

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-532140
(P2021-532140A)

(43) 公表日 令和3年11月25日(2021.11.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 2 0 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/17 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 90 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2021-504257 (P2021-504257)
 (86) (22) 出願日 令和1年7月29日 (2019.7.29)
 (85) 翻訳文提出日 令和3年3月24日 (2021.3.24)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2019/070343
 (87) 国際公開番号 WO2020/025532
 (87) 国際公開日 令和2年2月6日 (2020.2.6)
 (31) 優先権主張番号 62/712, 147
 (32) 優先日 平成30年7月30日 (2018.7.30)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

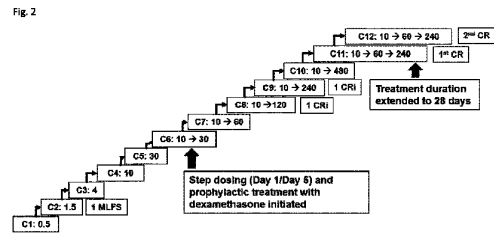
(71) 出願人 513105328
 アムジェン リサーチ (ミュニク)
 ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテ
 ル ハフツング
 ドイツ連邦共和国 81477 ミュンヘ
 ン シュタッフエルゼーシュトラッセ 2
 (71) 出願人 500049716
 アムジェン・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 91
 320, サウザンド オークス, ワン ア
 ムジェン センター ドライブ
 (74) 代理人 110001173
 特許業務法人川口国際特許事務所

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 CD33及びCD3に結合する二重特異性抗体コンストラクトの長期投与

(57) 【要約】

本発明は、骨髄性白血病の治療のための方法における使用のための、CD33などの標的に特異的に結合する第1の結合ドメイン及びCD3などのエフェクターに特異的に結合する第2の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトであって、少なくとも2つの段階を含む段階的な投与を適用する、14日間を超える1つ以上の治療サイクルであって、治療サイクル後、任意選択により、コンストラクトの投与を伴わない期間が続く、1つ以上の治療サイクルにおいて投与される、二重特異性抗体コンストラクトを提供する。さらに、本発明は、治療有効量のそのような二重特異性抗体コンストラクトの投与を含む、骨髄性白血病の治療のための方法及び骨髄性白血病の治療のための医薬組成物の調製のためのそのような二重特異性抗体コンストラクトの使用を提供する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

好ましくは骨髄性白血病の治療のための方法における使用のための、CD33に特異的に結合する第1の結合ドメイン及びCD3に特異的に結合する第2の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトであって、1つ以上の治療サイクルにおいて投与され、少なくとも1つの治療サイクルは、少なくとも2つの投与段階を適用する、少なくとも3つの異なる投与量における前記二重特異性抗体コンストラクトの14日を超える投与を含み、任意選択により、その後、前記コンストラクトの投与を伴わない期間が続き、前記二重特異性抗体コンストラクトは、以下の工程：

- (a) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第1の投与量の投与、続いて
 - (b) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第2の投与量の投与であって、前記第2の投与量は、前記第1の投与量を超える、投与、続いて
 - (c) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第3の投与量の投与であって、前記第3の投与量は、前記第2の投与量を超える、投与、任意選択により、続いて
 - (d) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第4の投与量の投与であって、前記任意選択による第4の投与量は、前記第3の投与量を超える、投与
- を含むスケジュールに従って前記1つ以上の治療サイクルの少なくとも1つで投与される、二重特異性抗体コンストラクト。

10

【請求項 2】

1つの治療サイクルにおいて前記二重特異性抗体コンストラクトを投与する期間は、少なくとも15日、好ましくは15～60日、より好ましくは28～56日、好ましくは28日である、請求項1に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

20

【請求項 3】

工程(a)における前記第1の投与量は、1日当たり少なくとも5 μ g、好ましくは1日当たり5～20 μ gの範囲、より好ましくは1日当たり10 μ gであり、工程(b)における前記第2の投与量は、1日当たり少なくとも30 μ g、好ましくは1日当たり30～240 μ gの範囲、より好ましくは1日当たり60又は240 μ gであり、且つ工程(c)における前記第3の投与量及び工程(d)における前記任意選択による第4の投与量は、1日当たり少なくとも240 μ g、好ましくは1日当たり240～1500 μ gの範囲、好ましくは1日当たり240～960 μ gの範囲、より好ましくは1日当たり480～960 μ gの範囲である、請求項1又は2に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

30

【請求項 4】

工程(a)における前記第1の投与量の投与の期間は、1～4日、好ましくは2又は3日であり、工程(b)における前記第2の投与量の投与の期間は、2～5日、好ましくは2又は3日であり、且つ工程(c)における前記第3の投与量及び工程(d)における前記任意選択による第4の投与量の投与の期間は、ともに7～52日、好ましくは14～52日、より好ましくは22、23又は52日である、請求項1に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

40

【請求項 5】

前記骨髄性白血病の前記治療は、2つ以上の治療サイクル、好ましくは2、3、4、5、6又は7つの治療サイクルを含み、少なくとも1、2、3、4、5、6又は7つの治療サイクルは、14日を超える二重特異性抗体コンストラクト投与を含む、請求項2～4のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項 6】

少なくとも1つの治療サイクル後、前記コンストラクトの投与を伴わない期間、好ましくは治療を伴わない少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14日が続く、請求項2～5のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

50

【請求項 7】

少なくとも1つの治療サイクル後、前記コンストラクトの投与を伴わない期間が続かない、請求項2～5のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項8】

前記治療の第1のサイクルのみは、工程(a)による前記投与を含む一方、その後のサイクルは、工程(b)による前記用量で開始する、請求項5～7のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項9】

一本鎖二重特異性抗体コンストラクトである、請求項1～8のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項10】

前記二重特異性抗体コンストラクトの前記第1の結合ドメインは、配列番号10～12及び14～16、22～24及び26～28、34～36及び38～40、46～48及び50～52、58～60及び62～64、70～72及び74～76、82～84及び86～88、94～96及び98～100、好ましくは94～96及び98～100からなる群から選択される6つのCDRの群を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項11】

前記二重特異性抗体コンストラクトの前記第2の結合ドメインは、配列番号148～153、154～159、160～165、166～171、172～177、178～183、184～189、190～195、196～201及び202～207、好ましくは202～207からなる群から選択される6つのCDRの群を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項12】

配列番号18、19、20、30、31、32、42、43、44、54、55、56、66、67、68、78、79、80、90、91、92、102、103、104、105、106、107及び108からなる群から選択される、好ましくは配列番号104、105、106、107及び108、より好ましくは配列番号104からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む一本鎖コンストラクトである、請求項1～11のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項13】

PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤並びに/又はヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、ヒストンメチラーゼ阻害剤及びATRA(全トランス型レチノイン酸)からなる群から選択される1つ以上のエピジェネティック因子と組み合わせ投与され、

(a)前記PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子は、前記二重特異性抗体コンストラクトの前記投与前に投与されるか；

(b)前記PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子は、前記二重特異性抗体コンストラクトの前記投与後に投与されるか；又は

(c)前記PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子並びに前記二重特異性抗体コンストラクトは、同時に投与される、請求項1～12のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項14】

前記PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子は、前記二重特異性抗体コンストラクトの投与の7日前まで投与される、請求項13に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項15】

前記エピジェネティック因子は、ヒドロキシ尿素である、請求項14に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項16】

10

20

30

40

50

前記骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、好ましくは再発性又は難治性急性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄性樹状細胞白血病、移行期慢性骨髄性白血病、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性多血症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄性白血病、骨髄肉腫及び急性混合性白血病からなる群から選択される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の使用のための二重特異性抗体コンストラクト。

【請求項 17】

骨髄性白血病の治療を、それを必要とする患者において行うのための方法であって、1 つ以上の治療サイクルにおいて、CD33 に特異的に結合する第 1 の結合ドメイン及び CD3 に特異的に結合する第 2 の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトを投与することを含み、前記少なくとも 1 つの治療サイクルは、少なくとも 2 つの投与段階を適用する、少なくとも 3 つの異なる投与量における前記二重特異性抗体コンストラクトの 14 日を超える投与を含み、

前記二重特異性抗体コンストラクトは、以下の工程：

(a) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 1 の投与量の投与、続いて

(b) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 2 の投与量の投与であって、前記第 2 の投与量は、前記第 1 の投与量を超える、投与、続いて

(c) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 3 の投与量の投与であって、前記第 3 の投与量は、前記第 2 の投与量を超える、投与、任意選択により、続いて

(d) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 4 の投与量の投与であって、前記任意選択による第 4 の投与量は、前記第 3 の投与量を超え、任意選択により、その後、前記コンストラクトの投与を伴わない期間が続く、投与

を含むスケジュールに従って 1 つの治療サイクルで投与される、方法。

【請求項 18】

1 つの治療サイクルにおいて前記二重特異性抗体コンストラクトを投与する期間は、少なくとも 15 日、好ましくは 15 ~ 60 日、より好ましくは 28 ~ 56 日、好ましくは 28 日である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

工程 (a) における前記第 1 の投与量は、1 日当たり少なくとも 5 μ g、好ましくは 1 日当たり 5 ~ 20 μ g の範囲、より好ましくは 1 日当たり 10 μ g であり、工程 (b) における前記第 2 の投与量は、1 日当たり少なくとも 30 μ g、好ましくは 1 日当たり 30 ~ 240 μ g の範囲、好ましくは 1 日当たり 60 又は 240 μ g であり、且つ工程 (c) における前記第 3 の投与量及び任意選択による工程 (d) における前記任意選択による第 4 の投与量は、1 日当たり少なくとも 240 μ g、好ましくは 1 日当たり 120 ~ 1500 μ g、好ましくは 1 日当たり 240 ~ 960 μ g、より好ましくは 1 日当たり 480 ~ 960 μ g の範囲である、請求項 17 又は 18 に記載の方法。

【請求項 20】

工程 (a) における前記第 1 の投与量の投与の期間は、1 ~ 4 日、好ましくは 2 又は 3 日であり、工程 (b) における前記第 2 の投与量の投与の期間は、2 ~ 5 日、好ましくは 2 又は 3 日であり、且つ工程 (c) 及び任意選択による工程 (d) における前記第 3 の用量及び前記任意選択による第 4 の用量の投与の期間は、7 ~ 52 日、好ましくは 14 ~ 23 日、より好ましくは 22、23、50 又は 52 日である、請求項 17 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記骨髄性白血病の前記治療は、2 つ以上の治療サイクル、好ましくは 2、3、4、5、6 又は 7 つの治療サイクルを含み、少なくとも 1、2、3、4、5、6 又は 7 つの治療サイクルは、14 日を超える二重特異性抗体コンストラクト投与を含む、請求項 17 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

10

20

30

40

50

前記治療後、前記二重特異性抗体コンストラクトの投与を伴わない期間、好ましくは治療を伴わない少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14日が続く、請求項17～21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

前記治療後、前記二重特異性抗体コンストラクトの投与を伴わない少なくとも14日の期間が続く、請求項17～21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

前記治療の第1のサイクルのみは、工程(a)による前記投与を含む一方、その後のサイクルは、工程(b)による前記用量で開始する、請求項17～23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

前記コンストラクトは、一本鎖二重特異性抗体コンストラクトである、請求項17～23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項26】

前記二重特異性抗体コンストラクトの前記第1の結合ドメインは、配列番号10～12及び14～16、22～24及び26～28、34～36及び38～40、46～48及び50～52、58～60及び62～64、70～72及び74～76、82～84及び86～88、94～96及び98～100、好ましくは94～96及び98～100からなる群から選択される6つのCDRの群を含む、請求項17～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】

前記二重特異性抗体コンストラクトの前記第2の結合ドメインは、配列番号148～153、154～159、160～165、166～171、172～177、178～183、184～189、190～195、196～201及び202～207、好ましくは202～207からなる群から選択される6つのCDRの群を含む、請求項17～26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項28】

前記二重特異性抗体コンストラクトは、配列番号18、19、20、30、31、32、42、43、44、54、55、56、66、67、68、78、79、80、90、91、92、102、103、104、105、106、107及び108からなる群から選択される、好ましくは配列番号104、105、106、107及び108、より好ましくは配列番号104からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む一本鎖コンストラクトである、請求項17～27のいずれか一項に記載の方法。

【請求項29】

少なくとも1つのPD-1阻害剤、PDL-1阻害剤並びに/又はヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、ヒストンデメチラーゼ阻害剤及びATRA(全トランス型レチノイン酸)からなる群から選択される1つ以上のエピジェネティック因子を投与することをさらに含み、前記少なくとも1つのPD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子は、

- (a) 前記二重特異性抗体コンストラクトの前記投与前；
- (b) 前記二重特異性抗体コンストラクトの前記投与後；又は
- (c) 前記二重特異性抗体コンストラクトと同時に投与される、請求項17～28のいずれか一項に記載の方法。

【請求項30】

前記1つのPD-1阻害剤、PDL-1阻害剤又は1つ以上のエピジェネティック因子は、前記二重特異性抗体コンストラクトの投与の7日前まで投与される、請求項17～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項31】

前記エピジェネティック因子は、ヒドロキシ尿素である、請求項17～30のいずれか

10

20

30

40

50

一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、好ましくは再発性又は難治性急性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄性樹状細胞白血病、移行期慢性骨髄性白血病、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性多血症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄性白血病、骨髄肉腫及び急性混合性白血病、急性混合型白血病からなる群から選択される、請求項 1 7 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

好ましくは骨髄性白血病の治療のための方法における、C D 3 3 に特異的に結合する第 1 の結合ドメイン及び C D 3 に特異的に結合する第 2 の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトの使用であって、前記二重特異性抗体コンストラクトは、1 つ以上の治療サイクルにおいて投与され、少なくとも 1 つの治療サイクルは、少なくとも 2 つの投与段階を適用する、少なくとも 3 つの異なる投与量における前記二重特異性抗体コンストラクトの 1 4 日を超える投与を含み、任意選択により、その後、前記二重特異性コンストラクトの投与を伴わない期間が続き、

前記二重特異性抗体コンストラクトは、以下の工程：

(a) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 1 の投与量の投与、続いて

(b) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 2 の投与量の投与であって、前記第 2 の投与量は、前記第 1 の投与量を超える、投与、続いて

(c) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 3 の投与量の投与であって、前記第 3 の投与量は、前記第 2 の投与量を超える、投与、任意選択により、続いて

(d) 前記二重特異性抗体コンストラクトの第 4 の投与量の投与であって、前記任意選択による第 4 の投与量は、前記第 3 の投与量を超える、投与

を含むスケジュールに従って前記 1 つ以上の治療サイクルの少なくとも 1 つで投与される、使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、好ましくは骨髄性白血病の治療のための方法における使用のための、C D 3 3 などの標的に特異的に結合する第 1 の結合ドメイン及び C D 3 などのエフェクターに特異的に結合する第 2 の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトであって、1 4 日間を超える期間にわたって投与され、任意選択により、その後、コンストラクトの投与を伴わない少なくとも 7 日間の期間が続く、二重特異性抗体コンストラクトに関する。さらに、本発明は、治療有効量のそのような二重特異性抗体コンストラクトの投与を含む、骨髄性白血病の治療のための方法及び骨髄性白血病の治療のための医薬組成物の調製のためのそのような二重特異性抗体コンストラクトの使用に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

B i T E (登録商標) (二重特異性 T 細胞エンゲージャー) 抗体コンストラクトなどの二重特異性抗体コンストラクトは、2 つの柔軟に連結された抗体に由来する結合ドメインから構成される組換え体タンパク質コンストラクトである。二重特異性抗体コンストラクトの 1 つの結合ドメインは、標的細胞上の選択された腫瘍関連表面抗原に特異的であり；第 2 の結合ドメインは、T 細胞上の T 細胞受容体複合体のサブユニットである C D 3 に特異的である。それらの特別な設計により、B i T E (登録商標) 抗体コンストラクトは、T 細胞を標的細胞と一過的に結び付け、同時に標的細胞に対する T 細胞の固有の細胞溶解能を強力に活性化するのに独特に適している。二重特異性抗体コンストラクトの第一世代 (国際公開第 9 9 / 5 4 4 4 0 号パンフレット及び国際公開第 2 0 0 5 / 0 4 0 2 2 0 号パンフレットを参照されたい) は、プリナツモマブ及びソリトマブとしてクリニックに展

10

20

30

40

50

開した。これらの二重特異性抗体コンストラクトは、持続静注を介して投与される。例えば、B急性リンパ芽球性白血病において、プリナツモマブは、4週間の注入として投与され、1週目の初期用量が低く、第1のサイクルの残りの治療及び開始から全ての他のサイクルの用量が高い。第2のサイクルを開始する前、2週間の無治療期間がある。同様の投与計画は、用量の増加及び2つのサイクル間の2週間の無治療期間も伴う少なくとも28日間にわたる持続静注として投与されたソリトマブのために使用された。

【0003】

二重特異性抗体コンストラクトの第一世代の重要なさらなる開発は、ヒト及びマーモセット(Callitrix jacchus)、ワタボウシタマリン(Saguinus oedipus)又はリスザル(Saimiri sciureus)のCD3鎖のN末端において、コンテクストに依存しないエピトープに結合する二重特異性抗体コンストラクトをもたらすことであった(国際公開第2008/119567号パンフレット)。したがって、そのような二重特異性抗体コンストラクトは、これまで対処されていない治療上のニーズに対応するための汎用性のある手段になっている。

10

【0004】

そのようなニーズの1つは、急性骨髄性白血病(AML)、特に再発性又は難治性AML(r/r AML)の効率的且つ安全な療法である。IDH1/2変異のような特定の変異を有するAMLの場合を除いて、標準的な救援療法が存在しないため、再発性又は難治性AMLを有する患者の予後は、芳しくない。治験薬の大部分の試験は、r/r AMLにおいて開始し、異なる特徴を有する広範な患者を得た。予後に関する履歴の文脈は、将来のプロトコル及び新規の薬剤の開発のための基準として使用され得る。そのような履歴の文脈の分析は、全生存期間を明らかにし、無事象生存期間は、中程度であり、且つ後の救援により減少された。年齢、細胞遺伝学、前駆疾患、初発/療法に誘発されたAML、最初の寛解の期間及び血小板数は、生存期間と関連した。重要なことに、大多数の場合、患者、特にr/r AML患者の大部分は、持続性の第2の又は後の寛解、すなわち疾患の長期間の改善又はさらに治癒を達成できない。したがって、さらなる治療手段及びその最適化された使用の必要性がある。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際公開第99/54440号

【特許文献2】国際公開第2005/040220号

【特許文献3】国際公開第2008/119567号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

CD33は、とりわけ、大部分の患者及び白血病性の幹細胞におけるAML芽細胞上で見出されるミエロイド分化抗原として知られるシアル酸依存的サイトアドヘシン分子である。したがって、CD33は、骨髄性白血病に関する有望なマーカー及びそのような疾患の治療における標的分子として同定されている。この目的のため、白血病性の骨髄芽球上に存在するCD33抗原に対して向けられる組換えモノクローナル抗体に連結された細胞傷害性抗生物質であるマイロターゲット(登録商標)(ゲムツズマブオゾガマイシン)は、迅速承認により、AMLを有する患者のために米国で承認された。しかしながら、その薬物は、検証的試験で臨床的有用性が実証されず、市販後の状況下で静脈閉塞症のリスクの増加が認められた後、製造業者によって自発的に米国市場から一時的に回収された。ゲムツズマブオゾガマイシンで認められる頻りに報告される毒性には、好中球減少症及び血小板減少症が含まれ、より少ない頻度で報告される毒性には、急性輸注反応(アナフィラキシー)、肝毒性及び静脈閉塞症に関連する事象が含まれた。CD33に基づく薬剤が有し得る前記副作用を鑑みて、有望なCD33×CD3二重特異性抗体コンストラクトがAMLの治療における使用のために提案されており、1治療サイクル内の投与期間は、以前に最

30

40

50

大14日に制限された。そのため、好中球減少症、特に顆粒球減少症などの重篤な副作用は、回避されるはずである。重篤な副作用を回避することは、既に、CD33×CD3二重特異性抗体コンストラクトなどの強力な薬剤を導入する際の主要且つ重要な成果である一方、同時にその治療能力を最大限に活用して、疾患を効果的且つ持続的に治療することが強く望まれている。したがって、副作用を回避し、且つ同時に前記コンストラクトの治療能力を最大限に活用する、CD33×CD3二重特異性抗体コンストラクトの改善された投与を提供することが本発明の目的である。

【課題を解決するための手段】

【0007】

第1の態様では、本発明は、好ましくは骨髄性白血病の治療のための方法における使用のための、CD33に特異的に結合する第1の結合ドメイン及びCD3に特異的に結合する第2の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトであって、1つ以上の治療サイクルにおいて投与され、少なくとも1つの治療サイクルは、少なくとも2つの投与段階を適用する、少なくとも3つの異なる投与量における二重特異性抗体コンストラクトの14日を超える投与を含み、任意選択により、その後、二重特異性抗体コンストラクトの投与を伴わない期間が続き、

二重特異性抗体コンストラクトは、以下の工程：

(a) 二重特異性抗体コンストラクトの第1の投与量の投与、続いて

(b) 二重特異性抗体コンストラクトの第2の投与量の投与であって、前記第2の投与量は、前記第1の用量を超える、投与、続いて

(c) 二重特異性抗体コンストラクトの第3の投与量の投与であって、前記第3の投与量は、前記第2の投与量を超える、投与、任意選択により、続いて

(d) 二重特異性抗体コンストラクトの第4の投与量の投与であって、前記任意選択による第4の用量は、前記第3の投与量を超える、投与

を含むスケジュールに従って1つ以上の治療サイクルの少なくとも1つで投与される、二重特異性抗体コンストラクトに関する。

【0008】

本発明の一態様において、全ての工程(a)~(c)又は(d)を含む1つの治療サイクルにおいて二重特異性抗体コンストラクトを投与する期間は、少なくとも15日、好ましくは15~60日、より好ましくは28~56日、好ましくは28日であることが想定される。

【0009】

本発明の一態様において、工程(a)における第1の投与量は、1日当たり少なくとも5 μ g、好ましくは1日当たり5~20 μ gの範囲、好ましくは1日当たり10 μ gであり、工程(b)における第2の投与量は、1日当たり少なくとも30 μ g、好ましくは1日当たり30~240 μ gの範囲、好ましくは1日当たり60又は240 μ gであり、且つ工程(c)における第3の投与量及び工程(d)における任意選択による第4の投与量は、1日当たり少なくとも240 μ g、好ましくは1日当たり240~1500 μ g、より好ましくは1日当たり480~960 μ gの範囲であることが想定される。

【0010】

本発明の一態様において、工程(a)における第1の投与量の投与の期間は、1~4日、好ましくは2又は3日であり、工程(b)における第2の投与量の投与の期間は、2~5日、好ましくは2又は3日であり、且つ工程(c)における第3の投与量及び工程(d)における任意選択による第4の投与量の投与の期間は、ともに7~52日、好ましくは14~23又は52日、より好ましくは22、23又は52日であることが想定される。

【0011】

本発明の一態様において、骨髄性白血病の治療は、2つ以上の治療サイクル、好ましくは2、3、4、5、6又は7つの治療サイクルを含み、少なくとも1、2、3、4、5、6又は7つの治療サイクルは、14日を超える二重特異性抗体コンストラクト投与を含むことが想定される。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 2 】

本発明の一態様において、少なくとも1つの治療サイクル後、二重特異性抗体コンストラクトの投与を伴わない期間、好ましくは治療を伴わない少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14日が続くことが想定される。

【 0 0 1 3 】

本発明の一態様において、少なくとも1つの治療サイクル後、コンストラクトの投与を伴わない期間が続かないことが想定される。

【 0 0 1 4 】

本発明の一態様において、治療の第1のサイクルのみは、工程(a)による投与を含む一方、その後のサイクルは、工程(b)による投与量で開始することが想定される。

10

【 0 0 1 5 】

本発明の一態様において、二重特異性抗体コンストラクトの第1の結合ドメインは、一本鎖二重特異性抗体コンストラクトであることが想定される。

【 0 0 1 6 】

本発明の一態様において、二重特異性抗体コンストラクトの第1の結合ドメインは、配列番号10～12及び14～16、22～24及び26～28、34～36及び38～40、46～48及び50～52、58～60及び62～64、70～72及び74～76、82～84及び86～88、94～96及び98～100、好ましくは94～96及び98～100からなる群から選択される6つのCDRの群を含むことが想定される。

20

【 0 0 1 7 】

本発明の一態様において、二重特異性抗体コンストラクトの第2の結合ドメインは、配列番号148～153、154～159、160～165、166～171、172～177、178～183、184～189、190～195、196～201及び202～207、好ましくは202～207からなる群から選択される6つのCDRの群を含むことが想定される。

【 0 0 1 8 】

本発明の一態様において、二重特異性抗体コンストラクトは、配列番号18、19、20、30、31、32、42、43、44、54、55、56、66、67、68、78、79、80、90、91、92、102、103、104、105、106、107及び108からなる群から選択される、好ましくは配列番号104、105、106、107及び108、より好ましくは配列番号104からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む一本鎖コンストラクトであることが想定される。

30

【 0 0 1 9 】

本発明の一態様において、二重特異性抗体コンストラクトは、PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤並びに/又はヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、ヒストンデメチラーゼ阻害剤及びATRA(全トランス型レチノイン酸)からなる群から選択される1つ以上のエピジェネティック因子と組み合わせて投与され、

(a) PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与前に投与されるか；

40

(b) PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与後に投与されるか；又は

(c) PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子並びに二重特異性抗体コンストラクトは、同時に投与されることが想定される。

【 0 0 2 0 】

本発明の一態様において、PD-1阻害剤、PDL-1阻害剤及び/又は1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与前、好ましくは二重特異性抗体コンストラクトの投与の1、2、3、4、5、6又は7日前に投与されることが想定される。

【 0 0 2 1 】

50

本発明の一態様において、エピジェネティック因子は、ヒドロキシ尿素であることが想定される。

【0022】

本発明の一態様において、骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、好ましくは再発性又は難治性急性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄性樹状細胞白血病、移行期慢性骨髄性白血病、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性多血症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄性白血病、骨髄肉腫及び急性混合性白血病からなる群から選択されることが想定される。

【0023】

本発明の別の態様において、骨髄性白血病の治療を、それを必要とする患者において行うための方法であって、1つ以上の治療サイクルにおいて、治療有効量の、CD33に特異的に結合する第1の結合ドメイン及びCD3に特異的に結合する第2の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトを投与することを含み、少なくとも1つの治療サイクルは、少なくとも2つの投与段階を適用する、少なくとも3つの投与量における二重特異性抗体コンストラクトの14日を超える投与を含み、二重特異性抗体コンストラクトは、以下の工程：

(a) 二重特異性抗体コンストラクトの第1の投与量の投与、続いて

(b) 二重特異性抗体コンストラクトの第2の投与量の投与であって、前記第2の投与量は、前記第1の投与量を超える、投与、続いて

(c) 二重特異性抗体コンストラクトの第3の投与量の投与であって、前記第3の投与量は、前記第2の投与量を超える、投与、任意選択により、続いて

(d) 二重特異性抗体コンストラクトの第4の投与量の投与であって、前記任意選択による第4の投与量は、前記第3の投与量を超え、任意選択により、その後、コンストラクトの投与を伴わない期間が続く、投与

を含むスケジュールに従って1つの治療サイクルで投与される、方法が提供されることが想定される。

【0024】

本発明の別の態様において、1つの治療サイクルにおいて二重特異性抗体コンストラクトを投与する期間は、少なくとも15日、好ましくは15～60日、より好ましくは28～56日、より好ましくは28日であることが想定される。

【0025】

本発明の別の態様において、工程(a)における第1の投与量は、1日当たり少なくとも5 μ g、好ましくは1日当たり5～20 μ gの範囲、より好ましくは1日当たり10 μ gであり、工程(b)における第2の投与量は、1日当たり少なくとも30 μ g、好ましくは1日当たり30～240 μ gの範囲、好ましくは1日当たり60又は240 μ gであり、且つ工程(c)における第3の投与量及び任意選択による工程(d)における任意選択による第4の投与量は、1日当たり少なくとも240 μ g、好ましくは1日当たり120～1500 μ g、好ましくは1日当たり240～960 μ g、より好ましくは1日当たり480～960 μ gの範囲であることが想定される。

【0026】

本発明の別の態様において、工程(a)における第1の投与量の投与の期間は、1～4日、好ましくは2又は3日であり、工程(b)における第2の投与量の投与の期間は、2～5日、好ましくは2又は3日であり、且つそれぞれ工程(c)及び任意選択による工程(d)における第3の用量及び任意選択による第4の用量の投与の期間は、7～52日、好ましくは14～23日、より好ましくは22、23、50又は52日であることが想定される。

【0027】

本発明の別の態様において、骨髄性白血病の治療は、2つ以上の治療サイクル、好ましくは2、3、4、5、6又は7つの治療サイクルを含み、少なくとも1、2、3、4、5

10

20

30

40

50

、6又は7つの治療サイクルは、それぞれ14日を超える二重特異性抗体コンストラクト投与を含むことが想定される。

【0028】

本発明の別の態様において、治療後、二重特異性抗体コンストラクトの投与を伴わない期間、好ましくは治療を伴わない少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14日が続くことが想定される。

【0029】

本発明の別の態様において、治療後、二重特異性抗体コンストラクトの投与を伴わない少なくとも14日の期間が続くことが想定される。

【0030】

本発明の別の態様において、治療の第1のサイクルのみは、工程(a)による投与を含む一方、その後のサイクルは、工程(b)による用量で開始することが想定される。

【0031】

本発明の別の態様において、コンストラクトは、一本鎖二重特異性抗体コンストラクトであることが想定される。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】第1の12名の患者コホートを含むCD33 x CD3二重特異性抗体コンストラクトに対する第I相臨床試験の概要である。

【図2】第I相臨床試験における第1の12名の患者コホートに関する抗腫瘍活性の概要である。試験コホートに関する抗腫瘍効果：240 µg/dの標的投与量(3つの投与量を含む治療サイクル内の第3の投与量)で2の完全寛解、120 µg/dで1のCRi及び240 µg/dでの1、1.5 µg/dでの1名の患者は、MLFS(<5%芽球、血液学的回復がない)を有した。CRを有する患者は、ベースラインでbm芽球 約5%~10%(斑状疾患より推定された)を有し、フローサイトメトリーによって29日目までに2.5%まで減少していたが、形態学的には残存AML及び正常~富細胞性骨髄並びに最も重要なこととして末梢血数の回復のエビデンスはなかった。(説明文：CR：完全寛解、CRi：不完全な数の回復を有する完全寛解、MLFS：形態学的無白血病状態)。

【図3】CD33 x CD3二重特異性抗体コンストラクト治療下での腫瘍応答に対する概要：腫瘍応答の指標としてのCD33 x CD3投与量に依存した骨髄(BM)吸引液の芽球数の変化[%]である。

【図4】それぞれの治療サイクルにおける患者応答の概要である。

【図5】長期の標的用量曝露及びCRS副作用の軽減のための段階的な投与を示す、R/R AMLを有する患者において持続IV注入としてAMG 330を評価する第1相用量漸増試験である。

【図6】DLT期間にコホート11(240 µg)、12(240 µg)及び13(30 µg)において治療された患者の末梢血中の絶対好中球数が示される。平均±SEが示される。G4線(下方のベースライン)及びG3ライン(上方のベースライン)は、CTCAEによってグレード4及び3の好中球減少症を示す。

【図7】DLT期間にコホート11(10、30及び240 µg)、12(240 µg)及び13(30 µg)において治療された患者の末梢血中の血小板数が示される。平均±SEが示される。G4線(下方のベースライン)及びG3ライン(上方のベースライン)は、CTCAEによってグレード4及び3の好中球減少症を示す。

【発明を実施するための形態】

【0033】

市販承認を有する二重特異性抗体コンストラクトであるブリナツモマブは、4週間の持続静注(第1週に関して5 µg/m²/日及びその後、15 µg/m²/日)によって急性リンパ芽球性白血病(ALL)の治療において与えられ、その後、最大5サイクルにわたる2週間の無治療(すなわち1サイクル)が続く。そうすることで、治療は、B細胞系列に制限される区画であるCD19⁺細胞の区画を消失させる。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 4 】

C D 3 3 に特異的な B i T E (登録商標) を試験する動物試験において、そのような分子に関して提案される作用機序と一致して、循環好中球、血小板及び赤血球量の減少を含む一過性の骨髄抑制が観察された。白血球の減少は、活性化された動物試験における予想される増加とともに、提案された作用機序と一致して、循環好中球、血小板及び赤血球量の減少を含む一過性の骨髄抑制をもたらした。白血球の減少は、予想される活性化 T リンパ球の増加及びサイトカインレベルの増加とともに、全ての用量群において観察された。発熱性好中球減少症及び好中球減少症は、血液学的悪性腫瘍を有し、且つ前の併用化学療法を有する患者において観察される一般的な事象である。

【 0 0 3 5 】

出血は、A M L の治療において一般的且つ潜在的に重篤な合併症であり、大部分が血小板減少症に続いて起こる。出血性合併症の中で、重篤な出血を引き起こす凝固因子及び血小板の消費を伴う血液凝固の強力な血管内活性化に起因する播種性血管内凝固 (D I C) 症候群が特に重要である。A M L を有する成人患者において、入院の日に 1 % の致死性出血が観察されており、全ては、白血球増加症又は急性前骨髄球性白血病 (A P L) の存在下である。A M L を有する患者における最近のデータは、9 . 9 % の出血性死の割合を示す。加えて、この A M L 患者集団において、汎血球減少患者及び終末出血における未解決の感染症間の強力な相関があり得る。

【 0 0 3 6 】

免疫無防備状態の患者は、一般的な市中感染症及び日和見感染症の両方になりやすいこともよく受け入れられている。感染症は、癌患者における罹患率及び死亡率の主な原因であり、特定の癌は、免疫低下と本質的に関連しているが、感染症のリスクは、主に細胞障害性及び免疫抑制療法の強度及び期間に関連する。

【 0 0 3 7 】

しかしながら、急性骨髄性白血病において、状況は、急性リンパ芽球性白血病と比較して異なる。骨髄区画は、生存に必要なより広い細胞系列を含む。したがって、A L L におけるブリナツモマブの投与スキームを、A M L に特異的な二重特異性抗体コンストラクトを使用する A M L の治療に単純に移行させることはできない。C D 3 3 + 細胞除去療法の手法を使用する A M L の効率的な治療のために、治療は、効果的であるように十分に長く、且つ例えば日和見感染症に対抗するために免疫力を維持することを鑑みて、生存に不可欠な骨髄区画におけるそれらの細胞型に対する毒性を最小化するように十分に短い必要がある。加えて、投与量は、有効性のためにも十分である必要がある。

【 0 0 3 8 】

この問題は、例えば、好ましくは骨髄性白血病の治療のための方法における使用のための、C D 3 3 に特異的に結合する第 1 の結合ドメイン及び C D 3 (C D 3 3 / C D 3) に特異的に結合する第 2 の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトを提供することによって解決され、二重特異性抗体コンストラクトは、1 つ以上の治療サイクルにおいて投与され、1 つの治療サイクルは、少なくとも 2 つの投与段階を適用する、少なくとも 3 つの異なる投与量における二重特異性抗体コンストラクトの 1 4 日を超える投与を含み、任意選択により、その後、コンストラクトの投与を伴わない期間が続く。

【 0 0 3 9 】

少なくとも 3 つの漸増投与量レベルによる少なくとも二重の段階的な投与を適用する本発明に一致する投与スケジュールを使用して、1 4 日を超える C D 3 3 / C D 3 二重特異性抗体コンストラクト (例えば、配列番号 1 0 4) 投与期間中に骨髄白血病細胞を効率的に除去することができるが、依然として患者に、治療サイクル間のコンストラクトの投与を伴わない期間において骨髄区画を回復させることが可能である。少なくとも 2 4 0 μ g の標的投与量、すなわち治療サイクル内の最後の工程の最大投与量を採用することは、好ましくは、本明細書で実証されるとおり、疾患の完全寛解を可能にする。同時に、本発明による段階的な投与は、好ましくは、以前に許容できると予想されたものより長い標的用量に対する曝露にもかかわらず、サイトカイン放出症候群又はその症状などの重篤な免疫

10

20

30

40

50

性の副作用のリスクを著しく低減する。本発明による段階的な投与を適用する、すなわち少なくとも3つの漸増投与量をもたらす少なくとも2つの投与段階を適用することにより、患者は、最大52日など、長期間標的投与量に曝露され得る。前記最大期間は、それぞれ2日間続く第1及び第2の工程、並びに残りの第1の治療サイクルの24日続く第3の工程、並びに前の段階的な投与を伴わない第3の投与量のみを含む後続の(第2の)治療サイクルの標的投与量の別の28日に起因する。したがって、治療サイクル間の無治療期間(すなわち本発明による二重特異性抗体コンストラクトが中断されずに投与される場合)の少なくとも1つは、不必要であり得る。したがって、第1の関係する治療サイクルの標的投与量は、即座に、中断されることなく後続の、すなわち第2の関係する治療サイクルの同じ標的投与量に続く。そのため、長期間持続する治療効果及び最終的に罹患し、治療を受けた患者のAML疾患の根絶のための前提条件として、AML芽球及び白血病幹細胞を根絶するという治療目標を実現するために、患者の標的投与量への曝露が大幅に拡大される。したがって、本発明による方法は、好ましくは、長期間持続する治療効果、すなわち造血幹細胞及び骨髄性白血病幹細胞を有効に根絶する必要性並びにCRSなどの重篤且つ治療を終了させる可能性のある副作用の回避又は減弱の必要性を均衡させる方法を提供する。特に、最も高いグレード5(当技術分野で一般的に定義されるとおり)のCRS事象を好ましくは回避することができ、比較的高いグレード3及び4のCRS事象の発生を著しく減少させることができ、すなわち、それぞれグレード3は、典型的には、治療された患者の最大10%で発生し、グレード4は、典型的には、治療された患者の最大5%で発生する。

10

20

【0040】

本発明に関連して、1つの治療サイクルにおける二重特異性抗体コンストラクトへの患者の曝露の期間は、2つの治療サイクルが無治療期間によって隔てられていない場合、14日より長く、最大60日であり得る。通常、少なくとも2つ、好ましくは3つの投与段階を含む各治療サイクル後、患者の回復を可能にする無治療期間が続く。しかしながら、長期の標的投与量曝露が、AML芽球に加えて白血病幹細胞に対処するために必要となる場合、2つの治療サイクルは、無治療期間を離れることによって互いに繋げられる。しかしながら、十分な患者の回復を可能にしながらもなお標的投与量の曝露時間を延長するために、無治療期間を伴わずに2つ以下の治療サイクルが互いに続くことが好ましい。

【0041】

前記2つの治療サイクルが繋げられる場合、先の治療サイクルに続く後の治療サイクルは、1つのみの投与量を有し、段階的な投与がないことによって特徴付けられる。これは、先の治療サイクルの段階的な投与が、直後の治療サイクル(すなわち繋げられた2つのサイクル間に無治療期間がない)においてもCRSなどの副作用(特により高いグレード3及び4並びに最高グレード5)のリスクを低減するという事実によって促進されるが、それは、先の治療サイクル後の治療サイクルが、先の治療サイクルの適用された段階的な投与から利益を得るためである。したがって、最高グレードの副作用CRSは、完全に回避することができ、比較的高いグレード3及び4は、希発の一桁の発生率まで減弱できた。治療の中断は、治療された患者の大部分で回避することができ、高度に進行したr/r AMLに罹患している高位の患者を治療するための継続的な有効用量投与を確保できた。

30

40

【0042】

したがって、本発明に関連して、治療サイクルの少なくとも1つは、本明細書に記載されるとおりの特定の段階的な投与のための要件を満たさなければならない。1つのみの治療サイクルが適用される場合、前記1つの治療サイクルは、段階的な投与を含む。無治療期間によって隔てられていない2つの治療サイクルが適用される場合、本明細書に記載される特定の少なくとも3段階の特定の段階的な投与の要件を満たすために2つの治療サイクルの最初のみで十分である。

【0043】

本明細書に参照されるとおりの曝露の期間は、通常、1つの治療サイクルを通して適用

50

される少なくとも3つの異なる投与量の全てに対する全体の曝露を指す。標的用量に対する典型的な曝露は、比較的短く、すなわち治療サイクル内の第3又は任意選択による第4の最大(標的)投与量に達する前の第1及び第2(及び任意選択による第3)の投与量の期間によって短縮される。標的投与量のそのような曝露は、例えば、56、55、54、53、52、51、50、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15又は14日間続き得、これは、同時に、本発明によるCD33×CD3二重特異性抗体コンストラクト(例えば、配列番号104)の抗腫瘍効果の完全な活用を可能にする。結果的に、本投与計画は、サイトカイン放出症候群及びその症状などの薬物投与の初期中の副作用を、本明細書に記載される段階的な投与を使用することによって最小化しながら、治療される患者の標的用量への長期の曝露を可能にする。同時に、本明細書に記載されるおりの投与スケジュール又は投与計画によって制限される優れた有効性は、好ましくは、治療される患者における腫瘍量の著しい減少により、より好ましくはそれぞれ1つの治療サイクル又は複数の治療サイクルの後の部分的又はさらに完全寛解又は度重なる完全寛解において実証される。

10

20

30

40

50

【0044】

疾患(AML)の完全寛解を臨床的に実証した本発明による典型的な治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60 μ gの第2の投与量で2、3又は4日間、その直後の1日当たり240 μ gの第3の投与量で21、22又は23日間、CD33×CD3二重特異性抗体コンストラクト(例えば、配列番号104)を投与することを含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。代わりに、好ましい治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60 μ gの第2の投与量で2、3又は4日間、その直後の1日当たり480 μ gの第3の投与量で21、22又は23日間を含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。代わりに、好ましい治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60 μ gの第2の投与量で2、3又は4日間、その直後の1日当たり600 μ gの第3の投与量で21、22又は23日間を含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。代わりに、好ましい治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60、120又は240 μ gの第2の投与量で2、3又は4日間、その直後の1日当たり720 μ gの第3の投与量で21、22又は23日間を含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。代わりに、好ましい治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60、120又は240 μ gの第2の投与量及び1日当たり120又は240 μ gの第3の投与量で合わせて2日間、その直後の1日当たり840 μ gの第4の投与量で21、22又は23日間を含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。代わりに、好ましい治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60又は120 μ gの第2の投与量及び1日当たり120又は240 μ gの第3の投与量で合わせて2日間、その直後の1日当たり960 μ gの第4の投与量で21、22又は23日間を含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。そのような治療サイクルは、より適切な説明のために図5においても表される。

【0045】

既に1日当たり240 μ gの標的投与量が、MRD+であるが、好ましくはMRD-でもある疾患AMLの完全寛解をもたらし得ることは、本発明に関連して顕著な発見であった。本明細書に記載されるような比較的高い標的投与量は、AML芽球に加えて白血病幹細胞をさらに数量的に根絶し、且つ再発のリスクを低減する可能性があり、したがって患者により長い無病状態を提供し、患者の生活の質を向上させる。

【0046】

好ましくは、本発明に関連して、用量制限毒性（DLT）期間を標準の4週まで短縮することができ（標的用量に対して少なくとも14日）、CRSの発症及びその回復、効率的な患者内増加並びに全体的な患者の安全性をモニタリングすることを可能にする。

【0047】

当技術分野において知られるとおり、一般的な骨髄前駆細胞である骨髄芽球、単球を含む骨髄細胞の表面上でのCD33の発現は、フローサイトメトリーによって文献において実証されている。さらに、マクロファージの表面上でのCD33発現は、免疫組織化学により実証されている。骨髄区画におけるそれらのCD33⁺細胞集団は、本明細書に記載される二重特異性抗体コンストラクトを有する患者の治療下で除去される。それらの細胞集団のいくつかは、それ自体、骨髄区画における他の細胞集団に関する前駆細胞であるという事実に起因して、一般的な骨髄前駆細胞の下流の全ての細胞型の造血が影響を受け、骨髄抑制をもたらす。さらなる作用の方法として、本発明によるCD33二重特異性抗体コンストラクトは、骨髄抑制因子（すなわちMDS）を解消することもでき、局所微小環境内の免疫抑制に寄与する。

10

【0048】

骨髄性白血病の順調な治療のために、本明細書に記載される二重特異性抗体コンストラクトによる患者の効果のある曝露（すなわち一定の長さの曝露）は、T細胞活性化/増殖及びそれらのT細胞の細胞障害活性を誘導することが要求される。しかしながら、上記の観察に基づいて、二重特異性抗体コンストラクトの投与期間が長く続くほど、汎血球減少が長くなることが予想される。これを念頭に置いて、本発明の根底にある問題の解決策は、白血病細胞の効果的な除去を可能にする二重特異性抗体コンストラクトの曝露の長さ及び用量を、患者の骨髄区画を回復させる無治療期間と均衡させることである。これは、上記の投与スキームによって反映される。

20

【0049】

投与を伴わない期間は、例えば、細菌感染に対する防御に重要な骨髄細胞を再構築するために、骨髄区画のための回復期間として役立つ。投与を伴わない要求される最小期間の長さは、通常、残留している腫瘍量に依存する。例えば、部分奏効を示した患者では、期間は、1、2、3、4、5又は6日、好ましくは7日などの7日以下と短いことができる一方、より高い残存腫瘍量及び骨髄区画へのより多くの損傷を有する患者は、通常、骨髄細胞を再構築するために、より長い期間、典型的には少なくとも8、9、10、11、12、13又は14日、好ましくは14日を必要とする。一般に、標的用量への患者の曝露は、最大化され、且つ同時に、多くの場合に危篤状態にあり、典型的には迅速な有効性を必要とする患者のための治療サイクルの迅速な全体シークエンスを可能にするために、無治療回復期間を含む単一の治療サイクルの期間を可能な限り制限することが想定される。

30

【0050】

本発明の特定の実施形態において、14日を超える投与期間を含む第1の治療サイクルは、標的用量まで患者の比較的長い曝露を与え、それにより後続の治療サイクルが、14日を超える投与期間を必要としない場合があるようなレベルまで腫瘍量を減少させる。そのような場合、第1の治療サイクル後の治療サイクルは、十分な効率が達成されていることを条件として、最大で14日間続く場合があり、1サイクル内の回復期間比に対して比較的長い治療によって副作用のリスクを低減する。代わりに、第2、第3、第4又は任意の後続の治療サイクルは、14日を超えて続いた後、最大で14日の長さの1つ以上の治療サイクルが続く場合がある。また、14日を超える投与の治療サイクルは、有効性及び副作用の軽減を平均化するために、最大14日の投与の治療サイクルと交互に行われ得る。

40

【0051】

有効用量を標的癌細胞まで到達させる時間を浪費せず、同時にCRSなどの重篤な副作用を誘発するリスクを低減する投与スキームを提供することは、本明細書に記載されるとおりの本発明の特定の成果である。時間を浪費することは、重篤且つ進行が早い進行性疾

50

患に罹患している治療される患者の利益にはならないであろう。他方で、迅速すぎる段階的な投与によってCRSなどの副作用を誘発させることは、過度の毒性に起因する治療の中断又は放棄をもたらす可能性がある。両方の不利益が本発明による方法によって軽減される。また、第4の工程を加えることにより、投与量間のギャップは、低減され、それによりCRSの可能性も低減される。したがって、本発明に関連して、例えば1日当たり少なくとも480、720又は960 μ gの高い標的投与量が適用され、4つの工程（例えば、1日当たり30 - 240 - 600 - 900 μ g）を含む段階的な投与は、以前の工程の投与量と標的投与量との間のより小さいギャップに起因して、同じ期間をかけて実施される場合でも、3つの工程（例えば、1日当たり30 - 240 - 900 μ g）を含む段階的な投与に対して好ましい。

10

【0052】

本発明による方法は、CRSなどの重篤な副作用を回避又は減弱する。特に、最も高いグレード5（当技術分野で一般的に定義されるとおり）のCRS事象を好ましくは回避することができ、比較的高いグレード3及び4のCRS事象の発生を著しく減少させることができ、すなわち、それぞれグレード3は、典型的には、治療された患者の最大10%で発生し、グレード4は、典型的には、本明細書に記載されるとおりの方法を経験している治療された患者の最大5%で発生する。

【0053】

当業者が認識しているとおり、各再発後、新たな完全寛解は、達成するのがより一層困難である。二重特異性抗体コンストラクトによる本明細書に記載される療法を経験している患者は、通常、既に標準的な化学療法を経験しており、寛解及び再発を経た可能性があるという事実を仮定すれば、著明な活性が本発明による方法によって与えられる必要がある。したがって、高投与量の二重特異性抗体コンストラクト、例えば配列番号104への長期の曝露は、本明細書に記載されるとおり好ましい。これは、通常、4つの異なり且つ上昇的な投与量、すなわち第1、第2、第3及び第4の用量を意味する3つの投与段階を含む段階的な投与を必要とする。したがって、そのような好ましい治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60又は120 μ gの第2の投与量及び1日当たり120又は240 μ gの第3の投与量で合わせて2日間、その直後の1日当たり840 μ gの第4の投与量で21、22又は23日間を含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。代わりに、好ましい治療サイクルは、1日当たり10 μ gの第1の投与量で2又は3日の連続した日数、その直後の1日当たり60又は120 μ gの第2の投与量及び1日当たり120又は240 μ gの第3の投与量で合わせて2日間、その直後の1日当たり960 μ gの第4の投与量で21、22又は23日間を含み、全体的な治療サイクル期間は、28日である。2つの治療サイクルが合わせられ、間欠的な無投与期間を伴わずに互いに続く場合、第4の有効投与量の適用は、最大52日の期間を有する。そのようなパラメータは、例えば、高投与量の二重特異性抗体コンストラクト、例えば配列番号104への長期の曝露と考えられ、本明細書に記載されるとおり好ましい

20

30

【0054】

活性化化合物、例えば二重特異性化合物の血清レベルが既定の閾値未満に下がる時、投与期間の終わりに達したと理解される。そのような閾値に関する例は、 EC_{90} 値未満の血清レベル、好ましくは EC_{50} 値未満、より好ましくは EC_{10} 値未満である。そのようなEC値は、アッセイに一致するエフェクター細胞としてCD33⁺ 標的細胞及びヒトPBLを使用して、細胞障害アッセイにおいて定義され得る。

40

【0055】

短い血清半減期を有することが知られる、本発明に関連して好ましいCD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクト（配列番号104を参照されたい）などの二重特異性一本鎖抗体コンストラクトの場合、マウスにおけるCD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトの半減期は、6.5～8.7時間であるが、ヒトにおけるCD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトの予測される半減期は、約2時間であり、血清レベルは、持続i

50

v 投与を止めた後の短い時間内、すなわち投与期の終わりのほぼ直後に上記の閾値未満に低下するのである。

【0056】

本発明に好適な二重特異性抗体コンストラクトの特定の EC_{50} 値の決定のためのアッセイは、本明細書の下記の実施例において記載される。

【0057】

用語「用量」は、典型的には、マイクログラム [μg] などの質量の単位における本明細書に記載される薬剤、すなわち二重特異性抗体コンストラクトの測定された量として本明細書で理解される。

【0058】

用語「投与量」は、典型的には、1日当たりのマイクログラム [$\mu\text{g}/\text{d}$] などの時間当たりの質量の単位における本明細書に記載される薬剤、すなわち二重特異性抗体コンストラクトの用量の適用の比率として本明細書で理解される。本発明に関連して、適用は、IV 注入、好ましくは持続 IV 注入 (CIV) である。その点で、投与、すなわち治療用二重特異性抗体コンストラクトの投入は、提供される投与期間中に中断されない。

【0059】

用語「治療サイクル」は、適用されることになる少なくとも3つの投与量をもたらす少なくとも2つの投与段階を含む治療期間として本明細書で理解され、投与量は、それらのシーケンスの順序毎に増加している。1つの治療サイクル内の前記投与は、本明細書に記載されるとおりの段階的な投与を適用する1つの治療サイクル内で投与される異なる投与量間の任意の無治療期間によって中断されないことが好ましい。代わりに、持続注入は、治療サイクルの全体にわたって好ましくは中断されることなく、治療される患者に対して継続する。完了後、前記治療サイクル後、通常、休止期間 (無投与期間、すなわち無治療) が続き得、治療期間及び無治療期間のその組合せは、規則的なスケジュールで繰り返される。例えば、4週間の治療後に2週間の休止が続くことが1つの治療サイクルである。このサイクルが規則的なスケジュール上で複数回繰り返されると、それは、治療の過程を構成する。

【0060】

用語「段階的な投与」は、CRS などの治療関連副作用を回避するために、好ましくは1つの治療サイクル内で投与量を増加させる一連の適用として本明細書で理解される。

【0061】

用語「投与段階」は、ある投与量から別のものへの変化として本明細書で理解される。したがって、段階的な投与が3つの異なる投与量を提供する場合、2つの投与段階が適用されなければならない、すなわちそれぞれ第1から第2の投与段階及び第2から第3の投与段階への変化である。

【0062】

本発明に関連して、寛解は、疾患AMLの徴候及び症状の低減又は消失のいずれかとして理解される。本用語は、この減少が生じる期間を指すためにも使用され得る。本明細書では、寛解は、部分寛解又は完全寛解と見なされ得る。例えば、AMLの部分寛解は、見出され得るとおり、例えば身体検査、放射線学的試験又は血液若しくは尿検査からのバイオマーカーレベルに対するAMLの測定可能なパラメーターにおける50%以上の減少として定義され得る。

【0063】

本発明に関連して、完全寛解は、通常、疾患の徴候の全体的な消失である。状態が完全寛解にある患者は、再発、すなわち疾患の再出現の可能性があるにもかかわらず、治癒又は回復したと見なされる場合がある。

【0064】

本発明に関連して、番号を伴わない完全寛解 (CR) は、通常、第1のCRを意味し、例えば、新たにAMLと診断された患者は、1つ以上のサイクルで化学療法を受け、すなわち本発明による二重特異性抗体コンストラクトを受ける前に寛解に至り、それが第1の

10

20

30

40

50

CR（通常、単にCRと呼ばれる）であり、続いて再発し、いくつかの他の療法を受け、再び寛解に至り、それが目下第2の完全寛解（CR2）などである。

【0065】

用語「コホート」は、典型的な特徴を共有する、すなわち同じ段階的な投与、投与量及び適用期間によって特徴付けられる同じ治療サイクルを経験する患者の群として本発明に関連して理解される。

【0066】

用語「有効投与量」は、AML芽球及び白血病幹細胞が効率的に殺される標的用量である。この用量は、通常、1つの治療サイクルの最も高い及び好ましくは最後の投与量である。

【0067】

用語「二重特異性抗体コンストラクト」は、2つの別個の標的構造の特異的な結合に好適な構造を有する分子を指す。本発明に関連して、そのような二重特異性抗体コンストラクトは、標的、好ましくは標的細胞の細胞表面上のCD33及びエフェクター、好ましくはT細胞の細胞表面上のCD3に特異的に結合する。しかしながら、本明細書に記載されるとおりの好ましい投与、すなわちサイトカイン放出症候群などの副作用を軽減する段階的な投与及び有効性を最大化する長期の曝露は、T細胞の細胞表面上のCD3に加えて、CD33と異なる別の標的を標的化する他の二重特異性抗体コンストラクトにも適用される。二重特異性抗体コンストラクトの好ましい実施形態において、少なくとも1つ、より好ましくは二重特異性抗体コンストラクトの両方の結合ドメインは、抗体の構造及び/又は機能に基づく。そのようなコンストラクトは、本発明に一致して「二重特異性抗体コンストラクト」として称され得る。

【0068】

用語「抗体コンストラクト」は、その構造及び/又は機能が抗体、例えば全長又は完全免疫グロブリン分子の構造及び/又は機能に基づく分子を指す。したがって、抗体コンストラクトは、その特異的な標的若しくは抗原に結合することができ、且つ/又は抗体若しくはそのフラグメントの可変重鎖（VH）及び/若しくは可変軽鎖（VL）ドメインから導き出される。さらに、本発明による結合パートナーに結合するドメインは、本発明による抗体コンストラクトの結合ドメインとして本明細書で理解される。通常、本発明による結合ドメインは、標的結合を可能にする抗体の最小構造要件を含む。この最小要件は、例えば、少なくとも3つの軽鎖CDR（すなわちVL領域のCDR1、CDR2及びCDR3）並びに/又は3つの重鎖CDR（すなわちVH領域のCDR1、CDR2及びCDR3）、好ましくは6つ全てのCDRの存在によって定義され得る。抗体の最小構造要件を定義する代替の手法は、特異的な標的の構造、それぞれエピトープ領域を構成する標的タンパク質のタンパク質ドメイン（エピトープクラスター）内での抗体のエピトープの定義であるか、又は定義された抗体のエピトープと競合する特異的な抗体を参照することによる。本発明によるコンストラクトに基づく抗体は、例えば、モノクローナル抗体、組換え抗体、キメラ抗体、脱免疫抗体、ヒト化抗体及びヒト抗体を含む。

【0069】

本発明による抗体コンストラクトの結合ドメインは、例えば、上で参照された群のCDRを含み得る。好ましくは、それらのCDRは、抗体軽鎖可変領域（VL）及び抗体重鎖可変領域（VH）のフレームワーク内に含まれるが、それが両方を含む必要はない。Fdフラグメントは、例えば、2つのVH領域を有し、多くの場合、インタクトな抗原結合ドメインの一部の抗原結合機能を保持している。抗体フラグメント、抗体バリエーション又は結合ドメインの形式についてのさらなる例としては、（1）VL、VH、CL及びCH1ドメインを有する一価のフラグメントであるFabフラグメント；（2）ヒンジ領域でのジスルフィド架橋によって連結された2つのFabフラグメントを有する二価のフラグメントであるF(ab')₂フラグメント；（3）2つのVH及びCH1ドメインを有するFdフラグメント；（4）抗体の1つのアームのVL及びVHドメインを有するFvフラグメント、（5）VHドメインを有するdAbフラグメント（Ward et al., (

10

20

30

40

50

1989) Nature 341:544-546); (6) 単離された相補性決定領域 (CDR)、並びに(7)一本鎖Fv(scFv)が挙げられ、後者が好ましい(例えば、scFvライブラリー由来のもの)。本発明による抗体コンストラクトの実施形態の例は、例えば、国際公開第00/006605号パンフレット、国際公開第2005/040220号パンフレット、国際公開第2008/119567号パンフレット、国際公開第2010/037838号パンフレット、国際公開第2013/026837号パンフレット、国際公開第2013/026833号パンフレット、米国特許出願公開第2014/0308285号明細書、米国特許出願公開第2014/0302037号明細書、国際公開第2014/144722号パンフレット、国際公開第2014/151910号パンフレット及び国際公開第2015/048272号パンフレットに記載されている。

10

【0070】

さらに、用語「抗体コンストラクト」の定義は、一価、二価及び多価(polyvalent)/多価(multivalent)コンストラクト、したがって1つのみの抗原性構造に特異的に結合する単一特異性コンストラクト並びに異なる結合ドメインを通じて2つ以上の抗原性構造、例えば2つ、3つ以上に特異的に結合する二重特異性及び多重特異性(polyspecific)/多重特異性(multispecific)コンストラクトを含む。さらに、用語「抗体コンストラクト」の定義は、1つのみのポリペプチド鎖からなる分子及び鎖が同一(ホモ二量体、ホモ三量体若しくはホモオリゴマー)であるか又は異なる(ヘテロ二量体、ヘテロ三量体若しくはヘテロオリゴマー)かのいずれかであり得る2つ以上のポリペプチド鎖からなる分子を含む。上で特定された抗体及びバリエーション又はその誘導体に関する例は、とりわけ、Harlow and Lane, Antibodies a laboratory manual, CSHL Press (1988)及びUsing Antibodies: a laboratory manual, CSHL Press (1999), Kontermann and Dübeler, Antibody Engineering, Springer, 2nd ed. 2010及びLittle, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009において記載される。

20

【0071】

本発明の抗体コンストラクトは、「インビトロで作製された抗体コンストラクト」であることが好ましい。本用語は、可変領域の全て又は一部(例えば、少なくとも1つのCDR)が非免疫細胞の選択、例えばインビトロファージディスプレイ、タンパク質チップ又は抗原結合能に関して候補配列を試験することができる任意の他の方法において作製される、上記定義による抗体コンストラクトを指す。したがって、本用語は、好ましくは、動物の免疫細胞におけるゲノム再編成によってのみ作製される配列を除外する。「組換え抗体」は、組換えDNA技術又は遺伝子工学の使用により作製された抗体である。

30

【0072】

本発明の二重特異性抗体コンストラクトのある実施形態は、「一本鎖抗体コンストラクト」である。それらの一本鎖抗体コンストラクトは、単一のペプチド鎖からなる抗体コンストラクトの上記の実施形態のみを含む。

40

【0073】

本明細書で使用する場合、用語「モノクローナル抗体」(mAb)又はモノクローナル抗体コンストラクトは、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体、すなわち少量存在する可能性がある、考えられる天然に存在する変異及び/又は翻訳後修飾(例えば、異性化、アミド化)を除いて同一である集団を含む個々の抗体を指す。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、異なる決定基(又はエピトープ)に対して誘導された異なる抗体を通常含む従来の(ポリクローナル)抗体製剤とは対照的に、抗原上の単一の抗原部位又は決定基に対して誘導される。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ培養によって合成されるため、他の免疫グロブリンが混入しない点で有利である

50

。修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体集団から得られるという抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。

【0074】

モノクローナル抗体の調製には、継続的な細胞株培養により産生される抗体をもたらす任意の技術を用いることができる。例えば、使用されるモノクローナル抗体は、Koehler et al., Nature, 256:495 (1975) によって最初に記載されたハイブリドーマ方法によって作られ得るか、又は組換えDNA法(例えば、米国特許第4,816,567号明細書を参照されたい)によって作られ得る。ヒトモノクローナル抗体を産生するさらなる技術の例としては、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術(Kozbor, Immunology Today 4(1983), 72) 及びEBV-ハイブリドーマ技術(Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96)が挙げられる。

10

【0075】

次に、ハイブリドーマを、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)及び表面プラズモン共鳴(BIACORE(商標))分析などの標準的な方法を使用してスクリーニングして、指定の抗原に特異的に結合する抗体を産生する1つ以上のハイブリドーマを同定することができる。例えば、組換え抗原、天然に存在する形態、その任意のバリエーション又はフラグメント並びにその抗原性ペプチドなど、任意の形態の関連抗原が免疫原として使用され得る。BIACOREシステムで採用されている表面プラズモン共鳴を使用して、標的細胞の表面抗原CD33又はCD3イプシロンなどの標的抗原のエピトープに結合するファージ抗体の効率を高めることができる(Schier, Human Antibodies Hybridomas 7(1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183(1995), 7-13)。

20

【0076】

モノクローナル抗体を作製する別の例示的な方法としては、タンパク質発現ライブラリー、例えばファージディスプレイ又はリボソームディスプレイライブラリーのスクリーニングが挙げられる。ファージディスプレイについては、例えば、Ladner et al., 米国特許第5,223,409号明細書、Smith(1985) Science 228:1315-1317、Clackson et al., Nature, 352:624-628(1991)及びMarks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991)に記載されている。

30

【0077】

ディスプレイライブラリーの使用に加えて、関連抗原を使用して、非ヒト動物、例えば齧歯類(マウス、ハムスター、ウサギ又はラットなど)を免疫化することができる。一実施形態では、非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子の少なくとも一部を含む。例えば、マウス抗体産生が欠損したマウス系統を、ヒトIg(免疫グロブリン)遺伝子座の大きいフラグメントを用いて改変することが可能である。ハイブリドーマ技術を用いて、所望の特異性を有する遺伝子由来の抗原特異的モノクローナル抗体を作製し、選択し得る。例えば、XENOMOUSE(商標)、Green et al.(1994) Nature Genetics 7:13-21、米国特許出願公開第2003-0070185号明細書、国際公開第96/34096号パンフレット及び国際公開第96/33735号パンフレットを参照されたい。

40

【0078】

モノクローナル抗体は、非ヒト動物から得た後、当技術分野で知られる組み換えDNA技術を用いて、例えばヒト化、脱免疫、キメラ化などの改変を行うこともできる。改変抗体コンストラクトの例としては、非ヒト抗体のヒト化バリエーション、「親和性成熟」抗体(例えば、Hawkins et al., J. Mol. Biol. 254, 889-896(1992)及びLowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837(1991)を参照されたい)及びエフェクター機能が改変された抗

50

体変異体（例えば、米国特許第5,648,260号明細書、前掲のKontermann and Duebel(2010)及び前掲のLittle(2009)を参照されたい)が挙げられる。

【0079】

免疫学において、親和性成熟とは、免疫反応の過程で抗原に対する親和性の増大した抗体をB細胞が産生するプロセスである。同一抗原への反復曝露により、宿主は、親和性が連続的に増大する抗体を産生することになる。天然のプロトタイプと同様に、インビトロ親和性成熟は、変異と選択の原理に基づいている。インビトロ親和性成熟を問題なく使用して、抗体、抗体コンストラクト及び抗体フラグメントを最適化している。CDR内部のランダム変異は、放射線、化学的変異原又はエラープロードPCRを用いて導入される。加えて、遺伝的多様性は、チェーン・シャッフリング法によって増大させることができる。ファージディスプレイのようなディスプレイ方法を用いた2又は3ラウンドの変異及び選択により、通常、低ナノモル範囲の親和性を有する抗体フラグメントが得られる。

10

【0080】

抗体コンストラクトの好ましいタイプのアミノ酸置換変種は、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ものである。一般に、さらなる開発のために選択されて得られるバリエーションは、それらが生成された親抗体と比べて向上した生物学的特性を有することになる。そのような置換バリエーションを生成するための簡便な方法には、ファージディスプレイを用いる親和性成熟が含まれる。簡潔に説明すると、いくつかの超可変領域部位（例えば、6～7部位）は、それぞれの部位で可能な全てのアミノ酸置換が生じるように変異される。そのようにして生成された抗体バリエーションは、各粒子内にパッケージされたM13の遺伝子III産物との融合体として、繊維状ファージ粒子から一価形態で提示される。次に、ファージディスプレイされたバリエーションを、本明細書に開示されるとおりにそれらの生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。変更のための超可変領域部位候補を同定するために、アラニンスクリーニング変異導入法を実施して、抗原結合に有意に寄与する超可変領域残基を同定し得る。代わりに又は加えて、結合ドメインと、例えばヒト標的細胞の表面抗原CD33との間の接触点を同定するために、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析することが有益な場合がある。そのような接触残基及び隣接残基は、本明細書で詳述される技術による置換の候補である。そのようなバリエーションを生成してから、バリエーションのパネルに対して、本明細書に記載されるとおりのスクリーニングを施し、1つ以上の関連するアッセイにおいて優れた特性を有する抗体をさらなる開発のために選択し得る。

20

30

【0081】

本発明のモノクローナル抗体及び抗体コンストラクトは、特に重鎖及び/若しくは軽鎖の一部が特定の種に由来するか、又は特定の抗体のクラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一若しくは相同である一方、鎖の残部は、所望の生物活性を示す限り、別の種に由来するか、又は別の抗体のクラス若しくはサブクラスに属する抗体並びにそのような抗体のフラグメント中の対応する配列と同一若しくは相同である「キメラ」抗体（免疫グロブリン）を含む（米国特許第4,816,567号明細書；Morrisonet al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984)）が挙げられる。本明細書における目的のキメラ抗体には、非ヒト霊長類（例えば、旧世界ザル、類人猿など）に由来する可変ドメイン抗原結合配列及びヒト定常領域配列を含む「霊長類化」抗体が含まれる。キメラ抗体を作製するための様々な方法が記載されている。例えば、Morrisonet al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda et al., Nature 314:452, 1985; Cabilly et al., 米国特許第4,816,567号明細書；Boss et al., 米国特許第4,816,397号明細書；Tanaguchi et al., 欧州特許第0171496号明細書；欧州特許第0173494号明細書；及び英国特許第2177096号明細書を参照されたい。

40

50

【0082】

抗体、抗体コンストラクト又は抗体フラグメントは、国際公開第98/52976号パンフレット及び国際公開第00/34317号パンフレットに開示される方法によるヒトT細胞エピトープの特異的欠失(「脱免疫化」と呼ばれる方法)によっても改変され得る。簡潔に説明すると、MHCクラスIIに結合するペプチドについて、抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメインを分析することができる。これらのペプチドは、潜在的なT細胞エピトープ(国際公開第98/52976号パンフレット及び国際公開第00/34317号パンフレットに定義される)に相当する。潜在的なT細胞エピトープの検出には、国際公開第98/52976号パンフレット及び国際公開第00/34317号パンフレットに記載されるとおり、「ペプチドスレッディング法」と呼ばれるコンピュータモデリング手法を適用することができ、加えて、ヒトMHCクラスII結合ペプチドのデータベースにおいて、VH及びVL配列に存在するモチーフを検索することができる。これらのモチーフは、18の主要MHCクラスII DRアロタイプのいずれかに結合するため、潜在的なT細胞エピトープとなる。検出された潜在的なT細胞エピトープは、可変ドメイン内の少数のアミノ酸残基を置換することにより、又は好ましくは単一のアミノ酸置換により除去することができる。通常、保存的置換がなされる。全てではないが、多くの場合、ヒト生殖細胞系列の抗体配列内の位置に共通するアミノ酸が使用され得る。ヒト生殖細胞系列配列については、例えば、Tomlinson, et al. (1992) *J. Mol. Biol.* 227: 776 - 798; Cook, G. P. et al. (1995) *Immunol. Today* Vol. 16 (5): 237 - 242; 及びTomlinson et al. (1995) *EMBO J.* 14: 4628 - 4638において開示される。VBASE総覧は、ヒト免疫グロブリン可変領域配列の包括的な総覧を提供する(Tomlinson, L.A. et al. *MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK*による編集)。これらの配列をヒト配列の供給源として、例えばフレームワーク領域及びCDRに使用することができる。例えば、米国特許第6,300,064号明細書に記載されるコンセンサスヒトフレームワーク領域を使用することもできる。

10

20

【0083】

「ヒト化」抗体、抗体コンストラクト又はそのフラグメント(Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂又は抗体の他の抗原結合部分配列)は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小限の配列を含有する、大部分がヒト配列である抗体又は免疫グロブリンである。ほとんどの場合、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域(CDRともいう)由来の残基が、所望の特異性、親和性及び能力を有するマウス、ラット、ハムスター又はウサギなどの非ヒト(例えば、齧歯類)種(ドナー抗体)の超可変領域由来の残基により置換されているヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)である。場合により、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FR)残基は、対応する非ヒト残基により置換される。さらに、本明細書で使用する場合、「ヒト化抗体」は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見られない残基も含む場合がある。これらの改変は、抗体の性能をさらに洗練させ、最適化するためになされる。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域(Fc)、通常、ヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分も含む場合がある。さらなる詳細については、Jones et al., *Nature*, 321: 522 - 525 (1986); Reichmann et al., *Nature*, 332: 323 - 329 (1988); 及びPresta, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2: 593 - 596 (1992)を参照されたい。

30

40

【0084】

ヒト化抗体又はそのフラグメントは、抗原結合に直接関与しないFv可変ドメインの配列をヒトFv可変ドメイン由来の均等な配列で置換することによって生成することができる。ヒト化抗体又はそのフラグメントを生成するための例示的な方法は、Morrisson (1985) *Science* 229: 1202 - 1207; Oiet al. (1986) *BioTechniques* 4: 214並びに米国特許第5,585,089

50

号明細書、米国特許第5,693,761号明細書、米国特許第5,693,762号明細書、米国特許第5,859,205号明細書及び米国特許第6,407,213号明細書により提供される。それらの方法は、重鎖又は軽鎖の少なくとも1つに由来する免疫グロブリンFv可変ドメインの全て又は一部分をコードする核酸配列を単離、操作及び発現することを含む。そのような核酸を、上記のとおりのものである標的に対する抗体を産生するハイブリドーマ及び他の供給源から得ることができる。次に、ヒト化抗体分子をコードする組換えDNAが適切な発現ベクターにクローニングされ得る。

【0085】

ヒト化抗体は、ヒト重鎖及び軽鎖遺伝子を発現するが、内在性のマウス免疫グロブリン重鎖及び軽鎖遺伝子を発現することができないマウスなどのトランスジェニック動物を用いても作製され得る。Winterは、本明細書に記載されるヒト化抗体の調製に使用され得る例示的なCDR移植法を記載している（米国特許第5,225,539号明細書）。特定のヒト抗体のCDRの全ては、非ヒトCDRの少なくとも一部分で置換されるか又はCDRの一部のみが非ヒトCDRで置換され得る。所定の抗原に対するヒト化抗体の結合に必要なとされる数のCDRを置換することのみが必要である。

10

【0086】

ヒト化抗体は、保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖細胞系列置換及び/又は復帰変異の導入によって最適化することができる。このような改変免疫グロブリン分子は、当技術分野で知られる複数の技術のいずれかによって作製することができる（例えば、Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80:7308-7312, 1983、Kozbor et al., Immunology Today, 4:7279, 1983、Olsson et al., Meth. Enzymol., 92:3-16, 1982及び欧州特許第239400号明細書）。

20

【0087】

用語「ヒト抗体」、「ヒト抗体コンストラクト」及び「ヒト結合ドメイン」は、例えば、Kabata et al. (1991) (前掲)によって記載されたものを含む、当技術分野で知られるヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に実質的に対応する可変及び定常領域又はドメインなどの抗体領域を有する抗体、抗体コンストラクト及び結合ドメインを含む。本発明のヒト抗体、抗体コンストラクト又は結合ドメインは、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロでのランダム変異誘発若しくは部位特異的変異誘発により、又はインビボでの体細胞変異により導入される変異）を例えばCDR、特にCDR3に含み得る。ヒト抗体、抗体コンストラクト又は結合ドメインは、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基で置換された少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ又はそれを超える位置を有し得る。本明細書で使用されるヒト抗体、抗体コンストラクト及び結合ドメインの定義は、Xenomouseなどの技術又はシステムを使用することによって得ることができる、非人為的且つ/又は遺伝的に改変された抗体のヒト配列のみを含む完全ヒト抗体も意図している。

30

【0088】

いくつかの実施形態において、本発明の抗体コンストラクトは、「単離された」又は「実質的に純粋な」抗体コンストラクトである。「単離された」又は「実質的に純粋な」は、本明細書に開示される抗体コンストラクトの記載に使用されるとき、その産生環境の成分から同定、分離及び/又は回収されている抗体コンストラクトを意味する。好ましくは、抗体コンストラクトは、その産生環境からの他の全ての成分との関連を含まないか又は実質的に含まない。組換えトランスフェクト細胞から生じる成分などのその産生環境の混入成分は、通常、ポリペプチドについての診断又は治療用途を妨げる材料であり、これは、酵素、ホルモン及び他のタンパク質性又は非タンパク質性溶質を含み得る。抗体コンストラクトは、例えば、所与の試料中の全タンパク質の少なくとも約5重量%又は少なくとも約50重量%を構成し得る。単離されたタンパク質は、環境に応じて総タンパク質含量の5重量%~99.9重量%を構成し得ると理解される。ポリペプチドが高い濃度レベル

40

50

で作製されるように、誘導性プロモーター又は高発現プロモーターの使用によって著しく高濃度でポリペプチドが作製され得る。この定義は、当技術分野で知られる多様な生物体及び/又は宿主細胞での抗体コンストラクトの産生を含む。好ましい実施形態では、抗体コンストラクトは、(1)スピニングカップシークエネーターを使用して、N末端若しくは内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、又は(2)クーマシール若しくは好ましくは銀染色を用いた非還元若しくは還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性まで精製されることになる。ただし、通常、単離された抗体コンストラクトは、少なくとも1つの精製工程によって調製されることになる。

【0089】

用語「結合ドメイン」は、本発明との関係では、それぞれ標的分子(抗原)及びCD3上の所与の標的エピトープ又は所与の標的部位と(特異的に)結合する/それらと相互作用する/それらを認識するドメインを特徴付ける。第1の結合ドメインの構造及び機能(標的細胞の表面抗原CD33を認識すること)並びにまた好ましくは第2の結合ドメイン(CD3)の構造及び/又は機能は、抗体、例えば完全長又は全免疫グロブリン分子の構造及び/又は機能に基づく。本発明によれば、第1の結合ドメインは、3つの軽鎖CDR(すなわちVL領域のCDR1、CDR2及びCDR3)並びに3つの重鎖CDR(すなわちVH領域のCDR1、CDR2及びCDR3)の存在によって特徴付けられる。第2の結合ドメインは、好ましくは、標的結合を可能にする抗体の最小構造要件も含む。より好ましくは、第2の結合ドメインは、少なくとも3つの軽鎖CDR(すなわちVL領域のCDR1、CDR2及びCDR3)並びに/又は3つの重鎖CDR(すなわちVH領域のCDR1、CDR2及びCDR3)を含む。第1及び/又は第2の結合ドメインは、既存の(モノクローナル)抗体由来のCDR配列をスキャフォールドに移植する以外のファージディスプレイ又はライブラリースクリーニング法によって作製されるか又は得られることが想定される。

【0090】

本発明によれば、結合ドメインは、ポリペプチドの形態であることが好ましい。このようなポリペプチドは、タンパク質性部分及び非タンパク質性部分(例えば、化学的リンカー又はグルタルアルデヒドなどの化学的架橋剤)を含み得る。タンパク質(そのフラグメント、好ましくは生物学的に活性なフラグメント及び通常30未満のアミノ酸を有するペプチドを含む)は、(アミノ酸の鎖をもたらず)共有ペプチド結合を通じて相互に結合された2つ以上のアミノ酸を含む。本明細書で使用する場合、用語「ポリペプチド」は、通常、30を超えるアミノ酸からなる分子群を表す。ポリペプチドは、二量体、三量体及びより高次のオリゴマーなどの多量体をさらに形成し、すなわち2つ以上のポリペプチド分子からなる場合もある。そのような二量体、三量体などを形成するポリペプチド分子は、同一であっても又はなくてもよい。このような多量体の対応する高次構造は、したがって、ホモ又はヘテロ二量体、ホモ又はヘテロ三量体などと称される。ヘテロ多量体の例は、その天然に存在する形態において、2つの同一のポリペプチド軽鎖及び2つの同一のポリペプチド重鎖からなる抗体分子である。用語「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」は、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化などのような翻訳後修飾による修飾がなされた天然修飾ペプチド/ポリペプチド/タンパク質も指す。本明細書で参照される場合、「ペプチド」、「ポリペプチド」又は「タンパク質」は、ペグ化などの化学修飾されたものでもあり得る。このような修飾は、当技術分野でよく知られており、本明細書で以下に記載される。

【0091】

少なくとも1つのヒト結合ドメインを含む抗体及び抗体コンストラクトは、齧歯類(例えば、マウス、ラット、ハムスター又はウサギ)などの非ヒト可変及び/又は定常領域を有する抗体又は抗体コンストラクトに伴う問題の一部を回避する。このような齧歯類由来タンパク質が存在すると、抗体又は抗体コンストラクトの迅速なクリアランスをもたらす可能性があるか、又は患者による抗体又は抗体コンストラクトに対する免疫反応を発生させる可能性がある。齧歯類由来抗体又は抗体コンストラクトの使用を避けるために、齧歯

10

20

30

40

50

類が完全ヒト抗体を産生するようにヒト抗体機能を齧歯類に導入することにより、ヒト又は完全ヒト抗体 / 抗体コンストラクトを生成することができる。

【0092】

YACにおいてメガベースサイズのヒト遺伝子座をクローニング及び再構築する能力及びそれらをマウス生殖細胞系列に導入する能力は、非常に大きい又は粗くマッピングされた遺伝子座の機能的要素の解明並びにヒト疾患の有用なモデルの生成にとって強力な手法を提供する。さらに、マウス遺伝子座をそれらのヒト均等物で置換するそのような技術を使用すれば、発生のヒト遺伝子産物の発現及び調節、それらと他の系との伝達並びに疾患の誘発及び進行へのそれらの関与について独特の見解を得ることができるであろう。

【0093】

このような戦略の重要な実用化は、マウス液性免疫系の「ヒト化」である。内在性免疫グロブリン (Ig) 遺伝子が不活性化されたマウスへのヒトIg遺伝子座の導入により、抗体のプログラムされた発現及び構築並びにB細胞の発生におけるそれらの役割の基礎となる機構を研究する機会が得られる。さらに、このような戦略であれば、ヒト疾患における抗体療法の可能性を実現する上で重要なマイルストーンとなる完全ヒトモノクローナル抗体 (mAb) の作製にとって理想的な供給源を得ることができるであろう。完全ヒト抗体又は抗体コンストラクトは、マウス又はマウス由来mAbに固有の免疫原性及びアレルギー反応を最小化し、それによって投与される抗体 / 抗体コンストラクトの有効性及び安全性を増大させることが期待される。完全ヒト抗体又は抗体コンストラクトの使用により、化合物の反復投与を必要とする慢性及び再発性のヒト疾患、例えば炎症、自己免疫及び癌の治療に大幅な利点が得られるものと期待され得る。

【0094】

この目標に向けた手法の1つは、マウス抗体の産生に欠損があるマウス系統をヒトIg遺伝子座の大きいフラグメントを用いて操作することであり、これは、このようなマウスが、マウス抗体を生じずに広範なレパートリーのヒト抗体を産生するであろうとの予測に立つものであった。大きいヒトIgフラグメントは、可変遺伝子の広範な多様性並びに抗体の産生及び発現の適切な調節を保持すると考えられる。抗体の多様化及び選択並びにヒトタンパク質に対する免疫寛容の欠如のためにマウス機構を利用することにより、これらのマウス系統において再現されるヒト抗体レパートリーは、ヒト抗原を含む目的の任意の抗原に対して高親和性の抗体を産生するはずである。ハイブリドーマ技術を使用すれば、所望の特異性を有する抗原特異的ヒトmAbを容易に作製及び選択することができるであろう。この一般的な戦略は、最初のXenomouseマウス系統の生成と関連して実証された (Green et al. Nature Genetics 7: 13 - 21 (1994) を参照されたい)。このXenomouse系統は、可変領域及び定常領域のコア配列を含有したヒト重鎖遺伝子座及びカッパ軽鎖遺伝子座のそれぞれ245 kb及び190 kbサイズの生殖細胞系列配置フラグメントを含有する酵母人工染色体 (YAC) を用いて操作された。このヒトIgを含有するYACは、抗体の再編成及び発現の両方に関してマウス系への適合性があることが証明されており、不活性化されたマウスIg遺伝子を置換することが可能であった。これは、それらがB細胞の発生を誘導して、完全ヒト抗体の成体様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトmAbを産生する能力によって実証された。これらの結果は、多数のV遺伝子、追加の調節エレメント及びヒトIg定常領域を含有するヒトIg遺伝子座の大部分の導入が、感染及び免疫化に対するヒト液性応答を特徴とする実質的に完全なレパートリーを再現し得ることも示唆した。最近、Greenらの研究を発展させ、ヒト重鎖遺伝子座及びカッパ軽鎖遺伝子座のそれぞれのメガベースサイズの生殖細胞系列配置YACフラグメントの導入により、ヒト抗体レパートリーのおよそ80%超が導入された。Mendez et al. Nature Genetics 15: 146 - 156 (1997) 及び米国特許出願公開第08/759,620号明細書を参照されたい。

【0095】

Xenomouseマウスの作製は、米国特許出願公開第07/466,008号明細

10

20

30

40

50

on et al. (1995)、Fishwild et al. (1996)を参照されたい。

【0097】

Kirinも、マイクロセル融合によって大きい染色体片又は染色体全体が導入された、マウスからのヒト抗体の産生を実証した。欧州特許出願第773 288号明細書及び同第843 961号明細書を参照されたい。Xenerex Biosciencesは、ヒト抗体の潜在的作成技術を開発中である。この技術では、SCIDマウスがヒトリンパ細胞、例えばB細胞及び/又はT細胞で再構成される。次に、マウスは、抗原で免疫化され、その抗原に対して免疫応答を生じ得る。米国特許第5,476,996号明細書；同第5,698,767号明細書；及び同第5,958,765号明細書を参照されたい。

10

【0098】

ヒト抗マウス抗体(HAMA)反応は、産業界がキメラ又は別の方法でヒト化された抗体を作製する要因となった。しかしながら、ある種のヒト抗キメラ抗体(HACA)反応は、特に慢性又は複数回用量での抗体の利用において観察されることになると予想される。したがって、HAMA若しくはHACA反応の懸念及び/又は影響をなくすために、標的細胞の表面抗原に対する完全ヒト結合ドメイン及びCD3に対する完全ヒト結合ドメインを含む抗体コンストラクトを提供することが望ましいと考えられる。

【0099】

用語「に(特異的に)結合する」、「(特異的に)認識する」、「(特異的に)向けられる」及び「と(特異的に)反応する」は、本発明に基づいて、結合ドメインが、標的タンパク質又は抗原(標的細胞の表面抗原CD33/CD3)上に位置するエピトープの1つ以上、好ましくは少なくとも2つ、より好ましくは少なくとも3つ及び最も好ましくは少なくとも4つのアミノ酸と相互作用するか又は特異的に相互作用することを意味する。

20

【0100】

用語「エピトープ」は、抗体若しくは免疫グロブリン又は抗体若しくは免疫グロブリンの誘導体若しくはフラグメントなどの結合ドメインが特異的に結合する抗原上の部位を指す。「エピトープ」は、抗原性であり、したがって、エピトープという用語は、本明細書において「抗原性構造」又は「抗原決定基」と称する場合もある。したがって、結合ドメインは、「抗原相互作用部位」である。前記結合/相互作用は、「特異的認識」も定義すると理解される。用語「エピトープ」は、完全な抗原構造を説明することとして本出願に関連して理解されるが、用語「エピトープの一部」は、所与の結合ドメインの特定のエピトープの1つ以上の部分群を説明するために使用され得る。

30

【0101】

「エピトープ」は、連続したアミノ酸又はタンパク質の三次元フォールディングによって並列される非連続アミノ酸の両方によって形成され得る。「線状エピトープ」は、アミノ酸の一次配列が認識されるエピトープを含むエピトープである。線状エピトープは、通常、特有の配列内に少なくとも3つ又は少なくとも4つ及びより一般的に少なくとも5つ、又は少なくとも6つ、又は少なくとも7つ、例えば約8~約10のアミノ酸を含む。

【0102】

「立体構造エピトープ」は、線状エピトープとは対照的に、エピトープを含むアミノ酸の一次配列が、認識されるエピトープを定義する唯一の要素ではないエピトープ(例えば、アミノ酸の一次配列が必ずしも結合ドメインによって認識されないエピトープ)である。一般に、立体構造エピトープは、線状エピトープと比較して多数のアミノ酸を含む。立体構造エピトープの認識に関して、結合ドメインは、抗原、好ましくはペプチド若しくはタンパク質又はそれらのフラグメントの三次元構造を認識する(本発明に関連して、結合ドメインの1つに対する抗原が標的細胞の表面抗原CD33内に含まれる)。例えば、タンパク質分子が折り畳まれて三次元構造を形成する場合、立体構造エピトープを形成する特定のアミノ酸及び/又はポリペプチド骨格が並列した状態になり、それによって抗体がそのエピトープを認識できるようになる。エピトープの立体構造を決定する方法としては

40

50

、x線結晶構造解析、二次元核磁気共鳴(2D-NMR)分光分析及び部位特異的スピ
ンラベル法及び電子常磁性共鳴(EPR)分光法が挙げられるが、これらに限定されない。

【0103】

結合ドメインとエピトープ又はエピトープクラスターとの間の相互作用は、結合ドメイ
ンが特定のタンパク質又は抗原(本明細書では、それぞれ標的細胞の表面抗原CD33及
びCD3)上のエピトープ又はエピトープクラスターに対して測定可能な親和性を示し、
且つ一般に標的細胞の表面抗原CD33又はCD3以外のタンパク質又は抗原に対して著
しい反応性を示さないことを意味する。「測定可能な親和性」は、約 10^{-6} M(KD)
又はそれより強い親和性を有する結合を含む。好ましくは、結合親和性が約 10^{-12} ~
 10^{-8} M、 10^{-12} ~ 10^{-9} M、 10^{-12} ~ 10^{-10} M、 10^{-11} ~ 10^{-8} M、好ましくは約 10^{-11} ~
 10^{-9} Mである場合、結合を特異的と見なす。結合ド
メインが標的と特異的に反応するか又は標的に結合するかどうかは、とりわけ、標的タン
パク質又は抗原に対する前記結合ドメインの反応を標的細胞の表面抗原CD33又はCD
3以外のタンパク質又は抗原に対する前記結合ドメインの反応と比較することにより、容
易に試験することができる。好ましくは、本発明の結合ドメインは、標的細胞の表面抗原
CD33又はCD3以外のタンパク質又は抗原に本質的に又は実質的に結合しない(すな
わち、第1の結合ドメインは、標的細胞の表面抗原CD33以外のタンパク質に結合する
ことができず、第2の結合ドメインは、CD3以外のタンパク質に結合することができな
い)。

10

【0104】

用語「本質的/実質的に結合しない」又は「結合することができない」は、本発明の結
合ドメインが標的細胞の表面抗原CD33又はCD3以外のタンパク質又は抗原に結合せ
ず、すなわち標的細胞の表面抗原CD33又はCD3のそれぞれに対する結合を100%
とした場合、標的細胞の表面抗原CD33又はCD3以外のタンパク質又は抗原に対して
30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、
7%、6%又は5%超の反応性を示さないことを意味する。

20

【0105】

特異的結合は、結合ドメイン及び抗原のアミノ酸配列内の特異的モチーフによってもた
らされると考えられる。したがって、結合は、それらの一次、二次及び/又は三次構造の
結果として並びに前記構造の二次的修飾の結果として生じる。抗原相互作用部位とその特
異抗原との特異的相互作用により、抗原に対する前記部位の単純な結合が生じ得る。さら
に、抗原相互作用部位とその特異抗原との特異的相互作用により、例えば抗原の立体構造
変化の誘導、抗原のオリゴマー化などにより、代替的に又は追加的にシグナルの開始がも
たらされ得る。

30

【0106】

用語「可変」は、配列内で可変性を示し、特定の抗体の特異性及び結合親和性の決定に
関与する、抗体又は免疫グロブリンドメインの一部(すなわち「可変ドメイン」)を指
す。可変重鎖(VH)と可変軽鎖(VL)との対がともに単一の抗原結合部位を形成する
。

【0107】

可変性は、抗体の可変ドメイン全体に均一に分布しているのではなく、重鎖及び軽鎖可
変領域の各々のサブドメインに集中している。これらのサブドメインは、「超可変領域」
又は「相補性決定領域」(CDR)と呼ばれる。可変ドメインのより保存的な(すなわち
非超可変)部分は、「フレームワーク」領域(FRM)と呼ばれ、抗原結合表面を形成す
る三次元空間内における6つのCDRのための足場を提供する。天然に存在する重鎖及び
軽鎖の可変ドメインは、大部分がシート配置をとる4つのFRM領域(FR1、FR2
、FR3及びFR4)をそれぞれ含み、これらは、ループ接続を形成し、場合によりシ
ート構造の一部を形成する3つの超可変領域によって接続される。各鎖の超可変領域は、
FRMによって近接して一体に保持されており、他の鎖の超可変領域とともに抗原結合部
位の形成に寄与する(前掲のKabateal.を参照されたい)。

40

50

【0108】

用語「CDR」及びその複数形である「CDRs」は、相補性決定領域を指し、その3つが軽鎖可変領域の結合特性を構成し(CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3)、3つが重鎖可変領域の結合特性を構成する(CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3)。CDRは、抗体と抗原との特異的相互作用を担う残基の大部分を含み、したがって抗体分子の機能的活性に寄与する。CDRは、抗原特異性の主要な決定基である。

【0109】

CDRの境界及び長さの厳密な定義は、各種の分類及び付番方式に従う。したがって、CDRは、本明細書に記載される付番方式を含む、Kabata、Chothia、接触又は任意の他の境界定義によって表わされ得る。境界が異なっている場合、これらの方式の各々は、可変配列内のいわゆる「超可変領域」を構成する部分において、ある程度の重複を有する。したがって、これらの方式によるCDRの定義は、長さ及び隣接するフレームワーク領域に関する境界領域が相違する場合がある。例えば、Kabata(異種間の配列可変性に基づく手法)、Chothia(抗原-抗体複合体の結晶学的研究に基づく手法)及び/又はMacCallumを参照されたい(Kabat et al., 前掲; Chothia et al., J. Mol. Biol., 1987, 196: 901-917; 及びMacCallum et al., J. Mol. Biol., 1996, 262: 732)。抗原結合部位の特性決定のためのさらに別の基準は、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって用いられるAbM定義である。例えば、Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg)を参照されたい。2つの残基同定技法が、重複するが、同一ではない領域を定義する限り、それらを組み合わせてハイブリッドCDRを定義することができる。しかしながら、いわゆるKabata方式による付番が好ましい。

10

20

【0110】

典型的には、CDRは、カノニカル構造として分類することのできるループ構造を形成する。用語「カノニカル構造」は、抗原結合(CDR)ループがとる主鎖の立体構造を指す。比較構造研究から、6つの抗原結合ループの5つは、利用可能な立体構造の限られたレパートリーのみを有することが見出された。各カノニカル構造をポリペプチド骨格のねじれ角によって特徴付けることができる。したがって、抗体間の対応するループは、ループの大部分において、高いアミノ酸配列の可変性が見られるにも関わらず、非常に類似した三次元構造を有し得る(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia et al., Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800)。さらに、取られるループ構造と、その周囲のアミノ酸配列との間に関連性がある。特定のカノニカルクラスのコンホメーションは、ループの長さにより、且つそのループ内及び保存されたフレームワーク内(すなわちループ外)の重要な位置に存在するアミノ酸残基により決定される。したがって、特定のカノニカルクラスへの割り当ては、これらの重要なアミノ酸残基の存在に基づいて行われ得る。

30

40

【0111】

用語「カノニカル構造」は、例えば、Kabata(Kabat et al., 前掲)により分類されるとおり、抗体の線状配列に関する考慮も含み得る。Kabataの付番スキーム(方式)は、抗体可変ドメインのアミノ酸残基を一貫した様式で付番するために広く採用されている基準であり、本明細書の他の箇所でも言及されるように本発明で適用される好ましいスキームである。更なる構造の検討が抗体のカノニカル構造を決定するために使用される場合もある。例えば、Kabataの付番法では十分に反映されない相違をChothiaらの付番方式によって記載することができ、且つ/又は他の技術、例えば結晶学及び二次元若しくは三次元コンピュータモデリングによって明らかにすることができ

50

る。したがって、所与の抗体配列は、とりわけ、(例えば、種々のカノニカル構造をライブラリーに含めるという要求に基づいて)適切なシャーシ配列の同定が可能であるカノニカルクラスに分類され得る。抗体のアミノ酸配列の Kabat 付番法及び Chothia et al., (前掲)に記載される構造の検討並びに抗体構造のカノニカルな側面の解釈に対するそれらの意義については、文献に記載されている。様々なクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元配置は、当技術分野でよく知られている。抗体構造の概説については、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988を参照されたい。

【0112】

軽鎖のCDR3及び特に重鎖のCDR3は、軽鎖及び重鎖可変領域内での抗原結合において最も重要な決定因子となる場合がある。いくつかの抗体コンストラクトでは、重鎖CDR3が抗原と抗体との間の主要な接触領域になると思われる。CDR3のみを変化させるインビトロ選択スキームを使用して、抗体の結合特性を変化させることができるか、又はいずれの残基が抗原の結合に寄与するかを決定することができる。したがって、CDR3は、典型的には抗体結合部位内における分子多様性の最大の供給源である。例えば、H3は、2つのアミノ酸残基ほど短いもの又は26つ超のアミノ酸であり得る。

【0113】

古典的完全長抗体又は免疫グロブリンでは、各軽(L)鎖は、1つの共有結合性ジスルフィド結合によって重(H)鎖に連結される一方、2つのH鎖は、H鎖アイソタイプに応じた1つ以上のジスルフィド結合によって互いに連結される。VHに最も近接するCHドメインは、通常、CH1と称される。定常(C)ドメインは、抗原結合に直接関与しないが、抗体依存性、細胞介在性の細胞傷害性及び補体活性化などの種々のエフェクター機能を示す。抗体のFc領域は、重鎖定常ドメイン内に含まれ、例えば細胞表面に位置するFc受容体と相互作用することができる。

【0114】

構築及び体細胞変異後の抗体遺伝子の配列は、極めて多様であり、これらの多様化した遺伝子は、 10^{10} の異なる抗体分子をコードすると推定される(Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995)。したがって、免疫系は、免疫グロブリンのレパートリーを提供する。用語「レパートリー」は、少なくとも1つの免疫グロブリンをコードする少なくとも1つの配列に全体又は一部が由来する少なくとも1つのヌクレオチド配列を指す。この配列は、重鎖のV、D及びJセグメント並びに軽鎖のV及びJセグメントのインビボでの再編成によって生成され得る。代わりに、この配列は、再編成を生じさせる、例えばインビトロ刺激に应答して細胞から生成され得る。代わりに、この配列の一部又は全ては、DNAスプライシング、ヌクレオチド合成、変異誘発及び他の方法によって得られる場合がある(例えば、米国特許第5,565,332号明細書を参照されたい)。レパートリーは、1つの配列のみを含むか、又は遺伝的に多様なコレクション内のものを含む複数の配列を含み得る。

【0115】

本明細書で使用する場合、用語「二重特異性」は、「少なくとも二重特異性」であるコンストラクトを指し、すなわち、それは、少なくとも第1の結合ドメイン及び第2の結合ドメインを含み、ここで、第1の結合ドメインは、1つの抗原又は標的に結合し、第2の結合ドメインは、別の抗原又は標的(本明細書ではCD3)に結合する。したがって、本発明による二重特異性抗体コンストラクトは、少なくとも2つの異なる抗原又は標的に対する特異性を含む。本発明の用語「二重特異性抗体コンストラクト」は、多重特異性コンストラクト、例えば3つの結合ドメインを含む三重特異性コンストラクト又は4つ以上(例えば、4つ、5つ...)の特異性を有するコンストラクトも包含する。本発明との関係で使用されるコンストラクトが抗体コンストラクトである場合、これらを包含する対応するコンストラクトは、多重特異性抗体コンストラクト、例えば3つの結合ドメインを含

10

20

30

40

50

む三重特異性抗体コンストラクト又は4つ以上(例えば、4つ、5つ...)の特異性を有するコンストラクトである。

【0116】

本発明による抗体コンストラクトが(少なくとも)二重特異性である場合、それらは、天然に存在せず、且つそれらは、天然に存在する産物と顕著に異なる。したがって、「二重特異性」抗体コンストラクト又は免疫グロブリンは、異なる特異性を有する少なくとも2つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体又は免疫グロブリンである。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合又はFab'フラグメントの連結を含む様々な方法によって生成することができる。例えば、Song s i v i l a i & L a c h m a n n , C l i n . E x p . I m m u n o l . 7 9 : 3 1 5 - 3 2 1 (1 9 9 0) を参照されたい。

10

【0117】

本発明の抗体コンストラクトの少なくとも2つの結合ドメイン及び可変ドメインは、ペプチドリンカー(スペーサーペプチド)を含んでも又は含まなくてもよい。用語「ペプチドリンカー」は、本発明によれば、本発明の抗体コンストラクトの一方の(可変及び/又は結合)ドメイン及びもう一方の(可変及び/又は結合)ドメインのアミノ酸配列を相互に連結するアミノ酸配列を定義する。そのようなペプチドリンカーの必須の技術的特徴は、前記ペプチドリンカーがいかなる重合活性も含まないことである。好適なペプチドリンカーには、米国特許第4,751,180号明細書及び同第4,935,233号明細書又は国際公開第88/09344号パンフレットに記載されるものがある。ペプチドリンカーは、他のドメイン又はモジュール又は領域(半減期延長ドメインなど)を本発明の抗体コンストラクトに結合するためにも使用され得る。

20

【0118】

リンカーが使用される場合、このリンカーは、第1及び第2のドメインのそれぞれが互いに独立してその異なる結合特異性を確実に保持できる十分な長さ及び配列からなることが好ましい。本発明の抗体コンストラクト内の少なくとも2つの結合ドメイン(又は2つの可変ドメイン)を接続するペプチドリンカーの場合、それらのペプチドリンカーは、数個のアミノ酸残基のみを含むもの、例えば12アミノ酸残基以下を含むものが好ましい。したがって、12、11、10、9、8、7、6又は5アミノ酸残基のペプチドリンカーが好ましい。5アミノ酸未満の想定されるペプチドリンカーは、4、3、2又は1アミノ酸を含み、ここでは、Glyリッチリンカーが好ましい。前記「ペプチドリンカー」に関連して特に好ましい「単一」のアミノ酸は、Glyである。したがって、前記ペプチドリンカーは、単一のアミノ酸Glyからなり得る。ペプチドリンカーの別の好ましい実施形態は、アミノ酸配列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser、すなわちGly₄Ser又はそのポリマー、すなわち(Gly₄Ser)_xを特徴とし、ここで、xは、1以上の整数である。二次構造を促進しないことを含む前記ペプチドリンカーの特徴は、当技術分野で知られており、例えばDall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273)、Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30)及びRaag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80)に記載されている。いかなる二次構造も促進しないペプチドリンカーが好ましい。前記ドメインの相互の連結は、例えば、実施例に記載される遺伝子操作によって提供することができる。融合され、作動可能に連結された二重特異性一本鎖コンストラクトを調製し、それらを哺乳動物細胞又は細菌において発現させる方法は、当技術分野でよく知られている(例えば、国際公開第99/54440号パンフレット又はSambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001)。

30

40

【0119】

二重特異性一本鎖分子は、当技術分野で知られており、国際公開第99/54440号パンフレット、Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-39

50

70、Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025、Kufner, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197、Loeffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103、Bruehl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426、Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56に記載されている。一本鎖抗体の作製に関して記載された技術(とりわけ米国特許第4,946,778号明細書、Kontermann and Duebel(2010),前掲及びLittle(2009),前掲を参照されたい)は、選出された標的を特異的に認識する一本鎖抗体コンストラクトを作製するために適合させることができる。

【0120】

二価(bivalent)(二価(divalent)とも呼ばれる)又は二重特異性一本鎖可変フラグメント(形式(scFv)₂を有するbi-scFv又はdi-scFv)は、2つのscFv分子を連結することにより作り出すことができる。これらの2つのscFv分子が同じ結合特異性を有する場合、得られる(scFv)₂分子を二価と呼ぶことが好ましい(すなわち、それは、同じ標的エピトープに対して2の価数を有する)。これらの2つのscFv分子が異なる結合特異性を有する場合、得られる(scFv)₂分子を二重特異性と呼ぶことが好ましい。連結は、2つのVH領域及び2つのVL領域を有する単一のペプチド鎖を作製して、タンデムscFvを生成することによってなされ得る(例えば、Kufner P. et al., (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244を参照されたい)。別の可能性は、2つの可変領域を一体に折り畳むには短すぎる(例えば、約5アミノ酸の)リンカーペプチドを用いてscFv分子を作製し、scFvを二量体化させることである。この型は、ダイアボディとして知られている(例えば、Hollinger, Philipp et al., (July 1993) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90(14):6444-8を参照されたい)。

【0121】

単一ドメイン抗体は、他のV領域又はドメインに非依存的に特異抗原に選択的に結合することができる1つのみの(単量体の)抗体可変ドメインを含む。最初の単一ドメイン抗体は、ラクダにおいて見出される重鎖抗体から作り出され、これらは、V_HHフラグメントと呼ばれる。軟骨魚類も重鎖抗体(IgNAR)を有し、それから、V_{NAR}フラグメントと呼ばれる単一ドメイン抗体を得ることができる。代替的な手法は、例えば、ヒト又は齧歯類由来の一般的な免疫グロブリン由来の二量体可変ドメインを単量体に分割し、それによって単一ドメインAbとしてVH又はVLを得ることである。単一ドメイン抗体に関する大部分の研究は、現時点で重鎖可変ドメインに基づいているが、軽鎖由来のナノボディも標的エピトープに特異的に結合することが示されている。単一ドメイン抗体の例は、sdAb、ナノボディ又は単一可変ドメイン抗体と呼ばれる。

【0122】

したがって、(単一ドメインmAb)₂は、VH、VL、VHH及びV_{NAR}を含む群から個別に選択される(少なくとも)2つの単一ドメインモノクローナル抗体から構成されるモノクローナル抗体コンストラクトである。リンカーは、好ましくは、ペプチドリリンカーの形態である。同様に、「scFvシングルドメインmAb」は、上記に記載したとおりの少なくとも1つのシングルドメイン抗体と、上記に記載したとおりの1つのscFv分子とで構成されたモノクローナル抗体コンストラクトである。この場合もやはり、リンカーは、好ましくは、ペプチドリリンカーの形態である。

【0123】

また、本発明の抗体コンストラクトは、標的抗原CD33及びCD3に結合するその機能に加えてさらなる機能を有することも想定される。この形式において、抗体コンストラクトは、標的抗原への結合を介して標的細胞を標的化すること、CD3結合を介して細胞障害性T細胞活性を媒介すること及び標識(蛍光など)などのさらなる機能、毒素などの

10

20

30

40

50

治療薬又は放射性核種などをもたらすことによる三機能性又は多機能性抗体コンストラクトである。

【0124】

抗体コンストラクトの共有結合修飾も本発明の範囲内に含まれ、これは、必ずしもというわけではないが、概して翻訳後に行われる。例えば、抗体コンストラクトのいくつかの種類共有結合的修飾は、抗体コンストラクトの特定のアミノ酸残基を、選択された側鎖又はN末端若しくはC末端残基と反応することができる有機誘導体化剤と反応させることによって分子内に導入される。

【0125】

システニル残基は、最も一般的には、 α -ハロアセテート（及び対応するアミン）、例えばクロロ酢酸又はクロロアセトアミドと反応して、カルボキシメチル又はカルボキシアミドメチル誘導体を生じる。システニル残基は、プロモトリフルオロアセトン、 α -プロモ- β -（5-イミドゾイル）プロピオン酸、リン酸クロロアセチル、N-アルキルマレイミド、3-ニトロ-2-ピリジルジスルフィド、メチル2-ピリジルジスルフィド、p-クロロメルクリ安息香酸、2-クロロメルクリ-4-ニトロフェノール又はクロロ-7-ニトロベンゾ-2-オキサ-1,3-ジアゾールとの反応によっても誘導体化される。

10

【0126】

ヒスチジル残基は、pH 5.5~7.0でのジエチルピロカーボネートとの反応によって誘導体化され、なぜなら、この薬剤は、ヒスチジル側鎖に対して比較的特異的であるためである。パラ-プロモフェナシルプロミドも有用であり、この反応は、好ましくは、pH 6.0の0.1Mカコジル酸ナトリウム中で行われる。リシニル及びアミノ末端残基は、コハク酸又は他のカルボン酸無水物と反応する。これらの薬剤による誘導体化は、リシニル残基の電荷を反転させる効果を有する。アルファ-アミノ含有残基を誘導体化するための他の好適な試薬としては、ピコリンイミド酸メチルなどのイミドエステル；リン酸ピリドキサル；ピリドキサル；クロロボロヒドリド；トリニトロベンゼンスルホン酸；O-メチルイソ尿素；2,4-ペンタンジオン；及びグリオキシレートとのトランスアミナーゼ触媒反応が挙げられる。

20

【0127】

アルギニル残基は、1つ又は複数の従来型の試薬、とりわけフェニルグリオキシサル、2,3-ブタンジオン、1,2-シクロヘキサジオン及びニンヒドリンとの反応により修飾される。グアニジン官能基のpKaが高いため、アルギニン残基の誘導体化は、反応をアルカリ条件下で実施する必要がある。さらに、これらの試薬は、リジンの基及びアルギニンイプシロン-アミノ基と反応し得る。

30

【0128】

チロシル残基の特異的修飾は、特に芳香族ジアゾニウム化合物又はテトラニトロメタンとの反応によるチロシル残基へのスペクトル標識の導入を目的として行われる場合がある。最も一般的には、N-アセチルイミジゾール及びテトラニトロメタンを使用して、それぞれO-アセチルチロシル種及び3-ニトロ誘導体を形成する。¹²⁵I又は¹³¹Iを用いてチロシル残基をヨウ素化して、ラジオイムノアッセイに使用される標識タンパク質を調製し、上記のクロラミンT法が好適である。

40

【0129】

カルボキシル側基（アスパルチル又はグルタミル）は、カルボジイミド（ $R'-N=C=N-R'$ ）との反応によって選択的に修飾され、ここで、R及びR'は、任意選択的に異なるアルキル基、例えば1-シクロヘキシル-3-（2-ホルホルニル-4-エチル）カルボジイミド又は1-エチル-3-（4-アゾニア-4,4-ジメチルペンチル）カルボジイミドである。さらに、アスパルチル残基及びグルタミル残基は、アンモニウムイオンとの反応によってアスパラギニル残基及びグルタミニル残基に変換される。

【0130】

二官能性物質による誘導体化は、本発明の抗体コンストラクトを、様々な方法に使用す

50

るための非水溶性の支持マトリックス又は支持表面に架橋するのに有用である。一般的に使用される架橋剤として、例えば、1, 1 - ビス(ジアゾアセチル) - 2 - フェニルエタン、グルタルアルデヒド、例えば4 - アジドサリチル酸とのエステルなどのN - ヒドロキシスクシンイミドエステル、3, 3' - ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート)などのジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性イミドエステル及びビス - N - マレイミド - 1, 8 - オクタンなどの二官能性マレイミドが挙げられる。メチル - 3 - [(p - アジドフェニル)ジチオ]プロピオイミデートなどの誘導体化剤により、光の存在下で架橋を形成することができる光活性化され得る中間体が得られる。代わりに、臭化シアニル活性化炭水化物などの反応性非水溶性マトリックス並びに米国特許第3, 969, 287号明細書; 同第3, 691, 016号明細書; 同第4, 195, 128号明細書; 同第4, 247, 642号明細書; 同第4, 229, 537号明細書; 及び同第4, 330, 440号明細書に記載されている反応性基材がタンパク質の固定化に使用される。

10

【0131】

グルタミンル及びアスパラギンル残基は、多くの場合、脱アミド化されて、それぞれ対応するグルタミンル残基及びアスパルチル残基になる。代わりに、これらの残基は、弱酸性条件下で脱アミド化される。これらの残基のいずれの形態も本発明の範囲内に含まれる。

【0132】

他の修飾としては、プロリン及びリジンのヒドロキシル化、セリル又はスレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン、アルギニン及びヒスチジン側鎖の - アミノ基のメチル化 (T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79 - 86)、N末端アミンのアセチル化及び任意のC末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

20

【0133】

本発明の範囲内に含まれる抗体コンストラクトの別のタイプの共有結合修飾は、タンパク質のグリコシル化パターンの改変を含む。当技術分野で知られるとおり、グリコシル化パターンは、タンパク質の配列(例えば、以下で論じる特定のグリコシル化アミノ酸残基の存在又は非存在)又はそのタンパク質を産生する宿主細胞若しくは生物体の両方に依存し得る。特定の発現系について以下で論じる。

【0134】

ポリペプチドのグリコシル化は、通常、N結合又はO結合のいずれかである。N結合は、糖鎖のアスパラギン残基側鎖への結合を指す。トリペプチド配列のアスパラギン - X - セリン及びアスパラギン - X - トレオニン(ここで、Xは、プロリン以外の任意のアミノ酸である)は、アスパラギン側鎖への糖鎖の酵素的結合のための認識配列である。したがって、ポリペプチド中のこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を生成する。O結合型グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、5 - ヒドロキシプロリン又は5 - ヒドロキシリジンも使用し得るが、最も一般的にはセリン又はスレオニンへの糖類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1つの付加を指す。

30

【0135】

抗体コンストラクトへのグリコシル化部位の付加は、好都合には、上述のトリペプチド配列の1つ以上が含まれるようにアミノ酸配列を改変することにより達成される(N結合型グリコシル化部位について)。この改変は、出発配列に対する1つ以上のセリン又はスレオニン残基の付加又はそれによる置換によっても行われ得る(O結合型グリコシル化部位について)。簡潔には、抗体コンストラクトのアミノ酸配列を、DNAレベルにおける変異、特に所望のアミノ酸に翻訳されることになるコドンが生じるようにポリペプチドをコードするDNAを、事前に選択した塩基で変異させることによって改変することが好ましい。

40

【0136】

抗体コンストラクト上の糖鎖の数を増加させる別の手段は、そのタンパク質へのグリコ

50

シドの化学的又は酵素的結合による。これらの手順は、N結合型及びO結合型グリコシル化のためのグリコシル化能を有する宿主細胞におけるタンパク質の産生を必要としない点で有利である。使用される結合様式に応じて、糖は、(a)アルギニン及びヒスチジン、(b)遊離カルボキシル基、(c)システインのものなどの遊離スルフィド基、(d)セリン、スレオニン若しくはヒドロキシプロリンのものなどの遊離ヒドロキシル基、(e)フェニルアラニン、チロシン若しくはトリプトファンのものなどの芳香族残基、又は(f)グルタミンのアミド基に付加され得る。これらの方法は、国際公開第87/05330号パンフレット及びApplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306に記載されている。

【0137】

出発抗体コンストラクト上に存在する糖鎖の除去は、化学的又は酵素的に行われ得る。化学的脱グリコシル化は、化合物トリフルオロメタンスルホン酸又は均等な化合物へのタンパク質の曝露が必要となる。この処理により、ポリペプチドは、無傷な状態のままで、結合している糖(N-アセチルグルコサミン又はN-アセチルガラクトサミン)を除くほとんど又は全ての糖が切断される。化学的脱グリコシル化については、Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259: 52及びEdge et al., 1981, Anal. Biochem. 118: 131によって記載される。ポリペプチド上の糖鎖の酵素的切断は、Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138: 350によって記載される様々なエンド-及びエキソ-グリコシダーゼの使用によって達成され得る。潜在的なグリコシル化部位でのグリコシル化は、Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257: 3105によって記載されるとおりの化合物ツニカマイシンの使用により妨げられ得る。ツニカマイシンは、タンパク質-N-グリコシド結合の形成を阻止する。

【0138】

抗体コンストラクトの他の修飾は、本明細書において企図される。例えば、抗体コンストラクトの別の種類の共有結合的修飾は、米国特許第4,640,835号明細書；同第4,496,689号明細書；同第4,301,144号明細書；同第4,670,417号明細書；同第4,791,192号明細書又は同第4,179,337号明細書に示される様式の様々なポリオール、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアリキレン又はポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールとのコポリマーを含むが、これらに限定されない、様々な非タンパク質性ポリマーへの抗体コンストラクトの連結を含む。加えて、当技術分野で知られるとおり、例えばPEGなどのポリマーの付加を容易にするために抗体コンストラクト内の様々な位置でアミノ酸置換がなされ得る。

【0139】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体コンストラクトの共有結合的修飾は、1つ以上の標識の付加を含む。潜在的な立体障害を低減するために、様々な長さのスペーサーアームを介して標識基が抗体コンストラクトに結合され得る。タンパク質を標識するための様々な方法が当技術分野で知られており、本発明を実施する際に使用することができる。用語「標識」又は「標識基」は、任意の検出可能な標識を指す。一般に、標識は、標識を検出しようとするアッセイに応じて様々なクラスに分類され、以下の例が挙げられるが、これらに限定されない：

- a) 放射性同位体又は放射性核種(例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)などの放射性同位体又は重同位体であり得る同位体標識
- b) 磁気標識(例えば、磁気粒子)
- c) 酸化還元活性部分
- d) 蛍光基(例えば、FITC、ローダミン、ランタニド蛍光体)、化学発光基及び「低分子」蛍光体又はタンパク質性蛍光体のいずれかであり得るフルオロフォアなどの光学色

10

20

30

40

50

素（発色団、蛍光体及びフルオロフォアを含むが、これらに限定されない）

e) 酵素群（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 α -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）

f) ビオチン化基

g) 二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグなど）。

【0140】

「蛍光標識」は、その固有の蛍光特性によって検出され得る任意の分子を意味する。好適な蛍光標識としては、限定されないが、フルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリスロシン、クマリン、メチルクマリン類、ピレン、マラカイトグリーン、スチルベン、ルシファーイエロー、Cascade Blue J、テキサスレッド、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、オレゴングリーン、Alexa-Fluor 色素（Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680）、Cascade Blue、Cascade Yellow及びR-フィコエリトリン（PE）（Molecular Probes、Eugene、OR）、FITC、ローダミン及びテキサスレッド（Pierce、Rockford、IL）、Cy5、Cy5.5、Cy7（Amersham Life Science、Pittsburgh、PA）が挙げられる。フルオロフォアを含めた好適な光学色素がMolecular Probes Handbook by Richard P. Hauglandに記載されている。

【0141】

好適なタンパク質性蛍光標識としては、Renilla、Ptilosarcus又はAequorea種のGFP（Chalfie et al., 1994, Science 263:802-805）、EGFP（Clontech Laboratories, Inc., Genbankアクセッション番号U55762）を含む緑色蛍光タンパク質、青色蛍光タンパク質（BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24:462-471; Heim et al., 1996, Curr. Biol. 6:178-182）、強化型黄色蛍光タンパク質（EYFP、Clontech Laboratories, Inc.）、ルシフェラーゼ（Ichiki et al., 1993, J. Immunol. 150:5408-5417）、 α -ガラクトシダーゼ（Nolan et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:2603-2607）及びRenilla（国際公開第92/15673号パンフレット、国際公開第95/07463号パンフレット、国際公開第98/14605号パンフレット、国際公開第98/26277号パンフレット、国際公開第99/49019号パンフレット、米国特許第5,292,658号明細書、同第5,418,155号明細書、同第5,683,888号明細書、同第5,741,668号明細書、同第5,777,079号明細書、同第5,804,387号明細書、同第5,874,304号明細書、同第5,876,995号明細書、同第5,925,558号明細書）も挙げられるが、これらに限定されない。

【0142】

ロイシンジッパードメインは、それが存在するタンパク質のオリゴマー形成を促進するペプチドである。ロイシンジッパーは、当初、いくつかのDNA結合タンパク質において同定されたものであり（Landschulz et al., 1988, Science 240:1759）、それ以来、種々の異なるタンパク質において見出されてきた。公知のロイシンジッパーの中には、天然に存在するペプチド及び二量化又は三量化するそ

10

20

30

40

50

の誘導体がある。可溶性オリゴマータンパク質の作製に好適なロイシンジッパードメインの例がPCT出願の国際公開第94/10308号パンフレットに記載されており、且つ肺サーファクタントタンパク質D (SPD) に由来するロイシンジッパーがHoppe et al., 1994, FEBS Letters 344:191に記載されている。それに融合した異種タンパク質の安定三量化を可能にする修飾ロイシンジッパーの使用は、Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6:267-78に記載されている。ある手法において、ロイシンジッパーペプチドに融合された標的抗原抗体フラグメント又はその誘導体を含む組換え融合タンパク質は、好適な宿主細胞において発現され、形成する可溶性オリゴマーの標的抗原抗体フラグメント又は誘導体は、培養上清から回収される。

10

【0143】

本発明の抗体コンストラクトは、例えば、その分子の単離に役立つか、又はその分子の薬物動態プロファイルの適合に関連する追加ドメインも含み得る。抗体コンストラクトの単離に役立つドメインは、単離方法、例えば単離用カラムで捕捉できるペプチドモチーフ又は二次的に導入される部分から選択され得る。このような追加ドメインの非限定的な実施形態は、Mycタグ、HATタグ、HAタグ、TAPタグ、GSTタグ、キチン結合ドメイン(CBDタグ)、マルトース結合タンパク質(MBPタグ)、Flagタグ、Streptタグ及びその変種(例えば、StreptIIタグ)並びにHisタグとして知られるペプチドモチーフを含む。同定されたCDRによって特徴付けられる本明細書で開示される抗体コンストラクトの全ては、分子のアミノ酸配列中の連続するHis残基、好ましくは6つのHis残基のリピートとして一般に知られるHisタグドメインを含むことが好ましい。

20

【0144】

T細胞又はTリンパ球は、細胞媒介性免疫において中心的な役割を果たすリンパ球の一種(それ自体白血球細胞の一種)である。T細胞のサブセットがいくつかあり、各々が異なる機能を有する。T細胞は、細胞表面上のT細胞受容体(TCR)の存在によってB細胞及びNK細胞などの他のリンパ球と区別することができる。TCRは、主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子に結合した抗原の認識に関与し、2つの異なるタンパク質鎖で構成される。T細胞の95%において、TCRは、アルファ()鎖とベータ()鎖とからなる。TCRが抗原ペプチド及びMHC(ペプチド/MHC複合体)と会合すると、関連する酵素、共受容体、特殊化したアダプター分子及び活性化した又は放出された転写因子によって媒介される一連の生化学的事象を通じてTリンパ球が活性化される。

30

【0145】

CD3受容体複合体は、タンパク質複合体であり、4つの鎖から構成される。哺乳動物において、この複合体は、CD3(ガンマ)鎖、CD3(デルタ)鎖及び2つのCD3(イプシロン)鎖を含有する。これらの鎖は、T細胞受容体(TCR)及びいわゆる(ゼータ)鎖と会合してT細胞受容体CD3複合体を形成し、Tリンパ球において活性化シグナルを生成する。CD3(ガンマ)、CD3(デルタ)及びCD3(イプシロン)鎖は、単一の細胞外免疫グロブリンドメインを含有する、関連性の高い免疫グロブリンスーパーファミリーの細胞表面タンパク質である。CD3分子の細胞内尾部は、TCRのシグナル伝達能に必須である免疫受容体活性化チロシンモチーフ、すなわち略称ITAMとして知られる単一の保存的モチーフを含有する。CD3イプシロン分子は、ヒトの第11染色体に存在するCD3E遺伝子によってコードされるポリペプチドである。好ましいヒトCD3イプシロン細胞外ドメインの配列は、配列番号1に示され、ヒトCD3イプシロン細胞外ドメインのアミノ酸残基1~27に対応する最も好ましいCD3結合エピートープは、配列番号2において表される。

40

【0146】

多重特異性、少なくとも二重特異性抗体コンストラクトによるT細胞の動員を介するリダイレクトされた標的細胞の溶解は、細胞溶解性シナプスの形成並びにパーフォリン及びグランザイムの送達を伴う。結合したT細胞は、連続的な標的細胞の溶解が可能であり、

50

ペプチド抗原のプロセッシング及び提示又はクローナルなT細胞分化を妨げる免疫回避機構による影響を受けない(例えば、国際公開第2007/042261号パンフレットを参照されたい)。

【0147】

二重特異性抗体コンストラクトによって媒介される細胞傷害性は、様々な方法で測定することができる。エフェクター細胞は、例えば、刺激された濃縮(ヒト)CD8陽性T細胞又は未刺激の(ヒト)末梢血単核球(PBMC)であり得る。標的細胞がマカク由来であるか、又はマカク標的細胞抗原を発現するか若しくはそれによりトランスフェクトされている場合、エフェクター細胞もマカクT細胞株、例えば4119LnPxなど、マカク由来でなければならない。標的細胞は、標的細胞の抗原、例えばヒト又はマカク標的細胞の抗原(の少なくとも細胞外ドメイン)を発現するはずである。標的細胞は、標的細胞の抗原、例えばヒト又はマカク標的細胞の抗原で安定的に又は一過的にトランスフェクトされている細胞株(CHOなど)であり得る。代わりに、標的細胞は、ヒト癌細胞株などの標的細胞抗原陽性の天然発現体細胞株であり得る。通常、EC50値は、細胞表面に高レベルの標的細胞抗原を発現する標的細胞株で低くなると予想される。エフェクター対標的細胞(E:T)比は、通常、約10:1であるが、これは、変動し得る。二重特異性抗体コンストラクトの細胞傷害活性は、⁵¹クロム放出アッセイ(約18時間のインキュベーション時間)又はFACSを用いた細胞傷害性アッセイ(約48時間インキュベーション時間)において測定することができる。アッセイのインキュベーション時間(細胞傷害性反応)の変更も可能である。細胞傷害性を測定する他の方法は、当業者によく知られており、MTT又はMTSアッセイ、生物発光アッセイを含むATP系アッセイ、スルホローダミンB(SRB)アッセイ、WSTアッセイ、クローン原性アッセイ及びECIS技術を含む。

10

20

【0148】

本発明の二重特異性抗体コンストラクトによって媒介される細胞傷害活性は、好ましくは、細胞を用いた細胞傷害性アッセイで測定される。細胞傷害活性は、EC₅₀値によって表され、これは、半数効果濃度(ベースラインと最大値との中間の細胞傷害性反応を誘導する抗体コンストラクトの濃度)に対応する。好ましくは、二重特異性抗体コンストラクトのEC₅₀値は、20.000pg/ml、より好ましくは5000pg/ml、さらにより好ましくは1000pg/ml、さらにより好ましくは500pg/ml、さらにより好ましくは350pg/ml、さらにより好ましくは250pg/ml、さらにより好ましくは100pg/ml、さらにより好ましくは50pg/ml、さらにより好ましくは10pg/ml及び最も好ましくは5pg/mlである。

30

【0149】

上記の所与のEC₅₀値のいずれかは、細胞を用いた細胞障害アッセイの示されるシナリオのいずれか1つと、例えば添付の実施例において記載される方法に一致して組み合わせられ得る。例えば、(ヒト)CD8陽性T細胞又はマカクT細胞株がエフェクター細胞として使用されるとき、本発明の二重特異性抗体コンストラクト(例えば、標的細胞抗原/CD3二重特異性抗体コンストラクト)のEC₅₀値は、好ましくは、1000pg/ml、より好ましくは500pg/ml、さらにより好ましくは250pg/ml、さらにより好ましくは100pg/ml、さらにより好ましくは50pg/ml、さらにより好ましくは10pg/ml及び最も好ましくは5pg/mlである。このアッセイにおいて、標的細胞が、CHO細胞などの標的抗原(例えば、標的細胞抗原CD3)でトランスフェクトされた(ヒト又はマカク)細胞である場合、二重特異性抗体コンストラクトのEC₅₀値は、好ましくは、150pg/ml、より好ましくは100pg/ml、さらにより好ましくは50pg/ml、さらにより好ましくは30pg/ml、さらにより好ましくは10pg/ml及び最も好ましくは5pg/mlである。標的細胞が(例えば、標的細胞抗原の)陽性の天然発現体細胞株である場合、EC₅₀値は、好ましくは、350pg/ml、より好ましくは250pg/ml、さらにより好ましくは200pg/ml、さらにより好ましくは100pg/ml、さら

40

50

より好ましくは 150 pg/ml、さらにより好ましくは 100 pg/ml 及び最も好ましくは 50 pg/ml 以下である。(ヒト)PBM C がエフェクター細胞として使用されるとき、二重特異性抗体コンストラクトの EC₅₀ 値は、好ましくは、1000 pg/ml、より好ましくは 750 pg/ml、より好ましくは 500 pg/ml、さらにより好ましくは 350 pg/ml、さらにより好ましくは 250 pg/ml、さらにより好ましくは 100 pg/ml 及び最も好ましくは 50 pg/ml 以下である。

【0150】

好ましくは、本発明の二重特異性抗体コンストラクトは、CHO細胞などの標的細胞抗原陰性細胞の溶解を誘導/媒介しないか、又は溶解を本質的に誘導/媒介しない。用語「溶解を誘導しない」、「溶解を本質的に誘導しない」、「溶解を媒介しない」又は「溶解を本質的に媒介しない」は、標的細胞抗原陽性細胞株の溶解を100%とした場合、本発明の抗体コンストラクトが標的細胞抗原陰性細胞の30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%又は5%超の溶解を誘導又は媒介しないことを意味する。これは、通常、最高500 nMまでの抗体コンストラクトの濃度に適用される。当業者は、さらなる労力を伴わずに細胞溶解を測定する方法を知っている。さらに、本明細書では、細胞溶解の測定方法の具体的な指示を教示する。

【0151】

好ましくは、本発明による使用のための二重特異性抗体コンストラクトは、以下の工程

- (a) 二重特異性抗体コンストラクトの第1の用量の投与、続いて
- (b) 二重特異性抗体コンストラクトの第2の用量の投与であって、前記第2の用量は、前記第1の用量を超える、投与、続いて
- (c) 二重特異性抗体コンストラクトの第3の用量の投与であって、前記第3の用量は、前記第2の用量を超える、投与、任意選択により、続いて
- (d) 二重特異性抗体コンストラクトの第4の用量の投与であって、前記任意選択による第4の用量は、前記第3の用量を超える、投与を含むスケジュールに従って投与される。

【0152】

上記に一致して、第1の用量の投与の期間は、最大7日であることがさらに好ましい。この期間の第1の用量の投与を二重特異性抗体コンストラクトの投与の初期/第1のサイクル中に使用して、例えば患者における腫瘍量を減少させ得るが(腫瘍減量)、比較的高い用量が第1の用量の投与の期間中に使用される場合に予想され得るサイトカインストーム及び/又はサイトカイン放出症候群などの状態を回避する。

【0153】

本発明の一実施形態において、第1の用量の投与の期間は、最大7日であるが、この第1の用量が6日、5日、4日、3日、2日又は1日間投与されることもこの好ましい実施形態の範囲内である。個々の患者の腫瘍量又は一般的な状態が、第1の限定された用量段階において、限定された用量の二重特異性抗体コンストラクトの投与を必要とする場合、この第1の用量段階は、患者の二重特異性抗体コンストラクトとの最初の接触から生じる副作用を回避又は制限するべき導入期/適応期として理解される。そのような導入期/適応期における用量に関する好ましい範囲は、54 kDaの一本鎖ポリペプチドであるCD33XC D3二重特異性抗体コンストラクトなどの標準的なBiTE(登録商標)に関して、1~50 µg/dの範囲、好ましくは3~30 µg/dの範囲、さらにより好ましくは4~20 µg/dの範囲及びさらにより好ましくは5~15 µg/dの範囲であり得る。非常に好ましい実施形態において、本発明による二重特異性抗体コンストラクトは、10 µg/dの用量で投与される。

【0154】

二重特異性抗体コンストラクトの第2の用量に関する好ましい範囲は、例えば、10 µg/d~10 mg/dの範囲、より好ましくは25 µg/d~1 mg/dの範囲及びさら

10

20

30

40

50

により好ましくは $30\mu\text{g}/\text{d} \sim 500\mu\text{g}/\text{d}$ の範囲のCD33XC3二重特異性抗体コンストラクトなどの標準的なBiTE（登録商標）のためのものである。非常に好ましい実施形態において、第2の用量は、 $30\mu\text{g}/\text{d}$ 又は $60\mu\text{g}/\text{d}$ である。上記に一致して、二重特異性抗体コンストラクトの第3の用量の好ましい範囲は、第2の用量の対応する用量を超える。第3の用量は、通常、 $60\mu\text{g}/\text{d} \sim 500\mu\text{g}/\text{d}$ の範囲であり、好ましくは本発明による第2の用量と均等な治療を回避した可能性のある残留している標的細胞を根絶する。

【0155】

驚くべきことに、少なくとも2つの投与段階を含む段階的な投与が本発明に従って適用されるとき、望まれないサイトカイン放出、例えばサイトカイン放出症候群などの免疫性の副作用が効率的に予防され得ることが見出された。対照的に、第2の投与量と均等な用量が、本発明の第1の用量と同等な前のより少ない用量を伴わずに与えられる場合、望まれないサイトカイン放出、例えばサイトカイン放出症候群などの副作用が生じ得る。同じことが第2の投与量に対する第3の投与量に適用される。

10

【0156】

また、第1及び第2の用量の投与の期間は、可能な限り早く白血病幹細胞に対処する標的用量に到達するように可能な限り短いことが本発明のために好ましい。これは、AMLなどの活動性及び進行性疾患に関する治療の成功にとって決定的に重要である。したがって、2又は3日間のみ、好ましくは2日間の第1の投与量及び第2の投与量に関して2～4日の投与の期間を有する投与スキームを提供することが本発明による主な成果である。さらに、第3の投与量又は任意選択による第4の投与量、すなわち標的投与量は、好ましくは、少なくとも数日の長期間の投与を含む。

20

【0157】

また、本発明に一致して、二重特異性抗体コンストラクトの第1の結合ドメインが、配列番号10～12及び14～16、22～24及び26～28、34～36及び38～40、46～48及び50～52、58～60及び62～64、70～72及び74～76、82～84及び86～88、94～96及び98～100からなる群から選択される6つのCDRの群を含むことは、骨髄性白血病の治療において使用される二重特異性抗体コンストラクトに好ましい。

30

【0158】

さらに、本発明に一致して、二重特異性抗体コンストラクトの第2の結合ドメインが、国際公開第2008/119567号パンフレットの配列番号9～14、27～32、45～50、63～68、81～86、99～104、117～122、135～140、153～158及び171～176からなる群から選択される6つのCDRの群を含むことは、骨髄性白血病の治療において使用される二重特異性抗体コンストラクトに好ましい。

30

【0159】

第2の結合ドメインだけでなく、本発明の抗体コンストラクトの第1の（又は任意のさらなる）結合ドメインは、好ましくは、霊長類の哺乳動物目のメンバーにおいて異種間特異的である。異種間特異的CD3結合ドメインについては、例えば、国際公開第2008/119567号パンフレットに記載されている。一実施形態によれば、第1及び第2の結合ドメインは、ヒトCD33標的細胞抗原及びヒトCD3への結合に加えて、新世界霊長類（マーモセット（*Callithrix jacchus*）、ワタボウシタマリン（*Saguinus oedipus*）又はリスザル（*Saimiri sciureus*）など）、旧世界霊長類（ヒヒ及びマカクなど）、テナガザル及び非ヒトのヒト亜科動物を含む（ただし、これらに限定されない）霊長類のCD33標的細胞抗原/CD3にもそれぞれ結合することになる。マーモセット（*Callithrix jacchus*）及びワタボウシタマリン（*Saguinus oedipus*）は、両方ともマーモセット（*Callitrichidae*）科に属する新世界霊長類であるが、リスザル（*Saimiri sciureus*）は、オマキザル（*Cebidae*）科に属する新世界霊長

40

50

類である。

【0160】

本発明の好ましい実施形態では、二重特異性抗体コンストラクトは、ある二重特異性抗体コンストラクトである。本明細書で上に提供される定義に一致して、この実施形態は、抗体コンストラクトである二重特異性抗体コンストラクトに関する。本発明の好ましい実施形態では、二重特異性抗体コンストラクトは、一本鎖コンストラクトである。そのような二重特異性一本鎖抗体コンストラクトは、本発明に一致して、配列番号18、19、20、30、31、32、42、43、44、54、55、56、66、67、68、78、79、80、90、91、92、102、103、104、105、106、107及び108からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み得る。

10

【0161】

本明細書に記載される二重特異性抗体コンストラクトのアミノ酸配列修飾も企図される。例えば、二重特異抗体コンストラクトの結合親和性及び/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もある。二重特異性抗体コンストラクトのアミノ酸配列バリエーションは、二重特異性抗体コンストラクトの核酸に適切なヌクレオチド変化を導入することによって又はペプチド合成によって作製される。以下に記載されるアミノ酸配列改変の全ては、未改変の親分子の所望の生物活性(標的細胞抗原及びCD3への結合)を引き続き保持する二重特異性抗体コンストラクトをもたらすはずである。

【0162】

用語「アミノ酸」又は「アミノ酸残基」は、通常、アラニン(Ala又はA); アルギニン(Arg又はR); アスパラギン(Asn又はN); アスパラギン酸(Asp又はD); システイン(Cys又はC); グルタミン(Gln又はQ); グルタミン酸(Glu又はE); グリシン(Gly又はG); ヒスチジン(His又はH); イソロイシン(Ile又はI); ロイシン(Leu又はL); リジン(Lys又はK); メチオニン(Met又はM); フェニルアラニン(Phe又はF); プロリン(Pro又はP); セリン(Ser又はS); スレオニン(Thr又はT); トリプトファン(Trp又はW); チロシン(Tyr又はY); 及びバリン(Val又はV)からなる群から選択されるアミノ酸など、当技術分野で認められる定義を有するアミノ酸を指すが、修飾、合成又は希少アミノ酸が必要に応じて使用され得る。一般に、アミノ酸は、非極性側鎖(例えば、Ala、Cys、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Val); 負電荷側鎖(例えば、Asp、Glu); 正電荷側鎖(例えば、Arg、His、Lys); 又は無電荷極性側鎖(例えば、Asn、Cys、Gln、Gly、His、Met、Phe、Ser、Thr、Trp及びTyr)の存在によって分類することができる。

20

30

【0163】

アミノ酸改変は、例えば、二重特異性抗体コンストラクトのアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び/又は残基への挿入、及び/又は残基の置換を含む。欠失、挿入及び置換のいずれかの組合せは、最終コンストラクトが所望の特徴を有するのであれば、その最終コンストラクトに到達するようになされる。アミノ酸の変化は、グリコシル化部位の数又は位置の変化などの二重特異性抗体コンストラクトの翻訳後プロセスも変え得る。

【0164】

例えば、1、2、3、4、5又は6つのアミノ酸がCDRの各々において(当然のことながら、それらの長さに依存する)挿入又は欠失され得る一方、FRの各々において1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又は25のアミノ酸が挿入又は欠失され得る。好ましくは、アミノ酸配列の挿入は、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10残基から、100以上の残基を含有するポリペプチドまでの長さの範囲のアミノ末端融合及び/又はカルボキシル末端融合並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。本発明の二重特異性抗体コンストラクトの挿入バリエーションは、酵素に対して二重特異性抗体コンストラクトのN末端若しくはC末端への融合又は二重特異性抗体コンストラクトの血清半減期を増大させるポリペプチドへの融合を含む。

40

50

【0165】

長い半減期は、一般に、免疫グロブリン、特に抗体、また最も特定すると小サイズの抗体フラグメントのインビボ適用において有用である。抗体フラグメント（Fv、ジスルフィド結合Fv、Fab、scFv、dAb）に基づくそのような抗体コンストラクトは、体の大部分に迅速に到達できるが、それらの抗体コンストラクトは、体からの迅速なクリアランスを受ける可能性がある。一本鎖ダイアボディなどの抗体コンストラクトの半減期を延長するための、当技術分野で記載される戦略は、ポリエチレングリコール鎖のコンジュゲーション（ペグ化）、IgG Fc領域又はアルブミン若しくはアルブミン結合ドメインへの融合を含む。

【0166】

血清アルブミンは、肝臓によって生理的に産生されるタンパク質であり；血漿中で溶解されて存在し、且つ哺乳動物において最も豊富な血液タンパク質である。アルブミンは、血管と体組織との間の体液の適切な分布に必要とされる膠質浸透圧を維持するのに必須である。また、それは、いくつかの疎水性ステロイドホルモンに非特異的に結合することによって血漿担体として且つヘミン及び脂肪酸のための輸送タンパク質として作用する。用語「血清アルブミン」、それぞれそのヒトバリエーション（「ヒトアルブミン」）は、発明されたタンパク質に関連して、親ヒト血清アルブミンタンパク質（配列番号109に記載されるとおりの配列）、又はその任意のバリエーション（例えば、配列番号110～138に示されるとおりのアルブミンタンパク質など）、又はそのフラグメントを定義し、好ましくは遺伝的融合タンパク質として且つ少なくとも1つの治療用タンパク質との化学的架橋などによって発現される。アルブミンの単一若しくは複数変異又はフラグメントを含むバリエーションは、FcRn受容体に対する親和性などの特性の向上及びその親又は基準と比較した血漿半減期の延長をもたらす。ヒトアルブミンのバリエーションは、例えば、国際公開第2014/072481号パンフレットにおいて記載される。本発明に一致して、血清アルブミンは、ペプチドリンカーを介して抗体コンストラクトに連結され得る。ペプチドリンカーは、アミノ酸配列（GGGS）_n（配列番号13）_nを有することが好ましく、ここで、「n」は、1～5の範囲の整数である。「n」は、1～3の範囲の整数であることがさらに好ましく、最も好ましくは、「n」は、1又は2である。

【0167】

置換変異誘発にとって最も重要な部位としては、重鎖及び/又は軽鎖のCDR、特に超可変領域が挙げられるが、重鎖及び/又は軽鎖におけるFRの改変も企図される。置換は、本明細書に記載される保存的置換であることが好ましい。好ましくは、CDR又はFRの長さに応じて、CDRでは1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10のアミノ酸を置換し得る一方、フレームワーク領域（FR）では1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又は25のアミノ酸を置換し得る。例えば、CDR配列が6つのアミノ酸を包含する場合、これらのアミノ酸の1、2又は3つが置換されることが想定される。同様に、CDR配列が15のアミノ酸を包含する場合、これらのアミノ酸の1、2、3、4、5又は6つが置換されることが想定される。

【0168】

変異誘発について好ましい位置である二重特異性抗体コンストラクトの特定の残基又は領域の同定のための有用な方法は、Cunningham and Wells in Science, 244:1081:1085 (1989)によって記載されるとおりの「アラニンスキャニング変異導入法」と呼ばれるものである。この方法では、二重特異性抗体コンストラクト内の残基又は標的残基群を同定し（例えば、arg、asp、his、lys及びgluなどの荷電残基）、アミノ酸とエピトープとの相互作用に影響を与える中性又は負電荷アミノ酸（最も好ましくはアラニン又はポリアラニン）で置き換えられる。

【0169】

次に、さらなるバリエーション又は他のバリエーションを置換部位に、すなわち置換部位の代わ

10

20

30

40

50

りに導入することにより、置換に対して機能的感受性を示すそれらのアミノ酸位置を厳選する。このように、アミノ酸配列変種を導入する部位又は領域は、予め決定されるが、変異の性質自体を予め決定する必要はない。例えば、所与の部位における変異の性能を分析又は最適化するため、標的コドン又は領域においてアラニンスキャニング又はランダム変異誘発を実施し得、発現された二重特異性抗体コンストラクト変異体が所望の活性の最適な組合せに関してスクリーニングされる。既知の配列を有するDNAの所定の部位における置換変異を作製するための手法、例えばM13プライマー変異誘発及びPCR変異誘発は、よく知られている。変異体のスクリーニングは、標的抗原結合活性のアッセイを使用してなされる。

【0170】

一般に、重鎖及び/又は軽鎖のCDRの1つ以上又は全てにおいてアミノ酸が置換される場合、それによって得られる「置換された」配列は、「当初の」CDR配列と少なくとも60%、より好ましくは65%、さらにより好ましくは70%、特に好ましくは75%、特により好ましくは80%同一である。これは、それが「置換された」配列とどの程度同一であるかがCDRの長さに依存することを意味する。例えば、5つのアミノ酸を有するCDRは、少なくとも1つの置換されたアミノ酸を有するために、その置換された配列と80%同一であることが好ましい。したがって、二重特異性抗体コンストラクトのCDRは、それらの置換配列に対して異なる程度の同一性を有する場合があります、例えばCDRL1が80%を有する場合があります一方、CDRL3が90%を有する場合があります。

【0171】

好ましい置換（又は置き換え）は、保存的置換である。しかしながら、二重特異性抗体コンストラクトが第1の結合ドメインを介して標的細胞抗原に結合し、第2の結合ドメインを介してCD3イプシロンに結合する能力を保持する限り、且つ/又はそのCDRが置換後の配列に対して同一性を有している（「当初の」CDR配列に対して少なくとも60%、より好ましくは65%、さらにより好ましくは70%、特に好ましくは75%、特により好ましくは80%同一である）限り、（非保存的置換又は以下の表1に列挙される「例示的な置換」の1つ以上を含む）任意の置換が想定される。

【0172】

保存的置換を表1の「好ましい置換」の見出しの下に示す。このような置換が生物活性を変化させる場合、表1において「例示的な置換」と称されるか、又はアミノ酸クラスに関連して以下でさらに記載する、より実質的な変更を導入し、所望の特徴について産物をスクリーニングし得る。

【0173】

10

20

30

【表 1】

表1: アミノ酸置換

当初	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	Ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	ノルロイシン, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	Ala	ala
Ser (S)	Thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

10

20

30

【0174】

本発明の二重特異性抗体コンストラクトの生物学的特性の実質的な修飾は、(a)例えばシート又はヘリックスコンホメーションなど、置換範囲におけるポリペプチド骨格の構造、(b)標的部位における分子の電荷又は疎水性、又は(c)側鎖のバルク性の維持に対するその効果が有意に異なる置換を選択することにより達成される。天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づいて以下の群に分類される：(1)疎水性：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile；(2)中性疎水性：cys、ser、thr、asn、gln；(3)酸性：asp、glu；(4)塩基性：his、lys、arg；(5)鎖の配向に影響する残基：gly、pro；及び(6)芳香族：trp、tyr、phe。

40

【0175】

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴うことになる。二重特異性抗体コンストラクトの適切な立体構造の維持に関与しない任意のシステイン残基を一般的にセリンで置換することで分子の酸化安定性を向上させ、異常な

50

架橋を回避し得る。逆に、抗体にシステイン結合を付加することで、（特に抗体がFvフラグメントなどの抗体フラグメントである場合）その安定性を向上させ得る。

【0176】

アミノ酸配列に関して、配列同一性及び/又は類似性は、当技術分野で知られる標準的な技術、例えば、限定されないが、Smith and Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2: 482の局所的配列同一性アルゴリズム、Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443の配列同一性アラインメントアルゴリズム、Pearson and Lipman, 1988, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 85: 2444の類似性検索法、これらのアルゴリズムのコンピュータによる実行(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, WisのGAP、BESTFIT、FASTA及びTFASTA)、Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12: 387-395により記載されている、好ましくはデフォルト設定を用いたBest Fit配列プログラムを使用することにより又は目視により決定される。好ましくは、同一性パーセントは、以下のパラメーターに基づいてFastDBによって計算される： mismatches penaltyが1； gaps penaltyが1； gaps size penaltyが0.33；及び結合ペナルティが30、「Current Methods in Sequence Comparison and Analysis」, Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

10

20

【0177】

有用なアルゴリズムの例は、PILEUPである。PILEUPは、関連配列の群から累進的ペアワイズアラインメントを用いて多重配列アラインメントを生成する。これは、アラインメントの生成に用いられるクラスタリング関係を示すツリーもプロットすることができる。PILEUPは、Feng & Doolittle, 1987, J. Mol. Evol. 35: 351-360のプロGRESSアラインメント法の簡易版を使用する。この方法は、Higgins and Sharp, 1989, CABIOS 5: 151-153により記載されたものと同様である。有用なPILEUPパラメーターは、3.00のデフォルトのギャップ加重、0.10のデフォルトのギャップ長加重及び加重エンドギャップを含む。

30

【0178】

有用なアルゴリズムの別の例は、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215: 403-410; Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402; 及びKarlin et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 90: 5873-5877において記載されるBLASTアルゴリズムである。特に有用なBLASTプログラムは、Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology 266: 460-480から入手したWU-BLAST-2プログラムである。WU-BLAST-2は、いくつかの検索パラメーターを使用しており、その大部分がデフォルト値に設定される。調節可能なパラメーターは、以下の値で設定される：重複範囲 = 1、重複割合 = 0.125、ワード閾値 (T) = 11。HSP S及びHSP S2パラメーターは、動的な値であり、特定の配列の組成及び目的の配列が検索される特定のデータベースの組成に依存してプログラム自体によって確立される。しかしながら、感度を増加させるために値が調整され得る。

40

【0179】

追加の有用なアルゴリズムは、Altschul et al., 1993, Nucl. Acids Res. 25: 3389-3402において報告されるギャップ付きBLASTである。ギャップ付きBLASTはBLOSUM-62置換スコアを使用し、閾値

50

Tパラメーターは、9に設定され、ギャップなし伸長をもたらすtwo-hit法は、ギャップ長kのコストを $10+k$ とし、Xuは、16に設定され、Xgは、データベース検索段階では40に、アルゴリズムの出力段階では67に設定される。ギャップ付きアライメントは、約22ビットに相当するスコアによって引き起こされる。

【0180】

一般に、個々のバリエーションCDR間のアミノ酸同一性、類似性又は同一性は、本明細書に示される配列に対して少なくとも60%であり、より典型的には同一性又は同一性が少なくとも65%又は70%、より好ましくは少なくとも75%又は80%、さらにより好ましくは少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%及びほぼ100%に増加することが好ましい。同様に、本明細書で特定される結合タンパク質の核酸配列に関する「核酸配列同一性パーセント(%)」は、二重特異性抗体コンストラクトのコード配列内のヌクレオチド残基と同一である候補配列内のヌクレオチド残基の割合と定義される。具体的な方法では、重複範囲及び重複割合がそれぞれ1及び0.125を有するデフォルトパラメーターに設定されたWU-BLAST-2のBLASTNモジュールを利用する。

10

【0181】

一般に、個々のバリエーションCDRをコードするヌクレオチド配列と本明細書に示されるヌクレオチド配列との間の核酸配列同一性、類似性又は同一性は、少なくとも60%であり、より典型的には同一性又は同一性が少なくとも65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%及びほぼ100%に増加することが好ましい。したがって、「バリエーションCDR」は、本発明の親CDRに対して特定の同一性、類似性又は同一性を有するものであり、且つ親CDRの特異性及び/又は活性の少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%を含むが、これらに限定されない生物学的機能を共有している。

20

【0182】

一実施形態では、本発明による使用のための二重特異性抗体コンストラクトは、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、ヒストンデメチラーゼ阻害剤及びATRA(全トランス型レチノイン酸)からなる群から選択される1つ以上のエピジェネティック因子と組み合わせて投与され、

30

(a) 1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与前に投与されるか；

(b) 1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与後に投与されるか；又は

(c) 1つ以上のエピジェネティック因子及び二重特異性抗体コンストラクトは、同時に投与される。

【0183】

本発明と関連する用語「エピジェネティック因子」は、投与時の細胞集団の遺伝子発現又は細胞表現型を変化させることができる化合物を定義する。そのような変化は、核酸配列における変化を伴わずにゲノムに対して1つ以上の機能に関連する修飾を指すことが理解される。そのような修飾の例は、DNAメチル化及びヒストン修飾であり、これらは、両方とも根底にあるDNA配列の改変を伴わない遺伝子発現の調節に重要である。

40

【0184】

上記のエピジェネティック因子の1つ以上と組み合わせた二重特異性抗体コンストラクトの投与を含む骨髄性白血病の治療についての詳細は、PCT/欧州特許出願公開第2014/069575号明細書において提供されている。

【0185】

50

本発明の一実施形態では、1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与の7日前まで投与されることが好ましい。

【0186】

また、本発明の一実施形態では、エピジェネティック因子は、ヒドロキシ尿素であることが好ましい。

【0187】

骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄性樹状細胞白血病、移行期慢性骨髄性白血病、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性多血症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄性白血病、骨髄肉腫及び急性混合型白血病からなる群から選択されることが本発明のために好ましい。より好ましくは、骨髄性白血病は、急性骨髄性白血病（AML）である。AMLの定義は、とりわけ、急性骨髄芽球性白血病、急性骨髄性樹状細胞白血病、急性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、急性赤白血病及び急性汎骨髄性白血病を含む。

10

【0188】

本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクトは、医薬組成物の形態において、それを必要とする対象への適切な投与のために製剤化され得る。

【0189】

本明細書に記載される製剤は、それを必要とする患者において、本明細書に記載される病的な医学的状態を治療、改善及び/又は予防する医薬組成物として有用である。用語「治療」は、療法的治療及び予防的又は防御的手段の両方を指す。治療は、疾患、疾患の症状又は疾患素因を治療するか、治すか、軽減するか、緩和するか、変化させるか、矯正するか、改善するか、好転させるか又は影響を与えることを目的とした、疾患/障害、疾患/障害の症状又は疾患/障害の素因を有する患者の身体、単離された組織又は細胞に対する製剤の適用又は投与を含む。

20

【0190】

用語「疾患」は、本明細書に記載される二重特異性抗体コンストラクト又は医薬組成物による治療から利益を受け得る任意の状態を指す。これには、哺乳類において問題の疾患の素因になる病理学的状態を含めた慢性及び急性障害又は疾患が含まれる。

30

【0191】

用語「必要とする対象」又は「治療を必要とする」対象は、既にその障害を有する対象及びその障害を予防しようとする対象を含む。必要とする対象又は「患者」は、予防的治療又は治療的治療のいずれかを受けるヒト及び他の哺乳動物対象を含む。

【0192】

本発明の二重特異性抗体コンストラクトは、一般に、とりわけバイオアベイラビリティ及び持続性の範囲において、特定の投与経路及び投与方法、特定の投与量及び投与頻度、特定の疾患の特定の治療に合わせて設計されることになる。組成物の材料は、好ましくは、投与部位に許容可能な濃度で製剤化される。

【0193】

したがって、製剤及び組成物は、本発明に従って任意の好適な投与経路による送達のために設計され得る。本発明に関連して、投与経路は、

40

- ・局所経路（例えば、皮膚上、吸入、鼻、眼、耳介/耳、膺、粘膜）；
- ・腸経路（例えば、経口、胃腸、舌下、唇下、頬側、直腸）；及び
- ・非経口経路（例えば、静脈内、動脈内、骨内、筋肉内、脳内、脳室内、硬膜外、髄腔内、皮下、腹腔内、羊膜外、関節内、心臓内、皮内、病巣内、子宮内、膀胱内、硝子体内、経皮、鼻腔内、経粘膜、滑液嚢内、管腔内）

を含むが、これらに限定されない。

【0194】

本発明と関連して記載される医薬組成物及び二重特異性抗体コンストラクトは、例えば

50

、ボーラス注射などの注射による又は持続注入などの注入による非経口投与、例えば皮下又は静脈内送達に特に有用である。医薬組成物は、医療機器を使用して投与され得る。医薬組成物を投与するための医療機器の例については、米国特許第4,475,196号明細書；同第4,439,196号明細書；同第4,447,224号明細書；同第4,447,233号明細書；同第4,486,194号明細書；同第4,487,603号明細書；同第4,596,556号明細書；同第4,790,824号明細書；同第4,941,880号明細書；同第5,064,413号明細書；同第5,312,335号明細書；同第5,312,335号明細書；同第5,383,851号明細書；及び同第5,399,163号明細書に記載されている。

【0195】

特に、本発明は、好適な組成物の中断のない投与を実現する。非限定的な例として、中断のない又は実質的に中断のない、すなわち連続的な投与は、患者体内への治療薬の流入を調整するための、患者が装着した小型ポンプシステムによって実現され得る。本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクトを含む医薬組成物は、前記ポンプシステムを使用することによって投与され得る。そのようなポンプシステムは、一般に当技術分野で知られており、通常、注入する治療薬を含有するカートリッジの定期交換に依拠する。そのようなポンプシステムでカートリッジを交換する際、交換時以外に中断しない患者体内への治療薬の流入に一時的な中断が結果として生じる場合がある。そのような場合でも、カートリッジ交換前の投与段階及びカートリッジ交換後の投与段階は、依然として、ともにこのような治療薬の「中断のない投与」を構成する本発明の医薬的手段及び方法の意味の範囲内と見なされるであろう。

【0196】

本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクトの連続投与又は中断のない投与は、流体をレザバーから送り出すための流体送出機構及び送出機構を駆動するための駆動機構を含む、流体送達デバイス又は小型ポンプシステムによる静脈内又は皮下投与であり得る。皮下投与のためのポンプシステムは、患者の皮膚に穿通し、好適な組成物を患者体内に送達するための針又はカニューレを含み得る。前記ポンプシステムを、静脈、動脈又は血管を問わず、患者の皮膚に直接固定又は装着することでポンプシステムと患者の皮膚とを直接接触させることが可能になる。このポンプシステムは、患者の皮膚に24時間～数日間装着することができる。レザバーの容積が小さい小型のポンプシステムの場合もある。非限定的な例として、投与される好適な医薬組成物のためのレザバーの容積は、0.1～50mlであり得る。

【0197】

連続投与は、皮膚に装着され時折交換されるパッチによって経皮的でもあり得る。当業者は、この目的に好適な薬物送達のためのパッチシステムを認識している。経皮投与は、例えば、第1の使用済みパッチの直接隣の皮膚表面に、第1の使用済みパッチを除去する直前に、新しい第2のパッチを装着すると同時に、第1の使用済みパッチの交換を完了できる有利さがあることから、中断のない投与に特に適していることに注目されたい。流入の中断又は電池故障の問題は生じない。

【0198】

医薬組成物が凍結乾燥されている場合、まず凍結乾燥材料を投与前に適切な液体で再構成する。凍結乾燥材料を、例えば注射用静菌水(BWF I)、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)又は凍結乾燥前にタンパク質が存在した同じ製剤で再構成し得る。

【0199】

本発明の組成物は、例えば、本明細書に記載される異種間特異性を示す、本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクトを、チンパンジーではない霊長類、例えばマカクに用量を増加させながら投与することによる用量漸増試験によって決定できる好適な用量で対象に投与することができる。上述のとおり、本明細書に記載される異種間特異性を示す本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクトは、チンパンジーではない霊長類の前臨床試験において同一の形態で使用でき、且つヒトにおける薬物として

10

20

30

40

50

使用できるという利点がある。投与計画は、主治医及び臨床学的因子によって決定されることになる。医学分野でよく知られるとおり、ある1人の患者に対する投与量は、その患者の体格、体表面積、年齢、投与される個々の化合物、性別、投与時間及び投与経路、全身健康状態並びに同時に投与されている他の薬物を含む多くの要因に依存する。

【0200】

用語「有効用量」又は「有効投与量」は、所望の効果を達成するか又は少なくとも部分的に達成するのに十分な量と定義される。用語「治療有効用量」は、疾患に既に罹患している患者の疾患及びその合併症を治癒するか又は少なくとも部分的に抑止するのに十分な量と定義される。この用途に効果的な量又は用量は、治療される状態（適応症）、送達される二重特異性抗体コンストラクト、治療の内容及び目的、疾患の重症度、前治療、患者の病歴及び治療薬に対する反応性、投与経路、体格（体重、体表面積又は臓器サイズ）及び/又は患者の状態（年齢及び全身健康状態）並びに患者自身の免疫系の全身状態に依存することになる。適当な用量は、1回又は一連の投与にわたって患者に投与できるように、また最適な治療効果を得るために主治医の判断に従って調整することができる。

10

【0201】

治療有効量の本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクトは、好ましくは、疾患症状の重症度を低下させるか、疾患症状がない期間の頻度若しくは期間を増加させるか、又は疾患の苦痛に起因する機能障害若しくは能力障害を予防する。標的細胞の抗原発現腫瘍の治療に関して、治療有効量の本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクト、例えば抗標的細胞抗原/抗CD3抗体コンストラクトは、好ましくは、細胞増殖又は腫瘍増殖を未治療の患者と比較して少なくとも約20%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%又は少なくとも約90%阻害する。化合物が腫瘍増殖を阻害する能力は、ヒト腫瘍における有効性の予測指標となる動物モデルにおいて評価され得る。

20

【0202】

医薬組成物は、単一の治療で投与するか、又は必要に応じて抗癌療法などの追加の療法、例えば他のタンパク質性及び非タンパク質性薬物と併用して投与することができる。これらの薬物は、本明細書で定義される本発明と関連して記載される二重特異性抗体コンストラクトを含む組成物と同時に投与され得るか、又は前記二重特異性抗体コンストラクトの投与前若しくは投与後に既定の時間間隔及び用量で別々に投与され得る。

30

【0203】

さらに、本発明者らは、免疫性の副作用などの希少な副作用がグルココルチコイド（前）及び/又は（同時）療法的手段によって予防又は軽減され得ることを観察した。

【0204】

したがって、本発明は、デキサメタゾンなどのグルココルチコイドが、本発明によるCD33/CD3特異的二重特異性抗体コンストラクトによる治療期間に生じる可能性がある有害作用を軽減又はさらに予防することを確立している。

【0205】

グルココルチコイド（GC）は、依然として、炎症性障害及び自己免疫疾患の治療のために最も広範に使用される免疫抑制剤である。グルココルチコイド（GC）は、ヒトを含むほぼ全ての脊椎動物細胞において存在するグルココルチコイド受容体（GR）に結合するステロイドホルモンのクラスである。これらの化合物は、炎症の原因にかかわらず、強力な抗炎症剤である。グルココルチコイドは、とりわけ、サイトカインIL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8及びIFN- γ をコードする遺伝子を阻害することによって細胞性免疫を抑制する。

40

【0206】

GCの群に属するコルチゾンは、アジソン病から関節リウマチまでの範囲の多くの病気に対処するために使用される重要な治療薬である。抗リウマチ特性が発見され、特効薬としてその称賛がもたらされて以来、特定の病気により適切に対処するための特性を強化したコルチゾンの誘導体が多く作製されている。コルチゾンは、コルチコステロイドとして

50

知られるステロイドの群に属する。これらのステロイドは、腎臓の近くにある副腎の外部である副腎皮質によって産生される。コルチコステロイドは、2つの主要な群：脂肪、タンパク質、カルシウム及び炭水化物代謝を制御するグルココルチコイド（GC）並びにナトリウム及びカリウムレベルを制御する鉱質コルチコイドに分類される。コルチゾンは、前者の群、すなわちGCに属する。コルチゾン及びその多くの誘導体は、様々な疾患のために使用される。コルチゾンは、移植された臓器に存在する外来タンパク質に対する体の防御反応を最小化し、したがって移植された臓器の機能に悪影響を及ぼすことができるその能力に起因して、臓器移植を現実のものにするのにも役立った。しかしながら、50年を超える期間の臨床的使用にもかかわらず、免疫系の異なる細胞区画に対するGCの特異的な抗炎症効果は、依然として不明である。GCは、ほぼ全ての免疫系の細胞に影響を及ぼし、細胞型特異的機構に関するエビデンスが増えている。

10

【0207】

特定の一実施形態では、本発明は、CD33/CD3二重特異性抗体コンストラクトによって引き起こされる有害作用の寛解、治療又は予防における使用のためのグルココルチコイド（GC）に関する。上で概説されるとおり、これらの望まれない有害作用は、本明細書に記載されるとおりの段階的な投与によって予防され得る。しかし、単なる予防のために、患者における（免疫学的）有害作用の寛解、治療又は予防における使用のためのグルココルチコイドが提供され得、前記患者は、CD33/CD3二重特異性抗体コンストラクトによる療法に対する対象である。したがって、1つのさらなる態様において、本発明は、本発明によるCD33/CD3二重特異性抗体コンストラクトによって引き起こされる免疫学的有害作用の寛解、治療又は予防における方法における使用のためのグルココルチコイド（GC）に関する。

20

【0208】

また、本発明は、CD33/CD3二重特異性抗体コンストラクトによって引き起こされる免疫学的有害作用の寛解、治療又は予防の方法であって、それを必要とする患者にIL-6R遮断抗体トシリズマブ又はグルココルチコイド（GC）を投与することを含む方法に関する。GCは、好ましくは、CD33/CD3二重特異性抗体コンストラクトによって引き起こされる前記免疫学的有害作用を寛解させるか、治療するか又は予防するのに十分な量で投与される。

30

【0209】

用語「グルココルチコイド」は、グルココルチコイド受容体に好ましくは特異的に結合する化合物を意味する。前記用語は、コルチゾン、コルチゾール（ヒドロコルチゾン）、クロブレドノール、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、デフラザコート、フルオコルトロン、トリアムシノロン、デキサメタゾン、ベタメタゾン、コルチバゾール、パラメタゾン及び/又はフルチカゾンからなる群から選択される化合物、その薬学的に許容される誘導体を含む。本発明の実施形態に関連して、言及される化合物は、単独で又は組み合わせて使用され得る。デキサメタゾンが好ましい。しかしながら、本発明は、上記の特定のGCに限定されない。既に「グルココルチコイド」として分類されているか又は分類されることになる全ての物質は、本発明に関連しても利用され得ることが想定される。そのような将来のグルココルチコイドは、グルココルチコイド受容体に特異的に結合し、且つ活性化する化合物を含む。用語「GC受容体に特異的に結合する」は、本発明に一致して、GC（又はGCのように作用すると想定される化合物）が、GC受容体（NR3C1としても知られる）と、一般にタンパク質/受容体との会合と比較して（すなわち非特異的結合）、統計的に有意な程度まで会合する（例えば、相互作用する）ことを意味する。GC受容体がグルココルチコイドに結合するとき、その主要な作用機序は、遺伝子転写の調節である。GCの非存在下において、グルココルチコイド受容体（GR）は、熱ショックタンパク質90（hsp90）、熱ショックタンパク質70（hsp70）及びタンパク質FKBP52（FK506結合タンパク質52）を含む様々なタンパク質と複合体を形成したサイトゾル中に存在する。グルココルチコイド受容体（GR）に対するGCの結合は、熱ショックタンパク質の放出をもたらす。したがって、将来のGC又

40

50

はGCの薬学的に許容される誘導体若しくは塩は、好ましくは、GC受容体に結合し、且つ上記の熱ショックタンパク質を放出させることができると想定される。活性化GR複合体は、核内での抗炎症性タンパク質の発現を上方制御するか、又はサイトゾル中の炎症促進性タンパク質の発現を抑制する（サイトゾルから核への他の転写因子の移行を防ぐことにより）。

【0210】

好ましい実施形態では、前記GCは、デキサメタゾン、プロピオン酸フルチカゾン、プレドニゾン、メチルプレドニゾン、ベタメタゾン、トリアムシノロンアセトニド又はこれらの組合せのような最も臨床的に使用され、且つ適切なGCから選択される。

【0211】

さらにより好ましい実施形態では、前記GCは、デキサメタゾンである。

【0212】

デキサメタゾンは、最も一般的に使用されるステロイドの中で最も高いグルココルチコイド効力を有し、また最長の半減期を有する（下の表2を参照されたい）。しかし、当業者は、いくつかの本明細書で開示される他の既知のグルココルチコイドの1つを選択することができ、且つそれを必要とする患者の治療に起因する場合がある免疫学的有害事象を寛解させるか又は予防する適切な有効用量を選択することができる。

【0213】

【表2】

表2: ステロイド投与

薬剤	およその 換算用量	相対的 抗炎症性 (グルココルチコイド) 効力	相対的 鉱質コルチコイド (Na ⁺ 保持) 効力	生物学的 半減期 (時間)
コルチゾン	25	0.8	0.8	8-12
ヒドロコルチゾン	20	1	1	8-12
プレドニゾン	5	4	0.8	18-36
プレドニゾン	5	4	0.8	18-36
メチルプレドニゾン	5	5	0.5	18-36
デキサメタゾン	0.75	25	0	36-54

【0214】

デキサメタゾンは、場合によりCNSへの特異的な浸透に起因して、悪性中枢神経系（CNS）疾患（例えば、CNSリンパ腫又は脳腫瘍転移）における有益な効果も有する。それは、脳浮腫を治療するためにも優先的に（他のステロイドより）使用される。コルチコステロイドは、腫瘍自体における毛細血管透過性を低減するが、デキサメタゾンは、異なって作用し、且つ腫瘍から離れた総体流に対する作用によって浮腫を減少させ得ることが動物モデルにおいて見出されている（Molnar, Lapin, & Goothuis, 1995, Neurooncol. 1995; 25(1): 19-28）。

【0215】

CD33/CD3二重特異性抗体コンストラクトの適用と関連する臨床試験のために、本発明者らは、効率的且つ患者の大部分によって良好な耐容性が示されることになる治療レジメンを開発しなければならなかった。この目的のため、本発明者らは、本明細書で概説されるとおりのCD33/CD3二重特異性抗体コンストラクトの段階的な適用を適用した。それにより、有害作用は、数が減少され、寛解され、且つさらに予防できた。

【0216】

本発明の実施形態に従って使用されることになるGCの用量は、制限されず、すなわち

10

20

30

40

50

、それは、個々の患者の状況に依存することになる。GCは、静脈内又は経口投与され得る。しかしながら、GCの好ましい投与量としては、40mg（デキサメタゾン換算）までの投与のより低い方の端での1～6mg（デキサメタゾン換算）が挙げられる。前記投与量は、全て直ちに投与され得るか、又はより少ない投与量に細分され得る。細分された用量が好ましく、GCの用量は、本明細書に記載されるとおりの段階的な投与に従って第1及び/又は第2の用量の注入前に与えられ、且つGCの他の用量は、本明細書に記載されるとおりの段階的な投与に従って第2又は第3の用量の投与前に与えられる。したがって、GCは、好ましくは、1つの治療サイクル当たり2回投与される。さらにより好ましくは、GCは、治療サイクルの開始又は前記治療サイクル内で次に高い用量の投与の開始の24、若しくは8時間、若しくは4時間、若しくは1時間前に投与される。この点に関して、1時間が最も好ましい。用量は、それぞれ1～40mg、好ましくは5～20mg、最も好ましくはそれぞれ8mgである。「d」は、1日を意味する。さらなる投与計画は、添付の実施例から導き出すことができる。本段落において与えられる全ての投与量は、デキサメタゾン換算を指す。

10

20

30

40

50

【0217】

本明細書で使用する場合、用語「有効且つ非毒性用量」は、重大な毒性作用を生じさせずに又は本質的に生じさせずに、病的細胞の激減、腫瘍の除去、腫瘍の縮退又は疾患の安定化をもたらすのに十分高い、二重特異性抗体コンストラクトの許容用量を指す。そのような有効且つ非毒性用量は、例えば、当技術分野で記載されている用量漸増試験によって決定され得、その用量は、重篤な有害副事象を誘発する用量未満であるべきである（用量制限毒性、DLT）。

【0218】

代わりに、トシリズマブは、前投薬において使用され得る。

【0219】

本明細書で使用する場合、用語「毒性」は、有害事象又は重篤な有害事象として現れる薬物の毒性作用を指す。これらの副事象は、全身的な薬物忍容性の欠如及び/又は投与後の局所的な忍容性の欠如を指す場合がある。毒性は、その薬物によって引き起こされる催奇性作用又は発癌性作用も含み得る。

【0220】

本明細書で使用する場合、用語「安全性」、「インビボ安全性」又は「忍容性」は、投与直後（局所忍容性）及びより長期の薬物適用期間中に重篤な有害事象を誘発しない薬物の投与と定義される。「安全性」、「インビボ安全性」又は「忍容性」は、例えば、治療中及び経過観察期間中に定期的に評価することができる。測定値は、臨床評価、例えば臓器の所見及び臨床検査値異常のスクリーニングを含む。臨床評価が実施され、NCI-CTC及び/又はMedDRA標準に従って正常所見からの逸脱が記録/コード化され得る。臓器の所見は、例えば、Common Terminology Criteria for adverse events v4 (CTCAE)に示される、アレルギー/免疫学、血液/骨髄、心不整脈、凝固などの基準を含み得る。試験され得る検査パラメータは、例えば、血液学、臨床化学、凝固プロファイル及び尿検査並びに他の体液、例えば血清、血漿、リンパ液又は脊髄液、髄液などの検査を含む。したがって、安全性は、例えば、身体検査、画像化技術（すなわち超音波、x線、CTスキャン、磁気共鳴画像法（MRI）、技術的デバイスを用いた他の計測（すなわち心電図）、バイタルサインにより、検査パラメータを測定し、有害事象を記録することにより評価することができる。例えば、本発明による使用及び方法において、チンパンジーではない霊長類における有害事象は、組織病理学的方法及び/又は組織化学的方法により試験され得る。

【0221】

上記の用語は、例えば、1997年7月16日のPreclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meet

ingでも参照されている。

【0222】

本発明の方法の好ましい実施形態では、治療の第1のサイクルのみは、工程(a)による投与を含む一方、その後のサイクルは、工程(b)、(c)又は(d)による用量で開始する。

【0223】

二重特異性抗体コンストラクトの第1の結合ドメインは、配列番号10~12及び14~16、22~24及び26~28、34~36及び38~40、46~48及び50~52、58~60及び62~64、70~72及び74~76、82~84及び86~88、94~96及び98~100からなる群から選択される6つのCDRの群を含むことが本発明の方法のために好ましい。

10

【0224】

また、本発明の方法の好ましい実施形態に一致して、二重特異性抗体コンストラクトの第2の結合ドメインは、国際公開第2008/119567号パンフレットの配列番号9~14、27~32、45~50、63~68、81~86、99~104、117~122、135~140、153~158及び171~176からなる群から選択される6つのCDRの群を含む。

【0225】

本発明の方法の好ましい実施形態では、二重特異性抗体コンストラクトは、ある二重特異性抗体コンストラクトである。

20

【0226】

さらに、二重特異性抗体コンストラクトは、配列番号18、19、20、30、31、32、42、43、44、54、55、56、66、67、68、78、79、80、90、91、92、102、103、104、105、106、107及び108からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む一本鎖コンストラクトであることが本発明の方法のために好ましい。

【0227】

本発明の方法の一実施形態では、二重特異性抗体コンストラクトは、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、ヒストンデメチラーゼ阻害剤及びATRA(全トランス型レチノイン酸)からなる群から選択される1つ以上のエピジェネティック因子と組み合わせて投与され、

30

(a) 1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与前に投与されるか；

(b) 1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与後に投与されるか；又は

(c) 1つ以上のエピジェネティック因子及び二重特異性抗体コンストラクトは、同時に投与される。

【0228】

1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与の7日前まで投与されることが本発明の方法のために好ましい。

40

【0229】

本発明の方法の一実施形態のために、エピジェネティック因子は、ヒドロキシ尿素であることが好ましい。

【0230】

上記のとおり、本発明に一致して、骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄性樹状細胞白血病、移行期慢性骨髄性白血病、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性多血症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄性白血病、骨髄肉腫及び急性混合型白血

50

病からなる群から選択される。骨髄性白血病は、急性骨髄性白血病（AML）であることが好ましい。

【0231】

また、一実施形態では、本発明は、好ましくは骨髄性白血病の治療のための医薬組成物の調製のための、CD33に特異的に結合する第1の結合ドメイン及びCD3に特異的に結合する第2の結合ドメインを含む二重特異性抗体コンストラクトの使用を提供し、二重特異性抗体コンストラクトは、14日間を超えて投与された後、コンストラクトの投与を伴わない少なくとも14日の期間が続くことになる。

【0232】

二重特異性抗体コンストラクトは、以下の工程：

- (a) 二重特異性抗体コンストラクトの第1の用量の投与、続いて
 - (b) 二重特異性抗体コンストラクトの第2の用量の投与であって、前記第2の用量は、前記第1の用量を超える、投与、続いて
 - (c) 二重特異性抗体コンストラクトの第3の用量の投与であって、前記任意選択による第3の用量は、前記第2の用量を超える、投与、任意選択により、続いて
 - (d) 二重特異性抗体コンストラクトの第4の用量の投与であって、前記任意選択による第3の用量は、前記第3の用量を超える、投与
- を含むスケジュールに従って投与されることになることが本発明の使用に好ましい。

10

【0233】

本発明の使用の好ましい実施形態では、治療の第1のサイクルのみは、工程(a)による投与を含む一方、その後のサイクルは、工程(b)、(c)又は(d)による用量で開始する。

20

【0234】

二重特異性抗体コンストラクトの第1の結合ドメインは、配列番号10~12及び14~16、22~24及び26~28、34~36及び38~40、46~48及び50~52、58~60及び62~64、70~72及び74~76、82~84及び86~88、94~96及び98~100からなる群から選択される6つのCDRの群を含むことが本発明の使用のために好ましい。

【0235】

また、本発明の使用の好ましい実施形態に一致して、二重特異性抗体コンストラクトの第2の結合ドメインは、国際公開第2008/119567号パンフレットの配列番号9~14、27~32、45~50、63~68、81~86、99~104、117~122、135~140、153~158及び171~176からなる群から選択される6つのCDRの群を含む。

30

【0236】

本発明の使用の好ましい実施形態では、二重特異性抗体コンストラクトは、ある二重特異性抗体コンストラクトである。

【0237】

さらに、二重特異性抗体コンストラクトは、配列番号18、19、20、30、31、32、42、43、44、54、55、56、66、67、68、78、79、80、90、91、92、102、103、104、105、106、107及び108からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む一本鎖コンストラクトであることが本発明の使用のために好ましい。

40

【0238】

本発明の使用の一実施形態では、二重特異性抗体コンストラクトは、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤、DNAメチルトランスフェラーゼ（DNMT）I阻害剤、ヒドロキシ尿素、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）、ヒストンデメチラーゼ阻害剤及びATRA（全トランス型レチノイン酸）からなる群から選択される1つ以上のエピジェネティック因子と組み合わせて投与され、

- (a) 1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与前に

50

投与されるか；

(b) 1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与後に投与されるか；又は

(c) 1つ以上のエピジェネティック因子及び二重特異性抗体コンストラクトは、同時に投与される。

【0239】

1つ以上のエピジェネティック因子は、二重特異性抗体コンストラクトの投与の7日前まで投与されることが本発明の使用のために好ましい。

【0240】

本発明の使用の一実施形態のために、エピジェネティック因子は、ヒドロキシ尿素であることが好ましい。

10

【0241】

上記のとおり、本発明に一致して、骨髄性白血病は、急性骨髄芽球性白血病、慢性好中球性白血病、骨髄性樹状細胞白血病、移行期慢性骨髄性白血病、急性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性好塩基球性白血病、急性好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、急性巨核芽球性白血病、本態性血小板増加症、急性赤白血病、真性多血症、骨髄異形成症候群、急性汎骨髄性白血病、骨髄肉腫及び急性混合型白血病からなる群から選択される。骨髄性白血病は、急性骨髄性白血病 (AML) であることが好ましい。

【0242】

本発明の方法に感受性があると考えられる患者集団は、前骨髄球性白血病 (APML) を除く1つ以上の治療過程後に持続するか又は再発するWHO分類によって定義されたとおりのAMLである。患者集団は、前の骨髄異形成症候群に続いて起こるAMLを含み得る。好ましくは、患者集団は、前骨髄球性白血病 (APML) 及び前の骨髄異形成症候群に続いて起こるAMLを除く、少なくとも1つの一次の誘導過程後に持続する/難治性 (すなわち少なくとも1つの前の化学療法サイクル後に応答しない) 又は化学療法に対する最初の応答を達成した後に再発するWHO分類によって定義されたとおりのAMLを含む。さらに、好ましい患者集団は、骨髄中に1%を超える芽球、好ましくは5%を超える芽球を有することによって特徴付けられる。通常、患者集団のECOGパフォーマンスステータスは、2未満である。

20

30

【0243】

一般的な定義

本明細書で使用する場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」及び「その」は、文脈により別段の明確な指示がない限り、複数の指示対象を含むことに注意しなければならない。したがって、例えば、「試薬」に対する参照は、1つ以上のこのような種々の試薬を含み、「方法」に対する参照は、本明細書に記載される方法のために改変され得るか、又は本明細書に記載される方法と置換され得る、当業者に知られる均等な工程及び方法に対する参照を含む。

【0244】

当業者であれば、単なる通例的な実験により、本明細書に記載される本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識することになるか又は確認することができるであろう。このような均等物は、本発明に包含されるものとする。

40

【0245】

用語「及び/又は」は、本明細書のいずれの箇所で使用される場合でも、「及び」、「又は」及び「前記用語によって接続される要素の全て又は任意の他の組み合わせ」の意味を含む。

【0246】

用語「約」又は「近似的に」は、本明細書で使用されるとき、所与の値又は範囲の $\pm 20\%$ 以内、好ましくは $\pm 15\%$ 以内、より好ましくは $\pm 10\%$ 以内及び最も好ましくは $\pm 5\%$ 以内を意味する。

50

【0247】

本明細書及びそれに続く特許請求の範囲の全体において、文脈上他の意味が要求されない限り、「含む (comprise)」という語並びに「含む (comprises)」及び「含んでいる」などのパリエーションは、述べられる整数若しくは工程又は整数若しくは工程の群を含むことを意味するが、任意の他の整数若しくは工程又は整数若しくは工程の群を除外することを意味するものではないことを理解されたい。本明細書で使用する場合、用語「含む」は、用語「含有する」若しくは「包含する」又は本明細書で使用する場合ときに用語「有する」とも置き換えることができる。

【0248】

本明細書で使用する場合、「～からなる」は、請求項の要素で特定されていない任意の要素、工程又は成分を除外する。本明細書で使用する場合、「～から本質的になる」は、請求項の基本的及び新規の特徴に実質的に影響を及ぼさない材料又は工程を除外しない。

10

【0249】

本明細書では、各場合において、「含む」、「～から本質的になる」及び「～からなる」という用語のいずれかを他の2つの用語のいずれかに置き換え得る。

【0250】

本明細書の本発明は、特定の方法論、プロトコル又は試薬に限定されず、そのため、変動し得ることが理解されるべきである。本明細書で提供される議論及び実施例は、特定の実施形態を説明することを目的として示されているに過ぎず、特許請求の範囲によってのみ定義される本発明の範囲を限定することを意図されない。

20

【0251】

本明細書の本文全体において引用されている全ての刊行物及び特許（全ての特許、特許出願、科学刊行物、製造業者の仕様書、説明書などを含む）は、上記であっても下記であっても、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。本明細書のいかなる内容も、本発明が、先発明によってこのような開示に先行する権利を有しないことを承認するものとして解釈すべきではない。参照により組み込まれる資料が本明細書と矛盾又は一致しない限り、本明細書は、いかなるこのような資料よりも優先される。

【実施例】

【0252】

以下の実施例は、本発明の具体的な実施形態又は特徴を例示する目的で提供されるものである。これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。実施例は、例示のために含まれ、本発明は、特許請求によってのみ限定される。

30

【0253】

実施例 1 :

この試験の目的は、 r/r AMLを呈している患者の予後を評価することであった。

【0254】

方法

データは、白血病を有する患者の経験を反映する臨床データの包括的な収集物であるMDアンダーソン癌センター (Anderson Cancer Center) 白血病中央データリポジトリに由来する。含まれる患者は、2002年～2016年にMDACCでの少なくとも1つの治療過程にわたって r/r AMLについて治療された。この試験に含まれるとき、患者は、前に少なくとも1つの治療の失敗を有し、AML診断時の年齢が18歳以上であり、精巣又はCNS髄外疾患がなかった。急性前骨髄球性白血病の診断は、除外された。

40

【0255】

患者の記述的な特徴は、平均及び標準偏差並びに λ 又は中央値及び四分位間範囲とともに要約された。完全寛解 (CR) 率及び不完全な血液学的回復を伴う完全寛解 (CRi) 率は、Wald 95%信頼区間を伴う比率として記載された。特定の時間間隔 3/6/9/12ヶ月における Kaplan-Meier の中央値及び確率を使用して、Wald 95%信頼区間により事象分析までの時間を推定した。部分群分析は、Wald カイ二乗試験

50

を使用した。

【0256】

結果

合計で1021名の患者が含まれた。含まれる患者の年齢中位数は、60歳であり、最初の再発性/難治性AMLは、患者の43% (n = 439) に関して2011~2016年に発生した。少なくとも1つの染色体異常は、集団の53.3% (n = 546) に存在し、34.5% (n = 352) は、先行している血液疾患の履歴を有し、且つ10.5% (n = 107) は、療法に誘導されるAMLであった。利用可能な誘導記録を有する患者に関して、およそ46% (295 / 635) は、難治性であった。誘導までCRを達成した患者の中で、45% (118 / 264) は、6ヶ月未満のCR期間を有した。

10

【0257】

全体的に、全てのr/r AML患者のわずかな比率が第2の完全寛解(CR2)を達成できる。CR率は、その後のサルベージの試行毎に低下する(表1)。比率は、60歳未満の患者の中でより低い。様々な型のサルベージレジメンの中で、CRの範囲は、0~36%であった。高用量のシタラピンに基づくレジメンは、最も一般的であった(n = 299)。試料サイズは、中程度であったが、FLT3阻害剤を含有するレジメンは、最も高いCR及びCR/CRi率(36% CR2、33% CR3)を誘導した(表2)。年齢、細胞遺伝学、先行している疾患、第1の寛解の期間及び再発の年は、CR率と関連した。

20

【0258】

全生存期間及び無再発生存期間は、中程度であり、その後のサルベージとともに減少した(表3)。年齢、細胞遺伝学、前駆疾患、初発/療法に誘発されたAML、最初の寛解の期間及び血小板数は、生存期間と関連した。

【0259】

結論

全体的に、大部分の患者は、第2の又はさらなるCR2を達成できなかった。第2の治療の失敗又は再発後に引き続くCRを達成できる患者は、少なかった。EFSは、CRを達成できない大部分の患者のために短い。第1のサルベージ時でさえ、OSは、1年未満である。これらのデータは、再発性又は難治性AML患者が芳しくない全体的な予後及び患者のための追加の選択肢の必要性を有することを実証している。これらのデータは、様々な異なるエンドポイントのためのAMLにおける新しいプロトコル及び治療選択肢の開発を導く一助として使用され得る。

30

【0260】

実施例2

この試験の目的は、R/R AMLにおけるCD33xC D3二重特異性抗体コンストラクトの安全性、薬物動態及び薬物動力学を評価すること並びに最大耐用量を推定することであった。

【0261】

方法(図1を参照されたい):これは、R/R AMLを有する患者において、最初の3用量に関して単一患者コホート、その後、1コホート当たり3~6名の患者により、CD33xC D3二重特異性抗体コンストラクトを持続IV注入として評価する第1相用量漸増試験であった(NCT02520427)。応答は改訂されたIWG基準に基づき、部分的な血液学的回復を伴う完全奏効(CR)の追加を有した。用量制限毒性(DLT)を伴わない第1のサイクルを完了した後、最大5つの追加のサイクルが臨床的有用性のために与えられ得る。30µg/日(d)コホート後、段階的な投与及びコルチコステロイドの単回投与による前治療を含むサイトカイン放出症候群(CRS)のためのリスク軽減対策が行われた。改変された治療レジメンは、10µg/d x 4dの最初の導入用量に続く標的用量からなった。次に、2工程のレジメン、すなわち14d又は28dの治療期間に10µg/d、60µg/d、続いて標的用量、続いて1~4週の無治療が試験された。

40

50

【0262】

結果（表1～3、図2～4を参照されたい）：35名の患者は、この進行中の試験において0.5～480 μ g/dの標的用量範囲を有する12の用量コホートに登録した。患者の半数超（20/35、57%）は、男性であり、年齢中央値は、58歳（範囲：18～80歳）であり；14/35（40%）は、以前に幹細胞移植を受けたことがある。ベースライン時のAML疾患期間の中央値は、1.3（範囲：0.3～9.6）年であり、ベースライン時の芽球の割合の中央値は、37%（範囲：3%～95%）であり、且つ前治療の中央値#は、4回（範囲：1～15）であった。ベースラインANCの中央値は、0.2（範囲：0～8.6） $\times 10^9/L$ であった。

【0263】

患者は、CD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトによる1（範囲：1～6）サイクルの中央値を受け；31/35（89%）患者は、疾患進行（n=24）、有害事象（AE；n=5、2つの治療関連）及び患者の要求（n=2）のために治療を中断した。1名の患者は、許容される最大の6サイクルを完了し、3名の患者は、依然として試験薬物を受容している。重篤なAE（SAE）は、23/35（66%）の患者に認められた（15名の患者では治療関連）；1名を超える患者に認められたSAEとしては、CRS（n=11）、発熱性好中球減少症（n=6）、肺炎（n=4）、白血球減少症（n=3）、血小板減少症（n=2）及び硬膜下血腫（n=2）が挙げられ；1名の患者は、AML進行により試験中に死亡した（治療関連ではない）。10 μ g/d及び30 μ g/dコホート（導入期なし）で各1名の患者が重篤なCRSを経験し；CRSの徴候及び症状は、コルチコステロイド、昇圧剤及びIV液並びにCD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトの中断により、1dで回復した。480 μ g/dの標的用量によりグレード2 CRS及びグレード4心室細動のDLTがあり；次に標的用量を240 μ g/dに減少させた。

【0264】

2名の患者は、240 μ g/dの標的用量（10 μ g/d～60 μ g/dの導入）でCRを有し；120 μ g/d及び240 μ g/dの各標的用量で1名の患者は、CRiを有し、且つ1.5 μ g/dを受容した1名の患者は、形態学的無白血病状態（MLFS、<5%芽球、非血液学的回復）を有した。CRを有する1名の患者は、フローサイトメトリーによって29日目までに約5%～10%から（斑状疾患と推定される）2.5%までの骨髓芽球の減少を有し、残存AML及び正常～富細胞性骨髓の形態学的エビデンス並びに末梢血数の回復を伴わなかった。第2のCR患者は、1サイクルのCD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトを受容した後、42日目までに抹白血数の回復を伴って40%から3%の芽球の減少を有した。相関的なデータが示されることになる。

【0265】

結論：480 μ g/dまで投与されたCD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトの予備的なデータは、高度に前治療されたR/R AMLを有する患者において忍容性及び抗白血病活性の初期の有望なエビデンスを提供する。予想されるCRSは、必要に応じて漸増的投与、コルチコステロイド前治療、IV液、トシリズマブ及び薬物中断により軽減され；大部分の患者は、治療に対して十分に応答した短い期間のCRSを有した。2段階の手法は、標的用量を迅速に達成し、且つ臨床応答を最適化するために将来的に使用されることになる。現在まで、2名のCR及び2名のCRiが120及び240 μ g/dの標的用量で観察されている。ほぼ全ての患者は、ベースラインで実質的に血球減少症であったため、血球減少症に対するCD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトの影響を評価することが課題である。注目すべきことに、両方のCR患者は、1サイクルの治療後に血球数の完全な回復を有した。これらの有望なデータは、CD33を標的化するBiTE（登録商標）プラットフォームの使用を確認する。

【0266】

実施例3

この試験の目的は、CD33 \times CD3二重特異性抗体コンストラクトに関する用量制限

10

20

30

40

50

毒性 (DLT) 期間を短縮することであった。他の実施例において適用される DLT 期間は、治療サイクル (例えば、4 週間) 及び例えばサイクルの終了後の 2 週間の追加の無治療期間を含んだ。この試験は、実際の治療期間に焦点を合わせ、DLT 期間からのサイクル期間後の 2 週間は、第 1 のサイクル後に除かれた。

【0267】

結論：これらの変化は、登録された将来の対象に関する配列番号 104 のベネフィット：リスクプロファイルを改善した。試験 20120252 は、再発性又は難治性急性骨髄性白血病 (AML) を有する対象における配列番号 104 の安全性、忍容性、薬物動態、薬物動力学及び有効性を評価するために設計され、現在、ドイツ、オランダ及びアメリカ合衆国 (US) において実施されている。

10

【0268】

DLT 期間の更新のための根拠：2 週間の無薬物期間は、以前に、完全奏功 (CR) を達成している患者における末梢血液細胞の回復の動態をモニターするために DLT 期間に加えられた。成熟骨髄細胞及び骨髄前駆細胞は、CD33 を発現するため、配列番号 104 による治療が、持続的な骨髄抑制によって反映される骨髄系列の阻害をもたらし得ることが懸念であった。骨髄系列に対する配列番号 104 の効果を調査するために、絶対好中球数 (ANC) が全ての治療対象において分析された。コホート 11、12 及び 13 に登録された対象は、2 つの用量段階のスケジュール (すなわちスケジュール 3 : 10 µg / 日の第 1 の用量段階後に 60 µg / 日の第 2 の用量段階、続いて標的用量) により治療された。個々の対象の結果の概説は、コホート 11 ~ 13 において治療された大部分の対象がベースラインでグレード 3 ~ 4 の好中球減少症 (根底にある疾患の性質の反映) を有することを示した (図 6)。同様の結果は、スケジュール 1 (コホート 1 ~ 5、用量段階を伴わない標的用量漸増) 及びスケジュール 2 (コホート 6 ~ 10、10 µg / 日の 1 つの用量段階後に標的用量) において治療された対象に関して得られた (データは示さず)。

20

【0269】

大部分の対象は、好中球減少性のままであったが、一部の対象は、配列番号 104 による治療中に好中球数の改善を示した。各コホートからのデータの概説は、ベースラインとサイクル治療の終わりとの間で好中球数の臨床的に意味のある変化を示さなかった。さらに、コホート 11 ~ 13 で治療された対象の大部分は、疾患進行により DLT 期間 (すなわち無薬物期間) の最後の 2 週を完了しなかった。しかしながら、コホート 11 及び 12 で治療された 2 名の対象は、完全な血液学的回復を有する CR を達成したが、これは、配列番号 104 が正常な造血発生に支障をきたさない場合があることを示唆している。

30

【0270】

DLT 期間にコホート 11 (240 µg)、12 (240 µg) 及び 13 (360 µg) において治療された患者の末梢血中の絶対好中球数が示される (図 6)。平均 ± SE が示される。G4 線 (下方の線) 及び G3 ライン (上方の線) は、CTCAE によってグレード 4 及び 3 の好中球減少症を示す。

【0271】

FIH 試験における臨床データの分析に加えて、循環単球及び好中球に対する持続静脈内 (CIV) 又は皮下 (SC) 投与による配列番号 104 の潜在的な効果は、カニクイザルにおける優良試験所基準 (GLP) を遵守した 28 日の繰り返し投与毒性試験において評価された (試験 119422、配列番号 104 : カニクイザルにおける 28 日持続静注又は皮下毒性試験)。血液学評価は、事前試験 (2 回) 及び 1 日目 (4 時間)、2 日目、10 日目及び 29 日目に実施された。3、10 及び 30 µg / kg / 日 CIV 及び 25 µg / kg / 日 SC 用量群における単球の減少並びに / 又は 10 及び 30 µg / kg / 日 CIV 及び 25 µg / kg / 日 SC 用量群における好中球の減少は、1 又は 2 日目に検出された。減少は、5 段階尺度 (最小、軽度、中程度、顕著、重度) に対して「軽度 ~ 顕著」として類別された。循環単球の数は、29 日目までに投与前値まで有利に回復し、循環好中球の数は、29 日目までに投与前値まで回復した。したがって、配列番号 104 に誘導される循環骨髄細胞の減少は、28 日目まで薬物曝露を維持した 3、10 及び 3

40

50

0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ C I V 群における動物のように単に一過的であった。

【0272】

血小板は、C D 3 3 陰性であり、且つ配列番号 1 0 4 によって直接的に標的化されないが、それらは、C D 3 3 を発現する骨髄前駆細胞に起源を有する。したがって、末梢血中の血小板数を査定して、一般的な骨髄前駆細胞に対する配列番号 1 0 4 の潜在的な阻害効果を評価した。コホート 1 1 ~ 1 3 において治療された対象における血小板数の分析は、対象の大部分がベースライン時に血小板減少性であることを示した。配列番号 1 0 4 による治療中の血小板動態の概説は、ベースラインと比較して血小板数における臨床的に意味のある変化を示さなかった（図 7）。この知見は、C I V 経路による 1 0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ の配列番号 1 0 4 の投与が単にカニクイザルの血小板数の一過的且つ最小の減少をもたらしたことを示す毒性試験の結果と一致する。

10

【0273】

D L T 期間にコホート 1 1 (2 4 0 μg)、1 2 (2 4 0 μg) 及び 1 3 (3 6 0 μg) において治療された患者の末梢血中の血小板数が示される。平均 \pm S E が示される。G 4 線（下方の線）及び G 3 ライン（上方の線）は、C T C A E によってグレード 4 及び 3 の好中球減少症を示す。

【0274】

C R S は、試験 2 0 1 2 0 2 5 2 においてオンターゲット毒性として定義された。C R S の発症及び回復の動態を理解するため、既存のスケジュールで治療されたコホート 1 1、1 2 及び 1 3 における対象に関して利用可能なデータが分析された。全ての C R S 事象の発症は、配列番号 1 0 4 投与の最初の 1 0 日以内、すなわち用量段階及び / 又は標的用量若しくはその直後に発生した。同様の動態は、コホート 1 ~ 1 0 において治療された対象において観察された（データは示さず）。この知見は、C R S が、用量投与又は用量増加後、早急に観察される急性毒性であるという既存の知識と一致する。これまでの対象において、C R S の遅延は、観察されていない。したがって、提案された D L T 期間（標的用量に対して少なくとも 1 4 日を伴う合計で 4 週間）は、C R S が回復するのに十分な時間を提供する。さらに、グレード 2 ~ 3 C R S が 7 日以内に回復しない状況下では、プロトコルにより D L T として分類される。

20

【0275】

D L T 期間中にコホート 1 1 (2 4 0 μg)、1 2 (2 4 0 μg) 及び 1 3 (3 6 0 μg) において治療された患者における C R S の発症及び回復が示される。左のデータは、初期用量及び D L T 期間の再開をもたらす用量の再開を示す。右のデータは、最終 D L T 期間の開始に標準化される。

30

【0276】

要約すると、試験 2 0 1 2 0 2 5 2 の例示的なコホート 1 1 ~ 1 3 における絶対好中球数は、対象がベースラインで骨髄抑制され、好中球数における減少が配列番号 1 0 4 による治療後に観察されないことを示した。これは、骨髄系列に対する配列番号 1 0 4 の効果が薬物曝露の早い段階で生じ、実際には一過性であったカニクイザルにおける試験と一致する。さらに、試験 2 0 1 2 0 2 5 2 のコホート 1 1 ~ 1 3 における C R S の発症は、毒性の遅延のいずれのエビデンスも伴わずに、配列番号 1 0 4 の所与の用量段階及び標的用量の最初の 1 0 日以内に生じた。これらの知見に基づいて、D L T 期間を標準の 4 週まで短縮することができ（標的用量に対して少なくとも 1 4 日）、C R S の発症及びその回復、効率的な患者内増加並びに全体的な患者の安全性をモニタリングすることを可能にする。

40

【0277】

実施例 4

副作用（C R S 事象）の回避又は減弱の評価

例示的なコホート 1 ~ 1 4 （標的用量 0 . 5 ~ 4 8 0 μg ）において治療された 4 6 名の対象のうち、治療された 4 6 名の対象のうちの 2 9 名（6 3 %）がいくらかの C R S の事象を経験した。2 9 名の対象は、C R S の 5 6 の事象を経験し、その重症度は、2 9 /

50

56 (52%) グレード 1、21 / 56 (37.5%) グレード 2、4 / 56 (7%) グレード 3 及び 2 / 56 (3.5%) グレード 4 であった。CRS のグレード 5 の事象はなかった。薬物は、19 / 56 (34%) に関して中断され、1 / 56 (2%) のみが中止された。対象のうち 36 / 56 (64%) に関して、配列番号 104 による処置は行われなかった。したがって、最高グレードの副作用 CRS は、完全に回避することができ、比較的高いグレード 3 及び 4 は、希発の一桁の発生率まで減弱できた。治療の中断は、治療された患者の大部分で回避することができ、高度に進行した r / r AML に罹患している高位の患者を治療するための継続的な有効用量投与を確保できた。

【 0 2 7 8 】

【表 3】

表3: 臨床結果

I. サルベージ番号による完全寛解率				
サルベージ#	CR		CR+CRi	
	N	n	CR比率 (95% CI)	CR+CRi比率(95% CI)
第1	818	115	0.14 (0.12, 0.17)	0.20 (0.18, 0.23)
第2	809	71	0.09 (0.07, 0.11)	0.16 (0.14, 0.18)
第3	387	12	0.03 (0.02, 0.05)	0.08 (0.06, 0.10)
第4	191	6	0.03 (0.01, 0.07)	0.05 (0.02, 0.08)

レジメン型による完全寛解率	第1のサルベージ				第2のサルベージ			
	N	n	CR		N	n	CR+CRi	
			CR比率 (95% CI)	CR/CRi比率(95% CI)			CR+CRi比率(95% CI)	CR/CRi比率(95% CI)
HDシタラビン系	209	56	0.19 (0.14, 0.24)	0.24 (0.20, 0.30)	195	29	0.15 (0.10, 0.21)	0.20 (0.15, 0.26)
HDシタラビン系 FLT3	14	5	0.36 (0.13, 0.65)	0.36 (0.13, 0.65)	9	3	0.33 (0.07, 0.70)	0.44 (0.18, 0.73)
シタラビン系	24	5	0.21 (0.07, 0.42)	0.21 (0.07, 0.42)	24	0	0.00 (0.00, 1.00)	0.04 (0.07, 0.20)
LDシタラビン系	21	5	0.24 (0.08, 0.47)	0.24 (0.08, 0.47)	16	3	0.20 (0.04, 0.48)	0.20 (0.04, 0.48)
LDシタラビン系 FLT3	2	0	0.00 (0.00, 1.00)	0.00 (0.00, 1.00)	2	1	0.50 (0.01, 0.99)	0.50 (0.01, 0.99)
低メチル化	84	7	0.11 (0.05, 0.21)	0.16 (0.09, 0.26)	68	4	0.07 (0.02, 0.17)	0.21 (0.13, 0.33)
低メチル化 FLT3	59	3	0.05 (0.01, 0.14)	0.20 (0.12, 0.32)	75	2	0.03 (0.00, 0.08)	0.19 (0.12, 0.28)
治験	208	11	0.05 (0.03, 0.09)	0.11 (0.07, 0.15)	278	14	0.05 (0.03, 0.08)	0.10 (0.07, 0.14)
他の化学療法	47	8	0.17 (0.08, 0.31)	0.19 (0.09, 0.32)	41	8	0.20 (0.09, 0.35)	0.22 (0.11, 0.46)
ゲムツズマブ系	51	10	0.20 (0.10, 0.33)	0.22 (0.12, 0.35)	52	4	0.08 (0.02, 0.19)	0.10 (0.04, 0.25)
分子標的系 (例えば、FLT3)	29	5	0.17 (0.06, 0.36)	0.28 (0.17, 0.39)	62	3	0.05 (0.01, 0.13)	0.21 (0.13, 0.33)

サルベージ	N	事象	カブランマイヤー中央値 (95% CI)*		事象	カブランマイヤー中央値 (95% CI)*	
			N	無再発生存期間		N	無再発生存期間
第1	818	771	6.30 (5.74, 6.75)	818	811	1.77 (1.57, 1.90)	
第2	809	762	4.07 (3.70, 4.39)	809	788	1.41 (1.31, 1.57)	
第3	387	381	2.98 (2.66, 3.44)	387	380	1.21 (1.08, 1.34)	

*分析は幹細胞移植について修正されていない; N - 全ての評価可能な患者; n - 応答を有する全患者(CR又はCR/CRi)

【表 5】

18	CD33 AH3 HL x H2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVCKASGYTFITNYGMNWRQAPGGQLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRVTMSSDTS TAYLEINLSRSDDTAIYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTDFTLTIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDAVYCVRHGNGNSIYSWAYWGQGTITVSSGGGG SGGGGGGGGQTVVTEPSSLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLGVSQVPEDEAEYCALWYSNRWVFGGKTLTVL
19	CD33 AH3 HL x F12Q HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVCKASGYTFITNYGMNWRQAPGGQLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRVTMSSDTS TAYLEINLSRSDDTAIYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTDFTLTIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDAVYCVRHGNGNSIYSWAYWGQGTITVSSGGGG SGGGGGGGGQTVVTEPSSLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLGVSQVPEDEAEYCALWYSNRWVFGGKTLTVL
20	CD33 AH3 HL x I2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVCKASGYTFITNYGMNWRQAPGGQLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRVTMSSDTS TAYLEINLSRSDDTAIYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTDFTLTIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDAVYCVRHGNGNSIYSWAYWGQGTITVSSGGGG SGGGGGGGGQTVVTEPSSLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLGVSQVPEDEAEYCALWYSNRWVFGGKTLTVL
21	AF5ØCD33 VH	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFITNYGMNWRQAPGGQLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRVTMSSDTS TAYLELNLSRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVSS
22	AF5ØCD33 HCDR1	人.I	NYGMN
23	AF5ØCD33 HCDR2	人.I	WINTYTGEPTYADDFKGG
24	AF5ØCD33 HCDR3	人.I	WSWSGYYVYFDY
25	AF5ØCD33 VL	人.I	DIVMTQSPDSLTVSLGERITINCKSSQVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTDFT TLTIDSLQPEDSATIYCCQSAHFPIITFGQGRLEIK
26	AF5ØCD33 LCDR1	人.I	KSSQVLDSSKNKNSLA
27	AF5ØCD33 LCDR2	人.I	WASTRES
28	AF5ØCD33 LCDR3	人.I	QQSAHFPIIT
29	AF5ØCD33HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFITNYGMNWRQAPGGQLEWMGWINTYTGEPTYADDFKGRVTMSSDTS TAYLELNLSRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTDFTLTIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQGRLEIK

10

20

30

40

【表 6】

30	CD33 AF5 HL x H2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYGMNWVKQAPGGQLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARWSWSDGYIYFDYWGQGTITVIVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATIYICQQSAHFPITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTITVIVSSGGGGSGGGGGQTVVTVQEPSTLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLISGVQPEDEAEYICLVWYSNRWVFGGGTKLTVL
31	CD33 AF5 HL x F12Q HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYGMNWVKQAPGGQLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARWSWSDGYIYFDYWGQGTITVIVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATIYICQQSAHFPITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTITVIVSSGGGGSGGGGGQTVVTVQEPSTLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLISGVQPEDEAEYICLVWYSNRWVFGGGTKLTVL
32	CD33 AF5 HL x I2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITNYGMNWVKQAPGGQLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTSDTSTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARWSWSDGYIYFDYWGQGTITVIVSSGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATIYICQQSAHFPITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTITVIVSSGGGGSGGGGGQTVVTVQEPSTLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLISGVQPEDEAEYICLVWYSNRWVFGGGTKLTVL
33	AC8ØCD33 VH	人.I	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFITNYGMNWVKQAPGGQLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTSDTSTSTAYMEIRNLRNDDTAVYICARWSWSDGYIYFDYWGQGTITVIVSS
34	AC8ØCD33 HCDR1	人.I	NYGMN
35	AC8ØCD33 HCDR2	人.I	WINTYTGEPYADDFKGG
36	AC8ØCD33 HCDR3	人.I	WSWSGYYVYFDY
37	AC8ØCD33 VL	人.I	DIVMTQSPDLSLTVSLGERITINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSLQPEDSATIYICQQSAHFPITFGQGRLEIK
38	AC8ØCD33 LCDR1	人.I	KSSQSVLDSKKNKNSLA
39	AC8ØCD33 LCDR2	人.I	WASTRES

10

20

30

40

【表 7】

40	AC8 \emptyset CD33 LCDR3	人.I.	QQSAHFPIIT
41	AC8 \emptyset CD33 HL	人.I.	QVQLVQSGLAEVKKPGESVKVCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLRNDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDFTLTI DLSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGFNGSYISWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGGGGQTVVTPSPGGTFTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCYALWYSNRWVFGGKTLTVL
42	CD33 AC8 HL x H2C HL	人.I.	QVQLVQSGLAEVKKPGESVKVCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLRNDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDFTLTI DLSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGFNGSYISWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGGGGQTVVTPSPGGTFTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCYALWYSNRWVFGGKTLTVL
43	CD33 AC8 HL x F12Q HL	人.I.	QVQLVQSGLAEVKKPGESVKVCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLRNDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDFTLTI DLSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGFNGSYISWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGGGGQTVVTPSPGGTFTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCYALWYSNRWVFGGKTLTVL
44	CD33 AC8 HL x I2C HL	人.I.	QVQLVQSGLAEVKKPGESVKVCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLRNDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDFTLTI DLSLQPEDSATIYC QQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYICVRHGFNGSYISWAYWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGGGGQTVVTPSPGGTFTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCYALWYSNRWVFGGKTLTVL
45	AH11 \emptyset CD33 VH	人.I.	QVQLVQSGLAEVKKPGESVKVCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPYADDFKGRVTMTSDTST TAYMEISSLRSDDTAVYICARWSWSDGYVYFDYWGQGTFTVTVSS NYGMN
46	AH11 \emptyset CD33 HCDR1	人.I.	WINTYTGEPYADDFK
47	AH11 \emptyset CD33 HCDR2	人.I.	WSWSDGYVYFDY
48	HCDR3	人.I.	DI VMTQSPDSLTVSLGERFT INCKSSQSVLDSKKNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGI PDRFSGSGSGTDF TLTI DLSLQPEDSATIYCQQSAHFPIITFGQTRLEIK KSSQSVLDSKKNKNSLA
49	AH11 \emptyset CD33 VL	人.I.	
50	AH11 \emptyset CD33 LCDR1	人.I.	

10

20

30

40

【表 8】

51	AH110CD33 LCDR2	人.I	WASTRES	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFTNYGMNHWKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPTIYADDFKGRVTMTSDTSTS TAYMEISLRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIIFGQGRLEIKSGGGSEVQLVPSGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGTFGNSIYSWAYWGQGTITVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGGTITVTVSSGGTAVTSGYYPNHWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLISGVPQPEDEAEYICVWYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGTCLLTVL
52	AH110CD33LCDR3	人.I	QQSAHFPIIT	
53	AH110CD33 HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFTNYGMNHWKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPTIYADDFKGRVTMTSDTSTS TAYMEISLRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIIFGQGRLEIKSGGGSEVQLVPSGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGTFGNSIYSWAYWGQGTITVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGGTITVTVSSGGTAVTSGYYPNHWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLISGVPQPEDEAEYICVWYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGTCLLTVL	
54	CD33 AH11 HL x H2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFTNYGMNHWKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPTIYADDFKGRVTMTSDTSTS TAYMEISLRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIIFGQGRLEIKSGGGSEVQLVPSGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGTFGNSIYSWAYWGQGTITVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGGTITVTVSSGGTAVTSGYYPNHWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLISGVPQPEDEAEYICVWYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGTCLLTVL	
55	CD33 AH11 HL x F12Q HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFTNYGMNHWKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPTIYADDFKGRVTMTSDTSTS TAYMEISLRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIIFGQGRLEIKSGGGSEVQLVPSGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGTFGNSIYSWAYWGQGTITVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGGTITVTVSSGGTAVTSGYYPNHWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLISGVPQPEDEAEYICVWYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGTCLLTVL	
56	CD33 AH11 HL x I2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFTNYGMNHWKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPTIYADDFKGRVTMTSDTSTS TAYMEISLRSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFLTIIDSLQPEDSATIYC QQSAHFPIIFGQGRLEIKSGGGSEVQLVPSGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYCVRHGTFGNSIYSWAYWGQGTITVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGGTITVTVSSGGTAVTSGYYPNHWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLISGVPQPEDEAEYICVWYVYFDYWGQGTITVTVSSGGGGGGGGGGTCLLTVL	
57	B30CD33 VH	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFTNYGMNHWKQAPGQGLKMMGWINTYTGEPTIYADDFKGRVTMTSDTSTS TAYMELRNLKSDDTAVYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTITVTVSS NYGMN	
58	B30CD33 HCDR1	人.I	WINTYTGETNYADKFOQ	
59	B30CD33 HCDR2	人.I	WSWSDGYVYFDY	
60	B30CD33 HCDR3	人.I		
61	B30CD33 VL	人.I	DI VMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSKNKNSLAWYQQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDF TLTIIDSLQPEDSATIYCQQSAHFPIIFGQGRLEIK	

10

20

30

40

【表 1 0】

73	F20CD33 VL	人.I.	DIVMTQSPDLSVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTFDF TLTIDSLQPEDSATYCCQSAHFPIITFGQGRLEIK
74	F20CD33 LCDR1	人.I.	KSSQSVLDSSTNKNLSLA
75	F20CD33 LCDR2	人.I.	WASTRES
76	F20CD33 LCDR3	人.I.	QOAHFPIIT
77	F20CD33 HL	人.I.	QVQLVQSGAEVKKPQGSVKVSCASGYFTTNYGMNWKQAPQGQGLEWVGWINTYTGETNYADKFKQGRVTFFTSDTSTS TAYMELRNLKSDDTAVYYCARWSWDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGSGGGGSDIVMTQSPDLSVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTFDFTLTIDSLQPEDSATYCC QOAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSSGGGG SGGGSGGGSQTVVTQPEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYYPNWWYQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL
78	CD33 F2 HL x H2C HL	人.I.	QVQLVQSGAEVKKPQGSVKVSCASGYFTTNYGMNWKQAPQGQGLEWVGWINTYTGETNYADKFKQGRVTFFTSDTSTS TAYMELRNLKSDDTAVYYCARWSWDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGSGGGGSDIVMTQSPDLSVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTFDFTLTIDSLQPEDSATYCC QOAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSSGGGG SGGGSGGGSQTVVTQPEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYYPNWWYQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL
79	CD33 F2 HL x F12Q HL	人.I.	QVQLVQSGAEVKKPQGSVKVSCASGYFTTNYGMNWKQAPQGQGLEWVGWINTYTGETNYADKFKQGRVTFFTSDTSTS TAYMELRNLKSDDTAVYYCARWSWDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGSGGGGSDIVMTQSPDLSVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTFDFTLTIDSLQPEDSATYCC QOAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSSGGGG SGGGSGGGSQTVVTQPEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYYPNWWYQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL
80	CD33 F2 HL x I2C HL	人.I.	QVQLVQSGAEVKKPQGSVKVSCASGYFTTNYGMNWKQAPQGQGLEWVGWINTYTGETNYADKFKQGRVTFFTSDTSTS TAYMELRNLKSDDTAVYYCARWSWDGYVYFDYWGQGTTVTVSSGGGSGGGGSDIVMTQSPDLSVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQKPGQPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGGTFDFTLTIDSLQPEDSATYCC QOAHFPIITFGQGRLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSSGGGG SGGGSGGGSQTVVTQPEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYYPNWWYQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL
81	B100CD33 VH	人.I.	QVQLVQSGAEVKKPQGSVKVSCASGYFTTNYGMNWKQAPQGQGLEWVGWINTYTGETNYADKFKQGRVTFFTSDTSTS TAYMELRNLKSDDTAVYYCARWSWDGYVYFDYWGQGTTVTVSS
82	B100CD33 HCDR1	人.I.	NYGMN
83	B100CD33 HCDR2	人.I.	WINTYTGETNYADKFKQ

10

20

30

40

【表 1 2】

95	E11ØCD33 HCDR2	人.I	WINTYGEPTYADKFQG
96	E11ØCD33 HCDR3	人.I	WSWSDGYVYFDY
97	E11ØCD33 VL	人.I	DIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDF TLTIDSPQPEDSATIYCQSAHFPIITFGQTRLEIK
98	E11ØCD33 LCDR1	人.I	KSSQSVLDSSTNKNLSLA
99	E11ØCD33 LCDR2	人.I	WASTRES
100	E11ØCD33 LCDR3	人.I	QOQSAHFPIIT
101	E11ØCD33 HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWVQKAPGGQLEWMGWINTYTGEPYADKFKQGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLGGDDTAVYICARMSWSDGYVYFDYWGGQTSVTYSSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATIYC QOQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEIYCVLWYSNRWVFGGTTKLTIVL
102	CD33 E11 HL x H2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWVQKAPGGQLEWMGWINTYTGEPYADKFKQGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLGGDDTAVYICARMSWSDGYVYFDYWGGQTSVTYSSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATIYC QOQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEIYCVLWYSNRWVFGGTTKLTIVL
103	CD33 E11 HL x F12Q HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWVQKAPGGQLEWMGWINTYTGEPYADKFKQGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLGGDDTAVYICARMSWSDGYVYFDYWGGQTSVTYSSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATIYC QOQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEIYCVLWYSNRWVFGGTTKLTIVL
104	CD33 E11 HL x I2C HL	人.I	QVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWVQKAPGGQLEWMGWINTYTGEPYADKFKQGRVTMTDTSTST TAYMEIRNLGGDDTAVYICARMSWSDGYVYFDYWGGQTSVTYSSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGE RTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATIYC QOQSAHFPIITFGQTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLVTVSSGGGG SGGGSGGGGQTVVTPSPGLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSG SLGGKAALTLVSGVQPEDEAEIYCVLWYSNRWVFGGTTKLTIVL
105	CD33 UD H2C HL x AF5 HL	人.I	EVQLVDSGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSD KNTAYLQMNILKTEDTAVYICVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLVTVSSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPDLSLTVSP GGTITLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEIYCA LWYSNRWVFGGTTKLTIVLSSGGGQVQLVQSGAEVKKPESVKVSCKASGYTFITNYGMNWVQKAPGQGLKMWGWINT YTGEPYADDFKGRVTMTSDTSTAYLELHNLRSDDTAVYICARMSWSDGYVYFDYWGGQTLVTVSSGGGGSGGG SGGGSDIVMTQSPDLSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPLKLLSWASTRESGIPDRFSG SGSGTDFTLTIDSPQPEDSATIYCQOQSAHFPIITFGQTRLEIK

【表 1 4】

111	HALB098	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
112	HALB114	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
113	HALB254	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
114	HALB253	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
115	HALB131	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL

10

20

30

40

【表 1 5】

116	HALB135	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOQPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYEYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
117	HALB133	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOQPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYEYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
118	HALB234	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOQPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYEYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
119	HALB C34S	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOQPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYEYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
120	HALB7 C34S	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOQPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVLGMFLYEYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL

10

20

30

40

【表 16】

121	HALB098 C34S	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
122	HALB114 C34S	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPHI VAASKAALGL
123	HALB254 C34S	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
124	HALB253 C34S	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
125	HALB131 C34S	人.I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPKAKRMPCAEDYLSVVINQLCV LHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPHI VAASQAALGL

10

20

30

40

【表 17】

126	HALB135 C34S	人.I.	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLSHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKACLPLKLDLDRDEGKASAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLLRKAKTYETLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIQONCELFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
127	HALB133 C34S	人.I.	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLSHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKACLPLKLDLDRDEGKASAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLLRKAKTYETLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIQONCELFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
128	HALB234 C34S	人.I.	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLSHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKACLPLKLDLDRDEGKASAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLLRKAKTYETLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIQONCELFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
129	HALB C34A	人.I.	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOSPFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLSHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLRLVRPEVDVDMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKACLPLKLDLDRDEGKASAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDDRADLAKYICENQDSISSKLECECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAAEKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLLRKAKTYETLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIQONCELFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL

10

20

30

40

【表 1 8】

130	HALB7 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVETYPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
131	HALB098 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVETYPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
132	HALB114 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVETYPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
133	HALB254 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVETYPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
134	HALB253 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQOAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDMCTAFHDNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYAYARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFPLVEEPQ NLIKQNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVETYPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATALVELVKKHPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL

10

20

30

40

【表 19】

135	HALB131 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEEFNKALVLI AFAQYLQOAP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADSAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDVMTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYERARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATLVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
136	HALB135 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEEFNKALVLI AFAQYLQOAP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADSAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDVMTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYERARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATLVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
137	HALB133 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEEFNKALVLI AFAQYLQOAP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADSAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDVMTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYERARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATLVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
138	HALB234 C34A	人I	DAHSEVAHRFKDLGEEFNKALVLI AFAQYLQOAP FEDHVKL VNEVTEFAKTCVADSAENCDKSLHTLFGDKLCTV ATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNL PRLVRPEVDVMTAFHDNEETFLKLYLIEIARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTTECCQADKAACL LPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFKAEFAEV SKLVTDLTKVHTECCCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYERARRHPDYSVWLLRLRAKTYETTLKCCAAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQ NLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALVDVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSEKERQIKKQATLVELVYKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
139	パブチドリンカー	人I	GGGG
140	パブチドリンカー	人I	GGGGG
141	パブチドリンカー	人I	GGGGQ

10

20

30

40

【表 20】

142	ペプチドリンカー	人I	PGGGGS
143	ペプチドリンカー	人I	PGGDGS
144	ペプチドリンカー	人I	SGGGGS
145	ペプチドリンカー	人I	GGGSGGGGS
146	ペプチドリンカー	人I	GGGSGGGGS
147	ペプチドリンカー	人I	GGGSGGGSGGGGS
148	F6A \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGYYPN
149	F6A \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
150	F6A \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV
151	F6A \emptyset CDR-H1	人I	IYAMN
152	F6A \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKKS
153	F6A \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYVSFFAY
154	H2C \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGYYPN
155	H2C \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
156	H2C \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV
157	H2C \emptyset CDR-H1	人I	KYAMN
158	H2C \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKD
159	H2C \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYISYWAY
160	H1E \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGYYPN
161	H1E \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
162	H1E \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV

10

20

30

40

50

【表 2 1】

163	H1E \emptyset CDR-H1	人I	SYAMN
164	H1E \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKG
165	H1E \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYLSFWAY
166	G4H \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGYYPN
167	G4H \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
168	G4H \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV
169	G4H \emptyset CDR-H1	人I	RYAMN
170	G4H \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKG
171	G4H \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYLSYFAY
172	A2J \emptyset CDR-L1	人I	RSSTGAVTSGYYPN
173	A2J \emptyset CDR-L2	人I	ATDMRPS
174	A2J \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV
175	A2J \emptyset CDR-H1	人I	VYAMN
176	A2J \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVK
177	A2J \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYLSWWAY
178	E1L \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGYYPN
179	E1L \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
180	E1L \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV
181	E1L \emptyset CDR-H1	人I	KYAMN
182	E1L \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKS
183	E1L \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYTSYAY

【表 2 2】

184	E2M \emptyset CDR-L1	人I	RSSTGAVTSGYYPN
185	E2M \emptyset CDR-L2	人I	ATDMRPS
186	E2M \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV
187	E2M \emptyset CDR-H1	人I	GYAMN
188	E2M \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKE
189	E2M \emptyset CDR-H3	人I	HRNFGNSYLSWFAY
190	F7O \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGYYPN
191	F7O \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
192	F7O \emptyset CDR-L3	人I	ALWYSNRWV
193	F7O \emptyset CDR-H1	人I	VYAMN
194	F7O \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKCK
195	F7O \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYISWWAY
196	F12Q \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGNYPN
197	F12Q \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
198	F12Q \emptyset CDR-L3	人I	VLWYSNRWV
199	F12Q \emptyset CDR-H1	人I	SYAMN
200	F12Q \emptyset CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKKG
201	F12Q \emptyset CDR-H3	人I	HGNFGNSYVSWWAY
202	I2C \emptyset CDR-L1	人I	GSSTGAVTSGNYPN
203	I2C \emptyset CDR-L2	人I	GTKFLAP
204	I2C \emptyset CDR-L3	人I	VLWYSNRWV

10

20

30

40

【表 2 3】

205	I2C0CDR-H1	人I	KYAMN
206	I2C0CDR-H2	人I	RIRSKYNNYATYYADSVKD
207	I2C0CDR-H3	人I	HGNFGNSYISYWAY

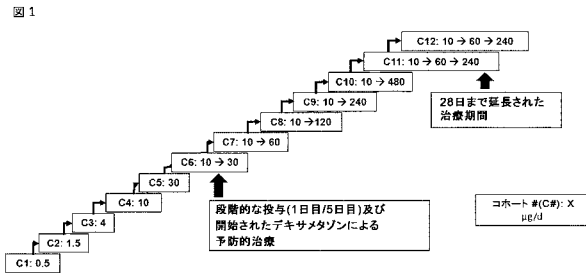
10

20

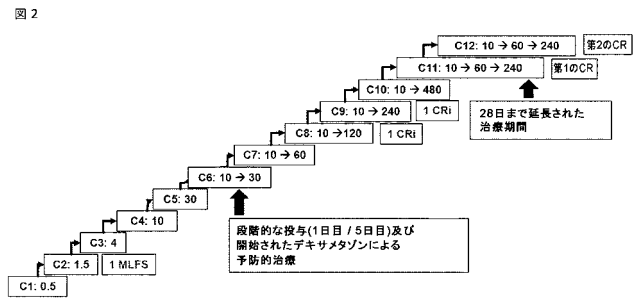
30

40

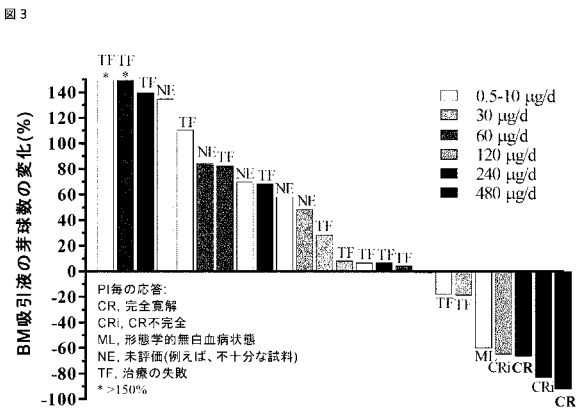
【 図 1 】



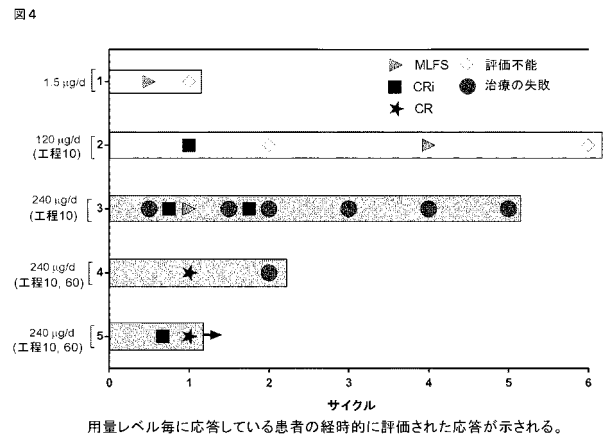
【 図 2 】



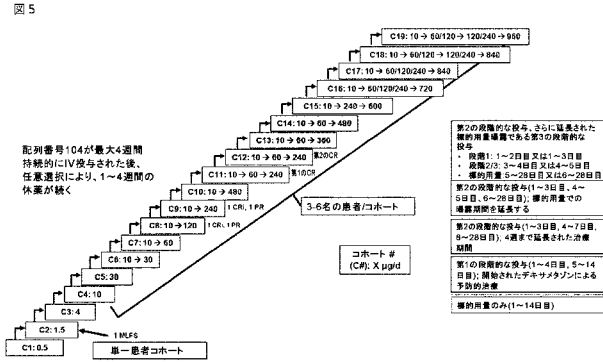
【 図 3 】



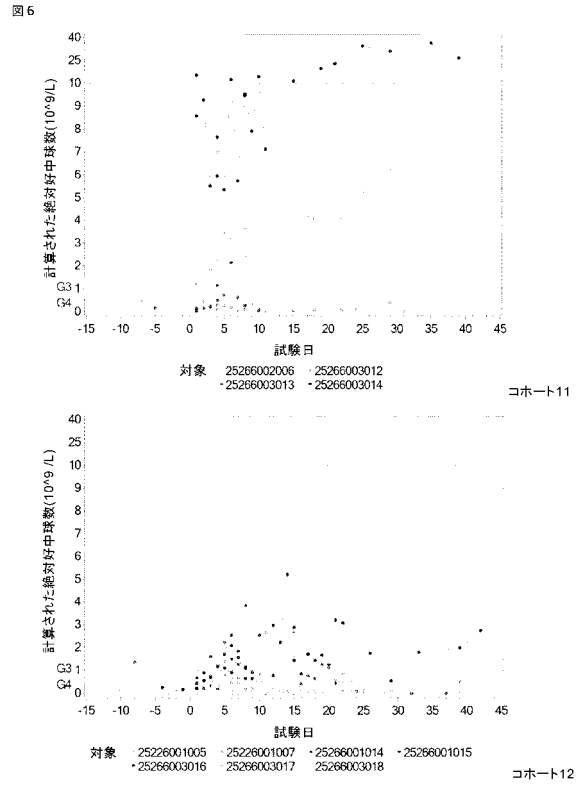
【 図 4 】



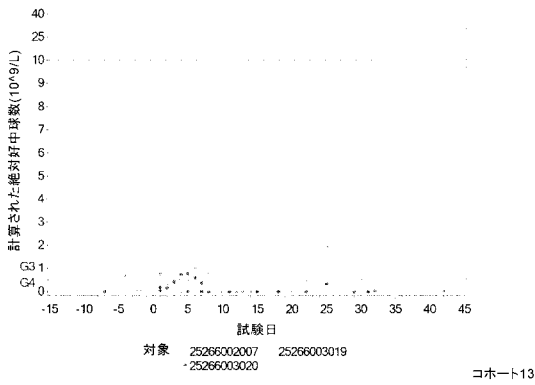
【 図 5 】



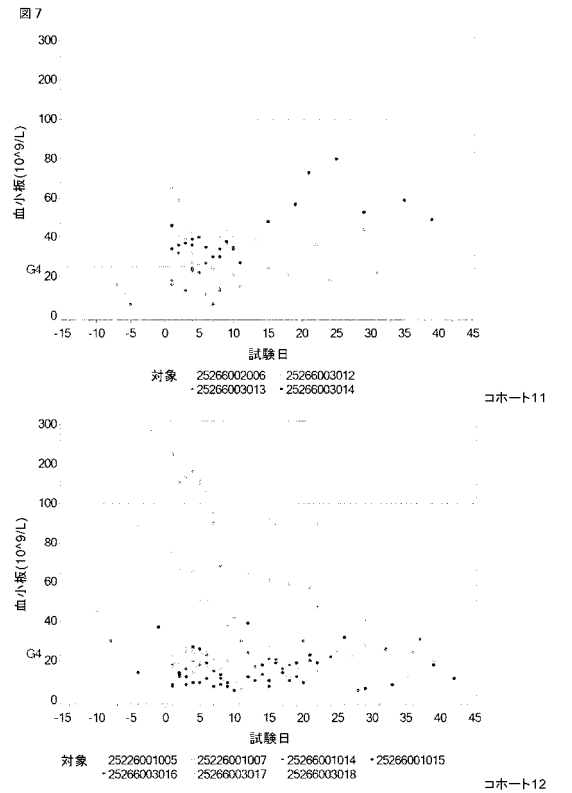
【 図 6 - 1 】



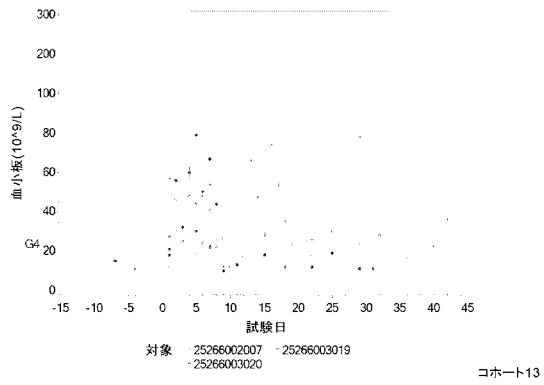
【 図 6 - 2 】



【 図 7 - 1 】



【 図 7 - 2 】



【 配列表 】

202153214000001.app

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/070343

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MARIA-ELISABETH GOEBELER ET AL: "Bispecific T-Cell Engager (BiTE) Antibody Construct Blinatumomab for the Treatment of Patients With Relapsed/Refractory Non-Hodgkin Lymphoma: Final Results From a Phase I Study", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 34, no. 10, 1 April 2016 (2016-04-01), pages 1104-1111, XP055488944, US ISSN: 0732-183X, DOI: 10.1200/JCO.2014.59.1586 abstract, page 1105	1-33
Y	----- M. FRIEDRICH ET AL: "Preclinical Characterization of AMG 330, a CD3/CD33-Bispecific T-Cell-Engaging Antibody with Potential for Treatment of Acute Myelogenous Leukemia", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 13, no. 6, 1 June 2014 (2014-06-01), pages 1549-1557, XP055173240, ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0956 abstract, figures	1-33
Y	----- WO 2015/036583 A2 (AMGEN INC [US]; AMGEN RES MUNICH GMBH [DE]) 19 March 2015 (2015-03-19) abstract, examples	1-33
X,P	----- RAVANDI FARHAD ET AL: "A Phase 1 First-in-Human Study of AMG 330, an Anti-CD33 Bispecific T-Cell Engager (BiTE (R)) Antibody Construct, in Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia (R/R AML)", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 132, no. Suppl. 1, 29 November 2018 (2018-11-29), page 25, XP009516802, ISSN: 0006-4971 abstract	1-33
	----- -/--	

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/070343

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	U. REUSCH ET AL: "Characterization of CD33/CD3 Tetravalent Bispecific Tandem Diabodies (TandAbs) for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 22, no. 23, 17 May 2016 (2016-05-17), pages 5829-5838, XP055333349, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0350 figures 1-4, table I -----	1-33

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2019/070343

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017182427 A1	26-10-2017	AU 2017253621 A1	18-10-2018
		BR 112018070946 A2	26-02-2019
		CA 3019740 A1	26-10-2017
		EA 201892367 A1	30-04-2019
		EP 3445784 A1	27-02-2019
		JP 2019514871 A	06-06-2019
		PH 12018502230 A1	08-07-2019
		SG 11201808656S A	30-10-2018
		TW 201741339 A	01-12-2017
		US 2019127465 A1	02-05-2019
		WO 2017182427 A1	26-10-2017
		ZA 201806514 B	26-06-2019
		WO 2015036583 A2	19-03-2015
AU 2014320246 A1	18-02-2016		
CA 2923354 A1	19-03-2015		
CL 2016000564 A1	24-03-2017		
CN 105764505 A	13-07-2016		
EA 201690485 A1	31-08-2016		
EP 3043794 A2	20-07-2016		
JP 6530409 B2	12-06-2019		
JP 2016536341 A	24-11-2016		
KR 20160058120 A	24-05-2016		
MA 38898 A1	31-01-2018		
PH 12016500434 A1	16-05-2016		
SG 10201801777Y A	27-04-2018		
SG 11201600671Q A	26-02-2016		
TW 201605473 A	16-02-2016		
US 2016317657 A1	03-11-2016		
WO 2015036583 A2	19-03-2015		

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	A 6 1 K 31/17	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	Z N A
	C 0 7 K 16/28	

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

(72) 発明者 ナゴルセン, デイルク
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0、サウザンド・オークス、ワン・アムジェン・センター・ドライブ、アムジェン・インコーポレイテッド気付

(72) 発明者 メータ, バクティ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0、サウザンド・オークス、ワン・アムジェン・センター・ドライブ、アムジェン・インコーポレイテッド気付

(72) 発明者 クフェル, ペーター
ドイツ国、8 1 4 7 7・ミュニッック、シュタッフエルゼーシュトラッセ・2、アムジェン・リサーチ(ミュニッック)ゲー・エム・ベー・ハー気付

(72) 発明者 キシェル, ローマン
ドイツ国、8 1 4 7 7・ミュニッック、シュタッフエルゼーシュトラッセ・2、アムジェン・リサーチ(ミュニッック)ゲー・エム・ベー・ハー気付

(72) 発明者 カールドヤニディ, ソフィア・ケイ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0、サウザンド・オークス、ワン・アムジェン・センター・ドライブ、アムジェン・インコーポレイテッド気付

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA02 NA05 ZB271 ZB272 ZC412 ZC75
4C085 AA14 BB11 CC23 EE01 EE03
4C206 AA01 AA02 HA26 MA02 MA04 NA05 ZB27 ZC75
4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 DA76 EA22 EA28 FA74