

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2022-501428

(P2022-501428A)

(43) 公表日 令和4年1月6日 (2022. 1. 6)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/28 (2006. 01)	C 0 7 K 16/28 Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/13 (2006. 01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/63 (2006. 01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/15 (2006. 01)	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/19 (2006. 01)	C 1 2 N 1/19	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 173 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2021-539483 (P2021-539483)	(71) 出願人	502375437
(86) (22) 出願日	令和1年9月17日 (2019. 9. 17)		アイカーン スクール オブ メディシン
(85) 翻訳文提出日	令和3年5月14日 (2021. 5. 14)		アット マウント シナイ
(86) 国際出願番号	PCT/US2019/051529		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 0 0
(87) 国際公開番号	W02020/061059		2 9 - 6 5 4 7 ニューヨーク ワン グ
(87) 国際公開日	令和2年3月26日 (2020. 3. 26)		スタフ エル レビー プレイス
(31) 優先権主張番号	62/732, 299	(71) 出願人	518045694
(32) 優先日	平成30年9月17日 (2018. 9. 17)		ザ メソディスト ホスピタル
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		アメリカ合衆国 7 7 0 3 0 テキサス
(31) 優先権主張番号	62/732, 334		ヒューストン ファニン 6 5 6 5 エム
(32) 優先日	平成30年9月17日 (2018. 9. 17)		エス ディー-2 0 0
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100092783
			弁理士 小林 浩
		(74) 代理人	100120134
			弁理士 大森 規雄
		最終頁に続く	

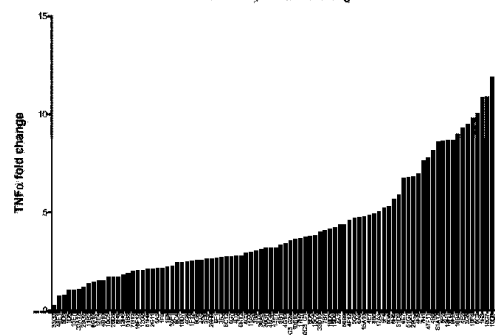
(54) 【発明の名称】 抗 L I L R B 2 抗体およびその使用の方法

(57) 【要約】

L I L R B 2 に特異的に結合する抗体および抗体断片が開示される。L I L R B 2 に特異的に結合する抗体および抗体断片を含む組成物ならびにその使用の方法もまた、本明細書に提供される。関連のキメラ抗原受容体 (C A R) およびそれを含む細胞 (例えば、T 細胞、ナチュラルキラー細胞またはマクロファージ)、ならびに腫瘍を標的化しそれを死滅させること、喘息処置、または (例えば、感染または感染性疾患を処置するために) 感染細胞を標的化しそれを除去すること、または自己免疫疾患もしくは移植片拒絶に関与する免疫系細胞を抑制することにおける C A R および細胞の使用もまた提供される。

FIG. 1A

AntiLILRB2, TNFα fold change



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

白血球免疫グロブリン様受容体 B 2 (L I L R B 2) に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、

(a) 配列番号 2 2 5 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域 1 (H C D R 1)、配列番号 2 3 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 4 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H) ; ならびに配列番号 2 4 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 (L C D R 1)、配列番号 2 0 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 1 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L) ;

10

(b) 配列番号 8 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 5 8 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 5 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 0 を含む L C D R 3 を含む V L ;

(c) 配列番号 9 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 5 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

20

(d) 配列番号 9 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

(e) 配列番号 9 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 7 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

30

(f) 配列番号 9 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 8 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

(g) 配列番号 9 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

40

(h) 配列番号 9 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

(i) 配列番号 9 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

50

10

20

30

40

50

50

50

50

50

(mm) 配列番号 89 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 120 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 158 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 35 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 50 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL；

(w w) 配列番号 9 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H ; ならびに配列番号 3 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 8 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L ;

(q q q) 配列番号 94 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 77 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 239 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 44 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 212 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(a a a a) 配列番号 2 6 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 3 8 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 7 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 7 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 1 1 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；または

(b b b b) 配列番号 18 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 69 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 107 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 138 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 178 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 2】

(a) 配列番号 225 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 230 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 244 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 24 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 202 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 216 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(b) 配列番号 89 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域 1 (H C D R 1)、配列番号 120 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 158 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H)；ならびに配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 (L C D R 1)、配列番号 35 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 50 を含む L C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L)；

(c) 配列番号 92 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 123 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 161 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 37 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 53 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(d) 配列番号 93 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 122 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 160 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 36 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 52 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(e) 配列番号 96 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 128 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 165 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 40 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 55 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(f) 配列番号 99 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 129 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 158 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 35 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 50 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(g) 配列番号 107 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 138 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 178 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 18 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 69 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(h) 配列番号 94 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 139 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 179 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 20 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 39 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 71 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L；

(i) 配列番号 108 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 140 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 180 に示されるアミノ酸配列を含む

10

20

30

40

50

(s) 配列番号 252 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 254 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 257 に示されるアミノ酸配列を含む

50

むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号249に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号251に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項3】

配列番号225に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号230に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号244に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号216に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL

10

を含む、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項4】

LILRB2活性のアンタゴニストである、請求項1から3のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項5】

白血球免疫グロブリン様受容体B2（LILRB2）に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、

（a）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HCDR1）、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号172に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含む重鎖可変領域（VH）；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1（LCDR1）、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号63に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含む軽鎖可変領域（VL）；

20

（b）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号175に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

（c）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64を含むLCDR3を含むVL；

30

（d）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

（e）配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号126に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号163に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号5に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号54に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

40

（f）配列番号103に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号135に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号174に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号7に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号66に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

（g）配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号142に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号184に示されるアミノ酸配列を含む

50

HCDR3を含むVH；ならびに配列番号23に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号46に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号74に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

(h) 配列番号222に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号228に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号240に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号213に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

(i) 配列番号114に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号255に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号146に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号27に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号48に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号250に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；または

(j) 配列番号112に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号258に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号188に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号49に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号80に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL

を含む抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項6】

(a) 配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号172に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号63に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

(b) 配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号175に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

(c) 配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64を含むLCDR3を含むVL；

(d) 配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

(e) 配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号126に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号163に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号5に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号54に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

(f) 配列番号103に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号135に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号174に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号7に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号66に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；

(g) 配列番号 94 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 142 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 184 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 23 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 46 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 74 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL；

(h) 配列番号 222 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 228 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 240 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 213 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL；

(i) 配列番号 114 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 255 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 146 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 27 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 48 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 250 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL；または

(j) 配列番号 112 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 258 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 188 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 49 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 80 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む、請求項 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 7】

配列番号 102 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 133 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 172 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 63 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む、請求項 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 8】

配列番号 102 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 133 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 175 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 67 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む、請求項 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 9】

LILRB2 活性のアゴニストである、請求項 5 から 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 10】

抗体であり、前記抗体が IgG1 重鎖定常領域を含む、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 11】

抗体であり、前記抗体が IgG2 重鎖定常領域を含む、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 12】

前記抗体が、カッパ軽鎖定常領域を含む、請求項 10 または 11 に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 13】

請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片をコードする単離された核酸分子。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

請求項 13 に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 15】

第 1 の核酸分子および第 2 の核酸分子を含むベクターであって、前記第 1 の核酸分子が、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片の V H をコードし、前記第 2 の核酸分子が、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片の V L をコードする、ベクター。

【請求項 16】

請求項 14 または 15 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 17】

原核細胞または真核細胞である、請求項 16 に記載の宿主細胞。

【請求項 18】

請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片を生産するための方法であって、

(a) 請求項 16 または 17 に記載の宿主細胞による前記抗体またはその抗原結合性断片の発現に適切な条件下で、前記宿主細胞を培養するステップ；および

(b) 前記抗体またはその抗原結合性断片を回収するステップを含む、方法。

【請求項 19】

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片および適切な薬学的担体を含む組成物。

【請求項 20】

化学療法剤または鎮痛薬をさらに含む、請求項 19 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

骨髄由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N 末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される 1 種または複数のさらなる薬剤をさらに含む、請求項 19 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

対象への静脈内、筋肉内、経口、皮下、腹腔内、くも膜下腔内、腫瘍内または筋肉内投与のために製剤化されている、請求項 19 から 21 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

請求項 5 から 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片および適切な薬学的担体を含む医薬組成物。

【請求項 24】

化学療法剤または鎮痛薬をさらに含む、請求項 23 に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

骨髄由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N 末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される 1 種または複数のさらなる薬剤をさらに含む、請求項 23 に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

対象への静脈内、筋肉内、経口、皮下、腹腔内、くも膜下腔内、腫瘍内または筋肉内投与のために製剤化されている、請求項 23 から 25 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、治療有効量の、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性断片または請求項 19 から 22 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 28】

化学療法剤または鎮痛薬を前記哺乳動物に投与するステップをさらに含む、請求項 27 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 29】

免疫チェックポイント阻害剤を前記哺乳動物に投与するステップをさらに含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 30】

それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性断片または請求項 19 から 22 のいずれか一項に記載の医薬組成物および PD-1 または PD-L1 阻害剤を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 31】

前記がんが、リンパ腫、白血病、結腸がんまたは乳がんである、請求項 27 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

それを必要とする哺乳動物において感染を処置する方法であって、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性断片または請求項 19 から 22 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 33】

前記感染が細菌感染である、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

それを必要とする哺乳動物において炎症促進性免疫応答を減少させる方法であって、治療有効量の、請求項 5 から 9 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性断片または請求項 23 から 26 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 35】

それを必要とする哺乳動物において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 5 から 9 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性断片または請求項 23 から 26 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 36】

前記哺乳動物が、炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を有すると診断されている、請求項 34 または 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記哺乳動物が、臓器または組織移植のために選択される、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

骨髓由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される 1 種または複数のさらなる薬剤を前記哺乳動物に投与するステップをさらに含む、請求項 27 から 37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 27 から 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

LILRB2 に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片であって、重鎖相補性決定領域 (CDR) 1、2 および 3 を含み、

前記重鎖 CDR 1 が、配列番号 111、265、267、269、274、277、279、282、284、285、112、267、292 および 295 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 111、265、267、269、274、277、279、282、284、285、112、267、292 および 295 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列において 2 つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記重鎖 CDR 2 が、配列番号 147、157、270、272、275、280、283、286、288、290、293 および 296 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 147、157、270、272、275、280、283、286、

10

20

30

40

50

288、290、293および296のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記重鎖CDR3が、配列番号261～264、266、268、271、273、276、278、281、287、289、291、294および297のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号261～264、266、268、271、273、276、278、281、287、289、291、294および297のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む、
単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項41】

前記単離された抗体または抗原結合性断片が、軽鎖CDR1、2および3をさらに含む、

前記軽鎖CDR1が、配列番号298、300、302、305、26、308、7、197、312、314、316、317、318、320、322、325および31のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号298、300、302、305、26、308、7、197、312、314、316、317、318、320、322、325および31のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記軽鎖CDR2が、配列番号38、41、44、49、42、45、39、323および326のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号38、41、44、49、42、45、39、323および326のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記軽鎖CDR3が、配列番号299、301、303、304、306、307、130、309、310、311、313、315、319、321、324、52および327のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号299、301、303、304、306、307、130、309、310、311、313、315、319、321、324、52および327のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む、

請求項40に記載の単離された抗体。

【請求項42】

LILRB2に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片であって、

前記抗体またはその抗原結合性断片は、相補性決定領域(CDR)1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域を含み、前記CDR1、CDR2およびCDR3は、

(i)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、MNTYSGVP(配列番号147)、およびCARMGRGSLYGMDYW(配列番号261)；

(ii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARSGHSYSLYVMGYW(配列番号262)；

(iii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARSGHNYSYSLYVMGYW(配列番号263)；

(iv)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARGALYYFDNW(配列番号264)；

(v)それぞれ、GYMFTTTYG(配列番号265)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARIGNTNSLYTVHYZW(配列番号266)；

(vi)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARIGNTNSLYTVHYZW(配列番号266)；

(vii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFNTNYG(配列番号267)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARIGNTNSLYTVHYZW(配列番号266)；

(viii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCTRIGNTNSLYTVHYZW(配列番号268)；

；

10

20

30

40

50

(i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S I T S G H Y (配列番号 2 6 9)、I S Y D G N N (配列番号 2 7 0) および C V R G Y Y Y Y G S R A M D Y W (配列番号 2 7 1) ;

(x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S I T S G H Y (配列番号 2 6 9)、I S Y D G N D (配列番号 2 7 2) および C V R G Y Y Y Y G S R A M D C W (配列番号 2 7 3) ;

(x i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S F S D Y G (配列番号 2 7 4)、I S S G S S T I (配列番号 2 7 5) および C G P S D Y W Y F D V W (配列番号 2 7 6) ;

(x i i) それぞれ、アミノ酸配列 G F T F S D Y G (配列番号 2 7 7)、I S S G S S T I (配列番号 2 7 5) および C A R D Y F Y G N N Y G F P Y W (配列番号 2 7 8) ;

(x i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F I N Y Y (配列番号 2 7 9)、I Y P G N I N S (配列番号 2 8 0) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;

(x i v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F I S Y Y (配列番号 2 8 2)、I Y P G N V N T (配列番号 2 8 3) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;

(x v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T S Y Y (配列番号 2 8 4)、I Y P G N V N T (配列番号 2 8 3) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;

(x v i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S L T N Y D (配列番号 2 8 5)、I W T G G N T (配列番号 2 8 6) および C V R E G F R Q G Y Y A M D Y W (配列番号 2 8 7) ;

(x v i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T D Y Y (配列番号 1 1 2)、I D T K N G G T (配列番号 2 8 8) および C A S G G R G Y W (配列番号 2 8 9) ;

(x v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T N Y G (配列番号 2 6 7)、I N T Y T G E P (配列番号 2 9 0) および C T R N Y Y R P Y Y Y A M D Y W (配列番号 2 9 1) ;

(x i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S F T G Y T (配列番号 2 9 2)、I N P Y N D N T (配列番号 2 9 3) および C A R E G N Y Y G A S P W F A Y W (配列番号 2 9 4) ; または

(x x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T H Y G (配列番号 2 9 5)、I N T S T G E T (配列番号 2 9 6) および C A R Y Y Y G S S R W R D Y W F A Y W (配列番号 2 9 7)

からなるものである、単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 4 3】

L I L R B 2 に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体またはその抗原結合性断片は、

a) 相補性決定領域 (C D R) 1、C D R 2 および C D R 3 を含む重鎖可変領域であって、前記 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、

(i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、M N T Y S G V P (配列番号 1 4 7)、および C A R M G R G S L Y G M D Y W (配列番号 2 6 1) ;

(i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R S G H S Y S L Y V M G Y W (配列番号 2 6 2) ;

(i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R S G H N Y S L Y V M G Y W (配列番号 2 6 3) ;

(i v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R G A L Y Y F D N W (配列番号 2 6 4) ;

(v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y M F T T Y G (配列番号 2 6 5)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 6) ;

(v i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 6) ;

(v i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T N Y G (配列番号 2 6 7)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 6) ;

(v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C T R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 8) ;

;

10

20

30

40

50

- (i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S I T S G H Y (配列番号 2 6 9)、I S Y D G N N (配列番号 2 7 0) および C V R G Y Y Y Y G S R A M D Y W (配列番号 2 7 1) ;
- (x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S I T S G H Y (配列番号 2 6 9)、I S Y D G N D (配列番号 2 7 2) および C V R G Y Y Y Y G S R A M D C W (配列番号 2 7 3) ;
- (x i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S F S D Y G (配列番号 2 7 4)、I S S G S S T I (配列番号 2 7 5) および C G P S D Y W Y F D V W (配列番号 2 7 6) ;
- (x i i) それぞれ、アミノ酸配列 G F T F S D Y G (配列番号 2 7 7)、I S S G S S T I (配列番号 2 7 5) および C A R D Y F Y G N N Y G F P Y W (配列番号 2 7 8) ;
- (x i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F I N Y Y (配列番号 2 7 9)、I Y P G N I N S (配列番号 2 8 0) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ; 10
- (x i v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F I S Y Y (配列番号 2 8 2)、I Y P G N V N T (配列番号 2 8 3) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;
- (x v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T S Y Y (配列番号 2 8 4)、I Y P G N V N T (配列番号 2 8 3) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;
- (x v i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S L T N Y D (配列番号 2 8 5)、I W T G G N T (配列番号 2 8 6) および C V R E G F R Q G Y Y A M D Y W (配列番号 2 8 7) ;
- (x v i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T D Y Y (配列番号 1 1 2)、I D T K N G G T (配列番号 2 8 8) および C A S G G R G Y W (配列番号 2 8 9) ;
- (x v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T N Y G (配列番号 2 6 7)、I N T Y T G E P (配列番号 2 9 0) および C T R N Y Y R P Y Y Y A M D Y W (配列番号 2 9 1) 20
-);
- (x i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S F T G Y T (配列番号 2 9 2)、I N P Y N D N T (配列番号 2 9 3) および C A R E G N Y Y G A S P W F A Y W (配列番号 2 9 4) ; または
- (x x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T H Y G (配列番号 2 9 5)、I N T S T G E T (配列番号 2 9 6) および C A R Y Y Y G S S R W R D Y W F A Y W (配列番号 2 9 7) からなるものである、重鎖可変領域 ; ならびに
- b) C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域であって、前記 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、
- (x x i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S T N Q K N Y (配列番号 2 9 8)、F A S (配列番号 3 8) および C Q Q H Y S I P P T F (配列番号 2 9 9) ; 30
- (x x i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S L F I S T N Q K N Y (配列番号 3 0 0)、F A S (配列番号 3 8) および C Q Q H Y S S P P T F (配列番号 3 0 1) ;
- (x x i i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S T N Q I N Y (配列番号 3 0 2)、F A S (配列番号 3 8) および C Q Q H Y D P P L T F (配列番号 3 0 3) ;
- (x x i v) それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S T N Q K N Y (配列番号 2 9 8)、F A S (配列番号 3 8) および C Q H H Y D P P L T F (配列番号 3 0 4) ;
- (x x v) それぞれ、アミノ酸配列 Q N L L N S S N Q K N Y (配列番号 3 0 5)、F A S (配列番号 3 8) および C Q Q H Y N T P P T F (配列番号 3 0 6) ;
- (x x v i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L N S S N Q K N Y (配列番号 2 6)、F A S (配列番号 3 8) および C Q Q H Y S P P P T F (配列番号 3 0 7) ; 40
- (x x v i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S S N Q N N Y (配列番号 3 0 8)、F A S (配列番号 3 8) および C Q Q H Y S T P P T F (配列番号 1 3 0) ;
- (x x v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q N L L N S S N Q K N Y (配列番号 3 0 5)、F A S (配列番号 3 8) および C Q Q H Y S T P P T F (配列番号 1 3 0) ;
- (x x i x) それぞれ、アミノ酸配列 Q D I S N Y (配列番号 7)、Y T S (配列番号 4 1) および C Q Q G H T L P Y T F (配列番号 3 0 9) ;
- (x x x) それぞれ、アミノ酸配列 Q D I S N Y (配列番号 7)、Y T S (配列番号 4 1) および C Q Q G N T L P Y T F (配列番号 3 1 0) ;
- (x x x i) それぞれ、アミノ酸配列 Q N V G T N (配列番号 1 9 7)、S T S (配列番 50

号 4 4) および C Q Q Y N S Y P F T F (配列番号 3 1 1) ;
(x x x i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q T I G T W (配列番号 3 1 2) 、 A A T (配列番号 4 9) および C Q Q L Y S T P L T F (配列番号 3 1 3) ;
(x x x i i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q N I R T A (配列番号 3 1 4) 、 L A S (配列番号 4 2) および C L Q H W N Y P F T F (配列番号 3 1 5) ;
(x x x i v) それぞれ、アミノ酸配列 Q N V R T A (配列番号 3 1 6) 、 L A S (配列番号 4 2) および C L Q H W N Y P F T F (配列番号 3 1 5) ;
(x x x v) それぞれ、 L N V R T A (配列番号 3 1 7) 、 L A S (配列番号 4 2) および C L Q H W N Y P F T F (配列番号 3 1 5) ;
(x x x v i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L Y S S N Q K N Y (配列番号 3 1 8) 、 W A S (配列番号 4 5) および C Q Q Y Y S Y R T F (配列番号 3 1 9) ;
(x x x v i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q N V Y T T (配列番号 3 2 0) 、 S A S (配列番号 3 9) および C Q Q Y N S Y P Y T F (配列番号 3 2 1) ;
(x x x v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 E N I Y S Y (配列番号 3 2 2) 、 D A K (配列番号 3 2 3) および C Q H H Y G F P Y T F (配列番号 3 2 4) ;
(x x x i x) それぞれ、アミノ酸配列 E T V D T Y G N R F (配列番号 3 2 5) 、 R A S (配列番号 3 2 6) および C Q Q S N E D P F T F (配列番号 5 2) ; および
(x x x x) それぞれ、アミノ酸配列 Q D V S N A (配列番号 3 1) 、 S A S (配列番号 3 9) および C P Q H Y S T L C T F (配列番号 3 2 7) からなるものである、軽鎖可変領域
を含む、単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 4 4】

L I L R B 2 活性のアンタゴニストである、請求項 4 0 から 4 3 のいずれか一項に記載の単離された抗体または抗原結合性断片。

【請求項 4 5】

請求項 4 0 から 4 4 のいずれか一項に記載の抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片をコードする単離された核酸分子。

【請求項 4 6】

請求項 4 5 に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 4 7】

請求項 4 6 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 4 8】

原核細胞または真核細胞である、請求項 4 7 に記載の宿主細胞。

【請求項 4 9】

抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片を生産するための方法であって、

(a) 請求項 4 7 に記載の宿主細胞による前記 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片の発現に適切な条件下で、前記宿主細胞を培養するステップ；および

(b) 前記 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片を回収するステップ
を含む、方法。

【請求項 5 0】

前記宿主細胞が原核細胞または真核細胞である、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

請求項 4 0 から 4 4 のいずれか一項に記載の抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片および適切な薬学的担体を含む組成物。

【請求項 5 2】

化学療法剤または鎮痛薬をさらに含む、請求項 5 1 に記載の組成物。

【請求項 5 3】

骨髓由来サプレッサー細胞、動員剤、 c - j u n N 末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される 1 種または複数のさらなる薬剤をさらに含む、請求項 5 2 に記載の組成物。

【請求項 54】

静脈内、筋肉内、経口、皮下、腹腔内、くも膜下腔内、腫瘍内または筋肉内投与のために製剤化されている、請求項 52 に記載の組成物。

【請求項 55】

哺乳動物においてがんを処置する方法であって、治療有効量の、請求項 40 から 44 のいずれか一項に記載の L I L R B 2 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 56】

化学療法剤または鎮痛薬を前記哺乳動物に投与するステップをさらに含む、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 57】

L I L R B 2 に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片であって、重鎖相補性決定領域 (C D R) 1、2 および 3 を含み、

前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 279、284、94、112、328、331、334、102、342 および 344 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 279、284、94、112、328、331、334、102、342 および 344 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列において 2 つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 283、329、332、335、337、339、340、232、345 および 347 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 283、329、332、335、337、339、340、232、345 および 347 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列において 2 つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記重鎖 C D R 3 が、配列番号 330、333、336、338、341、343、346 および 348 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 330、333、336、338、341、343、346 および 348 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列において 2 つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、
単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 58】

前記単離された抗体または抗原結合性断片が、軽鎖 C D R 1、2 および 3 をさらに含み、

前記軽鎖 C D R 1 が、配列番号 314、316、87、23、353、355、91、357、12 および 27 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 314、316、87、23、353、355、91、357、12 および 27 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列において 2 つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記軽鎖 C D R 2 が、配列番号 41、42、45、349、351、97、40 および 48 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 41、42、45、349、351、97、40 および 48 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列において 2 つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含み、

前記軽鎖 C D R 3 が、配列番号 315、350、352、354、356、104、358、359、55 および 360 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列、または配列番号 315、350、352、354、356、104、358、359、55 および 360 のうち 1 つに示されるアミノ酸配列において 2 つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む、
請求項 57 に記載の単離された抗体。

【請求項 59】

L I L R B 2 に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片であって、

前記抗体またはその抗原結合性断片は、相補性決定領域 (C D R) 1、C D R 2 および C D R 3 を含む重鎖可変領域を含み、前記 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 は、

(x1) それぞれ、アミノ酸配列 G F T F T G Y W (配列番号 328)、I L P V S G I

10

20

30

40

50

T (配列番号 329) および CARRGSPYFDYW (配列番号 330) ;
 (xli) それぞれ、アミノ酸配列 GFS LNT FDMG (配列番号 331)、IWWDDDK (配列番号 332) および CGRKPGGYGNYVL (配列番号 333) ;
 (xlii) それぞれ、アミノ酸配列 GFS LTRYG (配列番号 334)、IWSGGST (配列番号 335) および CARDGRVYAMDYW (配列番号 336) ;
 (xliii) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTDYY (配列番号 112)、LNPNNGGT (配列番号 337) および CARGSGNSFYAMDYW (配列番号 338) ;
 (xliv) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTINYY (配列番号 279)、IYPGNVNS (配列番号 339) および CAMTNSSSAMDYW (配列番号 281) ;
 (xlv) それぞれ、アミノ酸配列 GYSITSGYY (配列番号 102)、ISYDGSN (配列番号 340) および CTSIYGRFVYW (配列番号 341) ;
 (xlvii) それぞれ、アミノ酸配列 GFS LTRYG (配列番号 334)、IWSGGST (配列番号 335) および CARDGRVYAMDYW (配列番号 336) ;
 (xlviii) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTNFW (配列番号 342)、IHPN S GST (配列番号 232) および CARNSGDYL VYFDSW (配列番号 343) ;
 (xlviii) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTSY (配列番号 284)、IYPGNVNT (配列番号 283) および CAMTNSSSAMDYW (配列番号 281) ;
 (xlix) それぞれ、アミノ酸配列 GYSFTGYF (配列番号 344)、INPSTGDT (配列番号 345) および CARGATVVDYPFDYW (配列番号 346) 、
 または
 (xlix) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTSYW (配列番号 94)、IHPNNGGST (配列番号 347) および CTRGLTGLFAYW (配列番号 348) からなるものである、単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 60】

LILRB2 に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体またはその抗原結合性断片は、

c) 相補性決定領域 (CDR) 1、CDR 2 および CDR 3 を含む重鎖可変領域であって、前記 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、

xli) それぞれ、アミノ酸配列 GFTFTGYW (配列番号 328)、ILPVSGIT (配列番号 329) および CARRGSPYFDYW (配列番号 330) ;
 (xli) それぞれ、アミノ酸配列 GFS LNT FDMG (配列番号 331)、IWWDDDK (配列番号 332) および CGRKPGGYGNYVL (配列番号 333) ;
 (xlii) それぞれ、アミノ酸配列 GFS LTRYG (配列番号 334)、IWSGGST (配列番号 335) および CARDGRVYAMDYW (配列番号 336) ;
 (xliii) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTDYY (配列番号 112)、LNPNNGGT (配列番号 337) および CARGSGNSFYAMDYW (配列番号 338) ;
 (xliv) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTINYY (配列番号 279)、IYPGNVNS (配列番号 339) および CAMTNSSSAMDYW (配列番号 281) ;
 (xlv) それぞれ、アミノ酸配列 GYSITSGYY (配列番号 102)、ISYDGSN (配列番号 340) および CTSIYGRFVYW (配列番号 341) ;
 (xlvii) それぞれ、アミノ酸配列 GFS LTRYG (配列番号 334)、IWSGGST (配列番号 335) および CARDGRVYAMDYW (配列番号 336) ;
 (xlviii) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTSY (配列番号 284)、IYPGNVNT (配列番号 283) および CAMTNSSSAMDYW (配列番号 281) ;
 (xlviii) それぞれ、アミノ酸配列 GYTFTNFW (配列番号 342)、IHPN S GST (配列番号 232) および CARNSGDYL VYFDSW (配列番号 343))、

(x l i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S F T G Y F (配列番号 3 4 4)、I N P S T G D T (配列番号 3 4 5) および C A R G A T V V D Y P F D Y W (配列番号 3 4 6)、または

(l) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T S Y W (配列番号 9 4)、I H P N G G S T (配列番号 3 4 7) および C T R G L T G L F A Y W (配列番号 3 4 8)

からなるものである、重鎖可変領域；ならびに

d) C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域であって、前記 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、

(l i) それぞれ、アミノ酸配列 S S V S S S Y (配列番号 8 7)、G T S (配列番号 3 4 9) および C H Q Y H R S P F T F (配列番号 3 5 0)；

(l i i) それぞれ、アミノ酸配列 S S V S Y (配列番号 2 3)、D T S (配列番号 3 5 1) および C F Q G S G Y P F T F (配列番号 3 5 2)；

(l i i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S V L Y S S D Q K N Y (配列番号 3 5 3)、W A S (配列番号 4 5) および C H Q Y L S H T F (配列番号 3 5 4)；

(l i v) それぞれ、Q D V N T A (配列番号 3 5 5)、W A S (配列番号 4 5) および C Q Q L Y K L P R T F (配列番号 3 5 6)；

(l v) それぞれ；

(l v i) それぞれ、アミノ酸配列 Q N I R T A (配列番号 3 1 4)、L A S (配列番号 4 2) および C L Q H W N Y P F T F (配列番号 3 1 5)；

(l v i i) それぞれ、アミノ酸配列 S S V N Y (配列番号 3 5 7)、Y T S (配列番号 4 1) および C Q Q F S S S P Y T F (配列番号 3 5 8)；

(l v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q N V R T A (配列番号 3 1 6)、L A S (配列番号 4 2) および C L Q H W N Y P F T F (配列番号 3 1 5)；

(l v i x) それぞれ、アミノ酸配列 S S V S Y (配列番号 2 3)、D T S (配列番号 3 5 1) および C Q Q W R S Y Q L T F (配列番号 3 5 9)；

(l v x) それぞれ、アミノ酸配列 Q N I N V W (配列番号 6)、K A S (配列番号 4 0) および C Q Q G Q S Y P L T F (配列番号 5 5)；および

(l v x i) それぞれ、アミノ酸配列 Q D I N S Y (配列番号 2 7)、R A N (配列番号 4 8) および C L Q Y D E F L L T F (配列番号 3 6 0)

からなるものである、軽鎖可変領域

を含む、単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 6 1】

L I L R B 2 活性のアゴニストである、請求項 5 7 から 6 0 のいずれか一項に記載の単離された抗体または抗原結合性断片。

【請求項 6 2】

請求項 5 7 から 6 1 のいずれか一項に記載の抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片をコードする単離された核酸分子。

【請求項 6 3】

請求項 6 1 に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 6 4】

請求項 6 3 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 6 5】

原核細胞または真核細胞である、請求項 6 4 に記載の宿主細胞。

【請求項 6 6】

抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片を生産するための方法であって、

(a) 請求項 6 5 に記載の宿主細胞による L I L R B 2 結合タンパク質の発現に適切な条件下で、前記宿主細胞を培養するステップ；および

(b) 前記 L I L R B 2 結合タンパク質を回収するステップを含む、方法。

【請求項 6 7】

10

20

30

40

50

前記宿主細胞が原核細胞または真核細胞である、請求項 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 8】

請求項 5 7 から 6 1 のいずれか一項に記載の抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片および適切な薬学的担体を含む組成物。

【請求項 6 9】

化学療法剤または鎮痛薬をさらに含む、請求項 6 8 に記載の組成物。

【請求項 7 0】

骨髄由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される 1 種または複数のさらなる薬剤をさらに含む、請求項 6 9 に記載の組成物。

10

【請求項 7 1】

静脈内、筋肉内、経口、皮下、腹腔内、くも膜下腔内、腫瘍内または筋肉内投与のために製剤化されている、請求項 6 9 に記載の組成物。

【請求項 7 2】

哺乳動物において炎症促進性免疫応答を減少させる方法であって、治療有効量の、請求項 6 2 から 6 5 のいずれか一項に記載の L I L R B 2 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 7 3】

骨髄由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤のうち 1 種または複数の前記哺乳動物に投与するステップをさらに含む、請求項 7 2 に記載の方法。

20

【請求項 7 4】

前記哺乳動物が、炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を有すると診断されている、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 5】

哺乳動物において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 6 2 から 6 4 のいずれか一項に記載の L I L R B 2 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 7 6】

骨髄由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤のうち 1 種または複数の前記哺乳動物に投与するステップをさらに含む、請求項 7 5 に記載の方法。

30

【請求項 7 7】

前記哺乳動物が、炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を有すると診断されている、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記哺乳動物が、臓器または組織移植のために選択される、請求項 7 7 に記載の方法。

【請求項 7 9】

がんを処置する方法であって、PD-1 または PD-L1 阻害剤と組み合わせた請求項 4 0 に記載の抗体をそれを必要とする患者に投与するステップを含む、方法。

40

【請求項 8 0】

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の抗体の V H および V L を含むキメラ抗原受容体 (C A R)。

【請求項 8 1】

前記 V H が、配列番号 9 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含み；前記 V L が、配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 7 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む、請求項 8 0 に記載の C A R。

【請求項 8 2】

50

前記 V H が、配列番号 2 2 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 3 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 4 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含み；前記 V L が、配列番号 2 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 2 0 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 1 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む、請求項 8 0 に記載の C A R。

【請求項 8 3】

請求項 8 0 から 8 2 のいずれか一項に記載の C A R をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 8 4】

請求項 8 3 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 8 5】

請求項 8 0 から 8 2 のいずれか一項に記載の C A R を含む細胞。

【請求項 8 6】

請求項 8 3 に記載のポリヌクレオチドを含む細胞。

【請求項 8 7】

請求項 8 4 に記載のベクターを含む細胞。

【請求項 8 8】

T 細胞、ナチュラルキラー細胞またはマクロファージである、請求項 8 5 から 8 7 のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 8 9】

請求項 8 0 から 8 2 のいずれか一項に記載の C A R および適切な薬学的担体を含む医薬組成物。

【請求項 9 0】

請求項 8 5 から 8 8 のいずれか一項に記載の細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物。

【請求項 9 1】

請求項 5 から 8 のいずれか一項に記載の抗体の V H および V L を含むキメラ抗原受容体 (C A R)。

【請求項 9 2】

請求項 9 1 に記載の C A R をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 9 3】

請求項 9 2 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 9 4】

請求項 9 1 に記載の C A R を含む細胞。

【請求項 9 5】

請求項 9 2 に記載のポリヌクレオチドを含む細胞。

【請求項 9 6】

請求項 9 3 に記載のベクターを含む細胞。

【請求項 9 7】

T 細胞、ナチュラルキラー細胞またはマクロファージである、請求項 9 4 から 9 6 のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 9 8】

請求項 9 1 に記載の C A R および適切な薬学的担体を含む医薬組成物。

【請求項 9 9】

請求項 9 4 から 9 7 のいずれか一項に記載の細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物。

【請求項 1 0 0】

C A R を生産する方法であって、(a) 請求項 8 6、8 7、9 5 または 9 6 に記載の細胞を培養するステップ、および (b) 前記 C A R を単離するステップを含む、方法。

【請求項 1 0 1】

それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、治療有効量の、請求

10

20

30

40

50

項 80 から 82 のいずれか一項に記載の C A R、請求項 85 から 88 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 89 もしくは 90 に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 102】

それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、治療有効量の、請求項 91 に記載の C A R、請求項 94 から 97 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 98 もしくは 99 に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 103】

前記がんが、リンパ腫、白血病、結腸がんまたは乳がんである、請求項 101 または 102 に記載の方法。

【請求項 104】

それを必要とする哺乳動物において喘息を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 80 から 82 のいずれか一項に記載の C A R、請求項 85 から 88 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 89 もしくは 90 に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 105】

それを必要とする哺乳動物において喘息を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 91 に記載の C A R、請求項 94 から 97 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 98 もしくは 99 の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 106】

それを必要とする哺乳動物において感染を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 80 から 82 のいずれか一項に記載の C A R、請求項 85 から 88 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 89 もしくは 90 に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 107】

それを必要とする哺乳動物において感染を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 91 に記載の C A R、請求項 94 から 97 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 98 もしくは 99 の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 108】

それを必要とする哺乳動物において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 80 から 82 のいずれか一項に記載の C A R、請求項 85 から 88 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 89 もしくは 90 に記載の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 109】

それを必要とする哺乳動物において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の、請求項 91 に記載の C A R、請求項 94 から 97 のいずれか一項に記載の細胞、または請求項 98 もしくは 99 の医薬組成物を前記哺乳動物に投与するステップを含む、方法。

【請求項 110】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 101 から 109 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願に対する相互参照

本出願は、2018年9月17日出願の米国特許仮出願第62／732，299号および2018年9月17日出願の米国特許仮出願第62／732，334号の優先権の利益を主張し、これら各々の内容は、その全体が本明細書で参照により組み込まれる。

【0002】

連邦支援の研究または開発

10

20

30

40

50

本発明は、米国立衛生研究所によって授与された助成金番号CA 109322、R01 CA 188610、R01 CA 204191およびCA 127483の下で政府支援を得て行われたものである。政府は、本発明において特定の権利を有する。

【0003】

本発明は一般に、白血球免疫グロブリン (Ig) 様受容体 (LILR) B2 (LILRB2) をモジュレートするため (「抗LILRB2抗体」) および骨髄細胞においてM1またはM2の機能的表現型のいずれかの獲得を誘導するようにLILRB2シグナル伝達をモジュレートするために結合を生じる抗体またはその抗原結合性断片、抗LILRB2抗体を含む組成物、ならびにそれらの使用に関する。本発明はまた、関連のキメラ抗原受容体 (CAR) およびそれを含む細胞 (例えば、T細胞、ナチュラルキラー細胞またはマクロファージ)、ならびに腫瘍を標的化しそれを死滅させること、喘息処置、または (例えば、感染または感染性疾患を処置するために) 感染細胞を標的化しそれを除去すること、または自己免疫疾患もしくは移植片拒絶に関与する免疫系細胞を抑制することにおけるCARおよび細胞の使用に関する。

【背景技術】

【0004】

白血球免疫グロブリン (Ig) 様受容体 (LILR) は、免疫グロブリン様転写物 (ILT) としても公知であり、白血球受容体複合体内でコードされる阻害性および刺激性細胞表面受容体のファミリーであり、骨髄およびリンパの両方の系列の免疫細胞型によって発現される。ILTは、自然免疫系および獲得免疫系の両方に影響を与え、免疫細胞活性に対するLILRシグナル伝達の広範な影響を実証している。阻害性受容体 (LILRB) の阻害活性は、活性化受容体との共クロスリンクの際に生じる。

【0005】

骨髄由来サプレッサー細胞 (MDSC) は、マウスにおいて、Gr1+CD11b+CD115+Ly6C+単球性 (M) 細胞およびGr1+CD11b+Ly6G+顆粒球性 (G) 細胞を含んだ、免疫抑制機能を有する骨髄前駆体である (Gabrilovich et al., Cancer Res. 67:425, 2007; Huang et al., Cancer Res. 66:1123-1131, 2006)。ヒトMDSCは、CD33+CD14+CD16+、CD11b+CD14低CD33+またはLin-HLA-DR低-CD33+骨髄細胞として特徴付けられる (Chen et al., Clin. Cancer Res., 21(18):4073-2742, 2015; Ostrand-Rosenberg et al., J. Immunol. 182:4499-4506, 2009; Raychaudhuri et al., Neuro. Oncol. 13:591-599, 2011)。近年、MDSCは、感染、悪性腫瘍、移植および他の免疫障害における免疫応答の調節において、重要な役割を果たすことが見出されている (例えば、Yin et al., J. Immunol. 185:5828-5834, 2010)。

【0006】

MDSCは、M1系列およびM2系列の細胞 (iNOS、TNF- α 、IFN- γ R、MHCクラスIおよびCCR7を発現するM1細胞、ならびにアルギナーゼ、IL-10、CD36、CD206、CD163、PD-L1、DC-SIGNおよびCCR2を発現するM2細胞) へと分化および極性化され得る。M2細胞は、T細胞の共培養においておよびin vivoで、それらのM1様対応物と比較して、Teffの活性化および増殖を抑制する増強された能力を有する (Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011)。M2細胞はまた、in vitroおよびin vivoの両方において、M1表現型を有する細胞よりも、Tregの拡大増殖 (expansion) においてより高い潜在力を有する (Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011)。M2細胞は、Teffの活性化および増殖を抑制し、Tregの拡大増殖を促進するので、M2細胞は、炎症促進性免疫応答における減少が望まれる自己免疫疾患を処置するために使用できる。

【0007】

M1細胞は、直接的腫瘍死滅を増加させ、フリーラジカル、デスリガンド、HLA-DRおよび免疫賦活性サイトカイン-TNF α の増大を介して抗腫瘍免疫の発達を促進し (例えば、Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011を参照のこと)、したがって、M1細胞

は、炎症促進性免疫応答の増加が望まれるがんまたは他の障害を処置するために使用できる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

本開示は、白血球免疫グロブリン（Ig）様受容体B2（「LILRB2」）に結合する抗体およびその抗原結合性断片、例えば、抗LILRB2抗体またはその抗原結合性断片を特徴とする。これらの抗体は、3つのクラスにグループ分けできる：1つのクラス（クラスI）は、がんの処置における使用のためのLILRB2アンタゴニスト抗体およびその抗原結合性断片を含み；第2のクラス（クラスII）は、免疫抑制における処置にお

10

【0009】

一態様では、LILRB2に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、（a）配列番号225に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HCDR1）、配列番号230に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号244に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含む重鎖可変領域（VH）；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1（LCDR1）、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号216に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含む軽鎖可変領域（VL）；（b）配列番号89に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50を含むLCDR3を含むVL；（c）配列番号90に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号121に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号159に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号2に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号51に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（d）配列番号91に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号122に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号160に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（e）配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号123に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号53に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（f）配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号124に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号53に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（g）配列番号93に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号125に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号162に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（h）配列番号93に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号122に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号160に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示されるアミノ酸配列を含むL

20

30

40

50

50

40

50

0
20
40
60

50

20

50

50

を含むHCDR1、配列番号256に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号169に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号248に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号71に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(www)配列番号111に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号131に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号169に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号31に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号71に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(xxx)配列番号377に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号125に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2
10
および配列番号378に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(yyy)配列番号363に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号364に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号365に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号176に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号253に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号362に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(zzz)配列番号101
20
に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号132に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号171に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号374に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号375に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号376に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(aaaa)配列番号267に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号138に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号174に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号7に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号119に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；または(bbbb)配列番号18に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号69に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号107に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1
30
、配列番号138に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号178に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む抗体またはその抗原結合性断片が、本明細書に提供される。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、(a)配列番号225に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号230に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号244に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号216に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(b)配列番号89に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50を含むLCDR3を含むVL；(c)配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号123に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号53に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(d)配列番号93に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号122に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号160に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示さ
40
50

[illegible]

50

8に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（p）配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号156に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号195に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号34に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号87に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（q）配列番号111に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号157に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号196に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号23に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号260に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号88に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（r）配列番号218に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号231に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号234に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号207に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；または（s）配列番号252に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号254に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号257に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号249に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号251に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号225に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号230に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号244に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号216に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、LILRB2活性のアンタゴニストである。

【0010】

別の態様では、LILRB2に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、（a）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号172に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号63に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（b）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号175に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（c）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64を含むLCDR3を含むVL；（d）配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（e）配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号126に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号163に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；なら

びに配列番号5に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号54に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(f)配列番号103に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号135に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号174に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号7に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号66に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(g)配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号142に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号184に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号23に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号46に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号74に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(h)配列番号222に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号228に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号240に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号213に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；(i)配列番号114に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号255に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号146に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号27に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号48に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号250に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；または(j)配列番号112に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号258に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号188に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号49に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号80に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む抗体またはその抗原結合性断片が、本明細書に提供される。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、(a)配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号172に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR2および配列番号63に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR3を含むVL；(b)配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号175に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR2および配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR3を含むVL；(c)配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号19に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR2および配列番号70を含むLCDDR3を含むVL；(d)配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR2および配列番号64に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR3を含むVL；(e)配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号126に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号163に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR3を含むVH；ならびに配列番号5に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR2および配列番号54に示されるアミノ酸配列を含むLCDDR3を含むVL；(f)配列番号103に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR1、配列番号135に示されるアミノ酸配列を含むHCDDR2および配列番号174に示される

アミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号7に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号66に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（g）配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号142に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号184に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号23に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号46に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号74に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（h）配列番号222に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号228に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号240に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号213に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；（i）配列番号114に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号255に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号146に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号27に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号48に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号250に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVL；または（j）配列番号112に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号258に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号188に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号49に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号80に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号172に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号63に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号175に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、LILRB2活性のアゴニストである。

【0011】

一実施形態では、上述の抗体またはその抗原結合性断片は、抗体の抗原結合性断片である。

【0012】

一実施形態では、上述の抗体またはその抗原結合性断片は、抗体である。一実施形態では、抗体は、IgG1重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗体は、IgG2重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗体は、カッパ軽鎖定常領域を含む。

【0013】

別の態様では、上述の抗体またはその抗原結合性断片のうちいずれか1つをコードする単離された核酸分子が、本明細書に提供される。

【0014】

別の態様では、上述の抗体またはその抗原結合性断片のうちいずれか1つをコードする核酸分子を含むベクターが、本明細書に提供される。

【0015】

別の態様では、第1の核酸分子および第2の核酸分子を含むベクターであって、第1の核酸分子が、上述の抗体またはその抗原結合性断片のうちいずれか1つのVHをコードし、第2の核酸分子が、抗体またはその抗原結合性断片のVLをコードする、ベクターが、

本明細書に提供される。

【0016】

別の態様では、上述の抗体またはその抗原結合性断片のうちいずれか1つをコードする1つまたは複数の核酸分子を含む宿主細胞が、本明細書に提供される。一実施形態では、宿主細胞は、原核細胞または真核細胞である。

【0017】

別の態様では、上述のベクターのうちいずれか1つを含む宿主細胞が、本明細書に提供される。一実施形態では、宿主細胞は、原核細胞または真核細胞である。

【0018】

別の態様では、上述の抗体またはその抗原結合性断片のうちいずれか1つを生産するための方法であって、(a) 宿主細胞による抗体またはその抗原結合性断片の発現に適切な条件下で、上述の宿主細胞のうちいずれか1つを培養するステップ；および(b) 抗体またはその抗原結合性断片を回収するステップを含む方法が、本明細書に提供される。

10

【0019】

別の態様では、上述の抗体またはその抗原結合性断片のうちいずれか1つおよび適切な薬学的担体を含む医薬組成物が、本明細書に提供される。一実施形態では、医薬組成物は、化学療法剤または鎮痛薬をさらに含む。一実施形態では、医薬組成物は、骨髓由来サブレッサー細胞、動員剤(mobilizing agent)、c-jun N末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される1種または複数のさらなる薬剤をさらに含む。一実施形態では、医薬組成物は、対象への静脈内、筋肉内、経口、皮下、腹腔内、くも膜下腔内、腫瘍内または筋肉内投与のために製剤化されている。

20

【0020】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、治療有効量の上述の抗体もしくはその抗原結合性断片または上述の医薬組成物のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、本方法は、化学療法剤または鎮痛薬を哺乳動物に投与するステップをさらに含む。一実施形態では、本方法は、免疫チェックポイント阻害剤を哺乳動物に投与するステップをさらに含む。一実施形態では、がんは、リンパ腫、白血病または乳がんである。一実施形態では、抗体は、LILRB2のアンタゴニストである。

【0021】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、上述の抗体もしくはその抗原結合性断片または医薬組成物のうちいずれか1つおよびPD-1またはPD-L1阻害剤を哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、がんは、リンパ腫、白血病または乳がんである。一実施形態では、抗体は、LILRB2のアンタゴニストである。

30

【0022】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において感染を処置する方法であって、上述の抗体もしくはその抗原結合性断片または医薬組成物のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、感染は細菌感染である。一実施形態では、抗体は、LILRB2のアンタゴニストである。

40

【0023】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において炎症促進性免疫応答を減少させる方法であって、治療有効量の上述の抗体もしくはその抗原結合性断片または医薬品のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、哺乳動物は、炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を有すると診断されている。一実施形態では、哺乳動物は、臓器または組織移植のために選択される。

【0024】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の上述の抗体もしくはその抗原結合性断片または医薬組成物のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に

50

提供される。一実施形態では、哺乳動物は、炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を有すると診断されている。一実施形態では、哺乳動物は、臓器または組織移植のために選択される。

【0025】

上述の方法の一実施形態では、方法は、骨髓由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される1種または複数のさらなる薬剤を哺乳動物に投与するステップをさらに含む。

【0026】

上述の方法の一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0027】

別の態様では、本明細書に記載される抗体のVHおよびVLを含むキメラ抗原受容体(CAR)が、本明細書に提供される。一実施形態では、VHは、配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号123に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含み；VLは、配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号53に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。一実施形態では、VHは、配列番号225に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号230に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号244に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含み；VLは、配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号216に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。

【0028】

別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドが、本明細書に提供される。

【0029】

別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドを含むベクターが、本明細書に提供される。

【0030】

別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つを含む細胞が、本明細書に提供される。別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドを含む細胞が、本明細書に提供される。別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞が、本明細書に提供される。一実施形態では、細胞はT細胞である。一実施形態では、細胞はナチュラルキラー細胞である。一実施形態では、細胞はマクロファージである。

【0031】

別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つおよび適切な薬学的担体を含む医薬組成物が、本明細書に提供される。別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つを含む細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物が、本明細書に提供される。別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドを含む細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物が、本明細書に提供される。別の態様では、上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物が、本明細書に提供される。

【0032】

別の態様では、CARを生産する方法であって、(a) 上述の細胞(例えば、上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドを含む細胞または上述のCARのうちいずれか1つをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞)のうち1つを培養するステップ、および(b) CARを単離するステップを含む方法が、本明細書に提供される。

【0033】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、治療

10

20

30

40

50

有効量の、上述のCARのうちいずれか1つ、上述の細胞のうちいずれか1つ、または上述の医薬組成物のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、がんは、リンパ腫、白血病、結腸がんまたは乳がんである。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0034】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において喘息を処置する方法であって、治療有効量の、上述のCARのうちいずれか1つ、上述の細胞のうちいずれか1つ、または上述の医薬組成物のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0035】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において感染を処置する方法であって、治療有効量の、上述のCARのうちいずれか1つ、上述の細胞のうちいずれか1つ、または上述の医薬組成物のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0036】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の、上述のCARのうちいずれか1つ、上述の細胞のうちいずれか1つ、または上述の医薬組成物のうちいずれか1つを哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0037】

一態様では、本開示は、LILRB2に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号111、265、267、269、274、277、279、282、284、285、112、267、292、および295のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号111、265、267、269、274、277、279、282、284、285、112、267、292、および295のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域(CDR)1、配列番号147、157、270、272、275、280、283、286、288、290、293、および296のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号147、157、270、272、275、280、283、286、288、290、293、および296のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号261~264、266、268、271、273、276、278、281、287、289、291、294、および297のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号261~264、266、268、271、273、276、278、281、287、289、291、294、および297のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む重鎖CDR3を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0038】

一態様では、本開示は、LILRB2に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号298、300、302、305、26、308、7、197、312、314、316、317、318、320、322、325、および31のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号298、300、302、305、26、308、7、197、312、314、316、317、318、320、322、325、および31のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号38、41、44、49、42、45、39、323、および326のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号38、41、44、49、42、45、39、323、および326のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号299、301、303、304、306、307、130、3

09、310、311、313、315、319、321、324、52、および327のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号299、301、303、304、306、307、130、309、310、311、313、315、319、321、324、52、および327のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0039】

一態様では、本開示は、LILRB2に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体またはその抗原結合性断片は、相補性決定領域(CDR)1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域を含み、前記CDR1、CDR2およびCDR3は、(i)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、MNTYSGVP(配列番号147)、およびCARMGRGSLYGMDYW(配列番号261)；(i)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、MNTYSGVP(配列番号147)、およびCARMGRGSLYGMDYW(配列番号261)；(ii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARSGHSYSLYVMGYW(配列番号262)；(iii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARSGHNYSLYVMGYW(配列番号263)；(iv)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARGALYDFDNW(配列番号264)；(v)それぞれ、アミノ酸配列GYMFTTTYG(配列番号265)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARIGNTNSLYTVHYW(配列番号266)；(vi)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARIGNTNSLYTVHYW(配列番号266)；(vii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFNTNYG(配列番号267)、INTYSGVP(配列番号157)およびCARIGNTNSLYTVHYW(配列番号266)；(viii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTTYG(配列番号111)、INTYSGVP(配列番号157)およびCTRIGNTNSLYTVHYW(配列番号268)；(ix)それぞれ、アミノ酸配列GYSITSGHY(配列番号269)、ISYDGN(配列番号270)およびCVRGYYYYSRAMDYW(配列番号271)；(x)それぞれ、アミノ酸配列GYSITSGHY(配列番号269)、ISYDGN(配列番号272)およびCVRGYYYYSRAMDCW(配列番号273)；(xi)それぞれ、アミノ酸配列GFSFSDYG(配列番号274)、ISSGSSTI(配列番号275)およびCGPSDYWFVDVW(配列番号276)；(xii)それぞれ、アミノ酸配列GFTFSDYG(配列番号277)、ISSGSSTI(配列番号275)およびCARDYFYGNNGFPYW(配列番号278)；(xiii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFINYY(配列番号279)、IYPGNINS(配列番号280)およびCAMTNS SAMDYW(配列番号281)；(xiv)それぞれ、アミノ酸配列GYTFISYY(配列番号282)、IYPGNVNT(配列番号283)およびCAMTNS SAMDYW(配列番号281)；(xv)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTSYY(配列番号284)、IYPGNVNT(配列番号283)およびCAMTNS SAMDYW(配列番号281)；(xvi)それぞれ、アミノ酸配列GFSLTNYD(配列番号285)、IWTGGNT(配列番号286)およびCVREGFRQGYRAMDYW(配列番号287)；(xvii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTDYY(配列番号112)、IDTKNGGT(配列番号288)およびCASGGRGYW(配列番号289)；(xviii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFNTNYG(配列番号267)、INTYTGE(配列番号290)およびCTRNYRPPYYRAMDYW(配列番号291)；

10

20

30

40

50

(x i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S F T G Y T (配列番号 2 9 2)、I N P Y N D N T (配列番号 2 9 3) および C A R E G N Y Y G A S P W F A Y W (配列番号 2 9 4) ; および

(x x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T H Y G (配列番号 2 9 5)、I N T S T G E T (配列番号 2 9 6) および C A R Y Y Y G S S R W R D Y W F A Y W (配列番号 2 9 7) からなるものである、抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0040】

一態様では、本開示は、L I L R B 2 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体またはその抗原結合性断片は、

相補性決定領域 (CDR) 1、CDR 2 および CDR 3 を含む重鎖可変領域であって、前記 CDR 1、CDR 2 および CDR 3 が、

(i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、M N T Y S G V P (配列番号 1 4 7)、および C A R M G R G S L Y G M D Y W (配列番号 2 6 1) ;

(i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R S G H S Y S L Y V M G Y W (配列番号 2 6 2) ;

(i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R S G H N Y S L Y V M G Y W (配列番号 2 6 3) ;

(i v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R G A L Y Y F D N W (配列番号 2 6 4) ;

(v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y M F T T Y G (配列番号 2 6 5)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 6) ;

(v i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 6) ;

(v i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T N Y G (配列番号 2 6 7)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C A R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 6) ;

(v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T T Y G (配列番号 1 1 1)、I N T Y S G V P (配列番号 1 5 7) および C T R I G N T N S L Y T V H Y W (配列番号 2 6 8) ;

(i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S I T S G H Y (配列番号 2 6 9)、I S Y D G N N (配列番号 2 7 0) および C V R G Y Y Y Y G S R A M D Y W (配列番号 2 7 1) ;

(x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S I T S G H Y (配列番号 2 6 9)、I S Y D G N D (配列番号 2 7 2) および C V R G Y Y Y Y G S R A M D C W (配列番号 2 7 3) ;

(x i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S F S D Y G (配列番号 2 7 4)、I S S G S S T I (配列番号 2 7 5) および C G P S D Y W Y F D V W (配列番号 2 7 6) ;

(x i i) それぞれ、アミノ酸配列 G F T F S D Y G (配列番号 2 7 7)、I S S G S S T I (配列番号 2 7 5) および C A R D Y F Y G N N Y G F P Y W (配列番号 2 7 8) ;

(x i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F I N Y Y (配列番号 2 7 9)、I Y P G N I N S (配列番号 2 8 0) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;

(x i v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F I S Y Y (配列番号 2 8 2)、I Y P G N V N T (配列番号 2 8 3) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;

(x v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T S Y Y (配列番号 2 8 4)、I Y P G N V N T (配列番号 2 8 3) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;

(x v i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S L T N Y D (配列番号 2 8 5)、I W T G G N T (配列番号 2 8 6) および C V R E G F R Q G Y Y A M D Y W (配列番号 2 8 7) ;

(x v i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T D Y Y (配列番号 1 1 2)、I D T K N G G T (配列番号 2 8 8) および C A S G G R G Y W (配列番号 2 8 9) ;

(x v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T N Y G (配列番号 2 6 7)、I N T Y T G E P (配列番号 2 9 0) および C T R N Y Y R P Y Y Y A M D Y W (配列番号 2 9 1) ;

(x i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S F T G Y T (配列番号 2 9 2)、I N P Y N D

N T（配列番号 293）および C A R E G N Y Y G A S P W F A Y W（配列番号 294）
；および

（x x）それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T H Y G（配列番号 295）、I N T S T G E
T（配列番号 296）および C A R Y Y Y G S S R W R D Y W F A Y W（配列番号 297
）からなるものである、重鎖可変領域；ならびに

C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域であって、前記 C D R 1、C D
R 2 および C D R 3 が、

（x x i）それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S T N Q K N Y（配列番号 298）、F A
S（配列番号 38）および C Q Q H Y S I P P T F（配列番号 299）；

（x x i i）それぞれ、アミノ酸配列 Q S L F I S T N Q K N Y（配列番号 300）、F 10
A S（配列番号 38）および C Q Q H Y S S P P T F（配列番号 301）；

（x x i i i）それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S T N Q I N Y（配列番号 302）、
F A S（配列番号 38）および C Q Q H Y D P P L T F（配列番号 303）；

（x x i v）それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S T N Q K N Y（配列番号 298）、F
A S（配列番号 38）および C Q H H Y D P P L T F（配列番号 304）；

（x x v）それぞれ、アミノ酸配列 Q N L L N S S N Q K N Y（配列番号 305）、F A
S（配列番号 38）および C Q Q H Y N T P P T F（配列番号 306）；

（x x v i）それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L N S S N Q K N Y（配列番号 26）、F A
S（配列番号 38）および C Q Q H Y S P P P T F（配列番号 307）；

（x x v i i）それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L I S S N Q N N Y（配列番号 308）、 20
F A S（配列番号 38）および C Q Q H Y S T P P T F（配列番号 130）；

（x x v i i i）それぞれ、アミノ酸配列 Q D I S N Y（配列番号 7）、Y T S（配列番
号 41）および C Q Q G H T L P Y T F（配列番号 309）；

（x x i x）それぞれ、アミノ酸配列 Q D I S N Y（配列番号 7）、Y T S（配列番号 4
1）および C Q Q G N T L P Y T F（配列番号 310）；

（x x x）それぞれ、アミノ酸配列 Q N V G T N（配列番号 197）、S T S（配列番号
44）および C Q Q Y N S Y P F T F（配列番号 311）；

（x x x i）それぞれ、アミノ酸配列 Q T I G T W（配列番号 312）、A A T（配列番
号 49）および C Q Q L Y S T P L T F（配列番号 313）；

（x x x i i）それぞれ、アミノ酸配列 Q N I R T A（配列番号 314）、L A S（配列 30
番号 42）および C L Q H W N Y P F T F（配列番号 315）；

（x x x i i i）それぞれ、アミノ酸配列 Q N V R T A（配列番号 316）、L A S（配
列番号 42）および C L Q H W N Y P F T F（配列番号 315）；

（x x x i v）それぞれ、アミノ酸配列 L N V R T A（配列番号 317）、L A S（配列
番号 42）および C L Q H W N Y P F T F（配列番号 315）；

（x x x v）それぞれ、アミノ酸配列 Q S L L Y S S N Q K N Y（配列番号 318）、W
A S（配列番号 45）および C Q Q Y Y S Y R T F（配列番号 319）；

（x x x v i）それぞれ、アミノ酸配列 Q N V Y T T（配列番号 320）、S A S（配列
番号 39）および C Q Q Y N S Y P Y T F（配列番号 321）；

（x x x v i i）それぞれ、アミノ酸配列 E N I Y S Y（配列番号 322）、D A K（配 40
列番号 323）および C Q H H Y G F P Y T F（配列番号 324）；

（x x x v i i i）それぞれ、アミノ酸配列 Q D V S N A（配列番号 31）、S A S（配
列番号 39）および C P Q H Y S T L C T F（配列番号 327）からなるものである、軽
鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0041】

一部の態様では、単離された抗体または抗原結合性断片は、L I L R B 2 活性のアンタ
ゴニストである。

【0042】

一態様では、本開示は、L I L R B 2 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断
片であって、配列番号 279、284、94、112、328、331、334、102 50

、342、および344のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号279、284、94、112、328、331、334、102、342、および344のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域(CDR)1、配列番号283、329、332、335、337、339、340、232、345、および347のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号283、329、332、335、337、339、340、232、345、および347のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、ならびに配列番号330、333、336、338、341、343、346、および348のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号330、333、336、338、341、343、346、および348のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む重鎖CDR3を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

10

【0043】

一態様では、本開示は、LILRB2に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号298、300、302、305、26、308、7、197、312、314、316、317、318、320、322、325、および31のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号314、316、87、23、353、355、91、357、12、および27のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号314、316、87、23、353、355、91、357、12、および27のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号41、42、45、349、351、97、40、および48のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号41、42、45、349、351、97、40、および48のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号315、350、352、354、356、104、358、359、55、および360のうち1つに示されるアミノ酸配列、または配列番号315、350、352、354、356、104、358、359、55、および360のうち1つに示されるアミノ酸配列において2つ以下のアミノ酸位置に置換を有するアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

20

30

【0044】

一態様では、本開示は、LILRB2に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体またはその抗原結合性断片は、相補性決定領域(CDR)1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域を含み、前記CDR1、CDR2およびCDR3は、

(x1)それぞれ、アミノ酸配列GFTFTGYW(配列番号328)、ILPVSGIT(配列番号329)およびCARRGSPYFDYW(配列番号330)；

(x1i)それぞれ、アミノ酸配列GFSLNTFDMG(配列番号331)、IWWDDDK(配列番号332)およびCGRKPGGYGNVYL(配列番号333)；

(x1ii)それぞれ、アミノ酸配列GFSLTRYG(配列番号334)、IWSGGST(配列番号335)およびCARDGRVYAMDYW(配列番号336)；

(x1iii)それぞれ、アミノ酸配列GYTFTDYY(配列番号112)、LNPNNGGT(配列番号337)およびCARGSGNSFYAMDYW(配列番号338)；

(x1iv)それぞれ、アミノ酸配列GYTFINYY(配列番号279)、IYPGNVNS(配列番号339)およびCAMTNS SAMDYW(配列番号281)；

(x1v)それぞれ、アミノ酸配列GYSITSGYY(配列番号102)、ISYDGSN(配列番号340)およびCTS IYGRFVYW(配列番号341)；

(x1vi)それぞれ、アミノ酸配列GFSLTRYG(配列番号334)、IWSGGST(配列番号335)およびCARDGRVYAMDYW(配列番号336)；

40

50

(x l v i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T N F W (配列番号 3 4 2)、I H P N S G S T (配列番号 2 3 2) および C A R N S G D Y L V Y F D S W (配列番号 3 4 3)

、
(x l v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S F T G Y F (配列番号 3 4 4)、I N P S T G D T (配列番号 3 4 5) および C A R G A T V V D Y P F D Y W (配列番号 3 4 6)、または

(x l i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T S Y W (配列番号 9 4)、I H P N G G S T (配列番号 3 4 7) および C T R G L T G L F A Y W (配列番号 3 4 8) からなるものである、抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0045】

10

一態様では、本開示は、L I L R B 2 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体またはその抗原結合性断片は、

相補性決定領域 (C D R) 1、C D R 2 および C D R 3 を含む重鎖可変領域であって、前記 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 が、

(x l) それぞれ、アミノ酸配列 G F T F T G Y W (配列番号 3 2 8)、I L P V S G I T (配列番号 3 2 9) および C A R R G S P Y F D Y W (配列番号 3 3 0) ;

(x l i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S L N T F D M G (配列番号 3 3 1)、I W W D D D K (配列番号 3 3 2) および C G R K P G G Y G N Y V L (配列番号 3 3 3) ;

(x l i i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S L T R Y G (配列番号 3 3 4)、I W S G G S T (配列番号 3 3 5) および C A R D G R V Y A M D Y W (配列番号 3 3 6) ;

20

(x l i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T D Y Y (配列番号 1 1 2)、L N P Y N G G T (配列番号 3 3 7) および C A R G S G N S F Y A M D Y W (配列番号 3 3 8) ;

(x l i v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F I N Y Y (配列番号 2 7 9)、I Y P G N V N S (配列番号 3 3 9) および C A M T N S S A M D Y W (配列番号 2 8 1) ;

(x l v) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S I T S G Y Y (配列番号 1 0 2)、I S Y D G S N (配列番号 3 4 0) および C T S I Y G R F V Y W (配列番号 3 4 1) ;

(x l v i) それぞれ、アミノ酸配列 G F S L T R Y G (配列番号 3 3 4)、I W S G G S T (配列番号 3 3 5) および C A R D G R V Y A M D Y W (配列番号 3 3 6) ;

(x l v i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T N F W (配列番号 3 4 2)、I H P N S G S T (配列番号 2 3 2) および C A R N S G D Y L V Y F D S W (配列番号 3 4 3)

30

、
(x l v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 G Y S F T G Y F (配列番号 3 4 4)、I N P S T G D T (配列番号 3 4 5) および C A R G A T V V D Y P F D Y W (配列番号 3 4 6)、または

(x l i x) それぞれ、アミノ酸配列 G Y T F T S Y W (配列番号 9 4)、I H P N G G S T (配列番号 3 4 7) および C T R G L T G L F A Y W (配列番号 3 4 8) からなるものである、重鎖可変領域 ; ならびに

C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域であって、前記 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 は、

40

(l) それぞれ、アミノ酸配列 S S V S S S Y (配列番号 8 7)、G T S (配列番号 3 4 9) および C H Q Y H R S P F T F (配列番号 3 5 0) ;

(l i) それぞれ、アミノ酸配列 S S V S Y (配列番号 2 3)、D T S (配列番号 3 5 1) および C F Q G S G Y P F T F (配列番号 3 5 2) ;

(l i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q S V L Y S S D Q K N Y (配列番号 3 5 3)、W A S (配列番号 4 5) および C H Q Y L S H T F (配列番号 3 5 4) ;

(l i i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q D V N T A (配列番号 3 5 5)、W A S (配列番号 4 5) および C Q Q L Y K L P R T F (配列番号 3 5 6) ;

(l v) それぞれ、アミノ酸配列 Q N I R T A (配列番号 3 1 4)、L A S (配列番号 4 2) および C L Q H W N Y P F T F (配列番号 3 1 5) ;

50

(l v i) それぞれ、アミノ酸配列 S S V N Y (配列番号 3 5 7)、Y T S (配列番号 4 1) および C Q Q F S S S P Y T F (配列番号 3 5 8) ;

(l v i i) それぞれ、アミノ酸配列 Q N V R T A (配列番号 3 1 6)、L A S (配列番号 4 2) および C L Q H W N Y P F T F (配列番号 3 1 5) ;

(l v i i i) それぞれ、アミノ酸配列 S S V S Y (配列番号 2 3)、D T S (配列番号 3 5 1) および C Q Q W R S Y Q L T F (配列番号 3 5 9) ;

(l v i x) それぞれ、アミノ酸配列 Q N I N V W (配列番号 6)、K A S (配列番号 4 0) および C Q Q G Q S Y P L T F (配列番号 5 5) ; および

(l v x) それぞれ、アミノ酸配列 Q D I N S Y (配列番号 2 7)、R A N (配列番号 4 8) および C L Q Y D E F L L T F (配列番号 3 6 0) からなるものである、軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

10

【0046】

一部の態様では、単離された抗体または抗原結合性断片は、L I L R B 2 活性のアゴニストである。

【0047】

一部の態様では、本開示は、本明細書に開示される抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片をコードする単離された核酸分子を提供する。本開示は、本明細書に開示される抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片をコードする核酸分子を含むベクターもまた提供する。本明細書に開示される抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片をコードする核酸分子を含むベクターを含む、原核細胞または真核細胞が含まれる宿主細胞もまた、本明細書に提供される。

20

【0048】

一部の態様では、本開示は、抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片を生産するための方法であって、(a) 宿主細胞による L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片の発現に適切な条件下で、抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片をコードする核酸分子を含むベクターを含む宿主細胞を培養するステップ; および (b) L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片を回収するステップを含む方法を提供する。

【0049】

抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片および適切な薬学的担体を含む組成物が、本明細書に開示される。一部の態様では、組成物は、化学療法剤または鎮痛薬をさらに含む。一部の態様では、組成物は、骨髓由来サプレッサー細胞、動員剤 (mobilizing agent)、c-jun N 末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される 1 種または複数のさらなる薬剤をさらに含む。

30

【0050】

本開示の組成物は、例えば、静脈内、筋肉内、経口、皮下、腹腔内、くも膜下腔内、腫瘍内または筋肉内投与のために製剤化され得る。

【0051】

一部の態様では、本開示は、対象においてがんを処置するための方法であって、治療有効量の本明細書に記載される L I L R B 2 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を対象に投与するステップを含む方法を提供する。一部の態様では、本方法は、化学療法剤または鎮痛薬を哺乳動物に投与するステップをさらに含む。

40

【0052】

一態様では、本開示は、本明細書に記載される抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片 (例えば、F a b または s c F v) および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。

【0053】

上記態様のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、約 1 5 0 p M ~ 約 1 0 0 n M の見かけの一価親和性を有する。

【0054】

上記態様の全てのある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、F a b

50

、 Fab' 、 $F(ab')_2$ 、 $Facb$ 、 Fv 、 Fd 、ダイアボディ (diabody)、 sc Fv または $sc(Fv)_2$ である。具体的な実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、 Fab である。

【0055】

本明細書で使用する場合、用語「1つまたは複数の」は、少なくとも1つの、より適切には、1、2、3、4、5、10、20、50、100、500などの、「1つまたは複数の」が言及する項目を含む。

【0056】

他に定義しない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。方法および材料は、本発明における使用のために本明細書に記載される；当該分野で公知の他の適切な方法および材料もまた使用され得る。材料、方法および例は、例示に過ぎず、限定を意図しない。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリーおよび他の参考文献は、その全体が参照によって組み込まれる。矛盾する場合、定義を含む本明細書が支配する。

【0057】

本発明の他の特色および利点は、以下の詳細な説明および図面、ならびに特許請求の範囲から明らかになる。

【図面の簡単な説明】

【0058】

【図1-1】ヒトPBMCからのTNFアルファ産生に対する抗IL12RB2の効果。図1A~1Cは、LPS (50 ng/ml) による24時間にわたる刺激後16時間にわたる一晩の、精製された抗IL12RB2抗体 (5 µg/ml) またはアイソタイプ対照とのインキュベーション後の、健康なドナーから得たヒト末梢血単核球 (PBMC) 由来のTNF-αの産生を示すグラフである。抗IL12RB2モノクローナル抗体 (mAb) を、TNFアルファ放出を抑制するクローンから、TNFアルファ分泌を増強するクローンの順でランキングした。TNF-αのレベルを、ELISAによって決定した。図1AからのTNFアルファ放出における相対的变化倍数に基づくクローンランキングが示される。TNFアルファの分泌が図1Aに示される (Ig対照との変化倍数)。図1BからのTNFアルファレベルにおける全体的差異が図1Cに示される (Ig対照の差し引きによる)。

【図1-2】ヒトPBMCからのTNFアルファ産生に対する抗IL12RB2の効果。図1A~1Cは、LPS (50 ng/ml) による24時間にわたる刺激後16時間にわたる一晩の、精製された抗IL12RB2抗体 (5 µg/ml) またはアイソタイプ対照とのインキュベーション後の、健康なドナーから得たヒト末梢血単核球 (PBMC) 由来のTNF-αの産生を示すグラフである。抗IL12RB2モノクローナル抗体 (mAb) を、TNFアルファ放出を抑制するクローンから、TNFアルファ分泌を増強するクローンの順でランキングした。TNF-αのレベルを、ELISAによって決定した。図1AからのTNFアルファ放出における相対的变化倍数に基づくクローンランキングが示される。TNFアルファの分泌が図1Aに示される (Ig対照との変化倍数)。図1BからのTNFアルファレベルにおける全体的差異が図1Cに示される (Ig対照の差し引きによる)。

【図1-3】ヒトPBMCからのTNFアルファ産生に対する抗IL12RB2の効果。図1A~1Cは、LPS (50 ng/ml) による24時間にわたる刺激後16時間にわたる一晩の、精製された抗IL12RB2抗体 (5 µg/ml) またはアイソタイプ対照とのインキュベーション後の、健康なドナーから得たヒト末梢血単核球 (PBMC) 由来のTNF-αの産生を示すグラフである。抗IL12RB2モノクローナル抗体 (mAb) を、TNFアルファ放出を抑制するクローンから、TNFアルファ分泌を増強するクローンの順でランキングした。TNF-αのレベルを、ELISAによって決定した。図1AからのTNFアルファ放出における相対的变化倍数に基づくクローンランキングが示される。

TNFアルファの分泌が図1Aに示される (Ig対照との変化倍数)。図1BからのTNFアルファレベルにおける全体的差異が図1Cに示される (Ig対照の差し引きによる)。

【図2-1】ヒトPBMCからのIL-10産生に対する抗LILRB2の効果。図2A~2Cは、LPS (50 ng/ml) による24時間にわたる刺激後16時間にわたる一晚の、精製されたLILRB2抗体 (5 µg/ml) またはアイソタイプ対照による処理後の、健康なドナーから得たPBMCからのIL-10の産生を示すグラフである。上清を収集し、IL-10濃度をELISAによって測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。IL-10放出における相対的变化倍数が図2Aに示される (Ig対照との変化倍数による)。IL-10の分泌が図2Bに示される。図2BからのIL-10濃度における全体的差異が図2Cに示される (Ig対照の差し引きによる)。

10

【図2-2】ヒトPBMCからのIL-10産生に対する抗LILRB2の効果。図2A~2Cは、LPS (50 ng/ml) による24時間にわたる刺激後16時間にわたる一晚の、精製されたLILRB2抗体 (5 µg/ml) またはアイソタイプ対照による処理後の、健康なドナーから得たPBMCからのIL-10の産生を示すグラフである。上清を収集し、IL-10濃度をELISAによって測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。IL-10放出における相対的变化倍数が図2Aに示される (Ig対照との変化倍数による)。IL-10の分泌が図2Bに示される。図2BからのIL-10濃度における全体的差異が図2Cに示される (Ig対照の差し引きによる)。

20

【図2-3】ヒトPBMCからのIL-10産生に対する抗LILRB2の効果。図2A~2Cは、LPS (50 ng/ml) による24時間にわたる刺激後16時間にわたる一晚の、精製されたLILRB2抗体 (5 µg/ml) またはアイソタイプ対照による処理後の、健康なドナーから得たPBMCからのIL-10の産生を示すグラフである。上清を収集し、IL-10濃度をELISAによって測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。IL-10放出における相対的变化倍数が図2Aに示される (Ig対照との変化倍数による)。IL-10の分泌が図2Bに示される。図2BからのIL-10濃度における全体的差異が図2Cに示される (Ig対照の差し引きによる)。

30

【図2-4】単球由来マクロファージからのM1/M2分化/TAMマーカーに対する抗LILRB2の効果 (アンタゴニスト)。図2Dは、複数の肺がん患者由来の腫瘍関連マクロファージのM1/M2マーカーに対するLILRB2抗体の効果についてのフローサイトメトリー分析である。腫瘍浸潤したリンパ球を単離し、IFNガンマの存在下でLILRB2アンタゴニスト抗体 (P_5G5) で2日間処理した。試験細胞を、上パネル中のサイトメトリー分析のために採取し、複数の患者についての統計分析が下パネルに示される。

【図2-5】単球由来マクロファージからのM1/M2分化/TAMマーカーに対する抗LILRB2の効果 (アゴニスト)。図2Eは、複数の健康なドナーにおけるM1/M2マーカーに対するLILRB2抗体の効果についてのフローサイトメトリー分析である。M1型マクロファージを、健康なドナーから選別されたCD33+骨髓細胞から、GM-CSF 100 ng/ml およびアゴニスト抗LILRB2 Ab (12H6、5 µg/ml) の存在下で6日間、ならびに最後の24時間についてはIFNガンマ (25 ng/ml) およびLPS (25 ng/ml) の存在下で、分化させた。試験細胞を、上パネル中のサイトメトリー分析のために採取し、複数の健康なドナーについての統計分析が下パネルに示される。

40

【図2-6】抗CD3で刺激した、抗LILRB2処理したPBMCのマスサイトメトリー分析。図2Fは、複数の健康なドナー由来のOKT3刺激されたPBMCに対するアンタゴニストおよびアゴニストLILRB2抗体のマスサイトメトリー分析である。PBMCを、健康なドナーから得、OKT3 (0.01 µg/ml) による3日間にわたる刺激

50

後16時間にわたって一晚、精製されたL I L R B 2アンタゴニスト (C__1 H 3) およびアゴニスト (C__8 B 5) 抗体 ($5 \mu\text{g}/\text{ml}$) またはアイソタイプ対照で処理した。試験細胞を、サイトメトリー分析のために採取した (ヒートマップ、左パネルおよびD i s n e y 図、右パネル)。左パネルは、免疫細胞サブセット (P B M C、C D 4 およびC D 8 T細胞) における示されたマーカーの発現を示すヒートマップを示す。右パネルは、本発明者らの38-抗体パネルを用いて分析し、I g G対照に基づいて正規化したマーカー発現によって色付けした、 1×10^6 個のP B M C、C D 4 およびC D 8 T細胞のサブセットについてのデータを示すt-SNEマップを示す。

【図3-1】低用量の抗O K T 3で刺激したヒトP B M CのT増殖に対する抗L I L R B 2の効果 (アンタゴニスト)。図3 Aは、健康なドナー由来のP B M Cの刺激後のO K T 3媒介性のT細胞増殖 (C P M) を示すグラフである。P B M Cを、L I L R B 2アンタゴニスト抗体と共に一晚 (16時間) 培養し、低用量 ($0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$) の抗C D 3 (O K T 3) で3日間刺激した。3日間の処理後、 $[^3\text{H}]$ -チミジンを、培養の最後の8時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。図1 AからのT N Fアルファに基づくクロンランキングが示される。T細胞増殖 (C P M) における相対的变化倍数が図3 Aに示される (I g対照との変化倍数に基づく)。

【図3-2】低用量の抗O K T 3で刺激したヒトP B M Cのインターフェロンガンマ産生に対する抗L I L R B 2の効果 (アンタゴニスト)。図3 Bは、健康なドナー由来のP B M CのO K T 3媒介性のT細胞増殖からのI F N- γ 産生を示すグラフである。P B M Cを、L I L R B 2アンタゴニスト抗体と共に一晚 (16時間) 培養し、低用量 ($0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$) の抗C D 3 (O K T 3) で3日間刺激した。上清を図3 Aから収集し、I F N- γ 濃度をE L I S Aによって測定した (I g対照との変化倍数に基づく)。

【図3-3】低用量のO K T 3で刺激したヒトP B M CからのT細胞増殖に対する抗L I L R B 2の効果 (アゴニスト)。図3 Cは、C F S Eで標識したO K T 3刺激されたヒトP B M Cからのフローサイトメトリーデータのセットである。C F S E標識されたP B M Cを、L I L R B 2アゴニスト抗体と共に一晚 (16時間) 培養し、低用量 ($0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$) の抗C D 3 (O K T 3) で3日間刺激した。3日間の培養後、生存C D 4 T細胞 (左パネル) およびC D 8 T細胞 (中央パネル) を、フローサイトメトリーによって分析した。代表的なフロープロットを、C D 4 およびC D 8 T細胞のC F S E希釈 (左パネルおよび中央パネル) ならびに増殖指数 (C D 4細胞については右中央パネル、およびC D 8細胞については右下パネル) として示した。上清を、右上パネルに示されるI F Nガンマ検出のために採取した。

【図3-4】M L RにおけるT細胞増殖に対する抗L I L R B 2の効果。図3 Dは、C F S Eで標識し、I g Gアイソタイプ対照または示されたL I L R B 2抗体 ($5 \mu\text{g}/\text{ml}$) の存在下で、照射された (30Gy) 無関係のドナーP B M C (刺激側) で刺激した、培養されたヒトP B M C (応答側) からのフローサイトメトリーデータのセットである。応答側/刺激側の比率は、1/2であった。5日間の共培養後、生存C D 4 T細胞 (左パネル) およびC D 8 T細胞 (右パネル) を、フローサイトメトリーによって分析した。代表的なフロープロットがC F S E希釈として示される。

【図4-1】ヒト骨髄性白血病細胞T H P-R B 2増殖に対する抗L I L R B 2の効果。図4 Aは、抗L I L R B 2抗体 ($5 \mu\text{g}/\text{ml}$) またはアイソタイプ対照による42時間の処理後の、L I L R B 2形質導入したヒト骨髄性白血病細胞 (T H P 1) の増殖を示すグラフである。L I L R B 2+T H P-1細胞増殖を、 $[^3\text{H}]$ -チミジン取込みによって見積もった。細胞を、培養の最後の8時間にわたって $[^3\text{H}]$ -チミジンでパルスした。

【図4-2】ヒト固形がんM C F 7増殖に対する抗L I L R B 2の効果。図4 Bは、抗L I L R B 2抗体 ($5 \mu\text{g}/\text{ml}$) またはアイソタイプ対照による4日間の処理後の、L I L R B 2形質導入したヒト乳がん細胞 (M C F 7) の増殖を示すグラフである。L I L R B 2+M C F 7細胞増殖を、 $[^3\text{H}]$ -チミジン取込みによって見積もった。細胞を、培養の最後の8時間にわたって $[^3\text{H}]$ -チミジンでパルスした。

10

20

30

40

50

【図 5】抗 L I L R B 3 は、R B 3 + 乳がん細胞の遊走を減少させる。図 5 A ~ 5 B は、L I L R B 2 + M D A M B 2 3 1 乳がん細胞の遊走 / 浸潤活性を示すグラフである。図 5 A は、L I L R B 2 + M D A M B 2 3 1 の遊走活性を評価するためのスクラッチアッセイ実施を示す。細胞単層を直線でスクラッチし、無血清培地中の抗 L I L R B 2 m A b または対照 I g ($5 \mu\text{g} / \text{ml}$) で処理した。24 時間後、L I L R B 2 + M D A M B 2 3 1 細胞の遊走能を、I m a g e J によって測定される面積に基づくスクラッチ閉鎖によって決定した。図 5 B は、L I L R B 2 + M D A M B 2 3 1 の浸潤活性を評価するために実施したトランスウェル (transwell) アッセイを示す。 1×10^5 個の細胞を、L I L R B 2 アンタゴニスト抗体 (C _ 5 C 1 2) または対照 I g ($5 \mu\text{g} / \text{ml}$) の存在下で上チャンバー中に播種した。24 時間後、トランスウェルメンブレンを、クリスタルバイオレットで染色し、1 視野当たりの細胞を計数した。上パネルに、遊走した細胞を示す写真が示される。図 5 A ~ 5 B 中の上パネルの統計分析が下パネルに示される。

【図 6 - 1】アンタゴニスト抗 L I L R B 2 は、ワクチンアジュバント効果 (C p G) および細菌オプソニン化 / 食作用を増強する。図 6 A は、アジュバント効果の増強 (左パネル) および G F P 発現大腸菌 (*Escherichia coli*) に対するヒト単球の食作用活性 (中央パネルおよび右パネル) に対する L I L R B 2 アンタゴニスト抗体 (P _ 5 G 5) の効果を示すグラフである。左パネル、M I S T R G マウスに、I g G 対照または L I L R B 2 アンタゴニスト抗体 (P _ 5 G 5) ($150 \mu\text{g} / \text{マウス}$) を 2 日間にわたって静脈内注射し、次いで、 5nmol で腹腔内チャレンジした。2 時間後、血清を試験マウスから収集し、T N F α レベルについての E L I S A 分析に供した。中央パネルおよび右パネル、ヒト化 M I S T R G マウスに、L I L R B 2 アンタゴニスト抗体 (P _ 5 G 5) または対照 I g ($150 \mu\text{g} / \text{マウス}$) を 48 時間にわたって腹腔内注射した。末梢血細胞を単離し、 1×10^7 個の末梢血細胞当たり 2×10^8 個の大腸菌 (*E. coli*) の比率で、G F P を発現する大腸菌 (*E. coli*) と共に 37°C で 4 時間インキュベートした。細胞を採取し、P B S で洗浄し、生存 C D 4 5 + C D 3 3 + 集団に対してゲートすることによって分析した。

【図 6 - 2】マウスおよびヒト肺がん細胞の腫瘍成長は、腫瘍モデルにおいて、アンタゴニスト抗 L I L R B 2 によって阻害された。図 6 B は、L L C 細胞の腫瘍成長が、B A C L I L R B 2 / 3 トランスジェニックマウスにおいて、抗 P D L 1 と併せた L I L R B 2 アンタゴニストクローン (P _ 5 G 5) によって抑制されたことを示すグラフである。試験マウスに、 4×10^5 個の L L C 細胞を皮下 (s c) 移植した。腫瘍サイズが 2 ~ 3 mm 直径に達したところで、L I L R B 2 アンタゴニストクローンであるクローン P _ 5 G 5 (白抜き丸) または対照 I g G (白抜き菱形) ($150 \mu\text{g} / \text{マウス}$ 、3 日毎) を、I . V . 注射を介して注入した。抗 P D L - 1 ($150 \mu\text{g} / \text{マウス}$ 、3 日毎) を、L I L R B 2 抗体であるクローン P _ 5 G 5 (白抜き四角) または対照 I g G (白抜き三角) の 2 回目の注射から開始した。腫瘍体積を、2 ~ 3 日毎に決定した; 図 6 B に示される。マウスおよびヒト肺がん細胞の腫瘍成長は、腫瘍モデルにおいて、アンタゴニスト抗 L I L R B 2 によって阻害された。図 6 C は、H L A - A 2 が一致するヒト化 N C G マウスモデルにおけるルシフェラーゼ発現 A 5 4 9 の腫瘍成長に対する L I L R B 2 アンタゴニスト抗体 (P _ 5 G 5) の抗腫瘍効果を示すグラフである。試験マウスに、 2×10^6 個の A 5 4 9 細胞を静脈内 (i v) 注射した。L I L R B 2 アンタゴニストクローンであるクローン P _ 5 G 5 または対照 I g G を、3 日目に、I . V . 注射を介して注入した ($200 \mu\text{g} / \text{マウス}$ 、3 日毎)。同じドナー由来の H L A - A 2 が一致した P B M C を、3 日目および 13 日目に注入した。抗 P D - 1 ($200 \mu\text{g} / \text{マウス}$) を、4 日目に開始し、3 週間にわたって毎週与えた。H L A - A 2 + P B M C ヒト化 N C G マウスにおけるルシフェラーゼ発現 A 5 4 9 腫瘍接種の 25 日後の肺におけるルシフェラーゼ活性についての統計分析を、生物発光シグナルによって定量化し (平均放射輝度 [$\text{p} / \text{s} / \text{cm}^2 / \text{sr}$])、図 6 C に示す。

【図 7】抗 L I L R B 2 と共刺激分子との相乗効果。図 7 A は、実験の模式図である。図 7 B ~ C は、ヒト P B M C 増殖およびインターフェロンガンマ分泌に対する抗 L I L R B

2の共刺激効果を示すグラフを示す。健康なドナー由来の 1×10^5 個の総PBMCを、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の $\alpha\text{-PD-1}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の $4-1\text{BBL}$ 、 $100\text{ng}/\text{ml}$ の OX40L または $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の GITRL の存在下で、抗 LILRB2 Ab ($5 \mu\text{g}/\text{ml}$)で一晩(16時間)刺激し、低用量の抗 CD3 (OKT3 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$)を3日間プラスして、培養した。3日間の処理後、T細胞増殖を、 $[^3\text{H}]$ ーチミジン取込みによって見積もった。チミジンを、培養の最後の8時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。T細胞増殖(CPM)に対する効果が図7Bに示される。上清を、図7Cに示されるインターフェロンガンマ産生の検出のために採取した。

【図8】抗 LILRB2 抗体は、初代ヒト単球においてLPS応答を増強する。図8A： IgG 処理サンプルと比較した、 $\text{TNF}\alpha$ および CD86 MFIレベルの変化倍数。PBMCを、 LILRB2 反応性ハイブリドーマ上清と共に48時間培養し、その後、ブレフェルジンAの存在下でLPS ($50\text{ng}/\text{ml}$)で6時間刺激した。MFI値は、 CD33^+ 単球に対してゲートされた細胞を示す。図8B：図8Aからの強調されたクローン

の生 CD86 および $\text{TNF}\alpha$ データ(赤線)。データは、オーバーレイされた Ig 対照処理PBMC(黒線)である。図8C：図8A中の強調されたクローンの LILRB2 および LILRA1 受容体認識。抗体結合を、ヤギポリクローナル抗マウス IgG 二次抗体を使用して検出した。図8D：THP1親細胞および LILRB2 レトロウイルス形質導入細胞上の LILRB2 の発現。図8E：固定化された抗 LILRB2 ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$)への LILRB2-His の会合($t=1\sim600\text{s}$)およびそれからの解離($t=600\sim1450\text{s}$)を試験するバイオレイヤー干渉法データ。 LILRB2-His の濃度および計算された抗 LILRB2 親和性(クローンA)が示される。

【図9-1】 LILRB2 アンタゴニズムは、 MCSF の存在下で炎症性マクロファージを生成する。図9A： mIgG2a または抗 LILRB2 (αLILRB2 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$)の存在下で成熟させた MCSF^-M マクロファージの代表的な明視野顕微鏡画像。図9B： mIgG2a (青線)または抗 LILRB2 (赤線)の存在下での M^- による CD14 および CD163 発現の代表的なレベル。図9C：複数の実験にわたって健康なドナー($n=10$)から収集した、図9BからのプールされたペアのMFIデータ。図9D：16時間のLPS ($50\text{ng}/\text{mL}$)刺激および ELISA による検出後の、図9C中のマクロファージから分泌された $\text{TNF}\alpha$ および IL10 。図9E： MCSF ($50\text{ng}/\text{ml}$)の存在下で2日間培養した IgG 処理した未熟なマクロファージにおける平均値と比較した、 IRF3 、 4 、 5 および 7 mRNA発現における変化倍数。 p 値を、両側スチューデント t 検定を使用することによって計算した。

【図9-2】図9F： mIgG2a (黒)および抗 LILRB2 (赤)の存在下で成熟させた $\text{M}(\text{LPS})$ および $\text{M}(\text{IL4})$ における代表的な PD-L1 発現。図9G：複数の実験にわたって健康なドナー($n=11$)から収集した、図9FからのプールされたペアのMFIデータ。図9H： mIgG2a (黒)および抗 LILRB2 (赤)の状況下で成熟させた $\text{M}(\text{LPS})$ および $\text{M}(\text{IL4})$ の代表的な DC-SIGN 発現。図9I：複数の実験にわたって健康なドナー($n=11$)から収集した、図9HからのプールされたペアのMFIデータ。 p 値を、対応のある両側 t 検定を使用することによって計算した。

【図10-1】 LILRB2 アンタゴニズムは、 $\text{NF}\kappa\text{B}/\text{STAT1}$ 炎症経路を好む。図10A～図10C：THP1 LILRB2^+ 細胞を、 IgG または抗 LILRB2 (αLILRB2 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$)と共に24時間培養し、その後、LPS(図10A)、 $\text{IFN}\gamma$ (図10B)または IL4 (図10C)で5、10および30分間急性刺激した。図10A：LPS ($50\text{ng}/\text{mL}$)刺激に応答したリン酸化された $\text{NF}\kappa\text{B}$ 、 $\text{ERK1}/2$ および p38 のイムノプロット。図10B： $\text{IFN}\gamma$ ($20\text{ng}/\text{mL}$)刺激に応答したリン酸化された $\text{NF}\kappa\text{B}$ 、 $\text{ERK1}/2$ 、 p38 および STAT1 のイムノプロット。データは、3回の独立した実験の代表的な実験からのものであり、平均 $\pm\text{SEM}$ として示され、 p 値は、一元配置ANOVA、テューキーの多重比較検定によって計算した。

【図10-2】 LILRB2 アンタゴニズムは、 $\text{NF}\kappa\text{B}/\text{STAT1}$ 炎症経路を好む。図10A～図10C：THP1 LILRB2^+ 細胞を、 IgG または抗 LILRB2 (

10

20

30

40

50

【図12-1】LILRB2遮断は、肺腫瘍関連マクロファージ成熟化を*in vitro*および*in vivo*でリプログラミングする。図12A：A549細胞（ 1×10^3 細胞／ウェル）の5日間共培養による、初代ヒトCD33+単球（ 1×10^5 細胞／ウェル）の成熟化を阻害する。

ル)のFACSゲーティング分析。図12B:図12Aからの生CD33⁺CD14⁺骨髓細胞の間でのCD14、CD16、CD163およびDC-SIGN発現。IgG処理細胞(黒線)に、抗LILRB2処理細胞(α LILRB2、赤線)がオーバーレイされる。図12C:その12日前にA549腫瘍およびCD33⁺単球を皮下接種したNSG-SGM3免疫不全マウス由来のヒトCD45⁺CD33⁺マクロファージを同定するためのFACSゲーティング戦略。*、 $p < 0.05$ 、 $ns.$ = 有意性なし。データを、両側スチューデントt検定を使用して比較した。

【図12-2】LILRB2遮断は、肺腫瘍関連マクロファージ成熟化を*in vitro*および*in vivo*でリプログラミングする。図12D:1人のドナーからの1つの代表的なデータを示した。データを、4腫瘍サンプル/群、2マウス/群から平均した。データを、両側スチューデントt検定を使用して比較した。5人のドナーからの個々のデータを図20Bに示した。CD14、HLADRおよびCD16についての5人全てのドナーからの組み合わせたデータは図20Dに示される。データを、4~8腫瘍サンプル/群/ドナー、2~4マウス/群/ドナー、3回の独立した実験から平均した、対応のあるt検定。図12E:HLA-A2が一致したヒト化NCGマウスを使用して、LUC-A549(HLA-A2⁺)異種移植マウスモデルにおける、抗PD-1(α PD1)処置と併せたLILRB2遮断(α LILRB2)による*in vivo*抗腫瘍応答を見積もった。HLA-A2+PBMCヒト化NCGマウスにおけるルシフェラーゼ発現A549腫瘍接種の19日後の肺におけるルシフェラーゼ活性についての統計分析を、生物発光シグナルによって定量化し(平均放射輝度[p/s/cm²/sr])、棒グラフに示す(1群当たり $n = 3 \sim 6$ 匹のマウス)、一元配置ANOVA、チューキーの多重比較検定。図12F:CpGチャレンジしたマウスからの血清TNF α レベルについてのELISA分析が示される、 $n = 5$ (両側スチューデントt検定)。図12G:IgGまたは抗LILRB2処置したヒト化MISTRGマウス由来のCD45⁺CD33⁺集団中の生存CD14⁺CD16⁻およびCD14⁺CD16⁻細胞におけるGFP発現大腸菌(*E. coli*)の平均蛍光強度を分析した($N = 3$ 、マウス1匹当たり二連)。*、 $p < 0.05$ 、 $ns.$ = 有意性なし。データを、両側スチューデントt検定を使用して比較した。

【図13-1】LLC腫瘍モデルにおけるLILRB2トランスジェニックマウスにおけるLILRB2遮断の抗腫瘍効果。図13A:CD11bゲートした生存末梢血細胞におけるLILRB2およびLILRB3発現。図13B:総末梢血細胞を、IgGまたは抗LILRB2(α LILRB2)の存在下でのLPS刺激後にフローサイトメトリー分析のために採取し、上清をELISAアッセイのために収集した。CD11bゲートした細胞中のCD86⁺MHCII⁺集団の代表的なドットプロット。図13C:図13BからのCD11bゲートした細胞中のCD86⁺MHCII⁺細胞の百分率についての統計分析($n = 3$)。図13D:総末梢血細胞からのTNF α 分泌についての統計分析($n = 3$)。

【図13-2】LLC腫瘍モデルにおけるLILRB2トランスジェニックマウスにおけるLILRB2遮断の抗腫瘍効果。図13E:LILRB2トランスジェニックマウスにおけるLewis肺癌(LLC)腫瘍モデル。IgG対照または抗LILRB2(α LILRB2)もしくは/および抗PD-L1(α PD-L1)で処置した実験マウス。左、LLC腫瘍成長を、2日毎または3日毎に測定し、1群当たりの平均腫瘍体積 $\pm$ SEM(平均の標準誤差)を報告した、 $N = 5 \sim 6$ 。右、腫瘍重量。統計的有意性を、23日目に、群の二元配置ANOVA比較を使用して決定した、 p 値: *、 $p < 0.05$ 、**、 $p < 0.01$ 。

【図13-3】LLC腫瘍モデルにおけるLILRB2トランスジェニックマウスにおけるLILRB2遮断の抗腫瘍効果。図13F:腫瘍浸潤性リンパ球を、CD11b⁺細胞集団中のLy6G⁺Ly6C^{int}顆粒球性MDSCおよびLy6G⁻Ly6C^{hi}単球性MDSCのフローサイトメトリー分析のために精製した。上パネル、IgG対照または抗LILRB2+抗PD-L1で処置した試験マウスの腫瘍由来のMDSCについての代表的なフローサイトメトリー分析。下パネル、腫瘍保有マウスから収集した左図からのプール

されたMFIデータ（ $n = 3 \sim 5$ 匹のマウス／群、一元配置ANOVA、チューキーの多重比較検定）。図13G：脾細胞および腫瘍浸潤性リンパ球を、 $CD4^+$ 細胞集団中の $CD25^+FoxP3^+Treg$ のフローサイトメトリー分析のために単離した。左、Ig対照または抗LILRB2+抗PD-L1で処置した試験マウスの脾臓および腫瘍由来のTregについての代表的なフローサイトメトリー分析。右、同じ腫瘍保有マウスから収集したプールされたMFIデータ（1群当たり $n = 4 \sim 6$ 匹のマウス、一元配置ANOVA、チューキーの多重比較検定）。

【図14-1】肺がん患者由来腫瘍浸潤性骨髓細胞は、LILRB2遮断に応答する。図14A：NSCLC切除腫瘍から単離された骨髓細胞集団の特徴付け。細胞を、 $DAPICD45^+$ 生白血球細胞に対してゲートした。PMN-MDSC、M-MDSC、DCおよびTAM集団が同定された。図14B：図14Aからの $CD33^+$ ゲートの間での代表的なLILRB1-4染色。図14C：MDSC（左）およびTAM（右）ゲートに対してゲートされた複数の患者生検（ $N = 5 \sim 6$ ）のLILRB MFIが示される。図14D：肺がん由来TILを、Ig対照または抗LILRB2（ α LILRB2）と併せてM-CSF+IFN γ と共に48時間培養した。上清を、TNF α およびIL10分泌について評価した（*、 $p < 0.05$ 、 $n = 15$ 、対応のあるt検定）。

【図14-2】肺がん患者由来腫瘍浸潤性骨髓細胞は、LILRB2遮断に応答する。図14E：図14Dからの肺がん由来TILを、 $CD163$ 、 $CD14$ およびPD-L1（ $n = 11$ ）ならびにDC-SIGNおよび $CD16$ （ $n = 7$ ）の発現についてのフローサイトメトリー分析のために複数の患者から収集した（対応のあるt検定）。

【図14-3】肺がん患者由来腫瘍浸潤性骨髓細胞は、LILRB2遮断に応答する。図14F：M1/M2極性化に対するLILRB2アンタゴニズムについての提唱された機構。

【図15】形質導入された細胞株およびPBMC上のLILRBおよびLILRA1検出。

【図16】LILRB2アンタゴニズムは、T細胞増殖に対するマクロファージ依存的阻害を低減させる。

【図17-1】M(LPS)対M(IL4)マクロファージの差次的に発現される遺伝子。

【図17-2】M(LPS)対M(IL4)マクロファージの差次的に発現される遺伝子。

【図18-1】LILRB2アンタゴニズムの観点からの、単球由来マクロファージから差次的に発現される遺伝子。

【図18-2】LILRB2アンタゴニズムの観点からの、単球由来マクロファージから差次的に発現される遺伝子。

【図18-3】LILRB2アンタゴニズムの観点からの、単球由来マクロファージから差次的に発現される遺伝子。

【図18-4】LILRB2アンタゴニズムの観点からの、単球由来マクロファージから差次的に発現される遺伝子。

【図18-5】LILRB2アンタゴニズムの観点からの、単球由来マクロファージから差次的に発現される遺伝子。

【図19】LILRB2遮断は、乳房腫瘍関連マクロファージ成熟化をリプログラミングする。

【図20-1】A549肺がん異種移植モデルおよびヒト化MISTRGマウスの生成。

【図20-2】A549肺がん異種移植モデルおよびヒト化MISTRGマウスの生成。

【図21】肺がん患者由来腫瘍浸潤性骨髓細胞は、LILRB2遮断に応答する。

【図22】腫瘍浸潤したリンパ球中の $CD45^+CD33^+HLA-DR^+hiCD14^+$ 樹状細胞、および $CD14^+$ 単球分化した樹状細胞上でのLILRB2発現。

【図23-1】図23A~23Cは、健康なドナー由来のPBMCの刺激後のOKT3媒介性のT細胞増殖(CPM)を示すグラフである。PBMCを、LILRB2抗体と共に

10

20

30

40

50

一晚（16時間）培養し、低用量（0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）抗CD3（OKT3）で3日間刺激した。3日間の処理後、 $[\text{}^3\text{H}]$ ーチミジンを、培養の最後の8時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。T細胞増殖（CPM）における相対的变化倍数が図23Aに示される。

【図23-2】図23A～23Cは、健康なドナー由来のPBMCの刺激後のOKT3媒介性のT細胞増殖（CPM）を示すグラフである。PBMCを、LILRB2抗体と共に一晚（16時間）培養し、低用量（0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）抗CD3（OKT3）で3日間刺激した。3日間の処理後、 $[\text{}^3\text{H}]$ ーチミジンを、培養の最後の8時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。T細胞増殖が図23Bに示される。

10

【図23-3】図23A～23Cは、健康なドナー由来のPBMCの刺激後のOKT3媒介性のT細胞増殖（CPM）を示すグラフである。PBMCを、LILRB2抗体と共に一晚（16時間）培養し、低用量（0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）抗CD3（OKT3）で3日間刺激した。3日間の処理後、 $[\text{}^3\text{H}]$ ーチミジンを、培養の最後の8時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。図23BからのT細胞増殖における全体的差異が図23Cに示される。

【図23-4】図23D～23Fは、健康なドナーから得たPBMCからのIFN- γ 産生を示すグラフである。PBMCを、LILRB2抗体と共に一晚（16時間）培養し、低用量（0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）抗CD3（OKT3）で3日間刺激した。上清を収集し、IFN- γ 産生をELISAによって測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。IFN- γ 産生放出における相対的变化倍数が図23Dに示される。

20

【図23-5】図23D～23Fは、健康なドナーから得たPBMCからのIFN- γ 産生を示すグラフである。PBMCを、LILRB2抗体と共に一晚（16時間）培養し、低用量（0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）抗CD3（OKT3）で3日間刺激した。上清を収集し、IFN- γ 産生をELISAによって測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。IL-10の分泌が図23Eに示される。

【図23-6】図23D～23Fは、健康なドナーから得たPBMCからのIFN- γ 産生を示すグラフである。PBMCを、LILRB2抗体と共に一晚（16時間）培養し、低用量（0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）抗CD3（OKT3）で3日間刺激した。上清を収集し、IFN- γ 産生をELISAによって測定した。図1AからのTNFアルファに基づくクロンランキングが示される。図23EからのIL-10濃度における全体的差異が図23Fに示される。

30

【図23-7】LILRAファミリーに対する抗LILRB2アゴニスト抗体の交差反応性を示す。

【図23-8】抗LILRB2アゴニスト抗体による処理の際のT細胞IFN- γ 産生の抑制を示す。

【図23-9】抗LILRB2アゴニスト抗体によるMLR反応の抑制を示す。

40

【図24】抗LILRB2 CAR-T細胞は、LILRB2+白血病細胞、例えば、THP-1によって刺激した場合の特異的活性化およびサイトカイン放出を実証している。抗LILRB2-CAR-Tの短い形態のベクターを使用する（上パネル）：抗LILRB2 CAR-T細胞は、標的LILRB2タンパク質に対する活性化特異性を示した。抗LILRB2 CAR-T細胞を、1:1～1:10の範囲の標的：エフェクターで、LILRB2発現THP1細胞または親THP1細胞と共に24時間共培養した。CAR-T細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する41BB発現の検出によって決定した。形質導入なしのT細胞を対照として使用した。下パネル：抗LILRB2 CAR-T細胞は、標的LILRB2タンパク質に対するサイトカイン放出特異性を示した。上清を、1:1～1:10の範囲の標的：エフェクターでの、抗LILRB2 CAR-T細胞

50

胞と L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞との 2 4 時間の共培養後に収集した。サイトカイン放出を、E L I S A によって、インターフェロン γ (I F N γ) についてアッセイした。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

【図 2 5】抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、L I L R B 2 + 白血病細胞によって刺激した場合の特異的活性化およびサイトカイン放出を実証している。抗 L I L R B 2 - C A R - T の長い形態のベクター (上パネル) : 抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、標的 L I L R B 2 タンパク質に対する活性化特異性を示した。抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞を、1 : 1 ~ 1 : 1 0 の範囲の標的 : エフェクターで、L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞と共に 2 4 時間共培養した。C A R - T 細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する 4 1 B B 発現の検出によって決定した。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。下パネル : 抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、標的 L I L R B 2 タンパク質に対するサイトカイン放出特異性を示した。上清を、1 : 1 ~ 1 : 1 0 の範囲の標的 : エフェクターでの、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞と L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞との 2 4 時間の共培養後に収集した。サイトカイン放出を、E L I S A によって、インターフェロン γ (I F N γ) についてアッセイした。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

10

【図 2 6】抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、標的 L I L R B 2 に対する結合特異性を実証している。短い形態 (上パネル) および長い形態 (下パネル) の両方の抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞を、L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞、L I L R B 3 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞と共に 2 4 時間共培養した。C A R - T 細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する 4 1 B B 発現の検出によって決定した。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

20

【図 2 7】抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、H T 2 9 結腸がん細胞において標的 L I L R B 2 タンパク質に対する結合特異性を実証している。抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞を、L I L R B 2 発現 H T 2 9 細胞、L I L R B 3 発現 H T 2 9 細胞または H T 2 9 対照細胞と共に 2 4 時間共培養した。C A R - T 細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する 4 1 B B 発現についての活性化マーカーの検出によって決定した。O K T 3 で刺激した C A R - T 細胞を、C A R - T 細胞活性化についての陽性対照として使用した。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

【図 2 8】抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、L I L R B 2 発現白血病細胞に対する効率的な細胞傷害性を *i n v i t r o* で示す。L I L R B 2 発現白血病細胞 (B 2 - T H P 1) を、0 . 0 2 : 1 ~ 1 0 : 1 の範囲のエフェクター : 標的で、抗 L I L R B 2 C A R - T または形質導入されていない T 細胞と共に共培養した。上清を、7 時間の共培養後に収集し、細胞傷害性を、L D H 放出の検出によって決定した。

30

【図 2 9】T H P 1 - L I L R B 2 異種移植マウスモデルにおける抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞の有効性の実証のための実験設計。N S G - S G M 3 マウスに、0 日目に L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞を注射し、8、1 5、2 2 および 3 0 日目に、形質導入されていない T 細胞 (対照) または抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞で処置した。生物発光画像を毎週撮影した。

【図 3 0】抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、T H P 1 - L I L R B 2 異種移植マウスモデルにおいて白血病負荷を低減させた。N S G - S G M 3 マウスに、0 日目に L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞を注射し、8、1 5、2 2 および 3 0 日目に、形質導入されていない T 細胞 (対照) または抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞で処置した。生物発光画像 (B L I) を毎週撮影した。形質導入されていない T 細胞 (左) または抗 L I L R B 2 - C A R - T 細胞 (右) で処置したマウスの毎週の B L I を、マウスの背中から撮影した。

40

【図 3 1】抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、T H P 1 - L I L R B 2 異種移植マウスモデルにおいて白血病負荷を低減させた。N S G - S G M 3 マウスに、0 日目に L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞を注射し、8、1 5、2 2 および 3 0 日目に、形質導入されていない T 細胞 (対照) または抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞で処置した。生物発光画像 (B L I) を毎週撮影した。形質導入されていない T 細胞 (左) または抗 L I L R B 2 - C A

50

R-T細胞（右）で処置したマウスの毎週のBLIを、腹部から撮影した。

【図32】抗LILRB2 CAR-T細胞は、THP1-LILRB2異種移植マウスモデルにおいて白血病負荷を低減させた。NSG-SGM3マウスに、0日目にLILRB2発現THP1細胞を注射し、8、15、22および30日目に、形質導入されていないT細胞（対照）または抗LILRB2 CAR-T細胞で処置した。生物発光画像（BLI）を毎週撮影した。各形状は、処置群中の個々のマウスを示す。時間の関数としての全光束（p/s）のプロットは、抗LILRB2 CAR-T細胞（右）が、対照T細胞処置（左）マウスと比較して白血病負荷を減少させることを実証した。

【図33】抗LILRB2 CAR-T細胞は、THP1-LILRB2異種移植マウスモデルにおいて白血病負荷を低減させた。NSG-SGM3マウスに、0日目にLILRB2発現THP1細胞を注射し、8、15、22および30日目に、形質導入されていないT細胞（対照）または抗LILRB2 CAR-T細胞で処置した。生物発光画像（BLI）を毎週撮影した。全光束（左パネル）および平均放射輝度（右パネル）での白血病負荷の定量化結果を示した。抗LILRB2 CAR-T細胞で処置したマウスは、形質導入されていないT細胞処置マウスと比較して腫瘍負荷の減少を示した。

【図34】抗LILRB4 CAR-T細胞は、LILRB4タンパク質発現ヒトAML細胞に対する細胞傷害性を実証した。

【図35】アンタゴニスト抗LILRB2は、CAR-T T細胞増殖のMDS C媒介性の阻害を無効にする。図35A：抗LILRB2は、LILRB4 CAR-TによるAML死滅のMDS C媒介性の阻害を克服した。LILRB4 CAR-T細胞を、抗LILRB2抗体または対照免疫グロブリンの存在下で、MDS C、およびAML細胞である、LILRB4を発現するTHP-1と共に3日間共培養した。残留THP-1およびMDS C細胞を、CD33およびCD14マーカーの染色によって同定した。抗LILRB2は、対照免疫グロブリンと比較して、LILRB4 CAR-T媒介性のTHP-1死滅を増強した。図35B：抗LILRB2は、CAR-T増殖のMDS C媒介性の抑制を克服した。CFSE標識されたHer2 CAR-T細胞を、MDS Cおよび抗LILRB2の存在下で、Her2+SCC-47腫瘍細胞で3日間刺激した。CD4およびCD8 T細胞の増殖を、フローサイトメトリーによってCFSE希釈を使用して見積もった。CAR-T細胞、腫瘍細胞およびMDS Cの比率は、10：1：5であった。

【発明を実施するための形態】

【0059】

本開示は、LILRB2に特異的に結合する抗体および抗原結合性断片を特徴とする。

【0060】

本開示は、本明細書に記載される抗体およびその抗原結合性断片をコードするポリヌクレオチドもまた提供する。さらに、本開示は、がんの処置において抗LILRB2抗体およびその抗原結合性断片を使用する方法または炎症促進性免疫応答を刺激する方法に関する。

【0061】

本開示はまた、関連のキメラ抗原受容体（CAR）およびそれを含む細胞（例えば、T細胞、ナチュラルキラー細胞またはマクロファージ）、ならびに腫瘍を標的化しそれを死滅させること、喘息処置、または（例えば、感染または感染性疾患を処置するために）感染細胞を標的化しそれを除去すること、または自己免疫疾患もしくは移植片拒絶に関与する免疫系細胞を抑制することにおけるCARおよび細胞の使用に関する。

【0062】

本明細書および特許請求の範囲の明確な理解を提供するために、以下の定義を下に提供する。

【0063】

定義

実施形態が言語「含む」を用いて本明細書に記載される場合には、「～からなる」および／または「～から本質的になる」の語で記載される他の同様の実施形態もまた提供され

10

20

30

40

50

ることが理解される。

【0064】

用語「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域内の少なくとも1つの抗原認識部位を介して、標的、例えば、タンパク質（例えば、L I L R B 2、そのサブユニット、または受容体複合体）、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、または上述の組合せを認識し、それに特異的に結合する免疫グロブリン分子を意味する。典型的な抗体は、ジスルフィド結合によって相互接続された少なくとも2つの重（H C）鎖および2つの軽（L C）鎖を含む。各重鎖は、「重鎖可変領域」または「重鎖可変ドメイン」（本明細書でV_Hと略される）および重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、3つのドメイン、C H 1、C H 2およびC H 3から構成される。各軽鎖は、「軽鎖可変領域」または「軽鎖可変ドメイン」（本明細書でV_Lと略される）および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメインC 1から構成される。V_HおよびV_L領域は、フレームワーク領域（F R）と呼ばれるより保存された領域が散在する相補性決定領域（C D R）と呼ばれる超可変性の領域へとさらに細分され得る。各V_HおよびV_L領域は、アミノ末端からカルボキシ末端へと以下の順序で配置された3つのC D Rおよび4つのF Rから構成される：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。本明細書で使用する場合、用語「抗体」は、インタクトなポリクローナル抗体、インタクトなモノクローナル抗体、抗体断片（例えば、F a b、F a b'、F（a b'）₂、F d、F a c bおよびF v断片）、単鎖F v（s c F v）、ミニボディ（minibody）（例えば、s c（F v）₂、ダイアボディ）、多特異性抗体、例えば、少なくとも2つのインタクトな抗体から生成された二重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部分を含む融合タンパク質、および抗体が所望の生物学的活性を示す限り、抗原認識部位を含む任意の他の改変された免疫グロブリン分子を包含する。したがって、用語「抗体」は、抗体全体およびその任意の抗原結合性断片または単鎖を含む。抗体は、裸であってもよく、または他の分子、例えば、毒素、放射性同位体、低分子薬物、ポリペプチドなどにコンジュゲートされてもよい。

【0065】

用語「単離された抗体」とは、同定され、その天然の環境の構成成分から分離および／または回収された抗体を指す。その天然の環境の混入成分は、抗体についての診断的または治療的使用を妨害する物質であり、これには、酵素、ホルモンおよび他のタンパク質性または非タンパク質性溶質が含まれ得る。一部の実施形態では、抗体は、（1）L o w r y法によって決定した場合に、99重量%よりも多くを含めて95重量%よりも多くの抗体まで、（2）スピニングカップシーケンエーター（spinning cup sequenator）の使用によってN末端もしくは内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、または（3）クマシーブルー、または好ましくは銀染色を使用した還元条件もしくは非還元条件下でのS D S－P A G Eによる均一性まで、精製される。抗体の天然の環境の少なくとも1つの構成成分が存在しないので、単離された抗体には、組換え細胞内のi n s i t uの抗体が含まれる。しかし、通常、単離された抗体は、少なくとも1回の精製ステップによって分離される。

【0066】

二重特異性抗体は、例えば、ロイシンジッパーによって連結されたF a b'部分を有する二重特異性抗体を作製することを開示する、参照により組み込まれる米国特許第5, 932, 448号明細書；部分がリンカーで連結された二重特異性抗体を作製することを開示する、参照により組み込まれる米国特許第7, 538, 196号明細書；およびペプチドリンカーを介して互いに連結される少なくとも4つの可変ドメインを有する多価F v抗体構築物を開示する、参照により組み込まれる米国特許第8, 148, 496号明細書に記載されている。

【0067】

用語「ヒト化」免疫グロブリンとは、ヒトフレームワーク領域、および非ヒト（通常は

10

20

30

40

50

マウスまたはラット) 免疫グロブリン由来の1つまたは複数のCDRを含む免疫グロブリンを指す。CDRを提供する非ヒト免疫グロブリンは、「ドナー」と呼ばれ、フレームワークを提供するヒト免疫グロブリンは、「アクセプター」と呼ばれる。定常領域は存在しなくてもよいが、存在する場合には、ヒト免疫グロブリン定常領域に対して実質的に同一、即ち、少なくとも約85~90%、好ましくは約95%またはそれよりも高く同一でなければならない。したがって、おそらくはCDRを除く、ヒト化免疫グロブリンの全ての部分が、天然のヒト免疫グロブリン配列の対応する一部に対して実質的に同一である。「ヒト化抗体」は、ヒト化軽鎖およびヒト化重鎖免疫グロブリンを含む抗体である。例えば、キメラ抗体の可変領域全体が非ヒトであるので、ヒト化抗体は、上で定義したように、典型的なキメラ抗体は包含しない。例えば、米国特許第5585089号明細書；同第5225539号明細書（参照により組み込まれる）を参照のこと。

10

【0068】

用語「抗原結合性断片」とは、インタクトな抗体の一部を指し、インタクトな抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって果たされ得ることが、当該分野で公知である。抗原結合抗体断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、FdおよびFv断片、直鎖状抗体、単鎖抗体、ならびに抗体断片から形成された多特異性抗体が含まれるがこれらに限定されない。一部の例では、抗体断片は、インタクトな抗体または抗体全体のタンパク質分解性消化によって調製され得る。例えば、抗体断片は、抗体全体を、パパイン、ペプシンまたはプラスミンなどの酵素で処理することによって得ることができる。抗体全体のパパイン消化は、F(ab)₂またはFab断片を生じ；抗体全体のペプシン消化は、F(ab')₂またはFab'を生じ；抗体全体のプラスミン消化は、Fabc断片を生じる。

20

【0069】

用語「Fab」とは、酵素パパインによる免疫グロブリン（典型的にはIgG）の消化によって得られる断片と本質的に等価な抗体断片を指す。Fab断片の重鎖セグメントは、Fd小片である。そのような断片は、インタクトな抗体の断片化によって酵素的もしくは化学的に生産することができ、部分的抗体配列をコードする遺伝子から組換え生産することができ、または全体的にもしくは部分的に合成により生産することができる。用語「F(ab')₂」とは、pH4.0~4.5での酵素ペプシンによる免疫グロブリン（典型的にはIgG）の消化によって得られる断片と本質的に等価な抗体断片を指す。そのような断片は、インタクトな抗体の断片化によって酵素的もしくは化学的に生産することができ、部分的抗体配列をコードする遺伝子から組換え生産することができ、または全体的にもしくは部分的に合成により生産することができる。用語「Fv」とは、非共有結合的相互作用によって一緒にされた1つのNHおよび1つのNDメインからなる抗体断片を指す。

30

【0070】

本明細書で使用する場合、用語「scFv」または「scFv分子」は、1つの軽鎖可変ドメイン(VL)またはその一部分および1つの重鎖可変ドメイン(VH)またはその一部分からなる結合分子であって、各可変ドメイン（またはその一部分）が同じまたは異なる抗体に由来する、結合分子を含む。単鎖Fv分子は、好ましくは、VHドメインとVLドメインとの間に挟み込まれたscFvリンカーを含む。例示的なscFv分子は、当該分野で公知であり、例えば、米国特許第5,892,019号明細書；Ho et al, Gene, 77:51 (1989)；Bird et al., Science, 242:423 (1988)；Pantoliano et al, Biochemistry, 30: 101 17 (1991)；Milenic et al, Cancer Research, 51 :6363 (1991)；Takkinen et al, Protein Engineering, 4:837 (1991)に記載されている。用語「scFvリンカー」とは、本明細書で使用する場合、scFvのVLドメインとVHドメインとの間に挟み込まれた部分を指す。scFvリンカーは、好ましくは、scFv分子を抗原結合コンフォメーションで維持する。一実施形態では、scFvリンカーは、scFvリンカーペプチドを含むまたはそれからなる。ある特定の実施形態では、scFvリンカーペプチドは、Gly-Serペプチドリリンカーを含むまたはそれからなる。他の実施形態では、

40

50

s c F v リンカーは、ジスルフィド結合を含む。

【0071】

用語「L I L R B 2 抗体」、「抗 L I L R B 2 抗体」、「抗 L I L R B 2」、「L I L R B 2 に結合する抗体」およびそれらの任意の文法的バリエーションは、抗体が L I L R B 2 を標的化する際に治療剤または診断試薬として有用であるのに十分な親和性で、L I L R B 2 に特異的に結合することが可能な抗体を指す。無関係の非 L I L R B 2 タンパク質への本明細書に開示される抗 L I L R B 2 抗体の結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ (R I A)、B I A C O R E (商標) (分析物として組換え L I L R B 2 を使用し、リガンドとして抗体を使用する、逆もまた可)、または当該分野で公知の他の結合アッセイによって測定した場合に、L I L R B 2 へのその抗体の結合の約 10% 未満である。ある特定の実施形態では、L I L R B 2 に結合する抗体は、 $<1\ \mu\text{M}$ 、 $<100\ \text{nM}$ 、 $<50\ \text{nM}$ 、 $<10\ \text{nM}$ または $<1\ \text{nM}$ の解離定数 (K D) を有する。

10

【0072】

2 つのポリペプチド (またはポリヌクレオチド) 配列間で「% 同一」という用語は、2 つの配列の最適なアラインメントのために導入する必要がある付加または欠失 (即ち、ギャップ) を考慮に入れた、比較ウィンドウにわたって、それらの配列によって共有される同一なマッチした位置の数を指す。マッチした位置は、同一なヌクレオチドまたはアミノ酸が標的配列および参照配列の両方中に存在する、任意の位置である。標的配列中に存在するギャップは、ヌクレオチドでもアミノ酸でもないもので、ギャップは数に入れない。同様に、標的配列のヌクレオチドまたはアミノ酸が計数されるのであって、参照配列由来のヌクレオチドまたはアミノ酸が計数されるわけではないので、参照配列中に存在するギャップは数に入れない。配列同一性の百分率は、同一なアミノ酸残基または核酸塩基が両方の配列中に存在する位置の数を決定してマッチした位置の数を得、マッチした位置の数を、比較のウィンドウ中の位置の総数によって除算し、結果に 100 を乗算して配列同一性の百分率を得ることによって計算される。2 つの配列間での配列の比較およびパーセント配列同一性の決定は、オンライン使用およびダウンロードの両方で容易に入手可能なソフトウェアを使用して達成され得る。適切なソフトウェアプログラムは、種々の供給源から入手可能であり、タンパク質配列およびヌクレオチド配列の両方のアラインメントのためのものである。パーセント配列同一性を決定するための 1 つの適切なプログラムは、米国政府の N a t i o n a l C e n t e r f o r B i o t e c h n o l o g y I n f o r m a t i o n B L A S T ウェブサイト (blast.ncbi.nlm.nih.gov) から入手可能な B L A S T スイートのプログラムの一部である b l 2 s e q である。b l 2 s e q は、B L A S T N アルゴリズムまたは B L A S T P アルゴリズムのいずれかを使用して 2 つの配列間での比較を実施する。B L A S T N は、核酸配列を比較するために使用され、B L A S T P は、アミノ酸配列を比較するために使用される。他の適切なプログラムは、例えば、E M B O S S スイートのバイオインフォマティクスプログラムの一部であり、www.ebi.ac.uk/Tools/psaにおいて E u r o p e a n B i o i n f o r m a t i c s I n s t i t u t e (E B I) から入手可能な N e e d l e、S t r e t c h e r、W a t e r または M a t c h e r である。ある特定の実施形態では、第 2 の配列アミノ酸に対する第 1 のアミノ酸配列の百分率同一性「X」は、 $100 \times (Y/Z)$ として計算され、ここで Y は、第 1 の配列および第 2 の配列のアラインメントにおいて同一なマッチとスコアをつけたアミノ酸残基の数 (目視検査または特定の配列アラインメントプログラムによってアラインした場合) であり、Z は、第 2 の配列中の残基の総数である。第 1 の配列の長さが第 2 の配列よりも長い場合、第 2 の配列に対する第 1 の配列のパーセント同一性は、第 1 の配列に対する第 2 の配列のパーセント同一性よりも高くなる。当業者は、パーセント配列同一性の計算のための配列アラインメントの生成が、一次配列データによって排他的に行われるバイナリ配列-配列比較に限定されないことを理解するであろう。配列アラインメントは、複数の配列アラインメントから導出され得る。複数の配列アラインメントを生成するための 1 つの適切なプログラムは、www.clustal.orgから入手可能な C l u s t a l a l W 2 である (C l u s t a l X は、W i n d o w s 環境に移植された C l u s t a l

20

30

40

50

W 2 プログラムのバージョンである)。別の適切なプログラムは、www.drive5.com/muscle から入手可能な M U S C L E である。あるいは、C l u s t a l W 2 および M U S C L E は、例えば E B I から入手可能である。

【0073】

用語「治療剤」とは、疾患または障害の処置において使用される任意の生物学的または化学的薬剤を指す。治療剤には、任意の適切な生物学的に活性な化合物、生物学的に誘導された構成成分、例えば、細胞、ペプチド、抗体、C A R s (および C A R s を含む細胞) およびポリヌクレオチド、ならびに放射化学的治療剤、例えば放射性同位体が含まれる。一部の実施形態では、治療剤は、化学療法剤または鎮痛薬を含む。

【0074】

用語「処置する (treat)」および「処置すること (treating)」とは、本明細書で使用する場合、増加した細胞死と関連する障害、例えば虚血に関して、動物またはヒトにおける組織および／または細胞損傷の発生における減少を指す。処置は、完全な処置であり得、例えば、対象における組織損傷が全くないことである。処置は、対象における組織損傷の発生が、治療剤なしの場合に発生した組織損傷よりも少なくなるように、部分的なものであってもよい。

【0075】

用語「予防する (prevent)」、「予防すること (preventing)」および「予防」とは、本明細書で使用する場合、疾患の発生における減少、または対象における疾患もしくはその関連症状を獲得するリスクにおける減少を指すものとする。予防は、完全な予防であり得、例えば、対象における疾患または病的細胞が全くないことである。予防は、対象における疾患または病的細胞の発生が、本発明なしの場合に発生した疾患または病的細胞よりも少なくなるように、部分的なものであってもよい。

【0076】

L I L R B 2

用語「白血球免疫グロブリン (I g) 様受容体 B 2」または「L I L R B 2」は、哺乳動物 (例えば、ヒト) L I L R B 2 タンパク質もしくは m R N A、または哺乳動物 (例えば、ヒト) L I L R B 2 タンパク質もしくは m R N A に由来する L I L R B 2 タンパク質もしくは m R N A を意味する。L I L R B 2 タンパク質および m R N A の非限定的な例は、本明細書に記載されている。L I L R B 2 タンパク質および m R N A のさらなる例は、当該分野で公知である。

【0077】

ヒト L I L R B 2 のアミノ酸配列は、以下に提供される： (N P _ 0 0 1 2 6 5 3 3 3 . 2)

【0078】

【化1】

```
MTGAYPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEGEDEHPQCLNS
QPHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLELLVPGVS
KKPSLSVQPGPVMAPGESLTLCVSDVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQA
GLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPLDILITGQIRGTPFISV
QPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEF
PMSPVTSAHAGTYRCYGSLSNDPYLLSHPSEPLELVVSGPSMGSSPPPTGPIST
PAGPEDQPLTPTGSDPQSGGLGRHLGVVIGILVAVVLLLLLLLLLFLILRHRRQG
KHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKDT
QPEDGVEMDTRAAASEAPQDVITYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEREPPAEPsiY
ATLAIH (配列番号 361)
```

およびそのバリエーション。

【0079】

用語「L I L R B 2 アゴニスト」は、L I L R B 2 タンパク質に特異的に結合し、哺乳

動物細胞においてL I L R B 2 シグナル伝達経路を活性化する薬剤を意味する。L I L R B 2 アゴニストの非限定的な例は、本明細書に記載されている。L I L R B 2 シグナル伝達経路の例は、それぞれその全体が参照によって本明細書に組み込まれる国際公開第2013/181438号パンフレットおよび米国公開番号2050174203号に記載されている。

【0080】

用語「L I L R B 2 アンタゴニスト」は、L I L R B 2 タンパク質に特異的に結合し、哺乳動物細胞においてL I L R B 2 シグナル伝達経路の活性、活性化または機能を減少させる薬剤を意味する。L I L R B 2 アンタゴニストの非限定的な例は、本明細書に記載されている。

10

【0081】

抗L I L R B 2 抗体

本開示は、L I L R B 2 に特異的に結合する抗体およびその抗原結合性断片を提供する。抗L I L R B 2 アンタゴニスト抗体（マウス）の例は、表1に提供される。

【0082】

【表 1 - 1】

表 1.

マウス抗 LILRB2 CDR*アミノ酸配列

ID	可変軽(VL)鎖 CDR 配列			可変重(VH)鎖 CDR 配列		
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3 接合部	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3 接合部
1F1	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPLTF (配列番号 50)	GYAFTNFF (配列番号 89)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMD YW (配列番号 158)
10D8	QSVDNYGYSY (配列番号 2)	AAS (配列番号 36)	CQHIKEDTFSF (配列番号 51)	GYSFTFFW (配列番号 90)	IDPSDNYT (配列番号 121)	CARRWLLH EMAYW (配列番号 159)
10G7	QSVDYDGD SY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYSFTTYW (配列番号 91)	IDPSDSYT (配列番号 122)	CARRWLLH EMDYW (配列番号 160)
1H3	QSIGTS (配列番号 4)	IAS (配列番号 37)	CQQSNGWPLTF (配列番号 53)	GYTFTDFE (配列番号 92)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIFYFWYFD VW (配列番号 161)
6C3	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNGWPLTF (配列番号 53)	GYTFTDFE (配列番号 92)	IDPTGGS (配列番号 124)	CTIFYFWYFD VW (配列番号 161)
16F4	QSVDYDGD SY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYTFTNYW (配列番号 93)	IDPSDTYT (配列番号 125)	CGRRWLLL EMDYW (配列番号 162)
3G6	QSVDYDGD SY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYTFTNYW (配列番号 93)	IDPSDSYT (配列番号 122)	CARRWLLH EMDYW (配列番号 160)
9H9	QSVDYDGD SY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYFTSNW (配列番号 95)	IYPGSDTT (配列番号 127)	CARFFSSPW FAYW (配列番号 164)
13H1	QNIN VW (配列番号 6)	KAS (配列番号 40)	CQQGQSYP LTF (配列番号 55)	DYTFTGYW (配列番号 96)	ILPESGST (配列番号 128)	CARRSLGLS FNYW (配列番号 165)
6F2	QSVDYDGD SY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDTFTF (配列番号 56)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IDPSDSYT (配列番号 122)	CARRWLLR EMDYW (配列番号 166)
51A12	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNSWP LTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIFYFWYFD VW (配列番号 161)
4B6	QSVDYDGD SY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYSFTFFW (配列番号 90)	IDPSDNYT (配列番号 121)	CARRWLLH KMDYW (配列番号 167)
47F11	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNSWP LTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIFYFWYFD VW (配列番号 161)
7H1	RTLVR L (配列番号 8)	YAT (配列番号 35)	CLHFYEFPL EF (配列番号 58)	GYSFTNYL (配列番号 98)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMD YW (配列番号 158)
4H5	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPLTF (配列番号 50)	GYAFTNYL (配列番号 99)	INPGSGGK (配列番号 129)	CARNDAMD YW (配列番号 158)

10

20

30

40

【表 1 - 2】

ID	可変軽(VL)鎖 CDR 配列			可変重(VH)鎖 CDR 配列		
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3 接合部	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3 接合部
29G3	KSVSISGY SY (配列番 号 9)	LAS (配列 番号 42)	CQHSRELPF TF (配列番 号 59)	GYTFTDYN (配列番号 100)	INPNNGGT (配 列番号 258)	CARRPTTVL GGVYFDYW (配列番号 168)
51G7	QSIGTS (配 列番号 4)	FAS (配列 番号 38)	CQQSNSWP LTF (配列番 号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配 列番号 123)	CTIYFWYFD VW (配列番 号 161)
6E7	QSLVNSY GITY (配列 番号 10)	GIS (配列 番号 43)	CLQGTHQP WTF (配列 番号 60)	GYTFTSYW (配列番号 94)	MYPGSGNT (配列番号 131)	CARGFLYFD VW (配列番 号 169)
51D3	QSIGTS (配 列番号 4)	FAS (配列 番号 38)	CQQSNSWP LTF (配列番 号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配 列番号 123)	CTIYFWYFD VW (配列番 号 161)
6H6	SSVSSSC (配列番号 11)	STS (配列 番号 44)	CQQYKWL ITF (配列番 号 61)	GYTFTSYW (配列番号 94)	INPSNGGT (配 列番号 77)	CAKEPIYYD YDEAGFDH W (配列番号 170)
17A3	ENIYSN (配列番号 12)	AAT (配列 番号 49)	CQHFW DIP YTF (配列番 号 62)	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配 列番号 132)	CARHPYYS YYVEDWFA YW (配列番 号 171)
6A9	ENIYCT (配列番号 15)	AAT (配列 番号 49)	CQHFW DIP YEF (配列番 号 65)	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配 列番号 132)	CARHPYYS YYVEDWFA YW (配列番 号 171)
17H7	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列 番号 35)	CLQFYEFPL TF (配列番 号 50)	GYSFTNYF (配列番号 104)	INPGSGGI (配 列番号 136)	CARNDAMD YW (配列番 号 158)
10B10	QGVDTA (配列番号 16)	WAS (配 列番号 45)	CQQYSSYP LTF (配列番 号 68)	GFTFSNYR (配列番号 105)	ITVKSDNYGA (配列番号 137)	CSRSYGSSY GFAYW (配 列番号 177)
11A5	QDIRNY (配列番号 18)	YTS (配列 番号 41)	CQQGNTLP WTF (配列 番号 69)	GYTFTSYG (配列番号 107)	IYPRSGNT (配 列番号 138)	CARREGAP YTMDYW (配列番号 178)
5C12	QDVTNA (配列番号 20)	SAS (配列 番号 39)	CQQHYSP YTF (配列番 号 71)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IYPGSGNT (配 列番号 139)	CTRGFLYFD VW (配列番 号 179)
6F1	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配列 番号 41)	CQQYSKLP WTF (配列 番号 67)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYEGSN (配列 番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 175)
4A5	QDVSTA (配列番号 21)	WAS (配 列番号 45)	CQQHYSTP LTF (配列番 号 72)	GFTFSYY (配列番号 108)	ISNGGGNT (配 列番号 140)	CARQGEW YFDVW (配 列番号 180)
5A3	QVITNY (配列番号 22)	YTS (配列 番号 41)	CQQYGKFP CTF (配列番 号 73)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYDGST (配列 番号 141)	CTRYFDVW (配列番号 181)

10

20

30

40

【表 1 - 3】

ID	可変軽(VL)鎖 CDR 配列			可変重(VH)鎖 CDR 配列		
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3 接合部	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3 接合部
51H9	SSVSY (配列番号 23)	LTS (配列番号 46)	CQQWSSNP LTF (配列番号 74)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IHPNSDTT (配列番号 142)	CAIRYHYFY DYW (配列番号 182)
10C5	KSVSTSGY SY (配列番号 24)	LAS (配列番号 42)	CQHSRELP YTF (配列番号 75)	GYAFSSSW (配列番号 109)	IYPGDGDT (配列番号 143)	CTPAYYSNY GAWFAYW (配列番号 183)
11B2	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列番号 41)	CQQYNTTP WTF (配列番号 259)	GHSITSGYY (配列番号 110)	IFYDGSN (配列番号 144)	CARYFDVW (配列番号 173)
29G2	SSVSY (配列番号 23)	VTs (配列番号 47)	CQQWSSNP PTF (配列番号 76)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IHPNSGNT (配列番号 145)	CARITVVAS YYAMDYW (配列番号 185)
33A12	QSLNSSN QKNY (配列番号 26)	FAS (配列番号 38)	CQQHYSTP PTF (配列番号 130)	GYTFTTYG (配列番号 111)	GYTFTTYG (配列番号 111)	CTRMGLRR SLYAMDYW (配列番号 186)
15E7	KSVSTSGY SY (配列番号 24)	LAS (配列番号 42)	CQHIRELP WTF (配列番号 78)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYEGSN (配列番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 175)
5D6	QDINSY (配列番号 27)	RAN (配列番号 48)	CLQYDEFP LTF (配列番号 79)	GYTFTTYG (配列番号 111)	MNTYSGVP (配列番号 147)	CARGGLTT VVVDWYFD VW (配列番号 187)
8G8	QDVGTA (配列番号 28)	WAS (配列番号 45)	CHQYITYPL TF (配列番号 81)	GYFTSNW (配列番号 95)	IYPGSDTT (配列番号 127)	CARFFSPW FAYW (配列番号 164)
1F6	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPL TF (配列番号 50)	GYAFTNFF (配列番号 89)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMD YW (配列番号 158)
29H9	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPL TF (配列番号 50)	GFPFTNYL (配列番号 106)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMD YW (配列番号 158)
5F4	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPL TF (配列番号 50)	GYAFTNYL (配列番号 99)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMD YW (配列番号 158)
6H12	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPL TF (配列番号 50)	GYAFTNYL (配列番号 99)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMD YW (配列番号 158)
5H8	ENIYSN (配列番号 12)	AAT (配列番号 49)	CQHFWGTP WTF (配列番号 82)	GYTFTTYG (配列番号 111)	MNTYSGVP (配列番号 147)	CARGGLTT VVVDWYFD VW (配列番号 187)
6C4	KSVSTSGF NY (配列番号 29)	LAS (配列番号 42)	CQHSRELFP TF (配列番号 59)	GYTFTEYP (配列番号 113)	IYTDTGEP (配列番号 148)	CVRGVLLST VFMPEFAY W (配列番号 189)

10

20

30

40

【表 1 - 4】

ID	可変軽(VL)鎖 CDR 配列			可変重(VH)鎖 CDR 配列		
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3 接合部	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3 接合部
16F12	QNIN VW (配列番号 6)	KAS (配列 番号 40)	CQQGQSY P LTF (配列番 号 55)	GYFTGYW (配列番号 114)	ILSGSDST (配 列番号 149)	CARRGLGLS FNNW (配列 番号 190)
1E6	QNIN VW (配列番号 6)	KAS (配列 番号 40)	CQQGQSY P LTF (配列番 号 55)	GNTFTGYW (配列番号 115)	ILPGSDST (配 列番号 150)	CTGRDLGIS FNSW (配列 番号 191)
30G7	QDVT TA (配列番号 30)	WAS (配 列番号 45)	CQQHYNT P LTF (配列番 号 83)	GFTFSDYY (配列番号 108)	ISYGGGNT (配 列番号 151)	CARQGE EW YFDVW (配 列番号 180)
10D7	QDV SNA (配列番号 31)	SAS (配列 番号 39)	CQQHYSF P YTF (配列番 号 71)	GYAFTSYW (配列番号 116)	IYPGTNST (配 列番号 152)	CARGLYF DVW (配列 番号 192)
12G2	QSV DYYG DSY (配列 番号 32)	AAS (配列 番号 36)	CQQINEDP F TF (配列番 号 84)	GYFTNYW (配列番号 93)	IDPSDTYT (配 列番号 125)	CARRWLLH EMDYW (配 列番号 160)
33D10	QSV DYG DSY (配列 番号 3)	AAS (配列 番号 36)	CQQSNEDP F TF (配列番 号 52)	GYFTSYW (配列番号 94)	INPSNGGT (配列番号 77)	CAKEPIYYD YDEAGFDH W (配列番号 170)
3B8	QSV DYG DSY (配列 番号 33)	AAS (配列 番号 36)	CQQSNEDP F TF (配列番 号 52)	GYSFTSYW (配列番号 117)	IDPYDTYT (配 列番号 153)	CARRWLLH KMDYW (配 列番号 167)
48G9	QSIGTS (配 列番号 4)	FAS (配列 番号 38)	CQQSNSWP L TF (配列番 号 57)	GYFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配 列番号 123)	CTIYFWYFD VW (配列番 号 161)
7G12	QSIGTS (配 列番号 4)	FAS (配列 番号 38)	CQQSNSWP L TF (配列番 号 57)	GYFTDFE (配列番号 92)	IDPETGGS (配 列番号 123)	CTIYFWYFD VW (配列番 号 161)
4G3	QSIGTS (配 列番号 4)	FAS (配列 番号 38)	CQQSNSWP L TF (配列番 号 57)	GYFTDYE (配列番号 97)	FDPETGGS (配 列番号 154)	CTIYFWYFD VW (配列番 号 161)
4B10	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列 番号 41)	CQQYSEFP W TF (配列番 号 85)	GYAFTNFF (配列番号 89)	INPGSGGT (配 列番号 120)	CARNDAMD YW (配列番 号 158)
12E4	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列 番号 41)	CQQYSEFP W TF (配列番 号 85)	WLPHASGY Y (配列番号 118)	IYDGN (配列 番号 155)	CGRYFNGW (配列番号 193)
1F12	KSVSTGY SY (配列番 号 24)	STS (配列 番号 44)	CQQYSGYP S TF (配列番 号 86)	GYFTNYW (配列番号 93)	INPSNGGT (配 列番号 77)	CAKEPIYYD YDEAGFDY W (配列番号 194)
3B3	QDVTKP (配列番号 34)	SAS (配列 番号 39)	CHQHYSF P YTF (配列番 号 87)	GYFTSYW (配列番号 94)	ILPHIGYP (配 列番号 156)	CTQPFLYFH VW (配列番 号 195)
33G2	SSVS Y (配列番号 23)	EIS (配列 番号 260)	CQQWNYPL T TF (配列番 号 88)	GYFTTYG (配列番号 111)	INTYSGVP (配 列番号 157)	CARRGSYD GFRLDYW (配列番号 196)

10

20

30

40

【表 1 - 5】

ID	可変軽(VL)鎖 CDR 配列			可変重(VH)鎖 CDR 配列		
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3 接合部	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3 接合部
15A10	KSVSTSGY SY (配列番 号 24)	LAS (配列 番号 42)	QHIRELPYT (配列番号 203)	GYAFSSSW (配列番号 109)	IYPGDGDT (配 列番号 143)	TPAYYSNY GAWFAY (配列番号 245)
14E7	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列 番号 35)	LQFYEFPLT (配列番号 204)	GFAFTNYL (配列番号 224)	INPGSGGT (配 列番号 120)	ARNDAMDY (配列番号 246)
3E5	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配列 番号 41)	QQGNTLPW T (配列番号 205)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IYPGSGNT (配 列番号 139)	TRGFLYFDV (配列番号 247)
5A7	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列 番号 41)	QQYSKLPW T (配列番号 206)	GYTFTAYG (配列番号 217)	INTYSGVP (配 列番号 157)	ARGGLTTV VVDWYFDV (配列番号 233)
30A6	QSVDDYDG DSY (配列 番号 3)	AAS (配列 番号 36)	QQINEDPFT (配列番号 207)	EYTFTDYY (配列番号 218)	INPYNGGI (配 列番号 231)	ARGGRTLT (配列番号 234)
51B8	QNVGTN (配列番号 197)	SAS (配列 番号 39)	QQYNRYPL T (配列番号 208)	GYTFTRYW (配列番号 219)	IHPNSGST (配 列番号 232)	GQYGYDVD YFDY (配列 番号 235)
15D6	SSVSSSY (配列番号 87)	SIS (配列 番号 201)	CQQWSSNP ILV (配列番 号 209)	GYFTSYW (配列番号 220)	IDPSDSYT (配 列番号 122)	ARRWLLRE MDY (配列 番号 236)
4G8	QNINWV (配列番号 6)	KAS (配列 番号 40)	QQGQSYPL T (配列番号 210)	GYTFTSYW (配列番号 94)	FNPNGNA (配 列番号 226)	AREGFSAGY (配列番号 237)
10D6	QDVGTA (配列番号 28)	WAS (配 列番号 45)	QQYITYPLT (配列番号 211)	GYTFTSNW (配列番号 221)	IYPGGDTT (配 列番号 227)	ARFFSSPWF AY (配列番 号 238)
6D6	SSVSSSC (配列番号 11)	STS (配列 番号 44)	QQYSGYPS (配列番号 212)	GYTFTSYW (配列番号 94)	INPSNGGT (配 列番号 77)	AKEPIYYDY DEAGFDH (配列番号 239)
50C3_ G2A	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配列 番号 41)	QQGNMLP WT (配列番 号 214)	GYFTGYG (配列番号 103)	IYPRSSNT (配 列番号 135)	ARREGAPY AMDY (配列 番号 241)
6G8	QGINNY (配列番号 199)	YTS (配列 番号 41)	QQYSKLPW T (配列番号 206)	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配 列番号 132)	ARHPYYSY YVEDWFAY (配列番号 242)
50C3_ G1	QIVDDYDG DSY (配列 番号 200)	AAS (配列 番号 36)	QQSNEDPF T (配列番号 215)	GYTFTEYY (配列番号 223)	INPYNGGT (配 列番号 229)	QQPHLSIHW VIXVS (配列 番号 243)
5G5	KSVSTSGY SY (配列番 号 24)	LVS (配 列番号 202)	QHIRELT (配列番号 216)	GYFTNHL (配列番号 225)	IHPNTTDT (配 列番号 230)	AREGRGWY FDV (配列番 号 244)

10

20

30

40

【表 1 - 6】

ID	可変軽(VL)鎖 CDR 配列			可変重(VH)鎖 CDR 配列		
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3 接合部	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3 接合部
20D3	ENIYSN (配列番号 12)	GAT (配列 番号 249)	CQHFWDTP LTF (配列番 号 251)	GYTFTTYT (配列番号 252)	INPNSDYT (配 列番号 254)	CARGESITT VVADWYFD VW (配列番 号 257)
4G10	QDVSIA (配列番号 248)	SAS (配列 番号 39)	CQQHYSEF YTF (配列番 号 71)	GYTFTSYW (配列番号 94)	INPGSGST (配 列番号 256)	CARGFLYFD VW (配列番 号 169)
6H2	QDVSNA (配列番号 31)	SAS (配列 番号 39)	CQQHYSEF YTF (配列番 号 71)	GYTFTTYG (配列番号 111)	MYPGSGNT (配列番号 131)	CARGFLYFD VW (配列番 号 169)
30F1						
10B4	QSVDDYDG DSY (配列 番号 3)	AAS (配列 番号 36)	CQQSNEDP FTF (配列番 号 52)	GYSFTNYW (配列番号 377)	IDPSDTYT (配 列番号 125)	CARRWLLX KMDYW, こ こで X は任 意のアミノ 酸である (配 列番号 378)
4F12	XSLENSNG NTY, こ こで X は任 意のアミノ 酸である (配列番号 176)	RVS (配列 番号 253)	CLQVTHVP FTF (配列番 号 362)	GFTFSNYA (配列番号 363)	ITDGGTYT (配 列番号 364)	CARDDYYG SSYLGFAY W (配列番号 365)
4G7						
7B7	CSGCTYA WKHL (配 列番号 374)	RXS, こ こで X は任 意のアミ ノ酸であ る (配列 番号 375)	CFQGSHP WTF (配列 番号 376)	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配 列番号 132)	CARHPYYS YYVEDWFA YW (配列番 号 171)
9B1	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配列 番号 41)	CQQINTLP WTF (配列 番号 119)	GYTFTNYG (配列番号 267)	IYPRSGNT (配 列番号 138)	CARREGAP YAMDYW (配列番号 174)
11E5	QDIRNY (配列番号 18)	YTS (配列 番号 41)	CQQGNTLP WTF (配列 番号 69)	GYTFTSYG (配列番号 107)	IYPRSGNT (配 列番号 138)	CARREGAP YTMDYW (配列番号 178)

* CDR は、Kabat 番号付けシステムに基づく

【 0 0 8 8 】

抗 L I L R B 2 アゴニスト抗体 (マウス) の例は、表 2 に提供される。

【 0 0 8 9 】

10

20

30

40

【表 2】

表 2.

マウス抗 LILRB2 CDR アミノ酸配列

ID	可変軽(VL)鎖 CDR 配列			可変重(VH)鎖 CDR 配列		
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3 接合部	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3 接合部
4D3	QGIVNY (配列番号 19)	YTS (配 列番号 41)	CQQYSELP WTF (配列番 号 70)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYKGSN (配 列番号 134)	CARYFDVW (配列番号 173)
8B5	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配 列番号 41)	WTFSGCTG LEIQ (配列 番号 63)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYEGSN (配 列番号 133)	CVRYFDFW (配列番号 172)
4E7	KSVSTSGY SY (配列番 号 24)	LVS (配 列番号 202)	CQHIRELTR (配列番号 64)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYKGSN (配 列番号 134)	CARYFDVW (配列番号 173)
12H6	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配 列番号 41)	CQQYSKLP WTF (配列番 号 67)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYEGSN (配 列番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 175)
15C6	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配 列番号 41)	CQQYSKLP WTF (配列番 号 67)	GYSITSGYY (配列番号 102)	ISYEGSN (配 列番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 175)
4E2	QDMNTA (配列番号 5)	SAS (配 列番号 39)	CQQHYSTLP TF (配列番 号 54)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IHPSDSDT (配 列番号 126)	CALGSTVPS FVYW (配列 番号 163)
50B9	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配 列番号 41)	CQQGNMLP WTF (配列番 号 66)	GYTFTGYG (配列番号 103)	IYPRSSNT (配 列番号 135)	CARREGAP YAMDYW (配列番号 174)
8G10	SSVS (配 列番号 23)	LTS (配 列番号 46)	CQQWSSNP LTF (配列番 号 74)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IHPNSDTT (配 列番号 142)	CAIRYRYF DYW (配列 番号 184)
2G11	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配 列番号 41)	QQYNKLPW T (配列番号 213)	GYTFTNYD (配列番号 222)	IYPRSGNA (配 列番号 228)	ASRRRLCYG L (配列番号 240)
1D6	QDINSY (配列番号 27)	RAN (配 列番号 48)	CLQYDELLT F (配列番号 250)	GYTFTGYW (配列番号 114)	ILPGSGST (配 列番号 255)	CARGGIYYG PTGFAYW (配列番号 146)
48E1	ENIYSN (配 列番号 12)	AAT (配 列番号 49)	CQHFHWGTP PTF (配列番 号 80)	GYTFTDYY (配列番号 112)	INPNNGGT (配 列番号 258)	CARSYRSSY VDYAMDY W (配列番号 188)

* CDR は、Kabat 番号付けシステムに基づく

【 0 0 9 0 】

上記表は、K a b a t (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)) に従う C D R を開示しているが、本開示の抗体は、任意の C D R 定義（例えば、K a b a t、C h o t h i a、e n h a n c e d C h o t h i a、c o n t a c t、I M G T、A b M）に従う C D R を含み得る。異なる C D R 定義に従う抗体の C D R は、例えば、A b Y s i s データベース (ABYSS: a parallel assembler for short read sequence data. Simpson JT et al. Genome Res. (2009)) を使用することによって決定

され得る。

【0091】

ある特定の実施形態では、これらの抗体またはその抗原結合性断片は、表1および2に開示されたCDRのうち少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つまたは6つ全てを有する（ここで、CDRは、任意のCDR定義に従い得る）。

【0092】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号225に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号230に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号244に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号216に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

10

【0093】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号89に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0094】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号90に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号121に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号159に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号2に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号51に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

20

【0095】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号91に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号122に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号160に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

30

【0096】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号123に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号53に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

40

【0097】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号124に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号53に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0098】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号93に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号125に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および

50

配列番号 162 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 36 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 52 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0099】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 93 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 122 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 160 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 36 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 52 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

10

【0100】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 95 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 127 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 164 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 36 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 52 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0101】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 96 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 128 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 165 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 6 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 40 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 55 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

20

【0102】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 94 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 122 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 166 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 36 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 56 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

30

【0103】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 97 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 123 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 161 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 38 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 57 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0104】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 90 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 121 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 167 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 36 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 52 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

40

【0105】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 97 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 123 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 161 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号

50

【 0 1 0 6 】

10

【 0 1 0 7 】

20

【 0 1 0 8 】

30

【 0 1 0 9 】

【 0 1 1 0 】

40

【 0 1 1 1 】

【 0 1 1 2 】

50

【 0 1 1 3 】

【 0 1 1 4 】

【 0 1 1 5 】

【 0 1 1 6 】

【 0 1 1 7 】

【 0 1 1 8 】

【 0 1 1 9 】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号175に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むV

Lを含む。

【0120】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号108に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号140に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号180に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号21に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号45に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号72に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0121】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号141に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号181に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号22に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号73に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0122】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号142に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号182に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号23に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号46に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号74に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0123】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号109に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号143に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号183に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号42に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号75に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0124】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号110に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号144に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号25に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号259に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0125】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号145に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号185に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号23に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号47に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号76に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0126】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号111に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号111に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号186に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号26に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号130に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

10

20

30

40

50

【0127】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号175に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号42に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号78に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0128】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号111に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号147に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号187に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号27に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号48に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号79に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

10

【0129】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号95に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号127に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号164に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号28に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号45に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号81に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

20

【0130】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号89に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0131】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号106に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

30

【0132】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号99に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

40

【0133】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号99に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号35に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号50に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0134】

50

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 1 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 4 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 8 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 1 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 8 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

【0 1 3 5】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 1 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 4 8 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 8 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 2 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

10

【0 1 3 6】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 1 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 4 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 9 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 0 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 5 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

20

【0 1 3 7】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 1 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 5 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 9 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 0 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 5 5 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

【0 1 3 8】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 0 8 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 5 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 8 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 3 0 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 5 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 8 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

30

【0 1 3 9】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 1 6 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 5 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 9 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 3 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 7 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

40

【0 1 4 0】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 9 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 3 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 8 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

【0 1 4 1】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 9 4 に示されるアミノ酸

50

配列を含むHCDR1、配列番号77に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号170に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0142】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号117に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号153に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号167に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号33に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号36に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号52に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

10

【0143】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号97に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号123に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号57に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0144】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号123に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号57に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

20

【0145】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号97に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号154に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号38に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号57に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

30

【0146】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号89に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号120に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号158に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号25に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号85に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

40

【0147】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号118に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号155に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号193に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号25に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号85に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0148】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号93に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号77に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配

50

列番号 194 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 24 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 44 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 86 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0149】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 94 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 156 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 195 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 34 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 39 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 87 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

10

【0150】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 111 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 157 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 196 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 23 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 260 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 88 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0151】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 109 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 143 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 245 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 24 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 42 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 203 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

20

【0152】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 224 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 120 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 246 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 35 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 204 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

30

【0153】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 94 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 139 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 247 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 7 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 205 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0154】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 217 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 157 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 233 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番号 25 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 206 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

40

【0155】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 218 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 231 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 234 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH ; ならびに配列番

50

号 3 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 0 7 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

【0156】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 2 1 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 3 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 3 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 1 9 7 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 0 8 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

10

【0157】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 2 2 0 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 2 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 8 7 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 2 0 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 0 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

【0158】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 9 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 2 6 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 3 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 0 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 1 0 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

20

【0159】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 2 2 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 2 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 3 8 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 2 8 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 5 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 1 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

30

【0160】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 9 4 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 7 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 3 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 1 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 1 2 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

【0161】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 0 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 3 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 4 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 7 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 1 4 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

40

【0162】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 0 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 3 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 4 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 1 9 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 4 1 に示されるアミノ酸配

50

【 0 1 6 3 】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 2 2 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 2 2 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 2 4 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 2 0 0 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 6 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 2 1 5 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

10

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 252 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 254 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 257 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 249 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 251 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 94 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 256 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 169 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 248 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 39 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 71 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

20

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 1 1 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 1 3 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 および配列番号 1 6 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 を含む V H；ならびに配列番号 3 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 3 9 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 および配列番号 7 1 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む V L を含む。

30

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号133に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号172に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号63に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 102 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 133 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 175 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 67 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

40

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0170】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号102に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号134に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号173に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号64に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0171】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号126に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号163に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号5に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号39に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号54に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

10

【0172】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号103に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号135に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号174に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号7に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号66に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

20

【0173】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号94に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号142に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号184に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号23に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号46に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号74に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0174】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号222に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号228に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号240に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号41に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号213に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

30

【0175】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号114に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号255に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号146に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号27に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号48に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号250に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

40

【0176】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号112に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号258に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号188に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含むVH；ならびに配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号49に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号80に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含むVLを含む。

【0177】

50

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 377 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 125 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 378 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 36 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 52 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0178】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 363 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 364 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 365 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 176 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 253 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 362 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0179】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 101 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 132 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 171 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 374 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 375 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 376 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0180】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 267 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 138 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 174 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 7 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 119 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0181】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号 18 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 41 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2 および配列番号 69 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3 を含む VH；ならびに配列番号 107 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 138 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2 および配列番号 178 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む VL を含む。

【0182】

本明細書に記載される抗 LILRB2 抗体またはその抗原結合性断片の V_H および／または V_L 領域は、定常領域（例えば、野生型ヒト Fc 領域、または 1 つもしくは複数の変更を含む Fc 領域）に連結され得る。一部の実施形態では、抗体は、ヒトカップ配列に由来する軽鎖定常領域を有する。一部の実施形態では、抗体は、ヒトラムダ配列に由来する軽鎖定常領域を有する。具体的な実施形態では、軽鎖定常領域は、ヒトサブグループカップ 1 配列を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、IgG1、IgG2、IgG3 および IgG4 からなる群から選択されるアイソタイプ（例えば、ヒト IgG1、ヒト IgG2、ヒト IgG3 またはヒト IgG4 アイソタイプ）を有する。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト IgG1 アイソタイプを有する。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト IgG1 アイソタイプおよびヒトカップ軽鎖定常領域を有する。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト IgG2 アイソタイプを有する。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト IgG2 アイソタイプおよびヒトカップ軽鎖定常領域を有する。重鎖定常領域は、野生型ヒト Fc 領域、または 1 つもしくは複数のアミノ酸置換を含むヒト Fc 領域であり得る。抗体は、免疫グロブリンの 2 つの重鎖間のジスルフィド結合を安定化する変異、例えば、当該分野で開示された（例えば、Angal et al, Mol. Immunol, 30: 105-08 (1993)) よう

10

20

30

40

50

な I g G 4 のヒンジ領域中の変異を有し得る。例えば、米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 0 3 7 0 0 0 号明細書も参照のこと。重鎖定常領域は、抗体の特性を改変する（例えば、以下のうち 1 つまたは複数を減少させる：F c 受容体結合、抗体グリコシル化、脱アミド、補体への結合、またはメチオニン酸化）置換もまた有し得る。一部の例では、抗体は、米国特許第 5, 6 2 4, 8 2 1 号明細書および米国特許第 5, 6 4 8, 2 6 0 号明細書に記載されるものなどの変異を有し得る。一部の実施形態では、抗体は、エフェクター機能を低減または排除するために改変される。一部の実施形態では、重鎖定常領域は、以下の変異のうち 1 つまたは複数を有する：S 2 2 8 P；N 2 9 7 Q および T 2 9 9 A（K a b a t に従う番号付け）。重鎖定常領域は、キメラであり得る、例えば、F c 領域は、I g G 4 アイソタイプの I g G 抗体の C H 1 および C H 2 ドメイン、ならびに I g G 1 アイソタイプの I g G 抗体由来の C H 3 ドメインを含み得る（例えば、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第 2 0 1 2 / 0 1 0 0 1 4 0 号明細書を参照のこと）。具体的な実施形態では、本明細書に記載されるヒト化抗 L I L R B 2 抗体は、I g G 4 アイソタイプの I g G 抗体の C H 1 および C H 2 ドメイン、ならびに I g G 1 アイソタイプの I g G 抗体由来の C H 3 ドメインを含むキメラ定常領域を有し、S 2 2 8 P および N 2 9 7 Q 変異をさらに含有する（K a b a t に従う番号付け）。

10

【0183】

抗 L I L R B 2 抗体の抗原結合性断片もまた、本開示によって包含される。一部の実施形態では、抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合分子は、(i) 単鎖 F v（「s c F v」）；(ii) ダイアボディ；(iii) s c (F v) 2；(iv) 抗体のポリペプチド鎖；(v) F (a b') 2；もしくは (vi) F (a b) を含むまたはそれらからなる。一実施形態では、抗原結合性断片は F a b 分子である。抗原結合性断片（F a b 断片）は、抗原に結合する、抗体上の領域である。これは、重鎖および軽鎖の各々の 1 つの定常ドメインおよび 1 つの変換ドメインから構成される。これらのドメインは、パラトープ、即ち、抗原結合部位を形づくる。酵素パパインは、免疫グロブリンモノマーを 2 つの F a b 断片および 1 つの F c 断片へと切断するために使用され得る。組換え方法もまた、F a b 分子を作製するために使用され得る。別の実施形態では、抗原結合性断片は、単鎖可変断片（s c F v）である。s c F v は、抗体の重鎖および軽鎖の可変領域から構成される。これは、F a b 断片の半分のサイズしかないが、親免疫グロブリンの元の特異性をなおも保持する。S c F v を作製する方法は、当該分野で周知である（例えば、Ahmad et al, C

20

30

【0184】

ある特定の実施形態では、抗 L I L R B 2 抗体またはその抗原結合分子は、標的化部分であり得る。これらの標的化部分は、目的の薬剤（例えば、治療剤、低分子薬物）を細胞に運搬するのに有用である。

【0185】

本開示は、例えば、少なくとも 1 つの異種部分と連結および／またはコンジュゲートおよび／または他の方法に関連した、本明細書に開示される L I L R B 2 抗体またはその抗原結合性断片のうち少なくとも 1 つを含む、「キメラ分子」もまた提供する。ある特定の実施形態では、異種部分は、細胞またはその局所的環境に運搬または送達される薬剤である。そのような薬剤は、例えば、化学療法剤などの治療剤であり得る。本明細書に開示されるキメラ分子は、(i) 本明細書に開示される L I L R B 2 抗体またはその抗原結合分子（例えば、F a b または s c F v）、および (ii) 少なくとも 1 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、4 つ）の異種部分（例えば、治療的部分、化学療法剤、半減期延長部分）を含み、1 つまたは複数のリンカーを任意選択で含む、任意の分子を包含する。一部の実施形態では、キメラ分子は、キメラタンパク質、即ち、その全ての構成成分（異種部分および／またはリンカー）がポリペプチドであるキメラ分子である。他のキメラ分子は、非ポリペプチド異種部分（例えば、P E G、脂質、炭水化物、核酸、低分子治療剤、放射性核種、蛍光プローブなど）および／または非ポリペプチドリリンカーを含み得る。

40

50

【0186】

一部の実施形態では、キメラ分子は、第2の供給源に由来する第2のアミノ酸配列に共有結合的または非共有結合的に結合した、第1の供給源に由来する第1のアミノ酸配列を含み、この第1および第2の供給源は、同じではない。同じではない第1の供給源および第2の供給源には、2つの異なる生物学的実体、または同じ生物学的実体由来の2つの異なるタンパク質、または1つの生物学的実体および1つの非生物学的実体が含まれ得る。キメラ分子は、例えば、少なくとも2つの異なる生物学的供給源に由来するタンパク質を含み得る。生物学的供給源は、任意の合成により生産されたのではない核酸またはアミノ酸配列（例えば、本明細書にさらに記載されるような、ゲノムまたはcDNA配列、プラスミドまたはウイルスベクター、ネイティブビリオン、または上記のいずれかの変異体もしくはアナログ）を含み得る。合成供給源は、化学的に生産されたのであって生物学的系によって生産されたのではない（例えば、アミノ酸配列の固相合成）、タンパク質または核酸配列を含み得る。キメラ分子は、少なくとも2つの異なる合成供給源に由来するタンパク質、または少なくとも1つの生物学的供給源および少なくとも1つの合成供給源に由来するタンパク質もまた含み得る。キメラ分子は、任意の供給源に由来する核酸、または任意の供給源に由来する有機もしくは無機低分子に共有結合的または非共有結合的に連結された、第1の供給源に由来する第1のアミノ酸配列もまた含み得る。キメラ分子は、第1のアミノ酸配列と第2のアミノ酸配列との間、または第1のアミノ酸配列と核酸との間、または第1のアミノ酸配列と有機もしくは無機低分子との間に、リンカー分子もまた含み得る。

10

20

【0187】

本明細書に開示されるキメラ分子の異種部分（単数または複数）は、例えば、予防剤および／または治療剤（例えば、化学療法剤または鎮痛薬）、薬物動態学的（PK）特性を改善することが可能な分子（例えば、血漿半減期延長部分）、および検出可能な部分（例えば、蛍光分子または放射性核種）を含み得る、それらからなり得る、またはそれらから本質的になり得る。一部の実施形態では、異種部分は、凝固因子（例えば、第V因子）を含む。一部の実施形態では、異種部分は、そのような異種部分を欠くキメラ分子の物理化学的特性を改変し得る分子を含む。他の実施形態では、キメラ分子中への異種部分の取込みは、その生物学的活性または機能に顕著な影響を与えることなく、1つまたは複数の薬物動態学的特性を改善できる。他の実施形態では、異種部分は、本発明のキメラ分子またはその断片の安定性を増加させる。

30

【0188】

一部の実施形態では、異種部分は、少なくとも約10、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2500、3000または4000アミノ酸を含む、それから本質的になる、またはそれからなるポリペプチドである。他の実施形態では、異種部分は、約100～約200アミノ酸、約200～約300アミノ酸、約300～約400アミノ酸、約400～約500アミノ酸、約500～約600アミノ酸、約600～約700アミノ酸、約700～約800アミノ酸、約800～約900アミノ酸または約900～約1000アミノ酸を含む、それから本質的になる、またはそれからなるポリペプチドである。

40

【0189】

一部の実施形態では、キメラ分子は、「半減期延長部分」である少なくとも1つの異種部分を含む。半減期延長部分は、例えば、(i) XTENポリペプチド；(ii) Fc；(iii) アルブミン、(iv) アルブミン結合ポリペプチドまたは脂肪酸、(v) ヒト絨毛性ゴナドトロピンのβサブユニットのC末端ペプチド（CTP）、(vi) PAS；(vii) HAP；(viii) トランスフェリン；(ix) ポリエチレングリコール（PEG）；(x) ヒドロキシエチルデンプン（HES）、(xi) ポリシアル酸（PSA）；(xii) クリアランス受容体、またはクリアランス受容体へのキメラ分子の結合を遮断するその断片；(xiii) 低複雑度ペプチド；(xiv) vWF；または(xv)

50

それらの任意の組合せを含み得る。一部の実施形態では、半減期延長部分は、Fc領域を含む。他の実施形態では、半減期延長部分は、リンカーによって融合された2つのFc領域を含む。例示的な異種部分には、例えば、FcRn結合部分（例えば、完全Fc領域、またはFcRnに結合するその部分）、単鎖Fc領域（scFc領域、例えば、米国特許出願公開第2008/0260738号明細書、ならびに国際公開第2008/012543号パンフレットおよび国際公開第2008/1439545号パンフレットに記載される）、またはプロセシング可能なscFc領域もまた含まれる。一部の実施形態では、異種部分は、非ポリペプチド部分、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）、ヒドロキシエチルデンプン（HES）、ポリシアル酸、またはこれらの部分の任意の誘導体、バリエーションもしくは組合せのための結合部位を含み得る。

10

【0190】

ある特定の実施形態では、本開示のキメラ分子は、そのような異種部分を欠く対応するキメラ分子のin vivo半減期と比較して、そのキメラ分子のin vivo半減期を増加させる少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、3つまたは4つ）の半減期延長部分を含む。キメラ分子のin vivo半減期は、当業者に公知の任意の方法、例えば、活性アッセイ（発色性アッセイまたは一段階凝固aPTTアッセイ）、ELISAなどによって決定できる。一部の実施形態では、1つまたは複数の半減期延長部分の存在は、そのような1つまたは複数の半減期延長部分を欠く対応するキメラ分子の半減期と比較して、そのキメラ分子の半減期を増加させる。半減期延長部分を含むキメラ分子の半減期は、そのような半減期延長部分を欠く対応するキメラ分子のin vivo半減期よりも、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍または少なくとも約12倍長い。

20

【0191】

一実施形態では、半減期延長部分を含むキメラ分子の半減期は、そのような半減期延長部分を欠く対応するキメラ分子のin vivo半減期よりも、約1.5倍～約20倍、約1.5倍～約15倍または約1.5倍～約10倍長い。別の実施形態では、半減期延長部分を含むキメラ分子の半減期は、そのような半減期延長部分を欠く対応するキメラ分子のin vivo半減期と比較して、約2倍～約10倍、約2倍～約9倍、約2倍～約8倍、約2倍～約7倍、約2倍～約6倍、約2倍～約5倍、約2倍～約4倍、約2倍～約3倍、約2.5倍～約10倍、約2.5倍～約9倍、約2.5倍～約8倍、約2.5倍～約7倍、約2.5倍～約6倍、約2.5倍～約5倍、約2.5倍～約4倍、約2.5倍～約3倍、約3倍～約10倍、約3倍～約9倍、約3倍～約8倍、約3倍～約7倍、約3倍～約6倍、約3倍～約5倍、約3倍～約4倍、約4倍～約6倍、約5倍～約7倍または約6倍～約8倍延長される。

30

【0192】

抗体の特徴付け

本明細書に記載される抗体のLILRB2結合特性は、任意の標準的な方法、例えば、以下の方法のうち1つまたは複数によって測定され得る：OCTET（登録商標）、表面プラズモン共鳴（SPR）、BIACORE（商標）分析、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、EIA（酵素免疫アッセイ）、RIA（ラジオ免疫アッセイ）および蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）。

40

【0193】

目的のタンパク質（抗LILRB2抗体またはその機能的断片）と標的（例えば、LILRB2）との結合相互作用は、OCTET（登録商標）システムを使用して分析され得る。この方法では、ForteBio社製の機器（例えば、OCTET（登録商標）QKおよびQK）のいくつかのバリエーションのうち1つが、タンパク質相互作用、結合特異性およびエピトープマッピングを決定するために使用され得る。OCTET（登録商標）システムは、カスタムチップに沿って下に向かい次いでセンサーに戻る偏光における変

50

化を測定することによって、リアルタイム結合をモニタリングするための容易な方法を提供する。

【0194】

目的のタンパク質（抗LILRB2抗体またはその機能的断片）と標的（例えば、LILRB2）との結合相互作用は、表面プラズモン共鳴（SPR）を使用して分析され得る。SPRまたはBiomolecular Interaction Analysis（BIA）は、いずれの相互作用物も標識することなしに、生体分子特異的（biospecific）な相互作用をリアルタイムで検出する。BIAチップの結合表面における質量の変化（結合事象を示す）は、表面近傍での光の屈折率の変更（表面プラズモン共鳴（SPR）の光学的現象）を生じる。屈折性における変化は、生物学的分子間のリアルタイム反応の指標として測定される検出可能なシグナルを生じる。SPRを使用するための方法は、例えば、米国特許第5,641,640号明細書；Raether (1988) Surface Plasmons Springer Verlag；Sjolander and Urbaniczky (1991) Anal. Chem. 63:2338-2345；Szabo et al. (1995) Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705、およびBIACore International AB（Uppsala, Sweden）によって提供されるオンラインリソースに記載されている。SPRからの情報は、標的への生体分子の結合についての、平衡解離定数（Kd）、ならびにKonおよびKoffを含む動力学のパラメーターの正確な定量的尺度を提供するために使用され得る。

10

【0195】

エピトープもまた、BIACOREクロマトグラフィー技術を使用して、ヒトLILRB2への結合について互いに競合する異なる抗LILRB2抗体またはその機能的断片の能力を評価することによって、直接マッピングされ得る（Pharmacia BIA technology Handbook, “Epitope Mapping”, Section 6.3.2, (May 1994)；John et al. (1993) J. Immunol. Methods, 160:191-198もまた参照のこと）。

20

【0196】

酵素イムノアッセイを用いる場合、抗体を含むサンプル、例えば、抗体産生細胞の培養上清、または精製された抗体が、抗原コーティングされたプレートに添加される。アルカリホスファターゼなどの酵素で標識された二次抗体が添加され、プレートがインキュベートされ、洗浄後、p-ニトロフェニルリン酸などの酵素基質が添加され、抗原結合活性を評価するために吸光度が測定される。

30

【0197】

抗体を評価するためのさらなる一般的なガイダンス、例えば、ウエスタンブロットおよび免疫沈降アッセイは、Antibodies: A Laboratory Manual, ed. by Harlow and Lane, Cold Spring Harbor press (1988)において見出すことができる。

【0198】

抗体のアンタゴニスト的およびアゴニスト的生物活性の特徴付けのために、本発明者らは、パイロットスクリーニング戦略として、LPS刺激されたPBMC（最優先、主に骨髄細胞に標的化）およびOKT3刺激されたPBMC（主にT細胞に標的化）を実施した。アンタゴニストAbは、減少した／未変化のIL-10分泌と、また一方では増加した／未変化のT細胞増殖と共に、TNFaを増加させ得る（TNFa > 1.5倍、IL-10 < 1.1倍）。他方、アゴニストAbは、減少した／未変化のTNFa分泌と、また一方では減少したT細胞増殖と一緒に、IL-10分泌を増加させ得る（IL-10 > 1.2倍、TNFa < 1.1倍およびT細胞増殖 < 0.8倍）。LPS刺激されたPBMCおよびOKT3刺激されたPBMCに対するAb候補の効果は、表3～6に示される。T細胞ベースのアッセイからスクリーニングされたAb候補のアンタゴニストおよびアゴニスト生物活性が、骨髄細胞ベースのアッセイからのものと大部分一致しているが、少数が一致していない場合があることに注目すべきである。さらに、これらのAb候補を、試験LILRB2レポーターアッセイ、CD163、CD206、HLA-DR、PD-L1およびCD14、CD16によるM1／M2分化／ヒトMDSCマーカー（図2C）、ならびに混合リンパ球反応（図3C）に供した。アンタゴニストは、M2分化を減少させ得（

40

50

下方調節されたCD163、CD206、PD-L1)、HLA-DRを増加させ得、ヒトMDSC CD33+CD14+CD16+を減少させ得るが、対照的に、アゴニストは、上記パラメーターを対抗調節(counter-regulate)または維持し得る。これらのアッセイは、Ab候補の活性を決定するためまたはその効率／潜在力を比較するために、非常に重要なパラメーターを提供した。

【0199】

抗LILRB2キメラ抗原受容体(CAR)

本明細書に記載される抗体のVHおよびVLを含むキメラ抗原受容体(CAR)もまた、本明細書に提供される。一実施形態では、VHは、配列番号92に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号123に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号161に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含み；VLは、配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号37に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号53に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。一実施形態では、VHは、配列番号225に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号230に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2および配列番号244に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3を含み；VLは、配列番号24に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2および配列番号216に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3を含む。

10

【0200】

CARを作製する方法は、当該分野で公知である。

20

【0201】

本明細書に記載されるCARをコードするポリヌクレオチドもまた、本明細書に提供される。

【0202】

本明細書に記載されるCARをコードするポリヌクレオチドを含むベクターもまた、本明細書に提供される。

【0203】

本明細書に記載されるCARを含む細胞もまた、本明細書に提供される。本明細書に記載されるCARをコードするポリヌクレオチドを含む細胞もまた、本明細書に提供される。本明細書に記載されるCARをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞もまた、本明細書に提供される。一実施形態では、細胞はT細胞である。一実施形態では、細胞はナチュラルキラー細胞である。一実施形態では、細胞はマクロファージである。

30

【0204】

本明細書に記載されるCARおよび適切な薬学的担体を含む医薬組成物もまた、本明細書に提供される。本明細書に記載されるCARを含む細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物もまた、本明細書に提供される。本明細書に記載されるCARをコードするポリヌクレオチドを含む細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物もまた、本明細書に提供される。別の態様では、本明細書に記載されるCARをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞および適切な薬学的担体を含む医薬組成物が、本明細書に提供される。

40

【0205】

本明細書に記載されるCARを生産する方法であって、(a)本明細書に記載される細胞(例えば、本明細書に記載されるCARをコードするポリヌクレオチドを含む細胞またはCARをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞)を培養するステップ、および(b)CARを単離するステップを含む方法もまた、本明細書に提供される。

【0206】

さらなる薬剤

MDSC

MDSCは、免疫系の重要な調節因子の1つとして最近認識されている。MDSCは、骨髄前駆体、未熟なマクロファージ、未熟な顆粒球および未熟な樹状細胞を含む、骨髄起

50

源の細胞の不均一な集団を示す。MDS Cは、マウスにおいて、 $Gr1^{+}CD11b^{+}CD115^{+}Ly6C^{+}$ 単球性(M)細胞および $Gr1^{+}CD11b^{+}Ly6G^{+}$ 顆粒球性(G)細胞へと分化および極性化する(Gabrilovich et al., Cancer Res. 67:425, 2007; Huang et al., Cancer Res. 66:1123-1131, 2006; Movahedi et al., Blood 111:4233-4244, 2008)。ヒトMDS Cは、 $CD11b^{+}CD14^{Low}CD33^{+}$ または $Lin^{-}HLA-DR^{Low}CD33^{+}$ 骨髄細胞として特徴付けられる(Ostrand-Rosenberg et al., J. Immunol. 182:4499-4506, 2009; Raychaudhuri et al., Neurol. Oncol. 13:591-599, 2011)。1型古典的活性化様(M1)および2型代替的活性化様(M2)マクロファージの命名法を反映して、MDS Cは、M1細胞およびM2細胞($iNOS$ 、 $TNF-\alpha$ 、 $IFN-\gamma$ R、MHCクラスIおよびCCR7を発現するM1細胞、ならびにアルギナーゼ、 $IL-10$ 、 $CD36$ 、 $CD206$ およびCCR2を発現するM2細胞)へと分化および極性化され得る。腫瘍関連MDS Cは、腫瘍促進(pro-tumoral)活性および免疫抑制活性を有するM2様表現型を優勢に示す。M2細胞は、 $IL-10$ 、アルギナーゼ、 $IL-10$ 、 $Tie-2$ 、 $CD36$ 、 $CD206$ 、 $IL-4$ RおよびCCR2などのいくつかの増強されたシグネチャーマーカーによって、表現型的に特徴付けられる(Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011)。M1細胞は、 $iNOS$ 、 NO 、 $TNF-\alpha$ 、 $IFN-\gamma$ R、MHC IおよびCCR7の発現における上昇を有する(Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011)。M2細胞は、アルギナーゼ、 $CCl2$ 、 $CCl5$ およびMMP-9の発現を上方調節する。対照的に、M1細胞は、上昇した発現レベルの $TNF-\alpha$ 、 Fas および $ICAM-1$ を示す。

10

20

【0207】

MDS Cは、複数の機構を介したT細胞、NK細胞、樹状細胞、マクロファージおよび他の免疫細胞との相互連絡を介して免疫抑制を発揮する。MDS Cが他の免疫細胞とどのようにクロストークするかの詳細は、Bunt et al. (J. Leukoc. Biol. 85:996-1004, 2009)、Ostrand-Rosenberg et al. (Nat. Rev. Immunol. 12:253-268, 2012)およびSinha et al. (J. Immunol. 179:977-983, 2007)に記載されている。T細胞に関する限り、MDS Cは、エフェクターT細胞($Teff$)の不活性化およびアポトーシスを誘導でき(例えば、Apolloni et al., J. Immunol. 165:6723-6730, 2000を参照のこと)、調節性T細胞($Treg$)を拡大増殖させることができる(例えば、Adeegbe et al., Cell Transplantation. 20:941-954, 2011を参照のこと)。MDS CによるT細胞抑制および $Treg$ 拡大増殖の調節は、細胞接触依存的、MHCクラスII依存的、 NO 依存的および/またはアルギナーゼ依存的である。M2細胞は、T細胞の共培養物において、それらのM1様対応物と比較して、 $Teff$ の活性化および増殖を抑制する増強された能力を有する(Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011)。M2細胞は、*in vitro*および*in vivo*の両方において、M1細胞よりも、 $Treg$ の拡大増殖においてより高い潜在力を有する(Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011)。 $Treg$ 細胞におけるM2細胞誘導性の増加は、 $IL-10$ 媒介性、 $IL-4$ 媒介性および $IL-13$ 媒介性であり、アルギナーゼ依存的であると思われる(Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011)。M1/M2細胞の機能性と同様に、G1細胞およびG2細胞は、それぞれ、抗腫瘍活性および腫瘍促進活性を有する(Fridlender et al., Cancer Cell 16:183-194, 2009)。

30

40

【0208】

1つの表現型から他の表現型へのMDS Cサブセットの極性化には、機能的変化が伴う。M2細胞は、主に、アルギナーゼおよび免疫抑制性サイトカインにおける増加が関与する増強された免疫抑制によって、腫瘍成長を加速させる(例えば、Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011を参照のこと)。M1細胞は、直接的腫瘍死滅を増加させ、フリーラジカル、デスリガンドおよび免疫賦活性サイトカインの増大を介して抗腫瘍免疫の発達を促進する(例えば、Ma et al., Immunity 34:385-395, 2011を参照のこと)。M1/M2極性化のバランスは、疾患および健康に対して顕著な影響を有し得る。

【0209】

MDS Cを調製および単離する方法は、当該分野で公知である。例えば、MDS Cは、

50

本明細書に記載される異なるM D S Cサブセットの特異的タンパク質マーカーのいずれかを認識する抗体を使用する蛍光補助細胞選別を使用して単離され得る。M D S Cを調製および単離するための例示的な方法は、米国特許出願公開第2 0 0 8 / 0 3 0 5 0 7 9号明細書および国際公開第1 1 / 0 8 7 7 9 5号パンフレット（その各々が参照によって本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【0 2 1 0】

動員剤

一部の実施形態では、組成物は、1種もしくは複数の動員剤をさらに含む、または1種もしくは複数の動員剤と組み合わせて使用される。動員剤は、哺乳動物の骨髄からのM D S Cの放出を刺激する。動員剤の非限定的な例には、例えば、顆粒球コロニー刺激因子（G - C S F）、シクロホスファミド、A M D 3 1 0 0、F m s様チロシンキナーゼ3リガンド（F l t 3 - L）、G M - C S F、M - C S F、I L - 3 4、T S L P - 1、S C F、F K 5 6 0、S 1 0 0 A 8およびS 1 0 0 A 9が含まれる。

10

【0 2 1 1】

一部の実施形態では、本開示は、動員剤ならびに少なくとも1種のL I L R B 1、L I L R B 2、L I L R B 2、L I L R B 4および／またはL I L R B 5アゴニストを含有する組成物を提供する。一部の実施形態では、組成物は、動員剤、少なくとも1種のL I L R B 1、L I L R B 2、L I L R B 2、L I L R B 4および／またはL I L R B 5アゴニスト、ならびに少なくとも1種のJ N K阻害剤を含有する。一部の実施形態では、本開示は、動員剤をさらに含むがM D S Cは含まない組成物を提供する。

20

【0 2 1 2】

J N K阻害剤

一部の実施形態では、組成物は、少なくとも1種のJ N K阻害剤をさらに含む、または少なくとも1種のJ N K阻害剤と組み合わせて使用される。J N K阻害剤の非限定的な例には、例えば、B I - 7 8 D 3、S P 6 0 0 1 2 5、A E G 3 4 8 2、J I P - 1、S U 3 3 2 7、T C S J N K 5 aおよびT C S J N K 6 oが含まれる。J N K阻害剤のさらなる例は、その各々が参照によって本明細書に組み込まれる、国際公開第0 0 / 3 5 9 0 6号パンフレット、国際公開第0 0 / 3 5 9 0 9号パンフレット、国際公開第0 0 / 3 5 9 2 1号パンフレット、国際公開第0 0 / 6 4 8 7 2号パンフレット、国際公開第0 1 / 1 2 6 0 9号パンフレット、国際公開第0 1 / 1 2 6 2 1号パンフレット、国際公開第0 1 / 2 3 3 7 8号パンフレット、国際公開第0 1 / 2 3 3 7 9号パンフレット、国際公開第0 1 / 2 3 3 8 2号パンフレット、国際公開第0 1 / 4 7 9 2 0号パンフレット、国際公開第0 1 / 9 1 7 4 9号パンフレット、国際公開第0 2 / 0 4 6 1 7 0号パンフレット、国際公開第0 2 / 0 6 2 7 9 2号パンフレット、国際公開第0 2 / 0 8 1 4 7 5号パンフレット、国際公開第0 2 / 0 8 3 6 4 8号パンフレットおよび国際公開第0 3 / 0 2 4 9 6 7号パンフレットに記載されている。

30

【0 2 1 3】

抗炎症剤

一部の例では、組成物は、1種もしくは複数の抗炎症剤もまた含有し得、または1種もしくは複数の抗炎症剤と組み合わせて使用される。抗炎症剤には、例えば、コルチコステロイド、非ステロイド性抗炎症薬（N S A I D、例えば、シクロオキシゲナーゼI（C O X I）阻害剤およびシクロオキシゲナーゼII（C O X - I I）阻害剤）、免疫選択的抗炎症誘導体（I m S A I D）、および生物製剤が含まれる。本明細書に記載されるまたは当該分野で公知の例示的な抗炎症剤のいずれかが、本明細書に記載される組成物中に含まれ得る。

40

【0 2 1 4】

N S A I Dの非限定的な例は、サリチル酸塩（例えば、アスピリン、ジフルシナール（diflusal）およびサルサラート）、プロピオン酸誘導体（例えば、イブプロフェン、デクスイブプロフェン、ナプロキセン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、デクスケットプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジンおよびロキソプロフェン）、酢酸誘導体

50

(例えば、インドメタシン、スリンダク、エトドラク、ケトロラク、ジクロフェナクおよびナブメトン)、エノール酸(enolic acid)誘導体(例えば、ピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ドロキシカム、ロルノキシカムおよびイソキシカム)、フェナム酸誘導体(例えば、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸およびトルフェナム酸)、スルホンアニリド(sulphonanilide)(例えば、ニメスリド)、リコフェロン(lifecofelone)およびクロニキシン酸リジン(lysine clonixinate)である。一部の実施形態では、NSAIDは、COX-I阻害剤またはCOX-II阻害剤である。COX-I阻害剤の非限定的な例には、アスピリン、イブプロフェンおよびナプロキセンが含まれる。COX-II阻害剤の非限定的な例には、セレコキシブ、バルデコキシブおよびロフェコキシブが含まれる。

10

【0215】

ImSAIDの非限定的な例には、FEG(Ph e -G l u -G l y)、そのD-異性体feG、およびSGP-Tペプチドが含まれる。コルチコステロイドの非限定的な例には、ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾン、ピバル酸チキソコルトール(tixocortol pivalate)、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、トリウムシノロンアセトニド、トリウムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノロン、ハルシノニド、ベタメタゾン、デキサメタゾンおよびフルオコルトロンが含まれる。生物製剤の非限定的な例には、トシリズマブ、セルトリズマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、アナキンラ、アバタセプト、エファリズマブ、インフリキシマブ、リツキシマブおよびゴリムマブが含まれる。

20

【0216】

免疫抑制剤

本明細書に記載される組成物は、1種もしくは複数の免疫抑制剤もまた含有し得、または1種もしくは複数の免疫抑制剤と組み合わせて使用され得る。免疫抑制剤の非限定的な例には、ミコフェノール酸塩、シクロスポリン(ciclosporin)、シクロスポリン(cyclosporine)、タクロリムス、シロリムスおよびピメクロリムスが含まれる。さらなる免疫抑制剤は、当該分野で公知である。

【0217】

化学療法剤

一部の実施形態では、組成物は、1種もしくは複数の化学療法剤をさらに含有する、または1種もしくは複数の化学療法剤と組み合わせて使用される。化学療法剤の非限定的な例には、アルキル化剤(例えば、シクロホスファミド、メクロレタミン、クロラムブシルおよびメルファラン)、アントラサイクリン(例えば、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロンおよびバルルビシン)、タキサン(例えば、パクリタキセル(およびドセタキセル)、エポチロン、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤(例えば、ボリノスタットおよびロミデプシン)、トポイソメラーゼII阻害剤(例えば、エトポシド、テニポシドおよびタフルポシド(tafluposide))、キナーゼ阻害剤(例えば、ボルテゾミブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブおよびビスモデギブ)、ベバシズマブ、セツキシマブ、イピリムマブ、イピリムマブ、オフアツムマブ、オクレリズマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、ベムラフェニブ、ハーセプチン、ヌクレオチドアナログ(例えば、アザシチジン、アザチオプリン、カペシタビン、シタラビン、ドキシフルリジン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、メルカプトプリン、メトトレキサートおよびチオグアニン)、ペプチド抗生物質(例えば、プレオマイシンおよびアクチノマイシン)、白金ベースの薬剤(例えば、カルボプラチン、シスプラチンおよびオキサリプラチン)、レチノイド(例えば、トレチノイン、アリトレチノインおよびベキサロテン)およびビンカアルカロイド(例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルビン)が含まれる。

30

40

【0218】

鎮痛薬

一部の実施形態では、組成物は、1種もしくは複数の鎮痛薬をさらに含有し得、または

50

1 種もしくは複数の鎮痛薬と組み合わせて使用される。本明細書に記載されるまたは当該分野で公知の例示的な鎮痛薬のいずれかが、本明細書に記載される組成物中に含まれ得る。鎮痛薬の非限定的な例には、オピオイド薬物（例えば、モルヒネ、アヘン、コデイン、オキシコドン、ヒドロコドン、ジアモルヒネ、ジヒドロモルヒネ、ペチジン、ブプレノルフィン、フェンタニル、メサドン、メペリジン、ペンタゾシン、ジピパノン（dipipanone）およびトラマドール）、アセトアミノフェン、ベンラファキシン、フルピルチン、ネホバム、ガバペンチン、プレガバリン、オルフェナドリン、シクロベンザブリン、トラゾドン、クロニジン、デュロキセチンおよびアミトリプチリンが含まれる。

【0219】

免疫チェックポイント阻害剤

一部の実施形態では、組成物は、1 種もしくは複数の免疫チェックポイント阻害剤をさらに含有し得、または1 種もしくは複数の免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用される。本明細書に記載されるまたは当該分野で公知の例示的な鎮痛薬のいずれかが、本明細書に記載される組成物中に含まれ得る。免疫チェックポイント阻害剤の非限定的な例には、プログラム細胞死タンパク質1（PD1）、細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4（CTLA-4）、BおよびTリンパ球アテニュエーター（BTLA）、キラー細胞免疫グロブリン様受容体（KIR）、リンパ球活性化遺伝子3（LAG3）、T細胞膜タンパク質3（TIM3）、CD160、またはアデノシンA2a受容体（A2aR）のアンタゴニスト（例えば、アンタゴニスト抗体）、ならびにグルココルチコイド誘導性腫瘍壊死因子受容体（GITR）、誘導性T細胞共刺激剤（ICOSまたはCD278）、OX40（CD134）、CD27、CD28、4-1BB（CD137）、CD40、リンホトキシナルファ（LTアルファ）、またはLIGHT（リンホトキシナル様、誘導性発現を示し、HIVEMについて単純ヘルペスウイルス糖タンパク質Dと競合する、Tリンパ球によって発現される受容体）のアゴニスト（例えば、アゴニスト抗体）が含まれる。具体的な実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1のアンタゴニスト（例えば、PD-1のアンタゴニスト抗体）である。具体的な実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1のアンタゴニスト（例えば、PD-L1のアンタゴニスト抗体）である。

【0220】

抗LILRB2抗体を生産する方法

本開示の抗LILRB2抗体（または抗体もしくはその機能的断片の抗原結合ドメイン）は、細菌または真核細胞において産生され得る。目的のポリペプチドを生産するために、このポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが構築され、発現ベクター中に導入され、次いで、適切な宿主細胞において発現される。標準的な分子生物学の技術が、組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞をトランスフェクトし、形質転換体を選択し、宿主細胞を培養し、抗体を回収するために使用される。

【0221】

抗体が細菌細胞（例えば、大腸菌（E. coli））において発現される場合、発現ベクターは、細菌細胞中でのベクターの増幅を可能にする特徴を有するべきである。さらに、JM109、DH5α、HB101またはXL1-Blueなどの大腸菌（E. coli）が宿主として使用される場合、ベクターは、プロモーター、例えば、大腸菌（E. coli）における効率的な発現を可能にできるlacZプロモーター（Ward et al., 341:544-546 (1989)）、araBプロモーター（Better et al., Science, 240:1041-1043 (1988)）またはT7プロモーターを有さなければならない。そのようなベクターの例には、例えば、M13シリーズのベクター、pUCシリーズのベクター、pBR322、pBluescript、pCR-Script、pGEX-5X-1（Pharmacia）、「QIAexpress system」（QIAGEN）、pEGFP、およびpET（この発現ベクターが使用される場合、宿主は、好ましくは、T7 RNAポリメラーゼを発現するBL21である）が含まれる。発現ベクターは、抗体分泌のためのシグナル配列を含有し得る。大腸菌（E. coli）のペリプラズム中への産生のために、pelBシグナル配列

(Lei et al., J. Bacteriol., 169:4379 (1987)) が、抗体分泌のためのシグナル配列として使用され得る。細菌発現のために、塩化カルシウム法またはエレクトロポレーション法が、発現ベクターを細菌細胞中に導入するために使用され得る。

【0222】

抗体がCHO、COS、293、293TおよびNIH3T3細胞などの動物細胞において発現される場合、発現ベクターは、これらの細胞における発現に必要なプロモーター、例えば、SV40プロモーター (Mulligan et al., Nature, 277:108 (1979))、MMLV-LTRプロモーター、EF1 α プロモーター (Mizushima et al., Nucleic Acids Res., 18:5322 (1990)) またはCMVプロモーターを含む。免疫グロブリンまたはそのドメインをコードする核酸配列に加えて、組換え発現ベクターは、さらなる配列、例えば、宿主細胞におけるベクターの複製を調節する配列 (例えば、複製起点) および選択可能なマーカー遺伝子を保有し得る。選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞の選択を促進する (例えば、米国特許第4,399,216号明細書、米国特許第4,634,665号明細書および米国特許第5,179,017号明細書を参照のこと)。例えば、典型的には、選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞に、G418、ハイグロマイシンまたはメトトレキサートなどの薬物に対する耐性を付与する。選択可能なマーカーを有するベクターの例には、pMAM、pDR2、pBK-RSV、pBK-CMV、pOPRSVおよびpOP13が含まれる。

【0223】

一実施形態では、抗体は、哺乳動物細胞において産生される。ポリペプチドを発現させるための例示的な哺乳動物宿主細胞には、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO細胞) (例えば、Kaufman and Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621に記載されるようなDHF-R選択可能なマーカーと共に使用される、Urlaub and Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220に記載されるdhfr-CHO細胞を含む)、ヒト胎児由来腎臓293細胞 (例えば、293、293E、293T)、COS細胞、NIH3T3細胞、リンパ球性細胞株、例えば、NS0骨髓腫細胞およびSP2細胞、ならびにトランスジェニック動物、例えば、トランスジェニック哺乳動物由来の細胞が含まれる。例えば、細胞は、乳腺上皮細胞である。

【0224】

本開示の抗体は、宿主細胞の内側または外側 (例えば、培地) から単離され得、実質的に純粋で均一な抗体として精製され得る。ポリペプチドのために一般に使用される単離および精製のための方法が、本明細書に記載される抗体の単離および精製のために使用され得、任意の特定の方法に限定されない。抗体は、例えば、カラムクロマトグラフィー、濾過、限外濾過、塩析、溶媒沈殿、溶媒抽出、蒸留、免疫沈降、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、等電点電気泳動、透析および再結晶を適切に選択し組み合わせることによって、単離および精製され得る。クロマトグラフィーには、例えば、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、ゲル濾過、逆相クロマトグラフィーおよび吸着クロマトグラフィーが含まれる (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996)。クロマトグラフィーは、液相クロマトグラフィー、例えば、HPLCおよびFPLCを使用して実施され得る。アフィニティークロマトグラフィーに使用されるカラムには、プロテインAカラムおよびプロテインGカラムが含まれる。プロテインAカラムを使用するカラムの例には、Hyper D、POROSおよびSephacrose FF (GE Healthcare Biosciences) が含まれる。本開示は、これらの精製方法を使用して高度に精製される抗体もまた含む。

【0225】

本開示は、本明細書に開示される抗ILRB2抗体またはその抗原結合分子をコードする核酸分子または核酸分子のセットもまた提供する。一実施形態では、本発明は、本明細書に記載される抗ILR3抗体またはその抗原結合分子の軽鎖を含むポリペプチド鎖

をコードする核酸分子を含む。一実施形態では、本発明は、本明細書に記載される抗 L I L R 3 抗体またはその抗原結合分子の重鎖を含むポリペプチド鎖をコードする核酸分子を含む。

【0226】

そのような核酸分子もしくは核酸分子のセットまたはそれらの相補体を含むベクターまたはベクターのセット、ならびにベクターを含む宿主細胞もまた提供される。

【0227】

本開示は、本明細書に開示される L I L R B 2 もしくはその抗原結合分子またはキメラ分子を生産するための方法もまた提供し、そのような方法は、本明細書に開示される宿主細胞を培養するステップ、および抗体、その抗原結合分子またはキメラ分子を培養培地から回収するステップを含む。

【0228】

種々の方法が、本明細書に開示される L I L R B 2 抗体もしくはその抗原結合分子、または本明細書に開示されるキメラ分子を組換え生産するために利用可能である。コードの縮重に起因して、種々の核酸配列がポリペプチドのアミノ酸配列をコードすることが理解されよう。所望のポリヌクレオチドは、*de novo* 固相 DNA 合成によって、または以前に調製されたポリヌクレオチドの PCR 変異誘発によって、生産され得る。

【0229】

組換え生産のために、ポリペプチド（例えば、本明細書に開示される L I L R B 2 抗体もしくはその抗原結合分子、または本明細書に開示されるキメラ分子のいずれか）をコードするポリヌクレオチド配列が、適切な発現ビヒクル、即ち、挿入されたコード配列の転写および翻訳に必要なエレメントを含有するベクター、または RNA ウイルスベクターの場合には、複製および翻訳に必要なエレメントを含むベクター中に挿入される。

【0230】

ポリペプチド（例えば、本明細書に開示される L I L R B 2 抗体もしくはその抗原結合分子、または本明細書に開示されるキメラ分子のいずれか）をコードする核酸は、適切なリーディングフレームでベクター中に挿入される。次いで、発現ベクターは、ポリペプチドを発現することになる適切な標的細胞中にトランスフェクトされる。当該分野で公知のトランスフェクション技術には、リン酸カルシウム沈殿 (Wigler et al. 1978, Cell 14: 725) およびエレクトロポレーション (Neumann et al. 1982, EMBO J. 1 :841) が含まれるがこれらに限定されない。種々の宿主-発現ベクター系が、本明細書に記載されるポリペプチド（例えば、本明細書に開示される L I L R B 2 抗体もしくはその抗原結合分子、または本明細書に開示されるキメラ分子のいずれか）を真核細胞において発現させるために利用され得る。一実施形態では、真核細胞は、哺乳動物細胞（例えば、293細胞、PerC6、CHO、BHK、Cos、HeLa細胞）を含む動物細胞である。ポリペプチドが真核細胞において発現される場合、ポリペプチド（例えば、本明細書に開示される L I L R B 2 抗体もしくはその抗原結合分子、または本明細書に開示されるキメラ分子のいずれか）をコードする DNA は、ポリペプチドの分泌を可能にするシグナル配列もまたコードし得る。当業者は、ポリペプチドが翻訳される間に、シグナル配列が細胞によって切断されて、成熟キメラ分子を形成することを理解する。種々のシグナル配列が当該分野で公知であり、当業者はこれに精通している。あるいは、シグナル配列が含まれない場合、ポリペプチド（例えば、本明細書に開示される L I L R B 2 抗体もしくはその抗原結合分子、または本明細書に開示されるキメラ分子のいずれか）は、細胞を溶解させることによって回収され得る。

【0231】

医薬組成物

本開示は、以下のうち1つまたは複数：(i) 本明細書に開示される L I L R B 2 抗体またはその抗原結合分子；(ii) 本明細書に開示される L I L R B 2 抗体もしくは抗原結合分子をコードする核酸分子または核酸分子のセット；または(iii) 本明細書に開示されるベクターもしくはベクターのセット、および薬学的に許容される担体を含む、医

薬組成物もまた提供する。

【0232】

本明細書に記載される抗L I L R B 2抗体またはその断片は、例えば、本明細書に記載される障害を処置するために、対象への投与のための医薬組成物として製剤化され得る。典型的には、医薬組成物は、薬学的に許容される担体を含む。本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される担体」には、生理学的に適合性の任意のおよび全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが含まれる。組成物は、薬学的に許容される塩、例えば、酸付加塩または塩基付加塩を含み得る（例えば、Berge, S.M., et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19を参照のこと）。

【0233】

10

医薬製剤は、十分に確立された技術であり、例えば、Gennaro (ed.), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2000) (ISBN: 0683306472); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Ed., Lippincott Williams & Wilkins Publishers (1999) (ISBN: 0683305727); およびKibbe (ed.), Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association, 3rd ed. (2000) (ISBN: 091733096X)にさらに記載されている。

【0234】

医薬組成物は、種々の形態であり得る。これらには、例えば、液体、半固体および固体の剤形、例えば、液体溶液剤（例えば、注射可能な液剤および注入可能な液剤）、分散剤または懸濁剤、錠剤、丸剤、散剤、リポソーム剤および坐剤が含まれる。好ましい形態は、意図した投与様式および治療適用に依存し得る。典型的には、本明細書に記載される薬剤のための組成物は、注射可能な液剤または注入可能な液剤の形態である。

20

【0235】

一実施形態では、本明細書に記載される抗体は、賦形剤材料、例えば、クエン酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム (sodium dibasic phosphate) 七水和物、リン酸一水素ナトリウム (sodium monobasic phosphate)、Tween (登録商標) - 80 および安定剤を用いて製剤化される。抗体は、例えば、適切な濃度で緩衝溶液中に提供され得、2 ~ 8 °Cで貯蔵され得る。一部の他の実施形態では、組成物のpHは、約5.5から7.5の間（例えば、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5）である。

30

【0236】

医薬組成物は、製剤化される際の抗体の凝集を低減させる薬剤もまた含み得る。凝集低減剤の例には、メチオニン、アルギニン、リジン、アスパラギン酸、グリシンおよびグルタミン酸からなる群から選択される1種または複数のアミノ酸が含まれる。これらのアミノ酸は、約0.5 mM ~ 約145 mM（例えば、0.5 mM、1 mM、2 mM、5 mM、10 mM、25 mM、50 mM、100 mM）の濃度になるように、製剤に添加され得る。医薬組成物は、糖（例えば、スクロース、トレハロース、マンニトール、ソルビトールまたはキシリトール）および/または浸透圧改変剤（例えば、塩化ナトリウム、マンニトールまたはソルビトール）および/または界面活性剤（例えば、ポリソルベート-20またはポリソルベート-80）もまた含み得る。

40

【0237】

組成物は、液剤、マイクロエマルジョン剤、分散剤、リポソーム剤、または高濃度での安定な貯蔵に適切な他の秩序立った構造として製剤化され得る。無菌の注射可能な溶液は、必要量の本明細書に記載される薬剤を、上に列挙された成分のうち1つまたはそれらの組合せと共に適切な溶媒中に取込み、その後必要に応じて濾過滅菌することによって調製され得る。一般に、分散剤は、本明細書に記載される薬剤を、基本的分散媒および上に列挙されたものからの必要な他の成分を含有する無菌のビヒクル中に組み込むことによって調製される。無菌の注射可能な液剤の調製のための無菌の散剤の場合、調製の好ましい方法は、以前に無菌濾過されたその溶液から、本明細書に記載される薬剤+任意のさらなる

50

所望の成分の粉末を得る、真空乾燥およびフリーズドライである。溶液の適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散物の場合には必要な粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持され得る。注射可能な組成物の延長された吸収は、ステアリン酸塩およびゼラチンなどの、吸収を遅延させる薬剤を組成物中に含めることによってもたらされ得る。

【0238】

ある特定の実施形態では、抗体は、インプラントおよびマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出薬剤など、迅速な放出に対して化合物を保護する担体を用いて調製され得る。生分解性の生体適合性ポリマー、例えば、エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸が使用され得る。そのような薬剤の調製のための多くの方法は、特許されているまたは一般に公知である。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1978)を参照のこと。

【0239】

一実施形態では、医薬薬剤は、薬学的に許容される担体を用いて薬剤化された、約0.005mg/mL~500mg/mL（例えば、0.005mg/mL、0.01mg/mL、0.05mg/mL、0.1mg/mL、0.5mg/mL、1mg/mL、5mg/mL、10mg/mL、25mg/mL、30mg/mL、35mg/mL、40mg/mL、45mg/mL、50mg/mL、55mg/mL、60mg/mL、65mg/mL、70mg/mL、75mg/mL、80mg/mL、85mg/mL、90mg/mL、95mg/mL、100mg/mL、125mg/mL、150mg/mL、175mg/mL、200mg/mL、250mg/mL、300mg/mL、350mg/mL、400mg/mL、450mg/mL、500mg/mL）の濃度の抗体を含む。一部の実施形態では、抗体は、無菌の蒸留水またはリン酸緩衝食塩水中で薬剤化される。医薬薬剤のpHは、5.5~7.5の間（例えば、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.3、7.4、7.5）であり得る。

【0240】

医薬組成物は、「治療有効量」の本明細書に記載される薬剤を含み得る。そのような有効量は、投与される薬剤の効果、または2種以上の薬剤が使用される場合には薬剤の効果の組合せに基づいて、決定され得る。薬剤の治療有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別および体重、ならびに個体において所望の応答、例えば、少なくとも1つの障害パラメーターの寛解または障害の少なくとも1つの症状の寛解を惹起する化合物の能力などの因子に従っても変動し得る。治療有効量は、治療的に有益な効果が組成物の任意の毒性または有害効果を凌ぐ任意の量である。

【0241】

投与

抗体もしくはその抗原結合性断片、またはそれをコードする核酸は、対象、例えば、それを必要とする対象、例えば、ヒトまたは動物対象に、種々の方法によって投与され得る。多くの適用について、投与経路は、静脈内注射または非経口、注入（IV）、皮下注射（SC）、腹腔内（IP）、または筋肉内注射、腫瘍内（IT）のうち1つである。他の様式 of 非経口投与もまた使用され得る。そのような様式の例には、動脈内、くも膜下腔内、関節内（intracapsular）、眼窩内、心臓内、真皮内、経気管、表皮下、関節内（intra articular）、嚢下、くも膜下、脊髄内、ならびに硬膜外および胸骨内注射が含まれる。

【0242】

一実施形態では、本発明の抗体の投与経路は、非経口である。本明細書で使用する場合、非経口という用語は、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、直腸または腔投与を含む。静脈内形態の非経口投与が好ましい。これらの形態の全ての投与が本発明の範囲内であることが明確に企図されるが、投与のための一形態は、注射のため、特に静脈内または動脈内注射または点滴のための溶液である。通常、注射に適切な医薬組成物は、緩衝液剤

(例えば、酢酸、リン酸またはクエン酸緩衝液)、界面活性剤(例えば、ポリソルベート)、任意選択で安定剤(例えば、ヒトアルブミン)などを含み得る。しかし、本明細書の教示と適合する他の方法では、ポリペプチドは、有害な細胞集団の部位に直接送達され得、それにより、罹患組織の治療剤への曝露を増加させる。

【0243】

非経口投与のための調製物には、無菌の水性または非水性の溶液、懸濁液およびエマルジョンが含まれる。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、例えばオリーブ油、および注射可能な有機エステル、例えばオレイン酸エチルである。水性担体には、食塩水および緩衝媒体が含まれる、水、アルコール性／水性溶液、エマルジョンまたは懸濁液が含まれる。薬学的に許容される担体には、0.01～0.1 M、好ましくは0.05 Mのリン酸緩衝液または0.8%食塩水が含まれるがこれらに限定されない。他の一般的な非経口ビヒクルには、リン酸ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸リンゲル、または不揮発油が含まれる。静脈内ビヒクルには、流体および栄養素補充剤、電解質補充剤、例えば、リンゲルデキストロースに基づくものなどが含まれる。防腐剤および他の添加剤、例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート剤および不活性ガスなどもまた存在し得る。

【0244】

より詳細には、注射可能な使用に適切な医薬組成物は、無菌の水性溶液(水溶性の場合)または分散物、および無菌の注射可能な溶液または分散物の即時調製のための無菌の粉末を含む。そのような場合には、組成物は、無菌でなければならず、容易な注射可能性が存在する程度まで流動性であるべきである。これは、製造および貯蔵の条件下で安定でなければならず、好ましくは、細菌および真菌などの微生物の混入作用に対して保全される。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど)、およびそれらの適切な混合物を含有する、溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散物の場合には必要な粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持され得る。

【0245】

微生物の作用の防止は、種々の抗細菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成され得る。多くの場合、組成物中に、等張剤、例えば、糖、多価アルコール、例えば、マンニトール、ソルビトール、または塩化ナトリウムを含めることが好ましい。注射可能な組成物の延長された吸収は、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの、吸収を遅延させる薬剤を組成物中に含めることによってもたらされ得る。

【0246】

いずれの場合にも、無菌の注射可能な溶液は、必要量の活性化合物(例えば、それ自体または他の活性な薬剤と組み合わせたポリペプチド)を、本明細書に列挙された成分のうち1つまたはそれらの組合せと共に適切な溶媒中に取り込み、その後必要に応じて濾過滅菌することによって調製され得る。一般に、分散物は、活性化合物を、基本的分散媒および上に列挙されたものからの必要な他の成分を含有する無菌のビヒクル中に組み込むことによって調製される。無菌の注射可能な溶液の調製のための無菌の粉末の場合、調製の好ましい方法は、以前に無菌濾過されたその溶液から、活性成分+任意のさらなる所望の成分の粉末を得る、真空乾燥およびフリーズドライである。注射のための調製物は、当該分野で公知の方法に従って、加工され、アンプル、バッグ、ビン、シリンジまたはバイアルなどの容器中に充填され、無菌条件下で密封される。さらに、調製物は、キットの形態で包装および販売され得る。そのような製品は、好ましくは、関連する組成物が凝固障害に罹患している対象または凝固障害の素因がある対象を処置するために有用であることを示すラベルまたは添付文書を有する。

【0247】

状態の処置のための本開示の組成物の有効用量は、投与の手段、標的部位、患者の生理

学的状態、患者がヒトであるか動物であるか、投与される他の医薬、および処置が予防的であるか治療的であるかを含む多くの異なる因子に依存して変動する。通常、患者はヒトであるが、トランスジェニック哺乳動物を含む非ヒト哺乳動物もまた処置することができる。処置投薬量は、安全性および有効性を最適化するために、当業者に公知の慣用的な方法を使用して用量設定され得る。

【0248】

抗LILRB2抗体またはその断片の投与経路および／または投与様式はまた、例えば、対象をモニタリングすることによって、個々の症例のためにテーラーメイドされ得る。

【0249】

抗体またはその断片は、固定の用量として、またはmg/kg用量で、投与され得る。用量は、抗LILRB2抗体またはその断片に対する抗体の産生を低減または回避するためにも選択され得る。投薬レジメンは、所望の応答、例えば、治療的応答または組合せの治療効果を提供するために調整される。一般に、抗体またはその断片（および任意選択で第2の薬剤）の用量が、生体利用可能な量の薬剤を対象に提供するために使用され得る。例えば、0.1～100mg/kg、0.5～100mg/kg、1mg/kg～100mg/kg、0.5～20mg/kg、0.1～10mg/kgまたは1～10mg/kgの範囲の用量が投与され得る。他の用量もまた使用され得る。ある特定の実施形態では、抗体またはその断片による処置を必要とする対象には、約1mg/kg～約30mg/kgの間の用量の抗体またはその断片が投与される。一部の実施形態では、抗LILRB2抗体またはその断片による処置を必要とする対象には、1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、7mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、28mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kgまたは50mg/kgの用量の抗体またはその断片が投与される。具体的な実施形態では、抗体またはその断片は、1mg/kg～3mg/kgの用量で皮下投与される。別の実施形態では、抗体またはその断片は、4mg/kg～30mg/kgの間の用量で静脈内投与される。

【0250】

組成物は、約1mg/mL～100mg/mLまたは約10mg/mL～100mg/mLまたは約50～250mg/mLまたは約100～150mg/mLまたは約100～250mg/mLの抗体またはその断片を含み得る。

【0251】

投薬単位形態または「固定の用量」とは、本明細書で使用する場合、処置される対象にとっての単位投薬量として適した物理的に別個の単位を指す；各単位は、必要な薬学的担体に関連して、および任意選択で他の薬剤に関連して、所望の治療効果を生じるように計算された所定の量の抗体またはその断片を含有する。単一または複数の投薬量が与えられ得る。あるいは、またはさらに、抗体またはその断片は、持続注入を介して投与され得る。

【0252】

抗体またはその断片の用量は、例えば、1日に1回もしくは2回、または1週間に約1～4回、または好ましくは毎週、隔週（2週間毎）、3週間毎、毎月、例えば、約1～12週間の間、好ましくは2～8週間の間、より好ましくは約3～7週間の間、さらにより好ましくは約4、5もしくは6週間にわたって、例えば、少なくとも2用量、3用量、5用量、10用量もしくはそれよりも多くの用量を包含するのに十分な期間（処置過程）にわたって定期的な間隔で、投与され得る。対象を効果的に処置するために必要な投薬量およびタイミングに影響し得る因子には、例えば、疾患または障害の段階または重症度、製剤、送達経路、以前の処置、対象の総体的な健康および／または年齢、ならびに存在する他の疾患が含まれる。さらに、治療有効量の化合物による対象の処置は、単一の処置を含み得、または好ましくは、一連の処置を含み得る。

【0253】

対象が本明細書に記載される障害を発症するリスクがある場合、抗体またはその断片は

、例えば、予防手段として、障害の完全な発生前に投与され得る。そのような予防的処置の持続時間は、単一の投薬量の抗体もしくはその断片であり得、または処置は継続し得る（例えば、複数の投薬量）。例えば、障害のリスクがある対象または障害の素因を有する対象は、障害の発生または劇症化を予防するために、数日間、数週間、数カ月間またはさらには数年間にわたって抗体またはその断片で処置され得る。

【0254】

ある特定の実施形態では、抗体またはその断片は、約1mg/mL～約500mg/mL（例えば、1mg/mL、2mg/mL、3mg/mL、4mg/mL、5mg/mL、10mg/mL、15mg/mL、20mg/mL、25mg/mL、30mg/mL、35mg/mL、40mg/mL、45mg/mL、50mg/mL、55mg/mL、60mg/mL、65mg/mL、70mg/mL、75mg/mL、80mg/mL、85mg/mL、90mg/mL、95mg/mL、100mg/mL、125mg/mL、150mg/mL、175mg/mL、200mg/mL、225mg/mL、250mg/mL、275mg/mL、300mg/mL、325mg/mL、350mg/mL、400mg/mL、450mg/mL）の濃度で皮下投与される。一実施形態では、抗ILRB2抗体またはその断片は、50mg/mLの濃度で皮下投与される。別の実施形態では、抗体またはその断片は、約1mg/mL～約500mg/mLの濃度で静脈内投与される。一実施形態では、抗体またはその断片は、50mg/mLの濃度で静脈内投与される。

10

【0255】

抗ILRB2抗体またはその断片は、所望により、単独で、または本明細書に記載されるがんもしくは免疫学的障害を処置するために有用な他の治療剤と組み合わせて（即ち、共投与または逐次投与によって）、それを必要とする患者に投与され得る。そのような治療剤は、性質が化学物質または生物製剤であり得る。用語「生物製剤」または「生物学的薬剤」とは、治療薬としての使用が意図される、生きた生物および／またはそれらの産物から作製される任意の薬学的に活性な薬剤を指す。一実施形態では、さらなる治療的タンパク質が、本発明の医薬組成物中に含まれる。

20

【0256】

上記範囲の中間の用量もまた、本発明の範囲内であることが意図される。対象には、そのような用量が毎日、1日おきに、毎週、または実験的分析によって決定される任意の他のスケジュールに従って投与され得る。例示的な処置は、延長された期間にわたる、例えば、少なくとも6カ月間の、複数の投薬量での投与を可能にする。一部の方法では、2つ以上のポリペプチドが同時に投与され得、この場合、投与される各ポリペプチドの投薬量は、示された範囲内に入る。

30

【0257】

本発明のポリペプチドは、複数回投与され得る。単一の投薬量間の間隔は、1日、1週間、1カ月または1年であり得る。間隔は、患者における改変されたポリペプチドまたは抗原の血中レベルを測定することによって示される場合、不規則であってもよい。あるいは、ポリペプチドは、徐放性製剤として投与され得、この場合、あまり頻繁な投与は要求されない。投薬量および頻度は、患者におけるポリペプチドの半減期に依存して変動する。

40

【0258】

投与の投薬量および頻度は、その処置が予防的であるか治療的であるかに依存して変動し得る。予防的適用では、本発明のポリペプチドまたはそれらのカクテルを含む組成物は、患者の耐性を増強するためまたは疾患の影響を最小化するために、まだ疾患状態にはない患者に投与される。そのような量は、「予防有効用量」と定義される。比較的低い投薬量が、長期間にわたって比較的低頻度の間隔で投与される。一部の患者は、残りの人生にわたって処置を受け続ける。

【0259】

使用の方法

50

本開示の抗体またはその抗原結合性断片は、疾患または状態を有する対象（例えば、ヒト）を処置する方法において有用であり得る。疾患または状態には、がん、または慢性感染の抗ウイルス免疫応答もしくは阻害のために炎症促進性免疫応答を刺激することが含まれ得るがこれらに限定されない。

【0260】

例えば、本発明は、抗IL1RB2活性を有するアンタゴニストまたはアゴニストを含む抗IL1RB2の使用を含む。本発明は、抗IL1RB2抗体またはその断片を対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）に投与するステップを含み、ヒトおよび獣医学の両方での治療的使用を企図する。説明的な獣医学対象には、哺乳動物対象、例えば、家畜および飼育動物が含まれる。

10

【0261】

哺乳動物（例えば、ヒト）において炎症促進性免疫応答を刺激する方法であって、治療有効量の本明細書に記載される抗IL1RB2抗体またはその断片を哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。

【0262】

一部の実施形態では、哺乳動物における炎症促進性免疫応答における増加は、（例えば、処置前の哺乳動物における1種もしくは複数の炎症促進性タンパク質のレベルおよび／または哺乳動物におけるエフェクターT細胞のレベルと比較した、あるいは健康な対照哺乳動物中に存在する1種もしくは複数の炎症促進性タンパク質のレベルおよび／またはエフェクターT細胞のレベルと比較した）哺乳動物における1種もしくは複数の炎症促進性タンパク質のレベルにおける増加（例えば、C反応性タンパク質、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-23、IL-17およびマトリックスメタロプロテアーゼのうち1種または複数における増加）または哺乳動物におけるエフェクターT細胞（Teff）の数における増加として検出され得る。

20

【0263】

哺乳動物（例えば、ヒト）において処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載される抗IL1RB2抗体もしくはその抗原結合性断片（または抗体もしくはその抗原結合性断片を含む医薬組成物）を哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。

【0264】

一部の実施形態では、哺乳動物（例えば、ヒト）は、がん（例えば、本明細書に記載される種々の型のがんのいずれか）を有すると以前に診断されている。がんの非限定的な例には、膀胱がん、乳がん、結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、腎臓がん、肺がん、黒色腫、膵臓がん、前立腺がん、甲状腺がん、胆管がん、骨がん、脳がん（brain cancer）、子宮頸がん、心腫瘍、食道がん、眼がん、胆嚢がん、胃がん、頭頸部がん、心臓がん、肝臓がん、喉頭がん、白血病、口唇がんおよび口腔（oral cavity）がん、リンパ腫、黒色腫、中皮腫、口腔（mouth）がん、鼻腔がんおよび副鼻腔がん、鼻咽頭がん、非ホジキンリンパ腫、卵巣がん、陰茎がん、下垂体腫瘍、網膜芽細胞腫、肉腫、皮膚がん、精巣がん、咽喉がん、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、腔がんならびに外陰部がんが含まれる。一部の実施形態では、がんは、リンパ腫、白血病または乳がんである。がんを有する哺乳動物は、以下の症状のうち1つまたは複数を提示し得る：疲労、皮膚の下に感じられるしこりまたは肥厚、体重変化、皮膚変化（例えば、皮膚の黄変、黒ずみもしくは発赤、治癒しないヒリヒリ感、または既存の黒子における変化）、排便習慣または排尿習慣における変化、持続性の咳嗽、嚥下困難、嗄声、食後の持続性の消化不良または不快感、持続性の説明できない筋肉または関節の疼痛、および説明できない持続性の発熱または寝汗。哺乳動物が経験する特定の症状は、がんの特定の型に依存する。哺乳動物は、哺乳動物におけるがんの1つまたは複数の症状（例えば、本明細書に記載されるまたは当該分野で公知のがんの症状のいずれか）の観察に基づいて、がんを有すると診断され得る。哺乳動物はまた、画像化（例えば、核磁気共鳴画像法、コンピュータ断層撮影および／またはX線）および／または組織生検結果に基づいて、がんを有すると診断され得る。哺乳動物はま

30

40

50

た、分子診断試験を使用することに基づいて（例えば、前立腺特異的抗原、または乳がん易罹患性2タンパク質、乳がん易罹患性1タンパク質もしくは腫瘍サプレッサータンパク質（例えば、p 53）における変異の検出に基づいて）、がんを有すると診断され得る。がんを有すると哺乳動物を診断するためのさらなる方法は、当該分野で公知である。がんの処置の有効性は、哺乳動物におけるがんの症状（例えば、本明細書に記載されるまたは当該分野で公知のがんの症状のいずれか）の数における減少ならびに／または哺乳動物におけるがんの1つもしくは複数の症状（例えば、本明細書に記載されるまたは当該分野で公知の症状のいずれか）の頻度および／もしくは重症度における減少によって、検出され得る。哺乳動物におけるがんの有効な処置は、哺乳動物における腫瘍の成長の速度における（例えば、処置の投与前の哺乳動物における腫瘍成長の速度と比較した、または処置を投与されていないもしくは異なる処置を投与された同じ型のがんを有する対照哺乳動物と比較した）減少によっても見積もることができる。哺乳動物におけるがんの有効な処置は、哺乳動物におけるがんの寛解の長さにおける（例えば、処置を投与されていないまたは異なる処置を投与された同じ型のがんを有する対照哺乳動物と比較した）増加によっても観察され得る。

10

【0265】

哺乳動物は、雌性でも雄性でもよく、成体でも若年（例えば、乳児）でもよい。哺乳動物は、化学療法剤および／もしくは鎮痛薬で以前に処置されていてもよく、ならびに／または化学療法剤および／もしくは鎮痛薬に良好に応答しなかったものであってもよい。哺乳動物は、非転移性がんを有し得る。一部の実施形態では、哺乳動物は、転移性がんを有し得る。哺乳動物が成体である場合、この哺乳動物は、例えば、18～20歳の間、または少なくとも約20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95歳、または少なくとも100歳もしくは約100歳であり得る。

20

【0266】

哺乳動物（例えば、ヒト）においてがんを処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載される抗LILRB2抗体もしくはその抗原結合性断片（または抗体もしくはその断片を含む医薬組成物）を哺乳動物に投与するステップを含む方法もまた提供される。

【0267】

それを必要とする哺乳動物（例えば、ヒト）においてがんを処置する方法であって、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合性断片（または抗体もしくはその抗原結合性断片を含む医薬組成物）およびPD-1またはPD-L1阻害剤を哺乳動物に投与するステップを含む方法もまた、本明細書に提供される。

30

【0268】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるがんを処置する方法は、化学療法剤または鎮痛薬を哺乳動物に投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、本明細書に記載されるがんを処置する方法は、免疫チェックポイント阻害剤を哺乳動物に投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、本明細書に記載されるがんを処置する方法は、骨髓由来サプレッサー細胞、動員剤、c-jun N末端キナーゼ阻害剤、抗炎症剤および免疫抑制剤からなる群から選択される1種または複数のさらなる薬剤を哺乳動物に投与するステップをさらに含む。

40

【0269】

それを必要とする哺乳動物（例えば、ヒト）において感染を処置する方法であって、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合性断片（または抗体もしくはその断片を含む医薬組成物）を哺乳動物に投与するステップを含む方法もまた、本明細書に提供される。一部の実施形態では、感染は細菌感染である。

【0270】

それを必要とする哺乳動物（例えば、ヒト）において炎症促進性免疫応答を減少させる方法であって、治療有効量の本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合性断片（または抗体もしくはその断片を含む医薬組成物）を哺乳動物に投与するステップを含む方法

50

もまた、本明細書に提供される。一部の実施形態では、哺乳動物は、炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を有すると診断されている。一部の実施形態では、哺乳動物は、臓器または組織移植のために選択される。

【0271】

それを必要とする哺乳動物（例えば、ヒト）において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合性断片（または抗体もしくはその断片を含む医薬組成物）を哺乳動物に投与するステップを含む方法もまた、本明細書に提供される。一部の実施形態では、哺乳動物は、炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を有すると診断されている。一部の実施形態では、哺乳動物は、臓器または組織移植のために選択される。

10

【0272】

それを必要とする哺乳動物においてがんを処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載されるCAR（あるいは本明細書に記載されるCARを含むもしくはコードする細胞、またはそれを含む医薬組成物）またはそれを含む医薬組成物を哺乳動物に投与するステップを含む方法もまた、本明細書に提供される。一実施形態では、がんは、リンパ腫、白血病、結腸がんまたは乳がんである。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0273】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において喘息を処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載されるCAR（あるいは本明細書に記載されるCARを含むもしくはコードする細胞、またはそれを含む医薬組成物）またはそれを含む医薬組成物を哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

20

【0274】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において感染を処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載されるCAR（あるいは本明細書に記載されるCARを含むもしくはコードする細胞、またはそれを含む医薬組成物）またはそれを含む医薬組成物を哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0275】

別の態様では、それを必要とする哺乳動物において炎症、自己免疫疾患または移植片拒絶を処置する方法であって、治療有効量の本明細書に記載されるCAR（あるいは本明細書に記載されるCARを含むもしくはコードする細胞、またはそれを含む医薬組成物）またはそれを含む医薬組成物を哺乳動物に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一実施形態では、哺乳動物はヒトである。

30

【0276】

治療のためのデバイスおよびキット

本明細書に記載される抗LILRB2抗体またはその断片を含む医薬組成物は、医療用デバイスを用いて投与され得る。携帯性、室温貯蔵、ならびに、例えば、医療施設および他の医療設備から離れた現場で訓練を受けていない対象または救急隊員によって緊急事態において使用できるような使用の容易さなどの特色を有するデバイスが設計され得る。デバイスは、例えば、抗LILRB2抗体またはその断片を含む薬学的調製物を貯蔵するための1つまたは複数のハウジングを含み得、かつ1つまたは複数の単位用量の抗体またはその断片を送達するために構成され得る。デバイスはさらに、抗LILRB2抗体もしくはその断片もまた含む単一の医薬組成物として、または2つの別々の医薬組成物として、化学療法剤などの第2の薬剤を投与するために構成され得る。

40

【0277】

抗LILRB2抗体またはその断片は、キット中で提供され得る。一実施形態では、キットは、（a）本明細書に記載される抗LILRB2抗体またはその断片を含む組成物を含有する容器、および任意選択で（b）情報資料を含む。情報資料は、本明細書に記載される方法および／または治療的利益のための薬剤の使用に関する、記述的、指導的、販売

50

上のまたは他の資料であり得る。

【0278】

ある実施形態では、キットは、本明細書に記載される障害を処置するための第2の薬剤もまた含む。例えば、キットは、抗LILRB2抗体またはその断片を含む組成物を含有する第1の容器、および第2の薬剤を含む第2の容器を含む。

【0279】

キットの情報資料は、その形態が限定されない。一実施形態では、情報資料は、化合物の生産、化合物の分子量、濃度、有効期限についての情報、バッチまたは生産場所情報などを含み得る。一実施形態では、情報資料は、本明細書に記載される疾患を有しているまたはその疾患のリスクがある対象を処置するために、抗LILRB2抗体またはその断片を、例えば、適切な用量、剤形または投与様式（例えば、本明細書に記載される用量、剤形または投与様式）で投与する方法に関する。情報は、種々の形式で提供され得、これには、印刷されたテキスト、コンピュータ可読資料、映像記録もしくは音声記録、または例えばインターネット上の実質的な資料へのリンクもしくはアドレスを提供する情報が含まれる。

【0280】

抗LILRB2抗体またはその断片に加えて、キット中の組成物は、他の成分、例えば、溶媒もしくは緩衝剤、安定剤、または防腐剤を含み得る。抗LILRB2抗体またはその断片は、任意の形態、例えば、液体、乾燥もしくは凍結乾燥形態で、好ましくは実質的に純粋および／または無菌で、提供され得る。薬剤が液体溶液中で提供される場合、この液体溶液は、好ましくは、水性溶液である。ある特定の実施形態では、液体溶液中の抗LILRB2抗体またはその断片は、約25mg/mL～約250mg/mL（例えば、40mg/mL、50mg/mL、60mg/mL、75mg/mL、85mg/mL、100mg/mL、125mg/mL、150mg/mLおよび200mg/mL）の濃度である。抗LILRB2抗体またはその断片が凍結乾燥産物として提供される場合、この抗LILRB2抗体またはその断片は、約75mg/バイアル～約200mg/バイアル（例えば、100mg/バイアル、108.5mg/バイアル、125mg/バイアル、150mg/バイアル）である。凍結乾燥粉末は一般に、適切な溶媒の添加によって再構成される。溶媒、例えば、無菌の水または緩衝液（例えば、PBS）が、任意選択でキット中に提供され得る。

【0281】

キットは、薬剤を含む組成物（単数または複数）のための1つまたは複数の容器を含み得る。一部の実施形態では、キットは、組成物および情報資料のための別々の容器、仕切りまたは区画を含有する。例えば、組成物は、ビン、バイアルまたはシリンジ中に含まれ得、情報資料は、プラスチックスリーブまたはパケット中に含まれ得る。他の実施形態では、キットの別々の要素が、単一の分割されていない容器内に含有される。例えば、組成物は、情報資料がラベルの形態で張り付けられたビン、バイアルまたはシリンジ中に含有される。一部の実施形態では、キットは、薬剤の1つまたは複数の単位剤形（例えば、本明細書に記載される剤形）を各々が含有する複数（例えば、パック）の個々の容器を含む。容器は、組合せ単位投薬量、例えば、抗LILRB2抗体またはその断片および第2の薬剤の両方を、例えば所望の比率で含む単位を含み得る。例えば、キットは、例えば、単一の組合せ単位用量を各々が含有する、複数のシリンジ、アンプル、ホイルパケット、ブリスターパックまたは医療用デバイスを含む。キットの容器は、気密性、防水性（例えば、湿気または蒸発における変化に対して不透過性）および／または遮光性であり得る。

【0282】

キットは、任意選択で、組成物の投与に適切なデバイス、例えば、シリンジまたは他の適切な送達デバイスを含む。デバイスは、1種もしくは両方の薬剤が事前に充填されて提供され得、または空であるが充填に適切であり得る。

【実施例】

【0283】

本発明は、特許請求の範囲に記載される発明の範囲を限定しない以下の実施例にさらに記載される。

【0284】

以下に記載されるように、L I L R B 2 に特異的に結合するモノクローナル抗体を生成し（実施例 1 および 9）、特徴付けた（実施例 2～9）。抗 L I L R B 2 抗体は、炎症促進または抗炎症応答を示しただけでなく、L I L R B 2 シグナル伝達のモジュレーションを介して T 細胞媒介性免疫を調節した。さらに、以下に記載される抗 L I L R B 2 抗体は、L I L R B 2 発現した腫瘍細胞に対する抗腫瘍応答を媒介した。

【0285】

[実施例 1]

L I L R B 2 に特異的に結合するモノクローナル抗体を、以下に記載されるように生成した。抗 L I L R B 2 抗体は、炎症促進または抗炎症応答を示し得るだけでなく、L I L R B 2 シグナル伝達のモジュレーションを介して T 細胞媒介性免疫を調節し得る。さらに、L I L R B 2 抗体は、L I L R B 2 発現した腫瘍細胞に対する抗腫瘍応答を媒介し得る。

【0286】

抗 L I L R B 2 抗体の生成および精製

クローン性ハイブリドーマ細胞から生成されたモノクローナル抗体を、C l o n a C e l l - H Y M e d i u m A (S t e m C e l l T e c h n o l o g i e s) 中で培養し、その後、H y b r i d o m a - S F M (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) を使用して無血清条件に適応させた。ハイブリドーマ細胞を、50 mL の H y b r i d o m a S F M 中で 2 週間、または培地が使い果たされるまで拡大増殖させた。抗体含有上清を遠心分離によって採取し、その後、無菌で 0. 22 ミクロンで濾過した。抗体を、100 k D a の公称分子量限界を有する A m i c o n U l t r a - 1 5 遠心分離フィルター濃縮器 (M i l l i p o r e) を使用して濃縮した。次いで、濃縮された抗体を、製造業者の指示書に従って N a b P r o t e i n A / G S p i n K i t (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) を使用して精製した。精製された抗体を、Z e b a S p i n C o l u m n s (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) を使用して脱塩した。

【0287】

ハイブリドーマ I g L および I g H 鎖の配列決定

ハイブリドーマクローンから、T r i z o l 抽出を使用して R N A を抽出した。c D N A を、製造業者の指示書に従って O n e S t e p R T - P C R K i t (Q i a g e n) を使用して、精製された R N A から合成した。I g 重鎖および軽鎖の P C R を、縮重プライマーを使用して実施した。増幅された P C R 産物を引き続いて配列決定し (G e n e W i z) 、T h e I n t e r n a t i o n a l I m m u n o g e n e t i c s I n f o r m a t i o n S y s t e m の I M G T / V - Q U E S T を使用して検証した。

【0288】

ハイブリドーマの配列

マウスカップおよび重鎖 I g 遺伝子に隣接する縮重プライマーを使用して、重鎖および軽鎖遺伝子ならびに相補性決定領域 (C D R) の配列を、示されたクローンについて決定した。初期継代ハイブリドーマから単離された総 R N A を、R T - P C R を使用して c D N A に変換し、その後重鎖および軽鎖遺伝子を P C R 増幅した。P C R 産物を、S a n g e r 配列決定によって配列決定し、その後、データベースからの公知の対立遺伝子フレームワークに対して I g - B L A S T 比較した。生産的抗体配列は、最も近縁のアラインしたマウス対立遺伝子および C D R 1～3 を示す表 1、2、5 および 6 に列挙される。選択された抗 L I L R B 2 抗体 (マウス) の C D R アミノ酸配列は、表 1、2 および 5 に提供される。C D R は、K a b a t 番号付けシステムに基づく。表 6 は、選択された抗 L I L R B 2 抗体 (マウス) についての最も近縁のアラインしたマウス対立遺伝子および C D R 1～3 を示す。

10

20

30

40

50

【0289】

低用量LPS刺激の存在下で、抗LILRB2アンタゴニストは、総末梢血単核球（PBMC）からのTNFアルファ分泌を促進するが、抗LILRB2アゴニストは、IL-10分泌を促進する。本発明者らは、炎症条件下で総PBMCを用いて、生物学的機能についていくつかのモノクローナル抗体（mAb）をスクリーニングした。アンタゴニスト性の機能的特徴を有するmAbは、低用量のLPS刺激下で総PBMCからのTNFアルファ産生をさらに促進できるが、IL-10分泌には影響せず、これは、これらが、がんまたは感染性疾患を処置する際に有効であることを意味している。他方、アゴニストクローンは、自己免疫疾患、炎症または移植片拒絶を処置するために、IL-10産生を増加させることができる（図1）。TNFアルファ分泌を誘導できるこれらのクローンを、アンタゴニストとみなしたが、IL-10を誘導するクローンはアゴニストとみなす。アンタゴニスト抗LILRB-1抗体は、表1に記載される。アゴニスト抗LILRB-1抗体は、表2に記載される。

10

【0290】

当業者は、抗体の名称（例えば、5G5）およびそのハイブリドーマクローン名（例えば、P__5G5）が、相互交換可能に使用され、互いに同じ配列を有する抗体を指すことを理解する。例えば、5G5およびP__5G5は、それぞれ、配列番号225、230および244のHCDR1～3ならびにそれぞれ、配列番号24、202および216のLCDR1～3を有する抗体を指すために、相互交換可能に使用され得る。

20

【0291】

[実施例2]

抗LILRB2抗体は、TNFアルファ分泌を*in vitro*でモジュレートする。

健康なドナーから得た総末梢血単核球（PBMC）を、LPS（50ng/ml）による24時間にわたる刺激後16時間にわたり一晚、精製された抗LILRB2抗体（5μg/ml）またはアイソタイプ対照と共にインキュベートした。上清を収集し、TNFアルファ濃度をELISAによって測定した（図1）。アイソタイプ処理を対照として使用した。抗LILRB mAbを、TNFアルファ放出における相対的变化倍数によって、TNFアルファ放出を抑制するクローンから、TNFアルファ分泌を増強するクローンの順でランキングした（図1A）。TNFアルファ放出の生データが図1Bに示される。図1BからのTNFアルファレベルにおける全体的差異が図1Cに示される。

30

【0292】

実施例2についての生データは、表3および表4に提供される。

【0293】

[実施例3]

抗LILRB2抗体は、IL-10産生を*in vitro*でモジュレートする。

健康なドナーから得た総末梢血単核球（PBMC）を、リボポリサッカリド（LPS）（50ng/ml）による24時間にわたる刺激後16時間にわたり一晚、精製された抗LILRB2抗体（5μg/ml）またはアイソタイプ対照と共にインキュベートした。上清を収集し、IL-10濃度をELISAによって測定した（図2）。アイソタイプ処理を対照として使用した。抗LILRB mAbを、IL-10放出における相対的变化倍数によって、IL-10放出を抑制するクローンから、IL-10分泌を増強するクローンの順でランキングした（図2A）。IL-10放出の生データが図2Bに示される。図1BからのIL-10レベルにおける全体的差異が図2Cに示される。

40

【0294】

実施例3についての生データは、表3および表4に提供される。

【0295】

M1/M2分化に対する抗LILRB2の効果

図2Dは、複数の肺がん患者由来の腫瘍関連マクロファージのM1/M2マーカーに対するLILRB2抗体の効果についてのフローサイトメトリー分析を示す。腫瘍浸潤したリンパ球を単離し、IFNガンマの存在下でLILRB2アンタゴニスト抗体（P__5G

50

5) で 2 日間処理した。試験細胞を、サイトメトリー分析のために採取した (図 2 D、上パネル) ; 複数の患者についての統計分析が、図 2 D、下パネルに示される。

【0296】

図 2 E は、複数の健康なドナーにおける M1 / M2 マーカーに対する LILRB2 抗体の効果についてのフローサイトメトリー分析を示す。M1 型マクロファージを、健康なドナーから選別された CD33⁺ 骨髄細胞から、GM-CSF 100 ng/ml およびアゴニスト抗 LILRB2 Ab (12H6、5 µg/ml) の存在下で 6 日間、ならびに最後の 24 時間については IFNγ (25 ng/ml) および LPS (25 ng/ml) の存在下で、分化させた。試験細胞を、サイトメトリー分析のために採取した (図 2 E、上パネル) ; 複数の健康なドナーについての統計分析が、図 2 E、下パネルに示される。

10

【0297】

図 2 F は、複数の健康なドナー由来の OKT3 刺激された PBMC に対するアンタゴニストおよびアゴニスト LILRB2 抗体のマスサイトメトリー分析を示す。PBMC を、健康なドナーから得、OKT3 (0.01 µg/ml) による 3 日間にわたる刺激後 16 時間にわたって一晩、精製された LILRB2 アンタゴニスト (C1H3) およびアゴニスト (C8B5) 抗体 (5 µg/ml) またはアイソタイプ対照で処理した。試験細胞を、サイトメトリー分析のために採取した (図 2 F、左パネルのヒートマップ、および Disney 図、右パネルを参照のこと)。図 2 F、左パネルは、免疫細胞サブセット (PBMC、CD4 および CD8⁺ T 細胞) における示されたマーカーの発現を示すヒートマップを示す。図 2 F、右パネルは、本発明者らの 38-抗体パネルを用いて分析し、IgG 対照に基づいて正規化したマーカー発現によって色付けした、 1×10^6 個の PBMC、CD4 および CD8⁺ T 細胞のサブセットについてのデータを示す t-SNE マップを示す。

20

【0298】

[実施例 4]

抗 LILRB2 抗体は、T 細胞増殖および IFNγ 分泌を *in vitro* でモジュレートする。

PBMC を、LILRB2 アンタゴニスト抗体と共に一晩 (16 時間) 培養し、低用量 (0.01 µg/ml) の抗 CD3 (OKT3) で 3 日間刺激した。3 日間の処理後、 [³H] -チミジンを、培養の最後の 8 時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。T 細胞増殖 (CPM) が図 3 A に示される。上清を、図 3 A のサンプルから収集し、IFN-γ 濃度を ELISA によって測定した (図 3 B)。アイソタイプ処理を対照として使用した。図 3 C ~ 3 D は、CFSE で標識し、IgG アイソタイプ対照または示された LILRB2 抗体 (5 µg/ml) の存在下で、照射された (30 Gy) 無関係のドナー PBMC (刺激側) で刺激した、培養されたヒト PBMC (応答側) からのフローサイトメトリーデータを示す。応答側 / 刺激側の比率は、1 / 2 であった。5 日間の共培養後、生存 CD4⁺ T 細胞 (左パネル) および CD8⁺ T 細胞 (右パネル) を、フローサイトメトリーによって分析した。代表的なフロープロットを、CFSE 希釈、および分裂した細胞のパーセントとして示した。

30

40

【0299】

抗 LILRB2 抗体は、IFNγ 放出を *in vitro* でモジュレートする。

PBMC を、LILRB2 アンタゴニスト抗体と共に一晩 (16 時間) 培養し、低用量 (0.01 µg/ml) 抗 CD3 (OKT3) で 3 日間刺激した。上清を、図 3 A のサンプルから収集し、IFN-γ 濃度を ELISA によって測定した (図 3 B)。アイソタイプ処理を対照として使用した。

【0300】

抗 LILRB2 抗体は、同種 T 細胞増殖を *in vitro* で阻害した。

CFSE 標識された PBMC を、LILRB2 アゴニスト抗体と共に一晩 (16 時間) 培養し、低用量 (0.01 µg/ml) 抗 CD3 (OKT3) で 3 日間刺激した (図 3 C

50

）。3日間の培養後、生存CD4⁺ T細胞（図3C、左パネル）およびCD8⁺ T細胞（図3C、中央パネル）を、フローサイトメトリーによって分析した。代表的なフロープロットが、CD4およびCD8⁺ T細胞のCFSE希釈（図3C、左パネルおよび中央パネル）ならびに増殖指数（図3C、CD4細胞については右中央パネル、CD8細胞については右下パネル）として示される。上清を、図3C、右上パネルに示されるIFN γ 検出のために採取した。

【0301】

OKT3媒介性のT細胞増殖およびIFN γ 分泌は、アゴニストクローンによって強く抑制されたが、アンタゴニストクローンは、IFN γ 産生および増殖を増強した、または異なる健康なドナーに対して影響を発揮しなかった（図3A～3B）。さらに、LILRB2アゴニスト抗体は、混合リンパ球反応（MLR）の抑制を媒介した（図3D）。

10

【0302】

抗LILRB2は、複数のがん型のがん細胞の増殖を阻害できる。

本発明者らは、骨髄性白血病細胞増殖に対するLILRB2 mAbの効果をさらに試験した。U937およびHL60細胞の増殖活性は、アンタゴニストクローンによって阻害された。

【0303】

[実施例5]

白血病細胞の増殖は、抗LILRB2抗体によって抑制された。

20

LILRB2形質導入したU937白血病細胞を、対照Igまたは抗LILRB2 mAb（5マイクログラム）で42日間処理した。U937細胞増殖を、 $[^3\text{H}]$ ーチミジン取込みによって見積もった。細胞を、培養の最後の8時間にわたって $[^3\text{H}]$ ーチミジンでパルスした。LILRB2+THP-1細胞の増殖（CPM）が図4Aに示される。

【0304】

乳がん細胞に対するLILRB2アンタゴニストクローンの増殖

LILRB2形質導入したヒト乳がん細胞（MCF7）を、抗LILRB2抗体（5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）またはアイソタイプ対照で4日間処理した。LILRB2+MCF7細胞増殖を、 $[^3\text{H}]$ ーチミジン取込みによって見積もった。細胞を、培養の最後の8時間にわたって $[^3\text{H}]$ ーチミジンでパルスした。LILRB2+MCF7細胞の増殖（CPM）が図4Bに示される。

30

【0305】

[実施例6]

LILRB2アンタゴニストは、LILRB2+MDAMB231乳がん細胞の遊走能を阻害する。

LILRB2+MDAMB231乳がん細胞の遊走能は、スクラッチアッセイ（図5A）およびトランスウェルアッセイ（図5B）によって、5マイクログラム/ ml 濃度のアンタゴニストクローンC__5C12によって実質的に阻害された。

【0306】

[実施例7]

アンタゴニスト抗LILRB2抗体は、ワクチンアジュバント効果（CpG）および細菌オプソニン化/食作用を増強する

MISTRGマウスに、IgG対照またはLILRB2アンタゴニスト抗体（P__5G5）（150 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ）を2日間にわたって静脈内注射し、次いで、5nmolで腹腔内チャレンジした。2時間後、血清を試験マウスから収集し、TNF α レベルについてのELISA分析に供した（図6A、左パネル）。

【0307】

ヒト化MISTRGマウスに、LILRB2アンタゴニスト抗体（P__5G5）または対照Ig（150 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ）を48時間にわたって腹腔内注射した。末梢血細胞を分離し、 1×10^7 個の末梢血細胞当たり 2×10^8 個の大腸菌（E. coli）の比率で、G

40

50

F Pを発現する大腸菌 (E. coli) と共に 37℃で4時間インキュベートした。細胞を採取し、PBSで洗浄し、生存CD45⁺CD33⁺集団に対してゲートすることによって分析した。結果は、アンタゴニストLILRB2抗体 (P_5G5) が、CpGチャレンジに対する全身応答を強く増強し、マクロファージの食作用活性を増強したことを示した (図6A、右パネル)。

【0308】

LILRB2アンタゴニストは、がん細胞の成長を *in vivo* で阻害する。

本発明者らは、異種移植マウスモデルにおいて、LILRB2形質導入したTHP-1白血球細胞に対する抗LILRB2 mAbの抗腫瘍効果をさらに評価した。本発明者らは、抗PD-L1抗体処置ありおよびなしでの抗LILRB2 mAb (クローンP_5G5) の抗腫瘍効果を試験し、アンタゴニストクローンP_5G5が、抗PD-L1の抗腫瘍効果と *in vivo* で相乗したことを見出した (図6B)。さらに、LILRB2アンタゴニスト抗体 (P_5G5) の抗腫瘍効果は、抗PD-1と組み合わせた場合、HLA-A2が一致するヒト化NCGマウスモデルにおいて、ルシフェラーゼ発現A549の腫瘍成長を阻害した (図6C)。これらのデータは、LILRB2アンタゴニスト抗体が骨髄分化を促進でき、腫瘍成長を阻害できることを示唆している (図6C)。

【0309】

[実施例8]

ヒトPBMC増殖に対する抗LILRB2抗体の共刺激効果

健康なドナー由来の 1×10^5 個の総PBMCを、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 抗PD-1抗体、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 4-1BBL、 $100 \text{ ng}/\text{ml}$ OX40Lまたは $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ GITRLの存在下で、抗LILRB2 Ab ($5 \mu\text{g}/\text{ml}$) で一晩 (16時間) 刺激し、低用量の抗CD3 (OKT3、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$) で引き続いて3日間刺激して、培養した (図7A)。3日間の処理後、T細胞増殖を、 $[^3\text{H}]$ -チミジン取込みによって見積もった。チミジンを、培養の最後の8時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。T細胞増殖 (CPM) に対する効果が図7Bに示される。上清を、図7Cに示されるインターフェロンガンマ産生の検出のために採取した。

【0310】

[実施例9]

免疫阻害受容体Lilrb2を遮断することは、腫瘍関連骨髄細胞をリプログラミングし、抗腫瘍免疫を促進する導入

マクロファージは、感染の間に炎症を媒介するだけでなく、炎症解決の間に免疫を抑制し (1)、腫瘍微小環境内の免疫エスケープを促進する (2)。マクロファージ表現型の機能的可塑性は、周囲の環境によって大きく影響される。ウイルスおよび細菌は、NFκBを駆動するようにtol様受容体シグナル伝達を活性化し、Th1免疫を支持するようにiNOS、TNFαおよびIL12のマクロファージ放出を好むが、Th1関連IFNγは、エフェクターT細胞応答を支持するようにSTAT1を活性化する。逆に、腫瘍細胞から分泌された体液性サイトカインIL4/IL13およびIL10は、IL10、TGFβおよびアルギナーゼ1を放出するようにマクロファージを刺激する。STAT6、STAT3およびマトリックスプロテアーゼの同時活性化は、組織リモデリングおよびTh2免疫をさらに支持する (3)。骨髄細胞分化およびマクロファージ表現型の可塑性を制御するために成熟化経路を標的化するかどうか、ならびにその方法は、現在のがん免疫療法にとってチャレンジングな課題のままである。

【0311】

骨髄受容体のうち、ペア型免疫グロブリン様受容体B (PIR-B) は、ヒト白血球免疫グロブリン様受容体B (LILRB) ファミリー (ILT、LIRおよびCD85としても公知) の唯一のマウス受容体オルソログである (4、5)。B細胞では、Pirb欠損は、増加したBCRシグナル伝達および超活性を生じる (6)。Pirb欠損マクロファージは、同様に、増加した炎症促進性サイトカイン放出および悪化した自己免疫疾患を

有する(7)。PIR-Bは、MHC Iにcisおよびtransで結合することによって、免疫活性化を恒常的に抑制する(8、9)。SHP1/2ホスファターゼは、PIR-Bの細胞質ドメインに構成的に結合し、定常状態で調節的であると仮説が立てられている(10、11)。本発明者らの以前の研究は、PIR-Bが、腫瘍浸潤性骨髓由来サプレッサー細胞(MDSC)のM2様表現型を維持するための重要な調節因子であることを実証した(12)。TLRおよびIFN γ シグナル伝達は、Pirb欠損MDSCにおいて拡大されたが、IL4/IL13およびIL10は抑制された。Pirb欠損を有するマウスは、低減された腫瘍負荷、増強された抗腫瘍応答、減少したTreg活性化、およびM1様の古典的活性化と似た浸潤性マクロファージプロファイルを有した(12)。ヒトLILRBは、マウスPIR-Bと同様、免疫受容活性化チロシンモチーフ(ITAM)保有受容体のクロスリンク依存的活性化から生じるシグナル伝達カスケードを減弱させることができる免疫受容抑制性チロシンモチーフ(ITIM)を保有する(13)。しかし、LILRBがヒト骨髓細胞およびマクロファージ活性化をどのように調節するかについては、ヒトでは1つのPIR-Bではなく複数のLILRBファミリーメンバーが存在するという、ヒトとマウスとの間の保存の欠如に主に起因して、あまり知られていない。

10

【0312】

Lilrb1~5の発現は、骨髓細胞集団において富化され、霊長類特異的なようである(14~16)。LILRB3およびLILRB4は、オーファン受容体であり(17、18)、LILRB5は、報告によれば、HLA-B27の、 β 2mなしの重鎖に結合する(19)。LILRB1およびLILRB2は共に、低い結合親和性(LILRB2について $K_d = 14 \sim 45 \mu M$)で古典的および非古典的HLAクラスIに(17、20)、ならびにアンジオポエチン様タンパク質ファミリーのメンバーに(21)(22)結合するとして最もよく特徴付けられた受容体である。さらに、LILRB1およびLILRB2は、HLA-I結合についてCD8と競合して、CD8⁺T細胞応答を潜在的にモジュレートし得る(22)。HLA-Bバリエーションのウイルス発現によるLILRB2の活性化は、骨髓細胞寛容を促進でき、樹状細胞(DC)の成熟化および共刺激分子発現を下方調節できる(23)。いくつかの研究は、HLA-G-LILRB1/2結合がIL4およびIL13を増加させ、炎症促進性サイトカイン放出を促進し、IL10およびTGF β 調節性サイトカインの分泌を促進することを示している(24)。DC上のLILRB発現のより低いレベルは、増強された抗原提示細胞機能と相関する(25)。LILRB2アゴニズムは、DC Ca^{2+} 流動を遮断し(17)、DCの寛容化において重要な役割を果たす(26)ことが示されている。したがって、本発明者らは、細胞表面受容体媒介性の活性化をアンタゴニズすることによってLILRB2を標的化することが、免疫抑制活性を有する骨髓細胞、即ち、MDSCまたは腫瘍関連マクロファージ(TAM)の機能を、古典的に活性化された炎症性マクロファージ表現型に向けて、潜在的に変更し得ると仮説を立てた。

20

30

【0313】

本研究は、LILRB2が、骨髓細胞機能をモジュレートするために有効かつ十分な標的であるかどうかを調査するために設計した。本発明者らは、LILRB2特異的モノクローナル抗体を生成し、LILRB2アンタゴニズムのサブセットが、MCSFに応答したマクロファージのAKT依存的成熟化を変更し、LPS/IFN γ 刺激に応答したNF κ BおよびSTAT1活性化を増強したことを見出した。LILRB2アンタゴニズムはまた、IL4による体液性サイトカイン依存的STAT6活性化に対してマクロファージを耐性にし、T細胞増殖に対するマクロファージの抑制効果を軽減し、A549肺腫瘍モデルおよび初代ヒト非小細胞肺癌(NSCLC)由来のヒトマクロファージをリプログラミングした。さらに、LILRB2遮断は、抗PD-L1と併せて使用した場合、腫瘍微小環境を変化させ、抗腫瘍免疫を促進した。

40

【0314】

本発明者らの知見は、ヒトLILRB2が、骨髓細胞の機能的決定を具体的に目的とし

50

た有望な骨髄免疫チェックポイント標的としての大きな治療的価値を有する、骨髄細胞成熟化のための重要な恒常性表面調節因子であることを示唆している。L I L R B 2 の遮断は、腫瘍微小環境のモジュレーションを介してがん免疫療法の治療的転帰を改善するためにT A Mをリプログラミングするために使用され得る。

【0315】

結果

L I L R B 2 抗体のサブセットは、ヒト単球の活性化を増強する

ヒトマクロファージに対するL I L R B 2 の生物学的重要性を調査するために、本発明者らは、マウスをL i l r b 2 c D N Aコードプラスミドで免疫化し、その後、L I L R B 2 小胞またはタンパク質でブーストすることによって、抗L I L R B 2 抗体を開発した。本発明者らは、フローサイトメトリーによってL I L R B 結合についてハイブリドーマ上清をスクリーニングし、その後末梢血単核球（P B M C）ベースの機能的アッセイを行って、クローンが単球活性化を増幅できるかどうかを見積もった。いくつかの抗体クローンは、複数のP B M Cドナーを横断して、L P Sの存在下で、C D 8 6 およびT N F α レベルを増強できた（図9 A、図9 B）。L I L R B ファミリーのメンバーは、高い程度の相同性を共有するので、本発明者らは、各受容体の細胞外ドメインで安定に形質導入された細胞株を生成することによって、潜在的な交差反応性について試験した（図16 A）。L I L R A 1 は、L I L R B 2 細胞外ドメインと約80%の相同性を共有するので、この受容体に対する交差反応性を含めた。F A C S 染色は、L I L R B 2 抗体が関連のファミリーメンバーと交差反応しなかったことを実証した（図9 C）。P B M C の染色もまた、C D 3 3 ⁺ 骨髄サブセットに限定され、具体的には、C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ^{h i} およびC D 1 4 ⁺ C D 1 6 ^l 単球集団を染色した（図16 B）。本発明者らは、低用量のL P S 刺激に応答して単球炎症潜在力を増強したL I L R B 2 特異的抗体を同定した。次いで、本発明者らは、L I L R B 2 受容体を安定に発現するT H P 1 ヒト単球性細胞株に対する抗L I L R B 2 の結合親和性を決定した（図9 D）。バイオレイヤー干渉法は、固定化されたプローブ上での分子相互作用における変化を測定する光学技術である。このアプローチを使用して、本発明者らは、固定化された抗L I L R B 2 と滴定された濃度のL I L R B 2 -H i s モノマーとの会合および解離を測定した（図9 E）。複合体の解離は、試験した全てのL I L R B 2 -H i s 濃度において最小であり、親和性は、1.8~3.8 n M の範囲と計算され、内因性H L A リガンド結合（K d = 14~45 μ M（22））よりもおよそ1000倍強かった。

【0316】

L I L R B 2 アンタゴニズムは、マクロファージのM C S F 依存的成熟化を変更する

L I L R B 2 アンタゴニストは、L P S に応答して単球活性化を増幅したので、本発明者らは、L I L R B 2 遮断がマクロファージ成熟化にどのように影響するかを調査した。ヒト単球由来マクロファージ（M D M）における研究は、炎症キューから生じる異なる成熟化表現型を実証している（27、28）。本発明者らは、健康なドナーのP B M C 由来のC D 3 3 ⁺ 単球を、M - C S F で5~7日間処理することによって、未熟なマクロファージM（-）を生成した。対照I g の存在下で培養したマクロファージは、伸長し、ゆるく接着性のように見えたが、抗L I L R B 2 の存在下で培養した単球は、より丸く、しっかりと接着性のように見えた（図10 A）。他の研究者は、M C S F 由来ヒトマクロファージの紡錘様の形態および機能に対するM C S F およびI L 1 0 の正の効果を*i n v i t r o*で報告している（29、30）。これらの観察は、L I L R B 2 アンタゴニズムが、典型的なM C S F 依存的成熟化を妨害している可能性があることを示唆している。本発明者らは、C D 1 4 およびC D 1 6 3 の両方の発現が、試験した全てのヒトドナーを横断して、抗L I L R B 2 に応答して減退されたことを観察した（図10 B、図10 C）。C D 1 4 は、M C S F（27）およびC D 1 6 3 によって上方調節されることが示されており、その細胞表面発現が抗炎症応答と相関するスカベンジャー受容体であり、種々のがんにおける予後不良の指標である（31、32）。C D 1 6 3 もまた、M - C S F、I L 6、I L 1 0 の存在下で、およびグルココルチコイドに応答して、増強された（33）。マ

クロファージが、単球について示されたのと同様にLPS刺激に対する差次的応答を示すかどうかを決定するために、本発明者らは、未熟なマクロファージをLPSで一晩刺激し、TNF α およびIL10サイトカインレベルを測定した(図10D)。本発明者らは、複数のドナーを横断して、増加したTNF α および阻害されたIL10分泌を一貫して観察した。検出可能なTNF α は、LPS刺激前にはマクロファージ培養物中で観察できず(データ示さず)、これは、TNF α の増加が抗体の機能的活性に特異的であったことを実証している。

【0317】

IRF5は、I型インターフェロンによって誘導され、IRF4によって阻害される炎症性マクロファージ極性を促進する(34)。IRF4は、選択的マクロファージ成熟化と関連し、IL4によって誘導され、TLRシグナル伝達および炎症促進性サイトカインを負に調節する(35、36)。IRF3は、TLRシグナル伝達によって活性化され、I型インターフェロン-STAT1シグナル伝達カスケードを誘導するが(37)、IRF7は、炎症性ミクログリア極性化スイッチに関与することが報告されている(38)。本発明者らは、抗ILRB2が、未熟なマクロファージの分化の間に、IRF3、5および7を上方調節したが、IRF4を下方調節したことを観察し(図10E)、これは、抗ILRB2が、古典的および炎症性のマクロファージ極性を潜在的に好むことを示している。ILRB抗体精製における混入エンドトキシンを一切排除するために、本発明者らは、全ての抗体バッチにおいて、確実にエンドトキシンレベルが1 μ g当たり0.005EU未満になるようにした。

【0318】

マクロファージ成熟化経路に対する抗ILRB2の効果を探求するために、本発明者らは、MCSF培養したM(-)から成熟マクロファージを生成し、その後、それぞれM(LPS)およびM(IL4)を生成するためにLPSまたはIL4で24時間刺激した。M(-)およびM(IL4)と比較して、M(LPS)は、TLRアゴニストに応答したPD-L1上方調節を報告する文献(39)と一致して、PD-L1の発現を顕著に増加させた。驚くべきことに、本発明者らは、抗ILRB2処理したM(LPS)が、PD-L1の誘導された発現を顕著に阻害したことを見出した(図10F、図10G)。M(IL4)上のPD-L1発現は無視できた。これらのデータは、ILRB2アンタゴニズムが、炎症環境におけるエフェクターT細胞のPD-L1依存的抑制の防止を助け得ることを示唆している。本発明者らは、次に、抗ILRB2が体液性サイトカインIL4に応答したマクロファージ成熟化にどのように影響し得るかを調査した。本発明者らは、マクロファージDC-SIGN(CD209)に焦点を当てたが、それは、その発現が一部IL4依存的であり(32)、M(IL4)マクロファージ成熟化および免疫寛容の十分に受け容れられたマーカーであることが報告されている(27、40)からである。本発明者らは、DC-SIGNが、調節的背景において以前に報告されたように(41)、MCSF由来M(-)およびM(LPS)において低レベルで誘導されたことを見出した。IL4刺激に応答して、M(IL4)は、高レベルのDC-SIGNを発現する。M(IL4)は、抗ILRB2の存在下で成熟し、DC-SIGN発現の有意に低い誘導を示し、DC-SIGNの基底発現がM(LPS)において見出された(図10H、図10I)。合わせると、*in vitro*マクロファージ培養からの結果は、ILRB2アンタゴニズムが、古典的に活性化された表現型に有利になるように成熟化を増感させることを支持した。

【0319】

ILRB2アンタゴニズムは、NF κ B/STAT1の活性化およびIL4によるSTAT6活性化の阻害を好む

M1様(古典的活性化)対M2様(選択的活性化)としてマクロファージ成熟化を記述するグループが、それぞれNF κ B/STAT1活性化およびSTAT6活性化と関連する炎症表現型をおおた特徴付けている(3)。したがって、本発明者らは、シグナル伝達パターンがILRB2アンタゴニズムによって調節されたかどうかを見積もった。抗

L I L R B 2 処理細胞は、L P S 刺激に応答して増加した N F κ B、E R K 1 / 2 および p 3 8 活性化を実証した (図 1 1 A)。本発明者らは、I F N γ に応答した、N F κ B、E R K 1 / 2 および p 3 8 リン酸化ならびに S T A T 1 リン酸化における類似の増加を見出した (図 1 1 B)。L I L R B 2 アンタゴニズムの存在下での低減されたマクロファージ D C - S I G N 発現に起因して、本発明者らは、I L 4 関連シグナル伝達が阻害されたかどうかも決定した。抗 L I L R B 2 処理細胞は、I L 4 処理に応答した S T A T 6 リン酸化の強い阻害を示し (図 1 1 C)、これには、S O C S 1 発現における顕著な変化なしの増加した S O C S 3 が伴った (図 1 1 D)。炎症性サイトカインに加えて、M - C S F は、P I 3 K / A K T 活性化に依存するマクロファージの増殖および生存を駆動し (4 2、4 3)、ロックアウトモデルは、成熟化表現型を決定する際の A K T の重要な役割を示唆している (4 4)。本発明者らは、外因性 M C S F の存在にもかかわらず、抗 L I L R B 2 処理マクロファージにおいて、A K T 活性化の減退したレベルを一貫して観察した (図 1 1 E)。合わせると、本発明者らのデータは、L I L R B 2 遮断が、M C S F の下流の P I 3 K / A K T 経路を阻害することによって、炎症性シグナル伝達カスケードに対する感受性を増加させたことを示唆している。

10

【0320】

L I L R B 受容体は、マクロファージ集団において S H P 1 を構成的に動員および活性化することが示されている (1 6)。共免疫沈降実験は、L I L R B 2 関連の S H P 1 リン酸化が、抗 L I L R B 2 処理マクロファージにおいて減退されたことを実証した (図 1 1 F)。したがって、L I L R B 2 の下流の S H P 1 活性化の破壊は、シグナル伝達カスケードの増加した増感を説明し得る。

20

【0321】

L I L R B 2 アンタゴニズムは、エフェクター T 細胞に対する骨髄依存的抑制を阻害する

L I L R B 2 アンタゴニズムは、T h 1 適応免疫を支持する炎症経路を促進したので、本発明者らは、エフェクター T 細胞応答が、抗 L I L R B 2 成熟したマクロファージの存在下で改善されると仮説を立てた。マクロファージおよび M D S C は、インドールアミン 2, 3 - ジオキシゲナーゼによるトリプトファン異化、P D - L 1 / L 2 発現およびサイトカイン依存的調節的 T 細胞変換を含む種々の機構を使用することによる、エフェクター T 細胞応答の公知のサプレッサーである。ネイティブ適応 T 細胞応答における抗 L I L R B 2 成熟したマクロファージの抑制的な性質を試験するために、本発明者らは、一方向性混合リンパ球反応 (M L R) を実施した。3 日後、増生している (outgrowing) アロ抗原特異的 T 細胞のクローン性集団が観察された (図 1 7 A、図 1 7 B)。C D 4 および C D 8 T 細胞の総数を、F A C S によって決定した。抗 L I L R B 2 の存在下で生成したマクロファージは、回復した C D 4 / C D 8 T 細胞数 (図 1 1 G) および I F N γ 分泌 (図 1 1 H) を示し、これは、I g G 処理マクロファージと比較して、抗 L I L R B 2 が抑制能を減退させたことを示している。低用量の O K T 3 で刺激した P B M C 培養物では、抗 L I L R B 2 は、P D - 1 遮断と有意に相乗して、I F N γ のエフェクター T 細胞分泌を増強した (図 1 1 I)。全体として、本発明者らは、L I L R B 2 アンタゴニズムが、適応 T h 1 エフェクター T 細胞応答を増強するマクロファージ表現型を誘導したことを実証した。

30

40

【0322】

L I L R B 2 遮断は、M (I L 4) 免疫、遊走性および小胞輸送経路を変更する

トランスクリプトーム研究は、マクロファージの成熟化および表現型変化に関するさらなる洞察を提供することができる。M (L P S) および M (I L 4) 集団を比較する初期のマイクロアレイ研究は、M 1 対 M 2 様の機能的表現型と関連するマーカーおよび経路ネットワークを定義している (2 7)。抗 L I L R B 2 との関連で同じ実験条件を使用して、本発明者らは、I l l u m i n a マイクロアレイ分析を実施して、L I L R B 2 遮断が M (L P S) および M (I L 4) における転写ネットワークにどのように影響し得るかを決定した。M (L P S) および M (I L 4) I g G 処理トランスクリプトームの比較は、上位 1 0 0 個と M a n t o v a n i (2 7) によって元々記載されたものとの間の顕著な

50

重複を伴って、3,926個の差次的に発現される遺伝子(DEG)を同定した(図18A、図18B)。M(LPS)の抗LILRB2対IgG処理は、220個のDEGを生じたが、M(IL4)における同じ処理は、664個のDEGを生じた(図12A)。66個のDEGにおける変化が、抗LILRB2処理したM(LPS)とM(IL4)との間で保存された(図12B)。合わせると、これらのデータは、LILRB2アンタゴニズムが、IL4成熟化対LPS成熟化の条件下で、実質的により多くの転写変化を生じることを実証し、66個の保存されたDEGは、LILRB2アンタゴニスト特異的遺伝子変更が、サイトカイン誘導性の成熟化とは無関係であることを示している。免疫機能、脂質/コレステロール恒常性および細胞骨格恒常性を調節する遺伝子が、最も突出していた。M(LPS)およびM(IL4)の両方において、LILRB2遮断は、他のLILRファミリーメンバーとさらに競合し得る分泌型LILRファミリーメンバーであるLILRA3転写物を上方調節した。抗LILRB2は、Ccl22、FGRおよびTrem2転写ならびにM1関連Sphk1転写を増加させたが、Siglec1、PLCデコイメッセンジャーPlc12および補体タンパク質C2転写ならびにM2関連Klf2転写物を減少させた。IgGまたは抗LILRB2に応答したM(LPS)およびM(IL4)の主成分分析は、LILRB2遮断が、互いに異なる独自のマクロファージ表現型を生じることを示唆している(図12C)。

【0323】

LILRB2遮断が、M(IL4)対M(LPS)のグローバル転写に対してより顕著な影響を有するという知見は、LILRB2が、定常状態またはM2様マクロファージ対M1様マクロファージにおいて免疫恒常性を維持するためにより重要であり得ることを示唆している。本発明者らは、GOrillaプラットフォームを使用するジーンオンロジー分析(45、46)を適用して、生データの機能的解釈を提供した。M(LPS)DEGは、G共役タンパク質受容体シグナル伝達、輸送および他の細胞プロセスに関連した。M(IL4)では、LILRB2遮断は、免疫機能、ならびに細胞遊走/運動性、脂質代謝、アポトーシス/増殖、および増加した酵素的リモデリング/活性と関連する遺伝子を有意に変更させたが(図19C、図19D)、免疫機能との明確な関連は、LPS刺激では留意されなかった(図19A、図19B)。抗LILRB2に応答して、免疫機能と関連するM(IL4)遺伝子は、適切に調節された(図12D)。興味深いことに、増強された適応免疫および共刺激に関与するCD83、LIGHT、Ripk2およびTweakr転写物は、上方調節された。以前の報告(27、47)と一致して、Pfkfb3、Sphk1、Slc31a2、SerpinE1、Hsd11bなどを含むM1関連遺伝子は、上方調節された(図19E)。スフィンゴシンキナーゼ1(Sphk1)は、高脂肪食およびob/obマウス由来の肥満脂肪組織マクロファージと関連する(48)。M1関連遺伝子と比較して、Il13ra1、CD302、Fgl2、カテプシンC、CD163L1、Dc-sign(CD209)、Maf、Ccl13、Ccl23、Stab1およびTlr5を含むより多くのM2関連遺伝子が、抗LILRB2によって下方調節された(図12D)。LILRB2遮断は、M(IL4)において、マクロファージエンハンサー状況およびM2関連遺伝子発現の重要な調節因子であるMAFを抑制した(49)。Klf2/Klf4、Tgfb2、Ms4a6a、Alx15などを含む他のM2関連遺伝子もまた下方調節された(図19E)。M1/M2分化におけるこれらの分子の生物学的役割は、いまだ説明されていない。特に、増加したIl1ra3レベルに加えて、抗LILRB2で処置したM(IL4)は、Il1rb5およびAngptl4転写物の顕著な阻害を示した。例えば、Ccl8、Ccl26、Ccl13、Ccl14、Ccl15およびCcl23などのケモカイン転写物レベルも、強く阻害された。本発明者らは、LILRB2遮断が、LPS誘導性の二重特異的PTP(DSP)、Dusp10(MKP-5、JNKおよびp38経路関連ホスファターゼ)(50)およびDusp22(JSP-1、JNK経路関連ホスファターゼ)(51)を抑制したことも観察したが、それは、炎症応答の負のフィードバック制御を媒介する。

【0324】

10

20

30

40

50

要約すると、本発明者らのトランスクリプトームワイド分析は、L I L R B 2 遮断が、免疫を含むマクロファージ成熟化における表現型変化、ならびに代謝、選別および細胞骨格変化を生じることを実証した。

【0325】

L I L R B 2 遮断は、腫瘍細胞誘導性のマクロファージ成熟化を変更し得、抗腫瘍免疫を促進し得る

本発明者らは、L I L R B 2 遮断が、腫瘍由来因子および腫瘍微小環境の存在下でマクロファージ表現型を変更できるかどうかを決定した。一部の腫瘍細胞は、腫瘍細胞由来 I L 6 に依存するプロセスにおいて、単球による M - C S F の自己分泌産生を促進するのに十分である (52)。本発明者らは、腫瘍細胞とヒト単球との共培養が、マクロファージを生成するのに十分であると仮説を立てた。C D 3 3 ⁺ C D 1 4 ⁺ 細胞に対してゲートして、本発明者らは、A 5 4 9 N S C L C 細胞が、そのプロファイルが M - C S F 培養に由来するマクロファージと類似するマクロファージを生成するのに十分であったという知見を再現した (図 13 A)。本発明者らは、L I L R B 2 アンタゴニストの存在下で培養した A 5 4 9 由来マクロファージが、M C S F 初代マクロファージ培養物についての本発明者らの観察 (図 10) と一致して、減少したレベルの C D 1 4、C D 1 6 3、C D 1 6 および D C - S I G N を有した (図 13 B) ことをさらに観察した。A 5 4 9 N S C L C 細胞と同様、L I L R B 2 アンタゴニストは、H s 5 7 8 T 乳がん細胞由来マクロファージに対して類似の影響を発揮した (図 20 A、図 20 B)。本発明者らは、次に、A 5 4 9 細胞が免疫不全 N S G - S G M 3 マウスにおいて皮下で共注射された場合に初代ヒトマクロファージを生成できるかどうか、および L I L R B 2 遮断がマクロファージを *i n v i v o* で同様にリプログラミングできるかどうかを見積もった (図 21)。ヒト C D 4 5 ⁺ C D 3 3 ⁺ 細胞に対してゲートする F A C S は、腫瘍単一細胞懸濁液からヒト骨髓細胞を同定した (図 13 C)。免疫マーカーの F A C S 分析は、C D 1 6 3 における特異的低減が、合計 5 人のドナーのうち 4 人において再現性良く検出されたことを示した (図 21 B)。さらに、C D 1 4、C D 1 6 および P D - L 1 を含む他のマーカーにおける変化は、 α L I L R B 2 に応答して、ドナーを横断して可変であった。図 13 D は、1 人のドナーからの代表的なデータを示したが、C D 1 4、H L A D R および C D 1 6 についての 5 人全てのドナーからの組み合わせたデータが、図 21 D に示される。C D 1 4 および C D 1 6 は、有意に下方調節されたが、H L A - D R は、一対比較分析を使用することによって、複数のマウスおよび複数のヒト単球ドナーを横断して、抗 L I L R B 2 処理後に上方調節された (図 21 D)。H L A - A 2 が一致したヒト化 N C G マウスを、ルシフェラーゼ発現 A 5 4 9 (L U C - A 5 4 9) 細胞を有する A 5 4 9 (H L A - A 2 ⁺) 異種移植モデルを使用して抗 P D - 1 処置と併せた L I L R B 2 遮断による長期抗腫瘍応答を追跡するために、*i n v i v o* 実験に使用した。それらの結果は、抗 L I L R B 2 および抗 P D - 1 の組合せが、L U C - A 5 4 9 腫瘍負荷を実質的に減少させたことを示した (図 13 E)。ヒトマクロファージの M 1 表現型を *i n v i v o* で促進することに対する抗 L I L R B 2 の効果を見積もるために、本発明者らは、ヒト C D 3 4 ⁺ 臍帯血幹細胞が生着した M I S T R G マウスを使用してヒト化マウスモデルを生成して、ヒトマクロファージの *i n v i v o* 応答を研究した。M I S T R G マウスは、マウスにおけるヒト骨髓の発生および機能の完全な再現を可能にする、自然免疫細胞の発生にとって重要なヒト化ノックイン対立遺伝子 (M - C S F ^h、I L 3 / G M - C S F ^h および T P O ^h) に起因して、異種ヒト造血発生を支持する。類似のヒト C D 3 3 ⁺ 細胞生着率が、実験群間で観察された (図 21 C)。ヒト化マウスを C p G で処置し、血清中の T N F α 濃度を測定した。興味深いことに、およそ 2 倍高いヒト T N F α レベルが、対照 I g と比較して抗 L I L R B 2 で処置したマウスにおいて見出された (図 13 F)。このヒト化マウスモデルにおける食作用に対する L I L R B 2 の効果を、G F P 発現大腸菌 (*Escherichia coli*) を使用して試験した。抗 L I L R B 2 は、対照 I g 処置群と比較した場合、G F P 発現大腸菌 (*Escherichia coli*) に対する C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球の食作用活性を有意に増加させた (図 13 G)。

10

20

30

40

50

【0326】

合わせて考えると、本発明者らのデータは、抗L I L R B 2が、異種移植ヒト肺がんモデルにおける抗腫瘍応答、ヒト化M I S T R GマウスにおけるC p Gチャレンジに対する全身応答およびマクロファージの食作用活性を増強するように、ヒトマクロファージをi n v i v oでリプログラミングできることを示している。全体的結果は、アンタゴニストL I L R B 2抗体が、マクロファージ機能をM 1関連表現型へとモジュレートでき、炎症促進性応答をi n v i v oでさらに増強できることを示している。

【0327】

L I L R B 2遮断は、同系ルイス肺癌（L L C）保有マウスにおいて、抗腫瘍応答を増強でき、M D S CおよびT r e g集団を減少させることができる。

L I L R B 2は、マウス細胞上ではなくヒト細胞上でのみ発現され、マウスP i r b遺伝子に対して非常に低い相同性を示すので、本発明者らの抗体は、マウスの系では交差反応しなかった。したがって、本発明者らは、B A C DNA注射を用いて、L I L R B 2トランスジェニックマウスを開発した。これらのマウスは、末梢血中のC D 1 1 b⁺細胞上にL I L R B 2／3を高度に発現し（図1 4 A）、抗L I L R B 2処置は、C D 8 6⁺M H C I I⁺集団（図1 4 B、図1 4 C）ならびにL P S刺激に応答したi n v i t r oでのT N F α分泌（図1 4 D）を増加させた。本発明者らは、単独のまたは抗P D－L 1処置と組み合わせたL I L R B 2遮断が、ルイス肺癌モデルにおいて、腫瘍進行を阻害できるかどうかおよび腫瘍微小環境をモジュレートできるかどうかを評価した。P D－L 1遮断は、腫瘍成長に対して効果を有さなかったが、L I L R B 2遮断は、中程度の抗腫瘍効果を示した。P D－L 1およびL I L R B 2の両方の遮断は、L L C腫瘍保有マウスにおいて、有意に低減された腫瘍サイズおよび重量をもたらした（図1 4 E）。さらに、抗L I L R B 2および抗P D－L 1の組合せは、腫瘍組織中の顆粒球性L y 6 G＋L y 6 C i n t M D S C集団を有意に減少させたが、単球性L y 6 G－L y 6 C h i M D S Cは増加させた（図1 4 F）。抗L I L R B 2を抗P D－L 1処置と組み合わせた場合、脾臓および腫瘍浸潤したリンパ球中のC D 4⁺C D 2 5⁺F o x p 3⁺T r e g集団は共に、実質的に減少した（図1 4 G）。全体として、L I L R B 2遮断は、M D S CおよびT r e g集団を有意に減少させ、抗P D－L 1処置の治療有効性をi n v i v oで増強させた。

【0328】

初代腫瘍関連マクロファージは、L I L R B 2遮断にe x v i v oで応答する

本発明者らは、次に、L I L R B 2遮断が、単離された初代腫瘍関連マクロファージをe x v i v oでリプログラミングできるかどうかを決定した。コラゲナーゼ消化した腫瘍組織の単一細胞懸濁液を使用して、腫瘍浸潤性白血球を単離した。D A P I陰性生細胞およびヒトC D 4 5に対してゲートすることによって、本発明者らは、C D 3 3、C D 1 4およびH L A－D Rゲーティングに基づいて、浸潤性腫瘍関連マクロファージ（T A M）およびM D S Cを同定することができた（図1 5 A）。L I L R Bファミリーメンバーについての染色は、M D S CおよびT A M集団の間での、L I L R B 1、L I L R B 2、L I L R B 3およびL I L R B 4の変動するが遍在する発現を明らかにしたが（図1 5 B、図1 5 C）、がん患者の腫瘍組織から単離されたか、または健康なドナーP B M Cに由来する樹状細胞は、L I L R B 2を発現した（図2 3 A、図2 3 B）。腫瘍浸潤性骨髓集団がL I L R B 2遮断に応答できるかどうかを調査するために、本発明者らは、I F N γまたは抗L I L R B 2の存在下または非存在下で、腫瘍浸潤性白血球をe x v i v oでM－C S Fで4 8時間刺激した。ほとんどの患者由来の単球は、抗L I L R B 2の処理で、増強されたT N F α放出を示した（図1 5 D）。細胞表面マーカーC D 1 6 3、D C－S I G NおよびC D 1 4の分析は、L I L R B 2遮断に応答した顕著に減退した発現を示した。減少したC D 1 6およびP D－L 1発現の傾向が観察されたが、これは、統計的に有意ではなかった（図1 5 E）。これらの実験は、持続時間がわずか4 8時間であり、腫瘍中に見出される総白血球集団を含んだ。それにもかかわらず、本発明者らのe x v i v oデータは、患者生検由来の腫瘍関連マクロファージが、広範なL I L R Bファミリー

メンバーを発現し、L I L R B 2 アンタゴニズムに対して応答性であることを実証している。

【0329】

考察

本発明者らの研究は、特異的モノクローナル抗体によるL I L R B 2 のアンタゴニズムが、単球における炎症応答を増強し、下流のマクロファージ成熟化表現型を直接変更するのに十分であることを実証している。本発明者らは、L I L R B 2 遮断の際に無効にされるL I L R B 2 の下流のS H P - 1 の構成的な活性化を観察した。L I L R B 2 アンタゴニズムの存在下で成熟したM C S F 単球由来マクロファージは、増強されたS T A T 1、E R K およびN F κ B リン酸化によって示されるように、L P S およびI F N γ 刺激に対する増加した感受性を示したが、増加したS O C S 3 を伴った低減されたS T A T 6 リン酸化およびD C - S I G N 発現によって示されるように、I L 4 刺激に対して耐性であった。興味深いことに、L I L R B 2 遮断自体は、N F κ B およびE R K 1 / 2 リン酸化を増大させ、A K T リン酸化を減少させたが、これは、L I L R B 2 アンタゴニズム単独が、M C S F 単球由来マクロファージをM 1 系列に向けて適度に駆動するのに十分であることを示唆している。それにもかかわらず、L I L R B 2 アンタゴニズムは、M 1 表現型と関連する遺伝子クラスターを促進しつつ、M 2 関連のI L 4 駆動性遺伝子クラスターを抑制した。本発明者らは、L I L R B 2 遮断がS H P 1 / 2 リン酸化を抑制でき、S H P 1 / D U S P 媒介性の直接的または間接的な脱リン酸化（E R K ではY 2 0 4 における、p 3 8 ではY 1 8 2 における）の抑制によるE R K（53）およびp 3 8 の回復した活性化を介してM 1 プログラムをもたらして、N F κ B のさらなる活性化をもたらすことができる、L I L R B 2 媒介性のシグナル調節モデル（図15F）を提唱した。文献（54）と一致して、S H P 1 / S H P 2 動員／活性化の下方調節は、J A K - S T A T 1 シグナル伝達のサプレッサーの除去をもたらし、したがって、I F N 誘導性のシグナル伝達カスケードを増強した（55）。他方、L I L R B 2 アンタゴニズムは、I L 4 / S T A T 6 シグナル伝達を抑制することが報告されているS O C S 3 を増加させることによって、S T A T 6 リン酸化を阻害した（56）。S O C S 3 の誘導は、M A P K / N F κ B カスケードの活性化を介した炎症促進性サイトカイン（I L 6 およびI L 1 2）の抗L I L R B 2 媒介性の放出から生じ得る（57、58）。A K T のリン酸化は、L I L R B 2 遮断によって有意に阻害されたが、これは、以下の潜在的阻害に起因し得る：1）S O C S 3（59、60）、または2）P I 3 - キナーゼ γ もしくはS H I P - 1 - 免疫刺激と抑制との間のマクロファージスイッチのための重要な調節因子として同定された2つの分子（61、62）。

【0330】

本発明者らは、P i r b 欠損M D S C の養子移入が腫瘍負荷および肺転移を減少させることを以前に示している。マクロファージ機能をモジュレートすることは、がん免疫療法のための魅力的なアプローチを提示するが、それは、文献の大多数が、T A M が、腫瘍免疫回避に寄与する腫瘍微小環境の主要な構成成分である場合が多いことを示しているからである（2）。マクロファージ枯渇に焦点を合わせたT A M 標的化治療薬は、マウスモデルにおいて腫瘍負荷を低減させることにおける臨床利益を強調する（63）。しかし、C S F 1 R 阻害剤は、腫瘍促進（pro-tumor）顆粒球性M D S C の循環レベルを増強することがあり、一方、C C L 2 中和処置の中止は、腫瘍への単球リバウンドを加速し得る（64、65）。結果として、増強された転移および悪化した転帰が、処置休止の際に乳がんのいくつかのマウスモデルにおいて観察される。T A M およびM 2 様マクロファージは、機能的類似性を共有するようである（66）。適応抗腫瘍免疫を支持するようにT A M をリプログラミングする免疫療法は、T A M 枯渇と関連する潜在的な落とし穴を回避する代替的な戦略を提供する（67）。L I L R B 2 遮断は、M D M 培養物で観察されたものと同様に、マクロファージの腫瘍依存的成熟化を変更するようであった。さらに、本発明者らは、異種移植ヒト化マウスにおいて、L I L R B 2 抗体処置に応答した増強された急性T N F α 放出および増加した食作用能を実証した。N S C L C からの患者生検は、M D S

10

20

30

40

50

CおよびTAM集団の顕著な浸潤を示した。これらの初代MDSC/TAMは、高レベルのLILRBタンパク質を発現し、*ex vivo*研究において、LILRB2遮断の存在下でマクロファージ表現型スイッチを起こすことが可能であった。LILRB2は、患者から採取した初代単球由来マクロファージならびにTAM集団の両方において、重要な負の調節因子であるようであった。本発明者らは、抗LILRB2が、免疫適格性同系LILRBトランスジェニックマウスモデルにおいて、脾臓および腫瘍組織の両方中のLy6G⁺Ly6C^{int}顆粒球性MDSCを顕著に減少させたことも観察した。

【0331】

最も重要なことに、LILRB2アンタゴニズムは、ヒト肺がん細胞A549を保有するPBMCヒト化NCGマウスモデルにおいて、免疫チェックポイント阻害剤である抗PD-1の有効性を実質的に増強した（図13E）。本発明者らは、免疫適格性同系Lilrb2/3BACトランスジェニックマウスモデルにおいて、LILRB2遮断の効果をさらに確認した（図14E）。抗PD-L1処置単独が、LLC腫瘍保有免疫適格性マウスにおいて限定的な抗腫瘍効果を示したことに留意することが重要である（68、69）。本発明者らは、LILRB2アンタゴニズムが、健康なドナー由来の活性化された単球においてLPS誘導性のCD274（PD-L1）発現を抑制したこと（図10）、ならびにLILRB2およびPD-L1の両方の遮断が、LILRB2トランスジェニックマウスにおいて、LLC腫瘍に対する強い宿主抗腫瘍免疫を強化したことを見出した。それに付随して、本発明者らは、抗LILRB2および抗PD-L1で処置した腫瘍保有マウスにおいて、顆粒球性MDSCおよびTregにおける顕著な減少を観察した。単球性MDSCにおける予期せぬ増加は、抗PD-L1の有効性を損なわず、これは、LILRB2アンタゴニズムが、単球性MDSCを、LILRB2遮断の存在下でのPirb欠損MDSC（12）およびマクロファージのものと類似の、非抑制的な免疫刺激表現型へと変換したことを示唆している（図13）。

【0332】

mTOR-セマフォリン6D（Sema6D）-ペルオキシソーム増殖因子受容体γ（PPARγ）（70）、PI3Kγ-mTOR（62）およびTSC-mTOR経路（71、72）を含むいくつかの経路が、M2極性化に関与することが示されている。これらの経路を標的化することは、免疫腫瘍学において高い治療的価値を潜在的に提供し得る。本発明者らのトランスクリプトームデータは、LILRB2遮断が、M2様成熟化に関与する複数の遺伝子標的を顕著に下方調節したが、増強された適応免疫および共刺激と関連する遺伝子は上方調節されたことを示した。本発明者らの研究は、LILRB2のアンタゴニズムが、Sema6D/PI3Kγ/mTORシグナル伝達経路を妨害し得るAKT活性化およびIL4シグナル伝達の両方を阻害したことを強調した。これは、LILRB2のアンタゴニズムが、免疫チェックポイント阻害剤の有効性を増強するように腫瘍関連マクロファージの免疫抑制機能を逆転させることに対してより広い影響を有し得ることを示唆している。本発明者らのデータは、LILRB2アンタゴニズムが、腫瘍微小環境中のTAMをリプログラミングするための有望なアプローチであり、それによって、適応抗腫瘍免疫を増強することができるという強い証拠を提供した。

【0333】

材料および方法
動物

NSG-SGM3（ストック番号013062）およびMISTRGマウス（ストック番号017712）は、Jackson Laboratory（Bar Harbor、ME）から購入した。NCGマウス（ストック番号572）は、Charles River Laboratories（Wilmington、MA）から購入した。全ての動物実験は、Icahn School of Medicine at Mount SinaiおよびHouston Methodist Research Instituteの動物ガイドラインに従って実施した。

【0334】

細胞株

L i l r b 1-4 および L i l r a 1 発現 2 B 4 レポーター細胞は、対応する L i l r- F c 融合遺伝子を保有するプラスミドによるトランスフェクションと、その後の G S / M A S システムによる選択によって生成し、10%胎仔ウシ血清 (FBS、A t l a n t i c B i o l o g i c a l s、A t l a n t i c、G A) + 100 n M ペニシリン / ストレプトマイシン (L i f e T e c h n o l o g i e s) を含有するダルベッコ改変イーグル培地 (D M E M、C o r n i n g C e l l g r o、M a n a s s a s、V A) 中で維持した。前単球細胞株である T H P-1 細胞は、10% FBS、0.1 m M 非必須アミノ酸 (G i b c o)、1 m M ビルビン酸ナトリウムを補充した R P M I 1640 (C o r n i n g C e l l g r o、M a n a s s a s、V A) 中で培養した。T H P-1 およびヒト肺腺癌 A 549 細胞株は、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n (M a n a s s a s、V A) から購入した。L I L R B 2⁺ T H P-1 細胞は、全長 L I L R B 2 プラスミドによるレトロウイルストランスフェクションによって生成した。

【0335】

抗 L I L R B 2 ハイブリドーマのフローサイトメトリー分析および生成

市販の抗 L I L R B 2 抗体、クローン 42 D 1 およびクローン 287219 は、それぞれ、B i o l e g e n d (S a n D i e g o、C A) および e B i o s c i e n c e (S a n D i e g o、C A) から購入した。抗 L I L R B 1 (クローン G H I / 75)、抗 L I L R B 3 (クローン M K T 5.1) および抗 L I L R B 4 (クローン Z M 4.1) 抗体は、B i o l e g e n d からであった。抗 L I L R A 1 (クローン 586326) 抗体は、N o v u s B i o l o g i c a l s (L i t t l e t o n、C O) からであった。ヒト抗 C D 4- F I T C (クローン R P A- T 4)、抗 C D 8- P E (クローン H I T 8 a)、抗 C D 16- F I T C (クローン C B 16)、抗 D C- S I G N- P E (クローン e B- h 209)、抗 C D 163- A P C (クローン G H I / 61)、抗 P D- L 1- P e r C P- C y 5.5 (クローン M I H 1)、抗 C D 33- P E- C y 7 (クローン W M- 53)、抗 C D 14- A P C- C y 7 (クローン 61 D 3)、抗 C D 45- P E (クローン 2 D 1) および抗 H L A- D R- F I T C (クローン L N 3) は、e B i o s c i e n c e または B i o l e g e n d から購入した。マウス抗 C D 11b- P e r C P (クローン M 1 / 70)、抗 C D 8a- e F l u o r 780 (クローン 53- 6.7)、抗 C D 4- F O X P 3 (クローン F J K- 16 S)、抗 C D 4- F I T C (クローン G K 1.5)、抗 C D 25- P E- C y 7 (クローン P C 61.5)、抗 M H C I I- P E- C y 7 (クローン M 5 / 114.15.2)、抗 L y 6 G- A P C- C y 7 (クローン 1 A 8) および抗 C D 25- P E- C y 7 (クローン P C 61.5) は、e B i o s c i e n c e または B i o l e g e n d から購入した。抗 L y 6 C- F I T C (クローン A L- 21) および抗マウスアルギナーゼ 1- A P C (クローン I C 5868 F) は、それぞれ、B D B i o s c i e n c e s (F r a n k l i n L a k e s、N J) および R & D S y s t e m s (M i n n e a p o l i s、M N) から購入した。

【0336】

本発明者らは、L i l r b 2 DNA で免疫化し、その後、L I L R B 2 小胞またはタンパク質で 1 回ブーストすることによって、抗 L I L R B 2 抗体を生成した。増生している融合ハイブリドーマクローンを、i n v i t r o で拡大増殖させ、上清を、ヤギポリクローナル抗マウス I g G 二次抗体 (B i o l e g e n d) で標識した 2 B 4 L I L R B 2 発現細胞に対する F A C S を使用することによってスクリーニングした。2 B 4 細胞は、D r. H i s a s h i A r a s e、R e s e a r c h I n s t i t u t e f o r M i c r o b i a l D i s e a s e s、O s a k a U n i v e r s i t y、J a p a n からのご厚意による贈与である。

【0337】

抗 L I L R B 2 抗体の機能的スクリーニングのために、P B M C を、20 μ l の抗体含有上清と共に 48 時間インキュベートした。L P S (50 n g / m l、S i g m a- A l

drich、St. Louis、MO) および Golgi Plug (BD Biosciences) を、細胞培養の最後の 4 時間に添加した。細胞を、製造業者の指示書 (Golgi Plug Kit、BD Biosciences) に従って、表面 CD86 (抗 CD86-Alexa Fluor 488、クローン IT2.2、Biolegend) および細胞内 TNF α (抗 TNF α -PE-Cy7、クローン MAB11、Biolegend) のために採取した。フローサイトメトリ分析では、死細胞を、DAPI (Sigma-Aldrich) 染色によって排除した。

【0338】

in vitro 研究は抗体 1H3 を用いて実施した；in vivo 研究は抗体 5G5 を用いて実施した。

【0339】

バイオレイヤー干渉法結合アッセイ

LILRB2-His (Sino Biologicals、Wayne、PA) と抗 LILRB2 抗体との間のリアルタイム結合アッセイを、Octet Red システム (Fortebio、Menlo Park、CA、USA) でバイオレイヤー干渉法を使用して実施した。このシステムは、センサー表面に結合した分子の厚さを測定するために、光ファイバーセンサーの表面から反射した光の干渉をモニタリングする。抗 LILRB2 抗体 (10 μ g/mL) を、速度論グレードの Protein G/マウス IgG 高結合バイオセンサー (Fortebio) にカップリングした。抗 LILRB2 抗体でコーティングしたセンサーを、0.1% (v/v) Tween-20 および 10% DMSO を含む PBS 中の漸増濃度の LILRB2-His に結合させた。結合速度論を、観察された結合曲線についてベストフィットを決定し、会合速度定数を計算する Octet Red ソフトウェアパッケージを使用して計算した。LILRB2-His を、0.1% Tween-20 および 10% DMSO を含む PBS 中でセンサーをインキュベートすることによって解離させた。ベストフィット解離曲線を決定し、解離速度定数を計算した。結合親和性 (kD) を、動力的会合速度定数によって除算した動力的解離速度定数として計算した。

【0340】

抗体精製およびエンドトキシン試験

クローン性ハイブリドーマ細胞を、ClonaCell-HY Medium A (StemCell Technologies) 中で培養し、その後、Hybridoma-SFM (ThermoFisher Scientific) を使用して無血清条件に適応させた。ハイブリドーマ細胞を、50mL の Hybridoma-SFM 中で 2 週間、または培地が使い果たされるまで拡大増殖させた。抗体含有上清を遠心分離 (800g、10 分) によって採取し、100kDa の公称分子量限界を有する Amicon Ultra-15 遠心分離フィルター濃縮器を使用して濃縮した。次いで、濃縮された上清を、製造業者の指示書に従って Nab Protein A/G Spin Kit (ThermoFisher Scientific、Waltham、MA) を使用して精製した。精製された抗体を、Zeba (商標) Spin Desalting Columns、7K MWCO (ThermoFisher Scientific) を使用して脱塩した。必要に応じて、精製された抗体を、遠心分離フィルター (ThermoFisher Scientific) によってさらに濃縮した。精製された抗体におけるエンドトキシンレベルを、製造業者のプロトコールに従って、Pierce (商標) LAL Chromogenic Endotoxin Quantitation Kit (ThermoFisher Scientific) によって決定した。

【0341】

ヒト単球由来マクロファージの生成および分化

健康なドナー由来のパフィーコートは、New York Blood Center から購入した。PBMC を、LymphoPrep (Stemcell 番号 07851) を使用することによって単離した。CD33⁺ 単球を、CD33⁺ 磁性ビーズ (Milt

10

20

30

40

50

enyi Biotech、カタログ番号130-045-501)を使用して健康なPBMCDナーから精製し、M-CSF (50 ng/ml) (PeproTech: 300-25) の存在下でIgGまたは抗ILRB2 (1 µg/ml) で5日間処理した。5日間の培養後、未熟なマクロファージを、フロー分析のために得た、またはLPS (50 ng/ml) もしくはIL4 (25 ng/ml) で16~24時間さらに刺激した。上清を収集し、TNFαおよびIL10産生を、ELISA (eBioscience) によって決定した。

【0342】

NSG-SGM3免疫不全マウスにおけるA549異種移植モデル

3×10⁶個のA549細胞および健康なドナー由来のCD33⁺骨髄細胞を、50% Matrigel (Corning、カタログ356231) 中に懸濁し、NSG-SGM3マウス (Jackson Laboratories、番号013062) 中に皮下で共接種した。各マウスは、右および左脇腹に2つの皮下A549/CD33⁺移植片を受けた(0日目)。抗RB2抗体および対応するIgG対照を、6日目および9日目に静脈内注射した(150 µg/マウス)。腫瘍を測定し、12日目に分析のために解剖した。腫瘍浸潤性リンパ球を、M1/M2分化のフローサイトメトリー分析のために、以前に記載されたように精製した。

【0343】

HLA-A2+PBMCHIT化NCGマウスにおけるルシフェラーゼ発現A549 (LUC-A549) 異種移植モデル

ヒトルシフェラーゼ-A549がん細胞 (LUC-A549、GenTarget, Inc. から) (2×10⁶細胞) を、0日目にNCG免疫不全マウス中に静脈内注射した。ヒトHLA-A2⁺PBMCHIT (1×10⁷細胞) を精製し、3日目および13日目に、抗ILRB2と一緒に試験マウス中に静脈内注射した。抗ILRB2およびIgG (200 µg/マウス) を、合計8回の注射にわたり、3日毎に1回与えた。抗PD-1 (Nivolumab) を、合計3回の注射にわたり、1週間に1回 (200 µg/マウス) 与えた。引き続いて、LUC-A549腫瘍保有マウスを、IVIS Spectrum In Vivo Imaging SystemおよびLiving Imageソフトウェア (Perkin Elmer, Inc.) を使用してルシフェラーゼ活性の生物発光画像化のためにモニタリングした。画像化前に、250 µlのルシフェリン (15 mg/ml; Perkin Elmer, Waltham, MA) を腹腔内投与した。その後、マウスを、イソフルラン吸入によって麻酔し、画像化した。腫瘍進行を、腫瘍接種の25日後に、肺からの生物発光シグナル (平均放射輝度 [p/s/cm²/sr]) によって定量化した。

【0344】

細菌人工染色体 (BAC) トランスジェニックマウスの生成

ヒトLilrb2およびLilrb3遺伝子の両方についてのBACクローンを、ヒトBACライブラリー (BACPAC Resources Center) から単離した。BAC DNAを、NucleoBond Xtra Midi EF Kitによって精製した。BAC DNAの正体を、本発明者らの目的の遺伝子 (Lilrb2) についてPCRを介して確認し、次いで、胚性幹 (ES) 細胞中にマイクロインジェクションした。標的化された対立遺伝子の生殖系列伝達を、PCRおよびフローサイトメトリーによって確認した。

【0345】

Lilrb2トランスジェニックマウスにおけるルイス肺癌 (LLC) 腫瘍モデル。

ルイス肺癌 (LLC) 腫瘍細胞 (4×10⁵細胞) を、ILRB2 B6トランスジェニックマウス中に皮下注射した。腫瘍が2 mm×2 mmに達した時点で抗体処置を開始した。抗ILRB2 (200 µg/マウス) 処置を、合計6回の注射にわたり、腫瘍接種後4日目に開始した。抗PD-L1 (200 µg/マウス) 処置を、合計5回の注射にわたり、抗ILRB2の2回目の注射と共に開始した。腫瘍を、21日目に分析のため

10

20

30

40

50

に解剖した。脾細胞および腫瘍浸潤性リンパ球を、MDS CおよびT r e g 集団についてのフローサイトメトリー分析のために精製した。

【0346】

GFP発現大腸菌 (E. coli) の e x v i v oでの食作用。

ヒト化MISTRGマウスを、ヒトCD33⁺細胞生着を見積もることによってスクリーニングし、ヒトIgG対照群と抗LILRB2群との間で等しく分配した。試験マウスに、抗LILRB2 Ab (150 μg/マウス) を48時間にわたって腹腔内注射した。末梢血細胞を単離し、 1×10^7 個の末梢血細胞当たり 2×10^8 個の大腸菌 (E. coli) の比率で、GFPを発現する大腸菌 (E. coli) と共に37℃で4時間インキュベートした。マウス1匹当たり二連を実施した。インキュベーション後、細胞をPBSで洗浄し、生存CD45+CD33+CD14+集団に対してゲートすることによって分析した。

10

【0347】

CpGチャレンジ実験

MISTRG新生仔は、低用量の放射線 (150 rad) を受け、次いで、臍帯血由来の 5×10^4 個のCD34⁺ヒト幹細胞 (StemCell Technologies、カタログ70008) を、以前に記載されたように (73)、肝内注射した。8週間後、マウスを、末梢血中のCD45⁺およびCD33⁺集団の生着についてチェックした。ナイーブヒト化MISTRGマウスに、IgG対照または抗LILRB2抗体 (150 μg/マウス) を2日間にわたって静脈内注射し、次いで、5 nmolのCpG (カタログODN1668; Invivogen, San Diego, CA) で腹腔内チャレンジした。2時間後、血清を収集し、TNFαレベルについてELISAを使用して分析した。

20

【0348】

ウエスタンブロットおよび共免疫沈降。

LILRB2形質導入したTHP-1細胞を、1 μg/ml IgGまたは抗LILRB2で24時間処理し、その後、50 ng/ml LPS、20 ng/ml IFNγまたは20 ng/ml IL4で5、10、30分間急性刺激した。細胞を、細胞溶解試薬 (Sigma-Aldrich) を使用して溶解させた。タンパク質サンプルを、8%ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) -ポリアクリルアミドゲル上で分離し、PVDFメンブレンに移した。メンブレンを、4%スキムミルク溶液中でブロッキングし、適切な抗体と共にインキュベートし、引き続いて、西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートされた二次抗体と共にインキュベートした。p-S T A T 1、p-E R K 1 / 2、p-p 3 8、p-N F - κ B p 6 5、p-S T A T 6、S O C S 1、S O C S 3、p-A k t、S H P - 1 および p-S H P - 1 に対する抗体は、Cell Signaling Technology (Beverly, MA) から購入し、アクチンに対する抗体は、Santa Cruz Biotechnology (Dallas, TX) から購入した。免疫反応性バンドを、ECLシステム (Thermo Scientific) を用いて可視化した。免疫沈降のために、LILRB2⁺THP-1細胞を、IgGまたは抗LILRB2で24時間処理し、最後の1時間については0.1 mM Na₃VO₄ (Sigma-Aldrich) で処理した。細胞を、1 mM Na₃VO₄ および25 mMアルファグリセロリン酸を含む細胞溶解緩衝液を使用して溶解させた。Dynabeads プロテインG (Life Technologies, Carlsbad, CA) をプルダウンに使用した。プルダウンサンプルをイムノブロットアッセイに供し、抗LILRB2、抗SHP-1および抗p-SHP-1によってプローブした。

30

40

【0349】

ヒト多重リンパ球反応 (MLR) アッセイ

刺激側細胞としての使用のための成熟樹状細胞を、選別されたCD14⁺単球を、ヒトGM-CSF (50 ng/ml) (PeproTech, Rocky Hill, NJ) の存在下で5日間培養し、その後LPS刺激することによって生成した。IgGまたは抗LILRB2処理した成熟マクロファージを、以前に記載されたように生成した。応答側

50

細胞としての同種T細胞を、無関係の健康なドナーから精製し、成熟樹状細胞および滴定された比率のマクロファージと共に72時間共培養した(図17A)。MLRの持続時間にわたって、培養物中に抗体は存在しなかった。MLRからの細胞および上清を、FACSによってCD4およびCD8 T細胞数について分析し、IFN γ 分泌についてELISAによって分析した。

【0350】

トランスクリプトーム分析

3人の健康なドナー由来のIgGまたは抗LILRB2処理した単球由来マクロファージを、マイクロアレイ分析に供した。RNAを、Human HT-12 v4 Expression BeadChips (Illumina) にハイブリダイズさせ、Illumina HiScanをスキャニングに使用した。生強度データを、Genome Studio (バージョン2011.1) Gene Expression Module (バージョン1.9.0) を使用して処理し、Bioconductorからのlumi Rパッケージを使用してさらに処理した。データは、BeadStudioからエクスポートする前にバックグラウンドシグナルについて調整し、VST変換および分位数正規化を行った。発現なしのプロブは除去した。差次的遺伝子発現分析を、limma Rパッケージを使用して実施し、有意に差次的に発現される遺伝子を、Benjamini & Hochberg 偽陽性率補正を用いて、変化倍数 ≥ 1.5 およびp値 < 0.05 に基づいて同定した。差次的に発現される遺伝子のヒートマップを、plots Rパッケージを使用して創出し、教師なし階層的クラスタリングを、ユークリッド距離に基づいて実施した。発現値を、zスコアで正規化し、高いおよび低い発現をそれぞれ赤および緑として示し、中間の発現を白として示す。主成分分析を、Rにおいてprcomp関数を使用して実施した。マイクロアレイデータについての受託番号は、GSE117340である。

【0351】

逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR)

RT-PCRを、Tri Reagent Methodによって調製した総RNAに対して実施した。2 μ gのRNAを、M-MLV逆転写酵素 (Promega、Madison、WI) およびオリゴ(dT) 18 (Thermo Scientific) を使用するcDNA合成のために使用した。試験した遺伝子の各々について使用した5'および3'プライマーの配列はそれぞれ、以下に示される。IRF3、フォワード: 5' AGGTCACACAGTATTCTCCAGG (配列番号366); リバース: 5' AGGTCACACAGTATTCTCCAGG (配列番号367); IRF4、フォワード: 5' GCTGATCGACCAAGATCGACAG (配列番号368); リバース: 5' CGGTTGTAGTCTCTGCTTGCTG (配列番号369); IRF5、フォワード: 5' GGGCTTCAATGGGTCAACG (配列番号370); リバース: 5' GCCCTTCGGTGATTTCCCTG (配列番号371); IRF7、フォワード: 5' CCCAGCAGGTAGCATTCCTC (配列番号372); リバース: 5' GCAGCAGTTCTCTCCGTGTAG (配列番号373)。

【0352】

ヒト肺がん組織からの浸潤性白血球の単離

NSCLCおよび中皮腫を含む11個の新鮮な肺がんサンプルを、Lung and Esophageal Surgery Institute、Mount Sinai Medical Centerから得た。ヒト組織が関与するこの研究は、Icahn School of Medicine at Mount SinaiのInstitutional Review Boardによって承認され、連邦政府および組織のガイドラインに従って実施した。腫瘍サンプルを、2mg/mlのCollagenase D (Sigma-Aldrich) で37°Cで30~45分間消化した。次いで、組織溶解物を、40 μ Mセルストレナーを介して濾過し、フロースルーを、PBSで400 $\times$ gで5分間2回洗浄して、腫瘍細胞をペレット化した。肺がんまたは中皮腫由来の浸

潤性リンパ球 (TIL) を、密度勾配培地 Lymphoprep (StemCell Technologies、カタログ07801) によって単離した。100K~200K のTILを、50ng/mL IFN γ (PeproTech)、LPS (Sigma-Aldrich) および1 μ g/mLのIgGまたは抗LILRB2の存在下または非存在下で、50ng/mL MCSF (PeproTech) と共に2日間培養した。細胞および上清を、それぞれ、フローサイトメトリー分析、およびELISAによるTNF α /IL10産生に供した。

【0353】

統計量

全てのデータは平均±標準偏差として示す。データを、両側スチューデントt検定を使用して比較した。対応のあるt検定を使用して、異なる健康なドナーまたはがん患者からの、同じ処置からの結果を比較した。全ての分析を、PrismおよびSPSSを使用して実施した。データを、 $p < 0.05$ の値において統計的に有意とみなした。

10

【0354】

研究承認

全ての動物手順は、Mount Sinai School of MedicineのCenter for Comparative Medicine and SurgeryおよびComparative Medicine of Houston Methodist Research InstituteにおけるIACUCによって承認された。

20

【0355】

参考文献：

【0356】

【表 3 - 1】

1. Ortega-Gomez A, Perretti M, and Soehnlein O. Resolution of inflammation: an integrated view. *EMBO Mol Med*. 2013;5(5):661-74.
2. Noy R, and Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity*. 2014;41(1):49-61.
3. Martinez FO, and Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000prime reports*. 2014;6:13.
4. van der Touw W, Chen HM, Pan PY, and Chen SH. LILRB receptor-mediated regulation of myeloid cell maturation and function. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(8):1079- 87. 10
5. Zhang J, Mai S, Chen HM, Kang K, Li XC, Chen SH, et al. Leukocyte immunoglobulin-like receptors in human diseases: an overview of their distribution, function, and potential application for immunotherapies. *J Leukoc Biol*. 2017;102(2):351-60.
6. Ujike A, Takeda K, Nakamura A, Ebihara S, Akiyama K, and Takai T. Impaired dendritic cell maturation and increased T(H)2 responses in PIR-B(-/-) mice. *Nat Immunol*. 2002;3(6):542-8. 20
7. Munitz A, Cole ET, Beichler A, Groschwitz K, Ahrens R, Steinbrecher K, et al. Paired immunoglobulin-like receptor B (PIR-B) negatively regulates macrophage activation in experimental colitis. *Gastroenterology*. 2010;139(2):530-41.
8. Endo S, Sakamoto Y, Kobayashi E, Nakamura A, and Takai T. Regulation of cytotoxic T lymphocyte triggering by PIR-B on dendritic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(38):14515-20. 30
9. Takai T. Paired immunoglobulin-like receptors and their MHC class I recognition. *Immunology*. 2005;115(4):433-40.
10. Ho LH, Uehara T, Chen CC, Kubagawa H, and Cooper MD. Constitutive tyrosine phosphorylation of the inhibitory paired Ig-like receptor PIR-B. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(26):15086-90. 40
11. Maeda A, Kurosaki M, Ono M, Takai T, and Kurosaki T. Requirement of SH2-containing protein tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2 for paired

【表 3 - 2】

- immunoglobulin-like receptor B (PIR-B)-mediated inhibitory signal. *J Exp Med*. 1998;187(8):1355-60.
12. Ma G, Pan PY, Eisenstein S, Divino CM, Lowell CA, Takai T, et al. Paired immunoglobulin-like receptor-B regulates the suppressive function and fate of myeloid-derived suppressor cells. *Immunity*. 2011;34(3):385-95.
 13. Ravetch JV, and Lanier LL. Immune inhibitory receptors. *Science*. 2000;290(5489):84-9. 10
 14. Bashirova AA, Apps R, Vince N, Mochalova Y, Yu XG, and Carrington M. Diversity of the human LILRB3/A6 locus encoding a myeloid inhibitory and activating receptor pair. *Immunogenetics*. 2014;66(1):1-8.
 15. Slukvin, II, Grendell RL, Rao DS, Hughes AL, and Golos TG. Cloning of rhesus monkey LILRs. *Tissue Antigens*. 2006;67(4):331-7.
 16. Mori Y, Tsuji S, Inui M, Sakamoto Y, Endo S, Ito Y, et al. Inhibitory immunoglobulin-like receptors LILRB and PIR-B negatively regulate osteoclast development. *Journal of immunology*. 2008;181(7):4742-51. 20
 17. Colonna M, Samaridis J, Cella M, Angman L, Allen RL, O'Callaghan CA, et al. Human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules. *Journal of immunology*. 1998;160(7):3096-100.
 18. Cheng H, Mohammed F, Nam G, Chen Y, Qi J, Garner LI, et al. Crystal structure of leukocyte Ig-like receptor LILRB4 (ILT3/LIR-5/CD85k): a myeloid inhibitory receptor involved in immune tolerance. *The Journal of biological chemistry*. 2011;286(20):18013-25. 30
 19. Zhang Z, Hatano H, Shaw J, Olde Nordkamp M, Jiang G, Li D, et al. The Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor Family Member LILRB5 Binds to HLA-Class I Heavy Chains. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129063.
 20. Jones DC, Kosmoliaptsis V, Apps R, Lapaque N, Smith I, Kono A, et al. HLA class I allelic sequence and conformation regulate leukocyte Ig-like receptor binding. *Journal of immunology*. 2011;186(5):2990-7. 40
 21. Zheng J, Umikawa M, Cui C, Li J, Chen X, Zhang C, et al. Inhibitory receptors bind ANGPTLs and support blood stem cells and leukaemia development. *Nature*. 2012;485(7400):656-60.

【 0 3 5 8 】

【表 3 - 3】

22. Shiroishi M, Tsumoto K, Amano K, Shirakihara Y, Colonna M, Braud VM, et al. Human inhibitory receptors Ig-like transcript 2 (ILT2) and ILT4 compete with CD8 for MHC class I binding and bind preferentially to HLA-G. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(15):8856-61.
23. Lichterfeld M, Kavanagh DG, Williams KL, Moza B, Mui SK, Miura T, et al. A viral CTL escape mutation leading to immunoglobulin-like transcript 4-mediated functional inhibition of myelomonocytic cells. *J Exp Med*. 2007;204(12):2813-24. 10
24. Shakhawat A, Shaikly V, Elzatma E, Mavrakos E, Jabeen A, and Fernandez N. Interaction between HLA-G and monocyte/macrophages in human pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2010;85(1):40-6.
25. Banchereau J, Zurawski S, Thompson-Snipes L, Blanck JP, Clayton S, Munk A, et al. Immunoglobulin-like transcript receptors on human dermal CD14+ dendritic cells act as a CD8-antagonist to control cytotoxic T cell priming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(46):18885-90. 20
26. Chang CC, Ciubotariu R, Manavalan JS, Yuan J, Colovai AI, Piazza F, et al. Tolerization of dendritic cells by T(S) cells: the crucial role of inhibitory receptors ILT3 and ILT4. *Nat Immunol*. 2002;3(3):237-43.
27. Martinez FO, Gordon S, Locati M, and Mantovani A. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. *Journal of immunology*. 2006;177(10):7303-11. 30
28. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdts S, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014;41(1):14-20.
29. Hashimoto S, Yamada M, Motoyoshi K, and Akagawa KS. Enhancement of macrophage colony-stimulating factor-induced growth and differentiation of human monocytes by interleukin-10. *Blood*. 1997;89(1):315-21. 40
30. Hashimoto S, Suzuki T, Dong HY, Yamazaki N, and Matsushima K. Serial analysis of gene expression in human monocytes and macrophages. *Blood*. 1999;94(3):837-44.

【 0 3 5 9 】

【表 3 - 4】

31. Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Shimada K, Iwasaki M, Kosuge T, Kanai Y, et al. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer. *British journal of cancer*. 2013;108(4):914-23.
32. Zaki MA, Wada N, Ikeda J, Shibayama H, Hashimoto K, Yamagami T, et al. Prognostic implication of types of tumor-associated macrophages in Hodgkin lymphoma. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2011;459(4):361-6. 10
33. Etzerodt A, and Moestrup SK. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxidants & redox signaling*. 2013;18(17):2352-63.
34. Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, Alzabin S, Lockstone H, Sahgal N, et al. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses. *Nat Immunol*. 2011;12(3):231-8.
35. Zhao GN, Jiang DS, and Li H. Interferon regulatory factors: at the crossroads of immunity, metabolism, and disease. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(2):365-78. 20
36. Negishi H, Ohba Y, Yanai H, Takaoka A, Honma K, Yui K, et al. Negative regulation of Toll-like-receptor signaling by IRF-4. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(44):15989-94.
37. Fleetwood AJ, Dinh H, Cook AD, Hertzog PJ, and Hamilton JA. GM-CSF- and M-CSF-dependent macrophage phenotypes display differential dependence on type I interferon signaling. *J Leukoc Biol*. 2009;86(2):411-21. 30
38. Tanaka T, Murakami K, Bando Y, and Yoshida S. Interferon regulatory factor 7 participates in the M1-like microglial polarization switch. *Glia*. 2015;63(4):595-610.
39. Rodriguez-Garcia M, Porichis F, de Jong OG, Levi K, Diefenbach TJ, Lifson JD, et al. Expression of PD-L1 and PD-L2 on human macrophages is up-regulated by HIV-1 and differentially modulated by IL-10. *Journal of leukocyte biology*. 2011;89(4):507-15. 40
40. Conde P, Rodriguez M, van der Touw W, Jimenez A, Burns M, Miller J, et al. DC-SIGN(+) Macrophages Control the Induction of Transplantation Tolerance. *Immunity*. 2015;42(6):1143-58.
41. Dominguez-Soto A, Sierra-Filardi E, Puig-Kroger A, Perez-Maceda B, Gomez-Aguado F, Corcuera MT, et al. Dendritic cell-specific ICAM-3-

【表 3 - 5】

- grabbing nonintegrin expression on M2-polarized and tumor-associated macrophages is macrophage-CSF dependent and enhanced by tumor-derived IL-6 and IL-10. *Journal of immunology*. 2011;186(4):2192-200.
42. Smith JL, Schaffner AE, Hofmeister JK, Hartman M, Wei G, Forsthoefel D, et al. ets-2 is a target for an akt (Protein kinase B)/jun N-terminal kinase signaling pathway in macrophages of motheaten-viable mutant mice. *Molecular and cellular biology*. 2000;20(21):8026-34. 10
43. Kelley TW, Graham MM, Doseff AI, Pomerantz RW, Lau SM, Ostrowski MC, et al. Macrophage colony-stimulating factor promotes cell survival through Akt/protein kinase B. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(37):26393-8.
44. Arranz A, Doxaki C, Vergadi E, Martinez de la Torre Y, Vaporidi K, Lagoudaki ED, et al. Akt1 and Akt2 protein kinases differentially contribute to macrophage polarization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(24):9517-22. 20
45. Eden E, Navon R, Steinfeld I, Lipson D, and Yakhini Z. GOrilla: a tool for discovery and visualization of enriched GO terms in ranked gene lists. *BMC bioinformatics*. 2009;10:48.
46. Eden E, Lipson D, Yogev S, and Yakhini Z. Discovering motifs in ranked lists of DNA sequences. *PLoS computational biology*. 2007;3(3):e39.
47. de las Casas-Engel M, Dominguez-Soto A, Sierra-Filardi E, Bragado R, Nieto C, Puig-Kroger A, et al. Serotonin skews human macrophage polarization through HTR2B and HTR7. *J Immunol*. 2013;190(5):2301-10. 30
48. Gabriel TL, Mirzaian M, Hooibrink B, Ottenhoff R, van Roomen C, Aerts J, et al. Induction of Sphk1 activity in obese adipose tissue macrophages promotes survival. *PLoS One*. 2017;12(7):e0182075.
49. Kang K, Park SH, Chen J, Qiao Y, Giannopoulou E, Berg K, et al. Interferon-gamma Represses M2 Gene Expression in Human Macrophages by Disassembling Enhancers Bound by the Transcription Factor MAF. *Immunity*. 2017;47(2):235-50 e4. 40
50. Tanoue T, Moriguchi T, and Nishida E. Molecular cloning and characterization of a novel dual specificity phosphatase, MKP-5. *J Biol Chem*. 1999;274(28):19949-56.

【 0 3 6 1 】

【表 3 - 6】

51. Li JP, Yang CY, Chuang HC, Lan JL, Chen DY, Chen YM, et al. The phosphatase JKAP/DUSP22 inhibits T-cell receptor signalling and autoimmunity by inactivating Lck. *Nat Commun.* 2014;5:3618.
52. Chomarat P, Banchereau J, Davoust J, and Palucka AK. IL-6 switches the differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages. *Nature immunology.* 2000;1(6):510-4.
53. Nakata K, Suzuki Y, Inoue T, Ra C, Yakura H, and Mizuno K. Deficiency of SHP1 leads to sustained and increased ERK activation in mast cells, thereby inhibiting IL-3-dependent proliferation and cell death. *Mol Immunol.* 2011;48(4):472-80. 10
54. Blanchette J, Abu-Dayyeh I, Hassani K, Whitcombe L, and Olivier M. Regulation of macrophage nitric oxide production by the protein tyrosine phosphatase Src homology 2 domain phosphotyrosine phosphatase 1 (SHP-1). *Immunology.* 2009;127(1):123-33. 20
55. Bohmer FD, and Friedrich K. Protein tyrosine phosphatases as wardens of STAT signaling. *JAKSTAT.* 2014;3(1):e28087.
56. Hebenstreit D, Luft P, Schmiedlechner A, Duschl A, and Horejs-Hoeck J. SOCS-1 and SOCS-3 inhibit IL-4 and IL-13 induced activation of Eotaxin-3/CCL26 gene expression in HEK293 cells. *Mol Immunol.* 2005;42(3):295-303.
57. Carow B, and Rottenberg ME. SOCS3, a Major Regulator of Infection and Inflammation. *Front Immunol.* 2014;5:58. 30
58. White CA, and Nicola NA. SOCS3: An essential physiological inhibitor of signaling by interleukin-6 and G-CSF family cytokines. *JAKSTAT.* 2013;2(4):e25045.
59. Zhang L, Du J, Hu Z, Han G, Delafontaine P, Garcia G, et al. IL-6 and serum amyloid A synergy mediates angiotensin II-induced muscle wasting. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(3):604-12.
60. Gordon P, Okai B, Hoare JJ, Erwig LP, and Wilson HM. SOCS3 is a modulator of human macrophage phagocytosis. *J Leukoc Biol.* 2016;100(4):771-80. 40
61. Rauh MJ, Sly LM, Kalesnikoff J, Hughes MR, Cao LP, Lam V, et al. The role of SHP1 in macrophage programming and activation. *Biochem Soc Trans.* 2004;32(Pt 5):785-8.

【表 3 - 7】

62. Kaneda MM, Messer KS, Ralainirina N, Li H, Leem CJ, Gorjestani S, et al. PI3Kgamma is a molecular switch that controls immune suppression. *Nature*. 2016;539(7629):437-42.
63. Ries CH, Cannarile MA, Hoves S, Benz J, Wartha K, Runza V, et al. Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1R antibody reveals a strategy for cancer therapy. *Cancer Cell*. 2014;25(6):846-59.
64. Bonapace L, Coissieux MM, Wyckoff J, Mertz KD, Varga Z, Junt T, et al. Cessation of CCL2 inhibition accelerates breast cancer metastasis by promoting angiogenesis. *Nature*. 2014;515(7525):130-3.
65. Swierczak A, Cook AD, Lenzo JC, Restall CM, Doherty JP, Anderson RL, et al. The promotion of breast cancer metastasis caused by inhibition of CSF-1R/CSF-1 signaling is blocked by targeting the G-CSF receptor. *Cancer immunology research*. 2014;2(8):765-76.
66. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, and Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends in immunology*. 2002;23(11):549-55.
67. Mantovani A, and Allavena P. The interaction of anticancer therapies with tumor-associated macrophages. *The Journal of experimental medicine*. 2015;212(4):435-45.
68. Li HY, McSharry M, Bullock B, Nguyen TT, Kwak J, Poczobutt JM, et al. The Tumor Microenvironment Regulates Sensitivity of Murine Lung Tumors to PD-1/PD-L1 Antibody Blockade. *Cancer Immunol Res*. 2017;5(9):767-77.
69. Lin H, Wei S, Hurt EM, Green MD, Zhao L, Vatan L, et al. Host expression of PD-L1 determines efficacy of PD-L1 pathway blockade-mediated tumor regression. *J Clin Invest*. 2018;128(4):1708.
70. Kang S, Nakanishi Y, Kioi Y, Okuzaki D, Kimura T, Takamatsu H, et al. Semaphorin 6D reverse signaling controls macrophage lipid metabolism and anti-inflammatory polarization. *Nat Immunol*. 2018;19(6):561-70.
71. Wilson JL, and Weichhart T. TORching a semaphore for alternative macrophage activation. *Nat Immunol*. 2018;19(6):512-4.
72. Byles V, Covarrubias AJ, Ben-Sahra I, Lamming DW, Sabatini DM, Manning BD, et al. The TSC-mTOR pathway regulates macrophage polarization. *Nat Commun*. 2013;4:2834.

【 0 3 6 3 】

【表 3 - 8】

73. Rongvaux A, Willinger T, Martinek J, Strowig T, Gearty SV, Teichmann LL, et al. Development and function of human innate immune cells in a humanized mouse model. Nat Biotechnol. 2014;32(4):364-72.

abc

【 0 3 6 4 】

[実施例 1 0]

抗 L I L R B 2 抗体は、I F N ガンマ放出を *in vitro* でモジュレートし、同種 T 細胞増殖を *in vitro* で阻害した。

図 2 3 A ~ 2 3 C は、健康なドナー由来の P B M C の刺激後の O K T 3 媒介性の T 細胞増殖 (C P M) を示すグラフである。P B M C を、L I L R B 2 抗体と共に一晚 (1 6 時間) 培養し、低用量 (0. 0 1 μ g / m l) 抗 C D 3 (O K T 3) で 3 日間刺激した。3 日間の処理後、[3 H] - チミジン を、培養の最後の 8 時間にわたって添加し、その後シンチレーションカウンターで測定した。図 1 A からの T N F アルファに基づくクローンランキン グが示される。T 細胞増殖 (C P M) における相対的变化倍数が図 2 3 A に示される。T 細胞増殖が図 2 3 B に示される。図 2 3 B からの T 細胞増殖における全体的差異が図 2 3 C に示される。

【 0 3 6 5 】

図 2 3 D ~ 2 3 F は、健康なドナーから得た P B M C からの I F N - γ 産生を示すグラフである。P B M C を、L I L R B 2 抗体と共に一晚 (1 6 時間) 培養し、低用量 (0. 0 1 μ g / m l) 抗 C D 3 (O K T 3) で 3 日間刺激した。上清を収集し、I F N - γ 産生を E L I S A によって測定した。図 1 A からの T N F アルファに基づくクローンランキン グが示される。I F N - γ 産生放出における相対的变化倍数が図 2 3 D に示される。I L - 1 0 の分泌が図 2 3 E に示される。図 2 3 E からの I L - 1 0 濃度における全体的差異が図 2 3 F に示される。

【 0 3 6 6 】

L I L R A ファミリーと交差反応するアゴニスト抗体の能力を試験した。図 2 3 G に示されるように、試験した抗 L I L R B 2 アゴニスト抗体の各々は、L I L R A 1 ファミリーと交差反応した。

【 0 3 6 7 】

図 2 3 G は、抗 L I L R B 2 アゴニスト抗体による処理の際の T 細胞 I F N - γ 産生の抑制を示す。

【 0 3 6 8 】

図 2 3 I は、抗 L I L R B 2 アゴニスト抗体による M L R 反応の抑制を示す。

【 0 3 6 9 】

[実施例 1 1]

抗 L I L R B 2 C A R T 細胞

L I L R B 2 C A R を、1 H 3 F a b 領域を使用して生成した。

【 0 3 7 0 】

図 2 4 は、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞が、L I L R B 2 + 白血病細胞、例えば、T H P - 1 によって刺激した場合に特異的活性化およびサイトカイン放出を実証したことを示す。抗 L I L R B 2 - C A R - T の短い形態のベクター (図 2 4、上パネル) を使用すると、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、標的 L I L R B 2 タンパク質に対する活性化特異性を示した。抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞を、1 : 1 ~ 1 : 1 0 の範囲の標的 : エフェクター (T : E) 比で、L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞と共に 2 4 時間共培養した。C A R - T 細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する 4 1 B B 発現の検出によって決定した。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。図 2 4、下パネル：抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、標的 L I L R B 2 タンパク質に対す

るサイトカイン放出特異性を示した。上清を、1 : 1 ~ 1 : 10 の範囲の標的 : エフェクター (T : E) での、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞と L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞との 24 時間の共培養後に収集した。サイトカイン放出を、E L I S A によって、インターフェロン γ (I F N γ) についてアッセイした。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

【0371】

図 25 は、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞が、L I L R B 2 + 白血病細胞によって刺激した場合に特異的活性化およびサイトカイン放出を実証したことを示す。抗 L I L R B 2 - C A R - T の長い形態のベクター (図 25、上パネル) を使用すると、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞は、標的 L I L R B 2 タンパク質に対する活性化特異性を示した。抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞を、1 : 1 ~ 1 : 10 の範囲の標的 : エフェクター比で、L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞と共に 24 時間共培養した。C A R - T 細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する 41 B B 発現の検出によって決定した。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。図 25、下パネルは、抗 L I L R B 2

10

C A R - T 細胞が、標的 L I L R B 2 タンパク質に対するサイトカイン放出特異性を示したことを示す。上清を、1 : 1 ~ 1 : 10 の範囲の標的 : エフェクター比での、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞と L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞との 24 時間の共培養後に収集した。サイトカイン放出を、E L I S A によって、インターフェロン γ (I F N γ) についてアッセイした。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

20

【0372】

図 26 は、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞が、標的 L I L R B 2 に対する結合特異性を実証したことを示す。短い形態 (図 26、上パネル) および長い形態 (図 26、下パネル) の両方の抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞を、L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞、L I L R B 3 発現 T H P 1 細胞または親 T H P 1 細胞と共に 24 時間共培養した。C A R - T 細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する 41 B B 発現の検出によって決定した。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

【0373】

図 27 は、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞が、H T 29 結腸がん細胞において標的 L I L R B 2 タンパク質に対する結合特異性を実証したことを示す。抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞を、L I L R B 2 発現 H T 29 細胞、L I L R B 3 発現 H T 29 細胞または H T 29 対照細胞と共に 24 時間共培養した。C A R - T 細胞活性化を、フローサイトメトリーを使用する 41 B B 発現についての活性化マーカーの検出によって決定した。O K T 3 で刺激した C A R - T 細胞を、C A R - T 細胞活性化についての陽性対照として使用した。形質導入なしの T 細胞を対照として使用した。

30

【0374】

図 28 は、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞が、L I L R B 2 発現白血病細胞に対する効率的な細胞傷害性を *in vitro* で示したことを示す。L I L R B 2 発現白血病細胞 (B 2 - T H P 1) を、0.02 : 1 ~ 10 : 1 の範囲のエフェクター : 標的で、抗 L I L R B 2 C A R - T (左の棒) または形質導入されていない T 細胞 (右の棒) と共に共培養した。上清を、7 時間の共培養後に収集し、細胞傷害性を、L D H 放出の検出によって決定した。

40

【0375】

図 29 は、T H P 1 - L I L R B 2 異種移植マウスモデルにおける抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞の有効性の実証のための実験設計を示す。N S G - S G M 3 マウスに、0 日に L I L R B 2 発現 T H P 1 細胞を注射し、8、15、22 および 30 日目に、形質導入されていない T 細胞 (対照) または抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞で処置した。生物発光画像を毎週撮影した。

【0376】

図 30 ~ 33 は、抗 L I L R B 2 C A R - T 細胞が、T H P 1 - L I L R B 2 異種移

50

植マウスモデルにおいて白血病負荷を低減させたことを示す。NSG-SGM3マウスに、0日目にLILRB2発現THP1細胞を注射し、8、15、22および30日目に、形質導入されていないT細胞（対照）または抗LILRB2 CAR-T細胞で処置した。生物発光画像（BLI）を毎週撮影した。図30は、形質導入されていないT細胞（左）または抗LILRB2-CAR-T細胞（右）で処置したマウスの毎週のBLIを示す；画像を、マウスの背中から撮影した。図31は、形質導入されていないT細胞（左）または抗LILRB2-CAR-T細胞（右）で処置したマウスの毎週のBLIを示す；画像を、腹部から撮影した。

【0377】

図32は、時間の関数としての全光束（p/s）のプロットを示す；各形状は、処置群中の個々のマウスを示す。図32は、抗LILRB2 CAR-T細胞（右）が、対照T細胞処置（左）マウスと比較して白血病負荷を減少させたことを実証している。

10

【0378】

図33は、全光束（左パネル）および平均放射輝度（右パネル）での白血病負荷の定量化結果を示す。抗LILRB2 CAR-T細胞で処置したマウス（四角）は、形質導入されていないT細胞処置マウス（丸）と比較して腫瘍負荷の減少を示した。

【0379】

[実施例12]

抗LILRB4 CAR-T細胞

抗LILRB4 CAR-T細胞を生成した。図34は、抗LILRB4 CAR-T細胞が、LILRB4タンパク質発現ヒトAML細胞に対する細胞傷害性を実証したことを示す。

20

【0380】

[実施例13]

抗LILRB2 Abは、CAR-T細胞のMDSC媒介性の抑制を無効にする。

マクロファージ成熟化に対する抗LILRB2の強い機能的活性を考慮して、本発明者らは、抗LILRB2（ヒトIgG4を有する抗体20D3）が、CAR-T細胞増殖のMDSC媒介性の抑制を消失させることができるかどうかを調査した。本発明者らは、*in vitro*培養した単球由来MDSCを生成し、標的腫瘍細胞の存在下でCAR-T細胞と共培養した。MDCSは、標的腫瘍細胞、即ち、AML（THP-1）（図35A）またはHer-2陽性頭頸部固形がん（SCC-47）（図35B）によって誘導されるCAR-T細胞増殖を顕著に抑制した。特に、抗LILRB2抗体は、MDSC媒介性の抑制を無効にし、CD4およびCD8の両方のT細胞増殖を再活性化し（図35B）、腫瘍細胞ならびにLILRB2陽性であるMDSCに対するCAR-T媒介性の死滅効果を増強した（図35A）。この結果は、抗LILRB2が、MDSC媒介性の抑制を克服でき、CAR-T細胞増殖を増強できることを示唆している。

30

【0381】

【表 4 - 1】

クローン	アイソタイプ	FACS 結合								骨髄細胞-TNFA			骨髄細胞-IL10			
		B1	B2	B3	B4	A1	A2	A4	A5	A6	IgG	平均	Δ	IgG	平均	Δ
10B10	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	1756.65	3.64	413.48	276.63	0.67
10B4	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	4345.88	9.00	413.48	299.24	0.72
10C5	G2b, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	817.41	1392.89	1.70	433.35	296.91	0.69
10D6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2332.00	4.15	567.70	820.60	1.45
10D7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	813.02	1995.07	2.45	1123.81	353.28	0.31
10D8	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	5743.12	11.90	413.48	296.48	0.72
10G7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	5263.61	10.90	413.48	312.88	0.76
11A5	G2b, k	-	X	-	-	X	-	x/?	-	-	817.41	2434.68	2.98	433.35	356.58	0.82
11B2	G2b, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	817.41	1133.93	1.39	433.35	492.05	1.14
12E4	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	813.02	1236.69	1.52	1123.81	961.73	0.86
12G2	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	813.02	1680.01	2.07	1123.81	522.16	0.46
12H6	G2a, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	482.80	885.28	1.83	413.48	369.40	0.89
13H1	G2a, k	X	X	-	-	x	x/?	-	-	-	482.80	4195.15	8.69	413.48	268.98	0.65
14E7	G2a, k, ?	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	1801.00	3.21	567.70	1027.00	1.81
15A10	G1, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2685.00	4.78	567.70	448.10	0.79
15C6	G2a, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	482.80	1861.93	3.86	413.48	358.84	0.87
15D6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2387.00	4.25	567.70	693.70	1.22
15E7	G2b, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	817.41	872.05	1.07	433.35	489.79	1.13
16F12	G2a, k	X	X	-	-	X	x	-	-	-	813.02	1670.93	2.06	1123.81	630.11	0.56
16F4	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	4742.78	9.82	413.48	213.63	0.52
17A3	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	2436.22	5.05	413.48	237.80	0.58
17H7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	1773.18	3.67	413.48	287.85	0.70
1D6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	585.70	1.04	567.70	716.70	1.26
1E6	G2a, k	-	X	-	-	X	x/?	-	-	-	813.02	1838.71	2.26	1123.81	487.98	0.43
1F1	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	6496.72	13.46	413.48	232.86	0.56
1F12	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	813.02	2074.23	2.55	1123.81	446.17	0.40

表 3

【 0 3 8 3 】

[illegible]

40

【表 4-3】

	G2a, k	-	X	-	-	x	x	-	x	x	482.80	1652.42	3.42	413.48	227.89	0.55
4G10		-	X	-	-											
4G3	G2a, k	-	X	-	-						813.02	2378.22	2.93	1123.81	514.67	0.46
4G7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	1556.00	2.77	567.70	656.90	1.16
4G8	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	1406.00	2.50	567.70	783.80	1.38
4H5	G2b, k	-	X	-	-	X	X	-	-	-	817.41	5685.82	6.96	433.35	217.50	0.50
50B9	G2a, k	-	X	-	-	X	-	x/?	-	-	482.80	2116.66	4.38	413.48	292.91	0.71
50C3_G1	G1, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2100.00	3.74	567.70	673.50	1.19
50C3_G2a	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	1997.00	3.56	567.70	637.60	1.12
51A12	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	4162.42	8.62	413.48	308.13	0.75
51B8	G2a, k	X	X	X	X						561.40	1071.00	1.91	567.70	1059.00	1.87
51D3	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	2852.88	5.91	413.48	243.84	0.59
51G7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	3286.09	6.81	413.48	273.18	0.66
51H9	G1, k	-	X	-	-	x	-	-	-	-	1139.96	2391.57	2.10	523.21	424.20	0.81
5A3	G2a, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	482.80	1035.96	2.15	413.48	262.21	0.63
5A7	G2a,b, k??	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2458.00	4.38	567.70	960.40	1.69
5C12	G2a, k	-	X	-	-	x	x	-	-	-	482.80	1329.87	2.75	413.48	164.67	0.40
5D6	G3, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	1139.96	898.80	0.79	523.21	416.64	0.80
5F4	G2a, k	-	X	-	-						813.02	4245.69	5.22	1123.81	182.38	0.16
5G5	IgG1	-	X	-	-	-	-	-	-	-	1139.96	5371.09	4.71	523.21	233.48	0.45
5H8	G3, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	813.02	1411.79	1.74	1123.81	614.59	0.55
6A9	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	2300.54	4.77	413.48	206.67	0.50
6C3	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	4858.34	10.06	413.48	253.63	0.61
6C4	G2a, k	-	X	-	-						813.02	1987.00	2.44	1123.81	300.62	0.27
6D6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2136.00	3.80	567.70	1025.00	1.81
6E7	G2a, k	-	X	-	-	x	x	-	-	-	482.80	3266.69	6.77	413.48	174.15	0.42
6F1	G2a, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	482.80	1285.41	2.66	413.48	490.22	1.19
6F2	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	482.80	4185.57	8.67	413.48	193.35	0.47
6G8	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2980.00	5.31	567.70	789.30	1.39

【表 4－4】

6H12	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	813.02	2289.15	2.82	1123.81	341.30	0.30
6H6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	482.80	2743.76	5.68	413.48	279.22	0.68
7B7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	561.40	2308.00	4.11	567.70	940.10	1.66
7G12	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	813.02	1649.30	2.03	1123.81	349.26	0.31
7H1	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	482.80	3693.24	7.65	413.48	262.66	0.64
8B5	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	482.80	2393.23	4.96	413.48	282.67	0.68
8G10	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	482.80	710.01	1.47	413.48	441.90	1.07
8G8	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	813.02	2083.08	2.56	1123.81	373.07	0.33
9B1	G1, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1139.96	3837.93	3.37	523.21	329.04	0.63
9H9	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	482.80	4202.10	8.70	413.48	264.12	0.64
6H2	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
11E5	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						

10

20

30

40

【表 5 - 1】

クローン	アイソタイプ	FACS 結合								T 細胞増殖			IFN ガンマ			
		B1	B2	B3	B4	A1	A2	A4	A5	A6	IgG	平均	Δ	IgG	平均	Δ
10B10	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	104360.00	0.98	3.63	4.00	1.10
10B4	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	123972.00	1.16	3.63	1.97	0.54
10C5	G2b, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	107803.00	123191.00	1.14	0.63	4.12	6.53
10D6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	126503.00	112588.00	0.89	5172.00	4570.00	0.88
10D7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	113425.50	125098.50	1.10			
10D8	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	142671.50	1.34	3.63	4.23	1.16
10G7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	125522.50	1.18	3.63	2.63	0.72
11A5	G2b, k	-	X	-	-	X	-	x/?	-	-	107803.00	148998.00	1.38	0.63	6.45	10.21
11B2	G2b, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	107803.00	114218.00	1.06	0.63	2.65	4.20
12E4	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	113425.50	105493.50	0.93			
12G2	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	113425.50	112442.50	0.99			
12H6	G2a, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	106489.00	73176.50	0.69	3.63	0.00	0.00
13H1	G2a, k	X	X	-	-	x	x/?	-	-	-	106489.00	120671.00	1.13	3.63	2.40	0.66
14E7	G2a, k, ?	-	X	-	-	-	-	-	-	-	126503.00	113440.00	0.90	5172.00	6306.00	1.22
15A10	G1, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	126503.00	132608.00	1.05	5172.00	8137.00	1.57
15C6	G2a, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	106489.00	90458.00	0.85	3.63	0.94	0.26
15D6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	126503.00	100627.00	0.80	5172.00	648.20	0.13
15E7	G2b, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	107803.00	96047.50	0.89	0.63	0.98	1.54
16F12	G2a, k	X	X	-	-	X	x	-	-	-	113425.50	104224.00	0.92			
16F4	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	130284.00	1.22	3.63	1.44	0.40
17A3	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	126518.50	1.19	3.63	4.30	1.19
17H7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	123802.00	1.16	3.63	2.49	0.69
1D6	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	126503.00	53300.00	0.42	5172.00	65.33	0.01
1E6	G2a, k	-	X	-	-	X	x/?	-	-	-	113425.50	91294.50	0.80			
1F1	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	139162.00	1.31	3.63	2.28	0.63

表 4

【 0 3 8 6 】

10

20

30

40

50

【表 5-2】

[illegible]

【表 5 - 4】

6G8	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	126503.00	89225.00	0.71	5172.00	1174.00	0.23
6H12	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	113425.50	110522.00	0.97			
6H6	G2a, k	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	106489.00	91760.00	0.86	3.63	1.14	0.31
7B7	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	126503.00	110702.00	0.88	5172.00	2809.00	0.54
7G12	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	113425.50	110685.50	0.98			
7H1	G2a, k	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	106489.00	121175.50	1.14	3.63	1.31	0.36
8B5	G2a, k	-	X	-	-	x	-	-	-	-	-	106489.00	81691.00	0.77	3.63	1.57	0.43
8G10	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	48406.50	0.45	3.63	0.00	0.00
8G8	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	113425.50	116319.00	1.03			
9B1	G1, k	-	X	-	-	x	-	+/-	-	-	-	99683.00	157553.00	1.58	1.05	8.39	7.99
9H9	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	106489.00	123150.00	1.16	3.63	2.90	0.80
6H2	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-						
11E5	G2a, k	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-						

10

20

30

40

【表 6 - 1】

表 5.

クローン	カッパ鎖配列			重鎖配列		
	CDR1	CDR2	CDR3 接合部	CDR1	CDR2	CDR3 接合部
1F1	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPLTF (配列番号 50)	GYAFTNFF (配列番号 89)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAIMDYW (配列番号 158)
10D8	QSVVDNYGYSY (配列番号 2)	AAS (配列番号 36)	CQHIKEDTFSF (配列番号 51)	GYSTFTFFW (配列番号 90)	IDPSDNYT (配列番号 121)	CARRWLLHEMAYW (配列番号 159)
10G7	QSVVDYDGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDEPFTF (配列番号 52)	GYSTFTTYW (配列番号 91)	IDPSDSYT (配列番号 122)	CARRWLLHEMDYW (配列番号 160)
1H3	QSIGTS (配列番号 4)	IAS (配列番号 37)	CQQSNGWPLTF (配列番号 53)	GYTFTDFE (配列番号 92)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIVFWYFDVW (配列番号 161)
6C3	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNGWPLTF (配列番号 53)	GYTFTDFE (配列番号 92)	IDPTGGS (配列番号 124)	CTIVFWYFDVW (配列番号 161)
16F4	QSVVDYDGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDEPFTF (配列番号 52)	GYTFTNYW (配列番号 93)	IDPSDNYT (配列番号 125)	CARRWLLLEMDYW (配列番号 162)
3G6	QSVVDYDGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDEPFTF (配列番号 52)	GYTFTNYW (配列番号 93)	IDPSDSYT (配列番号 122)	CARRWLLHEMDYW (配列番号 160)
4E2	QDMNTA (配列番号 5)	SAS (配列番号 39)	CQHYSTLPTF (配列番号 54)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IHPSDSDT (配列番号 126)	CALGSTVPSFVYW (配列番号 163)
9H9	QSVVDYDGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDEPFTF (配列番号 52)	GYTFTSNW (配列番号 95)	IYPGSDTT (配列番号 127)	CARFFSSPWFAFYW (配列番号 164)
13H1	QINNVW (配列番号 6)	KAS (配列番号 40)	CQQGSYPLTF (配列番号 55)	DYTFTGYW (配列番号 96)	ILPESGST (配列番号 128)	CARRSLGLSFNYW (配列番号 165)
6F2	QSVVDYDGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDEPFTF (配列番号 56)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IDPSDSYT (配列番号 122)	CARRWLLREMDYW (配列番号 166)
51A12	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNWPLTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIVFWYFDVW (配列番号 161)
4B6	QSVVDYDGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDEPFTF (配列番号 52)	GYSTFTFFW (配列番号 90)	IDPSDNYT (配列番号 121)	CARRWLLHKMDYW (配列番号 167)
47F11	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNWPLTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIVFWYFDVW (配列番号 161)
7H1	RTLVR (配列番号 8)	YAT (配列番号 35)	CLHFYEPLTF (配列番号 58)	GYSTFTNYL (配列番号 98)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAIMDYW (配列番号 158)
4H5	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQFYEFPLTF (配列番号 50)	GYAFTNVL (配列番号 99)	INPGSGGK (配列番号 129)	CARNDAIMDYW (配列番号 158)
29G3	KSVSISGYSY (配列番号 9)	LAS (配列番号 42)	CQHSRELPTF (配列番号 59)	GYTFTDYN (配列番号 100)	INPNNGGT (配列番号 258)	CARRPTTVLGGVYFDYW (配列番号 168)
51G7	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNWPLTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIVFWYFDVW (配列番号 161)

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

6E7	QSLVNSYGITY (配列番号 10)	GIS (配列番号 43)	CLQGTQHPWTF (配列番号 60)	GYTFTSYW (配列番号 94)	MYPGSGNT (配列番号 131)	CARGFLYFDVW (配列番号 169)
51D3	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQNSWPLTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTYFWYFDVW (配列番号 161)
6H6	SSVSSSC (配列番号 11)	STS (配列番号 44)	CQQYKWLPTF (配列番号 61)	GYTFTSYW (配列番号 94)	INPSNGGT (配列番号 77)	CAKEPIYDYDEAGFDHW (配列番号 170)
17A3	ENIYSN (配列番号 12)	AAT (配列番号 49)	CQHFWDPYTF (配列番号 62)	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配列番号 132)	CARHPYYSYVVEDWFAYW (配列番号 171)
8B5	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配列番号 41)	WTFSGCTGLEIQ (配列番号 63)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYEGSN (配列番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 172)
4E7	KSVSTSGYSY (配列番号 24)	LVS (配列番号 202)	CQHIRELTR (配列番号 64)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYKGSN (配列番号 134)	CARYFDVW (配列番号 173)
6A9	ENIYCT (配列番号 15)	AAT (配列番号 49)	CQHFWDPYTF (配列番号 65)	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配列番号 132)	CARHPYYSYVVEDWFAYW (配列番号 171)
50B9	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配列番号 41)	CQQGNMLPWTF (配列番号 66)	GYTFTGYG (配列番号 103)	IYPRSSNT (配列番号 135)	CARREGAPYAMDYW (配列番号 174)
15C6	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配列番号 41)	CQQYSKLPWTF (配列番号 67)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYEGSN (配列番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 175)
17H7	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQYEFPLTF (配列番号 50)	GYSFTNYF (配列番号 104)	INPGSGGI (配列番号 136)	CARNDAMDYW (配列番号 158)
10B10	QGVDTA (配列番号 16)	WAS (配列番号 45)	CQQYSSYPLTF (配列番号 68)	GYTFSNYR (配列番号 105)	ITVKSDNYGA (配列番号 137)	CSRSYGSSYGFAVW (配列番号 177)
11A5	QDIRNY (配列番号 18)	YTS (配列番号 41)	CQQGNLTPWTF (配列番号 69)	GYTFTSYG (配列番号 107)	IYPRSGNT (配列番号 138)	CARREGAPYTMDYW (配列番号 178)
4D3	QGIVNY (配列番号 19)	YTS (配列番号 41)	CQQYSELTPWTF (配列番号 70)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYKGSN (配列番号 134)	CARYFDVW (配列番号 173)
5C12	QDVTNA (配列番号 20)	SAS (配列番号 39)	CQQHYSPYTF (配列番号 71)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IYPGSGNT (配列番号 139)	CTRGFLYFDVW (配列番号 179)
6F1	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配列番号 41)	CQQYSKLPWTF (配列番号 67)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYEGSN (配列番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 175)
4A5	QDVSTA (配列番号 21)	WAS (配列番号 45)	CQQHYSTPLTF (配列番号 72)	GFTFSDYY (配列番号 108)	ISNGGGNT (配列番号 140)	CARQGEWYFDVW (配列番号 180)
5A3	QVITNY (配列番号 22)	YTS (配列番号 41)	CQQYKFPCTF (配列番号 73)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYDGGT (配列番号 141)	CTRYFDVW (配列番号 181)
51H9	SSVSY (配列番号 23)	LTS (配列番号 46)	CQQWSSNPLTF (配列番号 74)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IHPNSDTT (配列番号 142)	CAIRHYHYFDYW (配列番号 182)
12H6	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配列番号 41)	CQQYSKLPWTF (配列番号 67)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYEGSN (配列番号 133)	CVRYFDVW (配列番号 175)

【表 6 - 3】

10C5	KSVSTSGYSY (配列番号 24)	LAS (配列番号 42)	CQHSRELPYTF (配列番号 75)	GYAFSSSW (配列番号 109)	YPGDGD (配列番号 143)	CTPAYSNYGAWFAYW (配列番号 183)
8G10	SSVS (配列番号 23)	LTS (配列番号 46)	CQWSSNPLTF (配列番号 74)	GYFTTSYW (配列番号 94)	IHPNSDTT (配列番号 142)	CAIRYRYFDYW (配列番号 184)
11B2	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列番号 41)	CQYNTTPWTF (配列番号 259)	GHSITSGY (配列番号 110)	IFYDGSN (配列番号 144)	CARYFDYW (配列番号 173)
29G2	SSVS (配列番号 23)	VTS (配列番号 47)	CQWSSNPPTF (配列番号 76)	GYFTTSYW (配列番号 94)	IHPNSGNT (配列番号 145)	CARITVASYAMDYW (配列番号 185)
33A12	QSLNNSQKNY (配列番号 26)	FAS (配列番号 38)	CQHYSTPPTF (配列番号 130)	GYFTTYG (配列番号 111)	GYFTTYG (配列番号 111)	CTRMGLRRSLYAMDYW (配列番号 186)
15E7	KSVSTSGYSY (配列番号 24)	LAS (配列番号 42)	CQHRELPLTF (配列番号 78)	GYSITSGY (配列番号 102)	ISYEGSN (配列番号 133)	CVRYFDYW (配列番号 175)
5D6	QDINSY (配列番号 27)	RAN (配列番号 48)	CLQYDEFPLTF (配列番号 79)	GYFTTYG (配列番号 111)	MNTYSGVP (配列番号 147)	CARGGLTTVVWDWYFDYW (配列番号 187)
48E1	ENIYSN (配列番号 12)	AAT (配列番号 49)	CQHFWGTPPTF (配列番号 80)	GYFTDY (配列番号 112)	INPNNGGT (配列番号 258)	CARSYRSSYVDYAMDYW (配列番号 188)
8G8	QDVGTA (配列番号 28)	WAS (配列番号 45)	CHQYTYPLTF (配列番号 81)	GYFTSNW (配列番号 95)	IYPGSDTT (配列番号 127)	CARFFSSPWFAWY (配列番号 164)
1F6	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQYEFPLTF (配列番号 50)	GYAFTNFF (配列番号 89)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMDYW (配列番号 158)
29H9	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQYEFPLTF (配列番号 50)	GFPFTNYL (配列番号 106)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMDYW (配列番号 158)
5F4	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQYEFPLTF (配列番号 50)	GYAFTNYL (配列番号 99)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMDYW (配列番号 158)
6H12	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	CLQYEFPLTF (配列番号 50)	GYAFTNYL (配列番号 99)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMDYW (配列番号 158)
5H8	ENIYSN (配列番号 12)	AAT (配列番号 49)	CQHFWGTPWTF (配列番号 82)	GYFTTYG (配列番号 111)	MNTYSGVP (配列番号 147)	CARGGLTTVVWDWYFDYW (配列番号 187)
6C4	KSVSTSGFNY (配列番号 29)	LAS (配列番号 42)	CQHSRELPFTF (配列番号 59)	GYTFTEYP (配列番号 113)	IYDTGEP (配列番号 148)	CVRGVLLSTVFMPEFAYW (配列番号 189)
16F12	QININW (配列番号 6)	KAS (配列番号 40)	CQGGQSYPLTF (配列番号 55)	GYFTGYW (配列番号 114)	ILSGSDST (配列番号 149)	CARRGLGLSFNNW (配列番号 190)
1E6	QININW (配列番号 6)	KAS (配列番号 40)	CQGGQSYPLTF (配列番号 55)	GNFTGYW (配列番号 115)	ILPGSDST (配列番号 150)	CTGRDLGISFNSW (配列番号 191)
30G7	QDVTTA (配列番号 30)	WAS (配列番号 45)	CQHYNTPLTF (配列番号 83)	GFTFSDYY (配列番号 108)	ISYGGGNT (配列番号 151)	CARQGEWYFDYW (配列番号 180)
10D7	QDVNSA (配列番号 31)	SAS (配列番号 39)	CQHYSFYPTF (配列番号 71)	GYAFTSYW (配列番号 116)	IYPGTNST (配列番号 152)	CARGLYFDYW (配列番号 192)

【表 6 - 4】

12G2	QSVDDYGDYSY (配列番号 32)	AAS (配列番号 36)	CQQINEDPFTF (配列番号 84)	GYTFTNYW (配列番号 93)	IDPSDTYT (配列番号 125)	CARRWLLHEMDYW (配列番号 160)
33D10	QSVDDYGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYTFTSYW (配列番号 94)	INPSNGGT (配列番号 77)	CAKEPIYDYDEAGFDHW (配列番号 170)
3B8	QSVDDYGDYSY (配列番号 33)	AAS (配列番号 36)	CQQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYSTSYW (配列番号 117)	IDPYDTYT (配列番号 153)	CARRWLLHKMDYW (配列番号 167)
48G9	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNWPLTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIYFWYFDVW (配列番号 161)
7G12	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNWPLTF (配列番号 57)	GYTFTDFE (配列番号 92)	IDPETGGS (配列番号 123)	CTIYFWYFDVW (配列番号 161)
4G3	QSIGTS (配列番号 4)	FAS (配列番号 38)	CQQSNWPLTF (配列番号 57)	GYTFTDYE (配列番号 97)	FDPETGGS (配列番号 154)	CTIYFWYFDVW (配列番号 161)
4B10	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列番号 41)	CQQSEFPWTF (配列番号 85)	GYAFTNFF (配列番号 89)	INPGSGGT (配列番号 120)	CARNDAMDYW (配列番号 158)
12E4	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列番号 41)	CQQSEFPWTF (配列番号 85)	WLPHASGY (配列番号 118)	IYDGN (配列番号 155)	CGRYFNGW (配列番号 193)
1F12	KSVSTSGYSY (配列番号 24)	STS (配列番号 44)	CQQSGYPSTF (配列番号 86)	GYTFTNYW (配列番号 93)	INPSNGGT (配列番号 77)	CAKEPIYDYDEAGFDYW (配列番号 194)
3B3	QDVTKP (配列番号 34)	SAS (配列番号 39)	CHQHSFPYTF (配列番号 87)	GYTFTSYW (配列番号 94)	ILPHIGYP (配列番号 156)	CTQPLFYHVV (配列番号 195)
33G2	SSVSY (配列番号 23)	EIS (配列番号 260)	CQQWNYPLTF (配列番号 88)	GYTFTTYG (配列番号 111)	INTYSGVP (配列番号 157)	CARRGSDGFRLDYW (配列番号 196)
15A10	KSVSTSGYSY (配列番号 24)	LAS (配列番号 42)	QHIRELPYT (配列番号 203)	GYAFSSSW (配列番号 109)	IYPGDGGT (配列番号 143)	TPAYYSNYGAWFAY (配列番号 245)
14E7	QDIVKN (配列番号 1)	YAT (配列番号 35)	LQYEFPLT (配列番号 204)	GFAFTNYL (配列番号 224)	INPGSGGT (配列番号 120)	ARNDAMDY (配列番号 246)
3E5	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配列番号 41)	QCGNTLPWT (配列番号 205)	GYTFTSYW (配列番号 94)	IYPGSGNT (配列番号 139)	TRGFLYFDV (配列番号 247)
5A7	QGISNY (配列番号 25)	YTS (配列番号 41)	QYSKLPWT (配列番号 206)	GYTFTAYG (配列番号 217)	INTYSGVP (配列番号 157)	ARGGLTTVWDWYFDV (配列番号 233)
30A6	QSVDDYGDYSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	QQINEDPFT (配列番号 207)	EYFTDYY (配列番号 218)	INPYNGGI (配列番号 231)	ARGGRTL (配列番号 234)
51B8	QNVGTN (配列番号 197)	SAS (配列番号 39)	QQYNYRPLT (配列番号 208)	GYTFTRYW (配列番号 219)	HPNSGST (配列番号 232)	GQYGYDWDYFDY (配列番号 235)
15D6	SSVSSSY (配列番号 87)	SIS (配列番号 201)	CQQWSSNPILV (配列番号 209)	GYFTSYW (配列番号 220)	IDPSDSYT (配列番号 122)	ARRWLLREMDY (配列番号 236)
4G8	QMINVW (配列番号 6)	KAS (配列番号 40)	QCGQSYPLT (配列番号 210)	GYTFTSYW (配列番号 94)	FNPNGNA (配列番号 226)	AREGFSAGY (配列番号 237)

【 0 3 9 3 】

10

20

30

40

【表 6 - 5】

10D6	QDVGTA (配列番号 28)	WAS (配列番号 45)	QQYITYPLT 号 211)	GYTFTSNW (配列番号 221)	YPGGDTT (配列番号 227)	ARFFSSPWFAY (配列番号 238)
6D6	SSVSSSC (配列番号 11)	STS (配列番号 44)	QQYSGYPS 号 212)	GYTFTSYW (配列番号 94)	INPSNGGT (配列番号 77)	AKEPIYDYDEAGFDH (配列番号 239)
2G11	QDIVNY (配列番号 13)	YTS (配列番号 41)	QQYNKLPWT 番号 213)	GYTFTNYD (配列番号 222)	IYPRSGNA (配列番号 228)	ASRRRLCYGL (配列番号 240)
50C3_G2A	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配列番号 41)	QQGNMLPWT 番号 214)	GYTFTGYG (配列番号 103)	IYPRSSNT (配列番号 135)	ARREGAPYAMDY (配列番号 241)
6G8	QGINNY (配列番号 199)	YTS (配列番号 41)	QQYSKLPWT	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配列番号 132)	ARHPYYSYVVEDWFAY (配列番号 242)
50C3_G1	QIVDYDGSY (配列番号 200)	AAS (配列番号 36)	QQSNEDPFT 番号 215)	GYTFTTEY (配列番号 223)	INPYNGGT (配列番号 229)	QQPHLSHWVIXVS (配列番号 243)
5G5	KSVSTSGYSY (配列番号 24)	LVS (配列番号 202)	QHIRELT (配列番号 216)	GYTFTNHL (配列番号 225)	IHPNTTDT (配列番号 230)	AREGRGWYFDV (配列番号 244)
1D6	QDINSY (配列番号 27)	RAN (配列番号 48)	CLQYDELLTF (配列番号 250)	GYTFTGYW (配列番号 114)	ILPGSGST (配列番号 255)	CARGGIYGYPTGFAYW (配列番号 146)
20D3	ENIYSN (配列番号 12)	GAT (配列番号 249)	CQHFWDTPLTF (配列番号 251)	GYTFTTYT (配列番号 252)	INPNSDYT (配列番号 254)	CARGESITTVVADWYFDVW (配列番号 257)
4G10	QDVSA (配列番号 248)	SAS (配列番号 39)	CQHYSFYPTF (配列番号 71)	GYTFTSYW (配列番号 94)	INPGSGST (配列番号 256)	CARGFLYFDVW (配列番号 169)
6H2	QDVSA (配列番号 31)	SAS (配列番号 39)	CQHYSFYPTF (配列番号 71)	GYTFTTYG (配列番号 111)	MYPGSGNT (配列番号 131)	CARGFLYFDVW (配列番号 169)
30F1						
10B4	QSVDYDGSY (配列番号 3)	AAS (配列番号 36)	CQSNEDPFTF (配列番号 52)	GYFTNYW (配列番号 377)	IDPSDTYT (配列番号 125)	CARRWLLXKMDYW, ここで X は任意のアミノ酸である (配列番号 378)
4F12	XSLENSNGNTY, ここで X は任意のアミノ酸 である (配列番号 176)	RVS (配列番号 253)	CLQVTHVPFTF (配列番号 362)	GFTFSNYA (配列番号 363)	ITDGGTYT (配列番号 364)	CARDDYYGSSYLGFAFYW (配列番号 365)
4G7						
7B7	CSGCTYAWKHL (配列番号 374)	RXS, ここで X は任意 のアミノ酸である (配 列番号 375)	CFQGSHPWPWF (配列番号 376)	GFTFSNYG (配列番号 101)	TSSGGNST (配列番号 132)	CARHPYYSYVVEDWFAYW (配 列番号 171)
9B1	QDISNY (配列番号 7)	YTS (配列番号 41)	CQQNTLPWTF (配列番号 119)	GYTFTNYG (配列番号 267)	IYPRSGNT (配列番号 138)	CARREGAPYAMDYW (配 列番号 174)
11E5	QDIRNY (配列番号 18)	YTS (配列番号 41)	CQQGNTLPWTF (配列番号 69)	GYTFTSYG (配列番号 107)	IYPRSGNT (配列番号 138)	CARREGAPYTMDYW (配 列番号 178)

【表 7 - 1】

表 6.

ID	カッパ VJ 対立遺伝子		重鎖 VJD 対立遺伝子	
	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子
1F1	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-53*01 F	IGHJ2*01 F (a)
10D8	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
10G7	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
1H3	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F
6C3	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F
16F4	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
3G6	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
4E2	IGKV6-17*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-74*01 F	IGHJ3*01 F, IGHJ3*02 P
9H9	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
13H1	IGKV15-103*01 ORF	IGKJ1*01 F	IGHV1-9*01 F	IGHJ2*01 F (a)
6F2	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
51A12	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F
50C3	IGKV10-96*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
4B6	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F
47F11	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F
7H1	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F (b)	IGHV1-54*01 F	IGHJ4*01 F
4H5	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-54*01 F	IGHJ4*01 F
29G3	IGKV3-12*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-18*01 F	IGHJ2*01 F
51G7	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F
6E7	IGKV1-88*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-19*01 F	IGHJ4*01 F
51D3	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F
6H6	IGKV4-78*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-53*01 F	IGHJ2*01 F (a)
17A3	IGKV12-46*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV5-6*01 F, IGHV5-6-1*01 F	IGHJ3*01 F
8B5	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F

【 0 3 9 5 】

10

20

30

40

【表 7 - 2】

ID	カッパ VJ 対立遺伝子		重鎖 VJD 対立遺伝子		
	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子	D-GENE および対立遺伝子
4E7	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
6A9	IGKV12-46*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV5-6*01 F, IGHV5-6-1*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD2-5*01 F
50B9	IGKV10-96*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-81*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD6-3*01 F
15C6	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
17H7	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-54*01 F, IGHV1-54*02 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-13*01 F
10B10	IGKV6-23*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV13-2*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD1-1*01 F
11A5	IGKV10-96*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-81*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD6-3*01 F
4D3	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F, or IGHV3-6*02 F	IGHJ3*01 F	IGHD1-1*01 F
5C12	IGKV6-17*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-55*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD3-1*01 F
6F1	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
4A5	IGKV6-25*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV5-12*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-14*01 F
5A3	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	s IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
51H9	IGKV4-68*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-64*01 F	IGHJ2*01 F	IGHD1-1*01 F
12H6	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
10C5	IGKV3-12*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-82*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD2-5*01 F
8G10	IGKV4-68*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-64*01 F	IGHJ2*01 F	IGHD1-1*01 F
11B2	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
29G2	IGKV4-72*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-64*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD1-1*01 F
33A12	IGKV8-24*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV9-3*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-4*01 F
15E7	IGKV3-12*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-26*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD1-1*01 F
5D6	IGKV14-111*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV9-3*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD1-1*01 F
48E1	IGKV12-46*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-26*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD1-1*01 F
8G8	IGKV6-23*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-55*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD1-2*01 F
1F6	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-54*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-13*01 F

【 0 3 9 6 】

10

20

30

40

【表 7 - 3】

ID	カップ VJ 対立遺伝子		重鎖 VJD 対立遺伝子		
	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子	D-GENE および対立遺伝子
29H9	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-54*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-13*01 F
5F4	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-54*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-13*01 F
6H12	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-54*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-13*01 F
5H8	IGKV12-46*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV9-3*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD1-1*01 F
6C4	IGKV3-12*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV9-1*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD2-2*01 F
16F12	IGKV15-103*01 ORF	IGKJ1*01 F	IGHV1-9*01 F	IGHJ2*01 F (a)	IGHD3-1*01 F
1E6	IGKV15-103*01 ORF	IGKJ1*01 F	IGHV1-9*01 F	IGHJ2*01 F (a)	IGHD1-1*02 F
30G7	IGKV6-25*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV5-12*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-14*01 F
10D7	IGKV6-17*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-55*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD3-3*01 F
12G2	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-3*01 F
33D10	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-53*01 F	IGHJ2*01 F (a)	IGHD2-4*01 F
3B8	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-3*01 F
48G9	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
7G12	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
4G3	IGKV5-48*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-15*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
4B10	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-54*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-13*01 F
12E4	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-6*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-1*01 F
1F12	IGKV4-78*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-53*01 F	IGHJ2*01 F (a)	IGHD2-4*01 F
3B3	IGKV6-17*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1S20*02 F	IGHJ1*03 F	IGHD6-2*02 F
33G2	IGKV4-86*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV9-3*01 F	IGHJ2*01 F (a)	IGHD1-1*01 F
5G5	IGKV4-59*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-64*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD2-14*01 F
15A10	IGKV3-12*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-82*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD2-5*01 F
14E7	IGKV14-130*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV4-1*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD2-5*01 F
3E5	IGKV10-96*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-55*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD3-1*01 F
5A7	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV9-3*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD1-1*01 F

【 0 3 9 7 】

10

20

30

40

【表 7 - 4】

ID	カッパ VJ 対立遺伝子		重鎖 VJD 対立遺伝子		
	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子	V-GENE および対立遺伝子	J-GENE および対立遺伝子	D-GENE および対立遺伝子
30A6	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-3*01 F
51B8	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-64*01 F	IGHJ2*01 F	IGHD2-2*01 F
15D6	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-59*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-3*01 F
4G8	IGKV6-23*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-53*01 F	IGHJ2*01 F (a)	IGHD1-2*01 F
10D6	IGKV6-23*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-55*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD1-2*01 F
6D6	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-53*01 F	IGHJ2*01 F (a)	IGHD2-4*01 F
2G11	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-81*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD2-4*01 F
50C3_G 2A	IGKV10-96*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV1-81*01 F	IGHJ4*01 F	IGHD6-3*01 F
6G8	IGKV10-94*01 F	IGKJ1*01 F	IGHV5-6*01 F or IGHV5.6-1*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD2-5*01 F
50C3_G 1	IGKV3-4*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV1-19*01 F	IGHJ3*01 F (b)	IGHD1-2*01 F
1D6	IGKV14-111*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-9*01 F	IGHJ3*01 F	IGHD2-1*01 F
20D3	IGKV12-46*01 F	IGKJ5*01 F	IGHV1-4*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD1-1*01 F
4G10	IGKV6-17*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-55*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD3-1*01 F
6H2	IGKV6-17*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV1-55*01 F	IGHJ1*03 F	IGHD3-1*01 F
30F1					
10B4					
4F12					
4G7					
7B7					
11E5					

【0398】

他の実施形態

本発明は、その詳細な説明と併せて記載されてきたが、上述の説明は例示を意図し、添付の特許請求の範囲によって規定される本発明の範囲を限定しないことが理解される。他の態様、利点および改変は、以下の特許請求の範囲内である。

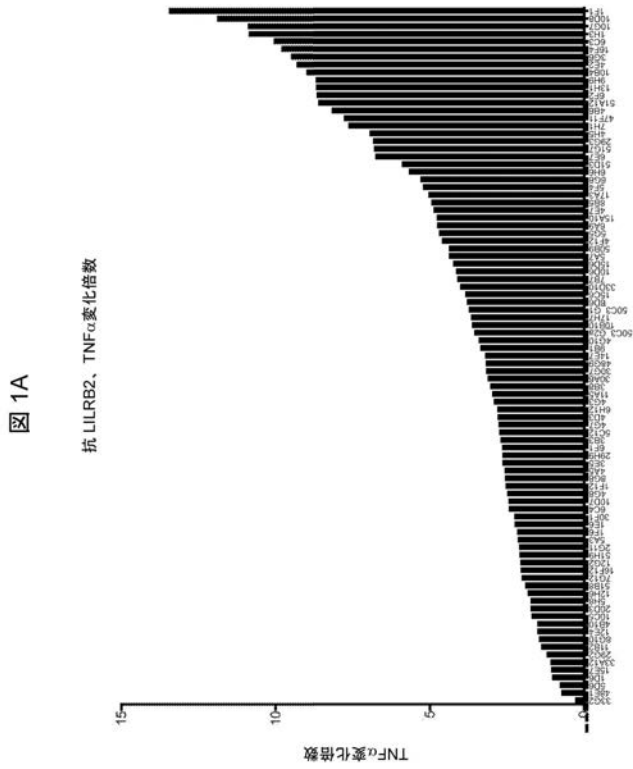
10

20

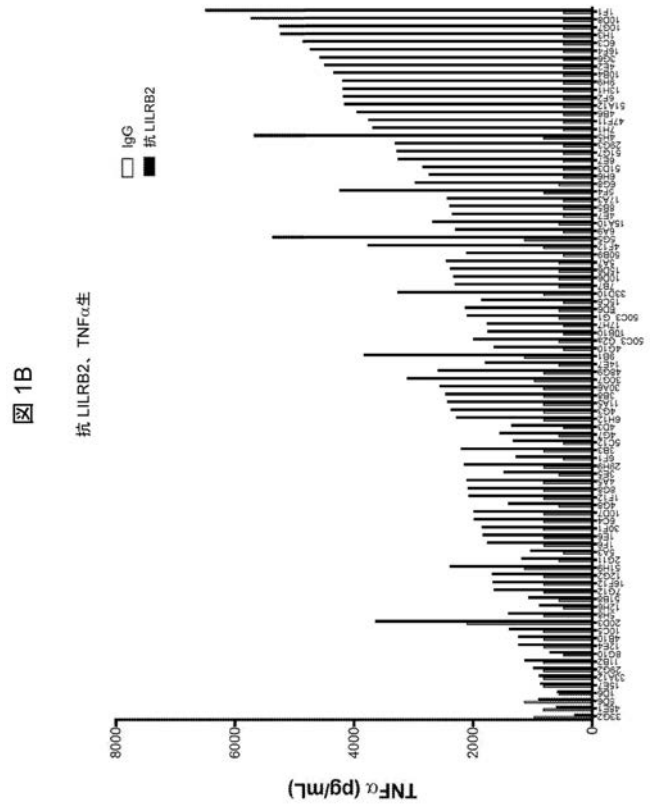
30

40

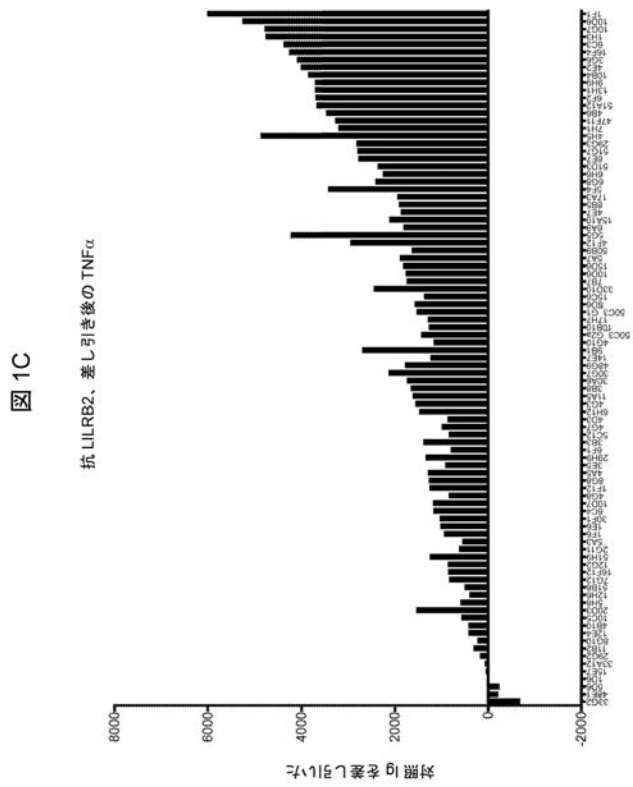
【図 1 - 1】



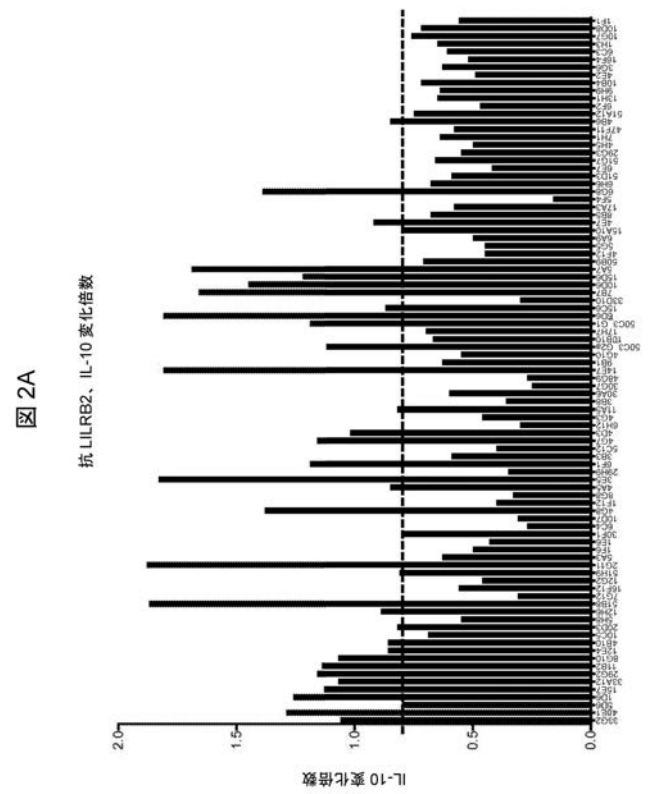
【図 1 - 2】



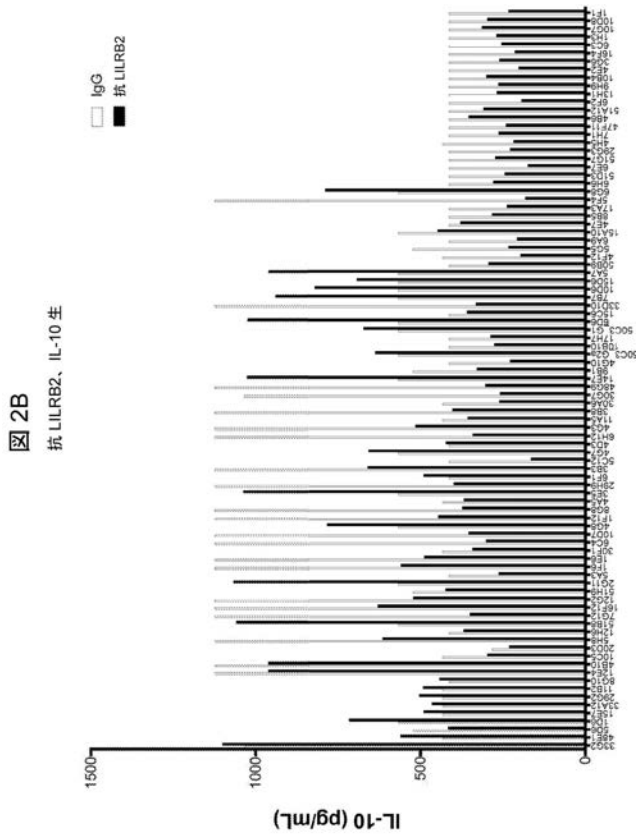
【図 1 - 3】



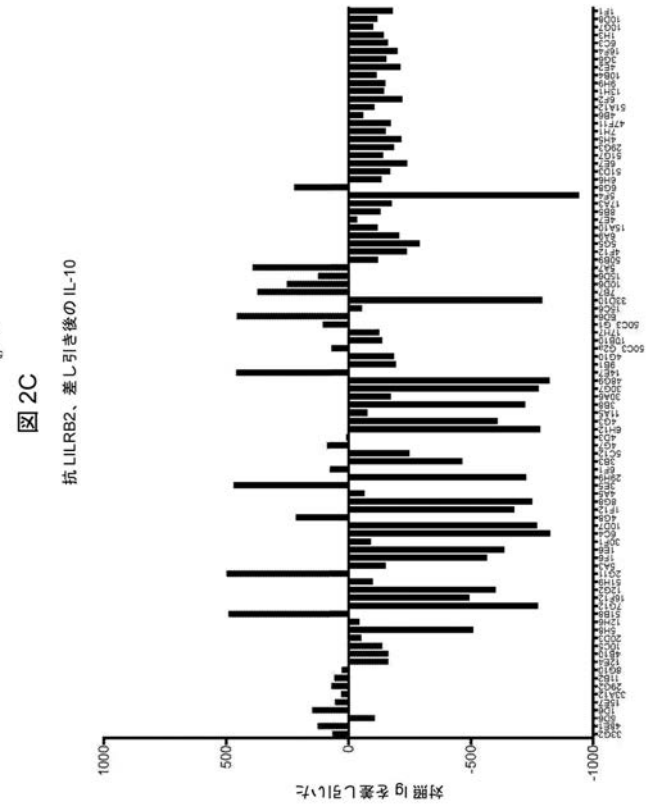
【図 2 - 1】



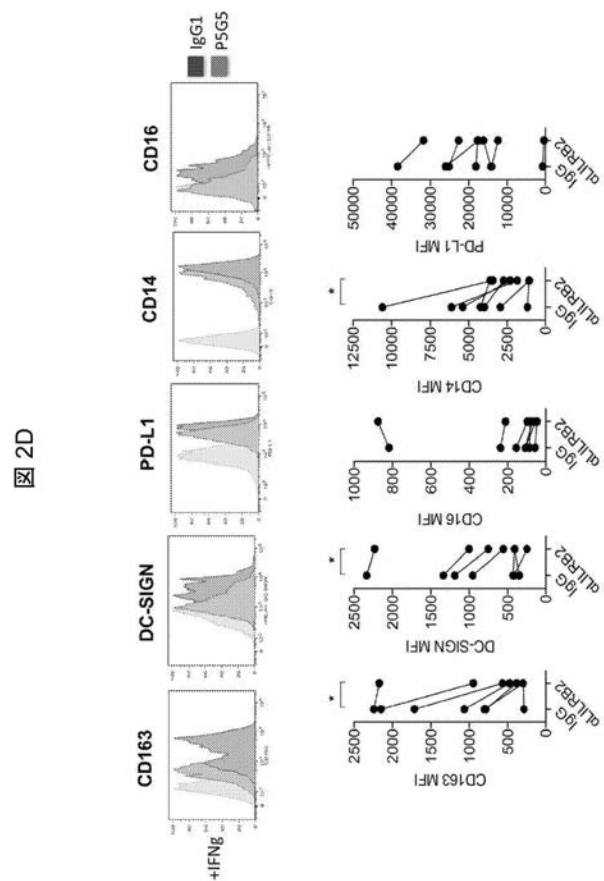
【図 2 - 2】



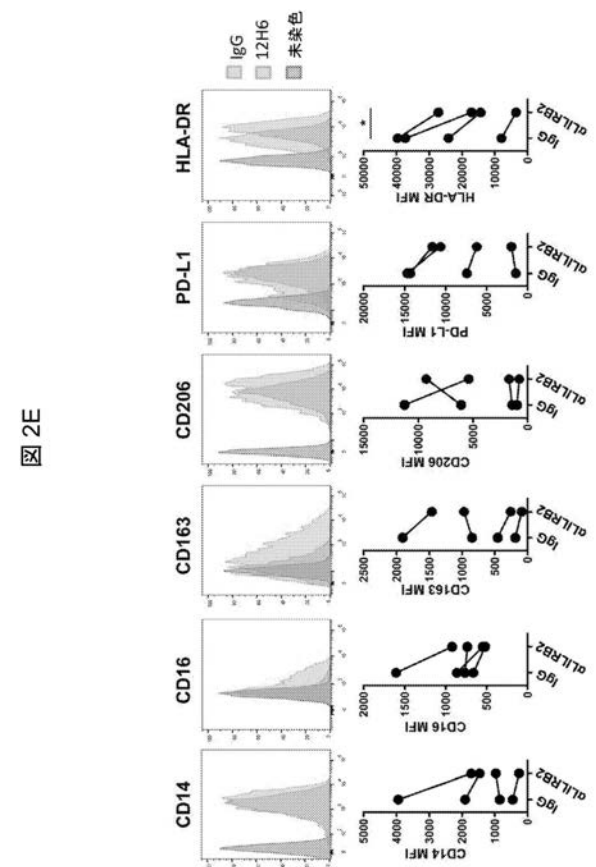
【図 2 - 3】



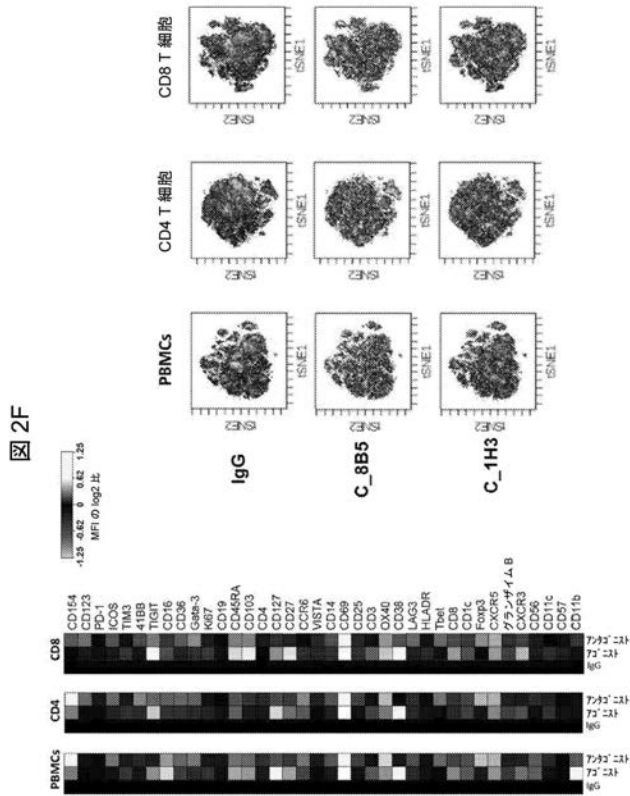
【図 2 - 4】



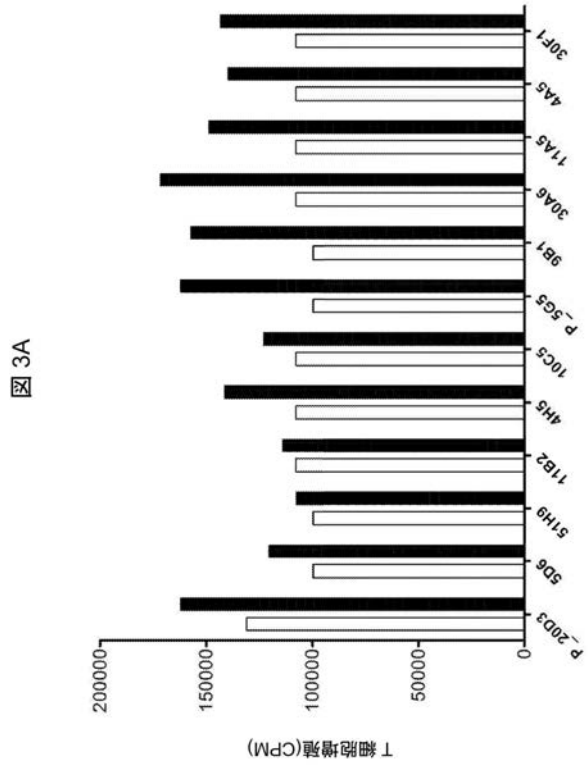
【図 2 - 5】



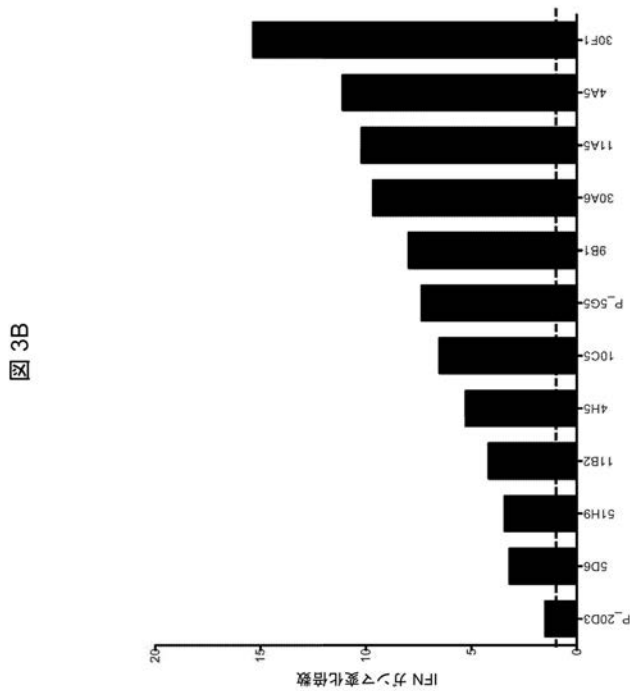
【図 2 - 6】



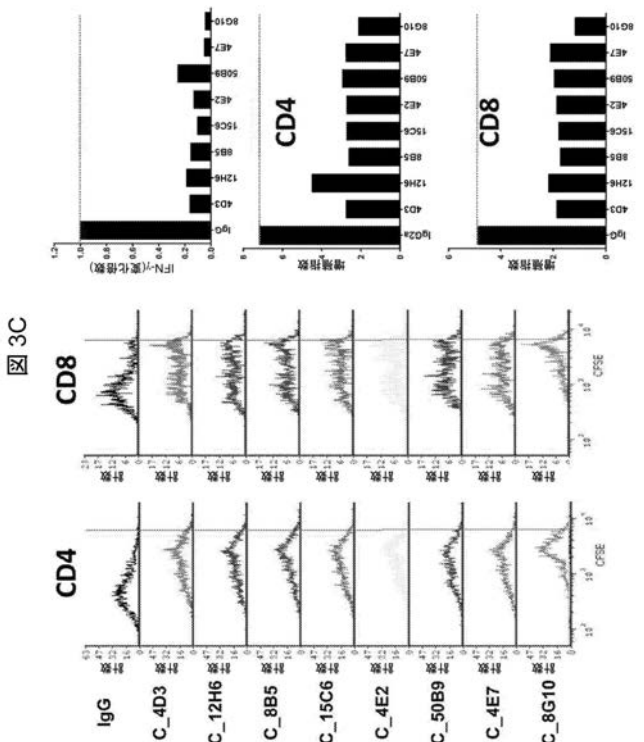
【図 3 - 1】



【図 3 - 2】

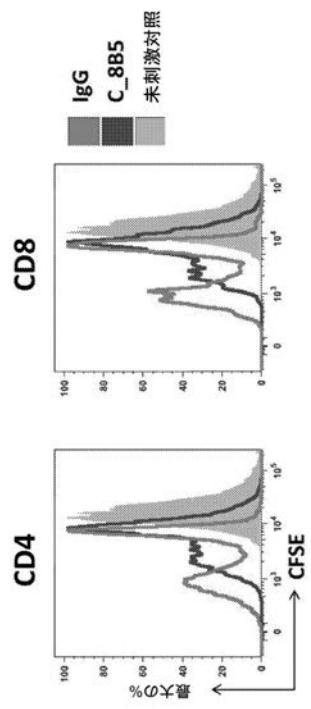


【図 3 - 3】



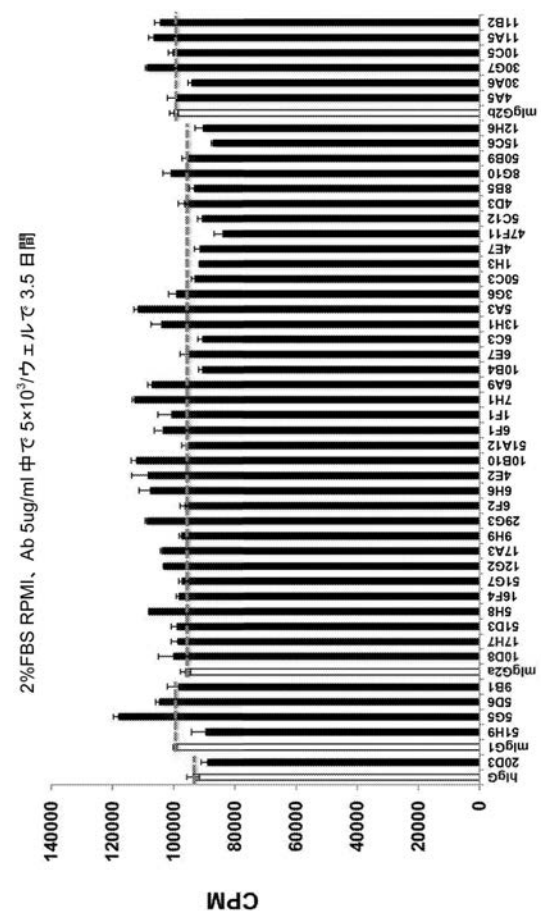
【 図 3 - 4 】

図 3D



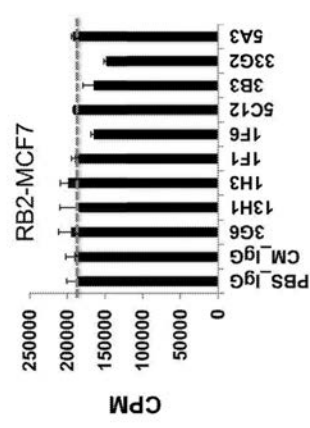
【 図 4 - 1 】

図 4A



【 図 4 - 2 】

図 4B



【 図 5 】

図 5B

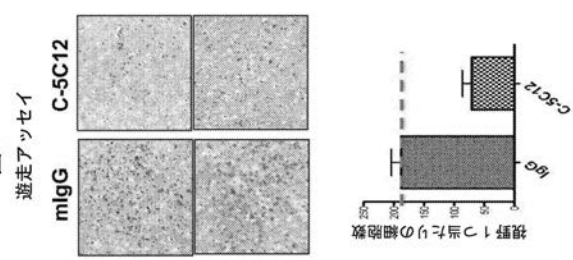
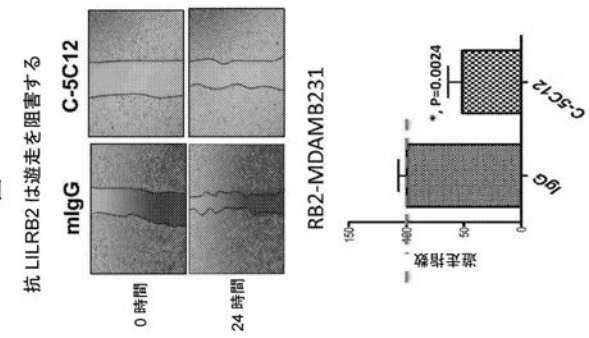
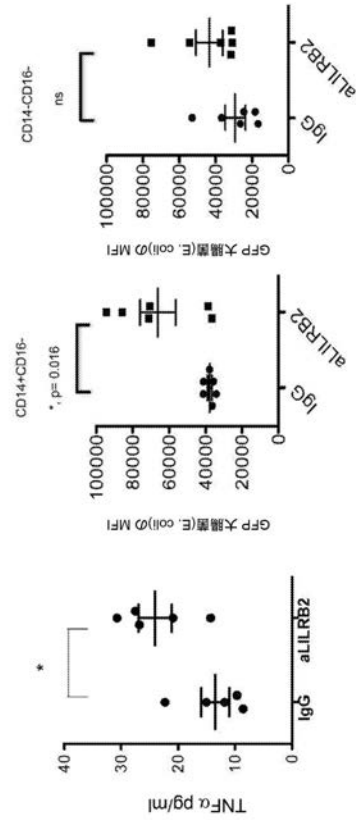


図 5A



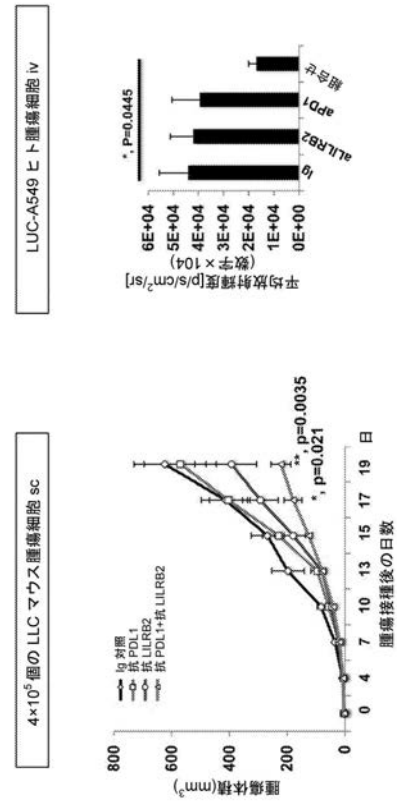
【図 6-1】

図 6A



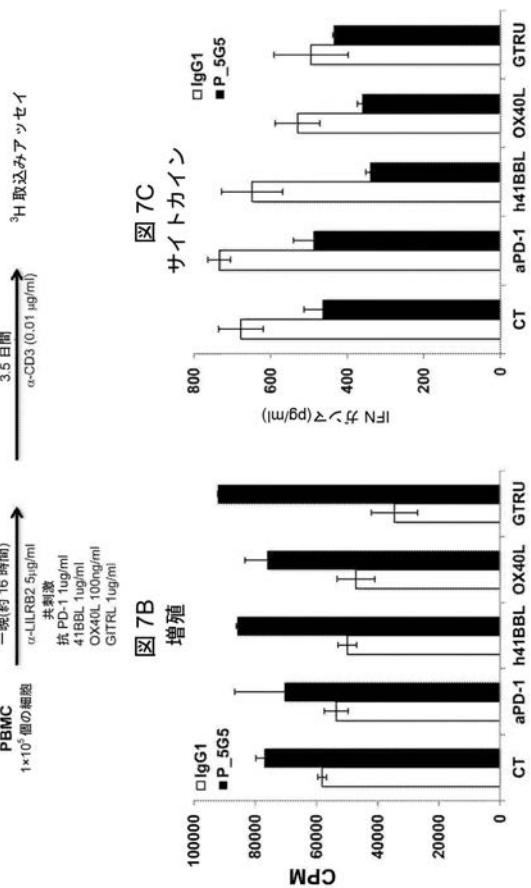
【図 6-2】

図 6C



【図 7】

図 7A



【図 8】

図 8B

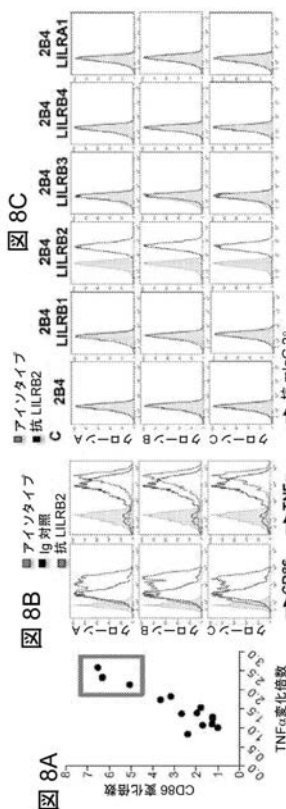


図 8C

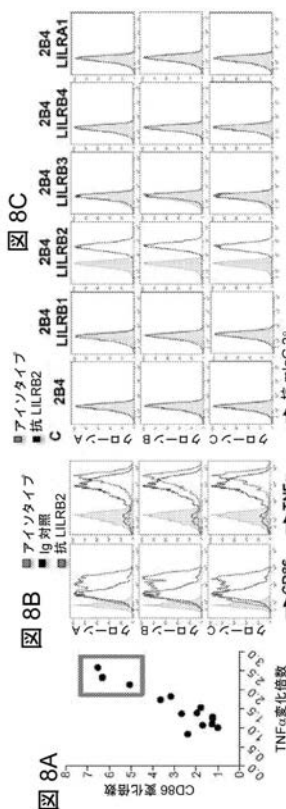


図 8D

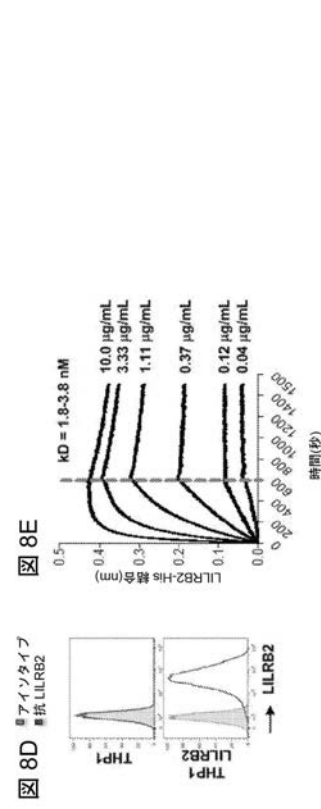
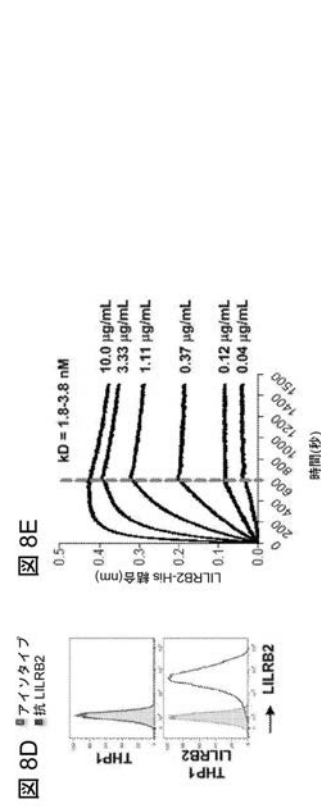
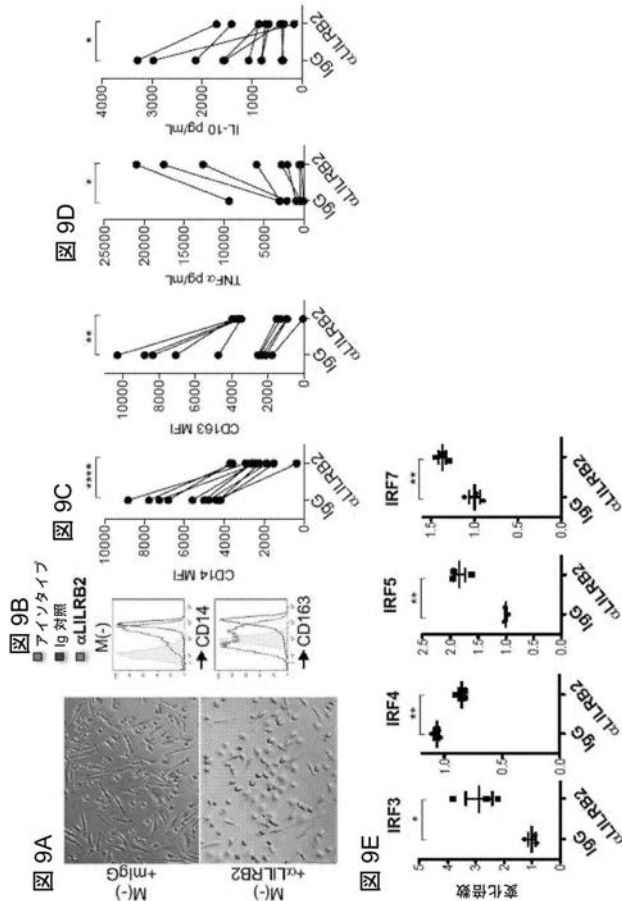


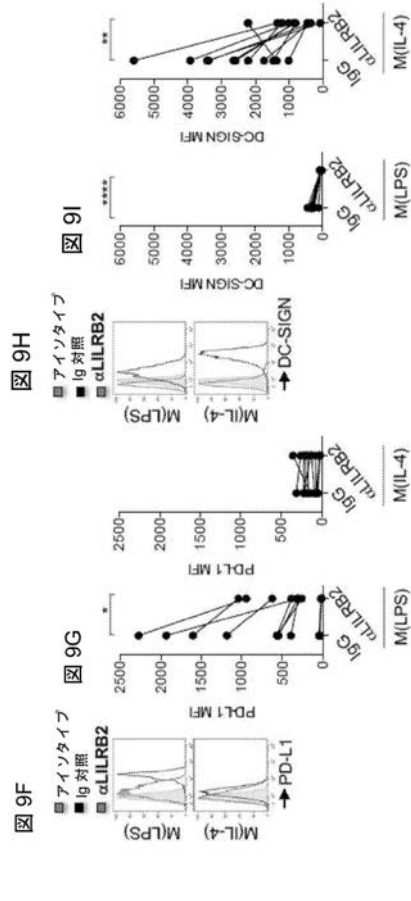
図 8E



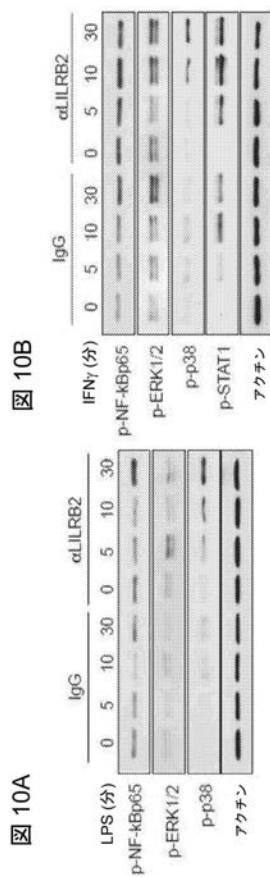
【図 9-1】



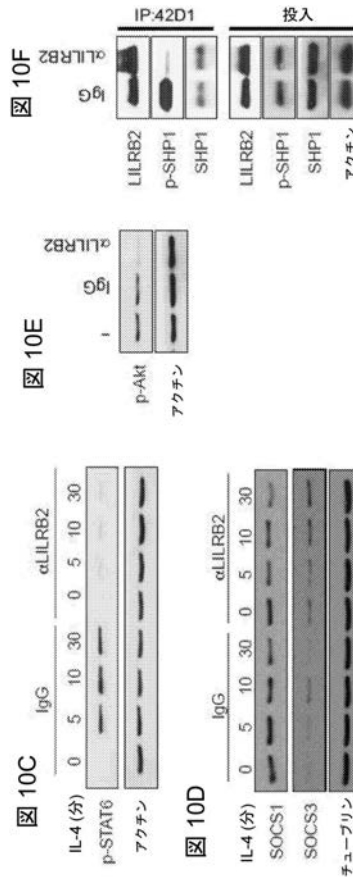
【図 9-2】



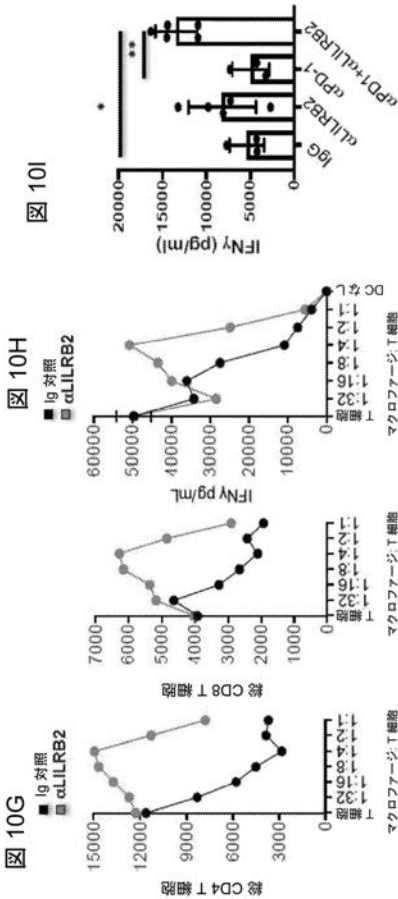
【図 10-1】



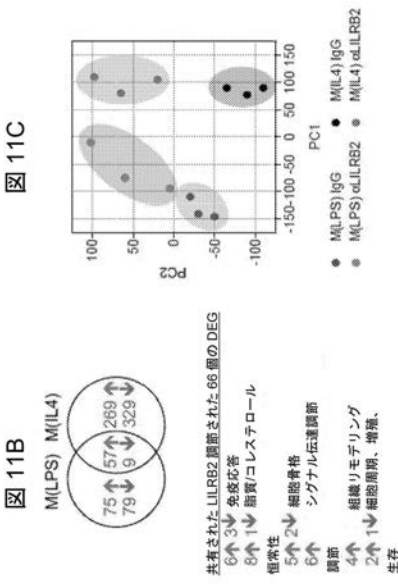
【図 10-2】



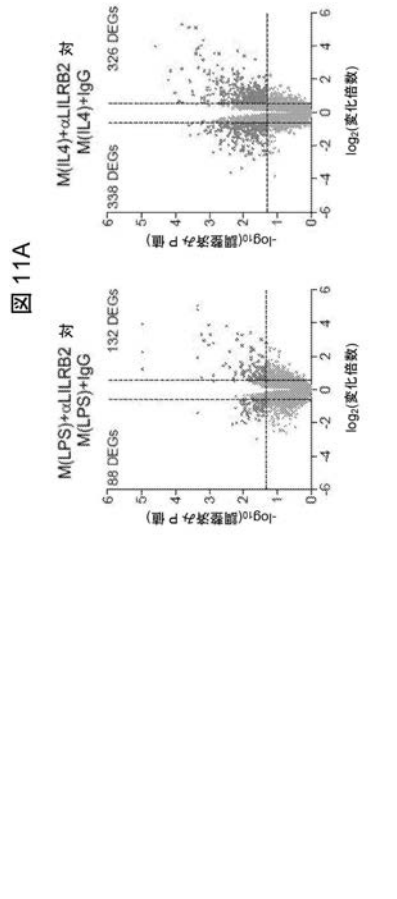
【図 10 - 3】



【図 11 - 1】



【図 11 - 1】



【図 11 - 3】

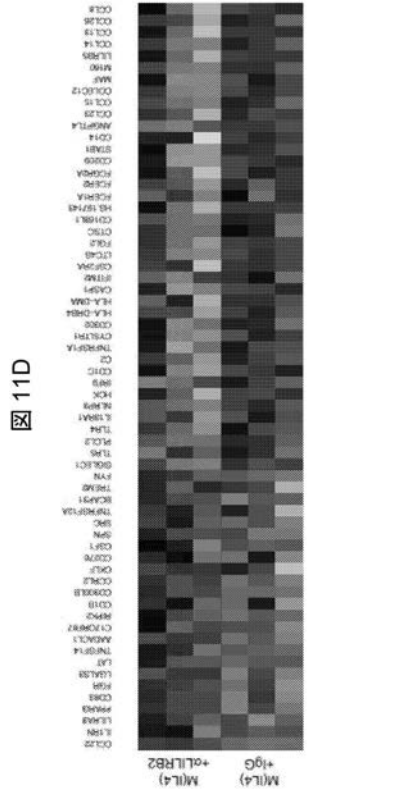
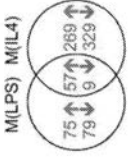


図 11B

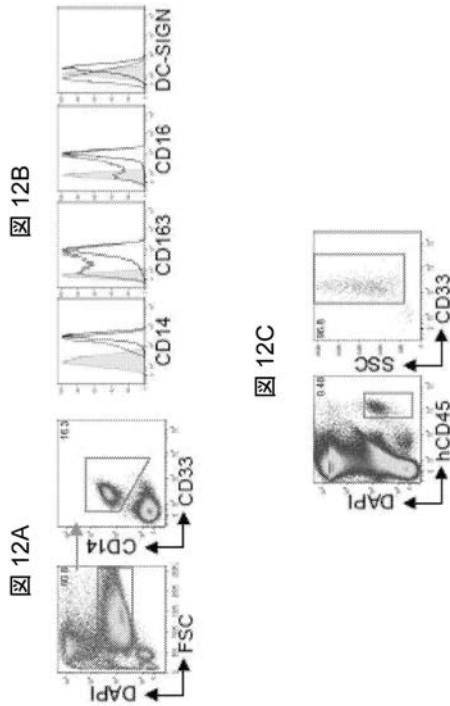


共有された IL1RB2 誘導された 66 個の DEGs

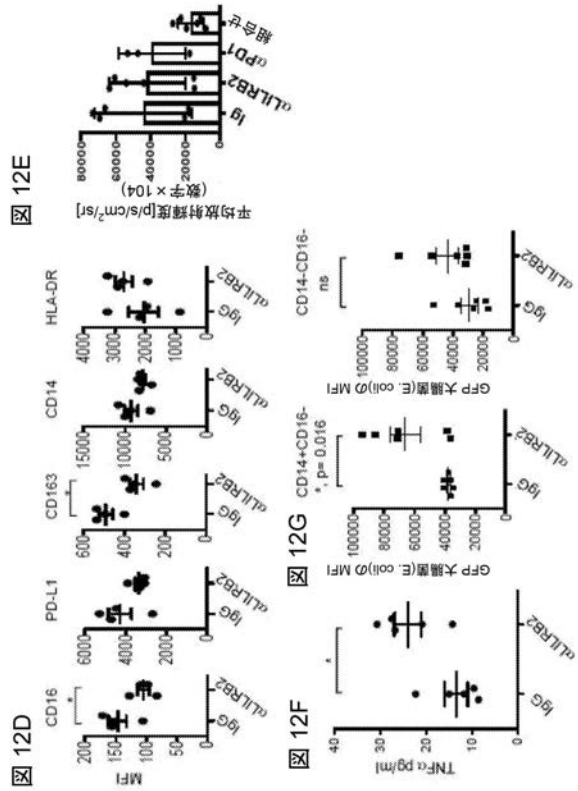
- 6 免疫応答
- 8 脂肪/コレステロール
- 恒常性
- 5 細胞骨格
- 6 シグナル伝達調節
- 調節
- 4 組織リモデリング
- 2 細胞周期、増殖、
- 生存
- 7 細胞表面分子
- 2 ストレス応答性
- 2 代謝
- 9 その他
- 8 未知、N/A

図 11D

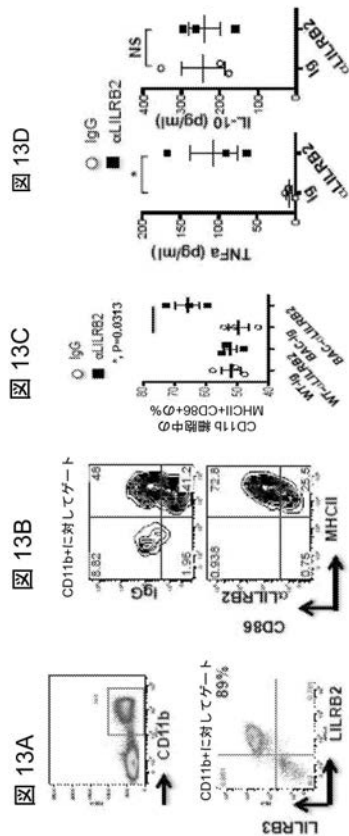
【図 12-1】



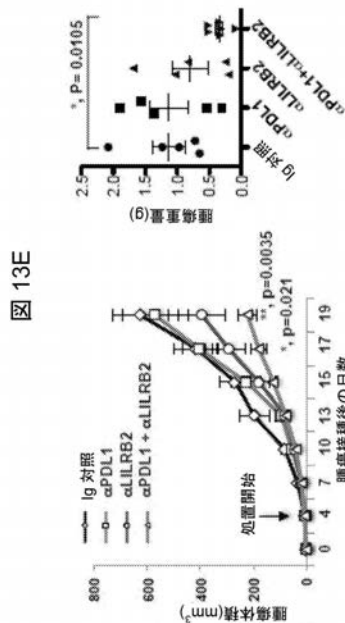
【図 12-2】



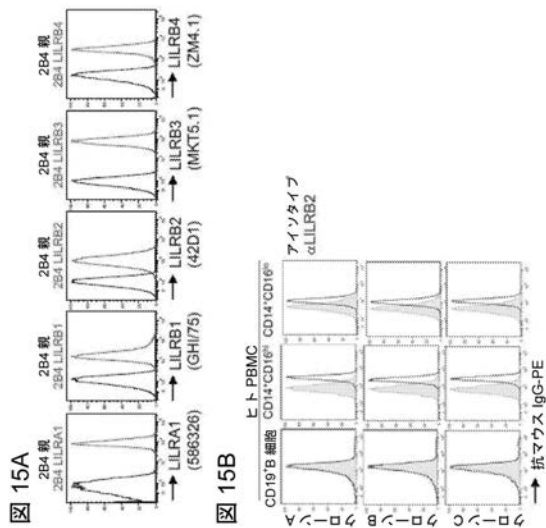
【図 13-1】



【図 13-2】



【図 15】



【図 18-1】

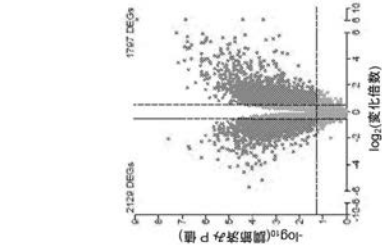


図 18A

【図 18-2】

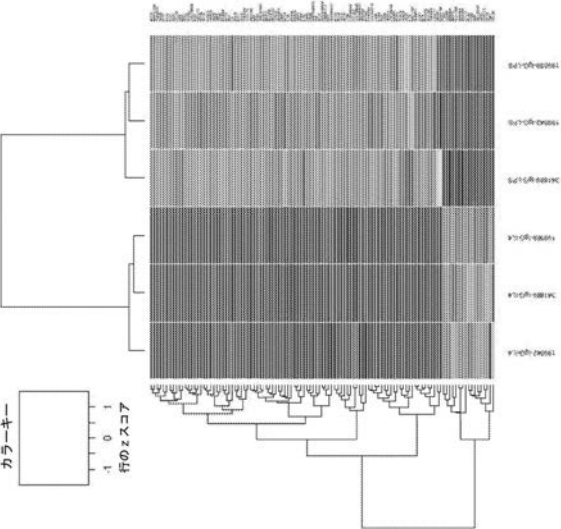


図 18B

【図 18-3】

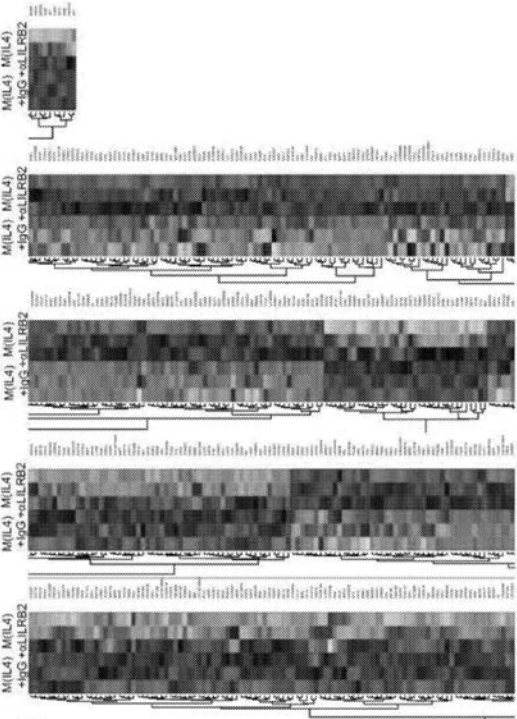


図 18C

【図 18-4】

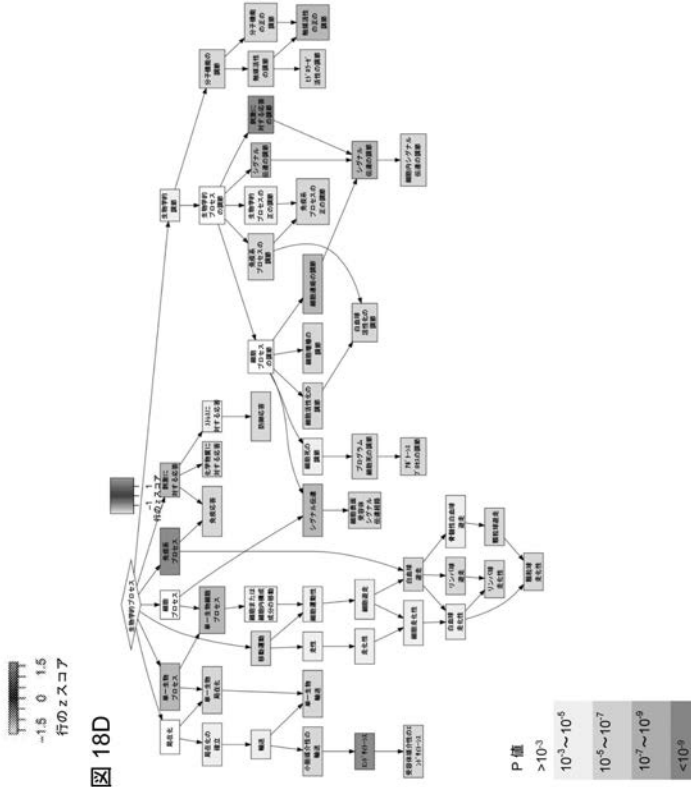


図 18D

【図 18-5】

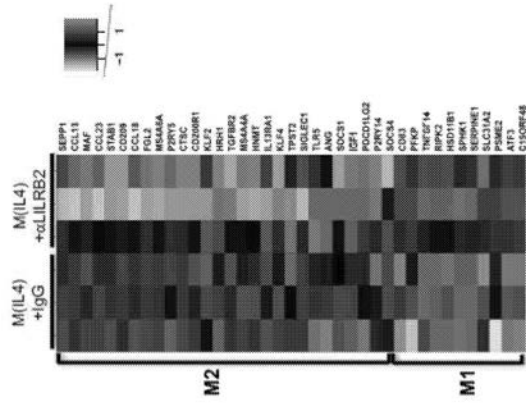
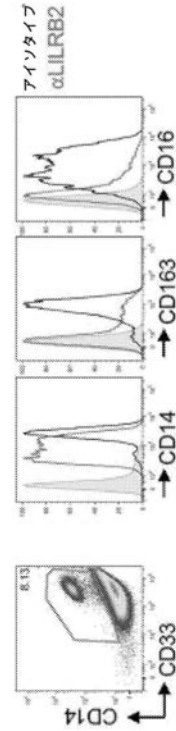


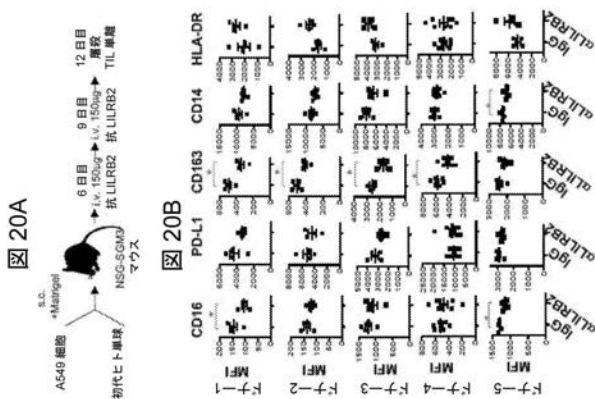
図 18E

【図 19】

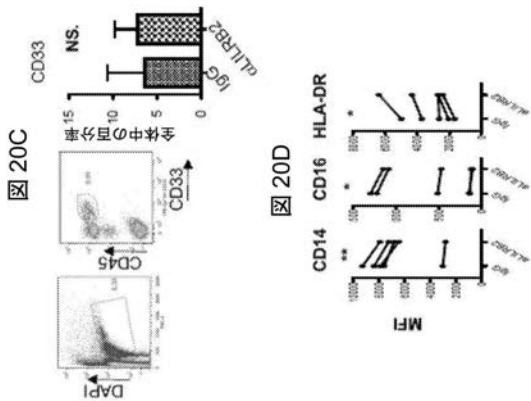
図 19



【図 20-1】

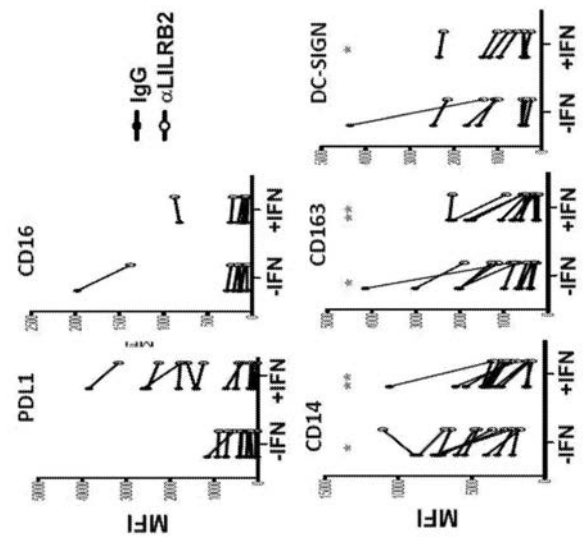


【図 20-2】

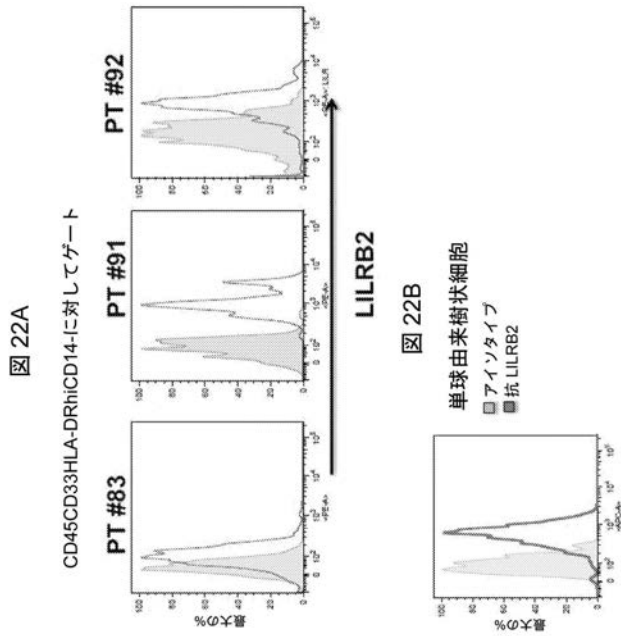


【図 21】

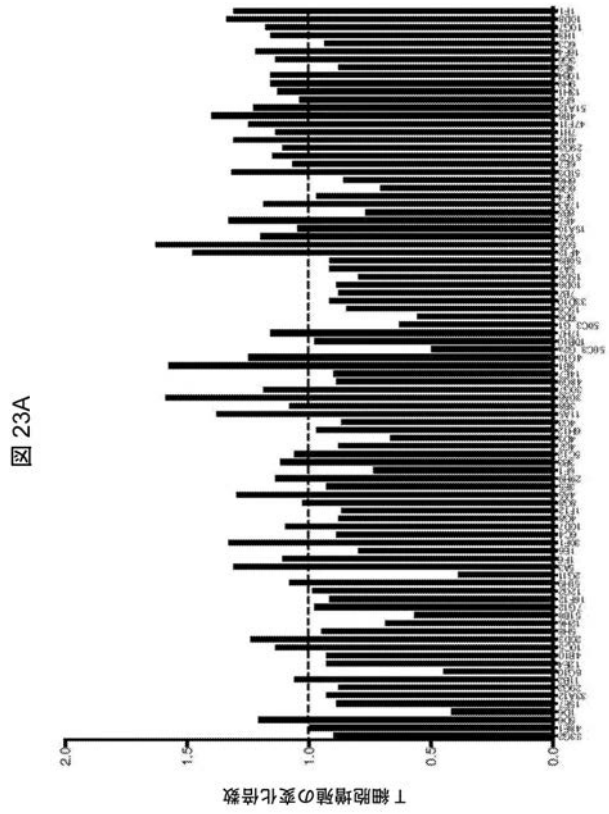
図 21



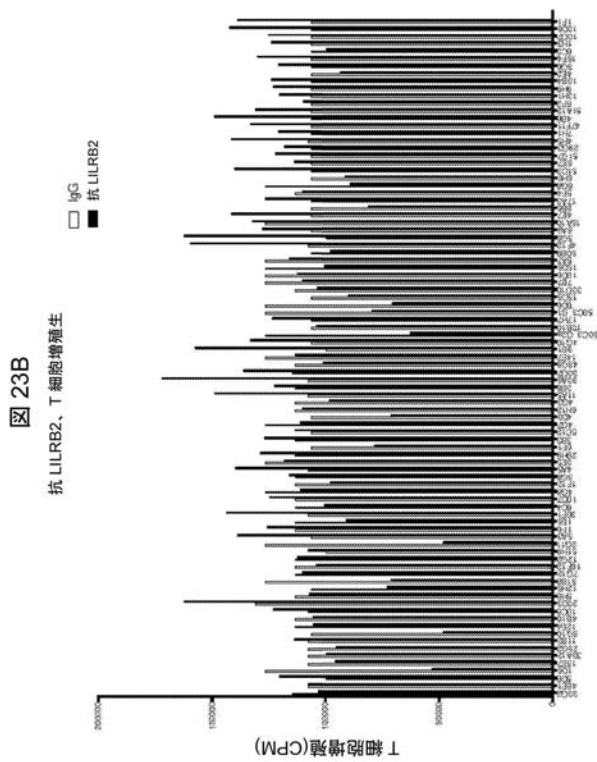
【図 2 2】



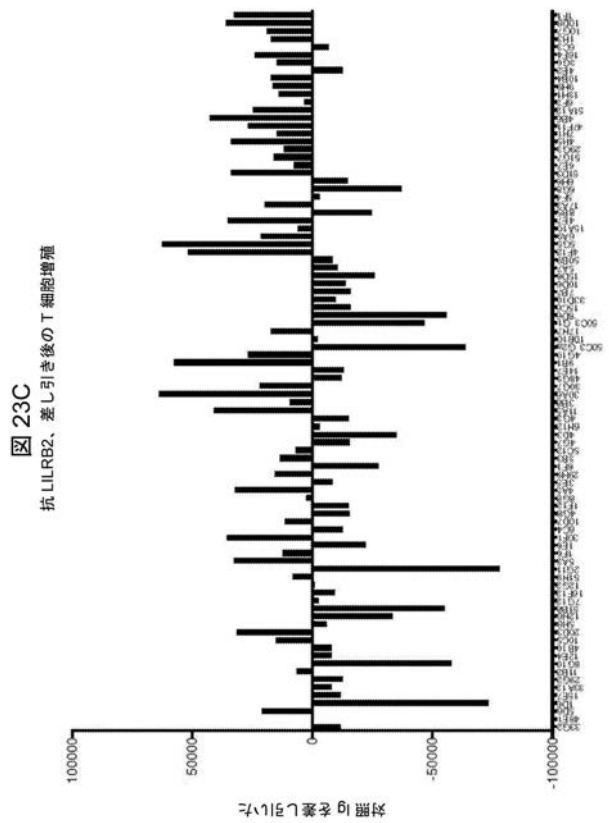
【図 2 3 - 1】



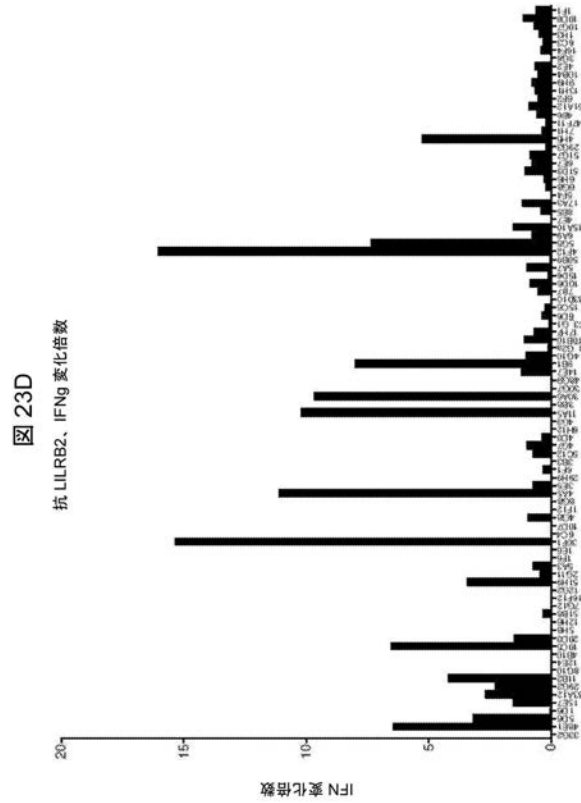
【図 2 3 - 2】



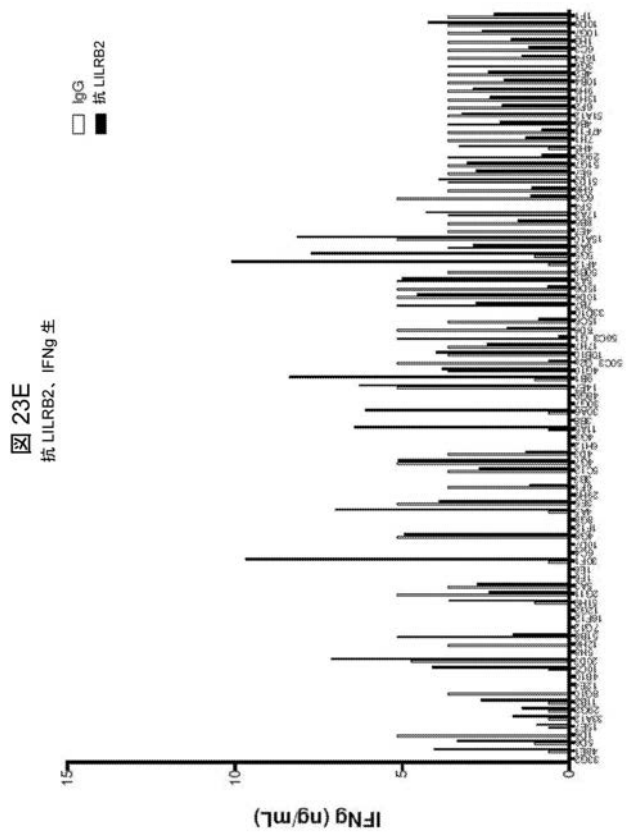
【図 2 3 - 3】



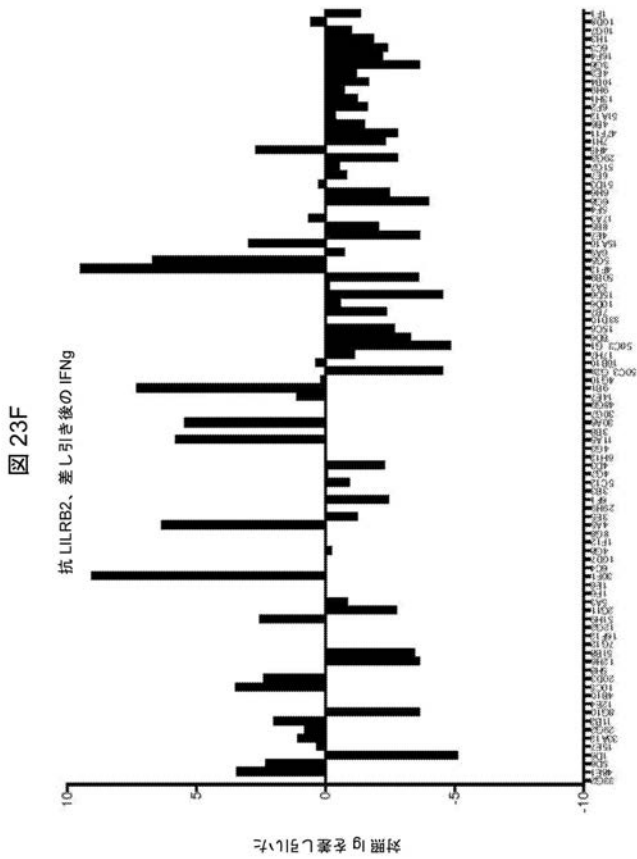
【図 2 3 - 4】



【図 2 3 - 5】



【図 2 3 - 6】

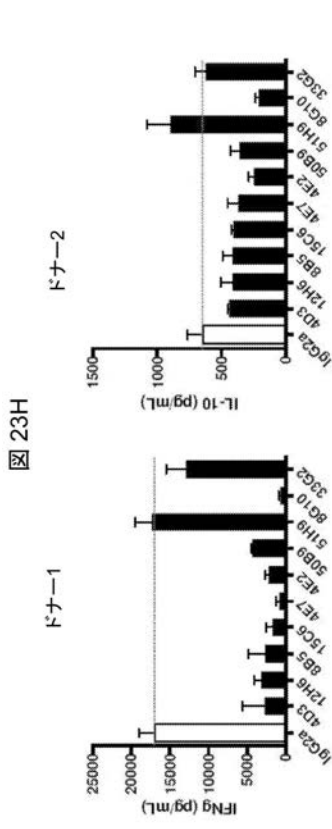


【図 2 3 - 7】

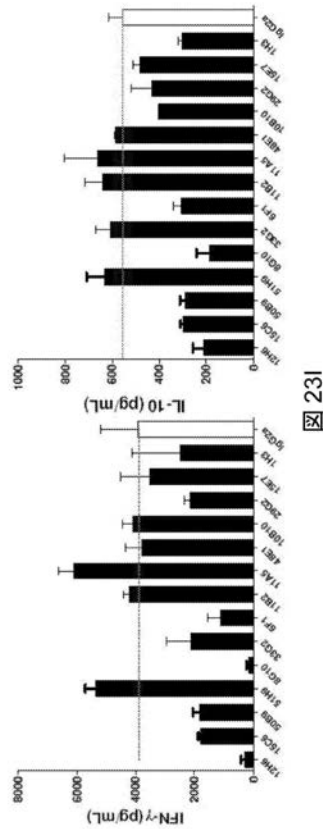
図 23G

アイソタイプ	B1	B2	B3	B4	A1	A2	A4	A5	A6
4D3	-	X	-	-	X	-	-	-	-
12H6	-	X	-	-	X	-	-	-	-
8B5	-	X	-	-	X	-	-	-	-
15C6	-	X	-	-	X	-	-	-	X
4E7	-	X	-	-	X	-	-	-	X
4E2	-	X	-	-	X	-	-	-	-
8G10	-	X	-	-	X	-	-	-	-
50B9	-	X	-	-	X	-	-	-	-
33G2	-	X	-	-	X	-	-	-	-
51H9	-	X	-	-	X	-	-	-	X

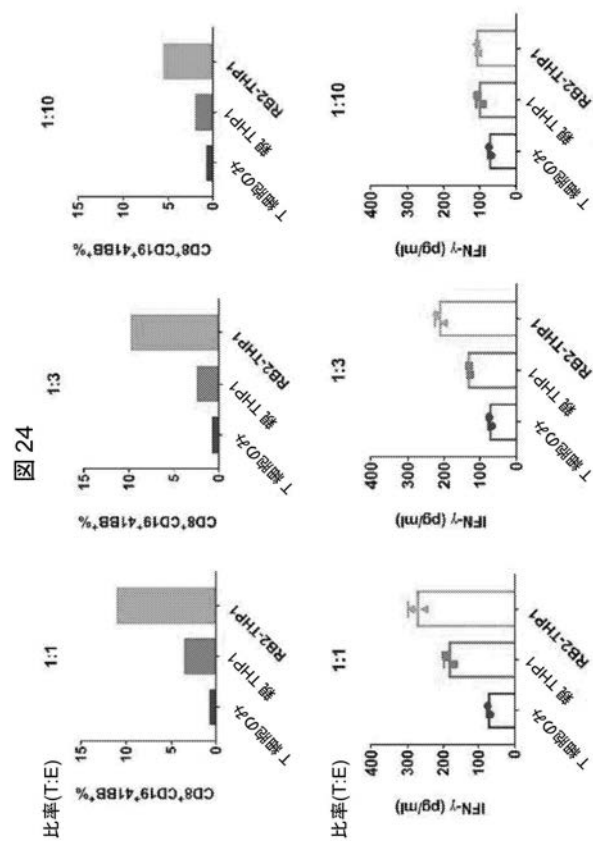
【図 23-8】



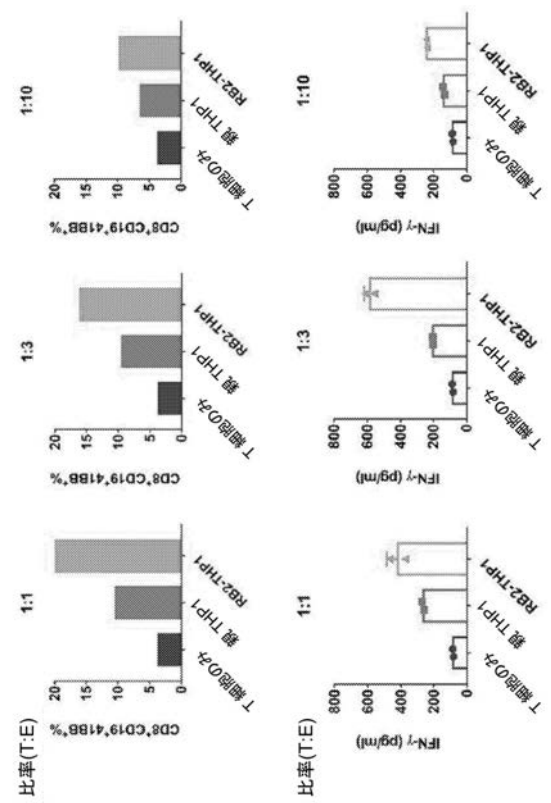
【図 23-9】



【図 24】

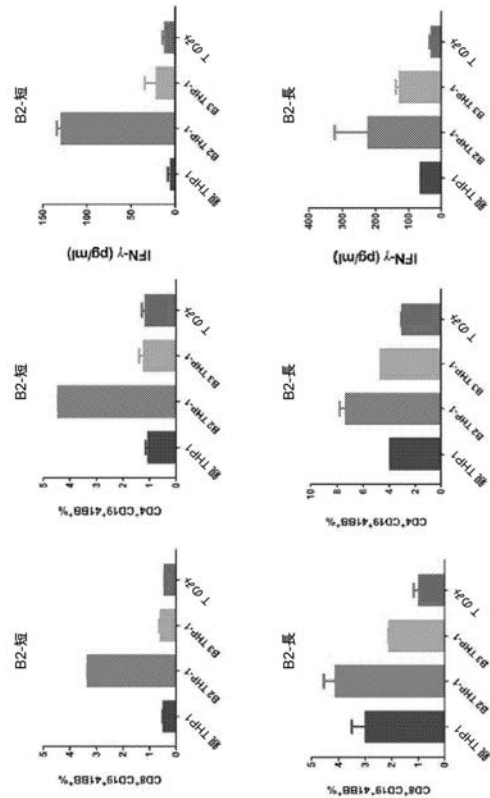


【図 25】



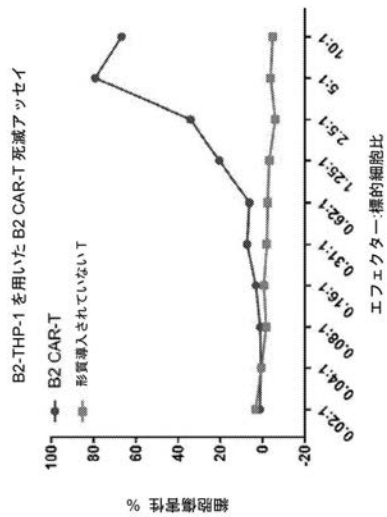
【図 26】

図 26



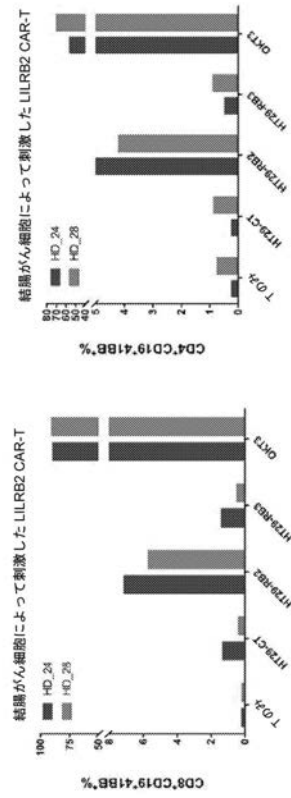
【図 28】

図 28



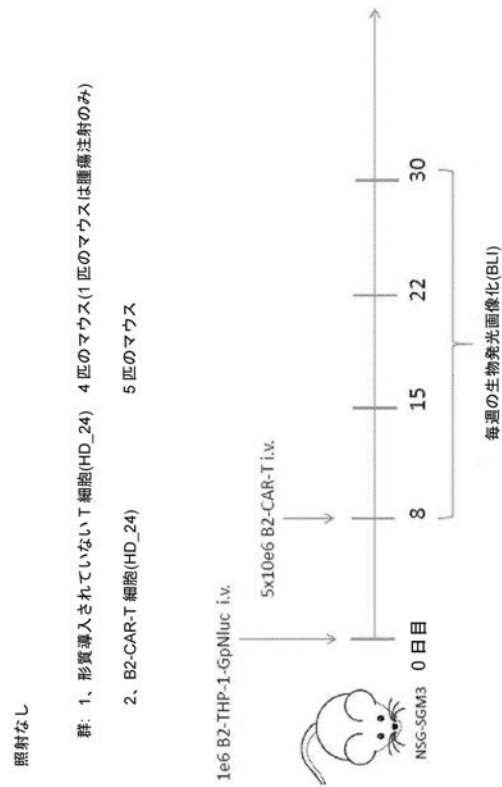
【図 27】

図 27

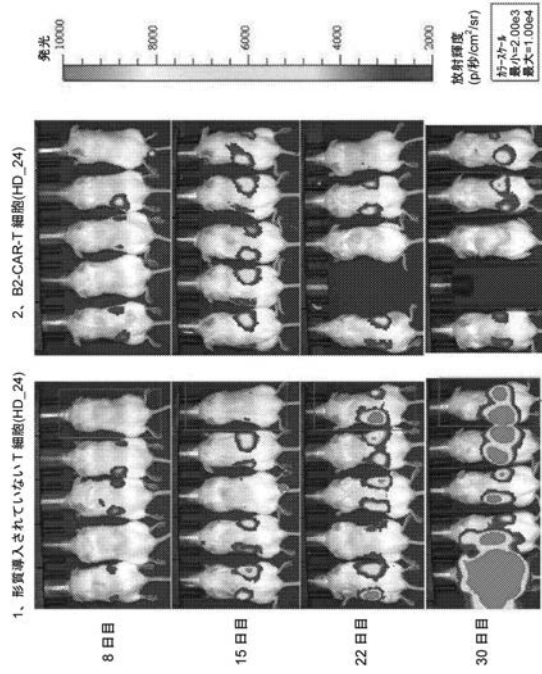


【図 29】

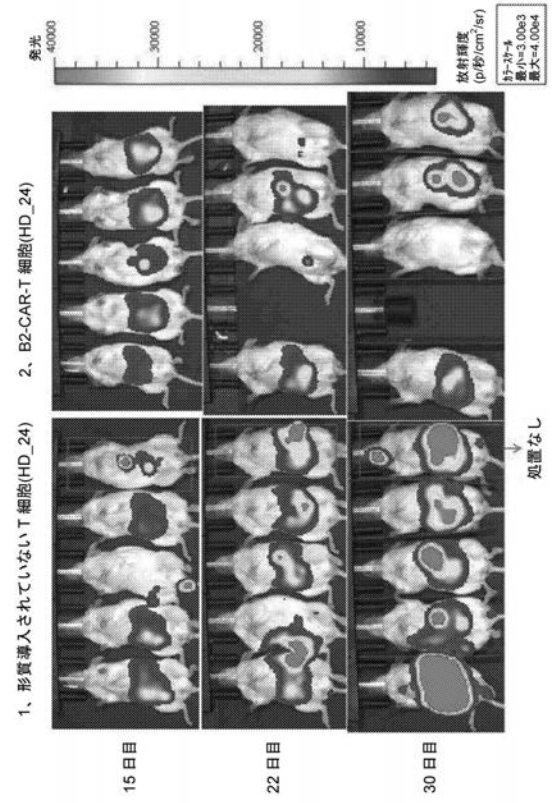
図 29



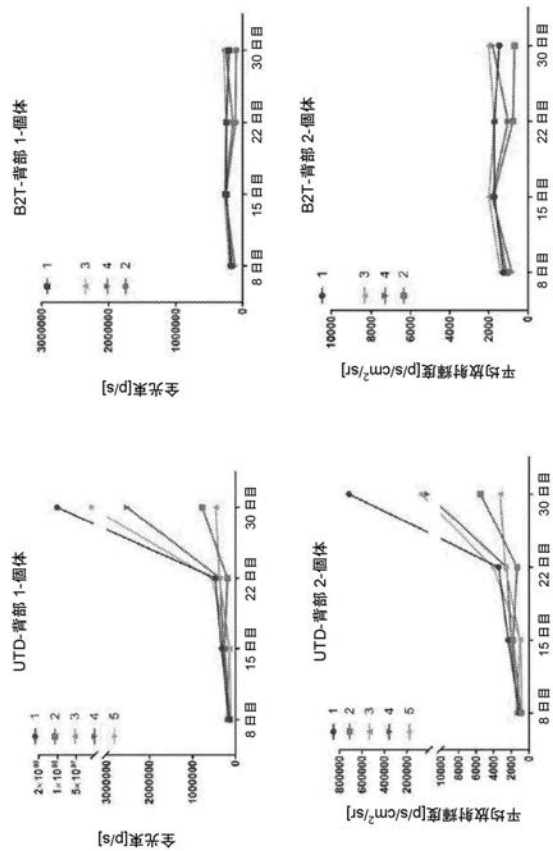
【図 30】



【図 31】



【図 32】



【図 33】

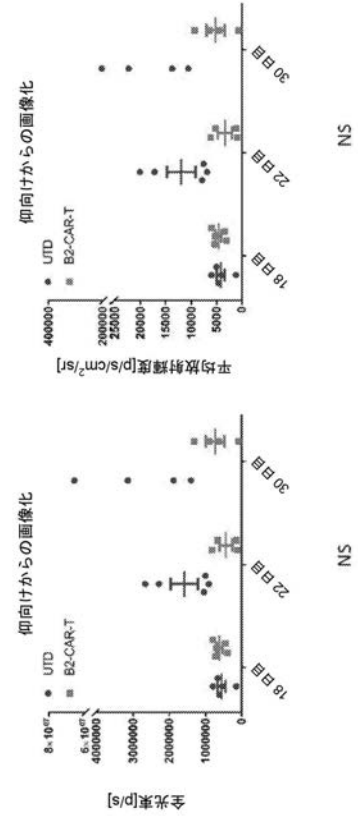


図 32

図 33

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US19/51529

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - A61K 39/395; C07K 16/18, 16/28; G01N 33/563, 33/577, 33/68 (2020.01) CPC - A61K 39/39533, 39/3955; C07K 16/18, 16/2896; G01N 33/563, 33/577, 33/6857 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2018/0086829 A1 (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 29 March 2018; abstract; paragraphs [0008], [0010], [0012], [0029], [0446]	1-3, 4/1-3
A	US 2015/0284460 A1 (DEUTSCHES RHEUMA-FORSCHUNGSZENTRUM BERLIN, et al.) 8 October 2015; abstract; paragraphs [0042], [0043]	1-3, 4/1-3
A	US 2016/0011217 A1 (NATIONAL CANCER CENTER) 14 January 2016; abstract; paragraphs [0018], [0019], [0058], [0065], [0066]	1-3, 4/1-3
A	(ZHANG, J et al.) Leukocyte immunoglobulin-like receptors in human diseases: an overview of their distribution, function, and potential application for immunotherapies. Journal of Leukocyte Biology. August 2017, Epub 28 March 2017, Vol. 102, No. 2; pages 351-360; DOI: 10.1189/jlb.5MR1216-534R	1-3, 4/1-3
A	(AN, H et al.) Soluble LILRA3 promotes neurite outgrowth and synapses formation through a high-affinity interaction with Nogo 66. Journal of Cell Science. 15 March 2016, Epub 29 January 2016, Vol. 129, No. 6; pages 1198-1209; DOI: 10.1242/jcs.182006	1-3, 4/1-3
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 January 2020 (27.01.2020)		Date of mailing of the international search report 06 FEB 2020
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/51529

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 10-39, 45-56, 62-78, 80-90, 97, 99-110
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-Please see supplemental page-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-9, 40-44, 57-61, 79, 91-96, 98; SEQ ID NO: 225 (HCDR1); SEQ ID NO: 230 (HCDR2); SEQ ID NO: 244 (HCDR3); SEQ ID NO: 24 (LCDR1); SEQ ID NO: 202 (LCDR2); SEQ ID NO: 216 (LCDR3)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/51529

Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+, Claims 1-9, 40-44, 57-61, 79, 91-96, 98; SEQ ID NO: 225 (HCDR1); SEQ ID NO: 230 (HCDR2); SEQ ID NO: 244 (HCDR3); SEQ ID NO: 24 (LCDR1); SEQ ID NO: 202 (LCDR2); SEQ ID NO: 216 (LCDR3) are directed toward Antibodies and antibody fragments that specifically bind to LILRB2.

The antibodies will be searched to the extent that they encompass SEQ ID NO: 225 (first exemplary HCDR1); SEQ ID NO: 230 (first exemplary HCDR2); SEQ ID NO: 244 (first exemplary HCDR3); SEQ ID NO: 24 (first exemplary LCDR1); SEQ ID NO: 202 (first exemplary LCDR2); and SEQ ID NO: 216 (first exemplary LCDR3). Applicant is invited to elect additional antibody(ies), with associated set(s) of VL and VH chain(s), and CDR(s) thereof, with specified SEQ ID NO: for each, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO., such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), and available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional antibody(ies), with associated set(s) of VL and VH chain(s), and CDR(s) thereof will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-4 (each in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 225 (HCDR1); SEQ ID NO: 230 (HCDR2); SEQ ID NO: 244 (HCDR3); SEQ ID NO: 24 (LCDR1); SEQ ID NO: 202 (LCDR2); SEQ ID NO: 216 (LCDR3). Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected antibody(ies), with associated set(s) of VL and VH chain(s), and CDR(s) thereof. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be SEQ ID NO: 89 (HCDR1); SEQ ID NO: 120 (HCDR2); SEQ ID NO: 158 (HCDR3); SEQ ID NO: 1 (LCDR1); SEQ ID NO: 35 (LCDR2); SEQ ID NO: 50 (LCDR3).

No technical features are shared between the CDR sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: an antibody or antigen-binding fragment thereof that binds to leukocyte immunoglobulin-like receptor B2 (LILRB2), comprising (a) a heavy chain variable region (VH) comprising a heavy chain complementarity determining region 1 (HCDR1) comprising an amino acid sequence, a HCDR2 comprising an amino acid sequence, and a HCDR3 comprising an amino acid sequence; and a light chain variable region (VL) comprising: a light chain CDR 1 (LCDR1) comprising an amino acid, a LCDR2 comprising an amino acid sequence, and a LCDR3 comprising an amino acid sequence; (b) a VH comprising a HCDR1 comprising an amino acid sequence, a HCDR2 comprising an amino acid sequence, and a HCDR3 comprising an amino acid sequence; and a VL comprising: a LCDR1 comprising an amino acid sequence, a LCDR2 comprising an amino acid sequence, and a LCDR3; an isolated antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to LILRB2, wherein the antibody or antigen-binding fragment comprises heavy chain complementarity determining regions (CDRs) 1, 2 and 3; an isolated antibody or antigen-binding fragment, wherein the antibody or antigen-binding is an agonist of LILRB2 activity; a method of treating cancer comprising the step of administering an antibody in combination with a PD-1 or PD-L1 inhibitor to a patient in need thereof; a chimeric antigen receptor (CAR), comprising the VH and VL of the antibody; a polynucleotide encoding the CAR; a vector comprising the polynucleotide; a cell comprising the CAR; a cell comprising the polynucleotide; a cell comprising the vector; a pharmaceutical composition comprising the CAR of and a suitable pharmaceutical carrier; these shared technical features are previously disclosed by US 2018/0086829 A1 (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) (hereinafter "Texas").

Texas discloses an antibody that binds to leukocyte immunoglobulin-like receptor B2 (LILRB2) (an antibody that binds to leukocyte immunoglobulin-like receptor B2 (LILRB2); abstract; paragraph [0008]), comprising (a) a heavy chain variable region (VH) comprising a heavy chain complementarity determining region 1 (HCDR1) comprising an amino acid sequence, a HCDR2 comprising an amino acid sequence, and a HCDR3 comprising an amino acid sequence ((a) a heavy chain variable region (VH) comprising a heavy chain complementarity determining region 1 (HCDR1) comprising an amino acid sequence, a HCDR2 comprising an amino acid sequence, and a HCDR3 comprising an amino acid sequence; paragraphs [0010]-[0011], [0122]; figures 16-17, 21-22); and a light chain variable region (VL) comprising: a light chain CDR 1 (LCDR1) comprising an amino acid, a LCDR2 comprising an amino acid sequence, and a LCDR3 comprising an amino acid sequence (and a light chain variable region (VL) comprising: a light chain CDR 1 (LCDR1) comprising an amino acid, a LCDR2 comprising an amino acid sequence, and a LCDR3 comprising an amino acid sequence; paragraphs [0010]-[0011], [0122]; figures 16-17, 21-22); (b) a VH comprising a HCDR1 comprising an amino acid sequence, a HCDR2 comprising an amino acid sequence, and a HCDR3 comprising an amino acid sequence (paragraphs [0010]-[0011], [0122]; figures 16-17, 21-22); and a VL comprising: a LCDR1 comprising an amino acid sequence, a LCDR2 comprising an amino acid sequence, and a LCDR3 (paragraphs [0010]-[0011], [0122]; figures 16-17, 21-22); an isolated antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to LILRB2 (an antibody that binds to leukocyte immunoglobulin-like receptor B2 (LILRB2); abstract; paragraph [0008]), wherein the antibody or antigen-binding fragment comprises heavy chain complementarity determining regions (CDRs) 1, 2 and 3 (paragraphs [0010]-[0011], [0122]; figures 16-17, 21-22); an isolated antibody (abstract) or antigen-binding fragment, wherein the antibody or antigen-binding is an agonist of LILRB2 activity (wherein the antibody is an agonist of LILRB2 activity; figure 6; paragraphs [0031], [0438]); a method of treating cancer comprising the step of administering an antibody in combination with a PD-1 or PD-L1 inhibitor to a patient in need thereof (a method of treating cancer comprising the step of administering an antibody in combination with a PD-1 or PD-L1 inhibitor to a patient in need thereof; claims 14, 17); a vector comprising the polynucleotide (paragraph [0016]); and a cell comprising the polynucleotide (paragraph [0017]); a cell comprising the vector (paragraph [0017]). Texas further discloses a chimeric antigen receptor (CAR) (paragraph [0223]), comprising the VH and VL of the antibody (paragraph [0223]); a polynucleotide encoding the CAR (paragraph [0223]); a cell comprising the CAR (paragraph [0223]); and a pharmaceutical composition comprising the CAR of and a suitable pharmaceutical carrier; paragraphs [0014], [0223]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Texas references, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 P 21/02	C
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 1 2 N 5/0786 (2010.01)	C 1 2 N 5/0786	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
	A 6 1 P 35/00	

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. WINDOWS

(74)代理人 100181168

弁理士 丸山 智裕

(74)代理人 100104282

弁理士 鈴木 康仁

(72)発明者 チェン, シューシャー

アメリカ合衆国 テキサス州 77030, ヒューストン ファニン ストリート 6565 ザ
メソディスト ホスピタル

(72)発明者 パン, ピンーイン

アメリカ合衆国 テキサス州 77030, ヒューストン ファニン ストリート 6565 ザ
メソディスト ホスピタル

Fターム(参考) 4B064 AG20 AG27 CA10 CA19 CA20 CE12 DA01

4B065 AA90X AA90Y AB01 AB04 BA02 CA25 CA44

4C085 AA13 AA14 BB11 CC02 DD62 EE01 GG02 GG03 GG04 GG06

GG08 GG10

4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA76 FA74