(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6871874号
(P6871874)
(45)発行日　令和3年5月19日(2021.5.19)　(24)登録日　令和3年4月20日(2021.4.20)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28	ZNA
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18	
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46	
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/10	

請求項の数 54　(全 173 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-565794 (P2017-565794)
(86)(22)出願日　平成28年6月16日 (2016.6.16)
(65)公表番号　特表2018-527887 (P2018-527887A)
(43)公表日　平成30年9月27日 (2018.9.27)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/037879
(87)国際公開番号　WO2016/205520
(87)国際公開日　平成28年12月22日 (2016.12.22)
審査請求日　令和1年6月17日 (2019.6.17)
(31)優先権主張番号　62/180,459
(32)優先日　平成27年6月16日 (2015.6.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

早期審査対象出願

(73)特許権者　509012625
ジェネンテック,　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　1
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　ホッツェル,　イシドロ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０－４９９０,　サウス　サンフランシスコ,　ディーエヌエー　ウェイ　1
(72)発明者　ユンッティラ,　テーム　ティー.
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０－４９９０,　サウス　サンフランシスコ,　ディーエヌエー　ウェイ　1
最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＦｃＲＨ５に対するヒト化親和性成熟抗体及び使用方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含む重鎖可変（ＶＨ）ドメイン、及び（ｂ）配列番号１０５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変（ＶＬ）ドメインを含む、結合ドメインを含む、
抗Ｆｃ受容体様５（ＦｃＲＨ５）抗体。
【請求項２】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、ＦｃＲＨ５のＩｇ様ドメイン９内のエピトープに結合し；
任意選択的に、前記エピトープが、配列番号１１４のアミノ酸７４５～８５０の一部分を含む、
請求項１に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項３】
前記結合ドメインが、ヒトＦｃＲＨ５もしくはカニクイザル（ｃｙｎｏ）ＦｃＲＨ５、または両方に結合し；
任意選択的に、前記結合ドメインが、ＦｃＲＨ１、ＦｃＲＨ２、ＦｃＲＨ３、及び／またはＦｃＲＨ４に特異的に結合しない、
請求項２に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項４】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１００ｎＭ以下のＫＤでヒトＦｃＲＨ５に結合し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１０ｐＭ～約１００ｎＭのＫＤでヒトＦｃ

ＲＨ５に結合し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１００ｐＭ～約１００ｎＭのＫＤでヒトＦｃＲＨ５に結合し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１ｎＭ～約２０ｎＭのＫＤでヒトＦｃＲＨ５に結合し；または
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１ｎＭ～約１０ｎＭのＫＤでヒトＦｃＲＨ５に結合する、
請求項３に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項５】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１００ｎＭ以下のＫＤでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１０ｐＭ～約１００ｎＭのＫＤでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１００ｐＭ～約１００ｎＭのＫＤでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合し；または
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１ｎＭ～約５０ｎＭのＫＤでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する、
請求項４に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項６】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、置換変異を含み；
任意選択的に、前記置換変異が、抗ＦｃＲＨ５抗体のエフェクター機能を低下させ；
任意選択的に、前記置換変異が、アミノ酸残基Ｎ２９７、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｄ２６５、及び／またはＰ３２９（ＥＵ付番）におけるものであり；
任意選択的に、前記置換変異が、Ｎ２９７Ｇ、Ｎ２９７Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｄ２６５Ａ、及びＰ３２９Ｇからなる群から選択され；または
任意選択的に、前記置換変異が、Ｎ２９７Ｇ変異である、
請求項１～５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項７】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体であり；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、ＩｇＧ抗体である、
請求項１～６のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項８】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、ＦｃＲＨ５に結合する抗体断片であり；
任意選択的に、前記抗体断片が、ｂｉｓ－Ｆａｂ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及び$(Fab')_2$断片からなる群から選択され；または
任意選択的に、前記抗体断片が、ｂｉｓ－Ｆａｂ断片である、
請求項１～７のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項９】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、全長抗体である、請求項１～７のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１０】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、（ａ）単一特異性抗体、または（ｂ）多重特異性抗体であり；
任意選択的に、前記多重特異性抗体が、二重特異性抗体である、
請求項１～９のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１１】
前記二重特異性抗体が、表面抗原分類３（ＣＤ３）に結合する第２の結合ドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｕ６を含むＣＤ

３のエピトープに結合し;
任意選択的に、前記エピトープが、ＣＤ３のＧｌｎ１、Ａｓｐ２、及びＭｅｔ７からなる群から選択される１つ以上の追加のアミノ酸残基をさらに含み；
任意選択的に、前記エピトープが、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、及びＧｌｕ６を含み；
任意選択的に、前記エピトープが、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、Ｇｌｕ６、及びＭｅｔ７を含み、
任意選択的に、前記エピトープが、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｕ５を含まず；
任意選択的に、前記エピトープが、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｙ３及びＧｌｕ５を含まず；または
任意選択的に、前記エピトープが、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、Ｇｌｕ６、及びＭｅｔ７からなる、
請求項１０に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１２】
前記第２の結合ドメインが、ヒトＣＤ３ポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３ポリペプチドに結合することができ；
任意選択的に、前記ヒトＣＤ３ポリペプチドもしくは前記カニクイザルＣＤ３ポリペプチドが、それぞれ、ヒトＣＤ３εポリペプチドもしくはカニクイザルＣＤ３εポリペプチドであるか、またはそれぞれ、ヒトＣＤ３γポリペプチドもしくはカニクイザルＣＤ３γポリペプチドである、
請求項１１に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１３】
前記第２の結合ドメインが、約１００ｎＭ以下のＫＤでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合し；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、約１０ｐＭ～約１００ｎＭのＫＤでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合し；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、約１００ｐＭ～約５０ｎＭのＫＤでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合し；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、約１ｎＭ～約１０ｎＭのＫＤでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合する、
請求項１１または１２に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１４】
二重特異性抗体が抗ＦｃＲＨ５アーム及び抗ＣＤ３アームを含み、前記抗ＦｃＲＨ５アーム及び前記抗ＣＤ３アームが、各々Ｎ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含み、
前記抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｔ３６６Ｗ置換変異を含み、前記抗ＣＤ３アームが、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ置換変異（ＥＵ付番）を含む、
請求項１１～１３のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１５】
前記第２の結合ドメインが、次の６つの超可変領域（ＨＶＲ）：
（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、
（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、
（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、
請求項１１～１４のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１６】
前記第２の結合ドメインが、次の６つのＨＶＲ：
（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、

（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、
（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、
（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１３３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１３４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の重鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１２５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び
（ｄ）配列番号１２８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の軽鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１２９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、
（ｂ）配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、
（ｃ）配列番号１３１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び
（ｄ）配列番号１３２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含み；または
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、請求項１５に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。

【請求項１７】

前記第２の結合ドメインが、次の６つのＨＶＲ：
（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、
（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、
（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１２４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の重鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１２５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び
（ｄ）配列番号１２８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の軽鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１２９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、
（ｂ）配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、
（ｃ）配列番号１３１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び

（ｄ）配列番号１３２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含み；または
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、請求項１５に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１８】
前記第２の結合ドメインが、次の６つのＨＶＲ：
（ａ）配列番号１３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１４０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１４１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、
（ｄ）配列番号１４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、
（ｅ）配列番号１４３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１４４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１５３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１５４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の重鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１４５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び
（ｄ）配列番号１４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の軽鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１４９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、
（ｂ）配列番号１５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、
（ｃ）配列番号１５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び
（ｄ）配列番号１５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含み；または
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、請求項１１～１３のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項１９】
前記第２の結合ドメインが、次の６つのＨＶＲ：
（ａ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、
（ｄ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、
（ｅ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、請求項１１～１３のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項２０】
前記第２の結合ドメインが、次の６つのＨＶＲ：
（ａ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、

（ｄ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、
（ｅ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１７２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１７３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の重鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１６４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１６５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１６６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び
（ｄ）配列番号１６７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、次の軽鎖可変領域ＦＲ：
（ａ）配列番号１６８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、
（ｂ）配列番号１６９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、
（ｃ）配列番号１７０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び
（ｄ）配列番号１７１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含み；
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含み；または
任意選択的に、前記第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、請求項１９に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。

【請求項２１】
ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体であって、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、
（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び
（ｂ）配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、
次の６つのＨＶＲ：
（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、
（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、
（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含む、前記抗ＦｃＲＨ５抗体。

【請求項２２】
ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体であって、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、
（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び
（ｂ）配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、
次の６つのＨＶＲ：
（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、
（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、
（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、
（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、

（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び
（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、
前記抗ＦｃＲＨ５アーム及び前記抗ＣＤ３アームが、各々、Ｎ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含み、
前記抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｔ３６６Ｗ置換変異を含み、前記抗ＣＤ３アームが、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ置換変異（ＥＵ付番）を含む、
前記抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項２３】
ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体であって、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、
（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び
（ｂ）配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、
（ａ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び
（ｂ）配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、
前記抗ＦｃＲＨ５アーム及び前記抗ＣＤ３アームが、各々、Ｎ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含み、
前記抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｔ３６６Ｗ置換変異を含み、前記抗ＣＤ３アームが、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ置換変異（ＥＵ付番）を含む、
前記抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項２４】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、約１０ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、マウスにおいて約１０ｍｌ／ｋｇ／日～約２０ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有し；または
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、マウスにおいて約１２ｍｌ／ｋｇ／日～約１６ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する、
請求項１～１６、及び２１～２３のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項２５】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、カニクイザルにおいて約２０ｍｌ／ｋｇ／日～約４０ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、カニクイザルにおいて約２５ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有し；または
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、カニクイザルにおいて約３０ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する、
請求項２４に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。
【請求項２６】
請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体をコードする、１またはそれ以上の単離核酸。
【請求項２７】
請求項２６に記載の前記１またはそれ以上の単離核酸を含む、１またはそれ以上のベクター。
【請求項２８】
請求項２７に記載の前記１またはそれ以上のベクターを含む１またはそれ以上の宿主細胞であって、
任意選択的に、前記１またはそれ以上の宿主細胞が、
（ｉ）１またはそれ以上の哺乳動物宿主細胞であり、任意選択的に、前記１またはそれ以上の哺乳動物宿主細胞が、１またはそれ以上のチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）宿

主細胞であり；または
（ｉｉ）１またはそれ以上の原核宿主細胞であり、任意選択的に、前記１またはそれ以上の原核宿主細胞が、１またはそれ以上のＥ．ｃｏｌｉ宿主細胞である、
１またはそれ以上の宿主細胞。
【請求項２９】
請求項２８に記載の１またはそれ以上の宿主細胞を培養培地中で培養することを含み；
任意選択的に、前記１またはそれ以上の宿主細胞または前記培養培地から前記抗ＦｃＲＨ５抗体を回収することをさらに含む、
請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体の産生方法。
【請求項３０】
請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体と、細胞傷害剤とを含む、免疫複合体。
【請求項３１】
請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を含み；
任意選択的に、薬学的に許容される賦形剤または希釈剤をさらに含み；
任意選択的に、前記薬学的に許容される賦形剤が、緩衝剤、担体、安定剤、または防腐剤であり；かつ
任意選択的に、前記組成物が、薬学的組成物である、
組成物。
【請求項３２】
前記組成物が、ＰＤ－１軸結合拮抗薬または追加の治療剤をさらに含む、請求項３１に記載の組成物。
【請求項３３】
請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を含む医薬。
【請求項３４】
対象におけるＦｃＲＨ５陽性がんの治療またはその進行の遅延のための医薬品の製造における、請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体、または請求項３１または３２に記載の組成物の使用。
【請求項３５】
ＦｃＲＨ５陽性がんを有する対象において免疫機能を増強するための医薬品の製造における、請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体、または請求項３１または３２に記載の組成物の使用。
【請求項３６】
前記ＦｃＲＨ５陽性がんが、Ｂ細胞がんであり；
任意選択的に、前記Ｂ細胞がんが、多発性骨髄腫（ＭＭ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、及び濾胞性リンパ腫（ＦＬ）からなる群から選択され；
任意選択的に、前記Ｂ細胞がんがＭＭである、
請求項３４または３５に記載の使用。
【請求項３７】
必要とする対象において、ＦｃＲＨ５陽性がんを治療する、またはその進行を遅延するための医薬であって、請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を含む、医薬。
【請求項３８】
ＦｃＲＨ５陽性がんを有する対象において、免疫機能を増強するための医薬であって、請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体の有効量を含む、医薬。
【請求項３９】
前記ＦｃＲＨ５陽性がんが、Ｂ細胞がんであり；
任意選択的に、前記Ｂ細胞がんが、ＭＭ、ＣＬＬ、ＭＣＬ、ＤＬＢＣＬ、及びＦＬからなる群から選択され；

任意選択的に、前記Ｂ細胞がんがＭＭである、
請求項３７または３８に記載の医薬。
【請求項４０】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、（ａ）標的細胞上に位置するＦｃＲＨ５分子、及び（ｂ）免疫エフェクター細胞上に位置するＣＤ３分子に結合し；
任意選択的に、前記抗ＦｃＲＨ５抗体が、前記ＦｃＲＨ５分子及び前記ＣＤ３分子に結合した後に前記免疫エフェクター細胞を活性化させ；
任意選択的に、前記活性化された免疫エフェクター細胞が、前記標的細胞に対して細胞傷害作用及び／またはアポトーシス作用を及ぼすことができる、
請求項３７～３９のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項４１】
前記標的細胞が、形質細胞であり；
任意選択的に、前記形質細胞が、短命形質細胞または長命形質細胞である、
請求項４０に記載の医薬。
【請求項４２】
前記形質細胞が、骨髄腫細胞である、請求項４１に記載の医薬。
【請求項４３】
約０．０１ｍｇ／ｋｇ／週～約５０ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量の前記抗ＦｃＲＨ５抗体を含み；
任意選択的に、約０．１ｍｇ／ｋｇ／週～約１０ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量の前記抗ＦｃＲＨ５抗体を含み；または
任意選択的に、約１ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量の前記抗ＦｃＲＨ５抗体を含む、
請求項３７～４２のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項４４】
ＰＤ－１軸結合拮抗薬及び／または追加の治療剤とともに投与するために製剤化されており；
任意選択的に、前記ＰＤ－１軸結合拮抗薬または追加の治療剤が、前記抗ＦｃＲＨ５抗体の投与の前、同時、または後に投与される、
請求項３７～４３のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項４５】
前記ＰＤ－１軸結合拮抗薬が、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬、ＰＤ－１結合拮抗薬、及びＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬からなる群から選択される、請求項４４に記載の医薬。
【請求項４６】
前記ＰＤ－１軸結合拮抗薬が、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬であり；
任意選択的に、前記ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬が、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（アテゾリズマブ）、ＭＤＸ－１１０５、ＭＥＤＩ４７３６（デュルバルマブ）、及びＭＳＢ００１０７１８Ｃ（アベルマブ）からなる群から選択され；かつ
任意選択的に、前記ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬が、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（アテゾリズマブ）である、
請求項４５に記載の医薬。
【請求項４７】
前記ＰＤ－１軸結合拮抗薬が、
（ｉ）ＰＤ－１結合拮抗薬であり、任意選択的に、前記ＰＤ－１結合拮抗薬が、ＭＤＸ１１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ペムブロリズマブ）、ＭＥＤＩ－０６８０（ＡＭＰ－５１４）、ＰＤＲ００１、ＲＥＧＮ２８１０、及びＢＧＢ－１０８からなる群から選択され；または
（ｉｉ）ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬であり、任意選択的に、前記ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬が、抗体またはイムノアドヘシンである、
請求項４５に記載の医薬。
【請求項４８】

ステロイド、免疫調節薬（ＩＭｉＤ）、プロテオソーム阻害剤（ＰＩ）、またはそれらの組み合わせとともに投与するために製剤化されており、任意選択的に、
（ｉ）前記ステロイドが、グルココルチコイドであり、任意選択的に、前記グルココルチコイドが、デキサメタゾンである；
（ｉｉ）前記ＩＭｉＤが、レナリドミドである；または
（ｉｉｉ）前記ＰＩが、ボルテゾミブである、
請求項３７～４７のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項４９】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体、ＰＤ－１軸結合拮抗薬、ステロイド、ＩＭｉＤ、ＰＩ、またはそれらの組み合わせが、静脈内に、皮下に、筋肉内に、局所的に、経口的に、経皮に、腹腔内に、眼窩内に、植え込みにより、吸入により、髄腔内に、脳室内に、または鼻腔内に投与される、請求項４８に記載の医薬。
【請求項５０】
前記抗ＦｃＲＨ５抗体、ＰＤ－１軸結合拮抗薬、ステロイド、ＩＭｉＤ、ＰＩ、またはそれらの組み合わせが、静脈内または皮下に投与される、請求項４９に記載の医薬。
【請求項５１】
前記対象がヒトである、請求項３７～５０のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項５２】
対象からの生体試料中のＦｃＲＨ５の検出方法であって、前記方法が、
（ａ）前記生体試料を、請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体と、前記生体試料中で自然発生のＦｃＲＨ５に前記抗ＦｃＲＨ５抗体が結合することを許容する条件下で接触させることと、
（ｂ）前記生体試料中で前記抗ＦｃＲＨ５抗体と自然発生のＦｃＲＨ５との複合体が形成されるかどうかを検出することとを含み、
任意選択的に、前記生体試料が血液試料であり；かつ
任意選択的に、前記対象がヒトである、
方法。
【請求項５３】
請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗体と、対象におけるＦｃＲＨ５陽性がんの治療またはその進行の遅延のために前記抗体を使用するための指示書を含む添付文書とを含み、任意選択的に、前記対象がヒトである、キット。
【請求項５４】
請求項１～２５のいずれか１項に記載の抗体と、ＦｃＲＨ５陽性がんを有する対象において免疫機能を増強するために前記抗体を使用するための指示書を含む添付文書とを含み、任意選択的に、前記対象がヒトである、キット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
配列表
本出願には、ＡＳＣＩＩフォーマットで電子的に提出され、参照によりその全体が本明細書に援用される配列表が含まれる。２０１６年６月１４日に作成された該ＡＳＣＩＩコピーは、５０４７４－１３４ＷＯ２＿Ｓｅｑｕｅｎｃｅ＿Ｌｉｓｔｉｎｇ＿６＿１４＿１６＿ＳＴ２５という名称であり、１３３，００４バイトのサイズである。
【０００２】
本発明は、抗ＦｃＲＨ５抗体及びその使用方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
癌などの細胞増殖性障害は、細胞亜集団の無制御な成長を特徴とする。これらは先進国世界における死因の第１位、そして発展途上国においては死因の第２位であり、毎年１４００万を超える新たな癌症例が診断され、８００万を超える癌死亡が生じている。米国国

立癌研究所は、２０１６年には５０万人を超えるアメリカ人が癌で死亡すると推定しており、これは、米国における死亡のほぼ４件中１件の割合を占める。癌の発症確率は７０歳を過ぎると２倍以上高くなるため、高齢者人口が増加していることから癌の発生率も同時に上昇している。したがって、癌看護は、重大かつ増え続ける社会的負担となっている。

【０００４】

Ｆｃ受容体様５（ＦｃＲＨ５、ＦｃＲＬ５またはＩＲＴＡ２としても知られる）遺伝子は、免疫グロブリンスーパーファミリー（ＩｇＳＦ）の最近同定された６つの遺伝子のファミリーに属する。この遺伝子ファミリーは、保存されたゲノム構造、細胞外Ｉｇドメイン組成、免疫受容体チロシン系阻害モチーフ（ＩＴＩＭ）及び免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）のようなシグナル伝達モチーフを有するＦｃ受容体と密接に関係している（Ｄａｖｉｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３５：６７４－８０，２００５）。ＦｃＲＨ／ＩＲＴＡ受容体ファミリーの６つのメンバー：ＦｃＲＨ１／ＩＲＴＡ５、ＦｃＲＨ２／ＩＲＴＡ４、ＦｃＲＨ３／ＩＲＴＡ３、ＦｃＲＨ４／ＩＲＴＡ１、ＦｃＲＨ５／ＩＲＴＡ２、及びＦｃＲＨ６が説明されている（Ｐｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（９）：１３６３－１３７３，２００６。ＦｃＲＨ ｃＤＮＡは、複数のＩｇ様細胞外ドメイン、ならびにコンセンサス免疫受容体チロシン系活性化シグナル伝達モチーフ及び／または阻害性シグナル伝達モチーフを含む細胞質ドメインを有するＩ型膜貫通糖タンパク質をコードする。ＦｃＲＨ遺伝子は構造上関連があり、それらのタンパク質生成物は２８～６０％の細胞外同一性を互いに共有する。それらはまた、それらに最も近いＦｃＲ近縁種と１５～３１％の同一性を共有する。異なるＦｃＲＨ間には高度の相同性が存在する。

【０００５】

ＦｃＲＨ５に対するリガンド（複数可）は未知であるが、ＦｃＲＨ５は、抗原刺激済みＢ細胞発達中の増殖の増強及び下流のアイソタイプ発現に結び付けられてきた（Ｄｅｍｅｎｔ－Ｂｒｏｗｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｌｅｕｋｏｃ．Ｂｉｏｌ．９１：５９－６７，２０１２）。ＦｃＲＨ５遺伝子座は、３つの主なｍＲＮＡアイソフォーム（ＦｃＲＨ５ａ、ＦｃＲＨ５ｂ、及びＦｃＲＨ５ｃ）を有する。これらの転写物によりコードされる主なＦｃＲＨ５タンパク質アイソフォームは、残基５６０まで共通のアミノ酸配列を共有し、共通のシグナルペプチド及び６つの細胞外Ｉｇ様ドメインを特色とする。ＦｃＲＨ５ａは、８つのＩｇ様ドメインに続いて１３個の特有の主に極性のアミノ酸をそのＣ末端に有する７５９アミノ酸の分泌型糖タンパク質である。ＦｃＲＨ５ｂは、アミノ酸残基５６０においてＦｃＲＨ５ａから分岐し、短いひと続きの３２個の追加の残基の長さにわたって延び、これらの残基の疎水性は、ＧＰＩアンカーを介してそれを形質膜にドッキングするのに適合性がある。ＦｃＲＨ５ｃは、配列がアミノ酸７４６においてＦｃＲＨ５ａから逸れる最も長いアイソフォームである。ＦｃＲＨ５ｃは、８つの潜在的なＮ結合型グリコシル化部位を保有する９つの細胞外Ｉｇ型ドメイン、２３アミノ酸の膜貫通ドメイン、及びＩＴＩＭコンセンサスを有する３つのコンセンサスＳＨ２結合モチーフを含む１０４アミノ酸の細胞質ドメインを備えた、９７７アミノ酸のＩ型膜貫通糖タンパク質をコードする。

【０００６】

ＦｃＲＨ遺伝子は、染色体１の１ｑ２１－２３領域内の古典的なＦｃＲ遺伝子（ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、ＦｃγＲＩＩＩ、及びＦｃεＲＩ）の直中に集まっている。この領域は、造血器腫瘍、特に多発性骨髄腫における悪性の表現型に関連する最も頻度の高い二次的な染色体異常のうちの１つを含む（Ｈａｔｚｉｖａｓｓｉｌｉｏｕ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｍｍｕｎｉｔｙ．１４：２７７－８９，２００１）。ＦｃＲＨ５は、Ｂ細胞系列のみで発現し、早ければプレＢ細胞で始まるが、成熟Ｂ細胞期まで完全な発現を果たさない。最も知られている他のＢ細胞特異的表面タンパク質（例えばＣＤ２０、ＣＤ１９、及びＣＤ２２）とは異なり、ＦｃＲＨ５は形質細胞で発現を続け、一方で他のＢ細胞特異的マーカーは下方制御される（Ｐｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８：１３６３－７３，２００６）。加えて、ＦｃＲＨ５　ｍＲＮＡは、オリゴヌクレオチドアレイにより検出した場合に、１ｑ２１異常を有する多発性骨髄腫細胞株で過剰発現する（Ｉｎｏ

ｕｅ Ａｍ．Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．１６５：７１－８１，２００４）。この発現パターンは、ＦｃＲＨ５が、多発性骨髄腫の治療のための抗体ベース療法のための標的になり得ることを示す。多発性骨髄腫は、骨格病変、腎不全、貧血、及び高カルシウム血症を特徴とする形質細胞の悪性腫瘍であり、現在の療法では本質的に治癒不可能である。多発性骨髄腫のための現在の薬物治療は、プロテオソーム阻害剤であるボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ（登録商標））、免疫調節薬であるレナリドミド（ＲＥＶＬＩＭＩＤ（登録商標））、及びステロイドであるデキサメタゾンの組み合わせを含む。

【０００７】

モノクローナル抗体（ｍＡｂ）ベースの療法は、癌の重要な治療様式となっている。ＦｃＲＨ５ｃ特異的抗体はＦｃＲＨ５の可溶性アイソフォームと膜アイソフォームとの両方を認識する抗体よりも標的細胞の膜関連ＦｃＲＨ５を特異的に認識するため、ＦｃＲＨ５ｃ特異的抗体ベースの療法及び検出方法は特に効果的であり得る。しかしながら、ＦｃＲＨ５の最後のＩｇ様ドメイン（Ｉｇ様ドメイン９）のみが、ＦｃＲＨ５の３つの主なアイソフォーム（例えばＦｃＲＨ５ａ、ＦｃＲＨ５ｂ、及びＦｃＲＨ５ｃ）間で異なる特有の細胞外領域であり、ＦｃＲＨ５内のＩｇ様ドメイン間には著しい相同性が存在する。さらに、最後のＩｇ様ドメインは、ＦｃＲＨ１、ＦｃＲＨ２、ＦｃＲＨ３、及びＦｃＲＨ５の間で高度に保存されている。ＦｃＲＨ５を特異的に標的としたいかなる抗体ベース療法も、有害なオフターゲット効果を回避するために、他のＦｃＲＨとの交差反応性が最小限であるべきである（例えば、ＦｃＲＨ３は正常なＮＫ細胞で発現する）。

【０００８】

上記に鑑み、当該分野では、細胞増殖性障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えば多発性骨髄腫）の治療に使用するための安全かつ有効な薬剤に対する満たされていない必要性が存在する。

【発明の概要】

【０００９】

本発明は、細胞増殖性障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えば多発性骨髄腫）の治療のための抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば二重特異性抗体、例えばＦｃＲＨ５　Ｔ細胞依存性二重特異性（ＴＤＢ）抗体）、組成物、及びそれらの使用方法を提供する。

【００１０】

第１の態様では、本発明は、次の６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む、抗Ｆｃ受容体様５（ＦｃＲＨ５）抗体を特色とする。

【００１１】

いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変（ＶＨ）ドメイン、（ｂ）配列番号１０５のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域フレームワーク領域（ＦＲ）：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配

列番号１０４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号１０５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１２】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号１０６のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１０７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号１０６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号１０７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１０７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１３】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号８２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号８３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号８２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号８３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号８２のアミノ

酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号８３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１４】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号８４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号８５のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号８４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号８５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号８４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号８５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１５】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号８６のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号８７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号８６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号８７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号８６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号８７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１６】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１３のアミノ酸配列

を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号８８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号８９のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号８８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号８９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号８８のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号８９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１７】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号９０のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号９１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号９０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号９１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号９０のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号９１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１８】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号９２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号９３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶ

Ｌドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号９２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号９３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号９２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号９３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００１９】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号９４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号９５のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号９４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号９５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号９４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号９５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２０】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号９６のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号９７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号９６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１

、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号９７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号９６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号９７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２１】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号９８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号９９のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号９８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号９９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号９８のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号９９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２２】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号１００のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１０１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号１００のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号１０１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１００のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２３】
他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号１０２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１０３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号１０２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号１０３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２４】
別の態様では、本発明は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号３７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とする。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号１１０のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号６６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号６８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号６９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号１１０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号７０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号７１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号７２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号７３のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号１１１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１１０のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１１１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２５】
別の態様では、本発明は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号３８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号４３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗

体を特色とする。他の実施形態では、結合ドメインは、（ａ）配列番号１１２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１１３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。他の実施形態では、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号７４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号７６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号７７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。他の実施形態では、ＶＨドメインは、配列番号１１２のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号７８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号７９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号８０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号８１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。他の実施形態では、ＶＬドメインは、配列番号１１３のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１１２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２６】

別の態様では、本発明は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とする。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、（ａ）配列番号１０８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１０９のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＨドメインは、配列番号１０８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号６３のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号６４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号６５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、ＶＬドメインは、配列番号１０９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０８のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１０９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む。

【００２７】

前述の態様のうちのいずれか１つのいくつかの実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＦｃＲＨ５のＩｇ様ドメイン９内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、エピトープは、配列番号１１４のアミノ酸７４３～８５０の一部分を含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、ヒトＦｃＲＨ５、カニクイザル（ｃｙｎｏ）ＦｃＲＨ５、または両方に結合する。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、ＦｃＲＨ１、ＦｃＲＨ２、ＦｃＲＨ３、及び／またはＦｃＲＨ４に特異的に結合しない。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｎＭ以下のK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１０ｐＭ～約１００ｎＭのK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｐＭ～約１００ｎＭのK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｎＭ～約２０ｎＭのK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合す

る。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｎＭ～約１０ｎＭのK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｎＭ以下のK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１０ｐＭ～約１００ｎＭのK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｐＭ～約１００ｎＭのK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｎＭ～約５０ｎＭのK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。

【００２８】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、非グリコシル化部位変異を含む。いくつかの実施形態において、非グリコシル化部位変異は、置換変異である。いくつかの実施形態において、非グリコシル化部位変異は、抗ＦｃＲＨ５抗体のエフェクター機能を低下させる。いくつかの実施形態において、置換変異は、アミノ酸残基Ｎ２９７、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｄ２６５、及び／またはＰ３２９（ＥＵ付番）におけるものである。いくつかの実施形態において、置換変異は、Ｎ２９７Ｇ、Ｎ２９７Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｄ２６５Ａ、及びＰ３２９Ｇからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、置換変異は、Ｎ２９７Ｇ変異である。

【００２９】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＩｇＧ抗体である。

【００３０】

いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＦｃＲＨ５に結合する抗体断片である。いくつかの実施形態において、抗体断片は、ｂｉｓ－Ｆａｂ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及び$(Fab')_2$断片からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、抗体断片は、ｂｉｓ－Ｆａｂ断片である。

【００３１】

他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、全長抗体である。

【００３２】

いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、単一特異性抗体である。

【００３３】

いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、多重特異性抗体である。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は、二重特異性抗体である。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体は、表面抗原分類３（ＣＤ３）に結合する第２の結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｕ６を含むＣＤ３のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、エピトープは、ＣＤ３のＧｌｎ１、Ａｓｐ２、及びＭｅｔ７からなる群から選択される１つ以上の追加のアミノ酸残基をさらに含む。いくつかの実施形態において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、及びＧｌｕ６を含む。いくつかの実施形態において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、Ｇｌｕ６、及びＭｅｔ７を含む。いくつかの実施形態において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｕ５を含まない。いくつかの実施形態において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｙ３及びＧｌｕ５を含まない。いくつかの実施形態において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、Ｇｌｕ６、及びＭｅｔ７からなる。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、ヒトＣＤ３ポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３ポリペプチドに結合することができる。いくつかの実施形態において、ヒトＣＤ３ポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３ポリペプチドは、それぞれ、ヒトＣＤ３εポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３εポリペプチドである。いくつかの実施形態において、ヒトＣＤ３ポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３ポリペプチドは、それぞれ、ヒトＣＤ３γポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３γポリペプチドである。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、約１００ｎＭ以下のK_DでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、約１０ｐＭ～約１００ｎＭのK_DでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは

、約１００ｐＭ～約５０ｎＭのK_DでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、約１ｎＭ～約１０ｎＭのK_DでヒトＣＤ３εポリペプチドに結合する。

【００３４】

いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１３３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１３４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１２５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号１２８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１２９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号１３１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号１３２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。

【００３５】

他の実施形態では、第２の結合ドメインは、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１２５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１２６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号１２８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１２９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号１３１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号１３２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。い

くつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。

【００３６】

他の実施形態では、第２の結合ドメインは、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１４０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１４１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１４３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１４４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１５３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１５４のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１４５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１４６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１４７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号１４８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１４９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号１５０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号１５１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号１５２のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。

【００３７】

他の実施形態では、第２の結合ドメインは、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００３８】

いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１７２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、（ｂ）配列番号１７３のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬドメイン、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨドメイン及び（ｂ）にあるようなＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の重鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１６４のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６５のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１６６のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ３、及び（ｄ）配列番号１６７のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｈ４を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、次の軽鎖可変領域ＦＲ：（ａ）配列番号１６８のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ１、（ｂ

）配列番号１６９のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ２、（ｃ）配列番号１７０のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ３、及び（ｄ）配列番号１７１のアミノ酸配列を含むＦＲ－Ｌ４をさらに含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、（ａ）配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。

【００３９】

他の実施形態では、ＦｃＲＨ５に結合する結合ドメインは、荷電領域（CR_1）を含むＶＨドメイン（VH_1）、及び荷電領域（CR_2）を含むＶＬドメイン（VL_1）を含み、VH_1内のCR_1は、VL_1内のCR_2と電荷対を形成する。いくつかの実施形態において、CR_1は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_2は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、CR_1は、Ｑ３９Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_1は、Ｑ３９Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、CR_2は、Ｑ３８Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_2は、Ｑ３８Ｅ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、ＣＤ３に結合する第２の結合ドメインは、荷電領域（CR_3）を含むＶＨドメイン（VH_2）、及び荷電領域（CR_4）を含むＶＬドメイン（VL_2）を含み、VL_2内のCR_4は、VH_2内のCR_3と電荷対を形成する。いくつかの実施形態において、CR_4は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_3は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、CR_4は、Ｑ３８Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_4は、Ｑ３８Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、CR_3は、Ｑ３９Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_3は、Ｑ３９Ｅ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、VL_1ドメインは、軽鎖定常（ＣＬ）ドメイン（CL_1）に連結しており、VH_1は、第１の重鎖定常（ＣＨ１）ドメイン（$CH1_1$）に連結しており、CL_1は、荷電領域（CR_5）を含み、$CH1_1$は、荷電領域（CR_6）を含み、CL_1内のCR_5は、$CH1_1$内のCR_6と電荷対を形成する。いくつかの実施形態において、CR_5は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_6は、酸性残基を含む。いくつかの実施形態において、CR_5は、Ｖ１３３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_5は、Ｖ１３３Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、CR_6は、Ｓ１８３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_6は、Ｓ１８３Ｅ置換変異からなる。

【００４０】

他の実施形態では、VL_2ドメインは、ＣＬドメイン（CL_2）に連結しており、VH_2は、ＣＨ１ドメイン（$CH1_2$）に連結しており、CL_2は、荷電領域（CR_7）を含み、$CH1_2$は、荷電領域（CR_8）を含み、$CH1_2$内のCR_8は、CL_2内のCR_7と電荷対を形成する。いくつかの実施形態において、CR_8は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_7は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、CR_8は、Ｓ１８３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_8は、Ｓ１８３Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、CR_7は、Ｖ１３３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、CR_7は、Ｖ１３３Ｅ置換変異からなる。

【００４１】

他の実施形態では、VL_2ドメインは、ＣＬドメイン（CL_2）に連結しており、VH_2は、ＣＨ１ドメイン（$CH1_2$）に連結しており、（ａ）CL_2は、アミノ酸残基Ｆ１１６、Ｌ１３５、Ｓ１７４、Ｓ１７６、及び／またはＴ１７８（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含み、（ｂ）$CH1_2$は、アミノ酸残基Ａ１４１、Ｆ１７０、Ｓ１８１、Ｓ１８３、及び／またはＶ１８５（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態において、CL_2は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及び／またはＴ１７８Ｖのうちの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、CL_2は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖを

含む。いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及び／またはＶ１８５Ａのうちの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及びＶ１８５Ａを含む。

【００４２】

他の実施形態では、ＦｃＲＨ５に結合する結合ドメインは、荷電領域（ＣＲ$_1$）を含むＶＨドメイン（ＶＨ$_1$）、及び荷電領域（ＣＲ$_2$）を含むＶＬドメイン（ＶＬ$_1$）を含み、ＶＬ$_1$内のＣＲ$_2$は、ＶＨ$_1$内のＣＲ$_1$と電荷対を形成する。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_2$は、塩基性アミノ酸残基を含み、ＣＲ$_1$は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_2$は、Ｑ３８Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_2$は、Ｑ３８Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_1$は、Ｑ３９Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_1$は、Ｑ３９Ｅ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、ＣＤ３に結合する第２の結合ドメインは、荷電領域（ＣＲ$_3$）を含むＶＨドメイン（ＶＨ$_2$）、及び荷電領域（ＣＲ$_4$）を含むＶＬドメイン（ＶＬ$_2$）を含み、ＶＨ$_2$内のＣＲ$_3$は、ＶＬ$_2$内のＣＲ$_4$と電荷対を形成する。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_3$は、塩基性アミノ酸残基を含み、ＣＲ$_4$は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_3$は、Ｑ３９Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_3$は、Ｑ３９Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_4$は、Ｑ３８Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_4$は、Ｑ３８Ｅ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、ＶＬ$_1$ドメインは、軽鎖定常（ＣＬ）ドメイン（ＣＬ$_1$）に連結しており、ＶＨ$_1$は、第１の重鎖定常（ＣＨ１）ドメイン（ＣＨ１$_1$）に連結しており、ＣＬ$_1$は、荷電領域（ＣＲ$_5$）を含み、ＣＨ１$_1$は、荷電領域（ＣＲ$_6$）を含み、ＣＨ１$_1$内のＣＲ$_6$は、ＣＬ$_1$内のＣＲ$_5$と電荷対を形成する。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_6$は、塩基性アミノ酸残基を含み、ＣＲ$_5$は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_6$は、Ｓ１８３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_6$は、Ｓ１８３Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_5$は、Ｖ１３３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_5$は、Ｖ１３３Ｅ置換変異からなる。

【００４３】

他の実施形態では、ＶＬ$_2$ドメインは、ＣＬドメイン（ＣＬ$_2$）に連結しており、ＶＨ$_2$は、ＣＨ１ドメイン（ＣＨ１$_2$）に連結しており、ＣＬ$_2$は、荷電領域（ＣＲ$_7$）を含み、ＣＨ１$_2$は、荷電領域（ＣＲ$_8$）を含み、ＣＬ$_2$内のＣＲ$_7$は、ＣＨ１$_2$内のＣＲ$_8$と荷電対を形成する。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_7$は、塩基性アミノ酸残基を含み、ＣＲ$_8$は、酸性残基を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_7$は、Ｖ１３３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_7$は、Ｖ１３３Ｋ置換変異からなる。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_8$は、Ｓ１８３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの実施形態において、ＣＲ$_8$は、Ｓ１８３Ｅ置換変異からなる。

【００４４】

他の実施形態では、ＶＬ$_2$ドメインは、ＣＬドメイン（ＣＬ$_2$）に連結しており、ＶＨ$_2$は、ＣＨ１ドメイン（ＣＨ１$_2$）に連結しており、（ａ）ＣＬ$_2$は、アミノ酸残基Ｆ１１６、Ｌ１３５、Ｓ１７４、Ｓ１７６、及び／またはＴ１７８（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含み、（ｂ）ＣＨ１$_2$は、アミノ酸残基Ａ１４１、Ｆ１７０、Ｓ１８１、Ｓ１８３、及び／またはＶ１８５（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態において、ＣＬ$_2$は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及び／またはＴ１７８Ｖのうちの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、ＣＬ$_2$は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖを含む。いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及び／またはＶ１８５Ａのうちの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１

M、Ｓ１８３Ａ、及びＶ１８５Ａを含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１つ以上の重鎖定常ドメインを含み、１つ以上の重鎖定常ドメインは、第１のＣＨ２ドメイン（$CH2_1$）、第１のＣＨ３ドメイン（$CH3_1$）、第２のＣＨ２ドメイン（$CH2_2$）、及び第２のＣＨ３ドメイン（$CH3_2$）から選択される。いくつかの実施形態において、１つ以上の重鎖定常ドメインのうちの少なくとも１つは、別の重鎖定常ドメインと対になる。いくつかの実施形態において、$CH3_1$及び$CH3_2$は、各々、隆起（P_1）または空洞（C_1）を含み、$CH3_1$内のP_1またはC_1は、それぞれ、$CH3_2$内のC_1またはP_1に位置付け可能である。いくつかの実施形態において、$CH3_1$及び$CH3_2$は、P_1とC_1との界面で交わる。いくつかの実施形態において、$CH2_1$及び$CH2_2$は、各々、（P_2）または空洞（C_2）を含み、$CH2_1$内のP_2またはC_2は、それぞれ、$CH2_2$内のC_2またはP_2に位置付け可能である。いくつかの実施形態において、$CH2_1$及び$CH2_2$は、P_2とC_2との界面で交わる。

【００４５】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アーム及び抗ＣＤ３アームは、各々、Ｎ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｔ３６６Ｗ置換変異を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ置換変異を含む。

【００４６】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【００４７】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイ

ン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【００４８】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【００４９】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【００５０】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｋ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【００５１】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色と

し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｋ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【００５２】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、次の６つのＨＶＲ：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｅ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【００５３】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とし、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｅ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【００５４】

本発明の態様のうちのいずれか１つのいくつかの実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１０ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、マウスにおいて約１０ｍｌ／ｋｇ／日～約２０ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、マウスにおいて約１２ｍｌ／ｋｇ／日～約１６ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、カニクイザルにおいて約２０ｍｌ／ｋｇ／日～約４０ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、カニクイザルにおいて約２５ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、カニクイザル

において約３０ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。

【００５５】

別の態様では、本発明は、前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体をコードする単離核酸、またはＦｃＲＨ５に結合するその結合ドメインを含むその一部分を特色とする。

【００５６】

別の態様では、本発明は、前態様に記載の単離核酸を含むベクターを特色とする。

【００５７】

別の態様では、本発明は、前態様に記載のベクターを含む宿主細胞を特色とする。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、哺乳動物細胞である。いくつかの実施形態において、哺乳動物細胞は、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞である。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、原核細胞である。いくつかの実施形態において、原核細胞は、Ｅ．ｃｏｌｉ細胞である。

【００５８】

別の態様では、本発明は、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体の産生方法を特色とし、本方法は、前態様に記載の宿主細胞を培養培地中で培養することを含む。いくつかの実施形態において、本方法は、宿主細胞または培養培地から抗ＦｃＲＨ５抗体を回収することをさらに含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ３に結合する結合ドメインを含む抗ＣＤ３抗体をコードする第２の核酸を含む第２の宿主細胞を培養することをさらに含む方法。いくつかの実施形態において、宿主細胞は共培養される。いくつかの実施形態において、本方法は、宿主細胞または培養培地から二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体を回収することをさらに含む。

【００５９】

別の態様では、本方法は、前態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体と、細胞傷害剤とを含む、免疫複合体を特色とする。

【００６０】

別の態様では、本発明は、本発明の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を含む組成物を特色とする。いくつかの実施形態において、薬学的に許容される賦形剤または希釈剤をさらに含む組成物。いくつかの実施形態において、薬学的に許容される賦形剤は、緩衝剤、担体、安定剤、または防腐剤である。いくつかの実施形態において、本組成物は、薬学的組成物である。いくつかの実施形態において、本組成物は、ＰＤ－１軸結合拮抗薬または追加の治療剤をさらに含む。

【００６１】

別の態様では、本発明は、医薬品として使用するための、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とする。

【００６２】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５陽性癌の治療またはその進行の遅延を必要とする対象において、治療または遅延に使用するための、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とする。

【００６３】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５陽性癌を有する対象において免疫機能の増強に使用するための、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を特色とする。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５陽性癌は、Ｂ細胞癌である。別の態様では、Ｂ細胞癌は、多発性骨髄腫（ＭＭ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、及び濾胞性リンパ腫（ＦＬ）からなる群から選択される。別の実施形態では、Ｂ細胞癌はＭＭである。

【００６４】

別の態様では、本発明は、対象におけるＦｃＲＨ５陽性癌の治療またはその進行の遅延のための医薬品の製造における、前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体ま

たは組成物の使用を特色とする。別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５陽性癌を有する対象において免疫機能を増強するための医薬品の製造における、前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体または組成物の使用を特色とする。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５陽性癌は、Ｂ細胞癌である。いくつかの実施形態において、Ｂ細胞癌は、ＭＭ、ＣＬＬ、ＭＣＬ、ＤＬＢＣＬ、及びＦＬからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、Ｂ細胞癌はＭＭである。

【００６５】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５陽性癌の治療またはその進行の遅延を必要とする対象における治療方法または遅延方法であって、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を対象に投与することを含む方法を特色とする。別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５陽性癌を有する対象における免疫機能の増強方法であって、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体を有効量で対象に投与することを含む方法を特色とする。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５陽性癌は、Ｂ細胞癌である。いくつかの実施形態において、Ｂ細胞癌は、ＭＭ、ＣＬＬ、ＭＣＬ、ＤＬＢＣＬ、及びＦＬからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、Ｂ細胞癌はＭＭである。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）標的細胞上に位置するＦｃＲＨ５分子、及び（ｂ）免疫エフェクター細胞上に位置するＣＤ３分子に結合する。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＦｃＲＨ５分子及びＣＤ３分子に結合した後に免疫エフェクター細胞を活性化させる。いくつかの実施形態において、活性化された免疫エフェクター細胞は、標的細胞に対して細胞傷害作用及び／またはアポトーシス作用を及ぼすことができる。いくつかの実施形態において、標的細胞は、形質細胞である。いくつかの実施形態において、形質細胞は、短命形質細胞である。いくつかの実施形態において、形質細胞は、長命形質細胞である。いくつかの実施形態において、形質細胞は、骨髄腫細胞である。いくつかの実施形態において、本方法は、抗ＦｃＲＨ５抗体を約０．０１ｍｇ／ｋｇ／週～約５０ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量で対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、本方法は、抗ＦｃＲＨ５抗体を約０．１ｍｇ／ｋｇ／週～約１０ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量で対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、本方法は、抗ＦｃＲＨ５抗体を約１ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量で対象に投与することを含む。

【００６６】

他の実施形態では、ＰＤ－１軸結合拮抗薬及び／または追加の治療剤を対象に投与することをさらに含む方法。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１軸結合拮抗薬または追加の治療剤は、抗ＦｃＲＨ５抗体の投与の前または後に投与される。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１軸結合拮抗薬または追加の治療剤は、抗ＦｃＲＨ５抗体と同時に投与される。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１軸結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬、ＰＤ－１結合拮抗薬、及びＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１軸結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬である。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（アテゾリズマブ）、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＤＸ－１１０５、ＭＥＤＩ４７３６（デュルバルマブ）、及びＭＳＢ００１０７１８Ｃ（アベルマブ）からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（アテゾリズマブ）である。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１軸結合拮抗薬は、ＰＤ－１結合拮抗薬である。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＭＤＸ　１１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ペムブロリズマブ）、ＣＴ－０１１（ピディリズマブ）、ＭＥＤＩ－０６８０（ＡＭＰ－５１４）、ＰＤＲ００１、ＲＥＧＮ２８１０、及びＢＧＢ－１０８からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１軸結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬である。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬は、抗体またはイムノアドヘシンである。いくつかの実施形態において、対象ステロイド、免疫調節薬（ＩＭｉＤ）、プロテオソーム阻害剤（ＰＩ）、またはそれらの組み合わせ。いくつかの実施形態において、ステロイドは、グルココルチコイドである。いくつかの実施形態

において、グルココルチコイドは、デキサメタゾンである。いくつかの実施形態において、ＩＭｉＤは、レナリドミドである。いくつかの実施形態において、ＰＩは、ボルテゾミブである。

【００６７】

他の実施形態では、本方法は、前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体、ＰＤ－１軸結合拮抗薬、ステロイド、ＩＭｉＤ、ＰＩ、またはそれらの組み合わせを、静脈内に、皮下に、筋肉内に、局所的に、経口的に、経皮に、腹腔内に、眼窩内に、植え込みにより、吸入により、髄腔内に、脳室内に、または鼻腔内に投与することを含む。いくつかの実施形態において、本方法は、抗ＦｃＲＨ５抗体、ＰＤ－１軸結合拮抗薬、ステロイド、ＩＭｉＤ、ＰＩ、またはそれらの組み合わせを静脈内に投与することを含む。いくつかの実施形態において、本方法は、抗ＦｃＲＨ５抗体、ＰＤ－１軸結合拮抗薬、ステロイド、ＩＭｉＤ、ＰＩ、またはそれらの組み合わせを皮下に投与することを含む。前述の態様のうちのいずれか１つのいくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【００６８】

別の態様では、本発明は、対象からの生体試料中のＦｃＲＨ５の検出方法を特色とし、本方法は、（ａ）生体試料を、本発明の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体と、生体試料中で自然発生のＦｃＲＨ５に抗ＦｃＲＨ５抗体が結合することを許容する条件下で接触させることと、（ｂ）生体試料中で抗ＦｃＲＨ５抗体と自然発生のＦｃＲＨ５との複合体が形成されるかどうかを検出することとを含む。いくつかの実施形態において、生体試料は血液試料である。本態様のいくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【００６９】

別の態様では、本発明は、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体と、対象におけるＦｃＲＨ５陽性癌の治療またはその進行の遅延のために抗ＦｃＲＨ５抗体を使用するための指示書を含む添付文書とを含む、キットを特色とする。別の態様では、本発明は、本発明の前述の態様のいずれか１つに記載の抗ＦｃＲＨ５抗体と、ＦｃＲＨ５陽性癌を有する対象において免疫機能を増強するために抗ＦｃＲＨ５抗体を使用するための指示書を含む添付文書とを含む、キットを特色とする。これらの態様のいくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【図面の簡単な説明】

【００７０】

【図１Ａ】１つ以上の荷電領域を含むＶＬ、ＶＨ、ＣＬ、及びＣＨ１ドメインを有するＦｃＲＨ５　ＴＤＢの例示的な合理的設計構成（構成１）を示す概略図である。構成１では、VH_1、CL_1、VL_2、及び$CH1_2$ドメインは、塩基性荷電領域を含み、VL_1、$CH1_1$、VH_2、及びCL_2ドメインは、酸性荷電領域を含む。

【図１Ｂ】１つ以上の荷電領域を含むＶＬ、ＶＨ、ＣＬ、及びＣＨ１ドメインを有するＦｃＲＨ５　ＴＤＢの例示的な合理的設計構成（構成２）を示す概略図である。構成２では、VH_1、CL_1、VL_2、及び$CH1_2$ドメインは、酸性荷電領域を含み、VL_1、$CH1_1$、VH_2、及びCL_2ドメインは、塩基性荷電領域を含む。

【図１Ｃ】１つ以上の荷電領域を含むＶＬ、ＶＨ、ＣＬ、及びＣＨ１ドメインを有するＦｃＲＨ５　ＴＤＢの例示的なロゼッタデザイン構成（構成１）を示す概略図である。構成１では、VH_1、CL_1、及びVL_2ドメインは、塩基性荷電領域を含み、VL_1、$CH1_1$、及びVH_2ドメインは、酸性荷電領域を含む。さらに、$CH1_2$ドメインは空洞を含み、CL_2ドメインは隆起を含む。空洞及び隆起は、$CH1_2$／CL_2界面における黒色の四角として図示されている。

【図１Ｄ】１つ以上の荷電領域を含むＶＬ、ＶＨ、ＣＬ、及びＣＨ１ドメインを有するＦｃＲＨ５　ＴＤＢの例示的なロゼッタデザイン構成（構成２）を示す概略図である。構成２では、VH_1、CL_1、及びVL_2ドメインは、酸性荷電領域を含み、VL_1、$CH1_1$、及びVH_2ドメインは、塩基性荷電領域を含む。さらに、$CH1_2$ドメインは空洞を含み、CL_2ドメインは隆起を含む。空洞及び隆起は、$CH1_2$／CL_2界面における黒色の四角として図示されている。

【図１Ｅ】１つ以上の荷電領域を含むＶＬ、ＶＨ、ＣＬ、及びＣＨ１ドメインを有するＦｃＲＨ５　ＴＤＢの例示的な代替的ロゼッタデザイン構成（代替的構成１）を示す概略図である。代替的構成１では、$ＶＬ_{1}$、$ＶＨ_{2}$、及び$ＣＬ_{2}$ドメインは、酸性荷電領域を含み、$ＶＨ_{1}$、$ＣＨ１_{2}$、及び$ＶＬ_{2}$ドメインは、塩基性荷電領域を含む。さらに、$ＣＨ１_{1}$ドメインは空洞を含み、$ＣＬ_{1}$ドメインは隆起を含む。空洞及び隆起は、$ＣＨ１_{1}$／$ＣＬ_{1}$界面における黒色の四角として図示されている。

【図１Ｆ】１つ以上の荷電領域を含むＶＬ、ＶＨ、ＣＬ、及びＣＨ１ドメインを有するＦｃＲＨ５　ＴＤＢの例示的な代替的ロゼッタデザイン構成（代替的構成２）を示す概略図である。代替的構成２では、$ＶＬ_{1}$、$ＶＨ_{2}$、及び$ＣＬ_{2}$ドメインは、塩基性荷電領域を含み、$ＶＨ_{1}$、$ＣＨ１_{2}$、及び$ＶＬ_{2}$ドメインは、酸性荷電領域を含む。さらに、$ＣＨ１_{1}$ドメインは空洞を含み、$ＣＬ_{1}$ドメインは隆起を含む。空洞及び隆起は、$ＣＨ１_{1}$／$ＣＬ_{1}$界面における黒色の四角として図示されている。

【図２】選ばれた抗ＦｃＲＨ５抗体の軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン配列のアライメントである。１Ｇ７からの変化（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第２０１５－００９８９００号を参照されたい）が暗色の四角内に示されている。超可変領域（ＨＶＲ）は、アライメントの上及び／または下の線によって示されている。これらのＶＬドメイン配列は、配列番号８３、８５、８７、８９、９１、９３、９５、９７、９９、及び１０１としても開示される。

【図３】選ばれた抗ＦｃＲＨ５抗体の重鎖可変（ＶＨ）ドメイン配列のアライメントである。クローン１Ｇ７からの変化（米国公開第２０１５－００９８９００号を参照されたい）が暗色の四角内に示されている。超可変領域（ＨＶＲ）は、アライメントの上及び／または下の線によって示されている。これらのＶＨドメイン配列は、配列番号８２、８４、８６、８８、９０、９２、９４、９６、９８、及び１００としても開示される。

【図４】示される抗ＦｃＲＨ５抗体の５２位におけるアミノ酸置換の結合親和性に対する影響を示す表である。

【図５Ａ】ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５及びｈｕ１Ｇ７．ｖ９３の重鎖可変（ＶＨ）ドメイン配列のアライメントである。ヒト生殖系列配列ＩＧＨＶ４－５９＊０１からの変化が網掛けの四角内に示されている。超可変領域（ＨＶＲ）は、アライメントの上の標識によって示されている。これらのＶＨドメイン配列は、配列番号１０４（ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５）及び１０６（ｈｕ１Ｇ７．ｖ９３）としても開示される。

【図５Ｂ】ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５及びｈｕ１Ｇ７．ｖ９３の軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン配列のアライメントである。ヒト生殖系列配列ＩＧＫＶ１－１６＊０１からの変化が網掛けの四角内に示されている。超可変領域（ＨＶＲ）は、アライメントの上の標識によって示されている。これらのＶＬドメイン配列は、配列番号１０５（ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５）及び１０７（ｈｕ１Ｇ７．ｖ９３）としても開示される。

【図６Ａ】ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５．１Ｇ７、及びコンセンサスＨ４の重鎖可変（ＶＨ）ドメイン配列のアライメントである。ヒト化、親和性成熟、及び洗練された（ｐｏｌｉｓｈｅｄ）クローン１Ｇ７からの変化（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第２０１５－００９８９００号を参照されたい）が暗色の四角内に示されている。超可変領域（ＨＶＲ）は、アライメントの上の標識によって示されている。ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５のＶＨドメイン配列は、配列番号１０４として開示される。

【図６Ｂ】ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５、１Ｇ７、及びコンセンサスＫＩの軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン配列のアライメントである。ヒト化、親和性成熟、及び洗練されたクローン１Ｇ７からの変化が網掛けの四角内に示されている。ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５のＶＬドメイン配列は、配列番号１０５として開示される。

【図７Ａ】抗ＦｃＲＨ５抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ９３の重鎖可変（ＶＨ）ドメイン配列（配列番号１０６）を示す。

【図７Ｂ】抗ＦｃＲＨ５抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ９３の軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン配列（配列番号１０７）を示す。

【図８】１Ｇ７．ｖ８５抗体及び１Ｇ７．ｖ８７抗体の抗体力価を示すグラフである。

【図９Ａ】異なる抗ＦｃＲＨ５アームを有するＦｃＲＨ５／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（すなわちｍ１Ｇ７（「１Ｇ７　ＴＤＢ」）、１Ｇ７．ｖ８５（「１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ」）、及び１Ｇ７．ｖ１．４（「１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ」））の、ＦｃＲＨ３過剰発現細胞に対する結合性を比較するヒストグラムのオーバーレイである。
【図９Ｂ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢが≦２０μｇ／ｍＬの濃度でナチュラルキラー（ＮＫ）細胞を枯渇させないこと、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢが形質細胞（ＰＣ）に対して２５ｎｇ／ｍＬのＥＣ５０中央値を有することを示すグラフである。
【図１０Ａ】ＦｃＲＨ３、ヒトＦｃＲＨ５、及びカニクイザルＦｃＲＨ５に結合するＦｃＲＨ５　ＴＤＢである１Ｇ７．ｖ１．４／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ」）の能力を比較する一連のグラフである。
【図１０Ｂ】ＦｃＲＨ３、ヒトＦｃＲＨ５、及びカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの能力を比較する一連のグラフである。
【図１０Ｃ】ＦｃＲＨ３、ヒトＦｃＲＨ５、及びカニクイザルＦｃＲＨ５に結合するＦｃＲＨ５　ＴＤＢである１Ｇ７／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７　ＴＤＢ」）の能力を比較する一連のグラフである。
【図１０Ｄ】ＦｃＲＨ３、ヒトＦｃＲＨ５、及びカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する対照抗体の能力を比較する一連のグラフである。
【図１１Ａ】ヒト化ウサギ由来抗ＦｃＲＨ５抗体ｈｕ７Ｄ８．Ｌ１Ｈ２の重鎖可変（ＶＨ）ドメイン配列の配列を示す。ｈｕ７Ｄ８．Ｌ１Ｈ２のＶＨドメイン配列は、配列番号１０８として開示される。
【図１１Ｂ】ヒト化ウサギ由来抗ＦｃＲＨ５抗体ｈｕ７Ｄ８．Ｌ１Ｈ２の軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン配列の配列を示す。ｈｕ７Ｄ８．Ｌ１Ｈ２のＶＬドメイン配列は、配列番号１０９として開示される。
【図１２Ａ】マウス由来抗ＦｃＲＨ５抗体１７Ｂ１の重鎖可変（ＶＨ）ドメイン配列の配列を示す。１７Ｂ１のＶＨドメイン配列は、配列番号１１０として開示される。
【図１２Ｂ】マウス由来抗ＦｃＲＨ５抗体１７Ｂ１の軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン配列の配列を示す。１７Ｂ１のＶＬドメイン配列は、配列番号１１１として開示される。
【図１３Ａ】マウス由来抗ＦｃＲＨ５抗体１５Ｇ８の重鎖可変（ＶＨ）ドメイン配列の配列を示す。１５Ｇ８のＶＨドメイン配列は、配列番号１１２として開示される。
【図１３Ｂ】マウス由来抗ＦｃＲＨ５抗体１５Ｇ８の軽鎖可変（ＶＬ）ドメイン配列の配列を示す。１５Ｇ８のＶＬドメイン配列は、配列番号１１３として開示される。
【図１４】ウサギ由来抗ＦｃＲＨ５抗体７Ｄ８．Ｒｂ及びｈ７Ｄ８．Ｌ１Ｈ２のヒト化変異形の、ヒトＦｃＲＨ５及びカニクイザルＦｃＲＨ５に対する結合親和性を示す、一連のグラフである。
【図１５】ＦｃＲＨ５　ＴＤＢである１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及びｈｕ１Ｇ７．ｖ９３／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ９３　ＴＤＢ」）が、ヒトＦｃＲＨ５とカニクイザルＦｃＲＨ５との両方に比較可能な親和性で結合することを示す、一連のグラフである。
【図１６Ａ】一価親和性の１：１結合モデルを使用したｈＩｇＧ捕捉フォーマットにおいてＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）によって測定した場合に、ヒトＦｃＲＨ５及びカニクイザルＦｃＲＨ５にそれぞれ２．３５ｎＭ及び６．７６ｎＭの解離定数（K_D）で結合する、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの動態分析を示すグラフである。
【図１６Ｂ】一価親和性の１：１結合モデルを使用したｈＩｇＧ捕捉フォーマットにおいてＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）によって測定した場合に、ヒトＦｃＲＨ５及びカニクイザルＦｃＲＨ５にそれぞれ２．３５ｎＭ及び６．７６ｎＭの解離定数（K_D）で結合する、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの動態分析を示すグラフである。
【図１７Ａ】図１７Ａ及び１７Ｂは、３８Ｅ４．ｖ１のＣＤ３結合アームを有するＴ細胞依存性二重特異性（ＴＤＢ）抗体にフォーマットされた、１Ｇ７のヒト化及び親和性成熟した変異形を使用した、ＭＯＬＰ－２細胞（すなわち、ＦｃＲＨ５を内因的に発現するヒト多発性骨髄腫細胞）の増加したＦｃＲＨ５誘導性細胞毒性を示すグラフである（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、ＰＣＴ公開第ＷＯ　２０１５－０９５３９２号

Ａ１を参照されたい）。図１７Ａでは、１Ｇ７　ＴＤＢ、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．１　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．２／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．２　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．３／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．３　ＴＤＢ」）、及び１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢを評価した。図１７Ｂでは、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．５／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．５」ＴＤＢ）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．１３　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．７／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．７　ＴＤＢ」）、及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３．１／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．１３．１」）を評価した。１Ｇ７．ｖ．１．４　ＴＤＢは、標的細胞殺傷（ＥＣ５０）をマウス１Ｇ７　ＴＤＢ（ｎ＝１０）と比べて５～１３倍改善させた。

【図１７Ｂ】図１７Ａ及び１７Ｂは、３８Ｅ４．ｖ１のＣＤ３結合アームを有するＴ細胞依存性二重特異性（ＴＤＢ）抗体にフォーマットされた、１Ｇ７のヒト化及び親和性成熟した変異形を使用した、ＭＯＬＰ－２細胞（すなわち、ＦｃＲＨ５を内因的に発現するヒト多発性骨髄腫細胞）の増加したＦｃＲＨ５誘導性細胞毒性を示すグラフである（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、ＰＣＴ公開第ＷＯ　２０１５－０９５３９２号Ａ１を参照されたい）。図１７Ａでは、１Ｇ７　ＴＤＢ、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．１　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．２／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．２　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．３／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．３　ＴＤＢ」）、及び１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢを評価した。図１７Ｂでは、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．５／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．５」ＴＤＢ）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．１３　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．７／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．７　ＴＤＢ」）、及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３．１／３８Ｅ４．ｖ１（「１Ｇ７．ｖ１．１３．１」）を評価した。１Ｇ７．ｖ．１．４　ＴＤＢは、標的細胞殺傷（ＥＣ５０）をマウス１Ｇ７　ＴＤＢ（ｎ＝１０）と比べて５～１３倍改善させた。

【図１８Ａ】図１８Ａ～１８Ｄは、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのＴ細胞を活性化させる能力（図１８Ａ）、標的ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷する能力（図１８Ｂ）、標的カニクイザル形質細胞を殺傷する能力（図１８Ｃ）、ならびに標的カニクイザルＢ細胞を殺傷する能力（図１８Ｄ）を比較するグラフである。

【図１８Ｂ】図１８Ａ～１８Ｄは、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのＴ細胞を活性化させる能力（図１８Ａ）、標的ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷する能力（図１８Ｂ）、標的カニクイザル形質細胞を殺傷する能力（図１８Ｃ）、ならびに標的カニクイザルＢ細胞を殺傷する能力（図１８Ｄ）を比較するグラフである。

【図１８Ｃ】図１８Ａ～１８Ｄは、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのＴ細胞を活性化させる能力（図１８Ａ）、標的ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷する能力（図１８Ｂ）、標的カニクイザル形質細胞を殺傷する能力（図１８Ｃ）、ならびに標的カニクイザルＢ細胞を殺傷する能力（図１８Ｄ）を比較するグラフである。

【図１８Ｄ】図１８Ａ～１８Ｄは、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのＴ細胞を活性化させる能力（図１８Ａ）、標的ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷する能力（図１８Ｂ）、標的カニクイザル形質細胞を殺傷する能力（図１８Ｃ）、ならびに標的カニクイザルＢ細胞を殺傷する能力（図１８Ｄ）を比較するグラフである。

【図１９Ａ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及びｈｕ１Ｇ７．ｖ８７／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢ」）の、ヒトＦｃＲＨ５（パネル１）、カニクイザルＦｃＲＨ５（パネル２）、及びヒトＦｃＲＨ３（パネル３）を発現するマウスＳＶＴ２細胞と結合し交差反応する能力を比較する、一連のヒストグラムである。

【図１９Ｂ】図１９Ｂ～１９Ｄは、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢの標的ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷する能力（図１９Ｂ）、ヒトＢ細胞を殺傷する能力（図１９Ｃ）、及びカニクイザルＢ細胞を殺傷する能力（図１９Ｄ）を比較するグラフである。

【図１９Ｃ】図１９Ｂ～１９Ｄは、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢの標的ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷する能力（図１９Ｂ）、ヒトＢ細胞を殺傷する能力（図１

９Ｃ）、及びカニクイザルＢ細胞を殺傷する能力（図１９Ｄ）を比較するグラフである。
【図１９Ｄ】図１９Ｂ～１９Ｄは、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢの標的ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷する能力（図１９Ｂ）、ヒトＢ細胞を殺傷する能力（図１９Ｃ）、及びカニクイザルＢ細胞を殺傷する能力（図１９Ｄ）を比較するグラフである。
【図２０Ａ】図２０Ａ～２０Ｄは、２，２’－アゾビス（２－アミドプロパン）二塩酸塩（ＡＡＰＨ）ストレス試験（図２０Ｂ）または光ストレス試験（図２０Ｄ）のいずれかを受けた後に、ストレス無負荷のそれぞれの対照（図２０Ａ及び２０Ｃ）と比較した場合の、ＦｃＲＨ５に結合する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの能力の低減を示すグラフである。
【図２０Ｂ】図２０Ａ～２０Ｄは、２，２’－アゾビス（２－アミドプロパン）二塩酸塩（ＡＡＰＨ）ストレス試験（図２０Ｂ）または光ストレス試験（図２０Ｄ）のいずれかを受けた後に、ストレス無負荷のそれぞれの対照（図２０Ａ及び２０Ｃ）と比較した場合の、ＦｃＲＨ５に結合する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの能力の低減を示すグラフである。
【図２０Ｃ】図２０Ａ～２０Ｄは、２，２’－アゾビス（２－アミドプロパン）二塩酸塩（ＡＡＰＨ）ストレス試験（図２０Ｂ）または光ストレス試験（図２０Ｄ）のいずれかを受けた後に、ストレス無負荷のそれぞれの対照（図２０Ａ及び２０Ｃ）と比較した場合の、ＦｃＲＨ５に結合する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの能力の低減を示すグラフである。
【図２０Ｄ】図２０Ａ～２０Ｄは、２，２’－アゾビス（２－アミドプロパン）二塩酸塩（ＡＡＰＨ）ストレス試験（図２０Ｂ）または光ストレス試験（図２０Ｄ）のいずれかを受けた後に、ストレス無負荷のそれぞれの対照（図２０Ａ及び２０Ｃ）と比較した場合の、ＦｃＲＨ５に結合する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの能力の低減を示すグラフである。
【図２１Ａ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのサイズ分布分析を示すグラフである。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、ｐＨ５．５のｈｉｓ－アセテート溶液中での２週間のストレスの後、モノマーピークの０．１％を損失した。
【図２１Ｂ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの電荷不均一性を示すグラフである。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、ｐＨ５．５のｈｉｓ－アセテート溶液中での２週間のストレスの後、モノマーピークの７．７％を損失した。
【図２２Ａ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢが、ｐＨ５．５のｈｉｓ－アセテート溶液中での２週間のストレスの後、軽鎖質量の換算質量プロファイルに観察可能な変化を有しないことを示すグラフである。
【図２２Ｂ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢが、ｐＨ５．５のｈｉｓ－アセテート溶液中での２週間のストレスの後、重鎖質量の換算質量プロファイルに観察可能な変化を有しないことを示すグラフである。
【図２３Ａ】１μｇ／ｍｌの１Ｇ７／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢ、１０Ａ８／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢ（「１０Ａ８　ＴＤＢ」）、及び抗ｇＤ／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢ（「抗ｇＤ　ＴＤＢ」）、ならびにＮ末端ｇＤ発現タグを有するヒトＦｃＲＨ５を発現する細胞で刺激した、健常なドナーの末梢ＣＤ８細胞のホスホ－ＳＬＰ７６ウェスタンブロットである。ＴＣＲシグナル伝達を示す全ＳＬＰ７６に対するブロッティングを使用して、等しい試料負荷を確認した。
【図２３Ｂ】１Ｇ７／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢまたは抗ｇＤ　ＴＤＢのいずれか及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞によるＦｃＲＨ５標的細胞殺傷を示すグラフである。
【図２３Ｃ】ｇＤエピトープが現在膜近位にある切断型ＦｃＲＨ５構築物の概略図である。
【図２３Ｄ】１Ｇ７　ＴＤＢまたは抗ｇＤ　ＴＤＢを含む切断型ＦｃＲＨ５構築物を使用した標的細胞殺傷を示すグラフである。ＥＣＤにより生じた干渉を除去すると、近位１Ｇ７／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢの活性は２５倍増加し（ＥＣ５０＝２０ｐＭ）、抗ｇＤ　ＴＤＢは細胞の殺傷を効果的に媒介することができた（ＥＣ５０＝０．１９ｎＭ）。切断型構築物は、２９３細胞内で発現した。
【図２３Ｅ】膜近位エピトープを認識する５つの代替的なＦｃＲＨ５　ＴＤＢの標的細胞殺傷（破線）が、１Ｇ７／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢによって媒介される殺傷と同等であり、１０Ａ８　ＴＤＢよりも著しく良好であることを示すグラフである。

【図２４Ａ】ＳＶＴ２－親、ｇＤ－ＦｃＲＨ５全長、及びｇＤ－ＦｃＲＨ５－ドメイン９細胞のフローサイトメトリ分析のヒストグラムオーバーレイである。
【図２４Ｂ】１Ｇ７／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢ、２Ｈ７／　ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢ（「２Ｈ７　ＴＤＢ」）、３Ｇ７／　ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢ（「３Ｇ７　ＴＤＢ」）、１０Ａ８　ＴＤＢ、及び抗ｇＤ　ＴＤＢによる標的細胞殺傷パーセントを示すグラフである。
【図２５Ａ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢはＦｃＲＨ５には結合するが他のファミリーメンバーには結合しないことを示す、６つの細胞株（ＳＶＴ２－ベクター、ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ１、ＳＶＴ２－ＦＣＲＨ２、ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ３、ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ４、及びＳＶＴ２－ＦｃＲＨ５）のオーバーレイヒストグラムである。
【図２５Ｂ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢがＦｃＲＨ５の膜近位ドメインに結合することを示す、３つの細胞株（２９３親、２９３－ＦｃＲＨ５全長、及び２９３－ＦｃＲＨ５－Ｄ９－欠失）のヒストグラムオーバーレイである。
【図２５Ｃ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢがカニクイザルＦｃＲＨ５及びヒトＦｃＲＨ５に結合することを示す、３つの細胞株（ＳＶＴ２－ベクター、ＳＶＴ２－ｈｕＦｃＲＨ５、及びＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５）のオーバーレイヒストグラムである。
【図２６Ａ】図２６Ａ～２６Ｄは、多発性骨髄腫（ＭＭ）細胞株及び初代細胞に対する１Ｇ７／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７　ＴＤＢ」）の結合性を示す、３つの細胞株（ＳＶＴ２－ベクター、ＳＶＴ２－ｈｕＦｃＲＨ５、及びＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５）のオーバーレイヒストグラムである。オーバーレイヒストグラムは、ＭＯＬＰ－２細胞（図２６Ａ）、ヒトＣＤ２０＋Ｂ細胞（図２６Ｂ）、ヒトＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋形質細胞（図２６Ｃ）、及びＭＭ骨髄吸引液からのＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋ＭＭ腫瘍細胞（図２６Ｄ）に対するアイソタイプ－ＰＥ及び１Ｇ７　ＴＤＢに関して示されている。
【図２６Ｂ】図２６Ａ～２６Ｄは、多発性骨髄腫（ＭＭ）細胞株及び初代細胞に対する１Ｇ７／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７　ＴＤＢ」）の結合性を示す、３つの細胞株（ＳＶＴ２－ベクター、ＳＶＴ２－ｈｕＦｃＲＨ５、及びＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５）のオーバーレイヒストグラムである。オーバーレイヒストグラムは、ＭＯＬＰ－２細胞（図２６Ａ）、ヒトＣＤ２０＋Ｂ細胞（図２６Ｂ）、ヒトＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋形質細胞（図２６Ｃ）、及びＭＭ骨髄吸引液からのＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋ＭＭ腫瘍細胞（図２６Ｄ）に対するアイソタイプ－ＰＥ及び１Ｇ７　ＴＤＢに関して示されている。
【図２６Ｃ】図２６Ａ～２６Ｄは、多発性骨髄腫（ＭＭ）細胞株及び初代細胞に対する１Ｇ７／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７　ＴＤＢ」）の結合性を示す、３つの細胞株（ＳＶＴ２－ベクター、ＳＶＴ２－ｈｕＦｃＲＨ５、及びＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５）のオーバーレイヒストグラムである。オーバーレイヒストグラムは、ＭＯＬＰ－２細胞（図２６Ａ）、ヒトＣＤ２０＋Ｂ細胞（図２６Ｂ）、ヒトＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋形質細胞（図２６Ｃ）、及びＭＭ骨髄吸引液からのＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋ＭＭ腫瘍細胞（図２６Ｄ）に対するアイソタイプ－ＰＥ及び１Ｇ７　ＴＤＢに関して示されている。
【図２６Ｄ】図２６Ａ～２６Ｄは、多発性骨髄腫（ＭＭ）細胞株及び初代細胞に対する１Ｇ７／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７　ＴＤＢ」）の結合性を示す、３つの細胞株（ＳＶＴ２－ベクター、ＳＶＴ２－ｈｕＦｃＲＨ５、及びＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５）のオーバーレイヒストグラムである。オーバーレイヒストグラムは、ＭＯＬＰ－２細胞（図２６Ａ）、ヒトＣＤ２０＋Ｂ細胞（図２６Ｂ）、ヒトＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋形質細胞（図２６Ｃ）、及びＭＭ骨髄吸引液からのＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋ＭＭ腫瘍細胞（図２６Ｄ）に対するアイソタイプ－ＰＥ及び１Ｇ７　ＴＤＢに関して示されている。
【図２７Ａ】フローサイトメトリ分析により検出された、標的細胞（ＭＯＬＰ－２）及び１Ｇ７　ＴＤＢによる刺激に際するＣＤ８＋細胞の用量依存性活性化を示すグラフである。
【図２７Ｂ】１Ｇ７　ＴＤＢによる標的細胞依存性殺傷を示すグラフである。挿入図は、低レベルまたは高レベルのヒトＦｃＲＨ５を発現するようにトランスフェクトされた親Ｆｏｘ－ＮＹ細胞株及びクローンのフローサイトメトリオーバーレイを示す。エラーバーは

、３連の標準偏差である。
【図２７Ｃ】図２７Ｃ～２７Ｅは、フローサイトメトリによってＣＳＦＥ蛍光強度希釈を測定することにより検出した場合に、１Ｇ７　ＴＤＢがＣＤ８増殖応答（５日間）を誘導したことを示すグラフである。ＣＦＳＥ標識ヒトＣＤ８＋細胞のみ（図２７Ｃ）、ＭＯＬＰ－２との共培養（図２７Ｄ）、またはＭＯＬＰ－２及び１０００ｎｇ／ｍｌの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの共培養（図２７Ｅ）。
【図２７Ｄ】図２７Ｃ～２７Ｅは、フローサイトメトリによってＣＳＦＥ蛍光強度希釈を測定することにより検出した場合に、１Ｇ７　ＴＤＢがＣＤ８増殖応答（５日間）を誘導したことを示すグラフである。ＣＦＳＥ標識ヒトＣＤ８＋細胞のみ（図２７Ｃ）、ＭＯＬＰ－２との共培養（図２７Ｄ）、またはＭＯＬＰ－２及び１０００ｎｇ／ｍｌの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの共培養（図２７Ｅ）。
【図２７Ｅ】図２７Ｃ～２７Ｅは、フローサイトメトリによってＣＳＦＥ蛍光強度希釈を測定することにより検出した場合に、１Ｇ７　ＴＤＢがＣＤ８増殖応答（５日間）を誘導したことを示すグラフである。ＣＦＳＥ標識ヒトＣＤ８＋細胞のみ（図２７Ｃ）、ＭＯＬＰ－２との共培養（図２７Ｄ）、またはＭＯＬＰ－２及び１０００ｎｇ／ｍｌの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの共培養（図２７Ｅ）。
【図２７Ｆ】異なる抗ＣＤ３アーム（例えばＵＣＨＴ１．ｖ９、３８Ｅ４．ｖ１、及び４０Ｇ５ｃ）を含むＦｃＲＨ５　ＴＤＢによる標的依存性細胞殺傷を示すグラフである（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、ＰＣＴ公開第ＷＯ　２０１５／０９５３９２号Ａ１を参照されたい）。抗ＣＤ３アームである３８Ｅ４．ｖ１（一価K_D　０．５ｎＭ、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標））、ＵＣＨＴ１．ｖ９（一価K_D＝２．５ｎＭ、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）及びＳｃａｔｃｈａｒｄ）、及び４０Ｇ５ｃ（一価K_D＝５１ｎＭ、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標））を、各々、ｍ１Ｇ７の抗ＦｃＲＨ５アーム（K_D＝１１ｎｍ、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標））と対にし、精製されたヒトＣＤ８＋細胞に対する結合性について試験した。
【図２７Ｇ】１Ｇ７　ＴＤＢ及び１Ｇ７／３８Ｅ４．ｖ１　ｂｉｓ－Ｆａｂ（「１Ｇ７　ｂｉｓ－Ｆａｂ」）による標的依存性細胞殺傷を示すグラフである。
【図２８Ａ】初代多発性骨髄腫腫瘍細胞、健常なドナーの末梢Ｂ細胞、及び骨髄形質細胞におけるＦｃＲＨ５発現を示すグラフである。ＦｃＲＨ５発現はフローサイトメトリによって分析し、ＭＯＬＰ－２内部対照及びアッセイ対照における発現に正規化した。ＦｃＲＨ５の相対レベルは、次のように計算した：（「Ｘ」のＦｃＲＨ５の幾何平均／「Ｘ」のアイソタイプ対照の幾何平均）／（ＭＯＬＰ－２のＦｃＲＨ５の幾何平均／ＭＯＬＰ－２のアイソタイプ対照の幾何平均）。
【図２８Ｂ】ヒト形質細胞に対する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの細胞傷害活性を示すグラフである。ヒト骨髄単核細胞（ＢＭＭＣ）を１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢと共に培養し、生きたＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋の細胞数をフローサイトメトリによって分析した。
【図２８Ｃ】異なる患者由来の初代骨髄腫細胞に対する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの細胞傷害活性を示すグラフである。ヒト骨髄腫ＢＭＭＣを、健常なドナーから単離されたＣＤ８＋Ｔ細胞及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＢＤと共培養した。
【図２８Ｄ】強力な殺傷活性には標的細胞内の極めて低いＦｃＲＨ５発現で十分であることを示すグラフである。細胞１個当たりのＦｃＲＨ５コピー数は、Ｓｃａｔｃｈａｒｄアッセイによって決定した。
【図２８Ｅ】（上）１ｑ２１ゲインを有する高リスク骨髄腫患者由来の骨髄生検中のＦｃＲＨ５　ｍＲＮＡレベルのｑＲＴ－ＰＣＲ分析を示すグラフである。ｍＲＮＡ発現レベルはデルタＣｔ（ｄＣｔ）法によって計算した。統計分析は、Ｍａｎｎ－Ｗｈｉｔｎｅｙ　Ｕ検定を使用して行った。（下）１ｑ２１の正常な二倍体（左）及び１ｑ２１のおよそ３～６つのコピーの混合物（右）を示す、初代多発性骨髄腫生検のＦＩＳＨ分析画像である。スコア化された腫瘍細胞の＞２０％が１ｑ２１．３遺伝子座の３つ以上のコピーを有したとき、腫瘍試料は１ｑ２１ゲインとして特定された。
【図２９Ａ】カニクイザルＣＤ２０＋Ｂ細胞でのＦｃＲＨ５の発現を図示する、アイソタ

イプ－ＰＥ及び抗ＦｃＲＨ５クローン１Ｇ７－ＰＥのヒストグラムオーバーレイである。
【図２９Ｂ】カニクイザルＣＤ４５－ＣＤ２０－ＣＤ３８＋ＰＣ＋形質細胞でのＦｃＲＨ５の発現を図示する、アイソタイプ－ＰＥ及び抗ＦｃＲＨ５クローン１Ｇ７－ＰＥのヒストグラムオーバーレイである。
【図２９Ｃ】図２９Ｃ及び２９Ｄは、ＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５（図２９Ｃ）及びＭＯＬＰ－２（図２９Ｄ）をヒトＣＤ８＋Ｔ細胞またはカニクイザルＣＤ８＋Ｔ細胞と共に使用したインビトロ殺傷アッセイにおける、カニクイザルＣＤ８＋Ｔ細胞とヒトＣＤ８＋Ｔ細胞との間で比較可能な用量依存性細胞傷害活性を示すグラフである。
【図２９Ｄ】図２９Ｃ及び２９Ｄは、ＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５（図２９Ｃ）及びＭＯＬＰ－２（図２９Ｄ）をヒトＣＤ８＋Ｔ細胞またはカニクイザルＣＤ８＋Ｔ細胞と共に使用したインビトロ殺傷アッセイにおける、カニクイザルＣＤ８＋Ｔ細胞とヒトＣＤ８＋Ｔ細胞との間で比較可能な用量依存性細胞傷害活性を示すグラフである。
【図２９Ｅ】カニクイザルＣＤ２０＋Ｂ細胞（ｎ＝１４）に対する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのインビトロ殺傷活性を示すグラフである。
【図２９Ｆ】８体の異なるドナー（ｎ＝８）からのカニクイザル骨髄由来のＣＤ４５－ＣＤ２０－ＣＤ３８＋ＰＣ＋形質細胞に対する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのインビトロ殺傷活性を示すグラフである。
【図３０Ａ】ヒト化ＮＯＤ／ＳＣＩＤガンママウス（ＮＳＧ）の脾臓から単離した脾臓ヒトＴ細胞が健常なドナー由来の末梢ヒトＴ細胞と比較可能な活性を有することを示すグラフである。
【図３０Ｂ】１Ｇ７　ＴＤＢ処置がヒト化ＮＳＧマウスにおける皮下ＭＯＬＰ－２異種移植腫瘍の退縮を誘導することを示すグラフである。マウスは、単回静脈内用量のビヒクルまたは０．５ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢで処置した。平均腫瘍体積（黒色の太線）、個々の腫瘍体積（細線）、及び対照群の平均（破線）が示されている。
【図３１Ａ】３体の動物／群に対する１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量投与後の研究期間を通してプロットしたＦｃＲＨ５　ＴＤＢの血清濃度を示すグラフである。薬力学的パラメータを示す表が下に示されている。
【図３１Ｂ】３体の動物／群に対する３ｍｇ／ｋｇの抗ｇＤ　ＴＤＢまたは０．３ｍｇ／ｋｇもしくは３ｍｇ／ｋｇのＦｃＲＨ５　ＴＤＢの単回用量投与後の研究期間を通してプロットしたＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８７／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢ」））の血清濃度を示すグラフである。薬力学的パラメータを示す表が下に示されている。
【図３１Ｃ】図３１Ｃ及び３１Ｄは、３体の動物／群に対するビヒクルまたは１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ（１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇ）の単回用量静脈内投与後のカニクイザル末梢血における、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢに誘導された一過性のＴ細胞活性化を示すグラフである。
【図３１Ｄ】図３１Ｃ及び３１Ｄは、３体の動物／群に対するビヒクルまたは１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ（１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇ）の単回用量静脈内投与後のカニクイザル末梢血における、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢに誘導された一過性のＴ細胞活性化を示すグラフである。
【図３１Ｅ】図３１Ｅ～３１Ｈは、３体の動物／群に対するビヒクルまたは１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ（１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇ）の単回用量静脈内投与後のカニクイザルにおける、末梢血（図３１Ｅ）、脾臓（図３１Ｆ）、下顎リンパ節（図３１Ｇ）、及び骨髄（図３１Ｈ）中のＣＤ２０＋Ｂ細胞絶対数を示すグラフである。図３１Ｆ～３１Ｈは、群平均及び平均値の標準誤差（ＳＥＭ）と共にプロットされている。
【図３１Ｆ】図３１Ｅ～３１Ｈは、３体の動物／群に対するビヒクルまたは１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ（１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇ）の単回用量静脈内投与後のカニクイザルにおける、末梢血（図３１Ｅ）、脾臓（図３１Ｆ）、下顎リンパ節（図３１Ｇ）、及び骨髄（図３１Ｈ）中のＣＤ２０＋Ｂ細胞絶対数を示すグラフである。図３

１Ｆ～３１Ｈは、群平均及び平均値の標準誤差（ＳＥＭ）と共にプロットされている。
【図３１Ｇ】図３１Ｅ～３１Ｈは、３体の動物／群に対するビヒクルまたは１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ（１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇ）の単回用量静脈内投与後のカニクイザルにおける、末梢血（図３１Ｅ）、脾臓（図３１Ｆ）、下顎リンパ節（図３１Ｇ）、及び骨髄（図３１Ｈ）中のＣＤ２０＋Ｂ細胞絶対数を示すグラフである。図３１Ｆ～３１Ｈは、群平均及び平均値の標準誤差（ＳＥＭ）と共にプロットされている。
【図３１Ｈ】図３１Ｅ～３１Ｈは、３体の動物／群に対するビヒクルまたは１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ（１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇ）の単回用量静脈内投与後のカニクイザルにおける、末梢血（図３１Ｅ）、脾臓（図３１Ｆ）、下顎リンパ節（図３１Ｇ）、及び骨髄（図３１Ｈ）中のＣＤ２０＋Ｂ細胞絶対数を示すグラフである。図３１Ｆ～３１Ｈは、群平均及び平均値の標準誤差（ＳＥＭ）と共にプロットされている。
【図３１Ｉ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢがカニクイザルにおいて骨髄形質細胞を枯渇させることを示すグラフであり、群のＳＥＭ測定値がプロットされている。
【図３１Ｊ】｛（投薬前のＩｇＧレベル）－（研究終了時のＩｇＧレベル）｝／（投薬前のＩｇＧ）×１００の式を使用して計算された、処置に対するカニクイザルＩｇＧレベル応答の変化を示すグラフである。投薬前と処置後との差は、独立ｔ検定によって分析される。このデータは、群平均及び平均値の標準誤差（ＳＥＭ）と共にプロットされている。
【図３２Ａ】図３２Ａ及び３２Ｂは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、または４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、末梢血（図３２Ａ）及びＣＤ８＋Ｔ細胞（図３２Ｂ）中のＣＤ４＋Ｔ細胞絶対数を示すグラフである。
【図３２Ｂ】図３２Ａ及び３２Ｂは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、または４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、末梢血（図３２Ａ）及びＣＤ８＋Ｔ細胞（図３２Ｂ）中のＣＤ４＋Ｔ細胞絶対数を示すグラフである。
【図３２Ｃ】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ処置後の腸間膜リンパ節中のＣＤ２０＋Ｂ細胞絶対数の減少を示すグラフである。このプロットは、個々の動物及びＳＥＭを伴う群平均としてグラフ化されている。
【図３２Ｄ】１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、または４ｍｇ／ｋｇにおける１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後のＦｃＲＨ５占有率を示すグラフである。
【図３３Ａ】図３３Ａ～３３Ｆは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、サイトカインＩＬ－６（図３３Ａ）、ＩＬ－２（図３３Ｂ）、ＩＦＮ－γ（図３３Ｃ）、ＩＬ－１Ｒα（図３３Ｄ）、ＩＬ－５（図３３Ｅ）、及びＭＣＰ－１（図３３Ｆ）の濃度変化を示すグラフである。
【図３３Ｂ】図３３Ａ～３３Ｆは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、サイトカインＩＬ－６（図３３Ａ）、ＩＬ－２（図３３Ｂ）、ＩＦＮ－γ（図３３Ｃ）、ＩＬ－１Ｒα（図３３Ｄ）、ＩＬ－５（図３３Ｅ）、及びＭＣＰ－１（図３３Ｆ）の濃度変化を示すグラフである。
【図３３Ｃ】図３３Ａ～３３Ｆは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、サイトカインＩＬ－６（図３３Ａ）、ＩＬ－２（図３３Ｂ）、ＩＦＮ－γ（図３３Ｃ）、ＩＬ－１Ｒα（図３３Ｄ）、ＩＬ－５（図３３Ｅ）、及びＭＣＰ－１（図３３Ｆ）の濃度変化を示すグラフである。
【図３３Ｄ】図３３Ａ～３３Ｆは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、サイトカインＩＬ－６（図３３Ａ）、ＩＬ－２（図３３Ｂ）、ＩＦＮ－γ（図３３Ｃ）、ＩＬ－１Ｒα（図３３Ｄ）、ＩＬ－５（図３３Ｅ）、及びＭＣＰ－１（図３３Ｆ）の濃度変化を示すグラフである。

【図３３Ｅ】図３３Ａ～３３Ｆは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、サイトカインＩＬ－６（図３３Ａ）、ＩＬ－２（図３３Ｂ）、ＩＦＮ－γ（図３３Ｃ）、ＩＬ－１Ｒα（図３３Ｄ）、ＩＬ－５（図３３Ｅ）、及びＭＣＰ－１（図３３Ｆ）の濃度変化を示すグラフである。

【図３３Ｆ】図３３Ａ～３３Ｆは、ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、２ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後の４つの動物群における、サイトカインＩＬ－６（図３３Ａ）、ＩＬ－２（図３３Ｂ）、ＩＦＮ－γ（図３３Ｃ）、ＩＬ－１Ｒα（図３３Ｄ）、ＩＬ－５（図３３Ｅ）、及びＭＣＰ－１（図３３Ｆ）の濃度変化を示すグラフである。

【図３４】１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ処置がヒトＴ細胞におけるＰＤ１発現を誘導することを示す、一連のプロットである。ＣＤ８＋Ｔ細胞を１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及びＭＯＬＰ－２標的細胞で４８時間刺激し、フローサイトメトリによって分析した。

【図３５Ａ】ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後のカニクイザルにおける、ＣＤ８＋Ｔ細胞中のＰＤ１＋の割合を示すグラフである。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ処置は、インビボでカニクイザルＴ細胞中のＰＤ１の誘導をもたらす。

【図３５Ｂ】ビヒクル、１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、及び４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量静脈内投与後のカニクイザルにおける、ＣＤ４＋Ｔ細胞中のＰＤ１＋の割合を示すグラフである。

【図３６Ａ】図３６Ａ～３６Ｄは、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢまたはビヒクルを投薬した７日後にＦＡＣＳによって分析した場合の、血液由来のＣＤ４＋Ｔ細胞（図３６Ａ）、脾臓由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｂ）、リンパ節由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｃ）、及び骨髄由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｄ）におけるＰＤ－１発現を示すプロットである。

【図３６Ｂ】図３６Ａ～３６Ｄは、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢまたはビヒクルを投薬した７日後にＦＡＣＳによって分析した場合の、血液由来のＣＤ４＋Ｔ細胞（図３６Ａ）、脾臓由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｂ）、リンパ節由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｃ）、及び骨髄由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｄ）におけるＰＤ－１発現を示すプロットである。

【図３６Ｃ】図３６Ａ～３６Ｄは、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢまたはビヒクルを投薬した７日後にＦＡＣＳによって分析した場合の、血液由来のＣＤ４＋Ｔ細胞（図３６Ａ）、脾臓由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｂ）、リンパ節由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｃ）、及び骨髄由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｄ）におけるＰＤ－１発現を示すプロットである。

【図３６Ｄ】図３６Ａ～３６Ｄは、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢまたはビヒクルを投薬した７日後にＦＡＣＳによって分析した場合の、血液由来のＣＤ４＋Ｔ細胞（図３６Ａ）、脾臓由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｂ）、リンパ節由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｃ）、及び骨髄由来のＣＤ８＋Ｔ細胞（図３６Ｄ）におけるＰＤ－１発現を示すプロットである。

【図３７Ａ】図３７Ａ及び３７Ｂは、抗ＰＤ－Ｌ１または抗ＰＤ－１抗体の存在下または不在下で、ＦｃＲＨ５及びＰＤ－１を発現するＨＥＫ－２９３Ｔ細胞（「２９３－ＦｃＲＨ５－ＰＤ－Ｌ１細胞」）を殺傷する前刺激したＣＤ８＋Ｔ細胞の活性を再指向する、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの能力を示すグラフである。図３７Ａ中の曲線は、３連の平均及び標準誤差（ＳＤ）と共にグラフ化されている。

【図３７Ｂ】図３７Ａ及び３７Ｂは、抗ＰＤ－Ｌ１または抗ＰＤ－１抗体の存在下または不在下で、ＦｃＲＨ５及びＰＤ－１を発現するＨＥＫ－２９３Ｔ細胞（「２９３－ＦｃＲＨ５－ＰＤ－Ｌ１細胞」）を殺傷する前刺激したＣＤ８＋Ｔ細胞の活性を再指向する、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの能力を示すグラフである。図３７Ａ中の曲線は、３連の平均及び標準誤差（ＳＤ）と共にグラフ化されている。

【図３８Ａ】デキサメタゾン（Ｄｅｘ）の存在下または不在下での１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢによるＳＶＴ２－ＦｃＲＨ５の標的細胞殺傷を示すグラフである。

【図３８Ｂ】１μＭのＤｅｘの存在下及び不在下における１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢでの処置後のサイトカイン（すなわちＩＬ－２、ＩＬ－６、ＴＮＦ－α、及びＩＦＮ－γ）の放

出を示す、一連のグラフである。
【図３９】ヒトＩｇＧ１からのｂｉｓ－Ｆａｂの産生を示す概略図である。
【図４０Ａ】ＥＬＩＳＡアッセイにより決定した場合の、ｂｉｓ－Ｆａｂ　Ａ～Ｄ及びＦ（ａｂ’）$_2$　ＡによるＦｃＲＨ５の結合性を示すグラフである。
【図４０Ｂ】ＥＬＩＳＡアッセイにより決定した場合の、ｂｉｓ－Ｆａｂ　Ａ～Ｄ及びＦ（ａｂ’）$_2$　ＡによるＣＤ３の結合性を示すグラフである。
【図４１】ｂｉｓ－Ｆａｂ　Ａ～Ｄ及びＦ（ａｂ’）$_2$　Ａによる標的媒介性Ｔ細胞活性化の量を示すグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００７１】
Ｉ．定義
本明細書で使用される「約」という用語は、当業者であれば容易に分かるそれぞれの値の通常の誤差範囲を指す。本明細書における「約」の値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象とする実施形態を含む（かつ説明する）。
【００７２】
本明細書における目的のための「アクセプターヒトフレームワーク」は、以下に定義するヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（ＶＨ）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、それと同じアミノ酸配列を含んでもよく、またはアミノ酸配列変化を含んでもよい。いくつかの実施形態において、アミノ酸変化の数は、１０以下、９以下、８以下、７以下、６以下、５以下、４以下、３以下、または２以下である。いくつかの実施形態において、ＶＬアクセプターヒトフレームワークは、配列においてＶＬヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。
【００７３】
「親和性」とは、分子（例えば抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば抗原）との間の非共有相互作用の合計の強度を指す。別段の指示がない限り、本明細書で使用される「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）の間の１：１の相互作用を反映する、固有結合親和性を指す。分子Ｘの、そのパートナーＹに対する親和性は、一般に、解離定数（K_D）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載されるものを含めた当該技術分野で知られる一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための特定の例証的かつ例示的な実施形態が、以下に記載される。
【００７４】
「親和性成熟」抗体とは、変更を有しない親抗体と比較して、１つ以上の超可変領域（ＨＶＲ）内に１つ以上の変更を有し、かかる変更が抗原に対する抗体の親和性を改善する抗体を指す。
【００７５】
「抗ＦｃＲＨ５抗体」または「ＦｃＲＨ５に結合する抗体」という用語は、ＦｃＲＨ５を標的とするにあたり抗体が診断剤及び／または治療剤として有用であるような十分な親和性でＦｃＲＨ５に結合することのできる抗体を指す。一実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体が無関係の非ＦｃＲＨ５タンパク質に結合する程度は、例えばラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）によって測定した場合に、ＦｃＲＨ５に対するこの抗体の結合の約１０％未満である。ある特定の実施形態では、ＦｃＲＨ５に結合する抗体は、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、または≦０．００１ｎＭ（例えば10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（K_D）を有する。ある特定の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、異なる種由来のＦｃＲＨ５間で保存されるＦｃＲＨ５のエピトープに結合する。
【００７６】

「抗ＣＤ３抗体」及び「ＣＤ３に結合する抗体」という用語は、ＣＤ３を標的とするにあたり抗体が診断剤及び／または治療剤として有用であるような十分な親和性でＣＤ３に結合することのできる抗体を指す。一実施形態において、抗ＣＤ３抗体が無関係の非ＣＤ３タンパク質に結合する程度は、例えばラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）によって測定した場合に、ＣＤ３に対するこの抗体の結合の約１０％未満である。ある特定の実施形態では、ＣＤ３に結合する抗体は、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、または≦０．００１ｎＭ（例えば10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（K_D）を有する。ある特定の実施形態では、抗ＣＤ３抗体は、異なる種由来のＣＤ３間で保存されるＣＤ３のエピトープに結合する。

【００７７】

本明細書における「抗体」という用語は最も広義に使用され、それらが所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び抗体断片（例えばｂｉｓ－Ｆａｂ）を含むがこれらに限定されない様々な抗体構造を包含する。

【００７８】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部分を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、ｂｉｓ－Ｆａｂ、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、$F(ab')_2$、ダイアボディ、線状抗体、一本鎖抗体分子（例えばｓｃＦｖ）、及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【００７９】

「結合ドメイン」とは、標的のエピトープ、抗原、リガンド、または受容体に特異的に結合する化合物または分子の一部を意味する。結合ドメインは、抗体（例えばモノクローナル、ポリクローナル、組換え型、ヒト化型、及びキメラ型の抗体）、抗体断片またはその一部分（例えばｂｉｓ－Ｆａｂ断片、Ｆａｂ断片、$F(ab')_2$、ｓｃＦｖ抗体、ＳＭＩＰ、ドメイン抗体、ダイアボディ、ミニボディ、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、アフィボディ、ナノボディ、ならびに抗体のＶＨ及び／またはＶＬドメイン）、受容体、リガンド、アプタマー、及び特定された結合パートナーを有する他の分子を含むが、これらに限定されない。

【００８０】

本明細書で使用される「荷電領域」という用語は、１個以上（例えば１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、または１０個）の塩基性または酸性のアミノ酸を含むポリペプチド（例えば抗体）の位置であり、荷電領域及びその同族の荷電領域が反対の全体的な相対電荷を有するときに、１個以上（例えば１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、または１０個）の塩基性または酸性のアミノ酸を有する同族の荷電領域と電荷対を形成することができるものを指す。

【００８１】

本明細書で使用される「電荷対」という用語は、反対の全体的電荷をもつ２つの荷電領域間に形成される結合を指す。

【００８２】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化学化合物である。化学療法剤の例としては、チオテパ及びシクロスホスファミド（ｃｙｃｌｏｓｐｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）（ＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標））などのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピポスルファンなどのスルホン酸アルキル類；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパなどのアジリジン類；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド、及びトリメチロメラミンを含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；アセトゲニン類（特にブラタシン及びブラタシノン）；デルター９－テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、ＭＡＲＩＮＯＬ（登録商標））；ベーターラパコン；ラパコール；コルヒチン；ベツリン酸；カンプトテシン（合

成類似体トポテカン（ＨＹＣＡＭＴＩＮ（登録商標））、ＣＰＴ－１１（イリノテカン、ＣＡＭＰＴＯＳＡＲ（登録商標））、アセチルカンプトテシン、スコポレクチン、及び９－アミノカンプトテシンを含む）；ブリオスタチン；カリスタチン（ｃａｌｌｙｓｔａｔｉｎ）；ＣＣ－１０６５（そのアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシン合成類似体を含む）；ポドフィロトキシン；ポドフィリン酸；テニポシド；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン１及びクリプトフィシン８）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類似体ＫＷ－２１８９及びＣＢ１－ＴＭ１を含む）；エリュテロビン；パンクラチスタチン（ｐａｎｃｒａｔｉｓｔａｔｉｎ）；サルコジクチイン；スポンギスタチン；ナイトロジェンマスタード、例えばクロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベムビチン（ｎｏｖｅｍｂｉｃｈｉｎ）、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムヌスチン（ｒａｎｉｍｎｕｓｔｉｎｅ）などのニトロソ尿素；抗生物質、例えばエンジイン抗生物質（例えばカリチアマイシン、特にカリチアマイシンガンマ１Ｉ及びカリチアマイシンオメガＩＩ（例えばＮｉｃｏｌａｏｕ ｅｔ ａｌ．Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．３３：１８３－１８６，１９９４を参照されたい）；ＣＤＰ３２３、経口アルファ４インテグリン阻害剤；ダイネマイシンＡを含むダイネマイシン；エスペラミシン；ならびにネオカルチノスタチン発色団及び関連する色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（ａｕｔｈｒａｍｙｃｉｎ）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン（ｃａｒａｂｉｃｉｎ）、カミノマイシン（ｃａｍｉｎｏｍｙｃｉｎ）、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ドキソルビシン（ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮ（登録商標）、モルホリノ－ドキソルビシン、シアノモルホリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン、ドキソルビシンＨＣｌリポソーム注射（ＤＯＸＩＬ（登録商標））、リポソームドキソルビシンＴＬＣ Ｄ－９９（ＭＹＯＣＥＴ（登録商標））、ペグ化リポソームドキソルビシン（ＣＡＥＬＹＸ（登録商標））、及びデオキシドキソルビシンを含む）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンＣなどのマイトマイシン類、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン（ｑｕｅｌａｍｙｃｉｎ）、ロドルビシン（ｒｏｄｏｒｕｂｉｃｉｎ）、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン；メトトレキサート、ゲムシタビン（ＧＥＭＺＡＲ（登録商標））、テガフール（ＵＦＴＯＲＡＬ（登録商標））、カペシタビン（ＸＥＬＯＤＡ（登録商標））、エポチロン、及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）などの代謝拮抗剤；コンブレタスタチン；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎剤（ａｎｔｉ－ａｄｒｅｎａｌｓ）；フロリン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ ａｃｉｄ）などの葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート（ｅｄａｔｒａｘａｔｅ）；デホファミン（ｄｅｆｏｆａｍｉｎｅ）；デメコルチン；ジアジコン；エルホルミチン（ｅｌｆｏｒｍｉｔｈｉｎｅ）；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン（ｌｏｎｉｄａｉｎｉｎｅ）；マイタンシン及びアンサミトシンなどのマイタンシノイド類；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール（ｍｏｐｉｄａｎｍｏｌ）；ニトラエリン（ｎｉｔｒａｅｒｉｎｅ）；ペントスタチン；フェナメト（ｐｈｅｎ

ａｍｅｔ）；ピラルビシン；ロソキサントロン；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ（登録商標）多糖複合体（ＪＨＳ Ｎａｔｕｒａｌ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，Ｏｒｅｇ．）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフラン（ｓｉｚｏｆｕｒａｎ）；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；２，２’，２’－トリクロロトリエチルアミン；トリコテシン類（特にＴ－２トキシン、ベラクリン（ｖｅｒｒａｃｕｒｉｎ）Ａ、ロリジンＡ、及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン（ＥＬＤＩＳＩＮＥ（登録商標）、ＦＩＬＤＥＳＩＮ（登録商標））；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン（ｇａｃｙｔｏｓｉｎｅ）；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；チオテパ；タキソイド、例えばパクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，Ｎ．Ｊ．）、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（商標））、及びドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）、Ｒｈｏｍｅ－Ｐｏｕｌｅｎｅ Ｒｏｒｅｒ，Ａｎｔｏｎｙ，Ｆｒａｎｃｅ）；クロランブシル（ｃｈｌｏｒａｎｂｕｃｉｌ）；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、オキサリプラチン（例えばＥＬＯＸＡＴＩＮ（登録商標））、及びカルボプラチンなどの白金製剤；チューブリン重合が微小管を形成するのを防ぐ、ビンブラスチン（ＶＥＬＢＡＮ（登録商標））、ビンクリスチン（ＯＮＣＯＶＩＮ（登録商標））、ビンデシン（ＥＬＤＩＳＩＮＥ（登録商標）、ＦＩＬＤＥＳＩＮ（登録商標））、及びビノレルビン（ＮＡＶＥＬＢＩＮＥ（登録商標））を含むビンカ；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；ミトキサントロン；ロイコボリン；ノバントロン；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロネート；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ ２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）；ベキサロテン（ＴＡＲＧＲＥＴＩＮ（登録商標））を含むレチノイン酸などのレチノイド類；クロドロネート（例えば、ＢＯＮＥＦＯＳ（登録商標）またはＯＳＴＡＣ（登録商標））、エチドロネート（ＤＩＤＲＯＣＡＬ（登録商標））、ＮＥ－５８０９５、ゾレドロン酸／ゾレドロネート（ＺＯＭＥＴＡ（登録商標））、アレンドロネート（ＦＯＳＡＭＡＸ（登録商標））、パミドロネート（ＡＲＥＤＩＡ（登録商標））、チルドロネート（ＳＫＥＬＩＤ（登録商標））、またはリセドロネート（ＡＣＴＯＮＥＬ（登録商標））などのビスホスホネート類；トロキサシタビン（１，３－ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常な細胞の増殖に結び付けられるシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、ＰＫＣアルファ、Ｒａｆ、Ｈ－Ｒａｓ、及び上皮成長因子受容体（ＥＧＦ－Ｒ）（例えばエルロチニブ（Ｔａｒｃｅｖａ（商標））；及び細胞増殖を低減させるＶＥＧＦ－Ａなど；ＴＨＥＲＡＴＯＰＥ（登録商標）ワクチン及び遺伝子療法ワクチンなどのワクチン、例えば、ＡＬＬＯＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、ＬＥＵＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、及びＶＡＸＩＤ（登録商標）ワクチン；トポイソメラーゼ１阻害剤（例えばＬＵＲＴＯＴＥＣＡＮ（登録商標））；ｒｍＲＨ（例えばＡＢＡＲＥＬＩＸ（登録商標））；ＢＡＹ４３９００６（ソラフェニブ；Ｂａｙｅｒ）；ＳＵ－１１２４８（スニチニブ、ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、Ｐｆｉｚｅｒ）；ペリフォシン、ＣＯＸ－２阻害剤（例えばセレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えばＰＳ３４１）；ボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ（登録商標））；ＣＣＩ－７７９；ティピファニブ（Ｒ１１５７７）；オラフェニブ（ｏｒａｆｅｎｉｂ）、ＡＢＴ５１０；オブリメルセンナトリウム（ＧＥＮＡＳＥＮＳＥ（登録商標））などのＢｃｌ－２阻害剤；ピクサントロン；ＥＧＦＲ阻害剤；チロシンキナーゼ阻害剤；ラパマイシン（シロリムス、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標））などのセリン－スレオニンキナーゼ阻害剤；ロナファーニブ（ＳＣＨ ６６３６、ＳＡＲＡＳＡＲ（商標））などのファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体；ならびに上記のうちの２つ以上の組み合わせ、例えばＣＨＯＰ（シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、及びプレドニゾロンの併用療法の略語）；及びＦＯＬＦＯＸ（オキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮ（商標））を５－ＦＵ及びロイコボリンと組み合わせた治療レジメンの略語）、ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される

塩、酸、または誘導体；ならびに上記のうちの２つ以上の組み合わせが挙げられる。

【００８３】

本明細書において定義される化学療法剤には、癌の成長を促進し得るホルモンの作用を制御、低減、遮断、または阻害する働きをする「抗ホルモン剤」または「内分泌性治療薬」が含まれる。それら自体が、例えば、タモキシフェン（ＮＯＬＶＡＤＥＸ（登録商標）タモキシフェンを含む）、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、４－ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、ＬＹ１１７０１８、オナプリストン、及びＦＡＲＥＳＴＯＮ．ｃｎｄｏｔ．トレミフェンを含む、抗エストロゲン薬及び選択的エストロゲン受容体調節薬（ＳＥＲＭ）；副腎におけるエストロゲン産生を制御する酵素であるアロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば、４（５）－イミダゾール、アミノグルテチミド、ＭＥＧＡＳＥ（登録商標）酢酸メゲストロール、ＡＲＯＭＡＳＩＮ（登録商標）エキセメスタン、ホルメスタニー（ｆｏｒｍｅｓｔａｎｉｅ）、ファドロゾール、ＲＩＶＩＳＯＲ（登録商標）ボロゾール、ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）レトロゾール、及びＡＲＩＭＩＤＥＸ（登録商標）アナストロゾールなど；ならびにフルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、リュープロリド、及びゴセレリンなどの抗アンドロゲン薬；ならびにトロキサシタビン（１，３－ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常な（ａｂｈｅｒａｎｔ）細胞の増殖に結び付けられるシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、ＰＫＣアルファ、Ｒａｆ、及びＨ－Ｒａｓなど；ＶＥＧＦ発現阻害剤（例えばＡＮＧＩＯＺＹＭＥ（登録商標）リボザイム）及びＨＥＲ２発現阻害剤などのリボザイム；遺伝子療法ワクチンなどのワクチン、例えば、ＡＬＬＯＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、ＬＥＵＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、及びＶＡＸＩＤ（登録商標）ワクチン；ＰＲＯＬＥＵＫＩＮ（登録商標）ｒＩＬ－２；ＬＵＲＴＯＴＥＣＡＮ（登録商標）トポイソメラーゼ１阻害剤；ＡＢＡＲＥＬＩＸ（登録商標）ｒｍＲＨ；ビノレルビン及びエスペラミシン（米国特許第４，６７５，１８７号参照）、ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体；ならびに上記のうちの２つ以上の組み合わせを含むがこれらに限定されない、ホルモンであってもよい。

【００８４】

「免疫調節薬」または「ＩＭｉＤ」という用語は、抗体形成の刺激及び／または末梢血細胞活性の阻害などにより免疫系応答または免疫系の機能を改変する薬物のクラスを指し、サリドマイド（α－Ｎ－フタルイミド－グルタルイミド）及びその類似体、ＲＥＶＬＩＭＩＤ（登録商標）（レナリドミド）、ＡＣＴＩ－ＭＩＤ（商標）（ポマリドミド）、ＯＴＥＺＬＡ（登録商標）（アプレミラスト）、ならびにそれらの薬学的に許容される塩または酸を含むが、これらに限定されない。

【００８５】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／または軽鎖の一部分が特定の起源または種に由来し、重鎖及び／または軽鎖の残部が異なる起源または種に由来する抗体を指す。

【００８６】

本明細書で使用される「ＦｃＲＨ５」という用語は、細胞におけるＦｃＲＨ５タンパク質の産生から生じる任意の天然ＦｃＲＨ５を指す。この用語には、別段の指示がない限り、霊長類（例えばヒト及びカニクイザル）及び齧歯類（例えばマウス及びラット）などの哺乳動物を含む任意の脊椎動物源由来のＦｃＲＨ５が含まれる。この用語には、ＦｃＲＨ５の自然発生変異形、例えばスプライス変異形または対立遺伝子変異形も含まれる。例示的なヒトＦｃＲＨ５タンパク質配列のアミノ酸配列は、配列番号１１４に示される。例示的なカニクイザルＦｃＲＨ５タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号２１５に示される。

【００８７】

本明細書で使用される「表面抗原分類３」または「ＣＤ３」という用語は、別段の指示がない限り、霊長類（例えばヒト）及び齧歯類（例えばマウス及びラット）などの哺乳動物を含む任意の脊椎動物源由来の任意の天然ＣＤ３を指し、例えば、ＣＤ３ε、ＣＤ３γ、ＣＤ３α、及びＣＤ３β鎖を含む。この用語には、「全長」のプロセシングされていな

いＣＤ３（例えば、プロセシングまたは修飾されていないＣＤ３εまたはＣＤ３γ）、ならびに細胞におけるプロセシングから生じる任意の形態のＣＤ３が包含される。この用語には、例えば、スプライス変異形または対立遺伝子変異形を含む、ＣＤ３の自然発生変異形も包含される。ＣＤ３には、例えば、２０７アミノ酸長のヒトＣＤ３εタンパク質（ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＰ＿０００７２４）、及び１８２アミノ酸長のヒトＣＤ３γタンパク質（ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＰ＿０００００６４）が含まれる。

【００８８】

抗体の「クラス」は、その重鎖が有する定常ドメインまたは定常領域の種類を指す。抗体には、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭの５つの主要なクラスがあり、これらのうちのいくつかは、例えばIgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2のサブクラス（アイソタイプ）にさらに分類され得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

【００８９】

本明細書に記載される本発明の態様及び実施形態は、態様及び実施形態「を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、それら「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ）」、及びそれら「から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」を含むことが理解される。

【００９０】

本明細書で使用される「細胞傷害剤」という用語は、細胞機能を阻害もしくは防止する物質、及び／または細胞の死もしくは破壊を引き起こす物質を指す。細胞傷害剤としては、放射性同位元素（例えばAt^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、及びＬｕの放射性同位元素）；化学療法剤または化学療法薬（例えばメトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンＣ、クロラムブシル、ダウノルビシン、または他の挿入剤）；成長阻害剤；核酸分解酵素などの酵素及びその断片；抗生物質；細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素などの毒素（それらの断片及び／または変異形を含む）；ならびに以下に開示される様々な抗腫瘍剤または抗癌剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【００９１】

「障害」とは、哺乳動物を問題の障害にかかりやすくする病理学的状態を含む慢性及び急性の障害または疾患を含むがこれらに限定されない、治療から利益を受けることになるあらゆる状態である。

【００９２】

「細胞増殖性障害」及び「増殖性障害」という用語は、ある程度の異常な細胞増殖に関連する障害を指す。一実施形態において、細胞増殖性障害は癌である。一実施形態において、細胞増殖性障害は腫瘍である。

【００９３】

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には未制御の細胞成長／増殖を特徴とする哺乳動物における生理的状態を参照または説明するものである。癌の例としては、骨髄腫、細胞腫、リンパ腫（例えばホジキン及び非ホジキンリンパ腫）、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、癌は、ＦｃＲＨ５陽性癌である。このような癌のより具体的な例としては、多発性骨髄腫（ＭＭ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、濾胞性リンパ腫（ＦＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性骨髄単球性白血病、急性前骨髄球性白血病（ＡＰＬ）、慢性骨髄増殖性障害、血小板白血病、前駆Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（ｐｒｅ－Ｂ－ＡＬＬ）、前駆Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病（ｐｒｅ－Ｔ－ＡＬＬ）、マスト細胞症、マスト細胞白血病、マスト細胞肉腫、骨髄肉腫、リンパ

性白血病、及び未分化白血病が挙げられる。いくつかの実施形態において、癌は、Ｂ細胞癌である。特に、癌には、過剰な抗体の産生を伴う状態、例えばモノクローナル免疫グロブリン血症、軽鎖アミロイドーシス、意義不明のモノクローナル免疫グロブリン血症、ならびに単発性形質細胞腫、孤立性形質細胞腫、及び髄外性形質細胞腫などが含まれ得る。

【００９４】

本明細書で使用される「腫瘍」は、悪性か良性かを問わず、全ての腫瘍性細胞の成長及び増殖、ならびに全ての前癌性及び癌性細胞及び組織を指す。「癌」、「癌性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、及び「腫瘍」という用語は、本明細書で言及される場合、相互排他的ではない。

【００９５】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより異なる抗体のＦｃ領域に起因し得る生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）；Ｆｃ受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）；食作用；細胞表面受容体（例えばＢ細胞受容体）の下方制御；及びＢ細胞活性化が挙げられる。

【００９６】

化合物、例えば本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体またはその組成物（例えば薬学的組成物）の「有効量」は、少なくとも、特定の障害（例えば細胞増殖性障害、例えば癌）の測定可能な改善または防止などの所望の治療的または予防的な結果を達成するのに必要とされる最小限の量である。本明細書における有効量は、患者の病態、年齢、性別、及び体重、ならびに抗体が個体において所望の応答を誘起する能力などの要因に応じて異なり得る。有効量は、治療上有益な作用が治療のあらゆる毒性作用または有害作用を上回るものでもある。予防的使用の場合、有益な結果または所望の結果としては、疾患の生化学的、組織学的、及び／または挙動的な症状、その合併症、ならびに疾患の発症中に現れる中間病理学的表現型を含む、疾患のリスクの排除もしくは低減、疾患の重症度の軽減、または疾患の発症の遅延などの結果が挙げられる。治療的使用の場合、有益な結果または所望の結果としては、疾患から生じる１つ以上の症状の減少、疾患を患う者の生活の質の向上、疾患の治療に必要とされる他の薬物の用量の減少、標的化などによる別の薬物の効果の増強、疾患の進行の遅延、及び／または生存期間の延長などの臨床結果が挙げられる。癌または腫瘍の場合、有効量の薬物は、癌細胞数の低減；腫瘍サイズの低減；癌細胞が末梢器官に浸潤することの阻害（すなわち、ある程度の減速、望ましくは停止）；腫瘍転移の阻害（すなわち、ある程度の減速、望ましくは停止）；腫瘍成長のある程度の阻害；及び／または障害に関連する症状のうちの１つ異常のある程度の緩和に効果を有し得る。有効量は、１回以上の投与で投与され得る。本発明の目的では、薬物、化合物、または薬学的組成物の有効量は、予防的または治療的な処置を直接的または間接的に達成するのに十分な量である。臨床分野で理解されているように、薬物、化合物、または薬学的組成物の有効量は、別の薬物、化合物、または薬学的組成物と併せて達成されてもそうでなくてもよい。したがって、「有効量」は、１つ以上の治療剤を投与することに関連して考えることができ、単一の薬剤は、１つ以上の他の薬剤と併せて、望ましい結果が達成され得るか、または達成される場合に、有効量で与えられるとみなされ得る。

【００９７】

本明細書における「Ｆｃ領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部分を含む免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために使用される。この用語は、天然配列Ｆｃ領域及び変異形Ｆｃ領域を含む。一実施形態において、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、Ｃｙｓ２２６から、またはＰｒｏ２３０から、重鎖のカルボキシル末端に及ぶ。しかしながら、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）は、存在する場合もあれば、しない場合もある。本明細書に別段の指定がない限り、Ｆｃ領域または定常領域におけるアミノ酸残基の付番は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔ

ｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，１９９１に記載のＥＵインデックスとも呼ばれるＥＵ付番方式による。

【００９８】

「フレームワーク」または「ＦＲ」とは、超可変領域（ＨＶＲ）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのＦＲは、概して、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、及びＦＲ４の４つのＦＲドメインからなる。したがって、ＨＶＲ及びＦＲ配列は、概して、ＶＨ（またはＶＬ）において次の配列：ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４で現れる。

【００９９】

「ＦｃＲＨ５陽性細胞」という用語は、その表面でＦｃＲＨ５を発現する細胞を指す。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５は、ＦｃＲＨ５ａ、ＦｃＲＨ５ｂ、ＦｃＲＨ５ｃ、ＵｎｉＰｒｏｔ識別子Ｑ９６ＲＤ９－２、及び／またはＦｃＲＨ５ｄのうちの１つ以上である。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５は、ＦｃＲＨ５ｃである。

【０１００】

「ＦｃＲＨ５陽性癌」という用語は、その表面でＦｃＲＨ５を発現する細胞を含む癌を指す。細胞がＦｃＲＨ５を表面で発現するかどうかを判定するためには、ＦｃＲＨ５　ｍＲＮＡ発現が、細胞表面でのＦｃＲＨ５発現と相関するとみなされる。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５　ｍＲＮＡの発現は、インサイツハイブリダイゼーション及びＲＴ－ＰＣＲ（定量的ＲＴ－ＰＣＲを含む）から選択される方法によって定量される。あるいは、細胞表面でのＦｃＲＨ５の発現は、例えば、免疫組織化学的検査、ＦＡＣＳなどの方法において、ＦｃＲＨ５に対する抗体を使用することで定量してもよい。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５は、ＦｃＲＨ５ａ、ＦｃＲＨ５ｂ、ＦｃＲＨ５ｃ、ＵｎｉＰｒｏｔ識別子Ｑ９６ＲＤ９－２、及び／またはＦｃＲＨ５ｄのうちの１つ以上である。いくつかの実施形態において、ＦｃＲＨ５は、ＦｃＲＨ５ｃである。

【０１０１】

「全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書において、天然抗体の構造と実質的に同様の構造を有する抗体、または本明細書に定義されるＦｃ領域を含む重鎖を有する抗体を指すように、互換的に使用される。

【０１０２】

「ＦｃＲＨ５のグリコシル化型」という用語は、炭水化物残基の付加によって翻訳後修飾されているＦｃＲＨ５の自然発生形態を指す。

【０１０３】

本明細書において使用される場合、「成長阻害剤」とは、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞の成長を阻害する化合物または組成物を指す。一実施形態において、成長阻害剤は、抗体が結合する抗原を発現する細胞の増殖を防止または低減する成長阻害剤性抗体である。別の実施形態では、成長阻害剤は、Ｓ期の細胞の割合を著しく低減させるものであり得る。成長阻害剤の例としては、細胞周期の進行を（Ｓ期以外の場所で）阻止する薬剤、例えばＧ１停止及びＭ期停止を誘導する薬剤が挙げられる。古典的なＭ期ブロッカーとしては、ビンカ（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン、ならびにドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンなどのトポイソメラーゼＩＩ阻害剤が挙げられる。Ｇ１を停止させる薬剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、５－フルオロウラシル、及びａｒａ－Ｃなどの ＤＮＡアルキル化剤は、Ｓ期停止にも波及する。さらなる情報は、ＭｕｒａｋａｍｉらによるＭｅｎｄｅｌｓｏｈｎ ａｎｄ Ｉｓｒａｅｌ，ｅｄｓ．，Ｔｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ、第１章、表題「Ｃｅｌｌ ｃｙｃｌｅ ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ，ｏｎｃｏｇｅｎｅｓ，ａｎｄ ａｎｔｉｎｅｏｐｌａｓｔｉｃ ｄｒｕｇｓ」（Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，１９９５）、例えばｐ．１３に見出すことができる。タキサン（パクリタキセル及びドセタキセル）は、いずれもイチイ由来の抗癌薬である。ヨーロッパイチイ由来のドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）、Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎ

ｃ　Ｒｏｒｅｒ）は、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体からの微小管の構築を促進し、脱重合を防止することによって微小管を安定させ、細胞の有糸分裂を阻害する。

【０１０４】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は互換的に使用され、外来性の核酸が導入された細胞を指し、かかる細胞の子孫を含む。宿主細胞には「形質転換体」及び「形質転換細胞」が含まれ、これらは、初代形質転換細胞及び継代数にかかわらずそれに由来する子孫を含む。子孫は、核酸含量が親細胞と完全に同一でない場合があり、変異を含む場合がある。元々形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物活性を有する変異体子孫が、本明細書に含まれる。

【０１０５】

「ヒト抗体」とは、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された抗体またはヒト抗体レパートリーを用いる非ヒト源に由来する抗体のものに対応するアミノ酸配列、あるいは他のヒト抗体コード配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を明確に除外する。ヒト抗体は、当該技術分野で知られるファージディスプレイライブラリを含む様々な技術を使用して産生することができる。Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ａｎｄ　Ｗｉｎｔｅｒ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：３８１，１９９１、Ｍａｒｋｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１，１９９１。Ｃｏｌｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ａｎｄ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ　Ｒ．Ｌｉｓｓ，ｐ．７７（１９８５）、Ｂｏｅｒｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７（１）：８６－９５，１９９１に記載される方法も、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能である。また、ｖａｎ　Ｄｉｊｋ　ａｎｄ　ｖａｎ　ｄｅ　Ｗｉｎｋｅｌ．Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５：３６８－７４，２００１も参照されたい。ヒト抗体は、抗原負荷に応答してそのような抗体を産生するように改変されているが内因性遺伝子座が無効化されているトランスジェニック動物、例えば免疫したゼノマウス（ｘｅｎｏｍｉｃｅ）に抗原を投与することによって調製することができる（ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術に関しては、例えば、米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号を参照されたい）。また、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術によって生成されるヒト抗体に関しては、例えば、Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ．１０３：３５５７－３５６２，２００６を参照されたい。

【０１０６】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンのＶＬまたはＶＨフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンのＶＬまたはＶＨ配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループから行われる。概して、配列のサブグループは、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ，ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　９１－３２４２，Ｂｅｔｈｅｓｄａ　ＭＤ（１９９１），ｖｏｌｓ．１－３にあるようなサブグループである。一実施形態において、ＶＬについては、サブグループは、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ（上記）にあるようなサブグループカッパＩである。一実施形態において、ＶＨについては、サブグループは、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ（上記）にあるようなサブグループＩＩＩである。

【０１０７】

「ヒト化」抗体は、非ヒトＨＶＲ由来のアミノ酸残基及びヒトＦＲ由来のアミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。ある特定の実施形態では、ヒト化抗体は、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含み、そのＨＶＲ（例えばＣＤＲ）の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、ＦＲの全てまたは実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、場合により、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の

少なくとも一部分を含んでもよい。抗体、例えば非ヒト抗体の「ヒト化型」は、ヒト化を受けた抗体を指す。

【０１０８】

本明細書で使用される「超可変領域」または「ＨＶＲ」という用語は、抗体可変ドメインの配列が高頻度可変性である領域（「相補性決定領域」または「ＣＤＲ」）及び／または構造が定義されたループ（「超可変ループ」）を形成する領域、及び／または抗原含有残基（「抗原接点」）を含む領域の各々を指す。一般に抗体は、ＶＨに３つ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）、ＶＬに３つの（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）の６つのＨＶＲを含む。本明細書における例示的なＨＶＲは、以下のものを含む：

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

（ｂ）アミノ酸残基２４～３４（Ｌ１）、５０～５６（Ｌ２）、８９～９７（Ｌ３）、３１～３５ｂ（Ｈ１）、５０～６５（Ｈ２）、及び９５～１０２（Ｈ３）で生じるＣＤＲ（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ　Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１））、

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

（ｄ）ＨＶＲアミノ酸残基４６～５６（Ｌ２）、４７～５６（Ｌ２）、４８～５６（Ｌ２）、４９～５６（Ｌ２）、２６～３５（Ｈ１）、２６～３５ｂ（Ｈ１）、４９～６５（Ｈ２）、９３～１０２（Ｈ３）、及び９４～１０２（Ｈ３）を含む、（ａ）、（ｂ）、及び／または（ｃ）の組み合わせ。

【０１０９】

別段の指示がない限り、ＨＶＲ残基及び可変ドメイン内の他の残基（例えばＦＲ残基）は、本明細書において、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ（上記）に従って付番される。

【０１１０】

「免疫複合体」とは、細胞傷害剤を含むがこれに限定されない１つ以上の異種分子（複数可）と複合された抗体である。

【０１１１】

「対象」または「個体」は、哺乳動物である。哺乳動物としては、家畜（例えばウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えばヒト及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、及び齧歯類（例えばマウス及びラット）が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、対象または個体はヒトである。

【０１１２】

「単離」抗体とは、その自然環境の成分から分離されているものである。いくつかの実施形態において、抗体は、例えば、電気泳動（例えばＳＤＳ－ＰＡＧＥ、等電点電気泳動（ＩＥＦ）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフィ（例えばイオン交換もしくは逆相ＨＰＬＣ）によって判定した場合に、９５％または９９％超の純度まで精製される。抗体純度の評価方法の概説については、例えばＦｌａｔｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ　８４８：７９－８７，２００７を参照されたい。

【０１１３】

「単離」核酸とは、その自然環境の成分から分離されている核酸分子を指す。単離核酸は、核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子を含むが、この核酸分子は、染色体外に、またはその自然な染色体上の位置とは異なる染色体上の位置に存在する。

【０１１４】

「抗ＦｃＲＨ５抗体をコードする単離核酸」とは、抗体の重鎖及び軽鎖（またはそれらの断片）をコードする１つ以上の核酸分子を指し、単一のベクターまたは別々のベクター内のかかる核酸分子（複数可）、及び宿主細胞内の１つ以上の位置に存在するかかる核酸分子（複数可）を含む。

【０１１５】

「抗ＣＤ３抗体をコードする単離核酸」とは、抗体の重鎖及び軽鎖（またはそれらの断片）をコードする１つ以上の核酸分子を指し、単一のベクターまたは別々のベクター内のかかる核酸分子（複数可）、及び宿主細胞内の１つ以上の位置に存在するかかる核酸分子（複数可）を含む。

【０１１６】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指す。すなわち、例えば自然発生の変異を含むか、またはモノクローナル抗体調製物の生成中に生じる、可能性のある変異形抗体（かかる変異形は、概して微量で存在する）を除いて、その集団に含まれる個々の抗体は、同一であり、及び／または同じエピトープに結合する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、抗体が実質的に同種の抗体集団から得られるという特徴を示すものであり、何らかの特定の方法による抗体の産生を必要とするものと解釈されないものとする。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組換えＤＮＡ法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含むトランスジェニック動物を用いる方法を含むがこれらに限定されない多様な技術によって作製することができ、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法及び他の例示的な方法は、本明細書に記載される。

【０１１７】

「裸の抗体」とは、異種部分（例えば細胞傷害部分）または放射標識と複合されていない抗体を指す。裸の抗体は、薬学的製剤中に存在してもよい。

【０１１８】

「天然抗体」は、様々な構造を有する自然発生の免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然ＩｇＧ抗体は、ジスルフィド結合している２つの同一の軽鎖及び２つの同一の重鎖から構成された約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。Ｎ末端からＣ末端まで、各重鎖は、可変重ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＨ）、続いて３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３）を有する。同様に、Ｎ末端からＣ末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＬ）、続いて定常軽（ＣＬ）ドメインを有する。抗体の軽鎖には、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる２つの型のうちの１つが割り当てられ得る。

【０１１９】

「添付文書」という用語は、治療用製品の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症に関する情報、及び／またはその使用に関する警告を含む、かかる治療用製品の商業的パッケージに通例含まれる指示書を指すために使用される。

【０１２０】

「ＰＤ－１軸結合拮抗薬」という用語は、ＰＤ－１シグナル伝達軸でのシグナル伝達から生じるＴ細胞機能障害を取り除くために、ＰＤ－１軸結合パートナーとその結合パートナーのうちの１つ以上との相互作用を阻害し、結果としてＴ細胞機能（例えば増殖、サイトカイン産生、標的細胞殺傷）を回復または増強する分子を指す。本明細書で使用される場合、ＰＤ－１軸結合拮抗薬は、ＰＤ－１結合拮抗薬、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬、及びＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬を含む。

【０１２１】

「ＰＤ－１結合拮抗薬」という用語は、ＰＤ－１とその結合パートナーのうちの１つ以

上、例えばＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＰＤ－１がその結合パートナーのうちの１つ以上に結合することを阻害する分子である。特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＰＤ－１がＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２に結合することを阻害する。例えば、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、または妨害する、抗ＰＤ－１抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子を含む。一実施形態において、ＰＤ－１結合拮抗薬は、機能障害Ｔ細胞の機能障害性をより低くする（例えば抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ために、ＰＤ－１を通したシグナル伝達を媒介してＴリンパ球で発現した細胞表面タンパク質によってかまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを低減させる。いくつかの実施形態において、ＰＤ－１結合拮抗薬は、抗ＰＤ－１抗体である。特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ）である。別の特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＭＫ－３４７５（ペムブロリズマブ）である。別の特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＣＴ－０１１（ピディリズマブ）である。別の特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＡＭＰ－２２４である。別の特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＭＥＤ１－０６８０である。別の特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＰＤＲ００１である。別の特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＲＥＧＮ２８１０である。別の特有の実施形態では、ＰＤ－１結合拮抗薬は、ＢＧＢ－１０８である。

【０１２２】

「ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬」という用語は、ＰＤ－Ｌ１とその結合パートナーのうちの１つ以上、例えばＰＤ－１、Ｂ７－１との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ１がその結合パートナーに結合することを阻害する分子である。特有の実施形態では、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ１がＰＤ－１及び／またはＢ７－１に結合することを阻害する。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ１とその結合パートナーのうちの１つ以上、例えばＰＤ－１、Ｂ７－１との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、または妨害する、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子を含む。一実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬は、機能障害Ｔ細胞の機能障害性をより低くする（例えば抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ために、ＰＤ－Ｌ１を通したシグナル伝達を媒介してＴリンパ球で発現した細胞表面タンパク質によってかまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを低減させる。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合拮抗薬は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。さらに別の特有の実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（ＷＨＯ Ｄｒｕｇ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｎｏｎｐｒｏｐｒｉｅｔａｒｙ Ｎａｍｅｓ ｆｏｒ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｕｂｓｔａｎｃｅｓ），Ｒｅｃｏｍｍｅｎｄｅｄ ＩＮＮ：Ｌｉｓｔ ７４，Ｖｏｌ．２９，Ｎｏ．３，２０１５（３８７頁参照）でＴＥＣＥＮＴＲＩＱ（商標）として市販されているアテゾリズマブ）である。特有の実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０である。別の特有の実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＭＤＸ－１１０５である。別の特有の実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＭＳＢ００１５７１８Ｃである。さらに別の特有の実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＭＥＤＩ４７３６である。

【０１２３】

「ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬」という用語は、ＰＤ－Ｌ２とその結合パートナーのうちの１つ以上、例えばＰＤ－２との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態において

、ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ２がその結合パートナーのうちの１つ以上に結合することを阻害する分子である。特有の実施形態では、ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ２がＰＤ－１に結合することを阻害する。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ２拮抗薬は、ＰＤ－Ｌ２とその結合パートナーのうちの１つ以上、例えばＰＤ－１との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、または妨害する、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子を含む。一実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬は、機能障害Ｔ細胞の機能障害性をより低くする（例えば抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ために、ＰＤ－Ｌ２を通したシグナル伝達を媒介してＴリンパ球で発現した細胞表面タンパク質によってかまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを低減させる。いくつかの実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合拮抗薬は、イムノアドヘシンである。

【０１２４】

本明細書で使用される「タンパク質」という用語は、別段の指示がない限り、霊長類（例えばヒト）及び齧歯類（例えばマウス及びラット）などの哺乳動物を含む任意の脊椎動物源由来の任意の天然タンパク質を指す。この用語には、「全長」のプロセシングされていないタンパク質、ならびに細胞におけるプロセシングから生じる任意の形態のプロテインが包含される。この用語には、タンパク質の自然発生変異形、例えばスプライス変異形または対立遺伝子変異形も包含される。

【０１２５】

参照ポリペプチド配列に対する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、最大の配列同一性パーセントを達成するために必要に応じて配列をアライメントしギャップを導入した後の、あらゆる保存的置換を配列同一性の一部とみなさない、参照ポリペプチド配列内のアミノ酸残基と同一である候補配列内のアミノ酸残基の割合と定義される。アミノ酸配列同一性パーセントの決定を目的とするアライメントは、例えばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェアなどの公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用し、当該技術分野の技能の範囲内である様々な方法で達成することができる。当業者であれば、比較されている配列の全長にわたる最大のアライメントを達成するために必要なあらゆるアルゴリズムを含め、配列のアライメントを行うための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的では、アミノ酸配列同一性％の値は、配列比較コンピュータプログラムであるＡＬＩＧＮ－２を使用して生成されたものである。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータプログラムはＧｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．が作成したものであり、ソースコードは、ユーザ文書と共に米国著作権局（Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　Ｄ．Ｃ．，２０５５９）に提出され、米国著作権登録番号ＴＸＵ５１００８７のもとに登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから公的に利用可能であり、ソースコードからコンパイルすることもできる。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、ディジタルＵＮＩＸ　Ｖ４．０Ｄを含むＵＮＩＸオペレーティングシステムで使用するようにコンパイルする必要がある。全ての配列比較パラメータは、ＡＬＩＧＮ－２プログラムによって設定され、変動しない。

【０１２６】

アミノ酸配列比較のためにＡＬＩＧＮ－２が用いられる状況では、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比した、所与のアミノ酸配列Ａのアミノ酸配列同一性％（これは、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比した、ある特定のアミノ酸配列同一性％を有するかまたは含む、所与のアミノ酸配列Ａと代替的に表現することもできる）は、次のように計算される：

１００×分数Ｘ／Ｙ

（式中、Ｘは、配列アライメントプログラムＡＬＩＧＮ－２によるＡ及びＢのアライメントにおいて、このプログラムにより完全なマッチとしてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂ中のアミノ酸残基の総数である）。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合、Ｂに対するＡのアミノ酸配列同一性％がＡに対するＢのア

ミノ酸配列同一性％と等しくならないことは理解されよう。明確な別段の定めがない限り、本明細書において使用されるアミノ酸配列同一性％の値は全て、直前の段落に記載されているようにＡＬＩＧＮ－２コンピュータプログラムを使用して得られたものである。

【０１２７】

「薬学的製剤」という用語は、中に含まれる活性成分の生物活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象にとって許容できないほど毒性である追加の成分を含まない調製物を指す。

【０１２８】

「薬学的に許容される担体」とは、対象にとって無毒である、薬学的製剤中の活性成分以外の成分を指す。薬学的に許容される担体としては、緩衝剤、賦形剤、安定剤、または防腐剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２９】

本明細書で使用される場合、「治療」（及び「治療する」または「治療すること」といったその文法上の変形形態）は、治療されている個体の自然経過を変更することを試みる臨床的介入を指し、予防のために行われても、臨床病理過程の間に行われてもよい。治療の望ましい効果としては、疾患の発生または再発の防止、症状の緩和、疾患のいずれかの直接的または間接的な病理学的帰結の減少、転移の防止、疾患進行速度の減少、病態の寛解または軽減、及び緩解または予後改善が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、疾患の発症を遅延させるため、または疾患の進行を減速させるために使用される。

【０１３０】

本明細書で使用される場合、障害または疾患の「進行を遅延させること」は、疾患または障害（例えば細胞増殖性障害、例えば癌）の発症を延期、妨害、減速、遅滞、安定化、及び／または延滞させることを意味する。この遅延は、病歴及び／または治療されている個体に応じて様々な期間のものであり得る。当業者には明らかであるように、十分または有意な遅延は、事実上、個体が疾患を発症しないという点で防止を包含し得る。例えば、転移の発症などの末期癌が遅延され得る。

【０１３１】

「エピトープ」という用語は、抗体が結合する抗原分子上の特定の部位を指す。いくつかの実施形態において、抗体が結合する抗原分子上の特定の部位は、ヒドロキシラジカルフットプリント法（例えばＦｃＲＨ５結合ドメイン）により決定される。いくつかの実施形態において、抗体が結合する抗原分子上の特定の部位は、結晶学によって決定される。

【０１３２】

「低減させる」または「阻害する」とは、例えば、２０％以上、５０％以上、または７５％、８５％、９０％、９５％以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。ある特定の実施形態では、低減させる、または阻害するとは、抗体のＦｃ領域によって媒介される抗体のエフェクター機能を指す場合があり、そのようなエフェクター機能は、具体的には、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、及び抗体依存性細胞食作用（ＡＤＣＰ）を含む。

【０１３３】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体を抗原に結合させることに関与する抗体の重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、ＶＨ及びＶＬ）は、一般に、各ドメインが４つの保存フレームワーク領域（ＦＲ）及び３つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む同様の構造を有する。（例えば、Ｋｉｎｄｔ ｅｔ ａｌ．Ｋｕｂｙ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６^{ｔｈ} ｅｄ．Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏ．，ｐａｇｅ ９１（２００７）を参照されたい。）抗原結合特異性を付与するには、単一のＶＨドメインまたはＶＬドメインで十分であり得る。さらに、特定の抗原に結合する抗体は、その抗原に結合する抗体のＶＨドメインまたはＶＬドメインを使用して、それぞれ、相補的なＶＬドメインまたはＶＨドメインのライブラリをスクリーニングするために単離されてもよい。例えば、Ｐｏｒｔｏｌａｎｏ ｅｔ ａｌ．Ｊ．

Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５０：８８０－８８７，１９９３、Ｃｌａｒｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　３５２：６２４－６２８，１９９１を参照されたい。

【０１３４】

「変異形Ｆｃ領域」は、少なくとも１つのアミノ酸修飾、好ましくは１つ以上のアミノ酸置換（複数可）によって天然配列Ｆｃ領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、変異形Ｆｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域または親ポリペプチドのＦｃ領域と比較して、少なくとも１つのアミノ酸置換、例えば約１～約１０個のアミノ酸置換、好ましくは約１～約５個のアミノ酸置換を、天然配列Ｆｃ領域または親ポリペプチドのＦｃ領域内に含む。本明細書における変異形Ｆｃ領域は、好ましくは、天然配列Ｆｃ領域及び／または親ポリペプチドのＦｃ領域と少なくとも約８０％の相同性、最も好ましくはそれと少なくとも約９０％の相同性、より好ましくはそれと少なくとも約９５％の相同性を有する。

【０１３５】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、それが連結している別の核酸を増殖させることのできる核酸分子を指す。この用語には、自己複製核酸構造としてのベクター、ならびに導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターが含まれる。ある特定のベクターは、それらが作動可能に連結されている核酸の発現を導くことができる。そのようなベクターは、本明細書において「発現ベクター」と称される。

【０１３６】

本明細書で使用される場合、「投与すること」とは、ある投薬量の化合物（例えば、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体、もしくは本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体をコードする核酸）または組成物（例えば、薬学的組成物、例えば、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体を含む薬学的組成物）を対象に与える方法を意味する。本明細書に記載される方法で用いられる組成物は、例えば、筋肉内に、静脈内に、皮内に、経皮的に、動脈内に、腹腔内に、病巣内に、頭蓋内に、関節内に、前立腺内に、胸膜内に、気管内に、鼻腔内に、硝子体内に、膣内に、直腸内に、局所的に、腫瘍内に、腹膜に、皮下に、結膜下に、小胞内に、粘膜に、心膜内に、臍部内に、眼内に、経口的に、局所的に、局部に、吸入により、注射により、注入により、持続注入により、標的細胞を直接浸す局所灌流により、カテーテルにより、洗浄により、クレームで、または脂質組成物で投与することができる。投与方法は、様々な要素（例えば、投与される化合物または組成物、及び治療される状態、疾患、または障害の重症度）に応じて異なり得る。

【０１３７】

ＩＩ．組成物及び方法

一態様において、本発明は、部分的に抗ＦｃＲＨ５抗体に基づく。ある特定の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、多重特異性（例えば二重特異性）であり、ＦｃＲＨ５またはその断片に加えて、第２の生体分子（例えば細胞表面抗原、例えばＴ細胞マーカー、例えばＣＤ３（例えばＣＤ３ε及び／またはＣＤ３γ））に結合する。本発明の抗体は、例えば、対象における細胞増殖性障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えば多発性骨髄腫）の診断及び／または治療もしくはその進行の遅延に有用である。

【０１３８】

Ａ．　例示的な抗ＦｃＲＨ５抗体

一態様において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１３９】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ

酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０４の配列を含む、重鎖可変（ＶＨ）ドメイン、及び／または、配列番号１０５に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０５の配列を含む、軽鎖可変（ＶＬ）ドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０４のアミノ酸配列を含む重鎖可変（ＶＨ）ドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ８５、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４０】

いくつかの事例において、本発明は、配列番号１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０６に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０６の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１０７に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０７の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５３、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０６のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５は、それぞれ配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ

９３、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１０６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１０７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４１】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８２の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号８３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８３の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８２のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号８２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号８３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４２】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８４の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号８５に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８５の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５２、５４、４６、及び４７の重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８４のアミノ酸配列

を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．１、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号８４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号８５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４３】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３の６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８６に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８６の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号８７に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８７の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７のアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８６のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．２、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号８６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号８７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４４】

いくつかの事例において、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３の６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８８に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８８の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号８９に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号８９の配列を含む、Ｖ

Ｌドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５２、５４、４６、及び４７のアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８８のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号８９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．３、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号８８のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号８９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４５】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９０に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９０の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号９１に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９１の配列を含む、ＶＬドメインを含む、結合ドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４配列番号５２、５４、４６、及び４７をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９０のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．４、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号９０のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号９１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４６】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９

％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９２の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号９３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９３の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９２のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．５、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号９２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号９３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４７】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９４の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号９５に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９５の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５２、５４、４６、及び４７のアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９４のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．６、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号９４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号９５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４８】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２

５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９６に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９６の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号９７に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９７の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５３、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９６のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５は、配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．７、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号９６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号９７のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１４９】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９８に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９８の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号９９に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号９９の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５は、それぞれ配列番号５２、５５、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９８のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．１３、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号９８のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号９９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含み得る。

【０１５０】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１００に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１００の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１０１に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０１の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５は、配列番号１００のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗体が、配列番号４８、５７、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む、請求項７９～８２のいずれか１項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１．１３．１、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１００のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５１】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０２の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、（ｂ）配列番号１０３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０３の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は

、配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ８７、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１０３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５２】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号３５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号３７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５は、配列番号１１０に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１１０の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１１１に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１１１の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号６６、６７、６８、及び６９の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、ＶＨドメインが、配列番号１１０のアミノ酸配列を含む、請求項９５に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号７０、７１、７２、及び７３の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１１１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１７Ｂ１、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１１０のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１１１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５３】

いくつかの事例において、（ａ）配列番号３８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号４３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１１２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１１２の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１１３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１１３の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５は、それぞれ配列番号７４、７５、７６、及び７７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３

、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１１２のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号７８、７９、８０、及び８１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１５Ｇ８、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１１２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１１３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５４】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号２８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０８に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０８の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１０９に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０９の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号５８、５９、６０、及び６１の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０８のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号６２、６３、６４、及び６５の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１０９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、７Ｄ８、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１０８のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１０９のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５５】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８５に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または

配列番号１８５の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１８６に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１８６の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１７９、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８５のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ａ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１８５のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１８６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５６】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８７に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１８７の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１８８に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１８８の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８０、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８７のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｂ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１８７のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１８８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５７】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ

酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８９に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１８９の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１９０に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９０の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８１、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１８９のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９０のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｃ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１８９のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１９０のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５８】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９１に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９１の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１９２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９２の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２３、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９１のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９２のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｄ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１９１のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１９２のアミノ酸配列を含むＶＬド

メインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１５９】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９３の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１９４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９４の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、１８２、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｅ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１９３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１９４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６０】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１７５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９５に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９５の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１９６に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９６の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９５のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレーム

ワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｆ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１９５のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１９６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６１】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１７６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９７に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９７の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１９８に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９８の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９７のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｇ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１９７のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１９８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６２】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１７７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９９に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１９９の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２００に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番

号２００の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号１９９のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２００のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｈ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号１９９のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２００のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６３】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１７８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０１に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０１の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２０２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０２の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０１のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｉ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号２０１のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２０２のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６４】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、

８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０３の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２０４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０４の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、１８３、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｊ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号２０３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２０４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６５】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０５に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０５の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２０６に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０６の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、１８４、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｋ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号２０５のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２０６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６６】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１０のアミ

ノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０７に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０７の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２０８に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０８の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０７のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１Ｌ、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号２０７のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２０８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６７】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０９に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２０９の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２１０に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２１０の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２０９のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２１０のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ８６、またはその誘導体もしくはクローンの近

縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号２０９のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２１０のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６８】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２１１に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２１１の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２１２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２１２の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５３、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２１１のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２１２のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ１９１、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号２１１のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２１２のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１６９】

いくつかの事例において、本発明は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、請求項に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２１３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２１３の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号２１４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号２１４の配列を含む、ＶＬドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号５２、５４、４６、及び４７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配

列番号２１３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを有し得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号４８、５６、５０、及び５１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、配列番号２１４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを有し得る。特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１Ｇ７．ｖ９２、またはその誘導体もしくはクローンの近縁種であり得る。いくつかの事例において、例えば、本発明は、（ａ）配列番号２１３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号２１４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、結合ドメインを有する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０１７０】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体である。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＩｇＧ抗体である。抗ＦｃＲＨ５は、全長抗体及び／または単一特異性抗体であり得る。ある特定の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＦｃＲＨ５のＩｇ様ドメイン９内のエピトープに結合し得る。例えば、エピトープは、配列番号１１４のアミノ酸７４３～８５０の一部分を含み得る。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ヒトＦｃＲＨ５もしくはカニクイザル（ｃｙｎｏ）ＦｃＲＨ５、または両方に結合する。他の事例では、結合ドメインは、ＦｃＲＨ１、ＦｃＲＨ２、ＦｃＲＨ３、及び／またはＦｃＲＨ４に特異的に結合しない。

【０１７１】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１０ｍｌ／ｋｇ／日～約４５ｍｌ／ｋｇ／日（例えば約１ｍｌ／ｋｇ／日、５ｍｌ／ｋｇ／日、１０ｍｌ／ｋｇ／日、１１ｍｌ／ｋｇ／日、１２ｍｌ／ｋｇ／日、１３ｍｌ／ｋｇ／日、１４ｍｌ／ｋｇ／日、１５ｍｌ／ｋｇ／日、１６ｍｌ／ｋｇ／日、１７ｍｌ／ｋｇ／日、１８ｍｌ／ｋｇ／日、１９ｍｌ／ｋｇ／日、２０ｍｌ／ｋｇ／日、２１ｍｌ／ｋｇ／日、２２ｍｌ／ｋｇ／日、２３ｍｌ／ｋｇ／日、２４ｍｌ／ｋｇ／日、２５ｍｌ／ｋｇ／日、２６ｍｌ／ｋｇ／日、２７ｍｌ／ｋｇ／日、２８ｍｌ／ｋｇ／日、２９ｍｌ／ｋｇ／日、３０ｍｌ／ｋｇ／日、３１ｍｌ／ｋｇ／日、３２ｍｌ／ｋｇ／日、３３ｍｌ／ｋｇ／日、３４ｍｌ／ｋｇ／日、３５ｍｌ／ｋｇ／日、３６ｍｌ／ｋｇ／日、３７ｍｌ／ｋｇ／日、３８ｍｌ／ｋｇ／日、３９ｍｌ／ｋｇ／日、４０ｍｌ／ｋｇ／日、４１ｍｌ／ｋｇ／日、４２ｍｌ／ｋｇ／日、４３ｍｌ／ｋｇ／日、または４４ｍｌ／ｋｇ／日）の静脈内注射後のクリアランスを有する。

【０１７２】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、マウスにおいて約１ｍｌ／ｋｇ／日～約５ｍｌ／ｋｇ／日、約６ｍｌ／ｋｇ／日～約１０ｍｌ／ｋｇ／日、約１１ｍｌ／ｋｇ／日～約１５ｍｌ／ｋｇ／日、約１６ｍｌ／ｋｇ／日～約２０ｍｌ／ｋｇ／日、約２１ｍｌ／ｋｇ／日～約２５ｍｌ／ｋｇ／日、約２６ｍｌ／ｋｇ／日～約３０ｍｌ／ｋｇ／日、約３１ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日、約３６ｍｌ／ｋｇ／日～約４０ｍｌ／ｋｇ／日、約４１ｍｌ／ｋｇ／日～約４５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、マウスにおいて約１０ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、マウスにおいて約１０ｍｌ／ｋｇ／日～約２０ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、マウスにおいて約１２ｍｌ／ｋｇ／日～約１６ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。

【０１７３】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、カニクイザルにおいて約１ｍｌ／ｋｇ／日～約５ｍｌ／ｋｇ／日、約６ｍｌ／ｋｇ／日～約１０ｍｌ／ｋｇ／日、約１１ｍｌ／ｋｇ／日～約１５ｍｌ／ｋｇ／日、約１６ｍｌ／ｋｇ／日～約２０ｍｌ／ｋｇ／日、約２１ｍｌ／ｋｇ／日～約２５ｍｌ／ｋｇ／日、約２６ｍｌ／ｋｇ／日～約３０ｍｌ／ｋｇ／日、約３１ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日、約３６ｍｌ／ｋｇ／日～約４０ｍｌ

／ｋｇ／日、約４１ｍｌ／ｋｇ／日～約４５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、カニクイザルにおいて約２０ｍｌ／ｋｇ／日～約４０ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、カニクイザルにおいて約２５ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、カニクイザルにおいて約３０ｍｌ／ｋｇ／日～約３５ｍｌ／ｋｇ／日の静脈内注射後のクリアランスを有する。

【０１７４】

さらなる態様では、上記の実施形態のいずれかによる抗ＦｃＲＨ５抗体は、以下の節１～７に記載される特徴のうちのいずれかを単独または組み合わせで組み込み得る。

【０１７５】

１．　抗体親和性

特定の事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、または≦０．００１ｎＭ（例えば10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-10}～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-11}～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-12}～10^{-13}Ｍ）の解離定数（K_D）でヒト及び／またはカニクイザルのＦｃＲＨ５に結合する。例えば、いくつかの事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、≦１００ｎＭ（例えば≦９０ｎＭ、≦８０ｎＭ、≦７０ｎＭ、≦６０ｎＭ、≦５０ｎＭ、≦４０ｎＭ、≦３０ｎＭ、≦２０ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦５ｎＭ、≦１ｎＭ、≦７５０ｐＭ、≦５００ｐＭ、≦２５０ｐＭ、≦１００ｐＭ、≦５０ｐＭ、≦２５ｐＭ、≦１０ｐＭ、≦５ｐＭ、または≦１ｐＭ）またはそれ以下のK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。

【０１７６】

いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｐＭ～約５００ｎＭ（例えば約１ｐＭ～２００ｐＭ、１００ｐＭ～３００ｐＭ、２００ｐＭ～４００ｐＭ、３００ｐＭ～５００ｐＭ、４００ｐＭ～６００ｐＭ、５００ｐＭ～７００ｐＭ、６００ｐＭ～８００ｐＭ、７００ｐＭ～９００ｐＭ、８００ｐＭ～１ｎＭ、９００ｐＭ～１００ｎＭ、１ｎＭ～２００ｎＭ、１００ｎＭ～３００ｎＭ、２００ｎＭ～４００ｎＭ、または３００ｎＭ～５００ｎＭ）のK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｐＭ～約１ｎＭ（例えば約１ｐＭ～１００ｐＭ、５０ｐＭ～１５０ｐＭ、１００ｐＭ～２００ｐＭ、１５０ｐＭ～２５０ｐＭ、２００ｐＭ～３００ｐＭ、２５０ｐＭ～３５０ｐＭ、３００ｐＭ～４００ｐＭ、３５０ｐＭ～４５０ｐＭ、４００ｐＭ～５００ｐＭ、４５０ｐＭ～５５０ｐＭ、５００ｐＭ～６００ｐＭ、５５０ｐＭ～６５０ｐＭ、６００ｐＭ～７００ｐＭ、６５０ｐＭ～７５０ｐＭ、７００ｐＭ～８００ｐＭ、７５０ｐＭ～８５０ｐＭ、８００ｐＭ～９００ｐＭ、８５０ｐＭ～９５０ｐＭ、または９００ｐＭ～１ｎＭ）のK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｐＭ～約５００ｐＭ（例えば約１００ｐＭ、１２５ｐＭ、１５０ｐＭ、１７５ｐＭ、２００ｐＭ、２２５ｐＭ、２５０ｐＭ、２７５ｐＭ、３００ｐＭ、３２５ｐＭ、３５０ｐＭ、３７５ｐＭ、４００ｐＭ、４２５ｐＭ、４５０ｐＭ、４７５ｐＭ、または５００ｐＭ）のK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｐＭ～約１６０ｐＭ（例えば約１００ｐＭ、１０５ｐＭ、１１０ｐＭ、１１５ｐＭ、１２０ｐＭ、１２５ｐＭ、１３０ｐＭ、１３５ｐＭ、１４０ｐＭ、１４５ｐＭ、１５０ｐＭ、１５５ｐＭ、または１６０ｐＭ）のK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｎＭ～約１５０ｎＭ（例えば約１ｎＭ、２ｎＭ、３ｎＭ、４ｎＭ、５ｎＭ、６ｎＭ、７ｎＭ、８ｎＭ、９ｎＭ、１０ｎＭ、１１ｎＭ、１２、ｎＭ、１３ｎＭ、１４ｎＭ、１５ｎＭ、１６ｎＭ、１７ｎＭ、１８ｎＭ、１９ｎＭ、２０ｎＭ、２１ｎＭ、２２ｎＭ、２３ｎＭ、２４ｎＭ、２５ｎＭ、２６ｎＭ、２７ｎＭ、２８ｎＭ、２９ｎＭ、３０ｎＭ、３１ｎＭ、３２ｎＭ、３３ｎＭ、３４ｎＭ、３５ｎＭ、３６ｎＭ、３７ｎＭ、３８ｎＭ、３９ｎＭ、４０ｎＭ、４１ｎＭ、４２ｎＭ、４３ｎＭ、４４ｎＭ、４５ｎＭ、４６ｎＭ、４７ｎＭ、４８ｎＭ、４９ｎＭ、５０ｎＭ、

５５ｎＭ、６０ｎＭ、６５ｎＭ、７０ｎＭ、７５ｎＭ、８０ｎＭ、８５ｎＭ、９０ｎＭ、９５ｎＭ、１００ｎＭ、１０５ｎＭ、１１０ｎＭ、１１５ｎＭ、１２０ｎＭ、１２５ｎＭ、１３０ｎＭ、１３５ｎＭ、１４０ｎＭ、１４５ｎＭ、または１５０ｎＭ）のK_DでヒトＦｃＲＨ５に結合する。

【０１７７】

いくつかの事例では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、≦１００ｎＭ（例えば、≦９０ｎＭ、≦８０ｎＭ、≦７０ｎＭ、≦６０ｎＭ、≦５０ｎＭ、≦４０ｎＭ、≦３０ｎＭ、≦２０ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦５ｎＭ、≦１ｎＭ、≦７５０ｐＭ、≦５００ｐＭ、≦２５０ｐＭ、≦１００ｐＭ、≦５０ｐＭ、≦２５ｐＭ、≦１０ｐＭ、≦５ｐＭ、または≦１ｐＭ、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-10}～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-11}～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-12}～10^{-13}Ｍ）またはそれ以下のK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｐＭ～約５００ｎＭ（例えば約１ｐＭ～２００ｐＭ、１００ｐＭ～３００ｐＭ、２００ｐＭ～４００ｐＭ、３００ｐＭ～５００ｐＭ、４００ｐＭ～６００ｐＭ、５００ｐＭ～７００ｐＭ、６００ｐＭ～８００ｐＭ、７００ｐＭ～９００ｐＭ、８００ｐＭ～１ｎＭ、９００ｐＭ～１００ｎＭ、１ｎＭ～２００ｎＭ、１００ｎＭ～３００ｎＭ、２００ｎＭ～４００ｎＭ、または３００ｎＭ～５００ｎＭ）のK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｐＭ～約１ｎＭ（例えば約１ｐＭ～１００ｐＭ、５０ｐＭ～１５０ｐＭ、１００ｐＭ～２００ｐＭ、１５０ｐＭ～２５０ｐＭ、２００ｐＭ～３００ｐＭ、２５０ｐＭ～３５０ｐＭ、３００ｐＭ～４００ｐＭ、３５０ｐＭ～４５０ｐＭ、４００ｐＭ～５００ｐＭ、４５０ｐＭ～５５０ｐＭ、５００ｐＭ～６００ｐＭ、５５０ｐＭ～６５０ｐＭ、６００ｐＭ～７００ｐＭ、６５０ｐＭ～７５０ｐＭ、７００ｐＭ～８００ｐＭ、７５０ｐＭ～８５０ｐＭ、８００ｐＭ～９００ｐＭ、８５０ｐＭ～９５０ｐＭ、または９００ｐＭ～１ｎＭ）のK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｐＭ～約５００ｐＭ（例えば約１００ｐＭ、１２５ｐＭ、１５０ｐＭ、１７５ｐＭ、２００ｐＭ、２２５ｐＭ、２５０ｐＭ、２７５ｐＭ、３００ｐＭ、３２５ｐＭ、３５０ｐＭ、３７５ｐＭ、４００ｐＭ、４２５ｐＭ、４５０ｐＭ、４７５ｐＭ、または５００ｐＭ）のK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１００ｐＭ～約１６０ｐＭ（例えば約１００ｐＭ、１０５ｐＭ、１１０ｐＭ、１１５ｐＭ、１２０ｐＭ、１２５ｐＭ、１３０ｐＭ、１３５ｐＭ、１４０ｐＭ、１４５ｐＭ、１５０ｐＭ、１５５ｐＭ、または１６０ｐＭ）のK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｎＭ～約１５０ｎＭ（例えば約１ｎＭ、２ｎＭ、３ｎＭ、４ｎＭ、５ｎＭ、６ｎＭ、７ｎＭ、８ｎＭ、９ｎＭ、１０ｎＭ、１１ｎＭ、１２、ｎＭ、１３ｎＭ、１４ｎＭ、１５ｎＭ、１６ｎＭ、１７ｎＭ、１８ｎＭ、１９ｎＭ、２０ｎＭ、２１ｎＭ、２２ｎＭ、２３ｎＭ、２４ｎＭ、２５ｎＭ、２６ｎＭ、２７ｎＭ、２８ｎＭ、２９ｎＭ、３０ｎＭ、３１ｎＭ、３２ｎＭ、３３ｎＭ、３４ｎＭ、３５ｎＭ、３６ｎＭ、３７ｎＭ、３８ｎＭ、３９ｎＭ、４０ｎＭ、４１ｎＭ、４２ｎＭ、４３ｎＭ、４４ｎＭ、４５ｎＭ、４６ｎＭ、４７ｎＭ、４８ｎＭ、４９ｎＭ、５０ｎＭ、５５ｎＭ、６０ｎＭ、６５ｎＭ、７０ｎＭ、７５ｎＭ、８０ｎＭ、８５ｎＭ、９０ｎＭ、９５ｎＭ、１００ｎＭ、１０５ｎＭ、１１０ｎＭ、１１５ｎＭ、１２０ｎＭ、１２５ｎＭ、１３０ｎＭ、１３５ｎＭ、１４０ｎＭ、１４５ｎＭ、または１５０ｎＭ）のK_DでカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する。

【０１７８】

一実施形態において、K_Dは、放射標識抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）によって測定される。一実施形態において、ＲＩＡは、目的の抗体のＦａｂバージョン及びその抗原を用いて行われる。例えば、抗原に対するＦａｂの溶液結合親和性は、非標識抗原の滴定系列の存在下で最小濃度の（^{125}Ｉ）標識抗原とＦａｂを平衡化し、次に、抗Ｆａｂ抗体をコーティングしたプレートで結合した抗原を捕捉することによって測定される（例えば、Ｃｈｅｎ．ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１，１９９９を参照

されたい）。アッセイの条件を確立するためには、ＭＩＣＲＯＴＩＴＥＲ（登録商標）マルチウェルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を、５μｇ／ｍｌの捕捉用抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ　Ｌａｂｓ）を含む５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）で一晩コーティングし、その後、２％（ｗ／ｖ）のウシ血清アルブミンを含むＰＢＳにより室温（およそ２３℃）で２～５時間ブロッキングする。非吸着プレート（Ｎｕｎｃ＃２６９６２０）において、１００ｐＭまたは２６ｐＭの［^{125}Ｉ］抗原を、目的のＦａｂの段階希釈物と混合する（例えば、Ｐｒｅｓｔａ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５７：４５９３－４５９９，１９９７における抗ＶＥＧＦ抗体、Ｆａｂ－１２の評価と一致）。次に、目的のＦａｂを一晩インキュベートする；しかしながら、確実に平衡に達するように、インキュベーションをより長い期間（例えば約６５時間）続けてもよい。その後、この混合物を（例えば１時間にわたる）室温でのインキュベーションのために捕捉プレートに移す。次に、溶液を除去し、０．１％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））を含むＰＢＳでプレートを８回洗浄する。プレートが乾燥してから、１５０μｌ／ウェルのシンチラント（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）、Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、ＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）ガンマカウンター（Ｐａｃｋａｒｄ）で１０分間プレートを計数する。最大結合の２０％以下をもたらす各Ｆａｂの濃度を、競合結合アッセイで使用するために選択する。

【０１７９】

別の実施形態によると、K_Dは、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。例えば、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）２０００またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用したアッセイを、約１０の応答単位（ＲＵ）で固定化抗原ＣＭ５チップを用いて２５℃で行う。一実施形態では、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ（ＣＭ５、ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ．）を、供給元の指示に従い、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）及びＮ－ヒドロキシサクシニミド（ＮＨＳ）で活性化させる。抗原を１０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ４．８）で５μｇ／ｍｌ（約０．２μＭ）になるまで希釈した後、５μｌ／分の流量で注入して、およそ１０の応答単位（ＲＵ）のカップリングしたタンパク質を得る。抗原の注入後、１Ｍのエタノールアミンを注入して、未反応基をブロッキングする。動態測定のために、Ｆａｂの２倍段階希釈物（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）を、２５℃で０．０５％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（商標））界面活性剤（ＰＢＳＴ）を含むＰＢＳにおよそ２５μｌ／分の流量で注入する。会合速度（k_{on}）及び解離速度（k_{off}）は、単純な１対１のＬａｎｇｍｕｉｒ結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅバージョン３．２）を使用し、会合センサグラムと解離センサグラムとを同時に当てはめることによって計算される。平衡解離定数（K_D）は、k_{off}/k_{on}の比として計算される。例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１，１９９９を参照されたい。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによるオン速度が$10^6 M^{-1} s^{-1}$を超える場合、このオン速度は、ストップフローを備えた分光光度計（Ａｖｉｖ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）または撹拌キュベットを備えた８０００シリーズＳＬＭ－ＡＭＩＮＣＯ（商標）分光光度計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）などの分光計で測定される、漸増濃度の抗原の存在下で、２５℃におけるＰＢＳ（ｐＨ７．２）中２０ｎＭの抗抗原抗体（Ｆａｂ型）の蛍光発光強度（励起＝２９５ｎｍ、発光＝３４０ｎｍ、１６ｎｍ帯域通過）の増加または減少を測定する蛍光消光技術を使用することによって、決定することができる。

【０１８０】

２．　抗体断片

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片としては、ｂｉｓ－Ｆａｂ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、及びｓｃＦｖ断片、ならびに以下に記載される他の断片が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の抗体断片の概説については、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ．Ｍ

ｅｄ．９：１２９－１３４，２００３を参照されたい。ｓｃＦｖ断片の概説については、例えば、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，ｉｎ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅ ｅｄｓ．，（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ），ｐｐ．２６９－３１５，１９９４を参照されたい；また、ＷＯ ９３／１６１８５、ならびに米国特許第５，５７１，８９４号及び同第５，５８７，４５８号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加したインビボ半減期を有するＦａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$断片の詳解については、米国特許第５，８６９，０４６号を参照されたい。

【０１８１】

ビス－マレイミドを通して２つのＦａｂが連結している抗体断片は、本明細書において、ビスマレイミド－（チオ－Ｆａｂ）$_2$またはｂｉｓ－Ｆａｂと称される。

【０１８２】

ダイアボディは、二価または二重特異性であり得る、２つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、ＥＰ ４０４，０９７、ＷＯ １９９３／０１１６１、Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４，２００３、及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８，１９９３を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディもまた、Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４，２００３に記載されている。

【０１８３】

単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部分または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部分を含む抗体断片である。ある特定の実施形態では、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ、例えば米国特許第６，２４８，５１６号Ｂ１を参照されたい）。

【０１８４】

抗体断片は、本明細書に記載される、インタクトな抗体のタンパク質消化ならびに組換え宿主細胞（例えばＥ．ｃｏｌｉまたはファージ）による産生を含むがこれらに限定されない、様々な技術によって作製することができる。

【０１８５】

３． キメラ抗体及びヒト化抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体が、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号、及びＭｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５，１９８４に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、または非ヒト霊長類、例えばサルに由来する可変領域）、及びヒト定常領域を含む。さらなる例では、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のそれから変更されている「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

【０１８６】

ある特定の実施形態では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減させるようにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、１つ以上の可変ドメインを含み、このＨＶＲ、例えばＣＤＲ（またはそれらの一部分）は、非ヒト抗体に由来し、ＦＲ（またはそれらの一部分）は、ヒト抗体配列に由来する。ヒト化抗体はまた、場合により、ヒト定常領域の少なくとも一部分を含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体におけるいくつかのＦＲ残基は、例えば、抗体の特異性または親和性を回復または改善させるように、非ヒト抗体（例えばＨＶＲ残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換される。

【０１８７】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ｅｔ ａｌ．Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３，２００８に概説されており、例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９，１９８８、Ｑ

ｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１００２９－１００３３，１９８９、米国特許第５，８２１，３３７号、同第７，５２７，７９１号、同第６，９８２，３２１号、及び同第７，０８７，４０９号、Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：２５－３４，２００５（特異性決定領域（ＳＤＲ）グラフトについて記載）、Ｐａｄｌａｎ Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９－４９８，１９９１（「リサーフェシング（ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ）」について記載）、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：４３－６０，２００５（「ＦＲシャフリング」について記載）、ならびにＯｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：６１－６８，２００５、及びＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，８３：２５２－２６０，２０００（ＦＲシャフリングへの「誘導選択」手法について記載）にさらに記載されている。

【０１８８】

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

【０１８９】

４．　ヒト抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で知られる様々な技術を使用して産生することができる。ヒト抗体は、概して、ｖａｎ Ｄｉｊｋ ａｎｄ ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５：３６８－７４，２００１、及びＬｏｎｂｅｒｇ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０：４５０－４５９，２００８に記載されている。

【０１９０】

ヒト抗体は、抗原負荷に応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を有するインタクトな抗体を産生するように改変されているトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製され得る。そのような動物は典型的に、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置き換えるか、または染色体外に存在するか、もしくは動物の染色体にランダムに組み込まれる、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含む。そのようなトランスジェニックマウスにおいて、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、概して不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２３：１１１７－１１２５，２００５を参照されたい。また、例えば、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術を記載する米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号、ＨＵＭＡＢ（登録商標）技術を記載する米国特許第５，７７０，４２９号、Ｋ－Ｍ ＭＯＵＳＥ（登録商標）技術を記載する米国特許第７，０４１，８７０号、ならびにＶＥＬＯＣＩＭＯＵＳＥ（登録商標）技術を記載する米国特許出願公開第ＵＳ ２００７／００６１９００号）を参照されたい。そのような動物によって生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによってさらに改変されてもよい。

【０１９１】

ヒト抗体は、ハイブリドーマに基づく方法によって作製することもできる。ヒトモノク

ローナル抗体の産生のためのヒト骨髄腫及びマウス－ヒト異種骨髄腫（ｈｅｔｅｒｏｍｙｅｌｏｍａ）細胞株が説明されている（例えば、Ｋｏｚｂｏｒ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１，１９８４、Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７）、及びＢｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：８６，１９９１を参照されたい）。ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術によって生成されたヒト抗体も、Ｌｉ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７－３５６２，２００６に記載されている。追加の方法には、例えば、米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトＩｇＭ抗体の産生を記載）、及びＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５－２６８，２００６（ヒト－ヒトハイブリドーマを記載）に記載されるものが含まれる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）もまた、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２０（３）：９２７－９３７，２００５、及びＶｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５－９１，２００５に記載されている。

【０１９２】

ヒト抗体は、ヒト由来ファージディスプレイライブラリから選択されるＦｖクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成されてもよい。そのような可変ドメイン配列は次に、所望のヒト定常ドメインと組み合わされてもよい。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技術を以下に記載する。

【０１９３】

５．　ライブラリ由来抗体

本発明の抗体は、所望の活性（複数可）を有する抗体のためにコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることによって単離され得る。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてかかるライブラリをスクリーニングするための多様な方法が、当該技術分野で知られている。そのような方法は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００１）に概説されており、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４、Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８，１９９１、Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７，１９９２、Ｍａｒｋｓ ａｎｄ Ｂｒａｄｂｕｒｙ，ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２４８：１６１－１７５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３）、Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０，２００４、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３，２００４、Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４６７－１２４７２，２００４、及びＬｅｅ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９－１３２，２００４にさらに記載されている。

【０１９４】

ある特定のファージディスプレイ法では、ＶＨ及びＶＬ遺伝子のレパートリーをポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）により別々にクローニングし、ファージライブラリ内でランダムに組み換え、次にこれを、Ｗｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１２：４３３－４５５，１９９４に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは典型的に、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片またはＦａｂ断片のいずれかとして抗体断片を提示する。免疫された起源由来のライブラリ

は、ハイブリドーマの構築を必要とすることなく免疫原に対する高親和性抗体を提供する。あるいは、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ　ｅｔ　ａｌ．ＥＭＢＯ　Ｊ，１２：７２５－７３４，１９９３に記載のように、ナイーブレパートリーを（例えばヒトから）クローニングして、免疫化を一切行わずに、広範な非自己抗原及び自己抗原に対する抗体の単一源を提供することもできる。最後に、ナイーブライブラリは、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ａｎｄ　Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１－３８８，１９９２に記載のように、再配列されていないＶ遺伝子セグメントを幹細胞からクローニングし、ランダム配列を含むＰＣＲプライマーを使用して高度可変ＣＤＲ３領域をコードし、再配列をインビトロで達成することによって、合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリについて記載している特許公報としては、例えば、米国特許第５，７５０，３７３号、ならびに米国特許公開第２００５／００７９５７４号、同第２００５／０１１９４５５号、同第２００５／０２６６０００号、同第２００７／０１１７１２６号、同第２００７／０１６０５９８号、同第２００７／０２３７７６４号、同第２００７／０２９２９３６号、及び同第２００９／０００２３６０号が挙げられる。ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体断片は、本明細書ではヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【０１９５】

６．　ＦｃＲＨ５　Ｔ細胞依存性二重特異性（ＴＤＢ）抗体を含む多重特異性抗体

上記の態様のうちのいずれか１つにおいて、本明細書に提供される抗ＦｃＲＨ５抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも２つの異なる部位に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある特定の実施形態では、二重特異性抗体は、ＦｃＲＨ５の２つの異なるエピトープに結合し得る。

【０１９６】

ある特定の実施形態では、結合特異性のうちの一方はＦｃＲＨ５に対するものであり、他方はＣＤ３（例えばＣＤ３εまたはＣＤ３γ）に対するものである。そのような二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＦｃＲＨ５　Ｔ細胞依存性二重特異性（ＴＤＢ）抗体またはＦｃＲＨ５　ＴＤＢとも称される。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｕ６を含むＣＤ３のエピトープに結合する。いくつかの事例において、エピトープは、ＣＤ３のＧｌｎ１、Ａｓｐ２、及びＭｅｔ７からなる群から選択される１つ以上の追加のアミノ酸残基をさらに含む。いくつかの事例において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、及びＧｌｕ６を含む。いくつかの事例において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、Ｇｌｕ６、及びＭｅｔ７を含む。いくつかの事例において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｕ５を含まない。いくつかの事例において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｙ３及びＧｌｕ５を含まない。いくつかの事例において、エピトープは、ＣＤ３のアミノ酸残基Ｇｌｎ１、Ａｓｐ２、Ｇｌｕ６、及びＭｅｔ７からなる。

【０１９７】

他のいくつかの事例において、第２の結合ドメインは、ヒトＣＤ３ポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３ポリペプチドに結合することができる。いくつかの事例では、ヒトＣＤ３ポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３ポリペプチドは、それぞれ、ヒトＣＤ３εポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３εポリペプチドである。いくつかの事例では、ヒトＣＤ３ポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３ポリペプチドは、それぞれ、ヒトＣＤ３γポリペプチドまたはカニクイザルＣＤ３γポリペプチドである。

【０１９８】

特定の事例では、第２の結合ドメインは、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、または≦０．００１ｎＭ（例えば10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（K_D）でヒトＣＤ３εポリペプチドに結合する。例えば、いくつかの事例では、第２の結合ドメインは、≦１００ｎＭ（例えば≦９０ｎＭ、≦８０ｎＭ、≦７０ｎＭ、≦６０ｎＭ、≦５０ｎＭ、≦４０ｎＭ、≦３０ｎＭ、≦２０ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦５ｎＭ、≦１ｎＭ、≦７５０ｐＭ、≦５００ｐＭ、≦２５０ｐＭ、≦１００ｐＭ、≦５０ｐＭ、≦２５ｐＭ、

≦１０ｐＭ、≦５ｐＭ、または≦１ｐＭ）またはそれ以下のＫ$_{D}$でヒトＣＤ３εポリペプチドに結合する。

【０１９９】

いくつかの事例において、例えば、本発明は、第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１１７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０２００】

いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、配列番号１３３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３３の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１３４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３４の配列を含む、ＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号１２５、１２６、１２７、及び１２８の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む第２の結合ドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、それぞれ配列番号１２９、１３０、１３１、及び１３２の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。したがって、いくつかの事例では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体の半抗体変異形を、抗ＣＤ３抗体３８Ｅ４．ｖ１の半抗体変異形と対にして、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（すなわち、抗ＦｃＲＨ５／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ）を形成することができる。

【０２０１】

いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、配列番号１３５に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、

９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３５の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１３６に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３６の配列を含む、ＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号１２５、１２６、１２７、及び１２８の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む第２の結合ドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３５のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、それぞれ配列番号１２９、１３０、１３１、及び１３２の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３５のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１３６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。したがって、いくつかの事例では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体の半抗体変異形を、抗ＣＤ３抗体３８Ｅ４．ｖ１の半抗体変異形と対にして、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（すなわち、抗ＦｃＲＨ５／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ）を形成することができる。

【０２０２】

いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、配列番号１３７に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３７の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１３８に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３８の配列を含む、ＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号１２５、１２６、１２７、及び１２８の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む第２の結合ドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、それぞれ配列番号１２９、１３０、１３１、及び１３２の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１３７のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１３８のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。したがって、いくつかの事例では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体の半抗体変異形を、抗ＣＤ３抗体３８Ｅ４．ｖ１１の半抗体変異形と対にして、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（すなわち、抗ＦｃＲＨ５／３８Ｅ４．ｖ１１　ＴＤＢ）を形成することができる。

【０２０３】
いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１４０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１４１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１４３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１４４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、配列番号１５３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１５３の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１５４に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１５４の配列を含む、ＶＬドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号１４５、１４６、１４７、及び１４８の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む第２の結合ドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、それぞれ配列番号１４９、１５０、１５１、及び１５２の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１５３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１５４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。したがって、いくつかの事例では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体の半抗体変異形を、抗ＣＤ３抗体ｈｕ４０Ｇ５ｃの半抗体変異形と対にして、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（すなわち、抗ＦｃＲＨ５／ｈｕ４０Ｇ５ｃ　ＴＤＢ）を形成することができる。

【０２０４】
いくつかの事例において、例えば、本発明は、第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。

【０２０５】
いくつかの事例において、本発明は、第２の結合ドメインが、（ａ）配列番号１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、例えば、第２の結合ドメインは、配列番号１７２に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１７２の配列を含む、ＶＨドメイン、及び／または、配列番号１

７３に対して少なくとも８０％（例えば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１７３の配列を含む、ＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、例えば、抗ＦｃＲＨ５抗体は、それぞれ配列番号１６４、１６５、１６６、及び１６７の配列を含む重鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３、及びＦＲ－Ｈ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）を含む第２の結合ドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、それぞれ配列番号１６８、１６９、１７０、及び１７１の配列を含む軽鎖フレームワーク領域ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３、及びＦＲ－Ｌ４のうちの少なくとも１つ（例えば１つ、２つ、３つ、または４つ）をさらに含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。いくつかの事例において、第２の結合ドメインは、配列番号１７２のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン及び（ｂ）配列番号１７３のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。したがって、いくつかの事例では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体の半抗体変異形を、抗ＣＤ３抗体ｈｕＵＣＨＴ１．ｖ９の半抗体変異形と対にして、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（すなわち、抗ＦｃＲＨ５／ｈｕＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢ）を形成することができる。

【０２０６】

いくつかの事例において、例えば、本発明は、ＦｃＲＨ５に結合する結合ドメインが、荷電領域（CR_1）を含むＶＨドメイン（VH_1）、及び荷電領域（CR_2）を含むＶＬドメイン（VL_1）を含み、VH_1内のCR_1が、VL_1内のCR_2と電荷対を形成する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、CR_1は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_2は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの事例において、CR_1は、Ｑ３９Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_1は、Ｑ３９Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_2は、Ｑ３８Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_2は、Ｑ３８Ｅ置換変異からなる。いくつかの事例において、ＣＤ３に結合する第２の結合ドメインは、荷電領域（CR_3）を含むＶＨドメイン（VH_2）、及び荷電領域（CR_4）を含むＶＬドメイン（VL_2）を含み、VL_2内のCR_4は、VH_2内のCR_3と電荷対を形成する。いくつかの事例において、CR_4は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_3は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの事例において、CR_4は、Ｑ３８Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_4は、Ｑ３８Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_3は、Ｑ３９Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_3は、Ｑ３９Ｅ置換変異からなる。いくつかの事例において、VL_1ドメインは、軽鎖定常（ＣＬ）ドメイン（CL_1）に連結しており、VH_1は、第１の重鎖定常（ＣＨ１）ドメイン（$CH1_1$）に連結しており、CL_1は、荷電領域（CR_5）を含み、$CH1_1$は、荷電領域（CR_6）を含み、CL_1内のCR_5は、$CH1_1$内のCR_6と電荷対を形成する。いくつかの事例において、CR_5は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_6は、酸性残基を含む。いくつかの事例において、CR_5は、Ｖ１３３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_5は、Ｖ１３３Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_6は、Ｓ１８３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_6は、Ｓ１８３Ｅ置換変異からなる。

【０２０７】

いくつかの事例において、本発明は、VL_2ドメインが、ＣＬドメイン（CL_2）に連結しており、VH_2が、ＣＨ１ドメイン（$CH1_2$）に連結しており、CL_2が、荷電領域（CR_7）を含み、$CH1_2$が、荷電領域（CR_8）を含み、$CH1_2$内のCR_8が、CL_2内のCR_7と電荷対を形成する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、CR_8は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_7は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの事例において、CR_8は、Ｓ１８３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの

事例において、CR_8は、Ｓ１８３Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_7は、Ｖ１３３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_7は、Ｖ１３３Ｅ置換変異からなる。

【０２０８】

いくつかの事例において、例えば、本発明は、VL_2ドメインが、ＣＬドメイン（CL_2）に連結しており、VH_2が、ＣＨ１ドメイン（$CH1_2$）に連結しており、CL_2が、アミノ酸残基Ｆ１１６、Ｌ１３５、Ｓ１７４、Ｓ１７６、及び／またはＴ１７８（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含み、$CH1_2$が、アミノ酸残基Ａ１４１、Ｆ１７０、Ｓ１８１、Ｓ１８３、及び／またはＶ１８５（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、CL_2は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及び／またはＴ１７８Ｖのうちの１つ以上を含む。いくつかの事例において、CL_2は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖを含む。いくつかの事例において、$CH1_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及び／またはＶ１８５Ａのうちの１つ以上を含む。いくつかの事例において、$CH1_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及びＶ１８５Ａを含む。

【０２０９】

いくつかの事例において、本発明は、ＦｃＲＨ５に結合する結合ドメインが、荷電領域（CR_1）を含むＶＨドメイン（VH_1）、及び荷電領域（CR_2）を含むＶＬドメイン（VL_1）を含み、VL_1内のCR_2が、VH_1内のCR_1と電荷対を形成する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、CR_2は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_1は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの事例において、CR_2は、Ｑ３８Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_2は、Ｑ３８Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_1は、Ｑ３９Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_1は、Ｑ３９Ｅ置換変異からなる。いくつかの事例において、ＣＤ３に結合する第２の結合ドメインは、荷電領域（CR_3）を含むＶＨドメイン（VH_2）、及び荷電領域（CR_4）を含むＶＬドメイン（VL_2）を含み、VH_2内のCR_3は、VL_2内のCR_4と電荷対を形成する。いくつかの事例において、CR_3は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_4は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの事例において、CR_3は、Ｑ３９Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_3は、Ｑ３９Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_4は、Ｑ３８Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_4は、Ｑ３８Ｅ置換変異からなる。いくつかの事例において、VL_1ドメインは、軽鎖定常（ＣＬ）ドメイン（CL_1）に連結しており、VH_1は、第１の重鎖定常（ＣＨ１）ドメイン（$CH1_1$）に連結しており、CL_1は、荷電領域（CR_5）を含み、$CH1_1$は、荷電領域（CR_6）を含み、$CH1_1$内のCR_6は、CL_1内のCR_5と電荷対を形成する。いくつかの事例において、CR_6は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_5は、酸性アミノ酸残基を含む。いくつかの事例において、CR_6は、Ｓ１８３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_6は、Ｓ１８３Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_5は、Ｖ１３３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_5は、Ｖ１３３Ｅ置換変異からなる。

【０２１０】

いくつかの事例において、例えば、本発明は、VL_2ドメインが、ＣＬドメイン（CL_2）に連結しており、VH_2が、ＣＨ１ドメイン（$CH1_2$）に連結しており、CL_2が、荷電領域（CR_7）を含み、$CH1_2$が、荷電領域（CR_8）を含み、CL_2内のCR_7が、$CH1_2$内のCR_8と荷電対を形成する、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、CR_7は、塩基性アミノ酸残基を含み、CR_8は、酸性残基を含む。いくつかの事例において、CR_7は、Ｖ１３３Ｋ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_7は、Ｖ１３３Ｋ置換変異からなる。いくつかの事例において、CR_8は、Ｓ１８３Ｅ置換変異（ＥＵ付番）を含む。いくつかの事例において、CR_8は、Ｓ

１８３Ｅ置換変異からなる。

【０２１１】

いくつかの事例において、例えば、本発明は、ＶＬ$_2$ドメインが、ＣＬドメイン（ＣＬ$_2$）に連結しており、ＶＨ$_2$が、ＣＨ１ドメイン（ＣＨ１$_2$）に連結しており、ＣＬ$_2$が、アミノ酸残基Ｆ１１６、Ｌ１３５、Ｓ１７４、Ｓ１７６、及び／またはＴ１７８（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含み、ＣＨ１$_2$が、アミノ酸残基Ａ１４１、Ｆ１７０、Ｓ１８１、Ｓ１８３、及び／またはＶ１８５（ＥＵ付番）に１つ以上の変異を含む、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。いくつかの事例において、ＣＬ$_2$は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及び／またはＴ１７８Ｖのうちの１つ以上を含む。いくつかの事例において、ＣＬ$_2$は、次の置換変異：Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖを含む。いくつかの事例において、ＣＨ１$_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及び／またはＶ１８５Ａのうちの１つ以上を含む。いくつかの事例において、ＣＨ１$_2$は、次の置換変異：Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及びＶ１８５Ａを含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、１つ以上の重鎖定常ドメインを含み、１つ以上の重鎖定常ドメインは、第１のＣＨ２ドメイン（ＣＨ２$_1$）、第１のＣＨ３ドメイン（ＣＨ３$_1$）、第２のＣＨ２ドメイン（ＣＨ２$_2$）、及び第２のＣＨ３ドメイン（ＣＨ３$_2$）から選択される。いくつかの事例において、１つ以上の重鎖定常ドメインのうちの少なくとも１つは、別の重鎖定常ドメインと対になる。いくつかの事例において、ＣＨ３$_1$及びＣＨ３$_2$は、各々、隆起（Ｐ$_1$）または空洞（Ｃ$_1$）を含み、ＣＨ３$_1$内のＰ$_1$またはＣ$_1$は、それぞれ、ＣＨ３$_2$内のＣ$_1$またはＰ$_1$に位置付け可能である。いくつかの事例において、ＣＨ３$_1$及びＣＨ３$_2$は、Ｐ$_1$とＣ$_1$との界面で交わる。いくつかの事例において、ＣＨ２$_1$及びＣＨ２$_2$は、各々、（Ｐ$_2$）または空洞（Ｃ$_2$）を含み、ＣＨ２$_1$内のＰ$_2$またはＣ$_2$は、それぞれ、ＣＨ２$_2$内のＣ$_2$またはＰ$_2$に位置付け可能である。いくつかの事例において、ＣＨ２$_1$及びＣＨ２$_2$は、Ｐ$_2$とＣ$_2$との界面で交わる。

【０２１２】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アーム及び抗ＣＤ３アームは、各々、Ｎ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｔ３６６Ｗ置換変異を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ置換変異を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番

号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アーム及び抗ＣＤ３アームは、各々、Ｎ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｔ３６６Ｗ置換変異を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ置換変異を含む。

【０２１３】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【０２１４】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０４の配列を含む、ＶＨドメイン、及び、配列番号１０５に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０５の配列を含む、ＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３３の配列

を含む、ＶＨドメイン、及び、配列番号１３４に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１３４の配列を含む、ＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。いくつかの事例において、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【０２１５】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【０２１６】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し

、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０４の配列を含む、ＶＨドメイン、及び、配列番号１０５に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０５の配列を含む、ＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。いくつかの事例において、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【０２１７】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｋ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（

ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｋ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【０２１８】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０４の配列を含む、ＶＨドメイン、及び配列番号１０５に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０５の配列を含む、ＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームを含み、該抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｋ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。いくつかの事例において、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｅ及びＶ１３３Ｋ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ｓ１８３Ｅ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｋ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【０２１９】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｅ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。いくつかの事例において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、

（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、６つの超可変領域（ＨＶＲ）：（ａ）配列番号１１５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１１６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１２１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号１１８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号１１９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームとを含み、抗ＦｃＲＨ５アームは、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含み、抗ＣＤ３アームは、Ｑ３８Ｅ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む。

【０２２０】

別の態様では、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０４の配列を含む、ＶＨドメイン、及び、配列番号１０５に対して少なくとも９０％（例えば９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％）の配列同一性を有するアミノ酸配列、または配列番号１０５の配列を含む、ＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｅ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。いくつかの事例において、本発明は、ＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する抗ＦｃＲＨ５抗体を提供し、本抗ＦｃＲＨ５抗体は、（ａ）配列番号１０４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１０５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第１の結合ドメインを含む、抗ＦｃＲＨ５アームであって、該抗ＦｃＲＨ５アームが、Ｑ３８Ｋ及びＶ１３３Ｅ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｅ、Ｓ１８３Ｋ、及びＮ２９７Ｇ置換変異を含む重鎖を含む、抗ＦｃＲＨ５アームと、（ｂ）配列番号１３３のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１３４のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、第２の結合ドメインを含む、抗ＣＤ３アームであって、該抗ＣＤ３アームが、Ｑ３８Ｅ、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ置換変異を含む軽鎖、ならびにＱ３９Ｋ、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、Ｖ１８５Ａ、及びＮ２９７Ｇ置換変異（ＥＵ付番）を含む重鎖を含む、抗ＣＤ３アームとを含む。

【０２２１】

７．　抗体変異形

ある特定の実施形態では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＦｃＲＨ５　ＴＤＢ抗体またはその変異形）のアミノ酸配列変異形が想定される。例えば、抗体の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善させることが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列変異形は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な修飾を導入すること、またはペプチド合成によって調製することができる。そのような修飾としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／またはそこへの挿入、及

び／またはその置換が挙げられる。最終的な構築物が所望の特性、例えば抗原結合性を有する限り、最終的な構築物に到達するように欠失、挿入、及び置換を任意に組み合わせることができる。

【０２２２】

ａ．　置換、挿入、及び欠失変異形

ある特定の実施形態では、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異形が提供される。置換型変異誘発の目的の部位は、ＨＶＲ及びＦＲを含む。保存的置換が表１の「好ましい置換」という見出しの下に示される。より実質的な変化が表１の「例示的な置換」という見出しの下に提供され、アミノ酸側鎖クラスを参照して以下にさらに記載される。アミノ酸置換が目的の抗体に導入され、その産物が、所望の活性、例えば、保持／改善された抗原結合、減少した免疫原性、または改善されたＡＤＣＣもしくはＣＤＣについてスクリーニングされてもよい。

表１．　例示的なアミノ酸置換及び好ましいアミノ酸置換

元の残基	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、ノルロイシン	Ｌｅｕ
Ｌｅｕ（Ｌ）	ノルロイシン、Ｉｌｅ、Ｖａｌ、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｐｈｅ	Ｉｌｅ
Ｌｙｓ（Ｋ）	Ａｒｇ、Ｇｌｎ、Ａｓｎ	Ａｒｇ
Ｍｅｔ（Ｍ）	Ｌｅｕ、Ｐｈｅ、Ｉｌｅ	Ｌｅｕ
Ｐｈｅ（Ｆ）	Ｔｒｐ、Ｌｅｕ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ａｌａ、Ｔｙｒ	Ｔｙｒ
Ｐｒｏ（Ｐ）	Ａｌａ	Ａｌａ
Ｓｅｒ（Ｓ）	Ｔｈｒ	Ｔｈｒ
Ｔｈｒ（Ｔ）	Ｖａｌ、Ｓｅｒ	Ｓｅｒ
Ｔｒｐ（Ｗ）	Ｔｙｒ、Ｐｈｅ	Ｔｙｒ
Ｔｙｒ（Ｙ）	Ｔｒｐ、Ｐｈｅ、Ｔｈｒ、Ｓｅｒ	Ｐｈｅ
Ｖａｌ（Ｖ）	Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、Ｐｈｅ、Ａｌａ、ノルロイシン	Ｌｅｕ

【０２２３】

アミノ酸は、一般的な側鎖特性に従ってグループ分けされ得る。

（１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ

（２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ

（３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ

（４）塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ

（５）鎖配向に影響を及ぼす残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ

（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ

【０２２４】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーと別のクラスのメンバーとの交換を伴う。

【０２２５】

１つの種類の置換型変異形は、親抗体（例えばヒト化抗体またはヒト抗体）の１つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、さらなる研究のために選択される、得られる変異形（複数可）は、親抗体と比べてある特定の生物学的特性の改変（例えば改善）（例えば親和性の増加、免疫原性の低減）を有し、及び／または、実質的に保持された親抗体のある特定の生物学的特性を有する。例示的な置換型変異形は、例えば、本明細書に記載されるものなどのファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を使用して簡便に生成され得る、親和性成熟抗体である。簡潔に述べると、１つ以上のＨＶＲ残基を変異させ、変異形抗体をファージで提示させ、特定の生物活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングする。

【０２２６】

変更（例えば置換）をＨＶＲ内で行って、例えば、抗体親和性を改善させることができる。そのような変更は、ＨＶＲ「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を受けるコドンによりコードされる残基（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９－１９６，２００８を参照されたい）、及び／または抗原に接触する残基で行われてもよく、得られる変異形ＶＨまたはＶＬが、結合親和性について試験される。二次ライブラリの構築及びそれからの再選択による親和性成熟については、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．ｉｎ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　１７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ　ｅｔ　ａｌ．ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，（２００１））に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、成熟させるために選択された可変遺伝子に、多様な方法（例えば、エラープローンＰＣＲ、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性変異誘発）のうちのいずれかによって多様性が導入される。次に、二次ライブラリが作製される。次に、このライブラリがスクリーニングされて、所望の親和性を有する任意の抗体変異形が特定される。多様性を導入する別の方法は、いくつかのＨＶＲ残基（例えば、一度に４～６個の残基）がランダム化されるＨＶＲ指向手法を伴う。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えばアラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを使用して、特異的に特定することができる。特にＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３が標的とされることが多い。

【０２２７】

ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、そのような変更が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減させない限り、１つ以上のＨＶＲ内で生じてもよい。例えば、結合親和性を実質的に低減させない保存的変更（例えば、本明細書に提供される保存的置換）をＨＶＲ内で行ってもよい。そのような変更は、例えば、ＨＶＲ内の抗原接触残基の外側にあってもよい。上記に提供された変異形ＶＨ及びＶＬ配列のある特定の実施形態では、各ＨＶＲは、変更なしか、あるいは１つ、２つ、または３つ以下のアミノ酸置換を含む。

【０２２８】

変異誘発の標的となり得る抗体の残基または領域を特定するのに有用な方法は「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれ、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ　ａｎｄ　Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５に記載されている。この方法では、残基または標的残基群（例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、及びｇｌｕなどの荷電残基）を特定し、中性または負荷電アミノ酸（例えばアラニンまたはポリアラニン）に置き換えて、抗原と抗体の相互作用に影響が及ぶかを判定する。最初の置換に対する機能感受性を示すアミノ酸位置にさらなる置換を導入してもよい。あるいは、またはさらに、抗体と抗原との間の接触点を特定するための抗原－抗体複合体の結晶構造。そのような接

触残基及び付近の残基を、置換の候補として標的としてもよいし、または排除してもよい。変異形が所望の特性を含むかを判定するために、それらをスクリーニングしてもよい。

【０２２９】

アミノ酸配列挿入には、長さが１残基から１００以上の残基を含むポリペプチドまで及ぶアミノ末端及び／またはカルボキシル末端の融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型変異形には、酵素（例えばＡＤＥＰＴのためのもの）またはポリペプチドへの、抗体のＮまたはＣ末端の融合が含まれ、これは、抗体の血清半減期を増加させる。

【０２３０】

ｂ．　グリコシル化変異形

ある特定の実施形態では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体は、抗体がグリコシル化する程度を増加または減少させるように変更することができる。本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体に対するグリコシル化部位の付加または欠失は、１つ以上のグリコシル化部位が作製または除去されるようにアミノ酸配列を変更することにより、簡便に達成することができる。グリコシル化部位の付加または除去は、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）などの抗体のエフェクター機能を変更し得る。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）は、非グリコシル化部位変異を含んでもよい。いくつかの実施形態において、非グリコシル化部位変異は、置換変異である。いくつかの実施形態において、非グリコシル化部位変異は、抗ＦｃＲＨ５抗体のエフェクター機能を少なくとも１％以上（例えば２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、または９０％以上）低減させる。いくつかの実施形態において、置換変異は、アミノ酸残基Ｎ２９７、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｄ２６５、及び／またはＰ３２９（ＥＵ付番）におけるものである。いくつかの実施形態において、置換変異は、Ｎ２９７Ｇ、Ｎ２９７Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｄ２６５Ａ、及びＰ３２９Ｇからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、置換変異は、Ｎ２９７Ｇ変異である。

【０２３１】

抗体がＦｃ領域を含む場合、それに結合した炭水化物が変更されてもよい。哺乳動物細胞によって産生される天然抗体は、典型的には、概してＦｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７にＮ結合によって結合している分枝状の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Ｗｒｉｇｈｔ　ｅｔ　ａｌ．ＴＩＢＴＥＣＨ　１５：２６－３２，１９９７を参照されたい。このオリゴ糖としては、様々な炭水化物、例えばマンノース、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース、及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」のＧｌｃＮＡｃに結合したフコースを挙げることができる。いくつかの実施形態において、ある特定の改善した特性を有する抗体変異形を作製するために、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾を行うことができる。

【０２３２】

一実施形態において、Ｆｃ領域に（直接的または間接的に）結合したフコースを欠いている炭水化物構造を有する抗ＦｃＲＨ５抗体変異形が提供される。例えば、そのような抗体におけるフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、または２０％～４０％であり得る。フコースの量は、例えばＷＯ　２００８／０７７５４６に記載されるように、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析によって測定した場合の、Ａｓｎ２９７に結合した全てのグリコ構造体（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造体）の合計に対する、Ａｓｎ２９７における糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって定量される。Ａｓｎ２９７とは、Ｆｃ領域内の約２９７位（ＥＵ付番のＦｃ領域残基）に位置するアスパラギン残基を指すが、Ａｓｎ２９７は、抗体における小規模な配列変化に起因して、２９７位から約±３アミノ酸上流または下流、すなわち２９４位～３００位に位置する場合もある。このようなフコシル化変異形は、改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。例えば、米国特許公開第ＵＳ　２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）、

ＵＳ ２００４／００９３６２１（Ｋｙｏｗａ Ｈａｋｋｏ Ｋｏｇｙｏ Ｃｏ．，Ｌｔｄ）を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異形に関する公報の例としては、ＵＳ ２００３／０１５７１０８、ＷＯ ２０００／６１７３９、ＷＯ ２００１／２９２４６、ＵＳ ２００３／０１１５６１４、ＵＳ ２００２／０１６４３２８、ＵＳ ２００４／００９３６２１、ＵＳ ２００４／０１３２１４０、ＵＳ ２００４／０１１０７０４、ＵＳ ２００４／０１１０２８２、ＵＳ ２００４／０１０９８６５、ＷＯ ２００３／０８５１１９、ＷＯ ２００３／０８４５７０、ＷＯ ２００５／０３５５８６、ＷＯ ２００５／０３５７７８、ＷＯ２００５／０５３７４２、ＷＯ２００２／０３１１４０、Ｏｋａｚａｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３６：１２３９－１２４９，２００４、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４，２００４が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することのできる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損したＬｅｃ１３ ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ ｅｔ ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４９：５３３－５４５，１９８６、米国特許出願第ＵＳ ２００３／０１５７１０８号Ａ１、Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ、及びＷＯ ２００４／０５６３１２ Ａ１（Ａｄａｍｓら）、特に実施例１１）、及びアルファ－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＦＵＴ８、ノックアウトＣＨＯ細胞などのノックアウト細胞株（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４，２００４、Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，９４（４）：６８０－６８８，２００６、及びＷＯ２００３／０８５１０７を参照されたい）が挙げられる。

【０２３３】

例えば、抗体のＦｃ領域に結合した二分岐オリゴ糖がＧｌｃＮＡｃによって二分されている、二分されたオリゴ糖を有する抗ＦｃＲＨ５抗体変異形がさらに提供される。そのような抗体変異形は、低減したフコシル化及び／または改善したＡＤＣＣ機能を有し得る。そのような抗体変異形の例は、例えば、ＷＯ ２００３／０１１８７８（Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔら）、米国特許第６，６０２，６８４号（Ｕｍａｎａら）、及びＵＳ ２００５／０１２３５４６（Ｕｍａｎａら）に記載されている。オリゴ糖内の少なくとも１つのガラクトース残基がＦｃ領域に結合している抗体変異形も提供される。そのような抗体変異形は、完全したＣＤＣ機能を有し得る。そのような抗体変異形は、例えば、ＷＯ １９９７／３００８７（Ｐａｔｅｌら）、ＷＯ １９９８／５８９６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）、及びＷＯ １９９９／２２７６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）に記載されている。

【０２３４】

ｃ． ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及びＣＬドメイン変異形

ある特定の実施形態では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＦｃＲＨ５ＴＤＢ抗体またはその変異形）の、重鎖可変（ＶＨ、例えば$ＶＨ_1$及び／または$ＶＨ_2$）ドメイン、軽鎖可変（ＶＬ、例えば$ＶＬ_1$及び／または$ＶＬ_2$）ドメイン、重鎖定常（ＣＨ１、例えば$ＣＨ１_1$及び／または$ＣＨ１_2$）ドメイン、及び／または軽鎖定常（ＣＬ、例えば$ＣＬ_1$及び／または$ＣＬ_2$）ドメインに、１つ以上のアミノ酸修飾が導入され得る。ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬドメインは、１つ以上（例えば１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、または１０個）のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば置換）を有し得る。特定の実施形態において、アミノ酸置換は、酸性及び／または塩基性のアミノ酸残基を含む。アミノ酸修飾は、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬドメイン内に荷電領域（例えば、酸性及び／または塩基性のアミノ酸残基を含む領域）を形成し得る。ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬドメイン内の荷電領域は、反対の全体的電荷をもつ第２の荷電領域と相互作用して電荷対を形成することができる。例えば、アミノ酸修飾は、ＴＤＢのＦｃＲＨ５アームの$ＶＬ_1$ドメイン及び$ＶＨ_1$ドメイン内に存在する荷電領域間の電荷対の形成を媒介し得る。いくつかの事例において、アミノ酸修飾は、ＴＤＢのＦｃＲＨ５アームの$ＣＬ_1$ドメイン及び$ＣＨ１_1$ドメイン内に存在する荷電領域間の電荷対の形成を媒介し得る。いくつかの事例において、アミノ酸修飾は、Ｔ

ＤＢの第２のアーム（例えばＴＤＢのＣＤ３アーム）のＶＬ$_2$ドメイン及びＶＨ$_2$ドメイン内に存在する荷電領域間の電荷対の形成を媒介し得る。いくつかの事例において、アミノ酸修飾は、ＴＤＢの第２のアーム（例えばＴＤＢのＣＤ３アーム）のＣＬ$_2$ドメイン及びＣＨ１$_2$ドメイン内に存在する荷電領域間の電荷対の形成を媒介し得る。ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬドメイン変異形を含むＦｃＲＨ５　ＴＤＢの例示的な構成を、図１Ａ～１Ｄに提示する。

【０２３５】

ある特定の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＦｃＲＨ５　ＴＤＢ抗体）は、正しい重鎖／軽鎖の対合を促進するために、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬ領域に１つ以上の不斉修飾を含む。他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）の２つのアーム（例えば、抗ＦｃＲＨ５アーム及び抗ＣＤ３アーム）のヘテロ二量体化を促進するために、Ｆｃ領域に１つ以上の修飾をさらに含む。

【０２３６】

いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_1$ドメインは、Ｓ１８３（ＥＵ付番）にアミノ酸置換を含み、ＣＬ$_1$ドメインは、Ｖ１３３（ＥＵ付番）にアミノ酸置換を含む。他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体の第１のアーム（例えばＦｃＲＨ５結合アーム）の軽鎖は、カッパ鎖である。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体の第２のアーム（例えば抗ＣＤ３結合アーム）の軽鎖は、カッパ鎖である。ある特定の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体の両方のアーム（例えば、ＦｃＲＨ５結合アーム及びＣＤ３結合アーム）における軽鎖が、カッパ鎖である。

【０２３７】

いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_1$ドメインは、Ｓ１８３Ｅ変異を含み、ＣＬ$_1$ドメインは、Ｖ１３３Ｋ変異を含む。他の実施形態では、ＣＨ１$_1$ドメインは、Ｓ１８３Ｋ変異を含み、ＣＬ$_1$ドメインは、Ｖ１３３Ｅ変異を含む。

【０２３８】

いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_1$ドメインは、Ｓ１８３Ｋ変異を含み、ＣＬ$_1$ドメインは、Ｖ１３３Ｅ変異を含み、ＣＨ１$_2$ドメインは、Ｓ１８３Ｅ変異を含み、ＣＬ$_2$ドメインは、Ｖ１３３Ｋ変異を含む。

【０２３９】

いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＶＨ$_1$ドメイン内にＱ３９Ｅ変異、ＶＬ$_1$ドメイン内にＱ３８Ｋ変異、ＶＨ$_2$ドメイン内にＱ３９Ｋ変異、そしてＶＬ$_2$ドメイン内にＱ３８Ｅ変異をさらに含む。

【０２４０】

いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、ＣＨ３$_1$ドメイン内にノブ（例えば隆起）変異、そしてＣＨ３$_2$ドメイン内にホール（例えば空洞）変異をさらに含む。ある特定の実施形態では、ノブ変異は、Ｔ３６６Ｗ変異（ＥＵ付番）を含む。ある特定の実施形態では、ホール変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ変異（ＥＵ付番）のうちの少なくとも１つ、少なくとも２つ、または３つ全てを含む。ある特定の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、第１の重鎖にＴ３６６Ｗ変異、そして第２の重鎖にＴ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖ変異をさらに含む。

【０２４１】

いくつかの実施形態において、ＣＨ１$_1$ドメインは、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及びＶ１８５Ａ変異を含み、ＣＬ$_1$ドメインは、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ変異を含む。ある特定の他の実施形態では、ＣＨ１$_1$ドメインは、Ａ１４１Ｉ、Ｆ１７０Ｓ、Ｓ１８１Ｍ、Ｓ１８３Ａ、及びＶ１８５Ａ変異を含み、ＣＬ$_1$ドメインは、Ｆ１１６Ａ、Ｌ１３５Ｖ、Ｓ１７４Ａ、Ｓ１７６Ｆ、及びＴ１７８Ｖ変異を含み、ＣＨ１$_2$ドメインは、Ｓ１８３Ｅ変異を含み、ＣＬ$_2$ドメインは、Ｖ１３３Ｋ変異を含む。

【０２４２】
ｄ．　Ｆｃ領域変異形
ある特定の実施形態では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＴＤＢ抗体またはその変異形）のＦｃ領域に、１つ以上のアミノ酸修飾を導入し、それによってＦｃ領域変異形を生成することができる（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国公開第２０１２／０２５１５３１号を参照されたい）。ある特定の他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）の２つのアーム（例えば、抗ＦｃＲＨ５アーム及び抗ＣＤ３アーム）のヘテロ二量体化を促進するために、Ｆｃ領域に１つ以上の修飾を含む。ある特定の実施形態では、１つ以上のＦｃ修飾を有する抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）はまた、上述のように、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬドメイン内に１つ以上の修飾を有し得る。いくつかの実施形態において、Ｆｃ、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬ修飾を含むＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）は、本明細書に記載される１細胞（ｏｎｅ－ｃｅｌｌ）抗体産生手法によって産生されてもよい。Ｆｃ領域変異形は、１つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば置換）を含むヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域）を含んでもよい。
【０２４３】
ある特定の実施形態では、本発明は、全てではなく一部のエフェクター機能を有することにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、ある特定のエフェクター機能（例えば補体及びＡＤＣＣなど）が不必要または有害である用途において望ましい候補となる、抗ＦｃＲＨ５抗体変異形を想定する。インビトロ及び／またはインビボの細胞傷害性アッセイを実施して、ＣＤＣ及び／またはＡＤＣＣ活性の低減／枯渇を確認することができる。例えば、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実施して、抗体がＦｃγＲ結合性を欠いている（よってＡＤＣＣ活性を欠いている可能性が高い）がＦｃＲｎ結合能力を保持していることを確かめることができる。ＡＤＣＣを媒介する初代細胞であるＮＫ細胞がＦｃγＲＩＩＩのみを発現する一方で、単球は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞でのＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ　ｅｔ　ａｌ．Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７－４９２，１９９１の４６４ページの表３に要約されている。目的の分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第５，５００，３６２号（例えばＨｅｌｌｓｔｒｏｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８３：７０５９－７０６３，１９８６を参照されたい）、及びＨｅｌｌｓｔｒｏｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８２：１４９９－１５０２，１９８５、第５，８２１，３３７号（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６６：１３５１－１３６１，１９８７を参照されたい）に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ法を用いてもよい（例えば、フローサイトメトリのためのＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ，ＣＡ、及びＣＹＴＯＴＯＸ　９６（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）を参照されたい。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が挙げられる。あるいは、またはさらに、目的の分子のＡＤＣＣ活性は、インビボで、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９５：６５２－６５６，１９９８に開示されているものなどの動物モデルにおいて評価されてもよい。Ｃ１ｑ結合アッセイを行って、抗体がＣ１ｑに結合することができず、よってＣＤＣ活性を欠いていることを確認することもできる。例えば、ＷＯ　２００６／０２９８７９及びＷＯ　２００５／１００４０２におけるＣ１ｑ及びＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照されたい。補体活性化を評価するためには、ＣＤＣアッセイを行ってもよい（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２０２：１６３，１９９６、Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．　ｅｔ　ａｌ．Ｂｌｏｏｄ．１０１：１０４５－１０５２

，２００３、及びＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．　ａｎｄ　Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ　Ｂｌｏｏｄ．１０３：２７３８－２７４３，２００４を参照されたい）。ＦｃＲｎ結合及びインビボクリアランス／半減期の定量も、当該技術分野で知られる方法を使用して行うことができる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ｅｔ　ａｌ．Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（１２）：１７５９－１７６９，２００６を参照されたい）。

【０２４４】

エフェクター機能が低減した抗体は、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７、及び３２９のうちの１つ以上の置換を有するものを含む（米国特許第６，７３７，０５６号及び同第８，２１９，１４９号）。そのようなＦｃ変異体には、残基２６５及び２９７のアラニンへの置換を有するいわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ変異体を含め、アミノ酸２６５位、２６９位、２７０位、２９７位、及び３２７位のうちの２つ以上に置換を有するＦｃ変異体が含まれる（米国特許第７，３３２，５８１号及び同第８，２１９，１４９号）。

【０２４５】

ある特定の実施形態では、抗体における野生型ヒトＦｃ領域内の３２９位のプロリンが、グリシンもしくはアルギニン、またはＦｃのプロリン３２９とＦｃｇＲＩＩＩのトリプトファン残基Ｔｒｐ８７及びＴｒｐ１１０との間に形成されるＦｃ／Ｆｃ．ガンマ受容体界面内のプロリンサンドイッチを破壊するのに十分に大きなアミノ酸残基で置換される（Ｓｏｎｄｅｒｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．４０６：２６７－２７３，２０００）。ある特定の実施形態では、抗体は、少なくとも１つのさらなるアミノ酸置換を含む。一実施形態において、さらなるアミノ酸置換は、Ｓ２２８Ｐ、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｌ２３５Ｅ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｄ、またはＰ３３１Ｓであり、さらに別の実施形態では、少なくとも１つのさらなるアミノ酸置換は、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ領域のＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ、またはヒトＩｇＧ４　Ｆｃ領域のＳ２２８Ｐ及びＬ２３５Ｅであり（例えば、ＵＳ　２０１２／０２５１５３１を参照されたい）、さらに別の実施形態では、少なくとも１つのさらなるアミノ酸置換は、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ領域のＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇである。

【０２４６】

ＦｃＲに対する結合が改善または減少したある特定の抗体変異形が説明されている（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号、ＷＯ　２００４／０５６３１２、及びＳｈｉｅｌｄｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１－６６０４，２００１を参照されたい）。

【０２４７】

ある特定の実施形態では、抗体変異形は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８位、３３３位、及び／または３３４位（ＥＵ付番の残基）における置換を有するＦｃ領域を含む。

【０２４８】

いくつかの実施形態において、例えば、米国特許第６，１９４，５５１号、ＷＯ　９９／５１６４２、及びＩｄｕｓｏｇｉｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４，２０００に記載されるように、Ｃ１ｑ結合及び／または補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）の変化（すなわち、改善または減少のいずれか）をもたらす変更が、Ｆｃ領域において行われる。

【０２４９】

増加した半減期を有し、胎児への母体ＩｇＧの移入の原因となる（Ｇｕｙｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７，１９７６、Ｋｉｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９，１９９４）新生児型Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）に対する結合が改善した抗体が、ＵＳ２００５／００１４９３４Ａ１（Ｈｉｎｔｏｎら）に記載されている。これらの抗体は、ＦｃＲｎに対するＦｃ領域の結合を改善させる１つ以上の置換を中に有するＦｃ領域を含む。そのようなＦｃ変異形は、Ｆｃ領域残基：２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３

５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４、または４３４のうちの１つ以上における置換、例えばＦｃ領域残基４３４の置換を有するものを含む（米国特許第７，３７１，８２６号）。

【０２５０】

Ｆｃ領域変異形の他の例に関しては、Ｄｕｎｃａｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　３２２：７３８－４０，１９８８、米国特許第５，６４８，２６０号、米国特許第５，６２４，８２１号、及びＷＯ　９４／２９３５１も参照されたい。

【０２５１】

ある特定の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、非グリコシル化部位変異を含む。非グリコシル化部位変異は、置換変異であり得る。非グリコシル化部位変異は、抗ＦｃＲＨ５抗体のエフェクター機能を、未変異バージョンと比較して少なくとも１％（例えば２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、または９０％）またはそれ以上低減させ得る。いくつかの事例において、置換変異は、アミノ酸残基Ｎ２９７、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｄ２６５、及び／またはＰ３２９（ＥＵ付番）におけるものである。さらに、置換変異は、Ｎ２９７Ｇ、Ｎ２９７Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｄ２６５Ａ、及びＰ３２９Ｇからなる群から選択されてもよい。特定の事例では、置換変異は、Ｎ２９７Ｇ変異である。

【０２５２】

ｅ．　ノブ及びホール変異形

１つ以上（例えば１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、または１０個）のアミノ酸残基のアミノ酸修飾（例えば置換）が隆起（ノブ）または空洞（ホール）を生成する、抗体のノブ及びホール変異形を産生することもできる。いくつかの事例において、抗体の１つのポリペプチドに位置する隆起は、抗体の２つの成分ポリペプチドが隆起と空洞との界面で交わり得るように、抗体の第２のポリペプチドに位置する空洞内に位置付け可能である。ノブは、１つ以上のアミノ酸残基を、より大きなサイズの１つ以上のアミノ酸残基で置換することによって形成され得る。空洞は、１つ以上のアミノ酸残基を、より小さなサイズの１つ以上のアミノ酸残基で置換することによって形成され得る。隆起または空洞は、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢのいずれかのアーム（例えば、抗ＦｃＲＨ５アームまたは抗ＣＤ３アームのいずれか））に導入することができる。（例えばＦｃドメイン）のノブ及びホール修飾は、二重特異性抗体（例えばＴＤＢ）の全体的な収率、均一性、及び安定性を増加させるのに特に有用である。いくつかの事例（例えば、隆起－空洞の対がＬＣ／ＨＣ界面（例えば、ＶＨ及びＶＬまたはＣＬ及びＣＨ１）に位置する場合）では、ノブ及びホール修飾を導入するアミノ酸修飾は、軽鎖スワッピングを低減させることができる。いくつかの実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体の１つのアーム（例えば、抗ＦｃＲＨ５アームまたは抗ＣＤ３アームのいずれか）にＴ３６６Ｗ変異を導入することによって、隆起が形成される。いくつかの実施形態において、Ｔ３６６Ｗ変異は、抗ＦｃＲＨ５アームにおけるものである。いくつかの実施形態では、Ｔ３６６Ｗ変異は、抗ＣＤ３アームにおけるものである。いくつかの実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体の１つのアーム（例えば、抗ＦｃＲＨ５アームまたは抗ＣＤ３アームのいずれか）にＴ３６６Ｗ、Ｌ３６８Ａ、及び／またはＹ４０７Ｖ変異を導入することによって、空洞が形成される。いくつかの実施形態において、Ｔ３６６Ｗ、Ｌ３６８Ａ、及び／またはＹ４０７Ｖ変異は、抗ＦｃＲＨ５アームにおけるものである。いくつかの実施形態では、Ｔ３６６Ｗ、Ｌ３６８Ａ、及び／またはＹ４０７Ｖ変異は、抗ＣＤ３アームにおけるものである。

【０２５３】

多重特異性抗体を作製するための技術としては、異なる特異性を有する２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の組換え共発現（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ　ａｎｄ　Ｃｕｅｌｌｏ，Ｎａｔｕｒｅ　３０５：５３７（１９８３））、ＷＯ　９３／０８８２９、及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ．１０：３６５５（１９９１）を参照されたい）、及び「ノブインホール」操作（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号を参照されたい

）が挙げられるが、これらに限定されない。多重特異性抗体の「ノブインホール」操作は、ノブを含む第１のアームと、第１のアームのノブが結合し得るホールを含む第２のアームとを生成するために用いることができる。例えば、本発明のＴＤＢ抗体は、その抗ＣＤ３アームに位置するノブと、その腫瘍標的アームに位置するホールとを含み得る。あるいは、本発明のＴＤＢ抗体は、その腫瘍標的アームに位置するノブと、その抗ＣＤ３アームに位置するホールとを含んでもよい。多重特異性抗体は、免疫グロブリン交差（Ｆａｂドメイン交換またはＣｒｏｓｓＭａｂフォーマットとしても知られる）技術を使用して操作することもできる（例えば、ＷＯ２００９／０８０２５３、Ｓｃｈａｅｆｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０８：１１１８７－１１１９２（２０１１）を参照されたい）。多重特異性抗体はまた、静電ステアリング効果を操作して抗体Ｆｃヘテロ二量体分子を作製すること（ＷＯ ２００９／０８９００４Ａ１）、２つ以上の抗体または断片を架橋すること（例えば、米国特許第４，６７６，９８０号、及びＢｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）を参照されたい）、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること（例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）を参照されたい）、「ダイアボディ」技術を使用して二重特異性抗体断片を作製すること（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）を参照されたい）、及び一本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体を使用すること（例えば、Ｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５２：５３６８（１９９４）を参照されたい）、ならびに、例えばＴｕｔｔ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１）に記載の三重特異性抗体を調製することによって、作製することもできる。

【０２５４】

ｆ． システイン操作された抗体変異形

ある特定の実施形態では、システイン操作された抗体、例えば、抗体の１つ以上の残基がシステイン残基で置換されている「チオマブ（ｔｈｉｏＭＡｂ）」を作製することが望ましい場合がある。特定の実施形態において、置換残基は、抗体の接触可能部位で生じる。これらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基がそれにより抗体の接触可能部位に位置付けられ、これを使用して、薬物部分またはリンカー・薬物部分などの他の分子に抗体を複合させて、本明細書にさらに記載される免疫複合体を作製することができる。ある特定の実施形態では、次の残基：軽鎖のＶ２０５（Ｋａｂａｔ付番）、重鎖のＡ１１８（ＥＵ付番）、及び重鎖Ｆｃ領域のＳ４００（ＥＵ付番）のうちのいずれか１つ以上がシステインで置換され得る。システイン操作された抗体は、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第７，５２１，５４１号に記載のように生成され得る。

【０２５５】

ｇ． 他の抗体誘導体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＴＤＢ抗体またはその変異形）は、当該技術分野で知られており容易に利用可能である追加の非タンパク質性部分を含むように、さらに改変されてもよい。抗体の誘導体化に好適な部分としては、水溶性ポリマーが挙げられるが、これに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１、３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合

物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性により、製造における利点を有し得る。ポリマーは、いかなる分子量のものであってもよく、分枝状であっても非分枝状であってもよい。抗体に結合したポリマーの数は様々であり得、１つより多くのポリマーが結合している場合、それらは同じ分子であっても異なる分子であってもよい。概して、誘導体化のために使用されるポリマーの数及び／または種類は、改善すべき抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が所定の条件下で療法に使用されるかどうかなどを含むがこれらに限定されない検討事項に基づいて決定することができる。

【０２５６】

別の実施形態では、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る抗体と非タンパク質性部分との複合体が提供される。一実施形態において、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである（Ｋａｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　１０２：１１６００－１１６０５，２００５）。放射線は、任意の波長のものであり得、通常の細胞を害しないが抗体－非タンパク質性部分に近位の細胞を殺傷する温度まで非タンパク質性部分を加熱する波長を含むが、これに限定されない。

【０２５７】

Ｂ．　組換えの方法及び組成物

本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＴＤＢ抗体またはその変異形）は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号に記載される組換えの方法及び組成物を使用して産生され得る。一実施形態において、本明細書に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体をコードする単離核酸が提供される。一実施形態において、宿主細胞は、真核細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞である。一実施形態において、宿主細胞は、原核細胞、例えばＥ．ｃｏｌｉ細胞である。一実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体の作製方法であって、上記に提供された抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、該抗体の発現に好適な条件下で培養することと、場合により、宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から該抗体を回収することとを含む、方法が提供される。別の実施形態では、本方法は、ＣＤ３に結合する結合ドメインを含む抗ＣＤ３抗体をコードする第２の核酸を含む第２の宿主細胞を培養することをさらに含む。いくつかの実施形態において、宿主細胞は共培養される。さらなる実施形態は、宿主細胞または培養培地から二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体を回収することを含む。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体及び抗ＣＤ３抗体は、同じ宿主細胞内（例えば、１細胞手法）で産生される。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体及び抗ＣＤ３抗体は、別々の宿主細胞内（例えば、２細胞手法）で産生される。

【０２５８】

１細胞手法及び２細胞手法では、ＴＤＢの培養及び発現のために、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（例えば、ＦｃＲＨ５半抗体及びＣＤ３半抗体）をコードする１つ以上のプラスミドが、１つ以上の宿主細胞に導入される。１つの事例では、単一のプラスミドがＦｃＲＨ５半抗体とＣＤ３半抗体との両方をコードし得る。あるいは、これらの半抗体は、別々のプラスミドによってコードされてもよい。別の事例では、各半抗体の重鎖が第１のプラスミドでコードされ、各半抗体の軽鎖が第２のプラスミドでコードされる。１細胞手法では、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、単一の宿主において産生される。２細胞手法では、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、別々の宿主（例えば、同じ宿主細胞の別々の培養物、または異なる宿主細胞の別々の培養物）において半抗体を発現させることによって産生される。２細胞手法では、２つの宿主は、同じ容器で培養することも、異なる容器で培養することもできる。２つの宿主培養物をＦｃＲＨ５　ＴＤＢの溶解及び精製前に合わせてもよいし、２つの半抗体を別々に精製してもよい。

【０２５９】

いくつかの実施形態において、不斉修飾（例えば、上述のＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、ＣＬ、及び／またはＦｃドメインの変異）を含むように改変されている本発明の抗ＦｃＲＨ５抗

体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＦｃＲＨ５　ＴＤＢ抗体）が、１細胞手法によって産生され、これにより、不斉修飾を含むように改変されていない抗ＦｃＲＨ５抗体と比較した場合に抗ＦｃＲＨ５抗体の正しい重鎖／軽鎖の対合の改善及び／または収率の改善がもたらされる。

【０２６０】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞としては、本明細書に記載される原核細胞または真核細胞が挙げられる。例えば、抗体は、特にグリコシル化及びＦｃエフェクター機能が必要とされない場合に、細菌内で産生され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第５，６４８，２３７号、同第５，７８９，１９９号、及び同第５，８４０，５２３号を参照されたい（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉにおける抗体断片の発現について記載する、Ｃｈａｒｌｔｏｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３），ｐｐ．２４５－２５４を参照されたい）。発現後、抗体は、可溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離されてもよく、さらに精製されてもよい。

【０２６１】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物が、抗体をコードするベクターに好適なクローニング宿主または発現宿主であり、これには、部分的または完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらすようにグリコシル化経路が「ヒト化」されている真菌及び酵母株が含まれる。Ｇｅｒｎｇｒｏｓｓ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２２：１４０９－１４１４，２００４、及びＬｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２４：２１０－２１５，２００６を参照されたい。

【０２６２】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞は、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物細胞及び昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞と併せて、特にＳｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞のトランスフェクションのために使用され得る、多数のバキュロウイルス株が特定されている。

【０２６３】

植物細胞培養物を宿主として用いることもできる。例えば、米国特許第５，９５９，１７７号、同第６，０４０，４９８号、同第６，４２０，５４８号、同第７，１２５，９７８号、及び同第６，４１７，４２９号（トランスジェニック植物において抗体を産生するためのＰＬ抗体（商標）技術について記載している）を参照されたい。

【０２６４】

脊椎動物細胞を宿主として使用してもよい。例えば、懸濁液中で成長するのに適した哺乳動物細胞株が有用である場合がある。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、ＳＶ４０により形質転換されたサル腎臓ＣＶ１株（ＣＯＳ－７）、ヒト胚性腎臓株（例えばＧｒａｈａｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｇｅｎ　Ｖｉｒｏｌ．３６：５９，１９７７に記載される２９３または２９３細胞）、ベビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ）、マウスセルトリ細胞（例えばＭａｔｈｅｒ　Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３－２５１，１９８０に記載されるＴＭ４細胞）、サル腎臓細胞（ＣＶ１）、アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６）、ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ）、イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ、バッファローラット肝臓細胞（ＢＲＬ　３Ａ）、ヒト肺細胞（Ｗ１３８）、ヒト肝臓細胞（Ｈｅｐ　Ｇ２）、マウス乳房腫瘍（ＭＭＴ　０６０５６２）、例えばＭａｔｈｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ａｎｎａｌｓ　Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４－６８，１９８２に記載されるＴＲＩ細胞、ＭＲＣ－５細胞、及びＦＳ４細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、ＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Ｕｒｌａｕｂ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　７７：４２１６，１９８０）、ならびにＹ０、ＮＳ０、及びＳｐ２／０などの骨髄腫細胞株が挙げられる。抗体産生に好適なある特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えばＹａｚａｋｉ　ｅ

ｔ ａｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，２４８：２５５－２６８，２００３を参照されたい。

【０２６５】

Ｃ． アッセイ

本明細書に提供される本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＴＤＢ抗体またはその変異形）は、当該技術分野で知られる様々なアッセイによって、それらの物理的／化学的特性及び／または生物活性について特定されるか、スクリーニングされるか、または特性決定され得る。

【０２６６】

１． 結合アッセイ及び他のアッセイ

一態様において、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体は、例えば、ＥＬＩＳＡ、ウェスタンブロットなどの公知の方法によって、その抗原結合活性に関して試験される。

【０２６７】

別の態様では、競合アッセイを使用して、ＦｃＲＨ５への結合について本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体と競合する抗体を特定することができる。

【０２６８】

例示的な競合アッセイでは、固定化されたＦｃＲＨ５を、ＦｃＲＨ５に結合する第１の標識抗体と、ＦｃＲＨ５への結合について第１の抗体と競合するその能力について試験されている第２の非標識抗体とを含む溶液中でインキュベートする。第２の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたＦｃＲＨ５を、第１の標識抗体は含むが第２の非標識抗体は含まない溶液中でインキュベートする。第１の抗体がＦｃＲＨ５に結合することを許容する条件下でのインキュベーションの後、過剰な未結合抗体を除去し、固定化されたＦｃＲＨ５に関連する標識の量を測定する。固定化されたＦｃＲＨ５に関連する標識の量が対照試料と比べて試験試料中で実質的に低減している場合、それは、第２の抗体がＦｃＲＨ５への結合について第１の抗体と競合していることを示す。例えば、Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ．Ｃｈ．１４（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ）を参照されたい。

【０２６９】

２． 活性アッセイ

一態様において、生物活性を有するその抗ＦｃＲＨ５抗体を特定するためのアッセイが提供される。生物活性には、例えば、インビボ、インビトロ、またはエクスビボのいずれかでの、ＦｃＲＨ５またはそのペプチド断片への結合が含まれ得る。本発明の多重特異性（例えば二重特異性）抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、１つの抗ＦｃＲＨ５アームと、第２の生体分子、例えばＣＤ３を認識する１つのアームとを有するＴＤＢ抗体）の場合では、生物活性には、例えば、エフェクター細胞の活性化（例えばＴ細胞（例えばＣＤ８＋及び／またはＣＤ４＋Ｔ細胞）の活性化）、エフェクター細胞集団の拡大（すなわち、Ｔ細胞数の増加）、標的細胞集団の低減（すなわち、細胞表面で第２の生体分子を発現する細胞集団における減少）、及び／または標的細胞殺傷も含まれ得る。インビボ及び／またはインビトロでそのような生物活性を有する抗体が提供される。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、本明細書において以下の実施例に詳述されるように、そのような生物活性について試験される。

【０２７０】

いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５ ＴＤＢ）の活性は、Ｂ細胞殺傷を支持する能力及び／または細胞傷害性Ｔ細胞の活性化を含む。ある特定の実施形態では、本発明のＦｃＲＨ５ ＴＤＢ抗体は、そのようなＢ細胞殺傷及び／またはＴ細胞生物活性の細胞傷害作用の活性化について、本明細書、特に実施例に記載される方法のうちのいずれかによって試験される。これらの活性アッセイのうちのいずれかのい

くつかの実施形態では、Ｆｉｃｏｌｌ分離によって健常なドナーの全血からＰＢＭＣを単離してもよい。具体的には、ヘパリン処置したシリンジにヒト血液を収集し、Ｌｅｕｃｏｓｅｐ及びＦｉｃｏｌｌ　Ｐａｑｕｅ　Ｐｌｕｓを使用してＰＢＭＣを単離してもよい。必要であれば、Ｍｉｌｔｅｎｙｉキットを製造元の指示に従って用いてＣＤ４＋Ｔ細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞を分離してもよい。

【０２７１】

さらに、ＧｌｕｔａＭａｘ、ペニシリン、及びストレプトマイシンを補充した１０％ＦＢＳを含むＲＰＭＩ培地中で細胞を洗浄し、約２０万個の浮遊細胞を９６ウェルＵ底プレートに加えてもよい。細胞は、加湿標準細胞培養インキュベータ内で３７℃において、１０％　ＦＢＳを補充したＲＰＭＩ１６４０中で培養してもよい。ＢＪＡＢ細胞殺傷アッセイでは、２０，０００個のＢＪＡＢ細胞を、ｈｕＰＢＭＣまたは精製されたＴ細胞のいずれかとしてのエフェクター細胞と共に、１アッセイ当たりで示される割合で、様々な濃度のＴＤＢ抗体の存在下で２４時間インキュベートしてもよい。内因性Ｂ細胞殺傷アッセイでは、２００，０００個のｈｕＰＢＭＣを、様々な濃度のＴＤＢ抗体と共に２４時間インキュベートしてもよい。

【０２７２】

培養後、ＦＡＣＳ緩衝液（０．５％　ＢＳＡ、０．０５％　Ｎａアジド／ＰＢＳ）で細胞を洗浄してもよい。次に、細胞をＦＡＣＳ緩衝液中で染色し、ＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、１μｇ／ｍｌのヨウ化プロピジウムを含有する１００μｌのＦＡＣＳ緩衝液中に懸濁してもよい。データは、ＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒフローサイトメーターで収集し、ＦｌｏｗＪｏを使用して分析することができる。生Ｂ細胞は、ＦＡＣＳによってＰＩ陰性ＣＤ１９＋Ｂ細胞またはＰＩ陰性ＣＤ２０＋Ｂ細胞としてゲートアウト（ｇａｔｅｄ　ｏｕｔ）することができ、細胞絶対数は、内部計数対照として反応混合物に加えられるＦＩＴＣビーズを用いて得ることができる。細胞殺傷パーセント（％）は、非ＴＤＢ処置対照に基づいて計算することができる。活性化したＴ細胞は、抗ＣＤ６９－ＦＩＴＣ及び抗ＣＤ２５－ＰＥを使用し、ＣＤ６９及びＣＤ２５の表面発現によって検出することができる。

【０２７３】

Ｄ．　免疫複合体

本発明は、抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば抗ＦｃＲＨ５多重特異性抗体を含む免疫複合体、例えば、化学療法剤もしくは化学療法薬、成長阻害剤、毒素（例えばタンパク質毒素、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素活性毒素、またはそれらの断片）、または放射性同位元素などの１つ以上の細胞傷害剤と複合した、本明細書に記載のＦｃＲＨ５　ＴＤＢも提供する。

【０２７４】

一実施形態において、免疫複合体は、マイタンシノイド（米国特許第５，２０８，０２０号、同第５，４１６，０６４号、及び欧州特許第ＥＰ　０　４２５　２３５号Ｂ１を参照されたい）、モノメチルオーリスタチン薬物部分ＤＥ及びＤＦ（ＭＭＡＥ及びＭＭＡＦ）などのオーリスタチン（米国特許第５，６３５，４８３号及び同第５，７８０，５８８号及び同第７，４９８，２９８号を参照されたい）、ドラスタチン、カリチアマイシンまたはその誘導体（米国特許第５，７１２，３７４号、同第５，７１４，５８６号、同第５，７３９，１１６号、同第５，７６７，２８５号、同第５，７７０，７０１号、同第５，７７０，７１０号、同第５，７７３，００１号、及び同第５，８７７，２９６号、Ｈｉｎｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５３：３３３６－３３４２，１９９３、ならびにＬｏｄｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５８：２９２５－２９２８，１９９８を参照されたい）、ダウノマイシンまたはドキソルビシンなどのアントラサイクリン（Ｋｒａｔｚ　ｅｔ　ａｌ．Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１３：４７７－５２３，２００６、Ｊｅｆｆｒｅｙ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ　＆　Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ　１６：３５８－３６２，２００６、Ｔｏｒｇｏｖ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｃｏｎｊ．Ｃｈｅｍ．１６：７１７－７２１，２００５、Ｎａｇｙ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９７：８２９－８３４，２０００、Ｄｕ

ｂｏｗｃｈｉｋ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｏｒｇ．＆ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔｅｒｓ １２：１５２９－１５３２，２００２、Ｋｉｎｇ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４５：４３３６－４３４３，２００２、及び米国特許第６，６３０，５７９号を参照されたい）、メトトレキサート、ビンデシン、タキサン、例えばドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、及びオルタタキセル、トリコテシン、ならびにＣＣ１０６５を含むがこれらに限定されない１つ以上の薬物に抗体が複合している、抗体－薬物複合体（ＡＤＣ）である。

【０２７５】

別の実施形態では、免疫複合体は、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素Ａ鎖（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ由来）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、アルファ－サルシン、Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ ｆｏｒｄｉｉタンパク質、ジアンシンタンパク質、ｐｈｙｔｏｌａｃａ ａｍｅｒｉｃａｎａタンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、及びＰＡＰ－Ｓ）、ｍｏｍｏｒｄｉｃａ ｃｈａｒａｎｔｉａ阻害剤、クルシン、クロチン、ｓａｐａｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、及びトリコテセンを含むがこれに限定されない酵素活性毒素またはその断片と複合した、本明細書に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、抗ＦｃＲＨ５多重特異性抗体、例えばＦｃＲＨ５ ＴＤＢ）を含む。

【０２７６】

別の実施形態では、免疫複合体は、放射性複合体を形成するように放射性原子と複合した、本明細書に記載の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、抗ＦｃＲＨ５多重特異性抗体、例えばＦｃＲＨ５ ＴＤＢ）を含む。多様な放射性同位元素が放射性複合体の産生に利用可能である。例としては、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、及びＬｕの放射性同位元素が挙げられる。放射性複合体が検出のために使用される場合、これは、シンチグラフィー研究用の放射性原子、例えばｔｃ９９ｍもしくはＩ１２３、または核磁気共鳴（ＮＭＲ）画像法（磁気共鳴画像法、ｍｒｉとしても知られる）のためのスピン標識、例えば、繰り返しになるがヨウ素１２３、ヨウ素１３１、インジウム１１１、フッ素１９、炭素１３、窒素１５、酸素１７、ガドリニウム、マンガン、もしくは鉄などを含んでもよい。

【０２７７】

抗体と細胞傷害剤との複合体は、多様な二官能性タンパク質カップリング剤、例えばＮ－サクシニミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）、サクシニミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能性誘導体（例えばアジプイミド酸ジメチルＨＣｌ）、活性エステル（例えばスベリン酸ジサクシニミジル）、アルデヒド（例えばグルタルアルデヒド）、ビス－アジド化合物（例えばビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン）、ビス－ジアゾニウム誘導体（例えばビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミン）、ジイソシアネート（例えばトルエン２，６－ジイソシアネート）、及びビス－活性フッ素化合物（例えば１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン）を使用して作製され得る。例えば、リシン免疫毒素は、Ｖｉｔｅｔｔａ ｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３８：１０９８，１９８７に記載のように調製することができる。炭素１４で標識された１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミン五酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、放射性ヌクレオチドを抗体と複合させるための例示的なキレート剤である。ＷＯ９４／１１０２６を参照されたい。リンカーは、細胞内で細胞傷害薬の放出を促進する「切断可能リンカー」であってもよい。例えば、酸不安定リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー、またはジスルフィド含有リンカー（Ｃｈａｒｉ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５２：１２７－１３１，１９９２、米国特許第５，２０８，０２０号）を使用してもよい。

【０２７８】

本明細書における免疫複合体またはＡＤＣは、（例えば、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃ

ｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ．，Ｕ．Ｓ．Ａから）市販されているＢＭＰＳ、ＥＭＣＳ、ＧＭＢＳ、ＨＢＶＳ、ＬＣ－ＳＭＣＣ、ＭＢＳ、ＭＰＢＨ、ＳＢＡＰ、ＳＩＡ、ＳＩＡＢ、ＳＭＣＣ、ＳＭＰＢ、ＳＭＰＨ、スルホ－ＥＭＣＳ、スルホ－ＧＭＢＳ、スルホ－ＫＭＵＳ、スルホ－ＭＢＳ、スルホ－ＳＩＡＢ、スルホ－ＳＭＣＣ、及びスルホ－ＳＭＰＢ、及びＳＶＳＢ（サクシニミジル－（４－ビニルスルホン）ベンゾエート）を含むがこれらに限定されない架橋試薬を用いて調製された複合体を明示的に想定するが、これに限定されない。

【０２７９】

Ｅ．　薬学的製剤

本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）の薬学的製剤は、所望の純度を有するかかる抗体を、１つ以上の任意選択の薬学的に許容される担体、緩衝液、安定剤、及び／または防腐剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　１６ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０））と凍結乾燥製剤または水溶液の形態で混合することによって調製される。薬学的に許容される担体は、一般に、用いられる投薬量及び濃度で受容者にとって無毒であり、限定されないが、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、またはベンジルアルコール；メチルパラベンまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾール）；低分子量（約１０残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、またはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えばＺｎ－タンパク質錯体）；及び／またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤を含む。本明細書における例示的な薬学的に許容される担体は、介在性（ｉｎｓｔｅｒｓｔｉｔｉａｌ）薬物分散剤、例えば可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（ｓＨＡＳＥＧＰ）、例えばヒト可溶性ＰＨ－２０ヒアルロニダーゼ糖タンパク質、例えばｒＨｕＰＨ２０（ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．）をさらに含む。ｒＨｕＰＨ２０を含むある特定の例示的なｓＨＡＳＥＧＰ及び使用方法は、米国特許公開第２００５／０２６０１８６号及び同第２００６／０１０４９６８号に記載されている。一態様において、ｓＨＡＳＥＧＰは、１つ以上の追加のグリコサミノグリカナーゼ、例えばコンドロイチナーゼと組み合わせられる。

【０２８０】

例示的な凍結乾燥抗体製剤は、米国特許第６，２６７，９５８号に記載されている。水性抗体製剤としては、米国特許第６，１７１，５８６号及びＷＯ２００６／０４４９０８に記載されているものが挙げられ、後者の製剤にはヒスチジン－酢酸緩衝液が含まれる。

【０２８１】

本明細書における製剤は、治療されている特定の適応症のために必要な場合、１つより多くの活性成分、好ましくは互いに有害作用を及ぼさない相補的活性を有するものを含んでもよい。例えば、追加の治療剤（例えば、本明細書において上記に列挙されたものなどの化学療法剤、細胞傷害剤、成長阻害剤、及び／または抗ホルモン剤）をさらに提供することが望ましい場合がある。そのような活性成分は、意図される目的に有効な量で組み合わさって存在することが好適である。

【０２８２】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術もしくは界面重合によって調製されたマ

イクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースもしくはゼラチンのマイクロカプセル、及びポリ－（メチルメタクリレート）のマイクロカプセル中か、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）中か、またはマイクロエマルジョン中に封入されてもよい。そのような技術は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）に開示されている。

【０２８３】

いくつかの事例において、本組成物は、ＰＤ－１軸結合拮抗薬及び／または追加の治療剤を含み得る。例えば、ＰＤ－１軸結合拮抗薬は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（アテゾリズマブ）、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＤＸ－１１０５、ＭＥＤＩ４７３（デュルバルマブ）、及びＭＳＢ００１０７１８Ｃ（アベルマブ）、ＭＤＸ １１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ペムブロリズマブ）、ＣＴ－０１１（ピディリズマブ）、ＭＥＤＩ－０６８０（ＡＭＰ－５１４）、ＰＤＲ００１、ＲＥＧＮ２８１０、及びＢＧＢ－１０８からなる群から選択され得る。さらに、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５ ＴＤＢ）を含む組成物は、ステロイド、免疫調節薬（ＩＭｉＤ）、プロテオソーム阻害剤（ＰＩ）、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。

【０２８４】

徐放性調製物を調製してもよい。徐放性調製物の好適な例としては、本抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは、成形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形態である。

【０２８５】

インビボ投与に使用される製剤は、一般に無菌である。無菌性は、例えば滅菌濾過膜による濾過によって容易に達成することができる。

【０２８６】

Ｆ． 治療の方法及び組成物

本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体（例えば、ＦｃＲＨ５及び第２の生体分子、例えばＣＤ３に結合する本発明の二重特異性抗ＦｃＲＨ５抗体、例えばＦｃＲＨ５ ＴＤＢ）のうちのいずれも、治療法において使用することができる。

【０２８７】

一態様において、医薬品として使用するための抗ＦｃＲＨ５抗体が提供される。さらなる態様では、個体における細胞増殖性障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えば多発性骨髄腫（ＭＭ））の治療もしくはその進行の遅延及び／または免疫機能の増強に使用するための抗ＦｃＲＨ５抗体が提供される。ある特定の実施形態では、治療方法において使用するための抗ＦｃＲＨ５抗体が提供される。ある特定の実施形態では、本発明は、有効量の抗ＦｃＲＨ５抗体を個体に投与することを含む細胞増殖性障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えばＭＭ））を有する個体の治療方法において使用するための抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。そのような一実施形態では、本方法は、例えば以下に記載されるような少なくとも１つの追加の治療剤を有効量で個体に投与することをさらに含む。

【０２８８】

さらなる実施形態において、本発明は、ＦｃＲＨ５陽性癌（例えばＭＭ）などの細胞増殖性障害を有する個体において免疫機能の増強に使用するための、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本発明は、個体において標的細胞（例えば、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＦｃＲＨ５ ＴＤＢ抗体により認識される、第２の生体分子を発現する細胞）に対して細胞傷害作用及び／またはアポトーシス作用を及ぼすことのできるエフェクター細胞（例えばＴ細胞、例えばＣＤ８＋及び／またはＣＤ４＋Ｔ細胞）を活性化させるために、有効量の抗ＦｃＲＨ５抗体を個体に投与することを含む、細胞増殖性障害を有する個体における免疫機能の増強方法で使用するための、抗ＦｃＲＨ５抗体を提供する。抗ＦｃＲＨ５抗体は、標的細胞上に位置するＦｃＲＨ５分子と、免疫エフェクター細胞上に位置するＣＤ３分子との両方に結合し得る。標的細胞は、長命または

短命の形質細胞などの形質細胞であり得る。さらに、標的細胞は、骨髄腫細胞であってもよい。上記の実施形態のうちのいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０２８９】

さらなる態様では、本発明は、医薬品の製造または調製における抗ＦｃＲＨ５抗体の使用を提供する。一実施形態において、医薬品は、細胞増殖性障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えばＭＭ））の治療のためのものである。さらなる実施形態において、医薬品は、細胞増殖性障害を有する個体に有効量の医薬品を投与することを含む、細胞増殖性障害の治療方法において使用するためのものである。そのような一実施形態では、本方法は、例えば以下に記載されるような少なくとも１つの追加の治療剤を有効量で個体に投与することをさらに含む。

【０２９０】

さらなる実施形態において、医薬品は、エフェクター細胞が、個体において標的細胞（例えば、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＦｃＲＨ５　ＴＤＢ抗体により認識される、第２の生体分子を発現する細胞）に対して細胞傷害作用及び／またはアポトーシス作用を及ぼすことのできるエフェクター細胞（例えばＴ細胞、例えばＣＤ８＋及び／またはＣＤ４＋Ｔ細胞）を活性化させることを活性化させるためのものである。さらなる実施形態において、医薬品は、エフェクター細胞（例えばＴ細胞、例えばＣＤ８＋及び／またはＣＤ４＋Ｔ細胞）を活性化させるため、エフェクター細胞集団を拡大（増加）させるため、標的細胞（例えば、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体、例えば本発明のＦｃＲＨ５　ＴＤＢ抗体により認識される、第２の生体分子を発現する細胞）の集団を低減させるため、及び／または標的細胞（例えば標的腫瘍細胞）を殺傷するために有効な量の医薬品を個体に投与することを含む、細胞増殖性障害を有する個体における免疫機能の増強方法において、使用するためのものである。上記の実施形態のうちのいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０２９１】

さらなる態様では、本発明は、細胞増殖性障害（例えば癌）の治療方法を提供する。ＦｃＲＨ５陽性癌は、Ｂ細胞癌であり得る。いくつかの事例において、Ｂ細胞癌は、多発性骨髄腫（ＭＭ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、及び／または濾胞性リンパ腫（ＦＬ）であり得る。特定の事例では、Ｂ細胞癌はＭＭである。他の事例では、ＦｃＲＨ５陽性癌は、Ｂ細胞癌である。一実施形態において、本方法は、そのような細胞増殖性障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えば多発性骨髄腫（ＭＭ））を有する個体に、有効量の抗ＦｃＲＨ５抗体を投与することを含む。そのような一実施形態では、本方法は、例えば以下に記載されるような少なくとも１つの追加の治療剤を有効量で個体に投与することをさらに含む。上記の実施形態のうちのいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０２９２】

本発明の抗体は、療法において単独で使用することも他の薬剤と組み合わせて使用することもできる。例えば、本発明の抗体は、少なくとも１つの追加の治療剤と共投与されてもよい。ある特定の実施形態では、追加の治療剤は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（アテゾリズマブ）、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＤＸ－１１０５、ＭＥＤＩ４７３（デュルバルマブ）、及びＭＳＢ００１０７１８Ｃ（アベルマブ）、ＭＤＸ１１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ペムブロリズマブ）、ＣＴ－０１１（ピディリズマブ）、ＭＥＤＩ－０６８０（ＡＭＰ－５１４）、ＰＤＲ００１、ＲＥＧＮ２８１０、及び／またはＢＧＢ－１０８などのＰＤ－１軸結合拮抗薬である。さらに、ステロイド、免疫調節薬（ＩＭｉＤ）、プロテオソーム阻害剤（ＰＩ）、またはそれらの組み合わせを対象に投与してもよい。一実施形態において、グルココルチコイドは、デキサメタゾンである。いくつかの実施形態において、ＩＭｉＤは、レナリドミドである。いくつかの実施形態において、ＰＩは、ボルテゾミブである。

【０２９３】

上記のかかる併用療法は、併用投与（２つ以上の治療剤が同じ製剤または別々の製剤に

含まれる）、及び別々の投与を包含し、別々の投与の場合、本発明の抗体の投与は、追加の治療剤または治療薬の投与の前に、それと同時に、及び／またはその後に行うことができる。一実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体の投与及び追加の治療剤の投与は、互いの約１か月以内、または約１週間、２週間、もしくは３週間以内、または約１日、２日、３日、４日、５日、もしくは６日以内に行われる。

【０２９４】

本発明の抗体（及び／または任意の追加の治療剤）は、静脈内、皮下、筋肉内、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、植え込み、吸入、髄腔内、脳室内、または鼻腔内を含む任意の好適な手段によって投与することができる。投薬は、投与が短時間であるか慢性的であるかに部分的に応じて、任意の好適な経路によるもの、例えば、静脈内注射または皮下注射などの注射によるものであり得る。単回投与または様々な時点にわたる複数投与、ボーラス投与、及びパルス注入を含むがこれらに限定されない、様々な投薬スケジュールが本明細書では想定される。

【０２９５】

本発明の抗体は、適正な医療行為と一致する様式で製剤化、投薬、及び投与される。この文脈における検討要素には、治療されている特定の障害、治療されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬物の送達部位、投与方法、投与のスケジュール、及び医療従事者に知られる他の要素が挙げられる。抗体は、場合により、問題の障害を防止または治療するために現在使用されている１つ以上の薬剤と共に製剤化されるが、これは必須ではない。そのような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上記に詳解した他の要素に左右される。これらは概して、本明細書に記載されるものと同じ投薬量及び投与経路で、または本明細書に記載される投薬量の約１～９９％で、または適切であると経験的／臨床的に決定される任意の投薬量及び任意の経路で使用される。

【０２９６】

疾患（例えば、増殖性細胞障害、例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えばＭＭ））の防止または治療のためには、本発明の抗体の適切な投薬量は（単独または１つ以上の他の追加の治療剤との組み合わせで使用される場合）、治療される疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が防止目的で投与されるか治療目的で投与されるか、以前の療法、患者の臨床歴及び抗体への応答、ならびに主治医の裁量に左右される。抗体は、好適には、１回で、または一連の治療にわたって患者に投与される。

【０２９７】

一般的な提案として、ヒトに投与される抗ＦｃＲＨ５抗体の治療有効量は、１回の投与によるかそれ以上の投与によるかにかかわらず、患者の体重１ｋｇ当たり約０．０１～約１００ｍｇの範囲である。いくつかの実施形態において、使用される抗体は、例えば、約０．０１～約０．０１～約５５ｍｇ／ｋｇ、５０ｍｇ／ｋｇ、０．０１～約４５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約４０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約３５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約３０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約２５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約２０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約１５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約５ｍｇ／ｋｇ、または約０．０１～約１ｍｇ／ｋｇが毎日投与される。一実施形態において、本明細書に記載される抗ＦｃＲＨ５抗体は、２１日周期の１日目に、約１００ｍｇ、約２００ｍｇ、約３００ｍｇ、約４００ｍｇ、約５００ｍｇ、約６００ｍｇ、約７００ｍｇ、約８００ｍｇ、約９００ｍｇ、約１０００ｍｇ、約１１００ｍｇ、約１２００ｍｇ、約１３００ｍｇまたは約１４００ｍｇの用量でヒトに投与される。この用量は、単回用量または複数回用量（例えば２回または３回用量）で、注入などで投与され得る。状態に応じて数日間以上にわたる反復投与では、治療は概して、疾患症状の所望の抑制が生じるまで持続される。抗体の１つの例示的な投薬量は、約０．０５ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇの範囲である。したがって、約０．５ｍｇ／ｋｇ、２．０ｍｇ／ｋｇ、４．０ｍｇ／ｋｇ、または１０ｍｇ／ｋｇの１回以上の用量（またはそれらの任意の組み合わせ）が患者に投与され得る。いくつかの実施形態において、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約０．０１ｍｇ／ｋｇ／週～約

１０ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量で投与される。他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、０．１ｍｇ／ｋｇ／週～約１０ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量で投与される。他の実施形態では、抗ＦｃＲＨ５抗体は、約１ｍｇ／ｋｇ／週の投薬量で投与される。

【０２９８】

このような用量は、例えば、毎週、または３週間毎のように（例えば、約２回～約２０回、または例えば約６回の用量の抗ＦｃＲＨ５抗体を患者が受けるように）断続的に投与されてもよい。より高い初回負荷用量に続いて、より低い用量が１回以上投与されてもよい。この療法の進行は、従来の技術及びアッセイによって容易に監視される。

【０２９９】

いくつかの実施形態において、本方法は、追加の療法をさらに含んでもよい。追加の療法は、放射線療法、手術、化学療法、遺伝子療法、ＤＮＡ療法、ウイルス療法、ＲＮＡ療法、免疫療法、骨髄移植、ナノ療法、モノクローナル抗体療法、または前述のものの組み合わせであり得る。追加の療法は、アジュバント療法またはネオアジュバント療法の形態であってもよい。いくつかの実施形態において、追加の療法は、小分子酵素阻害剤または抗転移薬剤の投与である。いくつかの実施形態において、追加の療法は、副作用制限剤（例えば、治療の副作用の発生及び／または重症度の軽減を目的とする薬剤、例えば制嘔吐剤など）の投与である。いくつかの実施形態において、追加の療法は、放射線療法である。いくつかの実施形態において、追加の療法は、手術である。いくつかの実施形態において、追加の療法は、放射線療法と手術との組み合わせである。いくつかの実施形態において、追加の療法は、ガンマ照射である。いくつかの実施形態において、追加の療法は、上述の治療剤のうちの１つ以上の別々の投与であり得る。

【０３００】

Ｇ．　診断及び検出のための方法及び組成物

ある特定の実施形態では、本発明の抗ＦｃＲＨ５抗体のいずれも、生体試料中のＦｃＲＨ５の存在を検出するのに有用である。本明細書で使用される「検出する」という用語は、定量的または定性的な検出を包含する。ある特定の実施形態では、生体試料は、細胞または組織を含む。

【０３０１】

一実施形態において、診断または検出の方法において使用するための抗ＦｃＲＨ５抗体が提供される。さらなる態様では、生体試料中の自然発生ＦｃＲＨ５の存在の検出方法が提供される。ある特定の実施形態では、本方法は、生体試料を、本明細書に記載される抗ＦｃＲＨ５抗体と、自然発生ＦｃＲＨ５に抗ＦｃＲＨ５抗体が結合することを許容する条件下で接触させることと、抗ＦｃＲＨ５抗体と自然発生ＦｃＲＨ５との複合体が形成されるかどうかを検出することとを含む。そのような方法は、インビトロ法であってもインビボ法であってもよい。いくつかの事例において、生体試料は血液試料である。いくつかの事例において、対象はヒトである。

【０３０２】

ある特定の実施形態では、標識された抗ＦｃＲＨ５抗体が提供される。標識としては、直接検出される標識または部分（例えば、蛍光標識、発色団標識、電子密度の高い標識、化学発光標識、及び放射性標識など）、ならびに例えば酵素反応または分子相互作用によって間接的に検出される酵素またはリガンドなどの部分が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な標識としては、放射性同位体^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、及び^{131}Ｉ、フルオロフォア、例えば、希土類キレートまたはフルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルセリフェラーゼ（ｌｕｃｅｒｉｆｅｒａｓｅｓ）、例えばホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号）、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖類オキシダーゼ、例えばグルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、複素環式オキシダーゼ、例えばウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ、染料前駆体を酸化させるため

に過酸化水素を用いる酵素と結合したもの、例えばＨＲＰ、ラクトペルオキシダーゼ、またはミクロペルオキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定フリーラジカルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３０３】

Ｈ．　製品

別の態様では、本発明は、対象（例えばヒト）における増殖性細胞障害（例えば癌、例えばＦｃＲＨ５陽性癌、例えば多発性骨髄腫（ＭＭ））の治療、防止、及び／または診断に有用な材料を含む製品を特色とする。本製品は、容器と、容器に接するまたは容器に関連付けられたラベルもしくは添付文書とを含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、ＩＶ溶液バッグなどが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの多様な材料から形成され得る。容器は、それ自体で、または別の組成物と組み合わせて、状態の治療、防止、及び／または診断に有効な組成物を保持するものであり、滅菌アクセスポートを有してもよい（例えば、容器は、静注溶液バッグ、または皮下注射針によって穿刺可能なストッパーを有するバイアルであってもよい）。組成物中の少なくとも１つの活性薬剤は、本発明の抗体である。ラベルまたは添付文書は、その組成物が、選ばれた状態を治療するために使用されることを示す。さらに、本製品は、（ａ）本発明の抗体を含む組成物が中に含まれる第１の容器、及び（ｂ）さらなる細胞傷害性または別様の治療剤を含む組成物が中に含まれる第２の容器を備えていてもよい。本発明のこの実施形態における製品は、組成物が特定の状態を治療するために使用され得ることを示す添付文書を備えていてもよい。あるいは、またはさらに、本製品は、薬学的に許容される緩衝液、例えば注射用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝食塩水、リンゲル液、及びデキストロース溶液を含む、第２の（または第３の）容器をさらに備えていてもよい。他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、及びシリンジを含む、商業的観点及び使用者の観点から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。いくつかの事例において、キットは、対象におけるＦｃＲＨ５陽性癌（例えばＭＭ）の治療またはその進行の遅延のために抗体を使用するための指示書を含む添付文書を含む。他の事例では、キットは、ＦｃＲＨ５陽性癌（例えばＭＭ）を有する対象において免疫機能を増強するために抗体を使用するための指示書を含む添付文書を含む。

【０３０４】

ＩＩＩ．　実施例

以下は、本発明の方法及び組成物の実施例である。上記に提供された概要を所与として、様々な他の実施形態が実施され得ることが理解される。

【０３０５】

実施例１．　抗ＦｃＲＨ５抗体の生成

免疫化及びスクリーニング

ＢＡＬＢ／ｃマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ，Ｈｏｌｌｉｓｔｅｒ，ＣＡ）を、マウス１体当たり２μｇ、１０μｇ、または１００μｇ／注射で免疫化した。モノホスホリルリピドＡ（ＭＰＬ）／トレハロースジコリノミコラート（ＴＤＭ）（Ｒｉｂｉ）アジュバントまたはフロイントアジュバント中に抗原を懸濁し、各免疫動物の足蹠、腹膜、または尾基底部に注射した。マウスは、合計９～１８回の投薬、そして融合の２～４日前に足蹠、腹腔内（ＩＰ）、及び／または踵関節経路によりＰＢＳ単独における１～２回の融合前追加免疫（ｐｒｅｆｕｓｉｏｎ　ｂｏｏｓｔｓ）を受けた。米国公開第２０１５／００９８９００号に記載される免疫化キャンペーンＡは、親の抗ＦｃＲＨ５抗体１Ｇ７を産生したが、本明細書ではこれを最適化し、さらに特性決定を行う。

【０３０６】

Ａ．　免疫化キャンペーンＢ

ＦｃＲＨ５の膜近位Ｉｇドメインに対するアイソフォーム特異性抗体を産生するために、ＣＨＯ細胞内で発現したＮ末端Ｈｉｓ発現タグを有するＥ１１タンパク質（配列番号１１４のアミノ酸７４５～８５０）でマウスを免疫化した。５体のマウスを、ＩＰ経路により、Ｒｉｂｉアジュバント中１０μｇのＨｉｓタグ付きＥ１１タンパク質で免疫化した。

マウスは、１８回の投薬、続いて融合の７日前及び４日前にＩＰ経路によりＰＢＳ単独における２回の融合前追加免疫を受けた。組換えＥ１１タンパク質の１８回の投薬後、ＦＡＣＳを使用し、また抗原としてＥ１１を使用したＥＬＩＳＡにおける滴定により、ＦｃＲＨ５結合抗体について血清を分析した。全長ヒトＦｃＲＨ５、全長カニクイザルＦｃＲＨ５、またはＥ１１タンパク質を発現したＳＶＴ２細胞に対して著しい反応性が検出されたが、ベクターをトランスフェクトしたＳＶＴ２細胞では検出されず、５体の免疫マウス全ての血清中にＦｃＲＨ５結合抗体が存在したことが示された。２０回の投薬後、免疫マウスのリンパ球をＰ３Ｘ６３Ａｇ８Ｕ．１．２２マウス骨髄腫細胞と電気融合させた。

【０３０７】

ＥＬＩＳＡにより、組換え型のヒトＥ１１タンパク質及びカニクイザルＥ１１タンパク質に対する結合性についてクローンを試験した。ＥＬＩＳＡにおいてヒト及びカニクイザル両方のＦｃＲＨ５に対して交差反応性であった８つのクローンを、全長ヒトＦｃＲＨ５、全長カニクイザルＦｃＲＨ５、またはＥ１１タンパク質を発現したＳＶＴ２細胞に対する結合性について、ＦＡＣＳによって試験した。８つ全てのクローンが、ヒトＥ１１ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを発現するＳＶＴ２細胞に結合した。

【０３０８】

ＦｃＲＨ５を内因的に発現する癌細胞、またはＦｃＲＨ５をトランスフェクトした癌細胞に対する結合性を試験するために、ＥＤＴＡ／ＰＢＳを使用して細胞をリフトし、1×10^{5}個の細胞を１００μｌ中に懸濁し、一次抗体（１体積の非ＩｇＧ定量化サブクローン上清、４μｇ／ｍｌのＩｇＧ定量化サブクローン上清、または２μｇ／ｕｌの精製モノクローナル抗体）と共にインキュベートした。細胞をＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、１％ＢＳＡ、２ｍＭ　ＥＤＴＡ）で２回洗浄し、ＰＥで二次標識したヤギ抗マウスの１：１０００希釈物またはヤギ抗マウスＡＰＣの１：１００希釈物と共にインキュベートした。細胞をＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、ＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒでフローサイトメトリ分析を行った。必要に応じて、製造元のプロトコル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）に従って抗体の直接キセノン標識を行った。しかしながら、全長ヒトＦｃＲＨ５を発現した細胞にはクローンのうちの３つしか結合せず、全長カニクイザルＦｃＲＨ５を発現した細胞にはいずれも結合しなかった（表２）。

表２．　ヒトＦｃＲＨ１、２、３、４、及び５、ヒトＥ１１ドメイン、ならびにカニクイザルＦｃＲＨ５を過剰発現する細胞に対する、ＦＡＣＳの免疫化キャンペーンＢにおけるｍＡｂの結合性

	以下のものを発現するＳＶＴ２細胞に対するＦＡＣＳにおける結合性：						
mAb	ヒトＦｃＲＨ１	ヒトＦｃＲＨ２	ヒトＦｃＲＨ３	ヒトＦｃＲＨ４	ヒトＦｃＲＨ５	ヒトＥ１１－ＴＭ－ＩＣＤ＊	カニクイザルＦｃＲＨ５
1E6	-	-	-	-	+	+	-
3D8	-	-	-	-	-	+	-
8G8	-	-	-	-	-	+	-
11A11	-	-	-	-	-	+	-
10D9	-	-	-	-	+	+	-
11H6	-	-	-	-	-	+	-
13D2	-	-	-	-	+	+	-
14E9	-	-	-	-	-	+	-

＊ヒトＦｃＲＨ５のＥ１１ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメイン

【０３０９】

Ｂ．　免疫化及びｍＡｂ特性決定キャンペーンＣ

免疫化キャンペーンＣでは、Ｎ末端にＨｉｓタグの付いたＥ１１タンパク質をＣＨＯ細胞内で産生した。尾基底部における、フロイント完全アジュバント中１００μｇのＥ１１タンパク質の初回注射により、マウスを免疫化した。マウスは、合計１７回の投薬、続いて融合の２日前にＩＰ及び踵関節経路によりＰＢＳ単独における１回の融合前追加免疫を受けた（表３）。

表３．　免疫化キャンペーンＣの免疫化スケジュール

注射番号	アジュバント	経路	部位毎の体積	動物毎の体積	タンパク質量	抗原
１	ＣＦＡ	尾基底部	１００μｌ	１００μｌ	１００μｇ	ヒトＥ１１
２	ＩＦＡ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	踵関節	５０μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
３	ＩＦＡ	尾基底部	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	皮下	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
４	ＩＦＡ	踵関節	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
５	ＩＦＡ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	皮下	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	尾基底部	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
６	ＩＦＡ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	踵関節	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
７	ＩＦＡ	尾基底部	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	皮下	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
	ＩＦＡ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
８	滅菌ＰＢＳ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
９	滅菌ＰＢＳ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	５０μｇ	ヒトＥ１１
１０	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	１０μｇ	ヒトＥ１１
１１	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	１０μｇ	ヒトＥ１１
１２	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	１０μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
１３	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	１０μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
１４	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１

注射番号	アジュバント	経路	部位毎の体積	動物毎の体積	タンパク質量	抗原
						１
	Ｒｉｂｉ	踵関節	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
１５	Ｒｉｂｉ	尾基底部	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
	Ｒｉｂｉ	皮下	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
１６	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
	Ｒｉｂｉ	踵関節	１００μｌ	２００μｌ	６．６μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
１７	Ｒｉｂｉ	尾基底部	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
	Ｒｉｂｉ	皮下	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
	Ｒｉｂｉ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１
融合前追	滅菌ＰＢＳ	腹腔内	１００μｌ	１００μｌ	３．３μｇ	カニクイザルＥ１１及

注射番号	アジュバント	経路	部位毎の体積	動物毎の体積	タンパク質量	抗原
加免疫						びヒトＥ１１
	滅菌ＰＢＳ	腫関節	１００μｌ	２００μｌ	６．６μｇ	カニクイザルＥ１１及びヒトＥ１１

【０３１０】

組換えＥ１１タンパク質の１５回の投薬、続いて組換え型のヒトＥ１１タンパク質及びカニクイザルＥ１１タンパク質の同時注射を行った後、ＦＡＣＳを使用し、また抗原としてＥ１１タンパク質を使用したＥＬＩＳＡにおける滴定により、ＦｃＲＨ５結合抗体について血清を分析した。全長ヒトＦｃＲＨ５、全長カニクイザルＦｃＲＨ５、またはヒトＥ１１ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを発現したＳＶＴ２細胞に対して著しい反応性が検出されたが、ベクターをトランスフェクトしたＳＶＴ２細胞では検出されず、５体の免疫マウス全ての血清中にＦｃＲＨ５結合抗体が存在したことが示された。ＰＢＳにおける最後の追加免疫の後、免疫マウスのリンパ球をＰ３Ｘ６３Ａｇ８Ｕ．１．２２マウス骨髄腫細胞と電気融合させた。

【０３１１】

組換え型のヒトＥ１１タンパク質及びカニクイザルＥ１１タンパク質に対する結合性、ならびに全長ヒトＦｃＲＨ５、全長カニクイザルＦｃＲＨ５、全長ヒトＦｃＲＨ１、ＦｃＲＨ２、ＦｃＲＨ３、もしくはＦｃＲＨ４、またはＦｃＲＨ５のヒトＥ１１ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを発現したＳＶＴ２細胞に対する結合性について、クローンをＦＡＣＳによって試験した。ＥＬＩＳＡでは、４４個のヒトＥ１１タンパク質陽性クローン及び３２個のカニクイザルＥ１１タンパク質陽性クローンが存在した。これらのうち、ヒトＦｃＲＨ５を発現した細胞及びカニクイザルＦｃＲＨ５を発現した細胞には結合したが、ＦｃＲＨ１、ＦｃＲＨ２、ＦｃＲＨ３、またはＦｃＲＨ４を発現した細胞には結合しなかった、合計１６個のクローンが特定され、特異的なＦｃＲＨ５異種間反応性が示された（表４）。

表４．　免疫化キャンペーンＣから得られたモノクローナル抗体の結合特性

mAb	以下のものを発現するＳＶＴ２細胞に対するＦＡＣＳにおける結合性							ＭＯＬＰ－２ＦＡＣＳ結合	ＫＤヒトＥ１１ドメイン§	ＫＤカニクイザルＥ１１ドメイン§
	ヒトＦｃＲＨ１	ヒトＦｃＲＨ２	ヒトＦｃＲＨ３	ヒトＦｃＲＨ４	ヒトＦｃＲＨ５	ヒトＥ１１－ＴＭ－ＩＣＤ＊	カニクイザルＦｃＲＨ５			
15G8	-	-	-	-	+	+	+/-	+/-	0.5 nM	9.1 nM
24H5	-	-	-	-	+	+	+	+	3.2 nM	255 nM
16H10	-	-	-	-	+	+	+	+	4.6 nM	338 nM
10A7	-	-	-	-	+	+	+	+	4.9 nM	229 nM
3C5	-	-	-	-	+	+	+	+	45 nM	81 nM
17B1	-	-	-	-	+	+	+	+	68 nM	27 nM
23E2	-	-	-	-	+	+	+	+	実施せず¶	実施せず¶
9B3	-	-	-	-	+	+	+	-	実施せず	実施せず
23B8	-	-	-	-	+	+	+	-	実施せず	実施せず
23G8	-	-	-	-	+	+	+	-	実施せず	実施せず
24F5	-	-	-	-	+	+	+	-	実施せず	実施せず
24G6	-	-	-	-	+	+	+	-	実施せず	実施せず
24C4	-	-	-	-	+/-	+	+/-	-	実施せず	実施せず
3C2	-	-	-	-	+	+	+/-	-	実施せず	実施せず
6H3	-	-	-	-	+/-	+	+/-	-	実施せず	実施せず
1D10	-	-	+	-	+	+	+	実施せず	実施せず	実施せず
12B6	+	+	+	-	+	+	+	実施せず	実施せず	実施せず
16A6	+	+	+	-	+	+	+	実施せず	実施せず	実施せず
11C9	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
11H10	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
12E10	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
16B5	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
16H1	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
17A6	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
2A10	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
2F9	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
3E3	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
5G9	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
6G4	-	-	-	-	+	-	-	実施せず	実施せず	実施せず
7E2	-	-	-	-	+/-	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
8E2	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
9A6	-	-	-	-	+	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
13C8	-	-	-	-	-	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
16E5	-	-	-	-	-	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
22C9	-	-	-	-	-	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
23B9	-	-	-	-	-	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
4H3	-	-	-	-	-	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
5B1	-	-	-	-	-	+	-	実施せず	実施せず	実施せず
1B9	-	-	-	-	-	+/-	-	実施せず	実施せず	実施せず
2C3	-	-	-	-	-	+/-	-	実施せず	実施せず	実施せず
3G2	-	-	-	-	-	+/-	-	実施せず	実施せず	実施せず
2G4	-	-	-	-	-	-	-	実施せず	実施せず	実施せず

＊ヒトＦｃＲＨ５のＥ１１ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメイン。
§表面プラズモン共鳴ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）ＫＤ、一価親和性。ヒトＥ１１ドメイン実験は１～３回行い、平均した。カニクイザルＥ１１ドメイン実験は、各抗体につき１回行った。
¶抗体２３Ｅ２の組換えクローンは得られなかった。

【０３１２】

選択した１６個のモノクローナル抗体（ｍＡｂ）クローンから精製したＩｇＧを、ヒトＦｃＲＨ５を内因的に発現する細胞（ＭＯＬＰ－２細胞）への結合性についてさらに特性決定を行った。合計８個のｍＡｂクローンがＭＯＬＰ－２骨髄腫細胞に結合することが示された。これら８個のｍＡｂクローンのうちの２つは重複していることが配列分析に基づいて見出され、１つは分子的にクローニングされていなかった。６つの分子的にクローニングされたＭＯＬＰ－２陽性ｍＡｂクローンを、マウスＩｇＧ２ａとして組換え発現させ、ＩｇＧ捕捉フォーマットでのＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）Ｔ２００装置における表面プラズモン共鳴によって親和性を試験した。

【０３１３】

簡潔に述べると、タンパク質Ａ　Ｓｅｒｉｅｓ　Ｓ　ＣＭ５チップ（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）で、フローセル１を参照としてフローセル２、３、または４上に試験抗体を捕捉した。ＦｃＲＨ５タンパク質断片を３０μｌ／分の流量で分析物として使用した。注射間に、１０ｍＭのグリシン（ｐＨ１．５）を１０μｌ／分の流量で３０秒間注射することによって、捕捉表面を再生した。１０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．４）、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％のＴｗｅｅｎ　２０（ＨＢＳＰ）中で、２５℃において相互作用を評価した。参照フローセル及び緩衝液単独の注射からの参照データは、動態分析の前に減算した。１：１結合モデルにデータを当てはめることにより、動態情報を計算した。参照の減算及びデータの当てはめは、ＢＩＡｅｖａｌｕ

ａｔｉｏｎソフトウェア（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用して行った。

【０３１４】

ヒトＥ１１ドメインに対するこれらの抗体の一価親和性は、０．５ｎＭ～６８ｎＭの範囲であり、一方で、カニクイザルＥ１１ドメインに対する親和性は、９．１ｎＭ～３３８ｎＭの範囲であった（表４）。１つのクローンのみが、ヒトＥ１１ドメインに対して抗体１Ｇ７よりも高い親和性を有した（ｍＡｂ　１５Ｇ８）。しかしながら、ヒトとカニクイザルとのＥ１１ドメイン間のK_Dの差は約２０倍であり、そのため、このクローンはさらなる臨床開発に不適当であった。加えて、単離ヒトドメインＥ１１に対するこの抗体クローンの親和性は高いにもかかわらず、ＭＯＬＰ－２細胞に対するこの抗体クローンの結合性は極めて弱く、単離ヒトＥ１１ドメインに対してより低い親和性を有するクローンよりも弱く、このクローンが天然ヒトＦｃＲＨ５タンパク質に良好に結合しなかったことが示された。

【０３１５】

実施例２．　免疫化キャンペーンＡ及びＣによる抗ＦｃＲＨ５抗体変異形の生成及び特性決定

Ａ．　免疫化キャンペーンＡによる抗ＦｃＲＨ５モノクローナル抗体のヒト化

米国公開第２０１５／００９８９００号に記載されている免疫化キャンペーンＡによる抗ＦｃＲＨ５抗体１Ｇ７を、これまでに説明されているＨＶＲグラフト法（Ｐｒｅｓｔａ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５７：４５９３－４５９９，１９９７）によってヒト化したが、ただし、コンセンサスＶＨ４及びＶκ１フレームワーク（Ｄｅｎｎｉｓ，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔ．Ｄｅｖｅｌｏｐ．ａｎｄ　Ｍａｎｕｆａｃ．９－２８，２０１０）をアクセプターフレームワークとして使用したことを除く。適切なＨＶＲ提示及びＶＨ／ＶＬドメイン接触のために、重鎖グラフトは、フレームワークＫａｂａｔ位置３７、４８、６７、７１、７３、７８、９３、及び９４におけるマウス残基も含み、軽鎖グラフトは、フレームワーク位置３６及び４３におけるマウス残基も含んだ。残基番号は、Ｋａｂａｔら（Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ　Ｅｄ．，Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．，１９９１）による。本明細書においてｈｕ１Ｇ７．ｖ１または１Ｇ７．ｖ１と称されるヒト化１Ｇ７の配列は、図２及び３に示されている。

【０３１６】

Ｂ．　ｈｕ１Ｇ７．ｖ１変異形の親和性成熟及び特性決定

効力を増強させるために、ファージディスプレイを使用してヒト化抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１を親和性成熟させた。簡潔に述べると、Ｍ１３バクテリオファージの表面上のＦａｂ抗体断片のランダム化ライブラリを提示させ、ビオチン化ＦｃＲＨ５タンパク質断片に対する結合剤についてパニングした。個々のクローンのＤＮＡ配列決定により、好まれる変異を特定した。これらの好まれる変異は、改善した親和性を有する変異形をもたらすと仮定された（Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．ＭＡｂｓ．６：４３７－４４５，２０１４）。選択した変異を有する抗体クローンの親和性を、表面プラズモン共鳴によって試験した（表５Ａ及び５Ｂ）。

【０３１７】

簡潔に述べると、アミンカップリング及びヒトＩｇＧ捕捉キット（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用して、Ｓｅｒｉｅｓ　Ｓ　ＣＭ５チップにヒトＩｇＧ捕捉表面を生成した。次に、フローセル２、３、または４上に試験抗体を捕捉し、フローセル１は参照として使用した。ＦｃＲＨ５タンパク質断片を＞３０μｌ／分の流量で分析物として使用した。注射間に、３Ｍの塩化マグネシウムまたは１０ｍＭグリシン（ｐＨ１．５）を３０秒間注射することによって、捕捉表面を再生した。１０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．４）、１５０ｍＭのＮａＣｌ、及び０．０５％のＴｗｅｅ

ｎ　２０（ＨＢＳＰ）中で、２５℃において相互作用を評価した。参照フローセル及び緩衝液単独の注射からの参照データは、動態分析の前に減算した。１：１結合モデルにデータを当てはめることにより、動態情報を計算した。参照の減算及びデータの当てはめは、ＢｌＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェア（ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用して行った。

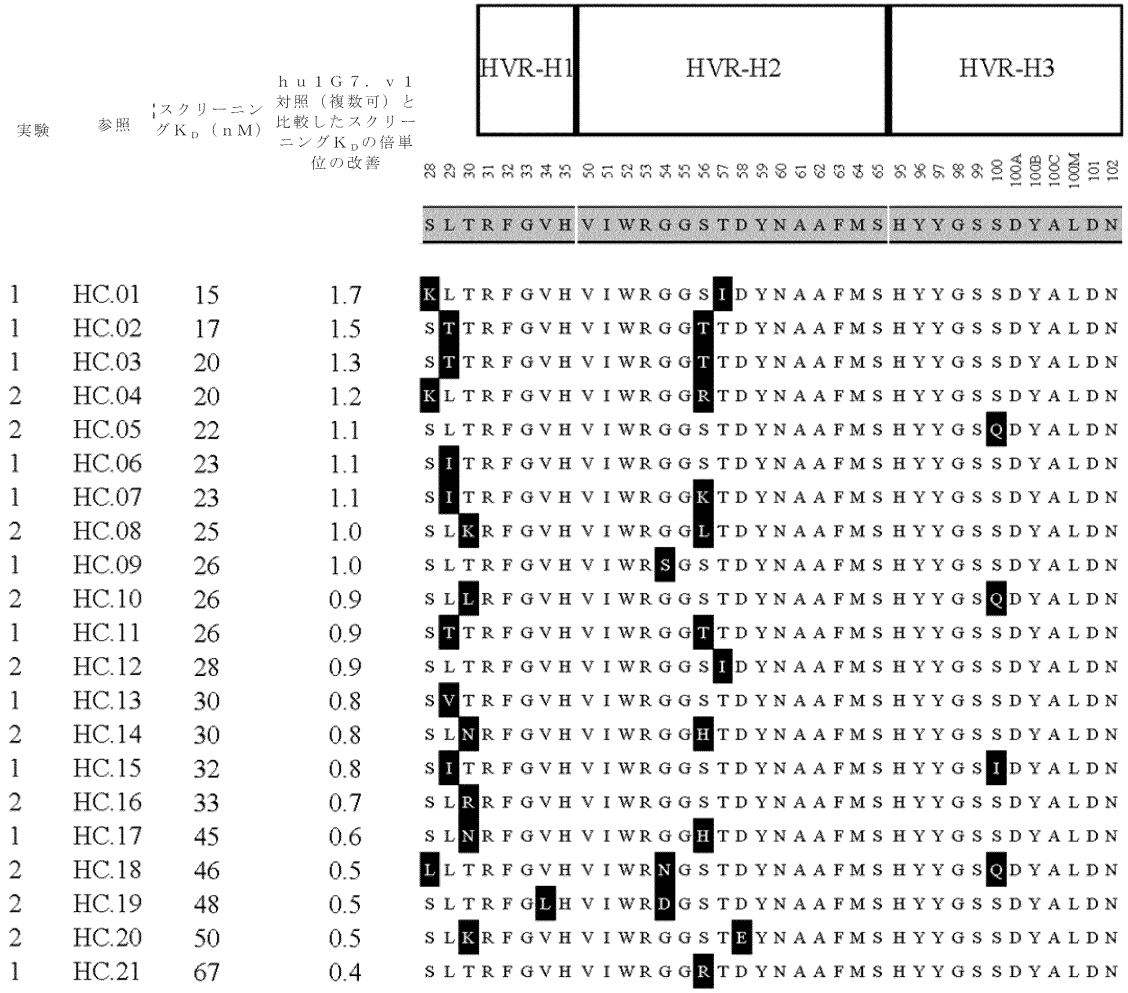
【０３１８】

初期の親和性スクリーニング実験では、Ｅｘｐｉ２９３細胞（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）の一過性トランスフェクション後に収集した、浄化した培養培地から、抗体を直接捕捉した（表５Ａ～５Ｂ）。各抗体がＦｃＲＨ５タンパク質断片に結合する能力を、１００ｎＭ及び５００ｎＭ（実験１、表５Ａ～５Ｂ）、または０ｎＭ、２０ｎＭ、１００ｎＭ、及び５００ｎＭ（実験２、表５Ａ～５Ｂ）で評価した。会合及び解離を、３０μｌ／分の流量で、それぞれ１８０秒及び６００秒にわたって監視した。表５Ａ中に存在する全ての配列は、配列番号４～６（すなわち、ＦｃＲＨ５　Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３の広いコンセンサス）内に開示されている。表５Ｂ中に存在する全ての配列は、配列番号１～３（すなわち、ＦｃＲＨ５　Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３の広いコンセンサス）内に開示されている。最大５．２倍の親和性の改善が観察された（表５Ａ）。各個体の変異は求められる改善をもたらさなかったため、ＶＬ変異Ｓ３０Ｒ、Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｓ５２Ｙ、Ｙ５３Ｎ、Ｔ５６Ｓ、Ｈ９１Ｑ、Ｙ９２Ｆ、Ｓ９３Ｑ、及びＳ９４Ｐ、ならびにＶＨ変異Ｓ２８Ｋ、Ｌ２９Ｔ、及びＳ５６Ｔに重点を置いて様々な変異を組み合わせることに決めた。

表５Ａ．　選択された抗体の親和性スクリーニング

実験	クローン	スクリーニングKD（nM）	hu1G7.v1対照（複数可）と比較したスクリーニングKDの倍単位の改善	HVR-L1											HVR-L2						HVR-L3								
				24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	50	51	52	53	54	55	56	89	90	91	92	93	94	95	96	97
				K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.01	5	5.2	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T
1	LC.02	5	5.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	Q	S	P	Y	T
2	LC.03	6	4.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T
2	LC.04	6	4.2	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	Q	S	P	Y	T
1	LC.05	6	4.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T
1	LC.06	7	3.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T
1	LC.07	8	3.1	K	A	S	H	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.08	8	3.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	Y	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	F	S	S	P	Y	T
1	LC.09	9	2.9	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	N	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.10	10	2.5	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.11	10	2.5	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	N	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.12	10	2.4	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	R	S	P	Y	T
2	LC.13	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.14	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	K	N	I	V	V	S	A	S	D	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T
1	LC.15	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	S	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.16	11	2.2	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.17	12	2.0	K	A	S	Q	D	V	K	N	I	V	V	S	A	S	D	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T
2	LC.18	12	2.0	K	A	S	Q	R	V	S	N	I	V	V	S	S	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.19	12	2.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	Q	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.20	13	1.9	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	P	P	Y	T
2	LC.21	13	1.8	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	Y	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.22	14	1.8	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.23	14	1.7	K	A	S	Q	D	V	K	N	I	V	V	S	A	A	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.24	14	1.7	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	H	Q	Q	H	Y	A	S	P	Y	T
2	LC.25	15	1.7	K	A	S	R	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	F	T
1	LC.26	15	1.7	K	A	S	Q	S	V	S	N	I	V	V	S	G	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.27	15	1.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	L	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	A	S	P	Y	T
2	LC.28	15	1.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	G	S	N	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.29	17	1.4	K	A	S	Q	D	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.30	17	1.4	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	A	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.31	19	1.3	K	A	S	Q	N	V	S	N	I	V	V	S	S	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.32	20	1.2	K	A	S	Q	E	V	S	N	I	V	V	S	A	S	F	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.33	20	1.2	K	A	S	Q	D	V	S	R	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	S	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.34	20	1.2	K	A	S	K	D	V	S	N	I	V	V	S	A	R	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.35	21	1.2	K	A	S	Q	E	V	R	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.36	21	1.2	K	A	S	K	D	V	S	N	I	V	V	S	A	T	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.37	22	1.1	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	R	S	P	Y	T
1	LC.38	24	1.1	K	A	S	Q	N	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.39	43	0.6	K	A	S	H	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	D	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T

表５Ｂ．選択された抗体の親和性スクリーニング



【０３１９】

ハードとソフト両方の部位指向性変異誘発を使用して、抗体ファージディスプレイライブラリを設計した。ライブラリＬ１８８及びＬ１８９は、ソフトな変異誘発を使用して、ＶＬ残基２７～３４、５０～５６、９１～９４、及び９６（Ｌ１８８）またはＶＨ残基２８～３５、５０～５８、及び９５～１００ｄ（Ｌ１８９）を変異させた。変異誘発の位置において、ソフト変異誘発オリゴヌクレオチドは、親のコードヌクレオチドを９１％、そして各々の他のヌクレオチドを３％用いた。ライブラリＬ１９０及びＬ１９１は、ハードな変異誘発（ＮＮＫコドン）を使用して、ＶＬ残基２７～３４、５０～５６、及び８９～９６（Ｌ１９０）またはＶＨ残基２８～３５、５０～５８、及び９５～１００ｄ（Ｌ１９１）を変異させ、一度に１つのコドンで最大３つのＨＶＲを同時に変異させた（Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．ＭＡｂｓ．６：４３７－４４５，２０１４）。

【０３２０】

ＦｃＲＨ５タンパク質断片に対する結合性について、最大４ラウンドのセレクションを行った。セレクションは、固相（ミクロプレート上に直接吸着させた標的タンパク質）中と溶液中との両方で行った。溶液を用いたセレクションでは、ファージ－抗体－標的複合体の捕捉を可能にするために、ビオチン化した標的タンパク質を使用した。選択した変異を有するクローンをＥｘｐｉ２９３細胞（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）で発現させ、上清を表面プラズモン共鳴によってスクリーニングした。

【０３２１】

Ｋｕｎｋｅｌ変異誘発（Ｋｕｎｋｅｌ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，１５４：３６７－３８２，１９８７）により、ＣＪ２３６細菌内で産生された一本鎖ＤＮＡを鋳型として使用して、抗体ファージディスプレイライブラリを生成し

、Ｑｉａｇｅｎ ＱＩＡｐｒｅｐ Ｓｐｉｎ Ｍ１３キット（ＱＩＡＧＥＮ，Ｉｎｃ．，Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）を使用して精製した。初期の親和性成熟ライブラリのための鋳型ＤＮＡは、変異誘発のために選択されたそれらのＨＶＲ内に終止コドンを含み、以下に記載されるその後の「集中型（ｆｏｃｕｓｅｄ）」ファージライブラリのための鋳型ＤＮＡは、鋳型ＨＶＲ終止コドンを用いなかった。別段の定めがない限り、抗体可変領域内の残基は、Ｋａｂａｔ方式に従って付番される。酵素は、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ（Ｉｐｓｗｉｃｈ，ＭＡ）から購入した。Ｋｕｎｋｅｌ変異誘発反応物は、ＱＩＡｐｒｅｐミニスピンカラム（ＱＩＡＧＥＮ，Ｉｎｃ．，Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）を使用して清浄し、電気穿孔によってＸＬＩ Ｂｌｕｅ Ｅ．ｃｏｌｉ（Ａｇｉｌｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｓａｎｔａ Ｃｌａｒａ，ＣＡ）に形質転換させた。３７℃のＳＯＣ培地での回収の後、培養物をヘルパーファージに感染させ、３７℃でさらに０．５～２時間インキュベートし、その後、抗生物質のカルベニシリン及びカナマイシンを添加した。次に、培養物を３７℃でさらに４～５時間インキュベートし、続いて、さらなるインキュベーションを３０℃で一晩行った。浄化した培養培地から、およそ１／６体積の沈殿試薬（２０％ ＰＥＧ、２．５Ｍ塩化ナトリウム）を用いた沈殿により、バクテリオファージを精製した。沈殿したファージを遠心分離によりペレット状にし、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）中に可溶化した。この溶液を、１４，０００ｇにおける遠心分離でさらに浄化した。精製したファージを－２０℃の冷凍庫内で５０％グリセロール中に保管し、使用前にＰＢＳ中で再可溶化した。

【０３２２】

合理的設計手法において、ファージ実験から特定された６つのＶＬ変異（Ｓ３０Ｒ、Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、Ｈ９１Ｑ、及びＳ９４Ｐ）を追加のＶＬヒト化変異Ｓ４３Ａと組み合わせ、適合性を評価するために対にして評価した（表６）。選択されたＶＬ変異の適合性評価（表６）では、Ｅｘｐｉ２９３細胞の一過性トランスフェクション後に収集した、浄化した培養培地から、抗体を直接捕捉した。ＦｃＲＨ５タンパク質断片の結合性は、３０μｌ／分の流量で、６ｎＭ、１９ｎＭ、５６ｎＭ、１６７ｎＭ、及び５００ｎＭで評価した。会合及び解離を、それぞれ３００秒及び６００秒にわたって監視した。表６に開示される配列は、個々のアミノ酸である（すなわち、縦列の最上部にある番号は、抗体配列内のアミノ酸番号である）。この結果は、ＶＬ変異Ｉ３２Ｌ及びＨ９１Ｑは、個別には親和性を改善させるものの、組み合わせると親和性の利益にならなかったことを示した。しかしながら、試験した他の配列は、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１対照と比較して最大４倍の漸増的な親和性の改善をもたらした。これらの結果に基づいて、抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．２、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．３、及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４（図２及び３）を設計した。抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１は、Ｓ３０Ｒ、Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、Ｈ９１Ｑ、及びＳ９４Ｐの６個のＶＬ変異を組み込むように設計した。抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．２は、Ｓ３０Ｒ、Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｓ５２Ｙ、Ｙ５３Ｎ、Ｔ５６Ｓ、Ｈ９１Ｑ、Ｙ９２Ｆ、Ｓ９３Ｑ、及びＳ９４Ｐの１０個のＶＬ変異を組み込むように設計した。抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．３及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４は、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１に基づき、Ｉ３２Ｌ（ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．３）またはＨ９１Ｑ（ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４）のいずれかを省略するように設計した。

表６．抗体ファージディスプレイによって特定された変異のコンビナトリアル分析

試料名	$KD_{対照*}/KD_{試料}$ ＊平均、n＝2	HVR-L1 #30	HVR-L1 #32	HVR-L1 #43	HVR-L2 #51	HVR-L2 #56	HVR-L3 #91	HVR-L3 #94
LC.H91Q.S94P	4.1	S	I	A	A	T	Q	P
LC.A51G.S94P	3.6	S	I	A	G	T	H	P
LC.I32L.A51G	2.8	S	L	A	G	T	H	S
LC.I32L.S94P	2.7	S	L	A	A	T	H	P
LC.S30R.I32L	2.2	R	L	A	A	T	H	S
LC.T56S.S94P	2.1	S	I	A	A	S	H	P
LC.S30R.S94P	2.1	R	I	A	A	T	H	P
LC.A51G.H91Q	2.1	S	I	A	G	T	Q	S
LC.S30R.H91Q	1.7	R	I	A	A	T	Q	S
LC.S30R.A51G	1.6	R	I	A	G	T	H	S
LC.A51G.T56S	1.5	S	I	A	G	S	H	S
LC.T56S.H91Q	1.3	S	I	A	A	S	Q	S
LC.I32L.T56S	1.3	S	L	A	A	S	H	S
hu1G7.v1（対照）	1.0	S	I	S	A	T	H	S
hu1G7.v1（対照）	1.0	S	I	S	A	T	H	S
LC.I32L.H91Q	0.7	S	L	A	A	T	Q	S

【０３２３】

多くの異なる組み合わせにおける目的の変異（ＶＬ変異Ｓ３０Ｒ、Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｓ５２Ｙ、Ｙ５３Ｎ、Ｔ５６Ｓ、Ｈ９１Ｑ、Ｙ９２Ｆ、Ｓ９３Ｑ、Ｓ９４Ｐ；ＶＨ変異Ｓ２８Ｋ、Ｌ２９Ｔ、Ｓ５６Ｔ）を精査するための集中型ファージライブラリも設計した。ヒト抗体配列に対する類似性のさらなる増加を図り、集中型ファージライブラリはまた、次のフレームワーク位置：ＬＣ内のＳ４３Ａ、ＨＣ内のＬ４８Ｉ、及び／またはＨＣ内のＮ７３Ｔにおいて限定された変動を許容した。およそ10^8個の形質転換体を得た。ＦｃＲＨ５タンパク質断片を「ベイト」として使用してセレクションを行った。セレクションは、固相の固定化した標的タンパク質を用いてまず行い、後のラウンドでは溶液相セレクションを使用した。抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．５、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．７、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３、及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３．１（図２及び３）は、このライブラリに由来した。

【０３２４】

集中型ファージライブラリを用いた実験からの配列決定データも、Ｉ３２Ｌ及びＨ９１ＱのＶＬ変異間の負の相互作用の概念（表５Ａ～５Ｂ）を支持した。５ラウンドのセレクションをファージに行い、その後１６３個のＶＬ配列を分析した後、ＶＬ位置９１におけるグルタミンの頻度は、Ｌｅｕ３２の存在下（５／９３クローン）よりもｌｌｅ３２の存在下（４９／７０クローン）で大幅に高いことが見出された。この効果は、３２位にロイシンを含んだ分析対象のクローンの５０％（９／１８）でＧｌｎ９１が観察された、未選択のライブラリでは観察されなかった。これらの結果は、他の文脈におけるこれらの変異のうちの各々の陽性濃縮（ｐｏｓｉｔｉｖｅ　ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ）にもかかわらず、Ｉ３２ＬとＨ９１Ｑとの両方を含んだクローンのネガティブセレクションを示唆した。

【０３２５】

１ｍＭの２，２’－アゾビス（２－メチルプロピオンアミジン）二塩酸塩（ＡＡＰＨ）と共に抗体を１６時間インキュベートし、続いてトリプシン消化を行って、液体クロマト

グラフィ（ＬＣ）質量分析（ＭＳ）分析を使用して分析することのできるペプチドを生成することにより、酸化に対する感受性を精査した。試料中の各ペプチドについて、ＬＣから保持時間を、そしてＭＳにおいて高分解能の正確な質量及びペプチドイオン断片化の情報（アミノ酸配列情報）を取得した。±１０ｐｐｍの範囲でデータセットから目的のペプチド（天然及び修飾ペプチドイオン）に関する抽出イオンクロマトグラム（ＸＩＣ）を取り、ピークを積分して面積を決定した。各試料について、修飾の相対的割合を次のように計算した：（修飾ペプチドの面積）／（修飾ペプチドの面積＋天然ペプチドの面積）×１００。次にこれらの相対的割合を、対照とＡＡＰＨ処置試料との間で比較した。

【０３２６】

１ｍＭのＡＡＰＨの存在下で４０℃における１６時間のインキュベーションの後、ＨＶＲ－Ｈ２　Ｔｒｐ５２及びＭｅｔ６４の酸化の増加（それぞれ４４．５％及び５２．７％）が観察された。さらに、Ｔｒｐ５２酸化は、光ストレス後に２％から６２％に増加し、Ｔｒｐ－５２$_{HC}$の変異は、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）によって測定した場合の１Ｇ７．ｖ１．４変異形に対する親和性損失をもたらした（図４）。Ｔｒｐ５２の、フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、またはヒスチジンへの置き換えと、Ｍｅｔ６４の、フェニルアラニン、イソロイシン、バリン、またはロイシンへの置き換えとを、抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．３、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．５、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．６、及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．７由来の軽鎖との関連で精査した（図２及び３）。特に、Ｗ５２のＦ、Ｙ、Ｌ、またはＨへの変異は、それぞれ、１１９ｎＭ、１３１ｎＭ、９２ｎＭ、及び６０．４ｎＭのK_D値をもたらした。一方、１Ｇ７．ｖ８５におけるＭ６４のＶへの変異は、２．５ｎＭのK_Dをもたらした。ＨＶＲ－Ｈ２　Ｔｒｐ５２及びＭｅｔ６４変異形の親和性スクリーニング（表７）では、Ｅｘｐｉ２９３細胞の一過性トランスフェクションによって抗体を発現させ、親和性樹脂ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ（Ｇｌｙｇｅｎ　Ｃｏｒｐ．，Ｃｏｌｕｍｂｉａ，ＭＤ　＆　ＧＥ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）をカスタム充填したチップカラムを使用して精製した。対照抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．５を、２９３Ｔ細胞の一過性トランスフェクションによって発現させ、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅで精製した。捕捉抗体に対するＦｃＲＨ５タンパク質断片の結合性を、１００ｎＭ及び５００ｎＭにおいて監視した。会合及び解離を、４０μｌ／分の流量で、それぞれ１８０秒及び３００秒にわたって監視した。表７に示される結果は、ＦｃＲＨ５に対する高い親和性を維持しながらＨＶＲ－Ｈ２　Ｍｅｔ６４をバリンに変異させることができることを実証した。

【０３２７】

抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４を、他のＦｃＲＨファミリーメンバーと比べたＦｃＲＨ５に対する親和性及び選択性に基づいて選択した。この抗体の酸化への耐性を改善させるために、表７に記載のＭ６４Ｖ変異もＶＨ領域に組み込んだ。得られた抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４．Ｍ６４Ｖをｈｕ１Ｇ７．ｖ８５と名付け（図５Ａ～５Ｂ）、二価ＩｇＧ及びＴ細胞依存性二重特異性抗体（ＴＤＢ）として産生した。ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５の配列を、図６Ａ～６Ｂ及び図５Ａ～５Ｂに提示する。ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５の動態分析を表８に示す。ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４の分析は、比較のために示されている。ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４のK_Dに観察された差（表７及び８）は、これらの分子に予想される実験変動の範囲内である。

【０３２８】

ｈｕ１Ｇ７．ｖ．１の非親和性成熟バージョンであるｈｕ１Ｇ７．ｖ８７も産生した。これは、上述のヒト化フレームワーク内にマウス１Ｇ７　ＨＶＲを有し、酸化耐性を改善させるためのＭ６４Ｖ変異を含む。

表７．　ｈｕ１Ｇ７．ｖ１のＨＶＲ－Ｈ２　５２位変異形及び５４位変異形の親和性スクリーニング

スクリーニングK_D（M）		軽鎖が由来する抗体：					
		hu1G7.v1	hu1G7.v1.3	hu1G7.v1.4	hu1G7.v1.5	hu1G7.v1.6	hu1G7.v1.7
重鎖変異	なし	2.7×10^{-8}	—	—	2.0×10^{-9}	—	—
	W52F	2.5×10^{-7}	1.8×10^{-7}	1.2×10^{-7}	4.8×10^{-8}	8.1×10^{-8}	7.7×10^{-8}
	W52Y	1.5×10^{-7}	6.4×10^{-7}	1.3×10^{-7}	1.8×10^{-7}	5.3×10^{-7}	1.4×10^{-7}
	W52L	1.0×10^{-7}	2.4×10^{-7}	9.2×10^{-8}	1.3×10^{-7}	2.5×10^{-7}	1.3×10^{-7}
	W52H	1.2×10^{-7}	6.6×10^{-8}	6.0×10^{-8}	6.7×10^{-8}	1.1×10^{-7}	9.0×10^{-8}
	M64I	3.0×10^{-8}	2.1×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.6×10^{-9}
	M64V	2.7×10^{-8}	2.5×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.5×10^{-9}
	M64L	2.7×10^{-8}	2.4×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.3×10^{-9}	2.6×10^{-9}	2.0×10^{-9}
	M64F	2.6×10^{-8}	2.2×10^{-9}	2.5×10^{-9}	1.4×10^{-9}	2.6×10^{-9}	2.4×10^{-9}

表８．　ｈＩｇＧ１及びＴＤＢフォーマットにおけるｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４及びｈｕ１Ｇ７．ｖ８５の動態分析

抗体	フォーマット	ヒトＦｃＲＨ５			カニクイザルＦｃＲＨ５		
		K_D（nM）	Ｋａ（１／Ｍｓ）	Ｋｄ（１／ｓ）	K_D（nM）	Ｋａ（１／Ｍｓ）	Ｋｄ（１／ｓ）
１Ｇ７．ｖ１．４	ｈＩｇＧ１	２．６	7×10^{5}	2×10^{-3}	７．７	1×10^{5}	1×10^{-3}
	ＴＤＢ	２．４	5×10^{5}	1×10^{-3}	６．３	1×10^{5}	8×10^{-4}
１Ｇ７．ｖ８５	ｈＩｇＧ１	２．５	6×10^{5}	2×10^{-3}	７．２	1×10^{5}	1×10^{-3}
	ＴＤＢ	２．４	4×10^{5}	1×10^{-3}	６．８	1×10^{5}	8×10^{-4}

【０３２９】

追加の親和性成熟方法は、重鎖ＨＶＲ位置をランダム化するためにＳａｎｇｅｒ配列決定を用いたが、この方法では望ましい変異は特定されなかった。したがって、変異形について試験した位置の数、及び次世代配列決定（イルミナ配列決定）を使用したスクリーニングの深度を拡大させた。重鎖可変領域内の選択された位置が、任意のアミノ酸をコードするＮＮＫコドン、またはアンバー終止コドンでランダム化されたライブラリを設計した。この設計では、クローン１つ当たり抗体可変領域内に１つのアミノ酸変化しか許容されない。これらの位置は、ＨＶＲ及びＨＶＲと直接接触しているかＨＶＲに近位のフレームワーク位置から選択された。Ｋａｂａｔ位置１、２、２４～４０、４３、４５～７８、８０～８３、８５、８６、９１、及び９３～１０２をランダム化した。ＤＮＡ合成（ＧｅｎｅＷｉｚ）によってライブラリを生成し、各断片において１つの位置がＮＮＫコドンでランダム化された、７５個の独立した線状ＤＮＡ断片を産生した。線状ＤＮＡ断片をプールし、親和性成熟変異を有しない軽鎖可変領域を含む一価Ｆａｂ断片ファージディスプレイベクター（Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２８４：１１９

－１３２，２００４）にクローニングした。ライゲーション生成物をＥ．ｃｏｌｉ ＸＬ－１内に電気穿孔し、Ｍ１３ ＫＯ７ヘルパーファージ（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ）に重感染させ、記載されるとおりに成長させた。平行トラックにおけるヒトまたはカニクイザルのＦｃＲＨ５を用いた３ラウンドの分別において結合剤を選択した。これらのセレクションでは、ニュートラアビジン（Ｐｉｅｒｃｅ）でコーティングされたＥＬＩＳＡプレートを使用して、ＰＢＳ中５０ｎｇ／ｍｌにおいて、ビオチン化したヒトまたはカニクイザルのＦｃＲＨ５ドメイン８を捕捉した。ファージ（１ OD_{268}／ｍｌ）を固定化ＦｃＲＨ５と共に室温で２時間インキュベートし、ＰＢＳで１０回洗浄することによって未結合のファージを除去した。ライブラリ及び選択したファージを使用してＥ．ｃｏｌｉ ＸＬ－１を感染させ、プラスミドＤＮＡを抽出し、Ｐｈｕｓｉｏｎ ＤＮＡポリメラーゼ（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ）を使用した１５サイクルのＰＣＲ増幅によって挿入断片を増幅させ、続いて増幅産物のアガロースゲル精製を行った。元のライブラリからのファージ（２ OD_{268}）由来のＤＮＡをＭ１３ ＤＮＡ精製キット（Ｑｉａｇｅｎ）で抽出し、２００ｎｇのＤＮＡを鋳型として使用して、上記と同じ条件を用いて挿入断片を増幅させた。これまでに説明されているイルミナ配列決定（Ｋｏｅｎｉｇ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２９０：２１７７３－２１７８６，２０１５）によって、増幅産物の配列決定を行った。これまでに説明されているように配列のフィルタリング及び分析を行い（Ｋｏｅｎｉｇ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２９０：２１７７３－２１７８６，２０１５）、可変領域内に１つより多くの変異を有する配列、ＮＮＫ縮重コドン利用に適合しない変異を有する配列、及び終止コドンを有する配列を全て除去した。濃縮は、これまでに説明されているように（Ｆｏｗｌｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ７：７４１－７４６，２０１０）、次式：$Ev = \log_2((Rv, s/\Sigma Rx, s)/(Rv, i/\Sigma Rx, i))$を使用し、分別試料中の所与の位置における所与の変異の頻度を、未分別（初期ライブラリ）試料中の全く同じ変異の頻度で除すことによって計算した（式中、Ｅｖは、変異体の濃縮であり、Ｒｖ，ｓは、分別集団内のｓ位に変異ｖを有するリード数であり、Ｒｘ，ｓは、変異形Ｒｖ，ｓと同じ位置に変位を有する分別集団内のリード数であり、Ｒｖ，ｉは、インプットの未分別集団内のＲｖ，ｓと同じ変異体のリード数であり、Ｒｘ，ｉは、変異形Ｒｖ，ｉと同じ位置に変異を有するインプットの未分別集団内の全ての変異形の合計である）。ヒト及びカニクイザルＦｃＲＨ５でのセレクションに関するＥｖスコアを謹んで表９及び１０に示し、灰色の四角は、選択された試料またはライブラリにおいて特定されなかった変異を表す。

【０３３０】

表１１は、ヒトＦｃＲＨ５を用いたセレクションで少なくとも０．５のスコアを有する変異、及びカニクイザルＦｃＲＨ５を用いたセレクションで少なくとも０のスコアを有する変異を示す。表１１中、さらなる分析のために選択された変異（すなわち、ヒトＦｃＲＨ５への結合のために少なくとも軽度に好まれ、カニクイザルＦｃＲＨ５結合に対して中性またはより良好である変異）は、黒色または灰色で強調されており、Ｓａｎｇｅｒ配列決定により特定されたＬ２９Ｔ変異は、灰色で強調されている。合計１１の位置がこれらの基準を満たす変異を有し、いくつかの位置では複数の変異形があった。１つの位置は、グリコシル化部位（Ｇ５４Ｎ）を導入した変異を有し、さらなる特性決定のために選択されなかった。別の変異形のＬ２９Ｔは、Ｓａｎｇｅｒ配列決定を用いたスクリーニングで特定されていたが、Ｓ５６Ｔ変異を有するクローンでのみ特定された。この変異形は、平均して１．２倍の親和性の改善しか示さなかった。Ｓ５６Ｔ変異体は、－２．１という強い負の濃縮スコアを有し（表９）、Ｌ２９Ｔ変異が、二重変異体中の第２のＳ５６Ｔ変異の存在によって不明瞭になった有益な効果を有し得ることを示唆している。２つの変異を選択した１位及び６５位を除き、他の９つの位置のうち、最も高いスコアを有する変異を選択した。これらの変異形は、ＤＮＡ合成（ＧｅｎＷｉｚ）によって作製し、１ｍｌの培養物中のＥｘｐｉ２９３細胞内で、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１（親和性成熟変異なし）の軽鎖と組み合わせたヒトＩｇＧ１として発現させた。ヒトＩｇＧ１変異形をタンパク質Ａクロマト

グラフィによって精製し、親和性をＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）で試験した。試験した２つの変異のうち、Ｌ２９Ｔ及びＳ１００Ｐの２つのみが、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）で試験したときに、可溶性ヒトＦｃＲＨ５との親和性に有意な影響を及ぼした。この文脈において、Ｌ２９Ｔ変異単独は親和性を２．２倍改善させたが、Ｓ１００Ｐ変異は親和性を３倍改善させた。これらの変異は、ｈｕ１Ｇ７．ｖ８６内にＩ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、及びＳ９４Ｐ変異が存在する親和性成熟軽鎖との関連で、単独及び組み合わせで試験した。重鎖Ｌ２９Ｔはｈｕ１Ｇ７．ｖ８６の親和性を約２倍改善させ、変異を有しない軽鎖との関連での作用と同様であった。対照的に、変異を有しない軽鎖との関連で親和性を３倍改善させたＳ１００Ｐは、ｈｕ１Ｇ７．ｖ８６の親和性を１．５倍改善させた。合わせて、Ｌ２９Ｔ及びＳ１００Ｐ変異は、ｈｕ１Ｇ７．ｖ８６の親和性を２．５倍改善させた。したがって、次世代配列決定を用いたディープマイニングを使用し、重鎖内の好まれる変異のＣＤＲ位置に加えて多くのフレームワーク位置を試験しても、親和性の２．５倍の改善しか達成され得なかった。この結果は、個別に試験したときに親和性に著しく寄与した変異が、他の変異を既に有していた分子にはそれほどの影響を及ぼさなかったことを示した。このことは、個別にはｈｕ１Ｇ７．ｖ１の親和性を約３倍改善させたが、軽鎖変異Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、及びＳ９４Ｐ、ならびに重鎖変異Ｌ２９Ｔを有する分子との関連では親和性に追加の影響をほとんど及ぼさなかった、重鎖内のＳ１００Ｐ変異に特に当てはまる（表１２、ｈｕ１Ｇ７．ｖ９１及びｈｕ１Ｇ７．ｖ９３を比較されたい；ｈｕ１Ｇ７．ｖ９３配列は図７Ａ～７Ｂに提示されている）。したがって、いくつかの変異を軽鎖に加えることによって有意な親和性の改善を達成することができるものの、重鎖に変異を導入することによっては比較的小さな改善しか達成され得なかった。

表９．　ヒトＦｃＲＨ５を用いて選択されたｈｕ１Ｇ７．ｖ１における変異の濃縮スコア

領域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
FW1	E1	0.0	-1.4	-1.3		1.1	-0.5	1.0	0.8	-0.7	0.6	0.1	0.8	-2.1	-0.1	0.3	1.0	0.7	-0.7	0.1	0.7
	V2	-2.8	-6.0	-3.5	-6.2	-5.2	-4.8	-6.4	-1.1		-4.7	-9.0	-6.7	-5.4	-5.6	-6.8	-5.0	-5.2		-7.8	-4.9
	V24	-3.1	-6.9	-7.8	-4.1	-6.5	-2.0	-6.0	-2.4	-6.9	-4.5	-3.6	-7.3	-6.9	-5.4	-6.5	-6.7	-6.2		-5.2	-7.7
	S25	-2.6	-3.7	-2.5	-1.1	-3.1	-3.8	-3.4	-4.1	-2.1	-3.2	-3.3	-2.0	-4.1	-2.0	-1.4		-1.9	-4.4	-2.9	-1.0
CDR 1	G26	-5.1	-3.2	-5.3	-5.1	-8.6		-7.3	-6.7	-6.9	-6.1	-5.8	-7.1	-7.5	-6.1	-3.9	-4.3	-5.8	-2.4	-5.4	-5.3
	F27	-6.7	-6.5	-9.2	-7.1		-6.9	-6.6	-6.5	-6.1	-5.2	-6.1	-6.1	-8.5	-6.9	-6.5	-6.5	-6.4	-6.1	-6.2	-6.6
	S28	-0.5	-4.5	-3.4	-1.2	-2.1	-3.8	-1.9	-4.1	-0.1	-0.1	-2.3	-0.8	0.5	-0.9	-1.0		-3.1	-3.7	-0.7	-1.6
	L29	-5.7	-6.3	-6.8	-6.6	-6.0	-6.3	-5.9	0.5	-6.7		-2.6	-6.6	-3.2	-3.6	-3.7	-6.4	1.3	0.4	-6.7	-7.9
	T30	-2.2	-6.1	-1.8	-2.6	-5.4	-1.2	-2.7	-5.0	-0.1	-3.3	-3.6	-0.2	-5.7	-1.5	-0.7	-0.9		-6.5	-3.4	-3.5
	R31	-8.7	-6.2	-8.2	-5.7	-8.2	-5.7	-7.3	-7.3	-8.1	-6.8	-7.9	-6.8	-7.1	-5.9		-6.4	-6.4	-6.5	-5.5	-6.3
	F32	-6.9	-7.5	-6.7	-6.4		-7.5	-6.3	-5.4	-7.2	-5.8	-6.8	-7.0	-7.9	-7.6	-7.2	-6.8	-7.4	-5.7	-8.1	-6.4
	G33	-5.9	-6.7	-7.9	-6.9	-8.2		-6.0	-7.4	-6.8	-7.8		-8.1	-7.2	-5.7	-6.0	-7.5	-6.9	-6.3	-7.0	-6.6
	V34	-4.0	-6.9	-6.6	-4.2	-7.0	-3.2	-6.1	-1.8	-5.9	-2.9	-3.2	-5.8	-7.9	-7.0	-5.1	-6.1	-6.1		-5.0	-6.3
	H35	-7.9	-7.0	-7.7	-8.5	-7.9	-6.1		-7.1	-6.6	-6.2	-6.5	-9.8	-5.3	-4.2	-6.0	-5.9	-7.0	-6.0	-7.1	-6.5
FW2	V37	-0.6	-4.6	-2.2	-1.7	-4.0	-1.5	-2.4	-4.7	-4.5	-2.7	-3.2	-1.4	-5.5	-2.8	-6.1	-0.2	0.1		-3.3	1.4
	R38	-8.2	-6.9	-7.0	-5.9	-5.6	-5.6	-6.8	-8.6	-4.0	-5.7	-6.3	-6.8	-5.8	-4.9		-5.4	-6.5	-6.1	-4.7	-5.7
	Q39	-0.3	-6.0	-0.7	-1.3	-5.0	-4.1	-2.4	-4.1	-1.4	-2.6	-3.7	-4.4	-1.5		-2.0	-0.3	-3.3	-4.2	-1.5	-3.4
	P40	-1.5	-5.1	-5.5	-1.7	-3.8	-3.0	-2.3	-2.4	-0.9	-2.3	-3.0	-3.8		-1.0	-0.2	-1.0	-2.9	-1.3	-1.0	-2.9
	K43	-4.3	-6.1	-4.9	-2.3	-4.2	-1.8	-4.6	-5.2		-5.0	-3.2	-3.9	-5.1	-1.3	-2.2	-2.8	-1.6	-5.1	-4.3	-4.4
	L45	-6.0	-6.4	-5.4	-6.3	-6.3	-5.2	-5.9	-4.5	-6.0		-2.8	-6.7	-2.6	-4.0	-1.9	-6.7	-5.9	-3.2	-5.1	-6.0
	E46	-5.7	-6.9	-3.5			-5.6	-6.9		-7.4	-6.7		-6.2	-6.7	-2.2	-6.6	-3.9	-6.0			-5.2
	W47	-5.1	-2.5	-5.5	-5.2	-5.6	-1.6	-6.4	-5.1	-7.2	-2.7	-6.2	-6.8	-6.5	-5.9	-3.1	-5.1	-5.8	-4.7		-5.6
	L48	-5.5	-5.1	-8.6	-7.6	-6.0	-6.0	-6.2	-4.2	-6.7		-2.0	-5.4	-3.4	-3.3	-2.6	-7.1	-6.7	-2.7	-5.7	-5.5
	G49	-4.8	-6.0	-6.9	-4.6			-7.2	-5.1	-6.7	-8.6		-6.3	-7.0	-5.5	-5.6	-5.8	-6.9	-5.1	-4.7	-6.7
CDR 2	V50	-3.2	-6.9	-5.8	-3.5	-6.6	-1.3		-6.2	-7.6	-2.9	-3.1	-6.8		-7.8	-5.8	-7.2	-6.7		-3.8	-6.6
	I51	-4.9	-5.3	-5.9	-4.8	-3.8	-5.3	-6.1		-5.7	-2.0	-1.9	-5.3	-6.3	-6.2	-4.7	-1.9	-3.1	-2.5	-4.7	-5.5
	W52	-7.6	-2.3	-7.4	-6.5	-5.8	-2.5	-6.8	-6.8	-5.6	-3.2	-5.8	-6.7	-6.1	-6.5	-3.5	-5.2	-7.5	-5.6		-6.3
	R53	-6.6	-4.4	-7.0	-6.7	-7.0	-5.8	-6.5	-6.4	-5.9	-6.9	-6.1	-6.5	-7.4	-6.3		-5.9	-6.2	-6.4	-5.7	-6.3
	G54	-3.1	-1.8	0.1	-1.7	-3.5		-2.8	-5.4	-4.1	-5.2	-5.7	0.6	-4.9	-4.2	-3.4	-1.7	-2.8	-3.2	-1.4	-1.2
	G55	-5.2	-5.9	-5.6	-5.3	-7.8		-5.8	-7.0	-5.6	-6.1	-6.2	-5.0	-6.0	-5.6	-5.4	-5.3	-6.0	-5.8	-4.6	-6.1
	S56	-1.3	-4.3	-3.5	-2.2	-3.7	-2.8	-0.8	-3.2	-1.9	-2.6	-2.5	-2.1	-3.9	-0.4	-1.4		-2.1	-3.3	-1.5	-2.9
	T57	-2.2	-5.7	-4.7	-3.7	-4.1	-4.9	-2.9	-2.0	-3.1	-4.8	-3.7	-3.4	-1.8	-2.3	-3.1	-2.6		-0.9	-3.9	-2.3
	D58	-1.4	-5.9		-1.5	-2.6	-2.8	-3.4	-2.9	-4.9	-4.1	-2.9	-1.9	-5.7	-3.3	-4.7	-1.4	-3.9	-2.7	-2.2	-1.5
	Y59	-4.8	-3.9	-1.5	-3.8	-3.4	-5.1	-2.9	-1.4	-3.4	-2.2	-1.7	-4.4	-6.0	-4.3	-4.4	-2.5	-2.2	-1.4	-5.0	
	N60	-4.0	-6.8	-3.5	-4.8	-5.9	-4.0	-3.6	-6.5	-3.5	-5.7	-5.7		-5.0	-5.9	-6.1	-3.3	-5.7	-5.4	-6.0	-5.2
	A61		-6.0	-0.6	-0.2	-3.9	-1.3	-2.5	-4.7	-0.6	-3.3	-3.1	-1.0	1.3	-2.2	-1.0	-1.0	-1.2	-3.5	-4.9	-3.4
	A62		-5.8	-0.3	-0.5	-3.9	-3.2	-2.9	-4.2	-1.0	-3.1	-2.9	-1.3	-4.0	-2.0	-2.2	-0.7	-3.0	-4.6	-2.3	-2.0
	F63	-4.2	-1.5	-3.9	-1.0		-4.5	-2.3	-2.1	-4.4	-0.8	-1.3	-3.4	-5.5	-2.4	-5.5	-2.4	-3.8	-1.3	-3.3	-0.8
	M64	-0.2	-4.7	0.0	-0.7	-3.1	0.8	-1.4	-2.1	-0.3	-1.2		-0.3	-2.1	-0.4	-0.7	-0.5	-1.8	-2.1	-1.7	-2.5
	S65	-3.3	-3.1	0.7	-0.6	-6.8	-0.1	-0.4	-7.2	0.0	-4.1	-4.8	0.3	0.6	-1.5	-0.5		-2.6	-5.5	-0.3	-1.9
FW3	R66	-6.0	-6.0	-6.2	-5.7	-5.8	-5.5	-6.2	-6.4	-5.5	-6.3	-5.6	-5.7	-5.6	-5.2		-5.9	-6.2	-5.7	-5.5	-6.2
	L67	-2.3	-6.1	-4.5	-5.0	-5.4	-6.4	-5.8	-2.3	-4.8		-1.8	-4.5	-2.6	-2.7	-2.3	-4.8	-3.4	-3.6		-5.2
	T68	-1.2	-4.4	-2.4	-1.5	-2.8	-2.6	-0.6	-1.4	-1.1	-2.1	-2.6	-1.1	-2.8	-0.7	-1.5	-1.1		-2.9	-3.0	-1.3
	I69	-5.7	-7.2	-7.8		-5.4	-7.7			-7.2	-3.2	-2.7	-6.1	-7.4	-5.5	-6.0	-7.1	-8.2	-5.1	-5.1	-7.3
	S70	-1.7	-2.7	-1.2	-1.0	-2.2	-2.8	-1.8	-2.6	-1.1	-2.6	-2.7	-1.4	-6.1	-1.6	-1.8		-1.1	-3.2	-1.2	-1.7
	K71	-7.2	-8.0	-6.2	-5.5	-6.2	-8.7	-5.8	-8.8		-6.0	-5.8	-4.4	-7.4	-8.1	-5.8	-7.0	-6.6	-6.8	-6.5	-6.6
	D72	-2.9	-5.1		-1.3	-5.4	-4.1	-3.3	-4.0	-5.1	-4.8	-5.7	-1.6	-6.0	-4.6	-6.0	-3.9	-4.7	-3.1	-3.6	-1.7
	N73	-3.5	-5.1	-3.4	-3.9	-3.7	-4.6	-4.4	-1.3	-3.6	-1.8	-3.2		-3.5	-3.5	-4.4	-4.1	-3.3	-2.3	-5.7	-1.9
	S74	-1.0	-5.7	-1.8	-1.1	-1.5	-2.0	-1.3	-1.0	-0.4	-1.9	-1.3	-1.0	-1.4	-1.1	-1.2		-0.4	-2.0	-2.1	-0.8
	K75	-3.0	-5.1	-5.1	-2.6	-5.6	-6.6	-4.1	-3.5		-2.6	-3.2	-3.0	-5.7	-3.2	-2.4	-3.1	-2.5	-2.9	-5.5	-4.9
	N76	-3.7	-5.2	-4.2	-1.5	-5.2	-3.6	-2.8	-5.8	-1.3	-5.3	-5.1		-5.4	-0.2	-2.4	-1.8	-3.6		-2.8	-3.9
	Q77	-4.1	-4.8	-5.1	-1.9	-5.8	-6.2	-2.2	-3.2	-2.0	-2.7	-3.8	-3.0	-3.1		-3.3	-3.0	-2.5	-3.0	-3.6	-4.3
	V78	-2.4	-5.6	-5.0	-3.2	-4.8	-1.5	-5.9	-6.4	-6.4	-3.1	-2.8	-6.0	-5.3	-5.9	-5.5	-2.8	-3.0		-3.7	-5.7
	L80	-3.5	-7.3	-6.9	-5.6	-1.6	-7.1	-5.9	-4.3	-7.1		-1.1	-7.6	-6.4	-5.8	-6.9	-6.0	-7.1	-4.6		-5.3
	K81	-2.0	-5.2	-2.8	-2.8	-3.5	-3.7	-0.5	-3.2		-3.2	0.5	-1.8	-6.3	-1.7	-1.7	-2.4	-2.9	-3.1	-3.9	-2.4
	S82a	-2.6	-4.0	-1.9	-3.9	-4.4	-1.9	-1.6	-4.8	-1.0	-2.1	-4.0	-1.3	-4.8	-1.7	-0.9		-2.6	-4.2	-3.9	-3.0
	S82b	-1.9	-4.0	0.9	0.4	-5.5	-0.8	-0.4	-6.1	-0.1	-3.2	-4.9	0.3	-0.8	-1.0	-0.6		-3.3	-3.7	0.0	-1.9
	T83	-3.7	-6.4	-2.7	-1.7	-5.0	-4.7	-3.9	-4.9	-3.2	-4.1	-3.4	-2.7	-5.1	-3.3	-3.9	-2.3		-4.3	-3.5	-4.2
	A85		-5.0	-0.2	-0.4	-4.2	-1.5	-2.2	-5.3	-1.8	-3.0	-3.7	-1.0	-4.1	-1.7	-2.3	-1.3	-3.6	-4.3	-1.2	-2.0
	D86				-2.9			-6.7		-7.9	-6.7		-6.6	-6.1	-5.8		-6.4	-6.4	-6.2	-4.2	-6.6
	Y91	-5.9	-3.6	-2.9	-5.4	-2.3	-5.9	-3.5	-6.0	-7.6	-5.3	-4.9	-4.6	-5.9	-5.2	-4.2	-4.7	-4.7	-5.0	-2.6	
	S93	-6.9	-6.5	-7.7		-5.6	-6.4		-7.0	-6.9	-7.2	-7.4	-6.3	-6.8	-8.1	-4.4		-5.8	-6.8	-5.9	-7.5
	N94	-5.2	-5.5	-3.2	-4.9			-3.2	-4.3	-3.7	-5.0	-5.4		-5.8	-0.7	-6.1	-3.8	-4.0	-6.6	-5.2	-2.7
CDR 3	H95	-6.4	-5.2	-4.6	-7.5	-6.6	-6.4			-6.2	-4.9	-6.4	-4.5	-3.9	-1.9	-4.1	-6.8	-6.4	-6.2	-5.6	-3.6
	Y96	-7.2	-2.1	-1.5	-4.6	-3.8	-5.8	-3.3	-6.8	-6.0	-6.4	-8.1	-5.1	-6.9	-5.1		-4.9	-6.2	-6.4	-5.2	
	Y97	-6.2	-3.3	-2.9	-8.0	-4.3	-5.2	-4.4	-7.1	-8.0	-6.6	-9.2	-5.7	-6.8	-6.4	-8.2	-4.4	-6.5	-7.3	-7.1	
	G98	-5.2	-2.1	-3.2	-6.3	-5.2		-6.1	-6.5	-5.8	-7.1	-7.6	-7.0	-6.9	-6.0	-6.0	-4.3	-7.1	-2.6	-5.4	-6.0
	S99	-6.7	-5.0		-6.4	-7.3	-6.6	-7.7	-8.2	-7.4	-7.9	-6.6	-6.2	-7.1	-8.3	-4.8		-6.1	-8.1		-6.4
	S100	-3.0	-5.6	-4.5	-0.8	-4.4	-5.5	-5.2	-5.0	-4.3	-5.8	-2.8	-5.9	0.5	-3.4	-4.1		-4.4	-4.5	-5.9	-5.0
	D100a	-5.0	-7.1		-2.1	-4.5	-4.2	-4.0	-6.7	-5.0	-6.1	-4.9	-3.2	-5.9	-4.6	-6.0	-5.2	-5.7	-4.3	-6.4	-2.9
	Y100b	-6.3	-2.4	-3.0	-5.2	-0.5	-6.5	-3.8	-6.6	-4.8	-6.1	-5.1	-4.3	-6.6	-8.1	-5.6	-4.3	-5.6	-5.4	-5.9	
	A100c		-5.7	-7.4	-6.2	-5.9	-7.6	-6.7	-6.0	-6.8	-8.1	-7.8	-7.8	-6.9		-7.9	-6.6	-8.7	-7.5	-6.8	-7.3
	L100d	-4.3	-5.8	-5.4	-2.7	-5.7	-5.7	-4.9	-6.2	-5.5		0.0	-5.1	-3.4	-2.5	-1.5	-3.9	-5.9	-4.2	-6.6	-6.2
	D101	-3.7			-2.7	-7.1	-2.7	-4.1	-7.6	-6.1	-6.3	-7.3	-4.1	-5.9	-4.9	-7.1	-7.8		-3.5		-2.4
	N102	-5.4		-6.5	-5.8	-6.1	-6.3	-6.3		-5.5	-6.7	-5.3		-6.8	-7.1	-6.4	-4.2	-2.2	-6.0	-5.5	-7.5

表１０．　カニクイザルＦｃＲＨ５を用いて選択されたｈｕ１Ｇ７．ｖ１における変異の濃縮スコア

領域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
FW1	E1	1.8	-1.4	-0.1		2.5	0.9	2.1	2.4	1.0	2.1	1.7	2.5	0.4	1.4	2.1	2.6	2.3	1.0	0.9	2.1
	V2	-2.0		-2.8	-4.5	-4.5	-4.6	-6.4	0.0	-4.4	-4.9	-6.0	-6.7	-5.1	-4.6		-5.8	-4.3		-5.8	-5.2
	V24	-2.4	-5.9	-6.2	-3.3	-7.1	-1.5	-5.8	-1.5	-5.6	-3.9	-3.0	-5.7	-6.9	-7.4	-6.4	-5.8	-7.2		-5.8	-7.8
	S25	-2.1	-3.1	-0.4	-0.8	-2.7	-3.0	-2.6	-4.9	-0.7	-3.8	-4.6	-0.8	-3.6	-2.0	-0.3		-1.3	-5.6	-4.4	-1.1
CDR 1	G26	-5.1	-3.0	-4.7	-4.7	-6.6		-6.3	-6.7	-6.5	-7.0	-7.1	-6.6	-6.5		-3.9	-4.4	-7.0	-2.4	-4.5	-5.0
	F27	-6.7	-7.3	-6.3	-7.4		-5.9	-7.2	-4.5	-7.5	-4.5	-5.3	-8.1	-6.3	-7.5	-7.5	-6.5	-6.9	-7.4	-7.5	-6.0
	S28	-0.1	-5.3	-1.9	-0.4	-2.9	-3.6	-1.5	-5.0	-0.7	-0.4	-2.3	0.3	2.1	-1.1	-1.9		-3.0	-4.7	-0.9	-2.5
	L29	-5.5	-7.4	-6.6	-6.4	-5.6	-6.5	-6.7	0.1	-6.3		-2.3	-6.3	-2.6	-4.0	-3.5	-6.7	0.8	0.2	-5.7	-7.9
	T30	-1.1	-7.1	0.5	-1.0	-5.0	0.4	-1.0	-5.4	1.0	-2.5	-2.5	1.7	-5.1	0.0	0.1	0.6		-6.1	-4.9	-3.0
	R31	-6.4	-7.5	-5.4	-5.9	-7.8	-7.3	-6.3	-6.9	-6.3	-6.2	-6.9	-7.1	-5.5	-6.1		-6.5	-6.0	-6.8	-4.1	-6.7
	F32	-6.2	-7.5	-6.3	-5.9		-7.9	-5.8	-6.4	-6.0	-5.2	-6.1	-7.1	-6.3	-7.0	-6.9	-6.8	-7.1	-5.9		-5.3
	G33	-6.3	-5.3	-6.9	-5.3	-7.2		-6.2	-7.4		-6.2		-7.7	-6.7	-7.0	-7.8	-6.9	-7.5	-6.9	-6.0	
	V34	-3.4	-6.4	-6.0	-4.3	-6.2	-2.7	-6.7	-0.7	-5.4	-2.4	-2.8	-5.6	-6.3	-6.5	-0.7	-5.0	-5.1		-3.8	-7.1
	H35	-6.9	-5.7	-6.8	-6.5	-6.9	-6.7		-6.5	-6.6	-6.8	-5.0	-6.0	-5.1	-3.5	-5.5	-6.7	-6.8	-5.5		-6.2
FW2	V37	-0.9	-3.9	-0.6	-1.7	-2.5	-1.3	-2.3	-3.5	-5.8	-2.4	-3.0	-4.5	-6.5	-4.7	-6.1	-1.1	-1.4		-4.5	3.1
	R38	-5.3	-6.0	-7.0		-5.1	-5.7	-5.8	-6.6	-4.1	-6.0	-5.9		-4.8	-4.9		-6.7	-6.8	-6.7	-3.7	-7.0
	Q39	-2.5	-6.0	-2.4	-2.0	-6.0	-5.3	-1.9	-5.1	-0.7	-2.5	-3.1	-5.8	-1.1		-1.8	-1.6	-3.3	-4.6	-3.7	-4.4
	P40	0.6	-4.9	-7.5	-2.2	-3.2	-2.9	-2.2	-0.7	1.1	-0.7	-2.0	-3.8		-0.1	1.9	-1.6	-1.7	0.6	-2.4	-2.7
	K43	-5.0	-5.0	-5.7	-2.4	-6.6	0.2	-4.2	-6.6		-5.3	-3.2	-3.6	-4.4	-0.8	-1.6	-3.4	-1.4	-6.4	-7.2	-5.8
	L45	-7.2	-5.7	-6.7	-7.7	-6.5	-5.8	-5.5	-6.2	-6.1		-2.4	-7.2	-2.5	-3.5	-1.5	-6.5	-7.1	-3.2	-4.8	-5.9
	E46	-4.1	-5.9	-2.8		-4.6	-5.9	-4.5		-4.9	-5.6	-6.1	-6.4	-2.0	-5.6	-6.3	-6.6				-7.4
	W47	-7.3	-2.3		-4.3	-6.8	-1.2	-5.7	-6.4	-5.3	-2.2	-7.8	-6.5	-6.3	-7.5	-2.8	-4.5		-4.2		-8.2
	L48	-7.2	-4.7	-6.0	-6.7	-5.6	-7.6	-6.5	-3.7	-6.7		-1.7	-8.0	-2.9	-2.4	-2.0	-7.9	-7.0	-2.8	-4.5	-5.8
	G49	-5.4	-6.6	-6.0	-4.3						-6.0		-6.9		-5.1	-5.4			-4.6	-5.0	-7.3
CDR 2	V50	-3.3	-5.5	-5.8	-3.8	-6.8	-1.2	-7.2	-6.1	-5.8	-2.5	-2.8	-6.2	-6.5	-5.8	-5.3	-5.8	-7.0		-3.7	-5.8
	I51	-6.4	-5.8	-6.4	-4.8	-3.6	-5.9	-6.9		-5.4	-1.6	-1.3	-5.5	-6.0	-6.8	-4.3	-1.5	-3.6	-1.8	-4.1	-5.4
	W52	-5.9	-2.1	-7.2	-7.7	-7.5	-2.0	-7.3	-5.8	-5.7	-2.5	-6.4	-7.0	-5.6	-6.9	-3.3	-4.6	-7.5	-4.3		-6.5
	R53	-5.9	-5.0	-6.2	-6.9	-5.0	-5.5	-6.3	-6.5	-2.9	-5.5	-5.7	-6.0	-6.7	-6.5		-6.2	-5.7		-5.7	-5.3
	G54	-1.9	-1.7	1.1	-2.6	-5.0		-1.8	-5.8	-4.5	-6.3	-5.1	2.3	-4.6	-3.2	-3.4	-0.5	-1.1	-2.4	-1.9	-1.8
	G55	-5.6	-6.1	-5.5	-5.1	-5.5		-6.2	-7.6	-6.1	-6.3	-6.8	-5.2	-5.8	-5.9	-6.2	-5.6	-6.1	-5.6	-5.3	-5.5
	S56	-0.3	-4.0	-2.9	-0.8	-3.5	-1.3	-0.4	-2.8	0.2	-2.0	-1.4	-0.1	-4.6	1.1	0.1		-0.8	-2.9	-0.7	-2.4
	T57	-1.9	-5.9	-5.2	-4.2	-5.3	-6.4	-3.3	-2.3	-3.5	-5.7	-4.1	-3.2	-1.6	-4.7	-3.9	-2.9		-0.2	-7.3	-4.3
	D58	-0.9	-6.5		-1.1	-3.9	-2.8	-3.2	-2.6	-4.4	-3.5	-2.3	-1.2	-5.4	-1.6	-4.5	-0.8	-2.3	-2.4	-3.4	-1.5
	Y59	-4.9	-3.6	-1.3	-4.2	-3.2	-5.4	-2.8	0.0	-2.6	-1.5	-2.4	-4.1	-5.2	-4.8	-5.2	-2.2	-1.5	0.1	-4.8	
	N60	-3.1	-5.8	-4.1	-5.7	-5.9	-5.1	-5.9	-5.9	-3.4	-5.8	-7.5		-4.9	-3.4	-5.6	-3.5	-5.6	-5.3	-7.6	-5.4
	A61		-5.0	0.6	0.6	-4.1	0.0	-0.8	-5.3	0.9	-3.0	-3.4	0.4	2.7	-0.7	-0.4	0.7	-0.1	-4.0	-5.7	-3.2
	A62		-6.4	0.8	0.5	-2.9	-3.0	-1.9	-4.0	-0.3	-3.0	-2.9	0.1	-2.5	-1.2	-1.7	-0.9	-2.1	-4.3	-3.1	-3.6
	F63	-4.0	-1.2	-4.9	-2.0		-5.3	-0.8	-2.0	-6.0	0.1	-0.3	-3.7	-5.5	-2.4	-4.6	-3.0	-3.9	-1.1	-3.4	-0.2
	M64	2.0	-4.3	1.9	0.8	-2.5	2.8	0.2	-1.3	1.8	-0.4		1.3	-1.4	1.6	1.3	1.3	-0.2	-0.7	-1.3	-1.5
	S65	-2.1	-2.3	3.2	1.1	-5.8	1.4	0.9	-4.6	1.1	-3.7	-4.3	2.0	2.6	-0.5	0.1		-1.5	-3.7	-0.7	-2.1
FW3	R66	-6.5	-7.6		-6.5		-5.8	-6.3	-8.4	-6.0	-5.5	-6.1	-6.2	-6.0	-5.5		-5.9	-6.2	-6.5	-5.9	-6.6
	L67	-0.4	-7.1	-4.7		-6.8	-5.4	-6.8	-1.2	-4.6		-1.3	-4.8	-2.0	-2.3	-1.6	-6.0	-3.2	-2.7	-6.1	-5.4
	T68	-1.0	-6.9	-1.6	-0.5	-2.0	-2.2	-0.1	-0.9	-0.2	-2.2	-1.5	-0.1	-2.2	0.1	-1.2	-0.5		-2.3	-2.7	-1.1
	I69	-6.3		-6.8	-4.9	-5.7	-5.7			-6.2	-2.3	-2.8	-7.1	-8.5	-6.5	-7.4	-6.4	-6.3	-4.3		-4.8
	S70	-0.4	-3.4	-0.4	-0.5	-2.7	-3.6	-1.6	-2.5	-0.9	-1.8	-2.0	-0.5	-4.5	-0.6	-1.5		0.3	-3.3	-0.6	-1.6
	K71	-6.2		-6.3	-5.8	-8.2	-7.8	-5.5	-5.8		-8.2	-8.1	-4.3	-5.8	-5.5	-5.8	-7.4	-5.9	-5.8	-6.5	-5.9
	D72	-2.5	-6.3		-1.2	-5.6	-3.5	-3.1	-3.2	-5.9	-4.3	-4.6	-2.0	-5.8	-4.2	-5.4	-4.1	-5.7	-3.3	-6.0	-1.4
	N73	-2.8	-6.7	-1.5	-2.7	-3.3	-5.8	-4.0	-0.7	-3.6	-0.3	-2.9		-2.5	-2.7	-5.1	-2.9	-2.3	-1.2	-6.5	-1.9
	S74	-0.1	-4.7	0.5	0.2	-1.8	-1.6	0.0	-0.9	-0.3	-0.9	0.1	-0.2	-1.4	0.3	-1.2		0.7	-1.3	-4.2	-1.6
	K75	-2.4	-6.4	-4.4	-2.5	-4.6	-4.6	-3.8	-3.0		-1.2	-3.3	-2.4	-5.9	-1.8	-2.0	-1.3	-1.3	-3.4	-5.8	-4.8
	N76	-2.0	-4.3	-3.8	-4.0	-5.3	-1.0	-2.1	-3.3	-2.0	-6.9	-5.4			-0.1	-4.0	-1.9	-4.4			
	Q77	-4.4	-4.5	-3.9	-0.8	-6.4	-6.8	-1.6	-2.6	-1.4	-2.1	-2.9	-2.2	-2.9		-2.8	-2.7	-1.0	-2.8	-4.9	-4.4
	V78	-2.2		-6.4	-2.7	-4.7	-1.4	-7.0	-5.0	-6.7	-2.6	-2.4	-6.9	-7.3	-5.2	-5.9	-2.5	-3.5		-2.7	-6.0
	L80	-4.4	-5.6		-5.4	-0.8	-7.7		-4.2	-6.7		0.2	-5.4	-6.4	-6.1	-4.9	-6.8	-6.5	-5.4	-6.3	-4.6
	K81	-1.6	-5.8	-1.7	-2.4	-4.5	-3.9	-0.6	-1.6		-2.6	2.5	-0.3	-6.6	-0.8	-0.5	-1.8	-1.3	-2.1	-5.3	-3.0
	S82a	-1.2	-6.8	-1.3	-3.1	-4.7	-1.0	-0.4	-5.8	0.1	-3.5	-3.8	-0.2	-4.5	-1.4	-0.3		-1.5	-4.3	-3.4	-3.8
	S82b	-0.1	-3.6	2.9	1.3		0.5	1.1	-5.5	1.2	-4.0	-3.7	2.3	0.3	0.2	0.3		-2.7	-5.3	-0.1	-1.4
	T83	-3.8	-5.4	-1.6	-1.8	-5.9	-4.6	-4.6	-8.4	-3.8	-6.2	-4.8	-2.1	-5.9	-3.7	-4.5	-1.4		-6.7		-5.4
	A85		-5.6	1.5	0.5	-6.7	-0.9	-1.9	-6.7	-0.8	-3.7	-4.7	-0.1	-3.7	-0.7	-2.2	-0.6	-2.7	-6.5	-3.0	-2.2
	D86	-5.3			-2.4			-5.7		-6.9	-7.3	-4.6	-5.9			-3.8					
	Y91	-5.4	-3.5	-2.3	-7.4	-2.1	-6.3	-3.7	-5.0	-7.0	-5.9	-7.0	-5.4	-5.9	-5.6	-5.4	-4.4	-5.1	-5.9	-2.6	
	S93	-6.0	-5.5		-6.4	-6.6		-5.7	-5.6	-5.5	-6.8	-5.5	-6.9	-6.0	-7.1	-3.6		-5.2	-6.5	-4.4	-5.5
	N94	-4.7	-3.7	-2.6	-4.3		-5.7	-3.0	-3.7	-3.3	-4.5	-5.0		-5.6	-0.4	-6.2	-3.5	-4.3	-6.6		-1.7
CDR 3	H95	-5.7	-7.2	-4.4	-7.5	-4.3	-5.4		-6.2	-5.3	-4.6	-6.7	-4.3	-3.8	-1.5	-3.5	-6.0	-6.4	-5.9	-6.7	-3.1
	Y96	-6.3	-2.3	-1.1	-4.6	-3.3	-6.4	-2.6	-5.0	-5.5		-6.1	-4.6		-5.1		-3.9	-7.6			
	Y97	-6.1	-2.3	-2.9		-3.7		-3.9	-5.9	-6.5	-7.1	-8.2	-5.1	-6.3	-5.8	-6.7	-4.0	-6.1	-6.0	-7.1	
	G98	-3.5	-1.8	-3.0		-6.4		-7.7	-6.5	-6.1	-5.7		-7.2	-5.5	-4.8	-4.8	-3.6	-5.7	-2.1	-6.0	-5.8
	S99	-6.7		-4.9	-5.4		-4.6	-7.7	-8.2	-6.9	-5.9	-6.1	-6.4	-6.5	-7.3	-4.0		-6.4	-5.5	-4.6	-5.4
	S100	-0.1	-6.0	-5.8	-3.0	-4.3	-3.2	-1.1	-3.8	1.1	-5.5	-1.2	-4.7	0.2	-0.8	-0.1		-4.5	-2.1	-6.0	-3.2
	D100a	0.0	-6.1		-0.8	1.7	-3.6	1.9	-2.2	-0.9	-1.0	0.6	0.4	-4.6	2.1	-1.1	0.6	-1.0	-0.8	-2.3	-0.2
	Y100b	-5.1	-2.5	-2.3	-5.2	0.0	-6.3	-3.0	-5.7	-5.3	-5.4	-4.4	-4.8	-5.6	-7.1	-7.8	-4.6	-6.3	-4.6	-6.5	
	A100c		-5.7	-5.4	-5.2	-7.0	-6.6	-7.3	-5.8	-6.2	-7.1		-6.2	-5.9	-6.6	-7.0	-6.2	-7.1	-4.9		
	L100d	-4.4	-4.8	-6.2	-2.8	-5.9	-5.2	-5.1	-5.0	-6.0		0.0	-4.7	-3.6	-1.7	-1.1	-3.5	-5.7	-3.8	-5.0	-5.5
	D101	-2.9			-2.6	-7.1	-1.9	-2.4			-7.3		-4.3	-5.5	-5.0		-6.2	-6.5	-3.4		-1.8
	N102	-5.0	-4.1	-7.1	-5.6		-5.6	-4.9		-5.3	-6.3	-6.7		-4.5	-5.5	-5.9	-3.6	-2.3		-6.1	-5.9

表１１．　ヒトＦｃＲＨ５を用いたセレクションにおいて少なくとも０．５の濃縮スコアを有する変異（表９）、及びカニクイザルＦｃＲＨ５を用いたセレクションにおいて少なくとも０の濃縮スコアを有する変異（表１０）

Region	領域	位置		D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
FW1	E1					**1.1**		1.0	0.8		0.6		0.8				**1.0**	0.7			0.7
	V2																				
	V24																				
	S25																				
CDR 1	G26																				
	F27																				
	S28													**0.5**							
	L29								0.5									**1.3**			
	T30																				
	R31																				
	F32																				
	G33																				
	V34																				
	H35																				
FW2	V37																				**1.4**
	R38																				
	Q39																				
	P40																				
	K43																				
	L45																				
	E46																				
	W47																				
	L48																				
	G49																				
CDR 2	V50																				
	I51																				
	W52																				
	R53																				
	G54												0.6								
	G55																				
	S56																				
	T57																				
	D58																				
	Y59																				
	N60																				
	A61													**1.3**							
	A62																				
	F63																				
	M64						**0.8**														
	S65			**0.7**										**0.6**							
FW3	R66																				
	L67																				
	T68																				
	I69																				
	S70																				
	K71																				
	D72																				
	N73																				
	S74																				
	K75																				
	N76																				
	Q77																				
	V78																				
	L80																				
	K81											**0.5**									
	S82a																				
	S82b			**0.9**																	
	T83																				
	A85																				
	D86																				
	Y91																				
	S93																				
	N94																				
CDR 3	H95																				
	Y96																				
	Y97																				
	G98																				
	S99																				
	S100													**0.5**							
	D100a																				
	Y100b																				
	A100c																				
	L100d																				
	D101																				
	N102																				

表１２．　ＦｃＲＨ５を用いて選択されたファージディスプレイライブラリの高深度配列決定によって特定された変異とのｈｕ１Ｇ７変異形の親和性

変異形	変異（Ｋａｂａｔ位置）		K_D（ｎＭ）	以下のものと比べた倍単位の改善	
	重鎖	軽鎖		ｈｕ１Ｇ７．ｖ１	ｈｕ１Ｇ７．ｖ８６
ｈｕ１Ｇ７．ｖ１	－	－	１４．６	－	
Ａ	Ｅ１Ｓ	－	１４．６	１．０	
Ｂ	Ｅ１Ｆ	－	１９．１	０．８	
Ｃ	Ｓ２８Ｐ	－	１３．３	１．１	
Ｄ	Ｌ２９Ｔ	－	６．７	２．２	
Ｅ	Ｖ３７Ｙ	－	１１．０	１．３	
Ｆ	Ａ６１Ｐ	－	１１．７	１．２	
Ｇ	Ｍ６４Ｇ	－	１４．４	１．０	
Ｈ	Ｓ６５Ｄ	－	１５．０	１．０	
Ｉ	Ｓ６５Ｐ	－	１６．２	０．９	
Ｊ	Ｋ８１Ｍ	－	１５．３	１．０	
Ｋ	Ｓ８２ｂＤ	－	１５．０	１．０	
Ｌ	Ｓ１００Ｐ	－	４．８	３．０	
ｈｕ１Ｇ７．ｖ８５	Ｍ６４Ｖ	Ｓ３０Ｒ、Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、Ｓ９４Ｐ	０．８	１７．０	
ｈｕ１Ｇ７．ｖ８６	Ｍ６４Ｖ	Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、Ｓ９４Ｐ	１．４	１０．３	
ｈｕ１Ｇ７．ｖ９１	Ｍ６４Ｖ、Ｌ２９Ｔ	Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、Ｓ９４Ｐ	０．７	２０．９	２．０
ｈｕ１Ｇ７．ｖ９２	Ｍ６４Ｖ、Ｓ１００Ｐ	Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、Ｓ９４Ｐ	０．９	１５．９	１．５
ｈｕ１Ｇ７．ｖ９３	Ｍ６４Ｖ、Ｌ２９Ｔ、Ｓ１００Ｐ	Ｉ３２Ｌ、Ａ５１Ｇ、Ｔ５６Ｓ、Ｓ９４Ｐ	０．６	２５．３	２．５

【０３３１】

実施例３．　例示的なＦｃＲＨ５　ＴＤＢの生成及びインビトロ特性決定

本明細書に記載される抗ＦｃＲＨ５抗体を使用して、一方のアームに抗ヒトＦｃＲＨ５の結合決定基、そして他方のアームに抗ヒトＣＤ３εの結合決定基を含むＴ細胞依存性二重特異性（ＴＤＢ）抗体を生成した。ＦｃＲＨ５結合決定基は、ヒト化及び親和性成熟したモノクローナル抗体クローン１Ｇ７、１Ｇ７．ｖ８５、及び１Ｇ７．ｖ８７を含んだ。抗ＣＤ３εのヒト化結合決定基は、高親和性抗体クローン３８Ｅ４．ｖ１、高親和性クローン３８Ｅ４．ｖ１１、及び低親和性クローン４０Ｇ５を含んだ（ｈＣＤ３εに対するＥＣ５０＝それぞれ１．０ｎＭ、５０ｐＭ、及び１３ｎＭ）。抗ＣＤ３クローン３８Ｅ４．ｖ１、３８Ｅ４．ｖ１１、及び４０Ｇ５ｃは、ヒトＣＤ３εポリペプチド（アミノ酸１～２６または１～２７（配列番号１７４）からなるヒトＣＤ３εポリペプチドの断片）に結

合し、ＣＤ３εのアミノ酸残基Ｇｌｕ５は結合に必要とされない（また、各々が参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＰＣＴ公開第ＷＯ　２０１５／０９５３９２号及び米国公開第２０１５－０１６６６６１号を参照されたい）。

【０３３２】

例示的なＦｃＲＨ５　ＴＤＢの特性決定を行って、それらの治療可能性を評価した。ヒト化全長ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ分子は、極端に低い（ｐＭ）用量でヒト形質細胞及び患者由来の初代骨髄腫腫瘍細胞を殺傷し、Ｔ細胞の堅実な増殖を誘発することが見出された。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、インビボで骨髄腫異種移植片の成長を抑制するのに効果的であり、標的を飽和させることが予想される耐容性良好な用量レベルで霊長類のＢ細胞及び形質細胞の完全な枯渇をもたらした。完全な形質細胞の枯渇は、骨髄微小環境における有効性の説得力のある証拠を提供した。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの活性は、標的発現（例えばＦｃＲＨ５発現）レベルと相関し、染色体１ｑコピーゲインのある高リスク骨髄腫患者がこの免疫療法に対して特別に感受性であり得ることを示唆している。

【０３３３】

材料及び方法

Ａ．　抗体

ａ．　ＴＤＢの産生

１．　合理的設計手法

ＴＤＢの発現を最適化し、その収率を増加させるために、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）のＦｃ、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及びＣＬドメインに変異を操作して入れて、適切な抗体モノマー形成を推進した。具体的には、荷電領域をＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及び／またはＣＬドメインに導入したアミノ酸修飾は、重鎖と軽鎖との誤対合を低減させる機序を提供した。反対の全体的電荷を有する同族の荷電領域は協動して適切な重鎖と軽鎖との対合を支援し、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）の全体的な産生収率を増加させる。Ｆｃ、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及びＣＬドメインのアミノ酸修飾を含む例示的な合理的設計構成は、図１Ａ～１Ｂに提示されている。

【０３３４】

２．　ロゼッタデザイン手法

加えて、または代替として、ＴＤＢの発現を最適化し、その収率を増加させるために、抗ＦｃＲＨ５抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）のＦｃ、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及びＣＬドメインに変異を操作して入れて、適切な抗体モノマー形成を推進した。ロゼッタデザイン手法は、荷電領域変異に加えて、ＣＨ１及びＣＬドメイン内のノブ及びホール変異の形態における、適切な重鎖と軽鎖との対合を推進するための追加の機序を提供した。Ｆｃ、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１、及びＣＬドメインのアミノ酸修飾を含む例示的なロゼッタデザイン構成は、図１Ｃ～１Ｆに提示されている。

【０３３５】

３．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ産生のための１細胞手法

１つの手法では、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの２つのアーム（例えば、抗ＦｃＲＨ５半抗体をコードする第１のプラスミド及び抗ＣＤ３半抗体をコードする第２のプラスミド）のうちの１つを各々がコードする２つのプラスミドがコトランスフェクトされている宿主細胞を培養することによって、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢを産生することができる。宿主細胞（例えば、細菌細胞、哺乳動物細胞、または昆虫細胞）のトランスフェクションを、９６ウェルプレートフォーマットで行った。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ産生についてスクリーニングするには、およそ２，０００個～３，０００個のクローンを選び、標的抗原であるＦｃＲＨ５に結合するそれらの能力を、ＥＬＩＳＡ及びインタクトＩｇＧ均質時間分解蛍光（ＨＴＲＦ）によって評価することができる。ＦｃＲＨ５またはその断片に結合することのできるＦｃＲＨ５　ＴＤＢを産生するクローンを、増殖及びさらなる（例えばＣＤ３への結合についての）スクリーニングのために選択した。次に、産生された二重特異性抗体（ｂｓＡｂ）の割合、力価、及び性能適性（ＰＱ）に基づいて、さらなる分析のためにトップクローンを選択することができる。

【０３３６】
本発明のＦｃＲＨ５　ＴＢＤを産生するために使用することのできる例示的な１細胞手法は、国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ１６／２８８５０号に記載されており、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０３３７】
４．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ産生のための２細胞手法
あるいは、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、高細胞密度発酵を使用して抗体ヘミマー（例えば半抗体）を別々に（すなわち２つの異なる細胞株において）培養し、次にタンパク質Ａクロマトグラフィによって各半抗体を独立して単離することによって産生してもよい。精製された半抗体は、次に、例えば１：１のモル比で組み合わせ、２ｍＭのＤＴＴの存在下において５０ｍＭのトリス（ｐＨ８．５）中で４時間インキュベートして、アニーリング及びヒンジ領域内のジスルフィドの低減を可能にすることができる。２４～４８時間にわたるＤＴＴなしの同じ緩衝液に対する透析は、鎖間ジスルフィド結合の形成をもたらした。
【０３３８】
ＴＤＢは、代替的に、ＴＤＢの明確に異なるアームを各々がコードする２つのプラスミドを別々の宿主細胞にトランスフェクトすることによって産生されてもよい。宿主細胞は、共培養しても、別々に培養してもよい。宿主細胞のトランスフェクションは、９６ウェルプレートフォーマットで行うことができる。ＴＤＢ産生についてスクリーニングするには、２，０００個～３，０００個のクローンを選び、選択された抗原（例えばＦｃＲＨ５）に結合するそれらの能力を、ＥＬＩＳＡ及びインタクトＩｇＧ均質時間分解蛍光（ＨＴＲＦ）によって評価する。ＦｃＲＨ５またはその断片に結合することのできるＴＤＢを産生するクローンを、増殖及びさらなるスクリーニングのために選択する。産生された二重特異性抗体（ｂｓＡｂ）の割合、力価、及びＰＱに基づいて、さらなる分析のためにトップクローンを選択する。
【０３３９】
５．　例示的な産生方法
この方略を使用した一実施例では、各半抗体を同様の量で産生するように既定の比率でシェーカーフラスコにおいて一緒に成長させた、１つの半抗体（ホール）を発現するＥ．ｃｏｌｉ細胞と、第２の半抗体（ノブ）を発現するＥ．ｃｏｌｉ細胞とを使用した、共培養方略によってＦｃＲＨ５　ＴＤＢを産生した（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Ｓｐｉｅｓｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３１（８）：７５３－８，２０１３、ＰＣＴ公開第ＷＯ　２０１１／０６９１０４号を参照されたい）。次に、共培養した細菌ブロスを採取して、細胞をマイクロフリューダイザで破壊し、タンパク質Ａ親和性によって抗体を精製した。流動化及びタンパク質Ａ捕捉の間に、２つのアームがアニーリングし、ヒンジ鎖間ジスルフィド架橋を形成したことが観察された。
【０３４０】
別の実施例では、これまでに説明されているように（Ｊｕｎｔｔｉｌａ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．７４：５５６１－５５７１，２０１４、Ｓｕｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｔｒａｎｓ．Ｍｅｄ．７：２８７ｒａ２７０，２０１５）、全長二重特異性抗体を産生した。簡潔に述べると、ＣＨ３ドメイン内に「ノブ」または「ホール」変異を含む２つの半抗体（例えば、抗ＦｃＲＨ５（例えば、１Ｇ７の最適化変異形）及び抗ＣＤ３（例えば３８Ｅ４．ｖ１））を、ＣＨＯ細胞の一過性トランスフェクションによって発現させ、次にタンパク質Ａを用いて親和性精製を行った。２つの半抗体の等量を、ｐＨ８．５で２００モル過剰量の還元型グルタチオンと共に、３２℃で一晩インキュベートして、ノブ－ホールジスルフィド結合の形成を推進した。構築された二重特異性抗体（例えばＦｃＲＨ５　ＴＤＢ）を、疎水性相互作用クロマトグラフィによって混入物から精製した。精製されたＦｃＲＨ５　ＴＤＢの純度を、質量分析、サイズ排除クロマトグラフィ（ＳＥＣ）、及びゲル電気泳動によって特性決定した。
【０３４１】
ｂ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの精製

ＦｃＲＨ５　ＴＤＢを、疎水性相互作用クロマトグラフィ（ＨＩＣ）によって混入物から精製した。得られた物質の内毒素レベルを、Ｅｎｄｏｓａｆｅ携帯型試験系を使用して分析し、必要に応じて、０．１％のＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１１４でタンパク質を洗浄することにより内毒素含量を低減させた。ＴＤＢの分子量を、以前に説明されているように（Ｊａｃｋｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｔｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．２８５：２０８５０－９，２０１０）、質量分析（ＬＣ　ＥＳＩ／ＴＣＦ）によって分析した。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、Ａｇｉｌｅｎｔ　１：１００　ＨＰＬＣシステムを使用したＺｅｎｉｘ　ＳＥＣ－３００カラム（Ｓｅｐａｘ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　ＵＳＡ）での分析的サイズ排除クロマトグラフィによっても分析した。２１００　Ｂｉｏａｎａｌｙｚｅｒ及びＰｒｏｔｅｉｎ　２３０　Ｃｈｉｐを使用した電気泳動によって、残存する抗体断片の存在を数量化した。

【０３４２】

ｃ．　標識抗体

別段の記載があるものを除き、フローサイトメトリ用の全ての直接標識抗体は、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅから購入した。抗ヒトＰＤ－１は、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘから購入した。ヤギ抗ヒトＩｇＧ及びヤギ抗マウスＩｇＧは、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈから購入した。抗ＰＣ－ＦＩＴＣ（クローンＶｓ３８ｃ）は、ＤＡＫＯから購入した。ウェスタンブロット用のＳＬＰ－７６抗体は、Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙから購入した。ｐ－ＳＬＰ７６（Ｓｅｒ３７６）は、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃにおいて生成した。

【０３４３】

多発性骨髄腫（ＭＭ）試料ならびに健常なドナーの血漿及びＢ細胞からのＦｃＲＨ５をＦＡＣＳによって検出するために、Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　ＢｉｏｔｅｃによるＰＥで抗ＦｃＲＨ５抗体１Ｇ７を標識した。顕微鏡検査のために、適切なタンパク質標識キット（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を製造元の指示に従って使用し、ＴＤＢをＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６４７で標識した。標識前にＴＤＢをＰＢＳ（ｐＨ７．２）中に透析し、約４の染料／タンパク質比をルーチン的に保った。

【０３４４】

Ｂ．　分子安定性アッセイ

ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの分子安定性を評価するために、熱ストレス試験を３０℃～４０℃で４週間にわたって実施した。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢを、２０ｍＭのｈｉｓ－アセテート、２４０ｍＭのスクロース（ｐＨ５．５）中で１ｍｇ／ｍＬにおいてインキュベートし、２週間後に評価した。２週目に、Ｎ脱アミノ化／Ｄ異性化の＜５％の変化、ＳＥＣによるモノマー損失の＜２．５％の変化、及びＩＥＣによるメインピーク損失の＜１６％について、ＴＤＢを評価した。使用したＳＥＣ緩衝液は、０．２５Ｍ　ＫＣｌ、０．２Ｍ　K_3PO_4、ｐＨ６．３であった。ＬＣ－ＭＳは、６０℃で１０分間ＴＣＥＰを使用し、還元条件下で実施した。ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析は、ＤＴＴ還元、ＩＡＡキャッピング、及びｐＨ８．２消化を用いたＲＣＭトリプシンペプチドマッピングによって実施した。

【０３４５】

ＡＡＰＨ酸化アッセイを実施して、＜３５％　Ｔｒｐ酸化及び＜１．１　Ｍｅｔ　Ｏｘ／Met_{256}を評価した。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢを１．０ｍｇ／ｍＬの濃度でインキュベートし、１ｍＭのＡＡＰＨ中で１６時間ストレスを与えた。Ｔｒｐ　ＯＸ／ＴｒｐＯＸ＿ＡｐｏＭａｂＷ５３　＞０．５を評価するために、光酸化アッセイも実施した。光酸化アッセイでは、ＴＤＢを１．０ｍｇ／ｍＬの濃度で４８時間インキュベートし、２４０万ルクス時間にわたって感光させた。ＤＴＴ還元、ＩＡＡキャッピング、及びｐＨ８．２消化を用いたＲＣＭトリプシンペプチドマッピングでのＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析によって、酸化を評価した。

【０３４６】

Ｃ．　細胞培養及び安定細胞株の生成

１Ｇ４　ＴＣＲ複合体及び重要なＴＣＲシグナル伝達成分を発現するＨＥＫ－２９３Ｔ

及びＨＥＫ－Ｔ細胞（Ｊａｍｅｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　４８７：６４－６９，２０１２）を、ＤＭＥＭ（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）中で培養した。他の細胞株は全て、ＲＰＭＩ中で培養した。全ての培地に、１０％の熱不活性化ＦＢＳ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、１ｍＭのＨＥＰＥＳ（Ｌｏｎｚａ）、２ｍＭのグルタミン、１００Ｕ／ｍｌのペニシリン、及び１００μｇ／ｍｌのストレプトマイシン（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）を補充した。

【０３４７】

免疫シナプス形成を評価するために、ＳＶＴ２細胞を、Ｎ末端ｇＤタグを有する全長ＦｃＲＨ５をコードするレトロウイルス、またはＮ末端ｇＤタグを有する切断型ＦｃＲＨ５（すなわちアミノ酸１～７４４の欠失を含むＦｃＲＨ５）をコードするウイルスのいずれかに感染させた。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ殺傷の標的依存性を評価するために、ＦＯＸ－ＮＹ細胞を、全長ＦｃＲＨ５をコードするレンチウイルスに感染させた。次に、ＦｃＲＨ５の発現レベルに差のある単一細胞由来のクローンを、２μｇ／ｍｌのピューロマイシンを用いて選択した。

【０３４８】

ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１シグナル伝達がＦｃＲＨ５　ＴＤＢ活性に及ぼす作用を評価するために、ＦｃＲＨ５をコードするレンチウイルスに２９３細胞を感染させ、続いて、リポフェクタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用し、ヒトＰＤ－Ｌ１をコードするプラスミドのトランスフェクションを行った。

【０３４９】

Ｄ．　放射性リガンド細胞結合アッセイ

Ｉｏｄｏｇｅｎ法を使用し、抗ＦｃＲＨ５　１Ｇ７．ｖ８５抗体を２０μＣｉ／μｇの比活性までヨウ素化した。固定濃度のヨウ素化抗体と漸減濃度の連続希釈した非標識抗体とを含む競合反応混合物を、９６ウェルプレートに入れた。内因性ヒトＦｃＲＨ５を発現する細胞株（例えば、ＭＯＬＰ－２、Ｒｌ－１、ＫＡＲＰＡＳ　６２０、及びＫＭＳ２１－ＢＭ）を、２％のウシ胎仔血清（ＦＢＳ）、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．２）、及び０．１％のアジ化ナトリウムを含むダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ）からなる結合緩衝液で洗浄し、次に９６ウェルプレートに加えた。細胞との競合反応物を、各濃度の非標識抗体について３連でアッセイし、室温で２時間インキュベートした。２時間のインキュベーションの後、競合反応物をＭｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｍｕｌｔｉｓｃｒｅｅｎフィルタプレート（Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ，ＭＡ）に移し、結合緩衝液で４回洗浄して、結合していない（ｆｒｅｅ　ｆｒｏｍ　ｔｈｅ　ｂｏｕｎｄ）ヨウ素化抗体を分離した。空気乾燥させたフィルタをＷａｌｌａｃ　Ｗｉｚａｒｄ　２４７０ガンマカウンター（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ　Ｌｉｆｅ　ａｎｄ　Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｉｎｃ．、Ｗｅｌｌｅｓｌｅｙ，ＭＡ）で計数し、抗体の結合親和性を決定するＭｕｎｓｏｎ及びＲｏｂａｒｄの当てはめアルゴリズム（Ｍｕｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１０７：２２－３９，１９８０）を用いるＮｅｗＬｉｇａｎｄソフトウェア（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）を使用して、結合データを評価した。

【０３５０】

Ｅ．　顕微鏡検査のためのベクター及び一過性トランスフェクション

まずＦｃＲＨ５をｐＨＲ－ＳＩＮレンチウイルスベクターに挿入し、その後ｍＲｕｂｙ２のＤＮＡ配列をこのベクターに連結させることにより、Ｎ末端ｇＤタグを有するＦｃＲＨ５を蛍光タンパク質ｍＲｕｂｙ２に融合させ、それにより、ｐＨＲ－ＦｃＲＨ５－ｍＲｕｂｙ２を生成した。その後、このベクター内のＳＦＦＶプロモーターをｍＨＳＰプロモーターに置き換え、ｐＨＲよりも弱いプロモーターを用いることでＦｃＲＨ５－Ｒｕｂｙのより生理学的な発現レベルを可能にする、ｐＨＲＩ－ＦｃＲＨ５－ｍＲｕｂｙ２を生成した。ＬＣＫ、ＺＡＰ７０、ＣＳＫ／ＣＢＰ、及びＣＤ４５を発現するベクターは、これまでに説明されている（Ｊａｍｅｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．４８７：６４－６９，２０１２）。使用したＣＤ４５構築物は、ＲＯアイソフォーム、またはＣＤ４５の細胞質ドメインとＣＤ４３の膜貫通及び細胞外ドメインを含む構築物のいずれかであり、後者は

ＣＤ４５の機能を模倣することで知られている。構築物のトランスフェクションの前に、ＨＥＫ細胞を、６ウェルプレートにおよそ６０％の培養密度まで播種した。次に、ＧｅｎｅＪｕｉｃｅ（Ｎｏｖａｇｅｎ）を製造元の指示に従って使用し、ベクターを適切な比率で一過性にトランスフェクトした。細胞は、トランスフェクションの２４～４８時間後に実験に使用した。

【０３５１】

Ｆ．　顕微鏡画像化及び分析

細胞複合体を画像化するために、画像化する各細胞型の3×10^5個の細胞を培養物から採取し、１００μｌの２０ｎＭ　ＴＤＢを含むＲＰＭＩ－１６４０（フェノールレッドなし）に再懸濁した。細胞の複合を可能にするための２０～３０分間のインキュベーションの後、細胞をＰＢＳで洗浄し、DMEM^{gfp2}画像化培地（Ｅｖｒｏｇｅｎ）に再懸濁し、３５ｍｍイメージングディッシュ（Ｍａｔｔｅｋ）に加えた。Ａｎｄｏｒのスピニングディスク共焦点顕微鏡システムを使用して、細胞を３７℃で画像化した。全ての画像を分析し、提示された全ての画像を、ＩｍａｇｅＪを使用して同等の様式で操作した。提示された画像のバックグラウンド減算を行い、次にクロッピングして細胞の対に焦点を合わせ、コントラストを最適化した。形質膜内の蛍光標識タンパク質の強度を使用して、タンパク質のクラスター形成及び分離の度合いを決定した。手で線を描くことによって形質膜を選択し、細胞間界面内の形質膜の平均蛍光強度を、細胞間界面の外側の形質膜の平均蛍光強度で除して、クラスター形成または分離の度合いを計算した。ＴＤＢにより複合した一対の細胞の界面の画像をｚ－ｓｔａｃｋから生成するために、まず画像スタックのデコンボリューションを行い、次にＨｕｙｇｅｎｓソフトウェアを使用して界面領域を強調するようにクロッピングした。

【０３５２】

Ｇ．　インビトロ細胞傷害性及びＴ細胞活性化アッセイ

製造元のプロトコル（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、＃Ｃ３４５５４）に従い、カルボキシフルオセインサクシニミジルエステル（ＣＦＳＥ）で標的細胞を標識した。ＣＦＳＥ標識した標的細胞及び精製したＣＤ８＋細胞を３：１のエフェクター細胞対標的細胞（Ｅ：Ｔ）比で混合し、ＴＤＢと共に４８時間インキュベートした。インキュベーションの終わりに、自動化フォーマットにおけるＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒでのフローサイトメトリで細胞を分析した。ＣＦＳＥ＋／ＰＩ陰性細胞にゲートをかけることによって、生きた標的細胞の数を計数した。細胞傷害性パーセントは、次のように計算した：細胞傷害性％（ＴＤＢなしの生きた標的細胞の数－ＴＤＢありの生きた標的細胞の数）／（ＴＤＢなしの生きた標的細胞の数）×１００。

【０３５３】

ａ．　インビトロ細胞傷害性アッセイ細胞株

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びＣＤ８＋の分離、Ｃｅｌｌ　Ｔｉｔｅｒ　Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ）、ならびにフローサイトメトリベースの生存能アッセイ（４８時間）を、これまでにＪｕｎｔｔｉｌａ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．７４：５５６１－５５７１，２０１４に記載されているように実施した。ＣＤ８＋細胞をエフェクターとして３：１のエフェクター：標的比で使用した。

【０３５４】

ｂ．　ヒト形質細胞及び初代多発性骨髄腫試料

健常なドナーのヒト骨髄吸引液（ＡＬＬＣＥＬＬＳ）をＰＢＳ中に希釈し、従来の勾配分離（Ｌｙｍｐｈｏｐｒｅｐ、ＳＴＥＭＣＥＬＬ）によって骨髄単核細胞（ＢＭＭＣ）を単離した。フローサイトメトリ生存能アッセイを使用して、７２時間のＦｃＲＨ５　ＴＤＢ処置がＢＭＭＣ形質細胞に及ぼす作用を試験した。ＭＭ患者由来の凍結したヒトＢＭＭＣは、Ｃｏｎｖｅｒｓａｎｔ　Ｂｉｏから購入した。骨髄腫ＢＭＭＣを、新しく単離した健常なドナーのＣＤ８＋Ｔ細胞と混合し、この共培養物をＦｃＲＨ５　ＴＤＢで７２時間処置した。ＰＩ陰性ＣＤ３８＋ＣＤ１３８＋細胞をフローサイトメトリによって計数した。

【０３５５】
Ｈ．　Ｔ細胞活性化及び増殖アッセイ
Ｔ細胞活性化アッセイは、これまでにＪｕｎｔｔｉｌａ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．７４：５５６１－５５７１，２０１４に記載されている。新しく単離したＣＤ８＋Ｔ細胞をＣＦＳＥで標識し、標的細胞（例えばＭＯＬＰ－２細胞）と１：１の比で混合し、１μｇ／ｍｌのＴＤＢと４８時間または５日間にわたって共培養した。抗ＣＤ８－ＡＰＣ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、＃５５５６３４）、抗ＣＤ６９－ＰＥ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、＃５５５５３１）、及び／または抗ＣＤ２５－ＡＰＣ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、＃５５５４３４）で細胞を染色し、ＣＦＳＥの蛍光強度の希釈をフローサイトメトリによって分析した。
【０３５６】
Ｉ．　カニクイザル形質細胞のフローサイトメトリ分析
カニクイザル骨髄吸引液をＡＣＫ溶解緩衝液（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、＃Ａｌ　０４９２）中に2回希釈した（１：１０）。カニクイザル骨髄細胞を、抗ＣＤ４５、抗ＣＤ２０、及び抗ＣＤ３８で染色した。洗浄後、ＩｎｔｒａＳｔａｉｎキット（ＤＡＫＯ）で細胞を固定し、透過処理した。次に、細胞を抗ＰＣ（クローンＶｓ３８ｃ）で染色した。カニクイザル形質細胞は、フローサイトメトリによってＣＤ４５－ＣＤ２０－ＣＤ３８＋ＰＣ＋と分類された。
【０３５７】
Ｊ．　カニクイザルＩｇＧレベルのＥＬＩＳＡ分析
標準的な比色分析系サンドイッチＥＬＩＳＡを使用して、全カニクイザル血清ＩｇＧを数量化した。ヤギ抗サルＩｇＧ（Ｂｅｔｈｙｌ　Ａ１４０－２０２Ａ）、及び西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）複合ヤギ抗サルＩｇＧ（Ｂｅｔｈｙｌ　Ａ１４０－２０２Ｐ）を、それぞれ捕捉抗体及び検出抗体として使用した。カニクイザルＩｇＧ（Ｃｅｌｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ＣＳＩ２０１６３Ａ）をタンパク質数量化標準物質として使用した。
【０３５８】
Ｋ．　ウェスタンブロット分析
新しく単離したヒトＣＤ８＋Ｔ細胞及び２９３Ｔ－ＦｃＲＨ５細胞（２：１比）を、１μｇ／ｍｌの１Ｇ７．ｖ８５／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ」）、１０Ａ８／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１０Ａ８　ＴＤＢ」）、または抗ｇＤ／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「抗ｇＤ　ＴＤＢ」）で処置し、４℃のリン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）で洗浄し、ＲＩＰＡ溶解緩衝液（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）で溶解させた。標準的なウェスタンブロット法及び抗体を使用してｐＳＬＰ７６（Ｓｅｒ３７６）及びＳＬＰ７６を検出した。
【０３５９】
結果
Ａ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの結合親和性
産生されたＦｃＲＨ５　ＴＤＢの中には、ＦｃＲＨ５結合ドメインとしてクローン１Ｇ７を、そして３８Ｅ４．ｖ１、４０Ｇ５ｃ、及び３８．Ｅ４．ｖ１１を含むＣＤ３結合ドメインとして選択されたクローンを含む分子があった。抗体ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１（「１Ｇ７．ｖ１．１　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．２（「１Ｇ７．ｖ１．２　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．３（１Ｇ７．ｖ１．３　ＴＤＢ”）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．４（「１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．５（「１Ｇ７．ｖ１．５　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．７（「１Ｇ７．ｖ１．７　ＴＤＢ」）、ｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３（「１Ｇ７．ｖ１．１３　ＴＤＢ」）、及びｈｕ１Ｇ７．ｖ１．１３．１（「１Ｇ７．ｖ１．１３．１　ＴＤＢ」）は、抗ＣＤ３　３８Ｅ４．ｖ１アームを有するＦｃＲＨ５　ＴＤＢとして生成され、本明細書に概して記載されるＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）によって、可溶性ＦｃＲＨ５タンパク質断片に対して高い親和性を有すると判定された（表１３）。「ノブ」変異体を含む半抗体フォーマットにおける１Ｇ７．ｖ８５及び１Ｇ７．ｖ８７の発現試験は、災害基準（ｄｉｓａｓｔｅｒ　ｂａｒ）を超える力価をもたらした（図８）

。

表１３．　ＴＤＢフォーマットにおける８つの選択された親和性成熟変異形の親和性評価

可変領域分類	抗体	K_D
親（マウス可変領域）	１Ｇ７　ＴＤＢ（平均、ｎ＝３）	５．４ｎＭ
１Ｇ７．ｖ１の部位指向性変異誘発	１Ｇ７．ｖ１．１　ＴＤＢ	２．７ｎＭ
	１Ｇ７．ｖ１．２　ＴＤＢ	２．６ｎＭ
	１Ｇ７．ｖ１．３　ＴＤＢ	１．５ｎＭ
	１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ	１．４ｎＭ
集中型ファージ抗体ライブラリ（ライブラリ鋳型＝１Ｇ７．ｖ１）	１Ｇ７．ｖ１．５　ＴＤＢ	１．１ｎＭ
	１Ｇ７．ｖ１．７　ＴＤＢ	０．６ｎＭ
	１Ｇ７．ｖ１．１３　ＴＤＢ	１．２ｎＭ
	１Ｇ７．ｖ１．１３．１　ＴＤＢ	０．９ｎＭ

【０３６０】

Ｂ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの結合性及び交差反応性

ヒトＦｃＲＨ５、カニクイザルＦｃＲＨ５、ヒトＦｃＲＨ１、ＦｃＲＨ２、ＦｃＲＨ３、及びＦｃＲＨ４をトランスフェクトしたマウスＳＶＴ２細胞を使用して、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの結合性及び交差反応性を試験した。この方法は、次のように行った。非酵素細胞解離緩衝液（Ｓｉｇｍａ、＃Ｃ５９１４）を使用して、培養したＳＶＴ２細胞をリフトした。１×１０^{5}個の細胞を１００μＬ中に懸濁し、３μｇ／ｍｌのＦｃＲＨ５　ＴＤＢと共にインキュベートした。次に細胞をＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、１％　ＢＳＡ、２ｍＭ　ＥＤＴＡ）で洗浄し、１：１００の希釈度でヤギ抗ヒトＦｃ　ＰＥ（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ、＃１０９－１１６－１７０）と共にインキュベートした。細胞をＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、その後ＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒでフローサイトメトリ分析を行った。

【０３６１】

マウス１Ｇ７のヒト化及び親和性成熟の後、ＴＤＢフォーマットにおける８つの親和性成熟変異形を生成した。最適化された１Ｇ７　ＴＤＢは、抗ＣＤ３アームとして３８Ｅ４．ｖ１を有する「ノブ・イントゥ・ホール」フォーマットにおいて生成した。ＴＤＢフォーマットでは、８つ全ての変異形が、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）によりマウス１Ｇ７　ＴＤＢと比べて５～１５倍の親和性の増加を示した（表１３）。全ての変異形が、ＦｃＲＨ２またはＦｃＲＨ３に対して異なる度合いの正の結合性と共に、ＦｃＲＨ１またはＦｃＲＨ４に対する負の結合性を示した。１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢは、ＦｃＲＨ２及びＦｃＲＨ３に対して最も低い交差反応性を示した（表１４）。異なる抗ＦｃＲＨ５アームを含むＦｃＲＨ５　ＴＤＢ（すなわち１Ｇ７、１Ｇ７．ｖ８５、または１Ｇ７．ｖ１．４）の、ＦｃＲＨ３に対する結合性も、ＦＡＣＳによって評価した（図９Ａ）。

表１４．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの結合性及び交差反応性

ＴＤＢ	ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ１	ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ２	ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ３	ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ４	ＳＶＴ２－ＦｃＲＨ５	ＳＶＴ２－カニクイザルＦｃＲＨ５
１Ｇ７	－	－	－	－	＋	＋
１Ｇ７．ｖ１．１	－	＋	＋	－	＋＋	＋＋
１Ｇ７．ｖ１．２	－	＋／－	＋	－	＋＋	＋＋
１Ｇ７．ｖ１．３	－	＋	＋	－	＋＋	＋＋
１Ｇ７．ｖ１．４	－	＋／－	＋／－	－	＋＋	＋＋
１Ｇ７．ｖ１．５	－	＋	＋	－	＋＋	＋＋
１Ｇ７．ｖ１．１３	－	＋	＋	－	＋＋	＋＋
１Ｇ７．ｖ１．７	－	＋	＋	－	＋＋	＋＋
１Ｇ７．ｖ１．１３．１	－	＋／－	＋	－	＋＋	＋＋

【０３６２】

１Ｇ７．ｖ１．４、１Ｇ７．ｖ８５、及び１Ｇ７　ＴＤＢがｈｕＦｃＲＨ５及びｈｕＦｃＲＨ３に結合する能力を、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）分析によって評価した（図１０Ａ～１０Ｄ）。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢの親和性は比較可能であった。１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢは、ヒトＦｃＲＨ５及びヒトＦｃＲＨ３にそれぞれ２．４ｎＭ及び約８０ｎＭのK_Dで結合し、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、ヒトＦｃＲＨ５及びヒトＦｃＲＨ３にそれぞれ２．４ｎＭ及び約９０ｎＭのK_Dで結合した（図１０Ａ～１０Ｄ）。追加の抗ＦｃＲＨ５変異形であるｈｕ７Ｄ８．Ｌ１Ｈ２、１７Ｂ１－ＶＨ６６、１７Ｂ１、及び１５Ｇ８（配列は図１１Ａ～１３Ｂに提示されている）も、抗ＣＤ３アーム３８Ｅ４．ｖ１を有するＴＤＢフォーマットにおいて生成した。ｈｕ７Ｄ８．Ｌ１Ｈ２、１７Ｂ１、及び１５Ｇ８　ＴＤＢを、ヒト及びカニクイザルのＦｃＲＨ５に対する結合性について試験した。結果を図１４及び表４に提示する。

【０３６３】

ヒトＦｃＲＨ５及びカニクイザルＦｃＲＨ５に結合する１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢと１Ｇ７．ｖ９３　ＴＤＢとの比較を、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）分析によって実施した（図１５）。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、ヒトＦｃＲＨ５への結合については２．１ｎＭのK_D、そしてカニクイザルＦｃＲＨ５への結合については７．８ｎｍのK_Dを示した。１Ｇ７．ｖ９３　ＴＤＢは、ヒトＦｃＲＨ５については１．１ｎＭ、そしてカニクイザルＦｃＲＨ５については８．１ｎｍのK_Dを示した。

【０３６４】

動態特性決定実験を行った（表８参照）。これらの実験では、ヒトＴＤＢ抗体フォーマットにおける精製抗体に対する可溶性ＦｃＲＨ５タンパク質断片の結合性を、６つの異なる非ゼロ濃度（１：３の段階希釈、１つの濃度が複製として２回注射される）において分析した。流量は４０μｌ／分に設定し、会合及び解離を６００秒にわたって監視した。ｈＩｇＧ捕捉フォーマット及び１：１結合モデルを使用した一価１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの親和性の動態分析は、それぞれ２．４ｎＭ及び６．８ｎＭのヒトＦｃＲＨ５及びカニクイザルＦｃＲＨ５に対するK_Dをもたらした（図１６Ａ～１６Ｂ）。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢにおける酸化し易い$Met-64_{HC}$のＶａｌへの変異は、結合親和性に影響を及ぼさ

なかった。

【０３６５】

Ｃ．　インビトロ細胞傷害性アッセイ

ヒト化ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ変異形の機能を評価するために、ＦｃＲＨ５を内因的に発現するＦｃＲＨ５　ＭＯＬＰ－２細胞に対する細胞傷害性を試験した。全ての変異形が、同様の標的細胞殺傷活性であるがマウス１Ｇ７と比較すると著しく増加した活性を示した（図１７Ａ～１７Ｂ）。変異形１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢの場合では、ＥＣ５０は、マウス１Ｇ７　ＴＤＢ（ｎ＝１０）と比べて５～１３倍改善した。

【０３６６】

その高い細胞傷害活性、及び他のファミリーメンバーとの低い交差反応性に基づいて、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢをさらなる分析のために選択した。ＴＤＢ分子の安定性を増加させるために、１Ｇ７．ｖ１．４アームを潜在的な酸化部位で変異させ、それにより、洗練されたバージョンである１Ｇ７．ｖ８５を生成した。１Ｇ７．ｖ１．４及び１Ｇ７．ｖ８５の２つのバージョンを、Ｔ細胞活性化、ＭＯＬＰ－２標的細胞殺傷活性、カニクイザルＢ細胞インビトロ枯渇、及びカニクイザル形質細胞枯渇を含む様々なアッセイにおいてＴＤＢフォーマットで評価した（図１８Ａ～１８Ｄ）。試験したアッセイの全てにおいて、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの挙動は１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢと区別不能であった。

【０３６７】

ヒト化及び洗練された１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢも、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢと比較した。その低い親和性と一致して、１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢは、フローサイトメトリ分析によって示されるように、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢと比べてヒトＦｃＲＨ５に対して低減した結合性を示した（図１９Ａ）。１Ｇ７．ｖ８７はまた、ＦｃＲＨ３に対する負の交差反応性を示した。

【０３６８】

４体の健常なドナー由来のＭＯＬＰ－２　ＣＤ８＋細胞（図１９Ｂ）及びＰＢＭＣ（図１９Ｃ）で、１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの標的細胞傷害性を評価した。全てのドナーにおいて、１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢはヒトＢ細胞殺傷に対して陰性であったが、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、ある程度の陽性の殺傷活性を示した。４体の健常なドナー由来のカニクイザルＰＢＭＣも試験した（図１９Ｄ）。３つのバージョンの１Ｇ７　ＴＤＢのＥＣ５０の格付けは、３体のドナーの全てにおいて一致している。１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢはマウス１Ｇ７　ＴＤＢと比較可能であるが、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢよりも著しく低い活性を有する。１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢは、インビトロでカニクイザルＢ細胞に対して１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢよりも著しく弱い殺傷活性を示した。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのヒトＮＫ細胞に対する活性も評価したところ、≦２０μｇ／ｍＬでは殺傷活性を有しないことが見出された（図９Ｂ）。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのＥＣ５０は、１Ｇ７．ｖ８７　ＴＤＢのそれよりも５～８倍良好であった。

【０３６９】

Ｄ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの安定性の分子的評価

親和性成熟前のｈｕ１Ｇ７．ｖ１の化学安定性は、Ｍｅｔ－６４$_{ＨＣ}$及びＴｒｐ－５２$_{ＨＣ}$における酸化感受性を示した。ＡＡＰＨ及び光ストレス試験によって１Ｇ７．ｖ８５ＴＤＢ試料にストレスを与え、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）によってＦｃＲＨ５結合性を評価した。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、ＡＡＰＨ及び光両方のストレス試験の後に、ストレス無負荷対照と比較して低減したＦｃＲＨ５への結合性を示した（図２０Ａ～２０Ｄ）。低ｐＨ緩衝液（ｈｉｓ－アセテート、ｐＨ５．５）中で２週間ストレスを与えた後、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢのモノマー安定性及び電荷不均一性を、それぞれサイズ排除クロマトグラフィ（ＳＥＣ）及び画像化キャピラリー等電点電気泳動（ｉｃＩＥＦ）によって評価した（図２１Ａ～２１Ｂ）。モノマーピーク損失の観測可能な変化は、モノマー安定性（０．１％）と電荷不均一性（７．７％）との両方でわずかであった（図２１Ａ～２１Ｂ）。さらに、２週間の低ｐＨストレスの後、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの軽鎖または重鎖のいずれの質量にも観測可能な変化はなかった（図２２Ａ～２２Ｂ）。３０℃で２週間に

わたる熱ストレスの後、モノマーピーク損失は、ＳＥＣでは０．１％、そしてｉｃＩＥＦでは８％であった。

【０３７０】

Ｅ．　膜近位エピトープは、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの効率的なＴＣＲシグナル伝達及び殺傷活性に必要である

ＦｃＲＨ５　ＴＤＢによる刺激を受けてＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を誘発する分子現象の特性決定を行うために、受容体活性化につながる初期現象を制御された様式で精査することを可能にする、再構成されたシステムを用いた（Ｊａｍｅｓ　ｅｔ．ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．４８７：６４－６９，２０１２）。健常なドナーのＣＤ８細胞を使用すると、１Ｇ７／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢは、ＴＣＲシグナル伝達を示す極めて堅実なＳＬＰ７６のリン酸化をもたらし、標的細胞の効率的な殺傷を媒介した（図２３Ａ～２３Ｂ、ＥＣ５０＝０．５ｎＭ）。対照的に、膜遠位エピトープを標的とする抗ｇＤ　ＴＤＢは、検出可能なＴＣＲシグナル伝達をもたらさず、Ｔ細胞殺傷を媒介することができなかった（図２３Ａ～２３Ｂ）。また、１Ｇ７及びｇＤエピトープを保持した、高度に切断された標的を発現した細胞を標的とすることにより、ＴＤＢ活性がエピトープの位置及び細胞外ドメインのサイズによって決定づけられることが確認された（図２３Ｃ）。ＥＣＤにより生じた干渉を除去すると、近位１Ｇ７／ＵＣＨＴ１．ｖ９　ＴＤＢの活性は２５倍増加し（図２３Ｄ、ＥＣ５０＝２０ｐＭ）、ｇＤ　ＴＤＢは細胞の殺傷を効果的に媒介することができた（ＥＣ５０＝０．１９ｎＭ）。差次的標的発現レベルが細胞株間での活性の差の原因である可能性は、ＦＡＣＳ分析によって排除された（図２４Ａ）。

【０３７１】

殺傷活性の差が特定の抗体クローンの特性ではなくエピトープに関連していることを実証するために、ＴＤＢフォーマットにおけるＦｃＲＨ５の膜近位ドメインを標的とする、合計５つの特有の抗体クローンを試験し、各クローンの活性が１０Ａ８と比較して約２０倍高かったことを実証した（図２３Ｅ）。多発性骨髄腫におけるＦｃＲＨ５の内因性発現レベルは低く（例えば、約１００～約２０００コピー／細胞）、ＭＯＬＰ－２骨髄腫細胞株（例えば、約２２００コピー／細胞）と比較可能である。ＭＯＬＰ－２細胞を殺傷するようにＴ細胞を再標的化すると、膜近位ＴＤＢのみがＭＯＬＰ－２細胞の殺傷を誘導した。１０Ａ８　ＴＤＢを使用したＦｃＲＨ５の中間領域の標的化は、骨髄腫細胞の殺傷に必要とされる十分に高いＴＣＲの誘発につながらなかった（図２４Ｂ）。

【０３７２】

Ｆ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、標的依存性細胞殺傷及びＴ細胞増殖を誘導する

図１８Ａにおいて、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、区別不能なＴ細胞活性化能力を有することが見出された。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの１Ｇ７エピトープ特異性及びカニクイザル交差反応性を評価した（図２５Ａ～２５Ｃ）。１Ｇ７／３８Ｅ４．ｖ１　ＴＤＢ（「１Ｇ７　ＴＤＢ」）は、予想通り、ＭＯＬＰ－２細胞、健常なドナーのＢ細胞、骨髄形質細胞、及び初代骨髄腫腫瘍細胞に結合した（図２６Ａ～２６Ｄ）。健常なドナーのＣＤ８細胞を使用した作用機序の特性決定によって、１Ｇ７　ＴＤＢ活性の前臨床分析を開始した。標的発現細胞の１Ｇ７　ＴＤＢ処置は、用量依存性Ｔ細胞活性化をもたらした（図２７Ａ）。１Ｇ７　ＴＤＢの細胞傷害活性は標的陽性細胞に限定され、ＦｃＲＨ５発現レベルと相関した（図２７Ｂ）。１Ｇ７　ＴＤＢ及び標的細胞での刺激によるＴ細胞活性化は、Ｔ細胞の堅実な増殖をもたらした。５日間でＣＤ８細胞の９５％が、蛍光染料ＣＳＦＥの希釈によって示されるように、６回と同数だけ細胞分裂した（図２７Ｃ～２７Ｅ）。ＴＤＢの細胞傷害活性に対する抗ＣＤ３アーム及びＦｃドメインの寄与をさらに評価すると、細胞傷害活性を達成するには高親和性の抗ＣＤ３アームが必要であるが、Ｆｃドメインは必要とされないことが見出された（図２７Ｆ～２７Ｇ）。

【０３７３】

Ｇ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、正常な形質細胞及び患者由来の初代骨髄腫細胞の強力な殺傷を媒介する

ＣＤ１３８＋ＣＤ３８＋多発性骨髄腫細胞及び正常な骨髄形質細胞におけるＦｃＲＨ５

の発現を、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ及びＦＡＣＳを使用して研究した。患者由来の腫瘍細胞の全て、及び正常な形質細胞の全てが、全試料中でＦｃＲＨ５を発現し、骨髄腫における１００％の保有率を示唆している（図２８Ａ）。患者間の発現レベルの著しいばらつきが骨髄腫において検出された。概して、腫瘍細胞における発現レベルは正常な形質細胞と比較して有意に上昇しておらず、腫瘍細胞特異的、正常形質細胞保持性のＦｃＲＨ５　ＴＤＢの開発は実現不可能である可能性が高いことを示唆している。正常なＢ細胞における発現レベルは、正常な形質細胞及び多発性骨髄腫腫瘍細胞と比較して、一貫して、かつ著しく低い。

【０３７４】

ＦｃＲＨ５遺伝子は、１ｑ２１における染色体切断点に位置する（Ｈａｔｚｉｖａｓｓｉｌｉｏｕ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｍｍｕｎｉｔｙ．１４：２７７－２８９，２００１）。約２０個の初代多発性骨髄腫生検の分析は、ＦｃＲＨ５　ＲＮＡ発現と１ｑ２１ゲインとの間の有意な関連性を示し（図２８Ｅ）、高リスク骨髄腫患者において染色体転座がＦｃＲＨ５の過剰発現につながり得ることを実証した。

【０３７５】

１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢが形質細胞を殺傷する能力を、健常なドナーの骨髄吸引液から単離した骨髄単核細胞（ＢＭＭＣ）を標的とすることによって分析した（図２８Ｂ）。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、用量依存性、高度に有効、かつ強力な（ＥＣ５０＝８５～１８０ｐＭ）形質細胞の殺傷を誘導した。多発性骨髄腫患者由来のＢＭＭＣを１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ処置に供したとき、同様の堅実な活性が検出された（図２８Ｃ）。生存中の治療歴にかかわらず、高い効力（ＥＣ５０＝６０～１２００ｐＭ）でほぼ１００％の骨髄腫細胞の殺傷が検出された。

【０３７６】

ＦｃＲＨ５発現が骨髄腫において不定であり（図２８Ａ）、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ活性が発現レベルと相関する（図２８Ｄ）ため、発現スペクトルの低位にいる患者がＦｃＲＨ５　ＴＤＢに応答すると予測されるかどうかも精査した。形質細胞及び初代ＭＭ細胞中の平均発現と同様のＦｃＲＨ５発現レベルを有するベンチマーク細胞株として、ＭＯＬＰ－２骨髄腫細胞株を特定した（図２８Ａ）。また、極端に低いレベルの標的を発現するいくつかの癌細胞株を特定し、Ｓｃａｔｃｈａｒｄ分析を使用して、細胞１個当たりのＦｃＲＨ５の数を決定した。これらの細胞株におけるＦｃＲＨ５結合部位の範囲は、細胞１個当たり２２００から１６０と同じほど低くまで変動した。極めて低い標的コピー数にもかかわらず、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、試験した全ての細胞株の堅実な殺傷を誘導した（ＥＣ５０＝２～２３０ｐＭ）。占有率の計算は、たった約５０個のＴＤＢ分子（ＭＯＬＰ－２において２％の占有率、ＥＣ５０＝５８ｐＭ）が、Ｔ細胞の活性化及び標的細胞のアポトーシスを誘導するのに十分であったことを示した。

【０３７７】

要約すると、ＦｃＲＨ５は、全ての骨髄腫患者において発現する。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、ヒト形質細胞及び患者由来の初代骨髄腫腫瘍細胞をｐＭ用量で殺傷することができる。Ｔ細胞活性の再指向には極めて少ないＴＤＢしか必要とされないため、この分子は、標的の発現が極めて低い細胞を強力に殺傷する。この結果は、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢが骨髄腫患者において広く活性である可能性を有することを示唆し、ＦｃＲＨ５発現レベルに基づいて療法から患者を除外することの裏付けにならない。

【０３７８】

Ｈ．　カニクイザル（ｃｙｎｏ）は、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの適切な安全性及び有効性モデルである

末梢Ｂ細胞及び骨髄形質細胞のＦＡＣＳ分析は、ヒトと同様のカニクイザルのＢ細胞系列全体でＦｃＲＨ５が発現することを裏付けた（図２９Ａ～２９Ｂ、Ｐｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８：１３６３－１３７３，２００６）。ヒト及びカニクイザルＦｃＲＨ５のアミノ酸配列は８９％同一であり、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、比較可能な親和性でカニクイザルＦｃＲＨ５及びＣＤ３に結合する。カニクイザルＦｃＲ

Ｈ５を発現する標的細胞またはヒトＦｃＲＨ５を発現するＭＯＬＰ－２細胞のインビトロ処置は、比較可能な効率でヒトまたはカニクイザルのいずれかに由来する末梢Ｔ細胞を使用する堅実な殺傷をもたらした（図２９Ｃ～２９Ｄ）。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢをカニクイザル由来のＰＢＭＣ／ＢＭＭＣ試料に加えると、カニクイザルＢ細胞（図２９Ｅ）及び骨髄形質細胞（図２９Ｆ）の用量依存性かつ堅実な殺傷がもたらされた。図１８Ｃにおいて、１Ｇ７．ｖ１．４　ＴＤＢ及び１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、区別不能なカニクイザル形質細胞殺傷能力を有することが見出された。これらの結果は、抗ＦｃＲＨ５／ＣＤ３の適切な安全性及び有効性モデルとしてのカニクイザルの正当性を立証する。

【０３７９】

実施例４．　例示的なＦｃＲＨ５　ＴＤＢのインビボ特性決定

材料及び方法

Ａ．　マウスモデルにおけるインビボ有効性研究

ａ．　ｈｕＮＳＧ／ＭＯＬＰ－２マウス異種移植モデル

雌のヒト化ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃｓｃｉｄ　Ｉｌ２ｒｇｔｍ１Ｗｊｌ／ＳｚＪ（ＮＯＤ／ｓｃｉｄガンマ、ＮＳＧ）マウスをＴｈｅ　Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから取得した。細胞播種の日、５体の動物の右側腹部皮下に、０．２ｍＬのＭＯＬＰ－２腫瘍細胞をＨＢＳＳ／マトリゲル中で細胞１億個／ｍＬの濃度で播種した。腫瘍体積が１００～２５０ｍｍ^{3}の体積範囲に達し次第、ビヒクル群及び処置群の２つの群に動物をランダム化し、このとき（０日目）第１の処置を施した。全ての処置は、週１回の静脈内（ｉ．ｖ．）尾静脈注射の合計４回の投薬によって施した。ビヒクル群は、０．１ｍｌの２０ｍＭ酢酸ヒスチジン（ｐＨ５．５）、２４０ｍＭスクロース、０．０２％　ＴＷ－２０緩衝液で処置した。処置群は、０．５ｍｇ／ｋｇの濃度における０．１ｍｌの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢで処置した。研究期間を通して１週間に１～２回、腫瘍をキャリパーで測定し、動物の体重は少なくとも週１回計測した。この研究の期間中、臨床所見を１週間に２回行って動物の健康状態を監視した。

【０３８０】

Ｂ．　カニクイザルにおける毒性研究

抗ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの耐容性、毒性プロファイル、薬物動態（ＰＫ）、及び薬力（ＰＤ）を、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（ＣＲＬ）において無処置の雄カニクイザル（ｃｙｎｏ）で評価した。カニクイザルを、ビヒクル、１、２、または４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの単回用量の静脈内注入（１時間）で処置し、処置の７日後に剖検した。動物の詳細な臨床所見、呼吸数、及び体温を、最初の５時間中及び終了時に注意深く監視した。ケージサイド臨床所見及び体重を毎日収集した。血液学、血清化学、凝固、及びＰＫ全抗体レベル、及びＰＤ評価項目の分析のために、大腿静脈を介した静脈穿刺により、研究前及び研究期間中の選択された時点で血液試料を収集した。ＰＤは、サイトカイン（ＩＬ－１β、ＩＬ－１ＲＡ、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－１２／２３、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、Ｇ－ＣＳＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、及びＭＣＰ－１）の測定、Ｔ－リンパ球、Ｂ－リンパ球、ＮＫ細胞、活性化Ｔ－リンパ球、ＰＤ－１、及び循環カニクイザルＩｇＧのフローサイトメトリからなった。フローサイトメトリによるＢリンパ球及び形質細胞の評価のために、麻酔した動物において、研究前及び８日目の剖検前に骨髄を上腕骨から吸引することによって収集した。剖検において、器官の重量を測定し、選ばれた器官及び組織を肉眼的及び微視的検査によって全面的に検査した。脾臓、腸間膜リンパ節、及び下顎リンパ節を、Ｔリンパ球、Ｂリンパ球、及びＮＫ細胞について評価した。全ての手順は、Ａｎｉｍａｌ　Ｗｅｌｆａｒｅ　Ａｃｔ、Ｇｕｉｄｅ　ｆｏｒ　ｔｈｅ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　ｏｆ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ａｎｉｍａｌｓ、及びＯｆｆｉｃｅ　ｏｆ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ａｎｉｍａｌ　ｗｅｌｆａｒｅに従って行った。

【０３８１】

Ｃ．　カニクイザル及びマウスにおけるＰＫＰＤ研究

血清中のＦｃＲＨ５　ＴＤＢの濃度を一般的なＥＬＩＳＡによって決定した。ヒツジ抗

ヒトＩｇＧ抗体を捕捉試薬として使用し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）と複合したヒツジ抗ヒトＩｇＧを検出試薬として使用した。利用可能な試料からの経時的な血清濃度の分析は、ＩＶボーラス投与を用いるノンコンパートメントモデル（Ｐｈｏｅｎｉｘ（商標）ＷｉｎＮｏｎｌｉｎ（登録商標）、バージョン６．３、Ｐｈａｒｓｉｇｈｔ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，ＣＡ）によって分析した。公称試料収集時間及び公称用量濃度をデータ分析に使用した。全てのＴＫ分析は、個々の動物のデータに基づいた。

【０３８２】

結果

Ａ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、ヒト免疫細胞で再構築されたマウスにおいて樹立ＭＯＬＰ－２腫瘍の成長を抑制する

抗ＣＤ３抗体がマウスＣＤ３と交差反応せず、ＦｃＲＨ５相同分子種がマウスには存在しないことから、マウスにおけるＦｃＲＨ５　ＴＤＢの抗骨髄腫活性のモデリングは困難である。したがって、ＣＤ３４＋選択したヒト造血幹細胞を放射線照射マウス（ｈｕＮＳＧマウス）に移植することにより、再構築されたヒト免疫系を有するマウスモデルを確立した。ｈｕＮＳＧマウスの脾臓から採取されたヒトＣＤ８＋細胞は、インビトロにおいて、健常なドナー由来のヒト末梢ＣＤ８＋細胞と比較可能な効率でＭＯＬＰ２細胞を殺傷することができた（図３０Ａ）。移植の２０週間後、ｈｕＮＳＧマウスに５００万個のＭＯＬＰ－２細胞を皮下播種した。樹立した１００～２００mm^3の腫瘍を有するマウスを、単回ＩＶ用量のビヒクルまたは０．５ｍｇ／ｋｇのＦｃＲＨ５　ＴＤＢで処置した。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ処置は、全ての動物において腫瘍退縮をもたらし（図３０Ｂ）、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ処置がインビボで腫瘍成長を抑制することが示された。

【０３８３】

Ｂ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは長い血清半減期を有する

非ヒト霊長類における１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの安全性、有効性、薬物動態（ＰＫ）、及び薬力（ＰＤ）の特性を評価するために、単回用量研究を設計した。単回低速注入用の静脈内用量のビヒクルまたは１～４ｍｇ／ｋｇの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢで、カニクイザルを処置した。有害作用について動物を注意深く監視した。サイトカイン分析、臨床病理分析、及びＰＫ／ＰＤ応答のために、血液試料を０時間、２時間、６時間、及び２４時間の時点で収集した。処置を施した７日後に研究を終了した。ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは１～４ｍｇ／ｋｇで用量比例的曝露（Ｃｍａｘ及びＡＵＣ）を示し、全てのコホートにおいて２９～３３ｍｌ／日／ｋｇで排出され（図３１Ａ）、４ｍｇ／ｋｇの用量レベルにおけるＣｍａｘは１２９μｇ／ｍｌであった。これは、ヒト形質細胞及びＭＯＬＰ－２のインビトロ殺傷ＥＣ５０に達するのに必要とされるものよりも約２０００倍高い。非結合性であるＳＣＩＤ．ｂｇマウスでもＰＫ研究を実施したところ、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは抗ｇＤＴＤＢと比較可能なクリアランス速度を有することが見出された（図３１Ｂ）。受容体占有率の計算は、全ての用量レベルでのＣｍａｘにおいて飽和状態に近い末梢血Ｂ細胞とＦｃＲＨ５の会合を示唆した（図３２Ｄ）。これらの結果は、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢが長いインビボ半減期を有することを実証し、毎週またはより低い頻度の投薬スケジュールを支持する。

【０３８４】

Ｃ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、カニクイザルにおいてＢ細胞及び骨髄形質細胞を枯渇させる

末梢血のＦＡＣＳ分析は、全ての用量レベルで堅実な薬理学的作用を示した。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ処置は、Ｔ細胞の活性化及び一過性のリンパ球減少（辺縁趨向応答）を２４時間以内にもたらした（図３１Ｃ～３１Ｄ）。Ｂ細胞は、投薬７日後の血液中で依然として検出不可能であり、それらが１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢによって枯渇したことを示唆している（図３１Ｅ）。対照的に、ＣＤ４＋細胞及びＣＤ８＋細胞は研究終了までに回復した（図３２Ａ～３２Ｂ）。全ての用量レベルが、脾臓及び骨髄中のＢ細胞の完全な枯渇をもたらした（図３１Ｆ及び３１Ｈ）。ＦｃＲＨ５処置は、リンパ節由来のＢ細胞の堅実な

用量依存性の枯渇も誘導した（図３１Ｇ及び３２Ｃ）。

【０３８５】

インビボでのカニクイザル骨髄形質細胞の枯渇は、抗ＦｃＲＨ５／ＣＤ３の前臨床開発において重要な有効性評価項目である。形質細胞の完全な枯渇は、２～４ｍｇ／ｋｇ用量で処置した動物において検出された（図３１Ｉ）。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ処置は、形質細胞の枯渇から生じる予想された二次的成果である、カニクイザルＩｇＧの用量依存性低減ももたらした。理論上、形質細胞の完全な枯渇は、７日目までにＩｇＧレベルを約３０～４０％低下させるはずである。カニクイザルＩｇＧの減少の測定値は、２ｍｇ／ｋｇ群で３７％、４ｍｇ／ｋｇ群で４４％であった（図３１Ｊ）。要約すると、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、その作用機序と一致して、カニクイザルにおける堅実なＰＤ応答を誘導した。完全な形質細胞の枯渇は、骨髄微小環境における有効性の説得力のある証拠を提供する。

【０３８６】

Ｄ．　ＦｃＲＨ５　ＴＤＢは、カニクイザルにおいて耐容性良好である

１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、カニクイザルにおいて、≦４ｍｇ／ｋｇの用量レベルで耐容性良好であった。検出された軽度／中程度の有害作用は、全ての用量レベルにおいて同様であり、明確な用量応答を確認することができなかった。臨床所見は、投薬後４時間以内の体温の０．４～１．６℃の範囲の可逆的増加に限定された。血液学への影響は、辺縁趨向に起因する予想された急性かつ可逆性のリンパ球減少からなった。予想通り、急性かつ可逆性の炎症促進性状態の証拠が検出された（増加したＣＲＰ、フィブリノーゲン、プロトロンビン時間、及び活性化部分トロンボプラスチン時間）。処置は、ＡＬＴ、ＡＳＴ、及び総ビリルビンの可逆的増加をもたらした。

【０３８７】

作用機序と一致して、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、急速な、概して軽度／中程度のサイトカイン放出を誘導した（図３３Ａ～３３Ｆ）。全ての用量レベルが、炎症促進性応答（ＩＬ－６、ＩＬ－５、ＩＦＮ－ｇ、ＩＬ－２、ＩＬ－１３、Ｇ－ＣＳＦ、及びＭＣＰ－１を含む）と、２～６時間におけるこの（ＩＬ１Ｒ）ピークに対抗するための抗炎症性応答とを誘導した。全てのサイトカインが２４以内に正常レベルに戻った。広範または長期のサイトカイン放出の徴候は見られなかった。中枢神経系（ＣＮＳ）の詳細な分析を含む広範な病理組織学的分析は、有意な器官毒性を明示しなかった。要約すると、この研究において最大耐容用量には達しなかった。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢは、標的を飽和させることが予想される用量レベルで耐容性良好であり、Ｂ細胞及び形質細胞の完全な枯渇のために十分であった。有害作用において用量応答は検出されなかった。

【０３８８】

実施例５．　ＦｃＲＨ５併用療法

可能性のあるＦｃＲＨ５併用療法を検査するために、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢを２つの例示的なＰＤ－１軸結合拮抗薬の各々と組み合わせて試験した。これらの実験により、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１フィードバックシグナル伝達はＦｃＲＨ５　ＴＤＢ媒介性殺傷を低減させ得るが、ＰＤ－Ｌ１の遮断はこの阻害を克服し、治療有効性の改善をもたらすことが実証された。

【０３８９】

材料及び方法

Ａ．　抗体

別段の記載があるものを除き、フローサイトメトリ用の全ての標識抗体は、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅから購入した。使用した抗ＰＤ－１抗体はＫＥＹＴＲＵＤＡ（登録商標）（ペムブロリズマブ）であり、抗ＰＤ－Ｌ１抗体はＧｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃで生成した。ヤギ抗ヒトＩｇＧ及びヤギ抗マウスＩｇＧは、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈから購入した。抗ＰＣ－ＦＩＴＣ（クローンＶｓ３８ｃ）は、ＤＡＫＯから購入した。

【０３９０】

Ｂ．　抗ＰＤ－Ｌ１を用いたＰＤ－１誘導及び細胞傷害性アッセイ

新鮮な単離したヒトＣＤ８＋Ｔ細胞をＭＯＬＰ－２細胞と１：１の比で混合し、１０００ｎｇ／ｍｌの１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの存在下で４８時間にわたって共培養した。これらの細胞を、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）標識抗ＣＤ８抗体（「抗ＣＤ８－ＦＩＴＣ」）、フィコエリトリン（ＰＥ）複合抗ＣＤ６９抗体（「抗ＣＤ６９－ＰＥ」）、及びアロフィコシアニン（ＡＰＣ）複合抗ＰＤ－１抗体（「抗ＰＤ－１－ＡＰＣ」）で染色し、フローサイトメトリによって分析した。ＦｃＲＨ５及びＰＤ－Ｌ１を発現するＨＥＫ－２９３Ｔ細胞（「２９３－ＦｃＲＨ５－ＰＤ－Ｌ１細胞」）の細胞傷害性アッセイを、１０ｍｇ／ｍｌの抗ＰＤ－Ｌ１または抗ＰＤ－１抗体ありまたはなしで、本明細書に概して記載されるように設定し、フローサイトメトリによって分析した。

【０３９１】

Ｃ．　細胞培養及び安定細胞株の生成

ＦｃＲＨ５をコードするレンチウイルスにＨＥＫ－２９３Ｔ細胞を感染させ、続いて、リポフェクタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用し、ヒトＰＤ－Ｌ１をコードするプラスミドのトランスフェクションを行うことにより、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１シグナル伝達が１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ活性に及ぼす作用を評価した。

【０３９２】

Ｄ．　インビトロ細胞傷害性及びＴ細胞活性化アッセイ

製造元のプロトコル（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、＃Ｃ３４５５４）に従い、カルボキシフルオセインサクシニミジルエステル（ＣＦＳＥ）で標的細胞を標識した。ＣＦＳＥ標識した標的細胞及び精製したＣＤ８＋細胞を３：１のエフェクター細胞対標的細胞（Ｅ：Ｔ）比で混合し、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢと共に２４～４８時間インキュベートした。インキュベーションの終わりに、自動化フォーマットにおけるＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒでのフローサイトメトリで細胞を分析した。ＣＦＳＥ＋／ＰＩ陰性細胞にゲートをかけることによって、生きた標的細胞の数を計数した。細胞傷害性パーセントは、次のように計算した：細胞傷害性％（ＴＤＢなしの生きた標的細胞の数－ＴＤＢありの生きた標的細胞の数）／（ＴＤＢなしの生きた標的細胞の数）×１００。

【０３９３】

結果

Ａ．　ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１の遮断は、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢの活性を増強する

強力なＴＣＲ刺激シグナルは、Ｔ細胞活性を制限する免疫抑制性フィードバックを引き起こし得る。ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１経路は、このフィードバックの重要な構成要素であり、いくつかの腫瘍適応症における治療有効性が検証されている免疫回避機序である。ＰＤ－Ｌ１は、骨髄腫腫瘍細胞によって発現する頻度が高く（Ｇｏｒｇｕｎ　ｅｔ　ａｌ．Ａｍｅｒ．Ａｓｓｏｃ．ｆｏｒ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．２１：４６０７－４６１８，２０１５）、そのシグナル伝達は、骨髄腫患者におけるＴ細胞活性を限定し得る。ＰＤ－１は、休止Ｔ細胞において不在であり、Ｔ細胞が活性化すると誘導され、慢性感染症においてＴ細胞活性を限定する（Ｚｏｕ　ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｔｒａｎ．Ｍｅｄ．８：３２８ｒｖ３２４，２０１６）。ＦｃＲＨ５発現細胞の存在下における健常なヒトドナーのＣＤ８＋細胞の１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ刺激（４８時間）は、Ｔ細胞におけるＰＤ－１の有意な誘導をもたらした（図３４）。フィードバックシグナルはまた、インビボで活性化する。全ての用量レベルでのカニクイザルＴ細胞内で、ＰＤ－１陽性Ｔ細胞の有意な増加が見られた。ＰＤ－１誘導は、血液、脾臓、リンパ節、及び骨髄中のＣＤ８＋細胞とＣＤ４＋細胞との両方で検出された（図３５Ａ～３５Ｂ及び３６Ａ～３６Ｄ）。

【０３９４】

刺激済みＣＤ８＋細胞での１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ媒介性標的細胞殺傷を、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１拮抗薬の存在下及び不在下で評価した。１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢがＣＤ８＋Ｔ細胞を刺激してＰＤ－Ｌ１発現標的細胞を殺傷させる効率は中程度であった（図３７Ａ）。抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用してＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１シグナル伝達を遮断すると、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ媒介性殺傷の効率が著しく上昇した（図３７Ａ）。特定の実験では、刺

激済みＣＤ８＋細胞を２９３－ＦｃＲＨ５－ＰＤ－Ｌ１細胞と混合し、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ単独で、または抗ＰＤ－Ｌ１抗体もしくは抗ＰＤ－１抗体（ペムブロリズマブ）のいずれかと組み合わせて処置した（図３７Ｂ）。抗ＰＤ－Ｌ１抗体または抗ＰＤ－１抗体（ペムブロリズマブ）との併用処置は、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの有効性を著しく増強した。両方の併用処置法に対するＥＣ５０は０．４ｎｇ／ｍＬであり、一方で、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ単独での処置に対するＥＣ５０は０．６３ｎｇ／ｍＬであった（図３７Ｂ）。

【０３９５】

これらの結果は、Ｔ細胞の１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢ媒介性活性化が、インビトロ及びインビボでのＴ細胞内のＰＤ－１の誘導につながることを実証する。これらの結果はさらに、ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１シグナル伝達がＦｃＲＨ５　ＴＤＢ媒介性殺傷を限定し得ること、及びＰＤ－Ｌ１遮断がこの阻害を克服し、有効性の改善をもたらし得ることを実証する。これらのデータは、抗ＰＤ－１抗体または抗ＰＤ－Ｌ１抗体などのＰＤ－１軸結合拮抗薬とＦｃＲＨ５　ＴＤＢの併用を支持する。

【０３９６】

Ｂ．　デキサメタゾンは、ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ活性に影響を及ぼすことなく初回投薬サイトカイン応答を低減させる

抗炎症作用及び免疫抑制作用を有する骨髄腫における標準治療の成分であるデキサメタゾン（Ｄｅｘ）の存在下及び不在下でも、標的細胞の殺傷を評価した（図３８Ａ）。緩衝液中またはＤＭＳＯ中の１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢに対するＩＣ５０は、それぞれ７ｐＭ及び６ｐＭであった。０．１μＭまたは１μＭのＤｅｘの存在下では、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢに対するＩＣ５０は、それぞれ１６ｐＭ及び２５ｐＭであった。Ｄｅｘ併用処置は、１Ｇ７．ｖ８５　ＴＤＢの有効性に対して中程度の効果のみを及ぼし、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＴＮＦ－α、及びＩＦＮ－γのレベルを著しく低減させた。これらの結果は、デキサメタゾンをＦｃＲＨ５　ＴＤＢ療法と併用すると、患者における初回投薬サイトカイン応答が軽減され得ることを実証する（図３８Ｂ）。

【０３９７】

実施例６．　ＦｃＲＨ５　ｂｉｓ－Ｆａｂの産生及び試験

Ａ．　チオ－Ｆａｂ及びヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂの調製ならびにタンパク質産生

遊離スルフヒドリル基を有する抗体断片を調製するために、これまでにＪｕｎｕｔｕｌａ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　３３２（１－２）：４１－５２，２００８に記載されているように、チオ－ｍＡｂを生成するための部位指向性変異誘発によって、軽鎖または重鎖の可変ドメインまたは定常ドメインのいずれかにおける様々な位置で、抗体構築物にシステイン（Ｃｙｓ）置換を導入した。チオ－ｍＡｂを２５ｍＭトリス（ｐＨ８．０）中で１ｍｇ／ｍＬまで希釈し、続いて１：１０００（重量：重量）の酵素対抗体比でＬｙｓ－Ｃ（Ｗａｋｏ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ　ＵＳＡ，Ｉｎｃ．，Ｒｉｃｈｍｏｎｄ，ＶＡ）を使用した３７℃で１時間の酵素消化を行うことにより、チオ－ｍＡｂからチオ－Ｆａｂを酵素的に生成した。５μＭのプロテアーゼ阻害剤であるトシル－Ｌ－リジンクロロメチルケトン（ＴＬＣＫ）（Ｂａｃｈｅｍ，Ｔｏｒｒｅｎｃｅ，ＣＡ）を用いてＬｙｓ－Ｃ消化を停止させ、５０ｍＭ酢酸ナトリウム緩衝液及び０－３００ｍＭのＮａＣｌ　１０カラム体積（ＣＶ）勾配を使用した５ｍＬのＨｉ－Ｔｒａｐ　ＳＰ　ＦＦカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）でのカチオンイオン交換クロマトグラフィによって精製した。この方法により産生されたチオ－Ｆａｂは、本明細書において「酵素的チオ－Ｆａｂ」と称されることがある。別の手法では、操作されたＣｙｓ残基を有するＦａｂをコードするＤＮＡ構築物、または１つの天然Ｃｙｓ残基をヒンジ領域内に含む重鎖断片をコードするＤＮＡ構築物を、プラスミド発現ベクターにサブクローニングし、ＣＨＯ細胞内で直接発現させた。この方法により産生されたチオ－Ｆａｂは、本明細書において「組換えチオ－Ｆａｂ」と称されることがある。操作されたＣｙｓ残基を欠き、ｌｇＧのヒンジ領域内に存在する天然のＣｙｓ残基（複数可）に依存する抗体には、第３の手法を使用した。この方法は、「ヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂ」を産生

するために使用され、以下にさらに詳述される。

【０３９８】

合成反応で使用するための操作されたシステインを含有しない天然抗体からヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂを調製するために、図３９のパネル１に図示される以下の酵素的手順を使用した。ＦｃＲＨ５とＣＤ３との両方の親抗体を、ｐＨ４．５の酢酸ナトリウム緩衝液中でのペプシン（１％ｗ／ｗ）処理で消化した。１時間にわたる消化後、Ｆ（ａｂ’）$_2$をＳＰ－ＨＰカチオン交換樹脂で捕捉することによって消化混合物から単離し、０－１Ｍ ＮａＣｌの１０ ＣＶ塩勾配によって精製した。次にこのＦ（ａｂ’）$_2$を、２５ｍｍのＭＥＳ（ｐＨ５．８）、２ｍＭのＥＤＴＡ、及び３００ｍＭのＮａＣｌを含有する緩衝液中で還元した。１ｍＭのＴＣＥＰを用いた還元後、図３９のパネル２に図示されるように５ｍＭのＤＨＡＡの添加によってＦａｂを酸化させて、重鎖と軽鎖との間のジスルフィドを再形成した。これらの反応条件下では重鎖と軽鎖との間のジスルフィドのみが再形成され、ヒンジ領域内の２つのシステイン残基は未酸化のままであったことがルーチン的に観察された。

【０３９９】

次に、図３９のパネル２に図示されるヒンジにおける２つの遊離チオール（Ｃｙｓ残基）を、１Ｍ当量のＮエチルマレイミド（ＮＥＭ）（Ｓｉｇｍａ Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）と反応させた。結果として得られる、一重修飾、二重修飾、及び未修飾のＦａｂを含有する混合物を、次に、図３９のパネル３に図示されるように過剰量のビス－マレイミド架橋剤と反応させた。

【０４００】

これらの反応条件は、１つの架橋剤及び１つのＮＥＭを有するＦａｂ、２つのＮＥＭを有するＦａｂ、ならびに１つの架橋剤のみを含有するＦａｂの３つの生成物をもたらした。１つの架橋剤のみを含有するＦａｂは、遊離システインを有しないことが見出された。したがって、これらの反応条件下では、単一の架橋剤が両方のシステインと極めて効率的に反応し、システインが架橋剤によって環化されている分子をもたらした。上記の３つの反応生成物を含む物質を、ゲル濾過によって（不要な反応成分を除去するために）反応混合物から精製し、同様の様式で調製された図３９のパネル４に図示される他のヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂ、またはチオ－Ｆａｂとのカップリングにおいて使用した。記載されるように調製され、かつ１つの架橋剤、１つの遊離マレイミド、及び１つの遊離スルフヒドリルを含有するヒンジｃｙｓ－Ｆａｂまたはチオ－Ｆａｂのみが、以下に詳述されるｂｉｓ－Ｆａｂ合成反応において反応することができた。

【０４０１】

Ｂ． タンパク質の発現及び精製

精製を容易にするために、ＦｌａｇタグまたはＨｉｓタグのいずれかと共にＦａｂを発現させた。標準的な手順によって、ＣＨＯ細胞内での発現を行った。抗Ｆｌａｇ ｍＡｂ樹脂またはニッケルビーズ樹脂を使用して、細胞培養後の親和性精製を行った。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及び質量分析によって、精製されたチオ－Ｆａｂの特性決定を行った。これらの特性決定は、２７５Ｄａ及び３０６Ｄａの質量増加を示すことが多かった。こうした質量増加は、不対システイン上のジスルフィド付加物であることが見出され、これは、ビス－マレイミドとの架橋のためにチオ－Ｆａｂを調製するための還元及び酸化によって除去された。チオ－Ｆａｂの還元及び酸化は、次のように行った。まず、チオ－Ｆａｂを、２５ｍＭのＭＥＳ（ｐＨ５．８）、３００ｍＬのＮａＣｌ、及び５ｍＭのＥＤＴＡを含有する緩衝液中の２ｍＭのトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィンＨＣｌ（ＴＣＥＰ－ＨＣｌ、ＴＣＥＰとも称される）（Ｐｉｅｒｃｅ［Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ］，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）の添加により、２４時間にわたって還元した。還元後、５ｍＭのデヒドロアスコルビン酸（ＤＨＡＡ）（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）の添加によってタンパク質を酸化させた。単離されたチオ－ＦａｂをＳＤＳ－ＰＡＧＥ及び質量分析によって分析して、タンパク質が適切に還元及び酸化していることを確かめた。

【０４０２】
Ｃ．　Ｂｉｓ－Ｆａｂ合成
２つの異なる種類の架橋剤：ビス－マレイミド、及びＤＢＣＯ－ＰＥＧ－マレミド（ｍａｌｅｍｉｄｅ）／ブロモアセトアミド－ＰＥＧ－アジドのアダプター対を使用して、２つのＦａｂを共有結合させることができる。
【０４０３】
ビス－マレイミド架橋剤を使用した複合
ｂｉｓ－Ｆａｂ合成の第１段階では、チオＦａｂまたは不対システインを有するヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂを使用した。概して、チオ－Ｆａｂまたはヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂは、還元（図３９、パネル１）及び酸化（図３９、パネル２）が行われたものと同じ緩衝液（ＭＥＳ、ｐＨ５．８、２ｍＭ　ＥＤＴＡ、及び３００ｍＭ　ＮａＣｌ）中に、１ｍｇ／ｍＬのタンパク質濃度で存在した。この段階において、２つの潜在的な望ましくない反応生成物：ジスルフィド二量体及び架橋二量体が存在した。１ｍｇ／ｍＬのタンパク質濃度で二量体化が最低限に抑えられるため、合成のこの段階でこのタンパク質濃度を有することは、反応の重要な特徴であった。加えて、ＥＤＴＡを含む低ｐＨ緩衝液を使用することによる反応の制御が、二量体化を最低限に抑えるのに役立った。
【０４０４】
図３９のパネル３に図示されるように、５倍過剰量のビス－マレイミド架橋剤（Ｑｕａｎｔａ　ＢｉｏＤｅｓｉｇｎ，Ｐｏｗｅｌｌ，ＯＨ）を反応混合物に添加した。この５倍過剰量の架橋剤も、望ましくない二量体化を最低限に抑えるのに役立った。この反応物を、完了まで室温（ＲＴ）または３７℃で４時間インキュベートした。次にこの混合物をゲル濾過に好適な体積まで濃縮させた。μｇからｍｇ量の合成のための、２２ｍＬのＳ－２００　Ｔｒｉｃｏｍカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用した。この第１のゲル濾過ステップが未使用の架橋剤の除去を可能にし、架橋剤と複合した、精製されたチオ－Ｆａｂまたはヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂをもたらした。上述の条件は、典型的には、少なくとも９０％以上の所望の生成物をもたらした。チオＦａｂまたはヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂは、全て架橋剤と複合したか、あるいはジスルフィドによって別のチオ－Ｆａｂと、または不対システインを介してヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂと結合したため、遊離チオールとして残ったものはなかった。次に、単離及び精製されたチオ－Ｆａｂ（またはヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂ）と架橋剤種を、第２のチオ－Ｆａｂ（またはヒンジ－ｃｙｓＦａｂ）に加え、図３９のパネル４に図示されるように、５ｍｇ／ｍＬ以上に、概してゲル濾過に好適な体積まで濃縮させた。合成のこの段階中、少なくとも５ｍｇ／ｍＬのタンパク質濃度は、反応を完了まで推進するのに重要であった。より低いタンパク質濃度は、少量の架橋ｂｉｓＦａｂ二量体の形成しかもたらさなかった。理論に束縛されるものではないが、架橋したｂｉｓ－Ｆａｂ二量体の形成を妨げる立体効果または粘度に関する変数が、反応物質の漸増濃度によって克服されたと仮定された。加えて、最大６５ｍｇ／ｍＬでこれを含むタンパク質濃度の範囲を試験した。タンパク質濃度と反応時間との相関性は、タンパク質濃度が高いほど速く反応が完了に達するようなものであることが見出された。室温または３７℃において２～２４時間後、質量分析によって判定して反応が完了した。概して、１つの試薬が過剰であり、カップリングされずに最終混合物中に残った。
【０４０５】
ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－マレミド（ｍａｌｅｍｉｄｅ）／ブロモアセトアミド－ＰＥＧ－アジドを使用した複合
精製及び非ブロック化したＦａｂのうちの１つを、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ８）中の５モル過剰量のＤＢＣＯ－ＰＥＧ－マレミド（ｍａｌｅｍｉｄｅ）（＃７６０６７６、Ｓｉｇｍａ）において反応させ、他のＦａｂを、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ８）中の５モル過剰量のアジド－ＰＥＧ－マレイミド（＃２１０９７　ＢｒｏａｄＰｈａｒｍ）と反応させた。３７℃で１時間のインキュベーション後、反応物を質量分析により点検して反応の完了を検証した。複合したＦａｂをＳＥＣによって過剰量の架橋剤から精製し、その

後１：１の比で混合し、５ｍｇ／ｍｌ超の濃度に調整し、室温で一晩インキュベートした。

【０４０６】

使用した架橋剤にかかわらず、完了した反応物を再度ゲル濾過によって精製すると、今回は、遊離システインアミノ酸（チオ－Ｆａｂの場合）またはヒンジ領域内に位置する不対システイン（操作されていないヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂの場合）を通して不可逆的に架橋された１００ｋＤのｂｉｓ－Ｆａｂを含んだ二量体ピークが収集された。両方のステップ中、反応の進行を質量分析によって頻繁に監視したところ、両方の反応物質の存在及びｂｉｓ－Ｆａｂ生成物の形成が明らかに示された。第２のゲル濾過後の所望の生成物の純度を、質量分析及びＳＤＳ－ＰＡＧＥによって判定した。還元及びＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を行うと、不可逆的な架橋が、非還元性の架橋鎖を表す５０－ｋＤ帯域の存在によって観察された。上述のプロセスを小規模で使用すると、出発材料がマイクログラム量のマイクログラム収量が典型的には達成された。加えて、より大きな規模では、ミリグラム量の出発材料からのミリグラム収量が典型的には達成された。

【０４０７】

Ｄ．　ＣＤ３及びＦｃＲＨ５を標的とするｂｉｓ－Ｆａｂの合成

ＣＤ３及びＦｃＲＨ５を標的とする２つの異なる抗体から得られる二重特異性ｂｉｓ－Ｆａｂを生成した。使用する抗ＣＤ３親抗体は、任意の抗ＣＤ３抗体、例えば３８Ｅ４ｖ．１、３８Ｅ４．ｖ１１、または４０Ｇ５であってよい。一実施形態において、ｂｉｓ－Ｆａｂは、配列番号１３４の軽鎖配列及び配列番号１３３の重鎖配列を有する３８Ｅ４．ｖ１を抗ＣＤ３成分として用いる。使用する抗ＦｃＲＨ５抗体の親抗体も、任意の抗ＦｃＲＨ５、例えばｈｕ１Ｇ７．ｖ８５及びｈｕ１Ｇ７．ｖ８７などの本明細書に記載の抗体であってよい。具体的には、１つの例示されるｂｉｓ－Ｆａｂは、配列番号１０５の可変軽鎖配列及び配列番号１０４の可変重鎖配列を含む。

【０４０８】

これらの抗体の各々について、上述のようにＣＨＯ細胞内で組換えチオ－Ｆａｂを産生した。次に、およそ２ｍｇの各チオ－Ｆａｂから出発し、合成マトリックスを使用したコンビナトリアルフォーマットにおいて、チオ－Ｆａｂからｂｉｓ－Ｆａｂを合成した。これらの異なるチオ－Ｆａｂを組み合わせて、４つの特有のｂｉｓ－Ｆａｂ分子を合成した。示される実施例についてはおよそ１ｍｇの各ｂｉｓ－Ｆａｂが合成から回収されたが、収量は異なるチオ－Ｆａｂに応じて様々であると予想された。ｂｉｓ－Ｆａｂの各々に特有の識別子を与えた。当該技術分野で周知の標準的方法を使用したＳＤＳ－ＰＡＧＥ及び質量分析によって、各ｂｉｓ－Ｆａｂの純度を分析した。

【０４０９】

上述のマトリックス組換え手法を使用して、一連のＣＤ３由来及びＦｃＲＨ５由来のｂｉｓ－Ｆａｂ構造変異形を合成した。ｂｉｓ－Ｆａｂを合成するために、４つの異なるチオ結合点を選択した；これらの位置のうちの１つは、抗ＣＤ３チオ－Ｆａｂアームの重鎖内（例えば７６位（$Cys76_{HC}$））にあり、１つの位置は、抗ＣＤ３チオ－Ｆａｂアームの軽鎖内（例えば２２位（$Cys22_{LC}$））にあり、これらの位置のうちの１つは、抗ＦｃＲＨ５チオ－Ｆａｂアームの重鎖内（例えば１１４位（$Cys114_{HC}$））にあり、１つの位置は、抗ＦｃＲＨ５チオ－Ｆａｂアームの軽鎖内（例えば１４９位（$Cys149_{LC}$））にあった。必要なシステインの挿入のためには、他の位置を用いてもよい。チオ結合点を含むＦａｂは、（１）リジン－Ｃで消化してチオ－Ｆａｂを抗体から遊離させたシステイン置換を含むチオ－ｍＡｂ、（２）ＣＨＯ細胞で直接発現しそれから精製したシステイン置換を含むチオ－Ｆａｂ、及び（３）ペプシンでの消化後に操作されていない抗体のヒンジ領域に単一の架橋剤を結合させるための上述の酵素的方法によって生成したヒンジ－ｃｙｓ－Ｆａｂの、３つの異なる起源に由来した。この手法は、チオ－Ｆａｂにおける他のチオ－Ｆａｂとの組換えのための異なる置換点をもたらし、このように構造変異形が得られた（表１５参照）。

表１５．　各Ｆａｂにおける操作されたＣｙｓの位置及び対応するｂｉｓ－Ｆａｂ番号

		ＦｃＲＨ５　Ｆａｂ（１Ｇ７．ｖ８５）		
		ＨＣ　Ａ１１４Ｃ	ＬＣ　Ａ１４９Ｃ	ヒンジＣｙｓ
ＣＤ３　Ｆａｂ（３８Ｅ４．ｖ１）	ＨＣ　Ｓ７６Ｃ	ｂｉｓ－Ｆａｂ　Ａ	ｂｉｓ－Ｆａｂ　Ｃ	
	ＬＣ　Ｎ２２Ｃ	ｂｉｓ－Ｆａｂ　Ｂ	ｂｉｓ－Ｆａｂ　Ｄ	
	ヒンジＣｙｓ			Ｆ（ａｂ’）$_2$Ａ

【０４１０】

Ｅ．　ＦｃＲＨ５　Ｂｉｓ－Ｆａｂの生物活性

次に、ｂｉｓ－Ｆａｂ構造変異形の各々を、抗原（すなわちＣＤ３及びＦｃＲＨ５）の各々に対するその結合能力について、ＥＬＩＳＡによって試験した。ヒンジ領域内のＣｙｓを連結させることによって生成されたｂｉｓ－Ｆａｂは、天然抗体の構造と似ており、対照の役割を果たした。全てのｂｉｓ－Ｆａｂ構築物がＦｃＲＨ５に対して同様の結合能力を有したが（図４０Ａ）、ｂｉｓ－Ｆａｂのほとんどは、参照ｂｉｓ－Ｆａｂと比較して低減したＣＤ３への結合性を示した（図４０Ｂ）。Ｔ細胞殺傷活性の代理の役割を果たしたインビトロＴ細胞活性化アッセイにおいて生物活性を評価した（図４１）。このアッセイは、転写因子ＮＦ－ｋＢの制御下でルシフェラーゼレポーターを安定にトランスフェクトしたＪｕｒｋａｔ細胞株（ＪｕｒｋａｔＤｕａｌ、Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を使用し、Ｔ細胞殺傷アッセイと比べてこのアッセイを使用することの利点は、用いることのできる細胞数が無制限であることであった。ＰＢＭＣ細胞殺傷アッセイでは、試験の数は、単一のドナーから得ることのできる細胞数に限定された。このアッセイは、次のように行った。適切な細胞株、例えばＭＯＬＰ－２を標的細胞として選択し、Ｊｕｒｋａｔ細胞と共培養した。ｂｉｓ－Ｆａｂの存在ありまたはなしで、ウェル１つあたり１０，０００個の細胞株標的細胞及び５０，０００個のエフェクター細胞（Ｊｕｒｋａｔ）を加えた（ウェル１つ当たり１０，０００個の標的細胞、全体積２００μＬ、標的：エフェクター比＝１：５）。一晩のインキュベーション後、５０μＬのＱＵＡＮＴＩ－ＬＵＣ（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）を使用して様々なウェルの１０μｌの上清をルシフェラーゼ活性についてアッセイし、Ｅｎｖｉｓｉｏｎ（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）のルミノメーター計器で発光を定量化した。

【０４１１】

興味深いことに、抗ＣＤ３または抗ＦｃＲＨ５に対して生成された各ｂｉｓ－Ｆａｂ変異形のＨＶＲ配列はｂｉｓ－Ｆａｂ自体の生成において変化しなかったものの、各ｂｉｓ－Ｆａｂについて観察されたＴ細胞刺激の最大量は、単にシステイン操作された架橋の位置に基づいて、ｂｉｓ－Ｆａｂ毎に変動を示した。理論に束縛されるものではないが、このことは、ｂｉｓ－Ｆａｂの毒性及び／または効力が特定の治療上または診断上の必要性に適するようにどのように調節され得るかとの関係を有し得る。別の所見は、いくつかのｂｉｓ－Ｆａｂ（例えばｂｉｓ－Ｆａｂ　Ｃ）は、ＣＤ３に対して著しく低減した親和性を有したが、参照Ｆ（ａｂ’）$_2$Ａのそれと比較可能なＴ細胞活性化活性を有したことであった（図４０Ｂ及び４１、表１５）。

【０４１２】

Ｆ．　内因性ヒトＢ細胞を使用したＦｃＲＨ５　Ｂｉｓ－Ｆａｂの生物活性

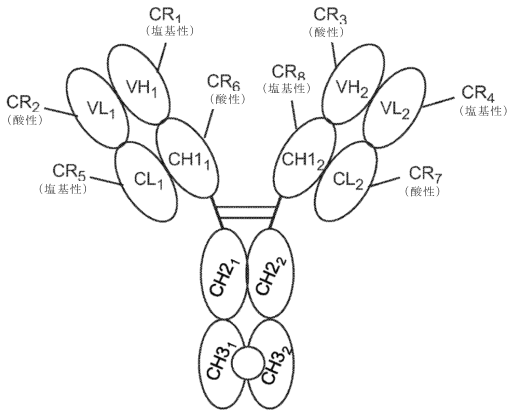
末梢の内因性Ｂ細胞殺傷に関するＴ細胞依存性ｂｉｓ－Ｆａｂ殺傷アッセイにおいて、各ｂｉｓ－Ｆａｂ変異形の生物学的有効性を次のように試験した：３体の健常なドナーの各々から単離した２００，０００個のｈＰＢＭＣを、ｂｉｓ－Ｆａｂありまたはなしでウェル毎に加えた。４８時間のインキュベーション後、細胞生存能評価のために標的細胞株の適切な細胞表面抗原（Ｂ細胞＝ＣＤ２０）（５μｌ／ウェル）及びヨウ化プロピジウムで細胞を染色し、次にＦＡＣＳによって分析した。ｂｉｓ－Ｆａｂ依存性殺傷活性を、次の方程式：殺傷％＝［１－（ｂｉｓ－Ｆａｂを含む生細胞の数）／（ｂｉｓ－Ｆａｂを含まない生細胞の数）］×１００に従って計算した。陽性対照としては、「ノブ・イントゥ・ホール」ＦｃＲＨ５　ＴＤＢ抗体に由来するＦ（ａｂ’）$_2$を使用し、ここで、各Ｆａ

ｂの抗ＣＤ３アーム及び抗ＦｃＲＨ５アームは、試験したｂｉｓ－Ｆａｂに使用したものと同じ配列を有した（ただし、システイン操作点変異を含まないことを除く）（例えば、Ｒｉｄｇｗａｙ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．，９：６１７－６２１，１９９６を参照されたい）。概して、異なるドナー細胞を使用したにもかかわらず、結果は再現性を示した。

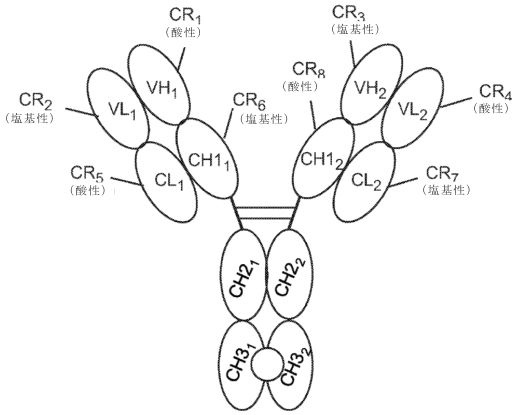
【０４１３】

本明細書において試験した、末梢の内因性ヒトＢ細胞の最大半量の溶解に必要なＦｃＲＨ５　ｂｉｓ－Ｆａｂの量、またはｎｇ／ｍｌ単位で表されるＥＣ５０効力値は、上記の試験した各ｂｉｓＦａｂについて計算したものである。全体的に、内因性ヒトＢ細胞アッセイにおいて試験した各ｂｉｓ－Ｆａｂに対する効力の傾向は、上述のＥＬＩＳＡアッセイで決定された結果をたどるであろうと予想された（図４０Ａ～４０Ｂ）。

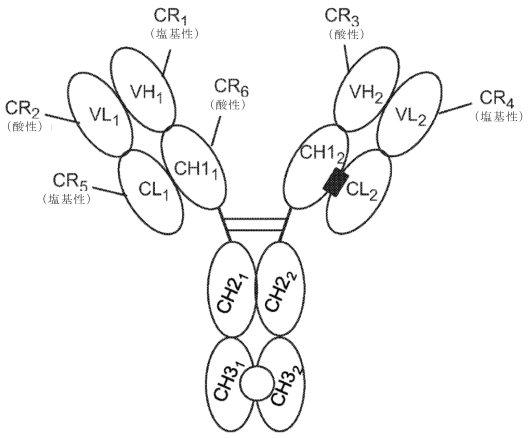
【図１Ａ】



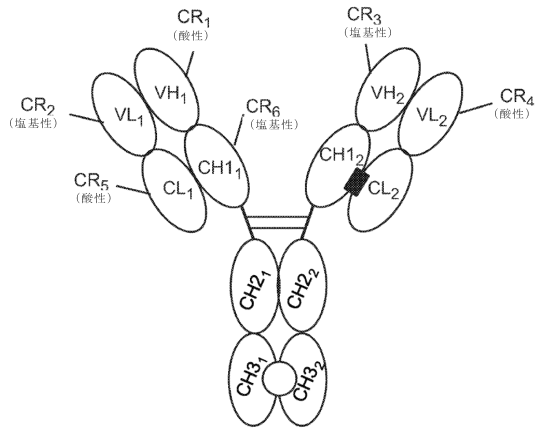
【図１Ｂ】



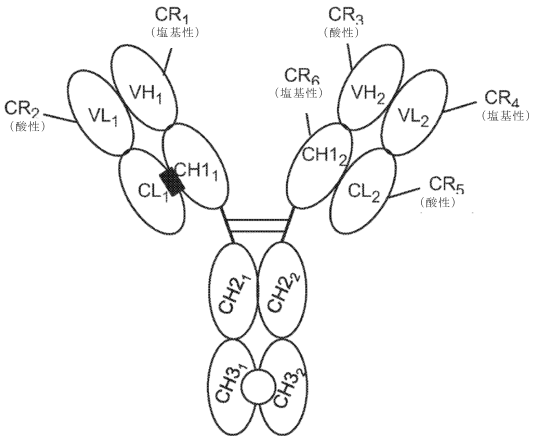
【図１Ｃ】



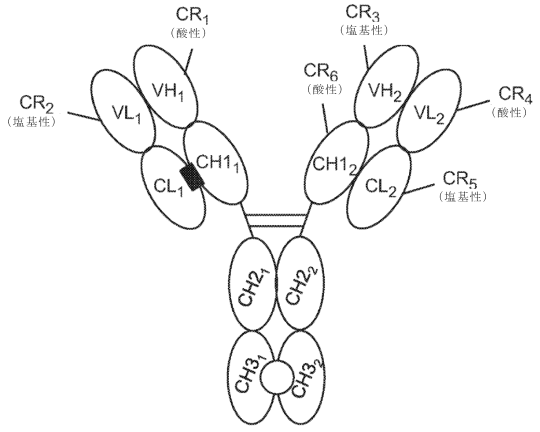
【図１Ｄ】



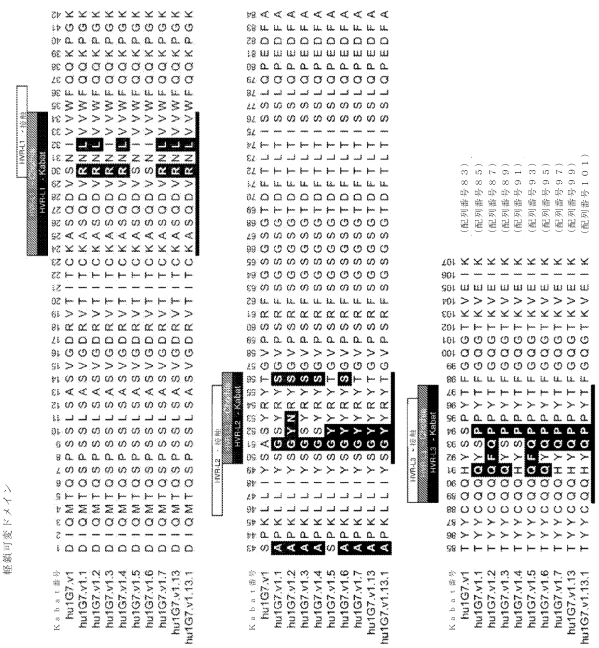
【図１Ｅ】



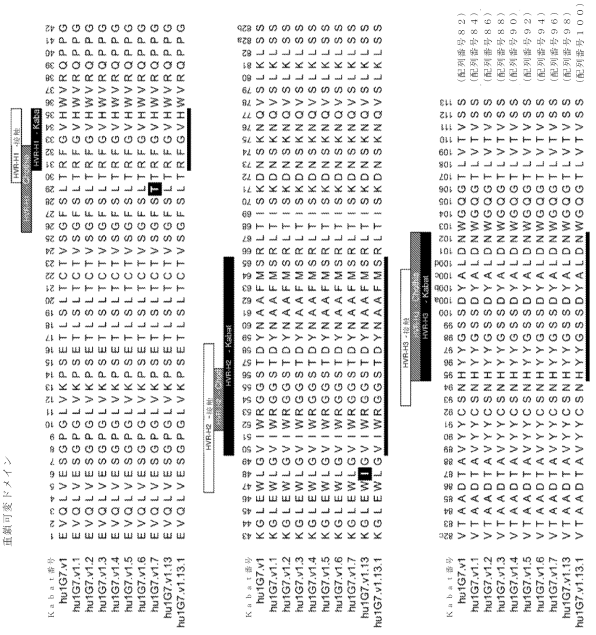
【図１Ｆ】



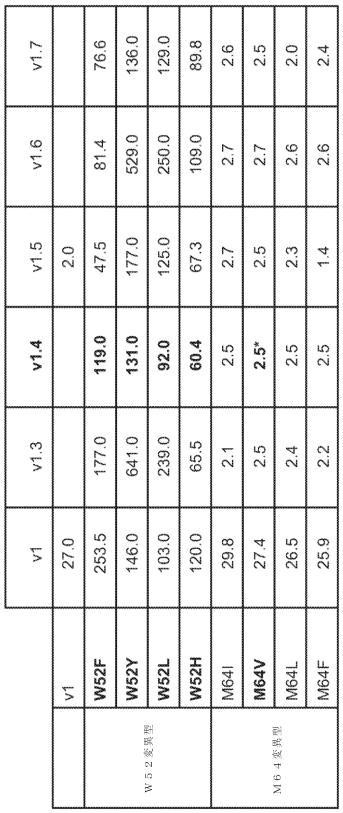
【図２】



【図３】



【図４】



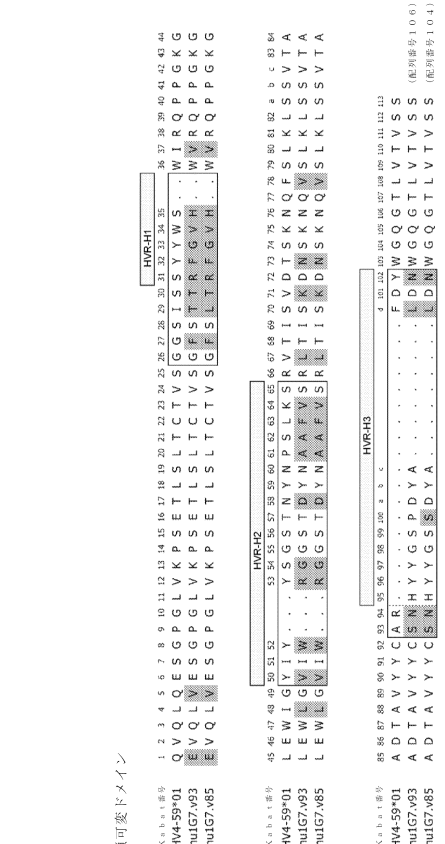
		v1	v1.3	**v1.4**	v1.5	v1.6	v1.7
	v1	27.0			2.0		
W52変異型	**W52F**	253.5	177.0	**119.0**	47.5	81.4	76.6
	W52Y	146.0	641.0	**131.0**	177.0	529.0	136.0
	W52L	103.0	239.0	**92.0**	125.0	250.0	129.0
	W52H	120.0	65.5	**60.4**	67.3	109.0	89.8
M64変異型	M64I	29.8	2.1	2.5	2.7	2.7	2.6
	M64V	27.4	2.5	**2.5***	2.5	2.7	2.5
	M64L	26.5	2.4	2.5	2.3	2.6	2.0
	M64F	25.9	2.2	2.5	1.4	2.6	2.4

V L 変異形

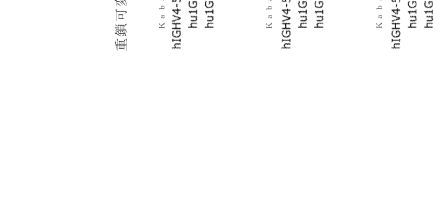
V H 変異形

* 1G7.v85

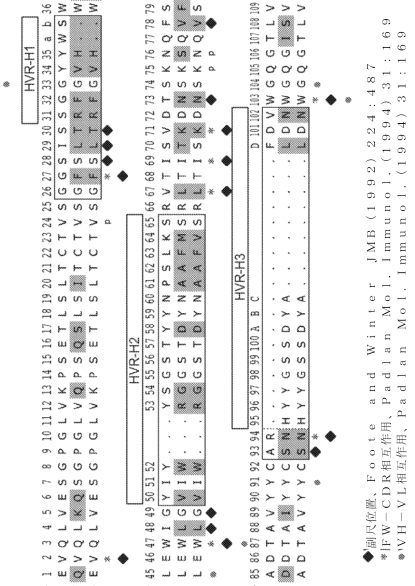
【図５Ａ】



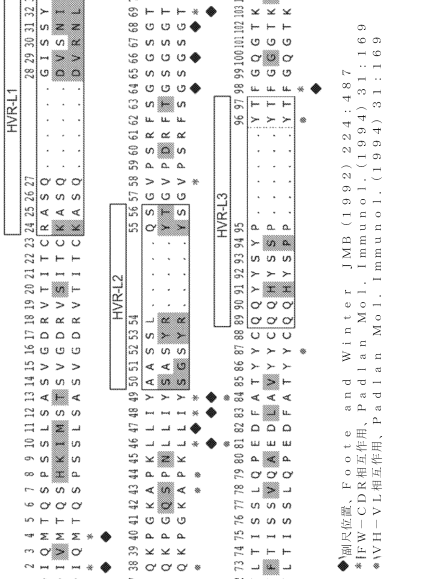
【図５Ｂ】



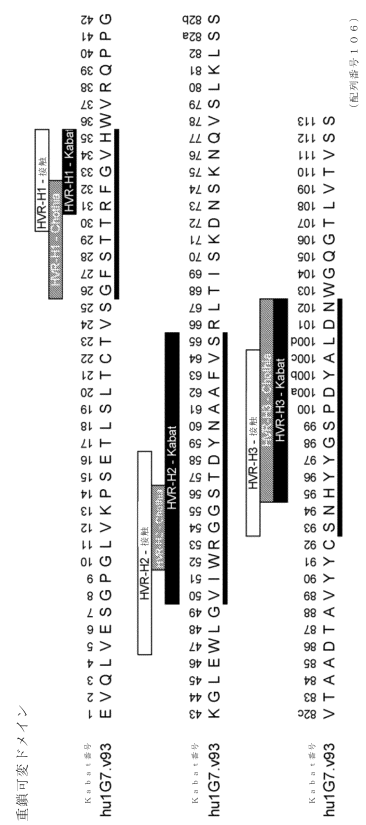
【図６Ａ】



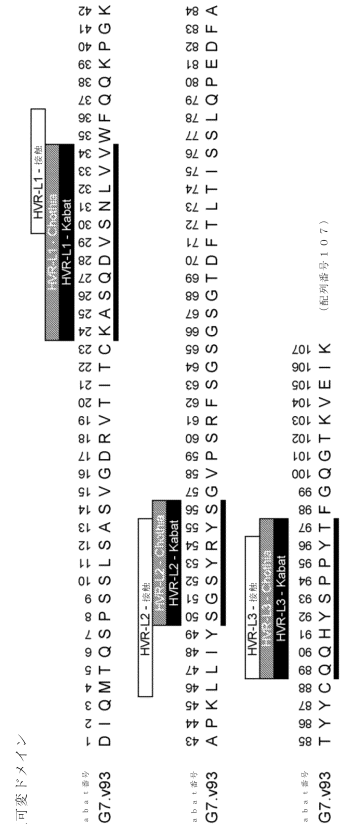
【図６Ｂ】



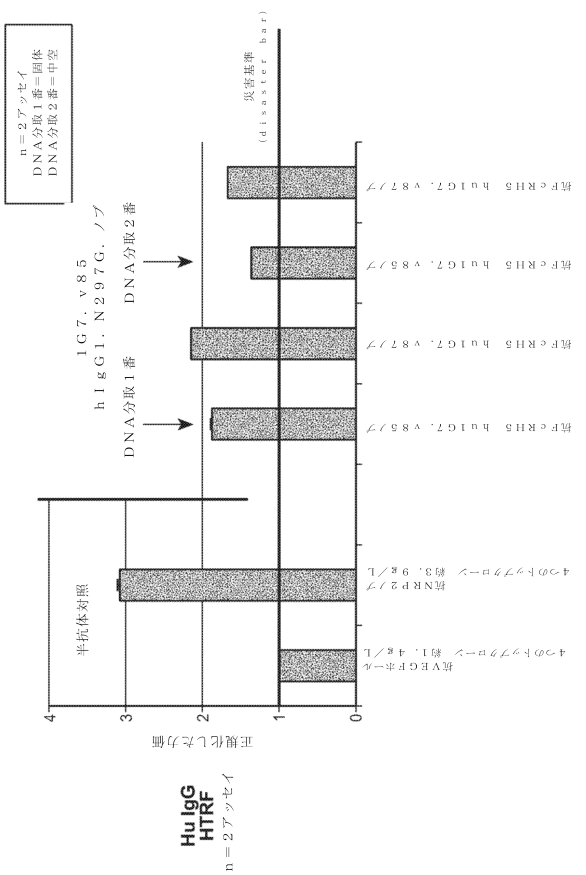
【図７Ａ】



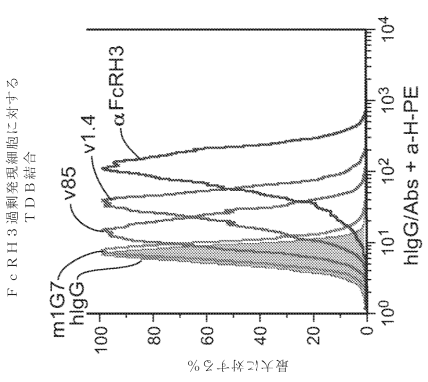
【図７Ｂ】



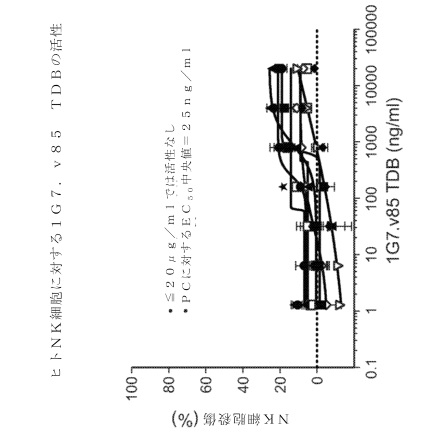
【図８】



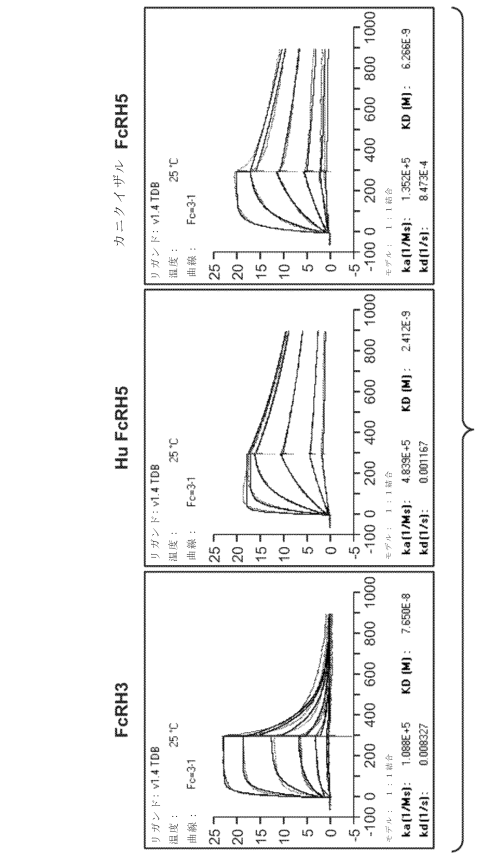
【図９Ａ】



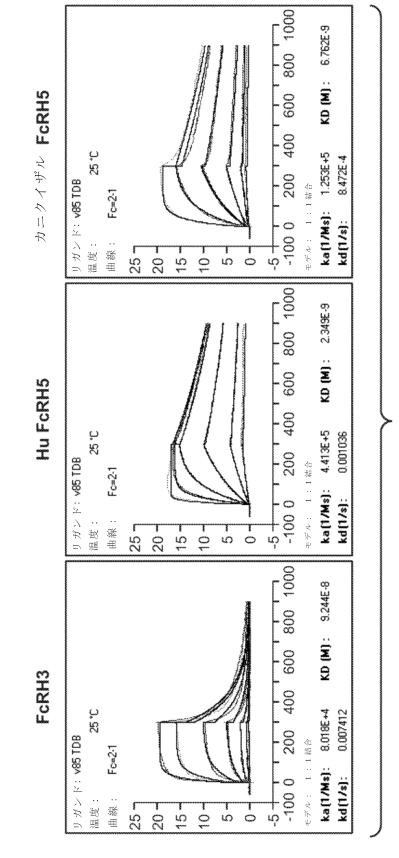
【図９Ｂ】



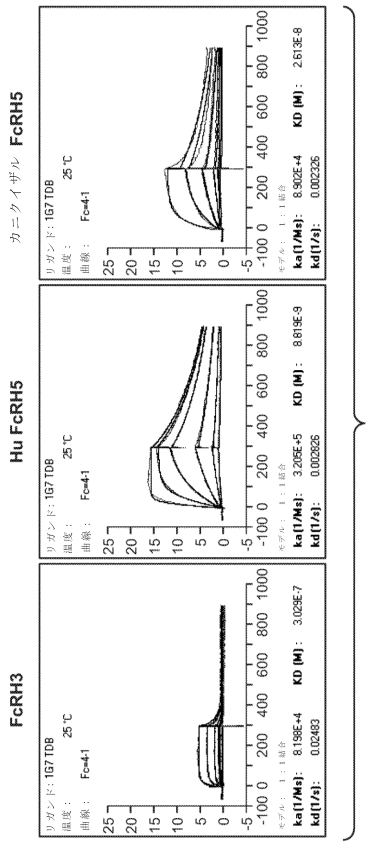
【図１０Ａ】



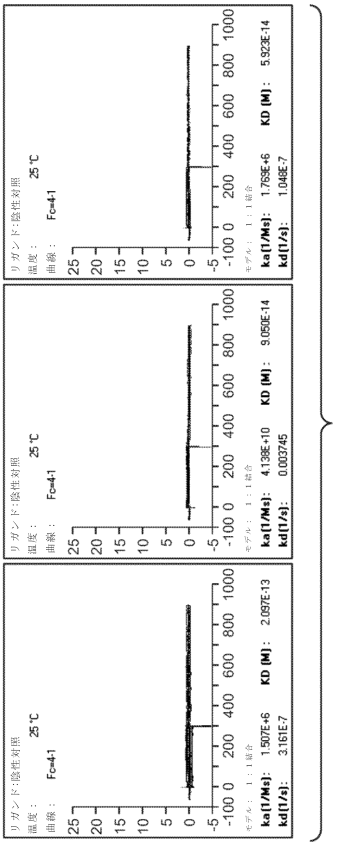
【図１０Ｂ】



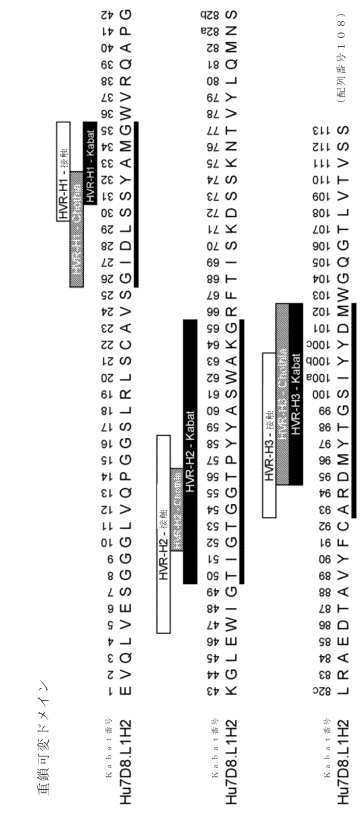
【図１０Ｃ】



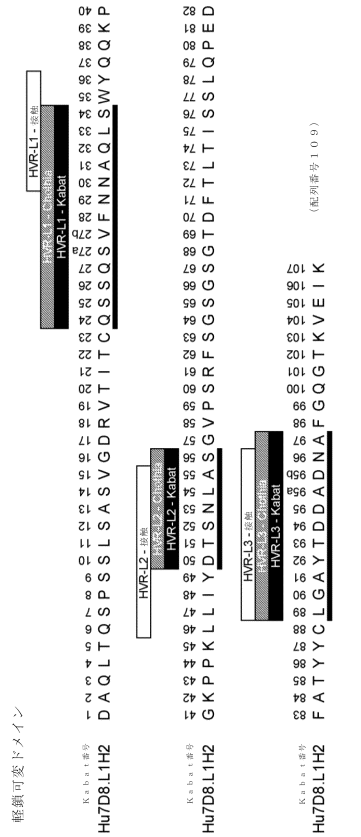
【図１０Ｄ】



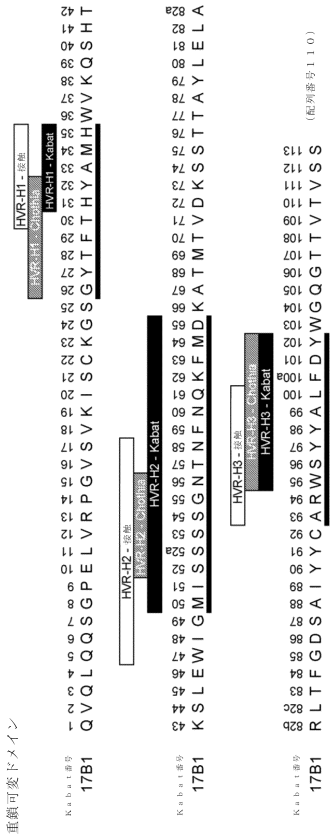
【図１１Ａ】



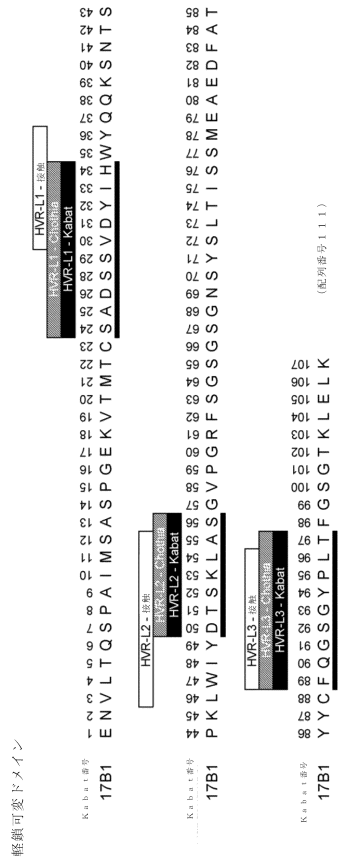
【図１１Ｂ】



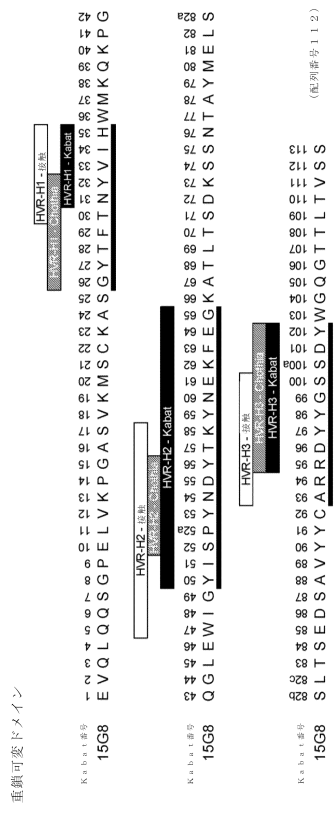
【図１２Ａ】



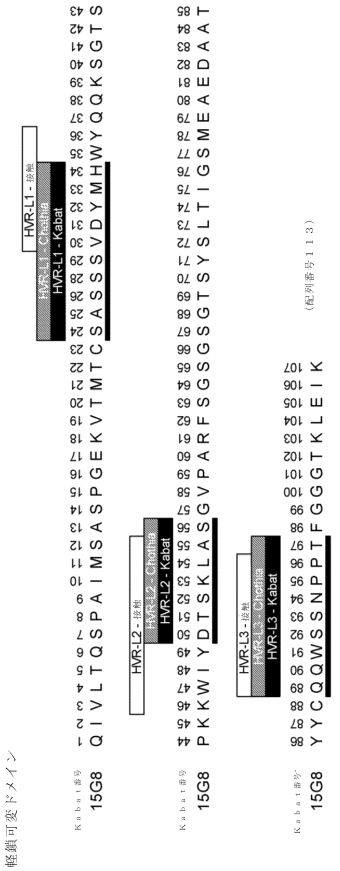
【図１２Ｂ】



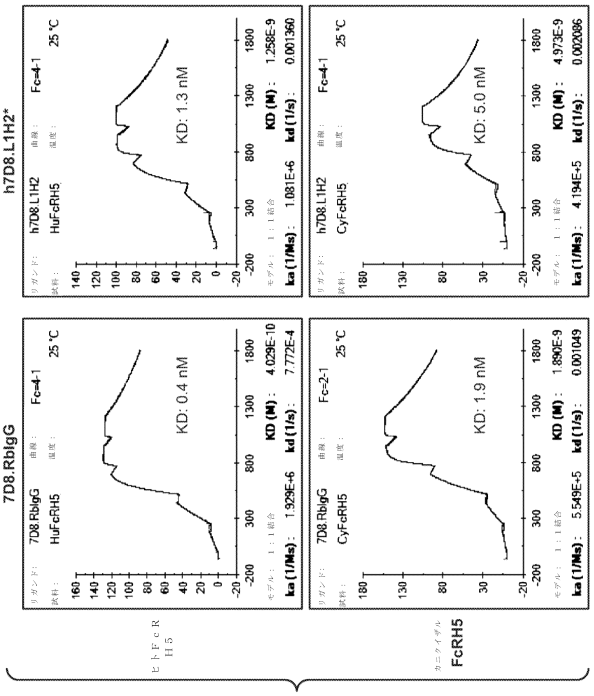
【図１３Ａ】



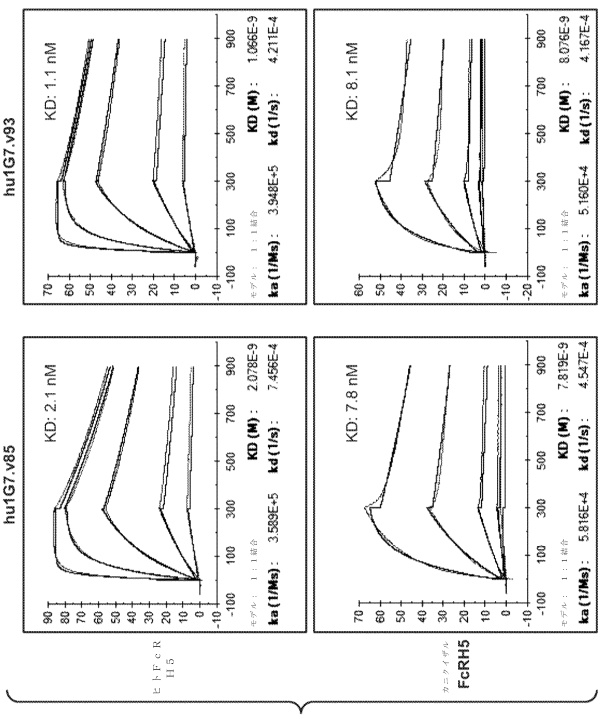
【図１３Ｂ】



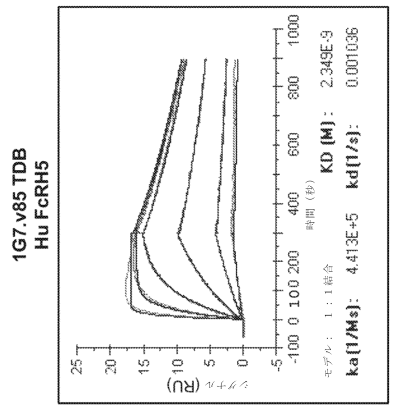
【図１４】



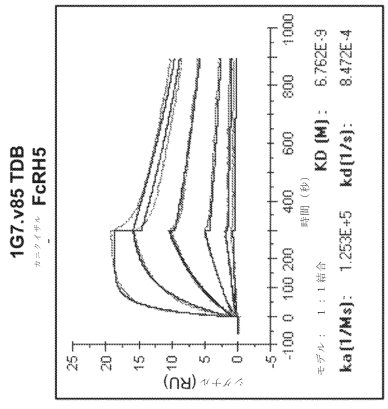
【図１５】



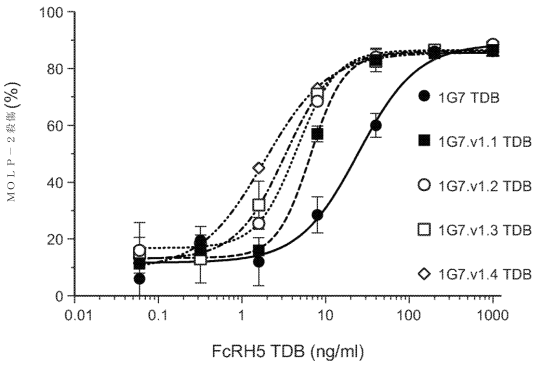
【図１６Ａ】



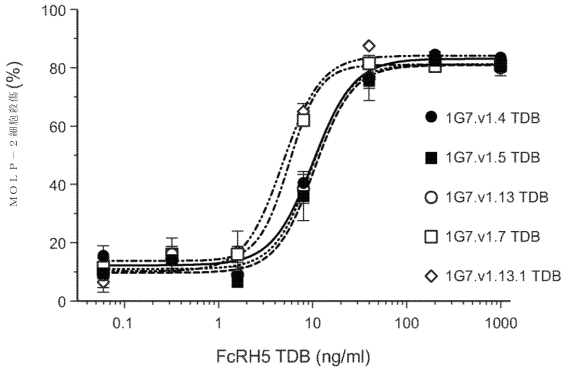
【図１６Ｂ】



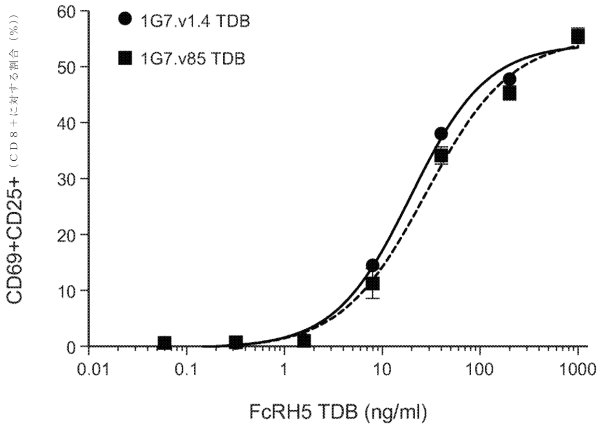
【図１７Ａ】



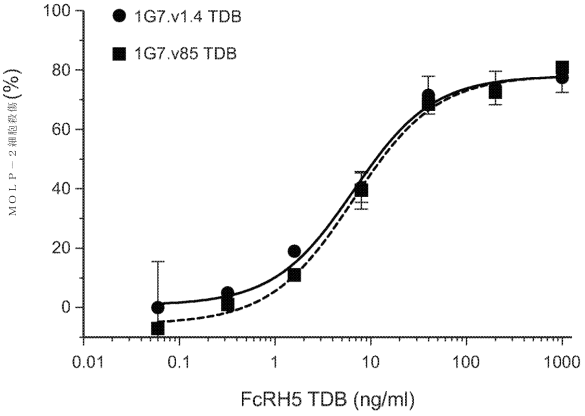
【図１７Ｂ】



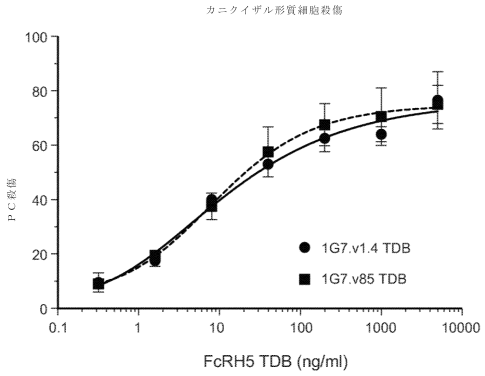
【図１８Ａ】



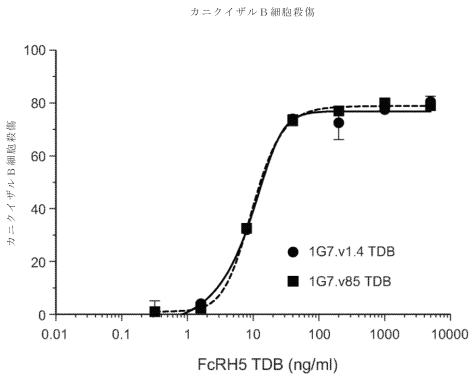
【図１８Ｂ】



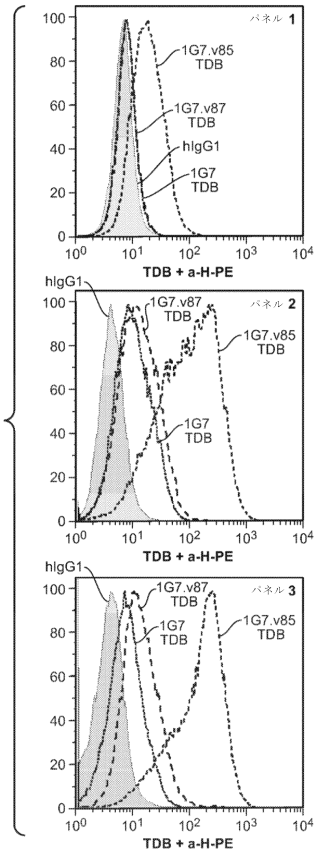
【図１８Ｃ】



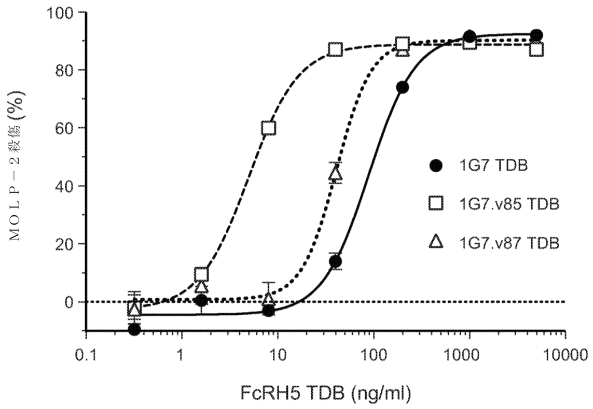
【図１８Ｄ】



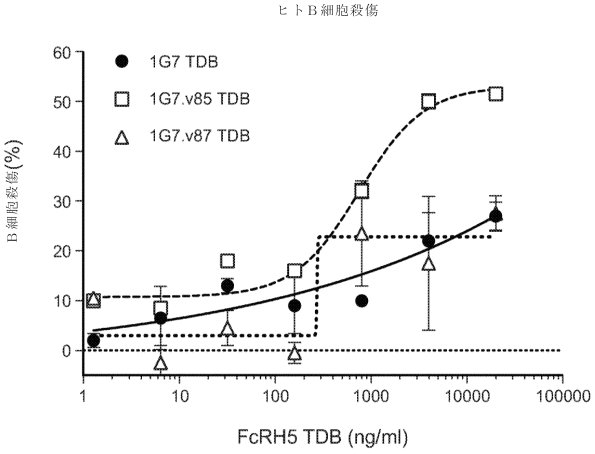
【図１９Ａ】



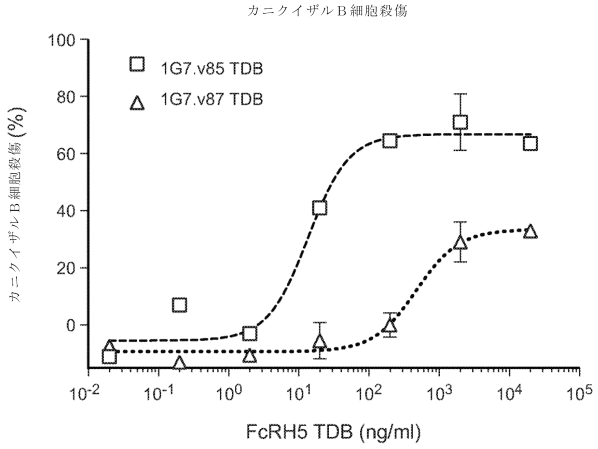
【図１９Ｂ】



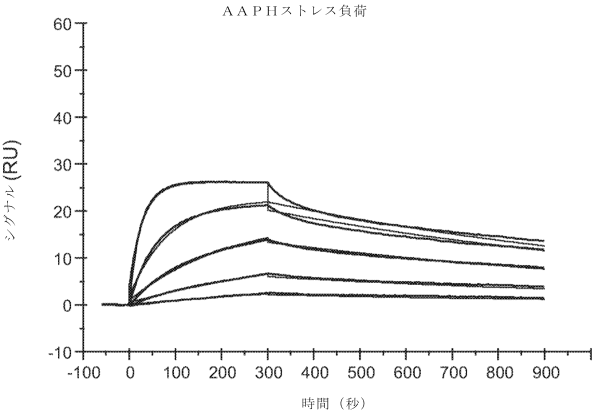
【図１９Ｃ】



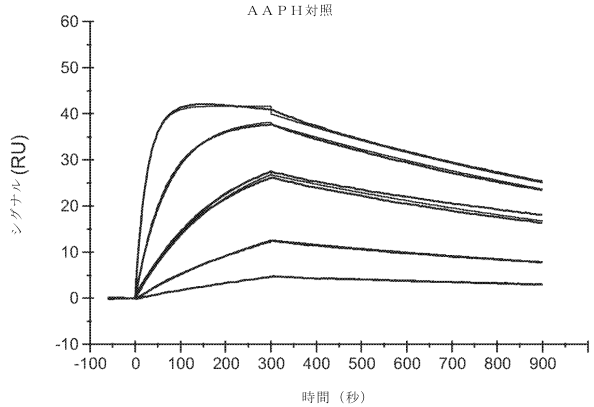
【図１９Ｄ】



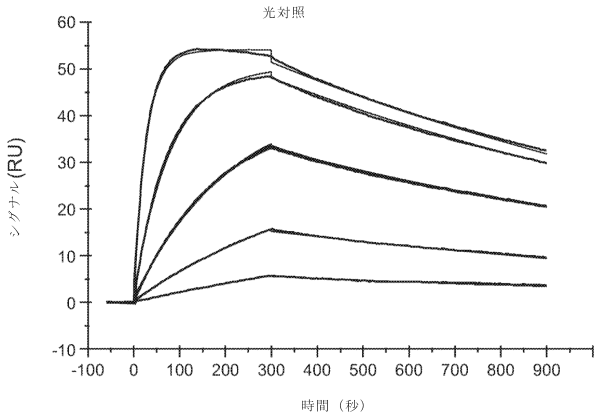
【図２０Ｂ】



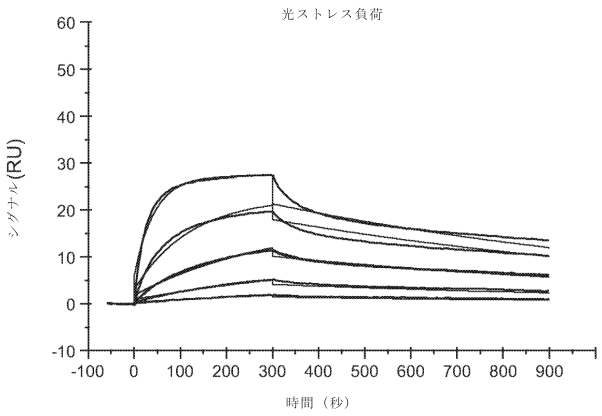
【図２０Ａ】



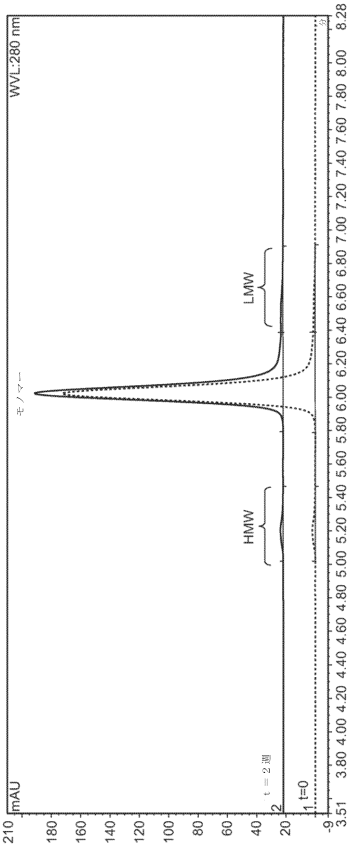
【図２０Ｃ】



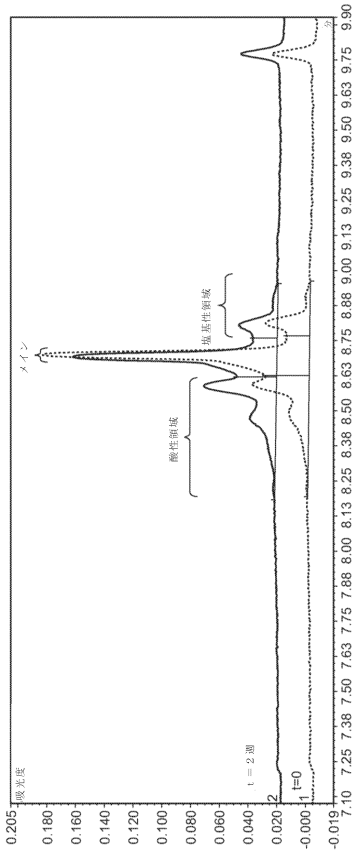
【図２０Ｄ】



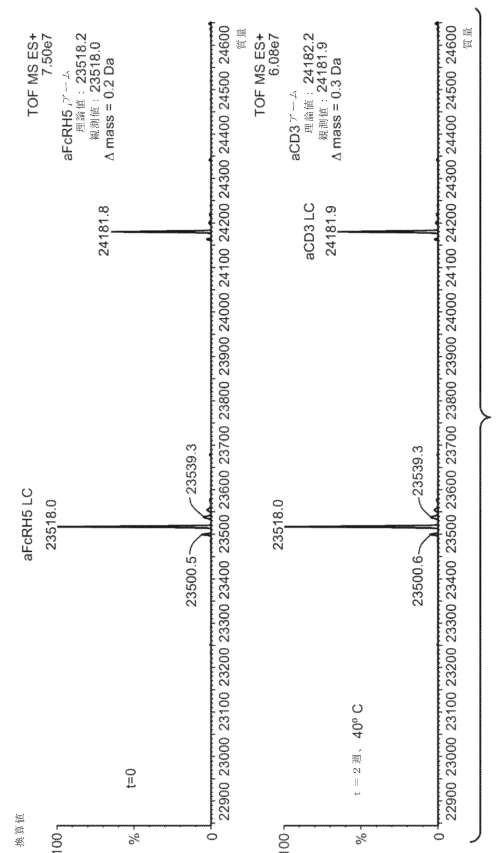
【図２１Ａ】



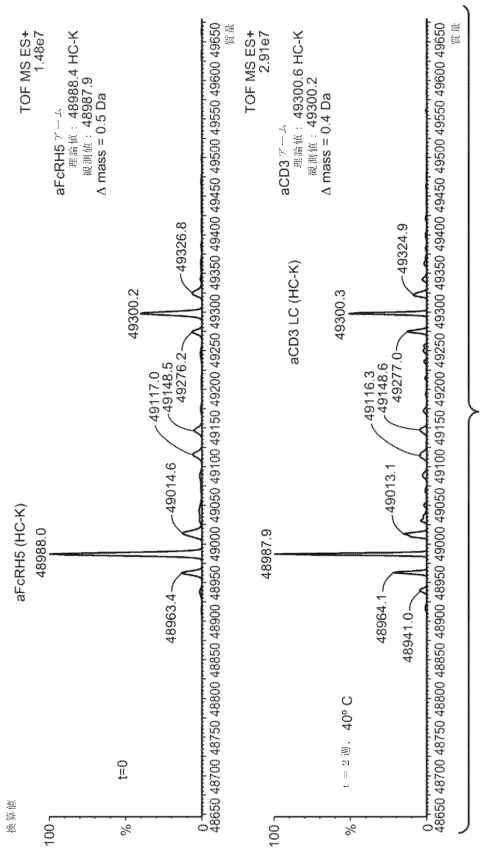
【図２１Ｂ】



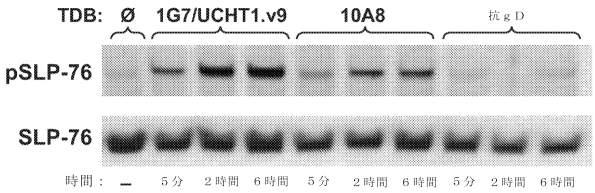
【図２２Ａ】



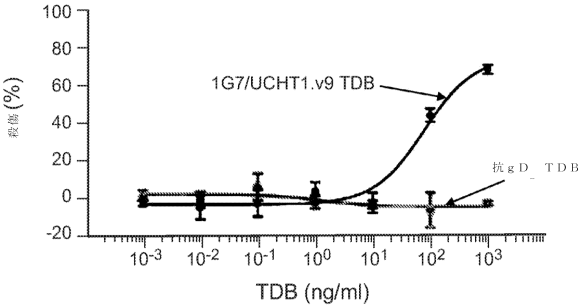
【図２２Ｂ】



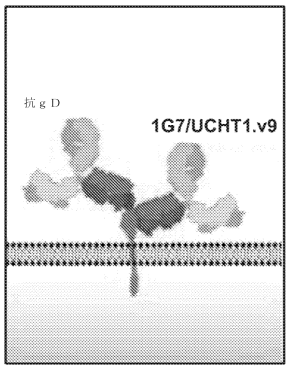
【図２３Ａ】



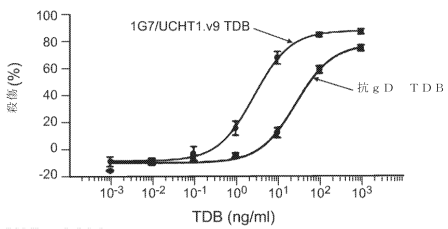
【図２３Ｂ】



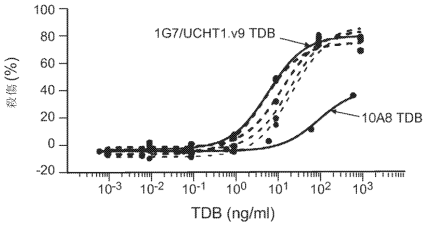
【図２３Ｃ】



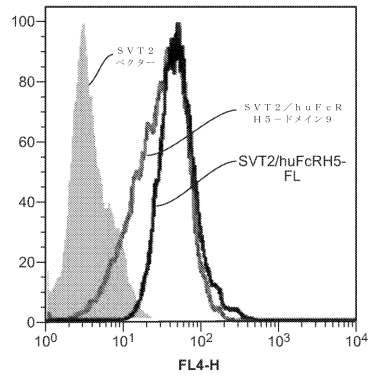
【図２３Ｄ】



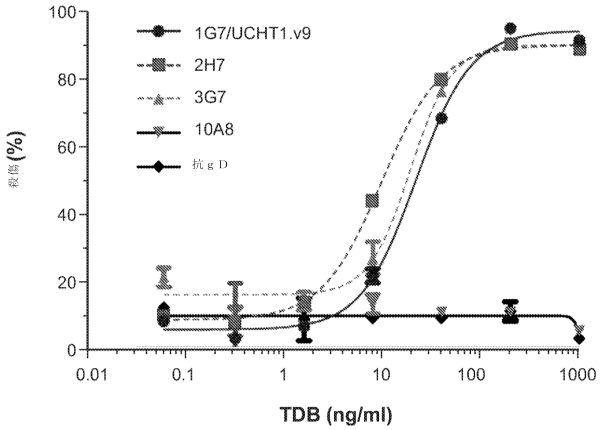
【図２３Ｅ】



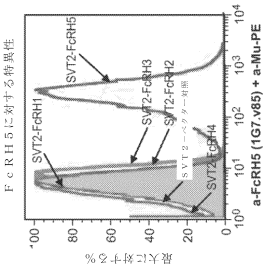
【図２４Ａ】



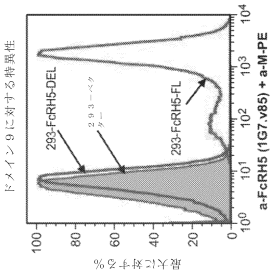
【図２４Ｂ】



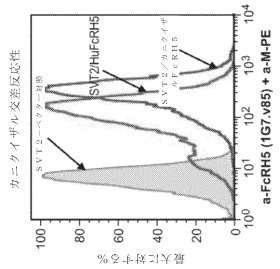
【図２５Ａ】



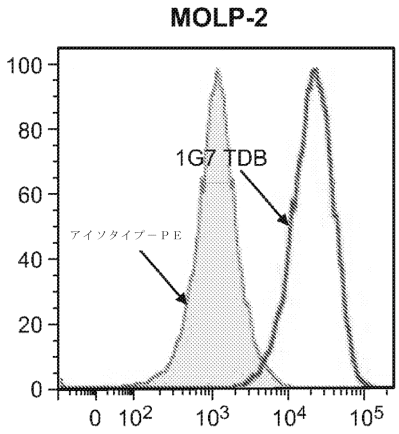
【図２５Ｂ】



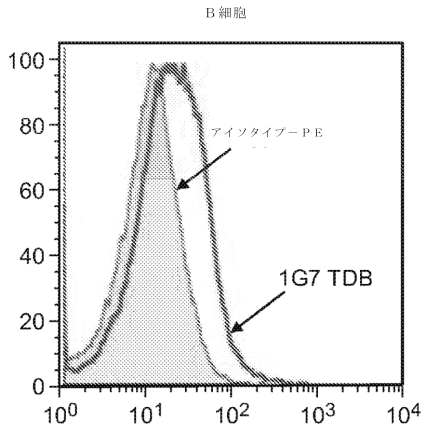
【図２５Ｃ】



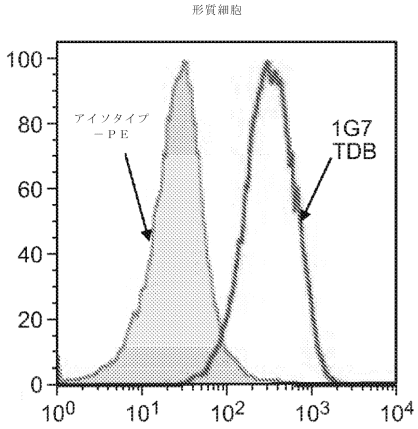
【図２６Ａ】



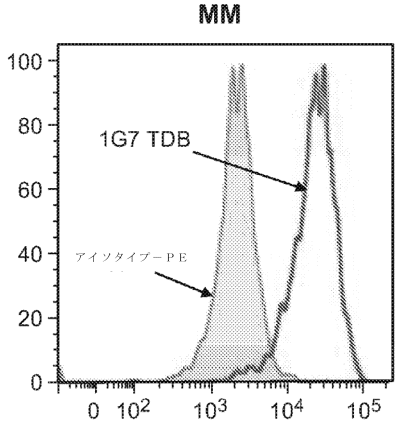
【図２６Ｂ】



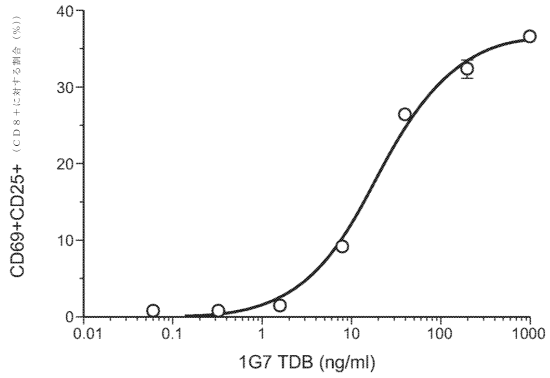
【図２６Ｃ】



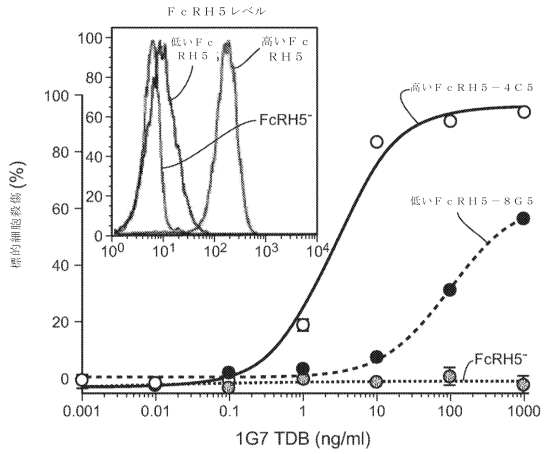
【図２６Ｄ】



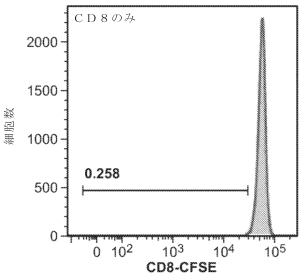
【図２７Ａ】



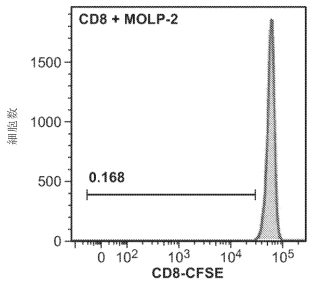
【図２７Ｂ】



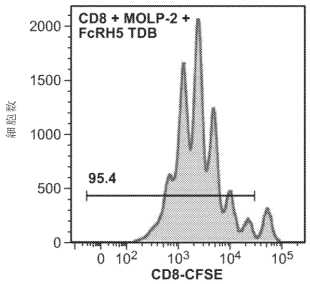
【図２７Ｃ】



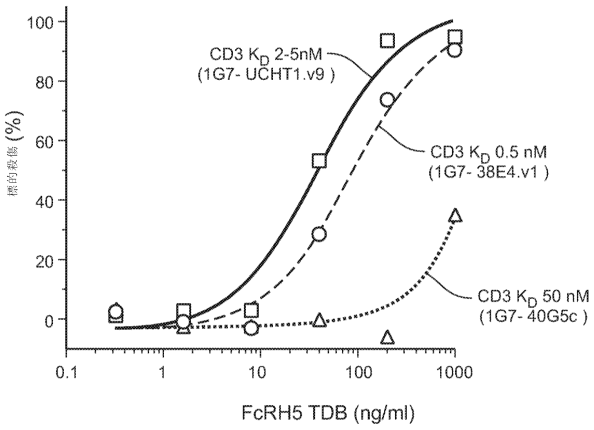
【図２７Ｄ】



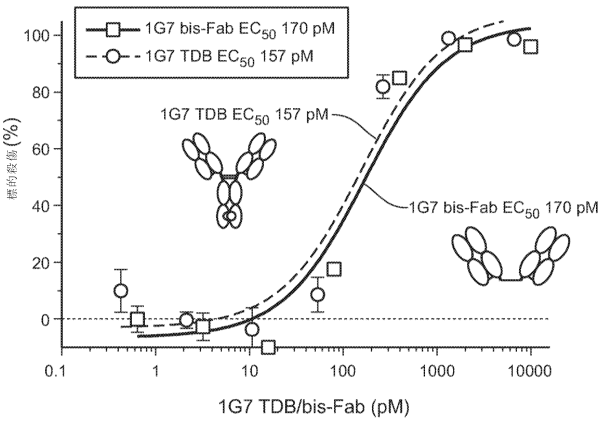
【図２７Ｅ】



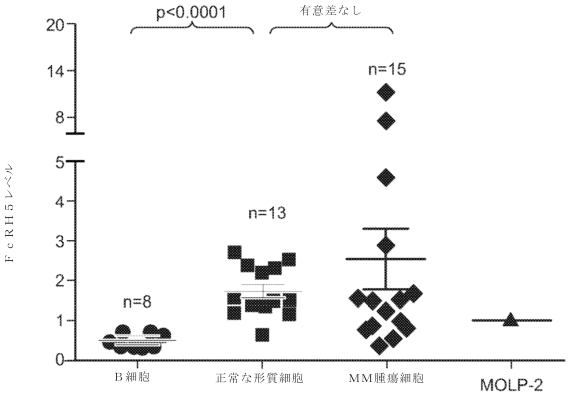
【図２７Ｆ】



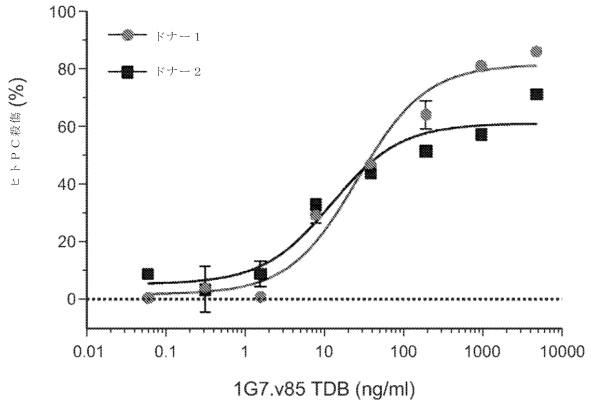
【図２７Ｇ】



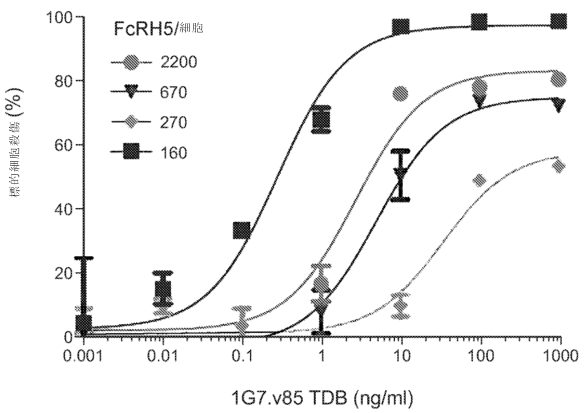
【図２８Ａ】



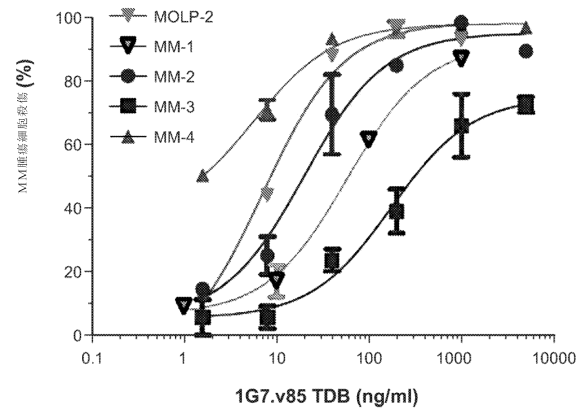
【図２８Ｂ】



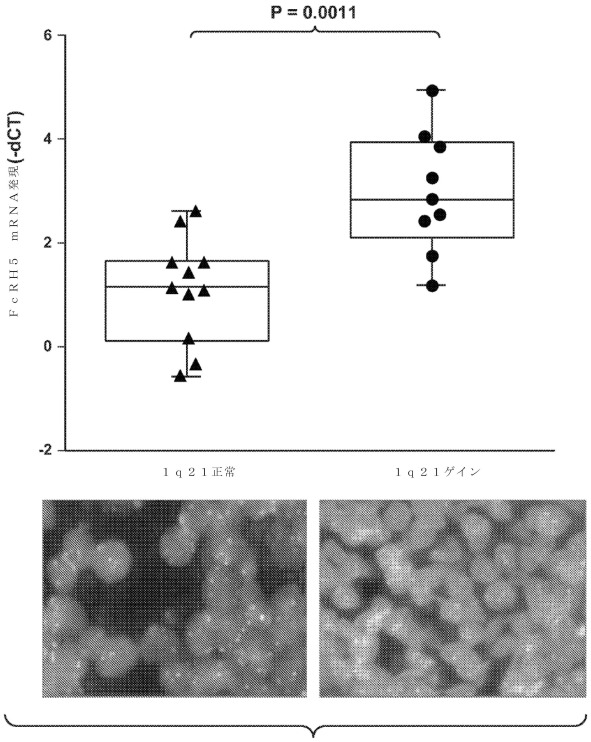
【図２８Ｄ】



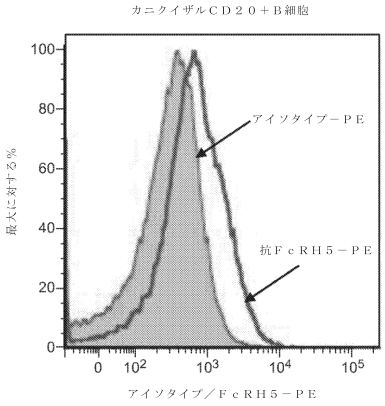
【図２８Ｃ】



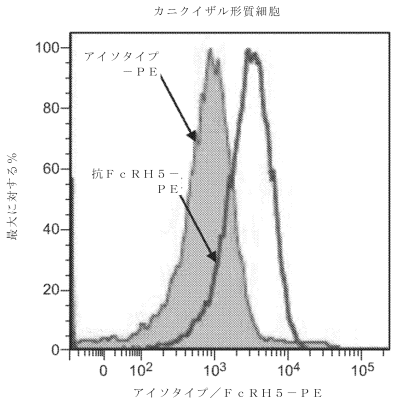
【図２８Ｅ】



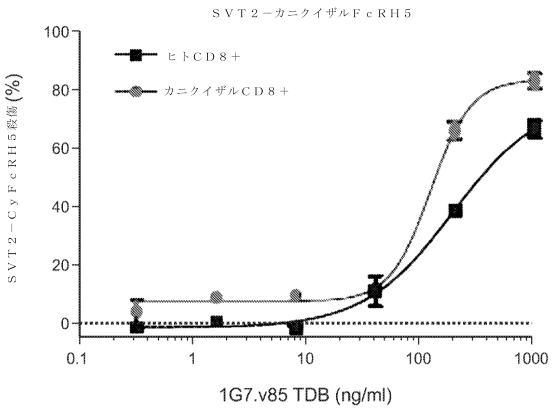
【図２９Ａ】



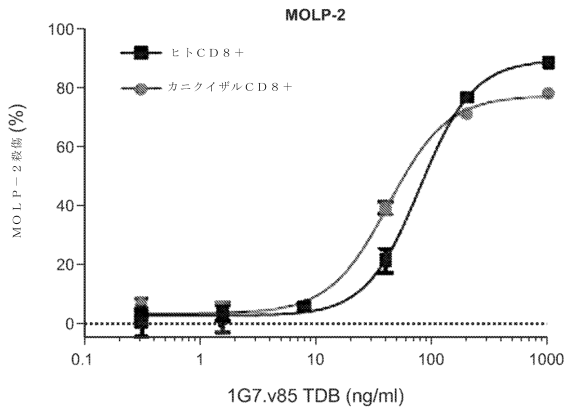
【図２９Ｂ】



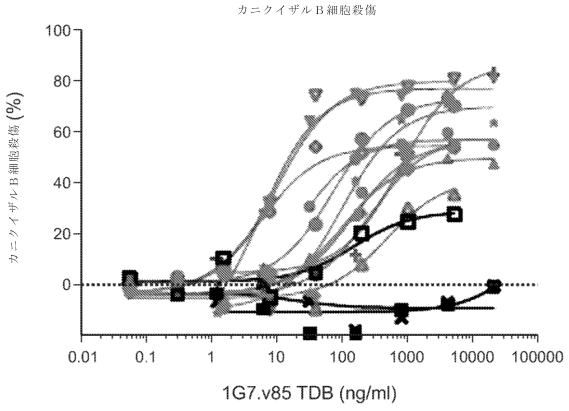
【図２９Ｃ】



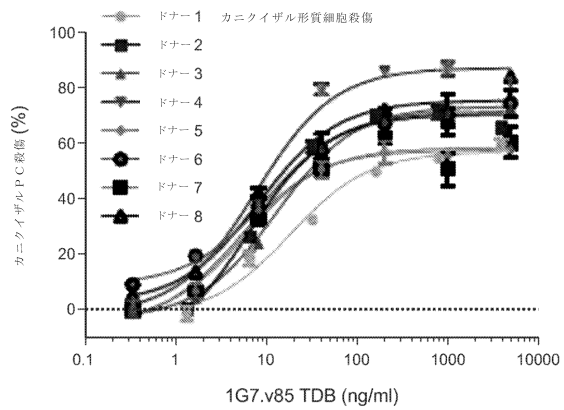
【図２９Ｄ】



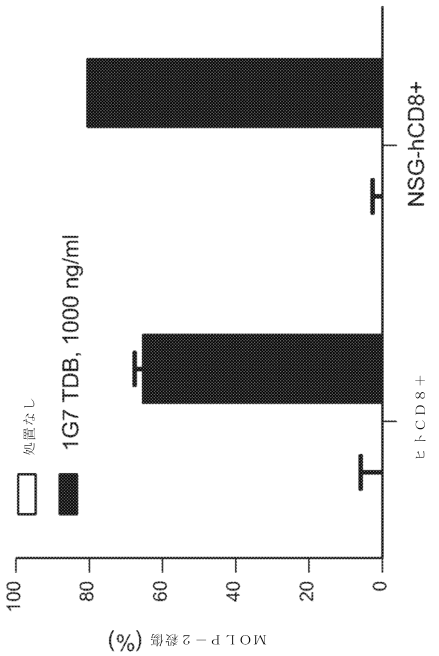
【図２９Ｅ】



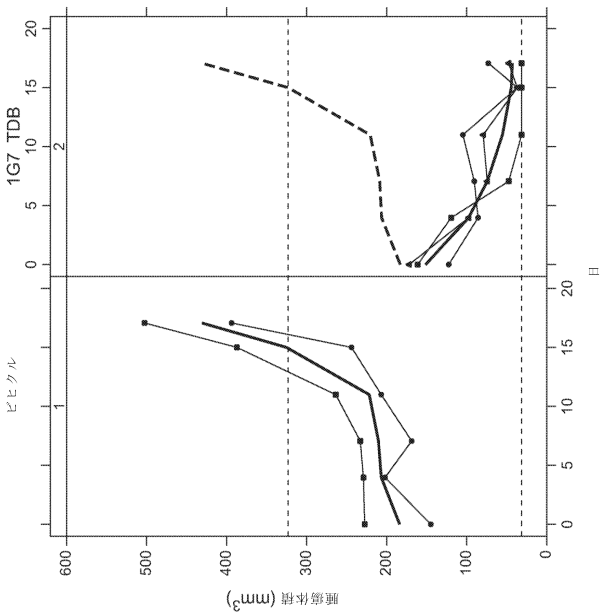
【図２９Ｆ】



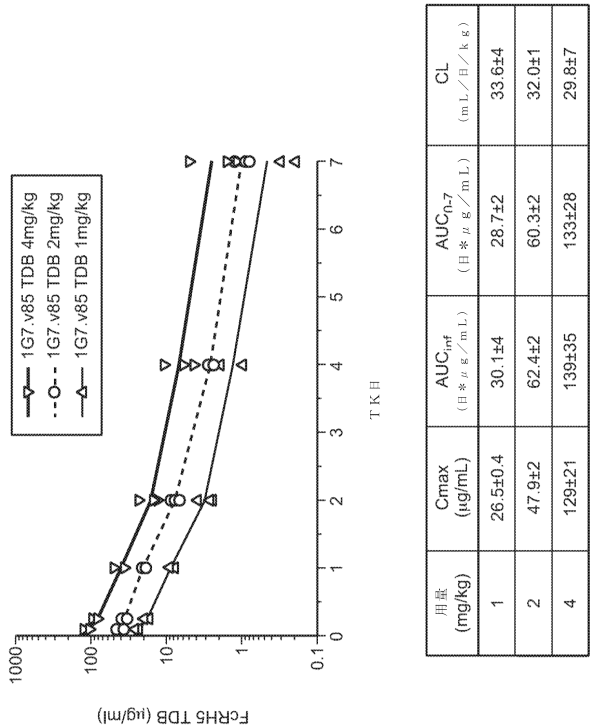
【図３０Ａ】



【図３０Ｂ】

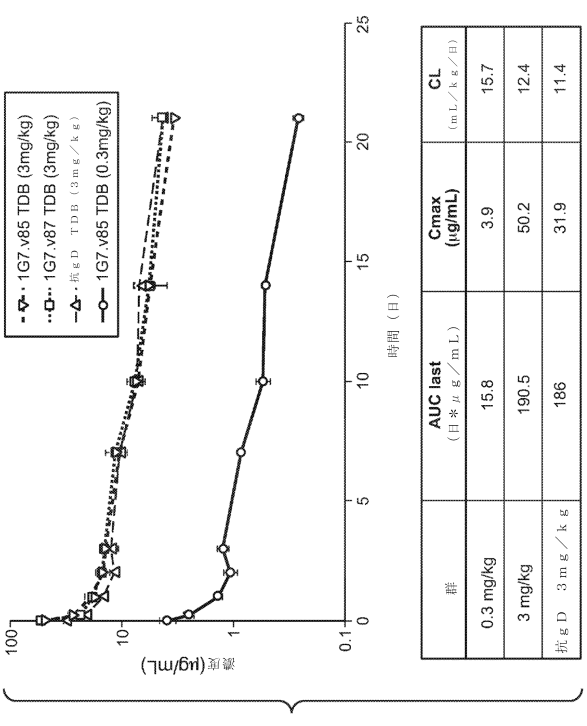


【図３１Ａ】



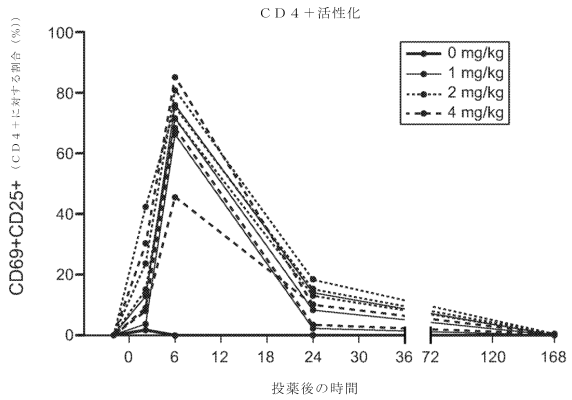
用量 (mg/kg)	Cmax (μg/mL)	AUC_{inf} (日＊μg／mL)	AUC_{0-7} (日＊μg／mL)	CL (mL／日／kg)
1	26.5±0.4	30.1±4	28.7±2	33.6±4
2	47.9±2	62.4±2	60.3±2	32.0±1
4	129±21	139±35	133±28	29.8±7

【図３１Ｂ】

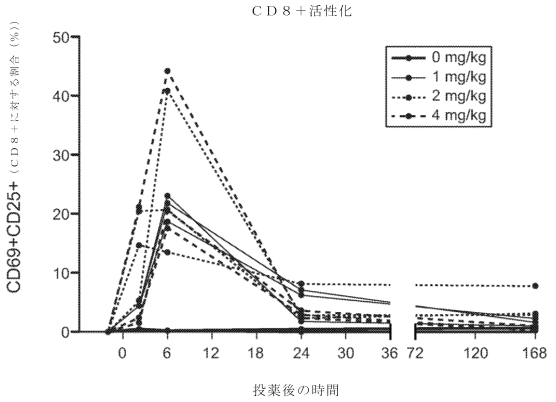


群	AUC last (日＊μg／mL)	Cmax (μg/mL)	CL (mL／kg／日)
0.3 mg/kg	15.8	3.9	15.7
3 mg/kg	190.5	50.2	12.4
抗gD 3mg／kg	186	31.9	11.4

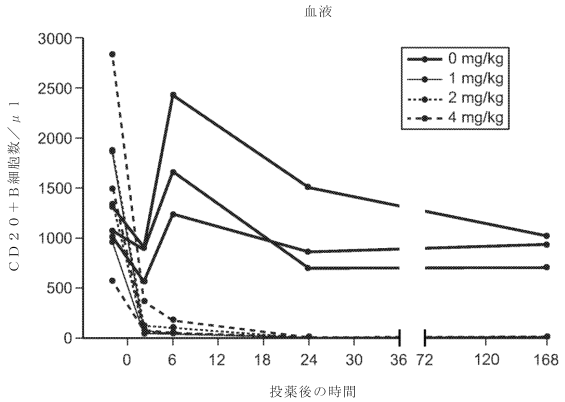
【図３１Ｃ】



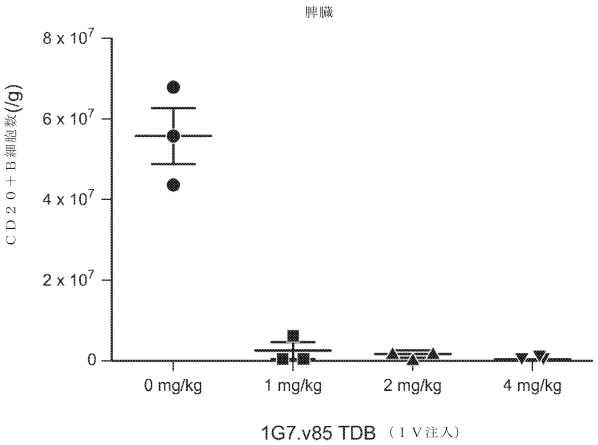
【図３１Ｄ】



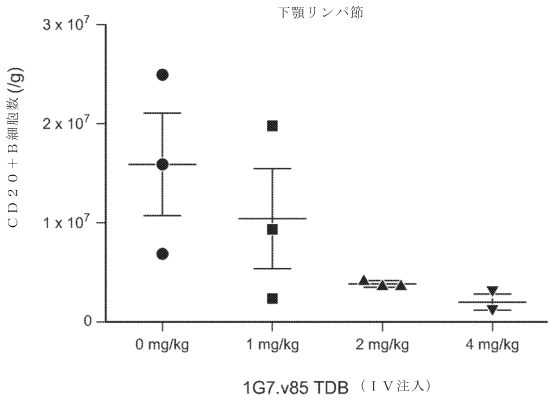
【図３１Ｅ】



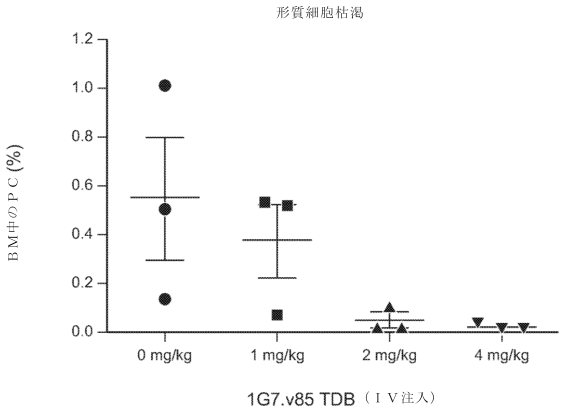
【図３１Ｆ】



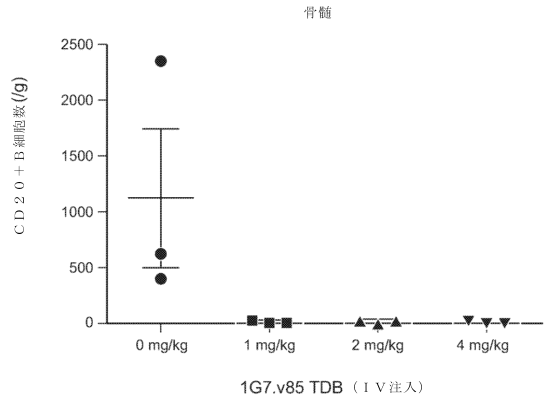
【図３１Ｇ】



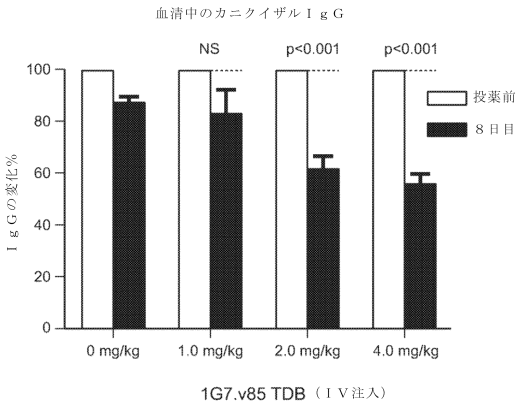
【図３１Ｉ】



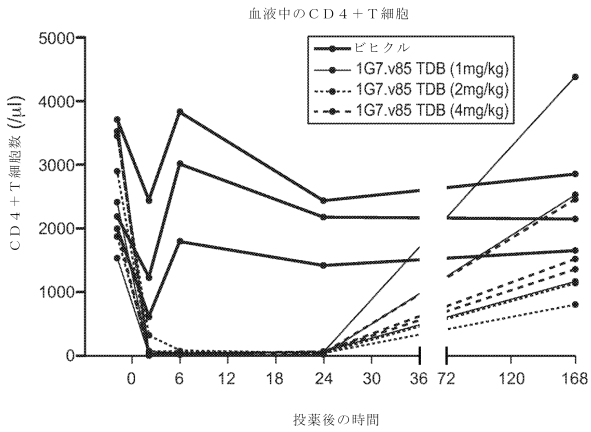
【図３１Ｈ】



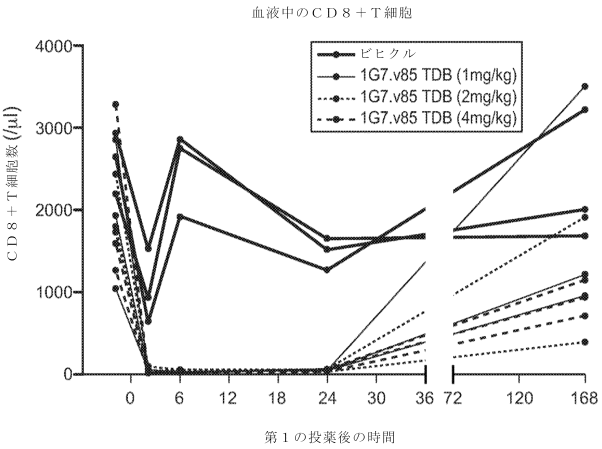
【図３１Ｊ】



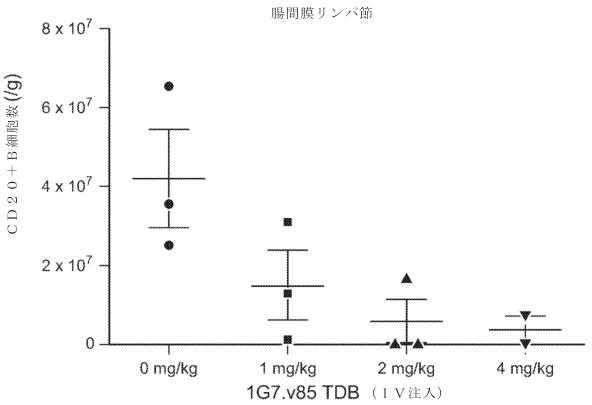
【図３２Ａ】



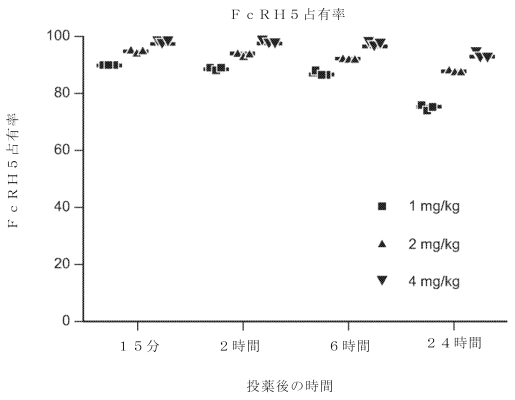
【図３２Ｂ】



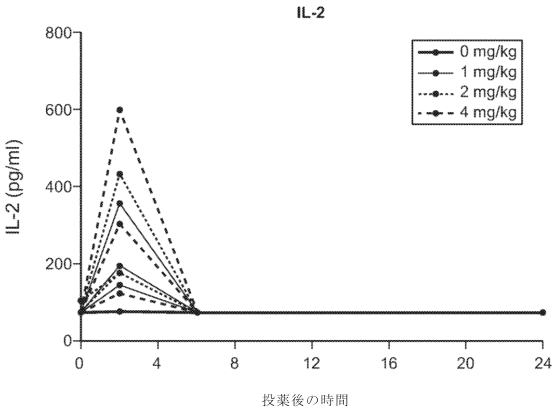
【図３２Ｃ】



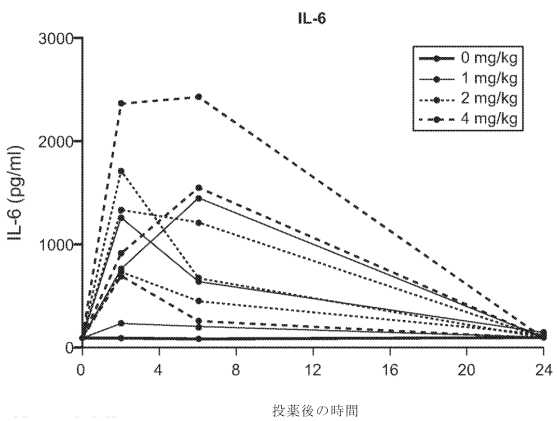
【図３２Ｄ】



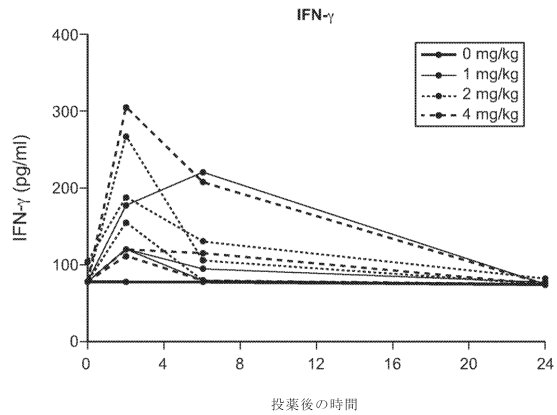
【図３３Ｂ】



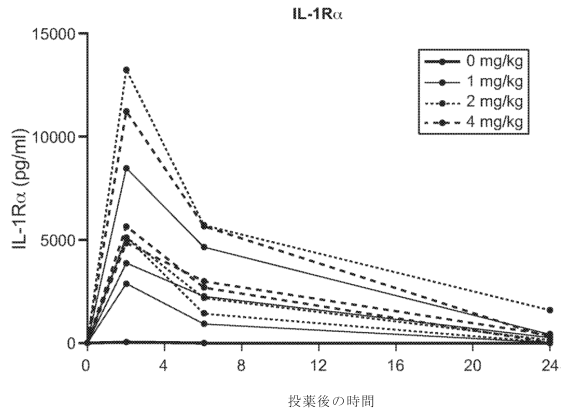
【図３３Ａ】



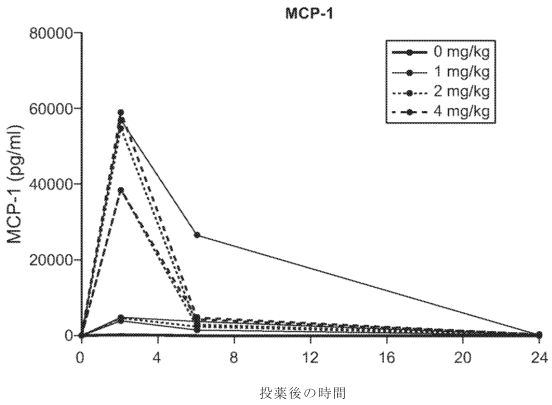
【図３３Ｃ】



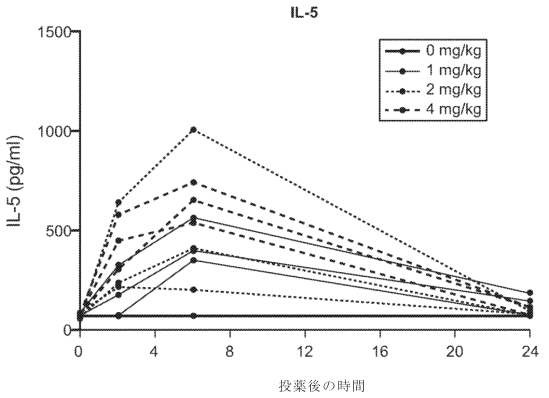
【図３３Ｄ】



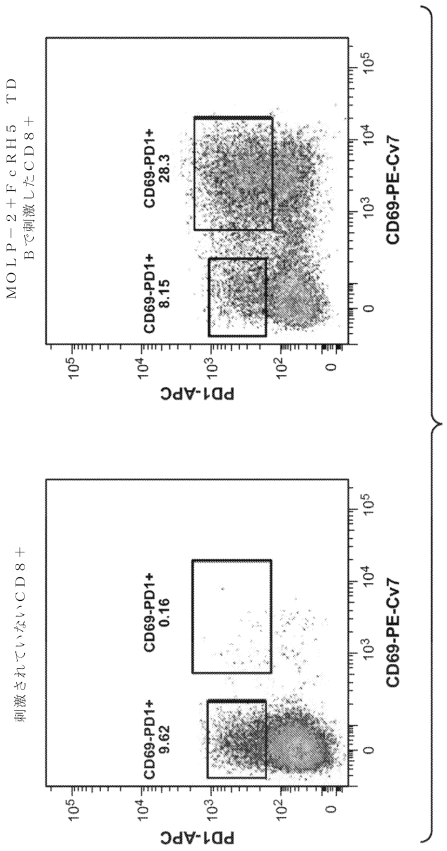
【図３３Ｆ】



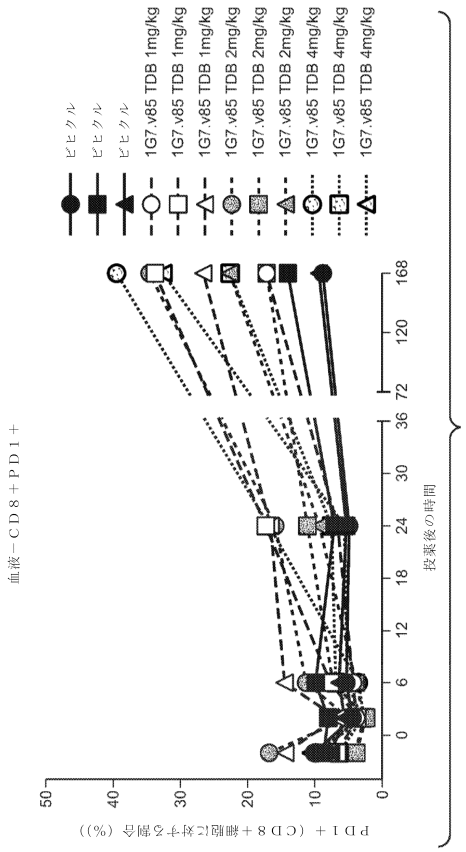
【図３３Ｅ】



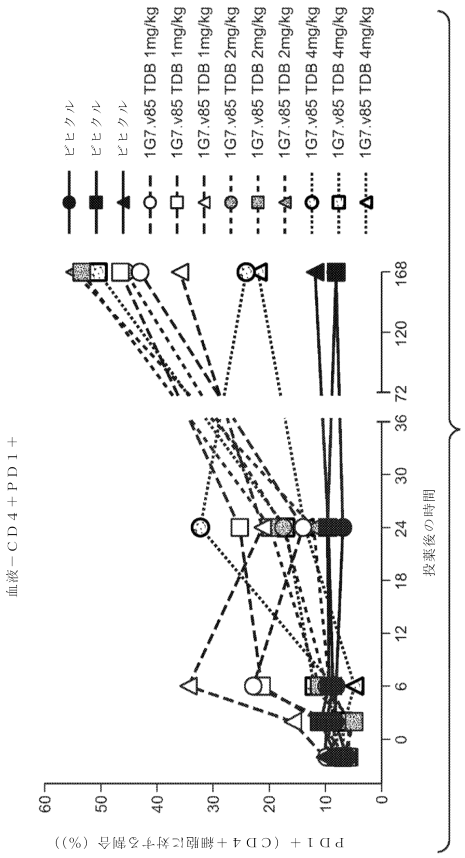
【図３４】



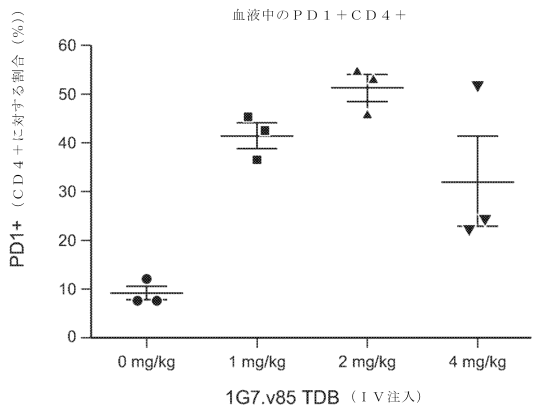
【図３５Ａ】



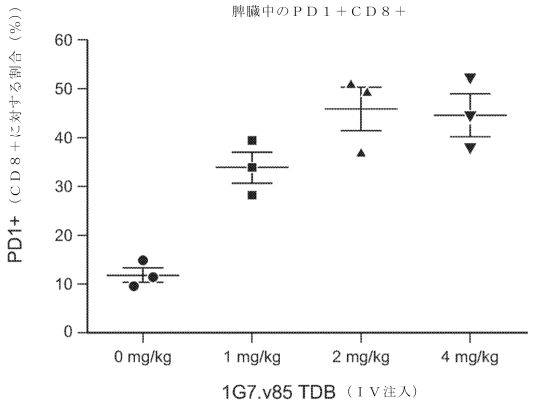
【図３５Ｂ】



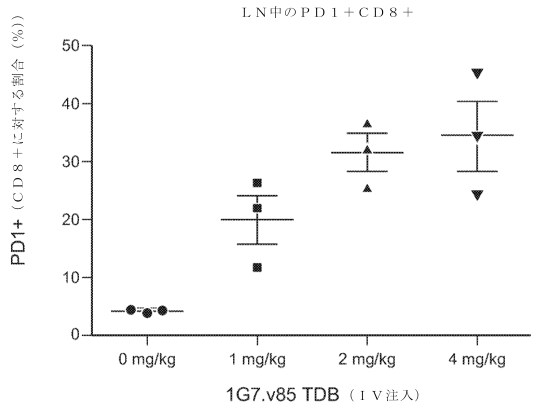
【図３６Ａ】



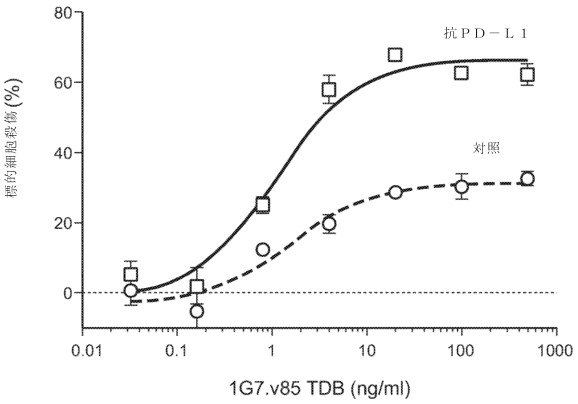
【図３６Ｂ】



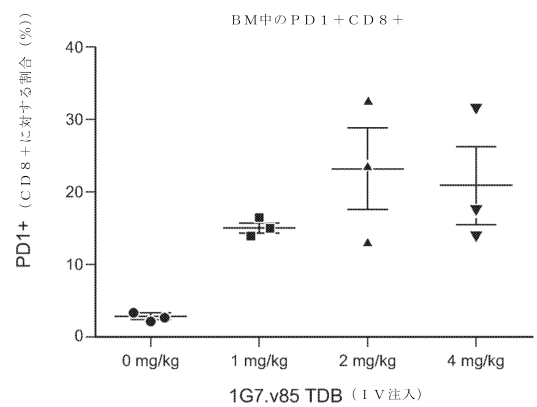
【図３６Ｃ】



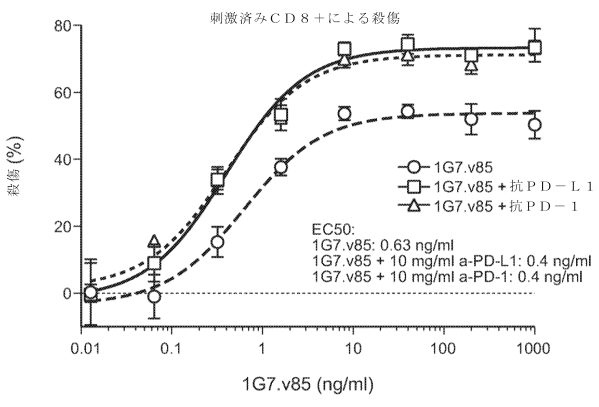
【図３７Ａ】



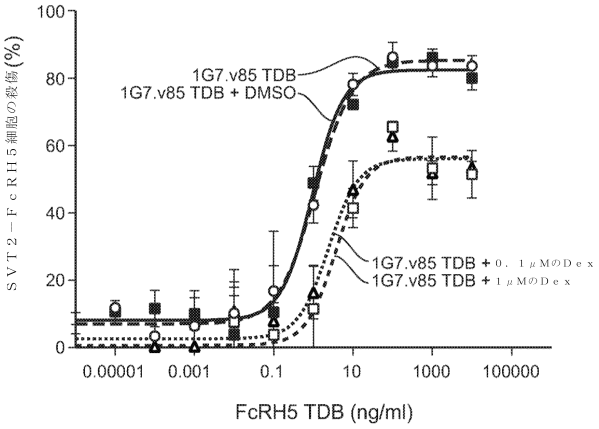
【図３６Ｄ】



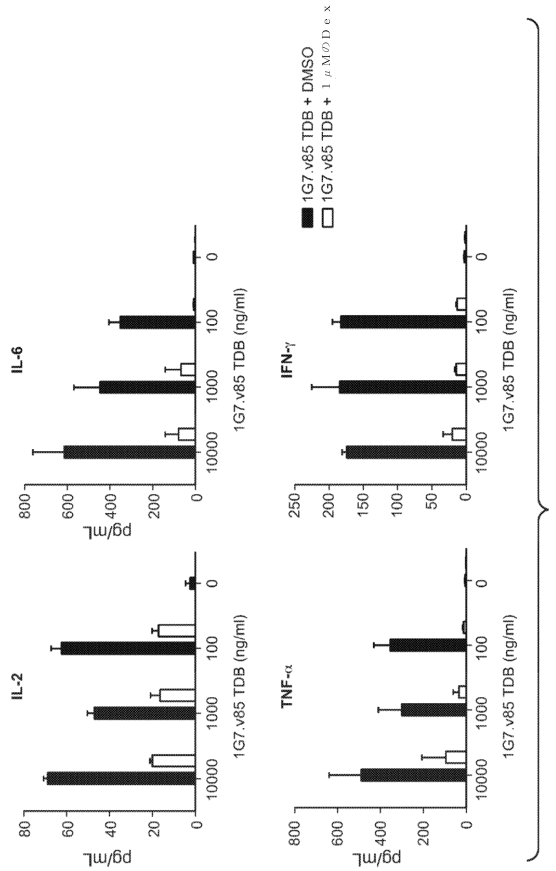
【図３７Ｂ】



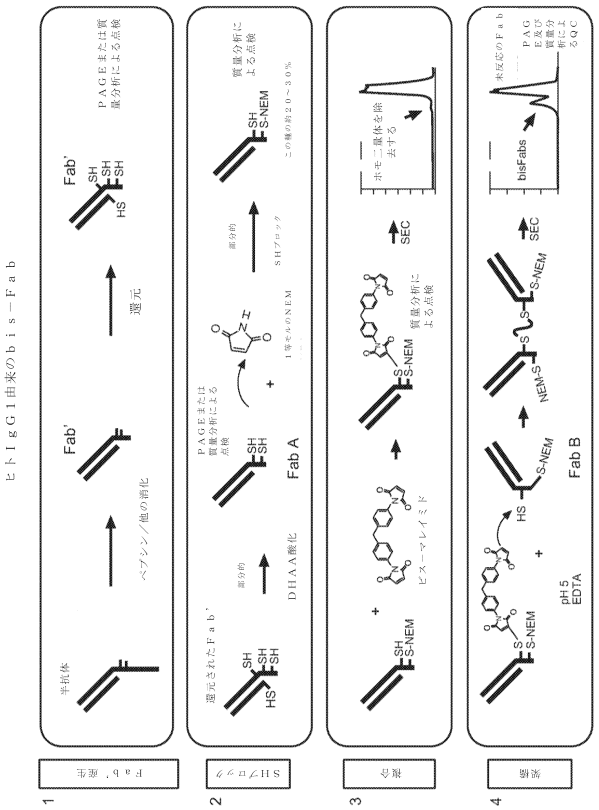
【図３８Ａ】



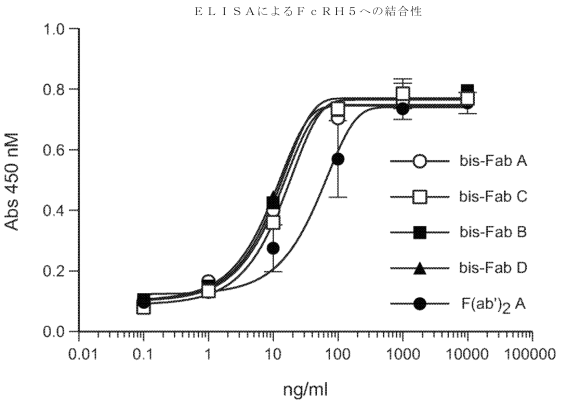
【図３８Ｂ】



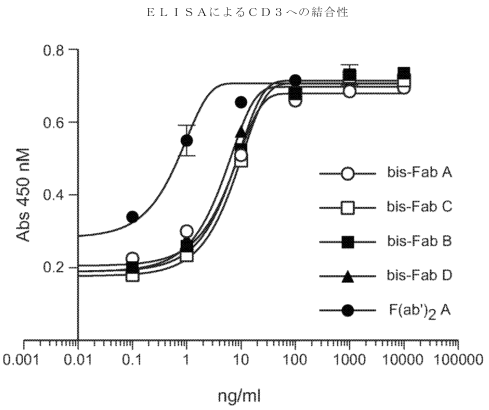
【図３９】



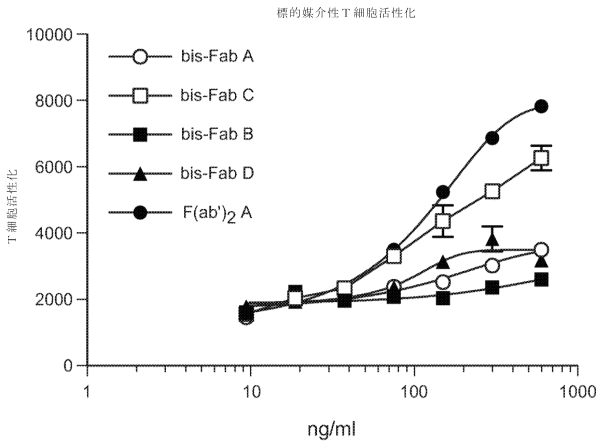
【図４０Ａ】



【図４０Ｂ】



【図４１】



【配列表】

0006871874000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		
C12N 15/85	*(2006.01)*	C12N	15/85	Z
C12N 15/70	*(2006.01)*	C12N	15/70	Z
C12N 1/21	*(2006.01)*	C12N	1/21	
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08	
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	T
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	35/00	
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	45/00	
A61P 35/02	*(2006.01)*	A61P	35/02	
A61K 31/573	*(2006.01)*	A61K	31/573	
A61K 31/4439	*(2006.01)*	A61K	31/4439	
A61K 31/69	*(2006.01)*	A61K	31/69	
C12N 1/19	*(2006.01)*	C12N	1/19	
C12N 1/15	*(2006.01)*	C12N	1/15	
C12N 15/63	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z

(72)発明者 リー, チー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1
(72)発明者 シーア, ジャスティン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1
(72)発明者 ディカーラ, ダニエル
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1
(72)発明者 エラーマン, ディエゴ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1
(72)発明者 シュピース, クリストフ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1
(72)発明者 カーター, ポール
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1

審査官 坂崎 恵美子

(56)参考文献 国際公開第２０１４／２１００６４（WO, A1）
米国特許出願公開第２０１５／０１６６６１（US, A1）
Protein Engineering, Design & Selection, ２０１０年, Vol.23, No.8, p.667-677

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
Ｃ１２Ｎ １５／１３
Ｃ０７Ｋ １６／２８
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＷＰＩＤＳ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）