

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6843868号
(P6843868)

(45) 発行日 令和3年3月17日(2021.3.17)

(24) 登録日 令和3年2月26日(2021.2.26)

| | |
|----------------------------|---------------------|
| (51) Int.Cl. | F I |
| C 1 2 N 15/13 (2006.01) | C 1 2 N 15/13 Z N A |
| C O 7 K 16/28 (2006.01) | C O 7 K 16/28 |
| C 1 2 P 21/08 (2006.01) | C 1 2 P 21/08 |
| C O 7 K 16/46 (2006.01) | C O 7 K 16/46 |
| C 1 2 N 15/63 (2006.01) | C 1 2 N 15/63 Z |
| 請求項の数 155 (全 179 頁) 最終頁に続く | |

(21) 出願番号 特願2018-536085 (P2018-536085)
 (86) (22) 出願日 平成28年9月28日 (2016. 9. 28)
 (65) 公表番号 特表2018-533973 (P2018-533973A)
 (43) 公表日 平成30年11月22日 (2018. 11. 22)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/054089
 (87) 国際公開番号 W02017/058859
 (87) 国際公開日 平成29年4月6日 (2017. 4. 6)
 審査請求日 令和1年9月24日 (2019. 9. 24)
 (31) 優先権主張番号 62/234, 535
 (32) 優先日 平成27年9月29日 (2015. 9. 29)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 509307635
 セルジーン コーポレイション
 アメリカ合衆国 ニュージャージー 07
 901, サミット, モリス アベニュー
 86
 (74) 代理人 100097456
 弁理士 石川 徹
 (72) 発明者 ブライドン ベネット
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92
 131 サン ディエゴ アシュラー ブ
 レイス 10835
 (72) 発明者 フィリップ ポール チャンバーレイン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92
 130 サン ディエゴ ブラント スト
 リート 2829

早期審査対象出願

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 PD-1 結合タンパク質及びその使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

PD-1に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、該抗体または抗原結合断片が、
 配列番号1からなるVL相補性決定領域1(CDR1)、
 配列番号2からなるVL CDR2、及び
 配列番号3からなるVL CDR3
 を含む軽鎖可変領域(VL)、及び
 配列番号4からなるVH CDR1、
 配列番号5からなるVH CDR2、及び
 配列番号6からなるVH CDR3
 を含む重鎖可変領域(VH)
 を含む、前記抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 2】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号8のアミノ酸配列を含むVLを含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 3】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号10のアミノ酸配列を含むVLを含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 4】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号11のアミノ酸配列を含むVHを含む、請求項1

記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 5】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号12のアミノ酸配列を含むVHを含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 6】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号13のアミノ酸配列を含むVHを含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号8のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号11のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

10

【請求項 8】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号8のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号12のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 9】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号8のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号13のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項 10】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号10のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号11のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 11】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号10のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号12のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

30

【請求項 12】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号10のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号13のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 13】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

40

【請求項 14】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項7記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 15】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項8記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 16】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項9記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 17】

50

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項10記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項18】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項11記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項19】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項12記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項20】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。 10

【請求項21】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項7記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項22】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項8記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項23】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項9記載の抗体または抗原結合断片。 20

【請求項24】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項10記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項25】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項11記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項26】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項12記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項27】 30

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項28】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項7記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項29】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項8記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項30】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項9記載の抗体または抗原結合断片。 40

【請求項31】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項10記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項32】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項11記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項33】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項12記載の抗体または抗原結合断片。 50

【請求項34】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項35】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項7記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項36】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項8記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項37】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項9記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項38】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項10記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項39】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項11記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項40】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項12記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項41】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項42】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項7記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項43】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項8記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項44】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項9記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項45】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項10記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項46】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項11記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項47】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項12記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項48】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項49】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項7記載の抗体または抗原結合断片。

10

20

30

40

50

【請求項50】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項8記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項51】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項9記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項52】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項10記載の抗体または抗原結合断片。

10

【請求項53】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項11記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項54】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項12記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項55】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項56】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項7記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項57】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項8記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項58】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項9記載の抗体または抗原結合断片。

30

【請求項59】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項10記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項60】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項11記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項61】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項12記載の抗体または抗原結合断片。

40

【請求項62】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域をさらに含む、請求項48記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項63】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項49記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項64】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項50記載の抗体または抗原結合断片。

50

【請求項 6 5】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項51記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 6 6】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項52記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 6 7】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項53記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 6 8】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項54記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 6 9】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 0】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号32のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 1】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び
配列番号32のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 2】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 3】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び
配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 4】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 5】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び
配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 6】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 7】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び
配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 8】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 7 9】

10

20

30

40

50

前記抗体がヒト化抗体である、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項80】

前記抗体がヒト抗体である、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項81】

前記抗体がキメラ抗体である、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項82】

前記ヒト化抗体が脱免疫化抗体である、請求項79記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項83】

前記ヒト化抗体が複合ヒト抗体である、請求項79記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項84】

前記抗体または抗原結合断片が、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、dsFv、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、または抗体断片から形成された多重特異性抗体である、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項85】

前記抗体または抗原結合断片が作用物質に結合している、請求項1記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項86】

前記作用物質が、放射性同位体、金属キレート剤、酵素、蛍光化合物、生物発光化合物、及び化学発光化合物からなる群から選択される、請求項85記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項87】

PD-1に結合する抗体またはその抗原結合断片であって、該抗体または抗原結合断片が、
配列番号7からなるVL CDR1、
配列番号2からなるVL CDR2、及び
配列番号3からなるVL CDR3

を含むVL、及び

配列番号4からなるVH CDR1、

配列番号5からなるVH CDR2、及び

配列番号6からなるVH CDR3

を含むVH

を含む、前記抗体またはその抗原結合断片。

【請求項88】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号9のアミノ酸配列を含むVLを含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項89】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号11のアミノ酸配列を含むVHを含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項90】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号12のアミノ酸配列を含むVHを含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項91】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号13のアミノ酸配列を含むVHを含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項92】

前記抗体または抗原結合断片が、

配列番号9のアミノ酸配列を含むVL、及び

配列番号11のアミノ酸配列を含むVH

を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項93】

前記抗体または抗原結合断片が、

10

20

30

40

50

配列番号9のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号12のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項94】

前記抗体または抗原結合断片が、
配列番号9のアミノ酸配列を含むVL、及び
配列番号13のアミノ酸配列を含むVH
を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項95】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項87
記載の抗体または抗原結合断片。 10

【請求項96】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項92
記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項97】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項93
記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項98】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1 Fc領域またはその変異体を含む、請求項94
記載の抗体または抗原結合断片。 20

【請求項99】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項87記載の抗体
または抗原結合断片。

【請求項100】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項92記載の抗体
または抗原結合断片。

【請求項101】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項93記載の抗体
または抗原結合断片。

【請求項102】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG1-K322A Fc領域を含む、請求項94記載の抗体
または抗原結合断片。 30

【請求項103】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項87
記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項104】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項92
記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項105】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項93
記載の抗体または抗原結合断片。 40

【請求項106】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4 Fc領域またはその変異体を含む、請求項94
記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項107】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項87記載の抗体または
抗原結合断片。

【請求項108】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項92記載の抗体または
抗原結合断片。 50

【請求項109】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項93記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項110】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4P Fc領域を含む、請求項94記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項111】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項112】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項92記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項113】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項93記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項114】

前記抗体または抗原結合断片が、ヒトIgG4PE Fc領域を含む、請求項94記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項115】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項116】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項92記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項117】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項93記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項118】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39または配列番号40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域を含む、請求項94記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項119】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項120】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項92記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項121】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項93記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項122】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項94記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項123】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域をさらに含む、請求項115記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項124】

10

20

30

40

50

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項116記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項125】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項117記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項126】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項118記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項127】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号32のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。 10

【請求項128】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項129】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項130】

前記抗体または抗原結合断片が、配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。 20

【請求項131】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項132】

前記抗体がヒト化抗体である、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項133】

前記抗体がヒト抗体である、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項134】

前記抗体がキメラ抗体である、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項135】

前記ヒト化抗体が脱免疫化抗体である、請求項132記載の抗体または抗原結合断片。 30

【請求項136】

前記ヒト化抗体が複合ヒト抗体である、請求項132記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項137】

前記抗体または抗原結合断片が、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、dsFv、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、または抗体断片から形成された多重特異性抗体である、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項138】

前記抗体または抗原結合断片が、作用物質に結合している、請求項87記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項139】

前記作用物質が、放射性同位体、金属キレート剤、酵素、蛍光化合物、生物発光化合物、及び化学発光化合物からなる群から選択される、請求項138記載の抗体または抗原結合断片。 40

【請求項140】

請求項1記載の抗体または抗原結合断片を含む、組成物。

【請求項141】

請求項1記載の抗体のVH、VL、またはVH及びVLの両方をコードするヌクレオチド配列を含む、ポリヌクレオチド。

【請求項142】

前記ポリヌクレオチドが、プロモーターに作用可能に連結している、請求項141記載の 50

ポリヌクレオチド。

【請求項 1 4 3】

請求項141記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 1 4 4】

請求項141記載のポリヌクレオチドを含む、細胞。

【請求項 1 4 5】

請求項144記載のベクターを含む、細胞。

【請求項 1 4 6】

請求項1記載の抗体または抗原結合断片を産生する、細胞。

【請求項 1 4 7】

請求項1記載の抗体または抗原結合断片を含む、T細胞の活性を減衰させるためのキット。

10

【請求項 1 4 8】

請求項87記載の抗体または抗原結合断片を含む、組成物。

【請求項 1 4 9】

請求項87記載の抗体のVH、VL、またはVH及びVLの両方をコードするヌクレオチド配列を含む、ポリヌクレオチド。

【請求項 1 5 0】

前記ポリヌクレオチドが、プロモーターに作用可能に連結している、請求項149記載のポリヌクレオチド。

20

【請求項 1 5 1】

請求項149記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 1 5 2】

請求項149記載のポリヌクレオチドを含む、細胞。

【請求項 1 5 3】

請求項149記載のベクターを含む、細胞。

【請求項 1 5 4】

請求項87記載の抗体または抗原結合断片を産生する、細胞。

【請求項 1 5 5】

請求項87記載の抗体または抗原結合断片を含む、T細胞の活性を減衰させるためのキット。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は2015年9月29日に出願された米国仮特許出願第62/234,535号に対する優先権の利益を主張し、その開示全体を参照により本明細書に援用する。

1. 技術分野

本明細書では、ヒトプログラム死-1(PD-1)に特異的に結合し、PD-1の発現及び/または活性を調節する抗体に関連する組成物、方法及び使用を提供する。

40

【発明の概要】

【0002】

2. 発明の概要

本開示は、PD-1に結合する抗体などの結合タンパク質をはじめとする、PD-1(例えばヒトPD-1、配列番号43)に結合するタンパク質を提供する。抗体をはじめとするそのような結合タンパク質は、PD-1ポリペプチド、PD-1断片、及び/またはPD-1エピトープに結合することができる。抗体をはじめとするそのような結合タンパク質は、アゴニストとすることができる(例えばPD-1リガンド様シグナル伝達を誘発する)。いくつかの実施形態において、結合タンパク質は、PD-1との相互作用についてPD-1リガンド(例えばPD-L1及びPD-L2)と競合しない(例えば非遮断抗

50

体)。

【0003】

本開示は、ある実施形態において、(i)ヒトPD-1に結合する、(ii)PD-1リガンド様シグナル伝達を誘発する、ならびに(iii)PD-1との相互作用についてPD-L1及び/またはPD-L2と競合しない、抗体またはその断片をはじめとする結合タンパク質も提供する。

【0004】

本明細書では、そのような抗体をコードする配列を含むポリヌクレオチド及びベクター、そのようなポリヌクレオチド及びベクターを含む細胞(例えば宿主細胞)、ならびにそのような抗体を含む組成物、試薬、及びキットも提供する。別の態様において、本明細書では、PD-1活性(例えばPD-1シグナル伝達の活性化)またはPD-1発現レベルの調節方法、診断方法及びそのような抗PD-1抗体の使用を提供する。

【0005】

いくつかの実施形態において、結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は6つの相補性決定領域(CDR)または6未満のCDRを含む。他の実施形態において、結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は、重鎖可変領域(VH)CDR1、VH CDR2、VH CDR3、軽鎖可変領域(VL)CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3から選択される1、2、3、4、5、または6つのCDRを含む。ある実施形態において、結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は、本明細書に記載するようにPD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6と称するモノクローナル抗体、またはそのヒト化バリエーションのVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3から選択される1、2、3、4、5、または6つのCDRを含む。いくつかの実施形態において、結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は、ヒト免疫グロブリンアミノ酸配列またはそのバリエーションのVH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3、及び/またはVL FR4をはじめとするスキヤフォールド領域またはフレームワーク領域(FR)をさらに含む。

【0006】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号8のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体によって認識されるヒトPD-1のエピトープに結合する。

【0007】

他の実施形態において、抗体またはその抗体断片は、ヒトPD-1への結合において、配列番号8のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体と競合する。

【0008】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、表1に記載の抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6の任意の1つのVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含むVLを含む。

【0009】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、表2に記載の抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6の任意の1つのVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含むVHを含む。

【0010】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は(a)表3に記載の抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6の任意の1つのVL FR1、VL FR

10

20

30

40

50

2、V L F R 3、及びV L F R 4を含むV L；ならびに
(b)表4に記載の抗体P D 1 A B - 1、P D 1 A B - 2、P D 1 A B - 3、P D 1 A B - 4、P D 1 A B - 5、またはP D 1 A B - 6の任意の1つのV H F R 1、V H F R 2、V H F R 3、及びV H F R 4を含むV H
を含む。

【0011】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片のV L C D R 1、V L C D R 2、及びV L C D R 3は、それぞれ配列番号1、2、及び3のアミノ酸配列を含み、抗体またはその抗原結合断片のV H C D R 1、V H C D R 2、及びV H C D R 3は、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含む。

10

【0012】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片のV L C D R 1、V L C D R 2、及びV L C D R 3は、それぞれ配列番号7、2、及び3のアミノ酸配列を含み、抗体またはその抗原結合断片のV H C D R 1、V H C D R 2、及びV H C D R 3は、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含む。

【0013】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号8のアミノ酸配列を含むV Lを含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は1つ以上のその保存的改変を含む。

【0014】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号9のアミノ酸配列を含むV Lを含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は1つ以上のその保存的改変を含む。

20

【0015】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号10のアミノ酸配列を含むV Lを含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は1つ以上のその保存的改変を含む。

【0016】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号11のアミノ酸配列を含むV Hを含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は1つ以上のその保存的改変を含む。

30

【0017】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号12のアミノ酸配列を含むV Hを含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は1つ以上のその保存的改変を含む。

【0018】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号13のアミノ酸配列を含むV Hを含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸配列は1つ以上のその保存的改変を含む。

【0019】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号8のアミノ酸配列を含むV L；及び(b)配列番号11のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

40

【0020】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号9のアミノ酸配列を含むV L；及び(b)配列番号11のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

【0021】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号10のアミノ酸配列を含むV L；及び(b)配列番号11のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

【0022】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号8のアミノ酸配

50

列を含むV L ; 及び (b) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

【 0 0 2 3 】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含むV L ; 及び (b) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

【 0 0 2 4 】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含むV L ; 及び (b) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

【 0 0 2 5 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含むV L ; 及び (b) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

10

【 0 0 2 6 】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含むV L ; 及び (b) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

【 0 0 2 7 】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含むV L ; 及び (b) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含むV Hを含む。

【 0 0 2 8 】

いくつかの実施形態において、V L のアミノ酸配列は 1 つ以上のその保存的改変を含む。いくつかの実施形態において、V H のアミノ酸配列は 1 つ以上のその保存的改変を含む。いくつかの実施形態において、V L 及びV H のアミノ酸配列は 1 つ以上のその保存的改変を含む。

20

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施形態において、抗体はヒト I g G 1 F c 領域を含む。他の実施形態において、抗体はバリエントヒト I g G 1 F c 領域を含む。

【 0 0 3 0 】

一実施形態において、抗体はヒト I g G 1 - K 3 2 2 A F c 領域を含む。

【 0 0 3 1 】

いくつかの実施形態において、抗体はヒト I g G 4 F c 領域を含む。他の実施形態において、抗体はバリエントヒト I g G 4 F c 領域を含む。

【 0 0 3 2 】

別の実施形態において、抗体はヒト I g G 4 P F c 領域を含む。

30

【 0 0 3 3 】

さらに別の実施形態において、抗体はヒト I g G 4 P E F c 領域を含む。

【 0 0 3 4 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域をさらに含む。

【 0 0 3 5 】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号 3 6 ~ 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 F c 領域をさらに含む。

【 0 0 3 6 】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域 ; 及び配列番号 3 6 ~ 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 F c 領域をさらに含む。

40

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【 0 0 3 8 】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【 0 0 3 9 】

50

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖；及び(b)配列番号32のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0040】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0041】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖；及び(b)配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0042】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

10

【0043】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖；及び(b)配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0044】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0045】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖；及び(b)配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

20

【0046】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中の残基100~109の少なくとも1つに結合する。

【0047】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中の残基100~105の少なくとも1つに結合する。

【0048】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される少なくとも1つの残基に結合する。

30

【0049】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される2つ以上の残基に結合する。

【0050】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される3つ以上の残基に結合する。

40

【0051】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される4つ以上の残基に結合する。

【0052】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される5つ以上の残基

50

に結合する。

【0053】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される6つ以上の残基に結合する。

【0054】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される7つ以上の残基に結合する。

10

【0055】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される8つ以上の残基に結合する。

【0056】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される9つ以上の残基に結合する。

20

【0057】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群からの10個すべての残基に結合する。

【0058】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33に結合する。

【0059】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のT51に結合する。

30

【0060】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のS57に結合する。

【0061】

1つの具体的な実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のL100に結合する。

【0062】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN102に結合する。

40

【0063】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のG103に結合する。

【0064】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のR104に結合する。

【0065】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のG103及びR104に結合する。

50

【 0 0 6 6 】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の D 1 0 5 に結合する。

【 0 0 6 7 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の H 1 0 7 に結合する。

【 0 0 6 8 】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の S 1 0 9 に結合する。

【 0 0 6 9 】

－実施形態において、ヒト PD - 1 のエピトープは PD - L 1 結合部位とは異なる。別の実施形態において、ヒト PD - 1 のエピトープは PD - L 2 結合部位とは異なる。特定の実施形態において、ヒト PD - 1 のエピトープは PD - L 1 結合部位及び PD - L 2 結合部位のどちらとも異なる。

【 0 0 7 0 】

－実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト PD - 1 及び/またはサル PD - 1 (例えば、カニクイザル) に特異的に結合するが、げっ歯類 PD - 1 には結合しない。

【 0 0 7 1 】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性が減衰している。他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は補体依存性細胞傷害 (CDC) 活性が減衰している。いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は ADCC 及び/または CDC 活性が減衰している。

【 0 0 7 2 】

－態様において、ヒト PD - 1 のエピトープに結合する抗体またはその抗原結合断片を本明細書で提供するが、この抗体またはその抗原結合断片は、(a) T細胞活性を減衰させる；及び/または (b) T細胞の表面上の PD - 1 発現を下方調節する。

【 0 0 7 3 】

－実施形態において、抗体は T細胞活性を減衰させる。別の実施形態において、抗体は T細胞の表面上の PD - 1 発現を下方調節する。

【 0 0 7 4 】

いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰は T細胞エフェクター機能によって測定される。

【 0 0 7 5 】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片による T細胞活性の減衰はヒト PBMC または全血試料において生じる。

【 0 0 7 6 】

いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカイン産生の阻害によって測定される。

【 0 0 7 7 】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によって阻害されるサイトカインは、IL - 2、IL - 17、及び/または IFN - を含む。ある実施形態において、サイトカインは、IL - 1、IL - 2、IL - 6、IL - 12、IL - 17、IL - 22、IL - 23、GM - CSF、IFN - 、及び TNF - からなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインは IL - 1 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは IL - 2 である。他の実施形態において、サイトカインは IL - 6 である。別の実施形態において、サイトカインは IL - 12 である。いくつかの他の実施形態において、サイトカインは IL - 17 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 22 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 23 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは GM - CSF である。他の実施形態において

10

20

30

40

50

、サイトカインはIFN- γ である。さらに他の実施形態において、サイトカインはTNF- α である。ある実施形態において、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-2及びIFN- γ である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-17及びIFN- γ である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-2、IL-17、及びIFN- γ である。上述のサイトカインの2つ、3つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。

【0078】

ある実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の6時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の8時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の10時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の12時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の14時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の16時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の18時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の20時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の22時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の24時間後にでも生じる。いくつかの実施形態において、接触は抗体とのものである。他の実施形態において、接触はその抗原結合断片とのものである。

【0079】

いくつかの実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節はサイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の6時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の8時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の10時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の12時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の14時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の16時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の18時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の20時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。

【0080】

他の実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節はサイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の6時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の8時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の10時間後にでも生じ、サイトカイン阻

10

20

30

40

50

害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の12時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の14時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の16時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の18時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の20時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。

10

【0081】

さらに他の実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節はサイトカイン阻害の後である。一実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の6時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の8時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の10時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の12時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の14時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の16時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の18時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の20時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。

20

30

【0082】

一実施形態において、精製ヒトPD-1への結合についての抗体またはその抗原結合断片の K_D は約1nM~約100nMである。別の実施形態において、細胞表面上に発現されるヒトPD-1への結合についての抗体またはその抗原結合断片の K_D は、約100pM~約10nMである。別の実施形態において、細胞表面上に発現されるサルPD-1への結合についての抗体またはその抗原結合断片の K_D は、約100pM~約10nMである。

40

【0083】

いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰についての抗体またはその抗原結合断片の EC_{50} は、約1pM~約10pM、約10pM~約100pM、約100pM~約1nM、約1nM~約10nM、または約10nM~約100nMである。

【0084】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるT細胞活性の最大減衰率は、少なくとも約10%、20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%である。

【0085】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調

50

節率は、少なくとも約 10%、20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または 100%である。

【0086】

ある実施形態において、抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、抗体はヒト化抗体、ヒト抗体、またはキメラ抗体である。別の実施形態において、ヒト化抗体は脱免疫化抗体または複合ヒト抗体である。ある実施形態において、抗体はヒト化抗体である。具体的な実施形態において、抗体はヒト PD-1 に特異的に結合するヒト化抗体である。

【0087】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、dsFv、ダイアボディ、トリアボディ、またはテトラボディである。いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、抗体断片から形成された多重特異性抗体である。他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は二重特異性抗体である。

【0088】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は作用物質に結合している。一実施形態において、作用物質は、放射性同位体、金属キレート剤、酵素、蛍光化合物、生物発光化合物、または化学発光化合物である。

【0089】

本明細書では、本明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片を含む組成物も提供する。ある実施形態において、組成物は医薬品として許容可能な担体をさらに含む。

【0090】

本明細書では、本明細書で提供する抗体の VH、VL、または VH 及び VL の両方をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドも提供する

【0091】

本開示は、ある実施形態において、本明細書で提供する抗体の重鎖、軽鎖、または重鎖及び軽鎖の両方をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドも提供する。

【0092】

ある実施形態において、ポリヌクレオチドはプロモーターに作用可能に連結している。

【0093】

本明細書では、(a) 本明細書で提供する抗体の VH または重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む第 1 ポリヌクレオチド、及び (b) 本明細書で提供する抗体の VL または軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む第 2 ポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド集団も提供する。ある実施形態において、第 1 ポリヌクレオチドは第 1 プロモーターに作用可能に連結しており、第 2 ポリヌクレオチドは第 2 プロモーターに作用可能に連結している。

【0094】

本明細書では、本明細書で提供するポリヌクレオチドを含むベクターも提供する。

【0095】

本開示は、ある実施形態において、(a) 本明細書で提供する抗体の VH または重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む第 1 ベクター、及び (b) 本明細書で提供する抗体の VL または軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む第 2 ベクターを含むベクター集団も提供する。

【0096】

本開示は、ある実施形態において、(a) 第 1 プロモーターに作用可能に連結している、本明細書で提供する抗体の VH または重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む第 1 ベクター、及び (b) 第 2 プロモーターに作用可能に連結している、本明細書で提供する抗体の VL または軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む第 2 ベクターを含むベクター集団をさらに提供する。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 7 】

本開示は、ある実施形態において、本明細書で提供するポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチド集団を含む細胞を提供する。

【 0 0 9 8 】

本開示は、ある実施形態において、本明細書で提供するベクターまたはベクター集団を含む細胞も提供する。

【 0 0 9 9 】

本開示は、ある実施形態において、本明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片を産生する単離細胞をさらに提供する。

【 0 1 0 0 】

本明細書では、(a) 本明細書で提供する抗体の V H または重鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む第 1 宿主細胞、及び (b) 本明細書で提供する抗体の V L または軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む第 2 宿主細胞を含む細胞集団も提供する。

10

【 0 1 0 1 】

本明細書では、(a) 第 1 プロモーターに作用可能に連結している、本明細書で提供する抗体の V H または重鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む第 1 宿主細胞、及び (b) 第 2 プロモーターに作用可能に連結している、本明細書で提供する抗体の V L または軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む第 2 宿主細胞を含む細胞集団をさらに提供する。

20

【 0 1 0 2 】

本明細書では、本明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片を含むキットも提供する。

【 0 1 0 3 】

本明細書では、ヒト P D - 1 のエピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片の作製方法も提供する。ある実施形態において、この方法は、本明細書で提供する細胞を培養して抗体またはその抗原結合断片を発現させることを含む。他の実施形態において、この方法は、本明細書で提供するポリヌクレオチドを発現させることを含む。一実施形態において、ヒト P D - 1 のエピトープは P D - L 1 結合部位とは異なる。別の実施形態において、ヒト P D - 1 のエピトープは P D - L 2 結合部位とは異なる。特定の実施形態において、ヒト P D - 1 のエピトープは P D - L 1 結合部位及び P D - L 2 結合部位のどちらとも異なる。

30

【 0 1 0 4 】

別の態様において、本明細書では、T細胞を有効量の本明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片と接触させることを含むT細胞の活性の減衰方法を提供する。一実施形態において、細胞を本明細書で提供する抗体と接触させる。別の実施形態において、細胞を本明細書で提供する抗体の抗原結合断片と接触させる。一実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は、少なくとも約10%、20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%である。いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカイン産生の阻害によって測定される。いくつかの実施形態において、サイトカインは、I L - 2、I L - 1 7、I F N - 、またはこれらの任意の組合せからなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインは、I L - 1、I L - 2、I L - 6、I L - 1 2、I L - 1 7、I L - 2 2、I L - 2 3、G M - C S F、I F N - 、及びT N F - からなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインはI L - 1である。いくつかの実施形態において、サイトカインはI L - 2である。他の実施形態において、サイトカインはI L - 6である。別の実施形態において、サイトカインはI L - 1 2である。いくつかの他の実施形態において、サイトカインはI L - 1 7である。さらに他の実施形態において、サイトカインはI L - 2 2である。さらに他の実施形態において、サイトカインはI L - 2 3である。いくつかの実施形態において、サイトカインはG M - C S Fである。他の実施

40

50

形態において、サイトカインはIFN- γ である。さらに他の実施形態において、サイトカインはTNF- α である。ある実施形態において、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-2及びIFN- γ である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-17及びIFN- γ である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-2、IL-17、及びIFN- γ である。上述のサイトカインの2つ、3つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。ある実施形態において、サイトカイン産生の阻害の前に、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節が生じる。いくつかの実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、14時間、16時間、18時間、20時間、22時間、または24時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の4時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の6時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の8時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の10時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の12時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の14時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。他の実施形態において、下方調節は早ければ接触の16時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の18時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の20時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の22時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。いくつかの実施形態において、下方調節は早ければ接触の24時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。いくつかの実施形態において、サイトカイン産生の阻害は、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の4時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の6時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の8時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の10時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の12時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の14時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。他の実施形態において、下方調節は早ければ接触の16時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の18時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の20時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の22時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。いくつかの実施形態において、下方調節は早ければ接触の24時間後にでも生じ、サイトカイン阻害と同時に生じる。いくつかの実施形態において、サイトカイン産生の阻害は、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節に先行する。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の4時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の6時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の8時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の10時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の12時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の14時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。他の実施形態において、下方調節は早ければ接触の16時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の18時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の2

10

20

30

40

50

0 時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の 2 2 時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。いくつかの実施形態において、下方調節は早ければ接触の 2 4 時間後にでも生じ、その前にサイトカイン阻害が生じる。

【 0 1 0 5 】

さらに別の態様において、本明細書では、T 細胞を有効量の本明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片と接触させることを含む、T 細胞の表面上の PD - 1 発現を下方調節する方法を提供する。一実施形態において、細胞を本明細書で提供する抗体と接触させる。別の実施形態において、細胞を本明細書で提供する抗体の抗原結合断片と接触させる。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片による PD - 1 発現の最大下方調節率は、少なくとも約 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 1 0 0 % である。別の実施形態において、T 細胞の表面上の PD - 1 発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の 4 時間後にでも生じる。一実施形態において、T 細胞の表面上の PD - 1 発現の下方調節はサイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、T 細胞の表面上の PD - 1 発現の下方調節はサイトカイン阻害と同時に生じる。一実施形態において、T 細胞の表面上の PD - 1 発現の下方調節の前にサイトカイン阻害が生じる。ある実施形態において、サイトカインは、IL - 2、IL - 1 7、IFN - 、またはこれらの任意の組合せである。ある実施形態において、サイトカインは、IL - 1、IL - 2、IL - 6、IL - 1 2、IL - 1 7、IL - 2 2、IL - 2 3、GM - CSF、IFN - 、及び TNF - からなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインは IL - 1 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは IL - 2 である。他の実施形態において、サイトカインは IL - 6 である。別の実施形態において、サイトカインは IL - 1 2 である。他の実施形態において、サイトカインは IL - 1 7 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 2 2 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 2 3 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは GM - CSF である。他の実施形態において、サイトカインは IFN - である。さらに他の実施形態において、サイトカインは TNF - である。ある実施形態において、サイトカインは IL - 2 及び IL - 1 7 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは IL - 2 及び IFN - である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 1 7 及び IFN - である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 2、IL - 1 7、及び IFN - である。上述のサイトカインの 2 つ、3 つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。

【 0 1 0 6 】

別の態様において、本明細書では、T 細胞を有効量の本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片と接触させることを含む、T 細胞によるサイトカイン産生を阻害する方法を提供する。一実施形態において、細胞を本明細書で提供する抗体と接触させる。別の実施形態において、細胞を本明細書で提供する抗体の抗原結合断片と接触させる。いくつかの実施形態において、サイトカインは、IL - 2、IL - 1 7、IFN - 、またはこれらの任意の組合せからなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインは、IL - 1、IL - 2、IL - 6、IL - 1 2、IL - 1 7、IL - 2 2、IL - 2 3、GM - CSF、IFN - 、及び TNF - からなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインは IL - 1 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは IL - 2 である。他の実施形態において、サイトカインは IL - 6 である。別の実施形態において、サイトカインは IL - 1 2 である。他の実施形態において、サイトカインは IL - 1 7 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 2 2 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL - 2 3 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは GM - CSF である。他の実施形態において、サイトカインは IFN - である。さらに他の実施形態において、サイトカインは TNF - である。ある実施形態において、サイトカインは IL - 2 及び IL - 1 7 である。いくつかの実施形態において

、サイトカインはIL - 2及びIFN - である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL - 17及びIFN - である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL - 2、IL - 17、及びIFN - である。上述のサイトカインの2つ、3つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。

【図面の簡単な説明】

【0107】

3. 図面の簡単な説明

【図1】図1A~1Bは、T細胞減衰化抗PD - 1抗体(PD1AB)が、PD - 1に結合するPD - L1(PD - L1 - DyL650は色素DyL650と結合したPD - L1を表す)と競合しないことを示す：(A)PD1AB - 1、PD1AB - 2、及びPD1AB - 6；(B)PD1AB - 1、PD1AB - 2、PD1AB - 3、PD1AB - 4、及びPD1AB - 5。MDX 4H1はアンタゴニスト抗体であり、PD - 1へのPD - L1結合を遮断する。

10

【0108】

【図2】PD - 1：PD1AB - 6 Fab相互作用部位が、PD - 1：PD - L1相互作用部位に対してPD - 1の遠位側であることを示す。

【0109】

【図3】PD1AB - 6 Fabが、残基100~105で構成されるPD - 1ループと形成される実質的な相互作用でPD - 1シートに対して結合することを示す。

20

【0110】

【図4】PD1AB - 6 - IgG1の重鎖(HC)及び軽鎖(LC)ならびにそのバリエーションPD1AB - 6 - K3及びPD1AB - 6 - 4PのHCのアミノ酸配列を示す。

【0111】

【図5】図5A~5Bは、CHO細胞上に発現したカニクイザル(A)またはヒト(B)PD - 1に対するPD1AB - 6 - IgG1アフィニティーを示す。

【0112】

【図6】CD4+ T細胞にゲーティングした活性化ヒトPBMCへのPD1AB - 6 - IgG1、アイソタイプ対照、及びヒトPD - L1 Fc融合タンパク質(hPD - L1 Fc)の結合を示す。

30

【0113】

【図7】CD4+ T細胞にゲーティングした活性化カニクイザルPBMCへのPD1AB - 6 - IgG1、アイソタイプ対照、及びヒトPD - L1 Fc融合タンパク質(hPD - L1 Fc)の結合を示す。

【0114】

【図8】図8A~8Dは、Cisbio Tag - lite(商標)検出を用いての、HEK293細胞上に発現したFcRI(A)、FcRIIIa(V158)(B)、またはFcRIIb(C)に結合するPD1AB - 6バリエーション、及び(D)FcRI、FcRIIIa(V158)、またはFcRIIbに結合するPD1AB - 6バリエーションのEC₅₀値を示す。

40

【0115】

【図9】図9A~9Cは、FACSを用いての、CHO細胞上に発現したFcRIIIa(V158)(A)またはFcRI(B)に結合するPD1AB - 6バリエーション、及び(C)FcRIまたはFcRIIIaに結合するPD - 1抗体バリエーションのEC₅₀値を示す。

【0116】

【図10】図10A~10Bは、4人の個別の健康なドナーの代表2人の中のPD1AB - 6バリエーション及び対照ヒトIgG1 FcのADCC活性を示す：(A)ドナー7及び(B)ドナー8。

【0117】

【図11】PD1AB - 6バリエーションのCDC活性を示す。データは3つの独立した実験

50

の代表である：(i) PD1AB-6-IgG1及び抗ヒトCD20 IgG1のCDC活性；(ii) PD1AB-6-IgG1及びPD1AB-6-K3のCDC活性；(iii) PD1AB-6-4P及び市販のヒトIgG4アイソタイプ対照抗体及びヒトIgG1Fcタンパク質のCDC活性。

【0118】

【図12】刺激後24時間の培養上清におけるIL-2レベルによって測定した、ヒトPBMCアッセイにおけるPD1AB-6バリエントの強力な減衰活性を示す。

【0119】

【図13】ヒト全血アッセイにおけるPD1AB-6-K3の活性を示す。グラフは、IFN- γ 阻害のEC₅₀を計算するために用いたドナー4からの代表的な曲線を示す。表は、4人の健康なドナーについてのPD1AB-6バリエント及びCTLA4IgによるIFN- γ 阻害のEC₅₀値を示す。

10

【0120】

【図14】図14A~14Cは、(A)抗CD3+抗CD28で48時間活性化させたヒトPBMC中のCD3+T細胞上のアイソタイプ対PD-1染色、(B)アイソタイプIgG1対PD1AB-6-IgG1で処理したPBMCにおけるPD-1発現(検出抗PD-1抗体はPD1AB-6によって遮断されない)、ならびに(C)抗CD3+抗CD28及び3つの異なる濃度のアイソタイプIgG1またはPD1AB-6-IgG1のいずれかで活性化させた、3人の異なるドナー由来のヒトPBMC中のCD3+T細胞上でのPD-1発現によって判定した、PD1AB-6-IgG1によるPD-1発現の下方調節を示す。

20

【0121】

【図15】図15A~15Cは、Biacore(登録商標)T200上でのPD-1抗原への(A)PD1AB-6-IgG1、(B)PD1AB-6-4P、及び(C)PD1AB-6-K3結合を示す。

【発明を実施するための形態】

【0122】

4. 発明を実施するための形態

ヒト及び/またはカニクイザルPD-1をはじめとするPD-1に結合する抗体などの結合タンパク質を本明細書で提供する。いくつかの実施形態において、ヒト及び/またはカニクイザルPD-1に結合する抗体などの本明細書で提供する結合タンパク質は、げっ歯類PD-1に結合しない。ある実施形態において、本明細書に開示の抗体をはじめとするPD-1結合タンパク質はアゴニストである(例えば、PD-1リガンドの作用を模倣し、PD-1シグナル伝達を誘発することができる)。いくつかの実施形態において、本明細書で提供するPD-1に対する抗体などの結合タンパク質は、(i)ヒト及び/またはカニクイザルPD-1に結合する、(ii)結合についてPD-1リガンド(例えばPD-L1及び/またはPD-L2)と競合しない、及び/または(iii)PD-1シグナル伝達を誘発する。一実施形態において、PD-1抗体はヒトPD-1に結合する。一実施形態において、PD-1抗体はカニクイザルPD-1に結合する。一実施形態において、PD-1抗体はヒトPD-1及びカニクイザルPD-1の両方に結合する。いくつかの実施形態において、PD-1抗体はPD-1への結合についてPD-L1と競合しない。他の実施形態において、PD-1抗体はPD-1への結合についてPD-L2と競合しない。さらに他の実施形態において、PD-1抗体はPD-1への結合についてPD-L1またはPD-L2のいずれとも競合しない。他の実施形態において、PD-1抗体はPD-1シグナル伝達を誘発する。具体的な実施形態において、本明細書で提供するPD-1抗体は、ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1の両方に結合し、PD-1への結合についてPD-L1またはPD-L2のいずれとも競合せず、かつ、PD-1シグナル伝達を誘発する。いくつかの実施形態において、結合、競合、及び/またはシグナル伝達は、インビトロで、例えば細胞ベースのアッセイにおいて、アッセイされる。他の実施形態において、結合、競合、及び/またはシグナル伝達は、エクスピボで、例えばT細胞機能ア

30

40

50

ッセイにおいて、アッセイされる。他の実施形態において、結合、競合、及び/またはシグナル伝達は、対象（例えば、ヒト対象）由来の試料を用いてアッセイされる。ある実施形態において、アッセイとしては、（１）ヒトまたはカニクイザルPBMCアッセイ（例えば、実施例5.2.1及び5.2.2を参照）；（２）ヒト全血試料アッセイ（例えば、実施例5.2.1を参照）が挙げられる。ある実施形態において、本明細書に記載するような抗PD-1抗体などの結合タンパク質は、PD-L1及び/またはPD-L2の天然の生物学的機能と一致する活性を示す。いくつかの実施形態において、活性はインビトロで見られる。他の実施形態において、活性はエクスピボで見られる。

【0123】

具体的な実施形態において、本明細書で提供するPD-1に結合する抗体などの結合タンパク質は、PD-1の結合について互いに競合する共通の特徴を共有する。この競合阻害は、各抗体がPD-1の同じ領域（例えば、同じエピトープ）に結合し、そのため、同様の作用を発揮することを示すことができる。ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体としては、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、及び/またはPD1AB-6に由来するか、またはそれをベースにしたものなどのヒト化抗PD-1抗体が挙げられる。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、結合についてPD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、及び/またはPD1AB-6に由来するか、またはそれをベースにした抗体と競合する。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体は表1～2に記載のCDR配列を有する。ある実施形態において、抗PD-1抗体は、ヒトPD-1の特定のドメインまたはエピトープ（例えば、残基100～105；実施例5.1.4を参照）に結合する。さらに、そのような結合は、本明細書で提供する抗PD-1抗体によって認識されるエピトープを含む領域中の特定のアミノ酸残基（例えば、G103及びR104；実施例5.1.4を参照）に主に起因し得る。これらを考え合わせると、本明細書に記載する結果は、表1～2に記載の1つ以上のCDRを有する抗体を含め、PD1AB-6に由来するか、またはそれをベースにした抗PD-1抗体について観察される作用を、同じまたは類似のエピトープ特異性（例えば、同じまたは類似のCDR）を有する本明細書で提供する他の抗PD-1抗体についても推定することができる。例えば、例示的なヒト化抗PD-1抗体として実施例5.1.2～3、5.1.7～10、5.2.1～3、及び5.3.1に示すような抗体の活性は、本明細書で提供する抗PD-1抗体の活性及び作用を代表している。

【0124】

本開示のいくつかの実施形態において、抗PD-1抗体などの結合タンパク質は、表1～2に記載の1つ以上のCDRを含む免疫グロブリン可変領域を含み得る。そのような結合タンパク質（例えば、抗PD-1抗体）において、CDRは、1つ以上のスキヤフォールド領域またはフレームワーク領域（FR）と接合され得るが、これはCDR（複数可）の適切な抗原結合特性が得られるようにCDR（複数可）を指向させる。そのような結合タンパク質は、本明細書に記載するような抗PD-1抗体を含め、PD-1シグナル伝達を誘発することができる。

【0125】

4.1 一般的な技術

本明細書において記載または参照する技術及び手順には、当業者によって、従来の方法論、例えば、以下に記載の広範に利用されている方法論などを用いて、一般によく理解されている、及び/または通常使用されているものが含まれる：Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed., 2001); *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel et al. eds., 2003); *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* (An ed., 2009); *Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols* (Albitar ed.,

10

20

30

40

50

2010); 及び Antibody Engineering Vols 1 and 2 (Kontermann and Dubel eds., 2d ed. 2010)。

【0126】

4.2 用語

別途記載しない限り、本明細書において用いるすべての科学技術用語は、当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書を解釈する目的において、以下の用語の説明が適用され、適当な場合はいつでも、単数形で使用される用語は複数形も含み、その逆も同様である。すべての特許、出願、公開出願、及び他の刊行物は、その全体を参照により援用する。記載の用語のいずれかの説明が参照により本明細書に援用されるいずれかの文献と矛盾する場合には、以下に記載の用語の説明が優先するものとする。

10

【0127】

用語「プログラム死1」、「プログラム細胞死1」、「タンパク質PD-1」、「PD-1」、「PD-1ポリペプチド」、または「PD1」は、ポリペプチド（「ポリペプチド」及び「タンパク質」は本明細書において同じ意味で用いる）を包含し、特に断らない限り、哺乳類、例えば、霊長類（例えば、ヒト及び *cynomolgus monkey* (カニクイザル) (*cynomolgus* (カニクイザル)))、イヌ、ならびにげっ歯類（例えば、マウス及びラット）などをはじめとする任意の脊椎動物起源由来の任意の天然ポリペプチドが含まれる。ある実施形態において、この用語は、そのSNPバリエーションをはじめとする「関連PD-1ポリペプチド」を含む。用語「PD-1」は、「全長」未プロセッシングPD-1、及び細胞におけるプロセッシングの結果生じるPD-1の任意の形態も包含する。いくつかの実施形態において、PD1は配列番号43のアミノ酸配列を有する。GenBank (商標) 受託番号U64863は別の例示的なヒトPD-1核酸配列を提供する。

20

【0128】

「関連PD-1ポリペプチド」は、PD-1活性を保持することのできる対立遺伝子バリエーション（例えば、SNPバリエーション）；スプライスバリエーション；断片；誘導体；置換、欠失、及び挿入バリエーション；融合ポリペプチド；ならびに種間ホモログを含む。当業者であれば理解するように、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1抗原、及び/またはPD-1エピトープに結合することができる。「エピトープ」はより大きなPD-1抗原の一部である場合があり、PD-1抗原はより大きなPD-1ポリペプチド断片の一部である場合があり、そしてまた、PD-1ポリペプチド断片はより大きなPD-1ポリペプチドの一部である場合がある。PD-1は天然または変性形態で存在し得る。本明細書に記載のPD-1ポリペプチドは、ヒト組織型から、もしくは別の起源からなど、多様な起源から単離され得るか、または組換え法または合成法によって調製され得る。PD-1ポリペプチドのオーソログも当該技術分野において公知である。

30

【0129】

PD-1ポリペプチド「細胞外ドメイン」または「ECD」は、膜貫通及び細胞質ドメインを実質的に含まないPD-1ポリペプチドの形態のことをいう。例えば、PD-1ポリペプチドECDは、そのような膜貫通及び/または細胞質ドメインを1%未満しか有し得ず、そのようなドメインを0.5%未満しか有さない場合がある。

40

【0130】

用語「PD1AB-6-IgG1」、「PD1AB-6 IgG1」、「PD1AB-6__IgG1」、「IgG1__PD1AB-6」、及び「IgG1-PD1AB-6」は、同じ意味で用いられ、IgG1 Fc領域を有する抗体PD1AB-6のことをいう。ある実施形態において、抗体PD1AB-6は、例えば、図4に示すように、LC__PD1AB-6-IgG1 (配列番号31)の軽鎖アミノ酸配列及びHC__PD1AB-6-IgG1 (配列番号32)の重鎖アミノ酸配列を含む。

【0131】

用語「PD1AB-6-K3」、「PD1AB-6-IgG1-K322A」、「PD

50

「I g G 1 __ P D 1 A B - 6 __ K 3 2 2 A」、
「I g G 1 __ P D 1 A B - 6 __ K 3」、
「I g G 1 - P D 1 A B - 6 - K 3 2 2 A」、及び「I g G 1 - P D 1 A B - 6 - K 3」は、同じ意味で用いられ、I g G 1 F c領域にK 3 2 2 A置換を有するP D 1 A B - 6バリエーションのことをいう。ある実施形態において、P D 1 A B - 6バリエーションは、例えば、図4に示すように、H C __ P D 1 A B - 6 - I g G 1 - K 3 2 2 A（配列番号33）の重鎖アミノ酸配列を有する。

【0132】

用語「P D 1 A B - 6 - 4 P」、
「I g G 4 P __ P D 1 A B - 6」、
「I g G 4 P - P D 1 A B - 6」、
「P D 1 A B - 6 __ I g G 4 P」、及び「P D 1 A B - 6 - I g G 4 P」は、同じ意味で用いられ、I g G 4 P F c領域を有するP D 1 A B - 6バリエーションのことをいう。ある実施形態において、P D - 1抗体バリエーションは、例えば、図4に示すように、H C __ P D 1 A B - 6 - I g G 4 P（配列番号34）の重鎖アミノ酸配列を有する。

10

【0133】

用語「P D 1 A B - 6 - 4 P E」、
「I g G 4 P E __ P D 1 A B - 6」、
「I g G 4 P E - P D 1 A B - 6」、及び「P D 1 A B - 6 __ I g G 4 P E」、及び「P D 1 A B - 6 - I g G 4 P E」は、同じ意味で用いられ、H C __ P D 1 A B - 6 - I g G 4 P E（配列番号35）というI g G 4 P E重鎖アミノ酸配列を有するP D 1 A B - 6バリエーションのことをいう。

【0134】

用語「P D - 1リガンド」は、例えばインビボまたはインビトロで、P D - 1に結合する分子のことをいう。P D - 1リガンドの非限定例としては、自然発生リガンド、例えばP D - 1リガンド1（P D - L 1（B 7 - H 1またはC D 2 7 4としても知られる））及びP D - 1リガンド2（P D - L 2（B 7 - D CまたはC D 2 7 3としても知られる））、ならびに人工生成リガンドが挙げられる。

20

【0135】

用語「P D - L 1」及び「P D L - 1」は、本明細書において同じ意味で用いられ、P D - 1リガンド1（B 7 - H 1またはC D 2 7 4としても知られる）のことをいう。

【0136】

用語「P D - 1活性」、「P D - 1シグナル伝達」、及び「P D - 1リガンド様シグナル伝達」は、本開示のP D - 1に結合する抗体などの結合タンパク質に適用される場合、結合タンパク質（例えば抗体）が、例えばインビボまたはインビトロで、P D - 1リガンドの結合によって誘発される生物学的作用を模倣または調節し、これ以外ではP D - 1へのP D - 1リガンド結合から得られるはずの生物学的応答を誘発することを意味する。抗P D - 1抗体、例えば、P D - 1（例えば、ヒトP D - 1）に結合する抗体またはその断片の結合特異性の評価において、応答が野生型P D - 1リガンド標準の活性の5%以上、例えば10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、175%、または200%以上などである場合に、抗体は生物学的応答を誘発するものとみなす。一実施形態において、抗P D - 1抗体またはP D - 1リガンドは固定化される（例えば、プラスチック表面またはビーズ上に）。ある実施形態において、抗体は以下の特性を有する：（1）ヒトもしくはカニクイザルP B M Cアッセイ（例えば、実施例4.2.1及び4.2.2を参照）；または（2）ヒト全血試料アッセイ（例えば、実施例4.2.1を参照）において、P D - 1リガンド標準の5%以上の効力レベルを示し、E C₅₀が100 nM以下、例えば、90 nM、80 nM、70 nM、60 nM、50 nM、40 nM、30 nM、20 nM、10 nM、5 nM、2 nM、1 nM、0.5 nM、0.2 nM、または0.1 nMである。

30

40

【0137】

用語「結合タンパク質」は、ヒト及び/またはカニクイザルP D - 1をはじめとするP D - 1に結合する部分（例えば、C D Rなどの1つ以上の結合領域）、ならびに任意によ

50

り、結合部分が、PD-1ポリペプチド、断片、またはエピトープへの結合タンパク質の結合を促進するコンフォメーションをとることを可能とするスキファールドまたはフレームワーク部分（例えば、1つ以上のスキファールドまたはフレームワーク領域）を含むタンパク質のことをいう。そのような結合タンパク質の例としては、抗体、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、組換え抗体、一本鎖抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、Fab断片、F(ab')₂断片、IgD抗体、IgE抗体、IgM抗体、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体、またはIgG4抗体など、及びこれらの断片が挙げられる。結合タンパク質は、例えば、CDRまたはCDR誘導体を移植した代替タンパク質スキファールドまたは人工スキファールドを含むことができる。そのようなスキファールドとしては、例えば結合タンパク質の三次元構造を安定させるために導入された変異を含む抗体由来スキファールド、及び例えば生体適合性ポリマーを含む完全に合成によるスキファールドが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Korndorfer et al., 2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 53(1):121-29; 及びRoque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-54を参照。加えて、ペプチド抗体模倣物（「PAM」）、さらにはフィブロネクチンコンポーネントをスキファールドとして利用する抗体模倣物をベースにしたスキファールドも用いることができる。本開示の文脈において、結合タンパク質は、例えば解離定数（ K_D ）が 10^{-7} Mである場合に、PD-1に特異的にまたは選択的に結合すると言う。いくつかの実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D 約 10^{-7} M ~ 約 10^{-12} MでPD-1に特異的に結合し得る。ある実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D 10^{-8} Mまたは K_D 10^{-9} Mの場合に、高いアフィニティーでPD-1に特異的に結合し得る。一実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、Biacore（登録商標）によって測定した K_D が 1×10^{-9} M ~ 10×10^{-9} Mで精製ヒトPD-1に特異的に結合し得る。別の実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、KinExA（商標）（Sapidyne, Boise, ID）によって測定した K_D が 0.1×10^{-9} M ~ 1×10^{-9} Mで精製ヒトPD-1に特異的に結合し得る。さらに別の実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D が 0.1×10^{-9} M ~ 10×10^{-9} Mで細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。ある実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D が 0.1×10^{-9} M ~ 1×10^{-9} Mで細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D が 1×10^{-9} M ~ 10×10^{-9} Mで細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。ある実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D 約 0.1×10^{-9} M、約 0.5×10^{-9} M、約 1×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M、約 10×10^{-9} M、またはこの任意の範囲もしくは区間で細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。さらに別の実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D が 0.1×10^{-9} M ~ 10×10^{-9} Mで細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合し得る。ある実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D が 0.1×10^{-9} M ~ 1×10^{-9} Mで細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D が 1×10^{-9} M ~ 10×10^{-9} Mで細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合する。ある実施形態において、結合タンパク質（例えば抗体）は、 K_D 約 0.1×10^{-9} M、約 0.5×10^{-9} M、約 1×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M、約 10×10^{-9} M、またはこの任意の範囲もしくは区間で細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合する。

【0138】

用語「抗体」、「免疫グロブリン」、または「Ig」は、本明細書において同じ意味で用いられ、また、最も広義に用いられ、具体的には、例えば、以下に記載するような、個々の抗PD-1モノクローナル抗体（アゴニスト、アンタゴニスト、中和抗体、全長また

10

20

30

40

50

はインタクトモノクローナル抗体を含む)、ポリエピトープまたはモノエピトープ特異性を有する抗PD-1抗体組成物、ポリクローナルまたは一価抗体、多価抗体、少なくとも2つのインタクト抗体から形成される多重特異性抗体(例えば、所望の生物活性を示す限り二重特異性抗体)、一本鎖抗PD-1抗体、及び抗PD-1抗体の断片を包含する。抗体は、ヒト、ヒト化、キメラ及び/またはアフィニティー成熟型とすることができ、さらには他の種、例えばマウス及びウサギなど由来の抗体とすることもできる。用語「抗体」は、特定の分子抗原に結合することができ、ポリペプチド鎖の2つの同一のペアで構成される、免疫グロブリンクラスのポリペプチドのうちのB細胞のポリペプチド産生物を含むことを意図し、その各ペアは1つの重鎖(約50~70kDa)及び1つの軽鎖(約25kDa)を有し、各鎖の各アミノ末端部分は約100~約130またはこれより多くのアミノ酸の変領域を含み、各鎖の各カルボキシ末端部分は定常領域を含む。例えば、Antibody Engineering (Borrebaeck ed., 2d ed., 1995); 及びKuby, Immunology (3d ed., 1997)を参照。具体的な実施形態において、特定の分子抗原には本明細書で提供する抗体が結合することができ、PD-1ポリペプチド、PD-1断片、またはPD-1エピトープが含まれる。抗体としては、限定はしないが、合成抗体、組換え産生抗体、ラクダ化抗体、イントラボディ、抗イデオタイプ(抗Id)抗体、及び上記のいずれかの機能的断片(例えば、PD-1結合断片などの抗原結合断片)も挙げられ、ここで機能的断片とは、断片が由来する抗体の結合活性の一部またはすべてを保持する抗体重鎖または軽鎖ポリペプチドの一部のことをいう。機能的断片(例えば、PD-1結合断片などの抗原結合断片)の非限定例としては、一本鎖Fv(scFv)(例えば、単一特異性、二重特異性などを含む)、Fab断片、F(ab')断片、F(ab)₂断片、F(ab')₂断片、ジスルフィド連結Fv(dsFv)、Fd断片、Fv断片、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、及びミニボディが挙げられる。特に、本明細書で提供する抗体としては、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫活性部分、例えば、PD-1抗原に結合する抗原結合部位を含有する抗原結合ドメインまたは分子(例えば、抗PD-1抗体の1つ以上のCDR)が挙げられる。そのような抗体断片は、例えば、Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989); Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers ed., 1995); Huston et al., 1993, Cell Biophysics 22:189-224; Pluckthun and Skerra, 1989, Meth. Enzymol. 178:497-515; 及びDay, Advanced Immunochimistry (2d ed., 1990)に見出すことができる。本明細書で提供する抗体は、免疫グロブリン分子の任意のクラス(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、及びIgA)、または任意のサブクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2)のものとしてとすることができ、抗PD-1抗体はアゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体であり得る。本明細書では、PD-1シグナル伝達を誘発する抗体をはじめとするPD-1に対するアゴニスト抗体を提供する。具体的な実施形態において、PD-1に対するアゴニスト抗体は、PD-1へのPD-L1及び/またはPD-L2の結合について競合しない。

【0139】

用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で用いる場合、実質的に同種の抗体の集団から得られた抗体を指し、例えば、その集団に含まれる個々の抗体は、少量で存在し得る自然発生変異の可能性を除いて同一であり、各モノクローナル抗体は典型的に抗原上の単一のエピトープを認識することになる。具体的な実施形態において、「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用する場合、1つのハイブリドーマ細胞またはその他の細胞によって産生される抗体であり、この抗体は、例えば、ELISA、または当該技術分野において知られているその他の抗原結合アッセイもしくは競合結合アッセイによって割り出されるように、PD-1エピトープのみに結合する。用語「モノクローナル」はいかなる特定の

10

20

30

40

50

抗体作製方法にも限定されない。例えば、本開示において有用なモノクローナル抗体は、Kohler et al., 1975, Nature 256:495に初めて記載されたハイブリドーマ法によって調製され得るか、または細菌もしくは真核動物もしくは植物細胞中での組換えDNA法（例えば米国特許第4,816,567号を参照）を用いて作製され得る。「モノクローナル抗体」は、例えばClackson et al., 1991, Nature 352:624-28及びMarks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581-97に記載の技術を用いて、ファージ抗体ライブラリーからも単離され得る。クローナル細胞株及びその細胞株によって発現されるモノクローナル抗体の他の調製方法は、当該技術分野において周知である。例えば、Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002)を参照。モノクローナル抗体を作製する例示的な方法は、本明細書の実施例に示されている。

10

【0140】

「ポリクローナル抗体」は、本明細書で使用する場合、多数のエピトープを有するタンパク質に対する免疫原性応答の際に産生される抗体集団を指すので、そのタンパク質における同じまたは異なるエピトープに向けられる多種多様な抗体を含む。ポリクローナル抗体の産生方法は当該技術分野において公知である（例えば、Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002)を参照）。

【0141】

ペプチドまたはポリペプチドとの関連において、用語「断片」は、本明細書で用いる場合、全長アミノ酸配列未満を含むペプチドまたはポリペプチドのことをいう。そのような断片は、例えば、アミノ末端での切断、カルボキシ末端での切断、及び/またはアミノ酸配列からの残基（複数可）の内部欠失から生じ得る。断片は、例えば、選択的RNAスプライシングまたはインビボプロテアーゼ活性の結果生じ得る。ある実施形態において、PD-1断片または抗PD-1抗体断片としては、PD-1ポリペプチドまたは抗PD-1抗体のアミノ酸配列の少なくとも5個の連続したアミノ酸残基、少なくとも10個の連続したアミノ酸残基、少なくとも15個の連続したアミノ酸残基、少なくとも20個の連続したアミノ酸残基、少なくとも25個の連続したアミノ酸残基、少なくとも30個の連続したアミノ酸残基、少なくとも40個の連続したアミノ酸残基、少なくとも50個の連続したアミノ酸残基、少なくとも60個の連続したアミノ酸残基、少なくとも70個の連続したアミノ酸残基、少なくとも80個の連続したアミノ酸残基、少なくとも90個の連続したアミノ酸残基、少なくとも100個の連続したアミノ酸残基、少なくとも125個の連続したアミノ酸残基、少なくとも150個の連続したアミノ酸残基、少なくとも175個の連続したアミノ酸残基、少なくとも200個の連続したアミノ酸残基、少なくとも250、少なくとも300、少なくとも350、少なくとも400、少なくとも450、少なくとも500、少なくとも550、少なくとも600、少なくとも650、少なくとも700、少なくとも750、少なくとも800、少なくとも850、少なくとも900、または少なくとも950個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含むポリペプチドが挙げられる。特定の実施形態において、PD-1ポリペプチドまたは抗PD-1抗体の断片は、ポリペプチドまたは抗体の少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、またはこれより多くの機能を保持する。

20

30

40

【0142】

「抗原」は、抗体が選択的に結合することのできる所定の抗原である。標的抗原は、ポリペプチド、炭水化物、核酸、脂質、ハプテン、または他の自然発生もしくは合成化合物であり得る。いくつかの実施形態において、標的抗原はポリペプチドである。

【0143】

用語「抗原結合断片」、「抗原結合ドメイン」、「抗原結合領域」、及び類似の用語は、抗原と相互作用し、結合作用物質に抗原に対する特異性及びアフィニティーを付与するアミノ酸残基を含む抗体の部分（例えばCDR）を指す。

50

【 0 1 4 4 】

「エピトープ」は、単一の抗体分子が結合する抗原分子表面上の部位であり、抗体の1つ以上の抗原結合領域が結合可能であり、動物、例えば哺乳類（例えばヒト）などにおいて免疫応答を誘発することのできる抗原性または免疫原性活性を有する、例えばPD-1ポリペプチドまたはPD-1ポリペプチド断片などの抗原の表面上の局所的領域などである。免疫原性活性を有するエピトープは、動物において抗体応答を誘発するポリペプチドの部分である。抗原活性を有するエピトープは、例えば、イムノアッセイをはじめとする当該技術分野において周知のいずれかの方法によって割り出されるように、抗体が結合するポリペプチド部分である。抗原エピトープは必ずしも、免疫原性を持つ必要はない。エピトープは多くの場合、化学的に活性な表面分子集団（アミノ酸または糖側鎖など）からなり、特異的な三次元構造特性と、特異的な荷電特性を有する。抗体エピトープは直線状エピトープまたは立体構造エピトープであり得る。直線状エピトープはタンパク質中のアミノ酸の連続配列によって形成される。立体構造エピトープは、タンパク質配列中では不連続であるがタンパク質の三次元構造へのフォールディングで集まるアミノ酸で形成される。誘導型エピトープは、タンパク質の三次元構造が、例えば活性化または別のタンパク質もしくはリガンドの結合に引き続いて、変性コンフォメーションとなった場合に形成される。ある実施形態において、PD-1エピトープはPD-1ポリペプチドの三次元表面形体である。他の実施形態において、PD-1エピトープはPD-1ポリペプチドの直線状形体である。一般に、抗原は複数のまたは多数の異なるエピトープを有し、多数の異なる抗体と反応し得る。

10

20

【 0 1 4 5 】

2つの抗体が三次元空間中の同一の、部分的に一致する、または隣接するエピトープを認識する場合、抗体は、「エピトープ」、参照抗体と「実質的に同じエピトープ」、または「同じエピトープ」に結合する。2つの抗体が三次元空間中の同一の、部分的に一致する、または隣接するエピトープに結合するかどうか判定するための最も広く用いられている迅速な方法は、競合アッセイであり、これは複数の異なる様式に構成することができ、例えば、標識化抗原または標識化抗体のいずれかをを用いる。いくつかのアッセイにおいて、抗原を96ウェルプレート上に固定化するか、または細胞表面上に発現させ、標識化抗体の結合を遮断する非標識化抗体の能力を放射性、蛍光、または酵素標識を用いて測定する。

30

【 0 1 4 6 】

「エピトープマッピング」は、抗体の標的抗原上の結合部位、またはエピトープを同定するプロセスである。「エピトープピニング」は、抗体が認識するエピトープに基づいて抗体を分類するプロセスである。より具体的には、エピトープピニングは、エピトープ認識特性に基づいて抗体をクラスタリングし、異なる結合特異性を有する抗体を同定するためのコンピュータ処理と組み合わせた競合アッセイを用いて、異なる抗体のエピトープ認識特性を区別する方法及びシステムを含む。

【 0 1 4 7 】

用語「結合する」または「結合」は、例えば複合体の形成をはじめとする分子間の相互作用のことをいう。相互作用は、例えば、水素結合、イオン結合、疎水性相互作用、及び/またはファンデルワールス相互作用をはじめとする非共有結合性相互作用とすることができる。複合体は、共有結合性または非共有結合性の結合、相互作用、または力によって結合した2つ以上の分子も含むことができる。抗体上の単一の抗原結合部位とPD-1などの標的分子上の単一のエピトープとの間の全非共有結合性相互作用の強度が、そのエピトープに対する抗体もしくは機能的断片のアフィニティーである。一価抗原に対する抗体の解離速度(k_{off})対会合速度(k_{on})の比(k_{off}/k_{on})が解離定数 K_D であり、アフィニティーに逆相関する。 K_D 値が低いほど抗体のアフィニティーは高い。 K_D の値は抗体及び抗原の異なる複合体で変化し、 k_{on} 及び k_{off} の両方に依存する。本明細書で提供する抗体の解離定数 K_D は、本明細書で提供する任意の方法または当業者にとって公知の任意の他の方法を用いて求めることができる。1つの結合部位でのア

40

50

ィニティーが必ずしも抗体と抗原との間の相互作用の真の強度を反映するとは限らない。複数の繰り返される抗原決定基を含有する複合体抗原、例えば多価PD-1などが複数の結合部位を含有する抗体と接触する場合、1つの部位における抗体と抗原との相互作用は2つ目の部位における反応の可能性を増加させる。多価抗体と抗原との間のそのような複数の相互作用の強度はアビディティーと呼ばれる。抗体のアビディティーは個々の結合部位のアフィニティーよりも良好な結合能力の尺度であり得る。例えば、高いアビディティーは低いアフィニティーを補うことができ、これは五量体IgM抗体で見られることがあり、IgGよりも低いアフィニティーを有し得るが、多価性に起因するIgMの高いアビディティーが効果的に抗原に結合することを可能とする。

【0148】

用語「PD-1に特異的に結合する抗体」、「PD-1エピトープに特異的に結合する抗体」、及び類似の用語も本明細書において同じ意味で用いられ、PD-1ポリペプチド、例えばPD-1抗原、または断片、またはエピトープなど（例えば、ヒトPD-1ポリペプチド、抗原またはエピトープなどのヒトPD-1）に特異的に結合する抗体のことをいう。PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗体は、PD-1の細胞外ドメインまたは細胞外ドメインに由来するペプチドに結合し得る。PD-1抗原（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗体は、関連抗原（例えば、カニクイザルPD-1）に交差反応を示し得る。ある実施形態において、PD-1抗原に特異的に結合する抗体は他の抗原と交差反応しない。PD-1抗原に特異的に結合する抗体は、例えば、イムノアッセイ、Biacore（登録商標）、または当業者に公知の他の技術によって同定することができる。実験技術、例えばラジオイムノアッセイ（RIA）及び酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）などを用いて測定した際に、いかなる交差反応性抗原よりも高いアフィニティーでPD-1抗原に結合する場合、抗体はPD-1抗原に特異的に結合する。典型的に、特異的または選択的反応は、バックグラウンド信号またはノイズの少なくとも2倍であり、バックグラウンドの10倍超の場合もある。例えば、抗体特異性に関する説明にはFundamental Immunology 332-36（Paul ed., 2d ed. 1989）を参照。「目的の抗原（例えば、PD-1などの標的抗原）に結合する」抗体は、抗原を発現する細胞または組織への標的化において抗体が治療薬として有用となるように十分なアフィニティーで抗原に結合し、かつ、他のタンパク質とそれほど交差反応しないものである。そのような実施形態において、「非標的」タンパク質への抗体の結合度は、例えば、蛍光活性化細胞ソーティング（FACS）分析またはRIAによって測定すると、抗体の特定の標的タンパク質への結合の約10%未満となる。標的分子への抗体の結合に関して、特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド標的上のエピトープへの「特異的結合」、「に特異的に結合する」、または「に対して特異的である」という用語は、測定可能な程度に非特異的相互作用とは異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、一般に結合活性を有しない同様の構造を有する分子である対照分子の結合と比較して分子の結合を判定することによって測定することができる。例えば、特異的結合は、標的に類似である対照分子、例えば、過剰な非標識標的との競合によって、判定することができる。この事例では、特異的結合は、標識した標的のプロープへの結合が、過剰な非標識標的によって競合的に阻害された場合に、示される。用語「抗PD-1抗体」または「PD-1に結合する抗体」は、抗体が、例えばPD-1の標的化における診断薬として有用となるように十分なアフィニティーでPD-1に結合することのできる抗体を含む。特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド標的上のエピトープへの「特異的結合」、「に特異的に結合する」、または「に対して特異的である」という用語は、本明細書で用いる場合、分子がいかなる他のポリペプチドまたはポリペプチドエピトープにも実質的に結合することなく、特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド上のエピトープに結合する結合のことをいう。ある実施形態において、PD-1に結合する抗体は、10 nM、5 nM、4 nM、3 nM、2 nM、1 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、または0.1 nM以下の解離定数（ K_D ）を有する。ある実施形態において、抗PD-1抗体は、

10

20

30

40

50

異なる種由来のPD-1の間（例えば、ヒトPD-1とカニクイザルPD-1との間）で保存されているPD-1のエピトープに結合する。

【0149】

用語「競合する」は、抗PD-1抗体（例えば、PD-1に結合し、標的上の同じエピトープまたは結合部位について競合するアゴニスト抗体及び結合タンパク質）との関連で用いる場合、研究中の抗体（またはその結合断片）が、共通の抗原（例えば、PD-1またはその結合断片）への参照分子（例えば、参照リガンドまたは参照抗原結合タンパク質、例えば参照抗体など）の特異的結合を防止または阻害するアッセイによって判定される競合を意味する。試験抗体がPD-1（例えば、ヒトPD-1）への結合について参照抗体と競合するかどうか判定するために、多くの種類の競合結合アッセイを用いることができる。採用することのできるアッセイの例としては、固相直接または間接RIA、固相直接または間接酵素免疫アッセイ（EIA）、サンドイッチ競合アッセイ（例えば、Stahli et al., 1983, *Methods in Enzymology* 9: 242-53を参照）、固相直接ピオチン-アビジンEIA（例えば、Kirkland et al., 1986, *J. Immunol.* 137: 3614-19を参照）、固相直接標識化アッセイ、固相直接標識化サンドイッチアッセイ（例えば、Harlow and Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (1988)を参照）、I-125標識を用いる固相直接標識RIA（例えば、Morel et al., 1988, *Mol. Immunol.* 25: 7-15を参照）、及び直接標識化RIA（Moldenhauer et al., 1990, *Scand. J. Immunol.* 32: 77-82）が挙げられる。典型的には、そのようなアッセイは、固体表面に結合した精製抗原（例えば、ヒトPD-1などのPD-1）、または非標識化試験抗原結合タンパク質（例えば、試験抗PD-1抗体）もしくは標識化参照抗原結合タンパク質（例えば、参照抗PD-1抗体）のいずれかを担持する細胞の使用を伴う。競合阻害は、試験抗原結合タンパク質の存在下において固体表面または細胞に結合した標識の量を求めることによって測定され得る。一般に、試験抗原結合タンパク質は過剰に存在する。競合アッセイによって同定される抗体（競合抗体）には、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体、及び/または抗体立体障害が生じるほどに、参照が結合するエピトープに十分近位の隣接するエピトープに結合する抗体が含まれる。競合結合を判定する方法に関するさらなる詳細は本明細書に記載されている。一般に、競合抗体タンパク質が過剰に存在する場合、共通の抗原への参照抗体の特異的結合を、少なくとも30%、例えば40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、または75%阻害する。場合によっては、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、またはこれより多く結合が阻害される。

【0150】

「単離」抗体は、抗体が由来する細胞または組織起源からの細胞物質または他のコンタミタンパク質及び/または他のコンタミ成分を実質的に含まないか、化学合成した場合には化学的前駆体または他の化学薬品を実質的に含まない。「細胞物質を実質的に含まない」という文言は、抗体を単離または組換え産生する細胞の細胞成分から抗体が分離されている抗体の調製物を含む。したがって、細胞物質を実質的に含まない抗体としては、異種タンパク質（本明細書において「コンタミタンパク質」とも呼ぶ）を約30%、25%、20%、15%、10%、5%、または1%未満（乾燥重量基準）しか有しない抗体の調製物が挙げられる。ある実施形態において、抗体を組換え産生する場合、抗体は培養培地を実質的に含まず、例えば、培養培地はタンパク質調製物の体積の約20%、15%、10%、5%、または1%未満しか占めない。ある実施形態において、抗体を化学合成によって生成する場合、抗体は化学的前駆体または他の化学薬品を実質的に含まず、例えば、タンパク質の合成に関与する化学的前駆体または他の化学薬品から分離される。したがって、そのような抗体の調製物は、化学的前駆体または目的の抗体以外の化合物を約30%、25%、20%、15%、10%、5%、または1%未満（乾燥重量基準）しか有しない。コンタミ成分には、限定はしないが、抗体の治療上の使用を妨げる物質も含めること

10

20

30

40

50

ができ、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性または非タンパク質性溶質が含まれ得る。ある実施形態において、(1)ローリー法(Lowry et al., 1951, J. Bio. Chem. 193: 265-75)によって測定した場合で95重量%超の抗体に、例えば96%、97%、98%、もしくは99%などに、(2)スピニングカップ配列決定装置の使用によりN末端もしくは内部アミノ酸配列の少なくとも15個の残基を得るのに十分な程度まで、または(3)クーマシーブルーもしくは銀染色を使用した還元もしくは非還元条件下でSDS-PAGEによって同種になるように、抗体を精製する。単離抗体には、組換え細胞内でインサイチュの抗体が含まれるが、これは、抗体の天然環境の少なくとも1つの構成要素が存在していないためである。しかしながら、通常、単離抗体は、少なくとも1つの精製ステップにより調製されるであろう。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は単離されている。

10

【0151】

4本の鎖の抗体ユニットは、2本の同一な軽鎖(L)と2本の同一な重鎖(H)とから構成されるヘテロ四量体糖タンパク質である。IgGの場合、4本鎖ユニットは、概して約150,000ダルトンである。各L鎖は、1つのジスルフィド共有結合によってH鎖に連結されているが、一方で2本のH鎖は、H鎖アイソタイプに応じて1つ以上のジスルフィド結合によって互いに連結されている。各々のH鎖及びL鎖はまた、規則的に離間した鎖間ジスルフィド架橋も有する。各H鎖は、N末端に可変ドメイン(VH)を有し、続いて鎖及び鎖のそれぞれについては3つの定常ドメイン(CH)、ならびにμ及びアイソタイプについては4つのCHドメインを有する。各L鎖は、N末端に可変ドメイン(VL)を有し、続いてその反対側の端部に定常ドメイン(CL)を有する。VLは、VHと整列しており、CLは、重鎖の第1の定常ドメイン(CH1)と整列している。特定のアミノ酸残基が軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの間に界面を形成すると考えられている。VHとVLとが一緒に対合することにより、単一の抗原結合部位が形成される。異なるクラスの抗体の構造及び特性については、例えば、Basic and Clinical Immunology 71(Stites et al. eds., 8th ed., 1994)を参照されたい。

20

【0152】

用語「重鎖」は、抗体に関して用いる場合、約50~70kDaのポリペプチド鎖のことをいい、そのアミノ末端部分は約120~130またはこれより多くのアミノ酸の可変領域を含み、カルボキシ末端部分は定常領域を含む。定常領域は、重鎖定常領域のアミノ酸配列に基づいて、アルファ(α)、デルタ(δ)、イプシロン(ε)、ガンマ(γ)、及びミュー(μ)と呼ばれる5つの異なるタイプ(例えばアイソタイプ)の1つとすることができる。異なる重鎖ではサイズが異なり、α、δ、及びεはおよそ450アミノ酸を含有する一方で、μ及びγはおよそ550アミノ酸を含有する。軽鎖と結合すると、これらの異なるタイプの重鎖は、それぞれIgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMという抗体の5つのよく知られたクラス(例えば、アイソタイプ)を生じ、IgGには4つのサブクラス、すなわちIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4が含まれる。重鎖はヒト重鎖とすることができる。

30

【0153】

用語「軽鎖」は、抗体に関して用いる場合、約25kDaのポリペプチド鎖のことをいい、そのアミノ末端部分は約100~約110またはこれより多くのアミノ酸の可変領域を含み、カルボキシ末端部分は定常領域を含む。軽鎖の概ねの長さは、211~217個のアミノ酸分である。定常ドメインのアミノ酸配列に基づいてカッパ(κ)またはラムダ(λ)と呼ばれる2つの異なるタイプがある。軽鎖アミノ酸配列は当該技術分野において公知である。軽鎖はヒト軽鎖とすることができる。

40

【0154】

用語「可変領域」、「可変ドメイン」、「V領域」、または「Vドメイン」は、一般に軽鎖または重鎖のアミノ末端に位置し、重鎖では約120~130アミノ酸及び軽鎖では約100~110アミノ酸の長さを有する、抗体の軽鎖または重鎖の一部のことをいい、

50

特定の抗体それぞれの特定の抗原に対する結合及び特異性に用いられる。重鎖の可変領域は「VH」と呼ばれる場合がある。軽鎖の可変領域は「VL」と呼ばれる場合がある。用語「可変」は、可変領域の特定のセグメントの配列が抗体の間で広く異なることを意味する。V領域は、抗原結合を媒介し、かつ特定の抗体の特定の抗原に対する特異性を定める。しかしながら、可変性は、可変領域の110アミノ酸の全長にわたって均等に分布しているわけではない。むしろ、V領域は、それぞれ9~12アミノ酸長の「超可変領域」と呼ばれる可変性が高い(例えば、極度に可変性が高い)短い領域によって隔てられた、約15~30アミノ酸のフレームワーク領域(FR)と呼ばれる可変性が低い(例えば、比較的不变の)連なりからなる。重鎖及び軽鎖の可変領域はそれぞれ、概してシート構造をとる4つのFRを含み、FRは3つの超可変領域によって連結されており、超可変領域は、シート構造を連結するループを形成し、場合によってはシート構造の一部を形成する。各鎖中の超可変領域はFRによって互いに近くに位置し、他の鎖の超可変領域とともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する(例えば、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed., 1991)を参照)。定常領域は抗原への抗体の結合に直接関与しないが、様々なエフェクター機能、例えば、抗体依存性細胞傷害性(ADCC)及び補体依存性細胞傷害性(CDC)における抗体の関与などを示す。可変領域は異なる抗体間で配列が広く異なる。具体的な実施形態において、可変領域はヒト可変領域である。

【0155】

用語「Kabatにおける可変領域残基の番号付け」または「Kabatにおけるアミノ酸位の番号付け」及びそれらの変化形は、Kabatら(上記)における抗体の集合物の重鎖可変領域または軽鎖可変領域に用いられる番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを用いると、実際の直鎖アミノ酸配列は、可変ドメインのFRまたはCDRの短縮、または挿入に相当するより少ないまたは追加のアミノ酸を含む場合がある。例えば、重鎖可変ドメインは、残基52の後の単一のアミノ酸挿入(Kabatによると残基52a)ならびに残基82の後の3つの挿入残基(例えば、Kabatによると残基82a、82b、及び82cなど)を含み得る。残基のKabat番号付けは、所与の抗体について、抗体の配列の相同な領域における「標準」Kabat番号付け配列とのアラインメントによって決定され得る。Kabat番号付けシステムは、一般に可変ドメインにおける残基(およそ、軽鎖の残基1~107及び重鎖の残基1~113)について言及する場合に用いられる(例えば、Kabatら(上記))。「EU番号付けシステム」または「EUインデックス」は、一般に免疫グロブリン重鎖定常領域内の残基について言及する場合に用いられる(例えば、Kabatら(上記)で報告されているEUインデックス)。「KabatにおけるEUインデックス」は、ヒトIgG 1 EU抗体の残基番号付けを指す。他の番号付けシステムが、例えば、AbM、Chothia、Contact、IMG T、及びAHonによって記載されている。

【0156】

「CDR」は、免疫グロブリン(Igもしくは抗体)VHシートフレームワークの非フレームワーク領域中の3つの超可変領域(H1、H2もしくはH3)のうちの1つ、または抗体VLシートフレームワークの非フレームワーク領域中の3つの超可変領域(L1、L2もしくはL3)のうちの1つのことをいう。したがって、CDRはフレームワーク領域配列中に散在した可変領域配列である。CDR領域は当業者にとって公知であり、例えば、Kabatによって抗体可変(V)ドメイン中で最も超可変性の領域と定義されている(Kabat et al., 1997, J. Biol. Chem. 252: 6609-16; Kabat, 1978, Adv. Prot. Chem. 32: 1-75)。CDR領域配列は、Chothiaによっても、保存されたシートフレームワークの一部でなく、そのため、異なるコンフォメーションに適応することのできる残基と構造的に定義されている(Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-17)。両方の用語とも当該技術分野においてよく認知されている。CDR領域配列は、AbM、Contact、及びIMG Tによっても定義されてい

10

20

30

40

50

る。カノニカル抗体可変領域中のCDRの位置は、多数の構造の比較によって決定されている(A1-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol. 273:927-48; Morea et al., 2000, Methods 20:267-79)。超可変領域中の残基の数は異なる抗体で様々であるので、カノニカル位に対する追加の残基は慣習的に、カノニカル可変領域番号付け方式(A1-Lazikaniら(上記))における残基番号の隣にa、b、cなどを付けて番号付けされる。そのような命名法も同様に当業者にとって公知である。

【0157】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」、「HVR」、または「HV」という用語は、配列が超可変性であり、及び/または構造的に定義されたループを形成する抗体可変領域の領域を指す。一般に、抗体は6つの超可変領域を含み、このうち3つがVHにあり(H1、H2、H3)、3つがVLにある(L1、L2、L3)。いくつかの超可変領域記述法が使用されており、本明細書に包含される。Kabata相補性決定領域(CDR)は、配列可変性に基づくものであり、最も一般的に使用されている(例えば、Kabataら(上記)を参照)。Chothiaは、代わりに、構造ループの位置を指す(例えば、Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17を参照)。Chothia CDR-H1ループの末端は、Kabata番号付け規則を用いて番号付けした場合、ループの長さに応じてH32~H34の間で変化する(これは、Kabata番号付け方式ではH35A及びH35Bに挿入があるためであり、35Aも35Bも存在しなければ、ループは32で終了し、35Aのみ存在すれば、ループは33で終了し、35A及び35Bの両方が存在すれば、ループは34で終了する)。AbM超可変領域は、KabataのCDRとChothiaの構造的ループとの折衷物であり、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されている(例えば、Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dubel eds., 2nd ed. 2010)を参照)。「contact」超可変領域は、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づく。これらの超可変領域またはCDRのそれぞれからの残基を以下に記載する。

【0158】

最近、ImmunoGenetics (IMGT) Information System (登録商標)という汎用番号付けシステムが開発され、広く採用されている(Lafrenc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77)。IMGTは、ヒト及び他の脊椎動物の免疫グロブリン(IG)、T細胞受容体(TCR)、及び主要組織適合性複合体(MHC)に特化した統合情報システムである。本明細書では、アミノ酸配列及び軽鎖または重鎖中の位置の両方の観点でCDRという。免疫グロブリン可変ドメインの構造中のCDRの「位置」は、種間で保存されており、ループと呼ばれる構造中に存在するので、構造的特徴に従って可変ドメイン配列をアラインメントする番号付けシステムを用いることによって、CDR及びフレームワーク残基が容易に同定される。この情報は、典型的にはヒト抗体由来の受容体フレームワークへのある種の免疫グロブリン由来のCDR残基の移植及び置換に用いることができる。別の番号付けシステム(AHon)が、Honegger and Pluckthun, 2001, J. Mol. Biol. 309:657-70によって開発されている。例えばKabata番号付けシステムをはじめとする番号付けシステムとIMGT固有番号付けシステムとの対応は、当業者にとって公知である(例えば、Kabata(上記); Chothia and Lesk(上記); Martin(上記); Lefrancら(上記)を参照)。いくつかの実施形態において、CDRはIMGT番号付けシステムによって定義される通りである。他の実施形態において、CDRはKabata番号付けシステムによって定義される通りである。ある実施形態において、CDRはAbM番号付けシステムによって定義される通りである。他の実施形態において、CDRはChothiaシステムによって定義される通りである。さらに他の実施形態において、CDRはContact番号付けシステムによって定義される通りである。

10

20

30

40

50

【表 1】

| | <u>IMGT</u> | <u>Kabat</u> | <u>AbM</u> | <u>Chothia</u> | <u>Contact</u> |
|---------------------|-------------|--------------|------------|----------------|----------------|
| V _H CDR1 | 27-38 | 31-35 | 26-35 | 26-32 | 30-35 |
| V _H CDR2 | 56-65 | 50-65 | 50-58 | 53-55 | 47-58 |
| V _H CDR3 | 105-117 | 95-102 | 95-102 | 96-101 | 93-101 |
| V _L CDR1 | 27-38 | 24-34 | 24-34 | 26-32 | 30-36 |
| V _L CDR2 | 56-65 | 50-56 | 50-56 | 50-52 | 46-55 |
| V _L CDR3 | 105-117 | 89-97 | 89-97 | 91-96 | 89-96 |

10

【 0 1 5 9 】

超可変領域は、以下の「伸長超可変領域」を含み得る：V_L中の24-36または24-34(L1)、46-56または50-56(L2)、及び89-97または89-96(L3)、ならびにV_H中の26-35または26-35A(H1)、50-65または49-65(H2)、及び93-102、94-102、または95-102(H3)。本明細書で用いる場合、用語「HVR」及び「CDR」は同じ意味で用いる。

【 0 1 6 0 】

用語「定常領域」または「定常ドメイン」は、抗原への抗体の結合に直接関与しないが、様々なエフェクター機能、例えばFc受容体との相互作用などを示す軽鎖及び重鎖のカルボキシ末端部分のことをいう。この用語は、抗原結合部位を含有する可変領域である免疫グロブリンの残りの部分と比較してより保存されたアミノ酸配列を有する免疫グロブリン分子の部分の部分を指す。定常領域は、重鎖のCH1、CH2、及びCH3領域ならびに軽鎖のCL領域を含有し得る。

20

【 0 1 6 1 】

用語「フレームワーク」または「FR」は、CDRに隣接する可変領域残基のことをいう。FR残基は、例えば、キメラ、ヒト化、ヒト、ドメイン抗体、ダイアボディ、直鎖抗体、及び二重特異性抗体に存在する。FR残基は超可変領域残基またはCDR残基以外の可変ドメイン残基である。

30

【 0 1 6 2 】

本明細書における用語「Fc領域」は、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために用いられ、例えば、天然配列Fc領域、組換えFc領域、及びバリエーションFc領域が含まれる。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は変化し得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は多くの場合、Cys226位のアミノ酸残基から、またはPro230から、そのカルボキシル末端まで伸びると定義される。Fc領域のC末端リシン(EU番号付け方式によると残基447)は、例えば、抗体の産生もしくは精製の間、または抗体の重鎖をコードする核酸を組換え操作することによって、除去されてもよい。したがって、インタクトな抗体の組成物は、全K447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されない抗体集団、及びK447残基を有する抗体と有しない抗体との混合物を有する抗体集団を含んでもよい。

40

【 0 1 6 3 】

「機能的Fc領域」は、天然配列Fc領域の「エフェクター機能」を保有する。例示的な「エフェクター機能」としては、C1q結合；CDC；Fc受容体結合；ADCC；ファゴサイトーシス；細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体)の下方調節などが挙げられる。そのようなエフェクター機能は、一般に、Fc領域と結合領域または結合ドメイン(例えば、抗体可変領域またはドメイン)との結合を必要とし、開示するような様々なアッセイを使用して評価することができる。

【 0 1 6 4 】

「天然配列Fc領域」は、天然に存在するFc領域のアミノ酸配列と同一であり、ヒト

50

による操作、改変、及び/または変化（例えば、単離、精製、選別、可変領域などの他の配列の包含または混合）が行われていないアミノ酸配列を含む。天然配列ヒト I g G 1 F c 領域には、天然配列ヒト I g G 1 F c 領域（非 A 及び A アロタイプ）；天然配列ヒト I g G 2 F c 領域；天然配列ヒト I g G 3 F c 領域；及び天然配列ヒト I g G 4 F c 領域、ならびにこれらの自然発生バリエーションが含まれる。例えば、天然ヒト I g G 1 F c 領域アミノ酸配列を以下に示す。

【化 1】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTEFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT
QKLSLSLSPGK

10

（配列番号 36、K 3 2 2 を強調）

例示的な天然ヒト I g G 4 F c 領域配列を以下に示す。

【化 2】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTEFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK

20

（配列番号 38、S 2 2 8 及び L 2 3 5 を強調）

【0165】

「バリエーション F c 領域」は、少なくとも 1 つのアミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失）によって天然配列 F c 領域のものとは異なるアミノ酸配列を含む。ある実施形態において、バリエーション F c 領域は、天然配列 F c 領域または親ポリペプチドの F c 領域と比較して少なくとも 1 個のアミノ酸置換、例えば、約 1 個～約 10 個のアミノ酸置換、または、約 1 個～約 5 個のアミノ酸置換を、天然配列 F c 領域または親ポリペプチドの F c 領域内に有する。本明細書におけるバリエーション F c 領域は、天然配列 F c 領域及び/または親ポリペプチドの F c 領域と少なくとも約 80% の同一性、またはそれらと少なくとも約 90% の同一性、例えば、それらと少なくとも約 95% の同一性を有することができる。例えば、ヒト I g G 1 F c アミノ酸配列中の 332 位で 1 つのアミノ酸 K が A に変化したバリエーションである I g G 1 - K 3 2 2 A F c 領域を以下に示す。

30

【化 3】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTEFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCAAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT
QKLSLSLSPGK

40

（配列番号 37、K 3 2 2 A 置換を強調）

ヒト I g G 4 F c アミノ酸配列中の 228 位で 1 つのアミノ酸 S が P に変化した例示的

50

なバリエーションである I g G 4 P F c 領域を以下に示す。

【化 4】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS
LSLSPGK

10

(配列番号 39、S 2 2 8 P 置換を強調)

ヒト I g G 4 F c アミノ酸配列中の 2 2 8 及び 2 3 5 位で 2 つのアミノ酸が変化した例示的なバリエーションである I g G 4 P E F c 領域を以下に示す。

【化 5】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS
LSLSPGK

20

(配列番号 40、S 2 2 8 P 及び L 2 3 5 E 置換を強調)

【0 1 6 6】

用語「バリエーション」は、PD-1 または抗 PD-1 抗体との関係で用いる場合、天然または非改変配列と比較して 1 つ以上 (例えば、約 1 ~ 約 25、約 1 ~ 約 20、約 1 ~ 約 15、約 1 ~ 約 10、または約 1 ~ 約 5 など) のアミノ酸配列置換、欠失、及び/または付加を含むペプチドまたはポリペプチドのことをいう場合がある。例えば、PD-1 バリエーションは、天然 PD-1 のアミノ酸配列に対する 1 つ以上 (例えば、約 1 ~ 約 25、約 1 ~ 約 20、約 1 ~ 約 15、約 1 ~ 約 10、または約 1 ~ 約 5 など) の変化の結果生じ得る。同様に例として、抗 PD-1 抗体のバリエーションは、天然のまたは事前に改変されていない抗 PD-1 抗体のアミノ酸配列に対する 1 つ以上 (例えば、約 1 ~ 約 25、約 1 ~ 約 20、約 1 ~ 約 15、約 1 ~ 約 10、または約 1 ~ 約 5 など) の変化の結果生じ得る。バリエーションは自然発生、例えば対立遺伝子またはスプライズバリエーションなどの場合もあれば、人工的に構築される場合もある。ポリペプチドバリエーションは、バリエーションをコードする対応する核酸分子から調製され得る。具体的な実施形態において、PD-1 バリエーションまたは抗 PD-1 抗体バリエーションは、それぞれ少なくとも PD-1 または抗 PD-1 抗体の機能的活性を保持する。具体的な実施形態において、抗 PD-1 抗体バリエーションは、PD-1 に結合する、及び/または PD-1 活性に対し拮抗的である。具体的な実施形態において、抗 PD-1 抗体バリエーションは、PD-1 に結合する、及び/または PD-1 活性に対し作用的である。ある実施形態において、バリエーションは、PD-1 または抗 PD-1 抗体 V H もしくは V L 領域もしくは小領域、例えば 1 つ以上の C D R などをコードする核酸分子の一塩基多型 (S N P) バリエーションによってコードされる。

30

40

【0 1 6 7】

「インタクト」抗体は、抗原結合部位に加えて C L ならびに少なくとも重鎖定常領域 C H 1、C H 2 及び C H 3 を含むものである。定常領域としては、ヒト定常領域またはそのアミノ酸配列バリエーションが挙げられ得る。ある実施形態において、インタクト抗体は 1 つ以上のエフェクター機能を有する。

【0 1 6 8】

「抗体断片」は、インタクト抗体の一部、例えばインタクト抗体の抗原結合または可変

50

領域などを含む。抗体断片の例としては、限定はしないが、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片；ダイアボディ及びジ-ダイアボディ（例えば、Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6444-48; Lu et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:19665-72; Hudson et al., 2003, Nat. Med. 9:129-34; WO 93/11161; ならびに米国特許第5,837,242号及び6,492,123号を参照）；一本鎖抗体分子（例えば、米国特許第4,946,778号；5,260,203号；5,482,858号；及び5,476,786号を参照）；二重可変ドメイン抗体（例えば、米国特許第7,612,181号を参照）；単一可変ドメイン抗体（sdAb）（例えば、Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50:98-101; 及びStreltsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-49を参照）；ならびに抗体断片から形成された多重特異性抗体が挙げられる。

【0169】

治療用抗体の「機能的断片」、「結合断片」、または「抗原結合断片」は、インタクト抗体に起因する生物学的機能のいくつかまたはすべてでないとしても少なくとも1つ、少なくとも標的抗原への結合を含む機能を示す（例えば、PD-1結合断片またはPD-1に結合する断片）。

【0170】

用語「融合タンパク質」は、本明細書で用いる場合、抗体のアミノ酸配列及び異種ポリペプチドまたはタンパク質のアミノ酸配列（例えば、通常であればその抗体の一部でないポリペプチドまたはタンパク質（例えば、非抗PD-1抗原結合抗体））を含むポリペプチドのことをいう。用語「融合」は、PD-1または抗PD-1抗体との関係で用いる場合、ペプチドもしくはポリペプチド、もしくは断片、バリエーション、及び/またはこれらの誘導体と異種ペプチドまたはポリペプチドとの接合のことをいう。ある実施形態において、融合タンパク質はPD-1または抗PD-1抗体の生物活性を保持する。ある実施形態において、融合タンパク質はPD-1抗体VH領域、VL領域、VH CDR（1、2、もしくは3つのVH CDR）、及び/またはVL CDR（1、2、もしくは3つのVL CDR）を含み、この融合タンパク質はPD-1エピトープ、PD-1断片、及び/またはPD-1ポリペプチドに結合する。

【0171】

用語「天然」は、生物材料、例えば核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などとの関連で用いる場合、天然に存在し、人間による操作、改変、及び/または変化（例えば、単離、精製、選別）が行われていないものをいう。

【0172】

本明細書で提供する抗体は、重鎖及び/または軽鎖の一部が、特定の種に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または相同である一方で、鎖（複数可）の残りが、別の種に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または相同である「キメラ」抗体、ならびにかかるとの抗体の断片を含むことができるが、これは、それらが所望の生物活性を呈する場合に限る（米国特許第4,816,567号；及びMorrisson et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55を参照）。

【0173】

非ヒト（例えばマウス）抗体の「ヒト化」形態は、天然CDR残基が、所望の特異性、アフィニティー及び能力を有する非ヒト種、例えばマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類など（例えば、ドナー抗体）の対応するCDR由来の残基によって置き換えられているヒト免疫グロブリン（例えば、レシピエント抗体）を含むキメラ抗体である。場合によっては、ヒト免疫グロブリンの1つ以上のFR領域残基が対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体には見ら

10

20

30

40

50

れない残基を含んでもよい。これらの改変は、抗体性能をさらに改良するために行われる。ヒト化抗体重鎖または軽鎖は、少なくとも1つ以上の可変領域の実質的にすべてを含むことができ、CDRのすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FRのすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリン配列のものである。ある実施形態において、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部分、典型的にはヒト免疫グロブリンのものを含む。さらなる詳細については、Jones et al., 1986, Nature 321: 522 - 25; Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323 - 29; Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593 - 96; Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 4285 - 89; 米国特許第6,800,738号; 6,719,971号; 6,639,055号; 6,407,213号; 及び6,054,297号を参照。

10

【0174】

「ヒト抗体」は、ヒトにより産生される、及び/または本明細書で開示されるヒト抗体を作製するための技術のうちのいずれかを使用して産生された抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的には除外する。ヒト抗体は、当該技術分野において公知の様々な技術を用いて産生することができ、ファージディスプレイライブラリー(Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227: 381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222: 581)及び酵母ディスプレイライブラリー(Chao et al., 2006, Nature Protocols 1: 755 - 68)が挙げられる。Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77(1985); Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147(1): 86 - 95; 及びvan Dijk and van de Winkel, 2001, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368 - 74に記載されている方法もヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能である。ヒト抗体は、抗原攻撃にตอบสนองして当該抗体を産生するように改変されており、内因性遺伝子座は無効にされた遺伝子導入動物、例えば、マウスに抗原を投与することによって調製することができる(例えば、XENOMOUSE(商標)技術に関してJakobovits, 1995, Curr. Opin. Biotechnol. 6(5): 561 - 66; Bruggemann and Tausling, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8(4): 455 - 58; ならびに米国特許第6,075,181号及び6,150,584号を参照)。また、例えば、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術によって生成されるヒト抗体に関しては、Li et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 3557 - 62を参照。

20

30

【0175】

「アフィニティー成熟」抗体は、その1つ以上のHVRに1つ以上の改変(例えば、変化、付加、及び/または欠失をはじめとするアミノ酸配列変異)を有し、結果として、そうした改変(複数可)を有しない親抗体と比較して、抗原に対する抗体のアフィニティーが向上しているものである。アフィニティー成熟抗体は、標的抗原に対してnM、さらにはpMのアフィニティーを有することができる。アフィニティー成熟抗体は当該技術分野において公知の手順によって産生される。総説については、Hudson and Souriau, 2003, Nature Medicine 9: 129 - 34; Hoogenboom, 2005, Nature Biotechnol. 23: 1105 - 16; Quiroz and Sinclair, 2010, Revista Ingeneria Biomedica 4: 39 - 51を参照。

40

【0176】

「遮断」抗体または「アンタゴニスト」抗体は、それが結合する抗原の生物活性を阻害または低減するものである。例えば、遮断抗体またはアンタゴニスト抗体は、抗原の生物

50

活性を実質的にまたは完全に阻害し得る。

【0177】

「アゴニスト」抗体は、応答を誘発する抗体、例えば、目的のポリペプチド（例えば、PD-L1）の機能的活性の少なくとも1つを模倣するものである。アゴニスト抗体としては、例えば、リガンド模倣体である抗体が挙げられるが、ここで、リガンドは細胞表面受容体に結合し、その結合が細胞間細胞シグナル伝達経路を介して細胞シグナル伝達または活性を誘発するものであり、この抗体は類似の細胞シグナル伝達または活性化を誘発する。PD-1の「アゴニスト」は、例えばPD-1を発現する細胞内などで、PD-1の生物活性の1つ以上を活性化させることのできる、またはそれとは別様に増加させることのできる分子のことをいう。いくつかの実施形態において、PD-1のアゴニスト（例えば、本明細書に記載のアゴニスト抗体）は、例えば、PD-1タンパク質を発現する細胞の活性化及び/または細胞シグナル伝達経路を活性化させる、またはそれとは別様に増加させることによって作用し、それによって、アゴニストの不在下でのPD-1媒介生物活性と比較して細胞のPD-1媒介生物活性を増加させ得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1シグナル伝達を誘発する抗体をはじめとするPD-1に対するアゴニスト抗体である。

10

【0178】

「結合アフィニティー」は一般に、分子（例えば、抗体などの結合タンパク質）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合性相互作用の合計の強度のことをいう。別途指定されない限り、本明細書で使用されるとき、「結合アフィニティー」は、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）間の1:1の相互作用を反映する、本来の結合アフィニティーを指す。結合分子Xの、その結合パートナーYに対するアフィニティーは一般に、解離定数（ K_D ）によって表すことができる。アフィニティーは、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。低アフィニティー抗体は、概して、抗原にゆっくり結合し、容易に解離する傾向があるが、高アフィニティー抗体は、概して、抗原により早く結合し、より長く結合したままである傾向がある。結合アフィニティーの種々の測定方法が当該技術分野で知られており、これらのいずれも、本開示において使用することができる。具体的な例示の実施形態としては以下が挙げられる。一実施形態において、「 K_D 」または「 K_D 値」は、当該技術分野において公知のアッセイによって、例えば結合アッセイによって測定され得る。 K_D は、例えば、目的の抗体のFab型及び抗原で実施されるRIAで測定され得る（Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865-81）。 K_D または K_D 値は、Biacore（登録商標）による、例えば、Biacore（登録商標）TM-2000またはBiacore（登録商標）TM-3000を用いた表面プラズモン共鳴アッセイを用いることによって、または例えばOctet（登録商標）QK384システムを用いたバイオレイヤー干渉法によっても測定され得る。「オン速度」または「会合の速度」または「会合速度」または「 k_{on} 」も、例えば、Biacore（登録商標）TM-2000もしくはBiacore（登録商標）TM-3000、またはOctet（登録商標）QK384システムを用いて、上記と同じ表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法で求められ得る。

20

30

40

【0179】

用語「阻害」または「阻害する」は、本明細書で用いる場合、部分的な（例えば1%、2%、5%、10%、20%、25%、50%、75%、90%、95%、99%など）または完全な（すなわち100%）阻害のことをいう。

【0180】

用語「減衰させる」、「減衰」、または「減衰した」は、本明細書で用いる場合、特性、活性、作用、または値の部分的な（例えば1%、2%、5%、10%、20%、25%、50%、75%、90%、95%、99%など）または完全な（すなわち100%）低下のことをいう。

【0181】

50

「抗体エフェクター機能」は、抗体のFc領域（例えば、天然配列Fc領域またはアミノ酸配列バリエーションFc領域）に起因する生物活性を指し、抗体のアイソタイプに応じて多様である。抗体エフェクター機能の例としては、限定はしないが、C1q結合；CDC；Fc受容体結合；ADCC；ファゴサイトーシス；細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方調節；及びB細胞活性化が挙げられる。

【0182】

「T細胞エフェクター機能」は、限定はしないが、細胞傷害性T細胞、Tヘルパー細胞、及びメモリーT細胞をはじめとする様々な種類のT細胞に起因する生物活性のことをいう。T細胞エフェクター機能の例としては、T細胞増殖の増加、サイトカインの分泌、サイトトキシンの放出、膜結合型分子の発現、標的細胞の殺傷、マクロファージの活性化、及びB細胞の活性化が挙げられる。

10

【0183】

「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性」または「ADCC」は、特定の細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、及びマクロファージ）上に存在するFc受容体（FcR）に分泌型免疫グロブリンが結合することにより、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原担持標的細胞に特異的に結合し、続いてサイトトキシンにより標的細胞を死滅させることを可能にする、細胞傷害性の形態を指す。抗体は、細胞傷害性細胞を「武装」し、そのような殺傷には必須である。ADCCを媒介するための主要な細胞であるNK細胞は、FcRIIIのみを発現するが、一方で単球は、FcRI、FcRII、及びFcRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は公知である（例えば、Ravetch and Kinet, 1991, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92を参照）。目的の分子のADCC活性を評価するために、インビトロADCCアッセイ（例えば、米国特許第5,500,362号及び5,821,337号を参照）を実施することができる。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞が挙げられる。代替または追加として、目的の分子のADCC活性は、インビボで、例えば動物モデルにおいて評価され得る（例えば、Clynes et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 652-56を参照）。ADCC活性がほとんどまたは全くない抗体が選択して用いられ得る。

20

【0184】

「抗体依存性細胞ファゴサイトーシス」または「ADCP」は、特定のファゴサイトーシス細胞（例えば、好中球、単球、及びマクロファージ）上に存在するFc受容体（FcR）に免疫グロブリンが結合することにより、これらのファゴサイトーシス細胞が抗原担持標的細胞に特異的に結合し、続いて標的細胞を死滅させることを可能にする、単球またはマクロファージ媒介ファゴサイトーシスによる標的細胞の破壊のことをいう。目的の分子のADCP活性を評価するために、インビトロADCPアッセイ（例えば、Bracher et al., 2007, J. Immunol. Methods 323: 160-71を参照）を実施することができる。そのようなアッセイに有用なファゴサイトーシス細胞としては、末梢血単核細胞（PBMC）、PBMCから精製した単球、または単核型に分化したU937細胞が挙げられる。代替または追加として、目的の分子のADCP活性は、インビボで、例えば動物モデルにおいて評価され得る（例えば、Wallace et al., 2001, J. Immunol. Methods 248: 167-82を参照）。ADCP活性がほとんどまたは全くない抗体が選択して用いられ得る。

30

40

【0185】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を表す。例示的なFcRは天然配列ヒトFcRである。さらに、例示的なFcRは、IgG抗体に結合するもの（例えば、ガンマ受容体）であり、FcRI、FcRII、及びFcRIIIサブクラスを受容体が挙げられ、これらの受容体の対立遺伝子バリエーション及び選択的スプライシング形態も含む。FcRIII受容体には、FcRIIIA（「活性化受容体」）及びFcRIIB（「阻害受容体」）が含まれ、これらは、主にその細胞質ドメイン

50

が異なる類似のアミノ酸配列を有する(例えば、Daeron, 1997, Annu. Rev. Immunol. 15: 203-34を参照)。様々なFcRが公知である(例えば、Ravetch and Kinet, 1991, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92; Capel et al., 1994, Immunomethods 4: 25-34; 及びde Haas et al., 1995, J. Lab. Clin. Med. 126: 330-41を参照)。他のFcRも、将来同定されるものを含めて、本明細書における「FcR」という用語に包含される。この用語はまた、母体IgGの胎児への移送を担う胎児性受容体FcRnを含む(例えば、Guyer et al., 1976, J. Immunol. 117: 587-93; 及びKim et al., 1994, Eu. J. Immunol. 24: 2429-34を参照)。FcRへの結合が改善または減少された抗体バリエーションが記載されている(例えば、WO 2000/42072; 米国特許第7,183,387号; 7,332,581号; 及び7,335,742号; Shields et al. 2001, J. Biol. Chem. 9(2): 6591-604を参照)。

10

【0186】

「補体依存性細胞傷害性」または「CDC」とは、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。古典的補体経路の活性化は、コグネイト抗原に結合した(適当なサブクラスの)抗体への補体系の第1成分(C1q)の結合によって開始される。補体活性化を評価するために、CDCアッセイ(例えば、Gazzano-Santoro et al., 1996, J. Immunol. Methods 202: 163を参照)が実施され得る。Fc領域アミノ酸配列が改変されたポリペプチドバリエーション(バリエーションFc領域を有するポリペプチド)及びC1q結合能力の増加または低減が記載されている(例えば、米国特許第6,194,551号; WO 1999/51642; Idusogie et al., 2000, J. Immunol. 164: 4178-84を参照)。CDC活性がほとんどまたは全くない抗体が選択して用いられ得る。

20

【0187】

用語「同一性」とは、配列をアラインメントして比較することによって判定される、2つ以上のポリペプチド分子または2つ以上の核酸分子の配列間の関係のことをいう。参照ポリペプチド配列に対する「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、最大の配列同一性パーセントが得られるように配列をアライメントし、必要な場合はギャップを導入した後の、いかなる保存的置換も配列同一性の一部とみなさない、参照ポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアライメントは、当該技術分野における技術の範囲内である種々の方式で、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMEGALIGN(DNAStar, Inc.)ソフトウェアなどの、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較されている配列の完全長にわたる最大のアライメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアライメントするために適切なパラメータを決定することができる。

30

【0188】

アミノ酸残基/位の「改変」は、元のアミノ酸配列と比較した直線状アミノ酸配列の変化のことをいい、この変化は当該アミノ酸残基/位が関わる配列変異の結果生じる。例えば、典型的な改変としては、別のアミノ酸での残基の置換(例えば、保存的もしくは非保存的置換)、当該残基/位の隣への1つ以上(例えば、一般に5、4、もしくは3未満)のアミノ酸の挿入、及び/または当該残基/位の欠失が挙げられる。

40

【0189】

ポリペプチドとの関連において、用語「アナログ」は、本明細書で用いる場合、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または抗PD-1抗体に類似または同一の機能を有するポリペプチドのことをいうが、必ずしもPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体と類似もしくは同一のアミノ酸配列を含む

50

必要なく、またはPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体と類似もしくは同一の構造を有する必要はない。類似のアミノ酸配列を有するポリペプチドは、以下の少なくとも1つを満たすポリペプチドのことをいう：(a)本明細書で提供するPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体アミノ酸配列と少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、もしくは少なくとも99%同一のアミノ酸配列を有するポリペプチド；(b)少なくとも5アミノ酸残基、少なくとも10アミノ酸残基、少なくとも15アミノ酸残基、少なくとも20アミノ酸残基、少なくとも25アミノ酸残基、少なくとも30アミノ酸残基、少なくとも40アミノ酸残基、少なくとも50アミノ酸残基、少なくとも60アミノ酸残基、少なくとも70アミノ酸残基、少なくとも80アミノ酸残基、少なくとも90アミノ酸残基、少なくとも100アミノ酸残基、少なくとも125アミノ酸残基、もしくは少なくとも150アミノ酸残基の、本明細書に記載のPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体(もしくはそのVHもしくはVL領域)をコードするヌクレオチド配列に、ストリンジентな条件の下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド(例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2001); 及びManiatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1982)を参照)；または(c)本明細書に記載のPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体(もしくはそのVHもしくはVL領域)をコードするヌクレオチド配列と少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、もしくは少なくとも99%同一のヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド。本明細書で提供するPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または抗PD-1抗体と類似の構造を有するポリペプチドは、本明細書で提供するPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または抗PD-1抗体と類似の二次、三次、または四次構造を有するポリペプチドのことをいう。ポリペプチドの構造は、限定はしないが、X線結晶構造解析、核磁気共鳴、及び結晶学的電子顕微鏡法をはじめとする当業者にとって公知の方法によって決定することができる。

【0190】

ポリペプチドとの関連において、用語「誘導体」は、本明細書で用いる場合、アミノ酸残基置換、欠失、または付加の導入によって改変されている、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、またはPD-1ポリペプチドに結合する抗体のアミノ酸配列を含むポリペプチドのことをいう。用語「誘導体」は、本明細書で用いる場合、例えば、ポリペプチドへの任意のタイプの分子の共有結合によって、化学修飾されている、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、またはPD-1ポリペプチドに結合する抗体のこともいう。例えば、限定するものではないが、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または抗PD-1抗体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、公知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、化学的切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結などの増加または減少によって化学修飾され得る。誘導体は、付加される分子の種類または位置のいずれかが自然発生のまたは元のペプチドまたはポリペプチドとは異なるように修飾される。誘導体は、ペプチドまたはポリペプチド上に本来存在する1つ以上の化学基の欠失をさらに含む。さらに、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または抗PD-1抗体の誘導体は、1つ以上の非古典的アミノ酸を含有し得る。ポリペプチド誘導体は、本明細書で提供するPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または抗PD-1抗体と類似または同一の機能を有する。

【0191】

用語「宿主」は、本明細書で用いる場合、動物、例えば哺乳類（例えば、ヒト）などのことをいう。

【0192】

用語「宿主細胞」は、本明細書で用いる場合、核酸分子を形質移入され得る特定の対象細胞及びそのような細胞の子孫または潜在的な子孫のことをいう。そのような細胞の子孫は、世代を重ねるうちに生じ得る変異もしくは環境的な影響または宿主細胞ゲノム中への核酸分子の組み込みのために、核酸分子を形質移入された親細胞と同一でない場合がある。

【0193】

用語「ベクター」は、宿主細胞中に核酸配列を導入するために、例えば本明細書に記載の抗PD-1抗体をコードする核酸配列をはじめとする核酸配列を担持または包含するために用いられる物質のことをいう。使用可能なベクターとしては、例えば、発現ベクター、プラスミド、ファージベクター、ウイルスベクター、エピソーム、及び人工染色体が挙げられ、宿主細胞の染色体中への安定組み込みのために作用可能な選択配列またはマーカを含むことができる。加えて、ベクターは1つ以上の選択マーカ遺伝子及び適切な発現制御配列を含むことができる。包含させることのできる選択マーカ遺伝子は、例えば、抗生物質もしくはトキシンに対する耐性をもたらすか、栄養要求性欠損を補うか、または培養培地中にはない不可欠な栄養を供給する。発現制御配列としては、構成的プロモーター及び誘導性プロモーター、転写エンハンサー、転写ターミネーターなどを挙げることであり、当該技術分野において公知である。2つ以上の核酸分子を共発現させる場合（例えば、抗体重鎖及び軽鎖または抗体VH及びVLの両方）、両方の核酸分子を、例えば、単一の発現ベクター中に、または別々の発現ベクター中に挿入することができる。単一ベクター発現では、コーディング核酸は、1つの共通の発現制御配列に、または異なる発現制御配列、例えば1つの誘導性プロモーター及び1つの構成的プロモーターなどに作用的に連結させることができる。宿主細胞内への核酸分子の導入は、当該技術分野において公知の方法を用いて確認することができる。そのような方法としては、例えば、核酸分析、例えばmRNAのノーザンブロットもしくはポリメラーゼ連鎖反応（PCR）増幅、遺伝子産物の発現に対するイムノブロッティングなど、または導入された核酸配列もしくはその対応する遺伝子産物の発現を試験するための他の好適な分析法が挙げられる。核酸分子は、所望の産生物（例えば、本明細書に記載の抗PD-1抗体）を産生するのに十分な量で発現させることが当業者には理解されており、さらに、当該技術分野において公知の方法を用いて、十分な発現を得るために発現レベルを最適化することができる」と理解されている。

【0194】

「単離核酸」は、他のゲノムDNA配列、ならびに天然配列に本来付随するタンパク質または複合体、例えばリボソーム及びポリメラーゼなどから実質的に分離されている核酸、例えばRNA、DNA、または混合核酸である。「単離」核酸分子は、その核酸分子の天然起源中に存在する他の核酸分子から分離されているものである。さらに、「単離」核酸分子、例えばcDNA分子などは、組換え技術によって産生した場合には他の細胞物質、もしくは培養培地を実質的に含まないか、または化学合成した場合には化学的前駆体もしくは他の化学薬品を実質的に含まないことができる。具体的な実施形態において、本明細書に記載の抗体をコードする1つ以上の核酸分子は単離または精製される。この用語は、その自然発生環境から取り出された核酸配列を包含し、組換えまたはクローン化DNA単離体及び化学合成アナログまたは異種系によって生物学的に合成したアナログが含まれる。実質的に純粋な分子にはその分子の単離形態が含まれ得る。

【0195】

本明細書において同義的に用いられる、「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドもしくは塩基、及び/またはそれらのアナログ、またはDNAもしくはRNAポリメラーゼにより、もしくは合成

10

20

30

40

50

反応によりポリマーに組み込むことができる任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びそのアナログなどの修飾ヌクレオチドを含んでよい。本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」は、短い、一般に一本鎖の合成ポリヌクレオチドのことをいい、必ずしもそうとは限らないが、一般に約200ヌクレオチド長未満である。「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」という用語は、相互排他的ではない。ポリヌクレオチドに関する上記の説明は、等しく完全にオリゴヌクレオチドに適用可能である。本開示の抗PD-1抗体を産生する細胞としては、抗体をコードする核酸が導入された親ハイブリドーマ細胞ならびに細菌及び真核宿主細胞が挙げられ得る。好適な宿主細胞は下記で開示する。

【0196】

別途明記しない限り、本明細書に開示のいずれの一本鎖ポリヌクレオチド配列の左端も5'末端であり、二本鎖ポリヌクレオチド配列の左方向を5'方向と呼ぶ。新生RNA転写物が5'から3'へ付加される方向を転写方向と呼び、RNA転写物と同じ配列を有するDNA鎖上の配列領域で5'からRNA転写物の5'末端までを「上流配列」と呼び、RNA転写物と同じ配列を有するDNA鎖上の配列領域で3'からRNA転写物の3'末端までを「下流配列」と呼ぶ。

【0197】

用語「コーディング核酸」またはその文法的同義語は、核酸分子に関して用いる場合、転写してmRNAを産生することができ、その後、ポリペプチド及び/またはその断片に翻訳される、天然状態の、または当業者に公知の方法によって操作された核酸分子のことをいう。アンチセンス鎖はそのような核酸分子の相補鎖であり、それからコーディング配列を推測することができる。

【0198】

用語「組換え抗体」は、組換え手段によって調製、発現、作製、または単離される抗体のことをいう。組換え抗体は、宿主細胞に形質移入した組換え発現ベクターを用いて発現させた抗体、組換えコンビナトリアル抗体ライブラリーから単離された抗体、ヒト免疫グロブリン遺伝子で遺伝子導入及び/または染色体導入した動物（例えば、マウスもしくはウシ）から単離した抗体（例えば、Taylor et al., 1992, Nucleic Acids Res. 20:6287-95を参照）、または他のDNA配列への免疫グロブリン遺伝子配列のスプライシングを伴う任意の他の手段によって調製、発現、作製、もしくは単離された抗体とすることができる。そのような組換え抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列（Kabataら（上記）を参照）に由来するものをはじめとする可変及び定常領域を有することができる。しかし、ある実施形態において、そのような組換え抗体には、インビトロ変異誘発（または、ヒトIg配列を遺伝子導入した動物を用いる場合は、インビボ体細胞変異誘発）が実施され得るので、組換え抗体のVH及びVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系VH及びVL配列に由来及び関連するが、インビボでのヒト抗体生殖細胞系レパートリー中に天然で存在しない場合がある配列である。

【0199】

用語「検出可能なプローブ」は、検出可能なシグナルを発生させる組成物のことをいう。この用語は、限定はしないが、その活性によって検出可能なシグナルを発生させる任意の蛍光団、発色団、放射線標識、酵素、抗体または抗体断片などを含む。

【0200】

用語「検出可能な剤」は、試料または対象中の所望の分子、例えば本明細書に記載の抗PD-1抗体などの実在または存在を確認するために用いることのできる物質のことをいう。検出可能な剤は、可視化することが可能な物質または別の方法で（例えば定量によって）判定及び/または測定することが可能な物質とすることができる。

【0201】

用語「診断薬」は、疾患、障害、または病態の診断に役立つ、対象に投与される物質のことをいう。そのような物質は、疾患誘発プロセスの所在を明らかにする、正確な位置を示す、及び/または確定するために用いることができる。ある実施形態において、診断薬

10

20

30

40

50

としては、本明細書に記載の抗PD-1抗体に結合させた物質で、対象に投与した場合または対象由来の試料と接触させた場合に、PD-1媒介疾患の診断に役立つものが挙げられる。

【0202】

用語「組成物」は、特定の成分（例えば、本明細書で提供する抗体）を、任意により特定の量で含有する生成物を包含することを意図する。

【0203】

本明細書で使用される「担体」には、用いられる投与量及び濃度でそれに曝露されている細胞または哺乳類にとって無毒である、医薬品として許容可能な担体、賦形剤、または安定剤が含まれる。多くの場合、生理的に許容される担体はpH緩衝水溶液である。生理的に許容される担体の例としては、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量（約10アミノ酸残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、もしくはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む、単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；マンニトールもしくはソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；及び/またはTWEEN（商標）、ポリエチレングリコール（PEG）、及びPLURONICS（商標）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。用語「担体」は、希釈剤、アジュバント（例えば、フロイントアジュバント（完全もしくは不完全））、賦形剤、または媒体とすることもできる。医薬品担体をはじめとするそのような担体は、無菌液体、例えば、水、及び石油、動物、植物、または合成起源のものをはじめとする油、例えばピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油などとすることができる。組成物（例えば医薬組成物）が静脈内投与される場合、水が典型的な担体である。生理食塩水ならびにデキストロース及びグリセロールの水溶液も、特に注射溶液用の液体担体として用いることができる。好適な賦形剤（例えば医薬品賦形剤）としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、白亜、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。組成物は、必要に応じて、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含有することもできる。組成物は、溶液、懸濁液、乳濁液、錠剤、丸薬、カプセル、粉末、徐放性製剤などの形態をとることができる。製剤をはじめとする経口組成物は、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどの標準的な担体を含むことができる。好適な医薬品担体の例は、Remington and Genaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990)に記載されている。医薬品化合物をはじめとする組成物は、好適な量の担体と共に、例えば単離または精製形態の抗PD-1抗体を含有し得る。

【0204】

本明細書で用いる場合、用語「医薬品として許容可能」は、動物、特にヒトにおける使用について、連邦もしくは州政府の規制機関によって承認されているか、または米国薬局方、欧州薬局方、もしくは他の一般に認知されている薬局方に記載されていることを意味する。

【0205】

用語「賦形剤」は、一般に希釈剤、媒体、保存剤、結合剤、または安定剤として用いられる不活性物質のことをいい、限定はしないが、タンパク質（例えば、血清アルブミンなど）、アミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸、リシン、アルギニン、グリシン、ヒスチジンなど）、脂肪酸及びリン脂質（例えば、アルキルスルホネート、カプリレートなど）、界面活性剤（例えば、SDS、ポリソルベート、非イオン性界面活性剤など）、糖類（例えば、スクロース、マルトース、トレハロースなど）、及びポリオール（例

10

20

30

40

50

えば、マンニトール、ソルビトールなど)が挙げられる。Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990)も参照されたいが、その全体を参照により本明細書に援用する。

【0206】

用語「対象」及び「患者」は同じ意味で用いられ得る。本明細書で用いる場合、ある実施形態において、対象は、哺乳類、例えば非霊長類(例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラットなど)または霊長類(例えば、サル及びヒト)などである。具体的な実施形態において、対象はヒトである。

【0207】

「投与する」または「投与」は、例えば、粘膜、皮内、静脈内、筋肉内送達、及び/または本明細書に記載の、もしくは当該技術分野において公知の物理的送達の任意の他の方法などによって、体外に存在する物質(例えば、本明細書に記載の抗PD-1抗体)を患者に注入する、または別の方法で物理的に送達する行為のことをいう。

【0208】

用語「有効量」は、本明細書で用いる場合、所望の結果をもたらすのに十分な、本明細書で提供する抗体または医薬組成物の量のことをいう。

【0209】

用語「約」及び「およそ」は、所与の値または範囲の20%以内、15%以内、10%以内、9%以内、8%以内、7%以内、6%以内、5%以内、4%以内、3%以内、2%以内、1%以内、またはこれ未満を意味する。

【0210】

「実質的にすべて」は、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%のことをいう。

【0211】

「実質的に同様の」または「実質的に同じ」という表現は、当業者が、2つの値の間の差はその値(例えば、 K_D 値)によって測定される生物学的特徴に関して生物学的及び/または統計的有意性がほとんどまたは全くないと考えるほど、2つの数値(例えば、一方が本開示の抗体に関連し、他方が参照抗体に関連する)の間の類似性が十分に高いことを表す。例えば、2つの値の間の差は、参照抗体についての値に応じて、約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満、約10%未満、または約5%未満であり得る。

【0212】

「実質的に増加」、「実質的に減少」、または「実質的に異なる」という表現は、本明細書で用いる場合、当業者が、2つの値の間の差はその値によって測定される生物学的特徴に関して統計的有意であると考えられるほど、2つの数値(例えば、一方が本開示の抗体に関連し、他方が参照抗体に関連する)の間の差が十分に大きいことを表す。例えば、その2つの値の間の差は、参照抗体についての値に応じて、約10%超、約20%超、約30%超、約40%超、または約50%超であり得る。

【0213】

4.3 組成物及びその作製方法

本明細書では、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープに結合する抗体を提供する。

【0214】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗体はヒト及び/またはカニクイザルPD-1に結合する。一実施形態において、PD-1抗体はヒトPD-1に結合する。一実施形態において、PD-1抗体はカニクイザルPD-1に結合する。一実施形態において、PD-1抗体はヒトPD-1及びカニクイザルPD-1の両方に結合する。他の実施形態

10

20

30

40

50

において、本明細書で提供する抗体はげっ歯類PD-1に結合しない。

【0215】

いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1の細胞外ドメイン(ECD)に結合する。ある実施形態において、抗PD-1抗体は、PD-L1結合部位と異なるPD-1のECD中のエピトープに結合する。ある実施形態において、抗PD-1抗体は、PD-L2結合部位と異なるPD-1のECD中のエピトープに結合する。ある実施形態において、抗PD-1抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるPD-1のECD中のエピトープに結合する。

【0216】

本明細書で提供する抗PD-1抗体のPD-1ポリペプチドへの結合を競合的に遮断する抗体も提供する。

10

【0217】

PD-1ポリペプチドへの結合について本明細書で提供する抗PD-1抗体と競合する抗体も提供する。

【0218】

いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへのPD-L1の結合を遮断しない。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへのPD-L2の結合を遮断しない。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへのPD-L1またはPD-L2の結合を遮断しない。

【0219】

20

いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへの結合についてPD-L1と競合しない。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへの結合についてPD-L2と競合しない。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへの結合についてPD-L1またはPD-L2と競合しない。

【0220】

ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。

30

【0221】

本明細書で提供する抗PD-1抗体は、例えば診断薬または検出可能な剤に結合または組換え融合させることもできる。抗PD-1抗体を含む組成物をさらに提供する。

【0222】

本明細書では、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープに結合する抗PD-1抗体の免疫グロブリン重鎖、軽鎖、VH領域、VL領域、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3をコードする単離核酸分子も提供する。

【0223】

PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープに結合する抗PD-1抗体をコードする核酸分子を含むベクター及び宿主細胞をさらに提供する。PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープに結合する抗体の作製方法も提供する。

40

【0224】

4.3.1 抗PD-1抗体

一実施形態において、本開示は、本明細書において診断薬として有用となり得る抗PD-1抗体を提供する。例示的な抗体としては、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、ヒト、二重特異性、及びヘテロコンジュゲート抗体、ならびにアフィニティーまたは他の特性が向上したこれらのパリアントが挙げられる。

【0225】

50

いくつかの実施形態において、本明細書では、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープをはじめとするPD-1に結合する抗体を提供する。ある実施形態において、本明細書で提供する抗体はヒト及び/またはカニクイザルPD-1に結合する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体はげっ歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）に結合しない。一実施形態において、本明細書で提供する抗体はヒトPD-1に結合する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体はカニクイザルPD-1に結合する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体はヒトPD-1及びカニクイザルPD-1に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体はヒトPD-1に結合し、げっ歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体はカニクイザルPD-1に結合し、げっ歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、ヒトPD-1に結合し、カニクイザルPD-1に結合し、げっ歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへのPD-L1の結合を遮断しない。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへのPD-L2の結合を遮断しない。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体はPD-1ポリペプチドへのPD-L1またはPD-L2の結合を遮断しない。他の実施形態において、抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープをはじめとするPD-1に結合するヒト化抗体（例えば、ヒト定常領域を含む）である。

10

20

【0226】

ある実施形態において、抗PD-1抗体は、本明細書で提供するマウスモノクローナル抗体の任意の1つのVH領域、VL領域、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3、例えば表1~6に示すアミノ酸配列などを含む。したがって、いくつかの実施形態において、本明細書で提供する単離抗体またはその機能的断片は、以下からの1、2、及び/または3つの重鎖CDR、及び/または1、2、及び/または3つの軽鎖CDRを含む：表1~2に示すような、(a)抗体PD1AB-1、(b)抗体PD1AB-2、(c)抗体PD1AB-3、(d)抗体PD1AB-4、(e)抗体PD1AB-5、または(f)抗体PD1AB-6。

30

表1.VL CDRアミノ酸配列

【表2】

| 抗体 | VL CDR1 (配列番号) | VL CDR2 (配列番号) | VL CDR3 (配列番号) |
|---------|------------------------------|--------------------|---------------------|
| PD1AB-1 | KSGQSVLYSSNQKNFLA (配列番号1) | WASTRES (配列番号2) | HQYLYSWT (配列番号3) |
| PD1AB-2 | KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号7) | WASTRES (配列番号2) | HQYLYSWT (配列番号3) |
| PD1AB-3 | KSGQSVLYSSNQKNFLA (配列番号1) | WASTRES (配列番号2) | HQYLYSWT (配列番号3) |
| PD1AB-4 | KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号7) | WASTRES (配列番号2) | HQYLYSWT (配列番号3) |
| PD1AB-5 | KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号7) | WASTRES (配列番号2) | HQYLYSWT (配列番号3) |
| PD1AB-6 | KSGQSVLYSSNQKNFLA (配列番号1) | WASTRES (配列番号2) | HQYLYSWT (配列番号3) |

40

表2.VH CDRアミノ酸配列

【表 3】

| 抗体 | VH CDR1 (配列番号) | VH CDR2 (配列番号) | VH CDR3 (配列番号) |
|---------|------------------------|------------------------|-----------------------------|
| PD1AB-1 | GFNIKDTYMH (配列番号 4) | RIDPANGDRK (配列番号 5) | SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号 6) |
| PD1AB-2 | GFNIKDTYMH (配列番号 4) | RIDPANGDRK (配列番号 5) | SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号 6) |
| PD1AB-3 | GFNIKDTYMH (配列番号 4) | RIDPANGDRK (配列番号 5) | SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号 6) |
| PD1AB-4 | GFNIKDTYMH (配列番号 4) | RIDPANGDRK (配列番号 5) | SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号 6) |
| PD1AB-5 | GFNIKDTYMH (配列番号 4) | RIDPANGDRK (配列番号 5) | SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号 6) |
| PD1AB-6 | GFNIKDTYMH (配列番号 4) | RIDPANGDRK (配列番号 5) | SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号 6) |

10

【 0 2 2 7 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、6つのCDR、例えば、表1～2で特定したVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3を含むかまたはそれらからなる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は6つ未満のCDRを含むことができる。いくつかの実施形態において、抗体は、表1～2で特定したVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3からなる群から選択される1、2、3、4、または5つのCDRを含むかまたはそれらからなる。いくつかの実施形態において、抗体は、以下からなる群から選択されるモノクローナル抗体のVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3からなる群から選択される1、2、3、4、または5つのCDRを含むかまたはそれらからなる：本明細書に記載の(a)抗体PD1AB-1、(b)抗体PD1AB-2、(c)抗体PD1AB-3、(d)抗体PD1AB-4、(e)抗体PD1AB-5、及び(f)抗体PD1AB-6。したがって、いくつかの実施形態において、抗体は、表1～2で特定したVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3のいずれかの1、2、3、4、または5つのCDRを含むかまたはそれらからなる。

20

30

【 0 2 2 8 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、表2に記載した1つ以上(例えば1、2、または3)のVH CDRを含む。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、表1に記載した1つ以上(例えば1、2、または3)のVL CDRを含む。さらに他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、表2に記載した1つ以上(例えば1、2、または3)のVH CDR及び表1に記載した1つ以上のVL CDRを含む。したがって、いくつかの実施形態において、抗体は配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1を含む。いくつかの実施形態において、抗体は配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2を含む。いくつかの実施形態において、抗体は配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、表2に示すようなVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3アミノ酸配列(複数可)の任意の1つから独立して選択されるVH CDR1及び/またはVH CDR2及び/またはVH CDR3を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号1及び7の任意の1つのアミノ酸配列を有するVL CDR1を含む。別の実施形態において、抗体は配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2を含む。いくつかの実施形態において、抗体は配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、表1に示すようなVL CDR1、VL CDR2、VL

40

50

CDR3アミノ酸配列の任意の1つから独立して選択されるVL CDR1及び/またはVL CDR2及び/またはVL CDR3を含む。

【0229】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗体は、以下を含むVH領域：(1)配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1；(2)配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2；及び(3)配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3；ならびに以下を含むVL領域：(1)配列番号1のアミノ酸配列を有するVL CDR1；(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2；及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含む。

【0230】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗体は、以下を含むVH領域：(1)配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1；(2)配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2；及び(3)配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3；ならびに以下を含むVL領域：(1)配列番号7のアミノ酸配列を有するVL CDR1；(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2；及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含む。

【0231】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、以下を含むVH領域を含む：(1)配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1；(2)配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2；及び(3)配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3。

【0232】

他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、以下を含むVL領域を含む：(1)配列番号1のアミノ酸配列を有するVL CDR1；(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2；及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3。

【0233】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、以下を含むVL領域を含む：(1)配列番号7のアミノ酸配列を有するVL CDR1；(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2；及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3。

【0234】

本明細書では、表1～2に記載した1つ以上(例えば1、2、または3)のVH CDR及び1つ以上(例えば1、2、または3)のVL CDRを含む抗体も提供する。特に、本明細書ではVH CDR1(配列番号4)及びVL CDR1(配列番号1または7)を含む抗体を提供する。一実施形態において、抗体はVH CDR1(配列番号4)及びVL CDR2(配列番号2)を含む。他の実施形態において、抗体はVH CDR1(配列番号4)及びVL CDR3(配列番号3)を含む。別の実施形態において、抗体はVH CDR2(配列番号5)及びVL CDR1(配列番号1または7)を含む。いくつかの実施形態において、抗体はVH CDR2(配列番号5)及びVL CDR2(配列番号2)を含む。一実施形態において、抗体はVH CDR2(配列番号5)及びVL CDR3(配列番号3)を含む。別の実施形態において、抗体はVH CDR3(配列番号6)及びVL CDR1(配列番号1または7)を含む。他の実施形態において、抗体はVH CDR3(配列番号6)及びVL CDR2(配列番号2)を含む。いくつかの実施形態において、抗体はVH CDR3(配列番号6)及びVL CDR3(配列番号3)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH CDR1(配列番号4)、VH CDR2(配列番号5)、及びVL CDR1(配列番号1または7)を含む。一実施形態において、抗体は、VH CDR1(配列番号4)、VH CDR2(配列番号5)、及びVL CDR2(配列番号2)を含む。他の実施形態において、抗体は、VH CDR1(配列番号4)、VH CDR2(配列番号5)、及びVL CDR3(配列番号

10

20

30

40

50

R3 (配列番号3)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH CDR1 (配列番号4)、VH CDR2 (配列番号5)、VH CDR3 (配列番号6)、VL CDR1 (配列番号1または7)、及びVL CDR2 (配列番号2)を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH CDR1 (配列番号4)、VH CDR2 (配列番号5)、VH CDR3 (配列番号6)、VL CDR1 (配列番号1または7)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。一実施形態において、抗体は、VH CDR1 (配列番号4)、VH CDR2 (配列番号5)、VH CDR3 (配列番号6)、VL CDR2 (配列番号2)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH CDR1 (配列番号4)、VH CDR2 (配列番号5)、VL CDR1 (配列番号1または7)、VL CDR2 (配列番号2)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。他の実施形態において、抗体は、VH CDR1 (配列番号4)、VH CDR3 (配列番号6)、VL CDR1 (配列番号1または7)、VL CDR2 (配列番号2)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH CDR2 (配列番号5)、VH CDR3 (配列番号6)、VL CDR1 (配列番号1または7)、VL CDR2 (配列番号2)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH CDR1 (配列番号4)、VL CDR1 (配列番号1または7)、VL CDR2 (配列番号2)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。一実施形態において、抗体は、VH CDR2 (配列番号5)、VL CDR1 (配列番号1または7)、VL CDR2 (配列番号2)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。他の実施形態において、抗体は、VH CDR3 (配列番号6)、VL CDR1 (配列番号1または7)、VL CDR2 (配列番号2)、及びVL CDR3 (配列番号3)を含む。別の実施形態において、抗体は、表1~2に記載したVH CDR及びVL CDRのその任意の組合せを含む。

10

20

【0235】

さらに別の態様において、本明細書に開示のCDRとしては、関連抗体の群に由来するコンセンサス配列が挙げられる(例えば、表1~2を参照)。本明細書に記載する場合、「コンセンサス配列」は、複数の配列の間で共通の保存アミノ酸及び所与のアミノ酸配列内で変化する可変アミノ酸を有するアミノ酸配列のことをいう。

【0236】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する単離抗体またはその機能的断片は、以下からの1、2、3、及び/または4つの重鎖FR、及び/または1、2、3、及び/または4つの軽鎖FRをさらに含む:表3~4に示すような、(a)抗体PD1AB-1、(b)抗体PD1AB-2、(c)抗体PD1AB-3、(d)抗体PD1AB-4、(e)抗体PD1AB-5、または(f)抗体PD1AB-6。

30

表3.VL FRアミノ酸配列

【表 4】

| 抗体 | VL FR1 (配列番号) | VL FR2 (配列番号) | VL FR3 (配列番号) | VL FR4 (配列番号) |
|---------|--|------------------------------|---|-----------------------------|
| PD1AB-1 | DIVMTQSPDSLAVS LGERATINC (配列番号 14) | WYQQKPGQPPKLLIY (配列番号 15) | GVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYC(配列番号 16) | FGQGTKLEIKR (配列番号 17) |
| PD1AB-2 | DIVMTQSPDSLAVS LGERATINC (配列番号 14) | WYQQKPGQPPKLLIY (配列番号 15) | GVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYC(配列番号 16) | FGQGTKLEIKR (配列番号 17) |
| PD1AB-3 | DIVMTQSPDSLAVS LGERATINC (配列番号 14) | WYQQKPGQPPKLLIY (配列番号 15) | GVPDRFSGSGSGTDFTL TISNLQAEDVAVYYC(配列番号 18) | FGQGTKLEIKR (配列番号 17) |
| PD1AB-4 | DIVMTQSPDSLAVS LGERATINC (配列番号 14) | WYQQKPGQPPKLLIY (配列番号 15) | GVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYC(配列番号 16) | FGQGTKLEIKR (配列番号 17) |
| PD1AB-5 | DIVMTQSPDSLAVS LGERATINC (配列番号 14) | WYQQKPGQPPKLLIY (配列番号 15) | GVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYC(配列番号 16) | FGQGTKLEIKR (配列番号 17) |
| PD1AB-6 | DIVMTQSPDSLAVS LGERATINC (配列番号 14) | WYQQKPGQPPKLLIY (配列番号 15) | GVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYC(配列番号 16) | FGQGTKLEIKR (配列番号 17) |

10

20

表 4 . V H F R アミノ酸配列

【表 5】

| 抗体 | VH FR1 (配列番号) | VH FR2 (配列番号) | VH FR3 (配列番号) | VH FR4 (配列番号) |
|---------|--|--------------------------|--|---------------------------|
| PD1AB-1 | EVQLVQSGAEVKKP GATVKISCKVS (配列番号 19) | WVQQAPGKGLEWMG (配列番号 20) | YDPKFQGRVTITADTST DTAYMELSSLRSED TAV YYCAR (配列番号 21) | WGQGTITVTVSS (配列番号 22) |
| PD1AB-2 | EVQLVQSGAEVKKP GATVKISCKVS (配列番号 19) | WVQQAPGKGLEWMG (配列番号 20) | YDPKFQGRVTITADTST DTAYMELSSLRSED TAV YYCAR (配列番号 21) | WGQGTITVTVSS (配列番号 22) |
| PD1AB-3 | EVQLVQSGAEVKKP GATVKISCKVS (配列番号 19) | WVQQAPGKGLEWMG (配列番号 20) | YDPKFQGRVTITADTST NTAYMELSSLRSED TAV YYCAR (配列番号 23) | WGQGTITVTVSS (配列番号 22) |
| PD1AB-4 | EVQLVQSGAEVKKP GATVKISCKVS (配列番号 19) | WVQQAPGKGLEWMG (配列番号 20) | YDPKFQGRVTITADTST NTAYMELSSLRSED TAV YYCAR (配列番号 23) | WGQGTITVTVSS (配列番号 22) |
| PD1AB-5 | EVQLVQSGAEVKKP GATVKISCKAS (配列番号 24) | WVQQAPGKGLEWMG (配列番号 20) | YDPKFQGRVTITADTST DTAYMELSSLRSED TAV YYCAR (配列番号 21) | WGQGTITVTVSS (配列番号 22) |
| PD1AB-6 | EVQLVQSGAEVKKP GATVKISCKAS (配列番号 24) | WVQQAPGKGLEWMG (配列番号 20) | YDPKFQGRVTITADTST DTAYMELSSLRSED TAV YYCAR (配列番号 21) | WGQGTITVTVSS (配列番号 22) |

10

20

30

【 0 2 3 7 】

ある実施形態において、本明細書で提供する単離抗体またはその機能的断片は、以下からの 1、2、3、及び/または 4 つの重鎖 FR をさらに含む：表 4 に示すような、(a) 抗体 PD1AB-1、(b) 抗体 PD1AB-2、(c) 抗体 PD1AB-3、(d) 抗体 PD1AB-4、(e) 抗体 PD1AB-5、または (f) 抗体 PD1AB-6。いくつかの実施形態において、抗体重鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-1 からのものである。いくつかの実施形態において、抗体重鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-2 からのものである。他の実施形態において、抗体重鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-3 からのものである。ある実施形態において、抗体重鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-4 からのものである。他の実施形態において、抗体重鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-5

40

【 0 2 3 8 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する単離抗体またはその機能的断片は、以下からの 1、2、3、及び/または 4 つの軽鎖 FR をさらに含む：表 3 に示すような、(a) 抗体 PD1AB-1、(b) 抗体 PD1AB-2、(c) 抗体 PD1AB-3、(d) 抗体 PD1AB-4、(e) 抗体 PD1AB-5、または (f) 抗体 PD1AB-6。いくつかの実施形態において、抗体軽鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-1 からのものである。いくつかの実施形態において、抗体軽鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-2 からのものである。他の実施形態において、抗体軽鎖 FR (複数可) は抗体 PD1AB-

50

3 からのものである。ある実施形態において、抗体軽鎖 F R (複数可) は抗体 P D 1 A B - 4 からのものである。他の実施形態において、抗体軽鎖 F R (複数可) は抗体 P D 1 A B - 5 からのものである。別の実施形態において、抗体軽鎖 F R (複数可) は抗体 P D 1 A B - 6 からのものである。

【 0 2 3 9 】

ある実施形態において、本明細書に記載の抗体またはその断片は、以下を含む V H 領域を含む：(1) 配列番号 1 9 及び 2 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V H F R 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する V H F R 2 ; (3) 配列番号 2 1 及び 2 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V H F R 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する V H F R 4 。ある実施形態において、本明細書に記載の抗体またはその断片は、以下を含む V H 領域を含む：(1) 配列番号 1 9 のアミノ酸を有する V H F R 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する V H F R 2 ; (3) 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する V H F R 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する V H F R 4 。ある実施形態において、本明細書に記載の抗体またはその断片は、以下を含む V H 領域を含む：(1) 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する V H F R 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する V H F R 2 ; (3) 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する V H F R 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する V H F R 4 。ある実施形態において、本明細書に記載の抗体またはその断片は、以下を含む V H 領域を含む：(1) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する V H F R 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する V H F R 2 ; (3) 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する V H F R 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する V H F R 4 。ある実施形態において、本明細書に記載の抗体またはその断片は、以下を含む V H 領域を含む：(1) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する V H F R 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する V H F R 2 ; (3) 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する V H F R 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する V H F R 4 。具体的な実施形態において、抗体は、上で参照した V H F R 1 、 V H F R 2 、 V H F R 3 、 及び V H F R 4 の 4 つすべてを含む V H 領域を含む。

【 0 2 4 0 】

したがって、いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 1 9 及び 2 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V H F R 1 を含む V H 領域を含む。一実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する V H F R 1 を含む V H 領域を含む。一実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する V H F R 1 を含む V H 領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する V H F R 2 を含む V H 領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 2 1 及び 2 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V H F R 3 を含む V H 領域を含む。一実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する V H F R 3 を含む V H 領域を含む。一実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する V H F R 3 を含む V H 領域を含む。他の実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する V H F R 4 を含む V H 領域を含む。

【 0 2 4 1 】

ある実施形態において、本明細書に記載の抗体またはその断片は、以下を含む V L 領域を含む：(1) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する V L F R 1 ; (2) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する V L F R 2 ; (3) 配列番号 1 6 及び 1 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V L F R 3 ; 及び / または (4) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する V L F R 4 。いくつかの実施形態において、V L 領域は以下を含む：(1) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する V L F R 1 ; (2) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する V L F R 2 ; (3) 配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する V L F R 3 ; 及び / または (4) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する V L F R 4 。他の実施形態にお

10

20

30

40

50

いて、V L領域は以下を含む：(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するV L F R 1；(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するV L F R 2；(3)配列番号18のアミノ酸配列を有するV L F R 3；及び/または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するV L F R 4。

【0242】

したがって、いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号14のアミノ酸配列を有するV L F R 1を含むV L領域を含む。ある実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を有するV L F R 2を含むV L領域を含む。他の実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号16及び18からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するV L F R 3を含むV L領域を含む。一実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号16のアミノ酸配列を有するV L F R 3を含むV L領域を含む。他の実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号18のアミノ酸配列を有するV L F R 3を含むV L領域を含む。さらに他の実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を有するV L F R 4を含むV L領域を含む。

10

【0243】

ある実施形態において、本明細書に記載の抗体またはその断片は、V H領域及びV L領域を含み、V H領域は以下を含み：(1)配列番号19及び24からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するV H F R 1；(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するV H F R 2；(3)配列番号21及び23からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するV H F R 3；及び/または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するV H F R 4；V L領域は以下を含む：(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するV L F R 1；(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するV L F R 2；(3)配列番号16及び18からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するV L F R 3；及び/または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するV L F R 4。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照したV H F R 1、V H F R 2、V H F R 3、及びV H F R 4の4つすべてを含むV H領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照したV L F R 1、V L F R 2、V L F R 3、及びV L F R 4の4つすべてを含むV L領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照したV H F R 1、V H F R 2、V H F R 3、及びV H F R 4の4つすべてを含むV H領域、ならびに上で参照したV L F R 1、V L F R 2、V L F R 3、及びV L F R 4の4つすべてを含むV L領域を含む。

20

30

【0244】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、V H領域及びV L領域を含み、V H領域は以下を含み：(1)配列番号19のアミノ酸配列を有するV H F R 1；(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するV H F R 2；(3)配列番号21のアミノ酸配列を有するV H F R 3；及び/または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するV H F R 4；V L領域は以下を含む：(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するV L F R 1；(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するV L F R 2；(3)配列番号16のアミノ酸配列を有するV L F R 3；及び/または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するV L F R 4。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照したV H F R 1、V H F R 2、V H F R 3、及びV H F R 4の4つすべてを含むV H領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照したV L F R 1、V L F R 2、V L F R 3、及びV L F R 4の4つすべてを含むV L領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照したV H F R 1、V H F R 2、V H F R 3、及びV H F R 4の4つすべてを含むV H領域、ならびに上で参照したV L F R 1、V L F R 2、V L F R 3、及びV L F R 4の4つすべてを含むV L領域を含む。

40

【0245】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、V H領域及びV L領域を含み、V H領域は以下を含み：(1)配列番号19のアミノ酸配列を有するV H F R 1；(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するV H F R 2；(3)配列番号21のアミノ酸配列を有するV H F R 3；及び/または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するV H

50

FR 4 ; VL 領域は以下を含む： (1) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する VL FR 1 ; (2) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する VL FR 2 ; (3) 配列番号 1 8 のアミノ酸配列を有する VL FR 3 ; 及び / または (4) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照した VH FR 1 、 VH FR 2 、 VH FR 3 、 及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照した VL FR 1 、 VL FR 2 、 VL FR 3 、 及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照した VH FR 1 、 VH FR 2 、 VH FR 3 、 及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上で参照した VL FR 1 、 VL FR 2 、 VL FR 3 、 及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。

10

【 0 2 4 6 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、VH 領域及び VL 領域を含み、VH 領域は以下を含み： (1) 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する VH FR 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する VH FR 2 ; (3) 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する VH FR 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 ; VL 領域は以下を含む： (1) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する VL FR 1 ; (2) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する VL FR 2 ; (3) 配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する VL FR 3 ; 及び / または (4) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照した VH FR 1 、 VH FR 2 、 VH FR 3 、 及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照した VL FR 1 、 VL FR 2 、 VL FR 3 、 及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照した VH FR 1 、 VH FR 2 、 VH FR 3 、 及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上で参照した VL FR 1 、 VL FR 2 、 VL FR 3 、 及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。

20

【 0 2 4 7 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、VH 領域及び VL 領域を含み、VH 領域は以下を含み： (1) 配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する VH FR 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する VH FR 2 ; (3) 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する VH FR 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 ; VL 領域は以下を含む： (1) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する VL FR 1 ; (2) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する VL FR 2 ; (3) 配列番号 1 8 のアミノ酸配列を有する VL FR 3 ; 及び / または (4) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照した VH FR 1 、 VH FR 2 、 VH FR 3 、 及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照した VL FR 1 、 VL FR 2 、 VL FR 3 、 及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照した VH FR 1 、 VH FR 2 、 VH FR 3 、 及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上で参照した VL FR 1 、 VL FR 2 、 VL FR 3 、 及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。

30

40

【 0 2 4 8 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、VH 領域及び VL 領域を含み、VH 領域は以下を含み： (1) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する VH FR 1 ; (2) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する VH FR 2 ; (3) 配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する VH FR 3 ; 及び / または (4) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 ; VL 領域は以下を含む： (1) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する VL FR 1 ; (2) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を有する VL FR 2 ; (3) 配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する VL FR 3 ; 及び / または (4) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照した VH FR 1 、 VH FR 2 、 VH FR 3 、 及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。

50

他の実施形態において、抗体は、上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照したVH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及びVH FR 4の4つすべてを含むVH領域、ならびに上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。

【0249】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、VH領域及びVL領域を含み、VH領域は以下を含み：(1)配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR 1；(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR 2；(3)配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR 3；及び/または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR 4；VL領域は以下を含む：(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR 1；(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するVL FR 2；(3)配列番号18のアミノ酸配列を有するVL FR 3；及び/または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するVL FR 4。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照したVH FR 1、VH FR 2、VH FR 3及びVH FR 4の4つすべてを含むVH領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照したVH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及びVH FR 4の4つすべてを含むVH領域、ならびに上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。

10

20

【0250】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、VH領域及びVL領域を含み、VH領域は以下を含み：(1)配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR 1；(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR 2；(3)配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR 3；及び/または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR 4；VL領域は以下を含む：(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR 1；(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するVL FR 2；(3)配列番号16のアミノ酸配列を有するVL FR 3；及び/または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するVL FR 4。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照したVH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及びVH FR 4の4つすべてを含むVH領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照したVH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及びVH FR 4の4つすべてを含むVH領域、ならびに上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。

30

【0251】

いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、VH領域及びVL領域を含み、VH領域は以下を含み：(1)配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR 1；(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR 2；(3)配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR 3；及び/または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR 4；VL領域は以下を含む：(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR 1；(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するVL FR 2；(3)配列番号18のアミノ酸配列を有するVL FR 3；及び/または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するVL FR 4。いくつかの実施形態において、抗体は、上で参照したVH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及びVH FR 4の4つすべてを含むVH領域を含む。他の実施形態において、抗体は、上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。さらに他の実施形態において、抗体は、上で参照したVH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及びVH FR 4の4つすべてを含むVH領域、ならびに上で参照したVL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及びVL FR 4の4つすべてを含むVL領域を含む。

40

50

【 0 2 5 2 】

本明細書では、表 3 ~ 4 に記載した 1 つ以上（例えば 1、2、3、または 4 つ）の V H F R 及び 1 つ以上（例えば 1、2、3、または 4 つ）の V L F R を含む抗体も提供する。特に、本明細書では、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）及び V L F R 1（配列番号 1 4）を含む抗体を提供する。一実施形態において、抗体は V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）及び V L F R 2（配列番号 1 5）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。別の実施形態において、抗体は V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。他の実施形態において、抗体は V H F R 2（配列番号 2 0）及び V L F R 1（配列番号 1 4）を含む。一実施形態において、抗体は V H F R 2（配列番号 2 0）及び V L F R 2（配列番号 1 5）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は V H F R 2（配列番号 2 0）及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。別の実施形態において、抗体は V H F R 2（配列番号 2 0）及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。一実施形態において、抗体は V H F R 3（配列番号 2 1）及び V L F R 1（配列番号 1 4）を含む。他の実施形態において、抗体は V H F R 3（配列番号 2 1）及び V L F R 2（配列番号 1 5）を含む。別の実施形態において、抗体は V H F R 3（配列番号 2 1）及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は V H F R 3（配列番号 2 1）及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。一実施形態において、抗体は V H F R 4（配列番号 2 2）及び V L F R 1（配列番号 1 4）を含む。別の実施形態において、抗体は V H F R 4（配列番号 2 2）及び V L F R 2（配列番号 1 5）を含む。一実施形態において、抗体は V H F R 4（配列番号 2 2）及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は V H F R 4（配列番号 2 2）及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。別の実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V H F R 2（配列番号 2 0）、及び V L F R 1（配列番号 1 4）を含む。他の実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V H F R 2（配列番号 2 0）、及び V L F R 2（配列番号 1 5）を含む。一実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V H F R 2（配列番号 2 0）、及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。別の実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V H F R 2（配列番号 2 0）、及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、V H F R 2（配列番号 2 0）、V H F R 3（配列番号 2 1 または 2 3）、及び V L F R 1（配列番号 1 4）を含む。一実施形態において、抗体は、V H F R 2（配列番号 2 0）、V H F R 3（配列番号 2 1 または 2 3）、及び V L F R 2（配列番号 1 5）を含む。別の実施形態において、抗体は、V H F R 2（配列番号 2 0）、V H F R 3（配列番号 2 1 または 2 3）、及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。他の実施形態において、抗体は、V H F R 2（配列番号 2 0）、V H F R 3（配列番号 2 1 または 2 3）、及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V L F R 1（配列番号 1 4）、及び V L F R 2（配列番号 1 5）を含む。別の実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V L F R 1（配列番号 1 4）、及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。一実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V L F R 1（配列番号 1 4）、及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。一実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V L F R 2（配列番号 1 5）及び V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）を含む。別の実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V L F R 2（配列番号 1 5）及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、V H F R 1（配列番号 1 9 または 2 4）、V L F R 3（配列番号 1 6 または 1 8）、及び V L F R 4（配列番号 1 7）を含む。他の実施形態において、抗体は、V H F R 2（配列番号 2 0）、V L F R 1（配列番号 1 4）、及び V L F R

10

20

30

40

50

列番号17)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。他の実施形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VL FR1(配列番号14)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR1(配列番号14)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。他の実施形態において、抗体は、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR4(配列番号22)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、及びVL FR1(配列番号14)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、及びVL FR2(配列番号15)を含む。他の実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR1(配列番号14)、及びVL FR2(配列番号15)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR1(配列番号14)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR1(配列番号14)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。いくつかの実施形態において、抗

10

20

30

40

50

たは23)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL
 FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR1(配列
 番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21ま
 たは23)、VL FR1(配列番号14)、VL FR3(配列番号16または18)
 、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR
 1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番
 号21または23)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16また
 は18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。いくつかの実施形態において、抗
 体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH
 FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号1
 5)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。別の実施形態において、抗
 体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH
 FR4(配列番号22)、VH FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号1
 5)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態において、抗体は、VH
 FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR4(配
 列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR3(配列番号16または18
)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。他の実施形態において、抗体は、VH
 FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR4(配
 列番号22)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18
)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態において、抗体は、VH
 FR1(配列番号19または24)、VH FR3(配列番号21または23)、VH
 FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15
)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。いくつかの実施形態において
 、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR3(配列番号21また
 は23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR
 2(配列番号15)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態において、
 抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR3(配列番号21または
 23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR3
 (配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態
 において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR3(配列番号
 21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR2(配列番号15)、V
 L FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一
 実施形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号2
 1または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL
 FR2(配列番号15)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。いく
 つかの実施形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列
 番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)
 、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施
 形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21ま
 たは23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL F
 R3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。他の実施
 形態において、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21ま
 たは23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR2(配列番号15)、VL F
 R3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形
 態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番
 号20)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、VL FR
 3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形
 態において、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR3(配列番
 号21または23)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、
 VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。他の実施形態において、抗体は、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、及び VL FR 3 (配列番号 16 または 18) を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。別の実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。他の実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。他の実施形態において、抗体は、VH FR 1 (配列番号 19 または 24)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。一実施形態において、抗体は、VH FR 2 (配列番号 20)、VH FR 3 (配列番号 21 または 23)、VH FR 4 (配列番号 22)、VL FR 1 (配列番号 14)、VL FR 2 (配列番号 15)、VL FR 3 (配列番号 16 または 18)、及び VL FR 4 (配列番号 17) を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、表 3 ~ 4 に記載した VH FR (配列番号 19 ~ 24) 及び VL FR (配列番号 14 ~ 18) のその任意の組合せを含む。

【0253】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は VH 領域または VH ドメインを含む。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は VL 領域または VL ドメインを含む。ある実施形態において、本明細書で提供する抗体は、(i) VH ドメインもしくは VH 領域；及び/または (ii) VL ドメインもしくは VL 領域の組合せを有する。さらに他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、表 5 ~ 6 に記載の配列番号 8 ~ 13 からなる群から選択される (i) VH ドメインもしくは VH 領域；及び/または (ii) VL ドメインもしくは VL 領域の組合せを有する。さらに他の実施形態において、本

10

20

30

40

50

明細書で提供する抗体は、表 5 ~ 6 に記載の抗体 PD 1 A B - 1、PD 1 A B - 2、PD 1 A B - 3、PD 1 A B - 4、PD 1 A B - 5、または PD 1 A B - 6 の任意の 1 つの (i) V H ドメインもしくは V H 領域；及び / または (i i) V L ドメインもしくは V L 領域の組合せを有する。

【 0 2 5 4 】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗体は、以下を含む V H 領域：(1) 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する V H C D R 1；(2) 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する V H C D R 2；及び(3) 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する V H C D R 3；ならびに表 5 に記載の配列番号 8 ~ 1 0 からなる群から選択される V L 領域を含む。いくつかの実施形態において、V L 領域は配列番号 8 のアミノ酸配列を有する。他の実施形態において、V L 領域は配列番号 9 のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、V L 領域は配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する。

10

【 0 2 5 5 】

他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、表 6 に記載の配列番号 1 1 ~ 1 3 からなる群から選択される V H 領域；ならびに以下を含む V L 領域を含む：(1) 配列番号 1 及び 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V L C D R 1；(2) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V L C D R 2；及び(3) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V L C D R 3。さらにいくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、表 6 に記載の配列番号 1 1 ~ 1 3 からなる群から選択される V H 領域；ならびに以下を含む V L 領域を含む：(1) 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する V L C D R 1；(2) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V L C D R 2；及び(3) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V L C D R 3。さらに他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、表 6 に記載の配列番号 1 1 ~ 1 3 からなる群から選択される V H 領域；ならびに以下を含む V L 領域を含む：(1) 配列番号 7 のアミノ酸配列を有する V L C D R 1；(2) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V L C D R 2；及び(3) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V L C D R 3。いくつかの実施形態において、V H 領域は配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、V H 領域は配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、V H 領域は配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する。

20

表 5 . V L ドメインアミノ酸配列

30

【表 6】

| 抗体 | VL (配列番号) |
|---------|--|
| PD1AB-1 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYSSNQKNFLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGGGTKLEIKR (配列番号 8) |
| PD1AB-2 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGGGTKLEIKR (配列番号 9) |
| PD1AB-3 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYSSNQKNFLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISNLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGGGTKLEIKR (配列番号 10) |
| PD1AB-4 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGGGTKLEIKR (配列番号 9) |
| PD1AB-5 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGGGTKLEIKR (配列番号 9) |
| PD1AB-6 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYSSNQKNFLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGGGTKLEIKR (配列番号 8) |

10

20

表 6 . V H ドメインアミノ酸配列

【表 7】

| 抗体 | VH (配列番号) |
|---------|---|
| PD1AB-1 | EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPVVYGGSSYVMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 11) |
| PD1AB-2 | EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPVVYGGSSYVMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 11) |
| PD1AB-3 | EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF QGRVTITADTSTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPVVYGGSSYVMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 12) |
| PD1AB-4 | EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF QGRVTITADTSTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPVVYGGSSYVMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 12) |
| PD1AB-5 | EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPVVYGGSSYVMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 13) |
| PD1AB-6 | EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSGPVVYGGSSYVMDYWGQGTITVTVSS (配列番号 13) |

30

40

【 0 2 5 6 】

本明細書では、PD-1 ポリペプチド、PD-1 ポリペプチド断片、PD-1 ペプチド

50

、またはPD-1エピトープに結合する抗PD-1抗体の免疫グロブリン重鎖、軽鎖、VH領域、VL領域、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び/またはVL CDR3をコードする単離核酸分子も提供する。抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、及びPD1AB-6の任意の1つのVL領域及びVH領域の例示的な核酸配列を表7~8に示す

表7.VL核酸配列

【表8】

| 抗体 | 核酸配列 | |
|---------|--|----|
| PD1AB-1 | GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGG GCCACCATCAACTGCAAGTCCGGTCAAAGTGTTTTATACAGTTCAAATCAGAAAG AACTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATT TACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGG TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCA GTTTATTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAG CTGGAGATCAAACGGAC (配列番号 25) | 10 |
| PD1AB-2 | GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGG GCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAG AACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATT TACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGG TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCA GTTTATTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAG CTGGAGATCAAACGGAC (配列番号 26) | 20 |
| PD1AB-3 | GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGG GCCACCATCAACTGCAAGTCCGGTCAAAGTGTTTTATACAGTTCAAATCAGAAAG AACTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATT TACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGG TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAACCTGCAAGCTGAAGATGTGGCA GTTTATTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAG CTGGAGATCAAACGGAC (配列番号 27) | 30 |
| PD1AB-4 | GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT CAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGT ACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCC GGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTT GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGAC (配列番号 26) | 40 |
| PD1AB-5 | GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT CAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGT ACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCC GGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTT GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGGAC (配列番号 26) | 50 |

| 抗体 | 核酸配列 |
|---------|---|
| PD1AB-6 | GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGG GCCACCATCAACTGCAAGTCCGGTCAAAGTGTTTTATACAGTTCAAATCAGAAG AACTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATT TACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGG TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCA GTTTATTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAG CTGGAGATCAAACGGAC (配列番号 25) |

10

表 8 . V H 核酸配列

【表 9 - 1】

| 抗体 | 核酸配列 |
|---------|---|
| PD1AB-1 | GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号 28) |
| PD1AB-2 | GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号 28) |
| PD1AB-3 | GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号 29) |

20

30

40

【表 9 - 2】

| 抗体 | 核酸配列 |
|---------|--|
| PD1AB-4 | GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号 29) |
| PD1AB-5 | GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号 30) |
| PD1AB-6 | GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号 30) |

10

20

【 0 2 5 7 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は P D 1 A B - 1 の V H 及び V L アミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 1 1 の V H アミノ酸配列、及び配列番号 8 の V L アミノ酸配列を含む。

30

【 0 2 5 8 】

他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は P D 1 A B - 2 の V H 及び V L アミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 1 1 の V H アミノ酸配列、及び配列番号 9 の V L アミノ酸配列を含む。

【 0 2 5 9 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は P D 1 A B - 3 の V H 及び V L アミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 1 2 の V H アミノ酸配列、及び配列番号 1 0 の V L アミノ酸配列を含む。

40

【 0 2 6 0 】

他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は P D 1 A B - 4 の V H 及び V L アミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 1 2 の V H アミノ酸配列、及び配列番号 9 の V L アミノ酸配列を含む。

【 0 2 6 1 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は P D 1 A B - 5 の V H 及び V L アミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 1 3 の V H アミノ酸配列、及び配列番号 9 の V L アミノ酸配列を含む。

【 0 2 6 2 】

50

他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は P D 1 A B - 6 の V H 及び V L アミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 13 の V H アミノ酸配列、及び配列番号 8 の V L アミノ酸配列を含む。

【0263】

ある実施形態において、P D - 1 ポリペプチド（例えば、P D - 1、例えばヒト P D - 1 の E C D）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、軽鎖は以下のアミノ酸配列を有する定常領域を含む：

T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W
K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K
H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号 41）。

10

【0264】

他の実施形態において、P D - 1 ポリペプチド（例えば、P D - 1、例えばヒト P D - 1 の E C D）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を有するヒト I g G 1 F c 領域を含む：

【化6】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

20

（配列番号 36、K 3 2 2 を強調）。

いくつかの実施形態において、P D - 1 ポリペプチド（例えば、P D - 1、例えばヒト P D - 1 の E C D）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は配列番号 36 のアミノ酸配列を有するヒト I g G 1 F c 領域を含まない。

【0265】

ある実施形態において、P D - 1 ポリペプチド（例えば、P D - 1、例えばヒト P D - 1 の E C D）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を有するヒト I g G 1 - K 3 2 2 A F c 領域を含む：

30

【化7】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

40

（配列番号 37、K 3 2 2 A 置換を強調）。

【0266】

いくつかの実施形態において、P D - 1 ポリペプチド（例えば、P D - 1、例えばヒト P D - 1 の E C D）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を有するヒト I g G 4 F c 領域を含む：

【化 8】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

(配列番号 38、S 2 2 8 及び L 2 3 5 を強調)。

10

【0 2 6 7】

別の実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 の ECD) に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を有するヒト IgG4P Fc 領域を含む：

【化 9】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

20

(配列番号 39、S 2 2 8 P 置換を強調)。

【0 2 6 8】

さらに別の実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 の ECD) に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を有するヒト IgG4PE Fc 領域を含む：

【化 10】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

30

(配列番号 40、S 2 2 8 P 及び L 2 3 5 E 置換を強調)。

いくつかの実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 の ECD) に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は配列番号 40 のアミノ酸配列を有するヒト IgG4PE Fc 領域を含まない。

40

【0 2 6 9】

さらに別の実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 の ECD) に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、軽鎖は配列番号 41 のアミノ酸配列を有する定常領域を含み、重鎖は配列番号 36 ~ 40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する Fc 領域を含む。

【0 2 7 0】

50

ある実施形態において、PD-1ポリペプチド（例えば、PD-1、例えばヒトPD-1のECD）に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、軽鎖は以下のアミノ酸配列を含む：

D I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C K S G Q S V L Y S S N Q K N F L A
W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T
I S S L Q A E D V A V Y Y C H Q Y L Y S W T F G Q G T K L E I K R T V A A P S V
F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q
S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E
V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号31、LC__PD1AB-6-IgG1）。

10

【0271】

いくつかの実施形態において、PD-1ポリペプチド（例えば、PD-1、例えばヒトPD-1のECD）に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を含む：

【化11】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVQQAAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGSPVYYGSSYVMDYWGQGTITVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

20

（配列番号32、HC__PD1AB-6-IgG1、K322を強調）。

【0272】

他の実施形態において、PD-1ポリペプチド（例えば、PD-1、例えばヒトPD-1のECD）に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を含む：

30

【化12】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVQQAAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGSPVYYGSSYVMDYWGQGTITVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

40

（配列番号33、HC__PD1AB-6-IgG1-K322A、K322A置換を強調）。

【0273】

別の実施形態において、PD-1ポリペプチド（例えば、PD-1、例えばヒトPD-1のECD）に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を含む：

【化 1 3】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
 QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQGT~~TVTVSSASTK~~
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNV~~DH~~KPSNTKVDKRVESKYGPPCP~~PC~~PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTP~~EV~~TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI~~SK~~AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYK~~TT~~PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV~~M~~HEALHNHYTQKSL~~SL~~SL
PGK

10

(配列番号 34、HC__PD1AB-6-IgG4P、IgG4P Fc 主鎖をイタリック体として下線を引いた)。

【0274】

さらに別の実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 のECD) に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は以下のアミノ酸配列を含む：

【化 1 4】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
 QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQGT~~TVTVSSASTK~~
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNV~~DH~~KPSNTKVDKRVESKYGPPCP~~PC~~PAPEF~~EG~~GGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTP~~EV~~TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI~~SK~~AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYK~~TT~~PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV~~M~~HEALHNHYTQKSL~~SL~~SL
PGK

20

(配列番号 35、HC__PD1AB-6-IgG4PE、IgG4PE Fc 主鎖をイタリック体として下線を引いた)。

【0275】

特定の一実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 のECD) に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み；(ii) 重鎖は配列番号 32 のアミノ酸配列を含む。

【0276】

別の特定の実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 のECD) に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み；(ii) 重鎖は配列番号 33 のアミノ酸配列を含む。

40

【0277】

さらに別の特定の実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 のECD) に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み；(ii) 重鎖は配列番号 34 のアミノ酸配列を含む。

【0278】

さらに別の特定の実施形態において、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1、例えばヒト PD-1 のECD) に特異的に結合する本明細書で提供する抗体は、軽鎖及び重鎖

50

を含み、(i) 軽鎖は配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含み；(i i) 重鎖は配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む。

【 0 2 7 9 】

さらに別の態様において、PD - 1 への結合について例示的な抗体または機能的断片の 1 つと競合する抗体を提供する。そのような抗体も本明細書で例示する抗体の 1 つと同じエピトープ、または部分的に一致するエピトープに結合し得る。例示的な抗体と競合するか、または同じエピトープに結合する抗体及び断片は類似の機能的特性を示すと予想される。例示的な抗原結合タンパク質及び断片は、表 1 ~ 6 のものをはじめとする本明細書で提供する VH 及び VL 領域、ならびに CDR を有するものが挙げられる。したがって、具体例として、提供する抗体としては、以下を含む抗体と競合するものが挙げられる：(a) 表 1 ~ 2 に記載の抗体について記載した CDR の 1、2、3、4、5、もしくは 6 つすべて；(b) 表 5 ~ 6 に記載の抗体について記載した VH 及び VL 領域から選択される VH 及び VL；または(c) 表 5 ~ 6 に記載の抗体について指定した VH 及び VL を含む 2 つの軽鎖及び 2 つの重鎖。いくつかの実施形態において、抗体は PD 1 A B - 1 である。いくつかの実施形態において、抗体は PD 1 A B - 2 である。いくつかの実施形態において、抗体は PD 1 A B - 3 である。いくつかの実施形態において、抗体は PD 1 A B - 4 である。いくつかの実施形態において、抗体は PD 1 A B - 5 である。いくつかの実施形態において、抗体は PD 1 A B - 6 である。

10

【 0 2 8 0 】

別の態様において、本明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片は、ヒト PD - 1 またはカニクイザル PD - 1 の、エピトープをはじめとする領域に結合する。例えば、いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、ヒト PD - 1 のアミノ酸残基 3 3 ~ 1 0 9 を含むヒト PD - 1 の領域(配列番号 4 2)に結合する。さらに別の態様において、本明細書で提供する抗体はヒト PD - 1 の特定のエピトープに結合する。

20

【 0 2 8 1 】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の残基 1 0 0 ~ 1 0 9 (配列番号 4 3)の少なくとも 1 つに結合する。いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の残基 1 0 0 ~ 1 0 5 (配列番号 4 4)の少なくとも 1 つに結合する。

30

【 0 2 8 2 】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の N 3 3、T 5 1、S 5 7、L 1 0 0、N 1 0 2、G 1 0 3、R 1 0 4、D 1 0 5、H 1 0 7、及び S 1 0 9 からなる群から選択される少なくとも 1 つの残基に結合する。いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の L 1 0 0、N 1 0 2、G 1 0 3、R 1 0 4、D 1 0 5、H 1 0 7、及び S 1 0 9 からなる群から選択される少なくとも 1 つの残基に結合する。

【 0 2 8 3 】

いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の N 3 3、T 5 1、S 5 7、L 1 0 0、N 1 0 2、G 1 0 3、R 1 0 4、D 1 0 5、H 1 0 7、及び S 1 0 9 からなる群から選択される 2 つ以上の残基に結合する。

40

【 0 2 8 4 】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の N 3 3、T 5 1、S 5 7、L 1 0 0、N 1 0 2、G 1 0 3、R 1 0 4、D 1 0 5、H 1 0 7、及び S 1 0 9 からなる群から選択される 3 つ以上の残基に結合する。

【 0 2 8 5 】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD - 1 に結合した場合、配

50

列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される4つ以上の残基に結合する。

【0286】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される5つ以上の残基に結合する。

【0287】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される6つ以上の残基に結合する。

【0288】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される7つ以上の残基に結合する。

【0289】

さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される8つ以上の残基に結合する。

【0290】

ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される9つ以上の残基に結合する。

【0291】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群からの10個すべての残基に結合する。

【0292】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN33に結合する。別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のT51に結合する。特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のS57に結合する。1つの具体的な実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のL100に結合する。いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN102に結合する。他の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のG103に結合する。別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のR104に結合する。さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のG103及びR104に結合する。さらに別の実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のD105に結合する。いくつかの実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列

10

20

30

40

50

中のH107に結合する。ある実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のS109に結合する。上で参照したアミノ酸PD-1結合部位の2、3、4、5、6、7、8、9、10またはこれより多くの任意の組合せも企図する。

【0293】

一態様において、本明細書では、PD-1に特異的に結合し、PD-1活性及び/または発現を調節する(例えば、PD-1シグナル伝達を活性化させる、及び/またはPD-1発現を阻害する)ことのできる抗体を提供する。ある実施形態において、ヒトPD-1のECDに特異的に結合し、少なくとも1つのPD-1活性(例えば、サイトカイン産生の阻害)を活性化させる(例えば、部分的に活性化させる)本明細書で提供する抗体であるPD-1アゴニストを本明細書で提供する。ある実施形態において、本明細書で提供するPD-1アゴニストは、ヒトPD-1のECDに特異的に結合し、PD-1発現を下方調節する本明細書で提供する抗体である。ある実施形態において、本明細書では、PD-1に特異的に結合し、(a)例えばサイトカイン産生の阻害によって判定した場合にT細胞活性を減衰させる;及び/または(b)細胞でのPD-1発現を下方調節する抗体を提供する。ある実施形態において、本明細書では、(a)例えばサイトカイン産生の阻害によって判定した場合にT細胞活性を減衰させる;(b)細胞でのPD-1発現を下方調節する;及び/または(c)PD-1へのPD-L1及び/またはPD-L2結合を阻害しないPD-1に特異的に結合する抗体を提供する。ある実施形態において、PD-1に特異的に結合する抗体は、ヒトPD-1のECD、またはそのヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。

【0294】

PD-1活性は、当該技術分野において公知または記載されているものなどのPD-1の任意の活性に関係し得る。PD-1活性及びPD-1シグナル伝達は本明細書において同じ意味で用いられる。ある態様において、PD-1活性は、PD-1に結合するPD-1リガンド(例えば、PD-L1)によって誘発される。PD-1の発現レベルは、本明細書に記載または当業者にとって公知の方法(例えば、ウエスタンブロッティング、ELISA、免疫組織化学、またはフローサイトメトリー)によって評価することができる。ある実施形態において、本明細書では、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を減少させる抗体を提供する。ある実施形態において、本明細書では、PD-1に特異的に結合し、T細胞活性を減衰させる抗体を提供する。ある実施形態において、本明細書では、PD-1に特異的に結合し、サイトカイン産生を阻害する抗体を提供する。ある実施形態において、本明細書では、PD-1に特異的に結合し、PD-1シグナル伝達を活性化させる(例えば部分的に活性化させる)抗体を提供する。ある実施形態において、PD-1に特異的に結合する抗体は、ヒトPD-1のECD、またはそのヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。

10

20

30

40

50

【 0 2 9 5 】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を減衰させる（例えば部分的に減衰させる）。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約10%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約15%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約20%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約25%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約30%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約35%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約40%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約45%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約50%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約55%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約60%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約65%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約70%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約75%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約80%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約85%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約90%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約95%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約98%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約99%減衰させる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体はT細胞活性を少なくとも約100%減衰させる。ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約25%～約65%減衰させる（例えば部分的に減衰させる）ことができる。具体的な実施形態において、T細胞活性減衰は本明細書に記載の方法によって評価される。いくつかの実施形態において、T細胞活性減衰は当業者にとって公知の方法によって評価される。ある実施形態において、T細胞活性減衰は、いかなる抗PD-1抗体もない場合の刺激の存在下でのT細胞活性に対してである。ある実施形態において、T細胞活性減衰は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）がある場合の刺激の存在下でのT細胞活性に対してである。T細胞活性の非限定例はサイトカインの分泌である。いくつかの実施形態において、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN-、またはこれらの任意の組合せからなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN-、及びTNF-からなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインはIL-1である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-2である。他の実施形態において、サイトカインはIL-6である。別の実施形態において、サイトカインはIL-12である。他の実施形態において、サイトカインはIL-17である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-22である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態において、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態において、サイトカインはIFN-である。さらに他の実施形態において、サイトカインはTNF-である。ある実施形態において、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-

2 及び I F N - である。さらに他の実施形態において、サイトカインは I L - 1 7 及び I F N - である。さらに他の実施形態において、サイトカインは I L - 2、I L - 1 7、及び I F N - である。

【 0 2 9 6 】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体（例えば、抗体 P D 1 A B - 1、P D 1 A B - 2、P D 1 A B - 3、P D 1 A B - 4、P D 1 A B - 5、もしくは P D 1 A B - 6 の任意の 1 つもしくはその抗原結合断片、または抗体 P D 1 A B - 1、P D 1 A B - 2、P D 1 A B - 3、P D 1 A B - 4、P D 1 A B - 5、もしくは P D 1 A B - 6 の任意の 1 つの C D R を含む抗体）は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌（例えば、細胞、例えば T 細胞から）を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 5 % 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 1 0 % 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 1 5 % 阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 2 0 % 阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 2 5 % 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 3 0 % 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 3 5 % 阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 4 0 % 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 4 5 % 阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 5 0 % 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 5 5 % 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 6 0 % 阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 6 5 % 阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 7 0 % 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 7 5 % 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 8 0 % 阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 8 5 % 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 9 0 % 阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 9 5 % 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 9 8 % 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 9 9 % 阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、P D - 1 に特異的に結合し、I L - 2 分泌を少なくとも約 2 5 % または 3 5 %、任意により約 7 5 % まで阻害する。いくつかの実施形態において、I L - 2 分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、I L - 2 分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、M e s o S c a l e（商標）D i s c o v e r y（M S D）マルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、I L - 2 分泌は、抗 P D - 1 抗体の不存在下での I L - 2 分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、I L - 2 分泌は、非関連抗体（例えば、P D - 1 に特異的に結合しない抗体）の存在下での I L - 2 分泌と比較して阻害される。

【 0 2 9 7 】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、IL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0298】

10

20

30

40

50

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌（例えば、細胞、例えばT細胞から）を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約5%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約10%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約15%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約20%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約25%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約35%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約40%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約45%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約50%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約55%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約65%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約70%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約80%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約85%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約95%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約98%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、IL-17分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-17分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-17分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのIL-17分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-17分泌と比較して阻害される。

【0299】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-

10

20

30

40

50

6の任意の1つのCDRを含む抗体)は、IL-17分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0300】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB

10

20

30

40

50

- 2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体)は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌(例えば、細胞、例えばT細胞から)を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約5%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約10%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約15%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約25%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約30%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約35%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約40%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約45%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約50%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約55%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約60%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約65%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約70%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約75%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約80%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約85%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約90%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約95%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約98%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、IFN- γ 分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのIFN- γ 分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は、非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)の存在下でのIFN- γ 分泌と比較して阻害される。

【0301】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体)は、IFN- γ 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でIFN- γ 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大で

10

20

30

40

50

も約40 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIFN-分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0302】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体)は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌(例えば、細胞、例えばT細胞から)を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は

10

20

30

40

50

、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、IL-1分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-1分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-1分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのIL-1分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-1分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-1分泌と比較して阻害される。

【0303】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、IL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-

10

20

30

40

50

1抗体は、最大でも約10 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0304】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体)は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌(例えば、細胞、例えばT細胞から)を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なく

10

20

30

40

50

とも約20%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、IL-6分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-6分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-6分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのIL-6分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-6分泌と比較して阻害される。

【0305】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、IL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害す

10

20

30

40

50

る。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0306】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体)は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌(例えば、細胞、例えばT細胞から)を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態

10

20

30

40

50

において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、IL-12分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-12分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-12分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのIL-12分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-12分泌と比較して阻害される。

【0307】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、IL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約

10

20

30

40

50

0.05 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

10

20

30

【0308】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌（例えば、細胞、例えばT細胞から）を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態にお

40

50

いて、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、IL-22分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-22分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-22分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのIL-22分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-22分泌と比較して阻害される。

【0309】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、IL-22分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも

10

20

30

40

50

約 0.005 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、最大でも約 0.001 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 50 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 40 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 30 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 20 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 10 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 5 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 1 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.75 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.5 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.1 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.05 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.01 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.005 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.001 nM の EC₅₀ で IL-22 分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀ は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀ は当業者にとって公知の他の方法（例えば、MSD マルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀ は MSD マルチプレックスアッセイによって評価される。

【0310】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体（例えば、抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 の任意の 1 つもしくはその抗原結合断片、または抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 の任意の 1 つの CDR を含む抗体）は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌（例えば、細胞、例えば T 細胞から）を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 5% 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 10% 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 15% 阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 20% 阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 25% 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 30% 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 35% 阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 40% 阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 45% 阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 50% 阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-23 分泌を少なくとも約 55% 阻害する。別の実施形態に

10

20

30

40

50

において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、IL-23分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-23分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-23分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのIL-23分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-23分泌と比較して阻害される。

【0311】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、IL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも

10

20

30

40

50

約50 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0312】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌（例えば、細胞、例えばT細胞から）を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約65%阻

10

20

30

40

50

害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、GM-CSF分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、GM-CSF分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのGM-CSF分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのGM-CSF分泌と比較して阻害される。

10

20

【0313】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、GM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMの

30

40

50

EC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

10

20

【0314】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌（例えば、細胞、例えばT細胞から）を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約

30

40

50

70%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約99%阻害する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF- α 分泌を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害する。いくつかの実施形態において、TNF- α 分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、TNF- α 分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、TNF- α 分泌は、抗PD-1抗体の不存在下でのTNF- α 分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、TNF- α 分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのTNF- α 分泌と比較して阻害される。

【0315】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、TNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提

10

20

30

40

50

供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の他の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はMSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

10

20

【0316】

具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現（例えば、細胞、例えばT細胞における）を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約5%下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約10%下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約15%下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約20%下方調節する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約25%下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約30%下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約35%下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約40%下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約45%下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約50%下方調節する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約55%下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約60%下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約65%下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約70%下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約75%下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し

30

40

50

、PD-1発現を少なくとも約80%下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約85%下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約90%下方調節する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約95%下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約98%下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約99%下方調節する。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで下方調節する。いくつかの実施形態において、PD-1発現の下方調節は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、PD-1発現の下方調節は、当業者にとって公知の方法（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロットティング、ノーザンブロットティング、またはRT-PCR）によって評価される。具体的な実施形態において、PD-1発現の下方調節はフローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態において、PD-1発現の下方調節はウエスタンブロットティングによって評価される。さらに別の実施形態において、PD-1発現の下方調節はノーザンブロットティングによって評価される。さらに別の実施形態において、PD-1発現の下方調節はRT-PCRによって評価される。具体的な実施形態において、PD-1発現は、抗PD-1抗体の不存在下でのPD-1発現下方調節と比較して下方調節される。他の実施形態において、PD-1発現は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのPD-1発現下方調節と比較して下方調節される。

【0317】

ある実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体）は、PD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約50nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約40nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約30nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約20nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約10nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約5nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約1nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.75nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.5nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.1nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.05nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.01nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.005nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、最大でも約0.001nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。

10

20

30

40

50

他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。別の実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。一実施形態において、本明細書で提供する抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方調節する。具体的な実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は、当業者にとって公知の他の方法（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロッティング、ノーザンブロッティング、またはRT-PCR）によって評価される。具体的な実施形態において、EC₅₀はフローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態において、EC₅₀はウエスタンブロッティングによって評価される。さらに別の実施形態において、EC₅₀はノーザンブロッティングによって評価される。さらに別の実施形態において、EC₅₀はRT-PCRによって評価される。

【0318】

ある実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の6時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の8時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の10時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の12時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の14時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の16時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の18時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の20時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の22時間後にでも生じる。さらに別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の24時間後にでも生じる。いくつかの実施形態において、接触は抗体とのものである。他の実施形態において、接触はその抗原結合断片とのものである。

【0319】

いくつかの実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節はサイトカイン阻害に先行する。一実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の6時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の8時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行する。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の10時間後にでも生じ、サイトカイン阻害に先行す

10

20

30

40

50

の後である。別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。さらに別の実施形態において、下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後にでも生じ、サイトカイン阻害の後である。

【0322】

4.3.1.1 ポリクローナル抗体

本開示の抗体はポリクローナル抗体を含み得る。ポリクローナル抗体の調製方法は、当業者に既知である。ポリクローナル抗体は、哺乳類において、例えば、免疫付与剤及び必要に応じてアジュバントの1回以上の注入によって産生され得る。典型的には、免疫付与剤及び/またはアジュバントは、複数の皮下または腹腔内注入によって哺乳類に注入される。免疫付与剤は、PD-1ポリペプチドまたはその融合タンパク質を含み得る。免疫付与される哺乳類において免疫原性であることが知られているタンパク質に免疫付与剤を結合させること、またはそのタンパク質及び1つ以上のアジュバントで哺乳類に免疫付与することが有用であり得る。そのような免疫原性タンパク質の例としては、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、及び大豆トリプシン阻害剤が挙げられるが、それらに限定されない。用いられ得るアジュバントの例としては、Ribit、CpG、Poly 1C、フロイント完全アジュバント、及びMPL-TDMアジュバント(モノホスホリル脂質A、合成トレハロースジコリノミコレート)が挙げられる。免疫付与プロトコールは、過度な実験なしに当業者によって選択され得る。その後、哺乳類から採血し、血清をPD-1抗体力価に関してアッセイすることができる。所望であれば、抗体力価が増加するかまたはプラトーになるまで哺乳類を追加免疫することができる。追加または代替として、下記のような融合及びハイブリドーマからのモノクローナル抗体の調製のために、免疫化動物からリンパ球を得てもよい。

【0323】

4.3.1.2 モノクローナル抗体

本開示の抗体は代替としてモノクローナル抗体であり得る。モノクローナル抗体は、Kohler et al., 1975, Nature 256:495-97に初めて記載されたハイブリドーマ法を用いて作製され得るか、または組換えDNA法(例えば、米国特許第4,816,567号を参照)によって作製され得る。

【0324】

ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターなどが、上述のように免疫化されて、免疫化に使用されるタンパク質に特異的に結合する抗体を産生するか、または産生することのできるリンパ球が誘発される。代替として、リンパ球は、インビトロで免疫化され得る。免疫化の後、リンパ球が単離され、次いでポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用して骨髓腫細胞株と融合されて、ハイブリドーマ細胞が形成される(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 59-103(1986))。

【0325】

このように調製されたハイブリドーマ細胞は、好適な培養培地に播種され増殖するが、ある実施形態において、培養培地は、非融合の親骨髓腫細胞(融合パートナーとも称される)の増殖または生存を阻害する1つ以上の物質を含有する。例えば、親骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPR T)を欠く場合、ハイブリドーマの選択培養培地は、典型的には、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジンを含むことになり(HAT培地)、これらは、HGPRT欠損細胞の増殖を防止する。

【0326】

例示的な融合パートナー骨髓腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベルの産生を支持し、かつ非融合の親細胞に対して選択する選択培地に対して感受性を示すものである。例示的な骨髓腫細胞株は、SP-2及び誘導體、例えば、American Type Culture Collection(Mana

10

20

30

40

50

ssas, VA) から入手可能な X63 - Ag8 - 653 細胞、ならびに Salk Institute Cell Distribution Center (San Diego, CA) から入手可能な MOPC - 21 及び MPC - 11 マウス腫瘍に由来するものなどのマウス骨髄腫株である。ヒト骨髄腫及びマウス - ヒトヘテロ骨髄腫細胞株も、ヒトモノクローナル抗体の産生に関して記載されている (Kozbor, 1984, Immunol. 133: 3001 - 05; 及び Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications 51 - 63 (1987))。

【0327】

ハイブリドーマ細胞が成長する培養培地は、抗原に対して指向されたモノクローナル抗体の産生に関してアッセイされる。ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降によって、またはインビトロ結合アッセイ、例えば RIA もしくは ELISA などによって判定される。モノクローナル抗体の結合アフィニティーは、例えば、Munson et al., 1980, Anal. Biochem. 107: 220 - 39 に記載のスキヤッチャード解析によって判定することができる。

【0328】

所望の特異性、アフィニティー、及び/または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が特定されたら、クローンを、限界希釈法によってサブクローニングし、標準的方法によって成長させることができる (Goding (上記))。この目的に好適な培養培地には、例えば、DMEM または RPMI - 1640 培地が含まれる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、例えば、マウスにこの細胞を i.p. 注入することによって、動物中で腹水腫瘍としてインビボで成長させられ得る。

【0329】

サブクローンにより分泌されるモノクローナル抗体は、例えば、アフィニティークロマトグラフィー (例えば、プロテイン A もしくはプロテイン G - セファロースを使用する) またはイオン交換クロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析などの従来の抗体精製法によって、培養培地、腹水、または血清から好適に分離される。

【0330】

モノクローナル抗体をコードする DNA は、従来の手順を使用して (例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより) 容易に単離及び配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、そのような DNA の供給源として機能することができる。単離されたら、DNA は発現ベクター内に入れられ得るが、これは次いで、宿主細胞、例えば E. coli 細胞、サル COS 細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、またはさもなければ抗体タンパク質を産生しない骨髄腫などに形質移入されて、組換え宿主細胞内でモノクローナル抗体の合成体が得られる。抗体をコードする DNA の細菌における組換え発現に関する総説論文としては、Skerra et al., 1993, Curr. Opinion in Immunol. 5: 256 - 62 及び Pluckthun, 1992, Immunol. Revs. 130: 151 - 88 が挙げられる。

【0331】

いくつかの実施形態において、PD - 1 エピトープに結合する抗体は、(1) 本明細書に記載の VH 及び/または VL ドメインの任意の 1 つをコードするヌクレオチド配列の相補鎖に、ストリンジェントな条件 (例えば、約 45 °C での 6X 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム (SSC) 中のフィルター結合 DNA へのハイブリダイゼーションとこれに続く約 50 ~ 65 °C の 0.2X SSC / 0.1% SDS 中での 1 回以上の洗浄) の下で、高度にストリンジェントな条件 (例えば、約 45 °C での 6X SSC 中のフィルター結合核酸へのハイブリダイゼーションとこれに続く約 68 °C の 0.1X SSC / 0.2% SDS 中での 1 回以上の洗浄) の下で、または当業者にとって公知の他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によって

10

20

30

40

50

コードされるVHドメインのアミノ酸配列及び/またはVLドメインのアミノ酸配列を含む。例えば、*Current Protocols in Molecular Biology Vol. I, 6.3.1-6.3.6 and 2.10.3 (Ausubel et al. eds., 1989)*を参照。

【0332】

いくつかの実施形態において、PD-1エピトープに結合する抗体は、表1~2に示したVH CDR及び/またはVL CDRの任意の1つをコードするヌクレオチド配列の相補鎖に、ストリンジェントな条件(例えば、約45 °Cでの6X SSC中のフィルター結合DNAへのハイブリダイゼーションとこれに続く約50~65 °Cの0.2X SSC/0.1% SDS中での1回以上の洗浄)の下で、高度にストリンジェントな条件(例えば、約45 °Cでの6X SSC中のフィルター結合核酸へのハイブリダイゼーションとこれに続く約68 °Cの0.1X SSC/0.2% SDS中での1回以上の洗浄)の下で、または当業者にとって公知の他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によってコードされるVH CDRのアミノ酸配列及び/またはVL CDRのアミノ酸配列を含む(例えば、Ausubelら(上記)を参照)。

10

【0333】

さらなる実施形態において、モノクローナル抗体または抗体断片は、例えば、*Antibody Phage Display: Methods and Protocols (O'Brien and Aitken eds., 2002)*に記載されている技術を用いて生成された抗体ファージライブラリーから単離することができる。原則として、合成抗体クローンは、ファージコートタンパク質に融合した抗体可変領域(Fv)の様々な断片を提示するファージを含有するファージライブラリーをスクリーニングすることによって選別される。そのようなファージライブラリーは所望の抗原に対してスクリーニングされる。所望の抗原に結合することのできるFv断片を発現するクローンが抗原に吸着し、これにより、ライブラリー中の非結合クローンから分離される。その後、結合クローンは抗原から溶出され、さらなる抗原吸着/溶出サイクルによってさらに富化することができる。

20

【0334】

可変ドメインは、例えば、*Winter et al., 1994, Ann. Rev. Immunol. 12: 433-55*に記載されているように、VH及びVLが短い柔軟なペプチドを介して共有結合している一本鎖Fv(scFv)断片、またはそれぞれ定常ドメインに融合し、非共有結合的に相互作用するFab断片のいずれかとして、ファージ上に機能的に掲示することができる。

30

【0335】

VH及びVL遺伝子のレパートリーをPCRによって別々にクローニングしてファージライブラリー中でランダムに組換えることができ、その後、そこからWinterら(上記)に記載されているように抗原結合クローンを探索することができる。免疫化した供給源からのライブラリーによって、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対する高アフィニティー抗体が得られる。あるいは、*Griffiths et al., 1993, EMBO J. 12: 725-34*に記載されているように、ナイーブレパートリーをクローニングして、いかなる免疫化も伴うことなく、広範な非自己抗原及び自己抗原に対する単一源のヒト抗体を得ることができる。最後に、ナイーブライブラリーは、例えば、*Hoogenboom and Winter, 1992, J. Mol. Biol. 227: 381-88*に記載されているように、幹細胞由来の未再構成V遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して高度に可変性のCDR3領域をコードし、インビトロでの再構成を達成することによって、合成的に作製することもできる。

40

【0336】

ライブラリーのスクリーニングは当該技術分野において公知の様々な技術によって達成

50

することができる。例えば、PD-1（例えば、PD-1ポリペプチド、断片、またはエピトープ）を用いて吸着プレートのウェルをコーティングすることができるか、吸着プレートに付着させた、もしくは細胞ソーティングに用いられる宿主細胞上で発現させることができるか、ストレプトアビジン被覆ビーズでの捕捉のためにビオチンと結合させることができるか、またはディスプレイライブラリーをパニングする任意の他の方法において用いることができる。解離カイネティクスが遅い（例えば、良好な結合アフィニティー）抗体の選別は、Bass et al., 1990, Proteins 8:309-14 及び WO 92/09690 に記載されているような長い洗浄及び一価ファージディスプレイの使用によって、ならびに Marks et al., 1992, Biotechnol. 10:779-83 に記載されているような低コーティング密度の抗原の使用によって促進することができる。

10

【0337】

抗PD-1抗体は、好適な抗原スクリーニング手順を設計して目的のファージクローンを選別し、その後、目的のファージクローン由来のVH及び/またはVL配列（例えば、Fv配列）、またはVH及びVL配列からの様々なCDR配列、ならびにKabatra（上記）に記載の好適な定常領域（例えば、Fc）配列を用いて、全長抗PD-1抗体クローンを構築することによって得ることができる。

【0338】

別の実施形態において、抗PD-1抗体は、Bowers et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA. 108:20455-60 に記載されているような方法、例えば、SHM-XHL（商標）プラットフォーム（Anaptys Bio, San Diego, CA）を用いることによって生成される。簡潔に述べると、このアプローチでは、IgGの完全ヒトライブラリーが出発ライブラリーとして哺乳類細胞株（例えば、HEK293）中で構築される。標的ペプチドまたはエピトープに結合する免疫グロブリンを提示する哺乳類細胞を選別し（例えば、FACSソーティングによって）、その後、活性化誘導シチジンデアミナーゼ（AID）誘発性体細胞超変異をインビトロで再現して最初に選別した抗体プールの多様性を拡張する。哺乳類細胞表面ディスプレイをインビトロ体細胞超変異と組み合わせることによる複数回のアフィニティー成熟の後、高アフィニティー高特異性抗PD-1抗体が生成される。抗体ライブラリー及び/または抗体アフィニティー成熟を得るために用いることのできるさらなる方法は、例えば、米国特許第8,685,897号及び8,603,930号、ならびに米国特許出願公開第2014/0170705号、2014/0094392号、2012/0028301号、2011/0183855号、及び2009/0075378号に開示されており、それぞれ参照により本明細書に援用する。

20

30

【0339】

4.3.1.3 抗体断片

本開示は、PD-1に結合する抗体及び抗体断片を提供する。ある特定の状況では、全抗体ではなく抗体断片を使用する利点がある。より小さなサイズの断片は、迅速なクリアランスを可能とし、細胞、組織、または臓器への到達の改善につながり得る。ある抗体断片の総説については、Hudson et al., 2003, Nature Med. 9:129-34を参照。

40

【0340】

抗体断片を産生するための様々な技法が開発されている。従来、これらの断片は、インタクト抗体のタンパク質分解消化により得られていた（例えば、Morimoto et al., 1992, J. Biochem. Biophys. Methods 24:107-17; 及び Brennan et al., 1985, Science 229:81-83を参照）。しかし、これらの断片は、現在、組換え宿主細胞により直接産生され得る。Fab、Fv、及びscFv抗体断片はすべて、E. coli または酵母細胞で発現されて分泌され得るため、これらの断片の容易な大量産生が可能になる。抗体断片は、上述の抗体ファージライブラリーから単離することができる。あるいは、Fab'-S

50

H断片をE. coliから直接回収し、化学的にカップリングして、F(ab')₂断片を形成することができる(Carter et al., 1992, Bio/Technology 10:163-67)。別のアプローチによると、F(ab')₂断片は、組換え宿主細胞培養から直接単離することができる。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含むインビボ半減期が増加したFab及びF(ab')₂断片が、米国特許第5,869,046号に記載されている。抗体断片を産生するための他の技法が、当業者に明らかであろう。ある実施形態において、抗体は一本鎖Fv断片(scFv)である(例えば、WO 93/16185;米国特許第5,571,894号及び5,587,458号を参照)。Fv及びscFvは、定常領域を欠くインタクトな結合部位を有するので、インビボでの使用中の非特異的結合の低減に好適であり得る。scFvのアミノまたはカルボキシ末端のいずれかにおけるエフェクタータンパク質の融合をもたらすようにscFv融合タンパク質が構築され得る(例えば、Borrebaeck ed. (上記)を参照)。抗体断片は、例えば、上で引用した参考文献に記載されるような「直線状抗体」でもあり得る。そのような直線状抗体は、単一特異性または多重特異性、例えば二重特異性などであり得る。

10

【0341】

より小さな抗体由来結合構造は、単一可変ドメイン抗体(sdAb)とも称される個々の可変ドメイン(Vドメイン)である。ある種の生物、ラクダ科及び軟骨魚類は、免疫系の一部としてFc相当ドメイン構造上に載った高アフィニティー単一V様ドメインを有する。(Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50:98-101;及びStreltsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA 101:12444-49)。V様ドメイン(ラクダ科ではVhHと呼ばれ、サメではV-NARと呼ばれる)は典型的に長い表面ループを提示しており、標的抗原の空隙の貫通を可能とする。それらはまた、疎水性表面パッチを覆うことによって単離VHドメインを安定化させる。

20

【0342】

これらのVhH及びV-NARドメインはsdAbを設計するために用いられている。ヒトVドメインバリエーションは、ファージライブラリーからの選別及び安定な高結合性VL及びVH由来ドメインが得られた他のアプローチを用いて設計されている。

【0343】

本明細書で提供する抗体としては、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫活性部分、例えば、PD-1エピトープに結合する抗原結合部位を含有する分子が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で提供する免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意のクラス(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、及びIgA)、または任意のサブクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2)のものとするすることができる。

30

【0344】

抗体のバリエーション及び誘導体としては、PD-1エピトープに結合する能力を保持する抗体機能的断片が挙げられる。例示的な機能的断片としては、Fab断片(例えば、抗原結合ドメインを含有し、ジスルフィド結合によって架橋された軽鎖及び重鎖の一部を含む抗体断片); Fab' (例えば、Fab及びヒンジ領域を通る重鎖の追加の部分を含む単一抗原結合ドメインを含有する抗体断片); F(ab')₂ (例えば、重鎖のヒンジ領域において鎖間ジスルフィド結合によって連結した2つのFab'分子; Fab'分子は同じまたは異なるエピトープを対象とし得る); 二重特異性Fab (例えば、2つの抗原結合ドメインを有し、それぞれが異なるエピトープを対象とし得るFab分子); scFvとしても知られる可変領域を含む一本鎖(例えば、10~25アミノ酸の鎖によって互いに連結した抗体の単一の軽鎖及び重鎖の可変性抗原結合決定領域); ジスルフィド連結Fv、またはdsFv (例えば、ジスルフィド結合によって互いに連結した抗体の単一の軽鎖及び重鎖の可変性抗原結合決定領域); ラクダ化VH (例えば、VH界面におけるいくつかのアミノ酸が自然発生ラクダ抗体の重鎖に見られるものである、抗体の単一の重鎖の

40

50

可変性抗原結合決定領域)；二重特異性 s c F v (例えば、2つの抗原結合ドメインを有し、それぞれが異なるエピトープを対象とし得る s c F v または d s F v 分子)；ダイアボディ (例えば、第1の s c F v の V H ドメインが第2の s c F v の V L ドメインと会合し、第1の s c F v の V L ドメインが第2の s c F v の V H ドメインと会合して形成される二量体化 s c F v ；ダイアボディの2つの抗原結合領域は同じまたは異なるエピトープを対象とし得る)；ならびにトリアボディ (例えば、ダイアボディと類似した様式で形成されるが、3つの抗原結合ドメインが単一の複合体中に生成される三量体化 s c F v ；3つの抗原結合ドメインは同じまたは異なるエピトープを対象とし得る)が挙げられる。

【0345】

4.3.1.4 ヒト化抗体

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、ヒト及び/またはカニクイザル P D - 1 をはじめとする P D - 1 に結合するヒト化抗体とすることができる。例えば、本開示のヒト化抗体は表1~2に示した1つ以上の C D R を含み得る。非ヒト抗体をヒト化する様々な方法が当技術分野において公知である。例えば、ヒト化抗体は、ヒトではない起源から導入された1つ以上のアミノ酸残基を有することができる。これらの非ヒトアミノ酸残基は、多くの場合、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。ヒト化は、例えば、Jones et al., 1986, Nature 321:522-25; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-27; 及び Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-36の方法に従って、超可変領域配列でヒト抗体の対応する配列を置換することによって実施され得る。

【0346】

場合によっては、ヒト化抗体は、親非ヒト抗体 (例えば、げっ歯類) の6つの C D R のアミノ酸配列をヒト抗体フレームワーク上に移植する C D R グラフティングによって構築される。例えば、Padlanらは、C D R 中の残基の約3分の1のみが実際に抗原と接触することを確認し、これらを「特異性決定残基」または S D R と称した (Padlan et al., 1995, FASEB J. 9:133-39)。S D R グラフティングの技術において、S D R 残基のみがヒト抗体フレームワーク上に移植される (例えば、Kashmiri et al., 2005, Methods 36:25-34を参照)。

【0347】

ヒト化抗体を作製するのに使用されるヒト可変ドメインの選択は、軽ドメイン及び重ドメインの両方とも、抗原性を低減するのに重要であり得る。例えば、いわゆる「ベストフィット」法によると、非ヒト抗体 (例えばげっ歯類) の可変ドメインの配列が、既知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリーに対してスクリーニングされる。げっ歯類のものに最も近いヒト配列が、ヒト化抗体のためのヒトフレームワーク領域 (F R) として選択され得る (Sims et al., 1993, J. Immunol. 151:2296-308; 及び Chothia et al., 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17)。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定のサブグループのヒト抗体すべてのコンセンサス配列に由来する特定のフレームワークを使用する。同じフレームワークが、いくつかの異なるヒト化抗体に使用され得る (Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89; 及び Presta et al., 1993, J. Immunol. 151:2623-32)。場合によっては、フレームワークは、最も豊富なヒトサブクラスである V_L6サブグループ I (V_L6 I) 及び V_Hサブグループ I I I (V_H I I I) のコンセンサス配列に由来する。別の方法においては、ヒト生殖細胞系遺伝子がフレームワーク領域の供給源として用いられる。

【0348】

超ヒト化と呼ばれる C D R の比較に基づいた代替的なパラダイムにおいては、F R 相関性は無関係である。この方法は、非ヒト配列と機能的ヒト生殖細胞系遺伝子レポーター

10

20

30

40

50

との比較からなる。その後、マウス配列と同じまたは密接に関係したカノニカル構造をコードする遺伝子が選択される。次に、非ヒト抗体とカノニカル構造を共有する遺伝子の中で、CDR中の相同性が最も高いものがFRドナーとして選択される。最後に、非ヒトCDRがこれらのFR上に移植される（例えば、Tan et al., 2002, J. Immunol. 169: 1119-25を参照）。

【0349】

一般に、抗原に対するアフィニティー及び他の好ましい生物学的特性を保持させて抗体をヒト化することがさらに望ましい。この目標を達成するためには、ある方法によると、ヒト化抗体は、親配列及びヒト化配列の三次元モデルを使用した、親配列及び様々な概念上のヒト化産物の分析プロセスによって調製される。三次元免疫グロブリンモデルは一般的に、利用可能であり、当業者にはよく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の推定される三次元高次構造を例示及び表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらとしては、例えば、WAM (Whitelegg and Rees, 2000, Protein Eng. 13: 819-24)、Modeller (Salvi and Blundell, 1993, J. Mol. Biol. 234: 779-815)、及びSwiss PDB Viewer (Guex and Peitsch, 1997, Electrophoresis 18: 2714-23)が挙げられる。これらの表示の精査は、候補免疫グロブリン配列の機能における残基の可能性の高い役割の分析、例えば、候補免疫グロブリンがその抗原に結合する能力に影響する残基の分析を可能にする。このように、標的抗原（複数可）に対するアフィニティーの増加などの所望の抗体特徴が達成されるように、FR残基をレシピエント及び移入配列から選択して組み合わせることができる。概して、超可変領域残基は、抗原結合への影響に直接的に、かつ最も実質的に関与している。

【0350】

抗体ヒト化のための別の方法は、ヒトストリング含有量(HSC)と称される抗体ヒト性の尺度に基づく。この方法では、マウス配列をヒト生殖細胞系遺伝子のレパートリーと比較し、その差異をHSCとしてスコア化する。次に、全体的な同一性尺度を使用するのではなく、そのHSCを最大化することによって標的配列をヒト化して、複数の多様なヒト化バリエーションを生成する(Lazar et al., 2007, Mol. Immunol. 44: 1986-98)。

【0351】

上記の方法に加えて、ヒト化抗体を生成及び選別するために実験的方法が用いられ得る。こうした方法としては、ヒト化バリエーションの大規模ライブラリーの生成及び富化技術または高スループットスクリーニング技術を用いた最良のクローンの選別に基づくものが挙げられる。抗体バリエーションは、ファージ、リボソーム、及び酵母ディスプレイライブラリーから、ならびに細菌コロニースクリーニングによって単離され得る（例えば、Hoogenboom, 2005, Nat. Biotechnol. 23: 1105-16; Dufner et al., 2006, Trends Biotechnol. 24: 523-29; Feldhaus et al., 2003, Nat. Biotechnol. 21: 163-70; 及びSchlapschy et al., 2004, Protein Eng. Des. Sel. 17: 847-60を参照）。

【0352】

FRライブラリーアプローチでは、一群の残基バリエーションをFR中の特定の位置に導入し、その後、移植CDRを最も良好に支持するFRを選択するためにライブラリーをスクリーニングする。置換される残基としては、CDR構造に寄与する可能性があるとして同定された「バーニヤ」残基（例えば、Foot and Winter, 1992, J. Mol. Biol. 224: 487-99を参照）の、またはBaca et al. (1997, J. Biol. Chem. 272: 10678-84)によって同定された、より限定された一連の標的残基からのいくつかまたはすべてが挙げられ得る。

【0353】

10

20

30

40

50

FRシャッフリングでは、選択された残基バリエーションのコンビナトリアルライブラリーを作製する代わりに、FR全体を非ヒトCDRと組み合わせる（例えば、Dall'Acqua et al., 2005, Methods 36:43-60を参照）。ライブラリーは、最初にVLをヒト化し、その後VHをヒト化する2段階プロセスにおいて、結合に関してスクリーニングされ得る。あるいは、1段階FRシャッフリングプロセスが用いられ得る。そのようなプロセスは、結果的に得られる抗体が発現の強化、アフィニティーの増加、及び熱安定性をはじめとする生化学的及び物理化学的特性の向上を示すので、2段階スクリーニングよりも効率的であることが明らかにされている（例えば、Damschroder et al., 2007, Mol. Immunol. 44:3049-60を参照）。

10

【0354】

「ヒューマニアリング」法は、必須最小限特異性決定基(MSD)の実験的な同定に基づき、ヒトFRのライブラリーへの非ヒト断片の逐次的置換及び結合の評価に基づく。これは、非ヒトVH及びVL鎖のCDR3の領域から開始し、VH及びVLの両方のCDR1及びCDR2を含む非ヒト抗体の他の領域をヒトFRへと漸進的に置き換える。この方法は典型的には、エピトープ保持、及び異なるヒトVセグメントCDRを有する複数のサブクラスからの抗体の同定をもたらす。ヒューマニアリングは、ヒト生殖細胞系遺伝子抗体と91~96%相同な抗体の単離を可能にする（例えば、Alfenito, Cambridge Healthtech Institute's Third Annual PEGS, The Protein Engineering Summit, 2007を参照）。

20

【0355】

「ヒトエンジニアリング」法は、ヒトにおける免疫原性が減少しているが、それでもなお元の非ヒト抗体の望ましい結合特性を保持する改変抗体を生成するように、抗体のアミノ酸配列に特定の変化をもたらすことによって、非ヒト抗体または抗体断片、例えばマウスまたはキメラ抗体または抗体断片などを改変させることを伴う。一般に、この技術は、非ヒト（例えばマウス）抗体のアミノ酸残基を「低リスク」、「中リスク」、または「高リスク」残基に分類することを伴う。分類は、特定の置換を行うことの予測される利益（例えば、ヒトにおける免疫原性について）を、得られる抗体のフォールディングにその置換が影響を及ぼすリスクに対して評価する全体的なリスク/リワード計算を用いて実施する。非ヒト（例えばマウス）抗体配列の所与の位置（例えば低または中リスク）で置換される特定のヒトアミノ酸残基は、非ヒト抗体の変領域からのアミノ酸配列を特異的またはコンセンサスヒト抗体配列の対応する領域とアラインメントすることによって選択することができる。非ヒト配列中の低または中リスク位置のアミノ酸残基で、アラインメントによるヒト抗体配列中の対応する残基を置換することができる。ヒトエンジニアリングタンパク質を作製するための技術は、Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7:805-14; 米国特許第5,766,886号; 5,770,196号; 5,821,123号; 及び5,869,619号; ならびにPCT公開WO 93/11794号でより詳細に記載されている。

30

【0356】

4.3.1.5 ヒト抗体

ヒト抗PD-1抗体は、ヒト由来ファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクローン可変ドメイン配列（複数可）を、既知のヒト定常ドメイン配列（複数可）と組み合わせることによって構築することができる。あるいは、本開示のヒトモノクローナル抗PD-1抗体をハイブリドーマ法によって作製することができる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株は、例えば、Kozbor, 1984, J. Immunol. 133:3001-05; Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications 51-63 (1987); 及びBoerner et al., 1991, J. Immunol. 147:86-95に記

40

50

載されている。

【0357】

免疫化すると内因性免疫グロブリン産生の不在下でヒト抗体の完全レパートリーを産生することのできる遺伝子導入動物（例えば、マウス）を作製することも可能である。ヒト抗体レパートリーを発現する遺伝子導入マウスは、多種多様な潜在的薬物標的に対する高アフィニティーヒト配列モノクローナル抗体を生成するために用いられている（例えば、Jakobovits, A., 1995, *Curr. Opin. Biotechnol.* 6(5): 561-66; Bruggemann and Taussing, 1997, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8(4): 455-58; 米国特許第6,075,181号及び6,150,584号; ならびに Lonberg et al., 2005, *Nature Biotechnol.* 23: 1117-25を参照)。

10

【0358】

あるいは、ヒト抗体は、標的抗原に対する抗体を産生するヒトBリンパ球の不死化によって調製され得る（例えば、そのようなBリンパ球は、個体から回収され得るか、またはインビトロで免疫化されたものであり得る）（例えば、Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy* (1985); Boerner et al., 1991, *J. Immunol.* 147(1): 86-95; 及び米国特許第5,750,373号を参照)。

【0359】

遺伝子シャッフリングを用いて、非ヒト、例えば、げっ歯類の抗体からヒト抗体を得ることができ、この場合、ヒト抗体は、出発非ヒト抗体と類似したアフィニティー及び特異性を有する。「エピトープインプリンティング」または「誘導選択」とも呼ばれるこの方法によれば、本明細書に記載するようなファージディスプレイ技術によって得られた非ヒト抗体断片の重鎖可変領域または軽鎖可変領域のいずれかが、ヒトVドメイン遺伝子のレパートリーと置き換えられ、非ヒト鎖/ヒト鎖scFvまたはFabキメラの集団が作製される。抗原での選択の結果、非ヒト鎖/ヒト鎖キメラscFvまたはFabが単離されるが、ここで、ヒト鎖は、一次ファージディスプレイクローン中の対応する非ヒト鎖の除去時に破壊された抗原結合部位を回復する（例えば、エピトープがヒト鎖パートナーの選択を誘導する（刷り込む））。残りの非ヒト鎖を置き換えるためにプロセスを繰り返すと、ヒト抗体が得られる（例えば、PCT WO 93/06213; 及びOsbourne et al., 2005, *Methods* 36: 61-68を参照）。CDRグラフトイングによる非ヒト抗体の従来ヒト化とは異なり、この技術では、非ヒト起源のFR残基もCDR残基も有しない、完全ヒト抗体が得られる。細胞表面抗原に対するマウス抗体をヒト化するための誘導選択の例としては、卵巣癌細胞上に存在する葉酸結合タンパク質（例えば、Figini et al., 1998, *Cancer Res.* 58: 991-96を参照）、及び肝細胞癌上で高度に発現されるCD147（例えば、Bao et al., 2005, *Cancer Biol. Ther.* 4: 1374-80を参照）が挙げられる。

20

30

【0360】

誘導選択アプローチの潜在的な欠点は、他方の抗体鎖を不変に保ちながらの一方の抗体鎖のシャッフリングが、エピトープのずれをもたらす恐れがあることである。非ヒト抗体によって認識されるエピトープを維持するために、CDR保持を適用することができる（例えば、Klimka et al., 2000, *Br. J. Cancer.* 83: 252-60; 及びBeiboer et al., 2000, *J. Mol. Biol.* 296: 833-49を参照）。この方法では、一般に非ヒトVH CDR3が保持されるが、これは、このCDRが抗原結合部位の中心にあり、抗原認識のための抗体の最も重要な領域であり得るためである。しかし、場合によっては、非ヒト抗体のVH CDR3及びVL CDR3、ならびにVH CDR2、VL CDR2、及びVL CDR1が保持されることもある。

40

【0361】

50

4.3.1.6 二重特異性抗体

二重特異性抗体は、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モノクローナル抗体である。ある実施形態において、二重特異性抗体はヒト抗体またはヒト化抗体である。ある実施形態において、結合特異性のうちの一方はPD-1に対するものであり、他方は任意の他の抗原に対するものである。いくつかの実施形態において、結合特異性のうちの一方はPD-1に対するものであり、他方はPD-1を発現する細胞上で発現される別の表面抗原に対するものである。ある実施形態において、二重特異性抗体はPD-1の2つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体は全長抗体または抗体断片（例えば、F(ab')₂二重特異性抗体）として調製することができる。

【0362】

二重特異性抗体の作製方法は当該技術分野において公知であり、例えば、2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖ペアの共発現によるものなどであり、ここで2つの重鎖は異なる特異性を有する（例えば、Milstein and Cuelllo, 1983, Nature 305: 537-40を参照）。二重特異性抗体の生成のさらなる詳細については、例えば、Bispecific Antibodies (Kontermann ed., 2011)を参照。

【0363】

4.3.1.7 多価抗体

多価抗体は、抗体が結合する抗原を発現する細胞によって二価抗体よりも速く内部移行（及び/または異化）され得る。本開示の抗体は、3つ以上の抗原結合部位を有する（IgMクラス以外の）多価抗体（例えば、四価抗体）とすることができ、抗体のポリペプチド鎖をコードする核酸の組換え発現によって容易に産生させることができる。多価抗体は、二量体化ドメイン及び3つ以上の抗原結合部位を含むことができる。ある実施形態において、二量体化ドメインはFc領域またはヒンジ領域を含む（またはそれらからなる）。この場合、抗体は、Fc領域及びFc領域のアミノ末端側の3つ以上の抗原結合部位を含むことになるであろう。ある実施形態において、多価抗体は3つ~約8つの抗原結合部位を含む（またはそれらからなる）。そのような一実施形態において、多価抗体は4つの抗原結合部位を含む（またはそれらからなる）。多価抗体は少なくとも1つのポリペプチド鎖（例えば、2つのポリペプチド鎖）を含み、ポリペプチド鎖（複数可）は2つ以上の可変ドメインを含む。例えば、ポリペプチド鎖（複数可）はVD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fcを含み得るが、ここで、VD1は第1可変ドメインであり、VD2は第2可変ドメインであり、FcはFc領域の1つのポリペプチド鎖であり、X1及びX2はアミノ酸またはポリペプチドを表し、nは0または1である。例えば、ポリペプチド鎖（複数可）は以下を含み得る：VH-CH1-フレキシブルリンカー-VH-CH1-Fc領域鎖；またはVH-CH1-VH-CH1-Fc領域鎖。本明細書の多価抗体は少なくとも2つ（例えば4つ）の軽鎖可変ドメインポリペプチドをさらに含み得る。本明細書の多価抗体は、例えば約2~約8つの軽鎖可変ドメインポリペプチドを含み得る。ここで企図する軽鎖可変ドメインポリペプチドは、軽鎖可変ドメインを含み、任意により、CLドメインをさらに含む。

【0364】

4.3.1.8 Fcエンジニアリング

Fcエンジニアリングによって本明細書で提供する抗PD-1抗体を改変することが望ましい場合がある。ある実施形態において、抗体のFc領域への改変は抗体のエフェクター機能の減少または除去をもたらす。ある実施形態において、エフェクター機能はADCC、ADCP、及び/またはCDCである。いくつかの実施形態において、エフェクター機能はADCCである。他の実施形態において、エフェクター機能はADCPである。他の実施形態において、エフェクター機能はCDCである。一実施形態において、エフェクター機能はADCC及びADCPである。一実施形態において、エフェクター機能はADCC及びCDCである。一実施形態において、エフェクター機能はADCP及びCDCである。一実施形態において、エフェクター機能はADCC、ADCP及びCDCである。

10

20

30

40

50

これは、1つ以上のアミノ酸置換を抗体のFc領域内に導入することによって達成され得る。例えば、233～236位でIgG2残基を、ならびに327、330、及び331位でIgG4残基を用いたヒトIgG1中への置換がADCC及びCDCを大幅に減少させることが明らかにされた(例えば、Armour et al., 1999, Eur. J. Immunol. 29(8): 2613-24; 及び Shields et al., 2001, J. Biol. Chem. 276(9): 6591-604を参照)。他のFcバリエーションは本明細書の他の箇所で提供する。

【0365】

抗体の血清半減期を延長させるために、例えば、米国特許第5,739,277号に記載されているように抗体(特に抗体断片)中にサルベージ受容体結合エピトープが組み込まれ得る。用語「サルベージ受容体結合エピトープ」は、IgG分子のインビボ血清半減期の延長を担うIgG分子(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4)のFc領域のエピトープのことをいう。

【0366】

4.3.1.9 代替的な結合作用物質

本開示は、本明細書に開示の抗PD-1抗体と同じエピトープに特異的に結合する非免疫グロブリン性結合作用物質を包含する。いくつかの実施形態において、非免疫グロブリン性結合作用物質は、競合結合アッセイにおいて本開示の抗PD-1抗体に取って代わるか、またはそれによって置き換えられる作用物質として同定される。こうした代替的な結合作用物質としては、例えば、当技術分野において公知の任意の組換えタンパク質スキュフォールドが挙げられ得る。そのようなスキュフォールドは表1～2に示した1つ以上のCDRを含み得る。そのようなスキュフォールドとしては、例えば、リガンド結合部位を形成する4つの超可変ループを支持する強固な α -バレルによって特徴づけられるタンパク質構造のリボカリンスキュフォールドを基にしたアンチカリンが挙げられる。機能的提示及び誘導選択と組み合わせた、ループ領域における標的ランダム変異誘発によって、新規な結合特異性が設計され得る(例えば、Skerra, 2008, FEBS J. 275: 2677-83を参照)。他の好適なスキュフォールドとしては、例えば、ヒトフィブロネクチンIIIの10番目の細胞外ドメインを基にしたアドネクチン、またはモノボディ(例えば、Koide and Koide, 2007, Methods Mol. Biol. 352: 95-109を参照);ブドウ球菌プロテインAのZドメインを基にしたアフィボディ(例えば、Nygren et al., 2008, FEBS J. 275: 2668-76を参照);アンキリンリピートタンパク質を基にしたDARPin(例えば、Stump et al., 2008, Drug Discov. Today 13: 695-701を参照);ヒトFynタンパク質キナーゼのSH3ドメインを基にしたフィノマー(例えば、Grabulovski et al., 2007, J. Biol. Chem. 282: 3196-204を参照);Sulfolobus acidularius由来のSac7dを基にしたアフィチン(例えば、Krehenbrink et al., 2008, J. Mol. Biol. 383: 1058-68を参照);ヒトy-B-クリスタリンを基にしたアフィリン(例えば、Ebersbach et al., 2007, J. Mol. Biol. 372: 172-85を参照);膜受容体タンパク質のAドメインを基にしたアビマー(例えば、Silverman et al., 2005, Biotechnol. 23: 1556-61を参照);システインリッチノッチンペプチド(例えば、Kolmar, 2008, FEBS J. 275: 2684-90を参照);及び組換えクニッツ型阻害剤(例えば、Nixon and Wood, 2006, Curr. Opin. Drug Discov. Dev. 9: 261-68を参照)が挙げられ得る。総説については、例えば、Gebauer and Skerra, 2009, Curr. Opin. Chem. Biol. 13: 245-55を参照。

【0367】

4.3.2 抗体バリエーション

いくつかの実施形態において、PD-1に結合する抗体または本明細書に記載の抗体のアミノ酸配列改変（複数可）を企図する。例えば、結合アフィニティー、及び/または限定はしないが、特異性、熱安定性、発現レベル、エフェクター機能、グリコシル化、低い免疫原性、もしくは溶解性をはじめとする抗体の他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。したがって、本明細書で提供する抗PD-1抗体に加えて、抗PD-1抗体バリエーションを調製することができることを企図する。例えば、抗PD-1抗体バリエーションは、コーディングDNA中に適切なヌクレオチド変化を導入することによって、及び/または所望の抗体もしくはポリペプチドの合成によって調製することができる。当業者であれば、アミノ酸変化が、グリコシル化部位の数もしくは位置の変化または膜アンカリング特性の変更などのように、抗PD-1抗体の翻訳後プロセスを変更し得ることを認識している。

10

【0368】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、例えば抗体への任意のタイプの分子の共有結合によって、化学修飾される。抗体誘導体としては、例えば、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、公知の保護/ブロック基による誘導体化、化学的切断、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結などの増加または減少によって化学修飾された抗体が挙げられ得る。加えて、抗体は1つ以上の非古典的アミノ酸を含有し得る。

【0369】

変異は、天然配列抗体またはポリペプチドと比較してアミノ酸配列に変化をもたらす抗体またはポリペプチドをコードする1つ以上のコドンの置換、欠失、または挿入であり得る。アミノ酸置換は、例えばセリンでのロイシンの置き換えのように、あるアミノ酸を類似の構造的及び/または化学的特性を有する別のアミノ酸で置き換える、例えば、保存的アミノ酸置換の結果とすることができる。挿入または欠失は任意により約1~5アミノ酸の範囲であり得る。ある実施形態において、置換、欠失、または挿入は、元の分子に対して25個未満のアミノ酸置換、20個未満のアミノ酸置換、15個未満のアミノ酸置換、10個未満のアミノ酸置換、5個未満のアミノ酸置換、4個未満のアミノ酸置換、3個未満のアミノ酸置換、または2個未満のアミノ酸置換を含む。具体的な実施形態において、置換は、1つ以上の予測される非必須アミノ酸残基において行われる保存的アミノ酸置換である。許容される変異は、配列中のアミノ酸の挿入、欠失、または置換を系統的に行い、その結果生じるバリエーションを全長または成熟天然配列によって示される活性に関して試験することによって決定され得る。

20

30

【0370】

アミノ酸配列挿入としては、1個の残基から100個以上の残基を含有するポリペプチドの範囲の長さである、アミノ末端及び/またはカルボキシル末端融合、ならびに単一のまたは複数のアミノ酸残基の配列内挿入が挙げられる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型バリエーションとしては、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えば、抗体指向性酵素プロドラッグ療法用）またはポリペプチドに対する抗体のN末端またはC末端への融合が挙げられる。

【0371】

抗体の生物学的特性の実質的な改変は、(a)置換領域におけるポリペプチド骨格の構造、例えば、シートもしくは螺旋コンフォメーション、(b)標的部位における分子の荷電もしくは疎水性、または(c)側鎖の大きさの維持に対する影響が著しく異なる置換を選択することにより達成される。あるいは、特性を維持するように、または著しく変化させないように、保存的（例えば類似の特性及び/または側鎖を有するアミノ酸基のうちでの）置換が行われ得る。アミノ酸は、その側鎖の特性の類似性に従ってグループ分けされ得る（例えば、Lehninger, Biochemistry 73-75 (2nd ed., 1975)を参照）：(1)非極性：Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Trp(W)、Met(M)；(2)非荷電極性：Gly(G)、Ser(S)、Thr(T)、Cys(C)、Tyr(Y)、A

40

50

s n (N)、G l n (Q) ; (3) 酸性 : A s p (D)、G l u (E) ; 及び (4) 塩基性 : L y s (K)、A r g (R)、H i s (H)。

【 0 3 7 2 】

あるいは、自然発生残基は、共通の側鎖特性に基づいてグループに分類され得る : (1) 疎水性 : ノルロイシン、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e ; (2) 中性親水性 : C y s、S e r、T h r、A s n、G l n ; (3) 酸性 : A s p、G l u ; (4) 塩基性 : H i s、L y s、A r g ; (5) 鎖の配向に影響を与える残基 : G l y、P r o ; (6) 芳香族 : T r p、T y r、P h e。

【 0 3 7 3 】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。そのような置換された残基は、保存的置換部位にも、または残りの(非保存的)部位にも導入され得る。したがって、一実施形態において、PD-1エピトープに結合する抗体またはその断片は、本明細書で提供するマウスモノクローナル抗体のアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一実施形態において、PD-1エピトープに結合する抗体またはその断片は、表1~6に示したアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。さらに別の実施形態において、PD-1エピトープに結合する抗体またはその断片は、表2に示したVH CDRアミノ酸配列及び/または表1に示したVL CDRアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVH CDR及び/またはVL CDRアミノ酸配列を含む。変異は、オリゴヌクレオチド媒介(部位特異的)変異誘発、アラニンスキャニング及びPCR変異誘発などの当該技術分野において公知の方法を用いて行うことができる。部位特異的変異誘発(例えば、Carter, 1986, Biochem J. 237: 1-7; 及びZoller et al., 1982, Nucl. Acids Res. 10: 6487-500を参照)、カセット変異誘発(例えば、Wells et al., 1985, Gene 34: 315-23を参照)、または他の公知の技術をクローニングしたDNAで実施して、抗PD-1抗体バリエーションDNAを生成することができる。

【 0 3 7 4 】

分子の酸化安定性を向上させて異常な架橋を防止するために、抗PD-1抗体の適切なコンフォメーションの維持に関与していない任意のシステイン残基も、例えば、アラニンまたはセリンなどの別のアミノ酸で置換され得る。逆に、その安定性を向上させるために(例えば、抗体がFv断片などの抗体断片である場合)、システイン結合(複数可)が抗PD-1抗体に付加され得る。

【 0 3 7 5 】

いくつかの実施形態において、本開示の抗PD-1抗体分子は「脱免疫化」抗体である。「脱免疫化」抗PD-1抗体は、それぞれの元の非脱免疫化抗体と比較して、そのアミノ酸配列中に抗体の免疫原性の低下をもたらす1つ以上の改変を有する、ヒト化またはキメラ抗PD-1抗体に由来する抗体である。そのような抗体変異体を生成するための手順の1つは、抗体分子のT細胞エピトープの同定及び除去を伴う。最初の段階において、抗体分子の免疫原性は、いくつかの方法によって、例えば、当該技術分野において公知の、T細胞エピトープのインピトロでの決定またはそのようなエピトープのインシリコ予測によって決定することができる。T細胞エピトープ機能のために決定的な残基が同定された

10

20

30

40

50

ら、免疫原性を除去し、抗体活性を保持するために変異させることができる。総説については、例えば、Jones et al., 2009, *Methods in Molecular Biology* 525: 405 - 23を参照。

【0376】

4.3.2.1 インビトロアフィニティー成熟

いくつかの実施形態において、親抗体と比較してアフィニティー、安定性、または発現レベルなどの特性が向上した抗体バリエーションは、インビトロアフィニティー成熟によって調製され得る。天然原型と同様に、インビトロアフィニティー成熟は変異及び選別の原理に基づく。抗体のライブラリーは、生物（例えば、ファージ、細菌、酵母、もしくは哺乳類細胞）の表面上、またはそれらのコーディングmRNAもしくはDNAとの会合（例えば、共有結合的または非共有結合的に）のいずれかで、Fab、scFv、またはVドメイン断片として提示される。提示された抗体のアフィニティー選別により、抗体をコードする遺伝情報を保有する生物または複合体の単離が可能になる。一般に、ファージディスプレイなどのディスプレイ方法を用いた2回または3回の変異及び選別の結果、低いnMの範囲のアフィニティーを有する抗体断片が得られる。アフィニティー成熟抗体は、標的抗原に対してnM、さらにはpMのアフィニティーを有することができる。

【0377】

ファージディスプレイは抗体の提示及び選別のための広く普及している方法である。抗体は、バクテリオファージコートタンパク質との融合体としてFdまたはM13バクテリオファージの表面上に提示される。選別は、ファージディスプレイ抗体をそれらの標的と結合させるための抗原に対する曝露を伴い、このプロセスは「パニング」と呼ばれる。抗原と結合したファージを回収し、これを用いて細菌に感染させ、さらなる回数の選別のためのファージを産生させる。総説については、例えば、Hoogenboom, 2002, *Methods. Mol. Biol.* 178: 1 - 37; 及びBradbury and Marks, 2004, *J. Immunol. Methods* 290: 29 - 49を参照。

【0378】

酵母ディスプレイシステム（例えば、Boder et al., 1997, *Nat. Biotech.* 15: 553 - 57; 及びChao et al., 2006, *Nat. Protocols* 1: 755 - 68を参照）において、抗体は、重鎖及び軽鎖がフレキシブルリンカーによって連結された一本鎖可変融合体（scFv）として提示され得る。scFvは、Agapとのジスルフィド結合を介して酵母細胞壁に結合している酵母アグルチニンタンパク質Agapの接着サブユニットに融合する。Agapを介したタンパク質の提示は、細胞表面からタンパク質を突出させ、酵母細胞壁上の他の分子との相互作用の可能性を最小限にする。ライブラリーをスクリーニングしてアフィニティーまたは安定性が向上した抗体を選別するために、磁気分離及びフローサイトメトリーが用いられる。目的的可溶性抗原への結合は、ビオチン化抗原での酵母の標識、及び蛍光団に結合したストレプトアビジンなどの二次試薬によって判定される。抗体の表面発現の変動は、scFvに隣接するヘマグルチニンまたはc-Mycエピトープタグのいずれかの免疫蛍光標識によって測定することができる。発現は提示されるタンパク質の安定性と相関することが分かっており、そのため、抗体は安定性及びアフィニティーの向上で選別することができる（例えば、Shusta et al., 1999, *J. Mol. Biol.* 292: 949 - 56を参照）。酵母ディスプレイのさらなる利点は、提示されたタンパク質が真核酵母細胞の小胞体内でフォールディングされ、小胞体シャペロン及び品質管理機構を活用することである。成熟が完了したら、酵母の表面に提示されたままで抗体アフィニティーを都合よく「タイトレーション」することができ、各クローンの発現及び精製の必要性はなくなる。酵母表面ディスプレイの理論的境界は、他のディスプレイ法よりも機能的なライブラリーのサイズが小さくなる可能性があることであるが；最近のアプローチでは、酵母細胞の交配系を用いてサイズが 10^{14} と推定されるコンビナトリアル多様性が生み出されている（例えば、米国特許出願公開第2003/0186374号；及

10

20

30

40

50

びBlaise et al., 2004, Gene 342:211-18を参照)。
【0379】

リボソームディスプレイにおいて、無細胞系における選別のために抗体-リボソーム-mRNA (ARM) 複合体が生成される。抗体の特定のライブラリーをコードするDNAライブラリーを、終止コドンで欠くスペーサー配列と遺伝的に融合させる。このスペーサー配列は、翻訳された場合にペプチジルtRNAと依然として結合したままであり、リボソームトンネルを占有し、そのため、目的のタンパク質がリボソームから突出してフォールディングすることを可能とする。結果として生じるmRNA、リボソーム、及びタンパク質の複合体は、表面結合リガンドと結合することができ、リガンドでのアフィニティー捕捉による抗体及びそのコーディングmRNAの同時単離が可能になる。続いて、リボソーム結合mRNAをcDNAへと逆転写し、続いて、変異誘発して次の選別に用いることができる(例えば、Fukuda et al., 2006, Nucleic Acids Res. 34:e127を参照)。mRNAディスプレイにおいて、ピューロマイシンをアダプター分子として用いて抗体とmRNAとの間の共有結合が確立される(Wilson et al., 2001, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:3750-55)。

10

【0380】

これらの方法は完全にインビトロで行われるので、他の選別技術に勝る2つの主な利点がある。第1に、ライブラリーの多様性は、細菌細胞の形質転換効率によってではなく、試験管内に存在するリボソーム及び異なるmRNA分子の数のみによって制限される。第2に、各回の選別の後に、例えば、非ブルーフリーディングポリメラーゼによって容易にランダム変異を導入することができ、いかなる多様化段階の後にもライブラリーを形質転換してはならないからである。

20

【0381】

哺乳類細胞ディスプレイシステム(例えば、Bowers et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA. 108:20455-60を参照)において、予め再構成されたD(J)領域に接合した生殖細胞系配列V遺伝子セグメントに基づいて、IgGの完全ヒトライブラリーが構築される。重鎖及び軽鎖の全長V領域をヒト重鎖及び軽鎖定常領域と結合させ、哺乳類細胞株(例えばHEK293)中に形質移入する。形質移入したライブラリーを増殖させ、ストレプトアビジン(SA)結合磁気ビーズに対して複数回のネガティブセレクションを行い、その後、ビオチン化標的タンパク質、ペプチド断片、またはエピトープでコーティングしたSA結合磁気ビーズに対してポジティブセレクションを1回行う。ポジティブセレクションされた細胞を増殖させ、その後、数回のFACSによってソーティングして、標的タンパク質、ペプチド断片、またはエピトープに特異的に結合する抗体を提示する単細胞クローンを単離する。これらの単細胞クローンからの重鎖及び軽鎖ペアはさらなる成熟のためにAIDで再形質移入する。AID誘発性体細胞超変異と組み合わせた複数回の哺乳類細胞ディスプレイにより、高特異性高アフィニティー抗体が生成される。

30

【0382】

多様性は、標的を定めて、またはランダム導入によって、抗体ライブラリーのCDRまたはV遺伝子全体に導入することができる。前者のアプローチとしては、高レベルもしくは低レベルの変異誘発によって抗体のCDRのすべてを逐次的な標的化、または体細胞超変異の孤立したホットスポット(例えば、Ho et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:607-17を参照)、もしくは実験に基づいて、もしくは構造上の理由からアフィニティーに影響を及ぼすと疑われる残基の標的化が挙げられる。具体的な実施形態において、体細胞超変異は、例えば、SHM-XEL(商標)プラットフォーム(AnaptysBio, San Diego, CA)を用いて、AID誘発性体細胞超変異によって実施される。ランダム変異は、E. coliミューテーター株、DNAポリメラーゼによる誤りがちな複製(例えば、Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol. 226:889-96を参照)、またはRNAレプリカーゼを

40

50

用いて、V遺伝子全体にわたって導入することができる。多様性は、DNAシャフリングまたは類似の技術による天然で多様性の領域の置換によっても導入され得る（例えば、Luet al., 2003, J. Biol. Chem. 278: 43496-507; 米国特許第5,565,332号及び6,989,250号を参照）。代替的な技術では、フレームワーク領域残基に伸びる超可変ループを標的とするか（例えば、Bond et al., 2005, J. Mol. Biol. 348: 699-709を参照）、CDR中のループ欠失及び挿入を採用するか、またはハイブリダイゼーションベースの多様化を用いる（例えば、米国特許出願公開第2004/0005709号を参照）。CDRにおける多様性を生じさせるさらなる方法が、例えば、米国特許第7,985,840号に開示されている。抗体ライブラリー及び/または抗体アフィニティー成熟を得るために用

10

【0383】

ライブラリーのスクリーニングは当該技術分野において公知の様々な技術によって達成することができる。例えば、PD-1を、固体支持体、カラム、ピン、またはセルロース/ポリ(フッ化ビニリデン)膜/他のフィルター上に固定化することができるか、吸着プレートに付着させた、もしくは細胞ソーティングに用いられる宿主細胞上で発現させることができるか、もしくはストレプトアビジン被覆ビーズでの捕捉のためにビオチンと結合

20

させることができるか、またはディスプレイライブラリーをパニングする任意の他の方法において用いることができる。

【0384】

インビトロアフィニティー成熟法の総説については、例えば、Hoogenboom, 2005, Nature Biotechnology 23: 1105-16; Quiroz and Sinclair, 2010, Revista Ingeneria Biomedica 4: 39-51; 及びこれらの中の参考文献を参照。

【0385】

4.3.2.2 抗PD-1抗体の修飾

抗PD-1抗体の共有結合性修飾が本開示の範囲内に含まれる。共有結合性修飾としては、抗PD-1抗体の標的アミノ酸残基を、抗PD-1抗体の選択された側鎖またはNもしくはC末端残基と反応することのできる有機誘導体化剤と反応させることが挙げられる。他の修飾としては、グルタミル及びアスパラギン残基の、それぞれ対応するグルタミル及びアスパルチル残基への脱アミド化、プロリン及びリシンのヒドロキシル化、セリルまたはスレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リシン、アルギニン及びヒスチジン側鎖の - アミノ基のメチル化（例えば、Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties 79-86 (1983)を参照）、N末端アミンのアセチル化、ならびにいずれかのC末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

30

【0386】

本開示の範囲内に含まれる抗PD-1抗体の他の種類の共有結合性修飾としては、抗体またはポリペプチドの天然グリコシル化パターンを変更すること（例えば、Beck et al., 2008, Curr. Pharm. Biotechnol. 9: 482-501; 及びWalsh, 2010, Drug Discov. Today 15: 773-80を参照）、ならびに例えば、米国特許第4,640,835号; 4,496,689号; 4,301,144号; 4,670,417号; 4,791,192号; または4,179,337号に記載されているように抗体を様々な非タンパク質性ポリマー、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)、ポリプロピレングリコール、またはポリオキシアルキレンの1つに連結させることが挙げられる。

40

【0387】

50

本開示の抗PD-1抗体は、別の異種ポリペプチドまたはアミノ酸配列、例えばエプタグ（例えば、Terpe, 2003, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60:523-33を参照）またはIgG分子のFc領域（例えば、Aruffo, Antibody Fusion Proteins 221-42 (Chamow and Ashkenazi eds., 1999)を参照）と融合した抗PD-1抗体を含むキメラ分子を形成するためにも修飾され得る。

【0388】

本明細書では、PD-1抗原に結合する本明細書で提供する抗体及び異種ポリペプチドを含む融合タンパク質も提供する。いくつかの実施形態において、抗体が融合される異種ポリペプチドは、細胞表面発現PD-1を有する細胞へ抗体を標的化するために有用である。

10

【0389】

本明細書ではPD-1抗原に結合する抗体のパネルも提供する。具体的な実施形態において、抗体のパネルは、異なる会合速度、異なる解離速度、PD-1抗原に対する異なるアフィニティー、及び/またはPD-1抗原に対する異なる特異性を有する。いくつかの実施形態において、パネルは、約10、約25、約50、約75、約100、約125、約150、約175、約200、約250、約300、約350、約400、約450、約500、約550、約600、約650、約700、約750、約800、約850、約900、約950、もしくは約1000個またはこれより多くの抗体を含むかまたはそれからなる。抗体のパネルは、例えば、ELISAなどのアッセイのために、96ウェルまたは384ウェルプレート中で用いることができる。

20

【0390】

4.3.3 抗PD-1抗体の調製

抗PD-1抗体は、抗PD-1抗体をコードする核酸を含むベクターで形質転換または形質移入した細胞を培養することによって産生され得る。本開示の抗体のポリペプチドコンポーネントをコードするポリヌクレオチド配列は、標準的な組換え技術を用いて得ることができる。所望のポリヌクレオチド配列は、ハイブリドーマ細胞などの抗体産生細胞から単離及び配列決定され得る。代替的に、ポリヌクレオチドは、ヌクレオチド合成機またはPCR技法を用いて合成され得る。ポリペプチドをコードする配列が得られたら、宿主細胞内で異種ポリヌクレオチドを複製及び発現することができる組換えベクター中に挿入される。当該技術分野において入手可能であり公知である多くのベクターを本開示の目的に用いることができる。適切なベクターの選択は、ベクターに挿入される核酸の大きさ及びベクターで形質転換される特定の宿主細胞に主に依存する。本開示の抗体を発現させるのに適した宿主細胞としては、グラム陰性またはグラム陽性生物をはじめとする古細菌及び真正細菌などの原核生物、糸状菌または酵母などの真核微生物、昆虫細胞などの無脊椎動物細胞または植物細胞、ならびに哺乳類宿主細胞株などの脊椎動物細胞が挙げられる。宿主細胞を上記の発現ベクターによって形質転換させて、プロモーターを誘導するために、形質転換体を選別するために、または所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために適宜改変された従来の栄養培地中で培養する。宿主細胞によって産生された抗体は、当該技術分野において公知の標準的なタンパク質精製法を用いて精製される。

30

40

【0391】

ベクター構築、発現、及び精製を含めた抗体産生方法は、Pluckthun et al., Antibody Engineering: Producing antibodies in Escherichia coli: From PCR to fermentation 203-52 (McCafferty et al. eds., 1996); Kwong and Rader, E. coli Expression and Purification of Fab Antibody Fragments, in Current Protocols in Protein Science (2009); Tachibana and Takekoshi, Production of Antibody Fab Fragments in Escheri

50

schia coli, in *Antibody Expression and Production* (Al-Rubeai ed., 2011); 及び *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* (An ed., 2009) にさらに記載されている。

【0392】

当然、抗PD-1抗体の調製のために、当該技術分野において公知の代替的方法が用いられ得ることを企図する。例えば、適切なアミノ酸配列またはその部分は、固相法を用いた直接ペプチド合成によって生成され得る（例えば、Stewart et al., *Solid-Phase Peptide Synthesis* (1969); 及び Merrifield, 1963, *J. Am. Chem. Soc.* 85: 2149-54 を参照）。インビトロタンパク質合成は、手作業の技術を用いて、または自動化によって実施され得る。抗PD-1抗体の様々な部分が、別々に化学合成され、化学的または酵素的な方法を用いて結合させて、所望の抗PD-1抗体が生成され得る。あるいは、抗体は、例えば、米国特許第5,545,807号及び5,827,690号に開示されているように、抗体を発現するように組換えられた遺伝子導入動物の細胞、または体液、例えば乳などから精製され得る。

【0393】

4.3.4 イムノコンジュゲート

本開示は、合成リンカーによって1つ以上の非抗体作用物質に共有結合した本開示の抗PD-1抗体のいずれか1つを含むコンジュゲートも提供する。

【0394】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、例えば、診断または検出可能な分子に結合または組換え融合している。結合または組換え融合した抗体は、例えば、PD-1媒介疾患の発症、発生、進行及び/または重症度を監視または予後予測するのに有用であり得る。

【0395】

そのような診断及び検出は、例えば、限定はしないが、様々な酵素、例えば限定はしないがホースラディッシュペーパーオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼなど；補欠分子族、例えば限定はしないがストレプトアビジン/ビオチンまたはアビジン/ビオチンなど；蛍光材料、例えば限定はしないがウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシネート (*isothiocyanate*)、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシル、またはフィコエリスリンなど；発光材料、例えば限定はしないがルミノールなど；生物発光材料、例えば限定はしないがルシフェラーゼ、ルシフェリン、またはエクオリンなど；化学発光材料、例えば限定はしないがアクリジニウム系化合物またはHALOTAGなど；放射性材料、例えば限定はしないがヨウ素 (^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、及び ^{121}I)、炭素 (^{14}C)、硫黄 (^{35}S)、トリチウム (^3H)、インジウム (^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、及び ^{111}In)、テクネチウム (^{99}Tc)、タリウム (^{201}Tl)、ガリウム (^{68}Ga 及び ^{67}Ga)、パラジウム (^{103}Pd)、モリブデン (^{99}Mo)、キセノン (^{133}Xe)、フッ素 (^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 、または ^{117}Sn など；様々な陽電子放出断層撮影を用いる陽電子放出金属；ならびに非放射性常磁性金属イオンをはじめとする、検出可能な物質に抗体をカップリングすることによって達成することができる。

【0396】

本明細書では、異種タンパク質もしくはポリペプチドに（またはその断片、例えば、約10、約20、約30、約40、約50、約60、約70、約80、約90、または約100アミノ酸のポリペプチドに）組換え融合または化学的に結合（共有結合性もしくは非

10

20

30

40

50

共有結合性コンジュゲーション)して融合タンパク質を生成している抗体、ならびにその使用も提供する。特に、本明細書では、本明細書で提供する抗体の抗原結合断片(例えば、Fab断片、Fc断片、Fv断片、F(ab)₂断片、VHドメイン、VH CDR、VLドメイン、またはVL CDR)及び異種タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドを含む融合タンパク質を提供する。一実施形態において、抗体が融合している異種タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドは、特定の細胞型、例えば、PD-1を発現する細胞などへ抗体を標的化するのに有用である。例えば、特定の細胞型によって発現された細胞表面受容体に結合する抗体が、本明細書で提供する改変抗体に融合または結合され得る。

【0397】

さらに、本明細書で提供する抗体は、精製を容易にするためにマーカーまたは「タグ」配列、例えばペプチドなどと融合することができる。具体的な実施形態において、マーカーまたはタグアミノ酸配列は、ヘキサヒスチジンペプチド、例えば、中でも、pQEベクター(例えば、QIAGEN, Inc.を参照)で提供されるタグなどであり、これらの多くが市販されている。例えば、Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 821-24に記載されているように、ヘキサヒスチジンは融合タンパク質の好都合な精製をもたらす。精製に有用な他のペプチドタグとしては、インフルエンザヘマグルチニンタンパク質に由来するエプトープに対応するヘマグルチニン(「HA」)タグ(Wilson et al., 1984, Cell 37: 767-78)、及び「FLAG」タグが挙げられるがこれらに限定されない。

【0398】

抗体に部分(ポリペプチドを含む)を融合または結合させる方法は公知である(例えば、Arnon et al., Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 243-56 (Reisfeld et al. eds., 1985); Hellstrom et al., Antibodies for Drug Delivery, in Controlled Drug Delivery 623-53 (Robinson et al. eds., 2d ed. 1987); Thorpe, Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review, in Monoclonal Antibodies: Biological and Clinical Applications 475-506 (Pinchera et al. eds., 1985); Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy 303-16 (Baldwin et al. eds., 1985); Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62: 119-58; 米国特許第5,336,603号; 5,622,929号; 5,359,046号; 5,349,053号; 5,447,851号; 5,723,125号; 5,783,181号; 5,908,626号; 5,844,095号; 及び5,112,946号; EP 307,434; EP 367,166; EP 394,827; PCT公開WO 91/06570、WO 96/04388、WO 96/22024、WO 97/34631、及びWO 99/04813; Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-39; Trauneker et al., 1988, Nature, 331: 84-86; Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154: 5590-600; ならびにVil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 11337-41を参照)。

10

20

30

40

50

【0399】

融合タンパク質は、例えば、遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エキソ
ンシャッフリング、及び/またはコドンシャッフリング(「DNAシャッフリング」と総称
される)の技術によって生成され得る。例えば、より高い親和性及びより低い解離速度を
有する抗体をはじめとする、本明細書で提供する抗PD-1抗体の活性を変更するために
、DNAシャッフリングが用いられ得る(例えば、米国特許第5,605,793号;5,
811,238号;5,830,721号;5,834,252号;及び5,837,4
58号;Patten et al., 1997, Curr. Opin. Biotech
nol. 8:724-33;Harayama, 1998, Trends Bio
technol. 16(2):76-82;Hansson et al., 1999,
J. Mol. Biol. 287:265-76;ならびにLorenzo and Bl
asco, 1998, Biotechniques 24(2):308-13を参照)
。抗体、またはコードされた抗体は、組換え前に誤りがちなPCR、ランダムヌクレオチ
ド挿入、または他の方法によるランダム変異誘発を行うことによって改変され得る。本明
細書で提供する抗体をコードするポリヌクレオチドは、1つ以上の異種分子の1つ以上の
コンポーネント、モチーフ、セクション、部分、ドメイン、断片などで組換えられ得る。

10

【0400】

本明細書で提供する抗体は、例えば、米国特許第4,676,980号に記載されてい
るように、抗体ヘテロコンジュゲートを形成するために第2の抗体に結合させることもで
きる。

20

【0401】

本明細書で提供するPD-1抗原に結合する抗体は、固体支持体に付着させる場合もあ
り、これは、標的抗原のイムノアッセイまたは精製に特に有用である。そのような固体支
持体としては、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポ
リ塩化ビニル、またはポリプロピレンが挙げられるがこれらに限定されない。

【0402】

リンカーは、結合させた作用物質の細胞内での放出を容易にする「切断可能リンカー」
であり得るが、切断不能リンカーも本明細書において企図する。本開示のコンジュゲート
に用いるためのリンカーとしては、限定はしないが、酸不安定性リンカー(例えば、ヒド
ラゾンリンカー)、ジスルフィド含有リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー(例えば、
アミノ酸、例えば、バリン及び/またはシトルリンを含むペプチドリンカー、例えば、シ
トルリン-バリンまたはフェニルアラニン-リシン)、光不安定性リンカー、ジメチルリ
ンカー(例えば、Chari et al., 1992, Cancer Res. 52:
127-31;及び米国特許第5,208,020号を参照)、チオエーテルリンカー、
または多剤トランスポーター媒介性耐性を回避するように設計された親水性リンカー(例
えば、Kovtun et al., 2010, Cancer Res. 70:2528
-37を参照)が挙げられる。

30

【0403】

抗体及び作用物質のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例
えば、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、
SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スル
ホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMC
C、スルホ-SMPB、及びSVSB(スクシンイミジル-(4-ビニルスルホン)ベン
ゾエート)などを用いて作製され得る。本開示は、抗体及び作用物質のコンジュゲート
が、当該技術分野において開示されている任意の好適な方法を用いて調製され得ることを
さらに企図する(例えば、Bioconjugate Techniques(Herm
anson ed., 2d ed. 2008)を参照)。

40

【0404】

従来の抗体及び作用物質のコンジュゲーション戦略は、Lys残基の -アミノ基また
はCys残基のチオール基が関与するランダムコンジュゲーション化学に基づいており、

50

結果として不均質なコンジュゲートが得られていた。最近開発された技術は抗体への部位特異的コンジュゲーションを可能にし、その結果、均質な担持及び抗原結合性または薬物動態が変化したコンジュゲート部分集団の回避がもたらされる。これらとしては、重鎖及び軽鎖上の位置における、反応性チオール基を付与し、かつ、免疫グロブリンのフォールディング及び会合を妨害しない、または抗原結合を変化させないシステイン置換を含む「チオマブ」の設計が挙げられる（例えば、Junutula et al., 2008, J. Immunol. Meth. 332: 41-52; 及び Junutula et al., 2008, Nature Biotechnol. 26: 925-32 を参照）。別の方法では、終止コドン UGA を終了からセレノシステイン挿入へと再コード化することによって、抗体配列中にセレノシステインを共翻訳的に挿入し、他の天然アミノ酸の存在下でセレノシステインの求核性セレノール基における部位特異的共有結合性コンジュゲーションを可能にさせる（例えば、Hofer et al., 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105: 12451-56; 及び Hofer et al., 2009, Biochemistry 48(50): 12047-57 を参照）。

10

【0405】

4.4 抗体及び組成物の使用方法

本明細書では、(a) T細胞活性を減衰させる、及び/または (b) 対象における PD-1 発現を下方調節する方法を提供する。ある実施形態において、本明細書で提供する方法は対象の細胞における PD-1 発現を下方調節する。ある実施形態において、本明細書で提供する方法は対象における T細胞活性を減衰させる。T細胞活性の非限定例はサイトカインの分泌である。ある実施形態において、本明細書では、サイトカインの分泌を阻害する方法を提供する。ある実施形態において、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN-、及び TNF- からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN-、またはこれらの任意の組合せである。ある実施形態において、サイトカインは IL-2 である。他の実施形態において、サイトカインは IL-17 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IFN- である。ある実施形態において、サイトカインは IL-2 及び IL-17 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは IL-2 及び IFN- である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL-17 及び IFN- である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL-2、IL-17、及び IFN- である。ある実施形態において、サイトカインは IL-1 である。他の実施形態において、サイトカインは IL-6 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL-12 である。さらに他の実施形態において、サイトカインは IL-22 である。ある実施形態において、サイトカインは IL-23 である。いくつかの実施形態において、サイトカインは GM-CSF である。他の実施形態において、サイトカインは TNF- である。上述のサイトカインの 2つ、3つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。

20

30

【0406】

一実施形態において、本明細書では、IL-2 の分泌を阻害する方法を提供する。いくつかの実施形態において、本明細書では、IL-17 の分泌を阻害する方法を提供する。さらに別の実施形態において、T細胞活性を減衰させる方法は IFN- の分泌を阻害する方法である。

40

【0407】

一態様において、本明細書では、T細胞を有効量の明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片と接触させることを含む T細胞の活性の減衰方法を提供する。他の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約 10% である。別の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約 20% である。いくつかの実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約 30% である。一実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約 40% である。別の実施形態において、T細胞活性の最大減

50

衰率は少なくとも約45%である。他の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約50%である。一実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約55%である。別の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約60%である。いくつかの実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約65%である。他の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約70%である。別の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約75%である。一実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約80%である。他の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約85%である。別の実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約90%である。一実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約95%である。いくつかの実施形態において、T細胞活性の最大減衰率は少なくとも約100%である。

10

【0408】

いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカインの産生の調節によって測定される。いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカインの分泌の調節によって測定される。いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカインの発現の調節によって測定される。いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカインの産生の阻害によって測定される。いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカインの分泌の阻害によって測定される。いくつかの実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカインの発現の阻害によって測定される。ある実施形態において、サイトカイン産生（例えば、サイトカインタンパク質産生）が調節される。ある実施形態において、サイトカイン分泌（例えば、サイトカインタンパク質分泌）が調節される。他の実施形態において、サイトカイン発現（例えば、サイトカイン遺伝子発現）が調節される。いくつかの実施形態において、調節はサイトカインの減少、阻害、または下方調節である。他の実施形態において、調節はサイトカインの増加または上方調節である。ある実施形態において、サイトカイン産生（例えば、サイトカインタンパク質産生）が阻害される。ある実施形態において、サイトカイン分泌（例えば、サイトカインタンパク質分泌）が阻害される。他の実施形態において、サイトカイン発現（例えば、サイトカイン遺伝子発現）が阻害される。ある実施形態において、細胞からのサイトカイン産生が調節される。ある実施形態において、細胞からのサイトカイン分泌が調節される。ある実施形態において、細胞からのサイトカイン発現が調節される。ある実施形態において、細胞からのサイトカイン産生が阻害される。ある実施形態において、細胞からのサイトカイン分泌が阻害される。ある実施形態において、細胞からのサイトカイン発現が阻害される。ある実施形態において、細胞はT細胞である。いくつかの実施形態において、細胞はT細胞でない。

20

30

【0409】

いくつかの実施形態において、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN-、またはこれらの任意の組合せからなる群から選択される。一実施形態において、サイトカインはIL-2である。別の実施形態において、サイトカインはIL-17である。他の実施形態において、サイトカインはIFN-である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-2及びIFN-である。他の実施形態において、サイトカインはIL-17及びIFN-である。ある実施形態において、サイトカインはIL-2、IL-17、及びIFN-である。ある実施形態において、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN-、及びTNF-からなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインはIL-1である。他の実施形態において、サイトカインはIL-6である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-12である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-22である。ある実施形態において、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態において、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態において、サイトカインはTNF-である。上述のサイトカインの2つ、3つまたはこれよ

40

50

り多くの他の組合せも企図する。

【0410】

いくつかの実施形態において、サイトカイン産生の阻害は、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節と同時に生じる。いくつかの実施形態において、サイトカイン産生の阻害の前に、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節が生じる。いくつかの実施形態において、サイトカイン産生の阻害は、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節に先行する。一実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じる。

【0411】

一態様において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞におけるPD-1活性及び/または発現の調節方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。一実施形態において、PD-1活性が調節される。別の実施形態において、PD-1発現が調節される。他の実施形態において、PD-1活性及びPD-1発現が両方とも調節される。一実施形態において、PD-1シグナル伝達が活性化される。別の実施形態において、PD-1発現が阻害される。ある実施形態において、抗体はPD-1アゴニストである。ある実施形態において、本明細書で提供する抗体はヒトPD-1に特異的に結合し、少なくとも1つのPD-1活性を活性化させる(例えば部分的に活性化させる)、または別様に調節する。具体的な実施形態において、少なくとも1つのPD-1活性はサイトカイン産生の阻害である。ある実施形態において、PD-1に特異的に結合する抗体は、ヒトPD-1のECD、またはそのヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。

【0412】

別の態様において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞におけるPD-1発現の下方調節方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は本明細書で提供するPD-1アゴニストである。ある実施形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。

【0413】

別の態様において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、T細胞活性の減衰及び細胞におけるPD-1発現の下方調節の方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、T細胞活性の減衰はサイトカイン産生の阻害である。ある実施

10

20

30

40

50

形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。

【0414】

PD-1活性は、当該技術分野において公知または記載されているものなどのPD-1の任意の活性に関係し得る。PD-1活性及びPD-1シグナル伝達は本明細書において同じ意味で用いられる。ある態様において、PD-1活性は、PD-1に結合するPD-1リガンド（例えば、PD-L1）によって誘発される。PD-1の発現レベルは、本明細書に記載または当業者にとって公知の方法（例えば、ウエスタンブロットティング、ELISA、免疫組織化学、またはフローサイトメトリー）によって評価することができる。

【0415】

本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞におけるサイトカイン産生の阻害方法も提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。いくつかの実施形態において、抗体はヒトPD-1のECDに結合する。いくつかの実施形態において、抗体はヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。

【0416】

本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞におけるPD-1シグナル伝達の活性化方法も提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。いくつかの実施形態において、抗体はヒトPD-1のECDに結合する。いくつかの実施形態において、抗体はヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。一実施形態において、PD-1シグナル伝達が部分的に活性化される。

【0417】

一態様において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、T細胞活性の減衰方法を提供する。具体的な実施形態において、細

10

20

30

40

50

胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。いくつかの実施形態において、抗体はヒトPD-1のECDに結合する。いくつかの実施形態において、抗体はヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方と異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合は抗体によって阻害されない。他の実施形態において、PD-1へのPD-L2の結合は抗体によって阻害されない。具体的な実施形態において、PD-1へのPD-L1の結合もPD-1へのPD-L2の結合も抗体によって阻害されない。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約10%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約15%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約20%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約25%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約30%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約35%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約40%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約45%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約50%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約55%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約60%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約65%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約70%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約75%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約80%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約85%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約90%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約95%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約98%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約99%減衰する。いくつかの実施形態において、T細胞活性は少なくとも約100%減衰する。ある実施形態において、T細胞活性は少なくとも約25%～約65%減衰する。具体的な実施形態において、T細胞活性減衰は本明細書に記載の方法によって評価される。いくつかの実施形態において、T細胞活性減衰は当業者にとって公知の方法によって評価される。ある実施形態において、T細胞活性減衰は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞におけるT細胞活性に対してである。ある実施形態において、T細胞活性減衰は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させたT細胞活性に対してである。

【0418】

T細胞活性の非限定例はサイトカインの分泌である。ある実施形態において、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN-、及びTNF-からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN-、またはこれらの任意の組合せである。ある実施形態において、サイトカインはIL-2である。他の実施形態において、サイトカインはIL-17である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIFN-である。ある実施形態において、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-2及びIFN-である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-17及びIFN-である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-2、IL-17、及びIFN-である。ある実施形態において、サイトカインはIL-1である。他の実施形態において、サイトカインはIL-6である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-12である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-22である。ある実施形態において、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態において、サイト

10

20

30

40

50

カインはGM-CSFである。他の実施形態において、サイトカインはTNF-である。上述のサイトカインの2つ、3つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。

【0419】

ある実施形態において、サイトカイン産生の阻害の結果としてサイトカイン分泌が阻害される。他の実施形態において、サイトカイン発現の阻害の結果としてサイトカイン分泌が阻害される。

【0420】

具体的な実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのサイトカイン分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。ある実施形態において、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN-、及びTNF-からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN-、またはこれらの任意の組合せである。ある実施形態において、サイトカインはIL-2である。他の実施形態において、サイトカインはIL-17である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIFN-である。ある実施形態において、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態において、サイトカインはIL-2及びIFN-である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-17及びIFN-である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-2、IL-17、及びIFN-である。ある実施形態において、サイトカインはIL-1である。他の実施形態において、サイトカインはIL-6である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-12である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-22である。ある実施形態において、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態において、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態において、サイトカインはTNF-である。上述のサイトカインの2つ、3つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。

【0421】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのIL-2分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

【0422】

一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、IL

10

20

30

40

50

- 2分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-2分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-2分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-2分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-2分泌と比較して阻害される。

10

【0423】

ある実施形態において、IL-2分泌は最大でも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は最大でも約40nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は最大でも約30nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は最大でも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は最大でも約10nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は最大でも約5nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は最大でも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は最大でも約0.75nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は最大でも約0.5nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は最大でも約0.1nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は最大でも約0.05nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は最大でも約0.01nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は最大でも約0.005nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は最大でも約0.001nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約40nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約30nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約10nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約5nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約0.75nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約0.5nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約0.1nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約0.05nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約0.01nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約0.005nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-2分泌は少なくとも約0.001nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具

20

30

40

50

体的な実施形態において、IL-2分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-2分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-2分泌と比較して阻害される。

【0424】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのIL-17分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

10

【0425】

一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-17分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-17分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-17分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞におけるIL-17分泌と比較して阻害される。

20

30

40

【0426】

ある実施形態において、IL-17分泌は最大でも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は最大でも約40nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は最大でも約30nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は最大でも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は最大でも約10nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は最大でも約5nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は最大でも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は最大でも約0.75nMのEC₅₀で阻

50

害される。別の実施形態において、IL-17分泌は最大でも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は最大でも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は最大でも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は最大でも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は最大でも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は最大でも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約40 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約30 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約10 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-17分泌は少なくとも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-17分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-17分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-17分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-17分泌と比較して阻害される。

【0427】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのIFN-分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

【0428】

一実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、IFN-分泌は少なくとも約65

10

20

30

40

50

% 阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IFN- γ 分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIFN- γ 分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIFN- γ 分泌と比較して阻害される。

10

【0429】

ある実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約40 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約30 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約10 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約5 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は最大でも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約40 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約30 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約10 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IFN- γ 分泌は少なくとも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IFN- γ 分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIFN- γ 分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IFN- γ 分泌は、非関連抗体（例えば、PD

20

30

40

50

- 1 に特異的に結合しない抗体) と接触させた細胞からの I F N - 分泌と比較して阻害される。

【 0 4 3 0 】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供する P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1 の E C D またはヒト P D - 1 の E C D のエピトープ) に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からの I L - 1 分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞は T 細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体 P D 1 A B - 1、P D 1 A B - 2、P D 1 A B - 3、P D 1 A B - 4、P D 1 A B - 5、もしくは P D 1 A B - 6 の任意の 1 つもしくはその抗原結合断片、または抗体 P D 1 A B - 1、P D 1 A B - 2、P D 1 A B - 3、P D 1 A B - 4、P D 1 A B - 5、もしくは P D 1 A B - 6 の任意の 1 つの C D R を含む抗体である。

10

【 0 4 3 1 】

一実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 5 % 阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 1 0 % 阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 1 5 % 阻害される。他の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 2 0 % 阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 2 5 % 阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 3 0 % 阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 3 5 % 阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 4 0 % 阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 4 5 % 阻害される。他の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 5 0 % 阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 5 5 % 阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 6 0 % 阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 6 5 % 阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 7 0 % 阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 7 5 % 阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 8 0 % 阻害される。他の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 8 5 % 阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 9 0 % 阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 9 5 % 阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 9 8 % 阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 9 9 % 阻害される。具体的な実施形態において、I L - 1 分泌は少なくとも約 2 5 % または 3 5 %、任意により約 7 5 % まで阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、I L - 1 分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法(例えば、M S D マルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、I L - 1 分泌は、抗 P D - 1 抗体と接触させていない細胞からの I L - 1 分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、I L - 1 分泌は、非関連抗体(例えば、P D - 1 に特異的に結合しない抗体) と接触させた細胞からの I L - 1 分泌と比較して阻害される。

20

30

【 0 4 3 2 】

ある実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 5 0 n M の E C ₅₀ で阻害される。他の実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 4 0 n M の E C ₅₀ で阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 3 0 n M の E C ₅₀ で阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 2 0 n M の E C ₅₀ で阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 1 0 n M の E C ₅₀ で阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 5 n M の E C ₅₀ で阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 1 n M の E C ₅₀ で阻害される。いくつかの実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 0 . 7 5 n M の E C ₅₀ で阻害される。別の実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 0 . 5 n M の E C ₅₀ で阻害される。他の実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 0 . 1 n M の E C ₅₀ で阻害される。一実施形態において、I L - 1 分泌は最大でも約 0 . 0 5 n M の E C ₅₀ で阻害される。別の実

40

50

施形態において、IL-1分泌は最大でも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-1分泌は最大でも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-1分泌は最大でも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約40 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約30 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約10 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-1分泌は少なくとも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-1分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-1分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-1分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-1分泌と比較して阻害される。

10

20

【0433】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのIL-6分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

30

【0434】

一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約90%阻害される

40

50

。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-6分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、Mesoscale（商標）Discovery（MSD）マルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-6分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-6分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-6分泌と比較して阻害される。

10

【0435】

ある実施形態において、IL-6分泌は最大でも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は最大でも約40nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は最大でも約30nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は最大でも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は最大でも約10nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は最大でも約5nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は最大でも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は最大でも約0.75nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は最大でも約0.5nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は最大でも約0.1nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は最大でも約0.05nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は最大でも約0.01nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は最大でも約0.005nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は最大でも約0.001nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約40nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約30nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約10nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約5nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約0.75nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約0.5nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約0.1nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約0.05nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約0.01nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約0.005nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-6分泌は少なくとも約0.001nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-6分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-6分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-6分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-6分泌と比較して阻害される。

20

30

40

【0436】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗

50

体と細胞を接触させることを含む、細胞からのIL-12分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

【0437】

一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-12分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-12分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-12分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞におけるIL-12分泌と比較して阻害される。

【0438】

ある実施形態において、IL-12分泌は最大でも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は最大でも約40nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は最大でも約30nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は最大でも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は最大でも約10nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は最大でも約5nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は最大でも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は最大でも約0.75nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は最大でも約0.5nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は最大でも約0.1nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は最大でも約0.05nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は最大でも約0.01nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は最大でも約0.005nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は最大でも約0.001nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なく

10

20

30

40

50

とも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約40 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約30 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約10 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-12分泌は少なくとも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、IL-12分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-12分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-12分泌は、非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)と接触させた細胞におけるIL-12分泌と比較して阻害される。

10

20

【0439】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1(例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ)に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのIL-22分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

30

【0440】

一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約99%阻害さ

40

50

れる。具体的な実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-22分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-22分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-22分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-22分泌と比較して阻害される。

【0441】

ある実施形態において、IL-22分泌は最大でも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は最大でも約40 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は最大でも約30 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は最大でも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は最大でも約10 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は最大でも約5 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は最大でも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は最大でも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は最大でも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は最大でも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は最大でも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は最大でも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は最大でも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は最大でも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約40 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約30 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約10 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-22分泌は少なくとも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-22分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-22分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-22分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-22分泌と比較して阻害される。

【0442】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのIL-23分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に

10

20

30

40

50

記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

【0443】

一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、IL-23分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、IL-23分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-23分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのIL-23分泌と比較して阻害される。

【0444】

ある実施形態において、IL-23分泌は最大でも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は最大でも約40nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は最大でも約30nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は最大でも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は最大でも約10nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は最大でも約5nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は最大でも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は最大でも約0.75nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は最大でも約0.5nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は最大でも約0.1nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は最大でも約0.05nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は最大でも約0.01nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は最大でも約0.005nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は最大でも約0.001nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約40nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分

10

20

30

40

50

泌は少なくとも約30 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約10 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、IL-23分泌は少なくとも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)によって評価される。具体的な実施形態において、IL-23分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのIL-23分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-23分泌は、非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)と接触させた細胞からのIL-23分泌と比較して阻害される。

10

【0445】

20

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1(例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ)に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのGM-CSF分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

【0446】

30

一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。い

40

50

いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、GM-CSF分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、Mesoscale（商標）Discovery（MSD）マルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、GM-CSF分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのGM-CSF分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのGM-CSF分泌と比較して阻害される。

【0447】

ある実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約40 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約30 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約10 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約5 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は最大でも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約50 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約40 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約30 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約20 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約10 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約1 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約0.75 nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約0.5 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約0.1 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約0.05 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約0.01 nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約0.005 nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、GM-CSF分泌は少なくとも約0.001 nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀は当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、GM-CSF分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのGM-CSF分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、IL-2分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのGM-CSF分泌と比較して阻害される。

【0448】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供するPD-1（例えば、ヒトPD-1のECDまたはヒトPD-1のECDのエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞からのTNF-分泌を阻害する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞はT細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において

10

20

30

40

50

、抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つもしくはその抗原結合断片、または抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのCDRを含む抗体である。

【0449】

一実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約5%阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約10%阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約15%阻害される。他の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約20%阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約25%阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約30%阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約35%阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約40%阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約45%阻害される。他の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約50%阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約55%阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約60%阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約65%阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約70%阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約75%阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約80%阻害される。他の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約85%阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約90%阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約95%阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約98%阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約99%阻害される。具体的な実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約25%または35%、任意により約75%まで阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌の阻害は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、TNF-分泌の阻害は、当業者にとって公知の方法（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、TNF-分泌は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞からのTNF-分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、TNF-分泌は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からのTNF-分泌と比較して阻害される。

【0450】

ある実施形態において、TNF-分泌は最大でも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、TNF-分泌は最大でも約40nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は最大でも約30nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は最大でも約20nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は最大でも約10nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は最大でも約5nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は最大でも約1nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は最大でも約0.75nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は最大でも約0.5nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、TNF-分泌は最大でも約0.1nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は最大でも約0.05nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は最大でも約0.01nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は最大でも約0.005nMのEC₅₀で阻害される。一実施形態において、TNF-分泌は最大でも約0.001nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約50nMのEC₅₀で阻害される。他の実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約40nMのEC₅₀で阻害される。いくつかの実施形態において、TNF-分泌は少なくとも約30nMのEC₅₀で阻害される。別の実施形態において、TNF-

10

20

30

40

50

分泌は少なくとも約 20 nM の EC₅₀ で阻害される。一実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 10 nM の EC₅₀ で阻害される。一実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 5 nM の EC₅₀ で阻害される。別の実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 1 nM の EC₅₀ で阻害される。いくつかの実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 0.75 nM の EC₅₀ で阻害される。他の実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 0.5 nM の EC₅₀ で阻害される。別の実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 0.1 nM の EC₅₀ で阻害される。一実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 0.05 nM の EC₅₀ で阻害される。いくつかの実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 0.01 nM の EC₅₀ で阻害される。別の実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 0.005 nM の EC₅₀ で阻害される。一実施形態において、TNF - 分泌は少なくとも約 0.001 nM の EC₅₀ で阻害される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、EC₅₀ は当業者にとって公知の方法（例えば、MSD マルチプレックスアッセイ）によって評価される。具体的な実施形態において、TNF - 分泌は、抗 PD - 1 抗体と接触させていない細胞からの TNF - 分泌と比較して阻害される。他の実施形態において、TNF - 分泌は、非関連抗体（例えば、PD - 1 に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞からの TNF - 分泌と比較して阻害される。

【0451】

いくつかの実施形態において、本明細書では、本明細書で提供する PD - 1（例えば、ヒト PD - 1 の ECD またはヒト PD - 1 の ECD のエピトープ）に特異的に結合する抗体と細胞を接触させることを含む、細胞における PD - 1 発現を下方調節する方法を提供する。具体的な実施形態において、細胞は T 細胞である。ある実施形態において、本明細書に記載の有効量の抗体またはその抗原結合断片と細胞を接触させる。ある実施形態において、抗体は、抗体 PD1AB - 1、PD1AB - 2、PD1AB - 3、PD1AB - 4、PD1AB - 5、もしくは PD1AB - 6 の任意の 1 つもしくはその抗原結合断片、または抗体 PD1AB - 1、PD1AB - 2、PD1AB - 3、PD1AB - 4、PD1AB - 5、もしくは PD1AB - 6 の任意の 1 つの CDR を含む抗体である。

【0452】

一実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 5% 下方調節される。一実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 10% 下方調節される。別の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 15% 下方調節される。いくつかの実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 20% 下方調節される。他の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 25% 下方調節される。別の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 30% 下方調節される。一実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 35% 下方調節される。いくつかの実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 40% 下方調節される。別の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 45% 下方調節される。一実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 50% 下方調節される。他の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 55% 下方調節される。別の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 60% 下方調節される。いくつかの実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 65% 下方調節される。一実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 70% 下方調節される。別の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 75% 下方調節される。一実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 80% 下方調節される。いくつかの実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 85% 下方調節される。別の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 90% 下方調節される。他の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 95% 下方調節される。一実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 98% 下方調節される。別の実施形態において、PD - 1 発現は少なくとも約 99% 下方調節される。具体的な実施形態において、本明細書で提供する抗体は、PD - 1 に特異的に結合し、PD - 1 発現を少なくとも約 25% または 35%、任意により約 75% まで下方調節する。いくつかの実施形態において、PD - 1 発現

10

20

30

40

50

の下方調節は本明細書に記載の方法によって評価される。他の実施形態において、PD-1発現の下方調節は、当業者にとって公知の方法（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロッティング、ノーザンブロッティング、またはRT-PCR）によって評価される。具体的な実施形態において、PD-1発現の下方調節はフローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態において、PD-1発現の下方調節はウエスタンブロッティングによって評価される。さらに別の実施形態において、PD-1発現の下方調節はノーザンブロッティングによって評価される。さらに別の実施形態において、PD-1発現の下方調節はRT-PCRによって評価される。具体的な実施形態において、PD-1発現は、抗PD-1抗体と接触させていない細胞におけるPD-1発現と比較して下方調節される。他の実施形態において、PD-1発現は、非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）と接触させた細胞におけるPD-1発現と比較して下方調節される。

10

【0453】

一実施形態において、本明細書では、有効量の本明細書で提供する抗体またはその抗原結合断片とT細胞を接触させることを含む、T細胞の表面上のPD-1発現を下方調節する方法を提供する。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約10%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約20%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約30%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約40%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約45%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約50%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約55%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約60%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約65%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約70%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約75%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約80%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約85%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約90%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約95%である。一実施形態において、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方調節率は、少なくとも約100%である。

20

30

【0454】

ある実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後にでも生じる。他の実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、14時間、16時間、18時間、20時間、または22時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の4時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の6時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の8時間後にでも生じる。他の実施形態において、下方調節は早ければ接触の10時間後にでも生じる。いくつかの実施形態において、下方調節は早ければ接触の12時間後にでも生じる。一実施形態において、下方調節は早ければ接触の14時間後にでも生じる。別の実施形態において、下方調節は早ければ接触の16時間後にでも生じる。いくつかの実施形態において、下方調節は早ければ

40

50

れば接触の18時間後にでも生じる。他の実施形態において、下方調節は早ければ接触の20時間後にでも生じる。他の実施形態において、下方調節は早ければ接触の22時間後にでも生じる。さらに他の実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節は、早ければ抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後にでも生じる。

【0455】

一実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節はサイトカイン阻害に先行する。別の実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節はサイトカイン阻害と同時に生じる。さらに別の実施形態において、T細胞の表面上のPD-1発現の下方調節の前にサイトカイン阻害が生じる。ある実施形態において、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN- γ 、またはこれらの任意の組合せである。一実施形態において、サイトカインはIL-2である。別の実施形態において、サイトカインはIL-17である。他の実施形態において、サイトカインはIFN- γ である。ある実施形態において、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN- γ 、及びTNF- α からなる群から選択される。ある実施形態において、サイトカインはIL-1である。他の実施形態において、サイトカインはIL-6である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-12である。さらに他の実施形態において、サイトカインはIL-22である。ある実施形態において、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態において、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態において、サイトカインはTNF- α である。上述のサイトカインの2つ、3つまたはこれより多くの他の組合せも企図する。

【0456】

他の態様において、本開示の抗PD-1抗体及びその断片は生体試料中のPD-1の存在を検出するのに有用である。そのような抗PD-1抗体としては、ヒト及び/またはカニクイザルPD-1に結合するが、PD-1シグナル伝達活性を誘発しないものが挙げられ得る。用語「検出」は、本明細書で用いる場合、定量的または定性的検出を包含する。ある実施形態において、生体試料は、体液、細胞、または組織を含む。

【0457】

4.5 医薬組成物

一態様において、本開示は、少なくとも1つの本開示の抗PD-1抗体を含む医薬組成物をさらに提供する。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、1)抗PD-1抗体、及び2)医薬品として許容可能な担体を含む。

【0458】

抗体を含む医薬組成物は、所望の純度を有する抗体を、任意選択の生理的に許容される担体、賦形剤、または安定剤（例えば、Remington, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1980)を参照）と混合することによって、水溶液の形態または凍結乾燥もしくは他の乾燥形態で貯蔵用に調製される。

【0459】

本開示の抗体は、標的細胞/組織への送達に適した任意の形態で、例えば、マイクロカプセルまたはマクロエマルジョンとして（Remington (上記); Park et al., 2005, Molecules 10:146-61; Malik et al., 2007, Curr. Drug. Deliv. 4:141-51）、持続放出性製剤として（Putney and Burke, 1998, Nature Biotechnol. 16:153-57）、またはリポソーム中に（Maclean et al., 1997, Int. J. Oncol. 11:325-32; Kontermann, 2006, Curr. Opin. Mol. Ther. 8:39-45）、製剤化され得る。

【0460】

本明細書で提供する抗体は、例えば、コアセルベーション技術または界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースもしくは

10

20

30

40

50

ゼラチンマイクロカプセル及びポリ - (メチルメタクリレート) マイクロカプセル中に、コロイド状薬物送達システム (例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル) 中に、またはマクロエマルジョン中に閉じ込めることもできる。そのような技術は、例えば、Remington (上記) に開示されている。

【0461】

様々な組成物及び送達システムが公知であり、本明細書に記載のPD-1に結合する抗体と共に用いることができ、限定はしないが、リポソーム、マイクロ粒子、マイクロカプセル中へのカプセル化、抗体を発現することのできる組換え細胞、受容体媒介エンドサイトーシス (例えば、Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429-32を参照)、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築などが挙げられる。別の実施形態において、組成物は制御放出または持続放出システムとして提供することができる。一実施形態において、制御または持続放出を達成するためにポンプが用いられ得る (例えば、Langer (上記); Sef-ton, 1987, Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201-40; Buchwald et al., 1980, Surgery 88: 507-16; 及び Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321: 569-74を参照)。別の実施形態において、予防もしくは治療薬 (例えば、本明細書に記載のPD-1に結合する抗体) または本発明の組成物の制御または持続放出を達成するためにポリマー材料を用いることができる (例えば、Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., 1984); Ranger and Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23: 61-126; Levy et al., 1985, Science 228: 190-92; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25: 351-56; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71: 105-12; 米国特許第5,679,377号; 5,916,597号; 5,912,015号; 5,989,463; 及び5,128,326号; PCT公開第WO 99/15154号及びWO 99/20253号を参照)。持続放出性製剤に用いられるポリマーの例としては、ポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)、ポリ(メチルメタクリレート)、ポリ(アクリル酸)、ポリ(エチレン-co-ビニルアセテート)、ポリ(メタクリル酸)、ポリグリコリド(PLG)、ポリ無水物、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリアクリルアミド、ポリ(エチレングリコール)、ポリラクチド(PLA)、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)(PLGA)、及びポリオルトエステルが挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態において、持続放出性製剤に用いられるポリマーは、不活性であり、浸出性不純物を含まず、貯蔵時に安定であり、無菌、かつ生分解性である。

【0462】

さらに別の実施形態において、制御または持続放出システムは、特定の標的組織、例えば、鼻道または肺の近くに配置することができるので、全身投与量の一部のみしか必要としない (例えば、Goodson, Medical Applications of Controlled Release Vol. 2, 115-38 (1984)を参照)。制御放出システムは、例えばLanger, 1990, Science 249: 1527-33で説明されている。本明細書に記載のPD-1に結合する抗体を1つ以上含む持続放出性製剤を製造するために、当業者にとって公知の任意の技術を用いることができる (例えば、米国特許第4,526,938号、PCT公開第WO 91/05548号及びWO 96/20698号、Ning et al., 1996, Radiotherapy & Oncology 39: 179-89; Song et al., 1

10

20

30

40

50

995, PDA J. of Pharma. Sci. & Tech. 50:372-97; Cleek et al., 1997, Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-54; 及び Lam et al., 1997, Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-60を参照)。

【0463】

4.6キット

本明細書では、好適なパッケージ材料中にパッケージ化された、本明細書で提供する抗体（例えば、抗PD-1抗体）またはその組成物（例えば、医薬組成物）を含むキットも提供する。キットは任意により、その中の構成要素の説明または構成要素のインビトロ、インビボ、またはエクスピボでの使用説明書をはじめとするラベルまたは添付文書を含む。

10

【0464】

用語「パッケージ材料」は、キットの構成要素を収容する物理的構造体のことをいう。パッケージ材料は構成要素を無菌に維持することができ、そのような目的に一般に用いられる材料（例えば、紙、段ボール、ガラス、プラスチック、ホイル、アンプル、バイアル、チューブなど）で作製することができる。

【0465】

本明細書で提供するキットはラベルまたは添付文書を含むことができる。ラベルまたは添付文書としては、別個の、または構成要素、キットもしくはパッケージ材料（例えば、箱）に貼り付けられた、もしくは例えば、キット構成要素が入ったアンプル、チューブ、もしくはバイアルに取り付けられた、「印刷物」、例えば、紙または厚紙が挙げられる。ラベルまたは添付文書としてはさらに、コンピュータ可読媒体、例えば、ディスク（例えば、ハードディスク、カード、記憶ディスク）、CDまたはDVD-ROM/RAMなどの光ディスクなど、DVD、MP3、磁気テープ、または電氣的記憶媒体、例えば、RAM及びROMまたはこれらのハイブリッドなど、例えば、磁気/光記憶媒体、FLASH媒体、またはメモリ型カードなどを挙げることができる。ラベルまたは添付文書は、製造業者の情報、ロット番号、製造場所、及び日付を特定する情報を含むことができる。

20

【0466】

本明細書で提供するキットは追加で他の構成要素を含むことができる。キットの各構成要素を個々の容器内に封入することができ、様々な容器のすべてを単一パッケージ内に入れることができる。キットは冷蔵用に設計することもできる。キットはさらに、本明細書で提供する抗体、または本明細書で提供する抗体をコードする核酸を含有する細胞を含むように設計することができる。キット中の細胞は、使用直前まで適切な貯蔵条件の下で維持することができる。

30

【0467】

別途定義しない限り、本明細書で用いるすべての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されているものと同じ意味を有する。本発明の実施または試験には、本明細書に記載のものと類似または同等の方法及び材料を用いることができるが、好適な方法及び材料を本明細書に記載する。

40

【0468】

本明細書で引用するすべての出願、刊行物、特許ならびに他の参考文献、GenBankの引用及びATCCの引用は、その全体を参照により援用する。矛盾が生じた場合には、定義をはじめとして、本明細書が優先される。

【0469】

本明細書で用いる場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈からそうでないことが明らかに分かる場合を除いて、複数形の指示対象を含む。したがって、例えば、「a peptide sequence（ペプチド配列）」への言及は複数のそのような配列を含み、他も同様である。

【0470】

50

本明細書で用いる場合、数値は多くの場合、本明細書全体を通して範囲形式で提示する。範囲形式の使用は単に便宜及び簡潔のためにすぎず、文脈からそうでないことが明らかに分かる場合を除いて、本発明の範囲の融通の利かない限定として解釈されるべきではない。したがって、範囲の使用は、文脈からそうでないことが明らかに分かる場合を除いて、すべての可能な部分範囲、その範囲内のすべての個々の数値、ならびにそのような範囲内の整数及び範囲内の値または整数の分数を含むすべての数値または数値範囲を明示的に含む。この構成は、範囲の幅にかかわらず、本特許文献中の文脈全体において適用される。したがって、例えば、90～100%の範囲への言及は、91～99%、92～98%、93～95%、91～98%、91～97%、91～96%、91～95%、91～94%、91～93%などを含む。90～100%の範囲への言及は、91%、92%、93%、94%、95%、95%、97%など、及び91.1%、91.2%、91.3%、91.4%、91.5%など、92.1%、92.2%、92.3%、92.4%、92.5%など(以下同様)も含む。

10

【0471】

さらに、1～3、3～5、5～10、10～20、20～30、30～40、40～50、50～60、60～70、70～80、80～90、90～100、100～110、110～120、120～130、130～140、140～150、150～160、160～170、170～180、180～190、190～200、200～225、225～250の範囲への言及は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20などを含む。さらなる例において、25～250、250～500、500～1,000、1,000～2,500、2,500～5,000、5,000～25,000、25,000～50,000の範囲への言及は、そのような値の中のまたはそれを包含する任意の数値または範囲、例えば、25、26、27、28、29...250、251、252、253、254...500、501、502、503、504...などを含む。

20

【0472】

本明細書でも用いるように、一連の範囲が本明細書全体を通して開示される。一連の範囲の使用は、別の範囲を与える上の範囲及び下の範囲の組合せを含む。この構成は、範囲の幅にかかわらず、本特許文献中の文脈全体において適用される。したがって、例えば、5～10、10～20、20～30、30～40、40～50、50～75、75～100、100～150などの一連の範囲への言及は、5～20、5～30、5～40、5～50、5～75、5～100、5～150、及び10～30、10～40、10～50、10～75、10～100、10～150、及び20～40、20～50、20～75、20～100、20～150などを含む。

30

【0473】

簡潔のために、特定の略号を本明細書で用いる。一例としては、アミノ酸残基を表す1文字略号である。アミノ酸ならびにその3文字及び1文字略号は以下の通りである。

【表 10】

| | | | |
|--------------|-----|-----|----|
| アラニン | Ala | (A) | |
| アルギニン | Arg | (R) | |
| アスパラギン | Asn | (N) | |
| アスパラギン酸 | Asp | (D) | |
| システイン | Cys | (C) | |
| グルタミン酸 | Glu | (E) | |
| グルタミン | Gln | (Q) | 10 |
| グリシン | Gly | (G) | |
| ヒスチジン | His | (H) | |
| イソロイシン | Ile | (I) | |
| ロイシン | Leu | (L) | |
| リシン | Lys | (K) | |
| メチオニン | Met | (M) | |
| フェニルアラニ ン | Phe | (F) | |
| プロリン | Pro | (P) | 20 |
| セリン | Ser | (S) | |
| スレオニン | Thr | (T) | |
| トリプトファン | Trp | (W) | |
| チロシン | Tyr | (Y) | |
| バリン | Val | (V) | |

【0474】

本発明は概して、多数の実施形態を記述する肯定的な文言を用いて本明細書で開示される。本発明は具体的に、特定の内容、例えば、物質または材料、方法のステップ及び条件、プロトコール、手順、アッセイまたは分析などが完全にまたは部分的に除外されている実施形態も含む。したがって、本発明は概して、本発明が含まないものに関して本明細書で述べられないが、それでも本発明に明示的には含まれない態様が本明細書で開示される。

【0475】

本発明の多くの実施形態について記載した。それでも、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、様々な修正が行われ得ると理解されるであろう。したがって、以下の実施例は、特許請求の範囲に記載する発明の範囲の例示を意図するものであり、限定を意図するものではない。

【実施例】

【0476】

5. 実施例

この節（すなわち、第5節）における実施例は、限定としてではなく例示として提供する。

【0477】

5.1 実施例1：抗PD-1抗体の生成

5.1.1 抗PD-1抗体の生成

最初に、ヒトPD-1細胞外ドメイン（ECD）抗原またはCHO-hPD-1形質移入細胞を用いてマウス免疫化法によって、親PD-1-IgG1 mAbを生成した。ハイブリドマプールの最初の同定で、Biacore（登録商標）によって測定した可溶

性抗原に対する K_D が約6 nMの抗ヒトPD-1、PD-L1非遮断及びPD-L2非遮断抗体（データは図示せず）を産生する、PD1Sub1と命名したサブクローンを同定した。PD1Sub1ハイブリドーマからのマウス V_H 及び V_L 遺伝子を配列決定し、最も相同なヒト V_H 及び V_L フレームワーク遺伝子（それぞれIGH1-f及びV4-1）のヒト1及び定常領域中への、最も近くのJ領域（それぞれIGHJ6及びIGHJ2）を利用したヒトCDRグラフトイングに用いた。ヒト生殖細胞系HG1 V_H 及び V_L 領域についてのみ、マウスCDR3セグメントをヒト V_H 及び V_L フレームワーク生殖細胞系遺伝子（それぞれIGH1-f及びV4-1）中に入れた。

【0478】

Deciduous（商標）コンストラクト中のCDRグラフトイングまたは生殖細胞系HG1抗体のいずれかを安定AID（活性化誘導デアミナーゼ）と共に発現する安定HEK-293c18細胞株を、SHM-XEL（商標）アフィニティー成熟プラットフォーム（AnaptysBio, San Diego, CA）での使用のために生成した。抗体可変ドメインにおける遺伝的多様性のインサイチュ生成によって、アフィニティーがより高い親抗体のバリエーションを発現する細胞が得られた。単量体または二量体hPD-1を用いたフローサイトメトリーによってこれらを単離した。複数回のアフィニティー精製及び選別で6コリドー及び45クローンを得た。これらのクローンの、追加の「インシリコSHM」イベントを伴うサンガー及びディープシーケンシングの結果、 V_H 及び V_L CDR中に富化変異を組み込む部位特異的変異誘発が数回行われた。アフィニティー結合性が最も高い12のムテインを、PD-1への結合カイネティクスについて、及びCHO細胞の表面上に発現された全長PD-1への結合について、生化学的、生物物理学的にさらに特性評価した。精製抗体の機能特性評価を2つのアッセイにおいて実施した：細胞表面PD-1への結合についてのPD-L1競合及び活性化ヒトCD4+ T細胞の再活性化からのIL-2産生における阻害活性。

【0479】

これらの方法に基づいて、表9に示すように、抗PD-1抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6を生成した。

表9．抗PD-1抗体の特性評価

10

20

【表 1 1】

| 抗体 ID | HC/LC TOPO ベクター ID | CDR グラフテ ィング HG1 HC/LC 変異 | K _D (Biacore) K _D (KinExA) | PD-L1 競合 (IC ₅₀) | CD4 ⁺ T 細胞 IL-2 阻害 (EC ₅₀) |
|---------|-----------------------------|---------------------------------|---|---------------------------------|---|
| PD1AB-1 | 3015/3017 | 親/親 | 5 nM (n=4) 575 pM (n=2) | >100 nM (n=4) | 22 ± 4 nM (n=5) |
| PD1AB-2 | 3015/3193 | 親/生殖細胞 系 | 5 nM (n=2) 425 pM (n=1) | >100 nM (n=2) | 27 ± 4 nM (n=3) |
| PD1AB-3 | 3653/3646 | D76N/S77N | 7 nM (n=2) 350 pM (n=1) | >100 nM (n=1) | 21 nM (n=1) |
| PD1AB-4 | 3653/3193 | D76N/生殖細胞 系 | 6 nM (n=2) 500 pM (n=1) | >100 nM (n=1) | 23 nM (n=1) |
| PD1AB-5 | 3650/3193 | V24A/生殖細胞 系 | 6 nM (n=2) 400 pM (n=1) | >100 nM (n=1) | 15 nM (n=1) |
| PD1AB-6 | 3650/3017 | V24A/親 | 6 nM (n=2) 450 pM (n=1) | >100 nM (n=1) | 16 ± 3 nM (n=3) |

10

20

【 0 4 8 0 】

5 . 1 . 2 ヒト P B M C またはヒト全血における C D 4 + 再活性化アッセイ

37 で 48 時間の P H A 活性化によって、白血球除去システム (L R S) から単離したヒト P B M C で P D - 1 発現を誘発した。C D 4 単離キット (M i l t e n y i B i o t e c , S a n D i e g o , C A) を用いて P B M C から C D 4 + T 細胞を精製し、抗 C D 3 または抗 C D 3 + タイトレートした抗 P D - 1 または h I g G 1 アイソタイプ対照抗体を固定化した 96 ウェル上に再播種した。I L - 2、I F N - 、及び I L - 17 サイトカイン判定のために、24 及び 48 時間の時点で上清を収集した。表 10 に示すように、6 つの抗 P D - 1 クロームはすべて、I L - 2 については 20 ~ 36 n M、I F N - については 34 ~ 58 n M、及び I L - 17 については 27 ~ 41 n M の範囲の類似の阻害 E C ₅₀ を示した。

30

表 10 . P B M C 再活性化アッセイにおける 6 つのリード抗体の T 細胞減衰活性の比較

【表 1 2】

| | nM | PD1AB-1 | PD1AB-3 | PD1AB-2 | PD1AB-4 | PD1AB-5 | PD1AB-6 | hIgG1 |
|-----------|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|
| IL-2 | EC ₅₀ | 21 ± 9 | 24 ± 5 | 24 ± 8 | 20 ± 7 | 36 ± 11 | 24 ± 7 | >133 |
| | EC ₇₅ | 40 ± 9 | 46 ± 9 | 42 ± 9 | 39 ± 8 | 58 ± 18 | 33 ± 5 | |
| | nM | (n=6) | (n=2) | (n=6) | (n=6) | (n=2) | (n=6) | |
| IFN- γ | EC ₅₀ | 46 ± 21 | ND | 58 ± 14 | 34 ± 21 | ND | 36 ± 22 | >133 |
| | EC ₇₅ | 85 ± 31 | | 91 ± 29 | 64 ± 29 | | 67 ± 30 | |
| | nM | (n=3) | | (n=3) | (n=3) | | (n=3) | |
| IL-17 | EC ₅₀ | 41 ± 9 | ND | 36 ± 12 | 27 ± 11 | ND | 37 ± 11 | >133 |
| | EC ₇₅ | 65 ± 9 | | 59 ± 10 | 52 ± 11 | | 56 ± 13 | |
| | nM | (n=5) | | (n=5) | (n=5) | | (n=5) | |

10

20

【0481】

次に、特異的 T 細胞機能の障害をヒト全血マトリックス中で評価した。新たに採取し、ヘパリン添加したヒト血液を、抗 CD3 または抗 CD3 + タイトレートした抗 PD-1 または hIgG1 アイソタイプ対照抗体のいずれかを固定化したウェル上に播種した。24 及び 48 時間の時点で収集した血漿を IL-2 (24 時間) 及び IFN- γ / IL-17 (48 時間) について測定した。表 1 1 に示すように、3 つの他の試験した抗体クローンと比較して、PD1AB-6 は、特異的 IL-2 (EC₅₀ 4.0 ± 0.9 nM、n = 4)、IFN- γ (EC₅₀ 4.1 ± 2.2 nM、n = 2)、及び IL-17 (EC₅₀ 3.6 ± 1.2 nM、n = 3) 障害において効力の 2 ~ 3 倍の増加を示した。

表 1 1 . 全血アッセイにおける 4 つのリード分子の T 細胞減衰活性の比較

30

【表 1 3】

| EC ₅₀ nM | | PD1AB-1 | PD1AB-2 | PD1AB-4 | PD1AB-6 | hIgG1 |
|---------------------|----------|-----------|-----------|------------|-----------|-------|
| IL-2 | Hu (n=4) | 8.3 ± 2.7 | 8.4 ± 1.1 | 10.2 ± 2.0 | 4.0 ± 0.9 | >133 |
| hIFN- γ | Hu (n=2) | 5.9 ± 0.8 | 7.6 ± 0.9 | 9.2 ± 1.3 | 4.1 ± 2.2 | >133 |
| hIL-17 | Hu (n=3) | 7.2 ± 1.3 | 8.9 ± 2.3 | 9.9 ± 3.7 | 3.6 ± 1.2 | >133 |

40

【0482】

5.1.3 細胞ベースのリガンド結合アッセイ

リガンド競合を評価するために、細胞結合アッセイを行い、同定した 6 つの抗体クローンを評価した。簡潔に述べると、100 nM ~ 100 pM の半対数濃度の個々の抗体クローンを 10 nM の DyL650-PD-L1 で予備混合し、その後、氷上でヒト PD-1-CHO 細胞 (2 × 10⁵ 細胞) に 45 分間加えた。その後、細胞を洗浄してから、BD FACSArray (商標) で DyL650-PD-L1 結合を分析し、アイソタイプ

50

対照抗体に対する蛍光強度中央値を各濃度でプロットした。図1A～1Bに示すように、PD1AB-6は、親クローンPD1AB-1を含めた他の5つのクローンと同様、100nMまででDyL650-PD-L1結合に対して有意な競合を示さなかった。対照的に、アンタゴニストのリガンド遮断PD-1抗体であるMDX-4H1 (AnaptysBio, San Diego, CA)は、標識化PD-L1結合を投与量依存的に遮断し、結合EC₅₀は約5～10nMとなった。

【0483】

5.1.4 エピトープマッピング

PD-1エピトープは、ヒトPD-1細胞外ドメインと複合体化したPD1AB-6 Fabの結晶構造を1.8 Åの分解能まで解くことによって決定した。PD-1:PD1AB-6 Fab相互作用部位は、PD-1:PD-L1相互作用部位に対してPD-1の遠位側に生じており(図2)、PD-L1及びPD1AB-6がPD-1結合について競合しないという観察結果に合致する。PD1AB-6 Fabは残基100～105で構成されるPD-1ループと形成される実質的な相互作用でPD-1シートに対して結合する(図3)。PD-1上のR104は、Fab CDR H1上の残基との複数の極性相互作用に關与する。隣接する残基G103もFabと密接な極性相互作用をする。R104及びG103は両方ともマウスPD-1においては変異しており(それぞれヒスチジン及びアルギニンに)、PD1AB-6がマウスPD-1に結合しないことの構造的な根拠となる。PD-1と相互作用するPD1AB-6 Fab領域は、CDR H1、H2、H3、L1及びL2である。PD-1:PD1AB-6 Fab相互作用の原子レベルの詳細を表12に記載する。PD-1エピトープと相互作用するHC及びLC残基を記載する。略号は以下の通りである: HB - 水素結合、HYD - 疎水性相互作用、ION - イオン相互作用。

表12. PD1AB-6:PD-1相互作用の原子レベルの詳細

【表14】

| 種類 | 鎖 | 位置 | 種類 | 位置 |
|-----|------|------------|----|------------|
| HB | PD-1 | ASN33.N52 | H | ALA71.O |
| HB | PD-1 | THR51.Oy1 | L | SER50.O |
| HB | PD-1 | SER57.Oy | H | ASP69.O52 |
| HYD | PD-1 | LEU100.C51 | L | PHE55.C{ |
| HYD | PD-1 | LEU100.C51 | L | LEU115.CD1 |
| HB | PD-1 | ASN102.N52 | L | TYR114.O |
| HB | PD-1 | ASN102.O51 | L | SER117.N |
| HB | PD-1 | ASN102.O | H | TYR50.Oη |
| HB | PD-1 | GLY103.O | H | TYR126.Oη |
| HB | PD-1 | ARG104.Nη2 | H | LYS47.O |
| HB | PD-1 | ARG104.Nη1 | H | ASP49.O |
| HB | PD-1 | ARG104.Nη2 | H | ASP69.O51 |
| ION | PD-1 | ARG104.Nη2 | H | ASP69.O51 |
| HB | PD-1 | ASP105.O51 | H | SER125.Oy |
| HB | PD-1 | HIS107.N51 | L | SER50.Oy |
| HB | PD-1 | SER109.Oy | L | SER50.O |

【0484】

5.1.5 PD1AB-6のバリエーションの生成

PD1AB-6 IgG1抗体(PD1AB-6-IgG1)及びFc改変IgG4PE抗体(PD1AB-6-4PE)を生成した。PD1AB-6-4PEは有意に低いFc媒介エフェクター機能を有するように設計した。CH領域の4は2つの非標準アミノ酸置換S228P及びL235E(EU番号付けシステム、Kabata and Wu 1991)を含有する。IgG4のヒンジにおいて一般的なアミノ酸タイプのセリン228を、IgG4においてあまり一般的には観察されないアミノ酸タイプであり、IgG1において高度に保存されているアミノ酸であるプロリンに変化させた。この変化は、Ig

G4サブクラス抗体の産生において一般に観察される「半抗体」のレベルを有意に減少させた。Fc受容体との重鎖相互作用に關与する決定的なアミノ酸の1つであるロイシン235をグルタミン酸に変化させた。L235E置換はFcRへの4鎖の相互作用を有意に減少させ、ADCC及びPD-1発現正常細胞のFc受容体媒介排泄をなくした。さらに、4重鎖による補体結合が元々ないことで、PD1AB-6-4PE分子はCDC機能を欠く。CDCの減少のためにC1qへの結合アフィニティーを最小限にするように2つの他のバリエーションを生成した(図4)。PD1AB-6-K3を生成するために、PD1AB-6-IgG1においてリシン322をアラニンで置換した。K322A置換は、ヒトIgG1Fcを有するキメラ抗体であるリツキシマブ上のC1q結合を抑制すると報告されている(Idusogie et al., 2000, J. Immunol. 164(8): 4178-84)。S228P置換でPD1AB-6-IgG1のFc主鎖をIgG4のFc主鎖に変換することによって、PD1AB-6-4Pを生成した。IgG4のヒンジにおいて一般的なアミノ酸タイプのセリン228を、IgG4においてあまり一般的には観察されないアミノ酸タイプであり、IgG1において高度に保存されているアミノ酸であるプロリンに変化させた。この変化は、IgG4サブクラス抗体の産生においてしばしば観察される半抗体のレベルを有意に減少させる。IgG4抗体は、ADCC及びCDC機能が減衰していることが報告されている(Overdijk et al., 2012, J. Immunol. 189(7): 3430-38)。すべての変化はCH領域において作製し、可変領域は変化させなかった。PD1AB-6-IgG1の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列は、それぞれLC__PD1AB-6-IgG1及びHC__PD1AB-6-IgG1と標識する(図4)。2つの重鎖バリエーションはHC__PD1AB-6-IgG1-K322A及びHC__PD1AB-6-IgG4Pを含む。軽鎖LC__PD1AB-6-IgG1を3つの個々の重鎖と対合させて、それぞれPD1AB-6-IgG1、PD1AB-6-K3、及びPD1AB-6-4Pを生成する。

【0485】

5.1.6細胞株開発及び一過性形質移入からの抗体製造

5.1.6.1重鎖及び軽鎖の分子クローニング

IgG LC発現ベクターpFUSE2ss-CLIg-hk及びIgG HC発現ベクターpFUSEss-CHIg-hG1をInvivoGen(San Diego, CA)から購入した。

【0486】

LC__PD1AB-6-IgG1をコードするアミノ酸配列(図4)を、哺乳類細胞におけるタンパク質発現のためにコドン最適化遺伝子配列に変換した。5'末端のEcoRI及び3'末端のNheIの制限酵素部位を最適化遺伝子に加えた。EcoRI及びNheI部位を有する最適化LC遺伝子を合成して挿入断片を生成した。IgG LC発現ベクターpFUSE2ss-CLIg-hkをEcoRI及びNheIで消化して、およそ3.5kbのpFUSE2ss-CLIg-hk-EcoRI/NheI断片を生成した。挿入断片をpFUSE2ss-CLIg-hk-EcoRI/NheI断片に連結して、pFUSE2ss-CLIg-hk-LC__PD1AB-6-IgG1であるpJS-1を得た。

【0487】

HC__PD1AB-6-IgG1、HC__PD1AB-6-IgG1-K322A、またはHC__PD1AB-6-IgG4Pをコードするアミノ酸配列(図4)を、哺乳類細胞におけるタンパク質発現のためにコドン最適化遺伝子配列に変換した。5'末端の制限酵素部位EcoRI、3'末端の終止コドン(pFUSEss-CHIg-hG1におけるHC配列の3'末端の後)からHpaIまでの定常領域を加えた。EcoRI及びHpaI部位を有する最適化遺伝子を合成して、HC__PD1AB-6-IgG1、HC__PD1AB-6-IgG1-K322A、及びHC__PD1AB-6-IgG4Pをそれぞれコードする遺伝子を含有する挿入断片を生成した。IgG HC発現ベクターpFUSEss-CHIg-hG1をEcoRI及びHpaIで消化して、およそ3.4kbのp

10

20

30

40

50

FUSEss - CHIg - hG1 - EcoRI / HpaI断片を生成した。挿入断片を pFUSEss - CHIg - hG1 - EcoRI / HpaI断片に連結して、それぞれ pFUSEss - CHIg - hG1 - HC__PD1AB - 6 - IgG1、pFUSEss - CHIg - hG1 - HC__PD1AB - 6 - IgG1 - K322A、及び pFUSEss - CHIg - hG1 - HC__PD1AB - 6 - IgG4Pである pJS - 2、pJS - 3、及び pJS - 12を得た。

【0488】

5.1.6.2 タンパク質産生

PD1AB - 6 - IgG1、PD1AB - 6 - K3、及び PD1AB - 6 - 4Pの3つのバリエーションをすべて、インビトロ及びインビボ効力検査のために振とうフラスコ中において実験室スケールで製造した。非GLP毒性検査及び追加の特性評価のためのPD1AB - 6 - 4P及びPD1AB - 6 - K3抗体を、50Lバイオリアクター（50L攪拌タンク及び50Lウェーブバッグ）中で、Life Technologies（Carlsbad, CA）からのFreeStyle（商標）MAX CHO発現系、及びExpi293（商標）発現系を用いて製造した。CHO-S細胞の一過性形質移入のために、製造業者の標準的なプロトコルを用いて、FreeStyle（商標）MAX CHO発現系を用いた。Expi293細胞の一過性形質移入のために、製造業者の標準的なプロトコルを用いて、Expi293（商標）発現系を用いた。形質移入時には、培養物1L当たり1mgのDNA混合物に3:2の軽鎖対重鎖の比を用いた。37℃で50Lバイオリアクター中に0.5百万細胞/mLで細胞を播種し、一晩成長させて1百万細胞/mLにした。その後、製造業者の標準的なプロトコルを用いて細胞を形質移入した。形質移入後1日目に、1mMの酪酸ナトリウム+1%v/vのフィード培地（イーストレート、CHO CD Efficient Feed（商標）A、グルタマックス及びグルコース）をバイオリアクターに加え、温度を32℃に下げた。50L攪拌タンクに40Lの細胞+添加剤を播種し、50Lウェーブバイオリアクターに25Lの細胞+添加剤を播種した。細胞生存率及び力価を毎日監視し、細胞生存率が50%未満に下がった時にバッチを採取した。生存率分析にはVi-Cell（商標）測定器を用い、力価分析には、標準曲線に精製抗体を用いて、抗ヒトIgGセンサーを備えたOctet REDを用いた。GE Life Sciences深層濾過及び滅菌カラムを用いて細胞及び上清を採取したが、深層濾過にはULTA Prime GF 5µmカプセルを用い、続いて、ULTA Pure HC 0.6/0.2µm滅菌カプセルを用いた。クロスフロー濾過を用いて、清澄化した上清を5~8倍に濃縮し、GE Life Scienceからの50KdカットオフKvick（商標）Lab SCUをTFFに用いた。採取時に各

表13. 流加式バイオリアクター（50L）の生産性

【表15】

| アイソタイプ 細胞プール | 細胞株/体積 | 力価 (mg/l) | 採取時の細胞密度 (1 x 10 ⁶ 細胞/mL) |
|-----------------|-------------|--------------|---|
| PD1AB-6-4P | Expi293/25L | 22 | 3.2 |
| PD1AB-6-4P | CHO-S/50L | 9 | 3 |
| PD1AB-6-K3 | Expi293/50L | 31 | 4.5 |
| PD1AB-6-K3 | CHO-S/50L | 15 | 2 |

【0489】

5.1.6.3 タンパク質精製

生成された材料の精製は、プロテインAアフィニティークロマトグラフィー及び低pHウイルス不活性化、その後のIEX相互作用（Capt o（商標）Adhere & Capt o（商標）SP ImpRes）クロマトグラフィーステップを含む一連の下流精

製ステップによって行った。精製抗体を(10 mM スクシネート pH 5.5、9% スクロース、0.05% PS20) バッファーに対して交換したバッファーによってバルク製剤化し、0.2 μm フィルターに通して濾過し、分取した。

【0490】

プロテイン A アフィニティークロマトグラフィーは、生成物を捕捉し、プロセス関連不純物を除去するように設計された Mab Select Sure (商標) で行った。その後のウイルス不活性化ステップは酸性条件下 (pH 3.4 ± 0.1 で 45 分間) で行い、続いて不活性化プールを pH 5.5 ± 0.1 に調節した。ウイルス不活性化の後、Captor (商標) Adhere を用いた中間精製ステップにフロースルモードでアニオン交換体を用いて、不純物、例えば、凝集体、DNA、宿主細胞タンパク質、及びエンドトキシンなどを除去した。生成物プールを pH 6.5 ± 0.1 に調節し、次のプロセスステップの前に導電率を 2 mS/cm に減少させた。カチオン交換体 Captor (商標) SP Impres を最終精製ステップとして用いて、生成物を 10 mS/cm で分離した。その後、抗体を原液 (10 mM スクシネート、9% スクロース、0.05% PS20、pH 5.5) 中でバッファー交換し、20 mg/mL に濃縮した。その後、生成物プールを 0.2 μm フィルターに通して濾過し、分取した。

10

【0491】

5.1.7 細胞ベースの PD-1 結合アッセイ

ヒト PD-1 及びカニクイザル PD-1 を発現する CHO 細胞 (図 5A ~ 5B)、ならびに初代ヒト PBMC (図 6) 及びカニクイザル PBMC (図 7) で PD1AB-6-IgG1 結合を評価した。

20

【0492】

ヒト PD-1 及びカニクイザル PD-1 を発現する CHO 細胞を様々な濃度の非標識 PD1AB-6-IgG1 抗体と共に 30 分間 4 でインキュベートし、洗浄して、抗ヒト IgG Fc (eBioscience, San Diego, CA) で 30 分間 4 にて染色した。ヒト IgG1 Fc を陰性対照として用いた。PD1AB-6-IgG1 は、CHO 細胞上に発現されたヒト PD-1 に $EC_{50} = 0.4$ nM で結合し、CHO 細胞上に発現されたカニクイザル PD-1 に $EC_{50} = 0.8$ nM で結合する (図 5A ~ 5B)。

【0493】

ヒト PBMC を 1 μg/mL のプレートに結合した抗 CD3 で 3 日間活性化させて、T 細胞上の PD-1 発現を誘発した。細胞を様々な濃度の非標識 PD1AB-6-IgG1 抗体と共に 30 分間 4 でインキュベートし、洗浄して、抗ヒト IgG Fc (eBioscience, San Diego, CA) で 30 分間 4 にて染色した。ヒト IgG1 Fc を陰性対照として用いた。CD4+ T 細胞で幾何 MFI を求めた。2 人のヒト健康ドナーのうちの 1 人からのデータを図 6 に示す。

30

【0494】

カニクイザル PBMC を 1 μg/mL の抗カニクイザル CD3 / CD28 で 2 日間活性化させて、T 細胞上の PD-1 発現を誘発した。細胞を様々な濃度の非標識 PD1AB-6-IgG1 抗体と共に 30 分間 4 でインキュベートし、洗浄して、抗ヒト IgG Fc (eBioscience) で 30 分間 4 にて染色した。ヒト IgG1 Fc を陰性対照として用いた。CD4+ T 細胞で幾何 MFI を求めた。2 匹のカニクイザルドナーのうちの 1 匹からのデータを図 7 に示す。

40

【0495】

5.1.8 Fc 受容体結合アッセイ

バリエーション生成の目的、すなわち、Fc R 媒介エフェクター機能の減少を確認するために、PD1AB-6-K3 及び PD1AB-6-4P バリエーションへの Fc R 結合を 2 つの方法によって分析した。第 1 に、Cisbio Tag Lite (登録商標) 検出を用いた置換 Fc R アッセイで結合を試験した (図 8A ~ 8D)。テルビウム (Tb) ドナー色素で前標識した特定の Fc R (Fc RI、Fc RII Ia、または Fc

50

R I I b) を発現するように遺伝子操作した H E K 2 9 3 細胞を、参照対照または P D 1 A B - 6 - I g G 1、P D 1 A B - 6 - K 3、及び P D 1 A B - 6 - 4 P 抗体と 1 0 0 0 n M ~ 0 . 1 p M の範囲の対数濃度にわたって混合した。その後、第 2 のヒト h I g G - d 2 (アクセプター) を加えて受容体結合について競合させた。T b - d 2 近接性によって生成される蛍光共鳴エネルギー移動 (F R E T) シグナルの検出が測定され、これは P D 1 A B - 6 バリエント結合 F c R に反比例する。図 8 A ~ 8 D に示すように、P D 1 A B - 6 - K 3 バリエントは、A D C C 活性を担う N K 細胞上の低アフィニティー受容体である F c R I I I a (C D 1 6) への結合の減少を示した。F c R I (顆粒球、樹状細胞 (D C)、または単球上で発現される) への結合は親 P D 1 A B - 6 - I g G 1 分子と類似していた。

10

【 0 4 9 6 】

第 2 に、F A C S ベースの結合アッセイにおいて P D 1 A B - 6 - K 3 及び P D 1 A B - 6 - 4 P バリエントの両方を試験した (図 9 A ~ 9 C)。簡潔に述べると、F c R I - C H O または F c R I I I a V 1 5 8 - C H O 発現細胞株を剥離して洗浄した後、P D 1 A B - 6 - K 3 及び P D 1 A B - 6 - 4 P バリエントと異なる濃度にわたって 1 時間氷上で混合した。P D 1 A B - 6 バリエント結合細胞を標識化 P E 結合 F (a b ')₂ ヤギ抗ヒト二次抗体によってさらに 1 時間氷上で検出し、洗浄して、F A C S による分析の前に固定化し、各濃度について平均蛍光強度をプロットした。P D 1 A B - 6 - 4 P バリエントは、F c R I 及び F c R I I I a 株に対して有意により高い結合 E C₅₀ (それぞれ、> 1 5 x 及び > 2 1 x) を返した (図 9 A ~ 9 C)。

20

【 0 4 9 7 】

5 . 1 . 9 インビトロ A D C C アッセイ

健康ドナー由来のナチュラルキラー (N K) 細胞及び P D - 1 発現標的細胞が関与する共培養アッセイにおいて、P D 1 A B - 6 バリエントの A D C C を誘発する能力を評価した。P D 1 A B - 6 バリエントで前処理した標的細胞 (N C I - O C I - L y 3) を活性化 N K 細胞と共に 4 時間共培養した。上清 L D H 濃度を用いて特異的溶解を計算した。P r i s m を用いて E C₅₀ (n M) を計算した。エラーバーは 3 回の実験を表す。データは 4 個体の健康ドナーの代表 2 つである。図 1 0 A ~ 1 0 B に示すように、P D 1 A B - 6 - I g G 1 のタイトレーションは投与量依存的な A D C C を誘発したが、P D 1 A B - 6 - K 3 は A D C C 活性の減少を示した。

30

【 0 4 9 8 】

5 . 1 . 1 0 インビトロ C D C アッセイ

P D - 1 発現 C D 2 0⁺ N C I - O C I - L y 3 細胞を用いて、P D 1 A B - 6 バリエントの C D C を誘発する能力を評価した。5 % ウサギ補体を補添した無血清培地中において、抗体で前処理した標的細胞 (N C I - O C I - L y 3) を 4 時間培養した。F A C S によって 7 - A A D⁺ 細胞で細胞溶解を測定した。データは 3 つの独立した実験の代表である：(i) P D 1 A B - 6 - I g G 1 及び抗 C D 2 0 I g G 1 の C D C 活性；(i i) P D 1 A B - 6 - I g G 1 及び P D 1 A B - 6 - K 3 の C D C 活性；(i i i) P D 1 A B - 6 - 4 P 及び市販のマウス抗 P D - 1 I g G 1 抗体の C D C 活性。図 1 1 に示すように、P D 1 A B - 6 - K 3 は一貫して C D C を誘発しなかった (n = 3)。親 P D 1 A B - 6 - I g G 1 及び P D 1 A B - 6 - 4 P も C D C を誘発しなかった。これは、補体殺傷に対する標的細胞株の耐性によるものではなかったが、その理由は、抗 C D 2 0 I g G 1 が 5 % ウサギ補体の存在下において N C I - O C I - L y 3 細胞に対する投与量依存的 C D C を繰り返し誘発したためである。

40

【 0 4 9 9 】

5 . 2 実施例 2 : 活性アッセイ

5 . 2 . 1 ヒト T 細胞活性化アッセイ

T 細胞エフェクター機能の阻害についての P D 1 A B - 6 バリエントの機能評価を 2 つの方法によって行った。1 つのアッセイにおいて、末梢血単核細胞を事前活性化して P D - 1 を発現させ、可溶性 P D 1 A B - 6 - K 3 の存在下において再刺激した (図 1 2)。

50

健康ドナー由来の末梢血単核細胞 (PBM C) を分裂促進因子 P H A で 4 8 時間事前活性化して P D - 1 発現を上方調節した。その後、最終濃度 1 0 0 n M ~ 0 . 1 n M の範囲にわたって希釈した P D 1 A B - 6 バリエーションの存在下において、抗 C D 3 結合 D y n a b e a d s (登録商標) (L i f e T e c h n o l o g i e s , C a r l s b a d , C A) を用いて、これらの細胞を再刺激した。刺激後 2 4 時間の培養上清における I L - 2 レベルを用いて T 細胞活性化を測定した。図 1 2 に示すように、P D 1 A B - 6 - K 3 及び 2 つの他のバリエーションは、このアッセイにおいて強力な T 細胞阻害活性を示し、E C ₅₀ は 5 ~ 2 5 n M であった。

【 0 5 0 0 】

T 細胞機能の阻害における P D 1 A B - 6 - K 3 の直接エクスピボ測定のために第 2 のアッセイを用いた (図 1 3)。これは、抗 C D 3 + / - P D 1 A B - 6 - K 3 で共コーティングした 9 6 ウェルプレート中に新鮮なヒト全血を直接播種し、T 細胞活性化の測定値として I L - 1 7 及び I F N - γ レベルを測定することによって行った。これらのアッセイにおいて、C T L A 4 I g (O r e n c i a (登録商標)) を陽性対照として用い、ヒト I g G F c 断片を陰性対照として用いた。図 1 3 に示すように、全体として、P D 1 A B - 6 - K 3 は P D 1 A B - 6 - 4 P よりも効力が良好な傾向にあった。陰性対照 h I g G F c は E C ₅₀ > 1 0 0 n M で活性を示さなかった。

【 0 5 0 1 】

5 . 2 . 2 カニクイザル交差反応性アッセイ

新たに単離したカニクイザル P B M C を用いて、リード P D 1 A B - 6 - K 3 での機能的カニクイザル交差反応性の測定をヒト試料と同様に実施し、抗カニクイザル C D 3、C D 2 8、及び表示した P D 1 A B - 6 バリエーションで活性化した。これらのアッセイにおいて、C T L A 4 I g を陽性対照として用い、h I g G 1 F c を陰性対照として用いた。4 8 時間後に、カニクイザル I L - 2 M S D アッセイを用いたサイトカイン測定のために培養上清を取り出した。表 1 4 に示すように、これらのアッセイは、P D 1 A B - 6 - K 3 がカニクイザル T 細胞サイトカイン分泌を陽性対照 C T L A 4 I g と同等のレベルまで減衰し、活性がヒトアッセイにおいて見られたものと同等であることを実証した。

表 1 4 . カニクイザル P B M C アッセイにおける P D 1 A B - 6 - K 3 活性

【 表 1 6 】

| | PD1AB-6-IgG1 | PD1AB-6-K3 | PD1AB-6-4P | CTLA4Ig |
|------|----------------|------------|------------|---------|
| | IL-2 EC50 (nM) | | | |
| NHP1 | 0.28 | 0.24 | <0.1 | 未実施 |
| NHP2 | 4.9 | 2.5 | 1.24 | 未実施 |
| NHP3 | N. D. | 9.24 | 16.5 | 14 |
| NHP4 | N. D. | 1.22 | 1.23 | 6 |

【 0 5 0 2 】

5 . 2 . 3 作用のインビトロ機序

T 細胞表面分子、例えば、C D 3 及び C D 4 などに結合するいくつかの抗体は、シグナル伝達及びその後のそれらの分子の表面発現の下方調節をもたらす。P D 1 A B - 6 抗体は P D - 1 を介してアゴニストシグナルをもたらすように設計されるので、インビトロでの P D 1 A B - 6 処理の後の P D - 1 発現を評価することに関心がもたれた。

【 0 5 0 3 】

5 . 2 . 3 . 1 P D 1 A B - 6 処理の後の P D - 1 発現の減少

異なるドナー由来のヒト P B M C を、様々な濃度の可溶性対照 I g G 1 または P D 1 A B - 6 - I g G 1 を伴う 1 μ g / m L のプレートに結合した抗 C D 3 + 0 . 2 5 μ g / m L のプレートに結合した抗 C D 2 8 で活性化した。4 時間 ~ 7 2 時間のインキュベーション後、細胞を C D 3、C D 4 5 R O、及び P D - 1 について染色して T 細胞上の P D - 1 発現を評価した。図 1 4 A ~ 1 4 C は、4 8 時間の P D 1 A B - 6 - I g G 1 処理の後で

ヒトCD3+ T細胞上のPD-1の発現が減少されたことを示す。PD-1発現の分析は、PD1AB-6-IgG1処理がT細胞の表面上でのPD-1発現の下方調節をもたらすことを示していた(図14A~14Bにおける1人のドナーからの代表的なヒストグラム、ならびに図14Cにおける3人のドナー及び様々な濃度にわたる48時間の時点での平均蛍光強度の分析)。PD-1下方調節はPD1AB-6-IgG1とのインキュベーションの4時間の時点で早くも見られた。表面PD-1発現の下方調節は、PD-1を介したPD1AB-6誘発性シグナル伝達によるものと考えられ、T細胞受容体シグナル伝達で観察されるものに類似した機序によるものであった(San Jose et al., 2000, Immunity 12(2):161-70)。

【0504】

5.3実施例3:PD1AB-6バリエーションの物理化学的特性評価

5.3.1 Biacore(登録商標)結合分析

Biacore(登録商標)T200で捕捉法を用いてPD1AB-6バリエーション抗体をhPD1抗原への結合について分析した。Fc特異的抗ヒトIgGをFc2上に固定化し、Fc1は参照チャンネルとしてブランクのままとした。精製PD1抗体を抗ヒトIgG上に捕捉させ、結合のカイネティクスを求めるために、100nM~200pMの2倍希釈系列を用いて、内部生成hPD1抗原(PD1__002)を両チャンネルに流した。用いたPD-1は、封入体としてE.coli中で発現させてリフォールディングさせたヒトPD-1の細胞外ドメイン(残基32~160)であった。3M塩化マグネシウムを用いて各抗原凝縮物の間の表面を再生した。PD1AB-6-IgG1、PD1AB-6-4P、及びPD1AB-6-K3についての結合カイネティクスならびに k_{on} 、 k_{off} 、及び K_D の値の例を図15A~15Cに示す。3つのバリエーションはすべて、PD-1抗原に対する会合及び解離の速度が類似しており、 K_D 値は19~22nMで同等であった。

【0505】

6.配列表

本明細書は配列表のコンピュータ可読形式(CRF)コピーと共に出願されている。2016年9月22日に作成されたサイズが50,870バイトの10624-294-228__SEQULIST.txtという名称のCRFは、配列表の紙のコピーと同一であり、その全内容を参照により本明細書に援用する。

本件出願は、以下の構成の発明を提供する。

(構成1)

(a)配列番号8のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体によって認識されるヒトPD-1のエピトープに結合するか;または

(b)ヒトPD-1への結合において、配列番号8のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体と競合する抗体またはその抗原結合断片。

(構成2)

(a)表1に記載の抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのVL相補性決定領域1(CDR1)、VL CDR2、及びVL CDR3を含む軽鎖可変領域(VL);及び/または

(b)表2に記載の抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのVH相補性決定領域1(CDR1)、VH CDR2、及びVH CDR3を含む重鎖可変領域(VH)を含む、PD-1に結合する抗体またはその抗原結合断片。

(構成3)

(a)表3に記載の抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのVLフレームワーク1

10

20

30

40

50

(FR1)、VL FR2、VL FR3、及びVL FR4をさらに含む軽鎖可変領域(VL)；及び/または

(b)表4に記載の抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の任意の1つのVHフレームワーク1(FR1)、VH FR2、VH FR3、及びVH FR4をさらに含む重鎖可変領域(VH)

を含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成4)

前記VL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3がそれぞれ配列番号1、2、及び3のアミノ酸配列を含み、前記VH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3がそれぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

10

(構成5)

前記VL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3がそれぞれ配列番号7、2、及び3のアミノ酸配列を含み、前記VH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3がそれぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成6)

配列番号8のアミノ酸配列を含むVLを含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

20

(構成7)

配列番号9のアミノ酸配列を含むVLを含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成8)

配列番号10のアミノ酸配列を含むVLを含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成9)

配列番号11のアミノ酸配列を含むVHを含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成10)

配列番号12のアミノ酸配列を含むVHを含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

30

(構成11)

配列番号13のアミノ酸配列を含むVHを含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成12)

(a)配列番号8のアミノ酸配列を含むVL；及び

(b)配列番号11のアミノ酸配列を含むVH

を含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成13)

(a)配列番号9のアミノ酸配列を含むVL；及び

(b)配列番号11のアミノ酸配列を含むVH

を含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

40

(構成14)

(a)配列番号10のアミノ酸配列を含むVL；及び

(b)配列番号11のアミノ酸配列を含むVH

を含む、構成2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成15)

(a)配列番号8のアミノ酸配列を含むVL；及び

(b)配列番号12のアミノ酸配列を含むVH

50

を含む、構成 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 16)

(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L ; 及び

(b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V H

を含む、構成 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 17)

(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L ; 及び

(b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V H

を含む、構成 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 18)

(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L ; 及び

(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H

を含む、構成 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 19)

(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L ; 及び

(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H

を含む、構成 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 20)

(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L ; 及び

(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H

を含む、構成 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 21)

ヒト I g G 1 F c 領域またはその変異体を含む、構成 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 22)

ヒト I g G 1 - K 3 2 2 A F c 領域を含む、構成 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 23)

ヒト I g G 4 F c 領域またはその変異体を含む、構成 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 24)

ヒト I g G 4 P F c 領域を含む、構成 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 25)

ヒト I g G 4 P E F c 領域を含む、構成 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 26)

配列番号 36 ~ 40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 F c 領域を含む、構成 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 27)

配列番号 41 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域をさらに含む、構成 26 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 28)

(a) 配列番号 41 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域 ; 及び

(b) 配列番号 36 ~ 40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 F c 領域を含む、構成 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 29)

配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、構成 1 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 30)

10

20

30

40

50

配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 1)

(a) 配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖 ; 及び

(b) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 2)

配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 3)

(a) 配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖 ; 及び

(b) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 4)

配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 5)

(a) 配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖 ; 及び

(b) 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 6)

配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 7)

(a) 配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖 ; 及び

(b) 配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む重鎖
を含む、構成 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 8)

P D - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の残基 1 0 0 ~ 1 0 9 の少なくとも 1 つに結合する、構成 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 3 9)

P D - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の残基 1 0 0 ~ 1 0 5 の少なくとも 1 つに結合する、構成 3 8 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 4 0)

P D - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の N 3 3、T 5 1、S 5 7、L 1 0 0、N 1 0 2、G 1 0 3、R 1 0 4、D 1 0 5、H 1 0 7、及び S 1 0 9 からなる群から選択される少なくとも 1 つの残基に結合する、構成 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 4 1)

P D - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の N 3 3 に結合する、構成 4 0 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 4 2)

P D - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の T 5 1 に結合する、構成 4 0 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 4 3)

P D - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の S 5 7 に結合する、構成 4 0 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成 4 4)

P D - 1 に結合した場合、配列番号 4 2 のアミノ酸配列中の L 1 0 0 に結合する、構成

10

20

30

40

50

40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成45)

PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のN102に結合する、構成40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成46)

PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のG103に結合する、構成40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成47)

PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のR104に結合する、構成40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成48)

PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のD105に結合する、構成40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成49)

PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のH107に結合する、構成40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成50)

PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のS109に結合する、構成40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成51)

PD-1に結合した場合、配列番号42のアミノ酸配列中のG103及びR104に結合する、構成40に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成52)

(a) T細胞活性を減衰させる；及び/または

(b) T細胞の表面上のPD-1発現を下方調節する

構成1～51のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成53)

ヒトPD-1及び/またはサルPD-1に特異的に結合するが、げっ歯類PD-1には結合しない、構成1～52のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成54)

ADCC活性及び/またはCDC活性が減衰している、構成1～53のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成55)

T細胞活性の前記減衰がヒトPBMCまたは全血試料において生じる、構成52に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成56)

T細胞活性の前記減衰がサイトカイン産生の阻害によって測定される、構成52または55に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成57)

前記抗体またはその抗原結合断片によって阻害される前記サイトカインが、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、TNF-、及び/またはIFN-を含む、構成56に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成58)

T細胞の表面上のPD-1発現の前記下方調節が

(a) 早ければ前記抗体またはその抗原結合断片での処理の4時間後にでも生じる；及び/または

(b) サイトカイン阻害と同時に、もしくはそれに先行して生じる

構成52に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成59)

10

20

30

40

50

精製ヒトPD-1への結合についての K_D が約100pM~約10nMであり、細胞表面上に発現されるヒトPD-1及び細胞表面上に発現されるサルPD-1への結合についての K_D が約100pM~約10nMである、構成53に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成60)

T細胞活性を減衰させる EC_{50} が、約1pM~約10pM、約10pM~約100pM、約100pM~約1nM、約1nM~約10nM、または約10nM~約100nMである、構成56に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成61)

T細胞活性の最大減衰率が、少なくとも約10%、20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%である、構成56に記載の抗体またはその抗原結合断片。

10

(構成62)

PD-1発現の最大下方調節率が、少なくとも約10%、20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%である、構成52または58に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成63)

前記抗体がモノクローナル抗体である、構成1~62のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

20

(構成64)

前記抗体がヒト化抗体、ヒト抗体、またはキメラ抗体である、構成1~63のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成65)

前記ヒト化抗体が脱免疫化抗体または複合ヒト抗体である、構成64に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成66)

Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、dsFv、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、または抗体断片から形成された多重特異性抗体である、構成1~65のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

30

(構成67)

作用物質に結合している、構成1~66のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

(構成68)

前記作用物質が、放射性同位体、金属キレート剤、酵素、蛍光化合物、生物発光化合物、及び化学発光化合物からなる群から選択される、構成67に記載の抗体またはその抗原結合断片

(構成69)

構成1~68のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合断片、及び医薬品として許容可能な担体を含む組成物。

40

(構成70)

構成1~68のいずれか1項に記載の抗体のVH、VL、またはVH及びVLの両方をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド。

(構成71)

構成1~68のいずれか1項に記載の抗体の重鎖、軽鎖、または重鎖及び軽鎖の両方をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド。

(構成72)

プロモーターに作用可能に連結している、構成70または71に記載のポリヌクレオチド。

(構成73)

50

- 構成 7 1 または 7 2 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
- (構成 7 4)
- 構成 7 1 または 7 2 に記載のポリヌクレオチドを含む細胞。
- (構成 7 5)
- 構成 7 3 に記載のベクターを含む細胞。
- (構成 7 6)
- 構成 1 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片を産生する単離細胞。
- (構成 7 7)
- 構成 1 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片を含むキット。 10
- (構成 7 8)
- ヒト PD - 1 のエピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片の作製方法であって、構成 7 4 ~ 7 6 のいずれか 1 項に記載の細胞を培養して前記抗体またはその抗原結合断片を発現させることを含む前記方法。
- (構成 7 9)
- 構成 7 0 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを発現させることを含む、ヒト PD - 1 のエピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片の作製方法。
- (構成 8 0)
- T 細胞の活性の減衰方法であって、前記 T 細胞を有効量の構成 1 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片と接触させることを含む前記方法。 20
- (構成 8 1)
- T 細胞活性の最大減衰率が、少なくとも約 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 1 0 0 % である、構成 8 0 に記載の方法。
- (構成 8 2)
- T 細胞活性の前記減衰がサイトカイン産生の阻害によって測定される、構成 8 0 または 8 1 に記載の方法。
- (構成 8 3)
- 前記サイトカインが、IL - 1、IL - 2、IL - 6、IL - 1 2、IL - 1 7、IL - 2 2、IL - 2 3、GM - CSF、TNF - 、IFN - 、またはこれらの任意の組合せである、構成 8 0 ~ 8 2 のいずれか 1 項に記載の方法。 30
- (構成 8 4)
- サイトカイン産生の前記阻害が、前記 T 細胞の表面上の PD - 1 発現の下方調節と同時に生じるか、またはこれに続いて生じる、構成 8 0 ~ 8 3 のいずれか 1 項に記載の方法。
- (構成 8 5)
- 前記 T 細胞の表面上の PD - 1 発現の前記下方調節が、早ければ有効量の抗体またはその抗原結合断片との接触の 4 時間後にでも生じる、構成 8 4 に記載の方法。
- (構成 8 6)
- T 細胞の表面上の PD - 1 発現を下方調節する方法であって、前記 T 細胞を有効量の構成 1 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片と接触させることを含む前記方法。 40
- (構成 8 7)
- 前記抗体またはその抗原結合断片による PD - 1 発現の最大下方調節率が、少なくとも約 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 1 0 0 % である、構成 8 6 に記載の方法。
- (構成 8 8)
- 前記 T 細胞の表面上の PD - 1 発現の前記下方調節が、早ければ前記抗体またはその抗原結合断片との接触の 4 時間後にでも生じる、構成 8 6 または 8 7 に記載の方法。
- (構成 8 9)
- 50

前記 T 細胞の表面上の P D - 1 発現の前記下方調節がサイトカイン阻害に先行する、構成 8 6 ~ 8 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(構成 9 0)

前記サイトカインが、I L - 1、I L - 2、I L - 6、I L - 1 2、I L - 1 7、I L - 2 2、I L - 2 3、G M - C S F、T N F - 、I F N - 、またはこれらの任意の組合せである、構成 8 9 に記載の方法。

(構成 9 1)

T 細胞によるサイトカイン産生を阻害する方法であって、前記 T 細胞を有効量の構成 1 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片と接触させることを含む前記方法。

10

(構成 9 2)

前記サイトカインが、I L - 1、I L - 2、I L - 6、I L - 1 2、I L - 1 7、I L - 2 2、I L - 2 3、G M - C S F、T N F - 、I F N - 、またはこれらの任意の組合せである、構成 9 1 に記載の方法。

(構成 9 3)

前記サイトカインが、I L - 2、I L - 1 7、I F N - 、またはこれらの任意の組合せである、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(構成 9 4)

前記サイトカインが I L - 2 である、構成 9 3 に記載の方法。

(構成 9 5)

前記サイトカインが I L - 1 7 である、構成 9 3 に記載の方法。

20

(構成 9 6)

前記サイトカインが I F N - である、構成 9 3 に記載の方法。

(構成 9 7)

前記サイトカインが I L - 1 である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(構成 9 8)

前記サイトカインが I L - 6 である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(構成 9 9)

前記サイトカインが I L - 1 2 である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

(構成 1 0 0)

前記サイトカインが I L - 1 7 である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(構成 1 0 1)

前記サイトカインが I L - 2 2 である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(構成 1 0 2)

前記サイトカインが I L - 2 3 である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

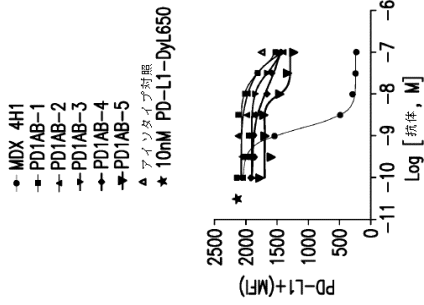
(構成 1 0 3)

前記サイトカインが G M - C S F である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(構成 1 0 4)

前記サイトカインが T N F である、構成 8 2、8 9 または 9 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【 図 1 】



【 図 4 】

>LC_PD1AB-6-IgG1
 DIVMTQSPDLSAVLSGERATINCKKSGQSLVYSSNKNFLAWYQQKPGQPPLKLLIMASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSLAQE
 DIVAVYGHQYLSWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVWCLLNNFYPREAKVQWIKVDNALQSGNSQESVTEGD
 SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC

>HC_PD1AB-6-IgG1
 EVLVQSGAEVKKPGATVSKGKASGFNIKOTYMHVWQQAQPGKLEWWRGRDPANGDRKDYKFGGVTITADTSTDTAYMELS
 SLRSEDIAVYCYKSGPVYVYSSGTYVYSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVYSWNSG
 ALTSQKHTFPAVALQSGLYSLSSVMTVPSSSLGDTQYICAVNHKPSNFKNDKKKPKSCKDHTGCPQPAPELLGGPSVFLFPPKPKQ
 TLMISRTPEVTCWVDVSHEDPEKFKFVYVQGVVHNAKFKPREEDQNSITRYRSVLTLVHDDMLNGEKYCKKSNWALPAP
 EKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTRKNQSLTCLVKGFPYSDAVENWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSSEFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPK

>HC_PD1AB-6-IgG2A
 EVLVQSGAEVKKPGATVSKGKASGFNIKOTYMHVWQQAQPGKLEWWRGRDPANGDRKDYKFGGVTITADTSTDTAYMELS
 SLRSEDIAVYCYKSGPVYVYSSGTYVYSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVYSWNSG
 ALTSQKHTFPAVALQSGLYSLSSVMTVPSSSLGDTQYICAVNHKPSNFKNDKKKPKSCKDHTGCPQPAPELLGGPSVFLFPPKPKQ
 TLMISRTPEVTCWVDVSHEDPEKFKFVYVQGVVHNAKFKPREEDQNSITRYRSVLTLVHDDMLNGEKYCKKSNWALPAP
 EKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTRKNQSLTCLVKGFPYSDAVENWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSSEFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPK

>HC_PD1AB-6-IgG4P
 EVLVQSGAEVKKPGATVSKGKASGFNIKOTYMHVWQQAQPGKLEWWRGRDPANGDRKDYKFGGVTITADTSTDTAYMELS
 SLRSEDIAVYCYKSGPVYVYSSGTYVYSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVYSWNSGALTS
 GHITFPALQSSGLYSLSSVMTVPSSSLGRTQYICAVNHKPSNFKNDKKKPKSCKDHTGCPQPAPELLGGPSVFLFPPKPKQ
 CVMVDSQDEPDELQENMTYVQGVVHNAKFKPREEDQNSITRYRSVLTLVHDDMLNGEKYCKKSNWALPAP
 TLPSSQLEMTKKNQVSLTCLVKGFPYSDAVENWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSSEFLYSKLTVDKSRWQVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPK

FIG. 4

【 図 2 】



FIG. 2

【 図 3 】

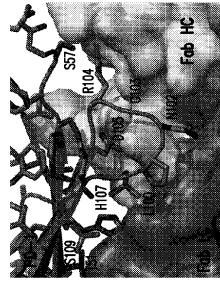
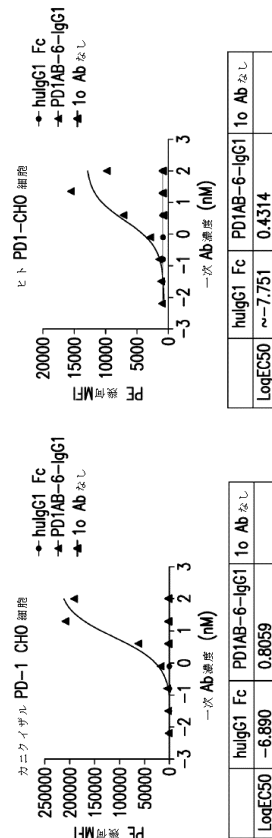


FIG. 3

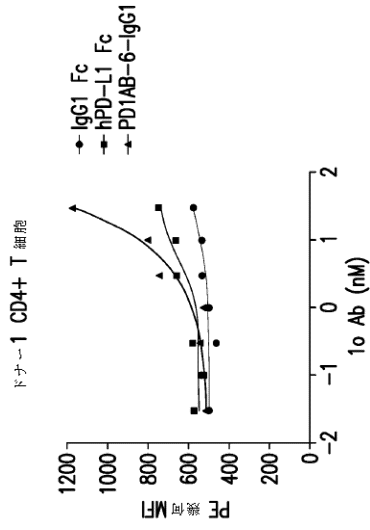
【 図 5 】



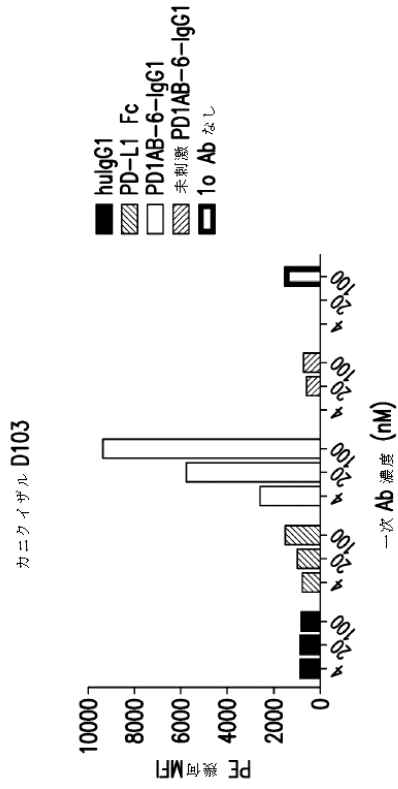
A

B

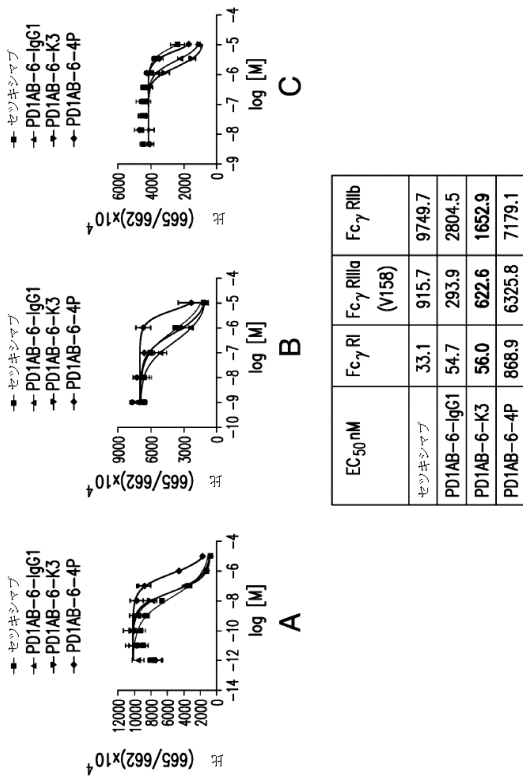
【 図 6 】



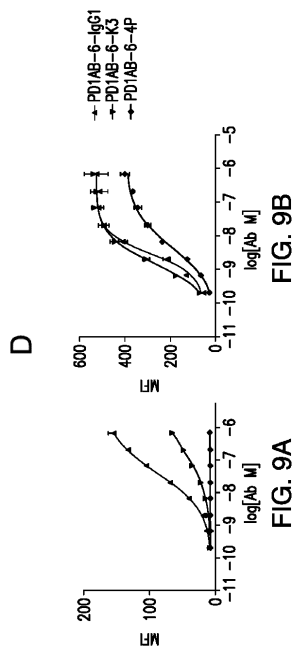
【 図 7 】



【 図 8 】



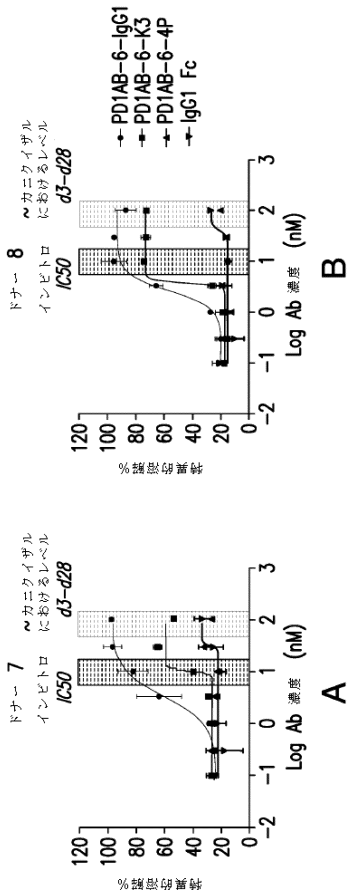
【 図 9 A - 9 C 】



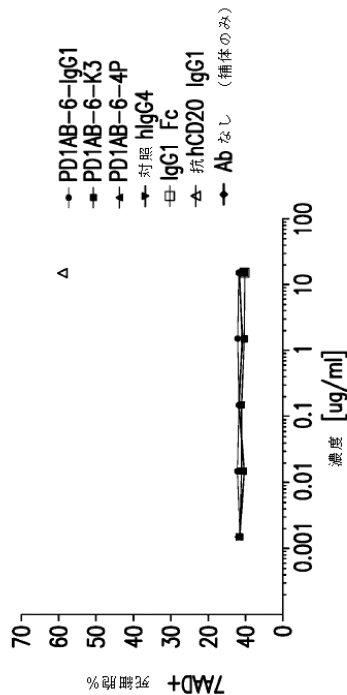
| EC ₅₀ nM | PD1AB-6-IgG1 | PD1AB-6-K3 | PD1AB-6-4P |
|---------------------|--------------|------------|------------|
| FcγR1 | 2.6 | 1.5 | 12.4 |
| FcγR1II | 31.4 | >866 | NB |

FIG. 9C

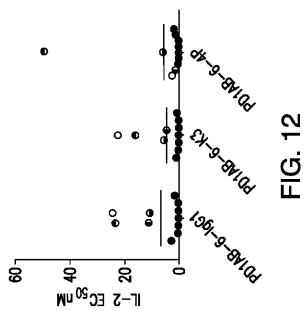
【 図 1 0 】



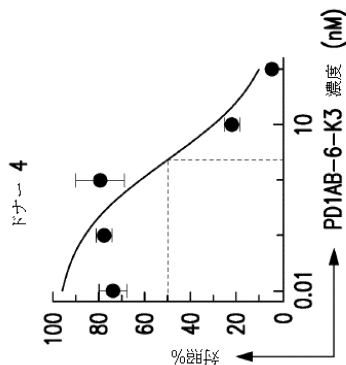
【 図 1 1 】



【 図 1 2 】

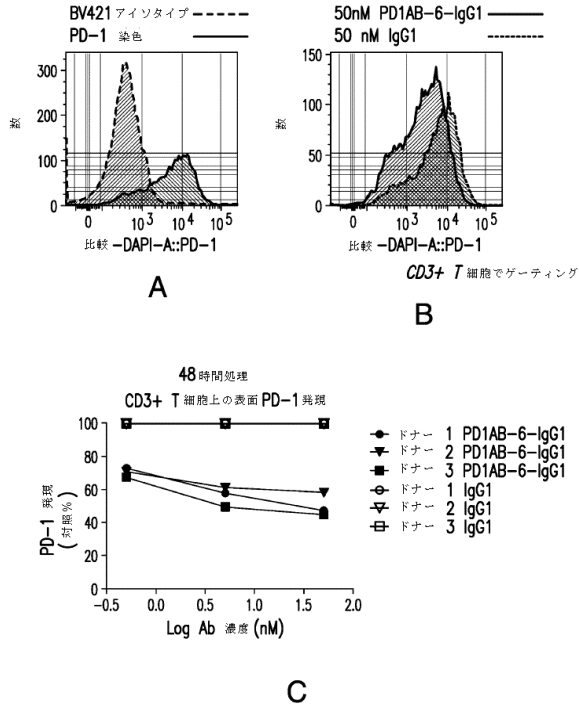


【 図 1 3 】



| | PD1AB-6-K3 | PD1AB-6-4P | CTLA4Ig |
|-------|-------------------------|------------|---------|
| | IFN- γ EC50 (nM) | | |
| ドナー 1 | <0.01 | <0.01 | 0.02 |
| ドナー 2 | <0.01 | 0.02 | <0.01 |
| ドナー 3 | 22.4 | 51 | 81 |
| ドナー 4 | 2.3 | >100 | 9 |

【 図 1 4 】



【 図 1 5 A 】

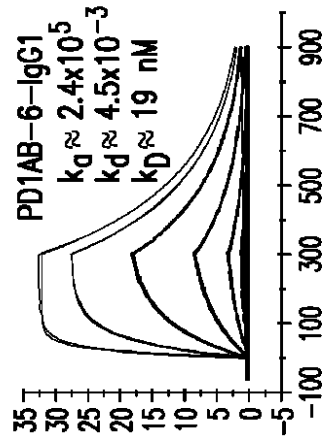


FIG. 15A

【 図 1 5 B 】

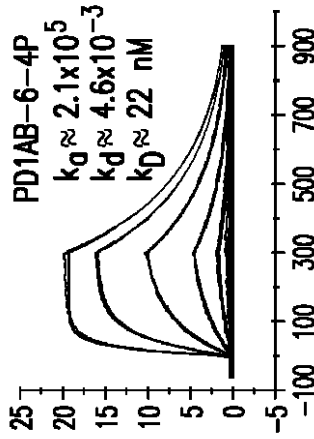


FIG. 15B

【 図 1 5 C 】

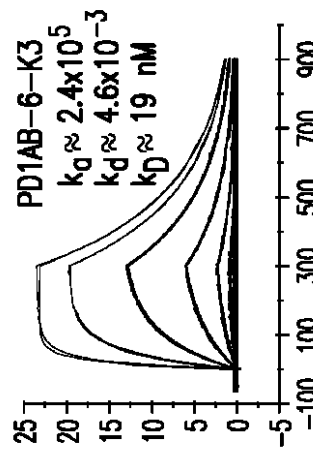


FIG. 15C

【配列表】

0006843868000001.app

フロントページの続き

| | | | |
|-------------|------------------|---------|-------------|
| (51)Int.Cl. | | F I | |
| C 1 2 N | 1/15 (2006.01) | C 1 2 N | 1/15 |
| C 1 2 N | 1/19 (2006.01) | C 1 2 N | 1/19 |
| C 1 2 N | 1/21 (2006.01) | C 1 2 N | 1/21 |
| C 1 2 N | 5/10 (2006.01) | C 1 2 N | 5/10 |
| A 6 1 P | 43/00 (2006.01) | A 6 1 P | 43/00 1 0 5 |
| A 6 1 P | 37/06 (2006.01) | A 6 1 P | 37/06 |
| A 6 1 P | 35/00 (2006.01) | A 6 1 P | 35/00 |
| A 6 1 K | 39/395 (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 U |

- (72)発明者 カンダサミィ ハリハラン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 3 0 サン ディエゴ リトル マクゴニグル ラン
チ ロード 6 5 7 5
- (72)発明者 ピルグリム ジャクソン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 1 5 サン ディエゴ コルウッド レーン 4 4 2
1
- (72)発明者 マリリン ケフリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 3 1 サン ディエゴ ロック クリーク ドライブ
1 0 4 4 0
- (72)発明者 ロリ カットリ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 3 1 サン ディエゴ ユニット 8 8 スクリップ
ス ビスタ ウェイ 9 9 9 0
- (72)発明者 モニカ レオン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 1 7 サン ディエゴ ハバスパイ アベニュー 2
7 5 5
- (72)発明者 リサ モリソン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 3 0 サン ディエゴ コーチ ホース コート 4
9 1 8
- (72)発明者 ジョンフン サン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 1 6 サン ディエゴ 3 5 トフ ストリート 4 9
9 2
- (72)発明者 サナア トーレス
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 7 8 サン マルコス コーベル ウェイ 2 5 2 6
- (72)発明者 ヘンリー エイチ. チャン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 6 4 ポーウェイ ハイテイジ ドライブ 1 8 7 8
7

審査官 田ノ上 拓自

- (56)参考文献 国際公開第 2 0 1 4 / 1 9 4 3 0 2 (W O , A 1)
特開 2 0 1 4 - 0 7 7 0 1 5 (J P , A)
国際公開第 2 0 1 4 / 2 0 6 1 0 7 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 1 5 / 0 3 5 6 0 6 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 1 5 / 0 8 5 8 4 7 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 (W O , A 1)
特開 2 0 1 5 - 1 5 7 8 2 4 (J P , A)
The Journal of Immunology, 2010年, Vol.184, No.5, p.2337-2347
PNAS, 2008年, Vol.105, No.30, p.10483-10488

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

C07K 1/00 - 19/00

A61K 39/395

A61P 35/00

A61P 37/06

A61P 43/00

C12N 1/15

C12N 1/19

C12N 1/21

C12N 5/10

C12P 21/08

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

WPIDS/WPIX(STN)

PubMed