

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7593939号
(P7593939)

(45)発行日 令和6年12月3日(2024.12.3)

(24)登録日 令和6年11月25日(2024.11.25)

(51)国際特許分類			F I		
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A
C 0 7 K	16/46	(2006.01)	C 0 7 K	16/46	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
請求項の数 16 (全157頁) 最終頁に続く					
(21)出願番号 特願2021-560968(P2021-560968)			(73)特許権者 509012625		
(86)(22)出願日 令和2年4月17日(2020.4.17)			ジェネンテック, インコーポレイテッド		
(65)公表番号 特表2022-529154(P2022-529154 A)			アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー ウェイ 1		
(43)公表日 令和4年6月17日(2022.6.17)			(74)代理人 110002077		
(86)国際出願番号 PCT/US2020/028828			園田・小林弁理士法人		
(87)国際公開番号 WO2020/214995			(72)発明者 リャン, ウェイチン		
(87)国際公開日 令和2年10月22日(2020.10.22)			アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0		
審査請求日 令和5年4月14日(2023.4.14)			8 0, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1, シー／オー		
(31)優先権主張番号 62/836,580			ジェネンテック, インコーポレイテッド		
(32)優先日 平成31年4月19日(2019.4.19)			(72)発明者 リン, ウェイユー		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)			アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0		
(31)優先権主張番号 62/890,858			8 0, サウス サンフランシスコ, デ		
(32)優先日 令和1年8月23日(2019.8.23)			最終頁に続く		
最終頁に続く					

(54)【発明の名称】 抗M E R T K抗体及びその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

M e r T Kに特異的に結合する単離抗体であって、該抗体は、
M e r T Kのフィブロネクチン様ドメイン又は免疫グロブリン様ドメインに結合し、かつ、
(a) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、 (b) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、 (c) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、 (d) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、 (e) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、 (f) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 とを含む、抗体。

【請求項 2】

(a) 配列番号 8 3 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン (V H) と、 (b) 配列番号 6 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン (V L) とを含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 3】

配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む V L を含む、請求項 2 に記載の抗体。

【請求項 4】

完全長 I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、I g G 3 抗体又は I g G 4 抗体である、請求項 1

～3のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項5】

L A L A P G変異を含む、請求項4に記載の抗体。

【請求項6】

モノクローナル抗体である、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項7】

二重特異性抗体である、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項8】

ヒト化抗体又はキメラ抗体である、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項9】

M e r T Kに特異的に結合する抗体断片である、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項10】

請求項1～9のいずれか一項に記載の抗体をコードする、単離核酸。

【請求項11】

請求項10に記載の核酸を含むベクター。

【請求項12】

請求項11に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項13】

請求項12に記載の宿主細胞を、抗体の発現に適した条件下で細胞培養物中で培養することと、細胞培養物から抗M e r T K抗体を回収することを含む、抗M e r T K抗体を産生する方法。

【請求項14】

医薬の製造における、請求項1～9のいずれか一項に記載の抗体の使用。

【請求項15】

医薬ががんの処置用である、請求項14に記載の使用。

【請求項16】

請求項1～9のいずれか一項に記載の抗体を含む、がんの処置のための医薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年4月19日に出願された米国仮出願第62／836，580号及び2019年8月23日に出願された同第62／890，858号の優先権利益を主張し、それらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

A S C I Iテキストファイルでの配列表の提出

A S C I Iテキストファイル上の以下の投稿の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：シーケンスリストのコンピュータ可読形式（C R F）（ファイル名：146392047940 S E Q L I S T . T X T、記録日：2020年3月30日、サイズ：136 K B）。

【0003】

本開示は、抗M e r T K抗体及びその使用方法に関する。

【背景技術】

【0004】

現在、ほとんどのがん免疫腫瘍学（I O）療法は、免疫学的チェックポイントとして機能する阻害経路を遮断することによって、免疫系の適応アームであるT細胞の活性を調節することに焦点を当てている。しかしながら、これらの治療法によって引き起こされる長期持続性の応答は、がん患者の亜集団に限定される。比較的低い奏効率は、腫瘍微小環境における様々な免疫抑制機構によって引き起こされる。自然免疫系は、有効な免疫応答の

10

20

30

40

50

不可欠な部分である。自然免疫細胞は、適応免疫応答の開始及びその後の方向性において重要な役割を果たす。自然免疫系を標的とすることは、適応免疫腫瘍療法を補完し得る (Mullard, A., Nat. Rev. Drug Discov., 17: 3-5 (2018))。

【0005】

自然免疫系のマクロファージは、様々な種類の固形腫瘍に豊富であり、T細胞ベースの治療に対する比較的低い奏効率に寄与し得る。それらは、食作用を含む様々な機能を実行することができる万能細胞である。マクロファージは、死にかけている細胞又は死細胞、及び細胞残屑の除去に高度に特化したプロフェッショナルな食細胞である。人体では毎日数十億個の細胞が死滅すると推定されている。しかしながら、食細胞による迅速かつ効率的なクリアランスのために、正常な生理学的条件下で組織中にアポトーシス細胞を見出すことはまれである。恒常性において、アポトーシス細胞は、原形質膜の完全性が失われる前の細胞死の初期段階で除去される。したがって、一般に、アポトーシスは免疫学的にサイレントである。固形腫瘍では、制御されない腫瘍成長は、低酸素及び代謝ストレスによる細胞死の増加を伴うことが多い。免疫監視を回避するために、腫瘍はアポトーシスの非免疫原性の性質を利用する。腫瘍関連マクロファージ (TAM) は、免疫系の警戒を回避するために、死にかけている腫瘍細胞を能動的に除去する。

【0006】

MerTKは、アポトーシス細胞のクリアランスにおいて役割を果たすことが示されている。したがって、MerTK阻害剤を使用したアポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスの減少は、がんの処置において魅力的な治療アプローチである。既存の抗MerTK抗体が記載されているが、治療開発には適さない場合がある。例えば、White et al. (' ' MERTK-Specific Antibodies That Have Therapeutic Antitumor Activity in Mice Disrupt the Integrity of the Retinal Pigmented Epithelium in Cynomolgus Monkeys, ' ' presented at the American Association for Cancer Research Annual Meeting; March 31, 2019; Atlanta, GA) は、2つの抗MerTK抗体、すなわちより高い親和性でヒトMerTKに結合するもの ($8.7 \times 10^{-11} \text{ M}$; SRF1)、及びより低い親和性でヒトMerTKに結合するが (4.4×10^9) マウスMerTK (SRF2) と交差反応するものを記載している。これらの抗体は、様々なMerTK機能を阻害し、マウスモデルにおいて抗PD-L1抗体と組み合わせて腫瘍増殖を阻害することが示された。しかしながら、いずれの抗体もカニクイザルにおいて網膜毒性を促進することがわかった。したがって、どちらの抗体も治療候補としては許容され得ない。これらの所見は、許容可能な安全性プロファイルを有する有効な治療候補を開発する際に、単に抗体親和性ではなく複数の因子を調べることの重要性を強調している。

【0007】

様々ながんを処置し、安定させ、予防し、及び／又はその発症を遅延させるための最適な療法が依然として必要とされている。特に、最適な結合特性 (例えば、オン及びオフ速度) 並びに所望の生物学的効果を有する抗MerTK抗体が必要とされている。

【0008】

特許出願、特許公報、及びUniProtKB/Swiss-Prot受託番号を含む、本明細書に引用される全ての参考文献は、各個々の参考文献が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に示されているかのように、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【0009】

様々ながんの処置、安定化、予防及び／又は発症の遅延のための最適化された治療の必要性を満たす抗MerTK抗体及びその使用方法が本明細書に記載される。

【0010】

一態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させる抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、食細胞によるアポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させる。いくつかの実施形態では、食細胞はマクロファージである。例示的な実施形態では、マクロファージは腫瘍関連マクロファージである。いくつかの実施形態では、室温でのアポトーシス細胞クリアランスアッセイで測定される場合、アポトーシス細胞のクリアランスは低下する。

【0011】

いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、リガンド媒介性MerTKシグナル伝達を低下させる。いくつかの実施形態では、抗体は、I型IFN応答を含むがこれに限定されない炎症促進性応答を誘導する。

【0012】

いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、抗原に結合する抗体断片である。いくつかの実施形態では、抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメイン又は免疫グロブリン様ドメインに結合する。

【0013】

例示的な実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0014】

一態様では、本開示は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号1のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号83のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号65のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a) のようなVH及び(b) のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号83のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号65のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号83のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号65のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

【0015】

一態様では、本開示は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号84のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号66のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a) のようなVH及び(b) のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号84のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号66のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号84のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号66のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を含むV Lとを含む。

【0016】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号85のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号67のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号85のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号67のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号85のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号67のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

10

【0017】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号110のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号86のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号68のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号86のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号68のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号86のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号68のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

20

【0019】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号111のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0020】

一態様では、本開示は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号87のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号69のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号87のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号69のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号87のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号69のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

30

【0021】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号88のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号70のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号88のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号70のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号88のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号70のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

40

【0022】

50

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 104 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。
いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 112 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 89 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン (VH)、(b) 配列番号 70 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL)、又は (c) (a) のような VH 及び (b) のような VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 89 のアミノ酸配列を含む VH を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 70 のアミノ酸配列を含む VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 89 のアミノ酸配列を含む VH と、配列番号 70 のアミノ酸配列を含む VL とを含む。

10

【0024】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 105 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。
いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0025】

一態様では、本開示は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する抗 MerTK 抗体であって、(a) 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 23 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 24 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 とを含む、抗 MerTK 抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(b) 配列番号 20 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(c) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 90 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン (VH)、(b) 配列番号 71 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL)、又は (c) (a) のような VH 及び (b) のような VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 90 のアミノ酸配列を含む VH を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 90 のアミノ酸配列と、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む VL とを含む。

20

【0026】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 91 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン (VH)、(b) 配列番号 72 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL)、又は (c) (a) のような VH 及び (b) のような VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 91 のアミノ酸配列を含む VH を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含む VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 91 のアミノ酸配列を含む VH と、配列番号 72 のアミノ酸配列を含む VL とを含む。

30

【0027】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 106 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。
いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 114 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

40

【0028】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 92 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン (VH)、(b) 配列番号 73 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL)、又は (c) (a) のような VH 及び (b) のような VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む VH を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 73 のアミノ酸配列を含む VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む VH と、配列番号 73 のアミノ酸配列を含む VL とを含む。

50

【0029】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号107のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。
いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号115のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0030】

一態様では、本開示は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号93のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号74のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a) のようなVH及び(b) のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号93のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号74のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号93のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号74のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

10

【0031】

一態様では、本開示は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号34のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号35のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号31のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号32のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号94のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a) のようなVH及び(b) のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号94のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号75のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号94のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号75のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

20

30

【0032】

例示的な実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、MerTKの免疫グロブリン様ドメインに結合する。

【0033】

一態様では、本開示は、MerTKの免疫グロブリン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号38のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号36のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号95のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号76のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a) のようなVH及び(b) のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号95のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号76のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号95のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号76のア

40

50

ミノ酸配列を含むV Lとを含む。

【0034】

一態様では、本開示は、MerTKの免疫グロブリン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号44のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号45のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号46のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号41のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号43のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号96のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号77のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号96のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号77のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号96のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号77のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

10

【0035】

一態様では、本開示は、MerTKの免疫グロブリン様ドメインに結合する抗MerTK抗体であって、(a) 配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3とを含む、抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号97のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号78のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号97のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号78のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号97のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号78のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

20

30

【0036】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号98のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号79のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号98のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号79のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号98のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号79のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

40

【0037】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号108のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号116のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0038】

いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号99のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン(VH)、(b) 配列番号80のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン(VL)、又は(c) (a)のようなVH及び(b)のようなVLを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号99のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号80のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、

50

抗体は、配列番号 99 のアミノ酸配列を含む V H と、配列番号 80 のアミノ酸配列を含む V L とを含む。

【0039】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 109 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 117 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0040】

一態様では、本開示は、MerTK の免疫グロブリン様ドメインに結合する抗 MerTK 抗体であって、(a) 配列番号 56 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 57 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 58 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 とを含む、抗 MerTK 抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(b) 配列番号 54 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(c) 配列番号 55 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 100 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン (VH)、(b) 配列番号 81 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL)、又は (c) (a) のような VH 及び (b) のような VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 100 のアミノ酸配列を含む VH を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 81 のアミノ酸配列を含む VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 100 のアミノ酸配列を含む VH と、配列番号 81 のアミノ酸配列を含む VL とを含む。

【0041】

一態様では、本開示は、MerTK の免疫グロブリン様ドメインに結合する抗 MerTK 抗体であって、(a) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 63 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 64 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 とを含む、抗 MerTK 抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(b) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(c) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を更に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 101 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む重鎖可変ドメイン (VH)、(b) 配列番号 82 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL)、又は (c) (a) のような VH 及び (b) のような VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 101 のアミノ酸配列を含む VH を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む VL を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 101 のアミノ酸配列を含む VH と、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む VL とを含む。

【0042】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 MerTK 抗体は完全長 IgG1 抗体、IgG2 抗体、IgG3 抗体又は IgG4 抗体である。特定の実施形態では、抗体は、完全長 IgG1 抗体である。特定の実施形態では、抗体は、LALAPG 変異を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、軽鎖可変領域に Q2 残基及び L4 残基を含み、重鎖可変領域に I48 残基、G49 残基及び K71 残基を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、軽鎖可変領域に L4 及び F87 を含み、重鎖可変領域に V24、I48、G49 及び K71 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、軽鎖可変領域に L4 及び P43 を含み、重鎖可変領域に K71 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、重鎖可変領域に G49 残基及び V78 残基を含む。

【0043】

特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗 MerTK 抗体は、25℃において ≤ 100 nM の解離定数 (Kd) でヒト MerTK に結合する。特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗 MerTK 抗体は、25℃において ≤ 100 nM の解離定数 (Kd) でカニクイザル MerTK に結合する。特定の実施形態では、本明細書中に提供される

10

20

30

40

50

抗MerTK抗体は、25℃において ≤ 10 nMの解離定数(K_d)でマウスMerTKに結合する。特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗MerTK抗体は、25℃において ≤ 10 nMの解離定数(K_d)でラットMerTKに結合する。特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗MerTK抗体は、25℃において ≤ 10 nM、 ≤ 5 nM又は ≤ 2 nMの解離定数(K_d)でヒトMerTKに結合する。

【0044】

一態様では、本開示は、基準抗体とMerTKへの結合について競合する単離された抗体を提供する。このような基準抗体としては、配列番号83のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号65のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号84のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号66のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号85のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号67のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号86のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号68のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号87のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号69のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号88のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号70のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号89のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号70のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号90のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号71のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号91のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号72のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号92のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号73のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号93のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号74のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号94のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号75のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号95のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号76のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号96のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号77のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号97のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号78のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号98のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号79のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号99のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号80のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号100のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号81のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；並びに配列番号101のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号82のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体が挙げられる。いくつかの実施形態では、単離抗体はヒトMerTKに結合する。いくつかの実施形態では、基準抗体はY323である。

【0045】

一態様では、本開示は、基準抗体と同じMerTK上のエピトープへの結合について競合する単離抗体を提供する。このような基準抗体としては、配列番号83のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号65のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号84のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号66のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号85のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号67のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号86のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号68のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号87のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号69のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号88のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号70のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号89のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号70のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号90のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号71のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号91のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号72のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号92のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号73のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号93のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号74のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号94のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号75のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号95のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号76のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号96のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号77のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号97のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号78のアミノ酸配列を含むV

Lを含む抗体；配列番号98のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号79のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号99のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号80のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；配列番号100のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号81のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体；並びに配列番号101のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号82のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体が挙げられる。いくつかの実施形態では、単離抗体はヒトMerTKに結合する。いくつかの実施形態では、基準抗体はY323である。

【0046】

一態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号110のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。一態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号111のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。一態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号104のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号112のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。別の態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号105のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号113のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。一態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号106のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号114のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。一態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号107のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号115のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。別の態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号108のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号116のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。更に別の態様では、本開示は、MerTKに結合する単離抗体であって、配列番号109のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号117のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体を提供する。

【0047】

いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTKは、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させる。具体的な実施形態では、抗MerTK抗体は、食細胞によるアポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させる。特定の実施形態では、食細胞はマクロファージである。具体的な実施形態では、マクロファージは腫瘍関連マクロファージである。いくつかの実施形態では、室温でのアポトーシス細胞クリアランスアッセイで測定される場合、アポトーシス細胞のクリアランスは低下する。いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、血液又は血漿中の循環腫瘍DNA(ctDNA)を増加させる。いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、血液又は血漿中の無細胞DNA(cfDNA)を増加させる。

【0048】

いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTKはモノクローナル抗体である。特定の実施形態では、抗MerTK抗体は、ヒト化抗体又はキメラ抗体である。特定の実施形態では、抗MerTK抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体又はキメラ抗体である。一定の実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKを結合する抗体断片である。特定の実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメイン又は免疫グロブリン様ドメインに結合する。特定の実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。特定の実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKの免疫グロブリン様ドメインに結合する。

【0049】

一態様では、本開示は、本明細書中に記載される抗MerTK抗体のいずれかをコードする単離された核酸を提供する。別の態様では、本開示は、本明細書中に記載される抗MerTK抗体のいずれかをコードする核酸を含むベクターを提供する。なお更なる態様では、本開示は、本明細書に記載される抗MerTK抗体のいずれかをコードする核酸の発現に適したベクターを含む宿主細胞を提供する。

【0050】

抗MerTK抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に適した条件下で培養することを含む、本開示の抗MerTK抗体の製造方法を、本明細書中に更に提供する。いくつかの実施形態では、上記方法は、細胞培養物から抗MerTK抗体を回収する工程を更に含む。

【0051】

一態様では、本開示は、細胞傷害性薬剤にコンジュゲートした本明細書で提供される抗MerTK抗体を含む免疫コンジュゲートに関する。別の態様では、本開示は、上記の抗MerTK抗体のいずれかと、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬製剤に関する。別の態様では、本開示は、上記の抗MerTK免疫コンジュゲートのいずれかと、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬製剤に関する。

10

【0052】

一態様では、本開示は、医薬として使用される上記の抗MerTK抗体又は免疫コンジュゲートを提供する。いくつかの実施形態では、その使用は、がんの処置における使用である。いくつかの実施形態では、使用は、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させることにおける使用である。

【0053】

医薬の製造における上記の抗MerTK抗体又は免疫コンジュゲートの使用を、本明細書中に更に提供する。いくつかの実施形態では、医薬は、がんの処置のためのものである。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチド、機能的Cx43ポリペプチド、及び機能的cGASポリペプチドを発現する。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチドを発現する腫瘍関連マクロファージを含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的cGASポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的Cx43ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。特定の実施形態では、がんは、結腸がんである。いくつかの実施形態では、医薬は、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させるためのものである。

20

【0054】

いくつかの実施形態では、使用は、追加の治療又は有効量の追加の治療剤の投与を更に含み得る。いくつかの実施形態では、追加の治療は、タモキシフェン、レトロゾール、エキセメスタン、アナストロゾール、イリノテカン、セツキシマブ、フルベストラント、ビノレリピン、エルロチニブ、ペバシズマブ、ビンクリスチン、メシル酸イマチニブ、ソラフェニブ、ラパチニブ、トラスツズマブ、シスプラチン、ゲムシタビン、メトトレキサート、ビンブラスチン、カルボプラチン、パクリタキセル、5-フルオロウラシル、ドキシルビシン、ボルテゾミブ、メルファラン、プレドニゾン及びドセタキセルの1つ以上から選択される。いくつかの実施形態では、追加の治療剤は免疫チェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4（CTLA4）阻害剤、プログラム細胞死タンパク質1（PD-1）結合アンタゴニスト、又はプログラム死リガンド1（PDL1）結合アンタゴニストの1つ以上から選択される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PDL1結合アンタゴニストである。例示的な実施形態では、PDL1結合アンタゴニストは抗PDL1抗体である。いくつかのそのような実施形態では、抗PDL1抗体はアテゾリズマブである。いくつかの実施形態では、医薬は、有効量の化学療法剤と組み合わせて更に使用される。

30

40

【0055】

別の態様では、有効量の本開示に記載される抗MerTK抗体又はその免疫コンジュゲートを個体に投与することを含む、個体においてがんを処置するため又はがんの進行を遅延させるための方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチド、機能的Cx43ポリペプチド、及び機能的cGASポリペプチドを発現する。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチドを発現する腫瘍関連マクロファージを含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的cGAS

50

ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的 C x 4 3 ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。特定の実施形態では、がんは、結腸がんである。

【0056】

いくつかの実施形態では、上記方法は、追加の治療又は有効量の追加の治療剤の投与を更に含み得る。いくつかの実施形態では、追加の治療は、タモキシフェン、レトロゾール、エキセメスタン、アナストロゾール、イリノテカン、セツキシマブ、フルベストラント、ビノレルビン、エルロチニブ、ベバシズマブ、ビンクリスチン、メシル酸イマチニブ、ソラフェニブ、ラパチニブ、トラスツズマブ、シスプラチン、ゲムシタビン、メトトレキサート、ビンブラスチン、カルボプラチン、パクリタキセル、5-フルオロウラシル、ドキシソルピシン、ボルテゾミブ、メルファラン、プレドニゾン及びドセタキセルの1つ以上から選択される。

10

【0057】

いくつかの実施形態では、追加の治療剤は免疫チェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4 (CTLA4) 阻害剤、プログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) 結合アンタゴニスト、又はプログラム死リガンド1 (PDL1) 結合アンタゴニストの1つ以上から選択される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PDL1 結合アンタゴニストである。例示的な実施形態では、PDL1 結合アンタゴニストは抗PDL1 抗体である。いくつかのそのような実施形態では、抗PDL1 抗体はアテゾリズマブである。いくつかの実施形態では、上記方法は、有効量の追加の化学療法剤を個体に投与することを更に含み得る。

20

【0058】

別の態様では、本明細書において、個体におけるアポトーシス細胞のMerTK 媒介クリアランスを低下させる方法であって、本開示に記載の有効量の抗MerTK 抗体又はその免疫コンジュゲートを個体に投与して、アポトーシス細胞のMerTK 媒介クリアランスを低下させることを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、アポトーシス細胞のクリアランスは、約1~10、1~8、1~5、1~4、1~3、1~2、2~10、2~8、2~5、2~4、2~3、3~10、3~8、3~5、若しくは3~4倍、又は約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9若しくは8.0倍低下される。

30

【0059】

本明細書において説明される種々の実施形態の特性のうちの1つ、一部、又は全てが、組み合わされて、本開示の他の実施形態を形成し得るということが理解されるものとする。本開示のこれらの態様及び他の態様は、当業者には明らかとなるであろう。本開示のこれらの実施形態及び他の実施形態は、以下の発明を実施するための形態によって更に説明される。

40

【図面の簡単な説明】

【0060】

【図1A-1B】ウサギにおいて作製された各MerTK 特異的抗体の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域をPCRによって増幅し、精製及び配列決定のために発現ベクターにクローニングした。軽鎖可変領域(図1A)及び重鎖可変領域(図1B)のアミノ酸配列をアライメントした。参照される残基番号は、Kabat et al. で定義された配列と一致し、CDR 配列に下線が引かれている。配列番号は以下の通りである：Rbt8F4 (配

50

列番号65)、R b t 9 E 3 . F N (配列番号66)、R b t 1 0 C 3 (配列番号69)、R b t 1 0 F 7 (配列番号71)、R b t 1 1 G 1 1 (配列番号76)、R b t 1 2 H 4 (配列番号77)、R b t 1 3 B 4 (配列番号78)、R b t 1 3 D 8 (配列番号74)、R b t 1 4 C 9 (配列番号81)、R b t 1 8 G 7 (配列番号82)、及びR b t 2 2 C 4 (配列番号75)。図1Bの配列番号は以下の通りである：R b t 8 F 4 (配列番号83)、R b t 9 E 3 . F N (配列番号84)、R b t 1 0 C 3 (配列番号87)、R b t 1 0 F 7 (配列番号90)、R b t 1 1 G 1 1 (配列番号95)、R b t 1 2 H 4 (配列番号96)、R b t 1 3 B 4 (配列番号97)、R b t 1 3 D 8 (配列番号93)、R b t 1 4 C 9 (配列番号100)、R b t 1 8 G 7 (配列番号101)、及びR b t 2 2 C 4 (配列番号94)。

【0061】

【図2A-2D】抗体10F7、9E3、13B4及び10C3をヒト化のために選択した。ヒト化前、ヒト化の第1相(.v1)後及びヒト化の第2相(.v16)後の抗体10F7の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域のアミノ酸配列をアライメントした(図2A)。ヒト化前、ヒト化の第1相(.v1)後及びヒト化の第2相(.v16)後の抗体9E3の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域のアミノ酸配列をアライメントした(図2B)。ヒト化前、ヒト化の第1相(.v1)後及びヒト化の第2相(.v16)後の抗体13B4の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域のアミノ酸配列をアライメントした(図2C)。ヒト化前、ヒト化の第1相(.v1)後及びヒト化の第2相(.v14)後の抗体10C3の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域のアミノ酸配列をアライメントした(図2D)。参照される残基番号は、K a b a t e t a l. で定義された配列と一致し、CDR配列に下線が引かれている。軽鎖配列の配列番号は以下の通りである：R b t 1 0 F 7 (配列番号71)、h 1 0 F 7 . v 1 (配列番号72)、h 1 0 F 7 . v 1 6 (配列番号73)、R b t 9 E 3 . F N (配列番号66)、h 9 E 3 . F N . v 1 (配列番号67)、h 9 E 3 . F N . v 1 6 (配列番号68)、R b t 1 3 B 4 (配列番号78)、h 1 3 B 4 . v 1 (配列番号79)、h 1 3 B 4 . v 1 6 (配列番号80)、R b t 1 0 C 3 (配列番号69)、h 1 0 C 3 . v 1 及びh 1 0 C 3 . v 1 4 (配列番号70)。図2A~2Dの重鎖配列の配列番号は以下の通りである：R b t 1 0 F 7 (配列番号90)、h 1 0 F 7 . v 1 (配列番号91)、h 1 0 F 7 . v 1 6 (配列番号92)、R b t 9 E 3 . F N (配列番号84)、h 9 E 3 . F N . v 1 (配列番号85)、h 9 E 3 . F N . v 1 6 (配列番号86)、R b t 1 3 B 4 (配列番号97)、h 1 3 B 4 . v 1 (配列番号98)、h 1 3 B 4 . v 1 6 (配列番号99)、R b t 1 0 C 3 (配列番号87)、h 1 0 C 3 . v 1 (配列番号88)、及びh 1 0 C 3 . v 1 4 (配列番号89)。

【0062】

【図3】エピトープビニングを使用して、各抗MerTK抗体のエピトープドメイン特異性を決定した。マウスMerTKに対して産生された抗体8F4、22C4及び13D8、並びにヒトMerTKに対して産生された抗体10C3、9E3.FN、10F7、22C4、8F4及び13D8は、互いに結合について競合した。マウスMerTKに対して産生された抗体12H4、18G7、14C9及び11G11、並びにヒトMerTKに対して産生された抗体13B4、12H4、18G7及び11G11は、互いに競合した。下記の実施例において更に記載されるように、抗体10C3、9E3.FN、10F7、22C4、8F4及び13D8は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合し、抗体13B4、12H4、18G7及び11G11は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0063】

【図4A-4E】抗MerTK抗体のin vitro食作用阻害活性を評価するために、エフェロサイトーシスアッセイを行った。抗MerTK抗体は、3名の異なるドナーから単離されたヒトマクロファージの食作用活性を阻害した(図4A~4C)。Igドメイン結合抗体である抗MerTK抗体h13B4.v16(13B4完全ヒト化)は、フィブロネクチンドメイン結合抗体である抗MerTK抗体h10F7.v16(10F7完

10

20

30

40

50

全ヒト化)と比較して、ヒトマクロファージ食作用の阻害において5.2倍強力であった(図4D)。抗MerTK抗体14C9 mIgG2a LALAPGは、抗MerTK抗体h10F7.v16(10F7完全ヒト化)と比較して、マウスマクロファージ食作用の阻害において4.8倍強力であった(図4E)。

【0064】

【図5A-5C】アポトーシス細胞クリアランスアッセイを行って、抗MerTK抗体の*in vivo*活性を評価した。アポトーシス細胞はDex処置の8時間後に蓄積し、24時間までにほとんどが消失した(図5A)。Dex処置の24時間後に、抗MerTK(クローン14C9、mIgG2a、LALAPG)は、胸腺においてアポトーシス細胞のクリアランスを遮断したが、対照抗体抗gp120(mIgG2a、LALAPG)は遮断しなかった(図5B)。抗MerTK抗体は、抗gp120対照と比較してアポトーシス細胞のクリアランスを遮断した(図5C)。

【0065】

【図6A-6D】抗MerTK抗体が腫瘍成長に影響を及ぼすかどうかを決定するために、MC-38同系腫瘍モデルにおいて腫瘍有効性研究を行った。個々の腫瘍サイズ(図6A及び6B;各線は単一の腫瘍を表す)及び平均腫瘍サイズ(図6C及び6D)の変化を、各処置群について経時的に測定した。腫瘍体積追跡プロットにおいて、灰色の線は、データ収集日(図6A及び6B)の時点でまだ研究中であった動物の腫瘍サイズを表す。赤色の線は、安楽死させて試験から取り除いた潰瘍化又は進行した腫瘍を有する動物を表す(図6A及び6B)。赤色の水平破線は、処置開始からの腫瘍体積の倍加を示し、緑色の水平破線は、最小の測定可能な腫瘍体積(図6A及び6B)を表す。緑色の破線より下の領域に腫瘍を有する動物は、完全奏効を有したとみなす。抗gp120及び抗PDL1抗体の処置の組み合わせは、腫瘍成長を大きく阻害しなかった。しかしながら、抗PDL1抗体と抗MerTK抗体とを組み合わせた処置は、抗腫瘍活性の増強を示した(図6A~6D)。

【0066】

【図7A-7C】抗MerTK抗体(図7A)によるMerTK依存性エフェロサイトーシスの遮断の概略図。抗MerTK 14C9(mIgG2a LALAPG)抗体処置の食作用阻害効果を評価するために、*in vitro*エフェロサイトーシスアッセイを行った。抗MerTK 14C9(mIgG2a LALAPG)抗体で処置した腹腔マクロファージ(緑色)は、対照抗体抗gp120(mIgG2a LALAPG)(黒色)で処置したマクロファージと比較して、アポトーシス胸腺細胞(赤色)の食作用性クリアランスがおよそ8倍少なかった(図7B)。*in vivo*アポトーシス細胞クリアランスアッセイを実施して、胸腺におけるアポトーシス細胞のクリアランスに対する抗MerTK処置の効果を決定した。デキサメタゾン(Dex)による胸腺細胞アポトーシスの誘導後24時間で、抗MerTK 14C9(mIgG2a LALAPG)抗体で処置したマウスは、対照抗体抗gp120(mIgG2a LALAPG)(黒色)で処置したマウスと比較して約6倍多いアポトーシス胸腺細胞(赤色)を蓄積した(図7C)。

【0067】

【図8A-8E】リガンド媒介性MerTKシグナル伝達に対する抗MerTK 14C9(mIgG2a LALAPG)抗体処置の効果を定量するための*in vitro*アッセイを、リガンドhGAS6-Fcと共にインキュベートしたマクロファージにおけるpAKTレベルを測定することによって行った(EC50=約84pM)。アイソタイプ対照抗体(図8A)で処置したマクロファージと比較して、抗MerTK 14C9(mIgG2a LALAPG)で処置したマクロファージにおけるpAKTのレベルが低いことから証明されるように、漸増濃度の抗MerTK 14C9(mIgG2a LALAPG)抗体でJ774A.1マクロファージを処置すると、リガンド媒介性MerTKシグナル伝達が遮断された。胸腺細胞に対するDexの*in vivo*効果を評価するために、アポトーシス細胞クリアランスアッセイを行った。アポトーシス胸腺細胞は、Dex処置の8時間後に蓄積し、24時間までにほとんどが消失した(図8B)。MC38腫瘍切

片内のMerTKタンパク質の分布を、蛍光顕微鏡法を用いて画像化した。MerTKタンパク質は、腫瘍関連マクロファージ（TAM）のマーカーであるCD68と共局在しており、MerTKがTAMにおいて特異的に発現されることを示している（図8C）。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体で染色したMertk^{-/-}組織切片ではバックグラウンドシグナルは観察されなかった。（図8C）MerTK発現の分布を、The Cancer Genome Atlas（TCGA）からの発現データを使用して決定した。MerTK発現は、他の免疫細胞型と比較して、TAMの存在量とより大きな相関を示した（図8D）。TAMによるアポトーシス胸腺細胞（AC、赤）の*in vitro*食作用に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体の阻害効果を評価するために、エフェロサイトーシスアッセイを実施した（TAM、緑色）。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体は、MC38腫瘍から単離されたTAMの食作用活性を阻害した（図8E）。

【0068】

【図9A-9E】MC38 TAMの遺伝子発現パターンに対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置の効果を評価するためのRNA配列決定実験。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置は、TAMにおける遺伝子発現に有意な変化を引き起こした（図9A）。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体による処置に応答して差次的に調節された遺伝子群を明らかにするために、遺伝子セット濃縮分析（GSEA）を行った。IFN- α 応答遺伝子群を抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置後に濃縮した（図9B）。TAMにおけるIfnb1及び複数のインターフェロン刺激遺伝子（ISG）の発現に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置の効果をqPCRによって評価した。示された遺伝子は、対照抗体処置と比較して、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置後により高度に発現された（図9C）。IFN- β タンパク質レベルに対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置の効果を決定するために、定量的ELISAを行った。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置は、MC38腫瘍におけるIFN- β タンパク質の有意な蓄積をもたらした（図9D）。示されたMC38腫瘍由来細胞型におけるIFN- β 発現に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置の効果をqPCRによって評価した。IFN- β は、対照抗体で処置した細胞と比較して、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）で処置したCD45⁺細胞及びTAMでより高度に発現した。CD45⁺細胞又は樹状細胞（DC）においてIFN- β 発現の有意な変化は観察されなかった（図9E）。

【0069】

【図10A-10E】腫瘍由来単細胞懸濁液からTAMを単離する方法が示されている（図10A）。単離TAMの純度をFACS（図10B）によって評価した。ボルケーノプロットとして示される統計分析により、その発現が抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置によって増加、減少、又は変化しなかった遺伝子が同定された（図10C）。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体による処置に応答して差次的に調節された遺伝子群を明らかにするために、遺伝子セット濃縮分析（GSEA）を行った。示される遺伝子群は、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置後のそれらの濃縮度に従ってランク付けされる（図10D）。qPCR分析を行って、全MC38腫瘍における示されたISGの発現に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置の効果を定量した。示された遺伝子は、対照抗体と比較して、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置後により高度に発現された（図10E）。

【0070】

【図11A-11B】qPCR分析を行って、MC38腫瘍由来TAMS（図11A）又は総MC38腫瘍ホモジネート（図11B）における示された遺伝子の発現に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置の効果を定量した。Actb

、Gapdh、Rpl13a、Rpl19、Hprt、及びRpl4をハウスキーピング遺伝子として使用した。

【0071】

【図12A-12C】 *in vivo* 抗原提示アッセイを用いて、TAM及び樹状細胞（DC）による抗原提示に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置の効果を評価した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置は、MHCクラスI分子H-2K^bに結合したMC38・OVA腫瘍由来SIINFEKL抗原の提示を、DCではなくTAMによって有意に増加させた（図12A）。T細胞活性化を促進するタンパク質であるCD86の発現を定量して、T細胞活性化に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体の効果を評価した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置は、DCではなくTAMで高レベルのCD86を誘導した（図12A）。T細胞受容体（TCR）の産生再編成及びクローン性に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置の効果を、MC38腫瘍由来T細胞のゲノムDNA配列決定によって測定した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置は、対照抗体と比較して、有意により多くのTCRクローン性及び生産的再編成をもたらした（図12B）。MC38腫瘍におけるCD8⁺、CD4⁺及びp15e四量体反応性T細胞の相対的存在量を定量して、抗腫瘍免疫応答に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置の効果を決定した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置は、抗MerTK抗体処置後のCD8⁺及びp15e四量体反応性T細胞の相対存在量の有意な増加によって証明されるように、対照抗体と比較して抗腫瘍応答を有意に増強した（図12C）。

【0072】

【図13A-13C】 CCL3、CCL4、CCL5、CCL7及びCCL12のタンパク質レベルを腫瘍ホモジネート中で定量して、自己分泌サイトカイン及びパラクリンサイトカイン並びにケモカインに対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置の効果を評価した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置は、対照抗体による処置と比較して、全ての試験タンパク質の有意な濃縮を引き起こした（図13A）。末梢血単核細胞（PBMC）におけるqPCR分析によってISGの発現を決定して、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置の効果を決定した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置後、対照抗体と比較して、示された遺伝子の発現に有意差は観察されなかった（図13B）。腫瘍における示されたサイトカイン及びケモカインの発現の定量化（n=10）は、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置の有意な効果を明らかにしなかった。

【0073】

【図14A-14C】 図14Aの代表的なFACSプロットに示されるゲーティング戦略を用いて、MC38腫瘍の単細胞懸濁物から特定の細胞型を単離した（図14A）。MC38腫瘍（n=8、8日目；n=10、13日目及び15日目）における経時的なTAM及びDCの頻度を定量化した。TAMはMC38腫瘍中のDCよりもかなり豊富であり、CD45⁺TAMの頻度は経時的に腫瘍中で増加したが、DCは一定のままであった（図14B）。TAMにおけるCD206発現に対する抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置の効果を評価するために、フローサイトメトリー分析を実施し、MFI、蛍光強度中央値（n=10）を報告した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体処置は、TAM上のCD206発現の減少を引き起こした（図14C）。

【0074】

【図15A-15C】 MC38腫瘍を、初期進行段階で開始される単剤抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置（図15A）又は確立された段階での抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）及び抗PD-L1との併用処置（n=10）（図15B）のいずれかで処置した。単剤抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置は、初期進行段階の腫瘍の成長を阻害した（図15A）。確立された段

階での抗PD-L1及び抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 抗体による併用処置はMC38腫瘍の成長を阻害したが、単剤抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 又は抗PD-L1処置は、それぞれわずかな効果又は中程度の効果を有した (図15B)。確立されたMC38腫瘍を、ゲムシタビン (Gem) 及び抗PD-1 (n=15、対照Ab群; n=8、抗PD-1+抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG); n=10、他の群) と組み合わせた抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) で処置した。ゲムシタビン (Gem) 及び抗PD-1と組み合わせた抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 処置は、腫瘍成長を阻害した。単剤抗PD-1又はGem療法は、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) を用いた抗PD-1及び/又はGem併用処置よりも低い程度で腫瘍増殖を阻害した (図15C)。各群の個々の腫瘍成長曲線及びLME適合腫瘍成長曲線の両方を示す (図15A、図15B及び図15C)。

【0075】

【図16A-16B】抗IFNAR1 (n=5) の存在下又は非存在下で抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) により処置される腫瘍における代表的なISGの発現を定量化して、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 処置に対する1型IFNシグナル伝達の影響を評価した。抗IFNAR1処置は、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) によって引き起こされる示されたISGの発現増強を無効にした (図16A)。抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) と抗PD-L1との組合せを抗IFNARIと共に用いて処置したMC38腫瘍の成長を評価して、組合せ抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 及び抗PD-L1処置に対する1型IFNシグナル伝達の影響を決定した (n=10)。抗IFNAR1抗体処置は、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) と抗PD-L1療法との併用の腫瘍阻害効果を低下させた。各群の個々の腫瘍成長曲線及びLME適合腫瘍成長曲線の両方を示す (図16B)。

【0076】

【図17A-17C】抗IFNARI抗体と共に単剤抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 療法で処置したMC38腫瘍の成長を評価して (n=10)、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 処置に対する1型IFNシグナル伝達の影響を決定した。抗IFNAR1抗体処置は、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 抗体療法の腫瘍阻害効果を打ち消した (図17A)。WT型マウス又はSting^{gt/gt}マウスにおいて成長するMC38腫瘍における代表的なISGの発現を定量化して、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 抗体処置に対するSTINGの効果を評価した (n=9、WT宿主; n=10、Sting^{gt/gt}宿主)。STING破壊は、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) によって引き起こされる示されたISGの発現増強を無効にした (図17B)。WT又はSting^{gt/gt}宿主マウスにおけるMC38腫瘍の成長を定量化して、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 抗体処置に対するSTINGの効果を評価した (n=10)。STING破壊は、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 処置の腫瘍阻害効果を無効にした (図17C)。各群の個々の腫瘍成長曲線及びLME適合腫瘍成長曲線の両方を示す (図17A及び17C)。

【0077】

【図18A-18F】マクロファージにおける細胞質DNAに対する応答におけるSTING及びcGASの機能を評価するために、細胞質DNAトランスフェクション実験を行った。IFN-ベータの蓄積は、DNAトランスフェクションに応答したマクロファージにおける機能的STING (図18A) 及びcGAS (図18B) 発現の両方を必要とした。MC38腫瘍細胞及びJ774A.1マクロファージにおけるcGAS及びSTING発現のウェスタンブロット分析により、J774A.1マクロファージはcGAS及びSTINGを発現するが、MC38腫瘍細胞はcGASのみを発現することが決定された (図18C)。WT及びcGAS^{-/-}AB22腫瘍における代表的なISGの発現を定量化

10

20

30

40

50

化して、抗MerTK処置中の腫瘍細胞におけるcGAS発現の役割を評価した。腫瘍細胞におけるcGAS発現の破壊は、抗MerTK処置にตอบสนองして、示されたISGの蓄積を無効にした(図18D)。WT又はcGAS^{-/-}MC38腫瘍の成長を定量化して、腫瘍細胞におけるcGAS発現の抗MerTKに対する効果を単剤として、又は抗PD-L1と組み合わせて評価した(n=9、併用処置を伴うWT MC38; n=10、他の群)。抗MerTK及び抗PD-L1併用療法による腫瘍増殖阻害は、cGAS^{-/-}MC38腫瘍で減少した。各群の個々の腫瘍成長曲線及びLME適合腫瘍成長曲線の両方を示す(図18E)。LC-MS/MSによるタンパク質定量化を使用して、MC38腫瘍細胞におけるcGAMP産生を測定したが、これはHT-DNAによるトランスフェクション後にWT腫瘍細胞で増加したが、cGAS^{-/-}腫瘍細胞では増加しなかった(図18F)。

10

【0078】

【図19A-19E】WT及びSting^{gt/gt}BMDM(図19A)、又はUV照射WT若しくはcGAS^{-/-}MC38細胞と共培養したWT及びcGAS^{-/-}J774A.1マクロファージ(図19B)からのIFN-ベータタンパク質の産生を定量化した。IFN-ベータタンパク質の蓄積は、腫瘍細胞におけるcGAS発現及びマクロファージにおけるSTING発現に依存していた(図19A及び19B)。マクロファージにおけるcGAS発現は、IFN-ベータタンパク質蓄積には必須ではなかった(図19B)。WT宿主マウス(n=10)において成長するWT又はcGAS^{-/-}MC38腫瘍における代表的なISGの発現を定量化して、抗MerTK単剤療法に対する腫瘍細胞におけるcGAS発現の影響を評価した。腫瘍細胞におけるcGAS破壊は、抗MerTK処置にตอบสนองして、示されたISGの発現増強を無効にした(図19C)。WT宿主マウスにおいて成長させたWT又はcGAS^{-/-}初期MC38腫瘍の成長を、単剤抗MerTK又は抗PD-L1処置後に測定した(n=10)。cGAS欠損腫瘍細胞は、腫瘍増殖阻害によって測定した場合、単剤抗MerTK又は抗PD-L1処理に耐性であった。各群の個々の腫瘍成長曲線及びLME適合腫瘍成長曲線の両方を示す(図19D及び19E)。

20

【0079】

【図20A-20E】ウェスタンブロット分析を行って、Cx43^{-/-}MC38腫瘍細胞におけるCx43タンパク質の喪失を確認した(図20A)。Cx43を通る細胞間のカルセイン移入を測定する色素移動アッセイの概略図を示す(図20B)。MC38腫瘍細胞間(図20C)又はマクロファージから腫瘍細胞へのカルセイン移入におけるCx43の役割を定量化するために、図20Bの色素移入アッセイを実施した(図20D)。Cx43の喪失は、MC38細胞間(図20C)及びJ774A.1マクロファージからMC38腫瘍細胞への蛍光色素カルセインの移入を損なわせた(図20D)。WT宿主マウスにおけるWT又はCx43^{-/-}MC38腫瘍の成長を、抗MerTK及び抗PD-L1併用療法(n=10、WT MC38; n=8、Cx43^{-/-}MC38)による処置後に測定した。Cx43欠損腫瘍細胞は、腫瘍増殖阻害によって測定されるように、抗MerTK及び抗PD-L1併用療法に対して耐性であった。各群の個々の腫瘍成長曲線及びLME適合腫瘍成長曲線の両方を示す(図20E)。

30

【0080】

【図21A-21D】MC38細胞からのcGAMPのギャップ結合依存性移入及びマクロファージによるIFN-ベータの産生の概略図(図21A)。HT-DNAトランスフェクト(+DNA)WT又はCx43^{-/-}MC38腫瘍細胞との共培養におけるJ774A.1マクロファージからのIFN-ベータタンパク質の産生を定量化した。腫瘍細胞におけるCx43の破壊は、腫瘍細胞のDNAトランスフェクションによって引き起こされるマクロファージによるIFN-ベータ産生の増加を無効にした(図21B)。Cx43^{-/-}MC38腫瘍における代表的なISGのmRNA発現を定量化して、抗MerTK処置に対する腫瘍細胞におけるCx43破壊の効果を決定した(n=10、対照Ab; n=9、抗MerTK)。抗MerTKによるCx43^{-/-}MC38腫瘍の処置は、ISGの発現における有意な変化をもたらさなかった(図21C)。MerTK依存性自然免疫チェ

40

50

ックポイントの遮断を示すモデル。TAMにおけるMerTKシグナル伝達は、ストレスを受けている又は死にかけている腫瘍細胞の迅速なクリアランスを媒介し、免疫系の警戒を喚起することなく腫瘍由来物質の静止状態の処分をもたらす。抗MerTKによる処置は、エフェロサイトーシスを防止し、cGAS発現腫瘍細胞によるcGAMPの長期産生及び宿主マクロファージへのギャップ結合を介したcGAMPの移入の増加を可能にする。TAMによって産生されるIFN-βは、オートクリン／パラクリン様式で作用して、抗原提示細胞による抗原提示及び共刺激分子の発現を増加させ、最終的にT細胞応答の増強をもたらす（図21D）。

【0081】

【図22A-22B】抗MerTK又は対照抗体で処置したマウスMC38腫瘍モデルにおける循環腫瘍DNA(ctDNA)及び無細胞DNA(cfDNA)の定量化。MC38腫瘍細胞をC57BL/6Jマウスに接種した。抗MerTK又は対照抗体を、腫瘍が確立された後で投与した。抗MerTK処置の3日後、担腫瘍マウスの血漿中のctDNAの有意な増加が検出された（図22A）。抗MerTKはまた、血液循環における宿主由来cfDNAのレベルを増加させた（図22B）。示されたp値は、対応のない両側学生徒t検定に基づく。これらの結果は、腫瘍微小環境において、抗MerTK処置がTAMによるアポトーシス細胞の進行中の排除を阻止することができたことを実証している。

【0082】

【図23】図23は、表面プラズモン共鳴（SPR）を使用したヒトMerTKに対する抗MerTK抗体結合親和性の分析を示す。ヒトMerTKに対する10種の市販の抗体及びh13B4.v16の結合親和性を決定した。結合親和性を以下のように観察した：Y323の場合は0.4nM、A3KCATの場合は6.8nM、590H11G1E3の場合は7.6nM、MAB8912-100の場合は17.3nM及びh13B4.v16の場合は1.6nM。残りの6つの抗体（10g86_D21F11、2D2、7E5G1、7N-20、MAB891及びMAB8911）は、ヒトMerTKに対する結合を示さなかった。

【0083】

【図24A-24C】図24A～24Cは、抗MerTK抗体を調べる競合的結合実験の結果を示す。抗MerTK抗体Y323、A3KCAT、590H11G1E3及びMAB8912-100を、古典的なサンドイッチフォーマット（図24A）を使用して、ヒトMerTKへの結合について抗体h13B4.v16との競合について試験した。抗体Y323は、ヒトMerTK（図24B）への結合についてh13B4.v16と競合することが見出されたが、抗体A3KCAT、590H11G1E3及びMAB8912-100は、ヒトMerTK（図24C）への結合についてh13B4.v16と競合しなかった。

【発明を実施するための形態】

【0084】

I. 定義

本開示は、特定の組成物又は生体系に限定されず、言うまでもなく多様であり得ることを理解されたい。本明細書で使用される専門用語が特定の実施形態を説明することのみを目的としており、限定するようには意図されていないことも理解されたい。

【0085】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用されるとき、単数形「a」、「an」、及び「the」は、別途内容が明確に指示しない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「分子」への言及は、2つ以上のかかる分子の組み合わせを任意に含むといった具合である。

【0086】

本明細書で使用される「約」という用語は、当業者であれば容易に理解するそれぞれの値の通常の誤差範囲を指す。本明細書における「約」値又はパラメータへの言及は、その

10

20

30

40

50

値又はパラメータ自体を対象とする実施形態を含む（かつ説明する）。

【0087】

本開示の態様及び実施形態は、態様及び実施形態を「含む」、態様及び実施形態「からなる」、並びに態様及び実施形態「から本質的になる」を含むことを理解されたい。

【0088】

本明細書の目的のための「アクセプター (a c c e p t o r) ヒトフレームワーク」は、以下に定義される、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン (V L) フレームワーク又は重鎖可変ドメイン (V H) フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワーク「由来の」アクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含んでいてもよく、又はアミノ酸配列の変更を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、アミノ酸変更の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、又は2以下、又は1以下である。いくつかの実施形態では、V Lアクセプターヒトフレームワークは、V Lヒト免疫グロブリンフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列に対して、配列が同一である。いくつかの実施形態では、V Hアクセプターヒトフレームワークは、V Hヒト免疫グロブリンフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列に対して、配列が同一である。いくつかの実施形態では、V L及びV Hアクセプターヒトフレームワークは、V L及びV Hヒト免疫グロブリンフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列に対して、配列が同一である。

【0089】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、合計の非共有性相互作用の強度を指す。別途指定がない限り、本明細書で使用されるとき、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）間の1:1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は一般に、解離定数 (K_d) によって表され得る。親和性は、本明細書に記載するものを含め、当該技術分野で一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な説明的かつ例示的な実施形態が以下に記載される。

【0090】

「親和性成熟」抗体とは、改変等を有しない親抗体と比較して、1つ以上の超可変領域 (HVR) に1つ以上の改変を有し、そのような改変により抗体の抗原に対する親和性が改善される抗体を指す。

【0091】

「抗MerTK抗体」及び「MerTKに結合する抗体」という用語は、抗体がMerTKの標的化において診断剤及び／又は治療剤として有用であるような十分な親和性を有して、MerTKに結合可能である抗体を指す。一実施形態では、抗MerTK抗体が非関連非MerTKタンパク質に結合する程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ (RIA) によって測定される、抗体のMerTKへの結合の約10%未満である。特定の実施形態では、MerTKに結合する抗体は、 $\leq 1 \mu M$ 、 $\leq 100 nM$ 、 $\leq 10 nM$ 、 $\leq 1 nM$ 、 $\leq 0.1 nM$ 、 $\leq 0.01 nM$ 又は $\leq 0.001 nM$ （例えば $10^{-8} M$ 以下、例えば $10^{-8} M \sim 10^{-13} M$ 、例えば $10^{-9} M \sim 10^{-13} M$ ）の解離定数 (K_d) を有する。特定の実施形態では、抗MerTK抗体は、異なる種のMerTK間で保存されているMerTKのエピトープに結合する。

【0092】

「抗体」という用語は、ここでは最も広い意味で使用され、それらが所望の抗原結合活性を呈する限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含めた（これらに限定されない）、様々な抗体構造を包含する。

【0093】

「抗体断片」は、インタクト抗体が結合する抗原を結合するインタクト抗体の一部を含

むインタクト抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、二重特異性抗体、直鎖抗体、一本鎖抗体分子（例えば、scFv）；及び、抗体断片から形成した多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0094】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／又は軽鎖の一部が、特定の供給源又は種に由来する抗体を指し、一方、重鎖及び／又は軽鎖の残りは、異なる供給源又は種に由来する。

【0095】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体の5種類の主要なクラスがあり、すなわち、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMが存在し、これらのうちのいくつかを、「サブクラス」（アイソタイプ）、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2に更に分けることができる。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、α、σ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

【0096】

本明細書で使用される場合、「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害する若しくは阻み、かつ／又は細胞死若しくは破壊を引き起こす物質を指す。細胞傷害性薬剤としては、放射性同位体（例えば、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²、及びLuの放射性同位体）；化学療法剤又は薬物（例えば、メトトレキサート、アドリマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキシソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシン又は他の挿入剤）；成長阻害剤；酵素及びその断片、例えば核分解酵素；抗生物質；細菌、真菌、植物又は動物由来の低分子毒素又は酵素的活性毒素等の毒素（その断片及び／又はバリエーションを含む）；並びに下記に開示される様々な抗腫瘍剤又は抗がん剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0097】

「エフェクタ機能」は、抗体のアイソタイプにより異なる抗体のFc領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクタ機能の例としては、以下のものが挙げられる：C1q結合及び補体依存性細胞傷害性（CDC）、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介細胞傷害性（ADCC）、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方制御、並びにB細胞活性化が挙げられる。

【0098】

薬剤、例えば、医薬製剤の「有効量」は、所望の治療結果又は予防結果を達成するために必要な薬用量及び所要期間で有効な量を指す。

【0099】

「Fc領域」という用語は、本明細書では定常領域の少なくとも一部分を含有する免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。この用語は、天然配列Fc領域及びバリエーションFc領域を含む。一実施形態では、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226から、又はPro230から、重鎖のカルボキシル末端までに及ぶ。しかしながら、Fc領域のC末端のリジン（Lys447）は、存在する場合もあれば、しない場合もある。本明細書で特に明記されない限り、Fc領域又は定常領域におけるアミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUNanバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）に従う。

【0100】

「フレームワーク」又は「FR」は、超可変領域（HVR）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般的に、FR1、FR2、FR3及びFR4の4つのFRドメインからなる。したがって、HVR及びFR配列は、一般的に、VH（又はV

10

20

30

40

50

L) 中において以下の配列で現れる。FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0101】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」という用語は、ここで、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有するか、又は本明細書に定義されるFc領域を含有する重鎖を有する抗体を指すように同義に使用される。

【0102】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は、交換可能に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、かかる細胞の子孫を含む。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、これらは、継代数にかかわらず、初代の形質転換された細胞と、初代の形質転換された細胞から誘導された子孫を含む。後代は、核酸含有量が親細胞と完全に同一でなくてもよいが、突然変異を含有していてもよい。元々の形質転換された細胞についてスクリーニングされるか又は選択されるのと同じ機能又は生物活性を有する変異体の子孫は、本発明に含まれる。

【0103】

「ヒト抗体」は、ヒト若しくはヒト細胞によって産生された抗体、又はヒト抗体レパートリ若しくは他のヒト抗体コード配列を利用する非ヒト源に由来する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を保有するものである。このヒト抗体の定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特定の除外する。

【0104】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVL又はVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンVL又はVH配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからである。一般に、配列のサブグループは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3におけるようなサブグループである。一実施形態では、VLの場合、サブグループは、上記のKabata et al., におけるようなサブグループカッパIである。一実施形態では、VHの場合、サブグループは、上記のKabata et al., におけるようなサブグループIIIIである。

【0105】

「ヒト化」抗体は、非ヒトHVRからのアミノ酸残基及びヒトFRからのアミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。特定の実施形態では、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、HVR(例えばCDR)の全て又は実質的に全てが、非ヒト抗体に対応し、FRの全て又は実質的に全てが、ヒト抗体に対応する。ヒト化抗体は、必要に応じて、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を含んでいてもよい。ある抗体、例えば、非ヒト抗体の「ヒト化形態」は、ヒト化を受けた抗体を指す。

【0106】

「超可変領域」又は「HVR」という用語は、本明細書で使用される場合、配列において超可変性であり(「相補性決定領域」又は「CDR」)、及び／又は構造的に所定のループ(「超可変ループ」)を形成し、及び／又は抗原に接触する残基(「抗原接触」)を含有する抗体可変ドメインのそれぞれの領域を指す。一般的に、抗体は、6個のHVRを含み、VHに3個(H1、H2、H3)、VLに3個(L1、L2、L3)含む。本発明の例示的なHVRとして、以下のものが挙げられる。

(a) アミノ酸残基26~32(L1)、50~52(L2)、91~96(L3)、26~32(H1)、53~55(H2)、及び96~101(H3)で生じる超可変ループ(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917(1987))、

(b) アミノ酸残基24-34(L1)、50-56(L2)、89-97(L3)、

10

20

30

40

50

31-35b (H1)、50-65 (H2) 及び 95-102 (H3) に存在する CDR (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)) ;

(c) アミノ酸残基 27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2) 及び 93-101 (H3) で生じる抗原接触 (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)) ; 並びに

(a)、(b) 及び／又は (c) の組合せ、HVR アミノ酸残基 46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3) 及び 94-102 (H3) を含む。

【0107】

一実施形態では、HVR 残基は、本開示の表 6 で特定されるものを含む。

【0108】

別段の指示がない限り、HVR 残基及び可変ドメイン中の他の残基 (例えば、FR 残基) は、上記の Kabat et al に従って本明細書でナンバリングされる。

【0109】

「免疫コンジュゲート」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これに限定されない 1 つ以上の異種分子にコンジュゲートされた抗体である。

【0110】

「個体」又は「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、以下に限定されないが、家畜動物 (例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ及びウマ)、霊長類 (例えば、ヒト及びサル等の非ヒト霊長類)、ウサギ及びげっ歯類 (例えば、マウス及びラット) が含まれる。ある特定の実施形態では、個体又は対象は、ヒトである。

【0111】

「単離抗体」は、その天然環境の成分から分離された抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、例えば、電気泳動 (例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動 (IEF)、キャピラリー電気泳動) 又はクロマトグラフ (例えば、イオン交換又は逆相 HPLC) によって決定される、95% 超又は 99% 超の純度まで精製される。抗体純度の評価のための方法の総説については、例えば、Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007) を参照されたい。

【0112】

「単離核酸」は、その天然環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸は、元々その核酸分子を含む細胞に含まれているが、その核酸分子が、染色体外に存在するか、又はその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する核酸分子を含む。

【0113】

「抗 MerTK 抗体をコードする単離された核酸」とは、抗体の重鎖及び軽鎖 (又はそれらの断片) をコードする 1 つ以上の核酸分子を指し、単一のベクター又は別個のベクター内のそのような核酸分子 (複数可) を含み、そのような核酸分子 (複数可) は、宿主細胞内の 1 つ以上の場所に存在する。

【0114】

本明細書で使用される「L A L A P G 変異」という用語は、以下の 3 つの変異：ロイシン 234 からアラニン (L234A)、ロイシン 235 からアラニン (L235A)、及びプロリン 239 からグリシン (P329G) を含む抗体の Fc 領域の変異を指し、Fc 受容体及び補体への結合を低下させることが以前に示されている (例えば、米国特許出願公開第 2012/0251531 号及び米国特許第 8,969,526 号を参照されたい)。Fc 領域又は定常領域におけるアミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological

Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUNanbaringシステム（EUインデックスとも呼ばれる）に従う。

【0115】

本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体を指し、すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、同一であり、及び／又は同じエピトープに結合するが、例えば、自然発生突然変異を含有するか、又はモノクローナル抗体調製物の産生中に生じる、起こり得るバリエーション抗体は例外であり、かかるバリエーションは一般的に少量で存在する。典型的には異なる決定基（エピトープ）に対して指向する異なる抗体を含むポリクローナル抗体製剤とは対照的に、モノクローナル抗体製剤のそれぞれのモノクローナル抗体は、1つの抗原上の単一の決定基に対して指向する。したがって、改変詞「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集合から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするように解釈すべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組み換えDNA法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全て又は一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含めた（これらに限定されない）多様な技法によって作製することができ、モノクローナル抗体を作製するためのそのような方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載されている。

【0116】

「裸の抗体」は、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）又は放射標識にコンジュゲートされていない抗体を指す。ネイキッド抗体は、医薬製剤中に存在し得る。

【0117】

「ネイティブ抗体」とは、様々な構造を持つネイティブに存在する免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然IgG抗体は、ジスルフィド結合されている2つの同一の軽鎖及び2つの同一の重鎖で構成される約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端まで、各重鎖は、可変重ドメイン又は重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VH）を有し、続いて3つの定常ドメイン（CH1、CH2、及びCH3）を有する。同様に、N末端からC末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメイン又は軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VL）を有し、これに定常軽（CL）ドメインが続く。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる2種類の1つに割り当てられてもよい。

【0118】

「パッケージ添付文書」という用語は、そのような治療製品の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症、及び／又はその使用に関する警告についての情報を含有する、治療製品の商業用パッケージに通例含まれる指示書を指すために使用される。

【0119】

参照ポリペプチド配列に対する「アミノ酸配列の同一性率（%）」は、配列をアラインメントし、最大の配列同一性率を達成するために、必要ならばギャップを導入した後、配列同一性の一部として任意の保存的置換を考慮せずに、参照ポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の割合であると定義される。パーセントのアミノ酸配列同一性を決定するための目的のためのアラインメントは、当技術分野の熟練の範囲内である様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegalign（DNASTAR）ソフトウェアのような公知のコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大整列度を達成するのに必要とされる任意のアルゴリズムを含め、配列をアラインメントさせるのに適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書での目的のために、アミノ酸配列同一性%値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を用いて生成している。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、Genentech, Inc. が作成したものであり、ソースコードは、使用者用書類と共に、米国著作

権局、Washington D. C.、20559に提出され、ここで、米国著作権登録番号TXU510087として登録されている。ALIGN-2プログラムは、Genentech, Inc. (South San Francisco, California) から公的に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパイルし得る。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX V4.0Dを含め、UNIXオペレーティングシステムで使用するためにコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定されており、変わらない。

【0120】

ALIGN-2がアミノ酸配列比較に用いられる状況では、所与のアミノ酸配列Bへの、アミノ酸配列Bとの、又はアミノ酸配列Bに対する、所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性%（あるいは、所与のアミノ酸配列Bへの、アミノ酸配列Bとの、又はアミノ酸配列Bに対する、ある特定のアミノ酸配列同一性%を有する又は含む、所与のアミノ酸配列Aとして記述され得る）は、以下のように計算される：

$$100 \times \text{分数 } X / Y$$

式中、Xは、配列アラインメントプログラムALIGN-2によって、そのプログラムのAとBのアラインメントにおいて同一のマッチとしてスコア付けされたアミノ酸残基の数であり、Yは、B中のアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さに等しくない場合、A対Bの%アミノ酸配列同一性は、B対Aの%アミノ酸配列同一性に等しくないことが理解されよう。特に明記しない限り、本明細書で使用される全ての%アミノ酸配列同一性値は、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用して直前の段落に記載されているように得られる。

【0121】

「PD-1軸結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1シグナル伝達軸上のシグナル伝達に起因するT細胞機能障害を除去するようにPD-1軸結合パートナーとその結合パートナーのうちのいずれか1つ以上との相互作用を阻害し、結果として、T細胞機能（例えば、増殖、サイトカイン産生、標的細胞死滅）復元又は増強する分子を指す。本明細書で使用される場合、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト、及びPD-L2結合アンタゴニストを含む。

【0122】

「PD-1結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1とその結合パートナーのうちの1つ以上、例えば、PD-L1及び／又はPD-L2との相互作用に起因するシグナル伝達を減少させる、遮断する、阻害する、抑止する、又は妨害する分子を指す。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のその結合パートナーのうちの1つ以上への結合を阻害する分子である。特定の態様では、PD-1結合拮抗剤は、PD-1のPD-L1及び／又はPD-L2への結合を阻害する。例えば、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、並びにPD-1とPD-L1及び／又はPD-L2との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、又は妨害する他の分子を含む。一実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1を介するシグナル伝達を媒介するTリンパ球で発現された細胞表面タンパク質によって又はそれを介して媒介される負の共刺激シグナルを低減し、機能障害T細胞の機能障害性をより低くする（例えば、抗原認識へのエフェクタ応答を増強する）。いくつかの実施形態では、PD-1結合拮抗薬は、抗PD-1抗体である。PD-1結合拮抗薬の具体例を以下に示す。

【0123】

「PD-L1結合アンタゴニスト」という用語は、PD-L1とその結合パートナーのうちのいずれか1つ以上、例えば、PD-1及び／又はB7-1との相互作用に起因するシグナル伝達を減少させる、遮断する、阻害する、抑止する、又は妨害する分子を指す。いくつかの実施形態では、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1のPD-1及び／又はB7-1への結合を阻害する。いくつかの実

10

20

30

40

50

施形態では、PD-L1結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、並びにPD-L1とその結合パートナーのうちの1つ以上、例えば、PD-1及び／又はB7-1との相互作用に起因するシグナル伝達を減少させる、遮断する、阻害する、抑止する、又は妨害する他の分子を含む。一実施形態では、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1を介するシグナル伝達を媒介するTリンパ球で発現された細胞表面タンパク質によって又はそれを介して媒介される負の共刺激シグナルを低減し、機能障害T細胞の機能障害性をより低くする（例えば、抗原認識へのエフェクタ応答を増強する）。いくつかの実施形態では、PD-L1結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体である。PD-L1結合拮抗薬の具体例を以下に示す。

【0124】

「PD-L2結合拮抗剤」という用語は、PD-L2とPD-1等の1種以上の結合パートナーのいずれかとの相互作用の結果として生じるシグナル伝達を減少させたり、遮断したり、阻害したり、妨害したりする分子を指す。いくつかの実施形態では、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2のその結合パートナーのうちの1つ以上への結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2のPD-1への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、PD-L2アンタゴニストは、抗PD-L2抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及びPD-L2とその結合パートナーの1つ以上、例えば、PD-1との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、又は妨害する他の分子を含む。一実施形態では、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2を介するシグナル伝達を媒介するTリンパ球で発現された細胞表面タンパク質によって又はそれを介して媒介される負の共刺激シグナルを低減し、機能障害T細胞の機能障害性をより低くする（例えば、抗原認識へのエフェクタ応答を増強する）。いくつかの実施形態では、PD-L2結合拮抗薬は、イムノアドヘシンである。

【0125】

「医薬製剤」という用語は、調製物中に含有される活性成分の生物活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象にとって許容できないほど有毒である追加の構成成分を全く含有しない調製物を指す。

【0126】

「薬学的に許容可能な担体」は、対象に非毒性の、有効成分以外の医薬製剤中の成分を指す。薬学的に許容可能な担体には、緩衝剤、賦形剤、安定剤、又は保存剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0127】

「MerTK」という用語は、ここで使用される場合、特に断りのない限り、霊長類（例えばヒト）並びに齧歯類（例えばマウス及びラット）等の哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源の任意の天然MerTKを意味する。この用語は、「全長」のプロセシングされていないMerTK、及び細胞におけるプロセシングから生じるMerTKの任意の形態を包含する。この用語は、MerTKの天然に存在するバリエーション、例えば、スプライスバリエーション又は対立遺伝子バリエーションも包含する。例示的なヒトMerTKのアミノ酸配列は、米国特許出願公開第2006/0121562号に記載されている。

【0128】

本明細書で使用される場合、「処置」（及びその文法的な変形語、例えば、「処置する」又は「処置すること」）は、処置される個体の本来の経過を変える試みにおける臨床的介入を指し、予防のために、又は臨床病理の経過の間に行うことができる。処置の所望の効果としては、疾患の発症又は再発を予防すること、症状の軽減、疾患の任意の直接的又は間接的な病理学的結果の減弱、転移を予防すること、疾患進行率を低下させること、病状の寛解又は緩和、及び回復又は改良された予後が挙げられる。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、疾患の発症を遅延させるために、又は疾患の進行を遅らせるために使用される。

10

20

30

40

50

【0129】

「可変領域」又は「可変ドメイン」という用語は、抗原に対する抗体の結合に關与する抗体重鎖又は抗体軽鎖のドメインを指す。天然の抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれVH及びVL）は、一般に、類似の構造を有しており、各ドメインは、4つの保存されたフレームワーク領域（FR）と、3つの超可変領域（HVR）とを含む（例えば、Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい）。抗原結合特異性を与えるために、単一のVHドメイン又はVLドメインで十分な場合がある。さらに、特定の抗原に結合する抗体は、抗原に結合する抗体のVHドメイン又はVLドメインを使用し、それぞれ、相補的なVLドメイン又はVHドメインのライブラリをスクリーニングして、単離してもよい。例えば、Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)を参照されたい。

10

【0130】

「ベクター」という用語は、本明細書で使用される場合、それが連結している別の核酸を増殖させることができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製する核酸構造としてのベクター、及びベクターが導入された宿主細胞のゲノム内へと組み込まれたベクターを含む。特定のベクターは、それらが機能的に連結されている核酸の発現を指示することができる。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と称される。

20

【0131】

II. 抗MerTK抗体

本開示は、新規な抗MerTK抗体の発見に基づく。そのような新規な抗MerTK抗体は、がんの処置において用途が見出されている。特に、本開示は、本明細書中に記載される抗MerTK抗体が免疫チェックポイント阻害剤に基づく治療の有効性を増強するという発見に基づいている。

【0132】

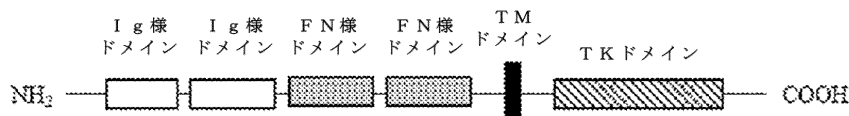
C-Mer癌原遺伝子チロシンキナーゼ（MerTK）は、ガレクチン-3、プロテインS及びGas6等の様々なリガンドに結合すると細胞外シグナルを伝達し、それによってエフェクタ遺伝子の発現を活性化する受容体チロシンキナーゼである。MerTK経路は、細胞生存、サイトカイン産生、遊走、分化及び食作用を含む必須の細胞プロセスを調節する（Cabernoy N., et al. *J Cell Physio.* 227 (2012):401-407; Wu, G., et al. *Cell Death&Disease* 8 (2017):e2700）。MerTKの発現は、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞等の様々な造血細胞型において見られる。重要なことに、MerTK受容体経路は、結腸がんを含むいくつかの固形がん及び血液がんにおいて活性である（Wu, G., et al. *Cell Death&Disease* 8 (2017):e2700）。

30

【0133】

MerTK受容体は、細胞外成分、膜貫通（TM）ドメイン及び細胞内成分から構成される。下記の図に示されるように、MerTKの細胞外領域又はリガンド結合領域は、2つの免疫グロブリン（Ig）様ドメイン及び2つのフィブロネクチン（FN）III型様ドメインを含有する。

40



【0134】

例えば、ヒトMerTKでは、2つのIg様ドメインは、それぞれアミノ酸残基76～195及びアミノ酸残基199～283によって定義される。さらに、ヒトMerTKの

50

2つのフィブロネクチン様ドメインは、それぞれアミノ酸残基286～384及びアミノ酸残基388～480によって定義される。MerTKの細胞内領域はチロシンキナーゼ（TK）ドメインを含有し、これは、細胞外領域へのリガンド結合後に特異的チロシン残基を自己リン酸化し、MerTK受容体二量体化を促進し、したがって下流エフェクタ遺伝子発現を活性化する（Toledo, R. A, et al. Clin Can. Res. 22 (2016) : 2301-2312）。ヒトMerTKは、以下のアミノ酸配列を含む：

```
MGPAPLPLLLGLFLPALWRRRAITEAREEAKPYPLFPGPFP
PGSLQTDHTPLLSLPHASGYQPALMFSPPTQPGRPHGTGNVA
IPQVTSVESKPLPPLAFKHTVGHIIILSEHKGVKFNCSSISV
PNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAITQFYPPDDEVTAIIAS
FSITSVQRSDNGSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQGLPHF
TKQPESMNVTRNTAFNLTCQAVGPPPEPVNIFWVQNSSRVN
EQPEKSPSVLTVPGLTMAVVFSCAEHNDKGLTVSKGVQIN
IKAIPSPPTTEVSIRNSTAHSILISWVPFGFDGYSPFRNCSS
QVKEADPLSNGSVMIFNTSALPHLYQIKQLQALANYSIGV
SCMNEIGWSAVSPWILASTTEGAPSVAPLNVTVFLNESSD
NVDIRWMKPPTKQQDGLVGYRISHVWQSAGISKEELLEEV
GQNGSRARISVQVHNATCTVRIA AAVTRGGVGPFSDPVKIF
IPA HGWVDYAPSSSTPAPGNADPVLIIIFGCF CGFILIGLIL
YISLAIRKRVQETKFGNAFTEEDSELVVNYIAKKSFCRRA
IELTLHSLGVSEELQNKLEDVVIDRNLLILGKILGEGEFG
SVM EGNL KQEDGTS LKVAVKTMKLDNSSQREIEEFLSEAA
CMKDFSHPNVIRLLGVCIEMSSQGIPKPMVILPFMKYGD L
HTYLLYSRLETGPKHIPLQTL LKFMVDIALGMEYLSNRNF
LHRDLAARNCMLRDDMTVCVADFGLSKKIYSGDYRQGR I
AKMPVKWIAIESLADRVYTSKSDVWAFGV TMWEIATRGMT
PYPGVQNH EMYDYLLHGHRLKQPEDCLDELYEIMYSCWRT
DPLDRPTFSVLRLQLEK LLES LPDVRNQADV IYVNTQLLE
SSEGLAQGSTLAPLDL NIDPDSIIASCTPRAAISVVTAEV
HDSKPHEGRYILNGGSEEWEDLTSAPSAAVTAEKNSVLP G
ERLVRNGVSWSHSSMLPLGSSLPDELLFADDSSEGSEVLM
（配列番号137）。
```

【0135】

MerTKに結合する単離抗体であって、以下の特性の1つ以上を有する抗体が本明細書で提供される：（i）MerTKの1つ以上の生物学的活性に拮抗する、（ii）アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させる、（iii）MerTK媒介食作用活性を低下させる、（iv）チェックポイント阻害剤の腫瘍免疫原性を増強する、（v）MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する、（vi）MerTK上のIg様ドメインに結合する、（vii）ヒトMerTKに特異的に結合する、（viii）ヒト、マウス及び／又はカニクイザルのMerTKの1つ以上に結合する、及び／又は（ix）20nM未満の K_D でMerTKに結合する（例えば、10nM未満、5nM未満、又は2nM未満）。

【0136】

A．例示的な抗MerTK抗体

一態様では、本発明は、（a）配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号5のアミノ酸配列を含むH

V R-H 2、及び (c) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R-H 3 を含む。例示的な実施形態では、抗 M e r T K 抗体は、M e r T K のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0137】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H V R-L 1、(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R-L 2、及び (c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R-L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての V L H V R 配列を含む抗 M e r T K 抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H V R-L 1、(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R-L 2、及び (c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R-L 3 を含む。例示的な実施形態では、抗 M e r T K 抗体は、M e r T K のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

10

【0138】

別の態様では、本発明の抗 M e r T K 抗体は、(a) (i) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R-H 1、(i i) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R-H 2、及び (i i i) 配列番号 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R-H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての V H H V R 配列を含む V H ドメインと、(b) (i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H V R-L 1、(i i) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R-L 2、及び (c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R-L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての V L H V R 配列を含む V L ドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗 M e r T K 抗体は、M e r T K のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

20

【0139】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R-H 1 と、(b) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R-H 2 と、(c) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R-H 3 と、(d) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H V R-L 1 と、(e) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R-L 2 と、(f) 配列番号 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R-L 3 と、を含む抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗 M e r T K 抗体は、M e r T K のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0140】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗 M e r T K 抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗 M e r T K 抗体は、上記の実施形態のいずれかのような H V R を含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大 10 個のアミノ酸置換を有する（例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9 又は 1~10 個のアミノ酸置換）。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の 1 つ以上の残基に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中の Q 2、L 4、P 43 及び／又は F 87、及び／又は以下の 1 つ以上の残基：重鎖可変領域フレームワーク配列中の V 24、I 48、G 49、K 71 及び／又は V 78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 に記載されるような、EU ナンバリングシステム (EU インデックスとも呼ばれる) に従う。例示的な実施形態では、抗 M e r T K 抗体は、M e r T K のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

30

40

【0141】

別の態様では、抗 M e r T K 抗体は、配列番号 83 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は 100 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン (V H) 配列を含む。特定の実施形態では

50

、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号83において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号83のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0142】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号65のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号65において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号65のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号1のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0143】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号83及び配列番号65のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0144】

一態様では、本発明は、（a）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0145】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。例示的

な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0146】

別の態様では、本発明の抗MerTK抗体は、(a) (i) 配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii) 配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii) 配列番号12から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b) (i) 配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii) 配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

10

【0147】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f) 配列番号9から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗MerTK抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

20

【0148】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗MerTK抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗MerTK抗体は、上記の実施形態のいずれかのようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大10個のアミノ酸置換を有する(例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9又は1~10個のアミノ酸置換)。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の1つ以上の残基に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中のQ2、L4、P43及び／又はF87、及び／又は以下の1つ以上の残基：重鎖可変領域フレームワーク配列中のV24、I48、G49、K71及び／又はV78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUNanbaringシステム(EUインデックスとも呼ばれる)に従う。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

30

【0149】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号84のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号84において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRで)生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号84のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：(a) 配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3

40

50

。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0150】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号66のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号66において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号66のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0151】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号84及び配列番号66のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0152】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号85のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号85において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号85のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0153】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号67のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号67において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生

じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号67のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、(a)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。

【0154】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号85及び配列番号67のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0155】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号102のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号102において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号102の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：(a)配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0156】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号110のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号110において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号110の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、(a)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0157】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号102及び配列番号110の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0158】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号86のアミノ酸配列と少なくとも90%

、 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号86において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号86のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0159】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号68のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号68において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号68のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0160】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号86及び配列番号68のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0161】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号103のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号103において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号103の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施

形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0162】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号111のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号111において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号111の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、（a）配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

10

【0163】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号103及び配列番号111の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

20

【0164】

一態様では、本発明は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

30

【0165】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

40

【0166】

別の態様では、本発明の抗MerTK抗体は、（a）（i）配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（ii）配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（iii）配列番号18から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、（b）（i）配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（ii）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は

50

、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0167】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f) 配列番号15から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗MerTK抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0168】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗MerTK抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗MerTK抗体は、上記の実施形態のいずれかのようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大10個のアミノ酸置換を有する(例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9又は1~10個のアミノ酸置換)。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の1つ以上の残基に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中のQ2、L4、P43及び／又はF87、及び／又は以下の1つ以上の残基：重鎖可変領域フレームワーク配列中のV24、I48、G49、K71及び／又はV78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUナンバリングシステム(EUインデックスとも呼ばれる)に従う。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0169】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号87のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号87において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRで)生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号87のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：(a) 配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0170】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号69のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号6

9において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号69のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0171】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号87及び配列番号69のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0172】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号88のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号88において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号88のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0173】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号70のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号70において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号70のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0174】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号88及び配列番号70のVH

配列及びV L配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0175】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号104のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号104において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号104の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0176】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号112のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号112において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号112の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、（a）配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0177】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号104及び配列番号112の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0178】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号89のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号89において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号89のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる

。特定の実施形態では、V Hは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのH V Rを含む：(a) 配列番号16のアミノ酸配列を含むH V R-H 1、(b) 配列番号17のアミノ酸配列を含むH V R-H 2、及び(c) 配列番号18のアミノ酸配列を含むH V R-H 3。例示的な実施形態では、抗M e r T K抗体は、M e r T Kのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0179】

別の態様では、抗M e r T K抗体が提供され、該抗体は、配列番号70のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン(V L)を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するV L配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗M e r T K抗体は、M e r T Kに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号70において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び/又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、H V Rの外側の領域で(すなわち、F Rで)生じる。任意に、抗M e r T K抗体は、配列番号70のV L配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、V Lは、(a) 配列番号13のアミノ酸配列を含むH V R-L 1、(b) 配列番号14のアミノ酸配列を含むH V R-L 2、及び(c) 配列番号15のアミノ酸配列を含むH V R-L 3から選択される、1つ、2つ、又は3つのH V Rを含む。例示的な実施形態では、抗M e r T K抗体は、M e r T Kのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0180】

別の態様では、抗M e r T K抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなV H、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなV Lを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号89及び配列番号70のV H配列及びV L配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗M e r T K抗体は、M e r T Kのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0181】

別の態様では、抗M e r T K抗体は、配列番号105のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗M e r T K抗体は、M e r T Kに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号105において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び/又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、H V Rの外側の領域で(すなわち、F Rで)生じる。任意に、抗M e r T K抗体は、配列番号105の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのH V Rを含む：(a) 配列番号16のアミノ酸配列を含むH V R-H 1、(b) 配列番号17のアミノ酸配列を含むH V R-H 2、及び(c) 配列番号18のアミノ酸配列を含むH V R-H 3。例示的な実施形態では、抗M e r T K抗体は、M e r T Kのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0182】

別の態様では、抗M e r T K抗体が提供され、該抗体は、配列番号113のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗M e r T K抗体は、M e r T Kに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号113において合計で

1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号113の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、（a）配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0183】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号105及び配列番号113の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0184】

一態様では、本発明は、（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0185】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0186】

別の態様では、本発明の抗MerTK抗体は、（a）（i）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（ii）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（iii）配列番号24から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、（b）（i）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（ii）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0187】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、（d）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、（e）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、（f）配列番号21から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗MerTK抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0188】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗MerTK抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗MerTK抗体は、上記の実施形態のいずれかのようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大10個のアミノ酸置換を有する（例えば、1～2、1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9又は1～10個のアミノ酸置換）。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の1つ以上の残基に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中のQ2、L4、P43及び／又はF87、及び／又は以下の1つ以上の残基：重鎖可変領域フレームワーク配列中のV24、I48、G49、K71及び／又はV78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUナンバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

10

【0189】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号90のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号90において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号90のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

20

30

【0190】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号71のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号71において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号71のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

40

【0191】

50

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号90及び配列番号71のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0192】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号91のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号91において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号91のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0193】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号72のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号72において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号72のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0194】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号91及び配列番号72のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0195】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号106のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を

保持する。特定の実施形態では、配列番号106において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号106の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0196】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号114のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号114において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号114の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0197】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号106及び配列番号114の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0198】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号92のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号92において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号92のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0199】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号73のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含

む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号73において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号73のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0200】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号92及び配列番号73のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0201】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号107のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号107において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号107の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0202】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号115のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号115において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号115の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、（a）配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0203】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号107及び配列番号115の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0204】

一態様では、本発明は、(a) 配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

10

【0205】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

20

【0206】

別の態様では、本発明の抗MerTK抗体は、(a) (i) 配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii) 配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii) 配列番号29から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b) (i) 配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

30

【0207】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f) 配列番号26から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗MerTK抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

40

【0208】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗MerTK抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗MerTK抗体は、上記の実施形態のいずれかのようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大10個のアミノ酸置換を有する(例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9又は1~10個のアミノ酸置換)。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の1つ以上の残基に対応する：軽鎖可変

50

領域フレームワーク配列中のQ 2、L 4、P 4 3及び／若しくはF 8 7並びに／又は以下の残基の1つ以上：重鎖可変領域フレームワーク配列中のV 2 4、I 4 8、G 4 9、K 7 1及び／又はV 7 8。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUナンバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0209】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号93のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号93において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号93のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0210】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号74のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号74において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号74のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0211】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号93及び配列番号74のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0212】

一態様では、本発明は、（a）配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）

10

20

30

40

50

）配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び（c）配列番号 35 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VH HVR 配列を含む抗 MerTK 抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、（b）配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び（c）配列番号 35 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0213】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、（b）配列番号 31 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び（c）配列番号 32 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VL HVR 配列を含む抗 MerTK 抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、

（a）配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、（b）配列番号 31 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び（c）配列番号 32 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0214】

別の態様では、本発明の抗 MerTK 抗体は、（a）（i）配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、（ii）配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び（iii）配列番号 35 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VH HVR 配列を含む VH ドメインと、（b）（i）配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、（ii）配列番号 31 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び（c）配列番号 32 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VL HVR 配列を含む VL ドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0215】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、（b）配列番号 34 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、（c）配列番号 35 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、（d）配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、（e）配列番号 31 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、（f）配列番号 32 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む抗 MerTK 抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0216】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗 MerTK 抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗 MerTK 抗体は、上記の実施形態のいずれかのような HVR を含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大 10 個のアミノ酸置換を有する（例えば、1～2、1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9 又は 1～10 個のアミノ酸置換）。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の残基の 1 つ以上に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中の Q2、L4、P43 及び／若しくは F87 並びに／又は以下の残基の 1 つ以上：重鎖可変領域フレームワーク配列中の V24、I48、G49、K71 及び／又は V78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 に記載されるような、EU ナンバリングシステム（EU インデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結

合する。

【0217】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号94のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号94において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号94のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号34のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号35のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

10

【0218】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、配列番号75のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号75において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号75のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号31のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号32のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

20

30

【0219】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号94及び配列番号75のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

40

【0220】

一態様では、本発明は、（a）配列番号38のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号38のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0221】

50

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(b) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VL HVR 配列を含む抗 MerTK 抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(b) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

【0222】

別の態様では、本発明の抗 MerTK 抗体は、(a) (i) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(ii) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び (iii) 配列番号 40 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VH HVR 配列を含む VH ドメインと、(b) (i) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(ii) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VL HVR 配列を含む VL ドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

【0223】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号 38 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 40 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、(d) 配列番号 36 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(e) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(f) 配列番号 37 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む抗 MerTK 抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

【0224】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗 MerTK 抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗 MerTK 抗体は、上記の実施形態のいずれかのような HVR を含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大 10 個のアミノ酸置換を有する（例えば、1～2、1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9 又は 1～10 個のアミノ酸置換）。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の残基の 1 つ以上に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中の Q2、L4、P43 及び／若しくは F87 並びに／又は以下の残基の 1 つ以上：重鎖可変領域フレームワーク配列中の V24、I48、G49、K71 及び／又は V78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 に記載されるような、EU ナンバリングシステム（EU インデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0225】

別の態様では、抗 MerTK 抗体は、配列番号 95 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の同一性を有する VH 配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗 MerTK 抗体は、MerTK に結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号 95 において合計で 1～1

0個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号95のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号38のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0226】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号76のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号76において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号76のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号36のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0227】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号95及び配列番号76のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0228】

一態様では、本発明は、（a）配列番号44のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号45のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号46のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号44のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号45のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号46のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0229】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号41のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号43のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号41のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号43のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0230】

別の態様では、本発明の抗MerTK抗体は、（a）（i）配列番号44のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（ii）配列番号45のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び

(i i i) 配列番号 46 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VH-HVR 配列を含む VH ドメインと、(b) (i) 配列番号 41 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(i i) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 43 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VL-HVR 配列を含む VL ドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

【0231】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号 44 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 45 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 46 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、(d) 配列番号 41 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(e) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(f) 配列番号 43 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む抗 MerTK 抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

【0232】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗 MerTK 抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗 MerTK 抗体は、上記の実施形態のいずれかのような HVR を含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大 10 個のアミノ酸置換を有する（例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9 又は 1~10 個のアミノ酸置換）。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の残基の 1 つ以上に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中の Q2、L4、P43 及び／若しくは F87 並びに／又は以下の残基の 1 つ以上：重鎖可変領域フレームワーク配列中の V24、I48、G49、K71 及び／又は V78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 に記載されるような、EU ナンバリングシステム（EU インデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0233】

別の態様では、抗 MerTK 抗体は、配列番号 96 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の同一性を有する VH 配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗 MerTK 抗体は、MerTK に結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号 96 において合計で 1~10 個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVR の外側の領域で（すなわち、FR で）生じる。任意に、抗 MerTK 抗体は、配列番号 96 の VH 配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VH は、以下から選択される 1 つ、2 つ又は 3 つの HVR を含む：(a) 配列番号 44 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 45 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び (c) 配列番号 46 のアミノ酸配列を含む HVR-H3。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

【0234】

別の態様では、抗 MerTK 抗体が提供され、該抗体は、配列番号 77 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含

む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号77において合計で1〜10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号77のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号41のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号43のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

10

【0235】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号96及び配列番号77のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0236】

一態様では、本発明は、（a）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

20

【0237】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（a）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

30

【0238】

別の態様では、本発明の抗MerTK抗体は、（a）（i）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（ii）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（iii）配列番号52から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、（b）（i）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（ii）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

40

【0239】

別の態様では、本発明は、（a）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、（b）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、（c）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、（d）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1と

50

、（e）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、（f）配列番号49から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗MerTK抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0240】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗MerTK抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗MerTK抗体は、上記の実施形態のいずれかのようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大10個のアミノ酸置換を有する（例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9又は1~10個のアミノ酸置換）。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の残基の1つ以上に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中のQ2、L4、P43及び／若しくはF87並びに／又は以下の残基の1つ以上：重鎖可変領域フレームワーク配列中のV24、I48、G49、K71及び／又はV78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUナンバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0241】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号97のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号97において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号97のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0242】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号78のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号78において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号78のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg

様ドメインに結合する。

【0243】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号97及び配列番号78のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0244】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号98のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号98において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び/又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRで)生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号98のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：(a) 配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0245】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号79のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号79において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び/又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRで)生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号79のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、(a) 配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b) 配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0246】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号98及び配列番号79のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0247】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号108のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、又

は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号108において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号108の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0248】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号116のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号116において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号116の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、（a）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0249】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号108及び配列番号116の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0250】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号99のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号99において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号99のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0251】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号80のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含

10

20

30

40

50

む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号80において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号80のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0252】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号99及び配列番号80のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0253】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号109のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する重鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号109において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号109の重鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、重鎖は、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0254】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号117のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する軽鎖配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号117において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号117の軽鎖配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、軽鎖は、（a）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号48のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0255】

別の態様では、上に示した実施形態のいずれかにおけるような重鎖と、上に示した実施形態のいずれかにおけるような軽鎖とを含む、抗MerTK抗体が提供される。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号109及び配列番号117の重鎖及び軽鎖配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0256】

一態様では、本発明は、(a)配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

10

【0257】

別の態様では、本発明は、(a)配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号55のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号55のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

20

【0258】

別の態様では、本発明の抗MerTK抗体は、(a)(i)配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号58から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号55のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

30

【0259】

別の態様では、本発明は、(a)配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号55から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗MerTK抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

40

【0260】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗MerTK抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗MerTK抗体は、上記の実施形態のいずれかのようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大10個のアミノ酸置換を有する(例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9又は1~10個のアミノ酸置換)。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の残基の1つ以上に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中のQ2、L4、P43及び／若しくはF87並びに／又は以下の残基の1つ以上：重鎖可変領域フレームワーク配列中のV24、I48、G49、K7

50

1及び／又はV78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるような、EUナンバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。

【0261】

別の態様では、抗MerTK抗体は、配列番号100のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号100において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号100のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号56のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号57のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0262】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号81のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号81において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号81のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号55のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0263】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号100及び配列番号81のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0264】

一態様では、本発明は、（a）配列番号62のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号63のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号64のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、又は3つ全てのVH HVR配列を含む抗MerTK抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、（

a) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 63 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び (c) 配列番号 64 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

【0265】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(b) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VL HVR 配列を含む抗 MerTK 抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(b) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

10

【0266】

別の態様では、本発明の抗 MerTK 抗体は、(a) (i) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(ii) 配列番号 63 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び (iii) 配列番号 64 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VH HVR 配列を含む VH ドメインと、(b) (i) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(ii) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、又は 3 つ全ての VL HVR 配列を含む VL ドメインと、を含む。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

20

【0267】

別の態様では、本発明は、(a) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 63 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 64 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、(d) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(e) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(f) 配列番号 61 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む抗 MerTK 抗体を提供する。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK の Ig 様ドメインに結合する。

30

【0268】

上述の実施形態のうちのいずれかでは、抗 MerTK 抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗 MerTK 抗体は、上記の実施形態のいずれかのような HVR を含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含み、任意で最大 10 個のアミノ酸置換を有する（例えば、1~2、1~3、1~4、1~5、1~6、1~7、1~8、1~9 又は 1~10 個のアミノ酸置換）。例示的な実施形態では、そのようなアミノ酸置換は、ウサギフレームワーク領域配列由来のアミノ酸残基、例えば、以下の残基の 1 つ以上に対応する：軽鎖可変領域フレームワーク配列中の Q2、L4、P43 及び／若しくは F87 並びに／又は以下の残基の 1 つ以上：重鎖可変領域フレームワーク配列中の V24、I48、G49、K71 及び／又は V78。アミノ酸残基のナンバリングは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 に記載されるような、EUN ナンバリングシステム（EU インデックスとも呼ばれる）に従う。例示的な実施形態では、抗 MerTK 抗体は、MerTK のフィブロネクチン様ドメインに結合する。

40

【0269】

別の態様では、抗 MerTK 抗体は、配列番号 101 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は

50

100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号101において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号101のVH配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VHは、以下から選択される1つ、2つ又は3つのHVRを含む：（a）配列番号62のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号63のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び（c）配列番号64のアミノ酸配列を含むHVR-H3。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0270】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、該抗体は、配列番号82のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、その配列を含む抗MerTK抗体は、MerTKに結合する能力を保持する。特定の実施形態では、配列番号82において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／又は欠失している。特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRで）生じる。任意に、抗MerTK抗体は、配列番号82のVL配列を含み、これにはその配列の翻訳後修飾が含まれる。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号59のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号60のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号61のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0271】

別の態様では、抗MerTK抗体が提供され、ここで、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにおけるようなVLを含む。一実施形態では、抗体は、それぞれ配列番号101及び配列番号82のVH配列及びVL配列を含み、これにはそれらの配列の翻訳後修飾が含まれる。例示的な実施形態では、抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。

【0272】

更なる態様では、本発明は、本明細書中に提供される抗MerTK基準抗体とMerTKへの結合について競合する抗体を提供する。例えば、特定の実施形態では、以下の1つ以上の抗MerTK基準抗体と、MerTKへの結合について競合する抗体が提供される：配列番号83のアミノ酸配列を含むVHと配列番号65のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号84のアミノ酸配列を含むVHと配列番号66のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号85のアミノ酸配列を含むVHと配列番号67のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号110のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体；配列番号86のアミノ酸配列を含むVHと配列番号68のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号111のアミノ酸配列を含む軽鎖；配列番号87のアミノ酸配列を含むVHと配列番号69のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号88のアミノ酸配列を含むVHと配列番号70のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号104のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号112のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体；配列番号89のアミノ酸配列を含むVHと配列番号70のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体

；配列番号105のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号113のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体；配列番号90のアミノ酸配列を含むVHと配列番号71のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号91のアミノ酸配列を含むVHと配列番号72のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号106のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号114のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体；配列番号92のアミノ酸配列を含むVHと配列番号73のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号107のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号115のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体；配列番号93のアミノ酸配列を含むVHと配列番号74のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号94のアミノ酸配列を含むVHと配列番号75のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号95のアミノ酸配列を含むVHと配列番号76のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号96のアミノ酸配列を含むVHと配列番号77のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号97のアミノ酸配列を含むVHと配列番号78のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号98のアミノ酸配列を含むVHと配列番号79のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号108のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号116のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体；配列番号99のアミノ酸配列を含むVHと配列番号80のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号109のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号117のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体；配列番号100のアミノ酸配列を含むVHと配列番号81のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号101のアミノ酸配列を含むVHと配列番号82のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体。いくつかの実施形態では、単離抗体はヒトMerTKに結合する。いくつかの実施形態では、基準抗体は、市販されているY323（abcamカタログ番号ab52968）である。

【0273】

更なる態様では、本発明は、本明細書で提供される抗MerTK抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、特定の実施形態では、以下の抗MerTK抗体のいずれか1つと同じエピトープに結合する抗体が提供される：配列番号83のアミノ酸配列を含むVHと配列番号65のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号84のアミノ酸配列を含むVHと配列番号66のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号85のアミノ酸配列を含むVHと配列番号67のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号102のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号110のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体；配列番号86のアミノ酸配列を含むVHと配列番号68のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号111のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体；配列番号87のアミノ酸配列を含むVHと配列番号69のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号88のアミノ酸配列を含むVHと配列番号70のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号104のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号112のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体；配列番号89のアミノ酸配列を含むVHと配列番号70のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号105のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号113のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体；配列番号90のアミノ酸配列を含むVHと配列番号71のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号91のアミノ酸配列を含むVHと配列番号72のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号106のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号114のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体；配列番号92のアミノ酸配列を含むVHと配列番号73のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号107のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号115のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体；配列番号93のアミノ酸配列を含むVHと配列番号74のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号94のアミノ酸配列を含むVHと配列番号75のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体。特定実施形態では、配列番号129のMerTKのアミノ酸残基286～384又は388～480からなるMerTKのフィブロネクチン様ドメイン内のエピトープに結合する抗体が提供される。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体と同じエピトープに結合し、Y323であり、市販されている（abcamカタログ番号ab52968）。

【0274】

更なる態様では、本発明は、本明細書で提供される抗MerTK抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、特定の実施形態では、以下の抗MerTK抗体のいずれか1つと同じエピトープに結合する抗体が提供される：配列番号95のアミノ酸配列を含むVHと配列番号76のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号96のアミノ酸配列を含むVHと配列番号77のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号97のアミノ酸配列を含むVHと配列番号78のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号98のアミノ酸配列を含むVHと配列番号79のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号108のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号116のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体；配列番号99のアミノ酸配列を含むVHと配列番号80のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；配列番号109のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号117；のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体配列番号100のアミノ酸配列を含むVHと配列番号81のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体；及び配列番号101のアミノ酸配列を含むVHと配列番号82のアミノ酸配列を含むVLとを含む抗体。特定の実施形態では、配列番号129のMerTKのアミノ酸残基76～195又は199～283からなるMerTKのIg様ドメイン内のエピトープに結合する抗体が提供される。

【0275】

本発明の更なる態様では、上記の実施形態のいずれかによる抗MerTK抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、又はヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態では、抗MerTK抗体は、抗体断片、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ又はF(ab')₂断片である。別の実施形態では、抗体は、完全長抗体、例えば、本明細書において定義される無傷のIgG1抗体又は他の抗体クラス若しくはアイソタイプである。一定の実施形態では、抗体は、Fc受容体及び／又は補体への結合を低下させるFc領域の変異を含む。一実施形態では、抗体はFc領域にLALAPG変異を含む。

【0276】

更なる態様では、上記の実施形態のいずれかによる抗MerTK抗体は、以下の節1～8に記載される特徴のうちのいずれかを、単独又は組み合わせで組み込み得る。

【0277】

1. MerTK生物活性

いくつかの実施形態では、抗体は、食細胞によるアポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを減少させ、例えば、アポトーシス細胞のクリアランスは、1～10倍、1～8倍、1～5倍、1～4倍、1～3倍、1～2倍、2～10倍、2～8倍、2～5倍、2～4倍、2～3倍、3～10倍、3～8倍、3～5倍、3～4倍、又は1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2.0倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3.0倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4.0倍、4.1倍、4.2倍、4.3倍、4.4倍、4.5倍、4.6倍、4.7倍、4.8倍、4.9倍、5.0倍、5.1倍、5.2倍、5.3倍、5.4倍、5.5倍、5.6倍、5.7倍、5.8倍、5.9倍、6.0倍、6.1倍、6.2倍、6.3倍、6.4倍、6.5倍、6.6倍、6.7倍、6.8倍、6.9倍、7.0倍、7.1倍、7.2倍、7.3倍、7.4倍、7.5倍、7.6倍、7.7倍、7.8倍、7.9倍若しくは8.0倍低下される。いくつかの実施形態では、食細胞はマクロファージである。いくつかのこのような実施形態では、マクロファージは腫瘍関連マクロファージ(TAM)である。ヒトでは、TAMは、CD14、HLA-DR(MHCクラスII)、CD312、CD115、CD16、CD163、CD204、CD206、及びCD301を含む様々な細胞表面マーカーの発現に基づいて同定され得る。さらに、マトリックスメタロプロテイナーゼ、IL-10、誘導性一酸化窒素合成酵素(iNOS)、TNF-α、又はIL-12等の特定の機能的バイオマーカーの産生を細胞表面バイオマーカーと組み合わせて、TAM集団を正確に同定することができる(Quatromoni, J., et al., Am J Transl Res. 4 (2012): 376-389.)。アポトーシス細胞のクリアランスは、そのような目的

のために当業者に公知の任意のアッセイによって測定され得る。例えば、*in vitro* アポトーシス細胞クリアランスアッセイのために、マウス腹膜マクロファージ又はヒト単球由来マクロファージ等の食細胞が使用される。アポトーシス細胞は、デキサメタゾンによる処置によって生成され、検出プローブで標識される。食作用を、アポトーシス細胞を食細胞とインキュベートした後、顕微鏡法又はフローサイトメトリーによって分析することができる。いくつかの実施形態では、室温でのアポトーシス細胞クリアランスアッセイで測定される場合、そのようなアポトーシス細胞のクリアランスは低下する。例えば、*in vivo* アポトーシスクリアランスアッセイの場合、マウスにデキサメタゾンを注射して胸腺細胞死を誘導する。胸腺内の常在マクロファージは、死細胞／死細胞を認識して貪食する (Seitz, H. M. J Immunol. 178 (9) 5635-5642 (2007))。いくつかの実施形態では、アポトーシス細胞のクリアランスは、*in vivo* でのそのようなアポトーシス細胞クリアランスアッセイで測定されるように減少する。いくつかの実施形態では、抗体はリガンド媒介性 MerTK シグナル伝達を低下させる。いくつかの実施形態では、リガンドは hGAS6-Fc (EC50=約84 pM) である。いくつかの実施形態では、抗体は炎症誘発性応答を誘導する。いくつかの実施形態では、抗体は I 型 IFN 応答を誘導する。

【0278】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 MerTK 抗体は、アポトーシス細胞の食作用活性を約 10~100%、20~100%、30~100%、40~100%、50~100%、60~100%、70~100%、75~100%、80~100%、85~100%、90~100%、95~100%、10~95%、20~95%、30~95%、40~95%、50~95%、60~95%、70~95%、75~95%、80~95%、85~95%、90~95%、10~90%、20~90%、30~90%、40~90%、50~90%、60~90%、70~90%、75~90%、80~90%、85~90%、10~85%、20~85%、30~85%、40~85%、50~85%、60~85%、70~85%、75~85%、80~85%、10~80%、20~80%、30~80%、40~80%、50~80%、60~80%、70~80%、75~80%、10~75%、20~75%、30~75%、40~75%、50~75%、60~75%、70~75%、10~70%、20~70%、30~70%、40~70%、50~70%、60~70%、10~65%、20~65%、30~65%、40~65%、50~65%、60~65%、10~60%、20~60%、30~60%、40~60%、50~60%、10~55%、20~55%、30~55%、40~55%、50~55%、10~40%、20~40%、若しくは 30~40%、又は少なくとも約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 若しくは 99% 低下させる。いくつかの実施形態では、抗 MerTK 抗体は、アポトーシス細胞の食作用活性を低下させるための最大半量阻害濃度 (IC50) が約 1 pM~50 pM、1 pM~100 pM、1 pM~500 pM、1 pM~1 nM、1 pM~1.5 nM、5 pM~50 pM、5 pM~100 pM、5 pM~500 pM、5 pM~1 nM、5 pM~1.5 nM、10 pM~50 pM、10 pM~100 pM、10 pM~500 pM、10 pM~1 nM、10 pM~1.5 nM、50 pM~100 pM、50 pM~500 pM、50 pM~1 nM、50 pM~1.5 nM、100 pM~500 pM、100 pM~1 nM、又は 100 pM~1.5 nM である。食作用活性及び IC50 を決定するための例示的な方法は、本明細書中下記の実施例に記載される。

【0279】

特定の実施形態では、本開示の抗 MerTK 抗体は、チェックポイント阻害剤の活性を、約 1~2 倍、1~5 倍、1~10 倍、1~15 倍、1~20 倍、1~25 倍、1~30 倍、1~50 倍、1~75 倍、1~100 倍、1~150 倍、1~200 倍、1~250 倍、1.5~2 倍、1.5~5 倍、1.5~10 倍、1.5~15 倍、1.5~20 倍、1.5~25 倍、1.5~30 倍、1.5~50 倍、1.5~75 倍、1.5~100 倍

、1.5～150倍、1.5～200倍、1.5～250倍、2～5倍、2～10倍、2～15倍、2～20倍、2～25倍、2～30倍、2～50倍、2～75倍、2～100倍、2～150倍、2～200倍、2～250倍、2.5～5倍、2.5～10倍、2.5～15倍、2.5～20倍、2.5～25倍、2.5～30倍、2.5～50倍、2.5～75倍、2.5～100倍、2.5～150倍、2.5～200倍、2.5～250倍、5～10倍、5～15倍、5～20倍、5～25倍、5～30倍、5～50倍、5～75倍、5～100倍、5～150倍、5～200倍、5～250倍、10～15倍、10～20倍、10～25倍、10～30倍、10～50倍、10～75倍、10～100倍、10～150倍、10～200倍、10～250倍、20～25倍、20～30倍、20～50倍、20～75倍、20～100倍、20～150倍、20～200倍、20～250倍、25～30倍、25～50倍、25～75倍、25～100倍、25～150倍、25～200倍若しくは25～250倍、又は少なくとも約1倍、2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、75倍、80倍、90倍、100倍、125倍、150倍、200倍、225倍若しくは250倍増強する。特定の実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、チェックポイント阻害剤単独を使用した腫瘍体積の減少と比較して、例えば、抗MerTK抗体+チェックポイント阻害剤の組合せを使用したマウス腫瘍モデルにおける腫瘍体積の減少を判断することによって、本明細書中下記の実施例に記載されるアッセイを使用して判定されるチェックポイント阻害剤の活性を増強する。特定の実施形態では、腫瘍体積の減少は、治療剤による処置の少なくとも10日後、14日後、20日後、21日後又は30日後に測定される。特定の実施形態では、チェックポイント阻害剤は、抗PD1軸アンタゴニストである。例示的な一実施形態では、チェックポイント阻害剤は、抗PD-L1抗体である。別の実施形態では、チェックポイント阻害剤は抗PD1抗体である。

【0280】

いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、例えば、血液又は血漿試料中の無細胞DNA (cfDNA) 及び／又は循環腫瘍DNA (ctDNA) を、約1～2倍、1～3倍、1～4倍、1～5倍、1～10倍、1.5～2倍、1.5～3倍、1.5～4倍、1.5～5倍、1.5～10倍、2～3倍、2～4倍、2～5倍、2～10倍、3～5倍、3～10倍、4～5倍、4～10倍、5～10倍、又は少なくとも約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍又は10倍増加させる。特定の実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、例えば、血液又は血漿試料からcfDNA及び／又はctDNAを単離し、PCR及び定量的DNA電気泳動を使用してcfDNA及び／又はctDNAのレベルを検出することによって、本明細書中下記の実施例に記載されるアッセイを使用して決定されるように、無細胞DNA (cfDNA) 及び／又は循環腫瘍DNA (ctDNA) を増加させる。

【0281】

2. 抗体親和性及び特異性

特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗MerTK抗体は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 若しくは $\leq 0.001 \text{ nM}$ 、又は約 $1 \text{ pM} \sim 0.1 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ pM} \sim 0.2 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ pM} \sim 0.5 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ pM} \sim 1 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ pM} \sim 2 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ pM} \sim 5 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ pM} \sim 10 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ pM} \sim 15 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 0.1 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 0.2 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 0.5 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 1 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 2 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 5 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 10 \text{ nM}$ 、 $5 \text{ pM} \sim 15 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 0.1 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 0.2 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 0.5 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 1 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 2 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 5 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 10 \text{ nM}$ 、 $10 \text{ pM} \sim 15 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 0.1 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 0.2 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 0.5 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 1 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 2 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 5 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 10 \text{ nM}$ 、 $20 \text{ pM} \sim 15 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 0.1 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 0.2 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 0.5 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 1 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 2 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 5 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 10 \text{ nM}$ 、 $25 \text{ pM} \sim 15 \text{ nM}$ 、 $50 \text{ pM} \sim 0.1 \text{ nM}$ 、 $50 \text{ pM} \sim 0.2 \text{ nM}$ 、 $50 \text{ pM} \sim 0.5 \text{ nM}$ 、 $50 \text{ pM} \sim 1 \text{ nM}$ 、 $50 \text{ pM} \sim 2 \text{ nM}$ 、

50 pM~5 nM、50 pM~10 nM、50 pM~15 nM、100 pM~0.2 nM、100 pM~0.5 nM、100 pM~1 nM、100 pM~2 nM、100 pM~5 nM、100 pM~10 nM、又は100 pM~15 nMの解離定数 (K_d) を有する。特定の実施形態では、本明細書中に開示される抗MerTK抗体の K_d は、25℃において測定される。特定の実施形態では、本明細書中に開示される抗MerTK抗体の K_d は、37℃において測定される。

【0282】

一実施形態では、 K_d は、放射性標識抗原結合アッセイ (RIA) によって測定される。一実施形態では、RIAは、目的の抗体のFabバージョン及びその抗原を用いて実施される。例えば、抗原に対するFabの溶液結合親和性は、非標識抗原の滴定系の存在下で、最小濃度の (^{125}I) 標識抗原によりFabを平衡化し、次いで、結合した抗原を抗Fab抗体でコーティングしたプレートで捕捉することにより測定する (例えばChenら、J. Mol. Biol. 293: 865~881 (1999) を参照されたい)。アッセイの条件を確立するために、MICROTITER (登録商標) マルチウェルプレート (Thermo Scientific) を、50 mMの炭酸ナトリウム (pH 9.6) 中の $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ の捕捉用抗Fab抗体 (Cappel Labs) で一晚コーティングし、その後、PBS中の2% (w/v) ウシ血清アルブミンで2~5時間にわたって室温 (およそ23℃) で遮断する。非吸着性プレート (Nunc 番号269620) 中、100 pM又は26 pMの [^{125}I] - 抗原を、目的のFabの段階希釈液と混合する (例えば、Prestaら、Cancer Res. 57: 4593~4599 (1997) における抗VEGF抗体Fab-12の評価と一貫する)。その後、目的のFabを一晚インキュベートするが、インキュベーションをより長い期間 (例えば、約65時間) 続けて、平衡に達することを確実にすることができる。その後、室温でのインキュベーション (例えば、1時間) のために混合物を捕捉プレートに移す。次に、溶液を除去し、プレートを、PBS中0.1%のポリソルベート20 (TWEEN-20 (登録商標)) で8回洗浄する。プレートが乾燥したら、 $150\text{ }\mu\text{L}$ /ウェルのシンチラント (scintillant) (MICROSCINT-20 (商標)、Packard) を付加し、プレートをTOPCOUNT (商標) ガンマ計数器 (Packard) 上で10分間、計数する。最大結合の20%以下をもたらす各Fabの濃度が、競合結合アッセイでの使用のために選択される。

【0283】

別の実施形態よれば、 K_d は、BIACORE (登録商標) 表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。例えば、BIACORE (登録商標) -2000又はBIACORE (登録商標) -3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) を用いたアッセイは、固定化抗原CM5チップを用いて25℃で約10応答単位 (RU) で実施する。一実施形態では、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ (CM5, BIACORE, Inc.) を、供給業者の指示に従ってN-エチル-N'- (3-ジメチルアミノプロピル) -カルボジイミド塩酸塩 (EDC) 及びN-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) を用いて活性化する。抗原を10 mM酢酸ナトリウム (pH 4.8) で $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ (約0.2 μM) に希釈した後、 $5\text{ }\mu\text{L}$ /分の流量で注入し、結合タンパク質のおよそ10応答単位 (RU) を達成する。抗原の注入後、1 Mのエタノールアミンを注入して未反応基を遮断する。キネティクス測定のために、Fab (0.78 nM~500 nM) の2倍の段階希釈物を、およそ25 μL /分の流量で25℃で0.05%ポリソルベート20 (TWEEN-20 (商標)) 界面活性剤 (PBST) を含むPBSに注入する。会合速度 (k_{on}) 及び解離速度 (k_{off}) を、単純な1対1Langmuir結合モデル (BIACORE (登録商標) Evaluation Software 第3.2版) を使用して、会合センサグラム及び解離センサグラムを同時に適合することによって、算出する。平衡解離定数 (K_d) は、 k_{off}/k_{on} 比として計算される。例えば、Chenら、J. Mol. Biol. 293: 865~881 (1999) を参照されたい。上述の表面プラズモン共鳴アッセイによりオン速度が $106\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$

1を超える場合、オン速度を、ストップフローを装備した分光測色計（Aviv Instruments）又は攪拌キュベットを有する8000シリーズSLM-AMINCO（商標）分光測色計（ThermoSpectronic）等の分光計で測定される抗原の増加した濃度の存在下でPBS（pH7.2）中20nMの抗抗原抗体（Fab形態）の25℃での蛍光発光強度（励起=295nm、発光=340nm、16nm帯域通過）の増加又は減少を測定する蛍光クエンチ技法を使用することによって決定することができる。

【0284】

特定の実施形態では、本明細書に開示される抗MerTK抗体は、ヒトMerTK、カニクイザルMerTK、マウスMerTK及び／又はラットMerTKの1つ以上に結合する。一実施形態では、本明細書に開示される抗MerTK抗体は、ヒトMerTKに特異的に結合する。一実施形態では、本明細書に開示される抗MerTK抗体は、ヒトMerTK又はカニクイザルMerTKに特異的に結合する。一実施形態では、本明細書に開示される抗MerTK抗体は、ヒトMerTK及びマウスMerTKに特異的に結合する。一実施形態では、本明細書に開示される抗MerTK抗体は、ヒトMerTK、カニクイザルMerTK、及びマウスMerTKに特異的に結合する。一実施形態では、本明細書に開示される抗MerTK抗体は、ヒトMerTK、カニクイザルMerTK、マウスMerTK及びラットMerTKに結合する。一実施形態では、本明細書に開示される抗MerTK抗体は、マウスMerTKに特異的に結合する。

【0285】

特定の実施形態では、本明細書中に開示される抗MerTK抗体は、MerTKのIg様ドメインに結合する。一実施形態では、MerTKのIg様ドメインに結合する抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129のアミノ酸残基76～195に対応するIg様ドメイン中の1つ以上のアミノ酸残基に結合し、例えば、抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129の残基76～195の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9若しくは10個のアミノ酸又は1～2、1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9若しくは1～10個のアミノ酸残基に結合する。一実施形態では、MerTKのIg様ドメインに結合する抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129のアミノ酸残基199～283に対応するIg様ドメイン中の1つ以上のアミノ酸残基に結合し、例えば、抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129の残基199～283の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9若しくは10個のアミノ酸又は1～2、1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9若しくは1～10個のアミノ酸残基に結合する。

【0286】

特定の実施形態では、本明細書中に開示されるような抗MerTK抗体は、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する。一実施形態では、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129のアミノ酸残基286～384に対応するフィブロネクチン様ドメイン中の1つ以上のアミノ酸残基に結合し、例えば、抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129の残基286～384の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個のアミノ酸又は1～2、1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9、若しくは1～10個のアミノ酸残基に結合する。一実施形態では、MerTKのフィブロネクチン様ドメインに結合する抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129のアミノ酸残基388～480に対応するフィブロネクチン様ドメイン中の1つ以上のアミノ酸残基に結合し、例えば、抗MerTK抗体は、MerTK配列番号129の残基388～480の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10個のアミノ酸又は1～2、1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9、若しくは1～10個のアミノ酸残基に結合する。

【0287】

例示的な実施形態では、本明細書中に開示される抗MerTK抗体は、ヒト及びカニク

イザルのMerTKのIg様ドメインに結合する。一実施形態では、そのような抗体は、ほぼ同じである37℃でのKdでヒト及びカニクイザルのMerTKに結合し、例えば、抗体は、ヒトMerTKについての37℃での抗体のKdと10%、15%又は20%以下で異なるKdで37℃でカニクイザルMerTKに結合する。特定の実施形態では、そのような抗体は、マウス及びラットのMerTKについての37℃での抗体のKdよりも少なくとも20倍、25倍又は50倍良好である37℃でのKdでヒト及びカニクイザルのMerTKに結合する。

【0288】

3. 抗体断片

特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗MerTK抗体は、抗体断片である。抗体断片としては、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab₂)Fv、及びscFv断片、及び以下に記載する他の断片が挙げられるがこれらに限定されない。特定の抗体断片の総説としては、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)を参照されたい。scFv断片の参照には、例えばThe Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)中のPluckthunを参照されたい；また、国際公開第93/16185号；並びに米国特許第5,571,894号及び同第5,587,458号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、in vivoでの半減期が長くなったFab及びF(ab')₂断片の説明については、米国特許第5,869,046号を参照されたい。

【0289】

ダイアボディとは、二価又は二重特異性であることができる、2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第404,097号、国際公開第1993/01161号、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)；及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディはまた、Hudsonら、Nat. Med. 9:129-134 (2003)においても記載されている。

【0290】

シングルドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部又は軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。ある特定の実施形態では、シングルドメイン抗体は、ヒトシングルドメイン抗体(Domantis, Inc., Waltham, MA；例えば、米国特許第6,248,516B1号を参照されたい)である。

【0291】

抗体断片は、本明細書に記載されているように、インタクトな抗体のタンパク質分解消化、及び組換え宿主細胞(例えば、大腸菌(E. coli)又はファージ)による生産を含むがこれらに限定されない様々な技術によって作製することができる。

【0292】

4. キメラ抗体及びヒト化抗体

特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗MerTK抗体は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号；及びMorrisson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)に記載されている。一例では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域(例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又は非ヒト霊長類、例えば、サル由来の可変領域)及びヒト定常領域を含む。更なる例では、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のそれらから変更されている「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

【0293】

ある特定の実施形態では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体

10

20

30

40

50

は、ヒトに対する免疫原性を低減する一方で、親非ヒト抗体の特異性及び親和性は保持するようにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば、CDR（又はその一部）が非ヒト抗体由来であり、かつFR（又はその一部）がヒト抗体配列由来である1つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、任意に、ヒト定常領域の少なくとも一部も含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体のいくつかのFR残基は、例えば、抗体特異性又は親和性を回復するか、又は改善するために、非ヒト抗体（例えば、HVR残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換されている。

【0294】

ヒト化された抗体及びその作製方法については、Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) で総説され、更に以下に記載される：Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988)；Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；米国特許第5,821,337号、同第7,527,791号、同第6,982,321号及び同第7,087,409号；Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005)（特異性決定領域（SDR）グラフトの記述）；Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991)（リサーフェシングについての記述）；Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005)（FRシャッフルについての記述）；並びにOsbourne et al., *Methods* 36:61-68 (2005) 及びKlimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000)（FRシャッフルの「ガイド付き選択アプローチの記述」）。

【0295】

ヒト化のために使用され得るヒトフレームワーク領域としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：「ベストフィット」法を用いて選択されたフレームワーク領域（例えば、Sims et al., *J. Immunol.* 151:2296 (1993) を参照されたい）；軽鎖又は重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)；及びPresta et al., *J. Immunol.*, 151:2623 (1993) を参照されたい）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域又はヒト生殖細胞フレームワーク領域（例えば、Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) を参照されたい）；並びにFRライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 及びRosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996) を参照されたい）。

【0296】

5. ヒト抗体

特定の実施形態では、本明細書中に提供される抗MerTK抗体はヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を使用して作製され得る。ヒト抗体は一般的に、van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001) 及びLonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008) に記載されている。

【0297】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答して、インタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を有するインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製することができる。そのような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座に取って代わるか、又は染色体外に存在するか、又は動物の染色体にランダムに組み込まれるヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含有する。そのようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、一般的に不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については

、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005) を参照されたい。また、例えば、XENOMOUSE (商標) 技術を記載する米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号; HuMab (登録商標) 技術を記載する米国特許第5,770,429号; K-M MOUSE (登録商標) 技術を記載する米国特許第7,041,870号; 及び、VelociMouse (登録商標) 技術を記載する米国特許出願公開第2007/0061900号も参照されたい。このような動物によって生成されたインタクトな抗体からのヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、更に改変されてもよい。

【0298】

ヒト抗体は、ハイブリドーマに基づく方法によっても作製することができる。ヒトモノクローナル抗体を産生するためのヒト骨髓腫細胞株及びマウス-ヒト異種骨髓腫細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及びBoerner et al., J. Immunol., 147:86 (1991) を参照されたい)。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体もまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006) に記載されている。更なる方法は、例えば、米国特許第7,189,826号(ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載する)、及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (ヒト-ヒトハイブリドーマを記載する) を含む。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術) はまた、Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 及びVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005) にも記載されている。

【0299】

ヒト抗体は、ヒト由来のファージディスプレイライブラリから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによっても作製され得る。その後、そのような可変ドメイン配列は、所望のヒト定常ドメインと組み合わせられ得る。抗体ライブラリからヒト抗体を選択する技術は以下に記載される。

【0300】

6. ライブラリ由来の抗体

本発明の抗MerTK抗体は、所望の活性(複数可)を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることによって単離され得る。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてそのようなライブラリをスクリーニングするための様々な方法が当技術分野で知られている。そのような方法については、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) で概説し、McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004); 及びLee

10

20

30

40

50

et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2): 119-132 (2004) に更に記載されている。

【0301】

ある特定のファージディスプレイ法では、VH及びVL遺伝子のレパートリは、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって別個にクローニングされ、ファージライブラリ中でランダムに再結合され、次いで、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994) に記載されているように抗原結合ファージのスクリーニングを行うことができる。ファージは、典型的には、抗体断片を一本鎖Fv（scFv）断片又はFab断片のいずれかとしてディスプレイする。免疫源からのライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。代替的に、ナイーブレパートリは、Griffiths et al., EMBO J., 12: 725-734 (1993) によって記載されているように、免疫化を行わずに、広範囲の非自己抗原及びまた自己抗原に対する抗体の単一の供給源を提供するために、（例えば、ヒトから）クローン化することができる。最後に、ナイーブライブラリは、幹細胞から再配列されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダムな配列を含むPCRプライマーを使用して、非常に可変的なCDR3領域をコードし、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992) に記載されているように、in vitroで再配列を達成することによって、合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリについて記載する特許公報としては、例えば：米国特許第5,750,373号、並びに米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号、及び同第2009/0002360号が挙げられる。

【0302】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体又は抗体断片は、本明細書ではヒト抗体又はヒト抗体断片とみなされる。

【0303】

7. 多重特異性抗体

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗MerTK抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。特定の実施形態では、結合特異性の一方は、MerTKに対するものであり、他方は、任意の他の抗原に対するものである。特定の実施形態では、二重特異性抗体は、MerTKの2つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体を使用して、MerTKを発現する細胞に細胞傷害性薬剤を局在化することもできる。二重特異性抗体は、完全長抗体又は抗体断片として調製され得る。

【0304】

多重特異性抗体を作製する技術には、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組換え共発現（Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)、国際公開第93/08829号、及びTraunecker et al., EMBO J., 10: 3655 (1991) を参照されたい）、及び「ノブ・イントゥ・ホール」操作（例えば、米国特許第5,731,168号を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。多重特異性抗体は、抗体Fc-ヘテロ二量体分子を作製するための静電気ステアリング（electrostatic steering）作用の操作（国際公開第2009/089004A1号）；2つ以上の抗体又は断片の架橋（例えば、米国特許第4,676,980号、及びBrennan et al., Science, 229: 81 (1985) を参照されたい）；二重特異性抗体を産生するためのロイシンジッパーの使用（例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148 (5): 1547-1553 (1992) を参照されたい）；二重特異性抗体断片を作製するための「ダイアボディ」技術の使用（例えば、Hollinge

r et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)) ; 並びに単鎖Fv (sFv) 二量体の使用 (例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994) を参照されたい) ; 並びに、例えば、Tutt et al. J. Immunol. 147:60 (1991) に記載されるように作ることができる。

【0305】

「オクトパス抗体」を含む3つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体も本明細書に含まれる (例えば、米国特許出願公開第2006/0025576号A1を参照されたい)。

【0306】

本明細書の抗体又は断片には、MerTK並びに別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む「二重作用 (Dual Acting) FAb」又は「DAF」も含まれる (例えば、米国特許出願公開第2008/0069820号を参照されたい)。

【0307】

8. 抗体バリエーション

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗MerTK抗体のアミノ酸配列バリエーションが企図される。例えば、抗MerTK抗体の結合親和性及び／又は他の生物学的特性を向上させることが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列バリエーションは、抗体をコードするヌクレオチド配列中に適正な修飾を導入することによって、又はペプチド合成によって調製されてもよい。このような改変としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／又は抗体のアミノ酸配列内の残基への挿入、及び／又は抗体のアミノ酸配列内の残基の置換が挙げられる。欠失、挿入及び置換の任意の組み合わせは、最終構築物が、所望の特徴 (例えば、抗原結合) を有する限り、最終構築物に到達するように行うことができる。

【0308】

a) 置換、挿入、及び欠失バリエーション

ある特定の実施形態では、1つ以上のアミノ酸置換を有する抗体バリエーションが提供される。置換による変異誘発に関して目的の部位には、HVR及びFRが含まれる。保存的置換は、表1において「好ましい置換」の見出しの下に示される。より実質的な変化を表1に「例示的置換」の見出しの下に示し、またアミノ酸側鎖クラスに関して下に更に記載する。アミノ酸置換が目的とする抗体に導入され、生成物が所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の低減、又はADCC又はCDCの改善についてスクリーニングされ得る。

10

20

30

40

50

【表 1】

オリジナル残基	例示置換	好ましい置換
A l a (A)	V a l ; L e u ; I l e	V a l
A r g (R)	L y s ; G l n ; A s n	L y s
A s n (N)	G l n ; H i s ; A s p , L y s ; A r g	G l n
A s p (D)	G l u ; A s n	G l u
C y s (C)	S e r ; A l a	S e r
G l n (Q)	A s n ; G l u	A s n
G l u (E)	A s p ; G l n	A s p
G l y (G)	A l a	A l a
H i s (H)	A s n ; G l n ; L y s ; A r g	A r g
I l e (I)	L e u ; V a l ; M e t ; A l a ; P h e ; ノルロイシン	L e u
L e u (L)	ノルロイシン ; I l e ; V a l ; M e t ; A l a ; P h e	I l e
L y s (K)	A r g ; G l n ; A s n	A r g
M e t (M)	L e u ; P h e ; I l e	L e u
P h e (F)	T r p ; L e u ; V a l ; I l e ; A l a ; T y r	T y r
P r o (P)	A l a	A l a
S e r (S)	T h r	T h r
T h r (T)	V a l ; S e r	S e r
T r p (W)	T y r ; P h e	T y r
T y r (Y)	T r p ; P h e ; T h r ; S e r	P h e
V a l (V)	I l e ; L e u ; M e t ; P h e ; A l a ; ノルロイシン	L e u

【0309】

アミノ酸は、一般的な側鎖特性に従って分類され得る。

- (1) 疎水性：ノルロイシン、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e；
- (2) 中性親水性：C y s、S e r、T h r、A s n、G l n；
- (3) 酸性：A s p、G l u、
- (4) 塩基性：H i s、L y s、A r g、
- (5) 鎖配向に影響を及ぼす残基：G l y、P r o、
- (6) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

【0310】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

【0311】

一種の置換バリエーションは、親抗体（例えば、ヒト化抗体又はヒト抗体）の1つ以上の超可変領域残基の置換を伴う。一般に、更なる試験ために選択される結果として生じるバリエーション（複数可）は、親抗体と比較して特定の生物学的特性（例えば、親和性の増加、免疫原性の低減）の修正（例えば、改善）を有し、かつ／又は実質的に保持された親抗体の特定の生物学的特性を有する。例示的な置換バリエーションは、親和性成熟した抗体であり、例えば、本明細書に記載されるようなファージディスプレイに基づく親和性成熟技法を使用して、簡便に生成され得る。簡潔には、1つ以上のHVR残基が変異され、バリエーション抗体がファージ上に提示され、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

【0312】

変更（例えば、置換）は、抗体親和性を改善するために、例えば、HVRにおいて行われてもよい。そのような改変は、HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を受けるコドンによってコードされる残基（例えば、Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008) を参照されたい）、及び／又は抗原と接触する残基内で行われ得、結果として得られるバリエーションVH又はVLが結合親和性について試験される。二次ライブラリーの構築及びそこからの再選択による親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)) に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、多様性が、様々な方法（例えば、エラー・プローンPCR、鎖シャフリング、又はオリゴヌクレオチド指向性変異誘発）のうちのいずれかによって、成熟させるために選択された可変遺伝子に導入される。その後、二次ライブラリが作製される。その後、このライブラリがスクリーニングされて、所望の親和性を有する任意の抗体バリエーションを特定する。多様性を導入するための別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、一度に4～6個の残基）をランダム化する、HVR指向性アプローチを含む。抗原結合に関与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発又はモデリングを使用して、特異的に特定され得る。特にCDR-H3及びCDR-L3が標的とされることが多い。

【0313】

特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、このような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、1つ以上のHVR内で生じ得る。例えば、結合親和性を実質的に低下させない保存的改変（例えば、本明細書に提供される保存的置換）が、HVR中で行われてよい。そのような変化は、例えば、HVR内の抗原接触残基の外側であり得る。上に提供されるバリエーションVH及びVL配列の特定の実施形態では、各HVRは、変化していないか、又は1つ、2つ若しくは3つ以下のアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。

【0314】

突然変異誘発を標的とし得る抗体の残基又は領域の同定のための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085 によって記載されるように、「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、抗体と抗原の相互作用が影響を受けるかどうかを決定するために、残基又は標的残基群（例えば、荷電残基、例えば、arg、asp、his、lys及びglu）が同定され、中性又は負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）によって置き換えられる。更なる置換が、初期置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸位置に導入されてもよい。あるいは、又は加えて、抗体と抗原との間の接点を特定するための抗原-抗体複合体の結晶構造。そのような接触残基及び隣接残基は、置換の候補として標的とされるか、又は除去されてもよい。バリエーションは、所望の特性を有するか否かを判定するためにスクリーニングされてもよい。

【0315】

アミノ酸配列挿入には、1個の残基から100個以上の残基を含むポリペプチドまでの長さの範囲のアミノ末端及び／又はカルボキシル末端融合、並びに1個又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入バリエーションには、抗体のN末端又はC末端と酵素（例えば、ADEPTの場合）又は抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドとの融合が含まれる。

【0316】

b) グリコシル化バリエーション

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗MerTK抗体は、抗体がグリコシル化されている程度を増加又は減少させるように変化する。抗体へのグリコシル化部位の付加又は欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が作り出されるか、又は除去されるように

アミノ酸配列を改変させることにより好都合に達成され得る。

【0317】

抗体がFc領域を含む場合、それに付着した炭水化物が改変され得る。哺乳動物細胞によって産生された天然抗体は、典型的には、N結合によってFc領域のCH2ドメインのAsn297に一般に付着される分岐状の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al., *TIBTECH* 15:26-32 (1997) を参照されたい。オリゴ糖は、マンノース、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトース及びシアル酸等の種々の炭水化物を含んでいてもよく、二分岐オリゴ糖構造の「幹」にあるGlcNAcに付着したフコースを含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、特定の改善された特性によって抗体バリエーションを作製するために、本発明の抗体中にオリゴ糖の修飾が行われ得る。

10

【0318】

一実施形態では、Fc領域に（直接的又は間接的に）付着したフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体バリエーションが提供される。例えば、そのような抗体内のフコースの量は、1%~80%、1%~65%、5%~65%又は20%~40%であり得る。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されるように、MALDI-TOF質量分析法によって測定する場合、Asn297に付着した全ての糖鎖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計と比較した、Asn297における糖鎖内のフコースの平均量を算出することによって決定される。Asn297とは、Fc領域内の約297位（Fc領域残基のEuナンバリング）に位置するアスパラギン残基を指すが、Asn297は、抗体内のわずかな配列変異のため、297位から約±3アミノ酸上流又は下流に、すなわち、294位と300位との間に位置し得る。このようなフコシル化バリエーションは、改善されたADCC機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号（Presta, L.）；同第2004/0093621号（Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd）を参照されたい。「脱フコシル化」又は「フコース欠乏」抗体バリエーションに関する刊行物の例としては：米国特許出願公開第2003/0157108号；国際公開第2000/61739号；同第2001/29246号；米国特許出願公開第2003/0115614号；同第2002/0164328号；同第2004/0093621号；同第2004/0132140号；同第2004/0110704号；同第2004/0110282号；同第2004/0109865号；国際公開第2003/085119号；同第2003/084570号；同第2005/035586号；同第2005/035778号；同第2005/053742号；同第2002/031140号；Okazaki et al., *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004) が挙げられる。デフコシル化抗体を産生することができる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化を欠損するLec13 CHO細胞（Ripka et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)）；米国特許出願公開第2003/0157108号A1, Presta, L.；及び国際公開第2004/056312号A1, Adams et al., 特に実施例11）、及びノックアウト細胞株、例えばα-1,6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞（例えば、Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004)；Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)；及び国際公開第2003/085107号を参照されたい）。

20

30

40

【0319】

例えば、抗体のFc領域に付着した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分されている二分オリゴ糖を有する抗体バリエーションが更に提供される。そのような抗体バリエーションは、低減されたフコシル化及び／又は改善されたADCC機能を有し得る。そのような抗体バリエーションの例は、例えば、国際公開第2003/011878（Jean-Mair

50

et al.) ; 米国特許第 6, 602, 684 号 (Umana et al.) ; 及び米国特許出願公開第 2005/0123546 号 (Umana et al.) に記載されている。Fc 領域に付着したオリゴ糖の少なくとも 1 つのガラクトース残基を有する抗体バリエーションも提供される。そのような抗体バリエーションは、改善された CDC 機能を有し得る。そのような抗体バリエーションは、例えば、国際公開第 1997/30087 号 (Patel et al.) ; 国際公開第 1998/58964 号 (Raju, S.) ; 及び国際公開第 1999/22764 号 (Raju, S.) に記載されている。

【0320】

c) Fc 領域バリエーション

特定の実施形態では、1 つ以上のアミノ酸改変が本明細書に提供される抗 MerTK 抗体の Fc 領域に導入され、それにより、Fc 領域バリエーションが作製され得る。Fc 領域バリエーションは、1 つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸改変 (例えば、置換) を含むヒト Fc 領域配列 (例えば、ヒト IgG1、IgG2、IgG3、又は IgG4 Fc 領域) を含み得る。

【0321】

ある特定の実施形態では、本発明は、全てではないが一部のエフェクタ機能を有し、それにより *in vivo* での抗体の半減期が重要であるが、特定のエフェクタ機能 (例えば、補体及び ADCC 等) が不要又は有害である用途にとって望ましい候補となる、抗体バリエーションを企図する。*in vitro* 及び/又は *in vivo* 細胞傷害性アッセイを行って、CDC 及び/又は ADCC 活性の低減/欠乏を確認することができる。例えば、Fc 受容体 (FcR) 結合アッセイを実行して、抗体が FcγR 結合を欠いている (そのため、ADCC 活性を欠いている可能性が高い) が、FcRn 結合能力を保持することを確認することができる。ADCC を媒介するための主要な細胞である NK 細胞は、FcγRIII のみを発現するが、一方で単球は、FcγRI、FcγRII、及び FcγRIII を発現する。造血細胞における FcR の発現については、Ravetch and Kinetic, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991) の 464 頁の表 3 に要約されている。目的の分子の ADCC 活性を評価するための *in vitro* アッセイの非限定的な例は、米国特許第 5, 500, 362 号 (例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986) を参照されたい) 、及び Hellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985) ; 5, 821, 337 (Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987) を参照されたい) に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ方法を使用してもよい (例えば、フローサイトメトリー (Cell Technology, Inc. Mountain View, CA) のための ACTI (商標) 非放射性細胞傷害性アッセイ、及び CytoTox 96 (登録商標) 非放射性細胞傷害性アッセイ (Promega, Madison, WI)) 。かかるアッセイに有用なエフェクタ細胞としては、末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cell: PBMC) 及びナチュラルキラー (Natural Killer: NK) 細胞が挙げられる。代替的又は追加的に、関心のある分子の ADCC 活性は、*in vivo* 、例えば、Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998) に開示されているような動物モデルで評価することができる。また、抗体が C1q に結合することができず、CDC 活性を欠いていることを確認するために、C1q 結合アッセイを実施してもよい。例えば、国際公開第 2006/029879 号及び国際公開第 2005/100402 号における、C1q 及び C3c 結合 ELISA を参照されたい。補体活性化を評価するために、CDC アッセイを行うことができる (例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996) ; Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003) ; 及び Cragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)) 。

10

20

30

40

50

4)を参照されたい)、FcRn結合及びin vivoクリアランス／半減期の判定はまた、当該技術分野で公知の方法を使用して行うことができる(例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18 (12): 1759-1769 (2006)を参照されたい)。

【0322】

エフェクタ機能が低下した抗体としては、Fc領域の残基238、265、269、270、297、327及び329において1つ以上の置換を含むものが挙げられる(米国特許第6,737,056号)。そのようなFc突然変異体には、アミノ酸位置265、269、270、297及び327のうちの2つ以上に置換を有するFc突然変異体が挙げられ、残基265及び297がアラニンに置換されている、いわゆる「DANA」Fc突然変異体が含まれる(米国特許第7,332,581号)。

10

【0323】

FcRに対する結合が改善又は減少したある特定の抗体バリエーションが記載される。(例えば、米国特許第6,737,056号；国際公開第2004/056312号、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9 (2): 6591-6604 (2001)を参照されたい。)

【0324】

特定の実施形態では、抗体バリエーションは、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298、333、及び／又は334位(残基のEUナンバリング)での置換を有するFc領域を含む。

20

【0325】

いくつかの実施形態では、例えば、米国特許第6,194,551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al., J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)に記載されているように、C1q結合及び／又は補体依存性細胞傷害性(CDC)の変化(すなわち向上又は減少のいずれか)をもたらすFc領域内で改変を行う。

【0326】

半減期が増大し、胎生Fc受容体(FcRn)への結合が向上した、母体IgGを胎児に移行する役割を果たす抗体(Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976) and Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994))は、米国特許出願公開第2005/0014934A1号(Hinton et al.)に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を改善する一又は複数の置換を有するFc領域を含む。かかるFcバリエーションは、1つ以上のFc領域残基: 238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424又は434における置換、例えばFc領域残基434の置換を伴うものを含む(米国特許第7,371,826号)。

30

【0327】

Fc領域バリエーションの他の例に関しては、Duncan & Winter, Nature 322: 738-40 (1988)、米国特許第5,648,260号、米国特許第5,624,821号、及び国際公開第94/29351号も参照されたい。

40

【0328】

例示的な実施形態では、本明細書中に開示される抗MerTK抗体は、Fc領域にLALPG変異を含む。

【0329】

d) システイン操作抗体バリエーション

ある特定の実施形態では、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されているシステイン操作抗体、例えば、「チオマブ(thioMAb)」を作成することが望ましい場合がある。特定の実施形態では、置換残基は、抗体の接近可能な部位で生じる。これらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗体のア

50

クセス可能な部位に配置され、本明細書に更に記載されるように、抗体を薬物部分又はリンカー薬物部分といった他の部分にコンジュゲートさせて免疫コンジュゲートを作成するために使用することができる。特定の実施形態では、以下の残基の任意の1つ以上が、システインで置換されていてもよい。軽鎖のV205（Kababナンバリング）、重鎖のA118（EUNナンバリング）、及び重鎖Fc領域のS400（EUNナンバリング）。システイン操作抗体は、例えば、米国特許第7,521,541号に記載されるように生成され得る。

【0330】

e) 抗体誘導体

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗MerTK抗体は、当技術分野で公知であり、容易に入手可能な更なる非タンパク質性部分を含有するように更に改変され得る。抗体の誘導体化に適した部分としては、限定されないが、水溶性ポリマーが挙げられる。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、限定されないが、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリー１，３-ジオキソラン、ポリー１，３，６-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマー又はランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストラン又はポリ（*n*-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、及びこれらの混合物が挙げられる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性のため、製造時に有利であり得る。ポリマーは、任意の分子量であってもよく、分岐していても、分岐していなくてもよい。抗体に付着しているポリマーの数は様々であり、複数のポリマーが付着している場合には、それらは同じ分子であっても、異なった分子であってもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／又は種類は、改善される抗体の具体的な特性又は機能、抗体の誘導体が規定の状態下である療法で使用されるか等を含むが、これらに限定されない検討事項に基づいて決定され得る。

【0331】

別の実施形態では、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る抗体及び非タンパク質性部分のコンジュゲートが提供される。一実施形態では、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである（Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:11600-11605 (2005)）。放射線は、任意の波長であってもよく、通常の細胞に害を与えないが、抗体-非タンパク質性部分に近位の細胞が死滅する温度まで非タンパク質性部位を加熱する波長を含むが、これらに限定されない。

【0332】

B. 組換え方法及び組成物

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載される組換え法及び組成物を使用して生成されてもよい。一実施形態では、本明細書に記載される抗MerTK抗体をコードする単離された核酸が提供される。このような核酸は、VLを含むアミノ酸配列及び／又は抗体のVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／又は重鎖）をコードし得る。更なる実施形態では、そのような核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。更なる実施形態では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施形態では、宿主細胞は以下を含む（例えば、以下を用いて形質転換されている）：（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列と、抗体のVHを含むアミノ酸配列とをコードする核酸を含むベクター、又は（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクター、及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクター。一実施形態では、宿主細胞は、真核生物のもの、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞又はリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。一実施形態では、抗MerTK抗体を作製する方法であって、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意に、

抗体を宿主細胞（又は宿主細胞培養物）から回収することを含む、方法が提供される。

【0333】

抗MerTK抗体の組換え産生のために、例えば、上述のもの等の抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内での更なるクローニング及び／又は発現のために、1つ以上のベクター中に挿入される。このような核酸は、従来の手順を用い（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することが可能なオリゴヌクレオチドプローブを用いることによって）、容易に単離され、配列決定されてもよい。

【0334】

抗体コード化ベクターのクローニング又は発現のための好適な宿主細胞には、本明細書に記載の原核細胞又は真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特に、グリコシル化及びエフェクタ機能が必要とされていない場合には、細菌中で産生されてもよい。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号、及び同第5,840,523号を参照。（*E. coli*における抗体断片の発現を記載するCharlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254も参照されたい）発現後、本発明の抗体は、細菌細胞ペーストから可溶性画分で単離されてもよく、更に精製されてもよい。

【0335】

原核生物に加えて、糸状菌や酵母等の真核生物は、抗体をコードするベクターのクローニング又は発現宿主として適しており、その中には、グリコシル化経路が「ヒト化」された菌株や酵母株が含まれ、その結果、部分的又は完全にヒトのグリコシル化パターンを有する抗体が産生される。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004), and Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)を参照されたい。

【0336】

また、グリコシル化抗体を発現させるのに適した宿主細胞は、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）に由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物細胞及び昆虫細胞が挙げられる。多数のバキュロウイルス株が同定されており、昆虫細胞と組み合わせて使用することができ、特にスポドプテラ・フルギペルダ (*Spodoptera frugiperda*) 細胞のトランスフェクションに使用することができる。

【0337】

植物細胞培養物も、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、及び同第6,417,429号（トランスジェニック植物で抗体を産生するためのPLANTIBODIES（商標）技術を記載）を参照されたい。

【0338】

脊椎動物細胞も、宿主として使用されてもよい。例えば、懸濁物中で成長するように適合した哺乳動物細胞株が有用な場合がある。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40 (COS-7) により形質転換されたサル腎臓CV1株；ヒト胚性腎臓株（例えば、Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)）エラー！ブックマークが定義されていません。に記載される293又は293細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞 (BHK)；マウスセルトリ細胞（例えば、Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980) エラー！ブックマークが定義されていません。に記載されるTM4細胞）；サル腎臓細胞 (CV1)；アフリカ緑猿腎臓細胞 (VERO-76)；ヒト子宮頸癌細胞 (HELA)；イヌ腎臓細胞 (MDCK)；水牛ラット肝臓細胞 (BRL 3A)；ヒト肺細胞 (W138)；ヒト肝細胞 (Hep G2)；マウス乳腺腫瘍 (MMT 060562)；例えば、Mather et al., *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)に記載されるTRI細胞；MRC 5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、

DHFR-CHO細胞 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)) を含むチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、並びにY0、NS0、及びSp2/0等の骨髓腫細胞株が挙げられる。抗体産生に好適なある特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), p. 255-268 (2003)、

【0339】

C. アッセイ

本明細書に提供される抗MerTK抗体は、それらの物理的／化学的特性及び／又は生物活性について、当該技術分野で既知の様々なアッセイによって、特定され得るか、スクリーニングされ得るか、又は特徴付けられ得る。

【0340】

一態様では、本発明の抗体を、例えばELISA、ウエスタンブロット等の公知の方法によって、その抗原結合活性について試験する。

【0341】

別の態様では、競合アッセイを使用して、MerTKへの結合について本明細書に開示される抗MerTK抗体の1つ以上と競合する抗体を同定することができる。特定の実施形態では、そのような競合する抗体は、本明細書に開示される1つ以上の抗MerTK抗体によって結合される同じエピトープ（例えば、直線状又は立体配座エピトープ）に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的方法が、Morris (1996) ' ' Epitope Mapping Protocols, ' ' in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) に提供されている。

【0342】

例示的な競合アッセイでは、固定化されたMerTKが、MerTKに結合する第1の標識抗体と、MerTKへの結合について第1の抗体と競合するその能力について試験されている第2の未標識抗体とを含む溶液中で、インキュベートされる。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在し得る。対照として、固定化されたMerTKを、第1の標識抗体を含むが第2の非標識抗体を含まない溶液中でインキュベートする。MerTKへの第1の抗体の結合を許容する条件下でのインキュベーション後に、結合していない過剰な抗体を除去し、固定化MerTKと会合した標識の量を測定する。固定したMerTKと関係する標識の量が、対照試料と比較して検査試料中で実質的に低減した場合、そのことは、第2の抗体がMerTKへの結合について第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY) を参照されたい。

【0343】

別の態様では、生物学的活性を有するその抗MerTK抗体を特定するためのアッセイが提供される。生物学的活性には、例えば、MerTK媒介食作用活性の低下、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスの低下、及び／又はチェックポイント阻害剤の腫瘍免疫原性の増強が含まれ得る。in vivo及び／又はin vitroでこのような生体活性を有する抗体も提供される。

【0344】

特定の実施形態では、本発明の抗体は、かかる生物学的活性について試験される。そのような生物学的活性を測定するのに適したアッセイの例は、以下の例示の節を含めて、本明細書中に更に記載される。

【0345】

D. 免疫コンジュゲート

本発明はまた、化学療法剤若しくは化学療法薬、成長阻害剤、毒素（例えば、タンパク

10

20

30

40

50

質毒素、細菌真菌、植物、若しくは動物起源の酵素活性毒素、若しくはそれらの断片）、又は放射性同位体等の1つ以上の細胞傷害性薬剤と複合された本明細書における抗MerTK抗体を含む、免疫コンジュゲートを提供する。

【0346】

一実施形態では、免疫コンジュゲートは、抗体が、メイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号及び欧州特許第0425235号を参照されたい）；モノメチルオーリスタチン薬物部位DE及びDF（MMAE及びMMAF）等のオーリスタチン（米国特許第5,635,483号及び同第5,780,588号、及び同第7,498,298号を参照されたい）；ドラスタチン；カリケアマイシン又はその誘導体（米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,710号、同第5,773,001号及び同第5,877,296号；Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)；及びCancer Res. 58:2925-2928 (1998)を参照されたい）；ダウノマイシン又はドキソルピシン等のアントラサイクリン（Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006)；Jeffrey et al., Bioorganic&Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006)；Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005)；Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000)；Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002)；King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)；及び米国特許第6,630,579号を参照されたい）；メトトレキサート；ビンデシン；ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル及びオルタタキセル等のタキサン；トリコテセン；及びCC1065を含むが、これらに限定されない1種又は複数の薬剤にコンジュゲートされた抗体-薬物コンジュゲート（ADC）である。

【0347】

別の実施形態では、免疫コンジュゲートは、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖（*Pseudomonas aeruginosa*由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、アルファ-サルシン、*Aleurites fordii*タンパク質、ジアンシン（*dianthin*）タンパク質、*Phytolacca americana*タンパク質（PAPI、PAPII、及びPAP-S）、*momordica charantia*阻害剤、クルシン、クロチン、*sapaonaria officinalis*阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン（*mitogellin*）、レストリクトシン、フェノマイシン（*phenomycin*）、エノマイシン（*enomycin*）、並びにトリコテセン（*tricothecene*）を含むがこれらに限定されない酵素活性毒素又はその断片に複合された本明細書に記載される抗体を含む。

【0348】

別の実施形態では、免疫コンジュゲートは、放射性原子にコンジュゲートされて放射性コンジュゲートを形成する、本明細書に記載される抗体を含む。放射性複合体の産生には、様々な放射性同位体が利用可能である。例としては、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 、及びLuの放射性同位元素が挙げられる。放射性物質が検出のために使用される場合、それは、シンチグラフィ研究のための放射性原子、例えば tc^{99m} 又は I^{123} 、又は核磁気共鳴（*nuclear magnetic resonance*:NMR）イメージング（別名、磁気共鳴イメージング、MRI）のためのスピンラベル、例えば再びヨウ素123、ヨウ素131、インジウム111、フッ素19、炭素13、窒素15、酸素17、ガドリニウム、マンガン又は鉄を含んでいてもよい。

【0349】

抗体と細胞傷害性薬剤とのコンジュゲートは、例えば、各種の二官能性タンパク質カップリング剤を用いて作製することができる：N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジリジチオ)プロピオネート(SPD P)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサ-1-カルボキシレート(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能性誘導体(ジメチルアジビデートHCL等)、活性エステル(スベリン酸ジスクシンイミジル等)、アルデヒド(グルタルアルデヒド等)、ビスアジド化合物(ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミン等)、ビス-ジアゾニウム誘導体(ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン等)、ジイソシアネート(トルエン2,6-ジイソシアネート等)、及び二活性フッ素化合物(1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン等)。例えば、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されているように、リシン免疫トキシンを調製することができる。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸(MX-DTPA)は、放射性ヌクレオチドを抗体に複合化するための例示的なキレート剤である。国際公開第94/11026号を参照されたい。リンカーは、細胞内において細胞傷害性薬物の放出を容易にする「切断可能リンカー」であってもよい。例えば、酸に不安定なリンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー、又はジスルフィド含有リンカー(Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); 米国特許第5,208,020号)を使用してもよい。

【0350】

本明細書の免疫コンジュゲート又はADCは、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、及びスルホ-SMPB、並びに(例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aから)市販されているSVSB((4-ビニルスルホン)安息香酸スクシンイミジル)を含むが、これらに限定されない架橋剤試薬で調製されるそのような複合体を明示的に企図するが、これらに限定されない。

【0351】

E. 診断及び検出のための方法及び組成物

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗MerTK抗体はいずれも、生体試料中のMerTKの存在の検出に有用である。本明細書で使用される場合、「検出」という用語は、定量的又は定性的な検出を包含する。

【0352】

一実施形態では、診断又は検出方法において使用するための抗MerTK抗体が提供される。更なる態様では、生体試料中のMerTKの存在を検出する方法が提供される。特定の実施形態では、本方法は、抗MerTK抗体とMerTKとの結合を許容する条件下で、生物学的試料を本明細書に記載の抗MerTK抗体と接触させ、抗MerTK抗体とMerTKとの間に複合体が形成されているかどうかを検出することを含む。このような方法は、in vitro法又はin vivo法であってもよい。一実施形態では、例えば、MerTKが患者の選択のためのバイオマーカーである場合、抗MerTK抗体を使用して、抗MerTK抗体での療法に適格な対象を選択する。

【0353】

特定の実施形態では、標識抗MerTK抗体が提供される。標識としては、限定されないが、直接的に検出される標識又は部分(例えば、蛍光、色素体、電子密度の高い、化学発光及び放射性標識)、及び例えば酵素反応又は分子相互作用によって、間接的に検出される部分(例えば、酵素又はリガンド)が挙げられる。例示的な標識としては、限定されないが、放射性同位体³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H及び¹³¹I、フルオロフォア、例えば、希土類キレート又はフルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルセリフェラーゼ(luciferases)、例えば

、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ（米国特許第4,737,456号）、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、セイヨウワサビペルオキシダーゼ（HRP）、アルカリ性ホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖オキシダーゼ、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ及びグルコース-6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ、ヘテロ環オキシダーゼ、例えば、ウリカーゼ及び過酸化水素を使用する酵素と連結し、染料前駆体を酸化するキサンチンオキシダーゼ、例えば、HRP、ラクトペルオキシダーゼ、又はミクロペルオキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定な遊離ラジカル等が挙げられる。

【0354】

F. 薬学的組成物及び製剤

抗MerTK抗体及び薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物及び製剤も本明細書で提供される。

【0355】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗MerTK抗体は、約60mg/mLの量の本抗体、約20mMの濃度の酢酸ヒスチジン、約120mMの濃度のスクロース、及び0.04%（w/v）の濃度のポリソルベート（例えば、ポリソルベート20）を含む製剤中に存在し、この製剤は、約5.8のpHを有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗PDL1抗体は、約125mg/mLの量の本抗体、約20mMの濃度の酢酸ヒスチジン、約240mMの濃度のスクロース、及び0.02%（w/v）の濃度のポリソルベート（例えば、ポリソルベート20）を含む製剤中に存在し、この製剤は、約5.5のpHを有する。

【0356】

目的の抗MerTK抗体の調製後（例えば、本明細書に開示されているように処方することができる抗体を産生するための技術は、本明細書に詳述されており、当該技術分野において公知である）、これを含む医薬製剤を調製する。ある特定の実施形態では、製剤化される抗MerTK抗体は、事前凍結乾燥に供されておらず、本明細書における目的とする製剤は、水性製剤である。ある特定の実施形態では、抗MerTK抗体は、完全長抗体である。一実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体は、F(ab')₂等の抗体断片であり、この場合、完全長抗体では起こり得ない問題（抗体のFabへのクリッピング等）に対処しなければならない場合がある。製剤中に存在する抗MerTK抗体の治療有効量は、例えば、所望の用量体積及び投与様式（複数可）を考慮することによって決定される。約25mg/mL～約150mg/mL、又は約30mg/mL～約140mg/mL、又は約35mg/mL～約130mg/mL、又は約40mg/mL～約120mg/mL、又は約50mg/mL～約130mg/mL、又は約50mg/mL～約125mg/mL、又は約50mg/mL～約120mg/mL、又は約50mg/mL～約110mg/mL、又は約50mg/mL～約100mg/mL、又は約50mg/mL～約90mg/mL、又は約50mg/mL～約80mg/mL、又は約54mg/mL～約66mg/mLは、例示的な製剤中の抗体濃度である。

【0357】

pH緩衝溶液中に抗体を含む水性製剤が調製される。いくつかの実施形態では、本開示の緩衝液は、約5.0～約7.0の範囲のpHを有する。ある特定の実施形態では、pHは約5.0～約6.5の範囲であり、pHは約5.0～約6.4、約5.0～約6.3の範囲であり、pHは約5.0～約6.2の範囲であり、pHは約5.0～約6.1の範囲であり、pHは約5.5～約6.1の範囲であり、pHは約5.0～約6.0の範囲であり、pHは約5.0～約5.9の範囲であり、pHは約5.0～約5.8の範囲であり、pHは約5.1～約6.0の範囲であり、pHは約5.2～約6.0の範囲であり、pHは約5.3～約6.0の範囲であり、pHは約5.4～約6.0の範囲であり、pHは約5.5～約6.0の範囲であり、pHは約5.6～約6.0の範囲であり、pHは約5.7～約6.0の範囲であり、又はpHは約5.8～約6.0の範囲である。いくつかの実

10

20

30

40

50

施形態では、該製剤は、pH 6.0又は約6.0である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.9又は約5.9である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.8又は約5.8である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.7又は約5.7である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.6又は約5.6である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.5又は約5.5である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.4又は約5.4である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.3又は約5.3である。いくつかの実施形態では、該製剤は、pH 5.2又は約5.2である。この範囲内でpHを制御する緩衝液の例としては、ヒスチジン（L-ヒスチジン等）又は酢酸ナトリウムが挙げられる。特定の実施形態では、緩衝液は、約15mM～約25mMの濃度で酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムを含有する。いくつかの実施形態では、緩衝液は、約15mM～約25mM、約16mM～約25mM、約17mM～約25mM、約18mM～約25mM、約19mM～約25mM、約20mM～約25mM、約21mM～約25mM、約22mM～約25mM、約15mM、約16mM、約17mM、約18mM、約19mM、約20mM、約21mM、約22mM、約23mM、約24mM、又は約25mMの濃度で酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムを含有する。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.0の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.1の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.2の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.3の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.4の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.5の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.6の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.7の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.8の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 5.9の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 6.0の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 6.1の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 6.2の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約20mMの量でpH 6.3の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.2の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.3の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.4の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.5の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.6の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.7の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.8の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 5.9の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 6.0の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 6.1の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 6.2の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。一実施形態では、該緩衝液は、約25mMの量でpH 6.3の酢酸ヒスチジン又は酢酸ナトリウムである。

【0358】

いくつかの実施形態では、該製剤は、約60mM～約240mMの量のスクロースを更に含む。いくつかの実施形態では、該製剤中のスクロースは、約60mM～約230mM

10

20

30

40

50

、約60mM～約220mM、約60mM～約210mM、約60mM～約200mM、約60mM～約190mM、約60mM～約180mM、約60mM～約170mM、約60mM～約160mM、約60mM～約150mM、約60mM～約140mM、約80mM～約240mM、約90mM～約240mM、約100mM～約240mM、約110mM～約240mM、約120mM～約240mM、約130mM～約240mM、約140mM～約240mM、約150mM～約240mM、約160mM～約240mM、約170mM～約240mM、約180mM～約240mM、約190mM～約240mM、約200mM～約240mM、約80mM～約160mM、約100mM～約140mM、又は約110mM～約130mMである。いくつかの実施形態では、該製剤中のスクロースは、約60mM、約70mM、約80mM、約90mM、約100mM、約110mM、約120mM、約130mM、約140mM、約150mM、約160mM、約170mM、約180mM、約190mM、約200mM、約210mM、約220mM、約230mM、又は約240mMである。

【0359】

いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約40mg/ml～約125mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗体濃度は、約40mg/ml～約120mg/ml、約40mg/ml～約110mg/ml、約40mg/ml～約100mg/ml、約40mg/ml～約90mg/ml、約40mg/ml～約80mg/ml、約40mg/ml～約70mg/ml、約50mg/ml～約120mg/ml、約60mg/ml～約120mg/ml、約70mg/ml～約120mg/ml、約80mg/ml～約120mg/ml、約90mg/ml～約120mg/ml、又は約100mg/ml～約120mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約60mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約65mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約70mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約75mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約80mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約85mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約90mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約95mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約100mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約110mg/mlである。いくつかの実施形態では、製剤中の抗MerTK抗体濃度は、約125mg/mlである。

【0360】

いくつかの実施形態では、界面活性剤が抗MerTK抗体製剤に添加される。例示の界面活性剤としては、非イオン性界面活性剤、例えば、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート20、80号）又はポロキサマー（例えば、ポロキサマー188等）が挙げられる。添加される界面活性剤の量は、それが製剤化抗体の凝集を低減させ、及び／又は製剤中の微粒子の形成を最小限に抑え、及び／又は吸着を低減させるような量である。例えば、界面活性剤は、約0.001～約0.5%（w/v）の量で製剤中に存在し得る。いくつかの実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、約0.005%～約0.2%、約0.005%～約0.1%、約0.005%～約0.09%、約0.005%～約0.08%、約0.005%～約0.07%、約0.005%～約0.06%、約0.005%～約0.05%、約0.005%～約0.04%、約0.008%～約0.06%、約0.01%～約0.06%、約0.02%～約0.06%、約0.01%～約0.05%。又は約0.02%～約0.04%である。特定の実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.005%又は約0.005%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.006%又は約0.006%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.007%又は約0.007%の量で製剤中

に存在する。特定の実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.008%又は約0.008%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.009%又は約0.009%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.01%又は約0.01%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.02%又は約0.02%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.03%又は約0.03%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.04%又は約0.04%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.05%又は約0.05%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.06%又は約0.06%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.07%又は約0.07%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.08%又は約0.08%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、該界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.1%又は約0.1%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.2%又は約0.2%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.3%又は約0.3%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.4%又は約0.4%の量で製剤中に存在する。特定の実施形態では、界面活性剤（例えば、ポリソルベート20）は、0.5%又は約0.5%の量で製剤中に存在する。

【0361】

一実施形態では、製剤は、上で定義された薬剤（例えば、抗体、緩衝液、糖、及び／又は界面活性剤）を含み、ベンジルアルコール、フェノール、m-クレゾール、クロロブタノール、及びベンゼトニウムCl等の1つ以上の保存料を本質的に含まない。別の実施形態では、保存料が製剤中に含まれてもよく、具体的には、製剤は、複数回投与量製剤である。保存料の濃度は、約0.1%～約2%、好ましくは、約0.5%～約1%の範囲であり得る。1つ以上の他の薬学的に許容可能な担体、賦形剤、又は安定剤、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に記載のものが製剤中に含まれ得るが、但し、それらが製剤の所望の特性に悪影響を及ぼさないことを条件とする。許容される担体、賦形剤又は安定剤は、使用される投与量及び濃度でレシピエントに対して無毒であり、以下を含む：追加の緩衝剤；共溶媒；アスコルビン酸とメチオニンを含む抗酸化剤；EDTA等のキレート剤；金属錯体（例：Zn-タンパク質複合体）；ポリエステル等の生分解性ポリマー、及び／又は塩形成対イオン。本明細書における例示的な薬学的に許容可能な担体は、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（sHASEGP）、例えば、rHuPH20（HYLENEX（登録商標）、Baxter International, Inc.）等のヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質等の介在性薬物分散剤を更に含む。rHuPH20を含む、ある特定の例示的なsHASEGP及び使用方法は、米国特許出願公開第2005/0260186号及び同第2006/0104968号に記載される。一態様では、sHASEGPを、1つ以上の更なるグリコサミノグリカナーゼ（例えば、コンドロイチナーゼ）と合わせる。

【0362】

本明細書における製剤は、必要に応じて、処置される特定の適応症のための1つよりも多くのタンパク質、好ましくは、他のタンパク質に悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものも含み得る。例えば、抗体が抗MerTKである場合、それは、別の薬剤（例えば、化学療法剤及び／又は抗腫瘍剤）と組み合わせられ得る。

【0363】

本明細書に記載の医薬組成物及び製剤は、所望の純度を有する活性成分（抗体又はポリ

10

20

30

40

50

ペプチド等)を1つ以上の任意の薬学的に許容可能な担体 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))と混合することにより、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で調製され得る。薬学的に許容可能な担体は一般的に、用いられる投薬量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸等の緩衝剤、アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化物質、防腐剤 (塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチル、若しくはベンジルアルコール、メチル若しくはプロピルパラベン等のアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール、及びm-クレゾール等)、低分子量 (約10残基未満)のポリペプチド、血清アルブミン、ゼラチン、若しくは免疫グロブリン等のタンパク質、ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、若しくはリジン等のアミノ酸、単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、若しくはデキストリンを含む他の炭水化物、EDTA等のキレート剤、スクロース、マンニトール、トレハロース、若しくはソルビトール等の糖類、ナトリウム等の塩形成対イオン、金属複合体 (例えば、Zn-タンパク質複合体)、並びに/又はポリエチレングリコール (PEG) 等の非イオン性界面活性剤を含むが、これらに限定されない。本明細書における例示的な薬学的に許容可能な担体は、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質 (sHASEGP)、例えば、rHuPH20 (HYLENEX (登録商標)、Baxter International, Inc.) 等のヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質等の介在性薬物分散剤を更に含む。rHuPH20を含む、ある特定の例示的なsHASEGP及び使用方法は、米国特許出願公開第2005/0260186号及び同第2006/0104968号に記載される。一態様では、sHASEGPを、1つ以上の更なるグリコサミノグリカナーゼ (例えば、コンドロイチナーゼ) と組み合わせる。

【0364】

例示的な凍結乾燥した抗体製剤は、米国特許第6,267,958号に記載される。水性抗体製剤には、米国特許第6,171,586号及び国際公開第2006/044908号に記載されているものが含まれ、後者の製剤には、ヒスチジン-酢酸緩衝液が含まれる。

【0365】

本明細書における組成物及び製剤は、処置される特定の適応症に必要な1つより多くの活性成分、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものも含有し得る。かかる有効成分は、意図される目的に有効な量で組み合わせ好適に存在する。

【0366】

活性成分はまた、例えば、コアセルベーション技術によって、又は界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロース若しくはゼラチンマイクロカプセル及びポリ (メチルメタクリレート) マイクロカプセルにより、コロイド薬物送達系 (例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロ乳濁液、ナノ粒子、及びナノカプセル) 内、又はマクロ乳濁液中にも取り込まれ得る。そのような技術が、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) に開示されている。

【0367】

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性調製物の好適な例としては、抗MerTK抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスが含まれ、これらのマトリクスは、成形物品、例えば、フィルム又はマイクロカプセルの形態である。in vivo投与に使用される製剤は一般に、滅菌される。滅菌性は、例えば、滅菌濾過膜によりフィルタにかけることによって、容易に達成され得る。

【0368】

III. 処置方法及び使用

一態様では、本開示は、がんを有する個体を処置する方法であって、有効量の上記の抗

10

20

30

40

50

MerTK抗体を個体に投与する工程を含む方法を提供する。

【0369】

(i) 単剤療法

いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、がんを有する個体を処置するための単剤療法として投与される。本明細書で使用される場合、「がん」は、典型的には調節されていない細胞増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか又は説明する。特定の実施形態では、がんは、固形がん又は血液がんであり得る。固形がんは、一般に、特定の組織における腫瘍塊形成を特徴とする。「腫瘍」は、本明細書で使用される場合、悪性か良性かを問わず、全ての腫瘍性細胞の成長及び増殖、並びに全ての前がん性及びがん性細胞及び組織を指す。本開示の抗MerTK抗体で処置される固形がんの非限定的な例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫及び肉腫が挙げられる。かかるがんより具体的な例としては、扁平上皮細胞がん（例えば、上皮系扁平上皮細胞がん）、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺の腺がん、及び肺の扁平上皮がんを含む肺がん、腹膜のがん、肝細胞がん、消化管がん、及び消化管間質がんを含む胃がん（gastric cancer）又は胃がん（stomach cancer）、膵臓がん、膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、泌尿器系のがん、肝がん（hepatoma）、乳がん、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん又は子宮がん、唾液腺がん、腎臓がん又は腎がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん（hepatic carcinoma）、肛門がん、陰茎がん、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端黒子型黒色腫、結節型黒色腫、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関連するもの等）、メイグス症候群、脳、頭頸部がん、及び関連する転移に関連付けられる異常血管増殖が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、本開示の抗MerTK抗体による処置に適しているがんとしては、乳がん、結腸直腸がん、直腸がん、非小細胞肺がん、膠芽腫、腎細胞がん、前立腺がん、肝臓がん、膵臓がん、軟組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部がん、卵巣がん、及び中皮腫が挙げられる。いくつかの実施形態では、がんは、小細胞肺がん、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳がん、胃がん、結腸直腸がん（colorectal cancer: CRC）、及び肝細胞がんから選択される。さらに、いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺がん、結腸直腸がん、神経膠芽腫及び乳がん（これらのがんの転移形態を含む）から選択される。いくつかの実施形態では、がんは、結腸がん及び直腸がんを含む結腸直腸がんである。

【0370】

対照的に、血液学的是がんは血液又は骨髄に由来する。いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体で処置される血液がんは白血病である。白血病の例としては、慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ芽球性白血病（ALL）；有毛細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；及び急性骨髄芽球性白血病が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体で処置される血液がんはリンパ腫である。リンパ腫の非限定的な例としては、T細胞リンパ腫（例えば、成人T細胞白血病／リンパ腫；肝脾T細胞リンパ腫；末梢T細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫；及び血管免疫芽球性T細胞リンパ腫）、B細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）を含む；小リンパ球性（SL）NHL；中間グレード／濾胞性NHL；中間グレードのびまん性NHL；高悪性度免疫芽球性NHL；高悪性度リンパ芽球性NHL；高悪性度の小型非切断細胞NHL；巨大病変NHL；びまん性大細胞型B細胞リンパ腫；マントル細胞リンパ腫；バーキットリンパ腫；AIDS関連リンパ腫；及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症）、ホジキンリンパ腫、及び移植後リンパ増殖性障害（PTLD）が挙げられる。いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体で処置される血液がんは骨髄腫である。具体的な実施形態では、骨髄腫は形質細胞腫又は多発性骨髄腫である。特定の実施形態では、本開示の抗MerTK抗体による処置に適しているがんとしては、非ホジキンリンパ腫及び多発性骨髄腫が挙げられる。

【0371】

別の態様では、有効量の本開示に記載される抗MerTK抗体を個体に投与することを

含む、個体においてがんを処置するため又はがんの進行を遅延させるための方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、処置は、処置の中止後に個体において持続的応答をもたらす。本明細書に記載の方法は、がんの処置のための腫瘍免疫原性の増大等の免疫原性の増強が所望される状態の処置における使用を見出し得る。本開示に記載される有効量の抗MerTK抗体を個体に投与することを含む、がんを有する個体における免疫機能を増強する方法も本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチド、機能的Cx43ポリペプチド、及び機能的cGASポリペプチドを発現する。機能性タンパク質は、細胞内でそれらの通常の機能を実行することができるタンパク質である。機能性タンパク質の例としては、野生型タンパク質、タグ化タンパク質、及び野生型タンパク質と比較してタンパク質機能を保持又は改善する変異タンパク質が挙げられ得る。タンパク質機能は、タンパク質又はmRNAの発現をアッセイすること、及びゲノムDNA又はmRNAを配列決定することを含む、当業者に公知の任意の方法によって測定することができる。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチドを発現する腫瘍関連マクロファージを含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的cGASポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的Cx43ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。いくつかの実施形態では、がんは、結腸がん及び直腸がんを含む結腸直腸がんである。

【0372】

また、本明細書では、個体におけるアポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させる方法であって、有効量の本開示に記載の抗MerTK抗体を個体に投与して、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させることを含む方法も提供される。いくつかの実施形態では、アポトーシス細胞のクリアランスは、1～10倍、1～8倍、1～5倍、1～4倍、1～3倍、1～2倍、2～10倍、2～8倍、2～5倍、2～4倍、2～3倍、3～10倍、3～8倍、3～5倍、3～4倍、又は少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2.0倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3.0倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4.0倍、4.1倍、4.2倍、4.3倍、4.4倍、4.5倍、4.6倍、4.7倍、4.8倍、4.9倍、5.0倍、5.1倍、5.2倍、5.3倍、5.4倍、5.5倍、5.6倍、5.7倍、5.8倍、5.9倍、6.0倍、6.1倍、6.2倍、6.3倍、6.4倍、6.5倍、6.6倍、6.7倍、6.8倍、6.9倍、7.0倍、7.1倍、7.2倍、7.3倍、7.4倍、7.5倍、7.6倍、7.7倍、7.8倍、7.9倍若しくは8.0倍低下される。アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスの低下は、有効量の抗MerTK抗体又はその免疫コンジュゲートの投与後の個体からの試料中のアポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスのレベルを、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスの基準レベルと比較することによって決定され得る。いくつかの実施形態では、基準レベルは、基準試料であるアポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスのレベルである。いくつかの実施形態では、基準試料は、有効量の抗MerTK抗体又はその免疫コンジュゲートの投与前に採取された対象から採取される。幾つかの実施形態では、生体試料は、免疫細胞又は腫瘍細胞を含む。

【0373】

いくつかの実施形態では、本開示の抗MerTK抗体は、アポトーシス細胞の食作用活性を約10～100%、20～100%、30～100%、40～100%、50～100%、60～100%、70～100%、75～100%、80～100%、85～100%、90～100%、95～100%、10～95%、20～95%、30～95%、40～95%、50～95%、60～95%、70～95%、75～95%、80～95%、85～95%、90～95%、10～90%、20～90%、30～90%、40～90%、50～90%、60～90%、70～90%、75～90%、80～90%、85～90%、10～85%、20～85%、30～85%、40～85%、50～85%

、60～85%、70～85%、75～85%、80～85%、10～80%、20～80%、30～80%、40～80%、50～80%、60～80%、70～80%、75～80%、10～75%、20～75%、30～75%、40～75%、50～75%、60～75%、70～75%、10～70%、20～70%、30～70%、40～70%、50～70%、60～70%、10～65%、20～65%、30～65%、40～65%、50～65%、60～65%、10～60%、20～60%、30～60%、40～60%、50～60%、10～55%、20～55%、30～55%、40～55%、50～55%、10～40%、20～40%、若しくは30～40%、又は少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%若しくは99%低下させる。いくつかの実施形態では、抗MerTK抗体は、アポトーシス細胞の食作用活性を低下させるための最大半量阻害濃度（IC50）が約1pM～50pM、1pM～100pM、1pM～500pM、1pM～1nM、1pM～1.5nM、5pM～50pM、5pM～100pM、5pM～500pM、5pM～1nM、5pM～1.5nM、10pM～50pM、10pM～100pM、10pM～500pM、10pM～1nM、10pM～1.5nM、50pM～100pM、50pM～500pM、50pM～1nM、50pM～1.5nM、100pM～500pM、100pM～1nM、又は100pM～1.5nMである。

【0374】

いくつかの実施形態では、個体はヒトである。

【0375】

抗MerTK抗体は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、髄腔内、脳室内、又は鼻腔内投与され得る。抗MerTK抗体の適切な投与量は、処置される疾患の種類、疾患の重症度及び経過、個体の臨床的条件、個体の臨床歴及び処置への応答、並びに担当医の裁量に基づいて判定され得る。

【0376】

（ii）追加の治療との組合せ

いくつかの実施形態では、上記使用及び方法は、追加の治療又は有効量の追加の治療剤の投与を更に含み得る。追加の治療は、放射線治療、手術（例えば、乳腺腫瘍摘出術及び乳房切除術）、化学療法、遺伝子治療、DNA治療、ウイルス治療、RNA治療、免疫療法、骨髄移植、ナノ治療、モノクローナル抗体治療又は前記の組み合わせであり得る。追加の治療は、アジュバント療法又はネオアジュバント療法の形態であり得る。いくつかの実施形態では、追加の治療は、小分子酵素阻害剤又は抗転移薬の投与である。いくつかの実施形態では、追加の治療は、副作用制限剤（例えば、処置の副作用の発生及び／又は重症度を軽減するように意図された薬剤、例えば、制嘔吐剤等）の投与である。いくつかの実施形態では、追加の治療は放射線療法である。いくつかの実施形態では、追加の治療は手術である。いくつかの実施形態では、追加の治療は放射線療法と手術の組合せである。いくつかの実施形態では、追加の治療はγ線照射である。いくつかの実施形態では、追加の治療は、PI3K／AKT／mTOR経路を標的とする療法、HSP90阻害剤、チューブリン阻害剤、アポトーシス阻害剤、及び／又は化学予防剤である。

【0377】

いくつかの実施形態では、追加の治療は、B7-H3に対するアンタゴニスト（CD276としても知られる）、例えば、遮断抗体、MGA271、TGFベータに対するアンタゴニスト、例えば、メテリムマブ（metelimumab）（CAT-192としても知られる）、フレソリムマブ（fresolimumab）（GC1008としても知られる）、又はLY2157299、キメラ抗原受容（chimeric antigen receptor：CAR）を発現するT細胞の養子移入を含む処置（例えば、細胞傷害性T細胞又はCTL）、ドミナントネガティブTGFベータ受容体を含むT細胞の養子移入を含む処置、例えば、ドミナントネガティブTGFベータII型受容体、HERCREEMプロトコルを含む処置（例えば、ClinicalTrials.gov

Identifier NCT00889954を参照されたい)、CD137に対するアゴニスト(TNFRSF9、4-1BB、又はIL1Aとしても知られる)、例えば、活性化抗体、ウレルマブ(urelumab)(BMS-663513としても知られる)、CD40に対するアゴニスト、例えば、活性化抗体CP-870893、OX40に対するアゴニスト(CD134としても知られる)、例えば、活性化抗体、異なる抗OX40との組合せ投与(例えば、AgonOX)、CD27に対するアゴニスト、例えば、活性化抗体CDX-1127、インドールアミン-2, 3-ジオキシゲナーゼ(IDO)、1-メチル-D-トリプトファン(1-D-MTとしても知られる)、抗体-薬物コンジュゲート(いくつかの実施形態では、メルタンシン(mertansine)又はモノメチルアウリスタチンE(monomethyl auristatin E:MMAE)を含む)、抗NaPi2b抗体-MMAEコンジュゲート(DNIB0600A又はRG7599としても知られる)、トラスツズマブエムタンシン(T-DM1、アドトラスツズマブエムタンシン、又はKADCYLA(登録商標)(Genentech)としても知られる)、DMUC5754A、エンドセリンB受容体(EDNBR)を標的化する抗体-薬物コンジュゲート、例えば、MMAEでコンジュゲートされたEDNBRに対する抗体、血管新生抑制剤、VEGFに対する抗体、例えば、VEGF-A、ベバシズマブ(AVASTIN(登録商標)(Genentech)としても知られる)、アンジオポエチン2に対する抗体(Ang2としても知られる)、MEDI3617、抗悪性腫瘍薬、抗体標的CSF-1R(M-CSFR又はCD115としても知られる)、抗CSF-1R(IMC-CS4としても知られる)、インターフェロン、例えばインターフェロンα又はインターフェロンγ、Roferon-A、GM-CSF(組換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、rhu GM-CSF、サルグラモスチム、又はLeukine(登録商標)としても知られる)、IL-2(アルデスロイキン又はProleukin(登録商標)としても知られる)、IL-12、抗体標的CD20(いくつかの実施形態では、抗体標的CD20はオビヌツズマブ(GA101又はGazyva(登録商標)としても知られる)又はリツキシマブである)、抗体標的GITR(いくつかの実施形態では、抗体標的GITRは、TRX518である)、がんワクチンとの組合せ(いくつかの実施形態では、がんワクチンはペプチドがんワクチンであり、いくつかの実施形態では、個別化されたペプチドワクチンである；いくつかの実施形態では、ペプチドがんワクチンは、多価長ペプチド、マルチペプチド、ペプチドカクテル、ハイブリッドペプチド、又はペプチドパルス樹状細胞ワクチンである(例えば、Yamada et al., Cancer Sci, 104:14-21, 2013)を参照されたい)、アジュバントとの組合せ、TLRアゴニスト、例えば、ポリICLC(Hiltonol(登録商標)としても知られる)、LPS、MPL、又はCpG ODN、腫瘍壊死因子(TNF)α、IL-1、HMGB1、IL-10アンタゴニスト、IL-4アンタゴニスト、IL-13アンタゴニスト、HVEAアンタゴニスト、ICOSアゴニスト、例えば、ICOS-L又はICOSに対するアゴニスト抗体の投与による、CX3CL1標的化処置、CXCL10標的化処置、CCL5標的化処置、LFA-1又はICAM1アゴニスト、セレクチンアゴニスト、標的治療、B-Rafの阻害剤、ベムラフェニブ(Zelboraf(登録商標)としても知られる)、ダブラフェニブ(Tafinlar(登録商標)としても知られる)、エルロチニブ(Tarceva(登録商標)としても知られる)、MEKの阻害剤、例えばMEK1(MAP2K1としても知られる)又はMEK2(MAP2K2としても知られる)等、コピメチニブ(GDC-0973又はXL-518としても知られる)、トラメチニブ(Mekinist(登録商標)としても知られる)、K-Rasの阻害剤、c-Metの阻害剤、オナルツズマブ(onartuzumab)(MetMAbとしても知られる)、ALKの阻害剤、AF802(CH5424802又はアレクチニブとしても知られる)、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)の阻害剤、BKM120、イデラリシブ(GS-1101又はCAL-101としても知られる)、ペリフォシン(KRX-0401としても知られる)、Akt、MK2206、GSK690693、GDC-0941、mTORの阻害剤、シロリムス(ラパマイシンと

10

20

30

40

50

しても知られる)、テムシロリムス(CCI-779又はTorisel(登録商標)としても知られる)、エベロリムス(RAD001としても知られる)、リダフォロリムス(AP-23573、MK-8669、又はデフォロリムスとしても知られる)、OSI-027、AZD8055、INK128、二重PI3K/mTOR阻害剤、XL765、GDC-0980、BEZ235(NVP-BEZ235としても知られる)、BGT226、GSK2126458、PF-04691502、又はPF-05212384(PKI-587としても知られる)である。いくつかの実施形態では、追加の治療剤は、CT-011(ピジリズマブ又はMDV9300としても知られている;CAS登録番号1036730-42-3;CureTech/Medivation)を含む。hBAT又はhBAT-1としても知られるCT-011は、国際公開第WO2009/101611号に記載の抗体である。

10

【0378】

(iii) 免疫チェックポイント阻害剤との組合せ

いくつかの実施形態では、追加の治療剤は免疫チェックポイント阻害剤である。特定の態様では、本出願は、有効量の抗MerTK抗体と免疫チェックポイント阻害剤との組合せを投与することを含む、がんを有する個体において免疫機能を増強するための方法を提供する。特定の実施形態では、抗MERTK抗体は、免疫チェックポイント阻害剤の免疫効果を約2倍、3倍、5倍、8倍、10倍、15倍又は20倍増加させる。一定の実施形態では、抗MERTK抗体は、免疫チェックポイント阻害剤の免疫効果を、約1~2倍、1~5倍、1~10倍、1~15倍、1~20倍、1~25倍、1~30倍、1~50倍、1~75倍、1~100倍、1~150倍、1~200倍、1~250倍、1.5~2倍、1.5~5倍、1.5~10倍、1.5~15倍、1.5~20倍、1.5~25倍、1.5~30倍、1.5~50倍、1.5~75倍、1.5~100倍、1.5~150倍、1.5~200倍、1.5~250倍、2~5倍、2~10倍、2~15倍、2~20倍、2~25倍、2~30倍、2~50倍、2~75倍、2~100倍、2~150倍、2~200倍、2~250倍、2.5~5倍、2.5~10倍、2.5~15倍、2.5~20倍、2.5~25倍、2.5~30倍、2.5~50倍、2.5~75倍、2.5~100倍、2.5~150倍、2.5~200倍、2.5~250倍、5~10倍、5~15倍、5~20倍、5~25倍、5~30倍、5~50倍、5~75倍、5~100倍、5~150倍、5~200倍、5~250倍、10~15倍、10~20倍、10~25倍、10~30倍、10~50倍、10~75倍、10~100倍、10~150倍、10~200倍、10~250倍、20~25倍、20~30倍、20~50倍、20~75倍、20~100倍、20~150倍、20~200倍、20~250倍、25~30倍、25~50倍、25~75倍、25~100倍、25~150倍、25~200倍若しくは25~250倍、又は少なくとも約1倍、2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、75倍、80倍、90倍、100倍、125倍、150倍、200倍、225倍若しくは250倍増加させる。

20

30

【0379】

いくつかの実施形態では、個体は、1つ以上の免疫チェックポイント阻害剤に耐性を示す(耐性を示すと実証された)がんを有する。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤への耐性は、がんの再発又は不応性がんを含む。再発とは、処置後の発症元の部位又は新たな部位におけるがんの再現を指し得る。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤に対する耐性は、免疫チェックポイント阻害剤による処置中のがんの進行を含む。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤に対する耐性には、処置に応答しないがんが含まれる。がんは、治療開始時に耐性を示し得るか、又は処置中に耐性を示すようになり得る。いくつかの実施形態では、がんは、早期がん又は後期がんである。

40

【0380】

治療的免疫チェックポイント阻害剤に関する更なる詳細は、以下、並びに例えばByun et al. (2017) Nat Rev Endocrinol. 13:195-2

50

07; La-Beck et al. (2015) Pharmacotherapy. 35 (10): 963-976; Buchbinder et al. (2016) Am J Clin Oncol. 39 (1): 98-106; Michot et al. (2016) Eur J Cancer. 54: 139-148; 及び Topalian et al. (2016) Nat Rev Cancer. 16: 275-287 に提供されている。
【0381】

CTLA4 阻害剤

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4 (CTLA4) (CD152としても知られる) 阻害剤である。いくつかの実施形態では、CTLA-4 阻害剤は、遮断抗体、イピリムマブ (MDX-010、MDX-101、又は Yervoy (登録商標) としても知られている)、トレメリムマブ (チシリムマブ又は CP-675、206 としても知られる) である。

10

【0382】

PD-1 軸結合アンタゴニスト

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1 軸結合アンタゴニストである。

【0383】

有効量の本開示の PD-1 軸結合アンタゴニスト及び抗 MerTK 抗体を個体に投与することを含む、個体におけるがんを処置するための方法が本明細書で提供される。個体 (例えば、がんを有する個体) における免疫機能又は応答を増強する方法であって、該個体に有効量の本開示の PD-1 軸結合アンタゴニスト及び抗 MerTK 抗体を投与することを含む方法も本明細書で提供される。

20

【0384】

そのような方法において、PD-1 軸結合アンタゴニストとしては、PD-1 結合アンタゴニスト、PDL1 結合アンタゴニスト及び／又は PDL2 結合アンタゴニストが挙げられる。「PD-1」の代替名としては、CD279 及び SLEB2 が挙げられる。「PDL1」の代替名としては、B7-H1、B7-4、CD274 及び B7-H が挙げられる。「PDL2」の別名には、B7-DC、Btdc、及び CD273 が含まれる。いくつかの実施形態では、PD-1、PDL1、及び PDL2 は、ヒト PD-1、PDL1、及び PDL2 である。

30

【0385】

いくつかの実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは、PD-1 のそのリガンド結合パートナー (複数可) への結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、PD-1 のリガンド結合パートナーは、PDL1 及び／又は PDL2 である。別の実施形態では、PDL1 結合アンタゴニストは、PDL1 のその結合パートナー (複数可) への結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、PDL1 の結合パートナーは、PD-1 及び／又は B7-1 である。別の実施形態では、PDL2 結合アンタゴニストは、PDL2 のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、PDL2 の結合パートナーは、PD-1 である。拮抗剤は、抗体、その抗原結合断片、免疫アデシン、融合タンパク質、オリゴペプチド又は小分子であってもよい。アンタゴニストが抗体である場合、いくつかの実施形態では、抗体は、IgG1、IgG2、IgG3 及び IgG4 からなる群より選択されるヒト定常領域を含む。

40

【0386】

A. 抗 PD-1 抗体

いくつかの実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは、抗 PD-1 抗体 (例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体) である。本明細書に開示される方法において、様々な抗 PD-1 抗体を利用することができる。本明細書の実施形態のいずれにおいても、PD-1 抗体は、ヒト PD-1 又はそのバリエーションに結合することができる。いくつかの実施形態では、抗 PD-1 抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗 PD-1 抗体は、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv、及び (Fab')₂ 断片

50

からなる群より選択される抗体断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、キメラ抗体又はヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体はヒト抗体である。

【0387】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ニボルマブ（CAS登録番号：946414-94-4）である。ニボルマブ（Bristol-Myers Squibb/O

no）、別名、MDX-1106-04、MDX-1106、ONO-4538、BMS-936558、及びOPDIVO（登録商標）は、国際公開第2006/121168号に記載の抗PD-1抗体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、重鎖及び軽鎖配列を含み、

（a）該重鎖は、アミノ酸配列：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ
APGKGLEWVAVIWY DGSKRYYADSVKGRFTISRDN

SKNT
LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGGTGLVTVSSASTKG
PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT

TKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGP

PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTI

SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSL
GK（配列番号118）を含み、

（b）該軽鎖は、アミノ酸配列：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYDASN

RAT GIPARFSGSGSGTDFTLTIS
SLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLN

NFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSSPVTKSFNRGEC（配列番号119）を含む。

【0388】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、配列番号118及び配列番号119からの6種類のHVR配列（例えば、配列番号118からの3種類の重鎖HVR及び配列番号119からの3種類の軽鎖HVR）を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、配列番号118からの重鎖可変ドメイン及び配列番号119からの軽鎖可変ドメインを含む。

【0389】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ペムブロリズマブ（CAS登録番号：1374853-91-4）である。ペムブロリズマブ（Merck）は、MK-3475、Merck 3475、ラムブロリズマブ、KEYTRUDA（登録商標）、及びSCH-900475としても知られており、国際公開第2009/114335号に記載の抗PD-1抗体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、重鎖及び軽鎖配列を含み、

（a）該重鎖は、アミノ酸配列：

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQ
APGQGLEWMGG INPSNGGTN

FN

EKFKNRVTLT

TDSSSTTT
AYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYW GQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPSSSL
G

TKTYTCNV

DHKPSNTKVDKRVESKYGP

PCPPCP APEFL

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAK GQPREPQVYTLPP
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSLGK (配列番号120) を含み、

(b) 該軽鎖は、アミノ酸配列：

EIVLTQSPAT LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLH
WYQQKPGQAPRLLIYLA SYLES GVPARFSGSGSGTDFTL
TISSLEPEDFAVYYCQHSRDLP LTFGGGT KVEIKRTVAAP
SVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号121) を含む。

【0390】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、配列番号120及び配列番号121からの6種類のHVR配列（例えば、配列番号120からの3種類の重鎖HVR及び配列番号121からの3種類の軽鎖HVR）を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、配列番号120からの重鎖可変ドメイン及び配列番号121からの軽鎖可変ドメインを含む。

【0391】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、MEDI-0680 (AMP-514 ; AstraZeneca) である。MEDI-0680はヒト化IgG4抗PD-1抗体である。

【0392】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PDR001 (CAS登録番号1859072-53-9 ; Novartis) である。PDR001は、PD-1へのPDL1及びPDL2の結合をブロックする、ヒト化IgG4抗PD-1抗体である。

【0393】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、REGN2810 (Regeneron) である。REGN2810はヒト抗PD-1抗体である。

【0394】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、BGB-108 (BeiGene) である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、BGB-A317 (BeiGene) である。

【0395】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、JS-001 (Shanghai Junshi) である。JS-001はヒト化抗PD-1抗体である。

【0396】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体はSTI-A1110 (Sorrento) である。STI-A1110はヒト抗PD-1抗体である。

【0397】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、INCSHR-1210 (Incyte) である。INCSHR-1210は、ヒトIgG4抗PD-1抗体である。

【0398】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PF-06801591 (Pfizer) である。

【0399】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、TSR-042 (ANB011としても知られている ; Tesaro / AnaptysBio) である。

【0400】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、AM0001 (ARMO Biosciences) である。

【0401】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ENUM 244C8 (Enumeral Biomedical Holdings) である。ENUM 244C8は、PDL1のPD-1に対する結合を阻害することなく、PD-1の機能を阻害する抗PD-1抗体である。

【0402】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ENUM 388D4 (Enumeral Biomedical Holdings) である。ENUM 388D4は、PDL1のPD-1に対する結合を競合的に阻害する抗PD-1抗体である。

【0403】

いくつかの実施形態では、PD-1抗体は、6つのHVR配列（例えば、3つの重鎖HVR及び3つの軽鎖HVR）及び／又は、国際公開第2015/112800号（出願人：Regeneron）、国際公開第2015/112805号（出願人：Regeneron）、国際公開第2015/112900（出願人：Novartis）、米国特許出願公開第20150210769（Novartisに譲渡）、国際公開第2016/089873号（出願人：Celgene）、国際公開第2015/035606号（出願人：Beigene）、国際公開第2015/085847号（出願人：Shanghai Hengrui Pharmaceutical/Jiangsu Hengrui Medicine）、国際公開第2014/206107号（出願人：Shanghai Junshi Biosciences/Junmeng Biosciences）、国際公開第2012/145493号（出願人：Amplimmune）、米国特許第9205148号（MedImmune譲渡）、国際公開第2015/119930号（出願人：Pfizer/Merck）、国際公開第2015/119923号（出願人：Pfizer/Merck）、国際公開第2016/032927号（出願人：Pfizer/Merck）、国際公開第2014/179664号（出願人：AnaptysBio）、国際公開第2016/106160号（出願人：Enumeral）、及び国際公開第2014/194302号（出願人：Sorrento）に記載されるPD-1抗体からの重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含む。

【0404】

B. 抗PDL1抗体

いくつかの実施形態では、PD-1軸結合アンタゴニストは、抗PDL1抗体である。本明細書では、様々な抗PDL1抗体が企図され、記載されている。本明細書における実施形態のうちのいずれかでは、単離された抗PDL1抗体は、ヒトPDL1、例えば、UniProtKB/Swiss-Prot受託番号Q9NZQ7.1に示されるヒトPDL1、又はそのバリエーションに結合することができる。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、PDL1とPD-1との間の結合及び／又はPDL1とB7-1との間の結合を阻害することができる。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及び(Fab')₂断片からなる群より選択される抗体断片である。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、ヒト抗体である。本開示の方法に有用な抗PDL1抗体の例、及びそれらの作製方法は、PCT特許出願国際公開第2010/077634A1号及び米国特許第8,217,149号に記載されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。

【0405】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体はアテゾリズマブ（CAS登録番号：1422185-06-5）である。MPDL3280Aとしても知られるアテゾリズマブ（Genentech）は、抗PDL1抗体である。

【0406】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含み、

(a) 重鎖可変領域は、それぞれGFTFSDSWIH (配列番号122)、AWISPYGGSTYYADSVKG (配列番号123)、及びRHWPGGFDY (配列番号124) の、HVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3配列を含み、

(b) 軽鎖可変領域は、それぞれRASQDVSTAVA (配列番号125)、SASFLYS (配列番号126) 及びQQYLYHPAT (配列番号127) のHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3配列を含む。

【0407】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体はMPDL3280Aであり、アテゾリズマブ及びTECENTRIQ (登録商標) (CAS登録番号1422185-06-5) としても知られる。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、重鎖及び軽鎖配列を含み、

(a) 該重鎖可変領域配列は、アミノ酸配列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKG RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RHWPGGFDYWGQGT LVT VSS (配列番号128) を含み、

(b) 該軽鎖可変領域配列は、アミノ酸配列：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (配列番号129) を含む。

【0408】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、重鎖及び軽鎖配列を含み、

(a) 該重鎖は、アミノ酸配列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKG RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RHWPGGFDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号130) を含み、

(b) 該軽鎖は、アミノ酸配列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号131) を含む。

【0409】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体はアベルマブ (CAS登録番号：1537032-82-8) である。MSB0010718Cとしても知られるアベルマブは、ヒトモノクローナルIgG1抗PDL1抗体 (Merck KGaA、Pfizer) である。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、重鎖及び軽鎖配列を含み、

(a) 該重鎖は、アミノ酸配列：

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN SKNTL

Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R I K L G T V T T V D Y W G Q G T L V T V S
S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V
S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q
T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G
G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N
W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G
K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D
E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P
V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y
T Q K S L S L S P G (配列番号132)を含み、

10

(b) 該軽鎖は、アミノ酸配列：

Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W Y Q
Q H P G K A P K L M I Y D V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G
L Q A E D E A D Y Y C S S Y T S S S T R V F G T G T K V T V L G Q P K A N P T V
T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V
K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V
T H E G S T V E K T V A P T E C S (配列番号133)を含む。

【0410】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、配列番号132及び配列番号133からの6つのHVR配列を含む（例えば、配列番号132の3つの重鎖HVR及び配列番号133の3つの軽鎖HVR）。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、配列番号132からの重鎖可変ドメイン及び配列番号133からの軽鎖可変ドメインを含む。

20

【0411】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、デュルバルマブ（CAS登録番号：1428935-60-7）MEDI4736としても知られるデュルバルマブは、国際公開第2011/066389号及び米国特許出願公開第2013/034559号に記載されている、Fc最適化ヒトモノクローナルIgG1カッパ抗PDL1抗体（MedImmune、AstraZeneca）である。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、重鎖及び軽鎖配列を含み、

(a) 該重鎖は、アミノ酸配列：

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S R Y W M S W V R Q
A P G K G L E W V A N I K Q D G S E K Y Y V D S V K G R F T I S R D N A K N S L
Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E G G W F G E L A F D Y W G Q G T L V T V
S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T
V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T
Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E F E
G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F
N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N
G K E Y K C K V S N K A L P A S I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R
E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P
P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H
Y T Q K S L S L S P G (配列番号134)を含み、

30

(b) 該軽鎖は、アミノ酸配列：

E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q R V S S S Y L A W Y Q Q
K P G Q A P R L L I Y D A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L
E P E D F A V Y Y C Q Q Y G S L P W T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F
P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N
S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H
Q G L S S P V T K S F N R G E C (配列番号135)を含む。

40

【0412】

50

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、配列番号134及び配列番号135からの6つのHVR配列を含む（例えば、配列番号134の3つの重鎖HVR及び配列番号135の3つの軽鎖HVR）。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、配列番号134からの重鎖可変ドメイン及び配列番号135からの軽鎖可変ドメインを含む。

【0413】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、MDX-1105（Bristol Myers Squibb）である。MDX-1105、別名、BMS-936559は、国際公開第2007/005874号に記載の抗PDL1抗体である。

【0414】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、LY3300054（Eli Lilly）である。

【0415】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、STI-A1014である。STI-A1014はヒト抗PDL1抗体である。

【0416】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体はKN035（Suzhou Alphamab）である。KN035は、ラクダファージディスプレイライブラリーから生成されたシングルドメイン抗体（dAB）である。

【0417】

いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体は、（例えば、腫瘍微小環境中のプロテアーゼによって）切断されると、抗体抗原結合ドメインを活性化して、例えば、非結合性立体部位を除去することによって、その抗原を結合させることができるようにする、切断可能な部位又はリンカーから構成される。いくつかの実施形態では、抗PDL1抗体はCX-072（CytomX Therapeutics）である。

【0418】

いくつかの実施形態では、PDL1抗体は、6つのHVR配列（例えば、3つの重鎖HVR及び3つの軽鎖HVR）、並びに／又は米国特許出願公開第20160108123号（Novartisに譲渡）、国際公開第2016/000619号（出願人：Beigene）、同第2012/145493号（出願人：Amplimmune）、米国特許第9205148号（MedImmuneに譲渡）、国際公開第2013/181634号（出願人：Sorrento）、及び同第2016/061142号（出願人：Novartis）に記載されたPDL1抗体からの重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含む。

【0419】

なお更に具体的な一態様では、PD-1又はPDL1抗体は、低減された又は最小のエフェクタ機能を有する。更に具体的な一態様では、最小のエフェクタ機能は、「エフェクタなしのFc突然変異」又はグリコシル化突然変異から生じる。なお更なる一実施形態では、エフェクタなしのFc変異は、定常領域内のN297A又はD265A/N297A置換である。いくつかの実施形態では、単離された抗PDL1抗体は、アグリコシル化される。抗体のグリコシル化は、典型的には、N結合型又はO結合型のいずれかである。N結合型とは、炭水化物部分のアスパラギン残基の側鎖への結合を指す。トリペプチド配列であるアスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-トレオニン（式中、Xは、プロリン以外の任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分のアスパラギン側鎖への酵素結合の認識配列である。したがって、ポリペプチド内でのこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在により、潜在的なグリコシル化部位が作製される。O結合型グリコシル化とは、糖類、N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、又はキシロースのうちの1つのヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリン又はトレオニンへの結合を指すが、5-ヒドロキシプロリン又は5-ヒドロキシリジンも使用され得る。抗体からのグリコシル化部位の除去は、（N結合型グリコシル化部位について）上述のトリペプチド配列のうちの1種が除去されるようにアミノ酸配列を改変することによって好都合に達成される。この改変は、グ

10

20

30

40

50

リコシル化部位内のアスパラギン、セリン、又はトレオニン残基の別のアミノ酸残基（例えば、グリシン、アラニン又は保存的置換）との置換によって行われ得る。

【0420】

いくつかの実施形態では、抗MERTK抗体は、20日間の併用処置後に抗PDL1抗体の免疫効果を約3倍増加させる。いくつかの実施形態では、抗MERTK抗体は、30日間の処置後に抗PDL1抗体の免疫効果を約10倍増加させる。

【0421】

C. 他のPD-1阻害剤

いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、イムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のFc領域に融合したPDL1又はPDL2の細胞外又はPD-1結合部分を含むイムノアドヘシン）である。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストはAMP-224である。B7-DCIgとしても知られるAMP-224（CAS登録番号1422184-00-6；GlaxoSmithKline/MedImmune）は、国際公開第2010/027827号及び同第2011/066342号に記載されているPDL2-Fc融合可溶性受容体である。

【0422】

いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、ペプチド又は低分子化合物である。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、AUNP-12（PierreFabre/Aurigene）である。例えば、国際公開第2012/168944号、国際公開第2015/036927号、国際公開第2015/044900号、国際公開第2015/033303号、国際公開第2013/144704号、国際公開第2013/132317号、及び国際公開第2011/161699号を参照されたい。

【0423】

いくつかの実施形態では、PDL1結合アンタゴニストは、PD-1を阻害する低分子である。いくつかの実施形態では、PDL1結合アンタゴニストは、PDL1を阻害する低分子である。いくつかの実施形態では、PDL1結合アンタゴニストは、PDL1及びVISTAを阻害する低分子である。いくつかの実施形態では、PDL1結合アンタゴニストは、CA-170（AUPM-170としても知られている）である。いくつかの実施形態では、PDL1結合アンタゴニストは、PDL1及びTIM3を阻害する低分子である。いくつかの実施形態では、小分子は、国際公開第2015/033301号及び同第2015/033299号に記載されている化合物である。

【0424】

免疫機能の増強

別の態様では、有効量の抗MERTK抗体と免疫チェックポイント阻害剤との組合せを投与することを含む、がんを有する個体において免疫機能を増強するための方法が本明細書において提供される。本明細書に記載の抗MERTK抗体によって増強され得る免疫機能の様々な態様及びそのような増強を測定するための方法を以下に記載する。

【0425】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、がん（いくつかの実施形態では、診断試験を使用して試験される患者のがんの試料）は、上昇したレベルのT細胞浸潤を有する。本明細書で使用されるとき、がんのT細胞浸潤とは、がん組織中の又はさもなければがん組織に関連する腫瘍浸潤リンパ球（TIL）等のT細胞の存在を指し得る。T細胞浸潤は、特定のがんにおける臨床転帰の改善に関連し得ることが当技術分野で公知である（例えば、Zhang et al., N. Engl. J. Med. 348 (3): 203-213 (2003)を参照されたい）。

【0426】

しかしながら、T細胞疲弊はまた、がんの主要な免疫学的特徴であり、多くの腫瘍浸潤リンパ球（TIL）が高レベルの阻害性補助受容体を発現し、エフェクタサイトカインを産生する能力を欠いている（Wherry, E. J. Nature immunology

10

20

30

40

50

12:492-499 (2011); Rabinovich, G. A., et al., Annual review of immunology 25:267-296 (2007))。本開示の方法のいくつかの実施形態では、個体は、T細胞機能障害性障害を有する。本開示の方法のいくつかの実施形態では、T細胞機能障害性障害は、T細胞アネルギー、又はサイトカインを分泌する能力、増殖する能力、若しくは細胞溶解活性を実行する能力の低下を特徴とする。本開示の方法のいくつかの実施形態では、T細胞機能障害性障害は、T細胞消耗を特徴とする。本開示の方法のいくつかの実施形態では、T細胞は、CD4+及びCD8+T細胞である。いくつかの実施形態では、T細胞は、CD4+及び/又はCD8+T細胞である。

【0427】

いくつかの実施形態では、CD8+T細胞は、例えばCD8b発現（例えば、Fluidigmを使用したrtPCRによって、）の存在によって特徴付けられる（Cd8bは、T細胞表面糖タンパク質CD8ベータ鎖としても知られている；CD8抗原、αポリペプチドp37；アクセッション番号はNM_172213である）。いくつかの実施形態では、CD8+T細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、CD8+T細胞は、腫瘍由来である。

【0428】

いくつかの実施形態では、Treg細胞は、例えば、Foxp3発現の存在（例えば、rtPCR、例えば、Fluidigmを使用して）（Foxp3の別名、フォークヘッドボックスタンパク質P3、スカルフィン（scurfin）、FOXP3デルタ7、免疫欠損、多腺性内分泌障害、腸症、X連鎖性、受託番号NM_014009）を特徴とする。いくつかの実施形態では、Tregは、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、Treg細胞は、腫瘍由来である。

【0429】

いくつかの実施形態では、炎症性T細胞は、例えば、Tbet及び/又はCXCR3発現の存在（例えばFluidigmを使用する例えばrtPCRによって）いくつかの実施形態では、炎症性T細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、炎症性T細胞は、腫瘍由来である。

【0430】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、CD4及び/又はCD8 T細胞は、IFN-γ、TNF-α、及びインターロイキンからなる群より選択されるサイトカインの放出の増加を呈する。サイトカインの放出は、当該技術分野で既知の任意の手段によって、例えば、CD4及び/又はCD8 T細胞を含有する試料中での放出されたサイトカインの存在を検出するためのウエスタンブロット、ELISA、又は免疫組織化学的アッセイを使用して測定され得る。

【0431】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、CD4及び/又はCD8 T細胞は、エフェクタメモリーT細胞である。本開示の方法のいくつかの実施形態では、CD4及び/又はCD8エフェクタメモリーT細胞は、CD44^高CD62L^低の発現を有することを特徴とする。CD44^高CD62L^低の発現は、当該技術分野で既知の任意の手段によって、例えば、組織（例えば、がん組織）の単一細胞懸濁液を調製し、かつCD44及びCD62Lに対する市販の抗体を使用して表面染色及びフローサイトメトリーを行うことによって検出され得る。本開示の方法のいくつかの実施形態では、CD4及び/又はCD8エフェクタメモリーT細胞は、CXCR3の発現（別名、CX-Cケモカイン受容体3型、Mig受容体、IP10受容体、Gタンパク質カップリング受容体9、インターフェロン誘導性タンパク質10受容体、アクセッション番号NM_001504）。いくつかの実施形態では、CD4及び/又はCD8エフェクタメモリーT細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、CD4及び/又はCD8エフェクタメモリーT細胞は、腫瘍由来である。

【0432】

本発明の方法のいくつかの実施形態では、Treg機能は、組み合わせの投与前と比較して抑制される。いくつかの実施形態では、T細胞消耗は、組み合わせの投与前と比較して減少する。

【0433】

いくつかの実施形態では、Tregの数は、組み合わせの投与前と比較して減少する。いくつかの実施形態では、血漿インターフェロンガンマは、組み合わせの投与前と比較して増加する。Tregの数は、例えば、CD4+Foxp3+CD45+細胞の割合を決定する（例えば、FACS分析によって）ことによって評価され得る。いくつかの実施形態では、Tregの絶対数（例えば、試料中）が決定される。いくつかの実施形態では、Tregは、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、Tregは、腫瘍由来である。

10

【0434】

いくつかの実施形態では、T細胞プライミング、活性化及び／又は増殖は、上記組合せの投与前と比較して増加する。いくつかの実施形態では、T細胞は、CD4+及び／又はCD8+T細胞である。いくつかの実施形態では、T細胞増殖は、Ki67+CD8+T細胞の割合を決定する（例えば、FACS分析によって）ことによって検出される。いくつかの実施形態では、T細胞増殖は、Ki67+CD4+T細胞の割合を決定する（例えば、FACS分析によって）ことによって検出される。いくつかの実施形態では、T細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、T細胞は、腫瘍由来である。

【0435】

投与量及び投与

20

本明細書中に記載される任意の抗MerTK抗体、及び当該分野で公知の又は本明細書中に記載される任意の免疫チェックポイント阻害剤を本開示の方法において使用することができる。

【0436】

いくつかの実施形態では、本開示の併用療法は、抗MerTK抗体及び免疫チェックポイント阻害剤の投与を含む。抗MerTK抗体及び免疫チェックポイント阻害剤は、当該分野で公知の任意の適切な様式で投与され得る。例えば、抗MerTK抗体及び免疫チェックポイント阻害剤は、連続的に（異なる時間に）又は同時に（同じ時に）投与され得る。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗MerTK抗体とは別個の組成物中にある。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は抗MerTK抗体と同じ組成物中にある。

30

【0437】

抗MerTK抗体及び免疫チェックポイント阻害剤は、同じ投与経路又は異なる投与経路によって投与され得る。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、髄腔内、心室内、又は鼻腔内投与される。いくつかの実施形態では、抗MerTK抗体は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、髄腔内、脳室内、又は鼻腔内投与される。疾患の予防又は処置のために、有効量の免疫チェックポイント阻害剤及び抗MerTK抗体を投与してもよい。抗MerTK抗体及び／又は免疫チェックポイント阻害剤の適切な投与量は、処置される疾患の種類、免疫チェックポイント阻害剤及び抗MerTK抗体の種類、疾患の重症度及び経過、個体の臨床状態、個体の病歴及び処置に対する応答、並びに主治医の裁量に基づいて決定され得る。いくつかの実施形態では、抗MerTK抗体と免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体又は抗PDL1抗体）との併用処置は相乗的であり、それにより、併用における有効量の抗MerTK抗体は、単剤としての有効量の抗MerTK抗体と比較して減少する。

40

【0438】

一般的な提案として、ヒトに投与される治療有効量の抗体は、1回以上の投与によるかにかかわらず、約0.01～約50mg／患者の体重kgの範囲であろう。いくつかの実施形態では、使用される本抗体は、約0.01～約45mg／kg、約0.01～約40

50

mg/kg、約0.01~約35mg/kg、約0.01~約30mg/kg、約0.01~約25mg/kg、約0.01~約20mg/kg、約0.01~約15mg/kg、約0.01~約10mg/kg、約0.01~約5mg/kg、又は約0.01~約1mg/kgであり、例えば、毎日投与される。いくつかの実施形態では、抗体は、15mg/kgで投与される。しかしながら、他の投薬レジメンが有用であってもよい。一実施形態では、本明細書に記載の抗MerTK抗体又は本明細書に記載の抗PDL1抗体は、21日間サイクルの第1日目に、約100mg、約200mg、約300mg、約400mg、約500mg、約600mg、約700mg、約800mg、約900mg、約1000mg、約1100mg、約1200mg、約1300mg、又は約1400mgの用量でヒトに投与される。用量は、注入物等の、単回用量で、又は複数回用量（例えば、2回用量又は3回用量）で投与されてもよい。併用治療において投与される本抗体の用量は、単剤処置と比較して減少し得る。この療法の進展は、従来の技法によって容易にモニタリングされる。

【0439】

(iv) 用途

一態様では、本開示は、医薬として使用される上記の抗MerTK抗体を提供する。いくつかの実施形態では、その使用は、がんの処置における使用である。いくつかの実施形態では、使用は、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させることにおける使用である。医薬の製造における上記の抗MerTK抗体の使用を、本明細書中に更に提供する。いくつかの実施形態では、医薬は、がんの処置のためのものである。いくつかの実施形態では、がんは、機能性cGAS-STING細胞質DNA感知経路タンパク質を発現する。これらのタンパク質は、cGAS-STINGシグナル伝達経路の一部であり、炎症遺伝子の発現を引き起こすために細胞質DNAの存在を検出する自然免疫において機能する。cGAS-STING細胞質DNA感知経路タンパク質の例としては、cGAS、STING、TBK-1、IRF3、p50、p60、p65、NF-κB、ISRE、IKK及びSTAT6が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチド、機能的Cx43ポリペプチド、及び機能的cGASポリペプチドを発現する。機能性タンパク質は、細胞内でそれらの通常の機能を実行することができるタンパク質である。機能性タンパク質の例としては、野生型タンパク質、タグ化タンパク質、及び野生型タンパク質と比較してタンパク質機能を保持又は改善する変異タンパク質が挙げられ得る。タンパク質機能は、タンパク質又はmRNAの発現をアッセイすること、及びゲノムDNA又はmRNAを配列決定することを含む、当業者に公知の任意の方法によって測定することができる。いくつかの実施形態では、がんは、機能的STINGポリペプチドを発現する腫瘍関連マクロファージを含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的cGASポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。いくつかの実施形態では、がんは、機能的Cx43ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を含む。特定の実施形態では、がんは、結腸がんである。いくつかの実施形態では、医薬は、アポトーシス細胞のMerTK媒介クリアランスを低下させるためのものである。

【0440】

別の態様では、個体は、PDL1バイオマーカーを発現する（例えば、診断試験において、発現することが示された）がんを有する。いくつかの実施形態では、患者のがんは、低PDL1バイオマーカーを発現する。いくつかの実施形態では、患者のがんは、高PDL1バイオマーカーを発現する。これらの方法、アッセイ、及び／又はキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、試料の0%に含まれる場合、試料中に存在しない。

【0441】

これらの方法、アッセイ、及び／又はキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、試料の0%超に含まれる場合、試料中に存在する。いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、試料の少なくとも1%に存在する。いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、試料の少なくとも5%に存在する。

いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、試料の少なくとも10%に存在する。

【0442】

これらの方法、アッセイ、及び／又はキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、FACS、ウエスタンブロット、ELISA、免疫沈降、免疫組織化学、免疫蛍光、ラジオイムノアッセイ、ドットブロット法、免疫検出方法、HPLC、表面プラズモン共鳴、光学分光、質量分光、HPLC、qPCR、RT-qPCR、多重qPCR又はRT-qPCR、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技法、及びFISH、並びにそれらの組み合わせからなる群より選択される方法を使用して試料中で検出される。

10

【0443】

これらの方法、アッセイ、及び／又はキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、タンパク質発現によって試料中で検出される。いくつかの実施形態では、タンパク質発現は、免疫組織化学(IHC)によって決定される。いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、抗PDL1抗体を使用して検出される。いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーはIHCによって弱い染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーはIHCによって中程度の染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーはIHCによって強い染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーは、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞及びそれらの任意の組合せで検出される。いくつかの実施形態では、染色は、膜染色、細胞質染色、又はそれらの組み合わせである。

20

【0444】

これらの方法、アッセイ、及び／又はキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーの不在は、試料中の染色不在又は染色なしとして検出される。これらの方法、アッセイ、及び／又はキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、PDL1バイオマーカーの存在は、試料中の任意の染色として検出される。

【0445】

IV. 検出方法

いくつかの実施形態では、本開示は、MerTKタンパク質及び細胞発現MerTKタンパク質の検出において使用するための抗MerTK抗体又はその免疫コンジュゲートを提供する。

30

【0446】

特定の実施形態では、試料中のタンパク質の存在及び／又は発現レベル／量は、IHC及び染色プロトコルを使用して試験される。組織切片のIHC染色は、試料中のタンパク質の存在を決定又は検出する信頼できる方法であることが示されている。いくつかの実施形態では、MerTKは、免疫組織化学によって検出される。いくつかの実施形態では、タンパク質発現の上昇は、IHCを使用して決定される。一実施形態では、MerTKの発現レベルは、(a)抗体を用いた試料(対象がん試料等)のIHC分析を行うことと、(b)試料中のタンパク質の発現レベルを決定することを含む方法を用いて決定される。いくつかの実施形態では、IHC染色強度は、基準と比較して決定される。いくつかの実施形態では、基準は、基準値である。いくつかの実施形態では、基準は、基準試料(例えば、対照細胞株染色試料又は非がん性患者由来の組織試料)である。

40

【0447】

IHCは、形態学的染色及び／又は蛍光インサイツハイブリダイゼーション等の更なる技法と組み合わせて行われ得る。2つの一般的なIHC方法、直接アッセイ及び間接アッセイが利用可能である。第1のアッセイに従って、抗体の標的抗原への結合は、直接判定される。この直接アッセイは、更なる抗体相互作用なしで可視化され得る、蛍光タグ又は酵素標識された一次抗体等の標識試薬を使用する。典型的な間接アッセイでは、コンジュゲートしていない一次抗体が抗原に結合し、次いで、標識された二次抗体が該一次抗体に

50

結合する。二次抗体が酵素的標識にコンジュゲートする場合、発色基質又は蛍光発生基質が添加されて、抗原の可視化をもたらす。いくつかの二次抗体が、一次抗体上の異なるエピトープと反応し得るため、シグナル増幅が生じる。

【0448】

IHCに使用される一次抗体及び／又は二次抗体は、典型的には、検出可能な部分で標識される。多数の標識が利用可能であり、これらは、一般に、以下のカテゴリにグループ化され得る：(a) ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 、及び ^{131}I 等の放射性同位体、(b) コロイド金粒子、(c) 希土類キレート（ユウロピウムキレート）、Texas Red、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン、ウンベリフェロン、フィコリセリン、フィコシアニン、若しくは市販のフルオロフォア（SPECTRUM ORANGE 7及びSPECTRUM GREEN 7等）、並びに／又は上記のいずれか1つ以上の誘導体を含むが、これらに限定されない、蛍光標識に群分けされ得、(d) 様々な酵素－基質標識が利用可能であり、米国特許第4,275,149号がこれらのいくつかについての概説を提供する。酵素標識の例には、ルシフェラーゼ（例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ；米国特許第4,737,456号を参照されたい）、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、リンゴ酸脱水素酵素、ウレアーゼ、ペルオキシダーゼ、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRPO）、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖オキシダーゼ（例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース-6-リン酸脱水素酵素）、複素環式オキシダーゼ（ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ等）、ラクトペルオキシダーゼ、マイクロペルオキシダーゼ等が挙げられる。

【0449】

酵素－基質の組合せの例としては、例えば基質として水素ペルオキシダーゼを有する西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRPO）、発色基質としてパラニトロフェニルリン酸塩を有するアルカリホスファターゼ（AP）、及び発色基質（例えば、p-ニトロフェニル- β -D-ガラクトシダーゼ）又は蛍光発生基質（例えば、4-メチルアンベリフェリル- β -D-ガラクトシダーゼ）を有する β -D-ガラクトシダーゼ（ β -D-Gal）が挙げられる。これらの総説については、米国特許第4,275,149号及び同第4,318,980号を参照されたい。

【0450】

このようにして調製された検体は、マウントかつカバースリップされ得る。その後、スライド評価が、例えば、顕微鏡を使用して決定され、当該技術分野によって常用されている染色強度判断基準が用いられ得る。一実施形態では、腫瘍由来の細胞及び／又は組織がIHCを使用して試験される場合、染色は、一般に、（試料中に存在する間質又は周辺組織とは対照的に）腫瘍細胞及び／又は組織において決定又は評価されることが理解される。いくつかの実施形態では、腫瘍由来の細胞及び／又は組織がIHCを使用して試験される場合、染色は、腫瘍内又は腫瘍周辺免疫細胞等の腫瘍浸潤免疫細胞における決定又は評価を含むことが理解される。

【0451】

V. 製品又はキット

本開示の別の実施形態では、抗MerTK抗体を含む製品又はキットが提供される。いくつかの実施形態では、製造品又はキットは、個体においてがんを処置するため若しくはがんの進行を遅延させるために、又はがんを有する個体の免疫機能を増強するために抗MerTK抗体を使用するための説明書を含む添付文書を更に備える。本明細書に記載される抗MerTK抗体のいずれも、製造品又はキットに含まれ得る。製造品又はキットは、免疫チェックポイント阻害剤を更に含み得る。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は抗PD-L1抗体である。

【0452】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤及び抗MerTK抗体は同じ容器又は別々の容器に入っている。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋、

及びシリンジが挙げられる。容器は、ガラス、プラスチック（ポリ塩化ビニル若しくはポリオレフィン等）、又は金属合金（ステンレス鋼若しくはハステロイ等）等の様々な材料から形成され得る。いくつかの実施形態では、容器は、製剤を保持し、容器上のラベル又は容器に関連するラベルは、使用上の指示を示し得る。製品又はキットは、他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、シリンジ、及び使用上の指示を有する添付文書等の商業的視点及び使用者の視点から望ましい他の材料を更に含み得る。いくつかの実施形態では、製品は、別の薬剤（例えば、化学療法剤及び抗新生物薬）のうちの1つ以上を更に含む。1つ以上の薬剤に好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋、及びシリンジが挙げられる。

【0453】

本明細書は、当業者が本開示の組成物及び方法を実施することを可能にするのに十分であると考えられる。本明細書において提示及び記述された変更形態以外の様々な変更形態は上記の記述から当業者には明らかとなり、添付した特許請求の範囲に含まれる。本明細書で引用される全ての公報、特許、及び特許出願は、あらゆる目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【0454】

本開示は、以下の実施例を参照することによってより完全に理解されることになる。しかしながら、これらは、本開示の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書に記載の実施例及び実施形態が例証のみを目的とするものであり、それを考慮に入れた様々な修正又は変更が当業者に提案されており、本明細書の趣旨及び範囲並びに添付の特許請求の範囲内に含まれるべきであることが理解される。

【0455】

実施例1：ウサギ抗MerTKモノクローナル抗体の作製及びヒト化

MerTKに対するモノクローナル抗体をウサギにおいて作製した。次いで、抗体をヒト化し、安定性及び親和性に重要な残基を同定した。

【0456】

ウサギ抗MerTKモノクローナル抗体の作製

ニュージーランドホワイต์ウサギをヒト及びマウスのMerTKで免疫した。個々のB細胞を、公開された文献（Offner et al., PLoS ONE 9 (2), 2014）に由来する修正されたプロトコルを使用して単離した。ヒト及びマウスのMerTK⁺B細胞を、IgG⁺の直接FACS選別を使用して単一ウェルに選別した。B細胞培養上清を、ヒト及びマウスのMerTK結合についての一次ELISAスクリーニングによって分析し、B細胞を溶解し、-80°Cで保存した。

【0457】

MerTK特異的B細胞の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域をPCRによって増幅し、公開された文献（Offner et al., PLoS ONE 9 (2), 2014）に記載されているように発現ベクターにクローニングした。各組換えウサギモノクローナル抗体をExp293細胞で発現させ、プロテインAで精製した。次いで、精製された抗MerTK抗体を機能的特徴づけ、親和性決定及びエピトープマッピングに供した。

【0458】

各抗体について参照される残基番号は、Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)に記載されている。図1A及び図1Bはそれぞれ、各抗MerTKウサギ抗体についての軽鎖可変領域及び重鎖可変領域のアラインメントされた配列を示す。Kabat et al., によって定義されたCDR配列は、図1A及び図1Bにおいて下線が引かれている。

【0459】

MerTK抗体のヒト化

工程 1：一次ヒト化抗体の生成

参照される各抗体の残基番号は、Kabat et al. に一致する。最初に、各ウサギ抗体の超可変領域を、それらの最も近いヒト生殖系列アクセプターフレームワークに操作して、一次ヒト化抗体、バージョン 1（標識された「v1」）（ヒト IgG1）を生成した（図 2A～2D）。具体的には、ウサギ抗体の軽鎖可変ドメイン（VL）位置 24～34（L1）、50～56（L2）及び 89～97（L3）並びに重鎖可変ドメイン（VH）位置 26～35（H1）、50～65（H2）及び 95～102（H3）を各ウサギ抗体由来の CDR について保持した（図 2A～2D）。フレームワークには、CDR 構造を調整し、抗原適合を微調整することができる「Vernier」ゾーンのウサギ残基も含まれていた（例えば、Foote and Winter, J. Mol. Biol. 224: 487–499 (1992)）。図 2A～2D は、ヒト化の第 1 工程後の各抗体のアラインメントされた配列を示す。

【0460】

工程 2：ヒト化抗体をポリッシュするフレームワーク

一次ヒト化抗体、バージョン 1 のフレームワーク「Vernier」ゾーンの各ウサギ残基を、その対応する最も近いヒトアクセプターフレームワークに従ってヒト残基に変異させた。

【0461】

各ヒト化変異バリエーションを BIAcore 分析に供して、結合及び安定性のための重要なウサギ残基を決定した。結合親和性決定は、BIAcore（商標）-T200 機器からの表面プラズモン共鳴（SRP）測定を使用して得た。簡潔には、各ヒト化変異バリエーション抗体を捕捉して、約 100 RU（応答単位）を達成した。次いで、HBS-EP 緩衝液（0.01M HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA 及び 0.05% v/v 界面活性剤 P20）で希釈したヒト MerTK の 3 倍段階希釈物（0.4nM～100nM）を BIAcore（商標）-T200 装置に 37℃ で 30 µl/分の流速で注入した。会合速度（ k_{on} ）及び解離速度（ k_{off} ）を、単純な 1 対 1 ラングミュア結合モデル（BIAcore T200 評価ソフトウェアバージョン 2.0）を用いて計算した。平衡解離定数（ K_D ）を、 k_{off}/k_{on} の比として計算した。

【0462】

表 2～5 は、モノクロ階調で結合及び安定性のための重要な残基を特定する。クローン h10C3.V1 の重要な残基は、軽鎖可変領域の Q2 及び L4、並びに重鎖可変領域の I48、G49S 及び K71 であった（表 2）。クローン h10F7.V1 の重要な残基は、軽鎖可変領域の L4 及び F87、並びに重鎖可変領域の V24、I48、G49、K71 及び S73 であった（表 3）。クローン h9E3.FN.V1 の重要な残基は、軽鎖可変領域の L4 及び P43、並びに重鎖可変領域の K71 であった（表 4）。クローン h13B4.V1 の重要な残基は、重鎖可変領域の G49 及び V78 であった（表 5）。

10

20

30

40

50

【表 2】

h 1 0 C 3. V 1 (親)		KD (nM)
		1 3. 8
LC	Q 2 I	1 7. 1
LC	L 4 M	1 2. 3
HC	Q 2 V	1 2. 5
HC	I 4 8 V	1 7. 1
HC	G 4 9 S	3 0. 2
HC	K 7 1 R	2 0. 0
HC	S 7 3 N	1 5. 0
HC	V 7 8 L	7. 4
HC	F 9 1 Y	1 4. 9

10

【表 3】

h 1 0 F 7. V 1 (親)		KD (nM)
		7. 3
LC	A 2 I	5. 9
LC	L 4 M	6. 2
LC	F 8 7 Y	8. 8
HC	Q 2 V	5. 9
HC	V 2 4 A	9. 4
HC	I 4 8 V	9. 3
HC	G 4 9 S	9. 5
HC	K 7 1 R	1 5. 3
HC	S 7 3 N	7. 6
HC	V 7 8 L	5. 1
HC	F 9 1 Y	6. 4

20

30

40

50

【表 4】

h 9 E 3. F N. V 1 (親)		KD (nM)
		1 2. 2
LC	A 2 I	1 0. 7
LC	L 4 M	7. 5
LC	P 4 3 A	1 5. 0
HC	Q 2 V	1 0. 2
HC	V 2 4 A	8. 7
HC	I 4 8 V	1 0. 2
HC	G 4 9 S	5. 6
HC	K 7 1 R	4 1. 3
HC	S 7 3 N	1 2. 3
HC	M 7 8 L	1 2. 5
HC	F 9 1 Y	1 1. 5

10

【表 5】

h 1 3 B 4. V 1 (親)		KD (nM)
		4. 8
LC	V 2 I	5. 6
LC	P 4 3 A	4. 6
HC	Q 2 V	4. 5
HC	V 2 4 A	6. 0
HC	W 4 7 Y	3. 1
HC	I 4 8 V	5. 8
HC	G 4 9 S	5 1. 5
HC	S 7 3 N	4. 7
HC	V 7 8 L	9. 2
HC	F 9 1 Y	4. 5
HC	P 1 0 5 R	4. 2

20

30

【 0 4 6 3 】

最終的なヒト化フレームワークポリリッシュ抗体を作製するために、重要な結合性及び安定性のウサギフレームワーク残基を維持し、他の残基を最も近いヒト生殖細胞系フレームワーク残基に変更した。図 2 A ～ 2 D は、最終ヒト化フレームワークポリリッシュ抗体バージョン (v. 1 4 又は v. 1 6) の配列を含む各抗体のアラインメントされた配列を示す。

40

【 0 4 6 4 】

ウサギ及びヒト化抗体配列の概要を表 6 ～ 8 に提供する。

50

【表 6】

フィブロネクチン様ドメインに結合する抗体						
名称	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
R b t 8 F 4	QSSPNIY SNYLS (配 列番号1)	GASTLAS (配列番号2)	AGGYSDS SEAYA (配 列番号3)	NYPMS (配 列番号4)	VISSTGG TNYASWA KG (配列番号 5)	VDFLVYL GGAYIIW GLDL (配列 番号6)
R b t 9 E 3. FN	QSSKSIY NNNWLS (配列番号7)	DASDLAS (配列番号8)	AGGYSGD SDYA (配列 番号9)	SNAMS (配 列番号10)	I I S S S G S TYSASWA KG (配列番号 11)	VGFFVGY GAYDYG I IHRLDL (配列番号1 2)
h 9 E 3. F N. v 1	QSSKSIY NNNWLS (配列番号7)	DASDLAS (配列番号8)	AGGYSGD SDYA (配列 番号9)	SNAMS (配 列番号10)	I I S S S G S TYSASWA KG (配列番号 11)	VGFFVGY GAYDYG I IHRLDL (配列番号1 2)
h 9 E 3. F N. v 1 6	QSSKSIY NNNWLS (配列番号7)	DASDLAS (配列番号8)	AGGYSGD SDYA (配列 番号9)	SNAMS (配 列番号10)	I I S S S G S TYSASWA KG (配列番号 11)	VGFFVGY GAYDYG I IHRLDL (配列番号1 2)
R b t 1 0 C 3	QSSSESVY NNDYLA (配列番号1 3)	SASTLAS (配列番号1 4)	AGGYLGN NV (配列番号 15)	GYTMG (配 列番号16)	V I S S G G T TYYTNA KG (配列番号 17)	VAFTAYG GGGFPTL HRLDL (配 列番号18)
h 1 0 C 3. v 1	QSSSESVY NNDYLA (配列番号1 3)	SASTLAS (配列番号1 4)	AGGYLGN NV (配列番号 15)	GYTMG (配 列番号16)	V I S S G G T TYYTNA KG (配列番号 17)	VAFTAYG GGGFPTL HRLDL (配 列番号18)
h 1 0 C 3. v 1 4	QSSSESVY NNDYLA (配列番号1 3)	SASTLAS (配列番号1 4)	AGGYLGN NV (配列番号 15)	GYTMG (配 列番号16)	V I S S G G T TYYTNA KG (配列番号 17)	VAFTAYG GGGFPTL HRLDL (配 列番号18)
R b t 1 0 F 7	QSSKSVY NNNWLS (配列番号1 9)	RASTLES (配列番号2 0)	AGGYSSS SSANA (配 列番号21)	GYAMS (配 列番号22)	V I S S S G S SYPPSWA KG (配列番号 23)	VQFYVGY AVYGYG I IDRLDL (配列番号2 4)
h 1 0 F 7. v 1	QSSKSVY NNNWLS (配列番号1 9)	RASTLES (配列番号2 0)	AGGYSSS SSANA (配 列番号21)	GYAMS (配 列番号22)	V I S S S G S SYPPSWA KG (配列番号 23)	VQFYVGY AVYGYG I IDRLDL (配列番号2 4)
h 1 0 F 7. v 1 6	QSSKSVY NNNWLS (配列番号1 9)	RASTLES (配列番号2 0)	AGGYSSS SSANA (配 列番号21)	GYAMS (配 列番号22)	V I S S S G S SYPPSWA KG (配列番号 23)	VQFYVGY AVYGYG I IDRLDL (配列番号2 4)
R b t 1 3 D 8	QASQSVY DSKWL A (配列番号2 5)	SASTLAS (配列番号1 4)	AGAYTDN IV (配列番号 26)	SYSMG (配 列番号27)	V I S A S G T TYASWV NG (配列番号 28)	AAFTAYN RGSCV I H RLDL (配列 番号29)
R b t 2 2 C 4	QSSPSVY NHNWLS (配列番号3 0)	EASKLAS (配列番号3 1)	AGGFSSG SDSFA (配 列番号32)	TYSMS (配 列番号33)	I V S V A I D PVYATWA RG (配列番号 34)	VAFSTNG I PHRLDL (配列番号3 5)

10

20

30

40

50

I g 様ドメインに結合する抗体						
名称	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
R b t 1 1 G 1 1	QASESIS SRLA (配列 番号36)	SASTLAS (配列番号1 4)	QTYYGGS TTGWYV (配列番号3 7)	SYGIS (配 列番号38)	YIYPGFG ITNYAHS VKG (配列番 号39)	DLDYTG VVGYYV TYYFTL (配列番号4 0)
R b t 1 2 H 4	QASQSIG NALA (配列 番号41)	AASNLAS (配列番号4 2)	QTYYAIN RYGGA (配 列番号43)	VYGMG (配 列番号44)	FINNVGN TYYASWA KG (配列番号 45)	GGGGDWG YFNI (配列 番号46)
R b t 1 3 B 4	QASQNIY SGLA (配列 番号47)	GASKLAS (配列番号4 8)	QATYYSS NSVA (配列 番号49)	SYAMG (配 列番号50)	IINSYGN TYYANWA KG (配列番号 51)	DPGVSSN L (配列番号5 2)
h 1 3 B 4. v 1	QASQNIY SGLA (配列 番号47)	GASKLAS (配列番号4 8)	QATYYSS NSVA (配列 番号49)	SYAMG (配 列番号50)	IINSYGN TYYANWA KG (配列番号 51)	DPGVSSN L (配列番号5 2)
h 1 3 B 4. v 16	QASQNIY SGLA (配列 番号47)	GASKLAS (配列番号4 8)	QATYYSS NSVA (配列 番号49)	SYAMG (配 列番号50)	IINSYGN TYYANWA KG (配列番号 51)	DPGVSSN L (配列番号5 2)
R b t 1 4 C 9	QASQSIS SSLA (配列 番号53)	AASILAS (配列番号5 4)	QCTSYGS LFLGP (配 列番号55)	ANTMN (配 列番号56)	IFTATGS TYYATWV NG (配列番号 57)	SGSGSSS GAFNI (配 列番号58)
R b t 1 8 G 7	QASQSIS NFLA (配列 番号59)	AASHLAS (配列番号6 0)	QSYFYSS TSIYNA (配列番号6 1)	SYALG (配 列番号62)	IISSTGT TYYATWA KG (配列番号 63)	GAYAGYV AFGPYYF HI (配列番号 64)

10

20

30

40

50

【表 7】

フィブロネクチン様ドメインに結合する抗体		
名称	軽鎖可変領域	重鎖可変領域
R b t 8 F 4	AAVLTQTPTSPVSAAVGGTVTINCQSSPNIYS NYLSWFQKPGQPPKLLIYGASTLASGVP RFKSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCAG GYSDSSEAYAFGGGTEVVVK (配列番号 6 5)	QSVQESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLINYP M SWVRQAPGKGLEWIGVISSTGGTNYASWAKG RFTISKSTSTVDLKITSPTTEDATYFCARVDFL VYLGAYIHWGLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 8 3)
R b t 9 E 3. FN	AAVLTQTPTSPVSAAVGGTVSISCQSSKSIYN NNWLSWYQKPGQPPKLLIYDASDLASGV PSRFEGSGSGTEFTLTISDLECDAAATYYCA GGYSGSDYAFGGGTEVVVK (配列番号 6 6)	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSNAM M SWVRQAPGKGLEWIGIISSTGGTNYASWAKG RFTISKSTSTMDLKITSPTTEDATYFCARVGVFVG YGAYDYGIHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 8 4)
h 9 E 3. F N. v 1	DAQLTQSPSTLSASVGDRTTTCQSSKSIYN NNWLSWYQKPGQPPKLLIYDASDLASGV PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAATYYCA GGYSGSDYAFGGGTEVVVK (配列番号 6 7)	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSNA M MSWVRQAPGKGLEWIGIISSTGGTNYASWAKG RFTISKDSSKNTMYLQMNSLRAEDTAVYFCAR VGVFVGAYDYGIHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 8 5)
h 9 E 3. F N. v 1 6	DIQLTQSPSTLSASVGDRTTTCQSSKSIYN NNWLSWYQKPGQPPKLLIYDASDLASGV PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAATYYCA GGYSGSDYAFGGGTEVVVK (配列番号 6 8)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSNA M MSWVRQAPGKGLEWIGIISSTGGTNYASWAKG RFTISKDSSKNTMYLQMNSLRAEDTAVYFCAR VGVFVGAYDYGIHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 8 6)
R b t 1 0 C 3	AQVLIQTASSVSAAVGGTVTISCQSSSVY NNWLSWYQKPGQPPKLLIYASSTLASGV VPSRFKSGSGTQFTLTISDLECDAAATYY CAGGYLGNNVFGGGTEVVVK (配列番号 6 9)	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSGYTM M GWVRQAPGKGLEWIGVISSTGGTNYASWAKG RFTISKSTSTVDLKITSPTTEDATYFCARVAF AYGGGFPFTHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 8 7)
h 1 0 C 3. v 1	DQVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSSVY NNWLSWYQKPGQPPKLLIYASSTLASGV VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYY CAGGYLGNNVFGGGTEVVVK (配列番号 7 0)	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSGYT M MGWVRQAPGKGLEWIGVISSTGGTNYASWAKG GRFTISKDSSKNTVYLQMGSLRAEDMAVYFCA RVAFAYGGGFPFTHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 8 8)
h 1 0 C 3. v 1 4	DQVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSSVY NNWLSWYQKPGQPPKLLIYASSTLASGV VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYY CAGGYLGNNVFGGGTEVVVK (配列番号 7 0)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSGYT M MGWVRQAPGKGLEWIGVISSTGGTNYASWAKG GRFTISKDSSKNTVYLQMGSLRAEDMAVYYC ARVAFAYGGGFPFTHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 8 9)
R b t 1 0 F 7	AAVLTQTPTSPVSAATMGTVSISCQSSKSVY NNWLSWYQKPGQPPKLLIYRASTLESG VPSRFKSGSGTQFTLTISDVHCDDAATYF CAGGYSSSSANAFGGGTEVVVK (配列番号 7 1)	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSGYAM M SWVRQAPGKGLEWIGVISSTGGTNYASWAKG RFTISKSTSTVDLKITSPTTEDATYFCARVQFYV YAVYGYGIHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 9 0)
h 1 0 F 7. v 1	DAVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSKSVY NNWLSWYQKPGQPPKLLIYRASTLESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFC AGGYSSSSANAFGGGTEVVVK (配列番号 7 2)	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSGY M MSWVRQAPGKGLEWIGVISSTGGTNYASWAKG GRFTISKDSSKNTVYLQMGSLRAEDMAVYFCA RVQFYVGYAVYGYGIHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 9 1)
h 1 0 F 7. v 1 6	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSKSVY NNWLSWYQKPGQPPKLLIYRASTLESG PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCA GGYSSSSANAFGGGTEVVVK (配列番号 7 3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSGY M MSWVRQAPGKGLEWIGVISSTGGTNYASWAKG GRFTISKDSSKNTVYLQMGSLRAEDMAVYYC ARVQFYVGYAVYGYGIHRLDLWGQGTLVTV SS (配列番号 9 2)
R b t 1 3 D 8	AQVLTQTASSVSAAVGGTVTINCQASQSV YDSKWLAWYQKPGQPPKLLIYASSTLAS GVPSRFKSGSGTQFTLTISDLECDAAATY YCAGAYTDNIVFGGGTEVVVK (配列番号 7 4)	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSFSSYS M GWVRQAPGKGPYIGVISSTGGTNYASWVNGR FTISKSTSTMDLKMTSPTAADATYFCARAAFT AYNRGSCVIHRLDLWGQGTLVTVSS (配列番号 9 3)

10

20

30

40

50

R b t 2 2 C 4	AQVLQTASSVSAAVGGTVTISCQSSPSVY NHNWLSWYQQKPGQPPKLLIYEASKLASG VPSRFGSGSGTQFTLTISDVQCDEAATYY CAGGFSSGSDSFAFGGGTEVVVT (配列番号 7 5)	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSTYSM SWVRQAPGKGLEWLGIIVSAIDPVYATWARG RFTISRSTTVNLKITSPTTEDTATYFCVRVAFS TNGIPHRDLWGQGTLVTVSS (配列番号 9 4)
I g 様ドメインに結合する抗体		
名称	軽鎖可変領域	重鎖可変領域
R b t 1 1 G 1 1	DPVLTQTPSSVEAAVGGTVTIKCQASESISS RLAWYQQKPGQPPKLLIYASSTLASGVSSR FKGSGSGTEFTLTISDLECADAAATYYCQTY YGGSTTGWYVFGGGTEVVVK (配列番号 7 6)	QELVESGGGLVQAGESLKLCKASGIDFSSYGI SWVRQAPGKGLEWIAIYYPGFGITNYAHSVKG RFTISSDNAQNTVFLQMPSLTASDTATYFCARD LDYTGGVVGYYAVVTYYFTLWGPGLTVTVSS (配列番号 9 5)
R b t 1 2 H 4	DVVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSIG NALAWYQQKPGQPPKLLIYAASNLAGVVP SRFAGSGSGTQFTLTISDLECADAAATYYCQ TYYAINRYGGAFFGGGTEVVVK (配列番号 7 7)	QSVEESGGRLVTPGTPLTVTCTVSGFSLSVYGM GWVRQAPGKGLEIYGFINNVTGNTYYASWAKG RFTISKSTTVDLKITSPTTEDTATYFCAKGGGG DWGYFNIWGPGLTVTVSL (配列番号 9 6)
R b t 1 3 B 4	DVVMTQTPASVSEPVGTVTIKCQASQNIY SGLAWYQQKPGQPPKLLIYGASKLASGVSS RFKSGSGTEFTLTISDLECADAAATYYCQA TYYSSNSVAFGGGTEVVVK (配列番号 7 8)	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAM GWVRQAPGKGLEWIGIINSYGNTYYANWAKG RFTISRSTTVDLRMPSLTTEDTATYFCARDPG VSSNLWGPGLTVTVSS (配列番号 9 7)
h 1 3 B 4. v 1	DVQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNIY SGLAWYQQKPGKPPKLLIYGASKLASGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQAT YYSSNSVAFGGGTVKVEIK (配列番号 7 9)	EQQLVESGEGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLSSYA MGWVRQAPGKGLEWIGIINSYGNTYYANWAK GRFTISRDSKNTVYLQMGSLRAEDMAVYFCA RDPGVSSNLWGPGLTVTVSS (配列番号 9 8)
h 1 3 B 4. v 1 6	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNIYS GLAWYQQKPGKAPKLLIYGASKLASGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQAT YYSSNSVAFGGGTVKVEIK (配列番号 8 0)	EVQLVESGEGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSYA MGWVRQAPGKGLEIYVGIINSYGNTYYANWAK GRFTISRDNKNTVYLQMGSLRAEDMAVYYC ARDPGVSSNLWGRGTLTVTVSS (配列番号 9 9)
R b t 1 4 C 9	DPVLTQTPASVSEPVGTVTIKCQASQSISS SLAWYQQKPGQPPKLLIYAASILASEISSRF KGSRSGETFTLTISDLECADAAATYYCQCTS YGSFLGPFPGGGTEVVVK (配列番号 8 1)	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDL SANTM NWVRQAPGKGLEWIGIFTATGSTYYATWVNG RFTISKSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSGSG SSSGAFNIWGPGLTVTVSL (配列番号 1 0 0)
R b t 1 8 G 7	DIVMTQTPASVEAAVGGTVTIKCQASQSISS NFLAWYQQKPGQPPKLLIYAASHLAGVVP SRFKGSGSGTQFTLTISDLECADAAATYYCQ SYFYSSTSIYNAFGGGTEVVVR (配列番号 8 2)	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSSYALG WVRQAPGKGLEIYIGHSSTGTYYATWAKGRF TISKSTSTTVDLKITGPTTEDTATYFCARGAYA GYVAFGPYFHIWGPGLTVTISL (配列番号 1 0 1)

10

20

30

40

50

【表 8】

名称	重鎖配列	軽鎖配列
h 9 E 3 . F N . v 1 ヒ ト L A L A P G	EQQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAVSGFSLSS NAMSWVRQAPGKGLEWIGIISSTYSAS WAKGRFTISKDSSKNTMYLQMNSLRAEDT AVYFCARVGFVGYGAYDYGIIHRLDLWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG (配列番号 1 0 2)	DAQLTQSPSTLSASVGDRVITTCQSSKSIYNNWL SWYQQKPGKPPKLLIYDASDLASGVPSRFSGSGS GTEFTLTISLQPDDEATYYCAGGYSGLSDYAFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 0)

10

20

30

40

50

h 9 E 3. F N. v 1 6 ヒ ト L A L A P G	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFSLS NAMSWVRQAPGKGLEWVSISSSGSTYSAS WAKGRFTISKDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARVGGFFVGYGAYDYGIIHRLDLWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG (配列番号 1 0 3)	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTTTCQSSKSIYNNNWL SWYQQKPGKPPKLLIYDASDLASGVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPDFAFYCAGGYSGDSYAFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SPVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 1)
h 1 0 C 3. v 1 ヒ ト L A L A P G	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS GYTMGWVRQAPGKLEYIGVISSGGTTY TNWAKGRFTISKDSKNTVYLQMGSLRAE DMAVYFCARVAFTAYGGGGFPTLHRLDL WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG (配列番号 1 0 4)	DQVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSSESVYNNDY LAWYQQKPGQPPKLLIYASSTLASGVPDFRFGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCAGGYLGNNVFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 2)
h 1 0 C 3. v 1 4 ヒ ト L A L A P G	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS GYTMGWVRQAPGKLEYIGVISSGGTTY TNWAKGRFTISKDNSKNTLYLQMGSLRAE DMAVYFCARVAFTAYGGGGFPTLHRLDL WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG (配列番号 1 0 5)	DQVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSSESVYNNDY LAWYQQKPGQPPKLLIYASSTLASGVPDFRFGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCAGGYLGNNVFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 3)

10

20

30

40

50

h 1 0 F 7. v 1 ヒ ト L A L A P G	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSL GYAMSWVRQAPGKGLEYIGVISSSGSSYY SWAKGRFTISKDSSKNTVYLQMGLRAED MAVYFCARVQFYVGYAVYGYGIIDRLDL WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG (配列番号 1 0 6)	DAVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSKSVYNNNW LSWYQQKPGQPPLLIYRASTLESQVPDRFSGSGS GTDFTLTISSLQAEDVAVYFCAGGYSSSSSANA FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 4)
h 1 0 F 7. v 1 6 ヒ ト L A L A P G	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSL GYAMSWVRQAPGKGLEYIGVISSSGSSYY SWAKGRFTISKDNSKNTLYLQMGLRAED MAVYFCARVQFYVGYAVYGYGIIDRLDL WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG (配列番号 1 0 7)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCQSSKSVYNNNW LSWYQQKPGQPPLLIYRASTLESQVPDRFSGSGS GTDFTLTISSLQAEDVAVYFCAGGYSSSSSANA FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 5)
h 1 3 B 4. v 1 ヒ ト L A L A P G	EQQLVESGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSL SYAMGWVRQAPGKGLEWIGHINSYGNTRY ANWAKGRFTISRDSKNTVYLQMGLRAE DMAVYFCARDPGVSSNLWGPGTLTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL PG (配列番号 1 0 8)	DVQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQNIYSGLA WYQQKPGKPPKLLIYGASKLASGVPSRFSGSGS TEFTLTISSLQPDFAFYCYCATYYSSNSVAFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 6)

10

20

30

40

50

h 1 3 B 4. v 1 6 ヒト L A L A P G	EVQLVESGEGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS SYAMGWVRQAPGKGLEYVGIINSYGNTYY ANWAKGRFTISRDNKNTVYLQMGLRAE DMAVYYCARDPGVSSNLWGRGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLS PG (配列番号 1 0 9)	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQNIYSGLA WYQQKPGKAPKLLIYGASKLASGVPSRFSGSGG TEFTLTISLQPDDEFATYYCQATYYSSNSVAFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC (配列番号 1 1 7)
--	--	--

10

【0465】

特定の実施形態では、配列番号102～109のそれぞれは、任意に、アミノ酸配列のC-末端にリジン(K)を含んでもよく、例えば、各配列はPGではなくPGKで終了してもよい。

【0466】

実施例2：抗体結合親和性

20

各ウサギ及びヒト化抗体を結合アッセイに供して、様々な種に由来するMerTKに対するその親和性を決定した。

【0467】

BIAcore (商標) - T200 機器からの表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定を使用して、全ての結合親和性決定を得た。簡潔には、各ウサギ又はヒト化抗体を捕捉して、約100 RU (応答単位) を達成した。次いで、HBS-E P緩衝液 (0.01M HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA及び0.05% v/v 界面活性剤P20) で希釈した様々な種に由来するMerTKの3倍段階希釈物 (0.4nM ~ 100nM) をBIAcore (商標) - T200 装置に25℃又は37℃で30μl / 分の流速で注入した。会合速度 (k_{on}) 及び解離速度 (k_{off}) を、単純な1対1ラングミュア結合モデル (BIAcore T200 評価ソフトウェアバージョン2.0) を用いて計算した。平衡解離定数 (K_D) を、 k_{off} / k_{on} の比として計算した。

30

【0468】

表9は、ヒト、カニクイザル及びマウスMerTKタンパク質に結合する各ウサギ抗MerTK抗体について、BIAcore分析によって測定した平衡解離定数 K_D を示す。表10～13は、ウサギ抗MerTKモノクローナル抗体について測定された K_D を、ヒト化の第1工程 (V1) 後のそれらの一致する抗体と比較する。表14～17は、ヒト化の最終工程 (ヒト化ポリッシュmAb) 後のヒト、カニクイザル、ラット及びマウスのMerTKタンパク質に結合する各抗体の K_D を、ヒト化の第1工程 (V1) 後の同じ抗体の K_D と比較する。ポリッシュヒト化mAbは、それぞれh10C3.v14、h9E3.FN.v1、h10F7.v16及びh13B4.v16である。

40

【表 9】

Me r TK抗体	25℃でのB I A c o r e (K _D : nM)		
	ヒト Me r TK	カニクイザル Me r TK	マウス Me r TK
R b t 8 F 4	4.4	14.7	2.3
R b t 9 E 3. FN	2.6	2.5	0.6
R b t 10 C 3	3.4	3.0	0.7
R b t 10 F 7	7.0	4.7	4.1
R b t 11 G 11	31.3	14.3	4.1
R b t 12 H 4	18	13.9	8.5
R b t 13 B 4	2.9	1.8	>1000
R b t 13 D 8	4.3	3.8	1.2
R b t 14 C 9	>1000	NA	0.6
R b t 18 G 7	2.3	4.3	1.7
R b t 22 C 4	94	82.2	2.2

10

【表 10】

クローン	37℃での10C3 (FN結合剤)			
Me r TK	ヒト K _D : nM	カニクイザル K _D : nM	ラット K _D : nM	マウス K _D : nM
ウサギmAb	9.9	4.1	2.4	0.8
ヒト化mAb V1	12.9	5.3	3.3	1.1

20

【表 11】

クローン	37℃での9E3. FN (FN結合剤)			
Me r TK	ヒト K _D : nM	カニクイザル K _D : nM	ラット K _D : nM	マウス K _D : nM
ウサギmAb	5.1	2.5	1.7	0.6
ヒト化mAb V1	10.6	4.5	3.7	1.5

30

【表 12】

クローン	37℃での10F7 (FN結合剤)			
Me r TK	ヒト K _D : nM	カニクイザル K _D : nM	ラット K _D : nM	マウス K _D : nM
ウサギmAb	10.9	5.1	5.8	2.4
ヒト化mAb V1	7.1	3.1	3.6	1.5

40

50

【表 1 3】

クローン	37℃での13B4 (Ig結合剤)			
Me r TK	ヒト K _D : nM	カニクイザル K _D : nM	ラット K _D : nM	マウス K _D : nM
ウサギmAb	4.9	5.9	>100	>100
ヒト化mAb V1	4.8	5.6	>100	>100

【表 1 4】

10

クローン	37℃での10C3 (FN結合剤)			
Me r TK	ヒト K _D : nM	カニクイザル K _D : nM	ラット K _D : nM	マウス K _D : nM
ヒト化mAb V1	11.6	5.3	3.3	1
*ヒト化ポリリッシュ mAb	6.9	3.2	2.4	0.9

【表 1 5】

20

クローン	37℃での9E3. FN (FN結合剤)			
Me r TK	ヒト K _D : nM	カニクイザル K _D : nM	ラット K _D : nM	マウス K _D : nM
ヒト化mAb V1	11.2	4.8	3.8	1.4
*ヒト化ポリリッシュ mAb	5.8	2.5	3	1.1

【表 1 6】

30

クローン	37℃での10F7 (FN結合剤)			
Me r TK	ヒト	カニクイザル	ラット	マウス
	K _D : nM	K _D : nM	K _D : nM	K _D : nM
ヒト化mAb V1	6.7	3	4.1	1.5
*ヒト化ポリリッシュ mAb	4.9	2.1	3.2	1.4

【表 1 7】

40

クローン	37℃での13B4 (Ig結合剤)			
Me r TK	ヒト K _D : nM	カニクイザル K _D : nM	ラット K _D : nM	マウス K _D : nM
ヒト化mAb V1	4.3	5	>100	>100
*ヒト化ポリリッシュ mAb	5.1	5.7	>100	>100

【0 4 6 9】

結果は、マウス特異的Me r TK結合剤である14C9及びヒト特異的Me r TK結合剤である13B4を除いて、ウサギ抗体のほとんどが交差種Me r TK結合剤であることを確認した。結果は更に、工程1のヒト化の後、抗体10F7については4種全てのMe r TKに対してわずかな親和性の改善があるが、わずかな親和性低下を示す10C3及び

50

9 E 3 . F N についてはそうではないことを示した。抗体 1 3 B 4 については、ヒト化の前後で同等である。ヒト化の工程 2 の後、1 0 C 3、9 E 3 . F N 及び 1 0 F 7 については 4 種全ての Mer T K に対して親和性が改善したが、1 3 B 4 については改善しなかった。

【0 4 7 0】

実施例 3：抗体エピトープの特徴付け

単離抗 Mer T K 抗体を、エピトープビニング及び結合分析によって特徴づけ、エピトープドメイン特異性を決定した。

【0 4 7 1】

エピトープビニング

9 6 × 9 6 アレイベースの SPR イメージングシステム (C a r t e r r a U S A) を使用して、Mer T K モノクローナル抗体のパネルをエピトープピン化した。まず、1 0 m M 酢酸ナトリウム緩衝液 p H 4 . 5 で 1 0 u g / m l に希釈した各抗 Mer T K ウサギ抗体を、C o n t i n u o u s F l o w M i c r o s p o t t e r (C a r t e r r a、米国) でアミンカップリング化学反応を用いて SPR センサープリズム C M D 2 0 0 M センサーチップ (X a n T e c B i o a n a l y t i c s、ドイツ) に直接固定した。次いで、1 0 0 n M の Mer T K をセンサーチップ上に 4 分間注入して結合させた後、各ビニングウサギ抗体を 1 0 u g / m l で更に 4 分間結合させた。

【0 4 7 2】

各サイクルの間に 1 0 m M グリシン p H 1 . 5 を用いて表面を再生し、H B S - E P 緩衝液 (0 . 0 1 M H E P E S p H 7 . 4、0 . 1 5 M N a C l、3 m M E D T A 及び 0 . 0 5 % 界面活性剤 P 2 0) を用いて 2 5 ° C で実験を行った。I B I S M X 9 6 S P R i 機器 (C a r t e r r a U S A) を使用して、固定化抗体に対する結合応答を記録した。結合データを、W a s a t c h ビニングソフトウェアツールを使用して分析して、エピトープネットワークプロットを生成した。

【0 4 7 3】

図 3 のビニング実験の結果は、どの抗体が特定の Mer T K エピトープ上で互いに結合について競合するかを示す。マウス Mer T K に対して産生された抗体 8 F 4、2 2 C 4 及び 1 3 D 8、並びにヒト Mer T K に対して産生された抗体 1 0 C 3、9 E 3 . F N、1 0 F 7、2 2 C 4、8 F 4 及び 1 3 D 8 は、互いに結合について競合した (図 3)。マウス Mer T K に対して産生された抗体 1 2 H 4、1 8 G 7、1 4 C 9 及び 1 1 G 1 1、並びにヒト Mer T K に対して産生された抗体 1 3 B 4、1 2 H 4、1 8 G 7 及び 1 1 G 1 1 は、互いに競合した (図 3)。記載されるように、抗体 1 0 C 3、9 E 3 . F N、1 0 F 7、2 2 C 4、8 F 4 及び 1 3 D 8 は、Mer T K のフィブロネクチン様ドメインに結合し、抗体 1 3 B 4、1 2 H 4、1 8 G 7 及び 1 1 G 1 1 は、Mer T K の I g 様ドメインに結合する。

【0 4 7 4】

エピトープ結合分析

ウサギ抗体のエピトープ特異性も結合実験によって決定した。各ウサギ抗体を、ヒト Mer T K 又はマウス Mer T K 由来の 4 つのドメイン：I g 様ドメインとフィブロネクチン様ドメインの両方を含む細胞外ドメイン (H u M E R R 2 6 - A 4 9 9 又は M u M E R E 2 3 - S 4 9 6)、I g 様 1 及び 2 ドメイン (H u M E R G 7 6 - P 2 8 4 又は M u M E R A 7 0 - P 2 7 9)、I g 様 1 ドメイン (H u M E R G 7 6 - G 1 9 5 又は M u M E R A 7 0 - G 1 9 0)、並びに I g 様 2 ドメイン (H u M E R G 1 9 5 - P 2 8 4 又は M u M E R G 1 9 0 - P 2 7 9) への結合について試験した。

【0 4 7 5】

結合親和性決定は、B I A c o r e (商標) - T 2 0 0 機器からの表面プラズモン共鳴 (S R P) 測定を使用して得た。簡潔には、各ウサギ抗体を捕捉して、約 1 0 0 R U (応答単位) を達成した。次いで、H B S - E P 緩衝液 (0 . 0 1 M H E P E S p H 7 . 4、0 . 1 5 M N a C l、3 m M E D T A 及び 0 . 0 5 % v / v 界面活性剤 P 2 0) で

10

20

30

40

50

希釈した様々なMerTKドメインの3倍段階希釈物(0.4 nM~100 nM)をBIAcore(商標)-T200装置に25℃又は37℃で30 μl/分の流速で注入した。会合速度(k_{on})及び解離速度(k_{off})を、単純な1対1ラングミュア結合モデル(BIAcore T200評価ソフトウェアバージョン2.0)を用いて計算した。平衡解離定数(K_D)を、 k_{off}/k_{on} の比として計算した。

【0476】

抗体エピトープ決定を、ヒト及びマウスの両方のMerTK細胞外ドメイン(HuMER R26-A499及びMuMER E23-S496)、Ig1及び2ドメイン、Ig1のみのドメイン、並びにIg2のみのドメインに結合するウサギ抗体に対するBIAcore分析によって評価した(表18)。ヒトMerTK及びそのドメインを薄い灰色で示し、マウスMerTK及びそのドメインを濃い灰色で示す。

【0477】

エピトープ結合分析の結果は、交差反応性FNドメイン抗体Rbt8F4、Rbt22C4及びRbt13D8が1 μMでヒト又はマウスのIg1及びIg2ドメインに結合しないことを実証している(表18)。抗体Rbt9E3、FN、Rbt10C3及びRbt10F7についてはエピトープ結合データを収集しなかった。しかしながら、Wasatchピニングは、Rbt9E3、FN、Rbt10C3及びRbt10F7のエピトープ特異性が、FNドメイン抗体、Rbt8F4、Rbt22C4及びRbt13D8と重複することを実証した(図3)。したがって、結果は、Rbt9E3、FN、Rbt10C3及びRbt10F7が、単離されたIg1及びIg2ドメインに結合しないFN結合ドメイン抗体であることを示唆した。

【0478】

エピトープ結合分析の結果は、抗体Rbt11G11、Rbt12H4、Rbt18G7、Rbt13B4及びRbt14C9がIgドメイン結合抗体であることを更に実証している(表18)。抗体Rbt11G11、Rbt12H4及びRbt18G7は、ヒト及びマウスの両方のMerTK Igに結合する交差反応性Igドメイン抗体である(表18)。対照的に、Rbt13B4及びRbt14C9は、それぞれヒトIg及びマウスIgに結合する種特異的Igドメイン抗体である(表18)。

10

20

30

40

50

【表 18】

HuME R上のエ ピトープ	MerTK抗体	25℃でのBIAcore分析 (K _D : nM)							
		HuME R (R2 6-A4 99)	HuME R. Ig 1&2 (G76 -P28 4)	HuME R. Ig 1 (G7 6-G1 95)	HuME R. Ig 2 (G1 95-P 284)	MuME R (E2 3-S4 96)	MuME R. Ig 1&2 (A70 -P27 9)	MuME R. Ig 1 (A7 0-G1 90)	MuME R. Ig 2 (G1 90-P 279)
FN	Rbt8F4	44	>100 0	>100 0	>100 0	2.3	>100 0	該当なし	該当なし
FN	Rbt22C4	94	>100 0	>100 0	>100 0	2.2	>100 0	該当なし	該当なし
FN	Rbt13D8	4.3	>100 0	>100 0	>100 0	1.2	>100 0	該当なし	該当なし
*FN	*Rbt9E 3, FN	2.6	該当なし	該当なし	該当なし	0.6	該当なし	該当なし	該当なし
*FN	*Rbt10C 3	3.4	該当なし	該当なし	該当なし	0.7	該当なし	該当なし	該当なし
*FN	*Rbt10F 7	7.0	該当なし	該当なし	該当なし	4.1	該当なし	該当なし	該当なし
Ig1	Rbt11G1 1	31.3	>100 0	39.8	>100 0	4.1	3.4	該当なし	該当なし
Ig1	Rbt12H4	18	92	16.7	>100 0	8.5	11	2.2	>100 0
Ig1	Rbt18G7	2.3	21	0.5	>100 0	1.7	1.9	0.2	>100 0
Ig1	Rbt13B4	2.9	8.8	0.3	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0	>100 0
—	Rbt14C9	>100 0	該当なし	該当なし	該当なし	0.6	0.5	0.1	>100 0

【0479】

実施例4：抗MerTKはヒト及びマウスマクロファージの食作用を *in vitro* で阻害する

抗MerTK抗体の *in vitro* マクロファージ食作用阻害活性を評価するために、エフェロサイトーシスアッセイを行った。

【0480】

簡潔には、アポトーシス細胞の食作用であるエフェロサイトーシスを、Incucyteリアルタイムイメージングプラットフォームを使用して定量した。アポトーシス細胞をpH感受性プローブ (pHrodo) で標識した。pHrodoは、マクロファージによって貪食されると、ファゴリソソームの酸性環境でのみ蛍光を発する。食作用事象を総蛍光強度 (TFI) として定量し、ウェルあたりのマクロファージ数によって正規化した。観察された最大正規化TFIを100%食作用活性とした。最大食作用阻害 (0%食作用活性) を、マクロファージを含まない対照ウェルにおいてpHrodo標識アポトーシス細胞単独によって生成された自己蛍光とした。

【0481】

エフェロサイトーシスアッセイは、ヒト化抗MerTK抗体がアポトーシス細胞のヒトマクロファージ食作用を阻害できることを実証した (図4A、4B及び4C)。結果は、ヒト化抗体h13B4.v16が食作用の最も強力な阻害剤であることを示唆した (表19)。さらに、Igドメイン結合抗体である抗MerTK抗体h13B4.v16 (13B4完全ヒト化) は、フィブロネクチンドメイン結合抗体である抗MerTK抗体h10F7.v16 (10F7完全ヒト化) と比較して、ヒトマクロファージ食作用の阻害において5.2倍強力であるとわかった (表20；図4D)。

【0482】

10

20

30

40

50

さらに、図 4 E は、マウスマクロファージ食作用を阻害する抗 MerTK 抗体の能力を評価するエフェロサイトーシスアッセイの結果を示す。結果は、抗 MerTK 抗体がマウスマクロファージ食作用を阻止する能力を有することを実証した（図 4 E）。さらに、結果は、Ig ドメイン結合抗体である抗 MerTK 抗体 14C9 mIgG2a LALAPG が、フィブロネクチンドメイン結合抗体である抗 MerTK 抗体 h10F7. v16（10F7 完全ヒト化）と比較して、マウスマクロファージ食作用の阻害において 4.8 倍強力であることを示した（表 21）。

【表 19】

完全ヒト化抗体	ドナー A		ドナー B		ドナー C		平均（3 ドナー）	
	IC50（nM）	最大阻害	IC50（nM）	最大阻害	IC50（nM）	最大阻害	IC50（nM）	最大阻害
h13B4. v16	0.07	91	0.08	82	0.09	77	0.08	83
h10F7. v16	0.42	76	0.53	73	0.27	60	0.41	69
h10C3. v14	0.52	64	1.2	58	1.2	62	0.95	61
h9E3. FN. v16	0.59	58	該当なし	該当なし	1.5	55	1.02	57

10

【表 20】

抗 MerTK 抗体	平均（3 ドナー）	
	IC50（nM）	最大阻害
13B4 完全ヒト化	0.08	83
10F7 完全ヒト化	0.41	69

20

【表 21】

抗 MerTK 抗体	平均	
	IC50（nM）	最大阻害
14C9 mIgG2a LALAPG	0.19	73
10F7 完全ヒト化	0.91	64

【0483】

実施例 5：抗 MerTK は *in vivo* でアポトーシス細胞のクリアランスを阻害するアポトーシス細胞クリアランスアッセイを行って、抗 MerTK 抗体の *in vivo* 活性を評価した（Seitz, H. M. et al., Macrophages and dendritic cells use different Axl/Mertk/Tyro3 receptors in clearance of apoptotic cells, J Immunol. 178 (9) 5635–5642 (2007)）。

30

【0484】

簡潔には、5～7 週齢の C57BL/6 マウスに、0.2 mg/25 g デキサメタゾン（Dex）を腹腔内注射した。8 時間後又は 24 時間後、胸腺を分離し、単一細胞懸濁液に解離させた。細胞を VAD-FMK-FITC（PBS 中 1:500、Promega、カタログ番号 G7461）で染色して、活性カスパーゼ 3 陽性アポトーシス細胞を検出した。ヨウ化プロピジウムを使用して死細胞（1:1000、Biochemika、カタログ番号 70335）を染色した。細胞を BD FACSCalibur フローサイトメーター上で分析した。アポトーシス細胞の蓄積を、VAD-FMK-FITC 単一陽性細胞（初期アポトーシス細胞）及び PI/VAD-FMK-FITC 二重陽性細胞（後期アポトーシス細胞）によって測定した。図 5 A は、アポトーシス細胞が Dex 処置の 8 時間後に蓄積し、24 時間までにほとんどが消失したことを実証している。

40

【0485】

胸腺からのアポトーシス細胞のクリアランスは、マクロファージ上に発現される MerTK に依存する。したがって、抗 MerTK 抗体を遮断する機能のパネルを、アポトーシス細胞/死細胞のクリアランスを阻害する各抗体の能力について試験した。Dex 処置の

50

24時間後に、抗MerTK（クローン14C9、mIgG2a、LALAPG）は、胸腺においてアポトーシス細胞のクリアランスを遮断したが、対照抗体抗gp120（mIgG2a、LALAPG）は遮断しなかった（図5B）。抗gp120又は抗MerTKで処置したマウスのDex注射24時間後の胸腺におけるアポトーシス／死細胞蓄積の定量化は、抗MerTK抗体が抗gp120対照と比較してアポトーシス細胞のクリアランスをブロックすることを実証した（図5C）。

【0486】

実施例6：MC-38同系腫瘍モデルにおける抗MerTK抗体の治療効果

抗MerTK抗体が腫瘍成長に影響を及ぼすかどうかを決定するために、MC-38同系腫瘍モデルにおいて腫瘍有効性研究を行った。

【0487】

6～8週齢の雌C57BL/6マウスの右片側わき腹に、ハックス緩衝生理食塩水（HBSS）及びフェノールレッドを含まないマトリゲル（BD Bioscience）に懸濁した 1×10^5 個のMC-38腫瘍細胞を皮下接種した。腫瘍が $150 \sim 250 \text{ mm}^3$ の体積に達したら（0日目）、マウスを $n=10$ の異なる処置群に分類した。抗MerTK抗体（mIgG2a、LALAPG）又は対照抗gp120（mIgG2a、LALAPG）抗体を 30 mg kg^{-1} で、1日目及び5日目に静脈内（IV）注射によって投与し、続いて9日目及び13日目に腹腔内（IP）注射によって投与した。抗PDL1抗体を 30 mg kg^{-1} で1日目にIV注射によって投与し、続いて 5 mg kg^{-1} で5、9及び13日目にIP注射した。腫瘍体積を測定し、修正楕円体式 $1/2$ （長さ $\times$ 幅 ^{2} ）を使用して週に2回計算した。 $2,000 \text{ mm}^3$ を超える腫瘍は進行したと考えられた。

【0488】

腫瘍体積追跡プロットにおいて、灰色の線は、データ収集日（図6A及び6B）の時点でまだ研究中であった動物の腫瘍サイズを表す。赤色の線は、安楽死させて試験から取り除いた潰瘍化又は進行した腫瘍を有する動物を表す（図6A及び6B）。赤色の水平破線は、処置開始からの腫瘍体積の倍加を示し、緑色の水平破線は、最小の測定可能な腫瘍体積（図6A及び6B）を表す。緑色の破線より下の領域に腫瘍を有する動物は、完全奏効を有したとみなした。

【0489】

単剤療法として、免疫チェックポイント阻害剤である抗PDL1は、中程度の抗腫瘍活性を示した（図6A～6D）。個々の腫瘍サイズ（図6A及び6B）及び平均腫瘍サイズ（図6C及び6D）の変化を、各処置群について経時的に測定した。抗MerTK抗体による併用処置は、抗PDL1抗体の抗腫瘍有効性を大幅に増強した（図6A～6D）。

【0490】

固形腫瘍の正常な生理学的状況において、MerTK発現腫瘍関連マクロファージ（TAM）による死にかけている腫瘍細胞の迅速な除去は免疫学的にサイレントである。理論に拘束されるものではないが、抗MerTK抗体を用いた上記の実験で達成されたMerTKの遮断は、生得的な炎症促進性応答を活性化することができ、これは、抗PD-1療法によってもたらされる適応T細胞応答を更に増強することができると思われる。

【0491】

実施例7：抗MerTK抗体は*in vitro*及び*in vivo*でアポトーシス胸腺細胞のクリアランスを低下させる

抗MerTK抗体（mIgG2a、LALAPGフレームワークに再フォーマットされたクローン14C9）の*in vitro*マクロファージ食作用阻害活性を評価するために、エフェロサイトーシスアッセイを行った。

【0492】

*in vitro*エフェロサイトーシスアッセイのために、胸腺組織を4～6週齢のC57BL/6Nマウスから採取し、細かく刻み、単一細胞懸濁液を得た。胸腺細胞のアポトーシスを、 37°C で5時間、 $2 \mu\text{M}$ デキサメタゾンによって誘導した。膜の完全性及び細胞表面上のホスファチジルセリンの曝露を、PI（Biolegend）を含むAPC

10

20

30

40

50

Annexin V Apoptosis Detection Kitを用いて評価した。アポトーシス胸腺細胞を $1\mu\text{g}/\text{ml}$ の**pHrodo Red**スクシンイミジルエステルで標識した。マクロファージを $30\mu\text{g}/\text{ml}$ の対照抗体又は抗**MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG)**と1時間ブレインキュベートした後、**pHrodo Red**標識アポトーシス細胞を加えた。**pHrodo**は、マクロファージによって貪食されると、ファゴリソソームの酸性環境でのみ蛍光を発する。45分間のインキュベーション後、残りのアポトーシス細胞を洗い流し、マクロファージを**FITC**コンジュゲート抗**CD11b**抗体 (**eBioscience**、クローン**M1/70**)で標識した。蛍光画像を撮影した後、**FACS**分析による定量のために細胞を細胞培養プレートから剥離した。

【0493】

in vivoでのエフェロサイトーシスアッセイのために、5~7週齢の**C57BL/6N**マウスに $20\text{mg}/\text{kg}$ の抗**MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG)**抗体を投与し、次いで、一時間後に $0.2\text{mg}/25\text{g}$ のデキサメタゾン (**Dex**)を腹腔内注射した。8時間後又は24時間後、胸腺を分離し、単一細胞懸濁液に解離させた。細胞を**VAD-FMK-FITC** (**PBS**中1:500、**Promega**、カタログ番号**G7461**)で染色して、活性カスパーゼ3陽性アポトーシス細胞を検出した。ヨウ化プロピジウムを使用して死細胞 (1:1000、**Biochemika**、カタログ番号**70335**)を染色した。細胞を**BD FACSCalibur**フローサイトメーター上で分析した。アポトーシス細胞の蓄積を、**VAD-FMK-FITC**単一陽性細胞 (初期アポトーシス細胞) 及び**PI/VAD-FMK-FITC**二重陽性細胞 (後期アポトーシス細胞) によって測定した。

【0494】

in vitroエフェロサイトーシスアッセイでは、抗**MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG)**は、腹膜マクロファージによるアポトーシス胸腺細胞の取り込みを実質的に減少させた (図7B)。さらに、**in vivo**アッセイでは、抗**MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG)**は、デキサメタゾンで処置したマウスにおいてアポトーシス胸腺細胞のクリアランスを効果的に阻害した (図7C及び8B)。この**in vivo**結果は、**MerTK**欠損マウスで観察された不完全なエフェロサイトーシスと一致しており (**Scott, R. S. et al. Phagocytosis and clearance of apoptotic cells is mediated by MER** *Nature* 411, 207-211 (2001))、抗**MerTK**抗体の機能的有効性が実証されている。

【0495】

実施例8: 抗**MerTK**抗体はリガンド媒介性**MerTK**シグナル伝達を阻害する

MerTKリガンド依存性**AKT**リン酸化を測定して、リガンド媒介性**MerTK**シグナル伝達に対する抗**MerTK**抗体の効果を評価した。

【0496】

簡潔には、指数関数的に増殖する培養物からの**J774A.1**マウスマクロファージを、**RPMI**培地+10%**FBS**中の96ウェルプレート上に 2.0×10^5 細胞/ウェルの密度で播種した。翌日、細胞を $200\mu\text{L}$ の無血清**RPMI**で2回洗浄し、 $200\mu\text{L}$ の無血清**RPMI**中で4時間インキュベートした。血清飢餓後、**MerTK**のリガンドである $10\mu\text{g}/\text{mL}$ の組換えヒト**GAS6-Fc**タンパク質を添加し、20分間インキュベートした。**Phospho-AKT (pAKT)**測定を、**Phospho-AKT-1 (Ser473)** **HTRF**キット (**シスバイオ**、#**63ADK078PEG**)を製造者の説明書 ($20\mu\text{L}$ の最終容量における2プレートのアッセイプロトコルの標準プロトコル)に従って使用して、処置した細胞溶解物から得た。**AKT**リン酸化アッセイは、マクロファージにおける**pAKT**活性によって測定されるように、抗**MerTK**抗体がアイソタイプ対照と比較してリガンド媒介性**MerTK**シグナル伝達を強力に阻害することを実証した (図8A)。

【0497】

実施例 9：腫瘍関連マクロファージに対する抗MerTK抗体の効果

MerTKの発現及び分布研究を、最も豊富な腫瘍浸潤免疫細胞の1つである腫瘍関連マクロファージ (TAM) において行った。TAMを単離するために、腫瘍を採取し、単一細胞懸濁液に解離させた。リンパ球M培地 (Cedarlane Labs) を使用して生細胞を濃縮した。CD335+、Siglec F+及び抗Ly6G/6C+細胞をビオチン複合化抗体で標識し、抗ビオチンMACSiBead (商標) 粒子 (Miltenyi Biotec) で枯渇させた。次いで、TAMを抗F4/80マイクロビーズ (Miltenyi Biotec) (図10A) で精製した。単離されたTAMの純度は、FACSによって評価して90%超であることが確認された (図10B)。蛍光顕微鏡法を使用して、TAM中のMerTK分布及びTAMがアポトーシス細胞を除去する能力を決定した (図8C及び8E)。qPCR及びトランスクリプトーム分析を行って、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 又は対照抗体 (図9、10、11、及び13) で処置した細胞において差次的に発現する遺伝子を同定した。

【0498】

野生型 (WT) マウス又はMerTK^{-/-}マウスにおいて成長するMC38同系マウス結腸腺癌腫瘍の分析は、TAMにおけるMerTKの特異的発現を示した (図8C)。さらに、MC38腫瘍由来のTAMはアポトーシス細胞を貪食することができ、重要なことに、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) はこの取り込みを阻害した (図8E)。これらの結果は、MerTKが腫瘍微小環境におけるTAMによるアポトーシス細胞のクリアランスにおいて重要な役割を果たすこと、及び抗MerTK抗体によるTAMの処置がこの取り込みを阻害することを実証している。

【0499】

抗MerTK抗体で処置した確立されたMC38腫瘍由来のTAMのトランスクリプトーム分析を実施して、TAMに対するMerTK阻害の影響を決定した。トランスクリプトーム分析により、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) で処置したマウス由来のTAMが、対照抗体で処置したTAMと比較して遺伝子発現の有意な変化を示したことが明らかになった (図9A及び10C)。遺伝子セット濃縮分析により、I型IFN応答が最も顕著に上方制御された遺伝子シグネチャとして明らかにされた (図9B及び10D)。qPCR分析により、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 処置腫瘍由来のTAMにおけるIfnb1及び複数のインターフェロン刺激遺伝子 (ISG) の上方制御が確認された (図9C及び11A)。IFNβタンパク質の有意な増加 (図9D) 及びISGの同時誘導も腫瘍試料で観察された (図10E及び11B)。Ifnb1発現の上方制御はCD45+免疫細胞に限定され、IFNβの基底レベル発現はCD45-細胞よりもCD45+免疫細胞においてはるかに高かった。さらに、IFNβは、DCではなくTAMで有意に上方制御され (図9E)、TAMはMC38腫瘍のDCよりもかなり豊富であった (図14B)。

【0500】

実施例 10：ヒトがんにおけるMerTKの分布

ヒトがんにおけるMerTK発現の分布を、The Cancer Genome Atlas (TCGA) からの発現データを使用して決定した。Daemen et al. (Daemen, A. et al. Pan-Cancer Metabolic Signature Predicts Co-Dependency on Glutamine and De Novo Glutathione Synthesis Linked to a High-Mesenchymal Cell State. Cell Metab 28, 383-399 e389 (2018)) によって記載されているように、TCGA試料中の発現データを得た。RPKMの形態の遺伝子発現は、6つの腫瘍浸潤免疫サブセットの相対レベルを計算するためのTIMERソフトウェア (Li, T. et al. TIMER: A Web Server for Comprehensive Analysis of Tumor-Infiltrating Immune Cells. Cancer Res 77, e108-e110 (2017)) の入力としての役割を果

たした。MerTKは、免疫セット存在量を推定するために使用されるシグネチャの一部ではないことが確認された。遺伝子発現レベルと免疫細胞型推定値との間のピアソン相関係数を、各細胞型及び適応症について計算した。ヒトがんでは、MerTK発現は、他の免疫細胞型（図8D）と比較して、TAMの存在量とのより大きな相関を示し、これは、MerTKがTAMによって発現されることと一致していた。

【0501】

実施例11：抗MerTK抗体は、腫瘍微小環境において局所的なI型IFN応答を誘導する

抗MerTK抗体処置とI型IFN応答との関係を調べた。簡単に説明すると、雌C57BL/6マウスの右片側わき腹に、ハンス緩衝生理食塩水（HBSS）及びフェノールレッドを含まないマトリゲル（1：1 v/v）（BD Bioscience）に懸濁した 1×10^5 個のMC38腫瘍細胞を皮下接種し、次いで、20mg/kgの抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体又は対照抗体で処置した。処置の3日後、腫瘍を、製造業者のプロトコルに従ってgentleMACS Dissociator（Miltenyi Biotec）を使用して、gentleMACS M Tube（Miltenyi Biotec）中のHalt（商標）プロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤カクテル（ThermoFisher Scientific）を補充したPBS中でホモジナイズした。腫瘍組織100mgごとに、500μLの緩衝液を使用した。腫瘍ホモジネートを4℃で20分間、12,000xgで遠心分離することによって清澄化した。ホモジネートを、BCA Protein Assay Kit（Piece）によって決定された総タンパク質濃度に基づいて正規化した。IFN-ベータ及びCCL7（MCP-3）を、それぞれ、High Sensitivity Mouse IFN Beta ELISA Kit（PBL Assay Science）及びMouse MCP-3 Instant ELISA Kit（Invitrogen）を使用してアッセイした。他のサイトカイン／ケモカインを、MILLIPLEX MAP Mouse Cytokine／chemokine Magnetic Beads Panel-Premixed 15-Plex及び32-Plex（Millipore）を用いてアッセイした。サイトカイン／ケモカインの結果を、腫瘍ホモジネート中の総タンパク質のpg/mgとして表した。

【0502】

I型IFNは、自然免疫応答及び適応免疫応答を調節するサイトカイン及びケモカインの自己分泌及び／又はパラクリン産生を活性化する。これと一致して、抗MerTK抗体で処理した腫瘍ホモジネート中のサイトカイン又はケモカインCCL3、CCL4、CCL5、CCL7及びCCL12のタンパク質レベルが観察された（図13A）。ISG発現の有意な変化は、抗MerTK抗体で処置した腫瘍担持マウスから採取した末梢血単核細胞（PBMC）では見られなかったことから、I型IFN応答は腫瘍部位に限定されているようであった（図13B）。IL10、TGFβ1、IL6及びIL12a（図13C）を含む、MerTK活性化に関連すると以前に報告されたサイトカインの発現の有意な変化は観察されなかった。要約すると、これらのデータは、抗MerTK抗体が腫瘍微小環境において局所的なI型IFN応答を誘導することができることを実証している。

【0503】

実施例12：抗MerTK抗体は抗腫瘍免疫を増強する

抗MerTK抗体がI型IFN応答を誘導し、I型IFNが抗原提示細胞（APC）の様々な態様を正に調節することを考慮して、TAM及び腫瘍関連DCによる抗原提示が抗MerTK抗体によって増強されるかどうかを判断するために抗原提示アッセイを行った。簡単に説明すると、雌C57BL/6マウスの右片側わき腹に、ハンス緩衝生理食塩水（HBSS）及びフェノールレッドを含まないマトリゲル（1：1 v/v）（BD Bioscience）に懸濁した 5×10^6 個のMC38.OVA腫瘍細胞を皮下接種した。腫瘍が100～150 mm³の体積に達したら（0日目）、マウスに抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体又は対照抗体抗gp120を20mg/k

gの用量で腹腔内（IP）注射によって投与した。後に、腫瘍を抗原提示増強について分析した。MC38・OVA腫瘍モデルでは、抗原提示をモニタリングするために、H-2K^b結合OVA由来SIINFEEKLペプチドを容易に検出することができる。抗H-2K^b-SIINFEEKL（Biolegend、クローン25-D1.16）を使用して、MHCクラスII H-2K^bに結合したOVA由来ペプチドSIINFEEKLを特異的に検出したが、他のペプチドに結合した非結合H-2K^b又はH-2K^bは検出されなかった。

【0504】

抗MerTK抗体は、TAM上のH-2K^b-SIINFEEKL複合体のレベルを有意に増加させた（図12A）。T細胞活性化のための共刺激分子であるCD86もTAMで上昇したが、DCでは上昇しなかった（図12A）。抗MerTK抗体処置後のTAM上の「M2様」マクロファージマーカーであるCD206の下方制御も観察された（図14C）。これらの知見は、抗MerTK抗体が腫瘍微小環境の免疫原性リプログラミングを誘導し、それが次に適応T細胞応答を増強し得ることを示唆している。

【0505】

腫瘍浸潤リンパ球（TIL）クローン性は、腫瘍部位での特異的TCR鎖使用を有するT細胞の頻度を反映する。抗MerTK抗体処置が抗原特異的TILのクローン増殖に影響を及ぼすかどうかを決定するために、Dynabeads Mouse Pan T Kit（ThermoFisher Scientific）を使用して腫瘍浸潤T細胞を濃縮した。AllPrep DNA/RNA/Protein Mini Kit（Qiagen）を使用して濃縮T細胞からゲノムDNAを抽出し、サーベイレベルでImmunoseqプラットフォーム（Adaptive Biotechnologies）を使用してTCRβ CDR3配列決定に供した。配列決定の結果を、Immunoseq Analyzer（Adaptive Biotechnologies）を使用して分析した。クローン性スコアは、1-（エントロピー）/log2（生産的なユニーク配列の数）として計算され、エントロピーは、様々なクローン頻度を考慮している。

【0506】

抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置は、TILクローン性の有意な増加をもたらした（図12B）、抗原特異的TILのクローン増殖を示した。さらに、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）処置は、全CD8+T細胞、並びに抗原特異的CD8+T細胞、例えばMC38腫瘍細胞によって提示される内因性抗原であるp15eを認識するT細胞の頻度を増加させた（図12C）。したがって、MerTK遮断は、腫瘍細胞の免疫認識及び腫瘍特異的CD8+T応答を増強する。

【0507】

実施例13：抗MerTK抗体は、抗PD-1、抗PD-L1及びゲムシタビンと組み合わせて有効である

併用療法としての抗MerTK抗体の有効性を更に特徴付けるために、腫瘍成長アッセイを前述のように行った。簡単に説明すると、雌C57BL/6マウスの右片側わき腹に、ハンクス緩衝生理食塩水（HBSS）及びフェノールレッドを含まないマトリゲル（1：1 v/v）（BD Bioscience）に懸濁した 1×10^5 個のMC38腫瘍細胞を皮下接種した。接種後所定の日に、マウスに、（1）単剤療法としての抗MerTK抗体（図15A）；（2）併用療法としての抗MerTK抗体及び抗PD-L1抗体（図15B）；又は（3）併用療法としての抗MerTK抗体、抗PD-1抗体及び化学療法ゲムシタビン（図15C）を投与した。抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）を20mg/kgで投与し、抗PD-L1を10mg/kgで投与し、抗PD1を8mg/kgで投与し、ゲムシタビンを120mg/kgで投与した。処置は、腫瘍進行の初期段階（図15A）又は腫瘍が完全に確立されたとき（図15B及び15C）のいずれかで行った。

【0508】

処置が腫瘍進行の初期段階で開始したとき、単剤抗MerTK抗体は腫瘍成長を有意に

10

20

30

40

50

低下させることができた（図15A）。対照的に、完全に確立された腫瘍を処置する介入設定では、抗MerTK抗体又は抗PD-L1抗体単独は限界効果を有していた（図15B）。対照的に、抗MerTK抗体及び抗PD-L1抗体による同時処置は、堅固な抗腫瘍効果を示した（図15B）。同様に、抗MerTK抗体による処置は、PD-1を標的とする抗体（PD-L1の受容体）の有効性を有意に改善した（図15C）。化学療法薬ゲムシタビンは、抗PD-1抗体療法を中程度に改善した。しかしながら、ゲムシタビン＋抗PD-1抗体の併用療法への抗MerTK抗体の添加は、全ての処置した腫瘍の完全な退縮をもたらした（図15C）。

【0509】

実施例14：抗MerTK抗体抗腫瘍効果は、腫瘍宿主における機能的STINGの存在に依存する

抗MerTK誘導抗腫瘍免疫応答におけるI型IFNシグナル伝達の役割を調べるために、IFNAR1に対する機能的中和抗体（抗IFNAR1クローンMAR1-5A3 BioXCell）を使用して、I型IFNシグナル伝達を妨害し、腫瘍成長アッセイを以前に記載されたように行った。簡単に説明すると、雌C57BL/6マウスの右片側わき腹に、ハンス緩衝生理食塩水（HBSS）及びフェノールレッドを含まないマトリゲル（1:1 v/v）（BD Bioscience）に懸濁した 1×10^5 個のMC38腫瘍細胞を皮下接種した。接種後の所定の日に、マウスに、（1）単剤療法としての抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）抗体；（2）単独療法としての抗IFNAR1抗体；（3）併用療法としての抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）及び抗PD-L1抗体；又は（4）併用療法としての抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）、抗PD-L1抗体及び抗INFAR1抗体を投与した。

【0510】

抗IFNAR1抗体処置は、MerTK遮断によるISGの調節を完全に無効にした（図16A）。I型IFNシグナル伝達の遮断はまた、抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）の抗腫瘍活性を、単剤として（図17A）又は抗PD-L1と組み合わせ（図16B）打ち消した。これらの結果は、抗MerTK抗体の抗腫瘍効果がインタクトI型IFNシグナル伝達に依存することを実証している。

【0511】

STING経路は、抗腫瘍I型IFN応答を駆動する重要なシグナル伝達機構として浮上している（Woo, S. R. et al. STING-dependent cytosolic DNA sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors. *Immunity* 41, 830-842 (2014); Deng, L. et al. STING-Dependent Cytosolic DNA Sensing Promotes Radiation-Induced Type I Interferon-Dependent Antitumor Immunity in Immunogenic Tumors. *Immunity* 41, 843-852 (2014)）。MerTK遮断の抗腫瘍効果に対するSTINGシグナル伝達の役割を決定するために、WT及びSTING欠損（Sting^{gt/gt}）マウスを用いた腫瘍研究を行った。WTマウスとは対照的に、ISGの上方制御は、抗MerTK抗体処置後のSting^{gt/gt}マウスでは検出されなかった（図17B）。さらに、MerTK阻害の抗腫瘍効果は、マウスにおいて機能的STINGの非存在下で失われた（図17C）。これらのデータは、抗MerTK抗体の抗腫瘍効果が宿主における機能的STINGの存在に依存することを実証している。

【0512】

実施例15：抗MerTK抗体抗腫瘍効果は、腫瘍細胞における機能的cGASの存在に依存する

細胞質DNAトランスフェクション実験を行って、抗MerTK抗体抗腫瘍効果に対するSTING及びcGASの効果を評価した。簡潔には、WT骨髓由来マクロファージ（BMDM）、Sting^{gt/gt} BMDM、WT J774A.1マクロファージ及び

10

20

30

40

50

c G A S^{-/-}J 7 7 4 A. 1マクロファージを、リポフェクタミン3000 (Invitrogen) を使用してHerring tests-DNA (HT-DNA) でトランスフェクトし、次いで、アポトーシスを誘導するためにUV架橋剤 (Stratagene) を使用して250mJ/cm² UV-Cで照射し、得られたIFN-βタンパク質の量を、High Sensitivity Mouse IFN Beta ELISA Kit (PBL Assay Science) を使用して測定した。機能的c G A S及びSTINGは、リポソーム媒介性トランスフェクションによる外因的に送達された細胞質DNAに応答したIFNβ誘導のためにマクロファージにおいて必要であった (図18A及び18B)。MC38腫瘍細胞及びJ 7 7 4 A. 1マクロファージにおけるc G A S及びSTING発現のウエスタンブロット分析により、J 7 7 4 A. 1マクロファージはc G A S及びSTINGを発現するが、MC38腫瘍細胞はc G A Sのみを発現することが決定された (図18C)。STING発現の欠如と一致して、MC38細胞自体は、UV照射後に検出可能なIFNβを何ら産生しなかった (図18C及び19A)。IFNβは、UV照射腫瘍細胞をWTと共培養した場合には誘導されたが、Sting^{gt/gt}マクロファージとの共培養では誘導されなかった (図19A)。

【0513】

別の実験では、死にかけている腫瘍細胞を上記のようにDNAでトランスフェクトし、マクロファージと24時間共培養し、培養上清中のIFNβタンパク質レベルを、High Sensitivity Mouse IFN Beta ELISA Kit (PBL Assay Science) を使用して決定した。c G A Sが欠損したマクロファージは、死にかけている腫瘍細胞と共培養した場合でもIFNβを産生することができた (図19B)。腫瘍細胞がマクロファージに機能的c G A Sを提供してIFN-β発現をもたらしているかどうかを調べるために、c G A S^{-/-}MC38細胞をIFN-β発現を誘導する能力について試験した。これは、マクロファージの遺伝子型にかかわらず、c G A S^{-/-}MC38細胞がIFNβ産生を刺激することができないことを示した (図19A及び19B)。これらの結果は、マクロファージ中のSTINGが腫瘍由来c G A Sによってトランス活性化されるモデルを支持する。

【0514】

in vivoでのトランス活性化STINGにおける腫瘍由来c G A Sの重要性を調べるために、本発明者らは、c G A S^{-/-}MC38又はAB22腫瘍細胞を用いて腫瘍試験を行った。簡潔には、C57BL/6Nマウスに1×10⁵ WT若しくはc G A S^{-/-}MC38細胞を接種するか、又はBALB/cマウスに1×10⁷ WT若しくはc G A S^{-/-}AB22細胞を接種し、次いで、実施例11に記載されるように抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 又は対照抗体で処置した。初期段階の腫瘍調査のために、マウスに、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 又は対照抗体を接種の4日後 (図19C) 又は抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG)、抗PD-L1若しくは対照抗体を腫瘍細胞の接種の4日後、7日後及び10日後 (図19D及び19E) に投与した。確立された腫瘍調査のため、マウスに抗PD-L1若しくは対照抗体18、22、26及び30と組み合わせた抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) を接種後 (図18E) に投与するか、又は腫瘍を100~150mm³の体積まで成長させ、次いで、マウスにその日に抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 若しくは対照抗体を投与した (図18D)。

【0515】

抗MerTK抗体処置後、MC38腫瘍において認められたI型IFN応答は、c G A S^{-/-}MC38腫瘍において完全に失われた (図19C)。中皮腫AB22腫瘍でも同様の結果が得られた (図18D)。重要なことに、c G A S欠損は、腫瘍を、初期の腫瘍進行状況における抗MerTK抗体若しくは抗PD-L1抗体の単剤処置 (図19D及び19E)、又は完全に確立された腫瘍を処置する場合の併用療法 (図18E) に対して耐性にした。したがって、抗MerTK抗体抗腫瘍効果は、腫瘍細胞における機能的c G A Sの存在に依存する

10

20

30

40

50

【0516】

実施例16：抗MerTK抗体抗腫瘍効果は、腫瘍細胞とマクロファージとの間のギャップ結合の存在に依存している可能性がある

cGASの活性化は、cGAMPの産生をもたらすことが知られている。腫瘍細胞由来のcGAMPが免疫細胞におけるSTINGの活性化に関与しているかどうかを決定するために、LC-MS/MSによるタンパク質定量を使用して、DNAをトランスフェクトしたWT及びcGAS^{-/-}MC38腫瘍細胞におけるcGAMP産生を測定した。cGAMPはWT腫瘍細胞におけるHT-DNAによるトランスフェクション後に増加したが、cGAS^{-/-}腫瘍細胞は細胞質DNAに応答してcGAMPを生成する能力を失った（図18F）。タイトジャンクションが腫瘍細胞由来のcGAMPのマクロファージへの伝達を促進するかどうかを判断するために、腫瘍細胞とマクロファージ細胞との間の色素移入アッセイ及びIFN-β移入アッセイを行った。色素移入アッセイのために、ドナー細胞（WT MC38腫瘍細胞、Cx43^{-/-}MC38腫瘍細胞、又はJ774A.1マクロファージ）をPBS中の0.5 μg/mLカルセイン-AM色素（ThermoFisher）で37℃で30分間染色し、培養培地で広範囲に洗浄して遊離色素を除去した。カルセイン担持ドナー細胞をレシピエント細胞（WT又はCx43^{-/-}MC38腫瘍細胞）と3：1の比で4～5時間共培養した。細胞をFACSによって分析して色素移入を評価した。Cx43発現を増加させるために、J774A.1マクロファージを0.5 μg/mL LPS（Invivogen）で一晩刺激した後、色素移入実験に使用した。PE-Texas Redコンジュゲート抗CD11b（ThermoFisher）を使用して、マクロファージを腫瘍細胞と区別した。

10

20

【0517】

Cx43は、最も普遍的に発現されるコネキシンファミリータンパク質（Cx）であり、集合して隣接細胞間にギャップ結合を形成する。Cx43の喪失はMC38細胞間の色素移入を無効にし（図20B及び20C）、Cx43が機能的ギャップ結合を形成するための重要なコネキシンであることが確認された。色素移入実験はまた、マクロファージとMC38腫瘍細胞との間のCx43依存性細胞間コミュニケーションを示した（図20D）。

【0518】

別の実験では、DNAをWT又はCx43^{-/-}MC38腫瘍細胞にトランスフェクトして、cGAMPの産生を誘導した。DNAトランスフェクション後、5×10⁵個の腫瘍細胞を5×10⁵個のLPS処置したJ774A.1マクロファージと24時間共培養して、cGAMPの移入を可能にした。培養上清中のIFNβタンパク質を、High Sensitivity Mouse IFN Beta ELISA Kit（PBL Assay Science）を用いて測定した。MC38腫瘍細胞はSTING発現の欠如のためにIFNβを産生することができないので、IFNβの産生は、腫瘍細胞からマクロファージへのcGAMPの産生移入を反映する。DNAトランスフェクトWT MC38細胞はIFNβ産生を誘導したが、Cx43^{-/-}MC38細胞は誘導しなかった（図21B）。WT 及びCx43^{-/-}MC38細胞が同様のレベルのcGAS（図20A）を発現したことを考えると、Cx43^{-/-}MC38細胞によるIFNβの誘導の失敗は、ギャップ結合の欠陥に起因する可能性が高い。まとめると、これらのデータは、腫瘍細胞からマクロファージへのcGAMPのギャップ結合依存性移入の可能性を支持する。

30

40

【0519】

WT及びCx43^{-/-}MC38腫瘍細胞を更に調べて、欠損したギャップ結合がこのモデルにおいて抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）の抗腫瘍効果を無効にするかどうかを判断した。簡潔には、C57BL/6Nマウスに、実施例11に記載されるようにCx43^{-/-}MC38細胞を接種し、4日後に抗MerTK 14C9（mIgG2a LALAPG）で処置した。抗MerTK抗体処置後、WT MC38腫瘍とは異なり、Cx43^{-/-}MC38腫瘍におけるISGの発現の有意な変化は観察されなかった（図21C）。

50

【0520】

抗MerTK抗体抗腫瘍効果に対するCx43喪失の効果も調べた。簡潔には、C57BL/6Nマウスに 1×10^5 WT若しくはcGAS^{-/-}MC38細胞を接種し、又はBALB/cマウスに 1×10^7 WT若しくはCx43^{-/-}MC38細胞を接種し、次いで、実施例11に記載されるように抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 又は対照抗体で処置した。マウスには、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) 及び抗PD-L1を、併用療法又は対照抗体として、腫瘍細胞の接種の14、18、22及び26日後に投与した。Cx43^{-/-}MC38腫瘍は、抗MerTK 14C9 (mIgG2a LALAPG) と抗PD-L1 (図20E) との併用療法に抵抗性になった。まとめると、これらの結果は、抗MerTK抗体が腫瘍の処置に有効であり、抗MerTK抗体の有効性が宿主STING、腫瘍由来cGAS、及び腫瘍細胞とマクロファージ細胞との間のタイトジャンクションの存在に依存することを実証している。

10

【0521】

実施例17：抗MerTK抗体は、腫瘍関連マクロファージ (TAM) によるアポトーシス細胞の継続的な排除を阻止する

血液循環中の無細胞DNA (cfDNA) は、損傷細胞又は死細胞によって放出される (Wan, J. C. M. et al. (2017) Nat. Rev. Cancer 17: 223-238)。がん患者又は腫瘍担持マウスでは、cfDNAの亜集団は、循環腫瘍DNA (ctDNA) と呼ばれる腫瘍由来である。この実施例では、SNPを利用してMC38腫瘍モデルにおいて宿主由来cfDNAと腫瘍由来ctDNAとを区別し、抗MerTK抗体処置の効果を調べた。

20

【0522】

MC38腫瘍細胞をC57BL/6Jマウスに接種し、腫瘍を確立させた。抗MerTK又は対照抗体を、腫瘍が確立された後で投与した。処置の3日後、心臓穿刺によって全血をCell-free DNA BCTチューブ (Streck) に採取した。ダブルスピニング法 (1,600gを10分間、分離後、16,000gを10分間) によりプラズマを得た。MagMAX (商標) Cell-Free DNA Isolation Kit (ThermoFisher Scientific) を製造者のプロトコルに従って使用して、cfDNA (200µLの血漿に対して12.5µL) を得た。

【0523】

宿主由来cfDNA及びMC38由来ctDNAのレベルをアッセイするために、多重液滴デジタルPCR (Bio-Rad Laboratories) を、遺伝子Jmjd1c (rs13480628, ThermoFisher Scientific社) のSNPを標的とするプライマー及びプローブを含むアッセイを使用して行った。C57BL/6Jマウス及びMC38細胞は、それぞれこの遺伝子座で「T」及び「C」対立遺伝子を発現する。液滴デジタルPCRのために、4µLの単離cfDNAを各20µL反応において使用し、各試料を二連で分析した。QuantaSoftソフトウェア (Bio-Rad Laboratories) を使用してサンプル分析を行い、標的DNA (コピー/µL血漿) を定量的アウトカムとして計算した。単離されたcfDNAのサイズは、Agilent Bioanalyzer 2100を用いて主に約170bpであることも確認された。

30

40

【0524】

MC38腫瘍細胞を上記のようにC57BL/6Jマウスに接種し、腫瘍が確立された後に抗MerTK又は対照抗体を投与した。抗MerTK処置の3日後、担腫瘍マウスの血漿中のctDNAの有意な増加が検出された (図22A)。抗MerTKはまた、血液循環における宿主由来cfDNAのレベルを増加させた (図22B)。これらの結果は、明らかに、腫瘍微小環境において、抗MerTKがTAMによるアポトーシス細胞の進行中の排除を阻止することができたことを実証している。

【0525】

実施例18：抗MerTK抗体結合親和性の分析及びエピトープマッピング

50

市販のMerTK抗体と共に対照としての本開示の抗MerTK抗体の結合親和性決定のため、BIAcore（商標）-T200装置を用いた表面プラズモン共鳴（SPR）測定を使用した。まず、2つのウサギ抗体（Y323及び10g86__D21F11）及び抗MerTK抗体h13B4.v16をプロテインAセンサーチップによって捕捉し、8つのマウス抗体（A3KCAT、2D2、7E5G1、7N-20、590H11G1E3、MAB891、MAB8911及びMAB8912-100）をそれぞれ各フローセル上のヤギ抗マウスIgGセンサーチップによって捕捉して、およそ100RUを達成した。ヒトMerTKの3倍段階希釈物（0.4nM～100nM）をHBS-EP緩衝液（0.01M HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA及び0.05% v/v界面活性剤P20）に25℃で流速50μl/分で注入して、結合応答を時間の関数として記録した。センサグラムを1対1ラングミュア結合モデルでフィッティングして、会合速度（ k_{on} ）及び解離速度（ k_{off} ）を計算した（BIAcore T200評価ソフトウェアバージョン2.0）。平衡解離定数（KD）を、 off/k_{on} の比として計算した。

【0526】

図23に示されるように、10個の選択された市販の抗体のうち4個のみがヒトMerTKへの結合を示した。結果は、Y323の場合0.4nM、A3KCATの場合6.8nM、590H11G1E3の場合7.6nM、MAB8912-100の場合17.3nM及びh13B4.v16の場合1.6nMのヒトMerTKに対する結合親和性を示したが、残りの抗体は結合を示さなかった。図23は、Y323が、h13B4.v16と比較して約12倍高いオン速度（ k_a ）及び3倍高いオフ速度（ k_d ）を有することを含めて、h13B4.v16よりも高い親和性抗体であることを示す。さらに、上記のように、図3、図4A～図4C及び表19は、h13B4.v16が、抗MerTK抗体にとって望ましい生物学的特性、例えば、より強力なエフェロサイトーシスの阻害を有することを実証している。したがって、h13B4.v16は、オン速度及びオフ速度、親和性、結合エピトープ、並びにこの抗体を特に有用な治療候補とする、結果として生じる所望の生物学的効果、例えば、エフェロサイトーシスを含む固有の結合特性を有する。

【0527】

これらの4つの抗体（Y323、A3KCAT、590H11G1E3及びMAB8912-100）を更に評価して、それらの結合エピトープがヒトMerTKの結合についてh13B4.v16と競合するかどうかを決定した。この実験を行うために、同じBIAcore（商標）-T200装置を使用し、従来のサンドイッチ形式を適用した（図24A）。2ug/mLのh13B4.v16を最初にヤギ抗ヒトFabセンサーチップによって捕捉し、次いで、50nMのヒトMerTKをHBS-EP緩衝液中で50μl/分の流速で注入して第1の結合を記録し、続いて10ug/mLの注入で試験した抗体の有無にかかわらず第2の結合を記録した。第2の結合が観察された場合、試験した抗体はリード分子と競合せず、逆もまた同様であり、第2の結合が観察されなかった場合、試験した抗体はh13B4.v16と競合した。

【0528】

結果は、抗体Y323のみがヒトMerTKへの結合についてh13B4.v16と競合したことを示した（図24B）。残りの3つの抗体は、ヒトMerTKへの結合についてh13B4.v16と競合しなかった（図24C）。

【0529】

本開示を、理解を明確にする目的で、説明及び実施例によってある程度詳細に記載してきたが、その記載及び実施例は、本開示の範囲を限定するものと解釈すべきではない。本明細書に引用される全ての特許及び科学文献の開示は、その全体が参照により明示的に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【図 2 A - 1】

軽鎖可変領域		CDR L1-Contact		CDR L1-Chocthis		CDR L1-Kabat		CDR L1-Contact	
Kabat番号	1234567891011121314151617181920212223242526272829303132333435363738394041424344454647484950515253545556575859606162636465666768697071727374757677787980818283848586878889909192939495969798991001011021031041051061071081091101111121131141151161171181191201211221231241251261271281291301311321331341351361371381391401411421431441451461471481491501511521531541551561571581591601611621631641651661671681691701711721731741751761771781791801811821831841851861871881891901911921931941951961971981992002012022032042052062072082092102112122132142152162172182192202212222232242252262272282292302312322332342352362372382392402412422432442452462472482492502512522532542552562572582592602612622632642652662672682692702712722732742752762772782792802812822832842852862872882892902912922932942952962972982993003013023033043053063073083093103113123133143153163173183193203213223233243253263273283293303313323333343353363373383393403413423433443453463473483493503513523533543553563573583593603613623633643653663673683693703713723733743753763773783793803813823833843853863873883893903913923933943953963973983994004014024034044054064074084094104114124134144154164174184194204214224234244254264274284294304314324334344354364374384394404414424434444454464474484494504514524534544554564574584594604614624634644654664674684694704714724734744754764774784794804814824834844854864874884894904914924934944954964974984995005015025035045055065075085095105115125135145155165175185195205215225235245255265275285295305315325335345355365375385395405415425435445455465475485495505515525535545555565575585595605615625635645655665675685695705715725735745755765775785795805815825835845855865875885895905915925935945955965975985996006016026036046056066076086096106116126136146156166176186196206216226236246256266276286296306316326336346356366376386396406416426436446456466476486496506516526536546556566576586596606616626636646656666676686696706716726736746756766776786796806816826836846856866876886896906916926936946956966976986997007017027037047057067077087097107117127137147157167177187197207217227237247257267277287297307317327337347357367377387397407417427437447457467477487497507517527537547557567577587597607617627637647657667677687697707717727737747757767777787797807817827837847857867877887897907917927937947957967977987998008018028038048058068078088098108118128138148158168178188198208218228238248258268278288298308318328338348358368378388398408418428438448458468478488498508518528538548558568578588598608618628638648658668678688698708718728738748758768778788798808818828838848858868878888898908918928938948958968978988999009019029039049059069079089099109119129139149159169179189199209219229239249259269279289299309319329339349359369379389399409419429439449459469479489499509519529539549559569579589599609619629639649659669679689699709719729739749759769779789799809819829839849859869879889899909919929939949959969979989991000100110021003100410051006100710081009101010111012101310141015101610171018101910201021102210231024102510261027102810291030103110321033103410351036103710381039104010411042104310441045104610471048104910501051105210531054105510561057105810591060106110621063106410651066106710681069107010711072107320742075207620772078207920802081208220832084208520862087208820892090209120922093209420952096209720982099210021012102210321042105210621072108210921102111211221132114211521162117211821192120212121222123212421252126212721282129213021312132213321342135213621372138213921402141214221432144214521462147214821492150215121522153215421552156215721582159216021612162216321642165216621672168216921702171217221732174217521762177217821792180218121822183218421852186218721882189219021912192219321942195219621972198219922002201220222032204220522062207220822092210221122122213221422152216221722182219222022212222222322242225222622272228222922302231223222332234223522362237223822392240224122422243224422452246224722482249225022512252225322542255225622572258225922602261226222632264226522662267226822692270227122722273227422752276227722782279228022812282228322842285228622872288228922902291229222932294229522962297229822992300230123022303230423052306230723082309231023112312231323142315231623172318231923202321232223232324232523262327232823292330233123322333233423352336233723382339234023412342234323442345234623472348234923502351235223532354235523562357235823592360236123622363236423652366236723682369237023712372237323742375237623772378237923802381238223832384238523862387238823892390239123922393239423952396239723982399240024012402240324042405240624072408240924102411241224132414241524162417241824192420242124222423242424252426242724282429243024312432243324342435243624372438243924402441244224432444244524462447244824492450245124522453245424552456245724582459246024612462246324642465246624672468246924702471247224732474247524762477247824792480248124822483248424852486248724882489249024912492249324942495249624972498249925002501250225032504250525062507250825092510251125122513251425152516251725182519252025212522252325242525252625272528252925302531253225332534253525362537253825392540254125422543254425452546254725482549255025512552255325542555255625572558255925602561256225632564256525662567256825692570257125722573257425752576257725782579258025812582258325842585258625872588258925902591259225932594259525962597259825992600260126022603260426052606260726082609261026112612261326142615261626172618261926202621262226232624262526262627262826292630263126322633263426352636263726382639264026412642264326442645264626472648264926502651265226532654265526562657265826592660266126622663266426652666266726682669267026712672267326742675267626772678267926802681268226832684268526862687268826892690269126922693269426952696269726982699270027012702270327042705270627072708270927102711271227132714271527162717271827192720272127222723272427252726272727282729273027312732273327342735273627372738273927402741274227432744274527462747274827492750275127522753275427552756275727582759276027612762276327642765276627672768276927702771277227732774277527762777277827792780278127822783278427852786278727882789279027912792279327942795279627972798279928002801280228032804280528062807280828092810281128122813281428152816281728182819282028212822282328242825282628272828282928302831283228332834283528362837283828392840284128422843284428452846284728482849285028512852285328542855285628572858285928602861286228632864286528662867286828692870287128722873287428752876287728782879288028812882288328842885288628872888288928902891289228932894289528962897289828992900290129022903290429052906290729082909291029112912291329142915291629172918291929202921292229232924292529262927292829292930293129322933293429352936293729382939294029412942294329442945294629472948294929502951295229532954295529562957295829592960296129622963296429652966296729682969297029712972297329742975297629772978297929802981298229832984298529862987298829892990299129922993299429952996299729982999300030013002300330043005300630073008300930103011301230133014301530163017301830193020302130223023302430253026302730283029303030313032303330343035303630373038303930403041304230433044304530463047304830493050305130523053305430553056305730583059306030613062306330643065306630673068306930703071307230733074307530763077307830793080308130823083308430853086308730883089309030913092309330943095309630973098309931003101310231033104310531063107310831093110311131123113311431153116311731183119312031213122312331243125312631273128312931303131313231333134313531363137313831393140314131423143314431453146314731483149315031513152315331543155315631573158315931603161316231633164316531663167316831693170317131723173317431753176317731783179318031813182318331843185318631873188318931903191319231933194319531963197319831993200320132023203320432053206320732083209321032113212321332143215321632173218321932203221322232233223432253226322732283229323032313232323332343235323632373238323932403241324232433244324532463247324832493250325132523253325432553256325732583259326032613262326332643265326632673268326932703271327232733274327532763277327832793280328132823283328432853286328732883289329032913292329332943295329632973298329933003301330233033304330533063307330833093310331133123313331433153316331733183319332033213322332333243325332633273328332933303331333233333334333533363337333833393340334133423343334433453346334733483349335033513352335333543355335633573358335933603361336233633364336533663367336833693370337133723373337433753376337733783379338033813382338333843385338633873388338933903391339233933394339533963397339833993400340134023403340434053406340734083409341034113412341334143415341634173418341934203421342234233424342534263427342834293430343134323433343434353436343734383439344034413442344334443445344634473448344934503451345234533454345534563457345834593460346134623463346434653466346734683469347034713472347334743475347634773478347934803481348234833484348534863487348834893490349134923493349434953496349734983499350035013502350335043505350635073508350935103511351235133514351535163517351835193520352135223523352435253526352735283529353035313532353335343535353635373538353935403541354235433544354535463547354835493550355135523553355435553556355735583559356035613562356335643565356635673568356935703571357235733574357535763577357835793580358135823583358435853586358735883589359035913592359335943595359635973598359936003601360236033604360536063607360836093610361136123613361436153616361736183619362036213622362336243625362636273628362936303631363236333634363536363637363836393640364136423643364436453646364736483649365036513652365336543655365636573658365936603661366236633664366536663667366836693670367136723673367436753676367736783679368036813682368336843685368636873688368936903691369236933694369536963697369836993700370137023703370437053706370737083709371037113712371337143715371637173718371937203721372237233724372537263727372837293730373137323733373437353736373737383739374037413742374337443745374637473748374937503751375237533754375537563757375837593760376137623763376437653766376737683769377037713772377337743775377637773778377937803781378237833784378537863787378837893790379137923793379437953796379737983799380038013802380338043805380638073808380938103811381238133814381538163817381838193820382138223823382438253826382738283829383038313832383338343835383638373838383938403841384238433844384538463847384838493850385138523853385438553856385738583859386038613862386338643865386638673868386938703871387238733874387538763877387838793880388138823883388438853886388738883889389038913892389338943895389638973898389939003901390239033904390539063907390839093910391139123913391439153916391739183919392039213922392339243925392639273928392939303931393239333934393539363937393839393940394139423943394439453946394739483949395039513952395339543955395639573958395939603961396239633964396539663967396839693970397139723973397439753976397739783979398039813982398339843985398639873988398939903991399239933994399539963997399839994000400140024003400440054006400740084009401040114012401340144015401640174018401940204021402240234024402540264027402840294030403140324033403440354036403740384039404040414042404340444045404640474048404940504051405240534054405540564057405840594060406140624063406440654066406740684069407040714072407340744075407640774078407940804081408240834084408540864087408840894090409140924093409440954096409740984099410041014102410341044105410641074108410941104111411241134114411541164117411841194120412141224123412441254126412741284129413041314132413341344135413641374138413941404141414241434144414541464147414841494150415141524153415441554156415741584159416041614162416341644165416641674168416941704171417241734174417541764177417841794180418141824183418441854186418741884189419041914192419341944195419641974198419942004201420242034204420542064207420842094210421142124213421442154216421742184219422042214222422342244225422642274228422942304231423242334234423542364237423842394240424142424243424442454246424742484249425042514252425342544255425642574258425942604261426242634264426542664267426842694270427142724273427442754276427742784279428042814282428342844285428642874288428942904291429242934294								

【図 2 C - 1】

軽鎖可変領域	
Kabat番号	CDR L1-Contact CDR L1-Choethia CDR L1-Kabat
Rat1384	
h1384v1	
h1384v16	
Kabat番号	CDR L2-Contact CDR L2-Choethia CDR L2-Kabat
Rat1384	
h1384v1	
h1384v16	
Kabat番号	CDR L3-Contact CDR L3-Choethia CDR L3-Kabat
Rat1384	
h1384v1	
h1384v16	

【図 2 C - 2】

重鎖可変領域	
Kabat番号	CDR H1-Contact CDR H1-Choethia CDR H1-Kabat
Rat1384	
h1384v1	
h1384v16	
Kabat番号	CDR H2-Contact CDR H2-Choethia CDR H2-Kabat
Rat1384	
h1384v1	
h1384v16	
Kabat番号	CDR H3-Contact CDR H3-Choethia CDR H3-Kabat
Rat1384	
h1384v1	
h1384v16	

【図 2 D - 1】

軽鎖可変領域	
Kabat番号	CDR L1-Contact CDR L1-Choethia CDR L1-Kabat
Rat10C3	
h10C3v1	
h10C3v16	
Kabat番号	CDR L2-Contact CDR L2-Choethia CDR L2-Kabat
Rat10C3	
h10C3v1	
h10C3v16	
Kabat番号	CDR L3-Contact CDR L3-Choethia CDR L3-Kabat
Rat10C3	
h10C3v1	
h10C3v16	

【図 2 D - 2】

重鎖可変領域	
Kabat番号	CDR H1-Contact CDR H1-Choethia CDR H1-Kabat
Rat10C3	
h10C3v1	
h10C3v16	
Kabat番号	CDR H2-Contact CDR H2-Choethia CDR H2-Kabat
Rat10C3	
h10C3v1	
h10C3v16	
Kabat番号	CDR H3-Contact CDR H3-Choethia CDR H3-Kabat
Rat10C3	
h10C3v1	
h10C3v16	

10

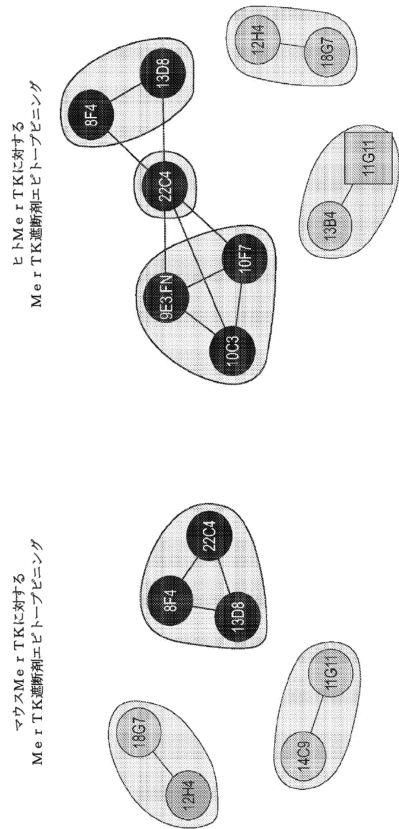
20

30

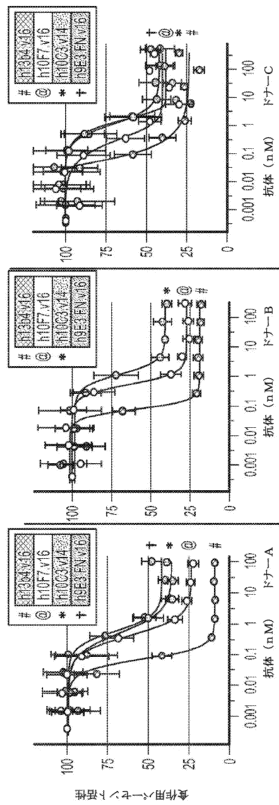
40

50

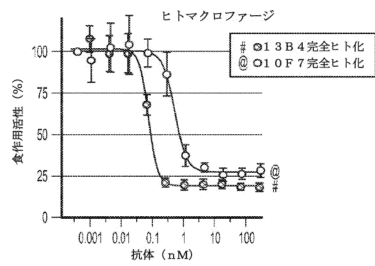
【図 3】



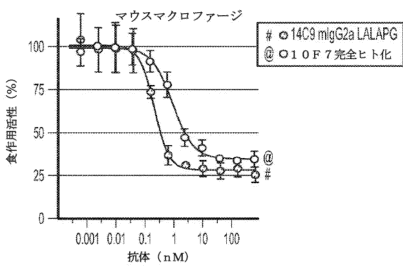
【図 4 A - C】



【図 4 D】



【図 4 E】



10

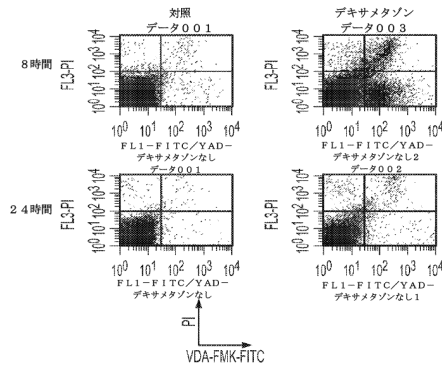
20

30

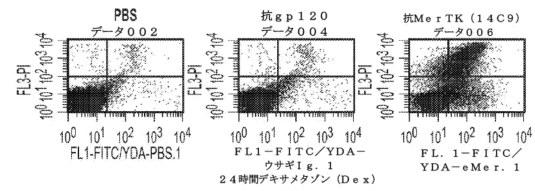
40

50

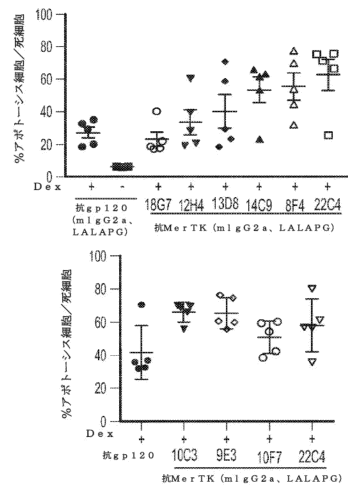
【図 5 A】



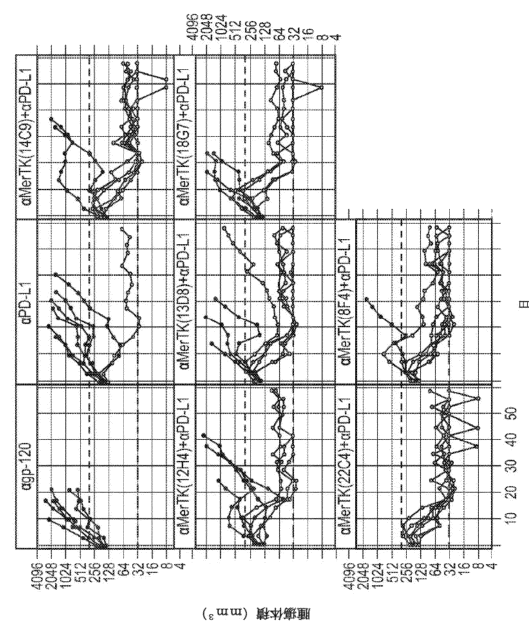
【図 5 B】



【図 5 C】



【図 6 A】



10

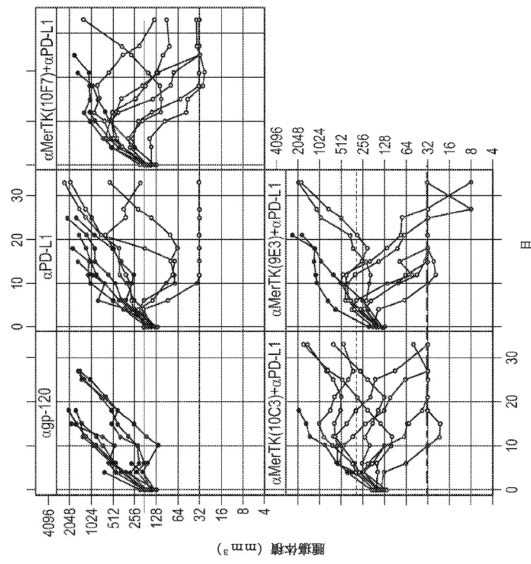
20

30

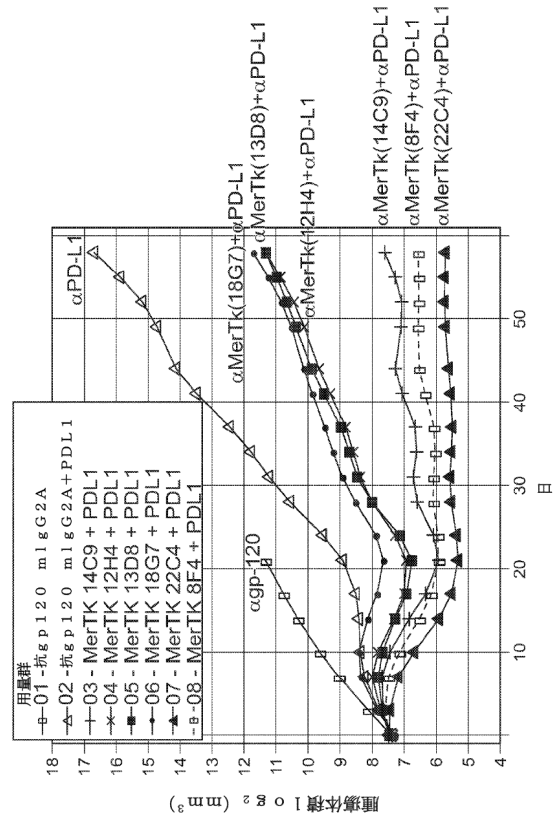
40

50

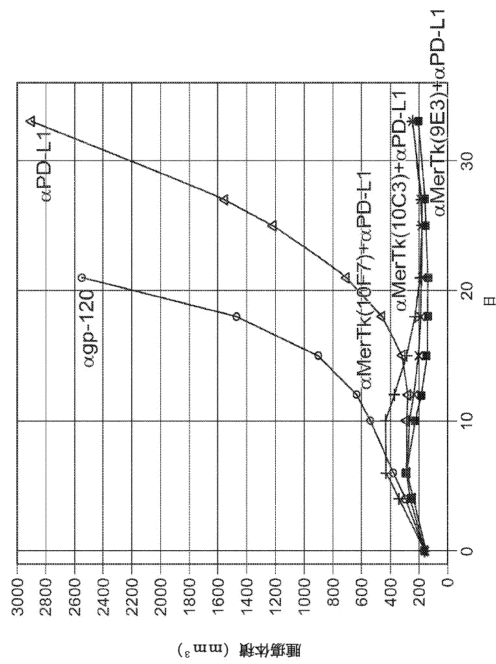
【図 6 B】



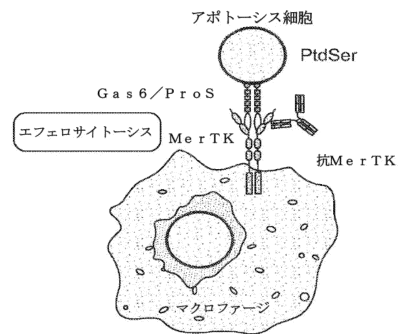
【図 6 C】



【図 6 D】



【図 7 A】



10

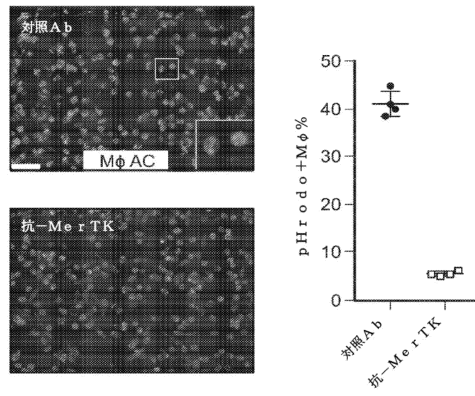
20

30

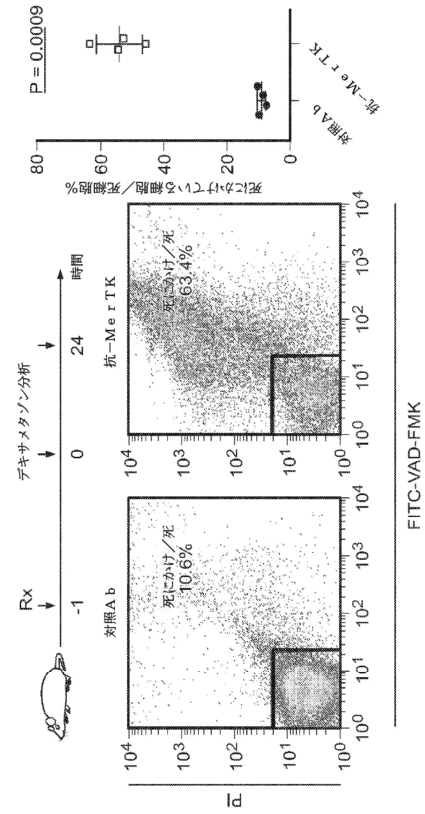
40

50

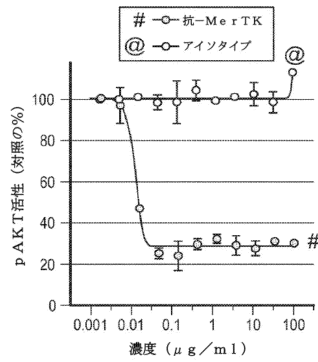
【図 7 B】



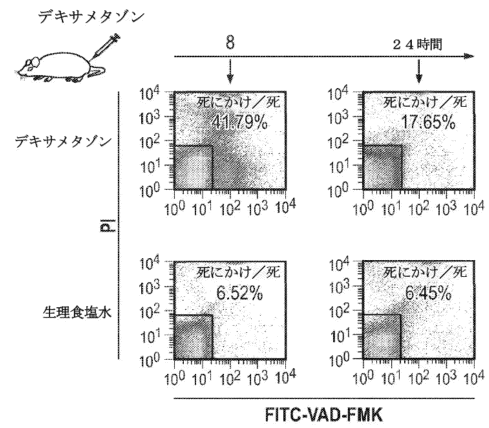
【図 7 C】



【図 8 A】



【図 8 B】



10

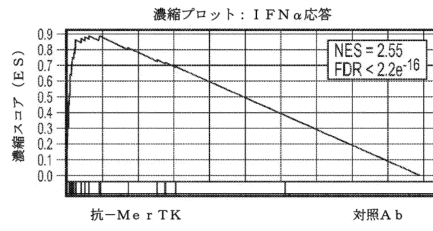
20

30

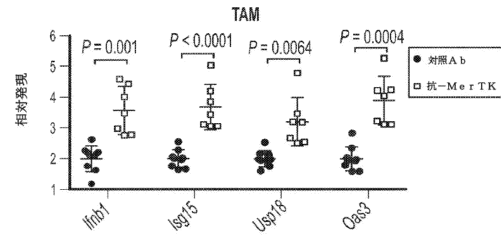
40

50

【図 9 B】

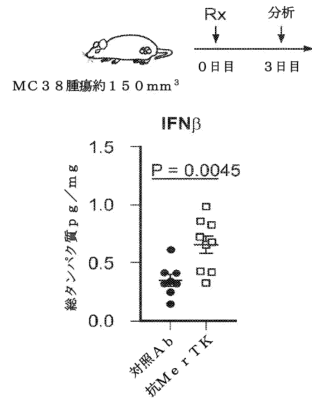


【図 9 C】

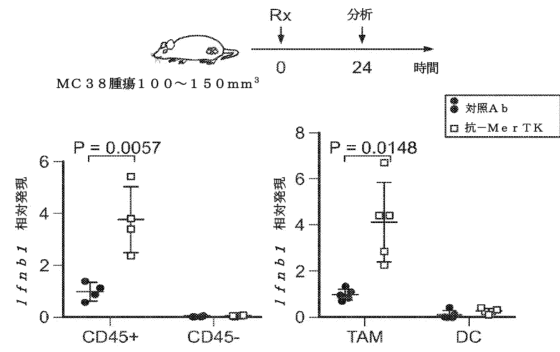


10

【図 9 D】



【図 9 E】



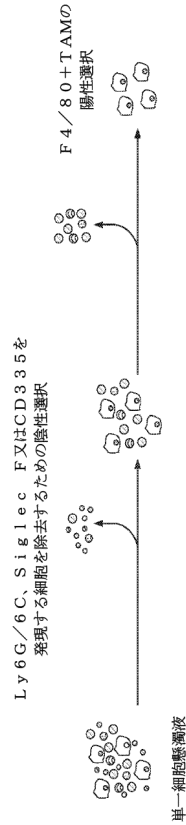
20

30

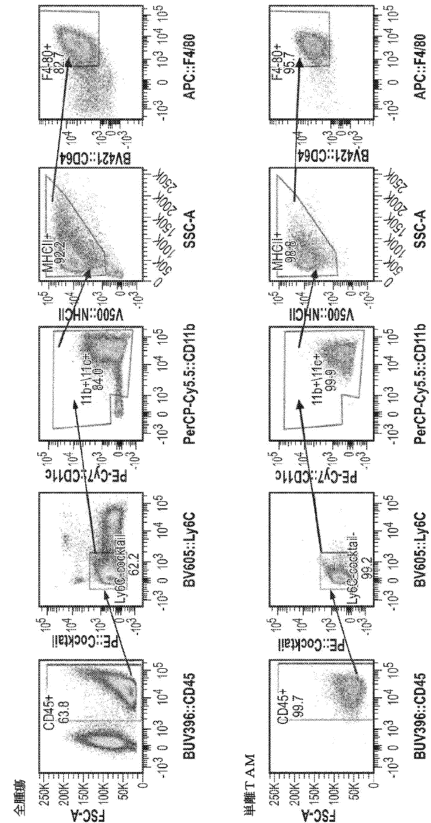
40

50

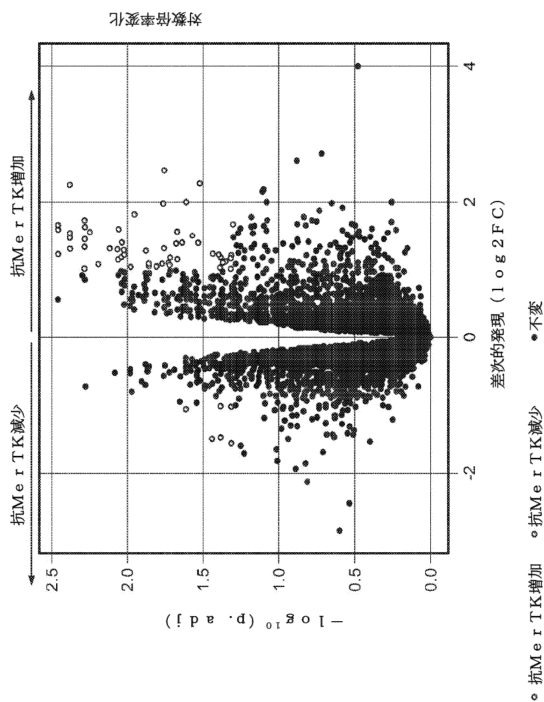
【図10A】



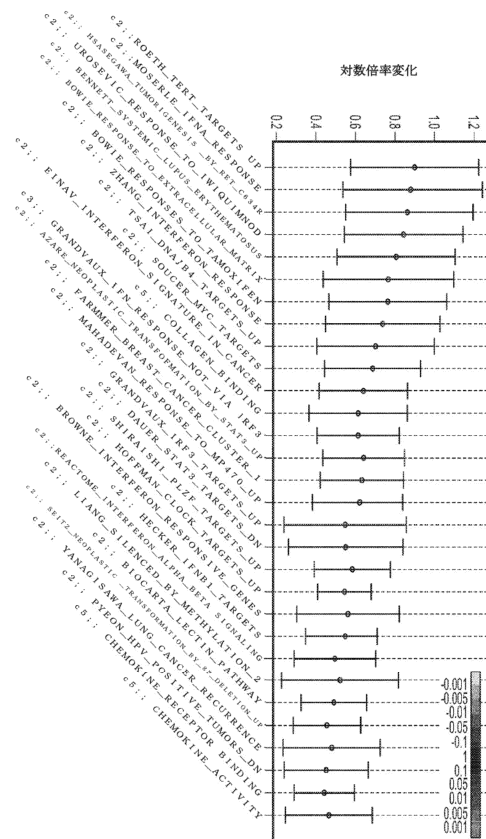
【図10B】



【図10C】



【図10D】



10

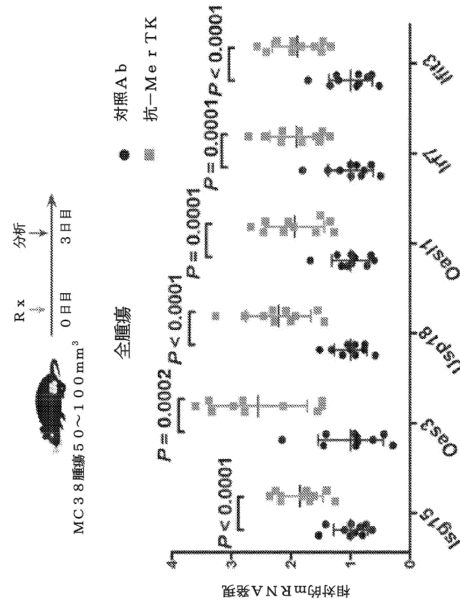
20

30

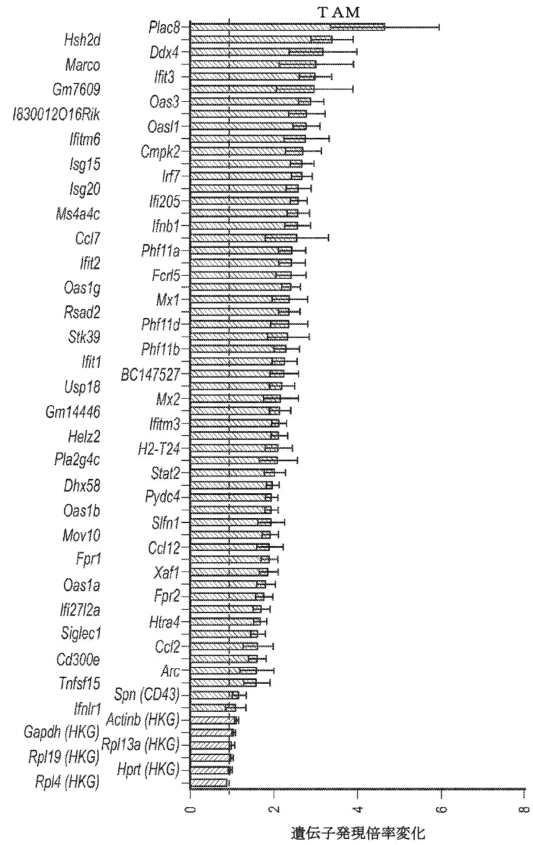
40

50

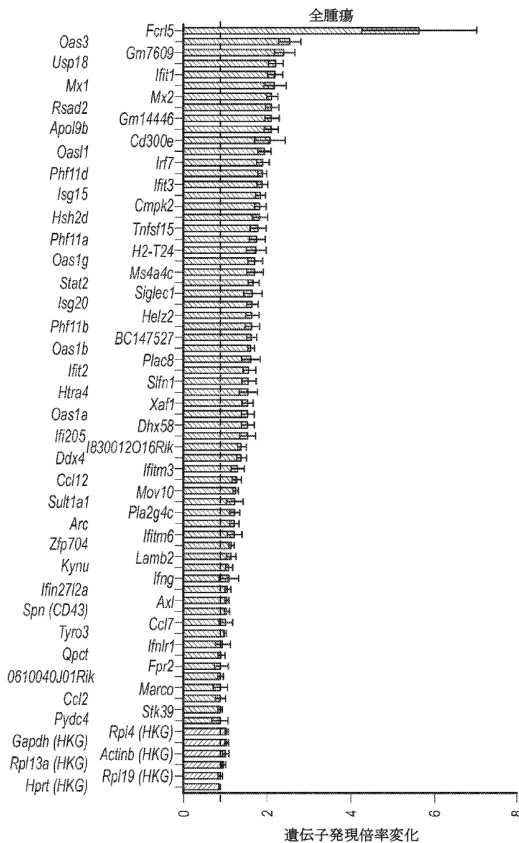
【図 10 E】



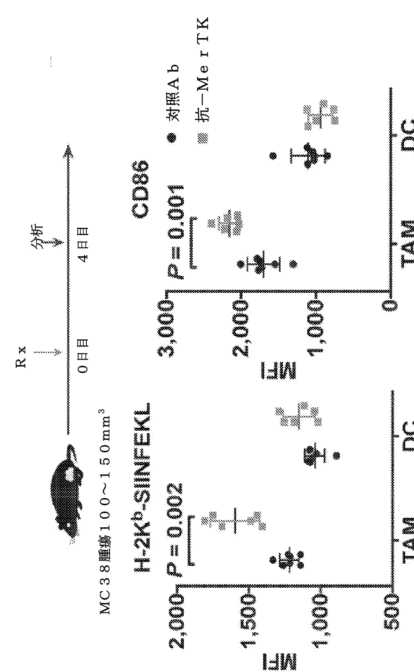
【図 11 A】



【図 11 B】



【図 12 A】



10

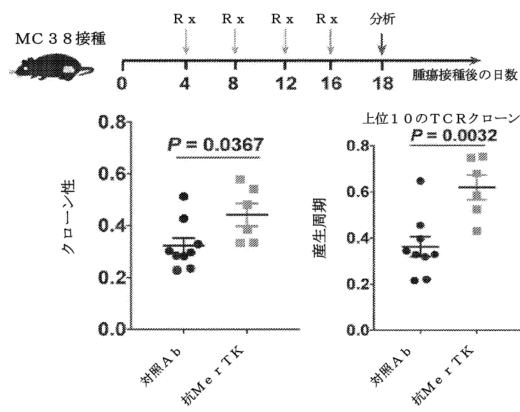
20

30

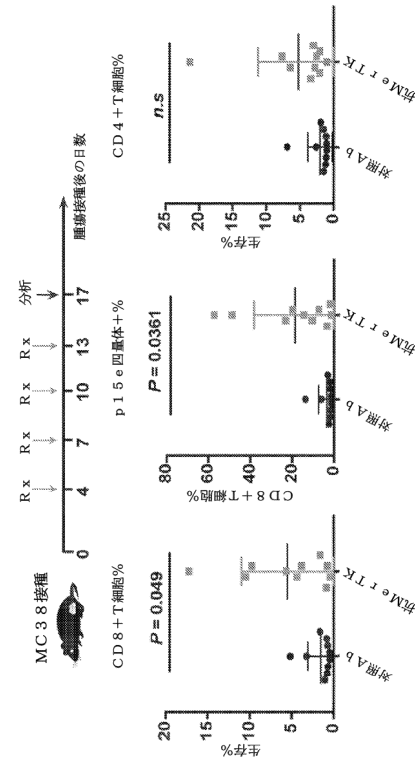
40

50

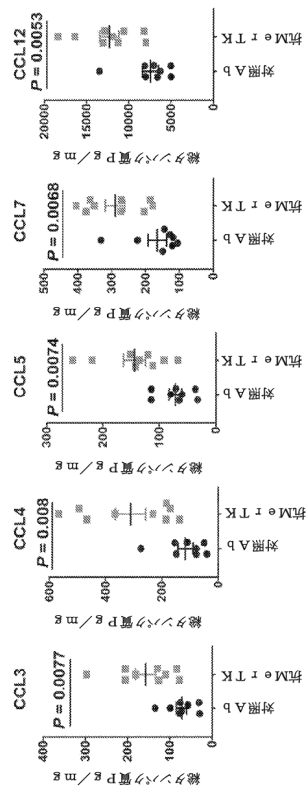
【図 1 2 B】



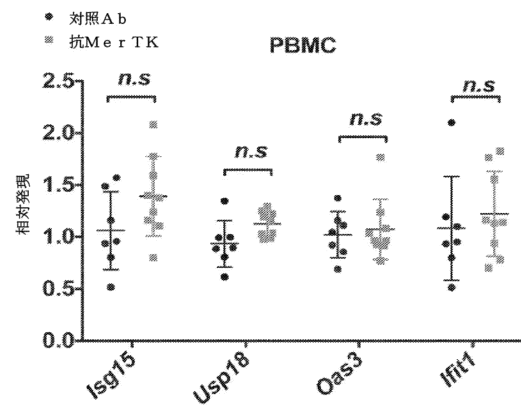
【図 1 2 C】



【図 1 3 A】



【図 1 3 B】



10

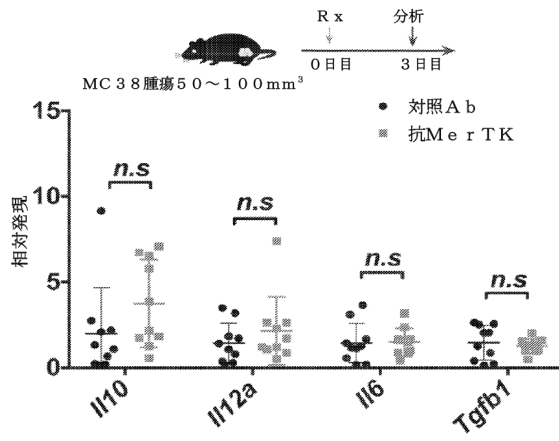
20

30

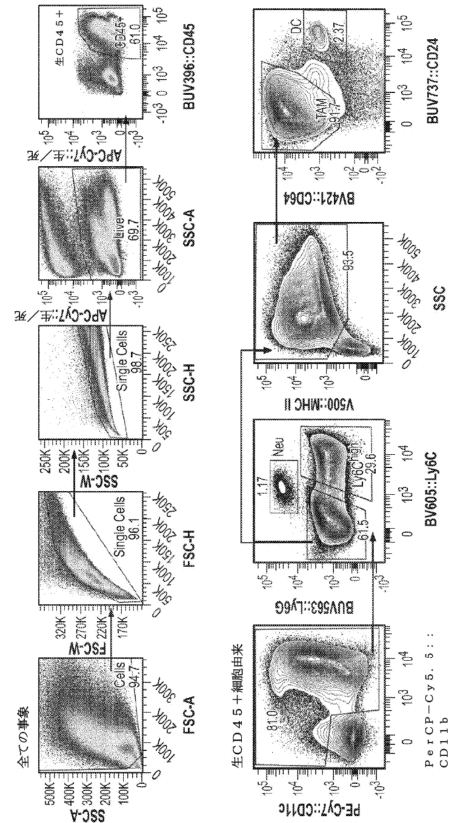
40

50

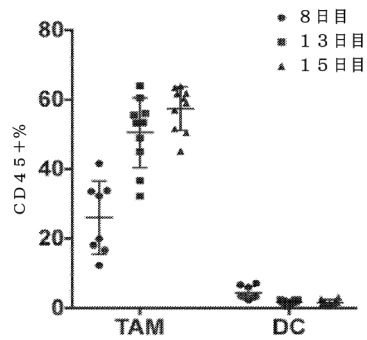
【図 1 3 C】



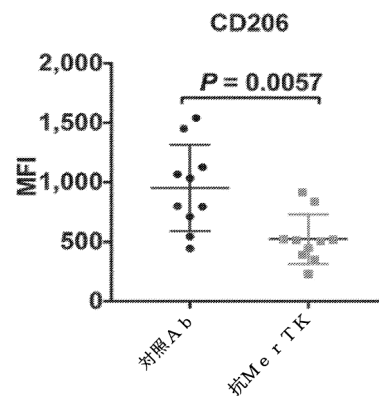
【図 1 4 A】



【図 1 4 B】



【図 1 4 C】



10

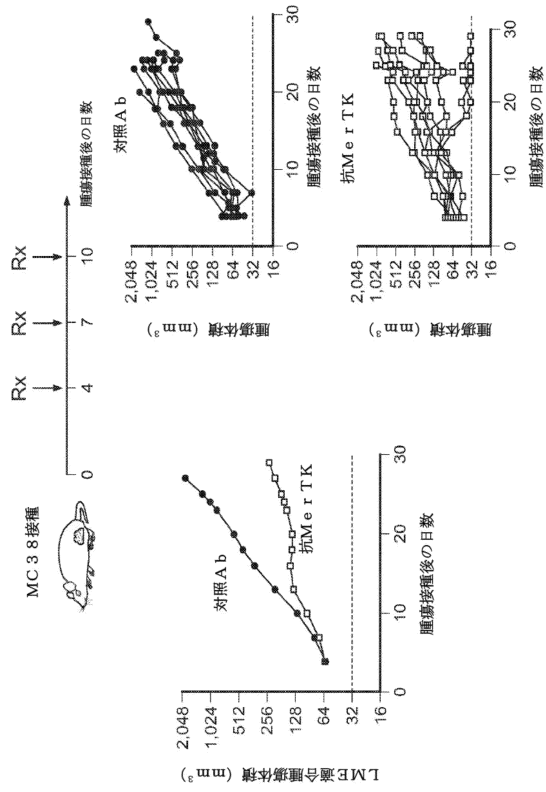
20

30

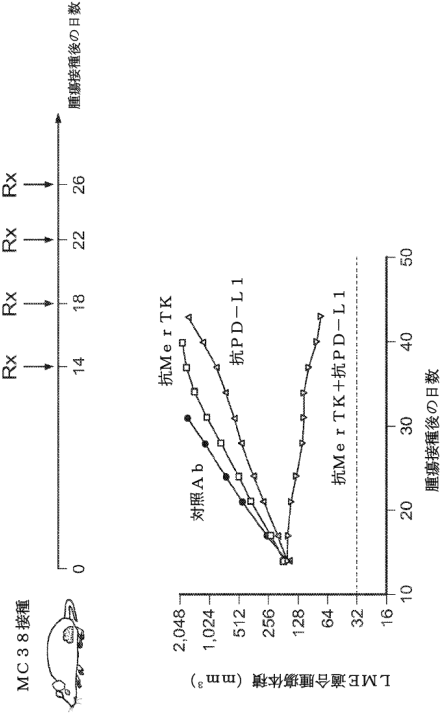
40

50

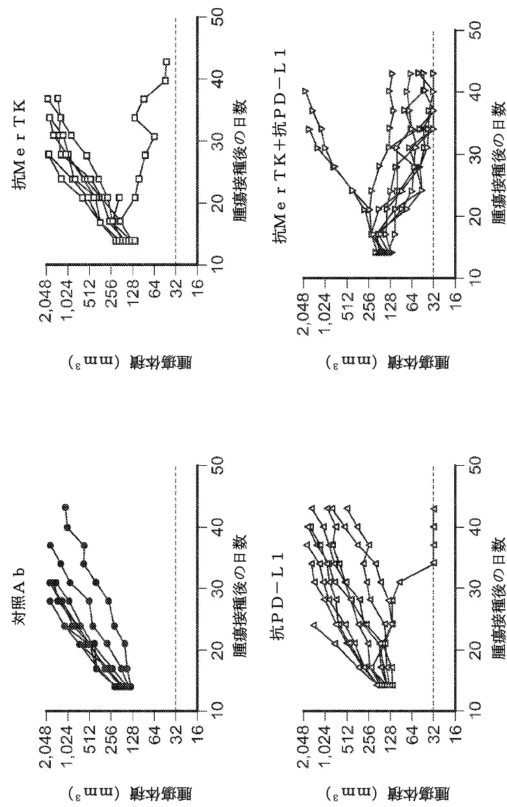
【図 15 A】



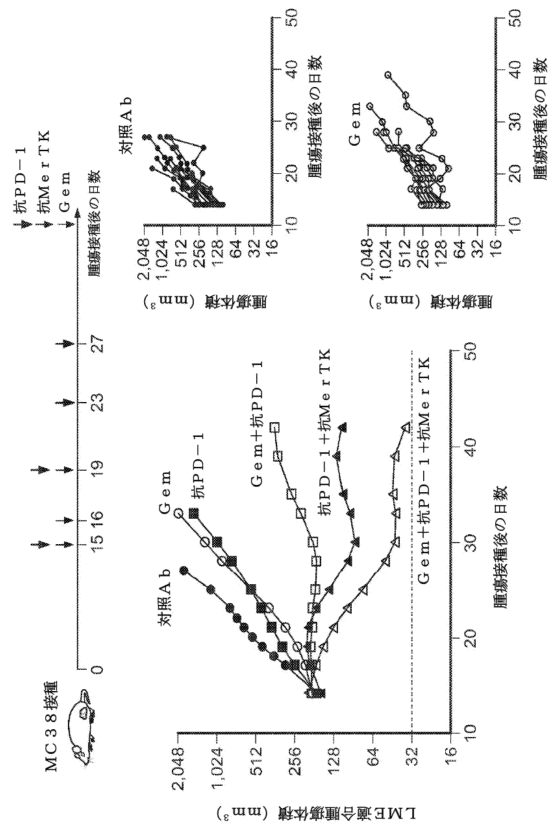
【図 15 B - 1】



【図 15 B - 2】



【図 15 C - 1】



10

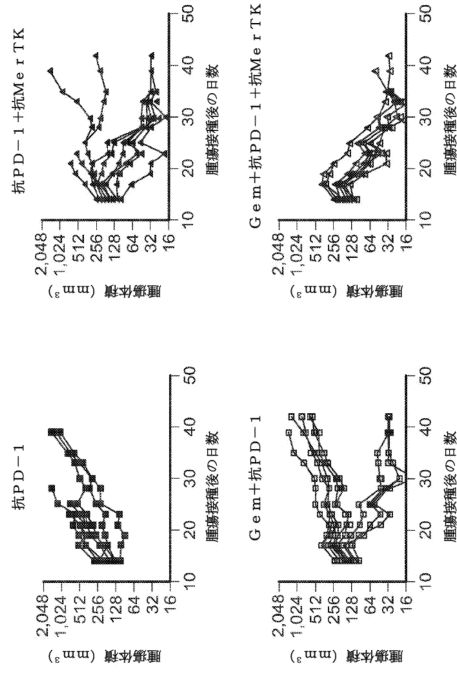
20

30

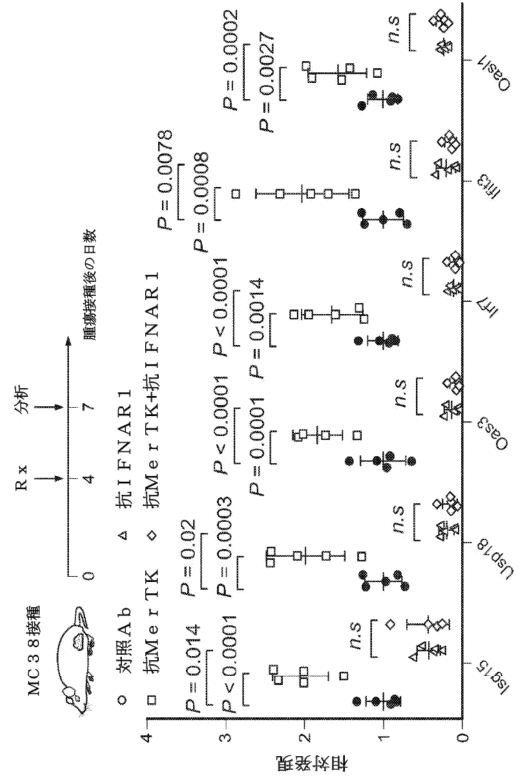
40

50

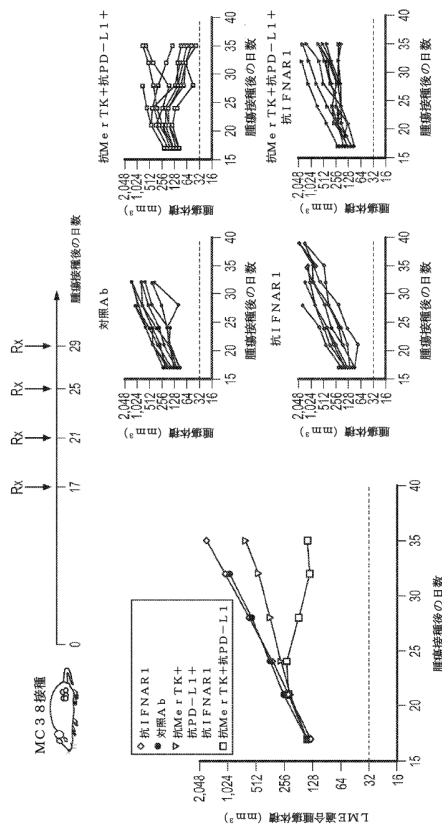
【図 15 C - 2】



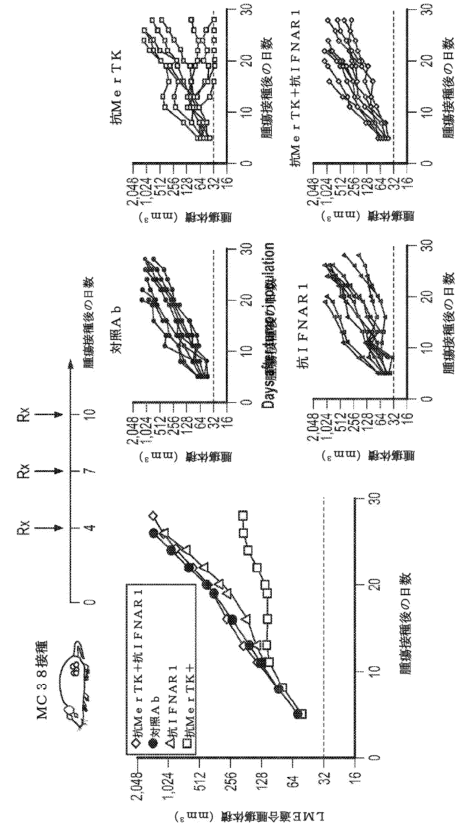
【図 16 A】



【図 16 B】



【図 17 A】



10

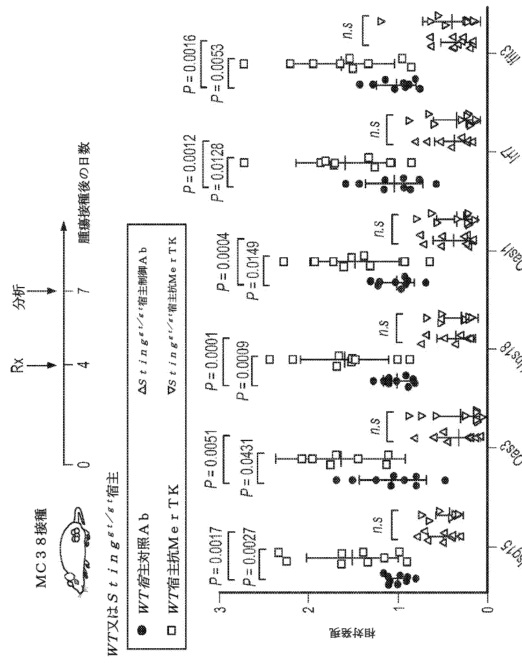
20

30

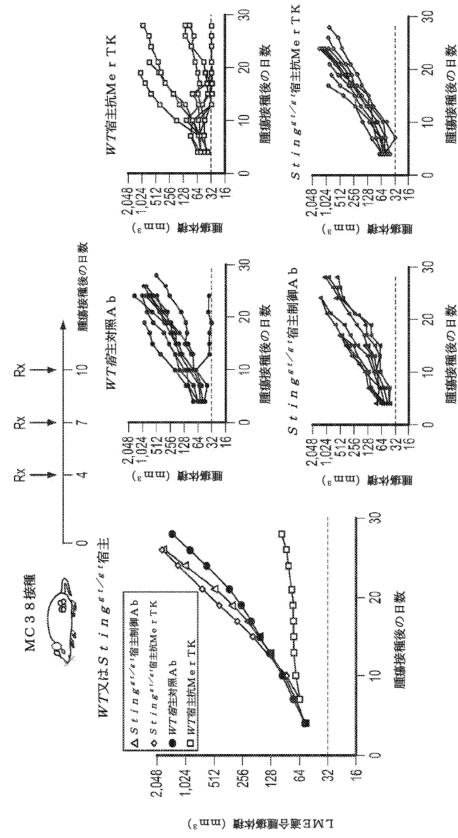
40

50

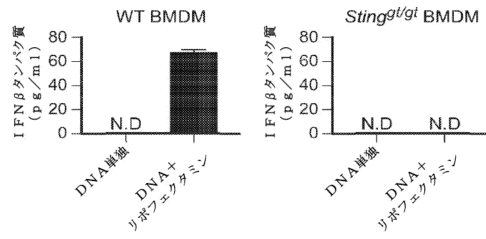
【図 17 B】



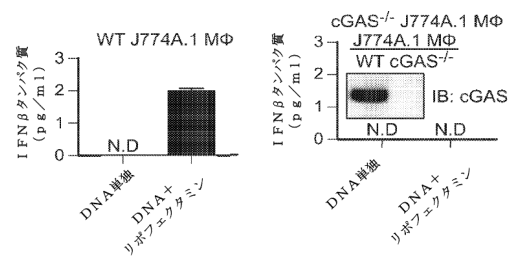
【図 17 C】



【図 18 A】



【図 18 B】



10

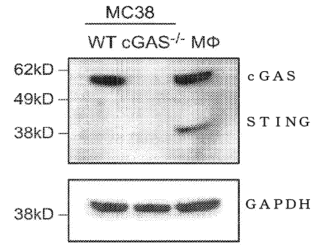
20

30

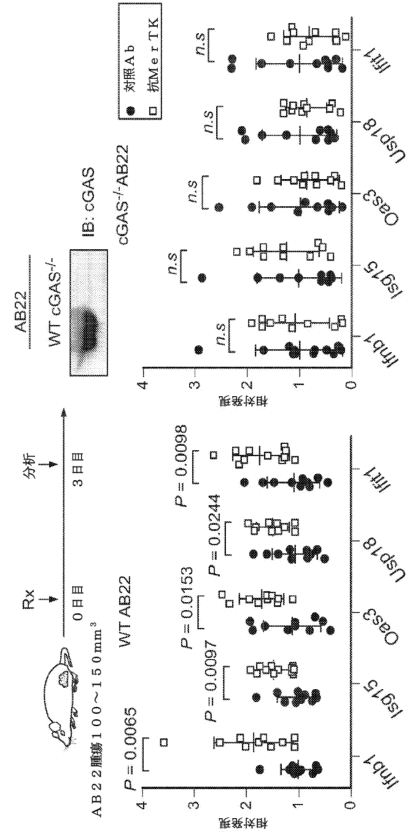
40

50

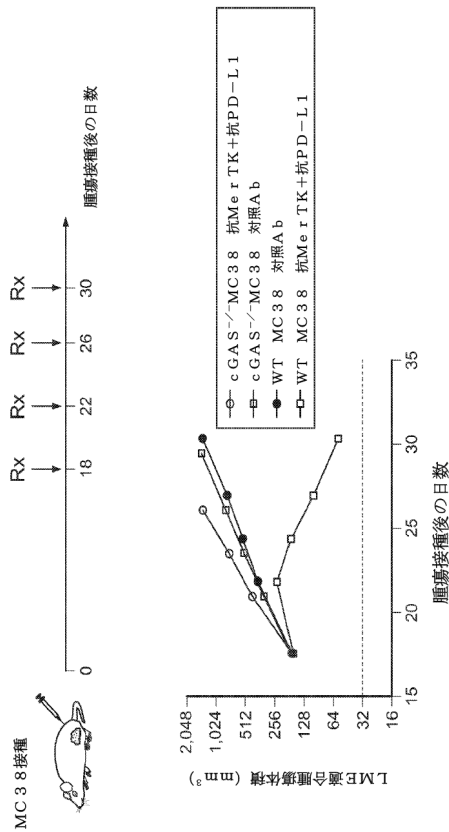
【図 18 C】



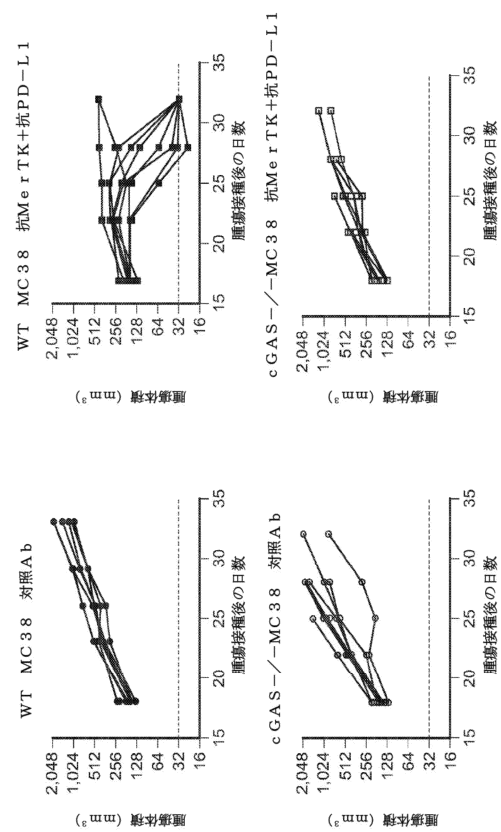
【図 18 D】



【図 18 E - 1】



【図 18 E - 2】



10

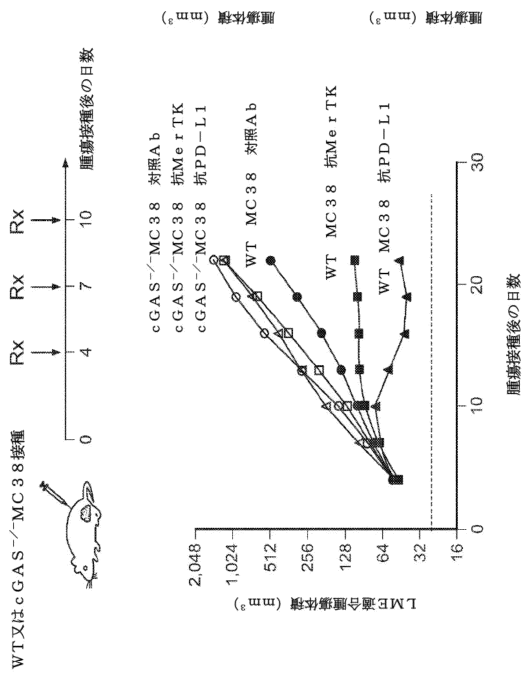
20

30

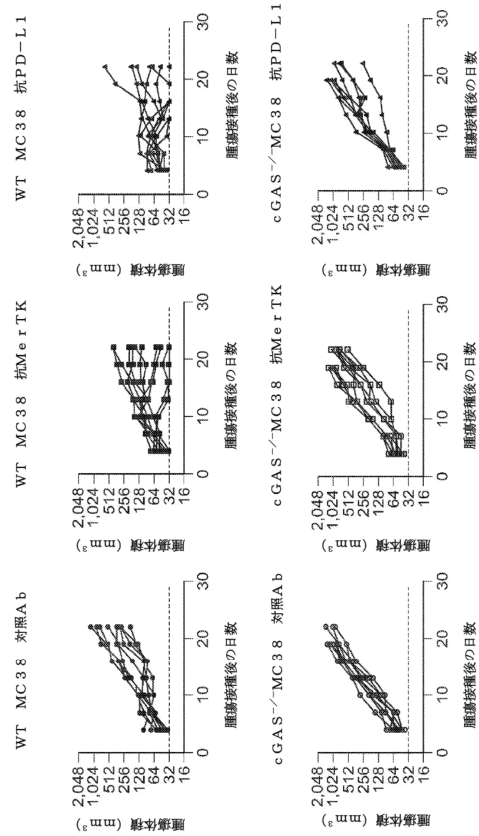
40

50

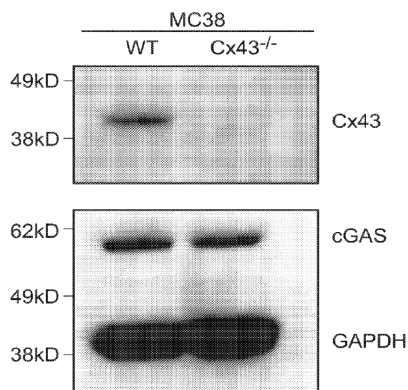
【図 19 D】



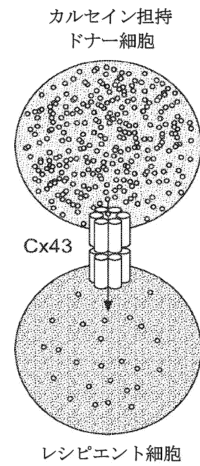
【図 19 E】



【図 20 A】



【図 20 B】



10

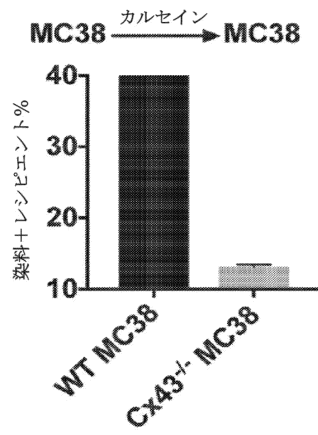
20

30

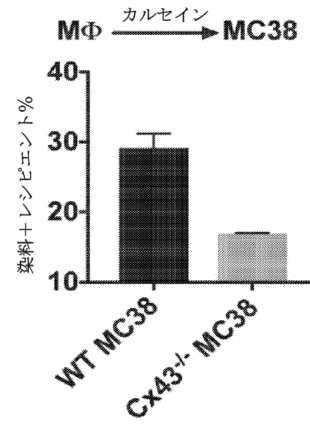
40

50

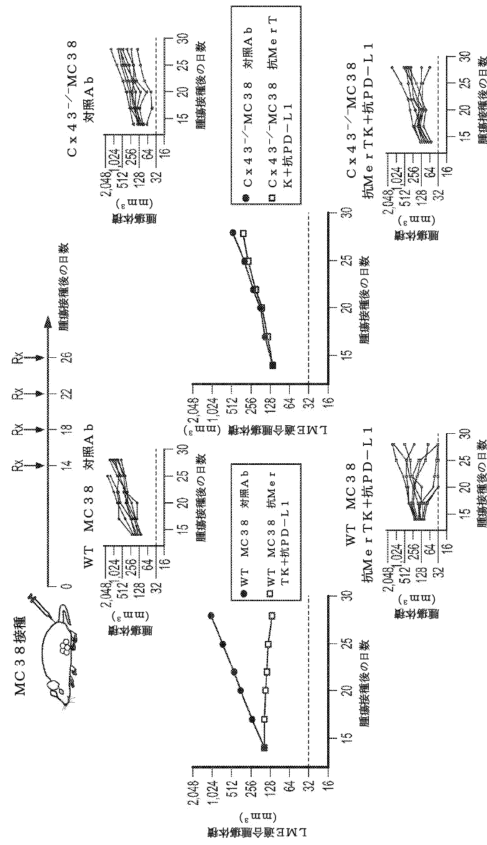
【図 20 C】



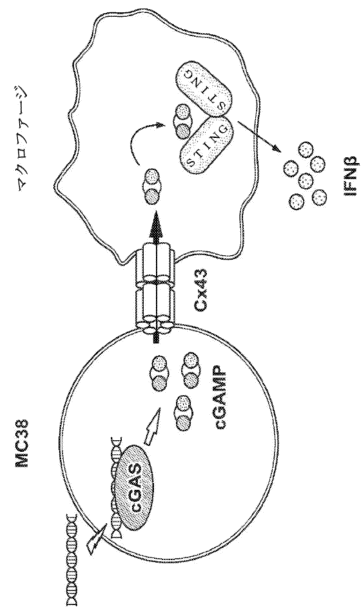
【図 20 D】



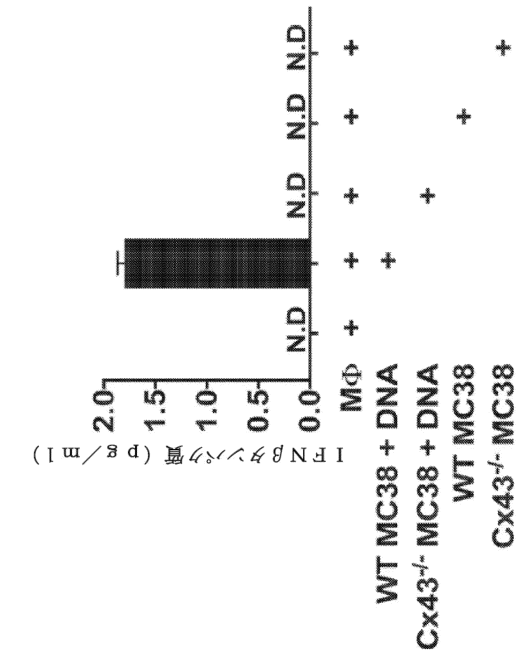
【図 20 E】



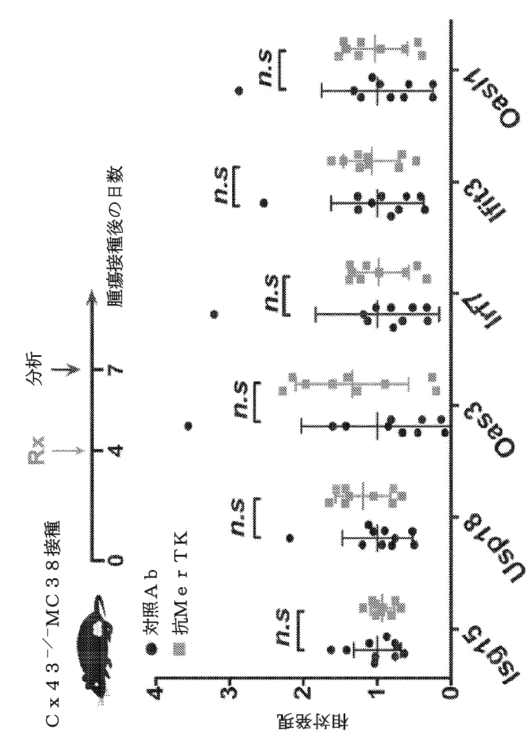
【図 21 A】



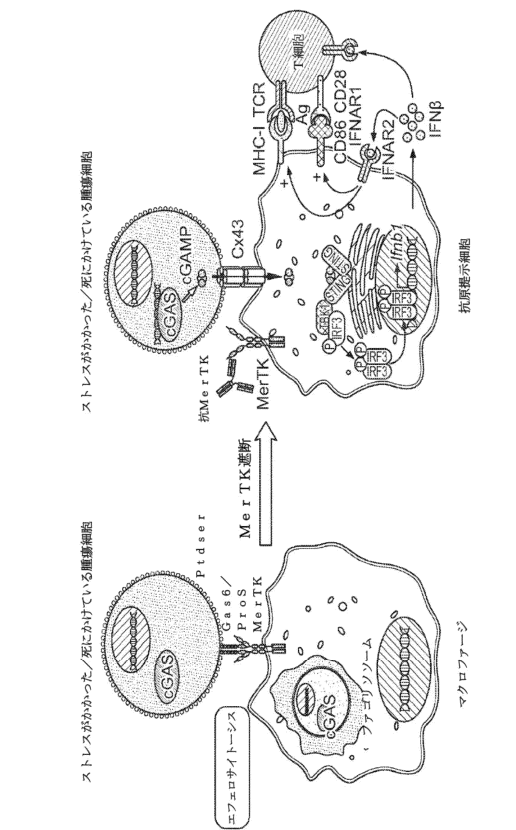
【図 2 1 B】



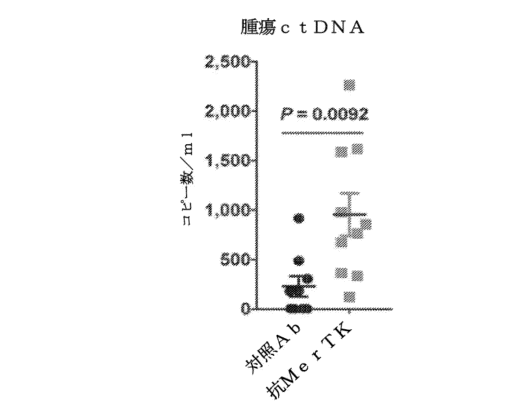
【図 2 1 C】



【図 2 1 D】



【図 2 2 A】



10

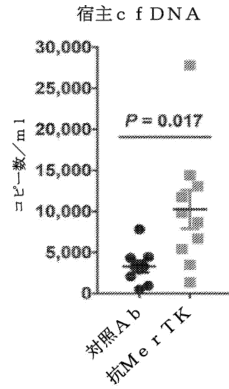
20

30

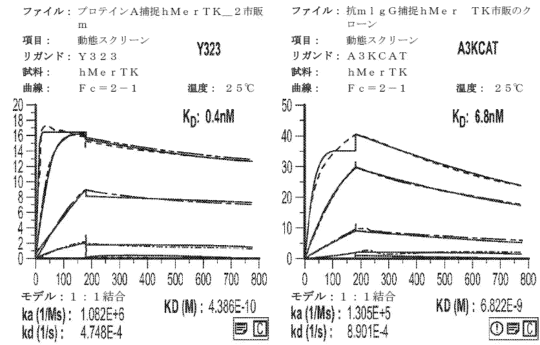
40

50

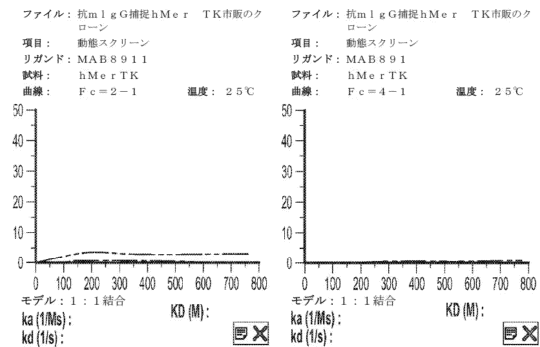
【図 2 2 B】



【図 2 3 - 1】

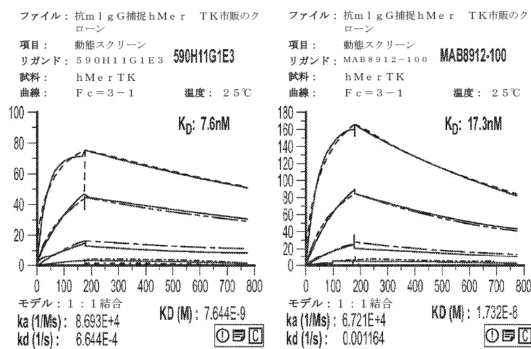


10

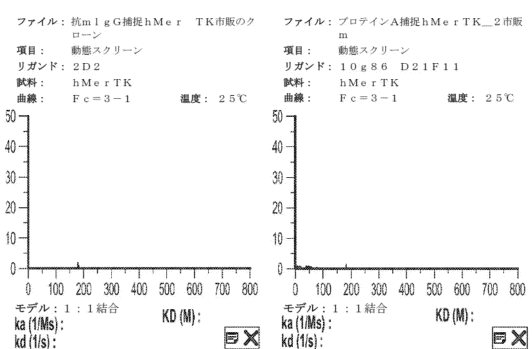


20

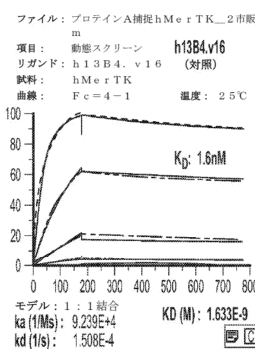
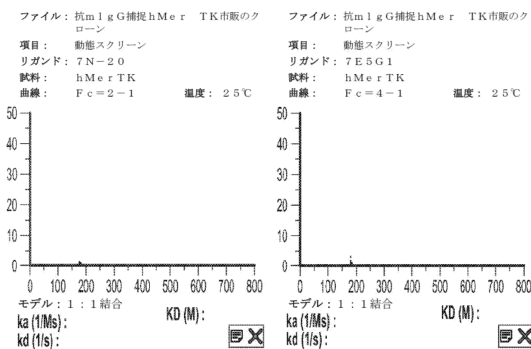
【図 2 3 - 2】



【図 2 3 - 3】



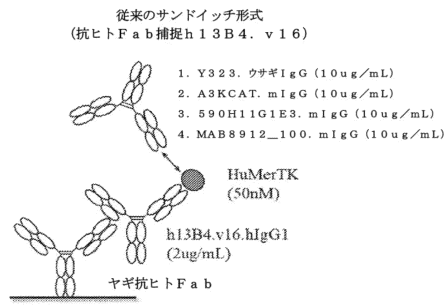
30



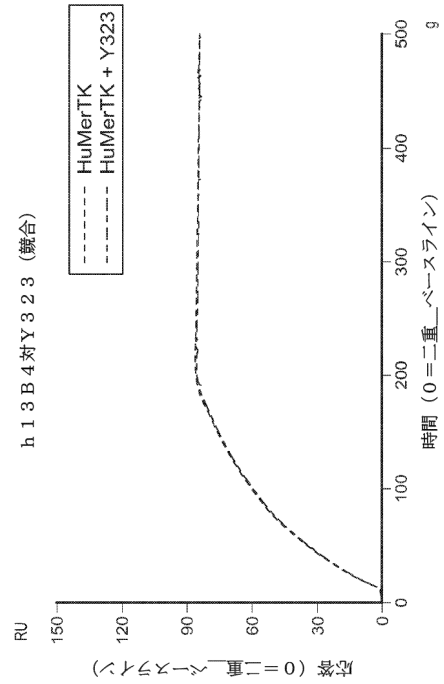
40

50

【図 2 4 A】



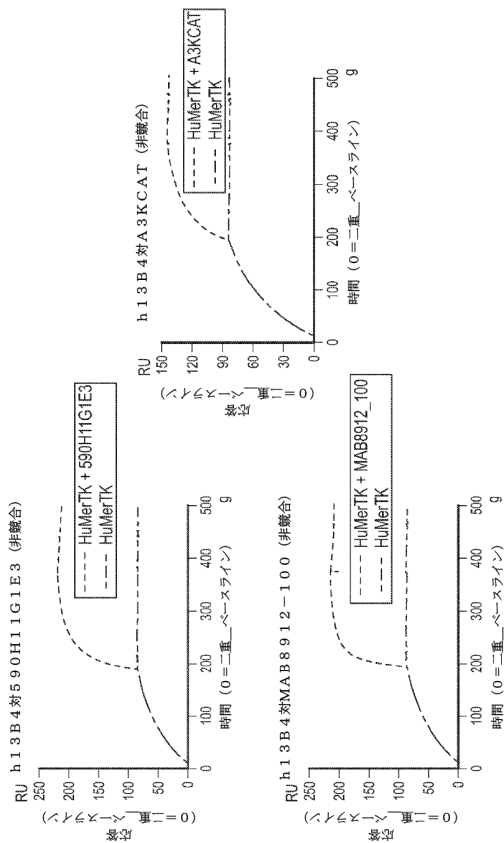
【図 2 4 B】



10

20

【図 2 4 C】



30

40

【配列表】

0007593939000001.app

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 1/19 (2006.01)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)

F I

C 1 2 N 1/19
C 1 2 N 1/21
C 1 2 N 5/10
C 1 2 P 21/08
A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 K 45/00
A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 43/00 1 2 1

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

イーエヌエー ウェイ 1, シー／オー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72)発明者

ウー, ヤン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1, シー／オー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72)発明者

ヤン, ミンホン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1, シー／オー ジェネンテック, インコーポレイテッド

審査官 福間 信子

(56)参考文献

特表2018-504105 (JP, A)

国際公開第2019/005756 (WO, A1)

特表2022-512642 (JP, A)

CUMMINGS CT. et al., Mer590, a novel monoclonal antibody targeting MER receptor tyrosine kinase, decreases colony formation and increases chemosensitivity in non-small cell lung cancer, Oncotarget, 2014年, vol. 5, pp. 10434-10445

KEATING AK. et al., MERTK (c-mer proto-oncogene tyrosine kinase), ATLAS Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology, 2008年, [https://atlasgeneticsoncology.org/gene/41339/mertk-\(c-mer-proto-oncogene-tyrosine-kinase\)](https://atlasgeneticsoncology.org/gene/41339/mertk-(c-mer-proto-oncogene-tyrosine-kinase))

CUMMINGS CT. et al., Molecular Pathways: MERTK Signaling in Cancer, Clin Cancer Res, 2013年, vol. 19, pp. 5275-5280

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 1 2 N

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q

U n i P r o t / G e n e S e q

S w i s s P r o t / G e n e S e q