヒドロキシル基であり得る。いくつかの実施形態では、 R^{X} が $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{S}$ またはマレイミドであり得る。いくつかの実施形態では、 R^{X} が $-\text{NH}_2$ である。

【0302】

特定の実施形態では、スペーサー (S) が、グルタメート、グリシンーグルタメートジペプチド、グリシンーPEG1ーグルタメート、グリシンーPEG2ーグルタメート、グリシンーPEG3ーグルタメート、グリシンーPEG4ーグルタメートまたはグリシンーPEG5ーグルタメートを含み、E3 ユビキチンリガーゼ結合部分およびタンパク質標的化部分がアミド結合を介してスペーサーと結合している。

【0303】

E3 ユビキチンリガーゼ結合部分は、Von Hippel-Lindau E3 ユビキチンリガーゼ (VHL)、セレブロン、マウス二重微小染色体2ホモログ (MDM2)、AMFR、APC/Cdc20、APC/Cdh1、Corf157、Cbl、CBL1、CHFR、CHIP、DTL (Cdt2)、E6-AP、HACE1、HECTD1、HECTD2、HECTD3、HECW1、HECW2、HERC2、HERC3、HERC4、HERC5、HUWE1、HYD、ITCH、LNX1、マホグニン、MARCH-I、MARCH-II、MARCH-III、MARCH-IV、MARCH-VI、MARCH-VII、MARCH-VIII、MARCH-X、MEKK1、MIB1、MIB2、MyCBP2、NEDD4、NEDD4L、パーキン、PELI1、Pirh2、PJA1、PJA2、RFFL、RWD2、Rictor、RNF5、RNF8、RNF19、RNF190、RNF20、RNF34、RNF40、RNF125、RNF128、RNF138、RNF168、SCF/ β -TrCP、SCF/FBW7、SCF/Skp2、SHPRH、SIAH1、SIAH2、SMURF1、SMURF2、TOPORS、TRAF6、TRAF7、TRIM63、UBE3B、UBE3C、UBR1、UBR2、UHRF2、WWP1、WWP2、またはZNF1などのE3 ユビキチンリガーゼに結合することができる。

【0304】

他の実施形態では、E3 ユビキチンリガーゼ結合部分が、Von Hippel-Lindau (VHL)、セレブロン、XIAP、E3A、MDM2、後期促進複合体 (APC)、UBR5 (EDDI)、SOCs/BC-box/elcBC/CUL5/RING、LNXp80、CBX4、CBL1、HACE1、HECTD1、HECTD2、HECTD3、HECW1、HECW2、HERC1、HERC2、HERC3、HERC4、HUWE1、ITCH、NEDD4、NEDD4L、PPI12、PRPF19、PIAS1、PIAS2、PIAS3、PIAS4、RANBP2、RNF4、RBX1、SMURF1、SMURF2、STUB1、TOPORS、TRIP12、UBE3A、UBE3B、UBE3C、UBE4A、UBE4B、UBOX5、UBR5、WWP

I、WWP2、パーキン、A20/TNFAIP3、AMFR/gp78、ARA54、 β -TrCP1/BTRC、BRCA1、CBL、CHIP/STUB1、E6、E6AP/UBE3A、Fボックスタンパク質I5/FBXO15、FBXW7/Cdc4、GRAIL/RNF128、HOIP/RNF31、cIAP-I/HIAP-2、cIAP-2/HIAP-I、cIAP(pan)、ITCH/AIP4、KAP1、MARCKS8、Mind Bomb1/MIB1、Mind Bomb2/MIB2、MURF1/TRIM63、NDFIP1、NEDD4、NleL、パーキン、RNF2、RNF4、RNF8、RNF168、RNF43、SART1、Skp2、SMURF2、TRAF-I、TRAF-2、TRAF-3、TRAF-4、TRAF-5、TRAF-6、TRIMS、TRIM21、TRIM32、UBR5およびZNRF3から選択されるE3ユビキチンリガーゼから選択され得る。

10

【0305】

さらなる実施形態では、E3ユビキチンリガーゼが、以下の型から選択され得る：HECT型、RING型、パーキンフィンガー型、RING変異体型、Uボックス型、A20フィンガー型、PIASフィンガー型、PHDフィンガー型、Skp1様型、カリン型、Fボックス型、SOCSボックス型、BTB型、DDB1様型およびAPC/サイクロソーム型。

【0306】

E3ユビキチンリガーゼ結合部分は、(S)-2-アミノ-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-yl)ベンジル)-N5-(2-(3-((S)-1-(2S,4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロボキシ)エチル)ペントンジアミド(実施例1)などのVHL結合部分または3-アミノ-6-(4-(2-((2S)-2-アミノ-6-(2-((2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)オキシ)アセトアミド)ヘキサナミド)エチル)フェニル)-N-(4-モルホリノピリジン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミド(実施例2)などのセレブロン結合部分であり得る。

20

【0307】

特定の実施形態では、リンカー(L)が、スパーサーの反応性部位R^xでPTMと結合している。特定の実施形態では、リンカー(L)が、E3ユビキチンリガーゼ結合部分の結合部位を介してPTMと結合している。特定の実施形態では、リンカー(L)が、タンパク質標的化部分の結合部位を介してPTMと結合している。

30

【0308】

リンカー(L)および/またはリンカー(L)とタンパク質分解標的化モジュールの共有結合部位(複数可)は切断可能であっても非切断可能であってもよい。特定の実施形態では、リンカーが切断可能である。特定の実施形態では、リンカーが非切断可能である。いくつかの実施形態では、リンカーが非切断可能であり、タンパク質標的化部分とそのタンパク質標的に結合することができ、活性である場合、Kd測定、細胞ベースのアッセイでの変化した標的タンパク質機能または両方によって決定して、免疫調節活性を喪失しない部位でタンパク質分解標的化モジュールと結合している。リンカー長は、標的タンパク質についてのタンパク質標的化部分の活性を最適化するように変化させることができる。このようなリンカーは短い、柔軟性、剛性、親水性または疎水性であり得る。リンカーは、柔軟性のセグメントまたは剛性のセグメントなどの異なる特性を有するセグメントを含むことができる。リンカーは細胞外環境に対して化学的に安定であり得る。非限定的な例はマレイミドカプロイルリンカーであり得る。マレイミドカプロイルリンカーはN-マレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシレートを含むことができる。

40

【0309】

いくつかの実施形態では、リンカー(L)が切断可能なリンカーであり、上に示される式IIa、IIb、IIc、IIId、IIIf、IIIf、IIIf、IIIf、IVa、IVb

50

、I V c、I V dおよびI V eならびにその中の特定の構造のリンカーから選択され得る。

【0310】

リンカー（L）は、マレイミドカプロイル基と1つまたは複数のポリエチレングリコール分子の組み合わせであり得る。

【0311】

リンカー（L）は、抗体コンストラクトと共有結合的に結合していてもよい5～100個の直鎖非水素原子を含み得る。

【0312】

いくつかの実施形態では、タンパク質分解標的化モジュールのタンパク質標的化部分が、P I 3 K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、m T O R阻害剤、B T K阻害剤、J A K阻害剤、C R A C阻害剤、P A R P 1アンタゴニスト、P P A R gアゴニスト、K v 1. 3アンタゴニスト、K C a 3. 1アンタゴニスト、P P 2 Aアゴニスト、I R A K 4阻害剤、M Y D 8 8阻害剤、B C L-2アンタゴニスト、A 2 a Rアゴニスト、T L R 7アンタゴニスト、c-K I Tキナーゼ阻害剤、K C A 3. 1アゴニスト、T G F β R 1阻害剤、T G F β R 2阻害剤、A C Cアンタゴニスト、A S K 1アンタゴニスト、G L I 1阻害剤、T N K SアンタゴニストもしくはT N I Kアンタゴニスト、またはこれらのいずれかの組み合わせなどのアンタゴニストであり得る。

10

【0313】

いくつかの実施形態では、タンパク質標的化部分が、C S F R 1、R O N/M S T 1、P I 3 K d、P I 3 K g、P A R P 1、P D-L 1、P P 2 A、A 2 a r、T Y R O 3、A X LまたはM E Rに結合する。特定の実施形態では、タンパク質標的化部分が、C S F R 1、R O N/M S T 1、P I 3 K d、P I 3 K g、P A R P 1、P D-L 1、P P 2 A、A 2 a r、T Y R O 3、A X LまたはM E Rのアンタゴニストまたは阻害剤である。

20

【0314】

他の実施形態では、タンパク質標的化部分が、P A M P分子またはD A M P分子などのパターン認識受容体（P R R）アゴニストであり得る。いくつかの実施形態では、タンパク質標的化部分が、T o l l様受容体アゴニスト、R I G-Iアゴニスト、S T I N Gアゴニスト、G P C Rアゴニスト、イオンチャネルアゴニスト、膜輸送体アゴニストまたはE Rタンパク質アゴニストであり得る。

30

【0315】

特定の実施形態では、抗体コンストラクト（抗体など）が、カドヘリン11、P D P N、インテグリンα 4 β 7、インテグリンα 2 β 1、M A D C A M、ネフリン、ポドシン、I F N A R 1、B D C A、C D 3 0、c-K I T、F A P、C D 7 3、C D 3 8、P D G F R β、インテグリンα v β 1、インテグリンα v β 3、インテグリンα v β 8、G A R P、エンドシアリン、C T G F、インテグリンα v β 6、C D 4 0、P D-1、T I M-3、T N F R 2、D E C 2 0 5、D C I R、C D 8 6、C D 4 5 R B、C D 4 5 R O、M H CクラスI IおよびC D 2 5から選択される第1の抗原に特異的に結合する。いくつかの態様では、第1の抗原が、カドヘリン11、P D P N、インテグリンα 4 β 7、インテグリンα 2 β 1、M A D C A M、ネフリン、ポドシン、I F N A R 1、B D C A 2、C D 3 0、c-K I T、F A P、C D 7 3、C D 3 8、P D G F R β、インテグリンα v β 1、インテグリンα v β 3、インテグリンα v β 8、G A R P、エンドシアリン、C T G F、インテグリンα v β 6、C D 4 0、P D-1、T I M-3、T N F R 2、D E C 2 0 5、D C I R、C D 8 6、C D 4 5 R B、C D 4 5 R O、M H CクラスI I、C D 2 5、L R R C 1 5およびカドヘリン11から選択される。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトが、カドヘリン11、P D P N、L R R C 1 5、インテグリンα 4 β 7、インテグリンα 2 β 1、M A D C A M、ネフリン、ポドシン、I F N A R 1、B D C A 2、C D 3 0、c-K I T、F A P、C D 7 3、C D 3 8、P D G F R β、インテグリンα v β 1、インテグリンα v β 3、インテグリンα v β 8、G A R P、エンドシアリン、C T G F、インテグリンα v β 6、C D 4 0、P D-1、T I M-3、T N F R 2、D E C 2 0 5

40

50

、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25、MMP14、GPX8およびF2RL2から選択される第1の抗原に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンストラクトが、カドヘリン11、FAP、TNFR2またはLRRC15から選択される第1の抗原に結合する。いくつかの態様では、抗体コンストラクトが、FAPおよびカドヘリン11から選択される第1の抗原に結合する。いくつかの態様では、抗体コンストラクトが、LRRC15から選択される第1の抗原に結合する。

【0316】

特定の実施形態では、抗体コンストラクトが、T細胞、B細胞、星細胞、内皮細胞、腫瘍細胞、APC、線維芽細胞、線維細胞、筋線維芽細胞、滑膜線維芽細胞、有足細胞または線維症の発病に関連する細胞上の抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体コンストラクトが、T細胞、APCおよび／またはB細胞上の抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体コンストラクトが、PD-1、GARP、CD25、PD-L1またはTNFR2からなる群から選択される抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体コンストラクトが、星細胞、内皮細胞、線維芽細胞、線維細胞、有足細胞または線維症の発病に関連する細胞上の抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体コンストラクトが、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、エンドシアリン、FAP、ADAM12、LRRC15、MMP14、PDPN、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗原に特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体コンストラクトが、FAP、ADAM12、LRRC15、MMP14、PDPN、CDH11およびF2RL2からなる群から選択される抗原に特異的に結合する。

【0317】

薬学的製剤

本明細書に記載されるコンジュゲートおよび方法は、それを必要とする対象に投与するための薬学的組成物として有用であるとみなされ得る。薬学的組成物は、少なくとも本明細書に記載されるコンジュゲートと、1つまたは複数の薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、安定剤、分散剤、懸濁剤および／または増粘剤とを含み得る。薬学的組成物は、抗体コンストラクトと、リンカーと、PI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2ARアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCa3.1アゴニスト、TGFR1阻害剤、TGFR2阻害剤、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストとを有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、抗体コンストラクトと、リンカーと、TGFR1、TGFR1またはTGFR2阻害剤とを有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、抗体コンストラクトと、リンカーと、TGFR1またはTGFR2阻害剤とを有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、抗体コンストラクトと、リンカーと、TGFR1阻害剤とを有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、抗体コンストラクトと、リンカーと、TGFR2阻害剤とを有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、第2の抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトと、リンカーと、PI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2ARアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCa3.1アゴニスト、TGFR1阻害剤、TGFR2阻害剤、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストとを有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、第2の抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトと、リンカーと、TGFR1、TGFR1またはTGFR2阻害剤とを

有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、第2の抗原結合ドメインを含む抗体コンストラクトと、リンカーと、TGFβR2阻害剤とを有するコンジュゲートを含み得る。薬学的組成物は、本明細書に記載されるいずれかのコンジュゲートを含み得る。抗体コンストラクトは抗LRRC15抗体であり得る。抗体コンストラクトは抗FAP抗体であり得る。抗体コンストラクトは抗CDH11抗体であり得る。抗体コンストラクトは抗TNFR2抗体であり得る。抗体コンストラクトは、所望の抗原に対する抗原結合特異性を付与する、それぞれ表1および／または表2の配列のセットまたはペアを含み得る。コンジュゲートは、所望の抗原に対する抗原結合特異性を付与する、それぞれ表1および／または表2の配列のセットまたはペアを含む抗体コンストラクトと、リンカーと、PI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2arアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCa3.1アゴニスト、TGFβR1阻害剤、TGFβR2阻害剤、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストとを含み得る。コンジュゲートは、所望の抗原に対する抗原結合特異性を付与する、それぞれ表1および／または表2の配列のセットまたはペアを含む抗原結合ドメイン（複数可）を含む抗体コンストラクトと、リンカーと、PI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2arアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCa3.1アゴニスト、TGFβR1阻害剤、TGFβR2阻害剤、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストとを含み得る。薬学的組成物は場合によりさらに、バッファー、抗生物質、ステロイド、炭水化物、薬物（例えば、化学療法薬物）、ポリペプチド、キレート剤、アジュバントおよび／または防腐剤を含み得る。

【0318】

薬学的組成物は、賦形剤および補助剤を含む1つまたは複数の生理学的に許容される担体を使用して製剤化され得る。製剤は、選択された投与経路に応じて修飾され得る。本明細書に記載されるコンジュゲートを含む薬学的組成物は、例えばコンジュゲートを凍結乾燥させる、コンジュゲートを混合する、溶解する、乳化する、カプセル化するまたは捕捉することによって製造され得る。薬学的組成物はまた、遊離塩基形態または薬学的に許容される塩形態で本明細書に記載されるコンジュゲートを含み得る。

【0319】

コンジュゲートを製剤化して本明細書に記載される薬学的組成物を形成する方法は、1つまたは複数の不活性な薬学的に許容される賦形剤または担体を用いてコンジュゲートのいずれかを製剤化して、固体、半固体または液体組成物を形成することを含み得る。固体組成物は、例えば粉末、錠剤、分散性顆粒およびカプセル剤を含んでよく、いくつかの態様では、固体組成物が、非毒性補助物質、例えば湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、および他の薬学的に許容される添加剤をさらに含有する。あるいは、本明細書に記載される薬学的組成物は、凍結乾燥され得る、または使用前に適切なビヒクル、例えば滅菌発熱性物質除去蒸留水で再構成するための粉末形態であり得る。

【0320】

本明細書に記載されるコンジュゲートの薬学的組成物は、少なくとも有効成分をさらに含み得る。有効成分は、例えばコアセルベーション技術もしくは界面重合（例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースもしくはゼラチンマイクロカプセルおよびポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセル）によって調製されるマイクロカプセル、コロイド薬物送達系（例えば、リボソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、

ナノ粒子およびナノカプセル) またはマクロエマルジョンに捕捉され得る。

【0321】

本明細書に記載される薬学的組成物は通常、治療される特定の適応症に必要な2つ以上の活性化化合物をさらに含み得る。活性化化合物は、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有し得る。例えば、組成物は、化学療法剤、細胞傷害剤、サイトカイン、増殖阻害剤、抗ホルモン剤、抗血管新生剤および／または心臓保護剤を含み得る。このような分子は、意図した目的に有効な量で組み合わせて存在し得る。

【0322】

組成物および製剤は滅菌され得る。滅菌は、滅菌濾過による濾過によって達成され得る。

10

【0323】

本明細書に記載されるコンジュゲートは、注射として投与するために製剤化され得る。注射用の製剤の非限定的な例としては、油性または水性ビヒクル中の滅菌懸濁液、溶液またはエマルジョンが挙げられる。適切な油性ビヒクルには、それだけに限らないが、脂肪酸または合成脂肪酸エステルまたはリポソームなどの親油性溶媒またはビヒクルが含まれ得る。水性注射懸濁液は、懸濁液の粘度を増加させる物質を含有し得る。懸濁液はまた、適切な安定剤を含有し得る。注射は、ボラス注射または連続的注入用に製剤化され得る。あるいは、本明細書に記載される薬学的組成物は凍結乾燥され得る、または使用前に適切なビヒクル、例えば滅菌発熱性物質除去蒸留水で再構成するための粉末形態であり得る。

20

【0324】

非経口投与のために、コンジュゲートは薬学的に許容される非経口ビヒクルと共に単位投薬注射可能形態（例えば、溶液、懸濁液、エマルジョン）に製剤化され得る。このようなビヒクルは本質的に非毒性で、非治療的であり得る。ビヒクルは、水、生理食塩水、リンゲル液、デキストロース溶液および5%ヒト血清アルブミンであり得る。不揮発性油およびオレイン酸エチルなどの非水性ビヒクルも使用され得る。リポソームが担体として使用され得る。ビヒクルは、等張性および化学安定性を増強する物質（例えば、バッファーおよび防腐剤）などの微量の添加剤を含有し得る。

【0325】

徐放性調製物も調製され得る。徐放性調製物の例としては、コンジュゲートを含有し得る固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、これらのマトリックスは成形品（例えば、フィルムまたはマイクロカプセル）の形態であり得る。徐放性マトリックスの例としては、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリレート）またはポリ（ビニルアルコール））、ポリ乳酸、L-グルタミン酸とγ-エチル-L-グルタメートの共重合体、非分解性エチレン-酢酸ビニル、分解性乳酸-グリコール酸共重合体、例えばLUPRON DEPO（商標）（すなわち、乳酸-グリコール酸共重合体と酢酸ロイプロリドで構成される注射可能なミクロスフェア）およびポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸が挙げられる。

30

【0326】

本明細書に記載されるコンジュゲートの薬学的製剤は、コンジュゲートを薬学的に許容される担体、賦形剤および／または安定剤と混合することによって貯蔵用に調製され得る。この製剤は、凍結乾燥製剤または水溶液であり得る。許容される担体、賦形剤および／または安定剤は、使用される投与量および濃度でレシピエントに非毒性であり得る。許容される担体、賦形剤および／または安定剤には、リン酸塩、クエン酸および他の有機酸などのバッファー；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤、ポリペプチド；血清アルブミンまたはゼラチンなどのタンパク質；親水性ポリマー；アミノ酸；単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノースまたはデキストリンを含む炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体；ならびに／あるいは非イオン性界面活性剤またはポリエチレングリコールが含まれ得る。

40

50

【0327】

治療用途

本開示の薬学的組成物、コンジュゲートおよび方法は、それだけに限らないが、哺乳動物、ヒト、非ヒト哺乳動物、飼育動物（例えば、実験室動物、家庭用ペットまたは家畜）、非飼育動物（例えば、野生生物）、イヌ、ネコ、げっ歯類、マウス、ハムスター、ウシ、鳥、ニワトリ、魚、ブタ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ウサギおよびこれらのいずれかの組み合わせを含む複数の異なる対象に有用であり得る。

【0328】

本明細書に記載される組成物、コンジュゲートおよび方法は、治療薬、例えばそれを必要とする対象に投与され得る治療薬として有用であり得る。本開示の治療効果は、それだけに限らないが、その症状を含む疾患状態の減少、抑制、寛解または根絶によって対象で得られ得る。疾患もしくは状態を有する、または疾患もしくは状態にかかりやすい、または疾患もしくは状態を有し始めている対象における治療効果は、状態もしくは疾患、または前状態もしくは前疾患状態の減少、抑制、予防（例えば、再発の）、寛解または根絶によって得られ得る。

10

【0329】

本明細書に記載される方法の実施では、治療的有效量の本明細書に記載される薬学的組成物またはコンジュゲートは、通常その状態または進行を治療および／または予防するために、それを必要とする対象に投与され得る。薬学的組成物は、免疫系、炎症反応または他の生理的効果などの対象の生理学に影響を及ぼし得る。治療的有效量は、疾患の重症度、対象の年齢および相対的健康、使用される化合物の力価ならびに他の因子に応じて広く変化し得る。

20

【0330】

治療するおよび／または治療することとは、治療の成功または疾患もしくは状態の改善の成功のいずれかの兆候を指し得る。治療することは、例えば疾患または状態の1つまたは複数の症状の重症度を減少させる、遅延させるまたは緩和することを含み得る、あるいはこれは、疾患、欠損、障害または有害状態などの症状が患者によって経験される頻度を減らすことを含み得る。治療は、本明細書では、疾患または状態のあるレベルの治療または改善をもたらす方法を指し、それだけに限らないが、状態の予防または再発の予防を含むその終了を目指した結果の範囲を想起し得る。

30

【0331】

予防する、予防することなどは、患者における疾患または状態、例えば線維症の進行の予防を指し得る。例えば、線維症、自己免疫疾患または自己炎症性疾患を発症するリスクがある個体が本開示の方法で治療され、後に線維症、自己免疫疾患または自己炎症性疾患を発症しない場合、疾患はその個体で少なくとも一定期間にわたって予防されている。予防する、予防することなどはまた、既に治療された個体の再発を予防することを指し得る。

【0332】

治療的有效量は、有益な効果を提供する、または組成物もしくはコンジュゲートが投与された個体にとって有害な有益でない事象を減少させるのに十分な組成物またはコンジュゲートの量であり得る。治療的有效用量は、そのために投与されている1つまたは複数の所望のまたは望ましい（例えば、有益な）効果をもたらす用量であり得、このような投与は所与の期間にわたって1回または複数回行われる。正確な用量は、治療の目的に依存し、既知の技術を使用して当業者によって確認され得る。

40

【0333】

治療に使用され得る本明細書に記載される薬学的組成物およびコンジュゲートは、治療される障害、個々の患者の状態、組成物またはコンジュゲートの送達部位、投与方法および施術者に知られている他の因子を考慮して、医学行動規範と一致した様式で製剤化され、投与量が確立され得る。本明細書に記載されるコンジュゲートは、本明細書に記載される調製の説明に従って調製され得る。

50

【0334】

本明細書に記載されるコンジュゲートおよび方法で有用とみなされ得る薬学的組成物は、対象に罹患している疾患または状態のための治療法として適したものとなり得る当業者に知られている技術を使用して、それを必要とする対象に投与され得る。当業者は、本明細書に記載される薬学的組成物のそれを必要とする対象への投与の量、持続期間および頻度が、例えばそれだけに限らないが、対象の健康、患者の特定の疾患または状態、患者の特定の疾患または状態のグレードまたはレベル、対象が投与されているまたは投与されていた追加の治療薬などを含むいくつかの因子に依存することを理解するだろう。

【0335】

本明細書に記載される方法および組成物およびコンジュゲートは、それを必要とする対象に投与するためのものであり得る。通常、本明細書に記載される組成物およびコンジュゲートの投与は、その非限定的な例として、静脈内、動脈内、皮下、硬膜下、筋肉内、頭蓋内、胸骨内、腫瘍内または腹腔内が挙げられる投与経路を含み得る。さらに、薬学的組成物は、追加の投与経路、例えば吸入、経口、皮膚、鼻腔内または髄腔内投与によって、対象に投与され得る。

【0336】

本開示の組成物およびコンジュゲートは、第1の投与で、および1回または複数回の追加の投与で、それを必要とする対象に投与され得る。投与は、例えば第1の投与の21日後、14日後、10日後、7日後、4日後または1日後のサイクルで、それを必要とする対象に投与され得る。1回または複数回の追加の投与はまた、第1の投与の数分後、数時間後、数日後、数週間後または数か月後にそれを必要とする対象に投与され得る。追加の投与のうちのいずれか1回は、第1の投与の21日未満後、または14日未満後、10日未満後、7日未満後、4日未満後または1日未満後にそれを必要とする対象に投与され得る。1回または複数回の投与は、1日に2回以上、1週間に2回以上または1カ月に2回以上行われ得る。

【0337】

治療方法

本明細書で提供される組成物、コンジュゲートおよび方法は、対象における複数の疾患、状態の治療、疾患もしくは状態の予防、またはそれを必要とする対象のための他の治療用途に有用であり得る。通常、本明細書で提供される組成物、コンジュゲートおよび方法は、自己免疫疾患、炎症性疾患または線維性疾患などの治療に有用であり得る。本明細書で提供される組成物、コンジュゲートおよび方法は、線維性疾患、自己免疫疾患または自己炎症性疾患に関連する細胞および／または組織を特異的に標的化するのに有用であり得る。本明細書で提供される組成物、コンジュゲートおよび方法は、TGFβ1、TGFβR1またはTGFβR2を特異的に標的化するのに有用であり得る。本明細書で提供される組成物、コンジュゲートおよび方法は、TGFβR1またはTGFβR2を阻害するのに有用であり得る。一実施形態では、コンジュゲートがTGFβR1阻害剤として役立ち得る。別の実施形態では、本開示のコンジュゲートがTGFβR2阻害剤として役立ち得る。本明細書に開示される状態は、本明細書に記載される疾患に関連する特異的細胞上の抗原の発現に関連し得る。通常、細胞によって発現される抗原は、コンジュゲートの抗体コンストラクトによる認識が可能な細胞外部分を含み得る。細胞によって発現される抗原は、本明細書に記載される抗体コンストラクトによって認識され得る抗原であり得る。コンジュゲートまたは組成物の抗体コンストラクトは、線維症関連抗原、自己免疫関連抗原または自己炎症性関連抗原を認識し得る。例えば、抗原は、カドヘリン11、PDPN、インテグリンα4β7、インテグリンα2β1、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFRβ、インテグリンαvβ1、インテグリンαvβ3、インテグリンαvβ8、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリンαvβ6、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25またはこれらのいずれかの断片であり得る。抗原は、カドヘリ

10

20

30

40

50

ン11、LRRC15、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25またはこれらのいずれかの断片であり得る。抗原は、カドヘリン11、LRRC15またはFAPであり得る。抗原は、カドヘリン11、TNFR2またはFAPであり得る。抗原はTNFR2であり得る。

【0338】

本明細書に記載されるように、コンジュゲートの抗原結合ドメイン部分は、例えば疾患抗原などの疾患細胞によって発現される抗原を認識するよう構成され得る。通常、このような抗原は、当業者に知られている、またはこのような状態に関連している、このような状態と一般的に関連しているおよび／またはこのような状態に特異的であることが新たに分かっている。例えば、疾患抗原は、それだけに限らないが、カドヘリン11、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25またはこれらのいずれかの断片である。疾患抗原はまた、カドヘリン11、LRRC15、PDPN、インテグリン $\alpha 4 \beta 7$ 、インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ 、MADCAM、ネフリン、ポドシン、IFNAR1、BDCA2、CD30、c-KIT、FAP、CD73、CD38、PDGFR β 、インテグリン $\alpha v \beta 1$ 、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 、GARP、エンドシアリン、CTGF、インテグリン $\alpha v \beta 6$ 、CD40、PD-1、TIM-3、TNFR2、DEC205、DCIR、CD86、CD45RB、CD45RO、MHCクラスII、CD25またはこれらのいずれかの断片であり得る。疾患抗原はまた、FAP、LRRC15またはカドヘリン11であり得る。疾患抗原は、カドヘリン11、TNFR2またはFAPであり得る。疾患抗原はTNFR2であり得る。

【0339】

線維症または線維性疾患の非限定的な例としては、癒着性関節包炎、動脈壁硬化、関節線維症、心房線維症、硬変、クローン病、膠原性線維腫、嚢胞性線維症、デスモイド型線維腫症、デュピュイトラン拘縮、弾性線維腫、心内膜心筋線維症、腱鞘線維腫、グリア瘢痕、突発性肺線維症、ケロイド、縦隔線維症、骨髓線維症、項部線維腫、腎性全身性線維症、陳旧性心筋梗塞、ペイロニー病、肺線維症、進行性塊状線維症、放射線誘発性肺障害、後腹膜線維症、瘢痕および強皮症／全身性硬化症が挙げられる。

【0340】

本開示による方法を使用して治療することができる疾患の非限定的な例としては、急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、急性壊死性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎(AS)、抗GBM／抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群(APS)、関節炎、自己免疫性血管浮腫、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性自律神経失調症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性高脂血症、自己免疫性免疫不全、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性血小板減少性紫斑病(ATP)、自己免疫性甲状腺疾患、自己免疫性じん麻疹、無腐性壊死(骨壊死)＼背部痛、急性運動性軸索型ニューロパチー(AMAN)、バロー病、ベーチェット病、滑液包炎および他の軟組織疾患、水疱性類天疱瘡、心筋症、手根管症候群、キャッスルマン病(CD)、セリアック病、シャーガス病、慢性疲労症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー(CIDP)、慢性再発性多巣性骨髓炎(CRMO)、チャージ・ストラウス、瘢痕

性類天疱瘡／良性粘膜類天疱瘡、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、CREST症候群、膠原血管病、CPDD（ピロリン酸カルシウム二水和物結晶沈着症）、クローン病、脱髄性ニューロパチー、変形性関節症、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、糖尿病（I型）、円板状狼瘡、DISH（びまん性特発性骨増殖症）、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎（EoE）、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、本態性混合型クリオグロブリン血症、デュピュイトラン、EDS（エーラス・ダンロス症候群）、EMS（好酸球増多筋痛症候群）、エバンス症候群、実験的アレルギー性脳脊髄炎、フェルティ症候群、線維筋痛症、線維筋炎、線維性肺炎、巨細胞動脈炎（側頭動脈炎）、巨細胞心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、多発血管炎性肉芽腫症、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病（HSP）、妊娠ヘルペスまたは妊娠性類天疱瘡（PG）、低ガンマグロブリン血症、突発性肺線維症、突発性血小板減少性紫斑病、IGA腎症、IGG4関連硬化性疾患、免疫調節性リポタンパク質、封入体筋炎（IBM）、感染性関節炎、炎症性腸疾患、間質性膀胱炎（IC）、JH（関節過度可動性）、関節の炎症、若年性関節リウマチ、若年性関節炎—他の種類および関連する状態、若年性皮膚筋炎、若年性糖尿病（1型糖尿病）、若年性特発性関節炎（JIA）、若年性筋炎（JM）、若年性非炎症性障害、若年性乾癬性関節炎、若年性強皮症、若年性脊椎関節症候群、若年性全身性エリテマトーデス（SLE）、若年性脈管炎、川崎病、レダーホース病（足のデュピュイトラン）、ランバート・イートン症候群、白血球破壊性脈管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線状IGA病（LAD）、狼瘡、円板状紅斑性狼瘡、ライム病、マルファン症候群、MCTD（混合性結合組織病）、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎（MPA）、混合性結合組織病（MCTD）、モーレン潰瘍、ムッハ・ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋炎、筋筋膜炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎、好中球減少症、眼部瘢痕性類天疱瘡、視神経炎、変形性関節症、骨形成不全症、骨壊死（無腐性壊死）、骨粗鬆症、ページェット病、回帰性リウマチ（PR）、PANAS（小児自己免疫性溶連菌関連性精神神経障害）、傍腫瘍性小脳変性症（PCD）、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、Parry-Romberg症候群、パーソネージ・ターナー症候群、毛様体扁平部炎（周辺性ブドウ膜炎）、天疱瘡、天疱瘡／類天疱瘡、末梢性ニューロパチー、静脈周囲脳脊髄炎、悪性貧血、ペイロニー病、POEMS症候群（多発ニューロパチー、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性ガンマグロブリン血症、皮膚変化）、PMR（リウマチ性多発筋痛症）、結節性多発動脈炎、多発性関節炎、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、プロゲステロン皮膚炎、偽痛風、弾性線維性仮性黄色腫（PXE）、乾癬性関節炎、乾癬、赤芽球癆（PRCA）、壊疽性膿皮症、レイノー病、反応性関節炎、ライター症候群（反応性関節炎）、再発性多発性軟骨炎、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、PLD（下肢静止不能症候群）、RSD（反射性交感神経性ジストロフィー）、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、シェーグレン症候群、軟組織疾患、精子および精巣自己免疫、脊柱管狭窄、全身硬直症候群（SPS）、スティル病、亜急性細菌性心内膜炎（SBE）、スザック症候群、交感性眼炎（SO）、高安動脈炎、側頭動脈炎／巨細胞動脈炎、血小板減少性紫斑病（TTP）、トロサ・ハント症候群（THS）、横断性脊髄炎、側頭動脈炎、TMJ（顎関節の）問題、甲状腺炎、I型、II型およびIII型多腺性自己免疫症候群、潰瘍性大腸炎、未分化結合組織疾患（UCTD）、未分化脊椎関節症、ブドウ膜炎、ウェゲナー肉芽腫症、脈管炎、水疱性皮膚病および白斑が挙げられる。

【0341】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるコンジュゲートを使用して関節リウマチが治療される。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが、カドヘリン11に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートがPDPNに特異的に結合する。

【0342】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、炎症性腸疾患、例えばクローン病および潰瘍性大腸炎が治療される。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートがインテグリン $\alpha 4 \beta 7$ に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートがインテグリン $\alpha 2 \beta 1$ に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが M A D C A M に結合する。

【0343】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、全身性エリテマトーデスが治療される。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートがネフリンに結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートがポドシンに結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが P D P N に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが I F N A R 1 に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが B D C A 2 に結合する。いくつかの実施形態では、抗体が C D 3 0 に結合する。

10

【0344】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、肥満細胞症または色素性じん麻疹が治療される。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが c - K I T に結合する。

【0345】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、多発性硬化症が治療される。

20

【0346】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、強皮症または全身性硬化症が治療される。

【0347】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、移植片対宿主病および移植片拒絶反応が治療される。

【0348】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、喘息が治療される。

【0349】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、強直性脊椎炎が治療される。

30

【0350】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、乾癬が治療される。

【0351】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、1型糖尿病が治療される。

【0352】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体コンジュゲートを使用して、線維症が治療される。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが、F A P、L R R C 1 5 またはカドヘリン 1 1 に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが F A P に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが L R R C 1 5 に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートが T N F R 2 に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体コンジュゲートがカドヘリン 1 1 に特異的に結合する。

40

【0353】

本発明は、治療によってヒトまたは動物の体を治療する方法に使用するための本明細書に開示されるいずれかの治療化合物またはコンジュゲートを提供すること。治療は、免疫系の刺激などの本明細書に開示されるいずれかの機構により得る。本発明は、例えば免疫応答

50

を増強することを含む、免疫系の刺激、ワクチン接種または免疫療法に使用するための本明細書に開示されるいずれかの治療化合物またはコンジュゲートを提供する。本発明はさらに、本明細書に開示されるいずれかの状態、例えばがん、自己免疫疾患、炎症、敗血症、アレルギー、喘息、移植片拒絶反応、移植片対宿主病、免疫不全または感染性疾患（典型的には、感染性病原体によって引き起こされる）を予防または治療するための本明細書に開示されるいずれかの治療化合物またはコンジュゲートを提供する。本発明はまた、インビボで腫瘍細胞を減少させるなどの、本明細書に開示されるいずれかの状態について本明細書に開示されるいずれかの臨床成績を得るための本明細書に開示されるいずれかの治療化合物またはコンジュゲートを提供する。本発明はまた、本明細書に開示されるいずれかの状態を予防または治療するための医薬の製造における本明細書に開示されるいずれかの治療化合物またはコンジュゲートの使用を提供する。

10

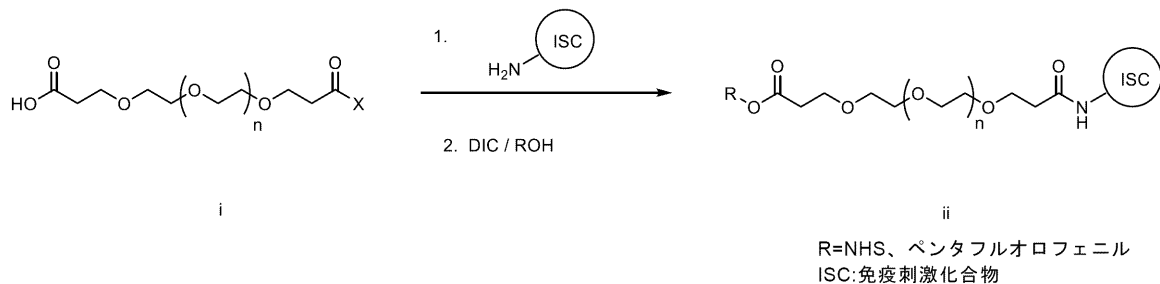
【0354】

一般的スキーム

免疫刺激化合物ーリンカーおよび免疫調節化合物ーリンカーコンストラクトの合成

リンカーと免疫刺激化合物または免疫調節化合物（ISCと呼ぶ）のコンストラクトを、種々の方法によって合成することができる。例えば、ISCーリンカーコンストラクトはスキームB1に示されるように合成することができる。

スキームB1:



20

【0355】

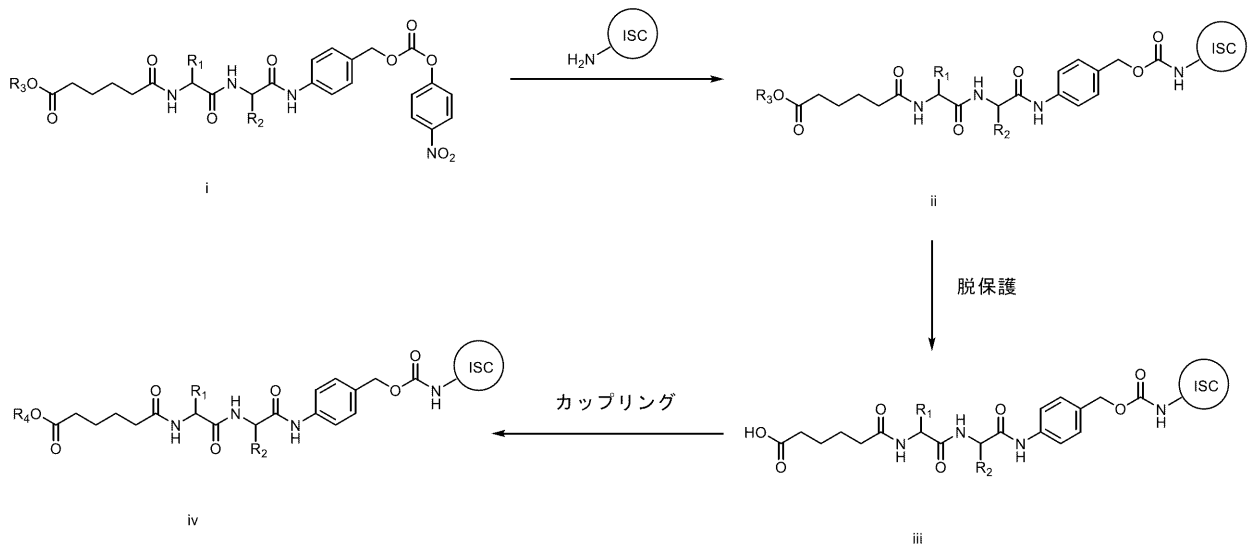
アミド結合形成のために活性化されたペグ化カルボン酸（i）を、適切に置換されたアミン含有免疫刺激化合物と反応させて、中間体アミドを得ることができる。ジイソプロピルカルボジイミド（DIC）などのカップリング剤の存在下で、N-ヒドロキシスクシンイミドまたはペンタフルオロフェノールなどの試薬を使用して、中間体アミド含有カルボン酸を反応させて、化合物（ii）を得ることによって、活性化エステル（ii）の形成を達成することができる。

30

【0356】

ISCーリンカーコンストラクトをスキームB2に示されるように合成することができる。

スキームB2:



R₄=NHS、パーフルオロフェニル
ISC:免疫刺激化合物

【0357】

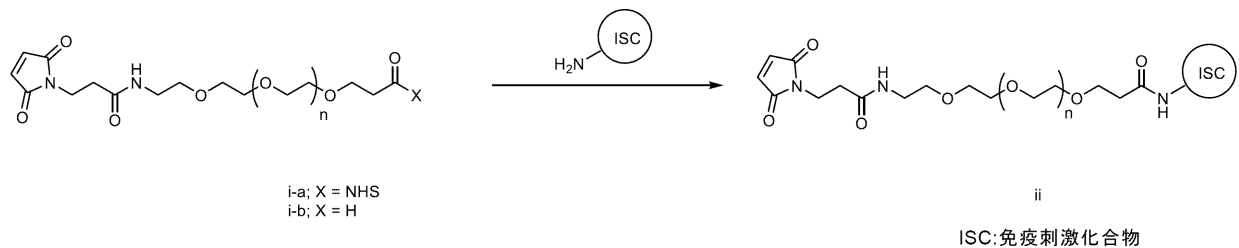
(i)などの活性化カーボネートを適切に置換されたアミン含有免疫刺激化合物と反応させて、カルバメート(ii)を得て、これを、R₃エステル基の性質に基づいて標準的な方法を使用して脱保護することができる。次いで、得られたカルボン酸(iii)をN-ヒドロキシスクシンイミドまたはペンタフルオロフェノールなどの活性化剤とカップリングして化合物(iv)を得ることができる。

20

【0358】

ISC-リンカーコンストラクトをスキームB3に示されるように合成することができる。

スキームB3:



【0359】

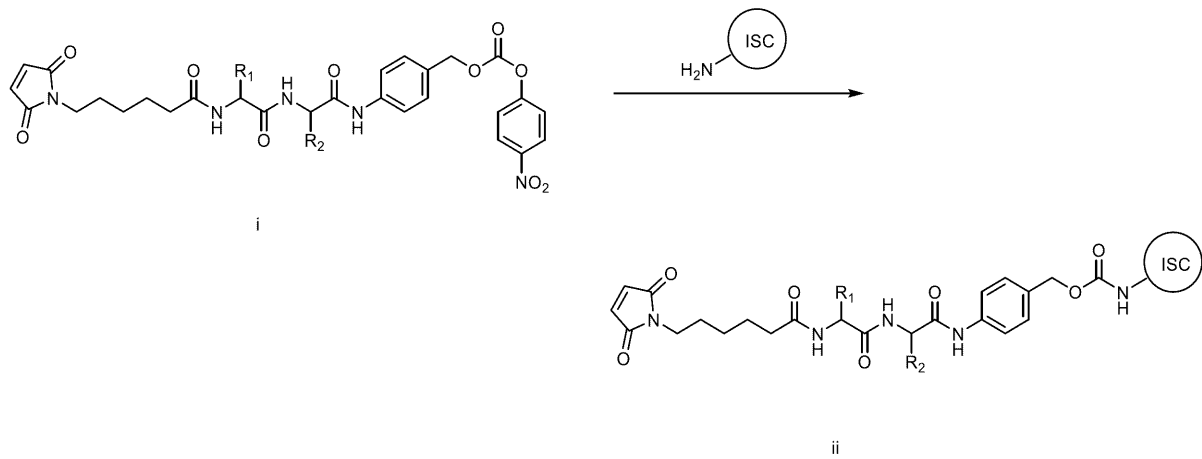
(i-a)などの活性化カルボン酸エステルを、適切に置換されたアミン含有免疫刺激化合物と反応させて、アミド(ii)を得ることができる。あるいは、(i-b)型のカルボン酸を、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)などのアミド結合形成剤の存在下で適切に置換されたアミン含有免疫刺激化合物とカップリングして、所望のISCを得ることができる。

40

【0360】

ISC-リンカーコンストラクトを、スキームB4に示されるような種々の方法によって合成することができる。

スキームB4:



10

ISC:免疫刺激化合物

【0361】

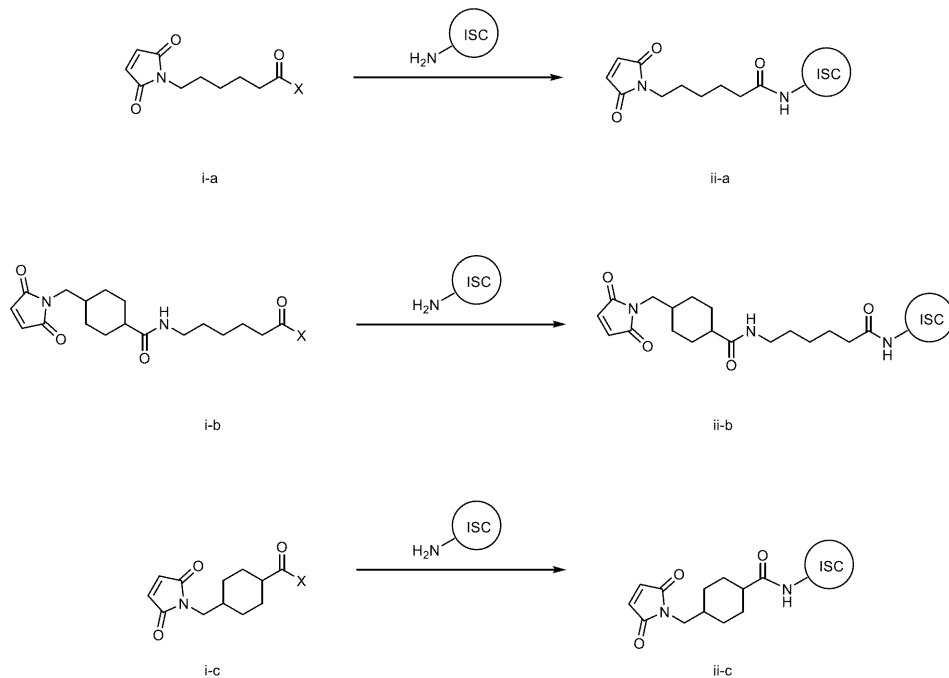
(i) などの活性化カーボネートを、適切に置換されたアミン含有免疫刺激化合物と反応させて、標的ISCとしてのカルバメート(ii)を得ることができる。

【0362】

ISCリンカーコンストラクトをスキームB5に示されるように合成することもできる。

20

スキームB5:



30

40

ISC:免疫刺激化合物

【0363】

(i-a、i-b、i-c) などの活性化カルボン酸を、適切に置換されたアミン含有免疫刺激化合物と反応させて、標的リンカー免疫刺激化合物としてのアミド(ii-a、ii-b、ii-c)を得ることができる。

【0364】

PROTACを含有する免疫調節コンジュゲートを合成するための一般的スキーム

50

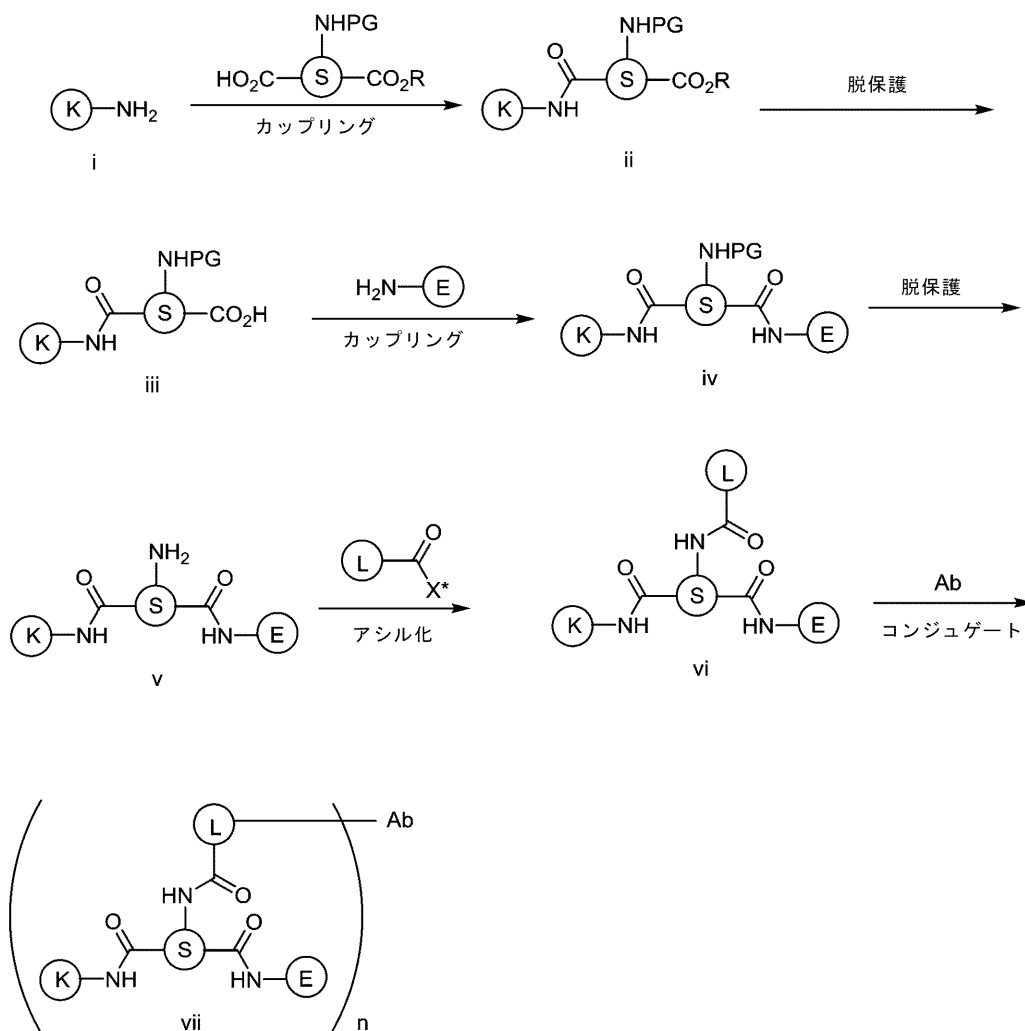
本明細書に記載されるPROTAC（またはPTM）を含有する免疫調節コンジュゲートは、リンカー（L）を介してPROTACと共有結合的に結合した抗体コンストラクトAb（抗体など）を含むことができ、PROTACは、ユビキチンE3リガーゼ結合基（E；ULMとも呼ばれる）、スペーサー（S）および免疫調節化合物（K；IMCとも呼ばれる）（キナーゼ阻害剤など）を含む。一般式は、 $Ab-(L-(C_1-S-C_2))_n$ （式中、Abは抗体コンストラクトであり、 C_1-S-C_2 はPROTACまたはPTMであり、 C_2 は、 C_1 、免疫調節化合物（EまたはIMC）と共有結合的に結合したスペーサー基（s）と共有結合的に結合したE3ユビキチンリガーゼ結合基（EまたはULM）であり、Lは抗体コンストラクトおよびPROTACと共有結合的に結合したリンカーであり；nは約1～約8の値である）である。

10

【0365】

以下の例示的スキームでは、免疫調節化合物（このスキームではE）がキナーゼ阻害剤である。

スキーム1:



20

30

40

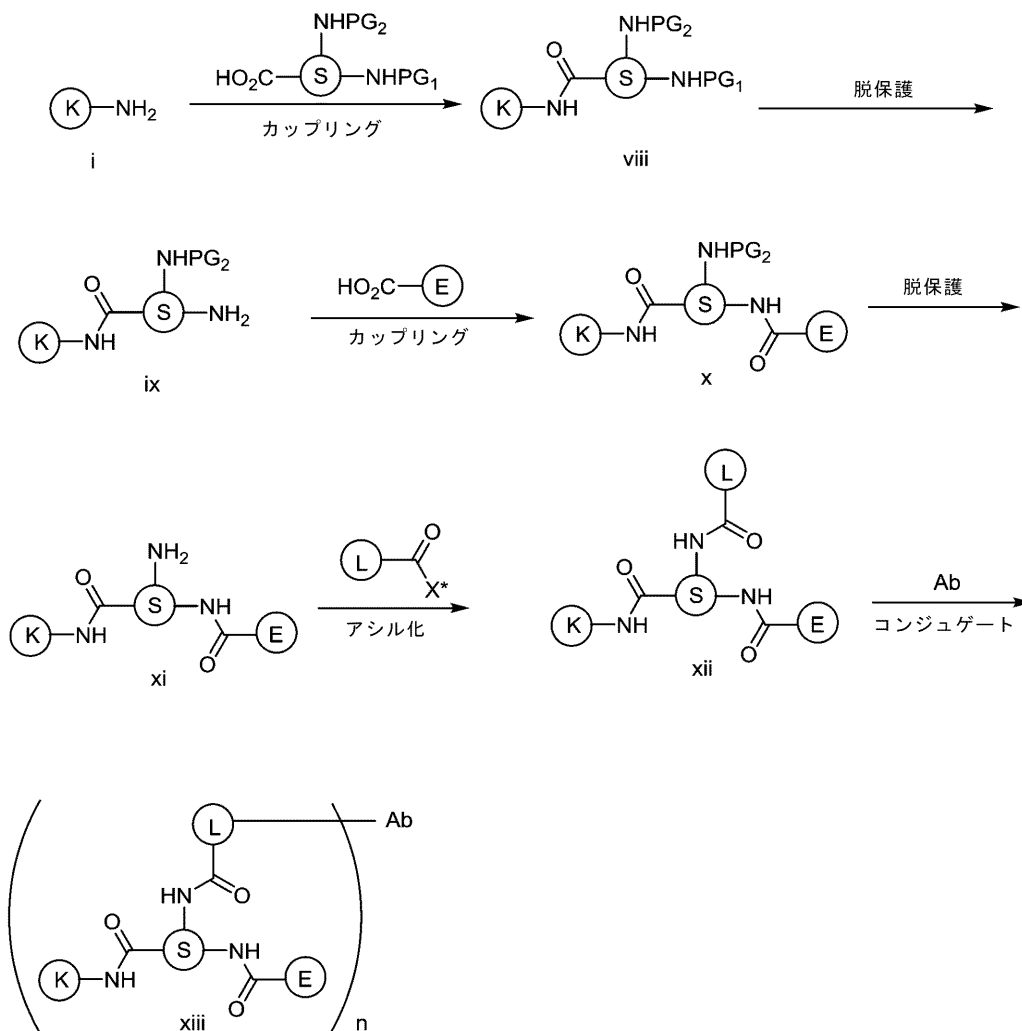
【0366】

遊離アミン官能基を含むキナーゼ阻害剤を、アミン塩基を含有するDMF中HATUなどの標準的なアミド結合カップリング反応を使用して、アスパルテートまたはグルタメートなどの多官能性アミノ酸誘導体でアシル化して、中間体（ii）を得ることができる。R=Bnである場合、水素化などのカルボン酸エステルをカルボン酸に変換するための既知の方法を使用した化合物（ii）の脱保護によって、化合物（iii）を得ることができ、これを、VHLまたはセレブロンに結合する基などのE3ユビキチンリガーゼにカップリングして、PROTAC（iv）を得ることができる。VHLに結合する化合物は、

50

国際公開第2013/106643号に開示されるようなヒドロキシプロリン化合物、ならびに米国特許出願公開第2016/0045607号、国際公開第2014/187777号、米国特許出願公開第2014/0356322号および米国特許第9249153号に記載される他の化合物であり得る。セレブロンに結合する化合物は、サリドマイド、レナリドミド、ボマリドミドおよびこれらのアナログを含む。セレブロンに結合する他の小分子化合物も知られており、例えば米国特許出願公開第2016/0058872号および米国特許出願公開第2015/0291562号に開示されている化合物がある。PG=Bocである場合、TFAなどの適切な試薬を使用して、アミン保護基を中間体(v)に変換することができる。活性化リンカー試薬($X^* = \text{NHS}$)または直接アミド結合カップリングによるアミン(v)のアシル化によって、結合-PROTAC(L-C)化合物(vi)を得ることができ、その後、これを本明細書に記載される既知の方法を使用して抗体にコンジュゲートすることができる。

スキーム2:



【0367】

あるいは、遊離アミン官能基を含むキナーゼ阻害剤を、アミン塩基を含有する DMF 中 HATU などの標準的なアミド結合カップリング反応を使用して、リジンなどの多官能性アミノ酸誘導体でアシル化して、中間体(vii)を得ることができる。R=Cbzである場合、水素化などの既知の方法を使用した化合物(vii)の脱保護によって、化合物(ix)を得ることができ、これを E3 ユビキチンリガーゼにカップリングして、PROTAC(x)を得ることができる。PG=Bocである場合、TFAなどの適切な試薬を使用して、第2のアミン保護基(PG₂)を中間体(v)に変換することができる。活性化リンカー試薬($X^* = \text{NHS}$)または直接アミド結合カップリングによるアミン(xi)

）のアシル化によって、結合-PROTAC化合物（x i i）を得ることができ、その後、これを本明細書に記載される既知の方法を使用して抗体にコンジュゲートすることができる。

【0368】

図面の説明

図1Aは、抗体コンストラクトと、リンカー（L）と、免疫調節化合物（C1；黒色星）と、スパーサー（S）と、第2の化合物（C2；灰色星）とを含む例示的コンジュゲートを示す。コンジュゲートの灰色部分は抗体の重鎖であり、コンジュゲートの白色部分は抗体の軽鎖である。リンカーとスパーサーとの間、およびスパーサーとC1およびC2との間の暗実線は共有結合を示す。

10

【0369】

図1Bは、抗体コンストラクトと、リンカー（L）と、免疫調節化合物（C1；黒色星）と、スパーサー（S）と、第2の化合物（C2；灰色星）とを含む例示的コンジュゲートを示す。コンジュゲートの灰色部分は抗体の重鎖であり、コンジュゲートの白色部分は抗体の軽鎖である。リンカーとC2との間、およびスパーサーとC1との間の暗実線は共有結合を示す。

【0370】

図1Cは、抗体コンストラクトと、リンカー（L）と、免疫調節化合物（C1；黒色星）と、スパーサー（S）と、第2の化合物（C2；灰色星）とを含む例示的コンジュゲートを示す。コンジュゲートの灰色部分は抗体の重鎖であり、コンジュゲートの白色部分は抗体の軽鎖である。リンカーとC1との間、およびスパーサーとC2との間の暗実線は共有結合を示す。

20

【0371】

図2は、コントロール抗体のみおよび抗ジゴキシンコンジュゲート（切断可能なリンカーを介してTGFβRに結合した抗ジゴキシン抗体）コントロールと比較した、LRRCL15コンジュゲート（切断可能なリンカーを介してTGFβR阻害剤に結合したLRRCL15抗体）によるTGFβ/SMA Dシグナル伝達経路の阻害を示す。結果は、LRRCL15-TGFβR阻害剤コンジュゲートが、TGFβによる誘導後にTGFβ/SMA Dシグナル伝達経路を阻害した（最も暗い線；三角形）が、LRRCL15コントロール抗体（中央の線；中黒丸）および抗ジゴキシン抗体-TGFβR阻害剤コントロールコンジュゲート（上の最も明るい灰色の線；白色丸）はこのシグナル伝達経路を有意には阻害しなかったことを示している。y軸は誘導倍率について5の間隔で0～25として標識される。x軸は、薬物（nM）について対数間隔で1～1000として標識される。

30

【0372】

図3Aは、TGFβR2-VHL PROTAC抗HER2抗体コンジュゲートによるTGFβR2の分解についてのアッセイの結果を示している。HER2を発現しているプラスミドを、HEK293細胞にトランスフェクトし、細胞をDMSO、PROTAC T-20、HER2抗体（IgG1）またはHer2抗体-Protacコンジュゲート（050-T11020）で処理した。細胞全体溶解物を2時間（左プロット）、24時間（中央プロット）または48時間（右プロット）のインキュベーション後に細胞から調製し、BCAアッセイで定量化した。等量の溶解物をタンパク質ゲルに流し、PVD Fに転写し、TGFβR2（上）、TGFβR1（中央）またはコントロールアクチン（下）を市販の試薬を使用して検出した。両試験濃度のコンジュゲートで、050-T11020を含有するレーンのTGFβR2の減少したシグナルによって実証されるように、24時間および48時間の処理で標的TGFβR2のレベルが減少した。2時間プロットについては、左から右に、レーンがDMSO；T-20 5μM；050 IgG 1μM；050-T11020 1μM；および050-T11020 0.5μMを表す。24時間プロットについては、左から右に、レーンがDMSO；T-20 5μM；050 IgG 0.5μM；050 IgG 1μM；050-T11020 0.5μM；および050-T11020 1μMを表す。48時間プロットについては、左から右に、

40

50

レーンがPBS; 050 IgG 1 μ M; 050-T11020 1 μ M; および050-T11020 0.5 μ Mを表す。

【0373】

図3Bは、図3Aに示されるTGF β R2についてのウエスタンブロットデータの定量化を提供する。タンパク質分解の量を定量化するために、ウエスタンブロットのシグナルを、アクチンローディングコントロールに調整し、データを、20の間隔で0~140で標識されるy軸に一致したコントロールの%として提示した。黒色太線は100%を示す。各データセットの左の中程度の灰色のバーは、2時間の処理で得られたデータを表す。各データセットの中央の最も濃い灰色のバーは、24時間で得られたデータを表す。各データセットの右の最も薄い灰色のバーは、48時間で得られたデータを表す。x軸では、左から右に、データセットがT20 5 μ M; 050-11020 0.5 μ M; および050-11020 1 μ Mである。

【0374】

図3Cは、TGF β R1についてのウエスタンブロットデータの定量化を提供する。タンパク質分解の量を定量化するために、ウエスタンブロットのシグナルを、アクチンローディングコントロールに調整し、データを、20の間隔で0~200として標識されるy軸に一致したコントロールの%として提示した。各データセットの左の中程度の灰色のバーは、2時間の処理で得られたデータを表す。各データセットの中央の最も濃い灰色のバーは、24時間で得られたデータを表す。各データセットの右の最も薄い灰色のバーは、48時間で得られたデータを表す。x軸では、左から右に、データセットがT20 5 μ M; 050-11020 0.5 μ M; および050-11020 1 μ Mである。ウエスタンブロットデータと一致して、TGF β R1タンパク質の量は、処理期間の間中かなり一定のままであった。

【0375】

図4Aおよび図4Bは、VHLまたはセレブロン E3結合部分を有するPROTACを含む抗体コンジュゲートによるTGF β R2の抗原標的化分解についてのアッセイの結果を示している。BT474細胞を蒔き、翌日、PROTAC (T-15もしくはT-20)、HER2抗体-TGF β R2-VHL結合PROTACのコンジュゲート (050-T05020; T20 PROTAC)、HER2抗体-TGF β R2-セレブロン結合PRPTACのコンジュゲート (050-T05015; T-15 PROTAC) またはTROP2抗体-TGF β R2-VHL結合PROTACのコンジュゲート (130-T05020; T-20 PROTAC) で処理した。細胞全体溶解物を処理の24時間後に調製し、BCAアッセイで定量化した。等量の溶解物をタンパク質ゲルに流し、PVDfに転写し、TGF β R2およびアクチンを、市販の試薬を使用して検出した。図4Aは、TGF β R2タンパク質の保持シグナルによって示されるように (上のプロット; アクチンコントロールは下のプロットである)、HER2抗原特異的分解が両方のHER2結合PROTACコンジュゲートで見られたが、コントロールTROP2結合PROTACコンジュゲートでもT-15またはT20 PROTAC単独でも見られなかったことを示している。レーンは、左から右に、DMSO; T-15 300 nM; T-20 300 nM; PBS; 非標識; 050-T05015 0.5 mM; 050-T05020 0.5 μ M; および130-T05020 0.5 μ Mを表す。

【0376】

図4Bは、図4AのTGF β R2タンパク質レベルの定量化を提供し、TGF β R2シグナルをアクチンローディングコントロールに正規化することによって決定された。データを、20の間隔で0~120として標識されるy軸上にビヒクルコントロール (100%) の%として提示する。x軸は、左から右に、T-15 300 nM; T-20 300 nM; 050-T05015; 050-T05020; および130-T05020を表す。黒色太線は、y軸の100%である。

【0377】

図5Aおよび図5Bは、プロテアソーム阻害剤を添加したまたは添加しない、TGF β

R2/TGFβR1-VHL PROTACの存在下での、TGFβR2およびTGFβR1の細胞レベルについてのアッセイの結果を示す。正常ヒト肺線維芽細胞を、プロテアソーム阻害剤MG-132で処理してまたはしないで、引き続いてDMSOまたはPROTAC T-20を添加した。細胞全体溶解物を調製し、次いで、BCAアッセイで定量化した。等量の溶解物をタンパク質ゲルに流し、PVDF膜に転写し、TGFβR1、TGFβR2およびアクチンを市販の試薬を使用して検出した。図5Aはアッセイのウェスタンブロット結果を提供する。結果は、PROTAC T-20の存在下でのMG-132の添加によるTGFβR2およびTGFβR2シグナルの救済によって示されるように、プロテアソーム阻害剤の添加によって、T-20によって誘導される分解からTGFβR1およびTGFβR2が保護されたことを示している。TGFβR2は上の行であり、TGFβR1は中央の行であり、アクチンは下の行である。左のプロットレーンは、左から右に、DMSOを添加した0（-として示される）；10および50のMG132濃度を表す。右のプロットは、左から右に、5 μM T-20を添加した0（-として示される）；10；および50 μMのMG132濃度を表す。

10

【0378】

図5Bは、図5Aの結果の定量化を提供し、ウェスタンシグナルをアクチンローディングコントロールに調整することによって得られた。データを、10の間隔で0～100に標識されたy軸に、一致したビヒクルコントロールの%として提示する。淡い灰色のバーは、TGFβR2についてのデータを表し、暗い灰色のバーは、TGFβR1についてのデータを表す。x軸は、左から右に、T-20；T-20+10 μM MG132；およびT-20+50 μM MG132として標識される。

20

【実施例】

【0379】

以下の実施例は、本明細書に記載される免疫調節化合物、リンカー、免疫調節化合物とリンカーのリンカーペイロード（LP）、およびコンジュゲートを作製する種々の方法を示す。当業者であれば、同様の方法によって、または当業者に知られている他の方法を組み合わせることによって、これらの化合物、LPおよびコンジュゲートを作製することができることが理解される。当業者であれば、適切な出発物質を使用し、必要に応じて合成経路を修飾することによって、以下に記載されるのと同様の様式で作製することができるであろうことも理解される。一般に、出発物質および試薬は、供給業者から得ることができる、または当業者に知られている供給源によって合成することができる、または本明細書に記載されるように調製することができる。

30

【0380】

実施例1

免疫調節化合物、リンカーペイロードおよびコンジュゲートの合成

リンカーを、PI3K阻害剤、カルシニューリン阻害剤、mTOR阻害剤、BTK阻害剤、JAK阻害剤、CRAC阻害剤、PARP1アンタゴニスト、PPARGアゴニスト、Kv1.3アンタゴニスト、KCa3.1アンタゴニスト、PP2Aアゴニスト、IRAK4阻害剤、MYD88阻害剤、BCL-2アンタゴニスト、A2aRアゴニスト、TLR7アンタゴニスト、c-KITキナーゼ阻害剤、KCa3.1アゴニスト、TGFβR1阻害剤、TGFβR2阻害剤、ACCアンタゴニスト、ASK1アンタゴニスト、GLI1阻害剤、TNKSアンタゴニストまたはTNIKアンタゴニストなどの免疫調節化合物と結合する。免疫調節化合物に結合しているリンカーが、リンカー-免疫調節化合物（LP）を形成する。その後、LPを抗体などの抗体コンストラクトにコンジュゲートして、抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲートまたはコンジュゲートを形成する。

40

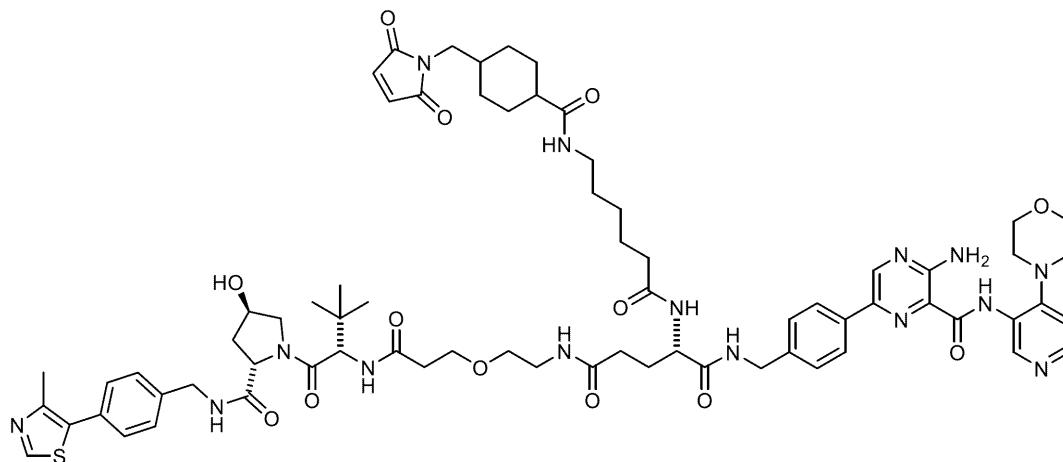
【0381】

TGFβR2の阻害剤

実施例1.1 (S)-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)ベンジル)-2-(6-(4-((2,

50

5-ジオキソ-2, 5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メチル)-シクロヘキサン-1-カルボキサミド)ヘキサナムド)-N5-(2-(3-((S)-1-(2S, 4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-yl)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3, 3-ジメチル-1-オキソプロタン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)エチル)ペンタンジアミド(化合物1-1)の合成

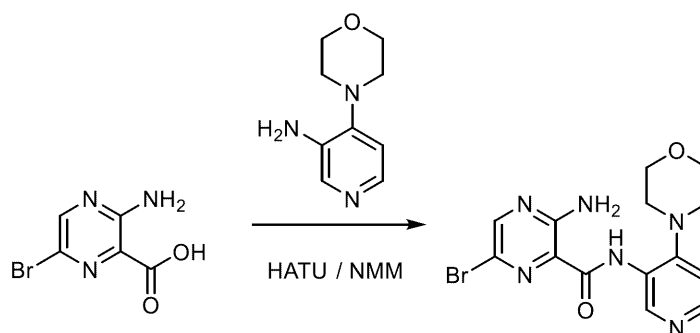


10

【0382】

20

ステップA：中間体1B-1の調製



30

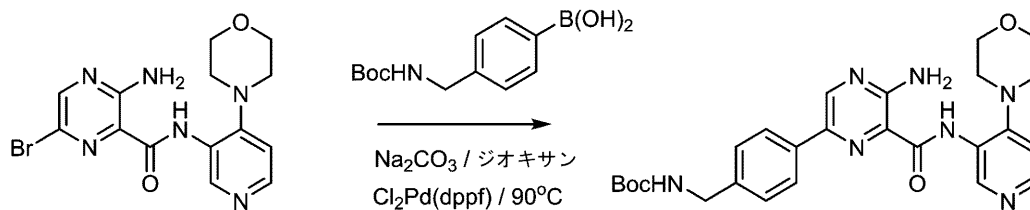
中間体1B-1

HATU (3.54 g、9.36 mmol) を、DMF 25 mL 中 3-アミノ-6-ブロモピラジン-2-カルボン酸 1.64 g (7.5 mmol) を含有する溶液に添加した。反応物を5分間攪拌した後、N-メチルモルホリン 2.5 mL (22.5 mmol) および4-モルホリノピリジン-3-アミン 1.68 g (9.36 mmol) を添加した。反応混合物を16時間攪拌し、次いで、飽和NH₄Cl溶液10 mL、次いで水10 mLでクエンチした。混合物をEtOAcで3回抽出した；合わせた有機相をブラインで洗浄し、次いで、Na₂SO₄上で乾燥させた。次いで、溶媒をエバポレートし、残渣をクロマトグラフィーにかけると(0%~20%CH₃OH/ジクロロメタン)、中間体1B-1が黄色個体として得られた。

40

【0383】

ステップB：中間体1B-2の調製



中間体1B-1

中間体1B-2

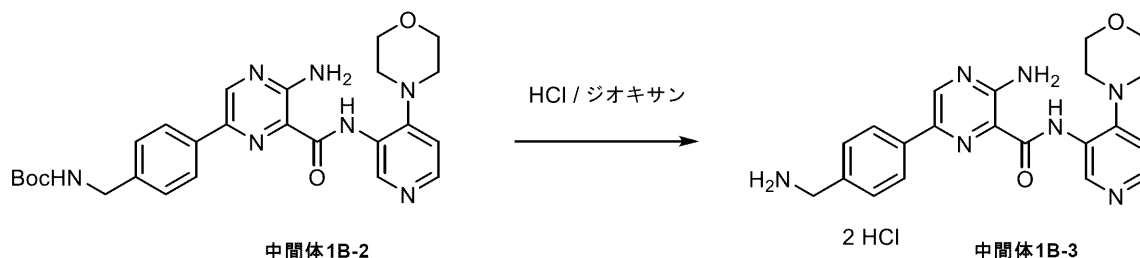
ジオキサン 25 mL および 2 N Na_2CO_3 4.0 mL (8.0 mmol) 中 3-アミノ-6-ブロモ-N-(4-モルホリノピリジン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミド 1.5 g (4.0 mmol) および (4-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)フェニル)ボロン酸 1.1 g (4.4 mmol) を含有する溶液を脱気し、窒素を3回逆充填した。 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ 295 mg (0.4 mmol) を添加し、反応容器を窒素で2回脱気した。次いで、反応混合物を90°Cで3時間加熱し、次いで、冷却し、一晚攪拌し、次いで、Celite (登録商標) プラグを通して濾過した。濾液をEtOAcで希釈し、水、次いでブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥させた。次いで、溶媒をエバポレートし、残渣をクロマトグラフィーにかけると(0%~20% MeOH/ジクロロメタン)、化合物中間体1B-2 1.3 g が白色固体として得られた。LCMS (M+H) = 506.

10

【0384】

20

ステップC：中間体1B-3の調製



中間体1B-2

2 HCl

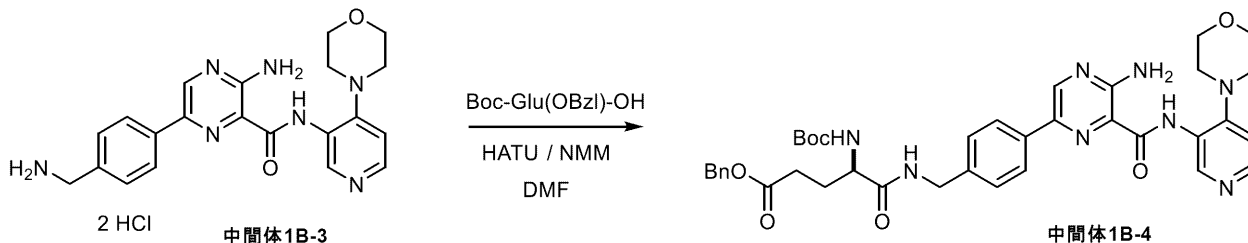
中間体1B-3

EtOAc 25 mL 中、中間体1B-2 1.2 g (2.4 mmol) を含有する溶液に室温でジオキサン中 4 N HCl 10 mL を添加した。反応物を3時間攪拌し、溶媒をエバポレートした。得られた固体を、トルエンで3回粉碎すると、所望のアミン塩が得られ、これを精製することなく使用した。LCMS (M+H) = 406.

30

【0385】

ステップD：中間体1B-4の調製



2 HCl

中間体1B-3

中間体1B-4

40

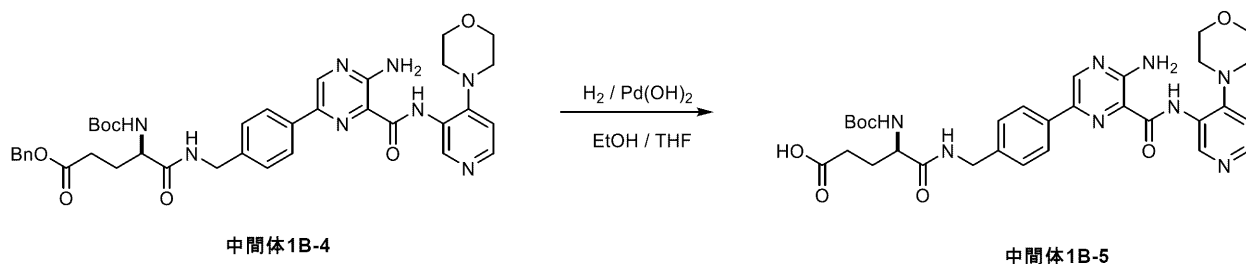
DMF 2 mL 中、中間体1B-3 112 mg (0.276 mmol) および Boc-L-グルタミン酸 5-ベンジルエステル 93 mg (0.276 mmol) を含有する溶液に、HATU 105 mg (0.276 mmol) および N-メチルモルホリン 0.06 mL (0.55 mmol) を添加した。反応混合物を16時間攪拌し、次いで、飽和 NH_4Cl 溶液 1 mL および水 1 mL でクエンチした。混合物をEtOAcで3回抽出した；合わせた有機相をブラインで洗浄し、次いで、 Na_2SO_4 上で乾燥させた。次いで、溶媒をエバポレートし、残渣をクロマトグラフィーにかけると(0%~20% CH_3OH /ジ

50

クロロメタン)、化合物中間体 1 B - 4 160 mg が黄色固体として得られた。LCMS (M+H) = 725.

【0386】

ステップ E : 中間体 1 B - 5 の調製



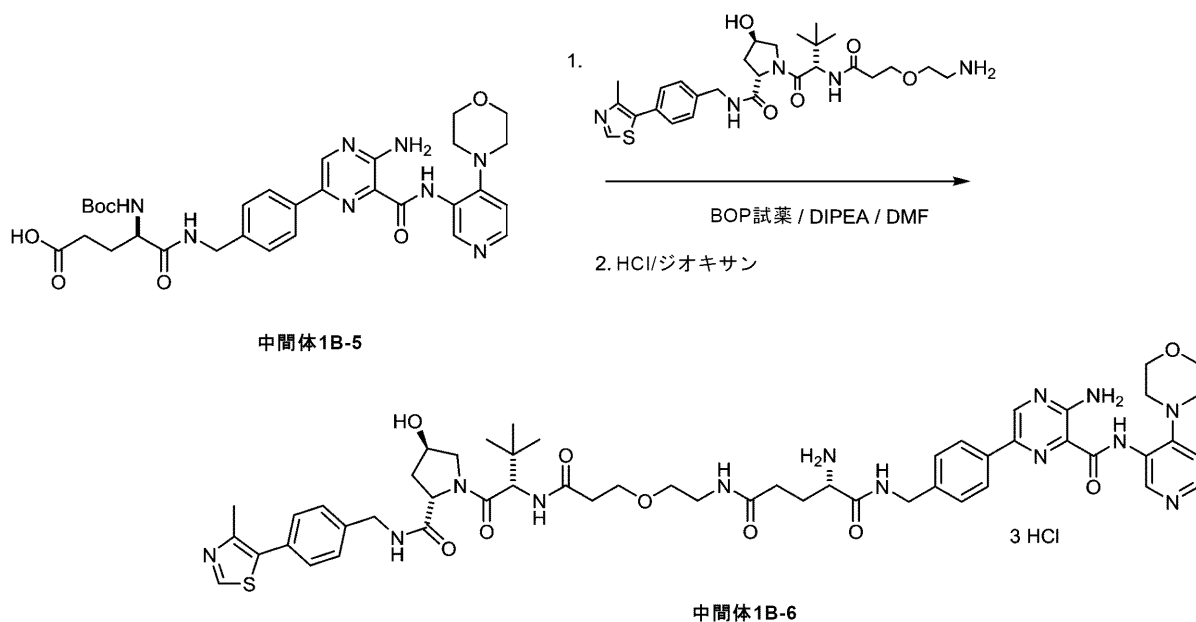
10

1 : 1 THF - EtOH 20 mL 中、中間体 1 B - 4 100 mg (0.14 mmol) を含有する溶液を脱気し、窒素を 3 回逆充填した。20% Pd(OH)₂ 100 mg を添加し、混合物をさらに 2 回脱気した。反応混合物を 6 時間攪拌し、次いで、EtOAc を用いて Celite を通して濾過した。溶媒の除去およびトルエンによる粉碎によって、中間体 1 B - 5 75 mg が得られ、これを次のステップに直接使用した。LCMS (M+H) = 635.

【0387】

ステップ F : 中間体 1 B - 6 の調製

20



30

DMF 1.0 mL 中、中間体 1 B - 5 75 mg (0.12 mmol) および (2S, 4R) - 1 - ((S) - 2 - (3 - (2 - アミノエトキシ) プロパンアミド) - 3, 3 - ジメチルブタノイル) - 4 - ヒドロキシ - N - (4 - (4 - メチルチアゾール - 5 - イル) ベンジル) ピロリジン - 2 - カルボキサミド 82 mg (0.15 mmol) を含有する溶液に、BOP 試薬 66 mg (0.15 mmol) およびジイソプロピルエチルアミン 0.026 mL (0.24 mmol) を添加した。反応混合物を 16 時間攪拌し、次いで、飽和 NaHCO₃ 溶液 1 mL および水 1 mL でクエンチした。混合物を EtOAc で 3 回抽出した；合わせた有機抽出物をブラインで洗浄し、次いで、Na₂SO₄ 上で乾燥させた。次いで、溶媒をエバポレートし、残渣をクロマトグラフィーにかけると (0% ~ 20% CH₃OH / ジクロロメタン)、所望の化合物 58 mg が黄色固体として得られ、これを直ちに EtOAc 5 mL に溶解し、次いで、室温で、ジオキサン中 4N HCl 1 mL で処理し、反応物を 3 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をトルエンと 3 回共沸混合し、次いで、エーテルと攪拌し、濾過すると、(S) - 2 - アミノ - N¹ - (4

40

50

— (5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)ベンジル)-N5-(2-(3-(((S)-1-((2S, 4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3, 3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)-エチル)ペンタンジアミドトリヒドロクロリド 43 mg が淡黄色結晶固体として得られた。LCMS (M+H) = 1062.

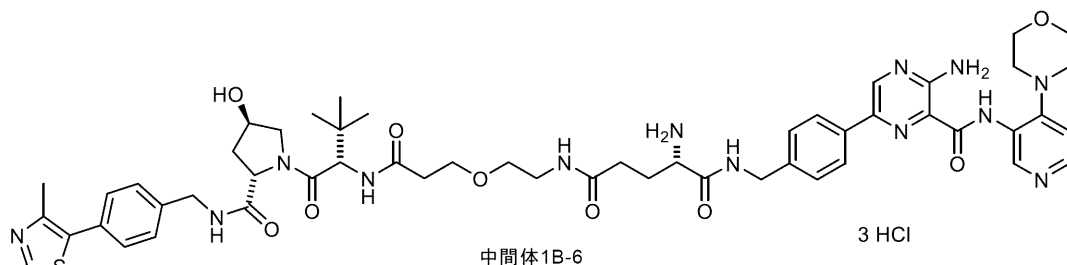
【0388】

中間体 1B-6 は PROTAC T-015 である

【0389】

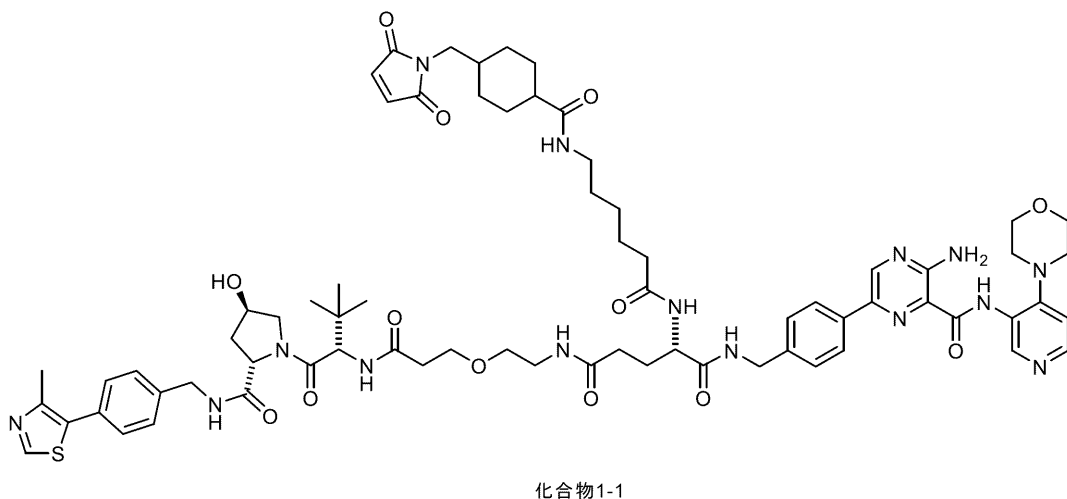
ステップ G：化合物 1-1 の調製

10



LC-smcc / DIPEA

20



30

(S)-2-アミノ-N¹-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)ベンジル)-N5-(2-(3-(((S)-1-((2S, 4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3, 3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)エチル)ペンタンジアミドトリヒドロクロリド 43 mg (0.037 mmol) を含有する溶液を、DCM 1.5 mL および DIPEA (0.064 mL、0.36 mmol) 中 LC-smcc (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(6-アミドカプロエート)) (16 mg、0.037 mmol) と合わせた。一晩攪拌した後、反応物は濁り、LCMS は、生成物の存在を示した。反応物を濃縮し、次いで、最小量の THF および水に溶解した。混合物を飽和 NaHCO₃ で中和し、混合物をクロマトグラフィーにかけると (30 g、C18、H₂O から CH₃CN、液体ローディング)、CH₃CN/H₂O からの凍結乾燥後、化合物 1-1 (31.8 mg) が黄色固体として得られた

40

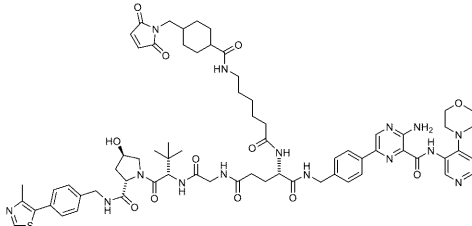
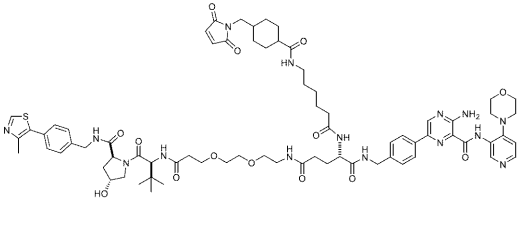
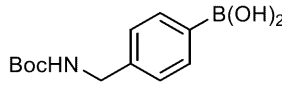
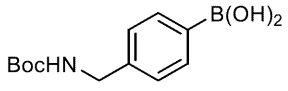
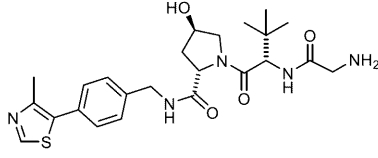
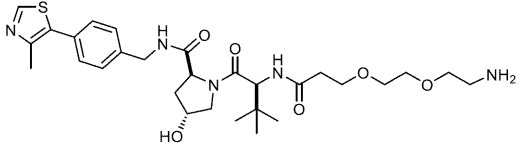
50

。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 9.46 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.26 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 2H), 7.44 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 2H), 7.41 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.35 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.26 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 6.78 (s, 2H), 4.66 (s, 1H), 4.59 (m, 2H), 4.46 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 4H), 4.37 (m, 2H), 3.88 (d, $J=11.5\text{Hz}$, 1H), 3.81-3.70 (m, 5H), 3.69 (t, $J=5.5\text{Hz}$, 2H), 3.55-3.49 (m, 3H), 3.11 (t, $J=11.5\text{Hz}$, 2H), 3.10-3.01 (m, 5H), 2.50 (t, $J=15.0\text{Hz}$, 2H), 2.33 (s, 3H), 2.35-2.22 (m, 6H), 2.11-2.01 (m, 4H), 1.94 (m, 1H), 1.76-1.58 (m, 8H), 1.50-1.25 (m, 8H), 1.11 (s, 9H), 1.05-0.95 (m, 4H). LCMS ($\text{M}+\text{H}$) = 1395.6.

【 0 3 9 0 】

表 3、表 4 および表 5 の以下の化合物を、ステップ B の適切なアリールボロン酸およびステップ E の E 3 リガーゼリガンド／スペーサー基を置換することによって、化合物 1-1 の合成について記載されるのと同様の様式で調製した。

表 3: 例示的化合物

化合物	1-2	1-3
構造		
IUPAC 名	(S)-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)ベンジル)-2-(6-(4-((2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキサミド)ヘキサンアミド)-N5-(2-(((S)-1-((2S,4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-2-オキソエチル)ペンタンジアミド	(S)-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)ベンジル)-2-(6-(4-((2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキサミド)ヘキサンアミド)-N5-(2-(2-(3-(((S)-1-((2S,4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)エトキシ)エチル)ペンタンジアミド
ArB(OH) ₂		
E3 リガンド		
M+1	1336	1438

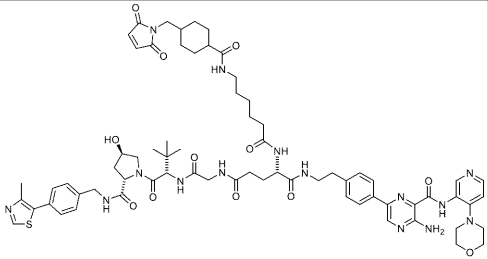
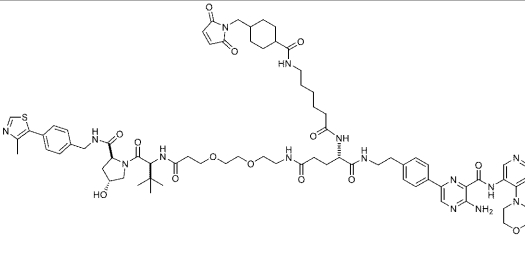
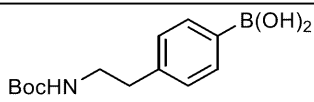
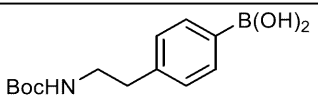
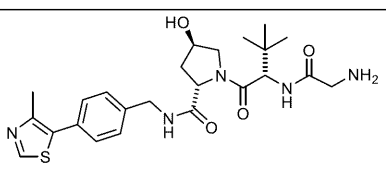
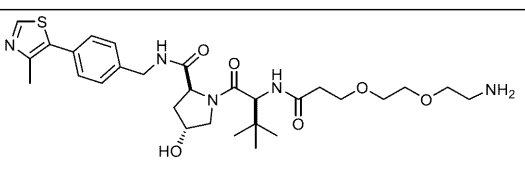
10

20

30

40

表 4: 例示的化合物

化合物	1-4	1-5
構造		
IUPAC 名	(S)-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)フェネチル)-2-(6-(4-((2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキサミド)ヘキサンアミド)-N5-(2-(((S)-1-((2S,4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-2-オキソエチル)ペンタンジアミド	(S)-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)フェネチル)-2-(6-(4-((2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキサミド)ヘキサンアミド)-N5-(2-(2-(3-(((S)-1-((2S,4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)エトキシ)エチル)ペンタンジアミド
ArB(OH) ₂		
E3 リガンド		
M+1	1350	1452

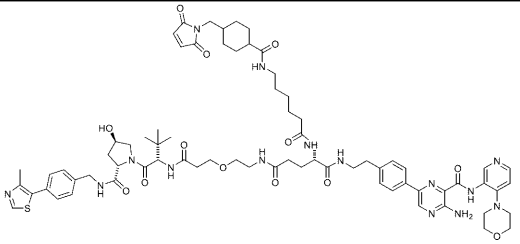
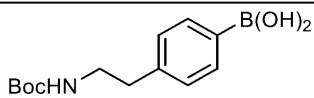
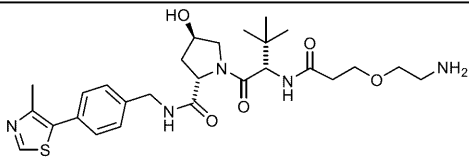
10

20

30

40

表 5: 例示的化合物

化合物	1-6	
構造		
IUPAC 名	(S)-N1-(4-(5-アミノ-6-((4-モルホリノピリジン-3-イル)カルバモイル)ピラジン-2-イル)フェネチル)-2-(6-(4-((2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキサミド)ヘキササンアミド)-N5-(2-(3-(((S)-1-((2S,4R)-4-ヒドロキシ-2-((4-(4-メチルチアゾール-5-イル)ベンジル)カルバモイル)ピロリジン-1-イル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)エチル)ペンタンジアミド	
ArB(OH) ₂		
E3 リガンド		
M+1	1408	

10

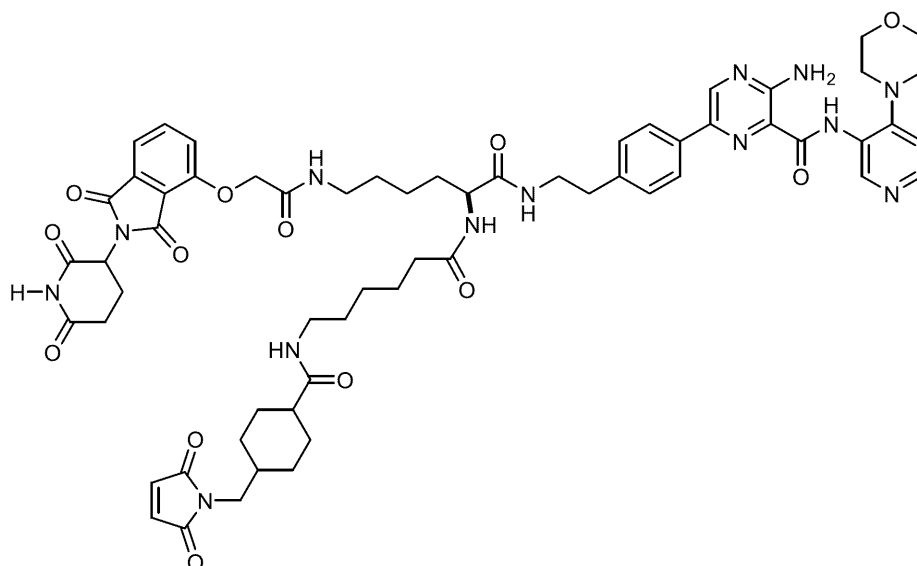
20

30

40

【0391】

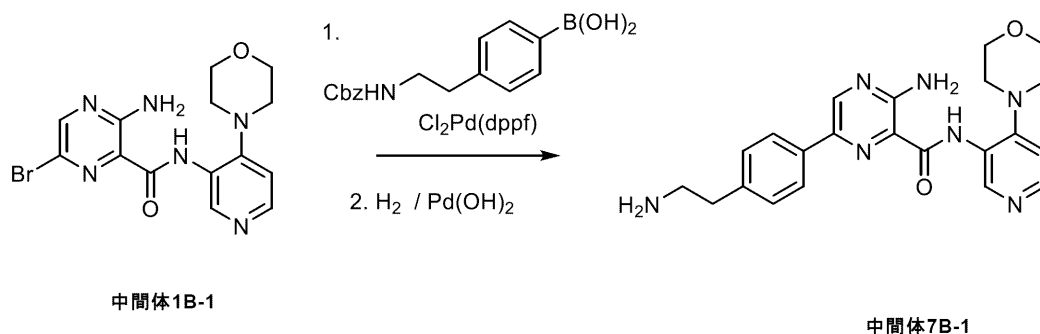
実施例 1. 2 3-アミノ-6-(4-(2-((2S)-2-(6-(4-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキサミド)ヘキササンアミド)-6-(2-((2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)オキシ)アセトアミド)ヘキササンアミド)エチル)フェニル)-N-(4-モルホリノピリジン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミド (化合物 2-1) の合成



10

【0392】

ステップA：中間体7B-1の調製



20

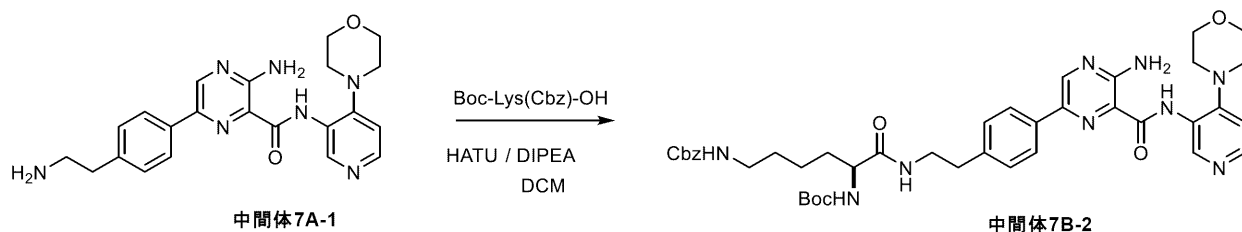
ジオキサン50mLおよび2N Na_2CO_3 8mL (16.0mmol) 中3-アミノ-6-ブromo-N-(4-モルホリノピリジン-3-イル)ピラジン-2-カルボキサミド3.0g (8.0mmol) および(4-(2-((tert-ブトキシ)カルボニル)-アミノ)エチル)フェニル)ボロン酸2.6g (8.8mmol) を含有する溶液を脱気し、窒素を3回逆充填した。 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ 600mg (0.8mmol) を添加し、反応容器を窒素で2回脱気した。次いで、反応混合物を90℃で3時間加熱し、次いで、冷却し、一晚攪拌し、次いで、Celite (登録商標) プラグを通して濾過した。濾液をEtOAcで希釈し、水、次いでブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥させた。次いで、溶媒をエバポレートし、残渣をクロマトグラフィーにかけると(0%~20% MeOH/ジクロロメタン)、化合物中間体1.2a 2.5g が褐色固体として得られた。物質を1:1 THF:EtOH 100mL に溶解し、脱気し、窒素を3回逆充填した。20% $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 500mg を添加し、混合物をさらに2回脱気した。反応混合物を16時間攪拌し、次いで、EtOAcを用いてCeliteを通して濾過した。溶媒を除去すると、中間体7B-1 2.0g が得られ、これを次のステップに直接使用した。LCMS (M+H) = 420.

30

40

【0393】

ステップB：中間体7B-2の調製



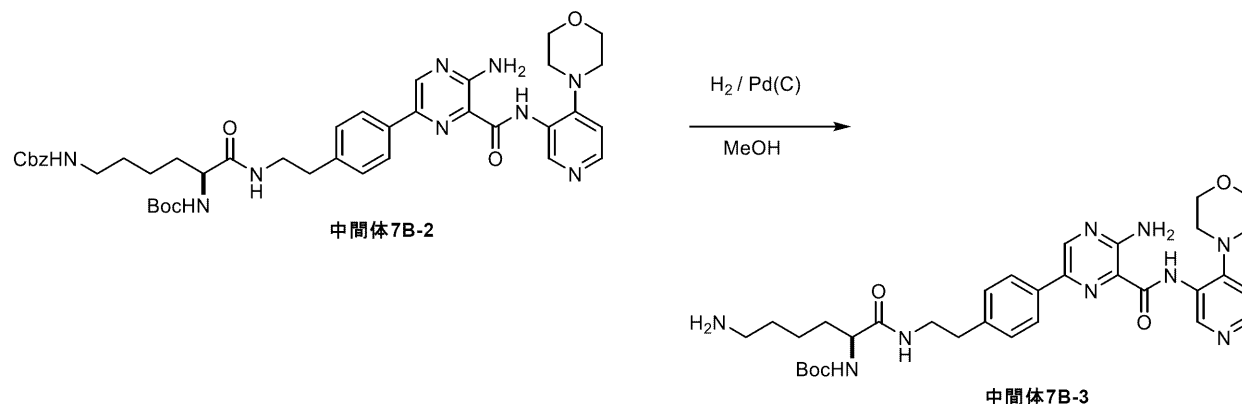
DMF 5 mL 中 Boc-L-Lys (Z)-OH 228 mg (0.60 mmol) を含有する溶液に、HATU 228 mg (0.60 mmol) を添加し、反応物を 5 分間攪拌した後、中間体 7B-1 210 mg (0.50 mmol) および N-メチルモルホリン 121 mg (1.2 mmol) を添加した。反応混合物を 3 時間攪拌し、次いで、飽和 NaHCO₃ 溶液 5 mL および水 2 mL でクエンチした。混合物を EtOAc で 3 回抽出した；合わせた有機相をブラインで洗浄し、次いで、Na₂SO₄ 上で乾燥させた。次いで、溶媒をエバポレートし、残渣をクロマトグラフィーにかけると (0%~20% CH₃OH / ジクロロメタン)、化合物中間体 7B-2 190 mg が黄色固体として得られた。LCMS (M+H) = 782.

10

【0394】

ステップ C：中間体 7B-3 の調製

20



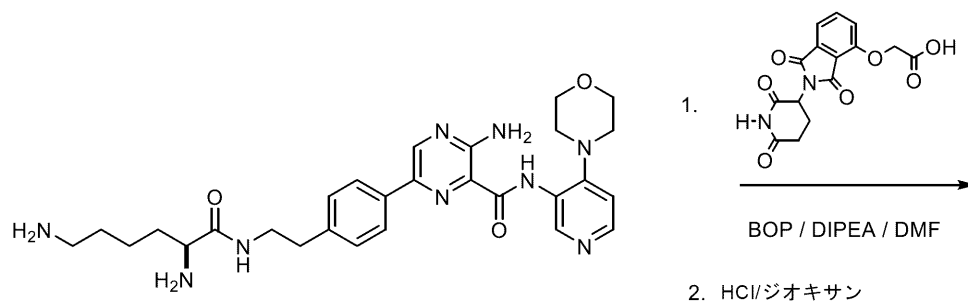
30

メタノール 10 mL 中、中間体 7B-2 164 mg (0.21 mmol) を含有する溶液を 3 回脱気しながら、窒素を逆充填した後、5% Pd/C 50 mg を添加した。水素バルーンを添加し、反応物を 3 時間攪拌し、次いで、EtOAc を用いて Celite を通して濾過した。溶媒を除去すると、中間体 7B-3 40 mg が黄色固体として得られた。¹H NMR (CD₃OD) δ 9.48 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.28 (d, J=5.6Hz, 1H), 8.02 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.40 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.28 (d, J=5.2Hz, 1H), 3.98-3.79 (m, 5H), 3.51 (m, 2H), 3.04 (t, J=4.8Hz, 4H), 2.90 (t, J=5.1Hz, 2H), 2.62 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.68 (m, 1H), 1.51 (s, 9H), 1.44-1.22 (m, 5H). LCMS (M+H) = 648.3.

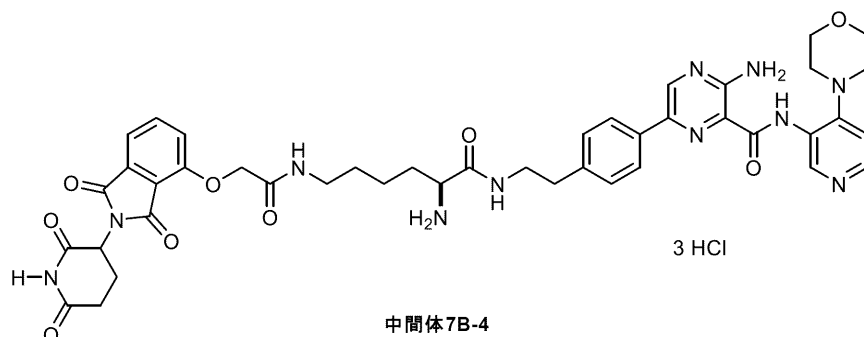
40

【0395】

ステップ D：中間体 7B-4 の調製



中間体7B-3



10

DMF 1 mL 中、中間体 7 B - 3 58 mg (0.09 mmol) および 2 - ((2 - (2 , 6 - ジオキソピペリジン - 3 - イル) - 1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 4 - イル) オキシ) 酢酸 30 mg (0.09 mmol) を含有する溶液に、BOP 試薬 48 mg (0.11 mmol) およびジイソプロピルエチルアミン 0.047 mL (0.27 mmol) を添加した。反応混合物を 16 時間攪拌し、次いで、飽和 NaHCO₃ 溶液 1 mL および水 1 mL でクエンチした。混合物を EtOAc で 3 回抽出し、合わせた有機抽出物をブラインで洗浄し、次いで、Na₂SO₄ 上で乾燥させた。次いで、溶媒をエバポレートし、残渣をクロマトグラフィーにかけると (0% ~ 20% CH₃OH / ジクロロメタン)、所望の化合物 60 mg が得られ、これを直ちに EtOAc 4 mL およびメタノール 1 mL に溶解し、次いで、室温で、ジオキサン中 4 N HCl 2 mL で処理し、反応物を 2 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、黄色固体をジエチルエーテルから 3 回エバポレートすると、中間体 7 B - 4 49 mg が淡黄色結晶固体として得られた。LCMS (M+H) = 862.

20

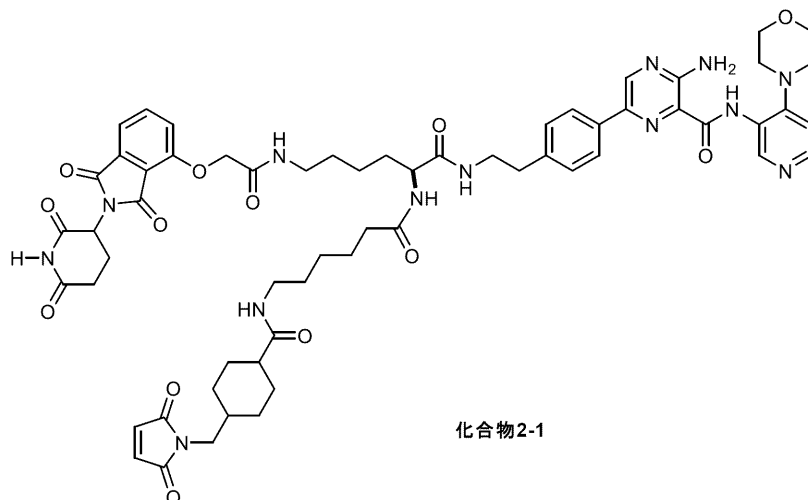
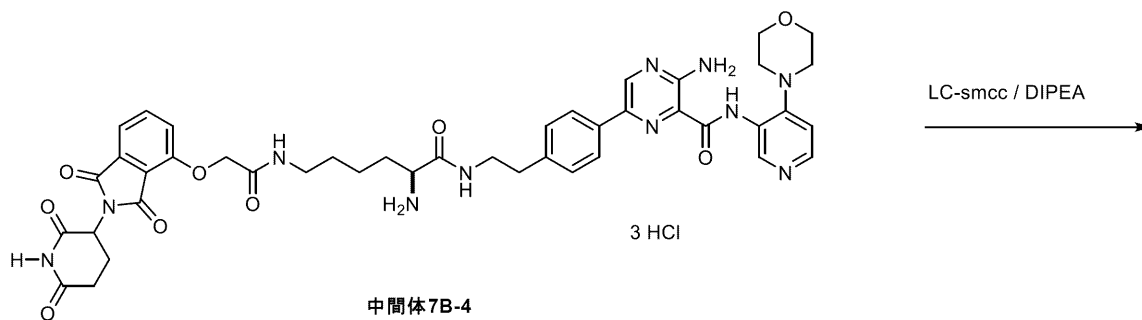
30

【0396】

中間体 7 B - 4 は PROTAC T - 20 である。

【0397】

ステップ E : 化合物 2 - 1 の調製



10

20

淡黄色結晶固体として (S) - 2 - アミノ - N¹ - (4 - (5 - アミノ - 6 - ((4 - モルホリノピリジン - 3 - イル) カルバモイル) ピラジン - 2 - イル) ベンジル) - N⁵ - (2 - (3 - ((S) - 1 - ((2S, 4R) - 4 - ヒドロキシ - 2 - ((4 - (4 - メチルチアゾール - 5 - イル) ベンジル) カルバモイル) ピロリジン - 1 - イル) - 3, 3 - ジメチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - オキソプロポキシ) エチル) ペンタンジアミドトリヒドロクロリド 43 mg (0.05 mmol) を含有する溶液を、DCM 3 mL および DIPEA (0.13 mL、0.7 mmol) 中 LC-smcc (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 - (6 - アミドカプロエート)) (32 mg、0.07 mmol) と合わせた。一晩攪拌した後、反応物が濁り、LCMS が生成物の存在を示した。反応物を濃縮し、次いで、最小量の THF および水に溶解した。混合物を飽和 NaHCO₃ で中和し、混合物をクロマトグラフィーにかけると (30 g、C18、H₂O から CH₃CN、液体ローディング)、CH₃CN/H₂O からの凍結乾燥後に、化合物 2 - 1 が黄色固体として得られた。LCMS (M+H) = 1194.3.

30

【0398】

実施例 2

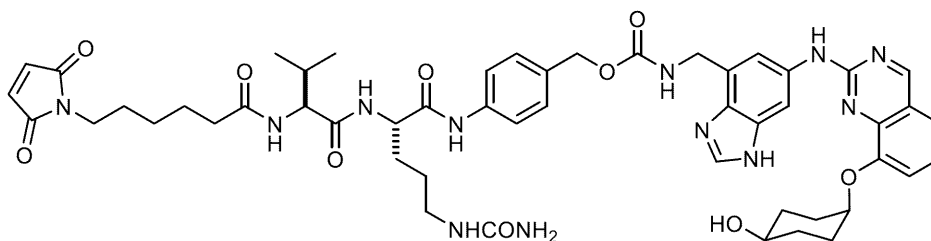
抗体とのコンジュゲーションのための中間体の合成

TRAF2 および NCK 相互作用キナーゼ (TNIK) 阻害剤

実施例 2. 1

4 - ((S) - 2 - ((S) - 2 - (6 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) ヘキサンアミド) - 3 - メチルブタンアミド) - 5 - ウレイドペンタンアミド) ベンジル ((6 - ((8 - ((1s, 4s) - 4 - ヒドロキシ - シクロヘキシル) オキシ) キナゾリン - 2 - イル) アミノ) - 1 H - ベンゾ [d] イミダゾール - 4 - イル) メチル) カルバメート (化合物 2. 1) の合成

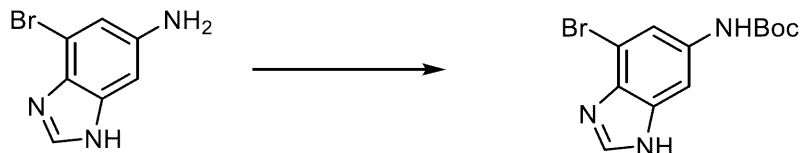
40



【0399】

ステップA：中間体2.1aの調製

10



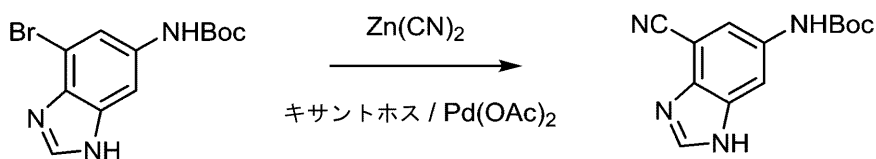
中間体2.1a

4-ブロモ-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-6-アミン(903mg、4.26mmol)を、THF 15mL、H₂O 8mLおよびMeOH 20mLの混合物に溶解した。固体NaHCO₃(716mg、8.52mmol)を添加し、混合物を15分間攪拌した後、Boc₂O 1.4g(6.39mmol)を添加した。反応混合物を濃縮し、MeOHで覆うと、微細暗色懸濁液が得られた。次いで、シリカゲルを添加し、混合物を濃縮乾固した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ISCO 125g、DCMから20%MeOH/DCM)によって、所望の物質(1.1g)が黄色固体として得られた。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.48 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 1.69 (s, 9H).

20

【0400】

ステップB：中間体2.1bの調製



中間体2.1a

中間体2.1b

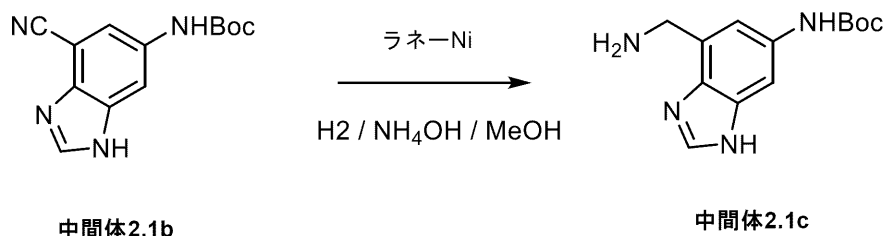
30

DMF 25mL中、中間体2.1a(0.979g、2.37mmol)を含有する混合物に、4,5-ビス(ジフェニルホスフィノ)-9,9-ジメチルキサンテン(0.137g、0.237mmol)およびZn(CN)₂(0.418g、3.56mmol)を添加した。混合物をN₂で10分間バージした。次いで、酢酸パラジウム(II)(0.053g、0.237mmol)を添加し、混合物をN₂で10分間バージし、次いで、80℃に加熱した。5時間後、反応物を冷却し、EtOAcで希釈し、Celiteを通して濾過した。クロマトグラフィー(24g Goldシリカ、DCMから20%MeOH/DCM)によって、tert-ブチル(4-シアノ-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-6-イル)カルバメートが得られ、所望の生成物が淡ピンク色固体として得られ、これを次のステップに直接使用した。

40

【0401】

ステップC：中間体2.1cの調製

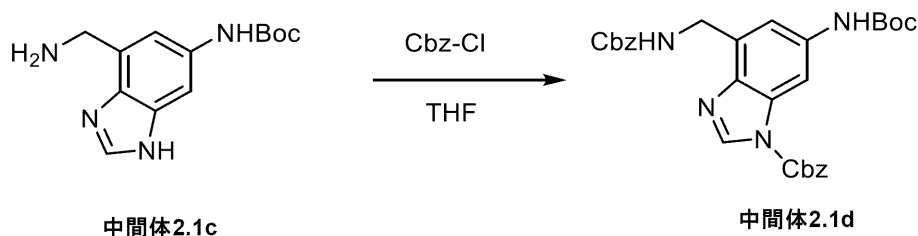


H Cube : 30%濃 NH_4OH 22 mLを MeOH で200 mLに希釈した。この溶液の半分を使用してプライミングし、H-cubeラインを洗浄し、 MeOH 中2N NH_4OH (88 mL)を使用して試料を溶解した。70×4 mm Ra-Niカラム、60℃、10 psi、1 mL/分、 $\text{NH}_4\text{OH}/\text{MeOH}$ 中0.026モル濃度、H-cube機器で4時間(再循環)を使用すると、LCMSは、いくつかのSMが残っているながら生成物を示した。試料を濃縮し、高真空下で16時間置いた。クロマトグラフィー(40 g シリカ、Gold、DCMから80:18:2 DCM:MeOH: NH_4OH)によって、部分的分離が得られ、所望の生成物440 mgが白色固体として得られ、これをさらに精製することなく次のステップに直接使用した。LCMS (M+H) = 263.

10

【0402】

ステップD: 中間体2.1dの調製



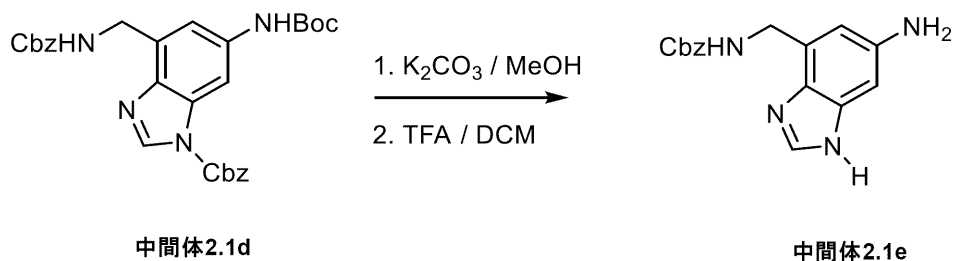
20

THF 17 mL中、中間体2.1cと飽和 NaHCO_3 3 mLの氷冷混合物に、クロロギ酸ベンジル(0.29 mL、2.0 mmol)を滴下した。反応混合物を3時間攪拌し、次いで、濃縮し、EtOAcで覆い、 Na_2SO_4 を通して濾過し、シリカゲルで濃縮し、24 g シリカGoldカートリッジ上に乾燥ローディングした。100%ヘプタンから100%EtOAcによる溶出によって、中間体2.1d 450 mgは白色固体として得られた。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.52 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.6-7.3 (m, 11H), 6.60 (bs, 1H), 5.55 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 4.61 (s, 2H), 1.56 (s, 9H).

30

【0403】

ステップE: 中間体2.1eの調製



40

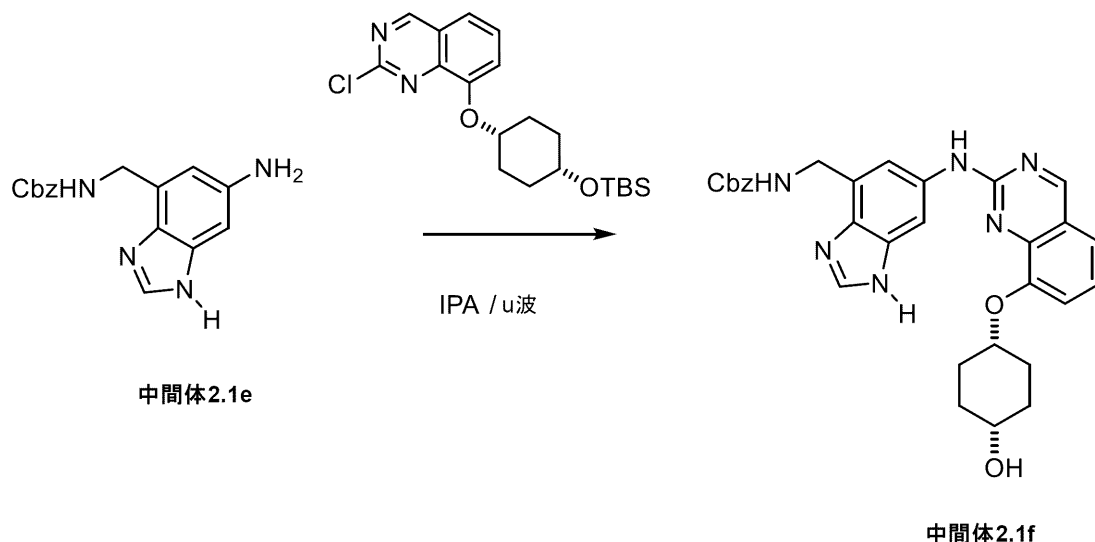
ベンジル 4-(((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)メチル)-6-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-1-カルボキシレート(161 mg、0.303 mmol)の MeOH 10 mL中懸濁液に、 K_2CO_3 (84 mg、0.606 mmol)を添加した。反応物を室温で1時間攪拌すると、TLCは反応が完了したことを示した。クロマトグラフィー(4 g シリカ、Gold、DCMから20% MeOH/DCM)によって、非脱保護化合物(141.8 mg)が白色固体として得られた。この物質をDCM 9 mLに溶解し、TFA 1 mLで処理した。

50

反応物を室温で1時間攪拌し、次いで、濃縮した。残渣をDCMに溶解し、Et₃N 1 mLで処理した。反応物を濃縮し、クロマトグラフィーにかけると（4 g シリカゲル、Gold、DCMから80 : 18 : 2 DCM : MeOH : NH₄OH）、中間体2.1e 115 mgが淡黄色半固体として得られた。¹H NMR (CDCl₃) δ 7.70 (s, 1H), 7.25 (m, 5H), 6.72 (s, 1H), 6.42 (s, 1H), 5.87 (bs, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.44 (s, 2H).

【0404】

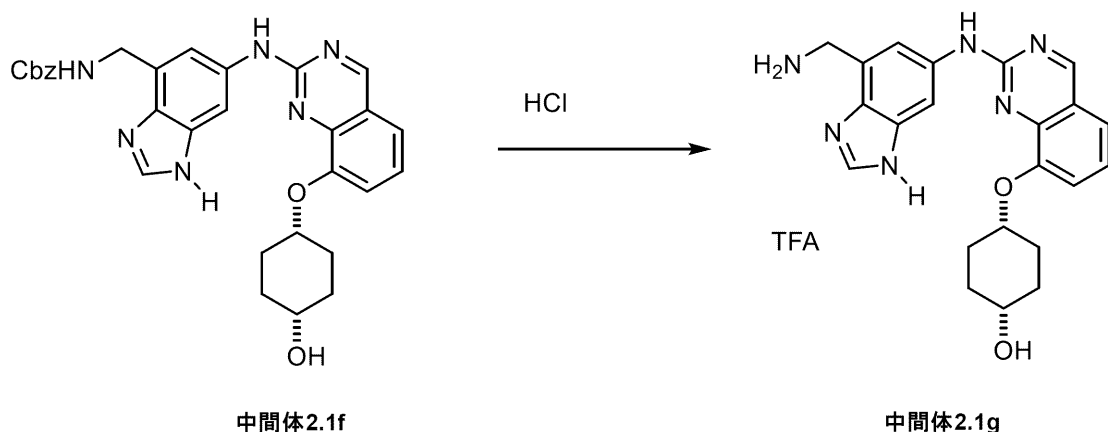
ステップF：中間体2.1fの調製



イソプロパノール2 mL中、中間体2.1e 56 mg (0.188 mmol)および8-((6-((8-((1s, 4s)-4-(tert-butylジメチルシリル)オキシ)シクロヘキシル)オキシ)-2-クロロキノズリン)96 mg (0.244 mmol)を含有する混合物をマイクロ波管中150℃で2時間加熱した。反応物を冷却し、水0.5 mLを添加した。テトラブチルアンモニウムフルオリド(564 μl、0.564 mmol)を添加し、混合物を2時間攪拌した。溶媒を濃縮し、次いで、EtOAcとNaHCO₃に分配した。EtOAcを水、次いでブラインで洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、濾過し、濃縮した。物質を、DCMを使用してシリカゲル上に吸着させ、次いで、濃縮した。クロマトグラフィー(24 g シリカゲル、Gold、DCMから10% MeOH / DCM)によって、中間体2.1f 41 mgが黄色固体として得られた。¹H NMR (CD₃OD) δ 9.12 (s, 1H), 9.05 (bs, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.41-7.06 (m, 9H), 5.13 (s, 2H), 4.89 (s, 1H), 4.71 (bs, 2H), 3.86 (bs, 1H), 2.20-2.07 (m, 4H), 1.89-1.80 (m, 2H), 1.73 (t, J=12Hz, 2H). LCMS (M+H) = 539.6.

【0405】

ステップG：化合物2.1gの調製



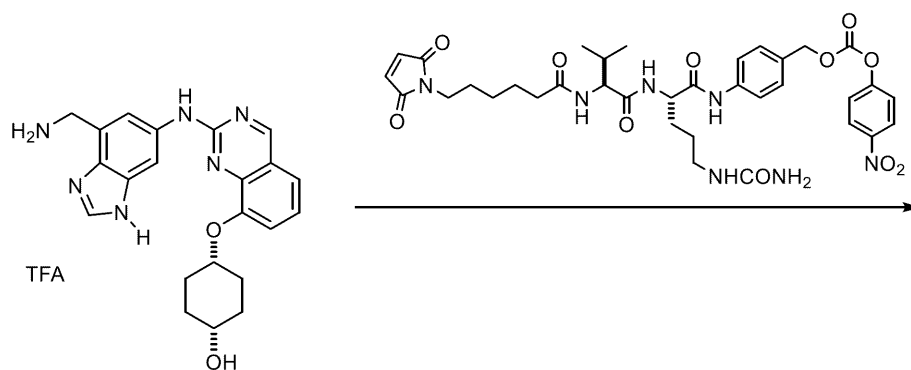
ベンジル((6-((8-((1s, 4s)-4-ヒドロキシシクロヘキシル)オキシ

シ) キナゾリン-2-イル) アミノ) -1H-ベンゾ[d]イミダゾール-4-イル) メチル) カルバメート (181mg、0.336mmol) を含有する混合物を、マイクロ波管中、水 (2ml) およびジオキサン中 4N HCl (2ml) と合わせ、次いで、マイクロ波中 100℃ で 2 時間加熱した。溶媒を減圧下で除去し、飽和 NaHCO₃ を添加して遊離塩基を生成した。この混合物を、最小の MeOH を使用して 100g C18 カラムにローディングして、ローディングを終了した。H₂O から CH₃CN (TFA 修飾剤) で溶出すると、DCM およびヘプタンとのコエバポレーション後に中間体 2.1g 121mg が黄色固体として得られた。¹H NMR (D₂O) δ 9.12 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.48 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.42 (dd, J=2.0, 8.0Hz, 1H), 7.34 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.30 (m, 3H), 4.70 (s, 1H), 4.44 (s, 2H), 3.80 (m, 1H), 1.94 (m, 2H), 1.67 (m, 6H). LCMS (M+H) = 405.3.

10

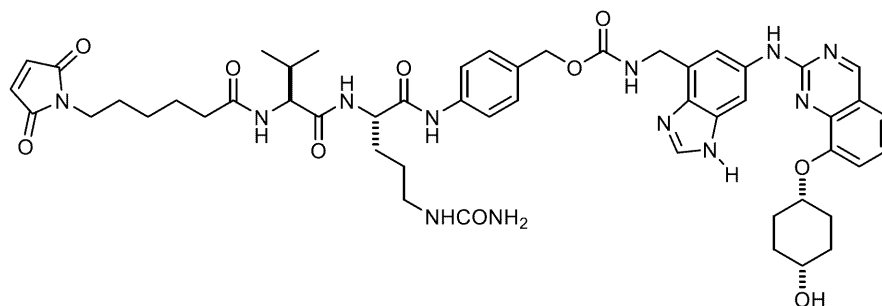
【0406】

ステップ H: 化合物 2.1 の調製



20

中間体 2.1g



化合物 2.1

30

DMF 1 mL 中 4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサナムイド)-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル(4-ニトロフェニル)カーボネート (45.6mg、0.062mmol) を含有する溶液に、(1s, 4s)-4-((2-((4-(アミノメチル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-6-イル)アミノ)キナゾリン-8-イル)オキシ)シクロヘキサン-1-オール (618μL、0.062mmol) の 0.1M 溶液 618μL および N,N-ジイソプロピルエチルアミン (21.53μL、0.124mmol) を添加した。反応物を 16 時間攪拌し、次いで、濃縮した。残渣をクロマトグラフィーにかけると (30g C18、H₂O から CH₃CN、THF、飽和 NaHCO₃ (水溶液) および H₂O の混合物を使用して液体ローティング)、化合物 2.1 25mg が黄色固体として得られた。¹H NMR (CD₃OD) δ 9.12 (s, 1H), 9.07 (bs, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.56 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.40 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.33-7.22 (m, 4H), 7.12 (bs, 1H), 6.76 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 4.89 (m, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.72 (m, 2H), 4.49 (m, 1H), 4.15 (d, J=7.5Hz, 1H), 3.86 (bs, 1H), 3.44 (m, 3H), 3.22-3.08 (m, 4H), 2.26 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.18-2.03 (m, 6H), 1.89 (m, 3H), 1.73 (m, 3H), 1.65-1.51 (m, 7H), 1.30 (3H), 0.96 (m, 6H). LCMS (M+H) = 1003.9.

40

【0407】

50

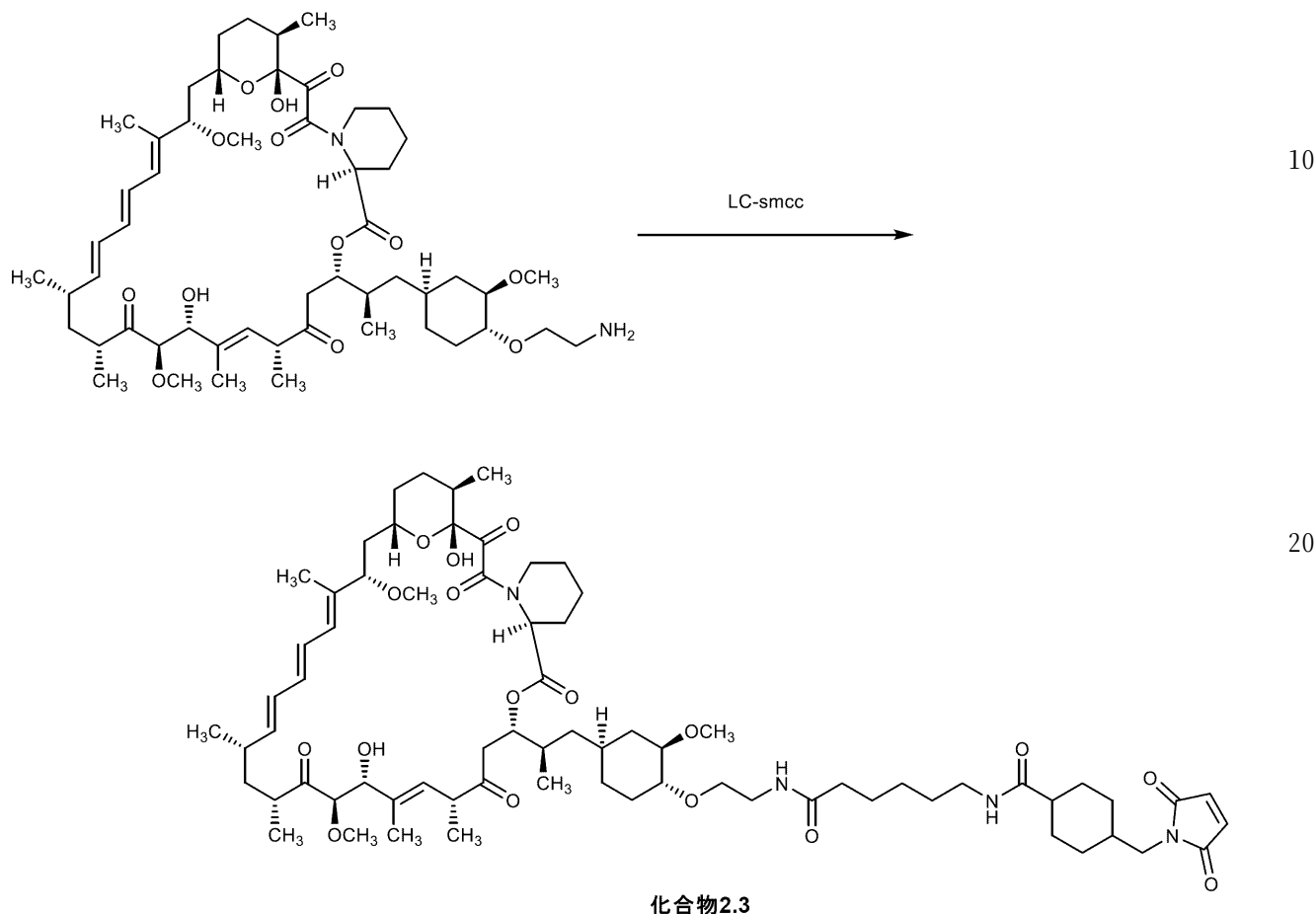
TGFβR2 阻害剤

実施例 2. 2

以下の化合物を化合物 2. 1 について記載されるのと同様の様式で調製する：

【0408】

化合物 2. 3 42-O-(アミノエチル) ラパマイシンの LP



【0409】

実施例 3

非操作抗体の天然鎖内ジスルフィド結合の部分的還元による抗体-TGFβ阻害剤コンジュゲートの作製

mAb (PBS 中 3~8 mg/mL) を、分子量カットオフ遠心濾過 (Millipore、30 kDa) を介して、HEPES (100 mM、pH 7.0、1 mM DTPA) に交換した。結果として生じた mAb 溶液を風袋引き 50 mL 円錐管に移した。mAb 濃度は、A₂₈₀ によって 3~8 mg/mL と決定された。mAb 溶液に、TCEP (2.0~4.0 当量、1 mM ストック) を室温で添加し、結果として生じた混合物を、穏やかに振盪しながら、37℃で 30~90 分間インキュベートした。室温に冷却したら、攪拌棒を反応管に添加した。攪拌しながら、実施例 1 および 2 からのリンカーペイロード (5~10 当量、10 mM DMSO) を滴下した。結果として生じた反応混合物を常温で 30~60 分間攪拌させ、その時点で、N-エチルマレイミド (3.0 当量、100 mM DMA) を添加した。さらに 15 分間攪拌した後、N-アセチルシステイン (6.0~11.0 当量、50 mM HEPES) を添加した。次いで、粗 ADC を PBS に交換し、移動相として PBS を使用して、分取 SEC (例えば、HiLoad 26/600、Superdex 200 pg) によって精製した。純粋な画分を、分子量カットオフ遠心濾過 (Millipore、30 kDa) を介して濃縮し、滅菌濾過し、15 mL 円錐管に移した。以下の実施例 4 に記載される方法によって、薬物-抗体コンストラクト比 (モル比) を決定した。

【0410】

実施例 4

薬物－抗体コンストラクト比を決定するための一般的手順

疎水性相互作用クロマトグラフィー

コンジュゲートの 6 mg/mL 溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$ を、TOSOH TSK gel Butyl-NRP（商標）疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）カラム（ $2.5\text{ }\mu\text{M}$ 粒径、 $4.6\text{ mm}\times 35\text{ mm}$ ）を取り付けたHPLC系セットアップに注入した。次いで、18分間にわたって、12分間にわたる100%移動相Aから100%移動相B、引き続いて6分間の100%移動相Aでの再平衡化で移動相勾配を実行する方法を実行する。流速は 0.8 mL/分 であり、検出器を 280 nm に設定する。移動相Aは 1.5 M 硫酸アンモニウム、 25 mM リン酸ナトリウム（ $\text{pH}7$ ）である。移動相Bは 25 mM リン酸ナトリウム（ $\text{pH}7$ ）中25%イソプロパノールである。実行後、クロマトグラムを積分し、加重ピーク面積を合計することによってモル比を決定する。

質量分析

抗体コンジュゲート（抗体コンストラクト免疫調節化合物コンジュゲート） $1\text{ }\mu\text{g}$ を、Agilent 1290 Infinity UHPLC系と連結したAgilent 6550 iFunnel Q-TOFなどのLC/MSに注入した。生データを得て、Maximum Entropyデコンボリューションアルゴリズムを使用してBioConfirmを備えたAgilent MassHunter Qualitative Analysis Softwareなどのソフトウェアでデコンボリューションする。インタクトな抗体コンジュゲートの平均質量を、計算のために25%のトップピーク高さを使用したソフトウェアによって計算する。次いで、このデータを、Agilent モル比計算機などの別のプログラムにインポートして、抗体コンジュゲートのモル比を計算する。

【0411】

実施例 5

TGF β レポーターアッセイ

材料および一般的手順。TGF β /SMADシグナル伝達経路SBEレポーター細胞株をBPS Bioscienceから得た。増殖培地をGeneticinを含むDMEM-C（10%ウシ胎児血清、 $1\times\text{NEAA}$ 、 1 mM ピルベート、 2 mM グルタミン、 $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ ペニシリン、 50 U/mL ストレプトマイシンおよび $400\text{ }\mu\text{g/mL}$ のGeneticinを補足したDMEM）に交換することを除いて、供給業者の指示に従って、細胞を継代し、増殖させ、液体窒素に貯蔵した。アッセイ培地は、0.5%ウシ胎児血清、 $1\times\text{NEAA}$ 、 1 mM ピルベート、 $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ ペニシリンおよび 50 U/mL ストレプトマイシンを補足したMEMとした。

【0412】

インビトロ小分子スクリーニングの一般的手順。試験試料（アッセイ培地に希釈した所望の濃度）を、1ウェル当たり $20\text{ }\mu\text{L}$ で96ウェルアッセイプレートに添加した。レポーター細胞を、フラスコ中の培地を除去した後、少量のPBS中 37°C で2分間のインキュベーションによって組織培養フラスコから収穫し、細胞をPBSですすぐ。細胞を計数し、アッセイ培地に約 0.5×10^6 個細胞/mLに希釈し、次いで、 $80\text{ }\mu\text{L/ウェル}$ の細胞を、 $20\text{ }\mu\text{L/ウェル}$ の試験試料（または培地のみ）を含有するアッセイプレートに添加し、5% CO_2 加湿インキュベーター中 37°C で約5～6時間インキュベートした。その時間の後、アッセイ培地中 12 ng/mL に希釈したTGF β $15\text{ }\mu\text{L}$ をプレートに添加した。コントロールは、阻害剤を含まず、培地のみ（細胞も、阻害剤も、TGF β も含まない）を含むTGF β 滴定（ $50\sim 0\text{ ng/mL}$ ）を含んでいた。プレートを5% CO_2 加湿インキュベーター中 37°C で18時間インキュベートした。その後、ルシフェラーゼ基質溶液を1ウェル当たり $100\text{ }\mu\text{L}$ で添加し、暗所中、室温で15分間インキュベートし、ルミノメーターを使用して発光を測定する。

【0413】

10

20

30

40

50

実施例 6

K_d 値の決定

約 10 反応単位 (RU) で固定化抗原 CM5 チップと共に 25 °C で B I A C O R E (登録商標) - 2000 または B I A C O R E (登録商標) - 3000 (B I A c o r e, I n c.、P i s c a t a w a y、N. J.) を使用した表面プラズモン共鳴アッセイを使用して、K_d を測定する。手短に述べれば、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ (CM5、B I A C O R E, I n c.) 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) および N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) で活性化する。抗原を 10 mM 酢酸ナトリウム、pH 4.8 で 5 μg/mL (約 0.2 μM) に希釈した後、5 μL/分の流速で注入して約 10 反応単位 (RU) のカップリングタンパク質を達成する。抗原を注入した後、1 M エタノールアミンを注入して、未反応基をブロックする。動態測定のために、2 倍系列希釈の Fab (0.78 nM ~ 500 nM) を、約 25 μL/分の流速で、25 °C で 0.05 % ポリソルベート 20 (T W E E N - 20 (商標)) 界面活性剤 (P B S T) を含む P B S に注入する。会合センサーグラムと解離センサーグラムを同時に適合させることによって、単純な一対一ラングミュア結合モデル (B I A C O R E (登録商標) E v a l u a t i o n S o f t w a r e バージョン 3.2) を使用して、会合速度 (k_{on}) および解離速度 (k_{off}) を計算する。比 k_{off}/k_{on} として、平衡解離定数 (K_d) を計算する。例えば、Chen ら、J. Mol. Biol. 293: 865 ~ 881 (1999) を参照されたい。会合速度が上記の表面プラズモン共鳴アッセイにより 106 M⁻¹s⁻¹ を超える場合、会合速度を、攪拌キュベットを備えた、流動停止を備えた分光光度計 (A v i v I n s t r u m e n t s) または 8000 シリーズ S L M - A M I N C O (商標) 分光光度計 (T h e r m o S p e c t r o n i c) などの分光光度計で測定される、増加する濃度の抗原の存在下で、P B S、pH 7.2 中 20 nM 抗抗原抗体 (F a b 形態) の 25 °C での蛍光放出強度 (励起 = 295 nm、放出 = 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術を使用することによって決定することができる。

【0414】

実施例 7

F A P - T G F β R 2 標的化コンジュゲートは T G F β シグナルを阻害した

線維芽細胞機能に対する T G F β 媒介効果の阻害を調査するために、F A P 発現 G M 0 5 3 8 9 肺線維芽細胞を、血清の非存在下で一晩培養した。翌日、細胞を滴定濃度の F A P 抗体と T G F β R 2 免疫調節化合物 L P のコンジュゲート (F A P - T G F β R 2 コンジュゲート) で 1 時間処理した。次いで、細胞を 10 ng/mL T G F β で刺激し、次いで、さらに 72 時間培養した。上清を収穫し、C O L 1 A 1 α L I S A または比色 S i r c o l C o l l a g e n A s s a y を使用して、可溶性コラーゲン濃度を決定した。いくつかの条件について、C e l l T i t e r - G l o L u m i n e s c e n t C e l l V i a b i l i t y A s s a y を使用して、線維芽細胞増殖を定量化した。α-SMA (平滑筋アクチン) 誘導を分析するために、G M 0 5 3 8 9 細胞を 4 % P F A を使用して固定し、透過処理し、P E コンジュゲート抗 α-SMA 抗体を使用して細胞内で染色した。次いで、フローサイトメトリー解析を使用して、α-SMA 発現レベルを決定した。M F I はコンジュゲート処理細胞で低く、T G F β R 2 媒介シグナル伝達が低いことを示した。

【0415】

実施例 8

F A P - T G F β R 2 コンジュゲートは、処理細胞で T G F β R 2 分解を増加させる

線維芽細胞での標的化 T G F β R 2 分解を、以下の通り一部が E 3 ユビキチンリガーゼセレブロンのための結合部分で構成される免疫調節化合物で構成される F A P - T G F β R 2 コンジュゲートについて実証する。F A P 発現 G M 0 5 3 8 9 肺線維芽細胞を、6 ウェル組織培養プレートで血清の非存在下で一晩培養する。次いで、免疫調節化合物が E 3

ユビキチン結合部分を含有するものおよびE3ユビキチンリガーゼ結合部分を欠くもの、
 滴定濃度の2つのFAP-TGFβR2コンジュゲートで細胞を24時間処理する。追加
 のコントロールは、GM05389細胞上の抗原を認識しない結合ドメインを有するコン
 ジュゲートによる処理である。インキュベーション後、培地を吸引によって除去し、細胞
 を温PBSバッファーで洗浄し、吸引によって除去し、細胞を、プロテアーゼ阻害剤カク
 テルを含有する1×Cell Lysis Buffer (Cell Signaling Technologies, Inc.) 100μlを添加することによって溶解し、
 氷上でインキュベーションし、プレートシェーカーに2分間入れ、上下ピペット操作によ
 って均質化した後回収する。アリコート除去し、溶解物タンパク質濃度を、BSAを使
 用した標準的な手順を使用してBCAによって決定して標準曲線を作成する。溶解物の残り
 を以下の通りSDS-PAGEゲル電気泳動およびウエスタンブロット分析に供する： 10
 1) 標準4×SDS試料バッファーを使用し、100℃で加熱することによって、SDS
 PAGE用に溶解物を調製する、2) 各溶解物について等しい溶解物タンパク質量をレ
 ーンに添加し、電気泳動によって分離する、3) 分離したタンパク質をImmobilon-FL
 PVDF膜(Millipore, Inc.)に転写する、4) 特異的抗TGFβR2マウス抗体を標準的ブロッ
 キングバッファー中膜に添加し、引き続いてインキュベートし、次いで、洗浄する；5) HRP-
 標識抗マウスIgG抗体(Cell Signaling Technologies, Inc.)を添加し、膜とインキュベートし、
 引き続いて洗浄する；および6) HRP酵素アッセイキットを使用して、化学発光シグ
 ナルを生成し、これをBioRad Chemi Labリーダーによって定量化した。 20
 コントロールレーンについてのシグナルと比較して、E3ユビキチン結合部分を含有する
 FAP-TGFβR2コンジュゲートの添加するレベルを増加させると見られる化学発光
 レベルの減少は、処理細胞におけるコンジュゲート低下TGFβR2レベルによって実証
 される。

【0416】

実施例9

LRRC15-TGFβR2阻害剤コンジュゲートは、TGFβ/SMA Dシグナル伝達
 経路を阻害した

リンカーを介してTGFβR2阻害剤に結合したLRRC15抗体のコンジュゲートが
 、TGFβ誘導後、活性であり、TGFβ/SMA Dシグナル伝達経路を阻害することが
 できることを実証するために、レポーター細胞株を使用してアッセイを行った。 30

【0417】

材料および一般的手順：親TGFβ/SMA Dシグナル伝達経路レポーター細胞株を、
 10%ウシ胎児血清、1×NEAA、1mMピルベート、2mMグルタミン、50μg/
 mLペニシリン、50U/mLストレプトマイシンおよび400μg/mLのGeneti
 cinを補足したDMEM中で維持した。レポーター細胞を6ウェルプレートに蒔き、
 翌日、製造業者の指示に従ってLipofectamine 3000を使用してこれら
 にトランスフェクトすることによって、レポーター細胞株に、LRRC15レポーターを
 コードするベクターを一過的にトランスフェクトした。トランスフェクションの24時間
 後、トランスフェクトしたLRRC15⁺レポーター細胞およびコントロールレポーター 40
 細胞(LRRC15を発現していない)を、フラスコ中の培地を除去した後、少量のVe
 rsense中室温で3~5分間インキュベートすることによって組織培養フラスコから
 収穫し、細胞をPBSで洗浄した。細胞を計数し、約0.8×10⁶個細胞/mLでアッ
 セイ培地に希釈し、次いで、50μL/ウェルを96ウェルアッセイプレートに添加した
 。(アッセイ培地は、0.5%ウシ胎児血清、1×NEAA、1mMピルベート、50μ
 g/mLペニシリンおよび50U/mLストレプトマイシンを補足したMEMであった)
 。一定体積の50μL/ウェルの試験試料(アッセイ培地に希釈した所望の濃度)を、細
 胞を含有するアッセイプレートに添加し、5%CO₂加湿インキュベーター中37℃で5
 ~6時間インキュベートした。その時間の後、アッセイ培地に12.5ng/mLに希釈
 したTGFβ 15μLをプレートに添加した。コントロールは、LRRC15抗体のみ 50

、抗ジゴキシン-TGFβR2阻害剤コンジュゲート、TGFβ滴定、TGFβ処理のみの細胞、および培地のみ（細胞も阻害剤もTGFβも含まない）を含んでいた。プレートを5%CO₂加湿インキュベーター中37℃で24時間インキュベートした。その後、ルシフェラーゼ基質溶液を1ウェル当たり75μLで添加し、室温で10分間振盪しながら暗所でインキュベートし、ルミノメーターを使用して発光を測定した。

【0418】

図2を参照すると、結果は、LRRC15-TGFβR2阻害剤コンジュゲートがTGFβ/SMA Dシグナル伝達経路によるシグナル伝達を減少させることができたことを示している。図中、X軸は添加したコンジュゲートまたは抗体の濃度を示している。

【0419】

実施例10

DEC205-ラパマイシンコンジュゲートは、アロMLR反応の樹状細胞刺激を低下させる

DEC-205-ラパマイシンコンジュゲートが、樹状細胞がT細胞を刺激する能力を低下させることができることを実証するために、ヒト樹状細胞をDEC205-ラパマイシンコンジュゲートで処理し、次いで、混合リンパ球反応（MLR）において同種異系T細胞を活性化する能力について評価する。1000U/mL組換えヒト（rh）GM-CSF（R&D Systems）および25ng/mL rh IL-4（R&D Systems）を補足した10%（v/v）熱不活性化ウシ胎児血清（FCS）、2mM L-グルタミン、50U/mL ペニシリンおよび50μg/mL ストレプトマイシン（Invitrogen）を補足したRPMI-1640培地中で5日間培養することによって、末梢血から単離した単球から樹状細胞を分化させる。rh GM-CSFおよびrh IL-4を含有する新鮮な培地を3日目に添加する（0.5体積）。未成熟DCを収穫し、RPMIで広範囲に洗浄し、次いで、完全RPMI培地中24ウェルプレートに再度蒔く。DEC205-ラパマイシンコンジュゲートを、200mM~0.1nMの濃度範囲にわたって樹状細胞に添加し、樹状細胞およびコンジュゲートを37℃で24時間インキュベートする。未処理のDEC-205mAbおよびラパマイシン小分子などのコントロール処理を実験に含める。24時間後、樹状細胞を収穫し、洗浄し、96ウェルプレート中CFSE標識T細胞と1:1の比で再度蒔く。3~5日間の期間の後、T細胞増殖を、フローサイトメーター（Becton Dickinson、Fortessa）でCFSE希釈によって評価する。DEC205-ラパマイシンコンジュゲートの濃度が増加すると、T細胞増殖のレベル減少が観察される。

【0420】

実施例11

タンパク質分解標的化モジュールを含有するコンジュゲートによるタンパク質分解を決定するための一般的手順

タンパク質分解標的モジュール（PTM）および免疫調節化合物を上記のように調製する。PTMと抗体コンストラクトのコンジュゲートを、鎖間ジスルフィドコンジュゲーションについて実施例3に記載されるように調製する。平均DARは約4である。

【0421】

細胞を蒔き、接着させ、MG-132などのプロテアーゼ阻害剤の存在下または非存在下、ビヒクル、阻害剤、PROTACまたはコンジュゲートで処理する。処理後、培地を吸引し、細胞を氷冷PBSですすぐ。ホスファターゼおよびプロテアーゼ阻害剤を含有する氷冷溶解バッファー（20mM トリスHCl pH7.5、150mM NaCl、1% Triton X-100、2mM EDTAおよび10%グリセロール）をウェルに添加し、細胞を、セルスクレーパーを使用してプレートから除去する。溶解物を、1.5ml管に移し、約15分毎にボルテックスして4℃で1時間揺動した。管を8500×gで10分間回転させ、上清をインスリン針に2回引き入れる。細胞溶解物を-80℃で凍結する。BCAアッセイを使用してタンパク質濃度を決定し、等量の試料を還元ローディングバッファーと沸騰させる。次いで、試料を4~20%ポリアクリルアミドゲルで電気

10

20

30

40

50

泳動に供し、次いで、これをPVD F膜に転写する。0.05% Tween 20を含む5% w/v 豆乳PBSでブロッキングおよび染色を行い、0.05% Tweenを含むPBSを使用して洗浄する。TG F β R 2を標的化するPROTACおよびそのコンジュゲートについては、プロットを1:2000一次抗TG F β R 2抗体 (Santa Cruz、sc-17791)と4℃で揺動して一晩インキュベートする。TG F β R 1を標的化するPROTACおよびそのコンジュゲートについては、プロットを1:3000一次抗TG F β R 1抗体 (R&D、MAB5871)と4℃で揺動して一晩インキュベートする。ローディングコントロールを、揺動しながら室温で1時間、1:15000希釈一次抗体インキュベーションで検出する (チューブリン-Abcam、ab7291; アクチン-Abcam、ab8224)。二次抗体を1:10000希釈し、プロットを揺動しながら室温で1時間インキュベートする (Jackson ImmunoResearch、115-035-003または112-035-003)。ECL試薬を使用してシグナルを検出し、Chemidoc MP (Bio-rad)を使用してプロットを画像化する。ImageLabソフトウェアを使用してデンシトメトリーの解析を行い、ローディングコントロールに基づいてシグナルを調整する。

10

【0422】

実施例12

抗HER2抗体とコンジュゲートしたTG F β R 2-VHL PROTACによるTG F β R 2の分解

Protac T-20を実施例1に記載されるように調製した。ペルツズマブをHer2抗体として使用した。概して鎖間システインコンジュゲーションについての実施例3のプロトコルに従って、マレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシレートリンカーをT-20に結合してリンカー-T-20コンストラクト (T11020)を形成し、引き続いてT11020をHer2抗体とコンジュゲーションすることによって、Her2抗体-Protacコンジュゲート (050-T11020; 化合物2-1 (実施例1))を調製した。平均薬物負荷は約4であった。

20

【0423】

HER2を発現しているプラスミドを、市販の材料および条件を使用して、HEK293細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの24時間後、細胞をDMSO、PROTAC T-20、HER2抗体 (IgG1)またはHer2抗体-Protacコンジュゲート (050-T11020)で処理した。細胞全体溶解物を、インキュベーションの2時間後、24時間後または48時間後の細胞から調製し、BCAアッセイで定量化した。等量の溶解物をタンパク質ゲルに流し、PVD Fに転写し、市販の試薬を使用して、TG F β R 2を検出した。タンパク質分解の量を定量化するため、ウェスタンブロットのシグナルをアクチンローディングコントロールに調整し、データを一致したコントロールの%として提示する。図3A、図3Bおよび図3Cを参照すると、0.5 μ Mおよび1 μ Mのコンジュゲートの両試験濃度で、標的TG F β R 2のレベルが24時間および48時間の処理で減少した一方、TG F β R 2。

30

【0424】

実施例13

VHLおよびセレブロンE3結合部分を有する抗体コンジュゲートによるTG F β R 2の抗原標的化分解

HER2抗原陽性、TROP2抗原陰性細胞株BT474を使用してPROTACコンジュゲートの抗原特異的送達を実証した。

40

【0425】

Protac T-15およびT-20を実施例1で上に記載されるように調製した。ペルツズマブをHer2抗体として使用した。サシツズマブ (Sacituzumab)をTrop2抗体として使用した。概して鎖間システインコンジュゲーションについての実施例3のプロトコルに従って、MC-VC-PABリンカーをT-15またはT-20に結合して、それぞれT05015およびT05020コンストラクトを形成し、引き続

50

いてHer2抗体とコンジュゲーションすることによって、Her2抗体-Protaconコンジュゲート（050-T05015および050-T05020）を調製した。平均薬物負荷は約4であった。Trop2-Protaconコンジュゲート（130-T05020）を同様に調製した。

【0426】

BT474細胞を蒔き、翌日、小分子（T-15もしくはT-20）、HER2抗体TGFR2-VHL結合PROTACのコンジュゲート（050-T05020）、HER2抗体TGFR2-セレブロン結合PROTACのコンジュゲート（050-T05015）またはTROP2抗体TGFR2-VHL結合PROTACのコンジュゲート（130-T05020）で処理した。細胞全体溶解物を処理の24時間後に調製し、BCAアッセイで定量化した。等量の溶解物をタンパク質ゲルに流し、PVDFに転写し、市販の試薬を使用して、TGFR2およびアクチンを検出した。タンパク質バンドの定量化を行い、ウエスタンシグナルをアクチンローディングコントロールに調整し、データをビヒクルコントロールの%として提示する。図4Aおよび図4Bを参照すると、HER2抗原特異的分解が、両HER2結合PROTACコンジュゲートで見られたが、コントロールTROP2結合PROTACコンジュゲートでは見られなかった。

【0427】

実施例14

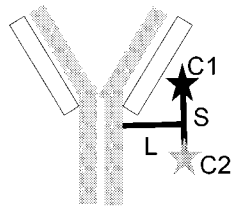
TGFR2/TGFR1-VHL PROTACによるTGFR2およびTGFR1の細胞レベル低下はプロテアソーム阻害剤感受性である

正常なヒト肺線維芽細胞をプロテアソーム阻害剤MG-132で処理しまたは処理しないで、引き続いてDMSOまたはT-20を添加した。細胞全体溶解物を調製し、次いで、BCAアッセイで定量化した。等量の溶解物をタンパク質ゲルに流し、PVDF膜に転写した。市販の試薬を使用して、TGFR1、TGFR2およびアクチンを検出した。ウエスタンシグナルをアクチンローディングコントロールに調整し、データを一致したビヒクルコントロールの%として提示する。図5Aおよび図5Bを参照すると、プロテアソーム阻害剤の添加によって、TGFR1およびTGFR2がT-20によって誘導される分解から保護された。

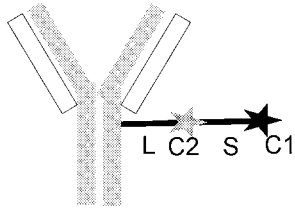
【0428】

本開示の態様を本明細書に示し、記載してきたが、このような態様は例としてのみ提供されることが当業者に明らかであるだろう。本開示から逸脱することなく、多数の変動、変化および置換がここで当業者に思い浮かぶだろう。本明細書に記載される開示の態様の種々の代替が、本開示の実施に使用され得ることが理解されるべきである。以下の特許請求の範囲は、本開示の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲内の方法および構造ならびにその均等物がそれによって網羅されることが意図されている。

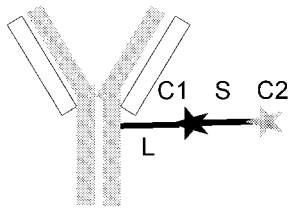
【図 1 A】



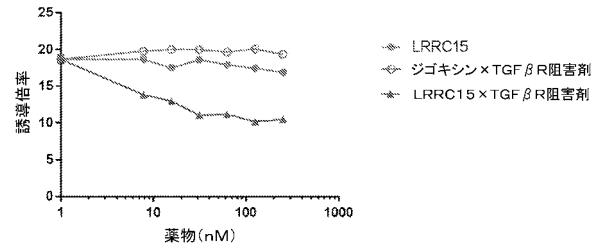
【図 1 B】



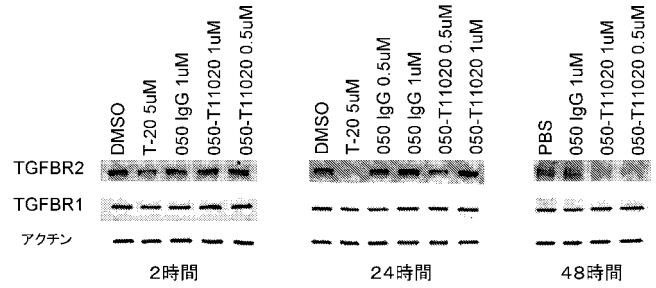
【図 1 C】



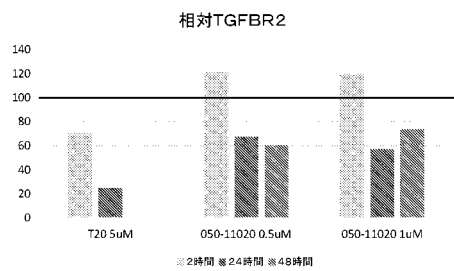
【図 2】



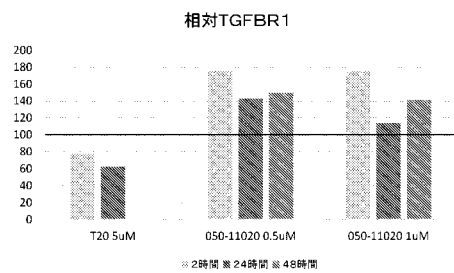
【図 3 A】



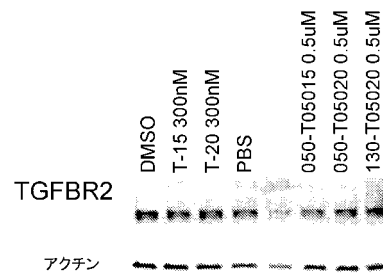
【図 3 B】



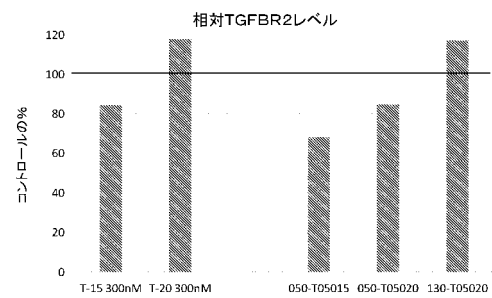
【図 3 C】



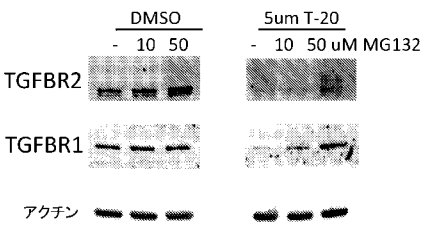
【図 4 A】



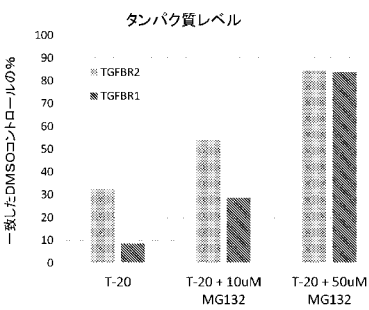
【図 4 B】



【図 5 A】



【図 5 B】



【配列表】

2020523319000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2018/036554

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 39/395; A61K 47/48; A61K 47/50; A61K 47/68; C07K 16/28 (2018.01)

CPC - A61K 47/6803; A61K 47/6849; A61K 47/6889; A61K 2039/505 (2018.08)

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)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

USPC - 424/178.1; 424/179.1; 435/375; 530/387.1; 530/391.9; 530/391.7 (keyword delimited)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	US 2017/0080103 A1 (SYNTHON BIOPHARMACEUTICAL B.V.) 23 March 2017 (23.03.2017) entire document	1, 6, 9 2-5, 10-12, 81-85
X	US 2015/0017188 A1 (GENENTECH, INC.) 15 January 2015 (15.01.2015) entire document	6-8
Y	US 2014/0356322 A1 (YALE UNIVERSITY et al) 04 December 2014 (04.12.2014) entire document	2-5, 11, 12, 81-85
Y	US 2006/0127407 A1 (CHEN et al) 15 June 2006 (15.06.2006) entire document	10
Y	US 2012/0258119 A1 (RENNER et al) 11 October 2012 (11.10.2012) entire document	81-85
Y	US 2017/0058033 A1 (ELI LILLY AND COMPANY) 02 March 2017 (02.03.2017) entire document	82
A	WO 2011/040973 A2 (LUDWIG INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH LTD. et al) 07 April 2011 (07.04.2011) entire document	1-12, 79-85
A	US 2012/0213775 A1 (REISER) 23 August 2012 (23.08.2012) entire document	1-12, 79-85

☐ 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

21 August 2018

Date of mailing of the international search report

04 OCT 2018

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Blaine R. Copenheaver

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/036554

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 13-78, 86-92
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

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 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K 47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K 38/18	(2006.01)	A 6 1 K	38/18	
A 6 1 P 1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P 3/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P 9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P 11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P 17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
C 1 2 P 21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	

(81)指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

- (72)発明者 エドリス, バドレディン
アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, フェアービュー アヴェニュー ノース 5 0 0, スイート 6 0 0
- (72)発明者 コバーン, クレイグ アラン
アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, フェアービュー アヴェニュー ノース 5 0 0, スイート 6 0 0
- (72)発明者 バウム, ピーター ロバート
アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, フェアービュー アヴェニュー ノース 5 0 0, スイート 6 0 0
- (72)発明者 オデガード, ヴァレリー
アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, フェアービュー アヴェニュー ノース 5 0 0, スイート 6 0 0

Fターム(参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01
4C076 AA95 CC04 CC07 EE41 EE59
4C084 AA17 AA20 BA44 DB61 MA05 NA13 ZA361 ZA451 ZA591 ZA681
ZA891 ZA961 ZB081 ZB111 ZC211
4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 BA51 CA40 DA76 EA22 FA10 FA74