(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-512915
(P2025-512915A)
(43)公表日　令和7年4月22日(2025.4.22)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｔ	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00	ＺＮＡ	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ	４Ｈ０４５
Ｃ０７Ｋ	*16/46 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｐ	
Ｃ０７Ｋ	*16/30 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		

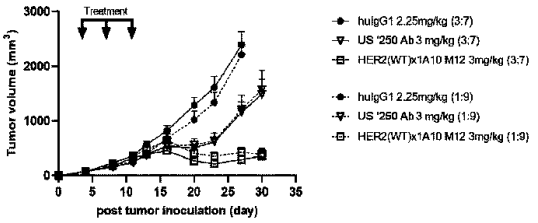
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全63頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-558258(P2024-558258)
(86)(22)出願日　令和5年4月6日(2023.4.6)
(85)翻訳文提出日　令和6年11月8日(2024.11.8)
(86)国際出願番号　PCT/KR2023/004686
(87)国際公開番号　WO2023/195810
(87)国際公開日　令和5年10月12日(2023.10.12)
(31)優先権主張番号　10-2022-0043555
(32)優先日　令和4年4月7日(2022.4.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
韓国(KR)
(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

(71)出願人　516006530
ユハン コーポレーション
ＹＵＨＡＮ ＣＯＲＰＯＲＡＴＩＯＮ
大韓民国，０６９２７，ソウル，トンジャクーク，ノリャンジンーロ，７４
(74)代理人　110002077
園田・小林弁理士法人
(72)発明者　リー， ウンジョン
大韓民国 １６８５７， キョンギード，ヨンインーシ， スジーグ， スジーロ ７５， ２０８－１０１
(72)発明者　リー， ウンジョン
大韓民国 １６９１７， キョンギード，ヨンインーシ， ギフンーグ， クソンーロ ５３ボンーギル， ８， ６０４番
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＨＥＲ２の発現レベルが低いがんを治療又は予防するための薬学的組成物

(57)【要約】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体を使用するＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現がんの治療及び／又は予防のための薬学的組成物及び方法が提供される。
【選択図】図６



【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体を含むＨＥＲ２低発現がんの予防又は治療のための薬学的組成物であって、二重特異性抗体が、
（ａ）抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片と；
（ｂ）抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片
を含み、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：１、２、又は３のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１；
配列番号：４、５、又は６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；
配列番号：７、８、９、１０、又は１１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；
配列番号：１２又は１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；
配列番号：１４又は１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び
配列番号：１６又は１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３
を含む、薬学的組成物。
【請求項２】
抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１；配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；配列番号：８のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；配列番号：１２のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；配列番号：１４のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び配列番号：１６のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項３】
抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と；
配列番号：３０、３１、３２、３３、３４、又は８８のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項４】
抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、
（ｉ）配列番号：２５のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は
（ｉｉ）配列番号：１９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３１のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項５】
抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：５６、５７、５８、５９、６０、又は６１のアミノ酸配列を含む重鎖と；
配列番号：６２、６３、又は６４のアミノ酸配列を含む軽鎖
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項６】
抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、抗４－１ＢＢ抗体の抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖである、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項７】
抗ＨＥＲ２抗体がトラスツズマブ、ペルツズマブ、又はトラスツズマブエムタンシン（Ｔ－ＤＭ１）である、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項８】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：６５のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１；
配列番号：６６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；

配列番号：６７のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；
配列番号：６８のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；
配列番号：６９のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び
配列番号：７０のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項９】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：７１のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と；
配列番号：７２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項１０】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：７３又は７４のアミノ酸配列を含む重鎖と；
配列番号：７５のアミノ酸配列を含む軽鎖
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項１１】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、抗ＨＥＲ２抗体の抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖである、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項１２】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体が、
抗ＨＥＲ２抗体の全長形態と、
抗４－１ＢＢ抗体のｓｃＦｖ
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項１３】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体が、
抗４－１ＢＢ抗体の全長形態と、
抗ＨＥＲ２抗体のｓｃＦｖ
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項１４】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体が、
配列番号：８３のアミノ酸配列を含む第一のポリペプチドと；
配列番号：７５のアミノ酸配列を含む第二のポリペプチド
を含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項１５】
がん免疫療法剤を更に含む、請求項１に記載の薬学的組成物。
【請求項１６】
がん免疫療法剤が、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤、又はそれらの組み合わせである、請求項１５に記載の薬学的組成物。
【請求項１７】
がんが、ＨＥＲ２に特異的な抗ＨＥＲ２抗体を使用するＩＨＣによって測定した場合、０、１＋、又は２＋の免疫組織化学（ＩＨＣ）スコアを有する、請求項１から１６の何れか一項に記載の薬学的組成物。
【請求項１８】
がんが、全腫瘍細胞に基づいて５０％以下のＨＥＲ２発現腫瘍細胞を有する、請求項１から１６の何れか一項に記載の薬学的組成物。
【請求項１９】
一般的タンパク質測定法によって測定した場合、がんが、ＨＣＣ１９５４細胞株中よりも低い腫瘍中のＨＥＲ２レベルを有する、請求項１から１６の何れか一項に記載の薬学的組成物。
【請求項２０】

一般的タンパク質測定法によって測定した場合、がんが、ＳＫ－ＢＲ－３細胞株中のＨＥＲ２レベルと比較して、６０％以下、５０％以下、４０％以下、３０％以下、又は２０％以下の腫瘍内ＨＥＲ２レベルを有する、請求項１から１６の何れか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項２１】

抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体を含む、ＦｃγＲＩ発現がんの予防又は治療のための薬学的組成物であって、二重特異性抗体が、

（ａ）抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片と；

（ｂ）抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片

を含み、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、

配列番号：１、２、又は３のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１；

配列番号：４、５、又は６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；

配列番号：７、８、９、１０、又は１１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；

配列番号：１２又は１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；

配列番号：１４又は１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び

配列番号：１６又は１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３

を含む、薬学的組成物。

【請求項２２】

抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、

配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１；配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；配列番号：８のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；配列番号：１２のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；配列番号：１４のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び配列番号：１６のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。

【請求項２３】

抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と；

配列番号：３０、３１、３２、３３、３４、又は８８のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。

【請求項２４】

抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、

（ｉ）配列番号：２５のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

（ｉｉ）配列番号１９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号３１のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。

【請求項２５】

抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、

配列番号：５６、５７、５８、５９、６０、又は６１のアミノ酸配列を含む重鎖と；

配列番号：６２、６３、又は６４のアミノ酸配列を含む軽鎖

を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。

【請求項２６】

抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片が、抗４－１ＢＢ抗体の抗４－１ＢＢ　ｓｃＦｖである、請求項２１に記載の薬学的組成物。

【請求項２７】

抗ＨＥＲ２抗体が、トラスツズマブ、ペルツズマブ、又はトラスツズマブエムタンシン（Ｔ－ＤＭ１）である、請求項２１に記載の薬学的組成物。

【請求項２８】

抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：６５のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１；
配列番号：６６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；
配列番号：６７のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；
配列番号：６８のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；
配列番号：６９のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び
配列番号：７０のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３
を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。
【請求項２９】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：７１のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と；
配列番号：７２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域
を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。
【請求項３０】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、
配列番号：７３又は７４のアミノ酸配列を含む重鎖と；
配列番号：７５のアミノ酸配列を含む軽鎖
を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。
【請求項３１】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片が、抗ＨＥＲ２抗体の抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖである、請求項２１に記載の薬学的組成物。
【請求項３２】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体が、
抗ＨＥＲ２抗体の全長形態と、
抗４－１ＢＢ抗体のｓｃＦｖ
を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。
【請求項３３】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体が、
抗４－１ＢＢ抗体の全長形態と、
抗ＨＥＲ２抗体のｓｃＦｖ
を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。
【請求項３４】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体が、
配列番号：８３のアミノ酸配列を含む第一のポリペプチドと；
配列番号：７５のアミノ酸配列を含む第二のポリペプチド
を含む、請求項２１に記載の薬学的組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
[関連出願への相互参照]
【０００２】
この出願は、その全開示が出典明示によりここに援用される、２０２２年４月７日に出願された韓国特許出願第１０－２０２２－００４３５５５号の優先権を主張する。
【０００３】
抗４－１ＢＢ／抗ＨＥＲ２二重特異性抗体を使用するＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現がんの治療及び／又は予防のための薬学的組成物及び方法が提供される。
【背景技術】
【０００４】
４－１ＢＢタンパク質は、ＴＮＦ受容体スーパーファミリー（ＴＮＦＲＳＦ）のメンバーであり、自然免疫細胞と適応免疫細胞の両方の免疫細胞活性化後に発現される共刺激分

子である。４－１ＢＢは、様々な免疫細胞の活性の調節において重要な役割を果たす。４－１ＢＢアゴニストは、免疫細胞増殖及び生存、サイトカイン分泌、並びに細胞溶解活性ＣＤ８ Ｔ細胞を増強する。多くの他の研究では、４－１ＢＢの活性化によりマウスの腫瘍を除去する免疫応答が増強されることが示されており、４－１ＢＢががん免疫学における有望な標的分子であることが示唆されている。その抗腫瘍活性にもかかわらず、抗４－１ＢＢ抗体は臨床応用において重度の肝毒性を引き起こした。

【０００５】

一方、ＨＥＲ２タンパク質は上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）ファミリーのメンバーであり、腫瘍に関連する様々な機序に関与している。ＨＥＲ２は、がん細胞の増殖、浸潤、及び血管新生を誘導する細胞表面上の古典的受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）である。これまでに開発されたＨＥＲ２標的治療薬の殆どは、ＨＥＲ２の発現レベルが高いがんに対して抗がん効果を示し、ＨＥＲ２の発現レベルが低いがんに対しては有意な治療効果を示さない。

【０００６】

従って、より効率的ながん治療のためには、ＨＥＲ２の発現レベルに依存せず、幅広いがんに対して抗がん効果を示し、肝毒性が低い薬剤を開発することが必要である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

一実施態様では、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体を含む、がんの予防及び／又は治療のための薬学的組成物であって、

（１）特異的にＨＥＲ２タンパク質を認識し及び／又はＨＥＲ２タンパク質に結合することができるＨＥＲ２標的化部分としての抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片と；

（２）特異的に４－１ＢＢタンパク質を認識し及び／又は４－１ＢＢタンパク質に結合結合することができる４－１ＢＢ標的化部分としての抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片

を含む薬学的組成物が提供される。

【０００８】

がんは、ＨＥＲ２の低発現（ＨＥＲ２低発現）、ＦｃγＲＩの発現、又は両方を特徴とするがんでありうる。

【０００９】

別の実施態様では、がんの予防又は治療を必要とする対象に、薬学的に有効な量の前記二重特異性抗体又は前記薬学的組成物を投与するステップを含む、がんを予防又は治療する方法が提供される。この方法は、前記投与ステップの前に、がんの予防又は治療を必要とする対象を特定するステップを更に含みうる。前記がんは、ＨＥＲ２の低発現、ＦｃγＲＩ発現、又は両方を特徴とするがんでありうる。

【００１０】

一実施態様では、がんの予防又は治療に使用するための前記二重特異性抗体又は前記薬学的組成物が提供される。別の実施態様では、がんの予防又は治療のための薬学的組成物の調製における二重特異性抗体の使用が提供される。がんは、ＨＥＲ２の低発現、ＦｃγＲＩ発現、又は両方を特徴とするがんでありうる。

【課題を解決するための手段】

【００１１】

本開示は、腫瘍関連抗原（ＴＡＡ；ＨＥＲ２）に特異的な抗体と４－１ＢＢに特異的な抗体とを含む二重特異性抗体、及びその使用に関する。前記二重特異性抗体は、４－１ＢＢシグナル伝達を活性化し、ＨＥＲ２高発現腫瘍（がん）並びにＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現特性を有するがん細胞に対する免疫応答を増強することができる。従って、ここで提供される二重特異性抗体は、ＨＥＲ２高発現腫瘍（がん）並びにＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現を特徴とするがんに対して抗がん活性を示すがん免疫療法剤として使用することができる。

【００１２】
ここに提供されるのは、ＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現特性を有するがんにおける抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗がん（予防、治療、改善、緩和、及び／又は治癒を含む）用途であり、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、
（１）特異的にＨＥＲ２タンパク質を認識し及び／又はＨＥＲ２タンパク質に結合することができるＨＥＲ２標的化部分としての抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片と；
（２）特異的に４－１ＢＢタンパク質を認識し及び／又は４－１ＢＢタンパク質に結合することができる４－１ＢＢ標的化部分としての抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片
を含みうる。
【発明を実施するための形態】
【００１３】
以下、本発明をより詳細に説明する。
【００１４】
[用語の定義]
ここで使用される場合、「ある配列からなる」、「ある配列から本質的になる」、又は「ある配列を含む」とは、その配列を含むあらゆる場合を意味しうるが、その配列以外の更なる配列を含む場合を排除することは意図していない。
【００１５】
ここで使用される場合、「配列番号によって特定されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなるタンパク質又はポリペプチド」と「配列番号によって特定される核酸配列を含むか又はそれからなる遺伝子又はポリヌクレオチド」という用語は、その固有の及び／又は意図された活性及び／又は機能を保持しながら、アミノ酸配列又は核酸配列から本質的になるか、或いは前記アミノ酸配列又は核酸配列と少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％の配列同一性又は類似性を有する、タンパク質（若しくはポリペプチド）又は遺伝子（若しくはポリヌクレオチド）を意味しうる。
【００１６】
ここで使用される場合、「抗体」という用語は、生化学的に区別されうる様々な広範なクラスのポリペプチドを包含しうる。当業者であれば、重鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、又はイプシロン（γ、μ、α、δ、ε）にその幾つかのサブクラス（例えば、γ１～γ４）と共に分類され、軽鎖はカッパ又はラムダ（Ｋ、λ）に分類されることを理解するであろう。抗体の「クラス」をそれぞれＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、又はＩｇＥとして決定するのはこの鎖の性質である。ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＧ５などの免疫グロブリンサブクラス（アイソタイプ）は十分に特徴付けられており、機能的特殊化をもたらすことが知られている。
【００１７】
インタクト抗体には、二本の全長軽鎖と二本の全長重鎖が含まれ、各軽鎖はジスルフィド結合によって重鎖に連結されうる。抗体には、重鎖定常領域と軽鎖定常領域がある。重鎖定常領域は、ガンマ（γ）、ミュー（μ）、アルファ（α）、デルタ（δ）、又はイプシロン（ε）型であり、これらは更にガンマ１（γ１）、ガンマ２（γ２）、ガンマ３（γ３）、ガンマ４（γ４）、アルファ１（α１）、又はアルファ２（α２）と分類されうる。軽鎖定常領域は、カッパ（κ）型又はラムダ（λ）型でありうる。
【００１８】
「重鎖」という用語は、抗原に対する特異性を提供するのに十分なアミノ酸配列を含む可変領域V_Hと、三つの定常領域C_{H1}、C_{H2}及びC_{H3}、並びにヒンジ領域を含む、全長重鎖又はその断片を意味しうる。「軽鎖」という用語は、抗原に対する特異性を提供するのに十分なアミノ酸配列を含む可変領域V_Lと、定常領域C_Lを含む、全長軽鎖又はその断片を意味しうる。
【００１９】

「相補性決定領域（ＣＤＲ）」という用語は、免疫グロブリンの重鎖又は軽鎖の超可変領域に見出されるアミノ酸配列を意味する。重鎖と軽鎖には、それぞれ三つのＣＤＲ（ＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３；並びにＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３）が含まれうる。ＣＤＲは、抗原又はエピトープへの抗体の結合に役割を果たす残基を提供しうる。「特異的に結合する」又は「特異的に認識される」という用語は、当該技術分野でよく知られており、抗体と抗原が特異的に相互作用して免疫学的活性を誘導することを示す。

【００２０】

この開示では、抗体には、限定されないが、ポリクローナル若しくはモノクローナル；及び／又はヒト、ヒト化、動物（例えば、マウス、ウサギなど）由来抗体、又はキメラ抗体（例えば、マウス－ヒトキメラ抗体）が含まれうる。

【００２１】

動物を所望の抗原で免疫化することによって作製される動物由来抗体は、通常治療目的で、ヒトに投与されると免疫拒絶反応を引き起こす場合があり、よってそのような免疫拒絶反応を抑えるためにキメラ抗体が開発されている。キメラ抗体は、抗アイソタイプ反応を引き起こす動物由来抗体の定常領域を、遺伝子工学的手法を使用してヒト抗体の定常領域に置き換えることで形成される。キメラ抗体は、動物由来抗体に比べて抗アイソタイプ反応が有意に改善されているが、可変領域に動物由来アミノ酸がまだ存在しているため、抗イディオタイプ反応による潜在的な副作用が依然として存在する。ヒト化抗体はこれらの副作用を改善するために開発された。これは、キメラ抗体の可変領域のうち、抗原結合に重要な役割を果たすＣＤＲ（相補性決定領域）を、ヒト抗体フレームワーク中に移植することにより製造される。

【００２２】

ここで使用される場合、「抗原結合断片」という用語は、ＣＤＲなどの抗原に結合できる部分を含む完全な免疫グロブリン構造から派生した断片を意味する。例えば、抗原結合断片は、限定されないが、ｓｃＦｖ、（ｓｃＦｖ）２、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、又はＦ（ａｂ’）２でありうる。例えば、本開示において、前記抗原結合断片は、ｓｃＦｖ、（ｓｃＦｖ）２、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、及びＦ（ａｂ’）２からなる群から選択される、ＣＤＲを含む少なくとも一つの抗体由来断片でありうる。

【００２３】

抗原結合断片のうち、軽鎖と重鎖の可変領域、軽鎖の定常領域、及び重鎖の第一定常領域（ＣＨ１）の構造を有するＦａｂには、一つの抗原結合部位がある。

【００２４】

Ｆａｂ’は、重鎖ＣＨ１ドメインのＣ末端に一つ又は複数のシステイン残基を含むヒンジ領域を有するという点でＦａｂと異なる。Ｆ（ａｂ’）２抗体は、Ｆａｂ’のヒンジ領域にあるシステイン残基のジスルフィド結合によって形成される。

【００２５】

Ｆｖは、重鎖可変領域と軽鎖可変領域のみを有する最小の抗体断片であり、Ｆｖ断片を生成するための組換え技術は、当該技術分野でよく知られている。二本鎖Ｆｖは、重鎖可変領域と軽鎖可変領域が非共有結合的に連結された構造を有し得、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）は、一般に、重鎖可変領域と軽鎖可変領域がペプチドリンカーを介して共有結合的に連結されるか、又はそのＣ末端で互いに直接連結される、二本鎖Ｆｖのような二量体構造を有しうる。

【００２６】

抗原結合断片は、プロテアーゼ（例えば、全抗体をパパインで消化してＦａｂ断片を得るか、又はペプシンで消化してＦ（ａｂ’）２断片を得る）を使用して得ることができ、遺伝子組換え技術によって調製することができる。

【００２７】

ここでの免疫グロブリン（例えば、ヒト免疫グロブリン）又は抗体分子は、免疫グロブリン分子の任意の型（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、ＩｇＹなど）

、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＧ５、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２など）、又はサブクラスでありうる。

【００２８】

抗体又は抗体断片において、ＣＤＲ又は可変領域以外の部分（例えば、定常領域）は、ヒト抗体に由来するものであってもよく、特に、それらは、例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４などのＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、又はＩｇＹに由来するものであってもよい。

【００２９】

抗体又は抗原結合断片は、化学的に又は組換え的に合成されうる（天然に存在しない）。

【００３０】

[４－１ＢＢ標的部分]

抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、４－１ＢＢ標的部分として抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片を含みうる。

【００３１】

「４－１ＢＢ」という用語は、ＣＤ１３７又はＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー９（ＴＮＦＲＳＦ９）としても知られ、ＴＮＦ受容体スーパーファミリー（ＴＮＦＲＳＦ）のメンバーであり、自然免疫細胞と適応免疫細胞の両方の免疫細胞活性化後に発現される共刺激分子である。４－１ＢＢは、様々な免疫細胞の活性を調節する際に重要な役割を果たす。ここで使用される場合、４－１ＢＢは、ホモサピエンス（ヒト）（ＮＣＢＩ受入番号ＮＰ＿００１５５２．２）などの哺乳類に由来しうる。例えば、ヒト４－１ＢＢタンパク質（ＮＰ＿００１５５２．２）は、次のアミノ酸配列（配列番号：８９）で表されうる：

【化１】

1 mgnscyniva tlllvlnfer trslqdpcsn cpagtfcdnn rnqicspcpp nsfssaggqr

61 tcdicrqckg vfrtrkecss tsnaecdctp gfhclgagcs mceqdckqgq eltkkgckdc

121 cfgtfndqkr gicrpwtncs ldgksvlvng tkerdvvcgp spadlspgas svtppapare

181 pghspqiisf flaltstall fllffltlrf svvkrgrkkl lyifkqpfmr pvqttqeedg

241 cscrfpeeee ggcel

【００３２】

一例では、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、

配列番号：１、２、又は３のアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）－Ｈ１（Ｈ－ＣＤＲ１）；

配列番号：４、５、又は６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；

配列番号７、８、９、１０、又は１１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；

配列番号：１２又は１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；

配列番号：１４又は１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び

配列番号：１６又は１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３

を含みうる。

【００３３】

抗４－１ＢＢ抗体又は抗原結合断片のＣＤＲのアミノ酸配列を表１に例示する：

【表１】

配列番号	H-CDR1	配列番号	H-CDR2	配列番号	H-CDR3
1	SYDMS	4	wisysggsiyyadsvkg	7	DGQRNSMREFDY
				8	DAQRNSMREFDY
				9	DAQRQSMREFDY
2	GYDMS	5	viypddgntyyadsvkg	10	hggqkpttkssssaygmdg
3	SYWMH	6	einpgnghtnynekfks	11	SFTTARAFAY
配列番号	L-CDR1	配列番号	L-CDR2	配列番号	L-CDR3
12	SGSSSNIGNNYVT	14	ADSHRPS	16	ATWDYSLSGYV
13	RASQTISDYLH	15	YASQSIS	17	QDGHSFPPT

【００３４】

例えば、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、

配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：７のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１２のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１４のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１６のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：８のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１２のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１４のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１６のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：９のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１２のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１４のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１６のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：７のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：８のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：９のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：２のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：５のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：１０のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１２のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１４のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１６のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：２のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：５のアミノ酸配列を含む

Ｈ－ＣＤＲ２、配列番号：１０のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；

配列番号：３のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：１１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１２のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１４のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１６のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３；又は

配列番号：３のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、配列番号：１１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３、配列番号：１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３

を含みうる。

【００３５】

別の例では、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、

配列番号：１、２、又は３のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４、５、又は６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、及び配列番号：７、８、９、１０、又は１１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と；配列番号：１２又は１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１４又は１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１６又は１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含みうる。

【００３６】

別の例では、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖可変領域と；配列番号：３０、３１、３２、３３、３４、又は８８のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖可変領域

を含みうる。

【００３７】

抗４－１ＢＢ抗体又は抗原結合断片の可変領域のアミノ酸配列は、表２に例示される：

【表２】

配列番号	4-1BBを標的とする重鎖可変領域
18	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVS WISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDG QRNSMREFDYWGQGTLVTVSS
19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVS WISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDA QRNSMREFDYWGQGTLVTVSS
20	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVS WISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDA QRQSMREFDYWGQGTLVTVSS
21	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKGLEWVS VIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAKH GGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS
22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKGLEWVS VIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKH GGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS
23	QVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWIG EINPGNGHTNYNEKFKSRATLTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSF TTARAFAYWGQGTLVTVSS
24	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVS WISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDG QRNSMREFDYWGQGTLVTVSS
25	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVS WISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDA QRNSMREFDYWGQGTLVTVSS
26	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVS WISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDA QRQSMREFDYWGQGTLVTVSS
27	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKCLEWVS VIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAKH GGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS
28	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKCLEWVS VIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKH GGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS
29	QVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQCLEWIG EINPGNGHTNYNEKFKSRATLTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSF TTARAFAYWGQGTLVTVSS
配列番号	**4-1BBを標的とする軽鎖可変領域**
30	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYA DSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVF GGGTKLTVL

31	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIY ADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYV FGGGTKLTVL
32	DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASQTISDYLHWYQQKPDQAPKLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQDGHSFPPTFGQGT KLEIKR
33	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYA DSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVF GCGTKLTVL
34	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIY ADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYV FGCGTKLTVL
88	DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASQTISDYLHWYQQKPDQAPKLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQDGHSFPPTFGCGT KLEIKR

【００３８】

例えば、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３０のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３１のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３２のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３３のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：３４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と配列番号：８８のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

を含みうる。

【００３９】

抗４－１ＢＢ抗体又は抗原結合断片の可変領域のフレームワークのアミノ酸配列は、表３に例示される：

【表３】

配列番号	H-FR1	配列番号	H-FR2	配列番号	H-FR3	配列番号	H-FR4
35	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	37	WVRQAPGKGLEWVS	41	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	45	WGQGTLVTVSS
35	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	37	WVRQAPGKGLEWVS	42	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAK	45	WGQGTLVTVSS
35	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	37	WVRQAPGKGLEWVS	43	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	45	WGQGTLVTVSS
36	QVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFS	38	WVRQAPGQGLEWIG	44	RATLTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR	45	WGQGTLVTVSS
35	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	39	WVRQAPGKCLEWVS	41	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	45	WGQGTLVTVSS
35	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	39	WVRQAPGKCLEWVS	42	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAK	45	WGQGTLVTVSS
35	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	39	WVRQAPGKCLEWVS	43	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	45	WGQGTLVTVSS
36	QVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFS	40	WVRQAPGQCLEWIG	44	RATLTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR	45	WGQGTLVTVSS
配列番号	**L-FR1**	**配列番号**	**L-FR2**	**配列番号**	**L-FR3**	**配列番号**	**LFR4**
46	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISC	49	WYQQLPGTAPKLLIY	51	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC	53	FGGGTKLTVL
47	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC	49	WYQQLPGTAPKLLIY	51	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC	53	FGGGTKLTVL
48	DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITC	50	WYQQKPDQAPKLLIK	52	GIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYC	54	FGQGTKLEIKR
46	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISC	49	WYQQLPGTAPKLLIY	51	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC	55	FGCGTKLTVL
47	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC	49	WYQQLPGTAPKLLIY	51	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC	55	FGCGTKLTVL

【００４０】

別の例では、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、配列番号：５６、５７、５８、５９、６０、又は６１のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖と；配列番号：６２、６３、又は６４のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖とを含みうる。

【００４１】

例えば、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、

配列番号：５６、５７、５８、５９、６０、又は６１のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖と；配列番号：６２のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的に

なる軽鎖；
配列番号：５６、５７、５８、５９、６０、又は６１のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖と；配列番号：６３のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖；或いは
配列番号：５６、５７、５８、５９、６０、又は６１のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖と；配列番号：６４のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖
を含みうる。
【００４２】
別の例では、抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、
配列番号：１、２、又は３のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：４、５、又は６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、及び配列番号：７、８、９、１０、又は１１のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と；
配列番号：１２又は１３のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：１４又は１５のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：１６又は１７のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域
を含むｓｃＦｖ（単鎖可変断片）であり得、
ここで、重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、直接（例えば、リンカーなし）又はペプチドリンカーを介して、任意の順序で互いに連結されうる。
【００４３】
一例では、抗４－１ＢＢのｓｃＦｖは、
配列番号：１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖可変領域と；
配列番号：３０、３１、３２、３３、３４、又は８８のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖可変領域
を含み得、
ここで、重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、直接又はペプチドリンカーを介して、任意の順序で互いに連結されうる。
【００４４】
一例では、抗４－１ＢＢのｓｃＦｖは、
配列番号：２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖可変領域と、配列番号：３３のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖可変領域；
配列番号：２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖可変領域と、配列番号：３４のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖可変領域；或いは
配列番号：２４、２５、２６、２７、２８、又は２９のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖可変領域と、配列番号：８８のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖可変領域
を含み得、
ここで、重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、直接又はペプチドリンカーを介して、任意の順序で互いに連結されうる。
【００４５】
本開示では、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、任意の順序で重鎖可変領域と軽鎖可変領域を含む。例えば、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に軽鎖可変領域と重鎖可変領域を含みうる。或いは、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に重鎖可変領域と軽鎖可変領域を含みうる。一例では、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に軽鎖可変領域、ペプチドリンカー、及び重鎖可変領域を含みうる。別の例では、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に重鎖可変領域、ペプチドリンカー、及び軽鎖可変領域を含みうる。

【００４６】
[ＨＥＲ２標的部分]
抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、ＨＥＲ２標的部分として抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片を含みうる。
【００４７】
「ＨＥＲ２（ヒト上皮増殖因子受容体２）」は、ＥＲＢＢ２遺伝子によってコード化され、上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ／ＥｒｂＢ）ファミリーのメンバーである。ＨＥＲ２は、細胞増殖及び分化の調節において本質的な役割を果たすことが知られている。特に、細胞外増殖因子に結合すると、それは、他のＨＥＲ受容体と共にホモ二量体及び／又はヘテロ二量体に集合する傾向が強く、幾つかの形態のシグナル伝達経路を活性化して、細胞死、生存、又は細胞増殖を誘導する。例えば、ＨＥＲ２タンパク質は、それぞれＧｅｎＢａｎｋ受入番号ＮＭ＿００４４４８．４、ＮＭ＿００１００５８６２．３等で寄託されたヌクレオチド配列（ｍＲＮＡ）によってコードされている、ＧｅｎＢａｎｋ受入番号ＮＰ＿００４４３９．２、ＮＰ＿００１００５８６２．１等で寄託されたポリペプチドでありうる。
【００４８】
一実施態様では、抗ＨＥＲ２抗体は、トラスツズマブ、ペルツズマブ、及びトラスツズマブエムタンシン（Ｔ－ＤＭ１）からなる群から選択されうる。
【００４９】
ＨＥＲ２を抗原として認識する抗ＨＥＲ２抗体の抗原結合領域は、トラスツズマブ、ペルツズマブ、及びトラスツズマブエムタンシンからなる群から選択される抗ＨＥＲ２抗体のｓｃＦｖ、（ｓｃＦｖ）２、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、又はＦ（ａｂ’）２でありうる。
【００５０】
抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、トラスツズマブ、ペルツズマブ、又はトラスツズマブエムタンシンの６つのＣＤＲを含む抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片でありうる。
【００５１】
別の実施態様では、抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、トラスツズマブ又はその抗原結合断片、又はそのバリアントでありうる。
【００５２】
例えば、前記抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、
配列番号：６５のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１；
配列番号：６６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２；
配列番号：６７のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３；
配列番号：６８のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１；
配列番号：６９のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２；及び
配列番号：７０のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３
を含みうる。
【００５３】
抗ＨＥＲ２抗体又は抗原結合断片のＣＤＲのアミノ酸配列は、表４に例示される：
【表４】

配列番号	VH_CDR1	配列番号	VH_CDR2	配列番号	VH_CDR3
65	DTYIH	66	RIYPTNGYTRYADSVKG	67	WGGDGFYAMDY
配列番号	L-CDR1	配列番号	L-CDR2	配列番号	L-CDR3
68	RASQDVNTAVA	69	SASFLYS	70	QQHYTTPPT

【００５４】

別の例では、抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、
配列番号：６５のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：６６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、及び配列番号：６７のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と；配列番号：６８のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：６９のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：７０のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域
を含みうる。
【００５５】
別の例では、抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、
配列番号：７１のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖可変領域と；配列番号：７２のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖可変領域
を含みうる。
【００５６】
抗ＨＥＲ２抗体又は抗原結合断片の可変領域のアミノ酸配列は、表５に例示される：
【表５】

配列番号	HER2を標的とする重鎖可変領域
71	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVS
配列番号	HER2を標的とする軽鎖可変領域
72	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR

【００５７】
別の実施態様では、抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、
配列番号：７３又は７４のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖と；配列番号：７５のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖
を含みうる。
【００５８】
別の実施態様では、抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、
配列番号：６５のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ１、配列番号：６６のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ２、及び配列番号：６７のアミノ酸配列を含むＨ－ＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と；
配列番号：６８のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ１、配列番号：６９のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号：７０のアミノ酸配列を含むＬ－ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域
を含むｓｃＦｖ（単鎖可変断片）であり得、
ここで、重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、直接（例えば、リンカーなしで）又はペプチドリンカーを介して、任意の順序で互いに連結されうる。
【００５９】
別の実施態様では、抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片は、
配列番号：７１のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる重鎖可変領域と；配列番号：７２のアミノ酸配列を含むか又はそれから本質的になる軽鎖可変領域
を含むｓｃＦｖ（単鎖可変断片）であり得；
ここで、重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、直接又はペプチドリンカーを介して、任意の順序で互いに連結されうる。
【００６０】

本開示では、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、重鎖可変領域と軽鎖可変領域を任意の順序で含みうる。例えば、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、軽鎖可変領域と重鎖可変領域をＮ末端からＣ末端の方向に含みうる。或いは、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、重鎖可変領域と軽鎖可変領域をＮ末端からＣ末端の方向に含みうる。一例では、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、軽鎖可変領域、ペプチドリンカー、及び重鎖可変領域を、Ｎ末端からＣ末端の方向に含みうる。別の例では、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、重鎖可変領域、ペプチドリンカー、及び軽鎖可変領域を、Ｎ末端からＣ末端の方向に含みうる。

【００６１】

[二重特異性抗体]

本開示は、

（１）特異的にＨＥＲ２タンパク質を認識し及び／又はＨＥＲ２タンパク質に結合することができるＨＥＲ２標的化部分としての抗ＨＥＲ２抗体又はその抗原結合断片と、

（２）特異的に４－１ＢＢタンパク質を認識し及び／又は４－１ＢＢタンパク質に結合することができる４－１ＢＢ標的化部分としての抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片を含む、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体を提供する。

【００６２】

抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、ＨＥＲ２発現腫瘍細胞によって架橋された場合にのみ４－１ＢＢシグナル伝達を活性化しうる。更に、二重特異性抗体に含まれる抗４－１ＢＢ抗体又はその抗原結合断片は、免疫応答の増強及び／若しくは腫瘍治療の有効性を維持しながら、腫瘍微小環境（ＴＭＥ）においてのみの局在化及び／若しくは活性化、並びに／又は従来の抗４－１ＢＢ抗体と比較して有意に低減された肝毒性を特徴としうる。

【００６３】

一実施態様では、二重特異性抗体は、全長抗ＨＥＲ２抗体と抗４－１ＢＢ抗体の抗原結合断片（例えば、ｓｃＦｖ）を含み得、ここで、抗４－１ＢＢの抗原結合断片は、全長抗ＨＥＲ２抗体のＮ末端、Ｃ末端、又は両方に直接又はペプチドリンカーを介して連結されうる。別の実施態様では、二重特異性抗体は、全長抗４－１ＢＢ抗体と抗ＨＥＲ２抗体の抗原結合断片（例えば、ｓｃＦｖ）を含み得、抗ＨＥＲ２抗体の抗原結合断片は、全長抗４－１ＢＢ抗体のＮ末端、Ｃ末端、又は両方に直接又はペプチドリンカーを介して連結されうる。

【００６４】

一実施態様では、二重特異性抗体に含まれるｓｃＦｖは、重鎖可変領域と軽鎖可変領域を任意の順序で含みうる。例えば、二重特異性抗体に含まれるｓｃＦｖは、軽鎖可変領域と重鎖可変領域をＮ末端からＣ末端の方向に含み得、任意選択的にそれらの間にペプチドリンカーを含んでもよく、或いは二重特異性抗体に含まれるｓｃＦｖは、重鎖可変領域と軽鎖可変領域をＮ末端からＣ末端の方向に含み得、任意選択的にそれらの間にペプチドリンカーを含んでもよい。

【００６５】

二重特異性抗体が全長抗ＨＥＲ２抗体と抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖを含む場合、二重特異性抗体は、

（ｉ）Ｎ末端からＣ末端方向に、抗ＨＥＲ２抗体の重鎖、
任意選択的にペプチドリンカー（第一ペプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖを含む第一のポリペプチドと；

（ｉｉ）抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド

を含み得、

ここで、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端方向に、
抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖可変領域、
任意選択的にペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖可変領域

を含みうる。

【００６６】
或いは、二重特異性抗体は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端方向に、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖ；
任意選択的に、ペプチドリンカー（第一のペプチドリンカー）、及び
抗ＨＥＲ２抗体の重鎖を含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド
を含み得、
ここで、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に、
抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖可変領域、
任意選択的に、ペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖可変領域
を含みうる。
【００６７】
或いは、二重特異性抗体は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端の方向に、抗ＨＥＲ２抗体の重鎖；
任意選択的にペプチドリンカー（第一のペプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖを含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド
を含み得、
ここで、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に、
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖可変領域、
任意選択的にペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖可変領域
を含みうる。
【００６８】
或いは、二重特異性抗体は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端の方向に、
抗４－１ＢＢｓｃＦｖ、
任意選択的にペプチドリンカー（第一のペプチドリンカー）、及び
抗ＨＥＲ２抗体の重鎖
を含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド
を含み得、
ここで、抗４－１ＢＢ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に、
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖可変領域、
任意選択的にペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖可変領域
を含みうる。
【００６９】
二重特異性抗体が全長抗４－１ＢＢ抗体と抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖを含む場合、二重特異性抗体は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端方向に、
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖、
任意選択的にペプチドリンカー（第一のペプチドリンカー）、及び
抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖを含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド
を含み得、
ここで、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端方向に、
抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖可変領域、
任意選択的にペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び

抗ＨＥＲ２抗体の重鎖可変領域
を含みうる。
【００７０】
或いは、二重特異性抗体は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端方向に、
抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖ；
任意選択的に、ペプチドリンカー（第一のプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖
を含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド
を含み得、
ここで、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に、
抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖可変領域、
任意選択的に、ペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び
抗ＨＥＲ２抗体の重鎖可変領域
を含みうる。
【００７１】
或いは、二重特異性抗体は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端の方向に、
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖、
任意選択的に、ペプチドリンカー（第一のペプチドリンカー）、及び
抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖ
を含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド
を含み得、
ここで、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端の方向に、
抗ＨＥＲ２抗体の重鎖可変領域、
任意選択的にペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び
抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖可変領域
を含みうる。
【００７２】
或いは、二重特異性抗体は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端方向に、
抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖ、
任意選択的に、ペプチドリンカー（第一のペプチドリンカー）、及び
抗４－１ＢＢ抗体の重鎖
を含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）抗４－１ＢＢ抗体の軽鎖を含む第二のポリペプチド
を含み得、
ここで、抗ＨＥＲ２ ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端方向に、
抗ＨＥＲ２抗体の重鎖可変領域、
任意選択的にペプチドリンカー（第二のペプチドリンカー）、及び
抗ＨＥＲ２抗体の軽鎖可変領域
を含みうる。
【００７３】
第一のペプチドリンカーと第二のペプチドリンカーは、二重特異性抗体中に独立して存在していてもしていなくてもよく、互いに同じであっても異なっていてもよい。
【００７４】
一実施態様では、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、
（ｉ）配列番号：７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、又は８４のアミ

ノ酸配列を含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）配列番号：７５のアミノ酸配列を含む第二のポリペプチド
を含みうる。
【００７５】
例えば、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、
（ｉ）配列番号：８３のアミノ酸配列を含む第一のポリペプチドと；
（ｉｉ）配列番号：７５のアミノ酸配列を含む第二のポリペプチド
を含みうる。
【００７６】
別の実施態様では、二重特異性抗体に含まれるＨＥＲ２標的化部分と４－１ＢＢ標的化部分は両方とも、全長抗体或いは重鎖ＣＤＲ、軽鎖ＣＤＲ、又はそれらの組み合わせを含む抗原結合断片であり得、ペプチドリンカーを介して又は直接互いに連結されうる。
【００７７】
各抗体は４－１ＢＢ（例えば、ヒト４－１ＢＢ）とＨＥＲ２（例えば、ヒトＨＥＲ２）の両方に結合することができるのであるから、ここに開示されているＣＤＲ配列、又はＶＨ（重鎖可変領域）及びＶＬ（軽鎖可変領域）配列を「混合して組合わせて」、異なる抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性分子を作製することができる。
【００７８】
[ペプチドリンカー]
高純度の抗体では、二重特異性抗体は、ペプチドリンカーを、第一のポリペプチドの重鎖とｓｃＦｖの間（第一のペプチドリンカー）、及び／又はｓｃＦｖの重鎖と軽鎖の可変領域の間に（第二のペプチドリンカー）含みうる。
【００７９】
ここで使用される場合、「ペプチドリンカー」という用語は、１から１００個のアミノ酸、特に２から５０個のアミノ酸を含むオリゴペプチドを指し得、各アミノ酸は、制限なく任意の種類のアミノ酸でありうる。適切な修飾の有無にかかわらず、任意の一般的ペプチドリンカーを、特定の目的を達成するために使用することができる。所定の実施態様では、ペプチドリンカーは、例えば、Ｇｌｙ、Ａｓｎ、及び／又はＳｅｒ残基を含み得、並びに／或いは、Ｔｈｒ及び／又はＡｌａなどの中性アミノ酸を含みうる。ペプチドリンカーに適したアミノ酸配列は、関連技術分野で既知でありうる。ペプチドリンカーの長さは、ポリペプチド及び／又はｓｃＦｖの機能に影響を及ぼさない程度に適切に決定することができる。例えば、ペプチドリンカーは、約１から約１００個のアミノ酸、約２から約５０個のアミノ酸、又は約５から約２５個のアミノ酸（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、又は２５個）のアミノ酸であり得、そのそれぞれは、Ｇｌｙ、Ａｓｎ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、及びＡｌａからなる群から独立して選択されうる。一実施態様では、ペプチドリンカーは、$(G_mS_l)_n$（ここで、ｍ、ｌ、及びｎは、それぞれ「Ｇ」、「Ｓ」、及び「(G_mS_l)」の数であり、それぞれが、約１から約１０の整数、特に、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０から独立して選択されうる）として表されうる。一実施態様では、ペプチドリンカーは、（ＧＧＧＧＳ）２（配列番号：９０）、（ＧＧＧＧＳ）３（配列番号：８５）、（ＧＧＧＧＳ）４（配列番号：８７）、又は（ＧＳ）９（配列番号：８７）のペプチドでありうるが、これらに限定はされない。
【００８０】
[医薬用途]
がんの予防及び／又は治療のための二重特異性抗体の医薬用途が提供される。
より具体的には、本開示は、二重特異性抗体を活性成分として含む薬学的組成物を提供する。薬学的組成物は、薬学的に許容される担体を更に含みうる。薬学的組成物は、がん免疫療法剤を更に含みうる。二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、融合タンパク質又は多重特異性抗体（例えば、三重特異性抗体又は四重特異性抗体など）の形態で一緒に含まれてもよいし、又は同時投与のために製剤化されてもよい。一実施態様では、二重特異性抗

体とがん免疫療法剤は、単一の製剤に製剤化されてもよいし、又は二重特異性抗体とがん免疫療法剤が別々に製剤化されてから混合されてもよいが、これらに限定されない。薬学的組成物は、がんの予防及び／又は治療に使用されうる。

【００８１】

別の実施態様では、二重特異性抗体を活性成分として含むがんの予防及び／又は治療のための薬学的組成物が提供される。薬学的組成物は、がん免疫療法剤を更に含みうる。二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、融合タンパク質又は多重特異性抗体（例えば、三重特異性抗体又は四重特異性抗体など）の形態で一緒に含まれてもよいし、又は同時投与のために製剤化されてもよい。一実施態様では、二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、単一の製剤に製剤化されてもよいし、又は二重特異性抗体とがん免疫療法剤が別々に製剤化されてから混合されてもよいが、これらに限定されない。

【００８２】

別の実施態様では、二重特異性抗体又は薬学的組成物の薬学的有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む、がんの予防及び／又は治療方法が提供される。この方法は、投与ステップの前に、がんの予防及び／又は治療を必要とする対象を特定することを更に含みうる。この方法は、対象に薬学的有効量のがん免疫療法剤を投与することを更に含みうる。二重特異性抗体を投与するステップとがん免疫療法剤を投与するステップは、任意の順序で逐次的に実施してもよいし、同時に実施してもよい。二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、単一の製剤として製剤化されて投与されてもよいし、又は別々に製剤化されてから同時に又は任意の順序で逐次的に投与されてもよいが、これらに限定されない。更に、がん免疫療法剤は、二重特異性抗体と共に、融合タンパク質又は多重特異性抗体（例えば、三重特異性抗体又は四重特異性抗体など）の形態で投与されてもよいが、これらに限定されない。

【００８３】

他の実施態様では、がんの予防及び／又は治療における二重特異性抗体又は薬学的組成物の使用が提供される。他の実施態様では、がんの予防及び／又は治療のための薬学的組成物の調製における二重特異性抗体の使用が提供される。

【００８４】

別の実施態様では、二重特異性抗体とがん免疫療法剤を活性成分として含む、がんの予防及び／又は治療のための同時投与用薬学的組成物が提供される。同時投与用薬学的組成物は、薬学的に許容される担体を更に含みうる。二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、融合タンパク質又は多重特異性抗体（例えば、三重特異性抗体又は四重特異性抗体など）の形態で一緒に含まれてもよいし、同時投与用に製剤化されてもよい。一実施態様では、二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、単一の製剤に製剤化されてもよいし、二重特異性抗体とがん免疫療法剤を別々に製剤化してから混合してもよいが、これらに限定されない。

【００８５】

別の実施態様では、薬学的有効量の二重特異性抗体と薬学的有効量のがん免疫療法剤を、それを必要とする対象に投与することを含む、がんの予防及び／又は治療方法を提供する。この方法では、薬学的有効量の二重特異性抗体と薬学的有効量のがん免疫療法剤が、同時に又は任意の順序で逐次的に投与されうる。二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、単一の製剤として製剤化されて投与されるか、又は別々に製剤化されてから同時に又は任意の順序で逐次的に投与されるが、これらに限定されない。更に、がん免疫療法剤は、二重特異性抗体と共に、融合タンパク質又は多重特異性抗体（例えば、三重特異性抗体又は四重特異性抗体など）の形態で投与されうるが、これらに限定されない。

【００８６】

他の実施態様では、がんの予防及び／又は治療における二重特異性抗体とがん免疫療法剤の使用が提供される。他の実施態様では、がんの予防及び／又は治療のための薬学的組成物の調製における二重特異性抗体とがん免疫療法剤の使用が提供される。二重特異性抗体とがん免疫療法剤は、融合タンパク質又は多重特異性抗体（例えば、三重特異性抗体又は四重特異性抗体など）の形態で一緒に含まれていてもよく、又は同時投与のために製剤

化されていてもよい。一例では、二重特異性抗体とがん免疫療法剤は単一製剤に製剤化されてもよいし、二重特異性抗体とがん免疫療法剤が別々に製剤化されてから混合されてもよいが、これらに限定されない。

【００８７】

ここで使用される場合、がん免疫療法剤は、免疫系を活性化することにより、例えば免疫チェックポイントを阻害することにより、その抗がん効果を発揮する任意の薬剤から選択されうる。例えば、がん免疫療法剤は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＧＩＴ、４－１ＢＢ、ＯＸ４０、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＧＩＴＲ、ＧＩＴＲＬ、ＩＣＯＳ、ＩＣＯＳＬ、及びＶＩＳＴＡなどからなる群から選択される一又は複数の活性（例えば、それぞれの結合タンパク質（例えば、リガンドなど）との相互作用）を阻害する薬剤（例えば、抗体など）でありうる。一実施態様では、がん免疫療法剤は、ＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１との相互作用を阻害する薬剤、例えば、限定されないが、ＰＤ－１を標的とする薬剤（ＰＤ－１阻害剤）、ＰＤ－Ｌ１を標的とする薬剤（ＰＤ－Ｌ１阻害剤）、又はそれらの組合わせなどでありうる。ＰＤ－１を標的とする薬剤は、限定されないが、ＰＤ－１に結合（例えば、特異的に結合）するタンパク質（例えば、抗体、抗体の抗原結合断片、抗体アナログなど）、核酸分子（例えば、アプタマー、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、マイクロＲＮＡなど）、小分子化合物などからなる群から選択される一又は複数種でありうる。更に、ＰＤ－Ｌ１を標的とする薬剤は、限定されないが、ＰＤ－Ｌ１に結合（例えば、特異的に結合）するタンパク質（例えば、抗体、抗体の抗原結合断片、抗体アナログなど）、核酸分子（例えば、アプタマー、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、マイクロＲＮＡなど）、小分子化合物などからなる群から選択される一又は複数種でありうる。

【００８８】

一実施態様では、がん免疫療法剤は、ＰＤ－１阻害剤（例えば、抗ＰＤ－１抗体、その抗原結合断片など）とＰＤ－Ｌ１阻害剤（例えば、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、その抗原結合断片）からなる群から選択される少なくとも一種でありうる。

【００８９】

例えば、ＰＤ－１阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体又はその抗原結合断片であり得、抗ＰＤ－１抗体は、限定されないが、ペンブロリズマブ、ニボルマブ、セミプリマブ、ドスタルリマブなどからなる群から選択される一又は複数種でありうる。ＰＤ－Ｌ１阻害剤は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又はその抗原結合断片であり得、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、限定されないが、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブなどからなる群から選択される一又は複数種でありうる。

【００９０】

がんは、ＨＥＲ２の低発現、ＦｃγＲＩの発現、又は両方を特徴とするがんでありうる。例えば、がんはＨＥＲ２低発現がんでありうる。

【００９１】

ここで使用される場合、「ＨＥＲ２低発現がん」という用語は、当業者によってＨＥＲ２低発現がんとして認識される限り特に限定されないが、腫瘍において全体としてＨＥＲ２の発現が所定のレベル未満であるあらゆる場合を含むように広く解釈されうる。例えば、それは、ＨＥＲ２を低いレベルで発現すること、腫瘍内でＨＥＲ２を発現する細胞の割合が低いこと、又はＨＥＲ２を発現していないこと（ＨＥＲ２ナイーブ）を意味しうる。別の実施態様では、「ＨＥＲ２低発現腫瘍（がん）」は、狭義に解釈される場合、限定されないが、ＨＥＲ２を低いレベルで発現すること、又は腫瘍内でＨＥＲ２を発現する細胞の割合が低いことを意味すると解釈されうる。

【００９２】

一実施態様では、ＨＥＲ２低発現がんとは、次の一又は複数を意味しうる：

（１）ＨＥＲ２に特異的な抗ＨＥＲ２抗体を使用する免疫組織化学的検査によって測定した場合のＩＨＣスコアが０、１＋、又は２＋であること；

（２）一般的なタンパク質測定法によって測定した場合の腫瘍内のＨＥＲ２レベルが、ＳＫ－ＢＲ－３細胞株（例えば、ＨＴＢ－３０（ＡＴＣＣ））内のＨＥＲ２レベルと比較

して６０％以下、５０％以下、４０％以下、３０％以下、又は２０％以下であること（下限は０％又は０％を超える値でありうる）；
（３）一般的なタンパク質測定法によって測定した場合の腫瘍内のＨＥＲ２レベルが、ＨＣＣ１９５４細胞株（例えば、ＣＲＬ－２３３８（ＡＴＣＣ））内のレベルよりも低いこと（下限はゼロ又はゼロを超える値でありうる）；及び
（４）がんを構成する全腫瘍細胞のうち、ＨＥＲ２を発現している腫瘍細胞のパーセンテージが、細胞の数、体積、又は重量に基づいて、５０％以下、４５％以下、４０％以下、３５％以下、又は３０％以下であること（下限は０％又は０％を超える数値でありうる）。

【００９３】
別の実施態様では、「ＨＥＲ２低発現がん」は、（ｉ）免疫組織化学的検査によるＨＥＲ２発現が２＋であり、インサイツハイブリダイゼーション（ＩＳＨ）によるＨＥＲ２発現が陰性であると判定されたがん、又は（ｉｉ）免疫組織化学的検査によるＨＥＲ２発現が１＋であると判定されたがんでありうる。ＩＳＨ法には、蛍光インサイツハイブリダイゼーション（ＦＩＳＨ）又はデュアルインサイツハイブリダイゼーション（ＤＩＳＨ）が含まれうる。免疫組織化学的検査によりＨＥＲ２発現を判定する任意の方法、又はＩＳＨにより陽性又は陰性ＨＥＲ２発現を判定する任意の方法が、当業者に認識されている限り、制限なく使用されうる。例えば、ＡＳＣＯ／ＣＡＰガイドライン、ＮＣＣＮガイドライン等に基づき、ＨＥＲ２発現を判定する任意の方法が制限なく使用されうる。別の実施態様では、「ＨＥＲ２低発現がん」は、次世代シーケンシング（ＮＧＳ）によって当業者によってＨＥＲ２低発現がんとして認識されるものであってもよいが、これに限定されるものではない。

【００９４】
一例では、ＨＥＲ２低発現がんとは、がんを構成する全ての腫瘍細胞のうちＨＥＲ２を発現する腫瘍細胞のパーセンテージが、細胞の数、体積、又は重量に基づいて、０．０５から５０％、０．５から５０％、１から５０％、５から５０％、１０から５０％、０．０５から４０％、０．５から４０％、１から４０％、５から４０％、１０から４０％、０．０５から３０％、０．５から３０％、１から３０％、５から３０％、又は１０から３０％であることを意味しうる。

【００９５】
一般的なタンパク質測定法は、測定対象のタンパク質（例えば、ＨＥＲ２）に特異的に結合する化合物、抗体、アプタマーなどを使用する一般的な酵素反応、蛍光、発光、及び／又は放射検出による測定であり得、限定されないが、免疫組織化学的検査、ＩＳＨ法、免疫クロマトグラフィー、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、放射免疫測定法（ＲＩＡ）、酵素免疫測定法（ＥＩＡ）、蛍光免疫測定法（ＦＩＡ）、発光免疫測定法（ＬＩＡ）、ウエスタンブロッティング、マイクロアレイなどが含まれうる。

【００９６】
ＦｃγＲＩは、ＣＤ６４とも呼ばれるＦｃガンマ受容体Ｉを指す。ＦｃγＲＩ発現がんは、ＦｃγＲＩを発現する細胞（例えば、腫瘍内の浸潤免疫細胞）を含む任意のタイプのがんを意味しうる。

【００９７】
ここに提供される抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、ＨＥＲ２高発現がん並びにＨＥＲ２低発現がんにおいて抗がん活性を有し、ＦｃγＲＩ発現がんにおいて優れた４－１ＢＢ活性化及び／又は免疫応答誘導活性を有し、ＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現を特徴とするがんにおいて優れた抗がん効果をもたらすことを特徴とする。

【００９８】
二重特異性抗体又は薬学的組成物によって予防及び／又は治療されうるがんは、ＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現特性を有するがんでありうる。がんは、ＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現特性を有する固形がん及び血液がんから選択されうる。がんは、ＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現特性を有し、限定されないが、乳がん、結

腸がん、胃がん、肺がん（例えば、肺の扁平上皮癌、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺腺癌）、腹膜がん、皮膚がん、扁平上皮癌、皮膚又は眼のメラノーマ、直腸がん、肛門周囲がん、食道がん、小腸腫瘍、内分泌腺がん、副甲状腺がん、副腎がん、軟部組織肉腫、尿道がん、慢性又は急性白血病、リンパ球性リンパ腫、肝臓がん、消化管がん、膵臓がん、神経膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、膀胱がん、肝細胞腺腫、子宮内膜又は子宮がん、唾液腺腫瘍、腎臓がん、前立腺がん、外陰がん、甲状腺がん、頭頸部がん、脳がん、胆道がん、胆嚢がんなどからなる群から選択される一又は複数種であるものでありうる。がんは、原発性がん、転移性がん、又は再発性がんでありうる。

【００９９】

ここで使用される場合、「がんの予防及び／又は治療」という用語は、がん細胞を死滅させること、がん細胞の増殖を阻害すること、がんに関連する症状を緩和すること、がんの広がりを阻害すること、又はがんの再発を阻害することを意味しうる。

【０１００】

ここで使用される場合、「免疫応答の増強」という用語は、限定されないが、４－１ＢＢシグナル活性化、４－１ＢＢに関連する免疫応答の増強又は強化、例えば４－１ＢＢ誘導シグナル活性化（例えば、４－１ＢＢ誘導ＮＦ－ｋＢシグナル活性化、サイトカイン放出の増加、Ｔ細胞などの免疫細胞による標的細胞の殺傷など）を意味しうる。一実施態様では、ここに提供される二重特異性抗体による免疫応答の増強は、ＨＥＲ２の存在下で起こりうる。

【０１０１】

薬学的組成物は、活性成分としての二重特異性抗体に加えて、薬学的に許容される担体、希釈剤、及び／又は添加物を更に含みうる。薬学的に許容される担体、希釈剤、及び／又は添加物は、抗体の製剤化において一般的に使用されるものから選択される任意のものでありうる。例えば、薬学的に許容される担体には、限定されないが、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアゴム、リン酸カルシウム、アルギネート、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、シロップ、メチルセルロース、メチルヒドロキシベンゾエート、プロピルヒドロキシベンゾエート、タルク、ステアリン酸マグネシウム、及び鉱油が含まれる。

【０１０２】

薬学的組成物は、潤滑剤、湿潤剤、甘味料、風味増強剤、乳化剤、懸濁剤、保存料などからなる群から選択される一又は複数種を更に含みうる。

【０１０３】

二重特異性抗体又は薬学的組成物は、経口又は非経口で対象に投与されうる。非経口投与は、静脈内、皮下、筋肉内、腹腔内、内皮、局所、鼻腔内、肺内、又は直腸でありうる。経口投与はタンパク質又はペプチドの消化につながるため、経口投与のための組成物中の活性成分は、胃での消化を防ぐようにコーティング又は製剤化されうる。加えて、組成物は、活性成分を標的細胞（例えば、がん細胞）まで送達することを可能にする任意のデバイスを使用して投与されうる。

【０１０４】

ここで使用される場合、「薬学的に有効な量」という用語は、活性成分、二重特異性抗体及び／又はがん免疫療法剤ががんの予防又は治療において薬学的に意味のある効果を発揮することができる量を意味しうる。二重特異性抗体及び／又はがん免疫療法剤の薬学的に有効な量、又は二重特異性抗体の量として表される薬学的組成物の適切な投薬量は、患者の年齢、体重、性別、病状、食事、排泄速度、及び／又は応答感受性、製剤種類、投与時間、投与経路、投与方法などの様々な要因に応じて、様々な方法で処方されうる。例えば、成人における二重特異性抗体（及び／又はがん免疫療法剤）の薬学的に有効な量、又は薬学的組成物の適切な投薬量は、約０．００１から約１０００ｍｇ（二重特異性抗体の量）／ｋｇ（体重）／日、約０．０１から約１００ｍｇ／ｋｇ／日、又は約０．１から約５０ｍｇ／ｋｇ／日でありうる。

【０１０５】
二重特異性抗体及び／又はがん免疫療法剤、又は薬学的組成物が投与される対象は、限定されないが、ヒト、サル、ラット、マウス、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシ、雌ウシなどの哺乳動物、又はそれらから得られる細胞若しくは組織であり得、対象はがんに罹患しているものでありうる。
【０１０６】
薬学的組成物は、当業者が容易に実施可能な方法によって、薬学的に許容される担体及び／又は添加物と共に、単位剤形又は複数剤形に製剤化されうる。製剤は、油又は水性媒体、懸濁液、シロップ、乳剤、抽出物、粉末、顆粒、錠剤又はカプセルであり得、分散剤又は安定剤を更に含みうる。
【０１０７】
[発明の有利な効果]
ここに提供される抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、４－１ＢＢシグナル伝達を活性化し、高ＨＥＲ２発現がん、並びにＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現特性を有するがん細胞に対する免疫応答を増強することができる。従って、二重特異性抗体は、ＨＥＲ２低発現及び／又はＦｃγＲＩ発現を特徴とするがんに対して抗がん活性を示すがん免疫療法剤として有用でありうる。
【図面の簡単な説明】
【０１０８】
【図１ａ】ＥＬＩＳＡで測定した、抗４－１ＢＢ抗体の抗原（ヒト４－１ＢＢ）結合活性を示すグラフである。
【図１ｂ】ＦＡＣＳで測定した、抗４－１ＢＢ抗体の４－１ＢＢ発現細胞への結合活性を示すグラフである。
【図２ａ】ＥＬＩＳＡで測定した、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗原（ヒトＨＥＲ２）結合活性を示すグラフである。
【図２ｂ】ＥＬＩＳＡで測定した、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗原（ヒトＨＥＲ２）結合活性を示すグラフである。
【図３ａ】ＥＬＩＳＡで測定した、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗原（ヒト４－１ＢＢ）結合活性を示すグラフである。
【図３ｂ】ＥＬＩＳＡで測定した、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗原（ヒト４－１ＢＢ）結合活性を示すグラフである。
【図４】ＦｃγＲＩ発現細胞における４－１ＢＢ活性化の誘導における抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の有効性を示すグラフである。
【図５ａ】ＨＥＲ２低発現腫瘍細胞（ＪＩＭＴ－１）における抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）に対する効果を示すグラフである。
【図５ｂ】ＨＥＲ２低発現腫瘍細胞（ＭＤＡ－ＭＢ－２３１）における抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）に対する効果を示すグラフである。
【図６】抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体のＨＥＲ２低発現腫瘍に対する抗がん効果を示すグラフである。
【図７】抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体とＰＤ－１阻害剤の同時投与のＨＥＲ２低発現腫瘍に対する抗がん効果を示すグラフである。
【実施例】
【０１０９】
本発明を次の実施例を参照して以下に詳細に説明する。
【０１１０】
次の実施態様は本発明を例示することのみを意図しており、本発明を限定するものとして解釈されるべきではない。
【０１１１】
実施例１．抗４－１ＢＢ抗体

１．１　４－１ＢＢに対する完全ヒトモノクローナル抗体の調製

全長ＩｇＧ形態の完全ヒトモノクローナル抗４－１ＢＢ抗体を、４－１ＢＢに対するファージライブラリー（ＫＢｉｏ　Ｈｅａｌｔｈから入手）イムノチューブパニングによってスクリーニングした。標的分子に対するファージライブラリーのパニングでは、４－１ＢＢ（ＮＣＢＩ受入番号ＮＰ＿００１５５２．２）でコーティングしたイムノチューブを使用して合計四回のパニングを実施した。

【０１１２】

三回のパニングからの細菌コロニーを９６ディープウェルプレートでＳＢ－カルベニシリン（Ｂｉｏｍａｔｉｋ　ｃａｔ＃Ａ２３１１－５ｇ）で増殖させ、白濁したところで各ウェルに10^{11}ｐｆｕのＶＣＳＭ１３ヘルパーファージ（Ｋ－Ｂｉｏ　Ｈｅａｌｔｈ）を添加した。３７℃において１時間、穏やかに振とう（８０ｒｐｍ）しながら感染させた後、７０μｇ／ｍＬのカナマイシンを添加し、細胞を３０℃において一晩、２００ｒｐｍで振とうしながらインキュベートした。

【０１１３】

翌日、プレートを遠心分離し、ファージを含む上清を、ＰＢＳＴ（Ｔｗｅｅｎ２０を含むリン酸緩衝生理食塩水）中の３％（ｖ／ｖ）ＢＳＡ（ウシ血清アルブミン）でブロックした４－１ＢＢ抗原コーティングＥＬＩＳＡプレートに添加した。室温において１時間インキュベートした後、プレートをＰＢＳＴで三回洗浄し、ついで抗Ｍ１３抗体（Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃａｔ＃１１９７３－ＭＭ０５）を添加した。プレートを１時間インキュベートし、ＰＢＳＴで３回洗浄し、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）を使用して結合活性を測定した。

【０１１４】

４－１ＢＢ特異的バインダーを、プラスミドＤＮＡ配列決定のために増幅させた。軽鎖及び重鎖可変領域（ＶＬ及びＶＨ）配列を解析して独特の配列を特定し、表６から表１３に示されるように配列多様性を決定した（下線部：順にＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３）。

【表６】

1A10	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGQRNSMREFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 56）
重鎖 可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS（配列番号: 18）
H-CDR1	SYDMS（配列番号: 1）
H-CDR2	WISYSGGSIYYADSVKG（配列番号: 4）
H-CDR3	DGQRNSMREFDY（配列番号: 7）
軽鎖	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS（配列番号: 62）
軽鎖 可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVL（配列番号: 30）
L-CDR1	SGSSSNIGNNYVT（配列番号: 12）
L-CDR2	ADSHRPS（配列番号: 14）
L-CDR3	ATWDYSLSGYV（配列番号: 16）

【表７】

1A10 M4	アミノ酸配列（N'→C'）
重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRNSMREFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 57）
重鎖 可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS（配列番号: 19）
H-CDR1	SYDMS（配列番号: 1）
H-CDR2	WISYSGGSIYYADSVKG（配列番号: 4）
H-CDR3	DAQRNSMREFDY（配列番号: 8）
軽鎖	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS（配列番号: 62）
軽鎖 可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVL（配列番号: 30）
L-CDR1	SGSSSNIGNNYVT（配列番号: 12）
L-CDR2	ADSHRPS（配列番号: 14）
L-CDR3	ATWDYSLSGYV（配列番号: 16）

【表８】

1A10 M11	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRQSMREFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 58）
重鎖 可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRQSMREFDYWGQGTLVTVSS（配列番号: 20）
H-CDR1	SYDMS（配列番号: 1）
H-CDR2	WISYSGGSIYYADSVKG（配列番号: 4）
H-CDR3	DAQRQSMREFDY（配列番号: 9）
軽鎖	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS（配列番号: 62）
軽鎖 可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVL（配列番号: 30）
L-CDR1	SGSSSNIGNNYVT（配列番号: 12）
L-CDR2	ADSHRPS（配列番号: 14）
L-CDR3	ATWDYSLSGYV（配列番号: 16）

【表９】

1A10 M12	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRNSMREFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 57）
重鎖 可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS（配列番号: 19）
H-CDR1	SYDMS（配列番号: 1）
H-CDR2	WISYSGGSIYYADSVKG（配列番号: 4）
H-CDR3	DAQRNSMREFDY（配列番号: 8）
軽鎖	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS（配列番号: 63）
軽鎖 可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVL（配列番号: 31）
L-CDR1	SGSSSNIGNNYVT（配列番号: 12）
L-CDR2	ADSHRPS（配列番号: 14）
L-CDR3	ATWDYSLSGYV（配列番号: 16）

【表１０】

1A10 M13	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRQSMREFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 58）
重鎖 可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRQSMREFDYWGQGTLVTVSS（配列番号: 20）
H-CDR1	SYDMS（配列番号: 1）
H-CDR2	WISYSGGSIYYADSVKG（配列番号: 4）
H-CDR3	DAQRQSMREFDY（配列番号: 9）
軽鎖	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS（配列番号: 63）
軽鎖 可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVL（配列番号: 31）
L-CDR1	SGSSSNIGNNYVT（配列番号: 12）
L-CDR2	ADSHRPS（配列番号: 14）
L-CDR3	ATWDYSLSGYV（配列番号: 16）

【表１１】

1A12	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKGLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 59）
重鎖 可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKGLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS（配列番号: 21）
H-CDR1	GYDMS（配列番号: 2）
H-CDR2	VIYPDDGNTYYADSVKG（配列番号: 5）
H-CDR3	HGGQKPTTKSSSAYGMDG（配列番号: 10）
軽鎖	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS（配列番号: 62）
軽鎖 可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVL（配列番号: 30）
L-CDR1	SGSSSNIGNNYVT（配列番号: 12）
L-CDR2	ADSHRPS（配列番号: 14）
L-CDR3	ATWDYSLSGYV（配列番号: 16）

【表１２】

1A12 M1	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKGLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 60）
重鎖 可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKGLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS（配列番号: 22）
H-CDR1	GYDMS（配列番号: 2）
H-CDR2	VIYPDDGNTYYADSVKG（配列番号: 5）
H-CDR3	HGGQKPTTKSSSAYGMDG（配列番号: 10）
軽鎖	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS（配列番号: 63）
軽鎖 可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGGGTKLTVL （配列番号: 31）
L-CDR1	SGSSSNIGNNYVT（配列番号: 12）
L-CDR2	ADSHRPS（配列番号: 14）
L-CDR3	ATWDYSLSGYV（配列番号: 16）

【表１３】

AB41	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	QVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEINP GNGHTNYNEKFKSRATLTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSFTTARAFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSLGK（配列番号: 61）
重鎖 可変領域（VH）	QVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEINP GNGHTNYNEKFKSRATLTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSFTTARAFA YWGQGTLVTVSS（配列番号: 23）
H-CDR1	SYWMH（配列番号: 3）
H-CDR2	EINPGNGHTNYNEKFKS（配列番号: 6）
H-CDR3	SFTTARAFAY（配列番号: 11）
軽鎖	DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASQTISDYLHWYQQKPDQAPKLLIKYASQSIS GIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQDGHSFPPTFGQGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号: 64）
軽鎖 可変領域（VL）	DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASQTISDYLHWYQQKPDQAPKLLIKYASQSIS GIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQDGHSFPPTFGQGTKLEIKR（配列番号: 32）
L-CDR1	RASQTISDYLH（配列番号: 13）
L-CDR2	YASQSIS（配列番号: 15）
L-CDR3	QDGHSFPPT（配列番号: 17）

【０１１５】

１．２．　４－１ＢＢに対するｓｃＦｖ抗体の調製

（Ｎ’）－ＶＬ－リンカー－ＶＨ－（Ｃ’）の構造を有する抗４－１ＢＢ　ｓｃＦｖ抗体を、実施例１．１の表６から１３に示される４－１ＢＢに対する完全ヒトモノクローナル抗体の可変領域を使用して調製した。重鎖可変領域の４４番目のアミノ酸残基「Ｇ」は「Ｃ」に置換され、軽鎖可変領域の１０３番目のアミノ酸残基「Ｇ」は「Ｃ」に置換される。ｓｃＦｖにおけるこれらの「Ｇ」から「Ｃ」へのアミノ酸置換は、ｓｃＦｖを一つの標的特異的部分として含む二重特異性抗体の安定性の向上に寄与しうる。調製された抗４－１ＢＢ　ｓｃＦｖのアミノ酸配列を、以下の表１４から１９に示すが、当業者であれば、以下の実施態様において、（ＧＧＧＧＳ）２（配列番号：９０）、（ＧＧＧＧＳ）３（配列番号：８５）、（ＧＧＧＧＳ）４（配列番号：８７）、又は（ＧＳ）９（配列番号：８６）などの様々なタイプのペプチドリンカーを適用することを含め、特定の目的に合わせてアミノ酸配列の変更又は修飾を行うことができることを認識するであろう。

【表１４】

1A10 (scFv)	アミノ酸配列 (N'→C')
軽鎖可変領域 (VL)	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSH RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKL TVL (配列番号: 33)
リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
重鎖可変領域 (VH)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVSWIS YSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGQRNSM REFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 24)

【表１５】

1A10 M4 (scFv)	アミノ酸配列 (N'→C')
軽鎖可変領域 (VL)	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSH RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKL TVL (配列番号: 33)
リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号:87)
重鎖可変領域 (VH)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVSWIS YSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRNSM REFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 25)

【表１６】

1A10 M12 (scFv)	アミノ酸配列 (N'→C')
軽鎖可変領域 (VL)	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSH RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKL TVL (配列番号: 34)
リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
重鎖可変領域 (VH)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVSWIS YSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRNSM REFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 25)

【表１７】

1A12 (scFv)	アミノ酸配列 (N'→C')
軽鎖可変領域 (VL)	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSH RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKL TVL (配列番号: 33)
リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
重鎖可変領域 (VH)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKCLEWVSVIY PDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAKHGGQKPT TKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS (配列番号: 27)

【表１８】

1A12 M1 (scFv)	アミノ酸配列（N’→C’）
軽鎖可変領域（VL）	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL（配列番号: 34）
リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS（配列番号: 87）
重鎖可変領域（VH）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS（配列番号: 28）

【表１９】

AB41 (scFv)	アミノ酸配列（N’→C’）
軽鎖可変領域（VL）	DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASQTISDYLHWYQQKPDQAPKLLIKYASQSISGIPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQDGHSFPPTFGCGTKLEIKR（配列番号: 88）
リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS（配列番号: 87）
重鎖可変領域（VH）	QVQLQQSGAEVIKPGASVKLSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQCLEWIGEINPGNGHTNYNEKFKSRATLTGDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSFTTARAFAYWGQGTLVTVSS（配列番号: 29）

【０１１６】

１．３．抗４－１ＢＢ抗体（全長ＩｇＧ型）のヒト４－１ＢＢに対する抗原結合能

（１）ＥＬＩＳＡによる抗原結合活性の測定

抗原結合活性を評価するために、実施例１．１において調製した抗体候補をＥＬＩＳＡによって試験した。簡単に説明すると、マイクロタイタープレートをＰＢＳ中の０．１μｇ／ｍｌのヒト４－１ＢＢ－Ｆｃタンパク質（Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ）でコーティングし、１００μｌ／ウェルで４℃において一晩インキュベートし、１００μｌ／ウェルの５％（ｖ／ｖ）ＢＳＡでブロックした。

【０１１７】

１０μｇ／ｍｌで開始したヒト化抗体（１Ａ１０、１Ａ１２、及びＡＢ４１）の５倍希釈液を各ウェルに添加し、室温（ＲＴ）において１から２時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎで洗浄し、ついで西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）と結合させたヤギ抗ヒトＩｇＧ抗体（Ｔｈｅｒｍｏ）と共に室温において１時間インキュベートした。洗浄後、プレートをＴＭＢ基質で発色させ、ＯＤ４５０～６３０ｎｍで分光光度的に分析した。

【０１１８】

その結果、図１ａに示されるように、試験された全ての抗４－１ＢＢ抗体が４－１ＢＢ結合活性を示した。

【０１１９】

（２）ＦＡＣＳによって測定した細胞結合活性

細胞結合活性を評価するために、抗体候補のヒト４－１ＢＢへの結合を蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）で解析した。簡単に説明すると、表面にヒト４－１ＢＢを発現するＧｌｏ Ｒｅｓｐｏｎｓｅ™ ＮＦκＢ－ｌｕｃ２／４－１ＢＢジャーカット細胞株（Ｐｒｏｍｅｇａ；３×１０^{5}個の細胞）を抗体（１Ａ１０及び１Ａ１２、各１０μｇ／ｍＬ）と共にインキュベートした。ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ中１％（ｖ／ｖ）ＢＳＡ）で洗浄した後、ＦＩＴＣ抗ヒトＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａ、Ｆ９５１２、濃度：２．０ｍｇ／ｍｌ）を各ウェルに添加し、４℃において１時間インキュベートした。ＦＩＴＣの平均蛍光強度（ＭＦＩ）をＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）によって測定し

た。

【０１２０】

その結果、図１ｂに示されるように、全ての試験した抗４－１ＢＢ抗体が、ヒト細胞表面に発現した４－１ＢＢに対して効率的な結合活性を示した。

【０１２１】

実施例２．抗ＨＥＲ２抗体の調製

抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体のＨＥＲ２標的化部分として、トラスツズマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ；以下「ＨＥＲ２（ＷＴ）」、ＤｒｕｇＢａｎｋ受入番号ＤＢ００７２；ヒトＩｇＧ１カッパモノクローナル抗体）又はｓｃＦｖのようなその抗原結合断片を使用した。

【０１２２】

ＨＥＲ２（ＷＴ）の配列を以下の表２０にまとめる。

二重特異性抗体に含まれる抗ＨＥＲ２抗体の定常領域は、ヒトＩｇＧ１に一又は複数の変異又は変化を導入することによって、改変できる。一つの例示的な実施態様としてＨＥＲ２（ＮＡ又はＮ２９７Ａ）を以下の表２０に示す。

【表２０】

HER2(WT)	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTN GYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK（配列番号: 73）
軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC （配列番号: 75）
HER2(NA) (N297A)	アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTN GYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY**A**STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK（配列番号: 74）
軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC （配列番号: 75）

【０１２３】

実施例３．抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の調製

様々な抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体候補を、全長ＩｇＧ（抗ＨＥＲ２抗体）－ｓｃＦｖ（抗４－１ＢＢ抗体）型又は全長ＩｇＧ（抗４－１ＢＢ抗体）－ｓｃＦｖ（抗ＨＥＲ２抗体）型の何れかで調製した。この実施態様では、実施例２及び実施例１．２においてそれぞれ調製した抗ＨＥＲ２ＩｇＧ及び４－１ＢＢ ｓｃＦｖクローンを例示的に選択して、ＩｇＧ－ｓｃＦｖ融合物（一方の抗原のｓｃＦｖ抗体断片が、他方の抗原のＩｇＧのＣ末端に融合されている）の形態の抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体を調製した。ＨＥＲ２標的部分が全ＩｇＧ部分に位置している場合は、ＡＤＣＣが低下した変異体主鎖（Ｎ２９７Ａ変異、Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ，ｖｏｌ．１９，ｉｓｓｕｅ １，ｐｐ．１０１－１１３など）を持つＩｇＧ１を使用し、４－１ＢＢ標的部分が全ＩｇＧ部分に位置している場合はＩｇＧ４を使用した。

【０１２４】

ｐｃＤＮＡ３．４（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ａ１４６９７；プラスミド１）に、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体のＩｇＧ抗体の重鎖をコードするヌクレオチド配列を持つＤＮＡセグメント１を挿入し、ｐｃＤＮＡ３．４（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ａ１４６９７；プラスミド２）に、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体のＩｇＧ抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列を持つＤＮＡセグメント２を挿入した。次に、（ＧＧＧＧＳ）３（配列番号：８５）からなる１５アミノ酸長のペプチドリンカーをコードするＤＮＡセグメント４、又は（ＧＳ）９（配列番号：８６）からなる１８アミノ酸長のペプチドリンカーをコードするＤＮＡセグメント５を使用して、ｓｃＦｖをコードするＤＮＡセグメント３を、プラスミド１に挿入されたＩｇＧ抗体のＦｃ領域のＣ末端に対応するＤＮＡセグメント１の部分に融合させることにより、二重特異性抗体の発現のためのベクターを調製した。更に、ｓｃＦｖを安定化するために、実施例１．２に記載のように、軽鎖のＣ末端と重鎖のＣ末端にそれぞれＶＬ１０３－ＶＨ４４（ＶＬ１０３：位置１０３にＧ→Ｃ変異を持つＶＬ；ＶＨ４４：位置４４にＧ→Ｃ変異を持つＶＨ）を融合させるジスルフィド架橋を作製するために更なる改変を適用した。

【０１２５】

幾つかの例示的な二重特異性抗体を作製するために使用される重鎖、軽鎖、ｓｃＦｖ、及びＤＮＡ断片の配列を、表２１から２９に例示する。以下に示される抗体には、安定性と効力の改善、免疫原性の低減などのために、アミノ酸配列に一又は複数の点変異が導入されうる。

【表２１】

HER2 (NA)x1A10 二重特異性抗体-1			アミノ酸配列（N'→C'）
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号: 74)
	② リンカー		GGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 85)
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPG TAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL (配列番号: 33)
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDGQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 24)
	重鎖成分 (①+②+③)		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGS GGGGSQSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWY QQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLR SEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY DMSWVRQAPGKCLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGQRNSMREFDYWGQGT LVTVSS (配列番号: 76)
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (配列番号: 75)

【表２２】

HER2 (NA)x1A10 二重特異性抗体-2			アミノ酸配列（N'→C'）
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号: 74)
	② リンカー		GSGSGSGSGSGSGSGSGS (配列番号: 86)
	③ 抗 4-1BB 抗体の scFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPG TAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL (配列番号: 33)
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDGQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 24)
	重鎖成分 (①+②+③)		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSGSGSGSG SGSGSGSQSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVT WYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISG LRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYDMSWVRQAPGKCLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGQRNSMREFDYWGQ GTLVTVSS (配列番号: 77)
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (配列番号: 75)

【表２３】

HER2 (NA)x1A10 M4 二重特異性抗体			アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKG LEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (配列番号: 74)
	② リンカー		GSGSGSGSGSGSGSGSGS (配列番号: 86)
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTA PKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC ATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL (配列番号: 33)
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGK CLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDAQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 25)
	重鎖成分 (①+②+③)		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKG LEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGSGSGSGSGSGSGSGSGSQSVLTQPPSASGTP GRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGC GTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVSWISYSGGSIY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRN SMREFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 78)
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKA PKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号: 75)

【表２４】

HER2 (NA)x1A10 M12 二重特異性抗体			アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKG LEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (配列番号: 74)
	② リンカー		GSGSGSGSGSGSGSGSGS (配列番号: 86)
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTA PKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC ATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL (配列番号: 34)
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGK CLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDAQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 25)
	重鎖成分（①+②+③）		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKG LEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGSGSGSGSGSGSGSGSGSQSVLTQPPSASGTP GQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGC GTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVSWISYSGGSIY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRN SMREFDYWGQGTLVTVSS (配列番号: 79)
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKA PKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号: 75)

【表２５】

HER2 (NA)x1A12 二重特異性抗体-1			アミノ酸配列 (N'→C')
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号: 74)
	② リンカー		GGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 85)
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPG TAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL (配列番号: 33)
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAP GKCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDAAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLV TVSS (配列番号: 27)
	重鎖成分 (①+②+③)		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGG SGGGGSQSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTW YQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGL RSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSG YDMSWVRQAPGKCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDAAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGM DGWGQGTLVTVSS (配列番号: 80)
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPG KAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC (配列番号: 75)

【表２６】

HER2 (NA)x1A12 二重特異性抗体-2			アミノ酸配列（N'→C'）
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号: 74)
	② リンカー		GSGSGSGSGSGSGSGSGS (配列番号: 86)
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGT APKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL (配列番号: 33)
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPG KCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDAAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS (配列番号: 27)
	重鎖成分 (①+②+③)		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYAS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSGSGSGSGSGSGSGSQSVL TQPPSASGTPGRRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKL LIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAT WDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKC LEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDAAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS (配列番号: 81)
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号: 75)

【表２７】

HER2 (NA)x1A12 M1 二重特異性抗体			アミノ酸配列 (N'→C')
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号: 74)
	② リンカー		GSGSGSGSGSGSGSGSGS (配列番号: 86)
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPG TAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL (配列番号: 34)
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号: 87)
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAP GKCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVT VSS (配列番号: 28)
	重鎖成分 (①+②+③)		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSGSGSG SGSGSGSGSQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNY VTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA ISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSGYDMSWVRQAPGKCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGGQKPTTKSSS AYGMDGWGQGTLVTVSS (配列番号: 82)
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPG KAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC (配列番号: 75)

【表２８】

HER2 (WT)x1A10 M12 二重特異性抗体			アミノ酸配列（N’→C’）
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号: 73）
	② リンカー		GSGSGSGSGSGSGSGSGS（配列番号: 86）
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPG TAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL（配列番号: 34）
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS（配列番号: 87）
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAP GKCLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDAQRNSMREFDYWGQGTLVTVSS （配列番号: 25）
	重鎖成分 （①+②+③）		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPG KGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSGSGSG SGSGSGSGSQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNY VTWYQQLPGTAPKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA ISGLRSEDEADYYCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSSYDMSWVRQAPGKCLEWVSWISYSGGSIYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAQRNSMREFDY WGQGTLVTVSS（配列番号: 83）
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPG KAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC（配列番号: 75）

【表２９】

HER2 (WT)x1A12 M1 二重特異性抗体			アミノ酸配列（N'→C'）
重鎖成分	① 抗HER2抗体の重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号: 73）
	② リンカー		GSGSGSGSGSGSGSGSGS（配列番号: 86）
	③ 抗4-1BB抗体のscFv	VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGT APKLLIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCATWDYSLSGYVFGCGTKLTVL（配列番号: 34）
		リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS（配列番号: 87）
		VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPG KCLEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS （配列番号: 28）
	重鎖成分 （①+②+③）		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSGSGSGSGSGSGSGSQSVL TQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVTWYQQLPGTAPKL LIYADSHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAT WDYSLSGYVFGCGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYDMSWVRQAPGKC LEWVSVIYPDDGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKHGGQKPTTKSSSAYGMDGWGQGTLVTVSS （配列番号: 84）
軽鎖成分	抗HER2抗体の軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC （配列番号: 75）

【０１２６】

実施例４．二重特異性抗体（ＢｓＡｂｓ）の結合親和性の試験

４．１．　ヒトＨＥＲ２への結合

二重特異性抗体のＨＥＲ２結合親和性測定を、実施例１．３（１）を参照してＥＬＩＳＡによって実施した。

簡単に説明すると、９６ウェルマイクロタイタープレート（Ｎｕｎｃ－ＩｍｍｕｎｏＰｌａｔｅｓ，ＮＵＮＣ）を、ＰＢＳ中の１μｇ／ｍｌのヒトＨＥＲ２－Ｈｉｓタンパク質（Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ，１００００１－Ｈ０８Ｂ）１００μｌ／ウェルで４℃において一晩コーティングし、その後、ブロッキングバッファー（ＰＢＳ中の１％ＢＳ

Ａ２００μｌ／ウェル、ウシ血清アルブミン（Ｇｉｂｃｏ，３００６３５７２）を含む）で３７℃において２時間ブロックした。実施例３において調製した抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体と対照としての抗ＨＥＲ２抗体（ＨＥＲ２（ＮＡ））の段階希釈液（０．１μＭから開始）を各ウェルに添加し、３７℃において１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％ Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＨＲＰ結合Ｆａｂ抗体（Ｐｉｅｒｃｅ，３１４１４）と共に３７℃において１時間インキュベートした。洗浄後、プレートをテトラメチルベンジジン（ＴＭＢ，Ｓｉｇｍａ，Ｔ０４４０）基質で発色させ、ＯＤ４５０～６５０ｎｍで分光光度的に分析した。

【０１２７】

図２ａ及び２ｂに示されるように、その結果から、全ての試験した抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体が、対照抗ＨＥＲ２抗体（ＮＡ）と同様の高親和性でヒトＨＥＲ２タンパク質に結合することができたことが確認された。

【０１２８】

４．２．結合親和性＿ヒト４－１ＢＢに対するＥＬＩＳＡ測定

二重特異性抗体の４－１ＢＢに対する結合親和性測定を、実施例１．３（１）を参照してＥＬＩＳＡにより実施した。簡単に説明すると、９６ウェルマイクロタイタープレート（Ｎｕｎｃ－Ｉｍｍｕｎｏ Ｐｌａｔｅｓ，ＮＵＮＣ）を、ＰＢＳ中の１μｇ／ｍｌのヒト４－１ＢＢ－Ｈｉｓタンパク質（Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ，１００４１－Ｈ０８Ｈ）で１００μｌ／ウェルで一晩４℃においてコーティングした。プレートをブロッキングバッファー（ＰＢＳ中の１％（ｖ／ｖ）ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）（Ｇｉｂｃｏ，３００６３５７２）を２００μｌ／ウェル）で３７℃において２時間ブロックした。実施例３で調製した抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体と対照としての抗ＨＥＲ２抗体（ＨＥＲ２（ＮＡ））の段階希釈液（０．１μＭから開始）を各ウェルに添加し、３７℃において１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％ Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＨＲＰ結合Ｆａｂ抗体（Ｐｉｅｒｃｅ，３１４１４）と共に３７℃において１時間インキュベートした。洗浄後、プレートをＴＭＢ基質で発色させ、ＯＤ４５０～６５０ｎｍで分光光度的に分析した。

【０１２９】

図３ａ及び３ｂに示されるように、全ての試験した抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体が、ヒト４－１ＢＢタンパク質に高親和性で結合することができたが、抗ＨＥＲ２抗体はヒト４－１ＢＢタンパク質に結合しなかった。

【０１３０】

図２ａ、２ｂ、３ａ、及び３ｂの結果を定量化し、以下の表３０にまとめる。

【表３０】

EC50 (nM)	HER2	4-1BB
HER2(NA)	0.134	N/A
HER2(WT)x1A10 M12	0.159	0.027
HER2(NA)x1A10	0.135	0.033
HER2(NA)x1A10 M4	0.148	0.025
HER2(NA)x1A10 M12	0.161	0.031
HER2(WT)x1A12 M1	0.174	0.051
HER2(NA)x1A12	0.148	0.043
HER2(NA)x1A12 M1	0.143	0.048

【０１３１】

表３０に示されるように、全ての試験した抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体が、ヒトＨＥＲ２及びヒト４－１ＢＢタンパク質の両方に高親和性で結合することができた。

【０１３２】

４．３．　様々なヒトＨＥＲ２発現細胞表面への結合

上の実施例１．３（２）を参照して、ＨＥＲ２を発現する様々な細胞の表面への二重特異性抗体の結合親和性測定をＦＡＣＳ解析によって実施した。

【０１３３】

以下の表３１に列挙されている様々な腫瘍細胞株を使用した。各細胞株を単離してＰＢＳで洗浄した後、細胞を計数して2×10^5細胞／１００μｌＦＡＣＳバッファーに設定し、次に１０μｇ／ｍＬの抗ＨＥＲ２抗体又は抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体で処理し、４℃において１時間反応させた。反応後、細胞をＦＡＣＳバッファーで洗浄し、ＦＩＴＣ標識定常領域（Ｆｃ）特異的抗体（ヤギ抗ヒトＩｇＧ　ＦＩＴＣコンジュゲート、Ｆｃ特異的、シグマ、Ｆ９５１２、濃度：２．０ｍｇ／ｍｌ）と共にインキュベートし、続いて２μｌ／2×10^5細胞／１００μｌＦＡＣＳバッファーに懸濁した後、４℃において１時間反応させた。反応後、細胞をＦＡＣＳバッファーで洗浄し、ＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒ装置を使用して解析した。陰性対照は、ＦＩＴＣ標識定常領域（Ｆｃ）特異的抗体のみで処理した。がん細胞株の間のＨＥＲ２の発現度合いを比較するために、実験群のピークシフト結果値を陰性対照群のピークシフト結果値で割った。

【０１３４】

得られた結果を以下の表３１に示す。

【表３１】

MFI(平均蛍光強度)比

細胞株			抗HER2	HER2x1A10	HER2x1A12
NCI-N87	胃	ATCC, CRL-5822	104	139	145
BT-474	乳房	ATCC, HTB-20	81	102	90
Calu-3	肺	ATCC, HTB-55	74	82	82
HCC1954	乳房	ATCC, CRL-2338	32	40	42
JIMT1	乳房	DSMZ, ACC 589	26	27	25
HT29	結腸	ATCC, HTB-38	6.1	6.0	7.4
MCF-7	乳房	ATCC, HTB-22	5.2	4.9	5.8
MDA-MB231	乳房	ATCC, HTB-26	1.2	1.4	1.6
H929	MM	ATCC, CRL-9068	0.9	1.4	1.4
ジャーカット	ALL	ATCC, TIB-152	1.0	1.3	1.6

（MFI比：第一AbのMFI／第二AbのMFI）

【０１３５】

表３１に示されるように、全ての試験した抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体が、ヒトＨＥＲ２タンパク質を発現する細胞表面に結合することができる。

【０１３６】

４．４．　４－１ＢＢに対する結合親和性＿ＳＰＲ測定

ＳＰＲ実験において、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体をフローセル２、３、及び４に別々に捕捉し、フローセル１を参照として維持した。抗ヒトＦａｂ抗体（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、２８９５８３２５）を、アミン結合によってＢｉｏｃｏｒｅ（登録商標）シリーズＳセンサーチップＣＭ５（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、ＢＲ１００５３０）に固定化した。組換えヒト４－１ＢＢタンパク質（ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、４１Ｂ－Ｈ５２２７）を、それぞれ４００、２００、１００、５０、２５、１２．５、６．２５、３．１３、１．５６、及び０．７８ｎＭの濃度で、３０μｌ／分で３００秒間

チップに流し、その後４００秒の解離ステップを続けた。再生は、１０ｍＭのグリシン－ＨＣｌ（ｐＨ２．０）（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、ＢＲ１００３５５）を使用して実施した。

【０１３７】

得られた結果を以下の表３２に示す。

【表３２】

抗体	KD (M)	Kon (1/Ms)	Kdis (1/s)
HER2(WT)x1A10 M12	2.11E-09	2.55E+05	5.38E-04
HER2(NA)x1A10 M12	2.35E-09	2.69E+05	6.33E-04
HER2(WT)x1A12 M1	1.24E-08	6.57E+04	8.11E-04
HER2(NA)x1A12 M1	1.38E-08	6.74E+04	9.27E-04

【０１３８】

表３２に示されるように、試験した抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体は、高い４－１ＢＢ結合親和性を示した。

【０１３９】

実施例５．様々な細胞におけるＨＥＲ２発現レベル

様々ながん細胞株におけるＨＥＲ２細胞表面発現レベルを、製造元の推奨に従ってＱＩＦＩＫＩＴ定量キット（Ｄａｋｏ）を使用して定量した。より具体的には、細胞を、飽和濃度で、未標識抗ＨＥＲ２マウスモノクローナル抗体（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）又は精製マウスＩｇＧ２ｂアイソタイプ対照（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）で染色した。洗浄後、染色した細胞とキット内のキャリブレーションビーズを、キット内の同じＦＩＴＣ結合ヤギ抗マウスＩｇＧ二次抗体で同時に標識した。標識した細胞とキャリブレーションビーズを、フローサイトメーターで解析した。キャリブレーションビーズのＭＦＩ値を使用して線形回帰を実施した。この回帰直線から外挿して抗体結合能（ＡＢＣ）を決定し、抗ＨＥＲ２抗体のＡＢＣからアイソタイプ対照抗体のＡＢＣを差し引いて特異的ＡＢＣ（ｓＡＢＣ）を決定した。更に、上で得られた様々な細胞株のｓＡＢＣ（ＨＥＲ２レベル）をＳＫ－ＢＲ－３の値（１００％）に標準化した。

【０１４０】

得られた結果を表３３に示す。

【表３３】

細胞株		sABC[HER2]	% [SK-BR-3]
NCI-N87	ATCC, CRL-5822	1,624,200	225.2
BT-474	ATCC, HTB-20	1,190,606	165.1
SK-BR-3	ATCC, HTB-30	721,333	100.0
Calu-3	ATCC, HTB-55	706,886	98.0
HCC1954	ATCC, CRL-2338	497,805	69.0
JIMT-1	DSMZ, ACC 589	93,113	12.9
ZR-75-1	ATCC, CRL-1500	25,360	3.5
A-431	ATCC, CRL-1555	13,130	1.8
MCF7	ATCC, HTB-22	9,916	1.4
LoVo	ATCC, CCL-229	7,273	1.0
MDA-MB-231	ATCC, HTB-26	3,844	0.5
BxPC-3	ATCC, CRL-1687	2,013	0.3

【０１４１】

実施例６．抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体のＦｃγＲＩ結合に依存する４－１ＢＢシグナル活性化の誘導

ＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）を発現するＣＨＯ－Ｋ１細胞（ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ）を９６ウェルアッセイプレートに蒔き（４×１０^{4}細胞／ウェル）、３７℃、５％ＣＯ$_{2}$インキュベーターで一晩インキュベートした。アッセイ当日、各ウェルから培養培地を除去し、エフェクター細胞（ＮＦκＢ－Ｌｕｃ２／ｈ４－１ＢＢ細胞；Ｐｒｏｍｅｇａ）を蒔いた（５×１０^{4}細胞／ウェル）。各ウェルを抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２）又は抗４－１ＢＢ抗体（ウレルマブ、米国特許第７２８８６３８号）で処理し、インキュベーター内で３７℃、５％ＣＯ$_{2}$で６時間インキュベートした。次に、Ｂｉｏ－ＧｌｏＴＭ試薬を各ウェルに添加し、マイクロプレートリーダーを使用して発光を測定した。

【０１４２】

その結果、図４に示されるように、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２）は、ＦｃγＲＩの存在下で強い４－１ＢＢ活性化を誘導した。

【０１４３】

実施例７．ＨＥＲ２低発現腫瘍細胞における抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体のＦｃγＲＩＩＩａ媒介ＡＤＣＣ活性

ＨＥＲ２低発現腫瘍細胞における抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の有効性を決定するために、ＦｃγＲＩＩＩａ媒介抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）に対する効果を試験した。ＨＥＲ２低発現細胞ＪＩＭＴ－１及びＭＤＡ－ＭＢ－２３１（表３３を参照）を９６ウェルアッセイプレートに蒔き（各１×１０^{4}細胞／ウェル）、３７℃、５％ＣＯ$_{2}$インキュベーターで一晩インキュベートした。アッセイ当日、各ウェルから培養培地を除去し、エフェクター細胞（ＮＦκＢ－Ｌｕｃ２／ＦｃγＲＩＩＩａ細胞；Ｐｒｏｍｅｇａ）を蒔いた（５×１０^{4}細胞／ウェル）。各ウェルを、それぞれ抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２）、ＵＳ’２５０Ａｂ（抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体、米国特許第１０８６５２５０号の配列番号：９及び１０で調製）、又は抗４－１ＢＢ抗体であるウレルマブで処理し、インキュベーター内で３７℃、５％ＣＯ$_{2}$で６時間インキュベートした。次に、Ｂｉｏ－ＧｌｏＴＭ試薬を各ウェルに添加し、マイクロプレートリーダーを使用して発光を測定した。

【０１４４】

その結果、図５ａ（ＪＩＭＴ－１細胞株）及び５ｂ（ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞株）に示されるように、試験したＨＥＲ２低発現腫瘍細胞（ＪＩＭＴ－１、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１）の両方において、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体ＵＳ’２５０Ａｂと抗４－１ＢＢ抗体ウレルマブはＡＤＣＣ活性化を殆ど誘導しなかったが、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２）はＡＤＣＣ活性化を顕著に誘導した。

【０１４５】

実施例８．ＨＥＲ２低発現腫瘍を有するマウスモデルにおける抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の抗腫瘍効果

ＨＥＲ２低発現腫瘍に対する抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体の有効性を評価するためにマウスモデルを調製した。具体的には、マウス結腸がん細胞ＭＣ３８を遺伝子操作してヒトＨＥＲ２を発現させ（ＭＣ３８／ｈＨＥＲ２、Ｂｉｏｃｙｔｏｇｅｎ）、野生型ＭＣ３８腫瘍細胞を、細胞数に基づいて、３：７の比（ＭＣ３８／ｈＨＥＲ２ １．５×１０^{6}細胞＋ＭＣ３８ ３．５×１０^{6}細胞、０．１ｍＬ ＰＢＳ）又は１：９の比（ＭＣ３８／ｈＨＥＲ２ ０．５×１０^{6}細胞＋ＭＣ３８ ４．５×１０^{6}細胞、０．１ｍＬ ＰＢＳ）で組み合わせ、低ヒトＨＥＲ２発現の環境を模倣した腫瘍細胞を調製した。上の調製した腫瘍細胞を、ヒト４－１ＢＢ（ｈ４－１ＢＢ）を発現するように遺伝子操作したマウス（ｈ４－１ＢＢノックインマウス、Ｂｉｏｃｙｔｏｇｅｎ）の側腹部に移植し、移植後４日目に腫瘍体積に基づいてマウスを無作為化した。

【０１４６】

腫瘍体積が同等になるようにグループ分けしたマウスに、抗ｈＩｇＧ１抗体、ＵＳ’２

５０Ａｂ、及び抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０Ｍ１２）を、グループ分け当日、４日後、及び７日後にそれぞれ２．２５ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、及び３ｍｇ／ｋｇの用量で腹腔内投与し、ついで、腫瘍体積をデジタルノギスで週２回測定した。図６に示されるように、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２）は、別の抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体ＵＳ’２５０Ａｂ及び抗ｈＩｇＧ１抗体と比較して、ＨＥＲ２低発現腫瘍を模倣した両方の腫瘍マウスモデル（３：７比モデル及び１：９比モデル）に対して優れた腫瘍阻害を示した。

【０１４７】

実施例９．ＨＥＲ２低発現腫瘍を有するマウスモデルにおける抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体とＰＤ－１阻害剤の同時投与の抗腫瘍効果

抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体とＰＤ－１阻害剤（抗ＰＤ－１抗体）の同時投与のＨＥＲ２低発現腫瘍に対する抗腫瘍効果を評価するためにマウスモデルを構築した。具体的には、ヒトＨＥＲ２を発現するように遺伝子操作されたマウス結腸がん細胞ＭＣ３８（ＭＣ３８／ｈＨＥＲ２；Ｂｉｏｃｙｔｏｇｅｎ）と野生型ＭＣ３８腫瘍細胞を、細胞数で１：９の比（ＭＣ３８／ｈＨＥＲ２ ０．５×10^6細胞＋ＭＣ３８ ４．５×10^6細胞、０．１ｍＬ ＰＢＳを含む）で混合し、低ヒトＨＥＲ２発現の環境を模倣した腫瘍細胞を調製した。上で調製した腫瘍細胞を、ヒト４－１ＢＢ（ｈ４－１ＢＢ）を発現するように遺伝子操作されたマウス（ｈ４－１ＢＢノックインマウス；Ｂｉｏｃｙｔｏｇｅｎ）の側腹部に移植し、移植後６日目に腫瘍体積に基づいてマウスを無作為化した。

【０１４８】

腫瘍体積が同等になるようにグループ分けしたマウスに、各グループにそれぞれ、

抗ｈＩｇＧ１（２．２５ｍｇ／ｋｇ、ＢＩＷ ２週間）＋抗ｍＩｇＧ２抗体（１０ｍｇ／ｋｇ、ＱＷ ４週間）（アイソタイプ対照群）、

抗ｍＰＤ－１抗体（ＢｉｏＸｃｅｌｌ、Ｃａｔ＃ＢＰ０１４６；１０ｍｇ／ｋｇ、ＱＷ ４週間）、

抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２；３ｍｇ／ｋｇ、ＢＩＷ ２週間）、及び

抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２；３ｍｇ／ｋｇ、ＢＩＷ ２週間）＋抗ｍＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ、ＱＷ ４週間）

を腹腔内投与し、腫瘍体積をデジタルノギスで週２回測定した。

【０１４９】

図７に示されるように、抗ＨＥＲ２／抗４－１ＢＢ二重特異性抗体（ＨＥＲ２（ＷＴ）×１Ａ１０ Ｍ１２）は、単独で投与された場合に優れた抗腫瘍効果を示したばかりでなく、抗ｍＰＤ－１抗体と同時投与された場合には、低ＨＥＲ２発現環境を模倣した腫瘍に対して、各薬剤単独と比較して増強された抗腫瘍効果を示した。

【０１５０】

この明細書で引用された刊行物、特許出願、及び特許を含む全ての参考文献は、各参考文献が個別に具体的に出典明示により援用され、その全体がここに記載されているのと同程度に、出典明示によりここに援用される。

【０１５１】

本発明を記載する文脈（特に次の特許請求の範囲の文脈）における「ａ」及び「ａｎ」及び「ｔｈｅ」及び「少なくとも一つ」及び「一つを超える」という用語と同様の言及の使用は、ここに別途特定されているか、又は文脈に明らかに矛盾しない限り、単数形と複数形の両方を含むものと解釈される。「少なくとも一つ」（又は「一つ又は複数」）という用語と続く一つ又は複数の項目のリストの使用（例えば、「ＡとＢの少なくとも一つ」）は、一つの選択された項目を意味するものと解釈される。ここに別途示されているか、又は文脈に明らかに矛盾しない限り、列挙された項目（Ａ又はＢ）或いは列挙された項目（Ａ及びＢ）の二つ以上の任意の組み合わせ、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、及び「含む（ｃｏｎｔａｉ

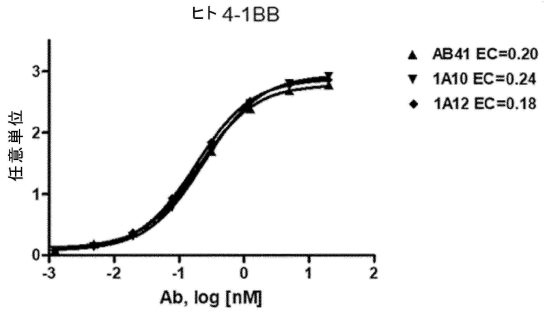
ｎｉｎｇ）」という用語は、別途示されていない限り、オープンエンドの用語（つまり、「限定されないが、含む」を意味する）として解釈される。この明細書における値の範囲についての言及は、この明細書に別途示されていない限り、その範囲内にある各個々の値を個別に言及する簡略な方法としてのみ意図されており、各個々の値は、ここに個々に記載されているかのように明細書に援用される。ここに記載された全ての方法は、ここに別途示されているか、又は文脈に明らかに矛盾しない限り、任意の適切な順序で実施されうる。ここに提供される例又は例示的な言葉（例えば「など」）の使用は、発明をよりよく例証するためだけのものであり、別途請求項に記載されていない限り、発明の範囲を限定するものではない。明細書中の如何なる言葉も、請求項に記載されていない要素を発明の実施に必須であると示すものと解釈されるべきではない。

【０１５２】

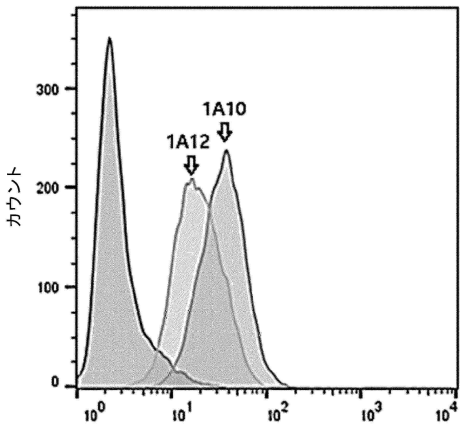
本発明を実施するために本発明者に知られている最良の形態を含む、本発明の好ましい実施態様がここに説明されている。これらの好ましい実施態様の変形態様は、前述の説明を読めば当業者には明らかになるであろう。本発明者は、当業者が適宜そのような変更を加えることを予想しており、本発明がここに具体的に説明されている方法とは異なる方法で実施されることが意図される。従って、本発明には、適用される法律で認められる限り、ここに添付された特許請求の範囲に記載された主題の全ての変更及び均等物が含まれる。更に、ここに特に示されていないか、文脈と明らかに矛盾しない限り、前述の要素のあらゆる可能なバリエーションでの任意の組み合わせが本発明に含まれる。

【図面】

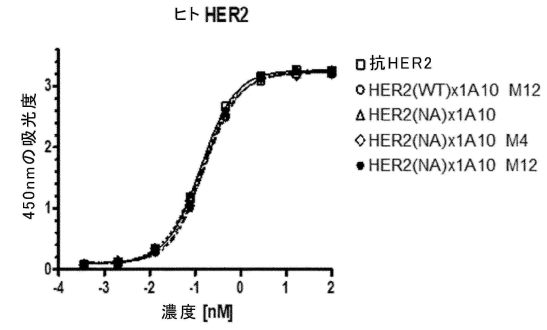
【図１ａ】



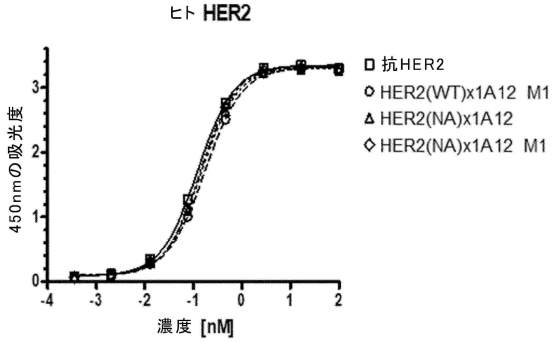
【図１ｂ】



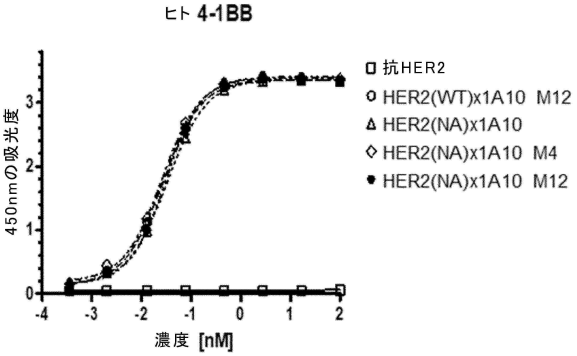
【図２ａ】



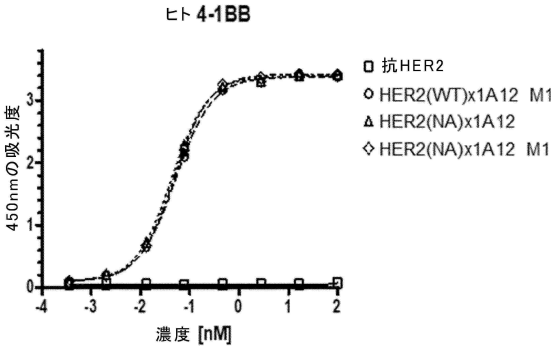
【図２ｂ】



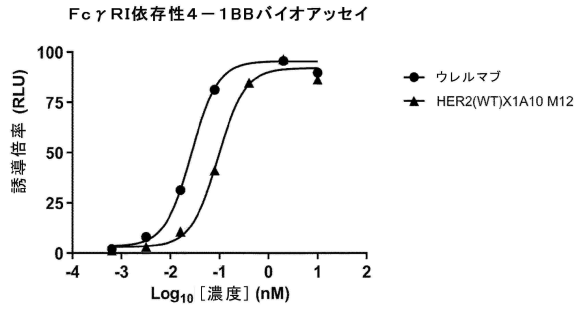
【図３ａ】



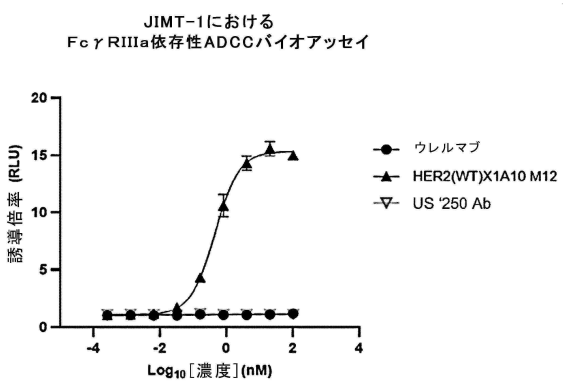
【図３ｂ】



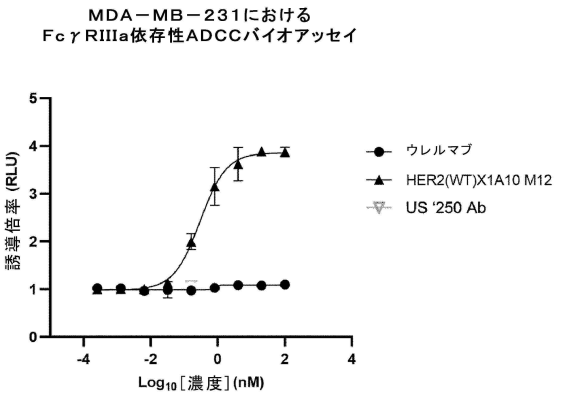
【図４】



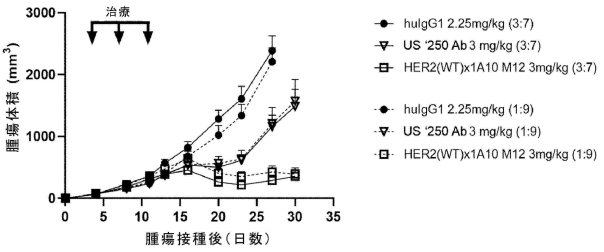
【図５ａ】



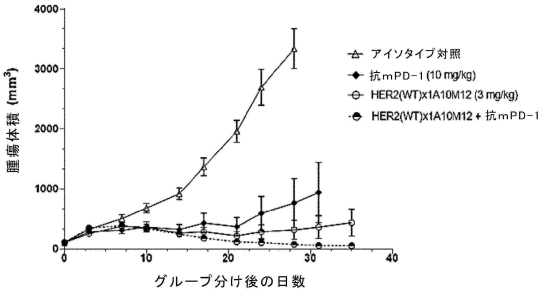
【図５ｂ】



【図６】



【図７】



【配列表】

2025512915000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2023/004686

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 16/28(2006.01)i; **C07K 16/32**(2006.01)i; **A61P 35/00**(2006.01)i; **A61K 39/00**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 16/28(2006.01); A61P 35/00(2006.01); C07K 14/705(2006.01); C07K 16/32(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models
Japanese utility models and applications for utility models

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: anti-4-1BB/anti-HER2 bispecific antibody, HER2 low-expressing cancer, CDR, FcγRI-expressing cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2021-0024650 A1 (ABL BIO INC. et al.) 28 January 2021 (2021-01-28) claim 1	1-34
A	US 2022-0041750 A1 (EUTILEX CO., LTD.) 10 February 2022 (2022-02-10) claim 1	1-34
A	US 2021-0024610 A1 (HOFFMANN-LA ROCHE INC.) 28 January 2021 (2021-01-28) claim 1	1-34
A	US 2021-0024638 A1 (ABL BIO INC. et al.) 28 January 2021 (2021-01-28) the whole document	1-34
A	US 2020-0062854 A1 (MACROGENICS, INC.) 27 February 2020 (2020-02-27) the whole document	1-34

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 July 2023	**17 July 2023**
Name and mailing address of the ISA/KR **Korean Intellectual Property Office** **189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon** **35208, Republic of Korea** Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Authorized officer **HEO, Joo Hyung** Telephone No. **+82-42-481-5373**

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2023/004686

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LEE, EUNJUNG et al., "A novel HER2/4-1BB bispecific antibody, YH32367 (ABL105) exerts significant anti-tumor effects through tumor-diected T cell activation", ePoster Display in proceeding of ESMO Congress, 16 September 2021 the whole document ※The above document has been declared as an exception of public disclosure of the earlier application whose priority is claimed in this international application by the applicant.	1-34
PX	LEE, EUNJUNG et al., "Abstract 1139: A novel HER2/4-1BB bispecific antibody, YH32367 (ABL105) exhibits the optimal efficacy and superior safety profile through tumor-directed 4-1BB agonism", Poster Presentations in proceeding of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2022, 15 June 2022 abstract	1-34

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2023/004686

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*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2023/004686

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US 2021-0024650 A1	28 January 2021	AU 2020-320233 A1	17 February 2022
		AU 2020-320233 A8	24 February 2022
		BR 112022001336 A2	22 March 2022
		BR 112022001336 A8	07 February 2023
		CA 3147423 A1	04 February 2021
		CN 114206941 A	18 March 2022
		EP 4004054 A1	01 June 2022
		JP 2022-542574 A	05 October 2022
		KR 10-2022-0038768 A	29 March 2022
		WO 2021-020846 A1	04 February 2021
US 2022-0041750 A1	10 February 2022	KR 10-2023-0042524 A	28 March 2023
		WO 2022-029496 A1	10 February 2022
US 2021-0024610 A1	28 January 2021	AR 114284 A1	12 August 2020
		AU 2019-253232 A1	03 September 2020
		BR 112020016997 A2	19 January 2021
		CA 3094235 A1	17 October 2019
		CL 2020002093 A1	28 December 2020
		CN 111741979 A	02 October 2020
		CO 2020010277 A2	31 August 2020
		CR 20200459 A	11 November 2020
		EP 3774900 A1	17 February 2021
		IL 277848 A	30 November 2020
		IL 277848 D0	30 November 2020
		JP 2021-520805 A	26 August 2021
		KR 10-2020-0144114 A	28 December 2020
		MA 52182 A	17 February 2021
		MX 2020010732 A	09 November 2020
		PE 20210652 A1	26 March 2021
		PH 12020551689 A1	19 July 2021
		SG 11202007961 A	29 September 2020
		TW 202012440 A	01 April 2020
		WO 2019-197600 A1	17 October 2019
US 2021-0024638 A1	28 January 2021	AU 2020-320349 A1	17 February 2022
		BR 112022001329 A2	22 March 2022
		CA 3147420 A1	04 February 2021
		CN 114450306 A	06 May 2022
		EP 4004053 A1	01 June 2022
		JP 2022-542670 A	06 October 2022
		KR 10-2022-0038767 A	29 March 2022
		WO 2021-020845 A1	04 February 2021
US 2020-0062854 A1	27 February 2020	AR 111000 A1	22 May 2019
		AU 2018-224094 A1	19 September 2019
		BR 112019017628 A2	07 July 2020
		CA 3053803 A1	30 August 2018
		CN 110325209 A	11 October 2019
		EP 3585431 A1	01 January 2020
		EP 3585431 A4	16 December 2020
		IL 268836 A	31 October 2019
		IL 268836 D0	31 October 2019

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2023/004686

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
		JP 2020-508334	A	19 March 2020
		JP 7132232	B2	06 September 2022
		KR 10-2019-0121802	A	28 October 2019
		MA 47612	A	01 January 2020
		MX 2019009967	A	02 December 2019
		RU 2019128669	A	24 March 2021
		RU 2019128669	A3	08 November 2021
		SG 11201907753	A	27 September 2019
		TW 201831511	A	01 September 2018
		US 11459394	B2	04 October 2022
		WO 2018-156740	A1	30 August 2018
		ZA 201905347	B	31 March 2021

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

フロントページの続き

(51)国際特許分類	FI		テーマコード（参考）
C07K 16/28 (2006.01)	C07K	16/46	
	C07K	16/30	
	C07K	16/28	

,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,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

(72)発明者 キム， ジュン ファン
大韓民国 ０４４２４，ソウル，ヨンサン－グ，イチョン－ロ ８７－ギル １４，１０３－３０４
(72)発明者 チェ， ミンジ
大韓民国 １６４６４，キョンギ－ド，スウォン－シ，パルダル－グ，ヒョウォン－ロ ９３ボン－ギル ３３，１１１－１０６
(72)発明者 シン， ジャン ウ
大韓民国 １７０７９，キョンギ－ド，ヨンイン－シ，ギフン－グ，サオン－ロ ８４ボン－ギル １０，１０４－１３０２
(72)発明者 チョン， ヘジン
大韓民国 １３４８８，キョンギ－ド，ソンナム－シ，プンダン－グ，テワンパンギュ－ロ ７１２ボン－ギル，１６
(72)発明者 リー， ヤンスン
大韓民国 １３４８８，キョンギ－ド，ソンナム－シ，プンダン－グ，テワンパンギュ－ロ ７１２ボン－ギル，１６
(72)発明者 ソン， ウォンジュン
大韓民国 １３４８８，キョンギ－ド，ソンナム－シ，プンダン－グ，テワンパンギュ－ロ ７１２ボン－ギル，１６

Ｆターム（参考） 4C084 AA19 NA05 NA06 ZB261 ZB262
4C085 AA14 AA16 BB11 DD62
4H045 AA11 AA30 BA09 BA41 DA75 DA76 EA20 FA74