

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6839772号
(P6839772)

(45) 発行日 令和3年3月10日 (2021.3.10)

(24) 登録日 令和3年2月17日 (2021.2.17)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 K 16/28 (2006.01)

C O 7 K 16/28 Z N A

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 P 21/08

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 12 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-551495 (P2019-551495)
 (86) (22) 出願日 平成29年12月4日 (2017.12.4)
 (65) 公表番号 特表2020-504171 (P2020-504171A)
 (43) 公表日 令和2年2月6日 (2020.2.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/064480
 (87) 国際公開番号 WO2018/106588
 (87) 国際公開日 平成30年6月14日 (2018.6.14)
 審査請求日 令和1年6月7日 (2019.6.7)
 (31) 優先権主張番号 62/431,480
 (32) 優先日 平成28年12月8日 (2016.12.8)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 594197872
 イーライ リリー アンド カンパニー
 アメリカ合衆国 インディアナ州 462
 85 インディアナポリス リリー コー
 ポレイト センター (番地なし)
 (73) 特許権者 519206830
 イノベント・バイオロジーズ・(スージョ
 ウ)・カンパニー・リミテッド
 INNOVENT BIOLOGICS
 (SUZHOU) CO., LTD.
 中華人民共和国215123ジャンスー、
 スージョウ、スージョウ・インダストリアル・パーク、ドンピン・ストリート168
 番

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗PD-1抗体との組み合わせのための抗Tim-3抗体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む組成物であって、前記抗ヒトTim-3抗体が、配列番号2のアミノ酸配列を有するHC DR 1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHC DR 2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHC DR 3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLC DR 1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLC DR 2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLC DR 3を含む、組成物。

【請求項2】

前記抗ヒトTim-3抗体が、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項1に記載の使用のための組成物。

【請求項3】

前記抗ヒトTim-3抗体が、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、請求項2に記載の使用のための組成物。

【請求項4】

前記抗ヒトPD-1抗体が、ニボルマブまたはペンブロリズマブである、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項5】

前記抗ヒトPD-1抗体が、配列番号16のアミノ酸配列を有するHC DR 1、配列番

10

20

号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項6】

前記抗ヒトPD-1抗体が、配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項5に記載の使用のための組成物。

【請求項7】

前記抗ヒトPD-1抗体が、配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、請求項6に記載の使用のための組成物。

10

【請求項8】

前記抗ヒトPD-1抗体が、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、請求項6に記載の使用のための組成物。

【請求項9】

前記癌が、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である、請求項1～8のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項10】

前記肺癌が非小細胞肺癌である、請求項9に記載の使用のための組成物。

20

【請求項11】

前記抗ヒトTim-3抗体および前記抗ヒトPD-1抗体のうちの少なくとも1つが、電離放射線と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される、請求項1～10のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項12】

前記抗ヒトTim-3抗体および前記抗ヒトPD-1抗体のうちの少なくとも1つが、1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される、請求項1～11のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

本発明は、医薬の分野に属する。特に、本発明は、ヒトPD-1（配列番号34）に対する抗体と組み合わせることができるヒトT細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有タンパク質-3（Tim-3）（配列番号1）に対する抗体、そのような抗ヒトTim-3抗体または抗ヒトPD-1抗体を含む組成物、ならびに固形腫瘍および血液腫瘍の治療のために、単独でまたは化学療法、電離放射線、および他の癌療法とのさらなる組み合わせで、そのような抗ヒトTim-3抗体を抗ヒトPD-1抗体と組み合わせて使用方法に関する。

【背景技術】

【0002】

40

腫瘍細胞は、そのいくつかが免疫チェックポイント経路の操作を含む、複数の作用機序によって免疫系による検出および排除を回避する。免疫チェックポイント経路は自己寛容の維持およびT細胞活性化の調節において使用されるが、癌細胞はこれらの経路を操作して腫瘍の生存を延長し得る。PD-1/ヒトプログラム細胞死1リガンド1（PD-L1）経路はそのような免疫チェックポイントの1つである。ヒトPD-1（配列番号34）はT細胞上で発現され、PD-1へのPD-L1またはPD-L2の結合はT細胞増殖およびサイトカイン産生を阻害することが示されている。さらに、一部の腫瘍はPD-L1およびPD-L2を発現することが既知であり、そのような発現は腫瘍内免疫応答を阻害するのに寄与し得る。

【0003】

50

PD-1/PD-L1経路に加えて、腫瘍抗原を認識するT細胞はまた、Tim-3などの他のチェックポイント受容体を発現することができる。特に、Tim-3を発現するT細胞は、細胞傷害性機能、エフェクターサイトカイン産生、および増殖の機能障害を特徴とする疲弊表現型を示し得る。これに関して、抗Tim-3抗体は、いくつかのマウス癌モデルにおいて抗腫瘍免疫を回復し得ることが示されている。さらに、抗PD-1処置に対する適応耐性を示す一部の患者はまた、それらのT細胞においてTim-3のアップレギュレーションを示すことが示されている。

【0004】

ヒトTim-3に対する抗体は既知である。ヒトTim-3に対するヒト化抗体は、WO 015117002に記載されている。抗ヒトTim-3抗体であるMBG453は、現在、ヒト臨床試験において、単剤としておよび抗ヒトPD-1抗体と組み合わせて試験されている。しかしながら、Tim-3を標的とする抗体はヒトでの治療的使用について認可されておらず、抗ヒトTim-3抗体が抗ヒトPD-1抗体と組み合わせた場合にヒト腫瘍に対する有効性を示すことも示されていない。したがって、抗ヒトPD-1抗体と組み合わせることができる抗ヒトTim-3抗体、ならびにヒトの癌を処置するための他の治療法が依然として必要とされている。

【0005】

Tim-3（配列番号1）は、ガレクチン-9（配列番号15）、ホスファチジルセリン（C₁₃H₂₄NO₁₀P）、高移動度群ボックス1（HMGB1）、および癌胎児性抗原関連細胞接着分子1（CEACAM1）（配列番号14）と相互作用することが示されている。上述のTim-3リガンドの全てがTim-3の独占的な（exclusive）リガンドではないので、これらのリガンドがTim-3とは無関係に免疫系を調節することができることから、上記リガンドの活性を区別して阻止する治療用抗Tim-3抗体を提供することが望ましい。そのような戦略は、Tim-3活性をより特異的に調節するための代替的な方法を提供することができ、必要に応じた免疫腫瘍学に基づく患者のための治療法を可能にする。さらに、そのような抗Tim-3抗体は、抗ヒトPD-1抗体との併用療法の選択肢を提供することができる。したがって、ヒトTim-3と結合し、Tim-3といくつかのTim-3のリガンドとの相互作用を阻害するが他のものとの相互作用は阻害せず、抗ヒトPD-1抗体と組み合わせることができる抗体を提供する必要性もまた依然として存在している。

【発明の概要】

【0006】

本明細書に記載の抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）がヒトガレクチン-9（配列番号15）およびホスファチジルセリンに結合することを阻止することができるが、同時に、ヒトTim-3およびヒトCEACAM1（配列番号14）の結合を阻止しない。驚くべきことに、本発明の抗Tim-3抗体を抗ヒトPD-1抗体と組み合わせて、腫瘍排除を増強することができる。驚くべきことに、本明細書に記載の抗Tim-3抗体は、ヒトTim-3とホスファチジルセリン（C₁₃H₂₄NO₁₀P）およびガレクチン-9（配列番号15）との相互作用を阻止するが、ヒトTim-3とCEACAM1（配列番号14）との相互作用は阻止せず、抗ヒトPD-1抗体と組み合わせて癌を処置することができる。

【0007】

癌免疫療法のためにPD-1（配列番号34）を標的とする抗体は一部の癌に対して有効であることが証明されているが、一部の癌は経時的にPD-1療法に対する感受性が低くなるか、または全く反応しない。いくつかの実施形態において、本発明は、抗ヒトPD-1抗体療法の下で、進行したまたは進行中の患者に投与することができる抗ヒトTim-3抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、抗ヒトPD-1抗体療法を以前に受けたことがない患者に抗ヒトPD-1抗体と組み合わせて投与することができる抗ヒトTim-3抗体を提供する。

【0008】

本発明は、抗ヒトPD-1抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせるための、それぞれ配列番号2、3、4、5、6、および7のアミノ酸配列からなるHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、およびLCDR3、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに／または配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む。

【0009】

既知の抗ヒトPD-1抗体の非限定的な例には、PDR001（US2015/0210769；CAS登録番号1859072-53-9に記載されている）、MED10680、REGN2810、BGB-A317、ニボルマブ（CAS登録番号946414-94-4、ニボルマブは配列番号30のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号31のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む）、およびペンブロリズマブ（CAS登録番号137-4853-91-4、ペンブロリズマブは配列番号32のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号33のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む）が含まれる。さらに、上記の既知の抗ヒトPD-1抗体は、様々な細胞株で発現され、様々な製造工程により生産することができ、結果としていくつかの違いを示す可能性がある。

【0010】

他の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体の非限定的な例には、以下の（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの少なくとも1つを含む抗ヒトPD-1抗体が含まれる。

【0011】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む。

【0012】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0013】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0014】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列

番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

【0015】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

10

【0016】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

20

【0017】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

30

【0018】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

40

【0019】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、

50

有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

10

【0020】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0021】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

20

【0022】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌の治療方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

30

【0023】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌の治療方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌の治療方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌の治療方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および

40

50

50

に、有効量の本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌の治療方法であって、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肝臓癌である。

【0024】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌の治療方法であって、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトT i m－3抗体および抗ヒトPD－1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および／または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

10

【0025】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌の治療方法であって、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD－1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHC DR 1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR 2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR 3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLC DR 1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR 2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLC DR 3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトT i m－3抗体および抗ヒトPD－1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および／または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

20

【0026】

抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体であって、ヒトT i m－3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHC DR 1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHC DR 2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHC DR 3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLC DR 1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLC DR 2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLC DR 3を含む。

30

【0027】

抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

40

【0028】

抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0029】

抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHC DR 1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHC DR 2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHC DR 3、配列番号5のアミノ

50

酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

【0030】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

10

【0031】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

【0032】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

20

30

【0033】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

40

【0034】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ

50

酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、(b)配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、(c)配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または(d)配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【 0 0 3 5 】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【 0 0 3 6 】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【 0 0 3 7 】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

【 0 0 3 8 】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肺癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、肺癌は非小細胞肺癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は頭頸部癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は大腸癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選

択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は膵臓癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は胃癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は腎臓癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は膀胱癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は乳癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は卵巣癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は食道癌である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は軟部組織肉腫である。抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肝臓癌である。

【0039】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトT i m-3抗体および抗ヒトPD-1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および／または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【0040】

抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHC DR 1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR 2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR 3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLC DR 1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR 2、および配列番号21のアミノ

酸配列を有する L C D R 3、(b) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号 23 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、(c) 配列番号 24 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 26 のアミノ酸配列を有する軽鎖、または (d) 配列番号 25 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 26 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒト T i m-3 抗体および抗ヒト P D-1 抗体のうちの少なくとも 1 つは、電離放射線および／または 1 つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【0041】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m-3 (配列番号 1) 抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒト P D-1 (配列番号 34) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒト T i m-3 抗体は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する H C D R 1、配列番号 3 のアミノ酸配列を有する H C D R 2、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する H C D R 3、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する L C D R 1、配列番号 6 のアミノ酸配列を有する L C D R 2、および配列番号 7 のアミノ酸配列を有する L C D R 3 を含む。

10

【0042】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m-3 (配列番号 1) 抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒト P D-1 (配列番号 34) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒト T i m-3 抗体は、配列番号 8 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号 9 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

20

【0043】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m-3 (配列番号 1) 抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒト P D-1 (配列番号 34) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒト T i m-3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0044】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m-3 (配列番号 1) 抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒト P D-1 (配列番号 34) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒト T i m-3 抗体は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する H C D R 1、配列番号 3 のアミノ酸配列を有する H C D R 2、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する H C D R 3、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する L C D R 1、配列番号 6 のアミノ酸配列を有する L C D R 2、および配列番号 7 のアミノ酸配列を有する L C D R 3 を含み、抗ヒト P D-1 抗体は、P D R 0 0 1、R E G N 2 8 1 0、M E D I 0 6 8 0、B G B-A 3 1 7、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

30

【0045】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m-3 (配列番号 1) 抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒト P D-1 (配列番号 34) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒト T i m-3 抗体は、配列番号 8 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号 9 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒト P D-1 抗体は、P D R 0 0 1、R E G N 2 8 1 0、M E D I 0 6 8 0、B G B-A 3 1 7、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

40

【0046】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m-3 (配列番号 1) 抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒト P D-1 (配列番号 34) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒト T i m-3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒト P D-1 抗体は、P D R 0 0 1、R E G N 2 8 1 0、M E D I 0 6 8 0、B G B-A 3 1 7、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

【0047】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m-3 (配列番号 1) 抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒト P D-1 (配列番号 34) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に

50

投与され、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するH C D R 1、配列番号3のアミノ酸配列を有するH C D R 2、配列番号4のアミノ酸配列を有するH C D R 3、配列番号5のアミノ酸配列を有するL C D R 1、配列番号6のアミノ酸配列を有するL C D R 2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するL C D R 3を含み、抗ヒトP D－1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するH C D R 1、配列番号17のアミノ酸配列を有するH C D R 2、配列番号18のアミノ酸配列を有するH C D R 3、配列番号19のアミノ酸配列を有するL C D R 1、配列番号20のアミノ酸配列を有するL C D R 2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するL C D R 3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

10

【0048】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトP D－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトP D－1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するH C D R 1、配列番号17のアミノ酸配列を有するH C D R 2、配列番号18のアミノ酸配列を有するH C D R 3、配列番号19のアミノ酸配列を有するL C D R 1、配列番号20のアミノ酸配列を有するL C D R 2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するL C D R 3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

20

【0049】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトP D－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトP D－1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するH C D R 1、配列番号17のアミノ酸配列を有するH C D R 2、配列番号18のアミノ酸配列を有するH C D R 3、配列番号19のアミノ酸配列を有するL C D R 1、配列番号20のアミノ酸配列を有するL C D R 2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するL C D R 3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

30

【0050】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトP D－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトP D－1抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

40

【0051】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトP D－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトP D－1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

50

【0052】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

【0053】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肺癌である。1. 癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、肺癌は非小細胞肺癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は頭頸部癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は大腸癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は膵臓癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は胃癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は腎臓癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は膀胱癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択によ

10

20

30

40

50

り、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は前立腺癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は乳癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は卵巣癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は食道癌である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は軟部組織肉腫である。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肝臓癌である。

10

20

【0054】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトT i m－3抗体および抗ヒトPD－1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および／または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【0055】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトT i m－3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD－1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHC DR 1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR 2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR 3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLC DR 1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR 2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLC DR 3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトT i m－3抗体および抗ヒトPD－1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および／または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

30

40

【0056】

本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キット。本発明の抗ヒトT i m－3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD－1（配列番号34）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵

50

巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

【0057】

本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0058】

本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

【0059】

本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHC DR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLC DR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLC DR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0060】

本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0061】

本発明の抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒトT i m-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0062】

癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトT i m-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトT i m-3の結合を阻止する（block）が、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトT i m-3の結合は阻止しない。癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトT i m-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトT i m-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトT i m-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトT i m-3の結合は阻止せず、抗ヒトT i m-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトT i m-3の

10

20

30

40

50

結合を阻止する。

【0063】

癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトTim-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトTim-3の結合を阻止し、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

10

【0064】

癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトTim-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトTim-3の結合を阻止し、抗ヒトPD-1抗体は、PDR001、REGN2810、MED10680、BGB-A317、ニボルマブ、またはペンブロリズマブである。

20

【0065】

癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または（d）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトTim-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトTim-3の結合を阻止し、抗ヒトPD-1抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号2

30

40

50

1のアミノ酸配列を有するLCDR3、(b)配列番号22のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号23のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、(c)配列番号24のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖、または(d)配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0066】

癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62～65（両端を含む）、72、111、および113～118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触する。癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62～65（両端を含む）、72、111、および113～118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触し、抗ヒトTim-3抗体は、上記残基のうちの少なくとも2個、好ましくは上記残基のうちの少なくとも3個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも4個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも5個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも6個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも7個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも8個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも9個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも10個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも11個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも12個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも13個、またはより好ましくは上記残基の全てと接触する。癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62～65（両端を含む）、72、111、および113～118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触し、抗ヒトTim-3抗体は、上記残基のうちの少なくとも2個、好ましくは上記残基のうちの少なくとも3個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも4個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも5個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも6個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも7個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも8個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも9個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも10個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも11個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも12個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも13個、またはより好ましくは上記残基の全てと接触し、抗ヒトTim-3抗体は、以下のうちの少なくとも1つの残基：56～61（両端を含む）、107、119～120（両端を含む）、および122とさらに接触する。癌の治療において、抗ヒトPD-1（配列番号34）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62～65（両端を含む）、72、111、および113～118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触し、抗ヒトTim-3抗体は、上記残基のうちの少なくとも2個、好ましくは上記残基のうちの少なくとも3個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも4個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも5個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも6個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも7個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも8個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも9個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも10個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも11個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも12個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも13個、またはより好ましくは上記残基の全てと接触し、抗ヒトTim-3抗体は、以下のうちの少なくとも1つの残基：56～61（両端を含む）、107、119～120（両端を含む）、および122とさらに接触し

10

20

30

40

50

【 0 0 6 7 】

20

【 0 0 6 8 】

30

【 0 0 6 9 】

40

【 0 0 7 0 】

本発明の抗体は、技術操作された天然に存在しないポリペプチド複合体である。本発明のDNA分子は、本発明の抗体中のポリペプチドのうちの1つのアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む、天然に存在しないDNA分子である。

【 0 0 7 1 】

50

域（「HC CR」）からなる。各軽鎖は、LC VRおよび軽鎖定常領域（「LC CR」）からなる。ある特定の生物系で発現されるとき、天然のヒトFc配列を有する抗体はFc領域においてグリコシル化される。典型的には、グリコシル化は、高度に保存されたN-グリコシル化部位の抗体のFc領域に生じる。N-グリカンは、典型的にはアスパラギンに結合する。抗体はまた、他の位置でグリコシル化されていてもよい。

【0072】

任意選択により、本明細書に記載のある特定の抗Tim-3抗体は、ヒトIgG1に由来するFc部分を含む。IgG1は、Fcガンマ受容体ファミリー（FcγR）のタンパク質、およびC1qに結合することが周知である。これらの受容体との相互作用は、抗体依存性細胞傷害（ADCC）および補体依存性細胞傷害（CDC）を誘導し得る。したがって、任意選択により、本明細書に記載のある特定の抗Tim-3抗体は、Fcエフェクター機能を欠失する完全ヒトモノクローナル抗体（IgG1、Fc-ヌル（Fc-null））である。Fc-ヌルIgG1抗体を達成するために、残基の選択的突然変異誘発がそのIgG1 Fc領域のCH2領域内で必要である。アミノ酸置換L234A、L235E、およびG237AをIgG1 Fcに導入してFcγRI、FcγRIIa、およびFcγRIIIへの結合を減少させ、置換A330SおよびP331Sを導入してC1q媒介性補体固定を減少させる。ヒトに投与したときの免疫応答の潜在的な誘導を減少するために、ある特定のアミノ酸は、抗体生殖細胞系配列と適合させるために復帰突然変異を必要とし得る。

【0073】

任意選択により、本発明の抗ヒトPD-1抗体は、Fc受容体媒介炎症メカニズムに関与する能力またはエフェクター機能の低下をもたらす補体を活性化する能力の低下のために、ヒトIgG4 Fc領域に由来するFc部分を含み得る。本発明のある特定の抗ヒトPD-1抗体は、228位においてセリンからプロリンへの変異を有するIgG4-Fc部分を含有する。さらに、本発明のある特定の抗ヒトPD-1抗体は、IgG4-PAA Fc部分を含有する。IgG4-PAA Fc部分は、228位においてセリンからプロリンへの変異、234位においてフェニルアラニンからアラニンへの変異、および235位においてロイシンからアラニンへの変異を有する。S228P変異は、半抗体形成（IgG4抗体中の半分子の動的交換現象）を防ぐヒンジ変異である。F234AおよびL235Aの変異は、すでに低いヒトIgG4アイソタイプのエフェクター機能をさらに低下させる。さらに、本発明のある特定の抗ヒトPD-1抗体は、重鎖からC末端リジンが除去された（des-Lys）、IgG4-PAA Fc部分を含有する。

【0074】

HC VR領域およびLC VR領域は、フレームワーク領域（「FR」）と呼ばれるより保存されている領域とともに点在する、相補性決定領域（「CDR」）と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。各LC VRおよびHC VRは、以下のFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順でアミノ末端からカルボキシ末端へと配置している3つのCDRおよび4つのFRからなる。本明細書では、重鎖の3つのCDRを「HCDR1、HCDR2、およびHCDR3」と称し、軽鎖の3つのCDRを「LCDR1、LCDR2、およびLCDR3」と称する。CDRは、抗原と特異的相互作用を形成する残基の大部分を含有する。現在、配列表示に使用される抗体のための3つのCDR帰属（assignment）システムがある。NorthのCDRの定義（North et al., "A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations", Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011)）は、多数の結晶構造を有する親和性伝搬クラスタ化（affinity propagation clustering）に基づいている。本発明の目的のために、NorthのCDR定義を使用する。

【0075】

HC VR領域をコードする単離DNAは、HC VRをコードするDNAを、重鎖定常領

10

20

30

40

50

域をコードする別のDNA分子に作動可能に連結することによって、完全長重鎖遺伝子に変換され得る。ヒトおよび他の哺乳動物の重鎖定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野において既知である。これらの領域を包含するDNAフラグメントは、例えば、標準的なPCR増幅によって取得され得る。

【0076】

LCVR領域をコードする単離DNAは、LCVRをコードするDNAを軽鎖定常領域をコードする別のDNA分子に作動可能に連結することによって、完全長軽鎖遺伝子に変換され得る。ヒトおよび他の哺乳動物の軽鎖定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野において既知である。これらの領域を包含するDNAフラグメントは、標準的なPCR増幅によって取得され得る。軽鎖定常領域は、ヒトカッパまたはラムダ定常領域であり得る。本発明の抗ヒトTim-3抗体については、軽鎖定常領域はヒトカッパ定常領域であることが好ましい。

10

【0077】

本発明のポリヌクレオチドは、配列が発現制御配列に作動可能に連結された後に宿主細胞において発現される。発現ベクターは、典型的には、エピソード、または宿主染色体DNAの一体化した部分のいずれかとして、宿主生物中で複製可能である。一般に、発現ベクターは、所望のDNA配列で形質転換されたそれらの細胞の検出を可能にするために、選択マーカー、例えば、テトラサイクリン、ネオマイシン、およびジヒドロ葉酸レダクターゼを含有する。

【0078】

20

本明細書に記載される抗体は、哺乳動物細胞で容易に産生され得、該哺乳動物細胞の非限定的な例には、CHO、NS0、HEK293、またはCOS細胞が含まれる。宿主細胞は、当該技術分野において周知の技術を使用して培養される。

【0079】

目的のポリヌクレオチド配列（例えば、抗体のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドおよび発現制御配列）を含有するベクターは、細胞宿主の種類に応じて異なる周知の方法によって宿主細胞に導入され得る。

【0080】

タンパク質精製の様々な方法が用いられ得、そのような方法は、当該技術分野において既知であり、例えば、Deutscher, Methods in Enzymology 182:83-89 (1990)、およびScopes, Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Edition, Springer, NY (1994)に記載される。

30

【0081】

本発明の別の実施形態において、抗体または抗体をコードする核酸は単離形態で提供される。本明細書で使用する場合、「単離」という用語は、細胞環境に見出される任意の他の高分子種を含まないか、または実質的に含まない、タンパク質、ペプチド、または核酸を指す。「実質的に含まない」とは、本明細書中で使用する場合、目的のタンパク質、ペプチド、または核酸が（モル基準で）80%超、好ましくは90%超、より好ましくは95%超の対象の高分子種を含むことを意味する。

40

【0082】

本発明の抗体または本発明の抗体を含む医薬組成物は、非経口経路（例えば、皮下および静脈内）によって投与することができる。本発明の抗体は、薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と一緒に単回用量または複数回用量で患者に投与することができる。本発明の医薬組成物は、当該技術分野で周知の方法によって調製することができ（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd ed. (2012), A. Lloyd et al., Pharmaceutical Press）、本明細書に開示される抗体、および1つ以上の薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤を含む。

【0083】

50

投薬計画は、最適な所望の反応（例えば、治療効果）を提供するように調整され得る。安全性および有効性を最適化するために処置投与量を滴定し得る。局所的もしくは全身性またはそれらの組み合わせで静脈内（i. v.）または非静脈内投与のための投与スケジュールは、典型的には、単一ボラス投与もしくは連続注入から、1日当たり複数回の投与（例えば、4～6時間おき）までの範囲であるか、または処置する医師および患者の状態によって示されるとおりである。

【0084】

本明細書で使用する場合、「処置すること（treating）」（または「処置する（treat）」または「処置（treatment）」）という用語は、既存の症状、障害、状態、または疾患の進行または重症度を遅延、妨害、抑制、緩和、停止、軽減、または反転させることを指す。

10

【0085】

「有効量」とは、研究者、医師、または他の臨床医によって求められている組織、系、動物、哺乳動物、またはヒトの生物学的もしくは医学的応答またはそれらに対する所望の治療効果を惹起する、本発明の抗体または本発明の抗体を含む医薬組成物の量を意味する。有効量の抗体は、個人の病状、年齢、性別、および体重、ならびに個人における所望の応答を誘発する抗体の能力などの要因に応じて変動し得る。有効量はまた、抗体の任意の毒性効果または有害効果よりも治療的に有益な効果が上回る量である。

【0086】

抗体の作製、発現、および精製

20

本発明の抗体は、ファージディスプレイ、トランスジェニック動物、および／またはヒト化を用いることを含むがこれらに限定されない、既知の方法によって作製し得る。抗ヒトTim-3抗体を作製するために、ヒトTim-3タンパク質を使用前にPNGase F酵素で前処理することができる。さらに、上記のように誘導された抗体は、本明細書に記載のアッセイを用いてさらにスクリーニングすることができる。

【0087】

重鎖および軽鎖の可変領域のポリペプチド、抗体A、D、およびEの完全な重鎖および軽鎖アミノ酸配列、ならびにそれらをコードするヌクレオチド配列は、「アミノ酸およびヌクレオチド配列」と題する項目に列挙されている。さらに、抗体A、D、およびEの軽鎖、重鎖、軽鎖可変領域、および重鎖可変領域の配列番号が以下の表1に示されている。

30

【0088】

抗体A、D、およびEを含むがこれらに限定されない本発明の抗体は、本質的に以下のようにして作製および精製することができる。HEK293またはCHOなどの適切な宿主細胞は、最適な所定のHC：LCベクター比を用いて抗体を分泌するための発現系、またはHC（重鎖）およびLC（軽鎖）の両方をコードする単一のベクター系で、一過性でまたは安定的にトランスフェクトすることができる。抗体が分泌された清澄化培地は、多くの一般的に使用される技術のうちのいずれかを用いて精製され得る。例えば、培地は、リン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4）などの適合した緩衝液で平衡化された、Fabフラグメント用のMabSelectカラム（GE Healthcare）またはKappaSelectカラム（GE Healthcare）に好都合に適用され得る。カラムは、非特異的結合成分を除去するために洗浄され得る。結合抗体は、例えば、pH勾配（20mMのTris緩衝液pH 7～10mMクエン酸ナトリウム緩衝液pH 3.0、またはリン酸緩衝生理食塩水pH 7.4～100mMグリシン緩衝液pH 3.0など）によって溶出され得る。抗体画分は、紫外線吸光度またはSDS-PAGE等によって検出され得、次いで、プールされてもよい。意図する使用に応じて、さらなる精製は任意選択的である。抗体は、一般的な技術を使用して濃縮および／または滅菌濾過され得る。可溶性凝集体および多量体は、サイズ排除、疎水性相互作用、イオン交換、マルチモーダル、またはヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーを含む一般的な技術によって効果的に除去され得る。これらのクロマトグラフィーステップ後の抗体の純度は、典型的には、95%を超える。生成物は、-70℃ですぐに冷凍されてもよく、または凍結乾燥されてもよい。

40

50

【0089】

【表1】

表1

対応する配列番号	抗体 A (抗 Tim-3 抗体)	抗体 D (抗 PD-1 抗体-S228P IgG4)	抗体 E (抗 PD-1 抗体-PAA IgG4 des-Lys)
HCDR1	2	16	16
HCDR2	3	17	17
HCDR3	4	18	18
LCDR1	5	19	19
LCDR2	6	20	20
LCDR3	7	21	21
HCVR	8	22	22
LCVR	9	23	23
重鎖	10	24	25
軽鎖	11	26	26
DNA 重鎖	12	27	28
DNA 軽鎖	13	29	29

【0090】

W I N N アッセイ

本発明の抗体は、W I N N アッセイを用いて、インビボ免疫調節活性について試験することができる。W I N N アッセイでは、ヒト NSCLC 腫瘍細胞 NC I - H 2 9 2 およびヒト免疫細胞（同種異系）を混合し、免疫不全マウスに同時移植し（c o - i m p l a n t e d）、次いで免疫調節剤を投与する。免疫調節剤が腫瘍形成を阻害もしくは遅延する能力または腫瘍内存続性を支持する能力は、以下のようにして評価することができる。

【0091】

0 日目に、J a c k s o n L a b o r a t o r i e s から NSG マウス（7 週齢、雌、8 ～ 10 匹のマウス群）の側腹部に、H B S S（総体積 0.2 ml）中の 2×10^6 個の H 2 9 2 細胞または 2×10^6 個の H 2 9 2 細胞および 1×10^6 個のヒト P B M C の混合物を皮下移植する。0 日目に開始して、マウスを 10 mg/kg の対照ヒト I g G または 1 mg/kg もしくは 10 mg/kg の抗体 A の腹腔内注射で 6 週間、週に 1 回処置する。グルーミングおよび歩行を含む動物の健康および行動は、週に少なくとも 2 回モニタリングされる。

【0092】

C D 3 および C D 8 を染色し、A p e r i o S c a n S c o p e（商標）で分析することによって C D 3 陽性および C D 8 陽性 T 細胞の存在を測定することより、このモデルから得た腫瘍切片を、C D 3 陽性および C D 8 陽性 T 細胞の存続性について分析することができる。I H C N u c l e a r I m a g e A n a l y s i s m a c r o は、ユーザーによって選択された領域中の個々の細胞の標的色原体についての核染色を検出し、その強度を定量化する。3 ～ 5 のアノテーション（a n n o t a t i o n）が生存腫瘍領域から作られ、アルゴリズム結果によって一致した細胞同定が得られるまで、パラメータの調整に用いられる。次いで、マクロを保存し、分析のためにスライド（s l i d e）を

ログインする。全細胞数のパーセントとしての%CD3陽性およびCD8陽性細胞をAperioソフトウェアによって計算する。

【0093】

本質的にこのW INNアッセイに記載されるように行った実験において、IHC分析により、NCI-H292腫瘍およびPBMCを同時移植して10mg/kgの抗体Aを投与したマウスは、NCI-H292腫瘍およびPBMCを同時移植して対照IgG（6.5%）で処置したマウスと比較して、ヒトCD3陽性CD8陽性腫瘍内T細胞の有意な増加（30%）をもたらす（ $P=0.03$ ）。

【0094】

初代ヒトT細胞でヒト化したNSGマウスにおける既存（established）ヒト腫瘍の異種移植モデル

10

本発明の抗体の有効性は、NCI-HCC827ヒトNSCLC（非小細胞肺癌）異種移植片モデルで試験することができ、モデルにおける既存腫瘍を遅延または破壊する能力を評価する。0日目に、 1×10^7 個のNCI-HCC827細胞をNSGマウス（7週齢、雌、1群あたりマウス8匹）の側腹部に皮下移植する。腫瘍が約400mm³の体積に達したら（約30～32日目）、マウスに 2.5×10^6 個の事前に増殖させたヒトT細胞を注入する（i.v.）。この事前に増殖させたヒトT細胞は、全血からヒトT細胞を分離し、Dynabeads（登録商標）Human T-Activator CD3/CD28を用いて10日間増殖させることによって生成される。この事前に増殖させたヒトT細胞は、後で使用するために凍結保存してもよい。T細胞注入の1日後、マウスにヒトIgGまたは抗体Aを10mg/kgで毎週（合計4回投与）、腹腔内注射により投与する。グルーミングおよび歩行を含む動物の健康および行動を、週に少なくとも2回モニタリングする。

20

【0095】

体重および腫瘍体積を週に2回測定する。腫瘍体積を、上記のように電子キャリパーを用いて細胞移植後4日目から始めて週に2回測定した。腫瘍体積（mm³）= $\pi/6 \times$ 長さ $\times$ 幅²。抗腫瘍有効性はT/C比としてパーセントで表され、以下に要約されるようにして計算される：幾何平均値の $\Delta T > 0$ の場合、%T/Cは式 $100 \Delta T / \Delta C$ によって計算される。 ΔT = 研究最終日の薬物処置群の平均腫瘍体積 - 投与の初日の薬物処置群の平均腫瘍体積、 ΔC = 研究最終日の対照群の平均腫瘍体積 - 投与の初日の対照群の平均腫瘍体積である。さらに、 $\Delta T < 0$ の場合、%退縮は式 $= 100 \times \Delta T / T_{\text{初日}}$ を用いて計算される。測定可能な腫瘍を有していない動物を完全奏効（CR）とみなし、50%超の退縮を有する腫瘍を部分奏効（PR）とみなす。

30

【0096】

本質的に上記のように行った実験において、抗体A（抗ヒトTim-3）による処置は、ヒトIgGによる処置と比較して、ヒト化NSGマウスにおける腫瘍増殖を有意に阻害する（表2）。76日目に、抗体Aによる処置はT/C = 2%をもたらす。110日目に、抗体A処置は3/8CRをもたらす。

【0097】

【表 2】

表 2 : NCI-HCC827 ヒト NSCLC 異種移植片モデルにおける腫瘍体積 (mm³)

日	ヒト IgG 対照		抗体 A	
	平均値	SEM	平均値	SEM
21	152	13	164	85
28	289	24	309	160
30	332	28	358	186
34	388	32	403	209
36	414	34	505	262
40	706	59	628	326
43	752	62	733	380
47	858	71	763	396
50	932	77	747	387
55	982	81	807	418
57	1212	100	843	437
62	1324	110	553	287
65	1524	126	726	376
69	1492	124	602	312
72	1827	151	539	279
76	2030	168	375	196
79			375	196
83			414	218
85			331	175
90			192	103
93			235	128
97			173	95
100			118	65
103			125	69
106			120	67
110			131	73

【0098】

L55 アッセイ

L55 アッセイを用いて、本発明の抗体をインビボ免疫調節活性について試験することができる。これに関して、同種抗原に対する T 細胞応答を増強するための抗体 A および抗体 A と抗 PD-1 抗体、抗体 D との組み合わせの有効性を、L55 (非小細胞肺癌) 既存異種移植モデルを用いて評価することができる。L55 細胞を、10% ウシ胎児血清および 1 mM のピルビン酸 Na⁺ および L-グルタミンを含む RPMI-1640 培地中で培養する。0 日目に、Jackson Laboratories からの NSG マウス (7 週齢、雌、8 匹のマウス群) の側腹部に、HBSS 中の 5×10^6 個の L55 ヒト NSCLC 細胞 (総体積 0.2 ml) を皮下移植する。腫瘍が約 200~300 mm³ に達したら (約 21~25 日目)、マウスを無作為に選択する。ヒト PBMC 細胞を全血から単離し、28 日目に L55 腫瘍担持マウスに静脈内注入する (マウス 1 匹あたり、0.2 ml の PBS 中の 8×10^6 個の PBMC)。同じ日に、マウスを 10 mg/kg のヒト IgG または抗体 A の腹腔内注射で処理し、週に 1 回、合計 4 週間処置する (28 日目、35 日目、42 日目、48 日目に投与)。10 mg/kg の抗体 D 処置を 31 日目に開始し、週に 1 回、さらに 3 週間投与する (31 日目、38 日目、45 日目、48 日目に投与)。グルーミングおよび歩行を含む動物の健康および行動を、週に少なくとも 2 回モニタリングする。体重および腫瘍体積を週に 2 回測定する。腫瘍体積を、電子キャリパーを用いて細

胞移植後4日目から始めて週に2回測定する。腫瘍体積は、式：腫瘍体積（ mm^3 ）＝ π ／6＊長さ＊幅²を用いて計算される。

【0099】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体A（抗ヒトT i m－3）および抗体D（抗ヒトP D－1）による併用処置は、抗体A単独または抗体D単独のいずれかによる処置と比較して、ヒト化N S Gマウスにおける腫瘍増殖を有意に遅延させる（表3）。

【0100】

【表3】

表3

日	ヒト IgG 対照		抗体 A		抗体 D		抗体 A+抗体 D	
	平均値	SEM	平均値	SEM	平均値	SEM	平均値	SEM
16	113. 7	3. 6	109	5. 5	110. 7	4. 6	103. 9	6. 3
24	251. 6	19. 7	236. 9	12. 1	238. 9	17. 5	228	21. 9
28	364. 0	27. 7	344. 1	17. 6	342. 6	25. 1	358. 5	34. 4
31	483. 7	36. 9	441. 7	22. 6	457. 3	33. 5	447	42. 8
35	480. 0	36. 6	491. 9	25. 2	538. 6	39. 6	388. 7	37. 3
38	545. 7	41. 6	582. 6	29. 8	655. 3	48. 1	492. 3	47. 2
42	657. 8	50. 2	651. 2	33. 3	607. 5	44. 5	391. 5	37. 5
44	916. 0	69. 8	756. 6	38. 7	896. 9	65. 8	520. 4	49. 9
48	1027. 5	78. 3	766. 8	39. 3	772. 6	56. 7	599. 6	57. 5
50	1173. 0	89. 4	911	46. 6	943. 8	69. 2	720. 3	69
55	1298. 1	98. 9	1170. 6	59. 9	1125. 8	82. 6	816. 6	78. 3
58			1839. 9	94. 2	1530. 7	112. 2	931. 0	89. 2
62							1019. 5	97. 7
65							1147. 7	110
69							1272. 5	122

【0101】

混合リンパ球反応の改変

本発明の抗体によってT i m－3シグナルを阻止する機能は、T細胞活性化の際のサイトカインの放出を測定することによって評価することができる。T細胞活性化が本発明の抗体による処置によって促進されるとき、I F N－ γ などのある特定のサイトカインのレベルは増加すると予想される。

【0102】

ヒト単球単離キットI I（M i l t e n n y i B i o t e c）を用いて、健常なドナーから得た新鮮なヒトP B M C（A l l C e l l s）からのネガティブセレクションによって、C D 1 4⁺単球を単離する。C D 1 4⁺単球を6 2. 5 n g／m lのh G M－C S Fおよび2 0 n g／m lのヒトI L－4の存在下での完全R P M I－1 6 4 0培地中で3日間培養することによって、ヒト単球由来の樹状細胞を生成する。新鮮なヒトP B M Cは異なる健常なドナーから単離された（A l l C e l l s）。次いで、1ウェル当たり7. 5×1 0⁴個のP B M C細胞および1. 5×1 0⁴個の未成熟D Cを含有する1 0 0 μ lの完全A I M－V培地を含む9 6ウェルプレートの個々のウェル中で、2種類の細胞を混合する。1 0 0 n MのヒトI g G 1、1 0 0 n Mの抗体A、0. 6 4 n Mまたは0. 3 2 n Mのニボルマブ、1 0 0 n Mの抗体Aと0. 6 4 n Mまたは0. 3 2 n Mのニボルマブとの組み合わせを含有する1 0 0 μ lの完全A I M－V培地を8連（r e p l i c a t e）で添加する。3 7℃、5 % C O₂で6日間インキュベートした後、上清を回収し、E L I S Aキット（R & D S y s t e m s）を用いてヒトI F N－ γ について測定する。対

応のない t 検定を用いて、群を比較する。

【0103】

本質的に上記のように行った実験において、抗体 A またはニボルマブの添加は、ヒト I g G 1 の添加と比較して、I F N - γ の分泌を増加させる。以下の表 4 に示されるように、抗体 A およびニボルマブの組み合わせは、0. 3 2 n M の用量のニボルマブ単独の添加と比較して、I F N - γ の分泌を有意に増加させる (P = 0. 0 0 1 3) 。

【0104】

【表 4】

表 4

ニボルマブ	対照 IgG (100nM)			抗体 A (100nM)		
	0nM	0. 32nM	0. 64nM	0nM	0. 32nM	0. 64nM
IFN- γ (pg/ ml)	157. 554 $\pm$ 79. 3	180. 326 $\pm$ 37. 3	232. 656 $\pm$ 58. 7	201. 419 $\pm$ 120. 7	310. 846 $\pm$ 66. 1	369. 109 $\pm$ 179. 4

【0105】

E L I S A 分析：抗体 A は組換え T i m - 3 に結合する。

本発明の抗体がヒト T i m - 3 に結合する能力は、E L I S A アッセイにより測定することができる。T i m - 3 結合アッセイのために、9 6 ウェルプレート (N u n c) をヒト T i m - 3 - F c (R & D S y s t e m s) で 4 ° C で一晩コーティングする。ウェルをブロッキング緩衝液 (3 % ウシ血清アルブミンを含有する P B S) で 2 時間ブロッキングする。ウェルを 0. 1 % T w e e n - 2 0 を含有する P B S で 3 回洗浄する。次いで、抗体 A または対照 I g G (1 0 0 μ l) を添加し、室温で 1 時間インキュベートする。洗浄後、プレートを 1 0 0 μ l のヤギ抗ヒト I g G F (a b ') 2 - H R P コンジュゲート (J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h) とともに室温で 1 時間インキュベートする。プレートを洗浄し、次いで 1 0 0 μ l の 3 , 3 ' , 5 , 5 ' - テトラメチルベンジジンとともにインキュベートする。4 5 0 n m における吸光度をマイクロプレートリーダーで読み取る。半数効果濃度 (E C 5 0) を G r a p h P a d P r i s m 6 ソフトウェアを用いて計算する。

【0106】

本質的に上記のように行った実験において、抗体 A は、 $2. 0 7 \times 1 0^{-11}$ M の E C 5 0 でヒト T i m - 3 に結合する。

【0107】

フローサイトメトリー分析：抗体 A は細胞表面 T i m - 3 に結合する

本発明の抗体が細胞表面ヒト T i m - 3 に結合する能力は、フローサイトメトリーアッセイを用いて測定することができる。ヒト T i m - 3 発現 D O 1 1 . 1 0 細胞系である T i m - 3 D O 1 1 . 1 0 細胞をこのアッセイに用いる。

【0108】

T i m - 3 D O 1 1 . 1 0 細胞は以下のようにして得ることができる。全長 T i m - 3 遺伝子は O r i g e n e T e c h n o l o g i e s , I n c . から購入することができる。P C R を用いて、C l o n e t e c h L a b o r a t i e s , I n c . からの p L V X - I R E S - N e o レンチウイルスベクターにクローニングすることができる。C l o n e t e c h L a b o r a t i e s , I n c . からの L e n t i - X (商標) システムを用いて、高力価の組換え複製不全ビリオンを作製する。このビリオンは、標的細胞を感染させるために直ちに使用されるか、または等分して使用まで - 8 0 ° C で凍結される。マウス T 細胞ハイブリドーマ D O 1 1 . 1 0 細胞株は、N a t i o n a l J e w i s h H e a l t h (登録商標) から入手することができる。D O 1 1 . 1 0 細胞をこの細胞株に付随したプロトコルに従って培養し、維持する。0 日目に、D O 1 1 . 1 0 細胞を計数し、培地を遠沈して除去する。細胞ペレットをヒト T I M - 3 遺伝子またはベクター対照を含有するビリオンと混合し、3 7 ° C で 2 4 時間インキュベートする。細胞およびビリオンを混合するときに、最終濃度 8 μ g / m l に達するまでポリブレンを添加する。2

4時間後、D O 1 1 . 1 0細胞を再びペレット化し、新鮮な培地に再懸濁し、37℃で3日間インキュベートする。次に、D O 1 1 . 1 0細胞を3日ごとにペレット化し、1mg/ml Geneticin（登録商標）を含有する選択培地に再懸濁して、安定して形質導入された細胞を選択する。Tim-3発現をR&D Systemsから入手した抗体を用いてフローサイトメトリーによってモニタリングする。選択培地中で2～3週間後、得られたTim-3発現D O 1 1 . 1 0細胞を選別して単一細胞クローンを樹立する。

【0109】

D O 1 1 . 1 0およびTim-3 D o 1 1 . 1 0細胞を、染色緩衝液（3% BSAを含有するDPBS）中、1ウェルあたり 1×10^5 個の細胞（100 μ l/ウェル）で96ウェルV底プレートに添加する。細胞を、氷上にて、30 μ g/mlのヒトIgGを含む染色緩衝液中で1時間Fcブロッキングする。抗体Aまたは対照ヒトIgGをA488（Molecular Probes（登録商標））で標識し、両方の抗体の12点滴定（titration）（1：3段階希釈）を66.7 nMの開始濃度で染色緩衝液中で調製する。標識抗体を細胞に添加し、暗所にて4℃で1時間インキュベートする。1200 RPMで5分間回転させて上清をデカントすることにより、細胞をPBSで2回洗浄する。生細胞/死細胞色素7-AAD（PBS中1：1000）を3 μ l/ウェルで各ウェルに添加し、細胞を氷上で15分間インキュベートする。細胞をPBSで2回洗浄し、0.5% BSAを含有する100 μ lのDPBSに再懸濁し、IntelliCyt iQueで分析する。全ての染色は3つ組で行われる。データをFlowJoソフトウェアで分析して生細胞集団を同定し、AF488（FL1）検出チャンネルを用いて各サンプルの中央蛍光強度（median fluorescence intensity）を決定する。個々のMFI（すなわち中央蛍光強度）値をGraphPad Prismソフトウェアに入れて濃度応答曲線を作成し、該曲線からEC50値を外挿する。

【0110】

本質的に上記のように行った実験において、抗体Aは、0.09 nMのEC50値で、Tim-3 D O 1 1 . 1 0細胞上の細胞結合ヒトTim-3に用量依存的に結合する。

【0111】

フローサイトメトリー分析：抗体Aは、ホスファチジルセリンとヒトTim-3との相互作用を阻止する。

本発明の特定の抗体がTim-3へのホスファチジルセリンの結合を阻止する能力は、FACS分析によって測定することができる。この受容体-リガンド阻止アッセイのために、 1×10^6 個/mlのD O 1 1 . 1 0細胞を12 μ Mカンプトテシン（Sigma（登録商標））で37℃で3時間処理して、アポトーシスを誘導する。FITC-アネキシンV（Becton Dickinson（登録商標））をホスファチジルセリンの存在を検出するための陽性対照として用いる。ビオチン化hTIM-3-Fcは、カンプトテシン処理細胞に強く結合するが、非処理細胞には結合しない。カンプトテシン処理細胞を冷PBSで洗浄し、 1×10^6 個細胞/mlで結合緩衝液（Becton Dickinson（登録商標））に再懸濁する。50 μ g/mlのマウスIgGおよびラットIgGを細胞に添加し、室温で30分間インキュベートすることによって、Fc受容体をブロッキングする。抗体Aの6点滴定（1：3段階希釈）を開始濃度を90 nMとして結合緩衝液中で調製し、1 mlの細胞に添加し、次いで細胞を室温で60分間インキュベートする。次いで、hTIM-3-Fcビオチンを、0.05 μ g/ウェルで200 μ l体積中の適切な試料に添加し、室温で30分間インキュベートする。次いで、1200 RPMで5分間の遠心分離により、細胞を結合緩衝液で2回洗浄する。2.4 μ l/ウェルのストレプトアビジン-FITC（Biolegend（登録商標））を含有する溶液（DPBS中1：10希釈）および5 μ l/ウェルのヨウ化プロピジウムを各ウェルに添加し、暗所にて室温で30分間インキュベートする。細胞を結合緩衝液で2回洗浄し、100 μ lのPBSに再懸濁する。試料をIntelliCyt iQueフローサイトメーターで読み取り、データをFlowJoソフトウェアで分析した。個々のMFI（すなわち平均蛍光強度）値をGraphPad Prismソフトウェアに入れて濃度応答曲線を作成し、該

曲線から I C 5 0 値を外挿する。

【0112】

本質的に上記のように行った実験において、抗体 A は、0.32 nM の I C 5 0 値で、および表 4 にさらに示すように、ヒト T i m - 3 とホスファチジルセリンとの相互作用を用量依存的に阻止する。

【0113】

【表 5】

表 4

	未処理の D011. 10 +hTIM-3 -Fc ビオ チン	カンプトテシン処理 D011. 10+hTIM-3-Fc ビオチン						
抗体 A (nM)	0	90	30	10	3.3	1.1	0.37	0
MFI	1747	1815	19655	32574	52885	96566	197146	214044

【0114】

ガレクチン-9 阻止アッセイ：抗体 A は、ヒトのガレクチン-9 とヒト T i m - 3 との相互作用を阻止する。

本発明の抗体がヒトガレクチン-9 のヒト T i m - 3 への結合を阻止する能力は、以下のようにして測定することができる。この受容体-リガンド阻止アッセイのために、96 ウェルのストレプトアビジンでコーティングした MSD プレート (Meso Scale Diagnostics) を 150 μ l のブロッキング緩衝液 (5% ウシ血清アルブミンを含有する PBST) で 2 時間ブロッキングする。ウェルを、0.2% Tween-20 を含有する 200 μ l の PBS で 3 回洗浄する。組換えヒトガレクチン-9 (R&D Systems) を EZ-Link (商標) ビオチン (Thermo Scientific (商標)) を用いてビオチン化し、次いで 25 μ l の 0.21 μ g/ml のヒト組換えガレクチン-9-ビオチンを次いで添加し、室温で 2 時間インキュベートする。プレートを、0.2% Tween-20 を含有する PBS で 3 回洗浄する。ヒト T i m - 3 - F c タンパク質 (R&D Systems) をスルホタグ (sulfo-tag) NHS-エステル試薬 (Meso Scale Discovery (登録商標)) を用いてルチニル化し (ruthinylated)、使用するまで少量のアリコーティングを -80°C で保存する。抗体を段階希釈し (13.5 μ g/ml から開始)、50 μ l の各抗体を 50 μ l の 0.05 μ g/ml の希釈 h T i m - 3 - F c - r u t h と混合し、室温で 1 時間インキュベートする。次いで、50 μ l の各組み合わせをプレートに添加し、室温で 1.5 時間インキュベートする。プレートを、0.2% Tween-20 を含有する PBS で 3 回洗浄する。次いで、150 μ l の 1 $\times$ read 緩衝液 (Meso Scale Diagnostics) をプレートの各ウェルに添加し、プレートを Sector Imager 2400 (Meso Scale Diagnostics) で読み取る。

【0115】

本質的に上記のように行った実験において、7.8 nM の I C 5 0 値を有する対照ポリクローナル抗ヒト T i m - 3 抗体 (R&D Systems) と比較して、抗体 A は、5.6 nM の I C 5 0 値で、ヒト T i m - 3 とヒトガレクチン-9 との相互作用を阻止する。しかしながら、ポリクローナル抗ヒト T i m - 3 抗体は、ヒトガレクチン-9 とのヒト T i m - 3 の相互作用を最大 100% 阻止することができるが、抗体 A は、このアッセイにおいて部分的な阻止しか達成しない。

【0116】

C E A C A M - 1 阻止アッセイ：抗体 A は、ヒト C E A C A M 1 とヒト T i m - 3 との相

10

20

30

40

50

相互作用を阻止しない。

本発明の抗体がヒトTim-3へのヒトCEACAM1の結合を阻止する能力は、以下のようにして測定することができる。この受容体ーリガンド阻止アッセイのために、96ウェルImmulon 4HBXプレート(Thermo Scientific)を100μl/ウェルの1μg/mlのヒトTim-3-Fcで4℃でコーティングする。プレートを0.2%Tween-20を含有するPBSで3回洗浄し、室温で1時間、3%BSAを含む200μl/ウェルのPBSでブロッキングする。次いでブロッキング緩衝液を除去し、50μlの滴定したAb(ポリクローナル抗ヒトTim-3、R&D Systems、抗体A、および対照ヒトIgGを含む)を600nMで開始してプレートに添加し、室温で1時間インキュベートする。次いで50μlの20μg/mlのCEACAM1(BIOTANG)を直接ウェルに添加し、室温で1時間インキュベートする(抗体の最終濃度は300nMであり、CEACAM1の最終濃度は10μg/mlである)。プレートを0.2%Tween-20を含有するPBSで3回洗浄し、100μlの0.2μg/mlのビオチン化ヒトCEACAM1抗体(R&D Systems)を添加し、次いで室温で1時間インキュベートする。プレートを0.2%Tween-20を含有するPBSで3回洗浄し、次いで100μlのストレプトアビジンペルオキシダーゼ(Jackson ImmunoResearch Laboratories)を添加し、次いで室温で1時間インキュベートする。プレートを0.2%Tween-20を含有するPBSで6回洗浄し、100μl/ウェルの1:1TMB基質溶液AおよびB(KPL)を用いて室温で10分間発色させる。次いで、反応を100μl/ウェルの0.1N H₂SO₄を用いて停止し、SpectraMax(登録商標)プレートリーダーで450nmで読み取る。

【0117】

本質的に上記のように行った実験において、以下の表5に示されるように、抗体Aは、CEACAM1のヒトTim-3への結合を有意に阻止しない。

【0118】

【表6】

表5

抗体の濃度 (nM)	0.015	0.046	0.137	0.41	1.24	3.71	11.1	33.3	100	300
ヒト IgG 対照 (O. D.)	2.05	2.02	2.13	2.03	2.04	2.03	2.05	2.07	2.12	2.08
ポリクローナル 抗Tim-3 (O. D.)	1.96	1.88	1.89	1.88	1.85	1.80	1.51	1.16	0.99	0.99
抗体A (O. D.)	1.87	1.88	1.87	1.82	1.80	1.78	1.79	1.79	1.73	1.74

【0119】

エピトープ

抗体AのFabは、抗体Aを固定化(アガロース樹脂)パパイン(ThermoFisher Scientific)で酵素的に切断し(clipping)、続いて遊離の可溶性Fcおよび切断されていないIgGを抜き取るための標準ProAカラム(GE Healthcare Life Sciences)精製によって生成される。Fabを含有するフロースルーを収集して、濃縮し、緩衝液の交換をする。hTim-3-IgV-FLAGを、標準抗FLAG樹脂(Sigma-Aldrich)プロトコルを用いて293HEK上清から精製する。hTim-3-IgVドメインは、ヒトTim-3(配列番号1)のアミノ酸残基S22~K130を表す。フロースルーを樹脂カラム中に複

数回戻す。各実験後、SDS-PAGE (NuPAGE Novex 4～12% Bis-Trisゲル; Invitrogen) およびHPLC (TSKgel G3000 SW XL (寸法: 7.8mm、ID30CM、5 μ M; TOSHO Bioscience) を用いて、hTim-3-FLAGタンパク質の品質を決定する。最良のラウンドのタンパク質と一緒に合わせて、最終バッチを作製する。

【0120】

pH7.2のTBS緩衝液中2.17mg/mLのhTim-3-IgV-FLAGと6.79mg/mLの抗体A-Fabとを1:1のモル比で混合し、複合体をサイズ排除クロマトグラフィーにより、pH7.4の20mMヘペス (hepes) および150mM塩化ナトリウム中の6.9mg/mLの最終濃度で単離する。Tim-3-抗Tim-3複合体を、シッティングドロップ蒸気拡散法を用いて、5つのQiagen grid screenにて、8 $^{\circ}$ Cおよび21 $^{\circ}$ Cの両方でスクリーニングする。0.3 μ Lのタンパク質の上部に0.3 μ Lの結晶化溶液を分注するArt Robbins Phoenix液体操作ロボットを用いて、滴下を設定する。100～200 μ mの連晶 (intergrown) プリズムが、20%PEG3350および0.2M塩化リチウム中で21 $^{\circ}$ Cで得られる。結晶を採取し、液体窒素中で瞬間凍結する前に、20%エチレングリコールを補充した結晶化条件からなる溶液中で凍結防止する。データセットをArgonne National Laboratoryで収集し、セルパラメータ $a=74.62\text{ \AA}$ 、 $b=57.85\text{ \AA}$ 、および $c=74.71\text{ \AA}$ を有する空間群P21で2.2 $\text{ \AA}$ に回折する。

【0121】

ヒトTim-3との複合体中の抗体A-Fabの構造を、プログラムPhaserを用いて分子置換 (Molecular Replacement) によって決定する。高解像度の一般的に入手可能なFab構造およびマウスTim-3の公表されている構造を分子置換 (Molecular Replacement) モデルとして用いることができる。プログラムRefmacを用いて構造を精密化し、プログラムCOOTを用いてモデルを再構築する。最終精密化Rファクターは、 $R_{work}=20.2\%$ 、 $R_{free}=23.4\%$ である。ラマチャンドラン違反のものはなく、残基の96.4%はラマチャンドランプロットの好まれる (favored) 領域にある。Tim-3 (配列番号1) のAsn99においてグリコシル化を示す密度がある。

【0122】

Biacore T200を利用して、捕捉された抗体A-Fabに対するhTim-3-IgV-FLAGの結合キネティクスを決定する。ランニング緩衝液としてのHBS-EP中で、25 $^{\circ}$ Cにおけるこの複合体の1:1結合は $3.62E+05\text{ 1/Ms}$ の k_{on} 、 $2.86E-03\text{ 1/s}$ の k_{off} 、および $7.92E-09M$ の K_D を有する。

【0123】

このアッセイに本質的に記載されるように行った実験において、抗体A-Fab/hTim-3複合体の解像を行い、エピトープ/パラトープが以下の表6に示されている。以下の表6は、hTim-3 (配列番号1) の列挙された残基の6 $\text{ \AA}$ 以内にある抗体A-Fabの残基を列挙する。抗体A-Fabの重鎖はhTim-3と62個の接触 (カットオフ6 $\text{ \AA}$) を有する一方、軽鎖は34個の接触 (カットオフ6 $\text{ \AA}$) を有する。

【0124】

【表 7】

表 6

Tim-3 (エピトープ)	抗体 A 重鎖 (パラトープ)	抗体 A 軽鎖 (パラトープ)
P50	S54	—
K55	—	Y32
G56	—	Y32
A57	—	Y30、Y32、N92
C58	—	Y32、A91、N92、 S93
P59	Y99、T102	Y32、A91、N92、 S93
V60	Y59、Y99、T102	Y32、Q89、Q90、 A91、N92、S93、 F94、P95、P96
F61	Y33、S35、W47、 A50、Y59、Y99、 A100、T102、F104	A91、F94、P96
E62	S31、Y33、Y59、 Y99、R101	—
C63	Y99、R101、T102	Y32
G64	T102	Y32
N65	T102	N31、Y32、A50
E72	S54	—
I107	—	T30
R111	Y33、Y59	—
Q113	Y33、S52、G53、 S54、G55、G56、 S57、Y59	—
I114	G56、S57	—
P115	G56、S57	—
G116	G56、S57、T58、 Y59	—
I117	G56、S57、T58、 Y59、Y60、K65	—
M118	S57、T58、Y59、 Y60、A61、D62、 K65	F94
N119	T58、Y59	—
D120	Y33、S57、Y59	—
K122	—	N92、F94

【0125】

抗体 A のキネティクス／親和性研究

Biacore T100 機器を用いて、捕捉抗体 A へのヒト Tim-3-IgV-Fc 単一アーム抗原 (SAG) の結合のキネティクスを測定することができる。ヒト Fab バインダー (Human Fab Binder) (GE Healthcare) を Biacore CM5 センサーチップ表面にアミンカップリングさせることにより、ヒト Fab バインダー表面を調製する。ランニング緩衝液として HBS-E P 緩衝液 (GE

10

20

30

40

50

Healthcare)を用いて、試験抗体をチップにより捕捉する。Tim-3 SAGを3の希釈係数で30 nMから開始してランニング緩衝液に希釈して、0.04、0.12、0.37、1.11、3.33、10および30 nMの濃度を得る。希釈したTim-3 SAG分析物または緩衝液を30 μ l/分で180秒間注入し、複合体の解離を1200秒間モニタリングする。各分析物結合サイクルの間に、30 μ l/分の10 mM グリシン-HCl pH 2.1の注入を用いて、5つの低濃度については2回の注入を30秒、および2つの高濃度については2回の注入を60秒にて行うことで、結合表面が再生される。所与の抗原/Ab相互作用の実験データを、質量輸送モデルを用いた1:1ラングミュアーを用いてフィッティングする。

【0126】

本質的に上記のように行った実験において、抗体Aは、表7に示されるキネティクスおよび親和性定数でヒトTim-3に結合する。

【0127】

【表8】

表7

抗体	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (M)	R_{max}	χ^2
抗体A	2.33E+06	9.27E-04	3.98E-10	17.09	0.319

【0128】

表面プラズモン共鳴 (SPR)

リガンドとしてのヒトPD-1-Fc (R&D Systems)のセンサーチップ表面への固定化を25℃で行う。本発明の抗抗体を分析物として使用し、ヒトPD-1-Fc固定化センサーチップ表面上に注入する。全ての試料分析物は、それらの出発濃度(90 nM)からの3倍系列希釈にて、中間濃度およびゼロでは2つ組を1つで合計で8回の希釈を行う。分析を37℃で行う。各サンプルの接触時間は30 μ l/分で180秒である。解離時間:5つの低濃度については300秒、3つの高濃度については1200秒 (Fab)、もしくは2400秒 ($T=0$)、または3000秒 (4週間、4℃、25℃、40℃)。固定化表面を0.4% SDSを用いて30 μ l/分で6~8秒間再生し、次いで5秒間安定化させる。結合キネティクスをBiacore T200 Evaluate Ionソフトウェア (バージョン3.0)を用いて分析する。データはブランクのフローセルを参照基準とし、データを1:1結合モデルにフィッティングする。

【0129】

本質的にこのアッセイに記載されるようにして行った実験において、抗体Dは、102 pMの K_D でヒトPD-1に結合し、246 pMの K_D でニボルマブに結合し、181 pMの K_D でペンブロリズマブに結合する。表8に示されるように、抗体Dは、高い温度条件下、4週間において結合活性を維持した。

【0130】

【表9】

表8: SPRによる長時間および温度での抗体Dの結合

ヒトへの結合 PD-1-Fc	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (pM)
抗体D	2.86E+05	2.98E-05	104
抗体D、4週間4℃	3.77E+05	3.86E-05	103
抗体D、4週間25℃	3.54E+05	3.60E-05	102
抗体D、4週間40℃	3.58E+05	4.22E-05	118

【0131】

ヒトPD-1とPD-L1およびPD-L2との相互作用の阻止

受容体-リガンド阻止アッセイのために、様々な量の示された抗PD-1抗体または対

10

20

30

40

50

照 I g G を一定量のビオチン化 P D - 1 - F c 融合タンパク質 (1 0 0 n g / m L) と混合し、室温で 1 時間インキュベートする。混合物を、P D - L 1 - F c (1 0 0 n g / ウェル) または P D - L 2 - F c (1 0 0 n g / ウェル) でプレコートした 9 6 ウェルプレートに移し、次いで室温でさらに 1 時間インキュベートする。プレートを洗浄し、ストレプトアビジン H R P コンジュゲートを添加する。プレートを 4 5 0 n m の吸光度で読み取る。I C 5 0 は、P D - 1 の P D - L 1 への結合または P D - L 2 への結合の 5 0 % 阻害に必要な抗体濃度を表す。

【 0 1 3 2 】

本質的に記載されたように行った実験において、抗体 D は、0 . 3 0 n M の I C 5 0 で P D - 1 と P D - L 1 との相互作用を阻害し、0 . 3 4 n M の I C 5 0 で P D - 1 と P D - L 2 との相互作用を阻止する。

10

【 0 1 3 3 】

C H O 細胞上のヒト P D - 1 への結合

本発明の抗体のヒト P D - 1 への結合は、フローサイトメトリーによって測定することができる。

【 0 1 3 4 】

C H O 細胞 (0 . 2 × 1 0 ⁶ 個) を、氷上の P B S 1 % B S A 中、2 0 0 n M から 2 の係数により 1 9 倍で滴定した 3 . 1 8 5 p M の最低濃度までの抗体とともにインキュベートする。次いで細胞を 3 回洗浄し、氷上で 3 0 分間 P B S 1 % B S A 中の二次抗体 (P E 標識、最終濃度 5 μ g / m l) とともにインキュベートする (遮光する) 。細胞を 3 回洗浄し、フローサイトメトリーにより分析する。フローサイトメトリーを A c c u r i C 6 システム (B D B i o s c i e n c e s) で行い、M F I を C 6 ソフトウェアで計算する。E C 5 0 を G r a p h p a d ソフトウェアで計算する。

20

【 0 1 3 5 】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体 G は 1 . 7 5 6 n M の E C 5 0 値 (n = 1) で P D - 1 に用量依存的に結合し、ペンブロリズマブは 1 . 4 2 9 n M の E C 5 0 値 (n = 1) で P D - 1 に結合する。抗体 D は、0 . 9 7 8 4 n M の E C 5 0 値 (n = 1) で用量依存的に P D - 1 に結合し、0 . 9 5 1 0 n M の E C 5 0 値 (n = 1) でペンブロリズマブに結合し、0 . 9 6 7 5 n M の E C 5 0 値 (n = 1) でニボルマブに結合する。抗体 D は、これらの条件下において、ニボルマブおよびペンブロリズマブと同様の E C 5 0 でのヒト P D - 1 に結合する。

30

【 0 1 3 6 】

C H O 細胞におけるヒト P D - 1 の P D - L 2 への阻止

本発明の抗ヒト P D - 1 抗体が P D - L 1 および P D - L 2 へのヒト P D - 1 の結合を阻止する能力は、フローサイトメトリーによって測定することができる。

【 0 1 3 7 】

C H O 細胞 (0 . 2 × 1 0 ⁶ 個) を氷上で P B S 1 % B S A 中で 3 0 分間、実験抗体 1 0 0 n M とともにインキュベートする。次いで細胞を 3 回洗浄し、P B S (1 % B S A) 中の N H S - フルオレセイン (P r o m e g a) と結合した P D - L 2 とともに氷上で 3 0 分間インキュベートする (遮光する) 。細胞を 3 回洗浄し、フローサイトメトリーにより分析する。フローサイトメトリーを A c c u r i C 6 システム (B D B i o s c i e n c e s) で行い、平均蛍光強度 (M F I) を C 6 ソフトウェアで計算する。

40

【 0 1 3 8 】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、酵母で発現された I g G 1 フォーマットの抗体 D は、ヒト P D - L 2 - F I T C 結合を阻止し、1 8 2 , 9 5 9 . 1 の M F I をもたらす対照 I g G と比較して、2 4 , 6 9 7 . 7 の M F I をもたらした。ペンブロリズマブおよびニボルマブは、抗体 D より P D - 1 への P D - L 2 の結合の阻止が少なく、M F I は 4 6 , 2 4 5 . 9 であった。

【 0 1 3 9 】

【表 10】

表 7 : CHO細胞上のヒトPD-1の阻止

試験試料	MFI (PD-L2-FITC)
細胞のみ	33, 449. 7
IgG なし	199, 716. 0
IgG 対照	182, 959. 1
ニボルマブ	54, 509. 8
ペンブロリズマブ	46, 245. 9
IgG1 フォーマットの抗体D	24, 697. 7

10

【0140】

アミノ酸およびヌクレオチド配列

配列番号1 (ヒトTim-3) (ホモサピエンス)

MF SHLPFDCVLL L L L L L L L L TRSSEVEYRAEVGQNAYLP CFY
 TPAAPGNLVPVCWKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTS
 RYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMND
 EKFNLLKLVIK

配列番号2 (抗体AのHCDR1) (人工配列)

AASGFTFSYYMS

配列番号3 (抗体AのHCDR2) (人工配列)

AISGSGGSTYYADSVKG

配列番号4 (抗体AのHCDR3) (人工配列)

ARYARTAFDL

配列番号5 (抗体AのLCDR1) (人工配列)

QASQDIYNYLN

配列番号6 (抗体AのLCDR2) (人工配列)

YAASSLQS

配列番号7 (抗体AのLCDR3) (人工配列)

QQANSFPPT

配列番号8 (抗体AのHCVR) (人工配列)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWVRQA
 PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
 LQMNSLRAEDTAVYYCARYARTAFDLWGQGT L V T V S S

配列番号9 (抗体AのLCVR) (人工配列)

DIVMTQSPSSLSASVGDGVITITCQASQDIYNYLNWYQQKP
 GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYYCQQANSFPPTFGQGTKLEIK

配列番号10 (抗体AのHC) (人工配列)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWVRQA
 PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
 LQMNSLRAEDTAVYYCARYARTAFDLWGQGT L V T V S S A S T
 KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNS
 GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
 NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAE GAPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLD S

20

30

40

50

D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S
L S L S P G K

配列番号11 (抗体AのLC) (人工配列)

D I V M T Q S P S S L S A S V G D G V T I T C Q A S Q D I Y N Y L N W Y Q Q K P
G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C Q Q A N S F P P T F G Q G T K L E I K R T V A A P S V F I F P P
S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q
E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G
L S S P V T K S F N R G E C

配列番号12 (抗体AのHCのDNA) (人工配列)

G A G G T G C A G C T G T T G G A G T C T G G C G G A G G G C T G G T G C A G C
C G G G A G G C A G C C T C A G G C T G A G C T G C G C T G C G A G C G G G T T
T A C T T T C T C G T C G T A C T A T A T G T C G T G G G T G A G A C A A G C A
C C A G G T A A A G G A C T T G A G T G G G T G T C C G C T A T C T C A G G C A
G C G G A G G A T C C A C C T A C T A C G C G G A T T C A G T C A A G G G A A G
A T T C A C T A T C T C G C G C G A C A A T T C C A A G A A C A C C C T G T A C
C T C C A G A T G A A C T C G C T G C G G G C A G A A G A T A C G G C C G T G T
A C T A C T G T G C C C G C T A C G C C C G G A C C G C C T T C G A C T T G T G
G G G T C A G G G A A C C C T G G T C A C T G T C T C C T C A G C T A G C A C C
A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A
G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A
G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A
G G C G C A C T G A C C A G C G G C G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C
T A C A G T C C C T C A G G A C T C T A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C
C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C
A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C A C C A A G G T G G A C A A G A
G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C
A C C G T G C C C A G C A C C T G A A G C C G A G G G G G C A C C G T C A G T C
T T C C T C T T C C C C C C A A A A C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T
C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G
C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T C A A C T G G T A T G T G G A C
G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G
A G C A G T A C A A C A G C A C G T A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C
C G T C C T G C A C C A A G A C T G G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G
T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C C C A T C C T C C A T C G A G A
A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A
G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G
A A C C A A G T C A G C C T G A C C T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C
C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C
G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C
G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A T T C C A A G C T C A C C G T G G A C A
A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T
G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C
C T C T C C C T G T C T C C G G G C A A A

配列番号13 (抗体AのLCのDNA) (人工配列)

G A C A T C G T G A T G A C T C A A A G C C C T T C A A G C C T C T C G G C G T
C A G T C G G T G A T G G C G T G A C C A T T A C C T G T C A A G C A T C C C A
A G A C A T C T A C A A C T A C T T G A A T T G G T A C C A G C A G A A G C C A
G G G A A A G C C C C G A A G C T G C T G A T C T A C G C C G C C T C C T C A C
T T C A G A G C G G A G T G C C A T C C C G C T T T T C C G G A T C G G G G A G

10

20

30

40

50

CGGAACGGATTTCACCTCTGACCATCTCGTCGCTGCAACCG
 GAGGACTTCGCGACTTACTATTGCCAGCAGGCTAACTCGT
 TCCCGCCCCACTTTTCGGACAGGGCACCAAGCTCGAAATCAA
 ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCA
 TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTGTGT
 GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA
 GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAG
 GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA
 GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA
 GAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGC
 CTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT
 GT

10

配列番号14 (ヒトCEACAM1) (ホモサピエンス)

MGHLSAPLHRVRVPWQGLLLTASLLTFWNPPTTAQLTTES
 MPFNVAEGKEVLLLVHNLPPQLFGYSWKGERVDGNRQIV
 GYAIQTQQATPGPANSGRETIYPNASLLIQNVTQNDTGFI
 TLQVIKSDLVNEEATGQFHVYPELPKPSISSNNSNPVEDK
 DAVAFTEPETQDTTYLWWINNQSPLVSPRLQLSNGNRTL
 TLLSVTRNDTGPECEIQNPVSANRSDPVTLNVTYGPDTP
 TISPSDTYYRPGANLSLSCYAASNPPAQYSWLINGTFQQS
 TQELFIPNITVNNSGSYTCHANNSTVTCNRTTVKTIIVTE
 LSPVVAKPQIKASKTTVTGDKDSVNLTCSTNDTGISIRWF
 FKNQSLPSSSERMKLSQGNNTLSINPVKREDAGTYWCEVFN
 PISKNQSDPIMLVNLYNALPQENGLSPGAIAGIVIGVVAL
 VALIAVALACFLHFGKTGRASDQRDLTEHKPSVSNHTQDH
 SNDPPNKMNEVTYSTLNFEAQQPTQPTSASPSLTATEIIS
 SEVKKQ

20

配列番号15 (ヒトガレクチン9) (ホモサピエンス)

MAFSGSQAPYLSPAVPFSGTIQGGGLQDGLQITVNGTVLSS
 SGTRFAVNFTGFGSNDIAFHFNPRFEDGGYVVCNTRQNG
 SWGPEERKTHMPFQKGMFDFLCFLVQSSDFKVMVNGILFV
 QYFHRVPFHRVDTISVNGSVQLSYISFQPPGVWPANPAPI
 TQTVIHTVQSAPGQMFSTPAIPPMYPHPAYPMPFITITIL
 GGLYPSKSIILSGTVLPSAQRFHINLCSGNHIAFHNLNPRF
 DENAVVRNTQIDNSWGSEERSLPRKMPFVRGQSFSVWILC
 EAHCLKVAVDGQHLEFYHRLRNLPNTINRLEVGGDIQLTH
 VQT

30

配列番号16 (抗体Dおよび抗体EのHC DR1) (人工配列)

KASGGTFSSYAIS

配列番号17 (抗体Dおよび抗体EのHC DR2) (人工配列)

40

LIIIPMFDTAGYAQKFQG

配列番号18 (抗体Dおよび抗体EのHC DR3) (人工配列)

ARAEHSSSTGTFDY

配列番号19

RASQGISSWLA (抗体Dおよび抗体EのLC DR1) (人工配列)

配列番号20 (抗体Dおよび抗体EのLC DR2) (人工配列)

SAASSLQS

配列番号21 (抗体Dおよび抗体EのLC DR3) (人工配列)

QQANHLPFT

配列番号22 (抗体Dおよび抗体EのHC VR) (人工配列)

50

QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
PGQGLEWMGLIIPMFDTAGYAQKFQGRVAITVDESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAEHSSSTGTFDYWGQGTLVTVSS

配列番号23 (抗体Dおよび抗体EのLCVR) (人工配列)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGIISSWLAWYQQKP
GKAPKLLISAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQP
EDFATYYCQQANHLPTFTFGGGTKVEIK

配列番号24 (抗体D-S228P IgG4のHC) (人工配列)

QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
PGQGLEWMGLIIPMFDTAGYAQKFQGRVAITVDESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAEHSSSTGTFDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPSSSLGKT
YTCNVDPKPSNTKVDKRVEESKYGPPCPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK

10

20

配列番号25 (抗体E-PAA IgG4 des-LysのHC) (人工配列)

QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
PGQGLEWMGLIIPMFDTAGYAQKFQGRVAITVDESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARAEHSSSTGTFDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPSSSLGKT
YTCNVDPKPSNTKVDKRVEESKYGPPCPCPAPEAAGGPSV
FLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLG

30

配列番号26 (抗体Dおよび抗体EのLC) (人工配列)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGIISSWLAWYQQKP
GKAPKLLISAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQP
EDFATYYCQQANHLPTFTFGGGTKVEIKRTVAAPS VFI FPP
SDEQLKSGTASVVC LLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

40

配列番号27 (抗体D-S228P IgG4のHCのDNA) (人工配列)

CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGGCGCTGAGGTGAAAAAAC
CCGGATCCTCCGTCAAGGTGTCTCTGTAAAGCCAGCGGCGG
CACATT CAGCAGCTACGCCATCTCCTGGGTGAGGCAAGCT
CCTGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCCTGATCATCCCCA
TGTTTCGACACCGCCGGCTACGCTCAGAAATTCCAGGGCCG
GGTCGCCATTACAGTGGATGAGAGCAC CAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTCAGCTCCCTGAGGAGCGAAGATACCGCCGTCT
ACTATTGTGCCCGGGCTGAGCATAGCAGCACCGGCACCTT
CGACTATTGGGGCCAGGGAACCTGGT CACAGTGAGCTCC

50

GCTTCCACAAAAGGCCCCAGCGTGTTTCCCCTGGCCCCCTT
GTAGCAGGTCCACCTCCGAAAGCACAGCCGCTCTGGGGCTG
CCTGGTCAAGGATTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTTCC
TGGAAATAGCGGCGCTCTCACATCCGGAGTGCATACCTTTT
CTGCCGTGCTCCAGTCCCTCCGGCCCTGTACTCCCTGAGCTC
CGTGGTGACCGTCCCTTCCAGCTCCCTGGGGCACCAAGACC
TATACCTGTAAAGTGGACCACAAGCCCTCCAATACCAAGG
TGGATAAGCGGGTTCGAGTCCAAGTACGGACCCCCCTTGCCC
TCCTTGTTCTGCTCCTGAATTCTCTCGGCGGACCTAGCGTCT
TTTCTCTTCCCCCCCCAAGCCCCAAGGATACCTTGATGATCT
CCAGGACCCCCCGAGGTGACATGCGTCTGTGGTTCGATGTGTCT
CCAGGAGGATCCTGAAGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTTCGAAGTGCATAACGCCCAAGACCAAGCCCCAGGGAGG
AGCAGTTCAACTCCACCTATCGGGTGGTGAAGCGTGTCTGAC
CGTGTCTGCATCAGGACTGGCTCAACGGCAAAGAGTACAAG
TGCAAGGTCTCCAACAAGGGACTCCCCCTCCAGCATCGAGA
AGACCATTAGCAAGGCCAAAGGCCAACCCAGGGAGCCTCA
GGTATATACGCTGCCCCCCCAGCCAGGAGGAGATGACCAAA
AACCAAGGTCAGCCTCACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACC
CTAGCGACATTGCTGTCTGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCC
CGAGAACAACTATAAAACCAACCCCCCTGTCTGGAAGTCC
GACGGATCCTTCTTCTGTACTCCAGGCTGACAGTCTGACA
AGTCCCAGGTGGCAAGAGGGAAACGTCTTCTCCTGCTCCGT
GATGCACGAAGCTCTCCACAACCACTACACCCAGAAGAGC
CTCAGCCTGTCCCTGGGGCAAAATGATGA

10

20

配列番号28（抗体E-PAA IgG4 des-LysのHCのDNA）（人工配列）

CAGGTGCAGCTGGTCCAGTTCAGGGGGCTGAAGTGAAGAAGC
CCGGCAGCTCCGTGAAGGTGTCTTTGCAAGGCCAGCGGGCGG
AACATTCTCCAGTTACGCCATCTCTTTGGGTGCGGCAGGCT
CCAGGCCAGGGGCCCTGGAGTGGATGGGGCCTGATCATCCCCA
TGTTTCGACACCGCCGGGTATGCCCCAGAAGTTTCAGGGGCAG
AGTGGCAATCACAGTGGACGAGAGCACCTCCACAGCCTAC
ATGGAGCTGTCTAGCCTGAGATCCGAGGATACCGCCCGTGT
ATTATTGTGCCCGGGCCGAACACAGCTCTACAGGGACTTT
CGACTACTGGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGAAGTGTCTCTCT
GCTAGCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCGCTCGCGCCCT
GCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCGCCCTGGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTCG
TGGAACTCAGGGCGCCCTGACCAAGCGGCGTGACACACCTTCC
CGGCTGTCTTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
CGTGGTGACCGTGCCTTCCAGCAGCTTGGGGACGAAGACC
TACACCTGCAACGTAGATCACAAAGCCCAAGCAACACCAAGG
TGGACAAGAGAGTTGAGTCCAATAATGGTCCCCCATGCCC
ACCTTGCCCAAGCACCTGAGGGCCGCGGGGGACCATCAGTC
TTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCT
CCCCGGACCCCTGAGGTTCAGTGCCTGGTGGTGGACGTGAG
CCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTATGTTGAT
GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG

30

40

50

AGCAGTTTCAACAGCACGTACCGTGTTGGTCAGCGTCTTCAC
CGTCCCTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG
TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACA
AAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACA
GGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCAAGAAGAAATGACCAAA
AACCAAGTCAAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTACC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGGCGAGCC
GGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCC
GACGGCTCCTTCTTCTCTACTCCCGTCTAACCGTGGACA
AGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGT
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGC
CTCTCCCTGTCTCTGGGT

10

配列番号29（抗体Dおよび抗体EのLCのDNA）（人工配列）

GACATCCAGATGACACAGTCCCCTAGCTCCGTGTCCGCTT
CCGTGGGAGACAGGGTGACAATCACATGCAGGGCTTCCCA
GGGCATCAGCAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCC
GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCAGCGCTGCTAGCTCCC
TGCAGTCCGGAGTGCCCTTCCAGGTTCTCCGGGCTCCGGAAG
CGGCACCCGACTTCAACCCCTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCC
GAGGACTTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGGCCAACCAACC
TGCCCTTTCACCTTTCGGCGGGCGGCACCAAGGTGGAGATCAA
GAGGACCGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTTCCCCC
AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGGCACCGCCTCCGTGGTGT
GCCTGCTGAACAACCTTCTATCCCCGGGAGGCCAAGGTGCA
GTGGAAGGTTCGACAATGCCCTGCAGAGCGGCCAACTCCCA
GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACT
CCCTGAGCTCCACCCCTGACACTGTCCAAGGCCGACTACGA
GAAGCACAAAGGTGTACGCCCTGCGAGGTGACACACCAGGGC
CTGAGCTCCCCCGTGACCAAGTCTTCAACAGGGGCGAGT
GCTGATGA

20

30

配列番号30（ニボルマブ重鎖）（人工配列）

QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQA
PGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLF
LQMNSLRAEDTAVYYCATND D YWGQGT L V T V S S A S T K G P S
VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLG TKTYTCNV DH
KPSNTKVKDRVESKYGP P C P C P A P E F L G G P S V F L F P K P
KDTLMISRTP E V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A
KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG
LPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTT P P V L D S D G S F F L Y
SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLK

40

配列番号31（ニボルマブ軽鎖）（人工配列）

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP
GQAPRLLIYDASN RATGI PARFSGSGSGTDFTLTIS SLEP
EDFAVYYCQQSSSNWPRTFGQG TKVEIKRTVAAPS VFI FPP
SDEQLKSGTASVVC LLN F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q
ESVTEQDSKDS T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G
LSSPVTKS FNRGEC

配列番号32（ペンブロリズマブ重鎖）（人工配列）

50

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQA
PGQGLEWMGGINPSNGGTNFKNEKFKNRVTLTDSSTTTAY
MELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQGTTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVEISKYGPCCPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK

10

配列番号33（ペンブロリズマブ軽鎖）（人工配列）

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWY
QQKPGQAPRLLIYLA SYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTIS
SLEPEDFAVYYCQHSRDLP LTFGGGTKEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC

20

配列番号34（ヒトPD-1）（ホモサピエンス）

MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTTFSPA
LLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLA
AFPEDRSQPGQDCRFRTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGT
YLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSP
RPAGQFQTLVVGVGGLLGSLLVWVLAVICSRARGTI
GARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGE LDFQWREKTPEPPVP
CVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSSADGPRSAQPLRPE
DGHCSWPL

【配列表】

0006839772000001.app

30

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1

(74)代理人 100145403

弁理士 山尾 憲人

(74)代理人 100122301

弁理士 富田 憲史

(74)代理人 100157956

弁理士 稲井 史生

(74)代理人 100170520

弁理士 笹倉 真奈美

(72)発明者 イーウェン・リー

アメリカ合衆国46206-6288インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6288、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

(72)発明者 イー・ジャン

アメリカ合衆国46206-6288インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6288、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

審査官 西 賢二

(56)参考文献 特表2013-532153 (JP, A)

国際公開第2016/161270 (WO, A1)

国際公開第2016/068803 (WO, A1)

国際公開第2015/117002 (WO, A1)

特許第6502590 (JP, B1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00-15/90

C07K 1/00-19/00

A61K

A61P