

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-511270
(P2025-511270A)

(43)公表日 令和7年4月15日(2025.4.15)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 7
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全114頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-558218(P2024-558218)	(71)出願人	524323313	最終頁に続く	
(86)(22)出願日	令和5年3月30日(2023.3.30)		アダプト セラピューティクス インコーポレイテッド		
(85)翻訳文提出日	令和6年11月27日(2024.11.27)		アメリカ合衆国 0 1 9 1 5 マサチューセッツ、ピバリー、ダナム リッジ 4 8 、スイート 5 6 5 0		
(86)国際出願番号	PCT/US2023/016917	(71)出願人	523115520		
(87)国際公開番号	WO2023/192489		アダプト バイオファーマシューティカル アンド テクノロジー リミテッド		
(87)国際公開日	令和5年10月5日(2023.10.5)		中華人民共和国 5 1 8 1 1 8 シェンチェン、ピンシャン ネイバーフード、リウ リャン コミュニティ、ピンシャン アベニュー 2 0 0 7、イノベーション スクエア シー 1 3 0 5		
(31)優先権主張番号	63/325,578	(74)代理人	110000855	最終頁に続く	
(32)優先日	令和4年3月30日(2022.3.30)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV				
	最終頁に続く				

(54)【発明の名称】 抗アデノシン受容体（A 2 R A）抗体及其用途

(57)【要約】

本発明は、抗A 2 a R抗原結合分子、例えば抗体およびその抗原結合断片を提供し、また、該抗A 2 a R抗原結合分子を使用して、がんや、慢性疾患、慢性感染症、自己免疫疾患、炎症性疾患、神経変性疾患、線維症などのアデノシン受容体シグナル伝達の異常に関連する複数の疾患を治療するための方法をさらに提供する。

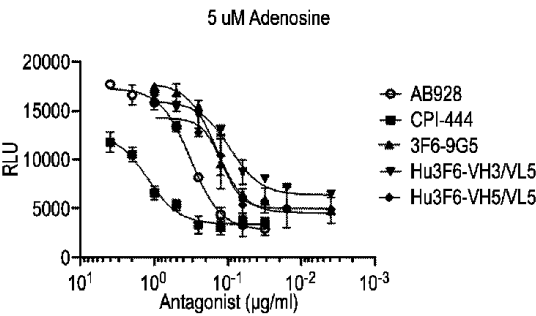


FIG. 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

N末端からC末端まで、HCDR1、HCDR2、及びHCDR3の3つの重鎖相補性決定領域(CDRs)を含む重鎖可変部(VH)ドメインと

N末端からC末端まで、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3の3つの軽鎖の相補性決定領域(CDRs)を含む軽鎖可変部(VL)ドメインとを含むヒトアデノシンA2A受容体(A2aR)に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片にあって、

(a) 前記HCDR1が、GF_{X1}FT_{X2}X₃WMN(配列番号)(ただし、X₁はA又はTであり、X₂はR又はSであり、かつX₃はF又はYである。)で示されるアミノ酸配列を含み、

(b) 前記HCDR2が、RIDPX₄DSEX₅X₆YX₇X₈KFWX₉(配列番号)(ただし、X₄はS又はYであり、X₅はA又はTであり、X₆はH又はQであり、X₇はA、H、又はNであり、X₈はA又はHであり、かつX₉はD又はGである。)で示されるアミノ酸配列を含み、

(c) 前記HCDR3が、GRSLYGKGDY(配列番号10)又はLRSLYGKGDY(配列番号11)で示されるアミノ酸配列を含み、

(d) 前記LCDR1が、RSSQSX₁₁VHX₁₂NGNTYLE(配列番号)(ただし、X₁₁はL又はIであり、X₁₂はR又はSである。)で示されるアミノ酸配列を含み、

(e) 前記LCDR2が、KVSNRFS(配列番号14)で示されるアミノ酸配列を含み、

(f) 前記LCDR3が、FQGSHVPLT(配列番号15)又はYQGSHVPLT(配列番号16)で示されるアミノ酸配列を含み、

前記抗体又はその抗原結合断片がFGGGTKVEIK(配列番号50)で示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域4(LFR4)とを含む、単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2】

(a) 前記HCDR1が、配列番号1、2及び3に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(b) 前記HCDR2が、配列番号4～9及び89に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(c) 前記HCDR3が、配列番号10又は11に示されるアミノ酸配列を含み、

(d) 前記LCDR1が、配列番号12又は13に示されるアミノ酸配列を含み、

(e) 前記LCDR2が、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、

(f) 前記LCDR3が、配列番号15又は16に示されるアミノ酸配列を含む、請求項1に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 3】

前記抗体が、

(a) 配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号10に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号15に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、

(b) 配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号5に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号10に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号15に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、

(c) 配列番号2に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号6に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号11に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号16に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、

(d) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 7 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3、

(e) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 8 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3、

(f) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 9 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3、又は

(g) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 89 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3 を含む、請求項 2 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 4】

N 末端から C 末端まで、HCDR1、HCDR2、及び HCDR3 の 3 つの重鎖相補性決定領域 (CDR) を含む重鎖可変部 (VH) ドメインと、

N 末端から C 末端まで、LCDR1、LCDR2、及び LCDR3 の 3 つの軽鎖の相補性決定領域 (CDR) を含む軽鎖可変部 (VL) ドメインとを含むヒトアデノシン A2A 受容体 (A2aR) に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、

(a) 前記 HCDR1 が、GFX₁FTX₂X₃WMN (配列番号) (ただし、X₁ は A 又は T であり、X₂ は R 又は S であり、X₃ は F 又は Y である。) で示されるアミノ酸配列を含み、

(b) 前記 HCDR2 が、RIDPYDSETQYAHKFWD (配列番号 5)、RIDPSDSEAHYAHKFWG (配列番号 7)、RIDPSDSETHYNAKFWG (配列番号 9)、及び RIDPSDSETHYAHKFWG (配列番号 89) に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(c) 前記 HCDR3 が、GRSLYGKGDY (配列番号 10) 又は LRSLYGKGDY (配列番号 11) に示されるアミノ酸配列を含み、

(d) 前記 LCDR1 が、RSSQSX₁₁VHX₁₂NGNTYLE (配列番号) (ただし、X₁₁ は L 又は I であり、かつ X₁₂ は R 又は S である。) に示されるアミノ酸配列を含み、

(e) 前記 LCDR2 が、KVSNRFS (配列番号 14) に示されるアミノ酸配列を含み、

(f) 前記 LCDR3 が、FQGSHVPLT (配列番号 15) 又は YQGSHVPLT (配列番号 16) に示されるアミノ酸配列を含む、単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 5】

(a) 前記 HCDR1 が、配列番号 1、2 及び 3 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(b) 前記 HCDR2 が、配列番号 5、7、9 及び 89 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(c) 前記 HCDR3 が、配列番号 10 又は 11 に示されるアミノ酸配列を含み、

(d) 前記 LCDR1 が、配列番号 12 又は 13 に示されるアミノ酸配列を含み、

(e) 前記 LCDR2 が、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含み、

(f) 前記 LCDR3 が、配列番号 15 又は 16 に示されるアミノ酸配列を含む、請求

10

20

30

40

50

項 4 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 6】

前記抗体が

(a) 配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 5 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 10 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び配列番号 15 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3、

(b) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 7 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3、

(c) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 9 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3、又は

(d) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1、配列番号 89 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む、請求項 4 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 7】

さらに、F G G G T K V E I K (配列番号 50) に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域 4 (L F R 4) を含む、請求項 5 又は 6 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 8】

(a) X 14 - V - Q - L - V - Q - S - G - A - E - V - K - K - P - G - A - S - V - K - V - S - C - K - X 15 - S (配列番号) 又は E - V - Q - L - V - Q - S - G - A - E - V - K - K - P - G - E - S - L - R - I - S - C - K - X 16 - S (配列番号) (ただし、X 14 は E 又は Q であり、X 15 は A 又は T であり、かつ X 16 は A 又は T である。) に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域 1 (H F R 1) と、

(b) W - V - R - Q - X 17 - P - G - X 18 - G - L - E - W - X 19 - G (配列番号) (ただし、X 17 は A 又は M であり、X 18 は K 又は Q であり、かつ X 19 は I 又は M である。) に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域 2 (H F R 2) と、

(c) R - X 20 - T - X 21 - T - X 22 - D - X 23 - S - X 24 - S - T - V - Y - M - E - L - S - S - L - R - S - E - D - T - A - V - Y - Y - C (配列番号) 又は H A T L S V D K S S S T V Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C (配列番号 29) (ただし、X 20 は A 又は V であり、X 21 は L 又は M であり、X 22 は R 又は V であり、X 23 は K 又は T であり、かつ X 24 は S である。) に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域 3 (H F R 3) と、

(d) W G Q G T T V T V S S (配列番号 32) 又は W G H G T T V T V S S (配列番号 33) に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域 4 (H F R 4) とをさらに含む、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 9】

(a) 前記 H F R 1 が、配列番号 17～21 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(b) 前記 H F R 2 が、配列番号 22、23 および 24 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(c) 前記 H F R 3 が、配列番号 25～31 に示されるアミノ酸配列からなる群より選

10

20

30

40

50

ばれるものを含み、

(d) 前記 HFR 4 が、配列番号 32 又は 33 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含む、請求項 8 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 10】

前記重鎖可変領域が、N 末端から C 末端まで、HFR 1－HCDR 1－HFR 2－HCDR 2－HFR 3－HCDR 3－HFR 4 の構造を含み、

前記 HFR 1、HFR 2、HFR 3、及び HFR 4 がそれぞれ、

(a) 配列番号 17、配列番号 22、配列番号 25、及び配列番号 32 に示される配列

(b) 配列番号 18、配列番号 22、配列番号 26、及び配列番号 32 に示される配列

(c) 配列番号 18、配列番号 23、配列番号 26、及び配列番号 32 に示される配列

(d) 配列番号 18、配列番号 23、配列番号 27、及び配列番号 32 に示される配列

(e) 配列番号 18、配列番号 23、配列番号 28、及び配列番号 32 に示される配列

(f) 配列番号 19、配列番号 24、配列番号 29、及び配列番号 32 に示される配列

(g) 配列番号 17、配列番号 22、配列番号 25、及び配列番号 33 に示される配列

(h) 配列番号 18、配列番号 22、配列番号 26、及び配列番号 33 に示される配列

(i) 配列番号 18、配列番号 23、配列番号 27、及び配列番号 33 に示される配列

(j) 配列番号 18、配列番号 23、配列番号 28、及び配列番号 33 に示される配列

(k) 配列番号 20、配列番号 24、配列番号 29、及び配列番号 33 に示される配列

(l) 配列番号 21、配列番号 22、配列番号 26、及び配列番号 32 に示される配列

(m) 配列番号 21、配列番号 23、配列番号 30、及び配列番号 32 に示される配列

(n) 配列番号 21、配列番号 23、配列番号 31、及び配列番号 32 に示される配列

又は

(o) 配列番号 20、配列番号 24、配列番号 29、及び配列番号 32 に示される配列を含む、請求項 9 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 11】

(a) D－X26－V－M－T－Q－X27－P－X28－S－L－X29－V－X30－X31－G－X32－P－A－S－I－S－C (配列番号) 又は DIVMTQSPD
SLAVSLGERATINC (配列番号) (ただし、X26 は I 又は V であり、X27
は S 又は T であり、X28 は D、L、又は P であり、X29 は A、P、又は S であり、X
30 は N、S、又は T であり、X31 は L 又は P であり、かつ X32 は E 又は Q である。
) に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域 1 (LFR 1) と、

(b) W－X33－X34－Q－X35－P－G－Q－X36－P－X37－X38－
L－I－Y (配列番号) (ただし、X33 は F 又は Y であり、X34 は L 又は Q であり、
X35 は K 又は R であり、X36 は P 又は S であり、X37 は K、Q 又は R であり、かつ
X38 は L 又は R である。) に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域 2 (LFR 2) と、

(c) G－V－P－D－R－F－S－G－S－G－S－G－X39－D－F－T－L－

10

20

30

40

50

X 4 0 - I - S - X 4 1 - X 4 2 - X 4 3 - A - E - D - V - X 4 4 - V - Y - Y - C (配列番号) (ただし、X 3 9 は S 又は T であり、X 4 0 は K 又は T であり、X 4 1 は R、S 又は W であり、X 4 2 は L 又は V であり、X 4 3 は E 又は Q であり、かつ X 4 4 は A 又は G である。) に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域 3 (L F R 3) とをさらに含む、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 2】

(a) 前記 L F R 1 が、配列番号 3 4 ~ 4 1 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(b) 前記 L F R 2 が、配列番号 4 2 ~ 4 6 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、

(c) 前記 L F R 3 が、配列番号 4 7、4 8 及び 4 9 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含む、請求項 1 1 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項 1 3】

前記軽鎖可変領域が、N 末端から C 末端まで、L F R 1 - L C D R 1 - L F R 2 - L C D R 2 - L F R 3 - L C D R 3 - L F R 4 の構造を含み、

前記 L F R 1、L F R 2、L F R 3 及び L F R 4 がそれぞれ、

(a) 配列番号 3 4、配列番号 4 2、配列番号 4 7 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(b) 配列番号 3 4、配列番号 4 3、配列番号 4 7 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(c) 配列番号 3 4、配列番号 4 4、配列番号 4 7 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(d) 配列番号 3 5、配列番号 4 5、配列番号 4 7 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(e) 配列番号 3 6、配列番号 4 6、配列番号 4 8 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(f) 配列番号 3 7、配列番号 4 5、配列番号 4 7 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(g) 配列番号 3 8、配列番号 4 5、配列番号 4 7 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(h) 配列番号 3 9、配列番号 4 5、配列番号 4 9 及び配列番号 5 0 に示される配列、

(i) 配列番号 4 0、配列番号 4 5、配列番号 4 9 及び配列番号 5 0 に示される配列、

又は

(j) 配列番号 4 1、配列番号 4 5、配列番号 4 7 及び配列番号 5 0 に示される配列を含む、請求項 1 2 に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

20

【請求項 1 4】

前記抗体が、

(a) 配列番号 5 1 ~ 7 0 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含む重鎖可変領域 (H C V R) と、

(b) 配列番号 7 1 ~ 8 8 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含む軽鎖可変領域 (L C V R) とを含む、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

30

【請求項 1 5】

N 末端から C 末端まで、H C D R 1、H C D R 2、及び H C D R 3 3 つの重鎖相補性決定領域 (C D R) を含む重鎖可変部 (V H) ドメインと、

N 末端から C 末端まで、L C D R 1、L C D R 2、及び L C D R 3 の 3 つの軽鎖の相補性決定領域 (C D R) を含む軽鎖可変部 (V L) ドメインと、を含むヒトアデノシン A 2 A 受容体 (A 2 a R) に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、

(a) 前記 H C D R 1 が、配列番号 1、2 及び 3 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % ないし約 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(b) 前記 H C D R 2 が、配列番号 4 ~ 9 及び 8 9 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % ないし約 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(c) 前記 H C D R 3 が、配列番号 1 0 又は 1 1 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、

40

50

99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(d) 前記LCDR1が、配列番号12及び13に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(e) 前記LCDR2が、配列番号14に示されるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(f) 前記LCDR3が、配列番号15及び16に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

前記抗体又はその抗原結合断片が、FGGGTKVEIK（配列番号50）に示されるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域4（FR4）を含む、単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項16】

重鎖可変部（VH）ドメインが、N末端からC末端まで、HFR1、HFR2、HFR3、HFR4の4つのフレームワーク領域（FR）を含み、

軽鎖可変部（VL）ドメインが、N末端からC末端まで、LFR1、LFR2、LFR3、LFR4の4つのフレームワーク領域（FR）を含み、

(a) 前記HFR1が配列番号17～21に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(b) 前記HFR2が配列番号22、23及び24に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(c) 前記HFR3が配列番号25～31に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(d) 前記HFR4が配列番号32及び33に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(e) 前記LFR1が配列番号34～41に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(f) 前記LFR2が配列番号42～46に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、

(g) 前記LFR3が配列番号47、48和49に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項15に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項17】

(a) 配列番号51～70に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（HCVR）と、

(b) 配列番号71～88に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（LCVR）とを含む、ヒトアデノシンA2A受容体（A2aR）に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項18】

10

20

30

40

50

(a) 配列番号 60 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 80 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、

(b) 配列番号 62 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 78 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、

(c) 配列番号 62 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 80 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、

(d) 配列番号 62 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 83 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、

(e) 配列番号 67 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 86 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、又は

(f) 配列番号 67 に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 87 に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、ヒトアデノシン A2A 受容体 (A2aR) に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項 19】

前記重鎖及び／又は軽鎖の N 末端がピログルタミン酸 (pE) 残基である、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 20】

(i) 前記抗体が、1B5-3D7、3F6-9G5、及び 3F8-12E9 からなる群より選ばれるモノクローナル抗体と競合してヒト A2aR に結合する、

(ii) 前記抗体が、A2aR の活性を阻害する、

20

(iii) 前記抗体が、免疫応答を改善する、

(iv) 前記抗体が、細胞表面のヒト A2aR に特異的に結合する、

(v) 前記抗体が、組織内の cAMP 濃度を低減させる、

(vi) 前記抗体が、プロテインキナーゼ A の活性を低下させる、

(vii) 前記抗体が、A2aR シグナル伝達経路における cAMP 応答因子のリン酸化を低下させる、

(viii) 前記抗体が、ヒト及び／又はカニクイザル A2aR に特異的に結合するか、又は

(viii) 前記抗体が、A2aR のインターナリゼーションを誘導する、請求項 1～19 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

30

【請求項 21】

請求項 1～20 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片と競合してヒト A2aR に結合する、単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 22】

前記抗体がヒト化抗体又はキメラ抗体である、請求項 1～21 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 23】

前記抗体が、IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM のクラスからなる群より選ばれる重鎖定常領域を含む、請求項 1～22 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

40

【請求項 24】

前記の重鎖定常領域が、IgG1、IgG2、IgG3 及び IgG4 からなる群より選ばれる IgG のクラスの定常領域である、請求項 23 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 25】

前記の重鎖定常領域がヒト重鎖定常領域である、請求項 23 又は 24 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 26】

前記抗体又はその抗原結合断片がヒト軽鎖定常領域を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。

50

【請求項 27】

請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片、その H C V R、その L C V R、その軽鎖、その重鎖、又はその抗原結合断片をコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 28】

請求項 27 に記載のポリヌクレオチドを含む、発現ベクター。

【請求項 29】

請求項 27 に記載のポリヌクレオチド又は請求項 28 に記載の発現ベクターを含む、組換え細胞。

【請求項 30】

請求項 1～26 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片、その H C V R、その L C V R、その軽鎖、その重鎖、及びその抗原結合断片からなる群より選ばれるポリペプチドを作製するための方法であって、

前記方法が、請求項 29 に記載の組換え細胞中で前記ポリペプチドを発現させることを含み、任意選択的に、前記発現されたポリペプチドを単離することをさらに含む、方法。

【請求項 31】

請求項 1～26 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体又は希釈剤とを含む医薬組成物。

【請求項 32】

前記医薬組成物に、前記抗体又はその抗原結合断片が（a）細胞表面のヒト又はカニクイザル A 2 a R に特異的に結合する、（b）組織内での c A M P 濃度を低減させる、（c）ヒト A 2 a R の活性を阻害する、（d）A 2 a R シグナル伝達経路における c A M P 応答因子のリン酸化を低下させる、（e）免疫細胞の免疫応答を改善する、（f）プロテインキナーゼ A の活性を低下させるか、又は（g）（a）～（f）の任意の組み合わせを実現するのに有効な量である、請求項 31 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

細胞表面に発現された A 2 a R の活性を阻害するための方法であって、前記細胞を請求項 1～26 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片、或いは請求項 31 又は 32 に記載の医薬組成物に接触させることにより前記細胞における前記 A 2 a R 活性を阻害することを含む、方法。

【請求項 34】

対象における免疫応答を増強するための方法であって、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片、或いは請求項 31 又は 32 に記載の医薬組成物を前記対象に投与することにより前記対象における前記免疫応答を増強することを含む、方法。

【請求項 35】

対象における腫瘍の成長を阻害するための方法であって、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片、或いは請求項 31 又は 32 に記載の医薬組成物を前記対象に投与することにより前記腫瘍の成長を阻害することを含む、方法。

【請求項 36】

対象におけるがんを治療するための方法であって、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片、或いは請求項 31 又は 32 に記載の医薬組成物を前記対象に投与することにより前記がんを治療することを含む、方法。

【請求項 37】

前記方法によって、T 細胞が活性化されて腫瘍標的細胞を死滅させるように誘導される、請求項 33～36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

前記対象に追加の治療剤を投与することをさらに含む、請求項 33～37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

前記追加の治療剤が、抗腫瘍剤、放射線療法、化学療法剤、手術、がんワクチン、免疫細胞の刺激受容体に対するアゴニスト、サイトカイン、細胞療法、又はチェックポイント阻害剤を含む、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

前記チェックポイント阻害剤が、CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIGIT、LAG-3、TIM-3、B7-H3、B7-H4、CD73、PVRIG/PVRL2、ニューリチン、BTLA、CECAM-1、CECAM-5、CECAM6、IL-1R8、VISTA、LAIR1、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、CD47、SIRPα、CD200R、CD96、CD112R、2B4、TGFβ-R、KIR、NKG2A、SEMA4D、Axl、MerTK、GAS6、TNFR2、GARP、CCR8、IDO、NOX2、SIGLEC7、SIGLEC15、及び／又はそれらの組み合わせを阻害する薬剤である、請求項 39 に記載の方法。

10

【請求項 41】

前記薬剤は、PD-1とPD-L1の間での相互作用を阻害し、かつペムブロリズマブ、ニボルマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、BMS-936559、シンチリマブ、トリパリマブ、ティシレリツマブ、カムレリズマブ、エンパフォリマブ、スゲマリマブ、ペンプリマブ、カドニリマブ、スルファモノメトキシシン、及びスルファメチゾールからなる群より選ばれるものである、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

20

前記CTLA-4阻害剤が、イピリマブ、カドニリマブ、YH001 (Eucure Biopharma)、ADG116、又はADG126 (天演薬業) である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 43】

前記追加の治療剤が、OX40、CD2、CD27、CD3、ICAM-1、LFA-1、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD28、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、NKG2D、SLAMF7、NKp46、NKp80、CD160、及びそれらの組み合わせからなる群より選ばれる免疫細胞の刺激受容体に対するアゴニストである、請求項 39 に記載の方法。

30

【請求項 44】

前記追加の治療剤が、前記抗体又はその抗原結合断片とともに同一の医薬組成物に調製される、請求項 38～43 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 45】

前記追加の治療剤が、前記抗体又はその抗原結合断片と異なる医薬組成物に調製される、請求項 38～43 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

前記追加の治療剤が、前記抗体又はその抗原結合断片の投与前及び／又は後に投与される、請求項 38～43 及び 45 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

40

前記追加の治療剤が、前記抗体又はその抗原結合断片と同時に投与される、請求項 38～46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

請求項 1～26 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片、或いは請求項 31 又は 32 に記載の医薬組成物を含む、キット。

【請求項 49】

さらに、追加の治療剤を含む請求項 48 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【相互参照】

【0001】

50

本願は、2022年3月30日に出願された出願番号63／325,578米国仮出願に基づく優先権を主張し、その全内容を援用により本願に組み込まれる。

【0002】

本願は、2021年9月30日に出願された国際特許出願PCT／US21／52819に関連する。上記の出願された全内容を援用により本願に組み込まれる。

【技術分野】

【0003】

本発明は、抗体、特に、がんを含める複数種の疾患の治療に有用なアデノシン受容体A_{2a}R抗体に関連する。

【背景技術】

【0004】

免疫系は、腫瘍細胞の識別及び除去に重要な役割を果たしている。腫瘍細胞は、免疫媒介性腫瘍細胞破壊から逃れるために様々な機構を使用する。これらの経路において、腫瘍細胞は免疫防御を回避するためにエフェクターT細胞機能の高效阻害剤であるアデノシン受容体シグナル伝達経路を介してアデノシンのレベル及びアデノシンへの応答性を向上させる。

【0005】

アデノシンは、アデノシン三リン酸(ATP)の分解により生成されたプリンヌクレオシドである。低酸素症、局所虚血、炎症又はがんなどの不利な条件下で、アデノシンの細胞外でのレベルは、顕著に増加する。アデノシンが放出されると、細胞シグナル伝達経路は、アデノシンA₁受容体のサブタイプ(A₁R)、アデノシンA_{2A}受容体のサブタイプ(A_{2a}R)、アデノシンA_{2B}受容体のサブタイプ(A_{2b}R)、及びアデノシンA₃受容体のサブタイプ(A₃R))という4つの既知のGタンパク質共役型受容体との作用により活性化される。

【0006】

アデノシンのレベルは、主にCD39及びCD73の活性によって制御される。CD39及びCD73は、2段階反応で共同作用して炎症性ATPを免疫抑制性アデノシンに変換する2つの細胞外酵素である。CD39は、ATPをAMPに加水分解し、AMPはさらにCD73によって大部分の細胞に容易に入られるアデノシンに加水分解される。さらに、腫瘍細胞は代謝または酸欠ストレスの結果として細胞死が起こると、細胞内に蓄積されたATP(通常には細胞を透過できない。)を細胞外空間に放出する。

【0007】

腫瘍微小環境において、CD73によって生成されるアデノシンは、腫瘍細胞の成長と生存を促進するとともに、抗腫瘍免疫応答を阻害する。癌細胞が腫瘍組織中でCD73を高レベルに発現すること及びそれらの蓄積は、乳がん及び卵巣癌を患う患者における低総生存率及び低無再発生存率と関係がある。CD73及びアデノシンは、がん細胞中の新生血管の形成、およびがん細胞の転移・生存を支援する。アデノシンは、T細胞上でのA_{2A}(又はA_{2A})受容体(A_{2a}R)に結合して細胞内でのシグナル伝達カスケード反応を活性化し、T細胞の活性化及び機能の抑制に繋がる。A_{2a}Rは、A₁R、A_{2b}R、及びA₃Rも含めるGタンパク質共役型受容体アデノシン受容体の一員であり、脳及びリンパ組織の細胞での主発現を通じて細胞外アデノシンの抗炎エフェクターである。

【0008】

腫瘍微小環境での異常な高濃度のアデノシンは、A_{2a}Rの活性化を引き起こし、腫瘍を免疫認識から逃れることが可能にする負のフィードバックループを開始させる。具体的には、アデノシンによって媒介されたA_{2a}Rの活性化は、IFN γ の産生を阻害しCD8⁺T細胞、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、及びM1マクロファージを含める複数種の抗腫瘍免疫細胞の活性を阻害するとともに、骨髄由来免疫抑制細胞(MDSCs)や制御性T(Treg)細胞などの免疫抑制細胞類の活性を増加することにより、腫瘍が免疫監視から逃れることを可能にする。腫瘍細胞上のA_{2a}Rsの活性化が腫瘍細胞転移を促進することも示唆されている。

10

20

30

40

50

【0009】

いくつかのA2A受容体の小分子アンタゴニストは、パーキンソン病及びがんを治療するための臨床的試験段階に入っているが、がんの治療においてバイオ製剤候補薬によるA2aRの遮断は依然として不足している。A2aRアンタゴニスト（例えば、ZM241385）で処理したマウスは、エフェクターT細胞に対する免疫抑制の低下により腫瘍成長の有意な遅延を示している。これは、腫瘍排斥の増加を示したA2aRノックアウトマウスによりさらに強調された。また、小分子アンタゴニストによるA2aRの遮断及びモノクローナル抗体によるPD-1/PD-L1又はCTLA-4の阻害との組み合わせは、単一のPD-1/PD-L1又はCTLA-4経路の遮断と比較して、免疫反応の向上に相乗効果を有する。

10

【0010】

従って、腫瘍微小環境でA2aRの活性、アデノシンの濃度及び／又はCD39/CD73の発現、並びにエフェクター免疫細胞の活性化への調節は、腫瘍の進展を制限し、抗腫瘍免疫応答を改善し、治療による免疫偏差を回避し、かつ正常組織への毒性を潜在的に制限するのに魅力的な治療戦略を提示する。本分野では、免疫細胞のA2aR活性を調節（例えば、阻害）することによりがんを治療するための組成物及び方法が求められている。

【発明の概要】

【0011】

本発明は、A2aRに特異的に結合することによりA2aRの活性を調節（例えば、増強又は抑制）するための抗原結合分子（例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）を提供する。前記A2aRは、哺乳動物細胞などの細胞表面（例えば、マウス免疫細胞や、カニクイザル免疫細胞、ヒト免疫細胞などの哺乳動物の免疫細胞）上に存在し得る。本発明は、さらに、本発明の抗原結合分子（例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）をA2aRの活性への調節（例えば、抑制）に使用される方法、又はA2aRの活性への調節（例えば、抑制）から利益を受ける対象（例えば、A2aR関連疾患に罹患している又は罹患しやすい対象）を治療するために使用される方法を提供する。いくつかの実施形態において、本発明の抗原結合分子（例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）は、ヒト化されたものである。

20

【0012】

従って、一側面において、本発明は、ヒトアデノシンA2A受容体（A2aR）に結合する単離された抗原結合分子、例えば、抗体又はその抗原結合断片を提供する。前記抗体は、N末端からC末端までHCDR1、HCDR2、及びHCDR3という3つの重鎖相補性決定領域（complementarity-determining region、CDRs）を含む重鎖可変領域（VH）と、N末端からC末端までLCDR1、LCDR2、及びLCDR3という3つの軽鎖の相補性決定領域（CDRs）を含む軽鎖可変領域（VL）とを含み；ここでは、（a）前記HCDR1が、GF_{X1}FT_{X2}X₃WMN（配列番号）（ただし、X₁はA又はTであり、X₂はR又はSであり、かつX₃はF又はYである。）に示されるアミノ酸配列を含み、（b）前記HCDR2が、RIDPX₄DSEX₅X₆YX₇X₈KFWX₉（配列番号）（ただし、X₄はS又はYであり、X₅はA又はTであり、X₆はH又はQであり、X₇はA、H、又はNであり、X₈はA又はHであり、かつX₉はD又はGである。）に示されるアミノ酸配列を含み、（c）前記HCDR3が、GRSLYGKGDY（配列番号10）又はLRSLYGKGDY（配列番号11）に示されるアミノ酸配列を含み、（d）前記LCDR1が、RSSQSX₁₁VHX₁₂NGNTYLE（配列番号）（ただし、X₁₁はL又はIであり、かつX₁₂はR又はSである。）に示されるアミノ酸配列を含み、（e）前記LCDR2が、KVSNRFS（配列番号14）に示されるアミノ酸配列を含み、（f）前記LCDR3が、FQGSHVPLT（配列番号15）又はYQGSHVPLT（配列番号16）に示されるアミノ酸配列を含み；さらにここでは、前記抗体又はその抗原結合断片は、FGGGTKVEIK（配列番号50）に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域4（L

30

40

50

ight chain framework region 4、LFR4)を含む。一実施形態においては、(a)前記HCDR1が、配列番号1、2及び3に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(b)前記HCDR2が、配列番号4～9及び89に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(c)前記HCDR3が、配列番号10又は11に示されるアミノ酸配列を含み、(d)前記LCDR1が、配列番号12又は13に示されるアミノ酸配列を含み、(e)前記LCDR2が、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、(f)前記LCDR3が、配列番号15又は16に示されるアミノ酸配列を含む。

【0013】

他の実施形態においては、前記単離された抗体又はその抗原結合断片は、(a)配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号4に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号10に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、(b)配列番号1に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号5に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号10に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号15に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、(c)配列番号2に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号6に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号11に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号16に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、(d)配列番号2に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号7に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号11に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号16に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、(e)配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号8に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号11に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号16に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、又は(g)配列番号3に示されるアミノ酸配列を含むHCDR1、配列番号89に示されるアミノ酸配列を含むHCDR2、配列番号11に示されるアミノ酸配列を含むHCDR3、配列番号12に示されるアミノ酸配列を含むLCDR1、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含むLCDR2、及び配列番号16に示されるアミノ酸配列を含むLCDR3、を含む。

【0014】

他の側面において、本発明は、ヒトアデノシンA2A受容体(A2aR)に結合する抗原結合分子、例えば、単離された抗体又はその抗原結合断片を提供する。前記抗体又はその抗原結合断片は、N末端からC末端までHCDR1、HCDR2、及びHCDR3という3つの重鎖相補性決定領域(CDR)を含む重鎖可変部(VH)ドメインと、N末端からC末端までLCDR1、LCDR2、及びLCDR3という3つの軽鎖の相補性決定領域(CDR)を含む軽鎖可変部(VL)ドメインとを含み；ここでは、(a)前記HCDR1が、GF_{X1}FT_{X2}X₃WMN(配列番号)(ただし、X₁はA又はTであり、X₂はR又はSであり、かつX₃はF又はYである。)に示されるアミノ酸配列を含み、(b)前記HCDR2が、RIDPYDSE_TQYAHKFW_D(配列番号5)、RIDPSDSEAHYAHKFW_G(配列番号7)、RIDPSDSE_THYNAKFW_G(配列番号9)、及びRIDPSDSE_THYAHKFW_G(配列番号89)に示されるアミ

ノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(c) 前記 HCDR3 が、GRSLYGKGDY (配列番号 10) 又は LRSLYGKGDY (配列番号 11) に示されるアミノ酸配列を含み、(d) 前記 LCDR1 が、RSSQSX₁₁VHX₁₂NGNTYLE (配列番号) (ただし、X₁₁ は L 又は I であり、X₁₂ は R 又は S である。) に示されるアミノ酸配列を含み、(e) 前記 LCDR2 が、KVSNRFS (配列番号 14) に示されるアミノ酸配列を含み、(f) 前記 LCDR3 が、FQGSHVPLT (配列番号 15) 又は YQGSHVPLT (配列番号 16) に示されるアミノ酸配列を含む。一実施形態においては、(a) 前記 HCDR1 が、配列番号 1、2 及び 3 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(b) 前記 HCDR2 が、配列番号 5、7、9 及び 89 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(c) 前記 HCDR3 が、配列番号 10 又は 11 に示されるアミノ酸配列を含み、(d) 前記 LCDR1 が、配列番号 12 又は 13 に示されるアミノ酸配列を含み、(e) 前記 LCDR2 が、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含み、(f) 前記 LCDR3 が、配列番号 15 又は 16 に示されるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0015】

他の実施形態においては、前記単離された抗体又はその抗原結合断片は、(a) 配列番号 1 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 5 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 10 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 15 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3、(b) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 7 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3、(c) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 9 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3、又は (d) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR1、配列番号 89 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR2、配列番号 11 に示されるアミノ酸配列を含む HCDR3、配列番号 12 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR1、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR2、及び配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含む LCDR3、を含む。更に他の実施形態において、前記単離された抗体又はその抗原結合断片は、さらに、FGGGTKVEIK (配列番号 50) に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域 (FR4) を含む。

【0016】

本発明の各側面の一実施形態及びそのいずれか一実施形態において、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の単離された抗体又はその抗原結合断片は、さらに、(a) X14-V-Q-L-V-Q-S-G-A-E-V-K-K-P-G-A-S-V-K-V-S-C-K-X15-S (配列番号) 又は E-V-Q-L-V-Q-S-G-A-E-V-K-K-P-G-E-S-L-R-I-S-C-K-X16-S (配列番号) (ただし、X14 は E 又は Q であり、X15 は A 又は T であり、X16 は A 又は T である。) に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域 1 (HFR1)、(b) W-V-R-Q-X17-P-G-X18-G-L-E-W-X19-G (配列番号) (ただし、X17 は A 又は M であり、X18 は K 又は Q であり、X19 は I 又は M である。) に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域 2 (HFR2)、(c) R-X20-T-X21-T-X22-D-X23-S-X24-S-T-V-Y-M-E-L-S-S-L-R-S-E-D-T-A-V-Y-Y-C (配列番号) 又は HATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYCYC (配列番号 29) (ただし、X20 は A 又は V であり、X21 は L 又は M であり、X22 は R 又は V であり、X23 は K 又は T であり、X24 は

Sである。)に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域3 (HFR3)、(d) W G Q G T T V T V S S (配列番号32)又はW G H G T T V T V S S (配列番号33)に示されるアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域4 (HFR4)、を含む。他の実施形態においては、(a)前記HFR1が、配列番号17～21に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(b)前記HFR2が、配列番号22、23及び24に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(c)前記HFR3が、配列番号26～31に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(d)前記HFR4が、配列番号32又は33に示されるアミノ酸配列を含む。

【0017】

他の実施形態において、前記単離された抗体又はその抗原結合断片は、N末端からC末端まで、HFR1-HCDR1-HFR2-HCDR2-HFR3-HCDR3-HFR4の構造を含む重鎖可変領域を含み；ここでは、HFR1、HFR2、HFR3、及びHFR4は、(a)それぞれに配列番号17、配列番号22、配列番号25、及び配列番号32に示される配列、(b)それぞれに配列番号18、配列番号22、配列番号26、及び配列番号32に示される配列、(c)それぞれに配列番号18、配列番号23、配列番号26、及び配列番号32に示される配列、(d)それぞれに配列番号18、配列番号23、配列番号27、及び配列番号32に示される配列、(e)それぞれに配列番号18、配列番号23、配列番号28、及び配列番号32に示される配列、(f)それぞれに配列番号19、配列番号24、配列番号29、及び配列番号32に示される配列、(g)それぞれに配列番号17、配列番号22、配列番号25、及び配列番号33に示される配列、(h)それぞれに配列番号18、配列番号22、配列番号26、及び配列番号33に示される配列、(i)それぞれに配列番号18、配列番号23、配列番号27、及び配列番号33に示される配列、(j)それぞれに配列番号18、配列番号23、配列番号28、及び配列番号33に示される配列、(k)それぞれに配列番号20、配列番号24、配列番号29、及び配列番号33に示される配列、(l)それぞれに)配列番号21、配列番号22、配列番号26、及び配列番号32に示される配列、(m)それぞれに配列番号21、配列番号23、配列番号30、及び配列番号32に示される配列、(n)それぞれに)配列番号21、配列番号23、配列番号31、及び配列番号32に示される配列、又は(o)それぞれに配列番号20、配列番号24、配列番号29、及び配列番号32に示される配列を含む。

【0018】

本発明の各側面の一実施形態及びそのいずれか一実施形態において、前記の単離された抗体又はその抗原結合断片は、(a) D-X26-V-M-T-Q-X27-P-X28-S-L-X29-V-X30-X31-G-X32-P-A-S-I-S-C (配列番号)又はD I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C (配列番号36) (ただし、X26はI又はVであり、X27はS又はTであり、X28はD、L、又はPであり、X29はA、P、又はSであり、X30はN、S、又はTであり、X31はL又はPであり、X32はE又はQである。)に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域1 (LFR1)、(b) W-X33-X34-Q-X35-P-G-Q-X36-P-X37-X38-L-I-Y (配列番号) (ただし、X33はF又はYであり、X34はL又はQであり、X35はK又はRであり、X36はP又はSであり、X37はK、Q又はRであり、X38はL又はRである。)に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域2 (LFR2)、及び(c) G-V-P-D-R-F-S-G-S-G-S-G-X39-D-F-T-L-X40-I-S-X41-X42-X43-A-E-D-V-X44-V-Y-Y-C (配列番号) (ただし、X39はS又はTであり、X40はK又はTであり、X41はR、S、又はWであり、X42はL又はVであり、X43はE又はQであり、X44はA又はGである。)に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域3 (LFR3)、を含む。一実施形態においては、(a)前記LFR1が、配列番号34～41に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み、(b)前記LFR2が、配列番号42～46に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含み

、（c）前記 L F R 3 が、配列番号 4 7、4 8 及び 4 9 に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含む。

【0019】

他の実施形態において、前記的単離された抗体又はその抗原結合断片は、N末端からC末端まで、L F R 1－L C D R 1－L F R 2－L C D R 2－L F R 3－L C D R 3－L F R 4の構造を含む軽鎖可変領域を含み、ここでは、L F R 1、L F R 2、L F R 3、及びL F R 4は、（a）それぞれに配列番号34、配列番号42、配列番号47及び配列番号50に示される配列、（b）それぞれに配列番号34、配列番号43、配列番号47及び配列番号50に示される配列、（c）それぞれに配列番号34、配列番号44、配列番号47及び配列番号50に示される配列、（d）それぞれに配列番号35、配列番号45、配列番号47及び配列番号50に示される配列、（e）それぞれに配列番号36、配列番号46、配列番号48及び配列番号50に示される配列、（f）それぞれに配列番号37、配列番号45、配列番号47及び配列番号50に示される配列、（g）それぞれに配列番号38、配列番号45、配列番号47及び配列番号50に示される配列、（h）それぞれに配列番号39、配列番号45、配列番号49及び配列番号50に示される配列、（i）それぞれに配列番号40、配列番号45、配列番号49及び配列番号50に示される配列、又は（j）それぞれに配列番号41、配列番号45、配列番号47及び配列番号50に示される配列を含む。

10

【0020】

一実施形態において、前記単離された抗体又はその抗原結合断片は、（a）配列番号51～70に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含む重鎖可変領域（H C V R）と、（b）配列番号71～88に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものを含む軽鎖可変領域（L C V R）とを含む。

20

【0021】

一側面において、本発明は、抗原結合分子、例えば、ヒトアデノシンA2A受容体（A2aR）に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片を提供する。前記抗体又はその抗原結合断片は、N末端からC末端まで、H C D R 1、H C D R 2、及びH C D R 3という3つの重鎖相補性決定領域（C D R）を含む重鎖可変部（V H）ドメインと、N末端からC末端まで、L C D R 1、L C D R 2、及びL C D R 3という3つの軽鎖の相補性決定領域（C D R）を含む軽鎖可変部（V L）ドメインを含み；ここでは、（a）前記H C D R 1が、配列番号1、2及び3に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、（b）前記H C D R 2が、配列番号4～9及び89に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列、（c）前記H C D R 3が、配列番号10又は11に示されるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、（d）前記L C D R 1が、配列番号12及び13に示されるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、（e）前記L C D R 2が、配列番号14に示されるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、（f）前記L C D R 3が、配列番号15及び16に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み；さらにここでは、前記抗体又はその抗原結合断片は、F G G G T K V E I K（配列番号50）に示される配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域4（F R 4）を含む。一実施形態において、前記重鎖可変部（V H）ドメインは、N末端からC末端まで、H F R 1、H F R 2、H F R 3、H F R 4という4つのフレームワーク領域（F

30

40

50

R)を含み、前記軽鎖可変部(VL)ドメインは、N末端からC末端まで、LFR1、LFR2、LFR3、LFR4という4つのフレームワーク領域(FR)を含み；ここでは、(a)前記HFR1が、配列番号17~21に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、(b)前記HFR2が、配列番号22、23及び24に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、(c)前記HFR3が、配列番号25~31に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、(d)前記HFR4が、配列番号32及び33に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、(e)前記LFR1が、配列番号34~41に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、(f)前記LFR2が、配列番号42~46に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、(g)前記LFR3が、配列番号47、48及び49に示されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるものに対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0022】

一側面において、本発明は、抗原結合分子、例えば、ヒトアデノシンA2A受容体(A2aR)に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片を提供する。前記抗体又はその抗原結合断片は、(a)配列番号51~70から選択されるアミノ酸配列と約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)と、(b)配列番号71~88から選択されるアミノ酸配列と約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)とを含む。

【0023】

一側面において、本発明は、抗原結合分子、例えば、ヒトアデノシンA2A受容体(A2aR)に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片を提供する。前記抗体又はその抗原結合断片は、(a)配列番号60に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号80に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、(b)配列番号62に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号78に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、(c)配列番号62に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号80に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、(d)配列番号62に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号83に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、(e)配列番号67に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号86に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖、又は(f)配列番号67に示されるアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号87に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0024】

本発明の各側面の一実施形態及びそのいずれか一実施形態において、前記の単離された抗体又はその抗原結合断片における重鎖及び／又は軽鎖のN末端は、ピログルタミン酸(pE)残基である。他の実施形態において、A2aRはヒトA2aR(配列番号)である。

【0025】

他の実施形態において、前記の単離された抗体又はその抗原結合断片は、(i)1B5-3D7、3F6-9G5、及び3F8-12E9からなる群より選ばれるモノクローナル抗体と競合してヒトA2aRに結合する、(ii)A2aRの活性を阻害する、(ii

i) 免疫応答を改善する、(iv) 細胞表面のヒト A2aR に特異的に結合する、(v) 組織内での cAMP 濃度を低減させる、(vi) プロテインキナーゼ A の活性を低下させる、(vii) A2aR シグナル伝達経路における cAMP 応答因子のリン酸化を低下させる、(viii) ヒト及び／又はカニクイザル A2aR に特異的に結合する、(ix) A2aR のインターナリゼーションを誘導するか、又は (x) (i) ~ (ix) の任意の組み合わせを実現する。

【0026】

一実施形態において、前記抗体と A2aR 又は細胞表面の A2aR との結合は、実施例 2 及び 5 に記載のフローサイトメトリーによるアッセイ又はそれに実質的に類似するアッセイにより測定される。他の実施形態において A2aR 又は細胞表面の A2aR への結合に対する前記抗体の競合は、例えば、Harms, et al., 「Microtiter plate-based antibody-competition assay to determine binding affinities and plasma/blood stability of CXCR4 ligands, Scientific Reports, 2020:10:16036, doi.org/10.1038/s41598-020-73012-4」に記載のアッセイ、又はそれに実質的に類似するアッセイを含める当分野で既知のアッセイにより決定される。更に他の実施形態において、cAMP の濃度の低下は、実施例 3 に記載のアッセイ又はそれに実質的に類似するアッセイにより決定される。更に他の実施形態において、A2aR 活性への阻害は、実施例 4 に記載のアッセイ又はそれに実質的に類似するアッセイにより決定される。一実施形態において、プロテインキナーゼ A 活性の低下及び／又は A2aR シグナル伝達経路における cAMP 応答因子のリン酸化の低下は、Karege, et al., 「A non-radioactive assay for the cAMP-dependent protein kinase activity in rat brain homogenates and age-related changes in hippocampus and cortex, Brain Res., 2001 Jun 8; 903 (1-2): 86-93, doi:10.1016/S0006-8993(01)02409-X」に記載の方法又はそれに実質的に類似する方法により決定される。他の実施形態において、免疫応答の増強は、活性化された免疫細胞から生じた炎症性サイトカインの増加、組織における炎症性サイトカイン濃度の向上、また、活性化された CD25⁺ 及び／又は CD69⁺ CD4⁺ T 細胞並びに細胞傷害性 CD8⁺ T 細胞の数の増加などの当分野で周知の方法により、あるいは実施例 6 に記載のアッセイ又はそれに実質的に類似するアッセイにより決定される。

【0027】

一側面において、本発明は、抗原結合分子、例えば、単離された抗体又はその抗原結合断片は、本発明に記載のいずれか 1 つの側面及びそのいずれもの 1 つの実施形態に記載の抗体又はその抗原結合断片と競合してヒト A2aR に結合する。

【0028】

一実施形態において、前記の抗体又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体又はキメラ抗体である。他の実施形態において、前記の抗体又はその抗原結合断片は、IgA、IgD、IgE、IgG 又は IgM からなる群より選ばれる重鎖定常領域を含む。更に他の実施形態において、前記の重鎖定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3 及び IgG4 からなる群より選ばれる IgG クラスの定常領域である。更に他の実施形態において、前記の重鎖定常領域は、ヒト重鎖定常領域である。

【0029】

他の側面において、本発明は、いずれかの側面及び実施形態にかかる抗体又はその抗原結合断片、その HCVR、その LCVR、その軽鎖、その重鎖又はその抗原結合断片をコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。

【0030】

更に他の側面において、本発明は、本発明にかかるいずれかのポリヌクレオチドを含む

発現ベクターを提供する。

【0031】

更に他の側面において、本発明は、本発明にかかるいずれかのポリヌクレオチド又は発現ベクターを含む組換え細胞を提供する。

【0032】

一側面において、本発明は、いずれかの側面及び実施形態にかかる抗体及びその抗原結合断片、そのH C V R、そのL C V R、その軽鎖、その重鎖、及びその抗原結合断片からなる群より選ばれるポリペプチドを作製するための方法を提供する。前記方法は、本発明の組換え細胞に前記ポリペプチドを発現させることを含み、さらに、発現されたポリペプチドを単離することを任意に含んでもよい。

【0033】

他の実施形態において、本発明は、医薬組成物を提供する。前記医薬組成物は、本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる抗体及びその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体又は希釈剤とを含む。一実施形態において、前記医薬組成物には、前記の抗体又はその抗原結合断片が、(a)細胞表面のヒト又はカニクイザルA2aR特異的に結合する、(b)組織内でのcAMP濃度を低減させか、(c)ヒトA2aRの活性を阻害する、(d)A2aRシグナル伝達経路におけるcAMP応答因子のリン酸化を低下させる、(e)免疫細胞の免疫応答を改善する、(f)プロテインキナーゼAの活性を低下させるか、又は(g)(a)～(f)の任意の組み合わせを実現するのに有効な量である。

【0034】

一側面において、本発明は、細胞表面に発現されたA2aRの活性を阻害するための方法を提供する。前記の方法は、細胞を、本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる単離された抗体又はその抗原結合断片、或いは本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる医薬組成物に接触させることにより、前記細胞中のA2aRの活性を阻害する。一実施形態において、前記の細胞は、対象に内在する。他の実施形態において、前記の対象は、ヒトである。更に他の実施形態において、前記の対象は、がんを患っている。一実施形態において、前記方法は対象におけるがんの治療に使用される。

【0035】

他の側面において、本発明は、対象における免疫応答を増強するための方法を提供する。前記方法は、本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる単離された抗体又はその抗原結合断片、又は本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる医薬組成物を前記対象に投与することにより、前記対象における免疫応答を増強することを含む。一実施形態において、前記対象はヒトである。他の実施形態において、前記対象はがんを患っている。一実施形態において、前記方法は、対象におけるがんの治療に使用される。

【0036】

更に他の側面において、本発明は、対象における腫瘍の成長を阻害するための方法を提供する。前記の方法は、本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる単離された抗体又はその抗原結合断片、又は本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる医薬組成物を前記対象に投与することにより、腫瘍の成長を阻害することを含む。一実施形態において、前記対象は、ヒトである。他の実施形態において、前記方法は、対象におけるがんの治療に使用される。

【0037】

更に他の側面において、本発明は、本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる単離された抗体又はその抗原結合断片、又は本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる医薬組成物を対象に投与することによりがんを治療することを含む、前記対象におけるがんの治療方法を提供する。

【0038】

本発明のいくつかの側面にかかる一実施形態において、前記の方法は、T細胞を活性化さ

10

20

30

40

50

せ、腫瘍標的細胞を死滅させるように誘導する。

【0039】

本発明のいくつかの側面にかかる一実施形態において、前記の方法は、さらに、前記対象に追加の治療剤を投与することを含む。

【0040】

一実施形態において、前記追加の治療剤は、抗腫瘍剤、放射線療法、化学療法剤、手術、がんワクチン、免疫細胞の刺激受容体に対するアゴニスト、サイトカイン、細胞療法、又はチェックポイント阻害剤を含む。

【0041】

他の実施形態において、前記チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIGIT、LAG-3、TIM-3、B7-H3、B7-H4、CD73、PVRIG/PVRL2、ニューリチン、BTLA、CECAM-1、CECAM-5、CECAM6、IL-1R8、VISTA、LAIR1、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、CD47、SIRPa、CD200R、CD96、CD112R、2B4、TGFβ-R、KIR、NKG2A、SEMA4D、Axl、MerTK、GAS6、TNFR2、GARP、CCR8、IDO、NOX2、SIGLEC7、SIGLEC15、及び／又はそれらの組み合わせを阻害する薬剤である。

【0042】

更に他の実施形態において、前記薬剤は、PD-1とPD-L1の間での相互作用を阻害し、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、BMS-936559、シンチリマブ、トリパリマブ、ティシレリツマブ、カムレリズマブ、エンバフォリマブ、スゲマリマブ、ペンプリマブ、カドニリマブ、スルファモノメトキシシン、及びスルファメチゾールからなる群より選ばれるものである。

【0043】

更に他の実施形態において、前記CTLA-4阻害剤は、イピリムマブ、カドニリマブ、YH001 (Eucure Biopharma)、ADG116、又はADG126 (天演薬業) である。

【0044】

一実施形態において、前記追加の治療剤は、OX40、CD2、CD27、CD3、ICAM-1、LFA-1、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD28、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、NKG2D、SLAMF7、Nkp46、Nkp80、CD160及びそれらの組み合わせからなる群より選ばれる免疫細胞の刺激受容体に対するアゴニストである。

【0045】

他の実施形態において、前記追加の治療剤は、前記抗体又はその抗原結合断片とともに同一の医薬組成物に調製されている。

【0046】

更に他の実施形態において、前記追加の治療剤は、前記抗体又はその抗原結合断片と異なる医薬組成物に調製されている。

【0047】

一実施形態において、前記抗体又はその抗原結合断片の投与前及び／又は後に前記追加の治療剤を投与する。他の実施形態において、前記追加の治療剤を前記抗体又はその抗原結合断片と同時に投与する。

【0048】

一側面において、本発明は、本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる分離された抗体又はその抗原結合断片、又は本発明のいくつかの側面及びいずれかの実施形態にかかる医薬組成物を含むキットを提供する。一実施形態において、前記キットは、追加の治療剤を含む。

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

【0049】

【図1】図1A及び1Bは、本発明の例示的なヒト化抗A2aR抗体及び3F6-9G5抗体（‘601に開示）による細胞表面で発現されたヒトA2aRの活性の遮断を示すグラフである。RLU（Relative Light Unit）：相対光単位。Hu3F6-VH3/VL5：Hu3F6-H3/Hu3F6-L5、Hu3F6-VH5/VL5：Hu3F6-H5/Hu3F6-L5。

【0050】

【図2】図2は、本発明の例示的なヒト化抗A2aR抗体及び3F6-9G5抗体（‘601に開示）が細胞表面のA2aRに結合する際に内在化（インターナリゼーション）を誘導することを示す。MFI（Mean Fluorescence Intensity）：平均蛍光強度。Hu3F6-VH3/VL5：Hu3F6-H3/Hu3F6-L5、Hu3F6-VH5/VL5：Hu3F6-H5/Hu3F6-L5。

10

【0051】

【図3】図3は、本発明の例示的なヒト化抗A2aR抗体及び3F6-9G5抗体（‘601に開示）とヒトA2aRを発現する細胞とをインキュベートする際に細胞内に局在することを示す。Hu3F6-VH3/VL5：Hu3F6-H3/Hu3F6-L5；Hu3F6-VH5/VL5：Hu3F6-H5/Hu3F6-L5。

【0052】

【図4】図4A及び4Bは、本発明の例示的なヒト化抗A2aR抗体及び3F6-9G5抗体（‘601に開示）がいくつかのヒトおよびカニクイザルCD4+及びCD8+T細胞と結合することを示す。Hu3F6-VH3/VL5：Hu3F6-H3/Hu3F6-L5；Hu3F6-VH5/VL5：Hu3F6-H5/Hu3F6-L5。

20

【0053】

【図5】図5A及び5Bは、本発明の例示的なヒト化抗A2aR抗体及び3F6-9G5抗体（‘601に開示）が、0.1 μM NECAの存在下で、ダイナビーズ（Dynabeads）によって活性化されたCD4+T細胞による細胞内でのIFNγ及びIL2の産生を回復することができたことを示す画像である。NECAは、免疫抑制、例えば、T細胞機能の抑制を誘導できるA2aRアゴニストである。Hu3F6-VH3/VL5：Hu3F6-H3/Hu3F6-L5；Hu3F6-VH5/VL5：Hu3F6-H5/Hu3F6-L5。

30

【発明を実施するための形態】

【0054】

本発明および添付の図面は、当業者が本発明を実施することを可能にするためにここで説明される。しかし、以下に記載される発明が、これらの具体的な詳細を用いることなしに実施され得ること、または本明細書に記載される目的以外の目的のために使用され得ることは、当業者なら理解されるだろう。実際、本開示を考慮すれば、本発明は、改変され得、または当業者に公知の生成物および技法と併せて使用され得る。図面および説明は、本発明の種々の態様の例示として意図しており、添付の特許請求の範囲を狭めるものとして意図しない。さらに、図面が本発明の各側面を独立して示することができるが、1つの図中の要素が他の図中に示される要素と併せて使用され得ることは理解されたい。

40

【0055】

側面、特徴、利点または類似の言語に対する本明細書全体にわたる言及は、本発明を用いて実現され得る全ての態様および利点が、本発明のいずれか単一の実施形態にあるはずである、またはその中にあるということの意味しないことが理解されたい。むしろ、各側面および利点に言及する言語は、実施形態と併せて記載された具体的な側面、特徴、利点または性質が、本発明の少なくとも1つの実施形態中に含まれることを意味すると理解されたい。したがって、本明細書全体にわたる側面および利点の考察ならびに類似の言語は、同じ実施形態を指し得るが、必ずしも指すわけではない。

【0056】

本発明の記載された側面、特徴、利点および特徴は、1つまたは複数のさらなる実施形

50

態において、任意の適切な方法で組み合わせられ得る。さらに、本発明が特定の実施形態の具体的な側面または利点のうち1つまたは複数なしに実施され得ることは、当業者なら認識される。他の場合には、ある実施形態で他の側面、特徴および利点を認識して請求保護することができるが、それらの側面、特徴および利点は、本発明の全ての実施形態中に存在していなくてもよい。

【0057】

他に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術および科学用語は、本出願が属する分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本発明の各側面および実施形態の実施において使用され得る、ここで記載されるものと類似または等価な多くの技法および材料は、当業者なら認識される。本出願に記載された側面および実施形態は、記載された方法および材料に限定されない。

10

【0058】

さらに、本発明における教示に関して、本願に記載の任意の引用された参考文献、任意の発行された特許または特許出願公報は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【0059】

一、定義

【0060】

本発明がより容易に理解できるように、ある特定の用語が最初に定義される。さらに、パラメーターの値またはその値の範囲が列挙されるときには、列挙された値の中間の値および範囲もまた、本発明の一部であることが意図されることに留意すべきである。

20

【0061】

本明細書に他に示さない限り、または文脈と明らかに矛盾しない限り、本発明を説明する文脈（特に、請求項の範囲における文脈）に使用される「一つの」、「1つの」、「前記」という用語及び類似の指示単語は、単数形および複数形（即ち、1つまたは複数）の両方を包含すると解釈すべきである。「含む」、「有する」、「包含する」及び「含有する」という用語は、特記しない限り、オープンエンドの用語（即ち、「～が含まれるがこれらに限定されない」を意味する）と解釈すべきである。本明細書の値の範囲の列挙は、本明細書で他に示さない限り、列挙されたまたはその範囲内に入る各別々の値に個々に言及する略記法として機能することを単に意図しており、各別々の値は、それがあたかも個々に列挙されたかのように、本明細書に組み込まれる。

30

【0062】

「一実施形態において」、「別の実施形態において」、「他の実施形態において」、「いくつかの実施形態において」又は「ある実施形態において」という語句が使用される場合、本開示は、特徴が互いに組み合わせ不能でない限り、相互に排他的でない限り、または本明細書で明示的に権利放棄されない限り、そこに記載されている異なる実施形態を定義する特徴のいずれかの組合せを包含すると解釈すべきである。

【0063】

「約」又は「およそ」という用語は、例えば、本明細書に記載の値の1つ又は複数に使用される場合、前記の参照値に類似する値を指す。いくつかの実施形態において、特に記載がない限り、または文脈から明らかでない限り、「約」又は「およそ」という用語は、前記参照値のいずれかの方向（より大きい小さい）に15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、又はそれ以下の値の範囲に入る。いくつかの実施形態において、「およそ」又は「約」は、平均値に対して約2つの標準差の差であると理解すべきである。いくつかの実施形態において、「およそ」又は「約」とは、最大±10%（例えば、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%、±1%又はそれ以下）を含めることを意味する。いくつかの実施形態において、「およそ」又は「約」は、±5%を意味する。「およそ」又は「約」が一連の数値または範囲の前に表示されている場合、「およそ／約」にて該シリーズまたは範囲の各数値を修飾できることを理解すべきである。

40

【0064】

50

本明細書では、範囲は、「約」ある特定の値から、及び／又は「約」別の特定の値のまでと表現することがある。そのような範囲が表現される場合、別の実施形態に上記のある特定の値から、及び／又は上記の別の特定の値までを含む。同様に、「約」という先行語を使用して値が近似値として表現される場合、上記の特定の値が別の実施形態を構成することは理解されるべきである。さらに、各範囲における一つの端点は、他の端点に対して、顕著であるだけでなく、独立であることは理解されるべきである。また、本明細書には多数の値が開示されており、各値は、その値自体に加えて、「約」のその特定の値も含むことは理解されよう。例えば、値「10」が開示されている場合、「約10」も開示されている。ある値が開示される場合、当業者によって適切に理解されるように、（即ち、その値）「未満またはそれと等しい」、（即ち、その値）「よりも大きいまたはそれと等しい」、および値間の可能な範囲もまた開示されていることも理解される。例えば、値「10」が開示されている場合、「10未満またはそれと等しい」ならびに「10よりも大きいまたはそれと等しい」もまた開示されている。

10

【0065】

本明細書で使用される「投与する」「投与」という用語は、薬剤、例えば、抗体を対象に与えることを意味する。いくつかの実施形態において、「投与する」とは、生理的及び／又は（例えば、及び）薬理学的に有用な方法（例えば、対象の疾患への治療）にて対象に抗体又は抗体複合体を投与する。投与経路の非限定的な例としては、静脈内、筋肉内、腹腔内、脳脊髄腔内、皮下、関節内、滑膜内、又は鞘内経路が含まれる。いくつかの実施形態において、投与経路は、皮下投与である。

20

【0066】

本明細書で使用される「薬剤」という用語は、任意の物質、化合物（例えば、分子）、超分子複合体、材料、またはそれらの組合せもしくは混合物を意味する。化合物は、化学式、化学構造または配列によって示され得る任意の薬剤であり得る。薬剤の例には、例えば、小分子、ポリペプチド、核酸（例えば、RNAi剤、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アプタマー）、脂質、多糖などが含まれる。一般的に、薬剤は、当該分野で公知の任意の適切な方法を使用して得られる。当業者は、例えば、薬剤の性質に基づいて、適切な方法を選択する。薬剤は、少なくとも部分的に精製することができる。いくつかの実施形態において、薬剤は、いくつかの実施形態において、前記薬剤に加えて、例えば、対イオン、水性もしくは非水性の希釈剤もしくは担体、バッファー、保存剤、または他の成分を含有し得る組成物の一部として提供することができる。いくつかの実施形態において、薬剤は、塩、エステル、水和物または溶媒和物として提供することができる。いくつかの実施形態において、薬剤は、例えば、細胞によって取り込まれ細胞内で作用する（例えば、哺乳動物細胞内で作用して生物学的効果を生じる）典型的な薬剤の範囲内では、細胞透過性である。ある特定の化合物は、特定の幾何形態または立体異性形態で存在し得る。シスーおよびトランスー異性体、EーおよびZー異性体、RーおよびSーエナンチオマー、ジアステレオマー、（D）ー異性体、（L）ー異性体、（-）ーおよび（+）ー異性体、それらのラセミ混合物、ならびにそれらの他の混合物が含まれ、除別段の指示がない限り、本開示の様々な実施形態に含まれる。ある特定の化合物は、種々のプロトン化状態で存在し得る、種々の配置を有し得る、（例えば、水との（即ち、水和物）または一般的な溶媒との）溶媒和物として存在し得る、および／または異なる結晶形態（例えば、多形）もしくは異なる互変異性形態を有し得る。そのような代替的なプロトン化状態、配置、溶媒和物、及び形態を示す実施形態は、適用できる場合、本開示に包含される。

30

40

【0067】

特定の実施形態において、文脈に応じて、「薬剤」には、放射線療法、化学療法、又は手術などの治療方法も包含される。

【0068】

「アミノ酸」という用語は、20種の一般的な天然アミノ酸を指す。天然アミノ酸には、アラニン（Ala；A）、アルギニン（Arg；R）、アスパラギン（Asn；N）、アスパラギン酸（Asp；D）、システイン（Cys；C）；グルタミン酸（Glu；E

50

)、グルタミン (Gln; Q)、グリシン (Gly; G)、ヒスチジン (His; H)、イソロイシン (Ile; I)、ロイシン (Leu; L)、リジン (Lys; K)、ヒスチジン (Met; M)、フェニルアラニン (Phe; F)、プロリン (Pro; P)、セリン (Ser; S)、スレオニン (Thr; T)、トリプトファン (Trp; W)、チロシン (Tyr; Y)、及びバリン (Val; V) が含まれる。

【0069】

「アンタゴニスト」又は「阻害剤」という用語は、別の分子（例えば受容体）の生理活性又は効果を防止、遮断、抑制、中和、又は減少する物質を指す。

【0070】

「アゴニスト」という用語は、別の分子の生物活性または生物学的効果を促進する（即ち、誘導する、引き起こす、増強する、または向上させる）物質を指す。アゴニストという用語は、受容体に結合する物質（例えば、抗体）、および受容体に結合することなしに（例えば、関連のタンパク質を活性化することによって）受容体機能を促進する物質を包含する。

【0071】

本明細書で使用される「抗体」は、特定の抗原（例えば、A2aR）に特異的に結合するまたはそれと特異的に相互作用する少なくとも1つの相補性決定領域（CDR）を含む任意の抗原結合分子又は分子複合体を意味する。「抗体」という用語には、4つのポリペプチド鎖（即ち、ジスルフィド結合によって相互連結された2つの重（H）鎖及び2つの軽（L）鎖）を含む免疫グロブリン分子、及びそれらのマルチマー（例えば、IgM）が含まれる。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書でHCVR、VH又はVHと略される。）及び重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、CH1又はCH1、CH2又はCH2、及びCH3又はCH3といった3つのドメインを含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書でLCVR、VL又はVLと略される。）及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（CL又はCL）を含む。VH及びVL領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存された領域が散在した相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変性の領域へとさらに細分することができる。重鎖のフレームワーク領域は、本明細書でHFRと略され、軽鎖フレームワーク領域は、本明細書でLFRと略される。各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシ末端まで、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順で3つのCDR及び4つのFRからなる。本発明の異なる実施形態において、抗A2aR抗体（又はその抗原結合断片）のFRは、マウス又はヒトの生殖系列配列と同一であるか、又は天然にもしくは人工的に修飾することができる。アミノ酸コンセンサス配列は、2つまたはそれよりも多くのCDRの並列解析に基づいて定義することができる。

【0072】

本明細書で使用される「抗体」という用語には、さらに、完全抗体分子の抗原結合断片も含まれる。本明細書で使用される抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」などの用語には、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然に存在可能な、酵素的に取得可能な、合成の、または遺伝子操作されたポリペプチドまたは糖タンパク質が含まれる。抗体の抗原結合断片は、任意の適切な標準技法、例えば、タンパク質分解消化、又は抗体の可変領域及び任意に選択される定常領域をコードするDNAの操作及び発現に関する組換え遺伝子技術により、完全抗体分子から誘導することができる。そのようなDNAは、公知であり、かつ／又は、例えば、商業的供給源、DNAライブラリー（例えば、ファジー抗体ライブラリーが含まれ）から容易に入手可能であるか、合成可能である。前記DNAは、例えば、1つ又は複数の可変領域及び／又は定常領域を適切な配置に整列させたり、コドンを導入したり、システイン残基を生じたり、アミノ酸を修飾、付加または欠失したりするために、化学的に又は分子生物学的技術を使用して配列決定され操作することができる。

【0073】

抗原結合断片の非限定的な例には、(i) Fab断片、(ii) F(ab')₂断片、

(i i i) Fd断片、(i v) Fv断片、(v) 単鎖Fv (scFv) 分子、(v i) dAb断片、及び(v i i) 抗体の超可変領域（例えば、CDR3ペプチドのような単離された相補性決定領域(CDR)）または拘束されたFR3-CDR3-FR4ペプチドを模倣するアミノ酸残基からなる最小認識単位が含まれる。ドメイン特異的抗体や、単ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ（例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど）、小モジュラー免疫医薬品(small modular immunopharmaceutical, SMIPs)、及びサメ可変IgNARドメイン(shark variable IgNAR domains)などの他の操作された分子は、本明細書で使用される「抗原結合断片」という表現に包含される。

10

【0074】

抗体の抗原結合断片は、典型的には、少なくとも1つの可変ドメインを含む。前記可変ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸構成のものであってもよく、1つもしくは複数のフレームワーク配列に隣接するか、またはそれとインフレームの、少なくとも1つのCDRを一般に含む。VLドメインと連結されたVHドメインを含有する抗原結合断片には、該VH及びVLドメインは、任意の適切な整列で、互いに対して配置することができる。例えば、可変領域は、ダイマーであり、VH-VH、VH-VL又はVL-VLダイマーを含有することができる。又は、抗体の抗原結合断片は、モノマーVH又はVLドメインを含むことができる。

【0075】

ある実施形態において、抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合により連結された少なくとも1つの可変ドメインを含むことができる。本発明の抗体の抗原結合断片に含まれる可変ドメイン及び定常ドメインの非限定的な例示的な配置には、(i) VH-CH1、(i i) VH-CH2、(i i i) VH-CH3、(i v) VH-CH1-CH2、(v) VH-CH1-CH2-CH3、(v i) VH-CH2-CH3、(v i i) VH-CL、(v i i i) VL-CH1、(i x) VL-CH2、(x) VL-CH3、(x i) VL-CH1-CH2、(x i i) VL-CH1-CH2-CH3、(x i i i) VL-CH2-CH3、及び(x i v) VL-CLが含まれる。可変ドメインと定常ドメインの任意の配置（上記に挙げられた任意の例示的な配置を含める）には、該可変ドメインと定常ドメインは、互いに直接連結されているか、又は完全なもしくは部分的なヒンジ領域もしくはリンカー領域によって連結されていることがある。ヒンジ領域は、少なくとも2つの（例えば、5、10、15、20、40、60又はそれよりも多い）アミノ酸を含むことにより、単一のポリペプチド分子中の隣接する可変および／または定常ドメイン間の可撓性または半可撓性の連結を生じることになる。さらに、抗原結合断片は、互いに及び／又は1つ又は複数のモノマーVH又はVLドメインと非共有結合により連結された（例えば、ジスルフィド結合によって連結された）上記に挙げられた任意の可変ドメイン及び定常ドメインの配置のホモダイマー又はヘテロダイマー（又は他のマルチマー）を含むことができる。独立したドメインの間にハイフン（例えば、CH2-CH3）を用いてポリペプチドドメインの配列を記載する場合には、記載されたドメインの順序は、N末端からC末端までになることを理解されたい。

20

30

40

【0076】

完全抗体分子と同様に、抗原結合断片は、単一特異性または多特異性（例えば、二特異性）であり得る。抗体の多特異性抗原結合断片は、典型的には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、ここで、各々の可変ドメインは、いずれも、単独した抗原又は同一の抗原上の異なるエピトープに特異的に結合することができる。本明細書に開示された例示的な二重特異性抗体形態を含む任意の多重特異性抗体の形態は、当該分野で利用可能な汎用な技術を用いて本発明の抗体の抗原結合断片に関連して使用するのに適応可能である。

【0077】

本発明に記載の抗体は、単離された抗体であってもよい。本明細書で使用される「単離

50

された」分子（例えば、単離された抗体又は単離されたポリペプチド）とは、その天然環境の少なくとも1つの成分から同定されて分離及び／又は回収された分子（例えば抗体）を指す。例えば、生物の少なくとも1つの成分、又は抗体が天然に存在するか天然に産生される組織又は細胞から分離又は回収された分子（例えば抗体）は、本発明の目的とする「単離された」分子（例えば抗体）である。単離された分子（例えば、抗体）には、さらに、組換え細胞内の *In situ* 分子（例えば抗体）も含まれる。ある実施形態において、単離された分子（例えば、抗体）は、少なくとも1つの精製又は単離工程にかけられた分子（例えば抗体）である。ある実施形態によれば、単離された分子（例えば、抗体）は、実質的に他の細胞材料及び／又は化学物質を含まないことがある。

【0078】

10

本発明には、さらに、A2aRに結合するワンアーム抗体が含まれる。本明細書で使用される「ワンアーム抗体」とは、単一の抗体重鎖及び単一の抗体軽鎖を含む抗原結合分子を意味する。本発明に記載のワンアーム抗体には、表1～19に示されたHCVR/LCVR又はCDRのアミノ酸配列のいずれかを含むことができる。

【0079】

本明細書に記載の抗A2aR抗体又はその抗原結合断片は、抗原結合分子又は抗原結合ドメイン由来の対応する生殖細胞系列配列と比較して、その重鎖及び軽鎖の可変領域のフレームワーク及び／又はCDR領域に1つ以上のアミノ酸の置換、挿入及び／又は欠失を含むことができる。このような変異は、本明細書に開示されたアミノ酸配列を、例えば、公衆用の抗体配列データベースから入手可能な生殖細胞系列配列と比較することにより容易に確認することができる。本発明には、本明細書に開示された任意のアミノ酸配列から得られた抗体及びその抗原結合断片が包含されており、ここで、1つ以上のフレームワーク及び／又はCDR領域内の1つ以上のアミノ酸は、抗体に由来する生殖細胞系列配列の対応する残基、又は別のヒト生殖細胞系列配列の対応する残基、又は対応する生殖細胞系列残基の保存アミノ酸置換に変異されている（このような配列変化は、本明細書では「生殖細胞系列変異」と総称する）。当業者は、本明細書に開示された重鎖及び軽鎖可変領域配列から出発して、1つ以上の個体の生殖細胞系列変異又はそれらの組み合わせを含む多数の抗体及び抗原結合断片を作製することができる。ある実施形態において、V_H及び／又はV_Lドメイン内のすべてのフレームワーク領域及び／又はCDR残基は、それから抗体が由来する元の生殖細胞系列配列の残基に変異して戻される。他の実施形態において、特定の残基のみが、元の生殖細胞系列配列に変異して戻され、例えば、FR1の最初の8アミノ酸内又はFR4の最後の8アミノ酸内に見出された変異残基のみ、又はCDR1、CDR2又はCDR3内に見出された変異残基のみである。他の実施形態において、フレームワーク及び／又はCDR残基の1つ以上が、異なる生殖細胞系列配列（すなわち、それから抗体が由来する生殖細胞系列配列とは異なる生殖細胞系列配列）の対応する残基に変異されている。さらに、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、フレームワーク及び／又はCDR領域内の2つ以上の生殖細胞系列変異の任意の組み合わせを含むことができ、例えば、特定の個々の残基が特定の生殖細胞系列配列の対応する残基に変異され、元の生殖細胞系列配列とは異なる特定の他の残基が維持されるか、又は異なる生殖細胞系列配列の対応する残基に変異されている。1つ以上の生殖細胞系列変異を含有する抗体又はその抗原結合断片は、得られた後に、例えば改善された結合特異性、増加した結合親和性、改善又は増強された拮抗的又は作動的生物学的特性（場合によって）、低下した免疫原性などの1つ以上の所望の特性について容易に測定することができる。このような一般的な方法で得られた抗体又はその抗原結合断片は、本発明に包含される。

20

30

40

【0080】

本発明には、さらに、本明細書に開示された任意のHCVR、LCVR及び／又はCDRアミノ酸配列のバリエーションを含む抗A2aR抗体が含まれる。本発明のその側面に含まれる例示的なバリエーションには、1つ以上の保存的置換を有する本明細書に開示されたHCVR、LCVR、及び／又はCDRアミノ酸配列のバリエーションが含まれる。例えば、本発明には、本明細書の表に示されたHCVR、LCVR、及び／又はCDRアミノ酸配列の

50

いずれかと比較して、10個以下、8個以下、6個以下、4個以下などの保存アミノ酸の置換を含むH C V R、L C V R、及び／又はC D Rアミノ酸配列を有する、抗A 2 a R抗体及び抗原結合タンパク質が含まれる。

【0081】

軽鎖は、カップ型 (kappa) 又はラムダ型 (lambda) (K、λ) に分類される。各重鎖クラスは、いずれもカップ型又はラムダ型軽鎖と結合することができる。一般に、免疫グロブリンがハイブリドーマ、B細胞又は遺伝子操作された宿主細胞によって生成される場合は、軽鎖及び重鎖が互いに共有結合し、2本の重鎖の「尾」部分が共有結合ジスルフィド結合又は非共有結合によって互いに結合している。重鎖においては、アミノ酸配列がY構造のフォーク末端でのN末端から各鎖の底部のC末端まで延びている。

10

【0082】

本明細書で使用される「軽鎖定常領域」及び「CL」という用語は、本明細書で互換的に使用されており、抗体軽鎖に由来するアミノ酸配列を指す。好ましくは、軽鎖定常領域は、定常カップドメイン又は定常ラムダドメインの少なくとも1つを含む。

【0083】

本明細書で使用される「重鎖定常領域」という用語には、免疫グロブリン重鎖に由来するアミノ酸配列が含まれる。重鎖定常領域を含むポリペプチドは、CH1ドメイン、ヒンジ (例えば、ヒンジ領域の上部、中部及び／又は下部) ドメイン、CH2ドメイン、CH3ドメイン、又はそのバリエーション又は断片のうちの少なくとも1つを含む。例えば、本開示で使用された抗原結合ポリペプチドは、CH1ドメインを含むポリペプチド鎖、CH1ドメインとヒンジドメインの少なくとも一部とCH2ドメインとを含むポリペプチド鎖、CH1ドメインとCH3ドメインとを含むポリペプチド鎖、CH1ドメインとヒンジドメインの少なくとも一部とCH3ドメインとを含むポリペプチド鎖、又はCH1ドメインとヒンジドメインの少なくとも一部とCH2ドメインとCH3ドメインを含むポリペプチド鎖を含むことができる。いくつかの実施形態において、本発明のポリペプチドは、CH3ドメインを含むポリペプチド鎖を含む。さらに、本開示で使用された抗体は、CH2ドメインの少なくとも一部 (例えば、CH2ドメインの全部又は一部) を欠いていてもよい。重鎖定常領域は、そのアミノ酸配列が天然に存在する免疫グロブリン分子と異なるとなるように修飾されてもよいことが理解すべきである。

20

【0084】

本明細書に開示された抗体の重鎖定常領域は、異なる免疫グロブリン分子に由来することができる。例えば、ポリペプチドの重鎖定常領域は、IgG1分子に由来するCH1ドメイン及びIgG3分子に由来するヒンジ領域を含むことができる。他の実例では、重鎖定常領域は、部分的にIgG1分子に由来し、部分的にIgG3分子に由来するヒンジ領域を含むことができる。他の実例では、重鎖部分は、部分的にIgG1分子に由来し、部分的にIgG4分子に由来するキメラヒンジを含むことができる。

30

【0085】

「軽鎖-重鎖対」とは、軽鎖のCLドメインと重鎖のCH1ドメインとの間でジスルフィド結合を介してダイマーを形成可能な軽鎖および重鎖の集合体を指す。

【0086】

種々の免疫グロブリンクラスの定常領域のサブユニット構造および三次元配置は、周知である。本明細書で使用される「VHドメイン」という用語には、免疫グロブリン重鎖のN末端可変ドメインが含まれ、「CH1ドメイン」という用語には、免疫グロブリン重鎖の第一の (最もN末端の) 定常領域ドメインが含まれる。前記CH1ドメインは、前記VHドメインに隣接し、免疫グロブリン重鎖分子のヒンジ領域に対してN末端になる。

40

【0087】

本明細書で使用される「CH2ドメイン」という用語は、例えば、一般的な番号付けスキーム (Kabat番号付けシステムによる残基244~360、又はEU番号付けシステムによる残基231~340) に基づいた場合、抗体の約244位残基から360位残基まで延びている重鎖分子の部分を含む。むしろ、前記CH2ドメインは、別のドメイン

50

と密接にマッチしていないという点で独特である。2つのN結合分枝糖鎖が、完全な天然IgG分子の2つのCH2ドメインの間に挿入されている。CH3ドメインは、CH2ドメインからIgG分子のC末端まで延びており、約108個の残基を含む。

【0088】

本明細書で使用される「ヒンジ領域」という用語は、CH1ドメインをCH2ドメインに連結する重鎖分子の部分を含む。前記ヒンジ領域は、約25個の残基を含み、柔軟性があるため、二つのN末端抗原結合領域が独立して動くことが可能になる。ヒンジ領域は、上部、中部及び下部ヒンジ領域の三つの異なるドメインに細分される。

【0089】

本明細書で使用される「ジスルフィド結合」という用語は、二つの硫黄原子間に形成される共有結合を含む。アミノ酸システインは、第二のチオール基とジスルフィド結合又は架橋を形成できるチオール基を含む。ほとんどの天然に存在するIgG分子においては、CH1及びCL領域はジスルフィド結合によって連結され、二本の重鎖はKabat番号付けシステムによる239及び242位に対応する2つのジスルフィド結合によって連結されている（EU番号付けシステムによる226又は229位）。

【0090】

「抗体」用語には、生化学的に区別できるポリペプチドの様々な広いクラスが包含される。重鎖がアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ及びミュー（又は α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及び μ ）、ならびにいくつかのサブクラス（例えば $\gamma 1 \sim \gamma 4$ ）に分類されることは当業者なら理解される。この鎖の性質により、それぞれIgG、IgM、IgA、IgD又はIgEとして抗体の「クラス」が決定される。免疫グロブリンサブクラス（アイソタイプ）については、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4などがよく特徴付けられ、機能的特殊化を与えることが知られている。本開示によれば、これらのクラス及びアイソタイプの各々の修飾形態は、当業者に容易に識別可能であるので、本開示の範囲内にある。すべての免疫グロブリンクラスは、本開示の範囲内にある。以下の議論は、概して免疫グロブリン分子のIgGクラスに関する。

【0091】

本開示の抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、多重特異性抗体、二重特異性抗体、三重特異性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、霊長類抗体、キメラ抗体及び一本鎖抗体が含まれるが、これらに限定されない。本明細書に開示された抗体は、鳥類及び哺乳類を含む任意の動物起源に由来してもよい。好ましくは、前記抗体は、ヒト、マウス、ロバ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ラマ、ウマ又はニワトリに由来する抗体である。いくつかの実施形態において、可変領域は、コンドリクトイド（例えば、サメに由来）に由来してもよい。

【0092】

本明細書で使用される用語「ヒト化抗体」は、ヒト抗体定常領域及びヒト可変領域に対して高度な配列同一性を有するように修飾された非ヒト可変領域を含む、遺伝子操作された非ヒト抗体を指す。これは、抗原結合部位を形成する6つの非ヒト抗体相補性決定領域（CDR）を、相同性のヒトアクセプターフレームワーク領域（FR）上に移植することにより達成することができる。親抗体の結合親和性及び特異性を再構成するためには、親抗体（すなわち、非ヒト抗体）からのフレームワーク残基のヒトフレームワーク領域への置換が必要とされる場合がある（復帰変異）。ホモロジー・モデリングは、抗体の結合特性にとって重要なフレームワーク領域内のアミノ酸残基を同定するのに役立つことがある。したがって、ヒト化抗体は、非ヒトCDR配列、主に、場合により非ヒトアミノ酸配列に対する1つ以上のアミノ酸復帰変異を含むヒトフレームワーク領域、及び完全ヒト定常領域を含むことができる。任意選択的には、追加的なアミノ酸改変（必ずしも復帰変異ではない）を適用して、親和性及び生化学的特性などの好ましい特性を有するヒト化抗体を得ることができる。

【0093】

本明細書で使用される「キメラ抗体」という用語は、重鎖及び／又は軽鎖の一部が特定

10

20

30

40

50

の種に由来するか又は特定の抗体クラスやサブクラスに属する抗体に対応する配列と実質的同一、同一又は相当であるが、その鎖における残りの部分が他の種に由来するか又は他の抗体クラスやサブクラスに属する抗体に対応する配列と実質的同一、同一又は相当である抗体、並びに所望の生物活性を示す限りのそのような抗体の断片を意味する。ある実施形態において、キメラ抗体は、第1の種から得られるか又は由来する重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域などの免疫反応性領域又は部位、及び第2の種から得られる定常領域（完全な、部分的な又は本開示により修飾されたものであってもよい。）を含む。ある実施形態において、標的結合領域又は部位は非ヒト供給源（例えば、マウスや霊長類）に由来し、かつ定常領域はヒトに由来する。ヒト化抗体は、特別なキメラ抗体である。

【0094】

10

「可変単鎖断片」又は「s c F v」とは、免疫グロブリンの重鎖（V H）可変領域及び軽鎖（V L）可変領域の融合タンパク質を指す。いくつかの態様において、これらの領域は、約10～25個のアミノ酸の短いリンカーペプチドで連結される。前記リンカーは、柔軟性の向上のためのグリシンまたは溶解性の向上のためのセリン又はトレオニンに富んでいるものであり、V HのN末端をV LのC末端と連結することができ、その逆も可能である。このタンパク質は、定常領域の除去及びリンカーの導入にもかかわらず、元の免疫グロブリンの特異性を保持している。

【0095】

I g Gは、は、分子量およそ23,000ダルトンの2つの同一な軽鎖ポリペプチド、および分子量53,000～70,000の2つの同一な重鎖ポリペプチドを含む標準的な免疫グロブリン分子である。それらの4つの鎖は、典型的に「Y」配置におけるジスルフィド結合によって連結されており、ここで、軽鎖は、「Y」の口で始まり可変領域を通じて続ける重鎖を挟む。

20

【0096】

「生物活性」という用語は、体内に天然に存在するかまたは組換え手段によって提供または実現されるかに関わらない、分子の任意の生物学的特性を意味する。生物活性としては、受容体との結合、細胞増殖の誘導、細胞成長の抑制、他のサイトカインへの誘導、アポトーシス及び酵素活性の誘導が挙げられるが、これらに限定されない。

【0097】

「コンジュゲート」又は「薬物コンジュゲート」は、1つ又は複数の薬剤と連結されている抗体を意味する。抗体は、共有結合又はリンカーを介して薬剤と共有結合することができる。ある実施形態において、リンカーは、抗体に共有結合し、また、薬剤にも共有結合する。ある実施形態において、リンカーは、非共有結合によって抗体及び／又は薬剤に連結されている。ある実施形態において、リンカーは、共有結合によって薬剤と連結され、特異的結合を介して抗体に連結されている。ある実施形態において、リンカーは、抗体に特異的に結合できる部分であり、例えば、抗体のF c領域に結合する抗体である。ある実施形態において、複合体は、非共有結合によって1つ又は複数の薬剤に連結されている抗体を含む。

30

【0098】

「対照」又は「参照」という用語は、ある物質を指す場合、それに照らして他の試験結果が測定される、標準または比較点として使用される組成を指す。ある実施形態において、「対照」又は「参照」は、分析物（「陰性対照」）を含まないか又は分析物（「陽性対照」）を含むことが知られている組成である。陽性対照には、既知の濃度の分析物を含むことができる。「対照」及び「陽性対照」とは、既知の濃度の分析物を含む組成を指すことがある。「陽性対照」は、薬剤（例えば、分析物）の完全性のための有用な指標である測定性能特徴を確立するために使用することができる。ある実施形態において、適切な「対照」又は「参照」は、元素の役割を決定するために1つの元素のみを変更することである。ある実施形態において、対照とは、例えば、本明細書に記載のRNAi薬剤で処理された前の標的遺伝子（例えば、細胞又は対象内）レベルを指す。

40

【0099】

50

「対照」又は「参照」という用語は、それを使用する文脈に応じ、測定の基本ラインレベルも意味する。測定された基本ラインレベルは、標準又は比較点であり、測定された結果は、それに対して比較されたものである。ある実施形態において、「対照」又は「参照」とは、細胞、組織、器官又は対象が薬剤（例えば、RNAi製剤）で処理されていない場合に、前記細胞、組織、器官又は対象にある生物活性又は物質の検出レベル、例えば、遺伝子の発現レベル、該遺伝子のmRNAコピー数又は該遺伝子によってコードされたタンパク質のレベルを意味する。いくつかの実施形態において、「対照」又は「参照」は、1つの健常群（例えば、肝臓病などの疾患又は障害に罹患していない、特定の地理的または人口的制限内、または何らかの疾患または障害の研究に適する可能な制限内の一般的な人群）において測定された、細胞、組織、器官又は対象におけるいくつかの生物活性又は物質（例えば、肝臓のある酵素活性）の平均測定レベルを意味する。

10

【0100】

「対照」という用語は「対照個体」に適用することがある。「対照個体」は、類似する疾患を有する個体であり、例えば、治療を受けた個体と同じ細胞増殖性疾患を有する個体であり、治療を受けた個体とほぼ同じ年齢（疾患の階段が治療個体及び対照個体において比較可能であることを確保するために）を有する。治療を受ける個体（「患者」又は「対象」とも呼ばれる）は、細胞増殖性疾患に罹患している胎児、乳児、児童、青少年又は成人であってもよい。

【0101】

「参照」という用語は、「参照配列」にも使用することができる。「参照配列」という用語は、配列比較の基礎となる配列、例えば、核酸配列又はアミノ酸配列を指す。

20

【0102】

「エピトープ」という用語は、パラトープと呼ばれる抗体分子の可変領域における特異的抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原が複数のエピトープを有することができる。したがって、異なる抗体は抗原上の異なる領域に結合し、異なる生物学的効果を持つことができる。エピトープは、立体構造又は線状のいずれかであってもよい。立体構造エピトープは、線状ポリペプチド鎖の異なるセグメントからの空間的に並んだアミノ酸によって生成される。線状エピトープは、ポリペプチド鎖内の隣接するアミノ酸残基によって生成される。いくつかの場合には、エピトープには、抗原上の糖類、ホスホリル基、又はスルホニル基の部分が含まれてもよい。

30

【0103】

「免疫複合体」という用語は、薬剤が連結されている抗体を意味する。ある実施形態において、免疫複合体における薬剤は、治療剤又は診断剤である。ある実施形態において、薬剤は、ペプチド又は低分子医薬品である。ペプチド又は低分子医薬品は、定常重鎖のC末端或いは可変軽鎖及び／又は可変重鎖のN末端に結合することができる。

【0104】

「免疫複合体」という用語は、ペプチド又は低分子医薬品と共有結合によって融合された抗体を指す。ペプチド又は低分子医薬品は、定常重鎖のC末端或いは可変軽鎖及び／又は可変重鎖のN末端に結合することができる。

【0105】

本明細書で使用される「改善」、「向上」又は「低減」という用語は、例えば、本明細書に記載の治療の開始前の細胞又は組織における測定値、本明細書に記載の治療が行われなかった細胞又は組織における測定値、本明細書に記載の治療の開始前の同じ個体における測定値、又は本明細書に記載の治療がない場合の対照個体における測定値（又は複数の対照個体における標準測定値、例えば複数の対照個体の平均値）などの基本ライン／対照／参照測定値に対する値又はパラメータを示す。

40

【0106】

薬剤活性レベルが記載された文脈において、「阻害」、「低減」及び「減少」という用語は、かかるレベルにおける統計的に有意な減少を指す。例えば、少なくとも10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、7

50

0 %、75 %、80 %、85 %、90 %又は95 %低減してもよく、もしくは検出方法の検出レベルを下回ることがある。

【0107】

「予防」という用語は、対象における疾患症状の発生の減少を指す。上記のように、前記予防は、治療を行わない場合よりも症状が少なくなるように見られるために、完全（検出可能な症状がない）であってもよいし、部分的であってもよい。

【0108】

本明細書で使用される「組換え」という用語は、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドと関連する場合、天然には存在せずに、通常と一緒に現れない整列でポリヌクレオチドまたはポリペプチドを組み合わせることによって作り出せる、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドを指す。本明細書で使用される「組換え細胞」という用語は、1つ以上の（例えば、2個、数個）異種ポリヌクレオチドを含む天然に存在しない宿主細胞を意味する。「宿主細胞」という用語は、核酸構築物または発現ベクターの形質転換、トランスフェクション、コンダクタンスなどの影響を受けやすい任意の細胞タイプを意味する。

【0109】

「低分子医薬品」という語句とは、分子実体を指し、医薬活性を有しかつ約2 kDa未満、約1 kDa未満、約900 Da未満、約800 Da未満または約700 Da未満の分子量を有するがポリマーではない有機または有機金属である。該用語は、タンパク質または核酸以外の「医薬品」と呼ばれるほとんどの医薬化合物を包含する。ただし、小さいペプチドまたは核酸アナログは、低分子医薬品と考えられる。事例には、化学療法抗がん薬および酵素阻害剤が含まれる。低分子医薬品は、合成、半合成（即ち、天然に存在する前駆体から）、または生物学的誘導により得られる。

【0110】

本明細書で使用される「特異的に結合する」又は「特異的に結合」という用語は、結合が発生する環境において可能な結合対象を識別する能力を指す。いくつかの実施形態において、他の可能な抗体が存在する場合に1つの特定の抗原と相互作用する（例えば、優先的に相互作用する）抗体は、それと相互作用する抗原に「特異的に結合する」と言われる。いくつかの実施形態において、特異的に結合は、抗体とその標的化抗原との間の結合の程度を検出又は決定することにより評価される。いくつかの実施形態において、特異的に結合は、抗体-抗原複合物の解離レベルを検出又は決定することにより評価される。いくつかの実施形態において、特異的に結合は、抗体がその標的と別の抗体との間の代替的相互作用と競合する能力を検出又は決定することにより評価される。いくつかの実施形態において、特異的に結合は、濃度の範囲にわたってかかる検出又は決定を行うことによって評価される。一般的に、抗体は、その抗原結合ドメインを介してエピトープに結合し、かつその結合は、抗原結合ドメインとエピトープとの間の何らかの相補性を必然的に伴う。したがって、抗体は、ランダムな無関係のエピトープに結合することよりも抗原結合ドメインを介してエピトープに結合することが容易となる場合に、エピトープに「特異的に結合する」と言われる。「特異性」という用語は、本明細書において、特定の抗体が特定のエピトープに結合する相対的親和性を限定するために使用される。例えば、抗体「A」は、抗体「B」よりも所定のエピトープに対して高い特異性を有するとみなすことができ、又は抗体「A」は、関連するエピトープ「D」よりもエピトープ「C」に対して高い特異性を有するとみなすことができる。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片と抗原によって形成される複合体は、解離定数（ K_d ）が 10^{-6} M以下、 10^{-7} M以下、 10^{-8} M以下、 10^{-9} M以下、又は 10^{-10} M以下であれば、前記抗体又はその抗原結合断片は抗原に対して「特異性を有する」ことになる。ある実施形態において、抗原結合分子（例えば、抗ヒトA2aR抗体又はその抗原結合断片）の特異的に結合は、実施例4～7に記載のアッセイ法又は実質的に類似の方法を使用して、抗原結合分子と細胞表面に発現されたヒトA2aRとの優先的結合によって示すことができる。

【0111】

本明細書で使用される「対象」という用語は、哺乳動物を指す。ある実施形態において

、対象は、非ヒトの霊長類動物又はげっ歯類動物である。ある実施形態において、対象は、ヒトである。ある実施形態において、対象は、患者、例えば、ある疾患を患っているかまたは疑いのあるヒト患者である。いくつかの実施形態において、対象は、T A Z 疾患又はT A Z 関連疾患を患っているかまたは疑いのあるヒト患者である。

【0112】

核酸又はその断片に言及する場合には、「実質的同一性」又は「実質的同一」という用語は、適切なヌクレオチド挿入又は欠失とともに別の核酸（又はその相補鎖）に最適にアライメントさせた場合、以下に議論するように、F A S T A、B L A S T又はG a pなどの任意の周知の配列同一性アルゴリズムによって測定した、ヌクレオチド配列と少なくとも約95%、より好ましくは少なくとも約96%、97%、98%又は99%のヌクレオチド塩基同一性を有することを示す。ある場合には、基準核酸分子に対して実質的同一性を有する核酸分子は、基準核酸分子によってコードされるポリペプチドと同一又は実質的に類似したアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードすることができる。

10

【0113】

ポリペプチドに適用される場合、「実質的類似性」又は「実質的類似」という用語は、デフォルトのギャップ重みを使用するプログラム（例えばG A P又はB E S T F I T）などによって最適にアライメントさせた場合、2つのペプチド配列が、少なくとも95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも98%又は99%の配列同一性を共有することを意味する。好ましくは、同一でない残基位置は、保存アミノ酸置換によって異なる。「保存アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、類似の化学的特性（例えば、電荷又は疎水性）を有する側鎖（R基）を有する別のアミノ酸残基によって置換されることを意味する。一般に、保存アミノ酸置換は、タンパク質の機能的特性を実質的に変化させない。二つ以上のアミノ酸配列が保存的置換によって互いに異なっている場合には、配列同一性のパーセント又は類似度を上方に調整して置換の保存性を補正することができる。この調整を行うための手段は、当業者には周知である。例えば、P e a r s o n（1994）M e t h o d s M o l . B i o l . 24：307-331を参照されたい。類似の化学的性質を有する側鎖を有するアミノ酸群の例としては、（1）脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、（2）脂肪族ヒドロキシル基側鎖：セリン、トレオニン、（3）アミド含有側鎖：アスパラギン、グルタミン、（4）芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、（5）塩基性側鎖：リジン、アルギニン、及びヒスチジン、（6）酸性側鎖：アスパラギン酸及びグルタミン酸、ならびに（7）硫黄含有側鎖：システイン及びメチオニンが挙げられる。好ましい保存アミノ酸置換群は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸-アスパラギン酸、及びアスパラギン-グルタミンである。あるいは、保存置換とは、G o n n e t e t a l .（1992）S c i e n c e 256：1443-1445.に開示されたP A M 250対数尤度行列において正の値を有する任意の変化であることを意味する。「適度的な保存置換」とは、P A M 250対数尤度行列において負でない値を有する任意の変化であることを意味する。

20

30

【0114】

配列同一性とも呼ばれるポリペプチドの配列類似性は、典型的には、配列解析ソフトウェアを用いて測定される。タンパク質解析ソフトウェアは、様々な置換、欠失及びその他の修飾（保存アミノ酸置換を含む）に割り当てられた類似性の尺度を用いて類似配列を照合する。例えば、G C Gソフトウェアには、G a p及びB e s t f i tのようなプログラムが含まれており、これらのプログラムは、デフォルト引数を用いることにより、密接に関連するポリペプチド（異なる生物種からの相同ポリペプチド、又は野生型タンパク質及びそのバリエーションの相同ポリペプチド）の間の配列相同性又は配列同一性を決定することができる。例えば、G C Gバージョン6.1を参照されたい。ポリペプチド配列は、G C Gバージョン6.1のプログラムであるF A S T Aにより、デフォルト引数又は推奨引数を用いて比較することもできる。F A S T A（例えば、F A S T A 2及びF A S T A 3）は、クエリ配列と検索配列との間の最良の重複領域のアラインメント及び配列同一性パー

40

50

セントを提供する（Pearson（2000），上記）。本発明の配列を異なる生物由来の多数の配列を含むデータベースと比較する場合の別の好ましいアルゴリズムとしては、デフォルト引数を使用するコンピュータプログラムBLAST、特にBLASTP又はTBLASTNである。例えば、Altschulet al.（1990）J. Mol. Biol. 215：403－410及びAltschulet al.（1997）Nucleic Acids Res. 25：3389－402.を参照されたい。「配列同一」という用語は、一対の核酸又はポリペプチド分子間の比較、即ち2つのヌクレオチド配列間の関連性も意味する。一般的に、シーケンスアラインメントは、最も一致度の高いマッチングを得るためのものである。

【0115】

「治療」という用語は、疾患又は障害に関連する1つ以上の症状の改善を指す。したがって、これらの用語は、傷害、疾患、病理又は障害の治療又は改善で成功した任意の指標を指し、疾患又は障害の1つ以上の症状の発症の予防又は遅延；疾患又は障害の1つ以上の症状の重症度又は頻度の軽減；任意の客観的又は主観的パラメータの低下；寛解；症状の軽減又は傷害、病理又は障害を患者にとってより許容可能にすること；変性又は衰退の速度の減速；変性の最終点の衰弱の軽減；及び／又は患者の身体的又は精神的健康の改善を包含する。「治療」には、さらに、予防的治療が含まれても良い。

【0116】

「それを必要とする患者」、「治療を必要とする患者」又は「治療を必要とする対象」という語句には、細胞増殖性疾患の治療における本開示の抗体を投与することから利益を受ける可能な対象（例えば、哺乳動物対象）が含まれる。

【0117】

「治療有効量」、「薬理学的有効量」、「生理学的有効量」又は「有効量」という用語は、互換的に使用され、疾患又は障害の少なくとも一つの症状を改善するのに十分な活性剤の量を指す。例えば、所定のパラメータに対しては、治療有効量によれば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、40%、50%、60%、75%、80%、90%、95%、99%、又は少なくとも100%の増加又は減少が示される。治療効果は、「～倍」の増加又は減少として表すこともできる。例えば、治療有効量は、対照に対して少なくとも1.2倍、1.5倍、2倍、5倍、又はそれ以上の効果を有することができる。正確な量は、多くの要因、例えば、特定の活性剤、組成物の成分及び物理的特徴、対象患者集団、並びに体重、性別などを含む患者の考慮事項に依存し、本明細書で提供される情報又は関連文献で入手可能な情報に基づいて、当業者によって容易に決定することができる。

【0118】

本明細書で使用される「バリエント」という用語は、前駆体とするポリペプチド又はポリヌクレオチド（例えば、「親」ポリペプチド又はポリヌクレオチド）における1つ以上のアミノ酸又はヌクレオチドの挿入、置換、又は欠失の組み込みによって得られたポリペプチド又はポリヌクレオチド（例えば抗体又はポリヌクレオチド）を指す。ある実施形態において、バリエントポリペプチド又はポリヌクレオチドは、親ポリペプチド又はポリヌクレオチドのアミノ酸又はヌクレオチド配列全体と、少なくとも約85%のアミノ酸又はヌクレオチド配列の同一性、例えば、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約100%のアミノ酸又はヌクレオチド配列の同一性を有する。タンパク質又はペプチドのバリエントは、タンパク質の構造、機能又は活性を実質的に維持する。例えば、抗体のバリエントは、その抗原に特異的に結合する機能又は活性を維持及び／又は調節する（例えば、抗原の活性を阻害する）。ポリヌクレオチドの場合、そのバリエントは、親ポリヌクレオチドの機能又は活性を維持する。例えば、バリエントポリヌクレオチドは、親ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドと類似の機能又は活性を有するタンパク質又はペプチドをコードすることができる。

【0119】

本明細書で使用される「A2aR」という用語は、アデノシンA2A受容体を指す。例えば、ヒトA2aRへの具体的な言及によって他に示さない限り、「A2aR」という用語には、例えば、ヒト、霊長類動物、げっ歯類動物、イヌ科動物、ネコ科動物、ウマ科動物、及びウシ科動物由来の全ての哺乳動物種のネイティブA2aRが包含される。A2aRのヌクレオチド及びアミノ酸配列は公知であり、例えば、GenBank Accession Nos. NP_000666.2、NP_033760.2、XP_038954384.1、EHH65694.1、EAW59658.1、XP_015313061.1、NP_445746.3、及びXP_001095531.1に記載されており、その各々の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0120】

以下、例示的なヒトA2aRアミノ酸配列を示す。

MPIMGSSSVYITVELAIAVLAILGNVLVCWAVWLNLSNLQNV
VTNYFVVSLAAADIAVGVLAIIPFAITISTGFCAACHGCLF
IACFVLVLTQSSIFSLLAIAIDRYIAIRIPLRYNGLVTGT
RAKGIIAICWVLSFAIGLTPMLGWNNCGQPKEGKNHSQGC
GEGQVACLFEDVVPNMNYMVYFNFFACVLVPLLLMLGVYLR
IFLAARRQLKQMESQPLPGERARSTLQKEVHAAKSLAIIIV
GLFALCWLPLHIINCFTFFCPDCSHAPLWLMYLAIVLSHT
NSVVNPFIIYAYRIREFRQTFRKIIRSHVLRQQEPFKAAGT
SARVLA AHGSDGEQVSLRLNGHP PGVWANGSAPHPERRPN
GYALGLVSGGSAQESQGNTGLPDVELLSHELKGVCPPEPPG
LDDPLAQDGAGVS (配列番号)

【0121】

以下、例示的なヒトA2aRアミノ酸配列を示す。

VPIMGSSSVYITVELAIAVLAILGNVLVCWAVWLNLSNLQNV
VTNYFVVSLAAADIAVGVLAIIPFAITISTGFCAACHGCLF
IACFVLVLTQSSIFSLLAIAIDRYIAIRIPLRYNGLVTGT
RAKGIIAICWVLSFAIGLTPMLGWNNCGQPKEGKNHSQGC
GEGQVACLFEDVVPNMNYMVYFNFFACVLVPLLLMLGVYLR
IFLAARRQLKQMESQPLPGERARSTLQKEVHAAKSLAIIIV
GLFALCWLPLHIINCFTFFCPDCNHAPLWLMYLAIVLSHT
NSVVNPFIIYAYRIREFRQTFRKIIRSHVLRQQEPFKAAGT
SARVLA AHGSDGEQVSLRLNGHP PGVWANGSAPHPERRPN
GYALGLVSGGSTQESQGNTSLPDVELLSHELKGVCPPEPPG
LDDPLAQGGAGVS

(配列番号)

【0122】

「抗A2aR抗体」又は「A2aR抗体」という用語は、A2aRに特異的に結合する抗体又はポリペプチドを指す。ある実施形態において、抗A2aR抗体は、A2aR生物活性および／またはA2aRによって媒介される下流のシグナル伝達経路を阻害することができる。抗A2aR抗体は、CDRまたは可変領域の形態で1つまたは複数の抗原結合ドメインを含有する抗体またはポリペプチドを包含する。ある実施形態において、本発明の抗A2aR抗体は、A2aR結合および下流のシグナル伝達や、腫瘍成長の刺激、抗腫瘍免疫応答の阻害、免疫低下状態の疾患状態における免疫抑制などのA2aRによって媒介される下流の事象を含めるA2aR生物活性を（有意に、を含む任意の程度まで）遮断する、アンタゴナイズする、抑制するまたは低減させる。

【0123】

本明細書で使用される「A2aR疾患」又は「A2aR関連疾患」という用語は、A2aRによって発現される、及び／又は活性化して引き起こすか、または関連する疾患又は障害を指す。「A2aR疾患」又は「A2aR関連疾患」という用語は、A2aR遺伝子

10

20

30

40

50

の発現、複製又はタンパク質活性の調節（例えば、抑制）から利益を得ることができる疾患、障害又は病状を含む。ある実施形態において、A2aR疾患又はA2aR関連疾患は、がんである。

【0124】

二、A2aR抗体及び抗原結合分子

【0125】

本発明は、A2aRに特異的に結合するA2aR抗原結合分子を提供する。本明細書で
使用される「抗原結合分子」という用語は、単独に存在するか1つ以上の他のCDR及び
／又はフレームワーク領域（FRs）と組み合わせる、少なくとも1つの相補性決定領域
（CDR）からなる、特定の抗原に特異的に結合するタンパク質、ポリペプチド又は分子
複合体を意味する。本明細書の別の箇所で定義される用語のように、ある実施形態におい
て、抗原結合分子は、抗体又はその抗原結合断片である。ある実施形態において、本発明
に記載の抗原結合分子は、A2aRの1つまたは複数の生物学的機能を阻害する。

【0126】

1. ヒト化キメラ抗原結合分子

【0127】

本発明は、キメラ抗原結合分子、例えば、A2aRに特異的に結合できるキメラ抗体又
はその抗原結合断片を提供する。ある実施形態において、本発明は、ヒト化A2aR抗原
結合分子、例えば、ヒト化抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0128】

本発明は、ヒト化抗体を包含する。非ヒト抗体をヒト化するための複数の方法は当分野
で知られている。例えば、ヒト化抗体には、非ヒト由来の1つ以上のアミノ酸を導入する
ことができる。それらの非ヒト化アミノ酸残基は、一般に「導入」残基と呼ばれ、通常、
「導入」可変ドメインに由来する。ヒト化は、基本的に、Winter及び共同作者（
Jonesら（1986年）、《Nature》321：522－525；Riechmannら（1988年）、《Nature》332：323－327；Verhoevenら（1988年）、《Science》239：1534－1536）の方法、即ち、
ヒト抗体の対応する配列による超可変領域の配列の置換により施す。従って、そのような
「ヒト化」抗体は、実質に完全なヒト可変ドメインよりも小さい部分が非ヒト種由来の対
応する配列で置換されるキメラ抗体（米国特許第4,816,567号）である。実際に
、ヒト化抗体は、その中のいくつかの一些超可変領域残基と可能なくいくつかのFR残基が
げっ歯類動物抗体中の類似する部位での残基で置換された典型的なヒト抗体である。

【0129】

ヒト化抗体を製造するためのヒト可変ドメイン（軽鎖及び重鎖）の選択は、抗原性を低
下させるために重要である。いわゆる「ベストフィット（best-fit）」法によれば、
歯類抗体の可変ドメインの配列を、既知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリーに
対してスクリーニングし、齧歯類の配列に最も近いヒト配列を、ヒト化抗体のヒトフレ
ームワーク（FR）として受け入れる（例えば、Sims et al.（1993）J
Immunol. 151：2296；Chothia et al.（1987）J M
al. Biol. 196：901を参照）。もう1つの方法には、軽鎖又は重鎖の特定の
サブグループの全てのヒト抗体の共通配列に由来する特定のフレームワークを使用する。
同じフレームワークを数種類のヒト化抗体に使用することができる（例えば、Carter
et al.（1992）Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89
：4285；Presta et al.（1993）J Immunol. 151：2
623を参照）。

【0130】

さらに、抗原に対する高い親和性とその他の好ましい生物学的特性を保持したままに抗
体をヒト化することが一般に求められている。この目標を達成するには、親配列と種々の
概念的ヒト化産物を親配列及びヒト化配列の三次元モデルを用いて分析する方法によっ
て、ヒト化抗体を作成する。三次元免疫グロブリンモデルは当業者にはよく知られてい

般に入手可能なものである。選択した候補免疫グロブリン配列のありえそうな三次元立体配置構造を図解及び表示するコンピュータプログラムは入手可能である。これらの表示を点検することにより、候補免疫グロブリン配列の機能におけるその残基の可能な役割の分析（すなわち候補免疫グロブリンのその抗原に結合する能力に影響を与える残基の分析）が可能になる。この方法で、所望の抗体特徴（標的抗原に対する増大した親和性など）が達成されるように、共通及び移入配列からFR残基を選択し、組み合わせることができる。一般的に、超可変領域残基は、抗原結合の変動に、直接的かつ最も本質的に関与する。

【0131】

本発明は、異なる「レベル」又は「程度」を有するヒト化キメラ抗体を包含する。ある実施形態において、本発明のキメラ抗体は、「完全」にヒト化された、即ち重鎖及び軽鎖可変領域中のいずれのFR領域にも対応するヒトFR配列と実質的に同一又は同一の配列を含む。ある実施形態において、本発明のキメラ抗体は、「一部」にヒト化された、例えば、重鎖及び軽鎖可変領域中の1、2、3、4、5、6又は7つのFR領域において対応するヒトFR配列と実質的に同一又は同一の配列を含むが、残ったFR領域において他の種に対応するFR配列と実質的に同一又は同一の配列、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ニワトリ及びチャイニーズハムスターのFR配列を含む。

【0132】

ある実施形態において、A2aRは、ヒトA2aRである。例示的なヒトA2aRは、配列番号[[xx]]に示されるアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態において、前記A2aRは、カニクイザルA2aRである。例示的なカニクイザルA2aRは、配列番号[[xx]]に示されるアミノ酸配列を有する。

【0133】

2. 例示的な抗原結合分子の配列

【0134】

A2aR抗原結合分子は、モノクローナル抗体、1つ又は複数のA2aR抗原結合ドメインを含有する1つ又は複数のポリペプチド断片、或いは1つ又は複数のA2aR結合ドメインをコードする1つ又は複数の核酸の態様であり得る。ある実施形態において、本発明は、ヒト化A2aR抗体又はその抗原結合断片を提供する。ヒト化抗体は、国際特許公開番号WO2022/072601（国際特許出願PCT/US21/52819の601開示、2021年9月30日出願）に開示されている抗体をヒト化してなるものである。ヒト化抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域（「可変領域」）は、以下のように命名される。601開示中のクローン1B5-3D7に由来する可変領域は「Hu1B5-Hn」及び「Hu1B5-Ln」（それぞれ重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を表す。）と呼ばれる。601開示中のクローン3F6-9G5に由来する可変領域は、「Hu3F6-Hn」及び「Hu3F6-Ln」（それぞれ重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を表す。）と呼ばれる。601開示中のクローン3F8-12E9に由来する可変領域は、「Hu3F8-Hn」及び「Hu3F8-Ln」（それぞれ重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を表す。）と呼ばれる。上記の命名法において、「Hn」及び「Ln」における「n」は、数字を指す。各重鎖及び軽鎖の名前付き末端の数字である「n」は、識別のためだけに使用されるものである。従って、1本の重鎖及び1本の軽鎖が「H」及び「L」（それぞれ重鎖及び軽鎖を表す。）を除いて全く同じ他の命名を持っている場合、命名はそれらの特定の重鎖及び軽鎖の両方からなる抗体のいかなる機能又は特性に意味がない。例えば、Hu1B5-H1及びHu1B5-L1の命名は、「H」及び「L」を除いて全く同じであるが、これらの命名の末尾にある数字「1」は、識別のためだけに使用されるものである。Hu1B5-H1及びHu1B5-L1からなる抗体は、Hu1B5-H1及び他の軽鎖（例えば、Hu1B5-L2）からなる抗体と同等である。抗体は、その重鎖及び軽鎖を「クローン-Hm/クローン-Ln」の態様として表すことができ、式中、「m」は、「n」と同じであっても異なってもよい。例えば、Hu3F6-H3/Hu3F6-L5で表す抗体とは、重鎖Hu3F6-H3及び軽鎖Hu3F6-L5からなるものを指し、それ

らの2つの鎖はいずれも601開示中のクローン3F6-9G5に由来する。

【0135】

本発明の複数の例示的な実施形態において、抗原結合分子、例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片は、(1)前記HC DR1、HC DR2、及びHC DR3という3つの相補性決定領域(HC DR)を含む重鎖可変領域(ここで、HC DR1は、配列番号1、2及び3からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を持ち；HC DR2は、配列番号4~9及び89からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を持ち；HC DR3は、配列番号10又は11に示されるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を持つ。)と、(2)前記LC DR1、LC DR2、及びLC DR3という3つの三个相補性決定領域(LC DR)を含む軽鎖可変領域(ここで、LC DR1は、配列番号12及び13からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を持ち；LC DR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を持ち；及びLC DR3は、配列番号15又は16からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を持つ。)とを含み、ここでは、前記抗原結合分子は、ヒトA2aRに特異的に結合する。本発明に開示された例示的な抗ヒトA2aRモノクローナル抗体の例示的なHC DR和LC DRに対応するアミノ酸配列は、表1及び2に示される。

【0136】

CDRのアミノ酸配列境界は、上記のようなKabatらのものに記載されたスキーム(「Kabat」番号付けスキーム)；Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273: 927-948に記載されたもの(「Chothia」番号付けスキーム)；MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol. 262: 732-745に記載されたもの(「Contact」番号付けスキーム)；Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27: 55-77に記載されたもの(「IMGT」番号付けスキーム)；及びHonegger and Pluckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309: 657-70(「Aho」番号付けスキーム)など、多数の既知の番号付けスキームのいずれかを使用して、当業者によって決定することができる。これらの各々は、その全体が参照により援用される。CDRのアミノ酸配列境界は、2つの番号付けスキーム(例えば、Kabat及びIMGT番号付けスキーム)の組み合わせにより決定されることもできる。表1には、本発明の例示的な抗体の重鎖CDR配列を示し、ここで、CDR配列は、Kabat及びIMGT番号付けスキームに基づくCDRの組み合わせにより定義されたものである。表2には、本発明の例示的な抗体の軽鎖CDR配列を示し、ここで、CDR配列は、Kabat及びIMGT番号付けスキームに基づくCDRの組み合わせにより定義されたものである。表1及び表2において、1B5及び1B5-2とは、'601に開示されたクローン1B5-3D7に由来するCDRである。3F6及び3F6-2とは、'601に開示されたクローン3F6-9G5に由来するCDRである。3F8及び3F8-2とは、'601に開示されたクローン3F8-12E9に由来するCDRである。

【0137】

ある実施形態において、本発明は、Kabat及びIMGT番号付けスキームの組み合わせに基づいて定義されるCDRを含む抗原結合分子、例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片に関する。従って、ある実施形態において、本発明は、(1)表1に挙げられたHC DR1配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80%、85%、9

0 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %ないし約100 %の同一性を有するか、又は1、2又は3つの突然変異を含むアミノ酸配列を持つHCDR1；(2)表1に挙げられたHCDR2配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %ないし約100 %の同一性を有するか、又は1、2、3、4、5又は6つの突然変異を含むアミノ酸配列を持つHCDR2；(3)表1に挙げられたHCDR3配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %ないし約100 %の同一性を有するか、又は1又は2つの突然変異を含むアミノ酸配列を持つHCDR3；(4)表2に挙げられたLCDR1配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %ないし約100 %の同一性を有するか、又は1又は2つの突然変異を含むアミノ酸配列を持つLCDR1；(5)表2に挙げられたLCDR2配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %ないし約100 %の同一性を有するか、又は1又は2つの突然変異を含むアミノ酸配列を持つLCDR2；及び(6)表2に挙げられたLCDR3配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %ないし約100 %の同一性を有するか、又は1又は2つの突然変異を含むアミノ酸配列を持つLCDR3を含む、抗原結合分子、例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片に関する。本明細書で使用される「突然変異」という用語は、参照と比較したアミノ酸配列の変化又は差異（置換、挿入又は欠失）を意味する。ある実施形態において、突然変異は、保存的置換である。

10

20

【0138】

本明細書で使用されるCDRにおける「位置」とは、CDRのN末端から数えたアミノ酸を指す。例えば、HCDR1における1番目の位置は、HCDR1における第一のアミノ酸を指す。従って、mAB 1B5において、Kabab及びIMGT番号付けスキームの組み合わせに基づく番号付けスキームによるHCDR1の1番目の位置は、グリシン（G）である。

【0139】

表1及び2に示すようなCDRのある位置は、保存的である。例えば、表1におけるHCDR1の1番目の位置は、高度に保存されたものであり、「G」を含有する。他方、CDRにおけるある位置は、保存性が低くなる。例えば、表1におけるHCDR1の3番目の位置は、保存性が低く、「A」又は「T」であってもよい。ある実施形態において、突然変異は、CDRの1つ以上の保存性の低い位置で発生する。

30

【0140】

【表1】

表1：例示的な抗体の重鎖CDRのアミノ酸配列
(Kabab及びIMGT番号付けスキームの組み合わせ)

	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号
1B5	GFTFTRFWMN	1	RIDPYDSETQYNHKFWD	4	GRSLYGKGDY	10
1B5-2	GFTFTRFWMN	1	RIDPYDSETQYAHKFWD	5	GRSLYGKGDY	10
3F6	GFAFTSYWMN	2	RIDPSDSEAHYHHKFWG	6	LRSLYGKGDY	11
3F6-2	GFAFTSYWMN	2	RIDPSDSEAHYAHKFWD	7	LRSLYGKGDY	11
3F8	GFTFTRYWMN	3	RIDPSDSETHYHHKFWG	8	LRSLYGKGDY	11
3F8-2	GFTFTRYWMN	3	RIDPSDSETHYNAKFWD	9	LRSLYGKGDY	11
3F8-3	GFTFTRYWMN	3	RIDPSDSETHYAHKFWD	89	LRSLYGKGDY	11
N/A	GFX ₁ FTX ₂ X ₃ WMN		RIDPX ₄ DSEX ₅ X ₆ YX ₇ X ₈ KFWX ₉		X ₁₀ RSLYGKGDY	

40

【0141】

本明細書で使用されるように、X₁はA又はTであり、X₂はR又はSであり、X₃はF又はYであり、X₄はS又はYであり、X₅はA又はTであり、X₆はH又はQであり

50

、 X_7 はA、H、又はNであり、 X_8 はA又はHであり、 X_9 はD又はGであり、 X_{10} はG又はLである。

【0142】

【表2】

表2：例示的な抗原結合分子の軽鎖CDRのアミノ酸配列
(Kabatt及びIMGT番号付けスキームの組み合わせ)

	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号	LCDR3	配列番号
1B5& 1B5-2	RSSQSIVHSNGNTYLE	12	KVSNRFS	14	FQGSHVPLT	15
3F6& 3F6-2	RSSQSLVHRNGNTYLE	13	KVSNRFS	14	YQGSHVPLT	16
3F8& 3F8-2& 3F8-3	RSSQSIVHSNGNTYLE	12	KVSNRFS	14	YQGSHVPLT	16
N/A	RSSQSX ₁₁ VHX ₁₂ NGNTYLE				X ₁₃ QGSHVPLT	

【0143】

本明細書で使用されるように、 X_{11} はL又はIであり、 X_{12} はR又はSであり、かつ X_{13} はF又はYである。

【0144】

ある実施形態において、本発明は、ヒト化抗体を提供する。表3～8には、本発明の例示的なヒト化抗体又はその抗原結合断片のCDR及びFR配列を示す。

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3 : 1 B 5 - 3 D 7 由来の抗体重鎖可変領域ドメインのアミノ酸配列

	FR1	配列番号	HCDR1	配列番号	FR2	配列番号	HCDR2	配列番号	FR3	配列番号	HCDR3	配列番号	FR4	配列番号
Hu1B5-H1	QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KAS	17	GFTFT RFWMN	1	WVRQAPG QGLEWMG	22	RIDPYDSETQ YNHKFWD	4	RVTMTTRDTSTS TVYMESSLRS EDTAVYYC	25	GRSLYG KGDY	10	WGQGT VTVSS	32
Hu1B5-H2	EVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KTS	18	GFTFT RFWMN	1	WVRQAPG QGLEWMG	22	RIDPYDSETQ YNHKFWD	4	RVTMTVDTSTS TVYMESSLRS EDTAVYYC	26	GRSLYG KGDY	10	WGQGT VTVSS	32
Hu1B5-H2.1	EVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KTS	18	GFTFT RFWMN	1	WVRQAPG QGLEWIG	23	RIDPYDSETQ YNHKFWD	4	RVTMTVDTSTS TVYMESSLRS EDTAVYYC	26	GRSLYG KGDY	10	WGQGT VTVSS	32
Hu1B5-H3	EVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KTS	18	GFTFT RFWMN	1	WVRQAPG QGLEWIG	23	RIDPYDSETQ YNHKFWD	4	RATLTVDTS TVYMESSLRS EDTAVYYC	27	GRSLYG KGDY	10	WGQGT VTVSS	32
Hu1B5-H4	EVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KTS	18	GFTFT RFWMN	1	WVRQAPG QGLEWIG	23	RIDPYDSETQ YNHKFWD	4	RATLTVDKSS TVYMESSLRS EDTAVYYC	28	GRSLYG KGDY	10	WGQGT VTVSS	32
Hu1B5-H5	EVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KTS	18	GFTFT RFWMN	1	WVRQAPG QGLEWIG	23	RIDPYDSETQ YAHKFWD	5	RATLTVDKSS TVYMESSLRS EDTAVYYC	28	GRSLYG KGDY	10	WGQGT VTVSS	32
Hu1B5-H6	EVQLVQSGAEV KKPGESLRISC KTS	19	GFTFT RFWMN	1	WVRQMPG KGLEWIG	24	RIDPYDSETQ YNHKFWD	4	HATLSVDKSS TVYLQWSSLKA SDTAMYYC	29	GRSLYG KGDY	10	WGQGT VTVSS	32

10

20

【表 4】

表 4 : 1 B 5 - 3 D 7 由来の抗体軽鎖可変領域ドメインのアミノ酸配列

	FR1	配列番号	LCDR1	配列番号	FR2	配列番号	LCDR2	配列番号	FR3	配列番号	LCDR3	配列番号	FR4	配列番号
Hu1B5-L1	DVVTQSPLSLP VTLGQPASISC	34	RSSQSI VHSNGN TYLE	12	WFQQRPGQ SPRRLIY	42	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISR EAEDGVVYYC	47	FQGSHV PLT	15	FGGGTK VEIK	50
Hu1B5-L2	DVVTQSPLSLP VTLGQPASISC	34	RSSQSI VHSNGN TYLE	12	WYQQRPGQ SPRRLIY	43	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISR EAEDGVVYYC	47	FQGSHV PLT	15	FGGGTK VEIK	50
Hu1B5-L3	DVVTQSPLSLP VTLGQPASISC	34	RSSQSI VHSNGN TYLE	12	WYQQRPGQ SPRRLIY	44	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISR EAEDGVVYYC	47	FQGSHV PLT	15	FGGGTK VEIK	50
Hu1B5-L4	DVVTQSPLSLP VTPGEPASISC	35	RSSQSI VHSNGN TYLE	12	WYLQKPGQ SPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS TDFTLKISRVEA EDGVVYYC	47	FQGSHV PLT	15	FGGGTK VEIK	50
Hu1B5-L5	DIVMTQSPDSL VSLGERATINC	36	RSSQSI VHSNGN TYLE	12	WYQKPGQ PPKLLIY	46	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS TDFTLTISLQA EDVAVYYC	48	FQGSHV PLT	15	FGGGTK VEIK	50

30

40

50

【表 5】

表 5 : 3 F 6 - 9 G 5 由来の抗体重鎖可変領域ドメインのアミノ酸配列

	FR1	配列 番号	HCDR1	配列 番号	FR2	配列 番号	HCDR2	配列 番号	FR3	配列 番号	HCDR3	配列 番号	FR4	配列 番号
Hu3F6 -H1	QVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCAS	17	GFAFT SYWMN	2	WVRQAPG QGLEWMG	22	RIDPSDS EAHYHHK FWG	6	RVTMTTRDTSTS TVYMESSLRS EDTAVYYC	25	LRSLYG KGDY	11	WGHGTT VTVSS	33
Hu3F6 -H2	EVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKTS	18	GFAFT SYWMN	2	WVRQAPG QGLEWMG	22	RIDPSDS EAHYHHK FWG	6	RVTMTVDTSTS TVYMESSLRS EDTAVYYC	26	LRSLYG KGDY	11	WGHGTT VTVSS	33
Hu3F6 -H3	EVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKTS	18	GFAFT SYWMN	2	WVRQAPG QGLEWIG	23	RIDPSDS EAHYHHK FWG	6	RATLTVDTSSS TVYMESSLRS EDTAVYYC	27	LRSLYG KGDY	11	WGHGTT VTVSS	33
Hu3F6 -H4	EVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKTS	18	GFAFT SYWMN	2	WVRQAPG QGLEWIG	23	RIDPSDS EAHYHHK FWG	6	RATLTVDKSSS TVYMESSLRS EDTAVYYC	28	LRSLYG KGDY	11	WGHGTT VTVSS	33
Hu3F6 -H5	EVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKTS	18	GFAFT SYWMN	2	WVRQAPG QGLEWIG	23	RIDPSDS EAHYAHK FWG	7	RATLTVDKSSS TVYMESSLRS EDTAVYYC	28	LRSLYG KGDY	11	WGHGTT VTVSS	33
Hu3F6 -H6	EVQLVQSGAEVKK PGESLRISCKAS	20	GFAFT SYWMN	2	WVRQMPG KGLEWIG	24	RIDPSDS EAHYHHK FWG	6	HATLSVDKSSS TVYLQWSSLKA SDTAMYYC	29	LRSLYG KGDY	11	WGHGTT VTVSS	33

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6 : 3 F 6 - 9 G 5 由来の抗体軽鎖可変領域ドメインのアミノ酸配列

	FR1	配列番号	LCDR1	配列番号	FR2	配列番号	LCDR2	配列番号	FR3	配列番号	LCDR3	配列番号	FR4	配列番号
Hu3F6-L1	DVVMTQSPLSLP VTLGQPASISC	34	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WFQQRPGQ SPRRLIY	42	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVIYYC	47	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50
Hu3F6-L2	DVVMTQSPLSLP VTLGQPASISC	34	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WYQQRPGQ SPRRLIY	43	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVIYYC	47	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50
Hu3F6-L3	DVVMTQSPLSLP VTLGQPASISC	34	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WYQQRPGQ SPRRLIY	44	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVIYYC	47	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50
Hu3F6-L4	DIVMTQTPLSLP VTPGQPASISC	37	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WYLQKPGQ SPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVIYYC	47	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50
Hu3F6-L5	DVVMTQTPLSLP VTPGQPASISC	38	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WYLQKPGQ SPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVIYYC	47	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50
Hu3F6-L6	DIVMTQTTPSLP VNPGEPAISIC	39	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WYLQKPGQ SPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GSDFTLKISWV EAEDVGVIYYC	49	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50
Hu3F6-L7	DVVMTQTTPSLP VNPGEPAISIC	40	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WYLQKPGQ SPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GSDFTLKISWV EAEDVGVIYYC	49	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50
Hu3F6-L8	DVVMTQSPLSLP VTPGEPAISIC	35	RSSQSLVH RNGNTYLE	13	WYLQKPGQ SPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGS GTDFTLKISRV EAEDVGVIYYC	47	YQGSH VPLT	16	FGGGTK VEIK	50

10

20

30

40

50

【表 7】

表 7 : 3 F 8 - 1 2 E 9 由来の抗体重鎖可変領域ドメインのアミノ酸配列

	FR1	配列番号	HCDR1	配列番号	FR2	配列番号	HCDR2	配列番号	FR3	配列番号	HCDR3	配列番号	FR4	配列番号
Hu3F8-H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS	17	GFTFTRYWMN	3	WVRQAPGQGLEWMG	22	RIDPSDSETHYNHKFWG	8	RVTMTRDSTSTVYMESSLRSEDNAVYYC	25	LRSLYGKGDY	11	WGQGTTVTVSS	32
Hu3F8-H2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS	21	GFTFTRYWMN	3	WVRQAPGQGLEWMG	22	RIDPSDSETHYNHKFWG	8	RVTMTVDSTSTVYMESSLRSEDNAVYYC	26	LRSLYGKGDY	11	WGQGTTVTVSS	32
Hu3F8-H3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS	21	GFTFTRYWMN	3	WVRQAPGQGLEWIG	23	RIDPSDSETHYNHKFWG	8	RATLTVDSTSTVYMESSLRSEDNAVYYC	30	LRSLYGKGDY	11	WGQGTTVTVSS	32
Hu3F8-H4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS	21	GFTFTRYWMN	3	WVRQAPGQGLEWIG	23	RIDPSDSETHYNHKFWG	8	RATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYC	31	LRSLYGKGDY	11	WGQGTTVTVSS	32
Hu3F8-H5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS	21	GFTFTRYWMN	3	WVRQAPGQGLEWIG	23	RIDPSDSETHYNKFWG	9	RATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYC	31	LRSLYGKGDY	11	WGQGTTVTVSS	32
Hu3F8-H5.1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS	21	GFTFTRYWMN	3	WVRQAPGQGLEWIG	23	RIDPSDSETHYAHKFWG	89	RATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYC	31	LRSLYGKGDY	11	WGQGTTVTVSS	32
Hu3F8-H6	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKAS	20	GFTFTRYWMN	3	WVRQMPGQGLEWIG	24	RIDPSDSETHYNHKFWG	8	HATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYYC	29	LRSLYGKGDY	11	WGQGTTVTVSS	32

10

20

【表 8】

表 8 : 3 F 8 - 1 2 E 9 由来の抗体軽鎖可変領域ドメインのアミノ酸配列

	FR1	配列番号	LCDR1	配列番号	FR2	配列番号	LCDR2	配列番号	FR3	配列番号	LCDR3	配列番号	FR4	配列番号
Hu3F8-L1	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC	34	RSSQSIVHSNGNTYLE	12	WFQQRPGQSPRRLLIY	42	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	47	YQGSHPVLT	16	FGGGTKVEIK	50
Hu3F8-L2	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC	34	RSSQSIVHSNGNTYLE	12	WYQQRPGQSPRRLLIY	43	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	47	YQGSHPVLT	16	FGGGTKVEIK	50
Hu3F8-L3	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC	34	RSSQSIVHSNGNTYLE	12	WYQQRPGQSPRRLLIY	44	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	47	YQGSHPVLT	16	FGGGTKVEIK	50
Hu3F8-L4	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	41	RSSQSIVHSNGNTYLE	12	WYLQKPGQSPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	47	YQGSHPVLT	16	FGGGTKVEIK	50
Hu3F8-L5	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	35	RSSQSIVHSNGNTYLE	12	WYLQKPGQSPQLLIY	45	KVSNRFS	14	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	47	YQGSHPVLT	16	FGGGTKVEIK	50

30

40

50

【 0 1 4 5 】

表 9 ～ 1 6 に本発明のいくつかの例示的な抗体の F R 配列を示す。

【 表 9 】

表 9：重鎖 F R 1 のアミノ酸配列

重鎖	配列	配列番号
Hu1B5-H1 ¹	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	17
Hu1B5-H2 ²	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKTS	18
Hu1B5-H6	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKTS	19
Hu3F6-H6 ³	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKAS	20
Hu3F8-H2 ⁴	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	21
	X14-V-Q-L-V-Q-S-G-A-E-V-K-K-P-G-A-S-V-K-V-S-C-K-X15-S (配列番号) (配列番号19及び20を含まず) E-V-Q-L-V-Q-S-G-A-E-V-K-K-P-G-E-S-L-R-I-S-C-K-X16-S (配列番号) (配列番号19及び20のみ)	

10

【 0 1 4 6 】

¹ は、H u 3 F 6 - H 1 及び H u 3 F 8 - H 1 を表す。

【 0 1 4 7 】

² は、H u 1 B 5 - H 2 . 1、H u 1 B 5 - H 3、H u 1 B 5 - H 4、H u 1 B 5 - H 5、H u 3 F 6 - H 2、H u 3 F 6 - H 3、H u 3 F 6 - H 4、及び H u 3 F 6 - H 5 を表す。

20

【 0 1 4 8 】

³ は、H u 3 F 8 - H 6 を表す。

【 0 1 4 9 】

⁴ は、H u 3 F 8 - H 2、H u 3 F 8 - H 3、H u 3 F 8 - H 4、H u 3 F 8 - H 5、及び H u 3 F 8 - 5 . 1 を表す。

【 0 1 5 0 】

本明細書で使用されるように、X 1 4 は E 又は Q であり、X 1 5 は A 又は T であり、X 1 6 は A 又は T である。

30

【 表 1 0 】

表 1 0：重鎖 F R 2 のアミノ酸配列

重鎖	配列	配列番号
Hu1B5-H1 ¹	WVRQAPGQGLEWMG	22
Hu1B5-H2. 1 ²	WVRQAPGQGLEWIG	23
Hu1B5-H6 ³	WVRQMPGKLEWIG	24
	W-V-R-Q-X17-P-G-X18-G-L-E-W-X19-G	

【 0 1 5 1 】

¹ は、H u 1 B 5 - H 2、H u 1 B 5 - H 2、H u 3 F 6 - H 1、H u 3 F 6 - H 2、H u 3 F 8 - H 1、及び H u 3 F 8 - H 2 を表す。

40

【 0 1 5 2 】

² は、H u 1 B 5 - 3、H u 1 B 5 - H 4、H u 1 B 5 - H 5、H u 3 F 6 - H 3、H u 3 F 6 - H 4、H u 3 F 6 - H 5、H u 3 F 8 - H 3、H u 3 F 8 - H 4、H u 3 F 8 - H 5、及び H u 3 F 8 - H 5 . 1 を表す。

【 0 1 5 3 】

³ は、H u 3 F 6 - H 6 及び H u 3 F 8 - H 6 を表す。

【 0 1 5 4 】

本明細書で使用されるように、X 1 7 は A 又は M であり、X 1 8 は K 又は Q であり、X

50

19はI又はMである。

【表11】

表11：重鎖FR3のアミノ酸配列

重鎖	配列	配列番号
Hu1B5-H1 ¹	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	25
Hu1B5-H2 ²	RVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	26
Hu1B5-H3 ³	RATLTVDTSSSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	27
Hu1B5-H4 ⁴	RATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	28
Hu1B5-H6 ⁵	HATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYYC	29
Hu3F8-H3	RATLTVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	30
Hu3F8-H4 ⁶	RATLTVDKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	31
	R-X20-T-X21-T-X22-D-X23-S-X24-S-T-V-Y-M-E-L-S-S-L-R-S-E-D-T-A-V-Y-Y-C (配列番号29を含まず)	

10

【0155】

¹は、Hu3F6-H1及びHu3F8-H1を表す。

【0156】

²は、Hu1B5-H2.1、Hu3F6-H2、及びHu3F8-H2を表す。

【0157】

³は、Hu3F6-H3を表す。

20

【0158】

⁴は、Hu1B5-H5、Hu3F6-H4、及びHu3F6-H5を表す。

【0159】

⁵は、Hu3F6-H6、及びHu3F8-H6を表す。

【0160】

⁶は、Hu3F8-H5、及びHu3F8-H5.1を表す。

【0161】

本明細書で使用されるように、X20はA又はVであり、X21はL又はMであり、X22はR又はVであり、X23はK又はTであり、X24はS又はTである。

30

【表12】

表12：重鎖FR4のアミノ酸配列

重鎖	配列	配列番号
Hu1B5-H1 ¹	WGQGTTVTVSS	32
Hu3F6-H1 ²	WGHGTTTVTVSS	33
	W-G-X25-G-T-T-V-T-V-S-S	

【0162】

¹は、1B5-3D7及び3F8-12E9に由来する重鎖を表す。

40

【0163】

²は、3F6-9G5に由来する重鎖を表す。

【0164】

本明細書で使用されるように、X25は、H又はQである。

50

【表 1 3】

表 1 3 : 軽鎖 F R 1 のアミノ酸配列

軽鎖	配列	配列番号
Hu1B5-L1 ¹	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC	34
Hu1B5-L4 ²	DVVMTQSPLSLPVTGPGEASISC	35
Hu1B5-L5	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	36
Hu3F6-L4	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC	37
Hu3F6-L5	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISC	38
Hu3F6-L6	DIVMTQTTPSLPVNPGEPASISC	39
Hu3F6-L7	DVVMTQTTPSLPVNPGEPASISC	40
Hu3F8-L4	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISC	41
	D-X26-V-M-T-Q-X27-P-X28-S-L-X29-V-X30-X31-G-X32-P-A-S-I-S-C (配列番号 36 を含まず)	

10

【0 1 6 5】

¹ は、H u 1 B 5 - L 2、H u 1 B 5 - L 3、H u 3 F 6 - L 1、H u 3 F 6 - L 2、H u 3 F 6 - L 3、H u 3 F 8 - L 1、H u 3 F 8 - L 2、及び H u 3 F 8 - L 3 を表す。

【0 1 6 6】

² は、H u 3 F 6 - L 8、及び H u 3 F 8 - L 5 を表す。

20

【0 1 6 7】

本明細書で使用されるように、X 2 6 は I 又は V であり、X 2 7 は S 又は T であり、X 2 8 は D、L 又は P であり、X 2 9 は A、P 又は S であり、X 3 0 は N、S 又は T であり、X 3 1 は L 又は P であり、X 3 2 は E 又は Q である。

【表 1 4】

表 1 4 : 軽鎖 F R 2 のアミノ酸配列

軽鎖	配列	配列番号
Hu1B5-L1 ¹	WFQQRPGQSPRRLIY	42
Hu1B5-L2 ²	WYQQRPGQSPRRLIY	43
Hu1B5-L3 ³	WYQQRPGQSPRRLIY	44
Hu1B5-L4 ⁴	WYLQKPGQSPQLLIY	45
Hu1B5-L5	WYQKPGQPPKLLIY	46
	W-X33-X34-Q-X35-P-G-Q-X36-P-X37-X38-L-I-Y	

30

【0 1 6 8】

¹ は、H u 3 F 6 - L 1、及び H u 3 F 8 - L 1 を表す。

【0 1 6 9】

² は、H u 3 F 6 - L 2、及び H u 3 F 8 - L 2 を表す。

40

【0 1 7 0】

³ は、H u 3 F 6 - L 3、及び H u 3 F 8 - L 3 を表す。

【0 1 7 1】

⁴ は、H u 3 F 6 - L 4、H u 3 F 6 - L 5、H u 3 F 6 - L 6、H u 3 F 6 - L 7、H u 3 F 6 - L 8、H u 3 F 8 - L 4、及び H u 3 F 8 - L 5 を表す。

【0 1 7 2】

本明細書で使用されるように、X 3 3 は F 又は Y であり、X 3 4 は L 又は Q であり、X 3 5 は K 又は R であり、X 3 6 は P 又は S であり、X 3 7 は K、Q 又は R であり、X 3 8 は L 又は R である。

50

【表 1 5】

表 1 5 : 軽鎖 F R 3 のアミノ酸配列

軽鎖	配列	配列番号
Hu1B5-L1 ¹	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	47
Hu1B5-L5	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC	48
Hu3F6-L6 ²	GVPDRFSGSGSGSDFTLKISWVEAEDVGVYYC	49
	G-V-P-D-R-F-S-G-S-G-S-G-X39-D-F-T-L-X40-I-S-X41-X42-X43-A-E-D-V-X44-V-Y-Y-C	

10

【0 1 7 3】

¹ は、Hu1B5-L2、Hu1B5-L3、Hu1B5-L4、Hu3F6-L1、Hu3F6-L2、Hu3F6-L3、Hu3F6-L4、Hu3F6-L5、Hu3F6-L8、Hu3F8-L1、Hu3F8-L2、Hu3F8-L3、Hu3F8-L4、及びHu3F8-L5を表す。

【0 1 7 4】

² は、Hu3F6-L7を表す。

【0 1 7 5】

本明細書で使用されるように、X39はS又はTであり、X40はK又はTであり、X41はR、S又はWであり、X42はL又はVであり、X43はE又はQであり、かつX44はA又はGである。

20

【表 1 6】

表 1 6 : 軽鎖 F R 4 のアミノ酸配列

軽鎖	配列	配列番号
Hu1B5-L1 ¹	FGGGTKVEIK	50

【0 1 7 6】

¹ は、全ての軽鎖を表す。

【0 1 7 7】

いくつかの実施形態において、前記抗体又はその抗原結合断片は、(1) 配列番号51～70からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)と、(2) 配列番号71～88からなる群より選ばれるアミノ酸配列に対して約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%ないし約100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)とを含み、ここで、前記抗体又はその抗原結合断片は、ヒトA2aRに特異的に結合する。表18及び19には本発明に開示された例示的な抗ヒトA2aRモノクローナル抗体の例示的なHCVR及びLCVRのアミノ酸配列を示す。表19及び20にはそれぞれ本発明の例示的な抗ヒトA2aR抗体のHCVR及びLCVRをコードするDNAの例示的なヌクレオチド配列を示す。

30

40

50

【表 17-1】

表 17：例示的な抗原結合分子のHCVRのアミノ酸配列

重鎖	配列	配列番号
Hu1B5-H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPY DSETQYNHKFWDRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCGRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	51
Hu1B5-H2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPY DSETQYNHKFWDRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCGRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	52
Hu1B5-H2.1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDPY DSETQYNHKFWDRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCGRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	53
Hu1B5-H3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDPY DSETQYNHKFWDRATLTVDTSSTVYMELSSLRSEDATVYYCGRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	54
Hu1B5-H4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDPY DSETQYNHKFWDRATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDATVYYCGRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	55
Hu1B5-H5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDPY DSETQYAHKFWDRA TLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDATVYYCGRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	56
Hu1B5-H6	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKTSGFTFTRFWMNWVRQMPGKLEWIGRIDPY DSETQYNHKFWDHATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYYCGRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	57
Hu3F6-H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPS DSEAHYHHKFWGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCLRSLYKGKDYWG HGTTVTSS	58
Hu3F6-H2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPS DSEAHYHHKFWGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCLRSLYKGKDYWG HGTTVTSS	59
Hu3F6-H3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDPS DSEAHYHHKFWGRATLTVDTSSTVYMELSSLRSEDATVYYCLRSLYKGKDYWG HGTTVTSS	60
Hu3F6-H4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDPS DSEAHYHHKFWGRATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDATVYYCLRSLYKGKDYWG HGTTVTSS	61
Hu3F6-H5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDPS DSEAHYAHKFWRATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDATVYYCLRSLYKGKDYWG HGTTVTSS	62
Hu3F6-H6	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKASGFAFTSYWMNWVRQMPGKLEWIGRIDPS DSEAHYHHKFWGHATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYYCLRSLYKGKDYWG HGTTVTSS	63
Hu3F8-H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPS DSETHYNHKFWGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCLRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	64
Hu3F8-H2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPS DSETHYNHKFWGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCLRSLYKGKDYWG QGTTVTSS	65

10

20

30

40

50

【表 1 7 - 2】

Hu3F8-H3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGGLEWIGRIDPS DSETHYNHKFWGRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYWG QGTTVTVSS	66
Hu3F8-H4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGGLEWIGRIDPS DSETHYNHKFWGRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYWG QGTTVTVSS	67
Hu3F8-H5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGGLEWIGRIDPS DSETHYNAKFWGRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYWG QGTTVTVSS	68
Hu3F8-H5, 1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGGLEWIGRIDPS DSETHYAHKFWGRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYWG QGTTVTVSS	69
Hu3F8-H6	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKASGFTFTRYWMNWVRQMPGKLEWIGRIDPS DSETHYNHKFWGHATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYCLRSLYGKGDYWG QGTTVTVSS	70

10

20

30

40

50

【表 18 - 1】

表 18 : 例示的な抗原結合分子のピログルタミル化HCV Rのアミノ酸配列

重鎖	配列	配列番号
Hu1B5-H1	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDP YDSETQYNHKFWDRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCGRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu1B5-H2	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDP YDSETQYNHKFWDRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCGRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu1B5-H2.1	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP YDSETQYNHKFWDRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCGRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	10
Hu1B5-H3	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP YDSETQYNHKFWDRATLTVDTSSTVYMELSSLRSEDAVYYCGRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu1B5-H4	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP YDSETQYNHKFWDRATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDAVYYCGRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu1B5-H5	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFTFTRFWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP YDSETQYAHKFWRATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDAVYYCGRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu1B5-H6	pEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKTSGFTFTRFWMNWVRQMPGKGLEWIGRIDP YDSETQYNHKFWDHATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYYCGRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	20
Hu3F6-H1	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDP SDSEAHYHHKFWGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCLRSLYGKGDYW GHGTTTVTVSS	
Hu3F6-H2	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDP SDSEAHYHHKFWGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCLRSLYGKGDYW GHGTTTVTVSS	
Hu3F6-H3	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP SDSEAHYHHKFWGRATLTVDTSSTVYMELSSLRSEDAVYYCLRSLYGKGDYW GHGTTTVTVSS	
Hu3F6-H4	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP SDSEAHYHHKFWGRATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDAVYYCLRSLYGKGDYW GHGTTTVTVSS	30
Hu3F6-H5	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGFAFTSYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP SDSEAHYAHKFWRATLTVDKSSSTVYMELSSLRSEDAVYYCLRSLYGKGDYW GHGTTTVTVSS	
Hu3F6-H6	pEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKASGFAFTSYWMNWVRQMPGKGLEWIGRIDP SDSEAHYHHKFWGHATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYYCLRSLYGKGDYW GHGTTTVTVSS	
Hu3F8-H1	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDP SDSETHYHHKFWGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCLRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu3F8-H2	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDP SDSETHYHHKFWGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCLRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	40

【表 1 8 - 2】

Hu3F8-H3	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP SDSETHYNHKFWGRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu3F8-H4	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP SDSETHYNHKFWGRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu3F8-H5	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP SDSETHYNAKFWRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu3F8-H5, 1	pEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYWMNWVRQAPGQGLEWIGRIDP SDSETHYAHKFWRATLTVDKSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCLRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	
Hu3F8-H6	pEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKASGFTFTRYWMNWVRQMPGKGLEWIGRIDP SDSETHYNHKFWGHATLSVDKSSSTVYLQWSSLKASDTAMYYCLRSLYGKGDYW GQGTTTVTVSS	

10

20

30

40

50

【表 19 - 1】

表 19 : 例示的な抗原結合分子の L C V R のアミノ酸配列

軽鎖	配列	配列番号
Hu1B5-L1	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIHVSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPLTFGGGTK VEIK	71
Hu1B5-L2	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIHVSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPLTFGGGTK VEIK	72
Hu1B5-L3	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIHVSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPLTFGGGTK VEIK	73
Hu1B5-L4	DVVMTQSPSLPVTLPGEPAISCRSSQSIHVSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPLTFGGGTK VEIK	74
Hu1B5-L5	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSIHVSNGNTYLEWFQQRPGQSPQLLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCFQGSHVPLTFGGGTK VEIK	75
Hu3F6-L1	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	76
Hu3F6-L2	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	77
Hu3F6-L3	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	78
Hu3F6-L4	DIVMTQTPLSLVTPGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	79
Hu3F6-L5	DVVMTQTPLSLVTPGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	80
Hu3F6-L6	DIVMTQTTPSLPVNPGEPAISCRSSQSLVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGDFTLKISWVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	81
Hu3F6-L7	DVVMTQTTPSLPVNPGEPAISCRSSQSLVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGDFTLKISWVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	82
Hu3F6-L8	DVVMTQSPSLPVTLPGEPAISCRSSQSLVHRNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	83
Hu3F8-L1	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIHVSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	84
Hu3F8-L2	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIHVSNGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIY KVSNNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	85

10

20

30

40

50

【表 1 9 - 2】

Hu3F8-L3	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYQQRPGQSPRLLIY KVSNRFSGVPPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	86
Hu3F8-L4	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	87
Hu3F8-L5	DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGSHVPLTFGGGTK VEIK	88

10

20

30

40

50

【表 20 - 1】

表 20 : 例示的な抗原結合分子のHCVRをコードするヌクレオチド配列

重鎖	配列	配列番号
Hu1B5-H1	CAGGTTCACTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATTCTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTACGACTCCGAGACACAGTACAACCAC AAGTTCTGGGACCGCGTGACCATGACCAGAGACACCTCTACCTCCACCGTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGGCAGATCTCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	
Hu1B5-H2	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCCGGCTTCACCTTCACCAGATTCTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTACGACTCCGAGACACAGTACAACCAC AAGTTCTGGGACAGAGTGACCATGACCGTGGACACCTCCACCAGCACCCTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGGCAGATCTCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	10
Hu1B5-H2. 1	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCCGGCTTCACCTTCACCAGATTCTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACTCCGAGACACAGTACAACCAC AAGTTCTGGGACAGAGTGACCATGACCGTGGACACCTCCACCAGCACCCTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGGCAGATCTCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	
Hu1B5-H3	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCCGGCTTCACCTTCACCAGATTCTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACTCCGAGACACAGTACAACCAC AAGTTCTGGGACAGAGCTACCCTGACCGTGGACACCTCCTCCTCCACCGTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGGCAGATCTCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	20
Hu1B5-H4	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCCGGCTTCACCTTCACCAGATTCTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACTCCGAGACACAGTACAACCAC AAGTTCTGGGACAGAGCTACCCTGACCGTGGACAAGTCTCCTCCACCGTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGGCAGATCTCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	
Hu1B5-H5	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCCGGCTTCACCTTCACCAGATTCTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACTCCGAGACACAGTACGCCCAC AAGTTCTGGGACAGAGCTACCCTGACCGTGGACAAGTCTCCTCCACCGTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGGCAGATCTCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	30
Hu1B5-H6	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCTGGCGAGTCCCTGCGGATCTC CTGCAAGACCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATTCTGGATGAACTGGGTCCGACAGATGCCCG GCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACTCCGAGACACAGTACAACCAC AAGTTCTGGGACACGCTACCCTGTCCGTGGACAAGTCTCCTCTACCGTGTACCTGCAGTG GTCTCTCTGAAGGCCTCTGACACCGCCATGTACTACTGCGGCAGATCCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	40

【表 20 - 2】

Hu3F6-H1	CAGGTTGAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCTTCTGGCTTCGCCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTCTGACTCTGAGGCCACTACCACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGTGACCATGACCAGAGACACCTCCACCAGCACCGTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCATGGCACCACAGTGACCGTGTCTCT	
Hu3F6-H2	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCTGGCTTCGCCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTCTGACTCTGAGGCCACTACCACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGTGACCATGACCGTGGACACCTCTACCTCCACCCTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCATGGCACCACAGTGACCGTGTCTCT	10
Hu3F6-H3	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCTGGCTTCGCCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTCTGACAGCGAGGCCACTACCACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGCTACCTGACCGTGGACACCTCTCCTCCACCCTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCATGGCACCACAGTGACCGTGTCTCT	
Hu3F6-H4	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCTGGCTTCGCCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTCTGACAGCGAGGCCACTACCACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGCTACCTGACCGTGGACAAGTCTCTCCACCCTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCATGGCACCACAGTGACCGTGTCTCT	20
Hu3F6-H5	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGACCTCTGGCTTCGCCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTCTGACAGCGAGGCCACTACGCCAC AAGTTTGGGGCAGAGCTACCTGACCGTGGACAAGTCTCTCCACCCTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCATGGCACCACAGTGACCGTGTCTCT	
Hu3F6-H6	GAAGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCTGGCGAGTCCCTGCGGATCTC TTGCAAGGCTTCTGGCTTCGCCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGACAGATGCCTG GCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCCGATCGACCCCTCTGATAGCGAGGCTCACTACCACCAC AAGTTCTGGGGCCAGCTACCTGTCTGTGGACAAGTCTCTCCACCCTGTACCTGCAGTG GTCTCTCTGAAGGCCTCTGACACCGCCATGTACTACTGCCTGAGATCCCTGTACGGCAAGG GCGACTATTGGGGCCATGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	30
Hu3F8-H1	CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAATCGACCCCTCCGACTCCGAGACACACTACAACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGTGACCATGACCAGAGACACCTCCACCAGCACCGTGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	40

【表 20 - 3】

Hu3F8-H2	GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTTGAGTGGATGGGCAGAAATCGACCCCTCCGACTCCGAGACACACTACAACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGTGACCATGACCGTGGACACCTCTACCTCCACCGGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	
Hu3F8-H3	GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAAATCGACCCCTCCGACTCCGAGACACACTACAACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGCTACCCTGACCGTGGACACCTCTACCTCCACCGGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	10
Hu3F8-H4	GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAAATCGACCCCTCCGACTCCGAGACACACTACAACCAC AAGTTCTGGGGCAGAGCTACCCTGACCGTGGACAAGTCTACCTCCACCGGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	
Hu3F8-H5	GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAAATCGACCCCTCCGACTCCGAGACACACTACAACGCC AAGTTCTGGGGCAGAGCTACCCTGACCGTGGACAAGTCTACCTCCACCGGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	20
Hu3F8-H5. 1	GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTC CTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATACTGGATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTG GACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAGAAATCGACCCCTCCGACTCCGAGACACACTACGCCAC AAGTTCTGGGGCAGAGCTACCCTGACCGTGGACAAGTCTACCTCCACCGGTACATGGAAC GTCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGAGAAGCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	
Hu3F8-H6	GAAGTGCAGCTGGTGCAATCTGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCTGGCGAGTCCCTGCGGATCTC TTGCAAGGCCTCTGGCTTCACCTTCACCAGATACTGGATGAACTGGGTCCGACAGATGCCCCG GCAAAGGCCTGGAATGGATCGGCAGAAATCGACCCCTCCGACTCCGAGACACACTACAACCAC AAGTTCTGGGGCCACGCTACCCTGTCCGTGGACAAGTCTAGCTCCACCGGTACCTGCAGTG GTCTCTCTGAAGGCTTCCGACACCGCCATGTACTACTGCCTGAGATCCCTGTACGGCAAGG GCGATTATTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAGTGTCTCT	30

【表 2 1 - 1】

表 2 1 : 例示的な抗原結合分子の L C V R をコードするヌクレオチド配列

軽鎖	配列	配列番号
Hu1B5-L1	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTTCC AGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGCTTCCAAGGCTCTACGTGCCCTGACATTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAATCAAG	
Hu1B5-L2	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC AGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGCTTCCAAGGCTCTACGTGCCCTGACATTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAATCAAG	10
Hu1B5-L3	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC AGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGCTTCCAAGGCTCTACGTGCCCTGACATTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAATCAAG	
Hu1B5-L4	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC TGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGCTTCCAAGGCTCTACGTGCCCTGACATTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAATCAAG	20
Hu1B5-L5	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACAGCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGCCACCAT CAACTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC AGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTACCCTGACAATCAGCTCCCT GCAGGCCGAGGATGTGGGCGTGTAATACTGCTTCCAAGGCTCCACGTGCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG	
Hu3F6-L1	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCTCTGGTGACAGAAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTTCC AGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGTTACCAGGGCTCTACGTGCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG	30
Hu3F6-L2	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCTCTGGTGACAGAAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC AGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTAATACTGTTACCAGGGCTCTACGTGCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG	40

【表 2 1 - 2】

Hu3F6-L3	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCTCTGGTGACAGAAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC AGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	
Hu3F6-L4	GACATCGTGATGACCCAGACACCTCTGAGCCTGAGCGTGACACCTGGACAGCCTGCCTCCAT CTCCTGCAGATCCTCTCAGTCCCTGGTGACAGAAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC TGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	10
Hu3F6-L5	GACGTGGTCATGACACAGACCCCTCTGAGCCTGTCTGTGACCCCTGGACAGCCTGCCTCCAT CTCCTGCAGATCCTCTCAGTCCCTGGTGACAGAAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC TGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	
Hu3F6-L6	GACATCGTGATGACCCAGACACCTCTAGCCTGCCTGTGAATCCTGGCGAGCCTGCCTCCAT CTCCTGCAGATCTTCTCAGTCTCTGGTGACCCGGAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC TGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCCGGCTCTGGATCCGACTTTACCCTGAAGATCTCCTGGGT CGAAGCCGAGGATGTGGGCGTGTACTACTGCTACCAGGGCTCTCATGTGCCCCTGACATTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAAG	20
Hu3F6-L7	GACGTGGTCATGACACAGACCCCTCCAAGCCTGCCTGTGAATCCTGGCGAGCCTGCCTCCAT CTCCTGCAGATCTTCTCAGTCTCTGGTGACCCGGAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC TGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCCGGCTCTGGATCCGACTTTACCCTGAAGATCTCCTGGGT CGAAGCCGAGGATGTGGGCGTGTACTACTGCTACCAGGGCTCTCATGTGCCCCTGACATTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAAG	
Hu3F6-L8	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACACCTGGCGAGCCTGCTTCCAT CTCCTGCAGATCCTCTCAGTCTCTGGTGACCCGGAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATC TGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTCAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	30
Hu3F8-L1	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCAT CTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTTCC AGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	40

【表 2 1 - 3】

Hu3F8-L2	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCATCTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATCAGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACGGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	
Hu3F8-L3	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACATTGGGACAGCCTGCCTCCATCTCTTGCCGGTCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATCAGCAGCGGCCTGGCCAGTCTCCTAGACTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	10
Hu3F8-L4	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCACTGAGCCTGCCTGTGACACCTGGCGAGCCTGCTTCCATCTCCTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGAGTCCACAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	
Hu3F8-L5	GACGTGGTCATGACACAGAGCCCTCTGAGCCTGCCTGTGACACCTGGCGAGCCTGCTTCCATCTCCTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCACAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGC GTGCCCCACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTTACCAGGGCTCTCACGTGCCCTGACATTTG GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG	20

【0178】

ある実施形態において、本発明の抗原結合分子、例えば、抗体又はその抗原結合断片は、翻訳後に修飾される。翻訳後の修飾の例には、カルボキシペプチダーゼによる重鎖のC末端におけるリジンの切断、ピログルタミル化による重鎖及び軽鎖のN末端におけるグルタミン又はグルタミン酸のピログルタミン酸への修飾、グリコシル化、酸化、脱アミド化、及び糖化が含まれる。このような翻訳後の修飾は様々な抗体で起こることが知られている（Journal of Pharmaceutical Sciences、2008、Vol. 97、p. 2426-2447を参照、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。）。翻訳後修飾された抗原結合分子、例えば抗体又はその抗原結合断片の例としては、重鎖可変領域のN末端でのピログルタミル化及び／又は重鎖のC末端でのリジンの欠失を受けた抗原結合分子、例えば抗体又はその抗原結合断片が挙げられる。N末端がピログルタミル化された例示的な抗原結合分子の配列を表7に示す。本明細書で使用される「pE」とは、ポリペプチド中のアミノ酸を表すために使用される場合、ピログルタミン酸を指す。

【0179】

2. 抗原結合分子のバリエント

【0180】

ある実施形態において、本発明に記載のA2aR抗原結合分子、例えば、前記抗A2aR抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、Fab、F(ab')₂、scFv、または本明細書に記載された他の結合特異性を含む多重特異性抗体であってもよい。

【0181】

従って、ある実施形態において、本明細書に記載の抗A2aR抗体は、血清半減期、補体結合、Fc受容体結合、及び／又は抗原依存性細胞毒性などの抗体の1つ以上の機能的特性を改変するために、1つ以上の修飾を含むFcに連結されてもよい。さらに、本明細

10

20

30

40

50

書に記載の抗体は、抗体の1つ以上の機能的特性を改変するために、化学的に修飾されてもよく（例えば、1つ以上の化学部分を抗体に連結させる）、又はそのグリコシル化を改変するために修飾されてもよい。より具体的には、ある実施形態において、本発明に記載の抗体は、（a）増加又は減少された抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）、（b）増加又は減少された補体媒介性細胞傷害（CDC）、（c）増加又は減少されたC1qに対する親和性、及び／又は（d）親Fcよりも高く又は少なくなるFc受容体に対する親和性を有するFcバリエーションを生成するために、Fc領域における修飾を含むことができる。このようなFc領域バリエーションは、一般に、Fc領域における少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。アミノ酸修飾を組み合わせることが特に望ましいと考えられる。例えば、Fc領域バリエーションは、例えば本明細書に記載の特定のFc領域位置の2つ、3つ、4つ、5つなどの置換を含むことができる。

10

【0182】

エフェクター機能を必要とする用途には、いくつかのエフェクター機能増強型Fcを使用することができる。いくつかの実施形態において、抗体がADCCを誘導することを目的とする場合には、ADCC増強型のIgG1 S239D、A330L、I332E又はS298A、E333A、K334A又はF243L、R292P、Y300L、V305I、及びP396Lを使用することができる。ある実施形態において、「Y」字型の二価抗体のADCCを増強するために、L234Y、L235Q、G236W、S239M、H268D、D270E、S298Aなどの置換を1本の重鎖に導入し、D270E、K326D、A330M、K334Eなどの置換を別の重鎖に導入する。

20

【0183】

いくつかの実施形態において、抗体がADCPを誘導することを目的とする場合、ADCP増強型のG236A、S239D、及びI332Eを使用することができる。ある実施形態において、抗体がCDCを誘導することを目的とする場合、CDC増強型のK326W、E333S又はS267E、H268F、S324T又はE345R、E430G、及びS440Yを使用することができる。

【0184】

エフェクター機能が完全に回避されるべき用途については、例えば、所望の治療効果を生じるのに抗原結合のみが十分であり、エフェクター機能が望ましくない副作用にしかつながらない（又はそのリスクを増大させる）場合、IgG4抗体又はADCC効果を持ちないIgG1 L234F、L235E、P331S又はL234A、L235A、及びP239Gを使用してもよいし、Fc領域又はその大部分を欠く抗体又は断片を設計してもよいし、Fcを変異させてグリコシル化を完全に排除してもよい（例えば、N297A、N297Q又はN297G）。或いは、エフェクター機能を持ちなく、FcγRs（例えば、IgG2）に結合する能力及び補体（例えば、IgG4）を活性化する能力を欠いているヒトIgG2（CH1ドメイン及びヒンジ領域）及びヒトIgG4（CH2及びCH3ドメイン）のハイブリッド構築物を作製してもよい。IgG4定常ドメインを使用する場合、IgG1のヒンジ配列を模倣する置換S228P、及びFabアーム交換への阻止によってIgG4分子を安定化させたR409K変異を含むことが通常に好ましい。これにより、治療されている患者における治療性抗体と内因性IgG4との間のFabアーム交換を減少させる。

30

40

【0185】

ある実施形態において、前記抗A2aR抗体又はその断片を修飾して、生物学的半減期を延長させることができる。例えば、FcRnに対するFc領域の結合親和性の増大などの様々な方法を使用することができる。一実施形態において、抗体は、米国特許5,869,046及び6,121,022に記載されるように、CH1又はCL領域を変更することにより、IgGのFc領域のCH2ドメインの2つのループのサルベージレセプター結合エピトープを含有する。Fc領域における残基の番号は、KababのEUインデックスの番号である。本明細書に開示された配列バリエーションは、その後天然発生アミノ酸の位置で置換されたアミノ酸が続きかつ任意選択的でその位置に天然発生残基が先行する

50

残基番号に参照が提供される。所定の位置に複数のアミノ酸が存在し得る場合、例えば、天然発生アイソタイプ間で配列が異なる場合、又は複数の変異がその位置で置換される場合、それらはスラッシュ（例えば、「X/Y/Z」）で区切られる。

【0186】

FcRnへの結合を向上させる、及び／又は薬剤動態特性を改善する例示的なFcバリエーションには、例えば、259I、308F、428L、428M、434S、434H、434F、434Y、及び434Mを含む259位、308位及び434位での置換が含まれる。FcとFcRnとの結合を向上させる他のバリエーションには、250E、250Q、428L、428F、250Q/428L (Hinton et al, 2004, J. Biol. Chem. 279 (8) : 6213-6216, Hinton et al, 2006 Journal of Immunology 176 : 346-356)、256A、272A、305A、307A、311A、312A、378Q、380A、382A、434A (Shields et al, (2001) J. Biol. Chem.、276 (9) : 6591-6604)、252F、252Y、252W、254T、256Q、256E、256D、433R、434F、434Y、252Y/254T/256E、433K/434F/436H (Dall'Acqua et al, (2002) J. Immunol.、169 : 5171-5180, Dall'Acqua et al, (2006) J. Biol. Chem.、281 : 23514-23524、及び米国特許番号8、367、805) が挙げられる。

10

【0187】

IgG Fcにおける特定の保存的残基 (I253、H310、Q311、H433、N434) の修飾、例えば、N434Aバリエーション (Yeung et al, (2009) J. Immunol. 182 : 7663) は、FcRnに対する親和性を増加させて循環中の抗体の半減期を延長させる (WO98/023289) ものとして提案された。M428L及びN434Sを含む組み合わせFcバリエーションにより、FcRnへの結合が向上して血清半減期が5倍まで延長することが示された (Zallevsky et al, (2010) Nat. Biotechnol. 28 : 157)。T307A、E380A及びN434A修飾を含む組み合わせFcバリエーションにより、IgG1抗体の半減期が延長された (Petkova et al, (2006) Int. Immunol. 18 : 1759) こともある。さらに、M252Y-M428L、M428L-N434H、M428L-N434F、M428L-N434Y、M428L-N434A、M428L-N434M、及びM428L-N434Sを含む組み合わせFcバリエーションにより半減期が延長されることも示されている ((US 2006/173170)。さらに、M252Y、S254T及びT256Eを含む組み合わせFcバリエーションにより、半減期がほぼ4倍まで増加されることが報告された (Dall'Acqua et al, (2006) J. Biol. Chem. 281 : 23514)。

20

30

【0188】

ある実施形態において、本発明に記載のA2aR抗原結合分子は、A2aRに特異的に結合する第1の標的化ドメインと、A2aRにおける別のエピトープ又は別のタンパク質に特異的に結合する第2の標的化ドメインと、を含む二重特異性抗体。いくつかの実施形態において、前記第1の標的化ドメインは、本発明に記載のいずれかのA2aR抗体の抗原結合断片を含む。

40

【0189】

ある実施形態において、本発明に記載の抗原結合分子 (例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片) は、1つ以上の治療用活性ペプチド及び／又は低分子医薬品に化学的にコンジュゲートされている。前記ペプチド又は低分子医薬品は、例えば、還元SH基及び／又は炭水化物側鎖に連結することができる。ペプチド又は低分子医薬品と抗体との共有結合又は非共有結合的コンジュゲートを作製するための方法は、当該分野で公知であり、任意のかかる公知の方法を利用することができる。

【0190】

50

いくつかの実施形態において、前記ペプチド又は低分子医薬品は、ジスルフィド結合を介して還元された抗体成分のヒンジ領域に連結される。あるいは、かかる薬剤は、ヘテロ二機能性架橋剤（3-（2-ピリジルジチオ）プロピオン酸N-スクシンイミジル（SPDP））を用いて連結される。このようなコンジュゲート用の一般的な技術は、当該分野において周知である。いくつかの実施形態において、前記ペプチド又は低分子医薬品は、抗体のFc領域の炭水化物部分を介してコンジュゲートされる。炭水化物基は、チオール基に結合された同じ薬剤の負荷を増加させるのに使用することができ、又は炭水化物部分は、異なる治療剤又は診断薬を結合するのに使用することができる。ペプチド阻害剤又は低分子医薬品を抗体の炭水化物部分を介して抗体にコンジュゲートするための方法は、当業者に周知である。例えば、一実施形態において、この方法は、酸化された炭水化物部分を有する抗体成分を、少なくとも1つの遊離アミン官能基を有するキャリアポリマーと反応させることを含む。この反応によって、初期のシッフ塩基（イミン）連結が得られ、第二アミンへの還元によって安定して最終的なコンジュゲートを形成する。低分子医薬品とペプチド及び抗体にコンジュゲートするための例示的な方法は、米国特許出願公開2014/0356385に記載されている。

10

【0191】

前記A2aR抗体（その断片及び多特異性形態を含む）のサイズ範囲は、50kD～300kD、50kD～250kD、60kD～250kD、80kD～250kD、100kD～250kD、125kD～250kD、150kD～250kD、60kD～225kD、75kD～225kD、100kD～225kD、125kD～225kD、150kD～225kD、60kD～200kD、75kD～200kD、100kD～200kD、125kD～200kD、150kD～200kD、60kD～150kD、75kD～150kD、100kD～150kD、60kD～125kD、75kD～125kD、75kD～100kD、又は上記範囲に挙げられた整数の任意の組み合わせに含まれる任意の範囲、又は上記範囲の間の整数の任意の組み合わせにより決定された任意の範囲であり得る。

20

【0192】

3. 抗体及び抗原結合分子の生物学的特性

【0193】

本発明には、ヒト及びカニクイザルA2aRに結合する抗体及びその抗原結合断片が含まれる。

30

【0194】

本発明には、細胞表面に発現されたヒト及びカニクイザルA2aRに特異的に結合してA2aRの活性又は機能を阻害できるA2aR抗原結合分子、例えば、A2aR抗体又はその抗原結合断片が含まれる。ある実施形態によれば、前記抗原結合分子は、細胞表面で発現されるヒトA2aRとA2aRアゴニストとの相互作用を遮断する。A2aR抗原結合タンパク質（例えば、A2aR抗体又はその抗原結合断片）がA2aR活性を遮断する程度は、実施例3に記載のアッセイ法又は実質的に類似のアッセイ法によって評価することができる。本発明には、細胞表面で発現されたヒトA2aRとA2aRアゴニストとの相互作用を遮断し、また実施例3に記載のアッセイ法又は実質的に類似のアッセイ法により決めたIC₅₀値が0.7nM～約20nM又はそれ以下である、抗原結合分子、例えば、抗体が含まれる。

40

【0195】

4. 種選択性及び種交差反応性

【0196】

ある実施形態によれば、本発明は、ヒトA2aRに結合するが、他の種のA2aRに結合しない抗原結合分子を提供する。本発明には、さらに、ヒトA2aR及び1つ又は複数の非ヒト種（例えば、非ヒト霊長類動物）由来のA2aRに結合する抗原結合分子が含まれる。

【0197】

50

本発明のある例示的な実施形態によれば、ヒト A 2 a R に結合しかつ場合によってはマウス、ラット、モルモット、ハムスター、アレチネズミ、ブタ、ネコ、イヌ、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、ウシ、ウマ、ラクダ、カニクイザル、マーモセット、アカゲザル、及びチンパンジーの 1 つ又は複数に由来する A 2 a R に結合してもよいか又は結合しなくてもよい抗原結合分子が提供される。例えば、本発明の特定の例示的な実施形態において、本発明は、ヒト A 2 a R 及び非ヒト霊長類動物（例えば、カニクイザル）A 2 a R に結合する抗原結合ドメインを含む抗原結合分子を提供する。

【0198】

三、抗 A 2 a R 抗原結合分子の治療用途

【0199】

本発明に記載の抗 A 2 a R 抗原結合分子（抗体、その抗原結合断片、及びその多特異性抗体）は、癌の治療におけるアデノシンシグナル伝達及び他のシグナル伝達を遮断することによる免疫応答の増強に関連する多数のインビトロ、インビボ及びエキスピボの用途を有する。いかなる理論によっても拘束されることを望まないが、本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗 A 2 a R 抗体又はその抗原結合断片）は、細胞表面で発現された A 2 a R に結合してその活性を阻害し、A 2 a R 活性の阻害の結果として、例えば、細胞内での c A M P の濃度が低減すると仮定されている。従って、本発明に記載の抗原結合分子（及びそれを含む治療用組成物）は、とくに、A 2 a R の活性（例えば、免疫応答の刺激及び／又は活性化）を阻害することから利益を得られるあらゆる疾患又は障害を治療するために有用である。A 2 a R の広い発現及びアデノシンと A 2 a R によって媒介される多様な効果を考慮すると、本発明に記載の抗 A 2 a R 抗原結合分子（例えば、抗体又はその抗原結合断片）は、様々な癌を含む広い範囲の疾患又は障害を治療するために、単独で又は多種の活性剤と組み合わせて使用することができる。

【0200】

したがって、本発明は、細胞を本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗 A 2 a R 抗体又はその抗原結合断片）に接触させることを含む、細胞内での c A M P の濃度を低減させるための方法を提供する。細胞内での c A M P の濃度の低減は、実施例 4 に記載の方法又は実質的に類似の方法によって測定することができる。ある実施形態において、本発明に記載の方法によれば、細胞内での c A M P の濃度は、ベースラインレベルと比較して、少なくとも約 10 %、約 20 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 %、約 90 %、約 95 % 又はそれ以上を低減させる。

【0201】

いくつかの実施形態において、本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗 A 2 a R 抗体又はその抗原結合断片）は、様々な疾患に対する免疫力を増強するために、培養細胞（インビトロ）又はヒト対象に投与される（インビボ又はエキスピボ）。したがって、一実施形態において、それを必要とする対象における免疫応答を刺激するための方法は、免疫応答が対象において増強、刺激、アップレギュレーションされるために、例えば、腫瘍成長の抑制、抗腫瘍 T 細胞免疫の刺激及び／又は抗微生物免疫の刺激のために、本明細書に記載の抗 A 2 a R 抗体、その抗原結合断片（例えば、抗 A 2 a R の H C V R 及び L C V R）又は多特異性抗 A 2 a R 抗体を対象に投与することを含む。

【0202】

一側面、対象における免疫応答（例えば、T 細胞応答）を増強させるための方法は、対象における免疫応答（例えば、T 細胞応答）を増強させるために、本明細書に記載の抗 A 2 a R 抗体を対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、前記対象は、腫瘍担持対象であり、腫瘍に対する免疫応答が増強される。腫瘍は、固形腫瘍又は液性腫瘍であってもよく、例えば、血液悪性腫瘍である。ある実施形態において、前記腫瘍は、免疫原性腫瘍である。他のいくつかの実施形態において、腫瘍は、非免疫原性腫瘍である。他のいくつかの実施形態において、前記対象は、病原体を持っている対象であり、病原体に対する免疫応答が本明細書に記載の抗 A 2 a R 抗体の投与によって増強される。前記免疫応答には、a) エフェクター T 細胞の機能を促進すること、b) T r e g の活性を低下

10

20

30

40

50

させること、c) T r e g の増幅を防止すること、d) 増強 N K 細胞の機能を増強させること、又は e) 抗原提示細胞のタイプ 1 活性化を促進することが含まれるが、これらに限定されない。

【0203】

ある実施形態において、本発明に記載の方法では、ベースラインレベルと比較して、免疫応答が少なくとも約 10 %、約 20 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 %、約 90 %、約 1 倍、約 2 倍、約 4 倍、又はそれ以上増加される。

【0204】

好ましい対象には、免疫応答の増強が望ましいヒト患者が含まれる。前記方法は、免疫応答を増強することにより治療できる障害（例えば、T 細胞媒介性免疫応答）を患っているヒト患者を治療するのに特に適している。前記方法は、癌、慢性感染症及び慢性炎症性疾患の治療に特に適している。本発明に記載されている本開示の方法で使用される抗体は、ヒト抗体又はヒト化抗体であることが好ましい。

【0205】

一実施形態において、対象における腫瘍細胞の増殖を阻害するための方法は、対象における腫瘍の増殖を阻害するために、本明細書に記載の抗 A 2 a R 抗体を対象に投与することを含む。腫瘍増殖への阻害は、様々な方法によって測定することができる。腫瘍増殖は、例えば、Talkington, A and Durrett, R, Estimating Tumor Growth Rates in vivo, Bull Math Biol., 2015 Oct. : 77 (10) : 1934-54 に記載の方法 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4764475/> から入手でき、その全内容は参照により本明細書に組み込まれる。) を用いて測定することができる。腫瘍増殖の阻害は、腫瘍サイズの減少によっても測定することができる。ある実施形態において、本発明に記載の方法では、ベースラインレベルと比較して、腫瘍増殖が少なくとも約 10 %、約 20 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 %、約 90 %、約 95 % 又はそれ以上阻害される。

【0206】

ある実施形態において、本発明にかかる抗原結合分子（例えば、抗 A 2 a R 抗体又はその抗原結合断片）は、腫瘍微小環境における免疫抑制を低下させるために用いられる。このような低下は、様々な方法によって測定することができる。腫瘍微小環境における免疫抑制のレベルは、腫瘍における特定のバイオマーカー（例えば、PD-L1、CD73、IL-10 又は TGF- β ）の存在及び／又は存在度によって測定することができる。免疫抑制のレベルは、腫瘍における制御性 T (T r e g) 細胞に対する CD8+ 細胞傷害性 T 細胞の比率によっても測定することができる。一般には、免疫抑制は T r e g に対する CD8+ 細胞傷害性 T 細胞の比率を低下させる。ある実施形態において、本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗 A 2 a R 抗体又はその抗原結合断片）は、ベースラインレベルと比較して、腫瘍微小環境における免疫抑制のレベルを少なくとも約 10 %、約 20 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 %、約 90 %、約 95 % 又はそれ以上低下させる。

【0207】

腫瘍微小環境において T r e g 細胞の枯渇を刺激する F c を含む本明細書に記載の抗 A 2 a R 抗体を治療有効量で対象に投与することを含む、腫瘍（例えば癌性腫瘍）を有する対象の腫瘍微小環境から T r e g 細胞を枯渇させるための方法も本明細書に包含されている。F c は、例えば、適切なエフェクター機能を有するか、又は増強されたエフェクター機能（1 つ以上の活性化 F c 受容体によって引き起こす）を有する F c であってもよい。

【0208】

ある好ましい実施形態において、T r e g 枯渇は、腫瘍微小環境中の T e f f の有意な枯渇も阻害も伴わず、腫瘍微小環境の外側の T e f f 細胞および T r e g 細胞の有意な枯渇も阻害も伴わずに生じる。ある実施形態において、前記対象は、腫瘍微小環境中の T e f f 細胞上よりも、T r e g 細胞上のほうがより高いレベルの A 2 a R を有する。ある実

施形態において、抗 A 2 a R 抗体によれば、腫瘍中の T r e g および／または腫瘍浸潤リンパ球 (T I L s) 中の T r e g s を枯渇させることができる。

【 0 2 0 9 】

ある好ましい実施形態において、前記対象は、細胞増殖性疾患又はがんを有する。本発明に記載の抗原結合分子 (例えば、抗 A 2 a R 抗体又はその抗原結合断片) による A 2 a R を介したアデノシグナル伝達の遮断は、患者においてがん性細胞に対する免疫応答を増強することができる。したがって、本発明は、がんを有する対象を治療するための方法であって、対象が治療され、例えば、がん性腫瘍の成長が阻害もしくは低減されるおよび／または腫瘍が退行するように、本明細書に記載の抗 A 2 a R 抗原結合分子 (例えば、抗体又はその抗原結合断片) を前記対象に投与することを含む方法を提供する。前記抗 A 2 a R 抗体は、がん性腫瘍の成長を阻害するために単独で使用されてもよい。又は、前記抗 A 2 a R 抗体は、以下に記載されるように、例えば、他の抗がん標的、免疫原性薬剤、標準的ながん処置または他の抗体などの 1 種または複数の他の標的化活性薬剤と併用することができる。本発明に記載の抗原結合分子は、原発性および／または転移性腫瘍を治療するために使用することができる。本発明には、対象において残存がんを治療するための方法も含まれる。本明細書で使用される「残存がん」という用語は、抗がん療法による治療後の対象における 1 つまたは複数のがん性細胞の存在または持続を意味する。

10

【 0 2 1 0 】

したがって、一側面、がんを治療する方法では、本明細書に記載の抗 A 2 a R 抗体を治療有効量でそれを必要とする対象に投与することを含む。好ましくは、前記抗体は、ヒト A 2 a R の活性を阻害し、本明細書に記載の 1 つまたは複数の H C V R 及び L C V R を含む。さらに、該方法に使用される前記抗 A 2 a R 抗原結合分子 (例えば、抗体) は、そのキメラ又はヒト化非ヒト抗 A 2 a R 抗体を含むことができる。がんを治療する有効性は、種々の方法によって測定される。例えば、生存率の改善又は腫瘍サイズの減少により測定することができる。ある実施形態において、本発明に記載の方法によれば、がんを治療する有効性は、ベースラインレベルと比較して、少なくとも約 1 0 %、約 2 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 %、約 8 0 %、約 9 0 %、約 9 5 %、約 1 倍、約 2 倍、約 4 倍又はそれ以上向上する。前記ベースラインレベルは、がん治療に関して使用されると、本発明に記載の A 2 a R 抗原結合分子が唯一の治療剤である場合にはプラセボによる治療効果を意味し、本発明に記載の A 2 a R 抗原結合分子と追加の治療剤とが併用される場合にはプラセボ又は追加の治療剤による治療効果を意味する。

20

30

【 0 2 1 1 】

その成長が本発明に記載の抗体により阻害される可能ながんには、広範な種々のがんが含まれ、特に、他の抗体又は化学治療剤による単剤治療に対して無応答性であるか、または無応答性になる傾向を有するがんが含まれる。治療されるがんの非限定的な例には、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、扁平上皮非小細胞肺癌 (N S C L C)、非 N S C L C、神経膠腫、胃腸がん、腎がん (例えば、明細胞癌)、卵巣がん、肝臓がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、腎臓がん (例えば、腎細胞癌 (R C C))、前立腺がん (例えば、ホルモン不応性前立腺がん)、甲状腺がん、神経芽細胞腫、膀胱がん、神経膠芽腫 (多形性神経膠芽腫)、子宮頸がん、胃 (s t o m a c h) がん、膀胱がん、ヘパトーマ、乳がん、結腸癌、および頭頸部がん、胃 (g a s t r i c) がん、胚細胞腫瘍、小児肉腫、副鼻腔ナチュラルキラー、黒色腫 (例えば、転移性悪性黒色腫 (例えば、皮膚または眼内悪性黒色腫))、骨がん、皮膚がん、子宮がん、肛門領域がん、精巣がん、ファロピウス管の癌、子宮内膜癌、子宮頸部癌、陰癌、外陰部癌、食道がん、小腸がん、内分泌系がん、副甲状腺がん、副腎がん、軟部組織肉腫、尿道がん、陰茎がん、小児固形腫瘍、尿管がん、腎盂の癌、中枢神経系 (C N S) の新生物、原発性 C N S リンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫 (K a p o s i ' s s a r c o m a)、類表皮がん、扁平上皮細胞がん、T細胞リンパ腫、アスベストによって誘発されるがんが含まれる環境誘発がん、ウイルス関連がん (例えば、ヒトパピローマウイルス (H P V) 関連腫瘍)、および骨髄性細胞株 (これは、顆粒球、赤血球、血小板、マ

40

50

クロファージおよびマスト細胞を産生する)とリンパ系細胞株(これは、B、T、NKおよび形質細胞を産生する)という2つの主要な血球系列のいずれかに由来する血液学的悪性腫瘍、例えば、全ての型の白血病、リンパ腫および骨髄腫、例えば、急性、慢性、リンパ球性および／または骨髄性白血病、例えば、急性白血病(ALL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、および慢性骨髄性白血病(CIVIL)、未分化AML(MO)、骨髄芽球性白血病(M1)、骨髄芽球性白血病(M2;細胞成熟を伴う)、前骨髄球性白血病(M3またはM3バリエーション[M3V])、骨髄単球性白血病(M4、または好酸球増加症を伴うM4バリエーション[M4E])、単球性白血病(M5)、赤白血病(M6)、巨核芽球性白血病(M7)、孤立性顆粒球性肉腫、および緑色腫;リンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫(HL)、非ホジキンリンパ腫(NEL)、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、単球様B細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織(MALT)リンパ腫、未分化(例えば、Ki1+)大細胞型リンパ腫、成人T細胞リンパ腫／白血病、マントル細胞リンパ腫、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫、血管中心性リンパ腫、腸管T細胞リンパ腫、縦隔原発B細胞リンパ腫、前駆Tリンパ芽球性リンパ腫、Tリンパ芽球性;ならびにリンパ腫／白血病(T-Lbly/T-ALL)、末梢性T細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫、移植後リンパ増殖性障害、真性組織球性リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫(LBL)、リンパ系系統の造血器腫瘍、急性リンパ芽球性白血病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫(Burkitt's lymphoma)、濾胞性リンパ腫、びまん性組織球性リンパ腫(DHL)、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫(CTLC)(菌状息肉症またはセザリ-症候群とも呼ばれる)、およびワルデンストレームマクログロブリン血症を伴うリンパ形質細胞性リンパ腫(LPL);骨髄腫、例えば、IgG骨髄腫、軽鎖骨髄腫、非分泌性骨髄腫、くすぶり型骨髄腫(無症候性骨髄腫とも呼ばれる)、孤立性形質細胞腫(solitary plasmocytoma)、および多発性骨髄腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、ヘアリー細胞リンパ腫;骨髄性系列の造血器腫瘍、間葉性起源の腫瘍(線維肉腫および横紋筋肉腫(rhabdomyosarcoma)が含まれる);セミノ-マ、奇形腫、中枢神経および末梢神経の腫瘍(星細胞腫、シュワン細胞腫が含まれる);間葉性起源の腫瘍(線維肉腫、横紋筋肉腫、及び骨肉腫が含まれる);ならびに黒色腫、色素性乾皮症、角化棘細胞腫、セミノ-マ、甲状腺濾胞性がん及び奇形癌、リンパ系の造血器腫瘍などの他の腫瘍、例えば、小細胞および大脳様細胞型のものが含まれるT前リンパ球性白血病(T-PLL)などのT細胞障害が含まれるがこれらに限定されないT細胞腫瘍およびB細胞腫瘍;好ましいT細胞型大型顆粒リンパ球性白血病(LGL);a/d T-NHL肝脾リンパ腫;末梢性／胸腺後T細胞リンパ腫(多形性および免疫芽球性サブタイプ);血管中心性(鼻)T細胞リンパ腫;頭頸部のがん、腎がん、直腸がん、甲状腺のがん;急性骨髄性リンパ腫、ならびに前記がんの任意の組合せが含まれる。本明細書に記載の方法は、転移性がん、難治性がん(例えば、CTLA-4又はPD-1遮断用抗体などを用いた以前の免疫療法に対する不応性のがん)、及び再発性がんの治療にも使用することができる。

10

20

30

40

【0212】

いくつかの実施形態において、本発明に記載の抗A2aR抗体及び／又は他の活性薬剤によるがん患者の治療によれば、例えば、少なくとも1、2、3、4、5、10年間又はそれより長い長期生存、及び／又は少なくとも1、2、3、4、5、10年間又はそれより長い無再発生存期間のような、現在の標準治療と比較して長期持続可能な応答を達成することができる。ある実施形態において、本発明に記載の抗A2aR抗体及び／又は他の活性薬剤によるがん患者の治療によれば、例えば、1、2、3、4、5、10年間またはそれよりも長く、がんの再発を予防するまたはがんの再発を遅延させることができる。前記抗A2aR治療は、第1選択または第2選択の治療として使用可能である。

【0213】

骨髄移植は、造血系起源の種々の腫瘍を治療するために現在使用されている。しかしな

50

がら、この治療の結果として移植片対宿主病が起こる。それに対して、A 2 a R 阻害は、移植片対腫瘍応答を低減させることによってドナーの生着した腫瘍特異的 T 細胞の有効性を増加させるのに使用可能である。

【0214】

いくつかの実施形態において、抗原特異的 T 細胞の、抗 A 2 a R 抗体の存在下でのエクスピボ活性化、及び増幅、並びにレシピエント中へのこれらの細胞の養子移入は、養子移入された T 細胞の頻度および活性を増加させることによってがんまたはウイルス感染に対する抗原特異的 T 細胞を刺激するために使用可能である。

【0215】

本明細書に記載の本発明の抗原結合分子、例えば、抗 A 2 a R 抗体またはその抗原結合断片（例えば、ヒト化モノクローナル抗体、多特異性抗体およびイムノコンジュゲート）をインビボ、エクスピボ又はインビトロで投与するための適切な経路は、当該分野で周知であり、当業者であれば選択することができる。例えば、前記抗体組成物は、非経口注射（例えば、静脈内または皮下）によって投与することができる。適切な投与量は、以下にさらに記載されるように、対象の年齢および体重ならびに抗体組成物の濃度および／または処方に依存する。

【0216】

A 2 a R 活性の増加は、神経変性疾患に関与している。したがって、ある実施形態において、本発明は、神経変性疾患を治療する方法であって、本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗 A 2 a R 抗体又はその抗原結合断片）を、それを必要とする対象に投与することにより神経変性疾患を治療することを含む方法を提供する。

【0217】

「細胞増殖性疾患」という用語は、細胞の異常な増殖を特徴とする疾患を指す。増殖性疾患は、細胞増殖の速度に関していかなる制限も意味しないが、単に、増殖及び細胞分裂に影響を及ぼす正常な制御の喪失を示す。したがって、いくつかの実施形態において、増殖性疾患の細胞は、正常細胞と同じ細胞分裂速度を有することがあるが、かかる増殖を制限するシグナルに応答しない。「細胞増殖性疾患」の範囲内には、新生物、癌又は腫瘍がある。

【0218】

「がん」という用語は、周囲の組織に侵入するかおよび／または新たなコロニー形成部位に転移する能力を有する細胞の増殖によって特徴付けられる種々の悪性新生物のいずれか1つを指す。がんには、固形およびリンパ系の両方のがんを含める、癌、肉腫、腺癌、黒色腫、白血病、リンパ腫、胚細胞腫瘍および芽腫が含まれる。本発明に記載の組成物及び方法によって治療される例示的ながんには、脳がん、膀胱がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、頭頸部がん、腎がん、肺がん、非小細胞肺癌、中皮腫、卵巣がん、前立腺がん、胃および子宮のがん、白血病、及び髄芽腫が含まれる。

【0219】

「癌」という用語は、周囲の組織に浸潤し、転移を生じる傾向がある、上皮細胞の悪性成長を指す。例示的な癌には、例えば、腺房癌 (acinar carcinoma)、腺房癌 (acinous carcinoma)、腺様嚢胞癌 (adenocystic carcinoma)、腺様嚢胞癌 (adenoid cystic carcinoma)、腺腫性癌 (carcinoma adenomatousum)、副腎皮質の癌、肺泡癌、肺泡細胞癌、基底細胞癌 (basal cell carcinoma)、基底細胞癌 (carcinoma basocellulare)、類基底癌 (basaloid carcinoma)、基底有棘細胞癌 (basosquamous cell carcinoma)、細気管支肺胞上皮癌 (bronchioalveolar carcinoma)、細気管支癌 (bronchiolar carcinoma)、気管支原性癌 (bronchogenic carcinoma)、大脳様癌 (cerebriform carcinoma)、胆管細胞癌 (cholangiocellular carcinoma)、絨毛癌 (chorionic carcinoma)、コロイド

10

20

30

40

50

癌 (colloid carcinoma)、面疱癌 (comedo carcinoma)、子宮体癌 (corpus carcinoma)、篩状癌 (cribriform carcinoma)、鎧状癌 (carcinoma en cuirasse)、皮膚癌 (carcinoma cutaneum)、円柱状癌 (cylindrical carcinoma)、円柱細胞癌 (cylindrical cell carcinoma)、腺管癌、硬性癌 (carcinoma durum)、胚性癌 (embryonal carcinoma)、脳様癌 (encephaloid carcinoma)、類表皮癌 (epiennoid carcinoma)、上皮腺様癌 (carcinoma epitheliale adenoides)、外方増殖性癌 (exophytic carcinoma)、潰瘍癌 (carcinoma ex ulcere)、線維性癌 (carcinoma fibrosum)、膠様癌 (gelatiniform carcinoma)、膠様癌 (gelatinous carcinoma)、巨細胞癌 (giant cell carcinoma)、巨細胞癌 (carcinoma gigantocellulare)、腺癌 (glandular carcinoma)、顆粒膜細胞癌、毛母基癌 (hair-matrix carcinoma)、血液様癌 (hematoid carcinoma)、肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma)、ハースル細胞癌 (Hürthle cell carcinoma)、ヒアリン癌 (hyaline carcinoma)、副腎様癌 (hypemep hroid carcinoma)、小児胚性癌 (infantile embryonal carcinoma)、上皮内がん (carcinoma in situ)、表皮内癌 (intraepidermal carcinoma)、上皮内癌 (intra epithelial carcinoma)、Krompecher 癌 (Krompecher's carcinoma)、Kulchitzky 細胞癌 (Kulchitzky-cell carcinoma)、大細胞癌 (large-cell carcinoma)、レンズ状癌 (lenticular carcinoma)、レンズ状癌 (carcinoma lenticulare)、脂肪腫性癌 (lipomatous carcinoma)、リンパ上皮癌 (lymphoepithelial carcinoma)、髄様癌 (carcinoma medullare)、髄様癌 (medullary carcinoma)、黒色性癌 (melanotic carcinoma)、軟性癌 (carcinoma molle)、粘液性癌 (mucinous carcinoma)、粘液分泌性癌 (carcinoma muciparum)、粘液細胞癌 (carcinoma mucocellulare)、粘表皮癌 (mucoepidermoid carcinoma)、粘膜癌 (carcinoma mucosum)、粘液性癌 (mucous carcinoma)、粘液腫性癌 (carcinoma myxomatodes)、鼻咽頭癌 (nasopharyngeal carcinoma)、燕麦細胞癌 (oat cell carcinoma)、骨化性癌 (carcinoma ossificans)、類骨癌 (osteoid carcinoma)、膵管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma)、乳頭癌 (papillary carcinoma)、門脈周囲癌 (periportal carcinoma)、前浸潤癌 (preinvasive carcinoma)、有棘細胞癌 (prickle cell carcinoma)、粥状癌 (pultaceous carcinoma)、腎臓の腎細胞癌 (renal cell carcinoma of kidney)、リザーブ細胞癌 (reserve cell carcinoma)、肉腫様癌 (carcinoma sarcomatodes)、シュナイダー癌 (schneiderian carcinoma)、硬性癌 (scirrhous carcinoma)、陰嚢癌 (carcinoma scroti)、印環細胞癌 (signet-ring cell carcinoma)、単純癌 (carcinoma simplex)、小細胞癌 (small-cell carcinoma)、ソラノイド癌 (solanoïd carcinoma)、スフェロイド細胞癌 (spheroidal cell carcinoma)、紡錘細胞癌 (spindle cell

10

20

30

40

50

l carcinoma)、海綿様癌 (carcinoma spongiosum)、扁平上皮癌 (squamous carcinoma)、扁平上皮細胞癌 (squamous cell carcinoma)、ストリング癌 (string carcinoma)、毛細血管拡張性癌 (carcinoma telangiectaticum)、毛細血管拡張性癌 (carcinoma telangiectodes)、移行上皮癌 (transitional cell carcinoma)、結節癌 (carcinoma tuberosum)、結節癌 (tuberous carcinoma)、いぼ状癌 (verrucous carcinoma) および絨毛癌 (carcinoma villosum)。

【0220】

「肉腫」という用語は、胚性結合組織などの物質で構成された腫瘍を指し、一般に、繊維状または均質な物質中に包埋されたぎっしり詰まった細胞から構成される。例示的な肉腫には、例えば、軟骨肉腫、線維肉腫、リンパ肉腫、黒色肉腫、粘液肉腫、骨肉腫、Abemethy肉腫 (Abemethy's sarcoma)、脂肪肉腫 (adipose sarcoma)、脂肪肉腫 (lipo sarcoma)、肺胞軟部肉腫 (alveolar soft part sarcoma)、エナメル芽細胞肉腫、ブドウ状肉腫 (botryoid sarcoma)、緑色腫肉腫、絨毛癌、胚性肉腫 (embryonal sarcoma)、ウィルムス腫瘍肉腫 (Wilms' tumor sarcoma)、子宮内膜肉腫 (endometrial sarcoma)、間質肉腫 (stromal sarcoma)、ユーイング肉腫 (Ewing's sarcoma)、筋膜肉腫 (fascial sarcoma)、線維芽細胞肉腫 (fibroblastic sarcoma)、巨細胞肉腫 (giant cell sarcoma)、顆粒球性肉腫 (granulocytic sarcoma)、ホジキン肉腫 (Hodgkin's sarcoma)、特発性多発性色素性出血性肉腫 (idiopathic multiple pigmented hemorrhagic sarcoma)、B細胞の免疫芽球肉腫 (immunoblastic sarcoma of B cells)、リンパ腫 (例えば、非ホジキンリンパ腫)、T細胞の免疫芽球肉腫 (immunoblastic sarcoma of T-cells)、Jensen肉腫 (Jensen's sarcoma)、カポジ肉腫 (Kaposi's sarcoma)、クッパー細胞肉腫 (Kupffer cell sarcoma)、血管肉腫 (angiosarcoma)、白血肉腫 (leukosarcoma)、悪性間葉腫肉腫 (malignant mesenchymoma sarcoma)、傍骨性肉腫 (parosteal sarcoma)、網状赤血球肉腫 (reticulocytic sarcoma)、ラウス肉腫 (Rous sarcoma)、漿液嚢胞性肉腫 (serocystic sarcoma)、滑膜肉腫、及び毛細血管拡張性肉腫 (telangiectatic sarcoma) が含まれる。

【0221】

「黒色腫」という用語は、皮膚および他の臓器のメラニン細胞株から生じる腫瘍を指す。黒色腫には、例えば、末端黒子型黒色腫 (acral-lentiginous melanoma)、無色素性黒色腫 (amelanotic melanoma)、良性若年性黒色腫 (benign juvenile melanoma)、クラウドマン黒色腫 (Cloudman's melanoma)、S91黒色腫、Harding-Passey黒色腫 (Harding-Passey melanoma)、若年性黒色腫 (juvenile melanoma)、悪性黒子型黒色腫 (lentigo maligna melanoma)、悪性黒色腫 (malignant melanoma)、結節性黒色腫 (nodular melanoma)、爪下黒色腫 (subungal melanoma)、及び表在拡大型黒色腫 (superficial spreading melanoma) が含まれる。

【0222】

「リンパ腫」という用語は、リンパ球 (リンパ節、脾臓、胸腺および骨髄において主に

10

20

30

40

50

見出される血球である。)で始まる、造血系組織およびリンパ系組織に影響を与える一群のがんを指す。リンパ腫の2つの主な型は、非ホジキンリンパ腫およびホジキン病である。ホジキン病は、全ての診断されたリンパ腫のおよそ15%を占める。それは、リード・シュテルンベルク悪性Bリンパ球(Reed-Sternberg malignant B lymphocytes)に関連するがんである。非ホジキンリンパ腫(NHL)は、がんが成長する速度および関与する細胞の型に基づいて分類され得る。高悪性度(高グレード)および低悪性度(低グレード)のNHLが存在する。関与する細胞の型に基づいて、B細胞およびT細胞NHLが存在する。例示的なB細胞リンパ腫には、小リンパ球性リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、節外性(MALT)リンパ腫(extranodal(MALT) lymphoma)、節性(単球様B細胞)リンパ腫(nodal(monocytoid B-cell) lymphoma)、脾リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫(Burkitt's lymphoma)、リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞型リンパ腫(immunoblastic large cell lymphoma)又は前駆Bリンパ芽球性リンパ腫(precursor B-lymphoblastic lymphoma)。例示的なT細胞リンパ腫には、皮膚T細胞リンパ腫、末梢性T細胞リンパ腫、未分化大細胞型リンパ腫、菌状息肉症および前駆Tリンパ芽球性リンパ腫が含まれるがこれらに限定されない。

10

【0223】

「白血病」という用語は、血液形成性臓器の進行性の悪性疾患を指し、一般に、血液および骨髄における白血球およびそれらの前駆体のゆがんだ増殖および発生によって特徴付けられる。例示的な白血病には、例えば、急性非リンパ球性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性顆粒球性白血病、慢性顆粒球性白血病、急性前骨髄球性白血病、成人T細胞白血病、非白血性白血病(aleukemic leukemia)、白血球血症性白血病(aleukocythemic leukemia)、好塩基球性白血病(basophilic leukemia)、芽細胞白血病(blast cell leukemia)、ウシ白血病、慢性骨髄球性白血病、皮膚白血病、胎生細胞性白血病(embryonal leukemia)、好酸球性白血病(eosinophilic leukemia)、グロス白血病(Gross' leukemia)、ヘアリー細胞白血病、血芽球性白血病(hemoblastic leukemia)、血球芽細胞性白血病(hemocytoblastic leukemia)、組織球性白血病、幹細胞性白血病、急性単球性白血病、白血球減少性白血病、リンパ性白血病(lymphatic leukemia)、リンパ芽球性白血病(lymphoblastic leukemia)、リンパ球性白血病、リンパ行性白血病(lymphogenous leukemia)、リンパ様白血病(lymphoid leukemia)、リンパ肉腫細胞白血病、マスト細胞白血病、巨核球性白血病、小骨髄芽球性白血病、単球性白血病、骨髄芽球性白血病(myeloblastic leukemia)、骨髄球性白血病、骨髄性顆粒球性白血病(myeloid granulocytic leukemia)、骨髄単球性白血病(myelomonocytic leukemia)、ネーゲリ(Naegeli)白血病、形質細胞白血病(plasma cell leukemia)、形質細胞性白血病(plasmacytic leukemia)、前骨髄球性白血病、リーダー細胞白血病(Rieder cell leukemia)、シリング白血病(Schilling's leukemia)、幹細胞性白血病、垂白血性白血病、及び未分化細胞白血病が含まれる。

20

30

40

【0224】

他のがんには、例えば、多発性骨髄腫、神経芽細胞腫、乳がん、卵巣がん、肺がん、横紋筋肉腫、原発性血小板増加症、原発性マクログロブリン血症、小細胞肺腫瘍、原発性脳腫瘍、胃がん、結腸がん、悪性腓インスリノーマ、悪性カルチノイド、前悪性皮膚病変、精巣がん、甲状腺がん、神経芽細胞腫、食道がん、泌尿生殖器がん、悪性高カルシウム血症、子宮頸がん、子宮内膜がんおよび副腎皮質がんが含まれる。

50

【0225】

四、併用療法

【0226】

他の側面、本発明は、対象において抗原特異的T細胞応答を増強するか、免疫抑制を低減させるか、および／または腫瘍成長を低減させるための治療用組成物および併用療法を提供する。本発明には、例えば、1つ又は複数の追加の治療剤と組み合わせた、例示された任意の抗原結合分子を含む組成物及び治療用製剤、およびかかる組み合わせをそれを必要とする対象に投与する治療方法が含まれる。本明細書で使用される「追加の治療剤」という用語は、疾患または障害を治療するために使用できる任意の薬剤、及びある疾患または障害するために使用できる任意の方法を意味する。例えば、放射線療法および手術は、本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）と組み合わせて使用される場合、「追加の治療剤」とみなされる。

10

【0227】

ある実施形態において、前記追加の治療剤は、本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）と異なるA2aRアンタゴニストであってもよい。例示的なA2aRアンタゴニストには、AZD4635（AstraZeneca）、NIR178（Novartis）、AB928（Arcus）、CPI-444（Corvus）、EOS850（iteos）、及びMK-3814（Merck Sharp and Dohme）が含まれるがこれらに限定されない。

20

【0228】

一実施形態において、前記追加の治療剤は、抗体又はその抗体断片の形態で投与することができ、別のアデノシニングナル伝達経路メンバーに対することに向けられ、例えば、A1aRアンタゴニスト、A2bRアンタゴニスト、A3Rアンタゴニスト、CD39アンタゴニスト、CD73アンタゴニスト、又はそれらの組み合わせである。例示的なCD39アンタゴニストには、例示的な抗CD39抗体及びその抗原結合部位（米国特許番号第10,738,128号、同第10,662,253号及び第10,556,959号に記載されている。）が含まれるがこれらに限定されない。例示的な小分子CD73アンタゴニストには、AB421、MEDI9447、及びBMS-986179を含むがこれらに限定されない。例示的な抗CD73抗体及びその抗原結合位置は、特許第10,766,966号、第10,584,169号、第10,556,968号、及び第10,167,343号に記載されている。

30

【0229】

いくつかの実施形態において、本発明に記載の抗A2aR抗原結合分子（例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）は、対象において免疫応答および／またはアポトーシスをさらに増強、刺激または上方調節するために、免疫応答および／またはアポトーシスを刺激するのに有効な量の1つまたは複数の追加の薬剤とともに投与される。さらに、前記1つ又は複数の他の治療活性剤は、抗A2aR抗体による治療の前又は後に投与される。

【0230】

ある実施形態において、本明細書に記載の抗A2aR抗体は、1つ又は複数の他の活性薬剤（例えば、抗がん抗体又はポリペプチド、化学治療剤、及び放射性毒性剤）と併用して投与されるか、または同時に併用される。他のいくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗A2aR抗体は、標準的ながん療法（例えば、手術又は放射線）と併用して投与されるか、または同時に併用される。

40

【0231】

前記抗A2aR抗体とこれらの活性薬剤又は治療手段との共投与によれば、薬剤耐性に関する臨床的欠損、腫瘍細胞が抗体と反応しなくなることを引き起こす該腫瘍細胞の抗原性の変化、および（低い用量の1種または複数の薬剤の投与による）毒性に対処することができる。A2aR阻害は、他の不応性の化学療法レジメンと組み合わせた場合の使用に、特に良好に適している。それらの場合には、有効性の増強を達成するとともに、投与さ

50

れる化学療法薬剤の用量を低減させることができる (Mokyr et al, (1998) Cancer Research 58:5301-5304)。放射線または化学療法により A2aR を阻害する基本的な原理は、放射線およびほとんどの化学療法化合物の細胞傷害作用が細胞死を促進し、そのさらなる結果として抗原提示経路における腫瘍抗原のレベルが向上することに基づいたものである。細胞死を通じて A2aR 阻害と相加的または相乗的に作用する他の併用療法は、手術およびホルモン欠乏または阻害である。これらのプロトコールの各々は、宿主において腫瘍抗原の供給源をさらに作り出す。

【0232】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗 A2aR 抗体は、イムノコンジュゲート、免疫複合体又は融合タンパク質の形態で、別の活性薬剤に連結される。又は、前記抗 A2aR 抗体は、他の活性薬剤とは別に投与されてもよい。その場合には、前記抗 A2aR 抗体及び他のアンタゴニストは、他の活性薬剤の前に、後に、又は同時に投与されるか、又は他の公知の治療（例えば、他の抗がん剤、放射線など）とともに投与される。したがって、本発明は、ヒトがん細胞において細胞傷害効果および免疫保護効果の両方を有益に与えるために、異なる機構を介して相加的もしくは相乗的に動作する 2 種またはそれよりも多くの抗がん剤を与えるための組成物および方法を提供する。

【0233】

例えば、いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗 A2aR 抗体は、例えば、アルキル化剤、アントラサイクリン系抗生物質、代謝拮抗薬、解毒剤、インターフェロン、ポリクローナル又はモノクローナル抗体、EGFR 阻害薬、HER2 阻害薬、ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬、ホルモン、有糸分裂阻害剤、ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ (PI3K) 阻害剤、Akt 阻害剤、哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (mTOR) 阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼ (PARP) 阻害剤、Ras/MAPK 経路阻害薬、中心体脱デクラスタリング剤、マルチキナーゼ阻害剤、セリン/トレオニンキナーゼ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、VEGF/VEGFR 阻害剤、タキサン又はタキサン誘導体、アロマターゼ阻害薬、アントラサイクリン系薬剤、微小管標的薬、トポイソメラーゼ毒薬、分子標的又は酵素（例えば、キナーゼ又はタンパク質メチルトランスフェラーゼ）の阻害薬、シチジン類似体又はそれらの組み合わせなどの抗癌剤と組み合わせることができる。

【0234】

例示的なアルキル化剤としては、シクロホスファミド (Cytosan, Neosar)、クロラムブシル (Leukeran)、メルファラン (Alkeran)、カルムスチン (BiCNU)、ブスルファン (Busulfex)、ロムスチン (CeeNU)、ダカルバジン (DTIC-Dome)、オキサリプラチン (Eloxatin)、カルムスチン (Gliadel)、イホスファミド (Ifex)、メクロレタミン (Mustargen)、ブスルファン (Myleran)、カルボプラチン (Paraplatin)、シスプラチン (CDDP, Platinol)、テモゾロミド (Temodar)、チオテパ (Thioplex)、ベンダムスチン (Treanda)、又はストレプトゾシン (Zanosar) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0235】

例示的なアントラサイクリン系抗生物質としては、ドキソルビシン (Adriamycin)、ドキソルビシンリボソーム (Doxil)、ミトキサントロン (Novantrone)、ブレオマイシン (Blenoxane)、ダウノルビシン (Cerubidine)、ダウノルビシンリボソーム (DaunoXome)、ダクチノマイシン (Cosmegen)、エピルビシン (Ellence)、イダルビシン (Idamycin)、プリカマイシン (Mithracin)、マイトマイシン (Mutamycin)、ペントスタチン (Nipent)、又はバルルビシン (Valstar) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0236】

例示的な代謝拮抗薬としては、フルオロウラシル (Adrucil)、カペシタビン (

10

20

30

40

50

Xeloda)、ヒドロキシ尿素 (Hydrea)、メルカプトプリン (Purinethol)、ペメトレキセド (Alimta)、フルダラビン (Fludara)、ネララビン (Arranon)、クラドリビン (Cladribine Novaplus)、クロファラビン (Clolar)、シタラビン (Cytosar-U)、デシタビン (Dacogen)、シタラビンリポソーム (DepoCyt)、ヒドロキシ尿素 (Droxia)、プララトレキサート (Folotyn)、フロクスウリジン (FUDR)、ゲムシタビン (Gemzar)、クラドリビン (Leustatin)、フルダラビン (Oforta)、メトトレキサート (MTX、Rheumatrex)、メトトレキサート (Trexall)、チオグアニン (Tabloid)、TS-1又はシタラビン (Tarabine PFS) が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0237】

例示的な解毒剤としては、アミフォスチン (Ethyol) 又はメスナ (Mesnex) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0238】

例示的なインターフェロンとしては、インターフェロン α -2b (Intron A) 又はインターフェロン α -2a (Roferon-A) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0239】

例示的なポリクローナル又はモノクローナル抗体としては、トラスツズマブ (Herceptin)、オファツムマブ (Arzerra)、ベバシズマブ (Avastin)、リツキシマブ (Rituxan)、セツキシマブ (Erbix)、パニツムマブ (Vectibix)、トシツモマブ/ヨウ素131トシツモマブ (Bexxar)、アレムツズマブ (Campath)、イブリツモマブ (Zevalin, In-111, Y-90 Zevalin)、ゲムツズマブ (Mylotarg)、エクリズマブ (Soliris) 又はデノスマブが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0240】

例示的なEGFR阻害薬としては、ゲフィチニブ (Iressa)、ラパチニブ (Tykerb)、セツキシマブ (Erbix)、エルロチニブ (Tarceva)、パニツムマブ (Vectibix)、PKI-166、カネルチニブ (CI-1033)、マツズマブ (Emd7200) 又はEKB-569が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0241】

例示的なHER2阻害薬としては、トラスツズマブ (Herceptin)、ラパチニブ (Tykerb) 又はAC-480が挙げられるが、これらに限定されない。

【0242】

例示的なヒストン脱アセチル化酵素阻害薬としては、ポリノスタット (Zolanza)、バルプロ酸、ロミデプシン、エンチノスタット、アベキシノスタット、ギビノスタット (givinostat) 及びモセチノスタット (mocetinosstat) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0243】

例示的なホルモンとしては、タモキシフェン (Soltamox, Nolvadex)、ラロキシフェン (Evista)、メゲストロール (Megace)、ロイプロリド (Lupron, Lupron Depot, Eligard, Viadur)、フルベストラント (Faslodex)、レトロゾール (Femara)、トリプトレリン (Trelstar LA, Trelstar Depot)、エキセメスタン (Aromasin)、ゴセレリン (Zoladex)、ピカルタミド (Casodex)、アナストロゾール (Arimidex)、フルオキシメステロン (Androxy, Halotestin)、メドロキシプロゲステロン (Provera, Depo-Provera)、エストラムスチン (Emcyt)、フルタミド (Eulexin)、トレミフェン (Fareston)、デガレリクス (Firmagon)、ニルタミド (Nilandron

40

50

）、アバレリクス（P l e n a x i s）、又はテストラクトン（T e s l a c）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0244】

例示的な有糸分裂阻害剤としては、パクリタキセル（T a x o l, O n x o l, A b r a x a n e）、ドセタキセル（T a x o t e r e）、ビンクリスチン（O n c o v i n, V i n c a s a r P F S）、ビンブラスチン（V e l b a n）、エトポシド（T o p o s a r, E t o p o p h o s, V e P e s i d）、テニポシド（V u m o n）、イキサベピロン（I x e m p r a）、ノコダゾール、エボチロン、ビノレルビン（N a v e l b i n e）、カンプトテシン（C P T）、イリノテカン（C a m p t o s a r）、トポテカン（H y c a m t i n）、アムサクリン又はラメラリンD（l a m e l l a r i n D、L A M - D）が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0245】

例示的なホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ（P I 3 K）阻害剤としては、ワートマンニン（P I 3 Kの不可逆的阻害剤）、デメトキシビリジン（d e m e t h o x y v i r i d i n、ウォルトマンニンの誘導体）、L Y 2 9 4 0 0 2（P I 3 Kの可逆的阻害剤）、B K M 1 2 0（B u p a r l i s i b）、イデラリシブ（P I 3 K-デルタ阻害剤）、デュベリシブ（I P I - 1 4 5, P I 3 K- δ/γ 阻害剤）、アルペリシブ（B Y L 7 1 9、 α 特異的P I 3 K阻害剤）、T G R 1 2 0 2（以前はR P 5 2 6 4として知られた、経口P I 3 K- δ 阻害剤）、及びコパンリシブ（B A Y 8 0 - 6 9 4 6、主にP I 3 K- α/δ アイソフォームの阻害薬である。）が挙げられる。

20

【0246】

例示的なA k t阻害剤としては、ミルテホシン、A Z D 5 3 6 3、G D C - 0 0 6 8、M K 2 2 0 6、ペリホシン、R X - 0 2 0 1、P B I - 0 5 2 0 4、G S K 2 1 4 1 7 9 5、及びS R 1 3 6 6 8が挙げられるが、これらに限定されない。

【0247】

例示的なM T O R阻害剤としては、エベロリムス（A f i n i t o r）又はテムシロリムス（T o r i s e l）、ラパミューン（r a p a m u n e）、リダフォロリムス（r i d a f o r o l i m u s）、デフォロリムス（d e f o r o l i m u s、A P 2 3 5 7 3）、A Z D 8 0 5 5（A s t r a Z e n e c a）、O S I - 0 2 7（O S I）、I N K - 1 2 8、B E Z 2 3 5、P I - 1 0 3、T o r i n 1、P P 2 4 2、P P 3 0、K u - 0 0 6 3 7 9 4、W A Y - 6 0 0、W Y E - 6 8 7、W Y E - 3 5 4、及びC C - 2 2 3が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0248】

例示的なプロテアソーム阻害剤としては、ボルテゾミブ（P S - 3 4 1）、イキサゾミブ（M L N 2 2 3 8）、M L N 9 7 0 8、デランゾミブ（C E P - 1 8 7 7 0）、カルフィルゾミブ（P R - 1 7 1）、Y U 1 0 1、オプロゾミブ（O N X - 0 9 1 2）、マリゾミブ（N P I - 0 0 5 2）、及びジスフィラムが挙げられるが、これらに限定されない。

【0249】

例示的なP A R P阻害剤としては、オラパリブ、イニパリブ（i n i p a r i b）、ベラパリブ、B M N - 6 7 3、B S I - 2 0 1、A G 0 1 4 6 9 9、A B T - 8 8 8、G P I 2 1 0 1 6、M K 4 8 2 7、I N O - 1 0 0 1、C E P - 9 7 2 2、P J - 3 4、T i q - A、P h e n、P F - 0 1 3 6 7 3 3 8及びそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0250】

例示的なR a s / M A P K経路阻害剤としては、トラメチニブ、セルメチニブ、コビメチニブ、C I - 1 0 4 0、P D 0 3 2 5 9 0 1、A S 7 0 3 0 2 6、R 0 4 9 8 7 6 5 5、R 0 5 0 6 8 7 6 0、A Z D 6 2 4 4、G S K 1 1 2 0 2 1 2、T A K - 7 3 3、U 0 1 2 6、M E K 1 6 2 7、及びG D C - 0 9 7 3が挙げられるが、これらに限定されない。

50

【0251】

例示的な中心体クラスタ分離剤には、グリセオフルビン；ノスカピン、ノスカピン誘導体、例えば、臭素化ノスカピン（例えば、9-ブロモノスカピン）、還元型ブロモノスカピン（RBN）、N-（3-ブロモベンジル）ノスカピン、アミノノスカピンおよびそれらの水溶性誘導体；CW069；フェナントリジン由来ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ阻害剤、PJ-34；N2-（3-ピリジルメチル）-5-ニトロ-2-フラミド、N2-（2-チエニルメチル）-5-ニトロ-2-フラミドおよびN2-ベンジル-5-ニトロ-2-フラミドが含まれるがこれらに限定されない。

【0252】

例示的なマルチキナーゼ阻害剤としては、レゴラフェニブ、ソラフェニブ（Nexavar）、スニチニブ（Sutent）、BIBW 2992、E7080、Zd6474、PKC-412、モテサニブ、又はAP24534が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0253】

例示的なセリン／トレオニンキナーゼ阻害剤としては、ルボキシスタウリン、エリル／ファスジル塩酸塩、フラボピリドール、セリシクリブ（CYC202；Roscovitrine）、SNS-032（BMS-387032）、Pkc412、プリオスタチン、KAI-9803、SF1126、VX-680、Azd1152、Arry-142886（AZD-6244）、SCIO-469、GW681323、CC-401、CEP-1347又はPD 332991が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0254】

例示的なチロシンキナーゼ阻害剤としては、エルロチニブ（Tarceva）、ゲフィチニブ（Iressa）、イマチニブ（Gleevec）、ソラフェニブ（Nexavar）、スニチニブ（Sutent）、トラスツズマブ（Herceptin）、ベバシズマブ（Avastin）、リツキシマブ（Rituxan）、ラパチニブ（Tykerb）、セツキシマブ（Erbix）、パニツムマブ（Vectibix）、エベロリムス（Afinitor）、アレムツズマブ（Campath）、ゲムツズマブ（Mylotarg）、テムシロリムス（Torisel）、パゾパニブ（Votrient）、ダサチニブ（Sprycel）、ニロチニブ（Tasigna）、パタラニブ（PtK787、ZK222584）、CEP-701、SU5614、MLN518、XL999、VX-322、Azd0530、BMS-354825、SKI-606 CP-690、AG-490、WHI-P154、WHI-P131、AC-220、又はAMG888が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0255】

例示的なVEGF／VEGFR阻害剤としては、ベバシズマブ（Avastin）、ソラフェニブ（Nexavar）、スニチニブ（Sutent）、ラニビズマブ、ペガブタニブ、又はバンデタニブが挙げられるが、これらに限定されない。

【0256】

例示的な微小管標的薬としては、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ノコダゾール、エポチロン及びナベルピンが挙げられるが、これらに限定

40

【0257】

例示的なトポイソメラーゼ毒薬としては、テニポシド、エトポシド、アドリアマイシン、カンプトテシン、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、ミトキサントロン、アムサクリン、エピルビシン及びイダルビシンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0258】

例示的なタキサン又はタキサン誘導体としては、パクリタキセル及びドセタキソールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0259】

例示的な一般化学治療剤、抗腫瘍剤、抗増殖剤としては、アルトレタミン（Hexal

50

en)、イソトレチノイン (Accutane、Amnesteem、Claravis、Sotret)、トレチノイン (Vesanoïd)、アザシチジン (Vidaza)、ボルテゾミブ (Velcade)、アスパラギナーゼ (Elspar)、レバミソール (Ergamisol)、ミトタン (Lysodren)、プロカルバジン (Matulane)、ペガスパルガーゼ (Oncaspar)、デニロイキンジフチトクス (Ontak)、ポルフィマー (Photofrin)、アルデスロイキン (Proleukin)、レナリドミド (Revlimid)、ベキサロテン (Targretin)、サリドマイド (Thalomid)、テムシロリムス (Torisel)、三酸化ニヒ素 (Trisenox)、ベルテポルフィン (Visudyne)、ミモシン (Leucenol)、(1Mテガフルー0.4M5-クロロ-2,4-ジヒドロキシピリミジン-1Mオキソン酸カリウム)又はロバスタチンが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0260】

ある実施形態において、A2aR阻害は、抗A2aR抗体による治療の前に、それと同時に、またはその後、CD3刺激(例えば、膜CD3を発現する細胞との共インキュベーションによる)と組み合わせて実施される。例えば、一実施形態において、抗原特異的T細胞応答を増強するための方法は、抗原特異的T細胞応答が増強され、A2aR媒介性の免疫抑制が低減されるように、T細胞を、本明細書に記載される抗A2aR抗体およびCD3発現細胞と接触させることを含む。抗原特異的T細胞応答の任意の適切な指標は、抗原特異的T細胞応答を測定するために使用可能である。かかる適切な指標の非限定的な例には、抗体の存在下でのT細胞増殖の増加および/または抗体の存在下でのサイトカイン産生の増加が含まれる。好ましい一実施形態において、前記抗原特異的T細胞によるインターロイキン-2および/またはインターフェロン-γ産生が増強される。

20

【0261】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗A2aR抗体は、FcαまたはFcγ受容体発現エフェクター細胞を腫瘍細胞に向かわせる二特異性抗体と組み合わせて使用することもできる(例えば、米国特許第5,922,845号および第5,837,243号を参照)。かかる二特異性抗体は、2つの別々の抗原を標的とするために使用することができる。例えば、抗Fc受容体/抗腫瘍抗原(例えば、Her-2/neu)二特異性抗体は、マクロファージを腫瘍の部位に向かわせるために使用されてきた。このような標的化は、腫瘍特異的応答をより有効に活性化することができる。これらの応答のT細胞アームは、A2aRの阻害によって増進することができる。あるいは、抗原は、腫瘍抗原および樹状細胞特異的細胞表面マーカーに結合する二特異性抗体を使用して、DCに直接送達することができる。

30

【0262】

上記方法の全てにおいて、A2aR阻害は、腫瘍抗原の増強された提示を提供するために、サイトカイン治療(例えば、インターフェロン、GM-CSF、G-CSF、IL-2)などの他の形態の免疫療法、または2つの異なる結合特異性を使用する二特異性抗体治療と組み合わせることができる。

【0263】

いくつかの実施形態において、上述の治療方法のいずれかに用いられるか、抗原結合分子に用いられるか、または医薬組成物に用いられる追加の治療剤は、(a)免疫細胞の阻害受容体(免疫チェックポイント)もしくはそのリガンドのシグナル伝達を遮断する薬剤(免疫チェックポイント阻害剤)、またはかかる薬剤をコードする核酸、(b)免疫細胞の刺激受容体に対するアゴニスト、またはかかるアゴニストをコードする核酸、(c)サイトカインまたはサイトカインをコードする核酸、(d)腫瘍溶解性ウイルスまたは腫瘍溶解性ウイルスをコードする核酸、(e)キメラ抗原受容体を発現するT細胞、(f)二特異性もしくは多特異性の、T細胞に対する抗体、またはかかる抗体をコードする核酸、(g)抗TGF-β抗体、またはかかる抗体をコードする核酸、(h)TGF-βトラップまたはかかるトラップをコードする核酸、(i)そのような抗原またはかかる抗原をコードする核酸を含むがん関連抗原に対するワクチン、(j)細胞療法、および(k)それ

40

50

らの組み合わせからなる群より選ばれる免疫刺激剤である。いくつかの実施形態において、前記追加の治療剤は、免疫細胞の阻害受容体もしくはそのリガンドのシグナル伝達を遮断する薬剤、またはかかる薬剤をコードする核酸であり、前記阻害性受容体又はそのリガンドは、PD-1、PD-L1、TIGIT、CTLA-4、PD-L2、LAG-3、TIM-3、B7-H3、B7-H4、CD73、PVRIG/PVRL2、ニューリチン、BTLA、CECAM-1、CECAM-5、CECAM6、IL-1R8、VISTA、LAIR1、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、CD47、SIRPa、CD200R、CD96、CD112R、2B4、TGFβ-R、KIR、NKG2A、SEMA4D、AxL、MerTK、GAS6、TNFR2、GARP、CCR8、IDO、NOX2、SIGLEC7、SIGLEC15及びその組合せからなる群から選択されるものである。いくつかの実施形態において、前記追加の治療剤は、免疫細胞の刺激受容体に対するアゴニスト、またはかかるアゴニストをコードする核酸である。前記アゴニストは、OX40、CD2、CD3、CD7、CD16、CD27、CD28、CD30、CD40、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、BAFFR、HVEM、LIGHT、KG2C、SLAMF7、NKG2C、NKG2D、NKp46、NKp80、CD160及びその組み合わせからなる群より選ばれるものである。いくつかの実施形態において、前記追加の治療剤は、サイトカイン、又はIL-2、IL-5、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21及びその組み合わせからなる群より選ばれるサイトカインをコードする核酸である。いくつかの実施形態において、前記追加の治療剤は、腫瘍溶解性ウイルス、又は単純ヘルペスウイルス、水疱性口内炎ウイルス、アデノウイルス、ニューカッスル病ウイルス、ワクシニアウイルス、マラバウイルス、およびそれらの組合せから選択される腫瘍溶解性ウイルスをコードする核酸である。いくつかの実施形態において、前記追加の治療剤は、細胞療法である。細胞療法は、キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor、CAR) を有するT細胞、NK細胞又はマクロファージを含むことができる。いくつかの実施形態において、前記細胞療法には、二重特異性又は多重特異性T細胞標的化抗体が含まれる。

10

20

【0264】

本明細書で使用される「免疫チェックポイントタンパク質」という用語は、免疫細胞（例えば、T細胞）に発現された受容体及び／又はそのリガンドを意味する。リガンドと受容体の結合により免疫細胞の免疫応答が低減または阻害される。免疫チェックポイント阻害剤は、リガンドと受容体の結合を低減するかまたは阻害する薬剤である。

30

【0265】

本明細書で使用される「免疫細胞の刺激受容体」という用語は、免疫細胞にある受容体を指す。免疫細胞の刺激受容体がそのリガンドに結合すると、免疫細胞の免疫応答が増強される。

【0266】

ある実施形態において、本発明は、対象に疾患または障害（例えば、がん）を治療する方法を提供する。前記方法には、本発明の抗原結合分子、例えば、抗A2aR抗体またはその抗原結合断片を、単独で、または第2の1種もしくは複数の追加の治療剤と組み合わせて、対象に投与することが含まれ、ここでは、該対象は、第1の1種または複数の追加の治療剤による治療を以前に受けていた。ある実施形態において、第1の1種または複数の追加の治療剤による治療は、対象において疾患の治療に低い有効性を示すことがある。例えば、第1の1種または複数の治療剤による治療は、耐性を示し得る対象への抗PD1抗体による治療であり得る。いくつかの実施形態において、第2の1種または複数の追加の治療剤は、第1の1種または複数の追加の治療剤と同じである。いくつかの実施形態において、第2の1種または複数の追加の治療剤は、第1の1種または複数の追加の治療剤とは異なる。

40

【0267】

ある実施形態において、前記免疫チェックポイント阻害剤は、免疫チェックポイントと

50

特異的に相互作用する抗体である。いくつかの実施形態において、前記追加の治療剤には、免疫刺激剤が含まれる。いくつかの側面では、前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体（例えば、ペムブロリズマブ又はニボルマブ）、抗PD-L抗体（例えば、アテゾリズマブ）、抗CTLA-4抗体（例えば、イピリムマブ）、及びそれらの組み合わせからなる群より選ばれるものである。いくつかの側面で、前記免疫チェックポイント阻害剤は、ペムブロリズマブである。いくつかの側面で、前記免疫チェックポイント阻害剤は、ニボルマブである。いくつかの側面では、前記免疫チェックポイント阻害剤は、アテゾリズマブである。

【0268】

いくつかの実施形態において、前記追加の治療剤は、PD-1とPD-L1の相互作用を阻害する薬剤である。いくつかの側面は、前記抑制PD-1とPD-L1の相互作用を阻害する追加の治療剤は、抗体、ペプチド模倣物、及び小分子からなる群より選ばれるものである。いくつかの側面では、前記PD-1とPD-L1の相互作用を阻害する追加の治療剤は、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、BMS-936559、シンチリマブ、トリパリマブ、ティシレリツマブ、カムレリズマブ、エンバフォリマブ、スゲマリマブ、ペンプリマブ、カドニリマブ、スルファモノメトキシ、及びスルファメチゾールからなる群より選ばれるものである。

【0269】

いくつかの実施形態において、前記抗A2aR抗体は、免疫原性薬剤と組み合わせるか、または同時に投与される。免疫原性薬剤の非限定的な例には、がん細胞、腫瘍ワクチン、及び精製された腫瘍抗原（組換えタンパク質、ペプチド及び炭水化物分子が含まれる）、腫瘍溶解性ウイルス、免疫刺激性サイトカインをコードする遺伝子がトランスフェクトされた細胞などが含まれる。

【0270】

ある実施形態において、前記抗A2aR抗体は、抗原特異的免疫を増強するために、目的の抗原、または処置される対象（例えば、腫瘍保有またはウイルス保有対象）中に存在することが既知の抗原と一緒に投与される。抗A2aR抗体が別の薬剤と一緒に投与される場合、それらの両方は、別々に、または同時に投与することができる。

【0271】

ある実施形態において、本明細書に記載の抗A2aR抗体は、これらの抗体のいずれかのうち1つまたは複数の、目的の抗原との共投与（例えば、ワクチン）によって、抗原特異的免疫応答を増強するために使用することができる。したがって、一実施形態において、対象へ抗原に対する免疫応答を増強するための方法は、該対象において抗原に対する免疫応答が増強されるように、(i) 抗原及び(ii) A2aRに基づいた抗体を対象に投与することを含む。前記抗原は、例えば、腫瘍抗原、ウイルス抗原、細菌抗原又は病原体由来の抗原であり得る。かかる抗原の非限定的な例には、上記に記載された抗原、例えば、前記考察した腫瘍抗原（又は腫瘍ワクチン）、又はウイルス、細菌又は他の病原体由来する抗原が含まれる。

【0272】

相乗的活性薬剤組成物に関連する利益から見ると、ある実施形態において、抗A2aR抗体及び他の活性薬剤のそれぞれは、それを用いた単剤治療で使用される用量と比較して治療量以下の用量で、それを必要とする対象に投与される。

【0273】

ある実施形態において、A2aR阻害は、標準的ながん治療（例えば、手術、放射線および化学療法）と組み合わせられる。それらの場合には、投与される化学療法試薬の用量を低減させる可能性がある。A2aR阻害と化学療法の併用により、アポトーシスを増強し細胞傷害性免疫用の腫瘍抗原提示を増加させることができると考えられる。他の相乗的併用療法には、A2aR阻害と放射線療法、手術又はホルモン欠乏もしくは阻害との組み合わせが含まれる。これらのプロトコールの各々は、宿主において腫瘍抗原の供給源を作り出す。

10

20

30

40

50

【0274】

前記追加の治療剤は、本発明に記載の抗原結合分子を投与する前に、同時に、又はその後投与することができる（本開示の目的のために、かかる投与レジメンは、抗原結合分子とさらなる治療活性成分との「併用」とみなされる。）。

【0275】

本発明は、本発明に記載の抗原結合分子と1つ又は複数の本明細書に記載の追加の治療剤とを一緒に調製された医薬組成物を含む。

【0276】

五、抗A2aR抗体を発現させるための核酸及び宿主細胞

【0277】

他の側面、本発明は、本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）をコードする核酸、及びかかる核酸を含む発現ベクターを提供する。いくつかの実施形態において、核酸は、本明細書に記載の実施形態による抗体又は断片のHCVR及び／又はLCVR断片をコードするか、又は本明細書に記載の任意の他の抗体及び抗体断片をコードする。

【0278】

モノクローナル抗体中の抗原結合位置をコードするDNAは、常法（例えば、モノクローナル抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することが可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用すること）によりハイブリドーマ細胞から単離して配列決定することができる。又は、目的の免疫グロブリン由来のアミノ酸配列は、直接的タンパク質配列決定によって決定することができ、適切なコードヌクレオチド配列は、ユニバーサルコドン表に従って設計することができる。他の場合には、定常領域、ヒンジ領域などを含む抗原結合部位又は他の免疫グロブリン配列のヌクレオチド及びアミノ酸配列は、当該分野で周知の公開情報源から取得することができる。

【0279】

発現ベクターは、インビトロ培養細胞において本開示の抗体を合成するために使用してもよいし、もしくはそれを患者に直接投与してインビボ又はエクスビボにおいて本開示の抗体を発現させてもよい。本明細書で使用される「発現ベクター」とは、本開示の1つ以上の前記抗体をコードするポリヌクレオチドを、抗体作製目的または治療薬として直接投与するために宿主細胞内でポリヌクレオチドを発現するのに適した形態で含むウイルスまたは非ウイルスベクターを指す。

【0280】

核酸配列は別の核酸配列と機能的な関係にある場合に、前者は後者に「操作可能に連結」されていると言われる。例えば、プレ配列又はシグナルペプチドのDNAは、ポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合に、該ポリペプチドのDNAに操作可能に連結される。プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響する場合に、コード配列に操作可能に連結される。又は、リボソーム結合部位は、翻訳を容易にするように配置される場合に、コード配列に操作可能に連結される。一般に、「操作可能に連結される」とは、連結されているDNA配列は、連続しており、またシグナルペプチドの場合には連続しておりかつリード相にあることを意味する。しかし、エンハンサーは連続している必要がない。連結は、便利な制限部位での連結によって達成される。そのような部位が存在しない場合には、合成オリゴヌクレオチドアダプター又はリンカーを常法に従って使用することができる。

【0281】

本開示の抗体を発現するための核酸配列は、一般的には、成熟タンパク質から取り出されたN末端シグナルペプチド配列を含む。シグナルペプチド配列は発現レベルに影響を与えることがあるので、ポリヌクレオチドは、様々な異なるN末端シグナルペプチド配列のいずれか1つをコードすることができる。発現ベクターの設計は、形質転換される宿主細胞の選択、目的のタンパク質の発現レベルなどの因子に依存する可能性があることは、当業者には理解されるべきである。

10

20

30

40

50

【0282】

上記の「調節配列」とは、1つ以上の宿主生物において操作可能に連結されたコード配列の発現に必要なDNA配列を指す。「調節配列」という用語は、プロモーター、エンハンサー及び他の発現制御因子（例えばポリアデニル化シグナル）を含む。調節配列には、多くのタイプの宿主細胞においてヌクレオチド配列の構成的発現を指示するもの、又は特定の宿主細胞のみにおいてヌクレオチド配列の発現を指示するもの（例えば組織特異的調節配列）が含まれる。発現ベクターは、一般に、転写終結のための配列を含み、さらに、mRNAの安定性にプラスの影響を与える1つ以上の因子を含んでもよい。

【0283】

上記の発現ベクターは、本開示の抗体の発現を指示するための、プロモーター及び／又はエンハンサーなどの1つ以上の転写制御因子を含有する。プロモーターは、転写開始部位に対して比較的固定された位置から転写を開始するように機能するDNA配列を含む。プロモーターは、RNAポリメラーゼと転写因子との基本的な相互作用に必要なコア因子を含有し、他の上流因子及び応答因子と協働して機能できる。

【0284】

本明細書で使用される「プロモーター」という用語は、例えば、ゲノム遺伝子からの転写制御因子（TREs）又はそのキメラTREs（TATAボックス又は正確な転写開始のためのイニシエーター要素を含む）を包含し、発達および／または外部刺激に応答するそこに操作可能に連結された遺伝子の活性化または抑制を調節する追加的なTREs（すなわち、上流活性化配列、転写因子結合部位、エンハンサー、及びサイレンサー）、ならびにトランス作用調節タンパク質又は核酸を包含するまたは包含しないように広く解釈されるべきである。プロモーターは、ゲノム断片を含有してもよい、又は1つ以上のTREが組み合わされたキメラを含有してもよい。

【0285】

好ましいプロモーターは、目的の標的細胞において高レベルの発現を指示することができるものである。プロモーターには、構成的プロモーター（例えば、HCMV、SV40、伸長因子-1 α （EF-1 α ）のプロモーター）又は特定の目的の細胞型において優先的に発現するプロモーターが含まれる。エンハンサーは、一般に、転写開始部位から離れて機能するDNA配列を指し、転写単位の5'又は3'端に位置することがある。さらに、エンハンサーは、イントロン内及びコード配列内に存在し得る。エンハンサーは、通常、10～300bpの長さを有し、シスで機能する。エンハンサーは、近傍のプロモーターの転写を増加及び／又は調節するように機能する。好ましいエンハンサーは、抗体産生細胞における高レベルの発現を指示するものである。細胞又は組織特異的転写制御因子（TRE）は、発現を所望の細胞型に制限するために発現ベクターに組み込むことができる。Pol IIIプロモーター（H1又はU6）は、siRNAが発現されるshRNAを発現させるために特に有用である。発現ベクターは、1つ以上の細胞型における本開示の抗体の発現を促進するように設計することができる。

【0286】

siRNAは、mRNAの配列特異的転写後遺伝子サイレンシングを誘導するように操作され得る二本鎖RNAである。合成により産生されたsiRNAは、酵素Dicerによって細胞中で通常プロセッシングされるsiRNAの型を、構造的に模倣する。発現ベクターから発現される場合、発現ベクターは、細胞の内側で標的化siRNAへとプロセッシングされる短い二本鎖ヘアピン様RNA（shRNA）を転写するように操作される。合成siRNAおよびshRNAは、周知のアルゴリズムを使用して設計し、従来のDNA/RNA合成装置を使用して合成することができる。

【0287】

本開示の抗体の個々の鎖を共発現させるためには、2種の産物を発現するための適切なスプライスドナー配列およびスプライスアクセプター配列を組み込むことができる。あるいは、内部リボソーム結合配列（IRES）又は2Aペプチド配列は、1つのプロモーターから複数の産物を発現するために使用することができる。IRESは、mRNAの5'

10

20

30

40

50

端にある必要のない、それにリボソームが結合できる構造を提供する。したがって、IRE Sは、リボソームを、mRNA内の2番目の開始コドンで翻訳を開始するように導くことができ、単一のmRNAから複数のポリペプチドを生成することが可能になる。2Aペプチドは、2A部位の上流及び下流のペプチドの共翻訳自己切断を媒介する短い配列を含むので、単一の転写物から2つの異なるタンパク質を等モル量で生成することが可能になる。CHYSELは、2Aペプチドの非限定的な例であり、翻訳中の真核生物リボソームが合成している成長中のポリペプチド鎖をmRNAから解離せずに放出させることを齎す。前記リボソームが翻訳を続けると、第2のポリペプチドを生成する。

【0288】

発現ベクターには、ウイルスベクター又は非ウイルスベクターが含まれても良い。ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス(AAV)、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ワクシニアウイルス、ポリオウイルス、ポックスウイルス、レトロウイルス(HIV-1やHIV-2などのレンチウイルスを含む)、シンドビスウイルス及びその他のRNAウイルス、アルファウイルス、アストロウイルス、コロナウイルス、オルソミクソウイルス、パポバウイルス、パラミクソウイルス、パルボウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス(togaviruses)などに由来することができる。非ウイルスベクターは、ウイルス由来の成分(例えば、カプシドやエンベロープ)でパッケージされていない、単なる「裸の」発現ベクターである。

【0289】

ある場合には、これらのベクターは、ウイルスベクターが固有するかまたはウイルスベクター内に操作された標的特性を使用して、特定の疾患または細胞集団を標的とるように操作されることがある。特定の細胞は、ポリヌクレオチドの送達及び発現のために「標的化」される。したがって、この場合には、「標的化」という用語は、特定の細胞への送達用のカプシド、エンベロープタンパク質、抗体の形態で用いられる内因性又は異種結合剤の使用、特定の細胞のサブセットへの発現を制限するための組織特異的制御因子の使用、又はその両方に基づいたことがある。

【0290】

いくつかの実施形態において、抗体鎖の発現は、調節配列(例えば組織特異的プロモーター又は遍在性プロモーター)の制御下で行われる。いくつかの実施形態において、遍在性プロモーター(例えば、CMVプロモーター、CMV-チキン β -アクチンハイブリッド(CAG)プロモーター、組織特異的又は腫瘍特異的プロモーター)は、特定の抗体の重鎖もしくは軽鎖又は単鎖誘導体の発現を制御する。

【0291】

非ウイルス発現ベクターは、裸のDNAを直接注入するか、抗体をコードするポリヌクレオチドをリボソーム、微粒子、マイクロカプセル、ウイルス様粒子、又は赤血球ゴーストに封入することにより、非ウイルス遺伝子の導入に利用することができる。このような組成物は、核酸の標的化送達及び/又は所望の目的細胞への導入を促進するために、化学的コンジュゲーションによって標的化ドメインにさらに連結することができる。さらに、プラスミドベクターは、合成遺伝子導入分子(例えば、ポリリジン、プロタミン、及びアルブミンのような高分子DNA結合カチオン)とともにインキュベートすることができ、細胞標的化リガンド(例えば、アシアロオロソムコイド、インスリン、ガラクトース、ラクトース又はトランスフェリン)と連結することができる。

【0292】

又は、裸のDNAを使用することもできる。裸のDNAの取り込み効率は、圧縮又は生分解性ラテックスビーズの使用によって改善することができる。このような送達は、ビーズを処理して疎水性を高め、エンドソームの破壊及び細胞質へのDNAの放出を促進することによりさらに改善することができる。

【0293】

六、抗A2aR抗体の作製方法

【0294】

10

20

30

40

50

他の側面で、本発明は、抗 A 2 a R H C V R 及び／又は L C V R をコードする核酸又は発現ベクターで形質転換された宿主細胞を提供する。前記宿主細胞は、抗 A 2 a R H C V R 及び／又は L C V R をコードする核酸又は発現ベクター、あるいは又は本明細書に記載の他の共投与抗体又はアンタゴニストのいずれかを発現することができる細菌又は真核細胞であってもよい。

【0295】

他の側面で、本開示の抗体の作製方法は、抗体又は断片の産生を可能にする条件下で、抗 A 2 a R H C V R 及び／又は L C V R をコードする核酸又は発現ベクターで形質転換された宿主細胞を培養し、細胞から抗体を精製することを含む。

【0296】

他の側面、本発明は、抗体中の 1 つ以上のポリペプチド鎖をコードする 1 つ以上の構築物を一過性又は安定的に発現する細胞を培養し、培養された細胞から抗体を精製することを含む、抗体の作製方法を提供する。機能性抗体を産生できる任意の細胞を使用することができる。好ましい実施形態において、抗体を発現する細胞は、真核又は哺乳動物細胞、好ましくはヒト細胞である。様々な組織細胞型の細胞を使用して、抗体を発現することができる。他の実施形態において、細胞は、酵母細胞、昆虫細胞又は細菌細胞である。好ましくは、抗体産生細胞は、抗体を発現するベクターで安定的に形質転換される。

【0297】

抗体の重鎖又は軽鎖をコードする 1 つ以上の発現ベクターは、例えば、裸の DNA 技術、カチオン性脂質媒介性トランスフェクション、ポリマー媒介性トランスフェクション、ペプチド媒介性トランスフェクション、ウイルス媒介性感染、物理的又は化学的薬剤又は処理、エレクトロポレーションなどの任意の常法によって細胞に導入することができる。さらに、細胞は、抗体を発現する安定に形質転換されたクローンの選択を容易にする選択マーカーとともに、抗体を発現するための 1 つ以上の発現ベクターでトランスフェクトすることができる。このような細胞によって産生された抗体は、遠心分離、クロマトグラフィーなどの当技術分野で公知の技術に従って収集及び／又は精製することができる。

【0298】

哺乳動物細胞のための適切な選択マーカーの例には、ジヒドロ葉酸レダクターゼ (D H F R)、チミジンキナーゼ、ネオマイシン、ネオマイシン類似体 G 4 1 8、ハイグロマイシン及びピューロマイシンが含まれる。このような選択マーカーが哺乳動物宿主細胞にうまく導入されると、形質転換された哺乳動物宿主細胞は、選択圧下に置かれても生存し得る。2 つの広く用いられている選択スキームがある。第 1 のスキームは、補充培地に依存せずに増殖する能力が欠乏する変異細胞株の使用および細胞の代謝に基づくものである。二つの実例としては、C H O D H F R⁻細胞とマウス L T V 細胞がある。これらの細胞は、チミジンやヒポキサンチンなどの栄養素を添加しないと増殖できない。これらの細胞は、完全なヌクレオチド合成経路に必要な特定の遺伝子を欠いているため、不足しているヌクレオチドを補充培地で供給しない限り生存できない。培地を補充する代わりに、対応の遺伝子を欠いている細胞に無傷の D H F R 又は T K 遺伝子を導入し、成長要件を変える方法もある。D H F R 又は T K 遺伝子で形質転換されなかった個々の細胞は、補充しない培地では生存できない。

【0299】

第 2 のスキームは、優性選択 (dominant selection) であり、任意の細胞型に使用される選択スキームを指し、変異細胞株の使用を必要としない。これらのスキームでは、通常、薬剤を使用することで宿主細胞の増殖を停止させる。新しい遺伝子を持つ細胞は、薬剤耐性を伝えるタンパク質を発現し、選択を生き残る。このような優性選択の例には、ネオマイシン、ミコフェノール酸、又はハイグロマイシンのような薬剤を使用することが含まれる。3 つの例では、真核生物の制御下にある細菌遺伝子を使用して、適切な薬剤 G 4 1 8 又はネオマイシン (ゲネチシン)、x g p t (ミコフェノール酸)、又はハイグロマイシンに対する耐性をそれぞれ伝える。その他の薬剤には、ネオマイシン類似体 G 4 1 8 及びピューロマイシンが含まれる。

【0300】

例示的な抗体発現細胞には、ヒトT細胞性白血病細胞（Jurkat）、ヒト胎児腎細胞（HEK）293、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、マウスWEHI線維肉腫細胞、ならびに単細胞原生動物種（例えば、Leishmania tarentolae）が含まれる。さらに、安定的に形質転換された抗体産生細胞株は、c-mycまたは他の不死化剤で不死化された初代細胞を使用して産生することができる。

【0301】

一実施形態において、前記細胞株には、安定的に形質転換されたリーシュマニア細胞株（例えば、Leishmania tarentolae）が含まれる。リーシュマニアは、哺乳動物型グリコシル化パターンを示す真核生物タンパク質を高レベルで発現させるための、強力で急速に成長する単細胞宿主を提供するものとして知られている。市販のリーシュマニア真核生物発現キットが入手可能である（Jena Bioscience GmbH（ドイツ、イエーナ））。

10

【0302】

いくつかの実施形態において、前記細胞株は、培養液1リットル当たり、少なくとも1mg、少なくとも2mg、少なくとも5mg、少なくとも10mg、少なくとも20mg、少なくとも50mg、又は少なくとも100mgの抗体を発現する。

【0303】

本発明に記載の抗体は、任意の適切な培地（例えば、RPMI、DMEM、及びAIMV登録商標）で培養及び維持して、抗体発現細胞から単離することができる。抗体は、プロテインA又はプロテインG免疫アフィニティー精製の使用を含める従来のタンパク質精製方法（例えば、アフィニティー精製、クロマトグラフィーなど）を使用して精製することができる。いくつかの実施形態において、培養上清中に分泌されて上清から単離されるように設計される。

20

【0304】

七、医薬組成物及び投与方法

【0305】

一側面で、本発明の医薬組成物は、本明細書に記載の抗原結合分子（例えば、A2aR抗体又はその抗原結合断片）と、薬学的に許容される担体とを含む。他のいくつかの実施形態において、前記A2aR抗体又はその抗原結合断片は、薬学的に許容される担体と組み合わせて投与される。上記のように、抗A2aR組成物には、1つ又は複数の異なる抗体、1つ又は複数の多特異性抗体、1つ又は複数の融合タンパク質、1つ又は複数の免疫複合体、又はそれらの組み合わせが含まれることがある。

30

【0306】

本発明は、本発明に記載の抗原結合分子を含む医薬組成物を提供する。本発明に記載の医薬組成物は、移動、送達、耐性などを改良できる適切な担体、賦形剤、及び他の薬剤と共に配合される。多数の適切な製剤は、すべての製薬化学者に知られている処方集（Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA）に記載されている。それらの製剤としては、例えば、散剤、糊剤、軟膏剤、ゼリー剤、ワックス剤、油剤、脂質、脂質（カチオン性又はアニオン性）を含有する小胞（例えば、LIPOFECTINTM、Life Technologies、Carlsbad、CA）、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト剤、水中油型及び油中水型エマルジョン、カーボワックスエマルジョン（種々の分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル、及びカーボワックスを含有する半固体混合物が挙げられる。また、Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311を参照のこと。

40

【0307】

患者に投与される抗原結合分子の用量は、患者の年齢及び体格、目的の疾患、障害、投

50

与経路などに応じて変化してもよい。好ましい用量は、一般的には、体重又は体表面積に応じて計算される。本発明に係る二重特異性抗原結合分子は、成人患者の治療に使用される場合、約0.01～約20mg/kg体重の単回用量で静脈内投与されるのが有利であり、より好ましくは約0.02～約7mg/kg体重、約0.03～約5mg/kg体重、又は約0.05～約3mg/kg体重の単回用量で静脈内投与される。病状の重症度によっては、治療の頻度及び期間を調整することができる。二重特異性抗原結合分子を投与する場合の有効用量及びスケジュールは、経験的に決定することができる。例えば、定期的な評価によって患者の進行状況を監視することができ、それに応じて用量を調整する。さらに、用量の種間スケールリングは、当該技術分野において周知の方法を用いて行うことができる（例えば、Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351）。

10

【0308】

様々な送達システムは、知られているものであり、本発明に係る医薬組成物を投与するために使用され、例えば、リポソームへの封入、微粒子、マイクロカプセル、変異ウイルスを発現できる組換え細胞、受容体媒介エンドサイトーシス（例えば、Wu et al., 1987, J. BioI. Chem. 262:4429-4432参照）を使用することができる。導入方法には、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、及び経口経路が含まれるが、これらに限定されない。前記組成物は、例えば、点滴又はボラス投与、上皮又は粘膜皮膚内層（例えば、口腔粘膜、直腸粘膜、腸管粘膜など）を介した吸収などの任意の簡便な経路で投与してもよいし、他の生理活性剤と一緒に投与してもよい。投与は、全身的又は局所的であってもよい。

20

【0309】

本発明に係る医薬組成物は、標準的な針及び注射器を用いて、皮下又は静脈内に送達することができる。さらに、皮下送達の場合、ペン型送達デバイスは、本発明に係る医薬組成物を送達する際に容易に適用可能である。そのようなペン型送達デバイスは、再利用可能又は使い捨て可能であってもよい。再利用可能なペン型送達デバイスには、一般に、医薬組成物を含む交換可能なカートリッジを利用する。カートリッジ内の医薬組成物が全て投与されて該カートリッジが空になると、空のカートリッジは、容易に廃棄され、そして医薬組成物を含む新しいカートリッジに替えることができる。そして、ペン型送達デバイスは、再利用できる。使い捨てのペン型送達デバイスには、交換可能なカートリッジがない。逆に、使い捨てペン型送達デバイスには、装置内の貯蔵部に保持された医薬組成物が予め充填される。貯蔵部中の医薬組成物が空になると、装置全体が廃棄される。

30

【0310】

ある場合には、前記医薬組成物は、放出制御型システムで送達することができる。一実施形態において、ポンプを使用することができる（Langer、同上；Sefton、1987、CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201を参照）。他の実施形態において、ポリマー材料を使用することができる（Medical Applications of Controlled Release、Langer and Wise (eds.)、1974、CRC Pres.、Boca Raton、Floridaを参照）。更に他の実施形態において、放出制御型システムを組成物の目標の近くに配置することができるため、全身投与量の一部のみを必要とすればよい（例えば、Goodson、1984、in Medical Applications of Controlled Release、同上、vol. 2、pp. 115-138を参照）。他の放出制御型システムは、Langer、1990、Science 249:1527-1533のレビューで説明されている。

40

【0311】

注射剤には、静脈内、皮下、皮内及び筋肉内注射、点滴などの剤形が含まれる。これらの注射剤は、公知の方法によって調製することができる。注射剤は、例えば、上述の抗体又はその塩を、通常の注射用の無菌の水性媒体又は油性媒体中に溶解、懸濁又は乳化することにより調製することができる。注射用の水性媒体としては、例えば、生理食塩水、グ

50

ルコース及び他の補助剤を含む等張液などがあり、アルコール類（例えばエタノール）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン界面活性剤（例えば、ポリソルベート 80、HCO⁻（ポリオキシエチレン（50 mol）-水添ヒマシ油付加物））などのような適切な可溶化剤と組み合わせて使用してもよい。油性媒体としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが使用され、安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどのような可溶化剤と組み合わせて使用してもよい。調製された注射剤は、適切なアンプルに充填されることが好ましい。

【0312】

上記の経口又は非経口使用のための医薬組成物は、活性成分の用量に適した単位用量の剤形に調製されることが特に好ましい。このような単位用量の剤形には、例えば、錠剤、丸剤、カプセル剤、注射剤（アンプル）、坐剤などが含まれる。前記抗体の含有量は、一般に、単位用量における剤形当たり約 5 ～ 約 500 mg である。特に注射剤の場合には、前記抗体は、約 5 ～ 約 100 mg 含まれ、他の剤形の場合には、前記抗体は約 10 ～ 約 250 mg 含まれることが好ましい。

【0313】

他の側面、細胞増殖性疾患（例えば、がん、慢性感染症又は免疫不全疾患）を治療するための方法は、それを必要とする対象に、本明細書に記載の抗 A2aR 抗体又はその抗原結合断片と薬学的に許容される担体との組み合わせを含む医薬組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態において、前記方法によれば、それを必要とする対象におけるリンパ球の活性が回復、増強又は強化される。ある好ましい実施形態において、前記抗体又は断片は、A2aR を介したシグナル伝達を低減または無効化するヒト又はヒト化抗 A2aR 抗体である。

【0314】

いくつかの実施形態において、前記医薬組成物の投与により、リンパ球活性の増加から利益を得る疾患を有する患者において、あるいは免疫抑制、免疫抑制性細胞、もしくは CD4⁺ T 細胞、CD8⁺ T 細胞、B 細胞などによって生成されたアデノシンによって引き起こされるかまたはそれによって特徴付けられる疾患を有する患者においてリンパ球（例えば、T 細胞）の活性が増加する。本明細書に記載の方法は、例えば、腫瘍微小環境（およびそこでのアデノシン産生）が免疫系による認識の欠如（免疫逃避）に寄与し得ると疑われる固形腫瘍を有する患者において特に有用である。腫瘍は、例えば、A2aR 発現（または過剰発現）する CD4⁺ T 細胞、CD8⁺ T 細胞、Treg、B 細胞などの免疫細胞によって特徴付けることができる。

【0315】

ある実施形態において、前記方法および組成物は、種々のがんおよび他の増殖性疾患の治療のために利用される。それらの方法は、リンパ球の抗腫瘍活性を阻害できるアデノシンレベルを低減させるように機能するので、非常に広範ながん、特に、腫瘍微小環境中のアデノシンが抗腫瘍免疫応答を抑制することが公知である固形腫瘍に適用可能である。

【0316】

本発明に記載の抗原結合分子（例えば、抗 A2aR 抗体又はその抗原結合断片）を使用して治療される非限定的ながんには、例えば、肝臓がん、骨がん、膵がん、皮膚がん、頭頸部がん、乳がん、肺がん、非小細胞肺癌（Non-small cell lung cancer、NSCLC）、去勢抵抗性前立腺がん（CRPC）、黒色腫、子宮がん、結腸がん、直腸がん、肛門がん、胃がん、精巣がん、子宮がん、ファロピウス管癌、子宮内膜癌、子宮頸部癌、陰癌、外陰部癌、非ホジキンリンパ腫、食道がん、小腸がん、内分泌系がん、甲状腺がん、副甲状腺がん、副腎がん、軟部組織肉腫、尿道がん、陰茎がん、小児固形腫瘍、リンパ球性リンパ腫、膀胱がん、腎臓または尿管がん、腎盂癌、中枢神経系（central nervous system、CNS）の新生物、原発性 CNS リンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮がん、扁平上皮細胞がん、環境因子により誘発されるがん（アスベストによって誘発されるがんが含まれる）、例えば、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫／縦隔

原発B細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性リンパ腫、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ様白血病、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病、菌状息肉症、未分化大細胞型リンパ腫、T細胞リンパ腫および前駆Tリンパ芽球性リンパ腫が含まれる血液学的悪性腫瘍、又はそれらががんの任意の組み合わせが含まれる。本開示は、転移性癌の治療にも適用可能である。患者は、治療前、治療中、又は治療後に、上記の臨床的特徴の1つ以上について検査又は選択することができる。

【0317】

一実施形態において、前記抗A2aR抗体は、A2aRの酵素活性を中和するために、個体において少なくともEC₅₀、任意選択的なEC₇₀、任意選択的に実質的なEC₁₀₀の血中濃度を達成及び／又は維持（例えば、1、2、3、4週間にわたって、及び／又はその後の抗原結合化合物の投与まで）するのに有効な量で投与される。一実施形態において、抗A2aR抗体の活性量は、個体の血管外組織におけるA2aRの酵素活性を中和するための少なくともEC₅₀、任意選択的なEC₇₀、任意選択的に実質的なEC₁₀₀を達成するのに有効な量である。一実施形態において、抗A2aR抗体の活性量は、個体においてA2aRの酵素活性を阻害または中和するためのEC₅₀、任意選択的なEC₇₀、任意選択的に実質的なEC₁₀₀を達成（又は維持）するのに有効量である。

【0318】

任意選択的に、一実施形態において、ADCCによるA2aR発現腫瘍細胞を枯渇させる抗体（例えば、受容体飽和をもたらす濃度と同等又はそれによりも顕著に低い濃度で完全な効能を発揮できる）と逆に、前記抗A2aR抗体は、主に遮断剤であり（実質的なFcγ受容体媒介性の活性を有さない）、所望の期間（例えば、1週間、2週間、1か月間）にわたって、抗A2aR抗体の次の連続する投与まで、A2aRの酵素活性を中和するのに有効量で投与される。

【0319】

一実施形態において、前記抗A2aR抗体は、A2aRに媒介されるアデノシンへのAMPの異化を阻害するために、個体において少なくともEC₅₀、任意選択的なEC₇₀、任意選択的に実質的なEC₁₀₀の血中濃度を達成及び／又は維持（1、2、3、4週間にわたって、及び／又はその後の抗A2aR抗体の投与まで）するのに有効な量で投与される。一実施形態において、前記抗A2aR抗体の量は、個体の血管組織において、A2aRに媒介されるアデノシンへのAMPの異化を阻害するためのEC₅₀、任意選択的なEC₇₀、任意選択的に実質的なEC₁₀₀を達成（又は維持）するのに有効量である。

【0320】

一実施形態において、本発明は、任意選択的に、目的の血管外組織（例えば、腫瘍又は腫瘍環境）において、循環中のA2aR発現細胞の50%、70%、または完全（例えば90%）受容体飽和に必要な濃度よりも高い濃度となる（例えば、PBMCにおいて評価される）、循環血中濃度を所定の期間にわたって達成又は維持できる量の抗A2aR抗体を疾患を有する個体に投与することを含む、個体におけるがんの治療または予防用方法を提供する。任意選択的に、達成される濃度は、特定の受容体飽和に必要な濃度よりも少なくとも20%、50%、又は100%高い。

【0321】

一実施形態において、本発明は、循環中、必要に応じ目的の血管外組織（例えば、腫瘍又は腫瘍環境）中に達成できるか又は所定期間にわたって維持できる濃度、即ちA2aR発現細胞への結合のためのEC₅₀、任意選択的なEC₇₀、又は任意選択的なEC₁₀₀よりも高くなる一定の量で個体に抗A2aR抗体を投与することを含む、個体におけるがんの治療または予防用方法を提供する。任意選択的に、達成される濃度は、A2aR発現細胞への結合のためのEC₅₀、任意選択的なEC₇₀、又は任意選択的なEC₁₀₀よりも少なくとも20%、50%又は100%高い。

【0322】

10

20

30

40

50

任意の実施形態において、例えば、前記抗体は、ヒトPBM C中のA2aR発現細胞への結合のためのEC₅₀、任意選択なEC₇₀、又は任意選択なEC₁₀₀を0.5~100ng/ml、任意選択的に1~100ng/ml、任意選択的に30~100ng/ml、例えば、約30~90ng/mlとする。例えば、EC₅₀は、約30、37、39、43、57、58、61、62、90、95、143ng/mlとされてもよい。

【0323】

抗A2aR抗体を使用してA2aRの酵素活性を中和するためのEC₅₀は、例えば、約0.01μg/ml~1μg/ml、任意選択的に0.1μg/ml~10μg/ml、任意選択的に0.1μg/ml~1μg/mlであってもよい。例えば、EC₅₀は、約0.1μg/ml、約0.2μg/ml、又は約0.3μg/mlであってもよい。したがって、この抗A2aR抗体は、例えば、少なくとも0.1μg/ml、任意選択的な少なくとも0.2μg/ml、任意選択的な少なくとも1μg/ml、又は任意選択的な少なくとも2μg/mlの血中濃度を達成及び/又は維持できる量で投与される。

【0324】

脈管構造外の組織を標的とする場合（例えば固形腫瘍の治療における腫瘍環境）、循環中対応する濃度を提供する用量と比較して、一般的に約10倍高い用量が必要であると考えられる。約1μg/ml、2μg/ml、10μg/ml、又は20μg/mlの循環（血液）濃度を達成（及び/又は維持）するように投与された抗A2aR抗体の投与量は、それぞれ約0.1μg/ml、0.2μg/ml、1μg/ml、2μg/mlの血管外組織（例えば腫瘍組織）濃度を達成（及び/又は維持）すると予想される。

【0325】

一実施形態において、抗A2aR抗体は、例えば、少なくとも0.1μg/ml、任意選択的な少なくとも0.2μg/ml、任意選択的な少なくとも1μg/ml、又は任意選択的な少なくとも2μg/mlの組織中（例えば腫瘍環境）濃度を達成及び/又は維持できる量で投与される。抗体は、例えば、少なくとも約1μg/ml、2μg/ml、10μg/ml又は20μg/mlの血中濃度（例えば、1~100μg/ml、10~100μg/ml、1~50μg/ml、1~20μg/ml又は1~10μg/ml）を達成及び/又は維持できる量で投与される。投与量は、投与後の所定期間内（例えば、1、2、3、4週間など）に所望の濃度を維持するように調節することができる。

【0326】

いくつかの実施形態において、抗A2aR抗体の量は、血液（血清）又は血管外組織（例えば腫瘍環境）においてA2aRの酵素活性の中和のための少なくともEC₇₀又はEC₁₀₀濃度を得るように投与される。前記抗体は、例えば、少なくとも約1μg/ml、2μg/ml、10μg/ml又は20μg/mlの血液濃度又は血管外組織（例えば腫瘍環境）濃度を達成及び/又は維持できる量で投与される。

【0327】

指定のA2aR抗体のEC₅₀、EC₇₀及びEC₁₀₀値は、例えば、A2aRを中和するための細胞アッセイにおいて評価することができる。A2aRの酵素活性の中和に関する「EC₅₀」とは、酵素活性の中和に関して最大反応又は効果の50%を生じる抗A2aR抗体の濃度を指す。A2aRの酵素活性の中和に関する「EC₇₀」は、最大反応又は効果の70%を生じる抗A2aR抗体の濃度を指す。A2aRの酵素活性の中和に関する「EC₁₀₀」は、このような酵素活性の中和に関して最大反応又は効果を生じる抗A2aR抗体の効率的な濃度を指す。ある実施形態において、文脈に応じて、EC₅₀、EC₇₀又はEC₁₀₀は、抗原結合分子（例えば抗A2aR抗体又はその抗原結合断片）がA2aRの活性を阻害することを反映するために、それぞれIC₅₀、IC₇₀、又はIC₁₀₀として言及される。IC_{xx}とは、生物学的プロセスをxx%阻害するために必要な薬剤の濃度を指す。

【0328】

いくつかの実施形態において、特に固形腫瘍の治療の場合には、達成される濃度は、酵素活性を中和するための少なくともEC₅₀、任意選択的な約EC₁₀₀又は少なくとも

約 EC_{100} に対応する、組織中の濃度（脈管構造の外側、例えば腫瘍又は腫瘍環境内）になるように設計される。

【0329】

一実施形態において、抗 A2aR 抗体の量は、 $1 \sim 20 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重である。一実施形態において、その量は、毎週、2 週間ごと、毎月又は 2 ヶ月ごとに個体に投与される。

【0330】

一実施形態において、それを必要とする対象のがんを治療するための方法は、有効量の本開示に係る抗 A2aR 抗体を少なくとも 1 回の投与サイクル（任意選択的な少なくとも 2、3、4 又はそれ以上の投与サイクル）個体に投与することを含む。ここで、前記サイクルは、8 週間以下の時間であり、それぞれの前記少なくとも 1 回のサイクルにおいて、前記抗 A2aR 抗体が、 $1 \sim 20 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重の用量で 1 回、2 回、3 回又は 4 回投与される。一実施形態において、前記抗 A2aR 抗体は、静脈内注入によって投与される。

10

【0331】

対象（例えば、ヒト）を治療するための適切な治療プロトコルには、例えば、本明細書に開示された量の抗 A2aR 抗体を患者に投与することが含まれ、ここで、前記方法には、少なくとも 1 回分の用量で抗 A2aR 抗体を投与することを含む少なくとも 1 回の投与サイクルが含まれる。任意選択的に、抗 A2aR 抗体は、少なくとも 2 回、3 回、4 回、5 回、6 回、7 回又は 8 回投与される。一実施形態において、前記投与サイクルは、2 週間～8 週間である。

【0332】

一実施形態において、個体における疾患（例えば、がん、固形腫瘍、血液腫瘍）を治療又は予防するための方法には、A2aR の酵素活性を中和するための抗 A2aR 抗体を少なくとも 1 つの投与サイクルで個体に投与することが含まれる。この投与サイクルは、該抗 PD-L1 抗体の少なくとも第 1 回及び第 2 回（任意選択的な第 3 回、第 4 回、第 5 回、第 6 回、第 7 回、及び／又は第 8 回又はそれ以上）の投与を含む。ここで、該抗 A2aR 抗体は、少なくとも $0.1 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、少なくとも $0.2 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、少なくとも $1 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、少なくとも $2 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、少なくとも $10 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、少なくとも $20 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、 $1 \sim 100 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、 $1 \sim 50 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、 $1 \sim 20 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、 $1 \sim 10 \mu\text{g} / \text{ml}$ 又は任意の前述の濃度の間の範囲内の抗 PD-L1 抗体の血中（血清）濃度を 2 回の連続投与の間に達成又は維持するのに有効な量で投与される。

20

30

【0333】

一実施形態において、特定の連続的な血中濃度が維持され、ここで、該血中濃度は、特定の期間（例えば、抗体の 2 回の投与の間、週数、1 週間、2 週間、3 週間、4 週間）に、実質的に特定の血中濃度を下回らない。換言すれば、血中濃度は指定の期間中に変化し得るが、維持された特定の血中濃度は最小又は「谷」濃度を表す。

【0334】

一実施形態において、抗 A2aR 抗体の治療活性量は、抗体の投与後の少なくとも約 1 週間、約 2 週間、又は約 1 ヶ月間に、A2aR の酵素活性を中和するために、血中及び／又は組織中に（少なくとも） EC_{50} 濃度、任意選択的な EC_{70} 濃度、任意選択的な EC_{100} 濃度を提供できるような抗体の量である。

40

【0335】

本開示に係る抗 A2aR 抗体を用いる治療過程の前又は治療過程中には、患者が治療に適しているかどうか及び治療に反応する可能性があるかどうかを判断するために、細胞における A2aR、CD39 及び／又は CD73 の発現レベル、A2aR 発現細胞、CD39 発現細胞及び／又は CD73 発現細胞の百分率；及び／又はアデノシン、ADP 及び／又は AMP のレベルを、患者の腫瘍内及び／又は腫瘍付近で評価することができる。上記のレベル又は発現の増加は、個体が本開示に係る抗 A2aR 抗体を用いる治療に適している（例えば、その治療から利益を得る可能性が高い）ことを示すことができる。

【0336】

いくつかの実施形態において、患者の腫瘍内及び／又は腫瘍付近の A2aR、CD39

50

及び／又はCD73の発現レベル及びアデノシン、ADP及び／又はAMPの濃度の評価には、がん患者由来の組織、例えば、がん組織、がんの周辺部に対して近位のもしくはがんの周辺部における組織、がん隣接組織、隣接非腫瘍性組織または隣接正常組織からなる群から選択されるヒト組織の生物学的試料、ならびに組織内のA2aR、CD39および／またはCD73の発現レベルならびにアデノシン、ADPおよび／またはAMPの濃度を、対象から得るステップを含む。患者から得られた発現レベル又はヌクレオチド濃度は、基準レベル（例えば、健康な個体のレベル）と比較することができる。

【0337】

治療（または抗体の投与）前のレベルと比較した投与（または抗体の投与）後のアデノシン、ADPおよび／またはAMPのレベルの減少は、個体が本開示の抗A2aR抗体（基質結合したA2aRを阻害する抗体が含まれるがこれに限定されない）による治療から利益を得ていることを示し得る。必要に応じて、患者が抗A2aR抗体による治療から利益を得ている場合、方法は、さらなる用量の抗A2aR抗体を、単独でまたは別の活性薬剤と組み合わせて患者に投与すること（例えば、治療の継続）をさらに含んでも良い。

【0338】

上記より、ある実施形態において、前記方法は、（a）腫瘍環境中の、必要に応じて、腫瘍内および／または隣接組織内のA2aR、CD39および／もしくはCD73の発現レベルおよび／またはアデノシン、ADPおよび／もしくはAMPの濃度を決定するステップと、腫瘍環境が、それらの対応する参照レベルと比較して増加されたA2aR、CD39、CD73、アデノシン、ADPおよび／またはAMPのレベルを示したことが決定された際に、（b）抗A2aR抗体を個体に投与するステップとを含む。

【0339】

ある実施形態において、腫瘍環境内のA2aR、CD39、CD73、アデノシン、ADPおよび／またはAMPのレベルを決定することは、がん組織および／またはがんの周辺部に対して近位のもしくはがんの周辺部における組織（例えば、がん隣接組織、隣接非腫瘍性組織または隣接正常組織）を含有する生物試料を対象から得るステップと、A2aR発現細胞、CD39発現細胞および／またはCD73発現細胞のレベルおよび／または相対的パーセンテージ、ならびに／またはアデノシン、ADPおよび／またはAMPのレベルを検出するステップとを含む。A2aR発現細胞、CD39発現細胞および／またはCD73発現細胞には、例えば、腫瘍細胞、CD4 T細胞、CD8 T細胞、B細胞、およびそれらの組合せが含まれることがある。A2aR、CD39、CD73の発現レベルは、健康な対象に対応する参照レベルと比較したかまたは治療前の参照レベルと比較したそれらのmRNA発現（例えば、RT-PCRによって）またはポリペプチド発現（例えば、ウエスタンブロッティング、免疫蛍光染色によって）を、当業者に周知の技法を使用して評価することによって、決定することができる。

【0340】

腫瘍微小環境中の（例えば、腫瘍細胞、CD4 T細胞、CD8 T細胞、B細胞における）A2aR、CD39、CD73、アデノシン、ADPおよび／またはAMPレベルの評価の有無に関わらず、抗A2aR抗体でがんを患う対象を治療する可能である。

【0341】

生物試料が、参照と比較して、A2aR、CD39および／もしくはCD73を過剰発現したかならびに／または高濃度のアデノシン、ADPおよび／もしくはAMPを含有した細胞を含むという検定結果は、対象が、A2aRを阻害する薬剤による治療から利益を得る可能性があるがんを患うことを示している。いくつかの実施形態において、「過剰発現」という用語は、所定の患者から採取されたかなりの数の細胞において、例えば、対象から採取された腫瘍細胞またはリンパ球のうち少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%またはそれよりも多く発現されたA2aR、CD39および／またはCD73ポリペプチドに関して使用される。

【0342】

一実施形態において、がんを治療または予防することを必要とする対象におけるがんの治療または予防のための方法は、(a)腫瘍環境内の、必要に応じて、腫瘍内および／または隣接組織内の、A2aR、CD39および／またはCD73に対応する細胞のパーセンテージおよび／または発現の程度を検出し、腫瘍環境が、必要に応じて、適切な参照レベルと比較して増加したレベルでA2aR、CD39および／またはCD73を過剰発現した細胞を含むという検定結果の上で、(b)抗A2aR抗体を対象に投与することを含む。一実施形態において、前記細胞は、腫瘍細胞である。他の実施形態において、腫瘍環境、腫瘍および／または隣接組織内の細胞は、非悪性免疫細胞、例えば、T細胞である。

【0343】

いくつかの実施形態において、腫瘍環境内のA2aR、CD39および／またはCD73発現の程度を決定することは、がん組織および／またはがんの周辺部に対して近位のもしくはがんの周辺部における組織（例えば、がん隣接組織、隣接非腫瘍性組織または隣接正常組織）を含む生物試料を個体から得、細胞をA2aRポリペプチド、CD39ポリペプチドおよび／またはCD73ポリペプチドに結合する抗体と接触させ、A2aR、CD39および／またはCD73に対応する細胞のパーセンテージおよび／または発現の程度を検出することを含む。ある実施形態において、A2aR、CD39および／またはCD73の発現は、免疫組織化学アッセイを使用して、それらの細胞表面発現によって評価される。

【0344】

抗体組成物は、単剤療法として、又は抗体が投与される特定の治療目的に通常利用されている薬剤を含める1つ以上の他の治療薬との併用治療として使用することができる。上記の「併用療法」を参照されたい。前記追加の治療薬は、通常、治療されている特定の疾患又は障害に用いられる単剤療法において汎用されている該薬の量及び治療レジメンで投与される。そのような治療薬には、抗癌剤及び化学療法剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0345】

上記のように、本発明に係る医薬組成物の使用方法は、それを必要とする対象に、有効量の本開示に係る医薬組成物を投与することを含む。

【0346】

任意の適切な投与経路又は態様は、治療的又は予防的に有効な用量の前記抗体を患者に提供するために使用することができる。例示的な投与経路又は態様としては、非経口（例えば、静脈内、動脈内、筋肉内、皮下、腫瘍内）、経口、局所（経鼻、経皮、皮内又は眼内）、粘膜（例えば、鼻、舌下、頬、直腸、膣）、吸入、リンパ内、脊髄内、頭蓋内、腹腔内、気管内、膀胱内、髄腔内、腸内、肺内、リンパ内、腔内、眼窩内、被膜内及び経尿道、ならびにカテーテル又はステントによる局所送達が挙げられる。

【0347】

本開示に係る抗A2aR抗体を含む医薬組成物は、任意の薬学的に許容される担体又は賦形剤中に配合することができる。本明細書で使用される「薬学的に許容される担体」という用語には、生理学的に適合する任意及びすべての溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などが含まれる。医薬組成物は、適切な固体又はゲル相担体又は賦形剤を含んでもよい。例示的な担体又は賦形剤としては、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、種々の糖、デンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、及びポリエチレングリコールなどのポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。例示的な薬学的に許容される担体としては、水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール、ならびにそれらの1つ以上の組み合わせが挙げられる。多くの場合、組成物中には等張剤、例えば糖、マンニトール、ソルビトールのようなポリアルコール、又は塩化ナトリウムを含むことが好ましい。薬学的に許容される担体は、治療薬の保存期間又は有効性を高める湿潤剤又は乳化剤、防腐剤又は緩衝剤のような少量の補助物質をさらに含んでもよい。

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

好ましくは、本明細書に記載の抗体又は追加の活性剤に用いられるポリペプチドドメインは、投与された治療薬に対する炎症反応を低減するために、投与されるのと同じ宿主に由来する。上で示唆したように、治療薬は、一度にまたは一連の治療にわたって被検者に適切に投与され、或いは診断以降の任意の時点で患者に投与されてもよい。前記 A2aR 抗体は、単剤療法として投与してもよいし、又は問題となっている障害を治療するのに有用な追加の活性剤又は療法と併用して投与してもよい。

一般的な提案として、A2aR抗体（又は追加の活性剤）の治療有効量又は予防有効量は、1回または複数回の投与にかかわらず、約 1 ng/kg体重/日 ～約 100 mg/kg体重/日 の範囲で投与される。具体的な一実施形態において、各A2aR抗体又は活性薬剤は、約 1 ng/kg体重/日 ～約 10 mg/kg体重/日 、約 1 ng/kg体重/日 ～約 1 mg/kg体重/日 、約 1 ng/kg体重/日 ～約 $100\text{ }\mu\text{g/kg体重/日}$ 、約 1 ng/kg体重/日 ～約 $10\text{ }\mu\text{g/kg体重/日}$ 、約 1 ng/kg体重/日 ～約 100 ng/kg体重/日 、約 1 ng/kg体重/日 ～約 10 ng/kg体重/日 、約 10 ng/kg体重/日 ～約 100 mg/kg体重/日 、約 10 ng/kg体重/日 ～約 10 mg/kg体重/日 、約 10 ng/kg体重/日 ～約 $100\text{ }\mu\text{g/kg体重/日}$ 、約 10 ng/kg体重/日 ～約 $1\text{ }\mu\text{g/kg体重/日}$ 、 10 ng/kg体重/日 ～約 100 ng/kg体重/日 、約 100 ng/kg体重/日 ～約 100 mg/kg体重/日 、約 100 ng/kg体重/日

／日～約10mg/kg体重／日、約100ng/kg体重／日～約1mg/kg体重／日、約100ng/kg体重／日～約100μg/kg体重／日、約100ng/kg体重／日～約1μg/kg体重／日、約1μg/kg体重／日～約100mg/kg体重／日、約1μg/kg体重／日～約10mg/kg体重／日、約1μg/kg体重／日～約1mg/kg体重／日、約1μg/kg体重／日～約100μg/kg体重／日、約1μg/kg体重／日～約10μg/kg体重／日、約10μg/kg体重／日～約100mg/kg体重／日、約10μg/kg体重／日～約1mg/kg体重／日、約10μg/kg体重／日～約100μg/kg体重重量／日、約100μg/kg体重／日～約100mg/kg体重／日、約100μg/kg体重／日～約10mg/kg体重／日、約100μg/kg体重／日～約1mg/kg体重／日、約1mg/kg体重／日～約10mg/kg体重／日、約10mg/kg体重／日～約100mg/kg体重／日の範囲で投与される。

10

【0353】

他のいくつかの実施形態において、前記A2aR抗体及び／又は活性薬剤の投与量は、3日毎に500μg～20g、又は3日毎に25mg/kg体重の用量で投与される。

【0354】

他のいくつかの実施形態において、各A2aR抗体及び／又は活性薬剤は、毎回の独立した投与において、約10ng～約100ng、約10ng～約1μg、約10ng～約10μg、約10ng～約100μg、約10ng～約1mg、約10ng～約10mg、約10ng～約100mg、約10ng～約1000mg、約10ng～約10,000mg、約100ng～約1μg、約100ng～約10μg、約100ng～約100μg、約100ng～約1mg、約100ng～約10mg、約100ng～約100mg、約100ng～約1000mg、約100ng～約10,000mg、約1μg～約10μg、約1μg～約100μg、約1μg～約1mg、約1μg～約10mg、約1μg～約100mg、約1μg～約1000mg、約1μg～約10,000mg、約10μg～約100μg、約10μg～約1mg、約10μg～約10mg、約10μg～約100mg、約10μg～約1000mg、約10μg～約10,000mg、約100μg～約1mg、約100μg～約10mg、約100μg～約100mg、約100μg～約1000mg、約100μg～約10,000mg、約1mg～約10mg、約1mg～約100mg、約1mg～約1000mg、約1mg約10,000mg、約10mg～約100mg、約10mg～約1000mg、約10mg～約10,000mg、約100mg～約1000mg、約100mg～約10,000mg、又は約1000mg～約10,000mgの範囲で投与される。本開示の抗体は、毎日、2、3、4、5、6又は7日毎に、もしくは1、2、3又は4週間毎に投与することができる。

20

30

【0355】

他のいくつかの具体的な実施形態において、各A2aR抗体又は活性薬剤の投与量は、約0.0006mg／日、0.001mg／日、0.003mg／日、0.006mg／日、0.01mg／日、0.03mg／日、0.06mg／日、0.1mg／日、0.3mg／日、0.6mg／日、1mg／日、3mg／日、6mg／日、10mg／日、30mg／日、60mg／日、100mg／日、300mg／日、600mg／日、1000mg／日、2000mg／日、5000mg／日又は10,000mg／日であってもよい。

40

【0356】

ある実施形態において、前記A2aR抗体及び／又は他の活性薬剤のコード配列は、上記方法に従う治療を必要とする対象においてA2aR抗体または他の活性薬剤の有効量を発現させるために、適切な発現ベクター（例えば、ウイルスまたは非ウイルスベクター）中に組み込まれる。例えば、1つまたは複数の組換えAAV（rAAV）ウイルスの投与を含む特定の実施形態では、前記医薬組成物は、1kg当たり少なくとも 10^{10} 、少な

50

くとも 10^{11} 、少なくとも 10^{12} 、少なくとも 10^{13} 、又は少なくとも 10^{14} 個のゲノムコピー（GC）もしくは組換えウイルス粒子、またはそれらの任意の範囲を含む量で rAAV を含むことができる。ある実施形態において、前記医薬組成物は、1つの対象あたり少なくとも 10^{10} 、少なくとも 10^{11} 、少なくとも 10^{12} 、少なくとも 10^{13} 、少なくとも 10^{14} 、少なくとも 10^{15} 個のゲノムコピー又は組換えウイルス粒子ゲノムコピー、又はその任意の範囲を含む量で rAAV などの前記組換えウイルスを含む。

【0357】

用量は、任意の特定の細胞増殖性疾患又は免疫不全疾患状態に適した、当該分野で認められた1つまたは複数の動物モデルにおいて測定することができる。

10

【0358】

また、送達方法としては、死滅ウイルスに連結されているか又は連結されていないポリカチオン凝縮DNA、リガンド連結DNA、リポソーム、真核細胞送達ビヒクル細胞、光重合ハイドロゲル材料の堆積、ハンドヘルドタイプの遺伝子導入粒子銃の使用、電離放射線、細胞膜との核電荷の中和又は融合、粒子媒介遺伝子導入などが挙げられる。

【0359】

八、抗体の診断用途

【0360】

本発明に係る抗原結合分子（例えば、抗体又はその抗原結合断片）は、また、例えば、診断目的で、サンプル中のヒトもしくはカニクイザル A2aR、又はヒトもしくはカニクイザル A2aR 発現細胞を検出及び／又は測定するために使用することができる。例えば、抗 A2aR 抗体又はその抗原結合断片は、A2aR の異常発現（例えば、過剰発現、過小発現、発現の欠如など）を特徴とする障害又は疾患を診断するために使用することができる。A2aR の例示的な診断アッセイは、例えば、患者から採取されたサンプルを検出可能な標識またはレポーター分子で標識された本発明の抗体と接触させることを含む。あるいは、標識されていない抗体は、それ自体に検出可能な標識が付いている二次抗体と組み合わせて診断用途に使用することができる。検出可能な標識又はレポーター分子は、例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{18}F 、 ^{32}p 、 ^{35}S 又は ^{125}I のような放射性同位体；フルオレセインイソチオシアネートやローダミンなどの蛍光又は化学発光部分；又はアルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ワサビペルオキシダーゼ、又はルシフェラーゼなどの酵素であってもよい。サンプル中の A2aR を検出または測定するために使用できる具体的な例示的なアッセイとしては、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、及び蛍光活性化細胞選別（FACS）が挙げられる。本発明に記載の A2aR 診断アッセイで使用できるサンプルとしては、正常又は病理学的条件下で、検出可能な量の A2aR タンパク質又はその断片を含有する、患者から採取した任意の組織又は体液サンプルが挙げられる。一般には、健常な患者（例えば、異常な A2aR レベルや活性に関連する疾患又は障害に罹患していない患者）から採取した特定のサンプル中の A2aR のレベルを測定して、最初に A2aR のベースライン又は標準レベルを確立する。次いで、この A2aR のベースラインレベルを、A2aR 関連疾患又は障害を有することが疑われる個人から採取したサンプル中で測定された A2aR のレベルと比較することができる。

20

30

40

【0361】

さらに、本明細書に記載の抗 A2aR 抗体は、免疫親和性精製を通じてヒト A2aR を精製するために使用することができる。

【0362】

九、キット

【0363】

本明細書に記載された任意の組成物、例えば、本発明に係る抗 A2aR 抗原結合分子、及び／又は追加の治療薬は、キットに含まれてもよい。非限定的な例において、前記キットは、抗原結合分子、例えば、抗体又はその抗原結合断片を含む。特定の実施形態におい

50

て、前記キットは、本明細書に記載された追加の治療剤をさらに含む。

【0364】

前記キットは、疾患又は障害を治療するための薬剤又は説明書をさらに含んでもよい。また、1つ以上の緩衝液を含んでもよい。

【0365】

前記キットにおける上記成分は、水性媒体又は凍結乾燥形態のいずれかで包装することができる。キットの容器手段には、一般に、少なくとも1つのバイアル、試験管、フラスコ、ボトル、注射器又はその他の容器手段が含まれ、その中に成分を入れることができ、好ましくは、適切に分注される。前記キット内に2つ以上の成分がある場合（標識試薬及びラベルと一緒に包装することができる）、前記キットは、一般に、他の成分を別々に入れるための第2、第3又は他の容器を含んでも良い。前記キットは、滅菌された薬学的に許容される緩衝液及び／又は他の希釈剤を入れるための第2の容器手段も含むことができる。さらに、バイアルには成分の様々な組み合わせが含まれてもよい。また、本発明に係るキットは、通常、本発明に係る組成物（例えば、抗A2aR抗原結合分子及び／又は追加の治療剤）、及び商業販売のための密閉された他の任意の試薬容器を収容する手段をさらに含んでも良い。

10

【0366】

前記キットの上記成分が1つ及び／又は複数の液体溶液として提供される場合、該液体溶液は、水溶液であり、滅菌水溶液が特に好ましい。さらに、前記キットの成分は、乾燥粉末として提供することができる。試薬及び／又は成分が乾燥粉末として提供される場合、該粉末は、適切な溶媒の添加によって再構成することができる。溶媒は、別の容器手段で提供することも想定される。

20

【0367】

本発明は、以下の実施例によりさらに説明されるが、これらに限定されない。本出願全体を通して引用されるすべての参考文献、特許、公開特許出願の内容、ならびに図および表は、参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【0368】

実施例1：例示的なヒト化抗A2aRモノクローナル抗体の作製

‘601開示中に示された3つのマウス抗ヒトA2aRモノクローナル抗体1B5-3D7、3F6-9G5、および3F8-12E9を使用して例示的なヒト化抗A2aRモノクローナル抗体を作製した。マウス抗A2aRモノクローナル抗体と人種系の間の配列が同じであることに基づいて、IgBlastのアルゴリズムを用いて最も近いヒト重鎖可変領域（VH）配列および軽鎖可変領域（VL）配列を選択した。‘601開示に示された抗体由来のCDR領域を識別し、KababatおよびIMGT番号付けスキームの組み合わせに基づいて定義した（表1および2を参照）。選択された人種系のフレームワークを‘601開示に示された抗体由来のCDRへの受容体として使用した。バーニアゾーン（vernier zone）残基は、抗原と直接接触するか、又はCDRループに影響するか、又はVH/VLの臨界面での鎖-ドッキングに影響することにより抗原の結合に関与することが知られている。バーニアゾーン残基の複数の組み合わせを‘601開示に示された親抗体のマウス由来残基に逆変異した。

30

40

【0369】

CRO BonOpus Bioscience又はBioIntronは、ヒト化抗体に‘601開示に示された親抗体の1つ又は複数の機能又は特徴（例えば、ヒトA2aRへの特異的結合又はアデノシン経路への阻害）を保持していることを確認するために、各々のヒト化VHのドメインおよびVLのドメインを合成し、ヒトIgG1 FES（L234F、L235E、P331S）アイソタイプ定常ドメイン配列を含むHCプラスミドおよびヒトIgKアイソタイプ定常ドメイン配列を含むLCプラスミドにそれぞれインフレームでクローニングした。各プラスミドに配列決定および制限酵素消化を行い、挿入されたヒト化VH又はVLドメインの配列および方向を確認した。その後、Exp29

50

3トランスフェクションキット（Gibco、カタログ番号：A14524）を用いて、メーカーのマニュアルおよび説明に従って、異なるHCとLCプラスミドのマトリックス組み合わせを対としてExp i 293 F細胞（Gibco）にトランスフェクトした。トランスフェクトしてから5日後、上清を収集した。各上清試料を384ウェルプレート（Corning、カタログ番号：3575）に90 μ l／ウェルに加え、Gator Plus（Gator Bio）を使用してメーカーの推奨案に従ってProAプローブにより抗体の濃度を定量した。Durvalumab（Imfinzi、市販の抗PD-L1抗体薬物）による検量線に基づいて、各上清試料中の抗体濃度を算出した。そして、上清を正規化し、さらなる特徴付けに使用した。

【0370】

精製された組換え抗体を作製するために、各ヒト化抗体バリエーション又はそれに由来する親クローン（1B5-3D7、3F6-9G5、3F8-12E9）の各重鎖-軽鎖対のプラスミドのトランスフェクショングレードのものを作製した。Exp i CHO細胞は、一過性トランスフェクションに使用された。トランスフェクション後に5～7日で上清を収集し、CRO BioIntaronによりIgG1 FES（L234F、L235E、P331S）抗体を精製した。

【0371】

特定のアッセイにおいて、'601開示に示された親抗体をキメラ抗体に変換した。キメラ抗体を生成するために、親抗体のVHドメインを合成してヒトIgG1 FES（L234F、L235E、P331S）アイソタイプ定常ドメイン配列を含むHCプラスミドにインフレイムでクローニングし、またVLドメインを合成してヒトIgKアイソタイプ定常ドメイン配列を含むLCプラスミドにインフレイムでクローニングした。このような方法で産生された抗体をキメラ抗体と言及した。例えば、クローン3F6-9G5に由来するキメラ抗体は、「キメラ3F6」又は「キメラ3F6-9G5」と言及されることがある。

【0372】

実施例2：例示的なヒト化抗A2aRモノクローナル抗体のヒトA2aRへの結合

本研究は、本発明の例示的なヒト化抗A2aRモノクローナル抗体が細胞表面に発現されるヒトA2aRに結合するかどうかを確認することを目的とする。

【0373】

（1）トランスフェクトされたExp i 293 F細胞上清における例示的なヒト化抗A2aRモノクローナル抗体のヒトA2aRへの結合

【0374】

簡単に説明すると、新鮮な培養物からヒトA2aRを安定に過剰発現するHEK293細胞（HEK-hA2aR OCL、BPS Bioscience、カタログ番号：79381）を収集した。その後、細胞を10⁶／mlの濃度でFACS緩衝液（1 x DPBS／1% FBS）に再懸濁した。100 μ lの細胞を96ウェルプレートの各ウェルに同量で分注した。遠心後に、各ウェルの細胞ペレットを、トランスフェクトされたExp i 293細胞培養物から収集された、1 μ g／mlのヒト化抗A2aRモノクローナル抗体バリエーションを含有する正規化上清試料100 μ lで再懸濁した。上清を細胞と混合して氷上で1時間インキュベートした。FACS緩衝液で発現された抗体を含有する上清とA2aR発現細胞との混合物を洗浄した後、1：400に希釈されたPE-コンジュゲートされた抗ヒトFc二次抗体（Jackson Immuno Research、カタログ番号：109-116-098）100 μ lを各ウェルに添加し、次いで氷上で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、染色された細胞を1 x DPBS緩衝液（1：100）で希釈した7-AAD（Biolegend、カタログ番号：420404）150 μ lに再懸濁し、暗所、室温で5分間インキュベートした後、FACS解析を行った。Guava 11HT又は5HT（Luminex）を使用して平均蛍光強度（mean fluorescence intensity、MFI）を求めた。Flowjoソフトウェアを使用してデータを分析した。

【 0 3 7 5 】

下記の表 2 2 ～ 2 4 に上記で測定した M F I 値をまとめて示した。表 2 2 ～ 2 4 に示すように、例示的なヒト化抗 A 2 a R 抗体は、細胞表面で発現される A 2 a R に結合された。M F I 値が大きいほど、例示的な抗体と細胞表面で発現される A 2 a R との結合が強いことを示した。

【表 2 2】

表 2 2 : 例示的なヒト化抗 A 2 a R と細胞表面でのヒト A 2 a R との結合 (1 B 5 - 3 D 7 由来)

	Hu1B5-L1	Hu1B5-L2	Hu1B5-L3	Hu1B5-L4	Hu1B5-L5	1B5-3D7LC
Hu1B5-H1	34	62	1836	1566	481	
Hu1B5-H2	165	243	1874	1632	728	
Hu1B5-H2.1	145	225	1861	1715	960	
Hu1B5-H3	152	231	1851	1552	686	
Hu1B5-H4	182	263	1861	1784	872	
Hu1B5-H5	82	283	1951	1713	823	
Hu1B5-H6	178	359	1913	1908	702	
1B5-3D7 HC						1961*

10

* : 3 点測定 (T r i p l i c a t e) の平均値

【 0 3 7 6 】

20

【表 2 3】

表 2 3 : 例示的なヒト化抗 A 2 a R と細胞表面でのヒト A 2 a R との結合 (3 F 6 - 9 G 5 由来)

	Hu3F6-L1	Hu3F6-L2	Hu3F6-L3	Hu3F6-L4	Hu3F6-L5	Hu3F6-L6	Hu3F6-L7	Hu3F6-L8	3F6-9G5 LC
Hu3F6-H1	15	14	1599	1320	1498	313	290	1417	
Hu3F6-H2	13	146	1828	1594	1790	1575	1181	1712	
Hu3F6-H3	12	200	1928	1839	1902	1658	1508	1829	
Hu3F6-H4	21	255	1963	1450	1994	1965	1880	1707	
Hu3F6-H5	25	191	2091	1916	1848	1845	1892	1890	
Hu3F6-H6	27	17	2089	1997	1978	979	1173	1998	
3F6-9G5 HC									2044*

30

* : 3 点測定 の平均値

【 0 3 7 7 】

【表 2 4】

表 2 4 : 例示的なヒト化抗 A 2 a R と細胞表面でのヒト A 2 a R との結合 (3 F 8 - 1 2 E 9 由来)

	Hu3F8-L1	Hu3F8-L2	Hu3F8-L3	Hu3F8-L4	Hu3F8-L5	3F8-12E9 LC
Hu3F8-H1	9	10	1810	1746	1791	
Hu3F8-H2	16	38	1805	1784	1771	
Hu3F8-H3	64	93	1865	1838	1853	
Hu3F8-H4	110	131	1909	1877	1887	
Hu3F8-H5	58	147	1836	1843	1902	
Hu3F8-H6	158	285	1875	1882	1899	
3F8-12E9 HC						1918*

40

* : 4 点測定 (q u a d r u p l i c a t e) の平均値

【 0 3 7 8 】

50

*：4点測定 (quaduplicate) の平均値

【0379】

(2) 精製されたExpichO細胞によって発現された例示的なヒト化抗A2aRモノクローナル抗体の結合

【0380】

簡単に説明すると、新鮮な培養物からヒトA2aRを安定に過剰発現するHEK293細胞 (HEK-hA2aR OCL、BPS Bioscience、カタログ番号：79381) を収集した。その後、細胞を $2 \times 10^6 / \text{ml}$ の濃度でFACS緩衝液 (1x DPBS / 2% FBS) に再懸濁した。細胞100 μl を96ウェルプレートの各ウェルに同量で分注した。遠心後に、各ウェル中の細胞ペレットを1：3に段階希釈して (開始濃度：3.3 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 、FACS緩衝液 (1x PBS、2% FBS) に希釈して) 精製した例示的な抗体 (ExpichO細胞によって発現されてCRO BioIntronにより精製されたものである。) に再懸濁した。段階希釈した抗体を細胞と混合して氷上で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、PE-コンジュゲートされた抗ヒトFc二次抗体 (1：400に希釈し、Jackson Immuno Research、カタログ番号：109-116-098) 100 μl を各ウェルに添加し、その後、氷上で30分間インキュベートした。FACS緩衝液で洗浄した後、染色された細胞を7-AAD (Biolegend、カタログ番号：420404、1：100で1x DPBS緩衝液に希釈した。) 200 μl に懸濁し、暗所、室温で5分間インキュベートし、その後、Guava 11HT又は5HT (Luminex) でフローサイトメトリー分析を実行した。平均蛍光強度 (MFI) を取得してFlowjoソフトウェアを使用してデータを分析した。

10

20

【0381】

下記の表25に上記で測定したEC50値をまとめて示した。本開示の例示的なヒト化抗A2aR抗体は、細胞表面で発現されるA2aRに特異的に結合することを確認した。親の3F6-9G5及び3F8-12E9抗体を陽性対照とした。抗HELアイソタイプ対照 (BioIntron) を陰性対照とした。

【0382】

30

40

50

【表 2 5】

表 2 5：例示的なヒト化抗 A 2 a R と細胞表面のヒト A 2 a R との結合

抗体	EC ₅₀ (nM)
Hu3F6 VH2/VL3	0.65
Hu3F6 VH2/VL4	0.68
Hu3F6 VH2/VL5	0.53
Hu3F6 VH2/VL8	0.76
Hu3F6 VH3/VL3	0.64
Hu3F6 VH3/VL4	0.68
Hu3F6 VH3/VL5	0.57
Hu3F6 VH3/VL8	0.76
Hu3F6 VH5/VL3	0.5
Hu3F6 VH5/VL4	0.52
Hu3F6 VH5/VL5	0.59
Hu3F6 VH5/VL8	0.59
Hu3F8 VH1/VL5	0.85
Hu3F8 VH2/VL3	0.66
Hu3F8 VH2/VL5	0.9
Hu3F8 VH3/VL3	0.69
Hu3F8 VH3/VL5	0.83
Hu3F8 VH4/VL3	0.6
Hu3F8 VH4/VL4	0.79
Hu3F8 VH4/VL5	0.75
Hu3F8 VH5.1/VL3	0.62
Hu3F8 VH5.1/VL5	0.69
Hu3F8 VH6/VL3	0.59
Hu3F8 VH6/VL5	0.65
3F6-9G5*	0.71
3F8-12E9	0.48

*：7 点測定（7 repeats）の平均値

10

20

30

実施例 3：ヒト化抗ヒト A 2 a R モノクローナル抗体のインビトロ遮断活性

【0383】

A 2 a R の活性は、アデニリルシクラーゼを活性化して細胞内 c A M P の合成を生じる G s タンパク質によって媒介される。c A M P のレベルは、それぞれのアデノシン（アゴニスト）レベルに関連する。c A M P は、種々の市販の c A M P アッセイキットを使用して検出することができる。本研究は、複数の例示的なヒト化抗体が A 2 a R 活性を遮断できるかどうかを確認することを目的とする。

40

【0384】

（1）トランスフェクトされた E x p i 2 9 3 F 細胞上清中のヒト化抗ヒト A 2 a R モノクローナル抗体のインビトロ遮断活性

【0385】

簡単に説明すると、50 μg / ml のポリ-D-リジン（G i b c o カタログ番号：A 3 8 9 0 4 0 1）溶液で 50 μl / ウェルで 96 ウェル組織培養透明平底プレート（F i s h e r S c i e n t i f i c）をコーティングし、4 ° C で一晚インキュベートした。エンドトキシンを含まない滅菌水で 3 回洗浄した後、コーティングされた培養プレート（キャップなし）をバイオセーフティキャビネットに置いて乾燥させた。ヒト A 2 a R

50

を安定に過剰発現するHEK293細胞(BPS Bioscience)を5000 cells／ウェルで200μl飢餓培地(MEM(Hyclone カタログ番号:SH30024.01)+2%活性炭処理血清(Thermo Fisher カタログ番号:A3382101)+1%ペニシリン／ストレプトマイシン)に播種し、37°C、5%CO₂で一晩インキュベートした。翌日、コーティングされた細胞を温かい1xPBS 200μlで3回洗浄した。1又は2μg／ml ヒト化抗A2aR抗体(実施例1を参照)を含む普通の上清で3倍連続希釈し、その後、1:1の割合で誘導用緩衝液(1000 μM 3-イソブチル-1-メチルキサンチン(IBMx)(Millipore Sigma、カタログ番号:I7018)+200μM Ro 20-1724(Millipore Sigma、カタログ番号:B8279)を含む1x PBS)と混合した。その後、上清／誘導用緩衝液混合物10μlを各ウェルに添加し、37°Cで15分間インキュベートした後、最終濃度300nMのNECA(Eurofins Scientific、カタログ番号:92-1191)(安定なアデノシン受容体アゴニスト)を添加した。その後、細胞を37°C、5%CO₂で1時間インキュベートした。cAMP-Glo™アッセイキット(Promega、カタログ番号:V1501)を使用し、製造元のマニュアル及び説明書に従って細胞溶解及びcAMP検出を行った。ルミノメーターにより結果(相対光単位、Relative Light Unit、RLU)を読み取った。cAMP検量線及びGraphPad Prismソフトウェアを使用してRLUをcAMP(nM)に変換することができる。対応する親抗体1B5-3D7、3F6-9G5及び3F8-12E9を陽性対照とした。

10

20

【0386】

表26～27に示すように、例示的なヒト化抗A2aR抗体バリエーションは、細胞表面に発現されたヒトA2aRの活性を遮断し、そのIC₅₀値が約0.7nM～約20nMであることが分かった。

【0387】

【表26】

表26：例示的なヒト化抗A2aRバリエーション(3F6-9G5由来)の遮断活性のIC₅₀値(nM)

	Hu3F6-L3	Hu3F6-L4	Hu3F6-L5	Hu3F6-L8	3F6-9G5 LC
Hu3F6-H2	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	
Hu3F6-H3	2.0	19.5	5.3	n. a.	
Hu3F6-H5	1.3	7.8	0.9	1.1	
3F6-9G5 HC					1.3*

30

*：3点測定の平均値

【0388】

【表27】

表27：例示的なヒト化抗A2aRバリエーション(3F8-12E9由来)の遮断活性のIC₅₀値(nM)

	Hu3F8-L3	Hu3F8-L4	Hu3F8-L5	3F8-12E9 LC
Hu3F8-H1	1.5	n. a.	1.4	
Hu3F8-H2	1.1	n. a.	1.8	
Hu3F8-H3	1.1	1.7	1.5	
Hu3F8-H4	0.7	1.0	1.5	
Hu3F8-H5	1.5	2.2	1.6	
Hu3F8-H6	1.2	2.3	1.5	
3F8-12E9 HC				1.0*

40

*：3点測定 of 平均値

50

【0389】

(2) 精製されたExp i CHO細胞によって発現された例示的なヒト化抗A 2 a Rモノクローナル抗体のインビトロ遮断活性

【0390】

簡単に説明すると、50 μ g/ml ポリ-D-リジン (Gibco カタログ番号: A3890401) 溶液を50 μ l/ウェルで96ウェル組織培養透明平底プレート (Fisher Scientific) にコーティングし、4°Cで一晩置いた。エンドトキシンを含まない滅菌水で3回洗浄した後、コーティングされた培養プレート (キャップなし) をバイオセーフティキャビネットに置いて乾燥させた。ポリ-D-リジンがコーティングされたプレート上に、新鮮で解凍された、A 2 a Rを過剰発現するHEK293細胞 (BPS Bioscience) を培地100 μ lに10⁴ cells/ウェルで播種し、37°C、5% CO₂でインキュベーターに24時間培養した。温かいPBSで1回洗浄した後、飢餓培地 (MEM (Hyclone カタログ番号: SH30024.01) + 2%炭素吸着血清 (Thermo Fisher カタログ番号: A3382101) + 1%ペニシリン/ストレプトマイシン) 100 μ lを添加し、37°C、5% CO₂でインキュベーターに一晩培養した。翌日、飢餓状態になったコーティングされた細胞を温かい1×PBS 200 μ lで1回洗浄した。ヒト化抗A 2 a R抗体 (CRO BioIntaronによってExp i CHO細胞に産生され)、A 2 a Rアンタゴニスト低分子阻害剤 (small molecule inhibitor、SMI) CPI-444 (MedChemExpress、カタログ番号: HY-101978)、及びAB928 (MedChemExpress、カタログ番号: HY-129393) の段階希釈液を調製した。30 μ lのヒト化抗A 2 a R抗体、親3F6-9G5又はSMIを各ウェルに添加し、37°Cのインキュベーターで105分間インキュベートした。インキュベートでの最後の15分間に、4×誘導用緩衝液 (2mM IBMX 3-イソブチル-1-メチルキサンチン (IBMX) (Millipore Sigma、カタログ番号: I7018) 10 μ l及びRo20-1724 (Millipore Sigma、カタログ番号: B8279)) 400 μ Mを各ウェルに添加した。インキュベートした後、各ウェルからスポイトで培地30 μ lを移し出し、10 μ Mアデノシン (Alfa aesar、カタログ番号: A10781) 又は2.5 μ M NECA (Eurofins Scientific、カタログ番号: 92-1191) 10 μ lを各ウェルに添加し、インキュベーターにて37°C、5% CO₂で1時間インキュベートした。cAMP-Glo™ アッセイキット (Promega、カタログ番号: V1501) を使用し、製造元のマニュアル及び説明書に従って細胞溶解及びcAMP検出を行った。Spectra Max 5プレートリーダー (Molecular Device) を用いてプレートを読み取り、相対光単位 (RLU) を取得した。Prismソフトウェアを用いてデータを分析した。同じアイソタイプの対応する親抗体3F6-9G5又は3F8-12E9を陽性対照として使用した。

【0391】

図1A、1B及び表28に示すように、例示的なヒト化抗A 2 a R抗体バリエーションと親3F6-9G5は、同様のIC₅₀値で細胞表面に発現されたヒトA 2 a Rの活性を遮断したが、SMI CPI-444及びAB928ははるかに高いIC₅₀値を示し、そのアッセイにおいて遮断能力がより低いことが分かった。

【表28】

表28：例示的なヒト化抗A 2 a Rバリエーション及びSMIの遮断活性のIC₅₀値 (nM)

IC50 (nM)	3F6-9G5	Hu3F6-H3/ Hu3F6-L5	Hu3F6-H5/ Hu3F6-L5	CPI-444	AB928
5 μ M アデノシン	0.93	0.6	0.8	8	2.13
1.25 μ M NECA	0.53	0.8	0.6	11.06	4.27

10

20

30

40

50

実施例 4：ヒト化抗ヒト A 2 a R モノクローナル抗体のエンドサイトーシス

【0392】

本実施例は、本開示の例示的なヒト化抗ヒト A 2 a R モノクローナル抗体と細胞表面で発現される A 2 a R からなる複合体のエンドサイトーシスを確認することを目的とする。

【0393】

- ・ フローサイトメトリーによるエンドサイトーシスのアッセイ

【0394】

2×10^5 / ウェルの新鮮に培養したヒト A 2 a R を発現する HEK 293 細胞 (BPS Bioscience) と特定の濃度 (1、0.5 及び 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の被験抗体を氷上で 45 分間インキュベートした。親 3F6 を陽性対照として使用した。FACS 緩衝液で洗浄した後、サンプルを 4 群に分けた。1 群のサンプルを氷上に維持した。別の 3 群のサンプルを 37 °C、5% CO₂ のインキュベーターでさらにそれぞれ 1、2 及び 4 時間インキュベートした。4 群のサンプルを全て PE がコンジュゲートされたヤギー抗ヒト Fc 抗体 (1:400、Jackson Immuno Research、カタログ番号: 109-116-098) で 30 分間染色し、その後、冷凍した FACS 緩衝液を洗浄した。その後、細胞を 1:100 に希釈された 7-AAD (Biolegend) で染色し、次いで、2% のパラホルムアルデヒド (10% パラホルムアルデヒド (Millipore Sigma、カタログ番号: R04586) から希釈し) で固定した。いずれかのサンプルも Guava 11HT 又は 5HT (Luminex) にて分析された。平均蛍光強度 (MFI) を取得し、Flowjo ソフトウェアを用いてデータを分析した。エンドサイトーシス率は、以下の式で算出した。

【0395】

エンドサイトーシス% = $\left((\text{氷上サンプルの MFI}) - (\text{37 °C で特定の時間インキュベートしたサンプルの MFI}) \right) / (\text{氷上サンプルの MFI}) \times 100$

【0396】

図 2 に示すように、2 つの例示的なヒト化抗ヒト A 2 a R モノクローナル抗体とヒト A 2 a R を発現する HEK 293 細胞を 37 °C で 4 時間インキュベートした場合には、その誘導したエンドサイトーシスレベルが最も高く (エンドサイトーシスパーセントとして示し) になった。同じ実験条件 (例えば、インキュベート時間) で、2 つの例示的なヒト化抗 A 2 a R モノクローナル抗体で誘導された内在化レベルは、親 3F6-9G5 抗体と類似することが分かった。

【0397】

- (2) pH 感受性色素によるエンドサイトーシスのアッセイ

【0398】

Invitrogen™ Zenon™ pHrodo™ iFL RED ヒト IgG 標識試薬 (カタログ番号: Z25612) は、低 pH 感受性色素であり、製造元の説明書に従って例示的な抗 A 2 a R 抗体のエンドサイトーシス特性を決定するために使用した。Zenon™ pHrodo™ iFL RED ヒト IgG 標識薬剤にコンジュゲートされた抗体のエンドサイトーシスは、細胞における低 pH 細胞内領域の蛍光シグナルを増強させ、それにより蛍光顕微鏡下でエンドサイトーシスを視覚化する方法が提供される。

【0399】

簡単に説明すると、FreeStyle CHO 発現培地 (Gibco、カタログ番号: 12451-014) で 160 nM 抗体 (約 24 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、25 μL) の溶液 (4 ×) を調製し、次いで、96 ウェルプレートの各ウェルに添加した。その後、FreeStyle CHO 発現培地で Zenon™ pHrodo™ iFL IgG 標識薬剤の 4 × ワーキング溶液 25 μL を調製し、次いで、抗体を含有する 96 ウェルプレートの各ウェルに添加した。96 ウェルプレート中の溶液を混合して室温で 5 分間インキュベートし、標識複合体を形成した。その後、ヒト A 2 a R を発現する CHO 細胞 (2×10^6 / ml) 50 μL を標識された抗体を含有する各ウェルに添加した。その後、標準な細胞培

養条件で細胞を標識複合体とともに24時間インキュベートした。細胞を免疫蛍光顕微鏡 (Invitrogen EVOS Imaging System M5000) にて分析し、細胞を介して抗体のエンドサイトーシスを視覚化させた。抗体のエンドサイトーシスについては、EVOSイメージングシステム (Invitrogen) により画像化された。図3に示すように、エンドサイトーシスの誘導を代表的な図で視覚化されており、親3F6、ヒト化抗体バリエーションHu3F6-H3/Hu3F6-L5及びHu3F6-H5/Hu3F6-L5は、エンドサイトーシスを誘導できるが、抗HELアイソタイプの対照抗体は、エンドサイトーシスを誘導できないことが示された。Hoechst 33342 (Invitrogen、カタログ番号：H3570) は、青色蛍光を発する一般的な細胞透過性核対比染色であり、細胞内の凝縮核の染色に使用した。そのアッセイでは、SMI CPI-444及びAB928は、エンドサイトーシスを誘導しない（データなし）ことが分かった。

10

実施例5：ヒト化抗ヒトA2aR抗体とヒト及びカニクイザルの初代細胞との結合、並びに非ヒト霊長類動物との交差反応

【0400】

ヒトのA2aRは、T細胞及びNK細胞によって発現されることが報告された。本研究は、本発明の例示的なヒト化抗A2aRモノクローナル抗体がヒト及びカニクイザルPBMC細胞表面でのA2aRに結合することを確認することを目的とする。

【0401】

ヒト及びカニクイザルPBMCは、それぞれCytologics LLC (San Diego, CA) 及びiQ Biosciences (Berkeley, CA) から購入された。FACS緩衝液 (1x DPBS、2% FBS) 100µl中の 10^6 個のヒト及び／又はカニクイザルPBMCと抗A2aR抗体を4°Cで30分間インキュベートした。洗浄した後、PEがコンジュゲートされたヤギー抗ヒトFc抗体 (1:400、Jackson ImmunoResearch Labs、カタログ番号：109-116-098) とカニクイザル交差反応性APC/cy7-抗-CD3 (BD Bioscience、カタログ番号：557757)、BV421-抗-CD4 (Biolegend、カタログ番号：317433)、BV650-抗-CD8 (Biolegend、カタログ番号：301042) 及びBV711-anti-CD56 (BD Bioscience、カタログ番号：742661) を用いた他の表面マーカーによりサンプルを染色した。Zombie Green Fixable Viability Dye (Biolegend、カタログ番号：423111) を使用し、製造元の説明書に従って生きた免疫細胞サブセットを定義した。FACS緩衝液で洗浄した後に、FACS Aria (BD) で細胞を分析した。Flowjo (Becton Dickinson) にてデータを解析した。

20

30

【0402】

図4及び表29～32に示すように、親3F6-9G5及び2つの例示的なヒト化抗ヒトA2aR抗体は、ヒトT細胞の小さいサブセット (CD3+CD8-CD4+CD4 T細胞及びCD3+CD4-CD8+CD8 T細胞、図4A)、CD3-CD56+NK細胞及びCD3+CD56+NKT細胞に結合するが、抗HELアイソタイプ対照 (Biointron) は、上記細胞に結合しないことが分かった。それらは、さらに、カニクイザルT細胞 (CD4+及びCD8+、図4B)、NK細胞及びNKT細胞と交差反応することが分かった。

40

【表 2 9】

表 2 9 : 例示的なヒト化抗 A 2 a R 抗体と C D 4 + T 細胞との結合

A2aR+CD4+T細胞%	3F6-9G5	Hu3F6-H3/ Hu3F6-L5	Hu3F6-H5/ Hu3F6-L5	Anti-HEL
ヒト 1	0.67	0.43	0.50	0.083
ヒト 2	0.48	0.44	0.52	0.012
カニクイザル 1	1.36	1.65	4.76	0.086
カニクイザル 2	3.26	1.20	10.6	0.099

10

【表 3 0】

表 3 0 : 例示的なヒト化抗 A 2 a R 抗体と C D 8 + T 細胞との結合

A2aR+CD8+T細胞%	3F6-9G5	Hu3F6-H3/ Hu3F6-L5	Hu3F6-H5/ Hu3F6-L5	Anti-HEL
ヒト 1	0.06	0.04	0.05	0.005
ヒト 2	0.03	0.04	0.03	0.002
カニクイザル 1	0.06	0.05	0.15	0.009
カニクイザル 2	0.14	0.11	0.41	0.007

20

【表 3 1】

表 3 1 : 例示的なヒト化抗 A 2 a R 抗体と N K 細胞との結合

A2aR+ NK細胞%	3F6-9G5	Hu3F6-H3/ Hu3F6-L5	Hu3F6-H5/ Hu3F6-L5	Anti-HEL
ヒト 1	1.15	0.69	0.66	0.210
ヒト 2	0.99	0.75	0.62	0.029
カニクイザル 1	3.34	6.52	5.71	0.460
カニクイザル 2	2.63	2.07	2.92	0.420

30

【表 3 2】

表 3 2 : 例示的なヒト化抗 A 2 a R 抗体と N K T 細胞との結合

A2aR+NKT細胞%	3F6-9G5	Hu3F6-H3/ Hu3F6-L5	Hu3F6-H5/ Hu3F6-L5	Anti-HEL
ヒト 1	0.62	0.46	0.42	0.110
ヒト 2	0.47	0.55	0.48	0.058
カニクイザル 1	0.85	1.06	4.14	0.22
カニクイザル 2	1.14	0.45	4.28	0.045

40

実施例 6 : ヒト化抗ヒト A 2 a R モノクローナル抗体による T 細胞機能の回復

【0403】

本研究は、ヒト化抗体が T 細胞の活性化及びサイトカインの産生を回復できることを確認することを目的とする。

【0404】

完全な IMDM 培地中の 20 万 (2×10^5) 個のヒト末梢血単核細胞 (peripheral blood mononuclear cell、PBMC) を 96 ウェルプレートの各ウェルに同量で分注し、96 ウェルプレート中の細胞を特定の濃度の抗体又は低分子阻害剤とともに 90 分間プレインキュベートした。次いで、1 : 4 の割合 (Beads : PBMC、v / v) で T 細胞増殖刺激用抗 CD 3 / 28 ダイナビーズ (dynab

50

eads, Gibco、カタログ番号: 11132D) を添加し、NECA (Discover X、カタログ番号: 92-1191、最終濃度 $0.1 \mu\text{M}$) を添加した。細胞を 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ のインキュベーターで 24 時間培養した。その後、細胞を収集し、GolgiPlugTM タンパク質輸送阻害剤 (BD Biosciences、カタログ番号: 555028) の存在下で、製造元のマニュアルに従って抗 CD3 / 28 ダイナビーズで細胞を 4 時間刺激した。次いで、製造元のマニュアルに従って細胞をヒト TruStain FcX 遮断剤 (Biolegend、カタログ番号: 422302) と True-Stain 単核細胞遮断剤 (Biolegend、カタログ番号: 426103) と 15 分間インキュベートし、その後、PE-抗-CD4 (Biolegend、カタログ番号: 300550)、PerCP-cy5.5-抗-CD8 (Biolegend、カタログ番号: 301032)、APC/cy7-抗-CD3 (Biolegend、カタログ番号: 300426)、PE/cy7-抗-CD56 (Biolegend、カタログ番号: 362509)、PE/cy7-抗-CD56 (Biolegend、カタログ番号: 362509)、BV711-抗-CD25 (Biolegend、カタログ番号: 302636) 及び BV605-抗-CD69 (Biolegend、カタログ番号: 31938) で細胞を表面マーカーで染色した。FACS 緩衝液で洗浄した後、細胞内サイトカイン染色キット (BD Biosciences、カタログ番号: 555028) を使用して、製造元の説明書に従って BV421 抗-IFN- γ (BD Bioscience、カタログ番号: 562988) 及び APC 抗-IL-2 (BD Bioscience、カタログ番号: 551383) で細胞を染色した。FACS Aria III 機器で染色されたサンプルを分析した。Flowjo ソフトウェアを用いてデータを分析した。

10

20

30

40

50

【0405】

図 5A に示すように、低分子阻害剤 AB928、AZD4635 及び CPI-444 と比較して、例示的な抗 A2aR 抗体 Hu3F6-VH3 / Hu3F6-VL5、Hu3F6-VH5 / Hu3F6-VL5 及び親 3F6-9G5 抗体は、NECA に抑制されたヒト CD4⁺ T による IFN- γ の産生を回復する上でより高い効力を示すことが判明された。さらに、図 5B に示すように、抗 A2aR 抗体は、NECA によって抑制されたヒト CD4⁺ T における IL-2 の産生を回復させる上での効力が低分子阻害剤 AZD4635 及び CPI-444 よりも高いことがわかった。

【0406】

表 33 に示すように、例示的な抗 A2aR 抗体 Hu3F6-VH3 / Hu3F6-VL5、Hu3F6-VH5 / Hu3F6-VL5、及び親 3F6-9G5 抗体は、NECA に抑制された CD4⁺ T 細胞による IFN- γ 及び IL-2 の産生を回復させただけでなく (図 5)、NECA に抑制された CD8⁺ T 細胞による IFN- γ 及び IL-2 の産生を回復させることもでき、その効力が小分子 AB928、CPI-444、及び AZD4635 よりも高かった。さらに、それらの抗体は、NECA に抑制された NK 細胞による IFN- γ 及び IL-2 の産生を回復させることができ、その効力が試験された低分子阻害剤よりも高かった。

【表 3 3】

表 3 3 : C D 4 + T 細胞、C D 8 + T 細胞及び N K 細胞から分泌された I F N 及び I L 2

細胞%		CD4T細胞		CD8T細胞		NK細胞
		IFN γ +	IL-2+	IFN γ +	IL-2+	IFN γ +
NECAなし	培地のみ	5.39	12.9	14.7	3.1	14.5
NECA	3F6-9G5 (1 μ g/ml)	4.19	13.3	14.4	3.23	18.5
	Hu3F6-H3/Hu3F6-L5 (1 μ g/ml)	4.35	13.4	14.1	3.29	17.8
	Hu3F6-H5/Hu3F6-L5 (1 μ g/ml)	4.29	13.2	14.8	2.98	16.6
	AB928 (1 μ g/ml)	4.07	13.1	14.4	3.15	15
	AZD4635 (2 μ g/ml)	3.41	10.4	13.3	2.57	8.91
	CPI-444 (2 μ g/ml)	3.66	12.7	11.6	3.05	15.1
	anti-HEL (1 μ g/ml)	2.27	11.1	11.9	2.43	9.89
	培地のみ	2.74	10.8	11	2.52	7.59
	DMSOのみ	2.03	10.7	12.3	1.36	8.8

10

【0 4 0 7】

表 3 4 に示すように、例示的な抗 A 2 a R 抗体 H u 3 F 6 - V H 3 / H u 3 F 6 - V L 5、H u 3 F 6 - V H 5 / H u 3 F 6 - V L 5、及び親 3 F 6 - 9 G 5 抗体は、N E C A に抑制された C D 4 及び C D 8 T 細胞の C D 2 5 及び C D 6 9 表面マーカーの活性化を回復させ、その効力が 1 μ g / m l で使用された小分子 A B 9 2 8 及び以 2 μ g / m l で使用された C P I - 4 4 4 及び A Z D 4 6 3 5 と類似することが分かった。

20

【表 3 4】

表 3 4 : C D 4 + T 細胞及び C D 8 + T 細胞の活性化

細胞%		CD4 T細胞		CD8 T細胞	
		CD25+	CD69+	CD25+	CD69+
NECA無し	培地のみ	68.2	56.3	22.1	53.8
NECA	3F6-9G5 (1 μ g/ml)	58.8	51.9	34.5	52.6
	Hu3F6-H3/Hu3F6-L5 (1 μ g/ml)	61.5	57.9	36	54.5
	Hu3F6-H5/Hu3F6-L5 (1 μ g/ml)	62.5	58.1	35.8	56.1
	AB928 (1 μ g/ml)	59.7	57.6	32.7	55.3
	AZD4635 (2 μ g/ml)	48.8	48.1	26	49.1
	CPI-444 (2 μ g/ml)	62.9	52.3	35.9	52.3
	抗-HEL (1 μ g/ml)	36.7	35.2	15.5	34.2
	培地のみ	43.7	42.6	14.9	39.4
	DMSOのみ	49.3	46.8	11.1	47.1

30

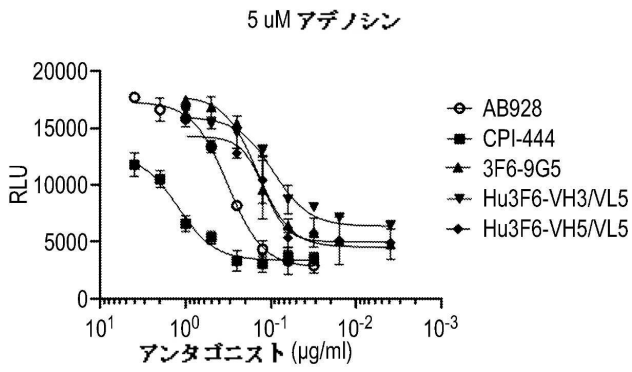
【0 4 0 8】

上記の説明は、本発明を実施する方法を当業者に教示することを目的としており、説明を読めば当業者に明らかになるであろうすべての明らかな修正および変更を詳述することを意図したものではない。しかしながら、このような明らかな修正および変更はすべて以下の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲内に含まれることが意図されている。特許請求の範囲は、文脈が特に反対を示さない限り、意図された目的を達成するのに有効な任意の順序で、特許請求の範囲に記載された構成要素およびステップをカバーすることを意図している。

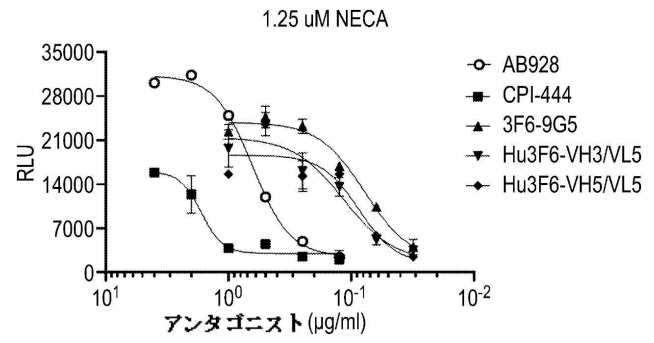
40

【図面】

【図 1 A】

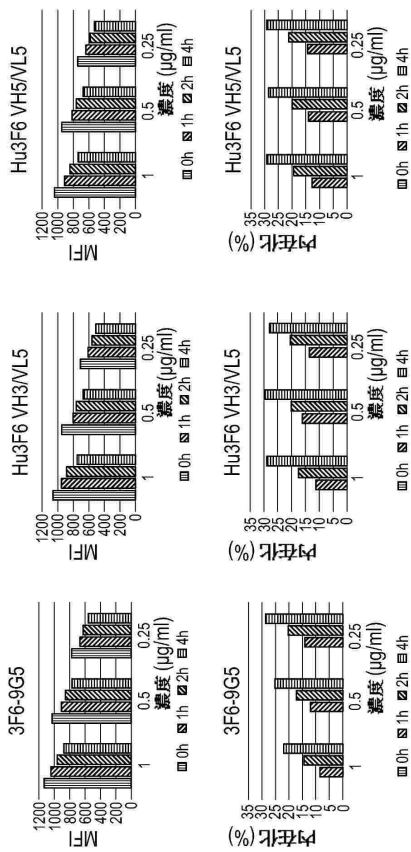


【図 1 B】

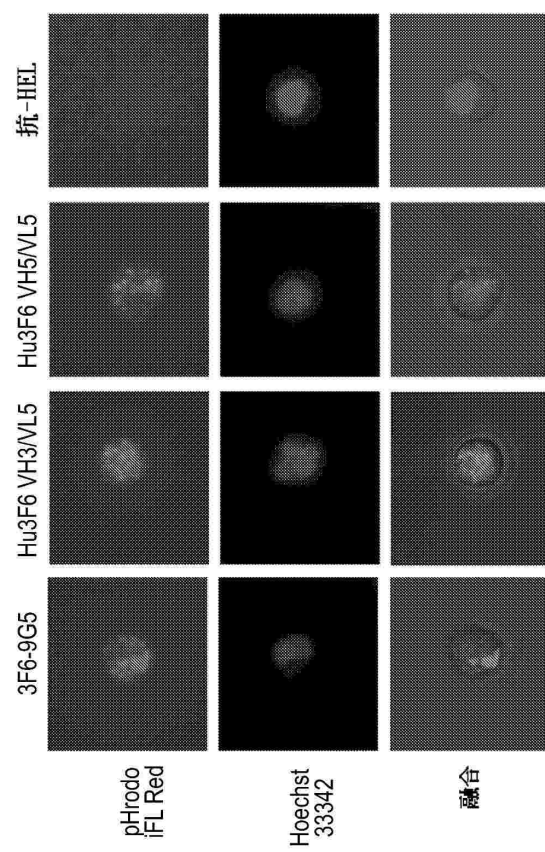


10

【図 2】



【図 3】



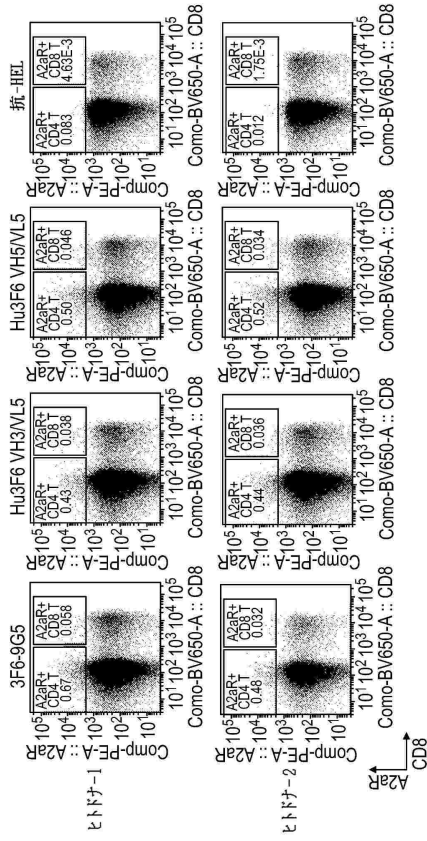
20

30

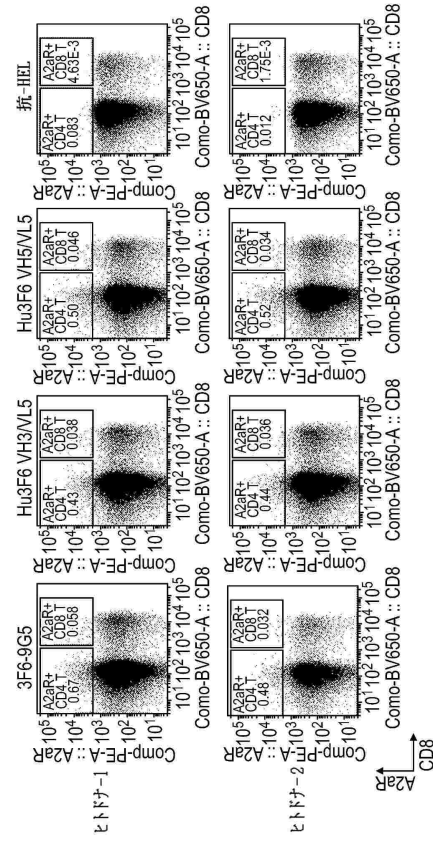
40

50

【図 4 A】



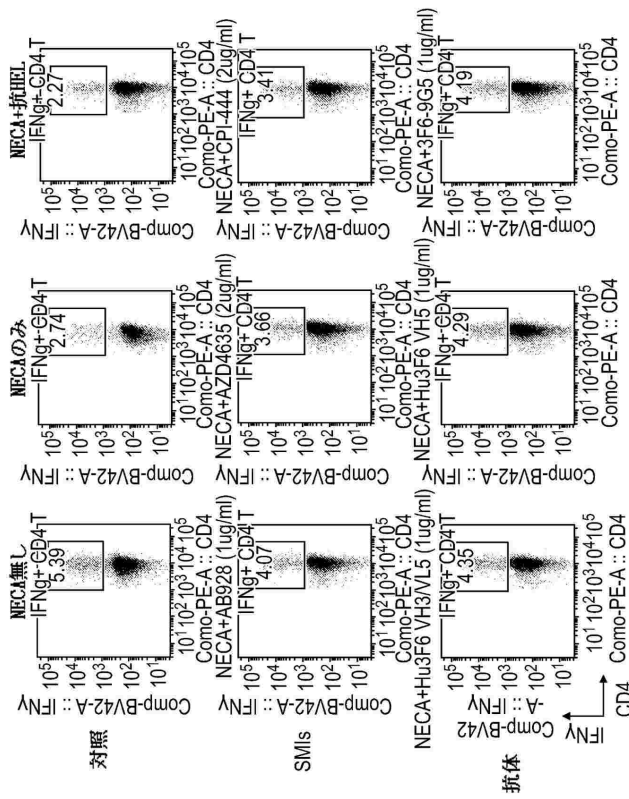
【図 4 B】



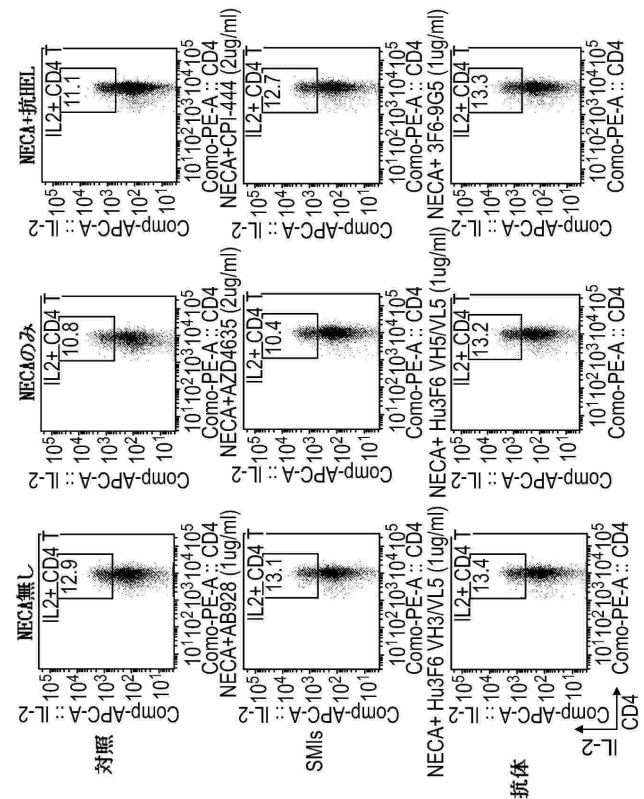
10

20

【図 5 A】



【図 5 B】



30

40

50

【配列表】
2025511270000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/16917

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - INV. C07K 16/28; A61K 39/395 (2023.01) ADD. CPC - INV. C07K 16/286; A61K 39/395 ADD. C07K 2317/565; C07K 2317/76 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KOSHIBA, M ET AL. "Patterns of A2A extracellular adenosine receptor expression in different functional subsets of human peripheral T cells. Flow cytometry studies with anti-A2A receptor monoclonal antibodies" pages 614-624. Molecular Pharmacology. Vol. 55, No. 3. March 1999; Title; abstract	1-7, 15-18
A	XU, S ET AL. "Chain E, Heavy chain of S3H3 Fab" Genpept entry (online). National Center for Biotechnology Information. 02 February 2022; Retrieved from the Internet on 13 October 2023; <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/7WD8_E? >; pages 1-3	1-7, 15-16
A	WALKER, LM. "Immunoglobulin heavy chain V region, partial [Homo sapiens]" Genpept entry (online). National Center for Biotechnology Information. 27 February 2018; Retrieved from the Internet on 13 October 2023; <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AMK70321.1? >; pages 1-2	1-7, 15-17
A	AL-KHAMI, AA ET AL. "Chain H, Sasanlimab Fab Heavy chain" Genpept entry (online). National Center for Biotechnology Information. 01 December 2020; Retrieved from the Internet on 13 October 2023; <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/6XKR_H? >; pages 1-3	17
A	BEWARDER, M. "Immunoglobulin heavy chain variable region, partial [Homo sapiens]" Genpept entry (online). National Center for Biotechnology Information. August 2019; Retrieved from the Internet on 13 October 2023; <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/QED88001.1? >; pages 1-2	17
A	WO 2022/051727 A2 (IMPACT-BIO LTD.) 10 March 2022; SEQ 57.	18
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 October 2023 (13.10.2023)		Date of mailing of the international search report NOV 16 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/16917

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2012/028622 A2 (SANOFI) 08 March 2012; SEQ ID 44	18

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/16917

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/16917

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 8-14, 19-49
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
-***Please See Supplemental Page-***

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Groups I+, claims 1-7, 15-18, SEQ ID NOs: 1, 4, 10 (HCDRs1-3), SEQ ID NOs: 12, 14, 15 (LCDRs1-3), SEQ ID NOs: 17, 22, 25, 32 (HFRs1-4), SEQ ID NOs: 34, 42, 47, 50 (LFRs1-4), SEQ ID NO: 51 (HCVR), SEQ ID NO: 71 (LCVR), SEQ ID NO: 80 (heavy chain), SEQ ID NO: 80 (light chain).

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/16917

-Continued From Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+, claims 1-7, 15-18, SEQ ID NOs: 1, 4, 10 (HCDRs1-3), SEQ ID NOs: 12, 14, 15 (LCDRs1-3), SEQ ID NOs: 17, 22, 25, 32 (HFRs1-4), SEQ ID NOs: 34, 42, 47, 50 (LFRs1-4), SEQ ID NO: 51 (HCVR), SEQ ID NO: 71 (LCVR), SEQ ID NO: 60 (heavy chain), SEQ ID NO: 80 (light chain), are directed to isolated antibodies or fragments thereof that bind human adenosine A2A receptor (A2aR).

The antibodies of Claims 1-6 (each in-part), 7, and 15-18 (each in-part) are believed to encompass the first named invention of Groups I+ and are the claims that will be searched to the extent that they comprise a heavy chain encompassing SEQ ID NO: 60 (first exemplary heavy chain) comprising SEQ ID NO: 51 (first exemplary HCVR), SEQ ID NOs: 1, 4, 10 (first exemplary HCDRs1-3), and SEQ ID NOs: 17, 22, 25, 32 (first exemplary HFRs1-4), and a light chain encompassing SEQ ID NO: 80 (first exemplary light chain) comprising SEQ ID NO: 71 (first exemplary LCVR), SEQ ID NOs: 12, 14, 15 (first exemplary LCDRs1-3), and SEQ ID NOs: 34, 42, 47, 50 (first exemplary LFRs1-4). This first named invention of Group I+ has been selected to encompass the first species of each of the genera found in claims 1-6 and 15-18 based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect additional heavy and light chains, variable regions, CDRs, and FRs, with specified SEQ ID NO: for each, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO:, such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), and where available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be SEQ ID NOs: 2, 5, 11 (HCDRs1-3), SEQ ID NOs: 13, 14, 16 (LCDRs1-3), SEQ ID NOs: 18, 23, 26, 33 (HFRs1-4), SEQ ID NOs: 35, 43, 48, 50 (LFRs1-4), SEQ ID NO: 52 (HCVR), SEQ ID NO: 72 (LCVR), SEQ ID NO: 62 (heavy chain), SEQ ID NO: 78 (light chain).

No technical features are shared between the antibody sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: an isolated antibody, or the antigen binding fragment thereof, that binds human adenosine A2A receptor (human A2aR); these shared technical features are previously disclosed by the publication entitled "Patterns of A2A extracellular adenosine receptor expression in different functional subsets of human peripheral T cells. Flow cytometry studies with anti-A2A receptor monoclonal antibodies" by Koshiba, et al. (hereinafter "Koshiba").

Koshiba discloses an isolated antibody (monoclonal antibody; abstract) that binds human adenosine A2A receptor (monoclonal anti-A2A receptor antibodies, which are used in flow cytometry with human T cells, implying they bind human A2A receptors; title, abstract).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Koshiba reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

4 H 0 4 5

C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	38/19 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	35/17 (2025.01)	A 6 1 K	38/19	
A 6 1 P	31/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	U
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 K	35/17	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00	
		A 6 1 P	25/28	
		A 6 1 P	29/00	

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

弁理士法人浅村特許事務所

(72)発明者 ジャオ、シンヤン

アメリカ合衆国 0 1 7 3 0 マサチューセッツ、ベッドフォード、リーブス ロード 2 6

(72)発明者 フー、チャンギン

アメリカ合衆国 0 2 4 7 8 マサチューセッツ、ベルモント、ブライト ロード 1 2 1

F ターム (参考)

4B064 AG27 CA19 CC24 DA05
 4B065 AA93X AB01 AC14 BA02 CA25 CA44 CA46
 4C084 AA19 DA01 MA02 NA05 NA14 ZA15 ZB09 ZB11 ZB26 ZB32
 ZC01 ZC42
 4C085 AA13 AA14 BB31 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 CC22 CC23
 EE01 EE03
 4C087 AA01 AA02 BB37 BB64 BB65 NA05 NA14 ZA15 ZB09 ZB11
 ZB26 ZB32 ZC01 ZC42
 4H045 AA11 BA10 CA40 DA76 EA28 FA74