

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-502061
(P2025-502061A)

(43)公表日 令和7年1月24日(2025.1.24)

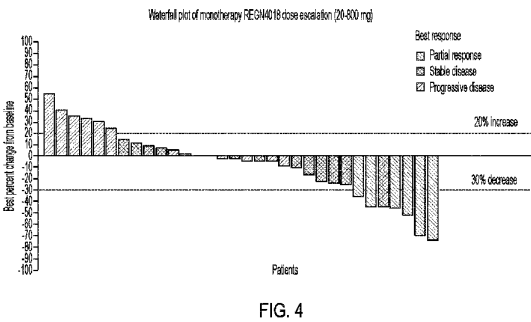
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 4
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	15/00		4 H 0 4 5
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	U	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全64頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-540882(P2024-540882)	(71)出願人	597160510	リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. アメリカ合衆国10591-6707 ニューヨーク州タリータウン、オールド・ソー・ミル・リバー・ロード777番 100127926 弁理士 結田 純次 100216105 弁理士 守安 智 (72)発明者 グレン・クルーグ アメリカ合衆国ニューヨーク州10591. タリータウン、オールド・ソー・ミル 最終頁に続く	
(86)(22)出願日	令和5年1月6日(2023.1.6)	(74)代理人	100127926		
(85)翻訳文提出日	令和6年8月9日(2024.8.9)	(74)代理人	100216105		
(86)国際出願番号	PCT/US2023/010326				
(87)国際公開番号	WO2023/133280				
(87)国際公開日	令和5年7月13日(2023.7.13)				
(31)優先権主張番号	63/297,333				
(32)優先日	令和4年1月7日(2022.1.7)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/342,542				
(32)優先日	令和4年5月16日(2022.5.16)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/394,483				
		最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 再発性卵巣癌を、二重特異性抗MUC16×抗CD3抗体単独で、または抗PD-1抗体と組み合わせて治療する方法

(57)【要約】

本発明は、癌（例えば、再発性卵巣癌）を治療する、その重症度を低減する、またはその増殖を阻害するための方法を提供する。本発明の方法は、ムチン16（MUC16）およびCD3に特異的に結合する二重特異性抗体の治療有効量を単独で、またはプログラム死1（PD-1）に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片の治療有効量と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含む。

【選択図】 図 4



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

MUC16 発現癌の治療を必要とする対象において MUC16 発現癌を治療する方法であって、標的腫瘍細胞上のムチン 16 (MUC16) に特異的に結合する第一の抗原結合ドメインと、T 細胞上のヒト CD3 に特異的に結合する第二の抗原結合ドメインと、を含む二重特異性抗体を前記対象に投与することを含み、前記二重特異性抗体は、前記対象に少なくとも 1 mg の用量で投与される、方法。

【請求項 2】

前記癌が、卵巣癌、卵管癌、または原発性腹膜癌である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記癌が、プラチナ系化学療法に対して耐性がある、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記対象が、以前にプラチナ系化学療法で治療されてた、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記第一の抗原結合ドメインが、以下：

(a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (HCV R) 内に含まれる、三つの重鎖相補性決定領域 (HCD R 1、HCD R 2、および HCD R 3)、および

(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (LCV R) 内に含まれる、三つの軽鎖相補性決定領域 (LCD R 1、LCD R 2、および LCD R 3) を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記第一の抗原結合ドメインが、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む HCD R 1、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む HCD R 2、および配列番号 10 のアミノ酸配列を含む HCD R 3 を含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記第一の抗原結合ドメインが、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む LCD R 1、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む LCD R 2、および配列番号 13 のアミノ酸配列を含む LCD R 3 を含む、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記第一の抗原結合ドメインが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む HCV R と、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む LCV R と、を含む、請求項 5 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記第二の抗原結合ドメインが、以下：

(a) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (HCV R) 内に含まれる、三つの重鎖相補性決定領域 (HCD R 1、HCD R 2、および HCD R 3)、および

(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (LCV R) 内に含まれる、三つの軽鎖相補性決定領域 (LCD R 1、LCD R 2、および LCD R 3) を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記第二の抗原結合ドメインが、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HCD R 1、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む HCD R 2、および配列番号 16 のアミノ酸配列を含む HCD R 3 を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第一の抗原結合ドメインが、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む LCD R 1、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む LCD R 2、および配列番号 13 のアミノ酸配列を含む LCD R 3 を含む、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記第二の抗原結合ドメインが、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HCV R と、配列番

10

20

30

40

50

号 2 のアミノ酸配列を含む L C V R と、を含む、請求項 9 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記二重特異性抗体が、ヒト I g G 重鎖定常領域を含む、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記ヒト I g G 重鎖定常領域が、アイソタイプ I g G 1 である、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記ヒト I g G 重鎖定常領域が、アイソタイプ I g G 4 である、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記二重特異性抗体が、同じアイソタイプの野生型ヒンジと比較して、F c γ 受容体結合を減少させるキメラヒンジを含む、請求項 1 4 または 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

第一の重鎖または第二の重鎖が、両方ではないが、H 4 3 5 R (E U ナンバリング) 修飾および Y 4 3 6 F (E U ナンバリング) 修飾を含む C H 3 ドメインを含む、請求項 1 3 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記二重特異性抗体が、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む第一の重鎖を含む、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記二重特異性抗体が、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む第二の重鎖を含む、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記二重特異性抗体が、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む第一の重鎖、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む第二の重鎖、および配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む共通軽鎖を含む、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記対象が、6 0 U / m l 以上の血清 C A - 1 2 5 レベルを有する、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

第二の治療剤または治療レジメンを投与することを更に含む、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記第二の治療剤または治療レジメンが、抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片を含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記抗 P D - 1 抗体または抗原結合性断片が、

(a) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) 内に含まれる、三つの重鎖相補性決定領域 (H C D R 1 、 H C D R 2 、 および H C D R 3) 、 および

(b) 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) 内に含まれる、三つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1 、 L C D R 2 、 および L C D R 3) 、 を含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記抗 P D - 1 抗体または抗原結合性断片が、配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む H C D R 1 、 配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含む H C D R 2 、 および配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記抗 P D - 1 抗体および抗原結合性断片が、配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含む L C

10

20

30

40

50

D R 1、配列番号 39 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、および配列番号 40 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む、請求項 24 または 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記抗 P D - 1 抗体または抗原結合性断片が、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む H C V R、および配列番号 34 のアミノ酸配列を含む L C V R を含む、請求項 24 ~ 26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記抗 P D - 1 抗体および抗原結合性断片が、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む抗 P D - 1 抗体である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記二重特異性抗体が、分割初回用量を含む投与レジメンで投与される、請求項 1 ~ 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記二重特異性抗体が、前記対象に毎週 10 mg ~ 1000 mg の用量で投与される、請求項 1 ~ 29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

前記二重特異性抗体が、毎週約 250 mg の用量で前記対象に投与され、任意選択で、前記用量が、約 50 mg の第一の分画、および約 200 mg の第二の分画に分割される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記二重特異性抗体が、毎週約 800 mg の用量で前記対象に投与され、任意選択で、前記用量が、約 50 mg の第一の分画、および約 750 mg の第二の分画に分割される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 33】

前記二重特異性抗体が、前記対象に三週間に一回 10 mg ~ 1000 mg の用量で投与される、請求項 1 ~ 29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 34】

前記二重特異性抗体が、三週間に一回約 250 mg の用量で前記対象に投与され、任意選択で、前記用量が、約 50 mg の第一の分画、および約 200 mg の第二の分画に分割される、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記二重特異性抗体が、三週間に一回約 800 mg の用量で前記対象に投与され、任意選択で、前記用量が、約 50 mg の第一の分画および、約 750 mg の第二の分画に分割される、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 36】

前記二重特異性抗体が、(i) 1 週目に 1 mg の前記二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約 0.5 mg の第一の分画および約 0.5 mg の第二の分画に分割される、(i i) 2 週目に 20 mg の前記二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約 10 mg の第一の分画および約 10 mg の第二の分画に分割される、および (i i i) 3 週目に 250 mg の前記二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約 50 mg の第一の分画および約 200 mg の第二の分画に分割される、を含む投与レジメンで投与される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 37】

4 週目以降から週に一回、約 250 mg の用量で前記二重特異性抗体を投与することをさらに含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

4 週目以降から三週間に一回、約 250 mg の用量で前記二重特異性抗体を投与することをさらに含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 39】

4 週目以降から三週間に一回、約 800 mg の用量で前記二重特異性抗体を投与することをさらに含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 40】

前記抗 PD-1 抗体が、三週間に一回、前記対象に 300 mg ～ 400 mg の用量で投与される、請求項 23 ～ 39 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

前記抗 PD-1 抗体が、三週間に一回、前記対象に 350 mg の用量で投与される、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記対象が、1 ～ 800 mg の用量での少なくとも一週間の前記二重特異性抗体の投与後に、病態安定、部分奏効、または完全奏効を有する、請求項 1 ～ 41 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 43】

前記対象が、20 ～ 800 mg の用量での少なくとも一週間の前記二重特異性抗体の投与後に、病態安定、部分奏効、または完全奏効を有する、請求項 1 ～ 41 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

前記二重特異性抗体が、少なくとも 4 mg / L の血清濃度を達成するのに十分な用量で前記対象に投与される、請求項 1 ～ 29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 45】

MUC16 が、免疫組織化学染色によって決定されるように、前記対象において腫瘍細胞の $\geq 75\%$ で高度に発現する、請求項 1 ～ 44 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 46】

前記対象が、

- ・ MUC16 発現腫瘍においてベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 2 ; または
- ・ MUC16 発現腫瘍においてベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 2+ ; または
- ・ MUC16 発現腫瘍においてベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 3 ; または
- ・ MUC16 発現腫瘍においてベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 3+ ; または
- ・ MUC16 発現腫瘍においてベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 4 ; または
- ・ MUC16 発現腫瘍においてベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 4+ ; または
- ・ MUC16 発現腫瘍においてベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 5 ; または
- ・ 腫瘍細胞の $\geq 50\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍 ; または
- ・ 腫瘍細胞の $\geq 55\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍 ; または
- ・ 腫瘍細胞の $\geq 60\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍 ; または
- ・ 腫瘍細胞の $\geq 65\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍 ; または
- ・ 腫瘍細胞の $\geq 70\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍 ; または
- ・ 腫瘍細胞の $\geq 75\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍、を有する、請求項 1 ～ 44 のいずれか一項に記載の方法。

30

40

【請求項 47】

前記二重特異性抗体が、静脈内投与される、請求項 1 ～ 46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

前記二重特異性抗体が、皮下投与される、請求項 1 ～ 46 のいずれか一項に記載の方法

50

。

【請求項 49】

前記抗PD-1抗体または抗原結合性断片が、静脈内投与される、請求項23～48のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表の参照

本出願は、2023年1月6日に作成され、54,660バイトを含む、11048WO01__Sequenceと題されたST.26 XML形式のコンピュータ可読配列表を参照により組み込む。

10

【0002】

本発明は、ムチン16 (MUC16) およびCD3に結合する二重特異性抗体を単独で、または抗PD-1抗体と組み合わせて、癌を治療する方法に関する。

【背景技術】

【0003】

がん (cancer) 抗原125、がん (carcinoma) 抗原125、炭水化物抗原125、又はCA-125としても知られるムチン16 (MUC16) は、卵巣がん で高度に発現する単一の膜貫通ドメインの高グリコシル化内在性膜糖タンパク質である。MUC16は、3つの主要ドメイン、すなわち、細胞外N末端ドメイン、ウニ精子、エンテロキナーゼ、及びアグリリン (SEA) のドメインが散在する大きなタンデムリピートドメイン、並びに膜貫通領域のセグメントと短い細胞質尾部とを含むカルボキシル末端ドメインから構成されている。タンパク質分解的切断により、MUC16の細胞外部分の多くを血流中に放出させる。MUC16は、卵巣がん、乳がん、膵臓がん、非小細胞肺癌、肝内胆管がん腫瘍形成型、子宮頸部の腺がん、及び胃管の腺がんを含むがん、並びに炎症性腸疾患、肝硬変、心不全、腹膜炎、及び腹部手術を含む疾患及び状態において過剰発現する。(Haridas, D. et al., 2014, FASEB J., 28: 4183-4199)。がん細胞上での発現は、免疫系から腫瘍細胞を保護することが示されている。(Felder, M. et al., 2014, Molecular Cancer, 13: 129) MUC16に対する抗体を使用して卵巣がんを治療するための方法が研究されている。オレゴボマブ (Oregovomab) 及びアブゴボマブ (abgovomab) は、抗MUC16抗体であり、成功は限られていた。(上記のFelder, Das, S. and Batra, S. K. 2015, Cancer Res. 75: 4660-4674。)

20

30

【0004】

CD3は、T細胞受容体複合体 (TCR) に関連してT細胞上に発現されるホモ二量体抗原又はヘテロ二量体抗原であり、T細胞活性化に必要である。機能的CD3は、エプシロン、ゼータ、デルタ、及びガンマの4つの異なる鎖のうちの2つの二量体会合から形成される。CD3二量体配置には、ガンマ/エプシロン、デルタ/エプシロン、及びゼータ/ゼータが含まれる。CD3に対する抗体は、T細胞上でCD3をクラスター化し、それによってペプチドを搭載したMHC分子によるTCRの関与と同様の方法でT細胞活性化を引き起こすことが示されている。したがって、抗CD3抗体は、T細胞の活性化を含む治療目的のために提案されている。更に、CD3及び標的抗原に結合することができる二重特異性抗体は、標的抗原を発現する組織及び細胞に対するT細胞免疫反応を標的とすることを含む治療用途のために提案されている。

40

【0005】

腫瘍微小環境におけるプログラム死受容体-1 (PD-1) シグナル伝達は、腫瘍細胞が宿主免疫系による免疫監視から逃れることを可能とする重要な役割を果たす。PD-1シグナル伝達経路の遮断は、複数の腫瘍タイプを有する患者において臨床活性が実証されており、PD-1を遮断する抗体治療剤 (例えば、ニボルマブ及びペムブロリズマブ) は

50

、例えば、転移性黒色腫及び転移性扁平上皮非小細胞肺がんの治療に承認されている。最近のデータでは、高悪性度のNHL及びホジキンリンパ腫を有する患者におけるPD-1遮断の臨床活性を実証されている (Lesokhin, et al. 2014, Abstract 291, 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, Calif., Ansell et al. 2015, N. Engl. J. Med. 372 (4) : 311-9)。

【0006】

卵巣がんは、婦人科悪性腫瘍の最も致死的である。米国女性における卵巣がんの新規症例の推定数は、ある特定の他のがんよりもはるかに少ないが、卵巣がんの死亡率対罹患率の比はかなり高い (Siegal et al., CA Cancer J Clin 66 : 7-30, 2016)。卵巣がんは進行期に診断されることが多く、これがその致死性に寄与している。卵巣がんに対する現在の標準治療は、手術に続く化学療法、すなわちプラチナ系薬剤及びタキサンの併用である。大半の患者が初期治療に応答する一方で、ほとんどの患者は疾患の再発を経験し、その結果、手術の繰り返し及び化学療法の追加ラウンドのサイクルがもたらされる。再発卵巣がんは更なる治療に応答し得るが、それらのほぼ全てが最終的に、現在利用可能な療法に対して抵抗性になる。BRCA又は他の相同組換え異常 (HRD) 変異を有する患者に対するPARP阻害剤などの療法の最近の進歩にもかかわらず、進行卵巣がんは、依然として満たされていない高いニーズの疾患である。

10

【0007】

卵巣がんが何らかの免疫療法に適している可能性があることを示す証拠が示唆されている (Kandalaf et al., J. Clin. Oncol., 29 : 925-933, 2011)。例えば、腫瘍が上皮内CD8⁺ Tリンパ球浸潤に対して陽性であった卵巣がん患者は、上皮内CD8⁺ Tリンパ球浸潤のない患者よりも顕著に良好な全生存期間及び無増悪生存期間を有していた (Hamanishi et al., PNAS, 104 : 3360-65, 2007、及びZhang et al., N. Engl. J. Med., 348 : 203-213, 2003)。更に、一部の患者は、進行した疾患を有する患者の血液、腫瘍、又は腹水中の腫瘍応答性T細胞及び抗体の検出によって実証される、腫瘍に対する自然免疫応答を示している (Schliengar et al., Clin Cancer Res, 9 : 1517-1527, 2003)。PD-1/PD-L1チェックポイント経路の遮断剤は、卵巣癌においてある程度の利益を示しており、PD-1遮断剤単剤療法は、早期臨床試験において約10~15%の全奏効率 (ORR) をもたらした (Hamanishi et al., 上記)。しかしながら、この経路の遮断剤単独では明らかに十分ではない。

20

30

【0008】

満たされていないニーズの高さを考慮すると、卵巣癌を標的化するための追加の療法が必要である。

【発明の概要】

【0009】

一態様では、本開示は、癌 (例えば、MUC16発現癌) の治療を、それを必要とする対象において行う方法を含み、標的腫瘍細胞上のムチン16 (MUC16) に特異的に結合する第一の抗原結合ドメインと、T細胞上のヒトCD3に特異的に結合する第二の抗原結合ドメインと、を含む二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を対象に投与することを含む。一部の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、少なくとも1mgの用量で (例えば、毎週) 対象に投与される。

40

【0010】

一部の実施形態では、癌 (例えば、MUC16発現癌) は、卵巣癌、卵管癌、または原発性腹膜癌である。一部の事例では、癌 (例えば、MUC16発現癌) は、プラチナ系化学療法に耐性がある。一部の事例では、対象は、以前にプラチナ系化学療法で治療されていた。

50

【0011】

一部の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、(a) 配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)内に含まれる、三つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、(b) 配列番号2のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)内に含まれる、三つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む、第一の抗原結合ドメインを含む。一部の事例では、第一の抗原結合ドメインは、配列番号8のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号9のアミノ酸配列を含むHCDR2、および配列番号10のアミノ酸配列を含むHCDR3を含む。一部の事例では、第一の抗原結合ドメインは、配列番号11のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号12のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号13のアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。一部の事例では、第一の抗原結合ドメインは、配列番号1のアミノ酸配列を含むHCVR、および配列番号2のアミノ酸配列を含むLCVRを含む。

10

【0012】

第一の抗原結合ドメインが先に解説した通りである実施形態を含む一部の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、(a) 配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)内に含まれる、三つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、(b) 配列番号2のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)内に含まれる、三つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む、第二の抗原結合ドメインを含む。一部の事例では、第二の抗原結合ドメインは、配列番号14のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号15のアミノ酸配列を含むHCDR2、および配列番号16のアミノ酸配列を含むHCDR3を含む。一部の事例では、第二の抗原結合ドメインは、配列番号11のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号12のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号13のアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。一部の事例では、第二の抗原結合ドメインは、配列番号3のアミノ酸配列を含むHCVR、および配列番号2のアミノ酸配列を含むLCVRを含む。

20

【0013】

一部の実施形態では、二重特異性抗体は、ヒトIgG重鎖定常領域を含む。場合によっては、ヒトIgG重鎖定常領域は、アイソタイプIgG1である。場合によっては、ヒトIgG重鎖定常領域は、アイソタイプIgG4である。

30

【0014】

一部の実施形態では、二重特異性抗体は、同じアイソタイプの野生型ヒンジと比較して、Fcγ受容体結合を減少させるキメラヒンジを含む。

【0015】

一部の実施形態では、二重特異性抗体の第一の重鎖または第二の重鎖は、両方ではないが、H435R(EUナンバリング)修飾およびY436F(EUナンバリング)修飾を含むCH3ドメインを含む。

【0016】

一部の実施形態では、二重特異性抗体は、配列番号29のアミノ酸配列を含む第一の重鎖を含む。一部の実施形態では、二重特異性抗体は、配列番号31のアミノ酸配列を含む第二の重鎖を含む。一部の実施形態では、二重特異性抗体は、配列番号29のアミノ酸配列を含む第一の重鎖、配列番号31のアミノ酸配列を含む第二の重鎖、および配列番号30のアミノ酸配列を含む共通軽鎖を含む。

40

【0017】

一部の実施形態では、対象は、血清CA-125レベルの上昇を有する。一部の実施形態では、対象は、正常上限の少なくとも二倍の血清CA-125レベルを有する。一部の実施形態では、対象は、92U/mlを超えるCA-125レベルを有する。

【0018】

一部の実施形態では、方法は、第二の治療剤または治療レジメンを投与することをさらに含む。一部の事例では、第二の治療剤または治療レジメンは、抗PD-1抗体またはそ

50

の抗原結合性断片を含む。特定の実施形態では、抗PD-1抗体はセンプリマブである。

【0019】

一部の実施形態では、抗PD-1抗体または抗原結合性断片は、(a)配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)内に含まれる、三つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、(b)配列番号34のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)内に含まれる、三つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む。一部の事例では、抗PD-1抗体または抗原結合性断片は、配列番号35のアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号36のアミノ酸配列を含むHCDR2、および配列番号37のアミノ酸配列を含むHCDR3を含む。一部の事例では、抗PD-1抗体および抗原結合性断片は、配列番号38のアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39のアミノ酸配列を含むLCDR2、および配列番号40のアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。一部の事例では、抗PD-1抗体および抗原結合性断片は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHCVR、および配列番号34のアミノ酸配列を含むLCVRを含む。一部の事例では、抗PD-1抗体および抗原結合性断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号42のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む抗PD-1抗体である。

10

【0020】

一部の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、分割初回用量を含む投与レジメンで投与される。一部の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、毎週1mg~1000mgの用量で対象に投与される。一部の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、毎週2mg~1000mgの用量で対象に投与される。一部の実施形態では、初回用量(例えば、1mgまたは2mg)は、等しいまたは等しくない分量の二つの分画に分割される。例えば、一部の事例では、初回用量は半分に分割される(例えば、1mgの初期用量は、それぞれ0.5mgの二つの分画に分割され、それらは、別々の日に、例えば、連続する日に投与される)。代替的に、初回用量は、別個の日、例えば、連続する日に投与される等しくない分画に分割されてもよい。一部の事例では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、毎週約250mgの用量で対象に投与される。一部の事例では、250mgの用量は、それぞれ50mgおよび200mgを含む二つの分画に分割される。一部の事例では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、毎週約800mgの用量で対象に投与される。一部の事例では、800mgの用量は、それぞれ50mgおよび750mgを含む二つの分画に分割される。一部の事例では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、3週間に一回(例えば、三週間に一回、約250mgもしくは約800mg、または10mg~1000mg)の頻度で対象に投与される。一部の事例では、二重特異性抗体または抗原結合性断片は、三週間に一度、約250mgの用量で投与される。一部の事例では、250mgの用量は、それぞれ50mgおよび200mgを含む二つの分画に分割される。一部の実施形態では、二重特異性抗体は、少なくとも4mg/Lの血清濃度を達成するのに十分な用量で対象に投与される。一部の実施形態では、二重特異性抗体は、(i)1週目に1mgの二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約0.5mgの第一の分画および約0.5mgの第二の分画に分割される、(ii)2週目に20mgの二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約10mgの第一の分画および約10mgの第二の分画に分割される、および(iii)3週目に250mgの二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約50mgの第一の分画および約200mgの第二の分画に分割される、を含む投与レジメンで投与される。一部の事例では、投与レジメンは、4週目以降から週に一回、約250mgの用量で二重特異性抗体を投与することをさらに含む。一部の事例では、投与レジメンは、4週目以降から三週間に一回、約250mgの用量で二重特異性抗体を投与することをさらに含む。一部の実施形態では、二重特異性抗体は、(i)1週目に1mgの二重特異性抗体を投与すること、(ii)2週目に20mgの二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約10mgの第一の分画および約10mgの第二の分画に分割される、および(iii)3週目に800mgの二重特異性抗体を投与す

20

30

40

50

ること、任意選択で、用量は、約 50 mg の第一の分画および約 750 mg の第二の分画に分割される、を含む投与レジメンで投与される。一部の事例では、投与レジメンは、4 週目以降から週に一回、約 800 mg の用量で二重特異性抗体を投与することをさらに含む。一部の事例では、投与レジメンは、4 週目以降から三週間に一回、約 800 mg の用量で二重特異性抗体を投与することをさらに含む。一部の事例では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、静脈内投与を介して対象に投与される。一部の事例では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、皮下投与を介して対象に投与される。一部の実施形態では、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合性断片は、三週間に一回 300 mg ~ 400 mg の用量で対象に投与される。一部の事例では、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合性断片は、三週間に一回 350 mg の用量で対象に投与される。一部の事例では、抗 PD-1 抗体または抗原結合性断片は、静脈内投与される。

10

【0021】

本方法の一部の実施形態では、対象は、1 ~ 800 mg の用量での少なくとも一週間の二重特異性抗体の投与後、病態安定、部分奏効、または完全奏効を有する。本方法の一部の実施形態では、対象は、20 ~ 800 mg の用量での少なくとも一週間の二重特異性抗体の投与後、病態安定、部分奏効、または完全奏効を有する。

【0022】

本方法の一部の実施形態では、二重特異性抗体は、少なくとも 4 mg / L の血清濃度を達成するのに十分な用量で対象に投与される、

【0023】

本方法の一部の実施形態では、MIC16 は、免疫組織化学染色によって決定されるように、対象における腫瘍細胞の $\geq 75\%$ で高度に発現される。本方法の一部の実施形態では、対象は、MUC16 発現腫瘍におけるベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 2、または MUC16 発現腫瘍におけるベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 2+、または MUC16 発現腫瘍におけるベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 3、または MUC16 発現腫瘍におけるベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 3+、または MUC16 発現腫瘍におけるベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 4、または MUC16 発現腫瘍におけるベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 4+、または MUC16 発現腫瘍におけるベースライン MUC16 免疫組織化学染色スコア 5、または腫瘍細胞の $\geq 50\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍、または腫瘍細胞の $\geq 55\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍、または腫瘍細胞の $\geq 60\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍、または腫瘍細胞の $\geq 65\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍、または腫瘍細胞の $\geq 70\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍、または腫瘍細胞の $\geq 75\%$ において MUC16 発現を有する腫瘍、を有する。

20

30

【0024】

本方法の一部の実施形態では、二重特異性抗体は、静脈内投与される。一部の実施形態では、二重特異性抗体は、皮下投与される。本方法の一部の実施形態では、抗 PD-1 抗体または抗原結合性断片は、静脈内投与される。

【0025】

本発明の他の実施形態は、後続く発明を実施するための形態の検討から明らかになるであろう。

40

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】図1は、ELISA（本明細書の実施例2に記載される）によって決定される、様々な濃度の抗 MUC16 クローン 3A5 および BSMUC16 / CD3-001 の CA125 への結合を示す。BSMUC16 / CD3-001 およびその MUC16 親抗体は、MUC16 の反復領域に結合する抗 MUC16 クローン 3A5 と比較して、試験したすべての濃度で著しく低減した結合シグナルを示した。

【図2】図2は、CD3 結合対照 + アイソタイプ対照 (Δ)、BSMUC16 / CD3-005 + アイソタイプ対照 ($\square$)、CD3 結合対照 + 抗 PD-1 ($\blacktriangle$)、および BSMU

50

C16 / CD3-005 + 抗PD-1 (■) で治療されたマウスの群 (群当たり5匹) の平均腫瘍増殖曲線を示す (本明細書の実施例3に記載される)。抗PD-1抗体と抗CD3 x MUC16二重特異性抗体との組み合わせは、相乗的に腫瘍増殖を阻害した。

【図3】図3は、BSMUC16 / CD3-001を用いたT細胞のインキュベーションが、PD-1陽性T細胞の割合に与える影響を示す。

【図4】図4は、様々な患者の最良応答を示す、単剤療法REGN4018用量漸増 (20 ~ 800 mg) のウォーターフォールプロットを示す。

【図5】図5は、REGN4018の静脈内投与のための単剤療法投与レジメンの一実施形態を示す。

【図6】図6は、センプリマブと組み合わせたREGN4018の静脈内投与のための併用療法投与レジメンの一実施形態を示す。

【図7】図7は、REGN4018の皮下初回用量および移行用量での単剤療法投与レジメンの一実施形態を示す。*最初の3人の患者が、有意なCRSなしで、REGN4018の第二の移行IV投与およびその後の総IV投与を忍容する場合、このコホートの残りについて、第二の移行IV投与を省略してもよい。

【図8】図8は、センプリマブと組み合わせたREGN4018の皮下初回用量および移行用量での併用療法投与レジメンの一実施形態を示す。*最初の3人の患者が、有意なCRSなしで、REGN4018の第二の移行IV投与およびその後の総IV投与を忍容する場合、このコホートの残りについて、第二の移行IV投与を省略してもよい。

【図9】図9は、センプリマブと組み合わせたREGN4018の静脈内Q3W投与での併用療法投与レジメンの一実施形態を示す。

【発明を実施するための形態】

【0027】

本発明を記載する前に、記載される特定の方法及び実験条件が変化し得るため、本発明は、そのような方法及び条件に限定されないことを理解されたい。本発明の範囲は添付の特許請求の範囲のみによって制限されるものとなることから、本明細書に使用される用語は、特定の実施形態のみを記載する目的で使用されており、制限することを意図しないことも理解されるべきである。実施形態の任意の実施形態又は特徴は、互いに組み合わせることができ、こうした組み合わせは、本発明の範囲内に明示的に包含される。上記又は本明細書で考察される任意の具体的な値は、範囲の上限及び下限を表す値を有する範囲を列挙するように、上記又は本明細書で考察される別の関連する値と組み合わせられてもよく、そのような範囲は、本開示の範囲内に包含される。

【0028】

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、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るものと同一の意味を有する。本明細書で使用される場合、「約」という用語は、特定の言及される数値に関して使用されると、値が言及される値から1%以下だけ変化し得ることを意味する。例えば、本明細書で使用される場合、「約100」という表現には、99及び101、並びにその間の全ての値 (例えば、99.1、99.2、99.3、99.4など) が含まれる。

【0029】

本明細書に記載したものと類似又は同等な任意の方法及び材料を本発明の実施又は試験に使用することができるが、好ましい方法及び材料をこれから記述する。本明細書で言及される全ての特許、出願、及び非特許刊行物は、参照によりそれらの全体で本明細書に組み込まれる。

【0030】

がんを治療又は阻害するための方法

本発明は、対象における少なくとも一つの癌の症状もしくは徴候の重症度を治療するか、改善するか、もしくは低減するか、または癌 (例えば、再発性卵巣癌) の増殖を阻害するための方法を含む。本発明の態様による方法は、治療有効量のMUC16およびCD3に対する二重特異性抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、またはPD-1に特異的

に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片の治療有効量と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含む。本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療すること」などという用語は、症状を緩和すること、症状の原因を一時的若しくは永続的のいずれかで排除すること、腫瘍の増殖を遅らせるか若しくは阻害すること、腫瘍細胞量若しくは腫瘍量を低減させること、腫瘍退縮を促進すること、腫瘍の縮小、壊死及び／又は消失を引き起こすこと、腫瘍の再発を防ぐこと、及び／又は対象の生存期間を延ばすことを意味する。

【0031】

本明細書で使用される場合、「それを必要とする対象」という表現は、がんの1つ以上の症状又は徴候を示すヒト又は非ヒト哺乳動物、及び／又は卵巣がんを含む、がんと診断され、がんの治療を必要とするヒト又は非ヒト哺乳動物を意味する。多くの実施形態では、「対象」という用語は、用語「患者」と互換的に使用されてもよい。例えば、ヒト対象は、原発性腫瘍又は転移性腫瘍を有し、及び／若しくは、リンパ節の肥大、腹部膨満、胸痛／胸部圧迫感、原因不明の体重減少、発熱、寝汗、持続性疲労、食欲不振、脾臓肥大、及び痒みを含むが、これらに限定されない1つ以上の症状又は徴候を有すると診断され得る。この表現には、原発性又は定着卵巣腫瘍を有する対象が含まれる。具体的な実施形態では、この表現は、卵巣癌または例えば、子宮内膜癌などのMUC16を発現する別の腫瘍を有し、かつそれらの治療を必要とするヒト対象を含む。他の特定の実施形態では、この表現は、MUC16＋腫瘍（例えば、フローサイトメトリーまたは免疫組織化学によって決定されるMUC16発現を有する腫瘍）を有する対象を含む。特定の実施形態では、発現は、腫瘍細胞の>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、または>75%においてMUC16の高い発現を示す腫瘍を有するヒト対象を含む。MUC16の発現は、当技術分野で公知の任意の方法によって決定および評価され得る（例えば、Shimizu et al. 2012, Cancer Sci. 103: 739-746を参照されたい）。特定の実施形態では、発現は、MUC16発現腫瘍において、ベースラインMUC16免疫組織化学染色スコアが2+（例えば、2、3、4、または5）であるヒト対象を含む。特定の実施形態では、発現は、MUC16発現腫瘍において、ベースラインMUC16免疫組織化学染色スコアが2、2+、3、3+、4、4+、または5であるヒト対象を含む。免疫組織化学染色スコアは、この文脈において、細胞の割合、ならびに以下の基準に従う染色の強度およびパターンを組み込む：スコア1（<5%が強いまたは弱い）、スコア2（5～50%が強いまたは弱い）、スコア3（51～75%が強いまたは51～100%が弱い）、スコア4（76～99%が強い）、およびスコア5（100%が強い染色）。ある特定の実施形態では、「それを必要とする対象」という表現には、以前の療法（例えば、従来の抗がん剤での治療）に抵抗性若しくは難治性であるか、又は以前の治療によっては適切に制御されない卵巣がんを有する患者が含まれる。例えば、この表現は、プラチナ系化学療法剤（例えば、シスプラチン）又はタキソール化合物（例えば、ドセタキセル）などの化学療法で治療された対象を含む。この表現はまた、例えば、毒性副作用のために、従来の抗がん療法が推奨できない卵巣腫瘍を有する対象も含む。例えば、表現は、毒性副作用を伴う、1サイクル以上の化学療法を受けた患者を含む。ある特定の実施形態では、「それを必要とする対象」という表現には、治療されたが、その後再発したか、又は転移した卵巣がんを有する患者が含まれる。例えば、1つ以上の抗がん剤を用いた治療を受けて腫瘍が退縮した可能性があるが、その後、1つ以上の抗がん剤に抵抗性のがん（例えば、化学療法抵抗性がん）を再発した卵巣がんを有する患者は、本発明の方法で治療される。

【0032】

「それを必要とする対象」という表現はまた、卵巣がんを発症するリスクがある対象、例えば卵巣がんの家族歴を有する人、卵巣がんに関連する感染症の過去の既往歴を有する人、BRCA1／2遺伝子の変異を有する人、又はHIV感染若しくは免疫抑制薬に起因して損なわれた免疫系を有する人も含む。

【0033】

10

20

30

40

50

特定の実施形態では、本発明の方法を使用して、一つ以上の癌関連バイオマーカー（例えば、プログラム死リガンド1（PD-L1）、MUC16、CA125ヒト精巢上体タンパク質4（HE4）、および／または癌胎児性抗原（CEA））のレベルの上昇を示す患者を治療することができる。例えば、本発明の方法は、治療有効量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせて、上昇したレベルのMUC16および／またはCA125を有する患者に投与することを含む。MUC16および／またはCA125発現を決定する方法は、当該技術分野で周知である。特定の実施形態では、腫瘍組織におけるMUC16の発現は、免疫組織化学（IHC）アッセイによって決定される（例えば、Bast et al 1981, J. Clin. Invest. 68:1331-1337参照）。MUC16発現は、当技術分野で公知の任意の方法によって評価され得る（例えば、Shimizu et al 2012, Cancer Sci. 103:739-746）。特定の実施形態では、MUC16の発現は、例えば、免疫ポジトロン放出断層撮影またはiPET（本明細書の他の箇所で説明される）などによる、標識抗MUC16抗体を用いた撮像により決定される。

10

【0034】

ある特定の実施形態では、本発明の方法は、卵巣がんを有する対象において使用される「腫瘍」、「がん」及び「悪性腫瘍」という用語は、本明細書では互換的に使用される。本明細書で使用される場合、「卵巣がん」という用語は、卵巣及び卵管の腫瘍を指し、漿液性がん、類内膜がん、明細胞がん、及び粘液がんを含む。

20

【0035】

ある特定の実施形態によれば、本発明は、腫瘍を治療するか、又は腫瘍の増殖を遅延させるか、若しくは阻害するための方法を含む。ある特定の実施形態では、本発明は、腫瘍退縮を促進する方法を含む。ある特定の実施形態では、本発明は、腫瘍細胞量を低減するか、又は腫瘍量を低減させる方法を含む。ある特定の実施形態では、本発明は、腫瘍再発を防ぐ方法を含む。本発明のこの態様による方法は、治療有効量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含み、各抗体は、例えば、特定の治療投与レジメンの一部として、複数回投与で対象に投与される。例えば、治療投与レジメンは、一回以上の用量の抗MUC16 x CD3抗体またはその抗原結合性断片を、およそ一日に一回、二日に一回、三日に一回、四日に一回、五日に一回、六日に一回、一週間に一回、二週間に一回、三週間に一回、四週間に一回、一ヶ月に一回、二ヶ月に一回、三ヶ月に一回、四ヶ月に一回、またはそれより少ない頻度で、対象に投与することを含んでもよい。特定の実施形態では、一回以上の用量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、一回以上の用量の治療有効量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせて投与され、一回以上の用量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、約一日に一回、二日に一回、三日に一回、四日に一回、五日に一回、六日に一回、一週間に一回、二週間に一回、三週間に一回、四週間に一回、一ヶ月に一回、二ヶ月に一回、三ヶ月に一回、四ヶ月に一回、またはそれより少ない頻度で対象に投与される。

30

40

【0036】

特定の実施形態では、抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の各用量は、所与の投与期間内に、1分画より多い、例えば、2～5分画で投与される（「分割投与」）。抗MUC16／抗CD3二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、抗体の投与に応答して誘導されるサイトカイン「スパイク」を低減または除去するために、分割用量で投与され得る。サイトカインスパイクは、サイトカイン放出症候群（「サイトカインストーム」）及び注入関連反応の臨床症状を指す。特定の実施形態では、本発明の方法は、一回以上の用量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を、一回以上の用量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含み、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片の用量は

50

、所与の投与期間内に、分割用量として、または1分画より多い、例えば、2分画、3分画、4分画、または5分画で投与される。特定の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片の用量は、2分画以上に分割され、各分画は、他の分画と等しい量の抗体またはその抗原結合性断片を含む。例えば、1000マイクログラムを含む抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の用量は、週一回投与されてもよく、用量は、当該週内に2分画で投与され、各分画は、500マイクログラムを含む。ある特定の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片の用量は、2分画以上に分割されて投与され、その分画は、第一の分画よりも多いか、または少ないなどの等しくない量の抗体を含む。例えば、1000マイクログラムを含む抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の用量は、週一回投与されてもよく、用量は、週内に2分画に分けて投与され、第一の分画は、700マイクログラムを含み、第二の分画は、300マイクログラムを含む。別の例として、1000マイクログラムを含む抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の用量は、2週間に一回投与されてもよく、用量は、2週間以内に3分画に分けて投与され、第一の分画は、400マイクログラムを含み、第二の分画は、300マイクログラムを含み、第三の分画は、300マイクログラムを含む。

10

20

30

40

50

【0037】

特定の実施形態では、本発明は、MUC16発現癌の治療を必要とする対象においてMUC16発現癌（例えば、本明細書で説明した複数回の過去の療法に難治性である癌を含む、卵巣癌、卵管癌、または原発性腹膜癌）を治療する方法を提供し、標的腫瘍細胞上のムチン16（MUC16）に特異的に結合する第一の抗原結合ドメインと、T細胞上のヒトCD3に特異的に結合する第二の抗原結合ドメインと、を含む二重特異性抗体を対象に投与することを含み、二重特異性抗体は、以下を含む投与レジメンで投与される：（i）1週目に1mgの二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約0.5mgの第一の分画および約0.5mgの第二の分画に分割される、（ii）2週目に20mgの二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約10mgの第一の分画および約10mgの第二の分画に分割される、（iii）3週目に250mgの二重特異性抗体を投与すること、任意選択で、用量は、約50mgの第一の分画、および約200mgの第二の分画に分割される。一部の事例では、方法は、約250mgの用量で、4週目以降から週に一回、二重特異性抗体を投与することをさらに含む。一部の事例では、方法は、約250mgの用量で、4週目以降から三週間に一回、二重特異性抗体を投与することをさらに含む。一部の事例では、方法は、約800mgの用量で、4週目以降から三週間に一回、二重特異性抗体を投与することをさらに含む。一部の事例では、方法は、抗PD-1抗体を、三週間に一回、300～400mg（例えば、350mg）の用量で対象に投与することをさらに含む。

【0038】

ある特定の実施形態では、本発明は、末梢器官への腫瘍転移又は腫瘍浸潤を阻害するか、遅延させるか、又は停止させる方法を含む。本態様による方法は、治療有効量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0039】

具体的な実施形態では、本発明は、抗腫瘍効果を増加させるか、又は腫瘍阻害を増加させるための方法を提供する。本発明のこの態様による方法は、卵巣癌を有する対象に、治療有効量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片を投与する前に、治療有効量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を投与することを含み、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片の約1日前、1日より前、2日より前、3日より前、4日より前、5日より前、6日より前、7日より前、または8日より前に投与することができる。特定の実施形態では、方法は、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片の前に二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を投与された対象と比較して、例えば、約20%、20%超、30

%超、40%超、50%超、60%超、70%超または80%超の腫瘍阻害の増加を提供する。

【0040】

特定の実施形態では、本発明の方法は、卵巢癌を有する対象に、治療有効量の二重特異性抗CD3xMUC16抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて投与することを含む。具体的な実施形態では、卵巢がんは、漿液性がんである。更なる実施形態では、卵巢がんは、緩徐進行性であるか、又は高悪性度である。特定の実施形態では、対象は、以前の療法に応答性でないか、または以前の療法（例えば、プラチナ系の療法）の後再発している。一部の実施形態では、対象は、正常上限（ULN）の2倍以上（例えば、約60U/ml以上）であるCA-125レベルを有する。様々な実施形態では、対象の血清CA-125レベル（治療前）は、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、または700U/ml以上である。特定の実施形態では、本発明の方法は、追加の治療剤を対象に投与することを更に含む。

10

【0041】

特定の実施形態では、本発明の方法は、MUC16+癌を有する対象に治療有効量の二重特異性抗MUC16/抗CD3抗体またはその抗原結合性断片を投与することを含む。具体的な実施形態では、がんは、卵巢がんである。更なる実施形態では、卵巢がんは、緩徐進行性であるか、又は高悪性度である。一部の実施形態では、がんは、プラチナ抵抗性卵巢がんである。一部の実施形態では、がんは、タキソール抵抗性卵巢がんである。一部の実施形態では、がんは、卵管がんである。一部の実施形態では、癌は、原発性腹膜癌であり、任意選択で、患者は高い血清CA-125のレベルを有する（少なくとも2xのULN）。ある特定の実施形態では、対象は、以前の療法に応答性でないか、又は以前の療法後再発している（例えば、化学療法）。

20

【0042】

特定の実施形態では、本発明の方法は、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を二重特異性抗MUC16/抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせて、それを必要とする対象に「ファーストライン」治療（例えば、初回治療）として投与することを含む。他の実施形態では、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を、二重特異性抗MUC16/抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせて、「セカンドライン」治療（例えば、以前の療法後）として投与される。例えば、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、二重特異性抗MUC16/抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせて、例えば、化学療法（例えば、プラチナ系化学療法）を用いた以前の療法後に再発した対象に「セカンドライン」治療として投与される。

30

【0043】

ある特定の実施形態では、本発明の方法は、MRD陽性疾患を有する患者を治療するために使用される。微小残存病変（MRD）は、治療中又は治療後の患者に残存する少数のがん細胞を指し、患者は、疾患の症状又は兆候を示す場合も示さない場合もある。このような残存がん細胞は、除去されない場合、疾患の再発につながることが多い。本発明は、MRD検査時に患者における残存がん細胞を阻害する、及び／又は除去する方法を含む。MRDは、当該技術分野において公知の方法（例えば、MRDフローサイトメトリー）に従ってアッセイすることができる。本発明のこの態様による方法は、二重特異性抗MUC16/抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含む。

40

【0044】

特定の実施形態による本発明の方法は、対象に、治療有効量の二重特異性抗MUC16/抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片、任意選択で、第三の治療剤と組み合わせて投与することを含む。第三

50

の治療剤は、例えば、放射線、化学療法、手術、癌ワクチン、PD-1阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）、LAG3阻害剤（例えば、抗LAG3抗体）、CTLA-4阻害剤（抗CTLA-4抗体）、TIM3阻害剤、BTLA阻害剤、TIGIT阻害剤、CD47阻害剤、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO）阻害剤、血管内皮増殖因子（VEGF）アンタゴニスト、Ang2阻害剤、トランスフォーミング増殖因子ベータ（TGF- β ）阻害剤、上皮増殖因子受容体（EGFR）阻害剤、腫瘍特異的抗原に対する抗体（例えば、CA9、CA125、黒色腫関連抗原3（MAGE3）、癌胎児性抗原（CEA）、ビメンチン、腫瘍-M2-PK、前立腺特異的抗原（PSA）、ムチン-1、MART-1、およびCA19-9）、ワクチン（例えば、Bacillus Calmette-Guérin）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、細胞毒素、化学療法剤、IL-6R阻害剤、IL-4R阻害剤、IL-10阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21、およびIL-15などのサイトカイン、コルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬などの抗炎症薬、ならびに抗酸化物質などの栄養補助食品、からなる群から選択される薬剤であってよい。ある特定の実施形態では、抗体は、化学療法剤（例えば、パクリタキセル、カルボプラチン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、シスプラチン、ゲムシタビン、又はドセタキセル）、放射線、及び手術を含む療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書で使用される場合、語句「と組み合わせて」は、抗体が、第3の治療薬の投与と同時に、投与直前、又は投与直後に対象に投与されることを意味する。ある特定の実施形態では、第3の治療剤は、抗体との共製剤として投与される。

10

20

【0045】

特定の実施形態では、本発明の方法は、治療有効量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含む。組み合わせが投与される場合、抗体（または断片）の投与は、腫瘍増殖の阻害の増加をもたらす。特定の実施形態では、腫瘍増殖は、未治療の対象またはいずれかの抗体（または断片）を単剤療法として投与された対象と比較して、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%または約80%阻害される。特定の実施形態では、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の投与は、腫瘍退縮、腫瘍縮小および／または消失の増加を導く。特定の実施形態では、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の投与は、腫瘍増殖および発達の遅延を導き、例えば、腫瘍増殖は、未治療の対象またはいずれかの抗体（または断片）を単剤療法として治療された対象と比較して、約3日、3日超、約7日、7日超、15日超、1ヶ月超、3ヶ月超、6ヶ月超、1年超、2年超、または3年超、遅延され得る。特定の実施形態では、二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせた抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片の投与は、腫瘍再発を防止し、および／または対象の生存期間を増加させる、例えば、未治療の対象またはいずれかの抗体（または断片）を単剤療法として投与された対象より、15日超、1ヶ月超、3ヶ月超、6ヶ月超、12ヶ月超、18ヶ月超、24ヶ月超、36ヶ月超、または48ヶ月超、生存の持続時間を増加させる。ある特定の実施形態では、抗体の組み合わせでの投与は、無増悪生存期間又は全生存期間を増加させる。特定の実施形態では、二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせた抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片の投与は、対象における応答および応答の持続時間を、例えば、未治療の対象またはいずれかの抗体（または断片）を単剤療法として受けた対象より、2%超、3%超、4%超、5%超、6%超、7%超、8%超、9%超、10%超、20%超、30%超、40%超または50%超増加させる。特定の実施形態では、卵巣癌を有する対象への抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の投与は、腫瘍細胞の全ての痕跡の完全消失（「完全奏効」）を導く。特定の実施形態では、卵巣癌を有する対象への抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片お

30

40

50

よび二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の投与は、腫瘍細胞または腫瘍サイズの少なくとも30%以上の減少（「部分奏効」）を導く。特定の実施形態では、卵巣癌を有する対象への抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の投与は、新たな測定可能な病変を含む腫瘍細胞／病変の完全または部分消失を導く。腫瘍低減は、当技術分野で公知の方法、例えば、X線、陽電子放出断層撮影（PET）、コンピュータ断層撮影（CT）、磁気共鳴画像法（MRI）、細胞学、組織学、又は分子遺伝子解析のうちのいずれかによって測定することができる。特定の実施形態では、卵巣癌を有する対象への抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の投与は、単独で投与された場合の二つの薬剤の併用効果を上回る相乗的抗腫瘍効果をもたらす。

10

【0046】

特定の実施形態では、投与された抗体（または断片）の組み合わせは、患者にとって安全であり、忍容性が高く、単剤療法として二重特異性抗体（または断片）を投与された患者と比較して、有害な副作用の増加（例えば、サイトカイン放出の増加（「サイトカインストーム」）またはT細胞活性化の増加）はない。

【0047】

特定の事例では、療法に対する対象の応答は、完全奏効（CR）、部分奏効（PR）、病態進行（PD）、または病態安定（SD）として分類される。CRは、すべての標的病変の消失、および任意の病理学的リンパ節（標的であっても非標的であっても）の短軸の＜10mm（＜1cm）への減少として定義される。PRは、ベースラインの直径の合計を基準として、標的病変の直径の合計の少なくとも30%の減少として定義される。PDは、試験上の最小の合計（ベースラインの合計が試験上の最小である場合、それを含む）を基準として、標的病変の直径の合計の少なくとも20%の増加として定義される。20%の相対的増加に加えて、合計はまた、少なくとも5mm（0.5cm）の絶対的増加も示さなければならない。（注：一つ以上の新しい病変の出現も進行とみなされる）。SDは、試験上の最小の直径合計を基準として、PRに適格となるのに十分な収縮およびPDに適格となるのに十分な増加もないものと定義される。

20

【0048】

抗PD-1抗体およびその抗原結合性断片

30

本発明の特定の例示的な実施形態によると、方法は、治療有効量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を投与することを含む。本明細書で使用される場合、「抗体」という用語には、4つのポリペプチド鎖、ジスルフィド結合によって相互接続した2つの重（H）鎖及び2つの軽（L）鎖を含む免疫グロブリン分子、並びにその多量体（例えば、IgM）が包含される。典型的な抗体において、各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではHCVR又はV_Hと省略される）と重鎖定常領域とを含む。重鎖定常領域は、3つのドメインC_H1、C_H2、及びC_H3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではLCVR又はV_Lと省略される）と軽鎖定常領域とを含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（C_L1）を含む。V_H領域及びV_L領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる比較的保存された領域が間に配された、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変領域へと更に細分することができる。各V_H及びV_Lは、以下の順序でアミノ末端からカルボキシ末端に配置された3つのCDR及び4つのFRから構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。本発明の異なる実施形態では、抗IL-4R抗体（又はその抗原結合部分）のFRは、ヒト生殖系列配列と同一であってもよく、又は自然に若しくは人為的に改変されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2つ以上のCDRの並列分析に基づいて定義され得る。

40

【0049】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、完全抗体分子の抗原結合断片も含む。本明細書で使用される場合、抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」などという用語は、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然に存在する、酵素

50

的に得ることができる、合成の、又は遺伝子操作されたポリペプチド又は糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合断片は、例えば、抗体可変領域及び任意選択的に定常ドメインをコードするDNAの操作及び発現を伴う、タンパク質消化又は組換え遺伝子工学技術などの、あらゆる好適な標準的方法を使用する、完全抗体分子に由来してもよい。そのようなDNAは既知であり、かつ／又は例えば、市販の供給源、DNAライブラリ（例えば、ファージ抗体ライブラリを含む）から容易に入手可能であるか、若しくは合成することができる。DNAを配列決定し、化学的に又は分子生物学技法を使用することによって操作して、例えば、1つ以上の可変ドメイン及び／若しくは定常ドメインを好適な構成に配置するか、又はコドンを導入する、システイン残基を作成する、アミノ酸を改変、付加、若しくは欠失させるなどが可能である。

10

【0050】

抗体結合断片の非限定例としては、(i) Fabフラグメント、(ii) F(ab')₂フラグメント、(iii) Fdフラグメント、(iv) Fvフラグメント、(v) 一本鎖Fv(scFv)分子、(vi) dAbフラグメント、及び(vii) 抗体の超可変領域（例えば、CDR3ペプチドなどの単離された相補性決定領域(CDR)）を模倣するアミノ酸残基、又は拘束FR3-CDR3-FR4ペプチドからなる最小認識単位が挙げられる。ドメイン特異的抗体、単ドメイン抗体、ドメイン欠失した抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ（例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど）、小モジュラー免疫薬(SMIP)、及びサメ可変IgNARドメインなどの他の操作された分子もまた、本明細書で使用される場合、「抗原結合断片」という表現に包含される。

20

【0051】

抗体の抗原結合断片は、典型的に、少なくとも1つの可変ドメインを含む。可変ドメインは、任意の大きさ又はアミノ酸組成であってもよく、一般的には、1つ以上のフレームワーク配列に隣接するか、又はインフレームである、少なくとも1つのCDRを含むものとなる。V_Lドメインと結合したV_Hドメインを有する抗原結合性断片では、V_HドメインおよびV_Lドメインは、任意の適切な配置で互いに対して位置し得る。例えば、可変領域は、二量体であり、V_H-V_H、V_H-V_LまたはV_L-V_L二量体を含み得る。あるいは、抗体の抗原結合断片は、単量体のV_H又はV_Lドメインを含有してもよい。

【0052】

30

ある特定の実施形態では、抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合された少なくとも1つの可変ドメインを含み得る。本発明の抗体の抗原結合断片で見出され得る可変ドメイン及び定常ドメインの非限定的な例示的な構成には、(i) V_H-C_H1、(ii) V_H-C_H2、(iii) V_H-C_H3、(iv) V_H-C_H1-C_H2、(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3、(vi) V_H-C_H2-C_H3、(vii) V_H-C_L、(viii) V_L-C_H1、(ix) V_L-C_H2、(x) V_L-C_H3、(xi) V_L-C_H1-C_H2、(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3、(xiii) V_L-C_H2-C_H3、及び(xiv) V_L-C_Lが含まれる。上で列挙されたいずれかの例示的な構成を含む、可変ドメイン及び定常ドメインのいずれかの構成において、可変ドメイン及び定常ドメインは、互いに直接的に連結されていてもよいし、完全若しくは部分的なヒンジ又はリンカー領域により連結されていてもよい。ヒンジ領域は、単一ポリペプチド分子における隣接する可変ドメイン及び／又は定常ドメイン間の可動性又は半可動性連結をもたらす、少なくとも2個（例えば、5、10、15、20、40、60個又はそれ以上）のアミノ酸から構成されてもよい。更に、本発明の抗体の抗原結合断片は、互いに非共有結合性会合で及び／又は1つ以上の単量体V_H若しくはV_Lドメインとの非共有結合性会合（例えば、ジスルフィド結合による）で、上に列挙される可変ドメイン構成及び定常ドメイン構成のうちのいずれかのホモ二量体又はヘテロ二量体（又は他の多量体）を含み得る。

40

本明細書で使用される場合の「抗体」という用語はまた、多重特異性（例えば、二重特異性）抗体を含む。

50

【0053】

多重特異性抗体又は抗体の抗原結合断片は、典型的に、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、各可変ドメインは、別個の抗原、又は同じ抗原上の異なるエピトープに特異的に結合することが可能である。任意の多重特異性抗体形式は、当該技術分野で利用可能な常套的技法を使用して、本発明の抗体又は抗体の抗原結合断片に関連した使用のために適合され得る。例えば、本発明は、免疫グロブリンの一方のアームが、PD-1またはその断片に特異的であり、免疫グロブリンの他方のアームが、第二の治療標的に特異的であるか、または治療部分にコンジュゲートされている、二重特異性抗体の使用を含む方法を含む。本発明に関して使用することのできる例示的な二重特異性形式としては、非限定的に、例えば、scFvベース又はダイアボディ二重特異性形式、IgG-scFv融合体、二重可変ドメイン(DVD)-Ig、クアドローマ(Quadroma)、ノブ・イントゥ・ホール(knobs-into-holes)、共通軽鎖(例えば、ノブ・イントゥ・ホールを有する共通軽鎖など)、CrossMab、CrossFab、(SEED)ボディ、ロイシンジッパー、デュオボディ(Duobody)、IgG1/IgG2、二重作用Fab(DAF)-IgG、及びMab2.sup.2二重特異性形式(例えば、Kleinet al., 2012, mAbs 4:6, 1~11、及びそこで引用される参考文献を、前述の形式の考察のために参照)が挙げられる。二重特異性抗体はまた、ペプチド/核酸コンジュゲーションを用いて構築することもでき、例えば、直交型化学反応性を有する非天然アミノ酸を用いて、部位特異的抗体-オリゴヌクレオチドコンジュゲートを生成し、次いでこれを規定の組成、結合価及び幾何学的配置を有する多量体性複合体へと自己組織化させる。(例えば、Kazane et al., J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012]を参照されたい)。

【0054】

本発明の方法で使用される抗体は、ヒト抗体であってもよい。本明細書で使用される場合の「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変領域及び定常領域を有する抗体を含むことを意図している。それでもなお、本発明のヒト抗体は、例えば、CDR、特にCDR3において、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、インビトロでのランダム若しくは部位特異的変異誘導によって、又はインビボでの体細胞変異によって導入される変異)を含み得る。しかしながら、本明細書で使用される場合の「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳類種の生殖系列由来のCDR配列がヒトフレームワーク配列上に移植されている、抗体を含むことを意図していない。

【0055】

本発明の方法において使用される抗体は、組換えヒト抗体であってもよい「組換えヒト抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、組換え手段によって、調製されるか、発現するか、作成されるか、又は単離される全てのヒト抗体、例えば、宿主細胞中にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを用いて発現した抗体(以下で詳述する)、組換え、コンビナトリアルヒト抗体ライブラリから単離された抗体(以下で詳述する)、ヒト免疫グロブリン遺伝子導入されている動物(例えば、マウス)から単離された抗体(例えば、Taylor et al., (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295を参照されたい)、又はヒト免疫グロブリン遺伝子配列から他のDNA配列へスプライシングすることに関与する任意の他の手段によって調製されたか、発現したか、作成されたか、若しくは単離された抗体などを含むように意図される。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変領域及び定常領域を有する。しかしながら、特定の実施形態では、そのような組換えヒト抗体は、インビトロでの変異誘発(または、ヒトIg配列導入動物を使用する場合、インビボでの体細胞変異誘発)に供されるため、組換え抗体のV_H領域およびV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V_H配列およびV_L配列に由来し、関連する配列である一方で、インビボでのヒト抗体生殖系列レパートリー中には自然に存在し得ない。

【0056】

特定の実施形態によれば、本発明の方法で使用される抗体は、PD-1に特異的に結合する。「特異的に結合する」という用語は、抗体又はその抗原結合断片が、生理学的条件下で比較的安定である抗原と複合体を形成することを意味する。抗体が抗原に特異的に結合するかどうかを判定するための方法は、当該技術分野において周知であり、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴法などが挙げられる。例えば、本発明の文脈において使用される場合、PD-1に「特異的に結合する」抗体は、表面プラズモン共鳴アッセイで測定される、約500 nM未満、約300 nM未満、約200 nM未満、約100 nM未満、約90 nM未満、約80 nM未満、約70 nM未満、約60 nM未満、約50 nM未満、約40 nM未満、約30 nM未満、約20 nM未満、約10 nM未満、約5 nM未満、約4 nM未満、約3 nM未満、約2 nM未満、約1 nM未満または約0.5 nM未満の K_D でPD-1またはその部分に結合する抗体を含む。しかしながら、ヒトPD-1に特異的に結合する単離された抗体は、他の（非ヒト）種由来のPD-1分子などの他の抗原に対する交差反応性を有し得る。

10

【0057】

本発明の特定の例示的な実施形態によれば、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、米国特許第9,987,500号に記載される抗PD-1抗体のアミノ酸配列のいずれかを含む重鎖可変領域（HCVR）、軽鎖可変領域（LCVR）、および／または相補性決定領域（CDR）を含む。特定の例示的な実施形態では、本発明の方法に関連して使用され得る抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（HCVR）の重鎖相補性決定領域（HCDR）および配列番号34のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（LCVR）の軽鎖相補性決定領域（LCDR）を含む。特定の実施形態によれば、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、三つのHCDR（HCDR1、HCDR2およびHCDR3）ならびに三つのLCDR（LCDR1、LCDR2およびLCDR3）を含み、HCDR1は、配列番号35のアミノ酸配列を含み、HCDR2は、配列番号36のアミノ酸配列を含み、HCDR3は、配列番号37のアミノ酸配列を含み、LCDR1は、配列番号38のアミノ酸配列を含み、LCDR2は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、LCDR3は、配列番号40のアミノ酸配列を含む。さらに他の実施形態では、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号33を含むHCVRおよび配列番号34を含むLCVRを含む。特定の実施形態では、本発明の方法は、抗PD-1抗体の使用を含み、この抗体は、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、配列番号42のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。配列番号33のアミノ酸配列を含むHCVRおよび配列番号34のアミノ酸配列を含むLCVRを含む例示的な抗体は、REGN2810（セミプリマブ、LIBTAYO（登録商標）としても知られる）として知られる完全ヒト抗PD-1抗体である。特定の例示的な実施形態によれば、本発明の方法は、REGN2810、またはその生物学的均等物の使用を含む。本明細書で使用される場合、「生物学的均等物」という用語は、類似の実験条件下で同じモル用量で、単回投与または複数回投与のいずれかで投与されたとき、吸収の速度および／または程度が、REGN2810のものと有意な差を示さない医薬均等物または医薬代替物である抗PD-1抗体もしくはPD-1結合タンパク質またはその断片を指す。本発明の文脈において、用語は、安全性、純度および／または効力において、REGN2810と臨床的に意義のある差異を有しない、PD-1に結合する抗原結合タンパク質を指す。

20

30

40

【0058】

本発明の方法の文脈において使用され得る他の抗PD-1抗体は、例えば、ニボルマブ（米国特許第8,008,449号）、ペムブロリズマブ（米国特許第8,354,509号）、MED10608（米国特許第8,609,089号）、ピディリズマブ（米国特許第8,686,119号）、または米国特許第6,808,710号、7,488,802号、8,168,757号、8,354,509号、8,779,105号、もしくは8,900,587号に記載される抗PD-1抗体のいずれかとして当該技術分野で言及され、知られている抗体を含む。

50

【0059】

本発明の方法に関連して使用される抗PD-1抗体は、pH依存性結合特性を有し得る。例えば、本発明の方法において使用するための抗PD-1抗体は、中性pHと比較して酸性pHでPD-1への結合の低減を示し得る。あるいは、本発明の抗PD-1抗体は、中性pHと比較して酸性pHでその抗原への結合の増強を示し得る。「酸性pH」という表現には、約6.2未満、例えば、約6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0以下のpH値が含まれる。本明細書で使用される場合、「中性pH」という表現は、約7.0～約7.4のpHを意味する。「中性pH」という表現には、約7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35、および7.4のpH値が含まれる。

10

【0060】

特定の例では、「中性pHと比較して酸性pHでPD-1への結合の低減」は、酸性pHでPD-1に結合する抗体の K_D 値の中性pHでPD-1に結合する抗体の K_D 値との比（または、その逆）で表される。例えば、抗体またはその抗原結合性断片は、抗体またはその抗原結合性断片が約3.0以上の酸性／中性 K_D 比を呈する場合、本発明の目的のために、「中性pHと比較して酸性pHでPD-1への結合の低減」を呈するとみなされ得る。特定の例示的な実施形態では、本発明の抗体又は抗原結合断片に対する酸性／中性 K_D 比は、約3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0、又はそれ以上とすることができる。

20

pH依存的結合特性を有する抗体は、例えば、中性pHと比べて酸性のpHにおいて、特定の抗原との結合低減（又は結合増大）に対して抗体の集団をスクリーニングすることによって得ることができる。

【0061】

加えて、アミノ酸濃度における抗原結合ドメインの改変は、pH依存的特性を有する抗体を産生し得る。例えば、抗原結合ドメイン（例えば、CDR内）の1つ以上のアミノ酸をヒスチジン残基によって置換することによって、中性pHと比べ酸性pHにおいて低減した抗原結合を有する抗体を得ることができる。本明細書にて使用される場合、「酸性pH」という表現は、6.0以下のpHを意味する。

30

【0062】

二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体およびその抗原結合性断片

本発明の特定の例示的な実施形態によると、方法は、CD3およびMUC16に特異的に結合する治療有効量の二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を投与することを含む。そのような抗体および断片は、本明細書では、例えば、「抗MUC16／抗CD3」、または「抗MUC16×CD3」、または「MUC16×CD3」二重特異性抗体もしくはその抗原結合性断片、または他の類似の用語で呼んでもよい。

【0063】

本明細書で使用される場合、表現「二重特異性抗体」は、少なくとも第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインを含む免疫グロブリンタンパク質を指す。本発明の文脈において、第1の抗原結合ドメインは、第1の抗原（例えば、MUC16）に特異的に結合し、第2の抗原結合ドメインは、第2の別個の抗原（例えば、CD3）に特異的に結合する。二重特異性抗体の各抗原結合ドメインは、各々3つのCDRを含む、重鎖可変ドメイン（HCVR）及び軽鎖可変ドメイン（LCVR）を含む。二重特異性抗体の文脈では、第1の抗原結合ドメインのCDRは、接頭辞「A」で指定され得、第2の抗原結合ドメインのCDRは、接頭辞「B」で指定され得る。したがって、第1の抗原結合ドメインのCDRは、本明細書ではA-HCDR1、A-HCDR2、及びA-HCDR3と称され得、第2の抗原結合ドメインのCDRは、本明細書ではB-HCDR1、B-HCDR

40

50

2、及びB-HCDR3と称され得る。

【0064】

第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインは、各々別個の多量体形成ドメイン(multimerizing domain)に接続されている。本明細書で使用される場合、「多量体形成ドメイン」は、同じか又は類似の構造又は構成の第2の多量体形成ドメインと会合する能力を有する、任意の巨大分子、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、又はアミノ酸である。本発明の文脈において、多量体形成構成要素は、(CH₂-CH₃ドメインを含む)免疫グロブリンのFc部分、例えば、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4、並びに各アイソタイプ群内の任意のアロタイプから選択されるIgGのFcドメインである。

10

【0065】

本発明の二重特異性抗原結合分子は、典型的には、2つの多量体形成ドメイン、例えば、各々が個々に別個の抗体重鎖の部分である2つのFcドメインを含む。第1及び第2の多量体形成ドメインは、例えば、IgG1/IgG1、IgG2/IgG2、IgG4/IgG4などの同じIgGアイソタイプのものであってもよい。あるいは、第1及び第2の多量体形成ドメインは、例えば、IgG1/IgG2、IgG1/IgG4、IgG2/IgG4などの異なるIgGアイソタイプのものであってもよい。

【0066】

本発明の二重特異性抗原結合分子を作製するために、任意の二重特異性抗体形式又は技術を使用してもよい。例えば、第1の抗原結合特異性を有する抗体又はその断片は、第2の結合特異性を有する別の抗体又は抗体断片などの1つ以上の他の分子実体に(例えば、化学的結合、遺伝子融合、又は非共有結合的会合、又はその他の方法で)機能的に連結して、二重特異性抗原結合分子を生成することができる。本発明に関連して使用され得る具体的に例示的な二重特異性形式としては、非限定的に、例えば、scFvベースまたはダイアボディ二重特異性形式、IgG-scFv融合体、二重可変領域(DVD)-Ig、クアドロマ(Quadroma)、ノブ・イントゥ・ホール(knobs-into-holes)、共通軽鎖(例えば、ノブ・イントゥ・ホールを有する共通軽鎖など)、CrossMab、CrossFab、(SEED)ボディ、ロイシンジッパー、デュオボディ、IgG1/IgG2、二重作用Fab(DAF)-IgG、およびMab2二重特異性形式(例えば、Kleinet al., 2012, mAbs 4:6, 1-11、および前述の形式の考察のためにそこで引用される参考文献を参照)が挙げられる。

20

30

【0067】

本発明の二重特異性抗原結合分子に関連して、Fcドメインは、野生型であるFcドメインの天然に存在するバージョンと比較して、1つ以上のアミノ酸変化(例えば、挿入、欠失又は置換)を含み得る。例えば本発明は、FcとFcRnとの間の改変された結合相互作用(例えば、強化又は減少)を有する改変されたFcドメインをもたらす、Fcドメイン中に1つ以上の改変を含む二重特異性抗原結合分子を含む。一実施形態では、二重特異性抗原結合分子は、CH₂領域又はCH₃領域に改変を含み、この改変は、酸性環境において(例えば、pHが約5.5~約6.0の範囲のエンドソームにおいて)FcRnに対するFcドメインの親和性を増加させる。こうしたFc改変の非限定的な例は、その全体が本明細書に組み込まれる米国特許公開第2015/0266966号に開示されている。

40

【0068】

本発明はまた、第1のCH₃ドメイン及び第2のIg-CH₃ドメインを含む二重特異性抗原結合分子を含み、第1及び第2のIg-CH₃ドメインが、少なくとも1つのアミノ酸で互いに異なり、少なくとも1つのアミノ酸の差異が、アミノ酸の差異を欠く二重特異性抗体と比較して、プロテインAへの二重特異性抗体の結合を低減させる。一実施形態では、第1のIg-CH₃ドメインはプロテインAに結合し、第2のIg-CH₃ドメインは、例えばH95R改変(IMGTエクソン付番則による; EU付番則によればH435R)など、プロテインA結合を低減又は消失させる変異を含有する。第2のCH₃は更

50

に、Y 9 6 F 改変 (I M G T による、E U によれば Y 4 3 6 F) を含んでいてもよい。例えば、米国特許第 8, 5 8 6, 7 1 3 号を参照されたい。第 2 の C_H3 に見られ得る更なる改変としては、以下が挙げられる: I g G 1 抗体の場合、D 1 6 E、L 1 8 M、N 4 4 S、K 5 2 N、V 5 7 M、及び V 8 2 I (I M G T による、E U では D 3 5 6 E、L 3 5 8 M、N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、V 3 9 7 M、及び V 4 2 2 I)、I g G 2 抗体の場合、N 4 4 S、K 5 2 N、及び V 8 2 I (I M G T、E U では N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、及び V 4 2 2 I)、並びに I g G 4 抗体の場合、Q 1 5 R、N 4 4 S、K 5 2 N、V 5 7 M、R 6 9 K、E 7 9 Q、及び V 8 2 I (I M G T による、E U では Q 3 5 5 R、N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、V 3 9 7 M、R 4 0 9 K、E 4 1 9 Q、及び V 4 2 2 I)。

【0069】

ある特定の実施形態では、F c ドメインは、2 つ以上の免疫グロブリンアイソタイプに由来する F c 配列を組み合わせたキメラであってもよい。例えば、キメラ F c ドメインは、ヒト I g G 1、ヒト I g G 2、又はヒト I g G 4 C_H2 領域に由来する C_H2 配列の一部又は全て、及びヒト I g G 1、ヒト I g G 2、又はヒト I g G 4 に由来する C_H3 配列の一部又は全てを含み得る。キメラ F c ドメインはまた、キメラヒンジ領域を含有し得る。例えば、キメラヒンジは、ヒト I g G 1、ヒト I g G 2、又はヒト I g G 4 ヒンジ領域に由来する「下部ヒンジ」配列と組み合わせられたヒト I g G 1、ヒト I g G 2、又はヒト I g G 4 ヒンジ領域に由来する「上部ヒンジ」配列を含み得る。本明細書に記載の抗原結合分子のうちのいずれかに含まれ得るキメラ F c ドメインの特定の例は、N-末端から C 末端に向かって、[I g G 4 C_H1] - [I g G 4 上部ヒンジ] - [I g G 2 下部ヒンジ] - [I g G 4 C_H2] - [I g G 4 C_H3] を含む。本明細書に記載の抗原結合分子のうちのいずれかに含まれ得るキメラ F c ドメインの別の例は、N-末端から C 末端に向かって、[I g G 1 C_H1] - [I g G 1 上部ヒンジ] - [I g G 2 下部ヒンジ] - [I g G 4 C_H2] - [I g G 1 C_H3] を含む。本発明の抗原結合分子のいずれかに含まれ得るキメラ F c ドメインのこれら及び他の例は、米国特許公開第 2 0 1 4 / 0 2 4 3 5 0 4 号に記載されており、その全体が本明細書に組み込まれる。これらの一般的な構造的配置を有するキメラ F c ドメイン及びその変異体は、変化した F c 受容体結合を有し得、その結果 F c エフェクター機能に影響を与える。

【0070】

本発明のある特定の例示的な実施形態によれば、二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体又はその抗原結合断片は、米国特許公開第 2 0 1 8 / 0 1 1 2 0 0 1 号に記載される二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体のアミノ酸配列のうちのいずれかを含む重鎖可変領域 (A-H C V R 及び B-H C V R)、軽鎖可変領域 (A-L C V R 及び B-L C V R)、及び / 又は相補性決定領域 (C D R) を含む。特定の例示的な実施形態では、本発明の方法に関連して使用され得る二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体またはその抗原結合性断片としては、(a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (A-H C V R) の重鎖相補性決定領域 (A-H C D R 1、A-H C D R 2、および A-H C D R 3) ならびに配列番号 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (A-L C V R) の軽鎖相補性決定領域 (A-L C D R 1、A-L C D R 2、および A-L C D R 3) を含む第一の抗原結合アームと、(b) 配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、または配列番号 7 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R (B-H C D R 1、B-H C D R 2、および B-H C D R 3) ならびに配列番号 2 のアミノ酸配列を含む L C V R (B-L C V R) の軽鎖 C D R (B-L C D R 1、B-L C D R 2、および B-L C D R 3) を含む第二の抗原結合アームと、が挙げられる。特定の実施形態によれば、A-H C D R 1 が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み; A-H C D R 2 が、配列番号 9 のアミノ酸配列を含み; A-H C D R 3 が、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含み; A-L C D R 1 が、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含み; A-L C D R 2 が、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含み; A-L C D R 3 が、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含み; B-H C D R 1 が、配列番号 1 4、配列番号 1 7、配列番号 2 0、配列番号 2 3、または配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含み; B-H C D R 2 が、配列番号 1 5、配列番号 1 8、配列番号 2 1、配列番号 2 4、または配列番号 2 7 のア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列を含み；および B-HCDR3 が、配列番号 16、配列番号 19、配列番号 22、配列番号 25、または配列番号 28 のアミノ酸配列を含み；および B-LCDR1 が、配列番号 11 のアミノ酸配列を含み；B-LCDR2 が、配列番号 12 のアミノ酸配列を含み；B-LCDR3 が、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む。さらに他の実施形態では、二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体またはその抗原結合性断片は、(a) 配列番号 1 を含む HCV R (A-HCV R) および配列番号 2 を含む LCV R を含む第一の抗原結合アームと、(b) 配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、または配列番号 7 を含む HCD R (B-HCD R) ならびに配列番号 2 を含む LCV R (B-LCV R) を含む第二の抗原結合アームと、を含む。特定の例示的な実施形態では、二重特異性抗 CD3 x MUC16 抗体は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む MUC16 結合アームと、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む CD3 結合アームと、を含む。特定の例示的な実施形態では、二重特異性抗 CD3 x MUC16 抗体は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む MUC16 結合アームと、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む CD3 結合アームを含む。

10

20

30

40

50

【0071】

特定の実施形態では、本発明の二重特異性抗 CD3 x MUC16 抗体またはその抗原結合性断片の抗腫瘍活性は、高レベル（例えば、最大 10,000 U/ml）の循環 CA125 の存在によって実質的に阻害されない。CA125 の血清レベルは、大部分の卵巢癌患者の血清中で増加する（公表されたレベルの中央値は約 656 U/ml である）。以下の実施例 2 に示されるように、血清または腹水中の高レベルの CA125 は、本発明の二重特異性抗体の抗腫瘍プロファイルに著しく干渉しない。

【0072】

本発明の方法に関連して使用され得る他の二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体としては、例えば、米国特許出願公開第 20180112001 号に記載される抗体のうちのいずれかが挙げられる。

【0073】

併用療法

特定の実施形態による、本発明の方法は、抗 MUC16 / 抗 CD3 二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合性断片と組み合わせて対象に投与することを含む。特定の実施形態では、本発明の方法は、癌、好ましくは卵巢癌を治療するための相加的または相乗的活動のため抗体（または断片）を投与することを含む。本明細書で使用される場合、「と組み合わせて」という表現は、抗 MUC16 / 抗 CD3 二重特異性抗体またはその抗原結合性断片が、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合性断片の前、後、または同時に投与されることを意味する。用語「と組み合わせて」はまた、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体またはその抗原結合性断片の逐次または同時投与を含む。例えば、二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体またはその抗原結合性断片の「前に」投与される場合、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合性断片は、二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体またはその抗原結合性断片の投与の 150 時間超前、約 150 時間前、約 100 時間前、約 72 時間前、約 60 時間前、約 48 時間前、約 36 時間前、約 24 時間前、約 12 時間前、約 10 時間前、約 8 時間前、約 6 時間前、約 4 時間前、約 2 時間前、約 1 時間前、約 30 分前、約 15 分前または約 10 分前に投与されてもよい。例えば、二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体またはその抗原結合性断片の「後に」投与される場合、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合性断片は、二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体またはその抗原結合性断片の投与の約 10 分後、約 15 分後、約 30 分後、約 1 時間後、約 2 時間後、約 4 時間後、約 6 時間後、約 8 時間後、約 10 時間後、約 12 時間後、約 24 時間後、約 36 時間後、約 48 時間後、約 60 時間後、約 72 時間後、または約 72 時間超後に投与されてもよい。二重特異性抗 MUC16 / 抗 CD3 抗体またはその抗原結合性断片との「同時」投与は、抗

P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片が、二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体またはその抗原結合性断片の投与の 5 分未満以内に（投与前、投与後、または投与と同時に）別個の剤形で対象に投与されるか、または抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体またはその抗原結合性断片の両方を含む単一の複合投与製剤として対象に投与されることを意味する。

【 0 0 7 4 】

ある特定の実施形態では、本発明の方法は、第 3 の治療剤の投与を含み、第 3 の治療剤は、抗がん剤である。特定の実施形態では、本発明の方法は、抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片および抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を、長期持続可能な抗腫瘍応答を生じさせ、および / または癌を有する患者の生存を強化するための放射線療法と組み合わせて投与することを含む。

10

【 0 0 7 5 】

一部の実施形態では、本発明の方法は、抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片および二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体またはその抗原結合性断片を癌患者に投与する前、同時または後に放射線療法を投与することを含む。例えば、放射線療法は、一回以上の用量の抗体（または断片）の投与後に、腫瘍病変に一回以上の線量で投与されてもよい。一部の実施形態では、抗 P D - 1 抗体もしくはその抗原結合性断片および / または二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体もしくはその抗原結合性断片の全身投与後に、放射線療法を腫瘍病変に局所投与して、患者の腫瘍の局所免疫原性を強化（アジュバント作用性放射線照射（*adjuvinating radiation*））、および / または腫瘍細胞を死滅させ（切除性放射線照射（*ablative radiation*））てもよい。

20

【 0 0 7 6 】

医薬組成物および投与

本発明は、二重特異性抗 M U C 1 6 / 抗 C D 3 抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗 P D - 1 抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、対象に投与することを含む方法を含み、抗体または抗体（または断片）は、別個のまたは組み合わされた（単一）医薬組成物内に含有される。本発明の医薬組成物は、好適な輸送、送達、耐性などを提供する好適な担体、賦形剤、その他の薬剤とともに、製剤化してもよい。数多くの適切な製剤が、全ての薬剤師に既知の処方集：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa.において見出され得る。これらの製剤としては、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、脂質、小胞を含有する脂質（カチオン性又はアニオン性）（L I P O F E C T I N（商標）など）、DNA コンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油及び油中水乳剤、乳剤カルボワックス（様々な分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル、並びにカルボワックスを含有する半固体混合物が挙げられる。Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52: 238-311 も参照されたい。

30

様々な送達システムが公知であり、本発明の医薬組成物を投与するために使用され得る。例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセルへの封入、変異ウイルスを発現することができる組換え細胞、受容体依存性エンドサイトーシスなど（例えば、Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429-4432 を参照されたい）。

40

【 0 0 7 7 】

投与方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、及び経口経路が挙げられるが、これらに限定されない。組成物は、任意の便宜的な経路によって、例えば、注入若しくはボーラス注射によって、上皮若しくは粘膜皮膚内層（*lining*）（例えば、口腔粘膜、直腸及び腸粘膜など）を通した吸収によって投与され得、かつ他の生物学的活性剤と一緒に投与され得る。

50

【0078】

本発明の医薬組成物は、標準的な針及びシリンジを用いて、皮下又は静脈内に送達することができる。加えて、皮下送達に関して、ペン型送達デバイスは、本発明の医薬組成物の送達において、容易に適用される。そのようなペン型送達デバイスは、再利用可能であるか、又は使い捨てであり得る。再利用可能なペン型送達デバイスは、概して、医薬組成物を含有する交換可能なカートリッジを利用する。カートリッジ内部の医薬組成物の全てが投与され、カートリッジが空になると、空のカートリッジは、容易に廃棄することができ、医薬組成物を含有する新しいカートリッジと交換され得る。次に、ペン型送達デバイスは再利用することができる。使い捨てペン型送達デバイスでは、交換可能なカートリッジはない。むしろ、使い捨てペン型送達デバイスは、医薬組成物がデバイス内部のリザーバ内に保持された事前に充填された状態で販売される。いったんリザーバの医薬組成物が空になると、デバイス全体が廃棄される。

10

【0079】

多数の再利用可能なペン型および自動注入装置送達デバイスは、本発明の医薬組成物の皮下送達において用途を見出す。例としては、ほんの数例を挙げると、限定されないが、AUTOPEN（商標）（Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK）、DISETRONIC（商標）ペン（Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland）、HUMALOG MIX 75/25（商標）ペン、HUMALOG（商標）ペン、HUMALIN 70/30（商標）ペン（Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN）、NOVOPEN（商標）I、II、及びIII（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、NOVOPEN JUNIOR（商標）（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、BD（商標）ペン（Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ）、OPTIPEN（商標）、OPTIPEN PRO（商標）、OPTIPEN STARLET（商標）、及びOPTICLIK（商標）（sanofi-aventis, Frankfurt, Germany）が挙げられる。本発明の医薬組成物の皮下送達における用途を有する使い捨てペン送達デバイスの例としては、限定されないが、SOLOSTAR（商標）ペン（Sanofi-Aventis）、FLEXPEN（商標）（Novo Nordisk）、およびKWIKPEN（商標）（Eli Lilly）、SURECLIK（商標）Autoinjector（Amgen, Thousand Oaks, CA）、PENLET（商標）（Haselmeier, Stuttgart, Germany）、EPIPEN（Dey, L. P.）、およびHUMIRA（商標）Pen（Abbott Labs, Abbott Park IL）が挙げられる。

20

30

【0080】

ある特定の状況では、医薬組成物は、制御放出系で送達され得る。一実施形態では、ポンプを使用することができる。別の実施形態では、多量体性材料を使用することができる。Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Press, Boca Raton, Flaを参照されたい。更に別の実施形態では、放出制御系を組成物の標的の近傍に配置することができ、したがって全身投与量のほんの一部のみが必要となる（例えば、Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138を参照されたい）。他の制御放出系は、Langer, 1990, Science 249: 1527-1533によるレビューにおいて検討されている。

40

【0081】

注入可能な調製物は、静脈内、皮下、皮内、及び筋肉内注射、点滴などのための剤形を含み得る。これらの注射可能な調製物は、公知の方法によって調製されてもよい。例えば、注射可能な調製物は、例えば、注射に従来使用される無菌水性媒体又は油性媒体に、上述される抗体又はその塩を溶解、懸濁、又は乳化させることによって調製され得る。注射

50

用水性媒体としては、例えば、生理食塩水、グルコースを含有する等張液、及び他の助剤などがあり、これらは、アルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤〔例えば、ポリソルベート 80、HCO-50（水素化ヒマシ油のポリオキシエチレン（50mol）付加物）〕などの適切な可溶化剤と組み合わせて使用され得る。油性媒体としては、例えば、ゴマ油、ダイズ油などが採用され、これらは安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどの可溶化剤と併用され得る。このようにして調製した注射液は、好ましくは、適切なアンプル中に充填される。

【0082】

有利に、上述の経口又は非経口使用のための医薬組成物は、活性成分の用量を適合させるのに適した単位用量で剤形に調製される。単位用量におけるこのような剤形には、例えば、錠剤、丸剤、カプセル剤、注射剤（アンプル剤）、坐剤などが含まれる。

【0083】

投与レジメン

本発明は、治療応答が達成される限り、対象に二重特異性抗MUC16 x CD3抗体もしくはその抗原結合性断片および／または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片を、週に約四回、週に二回、週に一回、二週間に一回、三週間に一回、四週間に一回、五週間に一回、六週間に一回、八週間に一回、十二週間に一回、またはそれより少ない頻度の投与頻度で投与することを含む方法を含む。

【0084】

本発明の特定の実施形態によると、複数用量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、定義された時間経過にわたって対象に投与してもよい。本発明のこの態様による方法は、一回以上の用量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または一回以上の用量の抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、逐次的に対象に投与することを含む。本明細書に使用される場合、「逐次的に投与すること」とは、抗体またはその抗原結合性断片の各用量が、例えば、所定の間隔（例えば、数時間、数日、数週、または数ヶ月）で区切られた異なる日に、異なる時点で、対象に投与されることを意味する。本発明は、抗体またはその抗原結合性断片の単回初回用量を、次に抗体またはその抗原結合性断片の一回以上の二次用量を、そして任意選択で、その後に抗体またはその抗原結合性断片の一回以上の三次用量を、患者に逐次的に投与することを含む方法を含む。

【0085】

初回用量」、「二次用量」及び「三次用量」という用語は、投与の時間的順序を指す。したがって、「初回用量」は、治療レジメンの開始時に投与される用量であり（また「ベースライン用量」とも称される）、「二次用量」は初回用量の後に投与される用量であり、「三次用量」は二次用量の後に投与される用量である。初回用量、二次用量、および三次用量はすべて、同じ量の抗体またはその抗原結合性断片（抗PD-1抗体または二重特異性抗体）を含んでもよい。しかしながら、ある特定の実施形態では、初回用量、二次用量及び／又は三次用量に含有される量は、治療過程の間に（例えば適宜調整されて加減され）、互いに異なっている。ある特定の実施形態では、一回以上（例えば、1、2、3、4、又は5回）の用量が、治療レジメンの開始時に「負荷用量」として投与され、その後に、より低い頻度ベースで投与される後続の用量（例えば、「維持用量」）が続く。例えば、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、卵巣癌を有する患者に、約1～3mg/kgの負荷用量で、続いて、患者の体重の約0.1～約20mg/kgである一回以上の維持用量で投与されてもよい。

本発明の例示的な一実施形態では、各二次用量及び／又は三次用量は、直前の用量の1／2～14週間後（例えば、1／2週間後、1週間後、1週間半後、2週間後、2週間半後、3週間後、3週間半後、4週間後、4週間半後、5週間後、5週間半後、6週間後、6週間半後、7週間後、7週間半後、8週間後、8週間半後、9週間後、9週間半後、10

10

20

30

40

50

週間後、10週間半後、11週間後、11週間半後、12週間後、12週間半後、13週間後、13週間半後、14週間後、14週間半後、又はそれ以上後）に投与される。

【0086】

本明細書で使用される場合、「直前の用量」という句は、一連の複数回投与において、介入する用量を挟まない一連のすぐ次の用量の投与前に患者に投与される、二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片（および／または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片）の用量を意味する。

【0087】

本発明のこの態様による方法は、患者に任意の数の二次用量および／または三次用量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片（および／または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片）を投与することを含み得る。例えば、ある特定の実施形態では、患者に単回の二次用量のみが投与される。他の実施形態では、2回以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、又はそれ以上）の二次用量を患者に投与する。同様に、ある特定の実施形態では、患者に単回の三次用量のみが投与される。他の実施形態では、2回以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、又はそれ以上）の三次用量を患者に投与する。

【0088】

複数の二次用量を含む実施形態では、各二次用量は、他の二次用量と同じ頻度で投与されてもよい。例えば、各二次用量は、直前の投与の1～2週間後に患者に投与されてもよい。同様に、複数回の三次用量を含む実施形態では、各三次用量は、他の三次用量と同じ頻度で投与されてもよい。例えば、各三次用量は、直前の投与の2～4週間後に患者に投与されてもよい。あるいは、二次用量及び／又は三次用量が患者に投与される頻度は、治療レジメンの過程で変化することがある。投与の頻度はまた、臨床検査後の個々の患者の必要性に応じて、医師によって治療過程の間に調整され得る。

【0089】

特定の実施形態では、一回以上の用量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片（例えば、および抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片）は、治療レジメンの開始時に、「導入用量」として、より多い頻度（週に二回、週に一回または2週間に一回）で投与され、続いて、より少ない頻度（例えば、4～12週間に一回）で投与される後続用量（「統合用量」または「維持用量」）で投与される。

【0090】

本発明は、卵巣癌（例えば、漿液性癌）を治療するために、二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片を単独で、または抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片と組み合わせて、患者に逐次投与することを含む方法を含む。一部の実施形態では、本方法は、一回以上の用量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片を投与し、任意選択で、その後一回以上の用量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を投与することを含む。特定の実施形態では、本方法は、単回用量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を投与し、その後、一回以上の用量の二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片を投与することを含む。例えば、卵巣癌を有する対象において腫瘍増殖を阻害する、および／または腫瘍再発を防ぐために、一回以上の用量の約0.1mg/kg～約20mg/kgの抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を投与し、その後、一回以上の用量の約0.1mg/kg～約20mg/kgの二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を投与することができる。一部の実施形態では、一回以上の用量の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片を投与し、続いて、一回以上の用量の二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を投与することにより、抗腫瘍効果の増加（例えば、未治療の対象または抗体もしくはその抗原結合性断片のいずれかを単剤療法として投与された対象と比較して、腫瘍増殖のより大きな阻害、腫瘍再発の防止の向上）がもたらされる。本発明の代替的实施形態は、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片と比べて、別個の投与で類似または異なる頻度で投与される抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片と二重特異性抗体またはその抗原結合性断片との同時投与に関

するものである。一部の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片の前、後、または同時に投与される。特定の実施形態では、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片は、単回投与製剤として抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片と共に投与される。

【0091】

投薬量

本発明の方法に従って対象に投与される二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体もしくはその抗原結合性断片、および任意選択で抗PD-1抗体もしくはその抗原結合性断片の量は、概して治療有効量である。本明細書で使用される場合、語句「治療有効量」は、未治療の対象またはいずれかの抗体（または断片）を単剤療法として投与された対象と比較して、（a）癌（例えば、卵巣癌）の重症度もしくは癌の症状の持続時間の低減；（b）腫瘍増殖の阻害、もしくは腫瘍壊死の増加、腫瘍縮小および／もしくは腫瘍消失；（c）腫瘍増殖および発達の遅延；（d）腫瘍転移の阻害もしくは遅延もしくは停止；（e）腫瘍増殖の再発の防止；（f）癌（例えば、卵巣癌）を有する対象の生存の増加；ならびに／または（g）従来の抗癌療法の使用もしくは必要の低減（例えば、化学療法剤もしくは細胞毒性剤の使用の低減もしくは排除）のうちの一つ以上をもたらす、抗体もしくはその抗原結合性断片（抗PD-1抗体もしくは二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体）の量を意味する。

【0092】

二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片の場合、治療有効量は、約0.1ミリグラム（mg）～約1000mg、例えば、約0.1mg、約0.2mg、約0.3mg、約0.5mg、約1mg、約3mg、約5mg、約10mg、約20mg、約25mg、約30mg、約35mg、約40mg、約45mg、約50mg、約60mg、約65mg、約70mg、約75mg、約80mg、約85mg、約90mg、約95mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約225mg、約250mg、約275mg、約300mg、約350mg、約400mg、約450mg、約500mg、約550mg、約600mg、約650mg、約700mg、約750mg、約800mg、約850mg、約900mg、約950mg、または約1000mgなどの二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片であり得る。一部の事例では、用量は、約1mgである。一部の事例では、用量は、約2mgである。一部の事例では、用量は、約20mgである。一部の事例では、用量は、約25mgである。一部の事例では、用量は、約250mgである。一部の事例では、用量は、約800mgである。これらの用量のいずれかは、初回用量、中間用量もしくは移行用量、または全用量であり得る。

【0093】

抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片の場合、治療有効量は、約0.05mg～約600mg、例えば、約0.05mg、約0.1mg、約1.0mg、約1.5mg、約2.0mg、約10mg、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約210mg、約220mg、約230mg、約240mg、約250mg、約260mg、約270mg、約280mg、約290mg、約300mg、約310mg、約320mg、約330mg、約340mg、約350mg、約360mg、約370mg、約380mg、約390mg、約400mg、約410mg、約420mg、約430mg、約440mg、約450mg、約460mg、約470mg、約480mg、約490mg、約500mg、約510mg、約520mg、約530mg、約540mg、約550mg、約560mg、約570mg、約580mg、約590mg、または約600mgなどの抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片であり得る。特定の実施形態では、350mgの抗PD-1抗体またはその抗原結合性

断片が投与される。

【0094】

個々の用量内に含有される二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片、および任意選択で抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片の量は、対象の体重1キログラム当たりの抗体またはその抗原結合性断片のミリグラム（すなわち、mg／kg）の観点で表され得る。特定の実施形態では、本発明の方法において使用される二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片、および任意選択で抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、対象の体重の約0.0001～約100mg／kgの用量で対象に投与され得る。例えば、二重特異性抗MUC16／抗CD3抗体またはその抗原結合性断片は、約0.1mg／kg～約20mg／kgの患者の体重の用量で投与されてもよく、任意選択の抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片は、約0.1mg／kg～約20mg／kgの患者の体重の用量で投与されてもよい。

10

【0095】

本明細書で参照される配列及び対応する配列番号の概要が、以下の表1に示される。

20

30

40

50

【表 1】

表 1：配列の概要

配列番号	説明
1	抗MUC16重鎖可変領域
2	抗MUC16及び抗CD3軽鎖可変領域
3	抗CD3-G重鎖可変領域
4	抗CD3-G5重鎖可変領域
5	抗CD3-G9重鎖可変領域
6	抗CD3-G10重鎖可変領域
7	抗CD3-G20重鎖可変領域
8	抗MUC16 HCDR1
9	抗MUC16 HCDR2
10	抗MUC16 HCDR3
11	抗MUC16及び抗CD3 LCDR1
12	抗MUC16及び抗CD3 LCDR2
13	抗MUC16及び抗CD3 LCDR3
14	抗CD3-G HCDR1
15	抗CD3-G HCDR2
16	抗CD3-G HCDR3
17	抗CD3-G5 HCDR1
18	抗CD3-G5 HCDR2
19	抗CD3-G5 HCDR3
20	抗CD3-G9 HCDR1
21	抗CD3-G9 HCDR2
22	抗CD3-G9 HCDR3
23	抗CD3-G10 HCDR1
24	抗CD3-G10 HCDR2
25	抗CD3-G10 HCDR3
26	抗CD3-G20 HCDR1
27	抗CD3-G20 HCDR2
28	抗CD3-G20 HCDR3
29	抗MUC16重鎖
30	抗MUC16及び抗CD3軽鎖
31	抗CD3-G重鎖
32	抗CD3-G20重鎖
33	抗PD-1重鎖可変領域
34	抗PD-1軽鎖可変領域
35	抗PD-1 HCDR1
36	抗PD-1 HCDR2
37	抗PD-1 HCDR3
38	抗PD-1 LCDR1
39	抗PD-1 LCDR2
40	抗PD-1 LCDR3
41	抗PD-1重鎖
42	抗PD-1軽鎖

10

20

30

40

【実施例】

【0096】

以下の実施例は、本発明の方法及び組成物をどのように作製し使用するかという完全な開示及び説明を当業者に提供するように記載され、発明者がその発明とみなすものの範囲を限定することを意図していない。使用される数字（例えば、量、温度など）に関して正確性を確保するための努力がなされているが、いくつかの実験誤差及び偏差を考慮に入れるべきである。別段の指示がない限り、部は重量部、分子量は平均分子量、温度は摂氏、圧力は大気圧又は大気圧付近である。

実施例 1：卵巣細胞特異的（MUC16）およびCD3に結合する二重特異性抗体の生成

50

本発明はまた、CD3及びMUC16に結合する二重特異性抗原結合分子も提供し、そのような二重特異性抗原結合分子はまた、本明細書では「抗MUC16／抗CD3又は抗MUC16×CD3二重特異性分子」とも称される。

【0097】

抗MUC16／抗CD3二重特異性分子部分の抗MUC16部分は、MUC16（CA-125としても知られる）を発現する腫瘍細胞を標的化するのに有用であり、二重特異性分子の抗CD3部分は、T細胞を活性化するのに有用である。腫瘍細胞上のMUC16とT細胞上のCD3との同時結合は、活性化されたT細胞による標的腫瘍細胞の直接的な殺傷（細胞溶解）を促進する。

【0098】

抗MUC16特異的結合ドメイン及び抗CD3特異的結合ドメインを含む二重特異性抗体は、標準的な方法論を使用して構築され、抗MUC16抗原結合ドメイン及び抗CD3抗原結合ドメインはそれぞれ、共通のLCVRと対の異なる別個のHCVRを含む。例示された二重特異性抗体では、分子は、抗CD3抗体由来の重鎖、抗MUC16抗体由来の重鎖、及び抗MUC16抗体由来の共通軽鎖を利用して構築された。他の例では、二重特異性抗体は、抗CD3抗体由来の重鎖、抗MUC16抗体由来の重鎖、及び抗CD3抗体由来の軽鎖、又は無差別であることが知られているか、若しくは様々な重鎖アームと効果的に対になることが知られている抗体軽鎖を利用して構築されてもよい。

【0099】

例示的な二重特異性抗体は、2014年8月28日に公開された米国特許出願公開第US2014/0243504A1号に記載されるIgG1Fcドメイン（BSMUC16／CD3-001、-002、-003、及び-004）又は改変（キメラ）IgG4Fcドメイン（BSMUC16／CD3-005）を有するように製造された。

【0100】

構築された様々な抗MUC16×CD3二重特異性抗体の抗原結合ドメインの構成要素の概要を表2に記載する。

【表2】

表2：抗MUC16×CD3二重特異性抗体の構成要素の概要

二重特異性抗体識別子	抗MUC16	抗CD3	共通 軽鎖可変領域
	抗原結合ドメイン 重鎖可変領域	抗原結合ドメイン 重鎖可変領域	
BSMUC16／CD3-001 (REGN4018とも呼ばれる)	(配列番号1)	CD3-VH-G (配列番号3)	(配列番号2)
BSMUC16／CD3-002	(配列番号1)	CD3-VH-G5 (配列番号4)	(配列番号2)
BSMUC16／CD3-003	(配列番号1)	CD3-VH-G9 (配列番号5)	(配列番号2)
BSMUC16／CD3-004	(配列番号1)	CD3-VH-G10 (配列番号6)	(配列番号2)
BSMUC16／CD3-005	(配列番号1)	CD3-VH-G20 (配列番号7)	(配列番号2)

【0101】

実施例2：CA-125は、インビトロでの抗MUC16×CD3抗体活性を妨害しない可溶性CA-125（MUC16の脱落形態）のBSMUC16／CD3-001の活性に対する影響を、卵巣癌患者の腹水から精製された高レベルのCA-125の存在下で

のFACS結合および細胞毒性アッセイを使用して評価した。CA-125レベルは、大部分の卵巢癌患者の血清中で増加し、循環レベルは、抗原シンクとして作用することによって、任意のMUC16標的療法に影響を与える可能性がある。アッセイで使用されるCA-125のレベル(10,000U/mL)は、卵巢癌患者における公表レベル中央値である656.6U/mLを大幅に超えた。ヒト腹水(Creative Biomart、NY、USA)から濃縮された可溶性CA-125または五つのカルボキシ末端SEADメインおよびMUC16の膜近傍領域を発現する膜近位構築物(MUC16Δ)の存在下における、BSMUC16/CD3-001がMUC16発現OVCAR-3細胞を殺傷する能力を、BSMUC16/CD3-001またはCD3結合対照抗体(100pM)の固定濃度で、およびMUC16-1HまたはMUC16Δのいずれかの連続希釈液で、37℃で72時間、4:1のエフェクター/標的比で行った。MUC16を有する標的細胞の特異的殺傷を監視するために、OVCAR-3細胞を1μMのViolet Cellトラッカーで標識した。標識の後、細胞を37℃で一晩培養した。これとは別に、ヒトPBMCを、 1×10^6 細胞/mLで補充されたRPMI培地に培養し、付着細胞を枯渇させることによってリンパ球を濃縮するために、37℃で一晩インキュベートした。翌日、標的細胞を、付着細胞が枯渇したナイーブPBMC(エフェクター/標的細胞比4:1)、およびBSMUC16/CD3-001またはCD3結合対照のいずれかの連続希釈液で、37℃で72時間共インキュベートした。トリプシンを使用して、培養プレートから細胞を除去し、FACSにより分析した。FACS分析については、細胞を、死滅/生存遠赤色セルトラッカー(Invitrogen社)で染色した。殺傷の特異性を評価するために、細胞を、バイオレットセルトラッカーで標識された集団でゲーティングした。調整された生存率を計算するために、生きている標的細胞の割合が、以下のように報告された: 調整生存率 = $(R1/R2) \times 100$ 、式中、R1 = 抗体の存在下での生きた標的細胞の割合、およびR2 = 試験抗体の非存在下での生きた標的細胞の割合。T細胞活性化は、CD2、CD69、およびCD25に対する直接コンジュゲートされた抗体と細胞をインキュベートし、全T細胞(CD2+)のうち活性化(CD69+)T細胞または(CD25+)T細胞の割合を報告することによって評価された。

10

20

30

40

50

【0102】

BSMUC16/CD3-001とCA-125(クローン3A5)に結合すると知られる抗体とのヒト腹水液から得られたCA125への結合を、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)によって測定した。簡潔に述べると、可溶性CA-125(Creative Biomart、NY、USA)を、PBS中の4000単位/mLの濃度で、96ウェルマイクロタイタープレートに4℃で一晩、受動的に吸着させた。次いで、プレートをPBSTで洗浄し、PBS中の0.5%BSAで1時間ブロックした。ビオチン化BSMUC16/CD3-001、MUC16親抗体、α-MUC16 3A5、および非結合対照(BSMUC16/CD3-001アイソタイプ対照およびα-MUC16 3A5アイソタイプ対照)を、PBS中の0.5%BSA中、10、1、0.3、または0.1nMの濃度でプレートに1時間添加し、続いてPBSTで洗浄した。1.0mg/mLストック溶液の1:10000希釈で西洋ワサビペルオキシダーゼ(SA-HRP)(ThermoFisher Scientific、Waltham、MA、USA)とコンジュゲートされたストレプトアビジンをウェルに添加し、1時間インキュベートして、プレート結合ビオチン化抗体を検出した。プレートを洗浄し、製造業者の指示に従って、3-3'、5-5'-テトラメチルベンジジン(BD Biosciences、Franklin Lakes、NJ、USA)基質で展開した。450nmでの吸光度を、Victor Multilabel Plate Reader(Perkin Elmer、Melville、NY)で各ウェルについて記録した。GraphPad Prismソフトウェアを用いてデータを分析した。

【0103】

過剰なCA-125は、OVCAR-3細胞に結合するBSMUC16/CD3-001に最小限の影響を有し、CA-125への最小限の結合を示唆している(図1)。対

照的に、CA-125は、MUC16の反復領域（抗体クローン3Aの社内バージョン）に結合する可能性が高い比較抗体の能力を大幅に阻害した（図1）。さらに、MUC16の第5のSEAドメインまで膜近位領域を含有する可溶性MUC16構築物（MUC16Δ）は、BSMUC16/CD3-001の結合を劇的に阻害し、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2018/067331号でより詳細に論じるように、BSMUC16/CD3-001が膜近位領域に結合することを示す。結合試験と整合して、BSMUC16/CD3-001はまた、CA-125の存在下でT細胞媒介性殺傷を誘導し得るが、高濃度のMUC16Δの存在下では誘導し得なかった（データは示さず）。したがって、BSMUC16/CD3-001は、MUC16に結合し得、高濃度のCA-125の存在下であっても、T細胞再指向性殺傷を誘導し得る。

10

【0104】

実施例3：PD-1遮断剤は異種および同系腫瘍モデルにおける抗MUC16×CD3二重特異性抗体の抗腫瘍活性を強化する

抗MUC16/抗CD3二重特異性抗体のPD-1遮断剤との併用によるインビボ有効性を、異種および同系腫瘍モデルで評価した。

【0105】

A. 異種モデル-OVCAR-3/Luc

異種モデルでは、インビボで以前に継代された（0日）OVCAR-3/Luc細胞株を、ヒトPBMCを移植してから十三日後に免疫不全NSGマウスに腹腔内（IP）注射した。マウスを、12.5ug/マウスBSMUC16/CD3-001でIP処置するか、または12.5ugのCD3結合対照を単独で、または100ugのREGN2810と組み合わせて、5日目および8日目に投与した。腫瘍負荷を、腫瘍移植後4、8、12、15、20、および25日目にBLIによって評価した。25日目のBLI測定によって決定されるように、12.5ugのBSMUC16/CD3-001での処置は、BLI測定によって決定されるように有意な抗腫瘍効果をもたらし、REGN2810（抗PD-1）との組み合わせは、抗腫瘍効果をさらに増強した。すべての群は、投与前にBLIによって評価された腫瘍量と同程度であった。群間での腫瘍負荷に有意差はなかった。

20

【0106】

BSMUC16/CD3-001は、12.5ugで腫瘍量を有意に低減し、抗PD-1の添加は、BSMUC16/CD3-001単独よりも抗腫瘍効果を強化する。ヒトT細胞を生着させたNSGマウスに、ヒトOVCAR-3/Luc細胞を移植した。マウスに、5および8日目に、12.5ugのBSMUC16/CD3-001をIV投与するか、またはCD3結合対照もしくは非結合対照（12.5ugのIV）で処置した。下記の表3に示されるデータは、腫瘍移植後25日目のBLIによって評価された腫瘍量である。統計的有意性を、対応のないノンパラメトリックなマン・ホイットニーt検定を使用して決定した。BSMUC16/CD3-001+/-REGN2810を用いた処置を、CD3結合対照（BSMUC16/CD3-001については* $p < 0.05$ 、BSMUC16/CD3-001およびREGN2810については** $p < 0.01$ ）と比較し、BSMUC16/CD3-001を単独で用いた処置を、REGN2810（# $p < 0.05$ ）との組み合わせと比較した。

30

40

【表 3】

表 3：腫瘍移植後 25 日目の生物発光

抗体 (u g)	移植後 25 日目の平均放射輝度 [p / s / cm ² / s r] (中央値 ± SEM)
h I g G 4 P - P V A C D 3 結合対照 (1 2)	7. 7 1 e + 0 6 ± 1. 0 7 e + 0 6
B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 (1 2)	7. 4 4 e + 0 3 ± 3. 1 1 e + 0 3
h I g G 4 P - P V A C D 3 結合対照 (1 2) + R E G N 2 8 1 0 (1 0 0)	9. 2 9 e + 0 6 ± 1. 8 2 e + 0 6
B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 (1 2) + R E G N 2 8 1 0 (1 0 0)	1. 7 6 e + 0 3 ± 9. 3 8 e + 0 1

10

【0107】

B. 同系モデル - I D 8 - V E G F / h u M U C 1 6

免疫能力のあるモデルにおける有効性を調べるために、マウス C D 3 遺伝子をヒト C D 3 で置換し、マウス M U C 1 6 遺伝子の一部をヒト配列で置換した。本置換により、T 細胞がヒト C D 3 を発現し、B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 および B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 5 二重特異性抗体が結合するヒト M U C 1 6 の一部を含むキメラ M U C 1 6 分子を発現するマウスが得られた。

20

【0108】

この最初の同系腫瘍モデルについては、ヒト M U C 1 6 の一部分を発現するように操作された I D 8 - V E G F 細胞株を使用した。I D 8 - V E G F / h u M U C 1 6 細胞 I P をマウスに移植し、移植の三日後に、5 m g / k g の B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 で、またはアイソタイプ対照を用いた C D 3 結合対照で、または抗 P D - 1 (5 m g / k g I V) と組み合わせて処置した。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 を用いた処置は、C D 3 結合対照を投与された群と比較して、生存期間中央値を延長させたが、抗 P D - 1 遮断剤の添加はまた、マウスの 5 0 % の生存をもたらした。

【0109】

B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 は、I D 8 - V E G F 腹水モデルの生存期間の中央値を有意に増加させ、P D - 1 (E G N 2 8 1 0) 遮断剤の添加により、数匹のマウスの生存が可能となる。マウス C D 3 およびキメラ M U C 1 6 分子の代わりにヒト C D 3 を発現するマウスに、ヒト M U C 1 6 の一部を発現するマウス卵巣腫瘍株を移植した。マウスに、移植後 3 日目に B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 (5 m g / k g I V)、または C D 3 結合対照 (5 m g / k g I V) をアイソタイプ対照と共に、または抗 P D - 1 と共に投与した。マウスを、腫瘍移植後 3、7、10、14、17 日目に処置した。示されるデータは、生存期間の中央値である。マウスは、腹水によって誘発された腹部膨満のために、体重が 2 0 % 以上増加した時点で 殺した。統計的有意性を、M a n t e l - C o x 法を使用して決定した。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 および B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 + 抗 P D - 1 処置の両方が、生存期間中央値の増加をもたらし、B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 + 抗 P D - 1 の組み合わせは、5 0 % の生存をもたらし、M U C 1 6 x C D 3 二重特異性抗体と抗 P D - 1 抗体との間の相乗効果を示した。結果が、以下の表 4 に示される。

30

40

50

【表 4】

表 4：ID8-VEGF/huMUC16モデルにおける生存期間の中央値

抗体 (mg/kg)	生存期間の中央値 (日)
CD3結合対照 (5) +アイソタイプ対照 (5)	36
BSMUC16/CD3-001 (5) +アイソタイプ対照 (5)	46
CD3結合対照 (5) +PD-1 (5)	32
BSMUC16/CD3-001 (5) +PD-1 (5)	69.5

10

【0110】

BSMUC16/CD3-001を、抗PD-1抗体と組み合わせて1mg/kgで投与した場合、同様の結果が観察された。

【0111】

C. 同系モデル-MC38/huMUC16

先に記載したように、この実験で用いたマウスは、マウスCD3遺伝子をヒトCD3で置き換え、マウスMUC16遺伝子の一部をヒト配列で置き換えるように遺伝子操作を行った。この置換により、T細胞がヒトCD3を発現し、BSMUC16/CD3-001およびBSMUC16/CD3-005二重特異性抗体が結合するヒトMUC16の一部を含有するキメラMUC16分子を発現するマウスが得られた。

20

【0112】

この第二の同系腫瘍モデルについては、ヒトMUC16の一部を発現するように操作されたMC38細胞株を使用した。MC38/huMUC16細胞SCをマウスに移植し、腫瘍移植の7日後に、BSMUC16/CD3-005で、またはアイソタイプ対照を用いたCD3結合対照 (1mg/kg IV) で、または抗PD-1 (5mg/kg IV) と組み合わせて処置した。この実験で使用された抗PD-1抗体は、市販のマウス抗体 (クローンRMP1-14、BioXCell) であった。BSMUC16/CD3-005および抗PD-1の組み合わせは、相乗的抗腫瘍効果を示した。

【0113】

BSMUC16/CD3-005および抗PD-1遮断剤の組み合わせは、MC38 SCモデルにおいて、BSMUC16/CD3-005単独よりも良好な抗腫瘍効果をもたらした。マウスCD3およびキメラMUC16分子の代わりにヒトCD3を発現するマウスに、ヒトMUC16の一部を発現するマウス腫瘍株MC38を移植した。マウスに、移植後7日目に、BSMUC16/CD3-005またはCD3結合対照 (1mg/kg IV) をアイソタイプ対照または抗PD-1抗体 (5mg/kg IV) と共に投与した。マウスを、腫瘍移植後7、11、14日目に処置した。結果を図2に示す。統計的有意性を、テューキーの多重比較検定を用いた二元配置分散分析により決定した。BSMUC16/CD3-005プラス抗PD-1は、CD3結合対照よりも、有意に、かつ相乗的に腫瘍成長を阻害した。

30

【0114】

実施例4：遺伝子操作されたマウスにおける免疫PET撮像は、T細胞が豊富な器官への抗MUC16 x CD3二重特異性抗体の局在化を示した

BSMUC16/CD3-001およびBSMUC16/CD3-005のインビボ局在化、ならびにMUC16タンパク質の発現を、PET撮像を使用して野生型および遺伝子ヒト化マウスで評価した。⁸⁹Zr標識抗MUC16抗体 (本明細書では「親」と称される、二重特異性と同じ抗MUC16重鎖および軽鎖を使用して生成された二価抗MUC16抗体) の生体内分布は、野生型およびヒト化マウスの両方で類似しており、ヒト化MUC16タンパク質の抗体への低い発現/利用能を示唆している。対照的に、マウスに⁸⁹Zr標識BSMUC16/CD3-001二重特異性抗体の治療的に関連する用量を投

50

与した場合、脾臓およびリンパ節への分布は、これらのリンパ器官におけるCD3陽性T細胞の認識に起因して明らかであった（データは示さず）。個々の組織におけるエクスピボ生体内分布解析により、リンパ節および脾臓への局在が確認された（データは示さず）。リンパ組織における ^{89}Zr 標識BSMUC16/CD3-005二重特異性抗体の取り込みは、CD3に対する親和性が低いため、BSMUC16/CD3-001と比較して大幅に減少した。BSMUC16/CD3-001およびBSMUC16/CD3-005がMUC16発現腫瘍に蓄積し得るかどうかを評価するために、 ^{89}Zr 標識BSMUC16/CD3-001および ^{89}Zr 標識BSMUC16/CD3-005を、ID8-VEGF-huMUC16Δ腫瘍を有するマウスに投与した。二重特異性抗体間の腫瘍取り込みは、BSMUC16/CD3-001のより高いリンパ球取り込みにもかかわらず、有意には異なっていなかった（データは示さず）。

10

【0115】

免疫コンジュゲートの調製および小動物PET：BSMUC16/CD3-001および対照抗体を、PNGase Fを用いた抗体の脱グリコシル化の後、微生物トランスグルタミナーゼによるトランスアミド化を介して、295位のグルタミン残基にDFOとコンジュゲートした。次いで、DFOコンジュゲート抗体をZirconium-89 (^{89}Zr) でキレートした。マウスは、尾静脈注射を介して0.5mg/kgの最終用量で抗体を受けた。次いでPET撮像を実施して、エクスピボ生体内分布試験の前に、投与後6日目に放射免疫複合体のインビボ局在化を評価した。腫瘍を有するマウスにおける実験については、マウスに 10×10^6 個のID8-VEGF-huMUC16Δ腫瘍細胞を皮下移植した。腫瘍を有するマウスに、腫瘍の平均が150mm³である場合、移植の20日後に ^{89}Zr 放射標識抗体を投与した。

20

【0116】

予め校正したSofie Biosciences G8 PET/CT装置（Sofie Biosciences社（Culver city、CA）およびPerkin Elmer社）を用いて、PET/およびCT画像を撮影した。エネルギー窓は、視野の中央で1.4 mmの再構成された解像度で、150~650keVの範囲であった。投与後6日目に、マウスに、イソフルランを使用して導入麻酔を行い、10分間の静的PET撮影の間、イソフルランの連続的フロー下に置いた。CT画像をPET取得後に取得した。PET画像を、その後、事前設定された設定を使用して再構成した。減衰補正されたPETデータおよびCTデータは、VivoQuantソフトウェア（invivo Imaging Services）を使用して、%ID/gとして表される、体積当たりの注入量の0~30%の信号範囲を示すように校正されたカラースケールで、偽色の同時登録されたPET-CT最大値投影画像に処理された。エクスピボ生体内分布分析については、投与後6日目の撮像後にマウスを安楽死させた。血液を心臓穿刺を介して計数管に採取した。次いで、正常な組織（鼠径部および腋窩リンパ節、胸腺、脾臓、心臓、肺、胃、小腸、肝臓、腎臓、骨および卵巣）を切除し、計数管に入れた。腫瘍を同様に計数管に収集した。すべての管を予め計量し、その後再計量して、血液および組織の重量を決定した。次いで、全試料のγ放出の放射活性を自動ガンマカウンター（Wizard 2470, Perkin Elmer）で計数し、結果を一分当たりの計数（cpm）で報告した。各試料の%IDは、元の注入材料から調製された用量標準数に対する試料数を使用して決定された。その後、個々の%ID/g値は、%IDを適切な血液、組織、または腫瘍サンプルのそれぞれの重量で割ることによって導出した。

30

40

【0117】

^{89}Zr 標識BSMUC16/CD3-001および ^{89}Zr 標識BSMUC16/CD3-005は、MUC16+腫瘍およびCD3+リンパ組織への特異的局在を示し、リンパ球分布は相対的CD3親和性と相関していた。両方のMUC16xCD3二重特異性抗体は、CD3+組織の存在下で同等の腫瘍局在を示した。

【0118】

実施例5：カニクイザルにおける毒性試験では抗MUC16xCD3二重特異性抗体に対

50

する明白な毒性は示されなかった

B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 は、サル M U C 1 6 および C D 3 と交差反応する。二重特異性抗体の安全性および忍容性を決定し、その薬物動態を特徴付けるために、カニクイザルにおいて複数回投与毒性試験を実施した。六匹のサル／性別／群に、B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 を毎週投与し、0.01、0.1、または1mg/kgで合計五用量を投与した。投与期間の完了時に、3匹の動物／性別／群を安楽死させ、組織を顕微鏡的所見について調べ、残りの三匹の動物／性別／群には、12週間の無処置回復を行い、任意のB S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 関連効果の可逆性または持続性を評価した。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 は忍容性良好であり、すべての動物は予定された剖検の時点まで生存した。毒性動態解析は、用量群にわたって用量比例的曝露および線形動態を示し、性別差は観察されなかった（データは示さず）。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 への継続的な曝露は、投与フェーズ全体を通して観察され、B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 曝露は、それぞれ、0.1mg/kg群および1.0mg/kg群のすべて（n=6）および50%の動物で回復フェーズの終了まで維持された。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 は、回復8週目の後は0.01mg/kg群のいずれの動物においても血清中で検出されなかった。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 の消失半減期は、約10日であった。

10

【0119】

B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 関連の臨床所見はなく、投与期間中または回復期間中、尿検査パラメータ、末梢血免疫表現型検査、食物消費量、または体重に変化はなかった。重要なことに、B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 投与は、E C G パラメータの無変化を含む、呼吸、神経、または心血管安全性薬理学的評価の変化をもたらさなかった。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 関連の臓器重量の変化は見出されず、終末または回復剖検のいずれにおいても肉眼的変化は観察されなかった。1.0または0.1mg/kgの初回用量から1日以内に循環炎症マーカー（C反応性タンパク質（CRP）およびIL-6）の用量関連の可逆的な上昇が観察されたが、これらの上昇は後続用量後には明らかではなかった（データは示さず）。血清サイトカインの最小限の増加に従って、血液腫瘍に対するいくつかのCD3二重特異性分子について記載されているものとは対照的に、B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 投与後にT細胞再分布は検出されなかった（データは示さず）。

20

【0120】

カニクイザル試験は、I A C U C のガイドラインに従って実施された。カニクイザル（6匹／性別／群）に、対照物質（希釈プラセボ）またはB S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 （0.01、0.1、または1mg/kg）を30分間のIV注入を介して週一回投与した。対照物質は、10%のスクロースおよび0.05%のポリソルベート20、pH6を有する10mMのヒスチジンであり、注射用0.9%塩化ナトリウム、USP（滅菌生理食塩水）で希釈されている。血液試料または組織を、臨床病理学および病理組織学のために様々な時点で採取した。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 濃度をELISAによって決定し、WinNonLinソフトウェアを使用して毒性動態分析を実施した。CRPをRocheRoche P 800システムで分析した。サイトカインをMSD（Meso Scale Diagnostics、Rockville、MD）によって測定した。T細胞を、フローサイトメトリーを使用して定量した。簡潔に述べると、血液をカリウムEDTAチューブに収集し、溶解し、CD3、CD4、およびCD8について染色し（BD Biosciences）、各表現型の相対値をFACS Canto IIを使用して決定する。次いで、これらの値に絶対リンパ球値（血液学的分析を介して）を乗じて、各表現型の絶対細胞数を計数する。

30

40

【0121】

M U C 1 6 の免疫組織化学染色は、予想される組織、脾臓（中皮、管上皮）、心臓および卵巣（データは示さず）、ならびに唾液腺（杯細胞）、肝臓（中皮、胆管）、肺（中皮、細気管支／気管支上皮）、小腸（中皮）、精巣（中皮、精巣網／輸出管）、および扁桃腺（上皮、粘液腺）（示さず）に存在した。B S M U C 1 6 / C D 3 - 0 0 1 関連顕微鏡的变化は、ヘマトキシリンおよびエオシン（H&E）の組織学的染色によって評価され、

50

炎症（白血球の浸潤）、ならびに複数の胸部および腹膜器官の漿膜内層および／または中皮下結合組織の非有害な肥厚につながる中皮細胞のサイズおよび細胞性の増加を含む。これらの変化は、概して局所性または多局所性であり、重症度は最小限から軽微であり、BSMUC16／CD3－001の標的であるとみなされ、漿膜上皮（中皮）細胞上に発現されるMUC16の関与およびT細胞の活性化から生じた。重要なことに、回復期間の終了時に漿膜変化は逆転していたまたは逆転に向かう傾向であった（データは示さず）。

【0122】

カニクイザルにおける毒性試験は、BSMUC16／CD3－001投与後の血清サイトカインおよびC反応性タンパク質の最小かつ一過性の増加を示し、明白な毒性はなかった。

10

【0123】

実施例6：腫瘍担持マウスにおける血清サイトカイン誘導の評価

サイトカイン放出症候群（CRS）は、CD3二重特異性およびCAR T細胞療法の頻繁な重篤な副作用であるため、BSMUC16／CD3－001を用いた治療後の関連モデルにおける血清サイトカインを監視する試験を実施した。腫瘍を有しない遺伝子ヒト化MUC16／CD3マウスでは、BSMUC16／CD3－001投与の際に血清サイトカイン応答は明白ではなかった。

【0124】

BSMUC16／CD3－001によるインビボT細胞活性を評価するために、腫瘍を有するマウスからの血清サイトカインレベルを測定した。血清試料を、0.5mg/kgのBSMUC16／CD3－001、CD3結合対照、および非結合対照群において、最初の抗体投与の4時間後に採取した。BSMUC16／CD3－001を用いた処置は、非結合対照およびCD3結合対照と比較して、IFN γ 、TNF α 、IL－2、IL－6、IL－8、およびIL－10の誘導によって決定されるようにT細胞を活性化した（データは示さず）。BSMUC16／CD3－001誘導性サイトカイン応答は、T細胞ならびにOV CAR－3／Luc細胞の存在を必要とし、OV CAR－3／Luc細胞のみを有するマウスは血清中に検出可能なヒトIFN γ を有さず、架橋のためにMUC16を提供する腫瘍細胞を有しないマウスは、BSMUC16／CD3－001に反応して血清IFN γ の増加を示さなかった（データは示さず）。

20

【0125】

血清サイトカインレベルの測定：BSMUC16／CD3－001を用いた治療に反応するT細胞活性化を、最初の0.5mg/kg用量の四時間後にインターフェロン γ （IFN γ ）、腫瘍壊死因子 α （TNF α ）、インターロイキン－2（IL－2）、IL－4、IL－6、IL－8、IL－10、IL－12p70、IL－13、およびIL－1Bの血清濃度を測定することによって評価した。製造業者の指示に従って、V－plex Human ProInflammatory－10 Plexキット（Meso Scale Diagnostics、Rockville、MA）を使用してサイトカインレベルを分析した。サイトカインを、1群当たり4～6匹のマウスを用いた二つの別個の試験で測定した。

30

【0126】

実施例7：ヒト化マウスにおけるMUC16発現、およびMUC16陽性組織上の抗MUC16xCD3二重特異性抗体の効果

完全に無傷の免疫系を有するマウスにおけるBSMUC16／CD3－001の抗腫瘍効果を調査するために、マウスを遺伝子操作して、T細胞上のヒトCD3と、抗体結合領域を覆うMUC16の領域とを内因性マウス遺伝子座に発現させた（ノックインマウス）。これらのマウスを検証するために、MUC16発現をRT－PCRおよびIHCの両方によって調べた。マウスMUC16発現に関する公開データと同様に、RNA発現が、気管ならびに肺、心臓、卵巣、膵臓、および膀胱において低レベルで検出された（データは示さず）。MUC16タンパク質発現を評価するために、MUC16の膜近位領域を認識する抗ヒトMUC16抗体を使用して、選択された組織に対してIHCを実施した。MUC

40

50

C16タンパク質発現は、これらのマウスの卵巣および胃の表面上皮で確認された。MUC16は、ヒトで記載されているように、気管内層／上皮ならびに粘膜下腺でも観察された（データは示さず）。

【0127】

マウス組織の組織学：ヒト化マウスまたはWTマウス由来の組織を採取し、ベンタナディスカバリーXT（Ventana；Tucson、AZ）を使用してIHCによりMUC16の膜近位ドメインに結合する抗MUC16抗体で染色した。5 μmのパラフィン切片をSuperfrost PLUSスライド上に切断して設置し、60℃で一時間バークした。免疫組織化学染色を、ベンタナDABマップ検出キットを使用して、ディスカバリーXT自動IHC染色システムで行った。脱パラフィン化を、EZ Prep溶液を使用して75℃で8分間行なった。ベンタナのTris-EDTA緩衝液pH9（CC1）を使用して、軽度の抗原回収（95℃、8分、続いて100℃、24分）を行なった。これに続いて、複数の遮断工程を行なった。組織切片を抗MUC16抗体（2 μg/ml）と室温で8時間インキュベートした。無関係な非結合抗体を認識するアイソタイプ対照抗体を、陰性対照として使用した。一次抗体および陰性対照を手動で適用した。ビオチン化ヤギ抗ヒトIgG（Jackson ImmunoResearch）を二次抗体（1 μg/ml）として使用し、試料をRTで一時間インキュベートした。発色シグナルは、ベンタナDAB MAPキットを使用して開発された。スライドを、ヘマトキシリンで手動で対比染色し（2分）、脱水し、カバーガラスで覆った。画像はAperio AT 2スライドスキャナ（Leica Biosystems、Buffalo Grove、IL）で取得し、Indica HALOソフトウェア（Indica Labs、Corralles、NM）を使用して分析した。H&E染色は、HistoServ, Inc（Germantown、MD、USA）によって実施された。

【0128】

これらのマウスのT細胞は、T細胞受容体（TCR）Vβ使用によって評価されるように多クローン性であり、ヒトCD3を発現し、野生型マウスと類似の数で存在する（データは示さず）。BSMUC16／CD3-001がこれらの動物の正常組織に対する任意のT細胞活性化または効果を誘導したかどうかを決定するために、腫瘍を有さないマウスに高用量のBSMUC16／CD3-001（10 mg/kg）を注射し、次いで血液中のT細胞数、血清サイトカイン、および病理組織学を調べた。T細胞は、血液からのT細胞の辺縁化および血清サイトカインのレベルの増加によって測定されるように、抗ヒトCD3抗体（OKT3）によって活性化され得るが（データは示さず）、BSMUC16／CD3-001は、そのような効果を誘発せず、MUC16標的へのアクセスが限定的であることを示唆する（データは示さず）。BSMUC16／CD3-001がMUC16発現組織において何らかの顕微鏡的变化を誘導したかどうかを決定するために、MUC16およびCD3ヒト化マウスに、0日目および3日目に10 mg/kgのBSMUC16／CD3-001の二用量を投与した。5日目に、いくつかのMUC16発現組織（気管、胃、および卵巣）を調べ、BSMUC16／CD3-001投与後にこれらの組織に細胞浸潤または壊死は見られなかった（データは示さず）。病理組織検査により、マウスにおいて、BSMUC16／CD3-001投与後の調べた時点ではMUC16発現組織への炎症または浸潤がないことが明らかになった。

【0129】

この研究の結果、ならびに実施例5で記載されたカニクイザル試験は、BSMUC16／CD3-001の安全性プロファイルを実証する。BSMUC16／CD3-001は、最小の血清サイトカインのみを誘導し、MUC16発現において炎症の焦点誘導および漿膜内層の肥厚があり、標的活性を示唆するが、これらの効果は回復期間の終わりまでに解決し、修復を示す炎症および細胞性の増加と一致した。観察された漿膜変化は、任意の臨床所見、臨床病理（炎症反応を除く）、または下層の実質の顕微鏡的变化と関連しなかった。したがって、遺伝子ヒト化マウスおよびカニクイザルの両方における研究は、BSMUC16／CD3-001は忍容性が良好であることを示す。

【0130】

実施例8：ナイーブヒトエフェクター細胞を使用したFACSベースの細胞毒性アッセイにおけるPD-1発現の監視

フローサイトメトリーによりMUC16を有する標的細胞の特異的殺傷を監視するために、卵巣細胞株OVCA-R-3を、1 μ MのViolet Cellトラッカーで標識した。標識の後、細胞を37℃で一晩培養した。これとは別に、ヒトPBMCを、1 $\times$ 10⁶細胞/mLで補充されたRPMI培地に培養し、付着マクロファージ、樹状細胞、および位置の単球を枯渇させることによってリンパ球を濃縮するために、37℃で一晩インキュベートした。翌日、標的細胞を、付着細胞が枯渇したナイーブPBMC（エフェクター／標的細胞比4：1）およびBSMUC16／CD3-001またはCD3結合対照のいずれかの連続希釈液で、37℃で72時間共インキュベートした。トリプシンを使用して、細胞を培養プレートから除去し、FACSにより分析した。FACS分析については、細胞を、死滅／生存遠赤色セルトラッカー（Invitrogen社）で染色した。殺傷の特異性を評価するために、細胞を、バイオレットセルトラッカーで標識された集団でゲーティングした。

10

【0131】

PD-1発現を、細胞をCD2、CD4、CD8、およびPD-1に直接コンジュゲートされた抗体とインキュベートすることによって、および総T細胞（CD2+）中のPD-1／CD4陽性T細胞またはPD-1／CD8陽性T細胞の割合を報告することによって評価した。BSMUC16／CD3-001とのインキュベーションは、対照と比較して、PD-1+T細胞の割合を10倍超（CD4+T細胞）または3倍超（CD8+T細胞）増加させた。結果を図3に示す。

20

【0132】

実施例9：卵巣癌を抗MUC16 $\times$ 抗CD3二重特異性抗体単独で、または抗PD-1抗体と組み合わせて治療する方法

プラチナ含有療法を含むすべての治療選択肢を使い果たした再発性卵巣癌を有する患者におけるREGN4018（抗MUC16 $\times$ 抗CD3二重特異性抗体）の安全性、忍容性、予備的抗腫瘍活性、および薬物動態（PK）の第1／2相試験が実施されており、意義のある臨床的利益を示している。

30

【0133】

治療が困難な、進行性の、プラチナ系療法を経験した、および／または不耐性の上皮性卵巣癌（癌肉腫を除く）、原発性腹膜癌、または卵管癌を有する患者は、REGN4018研究の一部として研究されている。

【0134】

卵巣癌の臨床試験では、治療評価は腫瘍応答に基づく。腫瘍応答評価は、測定可能な疾患を有する、および有さない患者における腫瘍マーカーであるCA-125のレベルに基づく。さらに、バイオマーカー解析には、REGN4018治療が末梢CD3⁺T細胞の集団を一過性に減少させることが予想されるため、末梢T細胞表現型解析が含まれる。さらなる分析には、MUC16およびPD-L1などのタンパク質の腫瘍発現などのバイオマーカーが含まれ、基礎疾患の臨床経過に影響を与えるか、または治療副作用を調節する変動についてのctDNA、腫瘍（RNAおよび体細胞DNAシーケンシング）遺伝子分析が含まれ得る。

40

【0135】

目的：主要評価項目および副次評価項目の両方を探索する。

【0136】

この試験の主要な目的は：

（1）試験の用量漸増期において：意義のある臨床的利益をもたらすと予想される全ての治療選択肢を使い果たした再発性卵巣癌を有する患者における、REGN4018の単剤療法としての、およびセンプリマブと組み合わせた最大耐量（MTD）または推奨第2期用量（RP2D）を決定するために、安全性および薬物動態（PK）を評価すること。

50

R P 2 D の決定は、安全性、薬物動態（P K）、および P K / P D（薬物動態 / 薬力学）の関係に関するものを含む、非臨床および全ての臨床データのレビューに基づく。

（２）試験の用量拡大期において、固形腫瘍における応答評価基準（R E C I S T 1 . 1）による客観的奏効率によって決定される R E G N 4 0 1 8 の単剤療法としての、およびセミプリマブと組み合わせた（コホート別）予備的有効性を評価すること。

【 0 1 3 7 】

試験の副次的目的は（用量漸増期および用量拡大期の両方において）、

（１）O R R、最良総合効果（B O R）、奏効期間（D O R）、無増悪生存期間（P F S）、疾患制御率、および C R 率によって測定される、R E G N 4 0 1 8 の単剤療法としての、およびセミプリマブと組み合わせた予備的有効性を評価すること；

（２）C A - 1 2 5 レベルによって測定される、R E G N 4 0 1 8 の単剤療法としての、およびセミプリマブと組み合わせた有効性を評価すること；

（３）R E G N 4 0 1 8 およびセミプリマブの免疫原性を特徴解析すること、

（４）用量漸増期においてのみ：O R R によって測定される、R E G N 4 0 1 8 の単剤療法としての、およびセミプリマブと組み合わせた予備的有効性を評価すること；ならびに

（５）用量拡大期においてのみ：単剤療法としての、およびセミプリマブと組み合わせた R E G N 4 0 1 8 の安全性、P K、および忍容性を評価すること。

【 0 1 3 8 】

本試験の探索的目的は、以下の通りである：

（１）G y n e c o l o g i c C a n c e r I n t e r g r o u p（G C I G）基準を使用した R E C I S T および C A - 1 2 5 の複合評価に基づいた O R R によって測定される、R E G N 4 0 1 8 の単剤療法およびセミプリマブと（コホートごとに別々に）組み合わせた予備的有効性を評価すること；

（２）作用機序、疾患 / 標的の理解の向上、観察された毒性、および以下を含むがそれ限定されない潜在的な抗腫瘍活性と相関し得るバイオマーカーを評価すること：

－ 循環タンパク質

－ 循環免疫細胞

－ 末梢血および腫瘍における遺伝子発現の変化

－ M U C 1 6 およびプログラム細胞死リガンド 1（P D - L 1）などのタンパク質の腫瘍発現レベル

（３）腫瘍遺伝子変異量および循環腫瘍 D N A の両方の評価；

（４）可能な場合、曝露と有効性と安全性評価項目との関係性を評価すること；ならびに

（５）全生存期間（O S）。

【 0 1 3 9 】

試験デザイン：R E G N 4 0 1 8 単剤療法の最も低い 2 用量レベル（D L）での加速漸増（コホート当たり n = 1 人の患者）を伴う修正された 3 + 3 用量漸増設計（「4 + 3」）を利用する。R E G N 4 0 1 8 単剤療法の用量漸増は、最大耐量（M T D）が達成されるまで、または忍容性および活性の十分な証拠に基づいて用量が拡大のために選択される（R P 2 D）まで進行する。

【 0 1 4 0 】

R E G N 4 0 1 8 の一連の D L を単剤療法として調査する。用量漸増は、0 . 1 m g の静脈内（I V）の 1 週目の用量および 0 . 3 m g の I V の 2 週目の用量（1 週目が忍容性である場合）で D L 1 で開始される。D L 2 は、0 . 3 m g I V の 1 週目の用量および 1 m g I V の 2 週目の用量を使用する（1 週目が忍容性である場合）。次いで、用量漸増は、用量制限毒性（D L T）、重篤な注射関連反応（I R R）、または C R S が特定されない場合、D L 3、D L 4、D L 4 a、およびその後の D L を通じて進行する。

【 0 1 4 1 】

したがって、各 R E G N 4 0 1 8 D L は、初回用量、および（初回用量が忍容性であるならば）より高い全用量からなる。C R S のリスクを最小限に抑えるために、初回用量

10

20

30

40

50

は、DL4 / DL4a 以上から DL に割り当てられたすべての患者について最大 1 mg に設定され、DL5a から、初回用量と全用量との間に 20 mg の強制的な移行用量が設定される。患者の安全性のために、必要に応じて中間用量レベルを追加してもよい。

【0142】

REGN4018 およびセンプリマブの併用療法を DLC2 で開始し、これは耐容性があり、薬理学的に活性である REGN4018 単剤療法の用量であるとみなされた。REGN4018 とセンプリマブとの併用療法については、登録された患者は、単剤療法患者と同様に、4 + 3 用量漸増設計に従って用量漸増された。推定 RP2D / MTD をより効果的に特定し、患者を治療量以下および／または過剰毒性の用量に曝露する可能性を最小限に抑えるために、用量レベルの継続的な漸増 (DL) が BOIN 設計に従う。

10

【0143】

併用療法は、単剤療法 MTD を超えて漸増しない。併用療法コホートの試験実施は、単剤療法コホートと同様の様式で行われ、REGN4018 が徐々に導入される単剤療法リードインサイクルを含む。

【0144】

DLC4 に続いて、選択された移行用量およびその後の用量漸増経路は、単剤療法の移行用量に従って行われる。例えば、20 mg の移行用量が単剤療法コホートで使用される場合、20 mg の移行用量は併用療法コホートで使用される。したがって、用量漸増は、DLC4a (DLC4a からの安全性データが適切であるとみなされることを条件として) に続き、その後 DLC5a ~ DLC9a に続く。

20

【0145】

患者がセンプリマブ併用療法でサイクル2を開始するためには、CRS なしで REGN4018 の単回全用量が忍容されなければならない。組み合わせサイクル1は、患者が CRS を発症することなく少なくとも一回の全用量の REGN4018 を受けるまで、4 ~ 5 週間継続する。

【0146】

単剤療法拡大コホートは、REGN4018 MTD および／または RP2D の特定後に登録され、第二の併用療法拡大コホートは、センプリマブと組み合わせた REGN4018 の MTD および／または RP2D の特定後に登録される。REGN4018 の用量レベルは、単剤療法拡大コホートと併用療法拡大コホートとの間で異なり得る。さらに、用量は、三つの用量を評価する3群の、無作為化第2期コホートを介して評価される：REGN4018 250 mg IV Q3W；単剤療法としての REGN4018 800 mg IV Q3W；およびセンプリマブ 350 mg IV Q3W と組み合わせられた REGN4018 250 mg (または 250 mg QW が忍容性でない場合、センプリマブと組み合わせた最大耐容用量) IV Q3W。

30

【0147】

用量漸増の安全性を決定するための DL T 観察期間は、単剤療法および併用療法コホートについて異なって定義される。単剤療法コホートの DL T 観察期間の目的は、単剤療法用量漸増中に最低2回の REGN4018 の全用量の安全性および忍容性を監視することである。DL1 ~ DL4 については、移行用量が使用されないため、DL T ウィンドウは 28 日である。DL5a / DLC5a およびすべてのより高い DL については、DL T 観察期間は、サイクル1の1日目から開始して 28 ~ 35 日 (二回目の全用量がいつ投与されるかに依存して) である。

40

【0148】

併用療法 DL T 観察期間は、REGN4018 およびセンプリマブ併用療法の最初の 3 週間の安全性および忍容性を監視する目的で、サイクル2の1日目から開始する併用療法の 21 日間として定義される。併用療法における用量漸増の安全性を決定するための DL T 観察期間は、REGN4018 単剤療法を評価する必要はない。なぜなら、各併用療法 DL では、REGN4018 用量は、REGN4018 単剤療法用量漸増中は忍容性であると以前みなされていたためである。

50

【0149】

本試験の第1期部分では、追加のコホートは、REGN4018の初回用量および移行用量の皮下（SC）投与を、SC投与経路がCRSなどの急性毒性の低減と関連しているかどうかを評価するためにのみ探索する。このコホートに対するREGN4018の全用量（単剤療法として、またはセンプリマブとの組み合わせとして）は、これまでに実証された安全性および有効性データのレビューに基づいて、このコホートに対して選択される。

【0150】

試験期間：スクリーニング期間は、すべての患者について最大28日間である。REGN4018単剤療法の場合、各サイクルは、6週間（42日）の長さである。REGN4018およびセンプリマブを用いた併用療法の場合、患者がCRSを伴わずREGN4018の全用量を忍容する場合に基づいて、最初のサイクルは28または35日の長さである。併用療法のその後のサイクルは、6週間（42日）の長さである。治療は、疾患進行、不耐性の有害事象、同意の撤回、または他の治療中止基準のいずれかが満たされるまで継続される。治療中止の理由に基づき、治療後追跡は約90日（コア追跡）または168日（監視追跡）のいずれかである。

【0151】

試験対象集団：最大554人の患者（用量漸増期では292人、探索的SCコホートでは12人、拡大コホートでは250人）が登録されると予想する。登録された患者の実際数は、単剤療法および併用療法用量漸増コホート中に観察されたDLT、追加された患者数、（サイモンの2段階設計の）第二段階が各拡大コホートに登録されているかどうか、および用量拡大中にトリガ事象が発生したかどうかに依存する。この試験は、血清CA-125レベルが上昇（ $\geq$ 正常上限の2x）しているプラチナ系療法を経験した、および／または不耐性の卵巣癌、卵管癌、または原発性腹膜癌を有する患者を登録する。

【0152】

選択基準—患者は、本試験に含まれるように適格であるためには、以下の基準を満たす必要がある：

1. 18歳以上の女性
 2. 進行性上皮性卵巣癌（癌肉腫を除く）、原発性腹膜癌、または卵管癌の組織学的または細胞学的に確認された診断を有し、以下の全てを有する患者：
 - a. 血清CA-125レベル $\geq$ 正常上限の2x（ULN）（スクリーニング時）、
 - b. 少なくとも1回のプラチナ含有療法を受けた、またはプラチナ不耐性であること
 - c. 最新の治療ラインでの、またはその後の再発または進行の記録、および
 - d. 臨床的利益をもたらす可能性のある標準療法オプションの不存在
 3. クリニックビジットおよび試験関連手順を順守する意思があり、可能であること
- 注：
- a. 漸増コホートでは、患者は、新たに取得された生検（医学的に不適切および医療モニターと協議されない限り、スクリーニング時に新たに取得された生検が必要である）またはアーカイブされた腫瘍組織のいずれかを提供しなければならない。
 - b. 拡大コホートでは、患者はスクリーニング時に新鮮な腫瘍生検を提供しなければならない。
 4. 拡大コホートのみ：放射線学的に記録された以前の療法の進行を有していなければならない、固形腫瘍の応答評価基準（RECIST）によって正確に測定され得る少なくとも1つの測定可能な病変（以前に照射されていない）を有していなければならない。
 5. 0または1のEastern Cooperative Oncology Group（ECOG）性能状態
 6. 以下の適切な器官および骨髄の機能：
 - a. ヘモグロビン $\geq 9.0 \text{ g/dL}$
 - b. 絶対好中球数 $\geq 1.5 \times 10^9 / \text{L}$

- c. 血小板数 $\geq 75 \times 10^9 / L$
- d. 血清クレアチニン $\leq 1.5 \times ULN$ または推定糸球体濾過速度 $> 50 mL / 分 / 1.73 m^2$ (用量漸増コホート) または推定糸球体濾過速度 $> 30 mL / 分 / 1.73 m^2$ (用量拡大コホート)
- e. 総ビリルビン $\leq 1.5 \times ULN$
- f. アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) およびアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) $\leq 3 \times ULN$ または $\leq 5 \times ULN$ 、肝転移の場合
- g. アルカリホスファターゼ $\leq 2.5 \times ULN$ (または肝臓もしくは骨転移の場合、 $\leq 5.0 \times ULN$)

7. 少なくとも3ヶ月の推定余命。

8. 試験患者または法的に許容される代表者によって署名されたインフォームドコンセントの提供

9. 無作為化第2相拡大コホートのみ：

a. 以下の基準の1つを満たすプラチナ耐性卵巣癌：

・ プラチナ系治療を1回のみ受けた患者は、少なくとも4回のプラチナ系治療を受けていなければならず、奏効（完全奏効／寛解 [CR] または部分奏効／寛解 [PR]）を経験しなければならず、その後、プラチナの最終投与日から0ヶ月～6ヶ月の間に進行しなければならない。

・ 2回または3回のプラチナ系治療を受けた患者は、プラチナの最終投与日から6か月以内に進行しなければならない。

b. BRC A 変異を有する患者、または相同組換え修復 (HRD) が欠損していることが知られている患者、またはPARP阻害剤を受ける資格がない患者に対する、PARP阻害剤を用いた以前の治療

c. ベバシズマブによる以前の治療、またはベバシズマブ投与に不適格

【0153】

除外基準—以下の基準のいずれかを満たす患者は、本試験から除外される：

1. 別の治療研究で現在治療を受けている、もしくは治験薬の研究に参加し、治療を受けたか、または試験療法の第一の投薬の4週間以内に治験装置を使用したか、または試験療法の第一の投薬の3週間以内に承認された全身療法での処置を受けたか、または試験療法の第一の投薬の5半減期以内に任意の以前の全身療法を受けた（いずれか長い方）。最小用量の治験免疫PET試薬を用いた治療を含む試験を受けた、または試験に登録された患者は除外されない。ベバシズマブで以前に治療された患者は、ベバシズマブの腸穿孔または創傷合併症の病歴がなく、REGN4018の最終投与が最初の投与から > 30 日である場合、スポンサーとの協議後に許可され、7日より長い半減期を有する他の非治験非免疫調節性抗体は、最後の治療から少なくとも3つの半減期が経過した場合、スポンサーとの協議後に許可される。

2. 以下に記載される以前の抗癌免疫療法：

a. 初回投与の5半減期以内の抗PD-1 / PD-L1療法を用いた以前の治療

注記：併用療法コホートおよび無作為化第2期コホートでは、毒性のために抗PD-1 / PD-L1療法を以前に中止した患者も除外される。

b. 試験薬初回投与から30日以内のCAR-T細胞療法歴

3. MUC16標的化療法を用いた以前の治療。

4. 拡大コホートのみ：4回以上の以前の細胞毒性化学療法。

注記：用量漸増コホートでは、適格となるための以前の治療の回数に上限はない。

5. 試験薬の第一の投薬前1週間以内のコルチコステロイド療法 ($> 10 mg$ のプレドニゾン / 1日または均等なもの)。短期間のステロイド治療を必要とする患者（登録前の週で最大2日間）は除外されない。

6. 試験療法での治療開始の少なくとも30日前にベースラインに回復していない、免疫調節剤（抗PD-1 / PD-L1または抗CTLA-4モノクローナル抗体またはPI3Kdelta阻害剤を含むが、これらに限定されない）による治療関連免疫媒介性AE

10

20

30

40

50

。

注記：ホルモン療法もしくは他の非免疫抑制療法（消散なし）で管理した内分泌免疫介在性 A E、または登録前の消散を伴う、グレード 1 の i r A E 投与の任意の器官系。

7. 拡大コホートのみ：潜在的に治癒可能な療法を経験した非黒色腫皮膚癌もしくはインサイツ子宮頸癌を除く、進行しているか、もしくは積極的な治療を必要とする別の悪性腫瘍、または登録前の少なくとも 2 年間、決定的な局所制御（継続的なアジュバントホルモン療法の有無にかかわらず）で有効に処置されているとみなされる任意の他の腫瘍。

8. 未治療または活動性の原発性脳腫瘍、C N S 転移、または脊髄圧迫。以前に処置された中枢神経系転移または脊髄圧迫を有する患者は、それらが安定している（すなわち、試験治療の第一の投薬の前少なくとも 4 週間画像化することにより、進行の証拠がなく、神経学的症状がベースラインまで戻っている）限り、参加してもよく、新規のまたは拡大している中枢神経系転移を示す証拠がなく、患者は、試験療法の第一の投薬前 2 週間以内に中枢神経系転移または脊髄圧迫の管理のために全身コルチコステロイドを全く必要としない。

9. インフォームドコンセントの前年の脳炎、髄膜炎、または管理不能な発作。

10. 試験責任医師が決定した臨床的に有意な E C G 測定値異常を有する、および／または以下の基準を満たす：

a. Q T c（フリデリシア）間隔 > 470 ミリ秒。無症状の長時間の Q T c 間隔（> 470 ミリ秒）の場合、E C G は最大 2 回繰り返され得る。その後の Q T c 間隔が < 470 ミリ秒である場合、患者は、心臓専門医によるレビューおよび承認の後でのみ登録され得る。

b. 第二度 A V ブロック I I 型（M o b i t z I I 型）または A V ブロック I I I 型（完全な心臓ブロック）の証拠。

11. ベースラインの心エコー図によって測定される、左心室駆出分画率（L V E F）は 50 % 未満である。臨床症状がない L V E F 45 ~ 50 % の場合、心臓専門医によるレビューおよびクリアランス後、患者は登録され得る。

12. スクリーニング前 6 か月以内の、以下を含むがこれに限定されない臨床的に有意な心疾患の病歴：

- 心筋梗塞
- 不安定な狭心症
- 脳卒中または一過性虚血性発作
- 末梢動脈疾患事象
- 心不全（N Y H A クラス I I I および I V または A C C / A H A 心不全分類 C もしくは D）

13. 発作性心膜細動を含む任意の臨床的に有意な不整脈の病歴、またはペースメーカーもしくは除細動器の移植。

14. 心筋炎の病歴。

15. 活動性の狭心症、不整脈、または心不全の徴候または症状。

16. 外科的にまだ管理されていない、任意の中程度から重度の弁異常（狭窄または逆流）および／または臨床的に有意な弁膜心疾患。

17. ベースラインの心エコー図によって測定される、中程度から大きな心外膜液（例えば、> 約 100 mL）。

18. スクリーニング前の月に 2 つ以上の治療的穿刺を必要とする患者。

19. 施設の正常上限を上回っているベースライン血清トロポニン。臨床症状の非存在下でトロポニンが最小限に上昇する場合、心臓専門医によるクリアランス後、患者は登録され得る。

20. i r A E のリスクを示唆し得る、全身性免疫抑制処置を用いた処置を必要とする重大な自己免疫疾患の進行中または最近（5 年以内に）の証拠。以下は除外されない：白斑、回復した小児喘息、ホルモン補充のみを必要とする甲状腺機能低下症、1 型糖尿病、または全身治療を必要としない乾癬。

21. 間質性肺疾患、または活性な非感染性肺炎（過去5年間）の既往、または任意の証拠。

22. 拡大のサイズまたはスピードにより、次の4週間以内に胸腔穿刺を必要とする可能性があるベースライン胸部X線により測定される、中等度から重度の胸水。患者が他のすべての選択／除外基準に合致する場合、既存の胸部チューブは許容可能である。

23. ヒト免疫不全ウイルスによる管理不能な感染、B型肝炎もしくはC型肝炎感染、または免疫不全の診断。

注：

－ 感染が管理されたHIV（自然発生的または安定した抗ウイルスレジメンのいずれかで、検出不能なウイルス量および350を超えるCD4カウント）患者は許可する。

－ 感染を管理しているB型肝炎（HepBsAg+）（検出限界未満である血清B型肝炎ウイルスDNA PCR、かつB型肝炎のための抗ウイルス療法を受けている）を有する患者は、許容する。

－ C型肝炎ウイルス抗体陽性（HCV Ab+）であり、管理された感染（自然治癒、または成功裏な以前の抗HCV療法のコースに回答してのいずれかで、PCRによって検出不可能なHCV RNA）を有する患者は、許可される。

24. 全身療法を必要とする活動性の感染。

25. 試験薬開始計画から30日以内の生ワクチンの接種。

26. 登録前2週間以内の大きな外科処置、開放生検、または重大な外傷性損傷。

27. 以前の同種幹細胞移植。

28. 過去3ヶ月以内の腸閉塞、または腸閉塞（治験責任医師の意見による）の高いリスクまたは非経口栄養の現在の必要性。

29. 治験責任医師の意見により、試験参加が患者の最善の利益とならない任意の医学的状态。

30. 抗体治療に起因するアレルギー反応または急性過敏症反応の記録。

31. 試験薬の成分に対する既知のアレルギーまたは過敏性を有する。

32. 研究の要件での参加を妨げる、既知の精神医学的または薬物乱用障害。

33. 臨床施設試験チームのメンバーおよび／またはその近親者。

34. 妊娠中または授乳中の女性。

35. 初回投与前／最初の治療の開始前、本試験期間中、および最後の投与後少なくとも6ヶ月間、高度に有効な避妊法を実施する意思のない、妊娠可能性のある女性*における継続的な性的活動。極めて有効な避妊手段には、以下が含まれる：

a. スクリーニング前に2回以上の月経サイクルで開始される、排卵の阻害に関連する併用（エストロゲンおよびプロゲステロン含有）ホルモン避妊法（経口、膈内、経皮）またはプロゲステロンのみのホルモン避妊法（経口、注射可能、移植可能）の安定した使用；

b. 子宮内デバイス（IUD）；子宮内ホルモン放出システム（IUS）；

c. 卵管結紮術；

d. 精管切除されたパートナー（ただし、男性の精管切除されたパートナーは、WOCBP試験参加者の唯一の性的パートナーであり、その精管切除されたパートナーは、手術の外科的成功の医学的評価を受けていることを条件とする）、および／または

e. 性的禁欲†‡

* WOCBPは、恒久的に不妊ではない限り、初経後は閉経後になるまで繁殖力のある女性として定義される。永久避妊方法には、子宮摘出術、両側卵管切除術、及び両側卵巢摘出術が含まれる。

閉経後状態は、代替的な医学的原因がなく12ヶ月間月経がないものとして定義される。閉経後範囲内の高い卵胞刺激ホルモン（FSH）レベルが、ホルモン避妊法又はホルモン補充療法を使用しない女性における閉経後状態を確認するために使用され得る。しかしながら、12ヶ月の無月経がない場合、単一のFSH測定は、閉経後状態の発生を決定するには不十分である。上記の定義は、Clinical Trial Facilita

10

20

30

40

50

t i o n G r o u p (C T F G) のガイダンスに従う。妊娠検査及び避妊は、子宮摘出術又は卵管結紮術が書面で証明できる女性には要求されない。

† 性的禁欲とは、試験治療と関連するリスクのある全期間中に、異性間性交を慎むこととして定義される場合にのみ、高度に有効な方法とみなされる。性的禁欲の信頼性は、臨床試験の持続時間、及び患者の好ましい通常の生活様式に関連して評価される必要がある。

‡ 定期的な禁欲（カレンダー法、症状体温法、排卵後法）、膣外射精（膣外射精）、殺精子剤のみ、および授乳性無月経法（LAM）は、許容可能な避妊法ではない。女性用コンドームと男性用コンドームは、一緒には使用されないものとする。

36. スクリーニング時の重度および／または制御不能な高血圧。抗高血圧薬を受けている患者は、安定的な抗高血圧レジメンを受けていなければならない。

10

【0154】

治療：単剤療法（用量、経路、およびスケジュール）

【0155】

用量漸増および用量拡大コホート：REGN4018は、週一回、または三週間に一回のIV注入により、最大4時間±15分（フラッシュを含む）にわたって投与される。

【0156】

1週目（初回用量）および2週目（移行用量）におけるREGN4018のSC投与を探索するコホート：REGN4018は、1週目および2週目に週一回のSC注射によって投与される。後続用量（第二の移行用量、および該当する場合、全用量を含む）は、週一回のIV注入により、最大4時間（フラッシュを含む）にわたり投与される。

20

【0157】

一連の用量漸増コホートを使用する。DL4aを超える漸増スキームは、DL4およびDL4aの忍容性に基づいて選択される（以下を参照）。

【表5】

表5：REGN4018単剤療法の用量漸増スキーム

用量レベル	初回用量 (mg) [投与経路]	移行用量 (mg) [投与経路]	全用量 (mg) [投与経路]	初回登録
DL-1	0.03 [IV]	—	0.1 [IV]	0
DL1	0.1 [IV]	—	0.3 [IV]	1
DL2	0.3 [IV]	—	1 [IV]	1
DL3	1 [IV]	—	3 [IV]	3-4
DL4	1 [IV]	—	10 [IV]	3-4
DL4a	1 [IV]	—	20 [IV]	3-4
DL5a	1 [IV]	20 [IV]	60 [IV]	3-4
DL6a	1 [IV]	20 [IV]	150 [IV]	3-4
DL7a	1 [IV]	20 [IV]	250 [IV]	3-4
DL8a	1 [IV]	20 [IV]	450 [IV]	3-4
DL9a	1 [IV]	20 [IV]	800 [IV]	3-4

30

40

【0158】

治療：併用療法（用量、経路、およびスケジュール）

【0159】

すべての併用療法コホートにおけるセミプリマブ：セミプリマブQ3W 350mgは、30分間にわたってIV注入により投与される。

【0160】

用量漸増および用量拡大における併用療法コホートでのREGN4018：REGN4018は、週一回の静脈（IV）注入により、最大4時間±15分（フラッシュを含む）にわたって投与される。両方の薬剤を同日に投与する場合、セミプリマブを最初に投与する

50

。一連の用量漸増コホートが使用され、一連の用量漸増コホートは、追加の安全性データが収集された後に選択された漸増スキームに依存する。

【表 6】

表 6：REGN4018 およびセミプリマブ併用療法のための用量漸増スキーム

用量レベル	初回用量 (mg) [投与経路]	移行用量 (mg) [投与経路]	全用量 (mg) [投与経路]	セミプリマブ の用量 [IV]	初回登録
DLC1	0.1 [IV]	—	0.3 [IV]	350mg 3週間間隔	1
注記：DLC2で開始されるREGN4018およびセミプリマブ併用療法のための用量漸増スキーム					
DLC2	0.3 [IV]	—	1 [IV]	350mg 3週間間隔	1
DLC3	1 [IV]	—	3 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4
DLC4	1 [IV]	—	10 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4
DLC4a	1 [IV]	—	20 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4
DLC5a	1 [IV]	20 [IV]	60 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4
DLC6a	1 [IV]	20 [IV]	150 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4
DLC7a	1 [IV]	20 [IV]	250 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4
DLC8a	1 [IV]	20 [IV]	450 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4
DLC9a	1 [IV]	20 [IV]	800 [IV]	350mg 3週間間隔	3-4

10

20

30

40

50

【0161】

1週目（初回用量）および2週目（移行用量）におけるREGN4018のSC投与を探索するコホート：REGN4018（2mg）は、1週目にSC注射によって投与され、REGN4018（25mg）は、2週目に皮下投与される。その後の用量（第二の移行用量、および該当する場合、全用量を含む）は、週一回のIV注入により、最大4時間±15分（フラッシュを含む）にわたり投与される。三群無作為化用量拡大には、以下が含まれる：IVによりQ3W投与されるREGN4018（250mg単剤療法）；IVによりQ3W投与されるREGN4018（800mg単剤療法）；およびセミプリマブ（350mg IV Q3W）と組み合わせて、IVによりQ3W投与されるREGN4018（250mgまたはセミプリマブと組み合わせた最高耐容用量）。各用量拡大コホートでは、Q3W投与前、患者は、四週間にわたってREGN4018の毎週のステップアップ投与を受ける。

【0162】

試験評価項目：

【0163】

用量漸増期の主要評価項目は、用量制限毒性、治療中に発現した有害事象（TEAE；免疫関連有害事象 [irAE] を含む）、重篤なAE（SAE）、死亡、検査所見の異常（CTCAEによるグレード3以上）、および単剤療法およびセミプリマブとの併用でのPKである。

【0164】

用量拡大期では、本試験の主要評価項目は、単剤療法およびセミプリマブとの併用の両方で測定されるORRである。

【0165】

用量漸増期の副次的評価項目は、固形腫瘍の応答評価基準（RESIST 1.1）に基づくORRである。

【0166】

用量拡大期の副次的評価項目は、以下のとおりである：

- 1) 免疫関連、SAE、死亡、および検査所見の異常を含むTEAE（CTCAEによるグレード3以上）；
- 2) 経時的な血清中のREGN4018の濃度；
- 3) European Organisation for Research and Treatment of Cancer（EORTC）Quality of Life Questionnaire（QLQ）-C30 GHS/QoL scoreによって測定されるQoLのベースラインからの変化；
- 4) EORTC QLQ-C30身体機能スコアによって測定される身体機能のベースラインからの変化；
- 5) 卵巣症状および治療尺度（MOST）-腹部指標スコアによって測定される腹部症状のベースラインからの変化；
- 6) GHS/QoL、身体機能、および腹部症状の悪化までの時間；ならびに
- 7) EQ-5Dによって測定されるQoLのベースラインからの変化。

【0167】

（用量漸増期および用量拡大期の両方における）副次的評価項目は、以下のとおりである：

- 1) iRECISTに基づくORR、最良総合効果（BOR）、奏効期間（DOR）、疾患制御率、CR率、RECIST 1.1およびiRECISTに基づくPFS、およびCA-125応答；ならびに
- 2) REGN4018およびセンプリマブに対する抗薬物抗体の有無。

【0168】

手法および評価：

【0169】

REGN4018単独またはセンプリマブと組み合わせた安全性および忍容性を、AEの臨床評価ならびにバイタルサイン（体温、血圧、脈拍、および呼吸）、身体検査（完全および限定的）、12誘導心電図（ECG）、心エコー図、胸部x線、および標準血液学、化学、および尿検査を含む臨床検査評価を含む臨床評価の反復測定によってモニターする。

【0170】

初回投与（初回用量および／または後続用量）後のサイトカイン放出が、二重特異性抗体および類似の分子で観察されているため、本試験では特定の措置が実施された。これらの措置には、DL4以上（単剤療法）およびDL3以上（併用療法）での1mgの初回用量（サイクル1の1日目）、20mgの移行用量（サイクル1の8日目）、他の投与日での分割用量の選択肢、選択された用量投与での必要とされる監視、ならびにIRR/CRSの管理のための抗IL-6経路療法（例えば、トシリズマブ）およびコルチコステロイドの使用が含まれる。さらに、安全性モニタリングスキームを、トリガ事象の累積発生率（cTE）に基づく停止境界を含めることによって、拡大コホートにおいて実施する。TE（cTE）の推定累積発生率の片側80%信頼区間の下限が25%を除外する場合、所与のコホートへの登録を一時停止することができる。例えば、用量漸増コホートおよび拡大コホートの両方からの11人の患者のうち4人以上の患者がTEを経験した場合、登録は一時停止される。治験責任医師と安全性監視委員会との間の協議により、登録を再開することができるかどうか、および再開する場合、REGN4018の同じ用量またはより低い用量においてかが決定される。

【0171】

角膜および結膜上皮上のMUC16の発現のため、ベースラインの眼検査が必要である

。

【0172】

薬物濃度の測定およびA D A評価のための血液試料が採取される。

【0173】

血清および血漿試料を、追加のバイオマーカーの分析のために収集する。R E G N 4 0 1 8 治療曝露、臨床活性、または基礎疾患に関連する探索的予測バイオマーカーおよび薬力学バイオマーカーを、採取された血清、血漿、全血、体液、保存された腫瘍組織、試験中の腫瘍生検組織、腫瘍DNA（循環腫瘍DNAを含む）、および腫瘍RNA試料から調査する。

【0174】

抗腫瘍活性は、CTまたはMRIまたはPET-CT、ならびにパフォーマンス状態および血清CA-125レベルのモニタリングによって評価される。

【0175】

患者報告アウトカム（PRO）は、用量拡大期中に評価される。

【0176】

統計計画：

【0177】

用量漸増期：本試験の用量漸増期に対する正式な統計的仮説はない。この期の分析は、本質的に記述的および探索的である。用量漸増期については、DLT評価期間中に観察されたDLTを、用量コホート毎に要約する。

【0178】

用量拡大期：

【0179】

統計的仮説－各用量拡大コホート（第2期コホートの各無作為化群を含む）について、R E G N 4 0 1 8 単剤療法またはR E G N 4 0 1 8 / セミプリマブ併用療法で治療された患者は、25%（H1）以上のORRを達成すると仮定する。0.05の片側アルファ、85%の出力、および最適な設計を使用して、ステージ1の20人の患者を含む合計50人の患者が各コホートに必要とされる。各コホートについて独立して20人の患者がステージ1に登録されると、ステージ2は、ステージ1に登録された20人の患者内での治療の最初の6ヶ月間にわたって3人以上の応答者が観察された場合にのみ、登録を開始する。10%の帰無仮説は、50人の患者において9人以上の応答が観察された場合に拒否される。確認済みと未確認の応答を組み合わせ、ステージ2に進むために最小数の応答が達成されたかどうかを判断する。

【0180】

一次効果分析－所定の拡大コホートについては、応答者の数が、サイモンの2段階設計で特定した応答者の最小数以上である場合、治療は、有効で、さらなる調査の価値があるとみなされる。ORRを、95%信頼区間と共に、記述統計によって要約する。ORRについて評価できない安全性解析集団（SAF）の患者は、非応答者とみなされる。各拡大コホートについての有効性の統計解析を、実施し、別個に報告する、すなわち、各コホートからの有効性結果および臨床的結論は、他のコホートに影響せず、その逆も同様である。

。

【0181】

薬剤曝露、AE、臨床検査データ、およびバイタルサインを含む安全性観察および測定値を要約する。

【0182】

予備的結果：

再発性卵巣癌を有する患者におけるヒト初回投与第1期用量漸増試験のR E G N 4 0 1 8（ウバマタマブ）単剤療法部分からの初期安全性、薬物動態（PK）、および有効性データを以下に示す。

【0183】

10

20

30

40

50

癌抗原（CA）－125レベルの上昇を伴う再発性の、プラチナ系治療を経験した、および／または不耐性卵巣癌を有する患者に、REGN4018を0.1～800mgの用量範囲で、毎週静脈内（IV）投与した。用量漸増は、修正された3+3（4+3）設計に従った。用量制限毒性（DLT）期間は、28～35日であった。最初の二回の投与のステップアップ投与を利用して、薬物曝露の段階的増加を介したサイトカイン放出症候群（CRS）のリスクを軽減した。主要評価項目には、安全性およびPKが含まれた。副次的評価項目には、固形腫瘍の応答評価基準（RECIST）1.1による客観的奏効率（ORR）により判定された予備的有効性が含まれる。

【0184】

78人の患者が、試験の第1期部分でREGN4018単剤療法を受け、曝露期間の中央値は、12週間（範囲、0.4～117）であった。組織学に基づき、78名の患者には、71名（91.0%）の高グレードの漿液、2名（2.6%）の明細胞、1名（1.3%）の高グレードの類内膜、1名（1.3%）の低グレードの漿液、および3名（3.8%）のその他が含まれた。CA－125ベースライン血清レベルは、107～1000の範囲であり、中央値は709U/mLであった。78人の患者のうち、26人（33%）が内臓転移を有し、30人（58%）が>75%の腫瘍細胞を有し、2+ベースラインMUC16 IHC染色を有した。前治療数の中央値は4.5（範囲、1～17）であった。最も一般的な治療中に発生した有害事象（TEAE）は、CRS（73.1%、すべてグレード1～2）および疼痛（87.2%、ほとんどがグレード1～2）であり、これらは、主に当初のステップアップ投与の1～2週目の間に発生した。最も一般的なグレード≥3のTEAEは、貧血（23.1%）および腹部疼痛（19.2%）であった。20～800mgの用量で客観的応答が観察された（n=50）。≥1の全用量（n=42）を受けている者のORRは、14.3%（95% CI 5.4～28.5）であり、疾患制御率（DCR）は、57.1%（41.0～72.3）であった。ベースラインの内臓転移を伴わないこれらのサブセット（n=29）では、ORRは20.7%（8.0～39.7）およびDCRは72.4%（52.8～87.3）であった。応答期間中央値は12.2ヶ月であった。2+のベースラインMUC16免疫組織化学染色を有する腫瘍細胞が>75%であり、≥20mgの≥1用量を受けた患者（n=13）の探索的解析は、30.8%（9.1～61.4）のORR、およびDCR61.5%（31.6～86.1）を示した。2+のベースラインMUC16 IHC染色を有する腫瘍細胞が>75%である患者の46.2%が、CA－125応答を示した。血清中ウバマタマブ濃度は、用量比例的に増加し、線形の薬物動態を示した。20～800mgの間の安全性または有効性において、決定的な用量応答関係は観察されなかった。

【0185】

REGN4018安全性プロファイルは許容され、広範な用量範囲にわたって卵巣癌を有するこの重度に前治療された集団における持続的な応答が示された。この解析からのデータは、再発性の、プラチナ系治療を経験した卵巣癌におけるREGN4018のさらなる調査を支持する。

【0186】

第2期では、進行性のプラチナ耐性OCおよび血清CA－125の上昇を有する最大150人の患者を、三つのIV群（1:1:1）に無作為化し、ウバマタマブ（REGN4018）250mgのIV Q3Wもしくは800mgのIV Q3Wを単剤療法として、またはセンプリマブ350mgのQ3Wとの併用療法としてウバマタマブ250mgのIV Q3Wの投与を行う。すべての群は、Q3W投与に進む前のサイトカイン放出症候群のリスクを制限するために、ウバマタマブ（1週目に1mg、2週目に20mg、ならびに3週目および4週目に全用量）の毎週のステップアップ投与を含む。拡大コホートは、最初の20人の患者の後に中間解析を伴うサイモンの2段階試験設計を使用する。≥3の部分奏効またはそれよりも良好な任意の群は、50人の患者に拡大される。

【0187】

この用量拡大期では、主要評価項目は、RECIST 1.1基準によって定義される

各群に対する客観的奏効率である。副次的評価項目には、奏効期間および無増悪生存期間の評価、ならびに安全性および薬物動態のさらなる評価が含まれる。探索的評価項目には、応答の予測因子としてのベースラインの腫瘍MUC16免疫組織化学的発現および他のバイオマーカーの評価が含まれる。ウバマタマブの生活の質および身体機能への影響も評価する。

【0188】

一部の事例では、250mgの用量は、二つの分画に分割されてもよく、第一の分画は50mgを含み、第二の分画は200mgを含む。

【0189】

実施例10：再発性卵巣癌を有する患者におけるREGN4018の試験からの翻訳的所見

実施例9に詳述した第1期試験において、卵巣癌を有する患者に、ウバマタマブを単剤療法（78pts）として、または抗PD-1センプリマブ（27pts）と組み合わせて、静脈内投与を行った。第1週（W）の第一のステップアップ用量を、インビトロサイトカインアッセイ結果に基づいて選択した。マウス腫瘍退縮モデルは、腫瘍成長を抑制するための有効濃度を示唆した。サルの薬物動態（PK）データを測定して、薬物曝露を予測した。CD3二重特異性抗体+センプリマブのモデルを使用して、センプリマブ+ウバマタマブの投与の順序を設定した。用量漸増からの前臨床および臨床PK、サイトカイン、および有効性データを統合して、用量拡大におけるレジメンを決定した。集団PKモデルにより対象のレジメンをシミュレーションした。

【0190】

インビトロデータは、0.01mg/Lおよび ≥ 0.1 mg/Lの濃度で、最小および最大サイトカイン放出を示した。データは、0.1~1mgの範囲でW1ステップアップ用量を支持し、0.02~0.3mg/Lの観察されたCmaxをもたらした。患者のすべてのコホートにおけるW1でのCmax値は、測定から良好に予測された（ $\pm 30\%$ 以内）。マウス腫瘍退縮モデルからのPKデータは、 ≥ 20 mgの有効用量でCmin > 4 mg/Lと一致する有効濃度（0.5~50mg/L）を示した。PKシミュレーションは、拡大において ≥ 250 mg Q3Wの試験を支持した。モデルが予測したように、ウバマタマブ単剤療法の導入後にセンプリマブをウバマタマブと組み合わせた場合、有意なサイトカイン放出は発生しなかった。

【0191】

本発明は、本明細書に記載される具体的な実施形態によって範囲を限定されるものではない。実際には、本明細書に記載されるものに加えて本発明の様々な修正が、前述の記載から当業者に明らかとなるであろう。そのような修正は、添付される特許請求の範囲内にあることを意図している。

【表7】

表7：ST. 26形式の配列表から除外された配列

配列番号	配列
12	TAS
39	AAS

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1】

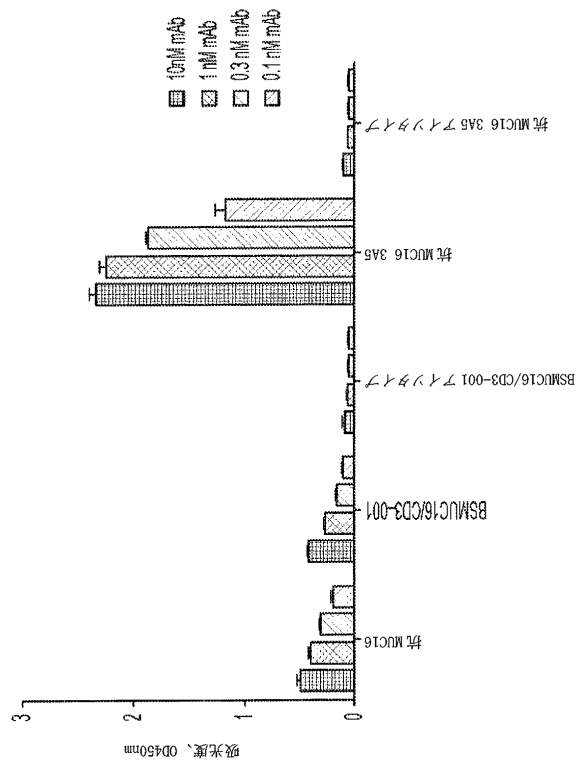


図 1

【図 2】

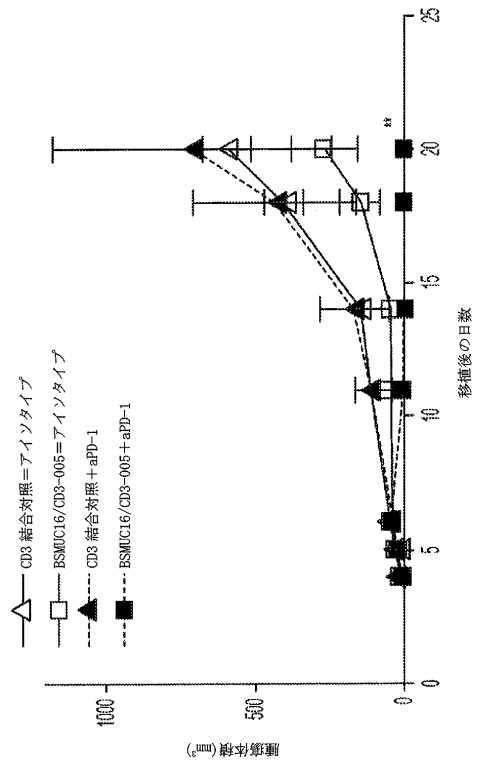


図 2

【図 3】

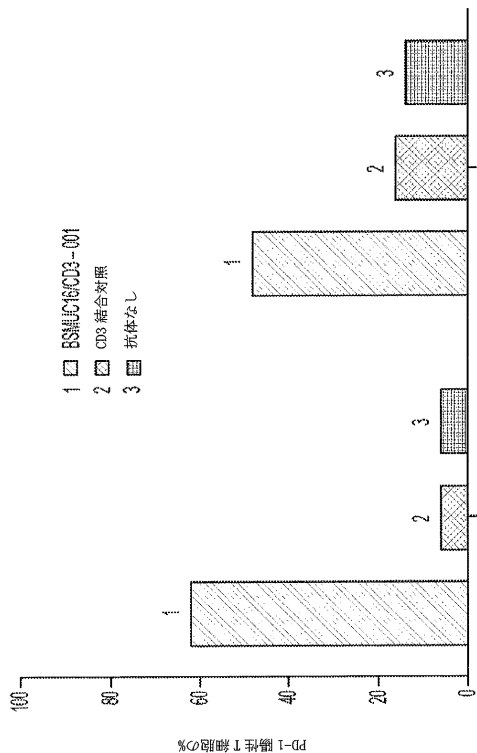


図 3

【図 4】

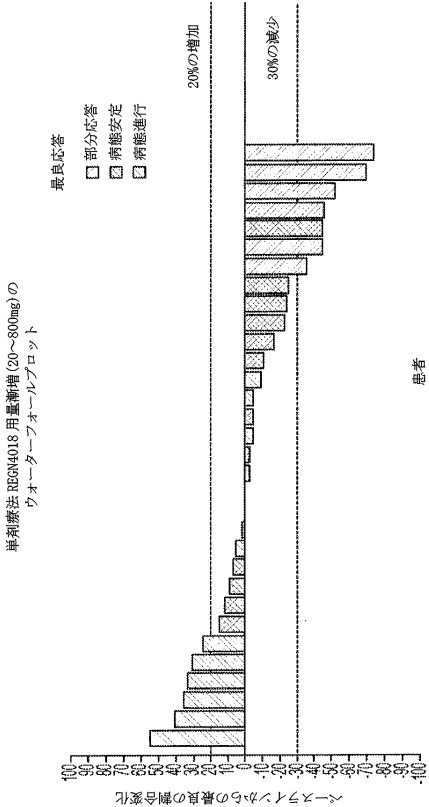


図 4

【図 5】

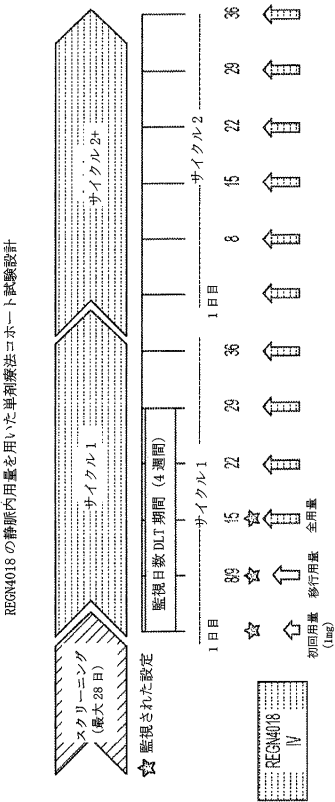


図 5

【図 6】

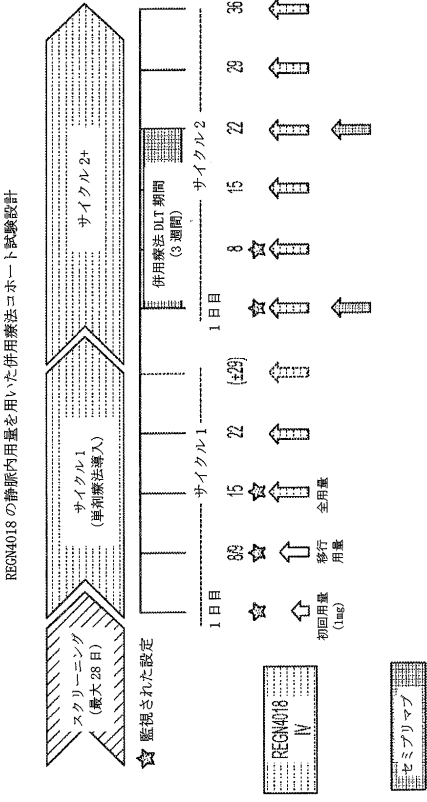


図 6

【図 7】

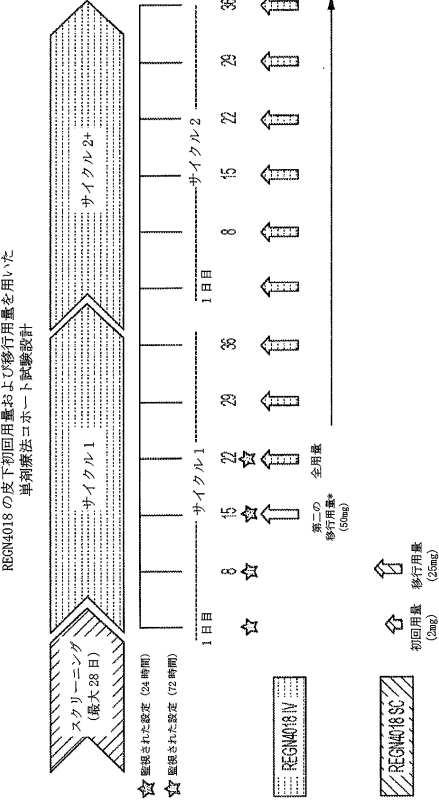


図 7

【図 8】

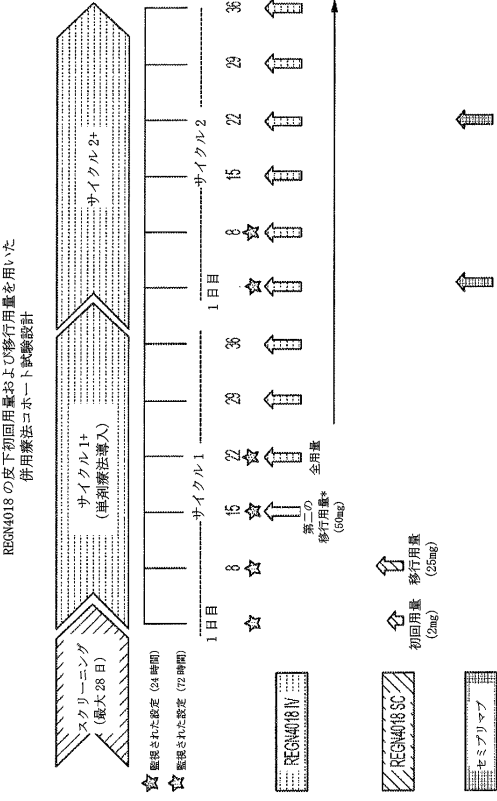


図 8

10

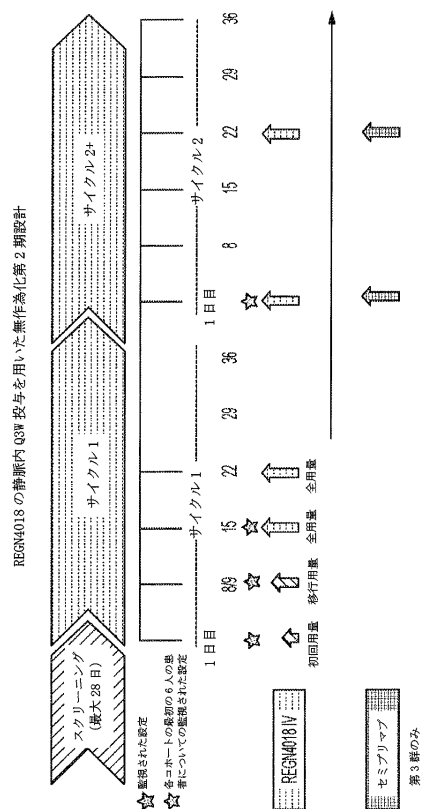
20

30

40

50

【圖 9】



6 ☒

【配列表】

2025502061000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/010326

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	C07K16/28	C07K16/30
	A61K39/395	A61P35/00
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2018/067331 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 12 April 2018 (2018-04-12) Paragraph 6, example 8 -----	1
X	WO 2019/246356 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 26 December 2019 (2019-12-26) Paragraph 9, examples 1, 3 Paragraph 52 ----- -/--	1-49
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
31 March 2023		06/06/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Sitch, David

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/010326

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Winner Et Al: "A phase I/II, multicenter, open-label study of REGN5668 (mucin [MUC]16 x CD28 bispecific antibody [bsAb]) with cemiplimab (programmed death [PD]-1 Ab) or REGN4018 (MUC16 x CD3 bsAb) in recurrent ovarian cancer (rOVCA). ; Journal of Clinical Oncology", Journal of Clinical Oncology, 39, no15, suppl., 28 May 2021 (2021-05-28), XP093036334, Retrieved from the Internet: URL:https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.TPS5602 [retrieved on 2023-03-30] the whole document -----	1-49
X	Anonymous: "Study of REGN4018 Administered Alone or in Combination With Cemiplimab in Adult Patients With Recurrent Ovarian Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov identifier NCT03564340", , 20 June 2018 (2018-06-20), pages 1-20, XP093036328, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03564340 [retrieved on 2023-03-30] the whole document -----	1-49
X,P	VAN NIEUWENHUYSEN E. ET AL: "523MO Ubamatamab (REGN4018, MUC16xCD3 bispecific antibody) monotherapy in patients with recurrent ovarian cancer (OC): Phase I dose-escalation analysis", ANNALS OF ONCOLOGY, vol. 33, 1 September 2022 (2022-09-01), page S784, XP093036535, NL ISSN: 0923-7534, DOI: 10.1016/j.annonc.2022.07.651 Retrieved from the Internet: URL:https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)02502-9/pdf> the whole document ----- -/--	1-49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/010326

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LIU J.F. ET AL: "Phase I study of safety and pharmacokinetics of the anti-MUC16 antibody-drug conjugate DMUC5754A in patients with platinum-resistant ovarian cancer or unresectable pancreatic cancer", ANNALS OF ONCOLOGY, vol. 27, no. 11, 1 November 2016 (2016-11-01), pages 2124-2130, XP093002159, NL ISSN: 0923-7534, DOI: 10.1093/annonc/mdw401 -----	1
A	YEKU OLADAPO O. ET AL: "Bispecific T-Cell Engaging Antibodies Against MUC16 Demonstrate Efficacy Against Ovarian Cancer in Monotherapy and in Combination With PD-1 and VEGF Inhibition", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 12, 14 April 2021 (2021-04-14), page 663379, XP093036309, DOI: 10.3389/fimmu.2021.663379 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8079980/pdf/fimmu-12-663379.pdf>abstract -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2023/010326
Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)		
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)). ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/010326**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-49 (partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2023/010326

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-49 (partially)

A method of treating a MUC16-expressing cancer in a subject in need thereof, comprising administering to the subject a bispecific antibody comprising a first antigen-binding domain that specifically binds mucin 16 (MUC16) on a target tumor cell, and a second antigen-binding domain that specifically binds human CD3 on a T cell, wherein the bispecific antibody is administered to the subject at a dose of at least 1 mg, and wherein the subject is resistant to, or has been previously treated with, a platinum based chemotherapy

2. claims: 1-49 (partially)

A method of treating a MUC16-expressing cancer in a subject in need thereof, comprising administering to the subject a bispecific antibody comprising a first antigen-binding domain that specifically binds mucin 16 (MUC16) on a target tumor cell, and a second antigen-binding domain that specifically binds human CD3 on a T cell, wherein the bispecific antibody is administered to the subject at a dose of at least 1 mg, and wherein a second therapeutic agent or regimen is used

3. claims: 1-49 (partially)

A method of treating a MUC16-expressing cancer in a subject in need thereof, comprising administering to the subject a bispecific antibody comprising a first antigen-binding domain that specifically binds mucin 16 (MUC16) on a target tumor cell, and a second antigen-binding domain that specifically binds human CD3 on a T cell, wherein the bispecific antibody is administered to the subject at a dose of at least 1 mg, and wherein a dosage regimen comprising a split initial dose is used, or wherein antibody is given at 10-1000mg weekly, or at 10-1000mg every three weeks

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/010326

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018067331 A1	12-04-2018	AU 2017331363 A1	11-04-2019
		AU 2017339711 A1	11-04-2019
		BR 112019005670 A2	04-06-2019
		BR 112019005697 A2	16-07-2019
		CA 3037536 A1	29-03-2018
		CA 3037738 A1	12-04-2018
		CL 2019000712 A1	31-05-2019
		CL 2019000726 A1	31-05-2019
		CL 2021002645 A1	29-04-2022
		CN 110036032 A	19-07-2019
		CN 110214026 A	06-09-2019
		CO 2019003967 A2	10-05-2019
		DK 3515946 T3	01-08-2022
		EP 3515487 A1	31-07-2019
		EP 3515946 A1	31-07-2019
		ES 2925563 T3	18-10-2022
		HR P20221202 T1	09-12-2022
		HU E059761 T2	28-12-2022
		IL 265309 A	30-05-2019
		IL 265369 A	30-05-2019
		JP 7066690 B2	13-05-2022
		JP 7066691 B2	13-05-2022
		JP 2019533807 A	21-11-2019
		JP 2019536740 A	19-12-2019
		KR 20190067808 A	17-06-2019
		KR 20190073377 A	26-06-2019
		LT 3515946 T	10-08-2022
		MA 46277 A	31-07-2019
		PH 12019500550 A1	27-05-2019
		PH 12019500604 A1	03-06-2019
		PL 3515946 T3	07-11-2022
		PT 3515946 T	04-08-2022
		RS 63660 B1	30-11-2022
		SI 3515946 T1	30-09-2022
		US 2018112001 A1	26-04-2018
		US 2018118848 A1	03-05-2018
		US 2020317810 A1	08-10-2020
		WO 2018058003 A1	29-03-2018
		WO 2018067331 A1	12-04-2018
WO 2019246356 A1	26-12-2019	AU 2019290170 A1	07-01-2021
		BR 112020025476 A2	16-03-2021
		CA 3103887 A1	26-12-2019
		CL 2020003256 A1	30-04-2021
		CN 112312970 A	02-02-2021
		EA 202190088 A1	22-03-2021
		EP 3810281 A1	28-04-2021
		IL 279251 A	31-01-2021
		JP 2021528423 A	21-10-2021
		KR 20210023981 A	04-03-2021
		MA 52962 A	28-04-2021
		PH 12020552115 A1	02-08-2021
		SG 11202012137U A	28-01-2021
		TW 202005985 A	01-02-2020
		US 2019389966 A1	26-12-2019
		WO 2019246356 A1	26-12-2019

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		
		C 0 7 K	16/46		Z N A
		C 0 7 K	16/28		
(32)優先日	令和4年8月2日(2022.8.2)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/421,541				
(32)優先日	令和4年11月1日(2022.11.1)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW ル・リバー・ロード 7 7 7 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド				
(72)発明者	トレイシー・ミシェル・ロウランズ アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン・オールド・ソー・ミル・リバー・ロード 7 7 7 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド				
(72)発明者	ブリシラ・ハーモント・バルセロス・ゴンサルヴェス アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン・オールド・ソー・ミル・リバー・ロード 7 7 7 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド				
(72)発明者	トーマス・スミス・アルドリック アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン・オールド・ソー・ミル・リバー・ロード 7 7 7 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド				
(72)発明者	ミン・デウ アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン・オールド・ソー・ミル・リバー・ロード 7 7 7 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド				
F ターム (参考)	4C084 AA19 MA02 NA05 ZA811 ZA812 ZB261 ZB262 ZC412 ZC75 4C085 AA13 AA14 BB11 BB36 CC01 DD62 EE01 GG02 GG04 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 FA72 FA74				