

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7072715号

(P7072715)

(45)発行日 令和4年5月20日(2022.5.20)

(24)登録日 令和4年5月12日(2022.5.12)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/46

Z N A

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

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

請求項の数 19 (全122頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-502881(P2021-502881)

(86)(22)出願日 令和1年7月19日(2019.7.19)

(65)公表番号 特表2021-531764(P2021-531764  
A)

(43)公表日 令和3年11月25日(2021.11.25)

(86)国際出願番号 PCT/US2019/042545

(87)国際公開番号 WO2020/018879

(87)国際公開日 令和2年1月23日(2020.1.23)

審査請求日 令和3年11月8日(2021.11.8)

(31)優先権主張番号 62/701,065

(32)優先日 平成30年7月20日(2018.7.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/844,958

(32)優先日 令和1年5月8日(2019.5.8)

最終頁に続く

(73)特許権者 518096098

サーフィス オンコロジー インコーポレ  
イテッドSURFACE ONCOLOGY, I  
NC.アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチュー  
セッツ州 ケンブリッジ ハンプシャー

ストリート 5 0 エイス フロア

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗 C D 1 1 2 R 組成物及び方法

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

C D 1 1 2 R に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、

a . 配列番号 7 0 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 1、

b . 配列番号 7 0 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 2、

c . 配列番号 7 0 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 3、

d . 配列番号 7 0 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 1、

e . 配列番号 7 0 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 2、及び

f . 配列番号 7 0 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

## 【請求項 2】

前記単離された抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 7 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一である配列を有する重鎖可変領域と、配列番号 7 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一である配列を有する軽鎖可変領域とを含む、請求項 1 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

## 【請求項 3】

前記単離された抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 7 1 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 7 1 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項 2 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

## 【請求項 4】

前記単離された抗体がモノクローナル抗体である、請求項 3 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 5】

前記単離された抗体が、完全ヒト抗体である、請求項 3 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 6】

前記単離された抗体が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 の F c 領域を含む、請求項 3 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 7】

前記単離された抗体が、ヒト I g G 1 重鎖定常領域を含む、請求項 6 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

10

【請求項 8】

前記単離された抗体が、ヒト I g G 4 重鎖定常領域を含む、請求項 6 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 9】

前記単離された抗体が、変異体ヒト I g G 4 重鎖定常領域を含む、請求項 8 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 10】

前記変異体ヒト I g G 4 重鎖定常領域が、E U 番号付けに従って番号付けすると、S e r 2 2 8 での置換、L e u 2 3 5 での置換、A s n 2 9 7 での置換、またはそれらの組み合わせから選択される変異を含む、請求項 9 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

20

【請求項 11】

前記変異体ヒト I g G 4 重鎖定常領域が、E U 番号付けに従って番号付けすると、S 2 2 8 P 置換及び L 2 3 5 E 置換を含む、請求項 10 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 12】

前記 C D 1 1 2 R がヒト C D 1 1 2 R である、請求項 1 に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 13】

請求項 1 に記載の単離された抗体また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、薬学的組成物。

30

【請求項 14】

少なくとも 1 つの追加的な治療剤をさらに含む、請求項 13 に記載の薬学的組成物。

【請求項 15】

a . P D - 1、P D - L 1、C T L A - 4、L a g - 3、T I M - 3、T I G I T、C D 9 6、P V R L 1、P V R L 2、P V R L 3、P V R L 4、C D 1 5 5、C D 4 7、C D 3 9 または I L - 2 7 のアンタゴニスト、

b . S T I N G アゴニスト、または

c . ( a ) および ( b ) の組み合わせ

をさらに含む、請求項 13 に記載の薬学的組成物。

40

【請求項 16】

T I G I T のアンタゴニストをさらに含む、請求項 13 に記載の薬学的組成物。

【請求項 17】

C D 9 6 のアンタゴニストをさらに含む、請求項 13 に記載の薬学的組成物。

【請求項 18】

P D - 1 または P D - L 1 のアンタゴニストをさらに含む、請求項 13 に記載の薬学的組成物。

【請求項 19】

P D - 1 のアンタゴニスト、P D - L 1 のアンタゴニスト、T I G I T のアンタゴニスト

50

、CD96のアンタゴニストのうちの2つ以上をさらに含む、請求項13に記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018年7月20日出願の米国仮出願第62/701,065号、及び2019年5月8日出願の米国仮出願第62/844,958号の利益を主張するものであり、これらの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

抗CD112R抗体は、抗腫瘍免疫応答を増強、増加、及び維持すること、がんを治療すること、ならびにCD112とのCD226相互作用を増強することにおけるそれらの使用と同様に、提供される。

【背景技術】

【0003】

免疫系の自然アーム及び適応アームの両方は、高度に特殊化した免疫細胞を利用して身体を巡回し、悪性腫瘍の兆候を探す。自然免疫は、非特異的で自然に存在するバリア及び破壊的ペプチドなどの機構を使用して、防御の最前線及び迅速な応答を提供する。ナチュラルキラー（NK）細胞は、自然免疫系の一部であるリンパ球の一種であり、それらの細胞質に保存されているグランザイムを使用して、ウイルスに感染した細胞及び腫瘍細胞を認識し破壊できる。

【0004】

適応免疫は、抗原に応答して時間と共に発達し、持続的な免疫を提供する。CD8<sup>+</sup>T細胞としても知られる細胞傷害性リンパ球（CTL）は、抗原提示細胞（APC）によって提示されるウイルス及び腫瘍由来の抗原を認識するため、適応免疫応答の一部である。CTLは、樹状細胞またはマクロファージなどのAPCとの相互作用によって活性化される。APCは、MHC分子の文脈における腫瘍抗原をT細胞表面上のT細胞受容体（TCR）に提示する。この同族の相互作用の間に、APCは、T細胞活性化、T細胞増殖、及び細胞傷害性機構を介して抗原を発現する細胞の低減または排除につながる共刺激シグナルを提供する。

【0005】

抗CD112R免疫療法の投与は、免疫応答を増加、増強、及び維持する機会を提供する。CD112Rは、主にT細胞及びNK細胞によって発現される抑制性受容体であり、活性化受容体CD226とCD112結合について競合する。CD112RとのCD112の相互作用は、CD226とよりも高い親和性のものであり、それによってCD226媒介性細胞活性化を効果的に制御する。CD112との相互作用を遮断する抗CD112R抗体は、CD112Rのすぐ下流の抑制性シグナル伝達を限定する一方で、同時に、CD112とのCD226相互作用を増加させることによって、より大きな免疫細胞活性化を促進する。インビトロ研究では、抗CD112R抗体は、免疫エフェクター細胞の増殖、活性化、及び細胞傷害性を増加させることが示されている。

【0006】

CD112R mRNA発現は、多くのがん組織で検出され、TCGA（The Cancer Genome Atlas）データセットを使用する予測分析に基づく。その発現は、T細胞及びNK細胞が豊富である腫瘍において最も強い。骨髄系細胞上で発現されることに加えて、CD112RリガンドであるCD112の発現は、異なる細胞起源の腫瘍細胞上で日常的に上昇している。それらの状況を考えると、腫瘍浸潤免疫細胞へのCD112Rの関与は、腫瘍微小環境内の局所免疫応答を負に制御する強力な可能性を有する。

【0007】

抗CD112R抗体での治療的治療は、それによって、CD112R発現免疫細胞が腫瘍細胞及び/または腫瘍微小環境内の骨髄系細胞上のCD112に関与する際に推定的に発

10

20

30

40

50

生する抑制性シグナル伝達を下方調節する機会を提供し、抗腫瘍免疫応答を増強、増加、及び維持する可能性を有する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

いくつかの実施形態では、単離された抗CD112R抗体が、提供される。かかる単離された抗CD112R抗体は、ヒトCD112Rに結合し、該抗体は、ヒトCD112及びヒトCD112Rの間の結合相互作用を遮断し、マウスCD112及びマウスCD112Rの間の結合相互作用を遮断せず、抗体は、任意選択で、完全にヒトであるか、またはヒト化される。

10

【0009】

いくつかの実施形態では、本開示は、

(a) 配列番号1のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号4のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号5のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号6のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

(a) 配列番号101のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号102のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号103のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号104のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号105のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号106のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

20

(a) 配列番号201のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号202のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号203のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号204のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号205のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号206のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

(a) 配列番号301のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号302のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号303のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号304のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号305のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号306のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

(a) 配列番号401のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号402のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号403のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号404のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号405のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号406のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

30

(a) 配列番号501のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号502のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号503のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号504のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号505のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号506のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

(a) 配列番号601のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号602のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号603のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号604のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号605のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号606のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

40

(a) 配列番号701のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号702のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号703のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号704のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号705のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号706のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

(a) 配列番号801のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号802のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号803のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d) 配列番号804のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e) 配列番号805のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f) 配列番号806のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

(a) 配列番号901のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b) 配列番号902のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c) 配列番号903のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d)

50



）配列番号 904 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、（ e ）配列番号 905 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び（ f ）配列番号 906 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または（ a ）配列番号 1001 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、（ b ）配列番号 1002 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、（ c ）配列番号 1003 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、（ d ）配列番号 1004 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、（ e ）配列番号 1005 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び（ f ）配列番号 1006 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

（ a ）配列番号 2001 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、（ b ）配列番号 2002 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、（ c ）配列番号 2003 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、（ d ）配列番号 2004 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、（ e ）配列番号 2005 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び（ f ）配列番号 2006 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

10

（ a ）配列番号 3001 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、（ b ）配列番号 3002 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、（ c ）配列番号 3003 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、（ d ）配列番号 3004 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、（ e ）配列番号 3005 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び（ f ）配列番号 3006 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

（ a ）配列番号 4001 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、（ b ）配列番号 4002 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、（ c ）配列番号 4003 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、（ d ）配列番号 4004 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、（ e ）配列番号 4005 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び（ f ）配列番号 4006 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む、単離された抗体を提供する。

20

#### 【 0010 】

いくつかの実施形態では、抗体は、重鎖可変領域（ V H ）及び軽鎖可変領域（ V L ）を含み、

V H は、配列番号 12 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であり、V L は、配列番号 18 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であるか、または

V H は、配列番号 112 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であり、V L は、配列番号 118 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であるか、または

30

V H は、配列番号 212 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であり、V L は、配列番号 218 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であるか、または

V H は、配列番号 312 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であり、V L は、配列番号 318 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であるか、または

40

V H は、配列番号 412 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であり、V L は、配列番号 418 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であるか、または

V H は、配列番号 512 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であり、V L は、配列番号 518 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、もしくは 100 % 同一であるか、または

V H は、配列番号 612 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、

50

94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号618のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、またはVHは、配列番号712のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号718のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、またはVHは、配列番号812のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号818のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、またはVHは、配列番号912のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号918のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、またはVHは、配列番号1012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号1018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、または

10

20

VHは、配列番号2012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号2018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、または

VHは、配列番号3012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号3018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、または

30

VHは、配列番号4012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLは、配列番号4018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一である。

#### 【0011】

いくつかの実施形態では、抗体は、本明細書に記載される6つのCDR（HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3）と、本明細書に記載のVH及び/またはVLアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるVH及び/またはVL配列と、を含む。いくつかの実施形態では、VH及び/またはVL配列は、本明細書に記載のアミノ酸配列と100%同一ではない。いくつかの実施形態では、抗体は、本明細書に記載のHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3アミノ酸配列と、CDR配列の外側にあるVH及び/またはVL配列内の配列多様性と、を含む。かかる実施形態では、VH及び/またはVL配列の配列多様性は、VH及び/またはVLの1つ以上のフレームワーク領域内にある。

40

#### 【0012】

いくつかの実施形態では、抗体は、本明細書に記載のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるVH及び/またはVL配列を含む。いくつかの実施形態では、VH及び/またはVL配列は、本明細書に記載のアミノ酸と100%同一ではない。かかる実施形

50

態では、V H及び/またはV L配列の配列多様性は、別段明記されない限り、C D R配列内及び/またはC D R配列の外側にある。

【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態では、抗体は、重鎖可変領域 ( V H ) 及び軽鎖可変領域 ( V L ) を含み、

V Hは配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 2 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 2 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 3 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 3 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 4 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 4 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 5 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 5 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 7 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 7 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 8 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 8 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 9 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 9 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 1 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 1 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 2 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 2 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 3 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 3 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

V Hは配列番号 4 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、V Lは配列番号 4 0 1 8 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態では、NK細胞を活性化する抗C D 1 1 2 R抗体が、提供される。いくつかの実施形態では、NK細胞上のC D 1 3 7を上方制御する抗C D 1 1 2 R抗体が、提供される。いくつかの実施形態では、NK細胞を活性化する及び/またはNK細胞上のC D 1 3 7を上方制御する抗C D 1 1 2 R抗体は、例えば、抗体32、33、34、35、及び36などの、配列表に記載される抗体のうちのいずれかである抗体である。いくつかの実施形態では、NK細胞を活性化する及び/またはNK細胞上のC D 1 3 7を上方制御する抗C D 1 1 2 R抗体は、それぞれ、抗体32、33、34、35、及び36の6つのC D Rを含む (配列表を参照されたい)。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、完全ヒト抗体である。

いくつかの実施形態では、抗体は、F a b、F a b'、F v、s c F vまたは ( F a b' )<sub>2</sub> から選択される抗体断片である。いくつかの実施形態では、抗体は、完全長抗体である。

いくつかの実施形態では、単離された抗体は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4 F c領域を含む。いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に開示される抗体と、薬学的に許容される担体と、を含む、組成物を提供する。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 6 】

いくつかの実施形態では、抗体は、NK細胞脱顆粒を増加させ、NK細胞の活性化を増加させ、抗TIGIT抗体と組み合わせて提示される際に腫瘍内NK細胞の活性化を増加させ、インビボで腫瘍成長を阻害し、及び/または腫瘍を用いた再負荷時に腫瘍生着を防止する。いくつかのかかる実施形態では、抗体はヒトIgG1重鎖定常領域を含み、抗体は、NK細胞脱顆粒を増加させ、NK細胞の活性化を増加させ、抗TIGIT抗体と組み合わせて提示される際に腫瘍内NK細胞の活性化を増加させ、インビボで腫瘍成長を阻害し、及び/または異なるアイソタイプのヒトIgG重鎖定常領域を含む他の点では同一の抗体に対して、腫瘍を用いた再負荷時に腫瘍生着を防止する。

## 【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態では、本開示は、腫瘍を有する対象に本明細書に記載の抗体または組成物を投与することを含む、対象における抗腫瘍免疫応答を増強、増加及び/または維持する方法を提供する。

## 【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態では、本開示は、がんを有する対象に本明細書に記載の抗体または組成物を投与することを含む、対象におけるがんを治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、がんは、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、または白血病である。いくつかの実施形態では、がんは、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、下垂体癌、食道癌、星状細胞腫、軟部組織肉腫、非小細胞肺癌（扁平上皮細胞非小細胞肺癌を含む）、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、結腸癌、大腸癌、子宮内膜もしくは子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、腎細胞癌、肝癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝細胞癌、脳癌、子宮内膜癌、精巣癌、胆管癌、胆嚢癌、胃癌、黒色腫、または様々な種類の頭頸部癌（頭頸部扁平上皮細胞癌を含む）である。

## 【 0 0 1 9 】

いくつかの実施形態では、本開示は、対象に抗体または本明細書に記載の組成物を投与することを含む、対象におけるCD112とのCD226相互作用を増強する方法を提供する。

## 【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態では、本開示は、CD8 T細胞活性化を必要とする対象に抗体または本明細書に記載の組成物を投与することを含む、対象におけるCD8 T細胞活性化を増強する方法を提供する。

## 【 0 0 2 1 】

いくつかの実施形態では、本開示は、CD8 T細胞インターフェロンガンマ産生を必要とする対象に抗体または本明細書に記載の組成物を投与することを含む、対象におけるCD8 T細胞インターフェロンガンマ産生を増強する方法を提供する。

## 【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態では、本開示は、NK細胞活性化を必要とする対象に抗体または本明細書に記載の組成物を投与することを含む、対象におけるNK細胞活性化を増強する方法を提供する。

## 【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態では、本開示は、NK細胞媒介性細胞傷害性を増加することを必要とする対象に抗体または本明細書に記載の組成物を投与することを含む、対象におけるNK細胞媒介性細胞傷害性を増強する方法を提供する。

## 【 0 0 2 4 】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、第2の療法を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、第2の療法は、放射線療法、外科手術、または第2の薬剤の投与である。いくつかの実施形態では、第2の療法は、第2の薬剤である。いくつかのかかる実施形態では、第2の薬剤は、PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、またはTIM-3のアンタゴニストである。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は

10

20

30

40

50

、TIGITまたはCD96のアンタゴニストである。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、PVR1、PVR2、PVR3、PVR4、またはCD155のアンタゴニストである。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、CD47、CD39、またはIL-27のアンタゴニストである。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、STINGアゴニストである。

【0025】

いくつかの実施形態では、本開示は、抗腫瘍免疫を増強、及び/または増加、及び/または維持するため、及び/またはがんを治療するため、及び/またはCD112とのCD226相互作用を増強するための、抗体または本明細書に記載の組成物の使用を提供する。

【0026】

いくつかの実施形態では、本開示は、抗腫瘍免疫応答を増強、及び/または増加、及び/または維持するため、及び/またはがんを治療するため、及び/またはCD112とのCD226相互作用を増強するための、抗体または医薬品の調製における本明細書に記載の組成物の使用を提供する。

【0027】

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に開示される抗体をコードする核酸を提供する。

【0028】

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に開示される抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を提供する。

【0029】

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に開示される抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含む、本明細書に開示される抗体を産生する方法を提供し、宿主細胞は、抗体が発現される条件下で培養される。いくつかの実施形態では、方法は、抗体を精製することをさらに含む。

【0030】

本開示の例示的な実施形態は、以下を含む。

実施形態1．ヒトCD112Rに結合する単離された抗CD112R抗体であって、前記抗体が、ヒトCD112及びヒトCD112Rの間の結合相互作用を遮断し、マウスCD112及びマウスCD112Rの間の結合相互作用を遮断せず、抗体が、任意選択で、完全にヒトであるか、またはヒト化される、単離された抗CD112R抗体。

実施形態2．単離された抗体が、

i)(a)配列番号701のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b)配列番号702のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c)配列番号703のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d)配列番号704のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e)配列番号705のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f)配列番号706のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

ii)(a)配列番号1001のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b)配列番号1002のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c)配列番号1003のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d)配列番号1004のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e)配列番号1005のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f)配列番号1006のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

iii)(a)配列番号2001のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b)配列番号2002のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c)配列番号2003のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d)配列番号2004のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e)配列番号2005のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f)配列番号2006のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

iv)(a)配列番号3001のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b)配列番号3002のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c)配列番号3003のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d)配列番号3004のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e)配列番号30

10

20

30

40

50

05のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f)配列番号3006のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

v)(a)配列番号4001のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b)配列番号4002のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c)配列番号4003のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d)配列番号4004のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e)配列番号4005のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f)配列番号4006のアミノ酸配列を含むLCDR3、または

vi)(a)配列番号1001の4、5、及び/または6位に対する1、2、または3つのアミノ酸変化を有する配列番号1001のアミノ酸配列を含むHCDR1、(b)配列番号1002の1、3、5、6、及び/または8位に対する1、2、3、4、または5つのアミノ酸変化を有する配列番号1002のアミノ酸配列を含むHCDR2、(c)配列番号1003のアミノ酸配列を含むHCDR3、(d)配列番号1004のアミノ酸配列を含むLCDR1、(e)配列番号1005のアミノ酸配列を含むLCDR2、及び(f)配列番号1006のアミノ酸配列を含むLCDR3を含む、実施形態1に記載の単離された抗体。

10

実施形態3．抗体が重鎖可変領域(VH)及び軽鎖可変領域(VL)を含み、

i)VHが、配列番号712のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLが、配列番号718のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、または

20

ii)VHが、配列番号1012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLが、配列番号1018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、または

iii)VHが、配列番号2012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLが、配列番号2018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、または

30

iv)VHが、配列番号3012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLが、配列番号3018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であるか、または

v)VHが、配列番号4012のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、VLが、配列番号4018のアミノ酸配列と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%同一であり、ただし、任意選択で、任意の配列多様性がCDRに存在する場合、かかる配列多様性が、HCDR1またはHCDR2内にあり、HCDR1の4、5、及び/または6位に対する2つ以下のアミノ酸変化などの、3つ以下のアミノ酸変化と、HCDR2の1、3、5、6、及び/または8位に対する2つ以下のアミノ酸変化などの、5つ以下のアミノ酸変化と、を有し、任意選択で、多様性が、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3内にはない、実施形態1または2に記載の単離された抗体。

40

実施形態4．抗体が重鎖可変領域(VH)及び軽鎖可変領域(VL)を含み、

i)VHが配列番号712のアミノ酸配列を含み、VLが配列番号718のアミノ酸配列を含むか、または

ii)VHが配列番号1012のアミノ酸配列を含み、VLが配列番号1018のアミノ

50

酸配列を含むか、または

i i i) V H が配列番号 2 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、V L が配列番号 2 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i v) V H が配列番号 3 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、V L が配列番号 3 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v) V H が配列番号 4 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、V L が配列番号 4 0 1 8 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

実施形態 5 . 抗体がモノクローナル抗体である、先行実施形態のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

実施形態 6 . 抗体が、完全長抗体であるか、または抗体断片、任意選択で、F a b、F a b'、F v、s c F v、もしくは ( F a b' )<sub>2</sub> である、先行実施形態のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

10

実施形態 7 . 抗体が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 F c 領域を含み、抗体が、任意選択で、ヒト I g G 1 重鎖定常領域、ヒト I g G 4 重鎖定常領域、または変異体ヒト I g G 4 重鎖定常領域を含み、変異体ヒト I g G 4 重鎖定常領域が、任意選択で、E U 番号付けに従って番号付けすると、S e r 2 2 8 での置換、L e u 2 3 5 での置換、A s n 2 9 7 での置換、もしくはそれらの組み合わせ、または E U 番号付けに従って番号付けすると、S 2 2 8 P 置換及び L 2 3 5 E 置換から選択される変異を含む、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

実施形態 8 . 抗体が、

20

i) N K 細胞脱顆粒を増加させ、及び / または

i i) N K 細胞の活性化を増加させ、及び / または

i i i) 抗 T I G I T 抗体と組み合わせて提示される際に、腫瘍内 N K 細胞の活性化を増加させ、及び / または

i v) インビボで腫瘍成長を阻害し、及び / または

v) 腫瘍を用いた再負荷時に腫瘍生着を防止し、任意選択で、抗体が I g G 1 または I g G 4 である、実施形態 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

実施形態 9 . 組成物が、任意選択で、オプソニン化剤、制御性 T 細胞枯渇剤、化学療法、及び / または P D - 1、P D - L 1、C T L A - 4、L a g - 3、もしくは T I M - 3 のアンタゴニストを含む、実施形態 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の抗体と、薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的組成物。

30

実施形態 1 0 . 任意選択で、C D 8 T 細胞活性化が増強されるか、もしくは C D 8 T 細胞インターフェロンガンマ産生が対象において増強されるか、または任意選択で、N K 細胞活性化が対象において増強されるか、もしくは N K 細胞媒介性細胞傷害性が対象において増強されるか、または任意選択で、C D 1 1 2 との C D 2 2 6 相互作用が対象において増強される、対象における抗腫瘍免疫応答を増強、増加、及び / または維持することにおける使用のための、実施形態 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の単離された抗体または実施形態 9 に記載の薬学的組成物。

実施形態 1 1 . がんが、任意選択で、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、もしくは白血病であるか、がんが、任意選択で、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、下垂体癌、食道癌、星状細胞腫、軟部組織肉腫、非小細胞肺癌 ( 扁平上皮細胞非小細胞肺癌を含む )、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、結腸癌、大腸癌、子宮内膜もしくは子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、腎細胞癌、肝癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝細胞癌、脳癌、子宮内膜癌、精巣癌、胆管癌、胆嚢癌、胃癌、黒色腫、もしくは様々な種類の頭頸部癌 ( 頭頸部扁平上皮細胞癌を含む ) である、対象におけるがんを治療することにおける使用のための、実施形態 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の単離された抗体または実施形態 9 に記載の薬学的組成物。

40

実施形態 1 2 . 使用が、第 2 の療法を投与することをさらに含み、第 2 の療法が、任意選択で、放射線療法、外科手術、または第 2 の薬剤の投与であり、第 2 の薬剤が、任意選択で、P D - 1、P D - L 1、C T L A - 4、L a g - 3、もしくは T I M - 3 のアンタゴ

50

ニストであるか、またはT I G I TもしくはC D 9 6のアンタゴニストであるか、またはP V R L 1、P V R L 2、P V R L 3、P V R L 4、及びC D 1 5 5のアンタゴニストであるか、またはC D 4 7のアンタゴニストであるか、またはC D 3 9のアンタゴニストであるか、またはI L - 2 7のアンタゴニストであるか、またはS T I N Gアゴニストであり、第2の薬剤が、任意選択で、アンタゴニスト抗体である、実施形態10または11の使用のための単離された抗体または薬学的組成物。

実施形態13．実施形態1～8のいずれか1項に記載の抗体をコードする、核酸。

実施形態14．実施形態13に記載の核酸を含む、宿主細胞。

実施形態15．実施形態1～8のいずれか1項に記載の抗体を産生する方法であって、抗体が発現される条件下で、実施形態14に記載の宿主細胞を培養することを含み、任意選択で、抗体を精製することを含む、方法。

10

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

単離された抗体であって、

i)(a)配列番号1のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号2のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号3のアミノ酸配列を含むH C D R 3、(d)配列番号4のアミノ酸配列を含むL C D R 1、(e)配列番号5のアミノ酸配列を含むL C D R 2、及び(f)配列番号6のアミノ酸配列を含むL C D R 3、または

i i)(a)配列番号101のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号102のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号103のアミノ酸配列を含むH C D R 3、(d)配列番号104のアミノ酸配列を含むL C D R 1、(e)配列番号105のアミノ酸配列を含むL C D R 2、及び(f)配列番号106のアミノ酸配列を含むL C D R 3、または

20

i i i)(a)配列番号201のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号202のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号203のアミノ酸配列を含むH C D R 3、(d)配列番号204のアミノ酸配列を含むL C D R 1、(e)配列番号205のアミノ酸配列を含むL C D R 2、及び(f)配列番号206のアミノ酸配列を含むL C D R 3、または

i v)(a)配列番号301のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号302のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号303のアミノ酸配列を含むH C D R 3、(d)配列番号304のアミノ酸配列を含むL C D R 1、(e)配列番号305のアミノ酸配列を含むL C D R 2、及び(f)配列番号306のアミノ酸配列を含むL C D R 3、または

30

v)(a)配列番号401のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号402のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号403のアミノ酸配列を含むH C D R 3、(d)配列番号404のアミノ酸配列を含むL C D R 1、(e)配列番号405のアミノ酸配列を含むL C D R 2、及び(f)配列番号406のアミノ酸配列を含むL C D R 3、または

v i)(a)配列番号501のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号502のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号503のアミノ酸配列を含むH C D R 3、(d)配列番号504のアミノ酸配列を含むL C D R 1、(e)配列番号505のアミノ酸配列を含むL C D R 2、及び(f)配列番号506のアミノ酸配列を含むL C D R 3、または

40

v i i)(a)配列番号601のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号602のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号603のアミノ酸配列を含むH C D R 3、(d)配列番号604のアミノ酸配列を含むL C D R 1、(e)配列番号605のアミノ酸配列を含むL C D R 2、及び(f)配列番号606のアミノ酸配列を含むL C D R 3、または

v i i i)(a)配列番号701のアミノ酸配列を含むH C D R 1、(b)配列番号702のアミノ酸配列を含むH C D R 2、(c)配列番号703のアミノ酸配列を含むH C

50



D R 3、( d ) 配列番号 7 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 7 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び( f ) 配列番号 7 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

i x ) ( a ) 配列番号 8 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 8 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 8 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 8 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 8 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び( f ) 配列番号 8 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

x ) ( a ) 配列番号 9 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 9 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 9 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 9 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 9 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び( f ) 配列番号 9 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

x i ) ( a ) 配列番号 1 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 1 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 1 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 1 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 1 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び( f ) 配列番号 1 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

x i i ) ( a ) 配列番号 2 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 2 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 2 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 2 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 2 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び( f ) 配列番号 2 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

x i i i ) ( a ) 配列番号 3 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 3 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 3 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 3 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 3 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び( f ) 配列番号 3 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

x i v ) ( a ) 配列番号 4 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 4 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 4 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 4 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 4 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び( f ) 配列番号 4 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3を含む、前記単離された抗体。

( 項目 2 )

前記抗体が重鎖可変領域( V H )及び軽鎖可変領域( V L )を含み、

i ) 前記 V H が、配列番号 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であるか、または

i i ) 前記 V H が、配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であるか、または

i i i ) 前記 V H が、配列番号 2 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 2 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であるか、または

10

20

30

40

50

x i i i ) 前記 V H が、配列番号 3 0 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 3 0 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であるか、または

50

x i v ) 前記 V H が、配列番号 4 0 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 4 0 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一である、項目 1 に記載の単離された抗体。

( 項目 3 )

前記抗体が重鎖可変領域 ( V H ) 及び軽鎖可変領域 ( V L ) を含み、

i ) 前記 V H が配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i i ) 前記 V H が配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i i i ) 前記 V H が配列番号 2 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 2 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i v ) 前記 V H が配列番号 3 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 3 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v ) 前記 V H が配列番号 4 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 4 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v i ) 前記 V H が配列番号 5 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 5 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v i i ) 前記 V H が配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v i i i ) 前記 V H が配列番号 7 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 7 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i x ) 前記 V H が配列番号 8 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 8 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x ) 前記 V H が配列番号 9 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 9 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i ) 前記 V H が配列番号 1 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i i ) 前記 V H が配列番号 2 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 2 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i i i ) 前記 V H が配列番号 3 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 3 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i v ) 前記 V H が配列番号 4 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 4 0 1 8 のアミノ酸配列を含む、項目 1 または 2 に記載の単離された抗体。

( 項目 4 )

前記抗体がモノクローナル抗体である、先行項目のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

( 項目 5 )

前記抗体が抗体断片である、先行項目のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

( 項目 6 )

前記断片が、F a b、F a b'、F v、s c F v、または ( F a b' )<sub>2</sub> である、項目 5 に記載の単離された抗体。

( 項目 7 )

前記抗体が完全長抗体である、項目 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

( 項目 8 )

前記抗体の F c 領域が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 を含む、項目 7 に記載の単離された抗体。

( 項目 9 )

前記抗体が、ヒト I g G 1 重鎖定常領域を含む、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の単

10

20

30

40

50

離された抗体。

(項目10)

前記抗体が、ヒトIgG4重鎖定常領域を含む、項目1～8のいずれか1項に記載の単離された抗体。

(項目11)

前記抗体が、変異体ヒトIgG4重鎖定常領域を含む、項目10に記載の単離された抗体。

(項目12)

前記変異体IgG4重鎖定常領域が、EU番号付けに従って番号付けすると、Ser228での置換、Leu235での置換、Asn297での置換、またはそれらの組み合わせから選択される変異を含む、項目11に記載の単離された抗体。

10

(項目13)

前記変異体IgG4重鎖定常領域が、EU番号付けに従って番号付けすると、S228P置換及びL235E置換を含む、項目11に記載の単離された抗体。

(項目14)

前記抗体が、ヒトIgG1重鎖定常領域を含み、前記抗体が、

i) NK細胞脱顆粒を増加させ、及び/または

ii) NK細胞の活性化を増加させ、及び/または

iii) 抗TIGIT抗体と組み合わせて提示される際に、腫瘍内NK細胞の活性化を増加させ、及び/または

20

iv) インビボで腫瘍成長を阻害し、及び/または

v) 腫瘍を用いた再負荷時に腫瘍生着を防止する、項目1～9のいずれか1項に記載の単離された抗体。

(項目15)

先行項目のいずれか1項に記載の抗体のヒト化または完全ヒトバージョン。

(項目16)

項目1～15のいずれか1項に記載の抗体と、薬学的に許容される担体と、を含む、組成物。

(項目17)

PD-1、PD-L1、CTLA-4、Lag-3またはTIM-3のアンタゴニストをさらに含む、項目16に記載の組成物。

30

(項目18)

対象における抗腫瘍免疫応答を、増強、増加、及び/または維持する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、腫瘍を有する対象に投与することを含む、前記方法。

(項目19)

対象におけるCD8 T細胞活性化を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、CD8 T細胞活性化を必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

(項目20)

40

対象におけるCD8 T細胞インターフェロンガンマ産生を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、CD8 T細胞インターフェロンガンマ産生を必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

(項目21)

対象におけるNK細胞活性化を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、NK細胞活性化を必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

(項目22)

対象におけるNK細胞媒介性細胞傷害性を増強する方法であって、項目1～15のい

50

れか 1 項に記載の抗体、または項目 1 6 もしくは 1 7 に記載の組成物を、N K 細胞媒介性細胞傷害性を増加させることを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

( 項目 2 3 )

対象におけるがんを治療する方法であって、項目 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、または項目 1 6 もしくは 1 7 に記載の組成物を、がんを有する対象に投与することを含む、前記方法。

( 項目 2 4 )

前記がんが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、または白血病である、項目 2 3 に記載の方法。

( 項目 2 5 )

前記がんが、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、下垂体癌、食道癌、星状細胞腫、軟部組織肉腫、非小細胞肺癌（扁平上皮細胞非小細胞肺癌を含む）、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、結腸癌、大腸癌、子宮内膜もしくは子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、腎細胞癌、肝癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝細胞癌、脳癌、子宮内膜癌、精巣癌、胆管癌、胆嚢癌、胃癌、黒色腫、または様々な種類の頭頸部癌（頭頸部扁平上皮細胞癌を含む）である、項目 2 3 に記載の方法。

( 項目 2 6 )

対象における C D 1 1 2 との C D 2 2 6 相互作用を増強する方法であって、項目 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、または項目 1 6 もしくは 1 7 に記載の組成物を対象に投与することを含む、前記方法。

( 項目 2 7 )

前記方法が、第 2 の療法を投与することをさらに含む、項目 1 8 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 2 8 )

前記第 2 の療法が、放射線療法または外科手術である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 2 9 )

前記第 2 の療法が、化学療法、オプソニン化剤、または制御性 T 細胞枯渇剤の投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 0 )

前記第 2 の療法が、P D - 1、P D - L 1、C T L A - 4、L a g - 3、または T I M - 3 のアンタゴニストの投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 1 )

前記第 2 の療法が、T I G I T または C D 9 6 のアンタゴニストの投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 2 )

前記第 2 の療法が、P V R L 1、P V R L 2、P V R L 3、P V R L 4、及び C D 1 5 5 のアンタゴニストの投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 3 )

前記第 2 の療法が、C D 4 7 のアンタゴニストの投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 4 )

前記第 2 の療法が、C D 3 9 のアンタゴニストの投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 5 )

前記第 2 の療法が、I L - 2 7 のアンタゴニストの投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 6 )

前記第 2 の療法が、S T I N G アゴニストの投与である、項目 2 7 に記載の方法。

( 項目 3 7 )

前記アンタゴニストが抗体である、項目 3 0 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 3 8 )

項目 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする、核酸。

10

20

30

40

50

( 項目 3 9 )項目 3 8 に記載の核酸を含む、宿主細胞。( 項目 4 0 )項目 1 ～ 1 5 のいずれか 1 項に記載の抗体を産生する方法であって、前記抗体が発現される条件下で、項目 3 9 に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記方法。( 項目 4 1 )前記抗体を精製することをさらに含む、項目 4 0 に記載の方法。**【図面の簡単な説明】****【 0 0 3 1 】**

【図 1】I g G 1 アイソタイプ対照抗体と比較して、ヒト C D 1 1 2 R を過剰発現するように操作された J u r k a t 細胞に結合する抗 C D 1 1 2 R 抗体の能力を示す。結合強度を、A l e x a F l u o r (登録商標) 6 4 7 抗体標識の幾何平均蛍光強度 ( g M F I ) によって評価した。

10

【図 2 A】I g G 1 アイソタイプ対照抗体と比較して、ヒト C D 1 1 2 R を過剰発現するように操作された J u r k a t 細胞上の C D 1 1 2 との C D 1 1 2 R の相互作用を遮断する抗 C D 1 1 2 R 抗体の能力を示す。細胞を、I g G 1 アイソタイプ対照または抗 C D 1 1 2 R 抗体のいずれかとブレインキュベートした。洗浄後、細胞を、ビオチン化 h i s 標識ヒト C D 1 1 2 及びストレプトアビジン - P E を用いて同時に染色した。C D 1 1 2 R への C D 1 1 2 の結合を遮断する抗 C D 1 1 2 R 抗体の能力を、P E 標識の幾何平均蛍光強度 ( g M F I ) によって評価し、阻害パーセントとして表示した。阻害パーセントを、 $[ 1 0 0 - ( ( \text{試験試料 M F I} / \text{最大 M F I} ) * 1 0 0 \% ) ]$  として計算した。

20

【図 2 B】I g G 1 アイソタイプ対照抗体と比較して、ヒト C D 1 1 2 R を過剰発現するように操作された J u r k a t 細胞上の C D 1 1 2 との C D 1 1 2 R の相互作用を遮断する抗 C D 1 1 2 R 抗体の能力を示す。本明細書に記載の抗 C D 1 1 2 R 抗体によるヒト C D 1 1 2 R 及び C D 1 1 2 の間の相互作用の E L I S A によって測定された阻害パーセントを示す。

【図 3】I g G 1 アイソタイプ抗体と比較して、抗 C D 1 1 2 R 抗体の存在下での R E H 細胞 (ヒト白血病細胞株) に対する増強されたヒト N K 細胞媒介性細胞傷害性を示す。活性化された N K 細胞及び c e l l T r a c e バイオレット標識された R E H 細胞を、4 時間共培養した。共培養後、R E H 細胞の生存率を、7 - A A D で染色することによって評価した。細胞傷害性 (アイソタイプを超えるパーセント) を、 $( ( \text{試験死亡率} - \text{アイソタイプ死亡率} ) / \text{アイソタイプ死亡率} ) * 1 0 0$  として計算した。

30

【図 4】I g G 1 アイソタイプ対照抗体と比較して、抗 C D 1 1 2 R 抗体の存在下で、I F N 分泌によって測定された、C D 8 + T 細胞の増強された抗原駆動活性化を示す。C o l o 2 0 5 細胞を、p p 6 5 ペプチドでパルスし、抗 C D 1 1 2 R 抗体または I g G 1 アイソタイプ対照の存在下でヒト C M V 特異的 T 細胞と共培養した。培養細胞の上清中の I F N レベルを、L u m i n e x によって測定した。抗 C D 1 1 2 R 抗体 2 及び 5 で処理された C D 8 + T 細胞は、アイソタイプ対照で観察されたよりも多くの I F N 分泌をもたらした。

【図 5】マウス抗 C D 1 1 2 R 及びマウス抗 T I G I T 抗体の組み合わせが、マウス同系 C T - 2 6 腫瘍モデルにおいて治療効果を有することを示すグラフである。担がんマウスを、4 つの群に無作為化し、1 ) アイソタイプ対照抗体、2 ) 抗 T I G I T 抗体、3 ) 抗 C D 1 1 2 R 抗体、または 4 ) 抗 C D 1 1 2 R 抗体と組み合わせた抗 T I G I T 抗体を用いて、I P 注射によって週 2 回、2 週間治療した。各治療群についての平均腫瘍体積は、時間の関数として示される。結果は、抗 T I G I T との抗 C D 1 1 2 R の組み合わせが、アイソタイプ治療動物と比較して腫瘍成長の低減に有効であった一方で、抗 C D 1 1 2 R または抗 T I G I T 単剤療法は、腫瘍成長の低減に対して活性を示さないか、またはわずかな効果しか示さなかったことのいずれかを実証する。

40

【図 6】抗 C D 3 活性化後の P B M C における C D 1 1 2 R の発現の増加を示すグラフである。ヒト P B M C を抗 C D 3 抗体を用いてインビトロで刺激し、C D 1 1 2 R 発現をフ

50

ローサイトメトリーによって評価した。CD112R抗体結合の定量を、示された細胞タイプについてのAlexa Fluor（登録商標）647抗体標識の幾何平均蛍光強度（gMFI）によって評価した。CD112Rは、陰性対照（FON、（アイソタイプgMFIで割ったCD112R gMFI））を超える倍率変化として示される。

【図7】IgG1アイソタイプを有するCD112R抗体の存在下で腫瘍細胞に応答した増強されたNK細胞媒介性脱顆粒を示す。ヒトNK細胞とRaji CD112細胞を、CD112R抗体の存在下でCD107a PE抗体と4時間共培養した。共培養後、NK細胞脱顆粒を、CD107a陽性であるNK細胞の頻度によって決定した。

【図8A】IgG1アイソタイプを有するCD112R抗体の存在下で増強されたNK細胞活性化を示す。2人の異なるドナーとK562細胞からのヒトPBMCを、CD112R抗体の存在下で16時間共培養した。共培養後、NK細胞の活性化を、CD137陽性であるNK細胞の頻度によって決定した。2つの独立したアッセイにおけるドナー1及びドナー2についての結果は、それぞれ、図8A～8Dに示される。

10

【図8B】IgG1アイソタイプを有するCD112R抗体の存在下で増強されたNK細胞活性化を示す。2人の異なるドナーとK562細胞からのヒトPBMCを、CD112R抗体の存在下で16時間共培養した。共培養後、NK細胞の活性化を、CD137陽性であるNK細胞の頻度によって決定した。2つの独立したアッセイにおけるドナー1及びドナー2についての結果は、それぞれ、図8A～8Dに示される。

【図8C】IgG1アイソタイプを有するCD112R抗体の存在下で増強されたNK細胞活性化を示す。2人の異なるドナーとK562細胞からのヒトPBMCを、CD112R抗体の存在下で16時間共培養した。共培養後、NK細胞の活性化を、CD137陽性であるNK細胞の頻度によって決定した。2つの独立したアッセイにおけるドナー1及びドナー2についての結果は、それぞれ、図8A～8Dに示される。

20

【図8D】IgG1アイソタイプを有するCD112R抗体の存在下で増強されたNK細胞活性化を示す。2人の異なるドナーとK562細胞からのヒトPBMCを、CD112R抗体の存在下で16時間共培養した。共培養後、NK細胞の活性化を、CD137陽性であるNK細胞の頻度によって決定した。2つの独立したアッセイにおけるドナー1及びドナー2についての結果は、それぞれ、図8A～8Dに示される。

【図9】抗CD112R抗体で処置されたマウスにおける腫瘍成長阻害を示す。図は、群あたりN = 44～45である、3つの実験の要約を示す。統計分析を、移植後24日目にMann-Whitney検定によって実行した。

30

【図10A】抗CD112R抗体での治療が、CT-26腫瘍を接種されたマウスの全生存期間を増加させ、腫瘍再負荷からマウスを保護することを示す。抗CD112R治療での原発腫瘍負荷後のマウスの生存率頻度を示す。生存マウスは、接種の50日目以降、触知可能な腫瘍を呈さず、完全奏功者であると見なされた。

【図10B】抗CD112R抗体での治療が、CT-26腫瘍を接種されたマウスの全生存期間を増加させ、腫瘍再負荷からマウスを保護することを示す。ナীব对照マウスと比較した、腫瘍再負荷時の生存マウスにおける腫瘍成長阻害を示す。統計分析を、移植後50日目のMantel-Cox検定（図10A）及び移植後15日目のMann-Whitney検定（図10B）によって実行した。

40

【図11】CT26マウス腫瘍モデルにおけるCD112R遮断のインビボ有効性が、NK細胞及びCD8<sup>+</sup>T細胞に依存していることを示す。図は、NK細胞またはCD8<sup>+</sup>T細胞のいずれかを同時に枯渇させた抗CD112R治療マウスの腫瘍成長阻害を示す。

【図12】抗CD112R抗体での処理後のCT-26腫瘍モデルにおける腫瘍内NK細胞上のCD69（図12A）及びグランザイムB（図12B）の発現を示す。

【図13A】単独で及び抗PD1抗体と組み合わせた抗CD112R抗体の投与後のCT-26腫瘍モデルにおける時間の関数としての、平均（図13A）及び個々（図13B～E）の腫瘍体積測定を示す。

【図13B】単独で及び抗PD1抗体と組み合わせた抗CD112R抗体の投与後のCT-26腫瘍モデルにおける時間の関数としての、平均（図13A）及び個々（図13B～

50

E) の腫瘍体積測定を示す。

【図 1 3 C】単独で及び抗 P D 1 抗体と組み合わせた抗 C D 1 1 2 R 抗体の投与後の C T - 2 6 腫瘍モデルにおける時間の関数としての、平均 ( 図 1 3 A ) 及び個々 ( 図 1 3 B ~ E ) の腫瘍体積測定を示す。

【図 1 3 D】単独で及び抗 P D 1 抗体と組み合わせた抗 C D 1 1 2 R 抗体の投与後の C T - 2 6 腫瘍モデルにおける時間の関数としての、平均 ( 図 1 3 A ) 及び個々 ( 図 1 3 B ~ E ) の腫瘍体積測定を示す。

【図 1 3 E】単独で及び抗 P D 1 抗体と組み合わせた抗 C D 1 1 2 R 抗体の投与後の C T - 2 6 腫瘍モデルにおける時間の関数としての、平均 ( 図 1 3 A ) 及び個々 ( 図 1 3 B ~ E ) の腫瘍体積測定を示す。

10

【図 1 3 F】単独で及び抗 P D 1 抗体と組み合わせた抗 C D 1 1 2 R 抗体の投与後の C T - 2 6 腫瘍モデルにおける時間の関数としての、平均 ( 図 1 3 A ) 及び個々 ( 図 1 3 B ~ E ) の腫瘍体積測定を示す。移植後 5 0 日目の全体的な無腫瘍生存率を、群あたりの無腫瘍生存者の割合として示す。

【図 1 4 A】本明細書に記載の抗体の C D R 配列のアラインメントを示す。図 1 4 A ~ 1 4 C は重鎖可変領域の C D R 配列を示し、図 1 4 A ~ 1 4 F の各々では、第 1 の列は、H C D R 1 ( 図 1 4 A )、H C D R 2 ( 図 1 4 B )、及び H C D R 3 ( 図 1 4 C )、L C D R 1 ( 図 1 4 D )、L C D R 2 ( 図 1 4 E )、及び L C D R 3 ( 図 1 4 F ) を示し、抗体クローン番号は、H 1 ( H C D R 1 について)、H 2 ( H C D R 2 について)、H 3 ( H C D R 3 について)、L 1 ( L C D R 1 について)、L 2 ( L C D R 2 について)、及び L 3 ( L C D R 3 について) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、第 3 の列は配列中のアミノ酸の数を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

20

【図 1 4 B】本明細書に記載の抗体の C D R 配列のアラインメントを示す。図 1 4 A ~ 1 4 C は重鎖可変領域の C D R 配列を示し、図 1 4 A ~ 1 4 F の各々では、第 1 の列は、H C D R 1 ( 図 1 4 A )、H C D R 2 ( 図 1 4 B )、及び H C D R 3 ( 図 1 4 C )、L C D R 1 ( 図 1 4 D )、L C D R 2 ( 図 1 4 E )、及び L C D R 3 ( 図 1 4 F ) を示し、抗体クローン番号は、H 1 ( H C D R 1 について)、H 2 ( H C D R 2 について)、H 3 ( H C D R 3 について)、L 1 ( L C D R 1 について)、L 2 ( L C D R 2 について)、及び L 3 ( L C D R 3 について) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、第 3 の列は配列中のアミノ酸の数を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

30

【図 1 4 C】本明細書に記載の抗体の C D R 配列のアラインメントを示す。図 1 4 A ~ 1 4 C は重鎖可変領域の C D R 配列を示し、図 1 4 A ~ 1 4 F の各々では、第 1 の列は、H C D R 1 ( 図 1 4 A )、H C D R 2 ( 図 1 4 B )、及び H C D R 3 ( 図 1 4 C )、L C D R 1 ( 図 1 4 D )、L C D R 2 ( 図 1 4 E )、及び L C D R 3 ( 図 1 4 F ) を示し、抗体クローン番号は、H 1 ( H C D R 1 について)、H 2 ( H C D R 2 について)、H 3 ( H C D R 3 について)、L 1 ( L C D R 1 について)、L 2 ( L C D R 2 について)、及び L 3 ( L C D R 3 について) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、第 3 の列は配列中のアミノ酸の数を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

40

【図 1 4 D】本明細書に記載の抗体の C D R 配列のアラインメントを示す。図 1 4 D ~ 1 4 F は軽鎖可変領域の C D R 配列を示す。図 1 4 A ~ 1 4 F の各々では、第 1 の列は、H C D R 1 ( 図 1 4 A )、H C D R 2 ( 図 1 4 B )、及び H C D R 3 ( 図 1 4 C )、L C D R 1 ( 図 1 4 D )、L C D R 2 ( 図 1 4 E )、及び L C D R 3 ( 図 1 4 F ) を示し、抗体クローン番号は、H 1 ( H C D R 1 について)、H 2 ( H C D R 2 について)、H 3 ( H C D R 3 について)、L 1 ( L C D R 1 について)、L 2 ( L C D R 2 について)、及び

50



L 3 ( L C D R 3 について ) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、第 3 の列は配列中のアミノ酸の数を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

【図 1 4 E】本明細書に記載の抗体の C D R 配列のアラインメントを示す。図 1 4 D ~ 1 4 F は軽鎖可変領域の C D R 配列を示す。図 1 4 A ~ 1 4 F の各々では、第 1 の列は、H C D R 1 ( 図 1 4 A )、H C D R 2 ( 図 1 4 B )、及び H C D R 3 ( 図 1 4 C )、L C D R 1 ( 図 1 4 D )、L C D R 2 ( 図 1 4 E )、及び L C D R 3 ( 図 1 4 F ) を示し、抗体クローン番号は、H 1 ( H C D R 1 について )、H 2 ( H C D R 2 について )、H 3 ( H C D R 3 について )、L 1 ( L C D R 1 について )、L 2 ( L C D R 2 について )、及び L 3 ( L C D R 3 について ) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、第 3 の列は配列中のアミノ酸の数を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

10

【図 1 4 F】本明細書に記載の抗体の C D R 配列のアラインメントを示す。図 1 4 D ~ 1 4 F は軽鎖可変領域の C D R 配列を示す。図 1 4 A ~ 1 4 F の各々では、第 1 の列は、H C D R 1 ( 図 1 4 A )、H C D R 2 ( 図 1 4 B )、及び H C D R 3 ( 図 1 4 C )、L C D R 1 ( 図 1 4 D )、L C D R 2 ( 図 1 4 E )、及び L C D R 3 ( 図 1 4 F ) を示し、抗体クローン番号は、H 1 ( H C D R 1 について )、H 2 ( H C D R 2 について )、H 3 ( H C D R 3 について )、L 1 ( L C D R 1 について )、L 2 ( L C D R 2 について )、及び L 3 ( L C D R 3 について ) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、第 3 の列は配列中のアミノ酸の数を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

20

【図 1 5 A】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図 1 5 A ~ 1 5 D は、重鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示し、図 1 5 A ~ 1 5 F の各々では、第 1 の列は、重鎖 F R 1 ( 図 1 5 A )、F R 2 ( 図 1 5 B )、F R 3 ( 図 1 5 C )、F R 4 ( 図 1 5 D ) 及び軽鎖 F R 1 ( 図 1 5 E )、F R 2 ( 図 1 5 F )、及び F R 3 ( 図 1 5 G )、及び F R 4 ( 図 1 5 H ) を示し、抗体クローン番号は、V H ( H F R 1、H F R 3、H F R 3、及び H F R 4 について )、及び V L ( L F R 1、L F R 2、L F R 3、及び L F R 4 について ) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

30

【図 1 5 B】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図 1 5 A ~ 1 5 D は、重鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示し、図 1 5 A ~ 1 5 F の各々では、第 1 の列は、重鎖 F R 1 ( 図 1 5 A )、F R 2 ( 図 1 5 B )、F R 3 ( 図 1 5 C )、F R 4 ( 図 1 5 D ) 及び軽鎖 F R 1 ( 図 1 5 E )、F R 2 ( 図 1 5 F )、及び F R 3 ( 図 1 5 G )、及び F R 4 ( 図 1 5 H ) を示し、抗体クローン番号は、V H ( H F R 1、H F R 3、H F R 3、及び H F R 4 について )、及び V L ( L F R 1、L F R 2、L F R 3、及び L F R 4 について ) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

40

【図 1 5 C】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図 1 5 A ~ 1 5 D は、重鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示し、図 1 5 A ~ 1 5 F の各々では、第 1 の列は、重鎖 F R 1 ( 図 1 5 A )、F R 2 ( 図 1 5 B )、F R 3 ( 図 1 5 C )、F R 4 ( 図 1 5 D ) 及び軽鎖 F R 1 ( 図 1 5 E )、F R 2 ( 図 1 5 F )、及び F R 3 ( 図 1 5 G )、及び F R 4 ( 図 1 5 H ) を示し、抗体クローン番号は、V H ( H F R 1、H F R 3、H F R 3、及び H F R 4 について )、及び V L ( L F R 1、L F R 2、L F R 3、及び L F R 4 について ) の前に提供される。第 2 の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン 3 2 からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン 3 2、3 3、3 4、3 5、及び 3 6 は、太字で示される。

50

ンバークローン 32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

【図15D】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図15A～15Dは、重鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示し、図15A～15Fの各々では、第1の列は、重鎖FR1（図15A）、FR2（図15B）、FR3（図15C）、FR4（図15D）及び軽鎖FR1（図15E）、FR2（図15F）、及びFR3（図15G）、及びFR4（図15H）を示し、抗体クローン番号は、VH（HFR1、HFR3、HFR3、及びHFR4について）、及びVL（LFR1、LFR2、LFR3、及びLFR4について）の前に提供される。第2の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン32からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

10

【図15E】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図15E～15Hは、軽鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示す。図15A～15Fの各々では、第1の列は、重鎖FR1（図15A）、FR2（図15B）、FR3（図15C）、FR4（図15D）及び軽鎖FR1（図15E）、FR2（図15F）、及びFR3（図15G）、及びFR4（図15H）を示し、抗体クローン番号は、VH（HFR1、HFR3、HFR3、及びHFR4について）、及びVL（LFR1、LFR2、LFR3、及びLFR4について）の前に提供される。第2の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン32からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

20

【図15F】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図15E～15Hは、軽鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示す。図15A～15Fの各々では、第1の列は、重鎖FR1（図15A）、FR2（図15B）、FR3（図15C）、FR4（図15D）及び軽鎖FR1（図15E）、FR2（図15F）、及びFR3（図15G）、及びFR4（図15H）を示し、抗体クローン番号は、VH（HFR1、HFR3、HFR3、及びHFR4について）、及びVL（LFR1、LFR2、LFR3、及びLFR4について）の前に提供される。第2の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン32からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

【図15G】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図15E～15Hは、軽鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示す。第2の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン32からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

30

【図15H】本明細書に記載の抗体のフレームワーク領域配列のアラインメントを示す。図15E～15Hは、軽鎖可変領域のフレームワーク領域配列を示す。第2の列は配列を示し、最後の列は親抗体クローン32からの配列に対する各配列の同一性パーセントを示す。ファミリーメンバークローン32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

【図16A】本明細書に記載の抗体の可変領域配列のアラインメントを示す。重鎖可変領域配列を示す。各配列は、その対応するクローン番号で標識される。抗体クローン32からの配列に対する各配列の同一性パーセントが示される。ファミリーメンバークローン32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

40

【図16B】本明細書に記載の抗体の可変領域配列のアラインメントを示す。軽鎖可変領域配列を示す。各配列は、その対応するクローン番号で標識される。抗体クローン32からの配列に対する各配列の同一性パーセントが示される。ファミリーメンバークローン32、33、34、35、及び36は、太字で示される。

【図17】マウスCD112Rを発現する細胞への、本明細書に記載の抗CD112R抗体及び追加的な抗CD112R抗体（ヒトCD112Rに結合する抗体A、B、及びC）の結合の程度を示す。

【図18】可溶性マウスCD112Rへの、本明細書に記載の抗CD112R抗体及び追加的な抗CD112R抗体（ヒトCD112Rに結合する抗体A、B、及びC）の結合の程度を示す。

50

【図 19】本明細書に記載の抗 CD 112 R 抗体及び追加的な抗 CD 112 R 抗体（ヒト CD 112 R に結合する抗体 A、B、及び C）によるマウス CD 11 R 及びマウス CD 112 の間の相互作用の阻害パーセントを示す。

【発明を実施するための形態】

【0032】

I. 定義

本出願では、「または」の使用は、別段記載されない限り、「及び/または」を意味する。複数の従属請求項の文脈では、「または」の使用は、代替のみにおいて、2つ以上の先行する独立または従属請求項に戻ることを指す。用語「含むこと (comprising)」、「含むこと (including)」、及び「有すること」は、本明細書で交換可能に使用され得る。

10

【0033】

用語「CD 112 R」、「PVR 関連免疫グロブリンドメイン含有」、「CD 112 受容体」、「ポリオウイルス受容体関連免疫グロブリンドメイン含有タンパク質」、「ポリオウイルス受容体関連免疫グロブリンドメイン含有」、「ネクチン - 2 受容体」、「C7orf15」、及び「膜貫通タンパク質 PVRIG」は、全て交換可能に使用され、別段具体的に示されない限り（例えば、マウス CD 112 R、カニクイザル CD 112 R など）、天然のヒト CD 112 R を指す。用語は、完全長、未加工の CD 112 R、同様に細胞における加工から生じる CD 112 R の任意の形態を含む。用語は、ヒト CD 112 R の自然に生じる多様体（例えば、スプライス多様体または対立遺伝子多様体）を包含する。CD 112 R 遺伝子に対する外部 ID は、Entrez Gene: 79037、Ensembl: ENSG00000213413、OMIM: 617012、及び UniProtKB: Q6DKI7 を含む。

20

【0034】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、非共有結合性相互作用の総計の強度を指す。別段示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）間の 1:1 相互作用を反映する、内在的結合親和性を指す。分子 X の、そのパートナー Y に対する親和性は、一般に、解離定数 (K<sub>D</sub>) によって表され得る。親和性は、本明細書に記載されるものを含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定され得る。結合親和性を測定するための具体的な図解及び例示の実施形態は、以下に記載される。

30

【0035】

「親和性成熟」抗体は、かかる改変を保有しない親抗体と比較して、1つ以上の超可変領域 (HVR) において 1つ以上の改変を有する抗体を指し、かかる改変は、任意選択で、抗原に対する抗体の親和性の改善をもたらす。

【0036】

本明細書での用語「抗体」は、最も広義に使用され、それらが所望の抗原結合活性を呈する限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含むが、これらに限定されない、様々な抗体構造を包含する。

【0037】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例は、F<sub>v</sub>、F<sub>ab</sub>、F<sub>ab</sub>'、F<sub>ab</sub>'-SH、F<sub>(ab')<sub>2</sub></sub>；ダイアボディ；線状抗体；1本鎖抗体分子（例えば、scF<sub>v</sub>）；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体を含むが、これらに限定されない。

40

【0038】

2つ以上の分子間の相互作用の文脈における用語「遮断」は、2つ以上の分子の間の該相互作用の阻害または防止を指すために本明細書で使用され、2つ以上の分子の間の該相互作用の阻害または防止は、少なくとも1つの条件下で完全またはほぼ完全である。「ほぼ完全な」阻害は約 70 ~ 99.9% の阻害パーセントであり、「完全な」阻害は 100% である。例えば、分子は、用量依存的様式で、ある特定の濃度でかかる相互作用を完全に

50

またはほぼ完全に阻害する場合、2つ以上の他の分子間の相互作用を「阻害」と言われる。

【0039】

用語「がん」は、異常に高レベルの増殖及び成長を呈する細胞の群を指すために本明細書で使用される。がんは、良性（良性腫瘍とも称される）、前悪性、または悪性であり得る。がん細胞は、固形がん細胞または白血病がん細胞であり得る。用語「腫瘍」は、がんを含む細胞（cell）または細胞（cells）を指すために本明細書で使用される。用語「腫瘍成長」は、がんのサイズまたは程度の対応する増加をもたらす、がんを含む細胞（cell）または細胞（cells）による増殖または成長を指すために本明細書で使

10

【0040】

用語「キメラ」抗体は、重鎖及び／または軽鎖の一部が特定の源または種に由来する一方で、重鎖及び／または軽鎖の残りが異なる源または種に由来する、抗体を指す。

【0041】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメインまたは定常領域の種類を指す。5つの主要な抗体のクラス、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMがあり、これらのうちのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgA<sub>1</sub>、及びIgA<sub>2</sub>にさらに分割され得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、及び $\mu$ と呼ばれる。

20

【0042】

1つ以上のさらなる治療剤と「組み合わせた」投与は、同時（同時期）及び任意の順序の連続（逐次）投与を含む。

【0043】

本明細書で使用される用語「細胞傷害性薬剤」は、細胞機能を阻害もしくは阻止する、及び／または細胞死もしくは破壊を引き起こす物質を指す。細胞傷害性薬剤は、放射性同位体（例えば、At 211、I 131、I 125、Y 90、Re 186、Re 188、Sm 153、Bi 212、P 32、Pb 212、及びLuの放射性同位体）；化学療法剤または化学療法薬（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキシソルピシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルピシン、または他のインターカレート剤）；成長阻害剤；核酸分解酵素などの酵素及びそれらの断片；抗生物質；細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片及び／または多様体を含む）などの毒素；ならびに以下に開示される様々な抗腫瘍または抗がん薬剤を含むが、これらに限定されない。

30

【0044】

「エフェクター機能」は、抗体アイソタイプにより異なる、抗体のFc領域に起因し得るそれらの生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例は、C1q結合及び補体依存的細胞傷害性（CDC）、Fc受容体結合、抗体依存的細胞媒介性細胞傷害性（ADCC）、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方調節、ならびにB細胞活性化を含む。

40

【0045】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」は、必要な投薬量で一定期間にわたり、所望の治療的または予防的結果を達成するために有効な量を指す。

【0046】

本明細書での用語「Fc領域」は、定常領域の少なくとも一部分を含有する、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するように使用される。用語は、天然配列Fc領域及び多様体Fc領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys 226またはPro 230から、重鎖のカルボキシル末端に及ぶ。しかしながら、Fc領域のC末端リジン（Lys 447）は、Kabata et al., Sequences of

50

Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)に記載される、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。

【0047】

「フレームワーク」、または「フレームワーク領域」、または「FR」は、超可変領域(HVR)残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般に、4つのFRドメイン、FR1、FR2、FR3、及びFR4からなる。したがって、HVR及びFR配列は、一般に、VH(またはVL)において以下の配列で現れる: FR1 - H1(L1) - FR2 - H2(L2) - FR3 - H3(L3) - FR4。

10

【0048】

用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」は、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有する、または本明細書に定義されるFc領域を含有する重鎖を有する、抗体を指すために交換可能に本明細書で使用される。

【0049】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」は、交換可能に使用され、外因性核酸が導入されている細胞を指し、かかる細胞の後代を含む。宿主細胞は、初代形質転換細胞と、継代の数に関わらずそれに由来する子孫を含む、「形質転換体」及び「形質転換細胞」を含む。後代は、核酸含有量において親細胞と完全に同一でない場合があるが、変異を含み得る。元々形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物学的活性を有する変異子孫が、本明細書に含まれる。

20

【0050】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された、またはヒト抗体レパートリーを利用する非ヒト源に由来する、抗体のアミノ酸配列、あるいは他のヒト抗体コード配列に対応する、アミノ酸配列を保有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的に除外する。

【0051】

用語「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体を抗原に結合することに関与する、抗体重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン(それぞれ、VH及びVL)は、一般に、同様の構造を有し、各ドメインは、4つの保存されたフレームワーク領域(FR)及び3つの超可変領域(HVR)を含む。(例えば、Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい。)単一のVHまたはVLドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。さらに、特定の抗原に結合する抗体は、それぞれ、相補的VLまたはVHドメインのライブラリをスクリーニングするために、抗原に結合する抗体からのVHまたはVLドメインを使用して単離され得る。例えば、Portolano et al., J. Immunol. 150: 880 - 887 (1993)、Clarkson et al., Nature 352: 624 - 628 (1991)を参照されたい。

30

【0052】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に発生するアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンVLまたはVH配列の選択は、可変ドメイン配列の下位群からのものである。一般に、配列の下位群は、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1 - 3における下位群である。いくつかの実施形態では、VLについて、下位群は、Kabata et al., 上記のような下位群Iである。いくつかの実施形態では、VHについて、下位群は、Kabata et al., 上記のような下位群IIIである。

40

50

## 【0053】

本明細書で使用される用語「超可変領域」または「HVR」は、配列において超可変であり（「相補性決定領域」または「CDR」）、及び／または構造的に定義されたループ（「超可変ループ」）を形成し、及び／または抗原接触残基（「抗原接触体」）を含有する、抗体可変ドメインの領域の各々を指す。一般に、抗体は、6つのHVRを含み、3つがVHにあり（H1、H2、H3）、3つがVLにある（L1、L2、L3）。

## 【0054】

「免疫複合体」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これらに限定されない1つ以上の異種分子（複数可）に複合体化される抗体である。

## 【0055】

「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物は、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）を含むが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、個体または対象は、ヒトである。

## 【0056】

「単離された」抗体は、その自然環境の構成要素から分離されているものである。いくつかの実施形態では、抗体は、例えば、電気泳動法（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフ法（例えば、イオン交換または逆相HPLC）によって決定される場合、95%超または99%超の純度に精製される。抗体純度の評価のための方法の概説については、例えば、Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007) を参照されたい。

## 【0057】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、同一であり、及び／または同じエピトープに結合するが、例えば、自然に生じる変異を含有するか、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に発生する、可能性のある多様体抗体は例外であり、かかるバリエーションは、一般に、少量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対して指向される異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向される。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均一な抗体の集団から得られるものとして抗体の特徴を示しており、いかなる特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるものではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むがこれらに限定されない、多様な技法によって作製され得、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載されている。

## 【0058】

「裸の抗体」は、異種部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射標識に複合体化されていない抗体を指す。裸の抗体は、薬学的製剤に存在し得る。

## 【0059】

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

## 【0060】

参照ポリペプチド配列に対する「アミノ酸配列同一性パーセント (%)」は、配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入して、最大配列同一性パーセントを達成した後の、参照ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である候補配列におけるアミノ酸残基の割合として定義され、いかなる保存的置換も配列同一性の一部として考慮しない。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアラインメントは、当該技術分野内にある様々な方式で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegalign (DNASTAR) ソフトウェアなどの、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成され得る。当業者は、比較されている配列の完全長にわたる最大のアラインメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列を整列させるのに適切なパラメータを決定できる。しかしながら、本明細書での目的のために、アミノ酸配列同一性%値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、Genentech, Inc. によって記述され、ソースコードは、ユーザ文書と共にU.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559に出願されており、米国著作権第TXU510087号の下に登録されている。ALIGN-2プログラムは、Genentech, Inc., South San Francisco, Californiaから公的に利用可能であるか、またはソースコードからコンパイルされ得る。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX (登録商標) V4.0Dを含むUNIX (登録商標) オペレーティングシステム上での使用のためにコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され、異なる。

10

20

#### 【0061】

ALIGN-2がアミノ酸配列比較のために用いられる状況では、所与のアミノ酸配列Bに対する、所与のアミノ酸配列Bとの、または所与のアミノ酸配列Bと対比した、所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性% (代替的に、所与のアミノ酸配列Bに対する、所与のアミノ酸配列Bとの、または所与のアミノ酸配列Bと対比したある特定のアミノ酸配列同一性%を有するか、または含む、所与のアミノ酸配列Aと表現され得る) は、以下のように計算される。

$$100 \times \text{分数 } X / Y$$

式中、Xは、配列アラインメントプログラムALIGN-2によって、そのプログラムのA及びBの整列において完全な一致としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Yは、B中のアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さと同しくない場合、Bに対するAのアミノ酸配列同一性%は、Aに対するBのアミノ酸配列同一性%と等しくはならないことが理解されるであろう。別段具体的に記載されない限り、本明細書で使用される全てのアミノ酸配列同一性%値は、直前の段落に記載されるようにALIGN-2コンピュータプログラムを使用して得られる。

30

#### 【0062】

用語「薬学的製剤」または「薬学的組成物」は、その中に含有される活性成分の生物学的活性を許容するような形態であり、かつ製剤が投与される対象が受け入れられない程度に毒性である追加的な構成要素を含有しない調製物を指す。

#### 【0063】

「薬学的に許容される担体」は、対象に対して非毒性である、活性成分以外の薬学的製剤または組成物中の成分を指す。薬学的に許容される担体は、緩衝剤、賦形剤、安定剤、または保存剤を含むが、これらに限定されない。

40

#### 【0064】

本明細書で使用される場合、「治療」(及び「治療する」または「治療すること」などのその文法上の変形形態) は、治療されている個体の自然過程を改変することを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程の間に実行され得る。治療の望ましい効果は、疾患の発生または再発の予防、症状の軽減、疾患の任意の直接的または間接的病理学的帰結の縮小、転移の予防、疾患進行速度の減少、疾患状態の回復または緩和、及び寛解または予後の改善を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本

50

発明の抗体は、疾患の発生を遅延させるか、または疾患の進行を減速させるために使用される。

【 0 0 6 5 】

用語「ベクター」は、本明細書で使用される場合、連結している別の核酸を増殖することができる核酸分子を指す。用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、同様に導入されている宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。ある特定のベクターは、それらが作動可能に連結された核酸の発現を導くことができる。かかるベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称される。

【 0 0 6 6 】

II . 組成物及び方法

抗CD112R抗体、記載された抗体を含む組成物、及びそれらの使用方法が、提供される。

【 0 0 6 7 】

A . 例示的な抗CD112R抗体

以下の配列表は、本明細書に開示及び請求される抗体のある特定の実施形態の配列を提供する。

【 0 0 6 8 】

ある特定の実施形態では、CD112Rに結合し、及び/またはCD112RのCD112への結合を遮断し、及び/またはT細胞及びNK細胞の活性化を増強する抗体が、提供される。いくつかの実施形態では、CD112Rに結合する抗体が、提供される。いくつかの実施形態では、CD112へのCD112R結合を遮断する抗体が、提供される。いくつかの実施形態では、CD226、T細胞、及び/またはNK細胞の活性化を増強する抗体が、提供される。

【 0 0 6 9 】

T細胞及びNK細胞などのCD112R及びCD112の間の結合の阻害は、CD112Rが抗体の存在下及び非存在下で結合する細胞の結合の阻害を測定することによって決定され得る。

【 0 0 7 0 】

本明細書で提供されるのは、CD112Rに特異的に結合する抗体である。

【 0 0 7 1 】

いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトCD112Rに結合する。

【 0 0 7 2 】

いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトCD112Rに結合し、ヒトCD112RのヒトCD112との相互作用を遮断する。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトCD112Rに結合し、ヒトCD112RのヒトCD112との相互作用を遮断するが、マウスCD112RのマウスCD112との相互作用を遮断しない。いくつかの実施形態では、ヒトCD112Rに結合し、ヒトCD112RのヒトCD112との相互作用を遮断するが、マウスCD112RのマウスCD112との相互作用を遮断しない抗体は、抗体32、33、34、35、及び36を含む。

【 0 0 7 3 】

ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、本明細書で提供されるCD112R抗体（すなわち、抗体クローン番号2、5、44、58、10、38、15、35、46、47、32、33、34、または36）のうちのいずれかのVH CDR1、CDR2、及び/またはCDR3を含む重鎖可変領域（「VH」）を含む。

【 0 0 7 4 】

ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、本明細書で提供されるCD112R抗体のうちのいずれかのVH CDR1、CDR2、及び/またはCDR3を含むVHと、本明細書で提供されるCD112R抗体のうちのいずれかのCDR1、CDR2、及び/またはCDR3を含むVLと、を含む。ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、抗体クローン番号2、5、44、58、10、38、15、35、46、47、32、33

10

20

30

40

50



、 3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V H C D R 1、C D R 2、及び / または C D R 3 を含む V H と、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V L C D R 1、C D R 2、及び / または C D R 3 を含む V L と、を含み、任意選択で、V H 及び V L C D R は、同じ抗体クローンに由来からのものである。

【 0 0 7 5 】

いくつかの実施形態では、以下を含む抗体が、提供される。

( a ) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

10

( b ) 配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 1 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 1 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

( c ) 配列番号 2 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 2 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 2 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 2 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 2 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 2 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

20

( d ) 配列番号 3 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 3 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 3 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 3 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 3 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 3 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

( e ) 配列番号 4 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 4 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 4 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 4 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 4 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 4 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

30

( f ) 配列番号 5 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 5 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 5 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 5 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 5 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 5 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

( g ) 配列番号 6 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 6 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 6 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 6 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 6 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 6 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

40

( h ) 配列番号 7 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 7 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 7 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 7 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 7 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 7 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

( i ) 配列番号 8 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 8 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 8 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、有無に関わらず ( d ) 配列番号 8 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 8 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 8 0 6 のアミノ酸配列を含む L

50

C D R 3、または

( j ) ( a ) 配列番号 9 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 9 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 9 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 9 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 9 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 9 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

( k ) ( a ) 配列番号 1 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 1 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 1 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 1 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 1 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 1 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

10

( l ) ( a ) 配列番号 2 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 2 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 2 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 2 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 2 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 2 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

( m ) ( a ) 配列番号 3 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 3 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 3 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 3 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 3 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 3 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

20

( n ) ( a ) 配列番号 4 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 4 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 4 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 4 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 4 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 4 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3。

#### 【 0 0 7 6 】

ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L を含む。

30

#### 【 0 0 7 7 】

いくつかの実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、

( a ) 抗体クローン番号 2 の V H C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 のアミノ酸配列を含む V H、ならびに抗体クローン番号 2 の V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L、または

( b ) 抗体クローン番号 5 の V H C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 のアミノ酸配列を含む V H、ならびに抗体クローン番号 5 の V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L、または

40

( c ) 抗体クローン番号 4 4 の V H C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 のアミノ酸配列を含む V H、ならびに抗体クローン番号 4 4 の V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L、または

( d ) 抗体クローン番号 5 8 の V H C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 のアミノ酸配列を含む V H、ならびに抗体クローン番号 5 8 の V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L、または

( e ) 抗体クローン番号 1 0 の V H C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 のアミノ酸配列を含む V H、ならびに抗体クローン番号 1 0 の V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む V L、または

( f ) 抗体クローン番号 3 8 の V H C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 のアミノ酸配列

50

を含むVH、ならびに抗体クローン番号38のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(g) 抗体クローン番号15のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号15のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(h) 抗体クローン番号35のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号35のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(i) 抗体クローン番号47のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号47のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(j) 抗体クローン番号46のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号46のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(k) 抗体クローン番号32のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号32のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(l) 抗体クローン番号33のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号33のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(m) 抗体クローン番号34のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号34のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVL、または

(n) 抗体クローン番号36のVH CDR1、CDR2、及びCDR3のアミノ酸配列を含むVH、ならびに抗体クローン番号36のVL CDR1、CDR2、及びCDR3を含むVLを含み得る。

#### 【0078】

以下の配列表は、ある特定の開示された抗体の重鎖及び軽鎖可変領域配列を提供する。

#### 【0079】

ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、本明細書で提供されるCD112R抗体のうちのいずれかのVHのアミノ酸配列を含むVHを含む。ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、抗体クローン番号2、5、44、58、10、38、15、35、46、47、32、33、34、または36のうちのいずれか1つのVHのアミノ酸配列を含むVHを含む。

#### 【0080】

いくつかの実施形態では、CD112R抗体は、相補性決定領域(CDR)の外側の1、2、3、4、または5つの保存的置換などの、CDRの外側の、1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有するが、抗体クローン番号2、5、44、58、10、38、15、35、46、47、32、33、34、または36のうちのいずれか1つのVHを含む。いくつかの実施形態では、CD112R抗体は、相補性決定領域(CDR)の外側の、1、2、3、4、または5つの復帰置換を有するが、抗体クローン番号2、5、44、58、10、38、15、35、46、47、32、33、34、または36のうちのいずれか1つのVHを含む。

#### 【0081】

いくつかの実施形態では、CD112R抗体は、1、2、3、4、または5つの保存的置換などの、VH配列のフレームワーク領域において1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有するが、抗体クローン番号2、5、44、58、10、38、15、35、46、47、32、33、34、または36のうちのいずれか1つのVHを含む。いくつかの実施形態では、CD112R抗体は、VH配列のフレームワーク領域において1、2、3、4、または5つの復帰置換を有するが、抗体クローン番号2、5、44、58、10

10

20

30

40

50

、 3 8、 1 5、 3 5、 4 6、 4 7、 3 2、 3 3、 3 4、 または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V H を含む。

【 0 0 8 2 】

いくつかの実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書に記載の C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V H 及び V L C D R を含み、各 C D R は、 0、 1、 2、 または 3 アミノ酸の付加、置換（例えば、保存的置換）、または欠失を含む。

【 0 0 8 3 】

ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体うちのいずれかの V H C D R のアミノ酸配列を含む V H C D R 1、 C D R 2、及び C D R 3 を含み、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V H と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一である V H を含む。ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、 5、 4 4、 5 8、 1 0、 3 8、 1 5、 3 5、 4 6、 4 7、 3 2、 3 3、 3 4、 または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V H のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む V H を含む。ある特定の実施形態では、抗体の V H は、 1、 2、 3、 4、 または 5 つの保存的置換などの、 V H 配列のフレームワーク領域における 1、 2、 3、 4、 または 5 つのアミノ酸置換により、配列表に示される V H 配列のものとは異なる。ある特定の実施形態では、抗体の V H は、 V H 配列のフレームワーク領域における 1、 2、 3、 4、 または 5 つの復帰置換により、配列表に示される V H 配列のものとは異なる。

【 0 0 8 4 】

ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V H のアミノ酸配列からなる V H を含む。ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、 5、 4 4、 5 8、 1 0、 3 8、 1 5、 3 5、 4 6、 4 7、 3 2、 3 3、 3 4、 または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V H のアミノ酸配列からなる V H を含む。

【 0 0 8 5 】

ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V L のアミノ酸配列を含む V L を含む。ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、 5、 4 4、 5 8、 1 0、 3 8、 1 5、 3 5、 4 6、 4 7、 3 2、 3 3、 3 4、 または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V L のアミノ酸配列を含む V L を含む。ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体うちのいずれかの V L C D R のアミノ酸配列を含む V L C D R 1、 C D R 2、及び C D R 3 を含み、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V L と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一である V L を含む。ある特定の実施形態では、 C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、 5、 4 4、 5 8、 1 0、 3 8、 1 5、 3 5、 4 6、 4 7、 3 2、 3 3、 3 4、 または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V L のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。ある特定の実施形態では、抗体の V L は、 1、 2、 3、 4、 または 5 つの保存的置換などの、 V L 配列のフレームワーク領域における 1、 2、 3、 4、 または 5 つのアミノ酸置換により、配列表に示される V L 配列のものとは異なる。ある特定の実施形態では、抗体の V L は、 1、 2、 3、 4、 または 5 つの復帰置換により、配列表に示される V L 配列のものとは異なる。

【 0 0 8 6 】

ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V L のアミノ酸配列からなる V L を含む。ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V L のアミノ酸配列からなる V L を含む。

【 0 0 8 7 】

ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれか 1 つの V H のアミノ酸配列を含む V H を含み、本明細書で提供される同じ C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V L のアミノ酸配列を含む V L を含む。ある特定のこれらの実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V H のアミノ酸配列を含む V H と、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V L のアミノ酸配列を含む V L と、を含み、任意選択で、V H 及び V L は、同じ抗体クローン番号からのものである。

10

【 0 0 8 8 】

いくつかの実施形態では、抗体の V H は、1、2、3、4、または 5 つの保存的置換などの、V H 配列のフレームワーク領域において 1、2、3、4、または 5 つのアミノ酸置換を有するが、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つのものであり、V L は、上の一覧表からの同じ抗体のうちのいずれか 1 つのものである。ある特定の実施形態では、抗体の V H は、V H 配列のフレームワーク領域において 1、2、3、4、または 5 つの復帰置換を有するが、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つのものである。

20

【 0 0 8 9 】

ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、または 3 6 のうちのいずれか 1 つの V H 及び V L のアミノ酸配列を含む V H 及び V L を含む。

【 0 0 9 0 】

ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V H C D R のアミノ酸配列を含む V H C D R 1、C D R 2、及び C D R 3、同様に本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V L C D R のアミノ酸配列を含む V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含み、また本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの対応する V H 及び V L と、各々少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一である V H 及び V L を含む。ある特定の実施形態では、抗体の V H 及び V L は、1、2、3、4、もしくは 5 つの保存的置換、または 1、2、3、4、もしくは 5 つの復帰置換などの、配列のフレームワーク領域における 1、2、3、4、または 5 つのアミノ酸置換により、配列表に示される V H 及び V L 配列とは異なる。

30

40

【 0 0 9 1 】

ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、本明細書で提供される C D 1 1 2 R 抗体のうちのいずれかの V H 及び V L のアミノ酸配列からなる V H 及び V L を含む。ある特定の実施形態では、C D 1 1 2 R 抗体は、各々、抗体クローン番号 2、5、4 4、5 8、1 0、3 8、1 5、3 5、4 6、4 7、3 2、3 3、3 4、及び 3 6 のうちのいずれか 1 つの V H 及び V L のアミノ酸配列からなる V H 及び V L を含む。

【 0 0 9 2 】

C D 1 1 2 R 抗体は、  
( a ) 抗体クローン番号 2 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 2 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

50

(b) 抗体クローン番号 5 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 5 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(c) 抗体クローン番号 44 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 44 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(d) 抗体クローン番号 58 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 58 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(e) 抗体クローン番号 10 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 10 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(f) 抗体クローン番号 38 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 38 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

10

(g) 抗体クローン番号 15 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 15 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(h) 抗体クローン番号 35 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 35 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(i) 抗体クローン番号 47 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 47 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(j) 抗体クローン番号 46 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 46 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(k) 抗体クローン番号 32 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 32 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

20

(l) 抗体クローン番号 33 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 33 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(m) 抗体クローン番号 34 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 34 の V L のアミノ酸配列を含む V L、または

(n) 抗体クローン番号 36 の V H のアミノ酸配列を含む V H、及び抗体クローン番号 36 の V L のアミノ酸配列を含む V L を含み得る。

【0093】

C D 1 1 2 R 抗体は、

(a) 抗体クローン番号 2 の V H の V H C D R を含む V H、及び抗体クローン番号 2 の V L C D R を含む V L、ならびに抗体クローン番号 2 の V H 及び V L と少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % 同一である V H 及び V L アミノ酸配列、または

30

(b) 抗体クローン番号 5 の V H の V H C D R を含む V H、及び抗体クローン番号 5 の V L C D R を含む V L、ならびに抗体クローン番号 5 の V H 及び V L と少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % 同一である V H 及び V L アミノ酸配列、または

(c) 抗体クローン番号 44 の V H の V H C D R を含む V H、及び抗体クローン番号 44 の V L C D R を含む V L、ならびに抗体クローン番号 44 の V H 及び V L と少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % 同一である V H 及び V L アミノ酸配列、または

40

(d) 抗体クローン番号 58 の V H の V H C D R を含む V H、及び抗体クローン番号 58 の V L C D R を含む V L、ならびに抗体クローン番号 58 の V H 及び V L と少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % 同一である V H 及び V L アミノ酸配列、または

(e) 抗体クローン番号 10 の V H の V H C D R を含む V H、及び抗体クローン番号 10 の V L C D R を含む V L、ならびに抗体クローン番号 10 の V H 及び V L と少なくと

50

上記の実施形態のうちのいくつかでは、VH及び/またはVLは、1、2、3、4、また

50

は5つの保存的置換などの、1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換の存在によって、種の各々の配列とは異なり得る。いくつかの実施形態では、VHは、1、2、3、4、または5つの復帰置換を含み得る。

【0095】

CD112R抗体は、

(a) 抗体クローン番号2のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号2のVLからなるVL、または

(b) 抗体クローン番号5のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号5のVLからなるVL、または

(c) 抗体クローン番号44のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号44のVLからなるVL、または

(d) 抗体クローン番号58のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号58のVLからなるVL、または

(e) 抗体クローン番号10のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号10のVLからなるVL、または

(f) 抗体クローン番号38のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号38のVLからなるVL、または

(g) 抗体クローン番号15のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号15のVLからなるVL、または

(h) 抗体クローン番号35のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号35のVLからなるVL、または

(i) 抗体クローン番号47のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号47のVLからなるVL、または

(j) 抗体クローン番号46のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号46のVLからなるVL、または

(k) 抗体クローン番号32のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号32のVLからなるVL、または

(l) 抗体クローン番号33のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号33のVLからなるVL、または

(m) 抗体クローン番号34のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号34のVLからなるVL、または

(n) 抗体クローン番号36のVHのアミノ酸配列からなるVH、及び抗体クローン番号36のVLからなるVLを含み得る。

【0096】

ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、本明細書の上記及び配列表などの他に記載の抗体の可変領域及び/または可変領域CDR1~3のうちのいずれかを含む。

【0097】

いくつかの実施形態では、CD112R抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、もしくはIgG4抗体などのIgG抗体、または以下のセクションに記載されるその修飾された形態である。いくつかの実施形態では、定常領域はエフェクター機能を有し、いくつかの実施形態では、定常領域はエフェクターを含まない。

【0098】

ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、本明細書で提供されるCD112R抗体のうちのいずれかの重鎖(HC)のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。ある特定の実施形態では、CD112R抗体は、抗体クローン番号2、5、44、58、10、38、15、35、46、47、32、33、34、または36のうちのいずれか1つの重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0099】

いくつかの実施形態では、CD112R抗体は、

(a) 抗体クローン番号2の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号2の

10

20

30

40

50



軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(b) 抗体クローン番号5の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号5の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(c) 抗体クローン番号44の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号44の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(d) 抗体クローン番号58の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号58の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(e) 抗体クローン番号10の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号10の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(f) 抗体クローン番号38の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号38の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(g) 抗体クローン番号15の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号15の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(h) 抗体クローン番号35の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号35の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(i) 抗体クローン番号47の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号47の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(j) 抗体クローン番号46の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号46の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(k) 抗体クローン番号32の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号32の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(l) 抗体クローン番号33の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号33の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(m) 抗体クローン番号34の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号34の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖、または

(n) 抗体クローン番号36の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び抗体クローン番号36の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖を含み得る。

【0100】

CD112R抗体は、

(a) 抗体クローン番号2の重鎖(HC)のHC CDRを含むHC、及び抗体クローン番号2のLC CDRを含む軽鎖(LC)、ならびに抗体クローン番号2のHC及びLCと、それぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一であるHC及びLCアミノ酸配列、または

(b) 抗体クローン番号5のHCのHC CDRを含むHC、及び抗体クローン番号5のLC CDRを含む軽鎖(LC)、ならびに抗体クローン番号5のHC及びLCと、それぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一であるHC及びLCアミノ酸配列、または

(c) 抗体クローン番号44のHCのHC CDRを含むHC、及び抗体クローン番号44のLC CDRを含む軽鎖(LC)、ならびに抗体クローン番号44のHC及びLCと、それぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一であるHC及びLCアミノ酸配列、または

(d) 抗体クローン番号58のHCのHC CDRを含むHC、及び抗体クローン番号58のLC CDRを含む軽鎖(LC)、ならびに抗体クローン番号58のHC及びLCと、それぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一であるHC及びLCアミノ酸配列、または

(e) 抗体クローン番号10のHCのHC CDRを含むHC、及び抗体クローン番号1

10

20

30

40

50

40

50

上記の実施形態のうちのいくつかでは、H C 及び / または L C は、1、2、3、4、または5つの保存的置換などの、1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換の存在によって、種の各々の配列とは異なり得る。上記の実施形態のうちのいくつかでは、H C 及び / または L C は、1、2、3、4、または5つの復帰置換などの、1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換の存在によって、種の各々の配列とは異なり得る。

【0102】

1. 共有された構造的及び機能的特徴を有する例示的なクラスの抗体

いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体が、提供される。ある特定の実施形態では、抗 C D 1 1 2 抗体は、ある特定の構造的及び / または機能的特徴を共有する。いくつかの実施形態では、抗体のクラスは、親抗体及びその親和性成熟多様体を含む。1つの例示的なクラスの抗体は、親クローン32、及びその親和性成熟多様体を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、親和性成熟多様体は、抗体33、34、35、及び36を含む。いくつかの実施形態では、親和性成熟多様体は、抗体32、33、34、35、及び36と比較して、保存的置換を有する抗体を含む。

10

【0103】

a. 例示的なクラスの抗体の構造的特徴

いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体は、例えば、図14及び15に示されるものなどの構造的特徴を共有する。抗体の「クラス」または「クラスのメンバー」が本明細書に記載される際に、単一の抗 C D 1 1 2 R 抗体または複数の抗 C D 1 1 2 R 抗体を記載する実施形態が包含 / 想定されることを、理解されたい。いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体は、同一の H C D R 3 を含む。いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体は、同一の L C D R 1 を含む。いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体は、同一の L C D R 2 を含む。いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体は、同一の L C D R 3 を含む。いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体は、同一の H C D R 3 ならびに同一の L C D R 1、L C D R 2、及び / または L C D R 3 を含む。いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体は、配列番号1003のアミノ酸配列を含む H C D R 3、及び / または配列番号1004のアミノ酸配列を含む L C D R 1、及び / または配列番号1005のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び / または配列番号1006のアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む。

20

【0104】

いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、配列番号1007、1008、1009、及び1010のアミノ酸配列を含む重鎖フレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、配列番号1012のアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、または少なくとも93%同一である重鎖可変領域アミノ酸配列を含み、配列番号1012に対する配列多様性のうちのいずれか及び全ては、H C D R 1 及び / または H C D R 2 にある。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、配列番号1013、1014、1015、及び1016のアミノ酸配列を含む軽鎖フレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、配列番号1018の軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む。

30

【0105】

この例示的なクラスの抗体のメンバーは、H C D R 1 及び H C D R 2 のアミノ酸配列においていくらかの多様性を含み得る。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、配列番号1001のアミノ酸配列、あるいは配列番号1001の4、5、及び / または6位に対する1、2、または3つのアミノ酸変化を有する配列番号1001のアミノ酸配列を含む H C D R 1 を含む。いくつかの実施形態では、抗体のクラスは、図14に示される配列番号1001、2001、3001、4001、及び701のアミノ酸の間で異なる位置に対する1、2、または3つのアミノ酸変化を有する配列番号1001のアミノ酸配列を含む H C D R 1 を含む。いくつかの実施形態では、1、2、または3つのアミノ酸変化のうちの1つ以上は、保存的置換ではない。いくつかの実施形態では、1、2、または3個のアミノ酸変化のうちの1つ以上は、保存的置換である。ある特定の実施形態で

40

50

は、抗体のクラスのメンバーは、配列番号 2 0 0 1、3 0 0 1、7 0 1、または 4 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1 を含む。

【 0 1 0 6 】

いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、配列番号 1 0 0 2 のアミノ酸配列、あるいは配列番号 1 0 0 2 の 1、3、5、6、及び/または 8 位に対する 1、2、3、4、または 5 つのアミノ酸変化を有する配列番号 1 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2 を含む。いくつかの実施形態では、抗体のクラスは、図 1 4 に示される配列番号 1 0 0 2、2 0 0 2、3 0 0 2、4 0 0 2、及び 7 0 2 のアミノ酸の間で異なる位置に対する 1、2、3、4、または 5 つのアミノ酸変化を有する配列番号 1 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2 を含む。いくつかの実施形態では、1、2、3、4、または 5 つのアミノ酸変化のうちの 1 つ以上は、保存的置換ではない。いくつかの実施形態では、1、2、3、4、または 5 つのアミノ酸変化のうちの 1 つ以上は、保存的置換である。ある特定の実施形態では、抗体のクラスのメンバーは、配列番号 2 0 0 2、3 0 0 2、7 0 2、または 4 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2 を含む。

10

【 0 1 0 7 】

いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、同一の重鎖及び軽鎖フレームワーク領域を含む。

【 0 1 0 8 】

b . 例示的なクラスの抗体の機能的特徴

いくつかの実施形態では、抗 C D 1 1 2 R 抗体が提供され、抗体は、ヒト C D 1 1 2 R への結合、C D 1 1 2 とのヒト C D 1 1 2 R の相互作用の遮断、及び C D 1 1 2 とのマウス C D 1 1 2 R の相互作用の遮断の失敗という特別な技術的效果を共有する。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、ヒト C D 1 1 2 R に結合し、ヒト C D 1 1 2 及びヒト C D 1 1 2 R の間の結合相互作用を遮断する。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、マウス C D 1 1 2 及びマウス C D 1 1 2 R の間の結合相互作用を遮断しない。抗体のクラスのメンバーはマウス C D 1 1 2 及びマウス C D 1 1 2 R の間の相互作用を遮断しないが、抗体のクラスのメンバーは、マウス C D 1 1 2 及びマウス C D 1 1 2 R の間の結合相互作用を部分的に阻害するか、マウス C D 1 1 2 及びマウス C D 1 1 2 R の間の結合相互作用を阻害しない。いくつかのかかる実施形態では、抗体のクラスのメンバーは、マウス C D 1 1 2 R 及びマウス C D 1 1 2 の間の相互作用を 5 0 % を超えて阻害しない。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、可溶性マウス C D 1 1 2 R への少なくともいくつかの結合を示す。いくつかの実施形態では、抗体は、完全にヒトであるか、またはヒト化される。いくつかの実施形態では、抗体のクラスの各メンバーは、ヒト C D 1 1 2 R 上の同じエピトープに結合する。

20

30

【 0 1 0 9 】

2 . 抗体断片

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、F a b、F a b'、F a b' - S H、F ( a b <sub>2</sub> ) F v、及び s c F v 断片、ならびに以下に記載される他の断片を含むが、これらに限定されない。ある特定の抗体断片の概説については、Hudson et al . Nat . Med . 9 : 1 2 9 - 1 3 4 ( 2 0 0 3 ) を参照されたい。s c F v 断片の概説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol . 1 1 3, Rosenberg and Moore eds ., (Springer - Verlag, New York), pp . 2 6 9 - 3 1 5 ( 1 9 9 4 ) を参照されたく、また、W O 9 3 / 1 6 1 8 5、ならびに米国特許第 5, 5 7 1, 8 9 4 号及び同第 5, 5 8 7, 4 5 8 号を参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加したインビボ半減期を有する、F a b 及び F ( a b' )<sub>2</sub> 断片の考察については、米国特許第 5, 8 6 9, 0 4 6 号を参照されたい。

40

【 0 1 1 0 】

ダイアボディは、二価性または二重特異性であり得る、2 つの抗原結合部位を有する抗体

50

断片である。例えば、EP 404,097、WO 1993/01161、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)、及び Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993) を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディも、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003) に記載される。

#### 【0111】

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

10

#### 【0112】

抗体断片は、本明細書に記載されるように、インタクトな抗体のタンパク質分解消化、同様に組換え宿主細胞 (例えば、E. coli またはファージ) による産生を含むが、これらに限定されない、様々な技法によって作製され得る。

#### 【0113】

### 3. 多重特異性抗体

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも 2 つの異なる部位に対する結合特異性を有する、モノクローナル抗体である。ある特定の実施形態では、結合特異性のうちの 1 つは CD112R に対するものであり、他方は任意の他の抗原に対するものである。ある特定の実施形態では、結合特異性のうちの 1 つは CD112R に対するものであり、他方は、PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、TIM-3、TIGIT、CD96、PVRL1、PVRL2、PVRL3、PVRL4、CD155、STING、CD47、CD39、及び IL-27 のうちの 1 つ (二重特異性の場合) またはそれ以上 (多重特異性の場合) から独立して選択されるためのものである。ある特定の実施形態では、二重特異性抗体は、CD112R の 2 つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体は、細胞傷害性薬剤を、CD112R を発現する細胞に局在化させるためにも使用され得る。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製され得る。

20

#### 【0114】

多重特異性抗体を作製するための技法は、異なる特異性を有する 2 つの免疫グロブリン重鎖 - 軽鎖対の組換え共発現 (Milstein and Cuelllo, Nature 305:537 (1983))、WO 93/08829、及び Traunecker et al., EMBO J. 10:3655 (1991) を参照されたい)、及び「ノブ・イン・ホール」操作 (例えば、米国特許第 5,731,168 号を参照されたい) を含むが、これらに限定されない。多重特異性抗体は、抗体 Fc - ヘテロ二量体分子を作製するために静電的ステアリング効果を操作すること (WO 2009/089004 A1)、2 つ以上の抗体または断片を架橋すること (例えば、米国特許第 4,676,980 号、及び Brennan et al., Science, 229:81 (1985) を参照されたい)、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること (例えば、Kostelyny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992) を参照されたい)、二重特異性抗体断片を作製するために「ダイアボディ」技術を使用すること (例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993) を参照されたい)、及び 1 本鎖 Fv (sFv) 二量体を使用すること (例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994) を参照されたい)、及び、例えば、Tutt et al. J. Immunol. 147:60 (1991) に記載される三重特異性抗体を調製することによっても作成され得る。

30

40

#### 【0115】

「オクトパス抗体」を含む、3 つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体は、本明細書にも含まれる (例えば、US 2006/0025576 A1 を参照されたい)。

50

## 【 0 1 1 6 】

本明細書における抗体または断片は、C D 1 1 2 R、同様に別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む、「二重作用 F 抗体 ( D u a l   A c t i n g   F a n t i b o d y ) 」または「 D A F 」も含む ( 例えば、U S 2 0 0 8 / 0 0 6 9 8 2 0 を参照されたい ) 。

## 【 0 1 1 7 】

## 4 . 抗体多様体

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体のアミノ酸配列多様体が、企図される。例えば、抗体の結合親和性及び / または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列多様体は、適切な修飾を、抗体をコードするヌクレオチド配列中に導入することによって、またはペプチド合成によって、調製され得る。かかる修飾は、例えば、抗体のアミノ酸配列からの欠失、及び / または抗体のアミノ酸配列への挿入、及び / または抗体のアミノ酸配列内の残基の置換を含む。欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせは、最終構築物が、所望の特性、例えば、抗原結合を保有する場合に限り、最終構築物に到達するために作成され得る。

10

## 【 0 1 1 8 】

## 5 . 置換、挿入、及び欠失多様体

ある特定の実施形態では、1 つ以上のアミノ酸置換を有する抗体多様体が、提供される。置換型変異誘発に対する目的の部位は、H V R 及び F R を含む。保存的置換は、「例示的置換」であるとして表 1 に示される。アミノ酸置換は目的の抗体中に導入され得、産物は、所望の活性、例えば、保持 / 改善された抗原結合、減少した免疫原性、または改善された A D C C もしくは C D C についてスクリーニングされ得る。

20

30

40

50

【表 1】

表 1

元の 残基	例示的 置換	保存的 置換
A l a (A)	V a l、L e u、I l e	V a l
A r g (R)	L y s、G l n、A s n	L y s
A s n (N)	G l n、H i s、A s p、L y s、A r g	G l n
A s p (D)	G l u、A s n	G l u
C y s (C)	S e r、A l a	S e r
G l n (Q)	A s n、G l u	A s n
G l u (E)	A s p、G l n	A s p
G l y (G)	A l a	A l a
H i s (H)	A s n、G l n、L y s、A r g	A r g
I l e (I)	L e u、V a l、M e t、A l a、P h e、ノ ルロイシン	L e u
L e u (L)	ノルロイシン、I l e、V a l、M e t、A l a、P h e	I l e
L y s (K)	A r g、G l n、A s n	A r g
M e t (M)	L e u、P h e、I l e	L e u
P h e (F)	T r p、L e u、V a l、I l e、A l a、T y r	T y r
P r o (P)	A l a	A l a
S e r (S)	T h r	T h r
T h r (T)	V a l、S e r	S e r
T r p (W)	T y r、P h e	T y r
T y r (Y)	T r p、P h e、T h r、S e r	P h e
V a l (V)	I l e、L e u、M e t、P h e、A l a、ノ ルロイシン	L e u

アミノ酸は、次の一般的な側鎖特性に従って群分けされ得る：

- (1) 疎水性：ノルロイシン、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e、
- (2) 中性親水性：C y s、S e r、T h r、A s n、G l n、
- (3) 酸性：A s p、G l u、
- (4) 塩基性：H i s、L y s、A r g、
- (5) 鎖配向に影響を及ぼす残基：G l y、P r o、
- (6) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

#### 【0119】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴うであろう。

#### 【0120】

改変（例えば、置換）は、HVRにおいて、例えば、抗体親和性を改善するために行われ得る。かかる改変は、HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を経るコドンによってコードされる残基（例えば、C h o w d h u r y、M e

Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)を参照されたい)、及び/または抗原と接触する残基において行われる場合があり、結果として生じた多様体VHまたはVLは、結合親和性について試験される。二次ライブラリから構築及び再選択することによる親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、多様性は、多様な方法(例えば、エラーブローンPCR、鎖シャッフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性変異誘発)のうちのいずれかによって、成熟のために選択された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリが、作成される。次いで、ライブラリは、所望の親和性を有する任意の抗体多様体を特定するためにスクリーニングされる。多様性を導入するための別の方法は、いくつかのHVR残基(例えば、1回に4~6つの残基)が無作為化される、HVR指向性アプローチを伴う。抗原結合に関与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを使用して、具体的に特定され得る。特にCDR-H3及びCDR-L3は、しばしば標的とされる。

10

#### 【0121】

ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、かかる改変が、抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限り、1つ以上のHVR内で発生できる。例えば、結合親和性を実質的に低減しない保存的改変(例えば、本明細書で提供される保存的置換)は、HVRにおいて行われることができる。かかる改変は、例えば、HVRにおける抗原接触残基の外側であり得る。上に提供される多様体VH及びVL配列のある特定の実施形態では、各HVRは、改変されていないか、または1、2、もしくは3つ以下のアミノ酸置換を含むかのいずれかである。

20

#### 【0122】

変異誘発のために標的とされ得る抗体の残基または領域の特定に有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085によって記載される「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基(例えば、arg、asp、his、lys、及びgluなどの荷電残基)のうちのある残基または基は、特定され、中性または負に荷電したアミノ酸(例えば、アラニンまたはポリアラニン)によって置き換えられて、抗体の抗原との相互作用が影響されるかどうかを決定する。さらなる置換は、最初の置換に対する機能的感受性を実証するアミノ酸の場所で導入され得る。代替的に、または追加的に、抗体及び抗原の間の接触点を特定するための抗原-抗体複合体の結晶構造。かかる接触残基及び隣接する残基は、置換のための候補として標的とされるか、または排除され得る。多様体は、それらが所望の特性を含有するかどうかを決定するためにスクリーニングされ得る。

30

#### 【0123】

アミノ酸配列挿入は、1つの残基から100個以上の残基を含有するポリペプチドまでの範囲の長さである、アミノ末端及び/またはカルボキシル末端融合、同様に単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例は、N末端メチオニル残基を有する抗体を含む。抗体分子の他の挿入型多様体は、抗体の血清半減期を増加させる酵素(例えば、ADEPTについて)またはポリペプチドに対する抗体のN末端もしくはC末端への融合を含む。

40

#### 【0124】

##### 6. グリコシル化多様体

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が作成または除去されるように、アミノ酸配列を改変することによって、好都合に達成され得る。

#### 【0125】

抗体がFc領域を含む場合、そこに結合した炭水化物は、改変され得る。哺乳動物細胞に

50



よって産生される天然抗体は、典型的に、Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN結合によって一般に結合される、分岐した二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al. TIBTECH 15: 26-32 (1997)を参照されたい。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトース、及びシアル酸、同様に二分岐オリゴ糖類構造の「ステム」においてGlcNAcに結合したフコースを含み得る。いくつかの実施形態では、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、ある特定の改善された特性を有する抗体多様体を作成するために行われることができる。

#### 【0126】

いくつかの実施形態では、Fc領域に（直接または間接的に）結合したフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体多様体が、提供される。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、1%～80%、1%～65%、5%～65%、または20%～40%であり得る。フコースの量は、例えば、WO2008/077546に記載されるように、MALDI-TOF質量分析法によって測定されるAsn297に結合した全ての糖鎖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計に対して、Asn297での糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297は、Fc領域における約297位（Fc領域残基のEu番号付け）に位置するアスパラギン残基を指すが、Asn297は、抗体における小規模な配列多様性により、297位から約±3アミノ酸上流または下流、すなわち、294位～300位の間にも位置し得る。かかるフコシル化多様体は、改善されたADCC機能を有し得る。例えば、米国特許公開第US2003/0157108号（Presta, L.）、同第US2004/0093621号（Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd）を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体多様体に関連する刊行物の例は、US2003/0157108、WO2000/61739、WO2001/29246、US2003/0115614、US2002/0164328、US2004/0093621、US2004/0132140、US2004/0110704、US2004/0110282、US2004/0109865、WO2003/085119、WO2003/084570、WO2005/035586、WO2005/035778、WO2005/053742、WO2002/031140、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004)、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)を含む。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例は、タンパク質フコシル化が欠損したLec13 CHO細胞（Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545 (1986)、米国特許出願第US2003/0157108 A1号、Presta, L.、及びWO2004/056312 A1, Adams et al.、特に実施例11）、及びアルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞などのノックアウト細胞株（例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)、Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4): 680-688 (2006)、及びWO2003/085107を参照されたい）を含む。

#### 【0127】

例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分される、二分されたオリゴ糖を有する抗体多様体が、さらに提供される。かかる抗体多様体は、低減したフコシル化及び/または改善されたADCC機能を有し得る。かかる抗体多様体の例は、例えば、WO2003/011878（Jean-Mairet et al.）、米国特許第6,602,684号（Umana et al.）、及びUS2005/0123546（Umana et al.）に記載される。Fc領域に結合したオリゴ糖において少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体多様体もまた、提供される。かかる抗体多様体は、改善されたCDC機能を有し得る。かかる抗体多様体は、例えば、WO1997/30087（Patel et al.）、WO1998/58964（Raju

10

20

30

40

50

、S.）、及びWO 1999/22764 (Raju, S.)に記載される。

#### 【0128】

##### 7. Fc領域多様体

ある特定の実施形態では、1つ以上のアミノ酸修飾は、本明細書で提供される抗体のFc領域に導入され、それによってFc領域多様体を生成することができる。Fc領域多様体は、1つ以上のアミノ酸位置でアミノ酸修飾（例えば、置換）を含む、ヒトFc領域配列（例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域）を含み得る。

#### 【0129】

ある特定の実施形態では、本発明は、全てではないが、いくつかのエフェクター機能を保有することにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、ある特定のエフェクター機能（補体及びADCCなど）が不要または有害である用途のための望ましい候補となる抗体多様体を企図する。インビトロ及び/またはインビボ細胞傷害性アッセイは、CDC及び/またはADCC活性の低減/枯渇を確認するために行われ得る。例えば、Fc受容体（FcR）結合アッセイは、抗体がFcR結合を欠く（したがって、ADCC活性を欠いている可能性が高い）が、FcRn結合能力を保持していることを確実にするために行われ得る。ADCCを媒介するための主要な細胞であるNK細胞は、FcRIIIのみを発現するが、単球は、FcRI、FcRII、及びFcRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492 (1991)の464ページ上の表3に要約される。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362号（例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83: 7059-7063 (1986)及びHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985)を参照されたい）、同第5,821,337号（Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166: 1351-1361 (1987)を参照されたい）に記載される。代替的には、非放射性アッセイ方法が、用いられ得る（例えば、フローサイトメトリーのためのACTI（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Cell Technology, Inc. Mountain View, CA、及びCytotox 96（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Promega, Madison, WI）を参照されたい）。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞は、末梢血単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞を含む。代替的に、または追加的に、目的の分子のADCC活性は、インビボで、例えば、Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95: 652-656 (1998)に開示されるものなどの動物モデルにおいて評価され得る。C1q結合アッセイは、抗体が、C1qに結合できず、したがってCDC活性を欠くことを確認するためにも実行され得る。例えば、WO 2006/029879及びWO 2005/100402におけるC1q及びC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイが、実行され得る（例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996)、Cragg, M. S. et al., Blood 101: 1045-1052 (2003)、及びCragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103: 2738-2743 (2004)を参照されたい）。FcRn結合及びインビボクリアランス/半減期決定は、当該技術分野で既知の方法を使用しても実行され得る（例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18 (12): 1759-1769 (2006)を参照されたい）。

#### 【0130】

低減したエフェクター機能を有する抗体は、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、及び329のうちの1つ以上の置換を有するものを含む（米国特許第6,737,056号）。かかるFc変異体は、アラニンへの残基265及び297の置換を有するいわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸265、269、270

10

20

30

40

50

、 2 9 7、及び 3 2 7 位のうちの 2 つ以上で置換を有する F c 変異体を含む（米国特許第 7 , 3 3 2 , 5 8 1 号）。

【 0 1 3 1 】

F c R への改善されたまたは縮小した結合を有するある特定の抗体多様体が、記載される。（例えば、米国特許第 6 , 7 3 7 , 0 5 6 号、WO 2 0 0 4 / 0 5 6 3 1 2、及び Shields et al., J. Biol. Chem. 9 ( 2 ) : 6 5 9 1 - 6 6 0 4 ( 2 0 0 1 ) を参照されたい。）

【 0 1 3 2 】

ある特定の実施形態では、抗体多様体は、A D C C を改善する 1 つ以上のアミノ酸置換、例えば、F c 領域の 2 9 8、3 3 3、及び / または 3 3 4 位（残基の E U 番号付け）での置換を有する、F c 領域を含む。

10

【 0 1 3 3 】

いくつかの実施形態では、例えば、米国特許第 6 , 1 9 4 , 5 5 1 号、WO 9 9 / 5 1 6 4 2、及び Idusogie et al., J. Immunol. 1 6 4 : 4 1 7 8 - 4 1 8 4 ( 2 0 0 0 ) に記載されるように、改変された（すなわち、改善されたか、または減少したかのいずれかである）C 1 q 結合及び / または補体依存的細胞傷害性（C D C）を生じる改変は、F c 領域において行われる。

【 0 1 3 4 】

母体 I g G の胎児への移行の原因である、増加した半減期及び新生児 F c 受容体（F c R n）への改善された結合を有する抗体（Guyer et al., J. Immunol. 1 1 7 : 5 8 7 ( 1 9 7 6 ) 及び Kim et al., J. Immunol. 2 4 : 2 4 9 ( 1 9 9 4 )）は、US 2 0 0 5 / 0 0 1 4 9 3 4 A 1 (Hinton et al.) に記載される。それらの抗体は、F c R n への F c 領域の結合を改善する 1 つ以上の置換をその中に有する F c 領域を含む。かかる F c 多様体は、F c 領域残基 2 3 8、2 5 2、2 5 4、2 5 6、2 6 5、2 7 2、2 8 6、3 0 3、3 0 5、3 0 7、3 1 1、3 1 2、3 1 7、3 4 0、3 5 6、3 6 0、3 6 2、3 7 6、3 7 8、3 8 0、3 8 2、4 1 3、4 2 4、または 4 3 4 のうちの 1 つ以上での置換、例えば、F c 領域残基 4 3 4 の置換（米国特許第 7 , 3 7 1 , 8 2 6 号）を有するものを含む。

20

【 0 1 3 5 】

また、F c 領域多様体の他の例に関して、Duncan & Winter, Nature 3 2 2 : 7 3 8 - 4 0 ( 1 9 8 8 )、米国特許第 5 , 6 4 8 , 2 6 0 号、米国特許第 5 , 6 2 4 , 8 2 1 号、及び WO 9 4 / 2 9 3 5 1 号も参照されたい。

30

【 0 1 3 6 】

いくつかの実施形態では、抗体は配列表に従って提供され、アイソタイプはヒト I g G 1 である。いくつかの実施形態では、抗体は配列表に従って提供され、アイソタイプはヒト I g G 4 である。いくつかの実施形態では、抗体は配列表に従って提供され、アイソタイプはヒト I g G 4 であり、セリン 2 2 8 ではプロリンへの単一変異（S 2 2 8 P）がある。

【 0 1 3 7 】

8 . システイン操作された抗体多様体

ある特定の実施形態では、抗体の 1 つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作された抗体、例えば、「チオ M 抗体」を作成することが望ましい場合がある。特定の実施形態では、置換された残基は、抗体の利用しやすい部位で発生する。それらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基は、それによって抗体の利用しやすい部位に位置付けられ、薬物部分またはリンカー - 薬物部分などの他の部分に抗体を複合体化して、本明細書にさらに記載されるように、免疫複合体を作成するために使用され得る。ある特定の実施形態では、以下の残基のうちのいずれか 1 つ以上は、システインで置換され得る：軽鎖の V 2 0 5（Kabatt 番号付け）、重鎖の A 1 1 8（E U 番号付け）、及び重鎖 F c 領域の S 4 0 0（E U 番号付け）。システイン操作された抗体は、例えば、米国特許第 7 , 5 2 1 , 5 4 1 号に記載されるように生成され得る。

40

【 0 1 3 8 】

50

## 9. 抗体誘導体

ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、当該技術分野で既知であり、容易に入手可能な、追加的な非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾され得る。抗体の誘導体化に好適な部分は、水溶性ポリマーを含むが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例は、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、及びそれらの混合物を含むが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性により、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであり得、分岐または非分岐であり得る。抗体に結合したポリマーの数は異なり得、2つ以上のポリマーが結合する場合、それらは同じまたは異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び/または種類は、改善される抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が定義された条件下で療法において使用されるかどうかなどを含むが、これらに限定されない考慮に基づいて、決定され得る。

【0139】

別の実施形態では、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る、抗体及び非タンパク質性部分の複合体が、提供される。いくつかの実施形態では、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである（Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)）。放射線は、任意の波長のものであり得、通常の細胞を傷つけないが、抗体-非タンパク質性部分に隣接する細胞が殺滅される温度まで非タンパク質性部分を加熱する波長を含むが、これらに限定されない。

【0140】

### B. 組換え法

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されるような、組換え法及び組成物を使用して産生され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD112R抗体をコードする単離された核酸が、提供される。かかる核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び/またはVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び/または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態では、かかる核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が、提供される。さらなる実施形態では、かかる核酸を含む宿主細胞が、提供される。1つのかかる実施形態では、宿主細胞は、（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクター、及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクターを含む（例えば、それらで形質転換されている）。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、真核生物のもの、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。いくつかの実施形態では、抗CD112R抗体を作製する方法が提供され、方法は、上に提供されるように、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意選択で、抗体を宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することと、を含む。

【0141】

抗CD112R抗体の組換え産生のために、抗体をコードする核酸は、例えば、上記のように、単離され、宿主細胞におけるさらなるクローニング及び/または発現のために、1つ以上のベクター中に挿入される。かかる核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離及び配列決定され得る。

## 【0142】

抗体コードベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞は、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞を含む。例えば、抗体は、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない際に、細菌において産生され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号、及び同第5,840,523号を参照されたい。(また、E. coliにおける抗体断片の発現を記載する、Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245 - 254も参照されたい。) 発現後、抗体は、可溶性画分において細菌細胞ペーストから単離され得、さらに精製され得る。

10

## 【0143】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物は、抗体コードベクターに好適なクローニングまたは発現宿主であり、それらのグリコシル化経路が「ヒト化」されている真菌及び酵母株を含み、部分的または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす。Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)、及びLi et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)を参照されたい。

## 【0144】

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

20

## 【0145】

植物細胞培養物は、宿主としても利用され得る。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、及び同第6,417,429号(トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES(商標)技術を記載する)を参照されたい。

## 【0146】

脊椎動物細胞は、宿主としても使用され得る。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳類細胞株は、有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40(COS-7)によって形質転換されたサル腎臓CV1株;ヒト胎児腎臓株(例えば、Graham et al., J. Gen. Virol. 36:59(1977)に記載される293または293細胞);ベビーハムスター腎臓細胞(BHK);マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251(1980)に記載されるTM4細胞);サル腎臓細胞(CV1);アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76);ヒト子宮頸癌細胞(HELA);イヌ腎臓細胞(MDCK;バッファローラット肝細胞(BRL 3A);ヒト肺細胞(W138);ヒト肝細胞(Hep G2);マウス乳腺腫瘍(MMT 060562);Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68(1982)に記載されるTRI細胞;MRC 5細胞;及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株は、DHFR-CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216(1980))、ならびにY0、NS0、Sp2/0などの骨髓腫細胞株を含む。抗体産生に好適な特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255 - 268 (2003)を参照されたい。

30

40

## 【0147】

C. 免疫複合体

50

本発明は、１つ以上の他の治療剤または放射性同位体に複合体化される本明細書の抗ＣＤ１１２Ｒ抗体を含む免疫複合体も提供する。

#### 【０１４８】

別の実施形態では、免疫複合体は、放射性原子に複合体化されて放射性複合体を形成する、本明細書に記載される抗体を含む。多様な放射性同位体が、放射性複合体の産生のために利用可能である。例は、Ａｔ 211、I 131、I 125、Y 90、Re 186、Re 188、Sm 153、Bi 212、P 32、Pb 212、及びLuの放射性同位体を含む。放射性複合体が検出のために使用される際、放射性複合体は、シンチグラフィ研究のための放射性原子、例えば、tc 99mもしくはI 123、または再びヨウ素 - 123、ヨウ素 - 131、インジウム - 111、フッ素 - 19、炭素 - 13、窒素 - 15、酸素 - 17、ガドリニウム、マンガン、もしくは鉄などの、核磁気共鳴（NMR）画像法（磁気共鳴画像法、mriとしても知られる）のためのスピン標識を含み得る。

#### 【０１４９】

抗体の複合体は、N - スクシンイミジル - 3 - (2 - ピリジルジチオ) プロピオン酸塩 (SPDP)、スクシンイミジル - 4 - (N - マレイミドメチル) シクロヘキサン - 1 - カルボン酸塩 (SMCC)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの二官能性誘導体 (アジブイミド酸ジメチルHClなど)、活性エステル (スベリン酸ジスクシンイミジルなど)、アルデヒド (グルタルアルデヒドなど)、ビス - アジド化合物 (ビス (p - アジドベンゾイル) ヘキサンジアミンなど)、ビス - ジアゾニウム誘導体 (ビス - (p - ジアゾニウムベンゾイル) - エチレンジアミンなど)、ジイソシアネート (トルエン 2, 6 - ジイソシアネートなど)、及びビス - 活性フッ素化合物 (1, 5 - ジフルオロ - 2, 4 - ジニトロベンゼンなど) などの多様な二官能性タンパク質カップリング剤を使用して作製され得る。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987) に記載されるように調製され得る。炭素 - 14 標識 1 - イソチオシアナトベンジル - 3 - メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸 (MX-DTPA) は、抗体への放射性ヌクレオチドの複合体化のための、例示的キレート剤である。WO 94/11026 を参照されたい。リンカーは、細胞において細胞傷害性薬物の放出を促進する「切断可能リンカー」であり得る。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー、またはジスルフィド含有リンカー (Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131 (1992)、米国特許第 5, 208, 020 号) が、使用され得る。

#### 【０１５０】

本明細書の免疫複合体またはADCは、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ - EMCS、スルホ - GMBS、スルホ - KMUS、スルホ - MBS、スルホ - SIAB、スルホ - SMCC、及びスルホ - SMPB、及び市販される (例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.A. からの) SVSB (スクシンイミジル - (4 - ビニルスルホン) 安息香酸塩) を含むが、これらに限定されない、架橋剤試薬で調製されたかかる複合体を明白に企図するが、これらに限定されない。

#### 【０１５１】

D. 薬学的製剤及び組成物

本明細書に記載される抗ＣＤ１１２Ｒ抗体の薬学的製剤または組成物は、所望の程度の純度を有するかかる抗体を、１つ以上の任意選択の薬学的に許容される担体、希釈剤、及び/または賦形剤とを混合すること (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) によって、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で調製される。薬学的に許容される担体、希釈剤、及び賦形剤は、一般に、用いられる投薬量及び濃度でレシipientに対して無毒であり、滅菌水、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸などの緩衝剤; アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤; 保存剤 (塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウ

10

20

30

40

50

ム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチル、もしくはベンジルアルコール、メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3 - ペンタノール、及び m - クレゾールなど) ; 低分子量 ( 約 10 残基未満 ) のポリペプチド ; 血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質 ; ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー ; グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジンなどのアミノ酸 ; グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む、単糖類、二糖類、及び他の炭水化物 ; EDTA などのキレート剤 ; スクロース、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトールなどの糖類 ; ナトリウムなどの塩形成対イオン ; 金属錯体 ( 例えば、Zn - タンパク質錯体 ) 、及び / またはポリエチレングリコール ( PEG ) などの非イオン性界面活性剤を含むが、これらに限定されない。本明細書における例示的な薬学的に許容される担体は、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質 ( sHASEGP ) 、例えば、rHuPH20 ( HYLENEX ( 登録商標 ) 、Baxter International, Inc. ) などのヒト可溶性 PH - 20 ヒアルロニダーゼ糖タンパク質などの間質性薬物分散剤をさらに含む。rHuPH20 を含む、ある特定の例示的な sHASEGP 及び使用法は、米国特許公開第 2005 / 0260186 号及び同第 2006 / 0104968 号に記載される。一態様では、sHASEGP は、コンドロイチナーゼなどの 1 つ以上の追加的なグリコサミノグリカナーゼと組み合わせられる。

10

#### 【0152】

例示的な凍結乾燥抗体製剤は、米国特許第 6 , 267 , 958 号に記載される。水性抗体製剤は、米国特許第 6 , 171 , 586 号及び WO 2006 / 044908 に記載されるものを含み、後者の製剤は、ヒスチジン - アセテート緩衝剤を含む。

20

#### 【0153】

本明細書における製剤は、治療されている特定の適応症に必要な 2 つ以上の活性成分、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものも含有できる。かかる活性成分は、好適には、意図される目的に対して有効である量で組み合わせて存在する。

#### 【0154】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技法によって、または界面重合によって調製されるマイクロカプセル、例えば、それぞれ、コロイド状薬物送達系 ( 例えば、リボソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル ) 中またはマクロエマルジョン中の、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン - マイクロカプセル及びポリ - ( メタクリル酸メチル ) マイクロカプセル中に、封入され得る。かかる技法は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. ( 1980 ) において開示される。

30

#### 【0155】

徐放性調製物が、調製され得る。徐放性調製物の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスを含み、マトリックスは、成形物品、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの形態である。

#### 【0156】

インビボ投与のために使用される製剤または組成物は、一般に滅菌である。滅菌は、例えば、滅菌濾過膜を通じた濾過によって、容易に達成され得る。

40

#### 【0157】

#### E . 治療方法

本明細書で提供される抗 CD 112 R 抗体のうちのいずれかは、治療方法において使用され得る。全体を通して、「抗体」が考察される場合、抗体を含む組成物もまた包含されることも理解されるべきである。

#### 【0158】

一態様では、医薬品としての使用のための抗 CD 112 R 抗体が、提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍を有する対象における抗腫瘍免疫応答を増強、増加、及び / または維持することにおける使用のための抗 CD 112 R 抗体が、提供される。いくつかの実施

50

形態では、腫瘍は、がん性である。いくつかの実施形態では、がんの治療における使用のための抗CD112R抗体が、提供される。いくつかの実施形態では、CD112とのCD226相互作用を増強することにおける使用のための抗CD112R抗体が、提供される。

【0159】

さらなる一態様では、本発明は、医薬品の製造または調製における抗CD112R抗体の使用を提供する。いくつかの実施形態では、医薬品は、腫瘍を有する対象における抗腫瘍免疫応答を増強、増加、及び/または維持することにおける使用のためのものである。いくつかの実施形態では、腫瘍は、がん性である。いくつかの実施形態では、医薬品は、がんを治療するためのものである。いくつかの実施形態では、医薬品は、CD112とのCD226相互作用を増強するためのものである。

10

【0160】

さらなる態様では、本発明は、CD112Rを遮断することが望まれる疾患及び/または障害を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CD112R抗体を投与することを含む、腫瘍を有する対象において抗腫瘍免疫応答を増強、増加、及び/または維持するための方法が、提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍は、がん性である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CD112R抗体を投与することを含む、がんを有する対象においてがんを治療するための方法が、提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗CD112R抗体を投与することを含む、任意選択でがんを有する対象においてCD112とのCD226相互作用を増強するための方法が、提供される。

20

【0161】

いくつかの態様では、本発明は、CD112Rタンパク質関連疾患もしくは障害の1つ以上の症状を軽減するための方法、またはCD112Rタンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載の疾患もしくは障害のうちのいずれか、例えば、がんなど）の1つ以上の症状を軽減するための、抗CD112R抗体もしくは抗CD112R抗体を含む医薬品を提供する。いくつかの態様では、本発明は、CD112Rタンパク質関連疾患もしくは障害の症状の数もしくは1つ以上の症状の重症度を低減するための方法、またはCD112Rタンパク質関連疾患もしくは障害（本明細書に記載の疾患もしくは障害のうちのいずれか、例えば、がんなど）の症状の数もしくは1つ以上の症状の重症度を低減するための、抗CD112R抗体もしくは抗CD112R抗体を含む医薬品を提供する。特定の実施形態では、CD112Rタンパク質関連疾患または障害の症状は腫瘍であり、低減は、腫瘍のサイズの低減、腫瘍の成長の失敗、または腫瘍の排除である。

30

【0162】

本明細書に記載の抗体は、例えば、がんを治療するために使用され得る。いくつかの実施形態では、有効量の本明細書に記載の抗体を対象に投与することを含む、がんを治療するための方法が、提供される。いくつかの実施形態では、抗体は、抗原特異的免疫応答などの、対象における免疫応答を誘発または増強できる。いくつかの実施形態では、抗体は、T細胞活性を刺激できる。いくつかの実施形態では、抗体は、対象における少なくとも1つの腫瘍の成長を阻害できる。

40

【0163】

本明細書で提供されるのは、対象が治療されるように、治療有効量の本明細書に記載のCD112R抗体を対象に投与することを含む、がんを有する対象を治療するための方法である。CD112R抗体は、単独で使用され得る。代替的には、CD112R抗体は、以下でさらに記載されるように、別の薬剤と併せて使用され得る。

【0164】

がんは、固形腫瘍または血液悪性腫瘍（例えば、液体腫瘍）を伴うがんであり得る。

【0165】

治療のためのがんの非限定的な例は、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（NSCLC）、非扁平上皮NSCLC、神経膠腫、胃腸癌、腎癌（例

50



えば、透明細胞癌）、卵巣癌、肝臓癌、大腸癌、子宮内膜癌、腎癌（例えば、腎明細胞癌（RCC）、前立腺癌（例えば、ホルモン不応性前立腺癌）、甲状腺癌、神経芽腫、脾臓癌、膠芽腫（例えば、多形膠芽腫）、子宮頸癌、胃癌（stomach cancer）、膀胱癌、肝細胞癌、乳癌、結腸癌腫、及び頭頸部癌（または癌腫）、胃癌（gastric cancer）、生殖細胞腫瘍、小児肉腫、副鼻腔ナチュラルキラー、黒色腫（例えば、皮膚悪性黒色腫または眼内悪性黒色腫などの転移性悪性黒色腫）、骨癌、皮膚癌、子宮癌、肛門部癌、精巣癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、膣癌、外陰部癌、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、副甲状腺癌、副腎癌、軟部組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、小児固形腫瘍、尿管癌、腎盂癌、中枢神経系（CNS）新生物、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳癌、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カボジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮癌、T細胞リンパ腫、アスベストによって誘発されたものを含む環境誘発性癌、ウイルス関連癌またはウイルス起源の癌（例えば、ヒトパピローマウイルス（HPVに関連または由来する腫瘍））、ならびに全ての種類の白血病、リンパ腫、及び骨髄腫などの、2つの主要な血球系統、すなわち、骨髄系細胞株（顆粒球、赤血球、血小板細胞、マクロファージ、及び肥満細胞を産生する）またはリンパ系細胞株（B、T、NK、及び血漿細胞を産生する）に由来する血液悪性腫瘍、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）、及び慢性骨髄性白血病（CML）、未分化性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変種[M3V]）、骨髄単球性白血病（好酸球増加を伴うM4またはM4変種[M4E]）、単球性白血病（M5）、赤白血病（M6）、巨核芽球性白血病（M7）、単離された顆粒球性肉腫、及び緑色腫などの急性、慢性、リンパ球性、及び/または骨髄性白血病；ホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、B細胞血液悪性腫瘍、例えば、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、単球性B細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ系組織（MALT）リンパ腫、未分化性（例えば、Ki-1+）大細胞リンパ腫、成人T細胞リンパ腫/白血病、マントル細胞リンパ腫、血液免疫芽球性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、原発性縦隔B細胞リンパ腫、前駆体Tリンパ芽球性リンパ腫、Tリンパ芽球性などのリンパ腫；ならびにリンパ腫/白血病（T-LL/ALL）、末梢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、B細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫（LBL）、リンパ系系列の造血器腫瘍、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、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、前駆体Bリンパ芽球性リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫（CTLC）（菌状息肉腫またはセザリー症候群とも呼ばれる）、及びワルデンストレームの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（LP）；IgG骨髄腫、軽鎖骨髄腫、非分泌性骨髄腫、くすぶり型骨髄腫（無痛性骨髄腫とも呼ばれる）、孤立性形質細胞腫、及び多発性骨髄腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、有毛細胞リンパ腫などの骨髄腫；骨髄系系列の造血器腫瘍、線維肉腫及び横紋筋肉腫を含む間葉系由来の腫瘍；ならびに黒色腫、色素性乾皮症、ケラトアカントーマ、セミノーマ、甲状腺濾胞性癌及び奇形腫、リンパ系系列の造血器腫瘍を含む他の腫瘍、例えば、小細胞及び脳回細胞型のものを含むT前リンパ球性白血病（T-PLL）などのT細胞傷害を含むが、これらに限定されないT細胞及びB細胞の腫瘍；T細胞型の大顆粒リンパ球性白血病（LGL）；a/d T-NHL肝脾リンパ腫；末梢/成熟T細胞リンパ腫（多形性及び免疫芽球性サブタイプ）；血管中心性（鼻）T細胞リンパ腫；頭頸部癌、急性骨髄性リンパ腫、同様に該癌の任意の組み合わせを含む。本明細書に記載の方法は、転移性癌、切除不能、不応性癌（例えば、以前の免疫療法に不応性のがん、例えば、遮断CTLA-4またはPD-1抗体を用いた）、及び/または再発性癌の治療のためにも使用され得る。

#### 【0166】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、以前の治療、例えば、免疫腫瘍学もしくは免疫療法薬での以前の治療に対して不十分な応答を呈しているか、または免疫腫瘍

10

20

30

40

50

学もしくは免疫療法薬での以前の治療時に進行しているがんを有する対象に投与される。いくつかの実施形態では、がんは、内在的に不応性もしくは抵抗性（例えば、PD-1経路アンタゴニストに対して不応性）のいずれかである以前の治療に対して不応性もしくは抵抗性であるか、または抵抗性もしくは不応性状態は、獲得される。例えば、本明細書に記載の抗体は、第1の治療に应答しないか、もしくは十分に应答しないか、または治療、例えば、単独でもしくは別の療法と組み合わせた抗PD-1経路アンタゴニスト治療（例えば、抗PD-1経路アンタゴニスト療法を用いた）の後に、疾患進行を有する対象に投与され得る。他の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、免疫腫瘍薬剤、例えば、PD-1経路アンタゴニストを以前に受けた（すなわち、治療されている）ことがない対象に投与される。

10

【0167】

#### F. 組み合わせ

本発明の抗体は、療法において単独でまたは他の薬剤と組み合わせて使用され得る。例えば、本発明の抗体は、少なくとも1つの追加的な治療剤と共投与され得る（例えば、第2の治療剤を投与することをさらに含む）。

【0168】

いくつかの実施形態では、追加的な独立した阻害経路またはその組み合わせを標的とすることは、単剤療法を超えてさらに増強された免疫細胞活性化をもたらす可能性を有する。

【0169】

いくつかの実施形態では、追加的な治療剤または第2の薬剤は、化学療法剤、オブソニン化剤、制御性T細胞（「Treg」）枯渇剤、CD112R以外の標的のアンタゴニスト、またはCD112R以外の標的のアゴニストである。ある特定の実施形態では、第2の薬剤は、本明細書に記載の化学療法剤または任意の既知の化学療法剤である。いくつかの実施形態では、第2の薬剤はオブソニン化剤であり、オブソニン化剤は、がんまたは腫瘍細胞を標的とする抗CD112R抗体以外の抗体である。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、本明細書に記載のTreg枯渇剤または任意の既知のTreg枯渇剤である。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、CD112R以外の標的のアンタゴニストである。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、CD112R以外の標的のアゴニストである。

20

【0170】

いくつかの場合では、第2の薬剤は、例えば、PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、またはTIM-3を伴う経路などの独立した阻害経路を標的とする。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、及びTIM-3のうちの1つ以上に拮抗する。本明細書に記載の併用療法で使用するのに好適なアンタゴニストは、リガンド、抗体（例えば、モノクローナル抗体及び二重特異性抗体）、及び多価剤を含むが、これらに限定されない。一実施形態では、アンタゴニストは、融合タンパク質、例えば、AMP-244などのFc融合タンパク質である。いくつかの実施形態では、PD-1アンタゴニストは、抗PD-1または抗PD-L1抗体である。

30

【0171】

例示的な抗PD-1抗体は、ニボルマブ（BMS-936558）またはWO2006/121168に記載の抗体17D8、2D3、4H1、5C4、7D3、5F4、及び4A11のうちの1つのCDRまたは可変領域を含む抗体である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、WO2012/145493に記載のMK-3475（ランプロリズマブ）、WO2012/145493に記載のAMP-514、またはPDR001である。さらなる既知のPD-1抗体及び他のPD-1阻害剤は、WO2009/014708、WO03/099196、WO2009/114335、WO2011/066389、WO2011/161699、WO2012/145493、米国特許第7,635,757号及び同第8,217,149号、ならびに米国特許公開第2009/0317368号に記載されるものを含む。WO2013/173223に開示されている抗PD-1抗体のうちのいずれかもまた、使用され得る。これらの抗体のうちの1つが併用治

40

50

療においても使用され得るため、PD-1上の同じエピトープへの結合について競合する、及び/またはPD-1上の同じエピトープに結合する抗PD-1抗体。

【0172】

いくつかの実施形態では、併用療法に有用な抗PD-L1抗体は、BMS-936559 (WO2007/005874及び米国特許第7,943,743号において12A4と称される)、またはPCT公開第WO07/005874及び米国特許第7,943,743号に記載される、3G10、12A4、10A5、5F8、10H10、1B12、7H1、11E6、12B7、及び13G4のCDRもしくは可変領域を含む抗体である。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、MED14736 (デュルバルマブ及び抗B7-H1としても知られる)、MPDL3280A (アテゾリズマブ及びRG7446としても知られる)、MSB0010718C (アベルマブとしても知られる、WO2013/79174)、またはrHlgM12B7である。WO2013/173223、WO2011/066389、WO2012/145493、米国特許第7,635,757号及び同第8,217,149号、ならびに米国公開第2009/145493号に開示される抗PD-L1抗体のうちのいずれかもまた、使用され得る。これらの抗体のうちのいずれかと競合する、及び/またはこれらの抗体のうちのいずれかのものと同じエピトープに結合する抗PD-L1抗体は、併用治療においても使用され得る。

10

【0173】

ある特定の実施形態では、本開示のCD112R抗体は、CTLA-4アンタゴニスト、例えば、抗CTLA-4抗体と共に使用され得る。一実施形態では、抗CTLA-4抗体は、Yervoy (登録商標) (イピリムマブまたは抗体10D1、PCT公開第WO01/14424号に記載される)、トレメリマブ (以前のチシリマブ、CP-675,206)、モノクローナルまたは以下の刊行物のうちのいずれかに記載の抗CTLA-4抗体の群から選択される抗体である: WO98/42752、WO00/37504、米国特許第6,207,156号、Hurwitz et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95(17):10067-10071、Camacho et al. (2004) *J. Clin. Oncology* 22(145):antibodies extract No. 2505 (抗体CP-675206)、及びMokyr et al. (1998) *Cancer Res.* 58:5301-5304。WO2013/173223に開示される抗CTLA-4抗体のうちのいずれかもまた、使用され得る。

20

30

【0174】

いくつかの実施形態では、本開示のCD112R抗体は、LAG-3 (本明細書及び他のものにおいてLAG3とも称される) アンタゴニストと組み合わせて使用される。抗LAG3抗体の例は、抗体25F7、26H10、25E3、8B7、11F2、または17E5のCDRまたは可変領域を含む抗体を含み、米国特許公開第US2011/0150892号、WO10/19570、及びWO2014/008218に記載される。一実施形態では、抗LAG-3抗体は、BMS-986016である。使用され得る他の当該技術分野で認められた抗LAG-3抗体は、US2011/007023、WO08/132601、及びWO09/44273に記載されるIMP731及びIMP-321を含む。これらの抗体のうちのいずれかと競合する、及び/またはこれらの抗体のうちのいずれかのものと同じエピトープに結合する抗LAG-3抗体は、併用治療においても使用され得る。

40

【0175】

いくつかの実施形態では、2つ以上のTIGIT、CD96、及びCD112R受容体を標的とすることは、抗CD112R単剤療法を超えて、CD226媒介性シグナル伝達を同時に増加させる。したがって、いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、TIGIT及び/またはCD96のアンタゴニストである。本明細書に記載の併用療法で使用するのに好適なアンタゴニストは、リガンド、抗体 (例えば、モノクローナル抗体及び二重特異性抗体)、及び多価剤を含むが、これらに限定されない。

50

## 【 0 1 7 6 】

いくつかの実施形態では、PVR遺伝子ファミリーのメンバーは、腫瘍細胞上で上方制御され、内在的腫瘍促進特性を呈することができる。抗CD112R抗体と組み合わせるPVR遺伝子ファミリーの追加的メンバーを標的とすることは、単剤療法を超えて腫瘍に対する増強された感受性をもたらす。したがって、いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、PVR L1、PVR L2、PVR L3、PVR L4、及びCD155のアンタゴニストのうちの1つ以上から選択される。本明細書に記載の併用療法で使用するのに好適なアンタゴニストは、リガンド、抗体（例えば、モノクローナル抗体及び二重特異性抗体）、及び多価剤を含むが、これらに限定されない。

## 【 0 1 7 7 】

STINGアゴニストは、自然免疫細胞活性化を誘発し、T細胞プライミング及び腫瘍微小環境への免疫細胞の動員を増加させる。CD112Rと組み合わせるSTINGアゴニストを標的とすることは、T細胞及びNK細胞の動員及び活性化のさらなる増加をもたらす可能性を有する。

## 【 0 1 7 8 】

抗CD47抗体を介した食作用の増加は、マクロファージによるT細胞へのがん由来抗原の提示の増加につながる可能性がある。本明細書で提供される抗CD112R抗体などの抗CD47抗体及び抗CD112R抗体での併用治療は、がん抗原特異的T細胞応答を増強する機会を提供し、本明細書に完全に包含される。

## 【 0 1 7 9 】

アデノシンは、免疫細胞上に発現するアデノシン受容体を介して、T細胞及びNK細胞の活性化を阻害する。抗CD39抗体は、アデノシン三リン酸(ATP)の加水分解を防止することによってアデノシンの生成を阻害する。本明細書で提供される抗CD112R抗体などの抗CD39抗体及び抗CD112R抗体での併用治療は、免疫細胞におけるアデノシン媒介性細胞シグナル伝達を阻害することによってCD112R療法をさらに増強する機会を提供する。

## 【 0 1 8 0 】

サイトカインは、T細胞及びNK細胞の活性化を効果的に調節できる。IL-27は、T細胞及びNK細胞媒介性応答を阻害する免疫抑制性サイトカインである。抗IL-27抗体は、免疫細胞における免疫抑制性サイトカインのシグナル伝達を限定することによって、CD112R療法を増強する機会を提供する。したがって、抗IL-27抗体、及び本明細書で提供される抗CD112R抗体などの抗CD112R抗体での併用治療が、提供される。

## 【 0 1 8 1 】

本明細書の抗体は、他の治療様式、例えば、外科手術、化学療法、放射線療法、または別の治療用抗体などの生物学的製剤の投与の前、それと実質的に同時、またはその後にも提供され得る。いくつかの実施形態では、がんは、外科手術、化学療法、及び放射線療法、またはそれらの組み合わせから選択される療法の後に再発または進行している。例えば、本明細書に記載のCD112R抗体は、微小転移が存在し得るリスクがある際、及び/または再発のリスクを低減するために、補助療法として投与され得る。

## 【 0 1 8 2 】

がんの治療のために、組み合わせは、化学療法剤、成長阻害剤、遺伝子療法ワクチンなどの抗がんワクチン、抗血管新生剤、及び/または抗悪性腫瘍組成物などの1つ以上の追加的な抗がん剤と併せて投与され得る。

## 【 0 1 8 3 】

いくつかの実施形態では、抗炎症薬は、ステロイドまたは非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)などの組み合わせで投与され得る。本明細書に記載のCD112R抗体での治療と併せて、またはその前に、異常増殖性細胞を静止状態にすることが望ましい場合は、17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール、ジエチルスチルベストロール、テストステロン、プレドニゾン、フルオキシメステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、テストトラクトン

10

20

30

40

50

、酢酸メゲストロール、メチルプレドニゾロン、メチル - テストステロン、プレドニゾロン、トリアムシノロン、クロロトリアニセン、ヒドロキシプロゲステロン、アミノグルテチミド、エストラムスチン、メドロキシプロゲステロネアアセテート、ロイプロリド、フルタミド、トレミフェン、Z O L A D E X（登録商標）などのホルモン及びステロイド（合成類似体を含む）は、対象にも投与され得る。本明細書に記載の方法または組成物を用いる際、抗模倣薬などの、臨床設定における腫瘍成長または転移の調節に使用される他の薬剤はまた、必要に応じて投与され得る。

#### 【 0 1 8 4 】

上述のかかる併用療法は、組み合わせられた投与（2つ以上の治療剤が同じまたは別個の製剤または組成物中に含まれる）及び別個の投与を包含し、その場合、本発明の抗体の投与は、追加的な治療剤（*t h e r a p e u t i c a g e n t*）または治療剤（*t h e r a p e u t i c a g e n t s*）の投与の前、投与と同時に、及び／または投与の後に発生できる。いくつかの実施形態では、抗C D 1 1 2 R抗体の投与及び追加的な治療剤の投与は、互いの約1か月以内、または約1、2、もしくは3週間以内、または約1、2、3、4、5、もしくは6日以内に発生する。

#### 【 0 1 8 5 】

本発明の抗体（及び任意の追加的な治療剤）は、非経口、肺内、及び鼻腔内、及び局所治療のために望まれる場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与され得る。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与を含む。投薬は、任意の好適な経路、例えば、投与が短時間または慢性的であるかどうかにより部分的に応じた、静脈内または皮下注射などの注射によるものであり得る。様々な時点にわたる単回または複数回投与、ボラス投与、及びパルス注入を含むがこれらに限定されない、様々な投薬スケジュールが、本明細書において企図される。

#### 【 0 1 8 6 】

本発明の抗体は、良好な医療行為と一致する様式で、製剤化、投薬、及び投与され得る。この文脈における考慮のための因子は、治療されている特定の障害、治療されている特定の哺乳動物、個々の対象の臨床的状態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール管理、及び医療従事者に既知の他の因子を含む。本明細書で使用される場合、「分割用量」は、単一の単位用量または総日用量の2つ以上の用量への分割、例えば、単一の単位用量の2つ以上の投与である。抗体は、「分割投与」として投与され得る。

#### 【 0 1 8 7 】

抗体は、そうである必要はないが、任意選択で、問題の障害を予防または治療するために現在使用されている1つ以上の薬剤と共に製剤化される。有効量のかかる他の薬剤は、製剤または組成物に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上で考察される他の因子に依存する。これらは、本明細書に記載されるのと同じ投薬量で、本明細書に記載される投与経路で、または本明細書に記載される投薬量の約1～99%、または適切であると経験的／臨床的に決定される任意の投薬量で、かつ任意の経路によって、一般に使用される。いくつかの実施形態では、抗体は、即時放出のための製剤で提供され、他の薬剤は、持続放出のために製剤化されるか、またはその逆である。

#### 【 0 1 8 8 】

##### G．製造品

本発明の別の態様では、上記の障害の治療、予防、及び／または診断に有用な材料を含有する製造品が、提供される。製造品は、容器と、容器上または容器に関連したラベルまたは添付文書と、を含む。好適な容器は、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、I V 溶液バッグなどを含む。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの多様な材料から形成され得る。容器は、それ自体であるか、あるいは状態の治療、予防、及び／または診断に有効である別の組成物と組み合わせた組成物を保持し、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内注射溶液バッグまたは皮下注射針によって穿孔可能な栓を有するバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも1つの活性薬剤は、本発明の抗体である。ラベルまたは添付文書は、組成物が選定された状態を治療するために使用されることを示す。

10

20

30

40

50

さらに、製造品は、(a)組成物が本発明の抗体を含む、組成物がその中に含まれる第1の容器と、(b)組成物がさらなる細胞傷害性薬剤、さもなければ治療剤を含む、組成物がその中に含まれる第2の容器と、を含み得る。本発明のこの実施形態の製造品は、組成物が特定の状態を治療するために使用され得ることを示す添付文書をさらに含み得る。代替的に、または追加的に、製造品は、注射用静菌水(BWFI)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液、及びデキストロース溶液などの薬学的に許容される緩衝剤を含む第2の(または第3の)容器をさらに含み得る。それは、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的及びユーザの立場から望ましい他の材料をさらに含み得る。

【0189】

上の製造品のうちのいずれかは、抗CD112R抗体の代わりに、または抗CD112R抗体に加えて本発明の免疫複合体を含み得ることが理解される。

【実施例】

【0190】

III. 実施例

実施例1. 抗CD112R抗体生成

抗体を、PierceからのEZ-Linkスルホ-NHS-ビオチン化キットを使用してビオチン化した。ヤギF(ab')<sub>2</sub>抗ヒトカップ-FITC(LC-FITC)、ExtraAvidin-PE(EA-PE)、及びストレプトアビジン-AF633(SA-633)を、それぞれ、Southern Biotech、Sigma、及びMolecular Probesから入手した。ストレプトアビジンMicroBeads及びMACS LC分離カラムを、Miltenyi Biotecから購入した。ヤギ抗ヒトIgG-PE(ヒト-PE)を、Southern Biotechから得た。

【0191】

主要発見.

約109の多様性のうちの8つのナイーブヒト合成酵母ライブラリを、各々前述のように増殖させた(例えば、Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. P E D S 26.10, 663-70(2013)、WO2009036379、WO2010105256、及びWO2012009568を参照されたい。)

最初の2ラウンドの選択については、前述のように、Miltenyi MACSシステムを利用した磁気ビーズソーティング技法を実行した(例えば、Siegel et al, High efficiency recovery and epitope-specific sorting of an scFv yeast display library. J Immunol Methods 286(1-2), 141-153(2004)を参照されたい。)簡潔には、酵母細胞(約10<sup>10</sup>細胞/ライブラリ)を、洗浄緩衝剤(リン酸緩衝生理食塩水(PBS)/0.1%ウシ血清アルブミン(BSA))中で、1.5mlの10nMビオチン化Fc融合抗原と共に15分間30℃でインキュベートした。40mlの氷冷洗浄緩衝剤で1回洗浄した後、細胞ペレットを20mLの洗浄緩衝剤に再懸濁させ、ストレプトアビジンMicroBeads(500μl)を、酵母に添加し、15分間4℃でインキュベートした。次に、酵母を、ペレット化し、20mLの洗浄緩衝剤に再懸濁させ、Miltenyi LSカラムに充填した。20mLを充填した後、カラムを、3mLの洗浄緩衝剤を用いて3回洗浄した。次いで、カラムを磁場から除去し、酵母を、5mLの増殖培地で溶出させ、次いで、一晚成長させた。以下の選択ラウンドを、フローサイトメトリーを使用して実施した。およそ2×10<sup>7</sup>個の酵母細胞を、ペレット化し、洗浄緩衝剤で3回洗浄し、平衡条件下で漸減濃度のビオチン化抗原(100から1nM)、または選択から非特異的抗体を除去する多特異性枯渇試薬(PSR)のいずれかと共に30℃でインキュベートした。PSR枯渇のために、ライブラリを、前述のようにビオチン化PSR試薬の1:10希釈液と共にインキュベートした。(例え

10

20

30

40

50

ば、Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. P E D S 26.10, 663-70 (2013) を参照されたい。) 次いで、酵母を、洗浄緩衝剤で2回洗浄し、LC-FITC (1:100希釈された)、及びSA-633 (1:500希釈された) またはEAP E (1:50希釈された) のいずれかの第2の試薬を用いて15分間4 で染色した。洗浄緩衝剤で2回洗浄した後、細胞ペレットを、0.3 mL 洗浄緩衝剤に再懸濁させ、ストレーナーキャップ付きのソートチューブに移した。より高い親和性抗体を選択及び単離するために親和性圧力を用いる選択を、低温(すなわち、非標識) 抗原と競合することによって実行した。

10

#### 【0192】

ソーティングを、FACS ARIAソーター(BD Biosciences) を使用して行い、ソートゲートを、所望の特徴を有する抗体を選択するために決定した。選択ラウンドを、所望の特徴の全てを有する集団が得られるまで繰り返した。ソーティングの最終ラウンド後、酵母をプレーティングし、個々のコロニーを特徴決定のために選抜した。

#### 【0193】

軽鎖バッチシャッフル。

軽鎖多様化プロトコルを、抗体のさらなる発見及び改善のための主要発見段階中に使用した。

20

#### 【0194】

軽鎖バッチ多様化プロトコル：ナイーブ選択出力からの重鎖を、PCRを介して酵母から抽出し、 $5 \times 10^6$  の多様性を有する軽鎖ライブラリに形質転換した。選択を、ナイーブ発見に記載される1ラウンドのMACS及び3ラウンドのFACSを用いて実施した。異なるFACSラウンドでは、ライブラリを、PSR結合、及び0.5 nMまで下がる抗原滴定による親和性圧力について調べた。ソーティングを、所望の特徴を有する集団を得るために実施した。

#### 【0195】

抗体最適化

抗体の最適化を、下記のように重鎖可変領域へと多様性を導入することによって実行した。

30

#### 【0196】

CDRH1及びCDRH2選択：単一抗体のCDRH3を、 $1 \times 10^8$  の多様性のCDRH1及びCDRH2多様体を有する既製のライブラリ中に組み換え、選択を、ナイーブ発見に記載されるように1ラウンドのMACS及び3ラウンドのFACSを用いて実行した。異なるFACSラウンドでは、PSR結合、マウス交差反応性、及び滴定による親和性圧力または親IgGよりも高い親和性を有する結合剤について富化するための、親Fabまたは親IgGと抗原を事前複合化することによる親和性圧力を調べた。ソーティングを、所望の特徴を有する集団を得るために実施した。

#### 【0197】

抗体産生及び精製

40

酵母クローンを、飽和状態まで成長させ、次いで、48時間30 で振とうしながら誘導した。誘導後、酵母細胞をペレット化し、上清を精製のために回収した。IgGを、プロテインAカラムを使用して精製し、酢酸、pH2.0で溶出させた。Fab断片を、パパイン消化によって生成し、Kappa Select (GE Healthcare Life Sciences) 上で精製した。

#### 【0198】

Fort eBio KD測定

Fort eBio親和性測定を、前述のようにOctet RED384に対して一般に実行した(例えば、Estep et al, High throughput solution-based measurement of antibody-antige

50

n affinity and epitope binning. Mabs 5 (2), 270-278 (2013) を参照されたい)。簡潔には、ForteBio 親和性測定を、IgG を AHQ センサー上にオンラインで負荷することによって実行した。センサーをアッセイ緩衝剤中で 30 分間オフラインで平衡化し、次いで、ベースライン確立のために、オンラインで 60 秒間モニタリングした。IgG を充填したセンサーを、100 nM 抗原に 3 分間曝露し、その後、オフレート測定のためにアッセイ緩衝剤に 3 分間移した。全ての速度論を、1:1 結合モデルを使用して分析した。

【0199】

ForteBio エピトープビニング/リガンド遮断

エピトープビニング/リガンド遮断を、標準的なサンドイッチ形式の交差遮断アッセイを使用して実行した。対照抗標的 IgG または受容体を AHQ センサー上に負荷し、センサー上の非占有 Fc 結合部位を無関連（非標的）ヒト IgG1 抗体で遮断した。次いで、センサーを、100 nM の標的抗原、続いて、第 2 の抗標的抗体に曝露した。抗原会合後の二次抗体またはリガンドによる追加的結合は、非占有エピトープ（非競合物質）を示す一方で、結合がないことは、エピトープ遮断（競合物質またはリガンド遮断）を示す。

【0200】

Biacore 速度論アッセイ

Biacore ベースの測定については、抗原を、アミンカップリングキット（GE Healthcare Bio-Sciences）を使用して、抗マウス-Fc 捕捉 C1 チップに共有結合させた。抗原と 27 nM で始まる抗体の 5 点 3 倍滴定との関連を、300 秒間測定した。続いて、抗原及び抗体の間の解離を、3600 秒間測定した。速度論的データを、1:1 結合モデルを使用して分析及びグローバル適合した。

【0201】

実施例 2 . 抗 CD112R 抗体は CD112R に結合する。

細胞結合アッセイについて

細胞上に発現した CD112R に結合する抗 CD112R 抗体の能力を、評価した。野生型であるか、またはヒト CD112R を過剰発現するように操作された（Jurkat-CD112R OE） $1 \times 10^5$  個の Jurkat 細胞（急性 T 細胞白血病細胞株、ATCC 番号 TIB-152）を、96 ウェル V 底プレートの各ウェルに添加し、抗 CD112R 抗体または IgG1 アイソタイプ対照のいずれか（ $0.63 \mu\text{g/mL}$ ）で、4 で 1 時間染色した。細胞を、PBS + 2% FCS で 2 回洗浄し、PBS + 2% FCS 中に 1:100 に希釈した Alexa Fluor（登録商標）647 抗ヒト IgG Fc 抗体（Biolegend、カタログ番号 409320）で再懸濁させ、4 で 30 分間インキュベートした。続いて、細胞を、2 回洗浄し、PBS + 2% FCS に再懸濁させた。細胞データを、LSRFortessa X-20（BD Biosciences）を使用して取得し、FlowJo ソフトウェア（Tree Star）で分析した。

【0202】

結果は、図 1 に示される。Jurkat-CD112R OE 細胞に結合する抗体の定量を、Alexa Fluor（登録商標）647 シグナルの幾何平均蛍光強度（gMFI）によって評価した。これらの結果は、抗 CD112R 抗体が CD112R を発現する細胞に結合することを実証する。抗体結合の要約が、表 2 に示される。

【0203】

実施例 3 . 抗 CD112R 抗体は、CD112 が CD112R 発現細胞に結合することを遮断する。

細胞遮断アッセイについて

CD112R 発現細胞への CD112 結合を遮断する抗 CD112R 抗体の能力を、評価した。ヒト CD112R を過剰発現するように操作された（Jurkat-CD112R OE） $1 \times 10^5$  個の Jurkat 細胞（急性 T 細胞白血病細胞株、ATCC 番号 TIB-152）を、96 ウェル V 底プレートの各ウェルに添加し、抗 CD112R 抗体または IgG1 アイソタイプ対照のいずれか（最高濃度、 $10 \mu\text{g/mL}$ ）の段階希釈を用いて

10

20

30

40

50



、4 で1時間染色した。細胞を、PBS + 2 % FCS で2回洗浄し、ビオチン化 h i s 標識ヒトCD112 ( 3 μ g / m L ) ( B P S B i o s c i e n c e 、番号71234 ) 及びPEストレプトアビジン ( 5 μ g / m L ) ( B i o l e g e n d 、番号405204 ) でPBS + 2 % FCS に再懸濁させ、4 で2時間インキュベートした。続いて、細胞を、2回洗浄し、PBS + 2 % FCS に再懸濁させた。細胞データを、LSRFortessa X - 20 ( B D B i o s c i e n c e s ) を使用して取得し、FlowJoソフトウェア ( T r e e S t a r ) で分析した。

#### 【0204】

結果が、図2A及び表2に示される。細胞へのCD112結合の定量を、PEシグナルの幾何平均蛍光強度 ( g M F I ) によって評価し、阻害パーセントとして表示した。阻害パーセントを、 $[100 - ((\text{試験試料MFI} / \text{最大MFI}) * 100\%)]$ として計算した。これらの結果は、抗CD112R抗体がCD112R発現細胞に結合するCD112の能力を用量依存的様式で阻害することを実証する。抗体の結合及び遮断の概要が、表2に示される。

#### 【0205】

ヒトCD112Rを遮断する抗CD112R抗体の能力も、ELISAによって評価した。簡潔には、96ウェルのNunc Maxisorpプレートを、PBS中の1 μ g / m L のCD112R - h I g G 4 融合タンパク質を用いて、4 で一晩コーティングした。次いで、プレートを、PBS + 0 . 01 % Tween - 20 ( P B S T ) で6回洗浄し、続いて、200 μ l のPBS + 1 % BSAを用いて、室温で1 . 5時間遮断した。遮断後、プレートを、PBSTで6回洗浄した。次に、PBS + 1 % BSA中の100 μ l の抗CD112R抗体を、10 μ g / m L の最終開始濃度で、4倍段階希釈を用いて添加した。プレートを、室温で1 . 5時間インキュベートした。次に、プレートを、PBSTで6回洗浄し、次いで、スルホ - N H S ビオチン化キット ( T h e r m o F i s h e r 、カタログ番号21925 ) でビオチン化された1 μ g / m l のCD112 F c タンパク質 ( R & D S y s t e m s 、カタログ番号9317 - N2 - 050 ) と共に100 μ l のPBS + 1 % BSA中で、室温で1時間インキュベートした。次いで、プレートを、PBSTで6回洗浄し、続いて、製造業者の推奨に従ってPBS + 1 % BSA中で希釈されたストレプトアビジン - HRP ( B i o l e g e n d 、カタログ番号405210 ) と共に室温で1時間インキュベートした。このインキュベーション後、次いで、プレートを、PBSTで6回洗浄し、TMB基質 ( L i f e T e c h n o l o g i e s 、カタログ番号002023 ) で発色させた。反応を、等量の停止溶液 ( L i f e T e c h n o l o g i e s 、カタログ番号SS04 ) で停止させた。450 nm ( O . D . 450 ) での吸光度を、SpectraMaxプレートリーダー上で測定した。

#### 【0206】

結果が、図2B及び表2に示される。これらの結果は、抗CD112R抗体が、ヒトCD112RがヒトCD112に結合することを遮断することを実証する。阻害パーセントを、 $[100 - ((\text{試験試料O.D. 450} / \text{最大O.D. 450}) * 100\%)]$ として計算した。最大O.D. 450を、抗体の非存在下での450 nmでの吸光度として定義した。

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2：抗体の結合及び遮断の要約

抗体	J u r k a t g M F I (ア イ ソ タ イ プ を 超 え る 倍 増)	J u r k a t - C D 1 1 2 R 過 剰 発 現 (O E) g M F I (ア イ ソ タ イ プ を 超 え る 倍 増)	J u r k a t - C D 1 1 2 R O E に対する C D 1 1 2 遮断 I C 5 0 (n g / m L)	J u r k a t - C D 1 1 2 R O E に対 する C D 1 1 2 遮断最大阻 害 (%)	C D 1 1 2 遮断最大阻 害 E L I S A (%)
抗体 2	4.7	63.9	0.83	94.1	97.0
抗体 5	3.8	63.3	0.17	97.0	97.4
抗体 10	4.6	55.7	0.69	96.8	96.3
抗体 15	4	53.2	0.51	97.9	97.0
抗体 32	2.5	27.9	23.57	96.0	75.1
抗体 33	3.4	34.2	21.89	97.4	78.8
抗体 34	3.8	33.8	13.22	96.9	80.0
抗体 35	3.3	32.1	16.19	97.4	81.7
抗体 36	3.5	31	24.37	97.5	86.2
抗体 38	3.8	51.7	0.19	95.5	97.2
抗体 44	4.8	46.9	0.81	97.7	96.8
抗体 46	4.2	23.8	16.22	95.5	97.6
抗体 58	4.5	37.3	2.8	96.3	97.3

## 【0207】

実施例 4．抗 CD 1 1 2 R 抗体は、NK 細胞媒介性殺滅を増強する。

## NK 細胞傷害性アッセイ

NK 細胞媒介性細胞傷害性に対する抗ヒト CD 1 1 2 R 抗体の効果を決定するために、ヒト NK 細胞を、抗 CD 1 1 2 R 抗体またはアイソタイプ対照の存在下で REH 標的細胞（非 T / B 細胞急性リンパ球性白血病細胞株、ATCC 番号 CRL - 8 2 8 6）と共培養した。

## 【0208】

簡潔には、NK 細胞を、負の選択（Easy sep（商標）NK 細胞単離キット、幹細胞番号 1 7 9 5 5）を介して 3 人の健康なドナーの PBMC から単離し、RPMI + 10 % FBS + 1 % ペニシリン - ストレプトマイシン（R10）（ThermoFisher）中の IL - 2（10 単位 / mL）（Peprrotech 番号 200 - 02）及び IL - 12（20 ng / mL）（Peprrotech 番号 200 - 12）で 16 時間活性化した。REH 細胞を、洗浄し、PBS（ThermoFisher）に再懸濁させ、CellTrace（商標）バイオレット（CTV）（ThermoFisher 番号 C34557）を用いて 37 で 12 分間標識した。続いて、REH 細胞を、PBS + 10 % FBS で洗浄し、次いで、R10 に再懸濁させた。活性化後、NK 細胞を、洗浄し、R10 に再懸濁

させた。  $2.5 \times 10^5$  個のNK細胞及び  $5 \times 10^4$  個のREH細胞を、5 : 1のエフェクター - 標的細胞比で96ウェル平底プレートの各ウェルに添加した。抗CD112R及びIgG1アイソタイプ抗体を、R10中で希釈し、また各ウェルに  $10 \mu\text{g}/\text{mL}$  の最終濃度で添加した。各条件を、重複して実行した。次いで、プレートを、37 で4時間インキュベートした。次いで、細胞を、洗浄し、7 - AAD生存率色素 ( $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) (Biolegend 番号420404) を用いて室温で30分間暗所でインキュベートし、死細胞を特異的に標識した。細胞生存率データを、LSRFortessa X-20 (BD Biosciences) を使用して取得し、FlowJoソフトウェア (Tree Star) で分析した。死んだREH細胞を、CTV及び7 - AAD二重陽性細胞として定義した。

10

#### 【0209】

結果が、図3に提示される。細胞傷害性 (アイソタイプを超えるパーセント) を、 $(\text{試験死亡率} - \text{アイソタイプ死亡率}) / \text{アイソタイプ死亡率} \times 100$  として計算した。本明細書に記載の抗CD112R抗体の各々でのNK細胞の処理は、アイソタイプ対照と比較して、REH細胞に対する細胞媒介性細胞傷害性の増加をもたらした。これらの結果は、抗CD112R抗体がNK細胞媒介性殺滅を促進することを実証する。

#### 【0210】

実施例5 . 抗CD112R抗体は、CD8 + T細胞の抗原駆動活性化を増強する。  
抗原特異的CD8 + T細胞アッセイ .

CD8 + T細胞の抗原駆動活性化に対する抗CD112R抗体の効果を、評価した。一次HLA - A\*0201制限サイトメガロウイルス (CMV) 特異的CD8 + T細胞株 (Astarte Biologics 番号1049、ロット番号3782DE17) を、抗CD112R抗体またはアイソタイプ対照の存在下で、ペプチドパルスColo205細胞 (結腸腺癌細胞株、ATCC 番号CCL - 222) と共にインキュベートした。

20

#### 【0211】

簡潔には、CMV特異的T細胞を、解凍し、洗浄し、X - VIVO 10 (ThermoFisher 番号BW04380Q) に再懸濁させた。  $2 \times 10^4$  個のCMV T細胞を、96ウェル丸底プレートの各ウェルに添加し、37 で4時間静置した。初期静置期間の後、  $5 \times 10^4$  個のColo205細胞及びCMV pp65ペプチド ( $1 \text{ ng}/\text{mL}$ ) (Anaspec 番号AS - 63937) を、各ウェルに添加した。次に、抗CD112R及びアイソタイプ抗体を、X - VIVO 10中で希釈し、  $10 \mu\text{g}/\text{mL}$  の最終濃度で各ウェルに添加した。各条件を、重複して実行した。次いで、プレートを、37 で16時間インキュベートした。各ウェルからの上清を回収し、サイトカイン評価の前に1回の凍結 / 解凍サイクルに供した。解凍後、アッセイ上清をX - VIVO 10中で1 : 5希釈し、次いで、インターフェロンガンマ (IFNg) を、LuminexヒトCD8 + T細胞磁気ビーズパネルマルチプレックスアッセイ (Millipore Sigma 番号HCD8MAG - 15K) によってアッセイ上清中で測定し、Millipore FlexMap 3D上で実行した。

30

#### 【0212】

結果が、図4に提示される。試験条件IFNgレベルを、定義されたIFNg濃度で生成された標準曲線に基づいて定量した。抗CD112R抗体2及び5で処理されたCD8 + T細胞は、アイソタイプ対照で観察されたよりも多くのIFNg分泌をもたらした。これらの結果は、抗CD112R抗体が抗原駆動CD8 + T細胞活性化を増強することを実証する。

40

#### 【0213】

実施例6 . 抗マウスCD112R及び抗マウスTIGIT抗体の組み合わせは、マウスCT - 26腫瘍モデルにおいて治療効果を有する。

CD112R及びTigitの併用遮断のインビボ有効性

単剤及び併用剤としてのCD112R及びTIGIT遮断の有効性を、CT26結腸腺癌同系マウス腫瘍モデルにおいて試験した。7週齢のBalb / c雌マウス (Charles

50

s River Laboratories、番号028)に、 $0.1 \times 10^6$ 個のCT26.WT細胞(ATCC番号CRL-2638)を、0.1mLの50%マトリゲル接種マトリックス中で皮下移植した。マウスを、 $80 \sim 120 \text{ mm}^3$ の腫瘍体積範囲で層化した様式で各々10匹のマウスの群(合計40匹のマウス)に無作為化し、表3のように腹腔内注射によって週2回2週間治療した。

【表3】

表3：治療群の詳細

群	治療1		治療2	
	抗体	用量 ( $\mu\text{g}/\text{マウス}$ )	抗体	用量 ( $\mu\text{g}/\text{マウス}$ )
アイソタイプ	アイソタイプ1	500	アイソタイプ2	500
CD112R	アイソタイプ1	500	抗CD112R	500
TIGIT	抗TIGIT	500	アイソタイプ2	500
CD112R + TIGIT	抗CD112R	500	抗TIGIT	500

## 【0214】

腫瘍がIACUC限界サイズ( $< 2000 \text{ mm}^3$ )に達するまで、腫瘍体積を、2～3日ごとに測定した。

【表4】

表4：抗体の詳細

群	クローン
アイソタイプ1	クローンC1.18.4、マウスIgG2aアイソタイプ対照
アイソタイプ2	ポリクローナルヒトIgGアイソタイプ対照
抗Tig	10A7、マウスIgG2a
抗CD112R	抗CD112RヒトIgG4

## 【0215】

結果が、図5に提示される。グラフは、時間の関数としての各治療群についての平均腫瘍体積を示す。結果は、抗TIGITとの抗CD112Rの組み合わせが、アイソタイプ治療動物と比較して腫瘍成長の低減に有効であった一方で、抗CD112Rまたは抗TIGIT単剤療法は、腫瘍成長の低減に対して活性を示さないか、またはわずかな効果しか示さなかったことのいずれかを実証する。抗CD112Rは、単独で、このアッセイにおいて活性を示さなかった一方、本明細書に提示された他の実験は、抗CD112R単剤療法

の利点を示す。例えば、図 9 を参照されたい。

#### 【0216】

実施例 7 . 抗 CD 3 活性化後の P B M C における C D 1 1 2 R の発現の増加。

C D 1 1 2 R はインビトロで活性化された P B M C 中で上方制御される

C D 1 1 2 R 発現に対する細胞活性化の影響を決定するために、ヒト P B M C を、抗 C D 3 抗体でインビトロで刺激した。健康なドナーからの末梢血単核細胞 ( P B M C ) を、バフィーコート ( Research Blood Components ) から単離した。個々のバフィーコートを、別々に処理した。15 mL のバフィーコートを、各々 50 mL のコニカルチューブ ( Corning 番号 430290 ) に加え、15 mL の P B S ( ThermoFisher 番号 14190144 ) + 2 mM の E D T A ( Fisher Scientific 番号 B P 2482 - 500 ) で希釈して、各チューブの総量を 30 mL にした。希釈したバフィーコートを、14 mL の Ficol paque ( GE Healthcare Life Science 番号 17 - 544203 ) の下に置き、ブレーキをオフにして室温で 20 分間 2000 RPM で遠心分離した。グラジエント中間相を、収集し、P B S + 2 mM の E D T A で 2 回洗浄した。単離された細胞を、計数し、10 % D M S O ( Sigma - Aldrich 番号 472301 ) + 90 % 熱不活性化 F B S ( ThermoFisher 番号 16140 - 071 ) 中で、 $2.5 \sim 5 \times 10^7$  細胞 / mL で再懸濁させた。

10

#### 【0217】

凍結された P B M C を、すばやく解凍し、R P M I + G l u t a M a x ( 1 倍 ) ( ThermoFisher 番号 61870 - 036 )、10 % 熱不活性化 F B S、1 倍 M E M 非必須アミノ酸溶液 ( ThermoFisher 番号 15140 - 122 )、1 mM のピルビン酸ナトリウム ( ThermoFisher 番号 11360070 )、100 U / mL の P e n / S t r e p ( ThermoFisher 番号 15140 - 122 )、1 倍の 2 - メルカプトエタノール ( ThermoFisher 番号 21985023 )、10 mM の H e p e s ( ThermoFisher 番号 15630 - 080 ) を含有する補足 R P M I 培地に再懸濁させた。単離した P B M C を、洗浄し、計数し、濃度  $0.5 \times 10^6$  細胞 / mL で再懸濁させた。ウェルあたり  $1 \times 10^6$  個の細胞を、24 ウェル平底プレート ( Corning 番号 3526 ) に入れ、 $0.25 \mu\text{g} / \text{mL}$  の抗 C D 3 抗体 ( クローン U C H T 1、Biolegend 番号 300414 ) で刺激した。細胞を、示された時点で収集し、1 倍の P B S、2 % F B S、及び 2 mM の E D T A を含有する F A C S 緩衝剤中で洗浄し、抗体染色のために 96 ウェル V 底プレート ( Costar 番号 3894 ) に移した。

20

30

#### 【0218】

細胞を 1500 RPM で 3 分間遠沈し、上清を軽く振ることによって除去した。細胞を、F A C S 緩衝剤に再懸濁させ、以下のように表 5 における一次抗体と共に 4 で 1 時間インキュベートした。

40

50

【表 5】

表 5

抗体	クローン	企業
CD3-A700	SK7	Biolegend 番号344822
CD8-FITC	RPA-T8	Biolegend 番号301006
CD4-PEcy7	RPA-T4	Biolegend 番号300511
CD19-PEdazzle	HIB19	Biolegend 番号302251
NKp46-PE	9E2	Biolegend 番号331907
CD11b-BV785	ICRF44	Biolegend 番号301345
PD1-BV421	EH12.1	Biolegend 番号565935
CD226-BV711	DX11	BD Biosciences 番号564796
CD112R	内部	内部
ヒトIgGFc	HP6017	Biolegend 番号409320

10

20

## 【0219】

細胞を、2回洗浄し、1:100希釈されたAlexa 647コンジュゲート抗ヒトIgG抗体（クローンHP6017、Biolegend番号409320）と共に4で30分間インキュベートした。細胞を、FACS緩衝剤で1回洗浄し、1倍のPBS（ThermoFisher番号L34966）中で1:500希釈されたLive/Dead Aqua生存率色素を用いて4で10分間染色した。細胞を、1回洗浄し、フローサイトメーターX-20 Fortessa（BD Biosciences）上で直接取得した。データを、Flowjo（TreeStar）及びGraphpadプリズム（Graphpad Software）を使用して分析した。

30

## 【0220】

結果が、図6に示される。CD112R抗体結合の定量を、示された細胞タイプについてのAlexa Fluor（登録商標）647シグナルの幾何平均蛍光強度（gMFI）によって評価した。抗CD112R結合は、陰性を超える倍率（FON、（CD112R gMFIをアイソタイプgMFIで割ったもの））として示される。これらの結果は、CD112R発現が抗CD3活性化後にNK細胞及びT細胞上で増加することを実証する。

40

## 【0221】

実施例8．抗CD112R抗体は、腫瘍細胞共培養物におけるNK細胞脱顆粒を増強する。NK細胞媒介性脱顆粒に対する抗CD112R抗体の効果を決定するために、ヒトNK細胞を、抗体35、38、44、及びアイソタイプ対照の存在下で、CD112（Origene、番号RC213693L2）を発現するようにレンチウイルスで以前に形質導入されているRaji標的細胞（Burkittリンパ腫細胞株、ATCC番号CCL-86）と共培養した。

50

## 【0222】

簡潔には、NK細胞を、3人の健康なドナーのPBMCから負の選択を介して分離及びブールし(Easy sep(商標)NK細胞単離キット、Stem cell 番号17955)、DMEM+10%FBS+1%ペニシリン-ストレプトマイシン(D10)(ThermoFisher)中で16時間培養した。37 での一晩のインキュベーション後、NK細胞を、洗浄し、D10に再懸濁させた。Raji.CD112細胞を、回収し、洗浄し、次いで、D10に再懸濁させた。1×10<sup>5</sup>個のNK細胞及び5×10<sup>4</sup>個のRaji.CD112細胞を、2:1のエフェクター-標的細胞比で96ウェル平底プレートの各ウェルに添加した。抗CD112R抗体及びIgG1アイソタイプ対照抗体を、D10中で希釈し、10倍段階希釈を用いて10μg/mLの開始濃度で各ウェルに添加した。各条件を、重複して実行した。PE抗CD107a抗体(Biolegend、番号328608)及びモネンシン(Biolegend、番号420701)も、製造業者の指定した濃度で各ウェルに添加した。各ウェルについての最終容量は、200μlであった。次いで、プレートを、37 で4時間インキュベートした。4時間後、抗CD3 FITC(Biolegend、番号300306)及び抗NKp46 APC(Biolegend番号331914)抗体をD10中で希釈し、50μlを各ウェルに添加した。次いで、プレートを4 度さらに30分間インキュベートして染色した。次いで、細胞を、V底プレートに移し、2回洗浄し、PBS+2%FBSに再懸濁させた。データを、LSRFortessa X-20(BD Biosciences)フローサイトメーターを使用して取得し、FlowJoソフトウェア(Tree Star)で分析した。NK脱顆粒を、CD3-NKp46+リンパ球ゲート内のCD107a+細胞の頻度として定義した。

10

20

## 【0223】

結果が、図7に提示される。本明細書に記載の抗CD112R抗体でのNK細胞の処理は、アイソタイプ対照と比較して、CD107a染色によって測定されるように、NK脱顆粒の増加をもたらした。

## 【0224】

実施例9.抗CD112R抗体は、PBMC腫瘍細胞共培養物におけるNK細胞活性化を増加させる。

NK細胞活性化に対するCD112R抗体の影響を評価するために、いくつかの抗体を、PBMC-腫瘍細胞共培養物において評価した。NK細胞活性化のマーカーとして以前に確立されているCD137(4-1BB)の上方制御(Baessler et al.(2010)Blood 115(15)、Andre et al.(2018)Cell 175, 1731-1743)を、抗CD112Rまたはアイソタイプ対照抗体を有するK562標的細胞(慢性骨髄性白血病細胞株、ATCC番号CCL-243)と共培養されたPBMCからのNK細胞上で測定した。

30

## 【0225】

簡潔には、健康なドナーのパフィーコートから単離された凍結されたPBMCを、解凍し、洗浄し、DMEM+10%FBS+1%ペニシリン-ストレプトマイシン(D10)に再懸濁させ、ウェルあたり5×10<sup>5</sup>個の細胞の濃度で96ウェル平底プレートにプレATINGし、37 度で4時間静置した後、標的細胞及び抗体を添加した。次に、第1の実験(図8A~8B)において、CD112R抗体及びIgG1アイソタイプ対照抗体を、D10中で希釈し、10倍段階希釈を用いて10μg/mLの開始濃度で各ウェルに添加した。次の実験(図8C~8D)では、単一濃度(1μg/mL)の抗CD112RまたはIgG1アイソタイプ対照抗体を、各ウェルに添加した。両方の実験について、各条件を、重複して実行した。次いで、K562細胞を、回収し、洗浄し、D10に再懸濁させ、ウェルあたり5×10<sup>4</sup>細胞の濃度で各ウェルに添加した。各ウェルについての最終容量は、200μlであった。次いで、プレートを、37 度で16時間インキュベートした。16時間後、細胞を、V底プレートに移し、PBS+2%FBS中で2回洗浄した。細胞を、PBS+2%FBS中で抗CD3 FITC(Biolegend、番号3003

40

50

06)、抗NKp46 BV421 (Biolegend 番号331914)、及び抗CD137 APC (Biolegend、番号309810)を用いて4で30分間染色した。続いて、細胞を、2回洗浄し、PBS + 2% FBSに再懸濁させた。データを、LSRFortessa X-20 (BD Biosciences) フローサイトメーターを使用して取得し、FlowJoソフトウェア(Tree Star)で分析した。NK細胞活性化を、CD3 - NKp46 + リンパ球ゲート内のCD137 + 細胞の頻度として定義した。

#### 【0226】

2つの独立した実験からの2人の個々のドナーからの結果が、図8A～8Dに提示される。PBMC - K562細胞共培養物への抗CD112R抗体の添加は、NK細胞上のCD137上方制御によって測定されるように、アイソタイプ対照と比較してNK細胞の有意な活性化をもたらした。

10

#### 【0227】

実施例10. 抗CD112Rは、CT-26モデルにおいて腫瘍成長を減少させる。CD112R遮断のインビボ有効性を、CT26.WT結腸腺癌同系マウス腫瘍モデルにおいて評価した。7週齢のBALB/cAnNTac雌マウス(Taconic Biosciences、カタログ番号BALB-F)に、0.1mLの50%Geltrex (GIBCO、カタログ番号A1432-02)及び50%RPMI-1640無血清培地(GIBCO、カタログ番号A10491-01)中で $0.2 \times 10^6$ 個のCT26.WT(ATCC、カタログ番号CRL-2638)を、右脇腹に皮下移植した。触知可能な腫瘍を有するマウスを、移植後4日目に無作為化し、以下の表6のように無作為化の日を開始して3週間、週2回腹腔内治療した。

20

#### 【0228】

##### 【表6】

表6：

群	治療	用量 ( $\mu$ g/マウス)
アイソタイプ対照	マウスIgG2a アイソタイプ対照	500
抗体46	抗CD112RマウスIgG2a	500

30

#### 【0229】

腫瘍体積を、腫瘍がIACUC限界サイズ( $< 2000 \text{ mm}^3$ )に達するまで、2～3日ごとにノギスで測定した。腫瘍体積( $\text{mm}^3$ )を、以下のように計算した：幅(mm) × [長さ(mm)]  $2 \times 0.5$ 。

#### 【0230】

結果が、図9に提示される。グラフは、時間の関数としての各治療群についての平均腫瘍体積を示す3つの独立した実験からのプールされたデータを示す。これらの結果は、CD112R抗体での担がんマウスの治療が、接種後24日目に測定されるような腫瘍成長の顕著な阻害をもたらしたことを実証する。

40

#### 【0231】

実施例11. CD112R遮断は、CT26モデルにおける完全な腫瘍拒絶を有するマウスにおいて抗腫瘍免疫をもたらす

抗腫瘍免疫を、原発CT26.WT腫瘍負荷からの完全奏功を呈した抗CD112R治療されたマウスにおいて評価した。原発負荷のために、7週齢のBALB/cAnNTac雌マウス(Taconic Biosciences、カタログ番号BALB-F)に、0.1mLの50%Geltrex (GIBCO、カタログ番号A1432-02)及び

50



50% RPMI - 1640 無血清培地 (GIBCO、カタログ番号 A10491-01) 中で  $0.2 \times 10^6$  個の CT26.WT (ATCC、カタログ番号 CRL-2638) を、右脇腹に皮下移植した。触知可能な腫瘍を有するマウスを、移植後4日目に無作為化し、以下の表7のように無作為化の日を開始して3週間、週2回腹腔内治療した。

【表7】

表7：

群	治療	用量 ( $\mu\text{g}$ / マウス)
アイソタイプ対照	マウス IgG2a アイソタイプ対照	500
抗体46	抗CD112Rマウス IgG2a	500

10

## 【0232】

腫瘍体積を、腫瘍が IACUC 限界サイズ ( $< 2000 \text{ mm}^3$ ) に達するまで、2~3日ごとにノギスで測定した。腫瘍体積 ( $\text{mm}^3$ ) を、以下のように計算した：幅 (mm)  $\times$  [長さ (mm)]  $\times 0.5$ 。

## 【0233】

20

任意の識別可能な腫瘍を欠いた移植後50日目での全ての生存マウスを、生存者/完全奏功者であると見なした。抗CD112R治療群からの完全奏功者マウス ( $n=8$ ) を、一次接種用量からの5倍の増加である、0.1 mL の 50% Geltrex (GIBCO、カタログ番号 A1432-02) 及び 50% RPMI - 1640 無血清培地 (GIBCO、カタログ番号 A10491-01) 中での  $1 \times 10^6$  個の CT26.WT 細胞 (ATCC、カタログ番号 CRL-2638) を用いた左脇腹における接種を介して再負荷した。対照として、年齢マッチしたナイーブ Balb/c 雌マウス ( $n=5$ ) にも、同様に 0.1 mL の 50% Geltrex 及び 50% RPMI - 1640 無血清培地中で  $1 \times 10^6$  個の CT26.WT 細胞を、左脇腹に接種した。マウスは、いずれのさらなる治療も受けなかった。腫瘍体積を、腫瘍が IACUC 限界サイズ ( $< 2000 \text{ mm}^3$ ) に達するまで、2~3日ごとに測定した。腫瘍体積 ( $\text{mm}^3$ ) を、以下のように計算した：幅 (mm)  $\times$  [長さ (mm)]  $\times 0.5$ 。

30

## 【0234】

結果が、図10A~10Bに提示される。図10Aは、抗CD112Rで治療されたCT26原発腫瘍を移植されたマウスの生存率頻度を示す3つの独立した実験からのプールされたデータを示す。図11Bは、時間の関数としての、腫瘍を再負荷及びナイーブ負荷された対照後の抗CD112R治療された完全奏功者についての平均腫瘍体積を示す。統計分析を、移植後50日目の Mantel-Cox 検定 (図10A) 及び移植後15日目の Mann-Whitney 検定 (図10B) によって実行した。これらの結果は、抗CD112Rで治療されたマウスが原発腫瘍負荷後に完全奏功を呈することを実証し、これらのマウスにおける腫瘍再負荷時のその後の急速な拒絶は、抗CD112R抗体での治療が免疫記憶及び防御免疫の発達につながることも実証する。

40

## 【0235】

実施例12.NK細胞及びCD8 T細胞の両方は、CT26腫瘍負荷における抗CD112Rの治療活性に寄与する。

CD112R遮断のインビボ有効性を、NK細胞またはCD8 T細胞の枯渇後のCT26同系マウス腫瘍モデルにおいて評価した。NK及びCD8 T細胞を枯渇させるために、マウスを、それぞれ Asialo-GM1 抗体 (図11における「a s GM1」、Biolegend、カタログ番号 146002、用量  $100 \mu\text{L}$  / マウス、腹腔内) 及び抗CD8a抗体 (Bioxcell、カタログ番号 BE0085、 $200 \mu\text{g}$  / マウス、腹

50

腔内)を用いて無作為化で開始して3週間週2回治療した。

【0236】

7週齢のBALB/cAnNTac雌マウス(Taconic Biosciences、カタログ番号BALB-F)に、0.1mLの50%Geltrex(GIBCO、カタログ番号A1432-02)及び50%RPMI-1640無血清培地(GIBCO、カタログ番号A10491-01)中で $0.2 \times 10^6$ 個のCT26.WT(ATCC、カタログ番号CRL-2638)を、右脇腹に皮下移植した。触知可能な腫瘍を有するマウスを、移植後4日目に無作為化し、抗体46(抗CD112RマウスIgG2a、12.5mg/kg、腹腔内)を、無作為化の日を開始して3週間、週2回腹腔内投与した。

【0237】

腫瘍体積を、腫瘍がIACUC限界サイズ( $< 2000 \text{ mm}^3$ )に達するまで、2~3日ごとに測定した。腫瘍体積( $\text{mm}^3$ )を、以下のように計算した：幅(mm)×[長さ(mm)]<sup>2</sup>×0.5。

【0238】

結果が、図11に提示される。グラフは、時間の関数としての各治療群についての平均腫瘍体積を示す。これらの結果は、抗CD112Rの治療効果がNK細胞またはCD8 T細胞の枯渇後に顕著に縮小することを実証する。これらの結果は、CD8 T細胞及びNK細胞の両方が抗CD112Rによって媒介される有効な腫瘍成長阻害に必要であることを示す。

【0239】

実施例13. CD112R遮断は、インビボで腫瘍NK細胞を活性化する。  
抗CD112R単剤療法での投薬後のNK活性化マーカーのエクスピボ評価。

【0240】

インビボでのNK細胞活性化に対する抗CD112R抗体の効果を決定するために、7週齢のBALB/cAnNTac雌マウス(Taconic Biosciences、カタログ番号BALB-F)に、0.1mLの50%Geltrex(GIBCO、カタログ番号A1432-02)中で $0.2 \times 10^6$ 個のCT26.WT(ATCC、カタログ番号CRL-2638)を、右脇腹に皮下移植した。触知可能な腫瘍を有するマウスを、移植後4日目に無作為化し、500µgのアイソタイプ対照抗体(クローンC1.18.4、BioXcell、カタログ番号0085)または抗体46(抗CD112RマウスIgG2a)のいずれかを投与した。両方の群にも、500µgのアイソタイプ対照(クローンMOPC-21、BioXcell、カタログ番号0083)を共投与した。治療を滅菌1倍PBS(GIBCOカタログ番号14190-136)において調製し、100µLの総量を腹腔内注射した。

【0241】

腫瘍加工：マウスを安楽死させ、腫瘍を治療24時間後に切除した。腫瘍を、FACS緩衝剤(1倍のPBS、2%熱不活性化FBS、GIBCOカタログ番号16140-071、2mMのEDTA、Fisher Bioreagents、カタログ番号BP2482-500)中で3mLのシリジブランジャー(BD 301077)の粗い端を使用して、50mL遠心分離チューブ(Falcon番号352350)上に配置された440ミクロンメッシュフィルター(Costar番号3480)で組織を破壊することによって、単細胞懸濁液へと加工した。除去された腫瘍を70ミクロンのストレーナー(Falconカタログ番号352350)上で再度濾過し、残りの組織を3mLのシリジブランジャーを使用してさらに分解した。細胞を、800gで10分間遠沈した。細胞ペレットを、FACS緩衝剤に再懸濁させた。

【0242】

エクスピボ再刺激：単細胞懸濁液の約半分を、96ウェルU底ポリプロピレンの2mLの深いプレート(ThermoFisher番号AB-0932)に移し、1000gで5分間4で遠心分離した。細胞を、20ng/mLのPMA(Abcam番号ab120297)、500ng/mLのイオノマイシンCa<sup>2+</sup>塩(Abcam番号ab120

10

20

30

40

50

116)、5 µg/mL プレフェルジン A (Biolegend 番号 420601)、及び 2 µM のモネンシン (Biolegend 番号 420701) を含有する 10% 熱不活性化 FBS を用いて、予熱した 1 倍の RPMI + Glutamax (GIBCO 番号 61870-035) 培地に再懸濁させた。細胞を、37℃、5% CO<sub>2</sub> で 3.5 時間インキュベートした。細胞を、上記のように再度遠心分離した。

【0243】

FACS のための表面抗原抗体染色：細胞ペレットを、500 µL の冷 FACS 緩衝剤で 1 回洗浄した。細胞を、表 8 に示される希釈で、TruStain<sup>fc</sup> X (商標) (抗マウス CD16/32) を有する 100 µL の FACS 緩衝剤に再懸濁させた。細胞を、氷上で 15 分間インキュベートした。表面抗体カクテルを、調製し (詳細については表 8 を参照されたい)、事前遮断された細胞に直接添加した。細胞を、氷上で 1 時間インキュベートした。次いで、細胞を、500 µL の FACS 緩衝剤で 2 回洗浄した。

10

【0244】

生存率色素染色：細胞を、1 倍の PBS (ThermoFisher 番号 L34966) 中で 1:500 希釈された Live/Dead Aqua 生存率色素を用いて 4℃ で 10 分間染色した。

【0245】

固定：細胞を、1 回洗浄し、200 µL の eBioscience Foxp3 固定/透過処理緩衝剤 (ThermoFisher 番号 00-5523-00、希釈ガイドラインについての製造業者のプロトコルを使用する) を用いて 4℃ で一晩固定した。

20

【0246】

FACS のための細胞内抗原抗体染色：細胞を、200 µL の 1 倍の eBioscience 透過処理緩衝剤を直接添加することによって透過処理した (希釈ガイドラインについては製造業者のプロトコルを参照されたい)。細胞を、1000 g で 5 分間遠心分離し、1 倍の eBioscience 透過処理緩衝剤における最終希釈での抗体の細胞内パネルを用いて染色した。細胞を、室温で 1 時間インキュベーションした。細胞を、500 µL の透過処理緩衝剤で 2 回洗浄し、150 µL の FACS 緩衝剤に再懸濁させた。

【0247】

細胞を、X-20 Fortessa フローサイトメーター (BD Biosciences) 上で取得した。データを、FlowJo (FlowJo, LLC) 及び GraphPad Prism (GraphPad Software) を使用して分析した。

30

40

50

## 【表 8】

表 8：図 1 2 A～B において使用された抗体。

フルオロ フォア	抗体	クロー ン	企業	カタログ 番号	希釈	染色の種 類
N/A	F c B 1 o c k	9 3	B i o l e g e n d	1 0 1 3 2 0	1 : 1 0 0	F c 遮断
A l e x a 7 0 0	C D 4 5	I 3 / 2 . 3	B i o l e g e n d	1 4 7 7 1 6	1 : 1 0 0	表面
P E D a z z l e	N K p 4 6	2 9 A 1 . 4	B i o l e g e n d	1 3 7 6 3 0	1 : 1 0 0	表面
A P C / F i r e (商標)	T C R ベ ータ	H 5 7 - 5 9 7	B i o l e g e n d	1 0 9 2 4 6	1 : 1 0 0	表面
B V 7 8 5	C D 6 9	H 1 . 2 F 3	B i o l e g e n d	1 0 1 2 4 3	1 : 1 0 0	表面
B V 5 1 0	L i v e / D e a d		T h e r m o f i s h e r	L 3 4 9 6 6	1 : 5 0 0	生存率
A P C	G z m b	N G Z B	T h e r m o f i s h e r	1 7 - 8 8 9 8 - 8 2	1 : 1 0 0	細胞内

## 【 0 2 4 8 】

結果が、図 1 2 A～B に示される。図 1 2 A は、C D 6 9 を発現する N K 細胞に浸潤する腫瘍の頻度を示す。図 1 2 B は、エキスピボ再刺激後のグランザイム B を発現する N K 細胞に浸潤する腫瘍の頻度を示す。N K 細胞を、以下のようにゲートした：C D 4 5 +、C D 4 5 + S S C - A 低、生存、シグレット、N K p 4 6 + T C R b - 集団。陽性ゲートを、陰性対照の蛍光マイナス 1 ( F M O ) に基づいて設定した。p 値を、対応のない t 検定を使用して導出した ( \*、p < 0 . 0 5 ; \* \*、p < 0 . 0 1、\* \* \*、p < 0 . 0 0 1 )。これらの結果は、C D 1 1 2 R 遮断が、C T - 2 6 腫瘍モデルにおける腫瘍内 N K 細胞中で、初期活性化マーカー C D 6 9 及び細胞傷害性顆粒タンパク質であるグランザイム B の発現を顕著に増加させることを実証する。

## 【 0 2 4 9 】

実施例 1 4 . 抗 C D 1 1 2 R 抗体及び抗 P D 1 抗体の組み合わせは、マウス C T - 2 6 腫瘍モデルにおいて治療効果及び増加した無腫瘍生存率を有する。

C D 1 1 2 R 及び P D - 1 併用遮断のインビボ有効性

単剤療法及び併用療法としての C D 1 1 2 R 及び P D - 1 遮断の有効性を、C T - 2 6 結腸腺癌同系腫瘍モデルにおいて試験した。6 週齢の B A L B / c A n N T a c 雌マウス ( T a c o n i c B i o s c i e n c e s、B a l b - F ) に、0 . 1 m L の 5 0 % G e l t r e x ( G I B C O、カタログ番号 A 1 4 3 2 - 0 2 ) 及び 5 0 % R P M I - 1 6 4 0 無血清培地 ( G I B C O、カタログ番号 A 1 0 4 9 1 - 0 1 ) 中で 0 . 2 × 1 0 <sup>6</sup> 個の C T 2 6 . W T ( A T C C、カタログ番号 C R L - 2 6 3 8 ) を、右脇腹に皮下移植した。マウスを、一致した分布無作為化方法を使用して 9 0 m m <sup>3</sup> の平均腫瘍体積を有する各々 1 0 匹のマウスの群に無作為化した。マウスを、表 9 におけるように、週 2 回、2 週間腹腔内注射によって治療した。治療薬剤についての詳細は、表 1 0 に含まれる。

10

20

30

40

50

## 【表 9】

表 9：治療群の詳細

群	治療 1		治療 2	
	抗体	用量 (m g / k g)	抗体	用量 (m g / k g)
アイソタイプ	アイソタイプ 1	12.5	アイソタイプ 2	10
CD 112R	抗 CD 112R	12.5	アイソタイプ 2	10
PD-1	アイソタイプ 1	12.5	抗 PD-1	10
CD 112R + PD-1	抗 CD 112R	12.5	抗 PD-1	10

10

## 【表 10】

表 10：抗体の詳細

群	クローン
アイソタイプ 1	アイソタイプ対照クローン C 1.18.4、マウス IgG 2a
アイソタイプ 2	アイソタイプ対照クローン 2A3、ラット IgG 2a
抗 CD 112R	抗体 46、マウス IgG 2a
抗 PD-1	RMP 1-14、ラット IgG 2a

20

30

## 【0250】

腫瘍体積を、腫瘍が IACUC 限界サイズ ( $< 2000 \text{ mm}^3$ ) に達するまで、週 2 回測定した。腫瘍体積 ( $\text{mm}^3$ ) を、以下のように計算した：幅 (mm)  $\times$  [長さ (mm)]  $\times 0.52$ 。

## 【0251】

結果が、図 13A ~ F に提示される。図 13A ~ E は、時間の関数としての各治療群についての平均及び個々の腫瘍体積測定をそれぞれ示す。図 13A に示される結果は、抗 PD-1 との抗 CD 112R の組み合わせが、アイソタイプ治療動物と比較して腫瘍成長の低減に有効であり、統計学的に有意であった (対応のない t 検定によって 21 日目に測定されたように) ことを実証する。抗 CD 112R または抗 PD-1 単剤療法は、腫瘍成長を低減する活性も示した。図 13F は、上記の治療後の群あたりの無腫瘍生存者の割合として、移植後 50 日目の全体的な無腫瘍生存率を示す。これらの結果は、抗 PD-1 との抗 CD 112R の組み合わせが、アイソタイプ対照またはいずれかの単剤療法薬剤よりも高い無腫瘍生存率を付与することを実証する。

40

## 【0252】

50

**実施例 15 . マウス CD 112 R を発現する細胞への抗 CD 112 R 抗体の結合**

マウス CD 112 R に結合する抗 CD 112 R 抗体の能力を、マウス CD 112 R を過剰発現する細胞上で評価した。マウス CD 112 R ( 293 T . mCD 112 R ) を過剰発現するように操作された  $0.8 \times 10^5$  個の 293 T 細胞 ( ATCC CRL - 3216 ) を、96 ウェル V 底プレートの各ウェルに添加し、4 で 30 分間 3 倍段階希釈を用いて、 $10 \mu\text{g} / \text{mL}$  の開始濃度で抗 CD 112 R 抗体または Ig G 1 アイソタイプ対照のいずれかで染色した。細胞を、PBS + 2 % FCS で 2 回洗浄し、Alexa Fluor ( 登録商標 ) 647 抗ヒト Ig G Fc 抗体 ( Biolegend、カタログ番号 409320 ) で再懸濁させ、PBS + 2 % FCS 中で 1 : 100 希釈し、4 で 20 分間インキュベートした。続いて、細胞を、2 回洗浄し、PBS + 2 % FCS に再懸濁させた。細胞データを、LSRFortessa X - 20 ( BD Biosciences ) を使用して取得し、FlowJo ソフトウェア ( Tree Star ) で分析した。

10

**【 0253 】**

結果は、図 17 及び表 11 に示される。293 T . mCD 112 R 細胞に結合する抗体の定量を、Alexa Fluor ( 登録商標 ) 647 シグナルの幾何平均蛍光強度 ( gMFI ) によって評価した。これらの結果は、いくつかの抗 CD 112 R 抗体がマウス CD 112 R を発現する細胞に結合したことを実証する。

**【 0254 】****実施例 16 . 可溶性マウス CD 112 R への抗 CD 112 R 抗体の結合**

可溶性マウス CD 112 R に結合する抗 CD 112 R 抗体の能力を、ELISA によって評価した。簡潔には、96 ウェルの Nunc Maxisorp プレートを、PBS 中の  $1 \mu\text{g} / \text{mL}$  の抗 CD 112 R 抗体またはアイソタイプ対照 ( Biolegend、カタログ番号 403502 ) を用いて、4 で一晩コーティングした。次いで、プレートを、PBS + 0.01 % Tween - 20 ( PBST ) で 6 回洗浄し、続いて、200  $\mu\text{L}$  の PBS + 1 % BSA を用いて、室温で 1.5 時間遮断した。遮断後、プレートを、PBST で 6 回洗浄した。次に、PBS + 1 % BSA 中の 100  $\mu\text{L}$  のマウス CD 112 R - h Ig G 4 融合タンパク質を、 $10 \mu\text{g} / \text{mL}$  の最終開始濃度で、4 倍段階希釈を用いて添加した。プレートを、室温で 1.5 時間インキュベートした。次に、プレートを、PBST で 6 回洗浄し、次いで、100  $\mu\text{L}$  の抗 Ig G 4 HRP ( Thermo Fisher、カタログ番号 MA1 - 33437 ) と共に室温で 1 時間インキュベートした。次いで、プレートを、PBST で 6 回洗浄し、TMB 基質 ( Life Technologies、カタログ番号 002023 ) で発色させた。反応を、等量の停止溶液 ( Life Technologies、カタログ番号 SS04 ) で停止させた。450 nm ( O.D. 450 ) での吸光度を、SpectraMax プレートリーダー上で測定した。

20

30

**【 0255 】**

結果は、図 18 及び表 11 に示される。これらの結果は、抗 CD 112 R 抗体が可溶性マウス CD 112 R に結合したことを実証する。

**【 0256 】****実施例 17 . CD 112 へのマウス CD 112 R 結合の阻害または遮断**

マウス CD 112 へのマウス CD 112 R 結合を遮断する種交差反応性抗 CD 112 R 抗体の能力を、ELISA によって評価した。簡潔には、96 ウェルの Nunc Maxisorp プレートを、PBS 中の  $1 \mu\text{g} / \text{mL}$  のマウス CD 112 ( Sino Biological、カタログ番号 50318 - M08H ) を用いて、4 で一晩コーティングした。次いで、プレートを、PBS + 0.01 % Tween - 20 ( PBST ) で 6 回洗浄し、続いて、200  $\mu\text{L}$  の PBS + 1 % BSA を用いて、室温で 1.5 時間遮断した。遮断後、プレートを、PBST で 6 回洗浄した。次に、PBS + 1 % BSA 中の 50  $\mu\text{L}$  の抗 CD 112 R 抗体またはアイソタイプ対照 ( Biolegend、カタログ番号 403502 ) を、 $40 \mu\text{g} / \text{mL}$  の最終開始濃度で、2 倍段階希釈を用いて添加した。50  $\mu\text{L}$  のマウス CD 112 R - h Ig G 4 融合タンパク質も、 $2 \mu\text{g} / \text{mL}$  の最終濃度で各ウェルに添加した。プレートを、室温で 1.5 時間インキュベートした。次に、プレートを

40

50

を、P B S Tで6回洗浄し、次いで、100  $\mu$  Lの抗I g G 4 H R P ( T h e r m o F i s h e r、カタログ番号M A 1 - 3 3 4 3 7 ) と共に室温で1時間インキュベートした。次いで、プレートを、P B S Tで6回洗浄し、T M B基質 ( L i f e T e c h n o l o g i e s、カタログ番号0 0 2 0 2 3 ) で発色させた。反応を、等量の停止溶液 ( L i f e T e c h n o l o g i e s、カタログ番号S S 0 4 ) で停止させた。450 nm ( O . D . 4 5 0 ) での吸光度を、S p e c t r a M a xプレートリーダー上で測定した。

【0257】

結果が、図19及び表11に示される。これらの結果は、抗C D 1 1 2 R抗体がマウスC D 1 1 2へのマウスC D 1 1 2 R結合を異なる程度で阻害したことを実証する。阻害パーセントを、 $[100 - ((\text{試験試料 O.D. 450} / \text{最大 O.D. 450}) * 100\%)]$  として計算した。最大O.D. 450を、抗体の非存在下での450 nmでの吸光度として定義した。

【0258】

表11及び図17～19に示されるように、抗体32、33、34、35、及び36は、ヒトC D 1 1 2 RとのヒトC D 1 1 2の相互作用を遮断することができるが、本明細書に記載の遮断の定義に従うと、マウスC D 1 1 2 R及びマウスC D 1 1 2の間の結合相互作用を遮断することができない。例えば、抗体32、33、34、35、及び36については、それぞれ75.1、78.8、80.81.7、及び86.2でのヒト相互作用の阻害%と比較して、それぞれ0、28.3、20.3、24.2、及び41.6でのマウス相互作用の阻害%を示す、表11の最後の2列を参照されたい。抗体32に関連する例示的なクラスの抗体に属さない抗体は、かかる示差的遮断を呈さない。

【表11】

表11：抗体結合の概要及び遮断抗体の詳細（マウス）

抗体	293T -マウス CD112R g MFI (ア イソタイ プを超える 増倍)	マウスCD 112R結 合ELISA EC50 (ng/ ml)	マウスCD112 /CD112R 遮断ELISA A最大阻害 (%)	ヒトCD112 /CD112R 遮断ELISA A最大阻害 (%)
抗体A	104.6	34.5	90.3	90.6
抗体B	133.3	27.4	92.5	88.9
抗体C	88.1	41.0	90.1	97.8
抗体32	14.9	269.5	0.0	75.1
抗体33	73.3	38.3	28.3	78.8
抗体34	72.2	24.2	20.3	80.0
抗体35	55.6	21.5	24.2	81.7
抗体36	76.3	25.1	41.6	86.2
抗体46	74.8	180.6	88.0	97.6
抗体58	79.4	411.7	85.7	97.3

【0259】

上述の発明は、明確な理解のための例証及び例によっていくらか詳細に記載されているが、説明及び例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書で引用される全ての特許及び科学文献の開示は、参照によってそれらの全体が明示的に組

み込まれる。

【表 1 2 - 1】

配列表

配 列 番号	クロー ン番号	説明	配列
1	2	V H C D R 1	F T F S E Y T M N
2	2	V H C D R 2	A I V G S G D S T Y Y A D S V K G
3	2	V H C D R 3	A K D Y S S G D W I D Y G M D V
4	2	V L C D R 1	Q A S Q D I S N Y L N
5	2	V L C D R 2	D A S N L A T
6	2	V L C D R 3	Q Q F D L L P P T
7	2	V H F R 1	E V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G
8	2	V H F R 2	W V R Q A P G K G L E W V S
9	2	V H F R 3	R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C
1 0	2	V H F R 4	W G Q G T T V T V S S

10

20

30

40

50



【表 1 2 - 2】

1 1	2	V H D N A	G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C C T G G T C A A G C C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T C A C C T T C A G T G A A T A T A C C A T G A A C T G G G T C C G C C A G G C T C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C T C A G C T A T T G T A G G T A G T G G T G A C A G C A C A T A C T A C G C A G A C T C C G T G A A G G G C C G G T T C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C G C T G T A T C T G C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A A G G A C T A C A G C T C C G G A G A C T G G A T C G A T T A T G G A A T G G A C G T A T G G G G C C A G G G A A C A A C T G T C A C C G T C T C C T C A
1 2	2	V H タン パク質	E V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S E Y T M N W V R Q A P G K G L E W V S A I V G S G D S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A K D Y S S G D W I D Y G M D V W G Q G T T V T V S S
1 3	2	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
1 4	2	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y
1 5	2	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T F T I S S L Q P E D I A T Y Y C
1 6	2	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 3】

1 7	2	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C G A G T C A G G A C A T T A G C A A C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A C G A T G C A T C C A A T T T G G C A A C A G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G A A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T T A C T T T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C T G A A G A T A T T G C A A C A T A T T A C T G T C A G C A G T T C G A T C T C C T C C C T C C T A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
1 8	2	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C Q A S Q D I S N Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y D A S N L A T G V P S R F S G S G S G T D F T F T I S S L Q P E D I A T Y Y C Q Q F D L L P P T F G G G T K V E I K
1 9 ～ 1 0 0 : 未使用			
1 0 1	5	V H C D R 1	F T F S D Y A M I
1 0 2	5	V H C D R 2	A I S G G G E S T Y Y A D S V K G
1 0 3	5	V H C D R 3	A K D Y S S G D W I D Y G M D V
1 0 4	5	V L C D R 1	Q A S Q D I S N Y L N
1 0 5	5	V L C D R 2	D A S N L A T
1 0 6	5	V L C D R 3	Q Q F D L L P P T
1 0 7	5	V H F R 1	E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G
1 0 8	5	V H F R 2	W V R Q A P G K G L E W V S
1 0 9	5	V H F R 3	R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C
1 1 0	5	V H F R 4	W G Q G T T V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 4】

1 1	1	5	VH NA	D	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTG GGGGAGGCTTGGTACAGCCTGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT GCAGCCTCTGGATTTCACCTTTA GCGACTATGCCATGATATGGGT CCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGGTCTCAGCTATTA GTGGTGGAGGTGAAAGCACATA CTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCAGAGACA ATTCCAAGAACACGCTGTATCT GCAAATGAACAGCCTGAGAGCC GAGGACACGGCGGTGTACTACT GCGCCAAGGACTACAGCTCCGG AGACTGGATCGATTATGGAATG GACGTATGGGGGCCAGGGAACAA CTGTCACCGTCTCCTCA
1 2	1	5	VHタン パク質		EVQLLESGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSFYAMIWVRQAPGKG LEWVSAISGGGESTYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKDYSSSGDWIDYGM DVWGQGTTVTVSS
1 3	1	5	VL R1	F	DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT C
1 4	1	5	VL R2	F	WYQQKPGKAPKLLIY
1 5	1	5	VL R3	F	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYC
1 6	1	5	VL R4	F	FGGGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 5】

1 1 7	5	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C G A G T C A G G A C A T T A G C A A C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A C G A T G C A T C C A A T T T G G C A A C A G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G A A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T T A C T T T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C T G A A G A T A T T G C A A C A T A T T A C T G T C A G C A G T T C G A T C T C C T C C C T C C T A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
1 1 8	5	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C Q A S Q D I S N Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y D A S N L A T G V P S R F S G S G S G T D F T F T I S S L Q P E D I A T Y Y C Q Q F D L L P P T F G G G T K V E I K
1 1 9 ~ 2 0 0 : 未使用			
2 0 1	4 4	V H C D R 1	G T F D N Y Y I S
2 0 2	4 4	V H C D R 2	G I F P I F G T A N Y A Q K F Q G
2 0 3	4 4	V H C D R 3	A R E V G H Y S G S P Y Y M D V
2 0 4	4 4	V L C D R 1	R A S Q S I N S W L A
2 0 5	4 4	V L C D R 2	D A S S L E S
2 0 6	4 4	V L C D R 3	Q Q V G P Y L T
2 0 7	4 4	V H F R 1	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G
2 0 8	4 4	V H F R 2	W V R Q A P G Q G L E W M G
2 0 9	4 4	V H F R 3	R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C
2 1 0	4 4	V H F R 4	W G K G T T V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 6】

2 1 1	4 4	V H D N A	C A G G T G C A G C T G G T G C A G T C T G G G G C T G A G G T G A A G A A G C C T G G G T C C T C G G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G A G G C A C C T T C G A C A A C T A T T A C A T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C C C T G G A C A A G G G C T T G A G T G G A T G G G A G G G A T C T T C C C T A T C T T C G G T A C C G C A A A C T A C G C A C A G A A G T T C C A G G G C A G A G T C A C G A T T A C C G C G G A C G A A T C C A C G A G C A C A G C C T A C A T G G A G C T G A G C A G C C T G A G A T C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G A A G T C G G A C A C T A C T C C G G C A G C C C A T A C T A C A T G G A C G T A T G G G G C A A G G G T A C A A C T G T C A C C G T C T C C T C A
2 1 2	4 4	V H タン パク質	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F D N Y Y I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I F P I F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E V G H Y S G S P Y Y M D V W G K G T T V T V S S
2 1 3	4 4	V L F R 1	D I Q M T Q S P S T L S A S V G D R V T I T C
2 1 4	4 4	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I S
2 1 5	4 4	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q P D D F A T Y Y C
2 1 6	4 4	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 7】

2 1 7	4 4	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C T T C C A C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C C A G T C A G A G T A T T A A T A G C T G G T T G G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T C C G A T G C C T C C A G T T T G G A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G C G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A A T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C T G A T G A T T T T G C A A C T T A T T A C T G C C A G C A G G T C G G C C C C T A C C T C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
2 1 8	4 4	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S T L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I N S W L A W Y Q Q K P G K A P K L L I S D A S S L E S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q P D D F A T Y Y C Q Q V G P Y L T F G G G T K V E I K
2 1 9 ~ 3 0 0 : 未使用			
3 0 1	5 8	V H C D R 1	F T F G D Y A M S
3 0 2	5 8	V H C D R 2	F I G S K F Y G G E T E Y T A S V K G
3 0 3	5 8	V H C D R 3	A R G P R R Y T Y G M D V
3 0 4	5 8	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
3 0 5	5 8	V L C D R 2	A A S S L Q S
3 0 6	5 8	V L C D R 3	Q Q S S T P L T
3 0 7	5 8	V H F R 1	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C T A S G
3 0 8	5 8	V H F R 2	W F R Q A P G K G L E W V G
3 0 9	5 8	V H F R 3	R F T I S R D G S K S I A Y L Q M N S L K T E D T A V Y Y C
3 1 0	5 8	V H F R 4	W G Q G T T V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 8】

3 1 1	5 8	V H D N A	G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C A G G G C G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T A C A G C T T C T G G A T T C A C C T T T G G T G A T T A T G C T A T G A G C T G G T T C C G C C A G G C T C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T A G G T T T C A T T G G A A G C A A A T T C T A T G G T G G G G A A A C A G A A T A C A C C G C G T C T G T G A A A G G C A G A T T C A C C A T C T C A A G A G A T G G T T C C A A A A G C A T C G C C T A T C T G C A A A T G A A C A G C C T G A A A A C C G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G G A C C A A G A C G C T A C A C A T A C G G A A T G G A C G T A T G G G G C C A G G G A A C A A C T G T C A C C G T C T C C T C A
3 1 2	5 8	V H タン パク質	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C T A S G F T F G D Y A M S W F R Q A P G K G L E W V G F I G S K F Y G G E T E Y T A S V K G R F T I S R D G S K S I A Y L Q M N S L K T E D T A V Y Y C A R G P R R Y T Y G M D V W G Q G T T V T V S S
3 1 3	5 8	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
3 1 4	5 8	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y
3 1 5	5 8	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C
3 1 6	5 8	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 9】

3 1 7	5 8	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G C T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A A G C T C C A C C C C C C T C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
3 1 8	5 8	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S S T P L T F G G G T K V E I K
3 1 9 ~ 4 0 0 : 未使用			
4 0 1	1 0	V H C D R 1	F T F D D Y A V H
4 0 2	1 0	V H C D R 2	G I S W S S G L I G Y A D S V K G
4 0 3	1 0	V H C D R 3	A K G P P T Y Q D Y F D L
4 0 4	1 0	V L C D R 1	R A S Q S V S R Y L A
4 0 5	1 0	V L C D R 2	D A S N R A T
4 0 6	1 0	V L C D R 3	Q Q V S F F P P I T
4 0 7	1 0	V H F R 1	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G
4 0 8	1 0	V H F R 2	W V R Q A P G K G L E W V S
4 0 9	1 0	V H F R 3	R F T I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C
4 1 0	1 0	V H F R 4	W G R G T L V T V S S

10

20

30

40

50



【表 1 2 - 1 0】

4 1 1	1 0	V H D N A	G A A G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C T G G C A G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T C A C C T T T G A T G A T T A T G C C G T G C A C T G G G T C C G G C A A G C T C C A G G G A A G G G C C T G G A G T G G G T C T C A G G T A T T A G T T G G A G T A G T G G A C T A A T A G G C T A T G C G G A C T C T G T G A A G G G C C G A T T C A C C A T C T C C A G A G A C A A C G C C A A G A A C T C C C T G T A T C T G C A A A T G A A C A G T C T G A G A G C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A A G G G C C C T C C T A C C T A C C A A G A C T A C T T C G A C C T A T G G G G G A G A G G T A C C T T G G T C A C C G T C T C C T C A
4 1 2	1 0	V H タン パク質	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T F D D Y A V H W V R Q A P G K G L E W V S G I S W S S G L I G Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A K G P P T Y Q D Y F D L W G R G T L V T V S S
4 1 3	1 0	V L F R 1	E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C
4 1 4	1 0	V L F R 2	W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y
4 1 5	1 0	V L F R 3	G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A V Y Y C
4 1 6	1 0	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 1】

4 1 7	1 0	V L D N A	G A A A T T G T G T T G A C A C A G T C T C C A G C C A C C C T G T C T T T G T C T C C A G G G G A A A G A G C C A C C C T C T C C T G C A G G G C C A G T C A G A G T G T T A G C A G G T A C T T A G C C T G G T A C C A A C A G A A A C C T G G C C A G G C T C C C A G G C T C C T C A T C T A T G A T G C A T C C A A C A G G G C C A C T G G C A T C C C A G C C A G G T T C A G T G G C A G T G G G T C T G G G A C A G A C T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T A G A G C C T G A A G A T T T T G C A G T T T A T T A C T G T C A G C A G G T C A G T T T C T T C C C T C C T A T C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
4 1 8	1 0	V L タン パク質	E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S R Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y D A S N R A T G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A V Y Y C Q Q V S F F P P I T F G G G T K V E I K
4 1 9 ~ 5 0 0 : 未使用			
5 0 1	3 8	V H C D R 1	F T F S G H L M S
5 0 2	3 8	V H C D R 2	A I S G S A G E T Y Y A D S V K G
5 0 3	3 8	V H C D R 3	A R D A Y Y D D W S G W A D W Y F D L
5 0 4	3 8	V L C D R 1	R A S Q S V S R Y L A
5 0 5	3 8	V L C D R 2	D A S N R A T
5 0 6	3 8	V L C D R 3	Q Q V S L L P P T
5 0 7	3 8	V H F R 1	E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G
5 0 8	3 8	V H F R 2	W V R Q A P G K G L E W V S
5 0 9	3 8	V H F R 3	R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C
5 1 0	3 8	V H F R 4	W G R G T L V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 2】

5 1 1	3 8	V H D N A	G A G G T G C A G C T G T T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T C A C C T T T A G C G G A C A C C T A A T G A G C T G G G T C C G C C A G G C T C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C T C A G C T A T T A G T G G A T C C G C A G G T G A A A C A T A C T A C G C A G A C T C C G T G A A G G G C C G G T T C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C G C T G T A T C T G C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G A T G C G T A C T A C G A C G A C T G G A G C G G A T G G G C C G A T T G G T A C T T C G A T T T A T G G G G G A G A G G T A C C T T G G T C A C C G T C T C C T C A
5 1 2	3 8	V H タン パク質	E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S G H L M S W V R Q A P G K G L E W V S A I S G S A G E T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D A Y Y D D W S G W A D W Y F D L W G R G T L V T V S S
5 1 3	3 8	V L F R 1	E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C
5 1 4	3 8	V L F R 2	W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y
5 1 5	3 8	V L F R 3	G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A V Y Y C
5 1 6	3 8	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 3】

5 1 7	3 8	V L D N A	G A A A T T G T G T T G A C A C A G T C T C C A G C C A C C C T G T C T T T G T C T C C A G G G G A A A G A G C C A C C C T C T C C T G C A G G G C C A G T C A G A G T G T T A G C A G G T A C T T A G C C T G G T A C C A A C A G A A A C C T G G C C A G G C T C C C A G G C T C C T C A T C T A T G A T G C A T C C A A C A G G G C C A C T G G C A T C C C A G C C A G G T T C A G T G G C A G T G G G T C T G G G A C A G A C T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T A G A G C C T G A A G A T T T T G C A G T T T A T T A C T G T C A G C A G G T C A G T C T C C T C C C T C C T A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
5 1 8	3 8	V L タン パク質	E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S R Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y D A S N R A T G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A V Y Y C Q Q V S L L P P T F G G G T K V E I K
5 1 9 ~ 6 0 0 : 未使用			
6 0 1	1 5	V H C D R 1	F T F G D V A M S
6 0 2	1 5	V H C D R 2	Y I G S K A Y G G E T E Y T A S V K G
6 0 3	1 5	V H C D R 3	A R A G H S Y G S I A S N W F D P
6 0 4	1 5	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
6 0 5	1 5	V L C D R 2	G A S S L Q S
6 0 6	1 5	V L C D R 3	Q Q G F Y T P W T
6 0 7	1 5	V H F R 1	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C T A S G
6 0 8	1 5	V H F R 2	W F R Q A P G K G L E W V G
6 0 9	1 5	V H F R 3	R F T I S R D G S K S I A Y L Q M N S L K T E D T A V Y Y C
6 1 0	1 5	V H F R 4	W G Q G T L V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 4】

6 1 1	1 5	V H D N A	G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C A G G G C G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T A C A G C T T C T G G A T T C A C C T T T G G T G A T G T C G C T A T G T C C T G G T T C C G C C A G G C T C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T A G G T T A C A T T G G A A G C A A A G C T T A T G G T G G G G A A A C A G A A T A C A C C G C G T C T G T G A A A G G C A G A T T C A C C A T C T C A A G A G A T G G T T C C A A A A G C A T C G C C T A T C T G C A A A T G A A C A G C C T G A A A A C C G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G C T G G A C A C A G C T A C G G A T C C A T C G C C A G C A A C T G G T T C G A C C C A T G G G G A C A G G G T A C A T T G G T C A C C G T C T C C T C A	10 20
6 1 2	1 5	V H タン パク質	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C T A S G F T F G D V A M S W F R Q A P G K G L E W V G Y I G S K A Y G G E T E Y T A S V K G R F T I S R D G S K S I A Y L Q M N S L K T E D T A V Y Y C A R A G H S Y G S I A S N W F D P W G Q G T L V T V S S	
6 1 3	1 5	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C	30
6 1 4	1 5	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y	
6 1 5	1 5	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C	
6 1 6	1 5	V L F R 4	F G G G T K V E I K	

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 5】

6 1 7	1 5	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A G G A T T C T A C A C T C C T T G G A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
6 1 8	1 5	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y G A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q G F Y T P W T F G G G T K V E I K
6 1 9 ~ 7 0 0 : 未使用			
7 0 1	3 5	V H C D R 1	G T F S S A A I S
7 0 2	3 5	V H C D R 2	N I I P I V G I A N Y A Q K F Q G
7 0 3	3 5	V H C D R 3	A R D T G R G Y T R H F W F D P
7 0 4	3 5	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
7 0 5	3 5	V L C D R 2	A A S S L Q S
7 0 6	3 5	V L C D R 3	Q Q S D I L Y T
7 0 7	3 5	V H F R 1	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G
7 0 8	3 5	V H F R 2	W V R Q A P G Q G L E W M G
7 0 9	3 5	V H F R 3	R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C
7 1 0	3 5	V H F R 4	W G Q G T L V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 6】

7 1 1	3 5	V H D N A	C A G G T G C A G C T G G T G C A G T C T G G G G C T G A G G T G A A G A A G C C T G G G T C C T C G G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G A G G C A C C T T C A G C T C C G C C G C T A T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C C C T G G A C A A G G G C T T G A G T G G A T G G G A A A C A T C A T C C C T A T C G T A G G T A T A G C A A A C T A C G C A C A G A A G T T C C A G G G C A G A G T C A C G A T T A C C G C G G A C G A A T C C A C G A G C A C A G C C T A C A T G G A G C T G A G C A G C C T G A G A T C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G A C A C G G G A C G G G G A T A C A C C A G A C A C T T C T G G T T T G A C C C C T G G G G A C A G G G T A C A T T G G T C A C C G T C T C C T C A
7 1 2	3 5	V H タン パク質	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S A A I S W V R Q A P G Q G L E W M G N I I P I V G I A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D T G R G Y T R H F W F D P W G Q G T L V T V S S
7 1 3	3 5	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
7 1 4	3 5	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y
7 1 5	3 5	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C
7 1 6	3 5	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 7】

7 1 7	3 5	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G C T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A A G C G A C A T C C T C T A C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
7 1 8	3 5	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S D I L Y T F G G G T K V E I K
7 1 9 ~ 8 0 0 : 未使用			
8 0 1	4 7	V H C D R 1	G T F S N Y A I S
8 0 2	4 7	V H C D R 2	G I I P I F G T A N Y A Q K F Q G
8 0 3	4 7	V H C D R 3	A R G R G A L A L V G P Y Y G M D V
8 0 4	4 7	V L C D R 1	R S S Q S L L H S N G Y N Y L D
8 0 5	4 7	V L C D R 2	L G S H R A S
8 0 6	4 7	V L C D R 3	M Q A L R A P T
8 0 7	4 7	V H F R 1	E V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G
8 0 8	4 7	V H F R 2	W V R Q A P G Q G L E W M G
8 0 9	4 7	V H F R 3	R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C
8 1 0	4 7	V H F R 4	W G Q G T T V T V S S

10

20

30

40

50



【表 1 2 - 1 8】

8 1 1	4 7	V H D N A	G A G G T G C A G C T G G T G C A G T C T G G G G C T G A G G T G A A G A A G C C T G G G T C C T C G G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G A G G C A C C T T C A G C A A C T A T G C T A T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C C C T G G A C A A G G G C T T G A G T G G A T G G G A G G G A T C A T C C C T A T C T T T G G T A C A G C A A A C T A C G C A C A G A A G T T C C A G G G C A G A G T C A C G A T T A C C G C G G A C G A A T C C A C G A G C A C A G C C T A C A T G G A G C T G A G C A G C C T G A G A T C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G G C A G A G G C G C T C T G G C A C T C G T C G G A C C A T A C T A C G G A A T G G A C G T A T G G G G C C A G G G A A C A A C T G T C A C C G T C T C C T C A
8 1 2	4 7	V H タン パク質	E V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S N Y A I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I I P I F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G R G A L A L V G P Y Y G M D V W G Q G T T V T V S S
8 1 3	4 7	V L F R 1	D I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C
8 1 4	4 7	V L F R 2	W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y
8 1 5	4 7	V L F R 3	G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C
8 1 6	4 7	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 1 9】

8 1 7	4 7	V L D N A	G A T A T T G T G A T G A C T C A G T C T C C A C T C T C C C T G C C C G T C A C C C C T G G A G A G C C G G C C T C C A T C T C C T G C A G G T C T A G T C A G A G C C T C C T G C A T A G T A A T G G A T A C A A C T A T T T G G A T T G G T A C C T G C A G A A G C C A G G G C A G T C T C C A C A G C T C C T G A T C T A T T T G G G T T C T C A T C G G G C C T C C G G G G T C C C T G A C A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C A G G C A C A G A T T T T A C A C T G A A A A T C A G C A G A G T G G A G G C T G A G G A T G T T G G G G T T T A T T A C T G C A T G C A G G C A C T C C G A G C C C C T A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
8 1 8	4 7	V L タン パク質	D I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S H R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L R A P T F G G G T K V E I K
8 1 9 ~ 9 0 0 未使用			
9 0 1	4 6	V H C D R 1	F T F G D Y A M S
9 0 2	4 6	V H C D R 2	F I G S K A Y G G T T E Y T A S V K G
9 0 3	4 6	V H C D R 3	A R G P R R Y T Y G M D V
9 0 4	4 6	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
9 0 5	4 6	V L C D R 2	A A S S L Q S
9 0 6	4 6	V L C D R 3	Q Q S S T P L T
9 0 7	4 6	V H F R 1	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C T A S G
9 0 8	4 6	V H F R 2	W F R Q A P G K G L E W V G
9 0 9	4 6	V H F R 3	R F T I S R D G S K S I A Y L Q M N S L K T E D T A V Y Y C

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 0】

9 1 0	4 6	V H F R 4	W G Q G T T V T V S S
9 1 1	4 6	V H D N A	G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C A G G G C G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T A C A G C T T C T G G A T T C A C C T T T G G T G A T T A T G C T A T G A G C T G G T T C C G C C A G G C T C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T A G G T T T C A T T G G A A G C A A A G C T T A T G G T G G G A C A A C A G A A T A C A C C G C G T C T G T G A A A G G C A G A T T C A C C A T C T C A A G A G A T G G T T C C A A A A G C A T C G C C T A T C T G C A A A T G A A C A G C C T G A A A A C C G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G G A C C A A G A C G C T A C A C A T A C G G A A T G G A C G T A T G G G G C C A G G G A A C A A C T G T C A C C G T C T C C T C A
9 1 2	4 6	V H タン パク質	E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C T A S G F T F G D Y A M S W F R Q A P G K G L E W V G F I G S K A Y G G T T E Y T A S V K G R F T I S R D G S K S I A Y L Q M N S L K T E D T A V Y Y C A R G P R R Y T Y G M D V W G Q G T T V T V S S
9 1 3	4 6	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
9 1 4	4 6	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y
9 1 5	4 6	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C
9 1 6	4 6	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 1】

9 1 7	4 6	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G C T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A A G C T C C A C C C C C C T C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
9 1 8	4 6	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S S T P L T F G G G T K V E I K
9 1 9 ~ 1 0 0 0 未使用			
1 0 0 1	3 2	V H C D R 1	G T F S S Y A I S
1 0 0 2	3 2	V H C D R 2	G I I P I S G T A N Y A Q K F Q G
1 0 0 3	3 2	V H C D R 3	A R D T G R G Y T R H F W F D P
1 0 0 4	3 2	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
1 0 0 5	3 2	V L C D R 2	A A S S L Q S
1 0 0 6	3 2	V L C D R 3	Q Q S D I L Y T
1 0 0 7	3 2	V H F R 1	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G
1 0 0 8	3 2	V H F R 2	W V R Q A P G Q G L E W M G
1 0 0 9	3 2	V H F R 3	R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C
1 0 1 0	3 2	V H F R 4	W G Q G T L V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 2】

1 0 1 1	3 2	V H D N A	C A G G T G C A G C T G G T G C A G T C T G G G G C T G A G G T G A A G A A G C C T G G G T C C T C G G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G A G G C A C C T T C A G C A G C T A T G C T A T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C C C T G G A C A A G G G C T T G A G T G G A T G G G A G G G A T C A T C C C T A T C T C T G G T A C A G C A A A C T A C G C A C A G A A G T T C C A G G G C A G A G T C A C G A T T A C C G C G G A C G A A T C C A C G A G C A C A G C C T A C A T G G A G C T G A G C A G C C T G A G A T C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G A C A C G G G A C G G G G A T A C A C C A G A C A C T T C T G G T T T G A C C C C T G G G G A C A G G G T A C A T T G G T C A C C G T C T C C T C A
1 0 1 2	3 2	V H タン パク質	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I I P I S G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D T G R G Y T R H F W F D P W G Q G T L V T V S S
1 0 1 3	3 2	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
1 0 1 4	3 2	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y
1 0 1 5	3 2	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C
1 0 1 6	3 2	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 3】

1 0 1 7	3 2	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G C T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A A G C G A C A T C C T C T A C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
1 0 1 8	3 2	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S D I L Y T F G G G T K V E I K
1 0 1 9 ~ 2 0 0 0 未使用			
2 0 0 1	3 3	V H C D R 1	G T F G N Y A I S
2 0 0 2	3 3	V H C D R 2	G I I P I P G I A N Y A Q K F Q G
2 0 0 3	3 3	V H C D R 3	A R D T G R G Y T R H F W F D P
2 0 0 4	3 3	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
2 0 0 5	3 3	V L C D R 2	A A S S L Q S
2 0 0 6	3 3	V L C D R 3	Q Q S D I L Y T
2 0 0 7	3 3	V H F R 1	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G
2 0 0 8	3 3	V H F R 2	W V R Q A P G Q G L E W M G
2 0 0 9	3 3	V H F R 3	R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C
2 0 1 0	3 3	V H F R 4	W G Q G T L V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 4】

2 0 1 1	3 3	V H D N A	C A G G T G C A G C T G G T G C A G T C T G G G G C T G A G G T G A A G A A G C C T G G G T C C T C G G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G A G G C A C C T T C G G A A A C T A T G C T A T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C C C T G G A C A A G G G C T T G A G T G G A T G G G A G G G A T C A T C C C T A T C C C A G G T A T C G C A A A C T A C G C A C A G A A G T T C C A G G G C A G A G T C A C G A T T A C C G C G G A C G A A T C C A C G A G C A C A G C C T A C A T G G A G C T G A G C A G C C T G A G A T C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G A C A C G G G A C G G G G A T A C A C C A G A C A C T T C T G G T T T G A C C C C T G G G G A C A G G G T A C A T T G G T C A C C G T C T C C T C A
2 0 1 2	3 3	V H タン パク質	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F G N Y A I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I I P I P G I A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D T G R G Y T R H F W F D P W G Q G T L V T V S S
2 0 1 3	3 3	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
2 0 1 4	3 3	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y
2 0 1 5	3 3	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C
2 0 1 6	3 3	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 5】

2 0 1 7	3 3	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G C T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A A G C G A C A T C C T C T A C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
2 0 1 8	3 3	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S D I L Y T F G G G T K V E I K
2 0 1 9 ~ 3 0 0 0 未使用			
3 0 0 1	3 4	V H C D R 1	G T F S S A A I S
3 0 0 2	3 4	V H C D R 2	G I F P I S G H A N Y A Q K F Q G
3 0 0 3	3 4	V H C D R 3	A R D T G R G Y T R H F W F D P
3 0 0 4	3 4	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
3 0 0 5	3 4	V L C D R 2	A A S S L Q S
3 0 0 6	3 4	V L C D R 3	Q Q S D I L Y T
3 0 0 7	3 4	V H F R 1	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G
3 0 0 8	3 4	V H F R 2	W V R Q A P G Q G L E W M G
3 0 0 9	3 4	V H F R 3	R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C
3 0 1 0	3 4	V H F R 4	W G Q G T L V T V S S

10

20

30

40

50



【表 1 2 - 2 6】

3 0 1 1	3 4	V H D N A	C A G G T G C A G C T G G T G C A G T C T G G G G C T G A G G T G A A G A A G C C T G G G T C C T C G G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G A G G C A C C T T C A G C A G C G C C G C T A T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C C C T G G A C A A G G G C T C G A G T G G A T G G G A G G G A T C T T C C C T A T C T C C G G T C A C G C A A A C T A C G C A C A G A A G T T C C A G G G C A G A G T C A C G A T T A C C G C G G A C G A A T C C A C G A G C A C A G C C T A C A T G G A G C T G A G C A G C C T G A G A T C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G A C A C G G G A C G G G G A T A C A C C A G A C A C T T C T G G T T T G A C C C C T G G G G A C A G G G T A C A T T G G T C A C C G T C T C C T C A	10 20
3 0 1 2	3 4	V H タン パク質	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S A A I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I F P I S G H A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D T G R G Y T R H F W F D P W G Q G T L V T V S S	
3 0 1 3	3 4	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C	
3 0 1 4	3 4	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y	30
3 0 1 5	3 4	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C	
3 0 1 6	3 4	V L F R 4	F G G G T K V E I K	

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 7】

3 0 1 7	3 4	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G C T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A A G C G A C A T C C T C T A C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
3 0 1 8	3 4	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S D I L Y T F G G G T K V E I K
3 0 1 9 ~ 4 0 0 0 未使用			
4 0 0 1	3 6	V H C D R 1	G T F A T Y A I S
4 0 0 2	3 6	V H C D R 2	G I F P L S G T A N Y A Q K F Q G
4 0 0 3	3 6	V H C D R 3	A R D T G R G Y T R H F W F D P
4 0 0 4	3 6	V L C D R 1	R A S Q S I S S Y L N
4 0 0 5	3 6	V L C D R 2	A A S S L Q S
4 0 0 6	3 6	V L C D R 3	Q Q S D I L Y T
4 0 0 7	3 6	V H F R 1	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G
4 0 0 8	3 6	V H F R 2	W V R Q A P G Q G L E W M G
4 0 0 9	3 6	V H F R 3	R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C
4 0 1 0	3 6	V H F R 4	W G Q G T L V T V S S

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 8】

4 0 1 1	3 6	V H D N A	C A G G T G C A G C T G G T G C A G T C T G G G G C T G A G G T G A A G A A G C C T G G G T C C T C G G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G A G G C A C C T T C G C A A C C T A T G C T A T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C C C T G G A C A A G G G C T T G A G T G G A T G G G A G G G A T C T T C C C T C T C T C C G G T A C A G C A A A C T A C G C A C A G A A G T T C C A G G G C A G A G T C A C G A T T A C C G C G G A C G A A T C C A C G A G C A C A G C C T A C A T G G A G C T G A G C A G C C T G A G A T C T G A G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G A G A C A C G G G A C G G G G A T A C A C C A G A C A C T T C T G G T T T G A C C C C T G G G G A C A G G G T A C A T T G G T C A C C G T C T C C T C A
4 0 1 2	3 6	V H タン パク質	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F A T Y A I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I F P L S G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D T G R G Y T R H F W F D P W G Q G T L V T V S S
4 0 1 3	3 6	V L F R 1	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C
4 0 1 4	3 6	V L F R 2	W Y Q Q K P G K A P K L L I Y
4 0 1 5	3 6	V L F R 3	G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C
4 0 1 6	3 6	V L F R 4	F G G G T K V E I K

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2 9】

4 0 1 7	3 6	V L D N A	G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C G G G C A A G T C A G A G C A T T A G C A G C T A T T T A A A T T G G T A T C A G C A G A A A C C A G G G A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G C T G C A T C C A G T T T G C A A A G T G G G G T C C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G T C T G C A A C C T G A A G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A G C A A A G C G A C A T C C T C T A C A C T T T T G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A A
4 0 1 8	3 6	V L タン パク質	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S S Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q S D I L Y T F G G G T K V E I K

10

20

## (項目 1)

単離された抗体であって、

i) (a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、(c) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、(d) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、(e) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び (f) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

30

ii) (a) 配列番号 101 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、(b) 配列番号 102 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、(c) 配列番号 103 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、(d) 配列番号 104 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、(e) 配列番号 105 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び (f) 配列番号 106 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

iii) (a) 配列番号 201 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、(b) 配列番号 202 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、(c) 配列番号 203 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、(d) 配列番号 204 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、(e) 配列番号 205 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び (f) 配列番号 206 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

40

iv) (a) 配列番号 301 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、(b) 配列番号 302 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、(c) 配列番号 303 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、(d) 配列番号 304 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、(e) 配列番号 305 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び (f) 配列番号 306 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

v) (a) 配列番号 401 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、(b) 配列番号 402 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、(c) 配列番号 403 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、(d) 配列番号 404 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、(e) 配列番号 405 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び (f) 配列番号 406 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、

50

または

v i ) ( a ) 配列番号 5 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 5 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 5 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 5 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 5 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 5 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

v i i ) ( a ) 配列番号 6 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 6 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 6 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 6 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 6 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 6 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

10

v i i i ) ( a ) 配列番号 7 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 7 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 7 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 7 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 7 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 7 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

i x ) ( a ) 配列番号 8 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 8 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 8 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 8 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 8 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 8 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

20

x ) ( a ) 配列番号 9 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 9 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 9 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 9 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 9 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 9 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

x i ) ( a ) 配列番号 1 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 1 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 1 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 1 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 1 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 1 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

30

x i i ) ( a ) 配列番号 2 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 2 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 2 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 2 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 2 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 2 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

x i i i ) ( a ) 配列番号 3 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 3 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 3 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 3 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 3 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 3 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3、または

40

x i v ) ( a ) 配列番号 4 0 0 1 のアミノ酸配列を含む H C D R 1、( b ) 配列番号 4 0 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2、( c ) 配列番号 4 0 0 3 のアミノ酸配列を含む H C D R 3、( d ) 配列番号 4 0 0 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1、( e ) 配列番号 4 0 0 5 のアミノ酸配列を含む L C D R 2、及び ( f ) 配列番号 4 0 0 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む、前記単離された抗体。

( 項目 2 )

前記抗体が重鎖可変領域 ( V H ) 及び軽鎖可変領域 ( V L ) を含み、

i ) 前記 V H が、配列番号 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり

50

x i ) 前記 V H が、配列番号 1 0 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一

50

であり、前記 V L が、配列番号 1 0 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であるか、または

x i i ) 前記 V H が、配列番号 2 0 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 2 0 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であるか、または

x i i i ) 前記 V H が、配列番号 3 0 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 3 0 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であるか、または

x i v ) 前記 V H が、配列番号 4 0 1 2 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一であり、前記 V L が、配列番号 4 0 1 8 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、もしくは 1 0 0 % 同一である、項目 1 に記載の単離された抗体。

( 項目 3 )

前記抗体が重鎖可変領域 ( V H ) 及び軽鎖可変領域 ( V L ) を含み、

i ) 前記 V H が配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i i ) 前記 V H が配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i i i ) 前記 V H が配列番号 2 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 2 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i v ) 前記 V H が配列番号 3 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 3 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v ) 前記 V H が配列番号 4 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 4 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v i ) 前記 V H が配列番号 5 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 5 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v i i ) 前記 V H が配列番号 6 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 6 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

v i i i ) 前記 V H が配列番号 7 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 7 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

i x ) 前記 V H が配列番号 8 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 8 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x ) 前記 V H が配列番号 9 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 9 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i ) 前記 V H が配列番号 1 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i i ) 前記 V H が配列番号 2 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 2 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i i i ) 前記 V H が配列番号 3 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 3 0 1 8 のアミノ酸配列を含むか、または

x i v ) 前記 V H が配列番号 4 0 1 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 4 0 1 8 のアミノ酸配列を含む、項目 1 または 2 に記載の単離された抗体。

( 項目 4 )

前記抗体がモノクローナル抗体である、先行項目のいずれか 1 項に記載の単離された抗体。

(項目5)

前記抗体が抗体断片である、先行項目のいずれか1項に記載の単離された抗体。

(項目6)

前記断片が、Fab、Fab'、Fv、scFv、または(Fab')<sub>2</sub>である、項目6に記載の単離された抗体。

(項目7)

前記抗体が完全長抗体である、項目1～5のいずれか1項に記載の単離された抗体。

(項目8)

前記抗体のFc領域が、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4を含む、項目1～8のいずれか1項に記載の単離された抗体。

10

(項目9)

前記抗体が、ヒトIgG1重鎖定常領域を含む、項目1～8のいずれか1項に記載の単離された抗体。

(項目10)

前記抗体が、ヒトIgG4重鎖定常領域を含む、項目1～8のいずれか1項に記載の単離された抗体。

(項目11)

前記抗体が、変異体ヒトIgG4重鎖定常領域を含む、項目11に記載の単離された抗体。

(項目12)

前記変異体IgG4重鎖定常領域が、EU番号付けに従って番号付けすると、Ser228での置換、Leu235での置換、Asn297での置換、またはそれらの組み合わせから選択される変異を含む、項目11に記載の単離された抗体。

20

(項目13)

前記変異体IgG4重鎖定常領域が、EU番号付けに従って番号付けすると、S228P置換及びL235E置換を含む、項目11に記載の単離された抗体。

(項目14)

前記抗体が、ヒトIgG1重鎖定常領域を含み、前記抗体が、

i) NK細胞脱顆粒を増加させ、及び/または

ii) NK細胞の活性化を増加させ、及び/または

iii) 抗TIGIT抗体と組み合わせて提示される際に、腫瘍内NK細胞の活性化を増加させ、及び/または

30

iv) インビボで腫瘍成長を阻害し、及び/または

v) 腫瘍を用いた再負荷時に腫瘍生着を防止する、項目1～9のいずれか1項に記載の単離された抗体。

(項目15)

先行項目のいずれか1項に記載の抗体のヒト化または完全ヒトバージョン。

(項目16)

項目1～15のいずれか1項に記載の抗体と、薬学的に許容される担体と、を含む、組成物。

(項目17)

PD-1、PD-L1、CTLA-4、Lag-3またはTIM-3のアンタゴニストをさらに含む、項目16に記載の組成物。

40

(項目18)

対象における抗腫瘍免疫応答を、増強、増加、及び/または維持する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、腫瘍を有する対象に投与することを含む、前記方法。

(項目19)

対象におけるCD8<sup>+</sup>T細胞活性化を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、CD8<sup>+</sup>T細胞活性化を必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

50



## (項目20)

対象におけるCD8<sup>+</sup>T細胞インターフェロンガンマ産生を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、CD8<sup>+</sup>T細胞インターフェロンガンマ産生を必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

## (項目21)

対象におけるNK細胞活性化を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、NK細胞活性化を必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

## (項目22)

対象におけるNK細胞媒介性細胞傷害性を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、NK細胞媒介性細胞傷害性を増加させることを必要とする対象に投与することを含む、前記方法。

## (項目23)

対象におけるがんを治療する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を、がんを有する対象に投与することを含む、前記方法。

## (項目24)

前記がんが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、または白血病である、項目23に記載の方法。

## (項目25)

前記がんが、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、下垂体癌、食道癌、星状細胞腫、軟部組織肉腫、非小細胞肺癌(扁平上皮細胞非小細胞肺癌を含む)、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、結腸癌、大腸癌、子宮内膜もしくは子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、腎細胞癌、肝癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝細胞癌、脳癌、子宮内膜癌、精巣癌、胆管癌、胆嚢癌、胃癌、黒色腫、または様々な種類の頭頸部癌(頭頸部扁平上皮細胞癌を含む)である、項目23に記載の方法。

## (項目26)

対象におけるCD112とのCD226相互作用を増強する方法であって、項目1～15のいずれか1項に記載の抗体、または項目16もしくは17に記載の組成物を対象に投与することを含む、前記方法。

## (項目27)

前記方法が、第2の療法を投与することをさらに含む、項目18～26のいずれか1項に記載の方法。

## (項目28)

前記第2の療法が、放射線療法または外科手術である、項目27に記載の方法。

## (項目29)

前記第2の療法が、化学療法、オプソニン化剤、または制御性T細胞枯渇剤の投与である、項目27に記載の方法。

## (項目30)

前記第2の療法が、PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、またはTIM-3のアンタゴニストの投与である、項目27に記載の方法。

## (項目31)

前記第2の療法が、TIGITまたはCD96のアンタゴニストの投与である、項目27に記載の方法。

## (項目32)

前記第2の療法が、PVRL1、PVRL2、PVRL3、PVRL4、及びCD155のアンタゴニストの投与である、項目27に記載の方法。

## (項目33)

10

20

30

40

50

前記第2の療法が、CD47のアンタゴニストの投与である、項目27に記載の方法。

(項目34)

前記第2の療法が、CD39のアンタゴニストの投与である、項目27に記載の方法。

(項目35)

前記第2の療法が、IL-27のアンタゴニストの投与である、項目27に記載の方法。

(項目36)

前記第2の療法が、STINGアゴニストの投与である、項目27に記載の方法。

(項目37)

前記アンタゴニストが抗体である、項目30～35のいずれか1項に記載の方法。

(項目38)

項目1～15のいずれか1項に記載の抗体をコードする、核酸。

(項目39)

項目38に記載の核酸を含む、宿主細胞。

(項目40)

項目1～15のいずれか1項に記載の抗体を産生する方法であって、前記抗体が発現される条件下で、項目39に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記方法。

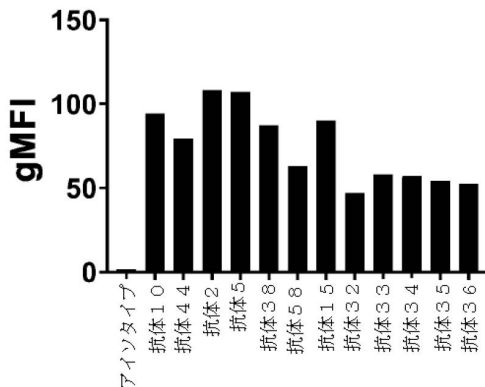
(項目41)

前記抗体を精製することをさらに含む、項目40に記載の方法。

【図面】

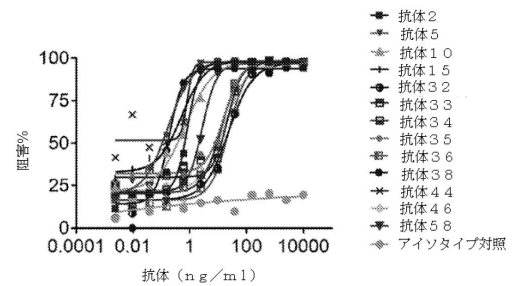
【図1】

抗CD112R抗体はCD112Rに結合する



【図2A】

抗CD112R抗体は、CD112がCD112R発現細胞に結合することを遮断する



10

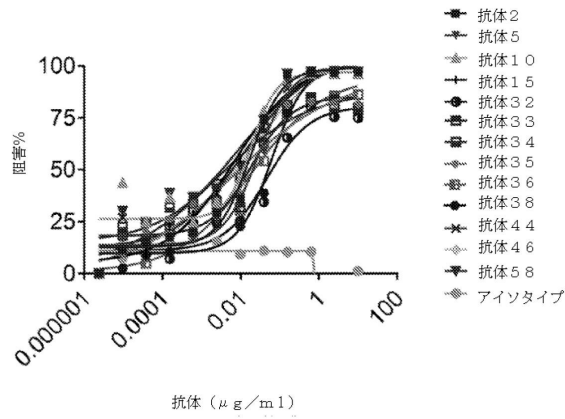
20

30

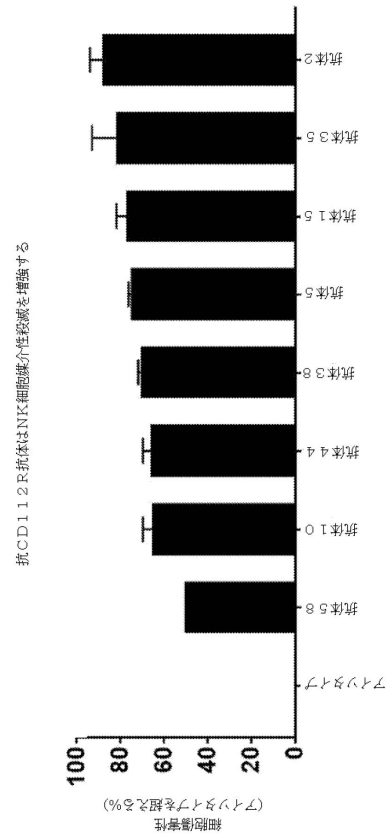
40

50

【図 2 B】

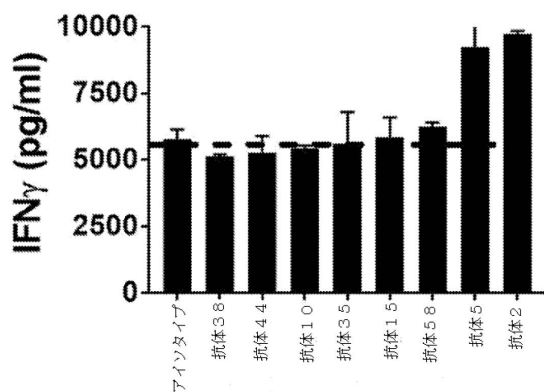


【図 3】



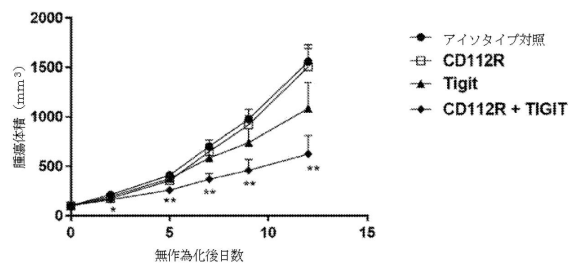
【図 4】

抗CD112R抗体は、IFN $\gamma$ 分泌によって測定されるようなCD8+T細胞の抗原駆動活性化を増強する



【図 5】

CD112R及びTigitの併用遮断のインビボ有効性



10

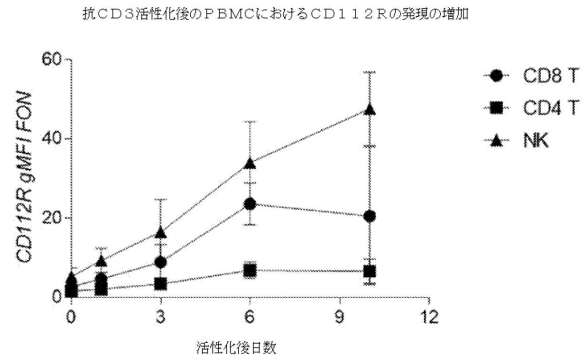
20

30

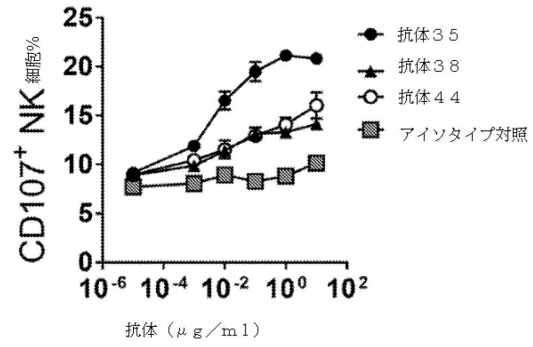
40

50

【図 6】

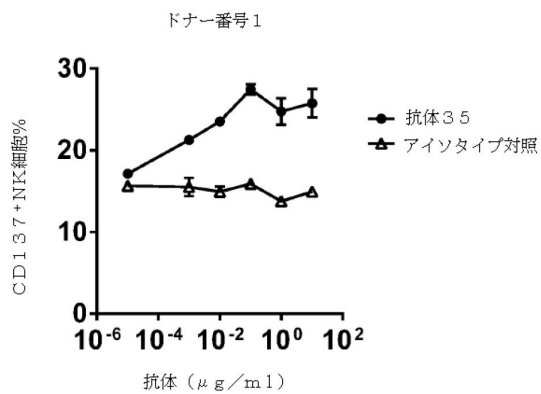


【図 7】

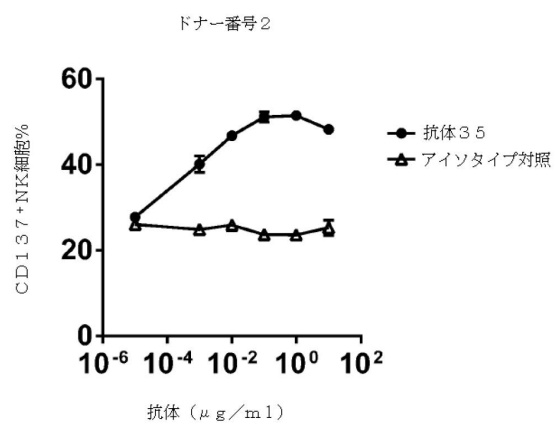


10

【図 8 A】



【図 8 B】



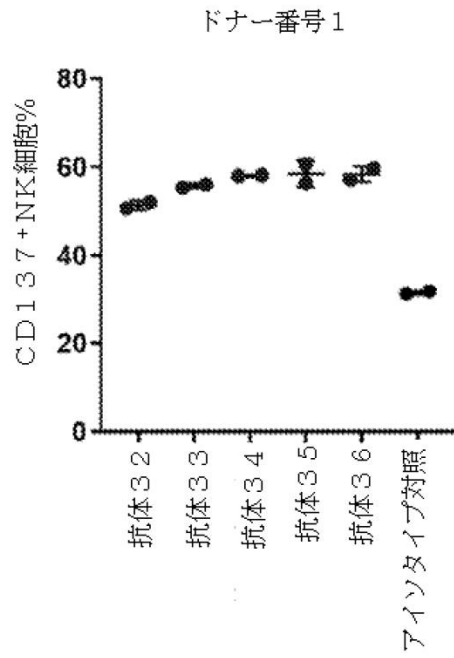
20

30

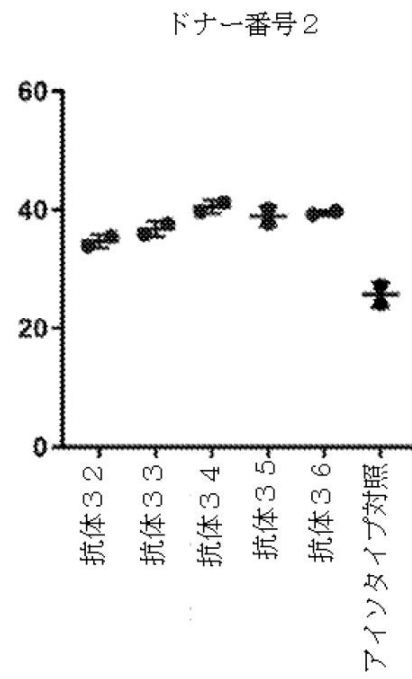
40

50

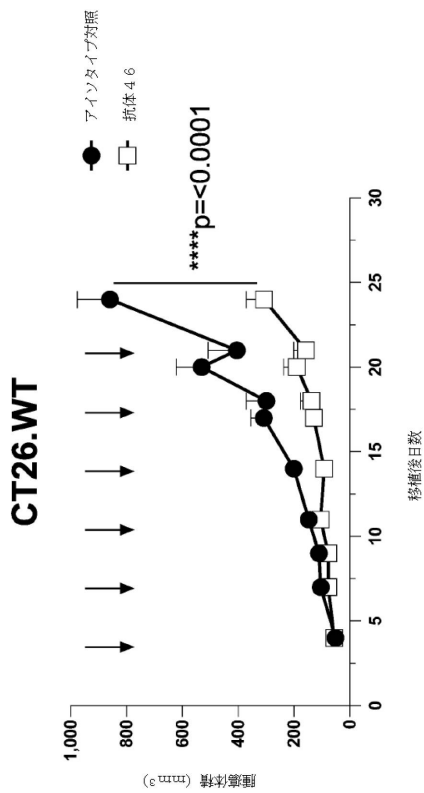
【図 8 C】



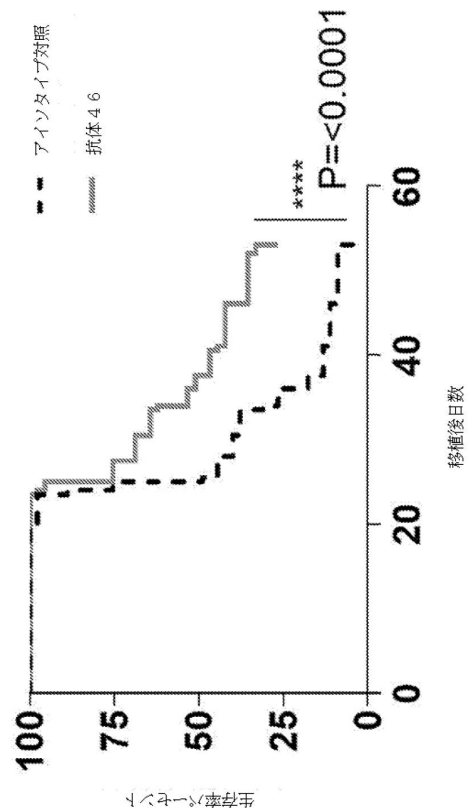
【図 8 D】



【図 9】



【図 10 A】



10

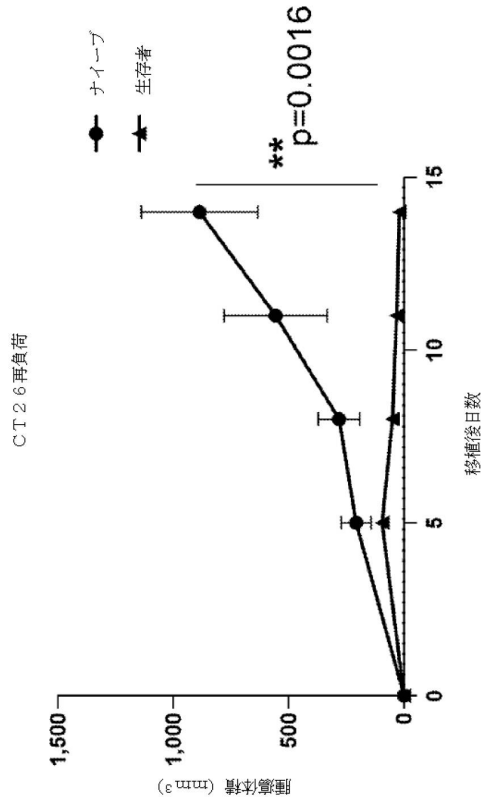
20

30

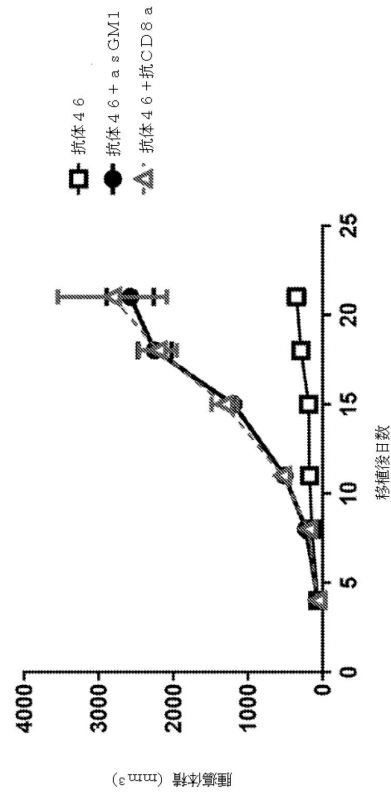
40

50

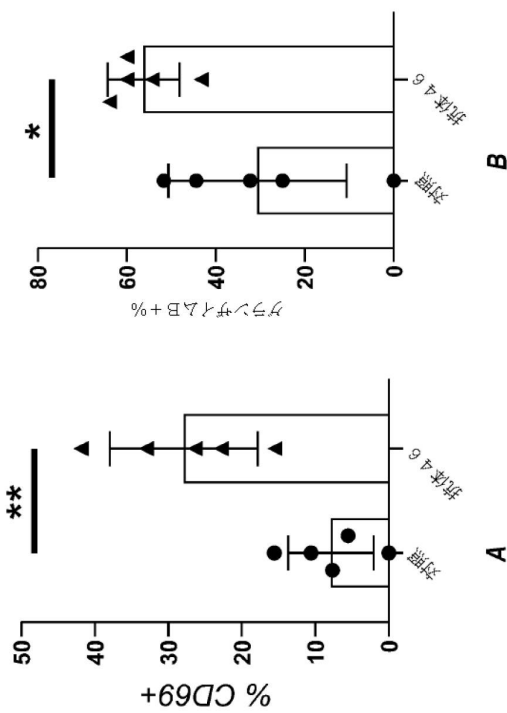
【図 10 B】



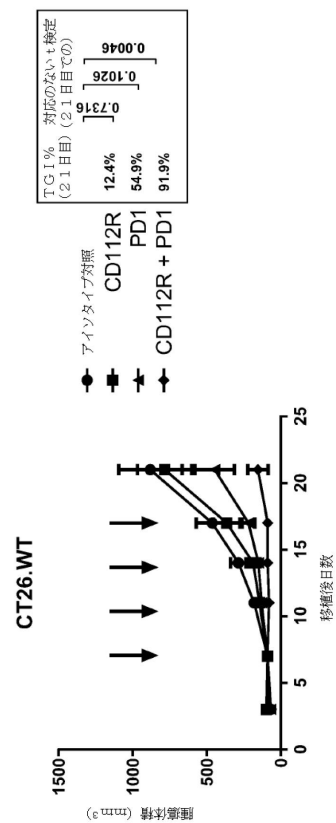
【図 11】



【図 12】



【図 13 A】



10

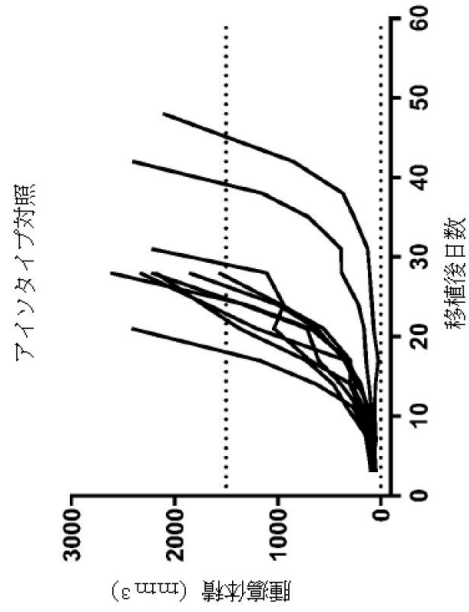
20

30

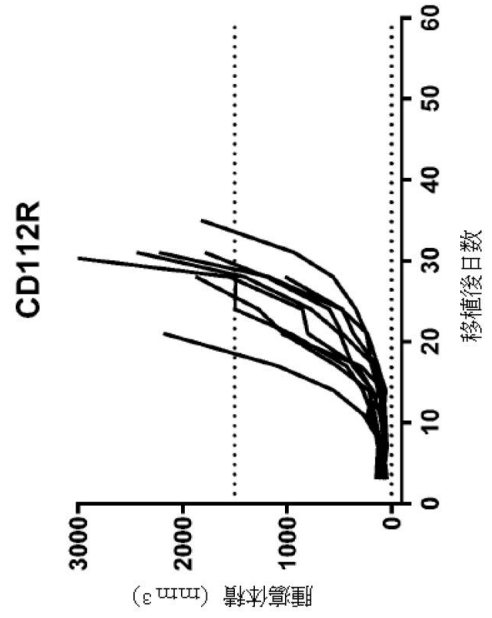
40

50

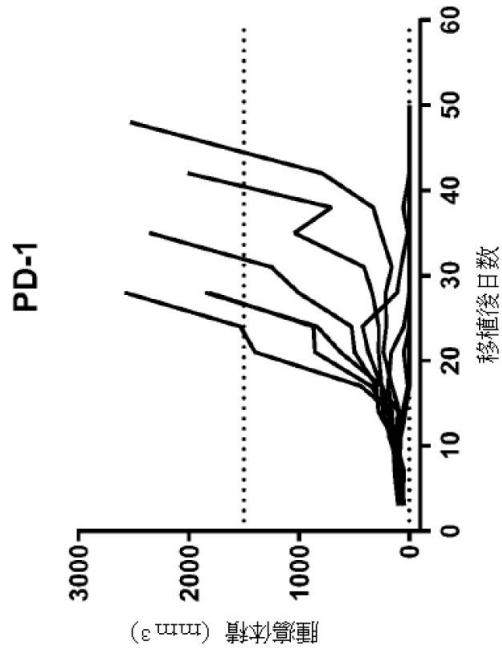
【図 1 3 B】



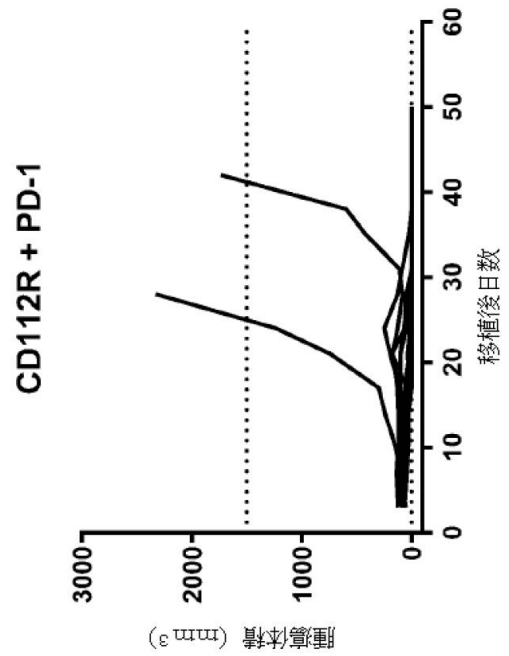
【図 1 3 C】



【図 1 3 D】



【図 1 3 E】



10

20

30

40

50

【図 1 3 F】

無腫瘍生存率 (10のうち)				
群	アイソタイプ対照	CD112R	PD-1	CD112R + PD-1
	0	0	4	8

【図 1 4 A】

36H1	GTFATYAIS	9	77.78%
44H1	GTFDNYYIS	9	66.67%
33H1	GTFGNYAIS	9	77.78%
47H1	GTFSNYAIS	9	88.89%
35H1	GTFSSAAIS	9	88.89%
34H1	GTFSSAAIS	9	88.89%
32H1	GTFSSYAIS	9	100%
38H1	FTFSGHLS	9	44.44%
10H1	FTFDDYAVH	9	44.44%
2H1	FTFSEYTMN	9	44.44%
5H1	FTFSDYAMI	9	55.56%
58H1	FTFGDYAMS	9	55.56%
46H1	FTFGDYAMS	9	55.56%
15H1	FTFGDVAMS	9	44.44%

Fig. 14A

【図 1 4 B】

35H2	--NIIPVGIANYAQKFQ	17	82.35%
33H2	--GIPIPIGIANYAQKFQ	17	88.24%
36H2	--GIFPLSGTANYAQKFQ	17	88.24%
34H2	--GIFPISGHANYAQKFQ	17	88.24%
32H2	--GIPIISGTANYAQKFQ	17	100%
44H2	--GIFPIFGTANYAQKFQ	17	88.24%
47H2	--GIPIPIFGTANYAQKFQ	17	94.12%
58H2	FIGSKFYGGTEYTASVK	19	23.53%
15H2	YIGSKAYGGTEYTASVK	19	23.53%
46H2	FIGSKAYGGTEYTASVK	19	29.41%
10H2	--GISWSSGLIGYADSVK	17	41.18%
2H2	--AIVGSGDSTYYADSVK	17	23.53%
5H2	--AISGGGESTYYADSVK	17	23.53%
38H2	--AISGSAGETYYADSVK	17	29.41%

Fig. 14B

【図 1 4 C】

15H3	-ARAGHSYG---SIASNWFDP	17	31.25%
35H3	--ARDTGRG---YTRHFWFDP	16	100%
32H3	--ARDTGRG---YTRHFWFDP	16	100%
33H3	--ARDTGRG---YTRHFWFDP	16	100%
34H3	--ARDTGRG---YTRHFWFDP	16	100%
36H3	--ARDTGRG---YTRHFWFDP	16	100%
38H3	--ARDAYYDDWSGWADWYFDL	19	31.25%
44H3	AREVGHY-----SGSPYYMDV	16	7.14%
10H3	AKG--PPT----YQDYFDL--	13	18.18%
2H3	--AKDYSSG---DWIDYGMDV	16	25%
5H3	--AKDYSSG---DWIDYGMDV	16	25%
58H3	ARG-----P---RRYTYGMDV	13	9.09%
46H3	ARG-----P---RRYTYGMDV	13	9.09%
47H3	ARGRGALAL---VGPYYGMDV	18	12.50%

Fig. 14C

10

20

30

40

50



## 【 図 1 4 D 】

10L1	RASQSVS-----RYLA	11	72.73%
38L1	RASQSVS-----RYLA	11	72.73%
44L1	RASQSTN-----SWLA	11	72.73%
2L1	QASQDIS-----NYLN	11	72.73%
5L1	QASQDIS-----NYLN	11	72.73%
58L1	RASQSTIS-----SYLN	11	100%
15L1	RASQSTIS-----SYLN	11	100%
<b>35L1</b>	<b>RASQSTIS-----SYLN</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>
46L1	RASQSTIS-----SYLN	11	100%
<b>32L1</b>	<b>RASQSTIS-----SYLN</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>
<b>33L1</b>	<b>RASQSTIS-----SYLN</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>
<b>34L1</b>	<b>RASQSTIS-----SYLN</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>
<b>36L1</b>	<b>RASQSTIS-----SYLN</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>
47L1	RSSQSLHNSNGYNYLD	16	54.55%

Fig. 14D

## 【 図 1 4 E 】

47L2	LGSHRAS	7	28.57%
2L2	DASNLAT	7	42.86%
5L2	DASNLAT	7	42.86%
10L2	DASNRAT	7	28.57%
38L2	DASNRAT	7	28.57%
44L2	DASSLES	7	71.43%
58L2	AASSLQS	7	100%
<b>35L2</b>	<b>AASSLQS</b>	<b>7</b>	<b>100%</b>
46L2	AASSLQS	7	100%
<b>32L2</b>	<b>AASSLQS</b>	<b>7</b>	<b>100%</b>
<b>33L2</b>	<b>AASSLQS</b>	<b>7</b>	<b>100%</b>
<b>34L2</b>	<b>AASSLQS</b>	<b>7</b>	<b>100%</b>
<b>36L2</b>	<b>AASSLQS</b>	<b>7</b>	<b>100%</b>
15L2	GASSLQS	7	85.71%

10

Fig. 14E

## 【 図 1 4 F 】

47L3	-MQALRAPT-	8	0%
15L3	-QQGFYTPWT	9	14.29%
44L3	QQVGPYL--T	8	28.57%
58L3	QQSSTPL--T	8	42.86%
46L3	QQSSTPL--T	8	42.86%
<b>35L3</b>	<b>QQSDILYT--</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>
<b>32L3</b>	<b>QQSDILYT--</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>
<b>33L3</b>	<b>QQSDILYT--</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>
<b>34L3</b>	<b>QQSDILYT--</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>
<b>36L3</b>	<b>QQSDILYT--</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>
10L3	QQVSFFPPIT	10	25%
2L3	QQFDLLPPT-	9	50%
5L3	QQFDLLPPT-	9	50%
38L3	QQVSLLPPT-	9	37.5%

Fig. 14F

## 【 図 1 5 A 】

<u>FR1</u>		
<b>36VH</b>	<b>QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASG</b>	<b>100%</b>
<b>33VH</b>	<b>QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASG</b>	<b>100%</b>
<b>35VH</b>	<b>QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASG</b>	<b>100%</b>
<b>32VH</b>	<b>QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASG</b>	<b>100%</b>
<b>34VH</b>	<b>QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASG</b>	<b>100%</b>
44VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASG	100%
47VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASG	96.15%
58VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASG	53.85%
46VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASG	53.85%
15VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASG	53.85%
10VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASG	53.85%
38VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASG	50%
2VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASG	57.69%
5VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASG	50%

20

30

Fig. 15A

40

50

【 1 5 B 】

FR2

36VH	WVRQAPGQGLEWMG	100%
33VH	WVRQAPGQGLEWMG	100%
35VH	WVRQAPGQGLEWMG	100%
32VH	WVRQAPGQGLEWMG	100%
34VH	WVRQAPGQGLEWMG	100%
44VH	WVRQAPGQGLEWMG	100%
47VH	WVRQAPGQGLEWMG	100%
58VH	WFRQAPGKGLEWVG	78.57%
46VH	WFRQAPGKGLEWVG	78.57%
15VH	WFRQAPGKGLEWVG	78.57%
10VH	WV-----WVS	60%
38VH	WVRQAPGKGLEWVS	78.57%
2VH	WVRQAPGKGLEWVS	78.57%
5VH	WVRQAPGKGLEWVS	78.57%

**Fig. 15B**

【 1 5 C 】

FR3

36VH	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	100%
33VH	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	100%
35VH	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	100%
32VH	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	100%
34VH	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	100%
44VH	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	100%
47VH	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED	TAVYYC	100%
58VH	RFTISRDKGSKSIAYLQMN	SLKTEDTAVYYC	60%
46VH	RFTISRDKGSKSIAYLQMN	SLKTEDTAVYYC	60%
15VH	RFTISRDKGSKSIAYLQMN	SLKTEDTAVYYC	60%
10VH	RFTISRDNKNSLYLQMN	SLRAEDTAVYYC	53.33%
38VH	RFTISRDNKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYC	60%
2VH	RFTISRDNKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYC	60%
5VH	RFTISRDNKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYC	60%

**Fig. 15C**

10

【 1 5 D 】

FR4

36VH	WGQGTILVTVSS	100%
33VH	WGQGTILVTVSS	100%
35VH	WGQGTILVTVSS	100%
32VH	WGQGTILVTVSS	100%
34VH	WGQGTILVTVSS	100%
44VH	WGKGTTVTVSS	81.82%
47VH	WGQGTIVTVSS	90.91%
58VH	WGQGTIVTVSS	90.91%
46VH	WGQGTIVTVSS	90.91%
15VH	WGQGTILVTVSS	100%
10VH	WGRGTLVTVSS	90.91%
38VH	WGRGTLVTVSS	90.91%
2VH	WGQGTIVTVSS	90.91%
5VH	WGQGTIVTVSS	90.91%

**Fig. 15D**

【 1 5 E 】

FR1

47VL	DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISC	52.17%
10VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	52.17%
38VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	52.17%
2VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
5VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
44VL	DIQMTQSPSLTASASVGDRVTITC	95.65%
15VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
58VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
46VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
35VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
32VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
33VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
34VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%
36VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	100%

**Fig. 15E**

20

30

40

50

## 【 図 1 5 F 】

**FR2**

47VL	WYLQKPGQSPQLLIY	76.33%
10VL	WYQQKPGQAPRLLIY	86.67%
38VL	WYQQKPGQAPRLLIY	86.67%
2VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
5VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
44VL	WYQQKPGKAPKLLIS	93.33%
15VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
58VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
46VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
35VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
32VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
33VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
34VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%
36VL	WYQQKPGKAPKLLIY	100%

**Fig. 15F**

## 【 図 1 5 G 】

**FR3**

47VL	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	71.88%
10VL	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC	87.5%
38VL	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC	87.5%
2VL	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSSLQPEDFATYYC	93.75%
5VL	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSSLQPEDFATYYC	93.75%
44VL	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYC	93.75%
15VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%
58VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%
46VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%
35VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%
32VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%
33VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%
34VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%
36VL	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	100%

**Fig. 15G**

## 【 図 1 5 H 】

**FR4**

47VL	FGGGTKVEIK	100%
10VL	FGGGTKVEIK	100%
38VL	FGGGTKVEIK	100%
2VL	FGGGTKVEIK	100%
5VL	FGGGTKVEIK	100%
44VL	FGGGTKVEIK	100%
15VL	FGGGTKVEIK	100%
58VL	FGGGTKVEIK	100%
46VL	FGGGTKVEIK	100%
35VL	FGGGTKVEIK	100%
32VL	FGGGTKVEIK	100%
33VL	FGGGTKVEIK	100%
34VL	FGGGTKVEIK	100%
36VL	FGGGTKVEIK	100%

**Fig. 15H**

## 【 図 1 6 A 】

可変領域配列

36VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFATYAI	SWVRQAPGQGLEWMGGII--PISGTA
33VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFGNIAI	SWVRQAPGQGLEWMGGII--PIPGIA
35VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSAAI	SWVRQAPGQGLEWMGGII--PIVPIA
32VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAI	SWVRQAPGQGLEWMGGII--PISGTA
34VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSAAI	SWVRQAPGQGLEWMGGII--PISGHA
44VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFDNYYI	SWVRQAPGQGLEWMGGII--PIFGTA
47VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYAI	SWVRQAPGQGLEWMGGII--PIFGTA
58VH	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSLCTASGFTFGDYAMSW	FRQAPGKGLEWVGFISKPYGGGT
46VH	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSLCTASGFTFGDYAMSW	FRQAPGKGLEWVGFISKPYGGGT
15VH	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSLCTASGFTFGDYAMSW	FRQAPGKGLEWVGFISKPYGGGT
10VH	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSLCAASGFTFDYAVHWV	RQAPGKGLEWVGSIS--WSSGLI
38VH	EVQLLESGGGLVQPGSSLRSLCAASGFTFGHLSWV	RQAPGKGLEWVAIS--GSAGET
2VH	EVQLVESGGGLVQPGSSLRSLCAASGFTFSEYTNWV	RQAPGKGLEWVAIV--GSGDST
5VH	EVQLLESGGGLVQPGSSLRSLCAASGFTFSDYAMI	WVRQAPGKGLEWVAIS--GGGEST

36VH	NYAQQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	CARDTGRG--YT-RHFVDFPWGQ
33VH	NYAQQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	CARDTGRG--YT-RHFVDFPWGQ
35VH	NYAQQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	CARDTGRG--YT-RHFVDFPWGQ
32VH	NYAQQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	CARDTGRG--YT-RHFVDFPWGQ
34VH	NYAQQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	CARDTGRG--YT-RHFVDFPWGQ
44VH	NYAQQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	CAREVGRY--SG-SFYMDVWVGK
47VH	NYAQQFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC	CARGALALVG--PFYMDVWVGQ
58VH	EYTSVKGRTTISRDKSKIAVLMQNSLKTEDTAVYYC	CARGPRRY--TY----GMDVWVGQ
46VH	EYTSVKGRTTISRDKSKIAVLMQNSLKTEDTAVYYC	CARGPRRY--TY----GMDVWVGQ
15VH	EYTSVKGRTTISRDKSKIAVLMQNSLKTEDTAVYYC	CARGHSY--GSIASNWFDPWGQ
10VH	GYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC	CAKGPPT-----YQDYFDLWGR
38VH	YYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC	CARDAYYDDWSGWADWYFDLWGR
2VH	YYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC	CAKDYSSGD---WIDYGMVWVGQ
5VH	YYADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC	CAKDYSSGD---WIDYGMVWVGQ

36VH	GTLVTVSS	123	96.75%
33VH	GTLVTVSS	123	96.75%
35VH	GTLVTVSS	123	96.75%
32VH	GTLVTVSS	123	100%
34VH	GTLVTVSS	123	97.56%
44VH	GTLVTVSS	123	84.55%
47VH	GTLVTVSS	125	86.99%
58VH	GTLVTVSS	122	55.00%
46VH	GTLVTVSS	122	55.83%
15VH	GTLVTVSS	126	55.28%
10VH	GTLVTVSS	120	54.17%
38VH	GTLVTVSS	126	53.66%
2VH	GTLVTVSS	123	54.55%
5VH	GTLVTVSS	123	53.72%

10

20

30

40

50

【図 16 B】

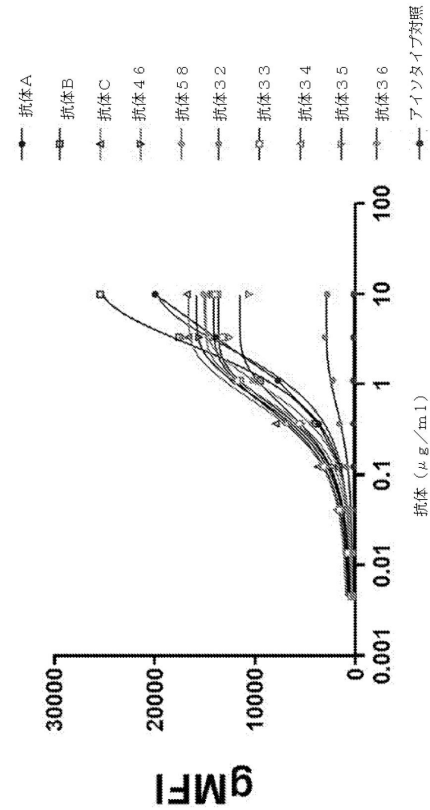
47VL	DIWVTQSPFLSLPVTGPCEPASISCRSSQSLHNGYNYLDWYIQKFGQSPQLLIYLGSHRA	
10VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSV-----SRVLAWYQQKPGKAPRLIYDASNRA	
38VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
2VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
5VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
44VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
15VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
58VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
46VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
35VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
32VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
33VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
34VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	
36VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDI-----SNYLWYQQKPGKAPKLLIYDASNLA	

47VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--DILYTFGGGTKVEIK	111	62.26%
10VL	TGIPARFSGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQSFFPPITPGGGTKVEIK	108	71.7%
38VL	TGIPARFSGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQVSLLP--TFGGGTKVEIK	107	72.38%
2VL	TGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQF--DILPPTFGGGTKVEIK	107	86.79%
5VL	TGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQF--DILPPTFGGGTKVEIK	107	86.79%
44VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQV--STPLTFGGGTKVEIK	106	86.79%
15VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--FYTWTFGGGTKVEIK	107	94.34%
58VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--STPLTFGGGTKVEIK	106	96.23%
46VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--STPLTFGGGTKVEIK	106	96.23%
35VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--DILYTFGGGTKVEIK	106	100%
32VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--DILYTFGGGTKVEIK	106	100%
33VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--DILYTFGGGTKVEIK	106	100%
34VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--DILYTFGGGTKVEIK	106	100%
36VL	SGVPSRFGSGSGSDFTLTISSIQPEDFATYYCQQS--DILYTFGGGTKVEIK	106	100%

Fig. 16B

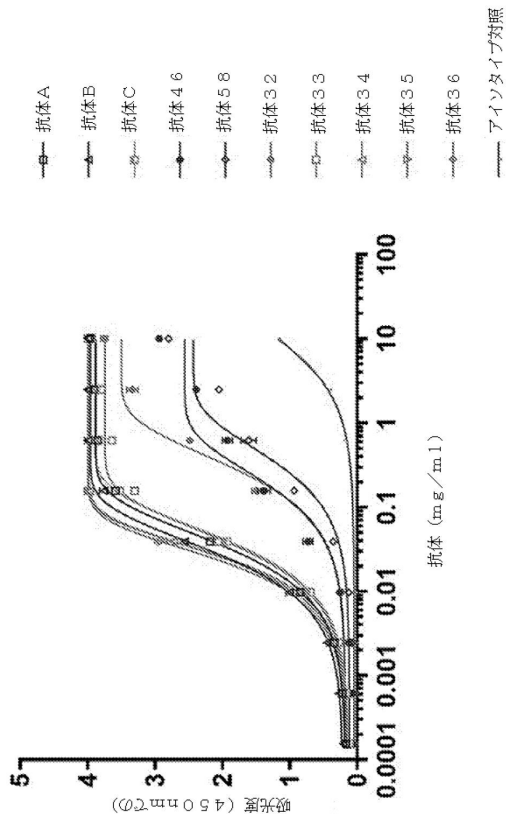
【図 17】



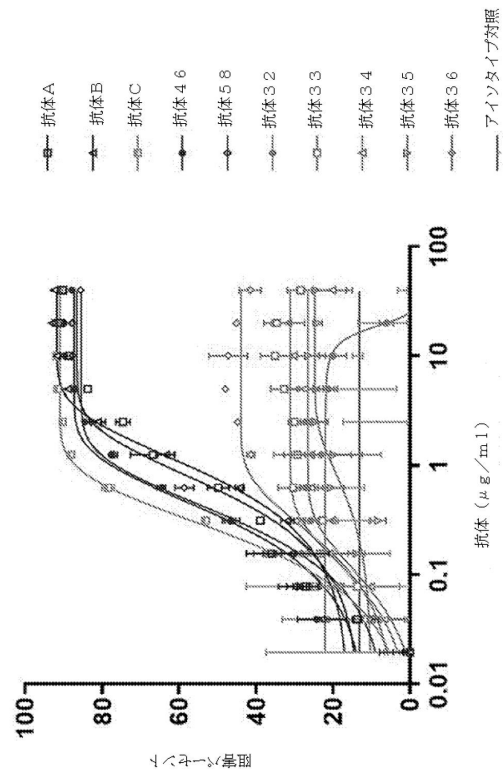
10

20

【図 18】



【図 19】



30

40

50

【配列表】

0007072715000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	38/02 (2006.01)	A 6 1 K	38/02	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
		A 6 1 P	35/00	
		A 6 1 P	35/02	

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

## 早期審査対象出願

弁理士 石川 大輔

## (74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

## (72)発明者 ブリンツ, ビアンカ

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー 0 3 7 6 6, レバノン, ルーセント ドライブ 7

## (72)発明者 ボランド, ナドタカーン

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー 0 3 7 6 6, レバノン, ルーセント ドライブ 7

## (72)発明者 シュッツ, ケヴィン

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー 0 3 7 6 6, レバノン, ルーセント ドライブ 7

## (72)発明者 ブコウスキ, ジョン

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー 0 3 7 6 6, レバノン, ルーセント ドライブ 7

## (72)発明者 シモンズ, ジェニファー

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー 0 3 7 6 6, レバノン, ルーセント ドライブ 7

## (72)発明者 モーハン, ジェイムズ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, ハンプシャー ストリート 5  
0, 8 ティーエイチ フロア

## (72)発明者 シチェヴァ, マリセラ パンドゥーロ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, ハンプシャー ストリート 5  
0, 8 ティーエイチ フロア

審査官 山内 達人

## (56)参考文献 国際公開第 2 0 1 8 / 0 3 3 7 9 8 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 1 7 / 0 4 1 0 0 4 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 1 6 / 1 3 4 3 3 3 (WO, A 1)

岡山医学会雑誌, 2009年, 第121巻, pp. 119-122

## (58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N

C 0 7 K

A 6 1 K

A 6 1 P

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )