

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-507922  
(P2017-507922A)

(43) 公表日 平成29年3月23日(2017.3.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395 Z N A E	4 B 0 6 5
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 38/21 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/66 G	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 47/50 (2017.01)</b>	A 6 1 K 47/48	4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 100 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-547536 (P2016-547536)	(71) 出願人 503115205 ザ ボード オブ トラスティーズ オブ ザ レランド スタンフォード ジュニア ユニバーシティー アメリカ合衆国 94305-2038 カリフォルニア州 スタンフォード メイ ン クワッド ビルディング 170 サ ード フロア ピー. オー. ボックス 2 0386 オフィス オブ ザ ジェネラル カウンセル
(86) (22) 出願日 平成27年1月22日 (2015.1.22)	(74) 代理人 100102978 弁理士 清水 初志
(85) 翻訳文提出日 平成28年9月6日 (2016.9.6)	(74) 代理人 100102118 弁理士 春名 雅夫
(86) 国際出願番号 PCT/US2015/012511	
(87) 国際公開番号 W02015/112749	
(87) 国際公開日 平成27年7月30日 (2015.7.30)	
(31) 優先権主張番号 61/930,386	
(32) 優先日 平成26年1月22日 (2014.1.22)	
(33) 優先権主張国 米国 (US)	
(31) 優先権主張番号 62/066,574	
(32) 優先日 平成26年10月21日 (2014.10.21)	
(33) 優先権主張国 米国 (US)	

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体のためおよび抗体が充填された樹状細胞を介した療法のための方法および組成物

(57) 【要約】

個体(例えば、癌を有する個体)において免疫応答を誘導するための方法、組成物、およびキットが提供される。該方法の局面は、同種異系IgG抗体を有する抗体組成物を投与する工程;および抗原提示細胞を活性化する処置を実施する工程を含む。場合によっては、該抗体組成物は、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む。場合によっては、該ポリクローナル抗体は、2つまたはそれ以上の個体からプールされた血清に由来する。場合によっては、該方法は、抗原提示細胞刺激物質を投与する工程を含む。該方法の局面はまた、個体に由来する抗原提示細胞(樹状細胞(DC))を、標的抗原、および同種異系IgG抗体を有する抗体組成物と接触させて、充填されたAPCを生じさせる工程も含み、この充填されたAPCは、該個体において免疫応答を誘導するのに使用することができる。該方法の局面はまた、該個体のT細胞を、該充填されたAPCと接触させる工程も含む。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

癌を有する個体に、

(i) 該個体の癌細胞の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物の投与;および  
(ii) APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、該個体の該APCを活性化す  
る処置

を実施し、それによって、該癌を有する個体を処置する工程  
を含む、該個体を処置する方法。

**【請求項 2】**

前記同種異系IgG抗体が、前記個体における前記癌細胞上の前記抗原を結合させて、免  
疫複合体を形成する、請求項1に記載の方法。 10

**【請求項 3】**

前記APCの活性化が、前記個体における該APCによる前記免疫複合体の取り込み、および  
該個体におけるT細胞への前記癌細胞の複数種の抗原の提示を含む、請求項2に記載の方法  
。

**【請求項 4】**

T細胞に提示された前記複数種の抗原の少なくとも1つが、前記免疫複合体中の前記抗原  
と異なる、請求項3に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記個体における癌細胞の数を減少させる、前記請求項のいずれか一項に記載の方法。 20

**【請求項 6】**

前記癌が固形腫瘍である、前記請求項のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記固形腫瘍の直径が1cm未満である、請求項6に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記個体がヒトである、前記請求項のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記同種異系IgG抗体が、前記癌細胞表面上に少なくとも10,00コピーで存在する抗原を  
結合させる、前記請求項のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記同種異系IgG抗体が、非癌細胞上の抗原の少なくとも100倍、1000倍、10000倍の親  
和性(1/100、1/1000、1/10000のKd)で、前記癌細胞上の前記抗原を結合させ、該癌細胞上  
の抗原が、該非癌細胞上の抗原と比較して1つまたは複数の多型を有する、前記請求項の  
いずれか一項に記載の方法。 30

**【請求項 11】**

前記同種異系IgG抗体が、非癌細胞を結合させる該同種異系IgG抗体より高いアビディテ  
ィで前記癌細胞を結合させる、前記請求項のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 12】**

樹状細胞を活性化する前記処置が、樹状細胞刺激物質を含む樹状細胞刺激組成物を含む  
、請求項1に記載の方法。 40

**【請求項 13】**

前記樹状細胞刺激組成物が、(i) Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii) CD40アゴニスト;(i  
ii) CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv) チェックポイント分子中和化合物;(v)  
インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi) NFκB活性化因子;(vii) カルシ  
ウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii) T細胞関連共刺激分子からなる群より  
選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む、請求項12に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記樹状細胞刺激組成物がCD40アゴニストおよび炎症性サイトカインを含む、請求項12  
または請求項13に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記炎症性サイトカインが腫瘍壊死因子 (TNF )および/またはIFN である、請求項13または請求項14に記載の方法。

【請求項16】

前記樹状細胞刺激物質が同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている、請求項12~15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

B細胞を活性化する前記処置が、B細胞刺激物質を含有するB細胞刺激組成物を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項18】

前記B細胞刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イデオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む、請求項17に記載の方法。

10

【請求項19】

前記炎症性サイトカインが、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、G-CSF、またはGM-CSFである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

前記TLRアゴニストが、CpG ODN、免疫賦活性DNA、免疫賦活性RNA、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、イミキモド、レシキイモド(Resiquimod)、ロキシリビン(Loxribine)、フラ

20

【請求項21】

前記抗原が、自己抗原、同種異系抗原、ペプチド抗原、核酸抗原、炭水化物抗原、または腫瘍関連抗原である、請求項18に記載の方法。

【請求項22】

前記表面免疫グロブリンを架橋する作用物質が、抗Ig抗体、抗イデオタイプ抗体、または抗アイソタイプ抗体である、請求項18に記載の方法。

【請求項23】

前記B細胞刺激物質が同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている、請求項17~22のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項24】

マクロファージを活性化する前記処置が、マクロファージ刺激物質を含有するマクロファージ刺激組成物を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項25】

前記マクロファージ刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルコシルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む、請求項24に記載の方法。

【請求項26】

前記マクロファージ活性化サイトカインが、IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、G-CSF、GM-CSF、またはIFN- $\gamma$ である、請求項25に記載の方法。

40

【請求項27】

前記TLRアゴニストがTLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストである、請求項25に記載の方法。

【請求項28】

前記TLR4アゴニストまたは前記TLR2アゴニストが、リポ多糖、ムラミルジペプチド、リポテイコ酸、または細菌熱ショックタンパク質である、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記マクロファージ刺激物質が同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている、請求項24~28のいずれか一項に記載の方法。

50

## 【請求項30】

前記癌細胞の前記抗原が、癌細胞に豊富にある抗原である、請求項1~29のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項31】

前記同種異系IgG抗体がモノクローナル抗体である、請求項1~30のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項32】

前記抗体組成物が、2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体を含み、該2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも2つが、異なる抗原に特異的に結合する、請求項1~31のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【請求項33】

前記抗体組成物が前記2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体を含み、該2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも2つが、同じ抗原の異なるエピトープに特異的に結合する、請求項1~32のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項34】

前記2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも2つがモノクローナル抗体である、請求項32または請求項33に記載の方法。

## 【請求項35】

(a)前記抗体組成物の投与;および

(b)前記個体のAPCを活性化する前記処置

の少なくとも1つが、(i)腫瘍;および/または(ii)腫瘍切除部位の中にまたは近くに、局所注射によって実施される、請求項1~34のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【請求項36】

リポソーム、微粒子、またはナノ粒子における、

(a)前記抗体組成物の投与;および

(b)前記個体のAPCを活性化する前記処置

の少なくとも1つが実施される、請求項1~35のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項37】

前記APCが樹状細胞である、請求項1~34のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項38】

前記APCがマクロファージである、請求項1~34のいずれか一項に記載の方法。

30

## 【請求項39】

前記APCがB細胞である、請求項1~34のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項40】

癌を有する個体に、

(i)癌細胞上の複数種の抗原を結合させるポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物の投与;および

(ii)抗原提示細胞(APC)が樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、該個体のAPCを活性化する処置

を実施する工程

を含む、該個体を処置する方法。

40

## 【請求項41】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が、第2の個体の血清に由来する、請求項40に記載の方法。

## 【請求項42】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が、2つまたはそれ以上の個体からプールされている、請求項40に記載の方法。

## 【請求項43】

少なくとも1つの前記同種異系IgG抗体の標的抗原が、前もって決められていない、請求項40~42のいずれか一項に記載の方法。

50

## 【請求項44】

樹状細胞を活性化する前記処置が、樹状細胞刺激物質を含む樹状細胞刺激組成物を含む、請求項40～43のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項45】

前記樹状細胞刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFκB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む、請求項44に記載の方法。

## 【請求項46】

前記樹状細胞刺激組成物がCD40アゴニストおよび炎症性サイトカインを含む、請求項44または請求項45に記載の方法。

## 【請求項47】

前記炎症性サイトカインが腫瘍壊死因子 (TNF )および/またはIFN である、請求項45または請求項46に記載の方法。

## 【請求項48】

前記樹状細胞刺激物質が前記同種異系IgG抗体の少なくとも1つとコンジュゲートされている、請求項44～47のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項49】

B細胞を活性化する前記処置が、B細胞刺激物質を含有するB細胞刺激組成物を含む、請求項40に記載の方法。

## 【請求項50】

前記B細胞刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イデオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む、請求項49に記載の方法。

## 【請求項51】

前記炎症性サイトカインが、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IFN- 、IFN- 、IFN- 、G-CSF、またはGM-CSFである、請求項50に記載の方法。

## 【請求項52】

前記TLRアゴニストが、CpG ODN、免疫賦活性DNA、免疫賦活性RNA、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、イミキモド、レシキイモド、ロキシリピン、フラジェリン、FSL-1、またはLPSである、請求項51に記載の方法。

## 【請求項53】

前記抗原が、自己抗原、同種異系抗原、ペプチド抗原、核酸抗原、炭水化物抗原、または腫瘍関連抗原である、請求項50に記載の方法。

## 【請求項54】

前記表面免疫グロブリンを架橋する作用物質が、抗Ig抗体、抗イデオタイプ抗体、または抗アイソタイプ抗体である、請求項50に記載の方法。

## 【請求項55】

前記B細胞刺激物質が前記同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている、請求項49～54のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項56】

マクロファージを活性化する前記処置が、マクロファージ刺激物質を含有するマクロファージ刺激組成物を含む、請求項40に記載の方法。

## 【請求項57】

前記マクロファージ刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルコシルコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む、請求項56に記載の方

10

20

30

40

50

法。

【請求項 5 8】

前記マクロファージ活性化サイトカインが、IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、TNF-、TNF-、G-CSF、GM-CSF、またはIFN-である、請求項57に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記TLRアゴニストがTLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストである、請求項57に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記TLR4アゴニストまたは前記TLR2アゴニストが、リポ多糖、ムラミルジペプチド、リポテイコ酸、または細菌熱ショックタンパク質である、請求項59に記載の方法。

10

【請求項 6 1】

前記マクロファージ刺激物質が前記同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている、請求項56～60のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 2】

(a)前記抗体組成物の投与;および

(b)前記個体のAPCを活性化する前記処置

の少なくとも1つが、(i)腫瘍;および/または(ii)腫瘍切除部位の中にまたは近くに、局所注射によって実施される、請求項40～61のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 3】

リポソーム、微粒子、またはナノ粒子における、

20

(a)前記抗体組成物の投与;および

(b)前記個体のAPCを活性化する前記処置

の少なくとも1つが実施される、請求項40～62のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体である、請求項40～63のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、癌細胞に豊富にある抗原を特異的に結合させる、請求項64に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記2種またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、異なる抗原に特異的に結合する、請求項64または請求項65に記載の方法。

30

【請求項 6 7】

前記2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、同じ抗原上の2つの異なるエピトープに特異的に結合する、請求項64または65に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が、前記個体における前記癌細胞上の抗原を結合させて、免疫複合体を形成する、請求項40～67のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記APCの活性化が、前記個体における該APCによる免疫複合体の取り込み、および該個体におけるT細胞への前記癌細胞の複数種の抗原の提示を含む、請求項68に記載の方法。

40

【請求項 7 0】

T細胞に提示された前記複数種の抗原の少なくとも1つが、前記免疫複合体中のどの前記抗原とも異なる、請求項69に記載の方法。

【請求項 7 1】

前記個体における癌細胞の数を減少させる、請求項40～69のいずれか一項に記載の方法

。

【請求項 7 2】

前記癌が固形腫瘍である、請求項40～71のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 3】

50

前記固形腫瘍の直径が1cm未満である、請求項72に記載の方法。

【請求項74】

前記個体がヒトである、請求項40～73のいずれか一項に記載の方法。

【請求項75】

(a)インビトロで、個体に由来する抗原提示細胞(APC)を、

(i)癌細胞またはその一部;および

(ii)該癌細胞上の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物

と接触させる工程であって、

該癌細胞、および該癌細胞上の該抗原に結合する該同種異系IgG抗体が、免疫複合体を形成し、かつ

該接触させる工程が、該APCによる該免疫複合体の取り込みをもたらし、それによって、充填されたAPCを生じさせ、該APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、工程;ならびに

(b)該個体のT細胞を、充填された該APCと接触させる工程であって、充填された該APCが、癌細胞抗原を該T細胞に提示して、接触したT細胞を生じさせ、かつ該接触したT細胞が、提示された該癌細胞抗原に特異的な免疫応答を発生させる、工程を含む、該個体において免疫応答を誘導する方法。

【請求項76】

前記APCが、骨髄由来DC、血液由来DC、脾臓DC、および腫瘍関連DC(TADC)からなる群より選択される樹状細胞である、請求項75に記載の方法。

【請求項77】

前記APCを、APC刺激物質を含むAPC刺激組成物と接触させる工程をさらに含む、請求項75または76に記載の方法。

【請求項78】

前記APC刺激組成物が、樹状細胞刺激物質を含む樹状細胞刺激組成物である、請求項77に記載の方法。

【請求項79】

前記樹状細胞刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFκB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む、請求項78に記載の方法。

【請求項80】

前記樹状細胞刺激組成物がCD40アゴニストおよび炎症性サイトカインを含む、請求項78または79に記載の方法。

【請求項81】

前記炎症性サイトカインが腫瘍壊死因子(TNF)および/またはIFNである、請求項79または請求項80に記載の方法。

【請求項82】

前記樹状細胞刺激物質が前記同種異系IgGとコンジュゲートされている、請求項78～81のいずれか一項に記載の方法。

【請求項83】

前記APC刺激組成物が、B細胞刺激物質を含むB細胞刺激組成物である、請求項77に記載の方法。

【請求項84】

前記B細胞刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イディオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む、請求項83に記載の方法。

【請求項85】

10

20

30

40

50

前記炎症性サイトカインが、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、G-CSF、またはGM-CSFである、請求項84に記載の方法。

【請求項86】

前記TLRアゴニストが、CpG ODN、免疫賦活性DNA、免疫賦活性RNA、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、イミキモド、レシキイモド、ロキシリピン、フラジェリン、FSL-1、またはLPSである、請求項85に記載の方法。

【請求項87】

前記抗原が、自己抗原、同種異系抗原、ペプチド抗原、核酸抗原、炭水化物抗原、または腫瘍関連抗原である、請求項84に記載の方法。

【請求項88】

前記表面免疫グロブリンを架橋する作用物質が、抗Ig抗体、抗イディオタイプ抗体、または抗アイソタイプ抗体である、請求項84に記載の方法。

【請求項89】

前記B細胞刺激物質が同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている、請求項83～88のいずれか一項に記載の方法。

【請求項90】

前記APC刺激組成物が、マクロファージ刺激物質を含むマクロファージ刺激組成物である、請求項77に記載の方法。

【請求項91】

前記マクロファージ刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルコルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む、請求項90に記載の方法。

【請求項92】

前記マクロファージ活性化サイトカインが、IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、G-CSF、GM-CSF、またはIFN- $\gamma$ である、請求項91に記載の方法。

【請求項93】

前記TLRアゴニストがTLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストである、請求項91に記載の方法。

【請求項94】

前記TLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストが、リポ多糖、ムラミルジペプチド、リポテイコ酸、または細菌熱ショックタンパク質である、請求項93に記載の方法。

【請求項95】

前記マクロファージ刺激物質が同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている、請求項90～94のいずれか一項に記載の方法。

【請求項96】

前記癌細胞が、前記APCに接触する前に前記抗体組成物と接触する、請求項75～95のいずれか一項に記載の方法。

【請求項97】

前記APCが前記癌細胞および前記抗体組成物と同時に接触する、請求項75～95のいずれか一項に記載の方法。

【請求項98】

T細胞を接触させる前記工程がインピボで行われ、かつ前記方法が、充填された前記APCを前記個体に導入する工程を含む、請求項75～97のいずれか一項に記載の方法。

【請求項99】

T細胞を接触させる前記工程がインピトロで行われ、かつ前記方法が、接触した該T細胞を前記個体に導入する工程を含む、請求項75～97のいずれか一項に記載の方法。

【請求項100】

前記同種異系IgG抗体がモノクローナル抗体である、請求項75～99のいずれか一項に記

10

20

30

40

50

載の方法。

【請求項101】

前記抗体組成物が、複数種の癌細胞抗原を結合させるポリクローナル同種異系IgG抗体を含む、請求項75～100のいずれか一項に記載の方法。

【請求項102】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体である、請求項101に記載の方法。

【請求項103】

(i) 癌細胞の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物;および  
(ii) 樹状細胞刺激物質、マクロファージ刺激物質、またはB細胞刺激物質である、APC刺激物質を含む、APCに充填するための組成物。

10

【請求項104】

前記同種異系IgG抗体がモノクローナル抗体である、請求項103に記載の組成物。

【請求項105】

前記抗体組成物が、複数種の癌細胞抗原を結合させるポリクローナル同種異系IgG抗体を含む、請求項103または請求項104に記載の組成物。

【請求項106】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体を含む、請求項105に記載の組成物。

20

【請求項107】

前記2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、癌細胞に豊富にある抗原を特異的に結合させる、請求項106に記載の組成物。

【請求項108】

前記2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、異なる抗原に特異的に結合する、請求項106または請求項107に記載の組成物。

【請求項109】

前記2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、同じ抗原の異なるエピトープに特異的に結合する、請求項106または請求項107に記載の組成物。

【請求項110】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が、個体の血清に由来する、請求項105に記載の組成物。

30

【請求項111】

前記ポリクローナル同種異系IgG抗体が、2つまたはそれ以上の個体からプールされている、請求項105に記載の組成物。

【請求項112】

静脈内免疫グロブリン(IVIg)またはIVIgから精製もしくは濃縮された抗体を含む、請求項111に記載の組成物。

【請求項113】

前記樹状細胞刺激物質が、(i) Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii) CD40アゴニスト;(iii) CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv) チェックポイント分子中和化合物;(v) インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi) NFκB活性化因子;(vii) カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii) T細胞関連共刺激分子からなる群より選択される、請求項103～112のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項114】

前記B細胞刺激物質が、(i) Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii) CD40アゴニスト;(iii) CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv) B細胞受容体を結合させる抗原;(v) 抗イデオタイプ抗体;ならびに(vi) 表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される、請求項103～112のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項115】

50

前記マクロファージ刺激物質が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルコルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される、請求項103~112のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項116】

前記抗体組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つが前記APC刺激物質とコンジュゲートされている、請求項103~115のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項117】

前記抗体組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つがCD40アゴニストとコンジュゲートされ、かつ該抗体組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つが炎症性サイトカインとコンジュゲートされている、請求項116に記載の組成物。

10

【請求項118】

前記炎症性サイトカインがTNF および/またはIFN である、請求項117に記載の組成物。

【請求項119】

前記抗体組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つがCD40アゴニストとコンジュゲートされ、該抗体組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つが炎症性サイトカインとコンジュゲートされ、かつ該抗体組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つがToll様受容体(TLR)アゴニストとコンジュゲートされている、請求項103または請求項118のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項120】

請求項1~102に記載の方法のいずれか一つにおいて使用するためのキット。

【請求項121】

(i)癌細胞の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物を含む、コンパートメント;および

(ii)少なくとも1種類のAPC刺激組成物を含み、該APC刺激組成物が樹状細胞刺激組成物、マクロファージ刺激組成物、またはB細胞刺激組成物である、少なくとも1つのコンパートメントを含む、キット。

【請求項122】

前記APC刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFkB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む、請求項121に記載のキット。

30

【請求項123】

前記CD40アゴニストがCD40Lであり、かつ前記炎症性サイトカインがTNFaおよび/またはIFNgである、請求項122に記載のキット。

【請求項124】

前記CD40アゴニストおよび前記炎症性サイトカインが、同じコンパートメントにある、請求項122または123に記載のキット。

40

【請求項125】

前記CD40アゴニストおよび前記炎症性サイトカインが、別々のコンパートメントにある、請求項123または124に記載のキット。

【請求項126】

前記APC刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルコルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む、請求項121に記載のキット。

【請求項127】

前記APC刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イディ

50

オタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む、請求項121に記載のキット。

【請求項128】

腫瘍を、

(i)腫瘍細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物、および

(ii)APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、APC刺激組成物

と接触させ、それによって、該腫瘍の細胞のサイズまたは該腫瘍中の細胞の数を減少させる工程

を含む、該腫瘍中の細胞のサイズまたは数を減少させるための方法。

【請求項129】

前記腫瘍を接触させることが、前記抗体組成物および前記APC刺激組成物を、前記腫瘍部位の中にまたは腫瘍部位の近くに同時にまたは連続して直接注射することを含む、請求項128に記載の方法。

【請求項130】

前記APCが樹状細胞であり、かつ前記APC刺激組成物が樹状細胞刺激物質を含む、請求項128に記載の方法。

【請求項131】

前記APCがマクロファージであり、かつ前記APC刺激組成物がマクロファージ刺激物質を含む、請求項128に記載の方法。

【請求項132】

前記APCがB細胞であり、かつ前記APC刺激組成物がB細胞刺激物質を含む、請求項128に記載の方法。

【請求項133】

前記APC刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFkB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む、請求項130に記載の方法。

【請求項134】

前記APC刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルコシルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む、請求項131に記載の方法。

【請求項135】

前記APC刺激組成物が、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イデオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む、請求項132に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本願は、2014年1月22日に出願された米国特許仮出願第61/930,386号および2014年10月21日に出願された同第62/066,574号の恩典を主張する。これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

政府の権利

本発明は、米国立衛生研究所により付与された契約CA141468の下で政府の支援を受けてなされた。米国政府は本発明において一定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

10

20

30

40

50

## 背景

免疫系には自己と非自己のわずかな違いを区別する能力があるにもかかわらず、癌は増殖および拡大する傾向があり、多くの場合、宿主を死に至らしめる。この状況において、腫瘍関連抗原(TAA)に対する適応T細胞応答が起こることがあり、不定の期間にわたって腫瘍を退行させるかまたは腫瘍成長を止める。しかしながら、ほとんどの腫瘍は、最終的には、腫瘍細胞が、エフェクターT細胞が認識する抗原を適切に発現しない変種を選択することによって免疫検出から逃れるプロセスである免疫エディティング(immunoediting)を介して逃れる。

## 【0004】

自己由来腫瘍とは対照的に、遺伝的に異なる個体またはマウス系統に由来する同種異系腫瘍は、免疫学的に損なわれていない宿主に移植された場合には、移植された同種異系臓器と同様に確実に拒絶される。注目すべきことには、これは、腫瘍と宿主が、移植片拒絶の主要な決定要因であると長い間考えられてきた主要組織適合遺伝子複合体(MHC)抗原の同じ対立遺伝子を共有する場合でも起こる。

## 【0005】

これらの条件下では、様々なマイナー組織適合抗原が処理され、MHCクラスI分子またはMHCクラスII分子に結合して提示され、その結果、抗原特異的に腫瘍を攻撃するエフェクターT細胞が生じる。このような抗原は、多くの場合、共通するタンパク質の多型配列で構成されているが、遺伝子欠失、ペプチドの細胞内処理の違い、および他の細胞内機構にも起因することがある。おそらく、同種異系腫瘍が発現するユニークなタンパク質の数と多様性のために、これらの腫瘍は宿主T細胞応答から逃れない。実際に、ドナーに由来するT細胞によるマイナー組織適合抗原の認識は、同種異系造血細胞移植片が、ある特定の癌を治療することができる主な理由であると考えられている。

## 【0006】

腫瘍のタイプまたは状況に関係なく、抗原提示細胞(APC)は、TAAの処理とT細胞へのTAAの提示を担っていると考えられている。APCのうち、古典的活性化樹状細胞(DC)および古典的活性化マクロファージは、腫瘍細胞傷害と退行を媒介するT細胞性免疫応答を引き起こすことができる。エクスピボでDCにTAAを充填し、DCを活性化すると、進行癌患者において臨床的に意義のある抗腫瘍免疫応答を誘導することができる。にもかかわらず、腫瘍関連DCは、一般的には、自己由来の状況では効果的な応答を誘導せず、抗腫瘍免疫を抑制

## 【0007】

免疫を介した破壊から腫瘍が逃れることを可能にする広範囲の機構を考えると、同種異系腫瘍に対してAPCが効果的な免疫応答を発生させる機構は依然として明らかにされていないが、これらのプロセスは临床上の重要な意味をもつ。効果的な抗腫瘍免疫応答を誘導するための組成物および方法が当技術分野において必要とされる。同種異系の状況において効果的な抗腫瘍免疫の誘導を担う機構が同定されたことで、自己由来腫瘍を処置するための新規の、かつ効果的な方法の発見と開発が可能になった。

## 【0008】

## 刊行物

Steinman et al., Nature. 2007 Sep 27;449(7161):419-26(非特許文献1); Kurts et al., Nat Rev Immunol. 2010 Jun;10(6):403-14(非特許文献2); Trombetta et al., Annu Rev Immunol. 2005;23:975-1028(非特許文献3); Fong et al., J Immunol. 2001 Mar 15;166(6):4254-9(非特許文献4); Hsu et al., Nat Med. 1996 Jan;2(1):52-8(非特許文献5); Fong et al., Annu Rev Immunol. 2000;18:245-73(非特許文献6); Gilboa et al., J Clin Invest. 2007 May; 117(5):1195-203(非特許文献7); Melief et al., Immunity. 2008 Sep 19;29(3):372-83(非特許文献8); Palucka et al., Immunity. 2013 Jul 5;39(1):38-48(非特許文献9); Tseng et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Jul 2;110(27):11103-8(非特許文献10); Schuurhuis et al., J Immunol. 2006 Apr 15;176(8):4573-80(非特許文献11); 米国特許出願番号US20020155108(特許文献1); および米国特許第8

10

20

30

40

50

518405号(特許文献2)。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】米国特許出願番号US20020155108

【特許文献2】米国特許第8518405号

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Steinman et al., Nature. 2007 Sep 27;449(7161):419-26

【非特許文献2】Kurts et. al., Nat Rev Immunol. 2010 Jun;10(6):403-14

10

【非特許文献3】Trombetta et. al., Annu Rev Immunol. 2005;23:975-1028

【非特許文献4】Fong et. al., J Immunol. 2001 Mar 15;166(6):4254-9

【非特許文献5】Hsu et. al., Nat Med. 1996 Jan;2(1):52-8

【非特許文献6】Fong et. al., Annu Rev Immunol. 2000;18:245-73

【非特許文献7】Gilboa et. al., J Clin Invest. 2007 May; 117(5):1195-203

【非特許文献8】Melief et. al., Immunity. 2008 Sep 19;29(3):372-83

【非特許文献9】Palucka et. al., Immunity. 2013 Jul 25;39(1):38-48

【非特許文献10】Tseng et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Jul 2;110(27):11103-8

【非特許文献11】Schuurhuis et al., J Immunol. 2006 Apr 15;176(8):4573-80

20

【発明の概要】

【0011】

概要

癌を有する個体を処置するための方法が提供される。前記方法の局面は、個体に(i)個体の癌細胞の抗原に特異的に結合する抗体を有する同種異系IgG抗体を有する抗体組成物の投与;および(ii)個体の樹状細胞を活性化する処置を実施する工程を含む。場合によっては、抗体組成物は、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む。場合によっては、ポリクローナル同種異系IgG抗体は、(例えば、規定された標的抗原特異性を有する)モノクローナル抗体の一群でもよい。場合によっては、ポリクローナル同種異系IgG抗体は、1つまたは複数の個体由来する血清(例えば、1つの個体由来する血清、2つまたはそれ以上の個体からプールされた血清など)でもよい。場合によっては、抗体組成物は、静脈内免疫グロブリン(IVIg)またはIVIgから精製もしくは濃縮された抗体を含む。場合によっては、個体の樹状細胞を活性化する処置は、個体を局部照射に曝露する工程を含む。場合によっては、個体の樹状細胞を活性化する処置は、樹状細胞刺激物質を有する刺激組成物を個体に投与する工程を含む。場合によっては、樹状細胞刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。場合によっては、刺激組成物は、CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IFN など)を含む。場合によっては、刺激組成物はToll様受容体(TLR)アゴニストを含む。

30

【0012】

個体において免疫応答を誘導するための方法が提供される。前記方法の局面は、(a)インビトロで、個体由来する樹状細胞(DC)(例えば、個体由来する樹状細胞の集団)を、標的抗原、および標的抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を有する抗体組成物と、DCによる標的抗原の取り込みに有効な用量でかつ期間にわたって接触させ、それによって、充填されたDC(例えば、充填されたDCの集団)を生じさせる工程;ならびに(b)個体のT細胞(例えば、個体のT細胞の集団)を、充填されたDCと接触させる工程であって、充填されたDCが抗原をT細胞に提示して、接触したT細胞を生じさせ、接触したT細胞が、提示された抗原に特異的な免疫応答を発生させる、工程を含む。場合によっては、DCは癌を有する個体由来し、標的抗原は癌に関連する。場合によっては、DCは、個体由来する癌細胞と接触する。場合によっては、DCは、個体の癌細胞由来する溶解産物と接触する。場合によっては、DCは、個体の癌細胞由来する1種類または複数種(例えば、2種類またはそ

40

50

れ以上)の原形質膜タンパク質と接触する。場合によっては、DCは、DC刺激物質を含む刺激組成物と接触する。場合によっては、刺激組成物はCD40アゴニストおよび炎症性サイトカインを含む。場合によっては、刺激組成物はTLRアゴニストを含む。場合によっては、DC刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。場合によっては、標的抗原(例えば、標的細胞、癌細胞溶解産物/抽出物、2種類またはそれ以上の原形質膜タンパク質を有する組成物)は、DCに接触する前に、抗体組成物と接触して免疫複合体を生じさせる。従って、場合によっては、前記方法は、DCを免疫複合体と接触させる工程を含む。場合によっては、DCは標的抗原および抗体組成物と同時に接触する。場合によっては、T細胞を接触させる工程はインピボで行われ、前記方法は、充填されたDCを個体に導入する工程を含む。場合によっては、T細胞を接触させる工程はインピトロで行われ、前記方法は、接触したT細胞を個体に導入する工程を含む。

10

**【0013】**

本開示の方法を実施するための組成物およびキットも提供される。場合によっては、本組成物は、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体;および少なくとも1種類のDC刺激物質を含む。場合によっては、本組成物は、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体;CD40アゴニスト;および炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)を含む。場合によっては、DC刺激物質は、前記組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つとコンジュゲートされている。場合によっては、本組成物は、静脈内免疫グロブリン(IVIg)またはIVIgから精製もしくは濃縮された抗体を含む。場合によっては、本組成物は、IVIgまたはIVIgから精製もしくは濃縮された抗体を含む。前記組成物に存在する同種異系IgG抗体の少なくとも1つはDC刺激物質とコンジュゲートされている。場合によっては、前記組成物に存在する同種異系IgG抗体の少なくとも1つはCD40アゴニストとコンジュゲートされ、前記組成物に存在する同種異系IgG抗体の少なくとも1つは炎症性サイトカインとコンジュゲートされている。場合によっては、前記組成物に存在する同種異系IgG抗体の少なくとも1つはCD40アゴニストとコンジュゲートされている。前記組成物に存在する同種異系IgG抗体の少なくとも1つは炎症性サイトカインとコンジュゲートされている。または、前記組成物に存在する同種異系IgG抗体の少なくとも1つはCpGオリゴデオキシヌクレオチド(CpG ODN)とコンジュゲートされている。

20

**【0014】**

一部の態様において、腫瘍のサイズの縮小において使用するための、同種異系IgG抗体およびAPC刺激組成物を含む、組成物が提供される。

30

**【0015】**

一局面において、本発明は、個体に(i)個体の癌細胞の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物の投与;および(ii)APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、個体のAPCを活性化する処置を実施し、それによって、癌を有する個体を処置する工程を含む、癌を有する個体を処置する方法を提供する。

**【0016】**

一部の態様において、同種異系IgG抗体は、個体における癌細胞上の抗原を結合させて、免疫複合体を形成する。場合によっては、APCの活性化は、個体におけるAPCによる免疫複合体の取り込み、および個体におけるT細胞への癌細胞の複数種の抗原の提示を含む。場合によっては、T細胞に提示された複数種の抗原の少なくとも1つが、免疫複合体中の抗原と異なる。

40

**【0017】**

場合によっては、前記方法は、個体において癌細胞の数を減少させるか1つまたは複数の腫瘍のサイズを小さくする。場合によっては、癌は固形腫瘍である。場合によっては、固形腫瘍の直径は1cm未満である。場合によっては、個体はヒトである。

**【0018】**

場合によっては、同種異系IgG抗体は、癌細胞表面上に少なくとも10,00コピーで存在する抗原を結合させる。場合によっては、同種異系IgG抗体は、非癌細胞上の抗原の少なく

50

とも100倍、1000倍、10000倍の親和性(1/100、1/1000、1/10000のKd)で癌細胞上の抗原を結合させ、癌細胞上の抗原は、非癌細胞上の抗原と比較して1つまたは複数の多型を有する。場合によっては、同種異系IgG抗体は、非癌細胞を結合させる同種異系IgG抗体より高いアビディティで癌細胞を結合させる。

#### 【0019】

一部の態様において、樹状細胞を活性化する処置は、樹状細胞刺激物質を含む樹状細胞刺激組成物を含む。場合によっては、樹状細胞刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFκB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子からなる群より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む。場合によっては、樹状細胞刺激組成物はCD40アゴニストおよび炎症性サイトカインを含む。場合によっては、炎症性サイトカインは腫瘍壊死因子(TNF)および/またはIFNである。場合によっては、樹状細胞刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。

10

#### 【0020】

一部の態様において、B細胞を活性化する処置は、B細胞刺激物質を含有するB細胞刺激組成物を含む。場合によっては、B細胞刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体させる結合させる抗原;(v)抗イデオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む。場合によっては、炎症性サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、G-CSF、またはGM-CSFである。場合によっては、TLRアゴニストは、CpG ODN、免疫賦活性DNA、免疫賦活性RNA、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、イミキモド、レシキイモド(Resiquimod)、ロキシリピン(Loxribine)、フラジェリン、FSL-1、またはLPSである。場合によっては、前記抗原は、自己抗原、同種異系抗原、ペプチド抗原、核酸抗原、炭水化物抗原、または腫瘍関連抗原である。場合によっては、表面免疫グロブリンを架橋する作用物質は、抗Ig抗体、抗イデオタイプ抗体、または抗アイソタイプ抗体である。場合によっては、B細胞刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。

20

30

#### 【0021】

一部の態様において、マクロファージを活性化する処置は、マクロファージ刺激物質を含有するマクロファージ刺激組成物を含む。場合によっては、マクロファージ刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルココルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む。場合によっては、マクロファージ活性化サイトカインは、IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、G-CSF、GM-CSF、またはIFN- $\gamma$ である。場合によっては、TLRアゴニストはTLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストである。場合によっては、TLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストは、リポ多糖、ムラミルジペプチド、リポテイコ酸、または細菌熱ショックタンパク質である。場合によっては、マクロファージ刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。場合によっては、

40

#### 【0022】

一部の態様において、癌細胞の抗原は、癌細胞に豊富にある抗原である。一部の態様において、同種異系IgG抗体はモノクローナル抗体である。一部の態様において、抗体組成物は2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体を含み、2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも2つが異なる抗原に特異的に結合する。一部の態様において、抗体組成物は2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体を含み、2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも2つが同じ抗原の異なるエピトープに特異的に結合する。場合によっては、2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも2つがモノクローナル抗体である。

50

## 【0023】

一部の態様において、(a)前記抗体組成物の投与;および(b)前記個体のAPCを活性化する処置の少なくとも1つが、(i)腫瘍;および/または(ii)腫瘍切除部位の中にまたは近くに、局所注射によって実施される。一部の態様において、リポソーム、微粒子、またはナノ粒子における、(a)前記抗体組成物の投与;および(b)前記個体のAPCを活性化する処置の少なくとも1つが実施される。

## 【0024】

一部の態様において、APCは樹状細胞である。一部の態様において、APCはマクロファージである。一部の態様において、APCはB細胞である。

## 【0025】

別の局面において、本発明は、癌を有する個体に(i)癌細胞上の複数種の抗原を結合させるポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物の投与;および(ii)抗原提示細胞(APC)が樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、個体のAPCを活性化する処置を実施する工程を含む、個体を処置する方法を提供する。一部の態様において、ポリクローナル同種異系IgG抗体は、第2の個体の血清に由来する。一部の態様において、ポリクローナル同種異系IgG抗体は2つまたはそれ以上の個体からプールされている。

## 【0026】

一部の態様において、少なくとも1つの同種異系IgG抗体の標的抗原は、前もって決められていない。一部の態様において、樹状細胞を活性化する処置は、樹状細胞刺激物質を含む樹状細胞刺激組成物を含む。

## 【0027】

場合によっては、樹状細胞刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFκB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む。場合によっては、樹状細胞刺激組成物はCD40アゴニストおよび炎症性サイトカインを含む。場合によっては、炎症性サイトカインは腫瘍壊死因子(TNF)および/またはIFNである。場合によっては、樹状細胞刺激物質は同種異系IgG抗体の少なくとも1つとコンジュゲートされている。

## 【0028】

一部の態様において、B細胞を活性化する処置は、B細胞刺激物質を含有するB細胞刺激組成物を含む。場合によっては、B細胞刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イディオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む。場合によっては、炎症性サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、G-CSF、またはGM-CSFである。場合によっては、TLRアゴニストは、CpG ODN、免疫賦活性DNA、免疫賦活性RNA、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、イミキモド、レシキイモド、ロキシリピン、フラジェリン、FSL-1、またはLPSである。場合によっては、前記抗原は、自己抗原、同種異系抗原、ペプチド抗原、核酸抗原、炭水化物抗原、または腫瘍関連抗原である。場合によっては、表面免疫グロブリンを架橋する作用物質は、抗Ig抗体、抗イディオタイプ抗体、または抗アイソタイプ抗体である。場合によっては、B細胞刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。

## 【0029】

一部の態様において、マクロファージを活性化する処置は、マクロファージ刺激物質を含有するマクロファージ刺激組成物を含む。場合によっては、マクロファージ刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルココルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む。場合によっては、マクロファージ活性化サイトカインは

10

20

30

40

50

、IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、G-CSF、GM-CSF、またはIFN- $\gamma$ である。場合によっては、TLRアゴニストはTLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストである。場合によっては、TLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストは、リポ多糖、ムラミルジペプチド、リポテイコ酸、または細菌熱ショックタンパク質である。場合によっては、マクロファージ刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。

【0030】

一部の態様において、(a)前記抗体組成物の投与;および(b)前記個体のAPCを活性化する処置の少なくとも1つが、(i)腫瘍;および/または(ii)腫瘍切除部位の中にまたは近くに、局所注射によって実施される。一部の態様において、リポソーム、微粒子、またはナノ粒子における、(a)前記抗体組成物の投与;および(b)前記個体のAPCを活性化する処置の少なくとも1つが実施される。

10

【0031】

一部の態様において、ポリクローナル同種異系IgG抗体は2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体である。場合によっては、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、癌細胞に豊富にある抗原を特異的に結合させる。場合によっては、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが異なる抗原に特異的に結合する。場合によっては、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、同じ抗原上の2つの異なるエピトープに特異的に結合する。

【0032】

一部の態様において、ポリクローナル同種異系IgG抗体は個体における癌細胞上の抗原を結合させて、免疫複合体を形成する。場合によっては、APCの活性化は、個体におけるAPCによる免疫複合体の取り込み、および個体におけるT細胞への癌細胞の複数種の抗原の提示を含む。場合によっては、T細胞に提示された複数種の抗原の少なくとも1つが、免疫複合体中のどの抗原とも異なる。

20

【0033】

一部の態様において、前記方法は個体において癌細胞の数を減少させるか腫瘍のサイズを小さくする。場合によっては、癌は固形腫瘍である。場合によっては、固形腫瘍の直径は1cm未満である。場合によっては、個体はヒトである。

【0034】

別の局面において、本発明は、(a)インピトロで、個体に由来する抗原提示細胞(APC)を、(i)癌細胞またはその一部;および(ii)癌細胞上の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物と接触させる工程であって、癌細胞、および癌細胞上の抗原に結合する同種異系IgG抗体が、免疫複合体を形成し、かつ該接触させる工程が、APCによる免疫複合体の取り込みをもたらし、それによって、充填されたAPCを生じさせ、APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、工程;ならびに(b)個体のT細胞を、充填されたAPCと接触させる工程であって、充填されたAPCが癌細胞抗原をT細胞に提示して、接触したT細胞が生じ、接触したT細胞が、提示された癌細胞抗原に特異的な免疫応答を発生させる、工程を含む、個体において免疫応答を誘導する方法を提供する。

30

【0035】

一部の態様において、APCは、骨髄由来DC、血液由来DC、脾臓DC、および腫瘍関連DC(TADC)からなる群より選択される樹状細胞である。一部の態様において、前記方法は、APCを、APC刺激物質を含むAPC刺激組成物と接触させる工程をさらに含む。場合によっては、APC刺激組成物は、樹状細胞刺激物質を含む樹状細胞刺激組成物である。

40

【0036】

場合によっては、樹状細胞刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFkB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む。場合によっては、樹状細胞刺激組成物はCD40アゴニストおよび炎症性サイトカインを含む。場合によっては、炎症

50

性サイトカインは腫瘍壊死因子 (TNF )および/またはIFN である。場合によっては、樹状細胞刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。

【 0 0 3 7 】

一部の態様において、APC刺激組成物は、B細胞刺激物質を含むB細胞刺激組成物である。場合によっては、B細胞刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イディオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む。場合によっては、炎症性サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、G-CSF、またはGM-CSFである。場合によっては、TLRアゴニストは、CpG ODN、免疫賦活性DNA、免疫賦活性RNA、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、イミキモド、レシキイモド、ロキシリピン、フラジェリン、FSL-1、またはLPSである。場合によっては、前記抗原は、自己抗原、同種異系抗原、ペプチド抗原、核酸抗原、炭水化物抗原、または腫瘍関連抗原である。場合によっては、表面免疫グロブリンを架橋する作用物質は、抗Ig抗体、抗イディオタイプ抗体、または抗アイソタイプ抗体である。場合によっては、B細胞刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。

10

【 0 0 3 8 】

一部の態様において、APC刺激組成物は、マクロファージ刺激物質を含むマクロファージ刺激組成物である。場合によっては、マクロファージ刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルココルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む。場合によっては、マクロファージ活性化サイトカインは、IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、G-CSF、GM-CSF、またはIFN- $\gamma$ である。場合によっては、TLRアゴニストはTLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストである。場合によっては、TLR4アゴニストまたはTLR2アゴニストは、リポ多糖、ムラミルジペプチド、リポテイコ酸、または細菌熱ショックタンパク質である。場合によっては、マクロファージ刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。

20

【 0 0 3 9 】

一部の態様において、癌細胞は、APCに接触する前に、抗体組成物と接触する。一部の態様において、APCは癌細胞および抗体組成物と同時に接触する。一部の態様において、T細胞を接触させる工程はインピボで行われ、前記方法は、充填されたAPCを個体に導入する工程を含む。一部の態様において、T細胞を接触させる工程はインピトロで行われ、前記方法は、接触したT細胞を個体に導入する工程を含む。一部の態様において、同種異系IgG抗体はモノクローナル抗体である。一部の態様において、抗体組成物は、複数種の癌細胞抗原を結合させるポリクローナル同種異系IgG抗体を含む。場合によっては、ポリクローナル同種異系IgG抗体は2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体である。

30

【 0 0 4 0 】

別の局面において、本発明は、(i)癌細胞の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物;および(ii)樹状細胞刺激物質、マクロファージ刺激物質、またはB細胞刺激物質であるAPC刺激物質を含む、APCに充填するための組成物を提供する。一部の態様において、同種異系IgG抗体はモノクローナル抗体である。

40

【 0 0 4 1 】

一部の態様において、抗体組成物は、複数種の癌細胞抗原を結合させるポリクローナル同種異系IgG抗体を含む。場合によっては、ポリクローナル同種異系IgG抗体は2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体を含む。場合によっては、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つが、癌細胞に豊富にある抗原を特異的に結合させる。場合によっては、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つは異なる抗原に特異的に結合する。場合によっては、2種類またはそれ以上のモノクローナル抗体の少なくとも2つは同じ抗原の異なるエピトープに特異的に結合する。

【 0 0 4 2 】

50

場合によっては、ポリクローナル同種異系IgG抗体は、個体の血清に由来する。場合によっては、ポリクローナル同種異系IgG抗体は2つまたはそれ以上の個体からプールされている。場合によっては、前記組成物は、静脈内免疫グロブリン(IVIG)またはIVIGから精製もしくは濃縮された抗体を含む。

【0043】

一部の態様において、樹状細胞刺激物質は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFκB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子からなる群より選択される。

10

【0044】

一部の態様において、B細胞刺激物質は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イディオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される。

【0045】

一部の態様において、マクロファージ刺激物質は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルココルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される。

【0046】

一部の態様において、少なくとも1つの抗体組成物の同種異系IgG抗体はAPC刺激物質とコンジュゲートされている。場合によっては、少なくとも1つの抗体組成物の同種異系IgG抗体はCD40アゴニストとコンジュゲートされている。少なくとも1つの抗体組成物の同種異系IgG抗体は炎症性サイトカインとコンジュゲートされている。場合によっては、炎症性サイトカインはTNF および/またはIFN である。

20

【0047】

一部の態様において、少なくとも1つの抗体組成物の同種異系IgG抗体はCD40アゴニストとコンジュゲートされている。少なくとも1つの抗体組成物の同種異系IgG抗体は炎症性サイトカインとコンジュゲートされている。少なくとも1つの抗体組成物の同種異系IgG抗体はToll様受容体(TLR)アゴニストとコンジュゲートされている。

30

【0048】

別の局面において、本発明は、前記方法のいずれかにおいて使用するためのキットを提供する。別の局面において、本発明は、(i)癌細胞の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物を含む、コンパートメント;および(ii)少なくとも1種類のAPC刺激組成物を含み、APC刺激組成物が樹状細胞刺激組成物、マクロファージ刺激組成物、またはB細胞刺激組成物である、少なくとも1つのコンパートメントを含む、キットを提供する。

【0049】

一部の態様において、APC刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFκB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む。場合によっては、CD40アゴニストはCD40Lであり、炎症性サイトカインはTNFαおよび/またはIFNγである。場合によっては、CD40アゴニストおよび炎症性サイトカインは同じコンパートメントにある。場合によっては、CD40アゴニストおよび炎症性サイトカインは別々のコンパートメントにある。

40

【0050】

一部の態様において、APC刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルココルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む。一部の態様において、APC刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD

50

40 アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イデオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む。

【0051】

別の局面において、本発明は、腫瘍を、(i)腫瘍細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物、および(ii)APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、APC刺激組成物と接触させ、それによって、腫瘍のサイズまたは腫瘍中の細胞の数を減少させる工程を含む、腫瘍中の細胞のサイズまたは数を減少させるための方法を提供する。一部の態様において、腫瘍を接触させることは、抗体組成物およびAPC刺激組成物を腫瘍部位の中にまたは近くに、同時にまたは連続して直接注射することを含む。一部の態様において、APCは樹状細胞であり、APC刺激組成物は樹状細胞刺激物質を含む。一部の態様において、APCはマクロファージであり、APC刺激組成物はマクロファージ刺激物質を含む。一部の態様において、APCはB細胞であり、APC刺激組成物は、B細胞刺激物質を含む。

10

【0052】

場合によっては、APC刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)チェックポイント分子中和化合物;(v)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(vi)NFκB活性化因子;(vii)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;ならびに(viii)T細胞関連共刺激分子より選択される1種類または複数種の樹状細胞刺激物質を含む。

20

【0053】

場合によっては、APC刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;および(iii)グルコルチコイド受容体アゴニストからなる群より選択される1種類または複数種のマクロファージ刺激物質を含む。

【0054】

場合によっては、APC刺激組成物は、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イデオタイプ抗体;ならびに(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質からなる群より選択される1種類または複数種のB細胞刺激物質を含む。

【図面の簡単な説明】

30

【0055】

本発明は、添付の図面と共に以下の詳細な説明を読むと最もよく理解される。慣行に従うと、図面の様々な特徴は縮尺通りではないことを強調する。それどころか、様々な特徴の寸法は明確に示すために、適宜拡大または縮小される。図面には以下の図が含まれる。

(図1) 図1a~kは、腫瘍結合抗体は同種異系腫瘍の拒絶反応を開始する。a. 実験計画:129S1同系宿主およびC57Bl/6同種異系宿主へのLMP細胞の皮下(s.c.)注射。C57Bl/6同系宿主および129S1同種異系宿主へのB16F10細胞のs.c.注射。b. C57Bl/6マウス( )、129S1マウス( )、CD4<sup>+</sup>細胞枯渇同種異系マウス( )、またはCD8<sup>+</sup>細胞枯渇同種異系マウス( )におけるLMP腫瘍およびB16腫瘍の増殖(n=16)。c. 129S1マウス( )およびC57Bl/6マウス( )における、CD45<sup>+</sup>細胞間のLMPに浸潤したCD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞のパーセント(n=8)。d. 129S1マウス( )およびC57Bl/6マウス( )におけるLMPに浸潤した未熟骨髄系細胞(iMC)および成熟DCのパーセント(n=8)。e. 3日前にCFSE標識LMP細胞を接種した129S1マウスまたはC57Bl/6マウスの流入領域リンパ節中の骨髄系細胞(n=6)。f. CFSE標識LMP細胞と一晚インキュベートした、同系BMDC( )および血液単球(Mo)-DC

40

(図)

、ならびに同種異系BMDC( )およびMo-DC

(図)

による腫瘍取り込み、MHCIIおよびCD86の発現(n=10)。g. 129S1マウスまたはC57Bl/6マウスに腫瘍を接種して48時間後に、IgGおよびIgMはCFSE標識LMP細胞にインビボで結合した(n=5)。h. およびi. CFSE標識LMP細胞を129S1マウスおよびC57Bl/6マウスに接種して24時間

50

後のIgM(h)およびIgG(i)を対象にした腫瘍切片の染色(n=5)。j. 129S1宿主( )、C57Bl/6宿主( )、およびB細胞枯渇同種異系宿主( )における腫瘍成長(n=6)。k. 左:ナイーブC57Bl/6( )、または-1日目および0日目に同系-IgG( )、同系-IgM( )、同種異系-IgG( )、または同種異系-IgM( )をi.v.注射したマウスにおけるB16腫瘍サイズ(n=6)。右:同種異系-IgG( )もしくは同種異系-IgM( )を2回注射したナイーブC57Bl/6( )、または同種異系-IgG( )もしくは同種異系-IgM( )を注射したFc R KOマウス(C57Bl/6バックグラウンド)におけるB16腫瘍サイズ(n=6)。星印(\*)はp<0.05を示し、2つの星印(\*\*)はp<0.01を示す。

(図2)図2a~hは、アロIgG-ICはBMDCによって取り込まれ、提示され、インビボで防御免疫を動かす。a. 実験計画:腫瘍溶解産物を同系または同種異系のIgGまたはIgMとインキュベートし、同系BMDCと一緒に一晚培養した。b. 抗体、および腫瘍溶解産物( )またはインタクト腫瘍細胞( )と一緒に培養したDC上でのCD86およびMHCIIの発現(n=16)。c. LMP溶解産物( )またはインタクトLMP細胞( )Ig-ICと一緒に一晚培養したBMDCの上清中のIL-12およびTNF (n=16)。d. CFSE標識腫瘍溶解産物( )またはCFSE標識インタクト細胞( )から形成したICと一緒に一晚インキュベートしたBMDC(n=8)。e. CFSE標識LMP細胞および同種異系抗体(x400)と一緒に一晚培養したBMDCにおけるMHCII発現。f. 腫瘍溶解産物( )またはインタクト細胞( )から形成したICが充填されたDCと一緒に培養したCD4<sup>+</sup>T細胞の増殖(n=8)。g. 実験計画:腫瘍をマウスから取り出し、抗体でコーティングし、同系DCと24時間インキュベートした。DCを洗浄し、腫瘍が切除された対応するマウスにs.c.注射した。h. PBS( )、腫瘍溶解産物が充填されたDC( )、C57Bl/6 IgG-ICが充填されたDC( )、C57Bl/6 IgM-ICが充填されたDC( )、129S1 IgG-ICが充填されたDC( )、または129S1 IgM-ICが充填されたDC( )の腫瘍再発に対する効果(n=16)。

(図3)図3a~gは、アロIgG-ICに応答するためには、腫瘍関連樹状細胞(TADC)は刺激を必要とするが、骨髄由来樹状細胞(BMDC)は刺激を必要としない。a. PBS( )、129S1 IgG( )、またはC57Bl/6 IgG( )を腫瘍内注射した後の腫瘍成長(n=12)。b. PBS(各条件については左バー)、腫瘍溶解産物(各条件については真ん中のバー)、またはアロIgG-IC(各条件については右バー)とインキュベートしたDC上でのCD86およびMHCIIの発現(n=9)。c. 単独で(各条件については左バー)、LMP溶解産物(各条件については真ん中のバー)、またはアロIgG-IC(各条件については右バー)と一緒に培養したDCの上清中のTNF およびIL-12(n=12)。d. DC(各条件については左バー)、腫瘍溶解産物が充填されたDC(各条件については真ん中のバー)、またはアロIgG-ICが充填されたDC(各条件については右バー)と一緒に培養したCD4<sup>+</sup>T細胞の増殖(n=12)。e. 無処置マウス( )、またはアロIgG-ICで活性化されたBMDC( )もしくはTADC( )で処置されたマウスにおける切除されたLMP腫瘍およびB16腫瘍の再発(n=12)。f. 無処理DC(赤色)、またはアロIgG-ICとインキュベートしたDCにおけるp-P38、pERK1/2、およびpJNK。グラフは、LMP溶解産物(各条件については左バー)またはアロIgG-IC(各条件については右バー)と15分間インキュベートしたDCにおけるp-pP38、pERK1/2、およびpJNKレベルのarcsinh比を示す(n=8)。g. CFSE標識アロIgG-ICと一緒に培養した後のTADCのMHCII<sup>+</sup>およびCD86<sup>+</sup>の発現またはCFSEレベル(n=12)。PBS(各条件については左バー);IgG<sub>129</sub>IC(各条件については右バー)。

(図4)図4a~iは、インサイチューでアロ抗体をCD40LおよびTNF と組み合わせて腫瘍に注射すると、DCを介した全身性の抗腫瘍免疫が誘導される。a. 無処置マウス( )、またはアロIgG( )、TNF +CD40L( )、ポリI:C( )、アロIgG+TNF +CD40L( )、もしくはポリI:C+アロIgG( )を注射したマウスにおける腫瘍成長(n=12)。b. PBS(下)、PE標識IgG(真ん中)、またはPE標識IgGとTNF +CD40L(上)を注射して2時間後の、B16をもつマウスに由来する骨髄系細胞におけるPEの平均蛍光レベル。c. 処置して5日後の、B16腫瘍に由来するDC上でのCD40およびCD86の発現(n=6)。d. 無処置( )、またはアロIgG( )、TNF +CD40L( )、ポリI:C( )、TNF +CD40L+アロIgG( )、もしくはポリI:C+アロIgG( )を注射した、B16腫瘍に由来する2x10<sup>6</sup>個のDCをワクチン接種したマウスにおけるB16成長(n=6)。e. 無処置( )、またはアロIgG( )、TNF +CD40L( )、もしくはTNF +CD40L+アロIgG( )で処置したTyr:CreER;Braf<sup>V600E</sup>/Pten<sup>lox/lox</sup>マウスにおける腫瘍数。写真は

10

20

30

40

50

、処置日および処置して24日後の代表的なマウスを示す(n=8)。f. 無処置マウス( )、またはアロIgG( )、TNF +CD40L( )、もしくはTNF +CD40L+アロIgG( )で処置したマウスにおける4T1原発腫瘍サイズ(n=7)。g. 30日目での目に見える肺転移の数の平均。30日目での肺転移の写真および組織構造(大きさ(magnitude) × 10、n=7)。h. 自己IgGまたはアロIgGでコーティングしたCFSE染色自己由来腫瘍細胞と一晚培養した、肺癌患者に由来するTADC上での抗原取り込みおよびCD40/CD86同時発現(n=2)。i. 自己由来BMDCを、自己IgGまたはアロIgGでコーティングした自己由来腫瘍細胞と一緒に培養した後の、中皮腫(MSTO)患者に由来するCD4<sup>+</sup>T細胞のDC HLA-DR上方制御および増殖応答(n=2)。

(図5) a. 129S1( )、C57B1/6( )、または抗アシアロ-GM1( )もしくは抗NK1.1抗体( )で前処置された同種異系宿主におけるLMP(右)およびB16(左)の成長(n=5)。b. LMPをもつ129S1マウス( )およびC57B1/6マウス( )のリンパ器官におけるCD4<sup>+</sup>T細胞(上グラフ)およびCD8<sup>+</sup>T細胞(下グラフ)によるBrdU取り込みc. LMPをもつマウス(左パネル)およびB16をもつマウス(右パネル)に由来するGr-1<sup>neg</sup>/CD11c<sup>+</sup>/MHCII<sup>+</sup>細胞のフローサイトメトリ分析。ヒストグラムは、C57B1/6(青色)および129S1マウス(赤色)に由来するDC上の共刺激分子の代表的な発現レベルを示す。d. LMP細胞と一晚インキュベートした、同系BMDC( )、同系血液単球(Mo)-DC

()

、同種異系BMDC( )、またはMo-DC

()

の上清中のIL-12およびTNF。e. 様々な濃度のC57B1/6由来IgG( )、C57B1/6由来IgM( )、129S1由来IgG( )、および129S1由来IgM( )と、LMP細胞およびB16細胞との結合のフローサイトメトリ分析。下パネルは、1μgのC57B1/6(赤色)抗体または129S1(緑色)抗体を1 × 10<sup>5</sup>個のLMP(上)細胞またはB16(下)細胞とインキュベートした後のIgG(左)またはIgM(右)のMFIの代表的なヒストグラムを示す。f. 同種異系IgG( )、同種異系IgM( )、同系IgG( )、または同系IgM( )を注射したナイーブ129S1マウスにおけるLMP腫瘍サイズ(n=6)。星印(\*)はp<0.05を示し、2つの星印(\*\*)はp<0.01を示す。

(図6) a. IgG-ICで一晚活性化した、C57B1/6マウス( )およびFcγR KOマウス( )に由来するBMDCにおけるCD40およびCD86の発現(左)ならびにIL-12分泌(右)の平均レベル(n=5)。b. IgG-ICが充填された、C57B1/6マウス( )およびFcγR KOマウス( )に由来するBMDCと一緒に培養したCD4<sup>+</sup>T細胞の増殖(n=4)。c. 無処置マウス( )、IgG-ICが充填されたWT BMDCで処置したマウス( )、またはIgG-ICが充填されたFcγR KO BMDCで処置したマウス( )における腫瘍再発(n=4)。d. およびe. ナイーブマウス( )に由来するか、またはDC+IgG<sub>C57</sub>IC( )、DC+IgM<sub>C57</sub>IC( )、DC+IgG<sub>129</sub>IC( )、もしくはDC+IgM<sub>129</sub>IC( )で処置され、その後、LMP(a)もしくはB16(b)が投与されたLMP(a)切除マウスもしくはB16(b)切除マウスに由来する5 × 10<sup>6</sup>個の脾臓CD4<sup>+</sup>T細胞(左グラフ)またはCD8<sup>+</sup>T細胞(右グラフ)を養子移入した後の、腫瘍の無いマウスのパーセント(n=6)。f. 左: 無処置マウス( )、またはアロIgGおよびサイトゾル腫瘍タンパク質( )、核腫瘍タンパク質( )、もしくは膜腫瘍タンパク質( )と一緒に形成されたICが充填されたDCで処置されたマウスにおける腫瘍頻度。右: 無処置マウス( )、またはアロIgGおよび膜タンパク質( )、O-グリカンおよびN-グリカンの無い膜タンパク質( )、もしくは熱変性膜タンパク質( )から形成されたICが充填されたDCで処置されたマウスにおける腫瘍頻度(n=5)。g. 無処置C57B1/6マウス( )、あるいはTNF +CD40L( )、TNF +CD40L+アロIgG( )、またはIgG-ドナーバックグラウンドの正常細胞上に吸収されたTNF +CD40LおよびアロIgG( )、もしくは腫瘍バックグラウンドの正常細胞上に吸収されたTNF +CD40LおよびアロIgG( )を注射したC57B1/6マウスにおけるB16腫瘍成長(n=6)。h. 無処置で放置したマウス( )、従来法で産生されたC57B1/6に由来するIgG-ICが充填された2 × 10<sup>6</sup>個のDCで処置したマウス( )、またはノトバイオートC57B1/6マウスに由来するIgG-ICが充填された2 × 10<sup>6</sup>個のDCで処置したマウス( )における切除後の腫瘍再発率(n=4)。i. 無処置マウス( )、またはアロIgGでコーティングしたインタクトB16細胞が充填されたBMDCで処置したマウス( )、もしくは同系IgGと架橋したインタクトB16細胞が充填されたBMDCで処置したマウス( )におけるB16頻度

10

20

30

40

50

(n=4)。j. 無処置マウス( )、またはアロIgGでコーティングしたインタクトB16細胞が充填されたBMDCで処置されたマウス( )、もしくはMHC-Iに対するモノクローナルIgGでコーティングしたインタクトB16が充填されたBMDCで処置されたマウス( )におけるB16腫瘍頻度。

(図7) a. BMおよび腫瘍からのDCの分別および培養の図。b. 培地だけ(白色バー)で一晩培養したDC、B16溶解産物(灰色バー)、またはアロIgG-IC(黒色バー)と一緒に一晩培養したDCの上清中のIL-12(左グラフ)およびTNF (右グラフ)の平均レベル。c. PBS(各条件については左バー)、または刺激分子と共に、もしくは刺激分子を伴わずにCFSE標識アロIgG-IC(各条件については右バー)を用いて一晩活性化した後の腫瘍関連DCにおけるMHC I<sup>+</sup>/CD86<sup>+</sup>細胞(左パネル)またはCFSEレベル(右パネル)のパーセント。d. CFSEで標識された固定B16細胞と一緒に一晩培養したB16由来DCのフローサイトメトリー分析および共焦点イメージング。結果は少なくとも4回の実験±SEMからの平均値を表す。星印(\*)はp<0.05を示し、2つの星印(\*\*)はp<0.01を示す。

(図8) a. 無処置で放置したC57B1/6マウス( )、または129S1アロIgG( )、LPS( )、TNF +CD28( )、LPS+アロIgG( )、もしくはTNF +CD28+アロIgG( )を腫瘍内注射したC57B1/6マウスにおけるB16腫瘍サイズ。b. 無処置で放置したC57B1/6マウス( )、または129S1アロIgG( )、TNF ( )、CD28( )、CD40Lを腫瘍内注射したC57B1/6マウスにおけるB16腫瘍サイズ。c. 無処置で放置したC57B1/6マウス( )、または129S1アロIgG( )、TNF +CD40L( )、TNF +CD28( )、129S1アロIgG+TNF +CD40L( )、もしくはTNF +CD28+129S1 IgG( )を腫瘍内注射したC57B1/6マウスにおけるLL/2腫瘍サイズ。d. PBSまたは5μgのPE標識アロIgGを腫瘍内注射して3時間後のB16腫瘍をもつマウスにおける、IgGが結合した全骨髄系細胞の代表的なフローサイトメトリー分析(n=6)。e. 処置して4日後のB16腫瘍をもつマウスの流入領域リンパ節におけるCD11c<sup>+</sup>細胞の総数(n=6)。f. 無処置( )、またはアロIgG( )もしくはアロIgG+TNF +CD40L( )を注射したB16腫瘍に由来する2×10<sup>6</sup>個のB細胞、NK細胞、マスト細胞またはマクロファージをワクチン接種したマウスにおけるB16成長(n=5)。g. 30日目での肺転移のH&E切片(大きさ×10、n=7)。h. 自己IgGまたは10人のドナーのプールに由来するアロIgG(1μg/2×10<sup>5</sup>個の細胞)でコーティングした自己由来腫瘍細胞(緑色)と、50ng/mL TNF および1μg/mL CD40Lの存在下で一晩インキュベートした、肺癌患者に由来するTADCの広視野顕微鏡。

(図9) a. CD115+単球をマウス末梢血から単離し、GM-SCFと5~7日間、培養してDCを得た。次いで、DCを、B16腫瘍細胞、または同種異系IgGでプレコーティングしたB16腫瘍細胞と一緒に培養した。場合によっては、10ng/mL TLR3アゴニスト(ポリイノシン:ポリシチジン酸(ポリI:C))または20ng/mL TLR-9アゴニスト(CpG ODN)も存在した。CD40およびCD86を両方とも発現するDCの平均パーセントを示した。b. CD14+ヒト単球を3人の健常ドナーの末梢血から単離し、GM-SCFおよびIL-4と5~7日間、培養してDCを得た。次いで、DCを、PANC-1腫瘍細胞、または同種異系IgGでプレコーティングしたPANC-1腫瘍細胞と一緒に培養した。場合によっては、10ng/mL TLR3アゴニスト(ポリイノシン:ポリシチジン酸(ポリI:C))または1.5μMカルシウムチャンネルオープナー(opener)(イオノマイシン)も存在した。CD40およびCD86を両方とも発現するDCの平均パーセントを示した。

(図10)モノクローナル同種異系抗MHC I抗体とDC刺激の組み合わせによって完全な腫瘍退行が誘導される。4×10<sup>6</sup>個のCT26結腸癌細胞をBalb/cマウスの右側腹部の上方でs.c.注射した。腫瘍が25mm<sup>2</sup>に達したら、無処置で放置したか(白丸)、TNFa+aCD40アゴニスト+同種異系IgG(白四角)、またはTNFa+aCD40アゴニスト+H-2K<sup>d</sup>IgG(抗MHCクラスI抗体)(黒四角)を腫瘍内注射した。

(図11)図11a~cは、療法後に免疫細胞は腫瘍に浸潤する。マウスに、2×10<sup>5</sup>個のB16メラノーマ細胞をs.c.注射し、腫瘍が25mm<sup>2</sup>に達するまで増殖させた。次いで、マウスに、PBS(無処置)、TNFa+aCD40のみ、またはTNFa+aCD40+同種異系IgG(129S1マウス由来)の組み合わせ、またはTNFa+aCD40+膜貫通糖タンパク質-NMB(TG-NMB, GPNMB)に対する抗体を腫瘍内注射した。場合によっては、機能的Fcγ受容体シグナル伝達を欠くマウスにTNFa+aCD40+同種異系IgGを注射した。6日後、腫瘍を切り取り、腫瘍細胞を含む全細胞組成物をフ

10

20

30

40

50

ローサイトメトリーによって試験した(n=8)。a. Y軸は、全腫瘍細胞中のCD45細胞%である。b. Y軸は、(CD8 T細胞およびCD4 T細胞について定量した)CD45<sup>+</sup>細胞中の% INFg<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup>細胞である。c. Y軸は、gp100四量体を発現するCD8<sup>+</sup>細胞の%およびTrp2四量体を発現するCD8<sup>+</sup>細胞の%である。

(図12) ナイーブマウスにおける腫瘍発達に対する、処置マウスに由来するT細胞の養子移入の効果。PBS(無処置)、TNFa+aCD40、またはTNFa+aCD40を同種異系IgG(アロIgG)と組み合わせて、または膜貫通糖タンパク質-NMB(TG-NMB; GPNMB)に対する抗体と組み合わせて処置して6日後に、B16をもつマウスから脾臓T細胞を精製した。5×10<sup>6</sup>個のCD4<sup>+</sup>細胞(上)またはCD8<sup>+</sup>細胞(下)をナイーブマウスにi.v.注射し、それに続いて1時間後に2.5×10<sup>5</sup>個のB16細胞をs.c注射した。

(図13) 処置して6日後のB16腫瘍からの代表的なFACSプロット。数は陽性細胞の%を表している。

(図14) 処置して6日後のB16腫瘍からの代表的なFACSプロット。

(図15) a. B6細胞を固定し、異なる同種異系IgGサブクラスと1時間インキュベートして免疫複合体(IC)を形成した。野生型(WT)マウスおよびFcγRノックアウト(KO)マウスに由来するBMDC培養物にICを添加し、MHCIIおよびCD86のDC発現を試験した。b. C57BL/6マウスにB16メラノーマ腫瘍細胞をs.c.注射した。16日目に腫瘍を切除し、異なるアロIgGサブクラス抗体と一緒にアロIgG-ICを形成するのに使用した。ICを同系BMDCと一晚培養し、次いで、腫瘍が取り除かれた対応するマウスに注射した。

【発明を実施するための形態】

【0056】

態様の詳細な説明

#### 1. 序論

癌を処置するための方法、組成物、およびキットが本明細書において説明される。前記方法、組成物、およびキットの一部は、癌細胞架橋物質と抗原提示細胞(APC)刺激の組み合わせが癌の処置に驚くほど効果があるという本発明者らによる発見に基づいている。一部の態様において、APCは樹状細胞である。

【0057】

癌細胞架橋物質は、癌細胞上の抗原と、抗原提示細胞上の1つまたは複数の受容体とを架橋する作用物質である。一般的に、架橋物質は抗体である。場合によっては、架橋物質は、癌細胞表面上の1種類または複数種の抗原を認識する抗体である。典型的に、この抗体は癌細胞に結合するかまたは腫瘍塊と結びつき、APC上のFc受容体が認識することができる。一部の態様において、この抗体は同種異系抗体(アロ抗体)である。一態様において、この抗体はIgG抗体、例えば、同種異系IgG抗体である。

【0058】

APCは腫瘍の状況において阻害されることが多いが、APC刺激物質を用いると、腫瘍によって誘導された阻害を克服することができる。さらにまたは代案では、APC刺激物質は、それ以外の場合で起こる程度より大きくAPCを活性化することができる。従って、活性化されたAPCは、癌抗原と結合した架橋物質を認識し、癌細胞またはその一部を内部に取り入れることができる。次いで、APCは、癌細胞に由来する非常に多くの抗原を生じ、CD4 T細胞およびCD8 T細胞に提示し、従って、癌細胞が発現している非常に多くの抗原に対してT細胞を活性化することができる。処置前にあらかじめ決まっている必要はない複数種の腫瘍抗原に対する、この驚くほど強いT細胞活性化によって、免疫系による認識または破壊から腫瘍が逃れることができる可能性が劇的に減少する。

【0059】

抗腫瘍抗体は腫瘍の成長もしくは進行を促進するか、または腫瘍に対するT細胞寛容を誘導することができる。例えば、Cancer Cell 2005 v7 p411; Cancer Cell 2010 v17 p121; J Exp Med. 2008 Jul 7;205(7):1687-700)、およびこの中で引用された参照文献を参照されたい。抗腫瘍IgG抗体の静脈内適用は、一般的に、有効な癌処置でない。例えば、Ann. NY Acad Sci 2007 v1110 p305-314を参照されたい。同様に、抗原提示細胞の刺激は

10

20

30

40

50

腫瘍の成長または進行を促進することが示されている。例えば、Oncotarget. 2014 Dec 15;5(23):12027-42; Cancer Biol Ther. 2014 Jan;15(1):99-107を参照されたい。従って、架橋物質(例えば、抗体またはアロ抗体、例えば、同種異系IgG)とAPC刺激(例えば、樹状細胞刺激)の組み合わせによって誘導される強い抗腫瘍応答は、驚くべき予想外の結果である。さらに、他の成功した、抗体に基づく癌処置とは異なり、この効果は、主として、抗体を介した癌細胞シグナル伝達への干渉にも抗体依存性細胞傷害にも起因せず、抗体を介した癌細胞シグナル伝達への干渉も抗体依存性細胞傷害も必要としない。

#### 【0060】

前記方法の局面は、個体(例えば、癌を有する個体)に(i)個体の癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を有する抗体組成物の投与;および(ii)APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、個体のAPCを活性化する処置を実施する工程を含む。他の態様は、個体に、(i)個体の癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を有する抗体組成物;および(ii)個体のAPCを活性化する処置の存在下で、腫瘍抗原に曝露されたAPCの集団を投与する工程であって、APCが樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である、工程を含む。場合によっては、抗体組成物は、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む。

10

#### 【0061】

場合によっては、個体のAPC、例えば、樹状細胞(DC)を活性化する処置は、APC刺激物質(例えば、DC刺激物質)を有する刺激組成物を個体に投与する工程を含む。場合によっては、APC刺激物質(例えば、DC刺激物質)は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。例えば、APC刺激物質は、不安定になる可能性が高くなるように同種異系抗体とコンジュゲートされていてよい。場合によっては、コンジュゲーションは、APCによる内部移行後に不安定になる。例えば、APC刺激物質は、APCによって内部移行される同種異系抗体とコンジュゲートされ、APC刺激物質は抗体から放出されて、APCが刺激されてもよい。場合によっては、コンジュゲーション、腫瘍細胞で、もしくは腫瘍細胞の近くで遭遇する可能性が高い条件下で、またはAPC表面に結合した場合に不安定になる。例えば、前記刺激物質は、1種類または複数種の細胞表面プロテアーゼまたはエステラーゼによって切断することができるエステル結合またはペプチド結合を介してコンジュゲートされてもよい。場合によっては、前記刺激物質は単独で、または同種異系抗体とコンジュゲートされた状態で、APC表面上の受容体に結合する。場合によっては、刺激組成物はCD40リガンド(CD40L)および炎症性サイトカインを含む。

20

30

#### 【0062】

個体において免疫応答を誘導するための方法が提供される。前記方法の局面は、(a)インビトロで、個体に由来するAPC、例えばDCを、標的抗原、および標的抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を有する抗体組成物と、APCによる、例えばDCによる標的抗原の取り込みに有効な用量でかつ期間にわたって接触させ、それによって、充填されたAPC、例えばDCを生じさせる工程;ならびに(b)個体のT細胞を、充填されたAPC、例えばDCと接触させる工程であって、充填されたAPC、例えば、DCが、抗原をT細胞に提示して、接触したT細胞を生じさせ、かつ接触したT細胞が、提示された抗原に特異的な免疫応答を発生させる、工程を含む。場合によっては、APC、例えば、DCは、癌を有する個体に由来し、標的抗原は癌に関連する。場合によっては、APC、例えばDCは、個体に由来する癌細胞と接触する。場合によっては、APC、例えばDCは、個体の癌細胞に由来する溶解産物と接触する。場合によっては、APC、例えばDCは、個体の癌細胞に由来する2種類またはそれ以上の原形質膜タンパク質(溶解産物の一部でもよい)と接触する。場合によっては、APC、例えばDCは、APC刺激物質(例えば、樹状細胞刺激物質)を含む刺激組成物と接触する。場合によっては、刺激組成物はCD40Lおよび炎症性サイトカインを含む。場合によっては、樹状細胞刺激物質は同種異系IgG抗体とコンジュゲートされている。場合によっては、標的抗原は、APC、例えばDCに接触する前に、抗体組成物と接触する。場合によっては、APC、例えばDCは、標的抗原および抗体組成物と同時に接触する。場合によっては、T細胞を接触する工程はインビボで行われ、前記方法は、充填されたAPC、例えば、DCを個体に導入する工

40

50

程を含む。場合によっては、T細胞を接触させる工程はインビトロで行われ、前記方法は、接触したT細胞を個体に導入する工程を含む。

【0063】

本開示の方法を実施するための組成物およびキットも提供される。場合によっては、本組成物は、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体;および少なくとも1種類のAPC刺激物質(例えば、樹状細胞刺激物質)を含む。場合によっては、本組成物は、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体;CD40L;および炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)を含む。場合によっては、APC刺激物質(例えば、樹状細胞刺激物質)は、前記組成物の同種異系IgG抗体の少なくとも1つとコンジュゲートされている。場合によっては、本組成物は、静脈内免疫グロブリン(IVIG)またはIVIGから精製もしくは濃縮された抗体を含む。

10

【0064】

本発明の方法および組成物を説明する前に、本発明は、説明される特定の方法または組成物に限定されず、従って、もちろん、変化してもよいことを理解すべきである。本明細書で使用する用語は特定の態様を説明しているのにすぎず、本発明の範囲が添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるので、限定を目的としないことも理解すべきである。

【0065】

値の範囲が定められている場合、その範囲の上限と下限との間のそれぞれの間にある値も、特に文脈によってはっきりと規定されていない限り、下限の単位の1/10まで、詳細に開示されることが理解される。述べられた範囲内の任意の述べられた値または間の値と、その述べられた範囲内の他の任意の述べられた値または間の値との間のそれぞれの狭い範囲が本発明に包含される。これらの狭い範囲の上限および下限は独立してこの範囲に含まれても、排除されてもよく、狭い範囲において一方の限界を含む、またはいずれの限界も含まない、または両方の限界を含む、それぞれの範囲も、述べられた範囲においてはっきり限定して排除される任意の限界に応じて本発明に包含される。述べられた範囲が限界の一方または両方を含む場合、含まれる限界のいずれかまたは両方を排除する範囲も本発明に含まれる。

20

【0066】

特に定めのない限り、本明細書で使用する全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者により一般的に理解されているものと同じ意味を有する。本明細書に記載の方法および材料に類似するかまたは等価な任意の方法および材料を本発明の実施または試験に使用することができるが、いくつかの可能性のある、かつ好ましい方法および材料を今から説明する。本明細書で述べた全ての刊行物は、引用された刊行物に記載されている方法および/または材料を開示および説明するために参照として本明細書に組み入れられる。本開示は、矛盾がある程度まで、組み入れられた刊行物のあらゆる開示に取って代わることが理解される。

30

【0067】

本開示を読めば当業者に明らかなように、本明細書において説明および例示された個々の態様はそれぞれ、本発明の範囲または精神から逸脱することなく、他のいくつかの態様のいずれかの特徴と容易に区別することができるか、または組み合わせることができる別個の構成要素および特徴を有する。列挙されたどの方法も、列挙された事象の順番で、または論理的に可能な他の任意の順番で行うことができる。

40

【0068】

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用する、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、特に文脈によってはっきりと規定されていない限り複数の指示物を含むことに留意しなければならない。従って、例えば、「1個の細胞」についての言及は複数のこのような細胞を含み、「そのペプチド」についての言及は、1個または複数のペプチドおよび当業者に公知のその等価物、例えば、ポリペプチドなどについての言及を含む。

【0069】

50

本明細書で議論される刊行物は、本願の出願日前の刊行物の開示のためだけに提供される。本明細書から、先行発明によって本発明がこのような刊行物に先行する権利がないことが認められると解釈されるべきではない。さらに、提供された刊行物の日付は実際の発行日とは異なることがあり、実際の発行日を別途に確認する必要がある。

【0070】

## 11. 定義

「特異的結合」、「特異的に結合する」などという用語は、溶液または反応混合物中で、非共有結合または共有結合により、他の分子または部分と比べて、ある分子に優先的に結合することを指す(例えば、抗体は、他の利用可能なポリペプチドと比べて特定のポリペプチドまたはエピトープに特異的に結合する)。例えば、癌細胞の抗原(標的抗原)に特異的に結合する本同種異系IgG抗体は、他の利用可能な抗原と比べて、その特定の抗原に優先的に結合する。しかしながら、標的抗原は癌細胞に特異的である必要はなく、他の細胞と比べて癌細胞に豊富にあることさえ必要としない(例えば、標的抗原は他の細胞において発現されてもよい)。従って、「癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系抗体」という句の中にある「特異的に」という用語は、抗体の特異性を指し、その特定の細胞タイプにある抗原のユニークさ(uniqueness)を指さない。一部の態様において、ある分子の、その分子が特異的に結合する別の分子に対する親和性は、 $10^{-5}\text{M}$ またはそれ未満(例えば、 $10^{-6}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-7}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-8}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-9}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-10}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-11}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-12}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-13}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-14}\text{M}$ もしくはそれ未満、 $10^{-15}\text{M}$ もしくはそれ未満、または $10^{-16}\text{M}$ もしくはそれ未満)の $K_D$ (解離定数)を特徴とする。「親和性」とは結合の強さを指す。例えば、高い結合親和性は低い $K_D$ によって示すことができる。場合によっては、高い結合親和性は低い $K_D$ と相関関係にある。

【0071】

本明細書で使用する「特異的結合メンバー」という用語とは、特異的結合ペア(すなわち、2つの分子、通常、2つの異なる分子。この場合、一方の分子、例えば、第1の特異的結合メンバーは非共有結合手段を介して他方の分子に、例えば、第2の特異的結合メンバーに特異的に結合する)のメンバーを指す。

【0072】

本明細書で使用する「特異的結合物質」という用語は、生体分子(例えば、マーカー、例えば、核酸マーカー分子、タンパク質マーカー分子など)を特異的に結合させる任意の物質を指す。場合によっては、マーカー分子(例えば、樹状細胞マーカー分子)に対する「特異的結合物質」が用いられる。特異的結合物質は任意のタイプの分子でよい。場合によっては、特異的結合物質は抗体またはその断片である。場合によっては、特異的結合物質は、核酸プローブ(例えば、RNAプローブ;DNAプローブ;RNA/DNAプローブ;修飾核酸プローブ、例えば、ロックド核酸(LNA)プローブ、モルホリノプローブなど)である。

【0073】

本明細書で使用する「マーカー分子」は確定的なものである必要はない(すなわち、マーカーは、細胞を特定のタイプであると確定して示す必要はない。例えば、細胞によるマーカー分子の発現は、その細胞が特定の細胞タイプの細胞であることを暗示する(すなわち、示唆する)ものでよい。例えば、3種類の細胞タイプ(タイプA、タイプB、およびタイプC)が特定のマーカー分子(例えば、特定のmRNA、特定のタンパク質など)を発現するのであれば、細胞がタイプA細胞であると確定的に決定するためには、細胞による、そのマーカー分子の発現をそれだけで使用できるとは限らない。しかしながら、このようなマーカーの発現は、細胞がタイプA細胞であることを示唆している可能性がある。場合によっては、このようなマーカーの発現は他の証拠と組み合わせられて、細胞がタイプA細胞であることを確定的に示している可能性がある。説明的な別の実例として、特定の細胞タイプが2種類またはそれ以上の特定のマーカー分子(例えば、mRNA、タンパク質、その組み合わせなど)を発現することが分かっているのであれば、2種類またはそれ以上の特定のマーカー分子の1つを、ある細胞が発現していることは、その細胞が、問題になっている特定のタ

10

20

30

40

50

イブの細胞であることを示唆しているが、確定的なものではない可能性がある。このような場合でも、このマーカーはマーカー分子とみなされる。

【0074】

「抗体」とは、抗原を特異的に結合させて認識する、免疫グロブリン遺伝子またはその断片に由来する抗原結合領域(相補性決定領域(CDR)を含む)を含むポリペプチドを指す。認められている免疫グロブリン遺伝子には、 $\kappa$ 、 $\lambda$ 、 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、および $\mu$ 定常領域遺伝子ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。軽鎖は  $\kappa$  または  $\lambda$  のいずれかとして分類される。重鎖は、 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、または  $\gamma$  として分類され、これらは順に、それぞれ、免疫グロブリンクラスIgG、IgM、IgA、IgD、およびIgEを規定する。IgG抗体は、4本のペプチド鎖で構成される約150kDaの大きな分子である。IgG抗体は、約50kDaの2本の同一のクラス重鎖と、約25kDaの2本の同一の軽鎖を含有し、従って、四量体四次構造である。ジスルフィド結合によって2本の重鎖は互いに連結され、それぞれが軽鎖と連結されている。結果として生じた四量体には、2つの同一の半分(halves)があり、これらが一緒になってYのような形を形成する。このフォーク状の物の各末端には同一の抗原結合部位がある。ヒトには、血清中の存在量の順番で名付けられた4種類のIgGサブクラス(IgG1、2、3、および4)がある(IgG1が最も豊富である)。典型的に、抗体の抗原結合領域は結合の特異性および親和性の点で最も重要である。

10

【0075】

例示的な免疫グロブリン(抗体)構造単位は四量体で構成される。各四量体は、2つの同一のポリペプチド鎖対からなり、それぞれの対は、1本の「軽」鎖(約25kD)および1本の「重」鎖(約50~70kD)を有する。各鎖のN末端は、主として抗原認識を担う、約100~110個またはそれ以上のアミノ酸からなる可変領域を規定する。可変軽鎖( $V_L$ )および可変重鎖( $V_H$ )という用語は、それぞれ、これらの軽鎖および重鎖を指す。

20

【0076】

抗体は、例えば、インタクト免疫グロブリンとして、または様々なペプチダーゼによる消化によって生成された多数の十分に特徴決定されている断片として存在する。従って、例えば、ペプシンは、ヒンジ領域にあるジスルフィド結合より下で抗体を消化して、ジスルフィド結合によって軽鎖が $V_H$ - $C_H1$ に接続したFab二量体である $F(ab')_2$ を生じる。 $F(ab')_2$ を、ヒンジ領域にあるジスルフィド結合を破壊するように穏やかな条件下で還元し、それによって、 $F(ab')_2$ 二量体をFab'単量体に変換することができる。Fab'単量体は本質的にはFabであり、ヒンジ領域の一部を有する(Fundamental Immunology(Paul ed., 3d ed. 1993)を参照されたい)。インタクト抗体の消化の点で様々な抗体断片が定義されているが、当業者であれば、このような断片は、化学的に、または組換えDNA法を用いることによって新規合成できると理解すると考えられる。従って、本明細書で使用する抗体という用語はまた、抗体全体を改変することによって作製された、もしくは組換えDNA法を用いて新規合成された抗体断片(例えば、単鎖Fv)、またはファージディスプレイライブラリーを用いて同定された抗体断片を含む(例えば、McCafferty et al., Nature 348:552-554(1990)を参照されたい)。

30

【0077】

「抗体」という用語は最も広い意味で用いられ、具体的には、望ましい生物学的活性を示す限り、モノクローナル抗体(完全長モノクローナル抗体を含む)、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)、および抗体断片を含む。本明細書で使用する「抗体断片」およびその全ての文法上の変形は、インタクト抗体の抗原結合部位または可変領域を含む、インタクト抗体の一部と定義され、この一部には、インタクト抗体のFc領域の重鎖定常ドメイン(すなわち、抗体アイソタイプに応じてCH2、CH3、およびCH4)がない。抗体断片の例には、Fab、Fab'、Fab'-SH、 $F(ab')_2$ 、およびFv断片;ダイアボディ;(1)単鎖Fv(scFv)分子、(2)関連する重鎖部分を持たない、軽鎖可変ドメインを1つしか含まない単鎖ポリペプチド、または軽鎖可変ドメインの3つのCDRを含む、その断片、(3)関連する軽鎖部分を持たない、重鎖可変領域を1つしか含まない単鎖ポリペプチド、または重鎖可変領域の3つのCDRを含む、その断片;(4)非ヒト種に由来する単一のIgドメインまたは

40

50

他の特定のシングルドメイン結合モジュールを含む、ナノボディ;および(5)抗体断片から形成された多重特異性構造または多価構造を含むが、それに限定されるわけではない、連続したアミノ酸残基の1本の中断されていない配列からなる一次構造を有するポリペプチドである任意の抗体断片(本明細書では「単鎖抗体断片」または「単鎖ポリペプチド」と呼ぶ)が含まれる。1本または複数本の重鎖を含む抗体断片では、重鎖は、インタクト抗体の非Fc領域に見出される任意の定常ドメイン配列(例えば、IgGアイソタイプではCH1)を含んでもよい、および/またはインタクト抗体に見出される任意のヒンジ領域配列を含んでもよい、および/または重鎖のヒンジ領域配列もしくは定常ドメイン配列と融合されているか、重鎖のヒンジ領域配列もしくは定常ドメイン配列に位置しているロイシンジッパー配列を含んでもよい。

10

**【0078】**

本開示において使用する「エピトープ」という用語は、抗体のパラトープが結合する、抗原上の任意の抗原決定基を意味する。エピトープ決定基は、通常、分子、例えば、アミノ酸または糖鎖の化学的に活性な表面グループからなり、通常、特定の三次元構造特徴ならびに特定の電荷特徴を有する。

**【0079】**

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書において同義に用いられる。これらの用語はまた、1つまたは複数のアミノ酸残基が、対応する天然のアミノ酸の人工化学ミメティックであるアミノ酸ポリマー、ならびに天然のアミノ酸ポリマーおよび非天然のアミノ酸ポリマーにも適用される。

20

**【0080】**

本明細書で使用する「APC」または「抗原提示細胞」という用語とは、細胞膜表面上に主要組織適合遺伝子複合体クラスII(MHCクラスII)タンパク質を発現し、MHCクラスIIと複合体化した抗原をT細胞に提示し、それによって、提示された抗原に対してT細胞を活性化することができる細胞を指す。一部の態様において、APCは樹状細胞である。一部の態様において、APCはマクロファージである。一部の態様において、APCはB細胞である。一部の態様において、APCは樹状細胞、マクロファージ、またはB細胞である。一部の態様において、APCは樹状細胞またはマクロファージである。一部の態様において、APCは樹状細胞またはB細胞である。場合によっては、APCはマクロファージでない。場合によっては、APCはB細胞でない。

30

**【0081】**

細胞培養の文脈において「継代する」または「継代」(すなわち、分割するまたは分割)という用語は当技術分野において公知であり、少数の細胞を新しい容器に移すことを指す。細胞が定期的に分割されるのであれば、培養することができる。なぜなら、細胞の定期的な分割によって、高い細胞密度に関連する老化が回避されるからである。付着細胞の場合、継代プロトコールの一環として、細胞は増殖表面から剥離される。剥離は、一般的に、酵素トリプシンおよび/または他の市販の試薬(例えば、TrypLE、EDTA(エチレンジアミン四酢酸)、表面から細胞を物理的にこそげ取るためのポリスマン(pollicemen)(例えば、ゴムポリスマン)など)を用いて行われる。次いで、少数の(例えば、1個の細胞と少ない)剥離細胞を用いて、新たな細胞集団を、例えば、さらなる培地で希釈した後に播種することができる。従って、細胞集団を継代するとは、細胞集団の細胞の少なくとも一部を解離し、解離細胞を希釈し、希釈された解離細胞をプレートすること(すなわち、新たな細胞集団を播種すること)を意味する。

40

**【0082】**

「培地(media)」および「培地(medium)」という用語は本明細書において同義に用いられる。細胞培養培地は、インビトロ培養中に細胞を浸す液体混合物である。

**【0083】**

本明細書で使用する「集団」、例えば、「細胞集団」または「細胞の集団」という用語は、他の細胞および/または細胞グループから分離された(すなわち、単離された)2個また

50

はそれ以上の細胞のグループ(すなわち、集団)を意味する。例えば、6ウェル培養ディッシュには、各集団が1つ1つのウェルにある6つの細胞集団が入っており、細胞集団の細胞は互いのクローン誘導体でもよいが、そうである必要はない。細胞集団は1個1個の細胞に由来してもよい。例えば、1個1個の細胞がそれぞれ、6ウェル培養ディッシュの1個のウェルに入れられ、それぞれの細胞が1回分裂すれば、ディッシュには6つの細胞集団が入っている。細胞集団は任意の望ましいサイズでもよく、1個の細胞より多い任意の数の細胞を含有してもよい。例えば、細胞集団は、2個またはそれ以上、10個またはそれ以上、100個またはそれ以上、1,000個またはそれ以上、5,000個またはそれ以上、 $10^4$ 個またはそれ以上、 $10^5$ 個またはそれ以上、 $10^6$ 個またはそれ以上、 $10^7$ 個またはそれ以上、 $10^8$ 個またはそれ以上、 $10^9$ 個またはそれ以上、 $10^{10}$ 個またはそれ以上、 $10^{11}$ 個またはそれ以上、 $10^{12}$ 個またはそれ以上、 $10^{13}$ 個またはそれ以上、 $10^{14}$ 個またはそれ以上、 $10^{15}$ 個またはそれ以上、 $10^{16}$ 個またはそれ以上、 $10^{17}$ 個またはそれ以上、 $10^{18}$ 個またはそれ以上、 $10^{19}$ 個またはそれ以上、または $10^{20}$ 個またはそれ以上の細胞でもよい。

10

20

30

40

50

#### 【0084】

本明細書で使用する「複数」という用語は1より多いことを意味する。例えば、複数は、2またはそれ以上、5またはそれ以上、10またはそれ以上、25またはそれ以上、50またはそれ以上、100またはそれ以上、500またはそれ以上、1,000またはそれ以上、2,000またはそれ以上、5,000またはそれ以上、 $10^4$ またはそれ以上、 $10^5$ またはそれ以上、 $10^6$ またはそれ以上、 $10^7$ またはそれ以上などでもよい。例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を有する抗体組成物は、抗体の2個またはそれ以上(例えば、5個またはそれ以上、10個またはそれ以上、25個またはそれ以上、50個またはそれ以上、100個またはそれ以上、500個またはそれ以上、1,000個またはそれ以上、2,000個またはそれ以上、5,000個またはそれ以上、 $10^4$ 個またはそれ以上、 $10^5$ 個またはそれ以上、 $10^6$ 個またはそれ以上、 $10^7$ 個またはそれ以上)が、異なる結合特異性を有する(例えば、同じ抗原の異なるエピトープに特異的に結合する、異なる抗原に特異的に結合するなど)、同種異系IgG抗体の組成物である。

#### 【0085】

#### III. 方法および組成物

本開示の局面は、個体において免疫応答を誘導するための方法および組成物を含む。このような方法は個体を処置するのに使用することができるので、個体を処置する方法とも呼ばれることがある。

#### 【0086】

一部の態様において、癌を有する個体を処置する方法は、個体に(i)個体の癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物(上記で詳述した)の投与;および(ii)個体の抗原提示細胞(APC)、例えば、樹状細胞(DC)を活性化する処置を実施する工程を含む。このような場合、個体の内因性APC、例えば、樹状細胞による標的抗原(例えば、癌細胞、癌細胞の破片、分泌された癌細胞抗原など)の取り込みが誘導される。

#### 【0087】

一部の態様において、個体(例えば、癌を有する個体)を処置する方法は、個体に(i)複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物の投与;および(ii)個体の抗原提示細胞(APC)、例えば、樹状細胞(DC)を活性化する処置を実施する工程を含む。一部の態様において、個体(例えば、癌を有する個体)を処置する方法は、(i)個体の癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物;(ii)CD40リガンド(CD40L);および(iii)炎症性サイトカインを個体に投与する工程を含む。

#### 【0088】

一部の態様において、個体において免疫応答を誘導する方法は、(a)インビトロで、個体に由来するAPC、例えばDCを、(i)標的抗原;および(ii)標的抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物と、APCによる、例えばDCによる標的抗原の取り込みに有効な用量でかつ期間にわたって接触させ、それによって、充填されたAPC、例えばDCを生じさせる工程;ならびに(b)個体のT細胞を、充填されたAPC、例えばDCと接触させる工程で

あって、充填されたAPC、例えばDCが、抗原をT細胞に提示して、接触したT細胞を生じさせ、かつ接触したT細胞が、提示された抗原に特異的な免疫応答を発生させる、工程を含む。場合によっては、標的抗原(例えば、標的細胞)は、APC、例えばDCに接触する前に、抗体組成物と接触して、免疫複合体を生じさせる。従って、場合によっては、前記方法は、APC、例えば、DCを免疫複合体と接触させる工程を含む。場合によっては、個体のT細胞を接触させる工程はインビボである。場合によっては、個体のT細胞を接触させる工程はインビトロである。

#### 【0089】

一部の態様において、個体において免疫応答を誘導する方法は、(a)インビトロで、個体に由来するAPC、例えば、DCを、(i)標的抗原;および(ii)標的抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物と、APCによる、例えばDCによる標的抗原の取り込みに有効な用量で、条件下で、かつ期間にわたって接触させ、それによって、充填されたAPC、例えばDCを生じさせる工程;ならびに(b)個体のT細胞を、充填されたAPC、例えばDCと接触させる工程であって、充填されたAPC、例えば、DCが、抗原をT細胞に提示して、接触したT細胞を生じさせ、かつ接触したT細胞が、提示された抗原に特異的な免疫応答を発生させる、工程を含む。場合によっては、標的抗原(例えば、標的細胞)は、APC、例えばDCに接触する前に、抗体組成物と接触して免疫複合体を生じさせる。従って、場合によっては、前記方法は、APC、例えば、DCを免疫複合体と接触させる工程を含む。場合によっては、個体のT細胞を接触させる工程はインビボである。場合によっては、個体のT細胞を接触させる工程はインビトロである。

10

20

#### 【0090】

「処置」、「処置すること」、「処置する」などの用語は、一般的に、望ましい薬理学的効果および/または生理学的効果を得ることを指すために本明細書において用いられる。この効果は、疾患もしくはその症状を完全に、もしくは部分的に予防する点で予防的なものでもよい、ならびに/または疾患および/もしくは疾患に起因する副作用を部分的もしくは完全に安定化もしくは治癒する点で治療的なものでもよい。「処置」という用語は、哺乳動物、特に、ヒトにおける疾患の任意の処置を包含し、(a)疾患もしくは症状の素因があり得るが、疾患もしくは症状があるとまだ診断されていない対象において、疾患および/もしくは症状が起こらないようにすること;(b)疾患および/もしくは症状を阻害すること、すなわち、疾患および/もしくは関連する症状の発生を止めること;または(c)疾患および関連する症状を軽減すること、すなわち、疾患および/もしくは症状を退行させることを含む。処置を必要とする人は、既に苦しんでいる人(例えば、癌を有する人、例えば、腫瘍を有する人)ならびに予防が望ましい人(例えば、癌に対する感受性が高い人;前癌腫瘍、病変部を有する人;癌を有すると疑われる人など)を含んでもよい。

30

#### 【0091】

「レシピエント」、「個体」、「対象」、「宿主」、および「患者」という用語は本明細書において同義に用いられ、診断、処置、または療法が望まれる任意の哺乳動物対象、特にヒトを指す。処置の目的で「哺乳動物」とは、ヒト、飼育動物および家畜、ならびに動物園の動物、スポーツ動物、またはペット動物、例えば、イヌ、ウマ、ネコ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ラクダなどを含む、哺乳動物に分類される任意の動物を指す。一部の態様において、哺乳動物はヒトである。

40

#### 【0092】

治療的処置は、実施前の対象が苦しめられている間の処置であり、予防的処置は、実施前の対象が苦しめられていない間の処置である。一部の態様において、対象は、苦しむ可能性が高いか、または苦しむ可能性が高いと疑われ(例えば、標準と比べて、例えば、平均個体と比べて。例えば、対象に、癌の遺伝素因および/もしくは癌のリスクが高いことを示す家族歴があってもよい)、この場合、処置は予防的処置になり得る。場合によっては、予防的処置について述べるために「ワクチン接種」という用語が用いられる。例えば、場合によっては、処置されている対象が癌と診断されていない場合があり(例えば、対象が、苦しむ可能性が高い、苦しむ可能性が高いと疑われる)(例えば、対象に、癌の遺伝

50

素因および/もしくは癌のリスクが高いことを示す家族歴があってもよい)、対象は、本方法の1つまたは複数を行うことによって(例えば、(i)複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物;および(ii)個体のAPC、例えば、DCを活性化する処置を実施することによって(例えば、APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質を有する、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物を個体に投与することによって)ワクチン接種されてもよい(処置が予防的処置になるように処置されてもよい)。

【0093】

APC刺激物質には、樹状細胞刺激物質、マクロファージ刺激物質、またはB細胞刺激物質が含まれるが、これに限定されない。場合によっては、APC刺激物質は樹状細胞刺激物質である。場合によっては、APC刺激物質はマクロファージ刺激物質である。場合によっては、APC刺激物質はB細胞刺激物質である。場合によっては、APC刺激物質はマクロファージ刺激物質でない。

10

【0094】

場合によっては、APC刺激組成物は樹状細胞刺激物質およびB細胞刺激物質を含む。場合によっては、APC刺激組成物は樹状細胞刺激物質を含むが、マクロファージ刺激物質を含まない。場合によっては、APC刺激組成物は少なくとも2種類の樹状細胞刺激物質を含む。

【0095】

樹状細胞刺激組成物には、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iii)チェックポイント分子中和化合物;(iv)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(v)NFκB活性化因子;(vi)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;(vii)T細胞関連共刺激分子;または(viii)その組み合わせを含有する組成物が含まれ得るが、これに限定されない。

20

【0096】

B細胞刺激組成物には、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イデオタイプ抗体;または(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質を含有する組成物が含まれ得るが、これに限定されない。場合によっては、炎症性サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、G-CSF、またはGM-CSFである。場合によっては、TLRアゴニストは、CpG ODN、免疫賦活性DNA、免疫賦活性RNA、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、イミキモド、レシキイモド、ロキシリピン、フラジェリン、FSL-1、またはLPSである。場合によっては、前記抗原は、自己抗原、同種異系抗原、ペプチド抗原、核酸抗原、炭水化物抗原、または腫瘍関連抗原である。場合によっては、表面免疫グロブリンを架橋する作用物質は、抗Ig抗体、抗イデオタイプ抗体、または抗アイソタイプ抗体である。

30

【0097】

場合によっては、処置されている対象が癌と診断されていない場合があり(例えば、対象は苦しむ可能性が高く、対象は苦しむ可能性が高いと疑われる)(例えば、対象に、癌の遺伝素因および/もしくは癌のリスクが高いことを示す家族歴があってもよい)、対象は、本方法の1つまたは複数を行うことによって(例えば、(i)複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物;および(ii)個体のAPC、例えば、DCを活性化する処置を実施することによって(例えば、APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質を有する、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物、例えば、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iii)チェックポイント分子中和化合物;(iv)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(v)NFκB活性化因子;(vi)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;(vii)T細胞関連共刺激分子;または(viii)その組み合わせを含む樹状細胞刺激組成物を個体に投与することによって)ワクチン接種されてもよい(処置が予防的処置になるように処置されてもよい)。

40

【0098】

「同時投与」および「と組み合わせる」という用語は、特定の時間の制限なく、2種類またはそれ以上の治療用物質を同時に、共に、または連続して投与することを含む。一態

50

様において、前記物質は、同じ時間に細胞内に、もしくは対象の体内に存在するか、または同じ時間に生物学的効果または治療効果を発揮する。一態様において、治療用物質は同じ組成物または単位剤形の中にある。他の態様において、治療用物質は別々の組成物または単位剤形の中にある。ある特定の態様において、第1の用物質は、第2の治療用物質の投与の前に(例えば、数分前、15分前、30分前、45分前、1時間前、2時間前、4時間前、6時間前、12時間前、24時間前、48時間前、72時間前、96時間前、1週間前、2週間前、3週間前、4週間前、5週間前、6週間前、8週間前、または12週間前に)投与されてもよいが、第2の治療用物質に伴って投与されてもよいが、または第2の治療用物質の後に(例えば、5分後、15分後、30分後、45分後、1時間後、2時間後、4時間後、6時間後、12時間後、24時間後、48時間後、72時間後、96時間後、1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、5週間後、6週間後、8週間後、または12週間後に)投与されてもよい。

10

#### 【0099】

一部の態様において、処置しようとする個体は、癌を有する個体である。本明細書で使用する「癌」とは、原発性腫瘍および転移性腫瘍などを含む、任意の形の癌(例えば、白血病;急性骨髄性白血病(AML);急性リンパ芽球性白血病(ALL);リンパ腫;中皮腫(MSTO);微小残存病変;固形腫瘍癌、例えば、肺、前立腺、乳房、膀胱、結腸、卵巣、膵臓、腎臓、グリア芽細胞腫、髄芽細胞腫、平滑筋肉腫、および頭頸部扁平上皮癌、メラノーマなど)を含む。場合によっては、個体は、癌の処置(例えば、放射線療法、化学療法、外科的切除など)を最近受けたことがあり、従って、再発するリスクがある。ありとあらゆる癌が、本方法、組成物、およびキットにより処置される適切な癌である。

20

#### 【0100】

「癌」、「新生物」、および「腫瘍」という用語は、細胞増殖に対する大幅な制御喪失を特徴とする異常増殖表現型を示すような、自律的で無秩序な増殖を示す細胞を指すために本明細書において同義に用いられる。本願における検出、分析、および/または処置のための関心対象の細胞には、前癌性(例えば、良性)細胞、悪性細胞、転移前細胞、転移細胞、および非転移細胞が含まれる。実質的に全ての組織の癌が公知である。「癌量(cancer burden)」という句は、対象における癌細胞の量または癌の容積を指す。従って、癌量を減少させるとは、対象における癌細胞の数または癌の容積を減少させることを指す。本明細書で使用する「癌細胞」という用語は、癌細胞である任意の細胞、または癌細胞に由来する任意の細胞、例えば、癌細胞のクローンを指す。この用語はまた、癌細胞の一部、例えば、癌細胞の細胞内部分、細胞膜部分、または細胞溶解産物を含む。固形腫瘍、例えば、癌腫、肉腫、グリア芽細胞腫、メラノーマ、リンパ腫、ミエローマなど、および血液中の癌(circulating cancer)、例えば、白血病を含む多くのタイプの癌が当業者に公知である。

30

#### 【0101】

本明細書で使用する「癌」は、微小残存病変を含み、原発性腫瘍および転移性腫瘍を両方とも含む、固形腫瘍癌(例えば、肺、前立腺、乳房、膀胱、結腸、卵巣、膵臓、腎臓、肝臓、グリア芽細胞腫、髄芽細胞腫、平滑筋肉腫、頭頸部扁平上皮癌、メラノーマ、神経内分泌など)および液体癌(liquid cancer)(例えば、血液癌);癌腫;軟部組織腫瘍;肉腫;テラトーマ;メラノーマ;白血病;リンパ腫;ならびに脳癌を含むが、これに限定されない任意の形の癌を含む。あらゆる癌が、本方法および組成物により処置される適切な癌である。場合によっては、癌細胞はPD-L1を発現する。場合によっては、癌細胞はPD-L1を発現しない(例えば、このような場合、処置されている個体の免疫系の細胞がPD-L1を発現する)。

40

#### 【0102】

癌腫は、上皮組織において起こる悪性腫瘍である。上皮細胞は身体の外面を覆い、内部空洞を裏打ちし、腺組織の裏打ちを形成する。癌腫の例には、腺癌(腺(分泌)細胞において始まる癌)、例えば、乳房、膵臓、肺、前立腺、および結腸の癌が含まれるが、これに限定されず、腺癌;副腎皮質癌;肝細胞癌;腎細胞癌;卵巣癌;上皮内癌;腺管癌;乳癌;基底細胞癌;扁平上皮癌;移行上皮癌;結腸癌;鼻咽頭癌;多房性嚢胞状腎細胞癌;燕麦細胞癌;肺大細胞癌;肺小細胞癌;非肺小細胞癌などでもよい。癌腫は、前立腺、膵臓、結腸、脳(通常

50

、二次転移)、肺、乳房、皮膚などに見出されることがある。

【0103】

軟部組織腫瘍は、結合組織に由来する、まれな腫瘍の多種多様なグループである。軟部組織腫瘍の例には、肺胞軟部肉腫；血管腫様線維性組織球腫；軟骨粘液線維腫；骨格軟骨肉腫；骨外性粘液性軟骨肉腫；明細胞肉腫；線維形成性小円形細胞腫瘍；隆起性皮膚線維肉腫；子宮内膜間質腫瘍；ユーイング肉腫；線維腫症(デスマイド)；線維肉腫、小児型；消化管間質腫瘍；骨巨細胞腫瘍；腱滑膜巨細胞腫；炎症性筋線維芽細胞性腫瘍；子宮筋腫；平滑筋肉腫；脂肪芽細胞腫；定型性脂肪腫；紡錘形細胞または多形性脂肪腫；異型性脂肪腫；類軟骨脂肪腫；高分化型脂肪肉腫；粘液性/円形細胞脂肪肉腫；多形性脂肪肉腫；粘液性悪性線維性組織球腫；高悪性度悪性線維性組織球腫；粘液線維肉腫；悪性末梢神経鞘腫；中皮腫；神経芽細胞腫；骨軟骨腫；骨肉腫；原始神経外胚葉性腫瘍；肺胞横紋筋肉腫；胎児性横紋筋肉腫；良性シュワン腫または悪性シュワン腫；滑膜肉腫；エヴァンズ腫瘍；結節性筋膜炎；デスマイド型線維腫症；孤在性線維性腫瘍；隆起性皮膚線維肉腫(DFSP)；血管肉腫；類上皮血管内皮腫；腱滑膜巨細胞腫(TGCT)；色素性絨毛結節性滑膜炎(PVNS)；線維性異形成；粘液線維肉腫；線維肉腫；滑膜肉腫；悪性末梢神経鞘腫；神経線維腫；および軟部組織の多形性腺腫；ならびに線維芽細胞、筋線維芽細胞、組織球、血管細胞/内皮細胞、および神経鞘細胞に由来する新生物が含まれるが、これに限定されない。

10

【0104】

肉腫は、間葉系由来の細胞、例えば、軟骨、脂肪、筋肉、血管、線維組織、または他の結合組織もしくは支持組織を含む、骨または身体の軟部組織において生じる、まれなタイプの癌である。異なるタイプの肉腫は、癌が形成する場所に基づいている。例えば、骨肉腫は骨に形成し、脂肪肉腫は脂肪に形成し、横紋筋肉腫は筋肉に形成する。肉腫の例には、皮膚腫瘍；葡萄状肉腫；軟骨肉腫；ユーイング肉腫；悪性血管内皮腫；悪性シュワン腫；骨肉腫；および軟部組織肉腫(例えば、肺胞軟部肉腫；血管肉腫(angiosarcoma)；葉状嚢肉腫、隆起性皮膚線維肉腫(DFSP)；デスマイド腫瘍；線維形成性小円形細胞腫瘍；類上皮肉腫；骨外性軟骨肉腫；骨外性骨肉腫；線維肉腫；消化管間質腫瘍(GIST)；血管周囲細胞腫；血管肉腫(hemangiosarcoma)(一般的には「血管肉腫(angiosarcoma)」と呼ばれる)；カボジ肉腫；平滑筋肉腫；脂肪肉腫；リンパ管肉腫；悪性末梢神経鞘腫(MPNST)；神経線維肉腫；滑膜肉腫；未分化多形性肉腫など)が含まれるが、これに限定されない。

20

【0105】

テラトーマは、例えば、毛、筋肉、および骨を含む、いくつかの異なるタイプの組織を含むことがある(例えば、3つの胚葉：内胚葉、中胚葉、および外胚葉のいずれか、および/または全てに由来する組織を含むことがある)生殖細胞腫瘍の一種である。テラトーマは、ほとんどの場合、女性では卵巣、男性では精巣、小児では尾骨に生じる。

30

【0106】

メラノーマは、メラノサイト(色素メラニンを作る細胞)において始まる癌の一種である。メラノーマは、ほくろにおいて始まることがあるが(皮膚メラノーマ)、眼または腸などの他の色素沈着組織において始まることもある。

【0107】

白血病は、骨髄などの血液形成組織において始まる癌であり、これによって、多数の異常な血球が産生され、血流の中に入る。例えば、白血病は、血流中で正常に成熟した骨髄由来細胞において起こることがある。白血病は、疾患が発症および進行する速さにちなんで(例えば、急性対慢性)、冒される白血球のタイプにちなんで(例えば、骨髄対リンパ)名付けられた。骨髄性白血病(myeloid leukemia)はまた骨髄性白血病(myelogenous leukemia)または骨髄芽球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病はまた、リンパ芽球性白血病またはリンパ球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病の細胞はリンパ節の中に集まることがあり、腫れ上がる場合がある。白血病の例には、急性骨髄性白血病(AML)、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、慢性骨髄性白血病(CML)、および慢性リンパ性白血病(CLL)が含まれるが、これに限定されない。

40

【0108】

50

リンパ腫は、免疫系細胞において始まる癌である。例えば、リンパ腫は、通常、リンパ系において成熟する骨髄由来細胞において起こることがある。リンパ腫の2つの基本的なカテゴリーがある。一種類は、リード・シュテルンベルク細胞と呼ばれる細胞の一種が存在することを特徴とするホジキンリンパ腫(HL)である。現在、認識されている6つのタイプのHLがある。ホジキンリンパ腫の例には、結節硬化型古典的ホジキンリンパ腫(CHL)、混合細胞型CHL、リンパ球減少性CHL、リンパ球豊富型CHL、および結節性リンパ球優位型HLが含まれる。

#### 【0109】

リンパ腫の他のカテゴリーは、広く多様な免疫系細胞癌グループを含む非ホジキンリンパ腫(NHL)である。さらに、非ホジキンリンパ腫は、緩徐進行性の(ゆっくり成長する)経過をもつ癌と、高悪性度の(速く成長する)経過をもつ癌に分けることができる。現在、認識されている61のタイプのNHLがある。非ホジキンリンパ腫の例には、AIDS関連リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性リンパ腫、芽細胞性NK細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、パーキット様リンパ腫(小型非切れ込み核細胞性リンパ腫)、慢性リンパ性白血病/小リンパ球性リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、腸症型T細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、肝脾 - T細胞リンパ腫、T細胞白血病、リンパ芽球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、鼻T細胞リンパ腫、小児リンパ腫、末梢T細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、変態リンパ腫(transformed lymphoma)、治療関連T細胞リンパ腫、およびワルデンシュトレームマクログロブリン血症が含まれるが、これに限定されない。

#### 【0110】

脳癌には、脳組織の任意の癌が含まれる。脳癌の例には、神経膠腫(例えば、グリア芽細胞腫、星状細胞腫、乏突起神経膠腫、上衣腫など)、髄膜腫、下垂体腺腫、前庭神経鞘腫、原始神経外胚葉性腫瘍(髄芽腫)などが含まれるが、これに限定されない。

#### 【0111】

癌の「病態」は、患者の健康を損なう全ての現象を含む。これには、異常な、または制御できない細胞増殖、転移、隣接する細胞の正常機能の妨害、異常レベルでのサイトカインまたは他の分泌産物の放出、炎症応答または免疫学的応答の抑制または悪化、新生物、前悪性腫瘍(premalignancy)、悪性腫瘍、周囲の、または離れている組織または臓器、例えば、リンパ節への浸潤などが含まれるが、これに限定されない。

#### 【0112】

本明細書で使用する「癌再発」および「腫瘍再発」という用語ならびにその文法上の変形は、癌診断後の新生物細胞または癌細胞のさらなる増殖を指す。特に、さらなる癌細胞増殖が癌組織に起こる場合に、再発が起こることがある。同様に、「腫瘍の拡大」は、腫瘍の細胞が局所または遠隔の組織および臓器に広まると起こる。従って、腫瘍の拡大は腫瘍の転移を包含する。「腫瘍の浸潤」は、腫瘍成長が、正常な臓器機能の圧迫、破壊、または阻止によって、関与する組織の機能を損なうように局所的に拡大すると起こる。

#### 【0113】

本明細書で使用する「転移」という用語は、元々の癌性腫瘍の臓器と直接つながっていない臓器または身体部分における癌性腫瘍の成長を指す。転移は微小転移を含むと理解され、微小転移とは、元々の癌性腫瘍の臓器と直接つながっていない臓器または身体部分に、検出不可能な量の癌細胞が存在することである。転移はまた、プロセスのいくつかの工程、例えば、元々の腫瘍部位からの癌細胞の離脱、ならびに他の身体部分への癌細胞の遊走および/または浸潤と定義されることもある。

#### 【0114】

一部の態様において、個体において免疫応答を誘導する方法(場合によっては、個体を処置する方法と呼ばれる)は、(a)インビトロで、個体に由来する樹状細胞(DC)を標的抗原および抗体組成物と接触させ、それによって、充填されたDCを生じさせる工程;ならびに(b)個体のT細胞を、充填されたDCと接触させる工程を含む。充填されたDCは、抗原をT細胞に提示して、接触したT細胞を生じさせ、かつ、接触したT細胞は、提示された抗原に特異

10

20

30

40

50

的な免疫応答を発生させる。

【0115】

樹状細胞。樹状細胞(DC)は哺乳動物免疫系の抗原提示細胞の一種である。本明細書で使用する「樹状細胞」という用語は、リンパ系組織または非リンパ系組織に見られる形態学的に類似する細胞タイプの多様な集団の任意のメンバーを指す。これらの細胞は独特の形態および高レベルの表面MHC-クラスII発現を特徴とする(Steinman, et al., Ann. Rev. Immunol. 9:271(1991); このような細胞の説明のために参照により本明細書に組み入れられる)。

【0116】

樹状細胞は、ほぼ全ての組織、例えば、皮膚、ならびに鼻、肺、肝臓、胃、および腸の内部裏打ち、ならびに骨髄、血液、脾臓、およびリンパ節に存在する。DCは活性化されたらリンパ節に遊走し、ここで、T細胞およびB細胞と相互作用して適応免疫応答を開始し、形作る。ある特定の発生段階で、DCは、細胞の名前の由来となった分枝状の突起(樹状突起)を成長させる。樹状細胞の例には、骨髄由来樹状細胞(BMDC)、形質細胞様樹状細胞、ランゲルハンス細胞、指状嵌入細胞、ベール細胞、および皮膚樹状細胞が含まれる。場合によっては、DCは、CD11(例えば、CD11aおよび/またはCD11c)、MHC-クラスII(例えば、ヒトの場合、HLA-DR、HLA-DP、およびHLA-DQ)、CD40、CD80、ならびにCD86より選択される少なくとも1つのマーカーを発現する。場合によっては、DCはHLA-DRおよびCD83について陽性であり、CD14について陰性である。一般的に、DCは、マーカー:CD11c<sup>+</sup>;CD14<sup>-/low</sup>;CD80<sup>+</sup>;CD86<sup>++</sup>;MHCクラスI<sup>++</sup>、MHCクラスII<sup>+++</sup>;CD40<sup>++</sup>;CD83<sup>+/-</sup>;CCR7<sup>+/-</sup>のいずれか、または完全に基づいて同定することができる(例えば、DCの存在を検証することができる)。場合によっては、DCはCD11b<sup>+</sup>/Gr1<sup>neg</sup>/CD11c<sup>+</sup>/MHCII<sup>+</sup>/CD64<sup>dim</sup>である。場合によっては、DCはCD11b<sup>neg</sup>/CD11c<sup>hi</sup>/MHCII<sup>+</sup>である。

【0117】

場合によっては、樹状細胞は特定のIg Fc受容体を発現する。例えば、樹状細胞は、IgG抗体、またはIgGのFc領域を含有する抗体を認識するFc-受容体を発現することがある。別の例として、樹状細胞は、IgA抗体、またはIgAのFc領域を含有する抗体を認識するFc-受容体を発現することがある。さらに別の例として、樹状細胞は、IgE抗体、またはIgEのFc領域を含有する抗体を認識するFc-受容体を発現することがある。場合によっては、特定のFc受容体を発現する樹状細胞が得られ、これに、適切な架橋分子(例えば、樹状細胞Fc受容体により認識されるクラスの同種異系Ig)が充填される。

【0118】

一部の態様において、本方法は、DCを入手または単離する(例えば、DCの濃縮された集団を単離する)工程を含む。DCを単離、作製、および培養するための技法は当業者に公知であり、任意の便利な技法を使用することができる。場合によっては、DCは、処置されている個体にとって自己由来である(すなわち、個体から単離された細胞または個体の細胞に由来する細胞である)。

【0119】

場合によっては、DCを作製するための供給源としてCD34(+)前駆体(例えば、骨髄(BM)前駆細胞)が用いられ(例えば、CD34<sup>+</sup>細胞を、例えば、抗体結合磁気ビーズを用いて濃縮することができる)、次いで、これは骨髄(BM)由来樹状細胞(BMDC)と呼ばれる。例えば、BMD Cは、白血球増殖因子として機能するサイトカイン(例えば、顆粒球-マクロファージ-コロニー刺激因子(GM-CSF)、例えば、50 ng/ml)、およびサイトカイン(例えば、インターロイキン4(IL-4)、例えば、20ng/ml)の存在下で非付着細胞(CD34+細胞)を培養することによって作製することができる。場合によっては、CD34+細胞は、4日~18日(例えば、5日~17日、7日~16日、8日~13日、9日~12日、6日~15日、8日~15日、10日~15日、12日~15日、13日~15日、5日~14日、5日~12日、5日~10日、5日~9日、6日~8日、6日、7日、8日、9日、10日、12日、または14日)の範囲の期間にわたってGM-CSFおよび/またはIL-4の存在下で培養される。CD34+細胞がGM-CSFおよび/またはIL-4の存在下で培養される場合、GM-CSFは、35ng/ml~65ng/ml(35ng/ml~65ng/ml、40ng/ml~60ng/ml、45ng/ml~50ng/ml、

10

20

30

40

50

または50ng/ml)の範囲の濃度でもよく、IL-4は、5ng/ml ~ 35ng/ml (10ng/ml ~ 30ng/ml、15 ng/ml ~ 25ng/ml、17.5ng/ml ~ 22.5ng/ml、または20ng/ml)の範囲の濃度でもよい。説明的な実例として、骨が食塩水(例えば、リン酸緩衝食塩水(PBS))で洗い流されてもよく、Ficoll勾配によって単核細胞が骨髄から分離されてもよい。次いで、CD34+細胞は(例えば、抗体結合磁気ビーズを用いて)単離/濃縮され、次いで、GM-CSFおよびIL-4の存在下で培養されてもよい(前記)。場合によっては(例えば、細胞がマウス細胞である場合)、DCは、この細胞をGM-CSF中で培養することによって得ることができる。場合によっては(例えば、細胞がヒト細胞である場合)、DCは、この細胞をGM-CSFおよびIL-4中で培養することによって得ることができる。

#### 【0120】

場合によっては、単球は、DC(時として、血液由来DC、血液Mo-DC、単球DCなどと呼ばれる)を作製するための供給源として用いられる。例えば、DCは、GM-CSF(例えば、BMDCについて前述した範囲の濃度)および/またはIL-4(例えば、BMDCについて前述した範囲の濃度)の存在下で、付着細胞(単球、例えば、骨髄単球、血液単球など)(例えば、CD14+血液単球)を、3日~9日(例えば、4日~8日、5日~7日、3日~6日、4日~5日、6日~8日、または7日)の範囲の期間にわたって培養することによって作製することができる。例えば、場合によっては、単核細胞が血液から単離され、(例えば、磁気ビーズを用いて)CD11b+細胞について濃縮される。前記細胞は、「炎症性単球」( $FSC^{lo}/SSC^{lo}/Gr1^{hi}/CD115^{hi}$ )および/または「パトロール(patrolling)単球」( $FSC^{lo}/SSC^{lo}/Gr1^{neg}/CD115^{hi}$ )について分別することができる。次いで、DCは、GM-CSFの存在下で、単球を(例えば、3日~6日(例えば、4日~5日)の範囲の期間にわたって)培養することによって様々なタイプの単球から作製することができる。場合によっては(例えば、細胞がマウス細胞である場合)、DCは、細胞をGM-CSF中で培養することによって得られる。場合によっては(例えば、細胞がヒト細胞である場合)、DCは、細胞をGM-CSFおよびIL-4中で培養することによって得られる。脾臓からDC(脾臓DC)を入手するために、CD11c<sup>+</sup>細胞について脾細胞を(例えば、抗体結合磁気ビーズを用いて)濃縮することができ、CD11c<sup>hi</sup>/MHCII<sup>hi</sup>細胞を、フローサイトメトリー(例えば、FACS)を用いて分別/濃縮することができる。

#### 【0121】

場合によっては、DCは腫瘍関連DC(TADC)である。TADCは任意の便利な方法によって入手することができる。例えば、腫瘍からDC(腫瘍関連DC、TADC)を入手するために、腫瘍を(例えば、コラゲナーゼおよびヌクレアーゼを用いて)消化することができ、CD11c+細胞を(例えば、抗体結合磁気ビーズを用いて)濃縮することができ、 $Gr1^{neg}/CD11c^{hi}/MHCII^{hi}$ 細胞を、フローサイトメトリー(例えば、FACS)を用いて分別/濃縮することができる。

#### 【0122】

単離されかつ/または得られたDC(例えば前記のとおり)は、TNF(例えば、50ng/ml)およびCD40リガンド(例えば、CD40L)(例えば、500ng/ml)(下記でさらに詳細に説明する)を含むが、これに限定されない様々な因子を用いて活性化することができる。

#### 【0123】

樹状細胞、ならびにDCを単離、作製、および/または培養する方法に関するさらなる情報については、Vassalli, J Transplant. 2013; 2013:761429: 「Dendritic Cell-Based Approaches for Therapeutic Immune Regulation in Solid-Organ Transplantation」; Syme et al., Stem Cells. 2005;23(1):74-81: 「Comparison of CD34 and monocyte-derived dendritic cells from mobilized peripheral blood from cancer patients」; Banc hereau et al., Annu Rev Immunol. 2000;18:767-811: 「Immunobiology of dendritic cells」;ならびに米国特許出願第20130330822号;同第20130273654号;同第20130130380号;同第20120251561号;および同第20120244620号を参照されたい。これらは全て、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

#### 【0124】

場合によっては(例えば、前記方法が、抗体組成物を個体に投与する工程を含む場合)、内因性DC(個体に存在するDC)は、投与された抗体組成物とインピボで接触する。従って、

10

20

30

40

50

前記方法は、癌を有する個体を処置するインビボ方法とみなすことができる。例えば、抗体組成物および/または樹状細胞刺激組成物は個体に投与(例えば、注射)することができ(例えば、腫瘍の中にまたは近くに、腫瘍切除部位の中または近くなどに注射することができ)、それによって、内因性DCは抗体組成物および/または樹状細胞刺激組成物と接触する。次いで、充填されたDCはインビボで内因性T細胞と接触することができる(インビボ方法に関する、さらなる詳細は下記で提供される;「T細胞を、充填されたDCと接触させる工程」という表題の項を参照されたい)。場合によっては(例えば、DCがBMDCである場合)、樹状細胞刺激組成物は用いられない。

#### 【0125】

マクロファージ。マクロファージは哺乳動物免疫系の抗原提示細胞の一種である。本明細書で使用する「マクロファージ」という用語は、リンパ系組織または非リンパ系組織に見られる形態学的に類似する細胞タイプの多様な集団の任意のメンバーを指す。これらの細胞は独特の形態および高レベルの表面MHC-クラスII発現を特徴とする。マクロファージは、樹状細胞でない単球由来食細胞であるか、または局所増殖による組織マクロファージに由来する細胞である。体内で、これらの細胞は組織特異的であり、例えば、肝臓ではクッパー細胞、肺では肺マクロファージ、脳では小グリア細胞、骨では破骨細胞などを指す。当業者は、マクロファージ細胞を同定するやり方、ヒトまたは動物の身体からマクロファージ細胞を分離するやり方、およびマクロファージ細胞をサブクラスおよび亜集団に関して特徴決定するやり方を知っている(Kruisbeek, 2001; Davies and Gordon 2005 a and b; Zhang et al., 2008; Mosser and Zhang, 2008; Weischenfeldt and Porse, 2008; Ray and Dittel, 2010; Martinez et al., 2008; Jenkins et al., 2011)。

#### 【0126】

マクロファージは、異なる機構によって、M1、M2、M2a、M2b、およびM2cサブクラスを含むが、これに限定されない異なるサブクラスに活性化することができる。M1という用語は、傷害または細菌感染およびIFN- $\gamma$ 活性化により生じる古典的に活性化されたマクロファージについて述べるために用いられるのに対して、M2は、M1とは異なって活性化された非常に多くの形のマクロファージの総称である。さらにM2分類は亜集団に分類されている(Mantovani et al., 2004)。最も代表的な形は、一般的に、蠕虫類感染中に、寄生虫によって誘導されるTh2サイトカインIL-4およびIL-13への曝露によって生じるM2aマクロファージである。M2aマクロファージは、とりわけ、再感染からの宿主の保護(Anthony et al., 2006)または創傷治癒および組織リモデリングへの寄与(Gordon, 2003)に本質的に関与することが示された。別の亜集団は、高レベルのIL-10および低レベルのIL-12を産生するが、それ自体は抗炎症性でないM2bマクロファージである(Anderson and Mosser, 2002; Edwards et al., 2006)。M2bマクロファージは、TLRリガンドと組み合わせてFc-受容体に結合する免疫複合体によって誘発される。最後に、M2cマクロファージは、IL-10、TGF- $\beta$ 、またはグルココルチコイドによって誘発されるサブタイプである(Martinez et al., 2008)。

#### 【0127】

従って、「M2aマクロファージ」とは、Th2条件(例えば、Th2サイトカインIL-4およびIL-13への曝露)下の環境に曝露されたことがあり、遺伝子Ym1および/または遺伝子CD206および/または遺伝子RELM- $\alpha$  および/または遺伝子アルギナーゼ-1の高発現によって特定の表現型を示すマクロファージ細胞を指す。同様に、「M2bマクロファージ」は、TLRまたはTNF- $\alpha$  刺激と組み合わせて免疫複合体の環境に曝露されたことがあるマクロファージ細胞を指す。前記細胞は、遺伝子SPHK-1および/または遺伝子LIGHTおよび/または遺伝子IL-10の高発現を特徴とする。

#### 【0128】

場合によっては、本願は、「患者の身体に由来する」マクロファージ細胞を指す。これは、マクロファージが前記患者の身体から得られているか、マクロファージ前駆体細胞が前記患者の身体から得られ、その後、Wahl et al. 2006; Davis and Gordon 2005; Smythies et al., 2006; Zhang et al., 2008; Mosser and Zhang, 2008に記載のようにイン

ピトロでマクロファージ細胞に分化されたことを示していることが意図される。

【0129】

B細胞。B細胞は哺乳動物免疫系の抗原提示細胞の一種である。本明細書で使用する「B細胞」という用語は、任意の発達段階に由来するB細胞(例えば、B幹細胞、前駆B細胞、分化B細胞、プラズマ細胞)、および末梢血、腫瘍の領域、腫瘍の中にある領域、もしくは腫瘍の近くの領域、リンパ節、骨髄、臍帯血、または脾臓細胞を含むが、これに限定されない任意の供給源に由来するB細胞を指す。

【0130】

B細胞前駆体は、未熟B細胞が産生される骨髄にある。B細胞の発達はいくつかの段階を経て起こり、それぞれの段階は抗体遺伝子座におけるゲノム内容物の変化に相当する。ゲノム重鎖可変領域には3つのセグメント、V、D、およびJがあり、これらは、VDJ再編成と呼ばれるプロセスにおいてランダムに再結合して、それぞれのB細胞の免疫グロブリンに、ユニークな可変領域が生じる。軽鎖可変領域についても、2つのセグメントVおよびJしか関与しないことを除けば同様の再編成が起こる。完全に再編成された後に、B細胞は骨髄内でIgM+未熟段階に達する。これらの未熟B細胞は、その表面上に膜結合型IgM、すなわち、BCRを提示し、脾臓に移動する。脾臓内で未熟B細胞は移行B細胞と呼ばれる。これらの細胞の一部は成熟Bリンパ球に分化する。表面上にBCRを発現する成熟B細胞は血液およびリンパ系を循環して、免疫監視の役割を果たす。成熟B細胞は、完全に活性化されるまで可溶性抗体を産生しない。それぞれのB細胞には、1種類の特定の抗原に結合するユニークな受容体タンパク質がある。B細胞がその抗原に遭遇し、Tヘルパー細胞から追加シグナルを受け取ったら、可溶性抗体を発現および分泌するプラズマB細胞、またはメモリーB細胞のいずれかにさらに分化することができる。

【0131】

本開示の文脈において「B細胞」という用語は、その表面上に完全に再編成された、すなわち、成熟したBCRを提示する任意のBリンパ球を指す。例えば、本発明の文脈におけるB細胞は未熟B細胞でもよく、成熟B細胞でもよい。場合によっては、B細胞は、ナイーブB細胞、すなわち、前記B細胞の表面上のBCRによって特異的に認識される抗原に曝露されることがないB細胞である。一部の態様において、B細胞はCD19+B細胞である、すなわち、その表面上にCD19を発現する。場合によっては、本発明の文脈におけるB細胞はCD19+B細胞であり、その表面上に完全に再編成されたBCRを発現する。B細胞はまたCD20+B細胞またはCD21+B細胞でもよい。場合によっては、CD20+B細胞またはCD21+B細胞はその表面上にBCRを保持する。一部の態様において、B細胞は、IgG+メモリーB細胞などのメモリーB細胞である。

【0132】

抗原提示細胞(APC)、例えば樹状細胞(DC)を活性化する処置。一部の態様において、本方法は、個体のAPC、例えば、DCを活性化する処置を個体を実施する工程を含む。このような工程はインビボまたはインピトロで行うことができ、抗体組成物を投与する工程の前、抗体組成物を投与する工程の後、または抗体組成物を投与する工程と同時に行うことができる。APC、例えば、DCを活性化する任意の便利な処置を行うことができる。例えば、場合によっては、APC、例えば、DCを活性化する(刺激する)処置は、内因性APC、例えば、DCを活性化する任意の形の癌療法(例えば、個体への、例えば、200~4,000ラドの電離放射線の局部照射;化学療法など)を含んでもよい。場合によっては、APCを活性化する処置は局部照射を含まない。場合によっては、APC、例えば、DCを活性化する(例えば、樹状細胞を活性化する)処置は、APC、例えば、DC(例えば、内因性DC(すなわち、インビボでDC、例えば、インビボでTADC)、BMDCでないDC、BMDCであるDC、TADC、マクロファージ、B細胞など)を、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物と接触させる工程を含む。場合によっては、APC、例えばDCはインビボで活性化される。場合によっては、APC、例えばDCはエクスピボで活性化される(例えば、DC、例えば、TADCは個体から単離されてもよく、次いで、TADCは活性化されてもよく、例えば、樹状細胞刺激組成物と接触してもよい)。

【0133】

10

20

30

40

50

樹状細胞刺激組成物。場合によっては、樹状細胞を活性化する(例えば、樹状細胞を活性化する)処置は、DC(例えば、内因性DC、BMDCでないDC、BMDCであるDC、TADCなど)を樹状細胞刺激組成物と接触させる工程を含む。本明細書で使用する「樹状細胞刺激組成物」は少なくとも1種類の樹状細胞刺激物質を含む。

【0134】

樹状細胞刺激物質は、DCを活性化し、かつ/もしくは抗原の取り込みを刺激し(例えば、腫瘍細胞の取り込み、例えば、食作用を刺激し)、かつ/またはDCの成熟を刺激し、かつ/またはT細胞への抗原の提示を刺激する、作用物質である。適切な樹状細胞刺激物質には、CD40アゴニスト、炎症性サイトカイン、Toll様受容体アゴニスト(例えば、CpG ODN、ポリイノシン:ポリシチジン酸(「ポリI:C」、TLR-3アゴニスト)など)、インドールアミン2, 3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質、チェックポイント分子中和化合物(例えば、チェックポイント分子を中和する抗体、例えば、抗CTLA-4抗体、例えば、イピリムマブ)、NFκB活性化因子(例えば、ホルボールエステル)、カルシウムチャンネルを開口させる化合物(例えば、イオノマイシン)、T細胞関連共刺激分子(例えば、CD27、CD28、4-BBLなど)、およびその任意の組み合わせが含まれるが、これに限定されない。

10

【0135】

例えば、場合によっては、本樹状細胞刺激組成物は、CD40アゴニスト(例えば、CD40Lおよび/またはアゴニスト抗CD40抗体)ならびに炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)を含む。場合によっては、本樹状細胞刺激組成物は、CD40アゴニスト(例えば、CD40Lおよび/またはアゴニスト抗CD40抗体)、炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)、ならびにToll様受容体アゴニスト(例えば、CpG ODN、ポリイノシン:ポリシチジン酸(「ポリI:C」、TLR-3アゴニスト)など)を含む。場合によっては、本樹状細胞刺激組成物は、Toll様受容体アゴニスト(例えば、CpG ODN、ポリイノシン:ポリシチジン酸(「ポリI:C」、TLR-3アゴニスト)など)を含む。場合によっては、本樹状細胞刺激組成物はIDO阻害物質を含む。場合によっては、本樹状細胞刺激組成物は、チェックポイント分子を中和する抗体(例えば、抗CTLA-4抗体、例えば、イピリムマブ)を含む。場合によっては、本樹状細胞刺激組成物は、T細胞関連共刺激分子(例えば、CD27、CD28、4-BBLなど)を含む。場合によっては、本樹状細胞刺激組成物は、T細胞関連共刺激分子(例えば、CD27、CD28、4-BBLなど)および炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)を含む。場合によっては、本樹状細胞刺激組成物は、T細胞関連共刺激分子(例えば、CD27、CD28、4-BBLなど)、炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)、およびToll様受容体アゴニスト(例えば、CpG ODN、ポリイノシン:ポリシチジン酸(「ポリI:C」、TLR-3アゴニスト)など)を含む。

20

30

【0136】

B細胞刺激組成物。場合によっては、B細胞を活性化する(例えば、B細胞を活性化する)処置は、B細胞をB細胞刺激組成物と接触させる工程を含む。本明細書で使用する「B細胞刺激組成物」は少なくとも1種類のB細胞刺激物質を含む。

【0137】

B細胞を活性化し、かつ/または抗原の取り込みを刺激し(例えば、例えば、腫瘍細胞の取り込み、例えば食作用を刺激し)、かつ/またはB細胞の成熟を刺激し、かつ/またはT細胞への抗原の提示を刺激する、B細胞刺激物質。適切なB細胞刺激物質には、Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニスト;(iii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iv)B細胞受容体を結合させる抗原;(v)抗イディオタイプ抗体;(vi)表面免疫グロブリンを架橋する作用物質;ならびにその任意の組み合わせが含まれるが、これに限定されない。

40

【0138】

マクロファージ刺激組成物。場合によっては、マクロファージを活性化する(例えば、マクロファージを活性化する)処置は、マクロファージをマクロファージ刺激組成物と接触させる工程を含む。本明細書で使用する「マクロファージ刺激組成物」は少なくとも1

50

種類のマクロファージ刺激物質を含む。

【0139】

マクロファージ刺激物質は、マクロファージを活性化し、かつ/または抗原の取り込みを刺激し(例えば、腫瘍細胞の取り込み、例えば食作用を刺激し)、かつ/またはマクロファージの成熟を刺激し、かつ/またはT細胞への抗原の提示を刺激する、作用物質である。適切なマクロファージ刺激物質には、Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)マクロファージ活性化サイトカイン;(iii)グルコシルチコイド受容体アゴニスト;およびその任意の組み合わせが含まれるが、これに限定されない。

【0140】

任意の便利なCD40アゴニストを使用することができる。適切なCD40アゴニストの例には、アゴニスト抗CD40抗体、CD40リガンド(CD40L、CD40LGとも知られる)などが含まれるが、これに限定されない。任意の便利なアゴニスト抗CD40抗体を使用することができ、アゴニスト抗CD40抗体は当技術分野において公知である。任意の便利なCD40L(またはその機能的断片)が用いられてもよい。例えば、ヒトCD40Lは、タンパク質配列:

MIETYNQTSPRSAATGLPISMKIFMYLLTVFLITQMIGSALFAVYLHRRLDKIEDERNLHEDFVF  
MKTIQRCNTGERSLSLLNCEEIKSQFEGFVKDIMLNKEETKKENSFEMQKGDQNPQIAAHVIS  
EASSKTTSVLQWAEKGYTMSNNLVTLENGKQLTVKRQGLYYIYAQVTFCSNREASSQAPFI  
ASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQSIHLGGVFELQPGASVFNVTDPQSQVSHGTG  
FTSFGLLKL (SEQ ID NO: 1)

を有するポリペプチドであり、これは、以下のcDNA配列(オープンリーディングフレームに下線を引いた):

10

20

ACTTTGACAGTCTTCTCATGCTGCCTCTGCCACCTTCTCTGCCAGAAGATACCATTTCAAC  
 TTTAACACAGCATGATCGAAACATAACAACAACTTCTCCCCGATCTGCGGCCACTGGAC  
 TGCCCATCAGCATGAAAATTTTTATGTATTTACTTACTGTTTTTCTTATCACCCAGATGATT  
 GGGTCAGCACTTTTTGCTGTGTATCTTCATAGAAGGTTGGACAAGATAGAAGATGAAAGG  
 AATCTTCATGAAGATTTTGTATTCATGAAAACGATACAGAGATGCAACACAGGAGAAAGAT  
 CCTTATCCTTACTGAACTGTGAGGAGATTAAGCCAGTTTGAAGGCTTTGTGAAGGATA  
 TAATGTTAAACAAAGAGGAGACGAAGAAAGAAAACAGCTTTGAAATGCAAAAAGGTGATC  
 AGAATCCTCAAATTGCGGCACATGTCATAAGTGAGGCCAGCAGTAAAACAACATCTGTGT  
 TACAGTGGGCTGAAAAAGGATACTACACCATGAGCAACAACCTTGGTAACCCTGGAAAATG  
 GGAAACAGCTGACCGTTAAAAGACAAGGACTCTATTATATCTATGCCCAAGTCACCTTCT  
 GTTCCAATCGGGAAGCTTCGAGTCAAGCTCCATTTATAGCCAGCCTCTGCCTAAAGTCCC  
 CCGGTAGATTGAGAGAATCTTACTCAGAGCTGCAAATACCCACAGTTCCGCCAACCTT  
 GCGGGCAACAATCCATTCACTTGGGAGGAGTATTTGAATTGCAACCAGGTGCTTCGGTG  
 TTTGTCAATGTGACTGATCCAAGCCAAGTGAGCCATGGCACTGGCTTCACGTCCTTTGGC  
 TTAICTCAAICTGAACAGTGTACCTTGCAGGCTGTGGTGGAGCTGACGCTGGGAGTC  
 TTCATAATACAGCACAGCGGTTAAGCCCACCCCTGTAACTGCCTATTTATAACCCTAG  
 GATCCTCCTTATGGAGAACTATTTATTATACACTCCAAGGCATGTAGAAGTGAATAAGTG  
 AATTACAGGTCACATGAAACCAAACGGGCCCTGCTCCATAAGAGCTTATATATCTGAAG  
 CAGCAACCCCACTGATGCAGACATCCAGAGAGTCCTATGAAAAGACAAGGCCATTATGC  
 ACAGGTTGAATTCTGAGTAAACAGCAGATAACTTGCCAAGTTCAGTTTTGTTTCTTTGCGT  
 GCAGTGTCTTTCCATGGATAATGCATTTGATTTATCAGTGAAGATGCAGAAGGGAAATGG  
 GGAGCCTCAGCTCACATTCAGTTATGGTTGACTCTGGGTTCCCTATGGCCTTGTTGGAGG  
 GGGCCAGGCTCTAGAACGTCTAACACAGTGGAGAACCGAAACCCCCCCCCCCCCCCCCG  
 CCACCCTCTCGGACAGTTATTCATTCTCTTTCAATCTCTCTCTCCATCTCTCTCTTTCA  
 GTCTCTCTCTCAACCTCTTTCTTCCAATCTCTCTTTCTCAATCTCTCTGTTTCCCTTTGT  
 CAGTCTCTTCCCTCCCCAGTCTCTCTTCTCAATCCCCCTTTCTAACACACACACACACAC  
 ACACACACACACACACACACACACACACACACACACAGAGTCAGGCCGTTGCTAGTCAG  
 TTCTCTTCTTTCCACCCTGTCCCTATCTCTACCACTATAGATGAGGGTGAGGAGTAGGGA  
 GTGCAGCCCTGAGCCTGCCCACTCCTCATTACGAAATGACTGTATTTAAAGGAAATCTAT  
 TGTATCTACCTGCAGTCTCCATTGTTCCAGAGTGAAGTGAATTATCTTGTTATTTATTT  
 TTTGAATAATAAAGACCTCTTAACATTAA (SEQ ID NO: 2)

10

20

30

40

の対応するmRNAによってコードされる。

【 0 1 4 1 】

適切なCD40LはまたCD40Lの機能的断片でもよい(すなわち、CD40Lは完全長ポリペプチドである必要はない)。膜固定CD40-リガンドがCD4+Tリンパ球上に発現される。可溶性CD40Lは、CD40Lの全TNF相同領域を含むタンパク質であり、完全長CD40Lの細胞内タンパク質分解処理によってインビボで生成される。例えば、組換えマウスCD40Lは、CD40Lの受容体結合TNF様ドメインを有する149個のアミノ酸残基:

MQRGDEDPQIAAHVSEANSNAASVLQWAKKGYITMKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVY  
 TQVTFCSNREPSSQRPFIVGLWLKPSGSRILLKAANTHSSSQLCEQQSVHLGGVFELQAG  
 ASVFNVTASQVIHRVGFSSFGLLKL (SEQ ID NO: 3)

を含有する可溶性16.4kDaタンパク質でもよい。別の例として、組換えヒト可溶性CD40リ  
 ガンド(CD40L)は、CD40Lの受容体結合TNF様ドメインを有する149アミノ酸残基:

MQKGDQNPQIAAHVISEASSKTTSVLQWAEKGYITMSNNLVTLENGKQLTVKRQGLYYIYAQ  
 VTFCSNREASSQAPFIASLWLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQSIHLGGVFELQPGAS  
 VFNVTDPQSQVSHGTGFTSFGLLKL (SEQ ID NO: 4)

10

を含有する16.3kDaタンパク質でもよい。適切なCD40L(機能的断片を含む)はまた、CD40L  
 ポリペプチド(例えば、完全長、機能的断片など)をコードする核酸(例えば、DNAおよび/  
 またはmRNA)として提供されてもよい。

【0142】

CD40Lが用いられる場合、APC、例えば、DCへの充填を実現するために任意の便利な濃度  
 で使用することができる。例えば、場合によっては、CD40Lは、350ng/ml ~ 650ng/ml(例え  
 ば、400ng/ml ~ 600ng/ml、425ng/ml ~ 575ng/ml、450ng/ml ~ 550ng/ml、475ng/ml ~ 525ng/  
 ml、または500ng/ml)の範囲の濃度で用いられる。

【0143】

CD40アゴニストについてのさらなる情報およびCD40アゴニストの非限定的な例につい  
 ては、Khong et al., *Int Rev Immunol*. 2012 Aug;31 (4):246-66; Khong et al., *J Immunol*  
 other. 2013 Sep;36(7):365-72; Ryczyn et al., *Hybridoma (Larchmt)*. 2008 Feb;27(1  
 ):25-30; Khalil et al., *Update Cancer Ther*. 2007 Jun 1;2(2):61-65;ならびに米国特  
 許出願第20130024956号;同第20120225014号;および同第20100098694号を参照されたい。  
 これらは全て、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

20

【0144】

任意の便利な炎症性サイトカインまたは炎症性サイトカインの誘導物質を使用するこ  
 とができる。適切な炎症性サイトカインの例には、腫瘍壊死因子(TNF、腫瘍壊死因子 (TNF  
 )とも知られる);インターロイキン(IL)1(IL-1)(例えば、IL-1、IL-1);およびIL-19  
 が含まれるが、これに限定されない。

30

【0145】

例えば、ヒト腫瘍壊死因子(TNF、TNF)は、タンパク質配列:  
 MSTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSLIVAGATTLFCLLHFGVIGPQREEFP  
 RDLISLISPLAQAVRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGLQWLNRRANALLANGVELRDNQLV  
 VPSEGLYLIYSQVLFKGGQCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKP  
 WYEPYILGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL (SEQ ID NO: 5)

を有するポリペプチドであり、これは、以下のcDNA配列(オープンリーディングフレーム  
 に下線を引いた):

CAGACGCTCCCTCAGCAAGGACAGCAGAGGACCAGCTAAGAGGGAGAGAAGCA  
 ACTACAGACCCCCCTGAAAACAACCCTCAGACGCCACATCCCCTGACAAGCTGCCAGG  
 CAGGTTCTCTTCTCTCACATACTGACCCACGGCTCCACCCTCTCTCCCCTGGAAAGGAC  
ACCATGAGCACTGAAAGCATGATCCGGGACGTGGAGCTGGCCGAGGAGGCGCTCCCCA  
AGAAGACAGGGGGGCCCCAGGGCTCCAGGCGGTGCTTGTTCTCAGCCTCTTCTCCTT  
CCTGATCGTGGCAGGCGCCACCACGCTCTTCTGCCTGCTGCACTTTGGAGTGATCGGCC  
CCCAGAGGGAAGAGTTCCCCAGGGACCTCTCTAATCAGCCCTCTGGCCCAGGCAGTC  
AGATCATCTTCTCGAACCCCGAGTGACAAGCCTGTAGCCCATGTTGTAGCAAACCCTCAA  
GCTGAGGGGCAGCTCCAGTGGCTGAACCGCCGGGCCAATGCCCTCCTGGCCAATGGCG  
TGGAGCTGAGAGATAACCAGCTGGTGGTGCCATCAGAGGGCCTGTACCTCATCTACTCC  
CAGGTCCTCTTCAAGGGCCAAGGCTGCCCTCCACCCATGTGCTCCTCACCCACACCAT  
CAGCCGCATCGCCGTCTCCTACCAGACCAAGGTCAACCTCCTCTCTGCCATCAAGAGCC  
CCTGCCAGAGGGAGACCCAGAGGGGGCTGAGGCCAAGCCCTGGTATGAGCCCATCTA  
TCTGGGAGGGGTCTTCCAGCTGGAGAAGGGTGACCGACTCAGCGCTGAGATCAATCGG  
CCCGACTATCTCGACTTTGCCGAGTCTGGGCAGGTCTACTTTGGGATCATTGCCCTGTG  
 AGGAGGACGAACATCCAACCTTCCCAAACGCCTCCCCTGCCCAATCCCTTTATTACCCC  
 CTCCTTCAGACACCCTCAACCTCTTCTGGCTCAAAAAGAGAATTGGGGGCTTAGGGTCG  
 GAACCCAAGCTTAGAACTTTAAGCAACAAGACCACCACTTCGAAACCTGGGATTGAGGAA  
 TGTGTGGCCTGCACAGTGAAGTGCTGGCAACCACTAAGAATTCAAACCTGGGGCCTCCAG  
 AACTCACTGGGGCCTACAGCTTTGATCCCTGACATCTGGAATCTGGAGACCAGGGAGCC  
 TTTGTTCTGGCCAGAATGCTGCAGGACTTGAGAAGACCTCACCTAGAAATTGACACAAG  
 TGGACCTTAGGCCTTCTCTCTCCAGATGTTTCCAGACTTCTTGAGACACGGAGCCCAG  
 CCCTCCCCATGGAGCCAGCTCCCTCTATTTATGTTTGCCTTGTGATTATTTATTATTTATT  
 TATTATTTATTTATTTACAGATGAATGTATTTATTTGGGAGACCGGGGTATCCTGGGGGAC  
 CCAATGTAGGAGCTGCCTTGGCTCAGACATGTTTTCCGTGAAAACGGAGCTGAACAATA  
 GGCTGTTCCCATGTAGCCCCCTGGCCTCTGTGCCTTCTTTTGATTATGTTTTTTAAATAT  
 TTATCTGATTAAGTTGTCTAAACAATGCTGATTTGGTGACCAACTGTCACTCATTGCTGAG  
 CCTCTGCTCCCCAGGGGAGTTGTGTCTGTAATCGCCCTACTATTCAGTGGCGAGAAATAA  
 AGTTTGCTTAGAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAA (SEQ ID NO: 6)

10

20

30

40

の対応するmRNAによってコードされる。

【 0 1 4 6 】

TNF が用いられる場合、APC、例えば、DCへの充填を実現するために任意の便利な濃度で使用することができる。例えば、場合によっては、TNF は、20ng/ml ~ 80ng/ml (例えば、25ng/ml ~ 75ng/ml、30ng/ml ~ 70ng/ml、35ng/ml ~ 65ng/ml、40ng/ml ~ 60ng/ml、45ng/ml ~ 55ng/ml、47.5ng/ml ~ 52.5ng/ml、または50ng/ml) の範囲の濃度で用いられる。

【 0 1 4 7 】

別の例として、ヒトIL-1 は、タンパク質配列：

MAKVPMFEDLKNCSENEEDSSSIDHLSLNQKSFYHVSYGPLHEGCMDQSVLSISSETS  
 SKLTFKESMVVVATNGKVLKKRRLSLSQSITDDDLEAIANDSEEEIHKPRSAPFSFLSNVKYNF  
 MRIIKYEFILNDALNQSIIRANDQYLTAALHNLDEAVKFDMGAYKSSKDDAKITVILRISKTLQLY  
 VTAQDEDQPVLLKEMPEIPKTITGSETNLLFFWETHGKKNYFTSVAHPNLFIA TKQDYWVCLA  
 GGPPSITDFQILENQA (SEQ ID NO: 7)

を有するポリペプチドであり、これは、以下のcDNA配列(オープンリーディングフレーム  
 に下線を引いた):

ACCAGGCAACACCATTGAAGGCTCATATGTAAAATCCATGCCTTCCTTTCTCCCAATCTC 10  
 CATTCCCAAACCTTAGCCACTGGCTTCTGGCTGAGGCCTTACGCATACCTCCCGGGGCTT  
 GCACACACCTTCTTCTACAGAAGACACACCTTGGGCATATCCTACAGAAGACCAGGCTTC  
 TCTCTGGTCCTTGGTAGAGGGCTACTTTACTGTAACAGGGCCAGGGTGGAGAGTTCTCT  
 CCTGAAGCTCCATCCCCTCTATAGGAAATGTGTTGACAATATTCAGAAGAGTAAGAGGAT  
 CAAGACTTCTTTGTGCTCAAATACCACTGTTCTTCTCTACCCTGCCCTAACCAAGGAGCT  
 TGTCACCCCCAACTCTGAGGTGATTTATGCCTTAATCAAGCAAACCTTCCCTCTTCAGAAAA  
 GATGGCTCATTTTCCCTCAAAGTTGCCAGGAGCTGCCAAGTATTCTGCCAATTCACCT 20  
 GGAGCACAATCAACAAATTCAGCCAGAACAACAACACTACAGCTACTATTAGAACTATTATTAT  
 TAATAAATTCCTCTCCAAATCTAGCCCCTTGACTTCGGATTTACAGATTTCTCCCTTCCTC  
 CTAGAAACTTGATAAGTTTCCCGCGCTTCCCTTTTTCTAAGACTACATGTTTGTGATCTTAT  
 AAAGCAAAGGGGTGAATAAATGAACCAAATCAATAACTTCTGGAATATCTGCAAACAACA  
 ATAATATCAGCTATGCCATCTTCACTATTTTAGCCAGTATCGAGTTGAATGAACATAGAA  
 AAATACAAAACCTGAATTCTTCCCTGTAAATTCCCGTTTTGACGACGCACTTGTAGCCACG  
 TAGCCACGCCTACTTAAGACAATTACAAAAGGCGAAGAAGACTGACTCAGGCTTAAGCTG  
 CCAGCCAGAGAGGGAGTCATTTATTGGCGTTTGAGTCAGCAAAGAAGTCAAGATGGCC 30  
AAAGTTCCAGACATGTTTGAAGACCTGAAGAAGTGTACAGTGAAAATGAAGAAGACAGT  
TCCTCCATTGATCATCTGTCTCTGAATCAGAAATCCTTCTATCATGTAAGCTATGGCCCAC  
TCCATGAAGGCTGCATGGATCAATCTGTGTCTCTGAGTATCTCTGAAACCTCTAAAACAT  
CCAAGCTTACCTTCAAGGAGAGCATGGTGGTAGTACCAACCGGAAGGTTCTGAAG  
AAGAGACGGTTGAGTTTAAGCCAATCCATCACTGATGATGACCTGGAGGCCATCGCCAA  
TGACTCAGAGGAAGAAATCATCAAGCCTAGGTCAGCACCTTTTAGCTTCTGAGCAATGT  
GAAATACAACCTTTATGAGGATCATCAAATACGAATTCATCCTGAATGACGCCCTCAATCAA  
AGTATAATTCGAGCCAATGATCAGTACCTCACGGCTGCTGCATTACATAATCTGGATGAA 40  
GCAGTGAAATTTGACATGGGTGCTTATAAGTCATCAAAGGATGATGCTAAAATTACCGTG  
ATTCTAAGAATCTCAAAAACCTCAATTGTATGTGACTGCCCAAGATGAAGACCAACCAGTG  
CTGCTGAAGGAGATGCCTGAGATACCCAAAACCATCACAGGTAGTGAGACCAACCTCCT

CTTCTTCTGGGAAACTCACGGCACTAAGAACTATTTACATCAGTTGCCCATCCAACTT  
GTTTATTGCCACAAAGCAAGACTACTGGGTGTGCTTGGCAGGGGGGCCACCCTCTATCA  
CTGACTTTTCAGATACTGGAAAACCAGGCGTAGGTCTGGAGTCTCACTTGTCTCACTTGTG  
 CAGTGTTGACAGTTCATATGTACCATGTACATGAAGAAGCTAAATCCTTTACTGTTAGTCA  
 TTTGCTGAGCATGTAAGCCTTGTAAATCTAAATGAATGTTTACACTCTTTGTAAGAGT  
 GGAACCAACACTAACATATAATGTTGTTATTTAAAGAACACCCTATATTTTGCATAGTACC  
 AATCATTTTAATTATTATTCTTCATAACAATTTTAGGAGGACCAGAGCTACTGACTATGGCT  
 ACCAAAAAGACTCTACCCATATTACAGATGGGCAAATTAAGGCATAAGAAAATAAGAAA  
 TATGCACAATAGCAGTTGAAACAAGAAGCCACAGACCTAGGATTTTCATGATTTCAATTTCAA  
 CTGTTTGCCTTCTACTTTTAAGTTGCTGATGAACTCTTAATCAAATAGCATAAGTTTCTGG  
 GACCTCAGTTTTATCATTTTCAAATGGAGGGAATAATACCTAAGCCTTCCTGCCGCAACA  
 GTTTTTTATGCTAATCAGGGAGGTCATTTTGGTAAAATACTTCTTGAAGCCGAGCCTCAAG  
 ATGAAGGCAAAGCACGAAATGTTATTTTTTAATTATTATTTATATATGATTTATAAATATAT  
 TTAAGATAATTATAATACTATATTTATGGGAACCCCTTCATCCTCTGAGTGTGACCAGG  
 CATCCTCCACAATAGCAGACAGTGTTTTCTGGGATAAGTAAGTTTGATTTCATTAAATACAG  
 GGCATTTTGGTCCAAGTTGTGCTTATCCCATAGCCAGGAACTCTGCATTCTAGTACTTG  
 GGAGACCTGTAATCATATAATAAATGTACATTAATTACCTTGAGCCAGTAATTGGTCCGAT  
 CTTTGACTCTTTTGCCATTAACCTTACCTGGGCATTCTTGTTTCAATTCCACCTGCAATCA  
 AGTCCTACAAGCTAAAATTAGATGAACTCAACTTTGACAACCATGAGACCACTGTTATCAA  
 AACTTTCTTTTCTGGAATGTAATCAATGTTTCTTCTAGGTTCTAAAAATTGTGATCAGACCA  
 TAATGTTACATTATTATCAACAATAGTGATTGATAGAGTGTTATCAGTCATAACTAAATAAA  
 GCTTGCAACAAAATTCTCTGACAAAAA(AAA) (SEQ ID NO: 8)

10

20

の対応するmRNAによってコードされる。

30

【 0 1 4 8 】

別の例として、ヒトIL-1 は、タンパク質配列：  
 MAEVP ELASEMMAYYS GNEDDLFFEADGPKQMKCSFQDL DLCPLDGGIQLRISDHHYSKGF  
 RQAASVVVAMDKLRKMLVPCPQTFQENDLSTFFPFIFEEPIFFDTWDNEAYVHDAPVRS LN  
 CTRLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQDMEQQVVFSSMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLY  
 LSCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIEINNKLEFESAQFPNWWYISTSQAENMP  
 VFLGGTKGGQDITDFTMQFVSS (SEQ ID NO: 9)

を有するポリペプチドであり、これは、以下のcDNA配列(オープンリーディングフレーム  
 に下線を引いた)：

40

ACCAAACCTCTTCGAGGCACAAGGCACAACAGGCTGCTCTGGGATTCTCTTCAGCCAAT  
CTTCATTGCTCAAGTGTCTGAAGCAGCCATGGCAGAAGTACCTGAGCTCGCCAGTGAAA  
TGATGGCTTATTACAGTGGCAATGAGGATGACTTGTTCTTTGAAGCTGATGGCCCTAAAC  
AGATGAAGTGCTCCTTCCAGGACCTGGACCTCTGCCCTCTGGATGGCGGCATCCAGCTA  
CGAATCTCCGACCACCACTACAGCAAGGGCTTCAGGCAGGCCGCGTCAGTTGTTGTGGC  
CATGGACAAGCTGAGGAAGATGCTGGTTCCTGCCACAGACCTTCCAGGAGAATGACC  
TGAGCACCTTCTTTCCCTTCATCTTTGAAGAAGAACCTATCTTCTTCGACACATGGGATAA  
CGAGGCTTATGTGCACGATGCACCTGTACGATCACTGAACTGCACGCTCCGGGACTCAC  
AGCAAAAAGCTTGGTGATGTCTGGTCCATATGAACTGAAAGCTCTCCACCTCCAGGGAC  
AGGATATGGAGCAACAAGTGGTGTCTCCATGTCTTTGTACAAGGAGAAGAAAGTAATG  
ACAAAATACCTGTGGCCTTGGGCCTCAAGGAAAAGAATCTGTACCTGTCCTGCGTGTTGA  
AAGATGATAAGCCCACTCTACAGCTGGAGAGTGTAGATCCCAAAAATTACCCAAAGAAGA  
AGATGGAAAAGCGATTTGTCTTCAACAAGATAGAAATCAATAACAAGCTGGAATTTGAGT  
CTGCCAGTTCCCAACTGGTACATCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCGTCTTCC  
TGGGAGGGACCAAAGGCGGCCAGGATATAACTGACTTCACCATGCAATTTGTGTCTTCC  
TAAAGAGAGCTGTACCCAGAGAGTCTGTGCTGAATGTGGACTCAATCCCTAGGGCTGG  
CAGAAAGGGAACAGAAAGGTTTTTGTAGTACGGCTATAGCCTGGACTTTCCTGTTGTCTAC  
ACCAATGCCCAACTGCCTGCCTTAGGGTAGTGCTAAGAGGATCTCCTGTCCATCAGCCA  
GGACAGTCAGCTCTCTCCTTTCAGGGCCAATCCCAGCCCTTTTGTGAGCCAGGCCTC  
TCTCACCTCTCCTACTCACTTAAAGCCCGCCTGACAGAAACCACGGCCACATTTGGTTCT  
AAGAAACCCTCTGTCATTCGCTCCCACATTCTGATGAGCAACCGCTTCCCTATTTATTTAT  
TTATTTGTTTGTGTTTATTTCATTGGTCTAATTTATTCAAAGGGGGCAAGAAGTAGCAGT  
GTCTGTAAAAGAGCCTAGTTTTTAATAGCTATGGAATCAATTCAATTTGGACTGGTGTGCT  
CTCTTTAAATCAAGTCCTTTAATTAAGACTGAAAATATATAAGCTCAGATTATTTAAATGGG  
AATATTTATAAATGAGCAAATATCATACTGTTCAATGGTTCTGAAATAAACTTCACTGAAG  
 (SEQ ID NO: 10)

10

20

30

40

の対応するmRNAによってコードされる。

【 0 1 4 9 】

別の例として、ヒトIL-19(アイソフォーム1)は、タンパク質配列:

MCTEGAFPHRSACSLPLTHVHTHIHVCVPVWLWGSVPRGMKLQCVSLWLLGTILILCSVDNHG  
 LRRCLISTDMHHIEESFQEIKRAIQAKDTFPNVTLSTLETLQIIKPLDVCCVTKNLLAFYVDRVF  
 KDHQEPNPKILRKISSIANSFLYMQKTLRQCQEQRQCHCRQEATNATRVIHDNYDQLEVHAA  
 AIKSLGELDVFLAWINKNHEVMFSA (SEQ ID NO: 11)

を有するポリペプチドであり、これは、以下のcDNA配列(オープンリーディングフレームに下線を引いた):

TGCACACACTGACAGGAGTCCAAGAATGTGCACTGAGGGAGCGTTTCCGCACAGATCTG  
CGTGTTCCCTTACCACTCACACATGTGCACACACATATCCATGTGTGTGTGCCAGTGCTTT  
GGGGCTCTGTTCCACGGGGCATGAAGTTACAGTGTGTTTCCCTTTGGCTCCTGGGTACA  
ATACTGATATTGTGCTCAGTAGACAACCACGGTCTCAGGAGATGTCTGATTTCCACAGAC  
ATGCACCATATAGAAGAGAGTTTCCAAGAAATCAAAGAGCCATCCAAGCTAAGGACACC  
TTCCCAAATGTCACATATCCTGTCCACATTGGAGACTCTGCAGATCATTAAAGCCCTTAGAT  
GTGTGCTGCGTGACCAAGAACCTCCTGGCGTTCTACGTGGACAGGGTGTTC AAGGATCA  
TCAGGAGCCAAACCCCAAATCTTGAGAAAAATCAGCAGCATTGCCAACTCTTTCCTCTA  
CATGCAGAAACTCTGCGGCAATGTCAGGAACAGAGGCAGTGTCACTGCAGGCAGGAA  
GCCACCAATGCCACCAGAGTCATCCATGACAACTATGATCAGCTGGAGGTCCACGCTGC  
TGCCATTAATCCCTGGGAGAGCTCGACGTCTTTCTAGCCTGGATTAATAAGAATCATGA  
AGTAATGTTCTCAGCTTGATGACAAGGAACCTGTATAGTGATCCAGGGATGAACACCCCC  
TGTGCGGTTTACTGTGGGAGACAGCCCACCTTGAAGGGGAAGGAGATGGGGAAGGCC  
CTTGACAGCTGAAAGTCCCCTGGCTGGCCTCAGGCTGTCTTATTCCGCTTGAAAATAGCC  
AAAAAGTCTACTGTGGTATTTGTAATAAACTCTATCTGCTGAAAGGGCCTGCAGGCCATC  
CTGGGAGTAAAGGGCTGCCTTCCCATCTAATTTATTGTAAAGTCATATAGTCCATGTCTGT  
GATGTGAGCCAAGTGATATCCTGTAGTACACATTGTA CTGAGTGGTTTTTCTGAATAAATT  
CCATATTTTACCTATGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA (SEQ ID NO: 12)

10

20

の対応するmRNAによってコードされる。

【 0 1 5 0 】

別の例として、ヒトIL-19(アイソフォーム2)は、タンパク質配列：  
MKLQCVSLWLLGTILILCSVDNHGLRRCLISTDMHHIEESFQEIKRAIQAKDTFPNVITLSTLETL  
QIIKPLDVCCVTKNLLAFYVDRVFKDHQEPNPKILRKISSIANSFLYMQKTLRQCQEQRQCHC  
RQEATNATRVIHDNYDQLEVHAAIKSLGELDVFLAWINKNHEVMFSA (SEQ ID NO: 13)

30

を有するポリペプチドであり、これは、以下のcDNA配列(オープンリーディングフレームに下線を引いた)：

GCTGGAGTGCAATGGTCAAATTATAGCAGACTGCAGTCTTCAACTCCTGACCTCAAGCAA  
 TTGTCCTGCCTCCTCAACTTCTGACTACAGGTGTGCATGAGGACTACAGGCAGGCATG  
 TGCCAACACATGCAGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAGAGATGTGGTCTCGCTTTGTTGCCT  
 AACTGGTCTCAAACCTTTGGCCTCAAGGGATCCTCCCACCTCGGCTTCCCAAAGTGCA  
 GAGATTACAGTCTCATTCTCTCTCTCTGCATTAATCAAGAATGAGAGAACCCTCCAGG  
 GGACAAGATGAAGGGGAAATAGATGATGTGCAAAGAAATCCTTGCTTTATGAGGGGAAA  
 AAGTGTTCCCTCATGAAGTTCAACAAAATGATGCAGGTAAAGCAGTTAGCTAGCACCTGGC  
 ACATGGCAGACACTCATAGCTGCCTAAGGCATTGGAGAAGTGGATCGTGCTGCAGCCAG 10  
 AGGCACCTGCAGAGCCTCATGGGCTGGCTGCTGCAGGGTGTGGCTGATTGAGAGTGCT  
 TTTGTGAGTTGGCCTGCAGGGTACACTTGGTAACGTGCCACAGCTCTCAGGAAAGTGAC  
 CTAAGTTGGATTTTTCTGCATGGACATAGAATTGCAAAAATTCTCATTGTCATGGAGATG  
 GGGAGTTTATTTTTCTAGAAGCTGCATGTCAAGACCCAGAAGAAAGAGGCATTTATAA  
 TAATGATTAATCAGCTATATCTTAAAGAAGAAAGAAAACAATTAAGGAAATACAATACTAA  
 GAAAACAAGGGGAAAAACAATCTCCCAAGGTGGATCCACCCAGCAAACCTTGACAGC  
 ATTTCTCTTATCCACCTGAATAAAAATGACCAGCCCTTTCAAATGGCAGAGAGCACTG 20  
 AGAGGAGACACAAGGAGCAGCCCGCAAGCACCAAGTGAGAGGCATGAAGTTACAGTGT  
GTTTCCCTTTGGCTCCTGGGTACAATACTGATATTGTGCTCAGTAGACAACCACGGTCTC  
AGGAGATGTCTGATTTCCACAGACATGCACCATATAGAAGAGAGTTTTCCAAGAAATCAA  
AGAGCCATCCAAGCTAAGGACACCTTCCCAAATGTCACTATCCTGTCCACATTGGAGACT  
CTGCAGATCATTAAAGCCCTTAGATGTGTGCTGCGTGACCAAGAACCTCCTGGCGTTCTAC  
GTGGACAGGGTGTTC AAGGATCATCAGGAGCCAAACCCCAAATCTTGAGAAAAATCAG  
CAGCATTGCCAACTCTTTCTCTACATGCAGAAAATCTGCGGCAATGTCAGGAACAGAG  
GCAGTGTCACTGCAGGCAGGAAGCCACCAATGCCACCAGAGTCATCCATGACAACCTATG 30  
ATCAGCTGGAGGTCCACGCTGCTGCCATTAATCCCTGGGAGAGCTCGACGTCTTTCTA  
GCCTGGATTAATAAGAATCATGAAGTAATGTTCTCAGCTTGATGACAAGGAACCTGTATA  
 GTGATCCAGGGATGAACACCCCCTGTGCGGTTTACTGTGGGAGACAGCCCACCTTGAAG  
 GGGAAGGAGATGGGGAAGGCCCTTGCAGCTGAAAGTCCCCTGGCTGGCCTCAGGCT  
 GTCTTATTCCGCTTGAAAATAGCCAAAAGTCTACTGTGGTATTTGTAATAAACTCTATCT  
 GCTGAAAGGGCCTGCAGGCCATCCTGGGAGTAAAGGGCTGCCTTCCCATCTAATTTATT  
 GTAAAGTCATATAGTCCATGTCTGTGATGTGAGCCAAGTATATCCTGTAGTACACATTGT  
 ACTGAGTGGTTTTTCTGAATAAATTCCATATTTTACCTATGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 40  
 (SEQ ID NO: 14)

の対応するmRNAによってコードされる。

【 0 1 5 1 】

適切なCD40アゴニスト(例えば、CD40L;アゴニスト抗CD40抗体(例えば、FGK4.5, BioXce  
 II)など)および/または炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、イン  
 ターフエロン(IFN)など)はまた、その機能的断片でもよい(すなわち、このタンパ  
 ク質は完全長ポリペプチドである必要はない)。適切なCD40アゴニスト(例えば、CD40L、  
 アゴニスト抗CD40抗体など)(もしくはその機能的断片)および/または炎症性サイトカイン  
 (例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)(もしくはそ 50

の機能的断片)はまた、ポリペプチド(例えば、完全長、機能的断片など)をコードする核酸(例えば、DNAおよび/またはmRNA)として提供されてもよい。

【0152】

任意の便利なToll様受容体アゴニストを使用することができる。適切なToll様受容体アゴニスト(TLR)の例には、CpGオリゴデオキシヌクレオチド(CpG ODN)(TLR-9アゴニスト);天然Toll様受容体リガンド;細菌LPSおよびその誘導体、細菌細胞壁の成分(例えば、リポテイコ酸)、細菌フラジェリン、微生物DNA、微生物一本鎖RNA、およびウイルス二本鎖RNAを含む(が、これに限定されない)、保存された微生物産物;ポリイノシン:ポリシチジン酸(通常、「ポリI:C」と略される)(TLR-3アゴニスト)、熱ショックタンパク質(例えば、HSP 60、HSP70);尿酸;肺サーファクタントタンパク質A;非ヒストンクロマチン結合タンパク質高移動度グループボックス1(HMGB1);Ca<sup>2+</sup>結合およびZn<sup>2+</sup>結合タンパク質S100A9;細胞外マトリックスの成分および分解産物;ならびにミトコンドリアDNA(mtDNA)が含まれるが、これに限定されない。Toll様受容体アゴニストについてのさらなる情報および様々なToll様受容体アゴニストの例は、Vacchelli et al., *Oncoimmunology*, 2013 Aug 1;2(8):e25238. Epub 2013 Jun 10;ならびに米国特許出願第20130165455号および同第20130084307号において見られる。これらは全て、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。CpGオリゴデオキシヌクレオチド(CpG ODN)は、(例えば、TLR-9に結合する)CpGモチーフを含むヌクレオチドである。任意の便利なCpG ODNを使用することができる。

10

【0153】

任意の便利なインドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質を使用することができる。適切なIDO阻害物質の例には、1-メチル-DL-トリプトファン(1MT);メチル-チオヒダントイン-トリプトファン(MTH-Trp);CAY10581((±)3,4-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-2,2-ジメチル-4-[(フェニルメチル)アミノ]-2H-ナフト[2,3- ]ピラン-5,10-ジオン);アヌリン(annulin)B;および抗IDO抗体;ノルハルマン(norharmane)(9H-ピリド[3,4-b]インドール)などが含まれるが、これに限定されない。IDO阻害物質についての情報およびIDO阻害物質のさらなる例は、例えば、米国特許出願第20130289083号、同第20130123246号、および同第20120058079号に見られる。これらは全て、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

20

【0154】

チェックポイント分子(例えば、CTLA-4)を中和する任意の便利な化合物(例えば、抗体)(すなわち、チェックポイント分子中和化合物)を使用することができる。例示的な抗体は抗CTLA-4抗体(例えば、イピリムマブ)である。チェックポイント分子には、CTLA-4(細胞傷害性Tリンパ球抗原-4)、PD-1(CD279、Programmed Death-1、PDCD1)、LAG-3(リンパ球活性化遺伝子-3)、PD-L1(CD274)、GITR(TNFRSF18、CD357)、OX40(CD134、TNFRSF4)、ならびにTIM-3(T細胞免疫グロブリンおよびムチンタンパク質-3)が含まれるが、必ずしも、これに限定されない。従って、上記のチェックポイント分子のいずれかに対する抗体を、APC刺激物質(例えば、樹状細胞刺激物質)として使用することができる。場合によっては、APC刺激物質は、チェックポイント分子を中和する作用物質(例えば、抗体)でない。

30

【0155】

インビボでAPC、例えばDCを、APC刺激組成物、例えば樹状細胞刺激組成物と接触させる工程は、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物を個体に導入する工程(例えば、全身または局所で個体に投与する工程)を含んでもよい。APC、例えばDCを、APC刺激組成物、例えば樹状細胞刺激組成物と接触させる工程はインビトロで行われてもよい。

40

【0156】

APC、例えばDCが、APC刺激組成物、例えば樹状細胞刺激組成物と接触する場合、接触は、APCによる、例えばDCによる抗原の取り込みを刺激するのに(従って、充填されたAPC、例えばDCを生じさせるのに)十分な期間にわたるものでよい。場合によっては、APC、例えばDCが、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物と接触する場合、接触は、APCによる、例えば、DCによる抗原の将来の取り込みを刺激するのに(従って、活性化されたAPC、例えばDC、または前もって活性化されたAPC、例えばDCを生じさせるのに)十分な期間にわ

50

たるものでよい。場合によっては、APC、例えばDCは、APC刺激組成物、例えば樹状細胞刺激組成物と、2時間～48時間(例えば、6時間～36時間、12時間～36時間、18時間～30時間、20時間～30時間、22時間～28時間、22時間～26時間、23時間～25時間、または24時間)の範囲の期間にわたって接触する。

【0157】

場合によっては、APC、例えば、DCは、本標的抗原と接触する前に(例えば、本標的抗原の非存在下で)および/または本抗体組成物と接触する前に(例えば、本抗体組成物の非存在下で)、APC刺激組成物、例えば樹状細胞刺激組成物と接触する。例えば、場合によっては、APC、例えばDCは、本標的抗原および/または本抗体組成物と接触する前に、APC刺激組成物、例えば樹状細胞刺激組成物と、2時間～48時間(例えば、6時間～36時間、12時間～36時間、18時間～30時間、20時間～30時間、22時間～28時間、22時間～26時間、23時間～25時間、または24時間)の範囲の期間にわたって接触する。言い換えると、場合によっては、APC、例えばDCは、本標的抗原および/または本抗体組成物の非存在下で、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物と2時間～48時間(例えば、6時間～36時間、12時間～36時間、18時間～30時間、20時間～30時間、22時間～28時間、22時間～26時間、23時間～25時間、または24時間)の範囲の期間にわたって接触する。

10

【0158】

説明的な一例として、場合によっては、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物は、本抗体組成物を投与する前に個体に導入され(すなわち投与され)、従って、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物は本抗体組成物の非存在下で個体に導入される。場合によっては、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物は、本抗体組成物を投与した後に個体に導入される(すなわち、投与される)。場合によっては、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物は、本抗体組成物と一緒に個体に導入される(すなわち、投与される)(例えば、同時に投与される、同じ組成物の一部として投与されるなど)。場合によっては、APC、例えば、DCは、標的抗原の存在下で(例えば、標的抗原とも接触しながら)APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物と接触する。場合によっては(例えば、APC、例えば、DCがBMDCである場合)、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物は(インビボ方法またはインビトロ方法のどちらでも)用いられない。場合によっては、内因性APC、例えば、DCの産生、および/または骨髄からの内因性APC、例えば、DCの放出を引き起こす作用物質(例えば、Flt-3)は、本抗体組成物を投与する工程の前、本抗体組成物を投与する工程と同時に、または本抗体組成物を投与する工程の後に個体に投与される。

20

30

【0159】

標的抗原。APCと、例えばDCと標的抗原との接触、およびその後のAPCによる、例えば、DCによる抗原の取り込み(例えば、食作用)を含む方法が、本明細書において提供される。場合によっては(例えば、抗体組成物が個体に投与される場合)、APC、例えばDCは標的抗原とインビボで接触する。例えば、標的抗原(例えば、癌細胞、腫瘍、癌細胞が発現するタンパク質、炭水化物、または脂質など)は個体の中に存在し、APC、例えば、DCも個体に存在し、前記方法は、標的抗原の取り込みを容易にするために(下記でさらに詳細に説明する)抗体組成物の投与を含む。一部のこのような場合では、前記方法は、個体のAPC、例えばDCを活性化する処置(上記で議論した)を個体を実施する工程も含む。

40

【0160】

一部の態様において、APC、例えば、DCはインビトロで標的抗原と接触する。一部のこのような場合では、APC、例えばDCは個体から単離されるか、または、APC、例えばDCは個体の細胞に由来する(例えば、個体の単離された単球に由来する)。どちらの場合でも、APC、例えば、DCは個体にとって自己由来であるとみなされる。APC、例えば、DCは標的抗原および本抗体組成物とインビトロで接触する。

【0161】

標的抗原は、APCによって、例えば、DCによって取り込まれる任意の抗原でよい。抗原がタンパク質であれば、APC、例えば、DCは抗原を処理し、その後、ある特定のペプチド成分をT細胞に提示する。場合によっては、標的抗原は、ポリペプチド、タンパク質複

50

合体、ポリペプチド混合物などでもよい。場合によっては、標的抗原は細胞(例えば、個体に由来する細胞)である。例えば、場合によっては、APC、例えばDCを接触させる工程は、自己由来APC、例えば、DCを、細胞(例えば、個体に由来する癌細胞、例えば、腫瘍に由来する細胞)と接触させる工程を含む。場合によっては、標的抗原は、複合混合物(例えば、細胞溶解産物、原形質膜タンパク質の収集物など)に存在する。従って、一部の態様において、標的抗原は細胞溶解産物に存在する。一部のこのような場合では、APC、例えばDCを接触させる工程は、APC、例えば、DCを、個体の癌細胞に由来する溶解産物(すなわち、癌細胞の細胞溶解産物、原形質膜タンパク質が濃縮された溶解産物、原形質膜タンパク質を含有する溶解産物など)と接触させる工程を含んでもよい。個体の癌細胞は、標的抗原の供給源(例えば、細胞溶解産物の供給源)になることができるか、または標的抗原になることができ、個体の任意の癌細胞(例えば、原発性腫瘍および/または転移性腫瘍に由来する細胞;血液に由来する癌細胞;リンパ節細胞;胸水(例えば、悪性胸水)に由来する細胞、例えば、肺癌患者に由来する細胞;肋膜浸出液(例えば、悪性肋膜浸出液)に由来する細胞、例えば、卵巣癌患者に由来する細胞;菌状息肉腫患者の関与する皮膚など)でよい。

10

20

30

40

50

#### 【0162】

標的抗原は、腫瘍特異的抗原または腫瘍関連抗原(例えば、腫瘍全体または癌細胞、腫瘍細胞溶解産物、腫瘍細胞膜調製物(例えば、膜画分)、腫瘍細胞原形質膜調製物(例えば、原形質膜画分)、腫瘍から単離された抗原または部分的に単離された抗原、融合タンパク質、リボソームなど)、ウイルス粒子またはウイルス抗原を含む他の調製物、および任意の他の抗原または抗原断片、例えば、ペプチドまたはポリペプチド抗原でもよい。前記抗原はまた、細菌細胞、細菌溶解産物、細胞溶解産物に由来する膜画分、または任意の他の供給源でもよい。前記抗原は組換えにより発現または産生されてもよく、化学合成さえされてもよい。組換え抗原はまた、宿主細胞(例えば、細菌、酵母、昆虫、脊椎動物、または哺乳動物の細胞)の表面上にも発現されてもよく(例えば、原形質膜上に発現されてもよく)、溶解産物中に存在してもよく、溶解産物から精製されてもよい。または、前記抗原は、腫瘍細胞から精製または増幅された、リボ核酸(RNA)またはデオキシリボ核酸(DNA)でもよい核酸によってコードされてもよい。

#### 【0163】

標的抗原は、対象に由来する試料に存在してもよい。例えば、対象における過剰増殖状態または他の状態に由来する組織試料が抗原の供給源として用いられてもよい。このような試料は、例えば、生検または外科的切除によって得られてもよい。このような抗原は溶解産物として用いられてもよく、単離された調製物として用いられてもよい。または、対象(例えば、癌患者)に由来する細胞または樹立細胞株の膜調製物も抗原または抗原もしくは抗原をコードする核酸の供給源として使用することができる。

#### 【0164】

一部の態様において、本抗体組成物の抗体が結合する標的抗原は、後でAPC、例えば、DCがT細胞に提示する抗原でない。

#### 【0165】

抗体組成物。本抗体組成物は、標的抗原に特異的に結合する少なくとも1種類の同種異系IgG抗体を含んでもよい。場合によっては、標的抗原はチェックポイント分子でない。「同種異系抗体」または「アロ抗体」という用語は、問題になっている個体(例えば、腫瘍を有する個体および処置を求めている個体)に由来しないが、同じ種に由来する抗体、または異なる種に由来するが、異種抗体(例えば、非自己)としての認識を低減する、緩和する、もしくは回避するように操作されている抗体を指すために本明細書において用いられる。例えば、「同種異系抗体」はヒト化抗体でもよく、超ヒト化(super humanized)抗体でもよい。

#### 【0166】

ヒト個体の癌細胞が、同じ人によって生成されていない抗体と接触する場合(例えば、前記抗体が第2のヒト個体によって生成された場合、前記抗体が別の種、例えば、マウスによって生成された場合、前記抗体が、別の種によって生成されたヒト化抗体である場合

など)、前記抗体は(第1の個体と比べて)同種異系であるとみなされる。同様に、第1のヒト個体に由来するAPC、例えば、DCが同種異系抗体組成物(すなわち、少なくとも1種類の同種異系抗体を含む組成物)の存在下で抗原と接触する場合、同種異系抗体はヒト抗体(例えば、ヒト化抗体、ヒトによって生成された抗体など)でもよいが、同種異系抗体およびAPC、例えば、DCは異なる個体に由来してもよい(例えば、同種異系抗体は第2のヒト個体に由来してもよい;抗体がヒト化される場合、同種異系抗体は別の種に由来する抗体でもよいなど)。一部の態様において、APC(例えば、DC)は、本明細書に記載の1つまたは複数の方法による癌処置を求めているか、または受けている個体にとって内因性のものである。ヒト抗原(例えば、癌特異的抗原、癌細胞の中に、および/または癌細胞上に豊富にある抗原など)を認識するヒト化マウスモノクローナル抗体は、本明細書で使用する「アロ抗体」(同種異系抗体)とみなされる。例えば、ヒト化モノクローナル抗体がヒト個体に投与されるか、または癌細胞と接触する場合、ヒト化モノクローナル抗体はヒトであるが(ヒト化されているが)、これが投与されている同じ個体に由来しないので同種異系抗体である(ヒト化モノクローナル抗体は、癌細胞が得られた同じ個体に由来しない)。同様に、(例えば、抗体の生成を担っているマウスゲノム遺伝子座をヒト化するゲノム操作を介して)マウスによって生成された完全ヒト抗体も同種異系抗体とみなされると考えられる。

10

**【0167】**

場合によっては、同種異系抗体は非癌抗原を有意に結合させない(例えば、同種異系抗体は、標的癌抗原の少なくとも1/10;1/100;1/1,000;1/10,000;1/100,000;または1/1,000,000の親和性(10倍;100倍;1,000倍;10,000倍;100,000倍;または1,000,000倍のKd)で1種類または複数種の非癌抗原を結合させる)。場合によっては、同種異系抗体が結合する標的癌抗原は癌細胞上に豊富にある。例えば、標的癌抗原は、対応する非癌細胞の少なくとも2倍、5倍、10倍;100倍;1,000倍;10,000倍;100,000倍;または1,000,000倍のレベルで癌細胞表面上に存在してもよい。場合によっては、対応する非癌細胞は、過剰増殖性でない、または他の点で癌性でない、同じ組織または起源の細胞である。

20

**【0168】**

場合によっては、同種異系抗体は、癌細胞の表面上に有意に、または検出可能に存在する抗原を結合させる。例えば、同種異系抗体は、癌細胞の表面上に少なくとも10コピー;100コピー;1,000コピー;10,000コピー;100,000コピー;1,000,000コピー;2.5 × 10<sup>6</sup>コピー;5 × 10<sup>6</sup>コピー;もしくは1 × 10<sup>7</sup>コピー、またはそれより多い量で存在する標的抗原に結合してもよい。

30

**【0169】**

場合によっては、同種異系抗体は、非癌細胞上の対応する抗原より高い親和性で癌細胞上の抗原を結合させる。例えば、同種異系抗体は、非癌細胞上の対応する野生型抗原の認識と比較して、癌細胞上に見出される多型を含有する抗原を優先的に認識することがある。場合によっては、同種異系抗体は非癌細胞より高いアビディティで癌細胞を結合させる。例えば、癌細胞は、高密度の抗原を発現することがあり、従って、多価抗体と癌細胞との親和性結合がさらに高くなる。

**【0170】**

さらに、本明細書で使用する「同種異系抗体」または「アロ抗体」という用語は、特に明示的に定められていない限り、IgG抗体を指す。従って、「同種異系抗体」および「アロ抗体」は、本明細書では「同種異系IgG抗体」、「アロIgG-抗体」、または「アロIgG-Ab」とも呼ばれる。

40

**【0171】**

場合によっては、同種異系IgG抗体の供給源として血清が用いられる。この場合、血清は第2の個体(処置されている個体以外の個体)に由来してもよい。従って、場合によっては、ポリクローナルIgG抗体は血清(例えば、第2の個体に由来する血清)に由来する。場合によっては、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を有する抗体組成物は、2個またはそれ以上の個体(3個またはそれ以上の個体、4個またはそれ以上の個体、5個またはそれ以上の個体、6個またはそれ以上の個体、7個またはそれ以上の個体、8個

50

またはそれ以上の個体、9個またはそれ以上の個体、10個またはそれ以上の個体など)からプールされたポリクローナル同種異系IgG抗体を含む。場合によっては、プールされた血清はアロ抗体の供給源として用いられる。この場合、血清(例えば、プールされた血清)は任意の数の個体に由来してもよく、これらの個体はどれも第1の個体でない(例えば、血清は、2個またはそれ以上の個体、3個またはそれ以上の個体、4個またはそれ以上の個体、5個またはそれ以上の個体、6個またはそれ以上の個体、7個またはそれ以上の個体、8個またはそれ以上の個体、9個またはそれ以上の個体、10個またはそれ以上の個体などからプールされてもよい)。従って、2個またはそれ以上の個体から抗体をプールするためには、プーリングの前に、各個体に由来する抗体、または2個またはそれ以上の個体に由来する血清のサブプールに由来する抗体が単離/精製されてもよい。他方で、抗体の単離/精製の前に血清がプールされてもよい。場合によっては、血清(例えば、プールされた血清)が用いられてもよい。場合によっては、抗体は使用前に血清から単離/精製される。場合によっては、本同種異系抗体組成物は、2種類またはそれ以上(例えば、3種類またはそれ以上、4種類またはそれ以上、5種類またはそれ以上、6種類またはそれ以上、7種類またはそれ以上、8種類またはそれ以上、9種類またはそれ以上、10種類またはそれ以上、15種類またはそれ以上、20種類またはそれ以上、30種類またはそれ以上、40種類またはそれ以上、50種類またはそれ以上、100種類以上、200種類またはそれ以上、500種類またはそれ以上、1000種類またはそれ以上など)の同種異系IgG抗体を含む。場合によっては、本同種異系抗体組成物についての少なくとも1つの同種異系IgG抗体の標的抗原は未知である。

10

20

**【0172】**

場合によっては、同種異系抗体は、規定されたサブクラス(例えば、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、またはIgG<sub>4</sub>)のモノクローナル抗体である。場合によっては、本発明の方法、組成物、またはキットでは同種異系抗体の混合物が用いられる。このような場合、同種異系抗体は、規定されたサブクラスに由来してもよく、異なるサブクラスの混合物でもよい。例えば、同種異系抗体はIgG<sub>2</sub>抗体でもよい。当業者は、異なる相対的比率の異なるサブクラスの様々な組み合わせを容易に得ることができる。場合によっては、癌の処置または腫瘍サイズの縮小において、特定のサブクラス、または異なるサブクラスの特定の混合物が特に有効な場合がある。このようなサブクラスは、例えば、実施例4において証明されるように、癌処置の有効性について様々なサブクラスおよびその混合物をアッセイすることによって容易に同定することができる。

30

**【0173】**

場合によっては、本同種異系抗体組成物についての少なくとも1つの同種異系IgG抗体の標的抗原は既知である。例えば、場合によっては、1種類または複数種の既知の抗体が本抗体組成物に含まれる。例えば、場合によっては、本同種異系抗体は、特定の細胞の上に/特定の細胞の中に、および/または特定の状態をもつ患者に豊富にあることが分かっている標的を標的とする(特異的に結合する)抗体である。例えば、場合によっては、個体は癌を有し、問題になっている癌は、高レベルの特定の抗原(例えば、腫瘍特異的抗原、癌特異的抗原、腫瘍に豊富にある抗原、癌に豊富にある抗原など)を示すことが分かっている。説明的な実例として、適切なこのような抗体には、同種異系抗gp75抗体、同種異系抗MHCクラスI抗体、同種異系抗CD20抗体、同種異系抗Her2抗体(例えば、トラスツズマブ、ハーセプチン)などが含まれ得る。従って、場合によっては、本同種異系抗体は、癌細胞が発現する任意の抗原でもよい(すなわち、他の細胞と比べて癌細胞の中に豊富にある抗原、および癌細胞に特有の抗原などである必要はないが、そのような抗原でもよい)特定の抗原を特異的に結合させる抗体(例えば、個体の癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体;癌細胞の抗原に特異的に結合するモノクローナル抗体、例えば、ヒト化モノクローナル抗体;腫瘍に豊富にある抗原、癌に豊富にある抗原、腫瘍特異的抗原、癌特異的抗原などに特異的に結合するモノクローナル抗体、例えば、ヒト化モノクローナル抗体)でもよい。場合によっては、本抗体組成物は、癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む。一部のこのような場合では、同種異系IgG抗体はモノクローナル抗体(例えば、ヒト化モノクローナル抗体)である。場合によっては、本同種異系抗体組成物は、

40

50

表2に列挙したタンパク質またはそのオルソログ(例えば、ヒトオルソログ)(以下の実施例2を参照されたい)のいずれかを標的とする(特異的に結合させる)1種類または複数種の抗体を含む。例えば、本同種異系抗体組成物は、以下のタンパク質(またはそのオルソログ、例えば、ヒトオルソログ)(アクセッション識別子は括弧内である):  
ATP5I (Q06185), OAT (P29758), AIFM1

(Q9Z0X1), AOFA (Q64133), MTDC (P18155), CMC1 (Q8BH59), PREP (Q8K411), YMEL1 (O88967), LPPRC (Q6PB66), LONM (Q8CGK3), ACON (Q99KI0), ODO1 (Q60597), IDHP (P54071), ALDH2 (P47738), ATPB (P56480), AATM (P05202), TMM93 (Q9CQW0), ERGI3 (Q9CQE7), RTN4 (Q99P72), CL041 (Q8BQR4), ERLN2 (Q8BFZ9), TERA (Q01853), DAD1 (P61804), CALX (P35564), CALU (O35887), VAPA (Q9WV55), MOGS (Q80UM7), GANAB (Q8BHN3), ERO1A (Q8R180), UGGG1 (Q6P5E4), P4HA1 (Q60715), HYEP (Q9D379), CALR (P14211), AT2A2 (O55143), PDIA4 (P08003), PDIA1 (P09103), PDIA3 (P27773), PDIA6 (Q922R8), CLH (Q68FD5), PPIB (P24369), TCPG (P80318), MOT4 (P57787), NICA (P57716), BASI (P18572), VAPA (Q9WV55), ENV2 (P11370), VAT1 (Q62465), 4F2 (P10852), ENOA (P17182), ILK (O55222), GPNMB (Q99P91), ENV1 (P10404), ERO1A (Q8R180), CLH (Q68FD5), DSG1A (Q61495), AT1A1 (Q8VDN2), HYOU1 (Q9JKR6), TRAP1 (Q9CQN1), GRP75 (P38647), ENPL (P08113), CH60 (P63038), および CH10 (Q64433)

10

20

の1つまたは複数種を標的とする(特異的に結合させる)1種類または複数種の抗体を含んでもよい。

#### 【0174】

はっきりさせるために、「特異的結合」、「特異的に結合する」などの用語の定義に関して上記で議論したように、癌細胞の抗原(標的抗原)に特異的に結合する本同種異系IgG抗体は、他の利用可能な抗原と比べて、その特定の抗原に優先的に結合する。しかしながら、標的抗原は癌細胞に特異的である必要はなく、他の細胞と比べて癌細胞に豊富にあることさえ必要としない(例えば、標的抗原は他の細胞において発現されてもよい)。従って、「癌細胞の抗原に特異的に結合する同種異系抗体」という句の中にある「特異的に」という用語は抗体の特異性を指し、その特定の細胞タイプにおける抗原のユニークさを指さない。混乱を避けるために、場合によっては、「癌細胞の抗原に結合する抗体」という句が本明細書において用いられる。この句は、癌細胞の抗原に結合する抗体を意味するが、抗原は癌細胞に特異的である必要はなく、他の細胞と比べて癌細胞に豊富にあることさえ必要としない。

30

#### 【0175】

場合によっては、本組成物は、2種類またはそれ以上(例えば、3種類またはそれ以上、4種類またはそれ以上、5種類またはそれ以上、6種類またはそれ以上、7種類またはそれ以上、8種類またはそれ以上、9種類またはそれ以上、10種類またはそれ以上、15種類またはそれ以上、20種類またはそれ以上、30種類またはそれ以上、40種類またはそれ以上、50種類またはそれ以上、100種類またはそれ以上、200種類またはそれ以上、500種類またはそれ以上、1000種類またはそれ以上など)の同種異系IgG抗体を含み、この場合、前記抗体の少なくとも2つが異なる抗原に特異的に結合し、/または前記抗体の少なくとも2つが同じ抗原の異なるエピトープに特異的に結合する。一部のこのような場合では、2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも1つがモノクローナル抗体(例えば、ヒト化モノクローナル抗体)である。一部のこのような場合では、2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも2つ(3種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも3つ、4種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも4つ、5種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の少なくとも5つなど)がモノクローナル抗体(例えば、ヒト化モノクローナル抗体)である。

40

50

## 【 0 1 7 6 】

場合によっては、本抗体組成物は、結合特異性が未知の(すなわち、標的抗原が未知の)1種類または複数種の抗体、および、結合特異性が既知の(すなわち標的抗原が既知の)1種類または複数種の抗体を有する。例えば、場合によっては、本抗体組成物には、それぞれの同種異系抗体が、1つまたは複数の癌において豊富にあることが分かっている抗原に結合することが分かっている1種類または複数種の同種異系抗体(例えば、2種類またはそれ以上、3種類またはそれ以上、4種類またはそれ以上、5種類またはそれ以上、6種類またはそれ以上、10種類またはそれ以上など)が「添加(spike)」されてもよい。

## 【 0 1 7 7 】

場合によっては、本同種異系抗体組成物は、抗gp75抗体、および抗MHCクラスI抗体、抗HLA抗体、抗CD20抗体、および抗Her2抗体(例えば、トラスツズマブ、ハーセプチン)より選択される1種類または複数種の抗体を含む。場合によっては、本同種異系抗体組成物は、表2に列挙したタンパク質またはそのオルソログ(例えば、ヒトオルソログ)(以下の実施例2を参照されたい)の1つまたは複数を標的とする(特異的に結合させる)1種類または複数種の抗体を含む。例えば、本同種異系抗体組成物は、以下のタンパク質(またはそのオルソログ、例えば、ヒトオルソログ)(アクセッション識別子は括弧内である):

ATP5I (Q06185), OAT (P29758), AIFM1 (Q9Z0X1), AOFA (Q64133), MTDC

(P18155), CMC1 (Q8BH59), PREP (Q8K411), YMEL1 (O88967), LPPRC (Q6PB66), LONM

(Q8CGK3), ACON (Q99KI0), ODO1 (Q60597), IDHP (P54071), ALDH2 (P47738), ATPB

(P56480), AATM (P05202), TMM93 (Q9CQW0), ERGI3 (Q9CQE7), RTN4 (Q99P72), CL041

(Q8BQR4), ERLN2 (Q8BFZ9), TERA (Q01853), DAD1 (P61804), CALX (P35564), CALU

(O35887), VAPA (Q9WV55), MOGS (Q80UM7), GANAB (Q8BHN3), ERO1A (Q8R180),

UGGG1 (Q6P5E4), P4HA1 (Q60715), HYPE (Q9D379), CALR (P14211), AT2A2 (O55143),

PDIA4 (P08003), PDIA1 (P09103), PDIA3 (P27773), PDIA6 (Q922R8), CLH (Q68FD5), PPIB

(P24369), TCPG (P80318), MOT4 (P57787), NICA (P57716), BASI (P18572), VAPA

(Q9WV55), ENV2 (P11370), VAT1 (Q62465), 4F2 (P10852), ENOA (P17182), ILK (O55222),

GPNMB (Q99P91), ENV1 (P10404), ERO1A (Q8R180), CLH (Q68FD5), DSG1A (Q61495),

AT1A1 (Q8VDN2), HYOU1 (Q9JKR6), TRAP1 (Q9CQN1), GRP75 (P38647), ENPL (P08113),

CH60 (P63038), および CH10 (Q64433)

の1つまたは複数を標的とする(特異的に結合させる)1種類または複数種の抗体を含んでもよい。

## 【 0 1 7 8 】

場合によっては、本同種異系抗体組成物は、血清(例えば、前記のように1つの個体に由来する血清またはプールされた血清)に由来するIgGを含む。場合によっては、本同種異系抗体組成物は、血清(例えば、前記のように1つの個体に由来する血清またはプールされた血清)から濃縮されたIgGを含む。一部のこのような場合では、同種異系抗体(すなわち、血清に由来するIgG)の一部(例えば、0%超であるが、50%未満)、半分、ほとんど(50%超であるが、100%未満)について、または全部でさえも標的抗原は未知である。しかしながら、このような組成物は多種多様な標的抗原に特異的な多種多様な抗体を含有するので、組成物の抗体の少なくとも1つが前記方法の本標的抗原を認識する可能性は高い。一部のこのような場合では、同種異系IgG抗体の少なくとも1つに対する標的抗原は未知である。

## 【 0 1 7 9 】

本抗体組成物が、異なる結合特異性を有する2種類またはそれ以上の抗体を含む場合(すなわち、同じ標的の異なるエピトープに結合する、異なる標的抗原に結合するなど)、抗体組成物は、「ポリクローナル」抗体(例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体)を有するとみなされる。例えば、2種類またはそれ以上のモノクロー

10

20

30

40

50

ナル抗体を有する組成物は(例えば、前記抗体の少なくとも2つが共通の標的の異なるエピトープに結合する場合、および/または前記抗体の少なくとも2つが異なる標的抗原に結合する場合)、ポリクローナル抗体(例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体)を有するとみなされる。従って、「複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体」を有する組成物は、2種類以上のモノクローナル抗体を有する組成物を包含する。場合によっては、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む本組成物は、2種類またはそれ以上(例えば、3種類またはそれ以上、4種類またはそれ以上、5種類またはそれ以上、6種類またはそれ以上、7種類またはそれ以上、8種類またはそれ以上、9種類またはそれ以上、10種類またはそれ以上、15種類またはそれ以上、20種類またはそれ以上、30種類またはそれ以上、40種類またはそれ以上、50種類またはそれ以上、100種類またはそれ以上、200種類またはそれ以上、500種類またはそれ以上、1000種類またはそれ以上など)のモノクローナル抗体を含む(例えば、抗体の少なくとも2つが同じ抗原の異なるエピトープに特異的に結合する場合、および/または抗体の少なくとも2つが異なる抗原に特異的に結合する場合)。

10

20

30

40

50

#### 【0180】

場合によっては、本抗体組成物は、APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質(前記。例えば、TLRアゴニスト、例えば、CpG ODN;炎症性サイトカイン;CD40アゴニストなど)とコンジュゲートされた同種異系IgG抗体を含む。場合によっては、本抗体組成物は、APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質(前記。例えば、TLRアゴニスト、例えば、CpG ODN;炎症性サイトカイン;CD40アゴニストなど)とコンジュゲートされた2種類またはそれ以上の抗体を含む。抗体が別の抗体とコンジュゲートされた場合(例えば、本同種異系IgG抗体がアゴニスト抗CD40抗体とコンジュゲートされた場合)、コンジュゲートされた分子は二重特異性抗体の形をとってもよい。一部のこのような場合では、2種類またはそれ以上の抗体は同じAPC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質とコンジュゲートされている。場合によっては、2種類またはそれ以上の抗体は異なるAPC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質とコンジュゲートされている。

#### 【0181】

本同種異系抗体組成物は血清を含んでもよく、(例えば、クロマトグラフィーを介して)血清から濃縮/精製された抗体を含んでもよい。場合によっては、本抗体組成物は、IgGサブクラス(例えば、IgG2)、腫瘍結合特性、および/またはAPC活性化(例えば、DC活性化)特性に基づいて選択されたIgGを含む。

#### 【0182】

場合によっては、同種異系抗体組成物は、静脈内免疫グロブリン(IVIG)またはIVIGからの(例えば、IVIGから濃縮された、精製された、例えば、アフィニティ精製された)抗体を含む。IVIGは、多くの(例えば、時として1,000~60,000人を超える)正常な血液ドナーおよび健常な血液ドナーに由来する血漿からプールされたIgG(免疫グロブリンG)を含有する(例えば、場合によっては、他のどのタンパク質も含まない)血液製剤である。IVIGは市販されている。IVIGは高い割合の天然ヒト単量体IVIGを含有し、IgA含有量が低い。静脈内に投与されると、IVIGはいくつかの疾患状態を寛解させる。従って、米食品医薬品局(FDA)は、(1)川崎病;(2)免疫を介した血小板減少;(3)原発性免疫不全症;(4)造血幹細胞移植(20歳を超える場合);(5)慢性B細胞リンパ球性白血病;および(6)小児HIV 1型感染を含む多数の疾患に対してIVIGの使用を認可している。2004年には、FDAは、血液型(ABO不適合)または組織適合に関係なく、腎移植レシピエントがあらゆる健常ドナーから生体腎を受け取ることができるように、このようなレシピエントのためにシダース・シナイ(Cedars-Sinai) IVIGプロトコルを認可した。

#### 【0183】

場合によっては、同種異系抗体組成物がIVIGを含むか、IVIGに由来する抗体を含む場合があり、組成物中の抗体の1つまたは複数はAPC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質(前記。例えば、TLRアゴニスト、例えば、CpG ODN;炎症性サイトカイン;CD40アゴニストなど)とコンジュゲートされている。場合によっては、同種異系抗体組成物がIVIGを含むか、I

VIGに由来する抗体を含む場合があり、組成物中の抗体の1つまたは複数はCD40アゴニスト(例えば、CD40L、アゴニスト抗CD40抗体など)とコンジュゲートされている。場合によっては、同種異系抗体組成物がIVIGを含むか、IVIGに由来する抗体を含む場合があり、組成物中の抗体の1つまたは複数は炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)(下記で説明する)とコンジュゲートされている。場合によっては、同種異系抗体組成物がIVIGを含むか、IVIGに由来する抗体を含む場合があり、組成物中の抗体の1つまたは複数は炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)(下記で説明する)とコンジュゲートされ、組成物中の少なくとも1種類の抗体はCD40アゴニスト(例えば、CD40L、アゴニスト抗CD40抗体など)とコンジュゲートされている。場合によっては、同種異系抗体組成物がIVIGを含むか、IVIGに由来する抗体を含む場合があり、組成物中の少なくとも1種類の抗体は炎症性サイトカイン(例えば、TNF、IL-1、IL-1、IL-19、インターフェロン(IFN)など)(下記で説明する)とコンジュゲートされている。組成物中の少なくとも1種類の抗体はCD40アゴニスト(例えば、CD40L、アゴニスト抗CD40抗体など)とコンジュゲートされている。組成物中の少なくとも1種類の抗体はCpGオリゴデオキシヌクレオチド(CpG ODN)とコンジュゲートされている。抗体が別の抗体とコンジュゲートされている場合(例えば、本同種異系IgG抗体がアゴニスト抗CD40抗体とコンジュゲートされている場合)、コンジュゲートされた分子は二重特異性抗体の形をとってもよい。場合によっては、同種異系抗体組成物がIVIGを含むか、IVIGに由来する抗体を含む場合があり、抗体組成物がIVIGの抗体、およびAPC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質とコンジュゲートされた1種類または複数種の抗体を含むように、1種類または複数種のコンジュゲートされた(樹状細胞刺激物質とコンジュゲートされた)抗体には抗体組成物が添加される(すなわち、1種類または複数種のコンジュゲートされた(樹状細胞刺激物質とコンジュゲートされた)抗体が抗体組成物の中に加えらる)。

10

20

30

40

50

#### 【0184】

IVIGに関するさらなる情報については、米国特許出願第20100150942号、同第20040101909号、同第20130177574号;同第20130108619号;同第20130011388号を参照されたい。これらは全て、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

#### 【0185】

APC、例えばDCを接触させて、充填されたAPC、例えば充填されたDCを生じさせる工程。一部の態様において、APC、例えばDCは、標的抗原および本抗体組成物と、APCによる、例えばDCによる標的抗原の取り込みに有効な用量でかつ期間にわたって接触し、それによって、充填されたAPC、例えばDCを生じさせる。場合によっては、(例えば、APC、例えばDCの非存在下で)標的抗原は、APC、例えばDCに接触する前に、抗体組成物と接触する(従って、免疫複合体を生じさせる)。一部のこのような場合では、標的抗原および抗体組成物は、5分~2時間(例えば、5分~90分、5分~60分、10分~60分、10分~50分、10分~45分、15分~45分、20分~40分、20分~40分、25分~35分、または30分)の範囲の期間にわたって接触する。

#### 【0186】

本抗体(または本抗体組成物)が特異的に結合する抗原のアイデンティティは、必ずしも本方法の重要な因子とは限らない(例えば、下記の実施例を参照されたい)。場合によっては、その代わりに、癌細胞(例えば、腫瘍、腫瘍細胞など)は、APC、例えば、DCが標的抗原(例えば、腫瘍の細胞、癌細胞など)を取り込むのに十分な抗体と接触することが重要である。従って、場合によっては、APC、例えば、DCは、1つの抗体(または複数の抗体)が、APC、例えば、DCによる標的抗原の取り込みを刺激するのに十分に高い濃度(有効な濃度)である抗体組成物(例えば、有効量の抗体組成物)と接触する。

#### 【0187】

場合によっては、標的抗原および抗体組成物は接触し、この場合、同種異系IgG抗体は、100ng/ml~100μg/ml(例えば、250ng/ml~75μg/ml、250ng/ml~50μg/ml、250ng/ml~25μg/ml、500ng/ml~25μg/ml、500ng/ml~15μg/ml、500ng/ml~10μg/ml、500ng/ml~

5  $\mu\text{g/ml}$ 、750ng/ml  $\sim$  3  $\mu\text{g/ml}$ 、750ng/ml  $\sim$  2  $\mu\text{g/ml}$ 、または1  $\mu\text{g/ml}$ )の範囲の抗体濃度である。場合によっては(例えば、標的抗原が細胞である場合)、標的抗原および抗体組成物は接触し、この場合、同種異系IgG抗体は、 $1 \times 10^5$ 個の標的細胞(例えば、個体に由来する癌細胞)につき100ng/ml  $\sim$  100  $\mu\text{g/ml}$ (例えば、250ng/ml  $\sim$  75  $\mu\text{g/ml}$ 、250ng/ml  $\sim$  50  $\mu\text{g/ml}$ 、250ng/ml  $\sim$  25  $\mu\text{g/ml}$ 、500ng/ml  $\sim$  25  $\mu\text{g/ml}$ 、500ng/ml  $\sim$  15  $\mu\text{g/ml}$ 、500ng/ml  $\sim$  10  $\mu\text{g/ml}$ 、500ng/ml  $\sim$  5  $\mu\text{g/ml}$ 、750ng/ml  $\sim$  3  $\mu\text{g/ml}$ 、750ng/ml  $\sim$  2  $\mu\text{g/ml}$ 、または1  $\mu\text{g/ml}$ )の範囲の抗体濃度である。

【0188】

場合によっては、抗体組成物は、 $1 \times 10^2$ 個もしくはそれ以上の標的細胞(例えば、個体に由来する癌細胞)(例えば、 $1 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上の細胞、または $1 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上の細胞)と接触する。場合によっては、抗体組成物は、 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^{10}$ 個の細胞( $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^7$ 個の細胞、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個の細胞、 $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 個の細胞、または $1 \times 10^5$ 個の細胞)の範囲の標的細胞(例えば、個体に由来する癌細胞)と接触する。

10

【0189】

場合によっては、抗体組成物および標的抗原(例えば、個体に由来する細胞)が、APC、例えばDCに接触する前に、接触して免疫複合体を生じさせる場合に、免疫複合体は、APC、例えばDCと接触してもよい。一部のこのような場合では、免疫複合体はAPC、例えばDCと接触してもよく、この場合、免疫複合体の細胞(抗体組成物と接触したことがある、個体に由来する細胞)はインタクトである。これに対して、他の場合では、免疫複合体は、APC、例えばDCと接触してもよく、この場合、免疫複合体の細胞(抗体組成物と接触したことがある、個体に由来する細胞)は溶解されており、溶解産物(すなわち、免疫複合体溶解産物)が形成する。

20

【0190】

場合によっては、標的抗原が細胞であり、本抗体組成物が、APC、例えばDCに接触する前に、標的抗原細胞と接触し(従って、免疫複合体が形成し)、かつ前記細胞がインタクトなままである場合、APC、例えば、DCは、 $1 \times 10^2$ 個もしくはそれ以上の免疫複合体細胞(例えば、本抗体組成物と接触したことがある、個体に由来する癌細胞)(例えば、 $1 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上の細胞、または $1 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上の細胞)と接触してもよい。標的抗原が細胞であり、本抗体組成物が、APC、例えば、DCに接触する前に、標的抗原細胞と接触し(従って、免疫複合体が形成し)、かつ前記細胞がインタクトなままである、いくつかの場合では、APC、例えば、DCは、 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^{10}$ 個の細胞( $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^7$ 個の細胞、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個の細胞、 $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 個の細胞、または $1 \times 10^5$ 個の細胞)の範囲の多数の免疫複合体細胞(例えば、本抗体組成物と接触したことがある、個体に由来する癌細胞)と接触してもよい。

30

【0191】

標的抗原が細胞であり、本抗体組成物が、APC、例えばDCに接触する前に、標的抗原細胞と接触し(従って免疫複合体を形成し)、かつ前記細胞が溶解されて溶解産物免疫複合体が生じる、いくつかの場合では、APC、例えば、DCは、 $1 \times 10^2$ 個もしくはそれ以上の免疫複合体細胞(例えば、本抗体組成物と接触したことがある、個体に由来する癌細胞)(例えば、 $1 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上の細胞、または $1 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上の細胞)に由来する溶解産物(例えば、表面発現抗原を有する溶解産物;未分画溶解産物;表面発現抗原、すなわち、原形質膜発現抗原が濃縮されている溶解産物;溶解産物の膜濃縮画分など)と接触してもよい。場合によっては、標的抗原が細胞であり、本抗体組成物が、APC、例えばDCに接触する前に、標的抗原細胞と接触し(従って、免疫複合体を形成し)、かつ前記細胞が溶解されて、溶解産物免疫複合体を生じさせる、いくつかの場合では、APC、例えばDCは、 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^{10}$ 個の細胞( $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^7$ 個の細胞、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個の細胞、5

40

50

$\times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 個の細胞、または $1 \times 10^5$ 個の細胞)の範囲の多数の免疫複合体細胞(例えば、本抗体組成物と接触したことがある、個体に由来する癌細胞)に由来する溶解産物と接触してもよい。

【0192】

一部の態様において、APC、例えば、DCは標的抗原および本抗体組成物と同時に接触する。このような場合、APC、例えばDCに接触する前に標的抗原および抗体組成物が接触する場合について前述したものと同一濃度および細胞数が適用される。

【0193】

一部の態様では、同系IgG(標的抗原が単離された/得られた同じ個体から単離されたIgG抗体)を用いて、APC、例えば、DCに充填することができる。一般的に、この個体は、標的抗原に結合する循環抗体を有さないと考えられているので、これはうまくいかないであろう。しかしながら、この個体に由来する抗体が「無理やり」標的抗原に結合するようのできるのであれば、この産物(本明細書では依然として免疫複合体と呼ばれる)を用いて、APC、例えば、DCに充填することができる。例えば、場合によっては、同系IgG抗体(例えば、ポリクローナル同系IgG抗体を有する組成物)を標的抗原(前記)と架橋させて、免疫複合体を生成することができる。次いで、生成された免疫複合体を、APC、例えば、DC(例えば、同系APC、例えば、DC、すなわち、標的抗原および抗体を供給した同じ個体に由来するAPC、例えば、DC)と接触させて、APC、例えば、DCに充填することができる。

【0194】

場合によっては、前記方法は、APC、例えばDCに充填されていることを検証する工程(すなわち、充填されたAPC、例えばDCの存在を検証する工程)を含む。APC、例えば、DCが、充填されたAPC、例えばDCであるかどうかを判定するための任意の便利な方法を使用することができる。例えば、場合によっては、APC、例えば、DCの形態だけが、APC、例えば、DCに充填されていることを示している。場合によっては、MHCII(例えば、HLA-DR)、CD40、および/またはCD86の上方制御が、APC、例えば、DCに充填されていることを示している。例えば、場合によっては、MHCII(例えば、HLA-DR)および/またはCD86の上方制御が、DCに充填されていることを示している。場合によっては、CD40および/またはCD86の上方制御が、DCに充填されていることを示している。例えば、接触前の割合と比べた、または対照DC(例えば、同じやり方で、および/もしくは同じ組成物と接触していないDC)における割合と比べた、DCを(例えば、腫瘍抗原、抗体、ポリクローナル抗体を含む組成物、樹状細胞刺激組成物、またはその任意の組み合わせと)接触させた後の、CD40およびCD86を同時発現するDCの割合(%) (時として「CD40/CD86%」と呼ばれる)の増加は、DCに充填されたことを示しているとみなすことができる(以下の実施例の項を参照されたい)。

【0195】

T細胞と、充填されたAPC、例えばDCを接触させる工程。一部の態様において、T細胞は、充填されたAPC、例えばDCと接触する。接触中に、充填されたAPC、例えばDCは、抗原をT細胞に提示して、接触したT細胞を生じさせ、接触したT細胞は、提示された抗原に特異的な免疫応答を発生させる。T細胞は、CD4+T細胞、CD8+T細胞、またはCD4+細胞およびCD8+T細胞の組み合わせでもよい。

【0196】

T細胞と、充填されたAPC、例えばDCとの接触はインビトロでもよくインビボでもよい。従って、「T細胞を接触させる」という句は、インビトロ接触およびインビボ接触を両方も包含する。接触がインビボであれば、充填されたAPC、例えば、DCを個体に投与することができる。次いで、APC、例えば、DCは個体の内因性T細胞と接触して、免疫応答を誘導することができる。従って、「個体のT細胞を、充填されたAPCと接触させる」工程、例えば、「個体のT細胞を、充填されたDCと接触させる」工程はインビボで行われた場合に、場合によっては、「充填されたDCを個体に導入する」と書くことができる。例えば、場合によっては、本方法は、(a)インビトロで、個体に由来するAPC、例えば、DCを、(i)標的抗原;および(ii)標的抗原に特異的に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物と、APCによる、例えば、DCによる標的抗原の取り込みに有効な用量でかつ期間にわたって接触さ

10

20

30

40

50

せ、それによって、充填されたAPC、例えばDCを生じさせる工程;ならびに(b)充填されたAPC、例えばDCを個体に導入する工程を含む。APC、例えば、DCは、「細胞を投与する工程」について下記で説明するように個体に投与されてもよい。

【0197】

場合によっては、本方法はインピボで行うことができる。一部のこのような場合では、接触はインピボであり、内因性APC、例えば、DCにはインピボで充填され、次いで、充填されたAPC、例えば、DCはT細胞とインピボで接触する。従って、前記方法は、インピボ投与によって(例えば、抗体組成物を投与することによって、抗体組成物を個体のAPC、例えば、DCを活性化する処置と組み合わせる投与することによって、例えば、抗体組成物を、例えば、APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質を含む、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物と組み合わせる投与することによって)行うことができる。例えば、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、抗体組成物(前記)(例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む組成物)を個体に投与し、(上記で定義したように)個体のAPC、例えば、DC(例えば、TADC)を活性化する処置を提供することによってインピボで充填することができる。例えば、個体の樹状細胞を活性化する処置は、樹状細胞刺激物質(例えば、(i)Toll様受容体(TLR)アゴニスト;(ii)CD40アゴニストおよび炎症性サイトカイン;(iii)チェックポイント分子中和化合物;(iv)インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害物質;(v)NFkB活性化因子;(vi)カルシウムチャンネルを開口させる化合物;(vii)T細胞関連共刺激分子;または(viii)その組み合わせ)を含む樹状細胞刺激組成物を個体に投与する工程を含んでもよい。充填されたら、充填されたDCはインピボで内因性T細胞と接触する。

10

20

【0198】

一部の態様において、本方法がインピボで行われる場合、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、抗体組成物(前記)(例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む組成物)を、APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質を含む、APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物と組み合わせる投与することによって、インピボで充填することができる。場合によっては、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、抗体組成物(前記)(例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む組成物)をCD40アゴニスト(例えば、CD40L)と組み合わせる投与することによって、インピボで充填することができる。場合によっては、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、抗体組成物(前記)(例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む組成物)をCD40アゴニスト(例えば、CD40L)ならびに炎症性サイトカイン(例えば、TNF および/またはIFN )と組み合わせる投与することによって、インピボで充填することができる。場合によっては、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、(i)複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物を、(ii)CD40アゴニスト(例えば、CD40L)およびTNF と組み合わせる投与することによって、インピボで充填することができる。場合によっては、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、(i)複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物を、(ii)CD40アゴニスト(例えば、CD40L)およびIFN と組み合わせる投与することによってインピボで充填することができる。場合によっては、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、抗体組成物(前記)(例えば、複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む組成物)を、Toll様受容体アゴニスト(例えば、CpG ODN、ポリイノシン:ポリシチジン酸(「ポリI:C」、TLR-3アゴニスト)など)と組み合わせる投与することによって、インピボで充填することができる。場合によっては、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、(i)複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物を(ii)Toll様受容体アゴニストと組み合わせる投与することによって、インピボで充填することができる。場合によっては、内因性APC、例えば、DC(例えば、TADC)には、(i)複数の結合特異性を有するポリクローナル同種異系IgG抗体を含む抗体組成物を(ii)ポリイノシン:ポリシチジン酸と組み合わせる投与することによって、インピボで充填することができる。次いで、充填されたら、

30

40

50

充填されたAPC、例えば、DC(例えば、TADC)はインピボで内因性T細胞と接触することができる。

【0199】

接触がインピトロであれば、個体に由来する自己由来T細胞(例えば、自己由来T細胞の集団)を、充填されたAPC、例えば、DCと接触して、接触したT細胞(例えば、接触したT細胞の集団)を生じることができる。T細胞を、充填されたAPC、例えば、DCと、T細胞が個体に投与された場合に免疫応答を誘導するようにT細胞を活性化するのに十分な期間にわたって接触することができる。個体に投与する前に、T細胞を(充填されたAPC、例えば、DCと接触する前、または後に)インピトロで増殖および/または改変(例えば、遺伝子組換え)することができる。

10

【0200】

場合によっては、T細胞は、充填されたAPC、例えば、DCと、5分~24時間(例えば、5分~18時間、5分~12時間、5分~8時間、5分~6時間、5分~4時間、5分~2時間、5分~60分、5分~45分、5分~30分、15分~18時間、15分~12時間、15分~8時間、15分~6時間、15分~4時間、15分~2時間、15分~60分、15分~45分、15分~30分、20分~18時間、20分~12時間、20分~8時間、20分~6時間、20分~4時間、20分~2時間、20分~60分、20分~45分、30分~18時間、30分~12時間、30分~8時間、30分~6時間、30分~4時間、30分~2時間、30分~60分、30分~45分、45分~18時間、45分~12時間、45分~8時間、45分~6時間、45分~4時間、45分~2時間、45分~60分、1時間~18時間、1時間~12時間、1時間~8時間、1時間~6時間、1時間~4時間、1時間~2時間、または1時間~90分)の範囲の期間にわたってインピトロで接触する。

20

【0201】

場合によっては、T細胞の集団(例えば、 $1 \times 10^2$ 個もしくはそれ以上の細胞(例えば、 $1 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上の細胞、または $1 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上の細胞))は、充填されたAPC、例えば、DC(例えば、充填されたAPC、例えば、DCの集団;充填されたAPC、例えば、DCを有する集団など)とインピトロで接触する。場合によっては、T細胞の集団(例えば、 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^{10}$ 個の細胞( $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^7$ 個の細胞、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個の細胞、 $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 個の細胞、または $1 \times 10^5$ 個の細胞の範囲))は、充填されたAPC、例えば、DC(例えば、充填されたAPC、例えば、DCの集団;充填されたAPC、例えば、DCを有する集団など)とインピトロで接触する。場合によっては、T細胞(例えば、T細胞の集団)は、充填されたAPC、例えば、DCを有する細胞集団(例えば、 $1 \times 10^2$ 個もしくはそれ以上の細胞(例えば、 $1 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上の細胞、または $1 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上の細胞))(例えば、充填されたAPC、例えば、DCの細胞集団)と接触する。場合によっては、T細胞(例えば、T細胞の集団)は、充填されたAPC、例えば、DCを有する細胞集団(例えば、 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^{10}$ 個の細胞( $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^7$ 個の細胞、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 個の細胞、 $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 個の細胞、または $1 \times 10^5$ 個の細胞の範囲))(例えば、充填されたAPC、例えば、DCの細胞集団)と接触する。

30

【0202】

接触したT細胞(例えば、接触したT細胞集団の細胞)は、「細胞を投与する工程」について下記で説明するように個体に投与されてもよい。

40

【0203】

一部の態様において、個体に由来する自己由来APC、例えば、DCは、本APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質と接触して、刺激されたAPC、例えばDCを生じさせる。自己由来標的抗原(例えば、個体に由来する癌細胞)は、本抗体組成物と接触して免疫複合体を生じさせる。刺激されたAPC、例えばDCは、免疫複合体と、刺激されたAPCによる、例えばDCによる標的抗原(例えば、免疫複合体)の取り込みを誘導するのに有効な期間にわたってかつ濃度で接触し、それによって、充填されたAPC、例えばDCを生じさせる。充填されたAPC、例えばDCは、T細胞と接触して(上記で詳述した)、接触したT細胞を生じさせ、かつ接触し

50

たT細胞は、提示された抗原に特異的な免疫応答を発生させる。

【0204】

細胞および/または組成物を投与する工程。場合によっては、細胞(例えば、充填されたAPC、例えば、充填されたDC、充填されたマクロファージ、充填されたB細胞;APC、例えば、DC、マクロファージ、B細胞;および/または接触したT細胞)は、移植される前に(すなわち、個体に投与される前に)ある期間にわたって培養される。細胞(例えば、充填されたAPC、例えば、充填されたDC、充填されたマクロファージ、充填されたB細胞;APC、例えば、DC、マクロファージ、B細胞;および/または接触したT細胞)は、例えば、細胞が移植されている組織(例えば、標的臓器、腫瘍組織、血流など)における細胞の成長および/または組織化を支持するために、単独で、または適切な培養基もしくはマトリックスと一緒に個体に提供(すなわち、個体に投与)されてもよい。一部の態様において、マトリックスはスキャフォールド(例えば、臓器スキャフォールド)である。一部の態様において、 $1 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞、例えば $5 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $5 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $5 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $5 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^7$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $5 \times 10^7$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^8$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $5 \times 10^8$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $1 \times 10^9$ 個もしくはそれ以上の細胞、 $5 \times 10^9$ 個もしくはそれ以上の細胞、または $1 \times 10^{10}$ 個もしくはそれ以上の細胞が投与される。一部の態様において、本細胞はマイクロキャリア(例えば、生分解性マイクロキャリア上で増殖させた細胞)に載せて個体に投与される。

10

20

【0205】

本細胞(例えば、充填されたAPC、例えば、充填されたDC、充填されたマクロファージ、充填されたB細胞;APC、例えば、DC、マクロファージ、B細胞;および/もしくは接触したT細胞)ならびに/または組成物(例えば、本抗体組成物;本ACP刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物;その組み合わせ)は、任意の生理学的に許容される賦形剤(例えば、ウィリアムE培地)に溶解して投与することができる。この場合、前記細胞は生存および機能(例えば、臓器再構成)に適した部位を見つける可能性がある。前記細胞および/または組成物(例えば、本抗体組成物;本ACP刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物;その組み合わせ)は任意の便利な方法(例えば、注射、カテーテルなど)によって導入することができる。前記細胞および/または組成物はリポソームまたは他の生分解性構築物の中に入れてカプセル化されてもよい。場合によっては、リポソーム、微粒子、またはナノ粒子における、(a)本抗体組成物(例えば、同種異系IgG抗体、抗体組成物の抗体などを含む)の投与;および(b)個体のAPC、例えば、DCを活性化する処置(例えば、APC刺激物質、例えば、DC刺激物質)の1つまたは複数は実施される。

30

【0206】

前記細胞および/または組成物(例えば、本抗体組成物;本ACP刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物)は、以下の経路:非経口、皮下(s.c)、静脈内(i.v.)、頭蓋内(i.c.)、脊髄内、眼内、皮内(i.d.)、筋肉内(i.m.)、リンパ内(i.l.)のいずれかを介して対象に導入されてもよく(すなわち、個体に投与されてもよく)、脊髄液中に導入されてもよい。前記細胞および/または組成物(例えば、本抗体組成物、本樹状細胞刺激組成物)は、注射(例えば、全身注射、直接的な局所注射、腫瘍および/または腫瘍切除部位の中、または近くへの局所注射など)、カテーテルなどによって導入されてもよい。局所送達(例えば、腫瘍および/または癌部位への送達)のための方法の例には、例えば、関節、腫瘍、もしくは臓器の中への、または関節、腫瘍、もしくは臓器の近くへの、例えば、大量瞬時投与、例えば、注射器による方法;例えば、対流を用いた、例えば、連続注入、例えば、カニューレ挿入による方法(例えば、参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願第20070254842号を参照されたい);あるいは細胞が可逆的に付けられている装置を移植することによる方法(例えば、参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願第20080081064号および同第20090196903号を参照されたい)が含まれる。

40

【0207】

50

場合によっては、(a)本抗体組成物(例えば、同種異系IgG抗体、抗体組成物の抗体などを含む)の投与;ならびに(b)個体のAPC、例えば、DCを活性化する処置(例えば、APC刺激物質、例えば、DC刺激物質)の1つまたは複数は、腫瘍および/または腫瘍切除部位の中にまたは近くに、局所注射によって実施される。場合によっては、リポソーム、微粒子、またはナノ粒子における、(a)本抗体組成物(例えば、同種異系IgG抗体、抗体組成物の抗体などを含む)の投与;および(b)個体のAPC、例えば、DCを活性化する処置(例えば、APC刺激物質、例えば、DC刺激物質)の1つまたは複数は、腫瘍および/または腫瘍切除部位の中にまたは近くに、局所注射によって実施される。

【0208】

対象への処置の実施の回数は異なってもよい。細胞および/または組成物(例えば、本抗体組成物;本APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物)を個体に導入する工程は一回限りの事象の場合があるが、ある特定の状況では、このような処置は、限られた期間の間に改善を引き出し、継続した一連の反復処置を必要とする場合がある。他の状況では、効果が観察される前に、細胞および/または組成物(例えば、本抗体組成物;本APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物)の複数回投与が必要とされる場合がある。当業者に容易に理解されるように、正確なプロトコールは疾患または状態、疾患の段階、および処置されている個体のパラメータによって決まる。

【0209】

「治療に有効な用量」または「治療用量」は、望ましい臨床結果を生じる(すなわち、治療有効性を実現する)のに十分な量を指す。治療に有効な用量は1回または複数回の投与で投与することができる。本開示の目的で、細胞(例えば、充填されたAPC、例えば、DC;接触したT細胞など)および/または組成物(例えば、本抗体組成物;本APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物)の治療に有効な用量は、個体に投与された(例えば、移植された)時に、例えば、抗原性細胞(例えば、癌細胞)に対する免疫応答を誘導することによって、疾患状態(例えば、腫瘍のサイズ、腫瘍の成長、腫瘍の存在、癌の存在など)の進行を緩和するのに、寛解させるのに、安定化するのに、逆転させるのに、阻止するのに、遅くするのに、または遅延させるのに十分な量である。

【0210】

一部の態様において、治療に有効な用量の細胞(例えば、充填されたAPC、例えば、DC;接触したT細胞など)は、 $1 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上の細胞(例えば、 $5 \times 10^3$ 個もしくはそれ以上、 $1 \times 10^4$ 個の細胞、 $5 \times 10^4$ 個もしくはそれ以上、 $1 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上、 $5 \times 10^5$ 個もしくはそれ以上、 $1 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上、 $2 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上、 $5 \times 10^6$ 個もしくはそれ以上、 $1 \times 10^7$ 細胞、 $5 \times 10^7$ 個もしくはそれ以上、 $1 \times 10^8$ 個もしくはそれ以上、 $5 \times 10^8$ 個もしくはそれ以上、 $1 \times 10^9$ 個もしくはそれ以上、 $5 \times 10^9$ 個もしくはそれ以上、または $1 \times 10^{10}$ 個もしくはそれ以上)である。

【0211】

一部の態様において、治療に有効な用量の細胞は、 $1 \times 10^3$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞(例えば、 $5 \times 10^3$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $1 \times 10^4$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $5 \times 10^4$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $1 \times 10^5$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $5 \times 10^5$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $1 \times 10^6$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $5 \times 10^6$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $1 \times 10^7$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $5 \times 10^7$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $1 \times 10^8$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個の細胞、 $5 \times 10^8$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^{10}$ 個、 $5 \times 10^3$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^4$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^4$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^5$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^5$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^6$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^6$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^7$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^7$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^8$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^8$ 個の細胞 ~  $5 \times 10^9$ 個、 $5 \times 10^3$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^4$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^4$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^5$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^5$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^6$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^6$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^7$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^7$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $1 \times 10^8$ 個の細胞 ~  $1 \times 10^9$ 個の細胞、 $5 \times 10^8$

10

20

30

40

50

個の細胞 $\sim 1 \times 10^9$ 個、 $5 \times 10^3$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^4$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $5 \times 10^4$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^5$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $5 \times 10^5$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^6$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $5 \times 10^6$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $1 \times 10^7$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、 $5 \times 10^7$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞、または $1 \times 10^8$ 個の細胞 $\sim 5 \times 10^8$ 個の細胞)の範囲である。

#### 【0212】

一部の態様において、投与される細胞(例えば、充填されたAPC、例えば、DC;接触したT細胞など)の濃度は、 $1 \times 10^5$ 細胞/ml $\sim 1 \times 10^9$ 細胞/ml(例えば、 $1 \times 10^5$ 細胞/ml $\sim 1 \times 10^8$ 細胞/ml、 $5 \times 10^5$ 細胞/ml $\sim 1 \times 10^8$ 細胞/ml、 $5 \times 10^5$ 細胞/ml $\sim 5 \times 10^7$ 細胞/ml、 $1 \times 10^6$ 細胞/ml $\sim 1 \times 10^8$ 細胞/ml、 $1 \times 10^6$ 細胞/ml $\sim 5 \times 10^7$ 細胞/ml、 $1 \times 10^6$ 細胞/ml $\sim 1 \times 10^7$ 細胞/ml、 $1 \times 10^6$ 細胞/ml $\sim 6 \times 10^6$ 細胞/ml、または $2 \times 10^6$ 細胞/ml $\sim 8 \times 10^6$ 細胞/ml)の範囲である。

10

#### 【0213】

一部の態様において、投与される細胞(例えば、充填されたAPC、例えば、DC;接触したT細胞など)の濃度は、 $1 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上(例えば、 $1 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $2 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $3 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $4 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $5 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $6 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $7 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $8 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $9 \times 10^5$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $1 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $2 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $3 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $4 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $5 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $6 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上、 $7 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上、または $8 \times 10^6$ 細胞/mlもしくはそれ以上)である。

20

#### 【0214】

本開示の細胞および/または組成物(例えば、本抗体組成物;本APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物)は、ヒト投与のために、十分に無菌の条件下で調製された等張性賦形剤を含む薬学的組成物の形で供給することができる。薬の処方における一般原理については、読者は、Cell Therapy: Stem Cell Transplantation, Gene Therapy, and Cellular Immunotherapy, G. Morstyn & W. Sheridan eds, Cambridge University Press, 1996; およびHematopoietic Stem Cell Therapy, E. D. Ball, J. Lister & P. Law, Churchill Livingstone, 2000を参照されたい。組成物の細胞賦形剤および任意の付随する要素の選択は、投与に用いられる経路および装置に従って合わせられる。前記組成物はまた、細胞の生着または機能的動員を容易にする1種類または複数種の他の成分を含んでもよく、これらを伴ってもよい。適切な成分には、細胞、または補完的な細胞タイプの接着を支持または促進するマトリックスタンパク質が含まれる。

30

#### 【0215】

本方法の細胞(例えば、APC、例えば、DC;充填されたAPC、例えば、充填されたDC;T細胞;接触したT細胞など)は、生存率の向上、増殖の制御などのために遺伝子組換えされる場合がある。細胞は、関心対象の遺伝子を発現するように、適切なベクター、相同組換え、または他の適切な技法を用いたトランスフェクションまたは形質導入によって遺伝子が変えられる場合がある。一部の態様において、望ましい細胞の純度をさらに高めるために選択マーカーが導入される。

40

#### 【0216】

本開示の実施において有用な一般技法のさらなる詳細については、専門家は細胞生物学、組織培養、および発生学の標準的な教科書および総説を参照することができる。組織培養および幹細胞については、読者は、Teratocarcinomas and embryonic stem cells: A practical approach (E. J. Robertson, ed., IRL Press Ltd. 1987); Guide to Techniques in Mouse Development (P. M. Wasserman et al. eds., Academic Press 1993); Embryonic Stem Cell Differentiation in Vitro (M. V. Wiles, Meth. Enzymol. 225:900, 1993); Properties and uses of Embryonic Stem Cells: Prospects for Application to Human Biology and Gene Therapy (P. D. Rathjen et al., Reprod. Fertil. Dev. 10:31, 1998)への参照を希望する場合がある。

50

## 【0217】

## キット

本方法において使用するためのキットも提供される。本キットは、本方法を実施するための成分および組成物の任意の組み合わせを含む。一部の態様において、キットは、以下を含んでもよい：本抗体組成物(上記で詳述した。例えば、同種異系IgG抗体、2種類またはそれ以上の同種異系IgG抗体の組成物など)；APC刺激組成物、例えば、樹状細胞刺激組成物(上記で詳述した。例えば、APC刺激物質、例えば、樹状細胞刺激物質、マクロファージ刺激物質、B細胞刺激物質；IgG抗体とコンジュゲートされたAPC刺激物質、例えば、IgG抗体とコンジュゲートされた樹状細胞刺激物質、IgG抗体とコンジュゲートされたマクロファージ刺激物質、IgG抗体とコンジュゲートされたB細胞刺激物質などを含む)；APC、例えば、DC、および/またはT細胞を単離、培養、生存、または投与するための成分；APC、例えば、DCを接触させるための試薬(例えば、緩衝液)；T細胞を接触させるための試薬(例えば、緩衝液)；標的抗原を本抗体組成物と接触させて、免疫複合体を生じるための試薬(例えば、緩衝液)；ならびにその任意の組み合わせ。

10

## 【0218】

一部の態様において、本キットは、検証工程(例えば、APC、例えばDCが、充填されたAPC、例えば、DCであることを検証する工程)において使用するためのアッセイ試薬(例えば、HLA-DRを検出するための抗体、CD84を検出するための抗体など)を含む。

## 【0219】

一部の態様において、前記キットは、(i)癌細胞の抗原に結合する同種異系IgG抗体を含む抗体組成物を含む、コンパートメント；および(ii)少なくとも1種類のAPC刺激組成物を含み、APC刺激組成物が樹状細胞刺激組成物、マクロファージ刺激組成物、またはB細胞刺激組成物である、少なくとも1つのコンパートメントを含む。

20

## 【0220】

上記の成分に加えて、本キットは、(ある特定の態様では)本方法を実施するための説明書をさらに含んでもよい。これらの説明書は様々な形で本キットに存在してもよく、これらの1つまたは複数がキットに存在してもよい。これらの説明書が存在し得る一形態は、適切な媒体または基材、例えば、情報が印刷される一枚または何枚かの紙の表面上に、キットの包装の中に、包装の挿入物の中などにある印刷された情報である。これらの説明書のさらに別の形態は、情報が記録されているコンピュータ可読媒体、例えば、ディスク、コンパクトディスク(CD)、フラッシュドライブなどである。存在し得る、これらの説明書のさらに別の形態は、削除されたサイトにある情報にアクセスするために、インターネットを介して使用することができるウェブサイトアドレスである。

30

## 【実施例】

## 【0221】

以下の実施例は、当業者に本発明を作成および使用方法を完全に開示および説明するために示され、本発明者らが本発明と考えるものの範囲を制限することを目的とせず、以下の実験が実施される全ての実験または唯一の実験であることを示すことを目的としない。使用される数値(例えば、量、温度など)に関する精度を保証するように努力がなされたが、いくらかの実験誤差および偏差が占められるはずである。特に定めのない限り、部は重量部であり、分子量は重量平均分子量であり、温度は摂氏であり、圧力は大気圧であるか、または大気圧に近い。標準的な略語、例えば、室温(RT)；塩基対(bp)；キロベース(kb)；ピコリットル(pl)；秒(sまたはsec)；分(mまたはmin)；時間(hまたはhr)；日(d)；週間(wkまたはwks)；ナノリットル(nl)；マイクロリットル(ul)；ミリリットル(ml)；リットル(L)；ナノグラム(ng)；マイクログラム(ug)；ミリグラム(mg)；グラム(質量の文脈で(g))；キログラム(kg)；重力の相当語句(遠心分離の文脈で(g))；ナノモル濃度(nM)；マイクロモル濃度(uM)；ミリモル濃度(mM)；モル濃度(M)；アミノ酸(aa)；キロベース(kb)；塩基対(bp)；ヌクレオチド(nt)；筋肉内(i.m.)；腹腔内(i.p.)；皮下(s.c)などが用いられることがある。

40

## 【0222】

## 実施例1

50

## 材料および方法

### マウス

129S1/SvImJマウス、C57Bl/6 WTマウス、CD-1非近交系マウス、Balb/c、GFPトランスジェニックマウス[C57BL/6-Tg(UBC-GFP)30Scha/J]、および誘導性メラノーマを発症するマウス(B6.Cg-Braf<sup>tm1Mmc</sup>/Pten<sup>tm1Hwu</sup>Tg(Tyr-cre/ERT2)13Bos/BosJ)をJackson Laboratory (Bar Harbor, Maine)から購入し、現場で繁殖させた。FcγR<sup>-/-</sup> (B6.129P2-FcγR1g<sup>tm1Rav</sup>)マウスをTaconic (Germantown, NY)から購入した。マウスを無作為に群に分けた後に、処置条件を割り当てた。マウスは全て、米国実験動物取扱認定協会(American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care)が認定した動物施設で飼育した。10

### 【0223】

#### 細胞株

抗CD4(GK1.5)および抗CD8(2.43)ハイブリドーマ、ヒト細胞株MCF7およびPANC-1、ならびにマウスB16F10株(メラノーマ)、4T-1、LL/2(ルイス肺癌)、およびRMA(リンパ腫)は全てATCCから購入した。LMP膵臓腫瘍細胞を、<sup>13</sup>に記載のようにKras<sup>G12D/+</sup>; LSL-Trp53<sup>R172H/+</sup>; Pdx-1-Creマウスから単離した。細胞を、10%熱失活FCS、2mM L-グルタミン、100U/mLペニシリン、および100 μg/mLストレプトマイシン(Gibco)を加えたDMEM(Gibco, Carlsbad, CA)中で標準的な条件下で培養した。20

### 【0224】

#### マウスDCサブセットの調製およびインビトロ研究

BM単核細胞を、マウス単球濃縮キット(Stem Cell Technologies, Vancouver Canada)を用いて負に選択し、FSC<sup>lo</sup>/SSC<sup>lo</sup>/Gr1<sup>hi</sup>/CD115<sup>hi</sup>/MHCII<sup>neg</sup>細胞を、FACS Aria II(BD Biosciences)を用いて分別した。単球を50ng/ml GM-CSF(PeproTech)の存在下で4~5日間、培養して、DCを作製した。TADCの場合、腫瘍を、5mg/mLコラゲナーゼIVおよび0.01mg/mL DNアーゼI(Sigma)を含有するハックス液(HBSS, Gibco)に入れて消化した。細胞をFicoll勾配上加え、CD11b<sup>+</sup>選択キット(StemCells)を用いて磁氣的に濃縮し、Gr1<sup>neg</sup>/CD11c<sup>+</sup>/MHCII<sup>+</sup>細胞をFACSによって分別した。一部の試験では、TADCを50ng/mL TNF (PeproTech)および500ng/mL CD40L(PeproTech)組換えマウスタンパク質で活性化した。30

### 【0225】

#### ヒトDCの調製およびインビトロ研究

適合健常ドナーの新鮮なBM吸引液および末梢血に由来する単核細胞をAllCells(Alameda, CA)から購入した。10cm長の肋骨と6mLの血液を、悪性胸膜中皮腫の切除を受けている2人の患者から入手した。研究プロトコルはスタンフォード治験審査委員会(Stanford's Institutional Review Board)による承認を受け、対象全員からインフォームドコンセントを得た。次いで、BMDCを作製するために、骨をPBSで洗い流し、単核細胞をFicoll勾配で分離した。健常および腫瘍患者の両者について、CD34<sup>+</sup>細胞を、磁気ビーズ(Miltenyi)を用いて濃縮し、50ng/mL GM-CSFおよび20ng/mL IL-4(PeproTech)を加えたIMDM(Gibco)中で9~12日間、培養した。血液由来DCの場合、血液単核細胞からCD14<sup>+</sup>細胞を、磁気ビーズ(Miltenyi)を用いて濃縮し、50ng/mL GM-CSFおよび20ng/mL IL-4(PeproTech)を加えたIMDM(Gibco)中で7日間、培養した。他の研究では、ステージI肺癌患者から入手した血液由来DCを、50ng/mLヒトTNF (PeproTech)および1 μg/mL CD40L(PeproTech)で一晩処理する。40

### 【0226】

#### フローサイトメトリー

細胞表面染色のために、FITC、PE、PE-Cy7、PE-Cy5.5、APC-Cy7、eFluor 650、またはPacific Blueとコンジュゲートしたかつ以下の抗原に特異的である、モノクローナル抗体を使用した:BioLegend(San Diego, CA)の、CD11b(M1/70)、Gr-1(RB6-8C5)、F4/80(BM8)、B220(RA3-6B2)、およびeBioscience(San Diego, CA)の、CD115(AFS98)、CD80(16-10A1)、I-Ab(AF6-120.1)、CD40(1C10)、CD86(GL1)、およびCD40L(MR1)に特異的なモノクローナル50

抗体。タンパク質リン酸化特異的フローサイトメトリーのために、細胞を、ICを用いて、またはICを用いずに5分間、15分間、または30分間、活性化し、1.8%パラホルムアルデヒドで15分間、固定した。細胞を2%FCS含有PBSで2回、洗浄し、95%メタノールと4℃で20分間インキュベートした。ホスホ-p38 MAPK(Thr180/Tyr182)、ホスホ-Akt(Thr308)、およびホスホ-c-Jun(Ser63)に対するコンジュゲートされた抗体をCell Signalingから購入し、ホスホ-ERK1/2(p44)(pT202/pY204)をBD Biosciences(San Jose, CA)から購入した。腫瘍結合IgMおよびIgGについては、PEとコンジュゲートされた抗マウスIgM(RMM-1)、抗マウスIgG(Poli4052)、および抗ヒトIgG(HP6017)をBioLegendから購入した。フローサイトメトリーをLSRII(BD Biosciences)で行い、データセットを、FlowJoソフトウェア(Tree Star, Inc.)を用いて解析した。

10

【0227】

サイトカイン測定

細胞を $1 \times 10^6$ 細胞/mLで播種し、腫瘍免疫複合体またはLPS(Sigma)と共に、または伴わずに12時間、培養した。上清中のTNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、およびIL-12(p40/p70)を、ELISAによって製造業者(R&D Systems, Minneapolis, MN)の説明書に従って測定した。

【0228】

IgGおよびIgMの精製および測定

マウス抗体を、プールされた20~24週齢マウス血清5mLから、AKTA Explorer/100Air(GE Healthcare)における液体クロマトグラフィーによって入手した。全マウスIgGおよびIgMをそれぞれプロテインGカラムおよび2-メルカプトピリジンカラム(GE Healthcare)を用いて精製した。精製されたIgGおよびIgMのレベルを、特異的ELISAキット(Bethyl, Montgomery, TX)を用いて製造業者の説明書に従って測定した。

20

【0229】

抗体-腫瘍溶解産物免疫複合体(Ig-IC)および抗体が結合した腫瘍細胞の調製

腫瘍細胞を2%パラホルムアルデヒドで固定し、CFSEで染色し、広範囲にわたって洗浄した。外科的切除の場合、最初に、腫瘍を酵素的消化後に単離し、FSC<sup>hi</sup>/CD45<sup>neg</sup>細胞として分別した後に固定および染色した。Ig-ICを得るために、腫瘍細胞を、 $1 \times 10^5$ 個の腫瘍細胞につき1 $\mu$ gの同系もしくは同種異系のIgGまたはIgMと氷上で30分間インキュベートした。次いで、細胞から過剰な抗体を洗い流し、細胞をそのまま使用したが、または非変性溶解緩衝液でさらに破壊してIg-ICを得た。

30

【0230】

膜タンパク質抽出

未変性の膜タンパク質を抽出する場合、腫瘍をSEAT緩衝液(pH7.4、250mMスクロース、10mMトリエタノールアミン、1mM EDTA、10mM酢酸、プロテアーゼインヒビターカクテルI-Sigma)に懸濁し、ダンスホモジナイザーに入れてホモジナイズした。溶解産物を900gで4℃において5分間、2回、回転させ、上清を新しいチューブに移し、100,000 $\times$ gで4℃において1時間、回転させた。膜ペレットをH<sub>2</sub>Oに再懸濁し、一部の実験では使用前に変性または脱グリコシルした。変性膜タンパク質を抽出する場合、膜ペレットを500 $\mu$ lのRadio-Immuno-Precipitation Assay緩衝液(RIPA, Sigma)に再懸濁し、25G針注射器で溶解した。溶解産物を、4℃で1時間インキュベートし、100,000 $\times$ gで4℃において30分間、回転させた。界面活性剤で可溶化した膜タンパク質を含有する上清を収集し、95℃で5分間、煮沸した。膜タンパク質の脱グリコシルを、市販のキット(New England Biolabs, Ipswich, MA)を用いて製造業者の説明書に従って行った。

40

【0231】

インビボ腫瘍モデル

腫瘍移入研究のために、 $1 \times 10^5$ 個のLMP腫瘍細胞またはB16腫瘍細胞を右側腹部の上方で皮下(s.c.)注射し、腫瘍発達を、カリパスを用いて週2回、測定した。一部の実験では、腫瘍細胞を、製造業者(Invitrogen)の説明書に従って25 $\mu$ M CFSEで標識した。予防免疫の場合、マウスに、腫瘍溶解産物またはICが充填された $2 \times 10^6$ 個のDCまたは単球を7日間あけて2回s.c.注射した。腫瘍再発研究の場合、 $2 \times 10^5$ 個の腫瘍細胞を右側腹部の上方でs.c.

50

.注射し、成長している腫瘍のサイズを、カリパスを用いて測定した。腫瘍がLMPの場合、 $45 \sim 55\text{mm}^2$ 、B16の場合、 $12 \sim 16\text{mm}^2$ に達すると、マウスを麻酔し、目に見える肉眼的腫瘍を外科的に取り出した。切除された腫瘍を、PBSに溶解した $0.1\text{mg/mL}$ のDNアーゼI(Sigma)および $5\text{mg/mL}$ のコラゲナーゼIV(Sigma)で酵素消化した。次いで、細胞を2%パラホルムアルデヒドで20分間、固定し、PBSで広範囲にわたって洗浄し、精製マウス抗体と共に、または精製マウス抗体を伴わずにDCサブセットに添加した。一晚インキュベートした後に、細胞を洗浄し、 $2 \times 10^6$ 個を、腫瘍が切除されたマウスにs.c.注射した。一部の実験では、 $200\text{ng}$ のTNF (Peprotech)および $1 \mu\text{g}$ のCD40L、CD28、OX-40(R&D)、 $2 \mu\text{g}$ のLPS、または $200 \mu\text{g}$ のポリI:C(Invivogen)を $200 \mu\text{g}$ のマウスIgGと組み合わせて、続けて2日間、1週間あけて腫瘍に直接注射し、これを2サイクル行った。転移実験の場合、 $1 \times 10^5$ 個の4T-1細胞を同系Balb/cマウスの乳房脂肪パッドに注射した。16日後、腫瘍が流入領域リンパ節に転移したら、原発腫瘍結節に、CD-1マウスに由来するIgGをTNF およびCD40Lと一緒に3回(2日あけて)注射した。

10

#### 【0232】

#### インビボ細胞枯渇

CD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞の枯渇はそれぞれ、腫瘍接種の3日前に、その後3日ごとに $50 \mu\text{g}$ /マウスのGK1.5(抗CD4)および2.43(抗CD8)モノクローナル抗体を腹腔内(i.p.)注射することによって行った。B細胞枯渇の場合、腫瘍接種の5日前および2日前に、その後3日ごとに、 $300 \mu\text{g}$ /マウスの抗CD19および $300 \mu\text{g}$ /マウスの抗B220(BioXcell, West Lebanon, NH)をi.p.注射した。NK細胞枯渇の場合、腫瘍投与を基準として-2日目、0日目、4日目、および8日目に、マウスに $50 \mu\text{l}$ の抗アジアロGM1ポリクローナル抗体(Wako Chemicals Richmond, VA)または $200 \mu\text{g}$ の抗NK1.1PK136(BioXCell)をi.p.注射した。0日目、7日目、14日目、および21日目にマウスを1匹1匹、採血し、枯渇を確認するためにフローサイトメトリーによってNK1.1<sup>+</sup>/CD3<sup>neg</sup>細胞のレベルを求めた。

20

#### 【0233】

#### 養子移入

腫瘍投与の1日前に、マウスに $1\text{mg}$ /マウスの同系または同種異系のIgGまたはIgMをi.v.注射し、腫瘍注射と共にもう1回、i.v.注射した。T細胞移入の場合、CD4<sup>+</sup>T細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞を、マウス濃縮キット(murine enrichment kit)(Stem Cell Technologies)を用いて負に選択し、腫瘍投与の1日前に $5 \times 10^6$ 個の細胞をレシピエントマウスにi.v.注射した。移入する前に、腫瘍関連細胞サブセットを以下の通りに濃縮した。磁気ビーズ(Miltenyi)でMHCII<sup>+</sup>細胞を濃縮し、その後に、FACSによってGr1<sup>neg</sup>/CD11c<sup>+</sup>/CD64<sup>du</sup>を分別することによってTADCを単離した。腫瘍マクロファージ(TAM)をCD11b<sup>+</sup>磁気ビーズ(Miltenyi)で濃縮し、その後にGr1<sup>neg</sup>/CD64<sup>hi</sup>細胞を分別した。B細胞をCD19<sup>+</sup>磁気ビーズ(Miltenyi)で濃縮した。NK細胞をNK1.1<sup>+</sup>磁気ビーズ(Miltenyi)で濃縮し、マスト細胞をc-kit<sup>+</sup>磁気ビーズ(Miltenyi)で濃縮した。それぞれの細胞サブセットについて、 $2 \times 10^6$ 個の細胞を、 $4 \times 10^4$ 個のB16腫瘍細胞を投与する3日前にナイーブマウスにs.c.注射した。

30

#### 【0234】

#### T細胞増殖

$3 \times 10^4$ 個のDCを、LMPまたはB16で免疫されたマウスの脾臓に由来する $3 \times 10^5$ 個のMACS濃縮CD4<sup>+</sup>T細胞(Miltenyi, Germany)と共培養した。6日後に、細胞を<sup>3</sup>H-チミジン( $1 \mu\text{Ci}$ /ウェル)でパルス標識し、さらに18時間培養した後に、Harvester 400(Tomtec)で回収した。放射能を1450 MicroBetaカウンター(LKB Wallac)で測定した。

40

#### 【0235】

#### 免疫蛍光

ガラス底培養プレート(glass-bottom culture plate)(In Vitro Scientific)上で、DCまたは単球を、抗体と共に、抗体を伴わずにCFSE標識腫瘍細胞と一晚インキュベートした。細胞をPBS(Gibco)で穏やかに洗浄し、2%パラホルムアルデヒドで20分間、固定し、0.5%サポニン(Sigma)で透過処理した。試料を10%非免疫ヤギ血清でブロックし、Alexaとコンジュゲートされた抗マウスIgGおよびIgM(Invitrogen 1:100)ならびに抗マウスI-Ab(BD

50

Biosciences, 1:100)で染色した。

【0236】

#### 免疫組織化学

標本を、20%スクロース溶液で平衡化した4%パラホルムアルデヒドで固定し、凍結組織マトリックス(frozen tissue matrix)(Tissue-Tek OCT, Torrance, CA)に包埋した。スライドを5 $\mu$ mに切断し、10%非免疫ヤギ血清でブロックし、Alexaとコンジュゲートされたウサギ抗CD4(RM4-5, eBioscience, 1:100)、抗CD8 (YTS156.7.7 BioLegend, 1:100)、ヤギ抗マウスIgG(Invitrogen 1:100)、および抗マウスIgM(11/41 eBioscience, 1:100)で染色した。切片をZeissレーザー走査型共焦点顕微鏡下で調べた。Zeiss 700共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて画像を収集し、ZENソフトウェア(Carl Zeiss Microscopy)を用いて分析した。

10

【0237】

#### 統計

適切な統計検定(例えば、ANOVA)と、以前に報告された研究から概算された誤差を用いて統計的有意性に達することができるように試料サイズを選択した。特に定めのない限り、実験データを解析するために、ノンパラメトリックマンホイットニーU検定をPrism(GraphPad Software, Inc.)において行った。リン酸特異的フローサイトメトリーデータを、逆双曲線正弦(inverse hyperbolic sine)(arcsinh)をとることによって変換し、以前に述べられたように(Irish et al., PNAS, 2010)、対応するベースライン(非刺激)値で割って比をとった。盲検実験は実施しなかった。分析から除外された試料はなかった。P値は実験値と対照(CT)値との差違の有意性を示す。<sup>\*</sup>p<0.05; <sup>\*\*</sup>p<0.01。エラーバーは $\pm$ -SEMを表す。

20

【0238】

#### 結果

同種異系腫瘍拒絶反応の細胞基盤を研究するために、MHCが適合しているが、他の点では遺伝的に異なるC57B1/6マウスおよび129S1マウスにおける腫瘍に対する免疫応答を比較した(図1aに図示した)。B16メラノーマ細胞は同系C57B1/6宿主では絶えず増殖したが、同種異系129S1宿主では自然に退行した(図1b)。逆に、Kras<sup>G12D/+</sup>;LSL-Trp53<sup>R172H/+</sup>;Pdx-1-Creマウス<sup>13</sup>から単離したLMP膵臓腫瘍細胞は129S1マウスでは絶え間なく増殖したが、C57B1/6動物では自然に退行した(図1b)。両モデルにおいて、NK細胞を枯渇させても腫瘍拒絶反応は阻止されなかった(図5a)。対照的に、同種異系腫瘍を接種する前にCD4<sup>+</sup>T細胞またはCD8<sup>+</sup>T細胞を枯渇させると腫瘍退行が阻止されたので、宿主T細胞は同種異系腫瘍拒絶反応において不可欠な役割を果たした(図1b)。T細胞の増殖および同種異系腫瘍への浸潤は約1週間で始まり、10~12日にピークに達した(図1cおよび図5b)。さらに、同種異系腫瘍は、同系腫瘍より多い成熟骨髄DC(mDC;Gr1<sup>neg</sup>/CD11b<sup>+</sup>/CD11c<sup>+</sup>/MHCII<sup>+</sup>/CD64<sup>dim</sup>)と、少ない未熟骨髄系細胞(iMC;Gr1<sup>hi</sup>/CD11b<sup>hi</sup>/MHCII<sup>neg/lo</sup>)を含んでいた(図1d)。さらに、同種異系腫瘍の中にあるDCは同系腫瘍の中にあるDCと比較して、さらに活性化された表現型を反映する高レベルのMHCII、CD86、およびCD40を発現した(図5c)。CFSEで標識した同種異系LMP細胞を動物に接種した後に、mDCは腫瘍細胞由来分子の内部移行も示した。このことから、それらは、これらの条件下で腫瘍関連抗原を処理および提示した可能性があることが示唆される(図1e)。しかしながら、同種異系腫瘍細胞と共培養しても、DC活性化および腫瘍抗原の取り込みはほとんど誘導されなかったか、または誘導されず、同系DCと比べて異なる応答は誘導されなかった(図1f、図5d)。このことから、効率的な腫瘍抗原の内部移行とDC活性化を促進するためには、インビボに存在するさらなる因子が必要なことが証明された。

30

40

【0239】

抗体は、免疫複合体(IC)のFc受容体を介したエンドサイトーシスを介して、DCによる抗原の取り込みを促進することができるので、腫瘍結合抗体の存在を試験した。腫瘍接種後24時間以内に(図1g~i)、T細胞が出現する前に(図1c)、IgM抗体およびIgG抗体は同種異系腫瘍細胞に結合したが、同系腫瘍細胞には結合しなかった。さらに、培養中に、同種異系

50

抗体は同系抗体より効果的に多量に腫瘍細胞を結合させた(図5e)。腫瘍拒絶反応における抗体の潜在的な役割を評価するために、同種異系宿主からB細胞を枯渇させた。循環しているIgGおよびIgMのレベルがそれぞれ180  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満および10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満に低下したら、マウスに同種異系腫瘍を投与した。B細胞を枯渇させることによって、無処置宿主と比べて腫瘍発達が加速し、腫瘍拒絶反応が遅延または阻止された(図1j)。さらに、同種異系IgGの養子移入によって同系腫瘍の拒絶反応が可能になったが、同種異系IgMの養子移入では可能にならなかった(図1kおよび図5f)。この効果は、Fc受容体(FcR)が欠損しているマウスでは、ほぼ完全に無くなった(図1k)。これらの結果から、腫瘍を一掃する免疫応答の誘導における同種異系抗体依存性シグナル伝達の必要不可欠な役割が示唆される。

#### 【0240】

DCによる腫瘍取り込みに対する、これらの抗体の効果を調べるために、インタクトな腫瘍細胞または腫瘍溶解産物を同系抗体または同種異系抗体とインキュベートして免疫複合体(IC)を形成し、これらを骨髄由来(BM)DCに添加した(図2a)。同種異系IgG抗体(アロIgG-IC)またはIgM抗体(アロIgM-IC)を用いて形成されたICだけがBMDC活性化と腫瘍由来タンパク質の取り込みを誘導した(図2b~d)。共焦点イメージングから、腫瘍タンパク質はMHCII分子の近くにあることが明らかになった(図2e)。アロIgG-ICとインキュベートしたBMDCは、かなりのT細胞増殖を誘導した(図2f)。このことから、腫瘍抗原は処理および提示されたことが証明された。

#### 【0241】

免疫活性化のためのこれらの機構原理が、(同じマウス系統に由来する)同系腫瘍に対する抗腫瘍免疫応答を誘発できるかどうかを判定するために、同系宿主にB16細胞またはLMP細胞をs.c.接種し、腫瘍が45~55 $\text{mm}^2$ に達すると、肉眼的腫瘍のない約2mmの縁を残して腫瘍を取り出した。切り取られた腫瘍からIgG-ICまたはIgM-ICを調製し、同系BMDCと一晚インキュベートした。その後、同系BMDCを、腫瘍が切除された対応するマウスにs.c.注射した(図2g)。アロIgG-ICが充填された同系DCで処置された、ほぼ全てのマウスが少なくとも12ヶ月間にわたって(実験が終了した際には)腫瘍がないままであった(図2h)。他の全ての動物が30日以内に腫瘍再発を経験したので、アロIgG-ICが充填されたBMDCだけで、腫瘍再成長を完全に阻止するのに十分であった(図2h)。アロIgG-ICが充填されたDCがT細胞を活性化し、腫瘍再発からマウスを保護する能力は、FcRを欠くDCでは完全に無くなった(図6a-2c)。さらに、アロIgG-IC処置動物に由来する脾臓CD4<sup>+</sup>T細胞またはCD8<sup>+</sup>T細胞をナイーブマウスに養子移入すると皮下腫瘍の成長が阻止された(図6d-2e)。このことから、強力な腫瘍特異的T細胞応答が誘発されたことが証明された。

#### 【0242】

次に、アロIgGによって認識されるB16抗原がどういったものが、IC形成前およびBMDCワクチン接種前にB16細胞またはアロIgGの吸収画分を改変することによって調べた。グリカン残基の除去はほとんど影響を及ぼさなかったが、腫瘍タンパク質の変性によって治療利益が取り除かれた(図6f)。さらに、膜結合B16タンパク質から形成されたICは腫瘍再発を阻止したが、他の細胞内タンパク質画分から形成されたICは阻止できなかった(図6f)。腫瘍にとって同系の正常な皮膚細胞、脾臓細胞、および脾臓細胞に対するアロIgGを予め吸収することによって治療利益が取り除かれたのに対して、前記抗体にとって同系の類似細胞に対する吸収によって治療利益が取り除かれなかった(図6g)。さらに、無菌マウスに由来するアロIgGは腫瘍免疫を誘導した。(図6h)。このことから、微生物叢に反応して生じたIgGは必要でなかったことが示唆される。これらのデータから、アロIgGの保護効果は、正常細胞上で発現している可能性が高いB16膜タンパク質と抗体が結合することに依存することが分かる。

#### 【0243】

腫瘍を一掃する免疫応答の誘導には、抗体の結合が必要不可欠である可能性があるが、結合する抗原のアイデンティティは必要不可欠でない可能性がある。この考えと一致して、同系IgGをB16膜タンパク質に共有結合的に架橋することによって形成されたICは、BMDCとインキュベートされた後に依然として治療利益を付与した(図6i)。さらに、アロIgGド

10

20

30

40

50

ナーおよびC57BL/6宿主が共有する抗原であるMHC-Iに対するモノクローナル抗体を用いて形成されたICは、BMDCとインキュベートされた後に動物を保護するのに十分であった(図6j)。まとめると、これらのデータから、この治療方針の重要な要素は、結合する抗原の特定のアイデンティティでもIgGの起源ではなく、IgGと腫瘍細胞表面との結合であることが証明された。

#### 【0244】

アロIgG-ICで活性化されたBMDCの有効性から、アロIgGを同系腫瘍に直接注射することでも腫瘍退行が誘導される可能性があることが示唆された。しかしながら、自己由来宿主において成長しているB16腫瘍またはLMP腫瘍にアロIgGを注射した場合には、ごくわずかな効果しか観察されなかった(図3a)。この明らかな矛盾を解消するために、腫瘍関連DC(TADC)(図7a)を入手し、これらの細胞を腫瘍溶解産物またはアロIgG-ICと一緒に培養した。BMDCとは対照的に、TADCは活性化を示さず(図3b-dおよび図7b)、腫瘍再発に影響を及ぼさなかった(図3e)。なぜTADCがアロIgG-ICに応答しなかったのかを理解するために、Fc $\gamma$ R刺激の際に活性化されることが知られている細胞シグナル伝達経路を調べた。アロIgG-ICを用いて活性化された場合に、BMDCにおいて強力なp38、ERK1/2、およびJNKリン酸化が観察された。対照的に、TADCは、これらのMAPキナーゼのリン酸化を示さなかった(図3f)。TADC上でのFc $\gamma$ R受容体の発現パターンはBMDCの発現パターンに似ており、いくつかの免疫刺激がDCにおけるMAPK活性化を誘導することが知られているので、アロIgG-ICに対するTADCの応答に対する、このような刺激の効果を試験した。ポリI:C、TNF $\alpha$ +CD40L、またはIFN $\gamma$ +CD40Lを添加することによって、TADCの活性化とアロIgG-ICの取り込みが可能になった(図3gおよび図7c~3d)。

#### 【0245】

その後、アロIgGとこれらの刺激の1つとの組み合わせによって、インサイチューで同系腫瘍に対する免疫応答を誘導できるかどうかを試験した。ナイーブC57BL/6マウスにB16細胞を接種し、腫瘍が18~25mm<sup>2</sup>に達するまで成長させた。アロIgGをTNF $\alpha$ +CD40LまたはポリI:Cと組み合わせて腫瘍内注射することによって、完全な腫瘍消失が誘導された(図4aおよび図8a~b)。ルイス肺癌(LL/2)が投与されたマウスでも、同様の結果が得られた(図8c)。

#### 【0246】

これらの条件下で、どの細胞タイプがIgGに反応するかを評価するために、アロIgGをフィコエリトリンで共有結合的に標識し、腫瘍内注射した。アロIgGの治療効果を媒介する細胞は生産的な抗腫瘍免疫応答の存在下(アロIgG+TNF $\alpha$ +CD40L)では、このような応答の非存在下(アロIgGのみ)より大きなアロIgGとの結合を示す可能性があった。未熟骨髄系細胞(SSC<sup>lo</sup>/Gr1<sup>hi</sup>/CD11b<sup>hi</sup>)およびマクロファージ(CD11b<sup>+</sup>/Gr1<sup>neg</sup>/F480<sup>+</sup>/MHCII<sup>+</sup>/CD64<sup>hi</sup>)は、これらのシナリオの両方で、ほぼ同じ程度でIgGを結合させたが、mDC(CD11b<sup>+</sup>/Gr1<sup>neg</sup>/CD11c<sup>+</sup>/MHCII<sup>+</sup>/CD64<sup>dim</sup>)およびcDC(CD11b<sup>neg</sup>/CD11c<sup>hi</sup>/MHCII<sup>+</sup>)だけが、効果的な抗腫瘍免疫応答の間にIgG結合を著しく増やした(図4bおよび図8d)。さらに、処置されたB16腫瘍に由来する浸潤性免疫細胞の分析から、腫瘍部位においてDCがかなり活性化されたことと(図4c)、DCが流入領域リンパ節に移動した(図8e)ことが分かった。さらに、TADCをナイーブマウスに養子移入することによって、その後のB16投与からの完全な保護が得られた(図4d)。このことから、これらのDCは、強力な抗腫瘍免疫を媒介するのに十分であることが証明された。対照的に、同じ処置マウスに由来するマクロファージを養子移入しても中程度の保護効果しかなく、これに対して、B細胞、NK細胞、およびマスト細胞は影響を及ぼさなかった(図8f)。要約すると、これらの結果は、アロIgG抗体の治療効果の媒介におけるDCの重要かつ十分な役割を示唆している。

#### 【0247】

次に、この治療方針を、Braf変異(V600E)およびPten消失によって誘導される、遺伝子操作されたマウス高悪性度メラノーマモデル<sup>18</sup>において試験した。腫瘍を誘導して28日後に、マウスにアロIgG+TNF $\alpha$ +CD40Lを腫瘍内注射した。無処置マウスは3週間以内に80~155個の腫瘍を発達させたが、処置マウスは、注射された腫瘍だけではなく、遠隔部位でも8

週間を超えて続く完全応答を経験した(図4e)。これらの全身応答が転移まで広がることができるかどうか評価するために、16日目に、同所性4T1乳腺腫瘍をもつ動物を、原発腫瘍に注射することによって処置し、30日目に、肺転移に対する効果を試験した。処置時には、腫瘍が流入領域リンパ節に広がり、肺微小転移が容易に観察され、全マウスに、腫瘍拡大を示す触診可能な腫瘍-流入領域リンパ節があった。アロIgG+TNF +CD40Lを用いた処置だけが、目に見える転移ならびに原発腫瘍のほぼ完全な解決につながった(図4f~g)。肺の組織学的分析はマウスの40%において完全な腫瘍退行を示し、残っている少数の微小転移には白血球が多量に浸潤していた(図4gおよび図8g)。要約すると、これらの結果から、腫瘍結合抗体を介したDC活性化は強力かつ全身性の抗腫瘍免疫応答を開始することが証明された。

10

## 【0248】

これらの知見の臨床上の関連性を評価するために、アロIgG、TNF、およびCD40LがヒトTADCの腫瘍取り込みおよび成熟を誘導できるかどうかを試験した。2人のステージI肺癌ヒト患者の腫瘍に由来するCD11c<sup>+</sup>/MHCII<sup>+</sup>細胞を、自己IgGでコーティングした、または10人の健常ドナーからプールされたアロIgGでコーティングした自己由来腫瘍細胞とインキュベートした。TNF +CD40Lを添加すると、これらのDCはアロIgG-ICを内部に取り入れ、それに付随して、活性化を示す著しいCD40およびCD86の上方制御を誘導した(図4hおよび図8h)。これらのデータから、腫瘍-アロIgG-ICがDCを活性化する機構は種間で保存されていることが示唆される。次いで、アロIgG-ICが充填されたDCが患者自身のCD4<sup>+</sup>T細胞を活性化できるかどうかを試験した。2人の悪性胸膜中皮腫ヒト患者に由来するBMDCを、自己由来腫瘍溶解産物のみとインキュベートしたか、自己由来IgGと組み合わせてインキュベートしたか、またはプールされた健常ドナー由来アロIgGとインキュベートした。両患者とも、プールされたアロIgG-ICとインキュベートしたBMDCだけが、著しい活性化、HLA-DR発現の上方制御、および対応する患者から収集したCD4<sup>+</sup>T細胞の増殖の誘導を示したが、自己由来IgG-ICとインキュベートしたBMDCは示さなかった(図4i)。

20

## 【0249】

過去20年間にわたって、腫瘍進行中の抗体の役割は論争の種であった。本明細書において示されたデータから、TADCはIgG-ICに自然には応答しないが、特定の刺激を加えると、腫瘍を一掃する免疫を動かすことができると証明された。本明細書において示されたデータから、DCによる抗体を介した取り込み後の腫瘍抗原提示は、腫瘍に対する強力な全身性のT細胞性免疫応答を開始するのに十分であることが証明された。さらに、この研究から、この免疫学的認識および標的化の基本機構は、MHC適合個体間でさえも腫瘍伝播を阻止し、癌に対する力強い治療方針として利用することができる。

30

## 【0250】

## 参照文献

- 1 Coussens, L. M., Zitvogel, L. & Palucka, A. K. Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: a magic bullet? *Science* **339**, 286-291, doi:10.1126/science.1232227. 339/6117/286 [pii] (2013).
- 2 Gabrilovich, D. I., Ostrand-Rosenberg, S. & Bronte, V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol* **12**, 253-268, doi:10.1038/nri3175 (2012).
- 3 Grivennikov, S. I., Greten, F. R. & Karin, M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* **140**, 883-899, doi:10.1016/j.cell.2010.01.025 (2010)

40

- 4 Hanahan, D. & Coussens, L. M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer cell* **21**, 309-322, doi:10.1016/j.ccr.2012.02.022. S1535-6108(12)00082-7 [pii] (2012).
- 5 Mantovani, A. & Sica, A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Current opinion in immunology* **22**, 231-237, doi:10.1016/j.coi.2010.01.009 (2010).
- 6 Schreiber, R. D., Old, L. J. & Smyth, M. J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* **331**, 1565-1570, doi:10.1126/science.1203486 (2011). 10
- 7 Vesely, M. D., Kershaw, M. H., Schreiber, R. D. & Smyth, M. J. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annual review of immunology* **29**, 235-271, doi:10.1146/annurev-immunol-031210-101324 (2011).
- 8 Manning, T. C. *et al.* Antigen recognition and allogeneic tumor rejection in CD8+ TCR transgenic/RAG(-/-) mice. *Journal of immunology* **159**, 4665-4675 (1997).
- 9 Ferrara, J., Guillen, F. J., Sleckman, B., Burakoff, S. J. & Murphy, G. F. Cutaneous acute graft-versus-host disease to minor histocompatibility antigens in a murine model: histologic analysis and correlation to clinical disease. *J Invest Dermatol* **86**, 371-375 (1986). 20
- 10 Appelbaum, F. R. Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy. *Nature* **411**, 385-389, doi:10.1038/35077251 (2001).
- 11 Bishop, M. R. *et al.* Allogeneic lymphocytes induce tumor regression of advanced metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* **22**, 3886-3892, doi:10.1200/JCO.2004.01.127 (2004). 30
- 12 Goulmy, E. Minor histocompatibility antigens: allo target molecules for tumor-specific immunotherapy. *Cancer J* **10**, 1-7 (2004).
- 13 Tseng, W. W. *et al.* Development of an orthotopic model of invasive pancreatic cancer in an immunocompetent murine host. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **16**, 3684-3695, doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2384 (2010).
- 14 Baker, K. *et al.* Neonatal Fc receptor expression in dendritic cells mediates protective immunity against colorectal cancer. *Immunity* **39**, 1095-1107, doi:10.1016/j.immuni.2013.11.003 (2013). 40
- 15 Dhodapkar, K. M., Krasovsky, J., Williamson, B. & Dhodapkar, M. V. Antitumor monoclonal antibodies enhance cross-presentation of cellular antigens and the generation of myeloma-specific killer T cells by dendritic cells. *The Journal of experimental medicine* **195**, 125-133 (2002).
- 16 Rafiq, K., Bergtold, A. & Clynes, R. Immune complex-mediated antigen presentation

induces tumor immunity. *The Journal of clinical investigation* **110**, 71-79, doi:10.1172/JCI15640 (2002).

- 17 Regnault, A. *et al.* Fcγ receptor-mediated induction of dendritic cell maturation and major histocompatibility complex class I-restricted antigen presentation after immune complex internalization. *The Journal of experimental medicine* **189**, 371-380 (1999).
- 18 Dankort, D. *et al.* Braf(V600E) cooperates with Pten loss to induce metastatic melanoma. *Nat Genet* **41**, 544-552, doi:10.1038/ng.356 (2009). 10
- 19 Pulaski, B. A. & Ostrand-Rosenberg, S. Reduction of established spontaneous mammary carcinoma metastases following immunotherapy with major histocompatibility complex class II and B7.1 cell-based tumor vaccines. *Cancer research* **58**, 1486-1493 (1998).
- 20 Qin, Z. *et al.* B cells inhibit induction of T cell-dependent tumor immunity. *Nature medicine* **4**, 627-630 (1998).
- 21 de Visser, K. E., Korets, L. V. & Coussens, L. M. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent. *Cancer cell* **7**, 411-423, doi:10.1016/j.ccr.2005.04.014 (2005). 20
- 22 Andreu, P. *et al.* Fcγ activation regulates inflammation-associated squamous carcinogenesis. *Cancer cell* **17**, 121-134, doi:10.1016/j.ccr.2009.12.019. S1535-6108(09)00431-0 [pii] (2010).
- 23 Gerber, J. S. & Mosser, D. M. Reversing lipopolysaccharide toxicity by ligating the macrophage Fc γ receptors. *Journal of immunology* **166**, 6861-6868 (2001).
- 24 Soussi, T. p53 Antibodies in the sera of patients with various types of cancer: a review. *Cancer research* **60**, 1777-1788 (2000). 30
- 25 Gumus, E. *et al.* Association of positive serum anti-p53 antibodies with poor prognosis in bladder cancer patients. *International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association* **11**, 1070-1077, doi:10.1111/j.1442-2042.2004.00948.x (2004).
- 26 Li, Q. *et al.* Adoptive transfer of tumor reactive B cells confers host T-cell immunity and tumor regression. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **17**, 4987-4995, doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-0207 (2011). 40
- 27 DiLillo, D. J., Yanaba, K. & Tedder, T. F. B cells are required for optimal CD4+ and CD8+ T cell tumor immunity: therapeutic B cell depletion enhances B16 melanoma growth in mice. *Journal of immunology* **184**, 4006-4016, doi:10.4049/jimmunol.0903009 (2010).
- 28 Clynes, R., Takechi, Y., Moroi, Y., Houghton, A. & Ravetch, J. V. Fc receptors are

required in passive and active immunity to melanoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**, 652-656 (1998).

- 29 Nimmerjahn, F. & Ravetch, J. V. Divergent immunoglobulin g subclass activity through selective Fc receptor binding. *Science* **310**, 1510-1512, doi:10.1126/science.1118948 (2005).
- 30 Hamanaka, Y. *et al.* Circulating anti-MUC1 IgG antibodies as a favorable prognostic factor for pancreatic cancer. *International journal of cancer. Journal international du cancer* **103**, 97-100, doi:10.1002/ijc.10801 (2003). 10
- 31 Kurtenkov, O. *et al.* Humoral immune response to MUC1 and to the Thomsen-Friedenreich (TF) glycotope in patients with gastric cancer: relation to survival. *Acta Oncol* **46**, 316-323, doi:10.1080/02841860601055441 (2007).

【 0 2 5 1 】

実施例2: アロIgG抗体は典型的に同系IgGによって認識されない抗原を認識することができる

免疫沈降および質量分析を用いて、同種異系IgG(「アロIgG(alloIgG)」)(129マウスの血清に由来する)対同系IgG(「シンIgG(synIgG)」)(C57BL/6マウスの血清に由来する)によって認識されるB16メラノーマ(マウス腫瘍)中の抗原を同定した。シンIgGによって、アロIgGではプルダウンしなかった11種類のタンパク質が沈降した(表1)。これとは反対に、アロIgGによって、シンIgGでは認識されなかった多くのタンパク質が沈降した(表2)。シンIgGおよびアロIgGの両方で沈降したタンパク質を表3に示した。従って、表2のタンパク質(例えば、またはそのオルソログ、例えば、そのヒトオルソログ)のいずれか1つを標的とする抗体を、(例えば、DC刺激と組み合わせて使用した場合に抗腫瘍作用を誘導するための)本方法、組成物、およびキットにおける適切な同種異系IgG抗体として使用することができる。 20

【 0 2 5 2 】

(表1) シンIgGによって濃縮されたタンパク質(シンIgGによって沈降されたが、アロIgGによって沈降されなかったタンパク質) 30

同定されたタンパク質		アクセッション	シン/アロ比
<b>ミトコンドリア膜</b>			
1	ミトコンドリア内膜タンパク質	sp Q8CAQ8 IMMT_MOUSE	2.99
2	三機能酵素サブユニット $\beta$ 、ミトコンドリア	sp Q99JY0 ECHB_MOUSE	2.60
3	CDGSH鉄-硫黄ドメイン含有タンパク質1	sp Q91WS0 CISD1_MOUSE	2
4	アルギニン・グルタミン酸リッチタンパク質1	sp Q3UL36 ARGL1_MOUSE	2
<b>小胞体膜</b>			
1	ストローマ細胞由来因子2様タンパク質1	sp Q9ESP1 SDF2L_MOUSE	3
2	ニカリン(Nicalin)	sp Q8VCM8 NCLN_MOUSE	2
3	移行タンパク質 SEC62	sp Q8BU14 SEC62_MOUSE	4
4	ディスコ相互作用タンパク質 (Disco-interacting protein) 2相同体B	sp Q3UH60 DIP2B_MOUSE	4
<b>メラノソームおよび小胞の膜</b>			
1	液胞タンパク質局在化関連タンパク質35	sp Q9EQH3 VPS35_MOUSE	2
2	アンギオモチン(Angiomotin)様タンパク質2	sp Q8K371 AMOL2_MOUSE	6
3	線維鞘相互作用タンパク質2	sp A2ARZ3 FSIP2_MOUSE	9

10

20

## 【 0 2 5 3 】

(表2) アロIgGによって濃縮されたタンパク質(アロIgGによって沈降されたが、シンIgGによって沈降されなかったタンパク質)

30

同定されたタンパク質		アクセッション	アロ/シン比
ミトコンドリア膜			
1	ATP合成酵素サブユニット $\epsilon$ 、 ミトコンドリア	sp Q06185 ATP5I_MOUSE	2
2	オルニチンアミノトランスフェラーゼ、 ミトコンドリア	sp P29758 OAT_MOUSE	2
3	アポトーシス誘導因子1、 ミトコンドリア	sp Q9Z0X1 AIFM1_MOUSE	3
4	アミノオキシダーゼ [フラビン含有]A	sp Q64133 AOFA_MOUSE	4
5	二機能メチレンテトラヒドロ葉酸 デヒドロゲナーゼ/ シクロヒドロラーゼ、 ミトコンドリア	sp P18155 MTDC_MOUSE	1.67
6	カルシウム結合ミトコンドリア担体 タンパク質Aralar1	sp Q8BH59 CMC1_MOUSE	5
7	プレ配列プロテアーゼ、 ミトコンドリア	sp Q8K411 PREP_MOUSE	5
8	ATP依存性亜鉛メタロプロテアーゼ YME1L1	sp O88967 YMEL1_MOUSE	1.67
9	ロイシンリッチPPRモチーフ含有 タンパク質、ミトコンドリア	sp Q6PB66 LPPRC_MOUSE	1.67
10	Lonプロテアーゼ相同体、 ミトコンドリア	sp Q8CGK3 LONM_MOUSE	6
11	アコニット酸ヒドラターゼ、 ミトコンドリア	sp Q99KI0 ACON_MOUSE	6
12	2-オキシグルタル酸デヒドロゲナーゼ、 ミトコンドリア	sp Q60597 ODO1_MOUSE	7
13	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ [NADP]、ミトコンドリア	sp P54071 IDHP_MOUSE	2.92
14	アルデヒドデヒドロゲナーゼ、 ミトコンドリア	sp P47738 ALDH2_MOUSE	3.34
15	ATP合成酵素サブユニット $\beta$ 、 ミトコンドリア	sp P56480 ATPB_MOUSE	3.13
16	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、 ミトコンドリア	sp P05202 AATM_MOUSE	11

10

20

30

同定されたタンパク質	アクセッション	アロ/シン比	
<b>小胞体膜</b>			
1	膜貫通タンパク質93	sp Q9CQW0 TMM93_MOUSE	2
2	小胞体-ゴルジ中間区画タンパク質 (endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment)3	sp Q9CQE7 ERGI3_MOUSE	2
3	レチキュロン(reticulon)4	sp Q99P72 RTN4_MOUSE	2
4	特徴決定されていないタンパク質 C12orf41相同体	sp Q8BQR4 CL041_MOUSE	2
5	エルリン(erin)2	sp Q8BFZ9 ERLN2_MOUSE (+1)	2
6	移行型小胞体ATPアーゼ	sp Q01853 TERA_MOUSE	2
7	ドリキル-ジホスホオリゴ糖- タンパク質 グリコシルトランスフェラーゼ サブユニットDAD1	sp P61804 DAD1_MOUSE	2
8	カルネキシン	sp P35564 CALX_MOUSE	2
9	カルメニン(calumenin)	sp O35887 CALU_MOUSE	2
10	小胞結合膜タンパク質 関連タンパク質A	sp Q9WV55 VAPA_MOUSE	3
11	マンノシル-オリゴ糖 グルコシダーゼ	sp Q80UM7 MOGS_MOUSE	3
12	中性 $\alpha$ グルコシダーゼ	sp Q8BHN3 GANAB_MOUSE	3
13	ER01様タンパク質 $\alpha$	sp Q8R180 ERO1A_MOUSE	5
14	UDP-グルコース:糖タンパク質 グリコシルトランスフェラーゼ1	sp Q6P5E4 UGGG1_MOUSE	5
15	プロリル4-ヒドロキシラーゼ サブユニット $\alpha$ -1	sp Q60715 P4HA1_MOUSE	5
16	エポキシドヒドロラーゼ1	sp Q9D379 HYEP_MOUSE	9
17	カルレティキュリン	sp P14211 CALR_MOUSE	14
18	筋小胞体/小胞体カルシウム ATPアーゼ	sp O55143 AT2A2_MOUSE	1.88
19	タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ A4	sp P08003 PDIA4_MOUSE	12
20	タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ	sp P09103 PDIA1_MOUSE	12
21	タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ A3	sp P27773 PDIA3_MOUSE	9
22	タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ A6	sp Q922R8 PDIA6_MOUSE	11
<b>メラノソームおよび小胞の膜</b>			
1	クラスリン重鎖1	sp Q68FD5 CLH_MOUSE	5
2	ペプチジルプロリルシス・トランス イソメラーゼB	sp P24369 PPIB_MOUSE	7

10

20

30

40

同定されたタンパク質	アクセッション	アロ/シン比	
<b>細胞膜</b>			
1	T複合タンパク質(T-complex protein) 1サブユニット $\gamma$	sp P80318 TCPG_MOUSE	2
2	モノカルボン酸トランスポーター4	sp P57787 MOT4_MOUSE	2
3	ニカストリン(nicastrin)	sp P57716 NICA_MOUSE	2
4	ベイシジン	sp P18572 BAS1_MOUSE	2
5	小胞結合膜タンパク質 関連タンパク質A	sp Q9WV55 VAPA_MOUSE	3
6	Fv4由来のレトロウイルス関連 Envポリプロテイン	sp P11370 ENV2_MOUSE	3
7	シナプス小胞膜タンパク質	sp Q62465 VAT1_MOUSE	4
8	4F2細胞表面抗原重鎖	sp P10852 4F2_MOUSE	4
9	$\alpha$ エノラーゼ	sp P17182 ENOA_MOUSE	5
10	インテグリン結合タンパク質キナーゼ	sp O55222 ILK_MOUSE	4
11	膜貫通糖タンパク質NMB	sp Q99P91 GPNMB_MOUSE	6.26
12	MLV関連プロウイルスEnv ポリプロテイン	sp P10404 ENV1_MOUSE	13
13	ER01様タンパク質 $\alpha$	sp Q8R180 ERO1A_MOUSE	5
14	クラスリン重鎖1	sp Q68FD5 CLH_MOUSE	5
15	デスモグレイン1 $\alpha$	sp Q61495 DSG1A_MOUSE (+2)	2.09
16	ナトリウム/カリウム輸送 ATPアーゼサブユニット $\alpha$ -1	sp Q8VDN2 AT1A1_MOUSE	2.50
<b>熱ショックタンパク質およびストレスタンパク質</b>			
1	低酸素上方制御タンパク質 (hypoxia up-regulated protein)1	sp Q9JKR6 HYOU1_MOUSE	2
2	熱ショックタンパク質75kDa、 ミトコンドリア	sp Q9CQN1 TRAP1_MOUSE	3
3	ストレス70タンパク質、ミトコンドリア	sp P38647 GRP75_MOUSE	3.41
4	エンドプラスミンHSP90	sp P08113 ENPL_MOUSE	2.73
5	60kDa熱ショックタンパク質、 ミトコンドリア	sp P63038 CH60_MOUSE	2.09
6	10kDa熱ショックタンパク質、 ミトコンドリア	sp Q64433 CH10_MOUSE	2.34

## 【 0 2 5 4 】

(表3) 濃縮されなかったタンパク質(アロIgGおよびシンIgGによって等しく沈降されたタンパク質)

同定されたタンパク質	アクセッション	アロ/シン比	
<b>ミトコンドリア膜</b>			
1	リン酸キャリアタンパク質、 ミトコンドリア	sp Q8VEM8 MPCP_MOUSE	0.60

同定されたタンパク質		アクセッション	アロ/シン比
2	コハク酸デヒドロゲナーゼ [ユビキノン]フラビントタンパク質 サブユニット、ミトコンドリア	sp Q8K2B3 DHSA_MOUSE	1.34
3	カルシウム結合ミトコンドリア キャリアタンパク質Aralar2	sp Q9QXX4 CMC2_MOUSE	1.11
4	ADP/ATPトランスロカーゼ 2	sp P51881 ADT2_MOUSE	0.86
5	ADP/ATPトランスロカーゼ 1	sp P48962 ADT1_MOUSE	0.65
6	ATP合成酵素サブユニット $\alpha$ 、 ミトコンドリア	sp Q03265 ATPA_MOUSE	0.96
7	ドリキル- ジホスホオリゴ糖-タンパク質 グリコシルトランスフェラーゼ サブユニット1	sp Q91YQ5 RPN1_MOUSE	1.25
8	伸長因子Tu、 ミトコンドリア	sp Q8BFR5 EFTU_MOUSE	0.83
9	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ[NAD] サブユニット $\alpha$ 、ミトコンドリア	sp Q9D6R2 IDH3A_MOUSE	0.83
10	単機能C1- テトラヒドロ葉酸合成酵素、 ミトコンドリア	sp Q3V3R1 C1TM_MOUSE	1.19
11	ペルオキシレドキシニン1	sp P35700 PRDX1_MOUSE	1.39
<b>小胞体膜</b>			
1	DnaJ相同サブファミリーB メンバー11	sp Q99KV1 DJB11_MOUSE	0.63
2	78kDaグルコース調節 タンパク質	sp P20029 GRP78_MOUSE	0.81
3	セルピンH1	sp P19324 SERPH_MOUSE	1.29
4	タンパク質輸送タンパク質Sec61 サブユニット $\beta$	sp Q9CQS8 SC61B_MOUSE	1.25
5	ロイシンリッチリピート含有 タンパク質59	sp Q922Q8 LRC59_MOUSE	0.56
6	タンパク質輸送タンパク質Sec61 1 サブユニット $\alpha$ アイソフォーム1	sp P61620 S61A1_MOUSE	0.93
7	ドリキル- ジホスホオリゴ糖-タンパク質 グリコシルトランスフェラーゼ 48kDaサブユニット	sp O54734 OST48_MOUSE	1.39
8	エストラジオール17- $\beta$ - デヒドロゲナーゼ12	sp O70503 DHB12_MOUSE	0.72
<b>メラノソームおよび小胞の膜</b>			
1	フロチリン2	sp Q60634 FLOT2_MOUSE	0.56
2	カテプシンD	sp P18242 CATD_MOUSE	1.39
3	AP-2複合体サブユニット $\beta$	sp Q9DBG3 AP2B1_MOUSE	0.52
4	AP-2複合体サブユニット $\mu$	sp P84091 AP2M1_MOUSE	1.04

10

20

30

40

同定されたタンパク質		アクセッション	アロ/シン比
5	アネキシンA2	sp P07356 ANXA2_MOUSE	1.25
6	メラノサイトタンパク質PMEL	sp Q60696 PMEL_MOUSE	0.67
<b>細胞膜</b>			
1	デスモプラキン	sp E9Q557 DESP_MOUSE	0.80
2	PDZドメイン	sp Q9Z0G0 GIPC1_MOUSE	0.58
3	接合プラコグロビン	sp Q02257 PLAK_MOUSE	1.11

10

【0255】

**実施例3**

以下の実験方法および結果から、APCに充填するのに用いられたアロ抗体によって認識される抗原とは異なる(充填されたAPCによってT細胞に提示された)抗原をT細胞が認識するという考えを裏付ける証拠が得られる。結果(図11~14)から、この療法は、腫瘍へのCD45+細胞(すなわち、単核白血球)の大量浸潤を誘導し、CD45+細胞の大部分が、活性化されたCD4 T細胞およびCD8 T細胞であることが分かる。結果から、脾臓に由来するCD4 T細胞またはCD8 T細胞がナイーブマウスを腫瘍投与から保護する能力によって示されるように、腫瘍(例えば、脾臓)から離れた部位において、かなりの免疫応答が見られることも分かる。結果から、この応答は、アロIgG+DC刺激を用いた場合に、1種類の腫瘍関連抗原(膜貫通糖タンパク質-MMB)に対するポリクローナル抗体を用いた場合またはDC刺激だけを用いた場合より大きくなることも分かる。

20

【0256】

図10は、皮下に注射し、増殖させた結腸直腸癌(CT26)を、モノクローナルマウス抗マウスMHCクラスI抗体とDC刺激の組み合わせを用いて処置することによって完全な腫瘍退行が生じたことを示す。MHC IはCT26腫瘍細胞上で高発現しているため、この結果は、腫瘍細胞に結合した抗体の全量が抗腫瘍応答の有効性の決定因子であるという仮説と一致している。全身毒性はなかったが、腫瘍の近くに、数日以内に完全に治癒する、かなりの炎症反応はあった。MHCクラスIは多くの腫瘍上で下方制御されており、このため、多くの腫瘍はCD8 T細胞性細胞傷害に対して耐性となっている。DC刺激は、T細胞、おそらく、腫瘍に浸潤し、次いで、IFN $\gamma$ を分泌する他の細胞を活性化することによって、腫瘍上でのMHC I(および/またはII)発現を上方制御した可能性が高い。場合によっては、IFN $\gamma$ そのものをAPC(例えば、DC)刺激物質として使用することができる。場合によっては、(例えば、1種類または複数種のAPC刺激、例えば、1種類または複数種のDC刺激と組み合わせられた)抗MHC-I抗体は、高レベル発現のMHC-Iを欠く腫瘍に対して力強い治療効果をもつことができる。

30

【0257】

図10. モノクローナル同種異系抗MHC I抗体とDC刺激の組み合わせによって完全な腫瘍退行が誘導される。4 × 10<sup>6</sup>個のCT26結腸癌細胞をBalb/cマウスの右側腹部の上方でs.c.注射した。腫瘍が25mm<sup>2</sup>に達したら、無処置で放置したか(白丸)、TNFa+aCD40アゴニスト+同種異系IgG(白四角)、またはTNFa+aCD40アゴニスト+aH-2K<sup>d</sup>IgG(抗MHCクラスI抗体)(黒四角)を腫瘍内注射した。

40

【0258】

図11a~c. 療法後に免疫細胞は腫瘍に浸潤する。マウスに、2 × 10<sup>5</sup>個のB16メラノーマ細胞をs.c.注射し、腫瘍が25mm<sup>2</sup>に達するまで増殖させた。次いで、マウスに、PBS(無処置)、TNFa+aCD40のみ、またはTNFa+aCD40+同種異系IgG(129S1マウス由来)の組み合わせ、またはTNFa+aCD40+膜貫通糖タンパク質-NMB(TG-NMB, GPNMB)に対する抗体を腫瘍内注射した。場合によっては、機能的Fc $\gamma$ 受容体シグナル伝達を欠くマウスにTNFa+aCD40+同種異系IgGを注射した。6日後、腫瘍を切り取り、腫瘍細胞を含む全細胞組成物をフローサイトメトリーによって試験した(n=8)。a.Y軸は、全腫瘍細胞中のCD45細胞%である。b.Y軸は、(

50



来する)は対照として役立つことができる。さらに、市販の静脈内免疫グロブリン(IVIg)の少なくとも2種類の供給源を、これらの結合アッセイ法において試験する。

【0264】

Abと腫瘍細胞との結合およびAPC(例えば、DC)活性化は2つの独立したプロセスである可能性があるため、ヒトAPC(例えば、DC)を活性化する能力をもつヒトアロIgGのサブクラスを同定することができる。全IgG、個々のIgGサブクラスまたはIgMを、新鮮に単離されたNSCLCヒト腫瘍細胞と30分間インキュベートして、アロIgG-ICを形成する。これらの抗体-腫瘍細胞免疫複合体を、アジュバントであるTNF +CD40Lの存在下で、NSCLCの切除を受けた8人の患者に由来する自己由来血液mo-DCと一晩培養する。以下のデータ:1)DC成熟の量または程度、2)DCによるTAA取り込みの量または程度、および3)DCのT細胞刺激能(図4に示した)が得られる。アロIgG-ICがヒトTADCを活性化する能力も調べ、同一の実験を、5人の患者の腫瘍標本から単離し、FACSによって精製したTADC(HLA-DR+CD3-CD19-CD56-CD14-)において行う。1cm<sup>3</sup>腫瘍標本を用いて十分なTADC収率を得ることができ(この収率は約1~5×10<sup>5</sup>個のTADCである)、この腫瘍標本サイズを、ほとんどの切除標本から得ることができる。DC成熟は、HLA-DR(MHC-II)ならびに共刺激分子CD40、CD80、およびCD86の発現によって評価する。DCによるTAAの取り込みは、DCをCFSE標識腫瘍細胞と培養し、フローサイトメトリーを用いてDCにおけるCFSE標識腫瘍タンパク質の取り込みを検出することによって評価する。DCによるT細胞活性化は、アロIgG-ICが充填されたDCを自己由来患者血液CD4 T細胞と培養し、3H-チミジン取り込みによってT細胞増殖を測定することによってアッセイする。対照は自己由来患者Abを含んでもよく、同種異系IgAおよびIgEが腫瘍を結合させることが見出されるかどうか判定するために試験する。さらに、腫瘍結合Abが(低力価で)自己由来血清に存在する可能性は、患者に由来するIgGの10X濃度を用いて作り出されたIgG-ICを試験することによって調べる。

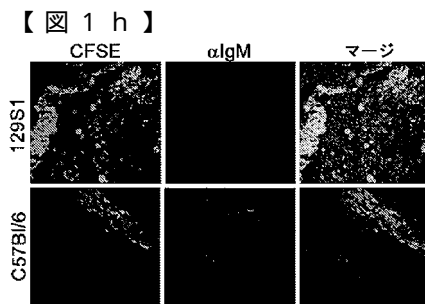
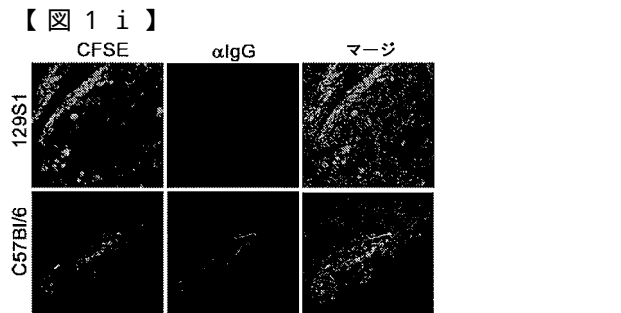
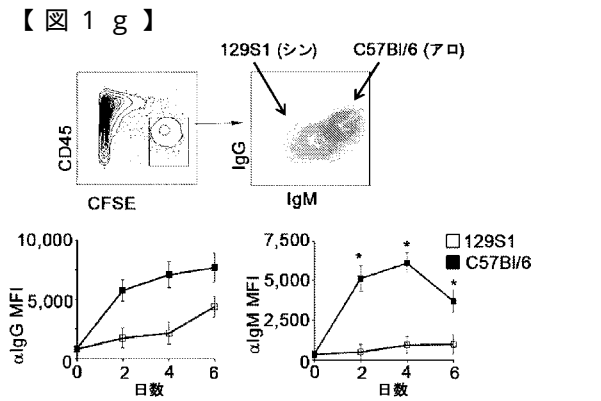
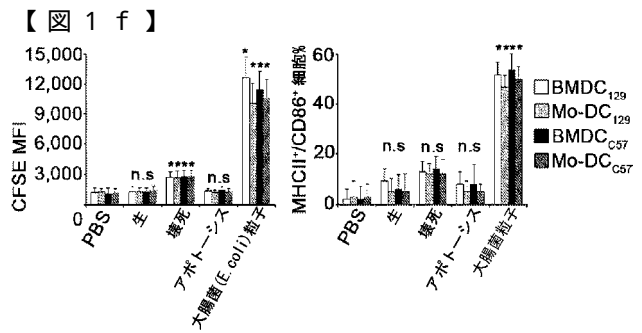
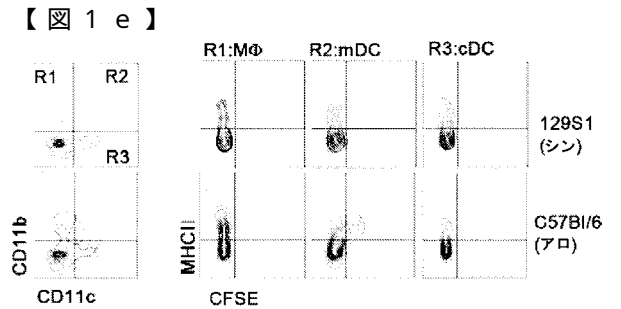
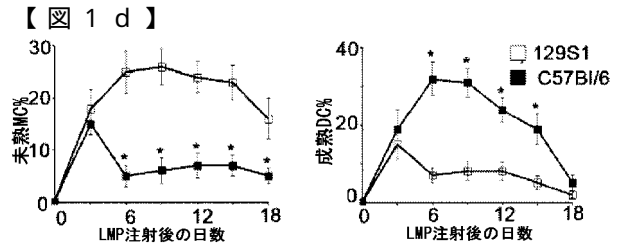
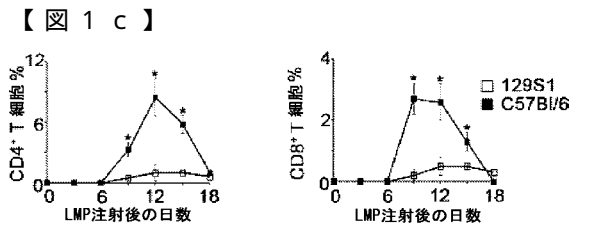
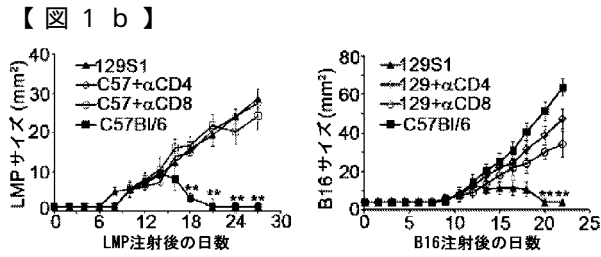
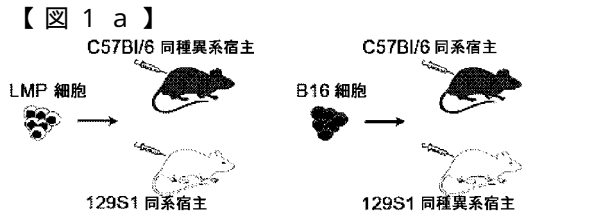
10

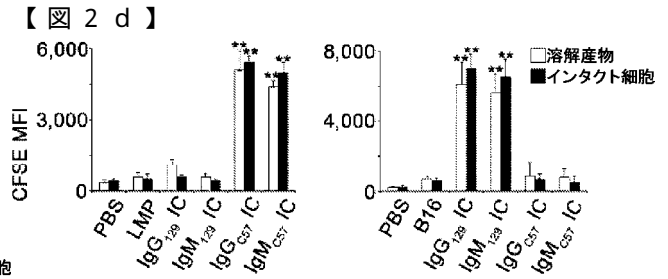
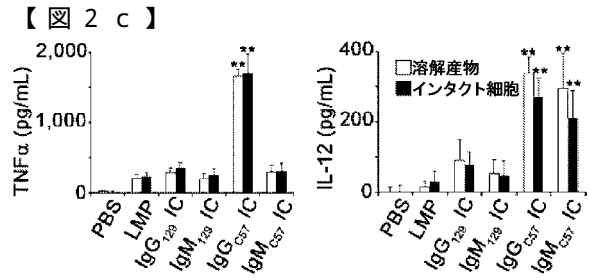
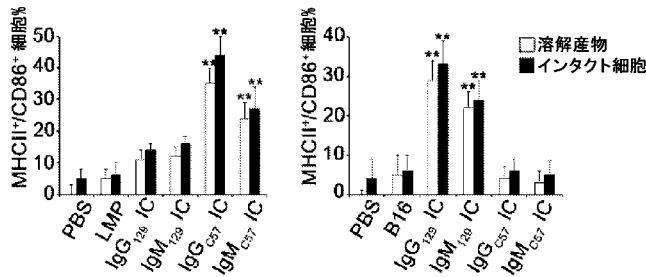
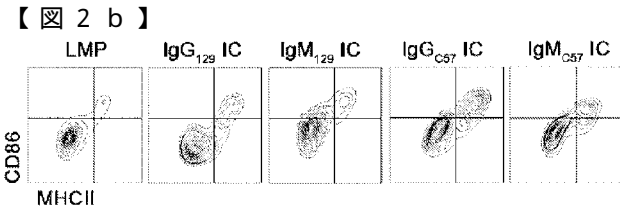
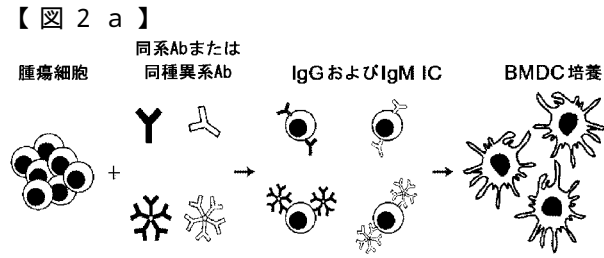
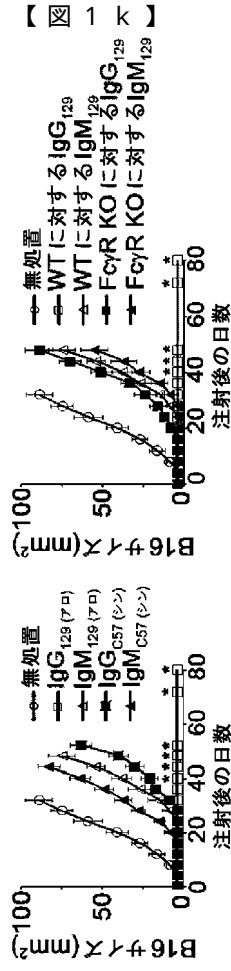
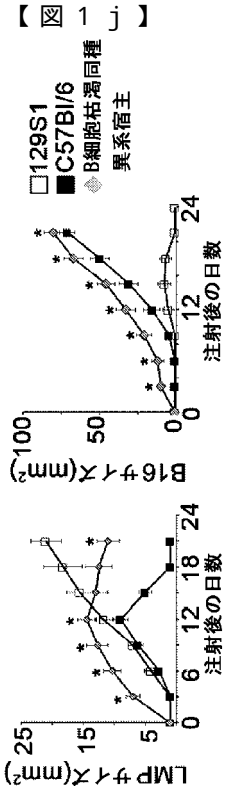
20

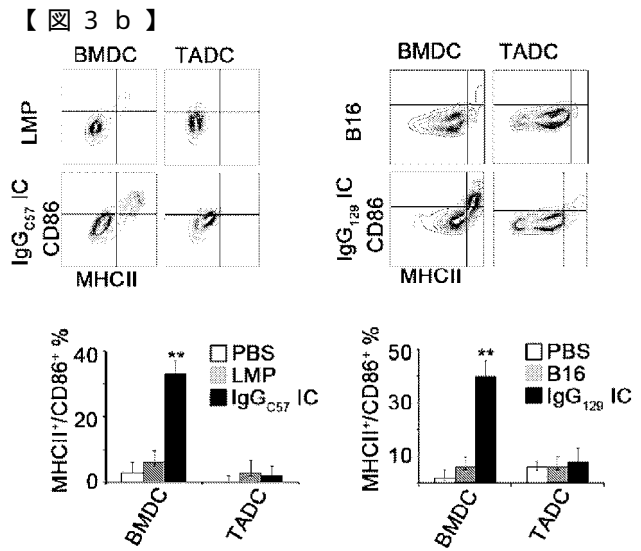
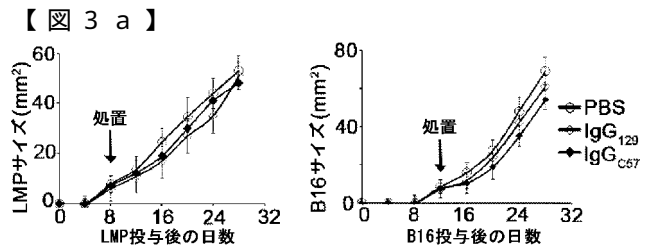
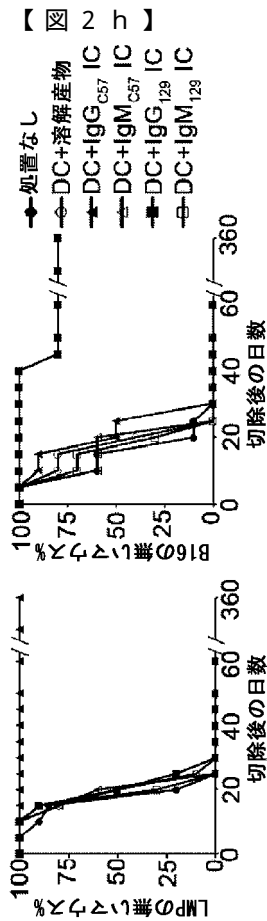
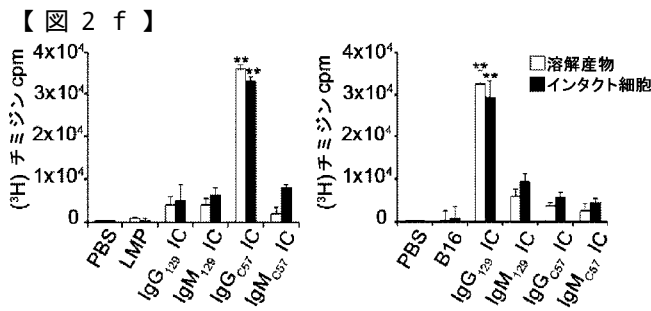
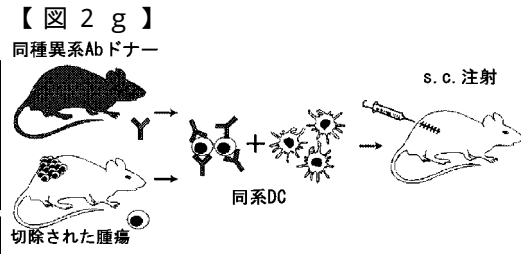
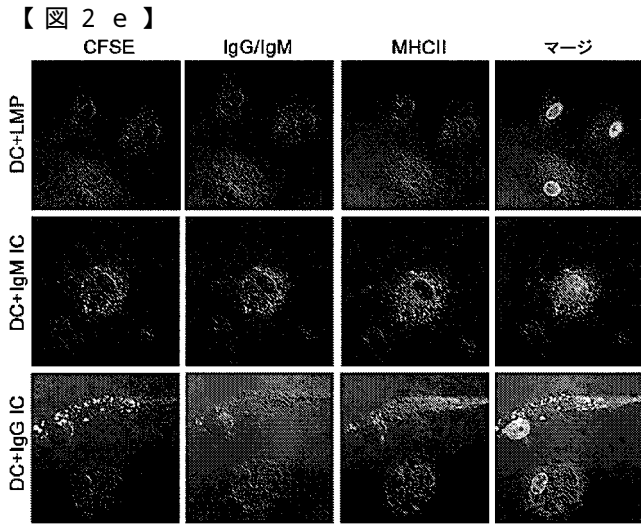
【0265】

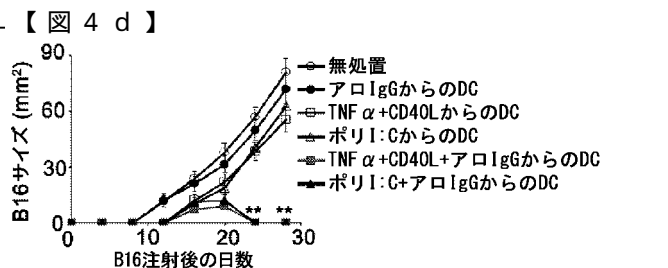
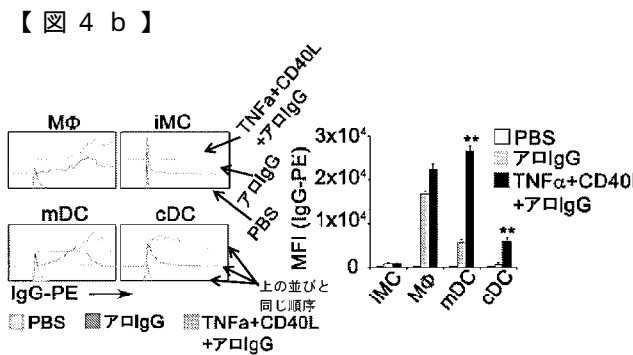
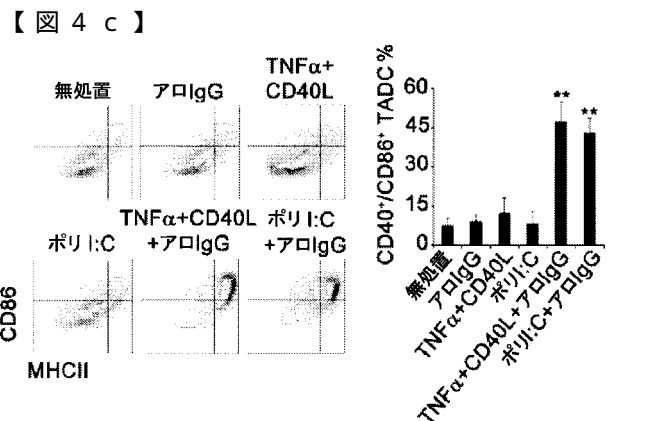
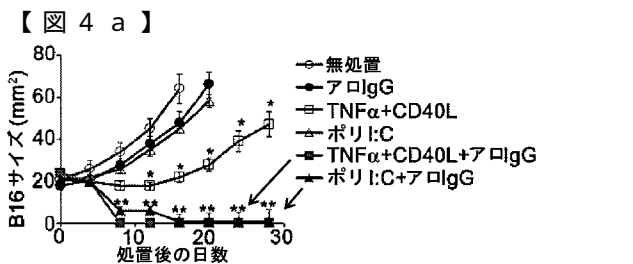
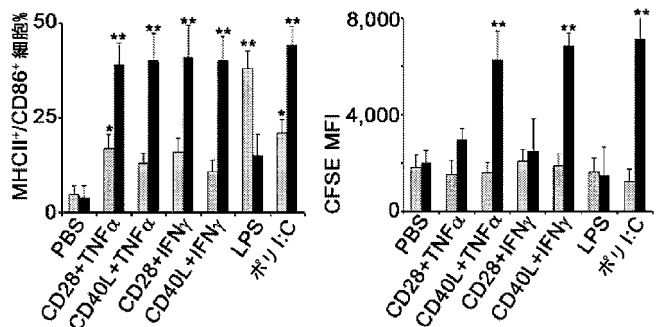
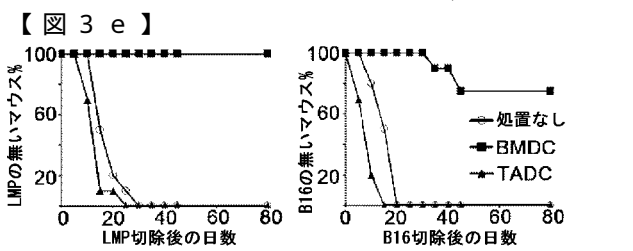
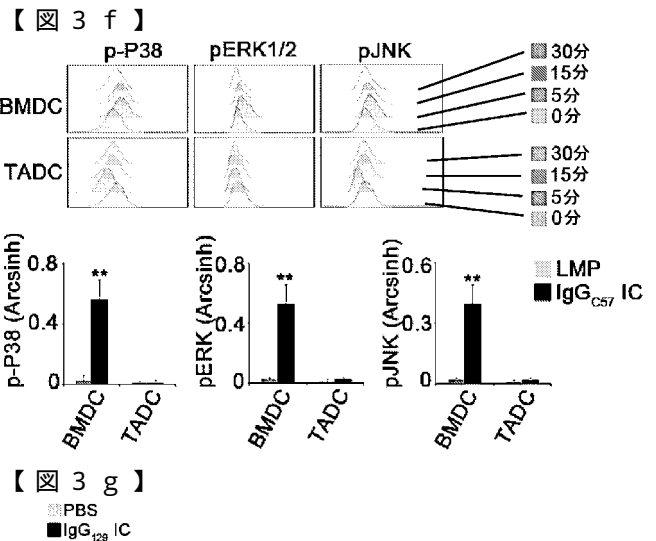
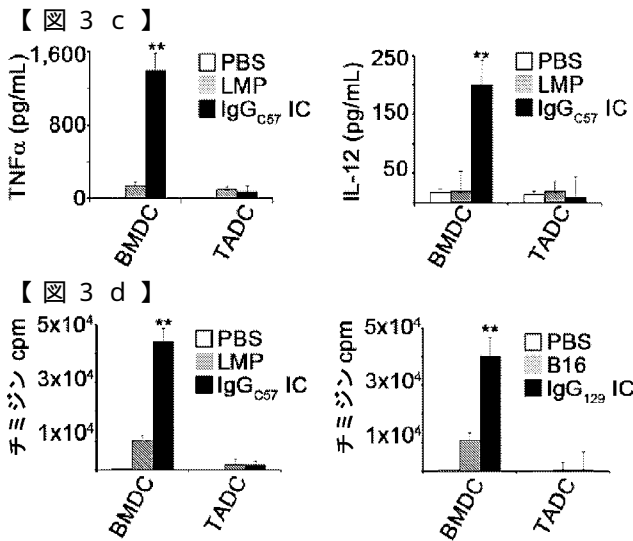
前述したものは本発明の原理の単なる例示である。当業者は、本明細書において明示的に示されても説明されてもいないが、本発明の原理を具体化し、本発明の精神および範囲の中に含まれる様々な配置を考案できることが理解されると考えられる。さらに、本明細書において説明された実施例および条件付きの文言は全て、主として、本発明の原理と、本発明者らが当技術分野の発展に貢献した概念を読者が理解するのを助けることを目的とし、このような具体的に説明された実施例および条件であると解釈しなければならないが、それに限定されるわけではない。さらに、本発明の原理、局面、および態様、ならびにその具体的な実施例を説明する本明細書における文言は全て、その構造的均等物と機能的均等物の両方を包含することを目的とする。さらに、このような均等物は、現在知られている均等物と、将来開発される均等物、すなわち、構造に関係なく同じ機能を果たす開発された任意の要素の両方を含むことが意図される。従って、本発明の範囲は、本明細書において示され、かつ説明された例示的な態様に限定されることが意図されない。もっと正確に言えば、本発明の範囲および精神は、添付の特許請求の範囲によって具体化される。

30

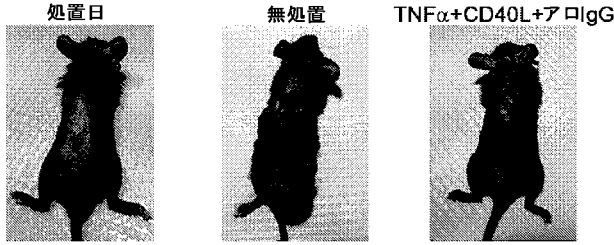
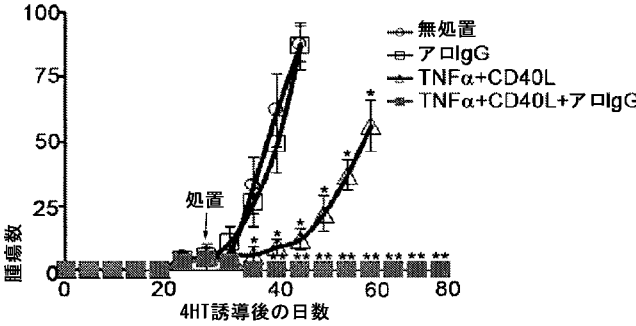




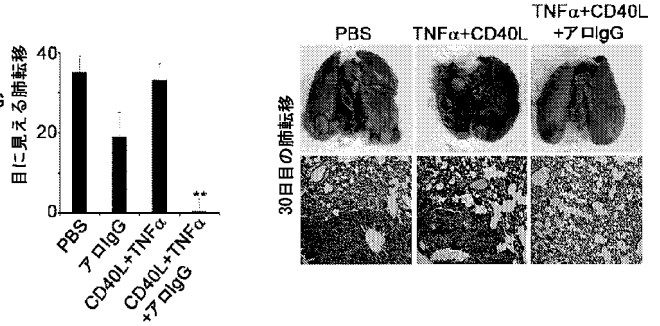




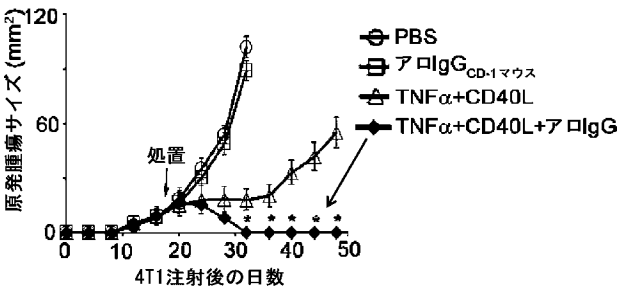
【図 4 e】



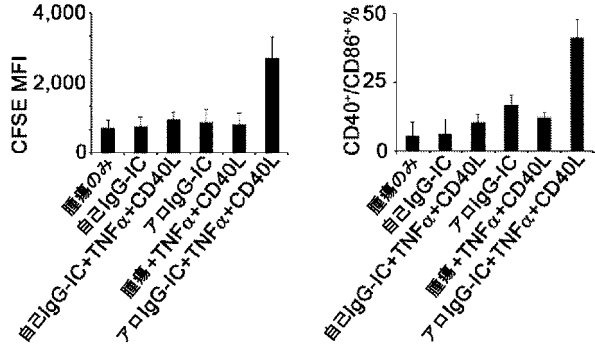
【図 4 g】



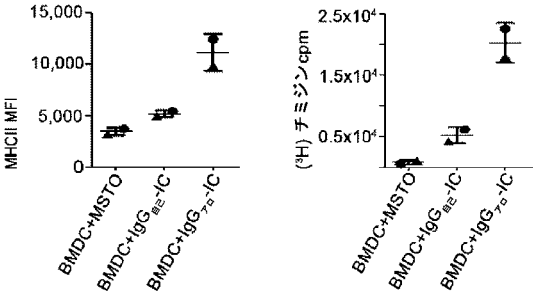
【図 4 f】



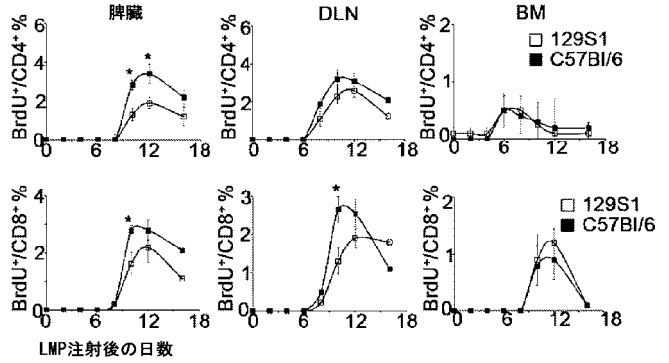
【図 4 h】



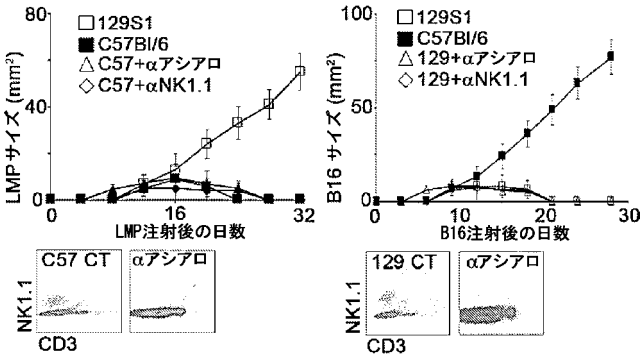
【図 4 i】



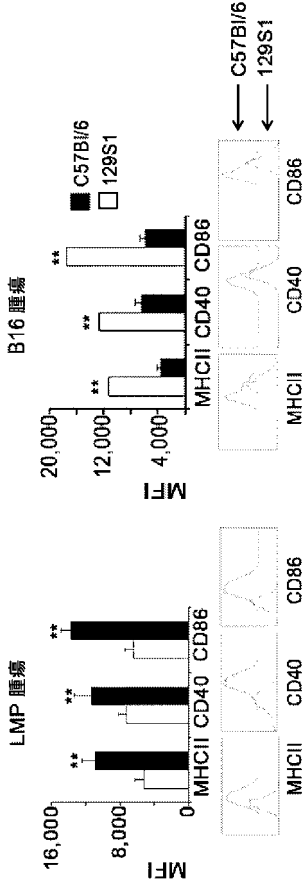
【図 5 b】



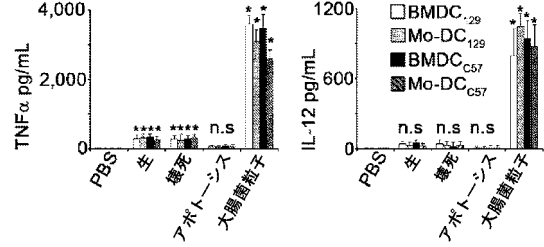
【図 5 a】



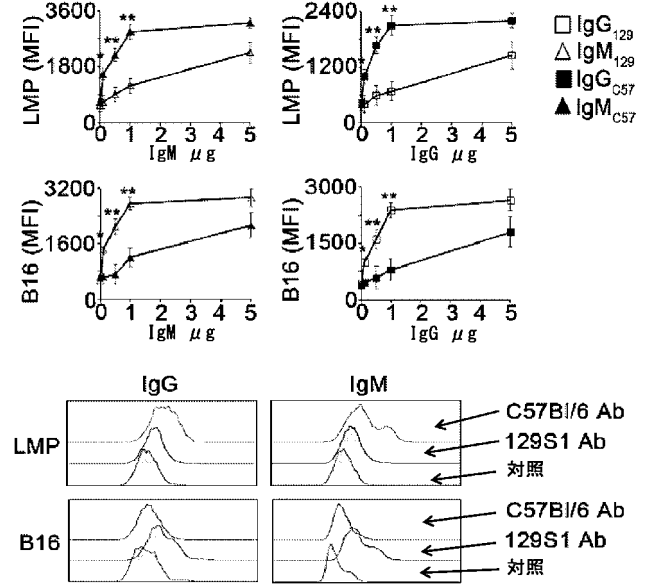
【図 5 c】



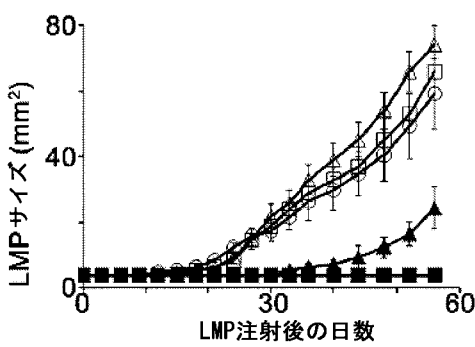
【図 5 d】



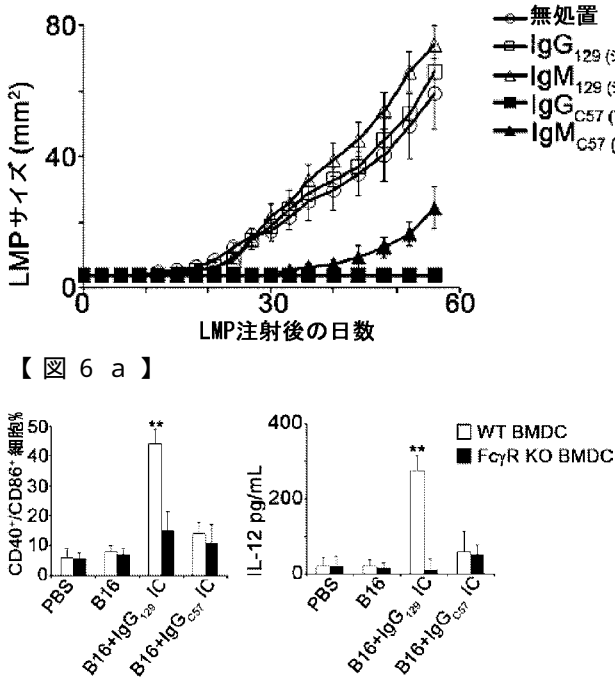
【図 5 e】



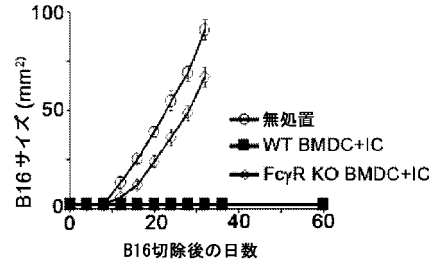
【図 5 f】



【図 6 a】

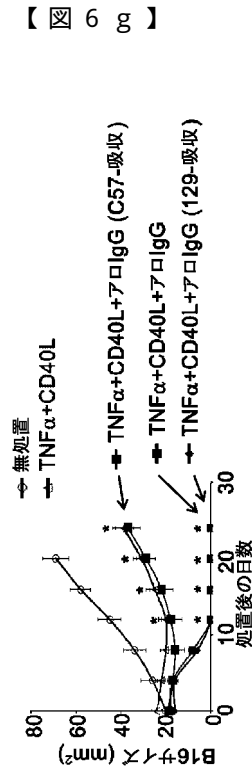
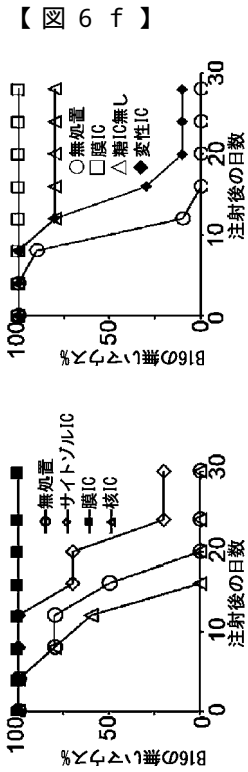
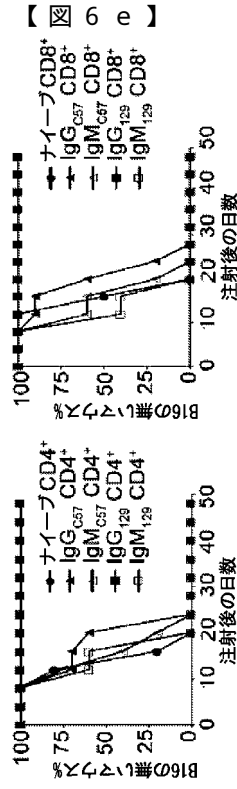
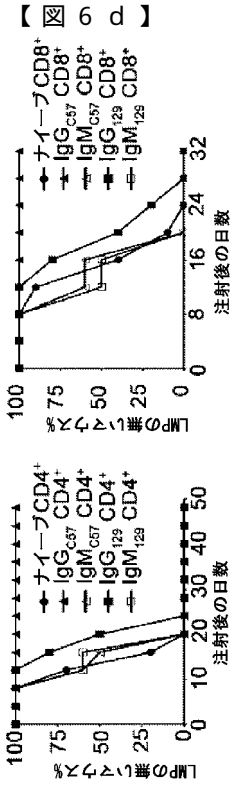


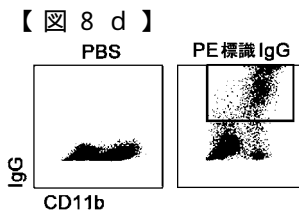
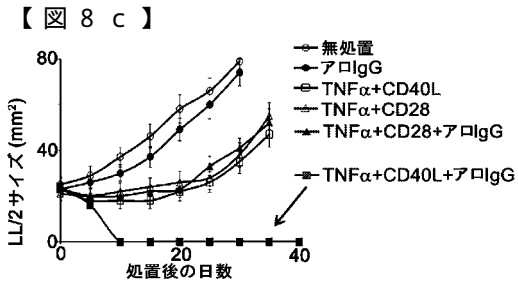
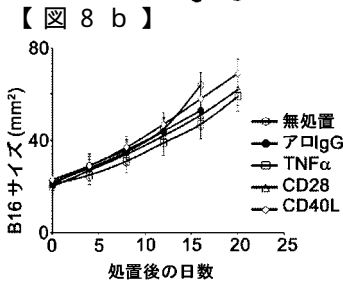
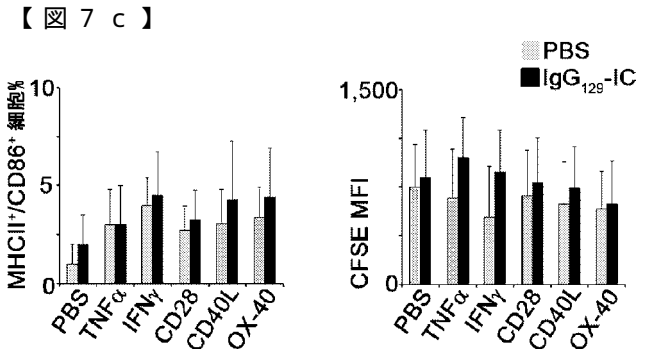
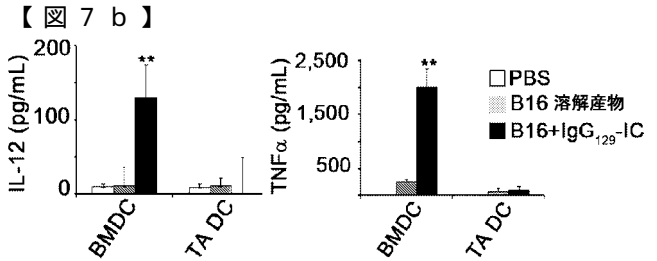
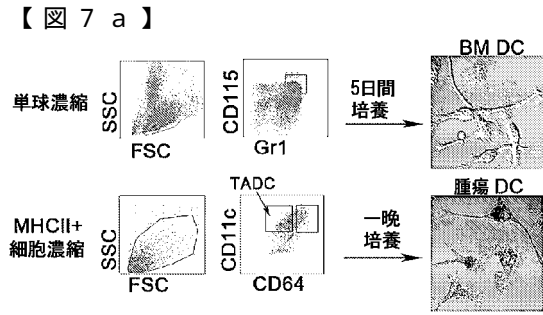
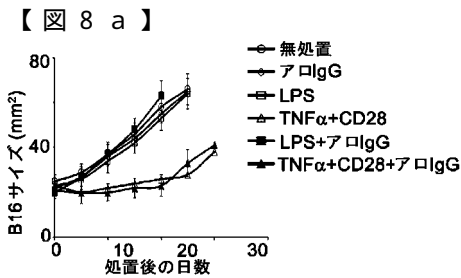
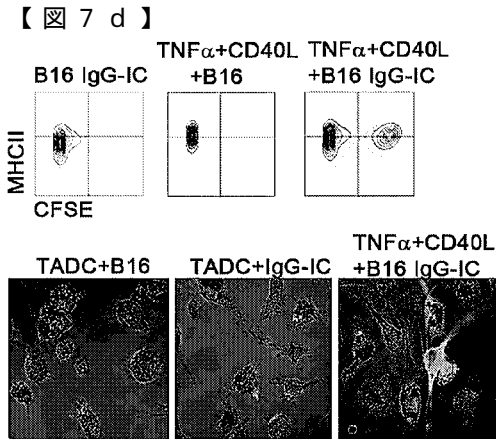
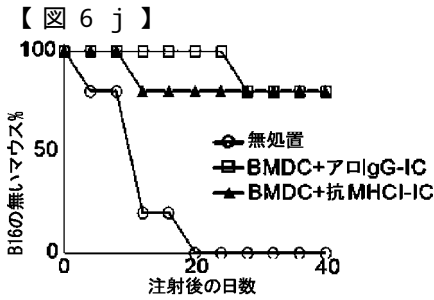
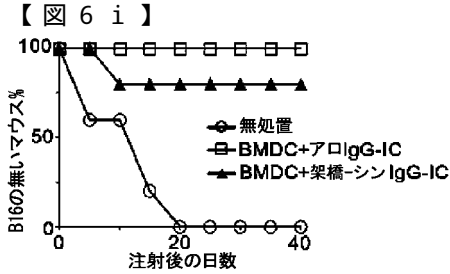
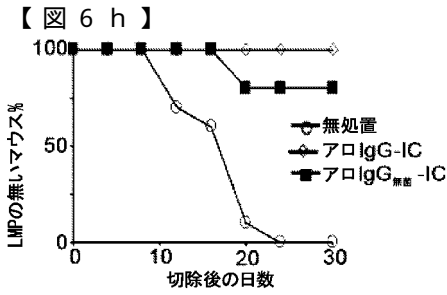
【図 6 b】



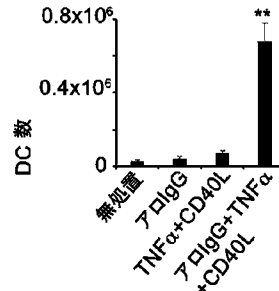
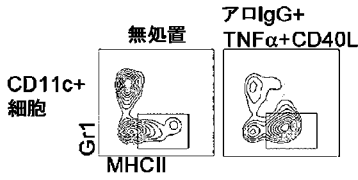
【図 6 c】



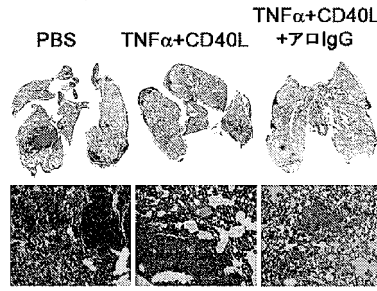




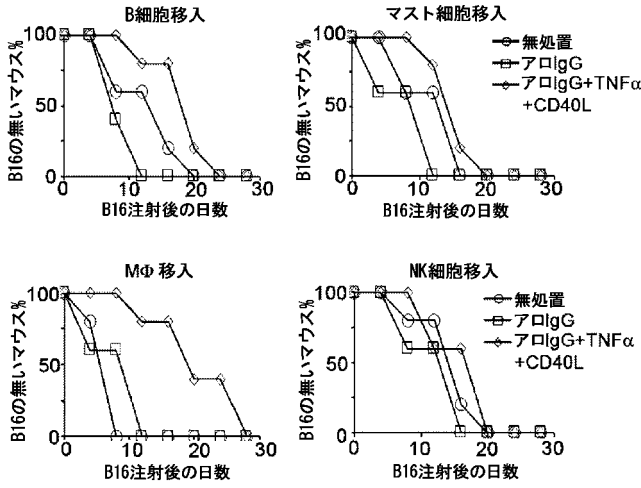
【図 8 e】



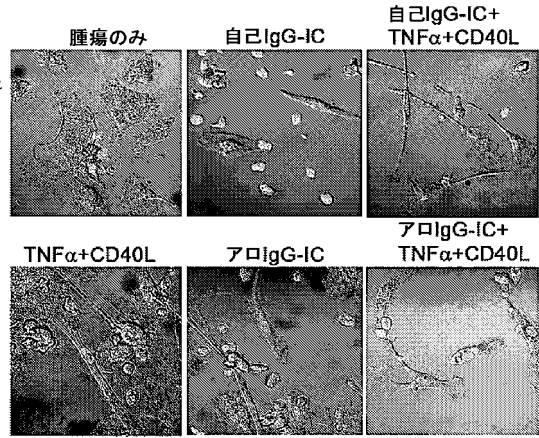
【図 8 g】



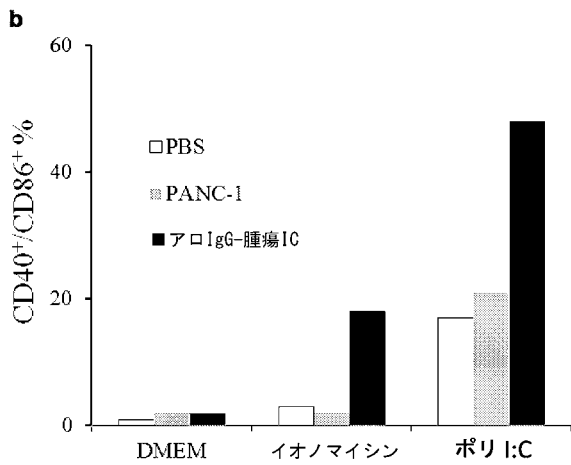
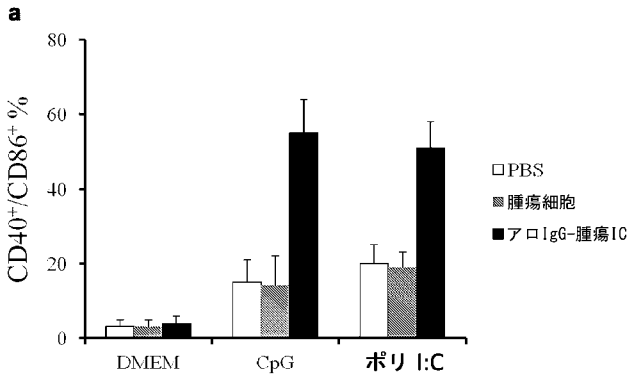
【図 8 f】



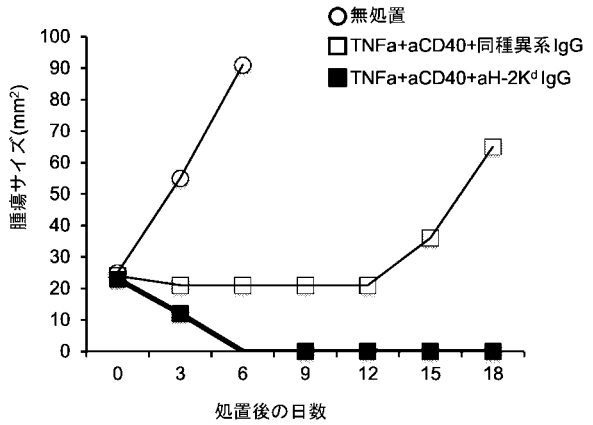
【図 8 h】



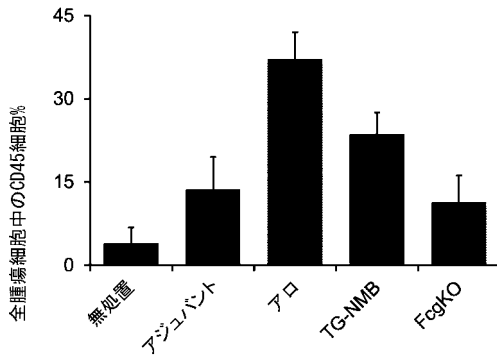
【図 9】



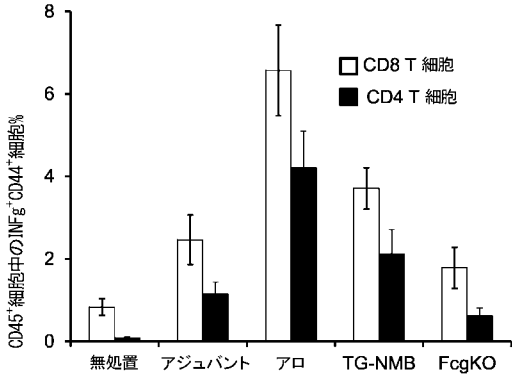
【図 10】



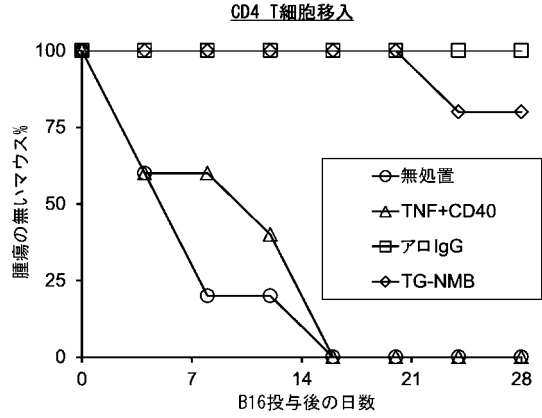
【図 11 a】



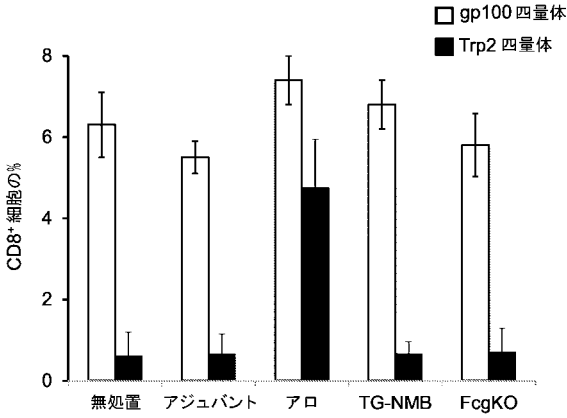
【図 1 1 b】



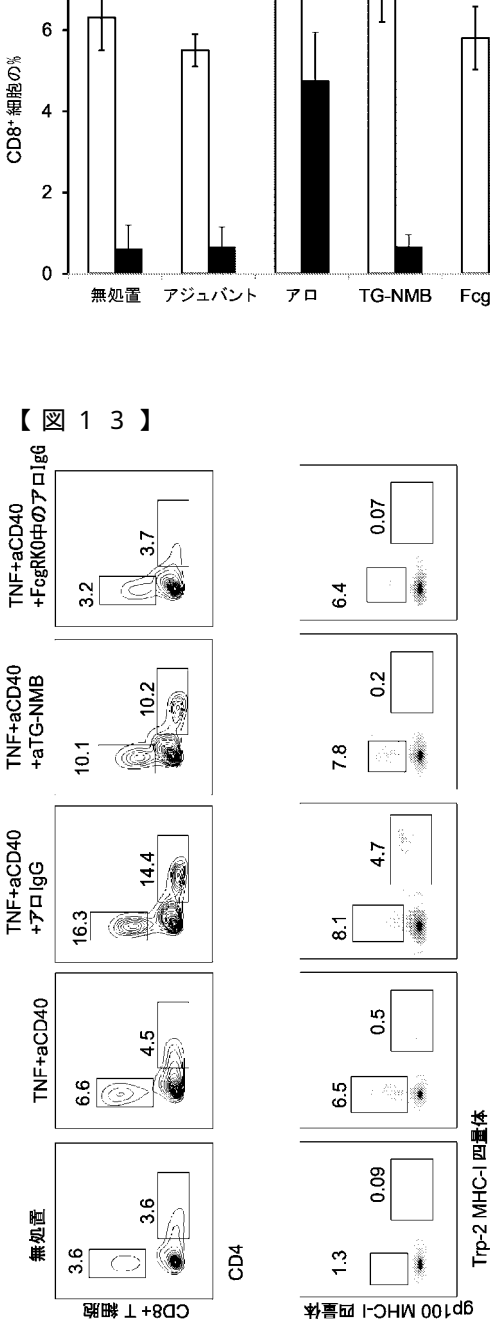
【図 1 2】



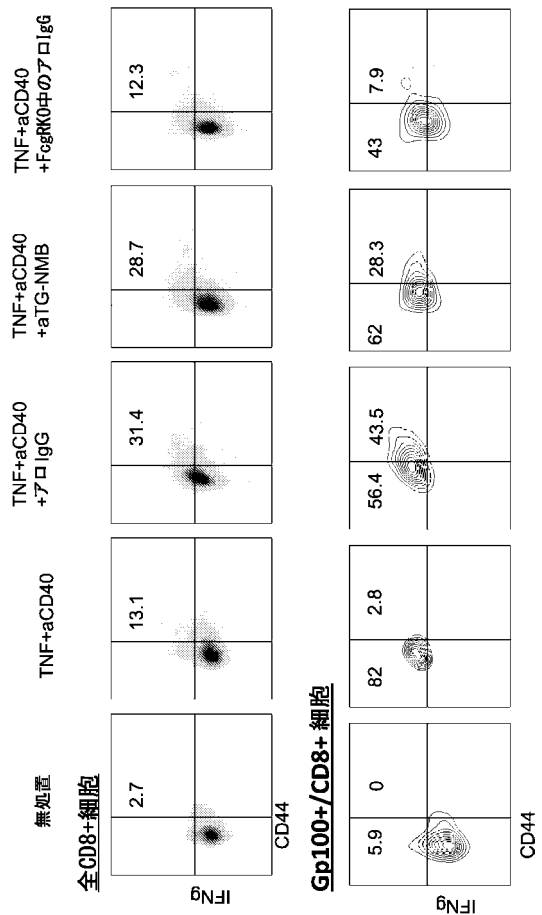
【図 1 1 c】

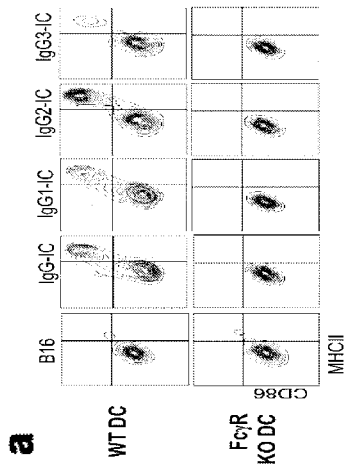
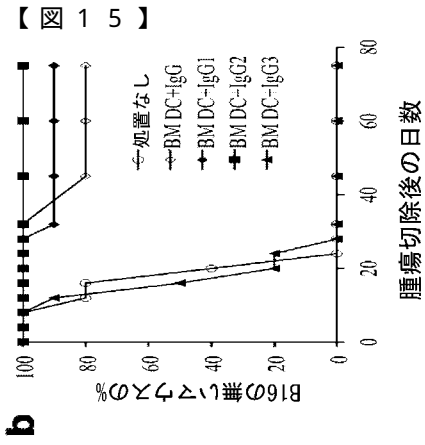


【図 1 3】



【図 1 4】





【手続補正書】  
【提出日】平成28年10月28日(2016.10.28)  
【手続補正1】  
【補正対象書類名】明細書  
【補正対象項目名】配列表  
【補正方法】追加  
【補正の内容】  
【配列表】  
[2017507922000001.app](#)

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 15/12511
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(B) - A61K 39/395, 45/00; C12N 5/00, 5/07, 5/16 (2015.01) CPC - A61K 2039/505, 2039/5152, 38/20, 38/21, 39/00; C07K 16/30; G01N 33/56972 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC.		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) CPC: A61K 2039/505, 2039/5152, 38/20, 38/21, 39/00; C07K 16/30; G01N 33/56972 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched CPC: A61K 2039/505, 2039/5152, 38/20, 38/21, 39/00; C07K 16/30; G01N 33/56972 (text search) USPC: 424/141.1, 85.2, 133.1, 155.1; 435/375, 344, 343.1, 325, 330 (text search) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Electronic data bases: PatBase; Google Scholar; Google Patents Search terms: antitumor immunity, antibody therapy; allogeneic, antigen presenting cell (APC) [includes dendritic cell (DC) macrophages, monocytes, B-cells], CD40, cytotoxic T-lymphocyte (CTL), toll like receptor (TLR) agonist; proinflammatory cytokine, tumor antigen, conjugated an		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X ----	WANG et al. Effective antibody therapy induces host-protective antitumor immunity that is augmented by TLR4 agonist treatment. Cancer Immunol Immunother January 2012 Vol 61 No 1 Pages 49-61. Especially [in NIH Public Access Author's Manuscript]-abstract, pg 2 para 2-3, pg 3 para 1, pg 4 para 6, pg 6 para 3-5, pg 7 para 3, pg 8 para 3, pg 9 para 3.	1-5, 12, 13, 17-21, 24-28, 103, 104, 121, 122, 126-135  14, 22, 23, 29, 40-43, 49-61, 75-79, 83-88, 90-94, 105-107, 110-112, 123, 124
Y	US 2010/0317111 A1 (KEDL et al.) 16 December 2010 (16.12.2010). Especially para [0019]	14, 23, 55, 123, 124
Y	BRUNSWICK et al. Surface immunoglobulin crosslinking activates a tyrosine kinase pathway in B cells that is independent of protein kinase C. Proc Nat Acad Sci 15 February 1991 Vol 88 No 4 Pages 1311-1314. Especially pg 1314 col 1 para 3.	22; 23/22, 54, 55/54, 88
Y	US 2002/0146388 A1 (GILLIES et al.) 10 October 2002 (10.10.2002). Especially para [0008], [0016], [0026].	29, 61
Y	US 2009/0004192 A1 (Pedersen et al.) 01 January 2009 (01.01.2009). Especially para [0021], [0299]	40-43, 49-61, 105-107, 110-112
Y	KALINSKI et al. Dendritic cells in cancer immunotherapy: vaccines and combination immunotherapies. Expert Rev Vaccines March 2013 Vol 12 No 3 Pages 285-295. Especially pg 286 col 1 para 2, pg 287 col 1 para 1, pg 288 col 1 para 2.	75-79, 83-88, 90-94
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 06 July 2015 (06.07.2015)		Date of mailing of the international search report <b>24 JUL 2015</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 15/12511

**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.: 6-11, 15, 16, 30-39, 44-48, 62-74, 80-82, 89, 95-102, 108, 109, 113-120, 125  
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:  
—go to Extra Sheet for continuation—

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

**Remark on Protest**

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 15/12511

-----Continuation of Box III (Lack of Unity of Invention)-----

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 must be paid.

Group I: Claims 1-5, 12-14, 17-29, 75-79, 83-88, 90-94, 128-135, drawn to a method of treating cancer, comprising administering to a subject (i) an antibody composition that comprises an allogeneic IgG (monoclonal) antibody that binds to an antigen of a cancer cell and (ii) a treatment that activates an antigen presenting cell (APC).

Group II: Claims 40-43, 49-61, drawn to a method of treating cancer, comprising administering to a subject (i) an antibody composition that comprises polyclonal allogeneic IgG antibodies that bind a plurality of antigens on a cancer cell and (ii) a treatment that activates an APC.

Group III: Claims 103-107, 110-112, 121-124, 126, 127, drawn to a composition or kit composition comprising (i) an antibody composition comprising an allogeneic IgG antibody that binds to an antigen of a cancer cell; and (ii) an APC stimulatory agent, wherein the APC stimulatory agent.

The inventions listed as Groups I-III 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:

## Special Technical Features:

Groups I and II are methods, not required by Group III.

Group I has the special technical feature of being a singular [monoclonal] antibody that binds to a particular antigen epitope of a cancer cell, not required by Group II.

Group II has the special technical feature of being a polyclonal antibody composition directed to a plurality of antigens on cancer cells, not required by Group I.

## Common Technical Features:

1. Groups I-III share the common technical feature of one or more allogeneic IgG antibodies that binds to one or more antigens of a cancer cell.

2. Groups I-III share the common technical feature of an APC [dendritic cell, macrophage, B-cell] stimulating agent.

3. Groups I and II share the common technical feature of administering a composition of common technical features #1 and #2 to a subject.

Group III is related to Groups I and/or II in that it is a composition that may be used in the methods of Groups I and/or II.

However, said common technical features do not represent a contribution over the prior art and is anticipated by the publication titled "Effective antibody therapy induces host-protective antitumor immunity that is augmented by TLR4 agonist treatment" by WANG et al. (hereinafter "Wang") [published January 2012 in Cancer Immunol Immunother Vol 61 No 1 Pages 49-61].

Concerning common technical features #1, #2 and #3, Wang teaches administering an allogeneic IgG antibody [i.e., humanized monoclonal trastuzumab/herceptin] that binds to an antigen of a cancer cell [i.e. HER2] and (ii) a treatment that activates an antigen presenting cell (APC) [i.e. TLR4 agonist E6020] (abstract; "Here we show that E6020, a toll like receptor-4 (TLR4) agonist effectively boosted the antitumor efficacy of the monoclonal antibody trastuzumab in immunodeficient C57BL/6 SCID mice as well as in C57BL/6 hmHER2 transgenic mice. E6020 and trastuzumab co-treatment resulted in significantly greater inhibition of tumor growth than was observed with either agent individually. Furthermore, mice treated with the combination of trastuzumab and the TLR4 agonist were protected against rechallenge with human HER2 transfected tumor cells in hmHER2 transgenic mouse strains"; pg 6 para 3; The efficacy of trastuzumab has been shown to be dependent on the presence of Fc gamma R [6]. E6020 is an LPS derivative with potent agonistic activity through the TLR4 signaling pathway. TLR4 is predominantly expressed on the cells of the innate immune system, including monocytes/macrophages, dendritic cells and neutrophils, all of which are Fc receptor-bearing cells"; pg 2 para 2- "Human HER2 was selected as a model antigen for our studies, since it is a well-known breast tumor-associated antigen that has been successfully targeted for immunotherapy of human breast cancer"). As the common technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered common special technical features that would otherwise unify the groups. The inventions lack unity with one another.

Therefore, Groups I-III lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H 4 C 0 8 7
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/4738 (2006.01)	A 6 1 K 31/4738	
A 6 1 K 31/708 (2006.01)	A 6 1 K 31/708	
A 6 1 K 31/739 (2006.01)	A 6 1 K 31/739	
A 6 1 K 31/683 (2006.01)	A 6 1 K 31/683	
A 6 1 K 9/50 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 9/51 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 9/127 (2006.01)	A 6 1 K 9/50	
A 6 1 K 35/16 (2015.01)	A 6 1 K 9/51	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 9/127	
A 0 1 K 67/027 (2006.01)	A 6 1 K 35/16	Z
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 K 14/52 (2006.01)	A 0 1 K 67/027	
C 0 7 K 14/525 (2006.01)	C 0 7 K 16/30	
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 14/52	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 14/525	
C 0 7 K 16/42 (2006.01)	C 0 7 K 14/54	
C 1 2 N 5/0784 (2010.01)	C 0 7 K 19/00	
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	C 0 7 K 16/42	
C 1 2 N 5/0786 (2010.01)	C 1 2 N 5/0784	
C 1 2 N 5/09 (2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 1 2 N 5/0781 (2010.01)	C 1 2 N 5/0786	
	A 6 1 K 39/395	T
	C 1 2 N 5/09	
	C 1 2 N 5/0781	

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

- (74) 代理人 100160923  
弁理士 山口 裕孝
- (74) 代理人 100119507  
弁理士 刑部 俊
- (74) 代理人 100142929  
弁理士 井上 隆一
- (74) 代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光
- (74) 代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一
- (74) 代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707  
 弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340  
 弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889  
 弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072  
 弁理士 川本 和弥

(72)発明者 エングルマン エドガー ジョージ  
 アメリカ合衆国 9 4 3 0 4 カリフォルニア州 パロアルト ヒルビュー アベニュー 3 3 7  
 3

(72)発明者 カルミ ヤロン  
 アメリカ合衆国 9 4 3 0 4 カリフォルニア州 パロアルト ヒルビュー アベニュー 3 3 7  
 3

F ターム(参考) 4B065 AA91X AA92X AA93X AA94X AC12 AC20 BB19 CA24 CA44  
 4C076 AA19 AA61 AA65 AA95 CC07 CC41 EE41  
 4C084 AA02 AA19 BA34 BA36 BA44 DA01 DA12 DA13 DA14 DA15  
 DA16 DA18 DA22 DA23 DA24 DA25 NA05 NA14 ZB092 ZB261  
 ZB262  
 4C085 AA13 AA14 AA33 AA34 BB01 BB12 BB13 BB17 BB23 BB24  
 BB36 CC13 CC21  
 4C086 AA01 AA02 CB05 DA41 EA16 EA18 MA01 MA04 NA14 ZB02  
 ZB09 ZB26  
 4C087 AA01 AA02 BB35 DA26 NA14 ZB09 ZB26  
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA40 BA41 CA40 CA42 DA01 DA02  
 DA05 DA14 DA50 DA75 DA76 DA86 EA22 EA28 FA71 FA74