

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-517539

(P2019-517539A)

(43) 公表日 令和1年6月24日 (2019.6.24)

(51) Int. Cl.	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 7 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/22 (2006.01)	A 6 1 P 31/22	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 139 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2018-563801 (P2018-563801)	(71) 出願人	504438727 マクロジェニクス、インコーポレーテッド アメリカ合衆国 20850 メリーラン ド州、ロックヴィル、メディカル センタ ー ドライブ 9704
(86) (22) 出願日	平成29年6月6日 (2017.6.6)	(74) 代理人	100123858 弁理士 磯田 志郎
(85) 翻訳文提出日	平成31年1月29日 (2019.1.29)	(72) 発明者	ボンビニ エツィオ アメリカ合衆国 メリーランド州 208 54, ポトマック, パウダー ホーン ド ライブ 11136
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/036075	(72) 発明者	ケーニッヒ スコット アメリカ合衆国 メリーランド州 208 52, ロックヴィル, ラルストン ロード 10901
(87) 国際公開番号	W02017/214092		
(87) 国際公開日	平成29年12月14日 (2017.12.14)		
(31) 優先権主張番号	62/432, 299		
(32) 優先日	平成28年12月9日 (2016.12.9)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/346, 854		
(32) 優先日	平成28年6月7日 (2016.6.7)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 併用療法

(57) 【要約】

本発明は、癌及び病原体関連疾患の治療のための併用療法を対象とし、上記併用療法は：(1) PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子（例えばダイアボディ、scFv、抗体、TandAb等）；及び(2) 疾患抗原を発現する標的細胞（例えば癌細胞又は病原体感染細胞等）の標的転換殺滅を仲介できる分子（例えばダイアボディ、BiTe、二重特異性抗体、CAR等）の投与を含む。本発明は特に、上記標的細胞の上記標的転換殺滅を仲介できる上記分子が、エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに免疫特異的に結合できる第1のエピトープ結合部位と、上記標的細胞のエピトープ（即ち癌抗原又は病原体関連抗原等の疾患抗原）に免疫特異的に結合できる第2のエピトープ結合部位とを含む、二重特異性結合分子である、実施形態に関する。本発明はまた、1つ又は複数の上記分子を含む医薬組成物も対象とする。

【選択図】 図8A

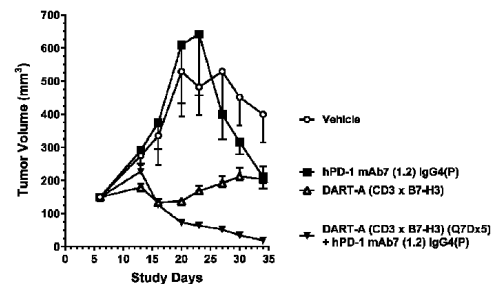


Figure 8A

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

治療の有効量の：

- (1) PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる分子、及び
- (2) 標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子であって、前記標的細胞は：
 - (a) 癌抗原を発現する癌細胞；又は
 - (b) 病原体関連抗原を発現する病原体感染細胞

である、分子

を、治療を必要とする被験者に投与するステップを含む、癌又は病原体関連疾患の治療のための方法。

10

【請求項 2】

PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる前記分子は、PD 1 と PD 1 の天然リガンドとの間の結合を阻害できる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記方法は、合計 3 つのエピトープ結合ドメインを含む 2 つの結合分子の投与を含み、前記 2 つの結合分子は：

- (A) PD 1 に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン、又は PD 1 の天然リガンドに結合できる抗体のエピトープ結合ドメインを含む、結合分子；並びに
- (B) (1) 前記エフェクタ細胞の細胞表面分子に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン；及び

20

(2) 前記標的細胞の前記癌抗原又は前記病原体抗原に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン

を含む、結合分子

であり、

前記結合分子 (A) の前記エピトープ結合ドメインは、PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合でき、前記結合分子 (B) の前記エピトープ結合ドメイン (1) 及び (2) は、前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、ダイアボディ、s c F v、抗体又は T a n d A b を含み、

30

前記結合分子 (B) は、二重特異性ダイアボディ、C A R、B i T e 又は二重特異性抗体を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、PD 1 に結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、請求項 3 又は 4 に記載の方法。

【請求項 6】

PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、PD 1 の天然リガンドに結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、請求項 3 又は 4 に記載の方法。

【請求項 7】

PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、PD 1 に結合できる第 2 のエピトープ結合ドメインを含み、

40

前記エピトープ結合ドメインは：

- (a) PD 1 の同一のエピトープへの結合に関して競合するか；又は
- (b) PD 1 の同一のエピトープへの結合に関して競合しない、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 PD 1 エピトープ結合ドメインは、同一の PD 1 分子に同時に結合できる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、PD 1 の天然リ

50

ガンドに結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含み、

前記エピトープ結合ドメインは：

(a) PD 1の前記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合するか；
又は

(b) PD 1の前記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合しない、
請求項6に記載の方法。

【請求項10】

前記PD 1リガンド エピトープ結合ドメインは、PD 1の前記天然リガンドの同一の分子に同時に結合できる、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、PD 1又はPD 1の天然リガンドではない分子のエピトープに結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含む、請求項5又は6に記載の方法。

【請求項12】

前記第2のエピトープ結合ドメインは、CD137、LAG 3、OX40、TIGIT、TIM 3又はVISTAのエピトープに結合する、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子は、前記エフェクタ細胞の細胞表面分子に結合できる第3のエピトープ結合ドメインを含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子の前記第3のエピトープ結合ドメインは、前記エフェクタ細胞の異なる細胞表面分子に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子が、前記エフェクタ細胞の2つの異なる細胞表面分子に結合できる、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子は、前記標的細胞の癌抗原又は病原体関連抗原に結合できる第3のエピトープ結合ドメインを含む、請求項2～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子の前記第3のエピトープ結合ドメインは、前記標的細胞の異なる癌抗原又は異なる病原体抗原に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子が、前記標的細胞の2つの異なる癌抗原又は2つの異なる病原体抗原に結合できる、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記エフェクタ細胞の前記細胞表面分子は、CD2、CD3、CD8、CD16、TCR及びNKGD2からなる群から選択される、請求項2～16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

前記癌抗原は、癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM 9、AH6、ALCAM、B1、B7 H3、BAGE、カテニン、血液型ALe^b/Le^y、パーキットリン腫瘍抗原 38.13、C14、CA125、カルボキシペプチダーゼM、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17 1A、CO 43、CO 514、CTA1、CTLA 4、サイトケラチン8、D1.1、D₁56 22、DR5、E₁シリーズ、EGFR、エフリン受容体、Er b、GAGE、GD2/GD3/GM2ガングリオシド、GICA19 9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMGF、ヒトパピローマウイルス E6/ヒトパピローマウイルス E7、HMW

10

20

30

40

50

M A A、I 抗原、I L 1 3 R 2、インテグリン 6、J A M 3、K I D 3、K I D 3 1、K S 1 / 4 汎癌腫抗原、L 6、L 2 0、L E A、L U C A 2、M 1 : 2 2 : 2 5 : 8、M 1 8、M 3 9、M A G E、M A R T、メソテリン、M U C 1、M U M 1、M y 1、N アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ、ネオ糖タンパク質、N S 1 0、O F A 1、O F A 2、オンコスタチン M、p 1 5、p 9 7、P E M、P E M A、P I P A、P S A、P S M A、前立腺酸性リン酸塩、R₂₄、R O R 1、スフィンゴ脂質、S S E A 1、S S E A 3、S S E A 4、s T n、T 細胞受容体由来ペプチド、T₅ A₇、T A G 7 2、T L 5、T N F 受容体、T N F 受容体、T R A 1 8 5、トランスフェリン受容体、5 T 4、T S T A、V E G F、V E G F 受容体、V E P 8、V E P 9、V I M D 5、及び Y ハブテン、L e^y からなる群から選択される、請求項 2 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 1 9】

前記方法は、前記医薬組成物の前記投与を含み、

前記病原体関連抗原は、病原体関連抗原：単純ヘルペスウイルス感染細胞タンパク質 (I C P) 4 7、単純ヘルペスウイルス g D、エプスタイン バーウイルス L M P 1、エプスタイン バーウイルス L M P 2 A、エプスタイン バーウイルス L M P 2 B、ヒト免疫不全ウイルス g p 1 6 0、ヒト免疫不全ウイルス g p 1 2 0、ヒト免疫不全ウイルス g p 4 1 等、ヒトパピローマウイルス E 6、ヒトパピローマウイルス E 7、ヒト T 細胞白血病ウイルス g p 6 4、ヒト T 細胞白血病ウイルス g p 4 6、及びヒト T 細胞白血病ウイルス g p 2 1 からなる群から選択される、請求項 2 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 2 0】

(A) 治療の有効量の：

(1) P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる分子；及び

(2) 癌抗原又は病原体抗原を発現する標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子；並びに

(B) 薬学的に許容可能なキャリアを含む、医薬組成物。

【請求項 2 1】

前記医薬組成物は、合計 3 つのエピトープ結合ドメインを含む 2 つの結合分子を含み、

30

前記 2 つの結合分子は：

(A) P D 1 に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン、又は P D 1 の天然リガンドに結合できる抗体のエピトープ結合ドメインを含む、結合分子；並びに

(B) (1) 前記エフェクタ細胞の細胞表面分子に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン；及び

(2) 前記標的細胞の癌抗原又は病原体抗原に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン

を含む、結合分子

であり、

前記結合分子 (A) の前記エピトープ結合ドメインは、P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合でき、前記結合分子 (B) の前記エピトープ結合ドメイン (1) 及び (2) は、前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる、請求項 2 0 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 2 2】

前記結合分子 (A) は、ダイアボディ、s c F v、抗体又は T a n d A b を含み、

前記結合分子 (B) は、ダイアボディ、C A R、B i T e 又は二重特異性抗体を含む、請求項 2 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる前記分子は、P D 1 に結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、請求項 2 1 又は 2 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 4】

50

P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる前記分子は、P D 1 の天然リガンドに結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、請求項 2 1 又は 2 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 5】

P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる前記分子は、P D 1 に結合できる第 2 のエピトープ結合ドメインを含み、

前記 P D 1 エピトープ結合ドメインは：

(a) P D 1 の同一のエピトープへの結合に関して競合するか；又は

(b) P D 1 の同一のエピトープへの結合に関して競合しない、請求項 2 3 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 2 6】

前記 P D 1 エピトープ結合ドメインは、同一の P D 1 分子に同時に結合できる、請求項 2 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 7】

P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、P D 1 の天然リガンドに結合できる第 2 のエピトープ結合ドメインを含み、

前記エピトープ結合ドメインは：

(a) P D 1 の前記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合するか；又は

(b) P D 1 の前記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合しない、請求項 2 4 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 2 8】

前記 P D 1 リガンド エピトープ結合ドメインは、P D 1 の前記天然リガンドの同一の分子に同時に結合できる、請求項 2 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 9】

P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる前記結合分子は、P D 1 又は P D 1 の天然リガンドではない分子のエピトープに結合できる第 2 のエピトープ結合ドメインを含む、請求項 2 3 又は 2 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 0】

前記第 2 のエピトープ結合ドメインは、C D 1 3 7、L A G 3、O X 4 0、T I G I T、T I M 3 又は V I S T A のエピトープに結合する、請求項 2 9 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 3 1】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記分子は、第 3 のエピトープ結合ドメインを含み、3 つの前記エピトープ結合ドメインは同時結合が可能であり、また前記第 3 のエピトープは、前記エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに結合できる、請求項 2 0 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 2】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子の前記第 3 のエピトープ結合ドメインは、前記エフェクタ細胞の異なる細胞表面分子に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子が、前記エフェクタ細胞の 2 つの異なる細胞表面分子に結合できる、請求項 3 1 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 3 3】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子は、前記標的細胞の癌抗原又は病原体関連抗原に結合できる第 3 のエピトープ結合ドメインを含む、請求項 2 0 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

前記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子の前記第 3 のエピトープ結合ドメインは、前記標的細胞の異なる癌抗原又は異なる病原体関連抗原に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる前記結合分子が、前記標的細胞の 2 つの異なる癌抗原又は

50

2つの異なる病原体関連抗原に結合できる、請求項33に記載の医薬組成物。

【請求項35】

前記エフェクタ細胞の前記細胞表面分子は、CD2、CD3、CD8、CD16、TCR及びNKGD2Dからなる群から選択される、請求項21～34のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項36】

前記癌抗原は、癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM9、AH6、ALCAM、B1、B7H3、BAGE、カテニン、血液型ALe^b/Le^y、パーキットリンパ腫抗原38.13、C14、CA125、カルボキシペプチダーゼM、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO171A、CO43、CO514、CTA1、CTLA4、サイトケラチン8、D1.1、D₁5622、DR5、E₁シリーズ、EGFR、エフリン受容体、Er_b、GAGE、GD2/GD3/GM2ガングリオシド、GICA19.9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMGF、ヒトパピローマウイルスE6/ヒトパピローマウイルスE7、HMWMAA、I抗原、IL13R2、インテグリン6、JAM3、KID3、KID31、KS1/4汎癌腫抗原、L6、L20、LEA、LUCA2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、メソテリン、MUC1、MUM1、My1、Nアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ、ネオ糖タンパク質、NS10、OFA1、OFA2、オンコスタチンM、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前立腺酸性リン酸塩、R₂₄、ROR1、スフィンゴ脂質、SSEA1、SSEA3、SSEA4、sTn、T細胞受容体由来ペプチド、T₅A₇、TAG72、TL5、TNF受容体、TNF受容体、TRA185、トランスフェリン受容体、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受容体、VEP8、VEP9、VIMD5、及びYハプテン、Le^yからなる群から選択される、請求項20～35のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項37】

前記病原体関連抗原は、病原体関連抗原：単純ヘルペスウイルス感染細胞タンパク質(ICP)47、単純ヘルペスウイルスgD、エプスタインバーウイルスLMP1、エプスタインバーウイルスLMP2A、エプスタインバーウイルスLMP2B、ヒト免疫不全ウイルスgp160、ヒト免疫不全ウイルスgp120、ヒト免疫不全ウイルスgp41等、ヒトパピローマウイルスE6、ヒトパピローマウイルスE7、ヒトT細胞白血病ウイルスgp64、ヒトT細胞白血病ウイルスgp46、及びヒトT細胞白血病ウイルスgp21からなる群から選択される、請求項20～35のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項38】

請求項20～37のいずれか1項に記載の医薬組成物のうちのいずれかを含み、
前記医薬組成物の結合分子は、1つ又は複数の容器に仕分けられている、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[関連出願の相互参照]

本出願は、米国特許出願第62/346,854号(2016年6月7日出願；係属中)及び米国特許出願第62/432,299号(2016年12月9日出願；係属中)に対する優先権を主張するものであり、各上記出願はその全体が本出願に援用される。

【0002】

[配列表の参照]

10

20

30

40

50

本出願は、連邦規則法典第37巻第1.821節以下による1つ又は複数の配列表を含み、これらの配列表は、コンピュータ可読媒体（ファイル名：1301_0142PCT_ST25.txt、2017年5月31日作成、サイズ：225,335バイト）において開示されており、上記ファイルは、参照によりその全体が本出願に援用される。

【0003】

本発明は、癌及び病原体関連疾患の治療のための併用療法を対象とし、上記併用療法は：（1）PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子（例えばダイアボディ、scFv、抗体、TandAb等）；及び（2）疾患抗原を発現する標的細胞（例えば癌細胞又は病原体感染細胞等）の標的転換殺滅を仲介できる分子（例えばダイアボディ、BiTe、二重特異性抗体、CAR等）の投与を含む。本発明は特に、上記標的細胞の上記標的転換殺滅を仲介できる上記分子が、エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに免疫特異的に結合できる第1のエピトープ結合部位と、上記標的細胞のエピトープ（即ち癌抗原又は病原体関連抗原等の疾患抗原）に免疫特異的に結合できる第2のエピトープ結合部位とを含む、二重特異性結合分子である、実施形態に関する。本発明はまた、1つ又は複数の上記分子を含む医薬組成物も対象とする。

【背景技術】

【0004】

I. 哺乳類免疫系

哺乳類免疫系は、例えば創傷、感染及び新生物を含む多様な状態に対する防御として機能する。ヒト及び他の哺乳類が病原体、外来物質及び癌抗原に対する免疫応答を発現する効率は、2つの特徴：抗原認識に対する免疫応答の優れた特異性、及び同一の抗原による再活性化に対するより迅速かつより活発な応答を可能とする免疫記憶に基づくものである（非特許文献1～3）。

【0005】

健康な個体では、免疫系は静止状態であり、多様な阻害性受容体及びリガンドによって阻害される。癌抗原、微生物病原体又はアレルゲンを認識すると、活性化受容体及び受容体リガンドのアレイは、免疫系の活性化を誘発するようトリガされる。このような活性化は、マクロファージ、ナチュラルキラー（NK）細胞及び抗原特異性細胞傷害性T細胞の活性化につながり、様々なサイトカインの放出を促進し、これらのサイトカインは全て、被検体の健康に対する知覚された脅威に対抗するよう作用する（非特許文献4～6）。免疫系は、相殺阻害性免疫シグナルが活性化免疫シグナルよりも大きい場合に、その正常な静止状態に戻ることができる。

【0006】

よって、癌の疾患状態（及び実際には感染性疾患の疾患状態）は、被検体の免疫系の十分な活性化の失敗を反映したものであると考えることができる。このような失敗は、活性化免疫シグナルの不十分な提示を反映したものであってよく、又は被検体における阻害性免疫シグナルを軽減する能力が不十分であることを反映したものであってよい。いくつかの例では、研究者により、癌細胞が免疫系を組み込むことによって、上記免疫系に検出されるのを避けることができることが判明した（非特許文献3）。

【0007】

哺乳類免疫系は、2つの別個の、ただし相互に関連した系：体液免疫系及び細胞免疫系によって仲介される。一般に、体液系は、B細胞によって産生される可溶性分子（抗体又は免疫グロブリン）によって仲介される。上記分子は、身体にとって外来物であると認識された抗原と化合してこれを中和する能力を有する。細胞免疫系は、多様な治療的役割を果たす「T細胞」と呼ばれる特定の細胞の可動化を伴う。T細胞は、胸腺において成熟して、組織、リンパ系及び循環器系の間を循環する、リンパ球である。外来構造（抗原）の存在及び認識に応答して、T細胞は「活性化され（activated）」た状態となり、免疫応答を開始する。多くの例では、これらの外来抗原は、新生物又は感染の結果として宿主細胞上に発現する。T細胞自体は抗体を分泌しないが、T細胞は通常、第2の分類のリンパ球であるB細胞（これは骨髄に由来する）による抗体分泌のために必要である。重要なこ

とに、T細胞は、卓越した免疫学的特異性を示すことによって、抗原を互いに識別できる。

【0008】

T細胞活性化には2つの相互作用が必要となる（非特許文献5、6）。第1の相互作用では、細胞は、ナイーブTリンパ球のT細胞受容体（T細胞受容体；「TCR」）に結合できるよう、細胞のクラスⅠ又はクラスⅡ主要組織適合遺伝子複合体（Major Histocompatibility Complex：「MHC」）に結合する適切な標的抗原を提示しなければならない。ほとんど全ての細胞タイプが抗原提示細胞として作用できるが、マクロファージ、B細胞及び樹状細胞といった一部の細胞は、外来抗原の提示に特化されており、「プロフェッショナル」「抗原提示細胞」である。抗原提示細胞のMHCⅠ分子に結合する抗原の免疫学的検出は、細胞毒性T細胞の産生につながる。抗原提示細胞のMHCⅡ分子に結合する抗原の免疫学的検出は、細胞毒性T細胞の産生につながる。第2の相互作用では、抗原提示細胞のリガンドはT細胞の共受容体に結合しなければならない（非特許文献4、7）。両方の刺激シグナルを受けたT細胞は、サイトカイン（インターロイキン2及びインターロイキン12等）に応答できる。

10

【0009】

TCR関与中に両方の共刺激シグナルが存在しない場合、T細胞は機能的に無反応な状態に入り、これはクローンアネルギー（clonal anergy）と呼ばれる（非特許文献8）。病的状態においては、T細胞は、Ⅰ型糖尿病、関節リウマチ及び多発性硬化症といった様々な臓器特異的自己免疫疾患において重要な役割を果たす（非特許文献4）。

20

【0010】

このような免疫「チェックポイント（checkpoint）」経路は、自己寛容性を維持する（即ち被検体が自身の細胞に対する免疫系の攻撃を発生させること（「自己免疫（autoimmune）」応答）を防止する）にあたって、及び抗菌又は抗アレルギー免疫応答中の付随的な組織損傷を制限するにあたって、重要である。T細胞の接触により、2つの必要なシグナルのうちの一方のみが生成される場合、T細胞は活性化されず、適合した免疫応答が発生しない。従ってT細胞活性化の「2シグナル」機序は、免疫系が、望ましくない応答、例えば被験者自身の細胞に対する免疫系の攻撃をもたらす自己抗原に対する応答（「自己免疫」応答）を回避するための方法を提供する。

30

【0011】

ⅡⅠ．細胞免疫系の細胞表面分子

A．CD3、CD4及びCD8

免疫系の細胞は、特化された糖タンパク質細胞表面分子の発現を特徴とする。このような分子と他の細胞の分子との間の相互作用は、免疫応答をトリガするか、維持するか、又は弱める。特に全てのT細胞は、CD3の発現を特徴とする。CD3は、4つの別個の鎖からなるT細胞共受容体である（非特許文献9、10、2）。

【0012】

哺乳類では、上記複合体CD3鎖、CD3鎖及び2つのCD3鎖を含有する。これらの鎖は、Tリンパ球中で活性化シグナルを生成するためにTCRと会合する（非特許文献11）。CD3が存在しない場合、TCRは適切に集合せず、劣化する（非特許文献12）。CD3は、全ての成熟T細胞の膜に結合し、実質的に他の細胞タイプには結合しない（非特許文献13～15を参照）。

40

【0013】

T細胞上のTCR複合体の不変CD3シグナリング成分は、T細胞と癌細胞との間の免疫学的シナプスの形成を強制するための標的として使用されてきた。CD3及び腫瘍抗原の共関与はT細胞を活性化し、腫瘍抗原を発現する癌細胞の溶解をトリガする（非特許文献16）。このアプローチにより、二重特異性抗体は、癌細胞に対する高い特異性を有するT細胞コンパートメントと全体的に相互作用し、またこのアプローチは、幅広い細胞表面腫瘍抗原に広く適用可能であり、病原体感染細胞を標的化するためにも実装されている（例えば非特許文献17、特許文献1、2を参照）。

50

【 0 0 1 4 】

「ヘルパー T 細胞」として知られる T 細胞の第 1 のサブセットは、C D 4 の発現を特徴とする（即ちこれらは「C D 4⁺」である）。C D 4⁺ T 細胞は、殆どの哺乳類免疫及び自己免疫応答の必須のオーガナイザである（非特許文献 4）。C D 4⁺ T 細胞の活性化は、抗原：抗原提示細胞（例えば B 細胞、マクロファージ又は樹状細胞）の表面上に配列された主要な組織適合性クラス I I（M H C I I）分子複合体と、いずれもナイーブ C D 4⁺ T 細胞の表面上に配列された 2 つの分子の複合体、即ち T 細胞受容体（T C R）及び C D 3 細胞表面受容体リガンドとの間の共刺激性相互作用によって仲介されることが分かっている。活性化された T ヘルパー細胞は、標的細胞への炎症応答を仲介できる T h 1 細胞を増殖させることができる。

10

【 0 0 1 5 】

「細胞毒性 T 細胞」として知られる T 細胞の第 2 のサブセットは、C D 8 の発現を特徴とする（即ちこれらは「C D 8⁺」であり、かつ C D 3⁺である）。C D 8 は、細胞毒性 T 細胞上に発現される、2 つの別個の鎖からなる T 細胞共受容体である（非特許文献 1 8）。C D 8⁺ T 細胞の活性化は、抗原：標的細胞の表面上に配列された主要な組織適合性クラス I（M H C I）分子複合体と、C D 8⁺ T 細胞の表面上に配列された C D 8 及び T 細胞受容体の複合体との間の共刺激性相互作用によって仲介されることが分かっている（非特許文献 1 9）。特定の免疫系のみによって発現する主要組織適合性クラス I I（M H C I I）分子とは異なり、M H C I 分子は極めて広範に発現する。従って細胞毒性 T 細胞は、広範な細胞タイプに結合できる。活性化された細胞毒性 T 細胞は、細胞毒であるパーフォリン、グランザイム、及びグラニュライシンの放出によって、細胞殺滅を仲介する。パーフォリンの作用により、グランザイムは標的細胞の細胞質に入り、グランザイムのセリンプロテアーゼ機能によって、最終的に標的細胞のアポトーシス（プログラムされた細胞死）につながる一連のシステインであるカスパーゼカスケードをトリガする。

20

【 0 0 1 6 】

B . C D 2

C D 2 は、T 細胞及びナチュラルキラー（N K）細胞の表面上に確認される細胞接着分子である。C D 2 は、恐らく N K 細胞ナノチューブ形成のプロモータとして、N K 細胞の細胞毒性を増強させる（非特許文献 2 0、2 1）。

30

【 0 0 1 7 】

C . T 細胞受容体（「T C R」）

T 細胞受容体（「T C R」）は、C D 4⁺又は C D 8⁺ T 細胞が自然に発現するものであり、これらの細胞が、抗原提示細胞のクラス I 又はクラス I I M H C タンパク質によって結合及び提示される抗原ペプチドを認識できるようにする。T C R による p M H C（ペプチド M H C）の認識は、サイトカインの産生及び抗原提示細胞の溶解につながる、細胞免疫応答の伝播を開始させる（例えば非特許文献 2 2 ~ 2 4 参照）。C D 3 は T C R に結合する受容体である（非特許文献 1 2、2、2 6、2 7、1 1、2 8）。

40

【 0 0 1 8 】

（T 細胞受容体 T 3 ゼータ鎖又は C D 2 4 7 としても知られる）C D 3 鎖ゼータ鎖を伴う T C R と C D 3 との複合体は、T C R 複合体を含む（非特許文献 2 9、9）。上記複合体は、多数（1 0 個）の免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（I T A M）を含有するため、特に重要である。

【 0 0 1 9 】

D . F c 受容体：C D 1 6、C D 3 2 及び C D 6 4

以下で詳細に議論するように、天然 I g G 抗体は、4 つのポリペプチド鎖：2 つの同一の「軽（light）」鎖及び 2 つの同一の「重（heavy）」鎖からなる。重鎖は、C 末端「C H 2」及び「C H 3」ドメインを含有し、上記 2 つの重鎖の結合は、複数のタイプの免疫系細胞（例えば B リンパ球、濾胞樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、好塩基球及び肥満細胞）の表面上に見られる受容体（単数で「F c ガンマ受容体」「F c R」、及び集合的に「F c R s」と呼ばれる）と結紮（結合）できる

50

「Fcドメイン」を生成する。このような受容体は、（これによってFcドメインと結紮できる）「細胞外」部分、（細胞膜を通して延在する）「膜透過」部分、及び（細胞の内側に位置する）「細胞質」部分を有する。複数のタイプのFc R：CD16A（FcRIIA）、CD16B（FcRIIB）、CD32A（FcRIIA）、CD32B（FcRIIB）及びCD64（FcRI）が同定されている。このような結合により、活性化又は阻害シグナルが免疫系に伝達される。

【0020】

CD16は、活性化性Fc受容体FcRIIA（CD16A）及びFcRIIB（CD16B）の一般名である。CD16は、好中球、好酸球、ナチュラルキラー（NK）細胞、及び凝集しているがモノマーではないヒトIgGに結合する組織マクロファージによって発現される（非特許文献30～34）。これらの受容体はIgG抗体のFc部分に結合することにより、サイトカインの放出をトリガする。このような抗体が、細胞（例えば癌細胞、病原体感染細胞等）の表面上に発現された疾患抗原に結合した場合、上述の放出は、標的化された細胞の殺滅を仲介する。このような殺滅は抗体依存性であるため、抗体依存性細胞仲介型細胞毒性（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity：ADCC）と呼ばれる。

10

【0021】

CD32A（FcRIIA）（非特許文献35～37）及びCD64（FcRI）（非特許文献38～41）は、マクロファージ、好中球、好酸球及び樹状細胞上で（CD32Aに関しては、血小板及びランゲルハンス細胞上でも）発現される活性化性Fc受容体である。対照的に、CD32B（FcRIIB）は、Bリンパ球（マクロファージ、好中球及び好酸球）上の阻害性Fc受容体である（非特許文献42～44、37）。

20

【0022】

様々なFc Rの、正反対の機能を仲介する能力は、それらの構造的な差異、特にFc Rが免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（immunoreceptor tyrosine-based activation motif：「ITAM」）を有するか、免疫受容体チロシン系阻害モチーフ（immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif：「ITIM」）を有するかを反映する。これらの構造に対する異なる細胞質酵素の補充は、Fc R仲介細胞応答の結果を決定づける。ITAM含有Fc Rは、FcRI、FcRIIA、FcRIIAを含み、Fcドメイン（例えば免疫複合体中に存在する凝集Fcドメイン）に結合した場合に免疫系を活性化する。FcRIIBは、現在知られている唯一の天然ITIM含有Fc Rであり；凝集Fcドメインに結合した場合に、免疫系を弱めるか、又は阻害する働きをする。

30

【0023】

E．NK G2D受容体

ナチュラルキラーグループ2D（Natural Killer Group 2D：「NK G2D」）受容体は、全てのヒト（及び他の哺乳類）のナチュラルキラー細胞上（非特許文献45、46）並びに全てのCD8⁺T細胞上（非特許文献47、46）で発現する。NK G2Dリガンドは、正常な細胞の表面上には全く存在しないか又は低いレベルでしか存在しないが、感染細胞、形質転換細胞、老化細胞又はストレスを受けた細胞によって過剰発現される。このような結合リガンド、及び特に正常な細胞上で発現しないものとしては、組織適合性60（H60）分子、レチノイン酸初期誘導性遺伝子1（RAE1）の産物、及びマウスUL16結合タンパク質様転写物1（MUL T1）が挙げられる（非特許文献48、49）。

40

【0024】

III．免疫系細胞の相互作用分子

異なる複数の種類の抗原提示細胞分子及びT細胞分子が関与する相互作用は、免疫応答の、必要とされる第2の相互作用に影響を及ぼす。

【0025】

A．CD80/CD86及びCD28/CTLA4

抗原提示細胞のB7.1（CD80）及びB7.2（CD86）リガンドと、CD4⁺

50

Tリンパ球のCD28及びCTLA4受容体との間の結合は、免疫応答の必要とされる第2の相互作用にとって特に重要である（非特許文献50、4、7）。CD28に対するB7.1及びB7.2の結合は、T細胞活性化を刺激し、CTLA4に対するB7.1及びB7.2の結合は上記活性化を阻害する（非特許文献4、7、51）。CD28は、T細胞の表面上で恒常的に発現され（非特許文献52）、一方CTLA4発現は、T細胞活性化に続いて迅速に上方制御される（非特許文献53）。CTLA4は高親和性受容体である（非特許文献50、3）ため、結合はまず（CD28によって）T細胞増殖を開始させ、その後これを（CTLA4の初期発現によって）阻害することにより、増殖がこれ以上必要でない場合にその効果を減衰させる。

【0026】

B7.1及びB7.2は、B7.1/B7.2 DCプログラム死1（「PD1」、「CD279」としても公知）は、免疫応答を幅広く下方制御するT細胞制御因子の拡張CD28/CTLA4ファミリーのI型膜タンパク質メンバーである（非特許文献54、特許文献3～11）。

【0027】

PD1及びCTLA4はいずれも阻害免疫シグナルを提供するが、PD1が提供するシグナルは疾患の経過の後期にマウントされ、疾患応答性T細胞の初期産生（「バースト（burst）」）を制限することによって、免疫応答を大幅に低減できる。従ってPD1は、潜在的に効果的なT細胞応答を、寛容なものに部分的に変換できる（非特許文献3）。

【0028】

PD1系の受容体リガンド相互作用は、CD28/CTLA4系のものよりもはるかに複雑なものと思われる。PD1は、活性化されたT細胞、B細胞及び単球上で（非特許文献55、56）、並びにナチュラルキラー（NK）T細胞中において低レベルで（非特許文献57、58）、発現する。

【0029】

PD1の細胞外領域は、CTLA4の同等のドメインに対して23%の同一性を有する単一免疫グロブリン（Ig）Vドメインで構成される（非特許文献58）。細胞外IgVドメインには、膜透過性領域及び細胞内テールが続く。細胞内テールは、免疫受容体チロシン系阻害モチーフ及び免疫受容体チロシン系スイッチモチーフ内に位置する2つのリン酸化部位を含有し、これは、PD1がTCRシグナルを下方制御することを示唆している（非特許文献54、59）。

【0030】

PD1は、B7.1及びB7.2 DCへの結合によって、免疫系の阻害を仲介する（PD-L1及びPD-L2として公知）（非特許文献60、特許文献12～19）。

【0031】

B7.1及びB7.2 DCは、心臓、胎盤、筋肉、胎児の肝臓、脾臓、リンパ節及び胸腺、並びにマウスの肝臓、肺、腎臓、脾臓の島細胞及び小腸といった、多くのタイプのヒト及びマウス組織の表面上で広く発現する（非特許文献58）。ヒトでは、B7.1タンパク質発現は、ヒト内皮細胞（非特許文献61～63）、心筋（非特許文献64）、合胞体栄養細胞（非特許文献65）において見られた。上記分子はまた、いくつかの組織の常在性マクロファージによって、インターフェロン（IFN）又は腫瘍壊死因子（tumor necrosis factor: TNF）によって活性化されたマクロファージによって（非特許文献66）、及び腫瘍内において（非特許文献67）も発現される。

【0032】

B7.1とPD1との間の相互作用は、T及びB細胞に対する重大な下方共刺激シグナル（非特許文献58）、並びに細胞死誘導因子としての機能（非特許文献54、68）を提供することが分かっている。より具体的には、低濃度のPD1受容体とB7.1リガンドとの間の相互作用は、抗原特異性CD8⁺T細胞の増殖を強く阻害する阻害シグナルの伝達をもたらすことが分かっており；高濃度では、PD1との相互作用はT細胞

10

20

30

40

50

胞増殖を阻害しないものの、複数のサイトカインの産生を明らかに低減させる（非特許文献 50）。休止 CD4 及び CD8 T 細胞並びに既に活性化された CD4 及び CD8 T 細胞の両方、更には臍帯血由来のナイーブ T 細胞による、T 細胞増殖及びサイトカイン産生は、可溶性 B7 H1 Fc 融合タンパク質によって阻害されることが分かっている（非特許文献 69、66、70、50）。

【0033】

T 細胞活性化及び増殖における B7 H1 及び PD 1 の役割は、これらの生体分子が、炎症及び癌の治療のための治療標的として機能し得ることを示唆している。従って、感染及び腫瘍の治療並びに適応免疫応答の上方調節のための抗 PD 1 抗体の使用が提案されている（特許文献 20、21、22、4、23～28 を参照）。PD 1 に特異的に結合できる抗体は、非特許文献 55 及び 71 によって報告されている（特許文献 29～37、29、38、27、39、40、41、28、42～46 も参照）。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0034】

【特許文献 1】国際公開第 2014 / 159940 号

【特許文献 2】国際公開第 2016 / 054101 号

【特許文献 3】米国特許出願公開第 2007 / 0202100 号

【特許文献 4】米国特許出願公開第 2008 / 0311117 号

【特許文献 5】米国特許出願公開第 2009 / 00110667 号

20

【特許文献 6】米国特許第 6,808,710 号

【特許文献 7】米国特許第 7,101,550 号

【特許文献 8】米国特許第 7,488,802 号

【特許文献 9】米国特許第 7,635,757 号

【特許文献 10】米国特許第 7,722,868 号

【特許文献 11】国際公開第 01 / 14557 号

【特許文献 12】米国特許第 6,803,192 号

【特許文献 13】米国特許第 7,794,710 号

【特許文献 14】米国特許出願公開第 2005 / 0059051 号

【特許文献 15】米国特許出願公開第 2009 / 0055944 号

30

【特許文献 16】米国特許出願公開第 2009 / 0274666 号

【特許文献 17】米国特許出願公開第 2009 / 0313687 号

【特許文献 18】国際公開第 01 / 39722 号

【特許文献 19】国際公開第 02 / 086083 号

【特許文献 20】米国特許公開第 2010 / 0040614 号

【特許文献 21】米国特許公開第 2010 / 0028330 号

【特許文献 22】米国特許公開第 2004 / 0241745 号

【特許文献 23】米国特許公開第 2009 / 0217401 号

【特許文献 24】米国特許第 7,521,051 号

【特許文献 25】米国特許第 7,563,869 号

40

【特許文献 26】米国特許第 7,595,048 号

【特許文献 27】国際公開第 2004 / 056875 号

【特許文献 28】国際公開第 2008 / 083174 号

【特許文献 29】米国特許第 8,008,449 号

【特許文献 30】米国特許第 8,552,154 号

【特許文献 31】米国特許出願公開第 2007 / 0166281 号

【特許文献 32】米国特許出願公開第 2012 / 0114648 号

【特許文献 33】米国特許出願公開第 2012 / 0114649 号

【特許文献 34】米国特許出願公開第 2013 / 0017199 号

【特許文献 35】米国特許出願公開第 2013 / 0230514 号

50

- 【特許文献 36】米国特許出願公開第 2014/0044738 号
- 【特許文献 37】国際公開第 2003/099196 号
- 【特許文献 38】国際公開第 2004/004771 号
- 【特許文献 39】国際公開第 2004/072286 号
- 【特許文献 40】国際公開第 2006/121168 号
- 【特許文献 41】国際公開第 2007/005874 号
- 【特許文献 42】国際公開第 2009/014708 号
- 【特許文献 43】国際公開第 2009/073533 号
- 【特許文献 44】国際公開第 2012/135408 号
- 【特許文献 45】国際公開第 2012/145549 号 10
- 【特許文献 46】国際公開第 2013/014668 号
- 【非特許文献】
- 【0035】
- 【非特許文献 1】Portoles, P. et al. (2009) "The TCR/CD3 Complex: Opening the Gate to Successful Vaccination," *Current Pharmaceutical Design* 15:3290-3300
- 【非特許文献 2】Guy, C.S. et al. (2009) "Organization of Proximal Signal Initiation at the TCR:CD3 Complex," *Immunol Rev.* 232(1):7-21
- 【非特許文献 3】Topalian, S.L. et al. (2015) "Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy," *Cancer Cell* 27:450-461
- 【非特許文献 4】Dong, C. et al. (2003) "Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules," *Immunolog. Res.* 28(1):39-48 20
- 【非特許文献 5】Viglietta, V. et al. (2007) "Modulating Co-Stimulation," *Neurotherapeutics* 4:666-675
- 【非特許文献 6】Korman, A.J. et al. (2007) "Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy," *Adv. Immunol.* 90:297-339
- 【非特許文献 7】Lindley, P.S. et al. (2009) "The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation," *Immunol. Rev.* 229:307-321
- 【非特許文献 8】Khawli, L.A. et al. (2008) "Cytokine, Chemokine, and Co-Stimulatory Fusion Proteins for the Immunotherapy of Solid Tumors," *Exp. Pharmacol.* 181:291-328 30
- 【非特許文献 9】Wucherpfennig, K.W. et al. (2010) "Structural Biology Of The T-Cell Receptor: Insights into Receptor Assembly, Ligand Recognition, And Initiation of Signaling," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(4):a005140; pages 1-14
- 【非特許文献 10】Chetty, R. et al. (1994) "CD3: Structure, Function, And Role Of Immunostaining In Clinical Practice," *J. Pathol.* 173(4):303-307
- 【非特許文献 11】Smith-Garvin, J.E. et al. (2009) "T Cell Activation," *Annu. Rev. Immunol.* 27:591-619
- 【非特許文献 12】Thomas, S. et al. (2010) "Molecular Immunology Lessons From Therapeutic T-Cell Receptor Gene Transfer," *Immunology* 129(2):170-177
- 【非特許文献 13】Janeway, C.A. et al. (2005) In: *Immunobiology: The Immune System In Health And Disease*, 6th ed. Garland Science Publishing, NY, pp. 214-216 40
- 【非特許文献 14】Sun, Z. J. et al. (2001) "Mechanisms Contributing To T Cell Receptor Signaling And Assembly Revealed By The Solution Structure Of An Ectodomain Fragment Of The CD3 : Heterodimer," *Cell* 105(7):913-923
- 【非特許文献 15】Kuhns, M.S. et al. (2006) "Deconstructing The Form And Function Of The TCR/CD3 Complex," *Immunity*. 2006 Feb;24(2):133-139
- 【非特許文献 16】Baeuerle et al. (2011) "Bispecific T Cell Engager For Cancer Therapy," In: *Bispecific Antibodies*, Kontermann, R.E. (Ed.) Springer-Verlag; 2011:273-287
- 【非特許文献 17】Sloan et al. (2015) "Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 50

T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells," PLoS Pathog 11(11): e1005233. doi:10.1371/journal.ppat.1005233;

【非特許文献 1 8】Leahy, D.J. (1995) "A Structural View of CD4 and CD8," FASEB J. 9:17-25

【非特許文献 1 9】Gao, G. et al. (2000) "Molecular Interactions Of Coreceptor C D8 And MHC Class I: The Molecular Basis For Functional Coordination With The T-Cell Receptor," Immunol. Today 21:630-636

【非特許文献 2 0】Mace, E.M. et al. (2014) "Cell Biological Steps And Checkpoints In Accessing NK Cell Cytotoxicity," Immunol. Cell. Biol. 92(3):245-255

【非特許文献 2 1】Comerci, C.J. et al. (2012) "CD2 Promotes Human Natural Killer Cell Membrane Nanotube Formation," PLoS One 7(10):e47664:1-12

【非特許文献 2 2】Armstrong, K.M. et al. (2008) "Conformational Changes And Flexibility In T-Cell Receptor Recognition Of Peptide-MHC Complexes," Biochem. J. 415(Pt 2):183-196

【非特許文献 2 3】Willemssen, R. (2008) "Selection Of Human Antibody Fragments Directed Against Tumor T-Cell Epitopes For Adoptive T-Cell Therapy," Cytometry A. 73(11):1093-1099

【非特許文献 2 4】Beier, K.C. et al. (2007) "Master Switches Of T-Cell Activation And Differentiation," Eur. Respir. J. 29:804-812

【非特許文献 2 5】Mallone, R. et al. (2005) "Targeting T Lymphocytes For Immune Monitoring And Intervention In Autoimmune Diabetes," Am. J. Ther. 12(6):534-550).

【非特許文献 2 6】St. Clair, E.W. (Epub 2009 Oct 12) "Novel Targeted Therapies For Autoimmunity," Curr. Opin. Immunol. 21(6):648-657

【非特許文献 2 7】Baeuerle, P.A. et al. (Epub 2009 Jun 9) "Bispecific T-Cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy," Cancer Res. 69(12):4941-4944

【非特許文献 2 8】Renders, L. et al. (2003) "Engineered CD3 Antibodies For Immunosuppression," Clin. Exp. Immunol. 133(3):307-309

【非特許文献 2 9】van der Merwe, P.A. etc. (epub Dec. 3, 2010) "Mechanisms For T Cell Receptor Triggering," Nat. Rev. Immunol. 11:47-55

【非特許文献 3 0】Peltz, G.A. et al. (1989) "Human Fc Gamma RIII: Cloning, Expression, And Identification Of The Chromosomal Locus Of Two Fc Receptors For IgG," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86(3):1013-1017

【非特許文献 3 1】Bachanova, V. et al. (2014) "NK Cells In Therapy Of Cancer," Crit. Rev. Oncog. 19(1-2):133-141

【非特許文献 3 2】Miller, J.S. (2013) "Therapeutic Applications: Natural Killer Cells In The Clinic," Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. 2013:247-253

【非特許文献 3 3】Youinou, P. et al. (2002) "Pathogenic Effects Of Anti-Fc Gamma Receptor IIIB (CD16) On Polymorphonuclear Neutrophils In Non-Organ-Specific Autoimmune Diseases," Autoimmun Rev. 1(1-2):13-19

【非特許文献 3 4】Peipp, M. et al. (2002) "Bispecific Antibodies Targeting Cancer Cells," Biochem. Soc. Trans. 30(4):507-511

【非特許文献 3 5】Brandsma, A.M. (2015) "Fc Receptor Inside-Out Signaling And Possible Impact On Antibody Therapy," Immunol Rev. 268(1):74-87

【非特許文献 3 6】van Sorge, N.M. et al. (2003) "FcgammaR Polymorphisms: Implications For Function, Disease Susceptibility And Immunotherapy," Tissue Antigens 61(3):189-202

【非特許文献 3 7】Selvaraj, P. et al. (2004) "Functional Regulation Of Human Neutrophil Fc Gamma Receptors," Immunol. Res. 29(1-3):219-230

10

20

30

40

50

- 【非特許文献 3 8】Lu, S. et al. (2015) "Structural Mechanism Of High Affinity Fc RI recognition Of Immunoglobulin G," *Immunol. Rev.* 268(1):192-200
- 【非特許文献 3 9】Swisher, J.F. et al. (2015) "The Many Faces Of Fc RI: Implications For Therapeutic Antibody Function," *Immunol. Rev.* 268(1):160-174
- 【非特許文献 4 0】Thepen, T. et al. (2009) "Fcgamma Receptor 1 (CD64), A Target Beyond Cancer," *Curr. Pharm. Des.* 15(23):2712-2718
- 【非特許文献 4 1】Rouard, H. et al. (1997) "Fc Receptors As Targets For Immunotherapy," *Int. Rev. Immunol.* 16(1-2):147-185
- 【非特許文献 4 2】Stopforth, R.J. et al. (2016) "Regulation of Monoclonal Antibody Immunotherapy by Fc RIIB," *J. Clin. Immunol.* [2016 Feb 27 Epub], pp. 1-7 10
- 【非特許文献 4 3】Bruhns, P. et al. (2009) "Specificity And Affinity Of Human Fc gamma Receptors And Their Polymorphic Variants For Human IgG Subclasses," *Blood.* 113(16):3716-3725
- 【非特許文献 4 4】White, A.L. et al. (2014) "Fc RIIB As A Key Determinant Of Antagonistic Antibody Efficacy," *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 382:355-372
- 【非特許文献 4 5】Bauer, S. et al. (1999) "Activation Of NK Cells And T Cells By NKG2D, A Receptor For Stress-Inducible MICA," *Science* 285(5428):727-729
- 【非特許文献 4 6】Jamieson, A.M. et al. (2002) "The Role Of The NKG2D ImmunoReceptor In Immune Cell Activation And Natural Killing," *Immunity* 17(1):19-29
- 【非特許文献 4 7】Groh, V. et al. (2001) "Costimulation Of CD8 T Cells By NKG2D Via Engagement By MIC Induced On Virus-Infected Cells," *Nat. Immunol.* 2(3):255-260 20
- 【非特許文献 4 8】Raulet D.H. (2003) "Roles Of The NKG2D Immunoreceptor And Its Ligands," *Nature Rev. Immunol.* 3:781-790
- 【非特許文献 4 9】Coudert, J.D. et al. (2005) "Altered NKG2D Function In NK Cells Induced By Chronic Exposure To Altered NKG2D Ligand-Expressing Tumor Cells," *Blood* 106:1711-1717
- 【非特許文献 5 0】Sharpe, A.H. et al. (2002) "The B7-CD28 Superfamily," *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126
- 【非特許文献 5 1】Greenwald, R.J. et al. (2005) "The B7 Family Revisited," *Ann. Rev. Immunol.* 23:515-548 30
- 【非特許文献 5 2】Gross, J., et al. (1992) "Identification And Distribution Of The Costimulatory Receptor CD28 In The Mouse," *J. Immunol.* 149:380-388
- 【非特許文献 5 3】Linsley, P. et al. (1996) "Intracellular Trafficking Of CTLA4 And Focal Localization Towards Sites Of TCR Engagement," *Immunity* 4:535-543
- 【非特許文献 5 4】Ishida, Y. et al. (1992) "Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death," *EMBO J.* 11:3887-3895
- 【非特許文献 5 5】Agata, Y. et al. (1996) "Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes," *Int. Immunol.* 8(5):765-772 40
- 【非特許文献 5 6】Yamazaki, T. et al. (2002) "Expression Of Programmed Death 1 Ligands By Murine T-Cells And APC," *J. Immunol.* 169:5538-5545
- 【非特許文献 5 7】Nishimura, H. et al. (2000) "Facilitation Of Beta Selection And Modification Of Positive Selection In The Thymus Of PD-1-Deficient Mice," *J. Exp. Med.* 191:891-898
- 【非特許文献 5 8】Martin-Orozco, N. et al. (2007) "Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity," *Semin. Cancer Biol.* 17(4):288-298
- 【非特許文献 5 9】Blank, C. et al. (2006) "Contribution Of The PD-L1/PD-1 Pathway To T-Cell Exhaustion: An Update On Implications For Chronic Infections And Tumor Evasion Cancer," *Immunol. Immunother.* 56(5):739-745 50

【非特許文献 6 0】Flies, D.B. et al. (2007) "The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity," J. Immunother. 30(3):251-260

【非特許文献 6 1】Chen, Y. et al. (2005) "Expression of B7-H1 in Inflammatory Renal Tubular Epithelial Cells," Nephron. Exp. Nephrol. 102:e81-e92

【非特許文献 6 2】de Haij, S. et al. (2005) "Renal Tubular Epithelial Cells Modulate T-Cell Responses Via ICOS-L And B7-H1" Kidney Int. 68:2091-2102

【非特許文献 6 3】Mazanet, M.M. et al. (2002) "B7-H1 Is Expressed By Human Endothelial Cells And Suppresses T-Cell Cytokine Synthesis," J. Immunol. 169:3581-3588

【非特許文献 6 4】Brown, J.A. et al. (2003) "Blockade Of Programmed Death-1 Ligands On Dendritic Cells Enhances T-Cell Activation And Cytokine Production," J. Immunol. 170:1257-1266 10

【非特許文献 6 5】Petroff, M.G. et al. (2002) "B7 Family Molecules: Novel Immunomodulators At The Maternal-Fetal Interface," Placenta 23:S95-S101

【非特許文献 6 6】Latchman, Y. et al. (2001) "PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T-Cell Activation," Nat. Immunol. 2:261-268

【非特許文献 6 7】Dong, H. (2003) "B7-H1 Pathway And Its Role In The Evasion Of Tumor Immunity," J. Mol. Med. 81:281-287

【非特許文献 6 8】Subudhi, S.K. et al. (2005) "The Balance Of Immune Responses: Costimulation Versus Coinhibition," J. Molec. Med. 83:193-202 20

【非特許文献 6 9】Freeman, G.J. et al. (2000) "Engagement Of The PD-1 Immunoinhibitory Receptor By A Novel B7 Family Member Leads To Negative Regulation Of Lymphocyte Activation," J. Exp. Med. 192:1-9

【非特許文献 7 0】Carter, L. et al. (2002) "PD-1:PD-L Inhibitory Pathway Affects Both CD4(+) and CD8(+) T-cells And Is Overcome By IL-2," Eur. J. Immunol. 32(3):634-643

【非特許文献 7 1】Berger, R. et al. (2008) "Phase I Safety And Pharmacokinetic Study Of CT-011, A Humanized Antibody Interacting With PD-1, In Patients With Advanced Hematologic Malignancies," Clin. Cancer Res. 14(10):3044-3051

【発明の概要】 30

【発明が解決しようとする課題】

【0036】

哺乳類の免疫応答に関与する分子の同定がこのように進歩しているにもかかわらず、癌及び感染性疾患の治療のための改善された療法に対する需要は存在し続けている。本発明はこの目標、及びその他の目標を対象とする。

【課題を解決するための手段】

【0037】

本発明は、本発明は、癌及び病原体関連疾患の治療のための併用療法を対象とし、上記併用療法は：(1)PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子(例えばダイアボディ、scFv、抗体、TandAb等)；及び(2)疾患抗原を発現する標的細胞(例えば癌細胞又は病原体感染細胞等)の標的転換殺滅を仲介できる分子(例えばダイアボディ、BiTe、二重特異性抗体、CAR等)の投与を含む。本発明は特に、上記標的細胞の上記標的転換殺滅を仲介できる上記分子が、エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに免疫特異的に結合できる第1のエピトープ結合部位と、上記標的細胞のエピトープ(即ち癌抗原又は病原体関連抗原等の疾患抗原)に免疫特異的に結合できる第2のエピトープ結合部位とを含む、二重特異性結合分子である、実施形態に関する。本発明はまた、1つ又は複数の上記分子を含む医薬組成物も対象とする。 40

【0038】

詳細には、本発明は、それを必要とする被験者に、治療的有効量の：

(1)PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子、及び 50

(2) 標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子であって、上記標的細胞は：

(a) 癌抗原を発現する癌細胞；又は

(b) 病原体関連抗原を発現する病原体感染細胞

である、分子

を投与するステップを含む、癌又は病原体関連疾患の治療のための方法を提供する。

【0039】

本発明は特に、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる上記分子が、PD-1とPD-1の天然リガンドとの間の結合を阻害できる、上記方法の実施形態に関する。

【0040】

本発明は更に、上記方法が、合計3つのエピトープ結合ドメインを含む2つの結合分子の投与を含み、上記2つの結合分子が：

(A) PD-1に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン、又はPD-1の天然リガンドに結合できる抗体のエピトープ結合ドメインを含む、結合分子；並びに

(B) (1) 上記エフェクタ細胞の細胞表面分子に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン；及び

(2) 上記標的細胞の上記癌抗原又は上記病原体抗原に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン

を含む、結合分子

であり、

上記結合分子(A)の上記エピトープ結合ドメインは、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合でき、上記結合分子(B)の上記エピトープ結合ドメイン(1)及び(2)は、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる、上記方法の実施形態に関する。

【0041】

本発明は更に、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる上記結合分子がダイアボディ、scFv、抗体又はTandAbを含み、上記結合分子(B)が二重特異性ダイアボディ、CAR、BiTe又は二重特異性抗体を含む、上記方法の実施形態に関する。

【0042】

本発明は更に、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる上記結合分子が、PD-1に結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、上記方法の実施形態に関する。

【0043】

本発明は更に、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる上記結合分子が、PD-1の天然リガンドに結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、上記方法の実施形態に関する。

【0044】

本発明は更に、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる上記結合分子が、PD-1に結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含み、上記エピトープ結合ドメインは：

(a) PD-1の同一のエピトープへの結合に関して競合するか；又は

(b) PD-1の同一のエピトープへの結合に関して競合しない、上記方法の実施形態に関する。

【0045】

本発明は更に、上記PD-1 エピトープ結合ドメインが同一のPD-1分子に同時に結合できる、上記方法の実施形態に関する。

【0046】

本発明は更に、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる上記結合分子が、PD-1の天然リガンドに結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含み、上記エピトープ結合ドメインは：

(a) PD-1の上記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合するか；又は

10

20

30

40

50

(b) PD 1の上記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合しない、上記方法の実施形態に関する。

【0047】

本発明は更に、上記PD 1リガンド エピトープ結合ドメインが、PD 1の上記天然リガンドの同一の分子に同時に結合できる、上記方法の実施形態に関する。

【0048】

本発明は更に、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる上記結合分子が、PD 1又はPD 1の天然リガンドではない分子のエピトープに結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含む、上記方法の実施形態に関する。

【0049】

本発明は更に、上記第2のエピトープ結合ドメインが、CD137、LAG 3、OX 40、TIGIT、TIM 3又はVISTAのエピトープに結合する、上記方法の実施形態に関する。

【0050】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子が、上記エフェクタ細胞の細胞表面分子に結合できる第3のエピトープ結合ドメインを含む、上記方法の実施形態に関する。

【0051】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子の上記第3のエピトープ結合ドメインが、上記エフェクタ細胞の異なる細胞表面分子に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子が、上記エフェクタ細胞の2つの異なる細胞表面分子に結合できる、上記方法の実施形態に関する。

【0052】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子が、上記標的細胞の癌抗原又は病原体関連抗原に結合できる第3のエピトープ結合ドメインを含む、上記方法の実施形態に関する。

【0053】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子の上記第3のエピトープ結合ドメインが、上記標的細胞の異なる癌抗原又は異なる病原体抗原に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子が、上記標的細胞の2つの異なる癌抗原又は2つの異なる病原体抗原に結合できる、上記方法の実施形態に関する。

【0054】

本発明は更に、上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子が、CD2、CD3、CD8、CD16、TCR及びNKGD2からなる群から選択される、上記方法の実施形態に関する。

【0055】

本発明は更に、上記癌抗原が、癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM 9、AH6、ALCAM、B1、B7 H3、BAGE、カテニン、血液型A Le^b/Le^y、パーキットリンパ腫抗原 38.13、C14、CA125、カルボキシペプチダーゼM、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17 1A、CO 43、CO 514、CTA 1、CTLA 4、サイトケラチン8、D1.1、D₁56 22、DR5、E₁シリーズ、EGFR、エフリン受容体、Er b、GAGE、GD2/GD3/GM2ガングリオシド、GICA19 9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、ヒトパピローマウイルス E6/ヒトパピローマウイルス E7、HMW MAA、I抗原、IL13R 2、インテグリン 6、JAM 3、KID3、KID31、KS 1/4汎癌腫抗原、L6、L20、LEA、LUCA 2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、メソテリン、MUC

10

20

30

40

50

1、MUM 1、My 1、N アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ、ネオ糖タンパク質、NS 10、OFA 1、OFA 2、オンコスタチンM、p 15、p 97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前立腺酸性リン酸塩、R₂₄、ROR 1、スフィンゴ脂質、SSEA 1、SSEA 3、SSEA 4、s Tn、T細胞受容体由来ペプチド、T₅A₇、TAG 72、TL 5、TNF 受容体、TNF 受容体、TRA 1 85、トランスフェリン受容体、5 T4、TSTA、VEGF、VEGF受容体、VEP 8、VEP 9、VIM D5、及びYハプテン、Le^yからなる群から選択される、上記方法の実施形態に関する。

【0056】

本発明は更に、上記方法が医薬組成物の投与を含み、上記病原体関連抗原が、病原体関連抗原：単純ヘルペスウイルス感染細胞タンパク質（ICP）47、単純ヘルペスウイルスgD、エプスタインバーウイルスLMP 1、エプスタインバーウイルスLMP 2A、エプスタインバーウイルスLMP 2B、ヒト免疫不全ウイルスgp160、ヒト免疫不全ウイルスgp120、ヒト免疫不全ウイルスgp41等、ヒトパピローマウイルスE6、ヒトパピローマウイルスE7、ヒトT細胞白血病ウイルスgp64、ヒトT細胞白血病ウイルスgp46、及びヒトT細胞白血病ウイルスgp21からなる群から選択される、上記方法の実施形態に関する。

【0057】

本発明は更に：

(A) 治療的有效量の：

(1) PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる分子；及び

(2) 癌抗原又は病原体抗原を発現する標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子；

並びに

(B) 薬学的に許容可能なキャリア

を含む、医薬組成物を提供する。

【0058】

本発明は更に、上記医薬組成物が、合計3つのエピトープ結合ドメインを含む2つの結合分子を含み、上記2つの結合分子が：

(A) PD 1に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン、又はPD 1の天然リガンドに結合できる抗体のエピトープ結合ドメインを含む、結合分子；並びに

(B) (1) 上記エフェクタ細胞の細胞表面分子に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン；及び

(2) 上記標的細胞の癌抗原又は病原体抗原に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン

を含む、結合分子

であり、

上記結合分子(A)の上記エピトープ結合ドメインは、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合でき、上記結合分子(B)の上記エピトープ結合ドメイン(1)及び(2)は、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0059】

本発明は更に、上記結合分子(A)がダイアボディ、scFv、抗体又はTandAbを含み、上記結合分子(B)がダイアボディ、CAR、BiTe又は二重特異性抗体を含む、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0060】

本発明は更に、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる上記分子が、PD 1に結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0061】

本発明は更に、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる上記分子が、PD 1の天然リガンドに結合する抗体のエピトープ結合ドメインを含む、上記医薬組成物の実

10

20

30

40

50

施形態に関する。

【0062】

本発明は更に、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる上記分子が、PD 1に結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含み、上記PD 1 エピトープ結合ドメインは：

(a) PD 1の同一のエピトープへの結合に関して競合するか；又は

(b) PD 1の同一のエピトープへの結合に関して競合しない、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0063】

本発明は更に、上記PD 1 エピトープ結合ドメインが同一のPD 1分子に同時に結合できる、上記医薬組成物の実施形態に関する。

10

【0064】

本発明は更に、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる上記結合分子が、PD 1の天然リガンドに結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含み、上記エピトープ結合ドメインは：

(a) PD 1の上記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合するか；又は

(b) PD 1の上記天然リガンドの同一のエピトープへの結合に関して競合しない、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0065】

本発明は更に、上記PD 1リガンド エピトープ結合ドメインが、PD 1の上記天然リガンドの同一の分子に同時に結合できる、上記医薬組成物の実施形態に関する。

20

【0066】

本発明は更に、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる上記結合分子が、PD 1又はPD 1の天然リガンドではない分子のエピトープに結合できる第2のエピトープ結合ドメインを含む、上記方法の実施形態に関する。

【0067】

本発明は更に、上記第2のエピトープ結合ドメインが、CD 137、LAG 3、OX 40、TIGIT、TIM 3又はVISTAのエピトープに結合する、上記医薬組成物の実施形態に関する。

30

【0068】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記分子が、第3のエピトープ結合ドメインを含み、3つの上記エピトープ結合ドメインは同時結合が可能であり、また上記第3のエピトープは、上記エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに結合できる、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0069】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子の上記第3のエピトープ結合ドメインが、上記エフェクタ細胞の異なる細胞表面分子に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子が、上記エフェクタ細胞の2つの異なる細胞表面分子に結合できる、上記医薬組成物の実施形態に関する。

40

【0070】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子が、上記標的細胞の癌抗原又は病原体関連抗原に結合できる第3のエピトープ結合ドメインを含む、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0071】

本発明は更に、上記標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子の上記第3のエピトープ結合ドメインが、上記標的細胞の異なる癌抗原又は異なる病原体関連抗原に結合でき、これにより、標的転換殺滅を仲介できる上記結合分子が、上記標的細胞の2つの異なる癌抗原又は2つの異なる病原体関連抗原に結合できる、上記医薬組成物の実施形態に関する。

50

【0072】

本発明は更に、上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子が、CD2、CD3、CD8、CD16、TCR及びNKGD2Dからなる群から選択される、上記医薬組成物の実施形態に関する。

【0073】

本発明は更に、上記癌抗原が、癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM9、AH6、ALCAM、B1、B7H3、BAGE、カテニン、血液型ALe^b/Le^y、パーキットリンパ腫抗原38.13、C14、CA125、カルボキシペプチダーゼM、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO171A、CO43、CO514、CTA1、CTLA4、サイトケラチン8、D1.1、D₁5622、DR5、E₁シリーズ、EGFR、エフリン受容体、Erbb、GAGE、GD2/GD3/GM2ガングリオシド、GICA19.9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、ヒトパピローマウイルスE6/ヒトパピローマウイルスE7、HMWMAA、I抗原、IL13R2、インテグリン6、JAM3、KID3、KID31、KS1/4汎癌腫抗原、L6、L20、LEA、LUCA2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、メソテリン、MUC1、MUM1、My1、Nアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ、ネオ糖タンパク質、NS10、OFA1、OFA2、オンコスタチンM、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前立腺酸性リン酸塩、R₂₄、ROR1、スフィンゴ脂質、SSEA1、SSEA3、SSEA4、sTn、T細胞受容体由来ペプチド、T₅A₇、TAG72、TL5、TNF受容体、TNF受容体、TRA185、トランスフェリン受容体、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受容体、VEP8、VEP9、VIMD5、及びYハプテン、Le^yからなる群から選択される、上記医薬組成物の実施形態に関する。

10

20

【0074】

本発明は更に、上記病原体関連抗原が、病原体関連抗原：単純ヘルペスウイルス感染細胞タンパク質(ICP)47、単純ヘルペスウイルスgD、エプスタインバーウイルスLMP1、エプスタインバーウイルスLMP2A、エプスタインバーウイルスLMP2B、ヒト免疫不全ウイルスgp160、ヒト免疫不全ウイルスgp120、ヒト免疫不全ウイルスgp41等、ヒトパピローマウイルスE6、ヒトパピローマウイルスE7、ヒトT細胞白血病ウイルスgp64、ヒトT細胞白血病ウイルスgp46、及びヒトT細胞白血病ウイルスgp21からなる群から選択される、上記医薬組成物の実施形態に関する。

30

【0075】

本発明は更に、上述の医薬組成物のうちのいずれかを含み、上記医薬組成物の結合分子が、1つ又は複数の容器に仕分けられている、キットを提供する。

【図面の簡単な説明】

40

【0076】

【図1】図1は、それぞれEコイル又はKコイルヘテロ二量体促進ドメイン(選択できるヘテロ二量体促進ドメインは以下で提示する)を有する2つのポリペプチド鎖からなる2つのエピトープ結合ドメインを有する、代表的な共有結合ダイアボディの概略図である。図3Bに示すように、システイン残基がリンカー中及び/又はヘテロ二量体促進ドメイン中に存在してよい。同一のエピトープを認識するVL及びVHドメインは、同一の陰影又は塗り潰しパターンを用いて示される。

【図2】図2は、連結した鎖がFcドメインの全体又は一部を形成するように、それぞれCH2及びCH3ドメインを有する2つのポリペプチド鎖からなる2つのエピトープ結合ドメインを有する、代表的な共有結合ダイアボディ分子の概略図である。同一のエピト-

50

ブを認識するV L及びV Hドメインは、同一の陰影又は塗り潰しパターンを用いて示される。

【図3 A - 3 C】図3 A ~ 3 Cは、2ペアのポリペプチド鎖（即ち合計4つのポリペプチド鎖）からなる4つのエピトープ結合ドメインを有する、代表的な共有結合した4価ダイアボディの概略図である。各ペアのうちの1つのポリペプチドは、連結した鎖がFcドメインの全体又は一部を形成するように、C H 2及びC H 3ドメインを有する。同一のエピトープを認識するV L及びV Hドメインは、同一の陰影又は塗り潰しパターンを用いて示される。上記2ペアのポリペプチド鎖は、同一であってよい。（図3 A ~ 3 Bに示すように）2ペアのポリペプチド鎖が同一であり、かつV L及びV Hドメインが異なるエピトープを認識する実施形態では、得られた分子は4つのエピトープ結合ドメインを有し、二重特異性であり、結合する各エピトープに対して2価である。V L及びV Hドメインが同一のエピトープを認識する（例えば同一のV LドメインC D R及び同一のV HドメインC D Rを両方の鎖に対して使用する）実施形態では、得られた分子は4つのエピトープ結合部位を有し、単一特異性であり、単一のエピトープに対して4価である。あるいは、上記2ペアのポリペプチドは異なっていてよい。（図3 Cにおいて様々な陰影及びパターンで示すように）ポリペプチドの各ペアのV L及びV Hドメインが異なるエピトープを認識する実施形態では、得られた分子は4つのエピトープ結合ドメインを有し、四重特異性であり、結合する各エピトープに対して1価である。図3 Aは、システイン残基を含むペプチドヘテロ二量体促進ドメインを含有するFcドメイン含有ダイアボディを示す。図3 BはFc領域含有ダイアボディを示し、これは、システイン残基及び（任意のシステイン残基を有する）リンカーを含む、Eコイル及びKコイルヘテロ二量体促進ドメインを含有する。図3 Cは、抗体C H 1及びC Lドメインを含有するFcドメイン含有ダイアボディを示す。

10

20

【図4 A - 4 B】図4 A ~ 4 Bは、3つのポリペプチド鎖からなる2つのエピトープ結合ドメインを有する、代表的な共有結合ダイアボディ分子の概略図である。上記ポリペプチド鎖のうちの2つは、連結した鎖がFcドメインの全体又は一部を形成するように、C H 2及びC H 3ドメインを有する。V L及びV Hドメインを含むポリペプチド鎖は、ヘテロ二量体促進ドメインを更に含む。同一のエピトープを認識するV L及びV Hドメインは、同一の陰影又は塗り潰しパターンを用いて示される。

【図5】図5は、5つのポリペプチド鎖からなる4つのエピトープ結合ドメインを有する、代表的な共有結合ダイアボディの概略図である。上記ポリペプチド鎖のうちの2つは、連結した鎖がFcドメインの全体又は一部を含むFcドメインを形成するように、C H 2及びC H 3ドメインを有する。V L及びV Hドメインを含むポリペプチド鎖は、ヘテロ二量体促進ドメインを更に含む。同一のエピトープを認識するV L及びV Hドメインは、同一の陰影又は塗り潰しパターンを用いて示される。

30

【図6 A - 6 F】図6 A ~ 6 Fは、3つのエピトープ結合ドメインを有する、代表的なFcドメイン含有3価結合分子の概略図である。図6 A及び6 Bはそれぞれ、ダイアボディ型結合ドメインがFcドメインに対するN末端又はC末端となる異なるドメイン配向を有する、2つのダイアボディ型結合ドメイン及びF a b型結合ドメインを含む3価結合分子のドメインを示す。図6 A及び6 Bの分子は4つの鎖を含む。図6 C及び6 Dはそれぞれ、FcドメインのN末端に2つのダイアボディ型結合ドメインと、軽鎖及び重鎖がポリペプチドスパーサを介して連結されたF a b型結合ドメイン、又はs c F v型結合ドメインとを含む、3価結合分子のドメインを示す。図6 E及び6 Fの3価結合分子はそれぞれ、FcドメインのC末端に2つのダイアボディ型結合ドメインと、軽鎖及び重鎖がポリペプチドスパーサを介して連結されたF a b型結合ドメイン、又はs c F v型結合ドメインとを含む、3価結合分子のドメインを、概略的に示す。図6 C ~ 6 Fの3価結合分子は、3つの鎖を含む。同一のエピトープを認識するV L及びV Hドメインは、同一の陰影又は塗り潰しパターンを用いて示される。

40

【図7】図7は、 5×10^6 個のL O X I M V Iヒト転移性黒色腫瘍細胞（I D）及び 10^6 個のヒトP B M C（I P）を投与されたM H C I^{-/-}マウスに、ヒト化抗ヒトP D

50

1 抗体 hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P)、CD3 × B7 H3 二重特異性ダイアボディ、DART A、hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P) 及び DART A の両方、又はビヒクル単体 (対照) を供給した結果を示す。

【図 8】図 8 A ~ 8 B は、 5×10^6 個の Detroit 562 ヒト転移性咽頭癌細胞 (ID) 及び 10^6 個のヒト PBMC (IP) を投与された MHC I^{-/-} マウスに、ヒト化抗ヒト PD 1 抗体 hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P)、CD3 × B7 H3 二重特異性ダイアボディ、DART A、hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P) 及び DART A の両方、又はビヒクル単体 (対照) を供給した結果を示す。図 8 A は、ビヒクル対照、hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P) (Q7D × 5)、DART A (Q7D × 5)、及び hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P) + DART A (Q7D × 5) に関する結果を示す。図 8 B は、ビヒクル対照、hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P) (Q7D × 5)、DART A (Q7D × 5)、hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P) + DART A (Q7D × 5)、及び hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P) + DART A (Q14D × 3) に関する結果を示す。

【図 9】図 9 は、本発明の併用療法の投与の効果に関する研究の結果を示す。これらの結果は、CD3⁺ 細胞の濃度の上昇によって決定されるように、レシビエント動物の免疫応答の増強を示す。

【図 10】図 10 A ~ 10 B は、ルシフェラーゼレポータアッセイにおける T 細胞シグナリングに対する本発明の併用療法の投与の効果に関する研究の結果を示す。PD 1 及び B7 H3 を発現する MDA MB 231 腫瘍標的細胞を、MNFA T luc2 / PD 1 Jurkat T 細胞と、エフェクタ：標的細胞比 1 : 1 (図 10 A) 又は 3 : 1 (図 10 B) で混合し、単独で、又は固定濃度 (12 . 5 nM) の PD 1 結合分子 hPD 1 mAb 7 (1 . 2) IgG 4 (P)、DART 1、若しくは対照抗体 (hIgG) とともに、DART A の濃度を上昇させて培養した。これらの結果は、発光の増大によって決定されるように、両方の分子の存在下でのシグナリング活性の増強を示す。

【図 11】図 11 A ~ 11 B は、本発明の併用療法の投与により、アネルギー性 T 細胞の存在下での腫瘍再発が低減されることを示す。 5×10^6 個の A375 INF 処理済み黒色腫細胞及び 5×10^6 個の活性化又はアネルギー性ヒト T 細胞を投与された NOG マウスに、ビヒクル単体、0 . 5 mg / kg の DART 2 (Q7D × 4)、0 . 5 mg / kg の DART B (QD × 1)、又は 0 . 5 mg / kg の DART 2 (Q7D × 4) 及び 0 . 5 mg / kg の DART B (QD × 1) 両方を供給した。図 11 A は、活性化 T 細胞を投与されたマウスに関する結果を示し、図 11 B は、アネルギー性 T 細胞を投与されたマウスに関する結果を示す。

【図 12】図 12 A ~ 12 H は、PD 1 に結合できる分子及び標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子の併用療法の、これらの分子単独での投与に対する予期せぬ便益を実証する。A375 黒色腫細胞が引き起こす腫瘍体積を時間の関数として測定し、これを図 12 A ~ 12 H に示す。図 12 A は、50 日目までの、グループ 1、2、5 及び 6 に関する結果を示し、図 12 B ~ 12 H は、80 日目までの、グループ 2 (図 12 B)、グループ 5 (図 12 C)、グループ 6 (図 12 D)、グループ 3 (図 12 E)、グループ 7 (図 12 F)、グループ 4 (図 12 G) 及びグループ 8 (図 12 H) 中の個々の動物に関するスパイダープロットを示す。

【発明を実施するための形態】

【0077】

本発明は、本発明は、癌及び病原体関連疾患の治療のための併用療法を対象とし、上記併用療法は：(1) PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる分子 (例えばダイアボディ、scFv、抗体、TandAb 等)；及び(2) 疾患抗原を発現する標的細胞 (例えば癌細胞又は病原体感染細胞等) の標的転換殺滅を仲介できる分子 (例えばダイアボディ、BiTe、二重特異性抗体、CAR 等) の投与を含む。本発明は特に、上記標的細胞の上記標的転換殺滅を仲介できる上記分子が、エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピ

トープに免疫特異的に結合できる第1のエピトープ結合部位と、上記標的細胞のエピトープ（即ち癌抗原又は病原体関連抗原等の疾患抗原）に免疫特異的に結合できる第2のエピトープ結合部位とを含む、二重特異性結合分子である、実施形態に関する。本発明はまた、1つ又は複数の上記分子を含む医薬組成物も対象とする。

【0078】

本発明の分子の結合ドメインは、「免疫特異的な (immunospecific)」様式でエピトープに結合する。本明細書中で使用される場合、抗体、ダイアボディ又は他のエピトープ結合分子は、別の分子のある領域（即ちエピトープ）に、別のエピトープに対してよりも頻繁に、迅速に、長期間、及び/又は高い親和性で反応又は会合する場合に、該エピトープに「免疫特異的に (immunospecifically)」結合すると表現される。例えば、ウイルスエピトープに免疫特異的に結合する抗体は、該抗体が他のウイルスエピトープ又は非ウイルスエピトープに結合するよりも、高い親和性で、高い結合活性で、より迅速に、及び/又はより長期間結合する抗体である。この定義を読むと、例えば第1の標的に免疫特異的に結合する抗体（又は部分若しくはエピトープ）は、第2の標的に特異的又は優先的に結合するものであっても、そうでなくてもよいことも理解される。従って「免疫特異的結合 (immunospecific binding)」は、必ずしも排他的な結合を要求しない（ただしこれを含み得る）。一般には、結合に関する言及は「免疫特異的な」結合を意味するが、必ずしもそうではない。2つの分子は、これらの結合が、それぞれのリガンドに受容体が結合する際の特異性を示す場合に、「生理特異的に (physiospecific)」様式で互いに結合できると表現される。

【0079】

上述のように、本発明の治療用分子は特に、エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに免疫特異的に結合できるエピトープ結合部位と、疾患抗原を発現する標的細胞のエピトープに免疫特異的に結合できるエピトープ結合部位とを含む、二重特異性結合分子を含む。本明細書中で使用される場合、用語「疾患抗原 (Disease antigen)」は、異常若しくは感染細胞の表面上で発現し、上記異常若しくは感染の特徴となる抗原、又は外来細胞の表面上で発現し、このような外来源の特徴となる抗原を指す。本明細書中で使用される場合、細胞表面上に疾患抗原を発現し、従って本発明の治療用分子によって束縛され得、これによって上記治療用分子による殺滅の標的となる細胞は、「標的細胞 (target cell)」である。本発明に特に関連するのは、「癌抗原 (Cancer antigen)」又は「病原体関連抗原 (Pathogen-Associated antigen)」である疾患抗原である。

【0080】

I. 抗体及びその結合ドメイン

本発明の結合分子は抗体であってよい。「抗体 (antibody)」は、当該免疫グロブリン分子の可変ドメインに位置する少なくとも1つの抗原認識部位によって、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチド等の標的に特異的に結合できる、免疫グロブリン分子である。本明細書において使用される場合、用語「抗体 (antibody及びantibodies)」は、モノクローナル抗体、多重特異性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、ポリクローナル抗体、ラクダ化抗体、単鎖Fv (scFv)、単鎖抗体、Fab断片、F(ab')断片、ジスルフィド結合二重特異性Fv (sdFv)、細胞内抗体、及び以上のうちのいずれかのエピトープ結合断片を包含する。特に、用語「抗体」は、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性の断片、即ちエピトープ結合部位を含有する分子を含む。免疫グロブリン分子は、いずれのタイプ（例えばIgG、IgE、IgM、IgD、IgA及びIgY）、クラス（例えばIgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及びIgA₂）又はサブクラスのものとする事ができる。抗体は、ポリペプチド又はタンパク質又は非タンパク質分子に免疫特異的に結合できる。というのは、このような分子上に特定のドメイン又は部分又は形態（「エピトープ (epitope)」）が存在するためである。エピトープ含有分子は、免疫学的活性を有することができ、これにより、動物における抗体産生応答を誘発する。このような分子を「抗原 (antigen)」と呼ぶ。この数十年、抗体の治療的潜在能力に対する関心が再び高まっており、抗体は、生

命工学由来の薬剤の筆頭となるクラスの1つとなっている (Chan, C.E. et al. (2009) "The Use Of Antibodies In The Treatment Of Infectious Diseases," Singapore Med. J. 50(7):663-666)。200を超える抗体系薬剤が使用認可済み、又は開発中である。

【0081】

用語「モノクローナル抗体 (monoclonal antibody)」は均質な抗体の集団を指し、上記モノクローナル抗体は、抗原の選択的結合に関わる (自然に発生する又は自然に発生しない) アミノ酸から構成される。モノクローナル抗体は特異性が高く、単一のエピトープ (又は抗原部位) に対して指向性を有する。用語「モノクローナル抗体」は、完全なモノクローナル抗体及び全長モノクローナル抗体だけでなく、これらの断片 (Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片等)、単鎖 (scFv) 結合分子及びその突然変異体、抗体部分を含む融合タンパク質、ヒト化モノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体、並びに必要な特異性及び抗原への結合能力を有する抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の他のいずれの修飾構成を包含する。抗原の源又は抗原を作製する方法 (例えば、ハイブリドーマ、ファージ選択、組み換え発現、遺伝子導入動物等による) に関して、限定は意図されていない。この用語は、免疫グロブリン全体、及び「抗体」の定義において上述した断片等を含む。モノクローナル抗体の作製方法は当該技術分野において公知である。採用してよい1つの方法は、Kohler, G. et al. (1975) "Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity," Nature 256:495-497の方法又はその修正例である。典型的には、モノクローナル抗体はマウス、ラット又はウサギにおいて発現する。上記抗体は、動物を、所望のエピトープを含有する免疫原性量の細胞、細胞抽出物又はタンパク製剤で免疫化することによって産生される。免疫原は、一次細胞、培養された細胞株、癌細胞、タンパク質、ペプチド、核酸又は組織とすることができるが、これらに限定されない。免疫化に使用してよい細胞は、これらを免疫原として使用するよりもある期間 (例えば少なくとも24時間) だけ前に、培養してよい。細胞は単独で、又はRib i等の非変性アジュバントと組み合わせて、免疫原として使用してよい (Jennings, V.M. (1995) "Review of Selected Adjuvants Used in Antibody Production," ILAR J. 37(3):119-125参照)。一般に細胞は、免疫原として使用される際、完全な状態、及び好ましくは生存できる状態に維持しなければならない。完全な細胞は、破裂した細胞よりも、免疫性を与えられた動物が抗原をより良好に検出できるようにすることができる。変性又は強いアジュバント、例えばフロイントアジュバントの使用は、細胞を破裂させる場合があり、従って推奨されない。免疫原は、2週間に1回若しくは1週間に1回等、周期的な間隔で複数回投与してよく、又は動物中 (例えば組織組み換え中) に生存能力を維持できるように投与してよい。あるいは、所望の病原性エピトープに対する免疫特異性を有する既存のモノクローナル抗体及び他の同等の抗体は、当該技術分野で公知のいずれの手段によって、組み換え配列及び産生できる。一実施形態では、このような抗体を配列し、続いてポリヌクレオチド配列を発現又は繁殖のためのベクターにクローン化する。関心対象の抗体をエンコードする配列は、宿主細胞中のベクター中に保持され、続いて上記宿主細胞を、将来使用するために膨張させて冷凍できる。このような抗体のポリヌクレオチド配列は、本発明の単一特異性又は多重特異性 (例えば二重特異性、三重特異性及び四重特異性) 分子、並びに親和性最適化済み、キメラ抗体、ヒト化抗体及び/又はイヌ化抗体を生成することによって、抗体の親和性又は他の特徴を改善するための、遺伝子操作のために使用してよい。抗体をヒト化する際の一般原理は、抗体の抗原結合部分の塩基配列を保持しながら、抗体の非ヒト残部をヒト抗体配列と交換するステップを伴う。

【0082】

天然抗体 (IgG抗体等) は、2つの「重鎖 (Heavy Chain)」と複合体化した2つの「軽鎖 (Light Chain)」からなる。各軽鎖は、可変ドメイン (「VL」) 及び定常ドメイン (「CL」) を含有する。各重鎖は、可変ドメイン (「VH」)、3つの定常ドメイン (「CH1」、「CH2」及び「CH3」)、並びにCH1ドメインとCH2ドメインとの間に位置する「ヒンジ (Hinge)」領域 (「H」) を含有する。対照的に、scFvは、短い連結ペプチドを介して軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を連結することによ

10

20

30

40

50

て作製された、単鎖分子である。

【0083】

従って、自然に発生する免疫グロブリン（例えばIgG）の基本構造単位は、通常は約150,000Daの糖タンパク質として発現される、2つの軽鎖及び2つの重鎖を有する四量体である。各鎖のアミノ末端（「N末端」）部分は、抗原認識に主要な役割を果たす約100～110個の可変ドメインを含む。各鎖のカルボキシ末端（「C末端」）部分は定常領域を画定し、軽鎖は単一の定常ドメインを有し、重鎖は通常3つの定常ドメイン及び1つのヒンジドメインを有する。従って、IgG分子の軽鎖の構造はn VL CL cであり、IgG重鎖の構造はn VH CH1 H CH2 CH3 cである（ここでn及びcはそれぞれ、ポリペプチドのN末端及びC末端を表す）。

10

【0084】

A．抗体可変ドメインの特徴

IgG分子の可変ドメインは、エピトープと接触した残基を含有する複数の相補性決定領域（「CDR」）、及びフレームワークセグメント（「FR」）と呼ばれる非CDRセグメントからなり、上記フレームワークセグメントは、一般にCDRループの構造を維持してCDRの位置を決定することにより、このような接触を可能とする（ただし特定のフレームワーク残基も抗原に接触し得る）。従って、VL及びVHドメインは、構造n FR1 CDR1 FR2 CDR2 FR3 CDR3 FR4 cを有する。抗体の軽鎖の第1、第2及び第3のCDRである（又は第1、第2及び第3のCDRとして機能し得る）ポリペプチドは、本明細書ではそれぞれCDRL1ドメイン、CDRL2ドメイン及びCDRL3ドメインと呼ばれる。同様に、抗体の重鎖の第1、第2及び第3のCDRである（又は第1、第2及び第3のCDRとして機能し得る）ポリペプチドは、本明細書ではそれぞれCDRH1ドメイン、CDRH2ドメイン及びCDRH3ドメインと呼ばれる。よって、CDRL1ドメイン、CDRL2ドメイン、CDRL3ドメイン、CDRH1ドメイン、CDRH2ドメイン、及びCDRH3ドメインという用語は、あるタンパク質に組み込まれた場合に、当該タンパク質が、軽鎖及び重鎖若しくはダイアボディ若しくは単鎖結合分子（例えばscFv、BiTe等）を有する抗体であるか、又は別のタイプのタンパク質であるかにかかわらず、当該タンパク質を、特定のエピトープに結合できるようにする、ポリペプチドを対象としている。従って本明細書中で使用される場合、用語「エピトープ結合断片（epitope-binding fragment）」は、あるエピトープに免疫特異的に結合できる分子の断片を指す。エピトープ結合断片は、抗体のCDRドメインのうちの1、2、3、4若しくは5個を含有してよく、又は抗体のCDRドメインのうちの6個全てを含有してよく、このようなエピトープに免疫特異的に結合できるものの、このような抗体のエピトープとは異なるエピトープに対する免疫特異性、親和性又は選択性を呈してもよい。しかしながら好ましくは、エピトープ結合断片は、このような抗体のCDRドメインのうちの6個全てを含有することになる。ある抗体のエピトープ結合断片は、単一のポリペプチド鎖（例えばscFv）であってよく、又はそれぞれがアミノ末端及びカルボキシ末端を有する2つ以上のポリペプチド鎖（例えばダイアボディ、Fab断片、Fab2断片等）を含んでよい。明記されていない場合、本明細書に記載のタンパク質分子のドメインの順序は、「N末端からC末端への（N-terminal to C-terminal）」方向である。

20

30

40

【0085】

本発明は特に、ヒト化抗体のVL及び／又はVHドメインを含むエピトープ結合分子も包含する。用語「ヒト化抗体（humanized antibody）」は、キメラ分子であって、一般に組み換え技術を用いて調製され、非ヒト種からの免疫グロブリンのエピトープ結合部位と、残りの、ヒト免疫グロブリンの構造及び／又は配列に基づく分子の免疫グロブリン構造とを有する、キメラ分子を指す。本発明の抗ヒトPD1抗体は、抗体PD1 mAb 1、PD1 mAb 2、PD1 mAb 3、PD1 mAb 4、PD1 mAb 5、PD1 mAb 6、PD1 mAb 7、PD1 mAb 8、PD1 mAb 9、PD1 mAb 10、PD1 mAb 11、PD1 mAb 12、PD1 mAb 13、PD1 mAb 14又はPD1 mAb

50

15の、ヒト化、キメラ又はイヌ化変異体を含む。このような抗体の可変ドメインのポリヌクレオチド配列は、上記誘導体を生成するため及び上記抗体の親和性又は他の特徴を改善するための遺伝子操作のために使用できる。抗体をヒト化する際の一般原理は、抗体のエピトープ結合部分の塩基配列を保持しながら、抗体の非ヒト残部をヒト抗体配列と交換するステップを伴う。モノクローナル抗体をヒト化するためには、4つの一般的なステップが存在する。上記ステップは以下の通りである：(1) 開始抗体の軽鎖及び重鎖可変ドメインのヌクレオチド及び予測されるアミノ酸配列を決定するステップ；(2) ヒト化抗体又はイヌ化抗体を設計するステップ、即ちヒト化又はイヌ化プロセス中に使用する抗体フレームワーク領域を決定するステップ；(3) 実際のヒト化又はイヌ化法/技術；並びに(4) ヒト化抗体のトランスフェクション及び発現。例えば米国特許第4,816,567号；米国特許第5,807,715号；米国特許第5,866,692号；及び米国特許第6,331,415号を参照。

【0086】

エピトープ結合部位は、定常ドメインに融合する完全可変ドメイン、又は適切なフレームワーク領域にグラフトされたこのような可変ドメインの相補性決定領域(CDR)のみを含んでよい。エピトープ結合ドメインは野生型であってよく、又は1つ若しくは複数のアミノ酸置換によって修飾してよい。これにより、ヒト個体の免疫原である定常領域が排除されるが、外来可変ドメインの可能性は残る(LoBuglio, A.F. et al. (1989) "Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224)。別のアプローチは、ヒト由来定常領域を提供することだけでなく、上記可変ドメインをヒト形態に可能な限り近くなるように変形させるために上記可変ドメインを修飾することにも、焦点を当てている。重鎖及び軽鎖両方の可変ドメインは、問題となる抗原に応答して変化して結合能力を決定する、4つのフレームワーク領域(FR)が隣接する3つの相補性決定領域(CDR)を内包することが知られており、上記フレームワーク領域は、ある所与の種において相対的に保存され、またCDRのための足場を提供するものと推定される。ある特定の抗原に対して非ヒト抗体を調製する際、非ヒト抗体由来のCDRを、修飾されるヒト抗体内に存在するFRに移植することによって、可変ドメインを「再成形」又は「ヒト化」できる。様々な抗体に対するこのアプローチの適用は、Sato, K. et al. (1993) "Reshaping A Human Antibody To Inhibit The Interleukin 6-Dependent Tumor Cell Growth," Cancer Res 53:851-856. Riechmann, L. et al. (1988) "Reshaping Human Antibodies for Therapy," Nature 332:323-327; Verhoeyen, M. et al. (1988) "Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity," Science 239:1534-1536; Kettleborough, C. A. et al. (1991) "Humanization Of A Mouse Monoclonal Antibody By CDR-Grafting: The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation," Protein Engineering 4:773-778; Maeda, H. et al. (1991) "Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity," Human Antibodies Hybridoma 2:124-134; Gorman, S. D. et al. (1991) "Reshaping A Therapeutic CD4 Antibody," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:4181-4185; Tempest, P.R. et al. (1991) "Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection in vivo," Bio/Technology 9:266-271; Co, M. S. et al. (1991) "Humanized Antibodies For Antiviral Therapy," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:2869-2873; Carter, P. et al. (1992) "Humanization Of An Anti-p185her2 Antibody For Human Cancer Therapy," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 89:4285-4289; 及びCo, M.S. et al. (1992) "Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33 Antigen," J. Immunol. 148:1149-1154によって報告されている。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は全てのCDR配列を保存する(例えば、マウス抗体からの6つのCDR全てを含有するヒト化マウス抗体)。他の実施形態では、ヒト化抗体は、オリジナルの抗体に対して配列が異なる改変された1つ又は複数のCDR(1つ、2つ、3つ、4つ、5つ又は6つ)を有する。

【0087】

非ヒト免疫グロブリン由来の抗原結合部位を含む多数のヒト化抗体分子が説明されており、これらは、げっ歯類又は修飾げっ歯類可変ドメインと、ヒト定常ドメインに融合した、これらに関連する相補性決定領域 (C D R) とを有するキメラ抗体を含む (例えば Winter et al. (1991) "Man-made Antibodies," Nature 349:293-299; Lobuglio et al. (1989) "Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989); Shaw et al. (1987) "Characterization Of A Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody (17-1A) To A Colon Cancer Tumor-Associated Antigen," J. Immunol. 138:4534-4538; 及び Brown et al. (1987) "Tumor-Specific Genetically Engineered Murine/Human Chimeric Monoclonal Antibody," Cancer Res. 47:3577-3583 を参照)。他の参照文献は、適切なヒト抗体定常ドメインと融合する前にヒト支持性フレームワーク領域 (F R) にグラフと重合される、げっ歯類 C D R について説明している (例えば、Riechmann, L. et al. (1988) "Reshaping Human Antibodies for Therapy," Nature 332:323-327; Verhoeyen, M. et al. (1988) "Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity," Science 239:1534-1536; 及び Jones et al. (1986) "Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse," Nature 321:522-525 を参照)。別の参照文献は、組み換えによってベニアリングされたげっ歯類フレームワーク領域によって支持されたげっ歯類 C D R について説明している。例えば欧州公開特許第 5 1 9 , 5 9 6 号を参照。これらの「ヒト化」分子は、ヒトレシビエントのこれらの部分の治療的応用の期間及び効果を制限する、げっ歯類抗ヒト抗体分子に対する望ましくない免疫学的応答を最小化するように設計される。抗体をヒト化するために利用してよい他の方法は、Daugherty et al. (1991) "Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins," Nucl. Acids Res. 19:2471-2476 並びに米国特許第 6 , 1 8 0 , 3 7 7 号; 米国特許第 6 , 0 5 4 , 2 9 7 号; 米国特許第 5 , 9 9 7 , 8 6 7 号; 及び米国特許第 5 , 8 6 6 , 6 9 2 号によって開示されている。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 8 】

B . 抗体定常領域の特徴

本明細書全体を通して、I g G 重鎖の定常領域の残基の番号付与は、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, MD (1991) (「K a b a t」、これは参照により明示的に本明細書に援用される) による E U インデックスの番号付与である。用語「K a b a t におけるような E U インデックス (EU index as in Kabat)」は、ヒト I g G 1 E U 抗体の定常ドメインの番号付与を指す。免疫グロブリンの成熟重鎖及び軽鎖の可変ドメインからのアミノ酸は、鎖内のアミノ酸の位置によって指定される。K a b a t は、抗体に関する多数のアミノ酸配列を記載し、各サブグループに関するアミノ酸コンセンサス配列を識別し、また各アミノ酸に残基番号を割り当てており、C D R は K a b a t によって定義されているように識別される (Chothia, C. & Lesk, A. M. (1987) "Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins," J. Mol. Biol. 196:901-917) によって定義される C D R_H 1 は、5 残基前から始まることを理解されたい)。K a b a t の番号付与スキームは、保存されたアミノ酸を参照して、問題となる抗体を、K a b a t 中のコンセンサス配列のうちの 1 つと整列させることによって、K a b a t の概要に含まれていない抗体にまで拡張可能である。残基番号を割り当てるための上記方法は、当該技術分野において標準的なものとなっており、キメラ又はヒト化変異体を含む異なる抗体中の同等の位置のアミノ酸を容易に識別する。例えば、ヒト抗体軽鎖の 5 0 位のアミノ酸は、マウス抗体軽鎖の 5 0 位のアミノ酸と同等の位置を占有する。

【 0 0 8 9 】

1 . 重鎖の定常領域 : F c ドメイン

抗体の 2 つの重鎖の C H 1 ドメインは、抗体の軽鎖の「C L」定常領域と複合体化し、介在ヒンジドメインを介して重鎖 C H 2 ドメインに付着する。

【 0 0 9 0 】

例示的な C H 1 ドメインは、ヒト I g G 1 C H 1 ドメインである。例示的なヒト I g G 1 C H 1 ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 1) :

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

である。

【 0 0 9 1 】

例示的な C H 1 ドメインは、ヒト I g G 2 C H 1 ドメインである。例示的なヒト I g G 2 C H 1 ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 2) :

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTV

である。

【 0 0 9 2 】

例示的な C H 1 ドメインは、ヒト I g G 4 C H 1 ドメインである。例示的なヒト I g G 4 C H 1 ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 3) :

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRV

である。

【 0 0 9 3 】

ある例示的なヒンジドメインは、ヒト I g G 1 ヒンジドメインである。例示的なヒト I g G 1 ヒンジドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 4) : EPKSCDKTHTCPPCPである。

【 0 0 9 4 】

別の例示的なヒンジドメインは、ヒト I g G 2 ヒンジドメインである。例示的なヒト I g G 2 ヒンジドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 5) : ERKCCVECPPCPである。

【 0 0 9 5 】

別の例示的なヒンジドメインは、ヒト I g G 4 ヒンジドメインである。例示的なヒト I g G 4 ヒンジドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 6) : ESKYGPPCPSCPである。本明細書中で記載されるように、I g G 4 ヒンジドメインは、S 2 2 8 P 置換等の安定化突然変異を含んでよい。例示的な S 2 2 8 P 安定化ヒト I g G 4 ヒンジドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 7) : ESKYGPPCPSCPである。

【 0 0 9 6 】

抗体の 2 つの重鎖の C H 2 及び C H 3 ドメインは、相互作用して「F c ドメイン (Fc domain)」を形成し、これは、F c 受容体 (F c R) を含むがこれに受容されない細胞 F c 受容体によって認識されるドメインである。本明細書中で使用される場合、用語「F c ドメイン」は、I g G 重鎖の C 末端領域を定義するために使用される。F c ドメインは、そのアミノ酸配列が、他の I g G アイソタイプに対してよりも、ある I g G アイソタイプに対して最も相同性が高い場合に、この特定の I g G アイソタイプ、クラス又はサブクラスのものであると表現される。抗体は、診断学におけるその公知の使用法に加えて、治療剤として有用であることが示されている。

【 0 0 9 7 】

例示的なヒト I g G 1 の C H 2 C H 3 ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 8) :

231	240	250	260	270	280
APELLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	
	340	350	360	370	380
PIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	
	390	400	410	420	430
WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NVFSCSVMHE	
	440	447			

10

20

30

40

50

ALHNHYTQKS LSLSPGX

であり、これは K a b a t におけるような E U インデックスによって番号付与されており、X はリシン (K) であるか、又は不在である。

【 0 0 9 8 】

例示的なヒト I g G 2 の C H 2 C H 3 ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 9) :

231	240	250	260	270	280
APPVA-GPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVQFNWYVD	
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK	PREEQFNSTF	RVVSVLTVVH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPA	
	340	350	360	370	380
PIEKTISKTK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDISVE	
	390	400	410	420	430
WESNGQPENN	YKTPPMLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NVFSCSVMHE	
	440	447			

10

ALHNHYTQKS LSLSPGX

であり、これは K a b a t におけるような E U インデックスによって番号付与されており、X はリシン (K) であるか、又は不在である。

【 0 0 9 9 】

例示的なヒト I g G 3 の C H 2 C H 3 ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 1 0)

:

231	240	250	260	270	280
APELLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVQFKWYVD	
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK	PREEQYNSTF	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	
	340	350	360	370	380
PIEKTISKTK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	
	390	400	410	420	430
WESSGQPENN	YNTTPPMLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NIFSCSVMHE	
	440	447			

20

ALHNRFTQKS LSLSPGX

であり、これは K a b a t におけるような E U インデックスによって番号付与されており、X はリシン (K) であるか、又は不在である。

【 0 1 0 0 】

例示的なヒト I g G 4 の C H 2 C H 3 ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 1 1)

:

231	240	250	260	270	280
APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSQED	PEVQFNWYVD	
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPS	
	340	350	360	370	380
SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	
	390	400	410	420	430
WESNGQPENN	YKTPPVLDLDS	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	NVFSCSVMHE	
	440	447			

30

40

ALHNHYTQKS LSLSLGX

であり、これは K a b a t におけるような E U インデックスによって番号付与されており、X はリシン (K) であるか、又は不在である。

【 0 1 0 1 】

多型は、抗体定常領域内の多数の異なる位置 (例えば K a b a t におけるような E U インデックスによる番号付与で 2 7 0 位、2 7 2 位、3 1 2 位、3 1 5 位、3 5 6 位及び 3

50

5 8 位を含むがこれらに限定されない F c 位置)において観察されており、従ってここで提示される配列と従来技術の配列との間にはわずかな差異が存在し得る。ヒト免疫グロブリンの多型形態は、十分に特性決定されている。現在、18個の G m アロタイプが公知である: G 1 m (1 , 2 , 3 , 1 7) 又は G 1 m (a , x , f , z)、G 2 m (2 3) 又は G 2 m (n)、G 3 m (5 , 6 , 1 0 , 1 1 , 1 3 , 1 4 , 1 5 , 1 6 , 2 1 , 2 4 , 2 6 , 2 7 , 2 8) 又は G 3 m (b 1 , c 3 , b 3 , b 0 , b 3 , b 4 , s , t , g 1 , c 5 , u , v , g 5) (Lefranc, et al., The human IgG subclasses: molecular analysis of structure, function and regulation. Pergamon, Oxford, pp. 43-78 (1990); Lefranc, G. et al., 1979, Hum. Genet.: 50, 199-211)。特に、本発明の抗体が、いずれの免疫グロブリン遺伝子のいずれのアロタイプ、アイソアロタイプ又はハプロタイプを組み込むことができ、本明細書中で提示される配列のアロタイプ、アイソアロタイプ又はハプロタイプに限定されないと考えられる。更に、発現系によっては、C H 3 ドメインの C 末端アミノ酸残基(上記太字)は、翻訳後に除去できる。従って C H 3 ドメインの C 末端残基は、本発明の結合分子の任意のアミノ酸残基である。本発明によって具体的に包含されるのは、C H 3 ドメインの C 末端残基が欠けた結合分子である。また本発明によって具体的に包含されるのは、C H 3 ドメインの C 末端リシン残基を含む構造である。

10

20

30

40

50

【0102】

2. 軽鎖の定常領域

上述のように、抗体の軽鎖は、1つの可変ドメイン(「V L」)及び1つの定常ドメイン(「C L」)を含有する。

【0103】

好ましい C L ドメインは、ヒト I g G C L ドメインである。例示的なヒト C L ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 1 2) :

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK
SFNRGEC

である。

【0104】

あるいは、例示的な C L ドメインは、ヒト I g G C L ドメインである。例示的なヒト C L ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 1 3) :

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA
GVETTPSKQS NNNYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP
TECS

である。

【0105】

I I . キメラ抗原受容体

あるいは、標的細胞(即ち癌細胞、病原体感染細胞等)の標的転換殺滅を仲介できる、本発明の結合分子は、癌抗原又は病原体関連抗原に結合できる単鎖可変断片(s c F v)が組み込まれたキメラ抗原受容体(「C A R」)等の単一特異性単鎖分子であってよい。上述のように、s c F v は、短い連結ペプチドを介して軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を連結することによって作製される。第1世代 C A R は典型的には、内因性 T C R からのシグナルの主要な伝達物質である C D 3 鎖からの細胞内ドメインを有していた。第2世代 C A R は、T細胞に更なるシグナルを供給するために、様々な共刺激タンパク質受容体(例えば C D 2 8、4 1 B B、I C O S 等)から C A R の細胞質側末端への、更なる細胞内シグナリングドメインを有していた。第3世代 C A R は、効力を更に増強するために、C D 3 z C D 2 8 4 1 B B 又は C D 3 z C D 2 8 O X 4 0 といった複数のシグナリングドメインを併せ持っている(Tettamanti, S. et al. (2013) "Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor," Br. J. Haematol. 161:389-401; Gill, S. et al. (2014) "Efficacy Against Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation

Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells,” Blood 123(15): 2343-2354; Mardiros, A. et al. (2013) “T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia,” Blood 122:3138-3148; Pizzitola, I. et al. (2014) “Chimeric Antigen Receptors Against CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo,” Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62)。

【 0 1 0 6 】

本発明のCARの細胞内ドメインは好ましくは：4 1 B B C D 3 、 b 2 c C D 3 、 C D 2 8 、 C D 2 8 4 1 B B C D 3 、 C D 2 8 C D 3 、 C D 2 8 F c R I 、 C D 2 8 m u t C D 3 、 C D 2 8 O X 4 0 C D 3 、 C D 2 8 O X 4 0 C D 3 、 C D 3 、 C D 4 C D 3 、 C D 4 F c R I 、 C D 8 C D 3 、 F c e R I 、 F c R I C A I X、ヘレグリン C D 3 、 I L 1 3 C D 3 、又はL y 4 9 H C D 3 のうちのいずれの細胞内ドメインから選択される (Tettamanti, S. et al. (2013) “Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,” Br. J. Haematol. 161:389-401; Gill, S. et al. (2014) “Efficacy Against Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells,” Blood 123(15): 2343-2354; Mardiros, A. et al. (2013) “T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia,” Blood 122:3138-3148; Pizzitola, I. et al. (2014) “Chimeric Antigen Receptors Against CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo,” Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62)。

【 0 1 0 7 】

I I I . 二重特異性抗体及び多重特異性ダイアボディ

抗体が抗原のエピトープに結合する能力は、抗体のV L及びV Hドメインの存在並びにアミノ酸配列に依存する。抗体軽鎖と重鎖との相互作用、特にそのV LドメインとV Hドメインとの相互作用は、I g G等の天然抗体の2つのエピトープ結合ドメインのうちの1つを形成する。天然抗体は、1つのエピトープ種にのみ結合できる (即ちこれらは単一特異性である) が、これらは上記種の複数の複製に結合できる (即ち2価性又は多価性を示す)。

【 0 1 0 8 】

抗体の官能性は、2つの別個の異なる抗原 (若しくは同一の抗原の異なるエピトープ) に同時に結合できる多重特異性抗体系分子を生成することによって、並びに/又は同一のエピトープ及び/若しくは抗原に関して更に高い価数 (即ち3つ以上の結合部位) を有する抗体系分子を生成することによって、増強できる。

【 0 1 0 9 】

天然抗体より高い能力を有する分子を提供するために、幅広い組み換え二重特異性抗体フォーマットが開発されており (例えば国際公開第2008/003116号; 国際公開第2009/132876号; 国際公開第2008/0031013号; 国際公開第2007/146968号; 国際公開第2009/018386号; 国際公開第2012/009544号; 国際公開第2013/070565参照)、その殆どは、更なるエピトープ結合断片 (例えばs c F v、V L、V H等) を抗体コア (I g A、I g D、I g E、I g G若しくはI g M) へ若しくは上記抗体コア内に融合させるため、又は複数のエピトープ結合断片 (例えば2つのF a b断片若しくはs c F v) を融合させるために、リンカーペプチドを使用する。代替的なフォーマットは、エピトープ結合断片 (例えばs c F v、V L、V H等) を、C H 2 C H 3ドメイン又は代替となるポリペプチド等の二量体化ドメインに融合させるために、リンカーペプチドを使用する (国際公開第2005/070

966号；国際公開第2006/107786号；国際公開第2006/107617号；国際公開第2007/046893号）。国際公開第2013/174873号；国際公開第2011/133886号；及び国際公開第2010/136172号は、2つ以上の抗原に結合できるように、CL及びCH1ドメインがそれぞれの自然位置から切り替わり、かつVL及びVHドメインが多様化されている、三重特異性抗体を開示している（国際公開第2008/027236号；国際公開第2010/108127号）。国際公開第2013/163427号、及び国際公開第2013/119903号は、CH2ドメインを修飾して、結合ドメインを含む融合タンパク付加物を含有させるステップを開示している。国際公開第2010/028797号；国際公開第2010028796号；及び国際公開第2010/028795号は、Fcドメインが追加のVL及びVHドメインで置換されて、3価結合分子を形成している、組み換え抗体を開示している。国際公開第2003/025018号；及び国際公開第2003012069号は、個々の鎖がscFvドメインを含有する組み換えダイアボディを開示している。国際公開第2013/006544号は、単一のポリペプチド鎖として合成された後、タンパク質分解に供されることによってヘテロ二量体構造が得られる、多価fab分子を開示している。国際公開第2014/022540号；国際公開第2013/003652号；国際公開第2012/162583号；国際公開第2012/156430号；国際公開第2011/086091号；国際公開第2008/024188号；国際公開第2007/024715号；国際公開第2007/075270号；国際公開第1998/002463号；国際公開第1992/022583号；及び国際公開第1991/003493号は、追加の結合ドメイン又は官能基を抗体又は抗体部分に付加するステップ（例えば抗体の軽鎖にダイアボディを付加するステップ、又は抗体の軽鎖及び重鎖に追加のVL及びVHドメインを付加するステップ、又は異種融合タンパク質を互いに対して付加するステップ若しくは複数のFabドメインを互いに対して連鎖させるステップ）を開示している。

10

20

30

40

50

【0110】

本技術分野は更に、2つ以上の異なるエピトープ種と結合できる（即ち2価性又は多価性に加えて二重特異性又は多重特異性を呈することができる）という点でこのような天然抗体とは異なるダイアボディを産生できる可能性に注目している（例えばHolliger et al. (1993) “ ‘Diabodies’ : Small Bivalent And Bispecific Antibody Fragments,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 90:6444-6448; 米国特許第2004/0058400号（Hollinger et al.）; 米国特許第2004/0220388号；国際公開第02/02781号（Mertens et al.）；Alt et al. (1999) *FEBS Lett.* 454(1-2):90-94; Lu, D. et al. (2005) “A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity,” *J. Biol. Chem.* 280(20):19665-19672；国際公開第02/02781号（Mertens et al.）；Olafsen, T. et al. (2004) “Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications,” *Protein Eng. Des. Sel.* 17(1):21-27; Wu, A. et al. (2001) “Multimerization Of A Chimeric Anti-CD20 Single Chain Fv-Fv Fusion Protein Is Mediated Through Variable Domain Exchange,” *Protein Engineering* 14(2):1025-1033; Asano et al. (2004) “A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain,” *Abstract 3P-683, J. Biochem.* 76(8):992; Takemura, S. et al. (2000) “Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,” *Protein Eng.* 13(8):583-588; Baeuerle, P.A. et al. (2009) “Bispecific T-Cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy,” *Cancer Res.* 69(12):4941-4944を参照）。

【0111】

ダイアボディの設計は、軽鎖及び/又は重鎖可変ドメインが短い連鎖ペプチドを用いて連結されている、単鎖可変ドメイン断片（scFv）の構造に基づく。Bird et al. (1988) (“Single-Chain Antigen-Binding Proteins,” *Science* 242:423-426)は、一方の可

変ドメインのカルボキシ末端と他方の可変ドメインのアミノ末端との間の約 3 . 5 n m を埋める連結ペプチドの例を記載している。他の配列のリンカーも設計及び使用されている (Bird et al. (1988) "Single-Chain Antigen-Binding Proteins," Science 242:423-426)。リンカーは、薬剤の付着又は剛性支持体の付着といった追加の機能のために修飾できる。単鎖変異体は、組み換えによって又は合成によって産生できる。s c F v の合成産生に関しては、自動化されたシンセサイザを使用できる。s c F v の組み換え産生に関しては、s c F v をエンコードするポリヌクレオチドを含有する好適なプラスミドを、酵母、植物、昆虫若しくは哺乳類細胞等の真核細胞又は大腸菌等の原核細胞である好適な宿主細胞に導入できる。関心対象の s c F v をエンコードするポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのライゲーション等の従来の操作によって作製できる。得られた s c F v は、当該技術分野で公知の標準的なタンパク質精製技術を用いて単離できる。

10

【0112】

二重特異性結合分子 (例えば非単一特異性ダイアボディ) の提供は、異なるエピトープを発現する異なる複数の細胞を共連結及び / 若しくは共存させるために十分な「トランス (trans)」結合能力、並びに / 又は同一の細胞が発現する異なる複数の分子を共連結及び / 又は共存させるために十分な「シス (cis)」結合能力を含むがこれに限定されない、抗体を上回る有意な利点を提供する。従って二重特異性結合分子 (例えば非単一特異性ダイアボディ) は、療法及び免疫診断を含む広範な用途を有する。二重特異性は、様々な用途におけるダイアボディの設計及び加工の大幅な柔軟性を可能とし、これにより、多量体抗原の結合活性の上昇、異なる複数の抗原の架橋、及び両標的抗原の存在に基づく特定の細胞タイプに対する指向性標的化を提供する。当該技術分野において公知のダイアボディ分子は、(~ 5 0 k D a 以下の小さいサイズのダイアボディに関して) その高い結合価、低い解離率及び循環からの迅速な排除により、腫瘍撮像の分野での特定の使用も示している (Fitzgerald et al. (1997) "Improved Tumour Targeting By Disulphide Stabilized Diabodies Expressed In Pichia pastoris," Protein Eng. 10:1221-1225)。

20

【0113】

二重特異性ダイアボディを産生する能力により、異なる細胞上に存在する受容体の共連結 (例えば細胞毒性 T 細胞と、疾患抗原を発現する癌細胞又は病原体感染細胞等の標的細胞との架橋) によって、2 つの細胞を共連結するために、上記ダイアボディを (「トランス」として) 使用できるようになる (Staerz et al. (1985) "Hybrid Antibodies Can Target Sites For Attack By T Cells," Nature 314:628-631, and Holliger et al. (1996) "Specific Killing Of Lymphoma Cells By Cytotoxic T-Cells Mediated By A Bispecific Diabody," Protein Eng. 9:299-305; Marvin et al. (2005) "Recombinant Approaches To IgG-Like Bispecific Antibodies," Acta Pharmacol. Sin. 26:649-658; Sloan et al. (2015) "Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells," PLoS Pathog 11(11): e1005233. doi:10.1371/journal.ppat.1005233)。あるいは又は更に、二重特異性ダイアボディを (「シス」として) 用いて、同一の細胞の表面上に存在する受容体等の分子を共連結できる。異なる細胞及び / 又は受容体の共連結は、エフェクタ機能及び / 又は免疫細胞シグナリングを変調するために有用である。エピトープ結合ドメインを含む多重特異性分子 (例えば二重特異性ダイアボディ) は、T リンパ球、ナチュラルキラー (NK) 細胞、抗原提示細胞又は他の単核細胞上で発現される、C D 2、C D 3、C D 8、C D 1 6、T C R、N K G 2 D 等といったいずれの免疫細胞の表面決定因子を対象としてよい。特に、免疫エフェクタ細胞上に存在する細胞表面受容体を対象とするエピトープ結合ドメインは、標的転換細胞殺滅を仲介できる多重特異性結合分子の生成に有用である。

30

40

【0114】

しかしながら、上述の二重特異性ダイアボディの利点は顕著なコストにつながる。このような非単一特異性ダイアボディの形成は、2 つ以上の別個の異なるポリペプチドの良好な集合を必要とする (即ち上記形成は、ダイアボディが、異なるポリペプチド鎖種のヘテ

50

ロ二量体形成によって形成されることを必要とする)。この事実は、同一のポリペプチド鎖のホモ二量体形成によって形成される単一特異性ダイアボディとは対照的である。非単一特異性ダイアボディを形成するために少なくとも2つの異なるポリペプチド(即ち2つのポリペプチド種)を提供しなければならないため、及びこのようなポリペプチドのホモ二量体形成は不活性分子をもたらす(Takemura, S. et al. (2000) "Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System," Protein Eng. 13(8):583-588)ため、このようなポリペプチドの産生は、同一種のポリペプチド間での共有結合を防止する(即ちホモ二量体化を防止する)ような方法で達成しなければならない(Takemura, S. et al. (2000) "Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System," Protein Eng. 13(8):583-588)。従って本技術分野は、このようなポリペプチドの非共有結合的連結を教示している(例えばOlafsen et al. (2004) "Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications," Prot. Engr. Des. Sel. 17:21-27; Asano et al. (2004) "A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain," Abstract 3P-683, J. Biochem. 76(8):992; Takemura, S. et al. (2000) "Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System," Protein Eng. 13(8):583-588; Lu, D. et al. (2005) "A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity," J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672参照)。

【0115】

しかしながら、本技術分野は、非共有結合的に連結したポリペプチドで構成される二重特異性ダイアボディが不安定であり、非機能性モノマーへと容易に分解することを認識している(例えばLu, D. et al. (2005) "A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity," J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672参照)。

【0116】

この課題をものともせず、本技術分野は、DART(登録商標)(Dual Affinity Re-Targeting)ダイアボディと呼ばれる、安定した共有結合ヘテロ二量体性非単一特異性ダイアボディの開発に成功した(例えば米国公開特許第20130295121号;米国公開特許第20100174053号;及び米国公開特許第20090060910号;欧州公開特許第2714079号;欧州公開特許第2601216号;欧州公開特許第2376109号;欧州公開特許第2158221号;並びに国際公開第2012/162068号;国際公開第2012/018687号;国際公開第2010/080538号、並びにSloan, D.D. et al. (2015) "Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells," PLoS Pathog. 11(11):e1005233. doi: 10.1371/journal.ppat.1005233; Al Hussaini, M. et al. (2015) "Targeting CD123 In AML Using A T-Cell Directed Dual-Affinity Re-Targeting (DART(R)) Platform," Blood pii: blood-2014-05-575704; Chichili, G.R. et al. (2015) "A CD3xCD123 Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia: Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates," Sci. Transl. Med. 7(289):289ra82; Moore, P.A. et al. (2011) "Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T-Cell Killing Of B-Cell Lymphoma," Blood 117(17):4542-4551; Veri, M.C. et al. (2010) "Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fc gamma Receptor 11b (CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold," Arthritis Rheum. 62(7):1933-1943; Johnson, S. et al. (2010) "Effector Cell Recruitment With Novel Fv-Based Dual-Affinity Re-Targeting Protein Leads

To Potent Tumor Cytolysis And in vivo B-Cell Depletion," J. Mol. Biol. 399(3):436-449参照)。このようなダイアボディは、2つ以上の共有結合的に複合体化したポリペプチドを含み、1つ又は複数のシステイン残基を、ジスルフィド結合を形成でき、これによってこのようなポリペプチド鎖の1つ又は複数のペアを互いに共有結合させる、採用したポリペプチド種それぞれの中へと加工するステップを伴う。例えば、このような構造のC末端へのシステイン残基の追加は、関与するポリペプチド鎖間のジスルフィド結合を可能とすることが分かっており、これは、ダイアボディの結合特性に干渉することなく、得られるダイアボディを安定化させる。

【0117】

このような分子の多数の変異型が記載されており（例えば、米国公開特許第2015/0175697号；米国公開特許第2014/0255407号；米国公開特許第2014/0099318号；米国公開特許第2013/0295121号；米国公開特許第2010/0174053号；米国公開特許第2009/0060910号；米国公開特許第2007/0004909号；欧州公開特許第2714079号；欧州公開特許第2601216号；欧州公開特許第2376109号；欧州公開特許第2158221号；欧州公開特許第1868650号；及び国際公開第2012/162068号；国際公開第2012/018687号；国際公開第2010/080538号；国際公開第2006/113665号参照）、また本明細書中で提供される。

【0118】

二重特異性又は4価分子が望ましいもののFcは必要ない場合の用途のために、代替的な構成が当該技術分野において公知であり、これは、「BiTE」とも呼ばれる、二重特異性T細胞エンゲージャ分子（例えば国際公開第1993/11161号；及び国際公開第2004/106381号参照）並びに「TandAb」とも呼ばれる4価タンデム抗体（例えば米国公開特許第2011-0206672号；欧州公開特許第2371866号；国際公開第1999/057150号；国際公開第2003/025018号；及び国際公開第2013/013700号参照）を含むが、これに限定されない。BiTEは、タンデム結合されたscFvを含む単一のポリペプチド鎖から形成され、またTandAbは、VH1、VL2、VH2、及びVL2ドメインをそれぞれ有する2つの同一の鎖のホモ二量体化によって形成される。

【0119】

本発明は、疾患抗原を発現する標的細胞（例えば癌細胞又は病原体感染細胞等）の標的転換殺滅を仲介できる二重特異性結合分子を提供する。このような二重特異性結合分子は、「第1のエピトープ」及び「第2のエピトープ」に結合でき、これらのエピトープは互いに同一ではない。このような二重特異性分子は、第1のエピトープに結合できる「VL1」/「VH1」ドメイン、及び第2のエピトープに結合できる「VL2」/「VH2」ドメインを含む。表記法「VL1」及び「VH1」はそれぞれ、このような二重特異性分子の「第1の」エピトープに結合する可変軽鎖ドメイン及び可変重鎖ドメインを指す。同様に、表記法「VL2」及び「VH2」はそれぞれ、このような二重特異性分子の「第2の」エピトープに結合する軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを指す。ある特定のエピトープが第1のエピトープ又は第2のエピトープのいずれとして指定されるかは無関係であり、このような表記法は、本発明の結合分子のポリペプチド鎖のドメインの存在又は配向のみに関連する。一実施形態では、このようなエピトープのうちの1つは、Tリンパ球、ナチュラルキラー（NK）細胞又は他の単核細胞といったエフェクタ細胞の表面上に存在する分子（例えばCD2、CD3、CD8、CD16、T細胞受容体（TCR）、NKG2D等）のエピトープであり、また他のエピトープは、疾患抗原（例えば癌抗原又は病原体関連抗原）のエピトープである。特定の実施形態では、二重特異性分子は、3つ以上のエピトープ結合部位を含む。本発明は特に、本明細書中で提供される方法のうちのいずれかを用いて生成される、二重特異性ダイアボディ、BiTE、抗体及びTandAbを包含する。

【0120】

A．Fcドメインを含まないダイアボディ

一実施形態では、本発明のダイアボディは二重特異性であり、第1及び第2のエピトープ両方に結合できるドメインを含むことになるが、Fcドメインを含まず、従ってFcR分子には結合できない。二重特異性ダイアボディのこのような実施形態の第1のポリペプチド鎖は、N末端からC末端への方に：N末端；第1又は第2のエピトープに結合できるモノクローナル抗体のVLドメイン（即ちV_Lエヒ・トーフ・₁又はV_Lエヒ・トーフ・₂）；第1の介在スペーサペプチド（リンカー1）；（上記第1のポリペプチド鎖がV_Lエヒ・トーフ・₁を含有する場合は）第2のエピトープに結合できるモノクローナル抗体のVHドメイン又は（上記第1のポリペプチド鎖がV_Lエヒ・トーフ・₂を含有する場合は）第1のエピトープに結合できるモノクローナル抗体のVHドメイン；任意にシステイン残基を含有する第2の介在スペーサペプチド（リンカー2）；ヘテロ二量体促進ドメイン；及びC末端を含む（図1）。

10

【0121】

二重特異性ダイアボディのこの実施形態の第2のポリペプチド鎖は、N末端からC末端への方に：N末端；第1又は第2のエピトープに結合できるモノクローナル抗体のVLドメイン（即ちV_Lエヒ・トーフ・₁又はV_Lエヒ・トーフ・₂；及び上記VLドメインは上記ダイアボディの上記第1のポリペプチド鎖に含まれないよう選択される）；介在スペーサペプチド（リンカー1）；第1又は第2のエピトープに結合できるモノクローナル抗体のVHドメイン（即ちV_Hエヒ・トーフ・₁又はV_Hエヒ・トーフ・₂；及び上記VHドメインは上記ダイアボディの上記第1のポリペプチド鎖に含まれないよう選択される）；任意にシステイン残基を含有する第2の介在スペーサペプチド（リンカー2）；ヘテロ二量体促進ドメイン；及びC末端を含む（図1）。ある特定のエピトープに対して特異的な、採用されるVL及びVHドメインは、好ましくは同一のモノクローナル抗体から得られる、又は同一のモノクローナル抗体に由来する。しかしながらこれらのドメインは、これらのドメインが会合して、上記エピトープに免疫特異的に結合できる官能性結合部位を形成する場合、異なるモノクローナル抗体に由来してもよい。このような異なる抗体は、本明細書では「対応する（corresponding）」抗体と呼ばれる。

20

【0122】

第1のポリペプチド鎖のVLドメインは、第2のポリペプチド鎖のVHドメインと相互作用して、上記エピトープのうちの1つ（例えば第1のエピトープ）に対して特異的な第1の官能性エピトープ結合部位を形成する。同様に、第2のポリペプチド鎖のVLドメインは、第1のポリペプチド鎖のVHドメインと相互作用して、他方のエピトープ（即ち第2のエピトープ）に対して特異的な第2の官能性エピトープ結合部位を形成する。よって、第1及び第2のポリペプチド鎖のVL及びVHドメインの選択は、ダイアボディのこれら2つのポリペプチド鎖が合わせて、第1のエピトープ及び第2のエピトープの両方に結合できるVL及びVHドメインを含む（即ちこれらが合わせて、V_Lエヒ・トーフ・₁/V_Hエヒ・トーフ・₁及びV_Lエヒ・トーフ・₂/V_Hエヒ・トーフ・₂を含む）ように、調整される。

30

【0123】

最も好ましくは、介在スペーサペプチド（即ち上述のVLドメインとVHドメインとを隔てる「リンカー1」）の長さは、上記ポリペプチド鎖の上記VL及びVHドメインが互いに対して結合する（例えば0、1、2、3、4、5、6、7、8又は9個の介在リンカーアミノ酸残基からなる）のを実質的に又は完全に防止するよう選択される。従って第1のポリペプチド鎖のVL及びVHドメインは、互いに対して結合することが実質的に又は全くできない。同様に、第2のポリペプチド鎖のVL及びVHドメインは、互いに対して結合することが実質的に又は全くできない。好ましい介在スペーサペプチド（リンカー1）は、配列（配列番号14）：GGSGGGGを有する。

40

【0124】

上記第2の介在スペーサペプチド（リンカー2）の長さ及び組成は、上述のような二量体化を促進する1つ又は複数のポリペプチドドメイン（即ち「ヘテロ二量体促進ドメイン

50

」)の選択に基づいて選択される。典型的には、上記第2の介在スパーサペプチド(リンカー2)は、3~20個のアミノ酸残基を含む。特に、採用した1つ以上のヘテロ二量体促進ドメインがシステイン残基を含まない場合、システイン含有第2の介在スパーサペプチド(リンカー2)が利用される。システイン含有第2の介在スパーサペプチド(リンカー2)は、1つ、2つ、3つ又は4つ以上のシステインを含有する。好ましいシステイン含有スパーサペプチド(リンカー2)は、配列GGCGGG(配列番号15)を有する。あるいは、リンカー2はシステインを含まず(例えば、GGG、GGGS(配列番号16)、LGGSG(配列番号17)、GGSGGGSGGG(配列番号18)、ASTKG(配列番号19)、LEPKSS(配列番号20)、APSSS(配列番号21)等)、以下で説明されるシステイン含有ヘテロ二量体促進ドメインが使用される。任意に、システイン含有リンカー2及びシステイン含有ヘテロ二量体促進ドメインの両方が使用される。

10

【0125】

ヘテロ二量体促進ドメインは、一方のポリペプチド鎖上にGVEPKSC(配列番号22)又はVEPKSC(配列番号23)又はAEPKSC(配列番号24)、及び他方のポリペプチド鎖上にGFNRGEC(配列番号25)又はFNRGEC(配列番号26)であってもよい(米国特許第2007/0004909号)。

【0126】

ある好ましい実施形態では、ヘテロ二量体促進ドメインは、対向する電荷のタンデム反復コイルドメイン、例えば、グルタミン酸残基がpH7において負の電荷を形成する「Eコイル」ヘテロ二量体促進ドメイン(配列番号27: EVAAELEK EVAAELEK EVAAELEK EVAAELEK)、又はリシン残基がpH7において正の電荷形成する「Kコイル」ヘテロ二量体促進ドメイン(配列番号28: KVAALKE KVAALKE KVAALKE KVAALKE)とを含む。このような荷電ドメインの存在により、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドとの間の関連付けが促進され、従ってヘテロ二量体形成が促進される。上述のEコイル及びKコイルの配列の、1つ又は複数のシステイン残基を含むような修飾を含む、ヘテロ二量体促進ドメインを利用してよい。このようなシステイン残基の存在により、一方のポリペプチド鎖に存在するコイルが、他方のポリペプチド鎖に存在する相補的なコイルと共有結合し、これにより上記ポリペプチド鎖を互いに共有結合させて、ダイアボディの安定性を向上できる。特に好ましい例は、アミノ酸配列EVAACEK EVAAELEK EVAAELEK EVAAELEK(配列番号29)を有する修飾されたEコイルと、アミノ酸配列KVAACKE KVAALKE KVAALKE KVAALKE(配列番号30)を有する修飾されたKコイルとを含む、ヘテロ二量体促進ドメインである。

20

30

【0127】

国際公開第2012/018687号に開示されているように、ダイアボディのインビボ薬物動態特性を改善するために、ダイアボディを、ダイアボディの末端のうちの1つ又は複数に血清結合タンパク質のポリペプチド部分を含有するように修飾してよい。最も好ましくは、このような血清結合タンパク質のポリペプチド部分は、ダイアボディのポリペプチド鎖のC末端に配置されることになる。アルブミンは、血漿中に最も豊富なタンパク質であり、ヒトにおいて19日の半減期を有する。アルブミンは複数の小さな分子結合部位を有し、これによりアルブミンは他のタンパク質に非共有結合して血清半減期を延長できる。連鎖球菌株G148のタンパク質Gのアルブミン結合ドメイン3(ABD3)は、安定した3重螺旋束を形成する46個のアミノ酸残基からなり、広範なアルブミン結合特異性を有する(Johansson, M.U. et al. (2002) "Structure, Specificity, And Mode Of Interaction For Bacterial Albumin-Binding Modules," J. Biol. Chem. 277(10):8114-8120)。従って、ダイアボディのインビボ薬物動態特性を改善するための、血清結合タンパク質の特に好ましいポリペプチド部分は、連鎖球菌タンパク質Gからのアルブミン結合ドメイン(ABD)、及びより好ましくは、連鎖球菌株G148のタンパク質Gのアルブミン結合ドメイン3(ABD3)(配列番号31): LAEAKVLNRLDKYGVSDY YKNLIDNAKS AEGVKALIDE ILAALPである。

40

【0128】

国際公開第2012/162068号(参照により本出願に援用される)に開示されて

50

いるように、配列番号 31 の「脱免疫化 (deimmunized)」変異型は、MHC クラス II 結合を減衰させる又は排除する能力を有する。組み合わせさせた突然変異の結果に基づいて、以下の置換の組み合わせが、このような脱免疫化 ABD を形成するための好ましい置換であると考えられる：66D / 70S + 71A；66S / 70S + 71A；66S / 70S + 79A；64A / 65A / 71A；64A / 65A / 71A + 66S；64A / 65A / 71A + 66D；64A / 65A / 71A + 66E；64A / 65A / 79A + 66S；64A / 65A / 79A + 66D；64A / 65A / 79A + 66E。修飾 L64A、I65A 及び D79A、又は修飾 N66S、T70S 及び D79A を有する変異型 ABD。アミノ酸配列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLID₆₆NAKS₇₀ A₇₁EGVKALIDE ILAALP (配列番号 32)

又はアミノ酸配列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNA₆₄A₆₅NNAKT VEGVKALIA₇₉E ILAALP (配列番号 33)

又はアミノ酸配列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLIS₆₆NAKS₇₀ VEGVKALIA₇₉E ILAALP (配列番号 34) を有する、変異型脱免疫化 ABD が特に好ましい。というのは、このような脱免疫化 ABD は、MHC クラス II 結合の減衰を提供しながら、略野生型の結合を呈するためである。従って、ABD を有するこのようなダイアボディの上記第 1 のポリペプチド鎖は、好ましくはこのようなポリペプチド鎖の E コイル (又は K コイル) ドメインに対して C 末端に位置決めされることによって、上記 E コイル (又は K コイル) ドメインと ABD (これは好ましくは脱免疫化 ABD である) との間に介在する、第 3 のリンカー (リンカー 3) を含有する。このようなリンカー 3 の好ましい配列は、配列番号 16 : GGGs である。

【0129】

B・Fc ドメインを含むダイアボディ

本発明の一実施形態は、Fc ドメインを含む第 1 及び第 2 のエピトープ (即ち同一の抗原分子の異なるエピトープ、又は異なる抗原である分子のエピトープ) に同時に結合できる、多重特異性ダイアボディ (例えば二重特異性、三重特異性、四重特異性等) に関する。このような分子の Fc ドメインは、いずれのアイソタイプ (例えば IgG1、IgG2、IgG3、又は IgG4) のものであってよい。上記分子は更に、CH1 ドメイン及び / 又はヒンジドメインを含んでよい。CH1 ドメイン及び / 又はヒンジドメインが存在する場合、これらはいずれのアイソタイプ (例えば IgG1、IgG2、IgG3、又は IgG4) のものであってよく、好ましくは所望の Fc ドメインと同一のアイソタイプのものである。

【0130】

上記ダイアボディポリペプチド鎖のうち的一方又は両方に IgG CH2 CH3 ドメインを追加して、上記ダイアボディ鎖の複合体化によって Fc ドメインが形成されるようにすると、上記ダイアボディの生物学的半減期が増大し、及び / 又は価数が変化する。このようなダイアボディは、ポリペプチド鎖を互いに共有結合させて、第 1 のエピトープ及び第 2 のエピトープに同時に結合できる共有結合ダイアボディを形成できる配列を有する、2 つ以上のポリペプチド鎖を含む。上記ダイアボディポリペプチドの両方に IgG CH2 CH3 ドメインを組み込むと、2 鎖二重特異性 Fc 領域含有ダイアボディの形成が可能となる (図 2)。

【0131】

あるいは、上記ダイアボディポリペプチドのうちの方に IgG CH2 CH3 ドメインを組み込むと、より複雑な 4 鎖二重特異性 Fc ドメイン含有ダイアボディの形成が可能となる (図 3A ~ 3C)。図 3C は、定常軽鎖 (CL) ドメイン及び定常重鎖 CH1 ドメインを有する代表的な 4 鎖ダイアボディを示すが、このようなドメインの断片及び他のポリペプチドを代わりに採用してもよい (例えば図 3A 及び 3B、米国公開特許第 2013 0295121 号；米国公開特許第 2010 0174053 号及び米国公開特許第 2009 0060910 号；欧州公開特許第 2714079 号；欧州公開特許第 2601216 号；欧州公開特許第 2376109 号；欧州公開特許第 2158221 号、及び

10

20

30

40

50

国際公開第 2012/162068 号；国際公開第 2012/018687 号；国際公開第 2010/080538 号を参照）。従って例えば、CH1 ドメインの代わりに、ヒト IgG のヒンジドメイン由来のアミノ酸配列 GVEPKSC（配列番号 22）、VEPKSC（配列番号 23）又は AEPKSC（配列番号 24）を有するペプチドを採用してよく、また CL ドメインの代わりに、ヒト 軽鎖の C 末端 6 アミノ酸、GFNRGEC（配列番号 25）又は FNRGEC（配列番号 26）を採用してよい。4 鎖ダイアボディを含有する代表的なペプチドを図 3A に示す。あるいは、又は更に、対向する電荷のタンデムコイルドメイン、例えば「E コイル」螺旋ドメイン（配列番号 27：EVAALEK EVAALEK EVAALEK EVAALEK又は配列番号 28：EVAACEK EVAALEK EVAALEK EVAALEK）；及び「K コイル」ドメイン（配列番号 29：KVAALKE KVAALKE KVAALKE KVAALKE又は配列番号 30：KVAACKE KVAALKE KVAALKE KVAALKE）を含むペプチドを採用してよい。4 鎖ダイアボディを含有する代表的なコイルドメインを図 3B に示す。

【0132】

本発明の Fc ドメイン含有ダイアボディ分子は、更なる介在スペーサペプチド（リンカー）を含んでよく、このようなリンカーは一般に、ヘテロ二量体促進ドメイン（例えば E コイル若しくは K コイル）と CH2 CH3 ドメインとの間、及び / 又は CH2 CH3 ドメインと可変ドメイン（即ち VH 若しくは VL）との間に組み込まれる。典型的には、この追加のリンカーは 3 ~ 20 個のアミノ酸残基を含み、任意に IgG ヒンジドメインの全体又は一部分（好ましくは IgG ヒンジドメインのシステイン含有部分）を含有してよい。本発明の二重特異性 Fc 領域含有ダイアボディ分子において採用できるリンカーとしては：GGGS（配列番号 16）、LGGSG（配列番号 17）、GGSGGGSGGG（配列番号 18）、ASTKG（配列番号 19）、LEPKSS（配列番号 20）、APSSS（配列番号 21）、APSSSPME（配列番号 35）、VEPKSADKTHTCPPCP（配列番号 36）、LEPKSADKTHTCPPCP（配列番号 37）、DKTHTCPPCP（配列番号 38）、GGC、及び GGG が挙げられる。クローニングを容易にするために、GGG 又は GGC の代わりに LEPKSS（配列番号 20）を使用してよい。更に、アミノ酸 G G G 又は LEPKSS（配列番号 20）の直後に DKTHTCPPCP（配列番号 38）を続けることによって、代替リンカー：GGGDKTHTCPPCP（配列番号 39）；及び LEPKSSDKTHTCPPCP（配列番号 40）を形成してよい。本発明の二重特異性 Fc ドメイン含有分子は、リンカーに加えて又はリンカーに代えて、IgG ヒンジドメインを組み込んでよい。例示的なヒンジドメインとしては：IgG 1 からの EPKSCDKTHTCPPCP（配列番号 4）；IgG 2 からの ERKCCVECPPCP（配列番号 5）；IgG 4 からの ESKYGPPCPSCP（配列番号 6）；及び鎖交換を低減するための安定化 S228P 置換を含む IgG 4 ヒンジ変異型からの ESKYGPPCPSCP（配列番号 7）が挙げられる（Kabata に記載の EU インデックスに従って番号付与）。

【0133】

図 3A ~ 3C に提示されているように、本発明の Fc ドメイン含有ダイアボディは 4 つの異なる鎖を含んでよい。このようなダイアボディの第 1 及び第 3 のポリペプチド鎖は、3 つのドメイン：(i) VL1 含有ドメイン；(ii) VH2 含有ドメイン；(iii) ヘテロ二量体促進ドメイン；及び (iv) CH2 CH3 配列を含有するドメインを含有する。第 2 及び第 4 のポリペプチド鎖は：(i) VL2 含有ドメイン；(ii) VH1 含有ドメイン；及び (iii) ヘテロ二量体促進ドメインを含有し、上記ヘテロ二量体促進ドメインは、第 1 / 第 3 のポリペプチド鎖と第 2 / 第 4 のポリペプチド鎖との二量体化を促進する。第 3 及び第 4 のポリペプチド鎖の VL 及び / 又は VH ドメイン、並びに第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖の VL 及び / 又は VH ドメインは、同一であっても異なっているもよく、これにより、単一特異性、二重特異性又は四重特異性の 4 価結合が可能となる。表記法「VL3」及び「VH3」はそれぞれ、このようなダイアボディの「第 3 の」エピトープに結合する軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを指す。同様に、表記法「VL4」及び「VH4」はそれぞれ、このようなダイアボディの「第 4 の」エピトープに結合する軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを指す。本発明の代表的な 4 鎖二重特異性 Fc ドメイン含有ダイアボディのポリペプチド鎖の一般構造を表 1 に提示する。

【 0 1 3 4 】

【 表 1 】

表 1		
二重特異性	第 2 の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
	第 1 の鎖	NH ₂ - VL1 - VH2 - HPD - CH2 - CH3 - COOH
	第 1 の鎖	NH ₂ - VL1 - VH2 - HPD - CH2 - CH3 - COOH
	第 2 の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
四重特異性	第 2 の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
	第 1 の鎖	NH ₂ - VL1 - VH2 - HPD - CH2 - CH3 - COOH
	第 3 の鎖	NH ₂ - VL3 - VH4 - HPD - CH2 - CH3 - COOH
	第 4 の鎖	NH ₂ - VL4 - VH3 - HPD - COOH

HPD＝ヘテロ二量体促進ドメイン

10

【 0 1 3 5 】

ある具体的実施形態では、本発明のダイアボディは、合計 4 つのポリペプチド鎖からなる、二重特異性、4 価（即ち 4 つのエピトープ結合ドメインを有する）、Fc 含有ダイアボディである（図 3 A ～ 3 C）。本発明の二重特異性、4 価、Fc 含有ダイアボディは、2 つの第 1 のエピトープ結合部位及び 2 つの第 2 のエピトープ結合部位を含む。

20

【 0 1 3 6 】

更なる実施形態では、本発明の Fc ドメイン含有ダイアボディは、3 つのポリペプチド鎖を含んでよい。このようなダイアボディの第 1 のポリペプチドは、3 つのドメイン：（i）VL1 含有ドメイン；（ii）VH2 含有ドメイン；及び（iii）CH2 - CH3 配列を含有するドメインを含有する。このようなダイアボディの第 2 のポリペプチドは：（i）VL2 含有ドメイン；（ii）VH1 含有ドメイン；並びに（iii）上記ダイアボディの第 1 のポリペプチド鎖とのヘテロ二量体化及び共有結合を促進するドメインを含有する。このようなダイアボディの第 3 のポリペプチドは、CH2 - CH3 配列を含む。従ってこのようなダイアボディの上記第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖は、一体に連結して、上記第 1 又は第 2 のエピトープに結合できる VL1 / VH1 エピトープ結合部位、及び上記エピトープ農地のもう一方に結合できる VL2 / VH2 エピトープ結合部位を形成する。上記第 1 及び第 2 のポリペプチドは、それぞれの第 3 のドメインのシステイン残基が関わるジスルフィド結合によって、互いに結合する。特に上記第 1 及び第 3 のポリペプチド鎖は、互いに複合体化して、ジスルフィド結合によって安定化された Fc ドメインを形成する。このような二重特異性ダイアボディは、強度が増強されている。図 4 A 及び 4 B は、このようなダイアボディの構造を示す。このような Fc 領域含有ダイアボディは、2 つの配向（表 2）のうちのいずれを有してよい。

30

【 0 1 3 7 】

40

【表 2】

表 2		
第 1 の配向	第 3 の鎖	NH ₂ - CH ₂ - CH ₃ - COOH
	第 1 の鎖	NH ₂ - VL1 - VH2 - HPD - CH ₂ - CH ₃ - COOH
	第 2 の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
第 2 の配向	第 3 の鎖	NH ₂ - CH ₂ - CH ₃ - COOH
	第 1 の鎖	NH ₂ - CH ₂ - CH ₃ - VL1 - VH2 - HPD - COOH
	第 2 の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH

HPD＝ヘテロ二量体促進ドメイン

【 0 1 3 8 】

ある具体的実施形態では、本発明のダイアボディは、合計 3 つのポリペプチド鎖からなる、二重特異性、2 価（即ち 2 つのエピトープ結合ドメインを有する）、Fc 含有ダイアボディである（図 4 A ～ 4 B）。本発明の二重特異性、2 価 Fc 含有ダイアボディは、第 1 又は第 2 のエピトープに対して免疫特異的な 1 つのエピトープ結合部位、及び上記エピトープのうちのもう一方に対して特異的に結合できる VL 2 / VH 2 エピトープ結合部位を含む。

【 0 1 3 9 】

更なる実施形態では、上記 Fc ドメイン含有ダイアボディは、合計 5 つのポリペプチド鎖を含んでよい。ある特定の実施形態では、上記 5 つのポリペプチド鎖のうちの 2 つは、同一のアミノ酸配列を有する。このようなダイアボディの第 1 のポリペプチド鎖は：(i) VH 1 含有ドメイン；(i i) CH 1 含有ドメイン；及び(i i i) CH 2 CH 3 配列を含有するドメインを含有する。上記第 1 のポリペプチド鎖は、VH 1 及び重鎖定常領域を含有する抗体の重鎖であってよい。このようなダイアボディの第 2 及び第 5 のポリペプチド鎖は：(i) VL 1 含有ドメイン；及び(i i) CL 含有ドメインを含有する。このようなダイアボディの上記第 2 及び / 又は第 5 のポリペプチド鎖は、上記第 1 / 第 3 のポリペプチド鎖の VH 1 に対して相補的な VL 1 を含有する抗体の軽鎖であってよい。上記第 1、第 2 及び / 又は第 5 のポリペプチド鎖は、自然に発生する抗体から単離できる。あるいはこれらは、組み換えによって構成できる。このようなダイアボディの第 3 のポリペプチド鎖は：(i) VH 1 含有ドメイン；(i i) CH 1 含有ドメイン；(i i i) CH 2 CH 3 配列を含有するドメイン；(i v) VL 2 含有ドメイン；(v) VH 3 含有ドメイン；及び(v i) ヘテロ二量体促進ドメインを含有し、上記ヘテロ二量体促進ドメインは、上記第 3 の鎖と上記第 4 の鎖との二量体化を促進する。このようなダイアボディの第 4 のポリペプチドは：(i) VL 3 含有ドメイン；(i i) VH 2 含有ドメイン；並びに(i i i) 上記ダイアボディの第 3 のポリペプチド鎖とのヘテロ二量体化及び共有結合を促進するドメインを含有する。

【 0 1 4 0 】

従って、このようなダイアボディの上記第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖と上記第 3 及び第 5 のポリペプチド鎖とは、互いに連結して、第 1 のエピトープに結合できる 2 つの VL 1 / VH 1 エピトープ結合ドメインを形成する。このようなダイアボディの上記第 3 及び第 4 のポリペプチド鎖は、互いに連結して、第 2 のエピトープに結合できる VL 2 / VH 2 エピトープ結合部位、及び第 3 のエピトープに結合できる VL 3 / VH 3 結合部位を形成する。上記第 1 及び第 3 のポリペプチドは、それぞれの定常領域のシステイン残基が関わるジスルフィド結合によって、互いに結合する。特に上記第 1 及び第 3 のポリペプチド

10

20

30

40

50

鎖は、互いに複合体化して、Fcドメインを形成する。このような多重特異性ダイアボディは、強度が増強されている。図5は、このようなダイアボディの構造を示す。VL1/VH1、VL2/VH2及びVL3/VH3ドメインは、同一であっても異なってもよく、これにより、単一特異性、二重特異性又は三重特異性である結合が可能となることが理解されるだろう。

【0141】

上記ポリペプチド鎖のVL及びVHドメインは、所望のエピトープに特異的なVL/VH結合部位を形成するよう選択される。上記ポリペプチド鎖の連結によって形成されるVL/VH結合部位は、同一であっても異なってもよく、これにより、単一特異性、二重特異性、三重特異性又は四重特異性である4価結合が可能となる。特に上記VL及びVHドメインは、多価ダイアボディが、第1のエピトープに関する2つの結合部位及び第2のエピトープに関する2つの結合部位、又は第1のエピトープに関する3つの結合部位及び第2のエピトープに関する1つの結合部位、又は(図5に示すように)第1のエピトープに関する2つの結合部位、第2のエピトープに関する1つの結合部位及び第3のエピトープに関する1つの結合部位を含むように選択してよい。本発明の代表的な5鎖Fcドメイン含有ダイアボディのポリペプチド鎖の一般構造を表3に示す。

10

【0142】

【表3】

表3		
二重特異性 (2x2)	第2の鎖	NH ₂ - VL1 - CL - COOH
	第1の鎖	NH ₂ - VH1 - CH1 - CH2 - CH3 - COOH
	第3の鎖	NH ₂ - VH1 - CH1 - CH2 - CH3 - VL2 - VH2 - HPD - COOH
	第5の鎖	NH ₂ - VL1 - CL - COOH
	第4の鎖	NH ₂ - VL2 - VH2 - HPD - COOH
二重特異性 (3x1)	第2の鎖	NH ₂ - VL1 - CL - COOH
	第1の鎖	NH ₂ - VH1 - CH1 - CH2 - CH3 - COOH
	第3の鎖	NH ₂ - VH1 - CH1 - CH2 - CH3 - VL1 - VH2 - HPD - COOH
	第5の鎖	NH ₂ - VL1 - CL - COOH
	第4の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
三重特異性 (2x1x1)	第2の鎖	NH ₂ - VL1 - CL - COOH
	第1の鎖	NH ₂ - VH1 - CH1 - CH2 - CH3 - COOH
	第3の鎖	NH ₂ - VH1 - CH1 - CH2 - CH3 - VL2 - VH3 - HPD - COOH
	第5の鎖	NH ₂ - VL1 - CL - COOH
	第4の鎖	NH ₂ - VL3 - VH2 - HPD - COOH

20

30

40

HPD＝ヘテロ二量体促進ドメイン

【0143】

ある具体的実施形態では、本発明のダイアボディは、第1のエピトープに免疫特異的な2つのエピトープ結合ドメイン、及び第2のエピトープに特異的な2つのエピトープ結合ドメインを有する、合計5つのポリペプチド鎖からなる、二重特異性、4価(即ち4つのエピトープ結合ドメインを有する)、Fc含有ダイアボディである。別の実施形態では、本発明の二重特異性、4価、Fc含有ダイアボディは、第1のエピトープに免疫特異的な3つのエピトープ結合ドメイン、及び第2のエピトープに特異的な1つのエピトープ結合

50

部位を含む。上述のように、V_L及びV_Hドメインは、三重特異性結合が可能となるように選択してよい。従って本発明は、三重特異性4価Fc含有ダイアボディも包含する。本発明の三重特異性4価Fc含有ダイアボディは、第1のエピトープに対して免疫特異的な2つのエピトープ結合ドメイン、第2の分子に対して免疫特異的な1つのエピトープ結合部位、及び第3のエピトープに対して免疫特異的な1つのエピトープ結合部位を含む。

【0144】

従来の免疫機能では、抗体 抗原複合体と免疫系の細胞との相互作用は、抗体依存性細胞毒性、肥満細胞脱顆粒及び食作用等のエフェクタ機能から、リンパ球増殖及び抗体分泌を制御するもの等の免疫調節性シグナルにまで及ぶ、広範な応答をもたらす。これらの相互作用は全て、抗体又は免疫複合体のFcドメインの、造血細胞上の特殊化された細胞表面受容体への結合によって開始される。抗体及び免疫複合体によってトリガされる細胞応答の多様性は、3つのFc受容体：FcRI(CD64)、FcRII(CD32)及びFcRIII(CD16)の構造不均質性によって得られる。FcRI(CD64)、FcRIIA(CD32A)及びFcRIII(CD16)は活性化(即ち免疫系増強)受容体であり；FcRIIB(CD32B)は阻害性(即ち免疫系減衰)受容体である。更に、新生児Fc受容体(FcRn)との相互作用は、エンドソームから細胞表面へのIgG分子の再循環及び血中への放出を仲介する。例示的な野生型IgG1(配列番号8)、IgG2(配列番号9)、IgG3(配列番号10)及びIgG4(配列番号11)のアミノ酸配列は、既に提示されている。

10

【0145】

Fcドメインの修飾は、表現型の変化、例えば血清半減期の変化、安定性の変化、細胞酵素に対する感受性の変化、又はエフェクタ機能の変化につながり得る。従って、本発明のFcドメイン含有結合分子をエフェクタ機能に関して修飾して、例えば癌の治療におけるこのような分子の有効性を増強することが望ましい場合がある。例えば、作用機序が、標的抗原を担持する細胞の殺滅ではなく遮断又は拮抗作用を伴う抗体の場合といった、特定の場合においては、Fcドメイン仲介型エフェクタ機能の低減又は削減が望ましい。エフェクタ機能の上昇は、FcRが低いレベルで発現する腫瘍及び外来細胞、例えばFcRIIBのレベルが低い腫瘍特異性B細胞(例えば非ホジキンリンパ腫、CLL及びパーキットリンパ腫)といった、望ましくない細胞を対象とする場合に一般に望ましい。エフェクタ機能活性が与えられた又は変更された本発明のこのような分子は、エフェクタ機能活性の効率の増強が望ましい疾患、障害又は感染の治療及び/又は予防のために有用である。

20

30

【0146】

従って特定の実施形態では、本発明のFcドメイン含有分子のFcドメインは、操作された可変Fc領域であってよい。本発明の二重特異性Fcドメイン含有分子のFcドメインは、1つ又は複数のFc受容体(例えば1つ又は複数のFcR)に結合できる能力を有してよいが、より好ましくは、上記変異型Fcドメインは、(野生型Fcドメインが呈する結合に対して)FcRIIA(CD64)、FcRIIA(CD32A)、FcRIIB(CD32B)、FcRIIIA(CD16a)若しくはFcRIIIB(CD16b)への結合が変化しており、例えばある活性化受容体への結合が増強されており、及び/又は1つ若しくは複数の阻害性受容体に結合する能力が低下しているか若しくは上記能力を有しない。従って、本発明の二重特異性Fcドメイン含有分子のFcドメインは、完全FcドメインのCH2ドメインのうちのある程度若しくは全体及び/若しくはCH3ドメインのうちのある程度若しくは全体を含んでよく、又は(例えば完全FcドメインのCH2若しくはCH3ドメインに対する1つ若しくは複数の挿入及び/若しくは1つ若しくは複数の欠失を含んでよい)変異型CH2及び/若しくは変異型CH3配列を含んでよい。このようなFcドメインは、非Fcポリペプチド部分を含んでよく、又は自然に発生しない完全Fcドメインの部分を含んでよく、又はCH2及び/若しくはCH3ドメインの自然に発生しない配向を含んでよい(例えば2つのCH2ドメイン若しくは2つのCH3ドメイン、若しくはN末端からC末端へ方向において、CH3ドメインと、こ

40

50

れが連結した C H 2 ドメイン、等)。

【 0 1 4 7 】

変化したエフェクタ機能として表される F c ドメイン修飾は当該技術分野において公知であり、活性化型受容体に対する結合を増大させる修飾 (例えば F c R I I A (C D 1 6 A))、及び阻害型受容体に対する結合を低下させる修飾 (例えば F c R I I B (C D 3 2 B)) が含まれる (例えば Stavenhagen, J.B. et al. (2007) “Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcγ Receptors ,” Cancer Res. 57(18):8882-8890 を参照)。表 4 は、活性化受容体への結合を増大させる、及び / 又は阻害性受容体への結合を低下させる例示的な修飾の、単一、二重、三重、四重及び五重置換のリスト ((E U インデックスに従った) 番号付与及び置換は、上で提示した配列番号 8 のアミノ酸配列に対するものである) を示す。

【 0 1 4 8 】

【表 4】

表 4 好ましい活性化 F c ドメインの変異†			
単一部位変異			
F243L	R292G	D270E	R292P
Y300L	P396L		
2 部位変異			
F243L 及び R292P	F243L 及び Y300L	F243L 及び P396L	R292P 及び Y300L
D270E 及び P396L	R292P 及び V305I	P396L 及び Q419H	P247L 及び N421K
R292P 及び P396L	Y300L 及び P396L	R255L 及び P396L	R292P 及び P305I
K392T 及び P396L			
3 部位変異			
F243L、 P247L 及び N421K		P247L、 D270E 及び N421K	
F243L、 R292P 及び Y300L		R255L、 D270E 及び P396L	
F243L、 R292P 及び V305I		D270E、 G316D 及び R416G	
F243L、 R292P 及び P396L		D270E、 K392T 及び P396L	
F243L、 Y300L 及び P396L		D270E、 P396L 及び Q419H	
V284M、 R292L 及び K370N		R292P、 Y300L 及び P396L	
4 部位変異			
L234F、 F243L、 R292P 及び Y300L		F243L、 P247L、 D270E 及び N421K	
L234F、 F243L、 R292P 及び Y300L		F243L、 R255L、 D270E 及び P396L	
L235I、 F243L、 R292P 及び Y300L		F243L、 D270E、 G316D 及び R416G	
L235Q、 F243L、 R292P 及び Y300L		F243L、 D270E、 K392T 及び P396L	
P247L、 D270E、 Y300L 及び N421K		F243L、 R292P、 Y300L 及び P396L	
R255L、 D270E、 R292G 及び P396L		F243L、 R292P、 V305I 及び P396L	
R255L、 D270E、 Y300L 及び P396L		F243L、 D270E、 P396L 及び Q419H	
D270E、 G316D、 P396L 及び R416G			
5 部位変異			
L235V、 F243L、 R292P、 Y300L 及び P396L		F243L、 R292P、 V305I、 Y300L 及び P396L	
L235P、 F243L、 R292P、 Y300L 及び P396L			
† 番号付与は、Kabat 中の EU インデックスに従ったものである			

10

20

30

40

【 0 1 4 9 】

C D 3 2 B への結合が低下した、及び / 又は C D 1 6 A への結合が増大した、ヒト I g G 1 F c ドメインの例示的な変異型は、F 2 4 3 L、R 2 9 2 P、Y 3 0 0 L、V 3 0 5 I 又は P 2 9 6 L 置換を含有する。これらのアミノ酸置換は、いずれの組み合わせで、ヒト I g G 1 F c ドメイン内に存在してよい。一実施形態では、上記変異型ヒト I g G 1 F c ドメインは、F 2 4 3 L、R 2 9 2 P 及び Y 3 0 0 L 置換を含有する。別の実施形態では、上記変異型ヒト I g G 1 F c ドメインは、F 2 4 3 L、R 2 9 2 P、Y 3 0 0 L、V 3 0 5 I 及び P 2 9 6 L 置換を含有する。

50

【 0 1 5 0 】

特定の実施形態では、本発明の F c ドメイン含有結合分子の F c ドメインに関して、(野生型 I g G 1 F c ドメイン (配列番号 8) が呈する結合に対して) F c R I A (C D 6 4)、F c R I I A (C D 3 2 A)、F c R I I B (C D 3 2 B)、F c R I I I A (C D 1 6 a) 又は F c R I I I B (C D 1 6 b) への結合が低下している (又はこれらに略結合しない) ことが好ましい。ある具体的実施形態では、本発明の F c ドメイン含有結合分子は、A D C C エフェクタ機能が低下した I g G F c ドメインを含む。ある好ましい実施形態では、このような結合分子の C H 2 C H 3 ドメインは、以下の置換: L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、D 2 6 5 A、N 2 9 7 Q、及び N 2 9 7 G のうちのいずれの 1 つ、2 つ、3 つ又は 4 つを含む。別の実施形態では、C H 2 C H 3 ドメインは、N 2 9 7 Q 置換、N 2 9 7 G 置換、L 2 3 4 A 及び L 2 3 5 A 置換又は D 2 6 5 A 置換を含むが、それはこれらの突然変異が F c R 結合を消失させるためである。あるいは、(野生型 I g G 1 F c ドメイン (配列番号 8) が呈する結合及びエフェクタ機能に対して) F c R I I I A (C D 1 6 a) に対する結合が元来低い (又は略結合しない)、及び / 又はエフェクタ機能が元来低い、天然の F c ドメインの C H 2 C H 3 ドメインを利用する。ある具体的実施形態では、本発明の F c ドメイン含有結合分子は、I g G 2 F c ドメイン (配列番号 9) 又は I g G 4 F c ドメイン (配列番号 1 1) を含む。I g G 4 F c ドメインを利用する場合、本発明は、上述のヒンジ領域 S 2 2 8 P 置換 (例えば配列番号 7 参照) 等の安定化突然変異の導入も包含する。N 2 9 7 G、N 2 9 7 Q、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A 及び D 2 6 5 A 置換はエフェクタ機能を消失させるため、エフェクタ機能が望まれる状況下では、これらの置換は採用しないことが好ましい。

10

20

【 0 1 5 1 】

エフェクタ機能が低下したか又は消失した、本発明の F c ドメイン含有分子の C H 2 及び C H 3 ドメインに関する好ましい I g G 1 配列は、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A の置換を含む (配列番号 4 1) :

APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMH
EALHNHYTQKS LSLSPGX

30

ここで X はリシン (K) であるか、又は不在である。

【 0 1 5 2 】

F c ドメインを含むタンパク質の血清半減期は、F c R n に関する F c ドメインの結合親和性を増大させることによって増大させることができる。本明細書において使用される場合、用語「半減期 (half-life)」は、投与後の分子の平均生存時間の尺度となる、分子の薬物動態特性を意味する。半減期は、血清中で (即ち循環半減期) 又は他の組織中で測定した場合に、分子の既知の量の 5 0 パーセント (5 0 %) が被検体の身体 (例えばヒト患者若しくは他の哺乳類) 又はその特定の体腔から排除されるために必要な時間として表すことができる。一般に、半減期の増大は、投与される分子の循環における平均滞留時間 (M R T) の増大につながる。

40

【 0 1 5 3 】

いくつかの実施形態では、本発明の F c ドメイン含有結合分子は、野生型 F c 領域に対して少なくとも 1 つのアミノ酸修飾を含み、従って (野生型 F c ドメインを含む場合に対して) 増大した半減期を有する、変異型 F c ドメインを含む。いくつかの実施形態では、本発明の F c ドメイン含有結合分子は、2 3 8、2 5 0、2 5 2、2 5 4、2 5 6、2 5 7、2 5 6、2 6 5、2 7 2、2 8 6、2 8 8、3 0 3、3 0 5、3 0 7、3 0 8、3 0 9、3 1 1、3 1 2、3 1 7、3 4 0、3 5 6、3 6 0、3 6 2、3 7 6、3 7 8、3 8 0、3 8 2、4 1 3、4 2 4、4 2 8、4 3 3、4 3 4、4 3 5 及び 4 3 6 からなる群から選択される 1 つ又は複数の位置に半減期延長アミノ酸置換を含む、変異型 I g G F c ドメインを含む。F c ドメイン含有分子の半減期を増大させることができる多数の突然変

50

異が当該技術分野において公知であり、例えばM 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、T 2 5 6 E及びこれらの組み合わせが挙げられる。例えば：米国特許第6, 277, 375号；米国特許第7, 083, 784号；米国特許第7, 217, 797号；米国特許第8, 088, 376号；米国公開特許第2002/0147311号；米国公開特許第2007/0148164号；並びに国際公開第98/23289号；国際公開第2009/058492号；及び国際公開第2010/033279号（これらは参照によりその全体が本出願に援用される）に記載されている突然変異を参照。

【0154】

いくつかの実施形態では、半減期が增強された本発明のFcドメイン含有結合分子は、Fcドメイン残基250、252、254、256、257、288、307、308、309、311、378、428、433、434、435及び436のうちの2つ以上における置換、特にT 2 5 0 Q、M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T、T 2 5 6 E、K 2 8 8 D、T 3 0 7 Q、V 3 0 8 P、A 3 7 8 V、M 4 2 8 L、N 4 3 4 A、H 4 3 5 K及びY 4 3 6 Iから選択される2つ以上の置換を含む変異型Fcドメインを有する。ある具体的実施形態では、上記分子は：

10

- (A) M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T及びT 2 5 6 E；
- (B) M 2 5 2 Y及びS 2 5 4 T；
- (C) M 2 5 2 Y及びT 2 5 6 E；
- (D) T 2 5 0 Q及びM 4 2 8 L；
- (E) T 3 0 7 Q及びN 4 3 4 A；
- (F) A 3 7 8 V及びN 4 3 4 A；
- (G) N 4 3 4 A及びY 4 3 6 I；
- (H) V 3 0 8 P及びN 4 3 4 A；又は
- (I) K 2 8 8 D及びH 4 3 5 K

20

の置換を含む変異型IgG Fc領域を有してよい。

【0155】

ある好ましい実施形態では、本発明のFcドメイン含有結合分子は、置換：M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T及びT 2 5 6 Eのうちのいずれの1つ、2つ又は3つを含む変異型IgG Fcドメインを有する。本発明は更に：

30

(A) エフェクタ機能及び/又はFc R結合を変化させる、1つ又は複数の突然変異；並びに

(B) 血清半減期を延長させる、1つ又は複数の突然変異を含む可変Fcドメインを有する、上記結合分子を包含する。

【0156】

アミノ酸配列が異なる複数のFcドメイン含有ポリペプチド鎖を有することが望まれる（例えばFcドメイン含有第1及び第3のポリペプチド鎖が同一ではないことが望まれる）特定の抗体、ダイアボディ及び3価結合分子に関して、2つの第1のポリペプチド鎖のCH2 CH3のドメイン間、又は2つの第3のポリペプチド鎖のCH2 CH3ドメイン間でのホモ二量体化の発生を低減又は防止することが望ましい。このようなポリペプチド鎖のCH2及び/又はCH3ドメインは配列において同一である必要はなく、有利には2つのポリペプチド鎖間の複合体形成を促進するために修飾される。例えば、CH2又はCH3ドメインにアミノ酸置換（好ましくは「ノブ(knob)」を形成する嵩高な側鎖基、例えばトリプトファンを含むアミノ酸による置換）を導入して、立体障害により、同様に変異させたドメインとの相互作用を防止し、上記変化したドメインを、相補的な又は適応した変異（例えばグリシンによる置換）を施されたドメイン、即ち「ホール(hole)」と対合させて、ヘテロ二量体化を促進できる。このような一連の突然変異は、Fcドメインを形成するCH2 CH3ドメインを含むポリペプチドのいずれのペアに施すことができる。ホモ二量体化を抑えてヘテロ二量体化を促進するためのタンパク質加工の方法は、特に免疫グロブリン様分子の加工に関して当該技術分野で公知であり、本明細書に包含される（例えばRidgway et al. (1996) “ ‘Knobs-Into-Holes’ Engineering Of Antibody

40

50

CH3 Domains For Heavy Chain Heterodimerization,” Protein Engr. 9:617-621; Atwell et al. (1997) “Stable Heterodimers From Remodeling The Domain Interface Of A Homodimer Using A Phage Display Library,” J. Mol. Biol. 270: 26-35; 及び Xie et al. (2005) “A New Format Of Bispecific Antibody: Highly Efficient Heterodimerization, Expression And Tumor Cell Lysis,” J. Immunol. Methods 296:95-101を参照（これらはそれぞれ参照によりその全体が本明細書に援用される））。

【0157】

好ましいノブは、IgG Fcドメインを修飾して修飾基T366Wを含有させることによって生成される。好ましいホールは、IgG Fcドメインを修飾して修飾基T366S、L368A及びY407Vを含有させることによって生成される。ホール担持第3のポリペプチド鎖ホモ二量体を、二重特異性ヘテロ二量体Fcドメイン含有分子から精製するのを補助するために、好ましくは、第3のポリペプチド鎖のホール担持CH2及びCH3ドメインのタンパク質A結合部位を、位置435（H435R）におけるアミノ酸置換によって変異させる。このようにして、ホール担持第3のポリペプチド鎖ホモ二量体はタンパク質Aに結合せず、その一方で二重特異性ヘテロ二量体は、第1のポリペプチド鎖のタンパク質A結合部位を介してタンパク質Aに結合する能力を有したままとなる。代替実施形態では、ホール担持第3のポリペプチド鎖は、434位及び435位にアミノ酸置換を組み込んでよい（N434A / N435K）。

【0158】

本発明のFcドメイン含有分子の第1のポリペプチド鎖のCH2及びCH3ドメインに関する好ましいIgGアミノ酸配列は、「ノブ担持」配列（配列番号42）：

APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX

を有し、ここでXはリシン（K）であるか又は不在である。

【0159】

2つのポリペプチド鎖（又は3つ、4つ若しくは5つのポリペプチド鎖を有するFcドメイン含有分子の第3のポリペプチド鎖）を有する、本発明のFc領域含有分子の第2のポリペプチド鎖のCH2及びCH3ドメインに関する好ましいIgGアミノ酸配列は、「ホール担持」配列（配列番号43）：

APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE
ALHNRYTQKS LSLSPGX

を有し、ここでXはリシン（K）であるか又は不在である。

【0160】

後に記載されるように、配列番号42及び配列番号43のCH2 CH3ドメインは、アラニンによる234位の置換及びアラニンによる235位の置換を含み、従って、（野生型Fcドメイン（配列番号8）が示す結合と比べて）Fc RIIA（CD64）、Fc RIIA（CD32A）、Fc RIIIB（CD32B）、Fc RIIIIA（CD16a）又はFc RIIIB（CD16b）への結合が低下した（又は結合を実質的に示さない）Fcドメインを形成する。本発明はまた、野生型アラニン残基、Fcドメインのエフェクタ機能及び／又はF R結合活性を修正する代替的な及び／又は更なる置換を含む、このようなCH2 CH3ドメインも包含する。本発明はまた、1つ又は複数の半減期延長アミノ酸置換を更に含む、このようなCH2 CH3ドメインも包含する。特に本発明は、M252Y / S254T / T256Eを更に含む、このようなホール担持及びノブ担持CH2 CH3ドメインを包含する。

【0161】

第1のポリペプチド鎖が、配列番号42のもの等の「ノブ担持」CH₂ CH₃配列を有することが好ましい。しかしながら、理解されるように、第1のポリペプチド鎖中に「ホール担持」CH₂ CH₃ドメイン（例えば配列番号43）を採用でき、この場合「ノブ担持」CH₂ CH₃ドメイン（例えば配列番号42）は、2つのポリペプチド鎖を有する本発明のFcドメイン含有分子の第2のポリペプチド鎖中（又は3つ、4つ若しくは5つのポリペプチド鎖を有するFcドメイン含有分子の第3のポリペプチド鎖中）に採用される。

【0162】

他の実施形態では、本発明は、国際公開第2007/110205号；国際公開第2011/143545号；国際公開第2012/058768号；国際公開第2013/06867号（これらは全て、参照によりその全体が本出願に援用される）において開示されているもの等の当該技術分野で公知の突然変異を用いて、ホモ二量体化よりもヘテロ二量体化を指向するよう操作されたCH₂及び/又はCH₃ドメインを含む、Fcドメイン含有結合分子を包含する。

【0163】

IV. Fcドメインを含有する3価結合分子

本発明の更なる実施形態は、第1のエピトープ、第2のエピトープ及び第3のエピトープ（ここで上記エピトープのうちの少なくとも1つは、別のエピトープと同一ではない）に同時に結合できるFcドメインを含む、三重特異性3価結合性分子に関する。このような三重特異性3価結合性分子は3つのエピトープ結合ドメインを含み、そのうちの2つは、結合部位A及び結合部位Bを提供するダイアボディ型結合ドメインであり、1つは、結合部位Cを提供するFab型結合ドメイン（又はscFv型結合ドメイン）である（例えば図6A～6F、並びに国際公開第2015/184207号及び国際公開第2015/184203号を参照）。このような3価結合分子は従って、第1のエピトープに結合できる「VL1」/「VH1」ドメイン、並びに第2のエピトープに結合できる「VL2」/「VH2」ドメイン、並びに上記3価結合分子の「第3の」エピトープに結合できる「VL3」及び「VH3」ドメインを含む。「ダイアボディ型結合ドメイン」は、上述のように、ダイアボディ中に存在するエピトープ結合のタイプである。「Fab型結合ドメイン」及び「scFv型結合ドメイン」はそれぞれ、イムノグロブリン軽鎖のVLドメインと、相補的なイムノグロブリン重鎖のVHドメインとの相互作用によって形成される、エピトープ結合ドメインである。Fab型結合ドメインは、Fab型結合ドメインを形成する2つのポリペプチド鎖が単一のエピトープ結合部位しか含まないが、ダイアボディ型結合ドメインを形成する2つのポリペプチド鎖は少なくとも2つのエピトープ結合部位を含むという点で、ダイアボディ型結合ドメインとは異なる。同様に、scFv型結合ドメインも、これらが単一のエピトープ結合ドメインしか含まないという点で、ダイアボディ型結合ドメインとは異なる。よって本明細書において使用される場合、Fab型及びscFv型結合ドメインは、ダイアボディ型結合ドメインとは別個である。

【0164】

典型的には、本発明の3価結合分子は、4つの異なるポリペプチド鎖を含む（図6A～6B参照）が、上記分子は、例えばこれらのポリペプチド鎖を（例えばペプチド結合によって）互いに融合させることによって、又はこれらのポリペプチドを「分割（dividing）」して追加のポリペプチド鎖を形成することによって、又はより少数若しくは追加のポリペプチド鎖をジスルフィド結合によって連結することによって、より少数又はより多数のポリペプチド鎖を含むことができる。図6C～6Fは、3つのポリペプチド鎖を有する分子を概略的に示すことによって、本発明のこの態様を図示している。図6A～6Fに提示されているように、本発明の3価結合分子は、上記ダイアボディ型結合ドメインがFcドメインに対するN末端（図6A、6C及び6D）又はC末端（図6B、6E及び6F）となる交互の配向を有してよい。3価結合分子の生成に有用なCH₂及びCH₃ドメインは上述されており、ノブ担持及びホール担持ドメインを含む。

【0165】

特定の実施形態では、本発明のこのような3価結合分子の第1のポリペプチド鎖は：(i) VL1含有ドメイン；(ii) VH2含有ドメイン；(iii) ヘテロ二量体促進ドメイン；及び(iv) CH2 CH3配列を含有するドメインを含有する。上記VL1及びVL2ドメインは、表4(図6A及び6Bも参照)に提示されるように、上記CH2 CH3含有ドメインに対してN末端又はC末端に位置する。このような実施形態の第2のポリペプチド鎖は：(i) VL2含有ドメイン；(ii) VH1含有ドメイン；及び(iii) ヘテロ二量体促進ドメインを含有する。このような実施形態の第3のポリペプチド鎖は：(i) VH3含有ドメイン；(ii) CH1含有ドメイン；及び(iii) CH2 CH3配列を含有するドメインを含有する。上記第3のポリペプチド鎖は、VH3及び重鎖定常領域を含有する抗体、又は上記ドメインを含有するポリペプチドの、重鎖であってよい。このような実施形態の第4のポリペプチドは：(i) VL3含有ドメイン；及び(ii) CL含有ドメインを含有する。上記第4のポリペプチド鎖は、上記第3のポリペプチド鎖のVH3に対して相補的なVL3を含有する抗体、又は上記ドメインを含有するポリペプチドの、軽鎖であってよい。上記第3又は第4のポリペプチド鎖は、自然に発生する抗体から単離できる。あるいはこれらは、組み換えによって、合成によって、又は他の手段によって構成できる。

10

【0166】

上記第1及び第2のポリペプチド鎖の軽鎖可変ドメインは、介在スペーサペプチドによって、このようなポリペプチド鎖の重鎖可変ドメインから隔てられ、上記介在スペーサリンカーは、これらのVL1/VH2(又はこれらのVL2/VH1)ドメインを一体に連結して、第1又は第2のエピトープに結合できるエピトープ結合部位を形成することを可能にするには短すぎる長さを有する。この目的のために好ましい介在スペーサペプチド(リンカー1)は、配列(配列番号14)：GGGSGGGGを有する。上記3価結合分子の他のドメインは、任意にシステイン残基を含む、1つ又は複数の介在スペーサペプチド(リンカー)によって隔てられていてよい。特に上述のように、このようなリンカーは典型的には可変ドメイン(即ちVH又はVL)とペプチドヘテロ二量体促進ドメイン(例えばEコイル又はKコイル)との間、及び上記ペプチドヘテロ二量体促進ドメイン(例えばEコイル又はKコイル)とCH2 CH3ドメインとの間に組み込まれる。3価結合分子の生成に有用な例示的なリンカーは上で提示されており、またPCT出願第PCT/US15/33081号；及びPCT出願第PCT/US15/33076号にも提示されている。従ってこのような3価結合分子の第1及び第2のポリペプチド鎖は、一体に連結して、第1のエピトープに結合できるVL1/VH1結合部位、及び第2のエピトープに結合できるVL2/VH2結合部位を形成する。このような3価結合分子の第3及び第4のポリペプチド鎖は、一体に連結して、第3のエピトープに結合できるVL3/VH3結合部位を形成する。

20

30

【0167】

上述のように、本発明の3価結合分子は、3つのポリペプチドを含んでよい。3つのポリペプチド鎖を含む3価結合分子は、(例えば介在スペーサペプチド(リンカー4)を用いて)第4のポリペプチドN末端のドメインを第3のポリペプチドのVH3含有ドメインに連結することによって得ることができる。あるいは、以下の3つのドメイン：(i) VL3含有ドメイン；(ii) VH3含有ドメイン；及び(iii) CH2 CH3配列を含有するドメインを含有する本発明の3価結合分子の第3のポリペプチド鎖が利用され、ここでVL3及びVH3は、これらのドメインが連結してエピトープ結合部位を形成できるようにするために十分な長さ(少なくとも9以上のアミノ酸残基)を有する介在スペーサペプチドによって、互いから隔てられる。この目的に関して好ましい1つの介在スペーサペプチドは、配列：GGGSGGGSGGGGS(配列番号44)を有する。

40

【0168】

このような3価結合性分子のVL1/VH1、VL2/VH2及びVL3/VH3ドメインは異なっていてよく、それによって単一特異性、二重特異性又は三重特異性の結合が

50

可能となることが理解されるだろう。特に、VL及びVHドメインは、3価結合分子が第1のエピトープに対する2つの結合部位及び第2のエピトープに対する1つの結合部位、又は第1のエピトープに対する1つの結合部位及び第2のエピトープに対する2つの結合部位、又は第1のエピトープに対する1つの結合部位、第2のエピトープに対する1つの結合部位及び第3のエピトープに対する1つの結合部位、を含むように選択される。

【0169】

本発明の代表的な3価結合性分子のポリペプチド鎖の一般構造を、図6A～6F及び表5で提供する。

【0170】

【表5】

10

表5		
4鎖 第1の配向	第2の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
	第1の鎖	NH ₂ - VL1 - VH2 - HPD - CH2 - CH3 - COOH
	第3の鎖	NH ₂ - VH3 - CH1 - CH2 - CH3 - COOH
	第2の鎖	NH ₂ - VL3 - CL - COOH
4鎖 第2の配向	第2の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
	第1の鎖	NH ₂ - CH2 - CH3 - VL1 - VH2 - HPD - COOH
	第3の鎖	NH ₂ - VH3 - CH1 - CH2 - CH3 - COOH
	第2の鎖	NH ₂ - VL3 - CL - COOH
3鎖 第1の配向	第2の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
	第1の鎖	NH ₂ - VL1 - VH2 - HPD - CH2 - CH3 - COOH
	第3の鎖	NH ₂ - VL3 - VH3 - HPD - CH2 - CH3 - COOH
3鎖 第2の配向	第2の鎖	NH ₂ - VL2 - VH1 - HPD - COOH
	第1の鎖	NH ₂ - CH2 - CH3 - VL1 - VH2 - HPD - COOH
	第3の鎖	NH ₂ - VL3 - VH3 - HPD - CH2 - CH3 - COOH

20

30

HPD＝ヘテロ二量体促進ドメイン

【0171】

上述のように、このような3価結合分子は、3つ、4つ、5つ又は6つ以上のポリペプチド鎖を含んでよい。

【0172】

V．本発明の実施形態

上述のように、本発明は：

(1) PD₁又はPD₁の天然リガンドに結合できる分子；及び

(2) 標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子（例えばダイアボディ、BiTe、二重特異性抗体等）

40

の投与を含む、癌を治療するための併用療法を対象とする。

本発明はまた、1つ又は複数の上記分子を含む医薬組成物も対象とする。

【0173】

本明細書中で使用される場合、用語「投与（administration）」は、PD₁又はPD₁の天然リガンドの結合と、標的細胞（例えば癌細胞又は病原体感染細胞）の標的転換殺滅との両方をレシピエントに提供するための、ある相対投薬量での、時間的に近接した、上記分子の提供に関する。

【0174】

PD₁又はPD₁の天然リガンドに結合できる分子に関して、本発明は特に、PD₁

50

1の阻害活性を阻害する（即ちこれをブロックする又はこれに干渉する）ために、上記分子が、PD 1のエピトープに免疫特異的に結合する能力を有する実施形態に関する。例えば上記分子はPD 1に結合することにより、細胞シグナリングを阻害し、及び/又はPD 1とPD 1の天然リガンドとの間の結合を阻害できる。あるいは上記分子は、PD 1の天然リガンド（例えばB7 H 1又はB7 DC）に結合することによって、上記天然リガンドの阻害活性を阻害する（即ちこれをブロックする又はこれに干渉する）ことができる。例えば上記分子は、PD 1の天然リガンドに結合することにより、細胞シグナリング及び/又は上記リガンドとPD 1との間の結合を阻害できる。一実施形態では、上記分子は単一特異性であり、従ってただ1つのエピトープ（例えばPD 1のエピトープ又はPD 1の天然リガンドのエピトープ）に結合する能力を有する。あるいは上記分子は多重特異性であってよく、即ちPD 1の2つ若しくは3つ以上のエピトープ（例えばPD 1の2、3、4若しくは5個以上のエピトープ）に結合できるか、又はPD 1の1つ又は複数の天然リガンドの2つ若しくは3つ以上の（例えば2、3、4若しくは5個以上のエピトープ）に結合できるか、又はPD 1の少なくとも1つのエピトープ及びPD 1の天然リガンドの少なくとも1つのエピトープに結合できる。あるいは上記多重特異性分子は、PD 1の少なくとも1つのエピトープに結合でき、かつPD 1ではない異なる分子の少なくとも1つのエピトープに結合できるか、又はPD 1の天然リガンドの少なくとも1つのエピトープに結合でき、かつPD 1の天然リガンドではない異なる分子の少なくとも1つのエピトープに結合できる。好ましくは、上記異なる分子のエピトープは、免疫細胞の表面上に存在する免疫チェックポイントの調節に關与する分子のエピトープ（例えばB7 H 3、B7 H 4、BTLA、CD40、CD40L、CD47、CD70、CD80、CD86、CD94、CD137、CD137L、CD226、CTLA 4、ガレクチン 9、GITR、GITRL、HHLA2、ICOS、ICOSL、KIR、LAG 3、LIGHT、MHCクラスI若しくはII、NKG2a、NKG2d、OX40、OX40L、PD1H、PVR、SIRPa、TCR、TIGIT、TIM 3又はVISTA、特にCD137、LAG 3、OX40、TIGIT、TIM 3又はVISTA、例えば国際公開第2015/200119号及び国際公開第2011/159877号を参照）である。従って例えば、上記分子は：

- (1) PD 1の単一のエピトープ；
 - (2) PD 1の2つ以上のエピトープ；
 - (3) PD 1の天然リガンドの単一のエピトープ；
 - (4) PD 1の同一の天然リガンドの2つ以上のエピトープ；
 - (5) PD 1の第1の天然リガンドの1つのエピトープ、及びPD 1の第2の天然リガンドの1つのエピトープ；
 - (6) PD 1の第1の天然リガンドの2つ以上のエピトープ、及びPD 1の第2の天然リガンドの1つ又は複数のエピトープ；
 - (7) PD 1の1つ又は複数のエピトープ、及びPD 1の天然リガンドの1つ又は複数のエピトープ；
 - (8) PD 1の1つ又は複数のエピトープ、及び異なる分子の1つ又は複数のエピトープ；あるいは
 - (9) PD 1の天然リガンドの1つ又は複数のエピトープ、及び異なる分子の1つ又は複数のエピトープ
- に結合してよい。

【0175】

標的細胞（例えば癌細胞又は病原体感染細胞）の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子に関して、本発明は特に、上記分子が、エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに免疫特異的に結合できる第1のエピトープ結合部位、及び上記標的細胞の表面上に配列された疾患抗原のエピトープに免疫特異的に結合できる第2のエピトープ結合部位を含む、実施形態に関する。一実施形態では、上記分子は、エフェクタ細胞の細胞表面分子のただ1つのエピトープ、及び上記標的細胞の表面上に配列された疾患抗原のただ1つのエピト

ープに結合する能力を有する。あるいは、いずれの又は両方の結合特異性に関して、エフェクタ細胞の1つ又は複数の細胞表面分子の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープに結合でき、かつ1つ又は複数の疾患抗原の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープに結合できるものであってよい。

従って例えば、上記分子は：

(1) エフェクタ細胞の細胞表面分子のただ1つのエピトープ、及び上記標的細胞の表面上に配列された疾患抗原のただ1つのエピトープ；

(2) 上記エフェクタ細胞の細胞表面分子のただ1つのエピトープ、及び上記疾患抗原の2つ又は3つ以上のエピトープ；

(3) 上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子のただ1つのエピトープ、及び上記疾患抗原の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープ、及び異なる疾患抗原の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープ；

(4) 上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子の2つ若しくは3つ以上のエピトープ、及び上記標的細胞の表面上に配列された疾患抗原の単一のエピトープ；

(5) 上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子の2つ若しくは3つ以上のエピトープ、及び上記疾患抗原の2つ又は3つ以上のエピトープ；

(6) 上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子の2つ若しくは3つ以上のエピトープ、及び上記疾患抗原の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープ、及び上記異なる疾患抗原の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープ；

(7) 上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子の1つ、2つ若しくは3つ以上のエピトープ、及びエフェクタ細胞（これは同一のタイプのエフェクタ細胞であっても、異なるタイプのエフェクタ細胞であってもよい）の異なる細胞表面分子の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープ、及び上記標的細胞の表面上に配列された疾患抗原の単一のエピトープ；

(8) 上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子の1つ、2つ若しくは3つ以上のエピトープ、及びエフェクタ細胞（これは同一のタイプのエフェクタ細胞であっても、異なるタイプのエフェクタ細胞であってもよい）の異なる細胞表面分子の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープ、及び上記疾患抗原の2つ又は3つ以上のエピトープ；あるいは

(9) 上記エフェクタ細胞の上記細胞表面分子の1つ、2つ若しくは3つ以上のエピトープ、及びエフェクタ細胞（これは同一のタイプのエフェクタ細胞であっても、異なるタイプのエフェクタ細胞であってもよい）の異なる細胞表面分子の1つ、2つ又は3つ以上のエピトープ、及び上記疾患抗原の2つ又は3つ以上のエピトープ、及び上記異なる疾患抗原の2つ又は3つ以上のエピトープ

に結合してよい。

【0176】

一例として、本発明は：(エフェクタ細胞の細胞表面分子としての)CD3のエピトープに免疫特異的に結合できる、第1のエピトープ結合部位；上記標的細胞の表面上に配列された疾患抗原のエピトープに免疫特異的に結合できる、第2のエピトープ結合部位；及び(エフェクタ細胞の異なる細胞表面分子としての)CD8のエピトープに免疫特異的に結合できる、第3のエピトープ結合部位を含む、結合分子について考察する。

【0177】

表6Aは、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる本発明の例示的な分子の、可能性のある結合特異性の組み合わせを示す。表6Bは、PD-1又はPD-1の天然リガンド及びPD-1又はPD-1の天然リガンド以外の分子に結合できる本発明の例示的な多重特異性分子の、可能性のある結合特異性の組み合わせを示す。表7は、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の例示的な分子の、可能性のある結合特異性の組み合わせを示す。

【0178】

10

20

30

40

【表 6】

表 6 A		
PD-1 又は PD-1 の天然リガンドに結合できる本発明の 例示的な分子によって認識されるエピトープの数		
PD-1	PD-1 リガンド	
	第 1 の PD-1 リガンド	第 2 の PD-1 リガンド
1	0	0
1	1	
1		1
1	2	
1		2
1	>2	
1		>2
2	0	0
2	1	
2		1
2	2	
2		2
2	>2	
2		>2
>2	0	0
>2	1	
>2		1
>2	2	
>2		2
>2	>2	
>2		>2
0	1	0
0	1	1
0	2	0
0	2	1
0	2	2
0	>2	1
0	>2	2
0	>2	>2

10

20

30

【 0 1 7 9 】

【表 7】

表 6 B				
PD-1 又は PD-1 の天然リガンド及び異なる分子に結合できる本発明の例示的な分子によって認識されるエピトープの数				
PD-1	異なる分子		PD-1 のリガンド	異なる分子
1	1		1	1
1	2		1	2
1	>2		1	>2
2	1		2	1
2	2		2	2
2	>2		2	>2
>2	1		>2	1
>2	2		>2	2
>2	>2		>2	>2

10

【 0 1 8 0 】

【表 8】

表7			
標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の例示的な分子によって認識されるエピトープの数			
エフェクタ細胞の細胞表面分子		疾患抗原	
第1の表面分子	第2の表面分子	第1の疾患抗原	第2の疾患抗原
1	0	1	0
1	0	1	1
1	0	2	0
1	0	2	1
1	0	2	2
1	0	>2	0
1	0	>2	1
1	0	>2	2
2	0	1	0
2	0	1	1
2	0	2	0
2	0	2	1
2	0	2	2
2	0	>2	0
2	0	>2	1
2	0	>2	2
>2	0	1	0
>2	0	1	1
>2	0	2	0
>2	0	2	1
>2	0	2	2
>2	0	>2	0
>2	0	>2	1
>2	0	>2	2
1	1	1	0
1	1	1	1
1	1	2	0
1	1	2	1
1	1	2	2
1	1	>2	0
1	1	>2	1
1	1	>2	2
2	1	1	0
2	1	1	1
2	1	2	0
2	1	2	1
2	1	2	2
2	1	>2	0
2	1	>2	1

10

20

30

40

表7			
標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の例示的な分子によって認識されるエピトープの数			
エフェクタ細胞の細胞表面分子		疾患抗原	
第1の表面分子	第2の表面分子	第1の疾患抗原	第2の疾患抗原
2	1	>2	2
2	2	1	0
2	2	1	1
2	2	2	0
2	2	2	1
2	2	2	2
2	2	>2	0
2	2	>2	1
2	2	>2	2
>2	1	1	0
>2	1	1	1
>2	1	2	0
>2	1	2	1
>2	1	2	2
>2	1	>2	0
>2	1	>2	1
>2	1	>2	2
>2	2	1	0
>2	2	1	1
>2	2	2	0
>2	2	2	1
>2	2	2	2
>2	2	>2	0
>2	2	>2	1
>2	2	>2	2
>2	>2	1	0
>2	>2	1	1
>2	>2	2	0
>2	>2	2	1
>2	>2	2	2
>2	>2	>2	0
>2	>2	>2	1
>2	>2	>2	2

10

20

30

40

【0181】

本発明の分子によって結合され得るエピトープ又は追加のエピトープの特性については、このような追加の結合能力によって、PD 1又はPD 1の天然リガンドの結合を阻害できる分子の上記結合が妨害されず、また標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子の上記標的転換殺滅が妨害されないことを除いて、制限はない。

【0182】

A . PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる例示的な分子

50

1. PD 1 に対して免疫特異的な結合分子

PD 1 に対して免疫特異的な抗体は公知であり、本発明による PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる分子（例えばダイアボディ、s c F v、抗体、C A R、T a n d A b 等）として採用してよいが、上記分子として機能するよう適合させることができる（例えば米国特許出願第 6 2 / 1 9 8 , 8 6 7 号；米国特許出願第 6 2 / 2 3 9 , 5 5 9 号；米国特許出願第 6 2 / 2 5 5 , 1 4 0 号；特許文献 2 9 ；特許文献 3 0 ；特許文献 4 4 ~ 4 6 を参照）。PD 1 又は PD 1 の天然リガンドに結合できる好ましい分子は、ヒト PD 1 (C D 2 7 9) の連続した又は不連続の（例えば立体配置の）部分に結合する能力を示し、また好ましくは 1 つ又は複数の非ヒト種、特に霊長類種（及び特にカニクイザル等の霊長類種）の PD 1 分子への結合能力も呈する。更に望ましい抗体は、PD 1 又はそのペプチド断片を用いて誘発された抗体分泌ハイブリドーマの単離によって作製してよい。代表的なヒト PD 1 ポリペプチド（N C B I 配列番号 N P _ 0 0 5 0 0 9 . 2 ；2 0 アミノ酸残基のシグナル配列（下線を付して示されている）及び 2 6 8 アミノ酸残基の成熟タンパク質を含む）は、アミノ酸配列（配列番号 4 5 ）：

MQIPQAPWPV VWAVLQLGWRPGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA
TFTCSFSNTS ESFVLNWWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL
PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE
VPTAHPSPPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI
GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT
IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL

を含む。

【 0 1 8 3 】

PD 1 に結合するために使用してよい好ましい PD 1 結合分子は、以下の基準のうちのいずれか（1 つ又は複数）を特徴とする：

- (1) 刺激ヒト T 細胞の表面に内在的に発現したヒト PD 1 に特異的に結合する；
- (2) 平衡結合定数 (K_D) 4 0 n M 以下でヒト PD 1 に特異的に結合する；
- (3) 平衡結合定数 (K_D) 5 n M 以下でヒト PD 1 に特異的に結合する；
- (4) オン速度 (K_a) $1 . 5 \times 1 0^4 M^{-1}分^{-1}$ 以上でヒト PD 1 に特異的に結合する；

(5) オン速度 (K_a) $9 0 . 0 \times 1 0^4 M^{-1}分^{-1}$ 以上でヒト PD 1 に特異的に結合する；

- (6) オフ速度 (K_d) $7 \times 1 0^{-4}分^{-1}$ 以下でヒト PD 1 に特異的に結合する；
- (7) オフ速度 (K_d) $2 \times 1 0^{-4}分^{-1}$ 以下でヒト PD 1 に特異的に結合する；
- (8) 非ヒト霊長類 PD 1 (例えばカニクイザルの PD 1) に特異的に結合する；
- (9) PD 1 に対する PD 1 リガンド (PD L 1 / PD L 2) の結合 / 阻害活性を阻害する（即ちブロックするか若しくはこれに干渉する）；

(1 0) 免疫応答を刺激する；及び / 又は

(1 1) 抗ヒト L A G 3 抗体との相乗効果により、抗原特異性 T 細胞応答を刺激する。

【 0 1 8 4 】

PD 1 に結合するために使用してよい本発明の好ましい PD 1 結合分子は、マウス抗ヒト PD 1 モノクローナル抗体「PD 1 m A b 1」、「PD 1 m A b 2」、「PD 1 m A b 3」、「PD 1 m A b 4」、「PD 1 m A b 5」、「PD 1 m A b 6」、「PD 1 m A b 7」、「PD 1 m A b 8」、「PD 1 m A b 9」、「PD 1 m A b 1 0」、「PD 1 m A b 1 1」、「PD 1 m A b 1 2」、「PD 1 m A b 1 3」、「PD 1 m A b 1 4」又は「PD 1 m A b 1 5」のヒト化 V H 及び / 又は V L ドメインを有し、より好ましくは、このような抗体の、V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て、及び / 又は V L ドメインの C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを有する。本発明は特に、以下：

- (A) (1) PD 1 mAb 1のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 1のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 1のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 1のVLドメインの3つのCDR_L;
 (4) hPD 1 mAb 1 VH 1のVHドメイン;
 (5) hPD 1 mAb 1 VL 1のVLドメイン;
 (6) hPD 1 mAb 1のVH及びVLドメイン;
- (B) (1) PD 1 mAb 2のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 2のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 2のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 2のVLドメインの3つのCDR_L;
 (4) hPD 1 mAb 2 VH 1のVHドメイン;
 (5) hPD 1 mAb 2 VL 1のVLドメイン;
 (6) hPD 1 mAb 2のVH及びVLドメイン;
- (C) (1) PD 1 mAb 3のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 3のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 3のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 3のVLドメインの3つのCDR_L;
- (D) (1) PD 1 mAb 4のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 4のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 4のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 4のVLドメインの3つのCDR_L;
- (E) (1) PD 1 mAb 5のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 5のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 5のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 5のVLドメインの3つのCDR_L;
- (F) (1) PD 1 mAb 6のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 6のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 6のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 6のVLドメインの3つのCDR_L;
- (G) (1) PD 1 mAb 7のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 7、又はhPD 1 mAb 7 VL 2、又はhPD 1 mAb 7 VL 3のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 7のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 7のVLドメインの3つのCDR_L;
 (4) hPD 1 mAb 7 VH 1、又は hPD 1 mAb 7 VH 2のVHドメイン;
 (5) hPD 1 mAb 7 VL 1、又は hPD 1 mAb 7 VL 2、又はhPD 1 mAb 7 VL 3のVLドメイン;
 (6) hPD 1 mAb 7 (1.1)、又は hPD 1 mAb 7 (1.2)、又はhPD 1 mAb 7 (1.3)、又はhPD 1 mAb 7 (2.1)、又はhPD 1 mAb 7 (2.2)、又はhPD 1 mAb 7 (2.3)のVH及びVLドメイン;
- (H) (1) PD 1 mAb 8のVHドメインの3つのCDR_H;
 (2) PD 1 mAb 8のVLドメインの3つのCDR_L;
 (3) PD 1 mAb 8のVHドメインの3つのCDR_H、及びPD 1 mAb 8のVLドメインの3つのCDR_L;
 を有するか、又はPD 1 mAb 1、PD 1 mAb 2、PD 1 mAb 3、PD 1 mAb 4、PD 1 mAb 5、PD 1 mAb 6、PD 1 mAb 7、PD 1 mAb 8、PD 1 mAb 9、PD 1 mAb 10、P

D 1 mAb 11、PD 1 mAb 12、PD 1 mAb 13、PD 1 mAb 14若しくはPD 1 mAb 15と同一のエピトープに結合する、若しくは結合に関して競合する、PD 1結合ドメインを含む上記PD 1結合分子に関する。

【0185】

(a) PD 1 mAb 1

マウス抗ヒトPD 1 mAb 1のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号46)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)。

DVQLQESGPG RVKPSQSLSL TCTVTGFSIT NDYAWNWIRQ FPGNKLEWMG
HITYSGSTSY NPSLKSRISI TRDTSKNHFF LQLSSVTPED TATYYCARDY
SGGYPYTLDYWGQGTSTVTS S

10

PD 1 mAb 1のCDR_H1(配列番号47): NDYAWN

PD 1 mAb 1のCDR_H2(配列番号48): HITYSGSTSYNPSLK

PD 1 mAb 1のCDR_H3(配列番号49): DYSGGYPYTL

【0186】

マウス抗ヒトPD 1 mAb 1のVLドメインのアミノ酸配列(配列番号50)を以下に示す(CDR_L残基は下線を付して示されている)：

QIVLTQSPAL MSASPGKVT MTCSATSIVS YVYWYQQKPG SSPQPWIYLT
SNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISSMEAE DAATYYCQW SDNPYTFGGG
TKLEIK

20

PD 1 mAb 1のCDR_L1(配列番号51): SATSIVSYVY

PD 1 mAb 1のCDR_L2(配列番号52): LTSNLAS

PD 1 mAb 1のCDR_L3(配列番号53): QQWSDNPYT

【0187】

上述のマウス抗ヒトPD 1抗体PD 1 mAb 1を、抗原エピトープが識別された場合にヒト化し、更に脱免疫化して、ヒトレシピエントへの投与時にその抗原性を低減するための抗ヒトPD 1抗体のヒト化の実証した。ヒト化により、ここでは「hPD 1 mAb 1 VH1」と呼ばれる1つのヒト化VHドメインと、ここでは「hPD 1 mAb 1 VL1」と呼ばれる1つのヒト化VLドメインとが得られた。従って、上記ヒト化VHドメインと対合した上記ヒト化VLドメインを含む抗体を、「hPD 1 mAb 1」と呼ぶ。

30

【0188】

hPD 1 mAb 1 VH1のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号54)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)：

DVQLQESGPG LVKPSQTL^{SL} TCTVSGFSIS NDYAWNWIRQ PPGKGLEWIG
HITYSGSTSY NPSLKSRLTIT TRDTSKNQFV LTMTNMDPVD TATYYCARDY
SGGYPYTLDYWGQGTSTVTS S

【0189】

hPD 1 mAb 1 VL1のVLドメインのアミノ酸配列(配列番号55)を以下に示す(CDR_L残基は下線を付して示されている)：

EIVLTQSPAT LSVSPGKVT ITCSATSIVS YVYWYQQKPG QAPQPLIYLT
SNLASGIPAR FSGSGSGTDF TLTISSLEAE DAATYYCQW SDNPYTFGGG
TKVEIK

40

【0190】

(b) PD 1 mAb 2

マウス抗ヒトPD 1 mAb 2のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号56)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)：

DVQLVESGGG LVQPGGSRKL SCAASGFVFS SFGMHWVRQA PEKGLEWVAY
ISSGMSISY ADTVKGRFTV TRDNAKNTLF LQMTSLRSED TAIYYCASLS
DYFDYWGQGT TLTVSS

PD 1 mAb 2のCDR_H1(配列番号57): SFGMH

50

P D 1 m A b 2 の C D R_H 2 (配列番号 5 8) : YISSGSMSISYADTVKG

P D 1 m A b 2 の C D R_H 3 (配列番号 5 9) : LSDYFDY

【 0 1 9 1 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 6 0) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVVMSTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSTGNTYLHW YLQKPGQSPK

LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV FFCSQTTHVP

WTFGGGTKLE IK

P D 1 m A b 2 の C D R_L 1 (配列番号 6 1) : RSSQSLVHSTGNTYLH

P D 1 m A b 2 の C D R_L 2 (配列番号 6 2) : RVSNRFS

P D 1 m A b 2 の C D R_L 3 (配列番号 6 3) : SQTTHVPWT

【 0 1 9 2 】

上述のマウス抗ヒト P D 1 抗体 P D 1 m A b 2 を、抗原エピトープが識別された場合にヒト化し、更に脱免疫化して、ヒトレシピエントへの投与時にその抗原性を低減するための抗ヒト P D 1 抗体のヒト化の能力を実証した。ヒト化により、ここでは「h P D 1 m A b 2 V H 1」と呼ばれる1つのヒト化 V H ドメインと、ここでは「h P D 1 m A b 2 V L 1」と呼ばれる1つのヒト化 V L ドメインとが得られた。従って、上記ヒト化 V H ドメインと対合した上記ヒト化 V L ドメインを含むいずれの抗体を、「h P D 1 m A b 2」と呼ぶ。

【 0 1 9 3 】

h P D 1 m A b 2 V H 1 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 6 4) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFVFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY

ISSGSMSISY ADTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRTEG TALYYCASLS

DYFDYWGGGT TVTVSS

【 0 1 9 4 】

h P D 1 m A b 2 V L 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 6 5) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVVMSTPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLV HSTGNTYLHW YLQKPGQSPK

LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQTTHVP

WTFGGGTKLE IK

【 0 1 9 5 】

(c) P D 1 m A b 3

マウス抗ヒト P D 1 m A b 3 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 6 6) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) ;

QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFT DYVMHWVKQT PVHGLEWIGT

IDPETGGTAY NQKFQKAIL TADKSSNTAY MELRSLTSED SAVYYFTREK

ITTIVEGTYW YFDVWGTGTT VTVSS

P D 1 m A b 3 の C D R_H 1 (配列番号 6 7) : DYVMH

P D 1 m A b 3 の C D R_H 2 (配列番号 6 8) : TIDPETGGTAYNQKFQK

P D 1 m A b 3 の C D R_H 3 (配列番号 6 9) : EKITTIVEGTYWYFDV

【 0 1 9 6 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 3 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 7 0) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVLLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNQDITYLEW YLQKPGQSPK

LLIYKVSNR SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHP

YTFGGGTKLE IK

P D 1 m A b 3 の C D R_L 1 (配列番号 7 1) : RSSQNIVHSNQDITYLE

P D 1 m A b 3 の C D R_L 2 (配列番号 7 2) : KVSNRFS

P D 1 m A b 3 の C D R_L 3 (配列番号 7 3) : FQGSHLPYT

【 0 1 9 7 】

(d) P D 1 m A b 4

マウス抗ヒト P D 1 m A b 4 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 7 4) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

DVQLVESGGG LVQPGGSRKL SCAASGFVFS SFGMHWRQA PEKGLEWVAY
ISSGMSISY ADTVKGRFTV TRDNAKNTLF LQMTSLRSED TAIYYCASLT
 DYFDYWGQGT TLTVSS

P D 1 m A b 4 の C D R_L 1 (配列番号 7 5) : SFGMHP D 1 m A b 4 の C D R_L 2 (配列番号 7 6) : YISSGMSISYADTVKGP D 1 m A b 4 の C D R_L 3 (配列番号 7 7) : LTDYFDY

10

【 0 1 9 8 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 4 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 7 8) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVMSQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSTGNTYFHW YLQKPGQSPK
 LLIYRVSNR SGVPDRFGSG GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQTTHVP
 WTFGGGTKLE IK

P D 1 m A b 4 の C D R_L 1 (配列番号 7 9) : RSSQSLVHSTGNTYFHP D 1 m A b 4 の C D R_L 2 (配列番号 8 0) : RVSNRFSP D 1 m A b 4 の C D R_L 3 (配列番号 8 1) : SQTTHVPWT

20

【 0 1 9 9 】

(e) P D 1 m A b 5

マウス抗ヒト P D 1 m A b 5 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 8 2) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLQQPGVE LVRPGASVKL SCKASGYSFT AYWMNWMKQR PGQGLEWIGV
IHPSDSETWL NQKF~~K~~DATL TVDKSSSTAY MQLISPTSED SAVYYCAREH
 YGSSPFAYWG QGTLVTVSA

P D 1 m A b 5 の C D R_H 1 (配列番号 8 3) : AYWMNP D 1 m A b 5 の C D R_H 2 (配列番号 8 4) : VIHPDSETWLNQKF~~K~~DP D 1 m A b 5 の C D R_H 3 (配列番号 8 5) : EHYGSSPFAY

30

【 0 2 0 0 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 5 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 8 6) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRANESVD NYGMSFMNWF QKQPGQPPKL
 LIYAASNQGS GVPARFSGSG SGTDFSLNIH PMEEDDTAMY FCQQSKEVPY
 TFGGGTKLEI K

P D 1 m A b 5 の C D R_L 1 (配列番号 8 7) : RANESVDNYGMSFMNP D 1 m A b 5 の C D R_L 2 (配列番号 8 8) : AASNQGSP D 1 m A b 5 の C D R_L 3 (配列番号 8 9) : QQSKEVPYT

40

【 0 2 0 1 】

(f) P D 1 m A b 6

マウス抗ヒト P D 1 m A b 6 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 9 0) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVKLVESGGG LVNPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PEKRLWVAT
ISGGGSDTYT PDSVKGRFTI SRDNAKNLY LQMSSLRSED TALYYCARQK
 ATTWFAYWGQ GTLVTVST

P D 1 m A b 6 の C D R_H 1 (配列番号 9 1) : SYGMSP D 1 m A b 6 の C D R_H 2 (配列番号 9 2) : TISGGGSDTYYPDSVKGP D 1 m A b 6 の C D R_H 3 (配列番号 9 3) : QKATTWFAY

50

【 0 2 0 2 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 6 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 9 4) を

以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD NYGISFMNWF QQKPGQPPKL
LIYPASNQSGV⁶PARFSGSG SGTDFSLNIH PMEEDDAAMY FCQQSKEVPW
TFGGGTKLEI K

P D 1 m A b 6 の C D R_L 1 (配列番号 9 5) : RASESVDNYGISFMN

P D 1 m A b 6 の C D R_L 2 (配列番号 9 6) : PASNQGS

P D 1 m A b 6 の C D R_L 3 (配列番号 9 7) : QQSKEVPWT

【 0 2 0 3 】

(g) P D 1 m A b 7

マウス抗ヒト P D 1 m A b 7 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 9 8) を

以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLQQPGAE LVRPGASVKL SCKASGYSFT SYWMNWVKQR PGQGLEWIGV
IHPSDSETWL DQKFKDKATL TVDKSSTTAY MQLISPTSED SAVYYCAREH
YGTSPFAYWG QGTLVTVSS

P D 1 m A b 7 の C D R_H 1 (配列番号 9 9) : SYWMN

P D 1 m A b 7 の C D R_H 2 (配列番号 1 0 0) : VIHPSDSETWLDQKFKD

P D 1 m A b 7 の C D R_H 3 (配列番号 1 0 1) : EHYGTSPFAY

【 0 2 0 4 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 7 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 0 2)

を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRANESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNQSGV⁶PARFSGSG FGTDFSLNIH PMEEDDAAMY FCQQSKEVPY
TFGGGTKLEI K

P D 1 m A b 7 の C D R_L 1 (配列番号 1 0 3) : RANESVDNYGMSFMN

P D 1 m A b 7 の C D R_L 2 (配列番号 1 0 4) : AASNQGS

P D 1 m A b 7 の C D R_L 3 (配列番号 1 0 5) : QQSKEVPYT

【 0 2 0 5 】

上述のマウス抗ヒト P D 1 抗体 P D 1 m A b 7 を、抗原エピトープが識別され
た場合にヒト化し、更に脱免疫化して、ヒトレシピエントへの投与時にその抗原性を低減

するための抗ヒト P D 1 抗体のヒト化の実証した。ヒト化により、ここでは「 h

P D 1 m A b 7 V H 1 」及び「 h P D 1 m A b 7 V H 2 」と呼ばれる 2

つのヒト化 V H ドメインと、ここでは「 P D 1 m A b 7 V L 1 」、「 h P D 1

m A b 7 V L 2 」及び「 h P D 1 m A b 7 V L 3 」と呼ばれる 3 つのヒト

化 V L ドメインとが得られた。ヒト化 V L ドメインのうちのいずれが、ヒト化 V H ドメイ

ンのうちのいずれと対合し得る。従って、上記ヒト化 V H ドメインと対合した上記ヒト化

V L ドメインのうちの 1 つを含むいずれの抗体を、「 h P D 1 m A b 7 」と呼び、

ヒト化 V H / V L ドメインの特定の組み合わせを、具体的な V H / V L ドメインに対する

参照によって呼称する。例えば h P D 1 m A b 7 V H 1 及び h P D 1 m A b

7 V L 2 を含むヒト化抗体は、具体的に「 h P D 1 m A b 7 (1 . 2) 」と呼

ばれる。

【 0 2 0 6 】

h P D 1 m A b 7 V H 1 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 0 6) を

以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWIGV
IHPSDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH
YGTSPFAYWG QGTLVTVSS

【 0 2 0 7 】

h P D 1 m A b 7 V H 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 0 7) を

以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWAGV

10

20

30

40

50

IHPDSE^{WT}WL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH
 YGTSPFAYWG QGTLVTVSS

【 0 2 0 8 】

h P D 1 m A b 7 V L 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 0 8) を
 以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRANESVD NYGMSFMNWF QKPGQPPKL
 LIHAASNQGS^{WT}GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQKSKEVPY
 TFGGGTKVEI K

【 0 2 0 9 】

h P D 1 m A b 7 V L 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 0 9) を
 以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QKPGQPPKL
 LIHAASNQGS^{WT}GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQKSKEVPY
 TFGGGTKVEI K

【 0 2 1 0 】

h P D 1 m A b 7 V L 3 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 1 0) を
 以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QKPGQPPKL
 LIHAASNRGS^{WT}GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQKSKEVPY
 TFGGGTKVEI K

【 0 2 1 1 】

h P D 1 m A b 7 V L 2 及び h P D 1 m A b 7 V L 3 の両方の V L ド
 メインの C D R_L 1 は、アスパラギンからセリンへのアミノ酸置換を含み、アミノ酸配列
 : RASESVDNYGMSFMN (配列番号 1 1 1 、置換されたセリンは下線を付して示されている)
 を有する。同様の置換は、上述の P D 1 m A b 7 C D R_L 1 ドメインのいずれに
 も組み込むことができると考えられる。

【 0 2 1 2 】

更に h P D 1 m A b 7 V L 3 の V L ドメインの C D R_L 2 は、グルタミンから
 アルギニンへのアミノ酸置換を含み、アミノ酸配列 : AASNRGS (配列番号 1 1 2 、置換さ
 れたアルギニンは下線を付して示されている) を有する。同様の置換は、上述の P D 1
 m A b 7 C D R_L 2 ドメインのいずれにも組み込むことができると考えられる。

【 0 2 1 3 】

(h) P D 1 m A b 8

マウス抗ヒト P D 1 m A b 8 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 1 3)
 を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EGQLQQSGPE LVKPGASVKI SCKASGYTFT DYYMNWVKQN HGKSLEWIGD
 INPKNGDTHY NQKFKGEATL TVDKSSTTAY MELRSLTSED SAVYYCASDF
 DYWGQGTTLT VSS

P D 1 m A b 8 の C D R_H 1 (配列番号 1 1 4) : DYYMN

P D 1 m A b 8 の C D R_H 2 (配列番号 1 1 5) : DINPKNGDTHYNQKFKG

P D 1 m A b 8 の C D R_H 3 (配列番号 1 1 6) : DFDY

【 0 2 1 4 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 8 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 1 7)
 を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVVMQTPLS LPVGLGDQAS ISCRSSQTLV YSNGNTYLNW FLQKPGQSPK
 LLIIYKVS^{WT}NRFGSGVPSRFSGSG SGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTHVP
 FTFGSGTKLE IK

P D 1 m A b 8 の C D R_L 1 (配列番号 1 1 8) : RSSQTLVYSNGNTYLN

P D 1 m A b 8 の C D R_L 2 (配列番号 1 1 9) : KVS^{WT}NRFS

P D 1 m A b 8 の C D R_L 3 (配列番号 1 2 0) : SQSTHVPFT

【 0 2 1 5 】

(i) P D 1 m A b 9

マウス抗ヒト P D 1 m A b 9 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 2 1) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVMLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVSWVRQT PEKRLEWVAT
ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQISSLRSED TALYYCARYG
FDGAWFAYWG QGTLVTVSS

P D 1 m A b 9 の C D R_H 1 (配列番号 1 2 2) : SYLVSP D 1 m A b 9 の C D R_H 2 (配列番号 1 2 3) : TISGGGGNTYYSDSVKGP D 1 m A b 9 の C D R_H 3 (配列番号 1 2 4) : YGFDGAWFAY

10

【 0 2 1 6 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 9 (配列番号 1 2 5) の V L ドメインのアミノ酸配列を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPAS LSASVGDIVT ITCRASENIY SYLAWYQQKQ EKSPQLLVYN
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTQ FSLTINSLQP EDFGNYYCQH HYAVPWTFGG
GTRLEIT

P D 1 m A b 9 の C D R_L 1 (配列番号 1 2 6) : RASENIYSYLAP D 1 m A b 9 の C D R_L 2 (配列番号 1 2 7) : NAKTLAAP D 1 m A b 9 の C D R_L 3 (配列番号 1 2 8) : QHHYAVPWT

20

【 0 2 1 7 】

上述のマウス抗ヒト P D 1 抗体 P D 1 m A b 9 を、抗原エピトープが識別された場合にヒト化し、更に脱免疫化して、ヒトレシピエントへの投与時にその抗原性を低減するための抗ヒト P D 1 抗体のヒト化の能力を実証した。ヒト化により、ここでは「 h P D 1 m A b 9 V H 1 」及び「 h P D 1 m A b 9 V H 2 」と呼ばれる2つのヒト化 V H ドメインと、ここでは「 h P D 1 m A b 9 V L 1 」及び「 h P D 1 m A b 9 V L 2 」と呼ばれる2つのヒト化 V L ドメインとが得られた。ヒト化 V L ドメインのうちのいずれが、ヒト化 V H ドメインのうちのいずれと対合し得る。従って、上記ヒト化 V H ドメインと対合した上記ヒト化 V L ドメインのうちの1つを含むいずれの抗体を、一般に「 h P D 1 m A b 9 」と呼び、ヒト化 V H / V L ドメインの特定の組み合わせを、具体的な V H / V L ドメインに対する参照によって呼称する。例えば h P D 1 m A b 9 V H 1 及び h P D 1 m A b 9 V L 2 を含むヒト化抗体は、具体的に「 h P D 1 m A b 9 (1 . 2) 」と呼ばれる。

30

【 0 2 1 8 】

h P D 1 m A b 9 V H 1 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 2 9) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLVESGGG LVRPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVSWVRQA PGKGLEWVAT
ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TATYYCARYG
FDGAWFAYWG QGTLVTVSS

【 0 2 1 9 】

h P D 1 m A b 9 V H 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 3 0) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLVESGGG LARPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVGWVRQA PGKGLEWTAT
ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSARAED TATYYCARYG
FDGAWFAYWG QGTLVTVSS

40

【 0 2 2 0 】

h P D 1 m A b 9 V H 2 の V H ドメインの C D R_H 1 は、セリンからグリシンへのアミノ酸置換を含み、アミノ酸配列 : SYLVG (配列番号 1 3 1、置換されたグリシンは下線を付して示されている) を有する。同様の置換は、上述の P D 1 m A b 9 C D R_H 1 ドメインのいずれにも組み込むことができると考えられる。

【 0 2 2 1 】

50

h P D 1 m A b 9 V L 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 3 2) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY SYLAWYQQKP GKAPKLLIYN
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYAVPWTFGQ
GTKLEIK

【 0 2 2 2 】

h P D 1 m A b 9 V L 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 3 3) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYAVPWTFGQ
GTKLEIK

10

【 0 2 2 3 】

h P D 1 m A b 9 V L 2 の V L ドメインの C D R_L 1 は、セリンからアスパラギンへのアミノ酸置換を含み、アミノ酸配列 : RASENIYNYLA (配列番号 1 3 4、置換されたアスパラギンは下線を付して示されている) を有する。同様の置換は、上述の P D 1 m A b 9 C D R_L 1 ドメインのいずれにも組み込むことができると考えられる。

【 0 2 2 4 】

h P D 1 m A b 9 V L 2 の V L ドメインの C D R_L 2 は、アスパラギンからアスパラギン酸へのアミノ酸置換を含み、アミノ酸配列 : DAKTLAA (配列番号 1 3 5、置換されたアスパラギン酸は下線を付して示されている) を有する。同様の置換は、上述の P D 1 m A b 7 C D R_L 2 ドメインのいずれにも組み込むことができると考えられる。

20

【 0 2 2 5 】

(j) P D 1 m A b 1 0

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 0 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 3 6) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVILVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS NYLMSWVRQT PEKRLEWVAS
ISGGGSNIYY PDSVKGRFTI SRDNAKNLTLY LQMNSLRSED TALYYCARQE
LAFDYWGQGT TLTVSS

P D 1 m A b 1 0 の C D R_H 1 (配列番号 1 3 7) : NYLMS

30

P D 1 m A b 1 0 の C D R_H 2 (配列番号 1 3 8) : SISGGGSNIYYPDVKVKG

P D 1 m A b 1 0 の C D R_H 3 (配列番号 1 3 9) : QELAFDY

【 0 2 2 6 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 0 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 4 0) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCRTSQDIS NFLNWWYQQKP DGTIKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFCQQ GSTLPWTFGG
GTKLEII

P D 1 m A b 1 0 の C D R_L 1 (配列番号 1 4 1) : RTSQDISNFLN

P D 1 m A b 1 0 の C D R_L 2 (配列番号 1 4 2) : YTSRLHS

40

P D 1 m A b 1 0 の C D R_L 3 (配列番号 1 4 3) : QQGSTLPWT

【 0 2 2 7 】

(k) P D 1 m A b 1 1

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 1 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 4 4) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLQQSGTV LARPGASVKM SCKTSGYTFT GYWMHWVKQR PGQGLKWMGA
IYPGNSDTHY NQKFQKAKL TAVTSASTAY MELSSLTNEQ SAIYYCTTGT
YSYFDVWGTG TTVTVSS

P D 1 m A b 1 1 の C D R_H 1 (配列番号 1 4 5) : GYWMH

P D 1 m A b 1 1 の C D R_H 2 (配列番号 1 4 6) : AIYPGNSDTHYNQKFQK

50

P D 1 m A b 1 1 の C D R_H 3 (配列番号 1 4 7) : GTYSYFDV

【 0 2 2 8 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 4 8) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DILLTQSPA I LSVSPGERVS FSCRASQSIG TSIHWYQHRT NGSPRLLIKY
ASESISGIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYCQQ SNSWLTFGAG
 TKLELK

P D 1 m A b 1 1 の C D R_L 1 (配列番号 1 4 9) : RASQSIGTSIH

P D 1 m A b 1 1 の C D R_L 2 (配列番号 1 5 0) : YASESIS

P D 1 m A b 1 1 の C D R_L 3 (配列番号 1 5 1) : QQSNSWLT

10

【 0 2 2 9 】

(1) P D 1 m A b 1 2

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 5 2) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QGHLLQSGAE LVRPGASVTL SCKASGFTFT DYEMHWVKQT PVHGLEWIGT
IDPETGGTAY NQKFKGKAIL TVDKSSTTTY MELRSLTSED SAVFYCSRER
ITTVVEGAYW YFDVWGTGTT VTVSS

P D 1 m A b 1 2 の C D R_H 1 (配列番号 1 5 3) : DYEMH

P D 1 m A b 1 2 の C D R_H 2 (配列番号 1 5 4) : TIDPETGGTAYNQKFKG

P D 1 m A b 1 2 の C D R_H 3 (配列番号 1 5 5) : ERITTVVEGAYWYFDV

20

【 0 2 3 0 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 5 6) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNQNTYLEW YLQKPGQSPK
LLICKVSTRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP
YTFGGGTKLE IK

P D 1 m A b 1 2 の C D R_L 1 (配列番号 1 5 7) : RSSQNIVHSNNTYLE

P D 1 m A b 1 2 の C D R_L 2 (配列番号 1 5 8) : KVSTRFS

P D 1 m A b 1 2 の C D R_L 3 (配列番号 1 5 9) : FQGSHVPYT

30

【 0 2 3 1 】

(m) P D 1 m A b 1 3

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 3 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 6 0) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVMLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SHTMSWVRQT PEKRLEWVAT
ISGGGSNIYY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLRSED TALYYCARQA
YYGNYWYFDVWGTGTTVTVS S

P D 1 m A b 1 3 の C D R_H 1 (配列番号 1 6 1) : SHTMS

P D 1 m A b 1 3 の C D R_H 2 (配列番号 1 6 2) : TISGGGSNIYYPDSVKG

P D 1 m A b 1 3 の C D R_H 3 (配列番号 1 6 3) : QAYYGNWYFDV

40

【 0 2 3 2 】

マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 3 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 6 4) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPAT QSASLGESVT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKSPQLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTK FSFKISSLQA EDFVSYYCQQ LDSIPWTFGG
 GTKLEIK

P D 1 m A b 1 3 の C D R_L 1 (配列番号 1 6 5) : LASQTIGTWLA

P D 1 m A b 1 3 の C D R_L 2 (配列番号 1 6 6) : AATSLAD

P D 1 m A b 1 3 の C D R_L 3 (配列番号 1 6 7) : QQLDSIPWT

【 0 2 3 3 】

(n) P D 1 m A b 1 4

50

マウス抗ヒトPD 1 mAb 14のVHドメインのアミノ酸配列（配列番号168）を以下に示す（CDRH_H残基は下線を付して示されている）：

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYNFI SYWITWVKQR PGQGLQWIGN
IYPGTDGTTY NEKFKSKATL TVDTSSSTAY MHLSRLTSED SAVYYCATGL
HWYFDVWGTG TTVTVSS

PD 1 mAb 14のCDRH_H1（配列番号169）：SYWIT

PD 1 mAb 14のCDRH_H2（配列番号170）：NIYPGTDGTTYNEKFKS

PD 1 mAb 14のCDRH_H3（配列番号171）：GLHWYFDV

【0234】

マウス抗ヒトPD 1 mAb 14のVLドメインのアミノ酸配列（配列番号172）を以下に示す（CDRL_L残基は下線を付して示されている）：

DIVMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQSVG TNVAWYQKQ GQSPKALIYS
ASSRFS~~GV~~PD RFTGSGSGTD FTLTISNVQS EDLAEYFCQQ YNSYPYTFGG
GTKLEIK

PD 1 mAb 14のCDRL_L1（配列番号173）：KASQSVGTNVA

PD 1 mAb 14のCDRL_L2（配列番号174）：SASSRFS

PD 1 mAb 14のCDRL_L3（配列番号175）：QQYNSYPYT

【0235】

(o) PD 1 mAb 15

マウス抗ヒトPD 1 mAb 15のVHドメインのアミノ酸配列（配列番号176）を以下に示す（CDRH_H残基は下線を付して示されている）：

EVMLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFIFS SYLISWVRQT PEKRLEWVAA
ISGGGADTTY ADSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLRSED TALYYCTRRG
TYAMDYWGQG TSVTVSS

PD 1 mAb 15のCDRH_H1（配列番号177）：SYLIS

PD 1 mAb 15のCDRH_H2（配列番号178）：AISGGGADTTYADSVKG

PD 1 mAb 15のCDRH_H3（配列番号179）：RGTYAMDY

【0236】

マウス抗ヒトPD 1 mAb 15のVLドメインのアミノ酸配列（配列番号180）を以下に示す（CDRL_L残基は下線を付して示されている）：

DIQMTQSPAS QSASLGESVT ITCLASQTIG TWLAWYQKQ GKSPQLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTK FSKISSLQA EDFVNYYCQQ LYSIPWTFGG
GTKLEIK

PD 1 mAb 15のCDRL_L1（配列番号181）：LASQTIGTWLA

PD 1 mAb 15のCDRL_L2（配列番号182）：AATSLAD

PD 1 mAb 15のCDRL_L3（配列番号183）：QQLYSIPWT

【0237】

上述のマウス抗ヒトPD 1抗体PD 1 mAb 15を、抗原エピトープが識別された場合にヒト化し、更に脱免疫化して、ヒトレシピエントへの投与時にその抗原性を低減するための抗ヒトPD 1抗体のヒト化の実証した。ヒト化により、ここでは「hPD 1 mAb 15 VH1」と呼ばれる1つのヒト化VHドメインと、ここでは「hPD 1 mAb 15 VL1」と呼ばれる1つのヒト化VLドメインとが得られた。上記ヒト化VHドメインと対合した上記VLドメインを含む抗体を「hPD 1 mAb 15」と呼ぶ。

【0238】

hPD 1 mAb 15 VH1のVHドメインのアミノ酸配列（配列番号184）を以下に示す（CDRH_H残基は下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVRPGGSLRL SCAASGFTFS SYLISWVRQA PGKGLEWVAA
ISGGGADTTY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TATYYCARRG
TYAMDYWGQG TLVTVSS

【 0 2 3 9 】

h P D 1 m A b 1 5 V L 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 1 8 5) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKAPKLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDFATYYCQQ LYSIPWTFGQ
GTKLEIK

【 0 2 4 0 】

(p) 更なる抗 P D 1 抗体

P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる分子の生成に有用な代替的な抗 P D 1 抗体は、抗ヒト P D 1 モノクローナル抗体ニボルマブ (C A S 登録番号 : 9 4 6 4 1 4 9 4 4 ; 5 C 4 、 B M S 9 3 6 5 5 8 、 O N O 4 5 3 8 、 M D X 1 1 0 6 としても公知 ; Bristol Myers Squibb が O P D I V O (登録商標) として市販) ; ペンブロリズマブ (以前はランブロリズマブとして公知) ; C A S 登録番号 : 1 3 7 4 8 5 3 9 1 4 ; M K 3 4 7 5 、 S C H 9 0 0 4 7 5 としても公知 ; Merck が K E Y T R U D A (登録商標) として市販) ; E H 1 2 . 2 H 7 (Dana Farber) ; ピジリズマブ (C A S 登録番号 : 1 0 3 6 7 3 0 4 2 3 ; C T 0 1 1 としても公知、CureTech,) 、又は表 8 中の抗 P D 1 抗体のうちのいずれの、V L 及び / 又は V H ドメインを有し ; より好ましくは、これらの抗 P D 1 モノクローナル抗体の V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て、及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを有する。ニボルマブ (WHO Drug Information, 2013, Recommended INN: List 69, 27(1):68-69) 、ペンブロリズマブ (WHO Drug Information, 2014, Recommended INN: List 75, 28(3):407) 及びピジリズマブ (WHO Drug Information, 2013, Recommended INN: List 70, 27(3):303-304) の完全重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列は、当該技術分野において公知である。本発明の方法及び組成物において有用な、独自の結合特性を有する更なる抗 P D 1 抗体は、近年同定されている (米国特許出願第 6 2 / 1 9 8 , 8 6 7 号 ; 米国特許出願第 6 2 / 2 3 9 , 5 5 9 号 ; 米国特許出願第 6 2 / 2 5 5 , 1 4 0 号を参照) 。

【 0 2 4 1 】

10

20

【表 9】

表 8:更なる抗PD - 1 抗体	
PD - 1 抗体	参照/ソース
PD1-17; PD1-28; PD1-33; PD1-35;及び PD1-F2	米国特許第 7,488,802 号 ; 米国特許第 7,521,051 号 ; 米国特許第 8,088,905 号 ; 国際公開第 2004/056875 号
17D8; 2D3; 4H1; 5C4; 4A11; 7D3;及び 5F4	米国特許第 8,008,449 号;米国特許第 8,779,105 号 ; 米国特許第 9,084,776 号 ; 国際公開第 2006/121168 号
hPD-1.08A; hPD-1.09A; 109A; K09A; 409A; h409A11; h409A16; h409A17;コドン最適化 109A;及びコドン最適化 409A	米国特許第 8,354,509 号;米国特許第 8,900,587 号 ; 米国特許第 5,952,136 号 ; 国際公開第 2008/156712 号
1E3; 1E8;及び 1H3	米国公開特許第 2014/0044738 号 ; 国際公開第 2012/145493 号
9A2; 10B11; 6E9; APE1922; APE1923; APE1924; APE1950; APE1963;及び APE2058	国際公開第 2014/179664 号
GA1; GA2; GB1; GB6; GH1; A2; C7; H7; SH-A4; SH-A9; RG1H10; RG1H11; RG2H7; RG2H10; RG3E12; RG4A6; RG5D9; RG1H10 - H2A - 22 - 1S; RG1H10 - H2A - 27 - 2S; RG1H10 - 3C; RG1H10 - 16C; RG1H10 - 17C; RG1H10 - 19C; RG1H10 - 21C;及び RG1H10 - 23C2	米国公開特許第 2014/0356363 号;国際公開第 2014/194302 号
H1M7789N; H1M7799N; H1M7800N; H2M7780N; H2M7788N; H2M7790N; H2M7791N; H2M7794N; H2M7795N; H2M7796N; H2M7798N; H4H9019P; H4xH9034P2; H4xH9035P2; H4xH9037P2; H4xH9045P2; H4xH9048P2; H4H9057P2; H4H9068P2; H4xH9119P2; H4xH9120P2; H4Xh9128p2; H4Xh9135p2; H4Xh9145p2; H4Xh8992p; H4Xh8999p;及び H4Xh9008p;	米国公開特許第 2015/0203579 号;国際公開第 2015/112800 号
PD - 1 mAb 1; PD - 1 mAb 2; hPD - 1 mAb 2; PD - 1 mAb 3; PD - 1 mAb 4; PD - 1 mAb 5; PD - 1 mAb 6; PD - 1 mAb 7; hPD - 1 mAb 7; PD - 1 mAb 8; PD - 1 mAb 9; hPD - 1 mAb 9; PD - 1 mAb 10; PD - 1 mAb 11; PD - 1 mAb 12; PD - 1 mAb 13; PD - 1 mAb 14; PD - 1 mAb 15;及び hPD - 1 mAb 15	米国特許出願第 62/198,867 号及び米国特許出願第 62/239,559 号

10

20

30

40

【 0 2 4 2 】

(q) 例示的な I g G 4 PD 1 抗体

特定の実施形態では、本発明の方法及び組成物において有用な抗PD 1 抗体は、上で提示した抗体のうちのいずれ（例えばPD 1 mAb 1、PD 1 mAb 2、PD 1 mAb 3、PD 1 mAb 4、PD 1 mAb 5、PD 1 mAb 6、PD 1 mAb 7、PD 1 mAb 8等、又は表6の抗PD 1 抗体のうちのいずれ）の、VL及びVHドメイン、CLドメイン（配列番号12）、及びIgG4Fcドメインを含み、任意にC末端リシン残基を含まない。このような抗体は好ましくは、IgG4CH1ドメイン（配列番号3）及びヒンジドメインを含み、より好まし

50

くは S 2 2 8 P 置換を含む安定化 I g G 4 ヒンジ（ここで番号付与は K a b a t における E U インデックスによるものである；配列番号 7）及び I g G 4 C H 2 C H 3 ドメイン（配列番号 7）を含む。

【 0 2 4 3 】

「 h P D 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P) 」と呼ばれる例示的な抗 P D 1 抗体は、ヒト化抗ヒト P D 1 抗体である。上述のように、h P D 1 m A b 7 (1 . 2) は、h P D 1 m A b 7 V H 1 の V H ドメイン及び抗体 h P D 1 m A b 7 V L 2 の V L ドメインを含む。

【 0 2 4 4 】

h P D 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P) の完全重鎖のアミノ酸配列は、配列番号 1 8 6 である（C D R_H 残基及び S 2 2 8 P 残基は下線を付して示されている）：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWIGV
IHPSDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH
YGTSPFAYWG QGTLVTSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD
 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPVQLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGKTLY
 TCNVDHKPSN TKVDKRVESK YGPPCPPCPA PEFLGGPSVF LFPPKPKDTL
 MISRTPEVTC VVVDVSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTYR
 VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTIKAKG QPREPQVYTL
 PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSO
 GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMEHA LHNHYTQKSL SLSLG

10

20

【 0 2 4 5 】

配列番号 1 8 6 では、残基 1 ~ 1 1 9 は、h P D 1 m A b 7 V H 1 の V H ドメイン（配列番号 1 0 6）に対応し、アミノ酸残基 1 2 0 ~ 2 1 7 は、ヒト I g G 4 C H 1 ドメイン（配列番号 3）に対応し、アミノ酸残基 2 1 8 ~ 2 2 9 は、S 2 2 8 P 置換を含むヒト I g G 4 ヒンジドメインに対応し（配列番号 7）、アミノ酸残基 2 3 0 ~ 2 4 5 は、ヒト I g G 4 C H 2 C H 3 ドメイン（配列番号 1 1、X は不在）に対応する。

【 0 2 4 6 】

抗体 h P D 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P) の完全軽鎖のアミノ酸配列は、定常領域を有し、これは（配列番号 1 8 7）：

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
 LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
 TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
 QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLISKADY EKHKVYACEV
 THQGLSSPVT KSFNRGEC

30

である。

【 0 2 4 7 】

配列番号 1 8 7 では、アミノ酸残基 1 ~ 1 1 1 は、h P D 1 m A b 7 V L 2 の V L ドメイン（配列番号 1 0 9）に対応し、アミノ酸残基 1 1 2 ~ 2 1 8 は、軽鎖 定常領域（配列番号 1 2）に対応する。

【 0 2 4 8 】

I g G 4 定常領域を有する他の例示的な抗 P D 1 抗体は、ヒト抗体であるニボルマブ、及びヒト化抗体であるペンプロリズマブである。これらはそれぞれ上述のように、C L ドメイン、I g G 4 C H 1 ドメイン、安定化 I g G 4 ヒンジ、及び I g G 4 C H 2 C H 3 ドメインを含む。

40

【 0 2 4 9 】

（ r ） P D 1 及び L A G 3 に結合できる例示的な二重特異性分子

上述のように、P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる分子は、二重特異性分子であってよい。特定の実施形態では、二重特異性分子は好ましくは、上述の抗 P D 1 抗体（例えば P D 1 m A b 1、P D 1 m A b 2、P D 1 m A b 3、P D 1 m A b 4、P D 1 m A b 5、P D 1 m A b 6、P D 1 m A

50

b 7、PD 1 mAb 8等、又は表6の抗PD 1抗体のうちのいずれか)のいずれかのVL及びVHドメインと、CD137、LAG 3、OX40、TIGIT、TIM 3又はVISTAのエピトープに結合できる抗体のVL及びVHドメインとを含む。このような二重特異性分子は、ダイアボディ、BiTE(登録商標)、二重特異性抗体、又は3価結合分子であってよい。

【0250】

「DART 1」と呼ばれる、PD 1及びLAG 3に結合できる例示的な二重特異性分子は、4つのポリペプチド鎖を含むダイアボディである。DART 1は、PD 1に対して特異的な2つの結合部位、LAG 3に対して特異的な2つの結合部位、半減期を延長するために操作された変異型IgG4 Fc領域、及びシステイン含有E/Kコイルヘテロ二量体促進ドメインを有する、二重特異性4鎖Fc領域含有ダイアボディである(例えば図3Bを参照)。DART 1の第1及び第3のポリペプチド鎖は、N末端からC末端への方に:N末端;LAG 3に結合できるモノクローナル抗体のVLドメイン(配列番号274中の下線部);介在リンカーペプチド(リンカー1:GGSGGGG(配列番号14));hPD 1 mAb 7 VH1 VHドメイン(配列番号106);システイン含有介在リンカーペプチド(リンカー2:GGCGGG(配列番号15));システイン含有ヘテロ二量体促進(Eコイル)ドメイン(EVAACEK EVAALEK EVAALEK EVAALEK(配列番号29));安定化IgG4ヒンジ領域(配列番号7);アミノ酸置換M252Y/S254T/T256Eを更に含みかつC末端残基を有しない、IgG4 CH2 CH3ドメインの変異型(配列番号11);及びC末端を含む。DART 1の第1及び第3

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPV RFGSGSGGTDT FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGG
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLV QSGAEVKKPG ASVKVSCKAS GYSFTSYWMN
WVRQAPGQGL EWIGVIHPSD SETWLDQKFK DRVITITVDKS TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY CAREHYGTSP FAYWGQGTLV TVSSGGCGGG EVAACEKEVA
ALEKEVAALE KEVAALEKES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT
LYITREPEVT CTVVDVDSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY
RVVSVLTVLH QDNLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTIKAK GQPREPQVYT
LPDSQSEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPPVLD
DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLG

【0251】

DART 1の第2及び第4のポリペプチド鎖は、N末端からC末端への方に:N末端;hPD 1 mAb 7 VL2のVLドメイン(配列番号109);介在リンカーペプチド(リンカー1:GGSGGGG(配列番号14));LAG 3に結合できるモノクローナル抗体のVHドメイン(配列番号275中の下線部);システイン含有介在リンカーペプチド(リンカー2:GGCGGG(配列番号15));システイン含有ヘテロ二量体促進(Kコイル)ドメイン(KVAACKE KVAALKE KVAALKE KVAALKE(配列番号30));及びC末端を含む。DART 1の第2及び第4のポリペプチド鎖のアミノ酸配列は、(配列番号275):

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QKPKGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKEI KGGGSGGGGQ VQLVQSGAEV KKPASGVKVS CKASGYTFTD
YNMDWVRQAP GQGLEWMGDI NPDNGVTIYN QKFEGRVMT TDTSTSTAYM
ELRSLRSDDT AVYYCAREAD YFYFDYWGQG TLTIVSSGGC GGGKVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

である。

【0252】

「DART 2」と呼ばれる、PD 1及びLAG 3に結合できる別の例示的な二重

特異性分子は、DART 1 と同一の構造を有するものの、異なるLAG 3 VL 及び VHドメインを組み込んでいる。

【0253】

2. PD 1 の天然リガンドに対して免疫特異的な結合分子

上述のように、PD 1 の天然リガンド、例えばB7 H1 (PD L1) 及びB7 DC (PD L2) が既に記述されている (Ohigashi et al. (2005) "Clinical Significance Of Programmed Death-1 Ligand-1 And Programmed Death-1 Ligand-2 Expression In Human Esophageal Cancer," Clin. Cancer Res. 11:2947-2953; Dong, H. et al. (1999) "B7-H1, A Third Member Of The B7 Family, Co-Stimulates Cell Proliferation And Interleukin-10 Secretion," Nat. Med. 5:1365-1369; Freeman, G.J. et al. (2000) "Engagement Of The PD-1 Immunoinhibitory Receptor By A Novel B7 Family Member Leads To Negative Regulation Of Lymphocyte Activation," J. Exp. Med. 192:1027-1034; Tseng, S.Y. et al. (2001) "B7-DC, A New Dendritic Cell Molecule With Potent Costimulatory Properties For T Cells," J. Exp. Med 193:839-846; Latchman, Y. et al. (2001) "PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T Cell Activation," Nat. Immunol. 2:261-268; Iwai et al. (2002) "Involvement Of PD-L1 On Tumor Cells In The Escape From Host Immune System And Tumor Immunotherapy By PD-L1 Blockade," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 99:12293-12297)。

10

【0254】

代表的なヒトB7 H1 (PD L1) ポリペプチド (NCBI 配列番号 NP_001254635.1、予想された18アミノ酸シグナル配列を含む) は、アミノ酸配列 (配列番号188) :

20

MRIFAVFIFM TYWLLNAPY NKINQRILVV DPVTSEHELT CQAEGYPKAE
VIWTSSDHQV LSGKTTTTNS KREEKLFNVT STLRINTTTN EIFYCTFRRL
DPEENHTAEL VIPELPLAHP PNERTHLVIL GAILLCLGVA LTFIFRLRKG
RMDVKKCGI QDTNSKKQSD THLEET

を有する。

【0255】

代表的なヒトB7 DC (PD L2) ポリペプチド (NCBI 配列番号 NP_079515.2、予想された18アミノ酸シグナル配列を含む) は、アミノ酸配列 (配列番号189) :

30

MIFLLMLSL ELQLHQIAAL FTVTPKELY IIEHGSNVTLECNFDTGSHV
NLGAIASLQ KVENDTSPHR ERATLLEEQL PLGKASFHIP QVQVRDEGQY
QCIIYGVAV DYKYLTLKVK ASYRKINTHI LKVPETDEVE LTCQATGYPL
AEVSWPNVSV PANTSHSRTP EGLYQVTSVL RLKPPPGRNF SCVFWNTHVR
ELTLASIDLQ SQMEPRTHPT WLLHIFIPFC IIAFIFIATV IALRKQLCQK
LYSSKDTTKR PVTTTKREVN SAI

を有する。

【0256】

B7 H1 及びB7 DC は、アミノ酸配列の34%の相同性を共有しているが、これらの発現は異なる様式で調節されることが示唆されている (Youngnak, P. et al. (2003) "Differential Binding Properties Of B7-H1 And B7-DC To Programmed Death-1," Biochem. Biophys. Res. Commun. 307:672-677; Loke, P. et al. (2003) "PD-L1 And PD-L2 Are Differentially Regulated By Th1 And Th2 Cells," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 100:5336-5341)。PD L1 は、抗原特異的T細胞クローンのアポトーシスを増大させることによって、腫瘍免疫においてある役割を果たすことが示唆されている (Dong et al. (2002) "Tumor-Associated B7-H1 Promotes T-Cell Apoptosis: A Potential Mechanism Of Immune Evasion," Nat Med 8:793-800)。また、B7 H1 が腸粘膜炎症に関与している可能性があり、B7 H1 の阻害によって、大腸炎に関連する消耗性疾患が抑制されることも示唆されている (Kanai et al. (2003) "Blockade Of B7-H1 Supp

40

50

resses The Development Of Chronic Intestinal Inflammation,” J. Immunol. 171:4156-4163)。B7 H1発現は、ヒト肺癌、卵巣癌及び結腸癌、並びに黒色腫において報告されている(Dong et al. (2002) “Tumor-Associated B7-H1 Promotes T-Cell Apoptosis: A Potential Mechanism Of Immune Evasion,” Nat Med 8:793-800)。一方、腫瘍におけるB7 DCの機能は大半が未知のままである(Liu, X. et al. (2003) “B7-DC/PD-L2 Promotes Tumor Immunity By A PD-1-Independent Mechanism,” J. Exp. Med. 197:1721-1730; Radhakrishnan, S. et al. (2004) “Immunotherapeutic Potential Of B7-DC (PD-L2) Cross-Linking Antibody In Conferring Antitumor Immunity,” Cancer Res 64:4965-4972)。癌細胞上でのB7 DC発現は、抗腫瘍免疫の誘導期及びエフェクター期の両方においてCD8 T細胞伸介型拒絶反応を促進することが示されている(Liu, X. et al. (2003) “B7-DC/PD-L2 Promotes Tumor Immunity By A PD-1-Independent Mechanism,” J. Exp. Med. 197:1721-1730)。

10

【0257】

抗B7 H1抗体は、上述のB7 H1アミノ酸配列を有するタンパク質を免疫原として用いて得ることができる。あるいは、PD-1の天然リガンドに結合できる分子の生成に有用な抗B7 H1抗体は、抗ヒトB7 H1抗体アテゾリズマブ(CAS登録番号: 1380723 44 3; MPDL3280Aとしても公知)、デュルバルマブ(CAS登録番号: 1428935 60 7; MEDI 4736としても公知)、アベルマブ、MDX1105(CAS登録番号: 1537032 82 8; BMS 93655 9、5H1としても公知); (米国特許第9, 273, 135号、米国特許第9, 062, 112号、米国特許第8, 981, 063号、米国特許第8, 779, 108号、米国特許第8, 609, 089号及び米国特許第8, 460, 927号; McDermott, D.F. et al. (2016) “Atezolizumab, an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody, in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Long-Term Safety, Clinical Activity, and Immune Correlates From a Phase Ia Study,” J. Clin. Oncol. 34(8):833-842; Antonia, S. et al. (2016) “Safety And Antitumour Activity Of Durvalumab Plus Tremelimumab In Non-Small Cell Lung Cancer: A Multicentre, Phase 1b Study,” Lancet Oncol. 17(3):299-308; Boyerinas, B. et al. (2015) “Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Activity of a Novel Anti-PD-L1 Antibody Avelumab (MSB0010718C) on Human Tumor Cells,” Cancer Immunol Res. 3(10):1148-1157; Katy, K. et al. (2014) “PD-1 And PD-L1 Antibodies For Melanoma,” Hum. Vaccin. Immunother. 10(11):3111-3116; Voena, C. et al. (2016) “Advances In Cancer Immunology And Cancer Immunotherapy,” Discov. Med. 21(114):125-133も参照)の、並びに/又は市販の抗体(例えばウサギ抗ヒトPD-L1モノクローナル、1:25、クローンSP142; Ventana(アリゾナ州トゥーソン)の、VL及び/又はVHドメインを有してよい。

20

30

【0258】

本発明に従って使用してよい例示的な抗ヒトB7 H1抗体としては、アテゾリズマブ、デュルバルマブ及びアベルマブが挙げられる。アテゾリズマブ(WHO Drug Information、2015、Recommended INN: List 74、29(3):387)、デュルバルマブ(WHO Drug Information、2015、Recommended INN: List 74、29(3):393-394)及びアベルマブ(WHO Drug Information、2016、Recommended INN: List 74、30(1):100-101)の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列は、当該技術分野において公知である。

40

【0259】

抗B7 DC抗体は同様に、上述のB7 DCアミノ酸配列を有するタンパク質を免疫原として用いて得ることができる。あるいは、上述の抗B7 DC抗体(例えば2C9、MIH18等)又は市販の抗B7 DC抗体(例えばMIH18、Affymetrix eBioscience)を、本発明に従って採用してよい(米国特許出願公開第2015/0299322号; Ritprajak, P. et al. (2012) “Antibodies Against B7-DC With Differential Binding Properties Exert Opposite Effects,” Hybridoma (Larchmt). 31(1):40-47; Tsushima, F. et al. (2003) “Preferential Contribution Of B7-H1 To Programmed Death-1-Medi

50

ated Regulation Of Hapten-Specific Allergic Inflammatory Responses," Eur. J. Immunol. 33(10):2773-2782を参照)。

【0260】

本発明に従って使用してよい例示的な抗ヒト抗 B 7 D C 抗体は、市販の抗 B 7 D C 抗体 M I H 1 8 (eBioscience, Inc.) である。

【0261】

B . 標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子

標的細胞 (例えば癌細胞又は病原体感染細胞) の標的転換殺滅を仲介する能力を有する、本発明の分子は、好ましくは2つの結合親和性を有する。第1には、上記分子は、エフェクタ細胞の細胞表面分子のエピトープに免疫特異的に結合する能力を有する。第2には、上記分子は、標的細胞の表面上に配列された疾患抗原 (例えば癌抗原又は病原体関連抗原) のエピトープに免疫特異的に結合する能力を有する。両方の結合親和性が合わせて存在することは、標的細胞の部位にエフェクタ細胞を局在化させる (即ちエフェクタ細胞を「標的転換 (redirect)」させる) 役割を果たし、従ってこれは、標的細胞の殺滅を仲介する。上述のように、このような分子は二重特異性であってよく、又は3つ以上のエピトープに結合できるものであってよい。

【0262】

1 . エフェクタ細胞の例示的な細胞表面分子

本明細書中で使用される場合、用語「エフェクタ細胞 (effector cell)」は、標的細胞 (例えば外来細胞、感染細胞又は癌細胞) の殺滅を直接的又は間接的に仲介する細胞を指す。エフェクタ細胞の例としては、ヘルパー T 細胞、細胞傷害性 T 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、形質細胞 (抗体分泌 B 細胞)、マクロファージ及び顆粒球が挙げられる。このような細胞の好ましい細胞表面分子としては、C D 2、C D 3、C D 8、C D 1 6、T C R 及び N K G 2 D 受容体が挙げられる。従って、上記分子のエピトープに、又は他のエフェクタ細胞表面分子に免疫特異的に結合できる分子を、本発明の原理に従って使用してよい。標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子の構築に V H 及び V L ドメインを使用してよい例示的な抗体を、以下に提供する。

【0263】

(a) C D 2 結合能

一実施形態では、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子は、エフェクタ細胞に、上記エフェクタ細胞の表面上に存在する C D 2 のエピトープに免疫特異的に結合することによって結合する。C D 2 に特異的に結合する分子としては、抗 C D 2 抗体「C D 2 m A b L o C D 2 a」が挙げられる。

【0264】

C D 2 m A b L o C D 2 a の V H ドメインのアミノ酸配列 (A T C C 受託番号 : 1 1 4 2 3 ; 配列番号 1 9 0) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLQQSGPE LQRP GASVKL SCKASGYIFT EYYMYWVKQR PKQGLELVGR
IDPEDGSIDY VEKFKKKATL TADTSSNTAY MQLSSLTSED TATYFCARGK
FNYRFAYWGQ GTLVTVSS

【0265】

C D 2 m A b L o C D 2 a の V L ドメインのアミノ酸配列 (A T C C 受託番号 : 1 1 4 2 3 ; 配列番号 1 9 1) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVVLTTQTPPT LLATIGQSVS ISCRSSQSLL HSSGNTYLNW LLQRTGQSPQ
PLIYLVSKLESGVPNRFSGS GSGTDFTLKI SGVEAEDLGV YYCMQFTHYP
YTFGAGTKLE LK

【0266】

(b) C D 3 結合能

一実施形態では、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子は、エフェクタ細胞

胞に、上記エフェクタ細胞の表面上に存在するCD3のエピトープに免疫特異的に結合することによって結合する。CD3に特異的に結合する分子としては、抗CD3抗体「CD3 mAb 1」及び「OKT3」が挙げられる。抗CD3抗体CD3 mAb 1は、非ヒト霊長類（例えばカニクイザル）に結合できる。

【0267】

CD3 mAb 1のVHドメインのアミノ酸配列（配列番号192）を以下に示す（CDR_H残基は下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKDRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS WFAYWGQGTL VTVSS

10

【0268】

CD3 mAb 1のVLドメインのアミノ酸配列（配列番号193）を以下に示す（CDR_L残基は下線を付して示されている）：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
 GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
 GGGTKLTVLG

【0269】

このような抗体の好ましい変異型は「CD3 mAb 1 (D65G)」と呼ばれ、D65G置換を有するCD3 mAb 1 VHドメイン（Kabatt65位、配列番号192の残基68に対応）と、CD3 mAb 1のVLドメイン（配列番号193）とを含む。CD3 mAb 1 (D65G)のVHドメインのアミノ酸配列（配列番号194）を以下に示す（CDR_H残基は下線を付して示されており、置換位置（D65G）は二重下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS WFAYWGQGTL VTVSS

20

【0270】

あるいは、CD3 mAb 1の親和性変異型を採用してよい。変異型としては、「CD3 mAb 1 Low」と呼ばれる低親和性変異型、及び「CD3 mAb 1 Fast」と呼ばれる、オフレートが速い変異型が挙げられる。CD3 mAb 1 Low及びCD3 mAb 1 FastそれぞれのVHドメインのアミノ酸配列を以下に提供する。

30

【0271】

抗ヒトCD3 mAb 1 LowのVHドメインのアミノ酸配列（配列番号195）を以下に示す（CDR_H残基は下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVT WFAYWGQGTL VTVSS

【0272】

抗ヒトCD3 mAb 1 FastのVHドメインのアミノ酸配列（配列番号196）を以下に示す（CDR_H残基は下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HKNFGNSYVT WFAYWGQGTL VTVSS

40

【0273】

CD3 mAb 1のVLドメイン（配列番号193）は、CD3 mAb 1 Low及びCD3 mAb 1 Fastと共通であり、既に提供されている。

【0274】

利用してよい別の抗CD3抗体は、抗体ムロモナブ CD3「OKT3」である（Xu et al. (2000) “In Vitro Characterization Of Five Humanized OKT3 Effector Functio

50

n Variant Antibodies,” Cell. Immunol. 200:16-26); Norman, D.J. (1995) “Mechanisms Of Action And Overview Of OKT3,” Ther. Drug Monit. 17(6):615-620; Canafax, D.M. et al. (1987) “Monoclonal Antilymphocyte Antibody (OKT3) Treatment Of Acute Renal Allograft Rejection,” Pharmacotherapy 7(4):121-124; Swinnen, L.J. et al. (1993) “OKT3 Monoclonal Antibodies Induce Interleukin-6 And Interleukin-10: A Possible Cause Of Lymphoproliferative Disorders Associated With Transplantation,” Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 2(4):670-678)。

【 0 2 7 5 】

OKT3のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号197)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)：

QVQLQQSGAE LARPGASVKM SCKASGYTFT RYTMHWVKQR PGQGLEWIGY
INPSRGYTNY NQKFKDKATL TTDKSSSTAY MLSSLTSED SAVYYCARYY
DDHYCLDYWG QGTTLTVSS

【 0 2 7 6 】

OKT3のVLドメインのアミノ酸配列(配列番号198)を以下に示す(CDR_L残基は下線を付して示されている)：

QIVLTQSPAI MSASPGKVT MTCSASSSVS YMNWYQQKSG TSPKRWIYDT
SKLASGVAH FRGSGSGTSY SLTISGMEAE DAATYYCQQWSSNPFTFGSG
TKLEINR

【 0 2 7 7 】

利用してよい更なる抗CD3抗体としては、国際公開第2008/119566号及び国際公開第2005/118635号に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 2 7 8 】

(c) CD8結合能

一実施形態では、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子は、エフェクタ細胞に、上記エフェクタ細胞の表面上に存在するCD8のエピトープに免疫特異的に結合することによって結合する。CD8に特異的に結合する分子としては、抗CD8抗体「OKT8」及び「TRX2」が挙げられる。

【 0 2 7 9 】

(i) OKT8

OKT8のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号199)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)：

QVQLLESGPE LLKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQS HGKSLEWIGY
IYPYTGGTGY NQKFKNKATL TVDSSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCARNF
RYTYWYFDVW QGTTTVTVSS

【 0 2 8 0 】

OKT8のVLドメインのアミノ酸配列(配列番号200)を以下に示す(CDR_L残基は下線を付して示されている)：

DIVMTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD SYDNSLMHWY QQKPGQPPKV
LIYLASNLESGVPARFSGSG SRTDFTLTID PVEADDAATY YCQQNNEDPY
TFGGGTKLEI KR

【 0 2 8 1 】

(ii) TRX2

TRX2のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号201)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)：

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS DFGMNWRQA PGKGLEWVAL
IYYDGSNKFY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKPH
YDGYHHFFDSWGQGTLLTVS S

【 0 2 8 2 】

T R X 2 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 0 2 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKGSQDIN NYLAWYQQKP GKAPKLLIYN
TDILHTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLPQ EDIATYYCYQ YNNGYTFGQG
 TKVEIK

【 0 2 8 3 】

（ d ） C D 1 6 結合能

一実施形態では、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子は、エフェクタ細胞に、上記エフェクタ細胞の表面上に存在する C D 1 6 のエピトープに免疫特異的に結合することによって結合する。C D 1 6 に特異的に結合する分子としては、抗 C D 1 6 抗体「3 G 8」及び「A 9」が挙げられる。ヒト化 A 9 抗体は、国際公開第 0 3 / 1 0 1 4 8 5 号に記載されている。

【 0 2 8 4 】

（ i ） 3 G 8

3 G 8 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 0 3 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

QVTLKESGPG ILQPSQTLST TCSFSGFSLR TSGMGVGVIR QPSGKGLEWL
AHIWWDDDKRYNPALKSRIT ISKDTSSNQV FLKIASVDTA DTATYYCAQI
NPAWFAYWGQ GTLVTVSA

【 0 2 8 5 】

3 G 8 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 0 4 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DTVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD FDGDSFMNWW QQKPGQPPKL
LIYTTSNLESGIPARFSASG SGTDFTLNIH PVEEEDTATY YCQSNEDPY
TFGGGKLEI K

【 0 2 8 6 】

（ i i ） A 9

A 9 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 0 5 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

QVQLQQSGAE LVRPGTSVKI SCKASGYTFT NYWLGWVKQR PGHGLEWIGD
IYPGGGYTNY NEKFKGKATV TADTSSRTAY VQVRSLSLSED SAVYFCARSA
SWYFDVWGAR TTVTVSS

【 0 2 8 7 】

A 9 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 0 6 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DIQAVVTQES ALTTSPGETV TLTCRSNTGT VTTSNYANWV QEKPDHLFTG
LIGHTNNRAPGVPARFSGSL IGDKAALTIT GAQTEDEAIY FCALWYNNHW
VFGGGTKLTVL

【 0 2 8 8 】

利用してよい更なる抗 C D 1 9 抗体としては、国際公開第 0 3 / 1 0 1 4 8 5 号及び国際公開第 2 0 0 6 / 1 2 5 6 6 8 号に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 2 8 9 】

（ e ） T C R 結合能

一実施形態では、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子は、エフェクタ細胞に、上記エフェクタ細胞の表面上に存在する T C R のエピトープに免疫特異的に結合することによって結合する。

【 0 2 9 0 】

T 細胞受容体に特異的に結合する分子としては、抗 T C R 抗体「B M A 0 3 1」が挙げられる（欧州特許第 0 4 0 3 1 5 6 号；Kurrie, R. et al. (1989) “BMA 031 - A TCR-S

10

20

30

40

50

pecific Monoclonal Antibody For Clinical Application,” Transplant Proc. 21(1 Pt 1):1017-1019; Nashan, B. et al. (1987) “Fine Specificity Of A Panel Of Antibodies Against The TCR/CD3 Complex,” Transplant Proc. 19(5):4270-4272; Shearman, C.W. et al. (1991) “Construction, Expression, And Biologic Activity Of Murine/Human Chimeric Antibodies With Specificity For The Human / T Cell,” J. Immunol. 146(3):928-935; Shearman, C.W. et al. (1991) “Construction, Expression And Characterization of Humanized Antibodies Directed Against The Human / T Cell Receptor,” J. Immunol. 147(12):4366-4373)。

【 0 2 9 1 】

B M A 0 3 1 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 0 7) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYKFT SYVMHWVRQA PGQGLEWIGY
INPYNDVTKY NEKFGRVTI TADKSTSTAY LQMNSLRSED TAVHYCARGS
YYDYDGFVYW GQGLTVTVSS

【 0 2 9 2 】

B M A 0 3 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 0 8) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCSATSSVS YMHYQQKPG KAPKRWIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISLQPE DFATYYCQW SSNPLTFGQG
TKLEIK

【 0 2 9 3 】

(f) N K G 2 D 結合能

一実施形態では、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子は、エフェクタ細胞に、上記エフェクタ細胞の表面上に存在する N K G 2 D 受容体のエピトープに免疫特異的に結合することによって結合する。N K G 2 D 受容体に特異的に結合する分子としては、抗 N K G 2 D 抗体「K Y K 1 . 0」及び「K Y K 2 . 0」が挙げられる (Kwong, K Y et al. (2008) “Generation, Affinity Maturation, And Characterization Of A Human Anti-Human NKG2D Monoclonal Antibody With Dual Antagonistic And Agonistic Activity,” J. Mol. Biol. 384:1143-1156 ; 及び P C T / U S 0 9 / 5 4 9 1 1)。

【 0 2 9 4 】

(i) K Y K 1 . 0

K Y K 1 . 0 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 0 9) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAF
IRYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTKY LQMNSLRAED TAVYYCAKDR
FGYYLDYWGG GTLTVTVSS

【 0 2 9 5 】

K Y K 1 . 0 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 1 0) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

QPVLTPQSSV SVAPGETARI PCGGDDIETK SVHWYQQKPG QAPVLVIYDD
DDRPSGIPER FFGSNSGNTA TLSISRVEAG DEADYYCQVWDDNDEWVFG
GGTQLTVL

【 0 2 9 6 】

(i i) K Y K 2 . 0

K Y K 2 . 0 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 1 1) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAF
IRYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDR
GLGDGTYFDYW GQGTTTVTS S

【 0 2 9 7 】

K Y K 2 . 0 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 1 2 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

QSALTQPASV SGSPGQSITI SC SGSSSNIG NNAVNWYQQL PGKAPKLLIY
YDDLPSGVS DRFSGSKSGT SAFLAISGLQ SEDEADYYCAAWDDSLNGPV
FGGGTKLTVL

【 0 2 9 8 】

C . 癌細胞の表面上に配列された例示的な癌抗原

本明細書中で使用される場合、用語「癌抗原（cancer antigen）は、癌細胞の表面上に特徴的に発現し、従って抗体系分子又は免疫変調分子によって治療され得る、抗原を指す。癌抗原の例としては、限定するものではないが：結腸癌、胃癌ムチンにおいて確認される 1 9 . 9 ; 4 . 2 ; A 3 3 （結腸直腸癌抗原；Almqvist, Y. (2006), “In vitro and in vivo Characterization of 177Lu-huA33: A Radioimmunoconjugate Against Colorectal Cancer,” Nucl Med Biol. 33(8):991-998）；A D A M 9 （米国公開特許第 2 0 0 6 / 0 1 7 2 3 5 0 号；国際公開第 0 6 / 0 8 4 0 7 5 号）；胃癌において確認される A H 6 ；A L C A M （国際公開第 0 3 / 0 9 3 4 4 3 号）；A P O 1 （悪性ヒトリンパ球抗原）(Trauth, B.C. et al.(1989) “Monoclonal Antibody-Mediated Tumor Regression By Induction Of Apoptosis,” Science 245:301-304)；B 1 (Egloff, A.M. et al. (2006), “Cyclin B1 And Other Cyclins As Tumor Antigens In Immunosurveillance And Immunotherapy Of Cancer,” Cancer Res. 66(1):6-9）；B 7 H 3 (Collins, M. et al. (2005) “The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands,” Genome Biol. 6:223.1-223.7) . Chapoval, A. et al. (2001) “B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN- γ Production,” Nature Immunol. 2:269-274; Sun, M. et al. (2002) “Characterization of Mouse and Human B7-H3 Genes,” J. Immunol. 168:6294-6297）；B A G E (Bodey, B. (2002) “Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy,” Expert Opin Biol Ther. 2(6):577-84）；ベータ カテニン (Prange W. et al. (2003) “Beta-Catenin Accumulation In The Progression Of Human Hepatocarcinogenesis Correlates With Loss Of E-Cadherin And Accumulation Of P53, But Not With Expression Of Conventional WNT-1 Target Genes,” J. Pathol. 201(2):250-259）；結腸腺癌において確認される血液型 A L e^b / A L e^y；結腸腺癌において確認されるパーキットリンパ腫抗原 3 8 . 1 3 ；C 1 4 ；C A 1 2 5 （卵巣癌抗原）(Bast, R.C. Jr. et al. (2005) “New Tumor Markers: CA125 And Beyond,” Int J Gynecol Cancer 15(Suppl 3):274-281; Yu et al.(1991) “Coexpression Of Different Antigenic Markers On Moieties That Bear CA 125 Determinants,” Cancer Res.51(2):468-475）；カルボキシペプチダーゼ M （米国公開特許第 2 0 0 6 / 0 1 6 6 2 9 1 号）；C D 5 (Calin, G.A. et al. (2006) “Genomics Of Chronic Lymphocytic Leukemia MicroRNAs As New Players With Clinical Significance,” Semin Oncol. 33(2): 167-173）；C D 1 9 (Ghetie et al. (1994) “Anti-CD19 Inhibits The Growth Of Human B-Cell Tumor Lines In Vitro And Of Daudi Cells In SCID Mice By Inducing Cell Cycle Arrest,” Blood 83:1329-1336; Troussard, X. et al. 1998 Hematol Cell Ther. 40(4): 139-48）；C D 2 0 (Reff et al. (1994) “Depletion Of B Cells In Vivo By A Chimeric Mouse Human Monoclonal Antibody To CD20,” Blood83:435-445; Thomas, D.A. et al. 2006 Hematol Oncol Clin North Am. 20(5): 1125-36）；C D 2 2 (Kreitman, R.J. (2006) “Immunotoxins For Targeted Cancer Therapy,” AA PS J. 18;8(3):E532-51）；C D 2 3 (Rosati, S. et al. (2005) “Chronic Lymphocytic Leukaemia: A Review Of The Immuno-Architecture,” Curr Top Microbiol Immunol. 294:91-107）；C D 2 5 (Troussard, X. et al. (1998) “Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?” Hematol Cell Ther. 40(4): 139-148）；C D 2 7 (Bataille, R. (2006) “The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of “Many And Multiple Myelomas” And Of New Targets For Myeloma Therapy,” Haematologica 91(9): 1234-1240）；C D 2 8 (Batai

Ile, R. (2006) "The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy," *Haematologica* 91(9): 1234-1240) ; C D 3 3 (Sgouros et al. (1993) "Modeling And Dosimetry Of Monoclonal Antibody M195 (Anti-CD33) In Acute Myelogenous Leukemia," *J. Nucl. Med.* 34:422-430) ; C D 3 6 (Ge, Y. (2005) *Lab Hematol.* 11(1):31-7) ; C D 4 0 / C D 1 5 4 (Messmer "CD36: A Multiligand Molecule," D. et al. 2005 *Ann N Y Acad Sci.* 1062:51-60) ; C D 4 5 (Jurcic, J.G. (2005) "Immunotherapy For Acute Myeloid Leukemia," *Curr Oncol Rep.* 7(5):339-346) ; C D 5 6 (Bataille, R. (2006) "The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy," *Haematologica* 91(9): 1234-40) ; C D 4 6 (米国特許第 7 , 1 4 8 , 0 3 8 号 ; 国際公開第 0 3 / 0 3 2 8 1 4 号) ; C D 5 2 (Eketorp, S.S. et al. (2014) "Alemtuzumab (Anti-CD52 Monoclonal Antibody) As Single-Agent Therapy In Patients With Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukaemia (CLL)-A Single Region Experience On Consecutive Patients," *Ann Hematol.* 93(10):1725-1733; Suresh, T. et al. (2014) "New Antibody Approaches To Lymphoma Therapy," *J. Hematol. Oncol.* 7:58; Hoelzer, D. (2013) "Targeted Therapy With Monoclonal Antibodies In Acute Lymphoblastic Leukemia," *Curr. Opin. Oncol.* 25(6):701-706) ; C D 5 6 (Bataille, R. (2006) "The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy," *Haematologica* 91(9):1234-1240) ; C D 7 9 a / C D 7 9 b (Troussard, X. et al. (1998) "Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?" *Hematol. Cell. Ther.* 40(4): 139-148 ; Chu, P.G. et al. (2001) "CD79: A Review," *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 9(2):97-106) ; C D 1 0 3 (Troussard, X. et al. (1998) "Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?" *Hematol. Cell. Ther.* 40(4):139-148) ; C D 3 1 7 (Kawai, S. et al. (2008) "Interferon- Enhances CD317 Expression And The Antitumor Activity Of Anti-CD317 Monoclonal Antibody In Renal Cell Carcinoma Xenograft Models," *Cancer Science* 99(12):2461-2466; Wang, W. et al. (2009) HM1.24 (CD317) Is A Novel Target Against Lung Cancer For Immunotherapy Using Anti-HM1.24 Antibody," *Cancer Immunology, Immunotherapy* 58(6):967-976; Wang, W. et al. (2009) "Chimeric And Humanized Anti-HM1.24 Antibodies Mediate Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Against Lung Cancer Cells. *Lung Cancer*," 63(1):23-31; Sayeed, A. et al. (2013) "Aberrant Regulation Of The BST2 (Tetherin) Promoter Enhances Cell Proliferation And Apoptosis Evasion In High Grade Breast Cancer Cells," *PLoS ONE* 8(6)e67191, pp. 1-10) ; C D K 4 (Lee, Y.M. et al. (2006) "Targeting Cyclins And Cyclin-Dependent Kinases In Cancer: Lessons From Mice, Hopes For Therapeutic Applications In Human," *Cell Cycle* 5(18):2110-2114) ; C E A (癌胎児性抗原 ; Foon et al. (1995) "Immune Response To The Carcinoembryonic Antigen In Patients Treated With An Anti-Idiotypic Antibody Vaccine," *J. Clin. Invest.* 96(1):334-42) ; Mathelin, C. (2006) "Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer," *Gynecol. Obstet. Fertil.* 34(7-8):638-646 ; Tellez-Avila, F.I. et al. (2005) "The Carcinoembryonic Antigen: Apropos Of An Old Friend," *Rev. Invest. Clin.* 57(6):814-819) ; C E A C A M 5 / C E A C A M 6 (Zheng, C. et al. (2011) "A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity," *PLoS One* 6(6):e21146, pp. 1-11) ; C O 1 7 - 1 A (Raghammar et al. (1993) "Effect Of Monoclonal Antibody 17-1A And GM-CSF In Patients With Advanced Colorectal Carcinoma - Long-Lasting, Complete Remissions Can Be Induced," *Int. J. Cancer* 53:751-758) ; C O 4 3 (血液型 L e ^b) ; 腺癌において確認される C O 5 1 4 (血液型 L e ^a) ; C T A 1 : C T L A 4 (Peggs, K.S. et

- al. (2006) "Principles And Use Of Anti-CTLA4 Antibody In Human Cancer Immunotherapy," *Curr. Opin. Immunol.* 18(2):206-13 ; サイトケラチン 8 (国際公開第 0 3 / 0 2 4 1 9 1 号) ; D 1 . 1 ; D₁ 5 6 2 2 ; D R 5 (Abdulghani, J. et al. (2010) "TRAIL Receptor Signaling And Therapeutics," *Expert Opin. Ther. Targets* 14(10): 1091-1108; Andera, L. (2009) "Signaling Activated By The Death Receptors Of The TNFR Family," *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub.* 153(3): 173-180; Carlo-Stella, C. et al. (2007) "Targeting TRAIL Agonistic Receptors for Cancer Therapy," *Clin. Cancer* 13(8):2313-2317; Chaudhari, B.R. et al. (2006) "Following the TRAIL to Apoptosis," *Immunologic Res.* 35(3):249-262 ; 脾臓癌において確認される E 1 シリーズ (血液型 B) ; E G F R (表皮成長因子受容体 ; Adenis, A. et al. (2003) "Inhibitors Of Epidermal Growth Factor Receptor And Colorectal Cancer," *Bull. Cancer.* 90 Spec No:S228-S232) ; エフリン受容体 (及び特に E p h A 2 (米国特許第 7 , 5 6 9 , 6 7 2 号 ; 国際公開第 0 6 / 0 8 4 2 2 6 号) ; E r b (E r b B 1 ; E r b B 3 ; E r b B 4 ; Zhou, H. et al. (2002) "Lung Tumorigenesis Associated With Erb-B-2 And Erb-B-3 Overexpression In Human Erb-B-3 Transgenic Mice Is Enhanced By Methylnitrosourea," *Oncogene* 21(57):8732-8740 ; Rimon, E. et al. (2004) "Gonadotropin-Induced Gene Regulation In Human Granulosa Cells Obtained From IVF Patients: Modulation Of Genes Coding For Growth Factors And Their Receptors And Genes Involved In Cancer And Other Diseases," *Int J Oncol.* 24(5): 13 25-1338) ; G A G E (G A G E 1 ; G A G E 2 ; Akcakanat, A. et al. (2006) "Heterogeneous Expression Of GAGE, NY-ESO-1, MAGE-A and SSX Proteins In Esophageal Cancer: Implications For Immunotherapy," *Int J Cancer.* 118(1): 123-128) ; G D 2 / G D 3 / G M 2 (Livingston, P.O. et al. (2005) "Selection Of GM2, Fucosyl GM1, Globo H And Polysialic Acid As Targets On Small Cell Lung Cancers For Antibody-Mediated Immunotherapy," *Cancer Immunol Immunother.* 54(10): 1018-1025) ; ガングリオシド G D 2 (G_{D2} ; Saleh et al. (1993) "Generation Of A Human Anti-Idiotypic Antibody That Mimics The GD2 Antigen," *J. Immunol.*, 151, 3390-3398) ; ガングリオシド G D 3 (G_{D3} ; Shitara et al. (1993) "A Mouse/Human Chimeric Anti-(Ganglioside GD3) Antibody With Enhanced Antitumor Activities," *Cancer Immunol. Immunother.* 36:373-380) ; ガングリオシド G M 2 (G_{M2} ; Livingston et al. (1994) "Improved Survival In Stage III Melanoma Patients With GM2 Antibodies: A Randomized Trial Of Adjuvant Vaccination With GM2 Ganglioside," *J. Clin. Oncol.* 12:1036-1044) ; ガングリオシド G M 3 (G_{M3} ; Hoon et al. (1993) "Molecular Cloning Of A Human Monoclonal Antibody Reactive To Ganglioside GM3 Antigen On Human Cancers," *Cancer Res.* 53:5244-5250) ; G I C A 1 9 9 (Herlyn et al. (1982) "Monoclonal Antibody Detection Of A Circulating Tumor-Associated Antigen. I. Presence Of Antigen In Sera Of Patients With Colorectal, Gastric, And Pancreatic Carcinoma," *J. Clin. Immunol.* 2:135-140) ; g p 1 0 0 (Lotem, M. et al. (2006) "Presentation Of Tumor Antigens By Dendritic Cells Genetically Modified With Viral And Nonviral Vectors," *J. Immunother.* 29(6): 616-27) ; g p 3 7 (ヒト白血病 T 細胞抗原 ; Bhatta charya-Chatterjee et al. (1988) "Idiotypic Vaccines Against Human T Cell Leukemia . II. Generation And Characterization Of A Monoclonal Idiotypic Cascade (Abl, Ab2 , and Ab3), " *J. Immunol.* 141 :1398-1403) ; g p 7 5 (黒色腫抗原 ; Vijayasardahl et al. (1990) "The Melanoma Antigen Gp75 Is The Human Homologue Of The Mouse B (Brown) Locus Gene Product, " *J. Exp. Med.* 171(4): 1375-1380) ; g p A 3 3 (Heath , J.K. et al. (1997) "The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The Immunoglobulin Superfamily," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S .A.)* 94(2):469-474; Ritter, G. et al. (1997) "Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236(3

):682-686; Wong, N.A. et al. (2006) "EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's Metaplasia," J. Clin. Pathol. 59(3):260-263 ; H E R 2 抗原 (H E R 2 / n e u 、 p 1 8 5 ^{HER2} ; Pal, S.K. et al. (2006) "Targeting HER2 Epitopes," Semin Oncol. 33(4):386-391) ; H M F G (ヒト乳脂肪小球抗原 ; 国際公開第 1 9 9 5 0 1 5 1 7 1 号) ; ヒトパピローマウイルス E 6 / ヒトパピローマウイルス E 7 (DiMaio, D. et al. (2006) "Human Papillomaviruses And Cervical Cancer," Adv Virus Res. 66: 125-59 ; H M W M A A (高分子量黒色腫抗原 ; Natali et al. (1987) "Immunohistochemical Detection Of Antigen In Human Primary And Metastatic Melanomas By The Monoclonal Antibody 140.240 And Its Possible Prognostic Significance," Cancer 59:55-63 ; Mitelman et al. (1990) "Active Specific Immunotherapy In Patients With Melanoma. A Clinical Trial With Mouse Antiidiotypic Monoclonal Antibodies Elicited With Syngeneic Anti-High-Molecular-Weight-Melanoma-Associated Antigen Monoclonal Antibodies," J. Clin. Invest. 86:2136-2144) ; I 抗原 (分化抗原 ; Feizi (1985) "Demonstration By Monoclonal Antibodies That Carbohydrate Structures Of Glycoproteins And Glycolipids Are Onco-Developmental Antigens," Nature 314:53-57) ; I L 1 3 R 2 (国際公開第 2 0 0 8 / 1 4 6 9 1 1 号 ; Brown, C.E. et al. (2013) "Glioma IL13 R 2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis," PLoS One. 18;8(10):e77769; Barderas, R. et al. (2012) "High Expression Of IL-13 Receptor 2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis," Cancer Res. 72(11):2780-2790; Kasaian, M.T. et al. (2011) "IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13R 2," J. Immunol. 187(1):561-569; Bozinov, O. et al. (2010) "Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13Ralpha2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas," Neurol. Med. Chir. (Tokyo) 50(8):617-621; Fujisawa, T. et al. (2009) "A novel role of interleukin-13 receptor alpha2 in pancreatic cancer invasion and metastasis," Cancer Res. 69(22):8678-8685) ; インテグリン 6 (国際公開第 0 3 / 0 8 7 3 4 0 号) ; J A M 3 (国際公開第 0 6 / 0 8 4 0 7 8 号) ; K I D 3 (国際公開第 0 5 / 0 2 8 4 9 8 号) ; K I D 3 1 (国際公開第 0 6 / 0 7 6 5 8 4 号) ; K S 1 / 4 汎癌抗原 (Perez et al. (1989) "Isolation And Characterization Of A cDNA Encoding The Ksl/4 Epithelial Carcinoma Marker," J. Immunol. 142:3662-3667 ; Moller et al. (1991) "Bispecific-Monoclonal-Antibody-Directed Lysis Of Ovarian Carcinoma Cells By Activated Human T Lymphocytes," Cancer Immunol. Immunother. 33(4):210-216 ; Ragupathi, G. 2005 Cancer Treat Res. 123: 157-80) ; L 6 及び L 2 0 (ヒト肺癌抗原) (Hellstrom et al. (1986) "Monoclonal Mouse Antibodies Raised Against Human Lung Carcinoma," Cancer Res. 46:3917-3923) ; L E A ; L U C A 2 (米国公開特許第 2 0 0 6 / 0 1 7 2 3 4 9 号 ; 国際公開第 0 6 / 0 8 3 8 5 2 号) ; M 1 : 2 2 : 2 5 : 8 ; M 1 8 ; M 3 9 ; M A G E (M A G E 1 ; M A G E 3) (Bodey, B. (2002) "Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy," Expert Opin. Biol. Ther. 2(6):577-584) ; M A R T (Kounalakis, N. et al. (2005) "Tumor Cell And Circulating Markers In Melanoma: Diagnosis, Prognosis, And Management," Curr. Oncol. Rep. 7(5):377-382) ; メソセリン (Chang, K. et al. (1996) "Molecular Cloning Of Mesothelin, A Differentiation Antigen Present On Mesothelium, Mesotheliomas, And Ovarian Cancers," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 93:136-140) ; M U C 1 (Matelin, C. (2006) "Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer," Gynecol. Obstet. Fertil. 34(7-8):638-646) ; M U M 1 (Castelli, C. et al. (2000) "T-Cell Recognition Of Melanoma-Associated Antigens," J. Cell. Physiol. 182(3):323-331) ; N アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ (Dennis, J.W. (1999) "Glycoprotein Glycosylation And Cancer Progression," Biochim Biophys Acta. 6;1473(I):21-34) ; ネオ糖タンパク質 ; 腺癌において確認される N S 1 0 ; O F A 1 ; O F A

2 ; オンコスタチン M (オンコスタチン受容体ベータ ; 米国特許第 7 , 5 7 2 , 8 9 6 号 ; 国際公開第 0 6 / 0 8 4 0 9 2 号) ; p 1 5 (Gil, J. et al. (2006) " Regulation Of The INK4b-ARF-INK4a Tumour Suppressor Locus: All For One Or One For All, " Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 7(9):667-677) ; p 9 7 (黒色腫関連抗原 ; Estlin et al. (1989) " Transfected Mouse Melanoma Lines That Express Various Levels Of Human Melanoma-Associated Antigen p97, " J. Natl. Cancer Instit. 81(6):445-454) ; P E M (多型性上皮ムチン ; Hilkens et al.(1992) " Cell Membrane-Associated Mucins And Their Adhesion-Modulating Property, " Trends in Biochem. Sci.17:359-363) ; P E M A (多型性上皮ムチン抗原) ; P I P A (米国特許第 7 , 4 0 5 , 0 6 1 号 ; 国際公開第 0 4 / 0 4 3 2 3 9 号) ; P S A (前立腺特異性抗原 ; Henttu et al. (1989) " cDNA Coding For The Entire Human Prostate Specific Antigen Shows High Homologies To The Human Tissue Kallikrein Genes, " Biochem. Biophys. Res. Comm.10(2):903-910; Israeli et al.(1993) " Molecular Cloning Of A Complementary DNA Encoding A Prostate-Specific Membrane Antigen, " Cancer Res.53:227-230; Cracco, C.M. et al. (2005) " Immune Response In Prostate Cancer, " Minerva Urol Nefrol. 57(4):301-311) ; P S M A (前立腺特異性膜抗原 ; Ragupathi, G. (2005) " Antibody Inducing Polyvalent Cancer Vaccines, " Cancer Treat. Res. 123: 157-180) ; 前立腺酸性ホスファターゼ (Taylor et al. (1990) "Nucleotide Sequence Of Human Prostatic Acid Phosphatase Determined From A Full-Length cDNA Clone, " Nucl. Acids Res. 18(16):4928) ; 黒色腫において確認される R₂₄ ; R O R 1 (米国特許第 5 , 8 4 3 , 7 4 9 号) ; スフィンゴ脂質 ; S S E A 1 ; S S E A 3 ; S S E A 4 ; s T n (Holmberg, L.A. (2001) " Theratope Vaccine (STn-KLH), " Expert Opin Biol Ther. 1(5):881-91) ; 皮膚 T 細胞リンパ腫からの T 細胞受容体由来ペプチド (Edelson (1998) "Cutaneous T-Cell Lymphoma: A Model For Selective Immunotherapy, " Cancer J Sci Am. 4:62-71を参照) ; 骨髄細胞において確認される T₅A₇ ; T A G 7 2 (Yokota et al. (1992) "Rapid Tumor Penetration Of A Single-Chain Fv And Comparison With Other Immunoglobulin Forms, " Cancer Res. 52:3402-3408) ; T L 5 (血液型 A) ; T N F 受容体 (T N F 受容体、T N F 受容体 ; T N F 受容体) (van Horssen, R. et al. (2006) " TNF-Alpha In Cancer Treatment: Molecular Insights, Antitumor Effects, And Clinical Utility , " Oncologist 11(4):397-408 ; Gardnerova, M. et al. (2000) " The Use Of TNF Family Ligands And Receptors And Agents Which Modify Their Interaction As Therapeutic Agents, " Curr. Drug Targets 1(4):327-364) ; T R A 1 8 5 (血液型 H) ; トランスフェリン受容体 (米国特許第 7 , 5 7 2 , 8 9 5 号 ; 国際公開第 0 5 / 1 2 1 1 7 9 号) ; 5 T 4 (T P B G、栄養膜糖タンパク質 ; Boghaert, E.R. et al. (2008) " The Oncofetal Protein, 5T4, Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin, " Int. J. Oncol. 32(1):221-234; Eisen, T. et al. (2014) " Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin , " Curr. Oncol. Rep. 16:370, pp. 1-6) ; D N A 腫瘍ウイルスの T 抗原及び R N A 腫瘍ウイルスのエンベロープを含む抗原ウイルス誘発型腫瘍抗原や、結腸、膀胱腫瘍胎児抗原の C E A といった癌胎児抗原 アルファ フェトプロテイン等の、胚性癌細胞において確認される T S T A 腫瘍特異性移植抗原 (Hellstrom et al.(1985) "Monoclonal Antibodies To Cell Surface Antigens Shared By Chemically Induced Mouse Bladder Carcinomas, " Cancer. Res. 45 :2210-2188) ; V E G F (Pietrantonio, F. et al. (2015) " Bevacizumab-Based Neoadjuvant Chemotherapy For Colorectal Cancer Liver Metastases: Pitfalls And Helpful Tricks In A Review For Clinicians, " Crit. Rev. Oncol. Hematol. 95(3):272-281; Grabowski, J.P. (2015) " Current Management Of Ovarian Cancer, " Minerva Med. 106(3):151-156; Field, K.M. (2015) " Bevacizumab And Glioblastoma: Scientific Review, Newly Reported Updates, And Ongoing Controversies, " Cancer 121(7):997-1007; Suh, D.H. et al. (2015) " Major Clinical Research Advances In Gynecologic Cancer In 2014, " J. Gynecol. Oncol. 26(2):156-167; Liu, K.J. et

al. (2015) "Bevacizumab In Combination With Anticancer Drugs For Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer," Tumour Biol. 36(3):1323-1327; Di Bartolomeo, M. et al. (2015) "Bevacizumab Treatment In The Elderly Patient With Metastatic Colorectal Cancer," Clin. Interv. Aging 10:127-133); VEGF 受容体 (O'Dwyer, P.J. (2006) "The Present And Future Of Angiogenesis-Directed Treatments Of Colorectal Cancer," Oncologist. 11(9):992-998); VEP 8; VEP 9; VIM D 5; 並びに胚性癌細胞において確認される Y ヘプタン、Le^y が挙げられる。

更なる癌抗原及びこれらに結合する分子(例えば抗体)は、表 10 に開示されている。5 T 4、B 7 H 3、CEACAM 5 / CEACAM 6、CD 1 2 3、DR 5、EGFR、エフリン受容体、gpA 3 3、HER 2 / neu、IL 1 3 R 2、ROR 1、及び VEGF は、本発明の特に好ましい「癌抗原」である。 10

【 0 2 9 9 】

【表 1 0】

表 1 0 抗体及び抗体系分子		
抗体の名称	癌抗原	治療標的用途
3F8	Gd2	神経芽細胞腫
8H9	B7-H3	神経芽細胞腫、肉腫、転移性脳癌
アバゴボマブ	CA-125	卵巣癌
アデカツムマブ	Epcam	前立腺及び乳癌
アフツズマブ	CD20	リンパ腫
アラシズマブ	VEGFR2	癌
アルツモマブ	CEA	結腸直腸癌
アマツキシマブ	メソセリン	癌
アナツモマブマ フェナトクス	TAG-72	非小細胞肺癌
アニフロルマブ	インターフェロン A/B 受容体	全身性エリテマトーデス
アンルキンズマ ブ	IL-13	癌
アポリズマブ	HLA-DR	血液癌
アルシツモマブ	CEA	胃腸癌
アティヌマブ	RTN4	癌
ベクツモマブ	CD22	非ホジキンリンパ腫 (検出)
ベリムマブ	BAFF	非ホジキンリンパ腫
ベバシズマブ	VEGF-A	転移性癌、未熟児の網膜症
ビバツズマブ	CD44 V6	扁平上皮癌
ブリナツモマブ	CD19	癌
ブレンツキシマ ブ	CD30 (TNFRSF8)	血液癌
カンツズマブ	MUC1	癌
カンツズマブメ ルタンシン	ムチン CanAg	結腸直腸癌
カプラシズマブ	VWF	癌
カプロマブ	前立腺癌腫細胞	前立腺癌 (検出)
カルルマブ	MCP-1	腫瘍/免疫指標
カツマキシマブ	Epcam, CD3	卵巣癌、悪性腹水、胃癌
Cc49	Tag-72	腫瘍検出
セツキシマブ	EGFR	転移性結腸直腸癌、及び頭頸部癌
Ch.14.18	未決定	神経芽細胞腫
シタツズマブ	Epcam	卵巣癌及び他の固形腫瘍
シキスツムマブ	IGF-1 受容体	固形腫瘍
クリバツズマブ	MUC1	膵臓癌
コナツムマブ	TRAIL-R2	癌
ダセツズマブ	CD40	血液癌
ダロツズマブ	インスリン様成長因子 I 受容体	癌
ドラツムマブ	CD38	癌

10

20

30

40

表 1 0 抗体及び抗体系分子		
抗体の名称	癌抗原	治療標的用途
デムシズマブ	DLL4	癌
デツモマブ	B-リンパ腫細胞	リンパ腫
ドロジツマブ	DR5	癌
ドゥリゴツマブ	HER3	癌
ドゥシギツマブ	ILGF2	癌
エクロメキシマブ	GD3 ガングリオシド	悪性黒色腫
エクリズマブ	C5	発作性夜間ヘモグロビン尿症
エドレコロマブ	Epcam	結腸直腸癌
エロツズマブ	SLAMF7	多発性骨髄腫
エルシリモマブ	IL-6	癌
エナバツズマブ	TWEAK 受容体	癌
エンリモマブ	ICAM-1 (CD54)	癌
エノキズマブ	IL9	喘息
エノチクマブ	DLL4	癌
エンシツキシマブ	5AC	癌
エピツモマブ ツキセタン	エピシアリン	癌
エプラツズマブ	CD22	癌、SLE
エルツマキシマブ	HER2/Neu, CD3	乳癌
エタラシズマブ	インテグリン $A_v\beta_3$	黒色腫、前立腺癌、卵巣癌
ファラリモマブ	インターフェロン受容体	癌
ファーレッツズマブ	葉酸塩受容体 1	卵巣癌
ファシヌマブ ^[51]	HNGF	癌
Fbta05	CD20	慢性リンパ球性白血病
フィクラツズマブ	HGF	癌
フィギツムマブ	IGF-1 受容体	副腎皮質癌、非小細胞肺癌
フランボツマブ	TYRP1 (糖タンパク質 75)	黒色腫
フォントリズマブ	IFN- γ	クローン病
フレソリムマブ	TGF-B	特発性肺線維症、焦点区域糸球体硬化症、癌
フツキシマブ	EGFR	癌
ガリキシマブ	CD80	B 細胞リンパ腫
ガニツマブ	IGF-I	癌
ゲムツズマブ オゾガマイシン	CD33	急性骨髄性白血病
ゲボキズマブ	IL-1 β	糖尿病

10

20

30

40

表 1 0 抗体及び抗体系分子		
抗体の名称	癌抗原	治療標的用途
ギレンツキシマブ	炭酸脱水酵素 9 (CA-IX)	腎明細胞癌 ^[64]
グレンバツムマブ ベドチン	GPNMB	黒色腫、乳癌
ゴリムマブ	TNF-A	関節リウマチ、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎
グセルクマブ	IL13	乾癬
イブリツモマブ チウキセタン	CD20	非ホジキンリンパ腫
イクルクマブ	VEGFR-1	癌
イゴボマブ	CA-125	卵巣癌 (診断)
Imab362	Cldn18.2	胃腸腺癌及び膵臓腫瘍
イムガツズマブ	EGFR	癌
インクラクマブ	セレクトイン P	癌
インダツキシマ ブラブタンシン	SDC1	癌
イノツズマブ ゾガマイシン	CD22	癌
インテツムマブ	CD51	固形腫瘍 (前立腺癌、黒色腫)
イピリムマブ	CD152	黒色腫
ダラツムマブ	CD30 (TNFRSF8)	ホジキンリンパ腫
イトリズマブ	CD6	癌
ラベツズマブ	CEA	結腸直腸癌
ラムブロリズム マブ	PDCD1	抗悪性腫瘍剤
ラムパリズマブ	CFD	癌
レキサツムマブ	TRAIL-R2	癌
リビビルマブ	B 型肝炎表面抗原	B 型肝炎
リゲリズムマブ	IGHE	癌
リンツズマブ	CD33	癌
リリルマブ	KIR2D	癌
ロルボツズマブ	CD56	癌
ルカツムマブ	CD40	多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫
ルミリキシマブ	CD23	慢性リンパ球性白血病
マパツズマブ	TRAIL-R1	癌
マルゲツキシマ マブ	Ch4d5	癌
マツズマブ	EGFR	結腸直腸癌、肺癌及び胃癌
ミラツズマブ	CD74	多発性骨髄腫及びその他の血液悪性腫瘍
ミンレツモマブ	TAG-72	癌
ミツモマブ	GD3 ガングリオシド	小細胞肺癌

10

20

30

40

表 1 0 抗体及び抗体系分子		
抗体の名称	癌抗原	治療標的用途
モガムリズマブ	CCR4	癌
モロリムマブ	アカゲザル因子	癌
モキセツモマブ パストトキス	CD22	癌
ナコロマブタフ ェナトクス	C242 抗原	結腸直腸癌
ナミルマブ	CSF2	癌
ナプツモマブエ スタフェナトク ス	5T4	非小細胞肺癌、腎細胞癌
ナルナツマブ	RON	癌
ネバクマブ	エンドトキシン	敗血症
ネシツムマブ	EGFR	非小細胞肺癌
ネレリモマブ	TNF-A	癌
ネスバクマブ	アンジオポエチン 2	癌
ニモツズマブ	EGFR	扁平上皮癌、頭頸部癌、鼻咽頭癌、神 経膠腫
ニボルマブ	PD - 1	癌
ノフェツモマブ メルペンタン	未決定	癌
オカラツズマブ	CD20	癌
オフアツムマブ	CD20	慢性リンパ球性白血病
オララツマブ	PDGF-R A	癌
オロキズマブ	IL6	癌
オナルツズマブ	ヒト散乱因子受容体キナ ーゼ	癌
オンツキシズマ ブ	TEM1	癌
オボルツズマブ モナトクス	Epcam	癌
オレゴボマブ	CA-125	卵巣癌
オルチクマブ	Oxldl	癌
オトレルツズマ ブ	CD37	癌
パニツムマブ	EGFR	結腸直腸癌
パンコマブ	MUC1 の腫瘍特異性グリ コシル化	卵巣癌
パルサツズマブ	EGFL7	癌
パトリツマブ	HER3	癌
ペンブロリズマ ブ	PD - 1	癌
ペムツモマブ	MUC1	癌
ペラキズマブ	IL17A	関節炎

10

20

30

40

表 10
抗体及び抗体系分子

抗体の名称	癌抗原	治療標的用途
ペルツズマブ	HER2/Neu	癌
ピジリズマブ	PD-1	癌及び感染性疾患
ピナツズマブベドチン	CD22	癌
ピンツモマブ	腺癌抗原	腺癌
プラクルマブ	ヒト TNF	癌
ボラツズマブベドチン	CD79B	癌
プリトキサキシマブ	大腸菌志賀毒素 1 型	癌
プリツムマブ	ビメンチン	脳癌
キリズマブ	IGHE	癌
ラコツモマブ	N-グリコリルノイラミン酸	癌
ラドレッツマブ	フィブロネクチンエクストラドメイン B	癌
ラムシルマブ	VEGFR2	固形腫瘍
リロツムマブ	HGF	固形腫瘍
リツキシマブ	CD20	リンパ腫、白血病、いくつかの自己免疫疾患
ロバツムマブ	IGF-1 受容体	癌
ロレヅマブ	RHD	癌
サマリズマブ	CD200	癌
サツモマブペンデチド	TAG-72	癌
セリバンツマブ	ERBB3	癌
セトキサキシマブ	大腸菌志賀毒素 1 型	癌
Sgn-CD19a	CD19	急性リンパ芽球性白血病及び B 細胞非ホジキンリンパ腫
Sgn-CD33a	CD33	急性骨髄性白血病
シブロッツズマブ	FAP	癌
シルツキシマブ	IL-6	癌
ソリトマブ	Epcam	癌
ソンツズマブ	エピシアルリン	癌
タバルマブ	BAFF	B 細胞癌
タカツズマブテトラキセタン	アルファ - フェトプロテイン	癌
タブリツモマブパプトクス	CD19	癌
テリモマブ	未決定	癌

10

20

30

40

表 10 抗体及び抗体系分子		
抗体の名称	癌抗原	治療標的用途
テナツモマブ	テネイシン C	癌
テネリキシマブ	CD40	癌
テプロツムマブ	CD221	血液腫瘍
チシリムマブ	CTLA-4	癌
チガツズマブ	TRAIL-R2	癌
Tnx-650	Il-13	ホジキンリンパ腫
トシツモマブ	CD20	濾胞性リンパ腫
トベツマブ	CD140a	癌
トラスツズマブ	HER2/Neu	乳癌
Trbs07	Gd2	黒色腫
トレメリムマブ	CTLA-4	癌
ツコツズマブセルモロイキン	Epcam	癌
ウブリツキシマブ	MS4A1	癌
ウレルマブ	4-1BB	癌
バンチクツマブ	Frizzled 受容体	癌
バパリキシマブ	AOC3 (VAP-1)	癌
ベタリズマブ	ITGA2	癌
ベルツズマブ	CD20	非ホジキンリンパ腫
ベセンクマブ	NRP1	癌
ボロキシマブ	インテグリン A5β1	固形腫瘍
ボルセツズマブ	CD70	癌
ボツムマブ	腫瘍抗原 CTAA16.88	結腸直腸腫瘍
ザルツムマブ	EGFR	頭頸部の扁平上皮癌
ザツキシマブ	HER1	癌
ジラリムマブ	CD147	癌

10

20

30

40

50

【 0 3 0 0 】

D . 癌抗原に結合できる例示的な抗体

癌細胞の表面上に配列された癌抗原に結合して上記癌細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子を構成するために、V H 及び V L ドメインを使用できる、例示的な抗体は、上の表 10 に列挙されており、癌細胞の表面上に配列された癌抗原に結合して上記癌細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子を構成するために使用できる更なる抗体を以下に提供する。

【 0 3 0 1 】

1 . B 7 H 3 に結合する抗体

B 7 H 3 は、多種多様な固形腫瘍に過剰発現する癌抗原であり、免疫調節に関与する分子の B 7 ファミリーのメンバーである（米国特許第 8 , 8 0 2 , 0 9 1 号；米国特許第 2 0 1 4 / 0 3 2 8 7 5 0 号；米国特許第 2 0 1 3 / 0 1 4 9 2 3 6 号；Loo, D. et al. (2012) “Development Of An Fc-Enhanced Anti-B7-H3 Monoclonal Antibody With Potent Antitumor Activity,” Clin. Cancer Res. 18(14):3834-3845を参照）。特に、ヒト悪性癌細胞（例えば神経芽細胞腫並びに胃癌、卵巣癌及び非小細胞肺癌の癌細胞）が、B 7 H 3 タンパク質の発現の顕著な増大を示すこと、並びにこの発現の増大が、疾患の重篤度の上昇に関連することが、複数の独立した研究によって示されており（Zang, X. et al. (2007) “The B7 Family And Cancer Therapy: Costimulation And Coinhibition,”

Clin. Cancer Res. 13:5271-5279)、これは、B7 H3が免疫回避経路として腫瘍に利用されることを示唆している(Hofmeyer, K. et al. (2008) "The Contrasting Role Of B7-H3," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 105(30):10277-10278)。

【0302】

B7 H3はまた、CD4+及びCD8+T細胞増殖を共刺激することが分かっている。B7 H3はまた、IFN 産生及びCD8+溶解活性も刺激する(Chapoval, A. et al. (2001) "B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN-Production," Nature Immunol. 2:269-274; 非特許文献50)。しかしながらこのタンパク質は、NFAT(活性化T細胞に関する核内因子)、NF B(核内因子 B)及びAP 1(活性化タンパク質1)因子を通してT細胞活性化を阻害するようにも作用する可能性がある(Yi. K.H. et al. (2009) "Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4," Immunol. Rev. 229:145-151)、B7 H3はまた、Th1、Th2又はTh17をインビボで阻害すると考えられる(Prasad, D.V. et al. (2004) "Murine B7-H3 Is A Negative Regulator Of T Cells," J. Immunol. 173:2500-2506; Fukushima, A. et al. (2007) "B7-H3 Regulates The Development Of Experimental Allergic Conjunctivitis In Mice," Immunol. Lett. 113:52-57; Yi. K.H. et al. (2009) "Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4," Immunol. Rev. 229:145-151)。

【0303】

好ましいB7 H3結合分子は、抗ヒトB7 H3モノクローナル抗体「B7 H3 mAb 1」、「B7 H3 mAb 2」若しくは「B7 H3 mAb 3」、又は本明細書で提供される抗B7 H3抗体のうちのいずれの、VL及び/又はVHドメインを有し;より好ましくは、このような抗B7 H3モノクローナル抗体のVL領域のCDRLのうちの1つ、2つ若しくは3つ全て及び/又はVHドメインのCDRHのうちの1つ、2つ若しくは3つ全てを有する。特に好ましいのは、「エノブリツズマブ」(MGA271としても公知;CAS登録番号:1353485 387)を含むがこれに限定されないヒト化VH及び/又はVLドメインを有するB7 H3結合分子である。エノブリツズマブは、HER2/neuに結合してADCC活性の増強を仲介するFc最適化モノクローナル抗体である。エノブリツズマブの完全重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列は、当該技術分野において公知である(例えばWHO Drug Information、2017、Recommended INN: List 77、31(1):49を参照)。

【0304】

本発明は具体的には、B7 H3及びCD3に結合できるB7 H3×CD3二重特異性結合分子、特に抗B7 H3モノクローナル抗体B7 H3 mAb 1、B7 H3 mAb 2若しくはB7 H3 mAb 3のうちのいずれ、又は本明細書で提供されるB7 H3×CD3二重特異性結合分子のうち、又は国際公開第2017/03092号で提供されるB7 H3×CD3二重特異性結合分子のうちのいずれの、VL及び/若しくはVHドメイン、並びに/又はVL領域のCDRLのうちの1つ、2つ若しくは3つ全て及び/又はVHドメインのCDRHのうちの1つ、2つ若しくは3つ全てを含む、上記二重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。

【0305】

(a) B7 H3 mAb 1

B7 H3 mAb 1のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号213)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)。

QVQLQQSGAE LARPGASVKL SCKASGYTFT SYWMQWVKQR PGQGLEWIGT
IYPGDGDTRY TQKFKGKATL TADKSSSTAY MLSSLASED SAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GAGTTVTVSS

【0306】

B7 H3 mAb 1のVLドメインのアミノ酸配列(配列番号214)を以下に示す(CDR_L残基は下線を付して示されている)。

DIQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DGTVKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIDNLEQ EDIATYFCQQ GNTLPPTFGG
 GTKLEIK

【 0 3 0 7 】

本明細書において「h B 7 H 3 m A b 1 V H 1」、及び「h B 7 H 3 m A b 1 V H 2」と呼ばれる B 7 H 3 m A b の 2 つの例示的なヒト化 V H ドメイン、並びに本明細書において「h B 7 H 3 m A b 1 V L 1」及び「h B 7 H 3 m A b 1 V L 2」と呼ばれる B 7 H 3 m A b の 2 つの例示的なヒト化 V L ドメインを、以下に提供する。h B 7 H 3 m A b 1 V L 2 は C D R_L 1 及び C D R_L 2 中にアミノ酸置換を含むこと、並びに h B 7 H 3 m A b 1 V H 2 は C D R_H 2 中にアミノ酸置換を含むことに留意されたい。上記ヒト化 V L ドメインのうちのいずれは、上記ヒト化 V H ドメインのうちのいずれと対合して、B 7 H 3 結合ドメインを生成する。従って、上記ヒト化 V H ドメインと対合した上記ヒト化 V L ドメインのうちの 1 つを含むいずれの抗体は一般に「h B 7 H 3 m A b 1」と呼ばれ、ヒト化 V H / V L ドメインの特定の組み合わせは、その特定の V H / V L ドメインを照合することによって呼称される。例えば h B 7 H 3 m A b 1 V H 1 及び h B 7 H 3 m A b 1 V L 2 を含むヒト化抗体は、「h B 7 H 3 m A b 1 (1 . 2)」と具体的に呼称される。

10

【 0 3 0 8 】

h B 7 H 3 m A b 1 V H 1 の V H ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 2 1 5) (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

20

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
IYPGDGDTRY TQKFQGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

である。

【 0 3 0 9 】

h B 7 H 3 m A b 1 V H 2 の V H ドメインのアミノ酸配列は、(配列番号 2 1 6) (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
IYPGGGDTRY TQKFQGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

30

である。

【 0 3 1 0 】

h B 7 H 3 m A b 1 V L 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 1 7) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
 GTKLEIK

【 0 3 1 1 】

h B 7 H 3 m A b 1 V L 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 1 8) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている)。

40

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDIATYYCQQGNTLPPTFGG
 GTKLEIK

【 0 3 1 2 】

(b) B 7 H 3 m A b 2

B 7 H 3 m A b 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 1 9) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている)。

DVQLVESGGG LVQPGGSRKL SCAASGFTFS SFGMHWRQA PEKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNPKNLTF LQMTSLRSED TAMYCYGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTLTV SS

50

【 0 3 1 3 】

B 7 H 3 m A b 2 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 0 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIAMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQNVD TNVAWYQQKP GQSPKALIYS
ASYRYSGVDPD RFTGSGSGTD FTLTINNVSQ EDLAEYFCQQYNNYPFTFGS
GTKLEIK

【 0 3 1 4 】

「h B 7 H 3 m A b 2 V H 1」、「h B 7 H 3 m A b 2 V H 2」、「h B 7 H 3 m A b 2 V H 3」及び「h B 7 H 3 m A b 2 V H 4」と呼ばれる B 7 H 3 m A b 2 の 4 つの例示的なヒト化 V H ドメイン、並びに「h B 7 H 3 m A b 2 V L 1」、「h B 7 H 3 m A b 2 V L 2」、「h B 7 H 3 m A b 2 V L 3」、「h B 7 H 3 m A b 2 V L 4」、「h B 7 H 3 m A b 2 V L 5」及び「h B 7 H 3 m A b 2 V L 6」と呼ばれる B 7 H 3 m A b 2 の 6 つの例示的なヒト化 V L ドメインを、以下に提供する。上記ヒト化 V L ドメインのうちのいずれは、上記ヒト化 V H ドメインのうちのいずれと対合して、B 7 H 3 結合ドメインを生成する。従って、上記ヒト化 V H ドメインと対合した上記ヒト化 V L ドメインのうちの 1 つを含むいずれの抗体は一般に「h B 7 H 3 m A b 2」と呼ばれ、ヒト化 V H / V L ドメインの特定の組み合わせは、その特定の V H / V L ドメインを照合することによって呼称される。例えば h B 7 H 3 m A b 2 V H 1 及び h B 7 H 3 m A b 2 V L 2 を含むヒト化抗体は、「h B 7 H 3 m A b 2 (1 . 2)」と具体的に呼称される。

【 0 3 1 5 】

h B 7 H 3 m A b 2 V H 1 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 1 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCARGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

【 0 3 1 6 】

h B 7 H 3 m A b 2 V H 2 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 2 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

【 0 3 1 7 】

h B 7 H 3 m A b 2 V H 3 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 3 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

【 0 3 1 8 】

h B 7 H 3 m A b 2 V H 4 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 4 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRSED TAVYYCARGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

【 0 3 1 9 】

h B 7 H 3 m A b 2 V L 1 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 5 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ

10

20

30

40

50

GTKLEIK

【 0 3 2 0 】

h B 7 H 3 m A b 2 V L 2 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 6 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKALIYS
 ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ

GTKLEIK

【 0 3 2 1 】

h B 7 H 3 m A b 2 V L 3 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 7 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVS VTCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
 ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ

GTKLEIK

【 0 3 2 2 】

h B 7 H 3 m A b 2 V L 4 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 8 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GQAPKLLIYS
 ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ

GTKLEIK

【 0 3 2 3 】

h B 7 H 3 m A b 2 V L 5 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 2 9 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GQAPKALIYS
 ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ

GTKLEIK

【 0 3 2 4 】

h B 7 H 3 m A b 2 V L 6 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 3 0 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
 ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFAEYYCQQ YNNYPFTFGQ

GTKLEIK

【 0 3 2 5 】

(c) B 7 H 3 m A b 3

B 7 H 3 m A b 3 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 3 1 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）。

EVQQVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT
INSGGSNTYY PDSLKGRFTI SRDNAKNTLY LQMRSLKSED TAMYYCARHD
GGAMDYWGQG TSVTVSS

【 0 3 2 6 】

B 7 H 3 m A b 3 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 3 2 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）。

DIQMTQSPAS LSVSVGETVT ITCRASESIY SYLAWYQQKQ GKSPQLLVYN
TKTLPEGVPS RFSGSGSGTQ FSLKINSLQP EDFGRYYCQH HYGTPPWTFG

GGTNLEIK

【 0 3 2 7 】

(d) 他の抗 B 7 H 3 結合分子

上で同定した好ましい抗 B 7 H 3 結合分子に加えて、本発明は、以下の抗 B 7 H 3 結合分子：L U C A 1 ；B L A 8 ；P A 2 0 ；又は S K N 2 （米国特許第 7 ， 5 2 7 ， 9 6 9 号；米国特許第 8 ， 7 7 9 ， 0 9 8 号及び国際公開第 2 0 0 4 / 0 0 1 3 8 1 号を参照）；M 3 0 ；c M 3 0 ；M 3 0 H 1 L 1 ；M 3 0 H 1 L 2 ；M 3 0 H 1 L

10

20

30

40

50

3 ; M 3 0 H 1 L 4 ; M 3 0 H 1 L 5 ; M 3 0 H 1 L 6 ; M 3 0 H 1 L 7 ; M 3 0 H 4 L 1 ; M 3 0 H 4 L 2 ; M 3 0 H 4 L 3 ; 及び M 3 0 H 4 L 4 (米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 0 7 8 2 3 4 号及び国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 7 7 1 3 号を参照) ; 並びに 8 H 9 (米国特許第 7 , 6 6 6 , 4 2 4 号 ; 米国特許第 7 , 7 3 7 , 2 5 8 号 ; 米国特許第 7 , 7 4 0 , 8 4 5 号 ; 米国特許第 8 , 1 4 8 , 1 5 4 号 ; 米国特許第 8 , 4 1 4 , 8 9 2 号 ; 米国特許第 8 , 5 0 1 , 4 7 1 号 ; 米国特許第 9 , 0 6 2 , 1 1 0 号 ; 米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 1 4 3 2 4 5 号、及び国際公開第 2 0 0 8 / 1 1 6 2 1 9 号を参照) のうちのいずれの使用も考える。

【 0 3 2 8 】

2 . C E A C A M 5 及び C E A C A M 6 に結合する抗体

10

癌胎児性抗原関連細胞接着分子 5 (C E A C A M 5) 及び 6 (C E A C A M 6) は、甲状腺癌、結腸直腸癌、膵臓癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸部癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮体癌、乳癌、造血癌、白血病及び卵巣癌 (国際公開第 2 0 1 1 / 0 3 4 6 6 0 号) 、並びに特に、結腸直腸癌、胃腸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌 (N S C L) 、乳癌、甲状腺癌、胃癌、卵巣癌及び子宮癌腫 (Zheng, C. et al. (2011) “A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity,” PLoS One 6(6):e21146, pp. 1-11) を含む様々なタイプの癌に関連していることが分かっている。

【 0 3 2 9 】

C E A C A M 5 は、胃腸癌、結腸直腸癌及び膵臓癌の 9 0 % 、非小細胞肺癌細胞の 7 0 % 並びに乳癌の 5 0 % において過剰発現することが分かっている (Thompson, J.A. et al . (1991) “Carcinoembryonic Antigen Gene Family: Molecular Biology And Clinical Perspectives,” J. Clin. Lab. Anal. 5:344-366) 。 過剰発現した癌胎児性抗原関連細胞接着分子 6 (C E A C A M 6) は、甲状腺癌、結腸直腸癌、膵臓癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸部癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮体癌、乳癌、造血癌、白血病及び卵巣癌を含む多様なヒト癌の侵襲及び転位において重要な役割を果たす (国際公開第 2 0 1 1 / 0 3 4 6 6 0 号 ; Deng, X. et al. (2014) “Expression Profiling Of CEACAM6 Associated With The Tumorigenesis And Progression In Gastric Adenocarcinoma,” Genet. Mol. Res. 13(3):7686-7697; Cameron, S. et al. (2012) “Focal Overexpression Of CEACAM6 Contributes To Enhanced Tumorigenesis In Head And Neck Cancer Via Suppression Of Apoptosis,” Mol. Cancer 11:74, pp. 1-11; Chapin, C. et al. (2012) “Distribution And Surfactant Association Of Carcinoembryonic Cell Adhesion Molecule 6 In Human Lung,” Amer. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 302(2):L216-L25; Riley, C.J. et al. (2009) “Design And Activity Of A Murine And Humanized Anti-CEACAM6 Single-Chain Variable Fragment In The Treatment Of Pancreatic Cancer,” Cancer Res. 69(5):1933-1940; Lewis-Wambi, J.S. et al. (2008) “Overexpression Of CEACAM6 Promotes Migration And Invasion Of Oestrogen-Deprived Breast Cancer Cells,” Eur. J. Cancer 44(12):1770-1779; Blumenthal, R.D. et al. (2007) “Expression Patterns Of CEACAM5 And CEACAM6 In Primary And Metastatic Cancers,” BMC Cancer. 7:2, pp. 1-15) 。 C E A C A M 5 及び C E A C A M 6 に免疫特異的に結合する抗体は市販されている (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Novus Biologicals LLC; Abnova Corporation) 。

20

30

40

【 0 3 3 0 】

(a) 抗体 1 6 C 3

ヒト化抗 C E A C A M 5 / 抗 C E A C A M 6 抗体 1 6 C 3 (欧州特許第 2 5 8 5 4 7 6 号) の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 3 3) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLQQSGPE VVRPGVSVKI SCKGSGYTFT DYAMHWVKQS HAKSLEWIGL
ISTYSGDTKY NQNFKGKATM TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGD
YSGSRYWFAYWGQGLTVTS S

50

【 0 3 3 1 】

ヒト化抗 C E A C A M 5 / 抗 C E A C A M 6 抗体 1 6 C 3 (欧州特許第 2 5 8 5 4 7 6 号) の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 3 4) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCGASENIY GALN^{WY}Q^RKP GKSPKLLIW^G
 ASNLADGMPS RFSGSGSGRQ YTLTISSLQP EDVATYYCQN VLSSPYTFGG
 GTKLEIK

【 0 3 3 2 】

(b) 抗体 h M N 1 5

ヒト化抗 C E A C A M 5 / C E A C A M 6 抗体 h M N 1 5 (国際公開第 2 0 1 1 / 0 3 4 6 6 0 号) の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 3 5) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVESGGG VVQPG^RSLRL SCSSSGFALT DYYMSWVRQA PGKGLEWL^G
 IANKANGHTT DYSPSVKGRF TISRDN^SKNT LFLQMDSLRP EDTGVYFCAR
 DMGIRWNFDVWGQGPVTVS S

【 0 3 3 3 】

ヒト化抗 C E A C A M 5 / C E A C A M 6 抗体 h M N 1 5 (国際公開第 2 0 1 1 / 0 3 4 6 6 0 号) の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 3 6) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQLTQSPSS LSASVGDRVT MTC^SASSRVS YIHWYQ^KKPG KAPKRWIYGT
 STLASGVPAR FSGSGSGTDF TFTISSLQPE DIATYYCQ^W SYNPPTFGQG
 TKVEIKR

【 0 3 3 4 】

本発明は具体的には、C E A C A M 5 及び / 又は C E A C A M 6 に結合できる C E A C A M 5 / C E A C A M 6 結合分子 (例えば C E A C A M 5 / C E A C A M 6 × C D 3 二重特異性結合分子) 、並びに特に、抗 C E A C A M 5 / C E A C A M 6 モノクローナル抗体 1 6 C 3 又は h M N 1 5 の、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記二重特異性結合分子を含み、またこれらを含む。

【 0 3 3 5 】

3 . E G F R に結合する抗体

上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor : E G F R) は、特定の転移性大腸癌、転移性非小細胞癌及び頭頸部癌の癌抗原である。ヒト E G F R に結合する例示的な抗体は、「セツキシマブ」及び「パニツムマブ」である。セツキシマブは、組み換えヒト マウスキメラ上皮成長因子受容体 (E G F R) I g G 1 モノクローナル抗体である (Govindan R. (2004) “Cetuximab In Advanced Non-Small Cell Lung Cancer,” Clin. Cancer Res. 10(12 Pt 2):4241s-4244s; Bou-Assaly, W. et al. (2010) “Cetuximab (Erbix),” Am. J. Neuroradiol. 31(4):626-627) 。パニツムマブ (V e c t i b i x (登録商標) 、 A m g e n) は、完全ヒト化上皮成長因子受容体 (E G F R) I g G 2 モノクローナル抗体である (Foon, K.A. et al. (2004) “Preclinical And Clinical Evaluations Of ABX-EGF, A Fully Human Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody,” Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 58(3):984-990; Yazdi, M.H. et al. (2015) “A Comprehensive Review of Clinical Trials on EGFR Inhibitors Such as Cetuximab and Panitumumab as Monotherapy and in Combination for Treatment of Metastatic Colorectal Cancer,” Avicenna J. Med. Biotechnol. 7(4):134-144) 。

【 0 3 3 6 】

(a) セツキシマブ

キメラ抗 E G F R 抗体セツキシマブの V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 3 7) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QVQLKQSGPG LVQPSQSLSI TCTVSGFSLT NYGVHWVRQS PGKGLEWLGV
IWSGGNTDYN TPFTSRLSIN KDNSKSQVFF KMNSLQSDNT AIYYCARALT
YYDYEFAIWG QGTLVTVSA

【 0 3 3 7 】

キメラ抗 E G F R 抗体セツキシマブの V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 3 8 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DILLTQSPVI LSVSPGERVS FSCRASQSIG TNIHWYQQRT NGSPRLLIKY
ASESISGIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYCQ NNNWPTTFGA
 GTKLELKR

【 0 3 3 8 】

10

（ b ）パニツムマブ

パニツムマブの V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 3 9 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSVS SGDYWTWIR QSPGKGLEWI
GHIYYSGNTNYPSLKSRLT ISIDTSKTQF SLKLSSVTAA DTAIYYCVRD
RVTGAFDIWG QGTMVTVSS

【 0 3 3 9 】

パニツムマブの V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 4 0 ）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYD
ASNLETGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLPQ EDIATYFCQHFDHLPLAFGG
 GTKVEIKR

20

【 0 3 4 0 】

本出願は具体的には、E G F R に結合できる E G F R 結合分子（例えば E G F R × C D 3 二重特異性結合分子）、並びに特に抗 E G F R モノクローナル抗体セツキシマブ又はパニツムマブの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを包含する。

【 0 3 4 1 】

4 . E p h A 2 に結合する抗体

30

受容体チロシンキナーゼ、エフリンタイプ A 受容体 2（E p h A 2）は通常、成体の上皮組織の細胞間接触部位に発現するが、最近の研究により、E p h A 2 が様々なタイプの上皮癌においても、転移性病変において観察される最も高いレベルの E p h A 2 発現で過剰発現することが分かった。高発現レベルの E p h A 2 は、前立腺癌、乳癌、非小細胞肺癌及び黒色腫を含む、広範な癌及び多数の癌細胞株において確認されている（Xu, J. et al. (2014) “High EphA2 Protein Expression In Renal Cell Carcinoma Is Associated With A Poor Disease Outcome,” Oncol. Lett. Aug 2014; 8(2): 687-692; Miao, B. et al. (2014) “EphA2 is a Mediator of Vemurafenib Resistance and a Novel Therapeutic Target in Melanoma,” Cancer Discov. pii: CD-14-0295）。E p h A 2 は単なる癌のマーカーとは思われないが、多数のヒト癌において持続的に過剰発現し、機能的に変化するようである（Chen, P. et al. (2014) “EphA2 Enhances The Proliferation And Invasion Ability Of LnCap Prostate Cancer Cells,” Oncol. Lett. 8(1):41-46）。ヒト E p h A 2 に結合する例示的な抗体は、「E p h A 2 m A b 1」、「E p h A 2 m A b 2」及び「E p h A 2 m A b 3」である。

40

【 0 3 4 2 】

（ a ）E p h A 2 m A b 1

E p h A 2 m A b 1 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 4 1 ）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLS RYSVHWVRQP PGKGLEWLGM
IWGGGSTDYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQTDDT AMYYCARKHG

50

NYTMDYWGQ GTSVTVSS

【 0 3 4 3 】

E p h A 2 m A b 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 4 2) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQTTSS LSASLGDRIT ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DGTVKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFCQQ GYTLTYFGGG
TKLEIK

【 0 3 4 4 】

(b) E p h A 2 m A b 2

E p h A 2 m A b 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 4 3) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGFTFT NYGMNWVKQA PGKGLKWMGW
INTYIGEPTY ADDFKGRFVF SLETSASTAY LQINNLKNED MATYFCAREL
GPYYFDYWGQ GTTLTVSS

【 0 3 4 5 】

E p h A 2 m A b 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 4 4) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSSGNTYLHW YLQKPGQSPK
LLIYKVSNNR SGVPDRFSGS SGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTHVP
TFGSGTKLEI K

【 0 3 4 6 】

(c) E p h A 2 m A b 3

E p h A 2 m A b 3 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 4 5) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLVESGGG SVKPGGSLKL SCAASGFTFT DHYMYWVRQT PEKRLEWVAT
ISDGSFTSY PDSVKGRFTI SRDIAKNNLY LQMSSLKSED TAMYYCTRDE
SDRPFPPYWGQ GTTLTVSS

【 0 3 4 7 】

E p h A 2 m A b 3 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 4 6) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIVLTQSHRS MSTSVGDRVN ITCKASQDVT TAVAWYQQKP GQSPKLLIFW
ASTRHAGVPD RFTGSGSGTD FTLTISSVQA GDLALYYCQQ HYSTPYTFGG
GTKLEIK

【 0 3 4 8 】

本出願は具体的には、E p h a 2 に結合できる E p h A 2 結合分子 (例えば E p h A 2 × C D 3 二重特異性結合分子) 、並びに特に、抗 E p h A 2 モノクローナル抗体 E p h A 2 m A b 1 、 E p h A 2 m A b 2 及び E p h A 2 m A b 3 の、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを包含する。

【 0 3 4 9 】

5 . g p A 3 3 に結合する抗体

4 3 k D 膜貫通糖タンパク質 A 3 3 (g p A 3 3) は、全ての結腸直腸癌の > 9 5 % において発現する (Heath, J.K. et al. (1997) " The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The Immunoglobulin Superfamily, " Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 94(2):469-474; Ritter, G. et al. (1997) " Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium, " Biochem. Biophys. Res. Commun. 236(3):682-686; Wong, N.A. et al. (2006) " EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's Metaplasia, " J. Clin. Pathol. 59(3):260-263) 。 ヒト g p A 3

10

20

30

40

50

3 に結合する例示的な抗体は、「g p A 3 3 m A b 1」である。

【0350】

g p A 3 3 m A b 1 の V H ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 4 7）を以下に示す（C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT GSWMNWRQA PGQGLEWIGR
IYPGDGETNY NGKFKDRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARIY
GNNVYFDVWG QGTTVTVSS

【0351】

g p A 3 3 m A b 1 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 4 8）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCSARSSIS FMYWYQQKPG KAPKLLIYDT
SNLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTSSLEAE DAATYYCQW SSYPLTFGQG
TKLEIK

【0352】

本出願は具体的には、g p A 3 3 に結合できる g p A 3 3 結合分子（例えば g p A 3 3 × C D 3 二重特異性結合分子）、並びに特に、抗 g p A 3 3 モノクローナル抗体 g p A 3 3 m A b 1、又は国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 6 8 9 4 号において提供された抗 g p A 3 3 モノクローナル抗体のうちのいずれの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれら

【0353】

6 . H E R 2 / n e u に結合する抗体

H E R 2 / n e u は、化学的に処置されたラットの神経芽細胞腫からの形質転換遺伝子の産生として元来同定された、185 k D a 受容体である。H E R 2 / n e u は、複数のヒト癌腫及び哺乳類の発生において機能するため、広く研究されてきた（Hynes et al. (1994) Biochim. Biophys. Acta 1198:165-184; Dougall et al. (1994) Oncogene 9:2109-2123; Lee et al. (1995) Nature 378:394-398）。ヒト H E R 2 / n e u に結合する例示的な抗体としては、「マルゲツキシマブ」、「トラスツズマブ」及び「ペルツズマブ」が挙げられる。マルゲツキシマブ（M G A H 2 2 としても公知；C A S 登録番号：1 3 5 0 6 2 4 7 5 7）は、H E R 2 / n e u に結合して A D C C 活性の増強を仲介する、F c 最適化モノクローナル抗体である。トラスツズマブ（r h u M A B 4 D 5 としても公知、H e r c e p t i n（登録商標）として市販；C A S 登録番号：1 8 0 2 8 8 6 9 1；米国特許第 5, 8 2 1, 3 3 7 号を参照）は、I g G 1 / 定常領域を有する、抗体 4 D 5 のヒト化バージョンである。ペルツズマブ（r h u M A B 2 C 4 としても公知、P e r j e t a（商標）として市販；C A S 登録番号：3 8 0 6 1 0 2 7 5；例えば国際公開第 2 0 0 1 / 0 0 0 2 4 5 号を参照）は、I g G 1 / 定常領域を有する、抗体 2 C 4 のヒト化バージョンである。

【0354】

本出願は具体的には、H e r 2 / N e u に結合できる H e r 2 / N e u 結合分子（例えば H e r 2 / N e u × C D 3 二重特異性結合分子）、並びに特に、抗 H e r 2 / N e u モノクローナル抗体マルゲツキシマブ、トラスツズマブ又はペルツズマブの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを含む。

【0355】

(a) マルゲツキシマブ

マルゲツキシマブの V H ドメインのアミノ酸配列は、（配列番号 2 4 9）（C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK DTYIHWVKQR PEQGLEWIGR

IYPTNGYTRY DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSRWG
GDGFYAMDYW GQGASVTVSS

である。

【 0 3 5 6 】

マルゲツキシマブ の V L ドメインのアミノ酸配列は、（配列番号 2 5 0 ）（ C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS
ASFRYTGVDP RFTGSRSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQHYTTPPTFGG
 GTKVEIK

である。

10

【 0 3 5 7 】

マルゲツキシマブの完全重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列は、当該技術分野において公知である（例えばWHO Drug Information、2014、Recommended INN: List 71、28(1):93-94を参照）。

【 0 3 5 8 】

（ b ）トラスツズマブ

トラスツズマブの V H ドメインのアミノ酸配列は、（配列番号 2 5 1 ）（ C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHWVRQA PGKGLEWVAR
IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG
GDGFYAMDYW GQGTTLVTVSS

である。

20

【 0 3 5 9 】

トラスツズマブの V L ドメインのアミノ酸配列は、（配列番号 2 5 2 ）（ C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQHYTTPPTFGQ
 GTKVEIK

である。

【 0 3 6 0 】

30

（ c ）ペルツズマブ

ペルツズマブの V H ドメインのアミノ酸配列は、（配列番号 2 5 3 ）（ C D R_H 残基は下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT DYTMWVRQA PGKGLEWVAD
VNPNSGGS IY NQRFKGRFTL SVDRSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARNL
GPSFYFDYWG QGTTLVTVSS

である。

【 0 3 6 1 】

ペルツズマブの V L ドメインのアミノ酸配列は、（配列番号 2 5 4 ）（ C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVS IGVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQYYIYPYTFGQ
 GTKVEIK

である。

40

【 0 3 6 2 】

（ d ）他の抗 H E R 2 / n e u 抗体

上で同定された好ましい抗 H E R 2 / n e u 結合分子に加えて、本発明は、以下の抗 H e r 2 結合分子： 1 . 4 4 . 1 ; 1 . 1 4 0 ; 1 . 4 3 ; 1 . 1 4 . 1 ; 1 . 1 0 0 . 1 ; 1 . 9 6 ; 1 . 1 8 . 1 ; 1 . 2 0 ; 1 . 3 9 ; 1 . 2 4 ; 及び 1 . 7 1 . 3 （米国特許第 8 , 3 5 0 , 0 1 1 号 ; 米国特許第 8 , 8 5 8 , 9 4 2 号 ; 及び国際公開第 2 0 0

50

8 / 0 1 9 2 9 0 号) ; F 5 及び C 1 (米国特許第 7 , 8 9 2 , 5 5 4 号 ; 米国特許第 8 , 1 7 3 , 4 2 4 号 ; 米国特許第 8 , 9 7 4 , 7 9 2 号 ; 及び国際公開第 9 9 / 5 5 3 6 7 号) ; 並びに米国特許出願公開第 2 0 1 3 0 1 7 1 1 4 号並びに国際公開第 2 0 1 1 / 1 4 7 9 8 6 号及び国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 3 5 2 4 号の抗 H e r 2 結合分子のうちのいずれの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、H e r 2 / N e u 結合分子を考える。本発明は更に、国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 3 5 2 4 号で提供されている例示的な H e r 2 / N e u x C D 3 二重特異性結合分子も含み、またこれらを包含する。

【 0 3 6 3 】

10

7 . V E G F に結合する抗体

V E G F A は、多様な疾患、特に転移性大腸癌等の特定の転移性癌、並びに特定の肺癌、腎臓癌、卵巣癌及び脳の多形性膠芽腫において血管新生を刺激する、化学シグナルである。

ヒト V E G F A に結合する例示的な抗体は、「ベバシズマブ」(A v a s t i n (登録商標)) である。ベバシズマブは、組み換えヒト化 I g G 1 モノクローナル抗体である (Midgley, R. et al. (2005) “Bevacizumab - Current Status And Future Directions,” Ann. Oncol. 16(7):999-1004; Hall, R.D. et al. (2015) “Angiogenesis Inhibition As A Therapeutic Strategy In Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC),” Transl. Lung Cancer Res. 4(5):515-523; Narita, Y. (2015) “Bevacizumab For Glioblastoma,” Ther. Clin. Risk Manag. 11:1759-1765) 。

20

【 0 3 6 4 】

ベバシズマブの V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 5 5) を以下に示す (C D R_H 残基は下線を付して示されている) :

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWRQA PGKGLEWVGW
INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
HYYGSSHWYF DVWGQGTTLVT VSS

【 0 3 6 5 】

ベバシズマブの V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 5 6) を以下に示す (C D R_L 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF
TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
GTKVEIKR

30

【 0 3 6 6 】

本出願は具体的には、V E G F に結合できる V E G F 結合分子 (例えば V E G F x C D 3 二重特異性結合分子) 並びに特に、抗 V E G F モノクローナル抗体ベバシズマブの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを包含する。

【 0 3 6 7 】

40

8 . 5 T 4 に結合する抗体

癌胎児性タンパク質 5 T 4 は、腎臓癌、結腸癌、前立腺癌、肺癌を含む多くの癌腫の細胞膜上、及び急性リンパ芽球性白血病において発現する、腫瘍関連タンパク質である (Boghaert, E.R. et al. (2008) “The Oncofetal Protein, 5T4, Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin,” Int. J. Oncol. 32(1):221-234; Eisen, T. et al. (2014) “Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin,” Curr. Oncol. Rep. 16:370, pp. 1-6 を参照) 。

ヒト 5 T 4 に結合する例示的な抗体としては、「5 T 4 m A b 1」及び「5 T 4 m A b 2」が挙げられる。

【 0 3 6 8 】

50

(a) 5 T 4 m A b 1

5 T 4 m A b 1 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 5 7) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SFWMHVVRQA PGQGLEWMGR
IDPNRGGTEY NEKA¹SRVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAGGN
PYYPM²DYWGQ GTTVTVSS

【 0 3 6 9 】

5 T 4 m A b 1 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 5 8) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQYDDFPWTFGQ
 GTKLEIK

10

【 0 3 7 0 】

(b) 5 T 4 m A b 2

5 T 4 m A b 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 5 9) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYWITWVKQR PGQGLEWIGD
IYPGSGRANY NEKF¹SKATL TVDTSSSTAY MQLSSLTSED SAVYNCARYG
PLFTTVVDPN SYAMDYWGQG TSVTVSS

【 0 3 7 1 】

20

5 T 4 m A b 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 6 0) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

DVLTMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV YSNGNTYLEW YLQKPGQSPK
LLIYKVS¹NRFS²GV³PD⁴RF⁵SGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGS¹HVP
FTFGSGTKLE IK

【 0 3 7 2 】

本出願は具体的には、抗 5 T 4 モノクローナル抗体 5 T 4 m A b 1 若しくは 5 T 4 m A b 2 の、又は国際公開第 2 0 1 3 / 0 4 1 6 8 7 号若しくは国際公開第 2 0 1 5 / 1 8 4 2 0 3 号で提供されている抗 5 T 4 抗体のうちのいずれかの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、5 T 4 に結合できる 5 T 4 結合分子 (例えば 5 T 4 × C D 3 二重特異性結合分子) を含み、またこれらを包含する。本発明は更に、国際公開第 2 0 1 5 / 1 8 4 2 0 3 号で提供されている例示的な 5 T 4 × C D 3 二重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。

30

【 0 3 7 3 】

更に本出願は具体的には、5 T 4、C D 3 及び C D 8 に結合できる 5 T 4 × C D 3 × C D 8 三重特異性結合分子、並びに特に、抗 5 T 4 モノクローナル抗体 5 T 4 m A b 1 若しくは 5 T 4 m A b 2 の、又は国際公開第 2 0 1 5 / 1 8 4 2 0 3 号で提供されている抗 5 T 4 モノクローナル抗体のうちのいずれの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て、並びに / あるいは、国際公開第 2 0 1 5 / 1 8 4 2 0 3 号で提供されている抗 C D 8 モノクローナル抗体のうちのいずれの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記三重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。本発明は更に、国際公開第 2 0 1 5 / 1 8 4 2 0 3 号で提供されている例示的な 5 T 4 × C D 3 × C D 8 三重特異性分子を含み、またこれらを包含する。

40

【 0 3 7 4 】

9 . I L 1 3 R 2 に結合する抗体

インターロイキン 1 3 受容体 2 (I L 1 3 R 2) は、グリア芽腫、結腸直腸癌、

50

子宮頸癌、膵臓癌、多発性黒色腫、骨肉腫、白血病、リンパ腫、前立腺癌及び肺癌を含む多様な癌において過剰発現する（国際公開第2008/146911号；Brown, C.E. et al. (2013) “Glioma IL13R 2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis,” PLoS One. 18;8(10):e77769; Barderas, R. et al. (2012) “High Expression Of IL-13 Receptor 2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis,” Cancer Res. 72(11):2780-2790; Kasaian, M.T. et al. (2011) “IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13R 2,” J. Immunol. 187(1):561-569; Bozinov, O. et al. (2010) “Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13Ralpha2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas,” Neurol. Med. Chir. (Tokyo) 50(8):617-621; Fujisawa, T. et al. (2009) “A Novel Role Of Interleukin-13 Receptor Alpha2 In Pancreatic Cancer Invasion And Metastasis,” Cancer Res. 69(22):8678-8685)。IL13R 2に免疫特異的に結合する抗体は市販されており、当該技術分野において既に説明されている(Abnova Corporation, Biorbyt, LifeSpan BioSciences, United States Biologicals;国際公開第2008/146911号も参照)。ヒトIL13R 2に結合する例示的な抗体としては、「hu08」が挙げられる（例えば国際公開第2014/072888号を参照）。

10

20

30

40

50

【0375】

hu08のVHドメインのアミノ酸配列（配列番号261）を以下に示す（CDR残基は下線を付して示されている）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RNGMSWVRQA PGKGLEWVAT
VSSGGSYIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARQG
TTALATRFFD VWGQGTTLVT SS

【0376】

hu08のVLドメインのアミノ酸配列（配列番号262）を以下に示す（CDR残基は下線を付して示されている）：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT TCKASQDVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRSTGVPS RFGSGSGSTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYSAPWTFGG
GTKVEIK

【0377】

本出願は具体的には、IL13R 2に結合できるIL13R 2結合分子（例えばIL13R 2×CD3二重特異性結合分子）、並びに特に、抗IL13R 2モノクローナル抗体hu08の、VL及び/若しくはVHドメイン、並びに/又はVL領域のCDRLのうちの1つ、2つ若しくは3つ全て及び/又はVHドメインのCDRHのうちの1つ、2つ若しくは3つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを包含する。

【0378】

10. CD123に結合する抗体

CD123（インターロイキン3受容体、IL3Ra）は40kDa分子であり、インターロイキン3受容体複合体の一部である（Stomski, F.C. et al. (1996) “Human Interleukin-3 (IL-3) Induces Disulfide-Linked IL-3 Receptor Alpha- And Beta-Chain Heterodimerization, Which Is Required For Receptor Activation But Not High-Affinity Binding,” Mol. Cell. Biol. 16(6):3035-3046)。インターロイキン3（IL3）は、多能性幹細胞の、赤血球細胞、骨髓細胞及びリンパ球系前駆細胞への早期分化を促進する。CD123は、急性骨髓性白血病（AML）及び骨髓異形成症候群（MDS）を含む幅広い血液悪性腫瘍中の悪性細胞上で過剰発現していることが報告されている（Munoz, L. et al. (2001) “Interleukin-3 Receptor Alpha Chain (CD123) Is Widely Expressed In Hematologic Malignancies,” Haematologica 86(12):1261-1269)。CD123の過剰発現は、AMLの不良な予後に関連する（Tettamanti, M.S. et al. (2013) “Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,” Br. J. Haematol. 161:38

9-401)。

【0379】

ヒトCD123に結合し、本発明で採用できる例示的抗体は、「CD123 mAb 1」である(例えば国際公開第2015/026892号を参照)。

【0380】

CD123 mAb 1のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号263)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)：

EVQLVQSGAE LKKPGASVKV SCKASGYTFT DYYMKWVRQA PGQGLEWIGD
IIPSNQATFY NQKFGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSH
LLRASWFAYW GQGLTVTVSS

10

【0381】

CD123 mAb 1のVLドメインのアミノ酸配列(配列番号264)を以下に示す(CDR_L残基は下線を付して示されている)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK

【0382】

本出願は具体的には、CD123に結合できるCD123結合分子(例えばCD123×CD3二重特異性結合分子)、並びに特に、抗CD123モノクローナル抗体CD123 mAb 1並びに米国特許第2017/081424号及び国際公開第2016/036937号で開示されている抗CD123抗体のうちのいずれの、VL及び/若しくはVHドメイン、並びに/又はVL領域のCDRLのうちの1つ、2つ若しくは3つ全て及び/又はVHドメインのCDRHのうちの1つ、2つ若しくは3つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを包含する。本発明は更に、フロテツズマブ(MGD007としても公知；CAS登録番号：1664355 28 5)、JNJ 63709178(Johnson & Johnson、国際公開第2016/036937号も参照)及びXmAb14045(Xencor、米国特許第2017/081424号も参照)を含む、例示的なCD123×CD3二重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。

20

【0383】

11. CD19に結合する抗体

30

CD19(Bリンパ球表面抗原B4、Genbank受託番号：M28170)は、B細胞受容体(BCR)複合体の構成要素であり、B細胞活性化及び体液性免疫に関する閾値を変調するB細胞シグナリングの正の調節因子である。CD19は、B細胞系統中に最も偏在的に発現される抗原の1つであり、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、慢性リンパ性白血病(CLL)及び非ホジキンリンパ腫(NHL)を含むB細胞悪性腫瘍の>95%において発現される。特に、CD19発現は、抗CD20療法に対する耐性を示すようになったB細胞リンパ腫において維持される(Davis et al. (1999) "Therapy of B-cell Lymphoma With Anti-CD20 Antibodies Can Result In The Loss Of CD20 Antigen Expression." Clin Cancer Res, 5:611-615, 1999)。CD19はまた、自己免疫疾患を治療するための標的としても示唆されている(Tedder (2009) "CD19: A Promising B Cell Target For Rheumatoid Arthritis," Nat. Rev. Rheumatol. 5:572-577)。

40

【0384】

ヒトCD19に結合し、本発明において採用してよい例示的な抗体は、国際公開第2016/048938号で開示されている抗CD19抗体(本明細書では「CD19 mAb 1」と呼ばれる)である。

【0385】

CD19 mAb 1のVHドメインのアミノ酸配列(配列番号265)を以下に示す(CDR_H残基は下線を付して示されている)：

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSL TSGMGVGWIR QPPGKALEWL
AHIWWD~~DD~~KR YNPALKSRLT ISKDTSKNQV FLTMTNMDPV DTATYYCARM

50

ELWSYYFDYW GQGTTVTVSS

【0386】

C D 1 9 m A b 1 の V L ドメインのアミノ酸配列（配列番号 2 6 6）を以下に示す（C D R_L 残基は下線を付して示されている）：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA

SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG

TKLEIK

【0387】

本出願は具体的には、C D 1 9 に結合できる C D 1 9 結合分子（例えば C D 1 9 × C D 3 二重特異性結合分子）、並びに特に、抗 C D 1 9 モノクローナル抗体 C D 1 9 m A b 1、又は米国特許第 7, 1 1 2, 3 2 4 号で開示されている抗 C D 1 9 抗体のうちのいずれの、V L 及び / 若しくは V H ドメイン、並びに / 又は V L 領域の C D R_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は V H ドメインの C D R_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを包含する。本発明は具体的には、ブリナツモマブ（B L I N C Y T O（登録商標）；WHO Drug Information、2009、Recommended INN: List 62、23(3):240-241に見られるアミノ酸配列）及びドゥボルツキシズマブ（M G D 0 1 1 としても公知；WHO Drug Information、2016、Proposed INN: List 116、30(4):627-629に見られるアミノ酸配列）を含む、本発明で採用してよい例示的な C D 1 9 × C D 3 二重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。

【0388】

E . 例示的な病原体関連抗原

本明細書中で使用される場合、用語「病原体抗原（Pathogen Antigen）」は、病原体感染細胞の表面上に特徴的に発現し、従って抗体系分子又は免疫調節分子を用いて処置できる、抗原を指す。病原体抗原の例としては、限定するものではないが：単純ヘルペスウイルス（例えば感染細胞タンパク質（I C P）4 7、g D 等）；水痘帯状疱疹ウイルス；カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス；エプスタイン バーウイルス（例えば L M P 1、L M P 2 A、L M P 2 B 等）；サイトメガロウイルス（例えば U L 1 1 等）；ヒト免疫不全ウイルス（例えば e n v タンパク質 g p 1 6 0、g p 1 2 0、g p 4 1 等）；ヒトパピローマウイルス（例えば E 6、E 7 等）；ヒト T 細胞白血病ウイルス（例えば e n v タンパク質 g p 6 4、g p 4 6、g p 2 1 等）；A 型肝炎ウイルス；B 型肝炎ウイルス；C 型肝炎ウイルス；水疱性口内炎ウイルス（V S V）；桿菌；シトロバクター；コレラ；ジフテリア；エンテロバクター；淋菌；ヘリコバクター・ピロリ；クレブシエラ；レジオネラ；髄膜炎菌；マイコバクテリア；シュードモナス；肺炎球菌；リケッチア細菌；サルモネラ；セラチア；ブドウ球菌；連鎖球菌；破傷風；アスペルギルス（フミガーツス、クロコウジカビ等）；プラストミセス・デルマチチジス；カンジダ（アルビカンズ、クルセイ、グラブラタ、トロピカリス等）；クリプトコッカス・ネオフォルマンズ；ムコラエ属（ケカビ、ユミケカビ、クモノスカビ）；スポロスリックス・シェンキー；パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス；コクシジオイデス・イムチス；ヒストプラスマ・カプスラツム；レプトスピラ症；ボレリア・ブルグドルフェリ；蠕虫性寄生虫（鉤虫、条虫、吸虫、扁虫（例えば住血吸虫））；ランブル鞭毛虫；トリキネラ属；二核アメーバ；トリパノソーマ・ブルセイ；トリパノソーマ・クルージ；及びドノバン・リーシュマニア）に感染した細胞の表面上に発現される抗原が挙げられる。このような抗体は、多数のソースから市販されており、又は（モノクローナル抗体の産生のために含まれている）マウス若しくは他の動物を上記抗原で免疫化することによって得ることができる。

【0389】

F . 病原体関連抗原に結合できる例示的な抗体

病原体感染細胞の表面上に配列された病原体抗原に結合できる分子を構築するために V H 及び V L ドメインを使用してよい例示的な抗体を以下で提供する。更なる抗体が当該技術分野において公知である。

【0390】

10

20

30

40

50

H I V の e n v タンパク質は、例示的な病原体関連抗原であり、H I V の e n v タンパク質に結合する抗体は、病原体関連抗原に結合できる例示的な抗体である。

【 0 3 9 1 】

H I V 1 感染の最初のステップは、細胞表面 C D 4 が三量体 H I V 1 エンベロープ糖タンパク質 (e n v)、膜貫通型糖タンパク質 (g p 4 1) 及び表面糖タンパク質 (g p 1 2 0) のヘテロ二量体に結合することによって発生する。g p 1 2 0 及び g p 4 1 糖タンパク質は初め、単一の g p 1 6 0 ポリペプチドとして合成され、これはその後切断されて、非共有結合 g p 1 2 0 / g p 4 1 複合体が生成される。e n v の外部ドメインは、全 g p 1 2 0 成分と約 2 0 k D a の g p 4 1 とからなる、質量約 1 4 0 k D a のヘテロ二量体である (Harris, A. et al. (2011) "Trimeric HIV-1 Glycoprotein Gp140 Immunogens And Native HIV-1 Envelope Glycoproteins Display The Same Closed And Open Quaternary Molecular Architectures," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 108(28):11440-11445)。e n v タンパク質に免疫特異的に結合する抗体は市販されており、当該技術分野において既に説明されている (例えば G e n B a n k 受託番号 A F Q 3 1 5 0 3 ; B u c h a c h e r , A . e t a l . (1994) "Generation Of Human Monoclonal Antibodies Against HIV-1 Proteins; Electrofusio

10

20

【 0 3 9 2 】

7 B 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 6 7) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

QVQLVQSGGG VFKPGGSLRL SCEASGFTFT EYYMTWVRQA PGKGLEWLAY
ISKNGEYSKY SPSSNGRFTI SRDNAKNSVF LQLDRLSADD TAVYYCARAD
GLTYFSELLQ YIFDLWGQGA RVTVSS

【 0 3 9 3 】

7 B 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 6 8) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCKSSQTLL YSSNNRHSIA WYQQRPGQPP
KLLLYWASMR LSGVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYCHQYSSH
PPTFGHGTRV EIK

【 0 3 9 4 】

A 3 2 の V H ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 6 9) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

QVQLQESGPG LVKPSQTL^{SL} SCTVSGGSSS SGAHYWSWIR QYPGKGLEWI
GYIHYSGNTY YNP^{SL}KS^{RIT} ISQHTSENQF SLKLNSVTVA DTAVYYCARG
TRLR^{TL}RNAF DIWGQGT^{LT}LT VSS

40

【 0 3 9 5 】

A 3 2 の V L ドメインのアミノ酸配列 (配列番号 2 7 0) を以下に示す (C D R 残基は下線を付して示されている) :

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLI I
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDAEYYC SSYTDIHN^{FV}
FGGGTKLTVL

【 0 3 9 6 】

本出願は具体的には、H I V に結合できる H I V 結合分子 (例えば H I V × C D 3 二重特異性結合分子)、並びに特に、抗 H I V モノクローナル抗体 7 B 2、A 3 2、及び国際

50

公開第 2016/054101 号、国際公開第 2017/011413 号、国際公開第 2017/011414 号で開示されている抗 HIV 抗体のうちのいずれの、VL 及び / 若しくは VH ドメイン、並びに / 又は VL 領域の CDR_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は VH ドメインの CDR_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記結合分子を含み、またこれらを包含する。本発明は具体的には、国際公開第 2014/159940 号、国際公開第 2015/184203 号、国際公開第 2017/011413 号、及び国際公開第 2017/011414 号において提供されている例示的な HIV × CD3 二重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。

【0397】

更に本発明は具体的には、HIV、CD3 及び CD8 に結合できる HIV × CD3 × CD8 三重特異性結合分子、並びに特に、抗 HIV モノクローナル抗体 7B2 若しくは A32 又は国際公開第 2015/184203 号、国際公開第 2016/054101 号、国際公開第 2017/011413 号、国際公開第 2017/011414 号で開示されている抗 HIV 抗体のうちのいずれの、VL 及び / 若しくは VH ドメイン、並びに / 又は VL 領域の CDR_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は VH ドメインの CDR_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て、並びに / あるいは国際公開第 2015/184203 号において提供されている抗 CD8 モノクローナル抗体のうちのいずれの、VL 及び / 若しくは VH ドメイン、並びに / 又は VL 領域の CDR_L のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全て及び / 又は VH ドメインの CDR_H のうちの 1 つ、2 つ若しくは 3 つ全てを含む、上記三重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。本発明は具体的には、国際公開第 2015/184203 号、国際公開第 2017/011413 号、及び国際公開第 2017/011414 号において提供されている例示的な HIV × CD3 × CD8 三重特異性結合分子を含み、またこれらを包含する。

【0398】

G. 本発明の例示的な結合分子

以下で議論するように、本発明を、投与される 2 つの分子：PD-1 に結合できる分子（例えば上述の hPD-1 mAb7 (1, 2) IgG4 (P)、DART-1 又は DART-2）；及び腫瘍細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子（例えば以下に記載の「DART-A」又は「DART-B」）の併用療法を用いて説明する。

【0399】

DART-A は、エフェクタ細胞の CD3 細胞表面分子及び B7-1 癌抗原に結合できる、二重特異性ダイアボディである。これは、B7-1 に対する 1 つの結合部位、B7-1 に対する 1 つの結合部位、ノブ及びホール担持 IgG1 Fc 領域、並びに E/K コイルヘテロ二量体促進ドメインを有する 3 つのポリペプチド鎖からなる、Fc 領域含有ダイアボディである（例えば図 4A を参照）。

【0400】

DART-A の第 1 のポリペプチド鎖は、N 末端から C 末端へ方向に：N 末端；B7-1 に結合できるモノクローナル抗体の VL ドメイン（hB7-1 mAb-2 VL2）（配列番号 226）；介在リンカーペプチド（リンカー 1；GGSGGGG（配列番号 14））；CD3 に結合できるモノクローナル抗体の VH ドメイン（CD3 mAb-1 VH）（配列番号 192）；介在リンカーペプチド（リンカー 2；GGCGGG（配列番号 15））；ヘテロ二量体促進（E コイル）ドメイン（EVAALEK EVAALEK EVAALEK EVAALEK（配列番号 27））；介在リンカーペプチド（スペーサリンカー 3；GGGDKTHTCPPCP（配列番号 39））；「ノブ担持」Fc ドメイン（配列番号 42）；C 末端を含む。よって、DART-A の第 1 のポリペプチド鎖は：配列番号 226 配列番号 14 配列番号 192 配列番号 15 配列番号 27 配列番号 39 配列番号 42 からなる。DART-A の第 1 のポリペプチド鎖のアミノ酸配列は、（配列番号 271）：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKALIYS
ASYRYSQVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIKGGG SGGGGEVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFTFSTYAMN

10

20

30

40

50

WVRQAPGKGL EWWGRIRSKY NNYATYYADS VKDRFTISR DSKNSLYLQM
 NSLKTEDTAV YYCVRHGNFG NSYVSWFAYW GQGLTVTVSS GGCGGGEVAA
 LEKEVAALEK EVAALEKEVA ALEKGGGDKT HTCPCPCAPE AAGGPSVFLF
 PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
 EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP
 REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLWCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT
 TPPVLDS DGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL
 SP GK

である。

【 0 4 0 1 】

D A R T A の第 2 のポリペプチド鎖は、N 末端から C 末端への方に：N 末端；C D 3 に結合できるモノクローナル抗体の V L ドメイン（C D 3 m A b 1 V L）（配列番号 1 9 3）；介在リンカーペプチド（リンカー 1；GGGSGGGG（配列番号 1 4））；B 7 H 3 に結合できるモノクローナル抗体の V H ドメイン（h B 7 H 3 m A b 2 V H 2）（配列番号 2 2 2）；介在リンカーペプチド（リンカー 2；GGCGGG（配列番号 1 5））；ヘテロ二量体促進（K コイル）ドメイン（KVAALKE KVAALKE KVAALKE KVAALKE（配列番号 2 8））；及び C 末端を含む。よって、D A R T A の第 2 のポリペプチドは：配列番号 1 9 3 配列番号 1 4 配列番号 2 2 2 配列番号 1 5 配列番号 2 8 からなる。D A R T A の第 2 のポリペプチド鎖のアミノ酸配列は、（配列番号 2 7 2）：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
 GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
 GGGTKLTVLG GGGSGGGGEV QLVESSGGGLV QPGGSLRLSC AASGFTFSSF
 GMHWVRQAPG KGLEWVAYIS SDSSAIYYAD TVKGRFTISR DNAKNSLYLQ
 MNSLRDEDTA VYYCGRGREN IYYGSRLDYW GQGTTVTVSS GGCGGGKVAA
 LKEKVAALKE KVAALKEKVA ALKE

である。

【 0 4 0 2 】

D A R T A の第 3 のポリペプチド鎖は、N 末端から C 末端への方に：N 末端；ペプチド（リンカー 3；DKHTCPCPC（配列番号 3 8））；「ホール担持」Fc ドメイン（配列番号 4 3）；及び C 末端を含む。よって、D A R T A の第 3 のポリペプチドは：配列番号 3 8 配列番号 4 3 からなる。D A R T A の第 3 のポリペプチド鎖のアミノ酸配列は、（配列番号 2 7 3）：

DKHTCPCPC APEAAGGPSV FLFPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
 PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK
 CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLSCAVK
 GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLD SSGFFLVSKL TVDKSRWQQG
 NVFSCSVMHE ALHNRYTQKS LSLSPGK

である。

【 0 4 0 3 】

腫瘍細胞の標的転換殺滅を仲介できる別の例示的な分子は、D A R T B である。D A R T B は、エフェクタ細胞の C D 3 細胞表面分子及び I L 1 3 R 2 癌抗原に結合できる、二重特異性ダイアボディである。D A R T B は 3 つのポリペプチド鎖からなり、D A R T A と同一の一般構造を有する。

【 0 4 0 4 】

本発明の方法において使用してよい、腫瘍細胞の標的転換殺滅を仲介できる更なる例示的な分子としては：C D 1 9 及び C D 3（例えば米国特許第 7, 2 3 5, 6 4 1 号及び国際公開第 2 0 1 6 / 0 4 8 9 3 8 号を参照）；C D 1 2 3 及び C D 3（例えば Kuo, S.R. et al., (2012) “Engineering a CD123xCD3 bispecific scFv immunofusion for the treatment of leukemia and elimination of leukemia stem cells,” Protein Eng Des Sel. 25:561-9；国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 6 8 9 2 号を参照）；g p A 3 3 及び C D 3（

10

20

30

40

50

例えば国際公開第2015/026894号を参照) ; C E A 及び C D 3 (例えば国際公開第2013/012414号を参照) ; B 7 H 3 及び C D 3 (例えば国際公開第2017/030926号を参照) ; H E R 2 及び C D 3 (例えば国際公開第2012/143524号を参照) ; 5 T 4 及び C D 3 (例えば国際公開第2015/184203号及び国際公開第2013/041687号を参照) に結合できる二重特異性分子、並びに三重特異性分子 (例えば国際公開第2015/184203号及び国際公開第2015/184207号を参照) が挙げられる。

【0405】

V I . 産生方法

最も好ましくは、本発明の分子は、当該技術分野において公知であるように、上記ポリペプチドをエンコードする核酸分子の組み換え発現によって産生される。

【0406】

本発明のポリペプチドは、固相ペプチド合成を用いて便利に調製できる (Merrifield, B. (1986) " Solid Phase Synthesis, " Science 232(4748):341-347; Houghten, R.A. (1985) " General Method For The Rapid Solid-Phase Synthesis Of Large Numbers Of Peptides: Specificity Of Antigen-Antibody Interaction At The Level Of Individual Amino Acids, " Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 82(15): 5131-5135; Ganesan, A. (2006) " Solid-Phase Synthesis In The Twenty-First Century, " Mini Rev. Med. Chem. 6(1):3-10) 。

【0407】

当該技術分野において公知の方法を用いて、抗体を組み換えによって作製し、発現させてよい。抗体は、まず宿主動物から作製された抗体を単離し、遺伝子配列を取得し、上記遺伝子配列を使用して宿主細胞 (例えば C H O 細胞) 内で抗体を組み換え発現させることによって作製できる。採用できる別の方法は、植物 (例えばタバコ) 又はトランスジェニックミルク中で抗体配列を発現させることである。植物又はミルク中で抗体を組み換え発現させるための好適な方法は、開示されている (例えば Peeters et al. (2001) " Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants, " Vaccine 19:2756; Lonberg, N. et al. (1995) " Human Antibodies From Transgenic Mice, " Int. Rev. Immunol 13:65-93; and Pollock et al. (1999) " Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies, " J. Immunol Methods 231 : 147-157 を参照) 。

例えばヒト化、単鎖等の抗体の誘導体を作製するための好適な方法は、当該技術分野において公知であり、また上述されている。別の代替案では、抗体はファージディスプレイ技術によって、組み換えによって作製できる (例えば米国特許第 5 , 5 6 5 , 3 3 2 号 ; 米国特許第 5 , 5 8 0 , 7 1 7 号 ; 米国特許第 5 , 7 3 3 , 7 4 3 号 ; 米国特許第 6 , 2 6 5 , 1 5 0 号 ; 及び Winter, G. et al. (1994) " Making Antibodies By Phage Display Technology, " Annu. Rev. Immunol. 12:433-455 を参照) 。

【0408】

関心対象のポリヌクレオチドを含有するベクター (例えば本発明の結合分子のポリペプチドをエンコードするポリヌクレオチド) は : 電気穿孔 ; 塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、D E A E デキストラン又は他の物質を使用したトランスフェクション ; 微粒子銃 ; リポフェクション ; 及び感染 (例えばベクターがワクシニアウイルス等の感染性因子である場合) を含む多数の適切な手段のうちのいずれによって、宿主細胞に導入できる。ベクター又はポリヌクレオチドの導入の選択は、宿主細胞の特徴に左右される場合が多い。

【0409】

ポリペプチド、又はタンパク質を発現する目的で、異種 D N A を過剰発現できるいずれの宿主細胞を使用できる。好適な哺乳類宿主細胞の非限定的な例としては、C O S、H e L a 及び C H O 細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【0410】

本発明は、本発明の結合分子のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。本発明のポリ

10

20

30

40

50

ペプチドは、当該技術分野において公知の手順で産生できる。上記ポリペプチドは、抗体のタンパク質分解若しくは他の分解によって、上述のような組み換え法（即ち単一若しくは融合ポリペプチド）によって、又は化学的合成によって産生できる。上記抗体のポリペプチド、特にアミノ酸最高約50個分の比較的短いポリペプチドは、化学的合成によって便利に作製される。化学的合成方法は当該技術分野において公知であり、市販されている。

【0411】

本発明は、本開示の結合分子（上記分子の特性に有意な影響を及ぼさない、機能的に同等のポリペプチド、及び活性が増強した又は低下した変異型を含む）を含んでよい。ポリペプチドの修飾は、当該技術分野において慣用的に実践されており、本明細書で詳細に説明する必要はない。修飾されたポリペプチドの例としては、アミノ酸残基の保存的置換を有するポリペプチド、機能的活性を大きく劣化するように変化させない1つ若しくは複数の欠失若しくは追加、又は化学的類似体の使用が挙げられる。互いを保存的に置換できるアミノ酸残基としては：グリシン／アラニン；セリン／トレオニン；バリン／イソロイシン／ロイシン；アスパラギン／グルタミン；アスパラギン酸／グルタミン酸；リジン／アルギニン；及びフェニルアラニン／チロシンが挙げられるが、これらに限定されない。これらのポリペプチドとしては、グリコシル化及び非グリコシル化ポリペプチド、並びに例えば異なる複数の糖によるグリコシル化、アセチル化及びリン酸化といった、その他の変換後修飾を有するポリペプチドも挙げられる。好ましくは、アミノ酸置換は保存的であり、即ち置換されたアミノ酸は、オリジナルのアミノ酸と同様の化学的特性を有する。このような保存的置換は当該技術分野において公知であり、その例は上述されている。アミノ酸修飾は、1つ又は複数のアミノ酸を変化させるか又は修飾することから、可変ドメイン等の領域の完全な再設計にまで及んでよい。可変ドメインの変化は、結合親和性及び／又は特異性を変化させる。他の修飾方法としては、酵素的手段、酸化的置換及びキレート化を含むがこれらに限定されない、当該技術分野において公知の連結技術の使用が挙げられる。修飾は例えば、イムノアッセイのための標識の付与、例えばラジオイムノアッセイのための放射性部分の付与等のために使用できる。修飾されたポリペプチドは、当該技術分野において確立された手順を用いて作製され、また当該技術分野において公知の標準的なアッセイを用いてスクリーニングできる。

【0412】

本発明は、PD1（若しくはPD1の天然リガンド）に結合する抗体、又はエフェクタ細胞の細胞表面分子に結合する抗体、又は疾患抗原（例えば癌抗原若しくは病原体関連抗原）に結合する抗体の、VH及び／又はVLドメインのうちの1つ又は複数を含む、融合タンパク質を包含する。一実施形態では、軽鎖、重鎖又は軽鎖及び重鎖の両方を含む融合ポリペプチドが提供される。別の実施形態では、融合ポリペプチドは、異種免疫グロブリン定常領域を含有する。別の実施形態では、融合ポリペプチドは、公的に寄託されたハイブリドーマから産生された抗体のVH及びVLドメインを含有する。本発明の目的のために、抗体融合タンパク質は、PD1（若しくはPD1の天然リガンド）又はエフェクタ細胞の細胞表面分子に特異的に結合し、かつ天然分子においては上記抗体融合タンパク質が結合しない別のアミノ酸配列、例えば異種配列又は別の領域由来の同種配列を含有する、1つ又は複数のポリペプチドドメインを含有する。

【0413】

本発明は特に、診断又は治療用部分にコンジュゲートする上記結合分子（例えば抗体、ダイアボディ、3価結合分子等）を包含する。診断を目的として、本発明の結合分子を、検出可能な物質と連結させてよい。このような結合分子は、臨床試験手順の一部としての疾患の発症又は進行の監視及び／又は予後判定、例えば特定の療法の有効性の決定に有用である。検出可能な物質の例としては、様々な酵素（例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ等）、補欠分子族（例：アビジン／ビオチン）、蛍光物質（例えばアンペリフェロン、フルオレセイン又はフィコエリスリン）、発光材料（例えばルミノール）、生物発光材料（例えばルシフェラーゼ又はエクオリン）、放射性材料（例えば炭素

10

20

30

40

50

14、マンガン54、ストロンチウム85又は亜鉛65)、陽電子放出金属、及び非放射性常磁性金属イオンが挙げられる。上記検出可能な物質は、直接的に、又は当該技術分野において公知の技法を用いて、介在物(例えばリンカー)を介して間接的に、結合分子と連結又はコンジュゲートさせてよい。

【0414】

治療を目的として、本発明の結合分子を、細胞毒素等の治療成分(例えば細胞増殖抑制剤若しくは細胞破壊剤)、治療剤又はエミッタ等の放射性金属イオンとコンジュゲートさせてよい。細胞毒素又は細胞傷害剤としては、シュドモナス外毒素、ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素A~F、リシンアブリン、サポリン、及びこれらの作用剤の細胞傷害性断片といった、細胞に有害ないずれの作用剤が挙げられる。治療剤としては、障害を予防的又は治療的に処置するための治療効果を有するいずれの作用剤が挙げられる。このような治療剤は、化学治療剤、タンパク質又はポリペプチド治療剤であってよく、所望の生物活性を有する、及び/又は所与の生物応答を修正する治療剤を含んでよい。治療剤の例としては、アルキル化剤、血管新生阻害剤、抗有糸分裂剤、ホルモン療法剤、及び細胞増殖性疾患の治療に有用な抗体が挙げられる。治療用部分は、直接的に、又は当該技術分野において公知の技法を用いて、介在物(例えばリンカー)を介して間接的に、結合分子と連結又はコンジュゲートさせてよい。

10

【0415】

VII. 本発明の結合分子の使用

上述のように、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子及び標的細胞(即ち癌細胞又は病原体感染細胞)の標的転換殺滅を仲介できる分子は、例えば癌又は感染症に罹患した被験者において治療を目的として使用してよい。よって本発明の結合分子は、上記標的細胞の表面上での疾患抗原、特に癌抗原若しくは病原体関連抗原の発現に関連する、又は上記発現を特徴とする、いずれの疾患又は状態を治療する能力を有する。よって、限定するものではないが、本発明の結合分子は、癌、特に癌抗原の発現を特徴とする癌の治療に採用できる。本発明の結合分子は、感染症、特に病原体関連抗原の発現を特徴とする感染症の治療に採用できる。

20

【0416】

特に本発明は：PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子が、PD-1に結合できる抗体のエピトープ結合ドメイン又はPD-1の天然リガンドに結合できる抗体のエピトープ結合ドメインを含み；標的転換殺滅を仲介できる分子が、エフェクタ細胞(例えばヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、形質細胞(抗体分泌性B細胞)、マクロファージ及び顆粒球)の細胞表面分子(例えばCD2、CD3、CD8、CD16、TCR、NKGD2等)に結合できるエピトープ結合ドメインを含み、かつ(標的転換細胞殺滅(例えば標的転換T細胞細胞毒性)を仲介することによって)標的細胞の標的転換殺滅を仲介するために、標的細胞の表面上の疾患抗原(特に癌抗原又は病原体関連抗原)に結合できるエピトープ結合ドメインを含む、上記方法を包含する。

30

【0417】

ある具体的実施形態では、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子は抗体であり、標的転換細胞殺滅を仲介できる分子はダイアボディである。別の具体的実施形態では、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子は抗体であり、標的転換細胞殺滅を仲介できる分子は3価結合分子である。

40

【0418】

ある具体的実施形態では、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子はダイアボディであり、標的転換細胞殺滅を仲介できる分子はダイアボディである。別の具体的実施形態では、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子はダイアボディであり、標的転換細胞殺滅を仲介できる分子は3価結合分子である。

【0419】

一実施形態では、PD-1又はPD-1の天然リガンドに結合できる分子と、標的転換

50

細胞殺滅を仲介できる分子とは、同時に投与される。本明細書中で使用される場合、この「同時 (concurrent)」投与は：

(A) PD-1 若しくは PD-1 の天然リガンドに結合できる分子及び標的転換細胞殺滅を仲介できる分子の両方を含有する単一の医薬組成物の投与；又は

(B) 2 つ以上の医薬組成物の別個の投与であって、上記医薬組成物のうちの 1 つの組成物は PD-1 若しくは PD-1 の天然リガンドに結合できる分子を含有し、上記医薬組成物のうちの別の 1 つの組成物は標的転換細胞殺滅を仲介できる分子を含有し、上記組成物は 48 時間の期間内に投与される、投与を指すことを意図している。

【0420】

第 2 の実施形態では、上記分子は「順次 (sequentially)」投与される (例えば、PD-1 若しくは PD-1 の天然リガンドに結合できる分子を投与した後、標的転換細胞殺滅を仲介できる分子を投与するか、又はその逆)。このような順次投与では、2 番目に投与される組成物は、最初に投与される組成物の投与の少なくとも 48 時間以上後に投与される。

【0421】

「療法を提供する (providing a therapy)」、又は「治療する (treating)」は：疾患に由来する症状の低減；感染症の症状 (例えばウイルス量、発熱、疼痛、敗血症等) の軽減；腫瘍 (癌の文脈では、例えば乳癌、胃癌若しくは前立腺癌の腫瘍) のサイズの縮小；癌細胞成長の遅延；転移の発生、成長若しくは進行の遅延；疾患に由来する症状の低減；レシピエント被験者の QOL の向上；被験者の疾患の治療のために提供される他の薬物の用量の低減；標的化及び / 若しくは内在化等による、別の薬物の効果の増強；疾患の進行の遅延；並びに / 又はレシピエント被験者の生存期間の延長といったいずれの臨床的結果を含むがこれに限定されない、有益な又は所望の結果のいずれの兆候に関連する、組成物のいずれの投与を指す。

【0422】

治療の被験者としては、動物、最も好ましくは非霊長類 (例えばウシ、ウマ、ネコ、イヌ、げっ歯類) 又は霊長類 (例えばカニクイザル等のサル、ヒト等) といった哺乳類種が挙げられる。ある好ましい実施形態では、被験者はヒトである。

【0423】

本発明の様々な実施形態によって治療できる例示的な障害としては、限定するものではないが、増殖性障害、細胞増殖性障害、及び癌 (特に標的転換細胞殺滅を仲介できる分子によって結合できる癌抗原を発現する癌)、病原体関連疾患 (特に標的転換細胞殺滅を仲介できる分子によって結合される病原体関連抗原の発現に関連する慢性ウイルス感染症) が挙げられる。様々な実施形態では、本発明は、被験者の疾患又は障害の治療、予防又は管理のための方法及び組成物を包含し、これは、治療的有効量の PD-1 又は PD-1 の天然リガンドに結合できる分子及び標的細胞 (例えば腫瘍細胞、病原体感染細胞又は外来細胞) の標的転換殺滅を仲介できる分子を被験者に投与するステップを含む。このような分子の組み合わせは、原発性腫瘍の成長の予防、阻害、低減又は退縮、及び腫瘍の転移の予防、阻害、低減のため、並びに病原体量の低減又は病原体感染細胞の排除のために特に有用である。特定の作用機序による束縛を意図したものではないが、上記分子は、標的細胞に対するエフェクタ機能を仲介してよく、標的細胞、架橋細胞表面抗原及び / 又は標的細胞上の受容体に対する免疫系の活性化を促進してよく、またアポトーシス又は負の成長調節シグナリングを増強してよく、又はこれらの組み合わせを実現してよく、これにより、標的細胞の除去及び / 又はその個数の低減をもたらす。

【0424】

本発明の分子によって、及び本発明の方法によって治療できる癌としては、限定するものではないが：副腎癌 (褐色細胞腫又は副腎皮質癌を含むがこれらに限定されない)；エイズ関連癌；歯槽軟部肉腫；星状細胞腫；基底細胞癌；膀胱癌 (移行上皮癌、扁平上皮癌、腺癌又は癌肉腫を含むがこれらに限定されない)；骨及び結合組織肉腫 (限定するもの

10

20

30

40

50

ではないが、骨肉腫 (bone sarcoma、osteosarcoma)、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、悪性巨細胞腫、骨線維肉腫、脊索腫、骨膜肉腫、軟部組織肉腫、管肉腫 (血管肉腫)、線維肉腫、カポジ肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、リンパ管肉腫、神経鞘腫、横紋筋肉腫又は滑膜肉腫等)；脳癌 (神経膠腫、星状細胞腫、脳幹神経膠腫、上衣腫、乏突起神経膠腫、非グリア腫瘍 (nonglial tumor)、聴神経鞘腫、頭蓋咽頭腫、髄芽腫、髄膜腫、松果体細胞腫、松果体芽細胞腫、又は原発性脳リンパ腫を含むがこれらに限定されない)；脳及び脊髄癌；乳癌 (腺癌、小葉 (小細胞) 癌、管内癌、髄様乳癌、粘液性乳癌、管状乳癌、乳頭状乳癌、パジェット病又は炎症性乳癌を含むがこれらに限定されない)；頸動脈球腫瘍；子宮頸癌 (扁平上皮癌又は腺癌を含むがこれらに限定されない)；胆管癌 (乳頭状、結節状、又はびまん性胆管癌を含むがこれらに限定されない)；軟骨肉腫；脊索腫；腎明細胞癌；明細胞癌；結腸癌；結腸直腸癌；皮膚良性線維性組織球腫；線維形成性小円形細胞腫瘍；上衣腫；眼癌 (虹彩黒色腫、脈絡膜黒色腫及び毛様体黒色等の眼内黒色腫並びに腫網膜芽細胞腫を含むがこれらに限定されない)；食道癌 (扁平上皮癌、腺癌、腺様嚢胞癌、粘表皮癌、腺扁平上皮癌、肉腫、黒色腫、形質細胞腫、疣状癌、及び燕麦細胞 (小細胞) 癌を含むがこれらに限定されない)；ユーイング腫；骨外性粘液性軟骨肉腫；線維形成不全骨；骨の線維性異形成；胆嚢癌又は胆管癌 (腺癌を含むがこれらに限定されない)；胃癌 (gastric cancer)；妊娠性絨毛性疾患；胚細胞腫瘍；頭頸部癌；肝細胞癌；重鎖病；膵島細胞腫瘍；カポジ肉腫；白血病 (急性白血病を含むがこれに限定されない)；急性リンパ性白血病；急性骨髄性白血病 (限定するものではないが、骨髄芽球性、前骨髄球性、骨髄単球性、単球性若しくは赤白血病性白血病、又は骨髄異形成症候群等)；慢性白血病 (限定するものではないが、慢性骨髄性 (顆粒球) 白血病、慢性リンパ性白血病、有毛細胞白血病等)；脂肪腫 / 良性脂肪腫；脂肪肉腫 / 悪性脂肪腫性腫瘍；肝臓癌 (肝細胞癌又は肝芽腫を含むがこれらに限定されない)；リンパ腫 (限定するものではないがホジキン病等)；非ホジキン病；肺癌 (非小細胞肺癌、扁平上皮癌 (類表皮癌)、腺癌、大細胞癌又は小細胞肺癌を含むがこれらに限定されない)；髄芽腫；黒色腫；髄膜腫；良性単クローン性免疫グロブリン血症；意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症；多発性内分泌腫瘍；多発性骨髄腫 (限定するものではないが、くすぶり型多発性骨髄腫、非分泌性骨髄腫、骨硬化性骨髄腫、形質細胞性白血病、孤立性形質細胞腫及び髄外性形質細胞腫等)；骨髄異形成症候群；神経芽腫；神経内分泌腫瘍；口腔癌 (扁平上皮癌を含むがこれに限定されない)；卵巣癌 (卵巣上皮癌、ボーダーライン腫瘍、胚細胞腫瘍及び間質腫瘍を含むがこれらに限定されない)；膵臓癌 (インスリノーマ、ガストリノーマ、グルカゴノーマ、脂肪腫、ソマトスタチン分泌腫瘍、又は癌様体若しくは膵島細胞腫瘍を含むがこれらに限定されない)；副甲状腺腫瘍；小児癌；陰茎癌；末梢神経鞘腫瘍；褐色細胞腫；咽頭癌 (扁平上皮癌又は水疱性癌を含むがこれらに限定されない)；下垂体癌 (クッシング病、プロラクチン分泌腫瘍、末端肥大症、又は糖尿病性小児腫瘍を含むがこれらに限定されない)；前立腺癌 (腺癌、平滑筋肉腫又は横紋筋肉腫を含むがこれらに限定されない)；真性赤血球増加症；後部ブドウ膜黒色腫；まれな血液障害；腎臓癌 (腺癌、過腎腫、線維肉腫、腎転移癌又は移行上皮癌 (腎盂及び / 若しくは尿管) を含むがこれらに限定されない)；ラブドイド腫瘍；横紋筋肉腫；唾液腺癌 (腺癌、粘表皮癌又は腺様嚢胞癌を含むがこれらに限定されない)；肉腫；皮膚癌 (基底細胞癌、扁平上皮癌及び黒色腫、表在性増殖性黒色腫、結節性黒色腫、水晶体悪性黒色腫又は末端黒子型黒色腫を含むがこれらに限定されない)；軟組織肉腫；扁平上皮癌；胃癌 (stomach cancer) (腺癌、真菌性 (ポリープ状)、潰瘍性、表在性、びまん性又は悪性リンパ腫、脂肪肉腫、線維肉腫、及び癌肉腫を含むがこれらに限定されない)；滑膜肉腫；精巣癌 (胚性腫瘍、セミノーマ、未分化、古典的 (典型的)、精細胞性、非セミノーマ、胚性癌、奇形腫瘍、又は絨毛癌 (卵黄嚢腫瘍) を含むがこれらに限定されない)；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌 (限定するものではないが、甲状腺乳頭若しくは濾胞癌、転移性甲状腺癌、甲状腺髄様癌又は未分化甲状腺癌等)；子宮癌 (子宮内膜癌又は子宮肉腫を含むがこれらに限定されない)；膣癌 (扁平上皮癌、腺癌又は黒色腫を含むがこれらに限定されない)；外陰癌 (扁平上皮癌、黒色腫、腺癌、基底細胞癌、肉腫又はパジェット病を含むがこれらに限定されない)；ワルデンシュト

レーマクログロブリン血症；あるいはウィルムス腫瘍が挙げられる。更に、癌としては、粘液肉腫、骨原性肉腫、内皮肉腫、リンパ管内皮肉腫、中皮腫、滑膜腫、血管芽腫、上皮癌、嚢胞腺癌、気管支癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、及び乳頭状腺癌が挙げられる（これらの障害の概観に関しては、Fishman et al., 1985, Medicine, 2d Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia and Murphy et al., 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc.を参照）。

【0425】

特に、本発明の結合分子は、副腎癌、膀胱癌、乳癌、結腸直腸癌、胃癌、膠芽腫、腎臓癌、非小細胞肺癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、有毛細胞白血病、パーケットリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、小リンパ性リンパ腫、多発性骨髄腫、黒色腫、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、精巣癌、及び子宮癌の治療に使用できる。

10

【0426】

本発明のLAG 3結合分子で治療できる病原体関連疾患としては、慢性ウイルス、細菌、真菌及び寄生虫感染が挙げられる。本発明のLAG 3結合分子で治療できる慢性感染としては：エプスタイン・バーウイルス；A型肝炎ウイルス（HAV）；B型肝炎ウイルス（HBV）；C型肝炎ウイルス（HCV）；ヘルペスウイルス（例えばHSV 1、HSV 2、HHV 6、CMV）；ヒト免疫不全ウイルス（HIV）；水疱性口内炎ウイルス（VSV）；桿菌；シトロバクター；コレラ；ジフテリア；エンテロバクター；淋菌；ヘリコバクター・ピロリ；クレブシエラ；レジオネラ；髄膜炎菌；マイコバクテリア；シュドモナス；肺炎球菌；リケッチア細菌；サルモネラ；セラチア；ブドウ球菌；連鎖球菌；破傷風；アスペルギルス（アスペルギルス・フミガーツス、クロコウジカビ等）；プラストミセス・デルマチチジス；カンジダ（カンジダ・アルビカンズ、カンジダ・クルセイ、カンジダ・グラブラタ、カンジダ・トロピカリス等）；クリプトコッカス・ネオフォルマンズ；ムコラエ属（ケカビ、ユミケカビ、クモノスカビ）；スポロシリックス・シェンキー；パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス；コクシジオイデス・イムチス；ヒストプラスマ・カプスラツム；レプトスピラ症；ボレリア・ブルグドルフェリ；蠕虫性寄生虫（鉤虫、条虫、吸虫、扁虫（例えば住血吸虫））；ランブル鞭毛虫；トリキネラ属；二核アメーバ；トリパノソーマ・ブルセイ；トリパノソーマ・クルージ；及びドノバン・リーシュマニアが挙げられる。

20

30

【0427】

VIII. 医薬組成物

本発明は、PD 1若しくはPD 1の天然リガンドに結合できる分子、腫瘍細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子、又はこれらの分子の組み合わせを含む、組成物を包含する。本発明の組成物は、医薬組成物の製造に使用できるバルク薬剤組成物（例えば不純又は非滅菌組成物）、及び単位剤形の調製に使用できる医薬組成物（即ち被験体又は患者への投与に好適な組成物）を含む。これらの組成物は、予防的又は治療的有效量のPD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる分子、標的細胞（例えば癌細胞、病原体感染細胞等）の標的転換殺滅を仲介できる分子又はこれらの分子の組み合わせと、薬学的に許容可能なキャリアとを含む。好ましくは、本発明の組成物は、予防的又は治療的有效量の本発明の結合分子のうちの1つ又は複数と、薬学的に許容可能なキャリアとを含む。ある好ましい態様では、上記組成物は略精製済みである（即ち上記組成物の効果を制限する、又は望ましくない副作用を生成する物質を略含まない）。

40

【0428】

2つ以上の治療剤を投与する場合、これらの作用剤は、同一処方中に共に配合してよく、又は別個の組成物中に配合してよい。従っていくつかの実施形態では、PD 1又はPD 1の天然リガンドに結合できる分子と、標的細胞（例えば癌細胞、病原体感染細胞等）の標的転換殺滅を仲介できる分子とは、同一の医薬組成物中に共に配合される。代替実

50

施形態では、これらの分子は別個の医薬組成物中に配合される。

【0429】

P D 1 又は P D 1 の天然リガンドに結合できる分子、標的細胞（例えば癌細胞、病原体感染細胞等）の標的転換殺滅を仲介できる分子、又はこれらの分子の組み合わせの様々な処方を、投与に用いてよい。1つ又は複数の薬理学的有効成分に加えて、本発明の組成物は、好適な、薬学的に許容可能なキャリアを含有してよく、上記キャリアは、当該技術分野において公知の賦形剤及び助剤を含み、また薬理学的に有効な物質の投与を促進する、又は上記活性化合物の、作用部位への送達のために薬学的に使用できる調製物への加工を促進する、比較的不活性の物質である。例えば賦形剤は、形状若しくは粘度を与えることができ、又は希釈剤として作用できる。好適な賦形剤としては、安定化剤、湿潤及び乳化剤、浸透圧を変化させるための塩、カプセル化剤、緩衝液、並びに皮膚浸透促進剤が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0430】

ある具体的実施形態では、用語「薬学的に許容可能な (pharmaceutically acceptable)」は、動物、より詳細にはヒトにおける使用に関して、連邦規制当局若しくは州政府によって承認されている、又は米国薬局方若しくは他の一般に認められた薬局方に記載されていることを意味する。用語「キャリア (carrier)」は、希釈剤、アジュバント（例えばフロイントアジュバント（完全及び不完全））、賦形剤、又は治療薬の投与に用いられるビヒクルを指す。一般に、本発明の組成物の成分は、例えば活性作用剤の量を示すアンブル又はサシェ等の気密性コンテナ中の凍結乾燥粉末又は無水濃縮物として、別個に、又は単位剤形にまとめて混合された状態で供給される。組成物を点滴によって投与する場合、組成物は、滅菌された薬学的グレードの水又は食塩水を内包する点滴ボトルを用いて吐出できる。組成物を注射によって投与する場合、投与前に成分を混合できるように、注射用無菌水又は食塩水のアンブルを提供できる。

20

【0431】

本発明はまた、単独の又は上述のような薬学的に許容可能なキャリアと組み合わせられた本発明の結合分子で充填された1つ又は複数のコンテナを含む、医薬パック又はキットも提供する。更に、疾患の治療に有用な1つ又は複数の他の予防剤又は治療剤も、上記医薬パック又はキットに含めることができる。本発明はまた、本発明の医薬組成物の成分のうちの1つ又は複数で充填された1つ又は複数のコンテナを含む、医薬パック又はキットも提供する。任意に、このような1つ又は複数のコンテナは、医薬製品又は生物学的製品の製造、使用又は販売を規制する政府機関によって規定された形式の通知と関連するものとすることができ、上記通知は、ヒトへの投与のための製造、使用又は販売の機関による承認を反映したものである。

30

【0432】

本発明は、上述の方法において使用できるキットを提供する。キットは、本発明の結合分子のいずれを含むことができる。このキットは更に、癌の治療に有用な1つ又は複数の他の予防剤及び/又は治療剤を、1つ又は複数のコンテナ内に含むことができる

【0433】

投与方法

40

本発明の組成物は、有効量の、P D 1 若しくは P D 1 の天然リガンドに結合できる本発明の分子を含む医薬組成物及び腫瘍細胞の標的転換殺滅を仲介できる本発明の分子、又は本発明のこれらの分子の組み合わせを含む医薬組成物を、被験体に投与することによる、疾患、障害又は感染症に関連する1つ又は複数の症状の治療、予防及び改善のために提供できる。好ましい態様では、上記組成物は実質的に精製される（即ち上記組成物の効果を制限する、又は望ましくない副作用を生成する物質を実質的に含まない）。ある具体的実施形態では、被験体は動物、好ましくは非霊長類（例えばウシ属、ウマ科、ネコ科、イヌ科、げっ歯類等）又は霊長類（例えばカニクイザル等のサル、ヒト等）といった哺乳類である。ある好ましい実施形態では、被験体はヒトである。

【0434】

50

本発明の分子又は組成物を投与する方法としては：非経口投与（例えば皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内及び皮下）；硬膜外；並びに粘膜（例えば鼻腔内及び経口経路）が挙げられるがこれらに限定されない。ある具体的実施形態では、本発明の結合分子は、筋肉内、静脈内又は皮下投与される。組成物は、いずれの便利な経路によって、例えば点滴又はボラス注射によって、上皮又は粘膜皮膚層（例えば口腔粘膜、直腸及び腸粘膜等）を通した吸収によって投与してよく、他の生物学的活性作用剤と共に投与してよい。投与は全身性又は局所性とすることができる。

【0435】

本発明はまた、本発明の結合分子の調製物を、この分子の量を示すアンプル又はサシェ等の気密性コンテナ内に包装することも提供する。一実施形態では、上記分子は、気密性コンテナ内の乾燥滅菌凍結乾燥粉末又は無水濃縮物として供給され、例えば水又は食塩水を用いて、被験体への投与に適切な濃度へと再構成できる。好ましくは、本発明の結合分子は、気密性コンテナ内の乾燥滅菌凍結乾燥粉末として供給される。

10

【0436】

凍結乾燥された本発明の結合分子の調製物は、その元々のコンテナ内において2～8で保管するべきであり、またこの分子は、再構成後12時間以内、好ましくは6時間以内、5時間以内、3時間以内又は1時間以内に投与するべきである。ある代替実施形態では、このような分子は、この分子、融合タンパク質又はコンジュゲート分子の量及び濃度を示す気密性コンテナ内に、液体形態で供給される。好ましくは、このような結合分子は、液体形態で提供される場合、気密性コンテナ内に供給される。

20

【0437】

障害に関連する1つ又は複数の症状の治療、予防及び改善に効果的な本発明の上記調製物の量は、標準的な臨床技術によって決定できる。処方において採用するべき正確な用量は、投与経路及び状態の重篤度にも左右され、施術者の判断及び各患者の状況に従って決定するべきである。効果的な用量は、インビトロ又は動物モデル試験系から得られた用量応答曲線から外挿できる。

【0438】

本明細書において使用される場合、医薬組成物の「有効量（effective amount）」は：疾患によってもたらされる症状の低減；感染の症状（例えばウイルス負荷、発熱、疼痛、敗血症等）若しくは癌の症状（例えば癌細胞の増殖、腫瘍の存在、腫瘍転移等）を減弱させる疾患に起因する症状の減弱；これによる、疾患に罹患したヒトのQOLの上昇；疾患を治療するために必要な他の投薬量の低減；標的化及び／若しくは内在化等による別の投薬の効果の増強；疾患の進行の遅延；並びに／又は個体の生存期間の延長を含むがこれらに限定されない、有益な又は所望の結果を得るために十分な量である。単独で投与される個々の有効成分に対して適用される場合、この用語は、上記成分のみを指す。組み合わせに対して適用される場合、この用語は、治療効果をもたらす複数の有効成分の合計量を指し、上記有効成分が組み合わせた状態で投与されるか、順次投与されるか、又は同時に投与されるかにかかわらない。

30

【0439】

有効量は、1回又は複数回の投与で投与できる。本発明の目的のために、薬剤、化合物又は医薬組成物の有効量は、直接的又は間接的な：癌細胞の殺滅及び／若しくは増殖の低減；並びに／又は癌の原発部位からの転移の進展の排除、低減及び／若しくは遅延；又は感染病原体の増殖（又はその影響）の低減；並びに病原体仲介型疾患の進展の低減及び／又は遅延に十分な量である。いくつかの実施形態では、薬剤、化合物又は医薬組成物の有効量は、別の薬剤、化合物又は医薬組成物と組み合わせて達成してもしなくてもよい。従って「有効量」は、1つ又は複数の化学療法剤を投与する文脈で考えることができ、また単一の作用剤が、1つ又は複数の他の作用剤と組み合わせて所望の結果を達成できる又は所望の結果を達成する場合に、有効量で与えられているものと考えることができる。個別の必要量は異なるが、各成分の有効量の最適な範囲の決定は当業者の能力の範囲内である。

40

50

【0440】

本発明に包含される結合分子に関して、患者に投与される投薬量は好ましくは、レシピエント被検体の体重(kg)に基づいて決定される。本発明に包含される結合分子に関して、患者に投与される投薬量は典型的には、被検体の体重に対して約0.01μg/kg～約30mg/kg以上である。

【0441】

本発明の結合分子の投与の用量及び頻度は、例えば脂質化等の改質によって分子の取り込み及び組織貫通を増強することによって低減又は変更できる。

【0442】

患者に投与される本発明の結合分子の投薬量は、単一作用剤による治療としての使用のために計算してよい。あるいは、上記分子は他の治療用組成物と併用され、患者に投与される投薬量は、上記分子を単一作用剤による治療として使用する場合よりも小さくなる。

【0443】

本発明の医薬組成物は、治療が必要な領域に局所的に投与してよく、これは、以下に限定されるものではないが、例えば局所的点滴によって、注射によって、又はインプラントを用いて達成してよく、上記インプラントは多孔性、非多孔性又はゼラチン材料性であり、シラスティック膜等の膜又は繊維を含む。好ましくは、本発明の分子を投与する際、この分子が吸収されない材料を使用するよう注意しなければならない。

【0444】

本発明の組成物は、小囊、特にリボソーム中で送達できる(Langer (1990) "New Methods Of Drug Delivery," Science 249:1527-1533); Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp.353-365(1989); Lopez-Berestein, 同上, pp.317-327参照)。

【0445】

本発明の組成物が、本発明の結合分子をエンコードする核酸である場合、この核酸は、この核酸がエンコードする結合分子の発現を促進するために、この核酸を適切な核酸発現ベクターの一部として構築して、例えばレトロウイルスベクターの使用によって(米国特許第4,980,286号参照)、又は直接注射によって、又は微粒子衝撃(例えば遺伝子銃; Biolistic、Dupont)の使用によって、又は脂質若しくは細胞表面受容体若しくは遺伝子導入剤を用いてコーティングすることによって、又は細胞核に入ることが知られているホメオボックス様ペプチドと連鎖させて上記核酸を投与すること(例えばJoliot et al.(1991) "Antennapedia Homeobox Peptide Regulates Neural Morphogenesis," Proc. Natl. Acad. Sci.(U.S.A.)88:1864-1868を参照)等によって、上記核酸を投与することにより、インビボ投与できる。あるいは核酸を細胞内に導入して、相同遺伝子組み換えによる発現のための宿主細胞DNA内に組み込むことができる。

【0446】

治療的又は予防的有効量の本発明の結合分子を用いた被験体の治療は、単回治療を含むことができ、又は好ましくは一連の複数回の治療を含むことができる。ある好ましい例では、被験体は、本発明の医薬組成物を用いて、約1～10週間、好ましくは2～8週間、より好ましくは約3～7週間、更に好ましくは約4、5又は6週間にわたって処置される。本発明の医薬組成物は、1日1回投与でき、この投与は1週間に1回、1週間に2回、2週間に1回、1ヶ月に1回、6週間に1回、2ヶ月に1回、1年に2回又は1年に1回等のスケジュールで行われる。あるいは本発明の医薬組成物は、1日2回投与でき、この投与は1週間に1回、1週間に2回、2週間に1回、1ヶ月に1回、6週間に1回、2ヶ月に1回、1年に2回又は1年に1回等のスケジュールで行われる。あるいは、本発明の医薬組成物は、1日3回投与でき、この投与は1週間に1回、1週間に2回、2週間に1回、1ヶ月に1回、6週間に1回、2ヶ月に1回、1年に2回又は1年に1回等のスケジュールで行われる。治療に使用される上記分子の有効な用量設定は、特定の治療の期間に亘って増減させてよいことも理解されるだろう。

【実施例】

【 0 4 4 7 】

これまで本発明を概説してきたが、本発明は、以下の実施例を参照することによって更に容易に理解されるだろう。これらの実施例は例示として提供されており、特段の記載がない限り、本発明を限定することを意図したものではない。

【 0 4 4 8 】

〔実施例 1〕 併用治療研究：L O X I M V I 腫瘍モデル

本発明の原理を説明するために、ヒト P B M C を用いて再構成した M H C I ^{-/-} マウスに L O X I M V I ヒト転移性黒色腫瘍細胞を皮下注射した再構成済み腫瘍モデルを用いて、併用治療研究を実施した。その後マウスに、ビヒクル又は以下の治療剤を投与した：

(1) ヒト化抗ヒト P D 1 抗体：h P D 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P)、この抗体は P D 1 に結合できる分子である；及び / 又は

(2) C D 3 × B 7 H 3 二重特異性ダイアボディ D A R T A、このダイアボディは、エフェクタ細胞の細胞表面分子（即ち C D 3 ）及び癌抗原（即ち B 7 H 3 ）に結合できる分子であり、これによって、B 7 H 3 を発現する癌細胞の標的転換殺滅を仲介できる。

投与された上記分子のアミノ酸配列は、既に記載されている。表 1 1 は、本研究のパラメータを示す。各グループは 6 体のメスのマウスからなっていた。全てのグループに関して、マウスに、 5×10^6 個の L O X I M V I 癌細胞（I D；研究 3 3 日目に投与）、及び 10^6 個のヒト P B M C（I P；研究 0 日目に投与）を投与した。治療（研究 4 2 日目に開始される 1 つ若しくは複数の投与分子又はビヒクル）を、週 1 回 3 週間提供した（Q 7 D × 3）；用量は静脈内注射によって投与した。

【 0 4 4 9 】

【表 1 1】

表 1 1		
グループ	投与量 (mg/kg)	
	h P D - 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P)	D A R T - A
1	0	0
2	0	0.5
3	1.0	0
4	1.0	0.5

【 0 4 5 0 】

腫瘍体積を時間の関数として測定した。図 7 は本研究の結果を示し、h P D 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P) のみ又は D A R T A のみの投与に対する、併用療法の予想外の便益を実証している。

【 0 4 5 1 】

〔実施例 2〕 併用治療研究：D e t r o i t 5 6 2 腫瘍モデル

本発明の原理を更に説明するために、ヒト P B M C を用いて再構成した M H C I ^{-/-} マウスに D e t r o i t 5 6 2 ヒト転移性咽頭癌細胞を皮下注射した再構成済み腫瘍モデルを用いて、併用治療研究を実施した。その後マウスに、ビヒクル対照、1 m g / k g の h P D 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P)、0 . 5 m g / k g の D A R T A、又は 1 m g / k g の h P D 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P) 及び 0 . 5 m g / k g の D A R T A の両方を投与した。表 1 2 は、本研究のパラメータを示す。各グループは 8 体のオスのマウスからなっていた。全てのグループに関して、マウスに、 5×10^6 個の D e t r o i t 5 6 2 癌細胞（I D）及び 10^6 個のヒト P B M C（I P；研究 0 日目に投与）を投与した。治療（研究 7 日目に開始される 1 つ若しくは複数の投与分子又はビヒクル）を、週 1 回 4 週間（Q 7 D × 4）、又は 1 4 日毎に 2 用量（Q 1 4 D × 2）提供した；用量は静脈内注射によって投与した。

【 0 4 5 2 】

【 表 1 2 】

表 1 2			
グループ	投薬レジメン	投与量(mg/kg)	
		h P D - 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P)	D A R T - A
1	Q7Dx4	0	0
2	Q7Dx4	1.0	0
3	Q7Dx4	0	0.5
4	Q14Dx2	0	0.5
5	Q7Dx4	1.0	0.5
6	Q14Dx2	1.0	0.5

10

【 0 4 5 3 】

腫瘍体積を時間の関数として測定した。図 8 A ~ 8 B は本研究の結果を示し、これもまた、h P D - 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P) のみ又は D A R T - A のみの投与に対する、併用療法の予想外の便益を実証している。図 8 A はグループ 1 ~ 3 及び 5 に関する結果を示し；図 8 B はグループ 1 ~ 4 及び 6 に関する結果を示す。

20

【 0 4 5 4 】

マウス中の C D 3 + の濃度を、研究の終了時に決定した。驚くべきことに、上記細胞の濃度は、併用療法を受けたマウス（図 9）において上昇したことが分かり、これは即ち、本発明の療法が動物の免疫応答を増強したことを示している。

【 0 4 5 5 】

[実施例 3] シグナリングモデル

本発明の原理を更に説明するために、T細胞/腫瘍細胞共培養システムにおいて、J u r k a t l u c N F A T / 腫瘍細胞ルシフェラーゼレポータアッセイを用いて、協調的なT細胞シグナル伝達を試験した。簡潔に述べると、P D - 1 及び B 7 H 3 を発現する M D A M B 2 3 1 腫瘍標的細胞を、M N F A T l u c 2 / P D - 1 J u r k a t T細胞と、エフェクタ：標的細胞比 1 : 1（図 1 0 A）又は 3 : 1（図 1 0 B）で混合し、単独で、又は固定濃度（1 2 . 5 n M）の P D - 1 結合分子 h P D - 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P)、D A R T - 1、対照抗体と共に、D A R T - A の濃度を上昇させながら培養した。細胞活性化及びシグナリングのインジケータとして、発光を測定した。図 1 0 A ~ 1 0 B は、本研究の結果を示し、これは、P D - 1 に結合できる分子（例えば h P D - 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P)、D A R T - 1）と標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子（例えば D A R T - A）との組み合わせが、エフェクタ細胞シグナリング活性を増強することを実証している。

30

【 0 4 5 6 】

[実施例 4] 併用治療研究：A 3 7 5 腫瘍モデルにおける、正常なT細胞とアネルギー性T細胞との比較

40

本発明の原理を更に説明するために、活性化又はアネルギー性ヒトT細胞を用いて再構成した N O G マウスに A 3 7 5 ヒト黒色腫細胞を皮下注射した再構成済み腫瘍モデルと用いて、併用治療研究を実施した。その後マウスに、ビヒクル又は以下の治療剤を投与した：

（ 1 ） P D - 1 x L A G - 3 二重特異性ダイアボディ：D A R T - 2、このダイアボディは、P D - 1 に結合できる分子である；及び / 又は

（ 2 ） C D 3 x I L 1 3 R - 2 二重特異性ダイアボディ D A R T - B、このダイアボディは、エフェクタ細胞の細胞表面分子（即ち C D 3）及び癌抗原（即ち I L 1 3 R - 2）に結合できる分子であり、これによって、I L 1 3 R - 2 を発現する癌細胞の標的転換殺

50

滅を仲介できる。

【 0 4 5 7 】

精製済みヒト T 細胞を、IL 2 の存在下で、CD 3 / CD 2 8 活性化ビーズを用いて 2 ラウンド培養することによって、活性化 T 細胞を調製した。精製済みヒト T 細胞を、IL 2 の存在下で、CD 3 / CD 2 8 活性化ビーズを用いて 1 ラウンド培養した後、IL 2 の不在下で、CD 3 / CD 2 8 活性化ビーズを用いて 1 ラウンド培養することによって、アネルギー性 T 細胞を調製した。マウスの複数のグループ (n = 8 体のメス) に、研究 0 日目に、 5×10^6 個の A 3 7 5 黒色腫細胞 (0 . 1 μ g / m L の IFN で 2 4 時間予備処理済み) 及び 5×10^6 個のヒト T 細胞 (活性化又はアネルギー性) を皮下接種し、その後、ビヒクル対照、0 . 5 m g / k g の D A R T 2、0 . 5 m g / k g の D A R T B、又は 0 . 5 m g / k g の D A R T 2 及び 0 . 5 m g / k g の D A R T B 両方を投与した。治療 (1 つ若しくは複数の投与分子又はビヒクル) を、週 1 回 4 週間 (Q 7 D \times 4)、又は研究 0 日目の単回治療として (Q D (S D))、提供した ; 用量は静脈内注射によって投与した。表 1 3 は、本研究のパラメータを示す。

【 0 4 5 8 】

【表 1 3】

表 1 3				
グループ	T細胞	治療	用量 (mg/kg)	経路/スケジュール
1	活性化	ビヒクル	0	IV/QD (SD0)
2	活性化	DART - B	0.01	IV/QD (SD0)
3	活性化	DART - B DART - 2	0.01 0.5	IV/QD (SD0) IV/Q7D \times 4
4	活性化	DART - 2	0.5	IV/Q7D \times 4
5	アネルギー性	ビヒクル	0	IV/QD (SD0)
6	アネルギー性	DART - B	0.01	IV/QD (SD0)
7	アネルギー性	DART - B DART - 2	0.01 0.5	IV/QD (SD0) IV/Q7D \times 4
8	アネルギー性	DART - 2	0.5	IV/Q7D \times 4

【 0 4 5 9 】

腫瘍体積を時間の関数として測定した。図 1 1 A ~ 1 1 B は本研究の結果を示し、これは、PD 1 に結合できる分子 (例えば h PD 1 m A b 7 (1 . 2) I g G 4 (P)、DART 1、DART 2) と、標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子 (例えば DART A、DART B) との併用療法が、アネルギー性 T 細胞の存在下において腫瘍再発を低減することを実証している。またこれらの結果は、PD 1 に結合できる分子と標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子との併用療法の、各分子単独の投与に対する予想外の便益を実証している。図 1 1 A は、正常な活性化 T 細胞を接種したグループ 1 ~ 4 に関する結果を示し ; 図 1 1 B は、アネルギー性 T 細胞を接種したグループ 5 ~ 8 に関する結果を示す。

【 0 4 6 0 】

[実施例 5] 併用治療研究 : A 3 7 5 腫瘍モデル

本発明の原理を更に説明するために、ヒト T 細胞を用いて再構成した NOG マウスに A 3 7 5 黒色腫細胞を皮下注射した共混合腫瘍モデルを用いて、併用治療研究を実施した。その後マウスに、ビヒクル又は以下の治療剤を投与した :

(1) PD 1 \times L A G 3 二重特異性ダイアボディ : DART 2、このダイアボディは、PD 1 に結合できる分子である ; 及び / 又は

(2) CD 3 \times I L 1 3 R 2 二重特異性ダイアボディ DART B、このダイアボディは、エフェクタ細胞の細胞表面分子 (即ち CD 3) 及び癌抗原 (即ち I L 1 3 R 2)

に結合できる分子であり、これによって、IL13R2を発現する癌細胞の標的転換殺滅を仲介できる。

【0461】

表14は、本研究のパラメータを示す。各グループは8体のメスのマウスからなっていた。全てのグループに関して、マウスに、 1.25×10^6 個のヒトT細胞 ($120 \mu\text{g}/\text{ml}$ のDART2で20分間予備処理済み)と共混合した 1.25×10^6 個のA375黒色腫細胞 ($100 \text{ ng}/\text{ml}$ のIFNで24時間予備処理済み)を投与した(SC;研究0日目に投与)。グループ5~8のマウスは、細胞注射前(研究-1日目)にDART2 ($500 \mu\text{g}/\text{kg}$)で24時間予備処理され、追加用量のDART2 ($500 \mu\text{g}/\text{kg}$)を、研究7日目から開始して7日毎に、合計10用量投与された。グループ2~4及び6~8のマウスは、単回用量のDART-B (1、5又は $10 \mu\text{g}/\text{kg}$)を研究0日目に投与された。グループ1は、ビヒクルのみを投与された。全ての用量は静脈内注射によって投与した。

【0462】

【表14】

表14				
グループ	N/性別	治療剤	用量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	経路/スケジュール
1	8/F	ビヒクル	0	IV/QDx1
2	8/F	DART-B	1	IV/QDx1
3	8/F	DART-B	5	IV/QDx1
4	8/F	DART-B	10	IV/QDx1
5	8/F	DART-2	500	IV/Q7Dx7
6	8/F	DART-B	1	IV/QDx1
		DART-2	500	IV/Q7Dx7
7	8/F	DART-B	5	IV/QDx1
		DART-2	500	IV/Q7Dx7
8	8/F	DART-B	10	IV/QDx1
		DART-2	500	IV/Q7Dx7

【0463】

腫瘍体積を時間の関数として測定し、図12A~12Hにプロットした。図12Aは、50日目までの、グループ1、2、5及び6に関する結果を示し；図12B~12Hは、80日目までの、グループ2(図12B)、グループ5(図12C)、グループ6(図12D)、グループ3(図12E)、グループ7(図12F)、グループ4(図12G)及びグループ8(図12H)中の個々の動物に関するスパイダープロットを示す。本研究の結果は、PD1に結合できる分子と標的細胞の標的転換殺滅を仲介できる分子との併用療法の、各分子単独の投与に対する予想外の便益を実証している。

【0464】

本明細書において言及されている全ての公刊物及び特許は、個々の公刊物又は特許出願それぞれの全体が参照により本明細書に援用されていることが具体的かつ独立に指示されている場合と同程度に、参照により本明細書に援用されている。本発明をその具体的実施形態に関して説明したが、更なる修正形態が可能であり、本出願は、本発明が属する分野の公知の方法又は慣例の範囲内であるような、及びこれまでに挙げた必須の特徴に適用できるような、本開示からの逸脱を含む、本発明の原理に概ね従う本発明のいずれの変形、使用又は改変を包含することを意図していることを理解されたい。

【配列表フリーテキスト】

【0465】

配列表の数字見出し<223>の記載は以下のとおりである。

- 配列番号 1 : 例示的なヒト I g G 1 C H 1 ドメイン
 配列番号 2 : 例示的なヒト I g G 2 C H 1 ドメイン
 配列番号 3 : 例示的なヒト I g G 4 C H 1 ドメイン
 配列番号 4 : 例示的なヒト I g G 1 ヒンジドメイン
 配列番号 5 : 例示的なヒト I g G 2 ヒンジドメイン
 配列番号 6 : 例示的なヒト I g G 4 ヒンジドメイン
 配列番号 7 : 例示的な S 2 2 8 P 安定化ヒト I g G 4 ヒンジドメイン
 配列番号 8 : 例示的なヒト I g G 1 C H 2 C H 3 ドメイン、X A A はリシン (K)
 又は不在である
 配列番号 9 : 例示的なヒト I g G 2 C H 2 C H 3 ドメイン、X A A はリシン (K) 10
 又は不在である
 配列番号 10 : 例示的なヒト I g G 3 C H 2 C H 3 ドメイン、X A A はリシン (K)
) 又は不在である
 配列番号 11 : 例示的なヒト I g G 4 C H 2 C H 3 ドメイン、X A A はリシン (K)
) 又は不在である
 配列番号 12 : 例示的なヒト C L ドメイン
 配列番号 13 : 例示的なヒト C L ドメイン
 配列番号 14 : 好ましい介在スぺーサペプチド (リンカー 1)
 配列番号 15 : 好ましいシステイン含有スぺーサペプチド (リンカー 2)
 配列番号 16 ~ 21 : 代替的なスぺーサペプチド (リンカー 2) 20
 配列番号 22 ~ 26 : ヘテロ二量体促進ドメイン
 配列番号 27 : 「 E コイル 」ヘテロ二量体促進ドメイン
 配列番号 28 : 「 K コイル 」ヘテロ二量体促進ドメイン
 配列番号 29 : システイン含有「 E コイル 」ヘテロ二量体促進ドメイン
 配列番号 30 : システイン含有「 K コイル 」ヘテロ二量体促進ドメイン
 配列番号 31 : 連鎖球菌株 G 1 4 8 のタンパク質 G のアルブミン結合ドメイン 3 (A B D 3)
 配列番号 32 ~ 34 : 連鎖球菌株 G 1 4 8 のタンパク質 G のアルブミン結合ドメイン 3 (A B D 3) の脱免疫化変異型
 配列番号 35 ~ 38 : 介在スぺーサペプチド (リンカー) 30
 配列番号 39 ~ 40 : 代替的なリンカー
 配列番号 41 : L 2 3 4 A / L 2 3 5 A 置換を有する例示的なヒト I g G 1 C H 2 C H 3 ドメイン、X A A はリシン (K) 又は不在である
 配列番号 42 : 「 ノブ担持 」 C H 2 C H 3 ドメイン、X A A はリシン (K) 又は不在である
 配列番号 43 : 「 ホール担持 」 C H 2 C H 3 ドメイン、X A A はリシン (K) 又は不在である
 配列番号 44 : 好ましい介在スぺーサペプチド
 配列番号 45 : シグナル配列を含むヒト P D 1 タンパク質 (N C B I 配列番号 N P _ 0 0 5 0 0 9 . 2)、ヒト P D 1 タンパク質 (N C B I 配列番号 N P _ 0 0 5 0 0 9 . 2) のシグナル配列、ヒト P D 1 タンパク質 (N C B I 配列番号 N P _ 0 0 5 0 0 9 . 2) の成熟タンパク質 40
 配列番号 46 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 の V H ドメイン
 配列番号 47 : P D 1 m A b 1 の C D R H 1
 配列番号 48 : P D 1 m A b 1 の C D R H 2
 配列番号 49 : P D 1 m A b 1 の C D R H 3
 配列番号 50 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 1 の V L ドメイン
 配列番号 51 : P D 1 m A b 1 の C D R L 1
 配列番号 52 : P D 1 m A b 1 の C D R L 2
 配列番号 53 : P D 1 m A b 1 の C D R L 3 50

配列番号 54 : ヒト化抗ヒト h P D 1 m A b 1 V H 1 の V H ドメイン
 配列番号 55 : ヒト化抗ヒト h P D 1 m A b 1 V L 1 の V L ドメイン
 配列番号 56 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 2 の V H ドメイン
 配列番号 57 : P D 1 m A b 2 の C D R H 1
 配列番号 58 : P D 1 m A b 2 の C D R H 2
 配列番号 59 : P D 1 m A b 2 の C D R H 3
 配列番号 60 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 2 の V L ドメイン
 配列番号 61 : P D 1 m A b 2 の C D R L 1
 配列番号 62 : P D 1 m A b 2 の C D R L 2
 配列番号 63 : P D 1 m A b 2 の C D R L 3
 配列番号 64 : ヒト化抗ヒト h P D 1 m A b 2 V H 1 の V H ドメイン
 配列番号 65 : ヒト化抗ヒト h P D 1 m A b 2 V L 1 の V L ドメイン
 配列番号 66 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 3 の V H ドメイン
 配列番号 67 : P D 1 m A b 3 の C D R H 1
 配列番号 68 : P D 1 m A b 3 の C D R H 2
 配列番号 69 : P D 1 m A b 3 の C D R H 3
 配列番号 70 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 3 の V L ドメイン
 配列番号 71 : P D 1 m A b 3 の C D R L 1
 配列番号 72 : P D 1 m A b 3 の C D R L 2
 配列番号 73 : P D 1 m A b 3 の C D R L 3
 配列番号 74 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 4 の V H ドメイン
 配列番号 75 : P D 1 m A b 4 の C D R H 1
 配列番号 76 : P D 1 m A b 4 の C D R H 2
 配列番号 77 : P D 1 m A b 4 の C D R H 3
 配列番号 78 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 4 の V L ドメイン
 配列番号 79 : P D 1 m A b 4 の C D R L 1
 配列番号 80 : P D 1 m A b 4 の C D R L 2
 配列番号 81 : P D 1 m A b 4 の C D R L 3
 配列番号 82 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 5 の V H ドメイン
 配列番号 83 : P D 1 m A b 5 の C D R H 1
 配列番号 84 : P D 1 m A b 5 の C D R H 2
 配列番号 85 : P D 1 m A b 5 の C D R H 3
 配列番号 86 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 5 の V L ドメイン
 配列番号 87 : P D 1 m A b 5 の C D R L 1
 配列番号 88 : P D 1 m A b 5 の C D R L 2
 配列番号 89 : P D 1 m A b 5 の C D R L 3
 配列番号 90 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 6 の V H ドメイン
 配列番号 91 : P D 1 m A b 6 の C D R H 1
 配列番号 92 : P D 1 m A b 6 の C D R H 2
 配列番号 93 : P D 1 m A b 6 の C D R H 3
 配列番号 94 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 6 の V L ドメイン
 配列番号 95 : P D 1 m A b 6 の C D R L 1
 配列番号 96 : P D 1 m A b 6 の C D R L 2
 配列番号 97 : P D 1 m A b 6 の C D R L 3
 配列番号 98 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 7 の V H ドメイン
 配列番号 99 : P D 1 m A b 7 の C D R H 1
 配列番号 100 : P D 1 m A b 7 の C D R H 2
 配列番号 101 : P D 1 m A b 7 の C D R H 3
 配列番号 102 : マウス抗ヒト P D 1 m A b 7 の V L ドメイン
 配列番号 103 : P D 1 m A b 7 の C D R L 1

10

20

30

40

50

配列番号 104 :	PD 1 mAb 7 の C D R L 2	
配列番号 105 :	PD 1 mAb 7 の C D R L 3	
配列番号 106 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 7 V H 1 の V H ドメイン	
配列番号 107 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 7 V H 2 の V H ドメイン	
配列番号 108 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 7 V L 1 の V L ドメイン	
配列番号 109 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 7 V L 2 の V L ドメイン	
配列番号 110 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 7 V L 3 の V L ドメイン	
配列番号 111 :	h PD 1 mAb 7 V L 2 及び h PD 1 mAb 7 V L 3 の V L ドメインの C D R L 1	
配列番号 112 :	h PD 1 mAb 7 V L 3 の C D R L 2	10
配列番号 113 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 8 の V H ドメイン	
配列番号 114 :	PD 1 mAb 8 の C D R H 1	
配列番号 115 :	PD 1 mAb 8 の C D R H 2	
配列番号 116 :	PD 1 mAb 8 の C D R H 3	
配列番号 117 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 8 の V L ドメイン	
配列番号 118 :	PD 1 mAb 8 の C D R L 1	
配列番号 119 :	PD 1 mAb 8 の C D R L 2	
配列番号 120 :	PD 1 mAb 8 の C D R L 3	
配列番号 121 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 9 の V H ドメイン	
配列番号 122 :	PD 1 mAb 9 の C D R H 1	20
配列番号 123 :	PD 1 mAb 9 の C D R H 2	
配列番号 124 :	PD 1 mAb 9 の C D R H 3	
配列番号 125 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 9 の V L ドメイン	
配列番号 126 :	PD 1 mAb 9 の C D R L 1	
配列番号 127 :	PD 1 mAb 9 の C D R L 2	
配列番号 128 :	PD 1 mAb 9 の C D R L 3	
配列番号 129 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 9 V H 1 の V H ドメイン	
配列番号 130 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 9 V H 2 の V H ドメイン	
配列番号 131 :	h PD 1 mAb 9 V H 2 の C D R H 1	
配列番号 132 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 9 V L 1 の V L ドメイン	30
配列番号 133 :	ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb 9 V L 2 の V L ドメイン	
配列番号 134 :	h PD 1 mAb 9 V L 2 の C D R L 1	
配列番号 135 :	h PD 1 mAb 9 V L 2 の C D R L 2	
配列番号 136 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 10 の V H ドメイン	
配列番号 137 :	PD 1 mAb 10 の C D R H 1	
配列番号 138 :	PD 1 mAb 10 の C D R H 2	
配列番号 139 :	PD 1 mAb 10 の C D R H 3	
配列番号 140 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 10 の V L ドメイン	
配列番号 141 :	PD 1 mAb 10 の C D R L 1	
配列番号 142 :	PD 1 mAb 10 の C D R L 2	40
配列番号 143 :	PD 1 mAb 10 の C D R L 3	
配列番号 144 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 11 の V H ドメイン	
配列番号 145 :	PD 1 mAb 11 の C D R H 1	
配列番号 146 :	PD 1 mAb 11 の C D R H 2	
配列番号 147 :	PD 1 mAb 11 の C D R H 3	
配列番号 148 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 11 の V L ドメイン	
配列番号 149 :	PD 1 mAb 11 の C D R L 1	
配列番号 150 :	PD 1 mAb 11 の C D R L 2	
配列番号 151 :	PD 1 mAb 11 の C D R L 3	
配列番号 152 :	マウス抗ヒト PD 1 mAb 12 の V H ドメイン	50

配列番号 153 : PD 1 mAb	12 の CDRH 1	
配列番号 154 : PD 1 mAb	12 の CDRH 2	
配列番号 155 : PD 1 mAb	12 の CDRH 3	
配列番号 156 : マウス抗ヒト PD 1 mAb	12 の VL ドメイン	
配列番号 157 : PD 1 mAb	12 の CDR L 1	
配列番号 158 : PD 1 mAb	12 の CDR L 2	
配列番号 159 : PD 1 mAb	12 の CDR L 3	
配列番号 160 : マウス抗ヒト PD 1 mAb	13 の VH ドメイン	
配列番号 161 : PD 1 mAb	13 の CDRH 1	
配列番号 162 : PD 1 mAb	13 の CDRH 2	10
配列番号 163 : PD 1 mAb	13 の CDRH 3	
配列番号 164 : マウス抗ヒト PD 1 mAb	13 の VL ドメイン	
配列番号 165 : PD 1 mAb	13 の CDR L 1	
配列番号 166 : PD 1 mAb	13 の CDR L 2	
配列番号 167 : PD 1 mAb	13 の CDR L 3	
配列番号 168 : マウス抗ヒト PD 1 mAb	14 の VH ドメイン	
配列番号 169 : PD 1 mAb	14 の CDRH 1	
配列番号 170 : PD 1 mAb	14 の CDRH 2	
配列番号 171 : PD 1 mAb	14 の CDRH 3	
配列番号 172 : マウス抗ヒト PD 1 mAb	14 の VL ドメイン	20
配列番号 173 : PD 1 mAb	14 の CDR L 1	
配列番号 174 : PD 1 mAb	14 の CDR L 2	
配列番号 175 : PD 1 mAb	14 の CDR L 3	
配列番号 176 : マウス抗ヒト PD 1 mAb	15 の VH ドメイン	
配列番号 177 : PD 1 mAb	15 の CDRH 1	
配列番号 178 : PD 1 mAb	15 の CDRH 2	
配列番号 179 : PD 1 mAb	15 の CDRH 3	
配列番号 180 : マウス抗ヒト PD 1 mAb	15 の VL ドメイン	
配列番号 181 : PD 1 mAb	15 の CDR L 1	
配列番号 182 : PD 1 mAb	15 の CDR L 2	30
配列番号 183 : PD 1 mAb	15 の CDR L 3	
配列番号 184 : ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb	15 VH 1 の VH ドメイン	
配列番号 185 : ヒト化抗ヒト h PD 1 mAb	15 VL 1 の VL ドメイン	
配列番号 186 : ヒト化抗ヒト PD 1 抗体 h PD 1 mAb 7 (1.2) Ig G		
4 (P) の重鎖		
配列番号 187 : ヒト化抗ヒト PD 1 抗体 h PD 1 mAb 7 (1.2) Ig G		
4 (P) の軽鎖		
配列番号 188 : ヒト B 7 H 1 (PD L 1) ポリペプチド (NCBI 配列番号 NP_001254635.1)、予想された 18 アミノ酸シグナル配列を含む、予想されたシグナル配列		40
配列番号 189 : ヒト B 7 DC (PD L 2) ポリペプチド (NCBI 配列番号 NP_079515.2)、予想された 18 アミノ酸シグナル配列を含む、予想されたシグナル配列		
配列番号 190 : 抗ヒト CD 2 抗体 CD 2 mAb Lo CD 2 a の VH ドメイン		
配列番号 191 : 抗ヒト CD 2 抗体 CD 2 mAb Lo CD 2 a の VL ドメイン		
配列番号 192 : 抗ヒト CD 3 抗体 CD 3 mAb 1 の VH ドメイン		
配列番号 193 : 抗ヒト CD 3 抗体 CD 3 mAb 1 の VL ドメイン		
配列番号 194 : 抗ヒト CD 3 抗体 CD 3 mAb 1 (D65G) の VH ドメイン		
配列番号 195 : 抗ヒト CD 3 抗体 CD 3 mAb 1 Low の VH ドメイン		
配列番号 196 : 抗ヒト CD 3 抗体 CD 3 mAb 1 Fast の VH ドメイン		50

配列番号 197 : 抗ヒトCD3抗体OKT3のVHドメイン	
配列番号 198 : 抗ヒトCD3抗体OKT3のVLドメイン	
配列番号 199 : 抗ヒトCD8抗体OKT8のVHドメイン	
配列番号 200 : 抗ヒトCD8抗体OKT8のVLドメイン	
配列番号 201 : 抗ヒトCD8抗体TRX2のVHドメイン	
配列番号 202 : 抗ヒトCD8抗体TRX2のVLドメイン	
配列番号 203 : 抗ヒトCD16抗体3G8のVHドメイン	
配列番号 204 : 抗ヒトCD16抗体3G8のVLドメイン	
配列番号 205 : 抗ヒトCD16抗体A9のVHドメイン	
配列番号 206 : 抗ヒトCD16抗体A9のVLドメイン	10
配列番号 207 : 抗ヒトTCR抗体BMA031のVHドメイン	
配列番号 208 : 抗ヒトTCR抗体BMA031のVLドメイン	
配列番号 209 : 抗ヒトNKG2D抗体KYK 1.0のVHドメイン	
配列番号 210 : 抗ヒトNKG2D抗体KYK 1.0のVLドメイン	
配列番号 211 : 抗ヒトNKG2D抗体KYK 2.0のVHドメイン	
配列番号 212 : 抗ヒトNKG2D抗体KYK 2.0のVLドメイン	
配列番号 213 : 抗ヒトB7 H3抗体B7 H3 mAb 1のVHドメイン	
配列番号 214 : 抗ヒトB7 H3抗体B7 H3 mAb 1のVLドメイン	
配列番号 215 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 1 VH1のVHドメイン	20
配列番号 216 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 1 VH2のVHドメイン	
配列番号 217 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 1 VL1のVLドメイン	
配列番号 218 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 1 VL2のVLドメイン	
配列番号 219 : 抗ヒトB7 H3抗体B7 H3 mAb 2のVHドメイン	
配列番号 220 : 抗ヒトB7 H3抗体B7 H3 mAb 2のVLドメイン	
配列番号 221 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VH1のVHドメイン	30
配列番号 222 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VH2のVHドメイン	
配列番号 223 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VH3のVHドメイン	
配列番号 224 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VH4のVHドメイン	
配列番号 225 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VL1のVLドメイン	
配列番号 226 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VL2のVLドメイン	40
配列番号 227 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VL3のVLドメイン	
配列番号 228 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VL4のVLドメイン	
配列番号 229 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VL5のVLドメイン	
配列番号 230 : ヒト化抗ヒトB7 H3抗体hB7 H3 mAb 2 VL6のVLドメイン	
配列番号 231 : 抗ヒトB7 H3抗体B7 H3 mAb 3のVHドメイン	
配列番号 232 : 抗ヒトB7 H3抗体B7 H3 mAb 3のVLドメイン	50

配列番号 233 : ヒト化抗 C E A C A M 5 / 抗 C E A C A M 6 抗体 16C3 の V H ドメイン

配列番号 234 : ヒト化抗 C E A C A M 5 / 抗 C E A C A M 6 抗体 16C3 の V L ドメイン

配列番号 235 : ヒト化抗 C E A C A M 5 / C E A C A M 6 抗体 h M N 15 の V H ドメイン

配列番号 236 : ヒト化抗 C E A C A M 5 / C E A C A M 6 抗体 h M N 15 の V L ドメイン

配列番号 237 : キメラ抗 E G F R 抗体「セツキシマブ」の V H ドメイン

配列番号 238 : キメラ抗 E G F R 抗体「セツキシマブ」の V L ドメイン

10

配列番号 239 : ヒト化抗 ヒト E G F R 抗体「パニツムマブ」の V H ドメイン

配列番号 240 : ヒト化抗 ヒト E G F R 抗体「パニツムマブ」の V L ドメイン

配列番号 241 : 抗 ヒト E p h A 2 抗体 E p h A 2 m A b 1 の V H ドメイン

配列番号 242 : 抗 ヒト E p h A 2 抗体 E p h A 2 m A b 1 の V L ドメイン

配列番号 243 : 抗 ヒト E p h A 2 抗体 E p h A 2 m A b 2 の V H ドメイン

配列番号 244 : 抗 ヒト E p h A 2 抗体 E p h A 2 m A b 2 の V L ドメイン

配列番号 245 : 抗 ヒト E p h A 2 抗体 E p h A 2 m A b 3 の V H ドメイン

配列番号 246 : 抗 ヒト E p h A 2 抗体 E p h A 2 m A b 3 の V L ドメイン

配列番号 247 : 抗 ヒト g p A 33 抗体 g p A 33 m A b 1 の V H ドメイン

配列番号 248 : 抗 ヒト g p A 33 抗体 g p A 33 m A b 1 の V L ドメイン

20

配列番号 249 : 親和性最適化抗 ヒト H e r 2 / N e u 抗体 マルゲツキシマブ の V H ドメイン

配列番号 250 : 親和性最適化抗 ヒト H e r 2 / N e u 抗体 マルゲツキシマブ の V H ドメイン

配列番号 251 : ヒト化抗 ヒト H e r 2 / N e u 抗体 トラスツズマブ の V H ドメイン

配列番号 252 : ヒト化抗 ヒト H e r 2 / N e u 抗体 トラスツズマブ の V L ドメイン

配列番号 253 : ヒト化抗 ヒト H e r 2 / N e u 抗体 ペルツズマブ の V H ドメイン

配列番号 254 : ヒト化抗 ヒト H e r 2 / N e u 抗体 ペルツズマブ の V L ドメイン

配列番号 255 : ヒト化抗 ヒト V E G F 抗体 ベバシズマブ の V H ドメイン

配列番号 256 : ヒト化抗 ヒト V E G F 抗体 ベバシズマブ の V L ドメイン

30

配列番号 257 : 抗 ヒト 5 T 4 抗体 5 T 4 m A b 1 の V H ドメイン

配列番号 258 : 抗 ヒト 5 T 4 抗体 5 T 4 m A b 1 の V L ドメイン

配列番号 259 : 抗 ヒト 5 T 4 抗体 5 T 4 m A b 2 の V H ドメイン

配列番号 260 : 抗 ヒト 5 T 4 抗体 5 T 4 m A b 2 の V L ドメイン

配列番号 261 : 抗 ヒト I L 13 R 2 抗体 h u 08 の V H ドメイン

配列番号 262 : 抗 ヒト I L 13 R 2 抗体 h u 08 の V L ドメイン

配列番号 263 : 抗 ヒト C D 123 抗体 C D 123 m A b 1 の V H ドメイン

配列番号 264 : 抗 ヒト C D 123 抗体 C D 123 m A b 1 の V L ドメイン

配列番号 265 : 抗 ヒト C D 19 抗体 C D 19 m A b 1 の V H ドメイン

配列番号 266 : 抗 ヒト C D 19 抗体 C D 19 m A b 1 の V L ドメイン

40

配列番号 267 : 抗 H I V e n v 抗体 7 B 2 の V H ドメイン

配列番号 268 : 抗 H I V e n v 抗体 7 B 2 の V L ドメイン

配列番号 269 : 抗 H I V e n v 抗体 A 32 の V H ドメイン

配列番号 270 : 抗 H I V e n v 抗体 A 32 の V L ドメイン

配列番号 271 : D A R T A の第 1 のポリペプチド鎖

配列番号 272 : D A R T A の第 2 のポリペプチド鎖

配列番号 273 : D A R T A の第 3 のポリペプチド鎖

配列番号 274 : D A R T 1 の第 1 及び第 3 のポリペプチド鎖

配列番号 275 : D A R T 1 の第 2 及び第 4 のポリペプチド鎖

【図 1】

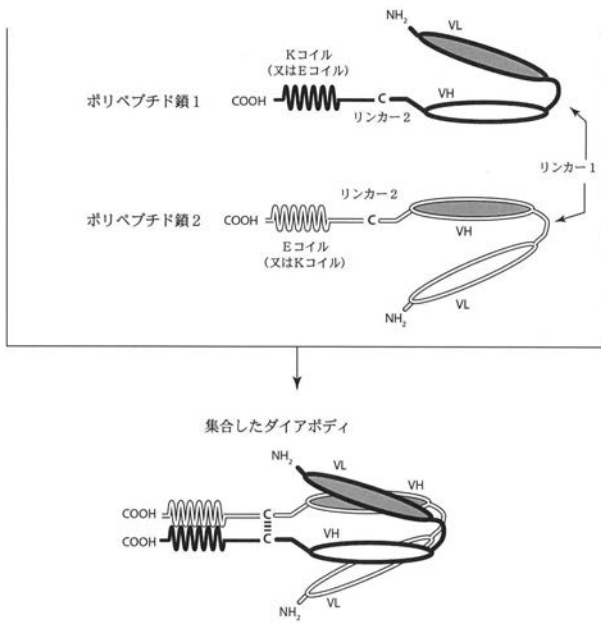


Figure 1

【図 2】

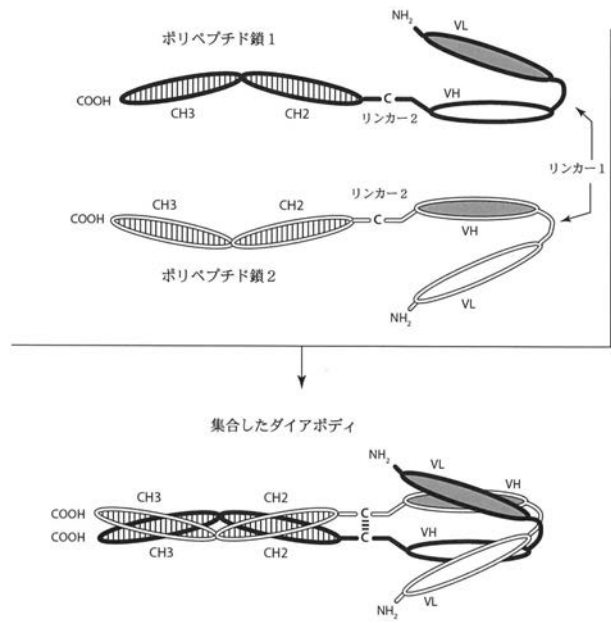


Figure 2

【図 3 A】

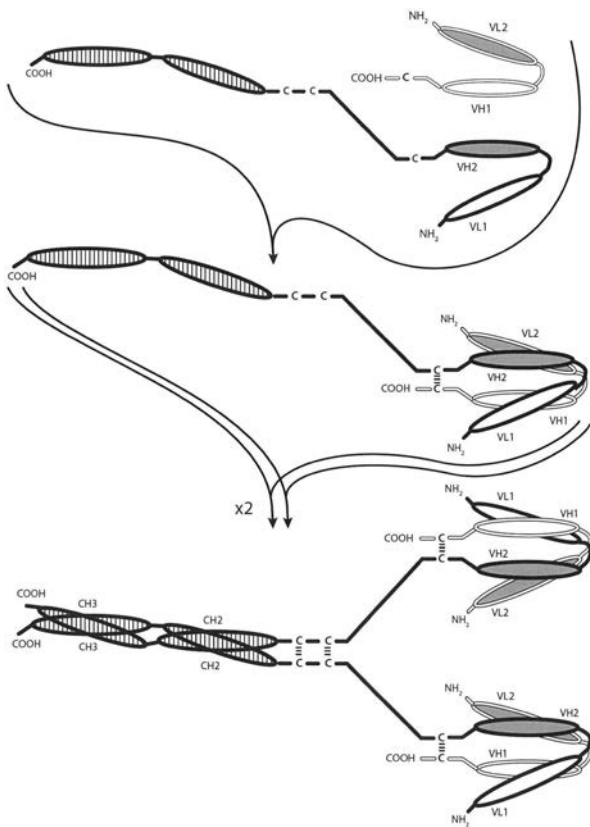


Figure 3A

【図 3 B】

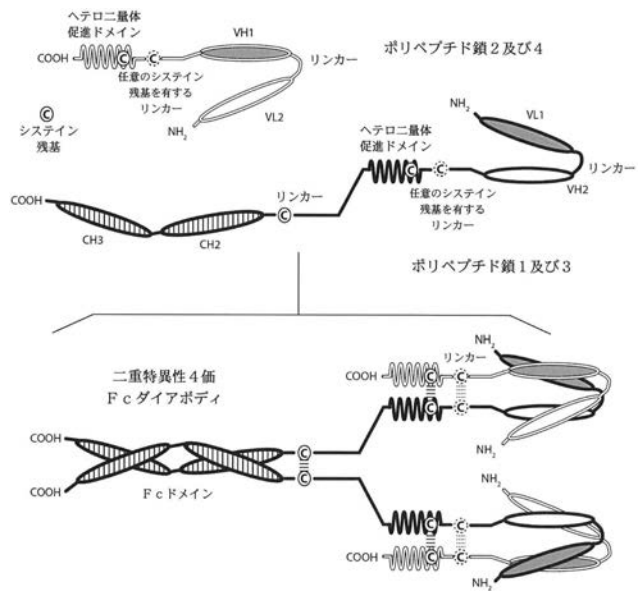


Figure 3B

【図 3 C】

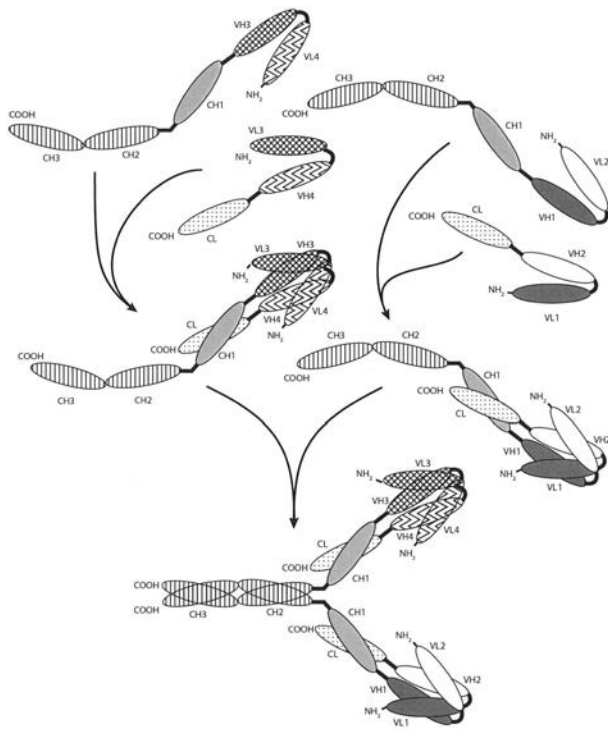


Figure 3C

【図 4 A】

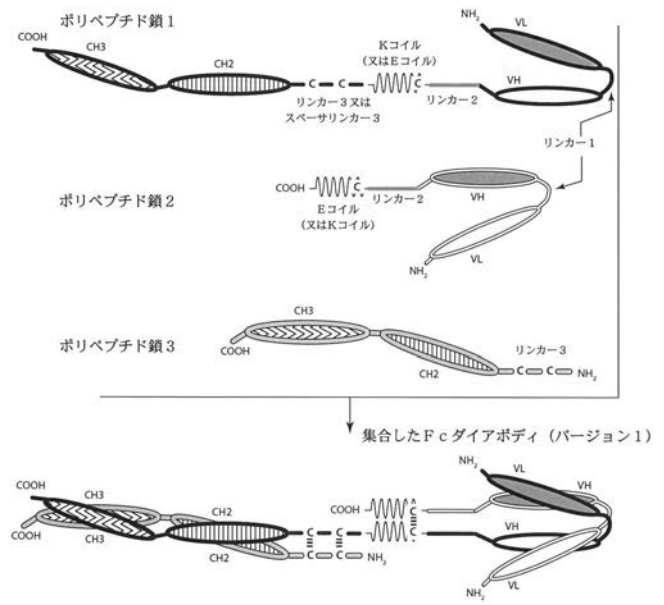


Figure 4A

【図 4 B】

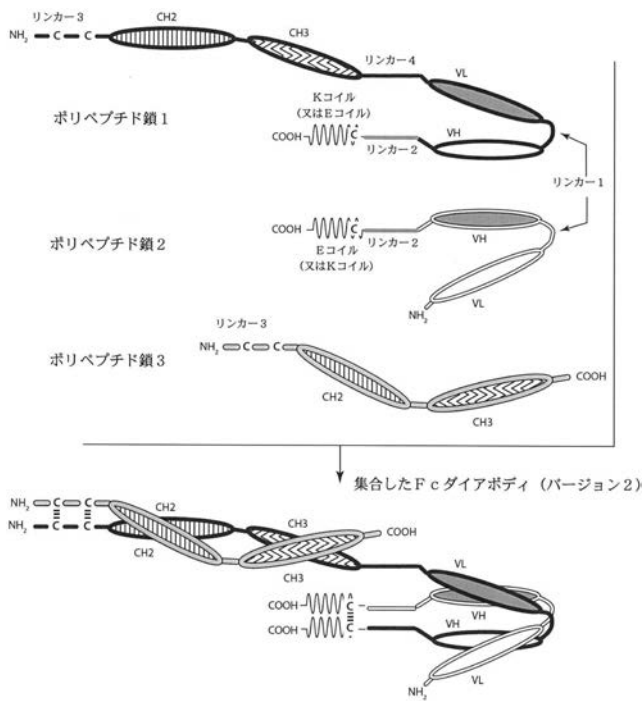


Figure 4B

【図 5】

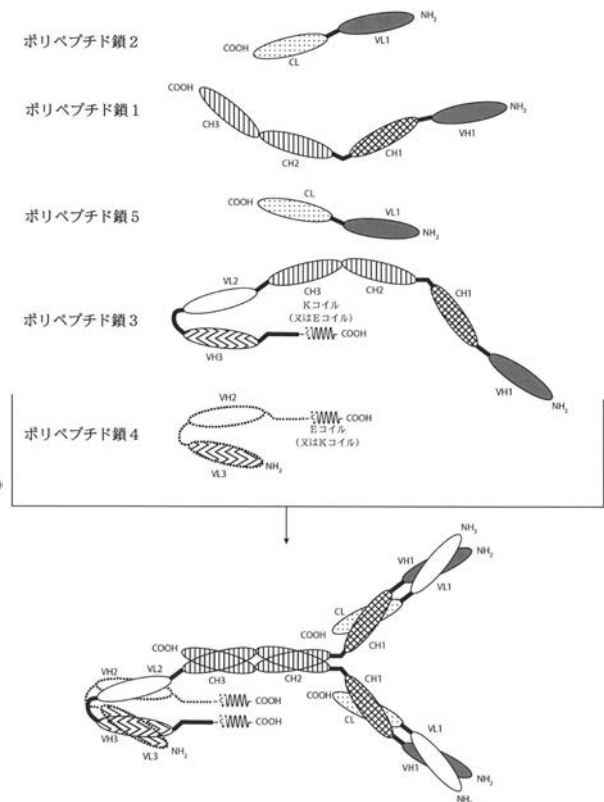


Figure 5

【図 6 A】

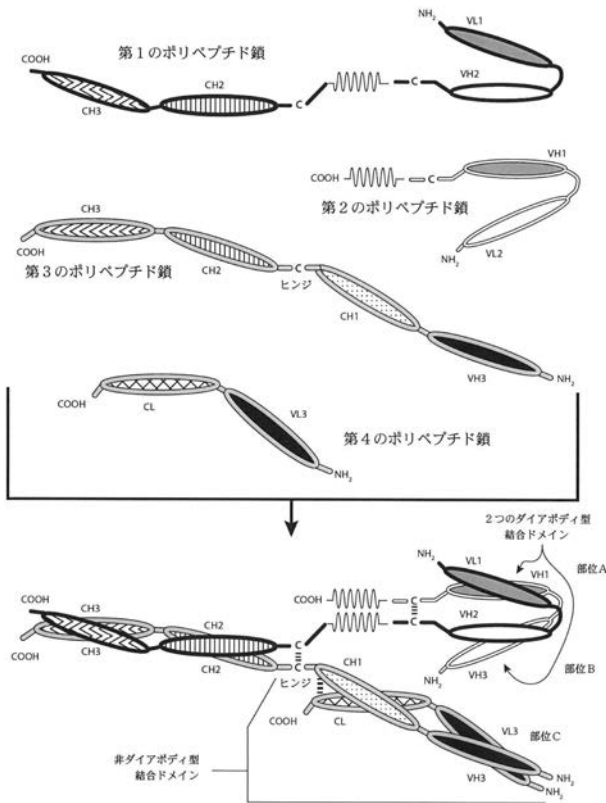


Figure 6A

【図 6 B】

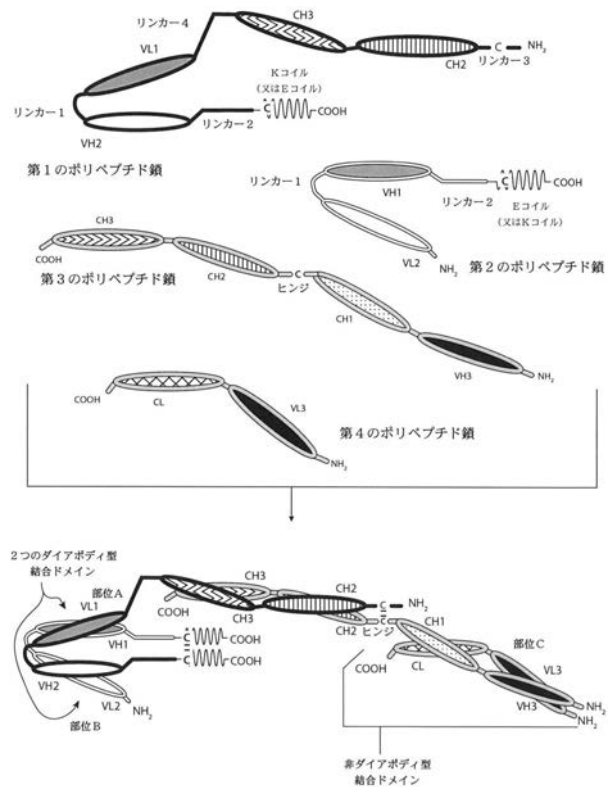


Figure 6B

【図 6 C】

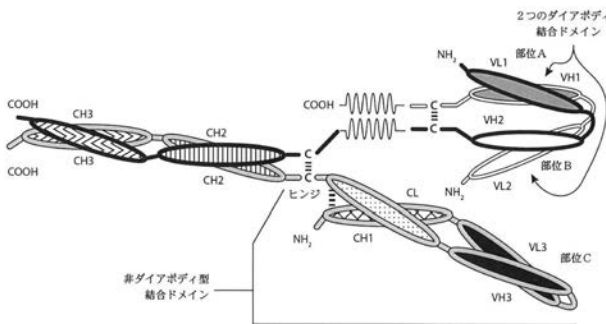


Figure 6C

【図 6 D】

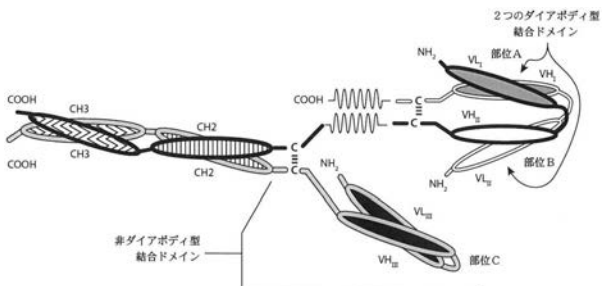


Figure 6D

【図 6 E】

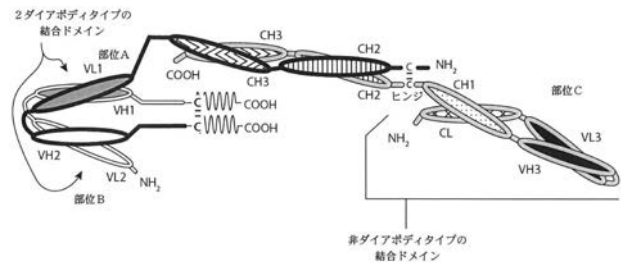


Figure 6E

【図 6 F】

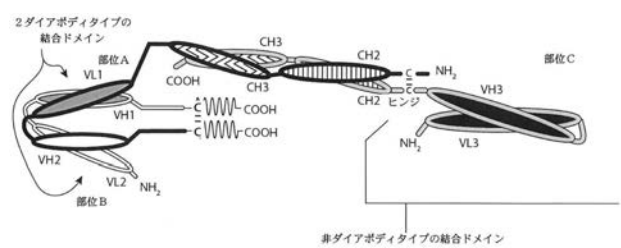


Figure 6F

【 図 7 】

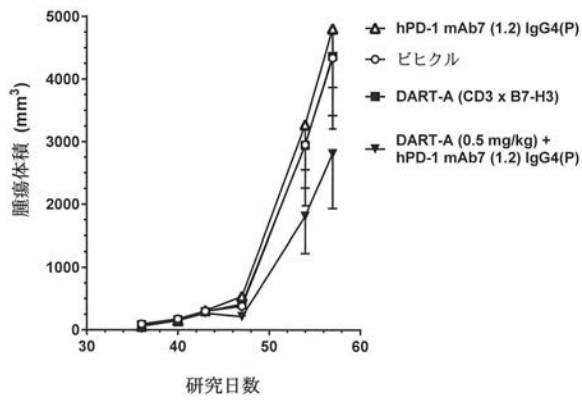


Figure 7

【 図 8 A 】

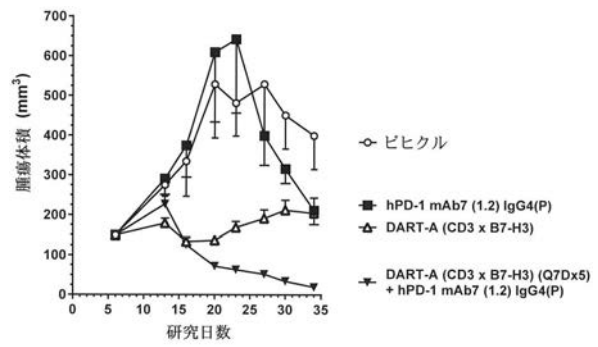


Figure 8A

【 図 8 B 】

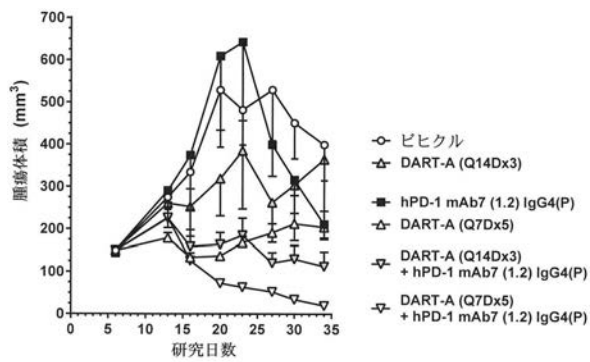


Figure 8B

【 図 9 】

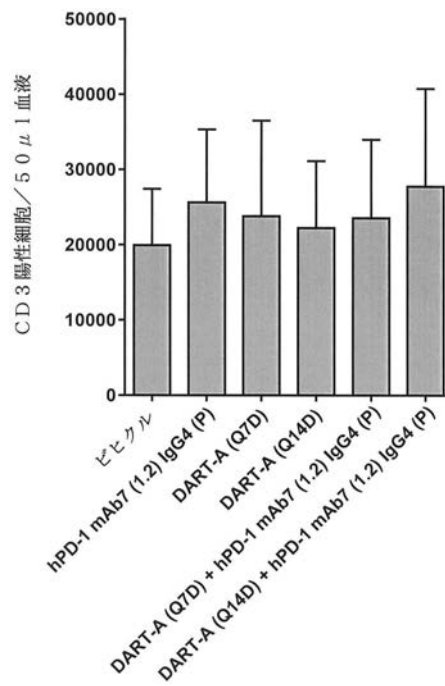


Figure 9

【図 10 A】

Jurkat/PD1(10K)+ MDA-MB-231(10k) (E:T=1:1)

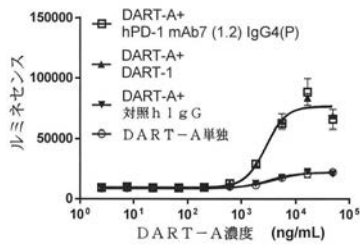


Figure 10A

【図 10 B】

Jurkat/PD1(30K)+ MDA-MB-231(10k) (E:T=3:1)

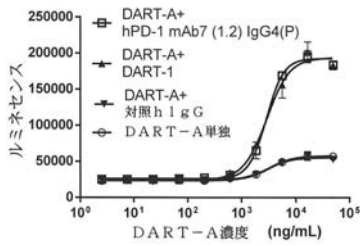


Figure 10B

【図 11 B】

アネルギー性T細胞

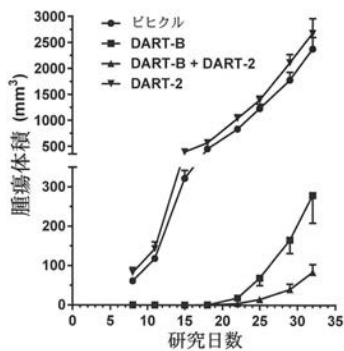


Figure 11B

【図 12 A】

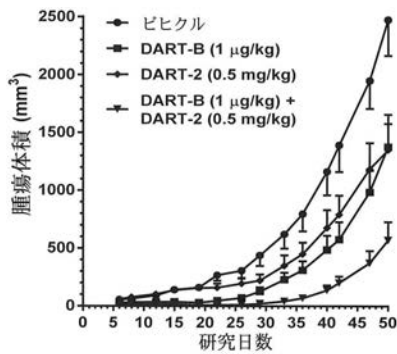


Figure 12A

【図 11 A】

活性化T細胞

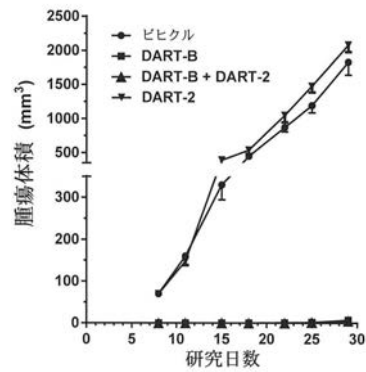


Figure 11A

【図 12 B】

DART-B (1 μg/kg)

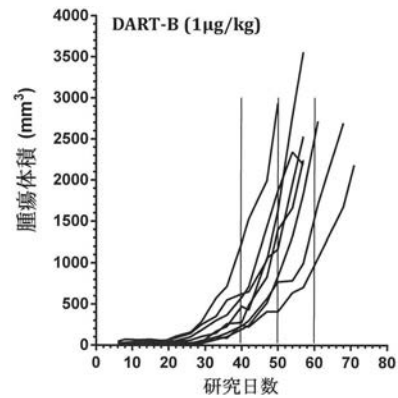


Figure 12B

【図 12 C】

DART-2 (0.5 mg/kg)

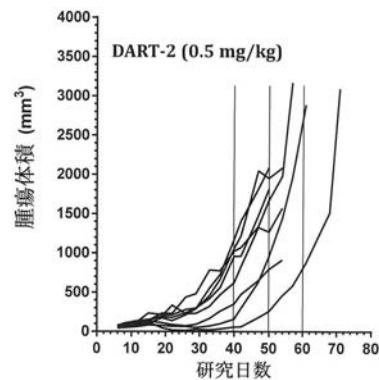


Figure 12C

【図 1 2 D】

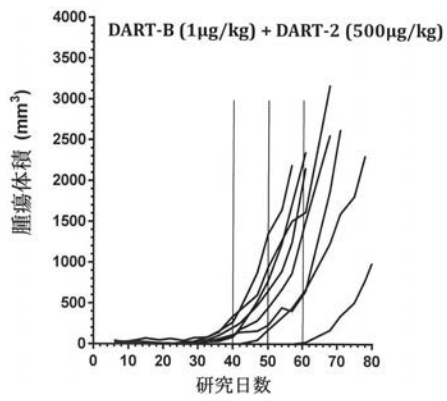


Figure 12D

【図 1 2 E】

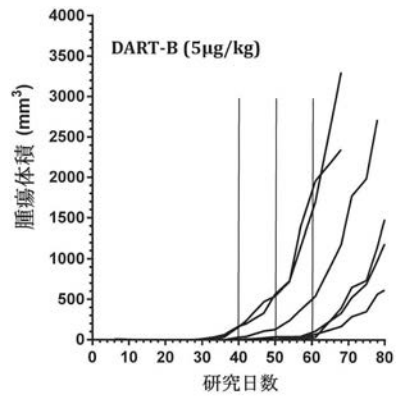


Figure 12E

【図 1 2 F】

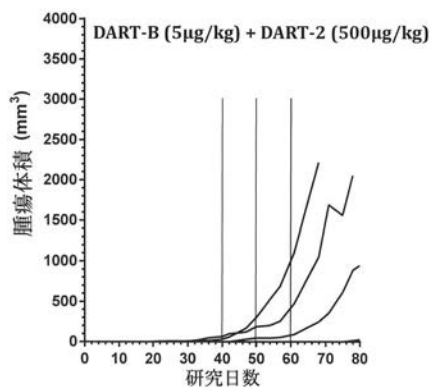


Figure 12F

【図 1 2 G】

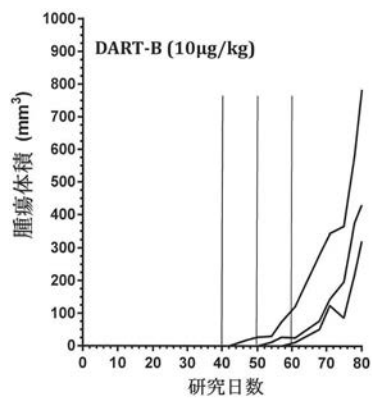


Figure 12G

【図 1 2 H】

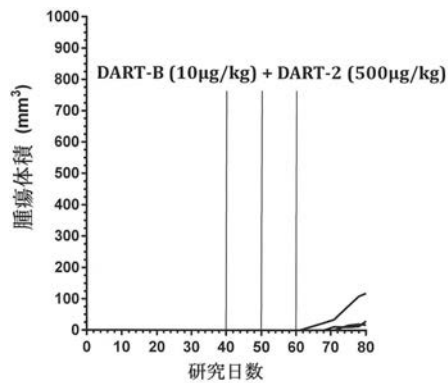


Figure 12H

【配列表】

2019517539000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 17/36075
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/395, C07K 16/28, A61P 35/00, A61P 31/00 (2017.01) CPC - C07K 2317/50, A61K 2039/507, C07K 16/28, C07K 2317/73, A61K 39/39558		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
See Search History Document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
See Search History Document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
See Search History Document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2015/112800 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS, INC) 30 July 2015 (30.07.2015); abstract; para [032], [039], [048], [093], [0140], [0153], claim 45	1-10 and 20-28
Y	US 2014/0170149 A1 (NEIJSEN et al.) 19 June 2014 (19.06.2014); abstract; para [0009]-[0010], [0046], [0047]	1-10 and 20-28
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 08 August 2017		Date of mailing of the international search report 01 SEP 2017
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/36075

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.: 11-19 and 29-38
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 31/18 (2006.01)		A 6 1 P 31/18		
A 6 1 P 31/12 (2006.01)		A 6 1 P 31/12		
A 6 1 K 47/66 (2017.01)		A 6 1 K 47/66		
A 6 1 K 38/02 (2006.01)		A 6 1 K 38/02		
A 6 1 K 47/68 (2017.01)		A 6 1 K 39/395	L	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 K 47/68		
A 6 1 K 9/08 (2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 2 1	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)		A 6 1 K 9/08		
		C 0 7 K 16/28	Z N A	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

(72)発明者 ジョンソン レスリー エス .
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 7 4 , ダーネスタウン , ポプラ ヒル ロード 1 4
4 1 1

(72)発明者 ムーア ポール エー .
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 7 8 , ノース ボトムマック , ターリー コート 1 0

(72)発明者 アルダーソン ラルフ エフ .
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 7 8 , ノース ボトムマック , クエリ ミル ロード 1
3 6 0 1

(72)発明者 ウィギントン ジョン マーク
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 5 0 , ロックヴィル , メディカル センター ドライブ
9 7 0 4 , マクロジェニクス , インコーポレーテッド内

F ターム(参考) 4C076 AA11 BB13 CC41 EE41 EE59 FF68
4C084 AA02 AA20 BA03 BA41 DA32 DA33 MA02 MA17 MA66 NA05
ZB09 ZB26 ZB33 ZC75
4C085 AA14 AA21 AA27 EE03 GG02
4H045 DA76 EA20