

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-537772

(P2024-537772A)

(43)公表日 令和6年10月16日(2024.10.16)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 C 0 7 6
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	4 C 0 8 4
C 0 7 K 14/52 (2006.01)	C 0 7 K 14/52	4 C 0 8 5
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全88頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2024-519268(P2024-519268)	(71)出願人	519288755
(86)(22)出願日	令和4年9月27日(2022.9.27)		ドラゴンフライ セラピューティクス,
(85)翻訳文提出日	令和6年5月17日(2024.5.17)		インコーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2022/077068		アメリカ合衆国02451マサチューセ
(87)国際公開番号	WO2023/056243		ッツ州ウォルサム、サード・アベニュー
(87)国際公開日	令和5年4月6日(2023.4.6)		180、シックス・フロア
(31)優先権主張番号	63/250,092	(74)代理人	100145403
(32)優先日	令和3年9月29日(2021.9.29)		弁理士 山尾 憲人
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100122301
			弁理士 富田 憲史
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100170520
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		弁理士 笹倉 真奈美
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(74)代理人	100221545
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		弁理士 白江 雄介
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,	(72)発明者	フィッシャー, ベンジャミン
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 B A F F - Rを標的化する抗体及びその使用

(57)【要約】

細胞上のB A F F - Rを標的とする抗原結合部位を形成するように対合され得る抗体重鎖及び軽鎖可変ドメインを有するタンパク質、このようなタンパク質を含む医薬組成物、並びに癌又は自己免疫疾患の治療などのために、このようなタンパク質及び医薬組成物を使用する治療方法が、開示される。

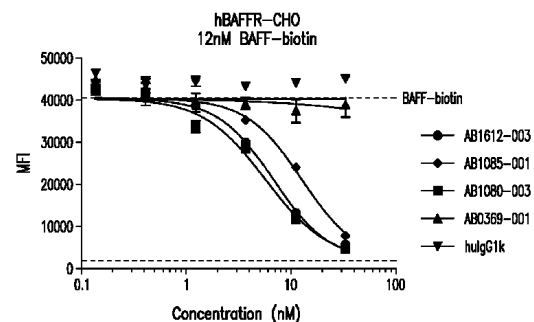


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

B A F F - R に結合する抗原結合部位であって、

配列番号 50 のアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (C D R 1) 配列、配列番号 51 のアミノ酸配列を含む相補性決定領域 2 (C D R 2) 配列、及び配列番号 52 のアミノ酸配列を含む相補性決定領域 3 (C D R 3) 配列を含む重鎖可変ドメイン (V H) ; 並びに配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R 1 配列、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R 2 配列、及び配列番号 49 のアミノ酸配列を含む C D R 3 配列を含む軽鎖可変ドメイン (V L)

を含む、抗原結合部位。

10

【請求項 2】

B A F F - R に結合する抗原結合部位であって、

(a) V H は、それぞれ配列番号 46、47、及び 48 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 49 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む；

(b) V H は、それぞれ配列番号 1、2、及び 16 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列と同一である配列を含む；

(c) V H は、それぞれ配列番号 21、2、及び 22 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む；

20

(d) V H は、それぞれ配列番号 20、23、及び 26 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む；又は

(e) V H は、それぞれ配列番号 35、36、及び 37 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 49 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む、抗原結合部位。

【請求項 3】

前記 V H は、それぞれ配列番号 46、47、及び 48 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ前記 V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 49 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載の抗原結合部位。

30

【請求項 4】

前記 V H は、それぞれ配列番号 1、23、及び 38 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ前記 V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 39 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載の抗原結合部位。

【請求項 5】

前記 V H は、配列番号 40 と少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 4 に記載の抗原結合部位。

40

【請求項 6】

前記 V H は、配列番号 40 と比較して G 44 C 置換を含む、請求項 5 に記載の抗原結合部位。

【請求項 7】

前記 V H は、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む、請求項 5 に記載の抗原結合部位。

【請求項 8】

前記 V H は、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む、請求項 5 又は 6 に記載の抗原結合部

50

位。

【請求項 9】

前記 V L は、配列番号 4 1 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、又は少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 4 ～ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 0】

前記 V L は、配列番号 4 1 と比較して G 1 0 0 C 置換を含む、請求項 9 に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 1】

前記 V L は、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む、請求項 4 ～ 9 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 2】

前記 V L は、配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む、請求項 4 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 3】

配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む V L、又は配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む V L を含む抗原結合部位。

【請求項 1 4】

一本鎖断片可変 (s c F v)、F a b 断片、又はモノクローナル抗体として存在する、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 5】

一本鎖断片可変 (s c F v) として存在する、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 6】

配列番号 4 4 又は配列番号 4 5 の配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む s c F v として存在する、請求項 1 ～ 5、又は 9 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 7】

前記 s c F v は、配列番号 4 4 又は配列番号 4 5 の配列と同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 4 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 8】

前記 s c F v は、配列番号 4 4 の配列と同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 4 ～ 1 7 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 1 9】

請求項 1 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の抗原結合部位と B A F F - R に対する結合について競合する抗原結合部位。

【請求項 2 0】

前記抗原結合部位が、表面プラズモン共鳴 (S P R) によって測定される際、5 n M 以下の解離定数 (K_D) でヒト B A F F - R に結合する、請求項 1 ～ 1 9 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 2 1】

B A F F - R の B A F F への結合を阻害する、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の抗原結合部位。

【請求項 2 2】

請求項 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の抗原結合部位を含むタンパク質。

【請求項 2 3】

抗体重鎖定常領域をさらに含む、請求項 2 2 に記載のタンパク質。

【請求項 2 4】

10

20

30

40

50

前記抗体重鎖定常領域が、ヒト I g G 重鎖定常領域である、請求項 23 に記載のタンパク質。

【請求項 25】

前記抗体重鎖定常領域が、ヒト I g G 1 重鎖定常領域である、請求項 24 に記載のタンパク質。

【請求項 26】

前記抗体重鎖定常領域の各ポリペプチド鎖は、野生型ヒト I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列と少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 24 又は 25 に記載のタンパク質。

【請求項 27】

前記抗体重鎖定常領域の少なくとも 1 つのポリペプチド鎖が、E U 番号付けシステムにしたがって番号付けされた、Q 3 4 7、Y 3 4 9、L 3 5 1、S 3 5 4、E 3 5 6、E 3 5 7、K 3 6 0、Q 3 6 2、S 3 6 4、T 3 6 6、L 3 6 8、K 3 7 0、N 3 9 0、K 3 9 2、T 3 9 4、D 3 9 9、S 4 0 0、D 4 0 1、F 4 0 5、Y 4 0 7、K 4 0 9、T 4 1 1、及び K 4 3 9 から選択される 1 つ以上の位置で、野生型ヒト I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列に対する 1 つ以上の突然変異を含む、請求項 24 ~ 26 のいずれか一項に記載のタンパク質。

【請求項 28】

前記抗体重鎖定常領域の少なくとも 1 つのポリペプチド鎖が、E U 番号付けシステムにしたがって番号付けされた、Q 3 4 7 E、Q 3 4 7 R、Y 3 4 9 S、Y 3 4 9 K、Y 3 4 9 T、Y 3 4 9 D、Y 3 4 9 E、Y 3 4 9 C、L 3 5 1 K、L 3 5 1 D、L 3 5 1 Y、S 3 5 4 C、E 3 5 6 K、E 3 5 7 Q、E 3 5 7 L、E 3 5 7 W、K 3 6 0 E、K 3 6 0 W、Q 3 6 2 E、S 3 6 4 K、S 3 6 4 E、S 3 6 4 H、S 3 6 4 D、T 3 6 6 V、T 3 6 6 I、T 3 6 6 L、T 3 6 6 M、T 3 6 6 K、T 3 6 6 W、T 3 6 6 S、L 3 6 8 E、L 3 6 8 A、L 3 6 8 D、K 3 7 0 S、N 3 9 0 D、N 3 9 0 E、K 3 9 2 L、K 3 9 2 M、K 3 9 2 V、K 3 9 2 F、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、T 3 9 4 F、D 3 9 9 R、D 3 9 9 K、D 3 9 9 V、S 4 0 0 K、S 4 0 0 R、D 4 0 1 K、F 4 0 5 A、F 4 0 5 T、Y 4 0 7 A、Y 4 0 7 I、Y 4 0 7 V、K 4 0 9 F、K 4 0 9 W、K 4 0 9 D、T 4 1 1 D、T 4 1 1 E、K 4 3 9 D、及び K 4 3 9 E から選択される、野生型ヒト I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列に対する 1 つ以上の突然変異を含む、請求項 24 ~ 27 のいずれか一項に記載のタンパク質。

【請求項 29】

前記抗体重鎖定常領域の 1 つのポリペプチド鎖が、Q 3 4 7、Y 3 4 9、L 3 5 1、S 3 5 4、E 3 5 6、E 3 5 7、K 3 6 0、Q 3 6 2、S 3 6 4、T 3 6 6、L 3 6 8、K 3 7 0、K 3 9 2、T 3 9 4、D 3 9 9、S 4 0 0、D 4 0 1、F 4 0 5、Y 4 0 7、K 4 0 9、T 4 1 1 及び K 4 3 9 から選択される 1 つ以上の位置で、野生型ヒト I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列に対する 1 つ以上の突然変異を含み；前記抗体重鎖定常領域の他のポリペプチド鎖が、E U 番号付けシステムにしたがって番号付けされた、Q 3 4 7、Y 3 4 9、L 3 5 1、S 3 5 4、E 3 5 6、E 3 5 7、S 3 6 4、T 3 6 6、L 3 6 8、K 3 7 0、N 3 9 0、K 3 9 2、T 3 9 4、D 3 9 9、D 4 0 1、F 4 0 5、Y 4 0 7、K 4 0 9、T 4 1 1、及び K 4 3 9 から選択される 1 つ以上の位置で、野生型ヒト I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列に対する 1 つ以上の突然変異を含む、請求項 24 ~ 28 のいずれか一項に記載のタンパク質。

【請求項 30】

前記抗体重鎖定常領域の 1 つのポリペプチド鎖が、野生型ヒト I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列に対する K 3 6 0 E 及び K 4 0 9 W 置換を含み；前記抗体重鎖定常領域の他のポリペプチド鎖が、E U 番号付けシステムにしたがって番号付けされた、野生型ヒト I g G 1 F c 領域のアミノ酸配列に対する Q 3 4 7 R、D 3 9 9 V 及び F 4 0 5 T 置換を含む、請求項 29 に記載のタンパク質。

【請求項 31】

前記抗体重鎖定常領域の1つのポリペプチド鎖が、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対するY349C置換を含み；前記抗体重鎖定常領域の他のポリペプチド鎖が、EU番号付けシステムにしたがって番号付けされた、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対するS354C置換を含む、請求項29又は30に記載のタンパク質。

【請求項32】

請求項22～31のいずれか一項に記載のタンパク質及び薬物部分を含む抗体－薬物コンジュゲート。

【請求項33】

前記薬物部分が、アウリスタチン、N－アセチル－γカリケアミシン、メイタンシノイド、ピロロベンゾジアゼピン、及びSN－38からなる群から選択される、請求項32に記載の抗体－薬物コンジュゲート。

10

【請求項34】

請求項1～21のいずれか一項に記載の抗原結合部位及びサイトカインを含む免疫サイトカイン。

【請求項35】

前記サイトカインが、IL－2、IL－4、IL－10、IL－12、IL－15、TNF、及びIFNαからなる群から選択される、請求項34に記載の免疫サイトカイン。

【請求項36】

請求項1～21のいずれか一項に記載の抗原結合部位及びCD3に結合する抗原結合部位を含む二重特異性T細胞エンゲージャー。

20

【請求項37】

(a) 請求項1～21のいずれか一項に記載の抗原結合部位；

(b) 膜貫通ドメイン；及び

(c) 細胞内シグナル伝達ドメイン

を含むキメラ抗原受容体(CAR)。

【請求項38】

前記膜貫通ドメインが、T細胞受容体のα、β又はζ鎖、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、BAFF-R、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、及びCD154の膜貫通領域から選択される、請求項37に記載のCAR。

30

【請求項39】

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3ζ、共通FcRγ(FCER1G)、FcγRIIa、FcRβ(FcεR1b)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD79a、CD79b、DAP10、及びDAP12の機能的シグナル伝達ドメインを含む一次シグナル伝達ドメインを含む、請求項37又は38に記載のCAR。

【請求項40】

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、共刺激性受容体の機能的シグナル伝達ドメインを含む共刺激性シグナル伝達ドメインをさらに含む、請求項37～39のいずれか一項に記載のCAR。

40

【請求項41】

前記共刺激性受容体が、OX40、CD27、CD28、CD30、CD40、PD-1、CD2、CD7、CD258、NKG2C、B7-H3、CD83に結合するリガンド、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS及び4-1BB(CD137)、又はそれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項40に記載のCAR。

【請求項42】

請求項37～41のいずれか一項に記載のCARをコードする単離核酸。

【請求項43】

請求項42に記載の単離核酸を含む発現ベクター。

50

【請求項 4 4】

請求項 4 2 に記載の核酸又は請求項 4 3 に記載の発現ベクターを含む免疫エフェクター細胞。

【請求項 4 5】

請求項 3 7 ～ 4 1 のいずれか一項に記載の C A R を発現する免疫エフェクター細胞。

【請求項 4 6】

前記免疫エフェクター細胞が、T 細胞である、請求項 4 4 又は 4 5 に記載の免疫エフェクター細胞。

【請求項 4 7】

前記 T 細胞が、C D 8 ⁺ T 細胞、C D 4 ⁺ T 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、又は N K T 細胞である、請求項 4 6 に記載の免疫エフェクター細胞。

10

【請求項 4 8】

前記免疫エフェクター細胞が、N K 細胞である、請求項 4 4 又は 4 5 に記載の免疫エフェクター細胞。

【請求項 4 9】

請求項 2 2 ～ 3 1 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 3 2 又は 3 3 に記載の抗体－薬物コンジュゲート、請求項 3 4 又は 3 5 に記載の免疫サイトカイン、請求項 3 6 に記載の二重特異性 T 細胞エンゲージャー、又は請求項 4 4 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の免疫エフェクター細胞；及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 5 0】

癌を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の、請求項 2 2 ～ 3 1 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 3 2 又は 3 3 に記載の抗体－薬物コンジュゲート、請求項 3 4 又は 3 5 に記載の免疫サイトカイン、請求項 3 6 に記載の二重特異性 T 細胞エンゲージャー、請求項 4 4 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の免疫エフェクター細胞、又は請求項 4 9 に記載の医薬組成物を投与することを含む、方法。

20

【請求項 5 1】

前記癌は、B 細胞非ホジキンリンパ腫（B－NHL）、慢性リンパ性白血病（CLL）、マンツル細胞リンパ腫（MCL）、濾胞性リンパ腫（FL）、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）、辺縁帯リンパ腫、粘膜関連リンパ組織（MALT）リンパ腫、原発性縦隔 B 細胞リンパ腫、及び急性リンパ球性白血病（ALL）である、請求項 5 0 に記載の方法。

30

【請求項 5 2】

前記癌は、B A F F－R を発現する、請求項 5 0 又は 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

自己免疫性炎症性疾患を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の、請求項 2 2 ～ 3 1 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 3 2 若しくは 3 3 に記載の抗体－薬物コンジュゲート、請求項 3 4 若しくは 3 5 に記載の免疫サイトカイン、請求項 3 6 に記載の二重特異性 T 細胞エンゲージャー、請求項 4 4 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の免疫エフェクター細胞、又は請求項 4 9 に記載の医薬組成物を投与することを含む、方法。

40

【請求項 5 4】

精製された抗原結合部位、タンパク質、抗体－薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、又は二重特異性 T 細胞エンゲージャーである、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の抗原結合部位、請求項 2 2 ～ 3 1 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 3 2 若しくは 3 3 に記載の抗体－薬物コンジュゲート、請求項 3 4 若しくは 3 5 に記載の免疫サイトカイン、又は請求項 3 6 に記載の二重特異性 T 細胞エンゲージャー。

【請求項 5 5】

遠心分離、深層ろ過、細胞溶解、均質化、凍結融解、親和性精製、ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用交換クロマトグラフィー、及びミックスモードクロマトグラフィーからなる群から選択される方法によって精製される、請求項 5 4 に記載

50

の抗原結合部位、タンパク質、抗体－薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、又は二重特異性Ｔ細胞エンゲージャー。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

相互参照

本出願は、２０２１年９月２９日に出願された米国仮特許出願第６３／２５０，０９２号明細書に対する優先権を主張するものであり、その全開示はその全体が参照により本明細書に援用される。

【０００２】

配列表

本出願は、パテントセンターを介してＸＭＬファイル形式で提出されているコンピュータ可読の配列表の全体を含み、その内容はその全体が参照により本明細書に援用される。パテントセンターを介して提出された配列表のＸＭＬファイルは、「１４２４７－６９９－２２８__seqlist.xml」と題され、２０２２年９月１６日に作成され、１１４，４５６バイトのサイズである。

【０００３】

本発明は、細胞上のＢＡＦＦ－Ｒを標的とする抗原結合部位を形成するように対合され得る抗体重鎖及び軽鎖可変ドメインを有するタンパク質、このようなタンパク質を含む医薬組成物、並びに癌又は自己免疫疾患の治療などのために、このようなタンパク質及び医薬組成物を使用する治療方法を提供する。

【背景技術】

【０００４】

癌は、この疾患の治療について文献に報告されるかなりの研究努力及び科学の進歩にもかかわらず、重大な健康問題であり続けている。成人において最も高い頻度で診断される癌のいくつかとしては、前立腺癌、乳癌、及び肺癌が挙げられる。血液悪性腫瘍は、固形癌より頻度が低い、低い生存率を有する。これらの癌のための現在の治療選択肢は、全ての患者に有効であるわけではなく、及び／又はかなりの有害な副作用を有し得る。他のタイプの癌も、既存の治療選択肢を用いて治療するには依然として難しい。

【０００５】

ＢＡＦＦ受容体とも呼ばれるＢＡＦＦ－Ｒ、ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー１３Ｃ（ＴＮＦＲＳＦ１３Ｃ）、ＣＤ２６８、又はＢＲ３は、ＴＮＦ受容体スーパーファミリーのＩＩＩ型膜貫通タンパク質である。ＢＡＦＦ－Ｒは、後期移行（Ｔ２）Ｂ細胞段階で、且つ全ての成熟Ｂ細胞上で発現され、胚中心Ｂ細胞上で下方制御され、メモリー細胞上で再発現され、そして形質細胞上には存在しない（非特許文献１）。ＢＡＦＦ－Ｒは、Ｂ細胞生存因子である、Ｂ細胞活性化因子（ＢＡＦＦ）に対する受容体である。ＢＡＦＦは、３つの受容体：ＢＡＦＦ－Ｒ、膜貫通アクチベーター及びＣＡＭＬ相互作用物質（ＴＡＣＩ）、並びにＢ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）に会合し得る。これら３つの受容体の中で、ＢＡＦＦ－Ｒは、濾胞及び辺縁帯脾臓Ｂ細胞の発現に関与する主要な受容体である（非特許文献２）。

【０００６】

ＢＡＦＦ／ＢＡＦＦ－Ｒシグナル伝達軸は、Ｂ細胞過形成における役割を果たし得る。ＢＡＦＦ－Ｒの発現増加、及びＢＡＦＦの血清レベル上昇が、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）患者において認められている（非特許文献３）。ＢＡＦＦ－Ｒにおける特定の一塩基多型（ＳＮＰ）は、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）のリスク増加に関連する（非特許文献４）。ＢＡＦＦ／ＢＡＦＦ－Ｒ軸は、自己免疫性炎症性疾患にも関与する（非特許文献５）。一部の全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）患者では、血清中のＢＡＦＦのレベルが増加しており（非特許文献６）、ＢＡＦＦ－Ｒは、ＳＬＥにおける血液Ｂ細胞上で一貫して占有される（非特許文献７）。自己反応性Ｂ細胞がその生存のために保護的Ｂ細胞と比較してＢＡＦＦにより大きく依存するという観察を考慮すれば（非特許文献８）、異常に高

10

20

30

40

50

レベルのBAFFが、自己反応性B細胞の生存を増強することによって、自己免疫疾患の病態形成に寄与し得ることが提起されている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Davidson (2012) Curr. Rheumatol. Rep., 14 (4) : 295-302

【非特許文献2】Schiemann et al. (2001) Science, 293 : 2111-14

【非特許文献3】Shen et al. (2016) Adv. Clin. Exp. Med., 25 (5) : 837-44

【非特許文献4】Jesek et al. (2016) Tumour Biol., 37 (10) : 13617-26

【非特許文献5】Mackay et al. (1999) J. Exp. Med., 190 : 1697-1710

【非特許文献6】Cheema et al. (2001) Arthritis Rheum., 44 : 1313-19

【非特許文献7】Carter et al. (2005) Arthritis Rheum., 52 : 3943-54

【非特許文献8】Lesley et al. (2004) Immunity, 20 : 441-53

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

したがって、BAFF-Rに結合する新しい有用な抗体、特にBAFF-Rに結合し、且つそのBAFFとの相互作用を阻害する抗体についての分野における必要性が残っている。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、BAFF-Rに結合する抗原結合部位を提供する。このような抗原結合部位を含有するタンパク質及びタンパク質コンジュゲート、例えば、抗体、抗体-薬物コンジュゲート、二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE)、及び免疫サイトカイン、並びにこのような抗原結合部位 (例えば、キメラ抗原受容体 (CAR)) を含有するタンパク質を発現する免疫エフェクター細胞 (例えば、T細胞) は、癌及び自己免疫疾患などのBAFF-R関連疾患を治療するのに有用である。

【0010】

したがって、一態様において、本発明は、BAFF-Rに結合するか又は結合する能力がある抗原結合部位であって、

配列番号50のアミノ酸配列を含む相補性決定領域1 (CDR1) 配列、配列番号51のアミノ酸配列を含む相補性決定領域2 (CDR2) 配列、及び配列番号52のアミノ酸配列を含む相補性決定領域3 (CDR3) 配列を含む重鎖可変ドメイン (VH) ; 並びに配列番号4のアミノ酸配列を含むCDR1配列、配列番号5のアミノ酸配列を含むCDR2配列、及び配列番号49のアミノ酸配列を含むCDR3配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL)

を含む、抗原結合部位を提供する。

【0011】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、BAFF-Rに結合するか又は結合する能力がある抗原結合部位であって、

(a) VHは、それぞれ配列番号46、47、及び48のアミノ酸配列と同一であるCDR1、CDR2、及びCDR3配列を含み ; 且つVLは、それぞれ配列番号4、5、及

10

20

30

40

50

び 49 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；

(b) V H は、それぞれ配列番号 1、2、及び 16 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列と同一である配列を含み；

(c) V H は、それぞれ配列番号 21、2、及び 22 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；

(d) V H は、それぞれ配列番号 20、23、及び 26 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；又は

(e) V H は、それぞれ配列番号 35、36、及び 37 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含み；且つ V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 49 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む。

【0012】

ある実施形態において、抗原結合部位は、それぞれ配列番号 46、47、及び 48 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む V H；並びにそれぞれ配列番号 4、5、及び 49 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む V L を含む。

【0013】

ある実施形態において、抗原結合部位は、それぞれ配列番号 1、23、及び 38 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む V H；並びにそれぞれ配列番号 4、5、及び 39 のアミノ酸配列と同一である C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む V L を含む。

【0014】

ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 40 と少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 % 同一であるアミノ酸配列を含む V H を含む。ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 40 と比較して G 44 C 置換を含む V H を含む。ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む V H を含む。ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む V H を含む。

【0015】

ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 41 と少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 % 同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。ある実施形態において、V L は、配列番号 41 と比較して G 100 C 置換を含む。ある実施形態において、V L は、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む。ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 43 のアミノ酸配列を含む V L を含む。

【0016】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 41 のアミノ酸配列を含む V L、又は配列番号 42 のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 43 のアミノ酸配列を含む V L を含む抗原結合部位である。ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 41 のアミノ酸配列を含む V L を含む。ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 43 のアミノ酸配列を含む V L を含む。

【0017】

ある実施形態において、抗原結合部位は、一本鎖断片可変 (s c F v)、F a b 断片、又はモノクローナル抗体として存在する。

【0018】

ある実施形態において、抗原結合部位は、一本鎖断片可変（s c F v）として存在する。

【0019】

ある実施形態において、抗原結合部位は、配列番号44又は配列番号45の配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むs c F vとして存在する。ある実施形態において、s c F vは、配列番号44又は配列番号45のアミノ酸配列を含む。ある実施形態において、s c F vは、配列番号44のアミノ酸配列を含む。ある実施形態において、s c F vは、配列番号44のアミノ酸配列からなる。

【0020】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の実施形態のいずれかの抗原結合部位とBAFF-Rに対する結合について競合する抗原結合部位である。

【0021】

ある実施形態において、抗原結合部位は、表面プラズモン共鳴（SPR）によって測定される際、5 nM以下の解離定数（K_D）でヒトBAFF-Rに結合する。

【0022】

ある実施形態において、抗原結合部位は、BAFF-RのBAFFへの結合を、（例えば、競合結合アッセイにおいて測定される際、少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも90%、少なくとも95%又は少なくとも99%）阻害（例えば、遮断）する。

【0023】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の実施形態のいずれか1つの抗原結合部位を含むタンパク質である。

【0024】

ある実施形態において、タンパク質は、抗体重鎖定常領域をさらに含む。ある実施形態において、抗体重鎖定常領域は、ヒトIgG重鎖定常領域である。ある実施形態において、抗体重鎖定常領域は、ヒトIgG1重鎖定常領域である。ある実施形態において、抗体重鎖定常領域の各ポリペプチド鎖は、野生型ヒトIgG1 Fc領域のアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0025】

ある実施形態において、抗体重鎖定常領域の少なくとも1つのポリペプチド鎖は、EU番号付けシステムにしたがって番号付けされた、Q347、Y349、L351、S354、E356、E357、K360、Q362、S364、T366、L368、K370、N390、K392、T394、D399、S400、D401、F405、Y407、K409、T411、及びK439から選択される1つ以上の位置で、野生型ヒトIgG1 Fc領域のアミノ酸配列に対する1つ以上の突然変異を含む。

【0026】

ある実施形態において、抗体重鎖定常領域の少なくとも1つのポリペプチド鎖は、EU番号付けシステムにしたがって番号付けされた、Q347E、Q347R、Y349S、Y349K、Y349T、Y349D、Y349E、Y349C、L351K、L351D、L351Y、S354C、E356K、E357Q、E357L、E357W、K360E、K360W、Q362E、S364K、S364E、S364H、S364D、T366V、T366I、T366L、T366M、T366K、T366W、T366S、L368E、L368A、L368D、K370S、N390D、N390E、K392L、K392M、K392V、K392F、K392D、K392E、T394F、D399R、D399K、D399V、S400K、S400R、D401K、F405A、F405T、Y407A、Y407I、Y407V、K409F、K409W、K409D、T411D、T411E、K439D、及びK439Eから選択される、野生型ヒトIgG1 Fc領域のアミノ酸配列に対する1つ以上の突然変異を含む。

【0027】

ある実施形態において、抗体重鎖定常領域の1つのポリペプチド鎖は、Q347、Y349、L351、S354、E356、E357、K360、Q362、S364、T3

10

20

30

40

50

66、L368、K370、K392、T394、D399、S400、D401、F405、Y407、K409、T411及びK439から選択される1つ以上の位置で、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対する1つ以上の突然変異を含み；抗体重鎖定常領域の他のポリペプチド鎖は、EU番号付けシステムにしたがって番号付けされたQ347、Y349、L351、S354、E356、E357、S364、T366、L368、K370、N390、K392、T394、D399、D401、F405、Y407、K409、T411、及びK439から選択される1つ以上の位置で、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対する1つ以上の突然変異を含む。

【0028】

ある実施形態において、抗体重鎖定常領域の1つのポリペプチド鎖は、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対するK360E及びK409W置換を含み；抗体重鎖定常領域の他のポリペプチド鎖は、EU番号付けシステムにしたがって番号付けされた、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対するQ347R、D399V及びF405T置換を含む。

【0029】

ある実施形態において、抗体重鎖定常領域の1つのポリペプチド鎖は、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対するY349C置換を含み；抗体重鎖定常領域の他のポリペプチド鎖は、EU番号付けシステムにしたがって番号付けされた、野生型ヒトIgG1Fc領域のアミノ酸配列に対するS354C置換を含む。

【0030】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の実施形態のいずれか1つのタンパク質及び薬物部分を含む抗体-薬物コンジュゲートである。ある実施形態において、薬物部分は、アウリスタチン、N-アセチル- γ カリケアマイシン、メイタンシノイド、ピロロベンゾジアゼピン、及びSN-38からなる群から選択される。

【0031】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の実施形態のいずれか1つの抗原結合部位及びサイトカインを含む免疫サイトカインである。ある実施形態において、サイトカインは、IL-2、IL-4、IL-10、IL-12、IL-15、TNF、及びIFN α からなる群から選択される。

【0032】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の実施形態のいずれか1つの抗原結合部位及びCD3に結合する抗原結合部位を含む二重特異性T細胞エンゲージャーである。

【0033】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、

- (a) 本発明の抗原結合部位；
- (b) 膜貫通ドメイン；及び
- (c) 細胞内シグナル伝達ドメイン

を含むキメラ抗原受容体(CAR)である。

【0034】

ある実施形態において、膜貫通ドメインは、T細胞受容体の α 、 β 又は ζ 鎖、CD28、CD3 ϵ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、BAFF-R、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、及びCD154の膜貫通領域から選択される。

【0035】

ある実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 ζ 、共通FcR γ (FCER1G)、Fc γ RIIa、FcR β (Fc ϵ R1b)、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD79a、CD79b、DAP10、及びDAP12の機能的シグナル伝達ドメインを含む一次シグナル伝達ドメインを含む。ある実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激性受容体の機能的シグナル伝達ドメインを含む共刺激性シグナル伝

10

20

30

40

50

達ドメインをさらに含む。ある実施形態において、共刺激性受容体は、OX40、CD27、CD28、CD30、CD40、PD-1、CD2、CD7、CD258、NKG2C、B7-H3、CD83に結合するリガンド、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS及び4-1BB (CD137)、又はそれらの任意の組合せからなる群から選択される。

【0036】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の実施形態のいずれか1つのCARをコードする単離核酸である。

【0037】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の態様の単離核酸を含む発現ベクターである。

【0038】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の態様の核酸又は発現ベクターを含む免疫エフェクター細胞である。

【0039】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の態様のいずれか1つのCARを発現する免疫エフェクター細胞である。ある実施形態において、免疫エフェクター細胞は、T細胞である。ある実施形態において、T細胞は、CD8+T細胞、CD4+T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、又はNKT細胞である。ある実施形態において、免疫エフェクター細胞は、NK細胞である。

【0040】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、上の態様又は実施形態のいずれかのタンパク質、抗体-薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、二重特異性T細胞エンゲージャー、又は免疫エフェクター細胞；及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物である。

【0041】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、癌を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の、上の態様又は実施形態のいずれかのタンパク質、抗体-薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、二重特異性T細胞エンゲージャー、免疫エフェクター細胞、又は医薬組成物を投与することを含む、方法である。ある実施形態において、癌は、B細胞非ホジキンリンパ腫 (B-NHL)、慢性リンパ性白血病 (CLL)、マンツル細胞リンパ腫 (MCL)、濾胞性リンパ腫 (FL)、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)、辺縁帯リンパ腫、粘膜関連リンパ組織 (MALT) リンパ腫、原発性縦隔B細胞リンパ腫、及び急性リンパ球性白血病 (ALL) である。ある実施形態において、癌は、BAFF-Rを発現する。

【0042】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、自己免疫性炎症性疾患を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の、上の態様又は実施形態のいずれかのタンパク質、抗体-薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、二重特異性T細胞エンゲージャー、免疫エフェクター細胞、又は医薬組成物を投与することを含む、方法である。

【0043】

ある実施形態において、上の態様又は実施形態のいずれかのタンパク質、抗体-薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、又は二重特異性T細胞エンゲージャーは、精製された抗原結合部位、タンパク質、抗体-薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、又は二重特異性T細胞エンゲージャーである。

【0044】

ある実施形態において、上の態様又は実施形態のいずれかのタンパク質、抗体-薬物コンジュゲート、免疫サイトカイン、又は二重特異性T細胞エンゲージャーは、遠心分離、深層ろ過、細胞溶解、均質化、凍結融解、親和性精製、ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用交換クロマトグラフィー、及びミックスモードクロマトグラフ

10

20

30

40

50

ィーからなる群から選択される方法によって精製される。

【0045】

本発明のこれらの及び他の態様及び利点は、以下の図、詳細な説明及び特許請求の範囲によって示される。

【0046】

本発明は、以下の図面を参照してより完全に理解され得る。

【図面の簡単な説明】

【0047】

【図1】図1は、BAFF-ビオチンのCHO細胞上で発現されたヒトBAFF-Rへの結合の指定抗体による遮断を示す、結合アッセイからの蛍光出力を示すグラフである。

10

【0048】

【図2】図2は、BAFF-ビオチンのCHO細胞上で発現されたヒトBAFF-Rへの結合の指定抗体による遮断を示す、遮断アッセイからの蛍光出力を示すグラフである。

【0049】

【図3-1】図3A-3Dは、指定抗体のBAFF-Rへの結合を示す、CHO細胞上での結合アッセイからの蛍光出力（図3A、図3B）又はBAFF-ビオチンのBAFF-Rへの結合の指定抗体による遮断アッセイからの蛍光出力（図3C、図3D）のグラフである。

【図3-2】同上。

【0050】

【図4-1】図4A-4Eは、酵母上で発現されたAB0369scFvの非抗原対照（図4A）、h-BAFF-R-hFc（図4B）、無関係hFc（図4C）、hBAFF-R-GST（図4D）、又は無関係GST（図4E）への結合を示すフローサイトメトリープロットである。垂直軸は、Flagエピトプタグの検出によって測定される際のscFvの発現を示し；水平軸は、ストレプトアビジン-PEの検出によって測定される際のBAFF-R構築物のビオチン化対照のscFvへの結合を示す。

20

【図4-2】同上。

【0051】

【図5】図5A-5Bは、AB0369又は指定対照のヒト（図5A）又はカニクイザル（図5B）BAFF-Rへの結合を示すグラフである。

30

【0052】

【図6-1】図6A-6Bは、AB0369に由来するBAFF-R結合部位を有する多特異的結合タンパク質の多特異性アッセイを詳細に示す。図6Aは、アッセイの模式図である。図6Bは、多特異性試薬（PSR）の非存在下（上パネル）又は存在下（下パネル）でのAB0369のグラフ（左パネル）、トラスツズマブ陰性対照のグラフ（中パネル）、又はイキセキズマブ陽性対照のグラフ（右パネル）を示す。

【図6-2】同上。

【0053】

【図7】図7は、AB0369に由来するBAFF-R結合部位を有する多特異的結合タンパク質によって誘導される際のRamos細胞のKHYG-1-CD16aV細胞傷害性アッセイを示すグラフである。

40

【0054】

【図8】図8は、BAFF-ビオチンのCHO細胞上で発現されたヒトBAFF-Rへの結合のAB0369又は指定抗体による妨害を示す結合アッセイからの蛍光出力を示すグラフである。

【0055】

【図9-1】図9A-9Dは、hBAFF-R-hFc-Hisの親AB0369scFv又は選択の連続ラウンド後、酵母上で発現され、親和性成熟によって生成されたライブラリーから選択されたクローンへの結合を示すフローサイトメトリープロットである。図9Aは、親AB0369scFvへの結合を示し；図9Bは、クローン選択の第1ラウンド

50

ドからのサンプルへの結合を示し；図 9 C は、クローン選択の第 2 ラウンドからのサンプルへの結合を示し；図 9 D は、クローン選択の第 2 ラウンドからの出力への結合を示す。

【図 9-2】同上。

【0056】

【図 10-1】図 10 A-10 E は、h B A F F-R-h F c-H i s の A B 0 3 6 9 及び酵母上で発現された親和性成熟 s c F v クローンへの結合を示すフローサイトメトリープロットである。図 10 A は、親 A B 0 3 6 9 への結合を示し；図 10 B は、A B 0 6 0 5 への結合を示し；図 10 C は、A B 0 6 2 2 への結合を示し；図 10 D は、A B 0 6 2 2 への結合を示し；図 10 E は、イアナルマブベースの s c F v への結合を示す。

【図 10-2】同上。

【0057】

【図 11】図 11 A-11 C は、A B 0 3 6 9 の親和性成熟から発現された多特異的結合タンパク質の B A F F-R 結合及び細胞傷害性を示すグラフである。図 11 A は、指定クローンに由来する B A F F-R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質の C H O 細胞上で発現されたヒト B A F F-R への結合を示すグラフである。図 11 B は、指定クローンに由来する B A F F-R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質によって誘導される際の、R a m o s 細胞の K H Y G-1-C D 1 6 a V 細胞傷害性アッセイを示すグラフである。図 11 C は、A B 0 6 2 2 に由来する B A F F-R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質によって誘導される際の、R a m o s 細胞の K H Y G-1-C D 1 6 a V 細胞傷害性アッセイを示すグラフである。

【0058】

【図 12】図 12 A-12 B は、A B 0 0 6 0 5 及び A B 0 6 0 6 に由来する B A F F-R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質の多特異性アッセイを詳細に示す。図 12 A は、アッセイの模式図である。図 12 B は、多特異性試薬（P S R）の非存在下（上パネル）又は存在下（下パネル）での A B 0 6 0 5 のグラフ（左パネル）又は A B 0 6 0 6 のグラフ（右パネル）を示す。

【0059】

【図 13】図 13 A-13 C は、h B A F F-R-h F c-H i s の、親 A B 0 3 6 9 s c F v 又は選択の連続ラウンド後、酵母上で発現され、親和性成熟によって生成されたライブラリーから選択されたクローンへの結合を示すフローサイトメトリープロットである。図 13 A は、親 A B 0 3 6 9 s c F v への結合を示し；図 13 B は、クローン選択の第 1 ラウンドからのサンプルへの結合を示し；図 13 C は、クローン選択の第 2 ラウンドからのサンプルへの結合を示す。

【0060】

【図 14-1】図 14 A-14 E は、h B A F F-R-h F c-H i s の、A B 0 3 6 9 及び酵母上で発現された親和性成熟 s c F v クローンへの結合を示すフローサイトメトリープロットである。図 14 A は、親 A B 0 3 6 9 への結合を示し；図 14 B は、A B 0 6 7 9 への結合を示し；図 14 C は、A B 0 6 8 1 への結合を示し；図 14 D は、A B 0 6 8 2 への結合を示し；図 14 E は、イアナルマブベースの s c F v への結合を示す。

【図 14-2】同上。

【0061】

【図 15】図 15 A-15 C は、B A F F-R の、A B 0 3 6 9 の親和性成熟から発現された多特異的結合タンパク質への結合を示すグラフである。図 15 A は、指定クローンに由来する B A F F-R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質の C H O 細胞上で発現されたヒト B A F F-R への結合を示すグラフである。図 15 B は、指定クローンに由来する B A F F-R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質の、C H O 細胞上で発現されたカニクイザル B A F F-R への結合を示すグラフである。図 15 C は、B A F F-ビオチンの、C H O 細胞上で発現された B A F F-R への結合の指定抗体による妨害を示す、結合アッセイからの蛍光出力を示すグラフである。

【0062】

10

20

30

40

50

【図 16】図 16 は、AB0679、AB0568、又はツール F3 の陽性対照に由来する B A F F - R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質によって誘導される際の、B J A B 細胞の K H Y G - 1 - C D 16 a V 細胞傷害性アッセイを示すグラフである。

【0063】

【図 17】図 17 A - 17 D は、h B A F F - R - h F c - H i s の、選択の連続ラウンド後、酵母上で発現され、親和性成熟によって生成されたライブラリーから選択された親 AB0369 s c F v クローンへの結合を示すフローサイトメトリープロットである。図 17 A は、親 AB0369 s c F v への結合を示し；図 17 B は、クローン選択の第 1 ラウンドからのサンプルへの結合を示し；図 17 C は、クローン選択の第 2 ラウンドからのサンプルへの結合を示し；図 17 D は、クローン選択の第 3 ラウンドからのサンプルへの結合を示す。

10

【0064】

【図 18 - 1】図 18 A - 18 F は、h B A F F - R - h F c - H i s の、AB0369 及び酵母上で発現された親和性成熟 s c F v クローンへの結合を示すフローサイトメトリープロットである。図 18 A は、親 AB0369 への結合を示し；図 18 B は、AB0682 への結合を示し；図 18 C は、AB0898 への結合を示し；図 18 D は、AB0899 への結合を示し；図 18 E は、AB0900 への結合を示し；図 18 F は、イアナルマブベースの s c F v への結合を示す。

【図 18 - 2】同上。

【図 18 - 3】同上。

20

【0065】

【図 19】図 19 は、AB0898、AB0899、又は AB0900 に由来する B A F F - R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質によって誘導される際の、B J A B 細胞の K H Y G - 1 - C D 16 a V 細胞傷害性アッセイを示すグラフである。

【0066】

【図 20】図 20 は、AB0898（上パネル）、AB0899（中央パネル）、及び AB0900（下パネル）の示差走査熱量測定（D S C）プロファイルのグラフを示す。

【0067】

【図 21】図 21 は、1 mM の非ビオチン化 h B A F F R - F c とのインキュベーションによる負荷前（左）及び負荷後（右）の、酵母上で発現された s c F v クローンのビオチン化 h B A F F R - F c への結合のフローサイトメトリープロットを示す。

30

【0068】

【図 22 - 1】図 22 は、1 mM の非ビオチン化 h B A F F R - F c とのインキュベーションによる負荷前（上）及び負荷後（下）の、酵母上で発現された s c F v クローンのビオチン化 h B A F F R - F c への結合のフローサイトメトリープロットを示す。試験したクローンは、（左から右へ）AB1080、AB1081、AB1084、AB1085、及びイアナルマブベースの s c F v である。

【図 22 - 2】同上。

【図 22 - 3】同上。

【図 22 - 4】同上。

40

【0069】

【図 23】図 23 A - 23 B は、指定抗体クローンのヒト（図 23 A）又はカニクイザル（図 23 B）B A F F - R への結合を示すグラフである。

【0070】

【図 24 - 1】図 24 A - 24 B は、AB1080 又は AB1081 に由来する B A F F - R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質の多特異性アッセイを詳細に示す。図 24 A は、アッセイの模式図である。図 24 B は、多特異性試薬（P S R）の非存在下（上パネル）又は存在下（下パネル）での AB1080（左パネル）、AB1081（中央左パネル）、トラスツズマブ陰性対照（中央右パネル）、又はイキセキズマブ陽性対照（右パネル）のグラフを示す。

50

【図 2 4 - 2】 同上。

【 0 0 7 1】

【図 2 5】 図 2 5 A - 2 5 B は、ツール陽性対照と比較して、A B 1 0 8 0（図 2 5 A）又は A B 1 0 8 5（図 2 5 B）に由来する B A F F - R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質によって誘導される際の、B J A B 細胞の K H Y G - 1 - C D 1 6 a V 細胞傷害性アッセイのグラフを示す。

【 0 0 7 2】

【図 2 6】 図 2 6 は、B A F F - ビオチンの、C H O 細胞上で発現されたヒト B A F F - R への結合の指定抗体クローンによる妨害を示す、結合アッセイからの蛍光出力を示すグラフである。

【 0 0 7 3】

【図 2 7】 図 2 7 は、A B 1 0 8 0（左パネル）、A B 1 0 8 1（中央左パネル）、A B 1 0 8 4（中央右パネル）、及び A B 1 0 8 5（右パネル）に由来する B A F F - R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質のナノ二重走査蛍光定量（n a n o D S F）分析のグラフを示す。

【 0 0 7 4】

【図 2 8】 図 2 8 は、指定抗体に由来する B A F F - R 結合部位を有する多特異的結合タンパク質の疎水性相互作用クロマトグラフィー（H I C）分析のグラフを示す。

【 0 0 7 5】

【図 2 9】 図 2 9 は、指定の基準生物製剤と比較した A B 1 6 1 2 の H I C 分析のグラフを示す。

【 0 0 7 6】

【図 3 0】 図 3 0 A - 3 0 B は、指定抗体クローンのヒト（図 3 0 A）又はカニクイザル（図 3 0 B）B A F F - R への結合を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 7 7】

本発明は、ヒト B A F F - R に結合する抗原結合部位を提供する。このような抗原結合部位を含有するタンパク質及びタンパク質コンジュゲート、例えば、抗体、抗体-薬物コンジュゲート、二重特異性 T 細胞エンゲージャー（B i T E）、及び免疫サイトカイン、並びにこのような抗原結合部位（例えば、キメラ抗原受容体（C A R））を含有するタンパク質を発現する免疫エフェクター細胞（例えば、T 細胞）は、癌及び自己免疫疾患などの B A F F - R 関連疾患を治療するのに有用である。発明の様々な態様は、以下のセクションに記載されるが；1つの特定セクションに記載される発明の態様は、任意の特定セクションに限定されない。

【 0 0 7 8】

本発明の理解を容易にするために、いくつかの用語及び語句が、以下に定義される。

【 0 0 7 9】

本明細書において使用される際の「1つの（a）」及び「1つの（a n）」という用語は、「1つ以上」を意味し、文脈上不適切でない限り、複数を含む。

【 0 0 8 0】

本明細書において使用される際、「抗原結合部位」という用語は、抗原結合に関与する又は抗原結合する能力がある免疫グロブリン分子の一部を指す。ヒト抗体において、抗原結合部位は、重（「H」）及び軽（「L」）鎖の N 末端可変（「V」）領域のアミノ酸残基によって形成される。重鎖及び軽鎖の V 領域内の 3 つの高度に異なる区画は、「超可変領域」と呼ばれ、これは、「フレームワーク領域」、又は「F R」として知られているより保存的な隣接区画の間に介在する。したがって、「F R」という用語は、免疫グロブリンにおける超可変領域の間及び超可変領域に隣接して天然に見られるアミノ酸配列を指す。ヒト抗体分子において、軽鎖の 3 つの超可変領域及び重鎖の 3 つの超可変領域は、3 次元空間において互いに対して配置されて、抗原結合表面を形成する。抗原結合表面は、結合した抗原の 3 次元表面に対して相補的であり、重鎖及び軽鎖のそれぞれの 3 つの超可変

10

20

30

40

50

領域は、「相補性決定領域」、又は「CDR」と呼ばれる。ラクダ及び軟骨魚類などの特定の動物において、抗原結合部位は、「単一ドメイン抗体」を提供する単一抗体鎖によって形成される。抗原結合部位は、インタクトな抗体中、抗原結合表面を保持する抗体の抗原結合フラグメント中、又はscFvなどの組み換えポリペプチド中に存在し得、ペプチドリンカーを用いて、単一ポリペプチド中で、重鎖可変ドメインを軽鎖可変ドメインに結合する。本明細書に開示される重鎖又は軽鎖可変領域における全てのアミノ酸位置は、Kabat番号付けにしたがって番号付けされる。

【0081】

抗原結合部位のCDRは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 及び Kabat et al., Sequence of protein of immunological interest. (1991)、Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)、及び MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) に記載される方法によって決定され得る。これらの定義下で決定されるCDRは、典型的に、互いに対して比較したとき、アミノ酸残基の重複又はサブセットを含む。特定の実施形態において、「CDR」という用語は、MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) 及び Martin A., Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains, in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001) によって定義されるようなCDRである。特定の実施形態において、「CDR」という用語は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 及び Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991) によって定義されるようなCDRである。特定の実施形態において、抗体の重鎖CDR及び軽鎖CDRは、様々な慣例を用いて定義される。例えば、特定の実施形態において、重鎖CDRは、MacCallum (上記を参照) にしたがって定義され、軽鎖CDRは、Kabat (上記を参照) にしたがって定義される。CDRH1、CDRH2及びCDRH3は、重鎖CDRを示し、CDRL1、CDRL2及びCDRL3は、軽鎖CDRを示す。

【0082】

本明細書において使用される際、「対象」及び「患者」という用語は、本明細書に記載される方法及び組成物によって治療される生物を指す。このような生物としては、好ましくは、限定はされないが、哺乳動物 (例えば、マウス、サル、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコなど) が挙げられ、より好ましくは、ヒトが挙げられる。

【0083】

本明細書において使用される際、「有効量」という用語は、有益な又は所望の結果をもたらすのに十分な化合物 (例えば、本発明の化合物) の量を指す。有効量は、1回以上の投与、適用又は投薬で投与され得、特定の製剤又は投与経路に限定されることは意図されていない。本明細書において使用される際、「治療すること」という用語は、任意の効果、例えば、病態、疾患、障害などを減少させ、低減し、調節し、改善し、又はなくすことを含み、これは、それらの症状の改善、又は改善することをもたらす。

【0084】

本明細書において使用される際、「医薬組成物」という用語は、組成物を、インビボ又はエクスピボでの診断又は治療的使用に特に適したものにする、不活性又は活性担体との活性薬剤と組合せを指す。

【0085】

本明細書において使用される際、「薬学的に許容される担体」という用語は、リン酸緩衝生理食塩水、水、エマルジョン (例えば、水中油滴型又は油中水型エマルジョンなど)

10

20

30

40

50

、及び様々なタイプの湿潤剤などの標準的な医薬担体のいずれかを指す。組成物は、安定剤及び防腐剤も含み得る。担体、安定剤及び補助剤の例については、例えば、Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975]を参照されたい。

【0086】

本明細書において使用される際、「薬学的に許容される塩」という用語は、対象に投与すると、本発明の化合物を提供することが可能である、本発明の化合物の任意の薬学的に許容される塩（例えば、酸又は塩基）、又はその活性代謝産物若しくは残基を指す。当業者に公知であるように、本発明の化合物の「塩」は、無機又は有機酸及び塩基から誘導され得る。例示的な酸としては、限定はされないが、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、過塩素酸、フマル酸、マレイン酸、リン酸、グリコール酸、乳酸、サリチル酸、コハク酸、トルエン-p-スルホン酸、酒石酸、酢酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ギ酸、安息香酸、マロン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、ベンゼンスルホン酸などが挙げられる。それ自体で薬学的に許容されないシュウ酸などの他の酸が、本発明の化合物及びそれらの薬学的に許容される酸付加塩を得る際の間体として有用な塩の調製に用いられ得る。

10

【0087】

例示的な塩基としては、限定はされないが、アルカリ金属（例えば、ナトリウム）水酸化物、アルカリ土類金属（例えば、マグネシウム）水酸化物、アンモニア、及び式 NW_4^+ の化合物（式中、Wが、 $C_1 \sim 4$ アルキルである）などが挙げられる。

20

【0088】

例示的な塩としては、限定はされないが：酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、クエン酸塩、シヨウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、フルコヘプタノエート（flucoheptanoate）、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩（palmoate）、ペクチン酸塩、過硫酸塩、フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、チオシアネート、トシル酸塩、ウンデカン酸塩などが挙げられる。塩の他の例としては、 Na^+ 、 NH_4^+ 、及び NW_4^+ （式中、Wが、 $C_1 \sim 4$ アルキル基である）などの好適なカチオンと配合された本発明の化合物のアニオンなどが挙げられる。

30

【0089】

治療的使用のために、本発明の化合物の塩は、薬学的に許容されると考えられる。しながら、薬学的に許容されない酸及び塩基の塩も、例えば、薬学的に許容される化合物の調製又は精製において利用され得る。

【0090】

本明細書において使用される際、BAFF-R（BAFF受容体、B細胞活性化因子受容体、BR3、TNFRSF13C、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー13C、TNF受容体スーパーファミリーメンバー13C、CD268、及びBlyS受容体3としても知られている）は、Uniprot受託番号Q96RJ3のタンパク質並びに関連するアイソフォーム及びオルソログを指す。

40

【0091】

本明細書全体を通して、組成物が、特定の成分を有する、含む（including）、若しくは含む（comprising）と記載される場合、又はプロセス及び方法が、特定の工程を有する、含む（including）、若しくは含む（comprising）と記載される場合、さらに、記載される成分から本質的になる、又はそれからなる、本発明の組成物があること、並びに記載される処理工程から本質的になる、又はそれから

50

なる本発明のプロセス及び方法があることが考えられる。

【0092】

一般的な事項として、パーセンテージを規定している組成物は、特に規定されない限り、重量基準である。さらに、変数に、定義が伴わない場合、変数についての前の定義が適用される。

【0093】

本発明の様々な特徴及び態様が、以下により詳細に説明される。

【0094】

I. 抗原結合部位

一態様において、本発明は、ヒトBAFF-Rに結合する抗原結合部位を提供する。例示的な抗原結合部位のVH、VL、CDR、及びscFv配列が、表1に列挙される。CDR配列は、Chothia番号付けスキームにしたがって識別される。

【表1】

表1: BAFF-Rに結合する例示的な抗原結合部位の配列

クローン	VH	VL
1129_A01 (AB0369 scFv)	EVQLVQSGGGVYQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGK CLEWYAVIWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTMLRGLI EDYGMDVWGQGTITVTVSS (配列番号 77) CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGLIEDYGMDV (配列番号 3)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)

10

20

30

40

50

【表 2】

1203_A01	CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGVFIEDYGMDV (配列番号 7)	CDR1: RASQSVSSNLA (配列番号 8) CDR2: GASTRAT (配列番号 9) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
1203_A02	CDR1: GFTFSTY (配列番号 10) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RNTMVRGVIIEDYGMDV (配列番号 11)	CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSSPLT (配列番号 12)
AB0605scfv	EVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTMLRGQYI EDYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 64) CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGQYIEDYGMDV (配列番号 13)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
AB0606scfv	EVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTMLRGWY IEDYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 65) CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGWYIEDYGMDV (配列番号 14)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)

10

20

30

40

50

【表 3】

AB0622scfv	EVQLVQSGGGVYQPGRSRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTMLRGWII EDYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 66) CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGWIIEDYGMDV (配列番号 15)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
コンセンサス 1 (AB0605, AB0606, AB0622)	CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGX₁X₂IEDYGMDV こ こで、X₁が、Q 又は W であり、X₂が、I 又は Y である (配列番号 16)	CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
AB0679scFv	EVQLVQSGGGVYQPGRSRLSC AASGFPFSSYGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTMLRGWY IEDYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 67) CDR1: GFPFSSY (配列番号 17) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGWYIEDYGMDV (配列 番号 14)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)

10

20

30

40

50

【表 4】

AB0681scFv	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGEWFSSYGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTHLRGWII EDYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 68) CDR1: GEWFSSY (配列番号 18) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTHLRGWIIEDYGMDV (配列番号 19)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)	10
AB0682scFv	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFTFSSSGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTMLRGWY IEDYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 69) CDR1: GFTFSSS (配列番号 20) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTMLRGWYIEDYGMDV (配列 番号 14)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVLIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)	20
コンセンサス 2 (AB0679, AB0681, AB0682)	CDR1: GX₁X₂FSSX₃ ここで、X₁が、 F 又は E であり、X₂が、T、P、又は W であり、X₃が、Y 又は S である (配列 番号 21) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTX₁LRGWX₂IEDYGMDV こ こで、X₁が、M 又は H であり、X₂が、I 又は Y である (配列番号 22)	CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)	30

【表 5】

AB0898	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFTFSSSGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDASNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTRLRGWYI EDYGLDVGWGQGTTVTVSS (配列 番号 70) CDR1: GFTFSSS (配列番号 20) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTRLRGWYIEDYGLDV (配列番号 32)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
AB0899	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFTFSSSGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDASNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTYLRGWYI EDYGLDVGWGQGTTVTVSS (配列 番号 71) CDR1: GFTFSSS (配列番号 20) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTYLRGWYIEDYGLDV (配列番号 24)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)

10

20

30

40

50

【表 6】

AB0900	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFTFSSSGMIWVRQAPGK CLEWVAVIWYDASNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTSLRGWYI EDYGLDVWGQGTTVTVSS (配列 番号 72) CDR1: GFTFSSS (配列番号 20) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTSLRGWYIEDYGLDV (配列番号 25)	EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
コンセンサス 3 (AB0898, AB0899, AB0900)	CDR1: GFTFSSS (配列番号 20) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTSLRGWYIEDYGLDV ここで、X が、R、Y、又は S である (配列番号 26)	CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
AB1080scFv	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDASNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTHLRGWYI EDYGLDVWGQGTTVTVSS (配列 番号 73) CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTHLRGWYIEDYGLDV (配列番号 27)	EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 43) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 39)
AB1081scFv	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFAFSSYGMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDESNKYYGDSV KGRFTISRDN SRNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTNLRGWII EDYGLDVWGQGTTVTVSS (配列 番号 74) CDR1: GFAFSSY (配列番号 28) CDR2: WYDESN (配列番号 29) CDR3: RFTNLRGWIIEDYGLDV (配列番号 30)	EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 43) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 39)

10

20

30

40

50

【表 7】

AB1084scFv	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFTFSMYGMHWVRQAPGK CLIEWVAIVWYDASNYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTRLRGWYI EDYGLDVGWGQGTTVTVSS (配列 番号 75) CDR1: GFTFSMY (配列番号 31) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTRLRGWYIEDYGLDV (配列番号 32)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQSISSYLNWYQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRIFSGSGSGTIDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSIP LTFGCGTKVEIK (配列番号 43) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSIPLT (配列番号 39)
AB1085scFv	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AASGFTFGSYGMHWVRQAPGK CLEWVAIVWYDGSNKYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARRFTHLRGQYI EDYGM DVWGQGTTVTVSS (配 列番号 76) CDR1: GFTFGSY (配列番号 33) CDR2: WYDGSN (配列番号 2) CDR3: RFTHLRGQYIEDYGM DV (配列番号 34)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQSISSYLNWYQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRIFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGCGTKVEIK (配列番号 63) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSTPLT (配列番号 6)
コンセンサス 4 (AB1080, AB1081, AB1084, AB1085)	CDR1: GFX₁FX₂X₃Y ここで、X₁が、 T 又は A であり、X₂が、S 又は G であ り、X₃が、S 又は M である (配列番号 35) CDR2: WYDXSN ここで、X が、G、 A、又は E である (配列番号 36) CDR3: RFTX₁LRGX₂X₃IEDYGX₄DV こ こで、X₁が、H、N、又は R であり、X₂ が、W 又は Q であり、X₃が、I 又は Y であり、X₄が、M 又は L である (配列 番号 37)	CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSXPLT ここで、X が、 T 又は I である (配列番号 49)

10

20

30

40

50

【表 8】

AB1424/ AB1612	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AAS GFTFSSY GMHWVRQAPGK GLEWVAVIWYDASN KYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARR FTHLRGQY IEDYGLDV WGQGTTVTVSS (配 列番号 40) CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTHLRGQYIEDYGLDV (配列番号 38)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLN WYQQKPGKAPKL LIYA AASSLQSGVPSR FSGSGSGTD ITLTISSLQPEDFATYYC QQSYSI PLTFGGG TKVEIK (配列番号 41) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSIPLT (配列番号 39)
AB1424/1612 (ジスルフィド架 橋形成のための システインヘテ ロ二量体化変 異を伴う)	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSC AAS GFTFSSY GMHWVRQAPGK CLEWVAVIWYDASN KYYGDSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RDEDTAVYYCARR FTHLRGQY IEDYGLDV WGQGTTVTVSS (配列番号 42) CDR1: GFTFSSY (配列番号 1) CDR2: WYDASN (配列番号 23) CDR3: RFTHLRGQYIEDYGLDV (配列番号 38)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLN WYQQKPGKAPKL LIYA AASSLQSGVPSR FSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSI PLTFGCG TKVEIK (配列番号 43) CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSIPLT (配列番号 39)

【表 9】

AB1424/1612 scFv (VH-VL)	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAAS GFTFSSYGMHWVRQAPGKCL EWVAVI WYDASNK YYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRDED TAVYYCARR FTHLRGQYIEDYGLDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYA AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFAT YYC QQSYSIPLTFGCGTKVEIK (配列番号 44)	
AB 1424/1612 scFv (VL-VH)	EIVLTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YA AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC QQSYSIPL TFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGGGVVP GRSLRLSCAAS GFTFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAVI WYDASNK YYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRDED TAVYYCARR FTHL RGQYIEDYGLDVWGQGTTVTVSS (配列番号 45)	
コンセンサス 5 (AB0369, AB1080, AB1085, AB1424/AB16 12)	CDR1: GFTFXSY ここで、X が、S 又 は G である (配列番号 46) CDR2: WYDXSN ここで、X が、G 又は A である (配列番号 47) CDR3: RFTX ₁ LRGX ₂ X ₃ IEDYGX ₄ DV こ こで、X ₁ が、M 又は H であり、X ₂ が、 L、W、又は Q であり、X ₃ が、I 又は Y であり、X ₄ が、M 又は L である (配列 番号 48)	CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYXPLT ここで、X が、 T 又は I である(配列番号 49)

10

20

30

40

50

【表 10】

コンセンサス 6 (マスターコンセンサス)	CDR1: GX₁X₂FX₃X₄X₅ ここで、X₁が、F 又は E であり、X₂が、T、P、W、又は A であり、X₃が、S 又は G であり、X₄が、S 又は M であり、X₅が、Y 又は S である (配列番号 50) CDR2: WYDXSN ここで、X が、G、A、又は E である (配列番号 51) CDR3: RFTX₁L₁RGX₂X₃IEDYGX₄DV ここで、X₁が、M、H、N、R、Y、又は S であり、X₂が、L、Q、又は W であり、X₃が、I 又は Y であり、X₄が、M 又は L である (配列番号 52)	CDR1: RASQSISSYLN (配列番号 4) CDR2: AASSLQS (配列番号 5) CDR3: QQSYSXPLT ここで、X が、T 又は I である (配列番号 49)
3A1	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSC KASGYTFTSYWMHWVKQRPG QGLEWIGEIDPFDSYTNYNQNF KGKATLTVDKSSSTAYMLLSSL TSDDSAVYYCARERLRLWSYY FDYWGQGTTLTVSS (配列番号 54) CDR1: GYTFTSY (配列番号 80) CDR2: DPFDSY (配列番号 81) CDR3: ERLRLWSYYFDY (配列番号 82)	DVVMQTQTPSLPVSLGDAQASISC RSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKP GQSPKLLIYKVSNRLSGVDPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVY YCFQGSHDPFTFGSGTKLEIK (配列番号 55) CDR1: RSSQSIVHSNGNTYLE (配列番号 83) CDR2: KVSNNRLS (配列番号 84) CDR3: FQGSHDPFT (配列番号 85)
7G4	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSC KASGYTFTSYWMHWVKQRPG QGLEWIGEVDPSDSYTNYNQKF KGKATLTVDKSSSTAYILLNLTS DDSAVYYCARERVRLWSYFF DYWGQGTTLTVSS (配列番号 56) CDR1: GYTFTSY (配列番号 80) CDR2: DPSDSY (配列番号 86) CDR3: ERVRLWSYFFDY (配列番号 87)	DVVMQTQTPSLPVSLGDAQASISC RSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKP GQSPKLLIYKVSNRLSGVDPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVY YCFQGSHDPFTFGSGTKLEIK (配列番号 57) CDR1: RSSQSIVHSNGNTYLE (配列番号 83) CDR2: KVSNNRLS (配列番号 84) CDR3: FQGSHDPFT (配列番号 85)

10

20

30

40

50

【表 1 1】

1B3-A7	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSC VVS GFTFS NYAMSWVRQTPEK RLEWVATIS DGGGY TYYPDSV KGRFTISRDNAKNNIYLQMSHL KSEDTAIYYC ARDDLGGGNYV SSYFDV WGTTTVTVSS (配列番 号 58) CDR1: GFTFSNY (配列番号 88) CDR2: DGGGY (配列番号 89) CDR3: DDLGGGNYVSSYFDV (配 列番号 90)	DVVMQTQTPSLPVS PGDQASISC RSSQSLVHSNGNTYLY WYLQKP GQSPKLLI RVSNRFS GVDPDRFS GSGSGTDFTLKINRVEAEDLG VY FCFQGTHVPLT FGSGTKLELK (配列番号 59) CDR1: RSSQSLVHSNGNTYLY (配 列番号 91) CDR2: RVSNRFS (配列番号 92) CDR3: FQGTHVPLT (配列番号 93)
10H7-C5	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSC AAS GFSFS RYAMSWVRQTPEK RLEWVATIS DGGSY THYRDNV KGRFTISRDNAKNNIYLQMSHL KSEDTAIYYC ARNEMGLYFDY DVYAMDY WGQTSVTVSS (配 列番号 60) CDR1: GFSFSRY (配列番号 94) CDR2: DGGSY (配列番号 95) CDR3: NEMGLYFDYDVYAMDY (配列番号 96)	DIVMTQTPSLPVS SLGDQASISC SSQSLLHSNGNTYLY WYLQKPG QSPKLLI HRVSNRFS GVDPDRFGG SGSGTDFTLKINRVEAEDLG VY FCFQGTHVPWT FGGGTKLEIK (配 列番号 79) CDR1: RSSQSLLHSNGNTYLY (配 列番号 97) CDR2: RVSNRFS (配列番号 92) CDR3: FQGTHVPWT (配列番号 53)

【0095】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、表 1 に開示される抗体の V H と少なくとも 90 % (例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %) と同一であるアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変ドメイン (V H)、及び表 1 に開示される同じ抗体の V H と少なくとも 90 % (例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %) と同一であるアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変ドメイン (V L) を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、Kabat (Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242, Bethesda を参照)、Chothia (例えば、Chothia C & Lesk A M, (1987), J Mol Biol 196:901-917 を参照)、MacCallum (MacCallum R M et al., (1996) J Mol Biol 262:732-745 を参照)、又は、表 1 に開示される抗体の V H 及び V L 配列の、当該技術分野において公知の任意の他の CDR 決定方法で決定される、重鎖 CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 並びに軽鎖 CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、表 1 に開示される抗体の重鎖 CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 及び軽鎖 CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 を含む。

【0096】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、それぞれ配列番号50、配列番号51、及び配列番号52のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVHを含む。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、それぞれ配列番号4、配列番号5、及び配列番号49のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号50、51、及び52のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び49のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0097】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、AB0369に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号77と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVH、及び配列番号63と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号1、2、及び3のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号1、2、及び3のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0098】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、1203__A01に由来する。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号1、2、及び7のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号8、9、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号1、2、及び7のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号8、9、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0099】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、1203__A02に由来する。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号10、2、及び11のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号4、5、及び12のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号10、2、及び11のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び12のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0100】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号1、配列番号2、及び配列番号16のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVHを含む。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、それぞれ配列番号4、配列番号5、及び配列番号6のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号1、2、及び16のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番

号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

【0101】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 0 6 0 5 s c F v に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 6 4 と少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %）同一であるアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 6 3 と少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %）同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 1、2、及び 1 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、（a）それぞれ配列番号 1、2、及び 1 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに（b）それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

10

【0102】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 0 6 0 6 s c F v に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 6 5 と少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %）同一であるアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 6 3 と少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %）同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 1、2、及び 1 4 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、（a）それぞれ配列番号 1、2、及び 1 4 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに（b）それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

20

30

【0103】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 0 6 2 2 s c F v に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 6 6 と少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %）同一であるアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 6 3 と少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %）同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 1、2、及び 1 5 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、（a）それぞれ配列番号 1、2、及び 1 5 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに（b）それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

40

50

【0104】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号21、配列番号2、及び配列番号22のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVHを含む。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、それぞれ配列番号4、配列番号5、及び配列番号6のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号21、2、及び22のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0105】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、AB0679scFvに由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号67のアミノ酸配列と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVH、並びに配列番号63と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号17、2、及び14のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号17、2、及び14のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0106】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、AB0681scFvに由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号68と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVH、及び配列番号63と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号18、2、及び19のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号18、2、及び19のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0107】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、AB0682scFvに由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号69と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVH、及び配列番号63と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVL

を含む。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号20、2、及び14のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号20、2、及び14のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0108】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号20、配列番号23、及び配列番号26のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVHを含む。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、それぞれ配列番号4、配列番号5、及び配列番号6のCDR1、CDR2、及びCDR3アミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号20、23、及び26のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0109】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、AB0898に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号70と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVH、及び配列番号63と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号20、23、及び32のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号20、23、及び32のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0110】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、AB0899に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号71と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVH、及び配列番号63と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施形態において、VHは、それぞれ配列番号20、23、及び24のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、VLは、それぞれ配列番号20、23、及び24のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a)それぞれ配列番号20、23、及び24のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVH；並びに(b)それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含む。

【0111】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、AB0900に由来する。例えば

、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 72 と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 63 と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 20、23、及び 25 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、（a）それぞれ配列番号 20、23、及び 25 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに（b）それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

10

【0112】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 35、配列番号 36、及び配列番号 37 の C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 アミノ酸配列を含む V H を含む。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、それぞれ配列番号 4、配列番号 5、及び配列番号 49 の C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 アミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、（a）それぞれ配列番号 35、36、及び 37 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに（b）それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

20

【0113】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 1080 s c F v に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 73 と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 43 と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 1、23、及び 27 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 39 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、（a）それぞれ配列番号 1、23、及び 27 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに（b）それぞれ配列番号 4、5、及び 39 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

30

【0114】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 1081 s c F v に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 74 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む V H、並びに配列番号 43 と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 28、29、及び 30 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実

40

50

施形態において、V Lは、それぞれ配列番号4、5、及び39のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号28、29、及び30のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV H；並びに(b) それぞれ配列番号4、5、及び39のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV Lを含む。

【0115】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 1 0 8 4 s c F vに由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むV H、並びに配列番号43と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むV Lを含む。特定の実施形態において、V Hは、それぞれ配列番号31、23、及び32のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含む。特定の実施形態において、V Lは、それぞれ配列番号4、5、及び39のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号31、23、及び32のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV H；並びに(b) 配列番号4、5、及び39のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV Lを含む。

【0116】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 1 0 8 5 s c F vに由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号76のアミノ酸配列と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むV H、並びに配列番号63と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含むV Lを含む。特定の実施形態において、V Hは、それぞれ配列番号33、2、及び34のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含む。特定の実施形態において、V Lは、それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号33、2、及び34のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV H；並びに(b) それぞれ配列番号4、5、及び6のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV Lを含む。

【0117】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号46、配列番号47、及び配列番号48のC D R 1、C D R 2、及びC D R 3アミノ酸配列を含むV Hを含む。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、それぞれ配列番号4、配列番号5、及び配列番号49のC D R 1、C D R 2、及びC D R 3アミノ酸配列を含むV Lを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号46、47、及び48のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV H；並びに(b) それぞれ配列番号4、5、及び49のアミノ酸配列を含むC D R 1、C D R 2、及びC D R 3を含むV Lを含む。

【0118】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、A B 1 4 2 4又はA B 1 6 1 2に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号40のアミノ酸配列と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少な

くとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_H、並びに配列番号 41 と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_L を含む。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 42 のアミノ酸配列と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_H、並びに配列番号 43 と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_L を含む。特定の実施形態において、V_H は、それぞれ配列番号 1、23、及び 38 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む。特定の実施形態において、V_L は、それぞれ配列番号 4、5、及び 39 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号 1、23、及び 38 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む V_H；並びに (b) それぞれ配列番号 4、5、及び 39 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む V_L を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、s c F v として存在し、s c F v は、配列番号 44 又は 45 と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0119】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、3A1 に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 54 のアミノ酸配列と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_H、並びに配列番号 55 と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_L を含む。特定の実施形態において、V_H は、それぞれ配列番号 80、81、及び 82 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む。特定の実施形態において、V_L は、それぞれ配列番号 83、84、及び 85 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号 80、81、及び 82 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む V_H；並びに (b) それぞれ配列番号 83、84、及び 85 のアミノ酸配列を含む CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む V_L を含む。

【0120】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、7G4 に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 56 のアミノ酸配列と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_H、並びに配列番号 57 と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む V_L を含む。特定の実施形態において、V_H は、それぞれ配列番号 80、86、及び 87 の

アミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 8 3、8 4、及び 8 5 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号 8 0、8 6、及び 8 7 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに (b) それぞれ配列番号 8 3、8 4、及び 8 5 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

【0121】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、1 B 3 - A 7 に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 5 8 と少なくとも 9 0 % (例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %) 同一であるアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 5 9 と少なくとも 9 0 % (例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %) 同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 8 8、8 9、及び 9 0 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 9 1、9 2、及び 9 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号 8 8、8 9、及び 9 0 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに (b) それぞれ配列番号 9 1、9 2、及び 9 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

【0122】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、1 0 H 7 - C 5 に由来する。例えば、特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、配列番号 6 0 と少なくとも 9 0 % (例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %) 同一であるアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 7 9 と少なくとも 9 0 % (例えば、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、又は 1 0 0 %) 同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。特定の実施形態において、V H は、それぞれ配列番号 9 4、9 5、及び 9 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、V L は、それぞれ配列番号 9 7、9 2、及び 5 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、(a) それぞれ配列番号 9 4、9 5、及び 9 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V H；並びに (b) それぞれ配列番号 9 7、9 2、及び 5 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

【0123】

上記の実施形態のそれぞれにおいて、一緒に B A F F - R に結合する V H 及び／又は V L 配列が、B A F F - R に結合するそれらの能力にあまり影響を与えずに、V H 及び／又は V L のフレームワーク領域内にアミノ酸改変 (例えば、少なくとも 1、2、3、4、5、若しくは 1 0 のアミノ酸置換、欠失、又は付加) を含み得ることが、本明細書において考えられる。

【0124】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、表面プラズモン共鳴 (S P R) によって測定される際 (例えば、以下の実施例 1 に記載される方法を用いて) 又はバイオレイヤー干渉法 (B L I) によって、1 n M 以下、5 n M 以下、1 0 n M 以下、1 5 n M 以下、若しくは 2 0 n M 以下の K_D (すなわち、解離定数) でヒト B A F F - R に結合し、及び／又は対象の体液、組織、及び／若しくは細胞に由来する B A F F - R に結合する。

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、SPRによって測定される際（例えば、以下の実施例1に記載される方法を用いて）又はBLIによって、 1×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-3} 、 5×10^{-3} 、0.01、0.02、又は0.05 $1/s$ 以下の K_d （すなわち、 K_{off} とも呼ばれるオフレート）を有する。

【0125】

特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、表面プラズモン共鳴（SPR）によって測定される際（例えば、以下の実施例1に記載される方法を用いて）又はバイオレイヤー干渉法（BLI）によって、5 nM以下、10 nM以下、15 nM以下、20 nM以下、若しくは30 nM以下の K_D （すなわち、解離定数）でカニクイザルBAFF-Rに結合し、及び／又は対象の体液、組織、及び／若しくは細胞に由来するBAFF-Rに結合する。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、SPRによって測定される際（例えば、以下の実施例1に記載される方法を用いて）又はBLIによって、 1×10^{-3} 、 5×10^{-3} 、0.01、0.02、又は0.03 $1/s$ 以下の K_d （すなわち、 K_{off} とも呼ばれるオフレート）を有する。

【0126】

別の態様において、本発明は、BAFF-R（例えば、ヒトBAFF-R）に対する結合について、上記の抗原結合部位と競合する抗原結合部位を提供する。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、上に開示されるAB1424に由来する抗原結合部位と競合する。一実施形態において、抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、AB1424と競合する。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、上に開示されるヒト化AB1423に由来する抗原結合部位と競合する。一実施形態において、抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、ヒト化AB1424と競合する。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、上に開示されるAB1612に由来する抗原結合部位と競合する。一実施形態において、抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、AB1612と競合する。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、上に開示されるヒト化AB1612に由来する抗原結合部位と競合する。一実施形態において、抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、ヒト化AB1612と競合する。特定の実施形態において、本発明の抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、上に開示されるAB0369、1203__A01、1203__A02、AB0605、AB0606、AB0622、AB0679、AB0681、AB0682、AB0898、AB0899、AB0900、AB1080、AB1081、AB1084、AB1085、3A1、7G4、1B3-A7、又は10H7-C5に由来する抗原結合部位と競合する。ある実施形態において、抗原結合部位は、BAFF-Rに対する結合について、AB0369、1203__A01、1203__A02、AB0605、AB0606、AB0622、AB0679、AB0681、AB0682、AB0898、AB0899、AB0900、AB1080、AB1081、AB1084、AB1085、3A1、7G4、1B3-A7、又は10H7-C5と競合する。

【0127】

抗原結合部位を有するタンパク質

本明細書に開示される抗原結合部位は、抗体又はその抗原結合フラグメント中に存在し得る。抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ダイアボディ、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、又はF(ab')₂フラグメント、Fv、二重特異性抗体、二重特異性Fab₂、二重特異性(mab)₂、ヒト化抗体、人工的に生成されたヒト抗体、二重特異性T細胞エンゲージャー、二重特異性NK細胞エンゲージャー、一本鎖抗体（例えば、一本鎖Fvフラグメント若しくはscFv）、トリオマブ(triomab)、共通の軽鎖を有するノブイントゥーホール(knob-s-in-to-holes)(kih)IgG、クロスマブ、オルト-FabIgG、DVD-Ig、2イン1-IgG、IgG-scFv、sdFv2-Fc、ビーナノボディ、tandAb、二重親和性再標的化抗

体 (DART)、DART-Fc、scFv-HSA-scFv (ここで、HSA=ヒト血清アルブミンである)、又はドックアンドロック (dock-and-lock) (DNL)-Fab3 であり得る。特定の実施形態において、本開示の抗体は、scFv である。特定の実施形態において、scFv は、VH-VL 形式である。

【0128】

ある実施形態において、上記の一本鎖可変断片 (scFv) は、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含む。ある実施形態において、scFv の安定性を増強するために、重鎖可変ドメインは、軽鎖可変ドメインとジスルフィド架橋を形成する。例えば、ジスルフィド架橋は、重鎖可変ドメインの C44 残基と軽鎖可変ドメインの C100 残基との間で形成可能であり、アミノ酸位置は Kabat 下で付番可能である。ある実施形態において、重鎖可変ドメインは、フレキシブルリンカーを介して軽鎖可変ドメインに連結される。任意の好適なリンカーとしては、例えば、(G4S)₄ リンカー ((GlyGlyGlyGlySer)₄ (配列番号 98)) を使用することができる。scFv のある実施形態において、重鎖可変ドメインは、軽鎖可変ドメインの N 末端に位置づけられる。scFv のある実施形態において、重鎖可変ドメインは、軽鎖可変ドメインの C 末端に位置づけられる。

10

【0129】

scFv において、VH 及び VL がリンカー、例えば (GlyGlyGlyGlySer)₄、すなわち (G4S)₄ リンカー (配列番号 98) によって接続され得ることが企図される。当業者であれば、その他の開示されるリンカー (例えば、表 2 を参照されたい) のいずれかを、本明細書 (例えば、表 1) で開示される VH 及び VL 配列を有する scFv において使用できることを理解するであろう。

20

【0130】

リンカー (例えば、フレキシブルリンカー) の長さは、「短い」、例えば、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 若しくは 12 のアミノ酸残基、又は「長い」、例えば、少なくとも 13 のアミノ酸残基であり得る。特定の実施形態において、リンカーは、長さが 10~50、10~40、10~30、10~25、10~20、15~50、15~40、15~30、15~25、15~20、20~50、20~40、20~30、又は 20~25 アミノ酸残基である。

【0131】

特定の実施形態において、リンカーは、(GS)_n (配列番号 109)、(GGS)_n (配列番号 110)、(GGGS)_n (配列番号 111)、(GGSG)_n (配列番号 112)、(GGSGG)_n (配列番号 113)、及び (GGGGS)_n (配列番号 114) 配列 (式中、n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、又は 20 である) を含むか又はそれらからなる。特定の実施形態において、リンカーは、表 2 に列記されたとおり、配列番号 98~108 から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれらからなる。

30

40

50

【表 1 2】

[illegible]

10

20

【 0 1 3 2 】

特定の実施形態において、本明細書に開示される抗原結合部位は、抗体定常領域、例えば、特に、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、及びI g G 4の（例えば、ヒト）重鎖定常領域から選択される；I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g M、I g A 1、I g A 2、I g D、及びI g Eの重鎖定常領域と少なくとも90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%）同一であるアミノ酸配列に連結される。別の実施形態において、本明細書に開示される抗原結合部位は、例えば、κ又はλの（例えば、ヒト）軽鎖定常領域から選択される軽鎖定常領域に連結され得る。定常領域は、抗体の特性を変更するために（例えば、Fc受容体結合、抗体グリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、及び／若しくは補体機能の1つ以上を増加又は減少させるために）改変、例えば、突然変異され得る。一実施形態において、抗体は、エフェクター機能を有し、補体を結合し得る。他の実施形態において、抗体は、エフェクター細胞を動員せず、又は補体を結合しない。別の実施形態において、抗体は、Fc受容体に結合する減少した能力を有するか又はそのような能力を有さない。例えば、それは、Fc受容体に対する結合を補助しない、アイソタイプ又はサブタイプ、フラグメント又は他の突然変異体であり、例えば、それは、突然変異又は欠失したFc受容体結合領域を有する。

30

【 0 1 3 3 】

特定の実施形態において、抗原結合部位は、C H 1 ドメインとともに又はC H 1 ドメインを伴わずに、ヒンジ、C H 2 及びC H 3 ドメインを含むI g G 定常領域に連結される。ある実施形態において、定常領域のアミノ酸配列は、ヒト抗体定常領域、例えば、ヒトI g G 1 定常領域、ヒトI g G 2 定常領域、ヒトI g G 3 定常領域、又はヒトI g G 4 定常領域と少なくとも90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%）同一である。一実施形態において、C D 1 6 に結合するのに十分な抗体F c ドメイン又はその部分は、野生型ヒトI g G 1 F

40

50

c 配列

【化 1】

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号

61)

10

と少なくとも 90% (例えば、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、
少なくとも 94%、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%、又は 100%) 同一であるアミノ酸配列を含む。ある他
の実施形態において、定常領域のアミノ酸配列は、別の哺乳動物、例えば、ウサギ、イヌ
、ネコ、マウス、又はウマに由来する抗体定常領域と少なくとも 90% (例えば、少なく
とも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、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%、又は
100%) 同一である。例えば、Q347、Y349、L351、S354、E356、
E357、K360、Q362、S364、T366、L368、K370、N390、
K392、T394、D399、S400、D401、F405、Y407、K409、
T411 及び／又は K439 において、ヒト IgG1 定常領域と比較して、1 つ以上の突
然変異が、定常領域に組み込まれ得る。例示的な置換としては、例えば、Q347E、Q
347R、Y349S、Y349K、Y349T、Y349D、Y349E、Y349C
、T350V、L351K、L351D、L351Y、S354C、E356K、E35
7Q、E357L、E357W、K360E、K360W、Q362E、S364K、S
364E、S364H、S364D、T366V、T366I、T366L、T366M
、T366K、T366W、T366S、L368E、L368A、L368D、K37
0S、N390D、N390E、K392L、K392M、K392V、K392F、K
392D、K392E、T394F、T394W、D399R、D399K、D399V
、S400K、S400R、D401K、F405A、F405T、Y407A、Y40
7I、Y407V、K409F、K409W、K409D、T411D、T411E、K
439D、及び K439E が挙げられる。

20

30

【0134】

特定の実施形態において、抗原結合部位は、CD16 に結合するのに十分な抗体 Fcド
メインの部分に連結される。Fcドメイン内で、CD16 結合が、ヒンジ領域及び CH2
ドメインによって媒介される。例えば、ヒト IgG1 内で、CD16 との相互作用が、主
に、CH2ドメイン中のアミノ酸残基 Asp 265-Glu 269、Asn 297
-Thr 299、Ala 327-Ile 332、Leu 234-Ser 239
、及び炭水化物残基 N-アセチル-D-グルコサミンに集中している (Sonderma
nn et al., Nature, 406 (6793): 267-273 を参照)。公
知のドメインに基づいて、突然変異が、ファージディスプレイライブラリー若しくは酵母
表面ディスプレイ cDNA ライブラリーを用いることなどによって、CD16 に対する結
合親和性を促進するか又は低下させるように選択され得、又は相互作用の公知の 3 次元構
造に基づいて設計され得る。

40

【0135】

特定の実施形態において、ヒト IgG1 定常領域の CH1 に組み込まれ得る突然変異は
、アミノ酸 V125、F126、P127、T135、T139、A140、F170、
P171、及び／又は V173 において起こり得る。特定の実施形態において、ヒト Ig
G1 定常領域の Cκ に組み込まれ得る突然変異は、アミノ酸 E123、F116、S17
6、V163、S174、及び／又は T164 において起こり得る。

50

【0136】

ある実施形態において、抗体定常ドメインは、IgG抗体、例えば、ヒトIgG1抗体のCH2ドメイン及びCH3ドメインを含む。ある実施形態において、突然変異は、別の抗体定常ドメインによるヘテロ二量体化を可能にするために、抗体定常ドメインに導入される。例えば、抗体定常ドメインが、ヒトIgG1の定常ドメインに由来する場合、抗体定常ドメインは、ヒトIgG1抗体のアミノ酸234～332と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含み得、Q347、Y349、L351、S354、E356、E357、K360、Q362、S364、T366、L368、K370、N390、K392、T394、D399、S400、D401、F405、Y407、K409、T411、及びK439からなる群から選択される1つ以上の位置において異なる。本明細書に開示されるFcドメイン又はヒンジ領域における全てのアミノ酸位置は、EU番号付けにしたがって番号付けされる。

10

【0137】

非対称タンパク質の形成を促進するために、Fcドメインヘテロ二量体化が想定される。ヘテロ二量体化を促進するFcドメインにおける突然変異（例えば、アミノ酸置換）は、例えば、国際出願公開番号国際公開第2019157366号パンフレットに記載され、これは、参照により本明細書に援用されない。

【0138】

上述されるタンパク質は、当業者に周知の組み換えDNA技術を用いて作製され得る。例えば、第1の免疫グロブリン重鎖をコードする第1の核酸配列が、第1の発現ベクターへとクローニングされ得；第2の免疫グロブリン重鎖をコードする第2の核酸配列が、第2の発現ベクターへとクローニングされ得；第1の免疫グロブリン軽鎖をコードする第3の核酸配列が、第3の発現ベクターへとクローニングされ得；第2の免疫グロブリン軽鎖をコードする第4の核酸配列が、第4の発現ベクターへとクローニングされ得；第1、第2、第3及び第4の発現ベクターが、宿主細胞内に一緒に安定的にトランスフェクトされて、多量体タンパク質を生成し得る。

20

【0139】

タンパク質の最高の収率を達成するために、第1、第2、第3及び第4の発現ベクターの様々な比率が、宿主細胞内へのトランスフェクションのための最適な比率を決定するために調査され得る。トランスフェクションの後、単一のクローンが、限界希釈法、ELISA、FACS、顕微鏡法、又はClonepixなどの、当該技術分野において公知の方法を用いて、細胞バンク作成のために単離され得る。

30

【0140】

クローンが、バイオリアクタースケールアップに好適な条件下で培養され、本明細書に開示される抗原結合部位を含むタンパク質の発現のために維持され得る。タンパク質は、遠心分離、深層ろ過、細胞溶解、均質化、凍結融解、親和性精製、ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用交換クロマトグラフィー、及びミックスモードクロマトグラフィーを含む、当該技術分野において公知の方法を用いて単離及び精製され得る。

40

【0141】

したがって、別の態様において、本発明は、上記の抗体のいずれか1つの免疫グロブリン重鎖及び／又は免疫グロブリン軽鎖可変領域をコードする配列を含む1つ以上の単離核酸を提供する。本発明は、上記の抗体のいずれか1つの免疫グロブリン重鎖及び／又は免疫グロブリン軽鎖可変領域を発現する1つ以上の発現ベクターを提供する。同様に、本発明は、上記の発現ベクター及び／又は単離核酸の1つ以上を含む宿主細胞を提供する。

【0142】

特定の実施形態において、抗体は、標準的な結合アッセイ、例えば、表面プラズモン共鳴又はバイオレイヤー干渉法を用いて測定される際、25 nM、20 nM、15 nM、1

50

0 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、3 nM、2 nM、1 nM、0.1 nM又はそれ以下の K_D で、BAFF-Rに結合する。特定の実施形態において、本明細書で開示される抗体は、BAFF-Rに5 nM未満の K_D で結合する。特定の実施形態において、抗体は、対象の体液、組織及び／又は細胞からのBAFF-Rに結合する。特定の実施形態において、本明細書で開示される抗体は、BAFF-RのBAFFへの結合を（例えば、競合結合アッセイにおいて測定される際、少なくとも50%、75%、90%、95%又は99%）阻害（例えば、遮断）する。

【0143】

抗体が、開示される抗体と同じエピトープに結合するかどうか、又は開示される抗体との結合について競合するかどうかを決定するための競合アッセイが、当該技術分野において公知である。例示的な競合アッセイとしては、免疫測定法（例えば、ELISAアッセイ、RIAアッセイ）、表面プラズモン共鳴（例えば、BIACore分析）、バイオレイヤー干渉法、及びフローサイトメトリーが挙げられる。

10

【0144】

典型的に、競合アッセイは、固体表面に結合されるか又は細胞表面上で発現される抗原（例えば、ヒトBAFF-Rタンパク質又はそのフラグメント）、試験BAFF-R結合抗体及び参照抗体の使用を含む。参照抗体は、標識され、試験抗体は、標識されない。競合阻害は、試験抗体の存在下で固体表面又は細胞に結合された標識された参照抗体の量を決定することによって測定される。通常、試験抗体は、過剰に存在する（例えば、1倍、5倍、10倍、20倍又は100倍）。競合アッセイによって識別される抗体（例えば、競合抗体）は、参照抗体と同じエピトープ、又は同様の（例えば、重複する）エピトープに結合する抗体、及び立体障害が起こるように参照抗体によって結合されたエピトープに十分近位である隣接するエピトープに結合する抗体を含む。

20

【0145】

競合アッセイは、標識の存在が、結合を妨げない又は阻害しないことを確実にする両方の方向で行われ得る。例えば、第1の方向において、参照抗体は、標識され、試験抗体は、標識されず、第2の方向において、試験抗体は、標識され、参照抗体は、標識されない。

【0146】

過剰な1つの抗体（例えば、1倍、5倍、10倍、20倍又は100倍）が、例えば、競合結合アッセイにおいて測定される際、少なくとも50%、75%、90%、95%又は99%だけ他の抗体の結合を阻害する場合、試験抗体は、抗原に対する特異的な結合について参照抗体と競合する。

30

【0147】

1つの抗体の結合を減少させるか又はなくす抗原における実質的に全てのアミノ酸突然変異が、他の結合を減少させるか又はなくす場合、2つの抗体が、同じエピトープに結合することが決定され得る。1つの抗体の結合を減少させるか又はなくすアミノ酸突然変異のサブセットのみが、他の結合を減少させるか又はなくす場合、2つの抗体が、重複するエピトープに結合することが決定され得る。

【0148】

本明細書に開示される抗体は、親和性及び／若しくは特異性を含む生化学的特性を改善し、凝集、安定性、沈殿及び／若しくは非特異的相互作用を含む生物物理学的特性を改善し、及び／又は免疫原性を低下させるように、さらに最適化され得る（例えば、親和性成熟される）。親和性－成熟手順は、当業者の技能の範囲内である。例えば、多様性が、DNAシャッフリング、チェーンシャッフリング、CDRシャッフリング、ランダム突然変異誘発及び／又は部位特異的突然変異によって、免疫グロブリン重鎖及び／又は免疫グロブリン軽鎖に導入され得る。

40

【0149】

特定の実施形態において、単離されたヒト抗体は、1つ以上の体細胞突然変異を含む。これらの場合、抗体は、（例えば、生殖細胞系列形成（germlining）と呼ばれ

50

るプロセスによって) 抗体を最適化するように、ヒト生殖細胞系列配列へと修飾され得る。

【0150】

一般に、最適化された抗体は、それが由来する非最適化(又は親)抗体と、少なくとも同じ、又は実質的に同じ、抗原に対する親和性を有する。好ましくは、最適化された抗体は、親抗体と比較したとき、抗原に対するより高い親和性を有する。

【0151】

抗体が、治療薬として使用するためのものである場合、それは、標準的なインビトロ共役化学を用いて、小分子毒素又は放射性核種などのエフェクター剤に共役され得る。エフェクター剤が、ポリペプチドである場合、抗体は、エフェクターに化学的に共役されるか、又は融合タンパク質としてエフェクターに結合され得る。融合タンパク質の構築は、当業者の技能の範囲内である。

【0152】

抗体は、標準的なインビトロ共役化学を用いて、小分子毒素又は放射性核種などのエフェクター部分に共役され得る。エフェクター部分が、ポリペプチドである場合、抗体は、エフェクターに化学的に共役されるか、又は融合タンパク質としてエフェクターに結合され得る。融合タンパク質の構築は、当業者の技能の範囲内である。

【0153】

CAR T細胞、BAFF-R / CD3 指向性二重特異性T細胞エンゲージャー、免疫サイトカイン、抗体-薬物コンジュゲート、及び免疫毒素

本発明の別の態様は、本明細書に開示されるBAFF-Rに結合する抗原結合部位を含む分子又は複合体を提供する。例示的な分子又は複合体としては、限定はされないが、キメラ抗原受容体(CAR)、T細胞エンゲージャー(例えば、BAFF-R / CD3 指向性二重特異性T細胞エンゲージャー)、免疫サイトカイン、抗体-薬物コンジュゲート、及び免疫毒素が挙げられる。

【0154】

本明細書に開示されるBAFF-Rに結合する任意の抗原結合部位が、使用され得る。特定の実施形態において、BAFF-Rに結合する抗原結合部位のVH、VL、及び／又はCDR配列は、表1に示される。特定の実施形態において、BAFF-Rに結合する抗原結合部位は、scFvである。特定の実施形態において、scFvは、配列番号44及び45から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%(例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%) 同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、scFvは、配列番号44及び45から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0155】

特定の実施形態において、分子又は複合体におけるBAFF-Rに結合する抗原結合部位(例えば、CAR、T細胞エンゲージャー、免疫サイトカイン、抗体-薬物コンジュゲート、又は免疫毒素)は、それぞれ配列番号1、23、及び38のアミノ酸配列によって表されるCDR1、CDR2、及びCDR3配列を含む重鎖可変ドメイン; 並びにそれぞれ配列番号4、5、及び39のアミノ酸配列によって表されるCDR1、CDR2、及びCDR3配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、配列番号40又は42のアミノ酸配列と少なくとも90%(例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン; 及び配列番号41又は43のアミノ酸配列と少なくとも90%(例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、配列番号44又は

配列番号 45 と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む s c F v を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 44 と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む s c F v を含む。

【0156】

キメラ抗原受容体（CAR）

特定の実施形態において、本発明は、本明細書に開示される B A F F - R に結合する抗原結合部位（例えば、表 1 を参照）を含む B A F F - R 標的化 CAR を提供する。B A F F - R 標的化 CAR は、F a b フラグメント又は s c F v を含み得る。

【0157】

「キメラ抗原受容体」或いは「CAR」という用語は、少なくとも細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び刺激性分子に由来する機能的シグナル伝達ドメイン（本明細書において「一次シグナル伝達ドメイン」とも呼ばれる）を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む組み換えポリペプチド構築物を指す。

【0158】

したがって、特定の実施形態において、CAR は、本明細書に開示される B A F F - R に結合する細胞外抗原結合部位、膜貫通ドメイン、及び一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。特定の実施形態において、CAR は、少なくとも 1 つの共刺激性分子に由来する 1 つ以上の機能的シグナル伝達ドメイン（本明細書において「共刺激性シグナル伝達ドメイン」とも呼ばれる）をさらに含む。

【0159】

特定の実施形態において、CAR は、細胞外抗原結合ドメインとしての本明細書に開示される B A F F - R に結合する抗原結合部位（例えば、B A F F - R 結合 s c F v）、膜貫通ドメイン、及び一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含む。特定の実施形態において、CAR は、細胞外抗原結合ドメインとしての本明細書に開示される B A F F - R に結合する抗原結合部位（例えば、B A F F - R 結合 s c F v）、膜貫通ドメイン、並びに共刺激性シグナル伝達ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含む。特定の実施形態において、CAR は、細胞外抗原結合ドメインとしての本明細書に開示される B A F F - R に結合する抗原結合部位（例えば、B A F F - R 結合 s c F v）、膜貫通ドメイン、並びに 2 つの共刺激性シグナル伝達ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含む。特定の実施形態において、CAR は、細胞外抗原結合ドメインとしての本明細書に開示される B A F F - R に結合する抗原結合部位（例えば、B A F F - R 結合 s c F v）、膜貫通ドメイン、並びに少なくとも 2 つの共刺激性シグナル伝達ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含む。

【0160】

例えば、特定の実施形態において、細胞外抗原結合ドメインは、それぞれ配列番号 1、23、及び 38 のアミノ酸配列によって表される C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む重鎖可変ドメイン；並びにそれぞれ配列番号 4、5、及び 39 のアミノ酸配列によって表される C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列を含む軽鎖可変ドメインを含む抗原結合部位（例えば、s c F v）を含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、配列番号 40 又は 42 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン；及び配列番号 41 又は 43 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %

、少なくとも94%、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%、又は100%)同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを含む。特定の実施形態において、抗原結合部位は、配列番号44又は配列番号45と少なくとも90%(例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%)同一であるアミノ酸配列を含むs c F vを含む。

10

【0161】

膜貫通ドメインに関して、様々な実施形態において、CARは、CARの細胞外ドメインに融合される膜貫通ドメインを含むように設計される。一実施形態において、膜貫通ドメインは、CAR中のドメインの1つと天然に結合されるものである。ある場合には、膜貫通ドメインは、このようなドメインの、同じか又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインに対する結合を避けて、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限に抑えるために、アミノ酸置換によって選択又は修飾され得る。別の実施形態において、膜貫通ドメインは、CAR T細胞表面上の別のCARとともにホモ二量体化することが可能である。別の実施形態において、膜貫通ドメインのアミノ酸配列は、同じCAR T細胞中に存在する天然の結合パートナーの結合ドメインとの相互作用を最小限に抑えるように、修飾又は置換され得る。

20

【0162】

膜貫通ドメインは、任意の天然の膜結合又は膜貫通タンパクに由来し得る。一実施形態において、膜貫通領域は、CARが標的に結合されたときはいつでも、細胞内ドメインにシグナルを伝達することが可能である。ある実施形態において、膜貫通ドメインは、TCR α 鎖、TCR β 鎖、TCR ζ 鎖、CD28、CD3 ϵ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、BAFF-R、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、及びCD154からなる群から選択される1つ以上のタンパク質の膜貫通領域を含む。ある実施形態において、膜貫通ドメインは、KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKP80(KLRF1)、NKP44、NKP30、NKP46、CD160、CD19、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELP LG(CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D、及びNKG2Cからなる群から選択される1つ以上のタンパク質の膜貫通領域を含む。

30

40

【0163】

細胞外BAFF-R結合ドメイン(例えば、BAFF-R結合s c F vドメイン)ドメインは、ヒンジ領域によって膜貫通ドメインに結合され得る。限定はされないが、ヒトIg(免疫グロブリン)ヒンジ(例えば、IgG4ヒンジ、IgDヒンジ)、Gly-Serリンカー、a(G4S)₄リンカー、KIR2DS2ヒンジ、及びCD8 α ヒンジを含む様々なヒンジが用いられ得る。

【0164】

50

本発明のCARの細胞内シグナル伝達ドメインは、CARが設置された免疫細胞の特殊な機能（例えば、T細胞の、サイトカインの分泌を含む、細胞溶解活性又はヘルパー活性）の少なくとも1つに關与する。したがって、本明細書において使用される際、「細胞内シグナル伝達ドメイン」という用語は、エフェクター機能シグナルを伝達し、特殊な機能を行うように細胞を指向する、タンパク質の部分を目指す。通常、細胞内シグナル伝達ドメイン全体が、用いられ得るが、多くの場合、鎖全体を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインの切断部分が使用される程度まで、このような切断部分は、それがエフェクター機能シグナルを伝達する限り、インタクトな鎖の代わりに使用され得る。したがって、細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、エフェクター機能シグナルを伝達するのに十分な細胞内シグナル伝達ドメインの任意の切断部分を含むことが意図される。

10

【0165】

CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン（すなわち、刺激性分子に由来する機能的シグナル伝達ドメイン）及び1つ以上の共刺激性シグナル伝達ドメイン（すなわち、少なくとも1つの共刺激性分子に由来する機能的シグナル伝達ドメイン）を含む。

【0166】

本明細書において使用される際、「刺激性分子」という用語は、免疫細胞シグナル伝達経路の少なくともいくつかの態様のための刺激性の方法において免疫細胞の活性化を調節する細胞質シグナル伝達配列を提供する、免疫細胞、例えば、T細胞、NK細胞、又はB細胞によって発現される分子を目指す。一実施形態において、シグナルは、例えば、ペプチドが充填されたMHC分子によるTCR／CD3複合体の結合によって開始され、限定はされないが、増殖、活性化、分化などを含む、T細胞応答の媒介をもたらす一次シグナルである。

20

【0167】

刺激性の方法で作用する一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ又はITAMとして知られているシグナル伝達モチーフを含有し得る。本発明における特定の使用のためのものである細胞質シグナル伝達配列を含有するITAMの例としては、CD3 ζ 、共通FcR γ （FCER1G）、Fc γ RIIa、FcR β （Fc ϵ R1b）、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD79a、CD79b、DAP10、及びDAP12に由来するものが挙げられる。一実施形態において、本発明のいずれか1つ以上のCARにおける一次シグナル伝達ドメインは、CD3- ζ に由来する細胞質シグナル伝達配列を含む。

30

【0168】

ある実施形態において、一次シグナル伝達ドメインは、TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD66d、4-1BB、及び／又はCD3- ζ の機能的シグナル伝達ドメインである。一実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 ζ 、共通FcR γ （FCER1G）、Fc γ RIIa、FcR β （Fc ϵ R1b）、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD79a、CD79b、DAP10、及び／又はDAP12の機能的シグナル伝達ドメインを含む。特定の実施形態において、一次シグナル伝達ドメインは、T細胞受容体複合体と結合されたる鎖の機能的シグナル伝達ドメインである。

40

【0169】

本明細書において使用される際、「共刺激性分子」という用語は、共刺激性リガンドと特異的に結合し、それによって、限定はされないが、増殖などの、T細胞による共刺激性応答を媒介するT細胞における同種結合パートナーを目指す。共刺激性分子は、抗原に対するリンパ球の効率的な応答に必要な抗原受容体又はそのリガンド以外の細胞表面分子である。このような分子の例としては、CD27、CD28、4-1BB（CD137）、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1、CD11a／CD18）、CD2、CD7、CD258（LIGHT）、NKG2C、B7-H3、及びCD83に特異的に結合するリガンドなどが挙げられる。このよう

50

な共刺激性分子のさらなる例としては、CD5、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM (LIGHTR)、SLAMF7、Nkp80 (KLRF1)、Nkp44、Nkp30、Nkp46、CD160、CD19、CD4、CD8 α 、CD8 β 、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、及びCD83に特異的に結合するリガンドが挙げられる。ある実施形態において、CARの共刺激性シグナル伝達ドメインは、本明細書に記載される共刺激性分子、例えば、OX40、CD27、CD28、CD30、CD40、PD-1、CD2、CD7、CD258、NKG2C、B7-H3、CD83に結合するリガンド、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS及び4-1BB (CD137)、又はそれらの任意の組合せの機能的シグナル伝達ドメインである。

10

20

【0170】

本明細書において使用される際、「シグナル伝達ドメイン」という用語は、細胞内に情報を伝達して、第2のメッセンジャーを生成することによって、又はこのようなメッセンジャーに応答することによってエフェクターとして機能することによって定義されたシグナル伝達経路を介して細胞活性を調節することによって作用するタンパク質の機能的部分を指す。

【0171】

本発明のCARの細胞質シグナル伝達部分内の細胞質シグナル伝達配列は、ランダムな又は規定の順序で互いに連結され得る。任意に、例えば、2~10アミノ酸長の短いオリゴ又はポリペプチドリンカーが、連結を形成し得る。

【0172】

本発明の別の態様は、本明細書に開示されるBAFF-R標的化CARをコードする核酸を提供する。核酸は、核酸を細胞に導入することによって、エフェクター細胞（例えば、T細胞）内でCARを発現するのに有用である。

【0173】

例えば、コドン縮退表にしたがってコドンの1つ以上を変化させることによって、本発明の同等の又は改善された変異体を生成するために、修飾が、配列内で行われ得る。DNAコドン縮退表は、表3に示される。

30

40

50

【表 1 3】

表 3. アミノ酸コドン			
アミノ酸	1 文字コード	3 文字コード	コドン
アラニン	A	Ala	GCA GCC GCG GCU
システイン	C	Cys	UGC UGU
アスパラギン酸	D	Asp	GAC GAU
グルタミン酸	E	Glu	GAA GAG
フェニルアラニン	F	Phe	UUC UUU
グリシン	G	Gly	GGA GGC GGG GGU
ヒスチジン	H	His	CAC CAU
イソロイシン	I	Iso	AUA AUC AUU
リジン	K	Lys	AAA AAG
ロイシン	L	Leu	UUA UUG CUA CUC CUG CUU
メチオニン	M	Met	AUG
アスパラギン	N	Asn	AAC AAU
プロリン	P	Pro	CCA CCC CCG CCU
グルタミン	Q	Gln	CAA CAG
アルギニン	R	Arg	AGA AGG CGA CGC CGG CGU
セリン	S	Ser	AGC AGU UCA UCC UCG UCU
トレオニン	T	Thr	ACA ACC ACG ACU
バリン	V	Val	GUA GUC GUG GUU
トリプトファン	W	Trp	UGG
チロシン	Y	Tyr	UAC UAU

10

20

30

40

【0 1 7 4】

特定の実施形態において、核酸は、DNA 分子（例えば、cDNA 分子）である。特定の実施形態において、核酸は、CAR コード配列に動作可能に連結された発現制御配列（例えば、プロモーター及び／又はエンハンサー）をさらに含む。特定の実施形態において、本発明は、核酸を含むベクターを提供する。ベクターは、ウイルスベクター（例えば、AAV ベクター、レンチウイルスベクター、又はアデノウイルスベクター）又は非ウイルスベクター（例えば、プラスミド）であり得る。

【0 1 7 5】

特定の実施形態において、核酸は、RNA 分子（例えば、mRNA 分子）である。トランスフェクションに使用するための mRNA を生成するための方法が、特別に設計された

50

プライマーによる鋳型のインビトロ転写、続いて、ポリA付加により、3'及び5'非翻訳配列、5'キャップ及び／又は内部リボソーム侵入部位（IRES）、発現される核酸、及び典型的に50～2000塩基長のポリAテールを含有するRNA構築物を生成することを含み得る。例えば、米国特許第8,278,036号明細書；同第8,883,506号明細書、及び同第8,716,465号明細書に開示されるように、RNA分子は、翻訳効率及び／又は安定性を増加させるためにさらに修飾され得る。このように生成されたRNA分子は、様々な種類の細胞を効率的にトランスフェクトし得る。

【0176】

一実施形態において、核酸は、CARのアミノ末端においてシグナルペプチドを含むアミノ酸配列をコードする。このようなシグナルペプチドは、それがエフェクター細胞内で発現されるとき、CARの細胞表面局在化を促進し得、細胞プロセッシング中にCARから切断される。一実施形態において、核酸は、細胞外BAFF-R結合ドメイン（例えば、BAFF-R結合scFvドメイン）のN末端においてシグナルペプチドを含むアミノ酸配列をコードする。

10

【0177】

RNA又はDNAは、いくつかの様々な方法のいずれか、例えば、限定はされないが、エレクトロポレーション、リポフェクションを用いたカチオン性リポソーム媒介性トランスフェクション、ポリマー封入、ペプチド媒介性トランスフェクション、又は「遺伝子銃」などのバイオリスティック粒子送達システムを含む商業用の方法を用いて、標的細胞内に導入され得る（例えば、Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70(2001)を参照）。

20

【0178】

本発明の別の態様は、BAFF-R標的化CARを発現する免疫エフェクター細胞を提供する。BAFF-R標的化CARをコードする核酸を含む免疫エフェクター細胞も提供される。免疫エフェクター細胞としては、限定はされないが、T細胞及びNK細胞が挙げられる。特定の実施形態において、T細胞は、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、及びNK細胞から選択される。T細胞又はNK細胞は、初代細胞又は細胞株であり得る。

【0179】

免疫エフェクター細胞は、当該技術分野において公知の方法によって、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位由来の組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍を含むいくつかの供給源から得られる。免疫エフェクター細胞はまた、多能性又は多分化能細胞（例えば、造血幹細胞）からインビトロで分化され得る。ある実施形態において、本発明は、BAFF-R標的化CARを発現する（例えば、細胞膜上でCARを発現する）又は本明細書に開示される核酸を含む多能性若しくは多分化能細胞（例えば、造血幹細胞）を提供する。

30

【0180】

特定の実施形態において、免疫エフェクター細胞は、単離及び／又は精製される。例えば、制御性T細胞は、CD25結合リガンドを用いてT細胞集団から除去され得る。チェックポイントタンパク質（例えば、PD-1、LAG-3、又はTIM-3）を発現するエフェクター細胞は、同様の方法によって除去され得る。特定の実施形態において、エフェクター細胞は、正の選択工程によって単離される。例えば、T細胞の集団は、抗CD3／抗CD28共役ビーズを用いたインキュベーションによって単離され得る。IFN- γ 、TNF- α 、IL-17A、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF、IL-10、IL-13、グランザイムB、及びパーフォリンなどの他の細胞表面マーカーも、正の選択に使用され得る。

40

【0181】

免疫エフェクター細胞は、例えば、米国特許第6,352,694号明細書；同第6,534,055号明細書；同第6,905,680号明細書；同第6,692,964号明細書；同第5,858,358号明細書；同第6,887,466号明細書；同第6,905,681号明細書；同第7,144,575号明細書；同第7,067,318号

50

明細書；同第7，172，869号明細書；同第7，232，566号明細書；同第7，175，843号明細書；同第5，883，223号明細書；同第6，905，874号明細書；同第6，797，514号明細書；同第6，867，041；並びに米国特許出願公開第2006/0121005号明細書及び同第2016/0340406号明細書に記載されるように、一般に、当該技術分野において公知の方法を用いて、活性化及び増殖され得る。例えば、特定の実施形態において、T細胞は、T細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で、抗CD3抗体及び抗CD28抗体との接触によって、増殖及び／又は活性化され得る。細胞は、数時間（例えば、約2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、18、21数時間）から約14日間（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14日間）の期間にわたって培養液中で増殖され得る。一実施形態において、細胞は、4～9日間の期間にわたって増殖される。複数サイクルの刺激が、長期の細胞培養（例えば、60日間以上の期間にわたる培養）に望ましい場合がある。特定の実施形態において、細胞培養物は、血清（例えば、ウシ胎児又はヒト血清）、インターロイキン-2（IL-2）、インスリン、IFN- γ 、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGF β 、TNF- α 、又はそれらの組合せを含む。当業者に公知の、細胞の増殖のための他の添加剤、例えば、界面活性剤、プラスマネート（plasmate）、並びにN-アセチル-L-システイン及び2-メルカプトエタノールなどの還元剤も、細胞培養物に含まれ得る。特定の実施形態において、本発明の免疫エフェクター細胞は、インビトロ増殖から得られる細胞である。

10

【0182】

20

BAFF-R標的化CAR（例えば、調節可能なCAR）、CARをコードする核酸、及びCARを発現するか又は核酸を含むエフェクター細胞のさらなる実施形態が、米国特許第7，446，190号明細書及び同第9，181，527号明細書、米国特許出願公開第2016/0340406号明細書及び同第2017/0049819号明細書、並びに国際特許出願公開番号国際公開第2018/140725号パンフレットに示される。

【0183】

BAFF-R／CD3指向性二重特異性T細胞エンゲージャー

特定の実施形態において、本発明は、本明細書に開示されるBAFF-Rに結合する抗原結合部位を含むBAFF-R／CD3指向性二重特異性T細胞エンゲージャーを提供する。特定の実施形態において、BAFF-R／CD3指向性二重特異性T細胞エンゲージャーは、配列番号44及び45から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、サイトカインは、直接又はリンカーを介してFcドメインに結合される。

30

【0184】

特定の実施形態において、BAFF-R／CD3指向性二重特異性T細胞エンゲージャーは、CD3に結合する抗原結合部位をさらに含む。CD3に結合する例示的な抗原結合部位が、国際特許出願公開番号国際公開第2014/051433号パンフレット及び国際公開第2017/097723号パンフレットに開示される。

40

【0185】

本発明の別の態様は、BAFF-R／CD3指向性二重特異性T細胞エンゲージャーの少なくとも1つのポリペプチドをコードする核酸を提供し、ここで、ポリペプチドは、BAFF-Rに結合する抗原結合部位を含む。特定の実施形態において、核酸は、発現されるとき、BAFF-R／CD3指向性二重特異性T細胞エンゲージャーのポリペプチドの1つ以上のN末端にある、シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列をさらに含む。核酸、核酸又はベクターを含む産生細胞、及びBAFF-R／CD3指向性二重特異性T細胞エンゲージャーを発現する産生細胞を含むベクター（例えば、ウイルスベクター）も提供される。

50

【0186】

免疫サイトカイン

特定の実施形態において、本発明は、本明細書に開示されるBAFF-Rに結合する抗原結合部位及びサイトカインを含む免疫サイトカインを提供する。限定はされないが、IL-2、IL-4、IL-10、IL-12、IL-15、TNF、IFN α 、IFN γ 、及びGM-CSFを含む、当該技術分野において公知の任意のサイトカイン（例えば、炎症性サイトカイン）が使用され得る。さらなる例示的なサイトカインが、米国特許第9,567,399号明細書に開示される。特定の実施形態において、抗原結合部位は、化学的結合（例えば、共有又は非共有化学的結合）によってサイトカインに結合される。特定の実施形態において、抗原結合部位は、ポリペプチドの融合によってサイトカインに結合される。免疫サイトカインは、BAFF-Rに結合する抗原結合部位に結合されるFcドメインをさらに含み得る。特定の実施形態において、免疫サイトカインは、配列番号44及び45から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、サイトカインは、直接又はリンカーを介してFcドメインに結合される。

10

【0187】

本発明の別の態様は、免疫サイトカインの少なくとも1つのポリペプチドをコードする核酸を提供し、ここで、ポリペプチドは、BAFF-Rに結合する抗原結合部位を含む。特定の実施形態において、核酸は、発現されるとき、免疫サイトカインのポリペプチドの1つ以上のN末端にある、シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列をさらに含む。核酸、核酸又はベクターを含む産生細胞、及び免疫サイトカインを発現する産生細胞を含むベクター（例えば、ウイルスベクター）も提供される。

20

【0188】

抗体-薬物コンジュゲート

特定の実施形態において、本発明は、本明細書に開示されるBAFF-Rに結合する抗原結合部位及び細胞傷害性薬物部分を含む抗体-薬物コンジュゲートを提供する。例示的な細胞傷害性薬物部分は、国際特許出願公開番号国際公開第2014/160160号パンフレット及び国際公開第2015/143382号パンフレットに開示される。特定の実施形態において、細胞傷害性薬物部分は、アウリスタチン、N-アセチル- γ カリケアミシン、メイタンシノイド、ピロロベンゾジアゼピン、及びSN-38から選択される。抗原結合部位は、化学的結合（例えば、共有又は非共有化学的結合）によって細胞傷害性薬物部分に結合され得る。特定の実施形態において、抗体-薬物コンジュゲートは、BAFF-Rに結合する抗原結合部位に結合されるFcドメインをさらに含む。特定の実施形態において、抗体-薬物コンジュゲートは、配列番号44及び45から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、又は100%）同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞傷害性薬物部分は、直接又はリンカーを介してFcドメインに結合される。

30

40

【0189】

免疫毒素

特定の実施形態において、本発明は、本明細書に開示されるBAFF-Rに結合する抗原結合部位及び細胞傷害性ペプチド部分を含む免疫毒素を提供する。限定はされないが、リシン、ジフテリア（Diphtheria）毒素、及びシュードモナス属（Pseudomonas）外毒素Aを含む、当該技術分野において公知の任意の細胞傷害性ペプチド部分が使用され得る。さらなる例示的な細胞傷害性ペプチドが、国際特許出願公開番号国際公開第2012/154530号パンフレット及び国際公開第2014/164680号パンフレットに開示される。特定の実施形態において、細胞傷害性ペプチド部分は、化

50

学的結合（例えば、共有又は非共有化学的結合）によってタンパク質に結合される。特定の実施形態において、細胞傷害性ペプチド部分は、ポリペプチドの融合によってタンパク質に結合される。免疫毒素は、B A F F - R に結合する抗原結合部位に結合される F c ドメインをさらに含み得る。特定の実施形態において、免疫毒素は、配列番号 44 及び 45 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 90 %（例えば、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、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 %、又は 100 %）同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞傷害性ペプチド部分は、直接又はリンカーを介して F c ドメインに結合される。

【0190】

本発明の別の態様は、免疫毒素の少なくとも 1 つのポリペプチドをコードする核酸を提供し、ここで、ポリペプチドは、B A F F - R に結合する抗原結合部位を含む。特定の実施形態において、核酸は、発現されるとき、免疫毒素のポリペプチドの 1 つ以上の N 末端にある、シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列をさらに含む。核酸を含むベクター（例えば、ウイルスベクター）、核酸又はベクターを含む産生細胞、及び免疫毒素を発現する産生細胞も提供される。

【0191】

II. 治療用組成物及びそれらの使用

本発明は、本明細書に開示される抗原結合部位を含むタンパク質、コンジュゲート、若しくは細胞及び／又は本明細書に記載される医薬組成物を用いて癌又は自己免疫疾患を治療するための方法を提供する。本方法は、それを必要とする患者に、治療有効量の、本明細書に開示される抗原結合部位を含むタンパク質、コンジュゲート、又は細胞を投与することによって、B A F F - R を発現する様々な癌を治療するのに使用され得る。

【0192】

治療方法は、治療対象の癌に応じて特徴づけることができる。治療対象の癌は、癌細胞の表面上に発現される特定抗原、例えば B A F F - R の存在に応じて特徴づけることができる。

【0193】

B A F F - R の発現によって特徴づけられる癌は、限定はされないが、B 細胞非ホジキンリンパ腫（B - N H L）、例えば、慢性リンパ性白血病（C L L）、マントル細胞リンパ腫（M C L）、濾胞性リンパ腫（F L）、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（D L B C L）、辺縁帯リンパ腫、粘膜関連リンパ組織（M A L T）リンパ腫、原発性縦隔 B 細胞リンパ腫、急性リンパ球性白血病（A L L）；及び自己免疫性炎症性疾患を含む。

【0194】

本開示において記載されるタンパク質、コンジュゲート、細胞、及び／又は医薬組成物を使用して、癌細胞又は癌微小環境内の細胞が B A F F - R を発現する場合の癌に限定されない、種々の癌を治療できることが企図される。

【0195】

特定の実施形態において、癌は、固形腫瘍である。特定の他の実施形態において、癌は、脳腫瘍、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、白血病、肺癌、肝臓癌、黒色腫、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、直腸癌、腎臓癌、胃癌、精巣癌、又は子宮癌である。さらに他の実施形態において、癌は、血管新生腫瘍、扁平上皮細胞癌、腺癌、小細胞癌、黒色腫、神経膠腫、神経芽細胞腫、肉腫（例えば、血管肉腫又は軟骨肉腫）、喉頭癌、耳下腺癌、胆道癌、甲状腺癌、末端性黒子性黒色腫、日光角化症、急性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病、腺様嚢胞癌、腺腫、腺肉腫、腺扁平上皮癌、肛門管癌、肛門癌、肛門直腸癌、星細胞系腫瘍、バルトリン腺癌、基底細胞癌、胆道癌、骨肉腫、骨髄癌、気管支癌、気管支腺癌、カルチノイド、胆管癌、軟骨肉腫、脈絡叢乳頭腫／癌腫、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、明細胞癌、結合組織癌、嚢胞腺腫、消化器系癌、十二指腸癌、内分泌系癌、内胚葉洞腫瘍、子宮内膜増殖症、子宮内膜間質肉腫、類内膜腺癌、内皮細胞癌、上衣癌、上皮細胞癌、ユーイング肉腫、眼及び眼窩の癌、女

10

20

30

40

50

性生殖器癌、限局性結節性過形成、胆嚢癌、胃前庭部癌、胃底部癌、ガストリノーマ、膠芽細胞腫、グルカゴノーマ、心臓癌、血管芽腫、血管内皮腫、血管腫、肝腺腫、肝腺腫症、肝胆道癌、肝細胞癌、ホジキン病、回腸癌、インスリノーマ、上皮内新生物、上皮間（interepithelial）扁平上皮新生物、肝内胆管癌、浸潤性扁平上皮細胞癌、空腸癌、関節癌、カボジ肉腫、骨盤癌、大細胞癌、大腸癌、平滑筋肉腫、悪性黒子黒色腫、リンパ腫、男性生殖器癌、悪性黒色腫、悪性中皮腫、髄芽腫、髄様上皮腫、髄膜癌、中皮癌、転移性癌、口腔（mouth）癌、粘表皮癌、多発性骨髄腫、筋肉癌、鼻道癌、神経系癌、神経上皮腺癌、結節型黒色腫、非上皮皮膚癌、非ホジキンリンパ腫、燕麦細胞癌、乏突起膠癌、口腔（oral cavity）癌、骨肉腫、乳頭状漿液性腺癌、陰茎癌、咽頭癌、下垂体部腫瘍、形質細胞腫、偽肉腫、肺芽腫、直腸癌、腎細胞癌、呼吸器系癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、肉腫、漿液性癌、副鼻腔癌、皮膚癌、小細胞癌、小腸癌、平滑筋癌、軟組織癌、ソマトスタチン分泌腫瘍、脊椎癌、扁平上皮細胞癌、横紋筋癌、中皮下（submesothelial）癌、表在拡大型黒色腫、T細胞白血病、舌癌、未分化癌、尿管癌、尿道癌、膀胱癌、泌尿器系癌、子宮頸部癌、子宮体癌、ブドウ膜黒色腫、腫癌、疣贅性癌、ビポーマ、外陰癌、高分化癌、又はウィルムス腫瘍である。

10

【0196】

特定の実施形態において、癌は、血液悪性腫瘍である。特定の実施形態において、血液悪性腫瘍は、白血病である。特定の実施形態において、白血病は、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、骨髄形成異常、骨髄異形成症候群、急性Tリンパ芽球性白血病、又は急性前骨髄球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、又は慢性骨髄性白血病の骨髄芽球危機からなる群から選択される。

20

【0197】

ある実施形態において、本出願は、本明細書に記載のタンパク質及び／又は本明細書に記載の医薬組成物を使用して自己免疫性炎症性疾患を治療するための方法を提供する。本方法を使用して、限定はされないが、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、グレーブス病、橋本甲状腺炎、関節リウマチ、炎症性腸疾患、I型糖尿病、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、乾癬、重症筋無力症、及び血管炎を含む、種々のBAFF-Rを発現するB細胞に関連する自己免疫性炎症性疾患を治療することができる。

【0198】

III. 医薬組成物

30

本出願の別の態様は、組み合わせ療法を提供する。本明細書に記載のタンパク質を追加治療薬と組み合わせ使用して、自己免疫疾患を治療するか又は癌を治療することができる。

【0199】

自己免疫性炎症性疾患の治療における組み合わせ療法の一部として使用することができる例示的な治療薬は、Liet al. (2017) Front. Pharmacol., 8:460に記載されており、例えば、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）（例えば、シクロオキシゲナーゼ-2阻害剤）、グルココルチコイド（例えば、プレドニゾン／プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、並びにデキサメタゾン及びベタメタゾンなどのフッ素化グルココルチコイド）、疾患修飾性抗リウマチ薬（DMARD）（例えば、メトトレキサート、レフルノミド、金化合物、スルファサラジン、アザチオプリン、シクロホスファミド、抗マラリア剤、D-ペニシラミン、及びシクロスポリン）、抗TNF生物製剤（例えば、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、ゴリムマブ、セルトリズマブペゴル、及びそれらのバイオシミラー）、並びにCTLA-4を標的化する他の生物製剤（例えば、アバタセプト）、IL-6受容体（例えば、トシリズマブ）、IL-1（例えば、アナキンラ）、Th1免疫応答（IL-12／IL-23）（例えば、ウステキヌマブ）、Th17免疫応答（IL-17）（例えば、セクキヌマブ）及びCD20（例えば、リツキシマブ）を含む。

40

【0200】

癌を治療する際に組合せ療法の一環として使用され得る例示的な治療剤としては、例え

50

ば、放射線、マイトマイシン、トレチノイン、リボムスチン、ゲムシタビン、ビンクリスチン、エトポシド、クラドリビン、ミトブロニトール、メトトレキサート、ドキソルビシン、カルボクオン、ペントスタチン、ニトラクリン、ジノスタチン、セトロレリクス、レトロゾール、ラルチトレキセド、ダウノルビシン、ファドロゾール、フォテムスチン、チマルファシン、ソブゾキサン、ネダプラチン、シタラビン、ピカルタミド、ビノレルビン、ベスナリノン、アミノグルテチミド、アムサクリン、プログルミド、エリプチニウム酢酸塩、ケタンセリン、ドキシフルリジン、エトレチナート、イソトレチノイン、ストレプトゾシン、ニムスチン、ビンデシン、フルタミド、ドロゲニル、ブトシン、カルモフル、ラゾキサン、シゾフィラン、カルボプラチン、ミトラクトール、テガフル、イホスファミド、ブレドニムスチン、ビシバニール、レバミゾール、テニポシド、インプロスルファン、エノシタビン、リスリド、オキシメトロン、タモキシフェン、プロゲステロン、メピチオスタン、エピチオスタノール、ホルメスタン、インターフェロン- α 、インターフェロン- 2α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- γ (IFN- γ)、コロニー刺激因子-1、コロニー刺激因子-2、デニロイキンジフチトクス、インターロイキン-2、黄体形成ホルモン放出因子、並びにその同種受容体に対する異なる結合、又は増加若しくは減少した血清半減期を示し得る上記の薬剤の変形が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0201】

癌を治療する際に組合せ療法の一環として使用され得るさらなるクラスの薬剤は、免疫チェックポイント阻害剤である。例示的な免疫チェックポイント阻害剤としては、(i) 細胞傷害性T-リンパ球関連抗原4 (CTLA4)、(ii) プログラム細胞死タンパク質1 (PD1)、(iii) PDL1、(iv) LAG3、(v) B7-H3、(vi) B7-H4、及び(vii) TIM3のうちの1つ以上を阻害する薬剤が挙げられる。CTLA4阻害剤イピリムマブは、黒色腫の治療について米国食品医薬品局 (United States Food and Drug Administration) によって承認されている。

【0202】

癌を治療する際に組合せ療法の一環として使用され得るさらに他の薬剤は、非チェックポイント標的を標的とするモノクローナル抗体薬剤 (例えば、ハーセプチン) 及び非細胞傷害性薬 (例えば、チロシンキナーゼ阻害剤) である。

【0203】

抗癌剤のさらに他のカテゴリーは、例えば：(i) ALK阻害剤、ATR阻害剤、A2Aアンタゴニスト、塩基除去修復阻害剤、Bcr-Ablチロシンキナーゼ阻害剤、ブルトン型チロシンキナーゼ阻害剤、CDC7阻害剤、CHK1阻害剤、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤、DNA-PK阻害剤、DNA-PK及びmTORの両方の阻害剤、DNMT1阻害剤、DNMT1阻害剤プラス2-クロロデオキシアデノシン、HDAC阻害剤、ヘッジホッグシグナル伝達経路阻害剤、IDO阻害剤、JAK阻害剤、mTOR阻害剤、MEK阻害剤、MEK阻害剤、MTH1阻害剤、PARP阻害剤、ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤、PARP1及びDHODHの両方の阻害剤、プロテアソーム阻害剤、トポイソメラーゼ-II阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、VEGFR阻害剤、及びWEE1阻害剤から選択される阻害剤；(ii) OX40、CD137、CD40、GITR、CD27、HVEM、TNFRSF25、又はICOSのアゴニスト；並びに(iii) IL-12、IL-15、GM-CSF、及びG-CSFから選択されるサイトカインを含む。

【0204】

本開示のタンパク質はまた、原発病変の外科的除去の補助として使用され得る。

【0205】

タンパク質及びさらなる治療剤の量並びに投与の相対的タイミングは、所望の組合せ治療効果を達成するために選択され得る。例えば、組合せ療法を、このような投与を必要とする患者に投与する場合、組合せにおける治療剤、又は治療剤を含む1つ若しくは複数の医薬組成物が、例えば、連続して、並行して、一緒に、同時になど、任意の順序で投与さ

れ得る。さらに、例えば、タンパク質は、さらなる治療剤が、その予防又は治療効果を及ぼすときに投与され得、又は逆もまた同様である。

【0206】

IV. 医薬組成物

本開示はまた、治療有効量の、本明細書に記載されるタンパク質を含有する医薬組成物を特徴とする。組成物は、様々な薬物送達システムにおいて使用するために製剤化され得る。1つ以上の生理学的に許容される賦形剤又は担体も、適切な製剤のために組成物に含まれ得る。本開示に使用するのに好適な製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985に見出される。薬物送達のための方法の簡潔な概説については、例えば、Langer (Science 249: 1527-1533, 1990)を参照されたい。

10

【0207】

一態様において、本開示は、本明細書に記載されるBAFF-R結合部位を含有するタンパク質、及び薬学的に許容される担体の製剤を提供する。

【0208】

特定の実施形態において、医薬組成物は、配列番号40のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号41のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号42のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号43のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号54のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号55のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号56のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号57のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号59のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号59のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号60のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号79のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパ

20

30

40

50

50

00%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号72のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号63のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号73のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号63のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号74のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号63のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号63のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。特定の実施形態において、製剤は、配列番号76のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、及び配列番号63のアミノ酸配列と少なくとも90% (例えば、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを有する抗原結合部位を含むタンパク質を含む。

10

20

30

【0209】

組成物は、様々な薬物送達システムにおいて使用するために製剤化され得る。1つ以上の生理学的に許容される賦形剤又は担体は、適切な製剤のために組成物に含まれ得る。本開示に使用するのに好適な製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985に見出される。薬物送達のための方法の簡潔な概説については、例えば、Langer (Science 249:1527-1533, 1990) を参照されたい。

【0210】

例えば、本開示は、製剤を形成する緩衝液中に治療有効量のタンパク質を含む水性医薬製剤において存在し得る。水性担体は、注射用滅菌水 (SWFI)、注射用静菌水 (BWFI)、pH緩衝液 (例えばリン酸緩衝生理食塩水)、滅菌生理食塩溶液、リンゲル液又はデキストロス溶液を含み得る。特定の実施形態において、pH緩衝液中に本明細書に開示されるタンパク質を含む水性製剤が調製される。製剤のpHは、典型的に、3~11、より好ましくは、5~9又は6~8、最も好ましくは、7~8、例えば、7~7.5であろう。上に記載されるpHの中間の範囲も、本開示の一部であることが意図される。例えば、上限及び／又は下限として上に記載される値のいずれかの組合せを用いた値の範囲が、含まれることが意図される。pHをこの範囲内に制御する緩衝液の例としては、アセテート (例えば、酢酸ナトリウム)、スクシネート (コハク酸ナトリウムなど)、グルコネート、ヒスチジン、シトレート及び他の有機酸緩衝液が挙げられる。特定の実施形態に

40

50

において、緩衝系は、クエン酸一水和物、クエン酸ナトリウム、リン酸二ナトリウム二水和物、及び／又はリン酸二水素ナトリウム二水和物を含む。特定の実施形態において、緩衝系は、約 1.3 mg/mL のクエン酸（例えば、 1.305 mg/mL ）、約 0.3 mg/mL のクエン酸ナトリウム（例えば、 0.305 mg/mL ）、約 1.5 mg/mL のリン酸二ナトリウム二水和物（例えば 1.53 mg/mL ）、約 0.9 mg/mL のリン酸二水素ナトリウム二水和物（例えば、 0.86 ）、及び約 6.2 mg/mL の塩化ナトリウム（例えば、 6.165 mg/mL ）を含む。特定の実施形態において、緩衝系は、 $1 \sim 1.5 \text{ mg/mL}$ のクエン酸、 $0.25 \sim 0.5 \text{ mg/mL}$ のクエン酸ナトリウム、 $1.25 \sim 1.75 \text{ mg/mL}$ のリン酸二ナトリウム二水和物、 $0.7 \sim 1.1 \text{ mg/mL}$ のリン酸二水素ナトリウム二水和物、及び $6.0 \sim 6.4 \text{ mg/mL}$ の塩化ナトリウムを含む。液体製剤の pH は、薬学的に許容される酸及び／又は塩基の添加によって設定され得る。特定の実施形態において、薬学的に許容される酸は、塩酸であり得る。特定の実施形態において、塩基は、水酸化ナトリウムであり得る。

10

【0211】

ある実施形態において、製剤は、薬学的に許容され（ヒトへの投与のために安全及び非毒性である）、液体製剤の調製のために有用である水性担体を含む。例示的な担体としては、注射用滅菌水（SWFI）、注射用静菌水（BWFI）、pH 緩衝液（例えば、リン酸緩衝生理食塩水）、滅菌生理食塩溶液、リンゲル液又はデキストロース溶液が挙げられる。

【0212】

等張化剤（tonicifier）として作用し、抗体を安定させ得るポリオールも、製剤に含まれ得る。ポリオールは、製剤の所望の等張性に関して変化し得る量で製剤に加えられる。特定の実施形態において、水性製剤は、等張であり得る。加えられるポリオールの量も、ポリオールの分子量に関して改変され得る。例えば、二糖（トレハロースなど）と比較してより少ない量の単糖（例えば、マンニトール）が加えられ得る。特定の実施形態において、等張化剤として製剤において使用され得るポリオールは、マンニトールである。特定の実施形態において、マンニトール濃度は、約 $5 \sim 20 \text{ mg/mL}$ であり得る。特定の実施形態において、マンニトールの濃度は、約 $7.5 \sim 15 \text{ mg/mL}$ であり得る。特定の実施形態において、マンニトールの濃度は、約 $10 \sim 14 \text{ mg/mL}$ であり得る。特定の実施形態において、マンニトールの濃度は、約 12 mg/mL であり得る。特定の実施形態において、ポリオールソルビトールが、製剤に含まれ得る。

20

30

【0213】

洗浄剤又は界面活性剤も、製剤に加えられ得る。例示的な洗浄剤としては、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート 20、80 など）又はポロキサマー（例えば、ポロキサマー 188）などの非イオン性洗浄剤が挙げられる。加えられる洗浄剤の量は、それが、製剤化される抗体の凝集を減少させ、及び／又は製剤中の粒子状物質の形成を最小限に抑え、及び／又は吸着を減少させるような量である。特定の実施形態において、製剤は、ポリソルベートである界面活性剤を含み得る。特定の実施形態において、製剤は、洗浄剤ポリソルベート 80 又は Tween 80 を含有し得る。Tween 80 は、ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレートを表すのに使用される用語である（Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4th ed., 1996 を参照）。特定の実施形態において、製剤は、約 $0.1 \text{ mg/mL} \sim 10 \text{ mg/mL}$ のポリソルベート 80、又は約 $0.5 \text{ mg/mL} \sim 5 \text{ mg/mL}$ を含有し得る。特定の実施形態において、約 0.1% のポリソルベート 80 が、製剤に加えられ得る。

40

【0214】

特定の実施形態において、本開示の液体製剤は、安定させるレベルで糖と組み合わせて 10 mg/mL の濃度の溶液として調製され得る。特定の実施形態において、液体製剤は、水性担体中で調製され得る。特定の実施形態において、安定剤が、静脈内投与に望ましくない又は適していない粘度をもたらし得る量以下の量で加えられ得る。特定の実施形態

50

において、糖は、二糖、例えば、スクロースであり得る。特定の実施形態において、液体製剤は、緩衝剤、界面活性剤、及び細菌作用を低下させるために本明細書において製剤に加えられる防腐剤のうちの1つ以上も含み得る。防腐剤の添加は、例えば、複数回使用（複数回投与）製剤の製造を促進し得る。

【0215】

ある実施形態において、本開示は、マンニトール、クエン酸一水和物、クエン酸ナトリウム、リン酸二ナトリウム二水和物、リン酸二水素ナトリウム二水和物、塩化ナトリウム、ポリソルベート80、水、及び水酸化ナトリウムと組み合わせて、本開示のタンパク質を含む、長期の貯蔵寿命を有する製剤を提供する。

【0216】

脱アミド化は、発酵、収集／細胞清澄化、精製、製剤原料／薬物製品貯蔵中、及び試料分析中に生じ得るペプチド及びタンパク質の一般的な生成物変異である。脱アミド化は、加水分解を起こし得るスクシンイミド中間体を形成するタンパク質からのNH₃の喪失である。スクシンイミド中間体は、親ペプチドの17ダルトン質量減少をもたらす。その後の加水分解は、18ダルトン質量増加をもたらす。スクシンイミド中間体の単離は、水性条件下での不安定性のため難しい。したがって、脱アミド化は、典型的に、1ダルトン質量増加として検出可能である。アスパラギンの脱アミド化は、アスパラギン酸又はイソアスパラギン酸のいずれかをもちたす。脱アミド化の速度に影響を与えるパラメータは、pH、温度、溶媒誘電率、イオン強度、一次配列、局所的なポリペプチド構造及び三次構造を含む。ペプチド鎖中のAsnに隣接するアミノ酸残基は、脱アミド化速度に影響を与える。タンパク質配列中のAsnの後のGly及びSerは、脱アミド化に対するより高い感受性をもたらす。特定の実施形態において、本開示の液体製剤は、タンパク質産物の脱アミノ化を防ぐpH及び湿度の条件下で保存され得る。

【0217】

ある実施形態において、製剤は、凍結乾燥製剤である。特定の実施形態において、製剤は、フリーズドライ（凍結乾燥）され、約12～60個のバイアルに含まれる。特定の実施形態において、製剤は、凍結乾燥され、45mgのフリーズドライ製剤が、1つのバイアルに含まれ得る。特定の実施形態において、約40mg～約100mgのフリーズドライ製剤が、1つのバイアルに含まれる。特定の実施形態において、12、27、又は45個のバイアルフリーズドライ製剤が組み合わされて、静脈内薬物製剤中の治療用量のタンパク質が得られる。製剤は、液体製剤であり得る。ある実施形態において、液体製剤は、約250mg／バイアルから約1000mg／バイアルとして貯蔵される。特定の実施形態において、液体製剤は、約600mg／バイアルとして貯蔵される。特定の実施形態において、液体製剤は、約250mg／バイアルとして貯蔵される。

【0218】

ある実施形態において、凍結乾燥製剤は、本明細書に記載されるタンパク質及び凍結乾燥保護剤を含む。凍結乾燥保護剤は、糖、例えば、二糖であり得る。特定の実施形態において、凍結乾燥保護剤は、スクロース又はマルトースであり得る。凍結乾燥製剤は、緩衝剤、界面活性剤、増量剤、及び／又は防腐剤のうちの1つ以上も含み得る。凍結乾燥薬物製品の安定化に有用なスクロース又はマルトースの量は、少なくとも1：2のタンパク質対スクロース又はマルトースの重量比であり得る。特定の実施形態において、タンパク質対スクロース又はマルトースの重量比は、1：2～1：5であり得る。

【0219】

特定の実施形態において、製剤のpHは、凍結乾燥の前に、薬学的に許容される酸及び／又は塩基の添加によって設定され得る。特定の実施形態において、薬学的に許容される酸は、塩酸であり得る。特定の実施形態において、薬学的に許容される塩基は、水酸化ナトリウムであり得る。凍結乾燥の前に、本開示のタンパク質を含有する溶液のpHは、6～8で調整され得る。特定の実施形態において、凍結乾燥薬物製品のpH範囲は、7～8であり得る。

【0220】

特定の実施形態において、「増量剤」が、加えられ得る。「増量剤」は、凍結乾燥混合物に質量を追加し、凍結乾燥ケーキの物理的構造に寄与する（例えば、開放孔構造を維持する実質的に均一な凍結乾燥ケーキの生成を促進する）化合物である。例示的な増量剤としては、マンニトール、グリシン、ポリエチレングリコール及びソルビトールが挙げられる。本開示の凍結乾燥製剤は、このような増量剤を含有し得る。

【0221】

特定の実施形態において、凍結乾燥タンパク質製品は、水性担体とともに構成される。本明細書における対象とする水性担体は、薬学的に許容され（例えば、ヒトへの投与のために安全及び非毒性である）、凍結乾燥の後、液体製剤の調製に有用であるものである。例示的な希釈剤としては、注射用滅菌水（SWFI）、注射用静菌水（BWFI）、pH 緩衝液（例えば、リン酸緩衝生理食塩水）、滅菌生理食塩溶液、リンゲル液又はデキストロース溶液が挙げられる。特定の実施形態において、本開示の凍結乾燥薬物製品は、注射用滅菌水、USP（SWFI）又は0.9%の塩化ナトリウム注射液、USPのいずれかで再構成される。再構成中、凍結乾燥粉末は、溶液へと溶解する。特定の実施形態において、本開示の凍結乾燥タンパク質製品は、約4.5 mLの注射用水へと構成され、0.9%の生理食塩溶液（塩化ナトリウム溶液）で希釈される。

【0222】

タンパク質組成物は、従来の滅菌技術によって滅菌され得、又は滅菌ろ過され得る。得られた水溶液は、そのまま、又は凍結乾燥されて、使用のために包装され得、凍結乾燥製剤は、投与の前に、滅菌水性担体と組み合わせられる。固体形態の得られた組成物は、複数の単回用量ユニット中に包装され得、それぞれ、一定量の上記の1つ又は複数の薬剤を含有する。固体形態の組成物はまた、フレキシブルな量のために容器中に包装され得る。

【0223】

本開示の医薬組成物中の有効成分の実際の投与量レベルは、患者に毒性であることなく、特定の患者、組成、及び投与方法のための所望の治療反応を達成するのに有効な有効成分の量を得るように変化され得る。

【0224】

特定の用量は、各患者について均一な用量、例えば、50～5000 mgのタンパク質であり得る。或いは、患者の用量は、患者のおよその体重又は表面積に合わせて調整され得る。適切な投与量を決定する際の他の要因は、治療若しくは予防される疾患若しくは病態、疾患の重症度、投与経路、並びに患者の年齢、性別及び医学的状态を含み得る。治療のための適切な投与量を決定するのに必要な計算のさらなる精密化は、特に、本明細書に開示される投与量情報及びアッセイを考慮して、当業者によって日常的に行われる。投与量はまた、適切な用量反応データとともに使用される投与量を決定するための公知のアッセイの使用によって決定され得る。個々の患者の投与量は、疾患の経過が監視されるにつれて調整され得る。患者における標的化可能な構築物又は複合体の血中濃度は、投与量が有効濃度に到達するか又はそれを維持するように調整される必要があるかどうかを調べるために測定され得る。薬理ゲノミクスを用いて、どの標的化可能な構築物及び／又は複合体、並びにその投与量が、所与の個体にとって有効である可能性が最も高いかを決定し得る（Schmitz et al., Clinica. Chimica. Acta. 308:43-53, 2001; Steimer et al., Clinica. Chimica. Acta. 308:33-41, 2001）。

【0225】

一般に、体重に基づく投与量は、約0.01 µg～約100 mg/kg体重、例えば、約0.01 µg～約100 mg/kg体重、約0.01 µg～約50 mg/kg体重、約0.01 µg～約10 mg/kg体重、約0.01 µg～約1 mg/kg体重、約0.01 µg～約100 µg/kg体重、約0.01 µg～約50 µg/kg体重、約0.01 µg～約10 µg/kg体重、約0.01 µg～約1 µg/kg体重、約0.01 µg～約0.1 µg/kg体重、約0.1 µg～約100 mg/kg体重、約0.1 µg～約50 mg/kg体重、約0.1 µg～約10 mg/kg体重、約0.1 µg～約1 mg/kg

g 体重、約 0.1 μ g $\sim$ 約 100 μ g / kg 体重、約 0.1 μ g $\sim$ 約 10 μ g / kg 体重、約 0.1 μ g $\sim$ 約 1 μ g / kg 体重、約 1 μ g $\sim$ 約 100 mg / kg 体重、約 1 μ g $\sim$ 約 50 mg / kg 体重、約 1 μ g $\sim$ 約 10 mg / kg 体重、約 1 μ g $\sim$ 約 1 mg / kg 体重、約 1 μ g $\sim$ 約 100 μ g / kg 体重、約 1 μ g $\sim$ 約 50 μ g / kg 体重、約 1 μ g $\sim$ 約 10 μ g / kg 体重、約 10 μ g $\sim$ 約 100 mg / kg 体重、約 10 μ g $\sim$ 約 50 mg / kg 体重、約 10 μ g $\sim$ 約 1 mg / kg 体重、約 10 μ g $\sim$ 約 100 μ g / kg 体重、約 10 μ g $\sim$ 約 50 μ g / kg 体重、約 50 μ g $\sim$ 約 100 mg / kg 体重、約 50 μ g $\sim$ 約 50 mg / kg 体重、約 50 μ g $\sim$ 約 10 mg / kg 体重、約 50 μ g $\sim$ 約 1 mg / kg 体重、約 50 μ g $\sim$ 約 100 μ g / kg 体重、約 100 μ g $\sim$ 約 100 mg / kg 体重、約 100 μ g $\sim$ 約 50 mg / kg 体重、約 100 μ g $\sim$ 約 10 mg / kg 体重、約 100 μ g $\sim$ 約 1 mg / kg 体重、約 1 mg $\sim$ 約 100 mg / kg 体重、約 1 mg $\sim$ 約 50 mg / kg 体重、約 1 mg $\sim$ 約 10 mg / kg 体重、約 10 mg $\sim$ 約 100 mg / kg 体重、約 10 mg $\sim$ 約 50 mg / kg 体重、約 50 mg $\sim$ 約 100 mg / kg 体重である。用量は、1日に、週に、月に又は年に1回以上、或いは2 $\sim$ 20年に1回与えられ得る。当業者は、体液又は組織中の標的化可能な構築物又は複合体の測定された滞留時間及び濃度に基づいて、投与の反復率を容易に推定することができる。本開示の投与は、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、胸膜内、髄腔内、腔内、カテーテルを通したかん流によって又は直接病巣内注射によって行われ得る。これは、1日1回以上、週に1回以上、月に1回以上、及び年に1回以上投与され得る。

10

【0226】

20

上記の説明は、本開示の複数の態様及び実施形態を説明する。本出願は、態様及び実施形態の全ての組合せ及び置換を特に想定している。

【0227】

本明細書全体を通して、組成物が、特定の成分を有する、含む (including)、若しくは含む (comprising) と記載される場合、又はプロセス及び方法が、特定の工程を有する、含む (including)、若しくは含む (comprising) と記載される場合、さらに、記載される成分から本質的になる、又はそれからなる、本開示の組成物があること、並びに記載される処理工程から本質的になる、又はそれからなる本開示に係るプロセス及び方法があることが考えられる。

【0228】

30

本出願において、要素又は成分が、含まれるか、及び／又は記載される要素若しくは成分のリストから選択されると記載される場合、要素又は成分は、記載される要素若しくは成分のいずれか1つであり得るか、又は要素又は成分は、記載される要素又は成分の2つ以上からなる群から選択され得ることが理解されるべきである。

【0229】

さらに、本明細書に記載される組成物又は方法の要素及び／又は特徴が、本明細書において明示されているか又は黙示されているかにかかわらず、本開示の趣旨及び範囲から逸脱せずに、様々な方法で組み合わせられ得ることが理解されるべきである。例えば、特定の化合物が言及される場合、その化合物は、文脈から他の形で理解されない限り、本開示の組成物の様々な実施形態において、及び／又は本開示の方法において使用され得る。言い換えると、本出願内で、実施形態は、明白な及び簡潔な出願が記載され、描かれるのを可能にするように記載され、示されているが、その実施形態が、本発明の教示及び開示から逸脱せずに、様々な組み合わせられるか又は分離され得ることが意図され、理解されるであろう。例えば、本明細書に記載され、示される全ての特徴が、本明細書に記載され、示される本開示の全ての態様に適用可能であり得ることが理解されるであろう。

40

【0230】

「の少なくとも1つ」という表現が、文脈及び使用から他の形で理解されない限り、その表現の後の記載される対象物のそれぞれを個々に、及び記載される対象物の2つ以上の様々な組合せを含むことが理解されるべきである。3つ以上の記載される対象物に関連する「及び／又は」という表現は、文脈から他の形で理解されない限り、同じ意味を有する

50

ことが理解されるべきである。

【0231】

「含む (include)」、「含む (includes)」、「含む (including)」、「有する (have)」、「有する (has)」、「有する (having)」、「含有する (contain)」、「含有する (contains)」、又は「含有する (containing)」という用語（それらの文法的な同等語を含む）の使用は、特に記載されない限り、又は文脈から他の形で理解されない限り、一般に、オープンエンドであり、非限定的であり、例えば、記載されていないさらなる要素又は工程を除外しないことが理解されるべきである。

【0232】

「約」という用語の使用が、定量的な値の前にある場合、本開示は、特に記載されない限り、特定の定量的な値自体も含む。本明細書において使用される際、「約」という用語は、特に示されるか又は示唆されない限り、公称値からの±10%の変動を指す。

【0233】

本開示が動作可能なままである限り、工程の順序又は特定の動作を行う順序は、重要でないことが理解されるべきである。さらに、2つ以上の工程又は動作が、同時に行われ得る。

【0234】

例えば「など」又は「を含む」のありとあらゆる例、又は本明細書中の例示的用語の使用は、あくまで本開示をより十分に例示することが意図され、主張されない限り、本開示の範囲に対する制限を設けない。本明細書中の用語のいずれも、本開示の実施に必須なものとして任意の主張されない要素を示すように解釈されるべきでない。

【実施例】

【0235】

ここで一般に説明されている本開示は、あくまで本開示の特定の態様及び実施形態の例示を目的として含まれ、本開示の範囲を限定することが決して意図されない、以下の実施例を参照することによって、より容易に理解されるであろう。

【0236】

実施例1. B A F F - R 結合 m A b の作製及び特徴づけ

本実施例は、B A F F - R のバインダーを同定するために実施された2つの抗体の発見キャンペーンについて記載する。酵母ディスプレイ技術、複数ラウンドの親和性成熟（注目の C D R H 3、及び注目の C D R H 1 / C D R H 2）、配列易障害性 (sequence liability) の補正、オフレート圧力最適化及び部位特異的突然変異誘発を用いて、さらなる発現のために1つのバインダーを選択し、生物学的特性を改善した。これらの試験では、バインダー A B 1 6 1 2 / A B 1 4 2 4 を、生物製剤候補にとって適切な特性を示し、さらに重要なことに、B A F F - R - B A F F 相互作用を阻害する能力を示すバインダーとして同定した（図1に示す）。

【0237】

組換えタンパク質の免疫方法

B A F F - R に特異的な抗体を、マウスの4つの異なる株 (H 2 L 2、N Z B W、B A L B - C、及び S J L / J) を h B A F F - R - h F c - H i s 融合タンパク質で免疫することによって作製した。ハイブリドーマ融合のために、抗血清力価に基づき、4つの異なる株を通じて全部で7匹のマウスを選択した。免疫ライブラリー作成のために、各免疫アームからのマウスのサブセットからの脾細胞を貯蔵したが；酵母ディスプレイ m A b 発見のために、H 2 L 2 マウスからの脾細胞のみを使用した。

【0238】

5つのマウス融合体（マウス2匹からの脾細胞を H 2 L 2 融合のためにプールし、マウス2匹からの脾細胞を S J L / J 融合のためにプールした）から、ハイブリドーマ融合体につき16の96ウェルプレートを、特異性 E L I S A によって分析し、ここでヒト及びカニクイザル B A F F - R - h F c - H i s への結合と無関係 h F c - H i s タンパク質

10

20

30

40

50

への結合とを比較した。さらなる分析のために、33のBAFF-R陽性の特異的なハイブリドーマからの上清を選択した。上清をBAFF-R+同質遺伝子CHO細胞に対する結合について試験し、16の陽性ハイブリドーマをさらにサブクローニングした。サブクローンからの上清を、上記のような特異性ELISAによって分析し、20のBAFF-R陽性の特異的なサブクローンを、BAFF-R+細胞に対する結合について試験した。9つのサブクローンmAbは、BAFF-R+細胞に対する強力な結合を示し、配列決定した。6つの特有の配列を得て、対応するmAbを、それらのBAFF-R-BAFF相互作用を遮断する能力について、細胞ベースのアッセイにおいてさらに分析した。

【0239】

ビオチン化BAFFのBAFF-R+CHO細胞への結合を、6つのBAFF-Rに特異的なmAb又はアイソタイプ対照mAbの非存在下又は存在下で試験した。抗体の存在下での平均蛍光強度(MFI)の低下は、mAbがBAFFのBAFF-Rへの結合の会合を阻害する(それ故、遮断抗体と名付けた)ことを示唆した。試験した全てのクローンは、BAFFのBAFF-R+細胞への結合を阻害せず、故に6つ全てを非遮断抗体と名付けた(図2)。

【0240】

DNA免疫方法

SWR/Jマウスの2群のDNA免疫をそれぞれ実施した。一方の群を全長ヒトBAFF-R cDNA構築物で免疫し、他方を全長ヒトBAFF-R cDNA構築物とヒトBAFF-R細胞外ドメインcDNA構築物との混合物で免疫した。抗血清力価に基づき、マウスをプールし、その後、単一B細胞選別のために選択し、別のプールをハイブリドーマ融合のために使用した。

【0241】

単一B細胞選別に注力したことで、44のヒト及びカニクイザルの交差反応性クローンが得られた。これらのクローンを配列決定し、293細胞内で一過性発現させ、精製mAbの特異性を、hBAFF-R⁺、cytoBAFF-R⁺同質遺伝子CHO細胞への結合と親細胞株への結合とを比較するフローサイトメトリーによって分析した。8つのバインダーを精製し、BAFF-Rに結合し、且つBAFF-R-BAFF相互作用を遮断するそれらの能力についてさらに分析した。8つ全てのクローンが、遮断しないことが判定され、hBAFF-R⁺癌細胞に対する弱い親和性が実証された。

【0242】

伝統的なハイブリドーマ手法によって得られたクローンの特異性を、フローサイトメトリーによって分析した。以下の評価を実施した：a) 全長ヒトBAFF-R又はヒトBAFF-R細胞外ドメインのいずれかを発現する細胞への結合を、非トランスフェクト親細胞への結合と比較した；b) hBAFF-R⁺及びcytoBAFF-R⁺同質遺伝子細胞への結合を、親細胞への結合と比較した；c) hBAFF-R⁺癌細胞への結合。25の陽性ハイブリドーマ融合体を同定し、結合強度に基づき、14のハイブリドーマ融合体を配列決定した。5つの特有の配列を得て、BAFF-R⁺細胞に結合し、且つBAFF-R-BAFF相互作用を遮断するそれらの能力について分析した。5つ全部のクローンが非遮断性のクローンであることが判定されたが(図3A~3D)、5つのクローンの内の4つ(クローン3A1、1B3-A7、7G4及び10H7-C5)がhBAFF-Rに対する良好な親和性を示した。

【0243】

酵母ライブラリーから発見されたBAFF-Rに特異的なscFv

酵母ディスプレイを使用して、上記のとおり、組換えヒトhBAFF-R-hFc-Hisタンパク質で免疫したヒト化H2L2マウスから得られた脾細胞からscFvライブラリーを構築した。選択の3ラウンドを、5nMのビオチン化hBAFF-R-hFc-Hisを用いて実施した。個別の酵母コロニーを採取し、配列決定し、配列を分析した。ネガティブ選択を実施して、非特異的なバインダーを除去した。配列収束は、選択プロセスがバインダーの濃縮に成功し、それ故、完了することを示した。さらなる特徴づけのた

10

20

30

40

50

めに、特有の配列を選択した。3つのBAFF-Rに特異的なscFvを1つのライブラリーから発見した(表4)。しかし、これらの配列は、互いに酷似し、それ故、さらなる試験のために、配列1129__A01(AB0369scFvとも称される)のみを選択した。

【表14】

表4. 酵母ライブラリーから発見されたBAFF-RバインダーのCDR配列

クローンID	CDRH1	CDRH2	CDRH3	CDRL1	CDRL2	CDRL3
1129_A01 (AB0369 scFv)	GFTFSSY (配列番号 1)	WYDGSN (配列番号 2)	RFTMLRGLIEDYGMDV (配列番号3)	RASQSISSYLN (配列番号4)	AASSLQS (配列番号 5)	QQSYSTPLT (配列番号6)
1203_A01	GFTFSSY (配列番号 1)	WYDGSN (配列番号 2)	RFTMLRGVFIEDYGMDV (配列番号7)	RASQSVSSNLA (配列番号8)	GASTRAT (配列番号 9)	QQSYSTPLT (配列番号6)
1203_A02	GFTFSTY (配列番号 10)	WYDGSN (配列番号 2)	RNTMVRGVIEDYGMDV (配列番号11)	RASQSISSYLN (配列番号4)	AASSLQS (配列番号 5)	QQSYSSPLT (配列番号12)

10

【0244】

フローサイトメトリーを使用して、AB0369scFvの、hFcタグ又はGSTタグを有する一方で酵母上に提示される、hBAFF-R-hFc-His、hBAFF-R-GST-His、並びに陰性対照タンパク質への結合の特異性を評価した。AB0369scFvは、hBAFF-Rに対して中程度の～弱い親和性を示したが；陰性対照に対する結合を示さなかったことから、BAFF-Rに対する高い特異性が示唆された(図4A～4E)。

20

【0245】

1129__A01(AB0369scFv)を、scFv、及び2つの非BAFF-Rバインダーを含む多特異的結合タンパク質に転化し、AB0369を得た。AB0369を、ヒト(hBAFF-R-CHO)BAFF-R⁺細胞(図5A)及びカニクイザル(cBAFF-R-CHO)BAFF-R⁺細胞(図5B)に結合し、多特異性試薬(PSR)アッセイによると非特異的相互作用を欠き(図6A、図6B)、BAFF-R⁺Ra

30

mos癌細胞を溶解し(図7及び表5)、BAFF-BAFF-R相互作用を遮断する(図8)その能力についてさらに分析した。AB0369は、同質遺伝子CHO細胞の表面上のヒト及びカニクイザルBAFF-Rの両方に結合し、BAFF-Rの結合において、EC₅₀は約10nMであり、そのことがさらなる発現にとっての良好な選択になった。

【表15】

表5. KHYG-I-CD16aV細胞傷害性アッセイにおけるAB0369の効力。

分子	EC ₅₀ (nM)	最大溶解 (%)
AB0369-001	0.6	73

40

【0246】

AB0369のBAFF-R-BAFF相互作用を遮断する能力を、細胞ベースの遮断アッセイにおいて試験した。つまり、ヒトBAFF-Rを発現するCHO細胞を収集し、冷却FACS緩衝液で洗浄し、100,000細胞/ウェルの密度で播種した。被験物質をFACS緩衝液で希釈し、50μLの希釈された多特異的結合タンパク質又はmAbを細胞に添加し、氷上で60分間インキュベートし、次にFACS緩衝液で洗浄した。12nMのBAFF-ビオチンをFACS緩衝液に希釈し、1ウェル当たり100μLを添加し、氷上で60分間インキュベートし、次にFACS緩衝液で洗浄した。細胞をFACS緩衝液で希釈した100μLの1:200のストレプトアビジン-PEとともにインキュ

50

ベートし、氷上で30分間インキュベートし、次にFACS緩衝液で洗浄した。次に、細胞をPBS中の1:1,000希釈の生/死色素100μL中で15分間インキュベートし、次にFACS緩衝液で洗浄し、固定した。インキュベーション後、細胞をFACS緩衝液で洗浄し、FACS緩衝液に再懸濁し、フローサイトメトリーによる分析に備えた。各サンプル及び二次単独対照の蛍光強度中央値(MFI)を計算した。最大MFIをBAFF-ビオチン単独として計算し、最小MFIをストレプトアビジン-フィコエリトリン単独として計算した。GraphPad Prismを使用して、データを4パラメータ非線形回帰曲線に適合させた。

【0247】

これらの試験により、AB0369がBAFF-R-BAFF相互作用を部分的に遮断可能であることが示された。しかし、遮断は、おそらくはAB0369の低親和性に起因し、親抗体と異なる抗体依存性細胞傷害性を増強する突然変異を含まない、イアナルマブベースの基準対照ほどには有意に強力でなかった(図8及び表6)。AB0369 scFvは、上記のあらゆる発見努力から同定された唯一の遮断抗体であったことから、それはCDRH3及びCDRH1/CDRH2の親和性成熟によるさらなる発現、並びにタンパク質の生成及び安定性を促進するためのさらなるアミノ酸変化を経た。

【表16】

表 6. BAFF の細胞 BAFF-R への結合の AB0369 及び基準 mAb による遮断の概要。

分子	IC ₅₀ (nM)	最小 (MFI)
AB0369-001	488	38,180
イアナルマブベースのツール mAb	0.5	224
ヒト IgG1k	N/A	68,050

【0248】

AB0369の親和性成熟

注目のCDRH3の無作為化親和性成熟

上記のとおり、AB0369は、BAFF-R発現細胞に対する特異的結合が示された。改善された結合親和性を有する変異体について探索するために、酵母ディスプレイ・親和性成熟ライブラリーを、AB0369のCDRH3残基(RFTMLRGWYIEDYGM DV (配列番号3))を変異させることによって作成した。hBAFF-Rに対してより高い親和性を有するscFvを濃縮するために、ビオチン化hBAFF-R-hFc-Hisを1nMで用いて、選択の2ラウンドを実施した(図9A~9D)。親クローンAB0369と代表的な個別のライブラリークローンとの間の親和性を比較した。FACS選別の3ラウンドにより、親クローン

【化2】

(RFTMLRGWYIEDYGM DV (配列番号

14); RFTMLRGQYIEDYGM DV (配列番号13); RFTMLRGWYIEDYGM DV (配列番号15))

と比較して1つ又は2つのアミノ酸差異を含み、hBAFF-Rに対して親クローン及び親由来scFv(基準対照として使用されるイアナルマブベースのscFvを用いる)より高い結合親和性を示す9つのクローンが得られた(図10A~10E)。

【0249】

最高のhBAFF-R結合親和性を有するscFvを、Exp293細胞内で発現された、scFv、及び2つの非BAFF-Rバインダーを含む多特異的結合タンパク質に転化し、それらのBAFF-R発現細胞に結合する能力(図11A)及びBAFF-Rを発現するRamos癌細胞を溶解する能力(図11B、図11C)についてさらに分析し

た。全ての多特異的結合タンパク質は、多特異性アッセイにおけるスコアが負であり、結合親和性の改善がBAFF-Rに特異的であることが示唆された（図12A～12B）。さらなる試験において、BAFF-Rの結合において3倍を上回る改善が示され、EC₅₀によって測定される際、それは効力における6～10倍の改善と解釈された（表7）。最大溶解は不変のままであり、BAFF-Rの結合親和性の改善が効力におけるこの改善の主要なドライバーであることが示唆された。

【表17】

表7. 親AB0369と比較される、HCDR3親和性成熟変異体に基づく多特異的結合タンパク質によって実証された細胞結合及び細胞溶解の概要。

分子	BAFF-R-CHO 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	Ramos 細胞の KHYG-A- CD16aV 媒介性細胞溶解 EC ₅₀ (nM)
AB0605-001	5.72	0.15
AB0606-001	4.50	0.06
AB0622-001	3.45	0.09
AB0369-001	>10	0.64

【0250】

注目のCDRH1及びCDRH2を組み合わせた親和性成熟

注目のCDRH3の親和性成熟試験からの結果において、親和性の改善が実証され、さらなる改善が高度に望ましかった。したがって、CDRH1及びCDRH2配列を、成熟したCDRH3骨格を用いる親和性成熟のために選択した（CDRH1：GFTFSSY（配列番号1）及びCDRH2：WYDGSN（配列番号2））。目標は、親クローン（AB0369scFv）又は上記のCDRH3の最適化変異体よりも親和性が改善されたバインダーを設計し、選択することであった。これにより、無作為化されたCDRH1及びCDRH2を有するライブラリーが作成された一方、最適化されたCDRH3が保持された。FACSの2ラウンドを実施して、高親和性バインダーを濃縮した（図13A～13C）。

【0251】

FACS後、24のクローンを同定した。最適化されたCDRH3骨格に対するCDRH1（RFTMLRGWYIEDYGMDV（配列番号14）；RFTMLRGQYIEDYGMDV（配列番号13）；RFTMLRGWYIEDYGMDV（配列番号15））の変化を有するいくつかのクローンが、親AB0369scFv（1129_A01）（図14A～14D）又はイアナルマブベースのscFv基準対照（図14E）と比較して、hBAFF-Rの親和性における有意な改善を示すことが認められた。

【0252】

最高のhBAFF-R結合親和性を有するscFvを、Exp i 293細胞内で発現された、scFv、及び2つの非BAFF-Rバインダーを含む多特異的結合タンパク質に転化し、それらのヒトBAFF-R発現細胞に結合する能力（図15A）、カニクイザルBAFF-R⁺細胞に結合する能力（図15B）、及びBAFF-R-BAFF相互作用を阻害する能力（図15C及び表8）についてさらに分析した。多特異的結合タンパク質の試験において、これらの基準の3つ全部の改善が示され、KHYG-1-CD16a媒介性細胞傷害性アッセイにおけるBAFF-R⁺BJAB細胞の効率的殺傷が示された（図16、表9）。

【表 18】

表 8. CDRH1 及び CDRH2 親和性成熟に基づく多特異的結合タンパク質によって実証された BAFF-R 細胞結合及び BAFF-R-BAFF 遮断の概要

分子	ヒト BAFF-R 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	カニクイザル BAFF-R 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	BAFF-BAFF-R 遮断 IC ₅₀ (nM)
AB0682-001	2.4	3.1	12.6
AB0681-001	5.1	5.6	-
AB0679-001	2.3	2.6	9.4
AB0369-001	>10	>15	-
ツール-F3'	4.3	2.9	-
ツール-mAb	-	-	0.38

10

【表 19】

表 9. KHYG-1-CD16V 細胞溶解アッセイにおける CDRH1 及び CDRH2 親和性成熟に基づく代表的な多特異的結合タンパク質の効力。

分子	EC50 (nM)	最大溶解 (%)
AB0679-001	0.11	83
AB0682-001	0.09	79
ツール-F3'	0.61	69

20

【0253】

潜在的な配列易障害性の修正

親和性成熟クローンが、それらの CDR 中に、タンパク質発現、安定性、又は免疫原性に負に影響しうるアミノ酸を有したことから、これらのアミノ酸を有しないクローンを選択するための、追加的なライブラリーを構築した。高親和性バインダーの濃縮を引き起こすように、1 nM のビオチン化 hBAFF-R-hFc-His タンパク質を用いて、選択の 3 ラウンドを実施した (図 17A~17D)。全体で 23 のバインダーを同定し、その内の 12 は、望ましくないアミノ酸を有しない (「易障害性が修正された」) ことが予測された。

30

【0254】

これらのライブラリーからの潜在的な配列易障害性を欠いている好ましいクローンは、AB0898、(上記の AB0682 の易障害性の修正バージョン)、AB0899、及び AB0900 を含み、それらを巧みに同定し、一方で酵母上に提示された hBAFF-R へのそれらの結合について試験した。全てのクローンは、hBAFF-R に対して、親の AB0369 scFv より高い親和性を示した (図 18A~18F)。

【0255】

易障害性が修正された多特異的結合タンパク質の特徴づけ

易障害性が修正されたクローンの 3 つを、Exp i 293 細胞内で発現された、scFv、及び 2 つの非 BAFF-R バインダーを含む多特異的結合タンパク質に転化し、2 ステップ精製プロセスによって精製し、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)、示差走査熱量測定 (DSC)、BAFF-R 発現細胞への結合、及び KHYG-1-CD16a V 媒介性細胞傷害性アッセイにおける BJAB 細胞を溶解する能力によって特徴づけた。これらのクローンの特徴づけは、表 10 に要約されるが、易障害性の修正が奏功したことを示す。細胞結合に対する陰性効果は認められず、3 つ全部のクローンが BAFF-R を発現する腫瘍細胞の強力な殺傷を示した (図 19)。しかし、分子の熱安定性は、図 20 に示すとおり、Tm1 > 65 °C であった。

40

50

【表 2 0】

表 10. 配列易障害性が修正された BAFF-R バインダーを発現する多特異的結合タンパク質の特徴づけの概要。

被験物質	SEC, 単量体 (%)	DSC, T _{m1} (°C)	hBAFF-R ⁺ 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	BJAB 細胞の KHYG-A- CD16aV 媒介性細胞溶解, EC ₅₀ (nM)
AB0898	86.9	61.23	4.3	0.08
AB0899	96.5	58.79	4.3	0.06
AB0900	90.0	59.41	11.7	0.11

10

【0 2 5 6】

上記のとおり、潜在的な配列易障害性残基の C D R 中の特定アミノ酸での置換は、結合親和性に対する最小効果を有したが、B A F F - R 発現細胞の結合及び熱安定性データは、さらなる改善が望ましいことを示唆した。したがって、C D R H 1 配列及び C D R H 2 配列 (C D R H 1 : G F T F S S Y (配列番号 1) 及び C D R H 2 : W Y D G S N (配列番号 2)) を易障害性が修正された C D R H 3 骨格に親和性成熟させ、オフレート圧力を適用して、高親和性クローンを選択した。つまり、クローンを、1 0 0 p M の濃度でビオチン化 h B A F F - R - h F c - H i s とともにプレインキュベートし、次に 1 μ M の非ビオチン化 h B A F F - R - h F c - H i s を 2 時間かけて負荷した。ビオチン化 h B A F F - R - h F c - H i s に結合したままの酵母ディスプレイ抗 B A F F - R s c F v を選別し、プロセスを 3 回反復し、より遅いオフレートで高親和性バインダーを濃縮した。図 2 1 に示すとおり、クローンは、オフレート圧力の負荷後であっても、ビオチン化 h B A F F - R - h F c - H i s に結合したままであった一方、イアナルマブベースの s c F v 基準対照は、これらの条件下で、ビオチン化 h B A F F - R - h F c - H i s への結合を失い、より遅い解離速度が示唆された。

20

【0 2 5 7】

個別クローンの分析において、h B A F F - R - h F c - H i s に対する高い親和性が示され (図 2 2)、重要なことに、クローンは、ビオチン化 h B A F F - R - h F c - H i s に結合したままであった。特に、イアナルマブベースの基準 s c F v は、負荷後にビオチン化 h B A F F - R - h F c - H i s への結合低下を示した (図 2 2)。さらなる考察から、クローンのいくつかは、さらなる望ましくないアミノ酸又は特性を含んだことから、除去された。上の試験からの選択されたクローンの配列を表 1 1 に示す。

30

【表 2 1】

表 11. 選択されたクローンの CDR 配列。

配列	CDRH1	CDRH2	CDRH3
AB1080scFv	GFTFSSY (配列番号 1)	WYDASN (配列番号 23)	RFTHLRGWYIEDYGLDV (配列番号 27)
AB1081scFv	GFAFSSY (配列番号 28)	WYDESN (配列番号 29)	RFTNLRGWYIEDYGLDV (配列番号 30)
AB1084scFv	GFTFSMY (配列番号 31)	WYDASN (配列番号 23)	RFTRLRGWYIEDYGLDV (配列番号 32)
AB1085scFv	GFTTGSY (配列番号 33)	WYDGSN (配列番号 2)	RFTHLRGQYIEDYGM ^Δ MDV (配列番号 34)

40

潜在的な配列易障害性は太字下線であり、クローン間の多様性を示す残基は太字である。

【0 2 5 8】

50

上記のオフレート負荷試験からの選択されたクローンを、Exp i 2 9 3細胞内で発現された、個別のバインダーのs c F v、及び2つの非B A F F - Rバインダーを含む多特異的結合タンパク質として生成し、h B A F F - R発現細胞及びカニクイザルB A F F - R発現細胞への結合、K H Y G - 1 - C D 1 6 a V媒介性細胞傷害性アッセイにおけるB A F F - Rを発現する癌細胞を溶解する能力、B A F F - B A F F - R相互作用を遮断する能力、熱安定性（示差走査蛍光測定、D S F）及び疎水性（H I C）によって特徴づけた（結果を表12に要約する）。A B 1 0 8 0、A B 1 0 8 1、及びA B 1 0 8 5のB A F F - R⁺細胞に対する結合親和性が、親クローンと比較して改善された（表12と比較した図23A～23B）。加えて、c y n o B A F F - Rに対する結合親和性は、h B A F F - Rに対する結合親和性と類似した（図23A～23B）。多特異性の欠如がP S Rアッセイによって確認された（図24A～24B）。A B 1 0 8 4は、H I C時の長い保持時間及びその後のより高い凝集傾向の可能性が理由で、さらなる試験から除外した。改善された多特異的結合タンパク質において、イアナルマブ配列に基づく多特異的結合タンパク質より非常に高い効力が示された（図25A～25B）。さらに、効力において、元のA B 0 3 6 9多特異的結合タンパク質と比較して、10倍より大きい改善が認められた。重要なことに、B A F F - B A F F - R結合を遮断する能力は、親A B 0 3 6 9多特異的結合タンパク質と比較して有意に改善された（図26）。

【表22】

表 12. 選択された多特異的結合タンパク質の特徴づけの概要。

被験物質	hBAFF-R ⁺ 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	cBAFF-R ⁺ 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	細胞溶解, EC ₅₀ (nM)	HIC, 保持 (分)	DSF, T _m 1 (°C)
AB1080-002	1.97	1.36	0.03	11.40	66.3
AB1081-002	>8	>14	0.05	11.45	65.9
AB1084-001	-	-	0.06	11.79	67.5
AB1085-001	5.78	4.34	0.08	9.55	68.1

【0259】

これらの多特異的結合タンパク質は、対照のアダリムマブ（ヒュミラ）及びペンブロリズマブ（キイトルーダ）と比較して、許容される熱安定性の基準を満足した（図27）。H I Cクロマトグラムにおいて、A B 1 0 8 0及びA B 1 0 8 1がそれぞれ11.4分及び11.5分の保持時間を有することが示された。A B 1 0 8 5は、承認された後期治療用抗体の中で下限である9.5分の保持時間を示し、非常に好ましい疎水性挙動が示された（図27）。

【0260】

A B 1 0 8 0及びA B 1 0 8 1は、改善されたB A F F - Rへの結合を示し、C D R配列内に配列易障害性を全く含有しなかったが、それらの疎水性は、基準の治療用抗体のパネルと比較して高かった。A B 1 0 8 5は、所望の疎水性及び親和性を示したが、C D R H 2及びC D R H 3配列内に潜在的な配列易障害性を含んだ（図28）。A B 1 0 8 0、A B 1 0 8 1及びA B 1 0 8 5の配列を比較し、A B 1 0 8 0配列を分析し、さらに補正し、疎水性により生成されるWからQへ（C D R H 3：

【化3】

RFTMLRGWYIEDYGMDV (配列番号14)

から

【化4】

RFTMLRGQYIEDYGMDV (配列番号13)

へ)の変異が減少した。得られたAB1424／AB1612多特異的結合タンパク質は、正常に機能する生物製剤の範囲内に含まれる好ましい低い疎水性を示した(図29)一方、BAFF-Rに対して同じく高い親和性(表13、図30A～30B)、強力なBAFF-R-BAFF結合の遮断(図1)を維持し、親AB1080にとって特徴的である易障害性を含まない配列を含んだ(表14)。

【表23】

表13. 多特異的結合タンパク質 AB1424/AB1612 系統による BAFF-R 結合及び BAFF-R-BAFF 遮断の概要。

分子	カニクイザル BAFF-R 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	ヒト BAFF-R 細胞結合 EC ₅₀ (nM)	リガンド遮断 IC ₅₀ (nM)
AB0369-001	7.11	6.80	>1000
AB1080-003	2.36	2.71	5.72
AB1085-001	3.29	4.48	12.67
AB1612-003	1.85	3.09	6.76
ヒト IgG1k	N/A	N/A	N/A

【表24】

表14. AB1424/AB1612 及びその祖先における BAFF-R 結合 CDR の比較

TriNKETs	CDRH1	CDRH2	CDRH3
AB0369	GFTFSSY (配列番号 1)	WYDGSN (配列番号 2)	RFTMLRGLIIEDYGM <u>D</u> V (配列番号 3)
AB1080	GFTFSSY (配列番号 1)	WYDASN (配列番号 23)	RFTHLRGWYIEDYGLDV (配列番号 27)
AB1085	GFTEGSY (配列番号 33)	WYDGSN (配列番号 2)	RFTHLRGQYIEDYGM <u>D</u> V (配列番号 34)
AB1424/AB1612	GFTFSSY (配列番号 1)	WYDASN (配列番号 23)	RFTHLRGQYIEDYGLDV (配列番号 38)

【0261】

結論として、組換えタンパク質及びDNAの免疫を利用する、2つの抗体の発見キャンペーンを実施した。第1のキャンペーンにおいて、4つの中程度の親和性のBAFF-R-BAFF非遮断抗体を同定した。単一バインダーである、第2のキャンペーンから発見されたAB0369scFvは、BAFF-R-BAFF相互作用を遮断する能力を提示した。親和性成熟の複数ラウンド、易障害性の修正、及び合理的配列設計によるAB0396scFvの広範な発現から、バインダーAB1612／AB1424が得られ、それらは治療候補としての望ましい特性を示した。

【0262】

参照による援用

矛盾する記載がない限り、本明細書において言及される特許文献及び科学論文のそれぞれの全開示内容が、あらゆる目的のために参照により援用される。

【0263】

均等物

本開示は、その趣旨又は本質的特徴から逸脱せずに、他の特定の形態で実施され得る。したがって、上記の実施形態は、あらゆる点で、本明細書に記載される本開示を限定するのではなく例示であると思なされるべきである。異なる実施形態の様々な構成要素及び様々な開示される方法ステップは、様々な組み合わせ及び並べ替えで利用してもよく、全て

のこのような変形は、本開示の形態と考えられるべきである。したがって、本開示の範囲は、前述の説明よりはむしろ、添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲の同等性の意味及び範囲に含まれる全ての変更は、その中に包含されることが意図される。

【図面】

【図 1】

【図 2】

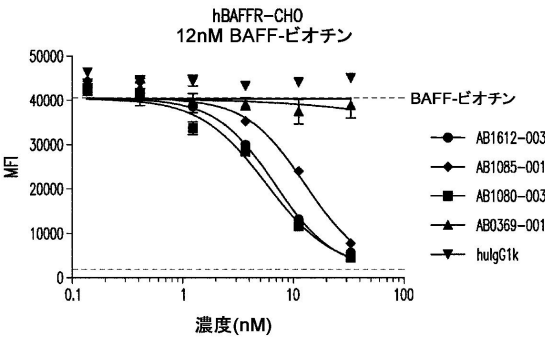


図1

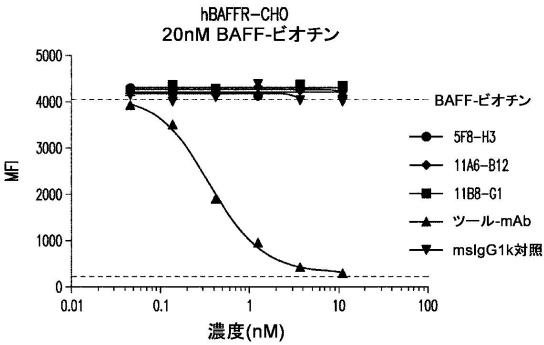


図2

10

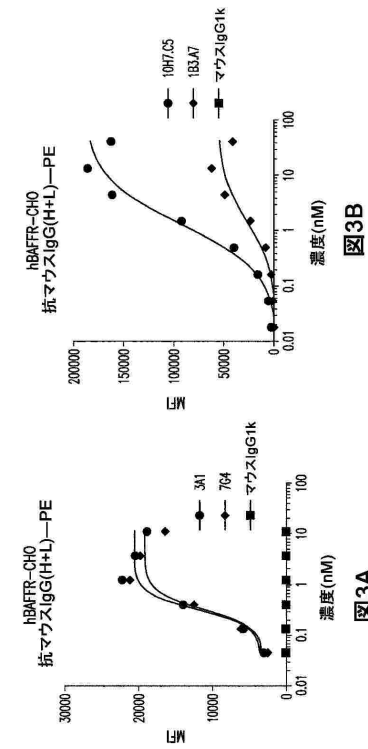
20

30

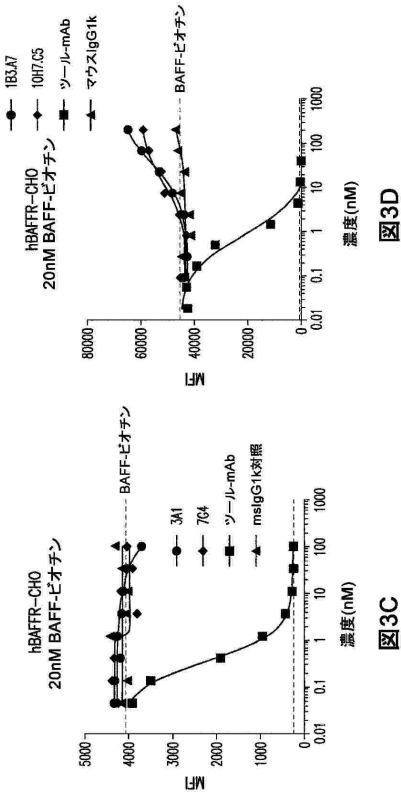
40

50

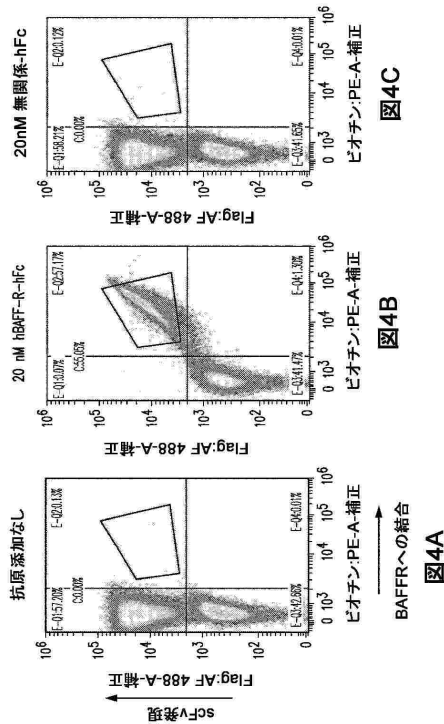
【図 3 - 1】



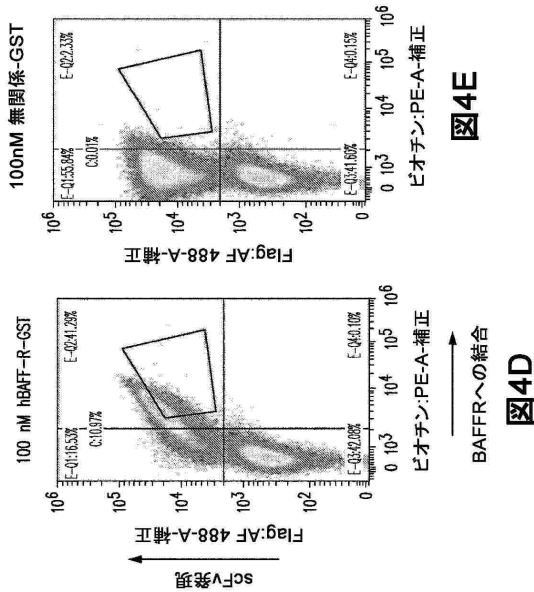
【図 3 - 2】



【図 4 - 1】



【図 4 - 2】



10

20

30

40

50

【 図 5 】

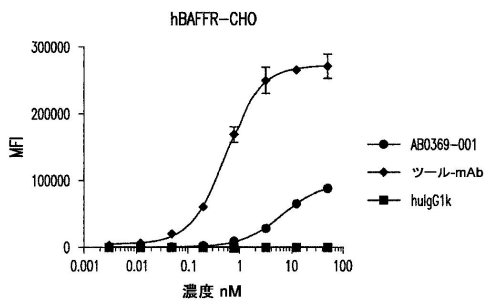


図5A

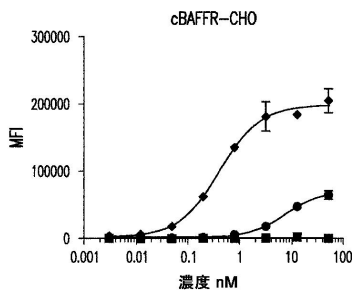


図5B

【 図 6 - 1 】

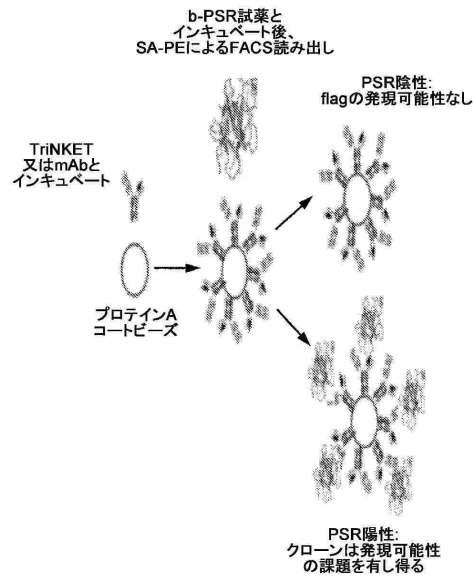


図6A

【 図 6 - 2 】

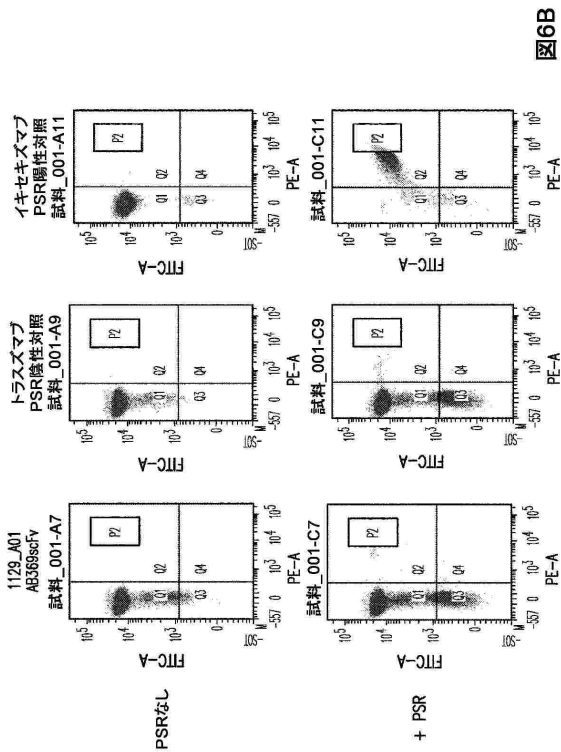


図6B

【 図 7 】

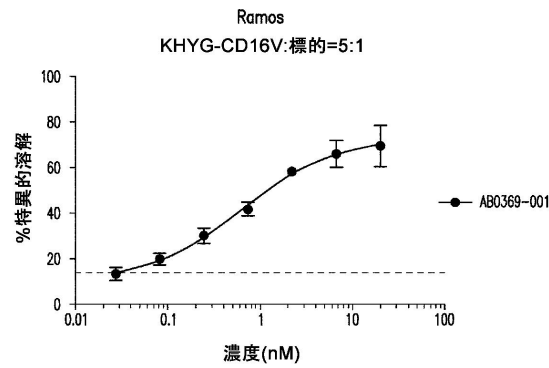
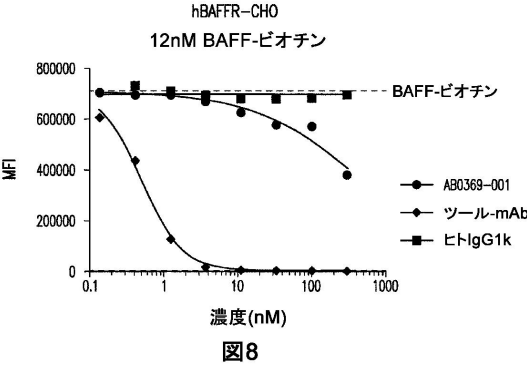
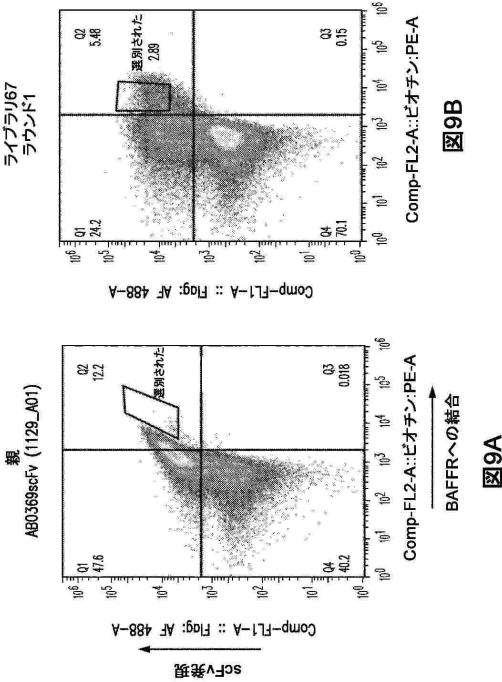


図7

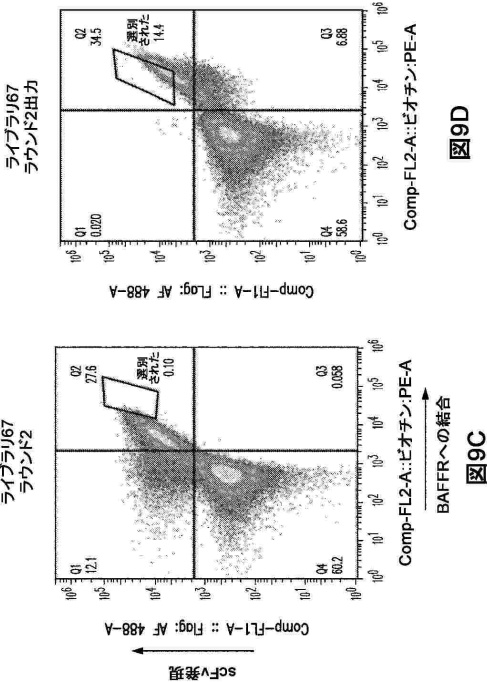
【 図 8 】



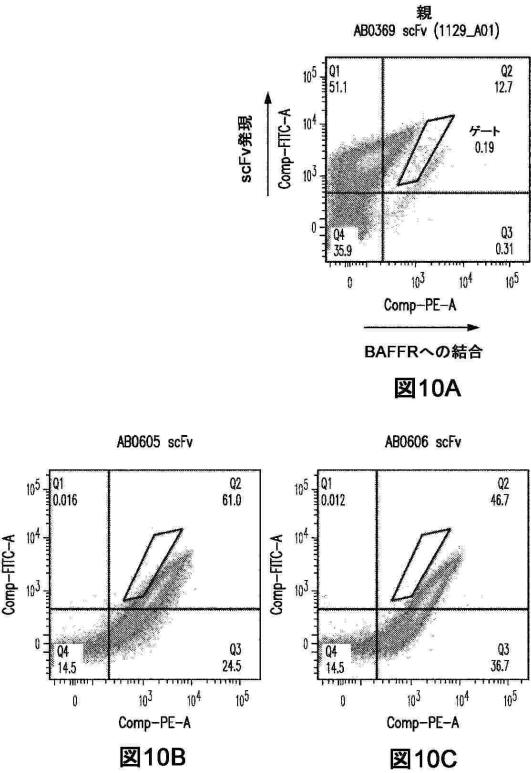
【 図 9 - 1 】



【 図 9 - 2 】



【 図 1 0 - 1 】



10

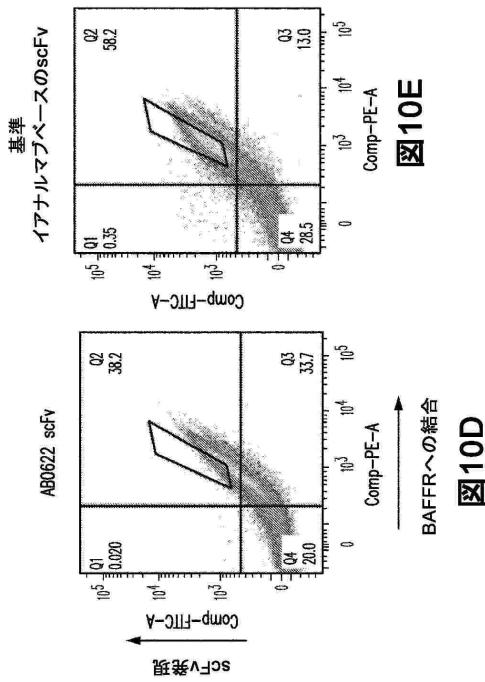
20

30

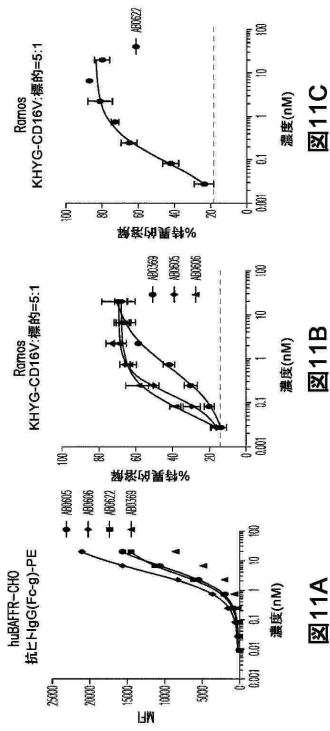
40

50

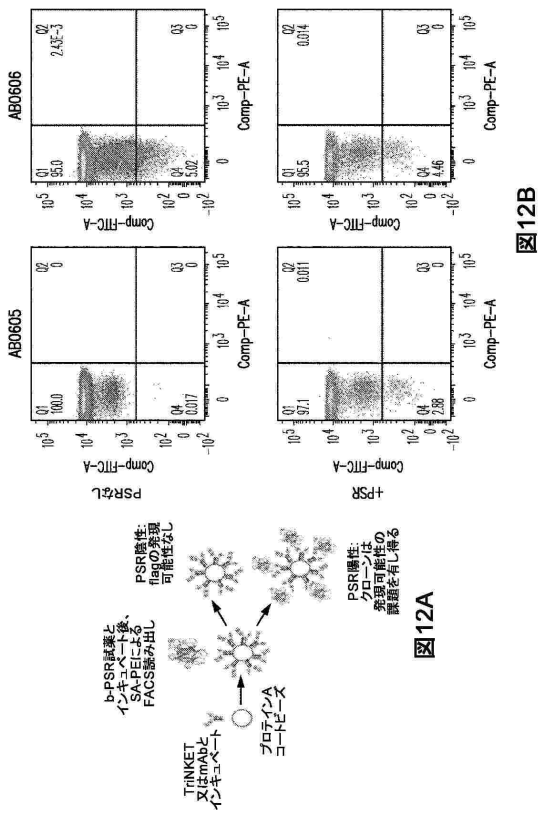
【 図 1 0 - 2 】



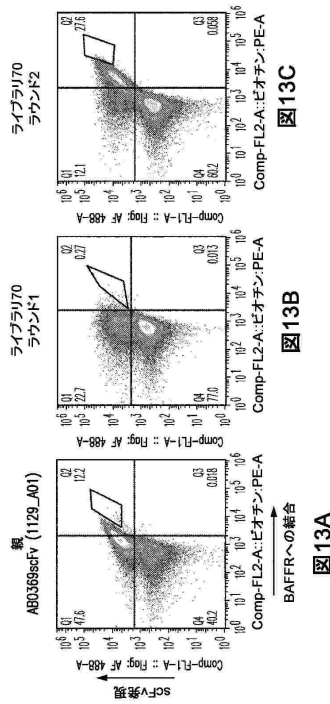
【 図 1 1 】



【 図 1 2 】



【 図 1 3 】



10

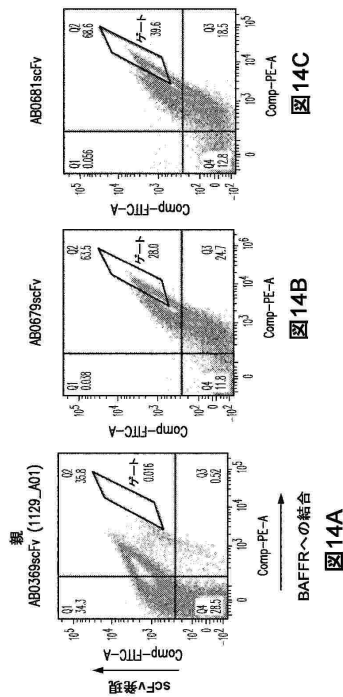
20

30

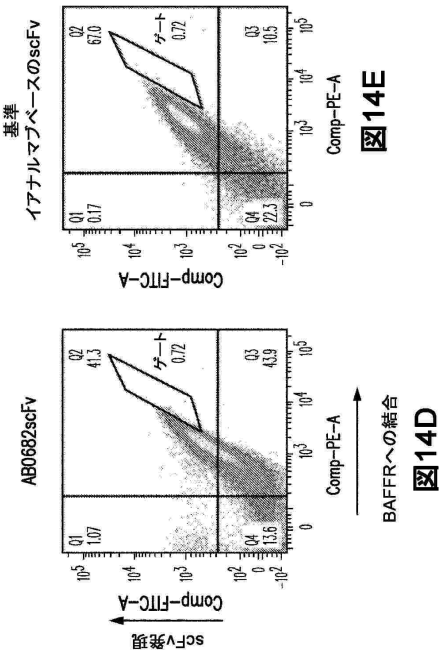
40

50

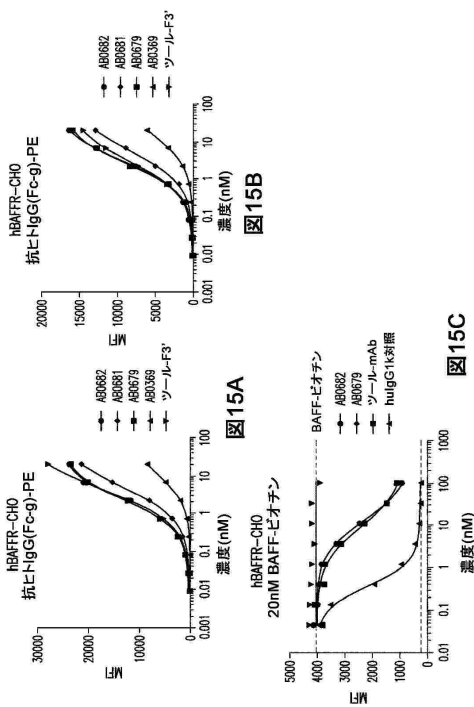
【 図 1 4 - 1 】



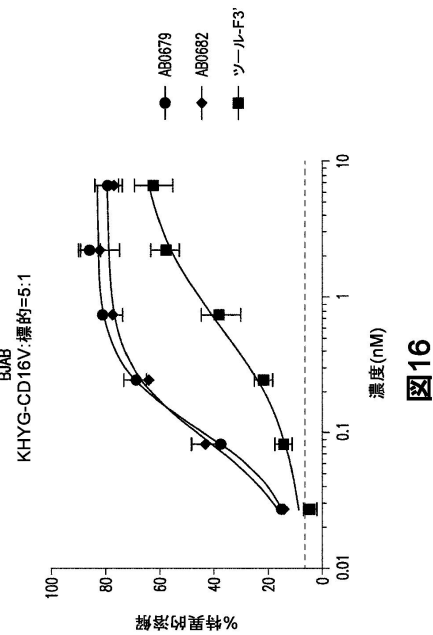
【 図 1 4 - 2 】



【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



10

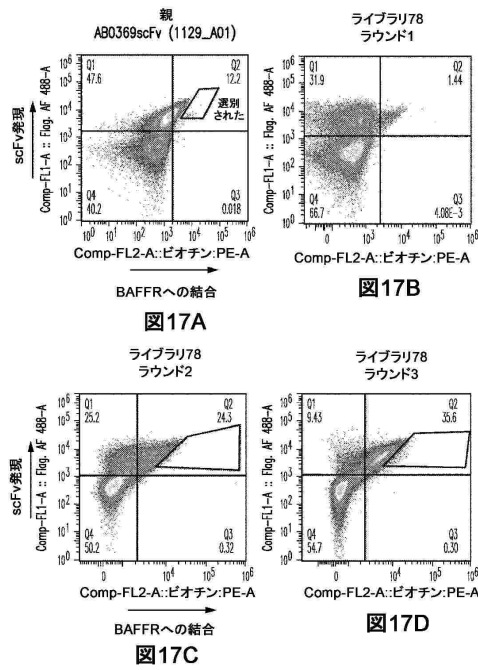
20

30

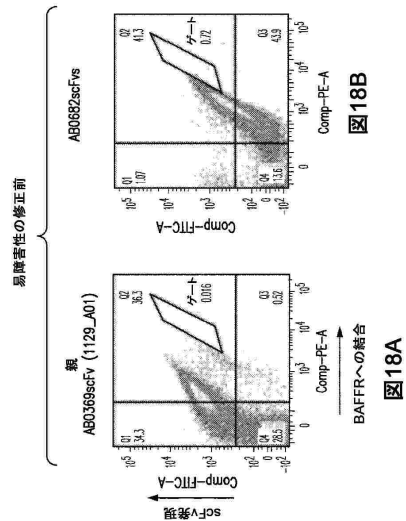
40

50

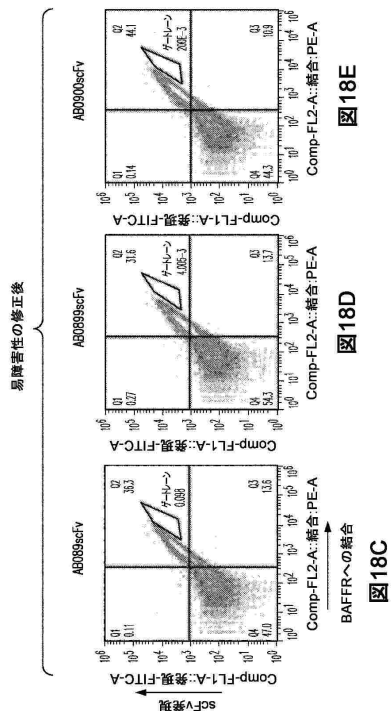
【図 17】



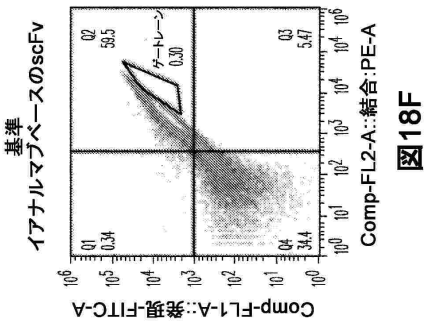
【図 18 - 1】



【図 18 - 2】



【図 18 - 3】



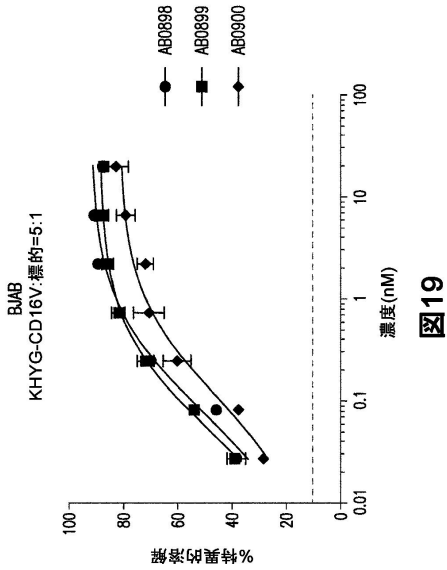
【図 18 - 4】



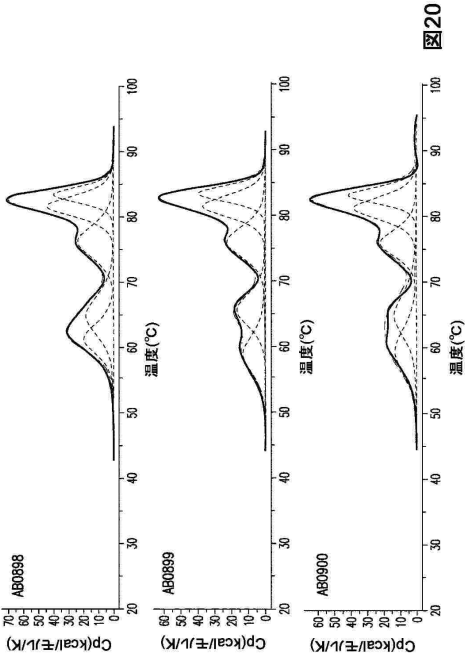
【図 18 - 5】



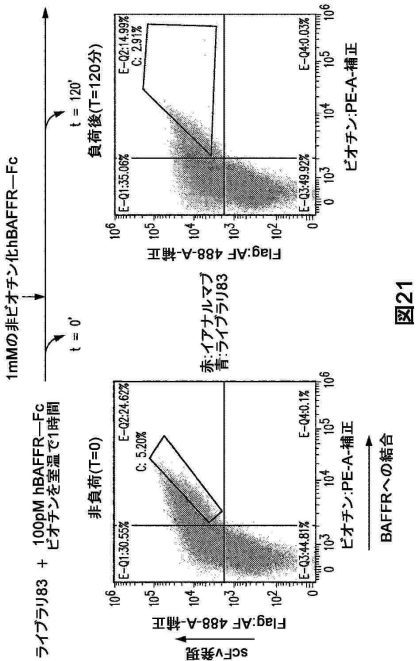
【図 19】



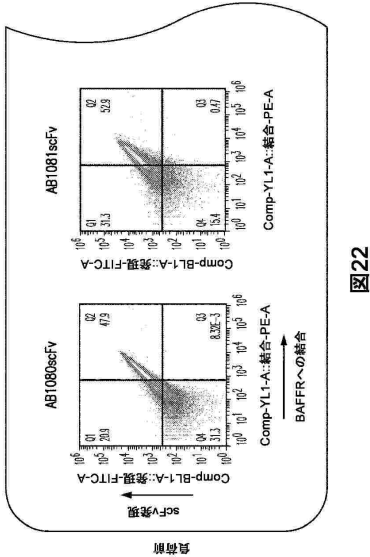
【図 20】



【図 21】



【図 22 - 1】



【図 2 2 - 2】

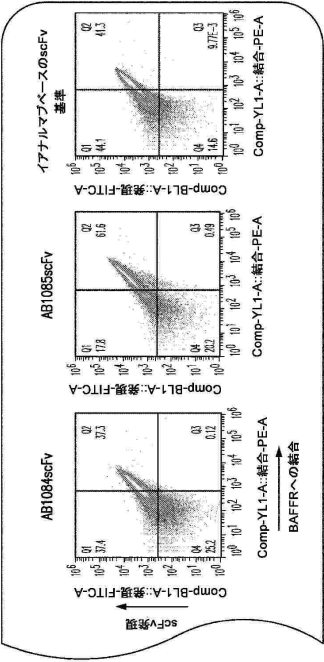


図22 (続き)

【図 2 2 - 3】

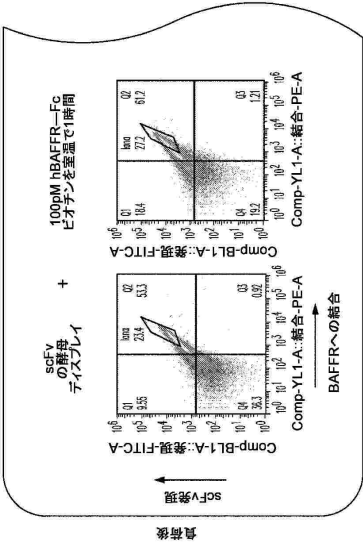


図22 (続き)

【図 2 2 - 4】

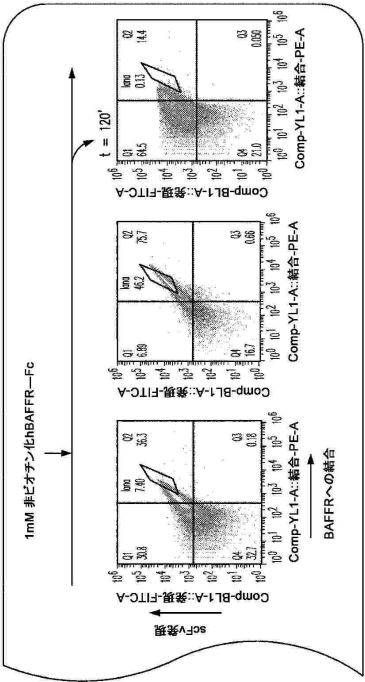
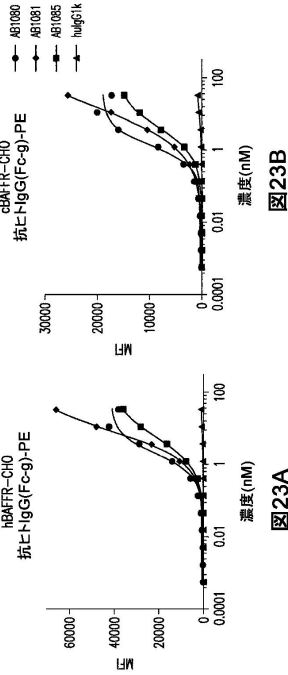


図22 (続き)

【図 2 3】



10

20

30

40

50

【図 2 4 - 1】

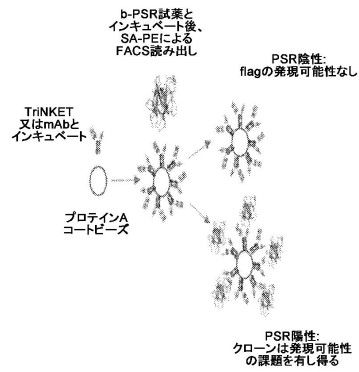


図24A

【図 2 4 - 2】

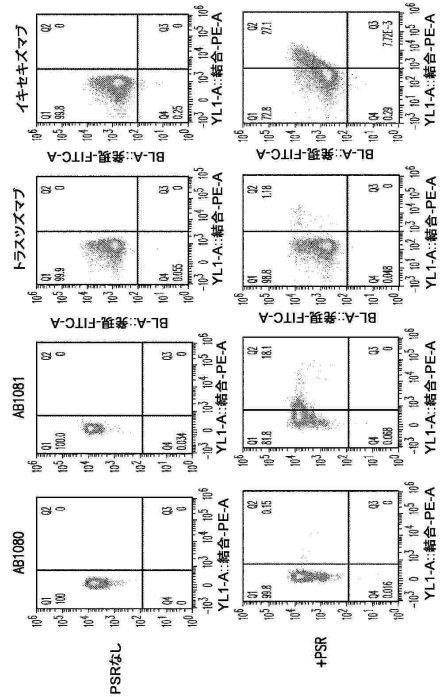


図24B

【図 2 5】

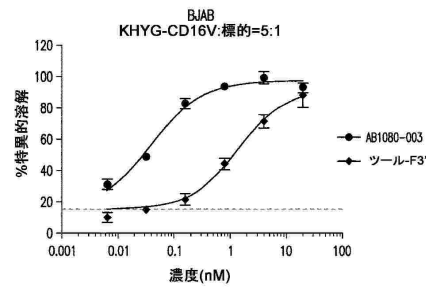


図25A

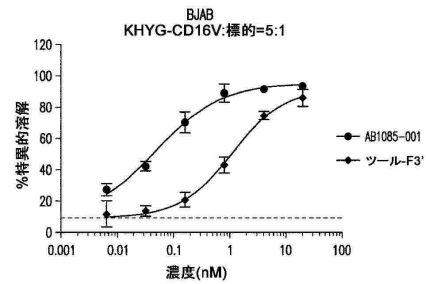


図25B

【図 2 6】

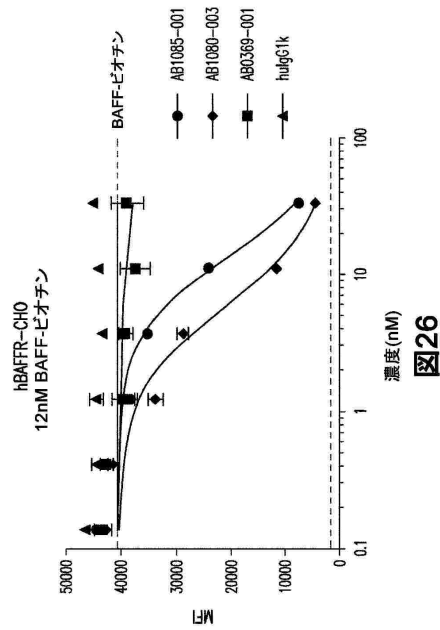


図26

10

20

30

40

50

【 図 2 7 】

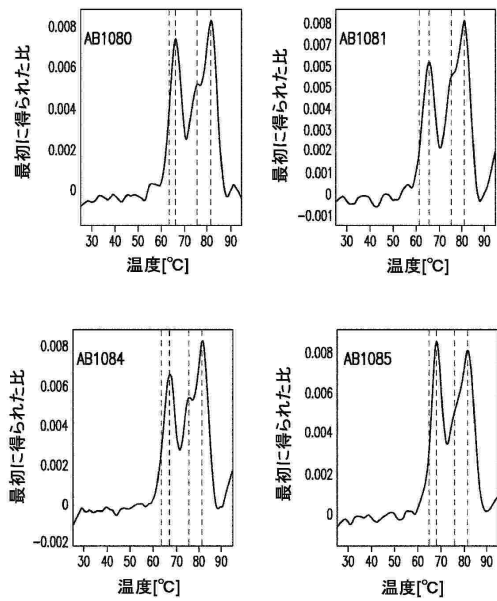


図27

【 図 2 8 】

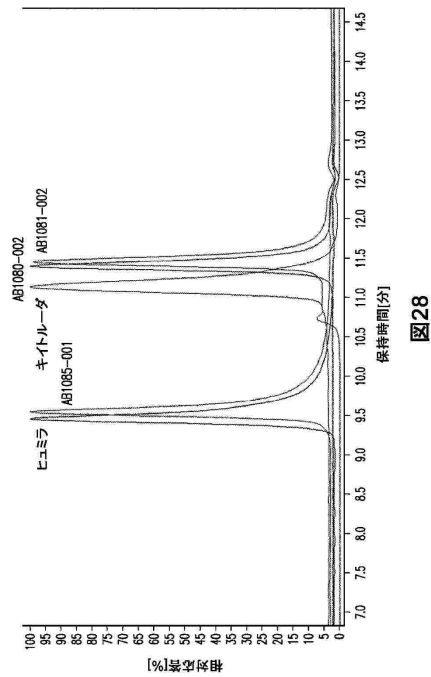


図28

【 図 2 9 】

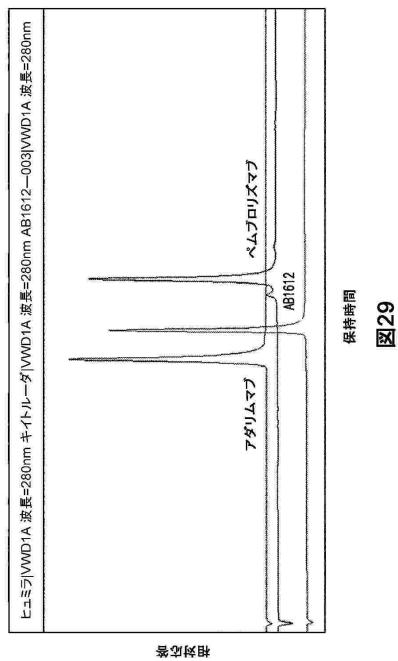


図29

【 図 3 0 】

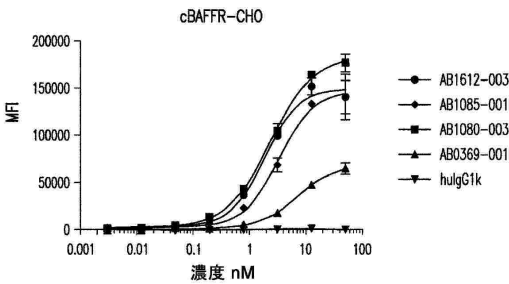


図30A

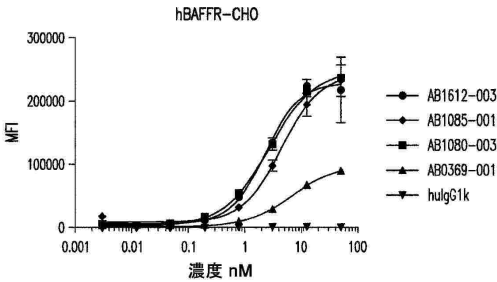


図30B

10

20

30

40

50

【配列表】

202453772000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/077068

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - INV. - C07K 16/28 (2022.01) ADD. - A61K 39/39; A61P 29/00; A61P 35/00 (2022.01) CPC - INV. - C07K 16/2878 (2022.08) ADD. - A61P 29/00; A61P 35/00; A61K 39/3955 (2022.08) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2018/0251564 A1 (NOVARTIS AG) 06 September 2018 (06.09.2018) entire document	1, 4, 5, 7, 13
A	WO 2010/072741 A1 (ASTRAZENECA AB) 01 July 2010 (01.07.2010) entire document	1, 4, 5, 7, 13
A	WO 2009/120922 A2 (ZYMOGENETICS INC.) 01 October 2009 (01.10.2009) entire document	1, 4, 5, 7, 13
A	US 2020/0190204 A1 (CITY OF HOPE et al) 18 June 2020 (18.06.2020) entire document	1, 4, 5, 7, 13
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 December 2022		Date of mailing of the international search report JAN 20 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/077068

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed.

b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/077068

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 8-12, 14-55
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 4, 5, 7, 13

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/077068

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-7 and 13 are drawn to antigen-binding sites that binds BAFF-R.

The first invention of Group I+ is restricted to an antigen-binding site comprising a heavy chain variable domain (VH) and a light chain variable domain (VL), where the VH is selected to be SEQ ID NO:40, which further contains HCDR1 (SEQ ID NO:1), HCDR2 (SEQ ID NO:23), HCDR3 (SEQ ID NO:38), and where the VL is selected to be SEQ ID NO:41, which further contains LCDR1 (SEQ ID NO:4), LCDR2 (SEQ ID NO:5), and LCDR3 (SEQ ID NO:39). It is believed that claims 1, 4, 5, 7, and 13 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NOs: 40 and 41.

Applicant is invited to elect additional antigen-binding site VH and VL, and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be an antibody comprising a heavy chain variable domain (VH) and a light chain variable domain (VL), where the VH is selected to be SEQ ID NO:42, which further contains HCDR1 (SEQ ID NO:1), HCDR2 (SEQ ID NO:23), HCDR3 (SEQ ID NO:38), and where the VL is selected to be SEQ ID NO:43, which further contains LCDR1 (SEQ ID NO:4), LCDR2 (SEQ ID NO:5), and LCDR3 (SEQ ID NO:39). Additional antigen-binding site VH and VL, and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element, requiring the selection of alternative antigen-binding site VH and VL where "antigen-binding site that binds BAFF-R comprising: a heavy chain variable domain (VH) comprising a complementarity-determining region 1 (CDR1) sequence comprising an amino acid sequence of SEQ ID NO:50, a complementarity-determining region 2 (CDR2) sequence comprising an amino acid sequence of SEQ ID NO:51, and a complementarity-determining region 3 (CDR3) sequence comprising an amino acid sequence of SEQ ID NO:52; and a light chain variable domain (VL) comprising a CDR1 sequence comprising an amino acid sequence of SEQ ID NO:4, a CDR2 sequence comprising an amino acid sequence of SEQ ID NO:5, and a CDR3 sequence comprising an amino acid sequence of SEQ ID NO:49."

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of an antigen-binding site that binds BAFF-R, comprising a heavy chain variable region and a light chain variable region, wherein the heavy chain variable region comprises three complementarity determining regions (CDRs), HCDR1, HCDR2 and HCDR3, and wherein the light chain variable region comprises three CDRs, LCDR1, LCDR2 and LCDR3, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2018/0251564 A1 to Novartis AG (hereinafter, "Novartis") teaches an antigen-binding site that binds BAFF-R, comprising a heavy chain variable region and a light chain variable region, wherein the heavy chain variable region comprises three complementarity determining regions (CDRs), HCDR1, HCDR2 and HCDR3, and wherein the light chain variable region comprises three CDRs, LCDR1, LCDR2 and LCDR3 (Claim 1, an anti-BAFFR antibody ... wherein said anti-BAFFR antibody includes heavy chain CDR1, CDR2 and CDR3 of SEQ ID NOs 3, 4 and 5 respectively, and light chain CDR1, CDR2 and CDR3 of SEQ ID NOs: 6, 7 and 8).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	14/725 (2006.01)	C 0 7 K	14/725		4 C 0 8 7
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705		4 H 0 4 5
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12		
C 1 2 N	15/85 (2006.01)	C 1 2 N	15/85	Z	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783		
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68		
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y	
A 6 1 K	31/537 (2006.01)	A 6 1 K	31/537		
A 6 1 K	31/551 (2006.01)	A 6 1 K	31/551		
A 6 1 K	31/4738(2006.01)	A 6 1 K	31/4738		
A 6 1 K	38/05 (2006.01)	A 6 1 K	38/05		
A 6 1 K	38/19 (2006.01)	A 6 1 K	38/19		
A 6 1 K	35/17 (2015.01)	A 6 1 K	35/17		
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02		
A 6 1 K	38/20 (2006.01)	A 6 1 K	38/20		
A 6 1 K	38/21 (2006.01)	A 6 1 K	38/21		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
M,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY
,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,T
H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

- アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州ウォルサム、ゲイトハウス・ドライブ 3 5
(72)発明者 ハイネン、ピャエ ビー
アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州ウォルサム、ゲイトハウス・ドライブ 3 5
(72)発明者 イワノフ、アレクサンダー
アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州ウォルサム、ゲイトハウス・ドライブ 3 5
(72)発明者 リー、シンビ
アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州ウォルサム、ゲイトハウス・ドライブ 3 5
(72)発明者 シュナイダー、マシュー
アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州ウォルサム、ゲイトハウス・ドライブ 3 5

F ターム (参考) 4B065 AA93X AB01 AC14 BA02 CA25 CA44 CA46
4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59 FF70
4C084 AA02 BA14 DA01 DA12 DA14 DA16 DA22 DA25 NA13 NA14
ZB26 ZB27
4C085 AA25 AA26 BB11 DD35 DD62 EE01
4C086 AA01 AA02 CB11 CB22 MA01 MA04 NA13 NA14 ZB26 ZB27
4C087 AA01 AA02 BB43 BB65 NA13 NA14 ZB26 ZB27
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA28 FA74 GA22