

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7455388号
(P7455388)

(45)発行日 令和6年3月26日(2024.3.26)

(24)登録日 令和6年3月15日(2024.3.15)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	C 0 7 K	16/18
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63
		Z N A	
		Z	
		請求項の数 29 (全59頁) 最終頁に続く	
(21)出願番号	特願2020-562110(P2020-562110)	(73)特許権者	520032206
(86)(22)出願日	平成31年4月30日(2019.4.30)		フェインズ セラピューティクス, イン
(65)公表番号	特表2021-528047(P2021-528047 A)		コーポレーテッド
(43)公表日	令和3年10月21日(2021.10.21)		アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォル
(86)国際出願番号	PCT/US2019/029888		ニア州, サン ディエゴ, スイート 4 0
(87)国際公開番号	WO2019/217145	(74)代理人	0, ソレント バレー ロード 1 1 5 3 5
(87)国際公開日	令和1年11月14日(2019.11.14)		110002572
審査請求日	令和4年4月21日(2022.4.21)	(72)発明者	弁理士法人平木国際特許事務所
(31)優先権主張番号	62/754,207		ワン, ミンガン
(32)優先日	平成30年11月1日(2018.11.1)	(72)発明者	アメリカ合衆国 1 8 9 0 2 ペンシルベ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		ニア州, ドイルスタウン, コピントン
(31)優先権主張番号	62/668,427		レーン 3 6 7 2
(32)優先日	平成30年5月8日(2018.5.8)	(72)発明者	ゾウ, ファイ
最終頁に続く			アメリカ合衆国 7 5 2 0 5 テキサス州
			, ダラス, ピンクリー アベニュー 3 4
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗DLL3抗体及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

a.それぞれ配列番号25、26、27、61、62及び63、若しくはそれぞれ配列番号97、98、99、133、134及び135;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2及びLCDR3を含み、DLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項2】

DLL3が、ヒトDLL3である、請求項1に記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項3】

配列番号170若しくは1と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号172、2、171若しくは173と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項1又は2記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項4】

a.配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

b.配列番号1のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

n.配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

o.配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域
を含む、請求項1～3のいずれか1項記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項5】

キメラ、又はヒト化されたものである、請求項1～4のいずれか1項記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項6】

エフェクターに媒介される腫瘍細胞の溶解を誘導し、コンジュゲートした薬物の動員を媒介することが可能であり、並びに/又は癌を殺滅する作用を有する別のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片と共に二重特異性抗体を形成する、請求項1～5のいずれか1項記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項7】

請求項1～6のいずれか1項記載の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を含む、二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

【請求項8】

請求項1～6のいずれか1項記載の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、及び抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を含む、二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片であって、

抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片が、抗CD47モノクローナル抗体のヒト化重鎖可変領域及び抗DLL3モノクローナル抗体のヒト化軽鎖可変領域を含み、及び、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片が、

(a)配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(b)配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(c)配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(d)配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(e)配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(f)配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(g)配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(h)配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

(i)配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

【請求項9】

抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片が、SIRP α へのCD47の結合をブロックすることが可能であるか、又は癌細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である、請求項8記載の二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

【請求項10】

CD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインと、DLL3に特異的に結合する第2の

10

20

30

40

50

抗原結合ドメインとを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、それぞれ配列番号178、179及び180、又はそれぞれ配列番号187、188及び189のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、それぞれ配列番号181、182及び183、又はそれぞれ配列番号190、191及び192のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに、第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインの各々が、それぞれ配列番号184、185及び186、又はそれぞれ配列番号193、194及び195のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、前記単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

10

【請求項11】

CD47が、ヒトCD47である、請求項10記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

【請求項12】

DLL3が、ヒトDLL3である、請求項10記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

【請求項13】

第1の抗原結合ドメインが、配列番号176と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号170と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項10～12のいずれか1項記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

20

【請求項14】

CD47とDLL3の両方を発現する癌細胞におけるSIRP α へのCD47の結合をブロッキングすることが可能であるか、又はDLL3とCD47の両方を発現する癌細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である、請求項10～13のいずれか1項記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片。

30

【請求項15】

請求項1～6のいずれか1項記載の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、請求項7～9のいずれか1項記載の二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片、又は請求項10～14のいずれか1項記載のヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片をコードする単離された核酸。

【請求項16】

請求項15記載の単離された核酸を含むベクター。

【請求項17】

請求項16記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項18】

請求項1～6のいずれか1項記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、請求項7～9のいずれか1項記載の二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片、又は請求項10～14のいずれか1項記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

40

【請求項19】

請求項1～6のいずれか1項記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片又は請求項7～9のいずれか1項記載の二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片、又は請求項10～14のいずれか1項記載のヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片を含む、癌細胞表面上のDLL3を標

50

的とするための医薬組成物。

【請求項 20】

請求項 8～9 のいずれか 1 項記載の二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片、又は請求項 10～14 のいずれか 1 項記載のヒト化抗 CD47/DLL3 二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片を含む、シグナル調節タンパク質アルファ (SIRP α) への CD47 の結合をブロックするか、又は癌細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導するための医薬組成物。

【請求項 21】

請求項 8 又は 9 記載の二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片、或いは請求項 10～14 のいずれか 1 項記載の単離されたヒト化抗 CD47/DLL3 二重特異性抗体又はその二重特異性抗原結合断片を含む、癌細胞表面上の DLL3 及び CD47 を標的とするか、癌細胞表面上に CD47 と DLL3 の両方を発現する癌細胞における SIRP α への CD47 の結合をブロックするか、又は癌細胞表面上に CD47 と DLL3 の両方を発現する癌細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導するための医薬組成物。

【請求項 22】

癌を処置するための、請求項 18～21 のいずれか 1 項記載の医薬組成物。

【請求項 23】

前記癌が、肺癌、大細胞神経内分泌癌 (LCNEC)、胃癌、結腸癌、肝細胞癌、腎細胞癌、膀胱尿路上皮癌、転移性黒色腫、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、頭頸部癌、膵臓癌、神経膠腫、神経膠芽腫、非ホジキンリンパ腫 (NHL)、急性リンパ性白血病 (ALL)、慢性リンパ性白血病 (CLL)、慢性骨髄性白血病 (CML)、多発性骨髄腫 (MM)、及び急性骨髄性白血病 (AML) から成る群より選択される、請求項 22 記載の医薬組成物。

【請求項 24】

肺癌が、小細胞肺癌 (SCLC) である、請求項 23 記載の医薬組成物。

【請求項 25】

請求項 1～6 のいずれか 1 項記載の抗 DLL3 モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、請求項 7～9 のいずれか 1 項記載の二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片、又は請求項 10～14 のいずれか 1 項記載のヒト化抗 CD47/DLL3 二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片を生産する方法であって、前記抗体又はその抗原結合断片を生産する条件下で、前記抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を培養するステップ、及び前記細胞又は培養物から前記抗体又はその抗原結合断片を回収するステップを含む、前記方法。

【請求項 26】

請求項 1～6 のいずれか 1 項記載の抗 DLL3 モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、請求項 7～9 のいずれか 1 項記載の二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片、又は請求項 10～14 のいずれか 1 項記載のヒト化抗 CD47/DLL3 二重特異性抗体若しくはその二重特異性抗原結合断片を含む医薬組成物を生産する方法であって、前記抗体又はその抗原結合断片を薬学的に許容される担体と配合して、医薬組成物を得るステップを含む、前記方法。

【請求項 27】

対象における DLL3 のレベルを決定する方法であって、

a. 対象からの試料を請求項 1～6 のいずれか 1 項記載の単離された抗 DLL3 モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と接触させるステップ; 及び

b. 対象における DLL3 のレベルを決定するステップを含む、前記方法。

【請求項 28】

前記試料が組織試料又は血液試料である、請求項 27 記載の方法。

【請求項 29】

前記組織試料が、癌組織試料である、請求項 28 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

この発明は、2019年1月3日に出願された米国仮出願第62/787,815号;2018年11月1日に出願された米国仮出願第62/754,207号;及び2018年5月8日に出願された米国仮出願第62/668,427号に対する優先権を主張する。それぞれの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

発明の分野

この発明は、モノクローナル抗DLL3抗体、抗CD47抗体、及び抗CD47/DLL3二重特異性抗体、これらの抗体をコードする核酸及び発現ベクター、これらのベクターを含有する組換え細胞、並びにこれらの抗体を含む組成物に関する。これらの抗体を作製する方法、並びにがんを含む疾患及び/又は関連する合併症を処置するためにこれらの抗体を使用する方法も提供される。

【0003】

電子的に提出した配列表への言及

この出願は、ファイル名が「689204.17WO Sequence Listing」、作成日が2019年4月29日の、70kbのサイズを有するASCIIフォーマットの配列表として、EFS-Webにより電子的に提出される配列表を含む。EFS-Webにより提出される配列表は本明細書の一部であり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0004】

デルタ様3又はデルタ様タンパク質3としても知られる、デルタ様カノニカルNotchリガンド3(DLL3)は、初期発生の中の体節分割に必要とされる(Dunwoodieら、Development 129:1795~806頁(2002))。哺乳動物のNotchファミリーのリガンドDLL1、DLL4、JAG1、及びJAG2(これらはすべてNotch受容体シグナル伝達をトランスに活性化する)(Ntziachristosら、Cancer Cell 25(3):318~34頁(2014))とは異なり、DLL3は、主としてゴルジ体に局在化し、Notchシグナル伝達を活性化することができない(Chapmanら、Hum Mol Genet 20(5):905~16頁(2011)及びGeffersら、J Cell Biol 178(3):465~76頁(2007))。正常な発生の間、DLL3は、Notch及びDLL1と相互作用することによって、シス及びトランスの両方で作用するNotch経路の活性化を阻害する(Chapmanら、Hum Mol Genet 20(5):905~16頁(2011))。DLL3は、脳を除く成人の正常な組織において存在しないか又は非常に低いレベルで存在するが、肺癌、精巣がん、神経膠腫及び黒色腫の試料中では過剰発現される(Uhlenら、Science 357(6352): eaan2507 (2017))。さらに、DLL3は、小細胞肺癌(SCLC)及び大細胞神経内分泌癌(LCNEC)の腫瘍細胞の表面において検出可能であり(Saundersら、Sci Transl Med 7(302):302ra136 (2015)及びSharmaら、Cancer Res 77(14):3931~41頁(2017))、DLL3は、がん治療に対するモノクローナル抗体の可能性のある標的となる。したがって、抗DLL3モノクローナル抗体を使用してDLL3を発現する腫瘍細胞を特異的に標的とし、可能性のある抗がん治療薬として作用させることができる。

【発明の概要】

【0005】

一般的な一態様では、本発明は、DLL3に結合する単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0006】

- (1)それぞれ、配列番号25、26、27、61、62及び63;
- (2)それぞれ、配列番号28、29、30、64、65及び66;
- (3)それぞれ、配列番号31、32、33、67、68及び69;
- (4)それぞれ、配列番号34、35、36、70、71及び72;
- (5)それぞれ、配列番号37、38、39、73、74及び75;

- (6)それぞれ、配列番号40、41、42、76、77及び78;
- (7)それぞれ、配列番号43、44、45、79、80及び81;
- (8)それぞれ、配列番号46、47、48、82、83及び84;
- (9)それぞれ、配列番号49、50、51、85、86及び87;
- (10)それぞれ、配列番号52、53、54、88、89及び90;
- (11)それぞれ、配列番号55、56、57、91、92及び93;又は
- (12)それぞれ、配列番号58、59、60、94、95及び96;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が提供される。

10

【0007】

- (1)それぞれ、配列番号97、98、99、133、134及び135;
- (2)それぞれ、配列番号100、101、102、136、137及び138;
- (3)それぞれ、配列番号103、104、105、139、140及び141;
- (4)それぞれ、配列番号106、107、108、142、143及び144;
- (5)それぞれ、配列番号109、110、111、145、146及び147;
- (6)それぞれ、配列番号112、113、114、148、149及び150;
- (7)それぞれ、配列番号115、116、117、151、152及び153;
- (8)それぞれ、配列番号118、119、120、154、155及び156;
- (9)それぞれ、配列番号121、122、123、157、158及び159;
- (10)それぞれ、配列番号124、125、126、160、161及び162;
- (11)それぞれ、配列番号127、128、129、163、164及び165;又は
- (12)それぞれ、配列番号130、131、132、166、167及び168;

20

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【0008】

ある特定の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21若しくは23と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22若しくは24と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

30

【0009】

ある特定の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は:

- (a)配列番号1のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (b)配列番号3のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (c)配列番号5のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (d)配列番号7のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (e)配列番号9のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (f)配列番号11のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12のポリペプ

40

50

チド配列を有する軽鎖可変領域;

(g)配列番号13のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号14のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(h)配列番号15のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(i)配列番号17のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(j)配列番号19のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(k)配列番号21のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

(l)配列番号23のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号24のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
を含む。

【0010】

ある特定の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、キメラである。

【0011】

ある特定の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、ヒトの又はヒト化されたものである。ある特定の実施形態では、ヒト化モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は:

a.配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

b.配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

c.配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

を含む。

【0012】

ある特定の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)、抗体依存性ファゴサイトーシス(ADPC)及び補体依存性細胞傷害(CDC)によってエフェクターに媒介される腫瘍細胞の溶解を誘導すること、並びに/又はコンジュゲートした薬物の動員を媒介すること、並びに/又はがんを殺滅する作用を有する別のmAb若しくは抗原結合断片と共に二重特異性抗体を形成することが可能である。

【0013】

抗CD47モノクローナル抗体のヒト化重鎖可変領域及び抗DLL3モノクローナル抗体のヒト化軽鎖可変領域を含む、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、

a.配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

b.配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

c.配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

d.配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

e.配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

f.配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペ

10

20

30

40

50

プチド配列を有する軽鎖可変領域;

g.配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

h.配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

i.配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

j.配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号174のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片も提供される。

【0014】

ある特定の実施形態では、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、シグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックすることが可能である。

【0015】

ある特定の実施形態では、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、がん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である。

【0016】

CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号178、179及び180のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号181、182及び183のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号184、185及び186のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【0017】

CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号187、188及び189のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号190、191及び192のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号193、194及び195のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【0018】

ある特定の実施形態では、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含み、第1の抗原結合ドメインは、配列番号176と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含み;第2の抗原結合ドメインは、配列番号170と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%同一であるポリペプチド配列を有する重

10

20

30

40

50

鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0019】

ある特定の実施形態では、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片は、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞上のシグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックすることが可能である。

【0020】

ある特定の実施形態では、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片は、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である。

10

【0021】

ある特定の実施形態では、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片は、ヒト赤血球(RBC)への最小限〜検出不可能の結合を伴って、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞に結合することが可能である。

【0022】

本明細書に開示されている本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸も提供される。

20

【0023】

本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸を含むベクターも提供される。

【0024】

本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸を含むベクターを含む宿主細胞も提供される。

【0025】

ある特定の実施形態では、本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、単離された抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物も提供される。

30

【0026】

それを必要とする対象におけるがん細胞表面のDLL3を標的とする方法であって、本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。

【0027】

それを必要とする対象におけるシグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックする方法であって、本発明の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。

40

【0028】

それを必要とする対象におけるがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、本発明の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。

【0029】

それを必要とする対象におけるがん細胞表面にいずれも発現されるDLL3及びCD47を標的とする方法であって、本発明の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。

【0030】

50

それを必要とする対象において、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞において、SIRP α へのCD47の結合をブロックする方法であって、本発明の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。

【0031】

それを必要とする対象において、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、本発明の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。

【0032】

それを必要とする対象におけるヒト赤血球(RBC)への最小限～検出不可能の結合を伴って、ヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又は抗原結合断片によってDLL3とCD47の両方を発現するがん細胞に結合する方法であって、本発明の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。

【0033】

それを必要とする対象におけるがんを処置する方法であって、本発明の医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法も提供される。がんは、任意の液状がん(liquid cancer)又は固形がんであってもよく、例えば、以下に限定されないが、肺がん、例えば、小細胞肺がん(SCLC)、大細胞神経内分泌癌(LCNEC)、胃がん、結腸がん、肝細胞癌、腎細胞癌、膀胱尿路上皮癌、転移性黒色腫、乳がん、卵巣がん、子宮頸がん、頭頸部がん、膵臓がん、神経膠腫、神経膠芽腫、及び他の固形腫瘍、並びに非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性リンパ性白血病(ALL)、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、多発性骨髄腫(MM)、急性骨髄性白血病(AML)、及び他の液状腫瘍から選択され得る。

【0034】

本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、単離された抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を生産する方法であって、当該抗体又はその抗原結合断片を生産する条件下で、当該抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を培養するステップ、及び細胞又は培養物から抗体又はその抗原結合断片を回収するステップを含む方法も提供される。

【0035】

本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、単離された抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を含む医薬組成物を生産する方法であって、当該抗体又はその抗原結合断片を薬学的に許容される担体と配合して、医薬組成物を得るステップを含む方法も提供される。

【0036】

対照におけるDLL3のレベルを決定する方法も提供される。この方法は、(a)対象から試料を得るステップ;(b)試料を本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と接触させるステップ;及び(c)対象におけるDLL3のレベルを決定するステップを含む。ある特定の実施形態では、試料は、組織試料である。組織試料は、例えば、がん組織試料であってもよい。ある特定の実施形態では、試料は、血液試料である。

【0037】

前述の概要、及び本出願の好ましい実施形態についての以下の詳細な説明は、添付の図面と併せて読まれるとより理解されるであろう。しかしながら、本出願は、図面に示されるまさにその実施形態に限定されないことが理解されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1A-1B】図1A~1Cは、ELISAによって、精製した抗DLL3キメラmAbのコーティ

10

20

30

40

50

ングした組換えDLL3タンパク質への結合を示す。

【図1C】図1A-1Bの続きである。

【図2A】図2A～2Cは、FACSによって、HEK293-huDLL3細胞へのキメラ抗DLL3 mAbの結合を示す。3つの異なるmAb濃度をこのアッセイにおいて使用した(666.67nM(図2A);333.33nM(図2B);及び66.67nM(図2C))。

【図2B-2C】図2Aの続きである。

【図3】図3は、FACSによって、SHP-77細胞へのヒト化抗DLL3 mAb H1L2の結合を示す。

【図4A】図4A～4Bは、二重特異性抗体BA1及びBA1(C)(図4A)並びにBA4(C)(図4B)の架橋ELISAデータを示す。

【図4B】図4Aの続きである。

【図5】図5は、ELISAアッセイによって、固定したCD47への二重特異性抗体BA1、BA1(C)及びBA4(C)の結合を示す。

【図6A-6B】図6A～6Bは、ELISAアッセイによって、固定したDLL3への二重特異性抗体BA1及びBA1(C)(図6A)並びにBA4(C)(図6B)の結合を示す。

【図7】図7は、ELISAアッセイによって、1:1の濃度比で同時に固定したCD47及びDLL3への二重特異性抗体BA1、BA1(C)及びBA4(C)の結合を示す。

【図8A】図8A～8Bは、ELISAアッセイによって、CD47/SIRP α 相互作用をブロッキングする際の二重特異性抗体BA1、BA1(C)及びBA4(C)の活性を示す。図8Aでは、CD47のみがこのアッセイにおいて固定され、図8Bでは、CD47とDLL3の両方が2:1の濃度比で固定された。

【図8B】図8Aの続きである。

【図9】図9は、Raji細胞への二重特異性抗体BA1、BA1(C)及びBA4(C)の結合を示す。

【図10】図10は、SHP-77細胞への二重特異性抗体BA1(C)の結合に関する抗CD47又は抗DLL3 F(ab')₂の阻害作用を示す。

【図11A-11B】図11A～11Cは、ヒト赤血球(RBC)への異なるmAb濃度(1,600nM(図11A)、533nM(図11B)、及び178nM(図11C))の二重特異性抗体の結合を示す。

【図11C】図11A-11Bの続きである。

【発明を実施するための形態】

【0039】

様々な刊行物、論文及び特許が背景技術及び本明細書の全体を通して引用又は記載され、これらの参考文献のそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。本明細書に含まれている文書、作用、材料、デバイス、物品などについての議論は、本発明に関する背景を提供することを目的とする。このような議論は、これらの事項のいずれか又はすべてが、開示されるか又は特許請求される任意の発明に関して先行技術の一部を形成することを認めるものではない。

【0040】

別途定義されていない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語及び科学用語は、この発明が関与する技術分野の当業者に通常理解されるものと同じ意味を有する。そうでなければ、本明細書で使用される特定の用語は、本明細書に示す意味を有する。

【0041】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形の「a」、「an」、及び「the」は、別途この文脈で明確に示されていない限り、複数の対象を含む。

【0042】

別途記載されていない限り、任意の数値、例えば、本明細書に記載の濃度又は濃度範囲は、すべての例で、用語「約」で修飾されているものと理解されるべきである。よって、数値は、通常は、記載された値の $\pm 10\%$ を含む。例えば、1mg/mLの濃度は、0.9mg/mL～1.1mg/mLを含む。同様に、1%～10%(w/v)の濃度範囲は、0.9%(w/v)から11%(w/v)までを含む。本明細書で使用する場合、数値範囲の使用は、文脈が別途明確に示していない限り、そのような範囲内の整数及びその値の分数を含む、可能性のあるすべての下位範

10

20

30

40

50

図、その範囲内のすべての個々の数値を明確に含む。

【0043】

別途示されていない限り、一連の要素に先行する用語「少なくとも」は、その連続したあらゆる要素を指すものと理解されるべきである。当業者であれば、単なる慣用の実験を使用して、本明細書に記載の本発明の具体的実施形態の多くの均等物を認識するか、又は確認することができるであろう。このような均等物は、本発明に包含されることが意図される。

【0044】

本明細書で使用する場合、用語「含む(comprises)」、「含むこと(comprising)」、「含む(includes)」、「含むこと(including)」、「有する(has)」、「有すること(having)」、「含有する(contains)」若しくは「含有すること(containing)」又はその任意の他の変形は、記載された整数又は整数の群の包含を意味するが、任意の他の整数又は整数の群の除外を意味するものではなく、非排他的又はオープンエンドであることを意図するものである。例えば、要素の列挙を含む組成物、混合物、プロセス、方法、物品、又は装置は、これらの要素のみに必ずしも限定されるものではなく、明示的に列挙されていないか又はこのような組成物、混合物、プロセス、方法、物品、若しくは装置に固有の他の要素を含み得る。さらに、明示的にその逆が述べられていない限り、「又は(or)」は、包括的な又はを指し、排他的な又はを指すものではない。例えば、条件A又はBは、以下のうちのいずれか1つを満たす:Aが真であり(又は存在し)Bが偽である(又は存在しない);Aが偽であり(又は存在しない)Bが真である(又は存在する);及びAとBの両方が真である(又は存在する)。

【0045】

本明細書で使用する場合、複数の記載された要素間の接続的用語「及び/又は」は、個々の選択肢及び組み合わせた選択肢の両方を包含するものと理解される。例えば、2つの要素が「及び/又は」により接続される場合、第1の選択肢は、第2の要素なしでの第1の要素の適用性を指す。第2の選択肢は、第1の要素なしでの第2の要素の適用性を指す。第3の選択肢は、第1及び第2の要素の一緒に適用性を指す。これらの選択肢のいずれか1つは、その意味の範囲内にあると理解され、したがって、本明細書で使用される用語「及び/又は」の要件を満たす。この選択肢の1つ以上の同時適用も、この意味に含まれると理解され、したがって、用語「及び/又は」の要件を満たす。

【0046】

本明細書で使用する場合、本明細書及び特許請求の範囲の全体を通して使用される用語「からなる(consists of)」、又はその変形、例えば、「からなる(consist of)」若しくは「からなること(consisting of)」は、任意の記載された整数又は整数の群の包含を示すが、さらなる整数又は整数の群を特定の方法、構造、又は組成物に追加することはできない。

【0047】

本明細書で使用する場合、本明細書及び特許請求の範囲の全体を通して使用される、用語「から本質的になる(consists essentially of)」、又はその変形、例えば、「から本質的になる(consist essentially of)」若しくは「から本質的になること(consisting essentially of)」は、任意の記載された整数又は整数の群の包含、及び特定の方法、構造又は組成物の基本的な又は新規な特性を実質的に変えない任意の記載された整数又は整数の群の任意選択の包含を示す。M.P.E.P. § 2111.03を参照のこと。

【0048】

本明細書で使用する場合、「対象」は、任意の動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトを意味する。用語「哺乳動物」は、本明細書で使用する場合、任意の哺乳動物を包含する。哺乳動物の例としては、これらに限定されないが、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ネコ、イヌ、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、サル、ヒトなど、より好ましくはヒトが挙げられる。

【0049】

用語「右」、「左」、「下」、及び「上」は、言及される図面中の方向を示す。

【0050】

好ましい発明の構成要素の寸法又は特徴に言及する場合に本明細書で使用する用語「約(about)」、「およそ(approximately)」、「全般的に(generally)」、「実質的に(substantially)」などの用語は、記載された寸法/特徴が、厳密な境界又はパラメータではなく、当業者に理解されるように、機能的に同じか又は同様のそれらの軽微な変化を除外するものではないことも理解されるべきである。少なくとも、数値パラメータを含むこのような言及は、当技術分野で許容される数学的及び工業的原理(例えば、丸め誤差、測定誤差又は他の系統誤差、製作公差など)を使用した場合に最下位桁を変化させないばらつきを含む。

【0051】

2つ以上の核酸又はポリペプチド配列(例えば、抗DLL3抗体、抗CD47抗体、抗CD47/DLL3二重特異性抗体、DLL3ポリペプチド、及びそれらをコードするポリヌクレオチド)の文脈における、用語「同一である」又はパーセント「同一性」は、以下の配列比較アルゴリズムのうちの1つを使用するか又は目視検査によって測定して最大一致となるように比較及びアライメントされた場合に、同じであるか、又は同じであるアミノ酸残基若しくはヌクレオチドを特定のパーセンテージで有する、2つ以上の配列又は部分配列を指す。

【0052】

配列比較では、通常は、1つの配列が、試験配列が比較される参照配列として機能する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験配列及び参照配列がコンピュータに入力され、必要に応じて部分配列座標が指定され、配列アルゴリズムプログラムパラメータが指定される。次いで、配列比較アルゴリズムによって、指定されたプログラムパラメータに基づいて、参照配列と比較した試験配列に関する配列同一性パーセントが計算される。

【0053】

比較のために最適な配列アラインメントは、例えば、Smith及びWaterman、Adv. Appl. Math. 2:482(1981)のローカルホモロジーアルゴリズムによって、Needleman及びWunsch、J. Mol. Biol. 48:443(1970)のホモロジーアラインメントアルゴリズムによって、Pearson及びLipman、Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444(1988)の類似性検索法によって、これらのアルゴリズム(Wisconsin Genetics Software Package、Genetics Computer Group、575 Science Dr., Madison, WI)のGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA)のコンピュータ上での実行によって、又は目視検査(全般的に、Current Protocols in Molecular Biology、F.M. Ausubelら編、Current Protocols、Greene Publishing Associates, Inc.とJohn Wiley & Sons, Inc.の合併事業、(1995補遺)(Ausubel)を参照のこと)によって行うことができる。

【0054】

配列同一性パーセント及び配列類似性を決定するのに好適なアルゴリズム例は、Altschulら(1990)J. Mol. Biol. 215:403~410頁及びAltschulら(1997)Nucleic Acids Res. 25:3389~3402頁にそれぞれ記載される、BLAST及びBLAST2.0アルゴリズムである。BLAST分析を実施するためのソフトウェアは、米国立生物工学情報センター(National Center for Biotechnology Information)を通じて公的に利用可能である。このアルゴリズムはまず、データベース配列中の同じ長さのワードと整列させた場合、ある正の値の閾値スコアTと一致するか又はそれを満たすかのいずれかである、クエリー配列中の長さWの短いワードを特定することによって、高スコア配列対(HSP)を特定することを伴う。Tは、隣接ワードスコア閾値と呼ばれる(Altschulら、上掲)。これらの初期隣接ワードヒットは、それらを含むより長いHSPを見出すための検索を開始するためのシードとして作用する。次いで、このワードヒットは、累積アラインメントスコアが増加し得る限り、各配列に沿って両方向に伸長される。

【0055】

累積スコアは、ヌクレオチド配列については、パラメータM(一致する残基の対に関するリワードスコア;常に0より大きい)及びN(ミスマッチの残基に関するペナルティスコア;常に0より小さい)を使用して計算される。アミノ酸配列については、スコアリングマトリッ

10

20

30

40

50

クスを使用して、累積スコアを計算する。累積アラインメントスコアがその最大達成値から量X下降するか;累積スコアが1つ以上の負のスコアリングの残基アラインメントの蓄積のために、0以下になるか;又はいずれかの配列の末端に達するかした場合、それぞれの方向でのワードヒットの伸長が停止される。BLASTアルゴリズムパラメータW、T及びXは、アラインメントの感度及び速度を決定する。BLASTNプログラム(ヌクレオチド配列について)は、ワード長(W)を11、期待値(E)を10、M=5、N=-4、及び両鎖の比較をデフォルトとして使用する。アミノ酸配列については、BLASTPプログラムは、ワード長(W)を3、期待値(E)を10、及びBLOSUM62スコアリングマトリックス(Henikoff及びHenikoff、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915頁(1989)を参照のこと)をデフォルトとして使用する。

【0056】

10

配列同一性パーセントを計算することに加えて、BLASTアルゴリズムはまた、2つの配列間の類似性の統計分析も実施する(例えば、Karlin及びAltschul、Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 90:5873~5787頁(1993)を参照のこと)。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性の1つの尺度は、2つのヌクレオチド又はアミノ酸配列間の一致が偶然に生じる確率の指標を提供する最小和確率(P(N))である。例えば、試験核酸と参照核酸との比較における最小和確率が約0.1未満、より好ましくは約0.01未満、最も好ましくは約0.001未満である場合、その核酸は参照配列と類似すると考えられる。

【0057】

2つの核酸配列又はポリペプチドが実質的に同一であることのさらなる指標は、第1の核酸によってコードされるポリペプチドが、以下に記載されるように、第2の核酸によってコードされるポリペプチドと免疫学的に交差反応性であることである。よって、ポリペプチドは、典型的には、例えば、2つのペプチドが保存的置換によってのみ異なる場合に、第2のポリペプチドと実質的に同一である。2つの核酸配列が実質的に同一であることの別の指標は、2つの分子が、ストリンジェントな条件下で互いにハイブリダイズすることである。

20

【0058】

抗体

本発明は、全般的に、単離された抗DLL3抗体、抗CD47抗体、抗CD47/DLL3二重特異性抗体、これらの抗体をコードする核酸及び発現ベクター、このベクターを含有する組換え細胞、並びにこれらの抗体を含む組成物に関する。これらの抗体を作製する方法、及びがんを含む疾患を処置するためにこれらの抗体を使用する方法も提供される。本発明の抗体は、以下に限定されないが、DLL3及び/又はCD47への高親和性結合、DLL3及び/又はCD47への高い特異性、エフェクターに媒介される腫瘍細胞の溶解を誘導する能力、DLL3及び/又はCD47を発現する細胞に対して補体依存性細胞傷害(CDC)、抗体依存性ファゴサイトーシス(ADPC)、及び/又は抗体依存性の細胞に媒介される細胞傷害(ADCC)を刺激する能力、コンジュゲートした薬物の動員を媒介する能力、がん殺滅作用を有する別のmAb又は抗原結合断片と共に二重特異性抗体を形成する能力、並びに単独又は他の抗がん治療と組み合わせて投与した場合に、対象及び動物モデルにおける腫瘍成長を阻害する能力を含む、1つ以上の望ましい機能的特性を有する。

30

【0059】

全般的態様では、本発明は、DLL3に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

40

【0060】

本明細書で使用する場合、用語「抗体」は、広義の意味で使用され、免疫グロブリン又は抗体分子を含み、モノクローナル若しくはポリクローナルである、ヒトの、ヒト化された、複合体の及びキメラの抗体及び抗体断片を含む。一般的に、抗体は、特定の抗原への結合特異性を示すタンパク質又はペプチド鎖である。抗体構造は周知である。免疫グロブリンは、重鎖定常ドメインアミノ酸配列に応じて5つの主要なクラス(すなわち、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgM)に割り当てることができる。IgA及びIgGは、アイソタイプIgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4にさらに細分類される。したがって、本発明の抗体は

50

、5つの主要なクラス又は対応するサブクラスのいずれかのものであり得る。好ましくは、本発明の抗体は、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4である。脊椎動物種の抗体軽鎖は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、2つの明確に異なるタイプ、すなわち、カップ及びラムダのうちの一方に割り当てることができる。したがって、本発明の抗体は、カップ又はラムダ軽鎖定常ドメインを含有し得る。特定の実施形態によれば、本発明の抗体は、ラット又はヒト抗体由来の重鎖及び/又は軽鎖定常領域を含む。重鎖及び軽鎖定常ドメインに加えて、抗体は、軽鎖可変領域及び重鎖可変領域から構成される抗原結合領域を含み、その軽鎖可変領域及び重鎖可変領域のそれぞれが3つのドメイン(すなわち、相補性決定領域1~3;CDR1、CDR2、及びCDR3)を含む。軽鎖可変領域のドメインは、代わりに、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3と称され、重鎖可変領域のドメインは、代わりに、HCDR1、HCDR2、及びHCDR3と称される。

10

【0061】

本明細書で使用する場合、用語「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指す(例えば、DLL3に特異的に結合する単離された抗体は、DLL3に結合しない抗体を実質的に含まず、CD47に特異的に結合する単離された抗体は、CD47に特異的に結合しない抗体を実質的に含まず、CD47及びDLL3に特異的に結合する二重特異性抗体は、CD47及びDLL3に結合しない抗体を実質的に含まない)。さらに、単離された抗体は、他の細胞材料及び/又は化学物質を実質的に含まない。

【0062】

本明細書で使用する場合、用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、わずかな量で存在し得る天然に存在する可能性のある突然変異を除いて、同一である。本発明のモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、ファージディスプレイ技法、単ーリンパ球遺伝子クローニング技法によって、又は組換えDNA法によって、作製することができる。例えば、モノクローナル抗体は、ヒト重鎖導入遺伝子及び軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト動物、例えば、トランスジェニックマウス又はラットから得られるB細胞を含むハイブリドーマによって産生させることができる。

20

【0063】

本明細書で使用する場合、用語「抗原結合断片」は、例えば、ダイアボディ、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片(dsFv)、(dsFv)₂、二重特異性dsFv(dsFv-dsFv')、ジスルフィド安定化ダイアボディ(dsダイアボディ)、単鎖抗体分子(scFv)、単ドメイン抗体(sdab)、scFv二量体(二価のダイアボディ)、1つ以上のCDRを含む抗体の一部から形成された多重特異性抗体、ラクダ化単ドメイン抗体、ナノボディ、ドメイン抗体、二価ドメイン抗体、又は抗原に結合するが完全な抗体構造を含まない任意の他の抗体断片などの、抗体断片を指す。抗原結合断片は、親抗体又は親抗体断片が結合するのと同じ抗原に結合することが可能である。特定の実施形態によれば、抗原結合断片は、軽鎖可変領域、軽鎖定常領域、及び重鎖のFdセグメントを含む。他の特定の実施形態によれば、抗原結合断片は、Fab及びF(ab')を含む。

30

【0064】

本明細書で使用する場合、用語「単鎖抗体」は、約15~約20アミノ酸の短いペプチドによって連結した重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、この分野の従来の単鎖抗体を指す。本明細書で使用する場合、用語「単ドメイン抗体」は、重鎖可変領域及び重鎖定常領域を含むか又は重鎖可変領域のみを含む、この分野の従来の単ドメイン抗体を指す。

40

【0065】

本明細書で使用する場合、用語「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体又は当技術分野で公知の任意の技法を使用して作製されるヒトによって産生される抗体に対応するアミノ酸配列を有する抗体を指す。ヒト抗体のこの定義は、インタクトな若しくは完全長の抗体、その断片、並びに/又は少なくとも1つのヒト重鎖及び/若しくは軽鎖ポリペプチドを含む抗体を含む。

【0066】

50

本明細書で使用する場合、用語「ヒト化抗体」は、抗体の抗原結合特性は保持されるが、ヒトの身体におけるその抗原性は低下するように、ヒト抗体のものに対する配列相同性を増加させるよう改変されている、非ヒト抗体を指す。

【0067】

本明細書で使用する場合、用語「キメラ抗体」は、免疫グロブリン分子のアミノ酸配列が2つ以上の生物種に由来する抗体を指す。軽鎖と重鎖の両方の可変領域が、所望の特異性、親和性、及び能力を有する哺乳動物のうちの1種(例えば、マウス、ラット、ウサギなど)に由来する抗体の可変領域に対応する 경우가多く、一方、定常領域は、その種における免疫応答の誘発を回避するために、哺乳動物の別の種(例えば、ヒト)に由来する抗体の配列に対応する。

【0068】

本明細書で使用する場合、用語「多重特異性抗体」は、複数の免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む抗体を指し、この複数のうち第1の免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第1のエピトープに対する結合特異性を有し、この複数のうち第2の免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第2のエピトープに対する結合特異性を有する。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、同じ抗原上、例えば、同じタンパク質(又は多量体タンパク質の同じサブユニット)上にある。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、重複しているか又は実質的に重複している。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、重複していないか又は実質的に重複していない。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、異なる抗原上、例えば、異なるタンパク質(又は多量体タンパク質の異なるサブユニット)上にある。一実施形態では、多重特異性抗体は、第3、第4、又は第5の免疫グロブリン可変ドメインを含む。一実施形態では、多重特異性抗体は、二重特異性抗体分子、三重特異性抗体分子、又は四重特異性抗体分子である。

【0069】

本明細書で使用する場合、用語「二重特異性抗体」は、たった2つのエピトープ又は2つの抗原に結合する多重特異性抗体を指す。二重特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する第1の免疫グロブリン可変ドメイン配列と、第2のエピトープに対する結合特異性を有する第2の免疫グロブリン可変ドメイン配列とによって特徴付けられる。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、同じ抗原上、例えば、同じタンパク質(又は多量体タンパク質の同じサブユニット)上にある。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、重複しているか又は実質的に重複している。一実施形態では、第1及び第2のエピトープは、異なる抗原上、例えば、異なるタンパク質(又は多量体タンパク質の異なるサブユニット)上にある。一実施形態では、二重特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列及び軽鎖可変ドメイン配列と、第2のエピトープに対する結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列及び軽鎖可変ドメイン配列とを含む。一実施形態では、二重特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体、又はその断片、及び第2のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体、又はその断片を含む。一実施形態では、二重特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有するscFv、若しくはその断片、又は第2のエピトープに対する結合特異性を有するscFv、若しくはその断片を含む。一実施形態では、第1のエピトープは、DLL3上に位置し、第2のエピトープは、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、CD73、アペリン、CTLA-4、EGFR、HER-2、CD3、CD19、CD20、CD33、CD47、TIP-1、CLDN18.2、FOLR1及び/又は他の腫瘍関連免疫サプレッサー若しくは表面抗原上に位置する。

【0070】

本明細書で使用する場合、用語「DLL3」は、デルタ様3又はデルタ様タンパク質3としても知られる、デルタ様カノニカルNotchリガンド3(DLL3)を指し、初期発生の際の体節分割に必要とされる(Dunwoodieら、Development 129:1795~806頁(2002))。哺乳動物のNotchファミリーのリガンドDLL1、DLL4、JAG1、及びJAG2(これらはすべてNotch受容体シグナル伝達をトランスに活性化する)(Ntziachristosら、Cancer Cell 25(3):318~34頁(2014))とは異なり、DLL3は、主としてゴルジ体に局在化し、Notchシグナ

10

20

30

40

50

ル伝達を活性化することができない(Chapmanら、Hum Mol Genet 2011;20(5):905～16頁及びGeffersら、J Cell Biol 178(3):465～76頁(2007))。正常な発生の間、DLL3は、Notch及びDLL1と相互作用することによって、シス及びトランスの両方で作用するNotch経路の活性化を阻害する(Chapmanら、Hum Mol Genet 20(5):905～16頁(2011))。DLL3は、脳を除く成人の正常な組織において存在しないか又は非常に低いレベルで存在するが、肺がん、精巣がん、神経膠腫及び黒色腫の試料中では過剰発現される(Uhlenら、Science 357(6352): eaan2507 (2017))。さらに、DLL3は、小細胞肺がん(SCLC)及び大細胞神経内分泌癌(LCNEC)の腫瘍細胞の表面において検出可能であり(Saundersら、Sci Transl Med 7(302):302ra136 (2015)及びSharmaら、Cancer Res 77(14):3931～3941頁(2017))、DLL3は、がん治療に対するモノクローナル抗体の可能性のある標的となる。用語「ヒトDLL3」は、ヒトに由来するDLL3を指す。ヒトDLL3の例示的なアミノ酸配列は、GenBank受託番号NP_058637.1(配列番号169)に示されている。

【0071】

本明細書で使用する場合、用語「CD47」は、細胞の移動、接着、及びT細胞の機能を含む複数の細胞プロセスに関与することが示されている、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する複数回膜貫通受容体(multi-spanning transmembrane receptor)を指す。CD47は、インテグリン関連タンパク質(IAP)、卵巣がん抗原(OA3)、Rh関連抗原、及びMER6としても知られており、元々はヒトの卵巣がんに関する腫瘍抗原として特定され、次に、血液腫瘍と固形腫瘍の両方を含む複数のヒトの腫瘍型において発現することが示された。CD47と、マクロファージ上で発現される阻害性タンパク質であるシグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)との間の相互作用は、CD47を発現する細胞のファゴサイトーシスを妨げる。さらに、CD47は、実質的にすべての非悪性細胞において低レベルで発現される。用語「ヒトCD47」は、ヒトに由来するCD47を指す。ヒトCD47の例示的なアミノ酸配列は、GenBank受託番号NP_001768.1に示されている。

【0072】

本明細書で使用する場合、「DLL3に特異的に結合する」、「CD47に特異的に結合する」抗体、又は「CD47及びDLL3に特異的に結合する」抗体は、 1×10^{-7} M以下、好ましくは 1×10^{-8} M以下、より好ましくは 5×10^{-9} M以下、 1×10^{-9} M以下、 5×10^{-10} M以下、又は 1×10^{-10} M以下のKDで、DLL3、好ましくはヒトDLL3に結合するか;CD47、好ましくはヒトCD47;又はDLL3及びCD47、好ましくはヒトDLL3及びヒトCD47に結合する抗体を指す。用語「KD」は、解離定数を指し、これはKaに対するKdの比率(すなわち、Kd/Ka)から得られ、モル濃度(M)として表される。抗体に対するKD値は、本開示に鑑みて、当技術分野における方法を使用して決定することができる。例えば、抗体のKDは、表面プラズモン共鳴を使用して、例えば、バイオセンサーシステム、例えば、Biacore(登録商標)システムを使用して、又はバイオレイヤー干渉法、例えば、Octet RED96システムを使用して、決定することができる。

【0073】

抗体のKD値が小さいほど、抗体が標的抗原に結合する親和性は高くなる。

【0074】

特定の態様によれば、本発明は、

- (1)それぞれ、配列番号25、26、27、61、62及び63;
- (2)それぞれ、配列番号28、29、30、64、65及び66;
- (3)それぞれ、配列番号31、32、33、67、68及び69;
- (4)それぞれ、配列番号34、35、36、70、71及び72;
- (5)それぞれ、配列番号37、38、39、73、74及び75;
- (6)それぞれ、配列番号40、41、42、76、77及び78;
- (7)それぞれ、配列番号43、44、45、79、80及び81;
- (8)それぞれ、配列番号46、47、48、82、83及び84;
- (9)それぞれ、配列番号49、50、51、85、86及び87;
- (10)それぞれ、配列番号52、53、54、88、89及び90;

(11)それぞれ、配列番号55、56、57、91、92及び93;又は

(12)それぞれ、配列番号58、59、60、94、95及び96;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0075】

特定の態様によれば、本発明は、

(1)それぞれ、配列番号97、98、99、133、134及び135;

(2)それぞれ、配列番号100、101、102、136、137及び138;

(3)それぞれ、配列番号103、104、105、139、140及び141;

(4)それぞれ、配列番号106、107、108、142、143及び144;

(5)それぞれ、配列番号109、110、111、145、146及び147;

(6)それぞれ、配列番号112、113、114、148、149及び150;

(7)それぞれ、配列番号115、116、117、151、152及び153;

(8)それぞれ、配列番号118、119、120、154、155及び156;

(9)それぞれ、配列番号121、122、123、157、158及び159;

(10)それぞれ、配列番号124、125、126、160、161及び162;

(11)それぞれ、配列番号127、128、129、163、164及び165;又は

(12)それぞれ、配列番号130、131、132、166、167及び168;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0076】

別の特定の態様によれば、本発明は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21若しくは23のうちの1つと少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%若しくはそれより多くの割合、例えば、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22若しくは24のうちの1つと少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%若しくはそれより多くの割合、例えば、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。好ましい一実施形態によれば、本発明の単離されたモノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、それぞれ、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21若しくは23と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22若しくは24と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0077】

別の特定の態様によれば、本発明は、

a.配列番号1のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

b.配列番号3のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

c.配列番号5のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

d.配列番号7のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

e.配列番号9のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

f.配列番号11のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

g.配列番号13のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号14のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

h.配列番号15のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

i.配列番号17のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

j.配列番号19のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

k.配列番号21のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

l.配列番号23のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号24のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

を含む、本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0078】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号25、26、27、61、62、及び63のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号1と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号1のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0079】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号28、29、30、64、65、及び66のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0080】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号31、32、33、67、68、及び69のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号5と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列

10

20

30

40

50

を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号5のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0081】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号34、35、36、70、71、及び72のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0082】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号37、38、39、73、74、及び75のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号9と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号9のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0083】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号40、41、42、76、77、及び78のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号11と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号11のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0084】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号43、44、45、79、80、及び81のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号13と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号14と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号13のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配

列番号14のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0085】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号46、47、48、82、83、及び84のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号15と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号15のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

10

【0086】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号49、50、51、85、86、及び87のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号17と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号17のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

20

【0087】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号52、53、54、88、89、及び90のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号19と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号19のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

30

【0088】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号55、56、57、91、92、及び93のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号21と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号21のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

40

【0089】

50

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号58、59、60、94、95、及び96のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号23と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号24と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号23のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号24のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

10

【0090】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号97、98、99、133、134及び135のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号1と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号1のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

20

【0091】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号100、101、102、136、137及び138のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号3のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

30

【0092】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号103、104、105、139、140及び141のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号5と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号5のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

40

【0093】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号106、107、108、142、143及び144のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3

50

を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0094】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号109、110、111、145、146及び147のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号9と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号9のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0095】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号112、113、114、148、149及び150のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号11と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号11のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0096】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号115、116、117、151、152及び153のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号13と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号14と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号13のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号14のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0097】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号118、119、120、154、155及び156のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号1

5と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号15のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0098】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号121、122、123、157、158及び159のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号17と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号17のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0099】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号124、125、126、160、161及び162のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号19と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号19のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0100】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号127、128、129、163、164及び165のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号21と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号21のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0101】

一実施形態では、本発明は、それぞれ、配列番号130、131、132、166、167及び168のポリペプチド配列を有するHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号23と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可

変領域、及び配列番号24と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%又はそれより多くの割合で、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号23のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号24のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0102】

別の特定の態様によれば、本発明は、キメラである、本発明の単離されたモノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0103】

別の特定の態様によれば、本発明は、ヒトの又はヒト化されたものである、本発明の単離されたモノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

10

【0104】

別の特定の態様によれば、本発明は：

- a. 配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
 - b. 配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；又は
 - c. 配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- を含む、単離されたヒト化抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

20

【0105】

別の特定の態様によれば、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)、抗体依存性ファゴサイトーシス(ADPC)及び補体依存性細胞傷害(CDC)によってエフェクターに媒介される腫瘍細胞の溶解を誘導すること、並びに/又はコンジュゲートした薬物の動員を媒介すること、並びに/又はがんを殺滅する作用を有する別のmAb若しくは抗原結合断片と共に二重特異性抗体を形成することが可能である。

【0106】

別の特定の態様によれば、本発明は、抗CD47モノクローナル抗体のヒト化重鎖可変領域及び抗DLL3モノクローナル抗体のヒト化軽鎖可変領域を含む、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、

30

- a. 配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- b. 配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- c. 配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- d. 配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- e. 配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- f. 配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- g. 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- h. 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；
- i. 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域；又は
- j. 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号174のポリペ

40

50

プチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0107】

別の特定の態様によれば、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、シグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックすることが可能である。

【0108】

別の特定の態様によれば、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、がん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である。

【0109】

別の特定の態様によれば、本発明は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号178、179及び180のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号181、182及び183のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号184、185及び186のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0110】

別の特定の態様によれば、本発明は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号187、188及び189のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号190、191及び192のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号193、194及び195のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0111】

別の特定の態様によれば、本発明は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号176と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%以上、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%以上、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む;第2の抗原結合ドメインが、配列番号170と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%以上、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも85%、好ましくは90%、より好ましくは95%以上、例えば、95%、96%、97%、98%、又は99%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又は抗原結合断片に関する。

【0112】

別の特定の態様によれば、本発明は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合

10

20

30

40

50

断片であって、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞上のSIRP α に対するCD47の結合をブロックすることが可能である、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0113】

別の特定の態様によれば、本発明は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片に関する。

10

【0114】

別の特定の態様によれば、本発明は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、ヒト赤血球(RBC)への最小限～検出不可能の結合を伴って、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞に結合することが可能である、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片に関する。

【0115】

別の特定の態様によれば、本発明は、本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸に関する。タンパク質のコード配列を、タンパク質のアミノ酸配列を変化させることなく、変化させる(例えば、置換、欠失、挿入など)ことができることは当業者によって認識されるであろう。したがって、本発明の抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸配列は、タンパク質のアミノ酸配列を変化させることなく変更され得ることは、当業者によって理解されるであろう。

20

【0116】

別の一般的態様では、本発明は、本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸を含むベクターに関する。本開示を鑑みて、当業者に公知の任意のベクター、例えば、プラスミド、コスミド、ファージベクター又はウイルスベクターを使用することができる。一部の実施形態では、ベクターは、組換え発現ベクター、例えば、プラスミドである。ベクターは、発現ベクターの従来の機能を確立するための任意の要素、例えば、プロモーター、リボソーム結合エレメント、ターミネーター、エンハンサー、選択マーカー、及び複製起点を含むことができる。プロモーターは、構成性、誘導性又は抑制性プロモーターであってもよい。核酸を細胞に送達することが可能な多くの発現ベクターが、当技術分野で公知であり、本明細書において、細胞における抗体又はその抗原結合断片の生産に使用することができる。本発明の実施形態によれば、従来のクローニング技法又は人工遺伝子合成を使用して組換え発現ベクターを生成することができる。このような技法は、本開示に鑑みて、当業者に周知である。

30

【0117】

別の一般的態様では、本発明は、本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸を含む宿主細胞に関する。本開示に鑑みて、当業者に公知の任意の宿主細胞を、本発明の抗体又はその抗原結合断片の組換え発現に使用することができる。一部の実施形態では、宿主細胞は、大腸菌(*E. coli*)TG1若しくはBL21細胞(例えば、scFv又はFab抗体の発現用)、CHO-DG44若しくはCHO-K1細胞又はHEK293細胞(例えば、完全長IgG抗体の発現用)である。特定の実施形態によれば、従来の方法、例えば、化学的トランスフェクション、熱ショッ

40

50

ク、又はエレクトロポレーションによって、組換え発現ベクターは宿主細胞に形質転換され、組換え核酸が有効に発現されるように組換え発現ベクターが宿主細胞のゲノムに安定して組み込まれる。

【0118】

別の一般的態様では、本発明は、本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を生産する方法であって、本発明の抗体又はその抗原結合断片を産生する条件下で、当該抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を培養するステップ、及び細胞又は培養物から(例えば、上清から)抗体又はその抗原結合断片を回収するステップを含む方法に関する。当技術分野で公知であり、本明細書に記載される従来の技法に従って、発現された抗体又はその抗原結合断片を細胞から採取し、精製することができる。

10

【0119】

医薬組成物

別の一般的態様では、本発明は、本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、単離された抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物に関する。用語「医薬組成物」は、本明細書で使用する場合、本発明の抗体を、薬学的に許容される担体と一緒に含む生産物を意味する。本発明の抗体及びこれらを含む組成物は、本明細書で言及した治療適用のための医薬の製造においても有用である。

20

【0120】

本明細書で使用する場合、用語「担体」は、任意の賦形剤、希釈剤、充填剤、塩、緩衝剤、安定剤、相溶剤、油、脂質、ベシクルを含む脂質、マイクロスフェア、リポソーム封入、又は医薬製剤において使用するための当技術分野で周知の他の材料を指す。担体、賦形剤又は希釈剤の特徴は、特定の適用のための投与経路に依存することが理解されよう。本明細書で使用する場合、用語「薬学的に許容される担体」は、本発明による組成物の有効性又は本発明による組成物の生物学的活性を妨げない非毒性材料を指す。特定の実施形態によれば、本開示に鑑みて、抗体医薬組成物において使用するのに好適な任意の薬学的に許容される担体を、本発明において使用することができる。

30

【0121】

薬学的に活性な成分の薬学的に許容される担体との製剤化は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy(例えば、第21版(2005)、及びその後の任意の版)にあるように、当技術分野で公知である。追加の成分の非限定例として、緩衝剤、希釈剤、溶媒、張性調節剤、防腐剤、安定剤、及びキレート剤が挙げられる。1つ以上の薬学的に許容される担体を、本発明の医薬組成物の製剤化において使用することができる。

【0122】

本発明の一実施形態では、医薬組成物は、液体製剤である。液体製剤の好ましい例は、水性製剤、すなわち、水を含む製剤である。液体製剤は、溶液、懸濁液、エマルション、マイクロエマルション、ゲルなどを含むことができる。水性製剤は、典型的には、少なくとも50%w/wの水、又は少なくとも60%、70%、75%、80%、85%、90%、又は少なくとも95%w/wの水を含む。

40

【0123】

一実施形態では、医薬組成物は、例えば、注射デバイス(例えば、シリンジ又は輸液ポンプ)を介して注射することができる注射剤として製剤化することができる。注射は、例えば、皮下、筋肉内、腹腔内、硝子体内、又は静脈内に送達することができる。

【0124】

別の実施形態では、医薬組成物は、固体製剤、例えば、凍結乾燥又は噴霧乾燥組成物であり、これはそのまま使用してもよく、又は、医師若しくは患者が使用前に溶媒、及び/若しくは希釈剤を添加して使用してもよい。固体剤形としては、錠剤、例えば、圧縮錠剤、

50

及び/又はコーティングされた錠剤、並びにカプセル(例えば、ハード又はソフトゼラチンカプセル)を挙げることができる。医薬組成物はまた、例えば、サッシェ、糖衣錠、粉末、顆粒、トローチ剤、又は再構築用の粉末の形態であってもよい。

【0125】

剤形は、即時放出(この場合、水溶性又は分散性担体を含み得る)であってもよく、又は、遅延放出、持続放出、若しくは修正放出(これらの場合は、胃腸管又は皮下における剤形の溶解速度を調節する非水溶性ポリマーを含み得る)であってもよい。

【0126】

他の実施形態では、医薬組成物は、鼻腔内、頬内、又は舌下送達され得る。

【0127】

水性製剤のpHは、pH3～pH10の間であり得る。本発明の一実施形態では、製剤のpHは、約7.0～約9.5である。本発明の別の実施形態では、製剤のpHは、約3.0～約7.0である。

【0128】

本発明の別の実施形態では、医薬組成物は、緩衝剤を含む。緩衝剤の非限定例として、アルギニン、アスパラギン酸、ヒシン、クエン酸塩、リン酸水素二ナトリウム、フマル酸、グリシン、グリシルグリシン、ヒスチジン、リシン、マレイン酸、リンゴ酸、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸ナトリウム、コハク酸塩、酒石酸、トリシン、及びトリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン、並びにこれらの混合物が挙げられる。緩衝剤は、個々に又は全体で、約0.01mg/ml～約50mg/ml、例えば、約0.1mg/ml～約20mg/mlの濃度で存在してもよい。これらの具体的な緩衝剤の各々を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。

【0129】

本発明の別の実施形態では、医薬組成物は、防腐剤を含む。防腐剤の非限定例として、塩化ベンゼトニウム、安息香酸、ベンジルアルコール、プロノポール、ブチル4-ヒドロキシベンゾエート、クロロブタノール、クロロクレゾール、クロロヘキシジン、クロルフェネシン、o-クレゾール、m-クレゾール、p-クレゾール、エチル4-ヒドロキシベンゾエート、イミド尿素、メチル4-ヒドロキシベンゾエート、フェノール、2-フェノキシエタノール、2-フェニルエタノール、プロピル4-ヒドロキシベンゾエート、デヒドロ酢酸ナトリウム、チオメロサル、及びこれらの混合物が挙げられる。防腐剤は、個々に又は全体で、約0.01mg/ml～約50mg/ml、例えば、約0.1mg/ml～約20mg/mlの濃度で存在してもよい。これらの具体的な防腐剤の各々を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。

【0130】

本発明の別の実施形態では、医薬組成物は、等張剤を含む。等張剤の非限定例として、塩(例えば、塩化ナトリウム)、アミノ酸(例えば、グリシン、ヒスチジン、アルギニン、リシン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファン、及びトレオニン)、アルジトール(例えば、グリセロール、1,2-プロパンジオールプロピレングリコール)、1,3-プロパンジオール、及び1,3-ブタンジオール)、ポリエチレングリコール(例えば、PEG400)、及びこれらの混合物が挙げられる。等張剤の別の例としては、糖が挙げられる。糖の非限定例は、単糖類、二糖類、若しくは多糖類、又は水溶性グルカンであってもよく、例えば、フルクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、キシロース、マルトース、ラクトース、ショ糖、トレハロース、デキストラン、プルラン、デキストリン、シクロデキストリン、アルファ及びベータ-HPCD、可溶性デンプン、ヒドロキシエチルデンプン、並びにカルボキシメチルセルロースナトリウムが挙げられる。等張剤の別の例は糖アルコールであり、用語「糖アルコール」は、少なくとも1つの-OH基を有するC(4～8)炭化水素として定義される。糖アルコールの非限定例として、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、ガラクトール、ズルシトール、キシリトール、及びアラビトールが挙げられる。この段落に列挙される各等張剤を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。等張剤は、個々に又は全体で、約0.01mg/ml～約50mg/ml、例えば、約0.1mg/ml～約20

10

20

30

40

50

mg/mlの濃度で存在してもよい。これらの具体的な等張剤の各々を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。

【0131】

本発明の別の実施形態では、医薬組成物は、キレート剤を含む。キレート剤の非限定例として、クエン酸、アスパラギン酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)の塩、及びこれらの混合物が挙げられる。キレート剤は、個々に又は全体で、約0.01mg/ml～約50mg/ml、例えば、約0.1mg/ml～約20mg/mlの濃度で存在してもよい。これらの具体的なキレート剤の各々を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。

【0132】

本発明の別の実施形態では、医薬組成物は、安定剤を含む。安定剤の非限定例として、1つ以上の凝集阻害剤、1つ以上の酸化阻害剤、1つ以上の界面活性剤、及び/又は1つ以上のプロテアーゼ阻害剤が挙げられる。

10

【0133】

本発明の別の実施形態では、医薬組成物は、安定剤を含み、前記安定剤は、カルボキシ/ヒドロキシセルロース及びその誘導体(例えば、HPC、HPC-SL、HPC-L及びHPMC)、シクロデキストリン、2-メチルチオエタノール、ポリエチレングリコール(例えば、PEG3350)、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリビニルピロリドン、塩(例えば、塩化ナトリウム)、硫黄含有物質、例えば、モノチオグリセロール)、又はチオグリコール酸である。安定剤は、個々に又は全体で、約0.01mg/ml～約50mg/ml、例えば、約0.1mg/ml～約20mg/mlの濃度で存在してもよい。これらの具体的な安定剤の各々を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。

20

【0134】

本発明のさらなる実施形態では、医薬組成物は、1つ以上の界面活性剤、好ましくは界面活性剤、少なくとも1つの界面活性剤、又は2つの異なる界面活性剤を含む。用語「界面活性剤」は、水溶性(親水性)部分と、脂溶性(親油性)部分とから構成される任意の分子又はイオンを指す。界面活性剤は、例えば、アニオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤、及び/又は双極性イオン界面活性剤からなる群から選択することができる。界面活性剤は、個々に又は全体で、約0.1mg/ml～約20mg/mlの濃度で存在してもよい。これらの具体的な界面活性剤の各々を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。

30

【0135】

本発明のさらなる実施形態では、医薬組成物は、1つ以上のプロテアーゼ阻害剤、例えば、EDTA、及び/又は塩酸(HCl)ベンズアミジンなどを含む。プロテアーゼ阻害剤は、個々に又は全体で、約0.1mg/ml～約20mg/mlの濃度で存在してもよい。これらの具体的なプロテアーゼ阻害剤の各々を含む医薬組成物は、本発明の代替的な実施形態を構成する。

【0136】

別の一般的態様では、本発明は、本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を含む医薬組成物を生産する方法であって、抗体又はその抗原結合断片を薬学的に許容される担体と配合して、医薬組成物を得るステップを含む方法に関する。

40

【0137】

使用方法

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象におけるがん細胞表面のDLL3を標的とする方法であって、本発明のDLL3に特異的に結合する単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。DLL3へのモノクローナル抗体又はその抗原結合断片の結合によって、補体依存性細胞傷害(CDC)、抗体依存性ファゴサイトーシス(ADPC)、及び/若しくは抗体依存性細胞傷害(ADCC)又は標的化がん細胞の死滅をもたらす他の作用が媒介され得る。モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、例えば、コンジュゲートした

50

薬物を動員する役目を果たすことができる、及び/又は標的化がん細胞の死滅を媒介する別のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片と共に二重特異性抗体を形成することができる。

【0138】

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象におけるシグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックする方法であって、本発明の抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。

【0139】

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象におけるがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、本発明の抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。

10

【0140】

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象におけるがん細胞表面のDLL3及びCD47を標的とする方法であって、本発明のCD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含むヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。

【0141】

20

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象において、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞において、シグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックする方法であって、本発明のCD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含むヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。がん細胞に対するヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片の結合によって、SIRP α へのCD47の結合のブロックが媒介され得る。

【0142】

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象において、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、本発明のCD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。がん細胞に対するヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片の結合によって、がん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスが誘導され得る。

30

【0143】

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象におけるヒト赤血球(RBC)への最小限～検出不可能の結合を伴って、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞に結合する方法であって、本発明のCD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。本発明のヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片は、ヒト赤血球(RBC)への最小限～検出不可能の結合を伴って、がん細胞に対して高い選択性を有する。

40

【0144】

DLL3若しくはCD47に結合する抗体及びその抗原結合断片、又はDLL3及びCD47に結合する二重特異性抗体及びその抗原結合断片の機能的活性は、当技術分野で公知であり、本明細書に記載される方法によって特徴付けることができる。DLL3若しくはCD47に結合

50

する抗体及びその抗原結合断片、又はDLL3及びCD47に結合する二重特異性抗体及びその抗原結合断片を特徴付けるための方法としては、以下に限定されないが、Biacore、ELISA、FACS及びOctetRed分析を含む親和性及び特異性アッセイが挙げられる。特定の実施形態によれば、DLL3若しくはCD47に結合する抗体及びその抗原結合断片、又はDLL3及びCD47に結合する二重特異性抗体及びその抗原結合断片を特徴付けるための方法は、以下に記載されるものを含む。

【0145】

別の一般的態様では、本発明は、それを必要とする対象におけるがんを処置する方法であって、本発明の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、単離された抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は単離された抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片又は医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法に関する。がんは、例えば、以下に限定されないが、肺がん、例えば、小細胞肺がん(SCLC)、大細胞神経内分泌癌(LCNEC)、胃がん、結腸がん、肝細胞癌、腎細胞癌、膀胱尿路上皮癌、転移性黒色腫、乳がん、卵巣がん、子宮頸がん、頭頸部がん、膵臓がん、神経膠腫、神経膠芽腫、及び他の固形腫瘍、並びに非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性リンパ性白血病(ALL)、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、多発性骨髄腫(MM)、急性骨髄性白血病(AML)、及び他の液状腫瘍から選択される。

10

【0146】

本発明の実施形態によれば、医薬組成物は、治療有効量の、本発明の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を含む。本明細書で使用する場合、用語「治療有効量」は、対象において、所望の生物学的又は医学的応答を誘発する、有効成分又は構成成分の量を指す。治療有効量は、記載された目的に関連して、経験的且つ慣用方法で決定することができる。

20

【0147】

抗DLL3抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47抗体若しくはその抗原結合断片、又は抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片に関連して本明細書で使用する場合、治療有効量は、それを必要とする対象において免疫応答をモジュレートする抗DLL3抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47抗体若しくはその抗原結合断片、又は抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片の量を意味する。また、抗DLL3抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47抗体若しくはその抗原結合断片、又は抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片に関連して本明細書で使用する場合、治療有効量は、疾患、障害、若しくは状態の処置をもたらすか、疾患、障害、若しくは状態を予防するか若しくはその進行を遅延させるか、又は疾患、障害、若しくは状態に伴う症状を低減するか若しくは完全に緩和する、抗DLL3抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47抗体若しくはその抗原結合断片、又は抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片の量を意味する。

30

【0148】

特定の実施形態によれば、処置される疾患、障害又は状態は、がん、好ましくは肺がん、例えば、小細胞肺がん(SCLC)、大細胞神経内分泌癌(LCNEC)、胃がん、結腸がん、肝細胞癌、腎細胞癌、膀胱尿路上皮癌、転移性黒色腫、乳がん、卵巣がん、子宮頸がん、頭頸部がん、膵臓がん、神経膠腫、神経膠芽腫、及び他の固形腫瘍、並びに非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性リンパ性白血病(ALL)、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、多発性骨髄腫(MM)、急性骨髄性白血病(AML)、及び他の液状腫瘍からなる群から選択されるがんである。

40

【0149】

特定の実施形態によれば、治療有効量は、以下の効果のうちの1つ、2つ、3つ、4つ、又はそれを超えるものを達成するのに十分な治療の量を指す:(i)処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状の重症度を低減又は改善すること、(ii)処置される疾患、障

50

害若しくは状態、又はそれに伴う症状の期間を短縮すること、(iii)処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状の進行を予防すること、(iv)処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状の退縮を生じること、(v)処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状の進展又は発症を予防すること、(vi)処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状の再発を予防すること、(vii)処置される疾患、障害、若しくは状態、又はそれに伴う症状を有する対象の入院を減少させること、(viii)処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状を有する対象の入院期間を短縮させること、(ix)処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状を有する対象の生存率を高めること、(xi)対象における、処置される疾患、障害若しくは状態、又はそれに伴う症状を阻害若しくは低減すること、並びに/あるいは(xii)別の治療の予防的又は治療効果を強化又は改善すること。

10

【0150】

治療有効量又は治療有効投与量は、様々な因子、例えば、処置される疾患、障害又は状態、投与の手段、標的部位、対象の生理学的状態(例えば、年齢、体重、健康を含む)、対象がヒトであるか又は動物であるか、投与される他の医薬、及び処置が予防的であるか又は治療的であるかに応じて変動し得る。処置投与量は、安全性及び有効性を最適化するように最適に用量設定される。

【0151】

特定の実施形態によれば、本明細書に記載の組成物は、対象への意図した投与経路に好適となるように製剤化される。例えば、本明細書に記載の組成物は、静脈内、皮下、又は筋肉内投与に好適となるよう製剤化することができる。

20

【0152】

本明細書で使用する場合、用語「処置する(treat)」、「処置すること(treating)」、及び「処置(treatment)」はいずれも、がんに関連した少なくとも1つの測定可能な物理的パラメータの改善又は好転を指すことを意図し、これは対象において必ずしも認識されとは限らないが、対象において認識可能な場合もある。用語「処置する(treat)」、「処置すること(treating)」、及び「処置(treatment)」はまた、疾患、障害、又は状態の退縮を生じること、その進行を予防すること、又は少なくともその進行速度を低下させることを指してもよい。特定の実施形態では、「処置する(treat)」、「処置すること(treating)」、及び「処置(treatment)」は、疾患、障害、又は状態、例えば、腫瘍又はより好ましくはがんに伴う1つ以上の症状の緩和、進展若しくは発症の予防、又はその期間の短縮を指す。特定の実施形態では、「処置する(treat)」、「処置すること(treating)」、及び「処置(treatment)」は、疾患、障害、又は状態の再発の予防を指す。特定の実施形態では、「処置する(treat)」、「処置すること(treating)」、及び「処置(treatment)」は、疾患、障害、又は状態を有する対象の生存率の向上を指す。特定の実施形態では、「処置する(treat)」、「処置すること(treating)」、及び「処置(treatment)」は、対象における疾患、障害、又は状態の消失を指す。

30

【0153】

特定の実施形態によれば、がんの処置において使用される組成物。それは、がん療法では、以下に限定されないが、化学療法、抗TIM-3 mAb、抗LAG-3 mAb、抗CD73 mAb、抗アペリンmAb、抗CTLA-4抗体、抗EGFR mAb、抗HER-2 mAb、抗CD19 mAb、抗CD20 mAb、抗CD33 mAb、抗CD47 mAb、抗TIP-1 mAb、抗CLDN18.2 mAb、抗FOLR1 mAb、抗PD-L1抗体、抗PD-1抗体、PD-1/PD-L1療法、他のがん免疫薬、抗血管新生薬、放射線療法、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)、標的療法、又は他の抗がん薬を含む別の処置と組み合わせて使用され得る。

40

【0154】

本明細書で使用する場合、対象への2つ以上の治療の施行の文脈における、用語「組み合わせて」は、2つ以上の治療の使用を指す。用語「組み合わせて」の使用は、治療が対象に施行される順序を限定するものではない。例えば、第1の治療(例えば、本明細書に記載の組成物)を、対象への第2の治療の施行前に(例えば、5分、15分、30分、45分、1時

50

間、2時間、4時間、6時間、12時間、16時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、又は12週間前に)、施行と同時に、又は施行後に(例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、16時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、又は12週間後に)施行することができる。

【0155】

別の一般的態様では、本発明は、対象におけるDLL3のレベルを決定する方法に関する。この方法は、(a)対象から試料を得るステップ;(b)試料を本発明の抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と接触させるステップ;及び(c)対象におけるDLL3のレベルを決定するステップを含む。

【0156】

本明細書で使用する場合、「試料」は、対象から単離された生体試料を指し、以下に限定されないが、全血、血清、血漿、血液細胞、内皮細胞、組織生検(例えば、がん組織)、リンパ液、腹水液、間質液、骨髓、脳脊髄液、唾液、粘液、痰、汗、尿、又は任意の他の分泌物、排せつ物、又は他の体液を挙げることができる。「血液試料」は、全血又は血液細胞、血清、及び血漿を含むその任意の画分を指す。

【0157】

ある特定の実施形態では、対象におけるDLL3のレベルは、以下に限定されないが、ウェスタンブロットアッセイ、ELISAアッセイ、及び/又は免疫組織化学(IHC)アッセイから選択されるアッセイを利用して決定することができる。相対的なタンパク質レベルは、ウェスタンブロット分析及びIHCを利用することによって決定することができ、絶対的なタンパク質レベルは、ELISAアッセイを利用して決定することができる。DLL3の相対的レベルを決定する場合、DLL3のレベルは、少なくとも2つの試料間、例えば、同じ対象由来の異なる時点における試料間、同じ対象の異なる組織由来の試料間、及び/又は異なる対象由来の試料間で決定することができる。あるいは、DLL3の絶対的レベルを、例えば、ELISAアッセイによって決定する場合、試料中のDLL3の絶対的レベルは、試料を試験する前に、ELISAアッセイについての標準を作成することによって決定することができる。当業者であれば、本発明の抗体又はその抗原結合断片を利用して、対象由来の試料中のDLL3のレベルを決定するために、どの分析技法を利用するかを理解するであろう。

【0158】

対象由来の試料中のDLL3のレベルを決定する方法を利用することによって、疾患における異常な(上昇した、低減した、又は不十分な)DLL3のレベルの診断が導かれ、適切な治療上の決定をすることができる。このような疾患は、がんであり得るが、それに限定されない。さらに、対象におけるDLL3のレベルをモニターすることによって、上記に示す疾患を発症するリスクを、特定の疾患におけるDLL3のレベルについての知識に基づき並びに/又は特定の疾患の進行中に決定することができる。

【0159】

実施形態

本発明は、以下の非限定的実施形態も提供する。

【0160】

実施形態1は、

- (1)それぞれ、配列番号25、26、27、61、62及び63;
- (2)それぞれ、配列番号28、29、30、64、65及び66;
- (3)それぞれ、配列番号31、32、33、67、68及び69;
- (4)それぞれ、配列番号34、35、36、70、71及び72;
- (5)それぞれ、配列番号37、38、39、73、74及び75;
- (6)それぞれ、配列番号40、41、42、76、77及び78;
- (7)それぞれ、配列番号43、44、45、79、80及び81;
- (8)それぞれ、配列番号46、47、48、82、83及び84;
- (9)それぞれ、配列番号49、50、51、85、86及び87;

- (10)それぞれ、配列番号52、53、54、88、89及び90;
- (11)それぞれ、配列番号55、56、57、91、92及び93;又は
- (12)それぞれ、配列番号58、59、60、94、95及び96;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3に特異的に結合する、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0161】

実施形態2は、

- (1)それぞれ、配列番号97、98、99、133、134及び135;
- (2)それぞれ、配列番号100、101、102、136、137及び138;
- (3)それぞれ、配列番号103、104、105、139、140及び141;
- (4)それぞれ、配列番号106、107、108、142、143及び144;
- (5)それぞれ、配列番号109、110、111、145、146及び147;
- (6)それぞれ、配列番号112、113、114、148、149及び150;
- (7)それぞれ、配列番号115、116、117、151、152及び153;
- (8)それぞれ、配列番号118、119、120、154、155及び156;
- (9)それぞれ、配列番号121、122、123、157、158及び159;
- (10)それぞれ、配列番号124、125、126、160、161及び162;
- (11)それぞれ、配列番号127、128、129、163、164及び165;又は
- (12)それぞれ、配列番号130、131、132、166、167及び168;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3に特異的に結合する、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0162】

実施形態3は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21若しくは23と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22若しくは24と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、実施形態1又は2の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又は抗原結合断片である。

【0163】

実施形態4は、

- (a)配列番号1のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (b)配列番号3のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (c)配列番号5のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (d)配列番号7のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (e)配列番号9のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (f)配列番号11のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (g)配列番号13のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号14のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (h)配列番号15のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;
- (i)配列番号17のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

チド配列を有する軽鎖可変領域;

(j)配列番号19のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(k)配列番号21のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

(l)配列番号23のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号24のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、実施形態1~3のいずれか1つの単離された抗DLL3モノクローナル抗体又は抗原結合断片である。

【0164】

実施形態5は、キメラである、実施形態1~4のいずれか1つの単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0165】

実施形態6は、ヒトの又はヒト化されたものである、実施形態1~4のいずれか1つの単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0166】

実施形態7は、

(a)配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(b)配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(c)配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、実施形態6の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0167】

実施形態8は、エフェクターに媒介される腫瘍細胞の溶解を誘導することが可能である、実施形態1~7のいずれか1つの単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0168】

実施形態9は、抗CD47モノクローナル抗体のヒト化重鎖可変領域及び抗DLL3モノクローナル抗体のヒト化軽鎖可変領域を含み、

a.配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

b.配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

c.配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

d.配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

e.配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

f.配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

g.配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

h.配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

i.配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

10

20

30

40

50

j. 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号174のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0169】

実施形態10は、シグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックすることが可能である、実施形態9の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0170】

実施形態11は、がん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である、実施形態9の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【0171】

実施形態12は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号178、179及び180のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号181、182及び183のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号184、185及び186のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片である。

【0172】

実施形態13は、CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号187、188及び189のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号190、191及び192のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号193、194及び195のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片である。

【0173】

実施形態14は、第1の抗原結合ドメインが、配列番号176と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号170と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、実施形態12又は13の単離された抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片である。

【0174】

実施形態15は、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞上のSIRP α へのCD47の結合をブロックすることが可能である、実施形態12~14のいずれか1つの単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片である。

【0175】

実施形態16は、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である、実施形態12~14のいずれか1つの単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片である。

【0176】

実施形態17は、ヒト赤血球(RBC)への最小限~検出不可能の結合を伴って、DLL3とCD

10

20

30

40

50

47の両方を発現するがん細胞に結合することが可能である、実施形態12~14のいずれか1つの単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片である。

【0177】

実施形態18は、実施形態1~17のいずれか1つの抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸である。

【0178】

実施形態19は、実施形態18の単離された核酸を含むベクターである。

【0179】

実施形態20は、実施形態19のベクターを含む宿主細胞である。

【0180】

実施形態21は、実施形態1~17のいずれか1つの抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物である。

【0181】

実施形態22は、それを必要とする対象におけるがん細胞表面のDLL3を標的とする方法であって、実施形態1~8のいずれか1つの単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0182】

実施形態23は、それを必要とする対象におけるシグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロックする方法であって、実施形態9~11のいずれか1つの抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0183】

実施形態24は、それを必要とする対象におけるがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、実施形態9~11のいずれか1つの抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0184】

実施形態25は、それを必要とする対象におけるがん細胞表面にいずれも発現されるDLL3及びCD47を標的とする方法であって、実施形態12~17のいずれか1つの単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0185】

実施例26は、それを必要とする対象において、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞において、SIRP α へのCD47の結合をブロックする方法であって、実施形態12~17のいずれか1つのヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0186】

実施形態27は、それを必要とする対象において、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、実施形態12~17のいずれか1つのヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0187】

実施形態28は、それを必要とする対象におけるヒト赤血球(RBC)への最小限~検出不可能の結合を伴って、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞に結合する方法であって、実施形態12~17のいずれか1つのヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断

10

20

30

40

50

片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0188】

実施形態29は、それを必要とする対象におけるがんを処置する方法であって、実施形態21の医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法である。

【0189】

実施形態30は、がんが、肺がん、例えば、小細胞肺がん(SCLC)、大細胞神経内分泌癌(LCNEC)、胃がん、結腸がん、肝細胞癌、腎細胞癌、膀胱尿路上皮癌、転移性黒色腫、乳がん、卵巣がん、子宮頸がん、頭頸部がん、膵臓がん、神経膠腫、神経膠芽腫、及び他の固形腫瘍、並びに非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性リンパ性白血病(ALL)、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、多発性骨髄腫(MM)、急性骨髄性白血病(AML)、及び他の液状腫瘍からなる群から選択される、実施形態29の方法である。

10

【0190】

実施形態31は、実施形態1~17のいずれか1つの抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を生産する方法であって、当該抗体又はその抗原結合断片を産生する条件下で、当該抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を培養するステップ、及び細胞又は培養物から抗体又はその抗原結合断片を回収するステップを含む方法である。

【0191】

実施形態32は、実施形態1~17のいずれか1つの抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を生産する方法であって、当該抗体又はその抗原結合断片を薬学的に許容される担体と配合して、医薬組成物を得るステップを含む方法である。

20

【0192】

実施形態33は、対象におけるDLL3のレベルを決定する方法であって、
a.対象から試料を得るステップ;
b.試料を実施形態1~8のいずれか1つの単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と接触させるステップ;及び
c.対象におけるDLL3のレベルを決定するステップ
を含む方法である。

30

【0193】

実施形態34は、試料が、組織試料である、実施形態33の方法である。

【0194】

実施形態35は、組織試料が、がん組織試料である、実施形態34の方法である。

【0195】

実施形態36は、試料が、血液試料である、実施形態33の方法である。

【実施例】

【0196】

[実施例1]

抗DLL3モノクローナル抗体の特定

40

【0197】

ヒトDLL3細胞外ドメイン(ECD)のN末端におけるFLAGとの融合タンパク質である組換えFLAG-huDLL3(Adipogen、カタログ番号AG40B-0151)でマウスを免疫化した。血漿力価をELISAによって決定した。安楽死させた後、脾臓及びリンパ節を回収して、ハイブリドーマを作製した。ハイブリドーマを384ウェル組織培養プレート中で増殖させ、個々のウェルに由来する上清を、FLAG-huDLL3を使用するELISA、HEK293-huDLL3及びHEK293-cyDLL3の安定したプールを使用するFACS、並びにFLAG-huDLL3を使用するOctet解離速度分析によってスクリーニングした。上位の陽性クローンを単離し、シークエンシングした。

50

【0198】

抗DLL3モノクローナル抗体についての重鎖及び軽鎖可変領域の配列を表1及び2に提供し、抗DLL3モノクローナル抗体についてのCDR領域を表3～6に提供する。

【0199】

【表1】

表1: 抗DLL3 mAbについての重鎖可変領域の配列

mAb クローン	VH	配列 番号
13P9A	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGPDWIGYI NPYNDA TKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGGYDY DGDYWGQGTTLVSS	1
5A16A	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYILHWVKLKPQGLEWIGYIN PYNDG TKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSR L TSYDSAVYYCARDSSGYG GAYAMDFWQGTSVTVSS	3
14L22A	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYAMSWVRQTPEKRLEWVAAIN SNGGNTYYPDTVKDRFTISRDNANTLYLQMSSLRSEDTALYYCARHRGGFY YAVDYWGQGTSVTVSS	5
10P18A	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTGYIDWVKQSPGKSLEWIGYIYP SNGETSYNQKFKGKATLTVDKSSSTVNMQLNSLTSEDSAVYYCARESYAMD YWGQGTSTVTVSS	7
13P11A	DVQLQESGPGLVKPSQTVSLTCTVTGYISITNGNHWWSWIRQVSGSKLEWMG YISSSGTDSNPSLKSRLSITRDTSKNQLFLHLNSVTTEDIATYYCATTGTWGYF DYWGQGTTLVSS	9
3C16A	EVQLQQSGPELVKPGTSVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYV IPYNDG TKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARPSNWDE FDYWGQGTTLVSS	11
3I21A	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMNWVKQRPGRGLEWIGRI HPSDSETHYNQKFKTKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARYDGYFA YWGQGTLLTVSA	13
8H5A	QVTLKESGPGLQPSQTLSTCSFSGFSLSTFGMGVGVWIRQPSGKLEWL AHIW WDDDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDIADTATYYCARTYDYDEY FDYWGQGTTLVSS	15
15K2A	QVQLQQPGAELVQPGASVKLSCKASGYTFTSYWMNWMKQRPGRGLEWIGRI HPSDSETHYNQKFR TKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCAREDGYW YFDVWGAGTTVTVSS	17
5A24A	EVQLQQSGAELVKPGASVKIPCKASGYKFTDFNMDWVKQSHGKSLEWIGDIN PNSGGTIYNQKFKGKATLTVDKSLSTAYMELGSLTSEDTAVYYCARWDYGNF AYWGQGTLLTVSA	19
15P17A	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMNWVKQRPGRGLEWIGRI HPSDSETHYNQKFKSKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCAREDGYW YFDVWGAGTTVTVSS	21
15N21A	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYAMSWVRQTPEKRLEWVAAIN SNGGRNYYPDTVKDRFTISRDNANTLYLQMSSLRSEDTALYYCARHRGGYY YAMDYWGQGTSVTVSS	23

VH: 重鎖可変領域

【0200】

10

20

30

40

50

【表 2】

表2: 抗DLL3 mAbについての軽鎖可変領域の配列

mAb クローン	VL	配列 番号
13P9A	DIQMNQSPSSLASLGDSTITTCASQNINWLSWYQQKPGNIPKLLIYKASNLH TGVPSRFSGSGSGTGFTLTISLQPEDATYYCQQGQSYPTFGSGTKLEIK	2
5A16A	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGRSPQLLVYNAKT LPYGVPSRFSGSGSGTGQYSLKINSLQPEDFGSYQCQHFWTTPWTFGGGKLEIK	4
14L22A	NIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLL IYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVYYCHQYLSRFTFGGGT	6

10

	KLEIK	
10P18A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPARFSGSGSGTDFLTNIHPVEEDAATYYCQHSRELPYTFGGGKLEIK	8
13P11A	NIVMTQSPKSMMSVGERVTLSCKASENVGTYSWYQQKPEQSPKLLIYGASN RFTGVPDRFTGSGSATDFLTISVQAEDLADYHCGQSYSPFTFGSGTKLEIK	10
3C16A	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPKALIYLASN RHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDADYFCLQHWNYPLTFGAGTKLELK	12
3I21A	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLISGATSL ETGDPFRFSGSGSGKDYTLSTSLQIEDVATYYCQQYWSIPFTFGAGTKLELK	14
8H5A	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHNSNGITYFYWYLQKPGQSPQLLIYQ MSNLA SGVPDRFSSSGSGTDFLTRISRVEAEDVGYYCAQNLELPFTFGSGTKL EIK	16
15K2A	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDIYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPARFSGSGSRTDFLTIDPVEADDAATYYCQQNNEDPWTFGGGKLEIK	18
5A24A	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHNSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQ MSNLA SGVPDRFSSSGSGTDFLTRISRVEAEDVGYYCAQNLELPFTFGAGTKL ELK	20
15P17A	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPARFSGSGSRTDFLTIDPVEADDAATYYCQQNHEDPWTFGGGKLEIK	22
15N21A	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQSLLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLI YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISVKAEDLAVYYCQQYYTYLTFGAGT KLELK	24

20

30

VL: 軽鎖可変領域

【 0 2 0 1 】

40

50

【表 3】

表3: 抗DLL3 mAbについての重鎖のCDR領域1～3

mAb クローン	HC CDR1	配列 番号	HC CDR2	配列 番号	HC CDR3	配列 番号
13P9A	GYTFTSYV	25	INPYNDAT	26	ARGGYDYDGDY	27
5A16A	GYTFTRYI	28	INPYNDGT	29	ARDSSGYGGAYAMDF	30
14L22A	GFTFSSYA	31	INSNGGNT	32	ARHRGGFYAVDY	33
10P18A	GYSFTGY	34	IYPSNGET	35	ARESYAMDY	36
13P11A	GYSITNGNHW	37	ISSSGST	38	ATTGTWGYFDY	39
3C16A	GYTFTSYV	40	VIPYNDGT	41	ARPSNWDEFDY	42
3I21A	GYTFTNYW	43	IHPDSET	44	ARYDGYFAY	45
8H5A	GFSLSTFGMG	46	IWWDDDK	47	ARTYDYDEYFDY	48
15K2A	GYTFTSYW	49	IHPDSET	50	AREDGYYWYFDV	51
5A24A	GYKFTDFN	52	INPNSGGT	53	ARWDYGNFAY	54
15P17A	GYTFTNYW	55	IHPDSET	56	AREDGYYWYFDV	57
15N21A	GFTFSSYA	58	INSNGGRN	59	ARHRGGYYYAMDY	60

HC: 重鎖; CDR:相補性決定領域

抗DLL3 mAbについてのHC CDRをIMGT方法を利用して決定した(Lefranc, M.-P.ら、Nucleic Acids Res. 1999; 27:209～212頁)。

【 0 2 0 2 】

【表 4】

表4: 抗DLL3 mAbについての軽鎖のCDR領域1～3

mAbクローン	LC CDR1	配列番号	LC CDR2	配列番号	LC CDR3	配列番号
13P9A	QNINWV	61	KAS	62	QQGQSYPT	63
5A16A	GNIHNY	64	NAK	65	QHFWTTPWT	66
14L22A	QSVLYSSNQKNY	67	WAS	68	HQYLSSRT	69
10P18A	KSVSTSGYSY	70	LAS	71	QHSRELPYT	72
13P11A	ENVGTY	73	GAS	74	GQSYPT	75
3C16A	QNVRTA	76	LAS	77	LQHWNYPLT	78
3I21A	DHINNW	79	GAT	80	QQYWSIPT	81
8H5A	KSLHNSGITY	82	QMS	83	AQNLELPPT	84
15K2A	ESVDIYGNSF	85	LAS	86	QQNEDPWT	87
5A24A	KSLHNSGITY	88	QMS	89	AQNLELPPT	90
15P17A	ESVDSYGNSF	91	LAS	92	QQNHEDPWT	93
15N21A	QSLYSSNQKNY	94	WAS	95	QQYYTYLT	96

LC: 軽鎖; CDR:相補性決定領域

抗DLL3 mAbについてのLC CDRをIMGT方法を利用して決定した(Lefranc, M.-P.ら、Nucleic Acids Res. 1999; 27:209～212頁)。

【 0 2 0 3 】

10

20

30

40

50

【表 5】

表5: 抗DLL3 mAbについての重鎖のCDR領域1～3

mAb クローン	HC CDR1	配列 番号	HC CDR2	配列 番号	HC CDR3	配列 番号
13P9A	SYVMH	97	YINPYNDATKYNEKFKG	98	GGYDYDGDY	99
5A16A	RYILH	100	YINPYNDGTKYNEKFKG	101	DSSGYGGAYAMDF	102
14L22A	SYAMS	103	AINSNGGNTYYPDTVKD	104	HRGGFYAVDY	105
10P18A	GYID	106	YIYPSNGETSYNQKFKG	107	ESYAMDY	108
13P11A	NGNHWWS	109	YISSSGSTDSNPSLKS	110	TGTWGYFDY	111
3C16A	SYVMH	112	YVIPYNDGTKYNEKFKG	113	PSNWDEFDY	114
3I21A	NYWMN	115	RIHPDSETHYNQKFKT	116	YDGYFAY	117
8H5A	TFGMGVG	118	HIWWDDDKYYNPALKS	119	TYDYDEYFDY	120
15K2A	SYWMN	121	RIHPDSETHYNQKFRT	122	EDGYYWYFDV	123
5A24A	DFNMD	124	DINPNSGGTIYNQKFKG	125	WDYGNFAY	126
15P17A	NYWMN	127	RIHPDSETHYNQFKS	128	EDGYYWYFDV	129
15N21A	SYAMS	130	AINSNNGGRNYYPDTVKD	131	HRGGYYYAMDY	132

HC: 重鎖; CDR: 相補性決定領域

抗DLL3 mAbについてのHC CDRをKabat法(Elvin A. Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest第5版(1991))を利用して決定した。

【 0 2 0 4 】

【表 6】

表6: 抗DLL3 mAbについての軽鎖のCDR領域1～3

mAb クローン	LC CDR1	配列 番号	LC CDR2	配列 番号	LC CDR3	配列 番号
13P9A	HASQNINWLS	133	KASNLHT	134	QQGQSYPT	135
5A16A	RASGNIHNYLA	136	NAKTLPY	137	QHFWTTPWT	138
14L22A	KSSQSVLYSSNQKNYLA	139	WASTRES	140	HQYLSSRT	141
10P18A	RASKSVSTSGYSYMH	142	LASNLES	143	QHSRELPYT	144
13P11A	KASENVGTYS	145	GASNRFT	146	GQSYSYPT	147
3C16A	KASQNVRTAVA	148	LASNRHT	149	LQHWNYPLT	150
3I21A	KASDHINNWL	151	GATSLET	152	QQYWSIPT	153
8H5A	RSSKSLHSHNGITYFY	154	QMSNLAS	155	AQNLELPFT	156
15K2A	RASESVDIYGNSFMH	157	LASNLES	158	QQNNEDPWT	159
5A24A	RSSKSLHSHNGITYLY	160	QMSNLAS	161	AQNLELPLT	162
15P17A	RASESVDYGNSFMH	163	LASNLES	164	QQNHEDPWT	165
15N21A	KSSQSLLYSSNQKNYLA	166	WASTRES	167	QQYYTYLT	168

LC: 軽鎖; CDR: 相補性決定領域

抗DLL3 mAbについてのLC CDRをKabat法(Elvin A. Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest第5版(1991))を利用して決定した。

【 0 2 0 5 】

[実施例2]

トランスフェクトした細胞の培養培地からのキメラmAbの生産及び精製

【 0 2 0 6 】

組換え抗DLL3キメラmAbを得るために、ヒトIgG1重鎖及びカッパ軽鎖の定常領域にそれぞれ融合したマウス可変領域(VH及びVL)を含有する発現ベクターを、293E、ExpiCHO-S、又はExpi293F細胞へと一過性トランスフェクトした。細胞の懸濁液中に産生された

組換え抗体を、プロテインAアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製した。

【0207】

[実施例3]

精製したキメラ抗体のELISA結合アッセイ

【0208】

カーボネートコーティング緩衝液中のFLAG-huDLL3(0.25g/mLで50 μ L/ウェル)を、室温で1時間、ELISAプレート上にコーティングした。洗浄後、ELISAプレートをTBST中5%のBSAによって室温で1時間ブロッキングし、再度洗浄した。抗DLL3 mAbを添加し、混合し、室温で1時間インキュベートした。プレートを洗浄し、固定されたFLAG-huDLL3への抗DLL3抗体の結合を、二次抗体である、TBST中5%のBSA中でセイヨウワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートした抗ヒトIgG(hIgG-HRP)(ThermoFisher Scientific、カタログ番号H10007)を添加し、1時間インキュベートし、次いで、プレートを洗浄した。One-step Detection Solution(ThermoFisher Scientific、カタログ番号34029)を使用してELISAを発色させ、450nmでの吸光度として測定した。DLL3と交差反応しないアイソタイプ対照IgG1 mAbを陰性対照として使用して、アッセイの特異性を確認した。キメラ抗DLL3 mAbの結合についての結果を図1A~1Cに提供する。

10

【0209】

[実施例4]

キメラ抗DLL3 mAbのFACS分析

【0210】

ヒトDLL3を安定して発現するHEK293細胞株(HEK-huDLL3)をFACSアッセイにおいて使用した。細胞(96ウェルプレートにおいて1ウェル当たり100,000個の細胞)を様々な濃度(例えば、666.67nM、333.33nM、又は66.67nM)の精製したmAbの溶液又は0.05%のアジ化ナトリウム及び0.1%のBSAを含有するハンス平衡塩類溶液(HBSS)中のアイソタイプ対照のいずれかと共にインキュベートした。Alexa Fluor 488がコンジュゲートしたIgG二次抗体(ThermoFisher、カタログ番号H10120)を使用して、HEK293-huDLL3細胞上のmAbの存在をFACSによって測定した(Attune NxT;ThermoFisher、Carlsbad、CA)。FACS結合アッセイの結果を図2A~2Cに提供する。

20

【0211】

[実施例5]

抗DLL3 mAbのヒト化

【0212】

マウス抗DLL3 mAb 13P9Aをヒト化して、ヒト患者に使用した場合の免疫原性の可能性を低減させた。重鎖及び軽鎖(VH及びVL)の可変領域の配列をProtein Data Bank (PDB)データベースのヒト抗体配列と比較し、相同性モデルを構築した。マウスmAbの重鎖と軽鎖の両方のCDRを、抗原結合に必要と思われる適正な構造を維持する可能性が最も高いヒトフレームワークへと移植した。必要な場合には、ヒト残基からマウス残基への逆突然変異又は他の突然変異を設計した。ヒト化VH及びVL領域の配列を表7及び8に示す。ヒト化VH領域とVL領域をそれぞれ、ヒトIgG4の重鎖及びカップ軽鎖の定常領域に融合させた。一過的にトランスフェクトした293E細胞から抗体を精製し、ELISAを使用して、プレート上の組換えヒトFLAG-huDLL3に結合するそれらの能力について分析した。ヒト化mAbによるDLL3への結合に関するEC₅₀値を表9に提供する。

30

【0213】

40

50

【表 7】

表7: 抗DLL3 mAb 13P9Aのヒト化重鎖可変領域の配列

設計	VH	配列番号
H1	EVRLSQSGGQMKKPGESMRLSCRASGYTFTSYVMHWVRQAPGRRPEWIG YINPYNDATKYARKFQGRATLTSDKYSDTAFLELRSLTSDDTAVYYCARG GYDYDGDYWGRGAPVTVSS	170

10

【 0 2 1 4 】

【表 8】

表8: 抗DLL3 mAb 13P9Aのヒト化軽鎖可変領域の配列

設計	VL	配列番号
L1	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCHASQNINVWLSWYQQKPGQAPRLLIYKA SNLHTGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQGQSYPTFTGQGTK VEIK	171
L2	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCHASQNINVWLSWYQQKPGQAPRLLIYKA SNLHTGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQGQSYPTFTGQGTK VEIK	172
L3	EIVMTQSPATLSLSPGETAIISCHASQNINVWLSWYQQRPGQAPRLLIYKAS NLHTGIPDRFSGSGWGTDNLSISNLESGDFGVYYCQQGQSYPTFTGQGTK VEIK	173
L4	EIVMTQSPATLSLSPGETAIISCHASQNINVWLSWYQQRPGQAPRLLIYKAS NLHTGIPDRFSGSGWGTDNLSISNLESGDFGVYYCQQGQSYPTFTGQGT KVEIK	174

20

【 0 2 1 5 】

【表 9】

表9: ELISAアッセイにおけるヒト化抗DLL3 mAbによるDLL3への結合に関するEC50値

mAb ID	EC50 (nM)
H1L1	0.13
H1L2	0.12
H1L3	0.15

H1L1は、H1重鎖可変領域及びL1軽鎖可変領域を有するmAbを指し、表中の他のヒト化mAbはすべて、同じ命名規則を採用する。

30

【 0 2 1 6 】

ヒト化抗DLL3 mAb H1L2を、細胞表面のDLL3に結合するその能力についてフローサイトメトリーによって分析した。SHP-77細胞は、DLL3を発現することが報告されており(Barretinaら、Nature 483(7391):603~7頁(2012))、したがって、アッセイにおいて使用された。SHP-77(ATCC番号CRL-2195)細胞(96ウェルプレートにおいて1ウェル当たり14,000個の細胞)を様々な濃度の精製したmAbの溶液又は0.05%のアジ化ナトリウム及び0.1%のBSAを含有するハンス平衡塩類溶液(HBSS)中のアイソタイプ対照のいずれかと共にインキュベートした。PE-Cy7がコンジュゲートし抗ヒトIgG二次抗体を使用して、SHP-77細胞上のmAbの存在をFACSによって測定した(Attune NxT;ThermoFisher、Carlsbad、CA)。FACS結合アッセイの結果を図3に提供する。

40

【 0 2 1 7 】

50

[実施例6]

抗CD47 mAbのヒト化重鎖可変領域及び抗DLL3 mAbのヒト化軽鎖可変領域を使用する抗CD47 mAbのアセンブリー

【0218】

表8における抗DLL3 mAbのヒト化軽鎖可変(VL)領域が、抗CD47 mAb 17C6A(国際特許出願第PCT/US18/44384号に記載されている)の重鎖可変(VH)領域とmAbを形成することができるかどうかを評価するために、表10において提供した17C6AのVH領域のヒト化配列を抗体発現のために使用した。表8における抗DLL3 mAbのヒト化VL領域及び表10における17C6Aのヒト化VH領域はそれぞれ、ヒトカッパ軽鎖及びIgG4重鎖の定常領域に融合し、mAbは、293E細胞又はExpiCHO-S細胞において発現した。293E細胞又はExpiCHO-Sの培養物の懸濁液中で産生された組換え抗体を、プロテインAアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製した。

【0219】

精製したmAbを以下のようなELISAアッセイにおいて、CD47の細胞外ドメイン(CD47(ECD))に結合するそれらの能力について分析した:カーボネートコーティング緩衝液中のヒトCD47(ECD)(AcroBio、カタログ番号CD7-HA2E9-50 µg)(1 µg/mLで50 µL/ウェル)を、室温で1時間、ELISAプレート上にコーティングした。洗浄後、プレートをTBST中5%のBSAによって室温で1時間ブロッキングし、再度洗浄した。プレートの各ウェルにおいて、様々な濃度の50 µL/ウェルの抗体を添加し、室温で1時間インキュベートした。プレートを洗浄し、固定されたCD47への抗体の結合を、セイヨウワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートした抗ヒトIgG(hIgG-HRP)(ThermoFisher Scientific、カタログ番号H10007)と共に室温で60分間インキュベートすることによって検出した。次いで、洗浄後、One-step Detection Solution(ThermoFisher Scientific、カタログ番号34028)を使用してELISAを発色させ、450nmでの吸光度として測定した。結合のEC₅₀値を表11に示す。これらのデータは、ヒト化抗DLL3軽鎖が17C6Aのヒト化重鎖と対合して、CD47に対する強い親和性を有するmAbを形成することができることを示す。

【0220】

【表10】

表10: 抗CD47 mAbのヒト化重鎖可変領域の配列

設計	VH	配列番号
KH1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIDPSDSETHYAQKFQGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAGTDLAYWGQGTLTVSS	175
KH2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIDPSDSETHYAQKFQGRVTLTVDKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAGTDLAYWGQGTLTVSS	176
KH3	EVRLSQSGGQMKKPGESMRLSCRASGYTFTSYWMHWVRQAPGRRLEWIGNIDPSDSETHYARKFQGRATLTVDKYSDTAFLELRSLTSDDTAVYYCAGTDLAYWGRGAPVTVSS	177

【0221】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表11: ELISAアッセイにおけるヒト化抗CD47 mAbによるCD47への結合に関するEC₅₀値

mAb ID	EC50 (nM)
KH1L1	1.17
KH1L2	0.64
KH1L3	0.76
KH2L1	0.19
KH2L2	0.18
KH2L3	0.09
KH3L1	0.09
KH3L2	0.08
KH3L3	0.18
KH3L4	0.08

KH1L1は、KH1重鎖可変領域及びL1軽鎖可変領域を有するmAbを指し;表中の他のヒト化mAbはすべて、同じ命名規則を採用する。

【0 2 2 2】

[実施例7]

共通軽鎖を有する二重特異性抗体の発現及び精製

【0 2 2 3】

上述したように、DLL3は、小細胞肺がん(SCLC)及び大細胞神経内分泌癌(LCNEC)の腫瘍細胞表面において検出可能である(Saundersら、Sci Transl Med 7(302):302ra136頁(2015)及びSharmaら、Cancer Res 77(14):3931~41頁(2017))。さらに、「don't eat me」シグナルを媒介するCD47は、SCLCなどの多くの腫瘍において過剰発現される(Weiskopfら、J Clin Invest 126(7):2610~2620頁(2016))。CD47に対して結合する一方のアーム及びDLL3に対して結合する他方のアームを有する二重特異性抗体(抗CD47/DLL3二重特異性抗体と称される)を使用して、両方の抗原を発現する細胞を選択的に標的とすることができる。二重特異性抗体は、同じ細胞上の両抗原に結合する結果、アビディティによって、いずれのアームと比較しても親和性の増加がもたらされ得る。二重特異性抗体は、CD47のみを発現する(DLL3は発現しない)細胞に対しては、アビディティの欠如によって、より弱い活性を有することが期待される。このことは、二重特異性抗体による、一定レベルのCD47を発現する正常な細胞の標的化回避の助けとなり、その安全性及び/又は忍容性を増加させる。抗CD47/DLL3二重特異性抗体は、CD47とDLL3の両方を発現する細胞におけるCD47/SIRPαの相互作用を選択的にブロックし、細胞、例えば、がん細胞に対する生得的免疫系を活性化することができる。よって、抗CD47/DLL3二重特異性抗体は、SCLC、LCNEC及び細胞表面にCD47とDLL3の両方をかなりのレベルで発現する他の腫瘍に対する有効な治療となり得る。

【0 2 2 4】

CD47及びDLL3に対する二重特異性抗体は、表7のヒト化重鎖可変領域H1、表10のヒト化重鎖可変領域KH2、及び表8のヒト化軽鎖可変領域L2に関して構築した。二重特異性mAb KH2/H1/L2に関するCDR領域を表12及び表13に提供する。二重特異性抗体のVH領域及びVL領域をそれぞれ、IgG1重鎖の定常領域及びカッパ軽鎖の定常領域に融合させた。KH2を含有するHCはT366W変異を有し、「knob」を形成し、H1を含有するHCは変異T366S、L368A、及びY407Vを有し、「hole」を形成し、その結果、2つの重鎖は、ホモ二量体HC(KH2/KH2又はH1/H1)よりもヘテロ二量体HC(KH2/H1)を有する二重特異性抗体を形成するのが有利であった。BA1と称される得られた二重特異性抗体(KH2/H1/L2)は、抗CD47 HC(KH2)にS354Cシステイン変異及び抗DLL3 HC(H1)にY349Cシステイン変異を導入することによってさらに改変され、重鎖KH2及びH1のヘテロ二量体の対合を安定化させた(Merchantら Nat. Biotechnol. 16(7):677~81頁(1998))。得られた二重特異性抗体をBA1(C)と称した。BA1の可変領域をBA1(C)におけるのと同じシ

ステイン変異を有するIgG4フレームワークにも融合させ、BA4(C)と称される二重特異性抗体を産生した。同一細胞内で2つの重鎖及び軽鎖を同時に発現させることにより、抗CD47アーム及び抗DLL3アームを含有する所望の二重特異性抗体の発現及びアセンブリーをもたらした。異なる比率の重鎖DNAを使用して発現を最適化した。二重特異性抗体は、ExpiCHO-S細胞の懸濁液中で生産し、プロテインAアフィニティークロマトグラフィー及びイオン交換クロマトグラフィーを使用して精製した。

【0225】

【表12】

表12: 二重特異性抗体についての重鎖及び共通軽鎖のCDR領域1~3

	CDR1 (配列番号)	CDR2 (配列番号)	CDR3 (配列番号)
KH2	GYTFTSYW (178)	IDPSDSET (179)	AGTDLAY (180)
H1	GYTFTSYV (181)	INPYNDAT (182)	ARGGYDYDGDY (183)
L2	QNIN VW (184)	KAS (185)	QQGQSY PFT (186)

CDRをIMGT法を利用して決定した。

【0226】

【表13】

表13: 二重特異性抗体についての重鎖及び共通軽鎖のCDR領域1~3

	CDR1 (配列番号)	CDR2 (配列番号)	CDR3 (配列番号)
KH2	SYWMH (187)	NIDPSDSETHYAQKFQG (188)	TDLAY (189)
H1	SYVMH (190)	YINPYNDATKYARKFQG (191)	GGYDYDGDY (192)
L2	HASQNIN VWLS (193)	KASNLHT (194)	QQGQSY PFT (195)

HC及びLCのCDRをKabat法を利用して決定した。

【0227】

[実施例8]

二重特異性抗体の特徴付け

【0228】

精製した二重特異性抗体を架橋ELISAアッセイ(bridging ELISA assay)において分析して、二重特異性抗体が同時に両抗原に結合することができることを実証した。カーボネートコーティング緩衝液中のヒトFLAG-huDLL3(0.25 µg/mLで50 µL/ウェル)を、室温で1時間、96ウェルELISAプレート上にコーティングした。プレートをTBST中5%のBSAによって室温で1時間ブロッキングした。このプレートの各ウェルにおいて、二重特異性mAb(様々な濃度で50 µL/ウェル)を添加し、室温で1時間インキュベートした。洗浄後、ビオチン化ヒトCD47細胞外ドメイン(ECD)(AcroBio、カタログ番号CD7-H82E9)を各ウェルに添加し(0.05 µg/mLで50 µL/ウェル)、室温で60分間インキュベートした。プレートを洗浄し、固定された二重特異性抗体へのビオチン化CD47の結合を、セイヨウワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートしたストレプトアビジン(JIR、カタログ番号016-030-084)を添加し、室温で60分間インキュベートすることによって検出した。次いで、洗浄後、One-step Detection Solution(ThermoFisher Scientific、カタログ番号34028)を使用してELISAを発色させ、450nmでの吸光度として測定した。二重特異性抗体BA1及びBA1(C)に関する架橋ELISAアッセイの結果を図4Aに提供し;BA4(C)に関する架橋ELISAアッセイの結果を図4Bに提供する。

【0229】

ELISAアッセイにおいて通常の又はニッケルコーティングしたプレートに固定したCD47(ECD)又はDLL3(ECD)-6His(R&D、カタログ番号9749-DL-050)に結合するそれらの

能力について、二重特異性抗体を分析した。二重特異性抗体BA1、BA1(C)、及びBA4CのCD47結合アッセイの結果を図5に提供する(CD47(ECD)は通常のプレート上にコーティングした)。IgG4フレームワーク上の抗CD47親mAb KH2L2(この図において抗CD47親mAbとして標識した)を対照として使用した。二重特異性抗体BA1及びBA1(C)に関するDLL3結合アッセイの結果を図6Aに提供し(DLL3(ECD)-6Hisは通常のプレート上にコーティングした);BA4(C)に関するDLL3結合アッセイの結果を図6Bに提供する(DLL3(ECD)-6Hisはニッケルコーティングしたプレート上に固定した)。IgG4フレームワーク上の抗DLL3親mAb H1L2(この図において抗DLL3親mAbとして標識した)を対照として使用した。図5における結果は、1つの抗CD47アームを有する二重特異性抗体は、CD47に結合することが可能であるが、2つの抗CD47アームを有する親mAb KH2L2よりも親和性が低いことを示した(図5)。同様に、図6A及び6Bにおける結果は、1つの抗DLL3アームを有する二重特異性抗体は、2つの抗DLL3アームを有する親抗DLL3 mAb H1L2と比較した場合に、DLL3に対する結合がより弱いことを実証した。

【0230】

同じプレート上に同時に固定した場合(両抗原に関して20nMで50 μ L/ウェル)、CD47(ECD)とDLL3(ECD)-6Hisの両方に結合するそれらの能力について、二重特異性抗体を分析した。二重特異性抗体BA1、BA1(C)及びBA4(C)に関するCD47/DLL3結合アッセイの結果を図7に提供する。

【0231】

ELISAアッセイにおいて、CD47/SIRP α 相互作用をブロックするそれらの能力についても、二重特異性抗体を分析した。カーボネートコーティング緩衝液中1 μ g/mLのヒトCD47(ECD)(AcroBio、カタログ番号CD7-HA2E9-50ug)を、4 $^{\circ}$ Cで終夜、96ウェルプレート上に(50 μ L/ウェル)コーティングした。プレートをTBST中5%のBSAによって室温で1時間ブロックした。様々な濃度の二重特異性及び親mAbをこのプレートに添加し、室温で30分間インキュベートした。マウスFc(AcroBio、カタログ番号SIA-H52A8-100ug)に融合したSIRP α 細胞外ドメイン(ECD)を各ウェル(1 μ g/mLで50 μ L/ウェル)に添加し、室温で1時間インキュベートした。プレートを洗浄し、固定したCD47へのSIRP α の結合を、室温で1時間インキュベートしたセイヨウワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートした抗マウスIgG(mIgG-HRP)(ThermoFisher Scientific、カタログ番号A16084)によって検出した。次いで、洗浄後、One-step Detection Solution(ThermoFisher Scientific、カタログ番号34028)を使用してELISAを発色させ、450nmでの吸光度として測定した。ELISAに関するCD47結合アッセイからのデータと一致して、二重特異性Abは、これに関連して、CD47/SIRP α 相互作用をブロックする能力が低減していた(図8A)。CD47(ECD)とDLL3(ECD)-6Hisの両方を、2:1のCD47:DLL3比(40nMのCD47及び20nMのDLL3で50 μ L/ウェル)で同じプレート上に、室温で1時間同時に固定し、プレートをDPBS中5%のBSAによってブロックした場合にも、このアッセイを行った。このような条件下で、二重特異性Abは、抗CD47親mAbと比較した場合に、CD47/SIRP α 相互作用をブロックする、類似した能力を有し(図8B)、二重特異性Abのそれぞれの抗DLL3アームによるプレート上に固定したDLL3への結合が、CD47/SIRP α 相互作用の遮断に寄与することを示唆した。

【0232】

検出可能なDLL3の発現を有さないRaji細胞に結合するそれらの能力について、二重特異性抗体を分析した。Raji細胞(96ウェルプレートにおいて1ウェル当たり14,000個の細胞)を様々な濃度の精製したmAbの溶液又は0.05%のアジ化ナトリウム及び0.1%のBSAを含有するハンクス平衡塩類溶液(HBSS)中のアイソタイプ対照のいずれかと共に、室温で30分間インキュベートした。インキュベーション後、このプレートを同じ緩衝液で3回洗浄した。PE-Cy7がコンジュゲートした抗ヒトIgG二次抗体を使用して、Raji細胞上のmAbの存在をFACSによって測定した(Attune NxT;ThermoFisher、Carlsbad、CA)。FACS結合分析の結果を図9に提供する。

【0233】

10

20

30

40

50

SHP-77への二重特異性mAb BA1(C)及び2つの親対照mAbの結合を競合するF(ab')₂: 抗DLL3親F(ab')₂(このアッセイにおける最終濃度は25 μMであった)及び抗CD47親F(ab')₂(このアッセイにおける最終濃度は10 μMであった)のうちの1つの存在下又は非存在下で試験した。F(ab')₂は、使用説明書に従って、固定したペプシン(Thermo Fisher Scientific、カタログ番号20343)を使用してmAbから生成し、精製した。結合分析の結果を図10に提供する。両方のF(ab')₂によるSHP-77へのBA1(C)の結合の阻害によって、二重特異性抗体の抗CD47アームと抗DLL3アームの両方がSHP-77細胞への結合に寄与することが示される。

【0234】

ヒト及びカニクイザルの赤血球(RBC)に結合するそれらの能力について二重特異性抗体を試験した。14,000個のRBCを希釈したmAbを含有する20 μLのFACS緩衝液(0.1%のBSA及び0.05%のアジ化ナトリウムを含む1X HBSS(Thermo Fisher Scientific、カタログ番号14175079))中に再懸濁させ、室温で30分間インキュベートした。インキュベーション後、このプレートをFACS緩衝液で3回洗浄し、細胞をPE-Cy7がコンジュゲートした抗ヒトIgG-Fc二次抗体(BioLegend、カタログ番号409316)と共に再懸濁させ、室温で15分間、暗所でインキュベートした。プレートをFACS緩衝液で2回洗浄した。細胞を再懸濁させ、Attune NxT Flow Cytometerを用いる分析のために、384ウェルプレートに移した。図11A~11Cは、以下のmAb濃度:1,600nM(図11A)、533nM(図11B)、及び178nM(図11C)のヒト赤血球(RBC)への二重特異性抗体の結合を示す。抗CD47及び抗DLL3親抗体並びにIgG1及びIgG4アイソタイプを対照として使用した。

【0235】

上記の実施形態に対し、その広義の発明概念から逸脱することなく、変更がなされ得ることは当業者であれば認識するであろう。したがって、この発明は、開示された特定の実施形態に限定されず、本明細書によって定義した本発明の趣旨及び範囲内の改変を包含することを意図するものとして理解される。

以下、本発明の実施形態を示す。

[1] a.それぞれ、配列番号25、26、27、61、62及び63;

b.それぞれ、配列番号28、29、30、64、65及び66;

c.それぞれ、配列番号31、32、33、67、68及び69;

d.それぞれ、配列番号34、35、36、70、71及び72;

e.それぞれ、配列番号37、38、39、73、74及び75;

f.それぞれ、配列番号40、41、42、76、77及び78;

g.それぞれ、配列番号43、44、45、79、80及び81;

h.それぞれ、配列番号46、47、48、82、83及び84;

i.それぞれ、配列番号49、50、51、85、86及び87;

j.それぞれ、配列番号52、53、54、88、89及び90;

k.それぞれ、配列番号55、56、57、91、92及び93;又は

l.それぞれ、配列番号58、59、60、94、95及び96;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[2] a.それぞれ、配列番号97、98、99、133、134及び135;

b.それぞれ、配列番号100、101、102、136、137及び138;

c.それぞれ、配列番号103、104、105、139、140及び141;

d.それぞれ、配列番号106、107、108、142、143及び144;

e.それぞれ、配列番号109、110、111、145、146及び147;

f.それぞれ、配列番号112、113、114、148、149及び150;

g.それぞれ、配列番号115、116、117、151、152及び153;

h.それぞれ、配列番号118、119、120、154、155及び156;

i.それぞれ、配列番号121、122、123、157、158及び159;

j.それぞれ、配列番号124、125、126、160、161及び162;

k.それぞれ、配列番号127、128、129、163、164及び165;又は

l.それぞれ、配列番号130、131、132、166、167及び168;

のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含み、DLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する、単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[3] 配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21若しくは23と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22若しくは24と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、[1]又は[2]に記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又は抗原結合断片。

[4] a.配列番号1のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号2のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

b.配列番号3のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号4のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

c.配列番号5のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号6のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

d.配列番号7のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号8のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

e.配列番号9のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号10のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

f.配列番号11のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号12のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

g.配列番号13のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号14のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

h.配列番号15のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号16のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

i.配列番号17のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号18のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

j.配列番号19のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号20のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

k.配列番号21のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号22のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

l.配列番号23のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号24のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、[1]～[3]のいずれかーに記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又は抗原結合断片。

[5] キメラである、[1]～[4]のいずれかーに記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又は抗原結合断片。

[6] ヒトの又はヒト化されたものである、[1]～[4]のいずれかーに記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[7] (a)配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(b)配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

(c)配列番号170のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、[6]に記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[8] エフェクターに媒介される腫瘍細胞の溶解を誘導し、コンジュゲートした薬物の動員を媒介することが可能であり、並びに/又はがんを殺滅する作用を有する別のモノクロー

10

20

30

40

50

ナル抗体若しくは抗原結合断片と共に二重特異性抗体を形成する、[1]～[7]のいずれかに記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[9] 抗CD47モノクローナル抗体のヒト化重鎖可変領域及び抗DLL3モノクローナル抗体のヒト化軽鎖可変領域を含み、

(a) 配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(b) 配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(c) 配列番号175のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(d) 配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(e) 配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(f) 配列番号176のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(g) 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号171のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(h) 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;

(i) 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号173のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域;又は

(j) 配列番号177のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号174のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域

を含む、単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[10] SIRP α へのCD47の結合をブロックすることが可能である、[9]に記載の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[11] がん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である、[9]に記載の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

[12] CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号178、179及び180のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号181、182及び183のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号184、185及び186のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片。

[13] CD47、好ましくはヒトCD47に特異的に結合する第1の抗原結合ドメイン、及びDLL3、好ましくはヒトDLL3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインを含む単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片であって、第1の抗原結合ドメインが、配列番号187、188及び189のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号190、191及び192のポリペプチド配列を有する重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3を含み;並びに第1の抗原結合ドメイン及び第2の抗原結合ドメインがそれぞれ、配列番号193、194及び195のポリペプチド配列を有する軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2、及びLCDR3を含む、単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片。

[14] 第1の抗原結合ドメインが、配列番号176と少なくとも95%同一であるポリペプ

10

20

30

40

50

チド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含み;第2の抗原結合ドメインが、配列番号170と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号172と少なくとも95%同一であるポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、[12]又は[13]に記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片。

[15] CD47とDLL3の両方を発現するがん細胞上のSIRP α へのCD47の結合をブロッキングすることが可能である、[12]～[14]のいずれかに記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片。

[16] DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導することが可能である、[12]～[14]のいずれかに記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片。

[17] ヒト赤血球への最小限～検出不可能の結合を伴って、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞に結合することが可能である、[12]～[14]のいずれかに記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片。

[18] [1]～[17]のいずれかに記載の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片をコードする単離された核酸。

[19] [18]に記載の単離された核酸を含むベクター。

[20] [19]に記載のベクターを含む宿主細胞。

[21] [1]～[17]のいずれかに記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、単離された抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

[22] それを必要とする対象におけるがん細胞表面のDLL3を標的とする方法であって、[1]～[8]のいずれかに記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

[23] それを必要とする対象におけるシグナル調節タンパク質アルファ(SIRP α)へのCD47の結合をブロッキングする方法であって、[9]～[11]のいずれかに記載の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

[24] それを必要とする対象におけるがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、[9]～[11]のいずれかに記載の単離された抗CD47モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

[25] それを必要とする対象におけるがん細胞表面のDLL3及びCD47を標的とする方法であって、[12]～[17]のいずれかに記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

[26] それを必要とする対象において、細胞表面にCD47とDLL3の両方を発現するがん細胞のSIRP α へのCD47の結合をブロッキングする方法であって、[12]～[17]のいずれかに記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

[27] それを必要とする対象において、細胞表面にCD47とDLL3の両方を発現するがん細胞のマクロファージに媒介されるファゴサイトーシスを誘導する方法であって、[12]～[17]のいずれかに記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

[28] それを必要とする対象におけるヒト赤血球への最小限～検出不可能の結合を伴って、DLL3とCD47の両方を発現するがん細胞に結合する方法であって、[12]～[17]のいずれかに記載の単離されたヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物をそれを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

10

20

30

40

50

〔29〕それを必要とする対象におけるがんを処置する方法であって、〔21〕に記載の医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法。

〔30〕がんが、肺がん、例えば、小細胞肺がん(SCLC)、大細胞神経内分泌癌(LCNEC)、胃がん、結腸がん、肝細胞癌、腎細胞癌、膀胱尿路上皮癌、転移性黒色腫、乳がん、卵巣がん、子宮頸がん、頭頸部がん、膵臓がん、神経膠腫、神経膠芽腫、及び他の固形腫瘍、並びに非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性リンパ性白血病(ALL)、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、多発性骨髄腫(MM)、急性骨髄性白血病(AML)、及び他の液状腫瘍からなる群から選択される、〔29〕に記載の方法。

〔31〕〔1〕～〔17〕のいずれかに記載の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を生産する方法であって、前記抗体又はその抗原結合断片を生産する条件下で、前記抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む細胞を培養するステップ、及び細胞又は培養物から抗体又はその抗原結合断片を回収するステップを含む方法。

〔32〕〔1〕～〔17〕のいずれかに記載の抗DLL3モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、抗CD47モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又はヒト化抗CD47/DLL3二重特異性抗体若しくはその抗原結合断片を含む医薬組成物を生産する方法であって、前記抗体又はその抗原結合断片を薬学的に許容される担体と配合して、医薬組成物を得るステップを含む方法。

〔33〕対象におけるDLL3のレベルを決定する方法であって、

a.対象から試料を得るステップ;

b.試料を〔1〕～〔8〕のいずれかに記載の単離された抗DLL3モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と接触させるステップ;及び

c.対象におけるDLL3のレベルを決定するステップを含む方法。

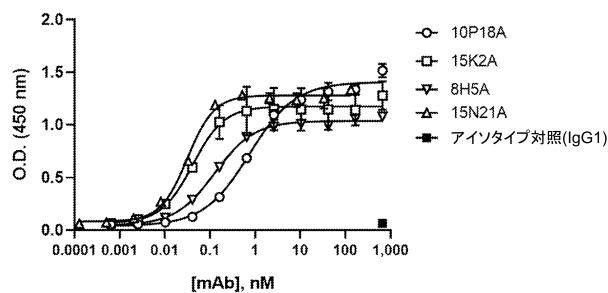
〔34〕試料が、組織試料である、〔33〕に記載の方法。

〔35〕組織試料が、がん組織試料である、〔34〕に記載の方法。

〔36〕試料が、血液試料である、〔33〕に記載の方法。

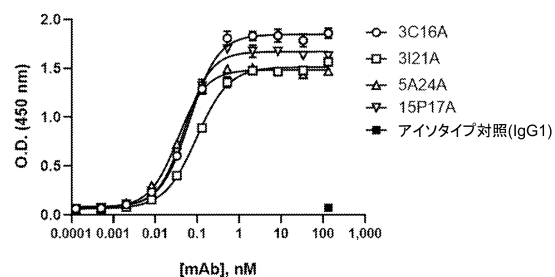
【図面】

【図1A-1B】

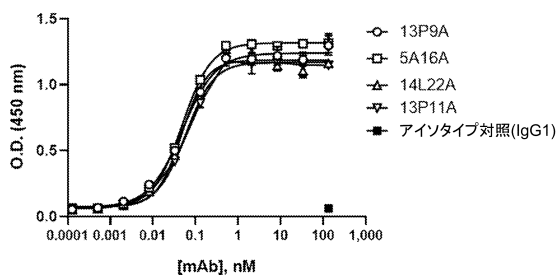


1A

【図1C】



1C



1B

10

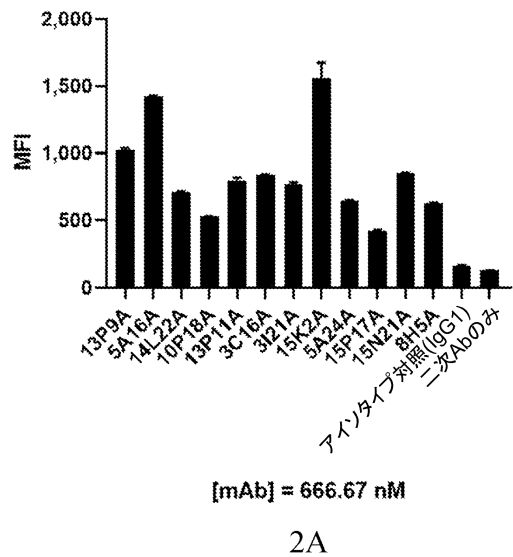
20

30

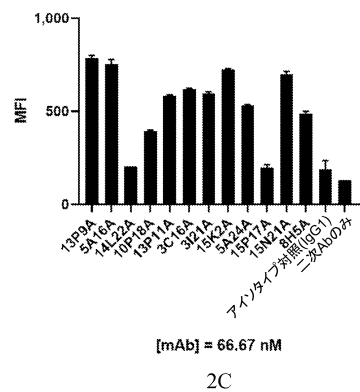
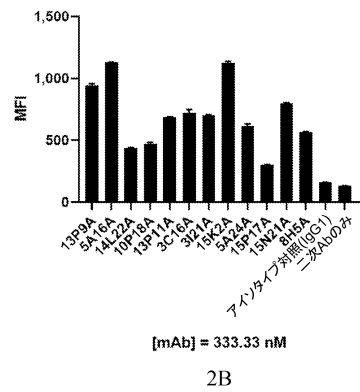
40

50

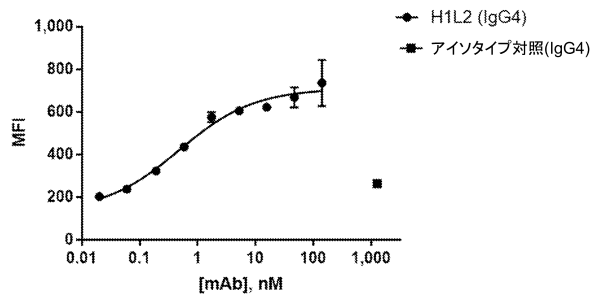
【図 2 A】



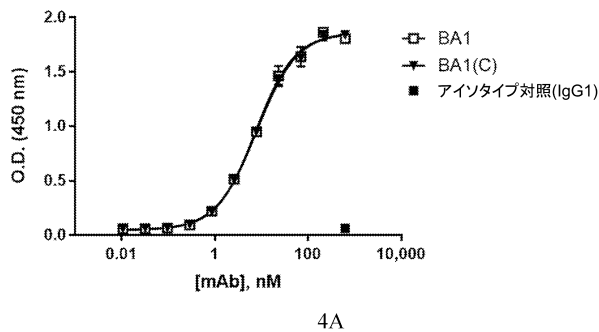
【図 2 B - 2 C】



【図 3】



【図 4 A】



10

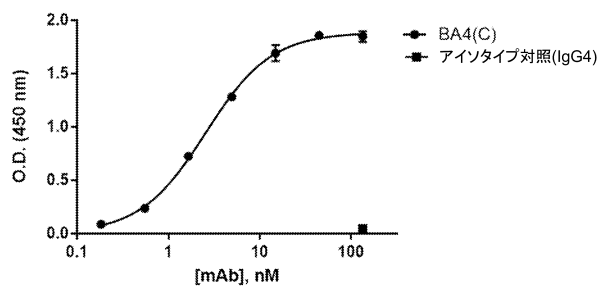
20

30

40

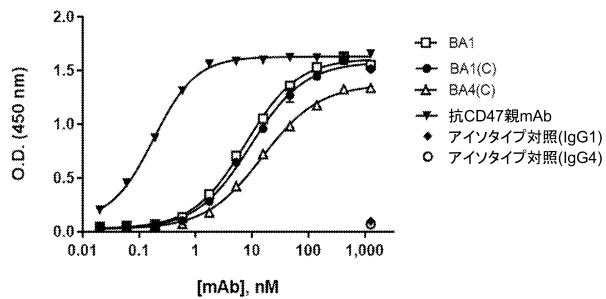
50

【図 4 B】



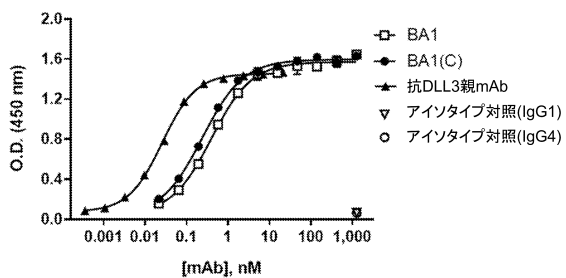
4B

【図 5】



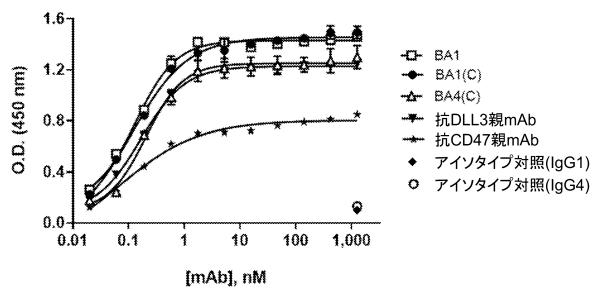
10

【図 6 A - 6 B】

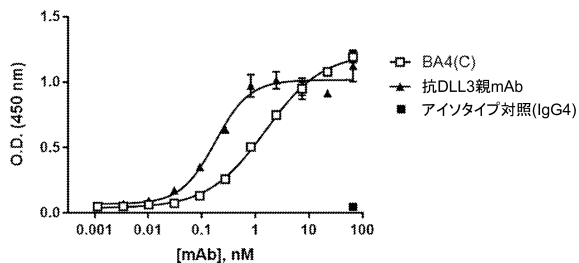


6A

【図 7】



20



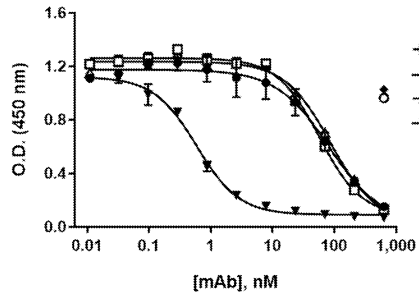
6B

30

40

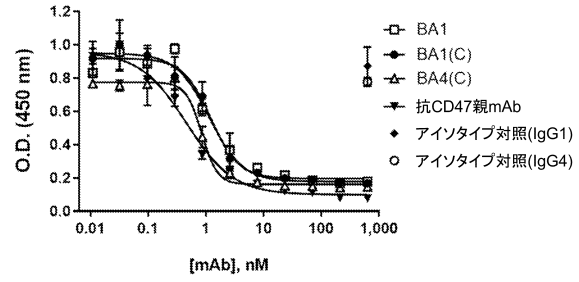
50

【図 8 A】



8A

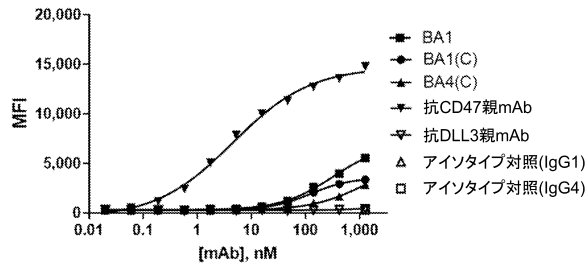
【図 8 B】



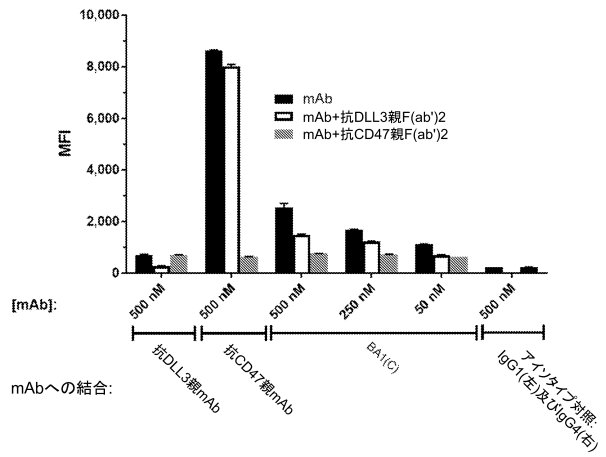
8B

10

【図 9】



【図 10】



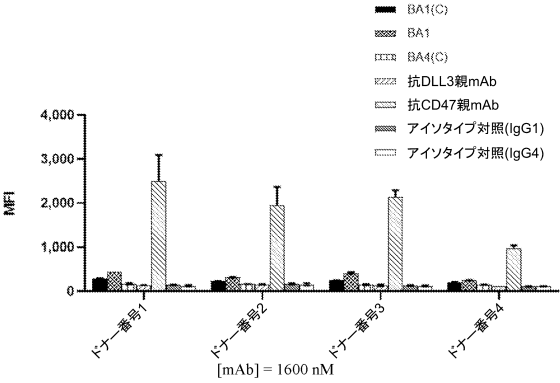
20

30

40

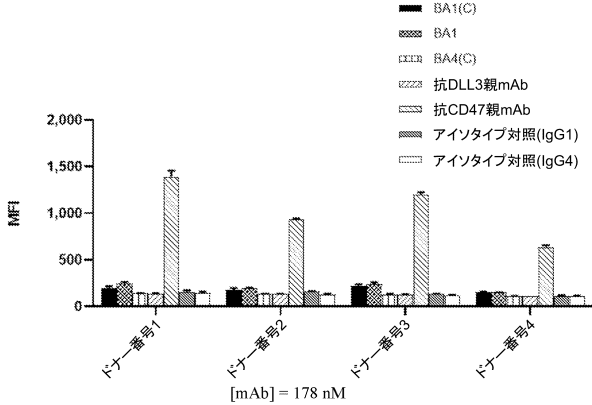
50

【図 1 1 A - 1 1 B】

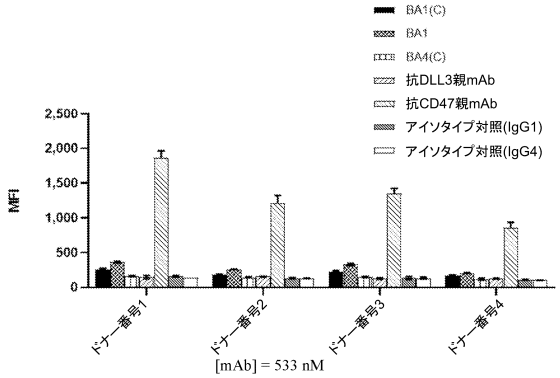


11A

【図 1 1 C】



11C



11B

【配列表】

0007455388000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類			F I		
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
G 0 1 N	33/531	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	D
			G 0 1 N	33/531	A

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/787,815

(32)優先日 平成31年1月3日(2019.1.3)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査
4 3

(72)発明者 ジア, ハイチュン
アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォルニア州, サンディエゴ, カミノ ジョナタ 8 0 2 8

審査官 山内 達人

(56)参考文献 特表2016-510002 (JP, A)
特表2015-509947 (JP, A)
特表2018-506981 (JP, A)
国際公開第2018/057669 (WO, A1)
国際公開第2017/021349 (WO, A1)
国際公開第2017/147368 (WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C 1 2 N
C 0 7 K
C a p l u s / R E G I S T R Y (S T N)