

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-504496

(P2025-504496A)

(43)公表日 令和7年2月12日(2025.2.12)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	Z N A 4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 C 0 7 6
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z 4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全61頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-543357(P2024-543357)	(71)出願人	523203056
(86)(22)出願日	令和5年1月17日(2023.1.17)		石 薬 集 団 巨 石 生 物 制 薬 有 限 公 司
(85)翻訳文提出日	令和6年7月22日(2024.7.22)		中 華 人 民 共 和 国 0 5 0 0 2 5 河 北 省 石 家 庄 市 高 新 区 倉 盛 路 5 1 9 号
(86)国際出願番号	PCT/CN2023/072527	(74)代理人	110000338
(87)国際公開番号	WO2023/143227		弁 理 士 法 人 H A R A K E N Z O W O R L D P A T E N T & T R A D E M A R K
(87)国際公開日	令和5年8月3日(2023.8.3)	(72)発明者	丁 煥 弟
(31)優先権主張番号	202210098976.1		中 華 人 民 共 和 国 0 5 0 0 2 5 河 北 省 石 家 庄 市 高 新 区 倉 盛 路 5 1 9 号
(32)優先日	令和4年1月25日(2022.1.25)	(72)発明者	惠 希 武
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		中 華 人 民 共 和 国 0 5 0 0 2 5 河 北 省 石 家 庄 市 高 新 区 倉 盛 路 5 1 9 号
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV)		最 終 頁 に 続 く

(54)【発明の名称】 抗 C D 7 3 抗体及び使用

(57)【要約】

本願は、新しい抗CD73抗体及びその使用に関する。上記抗CD73抗体は、腫瘍、特に腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73+) を発現する腫瘍の治療に使用できる。







番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号13に示される配列であるか又は配列番号13に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、そのうち、HCDR及びLCDR配列はKabatに基づいて定義される、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分。

10

【請求項2】

前記重鎖可変領域は、配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列又は配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する、請求項1に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分。

【請求項3】

前記軽鎖可変領域は、配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列又は配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する、請求項1又は2に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分。

20

【請求項4】

重鎖可変領域配列は配列番号4に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号8に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号18に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号33に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号18に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号34に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号19に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号33に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号19に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号34に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号20に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号33に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号20に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号34に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号22に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号33に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号22に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号34に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号24に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号33に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号24に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号34に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号12に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号16に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号25に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号

30

40

50

36に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号25に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号37に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号25に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号38に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号26に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号36に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号26に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号37に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号26に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号38に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号28に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号36に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号28に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号37に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号28に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号38に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号29に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号36に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号29に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号37に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号29に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号38に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号31に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号36に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号31に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号37に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号31に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号38に示される配列である、

請求項1～3の何れか一項に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分。 10

20

30

【請求項5】

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分であって、

前記重鎖可変領域は、配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列又は配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及び/又は

前記軽鎖可変領域は、配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列又は配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する、

抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分。 40

【請求項6】

重鎖CDR1 (HCDR1)、重鎖CDR2 (HCDR2) 及び重鎖CDR3 (HCDR3) を含む重鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分であって、

(1) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号2に示される配列であるか又は配列番号2に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配

50

列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(2) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号17に示される配列であるか又は配列番号17に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(3) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号21に示される配列であるか又は配列番号21に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(4) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号23に示される配列であるか又は配列番号23に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(5) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号10に示される配列であるか又は配列番号10に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(6) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号27に示される配列であるか又は配列番号27に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(7) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、

そのうち、HCDR配列はKabatに基づいて定義される、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分。

【請求項7】

軽鎖CDR1(LCDR1)、軽鎖CDR2(LCDR2)及び軽鎖CDR3(LCDR3)を含む軽鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分であって、

(1) LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号6に示される配列であるか又は配列番号6に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(2) LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列

10

20

30

40

50

と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号32に示される配列であるか又は配列番号32に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(3) LCDR1の配列は配列番号13に示される配列であるか又は配列番号13に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(4) LCDR1の配列は配列番号35に示される配列であるか又は配列番号35に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、

そのうち、LCDR配列はKabatに基づいて定義される、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分。

#### 【請求項8】

前記抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、ヒトCD73に結合し、及び/又は前記抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、ADCC活性を有し、及び/又は前記抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、CDC活性を有し、及び/又は前記抗CD73抗体は、完全抗体、単鎖抗体(scFv)、scFv-Fc、二重特異性抗体又は多重特異性抗体であり、及び/又は前記抗CD73抗体の抗原結合部分は、Fab、Fab'、Fv若しくはF(ab')<sub>2</sub>であり、及び/又は

前記抗CD73抗体は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体又は完全ヒト抗体であり、及び/又は

前記抗CD73抗体は、モノクローナル抗体であり、及び/又は

前記抗CD73抗体は、IgG1、IgG2若しくはIgG4アイソタイプであり、及び/又は

前記抗CD73抗体は、アイソフォーム若しくはアイソフォームの軽鎖定常領域を含み、及び/又は

前記抗CD73抗体は、ヒトIgG1重鎖定常領域及びヒト軽鎖定常領域を含み、及び/又は前記抗CD73抗体は、野生型Fc領域を含み、及び/又は

前記抗CD73抗体は、前記抗体がADCC及び/又はCDC効果の低減を有するように工学的に改変されたFc領域を含み、例えば、前記抗体はヒトIgG1重鎖定常領域を有すると共に、L234、L235、P329、P331のうちの1つ又は複数の部位の突然変異、例えば、L234A、L235A、P329A、P331Sのうちの1種又は複数種の突然変異を含み、そのうち、残基番号付けはEU番号付けシステムに従う、

請求項1～7の何れか一項に記載の抗体若しくはその抗原結合部分。

#### 【請求項9】

前記抗体は、配列番号20に示される重鎖可変領域、配列番号33に示される軽鎖可変領域、配列番号39に示される重鎖定常領域及び配列番号40に示される軽鎖定常領域を有する、

請求項1～8の何れか一項に記載の抗体若しくはその抗原結合部分。

#### 【請求項10】

前記抗体は、配列番号31に示される重鎖可変領域、配列番号38に示される軽鎖可変領域、配列番号39に示される重鎖定常領域及び配列番号40に示される軽鎖定常領域を有する、

10

20

30

40

50

請求項 1 ~ 8 の何れか一項に記載の抗体若しくはその抗原結合部分。

【請求項 1 1】

医療療法に使用される、

請求項 1 ~ 1 0 の何れか一項に記載の抗体若しくはその抗原結合部分。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 1 1 の何れか一項に記載の抗 CD73 抗体若しくはその抗原結合部分をコードする、  
分離された核酸分子。

【請求項 1 3】

請求項 1 2 に記載の核酸分子を含む、  
ベクター。

【請求項 1 4】

請求項 1 2 に記載の核酸分子又は請求項 1 3 に記載のベクターを含む、  
宿主細胞。

【請求項 1 5】

治療剤とカップリングされた請求項 1 ~ 1 1 の何れか一項に記載の抗 CD73 抗体若しくはその抗原結合部分を含む、  
抗体薬物複合体。

【請求項 1 6】

前記治療剤は、細胞毒性薬物、免疫増強剤又は放射性同位体などの抗腫瘍薬物である、  
請求項 1 5 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 1 7】

請求項 1 ~ 1 1 の何れか一項に記載の抗 CD73 抗体若しくはその抗原結合部分或いは請求項 1 5 若しくは 1 6 に記載の抗体薬物複合体、及び薬学的に許容されるベクターを含む、  
医薬組成物。

【請求項 1 8】

個体における腫瘍、特に腫瘍細胞の表面に CD73 (CD73<sup>+</sup>) を発現する腫瘍の治療に  
使用される、  
請求項 1 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

前記腫瘍は固形腫瘍である、  
請求項 1 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

前記腫瘍は悪性腫瘍である、  
請求項 1 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 1】

前記腫瘍は癌である、  
請求項 1 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

前記腫瘍は、卵巣癌、乳癌、黒色腫、結腸直腸癌、胃癌、腎臓癌、前立腺癌、膵臓癌、  
食道癌、頭頸部癌、甲状腺癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、結腸癌、肝臓癌、腹膜癌、肝細胞癌、  
神経膠芽腫、尿路癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、扁平上皮癌、外陰癌、  
肛門癌、陰茎癌、脳癌、リンパ腫 (B 細胞リンパ腫など)、白血病、及び前記腫瘍の  
転移巣から選ばれる、  
請求項 1 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

免疫チェックポイント阻害剤、A2AR拮抗剤又はSTAT-3阻害剤と組み合わせて前記腫瘍を治療するために使用される、  
請求項 1 8 ~ 2 2 の何れか一項に記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 2 4】

前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体若しくは抗CTLA4抗体である、  
請求項 2 3 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 2 5】

前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である、  
請求項 2 3 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 2 6】

個体における腫瘍、特に腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73+) を発現する腫瘍を治療するための薬物の製造における、請求項 1 ~ 1 1 の何れか一項に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分、請求項 1 2 に記載の核酸分子、請求項 1 3 に記載のベクター、請求項 1 4 に記載の宿主細胞或いは請求項 1 5 若しくは 1 6 に記載の抗体薬物複合体の使用。 10

## 【請求項 2 7】

前記腫瘍は固形腫瘍である、  
請求項 2 6 に記載の使用。

## 【請求項 2 8】

前記腫瘍は悪性腫瘍である、  
請求項 2 6 に記載の使用。

## 【請求項 2 9】

前記腫瘍は癌である、  
請求項 2 6 に記載の使用。 20

## 【請求項 3 0】

前記腫瘍は、卵巣癌、乳癌、黒色腫、結腸直腸癌、胃癌、腎臓癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、頭頸部癌、甲状腺癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、結腸癌、肝臓癌、腹膜癌、肝細胞癌、神経膠芽腫、尿路癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、扁平上皮癌、外陰癌、肛門癌、陰茎癌、脳癌、リンパ腫 (B細胞リンパ腫など)、白血病、及び前記腫瘍の転移巣から選ばれる、  
請求項 2 6 に記載の使用。

## 【請求項 3 1】

前記薬物は、免疫チェックポイント阻害剤、A2AR拮抗剤又はSTAT-3阻害剤と組み合わせて前記腫瘍を治療するために使用される、  
請求項 2 6 ~ 3 0 の何れか一項に記載の使用。 30

## 【請求項 3 2】

前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体若しくは抗CTLA4抗体である、  
請求項 3 1 に記載の使用。

## 【請求項 3 3】

前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である、  
請求項 3 1 に記載の使用。 40

## 【請求項 3 4】

個体における腫瘍、特に腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73+) を発現する腫瘍を治療する方法であって、  
治療有効量の請求項 1 ~ 1 1 の何れか一項に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分、請求項 1 5 若しくは 1 6 に記載の抗体薬物複合体或いは請求項 1 7 に記載の医薬組成物を前記個体に投与することを含む、  
方法。

## 【請求項 3 5】

前記腫瘍は固形腫瘍である、  
請求項 3 4 に記載の方法。 50

## 【請求項 36】

前記腫瘍は悪性腫瘍である、  
請求項 34 に記載の方法。

## 【請求項 37】

前記腫瘍は癌である、  
請求項 34 に記載の方法。

## 【請求項 38】

前記腫瘍は、卵巣癌、乳癌、黒色腫、結腸直腸癌、胃癌、腎臓癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、頭頸部癌、甲状腺癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、結腸癌、肝臓癌、腹膜癌、肝細胞癌、神経膠芽腫、尿路癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、扁平上皮癌、外陰癌、肛門癌、陰茎癌、脳癌、リンパ腫（B細胞リンパ腫など）、白血病、及び前記腫瘍の転移巣から選ばれる、  
請求項 34 に記載の方法。

10

## 【請求項 39】

前記腫瘍を治療するために、前記抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分、抗体薬物複合体或いは医薬組成物を免疫チェックポイント阻害剤、A2AR拮抗剤又はSTAT-3阻害剤と組み合わせて前記個体に投与することを更に含む、  
請求項 34 ~ 38 の何れか一項に記載の方法。

## 【請求項 40】

前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体若しくは抗CTLA4抗体である、  
請求項 39 に記載の方法。

20

## 【請求項 41】

前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である、  
請求項 39 に記載の方法。

## 【請求項 42】

請求項 1 ~ 11 の何れか一項に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分及び検出可能な標識物を含む、  
複合体。

## 【請求項 43】

請求項 1 ~ 11 の何れか一項に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を含む、  
融合タンパク質。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## [関連出願の参照]

本願は、2022年1月25日に提出された中国特許出願第202210098976.1号の優先権を主張し、全ての目的のために、その全体は参照により本明細書に組み込まれる。

## 【0002】

## [技術分野]

本願は、概して生物製薬分野に関する。具体的には、本願は、新しい抗CD73抗体若しくはその抗原結合断片、上記抗体若しくはその抗原結合断片を含む医薬組成物及び上記抗体若しくはその抗原結合断片の医学的使用に関する。

40

## 【背景技術】

## 【0003】

CD73は、NT5E遺伝子によってコードされる細胞外-5'-ヌクレオチダーゼであり、N末端及びC末端の2つの部分を含み、グリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)を介して細胞膜の外表面に固定されてホモ二量体を形成する。CD73は、ヒト内皮細胞、リンパ球などの細胞の表面に広く発現されている。胃癌、腎臓癌、前立腺癌、乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、非小細胞腺癌などの様々な腫瘍組織に高発現され、且つ予後不

50

良を示唆する。CD73は、細胞外アデノシンーリン酸（AMP）をアデノシンに加水分解することができる。アデノシンは、機能的に強力な免疫阻害性分子であり、保護的免疫細胞（エフェクターT細胞、NK細胞、DC及びB細胞など）の機能を阻害すると同時に、調節的免疫細胞（Treg、MDSC、TAM及びCAFなど）の機能を維持することで抗腫瘍免疫を弱め、腫瘍の免疫逃避に関与する。免疫細胞の機能を阻害するに加えて、ますます多くの研究により、CD73は、腫瘍細胞の増殖、遊走、浸潤及び腫瘍血管新生を直接に刺激することもでき、細胞外ヌクレオチダーゼCD73を阻害することでアデノシン媒介性免疫阻害を逆転することができることを示唆する。研究は、低酸素及び放射線療法、化学療法がPDL1、CD73及びCD47発現のアップレギュレーションをもたらすことを見出した。従って、CD73を標的とする治療ポリシーは、単剤又は併用療法として臨床的に使用される可能性が高い。現在、Medimmuneのoleclumab及び天境生物のuliledlimabを含む30種類近くの抗CD73抗体製品が開発中である。最も進んでいるCD73抗体は臨床第III相にあり、市販品がないため、CD73抗体の開発及び使用が当該分野で急務となっている。

10

#### 【発明の概要】

#### 【0004】

第1態様において、本願は、重鎖CDR1（HCDR1）、重鎖CDR2（HCDR2）及び重鎖CDR3（HCDR3）を含む重鎖可変領域と、軽鎖CDR1（LCDR1）、軽鎖CDR2（LCDR2）及び軽鎖CDR3（LCDR3）を含む軽鎖可変領域と、を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、

HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号2に示される配列であるか又は配列番号2に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号6に示される配列であるか又は配列番号6に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

20

30

HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号17に示される配列であるか又は配列番号17に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号32に示される配列であるか又は配列番号32に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

40

HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号17に示される配列であるか又は配列番号17に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号6に示される配列であるか又は配列番号6に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列

50





も80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いはHCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号35に示される配列であるか又は配列番号35に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いはHCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号13に示される配列であるか又は配列番号13に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、そのうち、HCDR及びLCDR配列はKabatに基づいて定義される。

10

20

#### 【0005】

第2態様において、本願は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、上記重鎖可変領域は、配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列又は配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及び/又は上記軽鎖可変領域は、配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列又は配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

30

#### 【0006】

第3態様において、本願は、重鎖CDR1(HCDR1)、重鎖CDR2(HCDR2)及び重鎖CDR3(HCDR3)を含む重鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、

40

(1) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号2に示される配列であるか又は配列番号2に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(2) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号17に示される配列であるか又は配列番号17に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される

50

配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(3) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号21に示される配列であるか又は配列番号21に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(4) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号23に示される配列であるか又は配列番号23に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(5) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号10に示される配列であるか又は配列番号10に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(6) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号27に示される配列であるか又は配列番号27に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(7) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、

そのうち、HCDR配列はKabatに基づいて定義される。

#### 【0007】

第4態様において、本願は、軽鎖CDR1(LCDR1)、軽鎖CDR2(LCDR2)及び軽鎖CDR3(LCDR3)を含む軽鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、

(1) LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号6に示される配列であるか又は配列番号6に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(2) LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号32に示される配列であるか又は配列番号32に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(3) LCDR1の配列は配列番号13に示される配列であるか又は配列番号13に示される配

10

20

30

40

50

列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(4) LCDR1の配列は配列番号35に示される配列であるか又は配列番号35に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、  
そのうち、LCDR配列はKabatに基づいて定義される。

【0008】

第5態様において、本願は、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分をコードする、分離された核酸分子を提供する。

【0009】

第6態様において、本願は、第5態様に記載の核酸分子を含む、ベクターを提供する。

【0010】

第7態様において、本願は、第5態様に記載の核酸分子又は第6態様に記載のベクターを含む、宿主細胞を提供する。

【0011】

第8態様において、本願は、治療剤とカップリングされた第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を含む、抗体薬物複合体を提供する。

【0012】

第9態様において、本願は、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分或いは第8態様に記載の抗体薬物複合体、及び薬学的に許容されるベクターを含む、医薬組成物を提供する。

【0013】

第10態様において、本願は、個体における腫瘍、特に腫瘍細胞の表面にCD73(CD73+)を発現する腫瘍を治療するための薬物の製造における、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分、第5態様に記載の核酸分子、第6態様に記載のベクター、第7態様に記載の宿主細胞或いは第8態様に記載の抗体薬物複合体の使用を提供する。

【0014】

第11態様において、本願は、個体における腫瘍、特に腫瘍細胞の表面にCD73(CD73+)を発現する腫瘍を治療する方法であって、治療有効量の第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分、第8態様に記載の抗体薬物複合体或いは第9態様に記載の医薬組成物を上記個体に投与することを含む、方法を提供する。

【0015】

第12態様において、本願は、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分及び検出可能な標識を含む、複合体を提供する。

【0016】

第13態様において、本願は、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を含む融合タンパク質を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】可溶性CD73に対する本願の例示的な抗体の結合能力試験結果を示す。

【図2】可溶性CD73に対する本願の例示的なヒト化抗体の結合能力試験結果を示す。

【図3】ヒト乳癌MDA-MB-231細胞表面のCD73に対する本願の例示的なヒト化抗体の結合能力試験結果を示す。

10

20

30

40

50

【図4】ヒト卵巣癌SKOV3細胞表面のCD73に対する本願の例示的なヒト化抗体の結合能力試験結果を示す。

【図5】細胞表面のカニクイザルCD73に対する本願の例示的なヒト化抗体の結合能力試験結果を示す。

【図6】CD73タンパク質に対する本願の例示的なヒト化抗体の酵素活性阻害実験結果を示す。

【図7】細胞表面のCD73タンパク質に対する本願の例示的なヒト化抗体の酵素活性阻害実験結果を示す。

【図8】本願の例示的なヒト化抗体がCD73内在化を誘導する実験結果を示す。

【図9A】本願の例示的なヒト化抗体がCD73タンパク質のN末端を認識する検出結果を示す。 10

【図9B】本願の例示的なヒト化抗体がCD73タンパク質のC末端を識別する検出結果を示す。

【図10A】本願の例示的な抗体及びその他の被験物の投与によるA375腫瘍担持マウスにおける移植腫瘍の体積変化結果を示す。

【図10B】本願の例示的な抗体及びその他の被験物の投与による個体A375腫瘍担持マウスにおける移植腫瘍体積の変化結果を示す。

【図10C】本願の例示的な抗体及びその他の被験物の投与によるA375腫瘍担持マウス体重への影響結果を示す。

【図11A】本願の例示的なヒト化抗体及びその他の被験物の投与によるCT26腫瘍担持マウスにおける移植腫瘍の体積変化結果を示す。 20

【図11B】本願の例示的なヒト化抗体及びその他の被験物の投与による個体CT26腫瘍担持マウスにおける移植腫瘍体積の変化結果を示す。

【図11C】本願の例示的なヒト化抗体及びその他の被験物投与によるCT26腫瘍担持マウス体重への影響結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0018】

定義

特に定義されない限り、本明細書で使用される全ての科学技術用語は、当業者によって理解される同じ意味を有する。当該分野における定義及び用語に関して、専門家は、具体的には、Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel) を参照してもよい。アミノ酸残基の略語は、当該分野で使用される、20個の一般に使用されるL-アミノ酸の1つを指す標準的な3文字及び/又は1文字コードである。 30

【0019】

本願は、広い範囲で数値範囲及びパラメータ近似値を示したにもかかわらず、具体的な実施例に示される数値は可能な限り正確に記載されている。しかしながら、何れの数値も、本来、それらのそれぞれの測定に存在する標準偏差に起因する一定の誤差を含有する。更に、本明細書に開示される全ての範囲は、その中に含まれる任意の及び全ての部分範囲を包含すると理解されるべきである。例えば、「1~10」と記載された範囲は、最小値1と最大値10との間（両端値を含む）の任意の及び全ての部分範囲、即ち、最小値1又はそれ以上で始まる部分範囲、例えば1~6.1、及び最大値10又はそれ以下で終わる部分範囲、例えば5.5~10の全てを包含すると見なされるべきである。また、「本明細書に組み込まれる」と称される任意の参考文献は、その全体が組み込まれるものと理解される。 40

【0020】

本明細書で使用される「対象」又は「個体」という用語は、ヒトなどの哺乳動物を指すが、野生動物、家畜又は実験動物（オランウータン、サル、ラット、マウス、ウサギ、モルモット、プレーリードッグ、ジリスなど）などの他の動物であってもよい。

【0021】

本明細書で使用される「抗原」という用語は、抗体が選択的に結合することができる所定の標的である。抗原の実例は、ポリペプチド、糖、核酸、脂質、ハプテン又は他の天然 50

に存在する化合物若しくは合成化合物を含むが、これらに限定されない。

【0022】

広い範囲で言えば、「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域内に位置する少なくとも1つの抗原認識部位を介して標的に特異的に結合することができる免疫グロブリン分子を指してもよい。従って、抗体/全長全体、抗体単鎖又は抗体の任意の抗原結合断片（「抗原結合部分」とも呼ばれる）を包含する。「抗体」及び「抗原結合断片/抗原結合部分」が同じ文脈で存在する場合、「抗体」は、「抗原結合断片/抗原結合部分」に対する完全物であり、両者が広い範囲での抗体概念に共通に対応すると理解されてもよい。

【0023】

「抗CD73抗体」又は「CD73に結合する抗体」という用語は、CD73を標的とする場合に抗体が診断剤及び/又は治療剤に使用できるように、十分な親和性でCD73に結合することができる抗体を含む。幾つかの実施形態において、関連しない非CD73タンパク質に対する抗CD73抗体の結合の程度は、例えば、蛍光活性化細胞選別（FACS）分析又は免疫測定法（放射性免疫測定法（RIA）など）によって測定される、CD73に対する抗体の結合よりも約10%未満である。CD73に「特異的に結合する」又はCD73に「特異的である」抗体の場合、幾つかの実施形態において、CD73に結合する抗体の解離定数（KD）は、500 nM、100 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM若しくは0.1 nMより小さいか、又はそれらに等しい。幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、異なる種に由来するCD73間（例えば、ヒトとカニクイザルCD73との間）の保存的CD73タンパク質エピトープに結合する。

【0024】

「アゴニスト抗体」という用語は、反応を誘発する抗体、例えば、目的ポリペプチドの少なくとも1つの機能的活性を模倣する抗体である。アゴニスト抗体は、リガンド模倣体である抗体を含む。例えば、リガンドは細胞表面受容体に結合し、上記結合は細胞内の細胞シグナル伝達経路を介して細胞シグナル伝達又は活性を誘導し、且つ抗体は類似する細胞シグナル伝達又は活性化を誘導する。

「完全長抗体」は、ジスルフィド結合によって相互連結された少なくとも2つの重（H）鎖及び2つの軽（L）鎖を含むタンパク質を指す。各重鎖は、1つの重鎖可変領域（VHと略称）及び1つの重鎖定常領域を含む。当該重鎖定常領域は、CH1、CH2及びCH3である3つのドメイン（domain）を含む。各軽鎖は、1つの軽鎖可変領域（VLと略称）及び1つの軽鎖定常領域を含む。当該軽鎖定常領域は、CLである1つのドメインを含む。VH及びVL領域は、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる高い可変性を有する複数の領域に更に細分されてもよく、それらの間にフレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存的領域が散在する。それぞれのVH及びVLは何れも、3つのCDR及び4つのFRからなり、アミノ末端からカルボキシ末端に向かってFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順に配置されている。重鎖及び軽鎖のこれらの可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（エフェクター細胞など）及び古典的補体系の第1成分（C1q）を含む、宿主の組織又は因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。全長抗体は、IgD、IgE、IgG、IgA若しくはIgM（又は上記のサブクラス）などの任意の種類抗体であってもよいが、抗体は、任意の特定のクラスに属する必要がない。免疫グロブリンは、重鎖の定常ドメインの抗体アミノ酸配列に応じて、異なるクラスに割り当てることができる。一般に、免疫グロブリンは、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMという5つの主なクラスを有し、且つこれらのクラスの幾つかは、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2などのサブクラス（アイソタイプ）に更に分類されることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、及び $\mu$ と呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造及び三次元構造は公知である。キメラ又はヒト化抗体も、本願による抗体に包含される。当業者に周知のように、相補性決定領域（CDR、通常はCDR1、CDR2及びCDR3）は、可変領域内が、抗体の親和性及び特異性に最も大きい影響を与える領域である。V

10

20

30

40

50

H又はVLのCDRアミノ酸配列は、Kabat定義、IMGT定義、Chothia定義などの様々な一般的な定義を有する。所与の抗体の可変領域アミノ酸配列については、一般に、異なる定義に従ってVH及びVLアミノ酸配列におけるCDRアミノ酸配列を決定することができる。本願の実施形態において、Kabatを用いてCDRアミノ酸配列を定義する。所与の抗体の可変領域アミノ酸配列については、様々な方法によって可変領域アミノ酸配列におけるCDRアミノ酸配列を分析することができる。

【0025】

「マウス抗体」という用語は、免疫接種されたマウスのB細胞と骨髄腫細胞との融合に由来する抗体を指し、無限増殖及び抗体分泌の両方が可能なマウスハイブリッド融合細胞をスクリーニングし、得られた抗体を更にスクリーニングし、製造し、精製し、マウス抗体は、一般に免疫原性を有するため、その後ヒト化が必要である

10

「ヒト化抗体」という用語は、別の哺乳動物種、例えばマウス生殖系に由来するCDR配列をヒトフレームワーク配列に移植して得られる抗体を意味する。結合親和性を保持するために、骨格（FRと呼ばれる）セグメントの幾つかの残基を修飾することができる。当業者に公知の技術によって、本願によるヒト化抗体若しくはその断片を製造することができる。

【0026】

「キメラ抗体」という用語は、可変領域配列が1つの種からのものであり、定常領域配列が別の種からのものである抗体、例えば可変領域配列がマウス抗体からのものであり、定常領域配列がヒト抗体からのものである抗体を指す。遺伝子組換え技術の使用によって、本願によるキメラ抗体若しくはその断片を製造することができる。例えば、上記キメラ抗体は、プロモーターと、本願による非ヒト、特にマウスモノクローナル抗体の可変領域をコードする配列と、ヒト抗体の定常領域をコードする配列と、を含む組換えDNAをクローンすることによって産生することができる。このような組換え遺伝子によりコードされる本願のキメラ抗体は、例えば、マウス-ヒトキメラであり、当該抗体の特異性はマウスDNA由来の可変領域により決定され、且つそのアイソタイプはヒトDNA由来の定常領域により決定される。

20

【0027】

「部分ヒト化抗体」という用語は、ヒト由来の定常領域と、非ヒト（マウスなど）由来の可変領域（CDRを含む）と、を含む抗体を指す。

30

【0028】

「半ヒト化抗体」という用語は、ヒト化抗体の1つであり、一方の抗体鎖がマウス可変領域を含み、他方の抗体鎖がヒト化可変領域を含む抗体、即ち半ヒト化抗体を指す。

【0029】

「モノクローナル抗体」という用語は、基本的に均質な抗体集団から得られる抗体を指し、即ち、集団を構成する各抗体は、少数の個体において自然に生じる突然変異が存在し得ることを除いて同一である。

【0030】

本明細書で使用される「抗原結合断片」又は「抗原結合部分」又は「抗原結合領域」という用語は、互換的に使用され、抗原と相互作用し、且つ抗原に対する特異性及び親和性を結合剤に付与するアミノ酸残基を含む抗体の部分（部分）を指し、特に、Fv、Fab、F(ab')<sub>2</sub>若しくはFab'などの抗体断片、或いは、ポリエチレングリコールなどのポリ（アルキレン）グリコールの付加（「ポリエチレングリコール化、PEG化」）（Fv-PEG、scFv-PEG、Fab-PEG、F(ab')<sub>2</sub>-PEG若しくはFab'-PEGのポリエチレングリコール化断片）（「PEG」はポリエチレングリコール）などの化学修飾によって、或いは、リポソームへの組み込みによって、半減期を延長できるはずの任意の断片を指し、上記断片はCD73結合活性を有する。好ましくは、上記機能的断片は、由来抗体のその重鎖又は軽鎖可変鎖の部分配列から構成されるか又はそれらを含み、上記部分配列は、その由来抗体と同じ結合特異性及び十分な親和性を保持するのに十分であり、この機能的断片は、少なくとも5個のアミノ酸、好ましくはその由来抗体配列の10、15、25、50及び100個の連続する

40

50

アミノ酸を含む。抗原結合断片の実例は、(1) VL-CL鎖及びVH-CH1鎖を有する一価断片であり得るFab断片、(2) ヒンジ領域のジスルフィド架橋(即ちFab'の二量体)によって連結された2つのFab'断片を有する二価断片であり得るF(ab')<sub>2</sub>断片、(3) 抗体の単一アームを有するVL及びVHドメインのFv断片を含むが、これらに限定されない。

【0031】

「単鎖抗体(scFv)」という用語は、VHドメイン及びVLドメインがペプチドリンカーを介して連結された単一のポリペプチド鎖を指す。(scFv)<sub>2</sub>は、ペプチドリンカーによって連結された2つのVHドメインと、ジスルフィド架橋を介して当該2つのVHドメインと組み合わせた2つのVLドメインと、を含む。

【0032】

「Fc断片」、「Fc領域」、「Fcドメイン」、「Fc部分」という用語又は類似する用語は、ヒンジ領域(hinge)、定常領域のCH2断片及びCH3断片を含む抗体重鎖定常領域の一部を指す。抗CD73抗体のFc領域は、エフェクター機能関連の改変を含む、工学的に改変して修飾することができ、それにより、例えば、抗体のFc領域に1つ又は複数のアミノ酸置換/突然変異を導入することで達成できる、抗体依存性細胞毒性(ADCC)及び/又は補体依存性細胞毒性(CDC)を低減又は排除することができる。

【0033】

本明細書で使用される「特異的結合」という用語は、2つの分子間の非ランダム結合反応、例えば、抗原エピトープへの抗体の結合を指す。

【0034】

「多重抗体」という用語は、「多重特異性抗体」とも呼ばれ、少なくとも2つの異なる抗原に対する結合特異性を有する分子であり、そのうち、2つの抗原のみに結合するこのような分子は、二重抗体(即ち二重特異性抗体、BsAb)とも呼ばれる。

【0035】

「二重特異性抗体」という用語は、2つの抗原エピトープ結合能力を同時に有する抗体を指す。2つの抗原エピトープは、異なる抗原上であってもよく、同一抗原上であってもよい。二重特異性抗体は、様々な構造配置を有してもよい。例えば、二重特異性抗体は、2つのFc断片と、それぞれが融合される2つの抗原結合部分(2つのアームが異なる抗原標的又はエピトープに結合することを除いて、天然抗体と類似する)とで構成されてもよく、抗原結合部分は、単鎖抗体(scfv)の形態又はFab断片の形態であってもよい。

【0036】

一般に、モノクローナル抗体若しくはその機能的断片、特にマウス由来のモノクローナル抗体若しくはその機能的断片を製造するために、特にマニュアル「Antibodies」に記載されている技術(Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor NY, pp.726, 1988)又はKohler及びMilsteinによって説明されているハイブリドーマ細胞からの製造技術(Nature, 256:495~497, 1975)を参照することができる。

【0037】

「保存的変異体」又は「保存的アミノ酸置換」という用語は、タンパク質の親和性、例えば抗体のCD73に対する親和性に基本的に影響を与えないか、又はそれを低下させる置換である。例えば、CD73に特異的に結合するヒト抗体は、約1以下、約2以下、約5以下、約10以下若しくは約15以下の保存的置換を含むと共に、CD73ポリペプチドに特異的に結合することができる。「保存的変異体」という用語は、抗体がCD73に特異的に結合する限り、非置換の親アミノ酸の代わりに置換アミノ酸を使用することを更に含む。非保存的置換は、活性を低下させるもの、又はCD73に結合するものである。

【0038】

アミノ酸又は核酸配列の突然変異に関する幾つかの実施形態を記載する場合、本願は、「XaaaY」の限定方法(例えば、L234A、L235Aなど)を使用し、そのうち、「aaa」は、アミノ酸又は塩基の配列位置を表し(具体的な参照配列が存在する場合、「aaa」は、参照配列における残基の順序位置を表し、或いは、EU番号付けシステムなど、当該

10

20

30

40

50

分野に一般的な位置番号付けに従ってもよく)、 「X」は、「aaa」に元々あるアミノ酸又は塩基を表し、「Y」は、「aaa」における変化後のアミノ酸又は塩基を表す。実例として、ヒト重鎖定常領域のL234A突然変異を記載する場合、ヒト重鎖定常領域のEU番号付けシステムに従って234位のロイシン(L)がアラニン(A)に突然変異することを意味する。

【0039】

本明細書において、薬物A及びBによる「併用治療」、「組合せ治療」又は類似する用語を記載する場合、技術的に衝突があるか又は互換性がない限り、薬物A及びBによる併用治療の投与方法及び投与計画は特に限定されない。例えば、薬物A及びBは、順に別々に投与し、同時に別々に投与し、同一薬剤に製剤化して一括投与することができる。或いは、薬物A及びBは、製造時に同一組成物中、又は同一薬物キット中に製造することができる。薬物A及びBは、物理的に分離されてもよく、或いは、互いに結合されてもよい。薬物A及びBの投与は、時間的に別々、同時又は重複であってもよい。

10

【0040】

「単離された」生物学的成分(核酸、タンパク質(抗体を含む)又は細胞小器官など)という用語は、上記成分が天然に存在する環境(細胞など)における他の生物学的成分(即ち、他の染色体及び追加の染色体DNA及びRNA、タンパク質及び細胞小器官)から基本的に単離又は精製されている。「単離」された核酸及びタンパク質は、標準的な精製方法を用いて精製された核酸及びタンパク質を含む。当該用語は、宿主細胞における組換え発現によって製造される核酸、タンパク質及び化学的に合成される核酸を更に含む。

20

【0041】

「誘導配列」という用語は、関連配列と少なくとも80%(好ましくは85%、90%、95%、98%若しくは99%)の配列同一性を有すると共に、依然として同一又は類似の機能を有する配列を指す。

【0042】

本明細書で使用される「医薬組成物」という用語は、特定の目的を達成するために一緒に組み合わせた、少なくとも1つの薬物と、任意選択で薬用可能なベクター又は補助剤との組合せを意味する。ある実施形態において、上記医薬組成物は、本願の目的を達成するために協働することができる限り、時間的及び/又は空間的に分離された組み合わせを含む。例えば、上記医薬組成物に含まれる成分(本願による抗体、核酸分子、核酸分子の組み合わせ及び/又は複合体など)は、個体に全体的に投与されてもよく、又は個体に別々に投与されてもよい。上記医薬組成物に含まれる成分が個体に別々に投与される場合、上記成分は、同時に又は連続して個体に投与されてもよい。好ましくは、上記薬用可能なベクターは、水、緩衝水溶液、PBS(リン酸緩衝液)などの等張食塩水、グルコース、マンニトール、デキストロース、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、セルロース、炭酸マグネシウム、0.3%のグリセリン、ヒアルロン酸、エタノール又はポリプロピレングリコールなどのポリアルキレングリコール、トリグリセリドなどである。使用される薬用可能なベクターの種類は、特に、本願による組成物が経口、鼻内、皮内、皮下、筋肉内又は静脈内投与用に製剤化されるかどうかによって依存する。本願による組成物は、添加剤として、湿潤剤、乳化剤又は緩衝液物質を含むことができる。本願による医薬組成物又は医薬製剤は、任意の適切な経路によって、例えば、経口、鼻内、皮内、皮下、筋肉内又は静脈内投与によって投与することができる。

30

40

【0043】

本明細書で使用される「治療有効量」又は「有効量」という用語は、投与される個体にとってその利益を示すのに十分な用量を指す。実際の投与量、並びに投与の速度及び時間経過は、治療される対象自体の状態及び重症度に依存する。治療の処方(例えば、用量の決定など)は、最終的には、一般医及び他の医師の責任であり、決定に依拠する。一般に、治療される疾患、患者個体の状態、送達部位、投与方法及び医師にとって既知の他の要因を考慮する。

【0044】

50

EC<sub>50</sub>値は主に、特定の曝露時間後に、最大の生物学的効果の50%に対応する薬物、抗体又は毒素などの濃度を指す。薬学的には、インビトロ (in vitro) 実験におけるアゴニスト (agonist) の活性化能力を特徴付けるのに使用されるに加えて、インビボ (in vivo) で最大の生物学的効果の半分を達成するために必要な血中薬物濃度を表すためにも使用される。幾つかの文献では、EC<sub>50</sub>は、ある化合物の細胞レベルでの効力 (アゴニズム及びアンタゴニズムを含む) を特徴付けるためにも使用される。ELISAなどの方法によってEC<sub>50</sub>値を測定することができる。

【0045】

本明細書で使用される「融合タンパク質」という用語は、一般的な文脈において、少なくとも2つのドメインからなるタンパク質であり、各ドメインは、天然の状態に関連付けられず、単独の遺伝子によってコードされ、各遺伝子は連結されて1つの全体として転写及び翻訳され、単一のタンパク質を生成する。本願の技術背景において、抗体若しくは抗原結合部分を含む「融合タンパク質」は、遺伝子工学的技術により、抗体若しくは抗原結合部分を別の生物学的に活性なタンパク質と融合して得られた生成物を指す。このような融合タンパク質は、抗体の抗原結合能力と、抗体に融合された生物学的に活性なタンパク質の独特の生物学的特性とを同時に持つ。

10

【0046】

アミノ酸又は核酸配列に関する「同一性/相同性/一致性」という用語は、配列アライメント及びギャップ導入を経た後の、アミノ酸又はヌクレオチド配列の変異体における同一残基の百分率として定義され、必要に応じて、最大百分率の同一性が達成される。アライメントのための方法及びコンピュータプログラムは、当該分野において公知である。

20

【0047】

本明細書で使用される「腫瘍」という用語は、異常な細胞成長によって形成される新生物又は固形病変を指す。腫瘍は、良性、前悪性又は悪性であってもよい。

【0048】

本明細書で使用される「悪性腫瘍」という用語は、典型的には無調節の細胞成長によって特徴付けられる、哺乳動物の生理学的状態を指すか、又は記述する。例示的な悪性腫瘍は、癌、固形腫瘍、黒色腫、肉腫、血液腫瘍、生殖細胞腫瘍及び胚細胞腫瘍を含む。悪性腫瘍のより多くの具体的な実例は、多発性骨髄腫、腎臓癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及び肺扁平上皮癌を含む肺癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、胃腸癌を含む胃癌、前立腺癌、膵臓癌、腹膜癌、肝細胞癌、神経膠芽腫、卵巣癌、肝臓癌、尿路癌、肝細胞種、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌又は子宮癌、唾液腺癌、扁平上皮癌 (扁平上皮細胞癌など)、外陰癌、甲状腺癌、肛門癌、陰茎癌、黒色腫及びB細胞リンパ腫、脳癌及び頭頸部癌、並びに関連転移巣を含む。

30

【0049】

本明細書で使用される「血液腫瘍」という用語は、異常細胞の制御されない成長及び増殖によって引き起こされるものを指し、多くの場合、これらの異常細胞の起源部位は、血液細胞が産生される骨髄である。例示的な血液腫瘍は、様々な種類の白血病、多発性骨髄腫及び悪性リンパ腫を含む。血液腫瘍のより多くの具体的な実例は、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性骨髄性白血病 (CML)、有毛細胞白血病 (HCL)、T細胞前リンパ球性白血病、大顆粒リンパ球性白血病、若年性顆粒球-単球性白血病、B細胞前リンパ球性白血病、パーキット白血病及び成人T細胞白血病、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、原発性マクログロブリン血症 (Waldenstrom macroglobulinemia)、脾臓辺縁帯リンパ腫、形質細胞腫、節外辺縁帯B細胞リンパ腫、MALTリンパ腫、節内辺縁帯B細胞リンパ腫 (NMZL)、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、縦隔 (胸腺) 大細胞型B細胞リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、パーキットリンパ腫、B細胞慢性リンパ球性リンパ腫、典型的なホジキンリンパ腫、結節性リンパ球性主要ホジキンリンパ腫

40

50

、成人T細胞リンパ腫、節外鼻型NK/T細胞リンパ腫、腸疾患型T細胞リンパ腫、脾臓T細胞リンパ腫、芽球性NK細胞リンパ腫、菌状真菌症、アッシャー症候群、原発性皮膚CD30陽性T細胞リンパ増殖性疾患、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫、リンパ腫様丘疹症、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫、特に指定のない末梢性T細胞リンパ腫並びに未分化大細胞リンパ腫を含む。

【0050】

本明細書で使用される「固形腫瘍」という用語は、X線撮影、CTスキャン、B超音波検査又は触診などの臨床検査によって触知できる有形の塊を指す。臨床的に治療した固形腫瘍は、悪性及び良性の2種類に分けられる。悪性固形腫瘍は、リンパ球が主要型、結節硬化型、混合細胞型、リンパ球減少型である小児ホジキンリンパ腫、前リンパ芽球性リンパ腫、小型非開裂細胞リンパ腫（パーキット/非パーキットリンパ腫）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫などの小児非ホジキンリンパ腫、腎芽腫（Wilms腫）、腎明細胞癌、腎ラブドイド腫瘍、腎明細胞肉腫、腎原始神経外胚葉腫瘍などの小児腎臓腫瘍、神経芽腫、節細胞神経芽腫、節細胞神経腫瘍などの小児神経芽腫、成熟奇形腫、未成熟奇形腫、内皮洞腫瘍（卵黄嚢腫瘍）、精上皮腫、未胚細胞腫、絨毛上皮癌、胎生型癌などの小児頭蓋外胚細胞腫、骨肉腫及び軟骨肉腫、胎生型、腺房型、多形型などの小児横紋筋肉腫、線維肉腫、悪性線維組織細胞腫、脂肪肉腫、平滑筋肉腫、血管肉腫、リンパ管肉腫、悪性神経鞘腫、腺胞状軟部組織肉腫、上皮様肉腫、透明細胞肉腫、悪性黒色腫、滑膜肉腫、線維形成性小円形細胞腫瘍などの小児軟部組織肉腫、ユーイング肉腫、原始神経外胚葉腫などのユーイングファミリー肉腫、肝芽腫（胎生型、胎児型、未分化型）、肝細胞癌などの小児肝臓腫瘍、網膜芽腫、後頭蓋窩髄芽腫、鼻咽頭癌、甲状腺乳頭癌、胸腺腫、肺芽腫、腭芽腫、腭島細胞腫、回盲部類癌、中皮腫などの他の腫瘍を含む。良性固形腫瘍は、リンパ管腫、血管腫、甲状舌嚢胞などを含む。

【0051】

第1態様において、本願は、重鎖CDR1（HCDR1）、重鎖CDR2（HCDR2）及び重鎖CDR3（HCDR3）を含む重鎖可変領域と、軽鎖CDR1（LCDR1）、軽鎖CDR2（LCDR2）及び軽鎖CDR3（LCDR3）を含む軽鎖可変領域と、を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、

HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号2に示される配列であるか又は配列番号2に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号6に示される配列であるか又は配列番号6に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号17に示される配列であるか又は配列番号17に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号32に示される配列であるか又は配列番号32に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

10

20

30

40

50





なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号27に示される配列であるか又は配列番号27に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号13に示される配列であるか又は配列番号13に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは  
HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号35に示される配列であるか又は配列番号35に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは  
HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR1の配列は配列番号13に示される配列であるか又は配列番号13に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、  
そのうち、HCDR及びLCDR配列はKabatに基づいて定義される。

10

20

30

**【0052】**

幾つかの実施形態において、重鎖可変領域は、配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列又は配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

**【0053】**

幾つかの実施形態において、軽鎖可変領域は、配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列又は配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

40

**【0054】**

幾つかの実施形態において、重鎖可変領域配列は配列番号4に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号8に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号18に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号33に示される配列であり、或いは重鎖可変領域配列は配列番号18に示される配列であり、軽鎖可変領域の配列は配列番号

50



第2態様において、本願は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、

上記重鎖可変領域は、配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列又は配列番号4、18、19、20、22、24、12、25、26、28、29若しくは31に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有し、及び/又は

上記軽鎖可変領域は、配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列又は配列番号8、33、34、16、36、37若しくは38に示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%若しくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する。

10

【0056】

第3態様において、本願は、重鎖CDR1 (HCDR1)、重鎖CDR2 (HCDR2) 及び重鎖CDR3 (HCDR3) を含む重鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、

(1) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号2に示される配列であるか又は配列番号2に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

20

(2) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号17に示される配列であるか又は配列番号17に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(3) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号21に示される配列であるか又は配列番号21に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

30

(4) HCDR1の配列は配列番号1に示される配列であるか又は配列番号1に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号23に示される配列であるか又は配列番号23に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号3に示される配列であるか又は配列番号3に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(5) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号10に示される配列であるか又は配列番号10に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

40

(6) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号27に示される配列であるか又は配列番号27に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%

50

若しくは99%の同一性を有し、或いは

(7) HCDR1の配列は配列番号9に示される配列であるか又は配列番号9に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR2の配列は配列番号30に示される配列であるか又は配列番号30に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、HCDR3の配列は配列番号11に示される配列であるか又は配列番号11に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、

そのうち、HCDR配列はKabatに基づいて定義される。

【0057】

第4態様において、本願は、軽鎖CDR1(LCDR1)、軽鎖CDR2(LCDR2)及び軽鎖CDR3(LCDR3)を含む軽鎖可変領域を含む抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を提供し、そのうち、

10

(1) LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号6に示される配列であるか又は配列番号6に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

(2) LCDR1の配列は配列番号5に示される配列であるか又は配列番号5に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号32に示される配列であるか又は配列番号32に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号7に示される配列であるか又は配列番号7に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

20

(3) LCDR1の配列は配列番号13に示される配列であるか又は配列番号13に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、或いは

30

(4) LCDR1の配列は配列番号35に示される配列であるか又は配列番号35に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR2の配列は配列番号14に示される配列であるか又は配列番号14に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、LCDR3の配列は配列番号15に示される配列であるか又は配列番号15に示される配列と少なくとも80%、85%、90%、95%若しくは99%の同一性を有し、

そのうち、LCDR配列はKabatに基づいて定義される。

【0058】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、ヒトCD73に結合する。幾つかの具体的な実施形態において、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、異なる種に由来するCD73間(例えば、ヒトとカニクイザルCD73との間)の保存的CD73タンパク質エピトープに結合する。

40

【0059】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、ADCC活性を有する。

【0060】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、CDC活性を有する。

【0061】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、完全抗体、単鎖抗体(s

50

cFv)、scFv-Fc、二重特異性抗体又は多重特異性抗体である。

【0062】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体の抗原結合部分は、Fab、Fab'、Fv若しくはF(ab')<sub>2</sub>である。

【0063】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体又は完全ヒト抗体である。

【0064】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、モノクローナル抗体である。

【0065】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、IgM、IgD、IgG、IgA若しくはIgE型抗体である。幾つかの具体的な実施形態において、抗CD73抗体は、IgG抗体である。幾つかのより具体的な実施形態において、抗CD73抗体は、IgG1抗体である。

【0066】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、IgG1、IgG2若しくはIgG4アイソタイプである。

【0067】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、アイソフォーム若しくはアイソフォームの軽鎖定常領域を含む。

【0068】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、ヒトIgG1重鎖定常領域及びヒト軽鎖定常領域を含む。

【0069】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、医療療法に使用される。

【0070】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体は、野生型Fc領域を含む。

【0071】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、工学的に改変されてADCC又はCDC活性の増強を有する。幾つかの具体的な実施形態において、抗CD73抗体は、上記抗体がADCC及び/又はCDC効果の増強を有するように工学的に改変されたFc領域を含む。

【0072】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、工学的に改変されてADCC又はCDC活性の低減を有する。幾つかの具体的な実施形態において、抗CD73抗体は、上記抗体がADCC及び/又はCDC効果の低減を有するように工学的に改変されたFc領域を含む。本願が対象とする標的CD73及び抗体のインビボ適用に関して、ADCC又はCDC活性の低減、更に除去を有する抗体は、過度のFc効果が抗体の治療効果に影響を及ぼすか、更に低減するため、有利である可能性がある。Fc効果の低減又は除去の方法は、例えば、1)アミノ酸残基突然変異改変(主に、関連受容体への結合の低減)、2)グリコシル化改変、3)IgG4型抗体改変など、当該分野で公知である。非限定的な実例として、抗体はヒトIgG1重鎖定常領域を有すると共に、L234、L235、P329、P331のうちの1つ又は複数の部位の突然変異を含み、そのうち残基番号付けはEU番号付けシステムに従う。例えば、上記突然変異は、L234A、L235A、P329A、P331Sのうちの1種又は複数種の突然変異である。

【0073】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、上記抗体は、配列番号20に示される重鎖可変領域、配列番号33に示される軽鎖可変領域、配列番号39に示される重鎖定常領域及

10

20

30

40

50

び配列番号40に示される軽鎖定常領域を有する。

【0074】

第1～第4態様の幾つかの実施形態において、上記抗体は、配列番号31に示される重鎖可変領域、配列番号38に示される軽鎖可変領域、配列番号39に示される重鎖定常領域及び配列番号40に示される軽鎖定常領域を有する。

【0075】

第5態様において、本願は、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分をコードする、分離された核酸分子を提供する。幾つかの実施形態において、本願は、本願の抗体若しくはその抗原結合部分の軽鎖をコードするポリヌクレオチドと、本願の抗体若しくはその抗原結合部分の重鎖をコードするポリヌクレオチドと、を含む、単離されたポリヌクレオチドの組み合わせを提供する。幾つかの実施形態において、上記ポリヌクレオチドは、上記ベクターで転化された宿主細胞によって認識できる調節配列に操作可能に連結される。

10

【0076】

第6態様において、本願は、第5態様に記載の核酸分子又はポリヌクレオチドの組み合わせを含む、ベクター（例えば、発現ベクター）を提供する。

【0077】

幾つかの実施形態において、本願の発現ベクターは、本願に記載の核酸分子又は本願に記載のポリヌクレオチドの組み合わせを含む。上記ポリヌクレオチドは、それがコードするポリペプチドの、宿主細胞又は無細胞発現系における発現を可能にする調節配列に効果的に連結される。発現ベクターの選択は、宿主細胞の選択に依存し、且つ選択された宿主細胞において必要な発現及び調節特徴を有するように選択することができる。

20

【0078】

「発現ベクター」は、1つ又は複数の発現制御配列を含むベクターであり、「発現制御配列」は、別のDNA配列の転写及び/又は翻訳を制御及び調節するDNA配列である。

【0079】

ベクターにおける核酸は、1つ又は複数の発現制御配列に操作可能に連結することができる。本明細書で使用されるように、「操作可能に連結される」は、発現制御配列が目的コード配列の発現を効果的に制御するように遺伝子構築物に組み込まれていることを意味する。発現制御配列の例は、プロモーター、エンハンサー及び転写終結領域を含む。プロモーターは、通常、転写開始点上流の100ヌクレオチド以内（通常、RNAポリメラーゼIの開始部位の付近）のDNA分子の領域からなる発現制御配列である。コード配列をプロモーターの制御下にあるためには、ポリペプチドの翻訳リーディングフレームの翻訳開始部位をプロモーターの下流の1～約50ヌクレオチドの間に位置させる必要がある。エンハンサーは、時間、位置及びレベルに関して発現特異性を提供する。プロモーターとは異なり、エンハンサーは転写部位から異なる距離に位置する場合に機能することができる。エンハンサーはまた、転写開始部位の下流に位置してもよい。RNAポリメラーゼがコード配列をmRNAに転写した後、mRNAがコード配列によってコードされるタンパク質に翻訳できる場合、コード配列は、細胞内の発現制御配列に「操作可能に連結され」且つ発現制御配列の「制御下」にある。

30

40

【0080】

適切な発現ベクターは、バクテリオファージ、バキュロウイルス、タバコモザイクウイルス、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスなどに由来するプラスミド及びウイルスベクターを含むが、これらに限定されない。多くのベクター及び発現系は、Novagen (Madison, WI)、Clontech (Palo Alto, CA)、Stratagene (LaJolla, CA) 及びInvitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA) などの会社から市販されてもよい。

【0081】

発現ベクターは、タグ配列を含んでもよい。タグ配列は通常、コードされるポリペプチドとの融合物として発現される。そのようなタグは、カルボキシ又はアミノ末端を含むポ

50

リペプチド内の任意の位置に挿入することができる。有用なタグの例は、Fc断片、ポリヒスチジン、グリーン蛍光タンパク質（GFP）、グルタチオンS-トランスフェラーゼ（GST）、c-myc、赤血球凝集素、Flag™タグ（Kodak、NewHaven、CT）、マルトース結合タンパク質及びプロテインAを含むが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、CD73融合ポリペプチドをコードする核酸分子は、Ig重鎖定常領域の1つ又は複数のドメインをコードする核酸を含むベクター中に存在し、上記ドメインは例えば、ヒト免疫グロブリンC 1鎖のヒンジ領域、CH2領域及びCH3領域のアミノ酸配列（Fc断片）に対応する。

【0082】

第7態様において、本願は、第5態様に記載の核酸分子又は第6態様に記載のベクターを含む、宿主細胞を提供する。幾つかの実施形態において、宿主細胞は、原核宿主細胞、真核宿主細胞又はバクテリオファージであってもよい。原核宿主細胞は、大腸菌、枯草菌、ストレプトマイセス菌又はプロテウスミラビリスなどであってもよい。真核宿主細胞は、パスツピキア、サッカロミセス、シゾサッカロミセス、トリコデルマなどの真菌、草地球虫細胞、タバコなどの植物細胞、BHK細胞、CHO細胞、COS細胞、骨髄腫細胞などの哺乳動物細胞であってもよい。幾つかの実施形態において、宿主細胞は、好ましくは哺乳動物細胞、より好ましくはBHK細胞、CHO細胞、NSO細胞又はCOS細胞である。

10

【0083】

第8態様において、本願は、治療剤とカップリングされた第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を含む、抗体-薬物複合体とも呼ばれる抗体薬物複合体を提供する。

20

【0084】

第8態様の幾つかの実施形態において、治療剤は、細胞毒性薬物、免疫増強剤又は放射性同位体などの抗腫瘍薬物である。

【0085】

幾つかの実施形態において、細胞毒性薬物の種類は、チューブリン阻害剤（アルカロイドなど）、DNAトポイソメラーゼ阻害剤、DNA損傷剤、代謝拮抗剤又は抗腫瘍抗生物質を含む。

【0086】

幾つかの実施形態において、チューブリン阻害剤は、アウリスタチン誘導体（例えば、MMAE（Monomethyl auristatin E）、MMAF（Monomethyl auristatin F））又はメイタンシナルカロイド誘導体（例えば、DM1、DM4、アンサマイトシン（Ansamitocin）、メルタンシン（Mertansine）又はドラスタチン（dolastatin）及びその誘導体）を含むが、これらに限定されない。

30

【0087】

幾つかの実施形態において、DNAトポイソメラーゼ阻害剤は、カンプトテシン類似体又はDNAトポイソメラーゼI阻害剤及びその誘導体、例えば、DXD、SN38、イリノテカン、イリノテカン塩酸塩、カンプトテシン、9-アミノカンプトテシン、9-ニトロカンプトテシン、10-ヒドロキシカンプトテシン、9-クロロ-10-ヒドロキシカンプトテシン、2-ヒドロキシエクリプタリン、トポテカン、レトテカン、ベロテカン、イクソテカン、ホモシラテカン（homosilatecan）、6,8-ジブromo-2-メチル-3-[2-(D-キシロピラノシルアミノ)フェニル]-4(3H)-キナゾリノン、2-シアノ-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-N-(フェニルメチル)-(2E)-2-アクリルアミド、2-シアノ-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-N-(3-ヒドロキシフェニルプロピル)-(E)-2-アクリルアミド、12-β-D-グルコピラノシル-12,13-ジヒドロ-2,10-ジヒドロキシ-6-[ [2-ヒドロキシ-1-(ヒドロキシメチル)エチル]アミノ]-5H-インドロ[2,3-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5,7(6H)-ジオン、N-[2-(ジメチルアミノ)エチル]-4-アクリジンカルボキサミド二塩酸塩、N-[2-(ジメチルアミノ)エチル]-4-アクリジンカルボキサミドである。

40

50

## 【0088】

幾つかの実施形態において、DNA損傷剤は、カルケアマイシン (calicheamicin) 類、デュオカルマイシン (duocarmycin) 類、アントマイシン類誘導体PBD (pyrrolobenzodiazepine、ピロロベンゾジアゼピン) を含むが、これらに限定されない。

## 【0089】

幾つかの実施形態において、抗代謝薬は、メトトレキサート、6-メルカプトプリン又は5-フルオロウラシルを含むが、これらに限定されない。

## 【0090】

幾つかの実施形態において、抗腫瘍抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質 (例えば、アクチノマイシンD又はブレオマイシン) 或いはアントラキノン系薬物 (例えば、ドキソルピシン又は塩酸ミトキサントロン) を含むが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、放射性同位体は、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{12}\text{Bi}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{60}\text{Co}$ 又は $^{177}\text{Lu}$ を含むが、これらに限定されない。

10

## 【0091】

幾つかの実施形態において、免疫増強剤は、レバミゾール (levamisole)、ピドチモド (pidotimod)、イミキモド (imiquimod)、イソピリジン、ポリイノシン酸又はポリミオスリジル酸を含むが、これらに限定されない。

## 【0092】

幾つかの実施形態において、本願の抗CD73抗体は、リンカーを介して薬物部分に共有結合される。幾つかの実施形態において、リンカーは、切断可能なリンカーである。幾つかの実施形態において、リンカーは、細胞内の条件で切断可能である。一実施形態において、リンカーは、5.5未満のpHで加水分解可能である。幾つかの実施形態において、リンカーは、細胞内プロテアーゼによって切断可能である。幾つかの実施形態において、リンカーは、カテプシン切断可能なリンカーである。幾つかの実施形態において、リンカーは、ジペプチドを含む。幾つかの実施形態において、ジペプチドは、バリン (Val) -シトルリン (Cit) である。幾つかの実施形態において、抗体は、抗体のシステインスルフヒドリル基を介してリンカーに結合する。一実施形態において、抗体は、抗体のアミノ基 (特にグルタミン残基のアミノ基) を介してリンカーに連結する。リンカーの非限定的な実例は、mc-Val-Cit-pAB、mc-Val-Cit-pABC、mc-Val-Cit、NH<sub>2</sub>-(PEG)m-Val-Cit、NH<sub>2</sub>-(PEG)m-Val-Cit-pABを含み、そのうち、mは1~8の整数である。幾つかの実施形態において、リンカーは、酸不安定性リンカー (例えば、ヒドラゾンリンカー)、ジスルフィド結合含有リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー (例えば、バリン及び/又はシトルリンなど、シトルリン-バリン若しくはフェニルアラニン-リシンなどのアミノ酸を含むペプチドリナー)、光不安定性リンカー、ジメチルリンカー、チオエーテルリンカー、或いは多剤輸送タンパク質媒介耐性を回避するように設計された親水性リンカーなどを含むが、これらに限定されない、切断可能でないリンカーである。

20

30

## 【0093】

第9態様において、本願は、第1態様~第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分或いは第8態様に記載の抗体薬物複合体、及び薬学的に許容されるベクターを含む、医薬組成物を提供する。

40

## 【0094】

幾つかの実施形態において、医薬組成物は、個体における腫瘍の治療に使用される。

## 【0095】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>) を発現する腫瘍である。

## 【0096】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍である。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも60%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少な

50

くとも70%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>)を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも80%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>)を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも90%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>)を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも95%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>)を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも98%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>)を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも99%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。

10

## 【0097】

幾つかの実施形態において、腫瘍は固形腫瘍である。

## 【0098】

幾つかの実施形態において、腫瘍は血液腫瘍。

## 【0099】

幾つかの実施形態において、腫瘍は悪性腫瘍である。

## 【0100】

幾つかの実施形態において、腫瘍は癌である。

## 【0101】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、卵巣癌、乳癌、黒色腫、結腸直腸癌、胃癌、腎臓癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、頭頸部癌、甲状腺癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、結腸癌、肝臓癌、腹膜癌、肝細胞癌、神経膠芽腫、尿路癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、扁平上皮癌、外陰癌、肛門癌、陰茎癌、脳癌、リンパ腫 (B細胞リンパ腫など)、白血病、及び上記腫瘍の転移巣から選ばれる。

20

## 【0102】

幾つかの実施形態において、医薬組成物は、タルク粉末、ステアリン酸マグネシウム及び鉱油などの潤滑剤、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、安息香酸、ソルビン酸及びプロピオン酸カルシウムなどの防腐剤、甘味料及び/又は香味料などのうちの1種又は複数種を更に含んでもよい。幾つかの実施形態において、本願における医薬組成物は、錠剤、丸剤、粉末剤、外用塗布剤、トローチ剤、懸濁液、乳剤、溶液、シロップ剤、坐剤又はカプセル剤などの形態に調製してもよい。

30

## 【0103】

幾つかの実施形態において、経口投与、胃腸外投与、経鼻投与、直腸投与、腹膜内投与、血管内注射、皮下投与、経皮投与、吸入投与などを含むがこれらに限定されない、任意の生理学的に許容される投与方法を用いて、本願の医薬組成物を送達することができる。

## 【0104】

幾つかの実施形態において、所望な純度を有する試薬を、必要に応じて薬学的に許容されるベクター、賦形剤などと混合することで、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で、保存するために、治療用医薬組成物を調製することができる。

## 【0105】

第10態様において、本願は、個体における腫瘍、特に腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>)を発現する腫瘍を治療するための薬物の製造における、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分、第5態様に記載の核酸分子、第6態様に記載のベクター、第7態様に記載の宿主細胞或いは第8態様に記載の抗体薬物複合体の使用を提供する。

40

## 【0106】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>)を発現する腫瘍である。

## 【0107】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>)を高発現す

50

る腫瘍である。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも60%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも70%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも80%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも90%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも95%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも98%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも99%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。

10

【0108】

幾つかの実施形態において、腫瘍は固形腫瘍である。

【0109】

幾つかの実施形態において、腫瘍は血液腫瘍。

【0110】

幾つかの実施形態において、腫瘍は悪性腫瘍である。

【0111】

幾つかの実施形態において、腫瘍は癌である。

20

【0112】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、卵巣癌、乳癌、黒色腫、結腸直腸癌、胃癌、腎臓癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、頭頸部癌、甲状腺癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、結腸癌、肝臓癌、腹膜癌、肝細胞癌、神経膠芽腫、尿路癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、扁平上皮癌、外陰癌、肛門癌、陰茎癌、脳癌、リンパ腫 (B細胞リンパ腫など)、白血病、及び上記腫瘍の転移巣から選ばれる。

【0113】

第11態様において、本願は、個体における腫瘍、特に腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>) を発現する腫瘍を治療する方法であって、治療有効量の第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分、第8態様に記載の抗体薬物複合体或いは第9態様に記載の医薬組成物を上記個体に投与することを含む、方法を提供する。疾患、病症又は病状を治療又は予防する方法の幾つかの実施形態において、方法は、インビトロで細胞を抗CD73抗体に曝露することを含む。

30

【0114】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>) を発現する腫瘍である。

【0115】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、腫瘍細胞の表面にCD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍である。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも60%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも70%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも80%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも90%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも95%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも98%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。幾つかの実施形態において、CD73 (CD73<sup>+</sup>) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも99%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。

40

50

3+) を高発現する腫瘍は、腫瘍細胞集団における少なくとも99%の腫瘍細胞がCD73を発現することを指す。

【0116】

幾つかの実施形態において、腫瘍は固形腫瘍である。

【0117】

幾つかの実施形態において、腫瘍は血液腫瘍。

【0118】

幾つかの実施形態において、腫瘍は悪性腫瘍である。

【0119】

幾つかの実施形態において、腫瘍は癌である。

10

【0120】

幾つかの実施形態において、腫瘍は、卵巣癌、乳癌、黒色腫、結腸直腸癌、胃癌、腎臓癌、前立腺癌、膵臓癌、食道癌、頭頸部癌、甲状腺癌、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、結腸癌、肝臓癌、腹膜癌、肝細胞癌、神経膠芽腫、尿路癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、扁平上皮癌、外陰癌、肛門癌、陰茎癌、脳癌、リンパ腫（B細胞リンパ腫など）、白血病、及び上記腫瘍の転移巣から選ばれる。

【0121】

第9～11態様の幾つかの実施形態において、本願の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分は、単独で使用されるか、又は抗腫瘍療法における他の組成物と併用することができる。例えば、抗CD73抗体は、少なくとも1つの追加の治療剤及び/又はアジュバントと共投与することができる。幾つかの実施形態において、追加の化合物は、抗CD73抗体以外の治療用抗体である。幾つかの実施形態において、他の治療剤は、癌免疫周期を標的とする治療剤（例えば、免疫チェックポイント阻害剤（抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体若しくは抗CTLA4抗体など）、A2AR拮抗剤、STAT-3阻害剤）であり、そのような治療剤併用療法を使用して、腫瘍媒介性免疫阻害を低減することができる。

20

【0122】

第12態様において、本願は、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分及び検出可能な標識を含む、複合体を提供する。検出可能な標識は、例えば、検出可能な蛍光標識、化学発光標識、同位体標識などである。

【0123】

第13態様において、本願は、第1態様～第4態様に記載の抗CD73抗体若しくはその抗原結合部分を含む融合タンパク質を提供する。抗体融合タンパク質の実例は、Fab融合タンパク質、Fc融合タンパク質及び単鎖抗体（scFv）融合タンパク質などを含み、エフェクタータンパク質（サイトカインなど）が融合される部位によって命名される。

30

【0124】

第12若しくは第13態様の幾つかの実施形態において、リンカーが1種又は複数種の非抗体結合剤に共有結合した本願の抗CD73抗体を合成することによって複合体を形成することができる。幾つかの実施形態において、本願の抗体を、診断剤、検出剤若しくは治療剤或いは任意の他の分子と複合又は組換え融合する。複合又は組換え融合した抗体は、例えば、CD73媒介性疾患の発症、発生、進行及び/又は重症度を臨床試験法の一部としてモニター又は予測するために使用することができる。例えば、特定の療法の有効性を測定する。このような診断及び検出は、例えば、抗体を検出可能な標識にカップリングすることによって実現することができる。検出可能な標識は、酵素、補欠分子族、蛍光標識、化学発光標識、同位体標識などを含むが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、本願の抗体は、指定された生物学的応答を修飾する治療部分又は薬物部分（そのうち、第8態様に記載の抗体薬物複合体）と複合又は組換え融合することができる。治療部分又は薬物部分は、典型的な化学治療剤に限定されない。例えば、薬物部分は、所望の生物活性を有するタンパク質、ペプチド、ポリペプチド、小分子毒素などであってもよい。

40

【0125】

上記の詳細な説明は、当業者が本願の内容をより明確に理解することを可能にするもの

50

にすぎず、如何なる点において限定することを意図していないことを理解されるべきである。当業者は、記載された実施形態に様々な変更及び変形を加えることができる。

【0126】

実施例

以下、実施例に合わせて、本願の具体的な実施形態を詳細に説明するが、当業者に理解できるように、以下の実施例は本願の発明を説明するものに過ぎず、本願の範囲を限定するものと見なされるべきではない。

【0127】

実施例1：抗ヒトCD73モノクローナル抗体の製造

組換えヒトCD73タンパク質（Arco、カタログ番号CD3-H52H7）で健康なBALB/cマウスを免疫し、初回免疫後、14日毎に3回強化免疫した。マウス末梢血清を採取し、酵素免疫測定法（ELISA）によりマウス血清力価を検出し、血漿抗体力価の高いマウスを選択して細胞融合を行った。融合前の3日に、尾静脈又は腹腔内を介して衝撃免疫を行った。融合当日にマウス脾臓を採取し、単一細胞懸濁液に製造し、SP2/0細胞と脾細胞とを1：2の比率で混合し、電気融合の方法により融合させた。37℃、CO<sub>2</sub>インキュベーターに入れてインキュベートし、ハイブリドーマ細胞が一定の量に成長した場合、ELISA方法によりハイブリドーマ上清をスクリーニングした。陽性クローンを選択し、限界希釈法によりサブクローニングしてスクリーニングした。最後に、得られたモノクローナル陽性細胞は、RNA抽出、逆転写及びPCR増幅によって、マウス免疫グロブリン重鎖及び軽鎖可変領域断片を得て、配列決定を行った。最後に、7C3C2、1F2F9クローンの重鎖及び軽鎖のCDR領域配列並びに可変領域のアミノ酸配列を得て、以下の通りであった。

【0128】

7C3C2

重鎖CDR1：SYDIN（配列番号1）

重鎖CDR2：WIYPRDGF<sup>1</sup>TKYNEKFKG（配列番号2）

重鎖CDR3：KEGYRGDWYFDV（配列番号3）

重鎖可変領域配列

【0129】

【化1】

QVQLQSQSPELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYDINWVKQRPQGLEWIGWIYPRDGF  
TKYNEKFKGKATLTVDTSSTAYMELHSLTSEDSAVYFCARKEGYRGDWYFDVWGTTVT  
VSS（配列番号4）

【0130】

軽鎖CDR1：RASGNVHNYLA（配列番号5）

軽鎖CDR2：NAKTLAD（配列番号6）

軽鎖CDR3：QHFWSTPWT（配列番号7）

軽鎖可変領域配列

【0131】

【化2】

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNVHNYLAWYQKQKSPQLLVYNAKTLADGVP  
SRFSGSGGTQYSLKINSLQPEDFGSY<sup>1</sup>YCQHFWSTPWTFGGGTELEIK（配列番号8）

【0132】

1F2F9

重鎖CDR1：SYWMH（配列番号9）

重鎖CDR2：NINPSNGGTKYNEKFKS（配列番号10）

重鎖CDR3：RDYGSPSY（配列番号11）

重鎖可変領域配列

【0133】

10

20

30

40

50

## 【化3】

QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGHGLEWIGNINPSNGGT  
KYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYLQLSSLTSEDSAVYYCARRDYGSPSYWGQGLTVTSA  
 (配列番号12)

## 【0134】

軽鎖CDR1 : KASQDINSYLT (配列番号13)

軽鎖CDR2 : RTNILLD (配列番号14)

軽鎖CDR3 : LQYHEFPVT (配列番号15)

軽鎖可変領域配列

10

## 【0135】

## 【化4】

DIKMTQSPSSIYASLGERTITCKASQDINSYLTWVQKVGKSPKTLIYRTNILLDGVPSRF  
SGSGSGQDYSLTISLSDYEDMGYHCLQYHEFPVTFGAGTKLELK (配列番号16)

## 【0136】

注：上記抗体可変領域配列において、下線はCDR配列である（Kabat番号付けシステムに基づいて決定して注記した）。

## 【0137】

実施例2：ELISA法によるキメラ抗体の親和性の検出

20

上記モノクローナル抗体をコードする遺伝子の可変領域配列情報に基づいて、ヒトマウスキメラ抗体発現ベクターを構築した。VH及びVLを、L234A、L235A、P329A、P331S突然変異を含むhIgG1-kappa定常領域を含む真核発現ベクターにそれぞれ構築した（本願において、hIgG1と略称され、重鎖定常領域配列は配列番号39に示され、軽鎖定常領域配列は配列番号40に示され、以下の実施例はこれと同じである）。

## 【0138】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV  
 LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP  
 APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN  
 AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAASIEKTISKAKGQP  
 REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS  
 DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号39)

30

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT  
 EQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号40)

得られた真核発現ベクターをHEK293細胞に一過性に導入し、6日間培養した。収集した培養上清はProteinAカラムにより精製され、それぞれ7C3C2-hIgG1、1F2F9-hIgG1と命名した目的抗体を得て、ELISA法を用いて抗体の組換えヒトCD73タンパク質（実施例1と同じ）に対する親和性を測定した。組換えヒトCD73タンパク質で1 μg/mLの濃度でマイクロプレートリーダーをコーティングし、PBST緩衝液でプレートを3回洗浄し、次に2%のBSAを含むPBS緩衝液を用いて、37℃で2hブロックし、PBST緩衝液でプレートを3回洗浄し、5倍勾配希釈した測定待ちの抗体（0~133.3 nM）を加え、37℃で2hインキュベートし、PBST緩衝液でプレートを3回洗浄した。西洋ワサビペルオキシダーゼ標識二次抗体を加え、37℃で1hインキュベートし、PBST緩衝液でプレートを3回洗浄した。発色させ、終了後に吸光値を読み取った。得られた親和性は図1及び表1に示された。

40

## 【0139】

50

## 【表1】

表1. キメラ抗体親和性のEC<sub>50</sub>値

抗体の名称	EC <sub>50</sub> 値 (nM)
7C3C2-hIgG1	0.017
1F2F9-hIgG1	0.028

## 【0140】

CD73タンパク質に対する7C3C2-hIgG1及び1F2F9-hIgG1の結合のEC<sub>50</sub>はそれぞれ、0.017 nM及び0.028 nMであった。以上から分かるように、この2つの抗体のEC<sub>50</sub>値は、更なる実験の要件を満たした。

10

## 【0141】

## 実施例3：抗体ヒト化

Discovery Studio及びSchrodinger Antibody Modelingを用いて相同モデリングを行った。構造シミュレーション及び合理的な設計により、マウス抗体フレームワーク領域に最も近いヒトフレームワーク領域を分析して取得した。マウス7C3C2のヒト化軽鎖テンプレートはIGKV1-NL1であり、重鎖の場合、最も近いヒト適合配列はIGHV1-8遺伝子であり、マウス1F2F9のヒト化軽鎖テンプレートはIGKV1-16遺伝子であり、最も近いヒト重鎖適合配列はIGHV1-3遺伝子であった。軽鎖及び重鎖のCDRを、適合した軽鎖及び重鎖遺伝子のフレームワーク配列にそれぞれ移植し、ヒト化抗体Hab7C3C2及びHab1F2F9を得た。次にDiscovery Studio及びSchrodinger Antibody Modelingにより3Dモデルを構築し、マウスアミノ酸をヒトアミノ酸で置換したフレームワーク位置によって結合及び/又はCDRコンフォメーションに影響を与える部位が存在するかどうかを分析し、復帰突然変異を行い、配列は表2及び表3に示された。関連するヒト化抗体は表4及び5に示された。

20

## 【0142】

30

40

50

【表 2】

表 2. VH 復帰突然変異を有する配列 (CDR 配列は Kabat に基づいて定義される)

構築物	突然変異体
Hab7C3C2-VH.1	重鎖 CDR1 : SYDIN (配列番号 1) 重鎖 CDR2 : WIYPRDGGFTGYAQKFQG (配列番号 17) 重鎖 CDR3 : KEGYRGDWYFDV (配列番号 3) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWYIPRDGFTGYAQKFQGRVTITRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKEGYRGD WYFDVWGQGTTVTVSS (配列番号 18)
Hab7C3C2-VH.1a	重鎖 CDR1 : SYDIN (配列番号 1) 重鎖 CDR2 : WIYPRDGGFTKYNEKFKG (配列番号 2) 重鎖 CDR3 : KEGYRGDWYFDV (配列番号 3) QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWYIPRDGFTKYNEKFKGRATLTVNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKEGYRGD YFDVWGQGTTVTVSS (配列番号 19)
Hab7C3C2-VH.1b	重鎖 CDR1 : SYDIN (配列番号 1) 重鎖 CDR2 : WIYPRDGGFTKYNEKFKG (配列番号 2) 重鎖 CDR3 : KEGYRGDWYFDV (配列番号 3) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWYIPRDGFTKYNEKFKGRVTLTVNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKEGYRGD WYFDVWGQGTTVTVSS (配列番号 20)
Hab7C3C2-VH.1c	重鎖 CDR1 : SYDIN (配列番号 1) 重鎖 CDR2 : WIYPRDGGFTKYNEKFKG (配列番号 21) 重鎖 CDR3 : KEGYRGDWYFDV (配列番号 3) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWYIPRDGFTKYNEKFKGRVTLTVNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKEGYRGD WYFDVWGQGTTVTVSS (配列番号 22)
Hab7C3C2-VH.1d	重鎖 CDR1 : SYDIN (配列番号 1) 重鎖 CDR2 : WIYPRDGGFTKYAQKFQG (配列番号 23) 重鎖 CDR3 : KEGYRGDWYFDV (配列番号 3) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWYIPRDGFTKYAQKFQGRVTLTVNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKEGYRGD WYFDVWGQGTTVTVSS (配列番号 24)

10

20

30

40

【 0 1 4 3 】

50

【 0 1 4 4 】

Hab1F2F9-VH.1a	<p>重鎖 CDR1 : SYWMH (配列番号 9)  重鎖 CDR2 : NINPSNGGTYNEKFKS (配列番号 10)  重鎖 CDR3 : RDYGSPY (配列番号 11)  <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWRQAPGQRLEWIGNINPSNGGTYNEKFKSRATLTVDKSASTAYLELSSLRSEDTAVVYVCARRDYGSPS</u>  <u>YWGQGT</u>TVVSS (配列番号 25)</p>
Hab1F2F9-VH.1b	<p>重鎖 CDR1 : SYWMH (配列番号 9)  重鎖 CDR2 : NINPSNGGTYNEKFKS (配列番号 10)  重鎖 CDR3 : RDYGSPY (配列番号 11)  <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWRQAPGQRLEWIGNINPSNGGTYNEKFKSRVTTVDKSASTAYLELSSLRSEDTAVVYVCARRDYGSPS</u>  <u>YWGQGT</u>TVVSS (配列番号 26)</p>
Hab1F2F9-VH.1c	<p>重鎖 CDR1 : SYWMH (配列番号 9)  重鎖 CDR2 : NINPSNGGTYNEKFKG (配列番号 27)  重鎖 CDR3 : RDYGSPY (配列番号 11)  <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWRQAPGQRLEWIGNINPSNGGTYNEKFKGRTTVDTSASTAYLELSSLRSEDTAVVYVCARRDYGSP</u>  <u>SYWGQGT</u>TVVSS (配列番号 28)</p>
Hab1F2F9-VH.1d	<p>重鎖 CDR1 : SYWMH (配列番号 9)  重鎖 CDR2 : NINPSNGGTYNEKFKG (配列番号 27)  重鎖 CDR3 : RDYGSPY (配列番号 11)  <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWRQAPGQRLEWIGNINPSNGGTYNEKFKGRTTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVVYVCARRDYG</u>  <u>SPSYWGQGT</u>TVVSS (配列番号 29)</p>
Hab1F2F9-VH.1e	<p>重鎖 CDR1 : SYWMH (配列番号 9)  重鎖 CDR2 : NINPSNGGTYKQKFKG (配列番号 30)  重鎖 CDR3 : RDYGSPY (配列番号 11)  <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWRQAPGQRLEWIGNINPSNGGTYKQKFKGRTTVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVVYVCARRDYG</u>  <u>SPSYWGQGT</u>TVVSS (配列番号 31)</p>

10

20

30

40

50

【 表 3 】

表 3. VL 復帰突然変異を有する配列 (CDR 配列は Kabat に基づいて定義される)

構築物	突然変異体
Hab7C3C2-VL.1	軽鎖 CDR1 : RASGNVHNYLA (配列番号 5) 軽鎖 CDR2 : NAKTLAS (配列番号 32) 軽鎖 CDR3 : QHFWSTPWT (配列番号 7) DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASGNVHNYLAWYQQKPKAPKLLVNAKTLASGVPSRFSGSGGTDYTLTISSLQPEDFATYQCQHFHWSTPWTFFGGGTELEIK (配列番号 33)
Hab7C3C2-VL.1a	軽鎖 CDR1 : RASGNVHNYLA (配列番号 5) 軽鎖 CDR2 : NAKTLAD (配列番号 6) 軽鎖 CDR3 : QHFWSTPWT (配列番号 7) DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASGNVHNYLAWYQQKPKAPKLLVNAKTLADGVPSRFSGSGGTDYTLTISSLQPEDFATYQCQHFHWSTPWTFFGGGTELEIK (配列番号 34)
Hab1F2F9-VL.1	軽鎖 CDR1 : RASQDINSYLT (配列番号 35) 軽鎖 CDR2 : RTNILLD (配列番号 14) 軽鎖 CDR3 : LOYHEFPVT (配列番号 15) DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDINSYLTWFQQKPKAPKSLIYRTNILLDGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYCYLQYHEFPVTFGGGTKLEIK (配列番号 36)
Hab1F2F9-VL.1a	軽鎖 CDR1 : KASQDINSYLT (配列番号 13) 軽鎖 CDR2 : RTNILLD (配列番号 14) 軽鎖 CDR3 : LOYHEFPVT (配列番号 15) DIKMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQDINSYLTWFQQKPKAPKTLIYRTNILLDGVPSRFSGSGGTDYTLTISSLQPEDFATYHCLOYHEFPVTFGGGTKLEIK (配列番号 37)
Hab1F2F9-VL.1b	軽鎖 CDR1 : KASQDINSYLT (配列番号 13) 軽鎖 CDR2 : RTNILLD (配列番号 14) 軽鎖 CDR3 : LOYHEFPVT (配列番号 15) DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQDINSYLTWFQQKPKAPKSLIYRTNILLDGVPSRFSGSGGTDYTLTISSLQPEDFATYCYLQYHEFPVTFGGGTKLEIK (配列番号 38)

10

20

30

40

【 0 1 4 5 】

50

## 【表 4】

表4. 7C3C2ヒト化抗体組み合わせの模式図

	Hab7C3C2-VL.1	Hab7C3C2-VL.1a
Hab7C3C2-VH.1	Hab7C3C2.1	Hab7C3C2.2
Hab7C3C2-VH.1a	Hab7C3C2.3	Hab7C3C2.4
Hab7C3C2-VH.1b	Hab7C3C2.5	Hab7C3C2.6
Hab7C3C2-VH.1c	Hab7C3C2.7	Hab7C3C2.8
Hab7C3C2-VH.1d	Hab7C3C2.9	Hab7C3C2.10

## 【0146】

10

## 【表 5】

表5. 1F2F9ヒト化抗体組み合わせの模式図

	Hab1F2F9-VL.1	Hab1F2F9-VL.1a	Hab1F2F9-VL.1b
Hab1F2F9-VH.1a	Hab1F2F9.1	Hab1F2F9.2	Hab1F2F9.3
Hab1F2F9-VH.1b	Hab1F2F9.4	Hab1F2F9.5	Hab1F2F9.6
Hab1F2F9-VH.1c	Hab1F2F9.7	Hab1F2F9.8	Hab1F2F9.9
Hab1F2F9-VH.1d	Hab1F2F9.10	Hab1F2F9.11	Hab1F2F9.12
Hab1F2F9-VH.1e	Hab1F2F9.13	Hab1F2F9.14	Hab1F2F9.15

## 【0147】

20

実施例4：ヒト化抗CD73抗体の親和性の検出

## 4.1 Fortebioによるヒト化抗体のヒトCD73タンパク質に対する親和性の検出

ヒト化抗体VH及びVLを、L234A、L235A、P329A、P331S突然変異を含むhIgG1-kappa定常領域を含む真核発現ベクターにそれぞれ構築し（本願において、hIgG1と略称）、本実施例では全てのヒト化抗体の親和性を検出した。HIS1Kバイオセンサを用いて、0.3 nmの結合が閾値を応答するまで、ヒトCD73タンパク質をバイオセンサに固定した。120 sのベースラインステップ後、センサを、0.02%のPBST緩衝液で勾配希釈した抗CD73抗体分析物にそれぞれ浸漬し、抗体の開始濃度は25 nM、2倍勾配希釈し、7個の濃度勾配を設定した。分析物に対するリガンドの結合及び解離時間はそれぞれ120 s及び300 sであった。結合曲線に基づいて、分析ソフトウェアにより、抗原抗体の親和性データを回帰算出した。全ての検出抗体において、Hab7C3C2.5、Huab7C3C2.9、Huab1F2F9.12及びHuab1F2F9.15は、最も高い親和性及び比較的少ない復帰突然変異が示され、結果は表6に示された。

30

## 【0148】

## 【表 6】

表6. Fortebio法によるヒト化抗体のヒトCD73タンパク質に対する親和性の検出

被験物	Ka(1/Ms)	Kd(1/s)	KD(M)
Hab7C3C2.5	3.56E06	2.72E-03	7.653E-10
Hab7C3C2.9	3.7E06	3.81E-03	1.03E-09
Hab1F2F9.12	1.85E06	1.33E-03	7.195E-10
Hab1F2F9.15	2.06E06	1.6E-03	7.787E-10

40

## 【0149】

## 4.2 ELISAによるヒト化抗体のヒトCD73タンパク質に対する親和性の検出

ELISA法を用いて、ヒト化抗体の組換えCD73タンパク質に対する親和性を測定し、CD73タンパク質で1 µg/mLの濃度でマイクロプレートリーダーをコーティングし、5倍勾配希釈した抗体（0～66.7 nM）を加え、抗体で得られた親和性は図2及び表7に示された。

## 【0150】

50

## 【表7】

表7. ELISA法によるヒト化抗体の親和性のEC<sub>50</sub>値の検出

被験物	EC <sub>50</sub> 値 (nM)
Hab7C3C2.5	0.013
Hab1F2F9.15	0.011

## 【0151】

CD73タンパク質に対するHab7C3C2.5及びHab1F2F9.15の結合のEC<sub>50</sub>は、それぞれ0.013 nM及び0.011 nMであった。以上から分かるように、ヒト化後の抗体は、マウス抗体と比較して、親和性に影響を及ぼさなかった。

10

## 【0152】

## 実施例5：ヒト腫瘍細胞に対するヒト化抗体の結合

本実施例では、本願の例示的な抗体と他の特許出願に説明される抗CD73抗体とを比較した。MEDI9447及びHu101-28 (CDR領域配列は、それぞれPCT特許出願WO2016/075099及びWO2018/137598から) 抗体を、hIgG1-kappa定常領域を含む真核発現ベクターにクローンした。細胞表面にヒトCD73を内因的に発現する腫瘍細胞株MDA-MB-231及びSKOV3を用いて、細胞表面CD73に対するヒト化抗体Hab7C3C2.5及びHab1F2F9.15の結合能力を評価した。細胞を、 $2 \times 10^6$ /mLの密度、100  $\mu$ L/ウェルで96ウェルプレートに接種した。4倍勾配希釈した抗体(0~100 nM)を加え、4で1hインキュベートした。ヤギ抗ヒト二次抗体を加え、4で暗所で50 min標識し、フローサイトメリーにより細胞の蛍光強度を読み取った。実験結果は図3、4及び表8に示された。結果は、本願の例示的なヒト化抗体が、細胞株に発現するCD73タンパク質に用量依存的に結合することができることを示した。同時に、Hab7C3C2.5及びHab1F2F9.15の、細胞表面CD73を認識する能力は、MEDI9447に相当し、対応する分子Hu101-28よりも優れた。

20

## 【0153】

## 【表8】

表8. ヒト腫瘍細胞表面CD73に対する本願の例示的なヒト化抗体の結合実験

被験物	細胞レベル親和性EC <sub>50</sub> (nM)	
	MDA-MB-231細胞	SK-OV-3細胞
Hab7C3C2.5	0.41	0.07
Hab1F2F9.15	0.48	0.19
MEDI9447	0.49	0.17

30

## 【0154】

## 実施例6：ヒト化抗CD73抗体とカニクイザルCD73との交差反応

## 6.1 Fortebio法によるヒト化抗体とサルCD73タンパク質との交差認識の検出

本実施例では、本願の例示的なヒト化抗CD73抗体とカニクイザルCD73との交差結合力をFortebio実験により検出した。具体的な実施ステップは以下を含む。カニクイザルのCD73タンパク質をHIS1Kバイオセンサに固定した。120 sのベースラインステップ後、センサを、0.02%のPBST緩衝液で勾配希釈した抗CD73抗体分析物にそれぞれ浸漬し、抗体の開始濃度は25 nM、7個の濃度勾配をそれぞれ設定し、親和性分析実験を行った。分析物に対するリガンドの結合及び解離時間はそれぞれ120 s及び300 sであった。結合曲線に基づいて、分析ソフトウェアにより、抗原抗体の親和性データを回帰算出した。結果は表9に示され、本願の例示的な抗体は、カニクイザルのCD73タンパク質を交差認識することができる。

40

## 【0155】

50

## 【表 9】

表9. Fortebio法によるヒト化抗体のカニクイザルCD73タンパク質に対する親和性の検出

被験物	Ka(1/Ms)	Kd(1/s)	KD(M)
Hab7C3C2.5	4.08E06	2.99E-03	7.32E-10
Hab7C3C2.9	4.56E06	3.88E-03	8.52E-10
Hab1F2F9.12	2.22E06	1.52E-03	6.81E-10
Hab1F2F9.15	2.09E06	1.7E-03	8.14E-10

## 【0156】

6.2 フローサイトメトリーによるヒト化抗体とサルCD73タンパク質との交差認識の検出 10

本願で製造したヒト化抗体の、細胞膜上のカニクイザルCD73分子に対する認識能力を特徴付けるために、サル全長CD73を安定的に発現することができるCHO-K1細胞を構築した。細胞を、 $2 \times 10^6$ /mLの密度、100  $\mu$ L/ウェルで96ウェルプレートに接種した。PBS緩衝液で3回洗浄し、上清を廃棄した。PBS緩衝液で勾配希釈した抗体を加え、4で1 hインキュベートした。PBS緩衝液で細胞を3回洗浄し、続いてAlexa Fluor 488 標識ヤギ抗ヒトIgG抗体を用いて4で暗所で50 min標識した。PBS緩衝液で細胞を3回洗浄し、フローサイトメーターにより細胞の蛍光強度を読み取った。

## 【0157】

図5及び表10の結果に示すように、製造したヒト化抗体は、細胞に発現するサルCD73タンパク質に用量依存的に結合することができる。 20

## 【0158】

## 【表10】

表10. 細胞表面カニクイザルCD73に対する本願の例示的なヒト化抗体の結合実験

被験物	細胞レベル親和性EC <sub>50</sub> (nM)
Hab7C3C2.5	11.34
Hab1F2F9.15	1.51

30

## 【0159】

実施例7：抗CD73抗体媒介性CD73酵素活性阻害能力

## 7.1 CD73プロテアーゼ活性阻害

組換えヒトCD73タンパク質を、最終濃度が0.5  $\mu$ g/mLとなるように希釈し、4倍勾配希釈(0~5 nM)した抗CD73抗体を加え、ヒトIgG1を陰性対照として、37で1 hインキュベートした。ATP(75  $\mu$ M)及びAMP(94  $\mu$ M)を各ウェルに加え、37で1 hインキュベートした。ルシフェラーゼを含有する等体積のCellTiter-Gloを各ウェルに加え、マイクロプレートリーダーにより自発光値を読み取った。結果は、図6及び表11に示すように、Hab7C3C2.5及びHab1F2F9.15が、遊離CD73プロテアーゼの活性を阻害することができる。 40

## 【0160】

## 【表11】

表11. ヒト化抗体のCD73プロテアーゼ活性に対する阻害活性データ

被験物	プロテアーゼ活性阻害IC <sub>50</sub> (nM)
Hab7C3C2.5	0.018
Hab1F2F9.15	0.011

## 【0161】

7.2 ヒトMDA-MB-231細胞上のCD73酵素活性阻害活性

50  $\mu$ L/ウェルの異なる用量の、3倍勾配希釈(0~10 nM)した抗CD73抗体又はアイ 50

ソタイプ対照抗体（ヒトIgG1）が存在する場合に、CD73を発現するMDA-MB-231細胞を、 $2 \times 10^5$ /mL、100  $\mu$ L/ウェルで96ウェルプレートに接種した。プレートを37°Cで1 hインキュベートし、次に50  $\mu$ L/ウェルで各ウェルにAMP（1800  $\mu$ M）を加え、37°Cで2時間インキュベートした。1000 rpmで細胞を5 min遠心分離し、50  $\mu$ Lの上清液を新しい96ウェルプレートに移し、最終濃度が75  $\mu$ Mとなるように50  $\mu$ LのATPを加えた。1：1の比率でCellTiter-Glo試薬（Promega）を加え、細胞性CD73酵素活性を測定した。結果は、図7及び表12に示すように、Hab7C3C2.5及びHab1F2F9.15が、MDA-MB-231細胞におけるCD73酵素活性を阻害することができる。

【0162】

【表12】

表12. ヒト化抗体のMDA-MB-231細胞におけるCD73酵素活性に対する阻害活性

被験物	細胞酵素活性阻害IC <sub>50</sub> (nM)
Hab7C3C2.5	0.027
Hab1F2F9.15	0.069

10

【0163】

実施例8：抗体誘導細胞表面CD73の内在化

本実施例では、フローサイトメトリーにより、抗体媒介性CD73の内在化を評価した。細胞を無血清DMEM培地に懸濁し、氷上で検証される抗体と共にそれぞれ1 hインキュベートし、抗体濃度を10  $\mu$ g/mLとした。無血清DMEM培地で細胞を3回洗浄し、異なる抗体をインキュベートした細胞を無血清DMEM培地にそれぞれ懸濁し、それぞれ2部に分けて2つの24ウェルプレートにそれぞれ播種した。1つの培養プレートを37°Cのインキュベーターに入れてインキュベートし、別の培養プレートを対照群として4°Cの冷蔵庫に入れて24 hインキュベートした。細胞を収集して洗浄し、Alexa Fluor 488標識ヤギ抗ヒト二次抗体を添加し、4°Cで暗所で1 h染色した。PBS緩衝液で3回洗浄し、フローサイトメーターにより検出された。

20

【0164】

結果は、図8に示すように、本願の例示的な抗体が、約60%のCD73受容体の内在化を誘導し、40%程度の初期表面染色を維持することができる。全ての計算値は、当該対象（100%と設定）と比較した内在化百分率であった。

30

【0165】

実施例9：抗体の認識エピトープの同定

本実施例では、CD73タンパク質のC末端部分（配列番号41）及びN末端部分（配列番号42）をそれぞれ構築し、ELISA法により抗体認識エピトープを検出した。CD73のN末端及びC末端のタンパク質で1  $\mu$ g/mLの濃度でマイクロプレートリーダーをそれぞれコーティングし、測定待ちの抗体を勾配希釈した。得られた親和性は、図9A（N末端）、9B（C末端）に示された。実験の結果は、対照抗体（MEDI9447及びHu101-28）と比較して、Hab7C3C2.5及びHab1F2F9.15の結合エピトープに差があり、Hab7C3C2.5及びHab1F2F9.15がCD73タンパク質のN末端及びC末端に結合せず、MEDI9447がCD73タンパク質のN末端に結合し、Hu101-28がCD73タンパク質のC末端に結合することを示した。本願のHab7C3C2.5及びHab1F2F9.15の結合エピトープは、MEDI9447及びHu101-28と明らかに異なる。

40

【0166】

実施例10：抗CD73抗体の動物インビボの生物学的活性の評価

PBMC免疫再構成マウスにおけるキメラ抗体の単剤薬効の評価

腫瘍異種移植モデルにおいて、1F2F9キメラ抗体の単剤治療効果を評価した。 $4 \times 10^6$ 個のA375黒色腫細胞及び $4 \times 10^5$ 個のヒトPBMCをマトリゲルと1：1で混合した後、NCG免疫不全マウスに接種した。移植当日に、30 mg/kgの1F2F9キメラ抗体又はPBS対照を腹腔内注射し、1日おきに1回注射した。治療後の24日に、複数のマウス腫瘍サイズが上限（2000 mm<sup>3</sup>）に達した。従って、治療後24日に分析データ終点となった。対照

50

群では、平均腫瘍体積が治療24日に $1448 \pm 176.76 \text{ mm}^3$  (平均値 $\pm$ 標準誤差)であった。対照群と比較して、1F2F9-hIgG1及びMEDI9447の投与が腫瘍成長を減少させ、それぞれ31.14%及び16.88%の腫瘍阻害をもたらし、腫瘍体積はそれぞれ $997.37 \pm 131.39 \text{ mm}^3$ 及び $1203.95 \pm 158.01 \text{ mm}^3$  (図10A)であった。単一腫瘍体積の結果は図10B (複数の線は複数のマウスをそれぞれ表す)に示された。各実験群の体重変化は顕著ではなく (図10C)、治療に良好な耐性があることを示した。

#### 【0167】

実施例11：遺伝子マウスにおけるCD73ヒト化抗体の薬効の評価

本実施例では、ヒトCD73/PD1/PDL1ノックインBALB/cマウス及びヒトCD73/PDL1を過剰発現したCT26細胞 (結腸癌細胞株)を用いて、Huab1F2F9.15、抗PD-1抗体及びそれらの組み合わせの薬効を評価した。1 $\times 10^6$ 個のCT26-hCD73/hPDL1細胞を遺伝子マウスに皮下接種した。腫瘍の平均体積が60~80 $\text{ mm}^3$ 程度である場合、腫瘍体積に応じて群分けした。群分け当日をD0日と定義し、群分け当日に投与を開始した。指定された用量の抗体又はPBS対照を週に2回で腹腔内注射した。単独の抗PD-1抗体 (1 mg/kg)、単独の抗CD73抗体 (Huab1F2F9.15及びMEDI9447、15 mg/kg)並びに抗PD-1抗体+抗CD73抗体 (1 mg/kg+15 mg/kg)を用いてマウスを処理した。結果は、Huab1F2F9.15と抗PD-1抗体、並びにMEDI9447と抗PD1抗体の併用投与が腫瘍成長を減少させ、それぞれ53.74%及び37.67%の腫瘍阻害をもたらし、Huab1F2F9.15と抗PD-1抗体の併用効果がMEDI9447と抗PD1抗体の組み合わせより顕著に優れることを示した (図11A)。単一腫瘍体積の結果は、図11B (複数の線は異なるマウスをそれぞれ表す)に示された。各実験群の体重変化は顕著ではなく (図11C)、治療に良好な耐性があることを示した。

以上の実験結果をまとめると、本願は、高い親和性を有すると共に、CD73タンパク質を認識する細胞レベル上のCD73抗体を得た。試験された代表的な抗体は、CD73の酵素活性を強力に阻害すると同時に、腫瘍細胞におけるCD73タンパク質の内在化を誘導することができ、細胞表面CD73分子を低減することでCD73の酵素活性を更に低減し、それにより、様々な経路によってCD73酵素活性を阻害する効果を達成した。エピトープ分析により、本願の例示的な抗体がCD73タンパク質の単独のN末端及びC末端の両方のタンパク質に結合せず、MEDI9447及びHu101-28などの従来技術の抗体との差別化されたエピトープ結合特性を有することを示した。動物インビボ実験は、1F2F9キメラ抗体及びヒト化Huab1F2F9.15抗体が動物インビボ腫瘍細胞の増殖を効果的に阻害できることを実証した。特に、ヒト化Huab1F2F9.15抗体と抗PD-1抗体の併用は、腫瘍阻害の優れた効果を達成し、良好な耐性が示された。

#### 【0168】

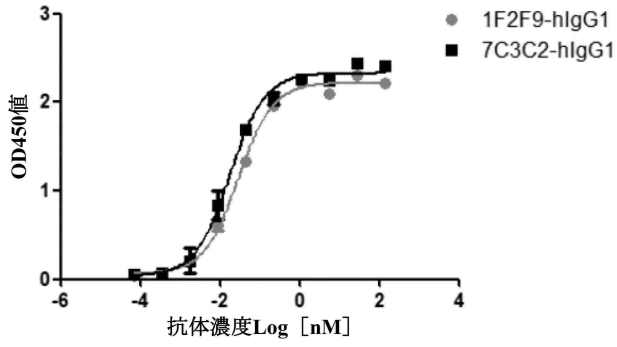
本明細書で提供される任意の及び全ての実施例又は例示的な言葉 (例えば、「などの」)の使用は、別段の要求がない限り、本願をより良好に説明することを単に意図しており、本願の範囲を限定するものではない。明細書における言葉は、特許請求されていない要素が本願の実施に必須であることを示すと解釈されるべきではない。

#### 【0169】

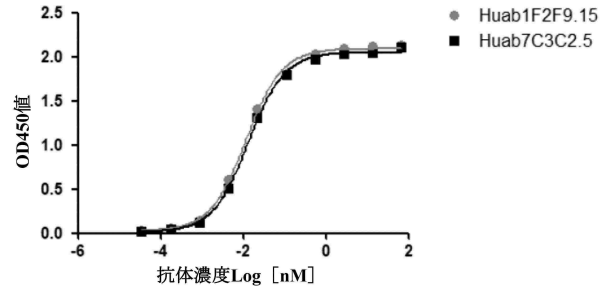
本明細書で引用される全ての刊行物及び特許出願は、個々の刊行物又は特許出願が参照により組み込まれることが具体的且つ個別に示されるのと同じように、参照により本明細書に組み込まれる。更に、本明細書に記載される任意の理論、メカニズム、実証又は発見は、本願に対する理解を更に高めることを意図しており、如何なる形で本願をそのような理論、メカニズム、実証又は発見に限定することを意図するものではない。図面及び前述の説明で本願を詳細に示し、説明したが、本願は、例示的なものであり、限定的なものではないと見なされるべきである。

【 図面 】

【 図 1 】

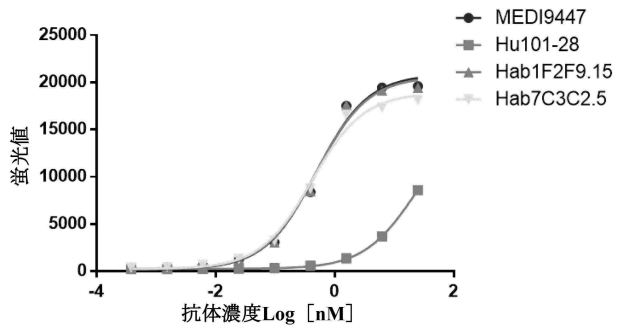


【 図 2 】

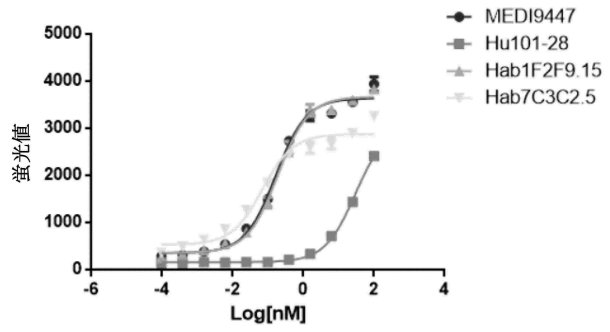


10

【 図 3 】

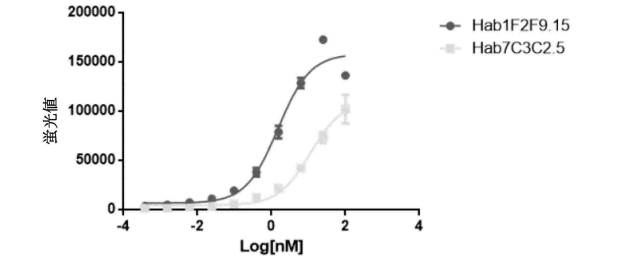


【 図 4 】

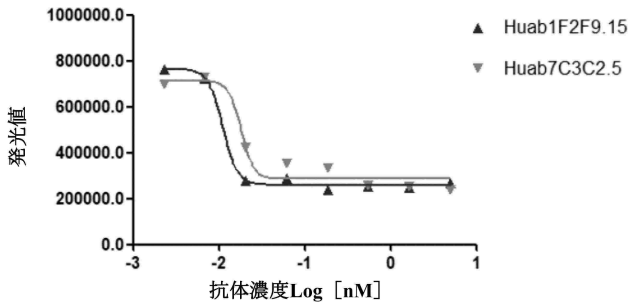


20

【 図 5 】



【 図 6 】

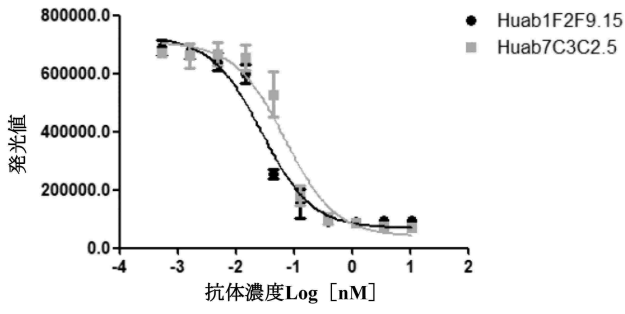


30

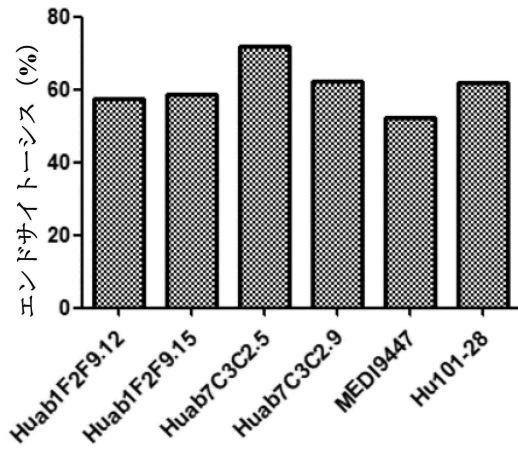
40

50

【 図 7 】

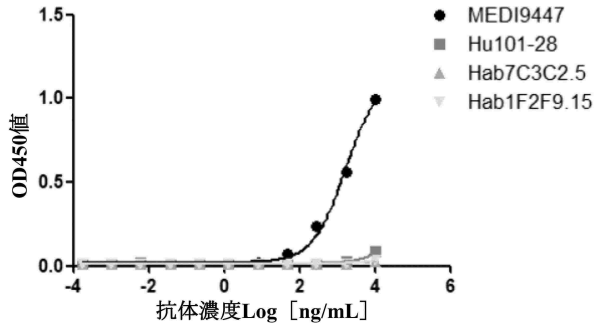


【 図 8 】

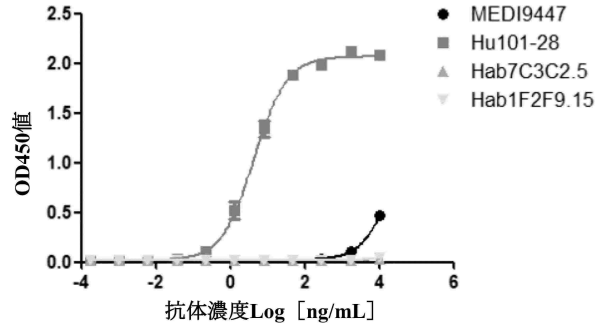


10

【 図 9 A 】



【 図 9 B 】



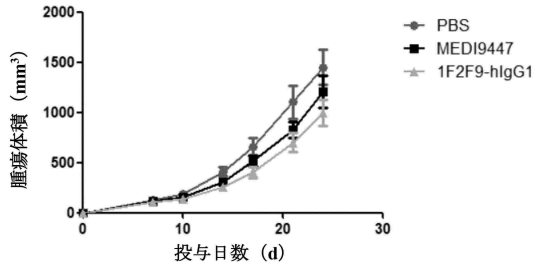
20

30

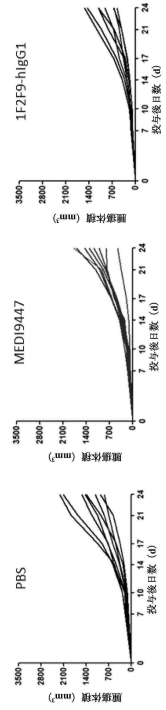
40

50

【 図 1 0 A 】



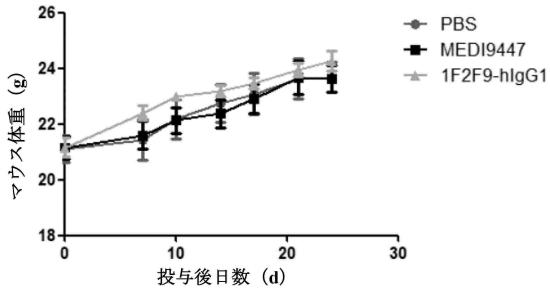
【 図 1 0 B 】



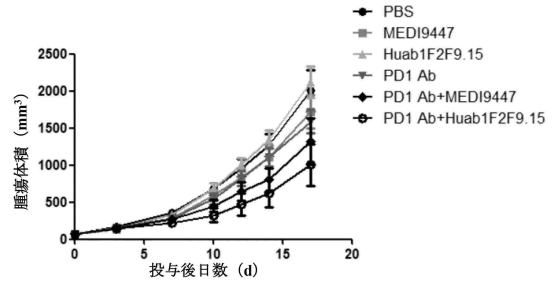
10

20

【 図 1 0 C 】



【 図 1 1 A 】

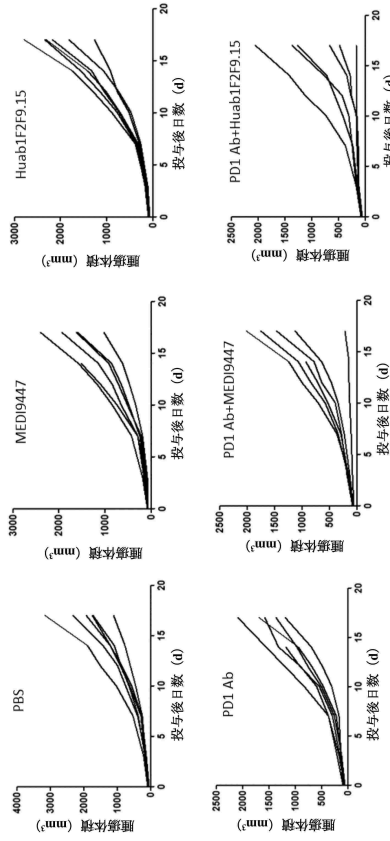


30

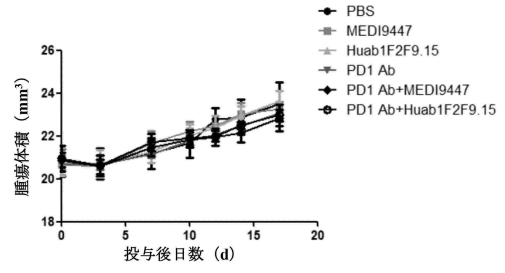
40

50

【 図 1 1 B 】



【 図 1 1 C 】



10

20

【 配列表 】

202550449600001.xml

30

40

50

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/CN2023/072527</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> C07K 16/28(2006.01)i;C12N15/13(2006.01)i;A61K39/395(2006.01)i;A61P35/00(2006.01)i 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) IPC: C07K; C12N; A61K; A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, DWPI, SIPOABS, CNKI, NCBI, ISI Web of Science: 抗体, 单抗, 人, 分化簇, 核苷酸酶, antibody, monoclonal, human, humanized, cluster, 73, CD73, 5', nucleotidase, 5'-Nt, KD, EC50		
<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	CN 107001474 A (BRISTOL MYERS SQUIBB COMPANY) 01 August 2017 (2017-08-01) entire document, in particular, claims, and description, embodiments 1 and 2, and table 11, and abstract	1-43
X	CN 112166124 A (BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH) 01 January 2021 (2021-01-01) entire document, in particular, claims, and description, embodiments 1 and 2, and table 1, and abstract	1-43
X	CN 109476740 A (BRISTOL MYERS SQUIBB COMPANY) 15 March 2019 (2019-03-15) entire document, in particular, claims, and description, embodiments 1 and 2, and table 11, and abstract	1-43
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>16 February 2023</b>		Date of mailing of the international search report <b>08 March 2023</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)            China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,            Beijing 100088</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer    Telephone No.

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

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/CN2023/072527**

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

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

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

10

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

3. Additional comments:

20

30

40

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2023/072527**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	107001474	A	01 August 2017	AR	102698	A1	15 March 2017
				CL	2018001414	A1	24 August 2018
				IL	252353	A0	31 July 2017
				IL	252353	B	30 June 2021
				TW	202124451	A	01 July 2021
				TWI	758928	B	21 March 2022
				NZ	731633	A	28 January 2022
				EP	3725808	A1	21 October 2020
				US	2019062456	A1	28 February 2019
				US	11352440	B2	07 June 2022
				US	2017253665	A1	07 September 2017
				US	10167343	B2	01 January 2019
				EA	201790986	A1	31 October 2017
				EA	035766	B1	07 August 2020
				ME	03806	B	20 April 2021
				MY	189836	A	11 March 2022
				EP	3221363	A2	27 September 2017
				EP	3221363	B1	06 May 2020
				ES	2807182	T3	22 February 2021
				HK	1244817	A1	17 August 2018
				SG	10201913004	UA	30 March 2020
				KR	20170080699	A	10 July 2017
				HUE	050596	T2	28 December 2020
				SG	11201703192	SA	30 May 2017
				JP	2017537620	A	21 December 2017
				JP	6805142	B2	23 December 2020
				AU	2021215286	A1	09 September 2021
				UY	36404	A	01 June 2016
				CL	2017001296	A1	16 February 2018
				LT	3221363	T	10 August 2020
				IL	283965	A	29 July 2021
				PT	3221363	T	23 July 2020
				BR	112017010110	A2	30 January 2018
				SI	3221363	T1	30 September 2020
				CA	2968357	A1	26 May 2016
				TN	2017000203	A1	19 October 2018
				WO	2016081748	A2	26 May 2016
				WO	2016081748	A3	15 September 2016
				RS	60631	B1	30 September 2020
				TW	201625693	A	16 July 2016
				TWI	711630	B	01 December 2020
				MA	40309	A1	31 January 2018
				JP	2021061837	A	22 April 2021
				HRP	20201176	T1	13 November 2020
				US	2016145350	A1	26 May 2016
				US	9605080	B2	28 March 2017
				US	2018127513	A1	10 May 2018
				US	10100129	B2	16 October 2018
				EA	202090956	A2	30 September 2020
				EA	202090956	A3	30 December 2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2023/072527**

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
						PH	12017500918	A1	20 November 2017
						CO	2017005845	A2	11 September 2017
						MX	2017006624	A	21 August 2017
						PL	3221363	T3	11 January 2021
						DK	3221363	T3	10 August 2020
						PE	20170782	A1	04 July 2017
						AU	2015349878	A1	25 May 2017
						US	2019055320	A1	21 February 2019
CN	112166124	A	01 January 2021	KR	20210013135	A			03 February 2021
						WO	2019224025	A2	28 November 2019
						WO	2019224025	A3	02 January 2020
						EP	3797119	A2	31 March 2021
						JP	2021522780	A	02 September 2021
						TW	202005982	A	01 February 2020
						AR	115389	A1	13 January 2021
						CA	3093882	A1	28 November 2019
						US	2019352420	A1	21 November 2019
						US	11312785	B2	26 April 2022
						PH	12020551907	A1	14 June 2021
						BR	112020017676	A2	29 December 2020
						EA	202092735	A1	22 April 2021
						EP	3569618	A1	20 November 2019
						AU	2019274626	A1	17 September 2020
CN	109476740	A	15 March 2019	EA	201891983	A1			28 February 2019
						EA	201891983	A8	28 May 2020
						CA	3016187	A1	08 September 2017
						MX	2018010473	A	28 September 2018
						EP	3423494	A1	09 January 2019
						SG	10201913033	UA	30 March 2020
						JP	2022104961	A	12 July 2022
						SG	11201806861	SA	27 September 2018
						IL	295230	A	01 October 2022
						US	2019284293	A1	19 September 2019
						AU	2017228470	A1	30 August 2018
						AU	2017228470	A8	23 April 2020
						JP	2019514844	A	06 June 2019
						WO	2017152085	A1	08 September 2017
						WO	2017152085	A8	16 April 2020
						KR	20220033522	A	16 March 2022
						BR	112018067368	A2	15 January 2019
						IL	261395	A	31 October 2018
						KR	20180118725	A	31 October 2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/072527

<b>A. 主题的分类</b>		
C07K 16/28(2006.01)i;C12N15/13(2006.01)i;A61K39/395(2006.01)i;A61P35/00(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
<b>B. 检索领域</b>		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
IPC: C07K; C12N; A61K; A61P		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNABS, DWPI, SIPOABS, CNKI, NCBI, ISI Web of Science: 抗体, 单抗, 人, 分化簇, 核苷酸酶, antibody, monoclonal, human, humanized, cluster, 73, CD73, 5', nucleotidase, 5'-Nt, KD, EC50		
<b>C. 相关文件</b>		
<b>类型*</b>	<b>引用文件, 必要时, 指明相关段落</b>	<b>相关的权利要求</b>
X	CN 107001474 A (百时美施贵宝公司) 2017年8月1日 (2017 - 08 - 01) 全文, 尤其是权利要求书、说明书实施例1、2、表1和摘要	1-43
X	CN 112166124 A (勃林格殷格翰国际有限公司) 2021年1月1日 (2021 - 01 - 01) 全文, 尤其是权利要求书、说明书实施例1、2、表1和摘要	1-43
X	CN 109476740 A (百时美施贵宝公司) 2019年3月15日 (2019 - 03 - 15) 全文, 尤其是权利要求书、说明书实施例1、2、表1和摘要	1-43
<input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。		<input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件
国际检索实际完成的日期 2023年2月16日		国际检索报告邮寄日期 2023年3月8日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 吴永庆 电话号码 (+86) 010-62089161

PCT/ISA/210 表(第2页)(2022年7月)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/072527

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的:

- a.  作为国际申请的一部分提交的:
- b.  为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三.1(a)),  
 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。

10

2.  本报告是在没有收到符合WIPO ST. 26标准的序列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。

3. 补充意见:

20

30

40

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2023/072527

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	107001474	A	2017年8月1日	AR	102698	A1	2017年3月15日
				CL	2018001414	A1	2018年8月24日
				IL	252353	A0	2017年7月31日
				IL	252353	B	2021年6月30日
				TW	202124451	A	2021年7月1日
				TWI	758928	B	2022年3月21日
				NZ	731633	A	2022年1月28日
				EP	3725808	A1	2020年10月21日
				US	2019062456	A1	2019年2月28日
				US	11352440	B2	2022年6月7日
				US	2017253665	A1	2017年9月7日
				US	10167343	B2	2019年1月1日
				EA	201790986	A1	2017年10月31日
				EA	035766	B1	2020年8月7日
				ME	03806	B	2021年4月20日
				MY	189836	A	2022年3月11日
				EP	3221363	A2	2017年9月27日
				EP	3221363	B1	2020年5月6日
				ES	2807182	T3	2021年2月22日
				HK	1244817	A1	2018年8月17日
				SG	10201913004	UA	2020年3月30日
				KR	20170080699	A	2017年7月10日
				HUE	050596	T2	2020年12月28日
				SG	11201703192	SA	2017年5月30日
				JP	2017537620	A	2017年12月21日
				JP	6805142	B2	2020年12月23日
				AU	2021215286	A1	2021年9月9日
				UY	36404	A	2016年6月1日
				CL	2017001296	A1	2018年2月16日
				LT	3221363	T	2020年8月10日
				IL	283965	A	2021年7月29日
				PT	3221363	T	2020年7月23日
				BR	112017010110	A2	2018年1月30日
				SI	3221363	T1	2020年9月30日
				CA	2968357	A1	2016年5月26日
				TN	2017000203	A1	2018年10月19日
				WO	2016081748	A2	2016年5月26日
				WO	2016081748	A3	2016年9月15日
				RS	60631	B1	2020年9月30日
				TW	201625693	A	2016年7月16日
				TWI	711630	B	2020年12月1日
				MA	40309	A1	2018年1月31日
				JP	2021061837	A	2021年4月22日
				HRP	20201176	T1	2020年11月13日
				US	2016145350	A1	2016年5月26日
				US	9605080	B2	2017年3月28日
				US	2018127513	A1	2018年5月10日
				US	10100129	B2	2018年10月16日
				EA	202090956	A2	2020年9月30日
				EA	202090956	A3	2020年12月30日

10

20

30

40

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2023/072527

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)		同族专利		公布日 (年/月/日)	
				PH	12017500918	A1	2017年11月20日		
				CO	2017005845	A2	2017年9月11日		
				MX	2017006624	A	2017年8月21日		
				PL	3221363	T3	2021年1月11日		10
				DK	3221363	T3	2020年8月10日		
				PE	20170782	A1	2017年7月4日		
				AU	2015349878	A1	2017年5月25日		
				US	2019055320	A1	2019年2月21日		
CN	112166124	A	2021年1月1日	KR	20210013135	A	2021年2月3日		
				WO	2019224025	A2	2019年11月28日		
				WO	2019224025	A3	2020年1月2日		
				EP	3797119	A2	2021年3月31日		
				JP	2021522780	A	2021年9月2日		
				TW	202005982	A	2020年2月1日		
				AR	115389	A1	2021年1月13日		
				CA	3093882	A1	2019年11月28日		20
				US	2019352420	A1	2019年11月21日		
				US	11312785	B2	2022年4月26日		
				PH	12020551907	A1	2021年6月14日		
				BR	112020017676	A2	2020年12月29日		
				EA	202092735	A1	2021年4月22日		
				EP	3569618	A1	2019年11月20日		
				AU	2019274626	A1	2020年9月17日		
CN	109476740	A	2019年3月15日	EA	201891983	A1	2019年2月28日		
				EA	201891983	A8	2020年5月28日		
				CA	3016187	A1	2017年9月8日		
				MX	2018010473	A	2018年9月28日		
				EP	3423494	A1	2019年1月9日		
				SG	10201913033	UA	2020年3月30日		30
				JP	2022104961	A	2022年7月12日		
				SG	11201806861	SA	2018年9月27日		
				IL	295230	A	2022年10月1日		
				US	2019284293	A1	2019年9月19日		
				AU	2017228470	A1	2018年8月30日		
				AU	2017228470	A8	2020年4月23日		
				JP	2019514844	A	2019年6月6日		
				WO	2017152085	A1	2017年9月8日		
				WO	2017152085	A8	2020年4月16日		
				KR	20220033522	A	2022年3月16日		
				BR	112018067368	A2	2019年1月15日		
				IL	261395	A	2018年10月31日		
				KR	20180118725	A	2018年10月31日		40

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

10

20

30

40

## フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	

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

- (72)発明者 姚兵  
中華人民共和国 0 5 0 0 2 5 河北省石家庄市高新区 倉 盛路 5 1 9 号
- (72)発明者 淡墨  
中華人民共和国 0 5 0 0 2 5 河北省石家庄市高新区 倉 盛路 5 1 9 号
- (72)発明者 ジン 子怡  
中華人民共和国 0 5 0 0 2 5 河北省石家庄市高新区 倉 盛路 5 1 9 号
- (72)発明者 郭青娟  
中華人民共和国 0 5 0 0 2 5 河北省石家庄市高新区 倉 盛路 5 1 9 号
- (72)発明者 袁燦  
中華人民共和国 0 5 0 0 2 5 河北省石家庄市高新区 倉 盛路 5 1 9 号
- (72)発明者 李文賓  
中華人民共和国 0 5 0 0 2 5 河北省石家庄市高新区 倉 盛路 5 1 9 号
- (72)発明者 王超  
中華人民共和国 0 5 0 0 2 5 河北省石家庄市高新区 倉 盛路 5 1 9 号

F ターム (参考) 4B065 AA01X AA57X AA83X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA25  
CA44  
4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59  
4C085 AA14 BB31 CC23 DD61 EE03  
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA75 DA76 EA20  
FA74 GA26