(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6841656号
(P6841656)
(45)発行日　令和3年3月10日(2021.3.10)　(24)登録日　令和3年2月22日(2021.2.22)

(51)Int.Cl.　　F I
A61K 31/337 (2006.01)　A61K 31/337 ZMD
A61K 45/00 (2006.01)　A61K 45/00
A61P 35/00 (2006.01)　A61P 35/00
A61K 39/395 (2006.01)　A61K 39/395 E
A61K 31/282 (2006.01)　A61K 39/395 T
請求項の数 80　(全 88 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-539319(P2016-539319)
(86)(22)出願日　平成26年12月17日(2014.12.17)
(65)公表番号　特表2017-501155(P2017-501155A)
(43)公表日　平成29年1月12日(2017.1.12)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/070974
(87)国際公開番号　WO2015/095404
(87)国際公開日　平成27年6月25日(2015.6.25)
審査請求日　平成29年12月15日(2017.12.15)
(31)優先権主張番号　61/917,264
(32)優先日　平成25年12月17日(2013.12.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　1
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　キム，　チョン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０－４９９０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　1
(72)発明者　チャン，　ジャンヌ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０－４９９０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　1
最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを使用する癌の治療方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
タキサン及びカルボプラチンと組合せて使用するための、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための医薬であって、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体を含み、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルであり、癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）又は結腸直腸癌である、医薬。
【請求項２】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体が、ＰＤ－１、Ｂ７－１、又はＰＤ－１及びＢ７－１の両方に対する、ＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する、請求項１に記載の医薬。
【請求項３】
抗体は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される、請求項１又は２に記載の医薬。
【請求項４】
抗体は、配列番号１９のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号２０のＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２１のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖と；配列番号２２のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２３のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２４のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む軽鎖を含む、請求項１又は２に記載の医薬。
【請求項５】
抗体は、配列番号２５のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項１又は２に記載の医薬。

【請求項６】
癌がＮＳＣＬＣである、請求項１～５のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項７】
ＮＳＣＬＣは、非扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項６に記載の医薬。
【請求項８】
ＮＳＣＬＣは、扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項６に記載の医薬。
【請求項９】
癌は、結腸直腸癌である、請求項１～５のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項１０】
個体が癌を有するかまたは癌と診断されている、請求項１～９のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項１１】
個体における癌細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、請求項１０に記載の医薬。
【請求項１２】
治療が結果として、個体においての応答をもたらす、請求項１～１１のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項１３】
応答が完全寛解である、請求項１２に記載の医薬。
【請求項１４】
応答が、治療の中止後の持続性応答である、請求項１２または請求項１３に記載の医薬。
【請求項１５】
タキサン及び／又はカルボプラチンが、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体の前の、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と同時の、またはＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体の後の投与のために調合される、請求項１～１４のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項１６】
タキサン及び／又はカルボプラチンは、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体の前の投与のために調合される、請求項１５に記載の医薬。
【請求項１７】
タキサン及び／又はカルボプラチンは、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と同時の投与のために調合される、請求項１５に記載の医薬。
【請求項１８】
タキサン及び／又はカルボプラチンは、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体の後の投与のために調合される、請求項１５に記載の医薬。
【請求項１９】
タキサンがナブ－パクリタキセルである、請求項１～１８のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項２０】
タキサンがパクリタキセルである、請求項１～１８のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項２１】
タキサン及びカルボプラチンと組合せて使用するための、癌を有する個体において免疫機能を増強させるための医薬であって、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体を含み、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルであり、癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌である、医薬。
【請求項２２】
個体におけるＣＤ８＋Ｔ細胞が、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体及びタキサンの投与前に比べ増強されたプライミング、活性化、増殖及び／または細胞溶解活性を有する、請求項２１に記載の医薬。
【請求項２３】
ＣＤ８＋Ｔ細胞の数が、前記組合せの投与前に比べて増加している、請求項２１に記載

の医薬。
【請求項２４】
ＣＤ８＋Ｔ細胞が、抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞である、請求項２３に記載の医薬。
【請求項２５】
Ｔ細胞の疲弊が、前記組合せの投与前に比べて減少している、請求項２１に記載の医薬。
【請求項２６】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体が、ＰＤ－１、Ｂ７－１、又はＰＤ－１及びＢ７－１の両方に対する、ＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する、請求項２１～２５のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項２７】
抗体は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される、請求項２１～２６のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項２８】
抗体は、配列番号１９のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号２０のＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２１のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖と；配列番号２２のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２３のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２４のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む軽鎖を含む、請求項２１～２６のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項２９】
抗体は、配列番号２５のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項２１～２６のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３０】
癌がＮＳＣＬＣである、請求項２１～２９のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３１】
ＮＳＣＬＣは、非扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項３０に記載の医薬。
【請求項３２】
ＮＳＣＬＣは、扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項３０に記載の医薬。
【請求項３３】
癌は、結腸直腸癌である、請求項２１～２９のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３４】
個体における癌細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、請求項２１～３３のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３５】
タキサンがナブ－パクリタキセルである、請求項２１～３４のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３６】
タキサンがパクリタキセルである、請求項２１～３４のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３７】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体、タキサン及び／またはカルボプラチンが静脈内、筋内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内または鼻腔内投与のために調合される、請求項１～３６のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３８】
医薬は、血管新生阻害剤との組合せ投与のために調合される、請求項１～３７のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項３９】
血管新生阻害剤は、抗ＶＥＧＦ抗体である、請求項３８に記載の医薬。
【請求項４０】
抗ＶＥＧＦ抗体は、ベバシズマブである、請求項３９に記載の医薬。
【請求項４１】
個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための医薬の製造におけるＰ

Ｄ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体の使用であって、該医薬が、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、治療が、
（ｉ）タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含み、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルである、組成物、及び
（ｉｉ）カルボプラチンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物
と組合せた該医薬の投与を含み、
癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌である、使用。
【請求項４２】
個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための医薬の製造におけるタキサンの使用であって、該医薬が、前記タキサン及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルであり、治療が、
（ｉ）ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物、及び
（ｉｉ）カルボプラチンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物
と組合せた該医薬の投与を含み、
癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌である、使用。
【請求項４３】
タキサンは、ナブ－パクリタキセルである、請求項４１又は４２に記載の使用。
【請求項４４】
タキサンは、パクリタキセルである、請求項４１又は４２に記載の使用。
【請求項４５】
癌がＮＳＣＬＣである、請求項４１～４４のいずれか一項に記載の使用。
【請求項４６】
ＮＳＣＬＣは、非扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項４５に記載の使用。
【請求項４７】
ＮＳＣＬＣは、扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項４５に記載の使用。
【請求項４８】
癌が結腸直腸癌である、請求項４１～４４のいずれか一項に記載の使用。
【請求項４９】
医薬は、血管新生阻害剤及び任意の薬学的に許容可能な担体との組合せ投与のために調合される、請求項４１～４８のいずれか一項に記載の使用。
【請求項５０】
血管新生阻害剤は、抗ＶＥＧＦ抗体である、請求項４９に記載の使用。
【請求項５１】
抗ＶＥＧＦ抗体は、ベバシズマブである、請求項５０に記載の使用。
【請求項５２】
個体における癌の治療または癌の進行の遅延における使用のための、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物であって、治療が、第２の組成物及び第３の組成物と組合せた該組成物の投与を含み、該第２の組成物がタキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含み、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルであり、第３の組成物は、カルボプラチン及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、
癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌である、組成物。
【請求項５３】
個体における癌の治療または癌の進行の遅延における使用のための、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物であって、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルであり、治療が、第２の組成物及び第３の組成物と組合せた該組成物の投与を含み、該第２の組成物がＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と任意の薬学的に許容可能な担体とを含み、第３の組成物は、カルボプラチン及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、

癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌である、組成物。
【請求項５４】
タキサンは、ナブ－パクリタキセルである、請求項５２又は５３に記載の使用のための組成物。
【請求項５５】
タキサンは、パクリタキセルである、請求項５２又は５３に記載の使用のための組成物。
【請求項５６】
癌がＮＳＣＬＣである、請求項５２～５５のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項５７】
ＮＳＣＬＣは、非扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項５６に記載の使用のための組成物。
【請求項５８】
ＮＳＣＬＣは、扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項５６に記載の使用のための組成物。
【請求項５９】
癌が結腸直腸癌である、請求項５２～５５のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項６０】
組成物は、血管新生阻害剤及び任意の薬学的に許容可能な担体との組合せ投与のために調合される、請求項５２～５９のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項６１】
血管新生阻害剤は、抗ＶＥＧＦ抗体である、請求項６０に記載の使用のための組成物。
【請求項６２】
抗ＶＥＧＦ抗体は、ベバシズマブである、請求項６１に記載の使用のための組成物。
【請求項６３】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と任意の薬学的に許容可能な担体とを含む医薬と；
個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるため、該医薬を、
（ｉ）タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含み、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルである、組成物、及び
（ｉｉ）カルボプラチン及び任意の薬学的に許容可能な担体を含む組成物
と組合せて投与するための指示書を含む添付文書とを含み、
癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌である、キット。
【請求項６４】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と任意の薬学的に許容可能な担体とを含む第１の医薬と、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含み、タキサンはナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルである第２の医薬と、カルボプラチン及び任意の薬学的に許容可能な担体を含む第３の医薬とを含む、キット。
【請求項６５】
個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるために第１の医薬、第２の医薬及び第３の医薬を投与するための指示書を含む添付文書をさらに含み、
癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌である、請求項６４に記載のキット。
【請求項６６】
タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む医薬と；
個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるため、該医薬を、
（ｉ）ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体と任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物、及び
（ｉｉ）カルボプラチンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物
と組合せて投与するための指示書を含む添付文書と、を含み、
癌は、ＮＳＣＬＣ又は結腸直腸癌であり、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパク

リタキセルである、キット。
【請求項６７】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体を含む、個体においてＮＳＣＬＣを治療するかまたはＮＳＣＬＣの進行を遅延させるための医薬であって、
抗体は、配列番号１９のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号２０のＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２１のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖と；配列番号２２のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２３のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２４のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む軽鎖を含み、
医薬は、タキサン及びカルボプラチンとの組合せにおける使用のためであり、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルである、医薬。
【請求項６８】
タキサンは、ナブ－パクリタキセルである、請求項６７に記載の医薬。
【請求項６９】
タキサンは、パクリタキセルである、請求項６７に記載の医薬。
【請求項７０】
治療は、血管新生阻害剤を含む組成物と組合せた医薬の投与を含む、請求項６７～６９のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項７１】
血管新生阻害剤は、抗ＶＥＧＦ抗体である、請求項７０に記載の医薬。
【請求項７２】
抗ＶＥＧＦ抗体は、ベバシズマブである、請求項７１に記載の医薬。
【請求項７３】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体を含む、個体においてＮＳＣＬＣを治療するかまたはＮＳＣＬＣの進行を遅延させるための医薬であって、
抗体は、配列番号１９のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号２０のＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２１のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖と；配列番号２２のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２３のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２４のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む軽鎖を含み、
医薬は、タキサン、カルボプラチン及びベバシズマブとの組合せにおける使用のためであり、タキサンは、ナブ－パクリタキセル又はパクリタキセルである、医薬。
【請求項７４】
タキサンは、ナブ－パクリタキセルである、請求項７３に記載の医薬。
【請求項７５】
タキサンは、パクリタキセルである、請求項７３に記載の医薬。
【請求項７６】
抗体は、配列番号２５のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項６７～７５のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項７７】
抗体は、配列番号３２のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号３３のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項６７～７６のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項７８】
ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト抗体は、３週間に一回、１２００ｍｇの投与量で静脈内に投与される、請求項６７～７７のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項７９】
ＮＳＣＬＣは、非扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項６７～７８のいずれか一項に記載の医薬。
【請求項８０】
ＮＳＣＬＣは、扁平上皮ＮＳＣＬＣである、請求項６７～７８のいずれか一項に記載の医薬。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】

【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１３年１２月１７日出願の米国仮特許出願第６１／９１７，２６４号に対する優先権を主張するものである。
【０００２】
本発明は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することにより個体において癌を治療し免疫機能を増強させる方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
Ｔ細胞に対して２つの全く異なるシグナルを提供することは、抗原提示細胞（ＡＰＣ）による休止Ｔリンパ球のリンパ球活性化のための広く受け入れられているモデルである。このモデルはさらに、非自己免疫寛容と自己免疫寛容との判別も提供する。一次シグナルまたは抗原特異的シグナルは、主要組織適合性複合体（ＭＨＣ）に関して提示された外来性抗原ペプチドの認識の後にＴ細胞レセプター（ＴＣＲ）を通して伝達される。第２シグナルまたは共刺激シグナルは、ＡＰＣ上で発現された共刺激分子によりＴ細胞に送達され、Ｔ細胞を誘発してクローン性増殖、サイトカイン分泌及びエフェクター機能を促進する。共刺激が不在である場合、Ｔ細胞は抗原刺激に対し不応性となり得、その結果、外来性または内在性のいずれかの抗原に対する寛容原性応答がもたらされる。
【０００４】
２シグナルモデルにおいて、Ｔ細胞は、正及び負の両方の二次共刺激シグナルを受け取る。このような正及び負のシグナルの調節は、免疫寛容を維持し自己免疫を防止する一方で、宿主の防御免疫応答を最大にするために決定的に重大な意味をもつ。負の２次シグナルは、Ｔ細胞寛容の誘発に必要であると思われ、一方正のシグナルはＴ細胞の活性化を促進する。単純な２シグナルモデルはなお、ナイーブリンパ球について有効な説明を提供するものの、宿主の免疫応答は動的プロセスであり、共刺激シグナルはまた、抗原曝露されたＴ細胞に対しても提供され得る。
【０００５】
共刺激の機序は、共刺激シグナルの操作が細胞ベースの免疫応答を増強または終結させるための手段を提供するため、治療上興味深いものである。Ｔ細胞の機能不全またはアネルギーは、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２を含むリガンドに結合する阻害性レセプターであるプログラム死１ポリペプチド（ＰＤ－１）の誘発型及び持続型発現と同時に発生する。ＰＤ－Ｌ１は、多くの癌において過剰発現され、多くの場合、予後不良に付随する。腫瘍浸潤Ｔリンパ球の大部分は、正常な組織内のＴリンパ球及び末梢血Ｔリンパ球とは対照的に主としてＰＤ－１を発現し、これは、腫瘍反応性Ｔ細胞上のＰＤ－１のアップレギュレーションが、抗腫瘍免疫応答の機能障害に寄与し得ることを示している。これは、ＰＤ－１発現Ｔ細胞と相互作用するＰＤ－Ｌ１発現腫瘍細胞により媒介されるＰＤ－Ｌ１シグナル伝達の利用に起因することが考えられ、Ｔ細胞活性の減衰及び免疫学的監視の回避を結果としてもたらす。したがって、ＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－Ｌ２相互作用の阻害は、腫瘍のＣＤ８＋Ｔ細胞媒介死滅を増強させる可能性がある。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
最適な治療的処置では、腫瘍の成長を直接阻害する作用物質とＰＤ－１レセプター／リガンド相互作用の遮断とを組合わせてよい。さまざまな癌の治療、安定化、予防及び／または発達遅延のための最適な療法に対するニーズが存在する。
【課題を解決するための手段】
【０００７】
本発明は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することによって、癌を有する個体において癌を治療し免疫機能を増強させるための方法に関する。
【０００８】

一態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための方法であって、個体に対して有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストとタキサンとを投与することを含む方法を特徴とする。一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト及びＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストからなる群から選択される。

【０００９】

上述の態様の一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２の両方に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ランブロリズマブ）、ＣＴ－０１１（ピジリズマブ）及びＡＭＰ－２２４からなる群から選択される。

【００１０】

上述の態様の他の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストはＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、Ｂ７－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１及びＢ７－１の両方に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、抗体は、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される。一部の実施形態において、抗体は、配列番号１９のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号２０のＨＶＲ－Ｈ２配列、及び配列番号２１のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖と；配列番号２２のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２３のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２４のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む軽鎖とを含む。一部の実施形態において、抗体は、配列番号２６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【００１１】

前述の態様の一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストはＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストはイムノアドヘシンである。

【００１２】

上述の態様の先行する実施形態のいずれにおいても、癌は非限定的に、乳癌（トリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ）を含む）、膀胱癌（尿路上皮膀胱癌（ＵＢＣ）、筋内浸潤性膀胱癌及びＢＣＧ不応性非筋内浸潤性膀胱癌を含む）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、腎細胞癌（腎細胞癌腫を含む）、前立腺癌、肝癌、膵臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、子宮内膜癌、腎癌、卵巣癌、中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）及び多発性骨髄腫を含む）であり得る。特定の実施形態において、癌は、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、膀胱癌（ＵＢＣを含む）、乳癌（ＴＮＢＣを含む）、腎細胞癌腫、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）及び多発性骨髄腫を含む）であり得る。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はＵＢＣである。一部の実施形態において、乳癌はＴＮＢＣである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍はＭＤＳまたは多発性骨髄腫である。

【００１３】
上述の態様の先行実施形態のいずれかにおいて、個体は、癌を有するかまたは癌と診断されている。一部の実施形態において、個体における癌細胞はＰＤ－Ｌ１を発現する。
【００１４】
上述の態様の先行実施形態のいずれかにおいて、治療は結果として、個体においての応答をもたらす可能性がある。一部の実施形態において、応答は完全寛解である。一部の実施形態において、応答は治療の中止後の持続性寛解である。一部の実施形態において、応答は治療の中止後も持続する完全寛解である。
【００１５】
上述の態様の先行実施形態のいずれかにおいて、タキサンは、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストの前に、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストと同時に、またはＰＤ－１軸結合アンタゴニストの後に投与される。一部の実施形態において、タキサンは、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルである。一部の実施形態において、タキサンはナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンはパクリタキセルである。
【００１６】
別の態様において、本発明は、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することを含む、癌を有する個体においての免疫機能増強方法を特徴とする。一部の実施形態において、個体におけるＣＤ８＋Ｔ細胞は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンの投与前に比べ増強されたプライミング、活性化、増殖及び／または細胞溶解活性を有する。一部の実施形態において、ＣＤ８＋Ｔ細胞の数は、組合せの投与前に比べて増加している。一部の実施形態において、ＣＤ８＋Ｔ細胞は抗原特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞である。一部の実施形態において、Ｔｒｅｇ機能は、前記組合せの投与前に比べて抑制されている。一部の実施形態において、Ｔ細胞の疲弊は、前記組合せの投与前に比べて減少している。一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト及びＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストからなる群から選択される。
【００１７】
上述の態様の一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２の両方に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ランブロリズマブ）、ＣＴ－０１１（ピジリズマブ）及びＡＭＰ－２２４からなる群から選択される。
【００１８】
上述の態様の他の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストはＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、Ｂ７－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１及びＢ７－１の両方に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、抗体は、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される。一部の実施形態において、抗体は、配列番号１９のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号２０のＨＶＲ－Ｈ２配列、及び配列番号２１のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖と；配列番号２２のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２３のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２４のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む軽鎖とを

含む。一部の実施形態において、抗体は、配列番号２６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【００１９】

前述の態様の他の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストはＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストはイムノアドヘシンである。

【００２０】

上述の態様の先行する実施形態のいずれにおいても、癌は、乳癌（トリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ）を含む）、膀胱癌（尿路上皮膀胱癌（ＵＢＣ）、筋内浸潤性膀胱癌及びＢＣＧ不応性非筋内浸潤性膀胱癌を含む）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、腎細胞癌（腎細胞癌腫を含む）、前立腺癌、肝癌、膵臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、子宮内膜癌、腎癌、卵巣癌、中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（骨髄異形成症候群及び多発性骨髄腫を含む）であり得る。特定の実施形態において、癌は、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、膀胱癌（ＵＢＣを含む）、乳癌（ＴＮＢＣを含む）、腎細胞癌腫、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（例えば骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）及び多発性骨髄腫）であり得る。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はＵＢＣである。一部の実施形態において、乳癌はＴＮＢＣである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍はＭＤＳまたは多発性骨髄腫である。

【００２１】

一部の実施形態において、個体における癌細胞はＰＤ－Ｌ１を発現する。一部の実施形態において、タキサンはナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルである。一部の実施形態において、タキサンはナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンはパクリタキセルである。

【００２２】

上述の態様のいずれか１つの一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンは、静脈内、筋内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内または鼻腔内投与される。

【００２３】

上述の態様のいずれか１つの一部の実施形態において、方法にはさらに、有効量の化学療法剤を投与することが含まれていてよい。一部の実施形態において、化学療法剤は白金系の化学療法剤である。一部の実施形態において、白金系の化学療法剤はカルボプラチンである。

【００２４】

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための薬剤の製造におけるヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストの使用であって、薬剤が、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、前記治療には、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形での薬剤の投与が含まれる、使用を特徴とする。

【００２５】

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための薬剤の製造におけるタキサンの使用であって、薬剤が、タキサン及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、前記治療には、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形での薬剤の投与が含まれる、使用を特徴とする。

【００２６】

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させる上で使用するための、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物であって、治療には、第２の組成物と組合せた形での前記組成物の投与が含まれ、第２の組成物がタキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む、組成物を特徴とする。

【００２７】

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させる上で使用するための、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物であって、治療には、第２の組成物と組合せた形での前記組成物の投与が含まれ、第２の組成物がヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む、組成物を特徴とする。

【００２８】

別の態様において、本発明は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む薬剤と；個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるためのタキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形で薬剤を投与するための指示書を含む添付文書とを含むキットを特徴とする。

【００２９】

別の態様において、本発明は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む第１の薬剤と、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む第２の薬剤とを含むキットを特徴とする。一部の実施形態において、キットは、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるために第１の薬剤及び第２の薬剤を投与するための指示書を含む添付文書をさらに含む。

【００３０】

別の態様において、本発明は、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む薬剤と；個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるためのＰＤ－１軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形で薬剤を投与するための指示書を含む添付文書と、を含むキットを特徴とする。

【００３１】

先行する態様のいずれか１つにおいて、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト及びＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストからなる群から選択されていてよい。一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２の両方に対するＰＤ－１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ランブロリズマブ）、ＣＴ－０１１（ピジリズマブ）及びＡＭＰ－２２４からなる群から選択される。一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストはＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、前記ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストが、Ｂ７－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１及びＢ７－１の両方に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、抗体は、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される。一部の実施形態において、抗体は、配列番号１９のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号２０のＨＶＲ－Ｈ２配列、及び配列番号２１のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖と；配列番号２２のＨＶＲ－Ｌ１配列

、配列番号２３のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２４のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む軽鎖とを含む。一部の実施形態において、抗体は、配列番号２６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【００３２】

先行する態様のいずれか１つにおいて、前記タキサンは、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルであってよい。一部の実施形態において、タキサンは、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンはパクリタキセルである。

【００３３】

本明細書中に記載のさまざまな実施形態の特性の１つ、一部または全てを組合わせて、本発明の他の実施形態を形成してもよいということを理解すべきである。本発明のこれらの及び他の実施形態は、当業者には明らかとなるものである。本発明のこれらの及び他の実施形態については、後出の詳細な説明によりさらに記述される。

【図面の簡単な説明】

【００３４】

【図１】抗ＰＤ－Ｌ１抗体とパクリタキセル＋カルボプラチンの組合せ療法が、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの体内の同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおける対照抗体またはパクリタキセル＋カルボプラチン単独に比べて相乗的な抗腫瘍効果を実証していることを示すグラフである。このグラフは、時間の関数として、各治療グループの腫瘍体積の３次スプライン適合を示す。３次スプライン適合は、治療グループ１つあたりの全データに適合する最高の平滑曲線を選択する数学アルゴリズムである。およそ１００～２００ｍｍ^{3}の確立した皮下ＭＣ３８腫瘍を有するマウスを、腹腔内（ＩＰ）注射による８０ｍｇ／ｋｇの単回投与のカルボプラチンに加えて静脈内（ＩＶ）注射による１０ｍｇ／ｋｇのパクリタキセル、そして３週間にわたり週３回の割合で投薬された１０ｍｇ／ｋｇの抗ｇｐ１２０抗体または抗ＰＤ－Ｌ１（クローン２５Ａ１　ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡ）で治療した。１グループあたりのマウス数Ｎ＝１０。

【図２Ａ】Ｃ５７ＢＬ／６マウスの体内の同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおける抗ＰＤ－Ｌ１抗体（αＰＤ－Ｌ１）単剤療法の効能を、デキサメタゾン（Ｄｅｘ）が抑制することを示すグラフである。図２Ａは、各治療グループの腫瘍体積の３次スプライン適合を示し、一方図２Ｂは、個別のマウスについてのプロット（トレリスプロット）を示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の３次スプライン適合を示す）。図２Ｂ内の各グラフは、対照グループの３次スプライン適合を表わす破線を含む。図２Ｂについては、およそ３００ｍｍ^{3}にある水平破線は、進行体積についての１つの基準である（初期腫瘍体積の２倍）。３２ｍｍ^{3}より低い腫瘍体積（図２Ｂ内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ１００～２００ｍｍ^{3}の確立した皮下ＭＣ３８腫瘍を有するマウスを、４ｍｇ／ｋｇＩＶで単回投与の生理食塩水またはデキサメタゾンのいずれかで治療し、１２時間後に、３週間にわたり週３回の割合で１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰで対照抗ｇｐ１２０抗体または抗ＰＤ－Ｌ１（クローン２５Ａ１．ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡ）のいずれかで治療した。１グループあたりのマウス数Ｎ＝１０。

【図２Ｂ】Ｃ５７ＢＬ／６マウスの体内の同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおける抗ＰＤ－Ｌ１抗体（αＰＤ－Ｌ１）単剤療法の効能を、デキサメタゾン（Ｄｅｘ）が抑制することを示すグラフである。図２Ａは、各治療グループの腫瘍体積の３次スプライン適合を示し、一方図２Ｂは、個別のマウスについてのプロット（トレリスプロット）を示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の３次スプライン適合を示す）。図２Ｂ内の各グラフは、対照グループの３次スプライン適合を表わす破線を含む。図２Ｂについては、およそ３００ｍｍ^{3}にある水平破線は、進行体積についての１つの基準である（初期腫瘍体積の２倍）。３２ｍｍ^{3}より低い腫瘍体積（図２Ｂ内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ１００～２００ｍｍ^{3}の確立した皮下ＭＣ３８腫瘍を有するマウスを、４ｍｇ／ｋｇＩＶで単回投与の生理食塩水

またはデキサメタゾンのいずれかで治療し、１２時間後に、３週間にわたり週３回の割合で１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰで対照抗ｇｐ１２０抗体または抗ＰＤ－Ｌ１（クローン２５Ａ１．ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡ）のいずれかで治療した。１グループあたりのマウス数Ｎ＝１０。

【図３】デキサメタゾンがＯＴＩ養子Ｔ細胞移入及びワクチン接種モデルにおける抗原特異的Ｔ細胞応答を阻害することを示すグラフである。ＣＤ８＋Ｔ細胞は、ＯＴＩ　Ｔｈｙ１．１マウスから精製され、マウス１匹につき２５０万個の細胞の割合でＩＶ注射された。翌日、レシピエントマウスに対して、完全長オバルブミンに融合した抗ＤＥＣ２０５　２５０ｎｇをＩＰでワクチン接種し、それに加えて４ｍｇ／ｋｇの生理食塩水またはデキサメタゾンのいずれかをＩＶで単回投与した。２日後に、マウスを安楽死させ、フローサイトメトリーにより膵臓から総ＯＴＩＣＤ８＋細胞を計数した。１グループあたりのマウス数Ｎ＝５。各符号は個別のマウスを表わす。両側で対応のないｔ検定により、Ｐ値を計算した。

【図４Ａ】抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）、Ａｂｘ）＋カルボプラチン（Ｃａｒｂｏ）の組合せ療法が結果として強い相乗的抗腫瘍効果をもたらし、持続性完全寛解（マウス８匹中４匹）を達成し、これが、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの体内の同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおいて９０日超継続したことを示すグラフである。このグラフは、時間の関数として腫瘍体積を示す。図４Ａは、各治療グループの腫瘍体積の３次スプライン適合を示し、一方図４Ｂは、個別のマウスについてのトレリスプロットを示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の３次スプライン適合を示す）。図４Ｂ内の各グラフは、対照グループの３次スプライン適合を表わす破線を含む。図４Ｂについては、およそ６００ｍｍ^{3}にある水平破線は、進行体積についての１つの基準である（初期腫瘍体積の２倍）。３２ｍｍ^{3}より低い腫瘍体積（図４Ｂ内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ３００ｍｍ^{3}の確立した皮下ＭＣ３８腫瘍を有するマウスを、３週間週３回の割合で１０ｍｇ／ｋｇのＩＰ注射により投与された抗ｇｐ１２０対照抗体または抗ＰＤ－Ｌ１抗体（クローンＹＷ２４３．５５．Ｓ７０　ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡ）、そしてそれに加えて指示通り３週間毎週７５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰの生理食塩水またはカルボプラチンプラス、３週間毎週１５ｍｇ／ｋｇ　ＩＶのＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）で治療した。１グループあたりのマウス数Ｎ＝８。

【図４Ｂ】抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）、Ａｂｘ）＋カルボプラチン（Ｃａｒｂｏ）の組合せ療法が結果として強い相乗的抗腫瘍効果をもたらし、持続性完全寛解（マウス８匹中４匹）を達成し、これが、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの体内の同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおいて９０日超継続したことを示すグラフである。このグラフは、時間の関数として腫瘍体積を示す。図４Ａは、各治療グループの腫瘍体積の３次スプライン適合を示し、一方図４Ｂは、個別のマウスについてのトレリスプロットを示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の３次スプライン適合を示す）。図４Ｂ内の各グラフは、対照グループの３次スプライン適合を表わす破線を含む。図４Ｂについては、およそ６００ｍｍ^{3}にある水平破線は、進行体積についての１つの基準である（初期腫瘍体積の２倍）。３２ｍｍ^{3}より低い腫瘍体積（図４Ｂ内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ３００ｍｍ^{3}の確立した皮下ＭＣ３８腫瘍を有するマウスを、３週間週３回の割合で１０ｍｇ／ｋｇのＩＰ注射により投与された抗ｇｐ１２０対照抗体または抗ＰＤ－Ｌ１抗体（クローンＹＷ２４３．５５．Ｓ７０　ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡ）、そしてそれに加えて指示通り３週間毎週７５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰの生理食塩水またはカルボプラチンプラス、３週間毎週１５ｍｇ／ｋｇ　ＩＶのＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）で治療した。１グループあたりのマウス数Ｎ＝８。

【図５Ａ】抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））＋カルボプラチン療法で予めＭＣ３８一次腫瘍が治癒したマウス（図１Ａに記載の完全寛解を達成するマウス）が、抗腫瘍Ｔ細胞記憶応答を生成することを示すグラフである。

新たなＭＣ３８腫瘍細胞での二次再免疫の時点で、腫瘍は、１００％（４／４）治癒マウスにおいて成長することができなかった。図５Ａは、二次抗原投与から７日後に収穫した脾臓細胞が、一次抗原投与されたナイーブマウスに匹敵する数のＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を有することを示している。図５Ｂは、ＰＭＡプラスイオノマイシンでのインビトロ刺激の時点で、治癒したマウス由来のＴ細胞が、細胞内のサイトカイン染色により評価される通り、一次抗原投与を受けたマウスに比べて増強されたインターフェロン－γ（ＩＦＮ－γ）産生を有していることを示すフローサイトメトリー分析の結果を示している。エラーバーは、ｎ＝５（一次抗原投与を受けたマウス）またはｎ＝４（治癒したマウス、二次抗原投与）の標準偏差を表わし、フローサイトメトリードットプロットは、各グループからの一匹のマウスを表わす。Ｐ値は、両側で対応のないｔ検定により計算された。

【図５Ｂ】抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））＋カルボプラチン療法で予めＭＣ３８一次腫瘍が治癒したマウス（図１Ａに記載の完全寛解を達成するマウス）が、抗腫瘍Ｔ細胞記憶応答を生成することを示すグラフである。新たなＭＣ３８腫瘍細胞での二次再免疫の時点で、腫瘍は、１００％（４／４）治癒マウスにおいて成長することができなかった。図５Ａは、二次抗原投与から７日後に収穫した脾臓細胞が、一次抗原投与されたナイーブマウスに匹敵する数のＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を有することを示している。図５Ｂは、ＰＭＡプラスイオノマイシンでのインビトロ刺激の時点で、治癒したマウス由来のＴ細胞が、細胞内のサイトカイン染色により評価される通り、一次抗原投与を受けたマウスに比べて増強されたインターフェロン－γ（ＩＦＮ－γ）産生を有していることを示すフローサイトメトリー分析の結果を示している。エラーバーは、ｎ＝５（一次抗原投与を受けたマウス）またはｎ＝４（治癒したマウス、二次抗原投与）の標準偏差を表わし、フローサイトメトリードットプロットは、各グループからの一匹のマウスを表わす。Ｐ値は、両側で対応のないｔ検定により計算された。

【図６Ａ】タキサン及びカルボプラチンを用いた抗ＰＤ－Ｌ１抗体（ＭＰＤＬ３２８０Ａ）の組合せ療法の効能を試験する第１ｂ相臨床試験からの結果を示すグラフである。図６Ａは、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））及びカルボプラチンでの治療後の経時的腫瘍サイズ変化を示すグラフである。客観的応答率（ＯＲＲ）は患者数で９／１４であり、完全寛解（ＣＲ）３名、部分寛解（ＰＲ）６名であった。図６Ｂは、パクリタキセル＋カルボプラチンを伴うＭＰＤＬ３２８０Ａでの治療の後の経時的腫瘍サイズ変更を示すグラフである。ＯＲＲは患者数で２／６（３３％）であり、部分寛解２名であった。

【図６Ｂ】タキサン及びカルボプラチンを用いた抗ＰＤ－Ｌ１抗体（ＭＰＤＬ３２８０Ａ）の組合せ療法の効能を試験する第１ｂ相臨床試験からの結果を示すグラフである。図６Ａは、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））及びカルボプラチンでの治療後の経時的腫瘍サイズ変化を示すグラフである。客観的応答率（ＯＲＲ）は患者数で９／１４であり、完全寛解（ＣＲ）３名、部分寛解（ＰＲ）６名であった。図６Ｂは、パクリタキセル＋カルボプラチンを伴うＭＰＤＬ３２８０Ａでの治療の後の経時的腫瘍サイズ変更を示すグラフである。ＯＲＲは患者数で２／６（３３％）であり、部分寛解２名であった。

【発明を実施するための形態】

【００３５】

Ｉ．定義

本発明について詳述する前に、本発明が、特定の組成物または生物学系に限定されるものではなく、これらは当然変動し得るということを理解すべきである。また、本明細書中で使用される専門用語が、特定の実施形態を説明することだけを目的としたものであって、限定的であるように意図されていないということも理解すべきである。

【００３６】

本明細書及び添付図面中で使用されている単数形態の「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、内容が明らかに相反する意味を指示しているのでないかぎり、複数の指示対象をも含む。したがって例えば、「ａ　ｍｏｌｅｃｕｌｅ」という言及は、任意には２つ以上のこ

のような分子の組合せなども含む。

【００３７】

本明細書中で使用されている「約（およそ）」という用語は、この技術的分野における当業者にとって直ちに公知であるそれぞれの値についての通常の誤差範囲を意味する。本明細書中の「約（およそ）」付きの値またはパラメータに対する言及は、その値またはパラメータ自体に向けられた実施形態を含む（かつ説明する）。

【００３８】

本明細書中に記載の本発明の態様及び実施形態は、これらの態様及び実施形態「を含む」、「からなる」及び「本質的にそれからなる」ことを含むものと理解される。

【００３９】

「ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト」なる用語は、ＰＤ－１軸パートナーとその結合パートナーのいずれか１つ以上との相互作用を阻害して、ＰＤ－１シグナル伝達軸上のシグナル伝達の結果としてもたらされるＴ細胞の機能不全を除去し、その結果Ｔ細胞の機能（例えば増殖、サイトカイン産生、及び／または標的細胞死滅）を回復または増強する分子を意味する。本明細書中で使用されるＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト及びＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストを含む。

【００４０】

「ＰＤ－１結合アンタゴニスト」なる用語は、ＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＬ－Ｌ２などのその結合パートナーの１つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する分子を意味する。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、その結合パートナーの１つ以上に対するＰＤ－１の結合を阻害する分子である。特定の態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２に対するＰＤ－１の結合を阻害する。例えば、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－１抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、ならびにＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１を通したＴリンパ球媒介型シグナル伝達時点で発現される細胞表面タンパク質によってまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを減少させて、機能不全Ｔ細胞の機序不全を弱める（例えば、抗原認識に対するエフェクター応答を増強させる）。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは抗ＰＤ－１抗体である。特定の態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ）である。別の特定の態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるＭＫ－３４７５（ラムブロリズマブ）である。別の特定の態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは本明細書に記載されるＣＴ－０１１（ピジリズマブ）である。別の特定の態様において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるＡＭＰ－２２４である。

【００４１】

「ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト」なる用語は、ＰＤ－１のＰＤ－１及び／またはＢ７－１などのその結合パートナーのいずれか１つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する分子を意味する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１のその結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様では、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１及び／またはＢ７－１に対するＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、ならびにＰＤ－Ｌ１とＰＤ－１及び／またはＢ７－１などのその結合パートナーの１つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１を通したＴリンパ球媒介型シグナル伝達時点で発現される細胞表面タンパク質によってまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを減少させて、機能不全Ｔ細胞の機序不全を弱める（例えば、抗原

認識に対するエフェクター応答を増強させる）。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。特定の態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載されるＹＷ２４３．５５．Ｓ７０である。別の特定の態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載されるＭＤＸ－１１０５である。さらに別の特定の態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は本明細書に記載されるＭＰＤＬ３２８０Ａである。さらに別の特定の態様において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載されるＭＥＤＩ４７３６である。

【００４２】

「ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニスト」なる用語は、ＰＤ－Ｌ２とＰＤ－１などのその結合パートナーのいずれか１つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する分子を意味する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは、その結合パートナーの１つ以上に対するＰＤ－Ｌ２の結合を阻害する分子である。特定の態様では、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは、ＰＤ－１に対するＰＤ－Ｌ２の結合を阻害する。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２アンタゴニストは、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、ならびにＰＤ－Ｌ２のＰＤ－１などのその結合パートナーのいずれか１つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２を通したＴリンパ球媒介型シグナル伝達時点で発現される細胞表面タンパク質によってまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを減少させて、機能不全Ｔ細胞の機序不全を弱める（例えば、抗原認識に対するエフェクター応答を増強させる）。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストはイムノアドヘシンである。

【００４３】

本明細書中で使用される「タキサン」は、チューブリンに結合して、微小管のアセンブリ及び安定化を促進しかつ／または微小管脱重合を防止し得るジペルテンである。本明細書中に含まれるタキサンは、タキソイド１０－デアセチルバッカチンＩＩＩ及び／またはその誘導体を含んでいる。例示的タキサンとしては、パクリタキセル（すなわち、ＴＡＸＯＬ（登録商標）、ＣＡＳ　＃３３０６９－６２－４）、ドセタキセル（すなわち、ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）、ＣＡＳ　＃１１４９７７－２８－５）、ラロタキセル、カルバジタキセル、ミラタキセル、テセタキセル、及び／またはオラタキセルがあるが、これらに限定されない。一部の実施形態において、タキサンは、アルブミンでコーティングされたナノ粒子（例えばナノアルブミン結合型（ナブ）－パクリタキセル、すなわちＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）及び／またはナブ－ドセタキセルＡＢＩ－００８）である。一部の実施形態では、タキサンはナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンは、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンは、ＣＲＥＭＡＰＨＯＲ（登録商標）（例えばＴＡＸＯＬ（登録商標））及び／またはＴｗｅｅｎ、例えばポリソルベート８０（例えばＴＡＸＯＴＥＲＥ）（登録商標））中に調合される。一部の実施形態において、タキサンは、リポゾーム封入タキサンである。一部の実施形態において、タキサンは、タキサンのプロドラッグ形態及び／またはコンジュゲート形態（例えば、パクリタキセル、パクリタキセルポリグルメクス及び／またはリノレイルカルボネート－パクリタキセルに共有結合コンジュゲートされたＤＨＡ）である。一部の実施形態において、パクリタキセルは、実質的に全く界面活性剤の無い状態で（例えばＣＲＥＭＡＰＨＯＲ及び／またはＴｗｅｅｎ－例えばＴＯＣＯＳＯＬ（登録商標）パクリタキセルの不在下で）調合される。

【００４４】

免疫機能不全との関連での「機能不全」なる用語は、抗原刺激に対する免疫応答性が低下した状態を意味する。この用語には、抗原認識は発生し得るものの、次の免疫応答が感染または腫瘍成長を制御するのに有効でない「疲弊」及び／またはアネルギーの両方の共通要素が含まれる。

【００４５】

本明細書中で使用される「機能不全の」という用語にはまた、抗原認識に対し不応性のまたは無応答性の、具体的には、抗原認識を下流側のＴ細胞エフェクター機能、例えば増殖、サイトカイン産生（例えばＩＬ－２）及び／または標的細胞死滅へと翻訳する能力の障害も含まれる。

【００４６】

「アネルギー」なる用語は、Ｔ細胞レセプターを通して送達される不完全なまたは不充分なシグナル（例えばｒａｓ活性化の不在下での細胞内Ca^{+2}の増加）の結果としてもたらされる抗原刺激に対する無応答性状態を意味する。Ｔ細胞アネルギーはまた、共刺激の不在下で抗原を用いた刺激の時点でも結果として発生し、その結果、細胞は、共刺激の状況下でさえ抗原による後続する活性化に対して不応性となる。無応答性状態は多くの場合、インターロイキン２の存在によって乗り越えられる。アネルギーＴ細胞はクローン性増殖を受けず、かつ／またはエフェクター機能を獲得する。

【００４７】

「疲弊」なる用語は、多くの慢性感染症及び癌の間に発生する持続的なＴＣＲシグナル伝達から生じるＴ細胞機能不全状態としてのＴ細胞疲弊を意味する。これは、それが不完全なまたは不充分なシグナル伝達を通してではなく、持続的なシグナル伝達から生じるという点で、アネルギーと区別される。それは、低いエフェクター機能、阻害性レセプターの持続した発現、及び機能性エフェクターまたは記憶Ｔ細胞のものとは全く異なる転写状態により、定義づけされる。疲弊は、感染及び腫瘍の最適な制御を妨げる。疲弊は、外因性の負の調節経路（例えば免疫調節サイトカイン）ならびに細胞内因性負の調節（共刺激）経路（ＰＤ－１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４など）の両方によりもたらされ得る。

【００４８】

「Ｔ細胞機能を増強させる」とは、生物学的機能を持続または増幅させるように、あるいは疲弊したまたは不活性のＴ細胞を再生させるまたは再活性化するように、Ｔ細胞を誘発する、それに働きかける、またはそれを刺激することを意味する。Ｔ細胞機能の増強の例には、治療介入前のレベルに比較した場合の、ＣＤ８＋Ｔ細胞由来のγインターフェロンの分泌増加、増殖の増大、抗原応答性の上昇（例えば、ウイルスまたは病原体または腫瘍のクリアランス）が含まれる。一実施態様において、増強のレベルは少なくとも５０％、あるいは６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、１２０％、１５０％、または２００％である。このような増強の測定方法は、当業者にとって公知である。

【００４９】

「Ｔ細胞機能不全障害」は、抗原刺激に対する応答性の低下を特徴とするＴ細胞の障害または状態である。特定の実施態様において、Ｔ細胞機能不全障害は、ＰＤ－１を通した不適切なシグナル伝達の増大に特に関連付けられる障害である。別の実施態様において、Ｔ細胞機能不全障害は、Ｔ細胞がアネルギー状態にあるか、あるいは、サイトカインを分泌し、増殖し、または細胞溶解活性を発揮する能力が低下している障害である。特定の態様では、応答性の低下により、イムノゲンを発現する病原体または腫瘍の制御の効果が失われる結果となる。Ｔ細胞の機能不全を特徴とするＴ細胞機能不全障害の例には、消散していない急性感染症、慢性感染症、及び腫瘍免疫が含まれる。

【００５０】

「腫瘍免疫」は、腫瘍が免疫認識及びクリアランスを回避するプロセスを意味する。したがって、治療概念として、腫瘍免疫は、このような回避が減衰し、処理され、腫瘍が認識されて免疫系により攻撃される場合、「処置」されていることになる。腫瘍認識の例には、腫瘍結合、腫瘍収縮、及び腫瘍クリアランスが含まれる。

【００５１】

「免疫原性」は、免疫応答を引き起こす特定の物質の能力を意味する。腫瘍は免疫原性であり、腫瘍原性を増強させることは、免疫応答による腫瘍細胞のクリアランスを助ける。腫瘍原性の増強の例には、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンでの治療が含まれる。

【００５２】

「持続性寛解」は、治療の中止後の腫瘍増殖の減少に対する持続的効果を意味する。例えば、投与段階の開始時におけるサイズと比べて、腫瘍サイズは同じであるか、または小さいものにとどまるかもしれない。一部の実施形態において、持続性寛解は、治療持続時間と少なくとも同じ長さ、例えば、治療持続時間の１．５倍、２．０倍、２．５倍、または３．０倍の長さを有する。

【００５３】

本明細書で使用される「癌の再発を減少させるまたは阻害する」とは、腫瘍または癌の再発または腫瘍または癌の進行を減少させるまたは阻害することを意味する。本明細書中で開示される通り、癌の再発及び／または癌の進行には、限定するものではないが、癌の転移を含む。

【００５４】

本明細書で使用される「完全寛解」または「ＣＲ」とは、全ての標的病変の消滅を意味する。

【００５５】

本明細書で使用される「部分寛解」または「ＰＲ」とは、ベースライン長経和（ＳＬＤ）を基準として、標的病変のＳＬＤの少なくとも３０％の減少を意味する。

【００５６】

本明細書で使用される「疾病安定」または「ＳＤ」とは、治療を開始してからの最小ＳＬＤを基準として、ＰＲにふさわしくなるのに充分な標的病変の収縮も、ＰＤにふさわしくなるのに充分な増大もないことを意味する。

【００５７】

本明細書で使用される「疾病進行」または「ＰＤ」は、治療の開始以降に記録された最小のＳＬＤを基準とする、標的病変のＳＬＤの少なくとも２０％の増大または１つ以上の新たな病変の存在を意味する。

【００５８】

本明細書で使用される「無憎悪生存期間」（ＰＦＳ）は、治療中及び治療後の、治療対象疾病（例えば癌）が悪化しない時間的長さを意味する。無憎悪生存期間には、患者が完全寛解または部分寛解を有する時間量、ならびに患者が疾病の安定を経験した時間量が含まれてよい。

【００５９】

本明細書で使用される「全応答率」または「客観的応答率」（ＯＲＲ）とは、完全寛解（ＣＲ）率と部分寛解（ＰＲ）率の和を意味する。

【００６０】

本明細書で使用される「全生存率」（ＯＳ）とは、特定の持続時間の後に生存している確率の高いグループ内の個体の百分率を意味する。

【００６１】

「医薬調合物」とは、活性成分の生物活性が有効となることができるようにする形態を有し、その調合物を投与する予定の対象にとって許容できないほど毒性の高い追加の構成成分を全く含まない調製物を意味する。このような調合物は無菌である。薬学的に許容可能な賦形剤（ビヒクル、添加剤）は、利用される活性成分を有効用量だけ提供するために対象の哺乳動物に合理的に投与され得る賦形剤である。

【００６２】

本明細書で使用される「治療」とは、臨床病理学の経過の間に治療対象となっている個体または細胞の自然の経過を改変することを意図する臨床的介入を意味する。所望される治療の効果には、疾病の進行速度の低下、疾病状態の改善または軽減、及び寛解または予後の改善が含まれる。例えば、個体は、癌細胞の増殖の低減（または破壊）、疾病の結果としての症候の減少、疾病を患う者の生活の質の向上、疾病を治療するのに必要とされる他の薬剤の用量減少及び／または個体の延命を含めて（ただしこれらに限定されない）、癌に付随する１つ以上の症候が緩和または除去された場合に、「治療」に成功したことになる。

【００６３】
本明細書で使用される疾病の「進行を遅延させる」とは、疾病（例えば、癌）の発生を延ばす、妨げる、減速させる、遅らせる、安定させる、及び／または先送りにすることを意味する。この遅延の時間的長さは、病歴及び／または治療対象の個体の履歴に応じて変動し得る。当業者には自明であるように、十分なまたは有意な遅延は、事実上、個体が疾病を発症しないという意味で予防を包含する。例えば、転移の発生といった末期癌を遅延させられるかもしれない。
【００６４】
「有効量」とは、少なくとも特定の障害の測定可能な改善または予防を達成するために必要な最小量である。本明細書において、有効量は、患者の病状、年齢、性別、体重、及び個体において所望の応答を惹起する作用物質の能力といった要因に応じて変動し得る。また、有効量とは、治療的に有益な効果が、治療のいずれの毒性または有害効果よりも勝る量でもある。予防的使用の場合、有益なまたは所望される結果には、疾患の生化学的、組織学的、及び／または挙動的症候、その合併症、並びに疾患の発達中に出現する中間の病理学的表現型を含めて、疾病の、リスクを排除または減少させること、重症度を下げること、あるいは開始を遅らせることといった結果が含まれる。治療的使用の場合、有益なまたは所望される結果には、疾病の結果としての１つ以上の症候を低減すること、疾病を患う者の生活の質を向上させること、疾病の治療に必要な他の薬剤の用量を減らすこと、及びターゲッティングによるなどして別の薬剤の効果を増強すること、疾病の進行を遅らせること、及び／または延命することといった臨床結果が含まれる。癌または腫瘍の場合、有効量の薬剤は、癌細胞の数を減少させる；腫瘍のサイズを小さくする；癌細胞の周辺器官への浸潤を阻害する（即ち、ある程度緩慢にする、望ましくは止める）；腫瘍の転移を阻害する（即ち、ある程度緩慢にする、望ましくは止める）；腫瘍の成長をある程度阻害する；及び／または障害に付随する１つ以上の症候をある程度和らげるうえで効果を有する可能性がある。有効量は、１回以上の投与回数で投与することができる。本発明の目的において、薬剤、化合物、または医薬組成物の有効量とは、直接的にまたは間接的に、予防的または治療的処置を達成するために十分な量である。臨床的観点から理解されるように、有効量の薬剤、化合物、または医薬組成物は、別の薬剤、化合物、または医薬組成物と併せて達成される場合とそうでない場合がある。このように、「有効量」は、１つ以上の治療薬を投与するとの関連で考慮されてよく、１つ以上の他の薬剤と併せて所望の結果が達成可能であるか、または達成される場合、単一の薬剤は、有効量で与えられたと見なすことができる。
【００６５】
本明細書で使用される「～と併せて」とは、別の治療様式を追加した１つの治療様式の投与を意味する。したがって、「～と併せて」は、個体に対する一治療様式の投与の前、最中、または後の、他の治療様式の投与を意味する。
【００６６】
「障害」とは、哺乳動物を問題の障害に罹患しやすくする病的状態を含めた、慢性及び急性障害または疾病を含む（ただしこれらに限定されない）、治療により恩恵を受けると考えられるあらゆる身体条件である。
【００６７】
「細胞増殖性障害」及び「増殖性障害」なる用語は、或る程度の異常細胞増殖に付随する障害を意味する。一実施形態において、細胞増殖性障害は癌である。一実施形態において、細胞増殖性障害は腫瘍である。
【００６８】
本明細書で使用される「腫瘍」なる用語は、悪性であるか良性であるかに関わらず、全ての新生細胞成長及び増殖、及び全ての前癌及び癌細胞及び組織を意味する。「癌」、「癌性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」及び「腫瘍」なる用語は、本明細書中で言及されているように、互いに排他的ではない。
【００６９】

「癌」及び「癌性」なる用語は、典型的に無制御の細胞成長を特徴とする哺乳動物の生理学的状態を意味するか、または記述する。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫及び白血病または悪性リンパ腫が含まれるがこれらに限定されない。このような癌のさらに詳細な例には、扁平上皮癌（例えば上皮性扁平上皮細胞癌）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、及び肺の扁平上皮癌を含めた肺癌、腹膜の癌、肝細胞癌、消化管癌及び消化管間質癌を含めた胃癌、膵臓癌、グリア芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌（例えば尿路上皮膀胱癌（ＵＢＣ）、筋内浸潤性膀胱癌（ＭＩＢＣ）及びＢＣＧ不応性非筋内浸潤性膀胱癌（ＮＭＩＢＣ））、尿路癌、肝癌、乳癌（例えばＨＥＲ２＋乳癌及び、エステロゲンレセプター（ＥＲ－）、プロゲステロンレセプター（ＰＲ－）及びＨＥＲ２（ＨＥＲ２－）陰性であるトリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ））、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌（例えば腎細胞癌（ＲＣＣ）、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌腫、肛門癌、陰茎癌腫、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端性黒子性黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びＢ細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）；小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ；中悪性度／濾胞性ＮＨＬ；中悪性度びまん性ＮＨＬ；高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ；高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ；高悪性度小型非開裂性細胞ＮＨＬ；巨大病変ＮＨＬ；マントル細胞リンパ腫；ＡＩＤＳ関連リンパ腫；及びヴァルデンストレームマクログロブリン血症を含む）；慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）；急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）；急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）；ヘアリー細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病（ＣＭＬ）；及び移植後リンパ増殖性疾患（ＰＴＬＤ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、ならびに母斑症に随伴する異常血管増殖、浮腫（例えば脳腫瘍に伴うもの）、メーグス症候群、脳並びに頭部及び頸部癌、及びそれに随伴する転移が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、本発明の方法及び組成物による治療に敏感に反応する癌は、乳癌（例えばトリプルネガティブ乳癌）、膀胱癌（例えばＵＢＣ、ＭＩＢＣ、及びＮＭＩＢＣ）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（例えば扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、腎細胞癌（例えばＲＣＣ）、前立腺癌、肝癌、膵臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、卵巣癌、中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（例えばＭＤＳ及び多発性骨髄腫）であり得る。一部の実施形態において、癌は、小細胞肺癌、グリア芽腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌腫、胃癌、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、及び肝細胞癌腫から選択される。他の実施形態において、癌は、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、グリア芽腫、及び乳癌腫（これらの癌の転移形態も含む）から選択される。特定の実施形態において、癌は、肺癌（例えば、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌）、膀胱癌（例えばＵＢＣ）、乳癌（例えばＴＮＢＣ）、ＲＣＣ、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（例えばＭＤＳ及び多発性骨髄腫）から選択される。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はＵＢＣである。一部の実施形態において、乳癌は、ＴＮＢＣである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍は、ＭＤＳまたは多発性骨髄腫である。

【００７０】

本明細書で使用される「細胞毒性剤」なる用語は、細胞にとって有害である（例えば細胞死を引き起こす、増殖を阻害する、または他の形で細胞の機能を妨げる）任意の作用物質を意味する。細胞毒性剤には、放射性同位元素（例えばAt^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及びＬｕの放射性同位元素；化学療法剤；成長阻害剤；酵素及びそのフラグメント、例えば核酸分解酵素；及び毒素、例えば小分子毒素、または、細菌、真菌、植物または動物由来の酵素活性毒素（そのフラグメント及び／または変異体を含む）が含まれるが、これらに限定されない。例示的な細胞毒性剤は、抗微小管剤、白金配位錯体、アルキル化剤、抗生剤、トポイソメラーゼＩＩ阻害薬、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼＩ阻害剤、ホルモン及びホルモン類似体、シグナル伝達経路阻害薬、非レセプターチロシンキナーゼ血管形成阻害薬、免疫療法薬、アポトーシス促進薬、ＬＤＨ－Ａの阻害薬、脂肪酸生合成阻害薬、

細胞周期シグナル伝達阻害薬、ＨＤＡＣ阻害薬、プロテアソーム阻害薬、及び癌代謝阻害薬から選択可能である。一実施形態において、細胞毒性剤は、白金系化学療法薬である。一実施形態において、細胞毒性剤は、ＥＧＦＲのアンタゴニストである。一実施形態において、細胞毒性剤はＮ－（３－エチニルフェニル）－６，７－ビス（２－メトキシエトキシ）キナゾリン－４－アミン（例えば、エルロチニブ、ＴＡＲＣＥＶＡ（商標））である。一実施形態において、細胞毒性剤はＲＡＦ阻害薬である。一実施形態において、ＲＡＦ阻害薬はＢＲＡＦ及び／またはＣＲＡＦ阻害薬である。一実施形態において、ＲＡＦ阻害薬は、ベムラフェニブである。一実施形態において、細胞毒性剤はＰＩ３Ｋ阻害薬である。

【００７１】

本明細書で使用される「化学療法薬」には、癌の治療に有用な化合物が含まれる。化学療法薬の例としては、エルロチニブ（ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／ＯＳＩ Ｐｈａｒｍ.）、ボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ（登録商標）、Ｍｉｌｌｅｎｎｉｕｍ Ｐｈａｒｍ.）、ジスルフィラム、エピガロカテキンガレート、サリノスポラミドＡ、カルフィルゾミブ、１７－ＡＡＧ（ゲルダナマイシン）、ラジシコール、ラクテートデヒドロゲナーゼＡ（ＬＤＨ－Ａ）、フルヴェストラント（ＦＡＳＬＯＤＥＸ（登録商標）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、スニチブ（ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、Ｐｆｉｚｅｒ／Ｓｕｇｅｎ）、レトロゾール（ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、イマチニブメシレート（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、フィナスネート（ＶＡＴＡＬＡＮＩＢ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、オキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮ（登録商標）、Ｓａｎｏｆｉ）、５－ＦＵ （５－フルオロウラシル）、ロイコボリン、ラパマイシン（Ｓｉｒｏｌｉｍｕｓ、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）、ラパチニブ（ＴＹＫＥＲＢ（登録商標）、ＧＳＫ５７２０１６、Ｇｌａｘｏ Ｓｍｉｔｈ Ｋｌｉｎｅ）、ロナファミブ（ＳＣＨ ６６３３６）、ソラフェニブ（ＮＥＸＡＶＡＲ（登録商標）、Ｂａｙｅｒ Ｌａｂｓ）、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＡＧ１４７８、アルキル化剤例えば、チオテパ及びＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標）シクロスホスファミド；アルキルスルホネート類、例えばブスルファン、インプロスルファン及びピポスルファン；アジリジン類、例えばベンゾドパ、カルボクオン、メツレドパ及びウレドパ；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド及トリメチロメラミンを含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；アセトゲニン類（特にブラタシン及びブラタシノン）；カンプトテシン（トポテカン及びイリノテカンを含む）；ブリオスタチン；カリスタチン；ＣＣ－１０６５（そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成類似体を含む）；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン１及びクリプトフィシン８）；アデノコルチコステロイド類（プレドニゾン及びプレドニゾロンを含む）サイプロテロンアセテート；５ａ－レダクターゼ フィナステリド及びデュタステリドを含む）；ボリノスタット、ロミデプシン、パノビノスタット、バルプロ酸、モセチノスタットドラスタチン；アルデスロイキン、タルクデュオカルマイシン（合成類似体、ＫＷ－２１８９及びＣＢ１－ＴＭ１を含む）；エリュテロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンジスタチン；ナイトロジェンマスタード類、例えばクロラムブシル、クロマファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンビチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタード；ニトロソウレア類、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムヌスチン；抗生物質、例えばエンジイン抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシンγ１Ｉ及びカリケアマイシンω１Ｉ（Ａｎｇｅｗ Ｃｈｅｍ. Ｉｎｔｌ. Ｅｄ. Ｅｎｇｌ. ３３：１８３－１８６（１９９４））；ダイネミシンＡを含むダイネミシン；ビスホスホネート類、例えばクロドロネート；エスペラマイシン；ならびにネオカルチノスタチン発色団及び関連する色素タンパクエンジイン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン類、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン類、カクチノマイ

シン、カラビシン、カミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシニス類、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮ（登録商標）（ドキソルビシン）、モルホリノ－ドキソルビシン、シアノモルホリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン及びデオキシドキソルビシン）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン類、例えばマイトマイシンＣ、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン；代謝拮抗剤、例えばメトトレキサート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）；葉酸類似体、例えばデノプテリン、メトトレキセート、プテロプテリン、トリメトレキサート；プリン類似体、例えばフルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジン類似体、例えばアンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン；アンドロゲン類、例えばカルステロン、ドロモスタノロンプロピオネート、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗アドレナール、例えばアミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充薬、例えばフォリン酸；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトレキセート；デフォファミン；デメコルチン；ジアジコン；エルフォミチン；エリプチニウムアセテート；エポチロン；エトグルシド；ガリウムニトレート；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシノイド類、例えばメイタンシン及びアンサミトシン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダムノール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメト；ピラルビシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ（登録商標）多糖類複合体（ＪＨＳ　Ｎａｔｕｒａｌ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；２，２’，２’’－トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特に、Ｔ－２トキシン、ベラクリンＡ、ロリジンＡ及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキサン；クロラムブシル；ＧＥＭＺＡＲ（登録商標）（ゲムシタビン）；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキセート；ビンブラスチン；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ＮＡＶＥＬＢＩＮＥ（登録商標）（ビノレルビン）；ノバントロン；テニポシド；エダトレキセート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カペシタビン（ＸＥＬＯＤＡ（登録商標））；イバンドロネート；ＣＰＴ－１１；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）；レチノイド、例えばレチノイン酸及び上述のいずれかのものの薬学的に許容可能な塩、酸及び誘導体が含まれる。

【００７２】

化学療法薬には、分子の不可欠な部分として白金を含む有機化合物を含む「白金系」化学療法薬も含まれる。典型的には、白金系の化学療法薬は、白金の配位錯体である。白金系化学療法薬は、当該技術分野において、「プラチン」と呼ばれることがある。白金系の化学療法薬の例としては、カルボプラチン、シスプラチン及びオキサリプラチンが含まれるが、これらに限定されない。

【００７３】

化学療法薬はまた、（ｉ）例えばタモキシフェン（ＮＯＬＶＡＤＥＸ（登録商標）；クエン酸タモキシフェンを含む）、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、ヨードキシフェン、４－ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、ＬＹ１１７０１８、オナプリストン及びＦＡＲＥＳＴＯＮ（登録商標）（トレミフェンシトレート）を含む、抗エストロゲン及び選択的エストロゲンレセプターモジュレータ（ＳＥＲＭ）などの腫瘍に対するホルモン作用を調節または阻害するように作用する抗ホルモン剤、（ｉｉ）

例えば４（５）－イミダゾール類、アミノグルテチミド、ＭＥＧＡＳＥ（登録商標）（メゲストロールアセテート）、ＡＲＯＭＡＳＩＮ（登録商標）（エキセメスタン；Ｐｆｉｚｅｒ）、ホルメスタニー、ファドロゾール、ＲＩＶＩＳＯＲ（登録商標）（ボロゾール）、ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）（レトロゾール；Ｎｏｖａｒｔｉｓ）及びＡＲＩＭＩＤＥＸ（登録商標）（アナストロゾール；ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）などの副腎内のエストロゲン産出を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害薬；（ｉｉｉ）フルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド及びゴセレリンなどの抗アンドロゲン；ブセレリン、トリプテレリン、メドロキシプロゲステロンアセテート、ジエチルスチルベストロール、プレマリン、フルオキシメステロン、全てのトランスレチノイン酸、フェンレチニドならびにトロキサシタビン（１，３‐ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；（ｉｖ）タンパク質キナーゼ阻害薬；（ｖ）脂質キナーゼ阻害薬；（ｖｉ）アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、例えばＰＫＣ－アルファ、Ｒａｌｆ及びＨ－Ｒａｓなどの異常細胞増殖に関与するシグナル伝達経路内の遺伝子の発現を阻害するもの；（ｖｉｉ）ＶＥＧＦ発現阻害剤（例えばＡＮＧＩＯＺＹＭＥ（登録商標））及びＨＥＲ２発現阻害剤などのリボザイム；（ｖｉｉｉ）例えばＡＬＬＯＶＥＣＴＩＮ（登録商標）、ＬＥＵＶＥＣＴＩＮ（登録商標）及びＶＡＸＩＤ（登録商標）；ＰＲＯＬＥＵＫＩＮ（登録商標）、ｒＩＬ－２；などの遺伝子療法ワクチンといったワクチン；ＬＵＲＴＯＴＥＣＡＮ（登録商標）；ＡＢＡＲＥＬＩＸ（登録商標）ｒｍＲＨなどのトポイソメラーゼ１阻害薬；及び（ｉｘ）以上のものの薬学的に許容可能な塩、酸及び誘導体も含んでいる。

【００７４】

化学療法薬にはまた、抗体、例えばアレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ）、ベバシズマブ（ＡＶＡＳＴＩＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）；セツキシマブ（ＥＲＢＩＴＵＸ（登録商標）、Ｉｍｃｌｏｎｅ）；パニツマブ（ＶＥＣＴＩＢＩＸ（登録商標）、Ａｍｇｅｎ）、リツキシマブ（ＲＩＴＵＸＡＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）、ペルツズマブ（ＯＭＮＩＴＡＲＧ（登録商標）、２Ｃ４、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、トラツズマブ（ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、トシツモマブ（Ｂｅｘｘａｒ、Ｃｏｒｉｘｉａ）及び抗体薬コンジュゲート、ゲムツズマブ、オゾガマイシン（ＭＹＬＯＴＡＲＧ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）も含まれる。本発明の化合物と組合わせた作用物質としての治療上の潜在的可能性を有する追加のヒト化モノクローナル抗体としては、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネオズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴール、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エプラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマブ、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シブロツズマブ、シプリズマブ、ソンツズマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビシリズマブ、及びインターロイキン－１２　ｐ４０タンパク質を認識するように遺伝子的に修飾された組換え型排他的ヒト配列完全長ＩｇＧ$_1$λ抗体である抗インターロイキン－１２（ＡＢＴ－８７４／Ｊ６９５，Ｗｙｅｔｈ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　ａｎｄ　Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）が含まれる。

【００７５】

化学療法薬にはまた、ＥＧＦＲに結合するかまたは他の形でＥＧＦＲと直接相互作用し、そのシグナル伝達活性を妨げるまたは減少させる化合物を意味しかつ代替的には「ＥＧＦＲアンタゴニスト」としても言及される「ＥＧＦＲ阻害薬」も含まれる。このような作用物質の例としては、ＥＧＦＲに結合する抗体及び小分子が含まれる。ＥＧＦＲに結合す

る抗体の例には、ＭＡｂ５７９（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　ＨＢ８５０６）、ＭＡｂ４５５（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　ＨＢ８５０７）、ＭＡｂ２２５（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　８５０８）、ＭＡｂ５２８（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　８５０９）（米国特許第４，９４３，５３３号参照）及びその変異体、例えば、キメラ化２２５（Ｃ２２５またはセツキシマブ：ＥＲＢＵＴＩＸ（登録商標）及び再構成ヒト２２５（Ｈ２２５）（例えばＷＯ９６／４０２１０、Ｉｍｃｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ．参照）；完全ヒトＥＧＦＲ標的化抗体であるＩＭＣ－１１Ｆ８（Ｉｍｃｌｏｎｅ）；ＩＩ型突然変異体ＥＧＦＲに結合する抗体（米国特許第５，２５２，２９０号）；米国特許第５，８９１，９９６号に記載の、ＥＧＦＲに結合するヒト化及びキメラ抗体；及びＡＢＸ－ＥＧＦまたはマニツムマブなどの、ＥＧＦＲに結合するヒト抗体（ＷＯ９８／５０４３３、Ａｂｇｅｎｉｘ／Ａｍｇｅｎ参照）；ＥＭＤ　５５９００（Ｓｔｒａｇｌｉｏｔｔｏ　ｅｔ　ａｌ，．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ　３２Ａ：６３６～６４０（１９９６））；ＥＧＦＲ結合についてＥＧＦ及びＴＧＦ－ａｌｐｈａの両方と競合するＥＧＦＲに対して向けられたヒト化ＥＧＦＲ抗体であるＥＭＤ７２００（マツズマブ）（ＥＭＤ／Ｍｅｒｃｋ）；ヒトＥＧＦＲ抗体、ＨｕＭａｘ－ＥＧＦＲ（ＧｅｎＭａｂ）；Ｅ１．１、Ｅ２．４、Ｅ２．５、Ｅ６．２、Ｅ６．４、Ｅ２．１１、Ｅ６．３及びＥ７．６．３として公知でありＵＳ６，２３５，８８３中に記載の完全ヒト抗体；ＭＤＸ－４４７（Ｍｅｄａｒｅｘ　Ｉｎｃ）；及びｍＡｂ８０６またはヒト化ｍＡｂ８０６（Ｊｏｈｎｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７９（２９）：３０３７５～３０３８４（２００４））が含まれる。抗ＥＧＦＲ抗体は、細胞毒性剤とコンジュゲートされてよく、こうしてイムノコンジュゲートを生成する（例えば、ＥＰ６５９４３９Ａ２、Ｍｅｒｃｋ　Ｐａｔｅｎｔ　ＧｍｂＨを参照）。ＥＧＦＲアンタゴニストには、小分子、例えば、米国特許：第５，６１６，５８２号、第５，４５７，１０５号、第５，４７５，００１号、第５，６５４，３０７号、第５，６７９，６８３号、第６，０８４，０９５号、第６，２６５，４１０号、第６，４５５，５３４号、第６，５２１，６２０号、第６，５９６，７２６号、第６，７１３，４８４号、第５，７７０，５９９号、第６，１４０，３３２号、第５，８６６，５７２号、第６，３９９，６０２号、第６，３４４，４５９号、第６，６０２，８６３号、第６，３９１，８７４号、第６，３４４，４５５号、第５，７６０，０４１号、第６，００２，００８号及び第５，７４７，４９８号ならびにＷＯ９８／１４４５１、ＷＯ９８／５００３８、ＷＯ９９／０９０１６及びＷＯ９９／２４０３７というＰＣＴ公報に記載の化合物が含まれる。特定の小分子ＥＧＦＲアンタゴニストには、ＯＳＩ－７７４（ＣＰ－３５８７７４、エルロチニブ、ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標）Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／ＯＳＩ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）；ＰＤ　１８３８０５（ＣＩ１０３３、２－プロペンアミド、Ｎ－［４－［（３－クロロ－４－フルオロフェニル）アミノ］－７－［３－（４－モルホリニル）プロポキシ］－６－キナゾリニル］－、ジヒドロクロリド、Ｐｆｉｚｅｒ　Ｉｎｃ．）；ＺＤ１８３９、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標））４－（３’－クロロ－４’－フルオロアニリノ）－７－メトキシ－６－（３－モルホリノプロポキシ）キナゾリン、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）；ＺＭ　１０５１８０（（６－アミノ－４－（３－メチルフェニル－アミノ）－キナゾリン、Ｚｅｎｅｃａ）；ＢＩＢＸ－１３８２（Ｎ８－（３－クロロ－４－フルオロ－フェニル）－Ｎ２－（１－メチル－ピペリジン－４－イル）－ピリミド［５，４－ｄ］ピリミジン－２，８－ジアミン、Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ）；ＰＫＩ－１６６（（Ｒ）－４－［４－［（１－フェニルエチル）アミノ］－１Ｈ－ピロロ［２，３－ｄ］ピリミジン－６－イル］－フェノール）；（Ｒ）－６－（４－ヒドロキシフェニル）－４－［（１－フェニルエチル）アミノ］－７Ｈ－ピロロ［２，３－ｄ］ピリミジン）；ＣＬ－３８７７８５（Ｎ－［４－［（３－ブロモフェニル）アミノ］－６－キナゾリニル］－２－ブチナミド）；ＥＫＢ－５６９（Ｎ－［４－［（３－クロロ－４－フルオロフェニル）アミノ］－３－シアノ－７－エトキシ－６－キノリニル］－４－（ジメチルアミノ）－２－ブタンアミド）（Ｗｙｅｔｈ）；ＡＧ１４７８（Ｐｆｉｚｅｒ）；ＡＧ１５７１（ＳＵ　５２７１；Ｐｆｉｚｅｒ）；二重ＥＧＦＲ／ＨＥＲ２チロシンキナーゼ阻害剤、例えばラパチニブ（ＴＹＫＥＲＢ（登録商標）、ＧＳＫ５７２０１６またはＮ－［３－クロロ－４－

［（３フルオロフェニル）メトキシ］フェニル］－６［５［［［２メチルスルホニル）エチル］アミノ］メチル］－２－フラニル］－４－キナゾリンアミン）が含まれる。

【００７６】

化学療法薬にはまた、先行段落中に指摘されているＥＧＦＲ標的化薬剤を含む「チロシンキナーゼ阻害薬」；小分子ＨＥＲ２チロシンキナーゼ阻害薬、例えばＴａｋｅｄａから入手可能なＴＡＫ１６５；ＥｒｂＢ２レセプターチロシンキナーゼの経口選択的阻害薬であるＣＰ－７２４、７１４（Ｐｆｉｚｅｒ及びＯＳＩ）；ＥＧＦＲに選好的に結合するもののＨＥＲ２及びＥＧＦＲ過剰発現細胞を両方共阻害するＥＫＢ－５６９（Ｗｙｅｔｈより入手可）などの二重ＨＥＲ阻害薬；経口ＨＥＲ２及びＥＧＦＲチロシンキナーゼ阻害薬であるラパチニブ（ＧＳＫ５７２０１６；ＧｌａｘｏｓｍｉｔｈＫｌｉｎｅより入手可）；ＰＫＩ－１６６（Ｎｏｖａｒｔｉｓより入手可）；カネルチニブ（ＣＩ－１０３３；Ｐｈａｒｍａｃｉａ）などの汎ＨＥＲ阻害薬；Ｒａｆ－１シグナル伝達を阻害するＩＳＩＳ Ｒｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓから入手可能なアンチセンス剤ＩＳＩＳ－５１３２などのＲａｆ－１阻害薬；イマチニブメシレート（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標）、ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅより入手可）などの非ＨＥＲ標的化チロシンキナーゼ阻害薬；スニチニブ（ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、Ｐｆｉｚｅｒより入手可）などの多重標的化チロシンキナーゼ阻害薬；例えばバタラニブ（ＰＴＫ７８７／ＺＫ２２２５８４、Ｎｏｖａｒｔｉｓ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ ＡＧより入手可）などのＶＥＦＧレセプターチロシンキナーゼ阻害薬；ＭＡＰＫ細胞外調節型キナーゼＩ阻害薬ＣＩ－１０４０（Ｐｈａｒｍａｃｉａより入手可）；キナゾリン類、例えばＰＤ １５３０３５，４－（３－クロロアニリノ）キナゾリン；ピリドピリミジン類；ピリミドピリミジン類；ピロロピリミジン類、例えばＣＧＰ５９３２６、ＣＧＰ６０２６１及びＣＧＰ６２７０６；ピラゾロピリミジン類、４－（フェニルアミノ）－７Ｈ－ピロロ［２，３－ｄ］ピリミジン類；クルクミン（ジフェルロイルメタン、４，５－ビス（４－フルオロアニリノ）フタルイミド）；ニトロチオフェン部分を含むチルホスチン；ＰＤ－０１８３８０５（Ｗａｒｎｅｒ－Ｌａｍｂｅｒ）；アンチセンス分子（例えばＨＥＲをコードする核酸）；キノキサリン類（米国特許第５，８０４，３９６号）；トリホスチン類（米国特許第５，８０４，３９６号）；ＺＤ６４７４（Ａｓｔｒａ Ｚｅｎｅｃａ）；ＰＴＫ－７８７（Ｎｏｖａｒｔｉｓ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ ＡＧ）；汎ＨＥＲ阻害剤、例えばＣＩ－１０３３（Ｐｆｉｚｅｒ）；アフィニタック（ＩＳＩＳ ３５２１；Ｉｓｉｓ／Ｌｉｌｌｙ）；イマチニブメシレート（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標））；ＰＫＩ １６６ （Ｎｏｖａｒｔｉｓ）；ＧＷ２０１６ （ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）；ＣＩ－１０３３ （Ｐｆｉｚｅｒ）；ＥＫＢ－５６９ （Ｗｙｅｔｈ）；セマキシニブ （Ｐｆｉｚｅｒ）；ＺＤ６４７４ （ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）；ＰＴＫ－７８７ （Ｎｏｖａｒｔｉｓ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ ＡＧ）；ＩＮＣ－１Ｃ１１ （Ｉｍｃｌｏｎｅ）、ラパマイシン（シロリムス、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標））；あるいは、米国特許第５，８０４，３９６号；ＷＯ１９９９／０９０１６（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｙａｎａｍｉｄ）；ＷＯ１９９８／４３９６０（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｙａｎａｍｉｄ）；ＷＯ１９９７／３８９８３（Ｗａｒｎｅｒ Ｌａｍｂｅｒｔ）；ＷＯ１９９９／０６３７８（Ｗａｒｎｅｒ Ｌａｍｂｅｒｔ）；ＷＯ１９９９／０６３９６（Ｗａｒｎｅｒ Ｌａｍｂｅｒｔ）；ＷＯ１９９６／３０３４７（Ｐｆｉｚｅｒ，Ｉｎｃ）；ＷＯ１９９６／３３９７８（Ｚｅｎｅｃａ）；ＷＯ１９９６／３３９７（Ｚｅｎｅｃａ）及びＷＯ１９９６／３３９８０（Ｚｅｎｅｃａ）という特許公報のいずれかに記載のものも含まれる。

【００７７】

化学療法薬にはまた、デキサメタゾン、インターフェロン類、コルヒチン、メトプリン、シクロスポリン、アンホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、生ＢＣＧ、ベバクジマブ、ベキサロテン、クラドリビン、クロファラビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキン、デクスラゾキサン、エポエチンアルファ、エロチニブ、フィルグラスチム、ヒストレリンアセテート、イブリツモマブ、インターフェロンアルファ－２ａ、インター

フェロンアルファ－２ｂ、レナリドミド、レバミゾール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン、ネララビン、ノフェツモマブ、オプレルベキン、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマーゼ、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド２ナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスブリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、ＶＭ－２６、６－ＴＧ、トレミフェン、トレチノイン、ＡＴＲＡ、バルルビシン、ゾレドロネート及びゾレドロン酸及びその薬学的に許容可能な塩も含まれる。

【００７８】

化学療法薬にはまた、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセテート、コルチゾンアセテート、チキソコルトールピバレート、トリアムシノロンアセトニド、トリア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、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ベタメタゾン、ベタメタゾンナトリウムホスフェート、デキサメタゾン、デキサメタゾンナトリウムホスフェート、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン－１７－ブチレート、ヒドロコルチゾン－１７－バレレート、アクロメタゾンジプロピオネート、ベタメタゾンバレレート、ベタメタゾンジプロピオネート、プレドニカルベート、クロベタゾン－１７－ブチレート、クロベタゾール－１７－プロピオネート、フルオコルトロンカプロエート、フルオコルトロンピバレート及びフルプレドニデンアセテート；免疫選択的抗炎症性ペプチド（ＩｍＳＡＩＤ）、例えばフェニルアラニン－グルタミン－グリシン（ＦＥＧ）及びそのＤ－異性体型（ｆｅＧ）（ＩＭＵＬＡＮ　ＢｉｏＴｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，ＬＬＣ）；抗リウマチ薬、例えばアザチオプリン、シクロスポリン（シクロスポリンＡ）、Ｄ－ペニシラミン、金塩、ヒドロキシクロロキン、レフルノミドミノサイクリン、スルファサラジン；腫瘍壊死因子アルファ（ＴＮＦα）ブロッカー、例えばエタネルセプト（Ｅｎｂｒｅｌ）、インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）、アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ）、セルトリズマブペゴール（Ｃｉｍｚｉａ）、ゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ）、インターロイキン１（ＩＬ－１）ブロッカー、例えばアナキンラ（Ｋｉｎｅｒｅｔ）、Ｔ細胞共刺激ブロッカー、例えばアバタセプト（Ｏｒｅｎｃｉａ）、インターロイキン６（ＩＬ－６）ブロッカー、例えばトシリズマブ（ＡＣＴＥＭＥＲＡ（登録商標））；インターロイキン１３（ＩＬ－１３）ブロッカー、例えばレブリキズマブ、インターフェロンアルファ（ＩＦＮ）ブロッカー、例えばロンタリズマブ；ベータ７インテグリンブロッカー、例えばｒｈｕＭＡｂ　Ｂｅｔａ７；ＩｇＥ経路ブロッカー、例えば抗Ｍ１プライム（Ａｎｔｉ－Ｍ１　ｐｒｉｍｅ）；分泌型ホモトリマーＬＴａ３及び膜結合型ヘテロトリマーＬＴａ１／β２ブロッカー、例えば抗リンホトキシンアルファ（ＬＴａ）；放射性同位元素（例えば、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及びＬｕの放射性同位元素）；さまざまな治験薬、例えばチオプラチン、ＰＳ－３４１、フェニルブチレート、ＥＴ－１８－OCH_3、またはファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬（Ｌ－７３９７４９、Ｌ－７４４８３２）、ポリフェノール類、例えばケルセチン、レスベラトロール、ピセアタンノール、エピガロカテキンガレート、テアフラビン類、フラバノール類、プロシアニジン類、ベツリン酸及びその誘導体；自食作用阻害薬、例えばクロロキン；デルタ－９－テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、ＭＡＲＩＮＯＬ（登録商標））；ベーターラパコン；ラパコール；コルヒチン類；ベツリン酸；アセチルカンプトテシン、スコポレクチン、及び９－アミノカンプトテシン）；ポドフィロトキシン；テガフール（ＵＦＴＯＲＡＬ（登録商標））；ベキサロテン（ＴＡＲＧＲＥＴＩＮ（登録商標））；ビスホスホネート類、例えばクロドロネート（例えば、ＢＯＮＥＦＯＳ（登録商標）またはＯＳＴＡＣ（登録商標））、エチドロネート（ＤＩＤＲＯＣＡＬ（登録商標））、ＮＥ－５８０９５、ゾレドロン酸／ゾレドロネート（ＺＯＭＥＴＡ（登録商標））、アレンドロネート（ＦＯＳＡＭＡＸ（登録商標））、パミドロネート（ＡＲＥＤＩＡ（登録商標））、チルドロネート（ＳＫＥＬＩＤ（登録商標））、またはリセドロネート（ＡＣＴＯＮＥＬ（登録商標））；及び上皮成長因子レセプター（ＥＧＦ－Ｒ）；ワクチン、例えばＴＨＥＲＡＴＯＰＥ（登録商標）ワクチン；ペリホシン、ＣＯＸ－２阻害薬（例えばセレコキシブまたはエ

トリコキシブ）、プロテオソーム阻害薬（例えばＰＳ３４１）；ＣＣＩ－７７９；チピファルニブ（Ｒ１１５７７）；オラフェニブ、ＡＢＴ５１０；Ｂｃｌ－２阻害薬、例えばオブリメルセンナトリウム（ＧＥＮＡＳＥＮＳＥ（登録商標））；ピキサントロン；ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬、例えばロナファルニブ（ＳＣＨ６６３６、ＳＡＲＡＳＡＲ（商標）；及び以上のいずれかのものの薬学的に許容可能な塩、酸または誘導体；ならびに以上の２つ以上のものの組合せ、例えばシクロホストファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン及びプレドニゾロンの組合せ療法の略語であるＣＨＯＰ；及び５－Ｆｕ及びロイコボリンと組合わされたオキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮ（商標））を用いた治療計画の略語であるＦＯＬＦＯＸも含まれる。

【００７９】

化学療法薬にはまた、鎮痛、解熱及び抗炎症効果を有する非ステロイド系抗炎症薬も含まれる。ＮＳＡＩＤは、酵素シクロオキシゲナーゼの非選択的阻害薬を含む。ＮＳＡＩＤの具体例には、アスピリン、プロピオン酸誘導体、例えばイブプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン及びナプロキセン、酢酸誘導体、例えばインドメタシン、スリンダク、エトドラク、ジクロフェナク、エノール酸誘導体、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、ロルノキシカム及びイソキシカム、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、トルフェナム酸、ならびにＣＯＸ－２阻害剤、例えばセレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、パレコキシブ、ロフェコキシブ及びバルデコキシブが含まれる。ＮＳＡＩＤの適応症としては、リウマチ性関節炎、骨関節炎、炎症性関節症、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、ライター症候群、急性痛風、月経困難症、転移性骨痛、頭痛及び偏頭痛、術後疼痛、炎症及び組織傷害に起因する軽度乃至中度の疼痛、発熱、腸閉塞及び腎疝痛などの状態の症候軽減が考えられる。

【００８０】

本明細書中で使用される「成長阻害物質」とは、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞の成長を阻害する化合物または組成物を意味する。一実施形態において、成長阻害物質は、抗体が結合する抗原を発現する細胞の増殖を防止するまたは減少させる成長阻害抗体である。別の実施形態において、成長阻害物質は、Ｓ期の細胞の百分率を有意に減少させるものであってよい。成長阻害物質の例としては、細胞周期の進行（Ｓ期以外の場所における）を遮断する作用物質、例えば、Ｇ１阻止及びＭ期阻止を誘発する作用物質がある。従来のＭ期ブロッカーには、ビンカ類（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン及びトポイソメラーゼＩＩ阻害薬、例えばドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド及びブレオマイシンが含まれる。Ｇ１を阻止するこれらの作用物質はまた、Ｓ期阻止、例えばＤＮＡアルキル化剤、例えばタモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、５－フルオロウラシル及びａｒａ－Ｃまで波及する。さらなる情報は、Ｍｅｎｄｅｌｓｏｈｎ ａｎｄ Ｉｓｒａｅｌ，ｅｄｓ．，Ｔｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ，Ｃｈａｐｔｅｒ１，表題「Ｃｅｌｌ ｃｙｃｌｅ ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ，ｏｎｃｏｇｅｎｅｓ，ａｎｄ ａｎｔｉｎｅｏｐｌａｓｔｉｃ ｄｒｕｇｓ」ｂｙ Ｍｕｒａｋａｍｉ ｅｔ ａｌ．（Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，１９９５），例えばｐ．１３に見出すことができる。

【００８１】

「放射線療法」とは、正常に機能する細胞の能力を制限するかまたは細胞全体を破壊するのに充分な損傷を細胞に対して誘発するための定方向ガンマ線またはベータ線の使用を意味する。当該技術分野では治療の線量及び持続時間を決定する多くの方法が存在することがわかるだろう。典型的な治療は、一回投与として施され、典型的線量は一日あたり１０～２００単位（グレイ）の範囲内である。

【００８２】

治療を目的とした「対象」または「個体」とは、ヒト、飼育及び家畜動物、及び動物園、スポーツまたはペット動物、例えばイヌ、ウマ、ネコ、畜牛などを含めた哺乳動物とし

て分類される任意の動物を意味する。好ましくは、哺乳動物はヒトである。対象または個体は、患者であってよい。

【００８３】

本明細書中の「抗体」なる用語は、最も広義で用いられ、具体的にはモノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び所望の生物活性を示すかぎりにおいて抗体フラグメントも網羅している。

【００８４】

「単離された」抗体とは、同定され、その天然の環境の一構成成分から分離及び／または回収された抗体である。その天然の環境の汚染性構成成分は、抗体の研究、診断または治療目的の使用と干渉すると考えられる材料であり、酵素、ホルモン及び他のタンパク様または非タンパク様溶質が含まれるかもしれない。一部の実施形態において、抗体は、例えば（１）ロウリーの方法により決定される通り、抗体重量で９５％超そして、一部の実施形態においては９９重量％超まで；（２）例えばスピニングカップ配列決定装置などを用いて少なくとも１５個のＮ末端または内部アミノ酸配列残基を得るのに充分な程度まで、または（３）例えばクマシーブルーまたは銀染色を用いて還元または非還元条件の下でＳＤＳ－ＰＡＧＥによる均質性に至るまで精製される。抗体の天然の環境の少なくとも１つの構成成分は存在しないものであるため、単離された抗体には、組換え型細胞の内部のインサイチュ抗体が含まれる。しかしながら通常は、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調製されるものである。

【００８５】

「天然抗体」とは通常、２本の同一の軽（Ｌ）鎖と２本の同一の重（Ｈ）鎖とで構成される約１５０，０００ダルトンのヘテロテトラマー糖タンパク質である。各軽鎖は、１つの共有ジスルフィド結合によって重鎖に結合され、一方ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で変動する。各々の重鎖及び軽鎖はまた、規則的に離隔された鎖内ジスルフィド架橋を有する。各重鎖は一方の末端に可変ドメイン（V_H）とそれに続くいくつかの定常ドメインを有する。各軽鎖は、一方の末端に可変ドメイン（V_L）を、そして他方の末端に定常ドメインを有する。軽鎖の定常ドメインは、重鎖の第１の定常ドメインと整列させられ、軽鎖の可変ドメインは、重鎖の可変ドメインと整列させられる。特定のアミノ酸残基は、軽鎖と重鎖の可変ドメインの間に界面を形成すると考えられている。

【００８６】

「定常ドメイン」なる用語は、抗原結合部位を含む可変ドメインである免疫グロブリンのもう一方の部分に比べてより保存度の高いアミノ酸配列を有する、免疫グロブリン分子の部分を意味する。定常ドメインは、重鎖のC_H1、C_H2及びC_H3ドメイン（集合的にＣＨ）及び軽鎖のＣＨＬ（またはＣＬ）を含む。

【００８７】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを意味する。重鎖の可変ドメインは、「V_H」として言及される場合がある。軽鎖の可変ドメインは、「V_L」として言及される場合がある。これらのドメインは、概して、抗体の最も可変的な部分であり、抗原結合部位を含む。

【００８８】

「可変」なる用語は、可変ドメインのある特定の部分が抗体間で広範に配列が異なり、特定の各抗体のその特定の抗原についての特異性及び結合において使用されるという事実を意味している。しかしながら、可変性は、抗体の可変ドメイン全体にわたり均等に分布してはいない。可変性は、軽鎖及び重鎖の可変ドメインの両方において、超可変領域（ＨＶＲ）と呼ばれる３つのセグメント内に集中している。可変ドメインのより保存度の高い部分は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。天然重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々４つのＦＲ領域を含み、これらの領域は、大部分は、ベータシート構造を結合し場合によってはベータシート構造の一部を成すループを形成する３つのＨＶＲによって結合され

て、１つのベータシート立体配置を採用している。各鎖内のＨＶＲは、ＦＲ領域により互いに近接して保持されており、もう一方の鎖由来のＨＶＲと共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１）を参照のこと）。定常ドメインは、抗原に対する抗体の結合に直接関与せず、さまざまなエフェクター機能、例えば抗体依存性細胞毒性における抗体の関与などを示す。

【００８９】

任意の哺乳動物種由来の抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（「κ」）及びラムダ（「λ」）と呼ばれる２つの明らかに異なるタイプの１つに割当てることができる。

【００９０】

本明細書で使用されるＩｇＧ「アイソタイプ」または「サブクラス」なる用語は、免疫グロブリンのその定常領域の化学的特性及び抗原特性によって定義されるサブクラスのいずれかを意味する。

【００９１】

抗体（免疫グロブリン）を、その重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて異なるクラスに割当てることができる。免疫グロブリンには５つの主要クラス、すなわちＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ及びＩｇＭがあり、これらのうちのいくつかはさらにサブクラス（アイソタイプ）、例えばIgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1及びIgA_2に分割され得る。異なる免疫グロブリンクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、γ、ε、γ及びμと呼ばれる。異なる免疫グロブリンクラスのサブユニット構造及び３次元立体配置は周知であり、Ａｂｂａｓ ｅｔ ａｌ．Ｃｅｌｌｕｌａｒ ａｎｄ Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，４ｔｈ ｅｄ．（Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ，Ｃｏ．，２０００）内に一般的に説明されている。抗体は、１つ以上の他のタンパク質またはペプチドとの抗体の共有結合または非共有結合会合によって形成されるより大きい融合分子の一部である場合がある。

【００９２】

「全長抗体」、「インタクト抗体」及び「全抗体」なる用語は、本明細書において、以下で定義づけする抗体フラグメントではなく、その実質的に無傷な形態での抗体を意味するために互換的に使用されている。これらの用語は、特にＦｃ領域を含む重鎖を伴う抗体を意味する。

【００９３】

本明細書の目的では「ネーキッド抗体」とは、細胞毒性部分または放射性標識にコンジュゲートしていない抗体である。

【００９４】

「抗体フラグメント」は、好ましくはその抗原結合領域を含むインタクト抗原の一部分を含む。一部の実施形態において、本明細書中に記載の抗体フラグメントは、抗原結合フラグメントである。抗体フラグメントの例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、$F(ab')_2$及びＦｖフラグメント；二重特異性抗体；線状抗体；一本鎖抗体分子；及び抗体フラグメントで形成された多特異性抗体が含まれる。

【００９５】

抗体のパパイン消化は、各々単一の抗原結合部位を伴う「Ｆａｂ」フラグメントと呼ばれる２つの同一の抗原結合フラグメントと、（その名前が容易に結晶化するその能力を反映している）残留「Ｆｃ」フラグメントとを産生する。ペプシン処理は、２つの抗原組合せ部位を有しかつそれでも抗原を架橋できる$F(ab')_2$フラグメントを生成する。

【００９６】

「Ｆｖ」は、完全抗原結合部位を含む最小抗体フラグメントである。一実施形態において、２本鎖Ｆｖ種は、密な非共有結合の１つの重鎖及び軽鎖可変ドメインの２量体で構成

されている。一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）種では、１つの重鎖と１つの軽鎖の可変ドメインが、柔軟なペプチドリンカーにより共有結合で結合され得、こうして、軽鎖及び重鎖は、２本鎖Ｆｖ種の場合に類似する「２量体」構造で会合できるようになっている。各々の可変ドメインの３つのＨＶＲが相互作用してＶＨ－ＶＬ２量体の表面上で抗原結合部位を画定するのは、この立体配置においてである。集合的に、６つのＨＶＲは、抗体に対して抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン（または１つの抗原に特異的な３つのＨＶＲのみを含むＦｖの半分）でさえ、完全な結合部位より親和性は低いものの、抗原を認識し結合する能力を有する。

【００９７】

Ｆａｂフラグメントは、重鎖及び軽鎖可変ドメインを含み、また、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第１の定常ドメイン（ＣＨ１）も含む。Ｆａｂ’フラグメントは、抗体ヒンジ領域由来の１つ以上のシステインを含む重鎖ＣＨ１ドメインのカルボキシ末端における数個の残基の付加により、Ｆａｂフラグメントと異なっている。Ｆａｂ’－ＳＨは、本明細書において、定常ドメインのシステイン残基（単複）が遊離チオール基を担持しているＦａｂ’に対する呼称である。Ｆ（ａｂ’）$_2$抗体フラグメントは当初、間にヒンジシステインを有するＦａｂ’フラグメントの対として産生された。抗体フラグメントの他の化学的カップリングもまた公知である。

【００９８】

「一本鎖Ｆｖ」または「ｓｃＦｖ」抗体フラグメントは、抗体のＶＨ及びＶＬドメインを含み、ここでこれらのドメインは、単一のポリペプチド鎖内に存在している。概して、ｓｃＦｖポリペプチドはさらに、ｓｃＦｖが抗原結合のための所望の構造を形成できるようにするポリペプチドリンカーをＶＨ及びＶＬドメインの間に含む。ｓｃＦｖの概説は、例えばＰｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ中，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ　ｅｄｓ．，（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，１９９４），ｐｐ．２６９～３１５を参照のこと。

【００９９】

「ダイアボディ」とは、同じポリペプチド鎖内の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）に結合された重鎖可変ドメイン（ＶＨ）（ＶＨ－ＶＬ）を含む、２つの抗原結合部位を有する抗体フラグメントを意味する。同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを使用することによって、ドメインは、別の鎖の相補的ドメインと強制的に対合させられ、２つの抗原結合部位を作り上げる。ダイアボディは、２価あるいは二重特異性であってよい。ダイアボディは、例えばＥＰ４０４，０９７；ＷＯ１９９３／０１１６１；Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９～１３４（２００３）；及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９０：６４４４～６４４８（１９９３）中でさらに完全に説明されている。トリアボディ及びテトラボディもまた、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９～１３４（２００３）中で説明されている。

【０１００】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」なる用語は、実質的に均質な抗体の集団から得た１つの抗体を意味し、例えば、この集団を含む個別の抗体は、わずかな量で存在する可能性のある考えられる突然変異、例えば天然に発生する突然変異を除いて同一である。したがって、「モノクローナル」という修飾語句は、個別の抗体の混合物ではないものとしての抗体の性質を表わしている。ある特定の実施形態において、このようなモノクローナル抗体は典型的に、１つの標的に結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、ここで標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列からの単一の標的結合ポリペプチド配列の選択を含むプロセスによって得られたものである。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローンまたは組換え型ＤＮＡクローンのプールなどの複数のクローンから唯一のクローンを選択することであり得る。選択された標的結合配列は、例えば標的に対する親和性を改善するため、標的結合配列をヒト化するため、細

胞培養におけるその産生を改善するため、インビボでのその免疫原性を減少させるため、多特異性抗体を創出するためなどで、さらに改変可能であること、そして、改変された標的結合配列を含む抗体もまた本発明のモノクローナル抗体であることを理解すべきである。異なる決定基（エピトープ）に対して向けられた異なる抗体を典型的に含んでいるポリクローナル抗体調製物とは異なり、モノクローナル抗体調製物の各々のモノクローナル抗体は、１つの抗原についての単一の決定基に対して向けられている。その特異性に加えて、モノクローナル抗体調製物は、典型的に他の免疫グロブリンにより汚染されていないという点が有利である。

【０１０１】

「モノクローナル」という修飾語句は、抗体の実質的に均質な集団から得られるものとしての抗体の性質を表わし、いずれかの特定の方法による抗体の産生が求められるものとして解釈されるべきではない。例えば、本発明にしたがって使用されるべきモノクローナル抗体は、例えばハイブリドーマ方法（例えばＫｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５～９７（１９７５）；Ｈｏｎｇｏ ｅｔ ａｌ．，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ，１４（３）：２５３～２６０（１９９５）、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３～６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１））、組換え型ＤＮＡ方法（例えば米国特許第４８１６，５６７号参照）、ファージディスプレイ技術（例えばＣｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４～６２８（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１～５９７（１９９２）；Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９～３１０（２００４）；Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３～１０９３（２００４）；Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４６７～１２４７２（２００４）；及びＬｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９～１３２（２００４）参照）、及び、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部分または全てを有する動物内でヒトまたはヒト様抗体を産生するための技術（例えばＷＯ１９９８／２４８９３；ＷＯ１９９６／３４０９６；ＷＯ１９９６／３３７３５；ＷＯ１９９１／１０７４１；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：２５５１（１９９３）；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３６２：２５５～２５８（１９９３）；Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．７：３３（１９９３）；米国特許第５，５４５，８０７号；同第５，５４５，８０６号；同第５，５６９，８２５号；同第５，６２５，１２６号；同第５，６３３，４２５号；及び同第５，６６１，０１６号；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：７７９～７８３（１９９２）；Ｌｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８５６～８５９（１９９４）；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８１２－８１３（１９９４）；Ｆｉｓｈｗｉｌｄ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１４：８４５～８５１（１９９６）；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１４：８２６（１９９６）；及びＬｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５～９３（１９９５）参照）を含めたさまざまな技術により作製されてよい。

【０１０２】

本明細書において、モノクローナル抗体には具体的には、重鎖及び／または軽鎖の一部分が、特定の種に由来するかまたは特定の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体内の対応する配列と同一であるかまたは相同であり、一方鎖（単複）の残りの部分は、別の種に由来するかまたは別の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体内の対応する配列と同一であるかまたは相同である「キメラ」抗体、ならびに所望の生物活性を示しているかぎ

りにおいてこのような抗体のフラグメントが含まれる（例えば米国特許第４，８１６，５６７号；及びＭｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８１：６８５１～６８５５（１９８４）を参照）。キメラ抗体には、抗体の抗原結合領域が、目的の抗原を用いてマカクザルに免疫付与することなどによって産生された抗体から誘導されているＰＲＩＭＡＴＴＺＥＤ（登録商標）抗体が含まれる。

【０１０３】

非ヒト（例えばマウス）抗体の「ヒト化された」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ抗体である。一実施形態において、ヒト化抗体は、レシピエントのＨＶＲ由来の残基が、所望の特異性、親和性及び／または能力を有するマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）のＨＶＲ由来の残基と交換されているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。一部の場合において、ヒト免疫グロブリンのＦＲ残基は、対応する非ヒト残基で交換される。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体内またはドナー抗体内に見出されない残基を含む場合がある。これらの修飾は、抗体性能をさらに改良するために行なわれてよい。一般に、ヒト化抗体は、超可変ループの全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、ＦＲの全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである、少なくとも１つそして典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、任意にはまた、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分をも含む。さらなる詳細については、例えばＪｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２～５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３～３２９（１９８８）；及びＰｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．２：５９３～５９６（１９９２）を参照のこと。また例えばＶａｓｗａｎｉ ａｎｄ Ｈａｍｉｌｔｏｎ，Ａｎｎ．Ａｌｌｅｒｇｙ，Ａｓｔｈｍａ ＆ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１：１０５～１１５（１９９８）；Ｈａｒｒｉｓ，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ ２３：１０３５～１０３８（１９９５）；Ｈｕｒｌｅ ａｎｄ Ｇｒｏｓｓ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．５：４２８～４３３（１９９４）；及び米国特許第６，９８２，３２１号及び同第７，０８７，４０９号も参照のこと。

【０１０４】

「ヒト抗体」は、ヒトが産生する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有し、かつ／または本明細書中で開示されているヒト抗体の作製技術のいずれかを用いて作製されたものである。ヒト抗体についてのこの定義は、具体的に非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外している。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリを含む、当該技術分野において公知のさまざまな技術を用いて産生可能である。Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１（１９９１）。同じくヒトモノクローナル抗体の調製のために利用可能であるのは、Ｃｏｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，ｐ．７７（１９８５）；Ｂｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７（１）：８６～９５（１９９１）中に記載されている方法である。またｖａｎ Ｄｉｊｋ ａｎｄ ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，５：３６８～７４（２００１）も参照のこと。ヒト抗体は、抗原投与に応答して、ヒト抗体を産生するように修飾されているもののその内因性遺伝子座が無能力化されているトランスジェニック動物、例えば免疫付与されたゼノマウスに対して抗原を投与することによって調製可能である（例えばＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術に関する米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号を参照のこと）。また、例えば、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されるヒト抗体に関するＬｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７～３５６２（２００６）も参照のこと。

【０１０５】

「種依存性抗体」は、第２の哺乳動物種由来のその抗原の相同体についてそれが有する結合親和性に比べて、第１の哺乳動物種由来の抗原に対してより強い結合親和性を有する抗体である。通常、種依存性抗体は、ヒト抗原に対して「特異的に結合する」（例えば約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、好ましくは約１×１０$^{-8}$Ｍ以下そして好ましくは約１×１０$^{-9}$Ｍ以下の結合親和性（Ｋｄ）値を有する）が、ヒト抗原に付するその結合親和性の少なくとも５０分の１または少なくとも約５００分の１または少なくとも約１０００分の１の結合親和性を第２の非ヒト哺乳動物種由来の抗原の相同体に対して有する。種依存性抗体は、以上で定義された通りのさまざまなタイプの抗体のいずれかであってよいが、好ましくは、ヒト化またはヒト抗体である。

【０１０６】

「超可変領域」、「ＨＶＲ」または「ＨＶ」なる用語は、本明細書において使用される場合、配列が超可変的でありかつ／または構造的に定義されたループを形成する抗体可変ドメインの領域を意味する。概して、抗体は、６つのＨＶＲ；すなわちＶＨ内に３つ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）そしてＶＬ内に３つ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）のＨＶＲを含む。天然抗体内で、Ｈ３及びＬ３は、６つのＨＶＲのうち最大の多様性を示し、特にＨ３は、抗体に対して優れた特異性を付与する特有の役割を果たすものと考えられている。例えばＸｕ ｅｔａｌ．，Ｉｍｍｕｎｉｔｙ １３：３７－４５（２０００）；Ｊｏｈｎｓｏｎ ａｎｄ Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ中 ２４８：１～２５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００３）を参照のこと。実際、重鎖のみで構成された天然に発生するラクダ抗体は、軽鎖の不在下で機能的でかつ安定している。例えばＨａｍｅｒｓ－Ｃａｓｔｅｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３６３：４４６～４４８（１９９３）；Ｓｈｅｒｉｆｆ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．３：７３３～７３６（１９９６）を参照のこと。

【０１０７】

いくつかのＨＶＲ描写が使用されており、本明細書中で包含されている。Ｋａｂａｔ相補性決定領域（ＣＤＲ）は配列の可変性に基づくものであり、最も一般的に使用されている（（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１））。Ｃｈｏｔｈｉａは、その代り、構造ループの場所に言及している（（Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１～９１７（１９８７））。ＡｂＭ ＨＶＲは、Ｋａｂａｔ ＨＶＲとＣｈｏｔｈｉａ構造ループの間の妥協案であり、Ｏｘｆａｒｄ ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モデリングソフトウェアにより使用されている。「接触」ＨＶＲは、利用可能な複雑な結晶構造の分析に基づくものである。これらのＨＶＲの各々に由来する残基を以下に記す：

ループ	*Kabat*	*AbM*	*Chothia*	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B（Ｋａｂａｔ付番）
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35（Ｃｈｏｔｈｉａ付番）
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

【０１０８】

ＨＶＲは、ＶＬ中の２４～３６または２４～３４（Ｌ１）、４６～５６または５０～５

６（Ｌ２）及び８９～９７または８９～９６（Ｌ３）及びＶＨ中の２６～３５（Ｈ１）、５０～６５または４９～６５（Ｈ２）及び９３～１０２、９４～１０２、または９５～１０２（Ｈ３）という「拡張ＨＶＲ」を含んでいてよい。可変ドメイン残基は、これらの定義の各々について上記Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．にしたがって付番される。

【０１０９】

「フレームワーク」または「ＦＲ」残基は、本明細書中で定義されているＨＶＲ残基以外の可変ドメイン残基である。

【０１１０】

「Ｋａｂａｔ中にある通りの可変ドメイン残基の付番」または「Ｋａｂａｔ中にある通りのアミノ酸位置の付番」及びそれらの変形形態は、上記Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．中の抗体の編集物の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインのために使用された付番システムを意味する。この付番システムを使用すると、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインのＦＲまたはＨＶＲの短縮またはその中への挿入に対応するより少ないまたは付加的なアミノ酸を含んでいる場合がある。例えば、重鎖可変ドメインは、Ｈ２の残基５２の後に単一のアミノ酸インサート（Ｋａｂａｔによると残基５２ａ）を、そして重鎖ＦＲ残基８２の後に挿入された残基（例えば、Ｋａｂａｔによると残基８２ａ、８２ｂ及び８２ｃなど）を含む可能性がある。Ｋａｂａｔの残基付番は、「標準的」Ｋａｂａｔ付番済み配列と抗体の配列の相同性領域における整列によって、所与の抗体について決定され得る。

【０１１１】

Ｋａｂａｔ付番システムは、概して、可変ドメイン内の残基（おおよそ軽鎖の残基１～１０７及び重鎖の残基１～１１３付近）に言及する時に使用される（例えばＫａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ．５ｔｈ　Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１））。「ＥＵ付番システム」または「ＥＵ指標」は、概して、免疫グロブリン重鎖定常領域内の残基に言及する場合に使用される（例えば、上記Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．内で報告されたＥＵ指標）。「Ｋａｂａｔ中にある通りのＥＵ指標」とは、ヒトＩｇＧ１ＥＵ抗体の残基付番を意味する。

【０１１２】

「線状抗体」なる表現は、Ｚａｐａｔａ　ｅｔ　ａｌ．（１９９５　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ，８（１０）：１０５７～１０６２）中に記載の抗体を意味する。簡単に言うと、これらの抗体は、相補的軽鎖ポリペプチドと共に一対の抗原結合領域を形成する一対のタンデムＦｄセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）を含む。線状抗体は二重特異的または単一特異的であり得る。

【０１１３】

本明細書で使用される「結合する」、「～に特異的に結合する」または「～に対し特異的である」なる用語は、生体分子を含む分子の不均一集団の存在下での標的の存在を決定するものである抗体と標的の間の結合などの測定可能かつ再現可能な相互作用を意味する。例えば、（エピトープであり得る）標的に結合するかまたは特異的に結合する抗体は、他の標的に対してそれが結合するよりも大きい親和性、結合活性で、より容易にかつ／またはより長い時間、この標的と結合する抗体である。一実施形態において、無関係の標的に対する抗体の結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）によって測定される標的に対する抗体の結合の約１０％未満である。ある特定の実施形態において、標的に対し特異的に結合する抗体は、１μＭ以下、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、または０．１ｎＭ以下の解離定数（Ｋｄ）を有する。ある特定の実施形態において、抗体は、異なる種に由来するタンパク質の間に保存される１つのタンパク質上のエピトープに対して特異的に結合する。別の実施形態において、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、これを必要とするわけではない。

【０１１４】

ＩＩ．　ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト

本明細書中に提供されているのは、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニストとタキサンを個体に投与することを含む、個体において癌を治療するまたは癌の進行を遅延させるための方法である。同じく本明細書中に提供されているのは、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニストとタキサンを個体に投与することを含む、癌を有する個体において免疫機能を増強させる方法である。例えば、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストには、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト及びＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストが含まれる。ＰＤ－１（プログラム死１）は、当該技術分野において「プログラム細胞死１」、「ＰＤＣＤ１」、「ＣＤ２７９」及び「ＳＬＥＢ２」とも呼ばれている。例示的な１つのヒトＰＤ－１は、ｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｑ１５１１６中に示されている。ＰＤ－Ｌ１（プログラム死リガンド－１）は、当該技術分野において、「プログラム細胞死１リガンド１」、「ＰＤＣＤ１ＬＧ１」、「ＣＤ２７４」、「Ｂ７－Ｈ」及び「ＰＤＬ１」とも呼ばれている。例示的な１つのヒトＰＤ－Ｌ１は、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＮＺＱ７．１中に示されている。ＰＤ－Ｌ２（プログラム死リガンド２）は、当該技術分野において、「プログラム細胞死１リガンド２」、「ＰＤＣＤ１ＬＧ２」、「ＣＤ２７３」、「Ｂ７－ＤＣ」、「Ｂｔｄｃ」及び「ＰＤＬ２」とも呼ばれている。例示的な１つのヒトＰＤ－Ｌ２は、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＢＱ５１中に示されている。一部の実施形態において、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２は、ヒトＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２である。

【０１１５】

一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様において、ＰＤ－１リガンド結合パートナーは、ＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２である。別の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様において、ＰＤ－Ｌ１結合パートナーは、ＰＤ－１及び／またはＢ７－１である。別の実施形態において、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２のその結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様において、ＰＤ－Ｌ２結合パートナーは、ＰＤ－１である。アンタゴニストは、抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質またはオリゴペプチドであってよい。

【０１１６】

一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストは抗ＰＤ－１抗体（例えばヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体）である。一部の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、ＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ）、ＭＫ－３４７５（ランブロリズマブ）及びＣＴ－０１１（ピジリズマブ）からなる群から選択される。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストはイムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば免疫グロブリン配列のＦｃ領域）に融合したＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２の細胞外またはＰＤ－１結合部分を含むイムノアドヘシン）である。一部の実施形態において、ＰＤ－１結合アンタゴニストはＡＭＰ－２２４である。一部の実施形態において、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される。抗体ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０は、ＷＯ２０１０／０７７６３４中に記載の抗ＰＤ－Ｌ１である。ＢＭＳ－９３６５５９としても公知であるＭＤＸ－１１０５は、ＷＯ２００７／００５８７４中に記載の抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。ＭＥＤＩ４７３６は、ＷＯ２０１１／０６６３８９及びＵＳ２０１３／０３４５５９中に記載の抗ＰＤ－Ｌ１モノクローナル抗体である。ＭＤＸ－１１０６－０４、ＯＮＯ－４５３８、ＢＭＳ－９３６５５８またはニボルマブとしても公知であるＭＤＸ－１１０６は、ＷＯ２００６／１２１１６８中に記載の抗ＰＤ－１抗体である。ランブロリズマブとしても公知であるＭＫ－３４７５は、ＷＯ２００９／１１４３３５中に記載の抗ＰＤ－１抗体である。ｈＢＡＴ、ｈＢＡＴ－１またはピジリズマブとしても公知であるＣＴ－０１１は、ＷＯ２００９／１０１６１１中に記載の抗ＰＤ－１抗体である。Ｂ７－ＤＣＩｇとしても公知であるＡＭＰ

－２２４は、ＷＯ２０１０／０２７８２７及びＷＯ２０１１／０６６３４２中に記載のＰＤ－Ｌ２－Ｆｃ融合可溶レセプターである。

【０１１７】

一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＰＤ－Ｌ１とＰＤ－１の間、及び／またはＰＤ－Ｌ１とＢ７－１の間の結合を阻害することができる。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、モノクローナル抗体である。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ及び$(Fab')_2$フラグメントからなる群から選択される抗体フラグメントである。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ヒト化抗体である。一部の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、ヒト抗体である。

【０１１８】

本発明の方法に有用である抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びそれを作製する方法の例は、参照により本明細書に援用されているＰＣＴ特許出願ＷＯ２０１０／０７７６３４、ＷＯ２００７／００５８７４、ＷＯ２０１１／０６６３８９及びＵＳ２０１３／０３４５５９中に記載されている。本発明において有用である抗ＰＤ－Ｌ１抗体（このような抗体を含む組成物を含む）は、癌を治療するためにタキサンと組合せて使用してよい。

【０１１９】

抗ＰＤ－１抗体

一部の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体はＭＤＸ－１１０６である。「ＭＤＸ－１１０６」の代替的名称としては、ＭＤＸ－１１０６－０４、ＯＮＯ－４５３８、ＢＭＳ－９３６５５８またはニボルマブがある。一部の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体はニボルマブ（ＣＡＳ登録番号：９４６４１４－９４－４）である。またさらなる実施形態において、提供されているのは、配列番号１由来の重鎖可変領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び／または配列番号２由来の軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、単離された抗ＰＤ－１抗体である。またさらなる実施形態において、提供されているのは、重鎖及び／または軽鎖配列を含む単離された抗ＰＤ－１抗体であり、ここで、

（ａ）重鎖配列は、重鎖配列：

ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＤＣＫＡＳＧＩＴＦＳＮＳＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＷＹＤＧＳＫＲＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＦ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＴＮＤＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳ
ＶＦＰＬＡＰＣＳＲＳＴＳＥＳＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴ
ＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＫＴＹＴＣＮＶＤＨ
ＫＰＳＮＴＫＶＤＫＲＶＥＳＫＹＧＰＰＣＰＰＣＰＡＰＥＦＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰ
ＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＱＥＤＰＥＶＱＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡ
ＫＴＫＰＲＥＥＱＦＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＧ
ＬＰＳＳＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＱＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣ
ＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹ
ＳＲＬＴＶＤＫＳＲＷＱＥＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＬＧＫ

（配列番号１）に対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有し、かつ

（ｂ）軽鎖配列は、軽鎖配列：

ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＳＳＮＷＰＲＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ
ＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱ
ＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧ
ＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ（配列番号２）に対して少なくとも８５％、少なくとも９

０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有する。

【０１２０】

抗ＰＤ－Ｌ１抗体

一部の実施形態において、調合物中の抗体は、重鎖及び／または軽鎖配列中に少なくとも１つ（例えば少なくとも２つ、少なくとも３つまたは少なくとも４つ）のトリプトファンを含む。一部の実施形態において、アミノ酸トリプトファンは、抗体のＨＶＲ領域、フレームワーク領域及び／または定常領域内にある。一部の実施形態において、抗体は、ＨＶＲ領域内に２つまたは３つのトリプトファン残基を含む。一部の実施形態において、調合物中の抗体は抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。ＰＤＬ１、Ｂ７－Ｈ１、Ｂ７－４、ＣＤ２７４及びＢ７－Ｈとしても公知であるＰＤ－Ｌ１（プログラム死リガンド１）は、膜貫通タンパク質であり、それとＰＤ－１との相互作用は、Ｔ細胞活性化及びサイトカイン産生を阻害する。一部の実施形態において、本明細書中に記載の抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ヒトＰＤ－Ｌ１に結合する。本明細書中に記載の方法内で使用可能である抗ＰＤ－Ｌ１抗体の例は、その全体が参照により本明細書に援用されているＰＣＴ特許出願ＷＯ２０１０／０７７６３４Ａ１及びＵＳ８，２１７，１４９の中に記載されている。

【０１２１】

一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＰＤ－Ｌ１とＰＤ－１の間及び／またはＰＤ－Ｌ１とＢ７－１の間の結合を阻害することができる。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体はモノクローナル抗体である。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ及び$(Fab')_2$フラグメントからなる群から選択される抗体フラグメントである。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体はヒト化抗体である。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体はヒト抗体である。

【０１２２】

ＷＯ２０１０／０７７６３４Ａ１及びＵＳ８，２１７，１４９に記載の抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書中に記載の方法の中で使用されてよい。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、配列番号３の重鎖可変領域配列及び／または配列番号４の軽鎖可変領域配列を含む。またさらなる実施形態において、提供されているのは、重鎖可変領域及び／または軽鎖可変領域配列を含む単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体であり、ここで、

（ａ）重鎖配列は、重鎖配列：

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＡ（配列番号３）に対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有し、かつ

（ｂ）軽鎖配列は、軽鎖配列：

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号４）に対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有する。

【０１２３】

一実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖可変領域を含み、ここで、

（ａ）ＨＶＲ－Ｈ１配列は$GFTFSX_1SWIH$であり（配列番号５）、

（ｂ）ＨＶＲ－Ｈ２配列はＡＷＩＸ$_2$ＰＹＧＧＳＸ$_3$ＹＹＡＤＳＶＫＧであり（配列番号６）、
（ｃ）ＨＶＲ－Ｈ３配列はＲＨＷＰＧＧＦＤＹであり（配列番号７）、
さらにここで、Ｘ$_1$はＤまたはＧであり；Ｘ$_2$はＳまたはＬであり；Ｘ$_3$はＴまたはＳである。１つの特定の態様において、Ｘ$_1$はＤであり；Ｘ$_2$はＳであり、Ｘ$_3$はＴである。

【０１２４】
別の態様において、ポリペプチドはさらに、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）という式にしたがったＨＶＲ間に並置された可変領域重鎖フレームワーク配列を含む。さらに別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。さらなる一態様では、フレームワーク配列は、ＶＨサブグループＩＩＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、フレームワーク配列の少なくとも１つは、以下の通りである：
ＨＣ－ＦＲ１は、ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳ（配列番号：８）
ＨＣ－ＦＲ２は、ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶ（配列番号：９）
ＨＣ－ＦＲ３は、ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ（配列番号：１０）
ＨＣ－ＦＲ４は、ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＡ（配列番号：１１）。

【０１２５】
またさらなる態様において、重鎖ポリペプチドはさらにＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む可変領域軽鎖と組合わされており、ここで
（ａ）ＨＶＲ－Ｌ１配列は、ＲＡＳＱＸ$_4$Ｘ$_5$Ｘ$_6$ＴＸ$_7$Ｘ$_8$Ａであり（配列番号：１２）；
（ｂ）ＨＶＲ－Ｌ２配列は、ＳＡＳＸ$_9$ＬＸ$_{10}$Ｓであり（配列番号：１３）；
（ｃ）ＨＶＲ－Ｌ３配列は、ＱＱＸ$_{11}$Ｘ$_{12}$Ｘ$_{13}$Ｘ$_{14}$ＰＸ$_{15}$Ｔであり（配列番号：１４）；
ここで、Ｘ$_4$はＤまたはＶ；Ｘ$_5$はＶまたはＩ；Ｘ$_6$はＳまたはＮ；Ｘ$_7$はＡまたはＦ；Ｘ$_8$はＶまたはＬ；Ｘ$_9$はＦまたはＴ；Ｘ$_{10}$はＹまたはＡ；Ｘ$_{11}$はＹ、Ｇ、Ｆ、またはＳ；Ｘ$_{12}$はＬ、Ｙ、ＦまたはＷ；Ｘ$_{13}$はＹ、Ｎ、Ａ、Ｔ、Ｇ、ＦまたはＩ；Ｘ$_{14}$はＨ、Ｖ、Ｐ、ＴまたはＩ；Ｘ$_{15}$はＡ、Ｗ、Ｒ、ＰまたはＴである。またさらなる態様において、Ｘ$_4$はＤ；Ｘ$_5$はＶ；Ｘ$_6$はＳ；Ｘ$_7$はＡ；Ｘ$_8$はＶ；Ｘ$_9$はＦ；Ｘ$_{10}$はＹ；Ｘ$_{11}$はＹ；Ｘ$_{12}$はＬ；Ｘ$_{13}$はＹ；Ｘ$_{14}$はＨ；Ｘ$_{15}$はＡである。

【０１２６】
またさらなる態様において、軽鎖はさらに、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）という式にしたがったＨＶＲ間に並置された可変領域軽鎖フレームワーク配列を含む。またさらなる態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、フレームワーク配列の少なくとも１つは、以下の通りである：
ＬＣ－ＦＲ１は、ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ（配列番号１５）
ＬＣ－ＦＲ２は、ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ（配列番号１６）
ＬＣ－ＦＲ３は、ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹ（配列番号１７）
ＬＣ－ＦＲ４は、ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号１８）。

【０１２７】
別の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体または抗原結合フラグメントであり、ここで

（ａ）重鎖は、ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含み、ここでさらに、
（ｉ） ＨＶＲ－Ｈ１配列は、ＧＦＴＦＳＸ$_1$ＳＷＩＨであり（配列番号５）
（ｉｉ） ＨＶＲ－Ｈ２配列は、ＡＷＩＸ$_2$ＰＹＧＧＳＸ$_3$ＹＹＡＤＳＶＫＧであり（配列番号６）
（ｉｉｉ） ＨＶＲ－Ｈ３配列は、ＲＨＷＰＧＧＦＤＹであり（配列番号７）、及び
（ｂ）軽鎖は、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含み、ここでさらに、
（ｉ） ＨＶＲ－Ｌ１配列は、ＲＡＳＱＸ$_4$Ｘ$_5$Ｘ$_6$ＴＸ$_7$Ｘ$_8$Ａであり（配列番号１２）
（ｉｉ） ＨＶＲ－Ｌ２配列は、ＳＡＳＸ$_9$ＬＸ$_{10}$Ｓであり（配列番号１３）；及び
（ｉｉｉ） ＨＶＲ－Ｌ３配列は、ＱＱＸ$_{11}$Ｘ$_{12}$Ｘ$_{13}$Ｘ$_{14}$ＰＸ$_{15}$Ｔであり（配列番号１４）、ここで式中、Ｘ$_1$はＤまたはＧ；Ｘ$_2$はＳまたはＬ；Ｘ$_3$はＴまたはＳ；Ｘ$_4$はＤまたはＶ；Ｘ$_5$はＶまたはＩ；Ｘ$_6$はＳまたはＮ；Ｘ$_7$はＡまたはＦ；Ｘ$_8$はＶまたはＬ；Ｘ$_9$はＦまたはＴ；Ｘ$_{10}$はＹまたはＡ；Ｘ$_{11}$はＹ、Ｇ、ＦまたはＳ；Ｘ$_{12}$はＬ、Ｙ、ＦまたはＷ；Ｘ$_{13}$はＹ、Ｎ、Ａ、Ｔ、Ｇ、ＦまたはＩ；Ｘ$_{14}$はＨ、Ｖ、Ｐ、ＴまたはＩ；Ｘ$_{15}$はＡ、Ｗ、Ｒ、ＰまたはＴである。特定の一態様において、Ｘ$_1$はＤ；Ｘ$_2$はＳ及びＸ$_3$はＴである。別の態様において、Ｘ$_4$はＤ；Ｘ$_5$はＶ；Ｘ$_6$はＳ；Ｘ$_7$はＡ；Ｘ$_8$はＶ；Ｘ$_9$はＦ；Ｘ$_{10}$はＹ；Ｘ$_{11}$はＹ；Ｘ$_{12}$はＬ；Ｘ$_{13}$はＹ；Ｘ$_{14}$はＨ；Ｘ$_{15}$はＡである。なお、さらに別の態様では、Ｘ$_1$はＤ；Ｘ$_2$はＳでありＸ$_3$はＴ、Ｘ$_4$はＤ；Ｘ$_5$はＶ；Ｘ$_6$はＳ；Ｘ$_7$はＡ；Ｘ$_8$はＶ；Ｘ$_9$はＦ；Ｘ$_{10}$はＹ；Ｘ$_{11}$はＹ；Ｘ$_{12}$はＬ；Ｘ$_{13}$はＹ；Ｘ$_{14}$はＨ及びＸ$_{15}$はＡである。

【０１２８】

さらなる一態様において、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）といったＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）といったＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。またさらなる態様において、フレームワーク配列はヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列はＫａｂａｔサブグループＩ、ＩＩまたはＩＩＩ配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨサブグループＩＩＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の１つ以上が配列番号８、９、１０及び１１として明記される。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔカッパＩ、ＩＩ、ＩＩまたはＩＶサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の１つ以上は、配列番号１５、１６、１７及び１８として明記される。

【０１２９】

またさらなる特定の態様において、抗体はさらにヒトまたはマウス定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はＩｇＧ１である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択されている。またさらなる態様では、マウス定常領域はＩｇＧ２Ａである。またさらなる態様では、抗体は、低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる態様では、最小限のエフェクター機能は「エフェクターレスＦｃ突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施形態においては、エフェクターレスＦｃ突然変異は、定常領域内のＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１３０】

また別の実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む、抗ＰＤ－Ｌ１抗体であり、ここで、

（ａ）重鎖はさらに、それぞれＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨ（配列番号１９）、ＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２０）、及びＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号２１）に対して少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列をさらに含むか、または
（ｂ）軽鎖はさらに、それぞれＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号２２）、ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号２３）及びＱＱＹＬＹＨＰＡＴ（配列番号２４）に対して少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３配列をさらに含む。

【０１３１】

特定の態様では、配列同一性は、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％である。

【０１３２】

別の態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。また別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔサブグループ Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨサブグループＩＩＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の１つ以上は、配列番号８、９、１０及び１１として明記される。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔカッパ Ｉ、ＩＩ、ＩＩまたはＩＶサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の１つ以上は、配列番号１５、１６、１７及び１８として明記される。

【０１３３】

またさらなる特定の態様では、抗体はさらにヒトまたはマウスの定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はＩｇＧ１である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はＩｇＧ２Ａである。またさらなる特定の態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスＦｃ突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施態様では、エフェクターレスＦｃ突然変異は、定常領域内の置換Ｎ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１３４】

別のさらなる実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体であり、ここで、
（ａ）重鎖配列は、重鎖配列：
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２５)に対して少なくとも８５％の配列同一性を有する、かつ／または
(b)軽鎖配列は、軽鎖配列：
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ(配列番号４)に対して少な

くとも８５％の配列同一性を有する。
【０１３５】
特定の態様では、配列同一性は、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％である。別の態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。また別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。さらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔサブグループ Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨサブグループＩＩＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の１つ以上は、配列番号８、９、１０及びＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２７）として明記される。
【０１３６】
またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔカッパ Ｉ、ＩＩ、IIIまたはＩＶサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の１つ以上は、配列番号１５、１６、１７及び１８として明記される。
【０１３７】
またさらなる特定の態様では、抗体はさらにヒトまたはマウスの定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はＩｇＧ１である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はＩｇＧ２Ａである。またさらなる態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、原核細胞内の産生の結果としてもたらされる。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスＦｃ突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施態様では、エフェクターレスＦｃ突然変異は、定常領域内の置換Ｎ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。
【０１３８】
さらなる態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。またさらなる態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔサブグループ Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨサブグループＩＩＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の１つ以上は、以下の通りである：
ＨＣ－ＦＲ１　ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳ（配列番号２９）
ＨＣ－ＦＲ２　ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡ（配列番号３０）
ＨＣ－ＦＲ３　ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ（配列番号１０）
ＨＣ－ＦＲ４　ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号２７）。

【０１３９】
またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔカッパＩ、ＩＩ、ＩＩＩまたはＩＶサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の１つ以上は、以下の通りである：
ＬＣ－ＦＲ１　ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ（配列番号１５）
ＬＣ－ＦＲ２　ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ（配列番号１６）
ＬＣ－ＦＲ３　ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣ（配列番号１７）
ＬＣ－ＦＲ４　ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫ（配列番号２８）。
【０１４０】
またさらなる特定の態様では、抗体はヒトまたはマウスの定常領域をさらに含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はＩｇＧ１である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はＩｇＧ２Ａである。またさらなる特定の態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスＦｃ突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる態様では、エフェクターレスＦｃ突然変異は、定常領域内のＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。
【０１４１】
また別の実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む抗ＰＤ－Ｌ１抗体であり、ここで、
（ｃ）重鎖はさらに、それぞれＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨ（配列番号１９）、ＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２０）、及びＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号２１）に対して少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列をさらに含み、かつ／または
（ｄ）軽鎖はさらに、それぞれＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号２２）、ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号２３）及びＱＱＹＬＹＨＰＡＴ（配列番号２４）に対して少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。
【０１４２】
特定の態様では、配列同一性は、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％である。
【０１４３】
別の態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）といった、ＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。また別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔサブグループＩ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨサブグループＩＩＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の１つ以上は、配列番号８、９、１０及びＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫ（配列番号３１）として明記される。
【０１４４】
またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔカッパＩ、ＩＩ、ＩＩＩまたはＩＶサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配

列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の１つ以上は、配列番号１５、１６、１７及び１８として明記されている。またさらなる特定の態様では、抗体はさらに、ヒトまたはマウスの定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はＩｇＧ１である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はＩｇＧ２Ａである。またさらなる特定の態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスＦｃ突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施態様では、エフェクターレスＦｃ突然変異は、定常領域内の置換Ｎ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１４５】

またさらなる実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体であり、ここで、

（ａ）重鎖配列は、重鎖配列：

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫ（配列番号２６）に対して少なくとも８５％の配列同一性を有する、または

（ｂ）軽鎖配列は、軽鎖配列：

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ(配列番号４)に対して少なくとも８５％の配列同一性を有する。

【０１４６】

一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含み、ここで軽鎖可変領域配列が配列番号４のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有する、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含み、ここで重鎖可変領域配列が配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有する、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含み、ここで軽鎖可変領域配列が配列番号４のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有し、かつ重鎖可変領域配列が配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％の配列同一性を有する、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。一部の実施形態において、重鎖及び／または軽鎖のＮ末端にある１、２、３、４または５個のアミノ酸残基は、欠失、置換または修飾されていてよい。

【０１４７】
またさらなる実施形態において、提供されているのは、重鎖と軽鎖を含み、ここで
（ａ）重鎖配列が、重鎖配列：
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳ
ＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮ
ＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩ
ＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳ
ＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶ
ＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＡＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹ
ＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴ
ＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤ
ＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫ
ＳＬＳＬＳＰＧ（配列番号３２）に対して少なくとも８５％の配列同一性を有し、かつ／
または
（ｂ）軽鎖配列が、軽鎖配列：
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ
ＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱ
ＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧ
ＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ（配列番号３３）に対して少なくとも８５％の配列同一性
を有する、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。
【０１４８】
一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖配列を含み、ここで軽鎖
配列が配列番号３３のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％、少なくとも８６％、少な
くとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９
１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少
なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％または少なくとも９９％の配列同
一性を有する、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。一部の実施形態において、提供され
ているのは、重鎖及び軽鎖配列を含み、ここで重鎖配列が配列番号３２のアミノ酸配列に
対して少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少
なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも
９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、
少なくとも９８％または少なくとも９９％の配列同一性を有する、単離された抗ＰＤ－Ｌ
１抗体である。一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖配列を含み
、ここで軽鎖配列が配列番号３３のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％、少なくとも
８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、
少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくと
も９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％または少なくとも９
９％の配列同一性を有し、かつ重鎖配列が配列番号３２のアミノ酸配列に対して少なくと
も８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％
、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なく
とも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８
％または少なくとも９９％の配列同一性を有する、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。
【０１４９】
一部の実施形態において、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、脱グリコシル化されている
。抗体のグリコシル化は典型的に、Ｎ－結合型またはＯ－結合型である。Ｎ－結合型とは
、アスパラギン残基の側鎖に対する炭水化物部分の付着を意味する。トリペプチド配列で

あるアスパラギン－Ｘ－セリン及びアスパラギン－Ｘ－トレオニン（ここでＸは、プロリンを除く任意のアミノ酸である）は、アスパラギン側鎖に対する炭水化物部分の酵素付着についての認識配列である。したがって、ポリペプチド内のこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を作り上げる。Ｏ－結合型グリコシル化は、糖であるＮ－アセイルガラクトサミン、ガラクトースまたはキシロースのうちの１つのヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはトレオニンに対する付着を意味するが、５－ヒドロキシプロリンまたは５－ヒドロキシリジンを使用してもよい。抗体からのグリコシル化部位の除去は、上述のトリペプチド配列（Ｎ結合型グリコシル化部位の場合）の１つが除去されるような形でアミノ酸配列を改変することにより、簡便に達成される。改変は、グリコシル化部位内部のアスパラギン、セリンまたはトレオニン残基を別のアミノ酸残基（例えばグリシン、アラニンまたは同類置換）で置換することにより行なってよい。

【０１５０】

本明細書中の実施形態のいずれにおいても、単離された抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＮＺＱ７．１中に示されているヒトＰＤ－Ｌ１またはその変異体などのヒトＰＤ－Ｌ１に対し結合することができる。

【０１５１】

またさらなる実施形態において、提供されているのは、本明細書中に記載の抗体のいずれかをコードする単離された核酸である。一部の実施形態において、核酸はさらに、前述した抗ＰＤ－Ｌ１抗体のいずれかをコードする核酸の発現に好適であるベクターを含む。またさらなる特定の態様において、ベクターは、核酸の発現に好適である宿主細胞内にある。またさらなる特定の態様において、宿主細胞は、真核細胞または原核細胞である。またさらなる特定の態様において、真核細胞は、哺乳動物細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞である。

【０１５２】

抗体またはその抗原結合フラグメントは、当該技術分野において公知の方法を用いて、例えばこのような抗体またはフラグメントを産生するのに好適な条件下で、発現に好適な形の前述の抗ＰＤ－Ｌ１抗体または抗原結合フラグメントのいずれかをコードする核酸を含む宿主細胞を培養すること及び抗体またはフラグメントを回収することを含むプロセスによって、作製されてよい。

【０１５３】

ＩＩＩ．　抗体の調製

本明細書中に記載の抗体は、抗体生成のための当該技術分野において利用可能な技術を用いて調製され、その例示的方法について以下の節でより詳細に説明する。

【０１５４】

抗体は、目的の抗原（例えばＰＤ－Ｌ１（例えばヒトＰＤ－Ｌ１）、ＰＤ１（例えばヒトＰＤ－Ｌ１）、ＰＤ－Ｌ２（例えばヒトＰＤ－Ｌ２）など）に対して向けられている。好ましくは、抗原は、生物学的に重要なポリペプチドであり、障害を患う哺乳動物に対する抗体の投与は、この哺乳動物の体内に治療的利益を結果としてもたらすことができる。

【０１５５】

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供されている抗体は、１μＭ以下、１５０ｎＭ以下、１００ｎＭ以下、５０ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、０．１ｎＭ以下、０．０１ｎＭ以下または０．００１ｎＭ以下（例えば10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（Ｋｄ）を有する。

【０１５６】

一実施形態において、Ｋｄは、以下の検定により説明される通り、目的の抗体及びその抗原のＦａｂバージョンを用いて実施される放射性標識抗原結合検定（ＲＩＡ）によって測定される。抗原に対するＦａｂの溶液結合親和性は、力価測定系の未標識抗原の存在下で最低限の濃度の（^{125}Ｉ）標識抗原を用いてＦａｂを平衡化し、次に抗Ｆａｂ抗体でコーティングされたプレートを用いて結合した抗原を捕捉することによって測定される（

例えばＣｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５～８８１（１９９９）参照）。検定条件を確立するためには、５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）中の捕捉用抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ Ｌａｂｓ）５μｇ／ｍｌを用いて、ＭＩＣＲＯＴＩＴＥＲ（登録商標）マルチウェルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）をコーティングし、その後、室温（およそ２３℃）で２～５時間ＰＢＳ中の２％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンでブロックする。非吸着性プレート（Ｎｕｎｃ ＃２６９６２０）内で、１００ｐＭまたは２６ｐＭａ［^{125}Ｉ］－抗原を目的のＦａｂの連続希釈物と混合する。次に目的のＦａｂを一晩インキュベートする。ただしインキュベーションは、確実に平衡に達するようにするために、より長い時間（例えば約６５時間）続けてもよい。その後、混合物を、捕捉プレートに移して室温で（例えば1時間）インキュベーションする。次いで、溶液を除去し、ＰＢＳ中の０．１％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））を用いてプレートを８回洗浄する。プレートが乾燥した時点で、１５０μｌ／ウェルの閃光物質（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）：Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、１０分間ＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）ガンマカウンタ（Ｐａｃｋａｒｄ）上でプレートを計数する。最大結合の２０％以下の濃度を提供する各Ｆａｂを、競合結合検定で使用するために選択する。

【０１５７】

別の実施形態によると、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－２０００またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用する表面プラズモン共鳴検定を用いて、およそ１０応答単位（ＲＵ）で固定化抗原ＣＭ５チップを用いて２５℃でＫｄを測定する。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ（ＣＭ５、ＢＩＡＣＯＲＥ，　Ｉｎｃ）を、供給業者の指示にしたがってＮ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミドヒドロクロリド（ＥＤＣ）及びＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）で活性化させる。抗原を１０ｍＭの酢酸ナトリウム、ｐＨ４．８で５μｇ／ｍｌ（およそ０．２μＭ）まで希釈させてから、５μｌ／分の流速で注入して、カップリングされたタンパク質およそ１０応答単位（ＲＵ）を達成する。抗原注入の後、１Ｍのエタノールアミンを注入して未反応基を遮断する。反応速度測定のためには、およそ２５μｌ／分の流速で２５℃で、０．０５％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（商標））表面活性剤（ＰＢＳＴ）を伴うＰＢＳ中に、Ｆａｂの2倍連続希釈物（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）を注入する。会合及び解離センサーグラムを同時適合させることにより、単一の1対1のＬａｎｇｍｕｉｒ結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｓｏｆｔｗａｒｅ ｖｅｒｓｉｏｎ３．２）を用いて、会合速度（K_{on}）及び解離速度（K_{off}）を計算する。平衡解離定数（Ｋｄ）はK_{off}／K_{on}比として計算する。例えばＣｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５～８８１（１９９９）を参照のこと。上述の表面プラズモン共鳴検定により、会合速度が$10^{6}M^{-1}s^{-1}$を超えた場合には、ストップフローが備わった分光光度計（Ａｖｉｖ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）または撹拌型キュベットを伴う８０００系ＳＬＭ－ＡＭＩＮＣＯ（商標）分光光度計（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）などの分光計内で測定される増大する濃度の抗原の存在下で、ＰＢＳ、ｐＨ７．２中の２０ｎＭの抗抗原抗体（Ｆａｂ形態）の２５℃での蛍光発光強度の増減（励起＝２９５ｎｍ；発光＝３４０ｎｍ、１６ｎｍの帯域通過）を測定する蛍光消光技術を使用することによって、会合速度を決定することができる。

【０１５８】

（ｉ）抗原の調製

任意には、他の分子にコンジュゲートされた可溶性抗原またはフラグメントを、抗体生成用免疫原として使用することができる。レセプターなどの膜貫通分子については、これらのフラグメント（例えばレセプターの細胞外ドメイン）を免疫原として使用することができる。代替的には、膜貫通分子を発現する細胞を免疫原として使用することができる。このような細胞は、天然の供給源（例えば癌の細胞株）に由来するものであり得、あるいは膜貫通分子を発現するために組換え型技術により形質転換された細胞であってもよい。

抗体を調製するのに有用である他の抗原及びその形態は、当業者には明らかとなるものである。

【０１５９】

（ｉｉ）ある特定の抗体をベースとした方法

好ましくは関連する抗原及びアジュバントを、皮下（ｓｃ）または腹腔内（ｉｐ）に多数回注射することにより、動物の体内にポリクローナル抗体を産生させる。例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を通したコンジュゲーション）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（リジン残基を通して）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、$SOCl_2$または$R^1N=C=NR$（式中Ｒ及びR^1は異なるアルキル基である）などの二官能性剤または誘導体化剤を用いてキーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリンまたはダイズトリプシン阻害剤など、免疫付与すべき種の体内で免疫原性のあるタンパク質に対して、関連する抗原をコンジュゲートすることが、有用であるかもしれない。

【０１６０】

完全フロインドアジュバント３体積と、例えば１００μｇまたは５μｇのタンパク質またはコンジュゲート（それぞれウサギまたはマウス用）を組合せ、溶液を多数の部位で皮内注射することによって、抗原、免疫原性コンジュゲートまたは誘導体に対する免疫を動物に付与する。１ヵ月後に、完全フロインドアジュバント中の原初の量の１／５～１／１０のペプチドまたはコンジュゲートを用いて多数の部位での皮下注射により動物に追加免疫を施す。７～１４日後に、動物を出血させ、抗体力価について血清を検定する。力価が水平状態に達するまで、動物に追加免疫を行なう。好ましくは、動物には、同じ抗原のコンジュゲートではあるものの異なるタンパク質にかつ／または異なる架橋試薬を通してコンジュゲートされたものを用いて、追加免疫を施す。コンジュゲートはまた、タンパク質融合体として組換え型細胞培養内で作製することもできる。また、ミョウバンなどの凝集剤を用いて免疫応答を増強させることも好適である。

【０１６１】

本発明のモノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）により最初に記述され、ヒト－ヒトハイブリドーマに関して例えばＨｏｎｇｏ ｅｔ ａｌ．，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ，１４（３）：２５３～２６０（１９９５）；Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３～６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１）、及びＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５～２６８（２００６）中にさらに記載されているハイブリドーマ法を用いて作製可能である。追加の方法としては、例えば、ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒト天然ＩｇＭ抗体の産生に関する米国特許第７，１８９，８２６号中に記載の方法が含まれる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）は、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２０（３）：９２７～９３７（２００５）及びＶｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５～９１（２００５）中に記載されている。

【０１６２】

さまざまなハイブリドーマ技術については、例えば米国特許出願公開第２００６／２５８８４１；２００６／１８３８８７号（完全ヒト抗体）、同第２００６／０５９５７５号；同第２００５／２８７１４９号；同第２００５／１００５４６号；及び同第２００５／０２６２２９号；及び米国特許第７，０７８，４９２号及び同第７，１５３，５０７号を参照のこと。ハイブリドーマ法を用いてモノクローナル抗体を生産するための例示的プロトコルは、以下のように説明される。一実施形態においては、マウスまたは他の適切な宿

主動物、例えばハムスターに免疫を付与して、免疫付与に使用されるタンパク質に対して特異的に結合する抗体を産生するかまたは産生する能力を有するリンパ球を惹起させる。本発明のポリペプチドまたはそのフラグメント及びモノホスホリルリピドＡ（ＭＰＬ）／トレハロースジクリノミコレート（ＴＤＭ）（Ｒｉｂｉ Ｉｍｍｕｎｏｃｈｅｍ．Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｈａｍｉｌｔｏｎ，ＭＴ）などのアジュバントを皮下（ＳＣ）または腹腔内（ＩＰ）に多数回注射することによって、動物の体内に抗体を産生させる。本発明のポリペプチド（例えば抗原）またはそのフラグメントは、当該技術分野において周知の方法、例えば、その一部が本明細書においてさらに説明されている組換え型方法によって調製されてよい。免疫付与された動物由来の血清を、抗抗原抗体について検定し、任意には追加免疫付与が行なわれる。抗抗原抗体を産生する動物由来のリンパ球を単離する。代替的には、リンパ球をインビトロで免疫付与してもよい。

【０１６３】

その後、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を用いて、リンパ球を骨髄腫細胞と融合させてハイブリドーマ細胞を形成する。例えば、Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ．５９～１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６）を参照のこと。効率良く融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベルの産生を支援し、かつＨＡＴ培地などの培地に対する感応性を有する骨髄腫細胞を使用することができる。例示的骨髄腫細胞としては、マウス骨髄腫株、例えばＳａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．ＵＳＡから入手可能なＭＯＰＣ－２１及びＭＰＣ－１１マウス腫瘍由来のもの、そしてＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍｄ．ＵＳＡから入手可能なＳＰ－２またはＸ６３－Ａｇ８－６５３細胞があるが、これらに限定されない。ヒト骨髄腫及びマウス－ヒトのヘテロ骨髄腫細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の生産用として記載されている（Ｋｏｚｂｏｒ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）；Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１～６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７））。

【０１６４】

こうして調製されたハイブリドーマ細胞は、好適な培地、例えば、未融合の親骨髄腫細胞の成長または生存を阻害する１つ以上の物質を含む培地内に播種され成長させられる。例えば、親骨髄腫細胞に酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴまたはＨＰＲＴ）が欠落している場合、ハイブリドーマのための培地は典型的には、ＨＧＰＲＴ－欠損細胞の成長を妨げる物質である、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン（ＨＡＴ培地）を含むことになる。好ましくは、無血清ハイブリドーマ細胞培養方法が、例えばＥｖｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２４（３），１０５～１０８（２００６）中に記載の通り、ウシ胎仔血清などの動物由来の血清の使用を減少させるために使用される。

【０１６５】

ハイブリドーマ細胞培養の生産性を改善するための手段としてのオリゴペプチドについては、Ｆｒａｎｅｋ，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１１１～１２２（２００５）中に記載されている。具体的には、標準培地を或る種のアミノ酸（アラニン、セリン、アスパラギン、プロリン）またはタンパク質加水分解物画分を用いて富化し、３～６個のアミノ酸残基からなる合成オリゴペプチドによりアポトーシスを著しく抑制することができる。ペプチドは、ミリモルまたはそれ以上の濃度で存在する。

【０１６６】

ハイブリドーマ細胞が中で成長している培地を、本発明の抗体に結合するモノクローナル抗体の産生について検定してよい。ハイブリドーマ細胞により産生されるモノクローナ

ル抗体の結合特異性は、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）または酵素免疫測定法（ＥＬＩＳＡ）などのインビトロ結合検定によってかまたは免疫沈降によって決定されてよい。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えばスキャッチャード分析によって決定され得る。例えばＭｕｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１０７：２２０（１９８０）を参照のこと。

【０１６７】

所望の特異性、親和性及び／または活性を有する抗体を産生するハイブリドーマ細胞を同定した後、希釈手順を制限することによってクローンをサブクローニングし、標準的方法により成長させてよい。例えば上記Ｇｏｄｉｎｇを参照のこと。この目的での好適な培地としては、例えば、Ｄ－ＭＥＭまたはＲＰＭＩ－１６４０培地がある。さらに、動物の体内の腹水腫瘍としてインビボでハイブリドーマ細胞を成長させてよい。サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体を、例えばプロテインＡ－セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析または親和性クロマトグラフィなどの従来の免疫グロブリン精製手順により、培地、腹水または血清から好適な形で分離する。ハイブリドーマ細胞からのタンパク質の単離のための１つの手順は、ＵＳ２００５／１７６１２２及び米国特許第６，９１９，４３６号中に記載されている。方法には、リオトロピック塩などの最小限の塩を結合プロセスにおいて使用すること、そして好ましくは溶出プロセスにおいて少量の有機溶媒も使用することが含まれる。

【０１６８】

（ｉｉｉ）ライブラリ由来の抗体

本発明の抗体は、所望の活性（単複）を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることによって単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてこのようなライブラリをスクリーニングするためのさまざまな方法が、当該技術分野において公知である。追加の方法は例えばＨｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１～３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００１）において概説され、例えばＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２～５５４；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４～６２８（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１～５９７（１９９２）；Ｍａｒｋｓ ａｎｄ Ｂｒａｄｂｕｒｙ，ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２４８：１６１～１７５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３）；Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９～３１０（２００４）；Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３～１０９３（２００４）；Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４６７～１２４７２（２００４）；及びＬｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ２８４（１－２）：１１９～１３２（２００４）の中にさらに記載されている。

【０１６９】

ある特定のファージディスプレイ方法では、Ｗｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１２：４３３～４５５（１９９４）中に記載の通り、ＶＨ及びＶＬ遺伝子のレパートリが、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）により別個にクローニングされ、ファージライブラリ中で無作為に組換えられ、次にこれらのライブラリを抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）フラグメントとしてかまたはＦａｂフラグメントのいずれかとして抗体フラグメントをディスプレイする。免疫付与された供給源由来のライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なく免疫原に対する高親和性抗体を提供する。代替的には、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ，１２：７２５～７３４（１９９３）により記述されている通り、ナイーブのレパートリを（例えばヒトから）クローニングして、いかなる免疫付与も無しで広範囲の非自己抗原、また自己抗原に対しても単一の抗体原を提供することがで

きる。最後に、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１～３８８（１９９２）により記述されている通り、幹細胞から再配置されていないＶ遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むＰＣＲプライマを用いて、極めて可変的なＣＤＲ３領域をコードし、インビトロで再配置を遂行することによって、ナイーブライブラリを合成的に作製することも可能である。ヒト抗体ファージライブラリについて記載している特許公報としては、例えば米国特許第５，７５０，３７３号及び米国特許出願公開第２００５／００７９５７４号、同第２００５／０１１９４５５号、同第２００５／０２６６０００号、同第２００７／０１１７１２６号、同第２００７／０１６０５９８号、同第２００７／０２３７７６４号、同第２００７／０２９２９３６号及び同第２００９／０００２３６０号が含まれる。

【０１７０】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体フラグメントは、本明細書において、ヒト抗体またはヒト抗体フラグメントと見なされる。

【０１７１】

（ｉｖ）キメラ、ヒト化及びヒト抗体

ある特定の実施形態において、本明細書中に提供されている抗体はキメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば米国特許第４，８１６，５６７号；及びＭｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１～６８５５（１９８４）中に記載されている。一実施例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えばマウス、ラット、ハムスター、ウサギまたは非ヒト霊長類、例えばサルに由来する可変領域）及びヒト定常領域を含む。さらなる実施例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更されている「クラススイッチ型」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合フラグメントを含む。

【０１７２】

ある特定の実施形態において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持する一方でヒトに対する免疫原性を減少させるために、ヒト化される。概してヒト化抗体は、その内部ではＨＶＲ、例えばＣＤＲ（またはその一部分）が非ヒト抗体に由来しＦＲ（またはその一部分）がヒト抗体配列に由来している１つ以上の可変ドメインを含んでいる。ヒト化抗体は、任意には、ヒト定常領域の少なくとも一部分も含むものである。一部の実施形態において、ヒト化抗体内の一部のＦＲ残基は、非ヒト抗体（例えばＨＶＲ残基が由来した抗体）由来の対応する残基と置換されて、例えば抗体の特異性または親和性を回復または改善する。

【０１７３】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えばＡｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９～１６３３（２００８）中で概説されており、さらに例えばＲｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３～３２９（１９８８）；Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１００２９～１００３３（１９８９）；米国特許第５，８２１，３３７号、同第７，５２７，７９１号、同第６，９８２，３２１号、及び同第７，０８７，４０９号；Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：２５～３４（２００５）（ＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）グラフトについて記載）；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９～４９８（１９９１）（「リサーフェイシング」について記載）；Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：４３～６０（２００５）（「ＦＲシャッフル」について記載）；及びＯｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：６１～６８（２００５）及びＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，８３：２５２～２６０（２０００）（ＦＲシャッフルに対する「誘導選択」アプローチについて記載）の中に記載されている。

【０１７４】

ヒト化のために使用してよいヒトフレームワーク領域には、「ベストフィット」法（例えばＳｉｍｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）を参照

）を用いて選択されたフレームワーク領域；軽鎖または重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えばＣａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）；及びＰｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２６２３（１９９３）を参照）；ヒト成熟（体細胞変異した）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系列フレームワーク領域（例えばＡｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９～１６３３（２００８）を参照）；及び、ＦＲライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えばＢａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：１０６７８～１０６８４（１９９７）及びＲｏｓｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７１：２２６１１～２２６１８（１９９６）を参照）が含まれるが、これらに限定されない。

【０１７５】

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供されている抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において公知のさまざまな技術を用いて生産され得る。ヒト抗体は、一般的に、ｖａｎ Ｄｉｊｋ ａｎｄ ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５：３６８～７４（２００１）及びＬｏｎｂｅｒｇ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０：４５０～４５９（２００８）中に記載されている。

【０１７６】

ヒト抗体は、抗原投与に応答して、ヒト可変領域を有するインタクトヒト抗体またはインタクト抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に対して免疫原を投与することによって調製されてよい。このような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座に置き換わるかまたは染色体外で存在するかまたは動物の染色体内に無作為に組込まれるヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含んでいる。このようなトランスジェニックマウスにおいて、内因性免疫グロブリン遺伝子座は概してすでに不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説には、Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２３：１１１７～１１２５（２００５）を参照のこと。また、例えばＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術について記載する米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号；ＨＵＭＡＢ（登録商標）技術について記載する米国特許第５，７７０，４２９号；Ｋ－Ｍ ＭＯＵＳＥ（登録商標）技術について記載する米国特許第７，０４１，８７０号；及びＶＥＬＯＣＩＭＯＵＳＥ（登録商標）技術について記載する米国特許出願公開第ＵＳ２００７／００６１９００号も参照のこと。このような動物によって生成されるインタクト抗体由来のヒト可変領域は、例えば異なるヒト定常領域と組合わせることによって、さらに修飾されてよい。

【０１７７】

ヒト抗体は、ハイブリドーマをベースとする方法によっても作製可能である。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髄腫及びマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株について記述されてきた。（Ｋｏｚｂｏｒ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）；Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１～６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７）；及びＢｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：８６（１９９１）参照）。ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体も、Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７～３５６２（２００６）中に記載されている。追加の方法としては、例えば米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトＩｇＭ抗体の産生について記載）及びＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５～２６８（２００６）（ヒト－ヒトハイブリドーマについて記載）中に記載されているものが含まれる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）はまた、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２０（３）

：９２７～９３７（２００５）及びＶｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５～９１（２００５））中にも記載されている。

【０１７８】

ヒト由来ファージディスプレイライブラリから選択されたＦｖクローン可変ドメイン配列を単離することによって、ヒト抗体を生成してもよい。このような可変ドメイン配列を、次に所望のヒト定常領域と組合せてもよい。抗体ライブラリからヒトライブラリを選択するための技術について、以下で説明する。

【０１７９】

（ｖ）抗体フラグメント

抗体フラグメントは、酵素消化などの従来の手段によってかまたは組換え技術により生成されてよい。ある特定の状況においては、全抗体ではなく抗体フラグメントを使用するのが有利である。フラグメントはサイズが比較的小さいことから、急速なクリアランスを可能にし、固形腫瘍に対するアクセスの改善を導くかもしれない。ある特定の抗体フラグメントの概説については、Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９～１３４を参照のこと。

【０１８０】

抗体フラグメントの生産のために、さまざまな技術が開発されてきた。従来、これらのフラグメントは、インタクト抗体のタンパク質分解消化を介して誘導された（例えばＭｏｒｉｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ ａｎｄ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ２４：１０７～１１７（１９９２）；及びＢｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）を参照のこと）。しかしながら、これらのフラグメントは今や、組換え型宿主細胞により直接産生可能である。Ｆａｂ、Ｆｖ及びＳｃＦｖ抗体フラグメントは全て、大腸菌内で発現され大腸菌により分泌され、こうしてこれらのフラグメントを大量に容易に生産することが可能である。抗体フラグメントは、以上で論述した抗体ファージライブラリから単離され得る。代替的には、Ｆａｂ’－ＳＨフラグメントは、大腸菌から直接回収可能であり、化学的にカップリングされてＦ（ａｂ’）$_2$フラグメントを形成する（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６３～１６７（１９９２））。別のアプローチによると、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントは、宿主細胞培養から直接単離可能である。サルベージレセプター結合エピトープ残基を含む、インビボ半減期の増大したＦａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$フラグメントが米国特許第５，８６９，０４６号中に記載されている。抗体フラグメントの生産のための他の技術は、当業者には明らかになるものである。ある特定の実施形態において、抗体は一本鎖Ｆｖフラグメント（ｓｃＦｖ）である。例えばＷＯ９３／１６１８５；米国特許第５，５７１，８９４号；及び同第５，５８７，４５８号を参照のこと。Ｆｖ及びｓｃＦｖは、定常領域が欠如したインタクトな組合せ部位を伴う唯一の種である；したがって、これらは、インビボ使用中、低い非特異的結合に好適であるかもしれない。ｓｃＦｖ融合タンパク質を構築して、ｓｃＦｖのアミノまたはカルボキシ末端のいずれかでエフェクタータンパク質の融合を生み出すことができる。上記Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，ｅｄ．Ｂｏｒｒｅｂａｅｃｋを参照のこと。抗体フラグメントはまた、例えば米国特許第５，６４１，８７０号中に記載の通り、「線状抗体」であってもよい。このような線状抗体は、単一特異性または二重特異性であってよい。

【０１８１】

（ｖｉ）多特異性抗体

多特異性抗体は、少なくとも２つの異なるエピトープに対する結合特異性を有し、ここでエピトープは通常、異なる抗原に由来する。このような分子は通常、２つの異なるエピトープ（すなわち二重特異性抗体、ＢｓＡｂ）に結合するものの、本明細書中で使用される場合この表現には、三重特異性抗体などの追加の特異性を有する抗体も包含される。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体フラグメント（例えばＦ（ａｂ’）$_2$二重特異性

抗体）として調製可能である。

【０１８２】

二重特異性抗体を作製する方法は、当該技術分野において公知である。完全長二重特異性抗体の従来の生産は、２つの鎖が異なる特異性を有する、２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の同時発現に基づいている（例えばＭｉｌｌｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３０５：５３７～５３９（１９８３）を参照のこと）。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖の無作為的な組合せのため、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は、１０個の異なる抗体分子の潜在的混合物を産生し、そのうち１個のみが正しい二重特異性構造を有している。通常親和性クロマトグラフィステップによって行なわれる正しい分子の精製は、かなり面倒であり、生成物の収量は低い。類似の手順は、ＷＯ９３／０８８２９及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．，１０：３６５５～３６５９（１９９１）中に開示されている。

【０１８３】

二重特異性抗体を作製するための当該技術分野において公知の１つのアプローチは、「ノブ・イントゥ・ホール」または「プロチェバランス・イントゥ・キャビティ」アプローチである（例えば米国特許第５，７３１，１６８号参照）。このアプローチでは、２つの免疫グロブリンポリペプチド（例えば重鎖ポリペプチド）は各々１つの界面を含む。一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面は、もう一方の免疫グロブリンポリペプチド上の対応する界面と相互作用し、こうして２つの免疫グロブリンポリペプチドが会合できるようにしている。これらの界面は、一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面内にある「ノブ」または「突起（プロチュベランス）」（これらの用語は、本明細書内では互換的に使用されてよい）が、もう一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面内にある「ホール」または「空洞（キャビティ）」（これらの用語は、本明細書内では互換的に使用されてよい）と対応するような形で工学操作されていてよい。一部の実施形態では、ホールは、ノブと同一のまたは類似したサイズのものであり、２つの界面が相互作用する場合に一方の界面のノブが、他方の界面の対応するホール内に位置付け可能となるような形で、好適に位置付けされる。理論に束縛されることは望まないものの、このことは、ヘテロ多量体を安定化させ、他の種、例えばホモ多量体よりもヘテロ多量体の形成を好むことに有利に作用すると考えられる。一部の実施形態においては、このアプローチを用いて、２つの異なる免疫グロブリンポリペプチドのヘテロ多量体化を促進し、異なるエピトープの結合特異性を有する２つの免疫グロブリンポリペプチドを含む二重特異性抗体を創出してもよい。

【０１８４】

一部の実施形態において、ノブは、小さいアミノ酸側鎖をより大きな側鎖で置き換えることによって構築され得る。一部の実施形態において、大きいアミノ酸側鎖をより小さい側鎖で置き換えることにより、ホールを構築してよい。ノブまたはホールは、原初の界面内に存在してもよいし、あるいは、合成により導入されてもよい。例えば、少なくとも１つの「原初の」アミノ酸残基を少なくとも１つの「インポート」アミノ酸残基と置き換えるように界面をコードする核酸配列を改変することによって、ノブまたはホールを合成により導入してもよい。核酸配列を改変するための方法には、当該技術分野において周知の標準的分子生物学技術が含まれるかもしれない。さまざまなアミノ酸残基の側鎖体積が、下表に示されている。一部の実施形態において、原初の残基は、小さい側鎖体積を有し（例えばアラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、トレオニンまたはバリン）、ノブを形成するためのインポート残基は、天然に発生するアミノ酸であり、アルギニン、フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファンを含み得る。一部の実施形態において、原初の残基は、大きい側鎖体積（例えばアルギニン、フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファン）を有し、ホールを形成するためのインポート残基は天然に発生するアミノ酸でありアラニン、セリン、トレオニン及びバリンを含むかもしれない。

【０１８５】

表１：アミノ酸残基の特性

アミノ酸	一文字略語	質量[a]（ダルトン）	体積[b]（Å^3）	アクセス可能な表面積[c]（Å^2）
アラニン（Ａｌａ）	Ａ	７１．０８	８８．６	１１５
アルギニン（Ａｒｇ）	Ｒ	１５６．２０	１７３．４	２２５
アスパラギン（Ａｓｎ）	Ｎ	１１４．１１	１１７．７	１６０
アスパラギン酸（Ａｓｐ）	Ｄ	１１５．０９	１１１．１	１５０
システイン（Ｃｙｓ）	Ｃ	１０３．１４	１０８．５	１３５
グルタミン（Ｇｌｎ）	Ｑ	１２８．１４	１４３．９	１８０
グルタミン酸（Ｇｌｕ）	Ｅ	１２９．１２	１３８．４	１９０
グリシン（Ｇｌｙ）	Ｇ	５７．０６	６０．１	７５
ヒスチジン（Ｈｉｓ）	Ｈ	１３７．１５	１５３．２	１９５
イソロイシン（Ｉｌｅ）	Ｉ	１１３．１７	１６６．７	１７５
ロイシン（Ｌｅｕ）	Ｌ	１１３．１７	１６６．７	１７０
リシン（Ｌｙｓ）	Ｋ	１２８．１８	１６８．６	２００
メチオニン（Ｍｅｔ）	Ｍ	１３１．２１	１６２．９	１８５
フェニルアラニン（Ｐｈｅ）	Ｆ	１４７．１８	１８９．９	２１０
プロリン（Ｐｒｏ）	Ｐ	９７．１２	１２２．７	１４５
セリン（Ｓｅｒ）	Ｓ	８７．０８	８９．０	１１５
トレオニン（Ｔｈｒ）	Ｔ	１０１．１１	１１６．１	１４０
トリプトファン（Ｔｒｐ）	Ｗ	１８６．２１	２２７．８	２５５
チロシン（Ｔｙｒ）	Ｙ	１６３．１８	１９３．６	２３０
バリン（Ｖａｌ）	Ｖ	９９．１４	１４０．０	１５５

[a] アミノ酸の分子量から水の分子量を減じたもの。数値の出典は、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｐｈｙｓｉｃ，４３^{ｔｈ} ｅｄ．Ｃｌｅｖｅｌａｎｄ，Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｕｂｂｅｒ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，１９６１。

[b] 数値の出典は、Ａ．Ａ．Ｚａｍｙａｔｎｉｎ，Ｐｒｏｇ． Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２４：１０７～１２３，１９７２。

[c] 数値の出典は、Ｃ．Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１０５：１～１４，１９７５。アクセス可能な表面積は、この参考文献の図６～２０内に定義されている。

【０１８６】

一部の実施形態において、ノブまたはホールを形成するための原初の残基は、ヘテロ多量体の三次元構造に基づいて同定される。３次元構造を得るための当該技術分野において公知の技術としては、Ｘ線結晶学及びＮＭＲがあると考えられる。一部の実施形態において、界面は、免疫グロブリン定常ドメインのＣＨ３ドメインである。これらの実施形態において、ヒトＩｇＧ$_1$のＣＨ３／ＣＨ３界面には、４つの逆平行β鎖の上に位置設定された各ドメイン上の１６の残基が関与する。理論により束縛されることは望まないものの、突然変異を受けた残基は、好ましくは、ノブが、パートナーＣＨ３ドメイン内の補償ホールではなくむしろ周囲の溶媒により収容され得る危険性を最小限におさえるため、２つの中央逆平行β鎖上に位置設定される。一部の実施形態において、２つの免疫グロブリンポ

リペプチド内の対応するノブ及びホールを形成する突然変異は、下表に示された１つ以上の対に対応する。

【０１８７】

表２．対応するノブ及びホール形成突然変異の例示的セット

第１の免疫グロブリンのＣＨ３	第２の免疫グロブリンのＣＨ３
T366Y	Y407T
T366W	Y407A
F405A	T394W
Y407T	T366Y
T366Y:F405A	T394W:Y407T
T366W:F405W	T394S:Y407A
F405W:Y407A	T366W:T394S
F405W	T394S

突然変異は、原初の残基と、それに続く、Ｋａｂａｔ付番システムを用いた位置、そして次にインポート残基（全ての残基は、一文字アミノ酸コードで提供されている）によって表示されている。複数の突然変異はコロンで分けられている。

【０１８８】

一部の実施形態において、免疫グロブリンポリペプチドは、上記表２中に列挙した１つ以上のアミノ酸置換を含むＣＨ３ドメインを含む。一部の実施形態において、二重特異性抗体には、表２の左欄に列挙した１つ以上のアミノ酸置換を含むＣＨ３ドメインを含む第１の免疫グロブリンポリペプチドと、表２の右欄に列挙した１つ以上の対応するアミノ酸置換を含むＣＨ３ドメインを含む第２の免疫グロブリンポリペプチドとが含まれる。

【０１８９】

上述の通りのＤＮＡの突然変異の後、１つ以上の対応するノブまたはホール形成突然変異を伴う修正された免疫グロブリンポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、当該技術分野において公知の標準的な組換え技術及び細胞系を用いて、発現され精製され得る。例えば米国特許第５，７３１，１６８号；同第５，８０７，７０６号；同第５，８２１，３３３号；同第７，６４２，２２８号；同第７，６９５，９３６号；同第８，２１６，８０５号；米国特許出願公開第２０１３／００８９５５３号；及びＳｐｉｅｓｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　３１：７５３～７５８，２０１３を参照のこと。修飾された免疫グロブリンポリペプチドは、大腸菌などの原核宿主細胞またはＣＨＯ細胞などの真核宿主細胞を用いて生産される。同時培養において宿主細胞内で、対応するノブ及びホール担持免疫グロブリンポリペプチドを発現させヘテロ多量体として共に精製してもよく、あるいは、これらを単一の培養内で発現させ、別個に精製し、インビトロで組立ててもよい。一部の実施形態において、細菌宿主細胞の２つの菌株（１つはノブを伴う免疫グロブリンポリペプチドを発現するもの、もう１つはホールを伴う免疫グロブリンポリペプチドを発現するもの）は、当該技術分野において公知の標準的細菌培養技術を用いて同時培養される。一部の実施形態において、２つの菌株は、例えば培養中で等しい発現レベルを達成するように１つの特定の比率で混合されてよい。一部の実施形態において、２つの菌株は、５０：５０、６０：４０または７０：３０の比率で混合されてよい。ポリペプチド発現の後、細胞を共に溶解させてよく、タンパク質を抽出してよい。ホモ多量体対ヘテロ多量体種の存在度を測定することを可能にする当該技術分野において公知の標準的技術としては、サイズ排除クロマトグラフィが含まれ得る。一部の実施形態において、各々の修飾された免疫グロブリンポリペプチドを、標準的組換え技術を用いて別個に発現させ、これらをインビトロで合わせてアセンブリしてもよい。アセンブリは、例えば、各々の修飾された免疫グロブリンポリペプチドを精製し、それらを等しい質量

で混合しインキュベートし、ジスルフィドを還元し（例えば、ジチオトレイトールで処理することによる）、濃縮し、かつポリペプチドを再度酸化させることによって、達成される。形成した二重特異性抗体を、カチオン交換クロマトグラフィを含めた標準的技術を用いて精製し、サイズ排除クロマトグラフィを含めた標準的技術を用いて測定してよい。これらの方法のさらに詳しい説明については、Ｓｐｅｉｓｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３１：７５３～８，２０１３を参照のこと。一部の実施形態において、修飾された免疫グロブリンポリペプチドを、ＣＨＯ細胞中で別個に発現させ、上述の方法を用いてインビトロでアセンブリしてよい。

【０１９０】

異なるアプローチによると、所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン（抗体－抗原組合せ部位）が、免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合される。融合は、好ましくは、ヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３領域の少なくとも一部分を含む、免疫グロブリン重鎖定常ドメインとの融合である。少なくとも１つの融合に存在する軽鎖結合に必要な部位を含む第１の重鎖定常領域（ＣＨ１）を有するのが、典型的である。免疫グロブリン重鎖融合と、望ましい場合には免疫グロブリン軽鎖とをコードするＤＮＡが、別個の発現ベクター内に挿入され、好適な宿主生体内に同時トランスフェクトされる。こうして、構築の際に使用される３つのポリペプチド鎖の不等な比率が最適な収量を提供する場合に、実施形態において３つのポリペプチドフラグメントの相互の割合を調整する上で大きな柔軟性が得られる。しかしながら、等しい比率での少なくとも２つのポリペプチド鎖の発現が結果として高い収量をもたらす場合、あるいは比率が特別な重要性を全くもたない場合、１つの発現ベクター内に２つのまたは３つ全てのポリペプチド鎖のためのコーディング配列を挿入することが可能である。

【０１９１】

このアプローチの一実施形態において、二重特異性抗体は、一方のアーム内の第１の結合特異性を有するハイブリッド免疫グロブリン重鎖と、もう一方のアーム内の（第２の結合特異性を提供する）ハイブリッド免疫グロブリン重鎖－軽鎖対とで構成されている。この非対称構造は、二重特異性分子の半分の中のみの免疫グロブリン軽鎖の存在が容易な分離法を提供することから、望ましくない免疫グロブリン鎖の組合せからの所望の二重特異性化合物の分離を容易にすることが発見された。このアプローチは、ＷＯ９４／０４６９０中に開示されている。二重特異性抗体の生成のさらなる詳細については、例えばＳｕｒｅｓｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，１２１：２１０（１９８６）を参照のこと。

【０１９２】

ＷＯ９６／２７０１１に記載の別のアプローチによると、一対の抗体分子の間の界面は、組換え型細胞培養から回収されるヘテロ二量体の百分率を最大限にするために工学操作され得る。１つの界面は、抗体定常ドメインのC_H3ドメインの少なくとも一部分を含む。この方法において、第１の抗体分子の界面由来の１つ以上の小さいアミノ酸側鎖は、より大きい側鎖（例えばチロシンまたはトリプトファン）で置き換えられる。大きいアミノ酸側鎖をより小さい側鎖（例えばアラニンまたはトレオニン）で置き換えることにより、第２の抗体分子の界面上に、大きな側鎖（単複）と同一のまたは類似のサイズの補償用「空洞」が創出される。こうして、ホモ二量体などの他の望ましくない最終産物に比べてヘテロ二量体の収量を増大させるための機序が提供される。

【０１９３】

二重特異性抗体には、架橋または「ヘテロコンジュゲート」抗体が含まれる。例えばヘテロコンジュゲート内の抗体の一方は、アビジンに、そしてもう一方はビオチンにカップリングされ得る。このような抗体は、例えば、望ましくない細胞に対して免疫系細胞を標的化するために（米国特許第４，６７６，９８０号）そしてＨＩＶ感染の治療のために（ＷＯ９１／００３６０、ＷＯ９２／２００３７３及びＥＰ０３０８９）提案されてきた。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の便利な架橋方法を用いて作製されてよい。好適な架橋剤が当該技術分野において周知であり、いくつかの架橋技術と共に米国特許第４，６７

６，９８０号に開示されている。

【０１９４】

抗体フラグメントから二重特異性抗体を生成するための技術もまた、文献中で開示されている。例えば二重特異性抗体は、化学的結合を用いて調製可能である。Ｂｒｅｎｎａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）は、インタクト抗体をタンパク質溶解により分割してＦ（ａｂ’）$_2$フラグメントを生成する手順について記載している。これらのフラグメントは、ジチオール錯化剤亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元されて、隣接ジチオールを安定化し、分子間ジスルフィド形成を防ぐ。生成されたＦａｂ’フラグメントは、次にチオニトロベンゾエート（ＴＮＢ）誘導体に変換される。Ｆａｂ’－ＴＮＢ誘導体の１つは、その後、メルカプトエチルアミンでの還元によりＦａｂ’－チオールに再度変換され、等モル量の他のＦａｂ’－ＴＮＢ誘導体と混合されて二重特異性抗体を形成する。産生された二重特異性抗体は、酵素の選択的固定化用の作用物質として使用可能である。

【０１９５】

近年の進歩によって、化学的にカップリングされて二重特異性抗体を形成することのできる大腸菌由来のＦａｂ’－ＳＨフラグメントの直接的回収が容易になった。Ｓｈａｌａｂｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１７５：２１７～２２５（１９９２）は、完全にヒト化された二重特異性抗体Ｆ（ａｂ’）$_2$分子の産生について記載している。各々のＦａｂ’フラグメントは、大腸菌から別個に分泌され、インビトロでの定方向化学カップリングに付されて二重特異性抗体を形成する。

【０１９６】

組換え型細胞培養から直接二重特異性抗体フラグメントを作製し単離するためのさまざまな技術もまた記述されてきた。例えば、二重特異性抗体は、ロイシン・ジッパーを用いて生産されてきた。Ｋｏｓｔｅｌｎｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８（５）：１５４７～１５５３（１９９２）。Ｆｏｓ及びＪｕｎタンパク質由来のロイシン・ジッパーペプチドは、遺伝子融合により２つの異なる抗体のＦａｂ’部分に結合された。抗体ホモ二量体はヒンジ領域で還元されて、単量体を形成し、次に再度酸化されて抗体ヘテロ二量体を形成する。この方法は、また、抗体ホモ二量体の産生のためにも利用可能である。Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４～６４４８（１９９３）により記載されている「ダイアボディ」技術は、二重特異性抗体フラグメントを作製するための代替的機序を提供した。フラグメントは、同じ鎖上の２つのドメインの間の対合を可能にするには短すぎるリンカーにより軽鎖可変ドメイン（V_L）に結合された重鎖可変ドメイン（V_H）を含む。したがって、１つのフラグメントのV_H及びV_Lドメインは、別のフラグメントの相補的V_L及びV_Hドメインを強制的に対合させられて、２つの抗原結合部位を形成する。１本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体を使用することによる二重特異性抗体フラグメントの作製のための別の戦略もまた報告されている。Ｇｒｕｂｅｒ　ｅｔ　ａｌ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ，１５２：５３６８（１９９４）を参照のこと。

【０１９７】

二重特異性抗体フラグメントを作製するための別の技術は、「二重特異性Ｔ細胞エンゲージャ」またはＢｉＴＥ（登録商標）アプローチ（例えばＷＯ２００４／１０６３８１、ＷＯ２００５／０６１５４７、ＷＯ２００７／０４２２６１及びＷＯ２００８／１１９５６７参照）である。このアプローチは、単一のポリペプチド上に配置された２つの抗体可変ドメインを利用する。例えば単一のポリペプチド鎖は、２つのドメイン間の分子内会合を可能にするのに充分な長さのポリペプチドリンカーによって分離された可変重鎖（V_H）と可変軽鎖（V_L）ドメインを各々有する２つの一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）フラグメントを含む。この単一のポリペプチドはさらに、２つのｓｃＦｖフラグメント間にポリペプチドスペーサ配列を含む。各ｓｃＦｖは異なるエピトープを認識し、これらのエピトープは、異なる細胞型に特異的であってよく、こうして、２つの異なる細胞型の細胞は、各ｓｃＦｖがその同種エピトープと係合させられた時点で、近接させられるかまたは係留される

。このアプローチの１つの特定の実施形態には、悪性細胞または腫瘍細胞などの標的細胞により発現された細胞表面抗原を認識する別のｓｃＦｖに結合された、Ｔ細胞上のＣＤ３ポリペプチドなどの、免疫細胞により発現される細胞表面抗原を認識するｓｃＦｖが含まれる。

【０１９８】

単一のポリペプチドであるため、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャは、例えばＣＨＯ細胞株などの当該技術分野において公知の任意の原核または真核細胞発現系を用いて、発現されてよい。しかしながら、単量体の意図された活性以外の生物活性を有する可能性のある他の多量体種から、単量体二重特異性Ｔ細胞エンゲージャを分離するためには、特異的精製技術（例えばＥＰ１６９１８３３参照）が必要であるかもしれない。１つの例示的精製スキームにおいては、分泌されたポリペプチドを含む溶液が最初に金属親和性クロマトグラフィに付され、ポリペプチドは、イミダゾール濃度勾配を用いて溶出される。この溶出液は、アニオン交換クロマトグラフィを用いてさらに精製され、ポリペプチドは、塩化ナトリウム濃度の勾配を用いて溶出される。最後に、この溶出液は、多量体種から単量体を分離するため、サイズ排除クロマトグラフィに付される。

【０１９９】

３以上の原子価を有する抗体が企図される。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Ｔｕｆｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１）。

【０２００】

（ｖｉｉ）単一ドメイン抗体

一部の実施形態において、本発明の抗体は、単一ドメイン抗体である。単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全部または一部分あるいは軽鎖可変ドメインの全部または一部分を含む単一ポリペプチド鎖である。ある特定の実施形態では、単一ドメイン抗体はヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，Ｍａｓｓ．；例えば米国特許第６，２４８，５１６Ｂ１号参照）。一実施形態において、単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖ドメインの全部または一部分で構成される。

【０２０１】

（ｖｉｉｉ）抗体変異体

一部の実施形態において、本明細書中に記載の抗体のアミノ酸配列の修飾（単複）が企図されている。例えば、抗体の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善することが所望されるかもしれない。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列内に適切な変化を導入することによってか、またはペプチド合成によって調製されてよい。このような修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列内部の残基からの欠失、及び／またはその中への挿入及び／またはその置換が含まれる。最終的構成体が所望の特性を有することを条件として、最終的構成体に到達するために、欠失、挿入及び置換の任意の組合せを行なうことができる。配列が作製される時に、対象の抗体アミノ酸配列内にアミノ酸改変を導入してよい。

【０２０２】

（ｉｘ）置換、挿入及び欠失変異体

ある特定の実施形態においては、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換による突然変異誘発のための目的の部位としては、ＨＶＲとＦＲがある。保存的置換が、表１中で「保存的置換」の見出しの下で示されている。より実質的な変化は、表１中に、「例示的置換」という見出しの下で、かつアミノ酸側鎖クラスに関連して以下でさらに説明する通りに提供されている。アミノ酸置換を、目的の抗体内に導入し、所望の活性、例えば抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少またはＡＤＣＣまたはＣＤＣの改善について生成物をスクリーニングしてよい。

【０２０３】

表３．例示的置換

原初の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

【０２０４】
アミノ酸は、共通の側鎖特性に応じて分類してよい：
ａ．疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ；
ｂ．中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ；
ｃ．酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ；
ｄ．塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ；
ｅ．鎖配向に影響を及ぼす残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ；
ｆ．芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。
【０２０５】
非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのクラスの一構成員の別のクラスとの交換を伴う。
【０２０６】
１つのタイプの置換変異体には、親抗体（例えばヒト化またはヒト抗体）の１つ以上の超可変領域の置換が関与する。概して、さらなる研究のために選択された結果として得られた変異体（単複）は、親抗体に関するある特定の生物学的特性（例えば親和性の増大、免疫原性の減少）における修飾（例えば改善）を有しかつ／または親抗体のある特定の生物学的特性を実質的に保持するものである。１つの例示的な置換変異体は、例えば本明細書中に記載のもののようなファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を用いて簡便な形で生成可能である親和性の成熟抗体である。簡単に言うと、１つ以上のＨＶＲ残基が突然変異を受け、変異体抗体はファージ上でディスプレイされ、特定の生物活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングされる。
【０２０７】
例えば抗体親和性を改善するために、ＨＶＲ中で改変（例えば置換）を行なってよい。このような改変は、ＨＶＲ「ホットスポット」すなわち体細胞成熟プロセス中に高頻度で突然変異を受けるコドンによりコードされる残基（例えばＣｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９～１９６（２００８）参照）及び／またはＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）内で行なわれてよく、結果として得られる変異体ＶＨまたはＶＬは、結合親和性についてテストされる。二次ライブラリからの構築及び再選択による親和性成熟については、例えばＨｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．（Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍ

ｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１～３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，（２００１））中に記載されている。親和性成熟に関する一部の実施形態において、さまざまな方法（例えばエラープローンＰＣＲ、鎖シャッフルまたはオリゴヌクレオチド指向性突然変異誘発）のいずれかにより成熟のために選択された可変的遺伝子の中に、多様性が導入される。その後、二次ライブラリが創出される。ライブラリは次に、所望の親和性を有するあらゆる抗体変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法には、複数のＨＶＲ残基（例えば、一度に４～６個の残基）が無作為化されるＨＶＲ指向性アプローチが関与する。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えばアラニン走査突然変異誘発またはモデリングを用いて、特異的に同定されてよい。ＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３は、特に標的化される場合が多い。

【０２０８】

ある特定の実施形態においては改変が抗原を結合する抗体の能力を実質的に減少させないかぎりにおいて、１つ以上のＨＶＲの内部で、置換、挿入または欠失を発生させてよい。例えば、結合親和性を実質的に減少させない保存的改変（例えば本明細書中で提供されている通りの保存的置換）をＨＶＲ内で行なってよい。このような改変は、ＨＶＲ「ホットスポット」またはＳＤＲの外側であってよい。上述の変異体ＶＨ及びＶＬ配列のある特定の実施形態において、各ＨＶＲは、未改変であるかまたは１、２または３個以下のアミノ酸置換しか含まないかのいずれかである。

【０２０９】

突然変異誘発のために標的化され得る抗体の残基または領域の同定のための有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１～１０８５により記載されている通り、「アラニン走査突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、１つの残基または標的残基群（例えばＡｒｇ、Ａｓｐ、Ｈｉｓ、Ｌｙｓ及びＧｌｕなどの荷電残基）が同定され、中性または負に帯電したアミノ酸（例えばアラニンまたはポリアラニン）により置き換えられて、抗原と抗体の相互作用がもたらされているか否かを決定する。初期置換に対する機能的感応性を示すアミノ酸の場所において、さらなる置換を導入してもよい。代替的または付加的には、抗原－抗体複合体の結晶構造が抗体と抗原の間の接点を同定する。このような接触残基及び隣接する残基は、置換候補として標的化されるか除去される。変異体をスクリーニングして、所望の特性を含んでいるか否かを決定してよい。

【０２１０】

アミノ酸配列の挿入には、１個の残基から百以上の残基を含むポリペプチドに至る長さ範囲のアミノ及び／またはカルボキシル末端融合、並びに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を伴う抗体がある。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体の血清半減期を増大させる酵素（例えばＡＤＥＰＴ用）またはポリペプチドに対する抗体のＮ末端またはＣ末端の融合が含まれる。

【０２１１】

（ｘ）グリコシル化変異体

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供されている抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増減させるために改変される。抗体に対するグリコシル化部位の付加または欠失は、１つ以上のグリコシル化部位が創出または除去されるようにアミノ酸配列を改変することによって、簡便に達成可能である。

【０２１２】

抗体がＦｃ領域を含む場合、それに付着した炭水化物は改変され得る。哺乳動物細胞により産生される天然抗体は、概してＦｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７に対してＮ－結合により付着させられる分岐、二分岐オリゴ糖を含む。例えばＷｒｉｇｈｔ ｅｔ ａｌ．ＴＩＢＴＥＣＨ １５：２６～３２（１９９７）を参照のこと。オリゴ糖は、さまざまな炭水化物、例えばマンノース、Ｎ－アセチルグルコサミド（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」内でＧｌｃＮＡｃに付着し

たフコースを含んでいてよい。一部の実施形態において、本発明の抗体内のオリゴ糖の修飾を、一定の改善された特性を伴う抗体変異体を創出するために行なってよい。

【０２１３】

一実施形態において、Ｆｃ領域に付着した炭水化物構造のフコースが減少しているかまたは欠落していて、ＡＤＣＣ機能を改善するかもしれない、Ｆｃ領域を含む抗体変異体が提供されている。具体的には、本明細書では、野生型ＣＨＯ細胞内で産生される同じ抗体上のフコースの量に比べて減少したフソースを有する抗体が企図されている。すなわち、これらは、天然ＣＨＯ細胞により産生された場合に有すると思われる量よりも低い量のフコースを有することを特徴としている（例えば、天然グリコシル化パターンを生成するＣＨＯ細胞、例えば天然ＦＵＴ８遺伝子を含むＣＨＯ細胞）。ある特定の実施形態において、抗体は、その上のＮ結合グリカンの約５０％、４０％、３０％、２０％、１０％または５％未満がフコースを含んでいる抗体である。例えば、このような抗体内のフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％または２０％～４０％であってよい。ある特定の実施形態において、抗体は、その上のＮ結合グリカンのいずれもフコースを含んでいない、すなわち抗体が完全にフコース無しであるか、または全くフコースを含まないかまたはアフコシル化されている抗体である。フコースの量は、例えばＷＯ２００８／０７７５４６に記載の通り、ＭＡＬＤ－ＴＯＦ質量分析法により測定されるＡｓｎ２９７に付着した全ての糖構造（例えば複合体、ハイブリッド及び高マンノース構造）の和との関係におけるＡｓｎ２９７における糖鎖内部のフコースの平均量を計算することによって決定される。Ａｓｎ２９７とは、Ｆｃ領域内の約２９７位（Ｆｃ領域残基のＥＵ付番）にあるアスパラギン残基を意味するが、抗体内のわずかな配列変動に起因して、Ａｓｎ２９７はまた、２９７位の上流側または下流側約±３アミノ酸の位置、すなわち２９４位と３００位の間に位置設定されてもよい。このようなフコース化変異体は、改善されたＡＤＣＣ機能を有する場合がある。例えば米国特許出願公開第ＵＳ２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）；同第ＵＳ２００４／００９３６２１号（Ｋｙｏｗａ Ｈａｋｋｏ Ｋｏｇｙｏ Ｃｏ．，Ｌｔｄ）を参照のこと。「脱フコース化」または「フコース欠損」抗体変異体に関連する刊行物の例としては、ＵＳ２００３／０１５７１０８；ＷＯ２００／６１７３９；ＷＯ２００１／２９２４６；ＵＳ２００３／０１１５６１４；ＵＳ２００２／０１６４３２８；ＵＳ２００４／００９３６２１；ＵＳ２００４／０１３２１４０；ＵＳ２００４／０１１０７０４；ＵＳ２００４／０１１０２８２；ＵＳ２００４／０１０９８６５；ＷＯ２００３／０８５１１９；ＷＯ２００３／０８４５７０；ＷＯ２００５／０３５５８６；ＷＯ２００５／０３５７７８；ＷＯ２００５／０５３７４２；ＷＯ２００２／０３１１４０；Ｏｋａｚａｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３６：１２３９～１２４９（２００４）；Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）がある。脱フコース化抗体を産生できる細胞株の例には、タンパク質フコース化が欠損しているＬｅｃ１３ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ ｅｔ ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４９：５３３～５４５（１９８６）；米国特許出願第ＵＳ２００３／０１５７１０８ Ａ１号；及びＷＯ２００４／０５６３１２ Ａ１、特に実施例１１）、及びノックアウト細胞株、例えばアルファ－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＦＵＴ８、ノックアウトＣＨＯ細胞（例えばＹａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）；Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，９４（４）：６８０～６８８ （２００６）；及びＷＯ２００３／０８５１０７を参照）が含まれる。

【０２１４】

さらに、例えば抗体のＦｃ領域に付着した二分岐オリゴ糖がＧｌｃＮＡｃにより二分されている二分オリゴ糖を伴う抗体変異体が提供される。このような抗体変異体は、低いフコース化及び／または改善されたＡＤＣＣ機能を有する場合がある。このような抗体変異体の例は、例えば、ＷＯ２００３／０１１８７８；米国特許第６，６０２，６８４号；ＵＳ２００５／０１２３５４６、及びＦｅｒｒａｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏ

ｌｏｇｙ ａｎｄ Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，９３（５）：８５１～８６１（２００６）中に記載されている。Ｆｃ領域に付着したオリゴ糖内の少なくとも１つのガラクトース残基を伴う抗体変異体もまた提供される。このような抗体変異体は、改善されたＣＤＣ機能を有する場合がある。このような抗体変異体は、例えばＷＯ１９９７／３００８７；ＷＯ１９９８／５８９６４；及びＷＯ１９９９／２２７６４中に記載されている。

【０２１５】

ある特定の実施形態において、本明細書中に記載のＦｃ領域を含む抗体変異体は、ＦｃγＲＩＩＩに結合できる。ある特定の実施形態において、本明細書中に記載のＦｃ領域を含む抗体変異体は、ヒトエフェクタ細胞の存在下でＡＤＣＣ活性を有し、ヒト野生型ＩｇＧ１Ｆｃ領域を含む他の点では同じである抗体に比べて、ヒトエフェクタ細胞の存在下で高いＡＤＣＣ活性を有する。

【０２１６】

（ｘｉ）Ｆｃ領域変異体

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供された抗体のＦｃ領域内に１つ以上のアミノ酸修飾を導入して、Ｆｃ領域変異体を生成することが可能である。Ｆｃ領域変異体は、１つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば置換）を含むヒトＦｃ領域配列（例えばヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４Ｆｃ領域）を含んでいてよい。

【０２１７】

ある特定の実施形態において、本発明は、全てではないものの一部のエフェクター機能を有し、そのためインビボでの抗体の半減期が重要であるものの一部のエフェクター機能（例えば補体及びＡＤＣＣ）が不要または有害である利用分野のための望ましい候補となっている抗体変異体を企図している。ＣＤＣ及び／またはＡＤＣＣ活性の減少／枯渇を確認するためにインビトロ及び／またはインビボ細胞毒性検定を行なうことができる。例えば、抗体にＦｃγＲ結合が欠如している（ひいてはＡＤＣＣ活性が欠如している確率が高い）もののＦｃＲｎ結合活性は保持されていることを確認するために、Ｆｃレセプター（ＦｃＲ）結合検定を実施することができる。ＡＤＣＣを媒介するための一次細胞であるＮＫ細胞は、ＦｃγＲＩＩＩのみを発現し、一方単球は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞上のＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７～４９２（１９９１）の４６４頁の表３内に要約されている。目的の分子のＡＤＣＣ活性を査定するためのインビトロ検定の非限定的例は、米国特許第５，５００，３６２号（例えばＨｅｌｌｓｔｒｏｍ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８３：７０５９～７０６３（１９８６）を参照）及びＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：１４９９～１５０２（１９８５）；５，８２１，３３７（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６６：１３５１～１３６１（１９８７）を参照）に記載されている。代替的には、非放射性検定方法を利用してもよい（例えばフローサイトメトリー用ＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞毒性検定（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，ＣＡ；及びＣｙｔｏＴｏｘ ９６（登録商標）非放射性細胞毒性検定（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）を参照のこと）。このような検定のための有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が含まれる。代替的にまたは付加的には、目的の分子のＡＤＣＣ活性を、例えばＣｌｙｎｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９５：６５２～６５６（１９９８）中で開示されているものなどの動物モデルの体内で、インビボで査定してもよい。抗体がＣ１ｑに結合できず、ひいては、ＣＤＣ活性が欠如していることを確認するために、Ｃ１ｑ結合検定もまた実施してよい。例えばＷＯ２００６／０２９８７９及びＷＯ２００５／１００４０２中のＣ１ｑ及びＣ３Ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照のこと。補体活性化を査定するために、ＣＤＣ検定を実施してもよい（例えばＧａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０２：１６３（１９９６）；Ｃｒａｇｇ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ １０１：１０４５～１０５２（２００３）；及びＣｒａｇｇ ｅ

ｔ　ａｌ，Ｂｌｏｏｄ　１０３：２７３８～２７４３（２００４）を参照のこと）。当該技術分野において公知の方法を用いて、ＦｃＲｎ結合及びインビボクリアランス／半減期の決定を実施することができる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（１２）：１７５９～１７６９（２００６）を参照のこと）。

【０２１８】

低いエフェクター機能を有する抗体には、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７及び３２９のうちの１つ以上の置換を伴う抗体が含まれる（米国特許第６，７３７，０５６号）。このようなＦｃ突然変異体には、アラニンに対する残基２６５及び２９７の置換を伴ういわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ突然変異体を含めた、アミノ酸位２６５、２６９、２７０、２９７及び３２７のうちの１つ以上において置換を伴うＦｃ突然変異体が含まれる（米国特許第７，３３２，５８１号）。

【０２１９】

ＦｃＲｓに対する結合が改善または減少しているある特定の抗体変異体が記述されている（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号；ＷＯ２００４／０５６３１２、及びＳｈｉｅｌｄｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１～６６０４（２００１）を参照のこと）。

【０２２０】

ある特定の実施形態において、１つの抗体変異体は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えばＦｃ領域の２９８、３３３及び／または３３４位（残基のＥＵ付番）の置換を伴う１つのＦｃ領域を含む。例示的実施形態において、抗体は、そのＦｃ領域内に、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ及びＫ３３４Ａというアミノ酸置換を含む。

【０２２１】

一部の実施形態において、例えば米国特許第６，１９４，５５１号、ＷＯ９９／５１６４２、及びＩｄｕｓｏｇｉｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８～４１８４（２０００）に記載の通り、改変された（すなわち改良または減少された）Ｃ１ｑ結合及び／または補体依存型細胞毒性（ＣＤＣ）を結果としてもたらす改変が、Ｆｃ領域内で行なわれる。

【０２２２】

半減期が増大し、胎児に対する母体ＩｇＧの移送を担う新生児Ｆｃレセプター（ＦｃＲｎ）に対する結合が改善された抗体（Ｇｕｙｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９（１９９４））は、ＵＳ２００５／００１４９３４Ａ１（Ｈｉｎｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．）中に記載されている。これらの抗体は、ＦｃＲｎに対するＦｃ領域の結合を改善する１つ以上の置換を内部に伴うＦｃ領域を含む。このようなＦｃ変異体には、２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４または４３４というＦｃ領域残基のうちの１つ以上における置換、例えばＦｃ領域残基４３４の置換（米国特許第７，３７１，８２６号）を伴うものが含まれる。Ｆｃ領域変異体の他の例に関しては、Ｄｕｎｃａｎ　＆　Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ　３２２：７３８～４０（１９８８）；米国特許第５，６４８，２６０号；米国特許第５，６２４，８２１号；及びＷＯ９４／２９３５１も参照のこと。

【０２２３】

（ｘｉｉ）抗体誘導体

本発明の抗体はさらに、当該技術分野において公知であり容易に入手可能な追加の非タンパク質様部分を含むようにさらに修飾され得る。ある特定の実施形態において、抗体の誘導体化に好適な部分は、水溶性ポリマーである。水溶性ポリマーの非限定的例としては、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／マレイン酸無水物コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリ

マーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチレン化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール及びその混合物が含まれるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、その水中安定性に起因する製造上の利点があるかもしれない。ポリマーは、任意の分子量のものであってよく、分岐または非分岐であってよい。抗体に付着するポリマーの数は、変動する場合があり、２つ以上のポリマーが付着する場合、それらは同じ分子でも異なる分子でもあり得る。概して、誘導体化のために使用されるポリマーの数及び／またはタイプは、改善すべき抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が１つの療法において規定の条件下で使用されるか否かなどを含めた（ただしこれらに限定されない）考慮事項に基づいて決定可能である。

【０２２４】

（ｘｉｉｉ）ベクター、宿主細胞及び組換え方法

抗体は、組換え方法を用いて生産することもできる。抗抗原抗体の組換え生産のためには、抗体をコードする核酸が単離され、さらなるクローニング（ＤＮＡの増幅）または発現のために複製可能なベクター内に挿入される。抗体をコードするＤＮＡは、従来の手順を用いて（例えば抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することなどによって）、直ちに単離され配列決定されてよい。多くのベクターが利用可能である。ベクター構成成分には概して、シグナル配列、複製起点、１つ以上のマーカー遺伝子、エンハンサー要素、プロモーター、及び転写終結配列のうちの１つ以上が含まれるが、これらに限定されない。

【０２２５】

（ａ）シグナル配列構成成分

本発明の抗体は、組換えによって直接的にのみならず、好ましくはシグナル配列または成熟タンパク質またはポリペプチドのＮ末端に特異的分割を有する他のポリペプチドである異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとして生産されてよい。選択される異種シグナル配列は好ましくは、宿主細胞により認識され処理された（例えばシグナルペプチダーゼにより分割された）ものである。天然抗体シグナル配列を認識し処理しない原核生物宿主細胞については、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、ｌｐｐまたは耐熱性エンテロトキシンＩＩリーダーからなる群から選択された原核生物シグナル配列により置換される。酵母分泌については、天然シグナル配列は、例えば、酵母インベルターゼリーダー、因子リーダー（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ及びＫｌｕｙｖｅｒｏｍｙｓｅｓ　α－因子リーダーを含む）または酸ホスファターゼリーダー、Ｃ．ａｌｂｉｃａｎｓグルコアミラーゼリーダーまたはＷＯ９０／１３６４６中に記載のシグナルによって置換され得る。哺乳動物細胞発現においては、哺乳動物シグナル配列ならびにウイルス分泌リーダー、例えば単純ヘルペスｇＤシグナルが利用可能である。

【０２２６】

（ｂ）複製起点

発現及びクローニングベクターは両方共、１つ以上の選択された宿主細胞中でベクターが複製できるようにする核酸配列を含む。概して、クローニングベクター内で、この配列は、ベクターが宿主染色体ＤＮＡに依存せずに複製できるようにする配列であり、複製起点または自己複製配列を含む。このような配列は、さまざまな細菌、酵母及びウイルスについて周知である。プラスミドｐＢＲ３２２由来の複製起点は、大部分のグラム陰性菌に好適であり、２μプラスミド起点は酵母に好適であり、さまざまなウイルス起点（ＳＶ４０、ポリオーマ、アデノウイルス、ＶＳＶまたはＢＰＶ）が、哺乳動物細胞内のクローニングベクターに好適である。概して、複製起点構成成分は、哺乳動物発現ベクターには必要とされない（ＳＶ４０起点は、それが初期プロモーターを含むことのみを理由として、典型的に使用され得る。

【０２２７】

（ｃ）選択遺伝子構成成分

発現及びクローニングベクターは、選択可能マーカーとも呼ばれる選択遺伝子を含んでいてよい。典型的な選択遺伝子は、（ａ）アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートまたはテトラサイクリンなどの、抗生物質または他の毒素に対する耐性を付与するか、（ｂ）栄養要求性欠損症を補足するか、または（ｃ）例えば、Ｂａｃｉｌｌｉのための Ｄ－アラニンラセマーゼをコードする遺伝子など、複合培地から入手可能でない必須栄養素を供給するタンパク質をコードする。

【０２２８】

選択スキームの一例は、宿主細胞の成長を阻むための薬剤を利用する。異種遺伝子で首尾よく形質転換されるこれらの細胞は、薬剤耐性を付与するタンパク質を産生し、こうして選択療法を生き抜く。このような優性選択の例では、薬剤ネオマイシン、ミコフェノール酸及びハイグロマイシンが使用される。

【０２２９】

哺乳動物細胞のための好適な選択可能マーカーの別の例は、ＤＨＦＲ、グルタミンシンセターゼ（ＧＳ）、チミジンキナーゼ、メタロチオネインＩ及びＩＩ、好ましくは、霊長類メタロチオネイン遺伝子、アデノシンデアミナーゼ、オルニチンデカルボキシラーゼなど抗体コーディング核酸を捕捉する能力のある細胞の同定を可能にするものである。

【０２３０】

例えば、ＤＨＦＲ遺伝子で形質転換された細胞は、ＤＨＦＲの競合的アンタゴニストであるメトトレキセート（Ｍｔｘ）を含む培地の中で形質転換体を培養することにより同定される。これらの条件下で、ＤＨＦＲ遺伝子は、他の任意の同時形質転換された核酸と共に増幅される。内因性ＤＨＦＲ活性が欠損したチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株（例えばＡＴＣＣ　ＣＲＬ－９０９６）を使用してよい。

【０２３１】

代替的には、ＧＳ遺伝子で形質転換された細胞は、ＧＳの阻害物質であるＬ－メチオニンスルフォキシミン（Ｍｓｘ）を含む培地内で形質転換体を培養することによって同定される。これらの条件下で、ＧＳ遺伝子は、任意の他の同時形質転換された核酸と共に増幅される。ＧＳ選択／増幅系を上述のＤＨＦＲ選択／増幅系と組合せて使用してもよい。

【０２３２】

代替的には、目的の抗体をコードするＤＮＡ配列、野生型ＤＨＦＲ遺伝子及び別の選択可能マーカー、例えばアミノグリコシド３’－ホスホトランスフェラーゼ（ＡＰＨ）で形質転換または同時形質転換された宿主細胞（特に、内因性ＤＨＦＲを含む野生型宿主）を、アミノグリコシド抗生物質、例えばカナマイシン、ネオマイシン、またはＧ４１８などの選択可能マーカーについて、選択剤を含む培地内での細胞成長により選択することができる。米国特許第４，９６５，１９９号を参照のこと。

【０２３３】

酵母中で使用するための好適な選択遺伝子は、酵母プラスミドＹＲｐ７中に存在するｔｒｐ１遺伝子である（Ｓｔｉｎｃｈｃｏｍｂ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２８２：３９（１９７９））。ｔｒｐ１遺伝子は、例えばＡＴＣＣ番号４４０７６またはＰＥＰ４－１などのトリプトファン中で成長する能力が欠如している突然変異体酵母菌株のための選択マーカーを提供する。Ｊｏｎｅｓ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，８５：１２（１９７７）。酵母宿主細胞ゲノム中のｔｒｐ１病変の存在は、このとき、トリプトファンの不在下での成長により形質転換を検出するための有効な環境を提供する。同様にして、Ｌｅｕ２－欠損酵母菌（ＡＴＣＣ２０，６２２または３８，６２６）は、Ｌｅｕ２遺伝子を担持する公知のプラスミドによって補完される。

【０２３４】

さらに、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ酵母の形質転換のためには、１．６μｍの環状プラスミドｐＫＤ１由来のベクターを使用することができる。代替的には、Ｋ．ｌａｃｔｉｓのための組換え型子牛キモシンの大量生産用の発現系が報告された。Ｖａｎ　ｄｅｎ　Ｂｅｒｇ，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，８：１３５（１９９０）。Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓの工業用菌株による成熟組換え型ヒト血清アルブミンの分泌のための安定した

マルチコピー発現ベクターもまた開示されている。Ｆｌｅｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，９：９６８～９７５（１９９１）。

【０２３５】

（ｄ）プロモーター構成成分

発現及びクローニングベクターは、概して、宿主生体により認識され抗体をコードする核酸に作動的に結合されたプロモーターを含んでいる。原核生物宿主と共に使用するのに好適なプロモーターとしては、ｐｈｏＡプロモーター、β－ラクタマーゼ及びラクトースプロモーター系、アルカリホスファターゼプロモータ、トリプトファン（ｔｒｐ）プロモーター系、及びハイブリッドプロモーター、例えばｔａｃプロモーターが含まれる。しかしながら、他の公知の菌株プロモーターも好適である。細菌系内で使用するためのプロモーターはまた、抗体をコードするＤＮＡに対して作動的に結合されたＳｈｉｎｅ－Ｄａｌｇａｒｎｏ（Ｓ．Ｄ．）配列を含む。

【０２３６】

真核生物について、プロモーター配列は公知である。事実上全ての真核生物が、転写が開始される部位から上流側に約２５～３０塩基のところに位置設定されたＡＴ富有領域を有している。多くの遺伝子の転写開始点から７０～８０塩基上流側に見い出される別の配列は、ＣＮＣＡＡＴ領域であり、ここでＮは任意のヌクレオチドであってよい。大部分の真核生物遺伝子の３’末端にあるのは、コーディング配列の３’末端に対するポリＡテールの付加のためのシグナルであり得るＡＡＴＡＡＡ配列である。これらの配列は全て、真核生物発現ベクター内に好適な形で挿入される。

【０２３７】

酵母宿主と共に使用するための好適なプロモーター配列の例としては、３－ホスホグリセレートキナーゼまたは他の糖分解酵素、例えばエノラーゼ、グリセルアルデヒド－３－ホスフェートデヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルベートデカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース－６－ホスフェートイソメラーゼ、３－ホスホグリセレートムターゼ、ピルベートキナーゼ、トリオースホスフェートイソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ及びグルコキナーゼについてのプロモーターが含まれる。

【０２３８】

成長条件により制御される転写の付加的な利点を有する誘発可能なプロモーターである他の酵母のプロモーターは、アルコールデヒドロゲナーゼ２、イソシトクロムＣ、酸性ホスファターゼ、窒素代謝と結びつけられる分解性酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド－３－ホスフェートデヒドロゲナーゼ、及びマルトース及びガラクトース利用を担う酵素のためのプロモーター領域である。酵母発現において使用するのに好適なベクター及びプロモーターは、ＥＰ７３，６５７にさらに記載されている。酵母エンハンサーも酵母プロモーターと共に使用すると有利である。

【０２３９】

哺乳動物宿主細胞内のベクターからの抗体転写は、例えば、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス（例えば、アデノウイルス２）、ウシ乳頭腫ウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）などのウイルスのゲノムから、または、異種哺乳動物プロモーター、例えばアクチンプロモータまたは免疫グロブリンプロモータから、熱ショックプロモータから得られたプロモーターにより制御され得るが、この場合、このようなプロモーターが宿主細胞系と相容性を有することが条件となる。

【０２４０】

ＳＶ４０ウイルスの初期及び後期プロモーターは、ＳＶ４０複製起点も含むＳＶ４０制限フラグメントとして簡便に得られる。ヒトサイトメガロウイルスの最初期プロモーターは、ＨｉｎｄＩＩＩ　Ｅ制限フラグメントとして簡便に得られる。ベクターとしてウシ乳頭腫ウイルスを用いて哺乳動物宿主内でＤＮＡを発現するための系が、米国特許第４，４１９，４４号中で開示されている。この系の修正が米国特許第４，６０１，９７８号中に記載されている。また、単純ヘルペスウイルス由来のチミジンキナーゼプロモータの制御

下でのマウス細胞内のヒトβ－インターフェロンｃＤＮＡの発現に関するＲｅｙｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　２９７：５９８～６０１（１９８２）も参照のこと。代替的には、プロモーターとして、ラウス肉腫ウイルス長末端反復を使用することもできる。

【０２４１】

（ｅ）エンハンサー要素の構成成分

高等真核生物による本発明の抗体をコードするＤＮＡの転写は、多くの場合、ベクター内にエンハンサー配列を挿入することによって増大させられる。現在、哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が公知である（グロビン、エラスターゼ、アルブミン、α－フェトタンパク質及びインスリン）。しかしながら典型的には、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーが使用される。例としては、複製起点の後期側のＳＶ４０エンハンサー（ｂｐ１００～２７０）、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側のポリオーマエンハンサー、及びアデノウイルスエンハンサーが含まれる。また、真核生物プロモーターの活性化のための増強要素についてのＹａｎｉｖ，Ｎａｔｕｒｅ　２９７：１７～１８（１９８２）も参照のこと。エンハンサーは、抗体コーディング配列に対し５’位または３’位にあるベクター内にスプライシングされてよいが、好ましくはプロモーターから部位５’のところに位置設定される。

【０２４２】

（ｆ）転写終結構成成分

真核宿主細胞（酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒトまたは他の多細胞生体由来の有核細胞）中で使用される発現ベクターはまた、転写の終結及びｍＲＮＡの安定化に必要な配列を含むものである。このような配列は、一般に、真核生物またはウイルスのＤＮＡまたはｃＤＮＡの５’及び場合によっては３’未翻訳領域から入手可能である。これらの領域は、抗体をコードするｍＲＮＡの未翻訳部分内のポリアデニル化フラグメントとして転写されたヌクレオチドセグメントを含む。１つの有用な転写終結構成成分は、ウシ成長ホルモンポリアデニル化領域である。ＷＯ９４／１１０２６及びその中で開示されている発現ベクターを参照のこと。

【０２４３】

（ｇ）宿主細胞の選択及び形質転換

本明細書中のベクター内でＤＮＡをクローニングまたは発現するための好適な宿主細胞は、上述した原核生物、酵母または高等真核細胞である。この目的での好適な原核生物には、真正細菌、例えばグラム陰性またはグラム陽性微生物、例えば、腸内細菌科、例えばエシェリキア属、例えばＥ．ｃｏｌｉ、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒ、Ｅｒｗｉｎｉａ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ、Ｐｒｏｔｅｕｓ、サルモネラ菌、例えばＳａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ、セラシア属、例えばＳｅｒｒａｔｉａ　ｍａｒｃｅｓｃａｎｓ、及び赤痢菌、ならびにバチルス菌、例えばＢ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ及びＢ．ｌｉｃｈｅｎｉｆｏｒｍｉｓ（例えば１９８９年４月１２日公開のＤＤ２６６，７１０中に開示されたＢ．ｌｉｃｈｅｎｉｆｏｒｍｉｓ４１Ｐ）、シュードモナス菌、例えばＰ．ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ及びストレプトミセス、が含まれる。１つの好ましいＥ．ｃｏｌｉクローニング宿主はＥ．ｃｏｌｉ　２９４（ＡＴＣＣ　３１，４４６）であるが、Ｅ．ｃｏｌｉ　Ｂ、Ｅ．ｃｏｌｉ　Ｘ１７７６（ＡＴＣＣ　３１，５３７）、及びＥ．ｃｏｌｉ　Ｗ３１１０（ＡＴＣＣ　２７，３２５）などの他の菌株も好適である。これらの例は、限定的ではなくむしろ例示的なものである。

【０２４４】

完全長抗体、抗体融合タンパク質及び抗体フラグメントは、特にグリコシル化及びＦｃエフェクター機能が必要とされない場合、例えば治療用抗体が、それ自体腫瘍細胞の破壊における有効性を示す細胞毒性剤（例えば毒素など）にコンジュゲートされている場合、細菌内で産生させることができる。完全長抗体は、循環内においてより長い半減期を有する。Ｅ．ｃｏｌｉ内での産生は、より高速でより費用効果性が高い。細菌中の抗体フラグメント及びポリペプチドの発現については、例えば翻訳開始領域（ＴＩＲ）及び発現及び分泌の最適化のためのシグナル配列について記載している米国特許第５，６４８，２３７

号（Ｃａｒｔｅｒ　ｅｔ．ａｌ．）、米国特許第５，７８９，１９９号（Ｊｏｌｙ　ｅｔ　ａｌ．）、米国特許第５，８４０，５２３号（Ｓｉｍｍｏｎｓ　ｅｔ　ａｌ．）を参照のこと。また、Ｅ．ｃｏｌｉ内の抗体フラグメントの発現について記載するＣｈａｒｌｔｏｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００３），ｐｐ．２４５～２５４も参照のこと。発現の後、抗体を可溶性画分中のＥ．ｃｏｌｉ細胞ペーストから単離してよく、例えばアイソタイプに応じてプロテインＡまたはＧカラムを通して精製することができる。最終的精製は、例えばＣＨＯ細胞内で発現された抗体を精製するためのプロセスと同様に実施可能である。

【０２４５】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物も、抗体コーディングベクターのための好適なクローニングまたは発現宿主である。Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅあるいは一般的なパン酵母が、下等真核生物宿主微生物の中でも最も一般的に使用されている。しかしながら、多くの他の属、種及び菌株、例えばＳｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｐｏｍｂｅ；Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ宿主、例えばＫ．ｌａｃｔｉｓ、Ｋ．ｆｒａｇｉｌｉｓ（ＡＴＣＣ　１２，４２４）、Ｋ．ｂｕｌｇａｒｉｃｕｓ（ＡＴＣＣ　１６，０４５）、Ｋ．ｗｉｃｋｅｒａｍｉｉ（ＡＴＣＣ　２４，１７８）、Ｋ．ｗａｌｔｉｉ（ＡＴＣＣ　５６，５００）、Ｋ．ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａｒｕｍ（ＡＴＣＣ　３６，９０６）、Ｋ．ｔｈｅｒｍｏｔｏｌｅｒａｎｓ、及びＫ．ｍａｒｘｉａｎｕｓ；ｙａｒｒｏｗｉａ（ＥＰ　４０２，２２６）；Ｐｉｃｈｉａ　ｐａｓｔｏｒｉｓ（ＥＰ　１８３，０７０）；Ｃａｎｄｉｄａ；Ｔｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ　ｒｅｅｓｉａ（ＥＰ　２４４，２３４）；Ｎｅｕｒｏｓｐｏｒａ　ｃｒａｓｓａ；Ｓｃｈｗａｎｎｉｏｍｙｃｅｓ、例えばＳｃｈｗａｎｎｉｏｍｙｃｅｓ　ｏｃｃｉｄｅｎｔａｌｉｓ；及び糸状菌、例えばＮｅｕｒｏｓｐｏｒａ、Ｐｅｎｉｃｉｌｌｉｕｍ、Ｔｏｌｙｐｏｃｌａｄｉｕｍ、及びＡｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ宿主、例えばＡ．ｎｉｄｕｌａｎｓ及びＡ．ｎｉｇｅｒが一般的に入手可能であり、かつ本明細書において有用である。治療用タンパク質の生産のための酵母及び糸状菌の使用について論述する概説としては、例えば、Ｇｅｒｎｇｒｏｓｓ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２２：１４０９～１４１４（２００４）を参照のこと。

【０２４６】

グリコシル化経路が「ヒト化」され、その結果として部分的または完全にヒトグリコシル化パターンを有する抗体が産生されることになる或る種の真菌及び酵母菌株を選択してよい。例えば（Ｐｉｃｈｉａ　ｐａｓｔｏｒｉｓ内のヒトグリコシル化経路のヒト化について記載する）Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２４：２１０～２１５（２００６）；及び上記のＧｅｒｎｇｒｏｓｓ　ｅｔ　ａｌ．，を参照のこと。

【０２４７】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞は、多細胞生体（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫の細胞が含まれる。多くのバキュロウイルス菌株及び変異体ならびにＳｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ（ヨウトガ、幼虫）、Ａｅｄｅｓ　ａｅｇｙｐｔｉ（ネッタイシマカ、蚊）、Ａｅｄｅｓ　ａｌｂｏｐｉｃｔｕｓ（ヒトスジシマカ、蚊）、Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ　ｍｅｌａｎｏｇａｓｔｅｒ（ショウジョウバエ）、及びＢｏｍｂｙｘ　ｍｏｒｉ（カイコ）などの宿主に由来する対応する許容状態の昆虫宿主細胞が同定されている。トランスフェクションのためのさまざまなウイルス菌株は、例えばＡｕｔｏｇｒａｐｈａ　ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ　ＮＰＶ及びＢｏｍｂｙｘ　ｍｏｒｉ　ＮＰＶのＢｍ－５菌株が一般に入手可能であり、このようなウイルスを、特にＳｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞のトランスフェクションのために、本発明に係る本明細書中のウイルスとして使用してよい。

【０２４８】

宿主として、綿、トウモロコシ、ジャガイモ、ダイズ、ペチュニア、トマト、ウキクサ（Ｌｅｎｉｎａｃｅａｅ）、アルファルファ（Ｍ．ｔｒｕｎｃａｔｕｌａ）及びタバコの

植物細胞培養も、宿主として利用可能である。例えば、米国特許第５，９５９，１７７号、同第６，０４０，４９８号、同第６，４２０，５４８号、同第７，１２５，９７８号及び同第６，４１７，４２９号（トランスジェニック植物において抗体を産生するためのＰＬＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ（商標）技術について記載）も参照のこと。

【０２４９】

宿主として、脊椎動物細胞を使用してよく、培養（組織培養）中の脊椎動物細胞の伝播が、日常的手順となっている。有用な哺乳動物宿主細胞株の例としては、ＳＶ４０により形質転換されたサル腎ＣＶ１株（ＣＯＳ－７、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ１６５１）；ヒト胚腎臓株（懸濁培養中で成長のためにサブクローニングされた２９３または２９３細胞、Ｇｒａｈａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｇｅｎ　Ｖｉｒｏｌ．３６：５９（１９７７））；ベビーハムスター腎細胞（ＢＨＫ、ＡＴＣＣ　ＣＣＬ１０）；マウスセルトリ細胞（ＴＭ４，Ｍａｔｈｅｒ，Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３～２５１（１９８０））；サル腎細胞（ＣＶ１　ＡＴＣＣ　ＣＣＬ７０）；アフリカミドリザル腎細胞（ＶＥＲＯ－７６、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１５８７）；ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ、ＡＴＣＣ　ＣＣＬ２）；イヌ腎細胞（ＭＤＣＫ、ＡＴＣＣ　ＣＣＬ３４）；バッファローラット肝細胞（ＢＲＬ３Ａ、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ１４４２）；ヒト肺細胞（Ｗ１３８、ＡＴＣＣ　ＣＣＬ７５）；ヒト肝細胞（Ｈｅｐ　Ｇ２、ＨＢ８０６５）；マウス乳腺腫瘍（ＭＭＴ０６０５６２、ＡＴＣＣ　ＣＣＬ５１）；ＴＲＩ細胞（Ｍａｔｈｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎａｌｓ　Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４～６８（１９８２））；ＭＲＣ５細胞；ＦＳ４細胞；及びヒト肝癌株（Ｈｅｐ　Ｇ２）がある。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、ＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Ｕｒｌａｕｂ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ７７：４２１６（１９８０））；及び骨髄腫細胞株、例えばＮＳ０及びＳｐ２／０が含まれる。抗体産生に好適な或る種の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えばＹａｚａｋｉ　ａｎｄ　Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００３），ｐｐ．２５５～２６８を参照のこと。

【０２５０】

宿主細胞は、抗体産生のための上述の発現またはクローニングベクターを用いて形質転換され、プロモーターを誘発するか、形質転換体を選択するかまたは所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために必要に応じて修飾された従来の栄養培地中で培養される。

【０２５１】

（ｈ）宿主細胞の培養

本発明の抗体を生産するために使用される宿主細胞は、さまざまな培地中で培養されてよい。宿主細胞の培養のためには、Ｈａｍ’ｓ　Ｆ１０（Ｓｉｇｍａ）、Ｍｉｎｉｍａｌ　Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ　Ｍｅｄｉｕｍ（（ＭＥＭ），（Ｓｉｇｍａ）、ＲＰＭＩ－１６４０（Ｓｉｇｍａ）及びダルベッコ変法イーグル培地（（ＤＭＥＭ）、（Ｓｉｇｍａ）などの市販の培地が好適である。さらに、Ｈａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．５８：４４（１９７９）、Ｂａｒｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１０２：２５５（１９８０）、米国特許第４，７６７，７０４号；同第４，６５７，８６６号；同第４，９２７，７６２号；同第４，５６０，６５５号；または同第５，１２２，４６９号；ＷＯ９０／０３４３０；ＷＯ８７／００１９５；または米国特許再発行第３０，９８５号中に記載の培地のいずれかを、宿主細胞用の培地として使用してよい。これらの培地のうちのいずれも、必要に応じて、ホルモン及び／または他の成長因子（例えばインシュリン、トランスフェリンまたは表皮成長因子）、塩（例えば塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム及びリン酸塩）、緩衝液（例えばＨＥＰＥＳ）、ヌクレオチド（例えばアデノシン及びチミジン）、抗生物質（例えばＧＥＮＴＡＭＹＣＩＮ（商標）薬剤）、微量元素（ミクロモル範囲内の最終濃度で通常存在する無機化合物として定義される）、及びグルコースまたは等価のエネルギー源で補足されてよい。当業者にとって公知と思われる他の任意の必要な補足物質も含まれていてよい。温度、ｐＨなどの培養条件は、発現のため

に選択された宿主細胞で従来使用されたものであり、当業者にとっては明らかである。

【０２５２】

（ｘｉｖ）抗体の精製

組換え型技術を使用する場合、抗体は、細胞膜周辺腔内において細胞内で産生されるか、または培地内に直接分泌され得る。抗体が細胞内で産生される場合、最初のステップとして、宿主細胞または溶解したフラグメントのいずれかである粒子状残屑が、例えば遠心分離または限外濾過によって除去される。Ｃａｒｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　１０：１６３～１６７（１９９２）は、Ｅ．ｃｏｌｉの細胞膜周辺腔に分泌される抗体を単離するための手順について記載している。簡単に言うと、細胞ペーストが酢酸ナトリウム（ｐＨ３．５）、ＥＤＴＡ及びフェニルメチルスルホニルフルオリド（ＰＭＳＦ）の存在下で約３０分間かけて解凍される。細胞残屑は、遠心分離によって除去することができる。抗体が培地内に分泌される場合、このような発現系由来の上清が、概してまず市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばＡｍｉｃｏｎまたはＭｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｐｅｌｌｉｃｏｎ限外濾過ユニットを用いて濃縮される。上述のステップのいずれかの中に、タンパク質分解を阻害するためにＰＭＳＦなどのプロテアーゼ阻害薬を含み入れてよく、外来性汚染物質の成長を防止するために抗生物質を含み入れてもよい。

【０２５３】

細胞から調製された抗体組成物は、例えばヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ、疎水性相互作用クロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析及び親和性クロマトグラフィなどを用いて精製可能であるが、典型的に好ましい精製ステップの１つに入るのは親和性クロマトグラフィである。親和性リガンドとしてのプロテインＡの好適性は、抗体内に存在する任意の免疫グロブリンＦｃドメインの種及びアイソタイプにより左右される。ヒトγ１、γ２またはγ４重鎖に基づく抗体を精製するためには、プロテインＡを使用することができる（（Ｌｉｎｄｍａｒｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．６２：１～１３（１９８３））。全てのマウスアイソタイプ及びヒトγ３については、プロテインＧが推奨される（（Ｇｕｓｓ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ．５：１５６７１５７５（１９８６））。親和性リガンドが付着しているマトリクスは、最も多くの場合アガロースであるが、他のマトリクスも利用可能である。機械的に安定したマトリクス、例えば制御された細孔ガラスまたはポリ（スチレンジビニル）ベンゼンなどの機械的に安定したマトリクスは、アガロースで達成され得るものよりも速い流速そして短い処理時間を可能にする。抗体がC_H3ドメインを含む場合、精製のためにはＢａｋｅｒｂｏｎｄ　ＡＢＸ（商標）樹脂（Ｊ．Ｔ．Ｂａｋｅｒ，Ｐｈｉｌｌｉｐｓｂｕｒｇ，Ｎ．Ｊ．）が有用である。タンパク質精製のための他の技術、例えばイオン交換カラム上での分画、エタノール沈殿、逆相ＨＰＬＣ、シリカ上のクロマトグラフィ、ヘパリン上のクロマトグラフィ　アニオンまたはカチオン交換樹脂（例えばポリアスパラギン酸カラムなど）上のＳＥＰＨＡＲＯＳＥ（商標）クロマトグラフィ、クロマトフォーカシング、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、及び硫酸アンモニウム沈殿法が、回収すべき抗体に応じて、また利用可能である。

【０２５４】

概して、研究、試験及び臨床における抗体を調製するためのさまざまな方法が、上述の方法と一貫して、かつ／または特定の目的の抗体について当業者が妥当と見なすように、当該技術分野において充分に確立されている。

【０２５５】

（ｘｖ）生物学的に活性な抗体の選択

上述の通りに産生された抗体を、１つ以上の「生物活性」検定に付して、治療的見地から有益な特性をもつ抗体を選択するかまたは、抗体の生物活性を保持する調合及び条件を選択することができる。抗体を、その産生対象である抗原を結合する能力についてテストすることができる。例えば、当該技術分野において公知の方法（例えばＥＬＩＳＡ、Ｗｅｓｔｅｒｎ　Ｂｌｏｔなど）を使用してよい。

【０２５６】

例えば、抗ＰＤ－Ｌ１抗体について、抗体の抗原結合特性を、ＰＤ－Ｌ１に対する結合

能力を検出する検定において評価することが可能である。一部の実施形態において、抗体の結合を、例えば飽和結合；ＥＬＩＳＡ；及び／または競合検定（例えばＲＩＡ）により決定してよい。また、例えば治療薬としてのその有効性を評価するために抗体を、他の生物活性検定に付してもよい。このような検定は、当該技術分野において公知であり、抗体の標的抗原及び意図された用途に左右される。例えば、米国特許第８，２１７，１４９号中に記載されているように、ＣＤ８＋Ｔ細胞、リンパ球性脈絡骨膜炎ウイルス（ＬＣＭＶ）マウスモデル及び／または同系腫瘍モデル内で、抗体によるＰＤ－Ｌ１遮断の生物学的効果を査定することができる。

【０２５７】

目的の抗原上の特定のエピトープに結合する抗体（例えばＰＤ－Ｌ１に対する例の抗ＰＤ－Ｌ１抗体の結合を遮断するもの）についてスクリーニングするため、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｅｄ Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｄａｖｉｄ Ｌａｎｅ（１９８８）に記載されているもののような日常的な交差遮断検定を実施することができる。代替的には、Ｃｈａｍｐｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７０：１３８８～１３９４（１９９５）に記載されている通りのエピトープマッピングを実施して抗体が目的のエピトープに結合するか否か決定することができる。

【０２５８】

ＩＶ．医薬組成物及び調合物

本明細書中でまた提供されているのは、本明細書中に記載のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／または抗体（例えば抗ＰＤ－Ｌ１抗体）そして薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物及び調合物である。本発明はまた、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルなどのタキサンを含む医薬組成物及び調合物をも提供する。

【０２５９】

本明細書中に記載の医薬組成物及び調合物は、凍結乾燥された調合物または水溶液の形で、所望の純度を有する有効成分（例えばＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサン）と１つ以上の薬学的に許容可能な担体とを混合することによって調製可能である（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０））。薬学的に許容可能な担体は概して、利用される投薬量及び濃度でレシピエントにとって非毒性であり、緩衝液、例えばリン酸塩、クエン酸塩及び他の有機酸；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；ベンザルコニウムクロリド；ベンゼトニウムクロリド；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾール）；低分子量（約１０残基未満）のポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリシン；単糖類、二糖類及びグルコース、マンノースまたはデキストリンを含む他の炭水化物；キレート剤、例えばＥＤＴＡ；糖類、例えばスクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成対イオン、例えばナトリウム；金属錯体（例えばＺｎタンパク質錯体）；及び／または非イオン界面活性剤、例えばポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を含むが、これらに限定されない。本明細書において、例示的な薬学的に許容可能な担体にはさらに、間質性薬物分散剤、例えば可溶性中性－活性ヒアルロニダーゼグリコプロテイン（ｓＨＡＳＥＧＰ）、例えばヒト可溶性ＰＨ－２０ヒアルロニダーゼグリコプロテイン、例えばｒＨｕＰＨ２０（ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．）が含まれる。ｒＨｕＰＨ２０を含めた、ある特定の例示的ｓＨＡＳＥＧＰ及び使用方法については、米国特許出願公開第２００５／０２６０１８６号及び同第２００６／０１０４９６８号中に記載されている。１つの態様において、

ｓＨＡＳＥＧＰは、１つ以上の追加のグリコサナミノグリカナーゼ、例えばコンドロイチナーゼと組合わされる。

【０２６０】

例示的な凍結乾燥された抗体調合物は、米国特許第６，２６７，９５８号中に記載されている。水性抗体調合物には、米国特許第６，１７１，５８６号及びＷＯ２００６／０４４９０８中に記載されるものが含まれ、これらの調合物は、ヒスチジン－アセテート緩衝液を含んでいる。

【０２６１】

本明細書中の組成物及び調合物はまた、治療中の特定の適応症のため必要に応じて２つ以上の有効成分、好ましくは互いに不利な影響をもたない相補的活性を有する有効成分を含んでいてよい。このような有効成分は、好適には、意図された目的のために有効である量で組合せた形で存在する。

【０２６２】

有効成分は、コロイド薬剤送達系（例えばリポソーム、アルブミン小球体、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル）中、またはマクロエマルジョン中のそれぞれヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチンマイクロカプセル及びポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセルなど、例えば液滴形成技術または界面重合によって調製されるマイクロカプセル中に封入されていてよい。このような技術は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）中に開示されている。

【０２６３】

持続放出性調製物を調製してもよい。持続放出性調製物の好適な例としては、抗体を含む固体疎水性ポリマーの半透マトリクスがあり、このマトリクスは、整形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形をしている。インビボ投与のために使用すべき調合物は、概して無菌である。無菌性は、例えば、無菌濾過膜を通した濾過などにより容易に達成できる。

【０２６４】

ＩＶ．治療方法

本明細書中に提供されているのは、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサン（例えばナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））またはパクリタキセル）を個体に投与することを含む、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させる方法である。一部の実施形態において、治療の結果、治療後の個体の体内に応答がもたらされる。一部の実施形態において、応答は、完全寛解である。一部の実施形態において、治療は、治療の中止後、個体の体内に持続性寛解を結果としてもたらす。本明細書中に記載の方法は、癌治療のために腫瘍免疫原性を増大させる場合など、免疫原性の増強が所望される状態を治療する上で使用することができる。また、本明細書中に提供されているのは、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサン（例えばナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））またはパクリタキセル）を個体に対して投与することを含む、癌を有する個体において免疫機能を増強する方法である。当該技術分野において公知であり本明細書中に記載されているＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンのいずれも、本方法内で使用してよい。一部の実施形態において、方法はさらに、白金系の化学療法剤を投与することを含む。一部の実施形態において、白金系の化学療法剤は、カルボプラチンである。

【０２６５】

一部の実施形態において、個体は、ヒトである。一部の実施形態において、個体は癌を患っている。一部の実施形態において、癌は乳癌（例えばトリプルネガティブ乳癌）、膀胱癌（例えばＵＢＣ、ＭＩＢＣ及びＮＭＩＢＣ）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、腎細胞癌（例えばＲＣＣ）、前立腺癌、肝癌、膵臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、子宮内膜癌、腎癌、卵巣癌、

中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（例えばＭＤＳ及び多発性骨髄腫）である。一部の実施形態において、癌は、小細胞肺癌、グリア芽腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌腫、胃癌、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、または肝細胞癌腫の中から選択される。特定の実施形態において、癌は、肺癌（例えば扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、膀胱癌（例えばＵＢＣ）、乳癌（例えばＴＮＢＣ）、ＲＣＣ、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（例えばＭＤＳ）及び多発性骨髄腫の中から選択される。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はＵＢＣである。一部の実施形態において、乳癌はＴＮＢＣである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍はＭＤＳまたは多発性骨髄腫である。

【０２６６】

一部の実施形態において、個体は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを用いた組合せ治療の前に癌療法での治療を受けている。一部の実施形態において、個体は、１つ以上の癌療法に対する耐性をもつ癌を有する。一部の実施形態において、癌療法に対する耐性には、癌または難治性癌の再発が含まれる。再発とは、治療後の、原初の部位または新規の部位における癌の再出現を意味してよい。一部の実施形態において、癌療法に対する耐性には、抗癌療法を用いた治療中の癌の進行が含まれる。一部の実施形態において、癌療法に対する耐性には、治療に対し応答しない癌が含まれる。癌は、治療の始期に耐性を有している場合もあれば、治療中に耐性を得る場合もある。一部の実施形態において、癌は、早期癌または末期癌である。

【０２６７】

一部の実施形態において、本発明の組合せ療法は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンの投与を含む。ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサン（例えばナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））またはパクリタキセル）は、当該技術分野において公知の任意の好適な方法で投与されてよい。例えば、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンは、逐次的に（異なる時点で）あるいは同時に（同じ時点で）投与されてよい。一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、タキサンとは別個の組成物中にある。一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、タキサンと同じ組成物中にある。

【０２６８】

ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンは、同じ投与経路でまたは異なる投与経路で投与されてよい。一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは静脈内、筋内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内または鼻腔内投与される。一部の実施形態において、タキサンは、静脈内、筋内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内または鼻腔内投与される。疾病の予防または治療のために、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンの適切な投薬量は、治療すべき疾病のタイプ、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンのタイプ、疾病の重症度及び経過、個体の臨床的状態、個体の臨床的履歴、及び治療に対する応答、及び主治医の裁量に基づいて決定されてよい。

【０２６９】

一般的提案として、ヒトに対して投与される抗体（例えば抗ＰＤ－Ｌ１抗体）の治療上の有効量は、１回またはそれ以上の回数のいずれの投与であるかに関わらず、患者の体重１ｋｇあたり約０．０１～約５０ｍｇの範囲内にある。一部の実施形態において、使用される抗体は、例えば一日一回の投与で、約０．０１～約４５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約４０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約３５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約３０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約２５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約２０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約１５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約５ｍｇ／ｋｇ、または約０．０１～約１ｍｇ／ｋｇである。一部の実施形態において、抗体は、１５ｍｇ／ｋｇの割合で投与される。しかしながら、他の投薬計画も有用であり得る。一実施形態において、本明細書中に記載の抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ヒトに対して、２１日サイクルの一日目に、約１００

ｍｇ、約２００ｍｇ、約３００ｍｇ、約４００ｍｇ、約５００ｍｇ、約６００ｍｇ、約７００ｍｇ、約８００ｍｇ、約９００ｍｇ、約１０００ｍｇ、約１１００ｍｇ、約１２００ｍｇ、約１３００ｍｇ、約１４００ｍｇ、または約１５００ｍｇの用量で投与される。一部の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＰＤＬ３２８０Ａは、３週間に一回（ｑ３ｗ）１２００ｍｇの割合でＩＶ（静脈内）投与される。この用量は、単回投与としてかまたは点滴などの複数回投与（例えば2回または3回）として投与されてよい。組合せ治療において投与される抗体の用量は、単回治療に比べて減らされてよい。この療法の進捗は、従来の技術により容易に監視される。

【０２７０】

一般的な提案として、ヒトに対して投与されるタキサン（例えばナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））またはパクリタキセル）の治療上有効な量は、投与回数が１回であるかそれ以上であるかとは無関係に、約２５～約３００ｍｇ／ｍ^2（例えば約２５ｍｇ／ｍ^2、約５０ｍｇ／ｍ^2、約７５ｍｇ／ｍ^2、約１００ｍｇ／ｍ^2、約１２５ｍｇ／ｍ^2、約１５０ｍｇ／ｍ^2、約１７５ｍｇ／ｍ^2、約２００ｍｇ／ｍ^2、約２２５ｍｇ／ｍ^2、約２５０ｍｇ／ｍ^2、約２７５ｍｇ／ｍ^2、または約３００ｍｇ／ｍ^2）の範囲内にある。例えば、一部の実施形態において、約１００ｍｇ／ｍ^{2}のナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））が投与される。一部の実施形態において、週一回（ｑ１ｗ）１００ｍｇ／ｍ^{2}の割合で、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））がＩＶで投与される。一部の実施形態において、約２００ｍｇ／ｍ^{2}のパクリタキセルが投与される。一部の実施形態において、３週間に一回２００ｍｇ／ｍ^{2}の割合でパクリタキセルがＩＶ投与される。一部の実施形態において、タキサン（例えばナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））またはパクリタキセル）が、週一回、２週間に一回、３週間に一回、４週間に一回、各２１日サイクルの１日目、８日目及び１５日目、または各２８日サイクルの１日目、８日目及び１５日目に投与されてよい。

【０２７１】

一部の実施形態において、方法にはさらに、追加の療法が含まれていてよい。追加の療法は、放射線療法、外科手術（例えば、腫瘍摘出術及び乳腺切除術）、化学療法、遺伝子療法、ＤＮＡ療法、ウイルス療法、ＲＮＡ療法、免疫療法、骨髄移植術、ナノセラピー、モノクローナル抗体療法、または以上のものの組合せであってよい。追加療法は、アジュバントまたはナノアジュバント療法の形をとっていてよい。一部の実施形態において、追加の療法は、小分子酵素阻害薬または抗転移剤の投与である。一部の実施形態において、追加の療法は、副作用制限剤（例えば鎮吐剤などの、治療の副作用の発生及び／または重症度を低下させるよう意図された作用物質）の投与である。一部の実施形態において、追加の療法は、放射線療法である。一部の実施形態において、追加の療法は、外科手術である。一部の実施形態において、追加の療法は、放射線療法と外科手術の組合せである。一部の実施形態において、追加の療法は、ガンマ照射である。一部の実施形態において、追加の療法はＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路を標的とする療法、ＨＳＰ９０阻害薬、チューブリン阻害薬、アポトーシス阻害薬及び／または化学予防剤である。追加の療法は、本明細書中に記載の化学療法剤のうちの１つ以上であってよい。

【０２７２】

一部の実施形態において、方法にはさらに、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンと共に白金系化学療法剤を投与することが含まれる。一部の実施形態において、白金系化学療法剤はカルボプラチンである。カルボプラチンの投薬量及び投与は当該技術分野において周知である。カルボプラチンの例示的投薬量は、６ｍｇ／ｍｌの曲線下標的面積（ＡＵＣ）で投与される。一部の実施形態において、カルボプラチンは、３週間に一回、静脈内投与される。

【０２７３】

一部の実施形態において、方法には、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＰＤＬ３２８０Ａを、３週間に一回（ｑ３ｗ）１２００ｍｇの割合でＩＶ投与し、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））を一週間に一回（ｑ１ｗ）１００ｍｇ／ｍ^{2}の割合でＩＶ投与し、

カルボプラチンを３週間に一回（ｑ３ｗ）６ｍｇ／ｍｌの標的ＡＵＣで、ＩＶ投与することが含まれる。一部の実施形態において、方法には、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＰＤＬ３２８０Ａを３週間に一回（ｑ３ｗ）１２００ｍｇの割合でＩＶ投与し、パクリタキセルを３週間に一回２００ｍｇ／ｍ^{2}の割合でＩＶ投与し、カルボプラチンを３週間に一回（ｑ３ｗ）６ｍｇ／ｍｌの標的ＡＵＣで、ＩＶ投与することが含まれる。

【０２７４】

Ｖ．他の組合せ療法

また本明細書中で提供されているのは、個体に対して、別の抗癌剤または癌療法と併用してヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することを含む、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための方法である。一部の実施形態において、方法には、個体に対して、別の抗癌剤または癌療法と併用して、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト、タキサン及び白金系化学療法剤を投与することが含まれる。

【０２７５】

一部の実施形態においては、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを、化学療法または化学療法剤と併用して投与してよい。一部の実施形態においては、放射線療法または放射線療法剤と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、標的療法または標的療法剤と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、免疫療法または免疫療法剤、例えばモノクローナル抗体と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【０２７６】

理論に束縛されることは望まないものの、共刺激分子を活性化することによってかまたは負の共刺激分子を阻害することによってＴ細胞刺激を増強することで、腫瘍細胞死を促進させ、こうして癌が治療されるかまたは癌の進行が遅延されることになると考えられている。一部の実施形態においては、活性化共刺激分子に対し向けられたアゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態において、活性化共刺激分子には、ＣＤ４０、ＣＤ２２６、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＨＶＥＭ、またはＣＤ１２７が含まれていてよい。一部の実施形態において、活性化共刺激分子に対して向けられたアゴニストは、ＣＤ４０、ＣＤ２２６、ＣＤ２８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＨＶＥＭ、またはＣＤ１２７に結合するアゴニスト抗体である。一部の実施形態においては、阻害共刺激分子に対して向けられたアンタゴニストと併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態において、阻害共刺激分子には、ＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２としても公知）、ＰＤ－１、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＶＩＳＴＡ、ＬＡＧ－３、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＩＤＯ、ＴＩＧＩＴ、ＭＩＣＡ／Ｂ、またはアルギナーゼが含まれていてよい。一部の実施形態において、阻害共刺激分子に対して向けられたアンタゴニストは、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＶＩＳＴＡ、ＬＡＧ－３、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＩＤＯ、ＴＩＧＩＴ、ＭＩＣＡ／Ｂ、またはアルギナーゼに結合するアンタゴニスト抗体である。

【０２７７】

一部の実施形態においては、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを、ＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２としても公知）に対して向けられたアンタゴニスト、例えば遮断抗体と併用して投与してもよい。一部の実施形態においては、イピリムマブ（ＭＤＸ－０１０、ＭＤＸ－１０１、またはＹＥＲＶＯＹ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態においては、トレメリムマブ（チシリムマブまたはＣＰ－６７５，２０６としても公知）と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態においては、Ｂ７－Ｈ３（ＣＤ２７６としても公知）に対して向けられたアンタゴニスト、例えば遮断抗体と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＭＧＡ２７１と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを

投与してもよい。一部の実施形態においては、ＴＧＦベータに対して向けられたアンタゴニスト、例えばメテリムマブ（ＣＡＴ－１９２としても公知）、フレソリムマブ（ＧＣ１００８としても公知）またはＬＹ２１５７２９９と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【０２７８】

一部の実施形態においては、キメラ抗原レセプター（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞（例えば細胞毒性Ｔ細胞またはＣＴＬ）の養子免疫伝達を含む治療と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、優性負ＴＧＦベータレセプター、例えば優性－負ＴＧＦベータＩＩ型レセプターを含むＴ細胞の養子免疫伝達を含む治療と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＨＥＲＣＲＥＥＭプロトコル（例えばＣｌｉｎｉｃａｌ Ｔｒｉａｌｓ．ｇｏｖ Ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｒ ＮＣＴ００８８９９５４を参照）を含む治療と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【０２７９】

一部の実施形態においては、ＣＤ１３７（ＴＮＦＲＳＦ９、４－１ＢＢまたはＩＬＡとしても公知）に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ウレルマブ（ＢＭＳ－６６３５１３として公知）と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＤ４０に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＰ－８７０８９３と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＯＸ４０（ＣＤ－１３４としても公知）に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、抗ＯＸ４０抗体（例えばＡｇｏｎＯＸ）と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＤ２７に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＤＸ－１１２７と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、インドレアミン－２，３－ジオキシゲナーゼ（ＩＤＯ）に対して向けられたアンタゴニストと併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、ＩＤＯアンタゴニストは、１－メチル－Ｄ－トリプトファン（１－Ｄ－ＭＴとしても公知）である。

【０２８０】

一部の実施形態においては、抗体－薬剤コンジュゲートと併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、抗体－薬剤コンジュゲートは、メルタンシンまたはモノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）を含む。一部の実施形態においては、抗ＮａＰｉ２ｂ抗体－ＭＭＡＥコンジュゲート（ＤＮＩＢ０６００ＡまたはＲＧ７５９９としても公知）と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、トラスツズマブエムタンシン（Ｔ－ＤＭ１、アドートランスツズマブエムタンシン、またはＫＡＤＣＹＬＡ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈとしても公知）と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＤＭＵＣ５７５４Ａと併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、エンドテリンＢレセプター（ＥＤＮＢＲ）を標的とする抗体－薬剤コンジュゲート、例えばＭＭＡＥとコンジュゲートされたＥＤＮＢＲに対して向けられた抗体と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【０２８１】

一部の実施形態においては、血管形成阻害薬と併用して、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＶＥＧＦに対して向けられ

た抗体、例えばＶＥＧＦ－Ａと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ベバシズマブ（ＡＶＡＳＴＩＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｔｅｃｈとしても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、アンジオポイエチン２（Ａｎｇ２としても公知）に対して向けられた抗体と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＭＥＤＩ３６１７と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【０２８２】

一部の実施形態においては、抗腫瘍薬と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＳＦ－１Ｒ（Ｍ－ＣＳＦＲまたはＣＤ１１５としても公知）を標的とする作用物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、抗ＣＳＦ－１Ｒ（ＩＭＣ－ＣＳ４としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、インターフェロン、例えばインターフェロンアルファまたはインターフェロンガンマと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、ロフェロンＡ（組換え型インターフェロンアルファ２ａとしても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＧＭ－ＣＳＦ（組換え型ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、ｒｈｕ　ＧＭ－ＣＳＦ、サルグラモスチムまたはＬＥＵＫＩＮＥ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＩＬ－２（アルデスロイキンまたはＰＲＯＬＥＵＫＩＮ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＩＬ－１２と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＤ２０を標的とする抗体と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、ＣＤ２０を標的とする抗体は、オビヌツズマブ（ＧＡ１０１またはＧＡＺＹＶＡ（登録商標）としても公知）またはリツキシマブである。一部の実施形態においては、ＧＩＴＲを標的とする抗体と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、ＧＩＴＲを標的とする抗体は、ＴＲＸ５１８である。

【０２８３】

一部の実施形態においては、癌ワクチンと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、癌ワクチンは、ペプチド癌ワクチンであり、これは一部の実施形態において、カスタムメードの癌ワクチンである。一部の実施形態において、ペプチド癌ワクチンは、多価長鎖ペプチド、マルチペプチド、ペプチドカクテル、ハイブリッドペプチドまたはペプチドパルス樹状細胞ワクチン（例えばＹａｍａｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｓｃｉ，１０４：１４～２１，２０１３参照）である。一部の実施形態においては、アジュバントと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＴＬＲアゴニスト、例えばポリ－ＩＣＩＣ（ＨＩＬＴＯＮＯＬ（登録商標）としても公知）、ＬＰＳ、ＭＰＬ、またはＣｐＧ　ＯＤＮを含む治療と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）アルファと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＩＬ－１と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＨＭＧＢ１と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＩＬ－１０アンタゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＩＬ－４アンタゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＩＬ－１３アンタゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＨＶＥＭアン

タゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、例えばＩＣＯＳ－ＬまたはＩＣＯＳに対して向けられたアゴニスト抗体を投与することによって、ＩＣＯＳアゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＸ３ＣＬ１を標的とする治療と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＸＣＬ９を標的とする治療と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＸＣＬ１０を標的とする治療と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＣＣＬ５を標的とする治療と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＬＦＡ－１またはＩＣＡＭ１アゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、セレクチンアゴニストと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【０２８４】

一部の実施形態においては、標的療法と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、Ｂ－Ｒａｆの阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ベムラフェニブ（ＺＥＬＢＯＲＡＦ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ダブラフェニブ（ＴＡＦＩＮＬＡＲ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、エルロチニブ（ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＭＥＫ、例えばＭＥＫ１（ＭＡＰ２Ｋ１としても公知）またはＭＥＫ２（ＭＡＰ２Ｋ２としても公知）の阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、コビメチニブ（ＧＤＣ－０９７３またはＸＬ－５１８としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、トラメチニブ（ＭＥＫＩＮＩＳＴ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、Ｋ－Ｒａｓの阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ｃ－Ｍｅｔの阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、オナルツズマブ（ＭｅｔＭＡｂとしても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、Ａｌｋの阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＡＦ８０２（ＣＨ５４２４８０２またはアレクチニブとしても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ホスファチジルイノシトール３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）の阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＢＫＭ１２０と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、イデラリシブ（ＧＳ－１１０１またはＣＡＬ－１０１としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ペリフォシン（ＫＲＸ－０４０１としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、Ａｋｔの阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＭＫ２２０６と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＧＳＫ６９０６９３と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＧＤＣ－０９４１と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ｍＴＯＲの阻害物質と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態にお

いては、シロリムス（ラパマイシンとしても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、テムシロリムス（ＣＣＩ－７７９またはＴＯＲＩＳＥＬ（登録商標）としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、エベロリムス（ＲＡＤ００１としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、リダフォロリムス（ＡＰ－２３５７３、ＭＫ－８６６９またはデフォロリムスとしても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＯＳＩ－０２７と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＡＺＤ８０５５と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＩＮＫ１２８と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、二重ＰＩ３ｋ／ｍＴＯＲ阻害薬と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＸＬ７６５と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＧＤＣ－０９８０と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＢＥＺ２３５（ＮＶＰ－ＢＥＺ２３５としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＢＧＴ２２６と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＧＳＫ２１２６４５８と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＰＦ－０４６９１５０２と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ＰＦ－０５２１２３８４（ＰＫＩ－５８７としても公知）と併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【０２８５】

ＶＩ．製造品またはキット

本発明の別の実施形態においては、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンを含む製造品及び／またはキットが提供されている。一部の実施形態において、製造品またはキットはさらに、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるためまたは癌を有する個体の免疫機能を増強する目的でタキサンと併用してＰＤ－１軸結合アンタゴニストを使用するための指示書を含む添付文書を含んでいる。本明細書中に記載のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンのいずれも、製造品またはキット内に含まれていてよい。

【０２８６】

一部の実施形態において、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサンは、同じ容器または別個の容器内に入っている。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋及びシリンジがある。容器は、ガラス、プラスチック（例えばポリ塩化ビニルまたはポリオレフィン）、金属合金（例えばステンレス鋼またはハステロイ）などのさまざまな材料から形成されてよい。一部の実施形態において、容器は調合物を保持し、容器上または容器に付随するラベルは、使用上の指示を表示していてよい。製造品またはキットは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、シリンジ及び指示書を伴う添付文書を含めた、商業的見地及びユーザーの見地から見て望ましい他の材料をさらに含み得る。一部の実施形態において、製造品は、さらに１つ以上の別の作用物質（例えば化学療法剤及び抗腫瘍薬）を含む。１つ以上の作用物質のための好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋及びシリンジがある。

【０２８７】

本明細書は、当業者が本発明を実施できるようにするために充分なものと見なされる。本明細書中に示され記載されたものに加えて、本発明のさまざまな修正が、上述の説明から当業者には明らかとなり、添付のクレームの範囲内に入るものである。

【実施例】

【０２８８】
本発明は、以下の実施例を参照することによりさらに完全に理解されるものである。しかしながら、これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものと見なされてはならない。本明細書中に記載の実施例及び実施形態は、単に例示を目的とするものであること、そしてそれに照らしたさまざまな修正及び変更が当業者に示唆され、それらは本出願の精神及び範囲ならび添付のクレームの範囲内に含み入れられるべきものであることが理解される。
【０２８９】
実施例１：抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））＋カルボプラチンを用いた組合せ治療が、ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおける持続的な完全寛解を達成した。
材料及び方法
インビボ腫瘍モデル
ＭＣ３８結腸直腸腫瘍細胞株をＧｅｎｅｎｔｅｃｈにおいて維持した。７～１０週齢のＣ５７ＢＬ／６雌マウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ；Ｈｏｌｌｉｓｔｅｒ，ＣＡ）の右片側脇腹に、１０００００個のＭＣ３８細胞を皮下接腫した。腫瘍がおよそ１００～３００mm^3の平均腫瘍体積に達した時点で、マウスを採用し、治療グループへと無作為に選び、次の初日に抗体及び／または化学治療を開始した。
【０２９０】
経時的に同じ動物由来の腫瘍体積の反復測定値を分析するために、混合モデリングアプローチを使用した（Ｐｉｎｈｅｉｒｏ ｅｔ ａｌ．ｎｍｌｅ：Ｌｉｎｅａｒ ａｎｄ Ｎｏｎｌｉｎｅａｒ Ｍｉｘｅｄ Ｅｆｆｅｃｔｓ Ｍｏｄｅｌｓ．Ｒ．ｐａｃｋａｇｅ ｖｅｒｓｉｏｎ ３．１－１０８（２０１３））。このアプローチは、反復測定値と研究終了前の少量の脱落の両方に対処するものである。異なる治療におけるｌｏｇ２（腫瘍体積）の時間的経過に非線形プロファイルを適応させるために、立方回帰スプラインを使用した。適合は、ｎｌｍｅパッケージ、バージョン３．１ １０８（Ｒ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ ｆｏｒ Ｓｔａｔｉｓｔｉｃａｌ Ｃｏｍｐｕｔｉｎｇ；Ｖｉｅｎｎａ，Ａｕｓｔｒｉａ）を用いて、Ｒ内部の線形混合効果モデル、バージョン２．１５、２を介して行なった。
【０２９１】
図５Ａ～５Ｂに示されているＭＣ３８再免疫試験のために、先に抗ＰＤ－Ｌ１＋ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）＋カルボプラチンの組合せで処置した治癒マウスに対して、原発腫瘍の反対側の脇腹に、１０００００個のＭＣ３８細胞を皮下接腫した。並行して、ナイーブ雌Ｃ５７ＢＬ／６マウスにもまた１０００００個のＭＣ３８細胞を接種した。７日後に、全てのマウスを安楽死させ、フローサイトメトリー分析のため脾臓を収穫した。全ての動物実験は、動物保護法及び実験動物の管理と使用に関する指針及び動物実験委員会（ＩＡＣＵＣ）指針中に記載されている指針及び規則にしたがって実施した。
【０２９２】
再免疫を受けたマウスの脾細胞培養のインビトロ刺激
９６ウェルのＵ字底プレート内で、１０ｎｇ／ｍｌのホルボール１２－ミリステート１３－アセテート（ＰＭＡ）及び１μｇ／ｍｌのイオノマイシン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｒｉｃｈ；Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）プラスＧＯＬＧＩＰＬＵＧ（商標）（ブレフェルジンＡ）（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ；Ｓａｎ Ｊｏｓｅ，ＣＡ））を用いて、３７℃で４時間、１ウェルあたり１０００００個の細胞の割合で３連で脾細胞を培養した。細胞を収穫し、表面マーカーＣＤ４ ＦＩＴＣ（フルオレセインイソチオシアネート）、ＣＤ３ ＰＥ（フィコエリスリン）、及びＣＤ８ ＰｅｒＣｐ－Ｃｙ５．５（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で染色し、氷上で３０分間４％のパラホルムアルデヒドを用いて定着させた。１倍の透過化緩衝液（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で細胞を透過化しラット抗マウス抗インターフェロン－γ（ＩＦＮ－γ）－アロフィコシアニン（ＡＰＣ）でコンジュゲートされた抗体またはラットＩｇＧ１－ＡＰＣアイソタイプ対照抗体（ＢＤ Ｂｉｏｓｃ

ｉｅｎｃｅｓ）で染色し、ＦＡＣＳＤＩＶＡ（商標）ソフトウェアを用いてＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ ＬＳＲＩＩに流した。ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（ＴｒｅｅＳｔａｒ）を用いて、フローサイトメトリー分析を行なった。

【０２９３】

抗体及び治療

全ての治療抗体をＧｅｎｅｎｔｅｃｈにおいて生成した。対照抗体は、抗ｇｐ１２０マウスＩｇＧ１（ｍＩｇＧ１）、クローン１０Ｅ７．１Ｄ２であった。抗ＰＤ－Ｌ１を、ヒト／マウス逆キメラ、クローンＹＷ２４３．５５．Ｓ７０ ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡまたは完全マウスクローン２５Ａ１ ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡのいずれかであった。ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）は、Ａｂｒａｘｉｓ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｉｎｃ（Ｃｅｌｇｅｎｅ；Ｓｕｍｍｉｔ，ＮＪ所有）から得た。カルボプラチンは、Ｈｏｓｐｉｒａ，Ｉｎｃ．（Ｌａｋｅ Ｆｏｒｅｓｔ，ＩＬ）から得た。デキサメタゾンは、Ｗｅｓｔ－Ｗａｒｄ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（Ｅａｔｏｎｔｏｗｎ，ＮＪ）から得た。服薬スケジュール及び投与経路は、図面の簡単な説明において示した。抗体をＰＢＳまたは２０ｍＭの酢酸ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％のポリソルベート２０、ｐＨ５．５のいずれかの中で希釈した。化学療法剤及びデキサメタゾンを生理食塩水中で希釈した。

【０２９４】

インビボワクチン接種研究

ドナーＯＴＩ Ｔｈｙ１．１雌の脾臓及び腸間膜リンパ節（Ｇｅｎｅｎｔｃｃｈコロニー）から、ＭＡＣＳ ＣＤ８単離キット（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を用いて、ＯＴＩ Ｔｈｙ１．１ＣＤ８＋ Ｔ細胞を負の選択により単離した。精製したＣＤ８＋細胞をＣＦＳＥ（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ；Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ，ＮＹ）で標識化し、２．５×１０^{6}個の細胞を、雌のＣ５７ＢＬ／６の雌レシピエント（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）の体内に静脈内（ＩＶ）注射した。翌日、完全長オバルブミン（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ生産）に融合した抗ＤＥＣ２０５を２５０ｎｇ腹腔内注射（ＩＰ）によりマウスにワクチン接種し、これに加えて体重１ｋｇあたり４ｍｇの割合で生理食塩水またはデキサメタゾンをＩＶ注射した。ワクチン接種から２日後に、マウスを安楽化させ、分析のために脾臓を収穫した。脾臓細胞懸濁液の総細胞計数を、定量の公知の濃度の蛍光ビーズ（カタログ番号９００３－５３－６，Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．；Ｗａｒｒｉｎｇｔｏｎ，ＰＡ））に対する、生細胞事象の比率を用いてフローサイトメトリーにより決定した。Ｔｈｙ１．１ ＰＥ－Ｃｙ７及びＣＤ８ Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｌｕｅ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で染色することによりフローサイトメトリーによってＯＴＩ ＣＤ８＋ Ｔ細胞を同定し、ＦＡＣＳＤＩＶＡ（商標）ソフトウェアを用いてＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ ＬＳＲＩＩに流した。フローサイトメトリー分析を、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（ＴｒｅｅＳｔａｒ）を用いて行なった。

【０２９５】

結果

この研究は、前臨床マウス腫瘍モデルにおける癌療法という情況下での抗ＰＤ－Ｌ１抗体の効能を評価した。同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおける対照の抗体またはパクリタキセル＋カルボプラチン単独での治療（図１）に比べた場合、抗ＰＤ－Ｌ１抗体（クローン２５Ａ１ ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡ）及びパクリタキセル＋カルボプラチンでの組合せ治療は、結果として、相乗的抗腫瘍応答をもたらした。対照の抗体またはパクリタキセル＋カルボプラチン単独のグループ（図１）では部分寛解を有するマウスがいなかったのに比べて、１０％のマウス（１／１０）が、抗ＰＤ－Ｌ１及びパクリタキセル＋カルボプラチンの組合せに対する部分寛解を有していた。腫瘍サイズの縮小を結果としてもたらした強い抗腫瘍応答を、本実施例において初期腫瘍体積からの５０％超で１００％未満の減少として定義される部分寛解（ＰＲ）、または本実施例において腫瘍体積の１００％減少として定義される完全寛解として追跡した。抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びパクリタキセル＋カル

ボプラチンでの組合せ治療はまた、無憎悪時間を延長した。対照抗体についての無憎悪時間（ＴＴＰ）（この実施例では初期腫瘍体積の５倍として定義される）は、１１日であり、パクリタキセル＋カルボプラチンについては、１５．５日であり、抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びパクリタキセル＋カルボプラチンの組合せ治療については、２５日であった。

【０２９６】

臨床の場において、（潜在的に毒性の溶媒中に調合されている）パクリタキセルでの治療には、典型的に、過敏性反応の尤度を低下させるためデキサメタゾンなどのコルチコステロイドによる前投薬が関与する。しかしながら、デキサメタゾンなどのコルチコステロイドは、免疫抑制効果を有し、Ｔ細胞応答を阻害する可能性があり、このことがそれ自体抗ＰＤ－Ｌ１薬などのＰＤ－１軸結合アンタゴニストの活性を低減させる。一貫して、デキサメタゾンの投与は、同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおける単剤抗ＰＤ－Ｌ１治療の効能を無効にした（図２Ａ及び２Ｂ）。さらに、デキサメタゾンは、ＯＴＩ養子Ｔ細胞移入及びワクチン接種モデルにおいて抗原特異的Ｔ細胞応答を阻害した（図３）。したがって、理論による束縛は望まないものの、デキサメタゾンなどのコルチコステロイドによる治療は、抗ＰＤ－Ｌ１療法などのＰＤ－１軸結合アンタゴニストの利益の一部を減衰させるかまたは相殺して、Ｔ細胞の機能及び腫瘍のＣＤ８＋　Ｔ細胞媒介型死滅などの抗腫瘍応答を促進するＴ細胞の能力の増強を減少させるかもしれない。

【０２９７】

抗ＰＤ－Ｌ１抗体（キメラＹＷ２４３．５５．Ｓ７０．ｍＩｇＧ２ａ．ＤＡＮＡ）及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））＋カルボプラチンでの組合せ治療は結果として、同系ＭＣ３８結腸直腸腫瘍モデルにおける対照の抗体、単剤抗ＰＤ－Ｌ１抗体またはＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）＋カルボプラチン単独での治療に比べて、予想外に強い相乗的抗腫瘍効能をもたらした（図４Ａ及び４Ｂ）。組合せ型抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））＋カルボプラチン療法は、４／８のマウスにおいて９０日超持続する持続的完全寛解を達成した（図４Ａ及び４Ｂ）。この相乗効果は、抗ＰＤ－Ｌ１とパクリタキセル＋カルボプラチン組合せ治療の結果として観察される相乗効果よりもさらに強い。ＴＴＰ（初期腫瘍体積の５倍）は、対照の抗体単独については１１．５日、抗ＰＤ－Ｌ１抗体単独については９日、ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）＋カルボプラチンについては１３．５日であり、抗ＰＤ－Ｌ１抗体とＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）＋カルボプラチンの組合せ療法については該当せず、この場合４／８のマウスが完全退縮を示した。これは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体とＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）＋カルボプラチンの組合せ療法が、抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びパクリタキセル＋カルボプラチン組合せ治療に比べて高レベルで、大きく無憎悪期間を延長することを表わしている。さらに、抗ＰＤ－Ｌ１とＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）＋カルボプラチン治療の組合せ治療由来の全ての治癒マウス（すなわち完全寛解を示すマウス）は、同じＭＣ３８腫瘍細胞株での二次的抗原投与を完全に拒絶することができ、この療法がＴ細胞記憶応答を生成することを示した（図５Ａ～５Ｂ）。これらの治癒マウス由来の脾細胞のインビトロ再刺激は、ナイーブ一次抗原投与マウスに比べて、ＣＤ４＋Ｔ及び　ＣＤ８＋Ｔ細胞の両方からのインターフェロン－ガンマ（ＩＦＮ－γ）の産生の増強によって観察される通り、Ｔ細胞エフェクター機能の増大を示した（図５Ａ～５Ｂ）。

【０２９８】

意外なほど強い抗腫瘍相乗活性及び、完全寛解及びＴ細胞記憶応答の生成を得る予想外の能力は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びタキサン、例えばナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））を用いた組合せ療法の治療上の利点を表わす。さらに、パクリタキセル治療とは異なり、ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））治療には典型的に、デキサメタゾンなどのコルチコステロイドでの前投薬が関与しない。ここで提示される結果は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト（例えば抗ＰＤ－Ｌ１抗体）及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））を用いた組合せ療法がまた、コルチコステロイドの使用を回避しひいては潜在的な不利な効果の尤度を減少させることができるより単純な治療計画を可能にするということを示している。

【０２９９】
実施例２：ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））及びカルボプラチンと抗ＰＤ－Ｌ１抗体との組合せ治療は、非小細胞肺癌患者について第１ｂ相臨床試験において完全寛解を達成した
非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＳ）患者について、抗ＰＤ－Ｌ１抗体（ＭＰＤＬ３２８０Ａ）を、タキサン（ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））またはパクリタキセル）及びカルボプラチンと組合せた形で用いた組合せ治療の効能を評価するために第１ｂ相臨床研究を実施した。
【０３００】
この臨床研究のための投薬プロトコルは、以下の通りであった：
１）ＭＰＤＬ３２８０Ａ／ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）／カルボプラチン組合せ療法：（ａ）３週間に一回（ｑ３ｗ）１２００ｍｇの割合でＩＶ投与されるＭＰＤＬ３２８０Ａ；（ｂ）一週間に一回（ｑ１ｗ）１００ｍｇ／ｍ^{2}の割合でＩＶ投与されるＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）；及び（ｃ）３週間に一回（ｑ３ｗ）、６ｍｇ／ｍｌの標的曲線下面積（ＡＵＣ）でＩＶ投与されるカルボプラチン。
２）ＭＰＤＬ３２８０Ａ／パクリタキセル／カルボプラチン組合せ療法：（ａ）３週間に一回（ｑ３ｗ）１２００ｍｇの割合でＩＶ投与されるＭＰＤＬ３２８０Ａ；（ｂ）３週間に一回（ｑ３ｗ）２２０ｍｇ／ｍ^{2}の割合でＩＶ投与されるパクリタキセル；（ｃ）３週間に一回（ｑ３ｗ）６ｍｇ／ｍｌの標的ＡＵＣでＩＶ投与されるカルボプラチン。
【０３０１】
表４は、ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）及びカルボプラチンと組合せた形でＭＰＤＬ３２８０Ａにより治療された１４人の患者の研究結果を示す。表５は、パクリタキセル＋カルボプラチンと組合せた形でのＭＰＤＬ３２８０Ａにより治療された６名の患者の研究結果を示す。
【０３０２】
表４：ＭＰＤＬ３２８０Ａ／ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）／カルボプラチンの組合せ治療の効能

成果	百分率（ｎ／Ｎ）
客観的応答率（ＯＲＲ）	６４．３％　（９／１４）
完全寛解（ＣＲ）	２１．４％　（３／１４）
部分寛解（ＰＲ）	４２．９％　（６／１４）
疾病の安定（ＳＤ）	２８．６％　（４／１４）
疾病の進行（ＰＤ）	７．１％　（１／１４）

【０３０３】
表５：ＭＰＤＬ３２８０Ａ／パクリタキセル／カルボプラチンの組合せ治療の効能

成果	百分率（ｎ／Ｎ）
客観的応答率（ＯＲＲ）	３３．３％　（２／６）
完全寛解（ＣＲ）	０
部分寛解（ＰＲ）	３３．３％　（２／６）
疾病の安定（ＳＤ）	６６．７％　（４／６）
疾病の進行（ＰＤ）	０

【０３０４】
表４及び図６Ａに示されている通り、ＭＰＤＬ３２８０Ａ及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））＋カルボプラチンによる組合せ治療は、６４．３％の客観的応答率（ＯＲＲ、ＣＲ＋ＰＲ）で、予想外に強い抗腫瘍効能を結果としてもたらした。意外にも、ＭＤＰＬ３２８０Ａ及びナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商

標））＋カルボプラチンの組合せ療法により治療された患者の２１．４％（３／１４）が、完全寛解（すなわち検出可能な腫瘍塊の完全な不在）を達成した。患者の４２．９％（６／１４）が部分寛解を経験した。

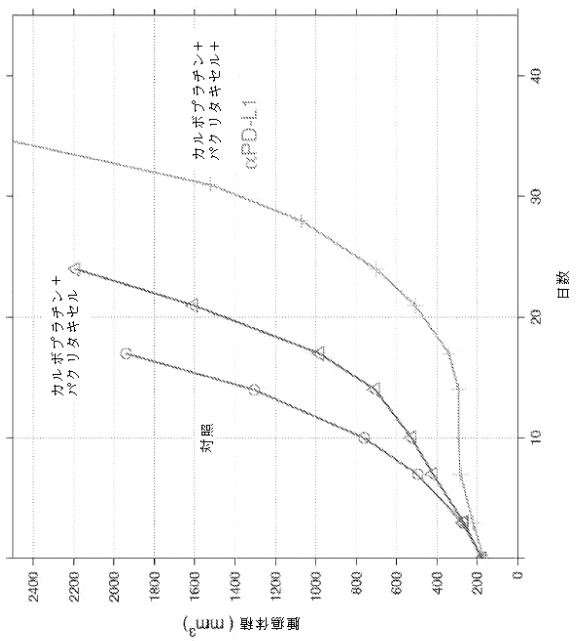
【０３０５】

ＭＰＤＬ３２８０Ａとパクリタキセル＋カルボプラチンでの組合せ治療もまた、抗腫瘍効能を結果としてもたらしたが、それは、試験対象の比較的小さい試料サイズにおいて、ＭＰＤＬ３２８０Ａ／ナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））＋カルボプラチンの組合せ療法よりは幾分かロバスト性が低いものであった。ＭＰＤＬ３２８０Ａ及びパクリタキセル＋カルボプラチンの組合せ療法についてのＯＲＲは、３３．３％で、両方の応答者共、部分寛解を体験している（表５及び図６Ｂ）。

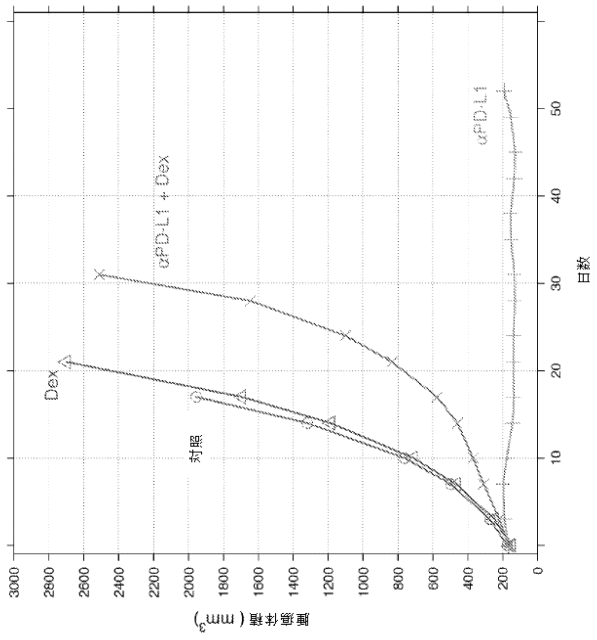
【０３０６】

実施例１中に示した前臨床試験と一貫して、意外なほどに強い抗腫瘍活性及び、持続した完全寛解を得る予想外の能力は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト（例えば抗ＰＤ－Ｌ１抗体）及びタキサン、例えばナブ－パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））による組合せ療法の主要な治療上の利点を表わす。

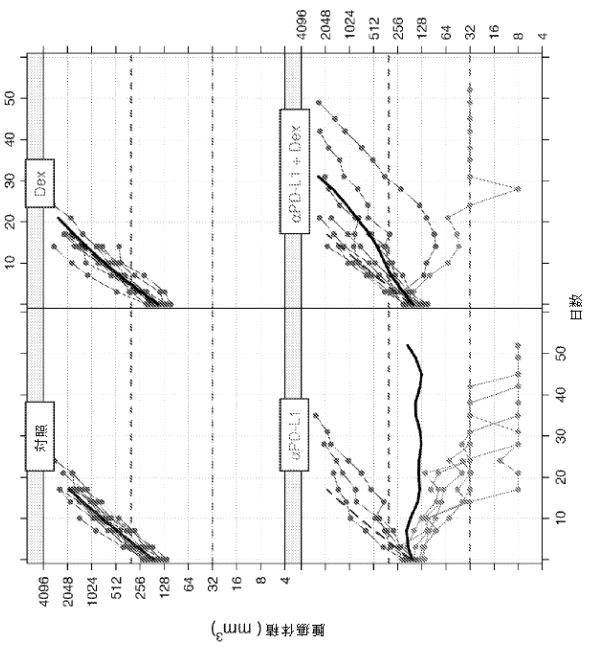
【図１】



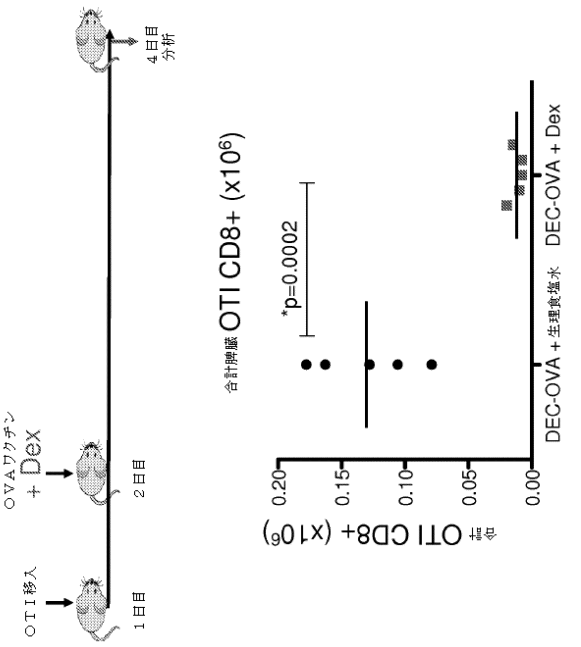
【図２Ａ】



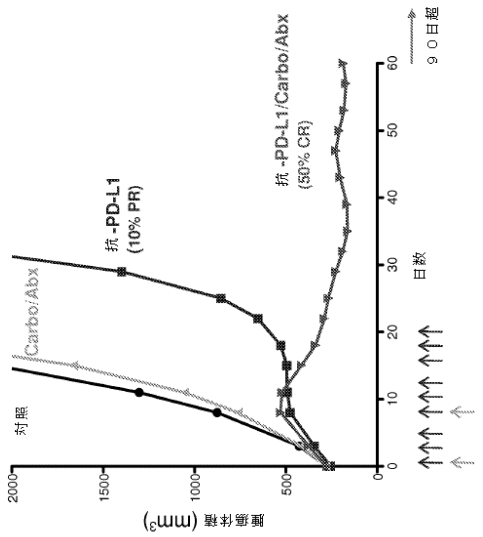
【図２Ｂ】



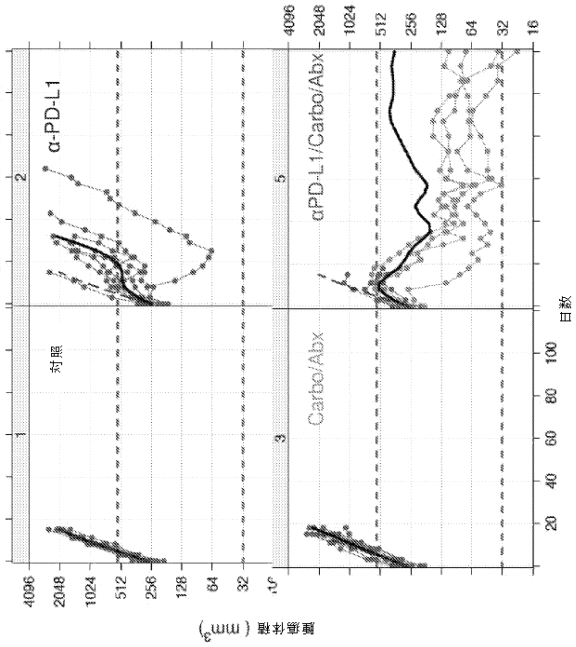
【図３】



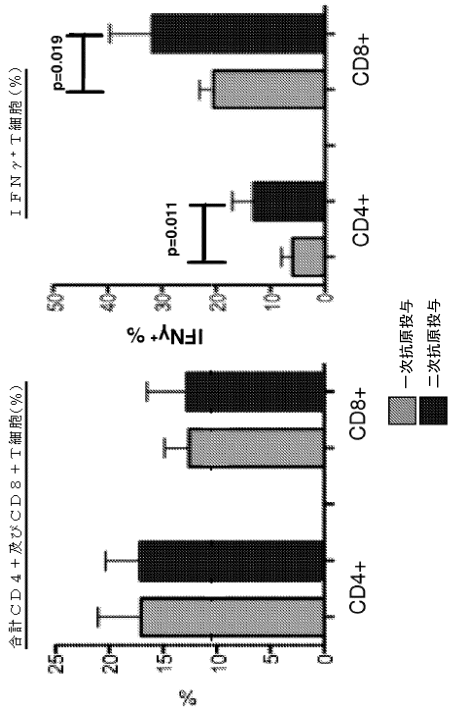
【図４Ａ】



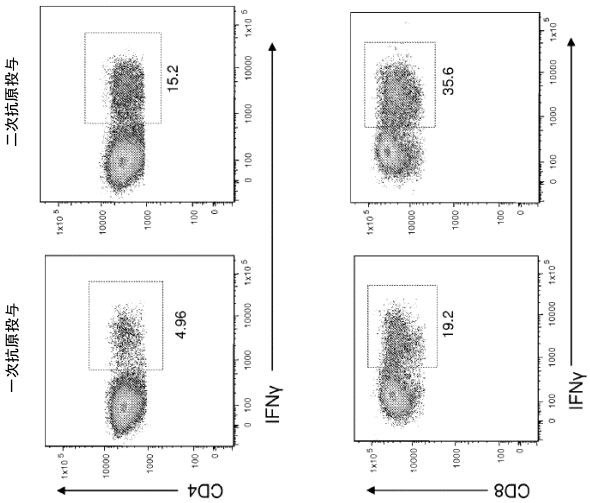
【図４Ｂ】



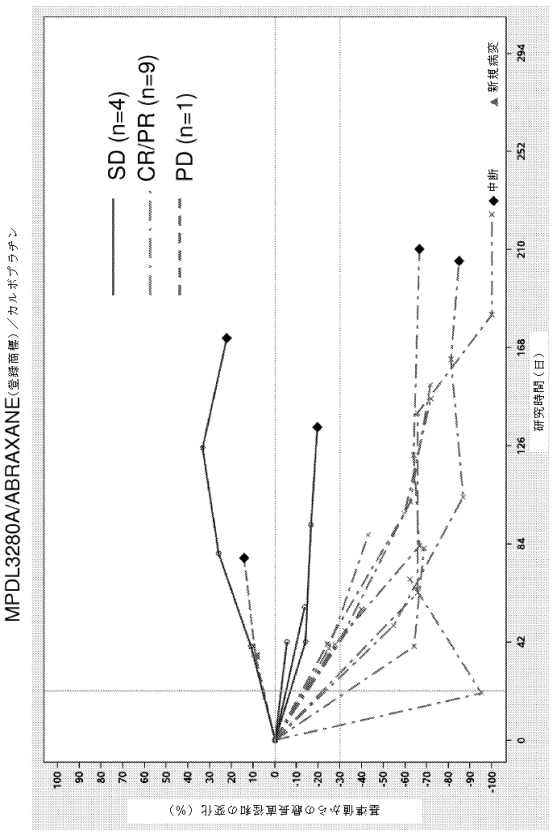
【図５Ａ】



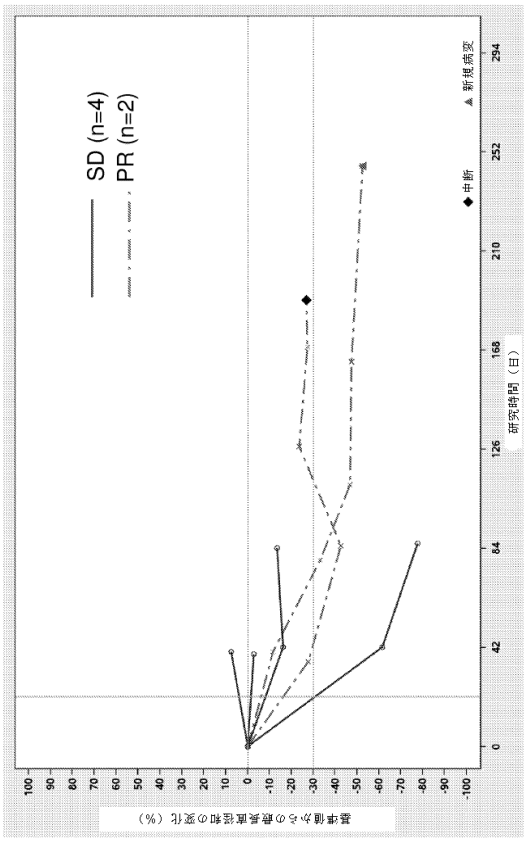
【図５Ｂ】



【図６Ａ】



【図６Ｂ】



【配列表】
0006841656000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C07K 16/18 (2006.01) A61K 31/282
C07K 16/18 ZNA

審査官 伊藤 幸司

(56)参考文献 特表２０１２－５１１３２９（ＪＰ，Ａ）
特表２０１４－５２５９１８（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１３／１７２９５５（WO，Ａ１）
国際公開第２０１３／０１９９０６（WO，Ａ１）
Front.Oncol.,2014-JUN,4:157
ZHANG P; SU D M; LIANG M ET AL, CHEMOPREVENTIVE AGENTS INDUCE PROGRAMMED DEATH-1-LIGAND 1 (PD-L1) SURFACE EXPRESSION IN 以下備考, MOLECULAR IMMUNOLOGY, 英国, PERGAMON, ２００７年１０月２４日, VOL:45 NR:5, PAGE(S):1470 - 1476, BREAST CANCER CELLS AND PROMOTE PD-L1-MEDIATED T CELL APOPTOSIS, ＵＲＬ, http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2007.08.013
Mol. Immunol., ２００８年, Vol.45, pp.1470-1476
Oncologist, １９９９年, Vol.4, pp.408-416
Ann. Oncol., ２０１２年, Vol.23, pp.viii28-viii34

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ
Ａ６１Ｐ
Ｃ０７Ｋ
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）