

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-508868
(P2025-508868A)

(43)公表日 令和7年4月10日(2025.4.10)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/22 (2006.01)	C 0 7 K	16/22		4 B 0 6 3
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 7 6
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全45頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-550558(P2024-550558)			(71)出願人	511058419
(86)(22)出願日	令和5年2月23日(2023.2.23)				エー アンド ジー ファーマシューティ
(85)翻訳文提出日	令和6年10月22日(2024.10.22)				カル, インコーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2023/063169				アメリカ合衆国 2 1 0 4 5 メリーラン
(87)国際公開番号	WO2023/164581				ド州, コロンビア, レッド ブランチ ロ
(87)国際公開日	令和5年8月31日(2023.8.31)				ード 9 1 3 0
(31)優先権主張番号	63/313,304			(74)代理人	100103610
(32)優先日	令和4年2月24日(2022.2.24)				弁理士 ▲吉▼田 和彦
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100109070
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV			(74)代理人	弁理士 須田 洋之
	最終頁に続く			(74)代理人	100119013
				(74)代理人	弁理士 山崎 一夫
				(74)代理人	100111796
				(74)代理人	弁理士 服部 博信
				(74)代理人	100123766
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ヒトプログラニュリンに対する完全ヒトモノクローナル抗体

(57)【要約】

本明細書には、ヒトプログラニュリンと特異的に結合し、患者の癌の治療に有用な抗体、特にモノクローナル抗体が記載される。それらを調製及び使用するための方法も提供される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a) それぞれ配列番号 1、2、及び 3 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と配列番号 4、5、及び 6 の C D R 配列を含む軽鎖可変領域；
 - b) それぞれ配列番号 7、8、及び 9 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と配列番号 10、11 及び 12 の C D R 配列を含む軽鎖可変領域；
 - c) それぞれ配列番号 13、14、及び 15 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と配列番号 16、17、及び 18 の C D R 配列を含む軽鎖可変領域；
 - d) それぞれ配列番号 19、20、21 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と配列番号 22、23、及び 24 の C D R 配列を含む軽鎖可変領域；
 - e) それぞれ配列番号 1～3 と 7～9 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - f) それぞれ配列番号 4～6 と 10～12 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - g) それぞれ配列番号 13 と配列番号 14 を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - h) それぞれ配列番号 15～17 と 21～23 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - i) それぞれ配列番号 18～20 と 24～26 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - j) それぞれ配列番号 27 と配列番号 28 を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - k) それぞれ配列番号 29～31 と 35～37 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - l) それぞれ配列番号 32～34 と 38～40 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - m) それぞれ配列番号 41 と配列番号 42 を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - n) それぞれ配列番号 43～45 と 49～51 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - o) それぞれ配列番号 46～48 と 52～54 の C D R 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
 - p) それぞれ配列番号 55 と配列番号 56 を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；
- 又は a)～p) のいずれか 1 つの誘導体
を含み、ヒトプログランニューリンと特異的に結合する、単離された抗体又はその抗原結合フラグメント。

10

20

30

【請求項 2】

- a) 配列番号 25 を含む重鎖可変領域と配列番号 27 を含む軽鎖可変領域；
 - b) 配列番号 29 を含む重鎖可変領域と配列番号 31 を含む軽鎖可変領域；
 - c) 配列番号 33 を含む重鎖可変領域と配列番号 35 を含む軽鎖可変領域；又は
 - d) 配列番号 37 を含む重鎖可変領域と配列番号 39 を含む軽鎖可変領域
- を含む、請求項 1 に記載の単離された抗体又はその抗原結合フラグメント。

40

【請求項 3】

in vitro 及び／又は *in vivo* で *hu* PGRN を発現する細胞に内部移行する、請求項 1～2 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 4】

前記細胞上の *hu* PGRN 受容体との結合に関してトラスツズマブと競合する、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 5】

抗体 10C8、16C11、14A6、及び 10B3 からなる群から選択される、請求項 4 に記載の抗体。

【請求項 6】

前記細胞上の *hu* PGRN 受容体との結合に関してトラスツズマブと競合しない、請

50

求項 1～5 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 7】

抗体 10C8、16C11、14A6、及び 10B3 からなる群から選択される、請求項 6 に記載の抗体。

【請求項 8】

請求項 6 又は 7 に記載の抗体の組合せ。

【請求項 9】

単離されたモノクローナル抗体である、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 10】

前記モノクローナル抗体がヒトモノクローナル抗体である、請求項 9 に記載の抗体。 0 10

【請求項 11】

前記抗体がヒト抗体、ヒト IgG、ヒト IgG1、ヒト IgG2、ヒト IgG2a、ヒト IgG2b、ヒト IgG3、ヒト IgG4、ヒト IgM、ヒト IgA、ヒト IgA1、ヒト IgA2、ヒト IgD、ヒト IgE、イヌ抗体、イヌ IgGA、イヌ IgGB、イヌ IgGC、イヌ IgGD、ニワトリ抗体、ニワトリ IgA、ニワトリ IgD、ニワトリ IgE、ニワトリ IgG、ニワトリ IgM、ニワトリ IgY、ヤギ抗体、ヤギ IgG、マウス抗体、マウス IgG、ブタ抗体、ラット抗体、ラマ抗体、アルパカ抗体、サメ抗体及びラクダ抗体から誘導される、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 12】

任意選択により Fab、Fab2、Fab' 一本鎖抗体、一本鎖 F₁、一重特異性抗体、二重特異性抗体、三量体抗体、多重特異性抗体、多価抗体、キメラ抗体、イヌーヒトキメラ抗体、イヌーマウスキメラ抗体、イヌFcを含む抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、ラクダ化抗体、CDRグラフト抗体、サメ抗体、及びナノボディからなる群から選択される、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の抗体の誘導体。 20

【請求項 13】

固定的に結合された検出可能な標識を含み、任意選択により、前記検出可能な標識は、フルオレセイン、DyLight、Cy3、Cy5、FITC、HiLyte Fluor 555、HiLyte Fluor 647、5-カルボキシ-2，7-ジクロロフルオレセイン、5-カルボキシフルオレセイン、5-FAM、ヒドロキシトリプタミン、5-ヒドロキシトリプタミン（5-HAT）、6-カルボキシフルオレセイン（6-FAM）、FITC、6-カルボキシ-1，4-ジクロロ-2'，7'-ジクロロフルオレセイン（TET）、6-カルボキシ-1，4-ジクロロ-2'，4'，5'，7'-テトラクロロフルオレセイン（HEX）、6-カルボキシ-4'，5'-ジクロロ-2'，7'-ジメトキシフルオレセイン（6-JOE）、アレクサフルオル、アレクサフルオル350、アレクサフルオル405、アレクサフルオル430、アレクサフルオル488、アレクサフルオル500、アレクサフルオル514、アレクサフルオル532、アレクサフルオル546、アレクサフルオル555、アレクサフルオル568、アレクサフルオル594、アレクサフルオル610、アレクサフルオル633、アレクサフルオル635、アレクサフルオル647、アレクサフルオル660、アレクサフルオル680、アレクサフルオル700、アレクサフルオル750、BODIPY 蛍光団、BODIPY 492/515、BODIPY 493/503、BODIPY 500/510、BODIPY 505/515、BODIPY 530/550、BODIPY 542/563、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650-X、BODIPY 650/665-X、BODIPY 665/676、FL、FL ATP、FIEセラミド、R6G SE、TMR、TMR-Xコンジュゲート、TMR-X、SE、TR、TR ATP、TR-X SE、ローダミン、ローダミン110、ローダミン123、ローダミンB、ローダミンB 200、ローダミンBB、ローダミンBG、ローダミンBエクストラ、5-カルボキシテトラメチルローダミン（5-TAMRA）、5 GLD、6-カルボキシローダミン6G、リサミン、リサミンローダミンB、ファリシジン、ファロイジン 30 40 50

、ローダミンレッド、ロードー2，6-カルボキシ-X-ローダミン（ROX）、カルボキシ-X-ローダミン（5-ROX）、スルホローダミンB can C、スルホローダミンGエクストラ、6-カルボキシテトラメチル-ローダミン（TAMRA）、テトラメチルローダミン（TRITC）、ローダミンWT、テキサスレッド、及びテキサスレッド-Xからなる群から選択される、請求項1～12のいずれか一項に記載の抗体の誘導体。

【請求項14】

それに結合されたエフェクター部分を含み、任意選択により、前記エフェクター部分は、細胞傷害性薬物、毒素、ジフテリアA鎖、外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、クルシン、クロチン、フェノマイシン、エノマイシン、及び放射性化学物質からなる群から選択される、請求項1～13のいずれか一項に記載の抗体。

10

【請求項15】

前記抗体と前記エフェクター部分の間に配置された切断可能なリンカーを更に含み、前記切断可能なリンカーは、細胞中に又は細胞内で前記エフェクター部分を放出する、請求項14に記載の抗体。

【請求項16】

任意選択により、配列番号57～64のうち少なくとも1つの核酸配列を有する、請求項1～15のいずれか一項に記載の抗体をコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項17】

請求項16に記載の1以上のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項18】

請求項16に記載の単離されたポリヌクレオチド及び／又は請求項17に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

20

【請求項19】

少なくとも請求項1～15のいずれか一項に記載の抗体又は誘導体；請求項16に記載の少なくとも1つの単離されたポリヌクレオチド；又は請求項17に記載の少なくとも1つの発現ベクター；及び／若しくは請求項18に記載の少なくとも1つの宿主細胞；又はこれらの組合せ；並びに薬学上許容される担体を含む組成物。

【請求項20】

細胞上のhu PGRNを検出するための方法であって、試験生体サンプルを請求項1～15のいずれか一項に記載の抗体又は誘導体と接触させること、及び前記生体サンプル又はその成分に結合した抗体を検出することを含む、方法。

30

【請求項21】

前記細胞が乳癌、腺癌上皮成長因子受容体（EGF-R）乳癌、基底乳癌、エストロゲン受容体（ER）ルミナル乳癌、ER陽性タモキシフェン耐性ルミナル乳癌、レトロゾール耐性ルミナル乳癌、胆道癌、膀胱癌、脳癌、膠芽腫、大腸癌、類表皮癌、扁平上皮癌、食道癌、胃癌、肝細胞癌、腎臓癌、喉頭癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、骨髄腫／白血病、卵巣癌、前立腺癌、及び子宮癌細胞からなる群から選択される、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

前記試験生体サンプル又はその成分との結合の量と対照生体サンプル又はその成分との結合の量を比較することを更に含み、前記対照生体サンプル又はその成分に比べて前記試験生体サンプル又はその成分との結合が増加していれば、前記試験生体サンプルにhu PGRNを発現する細胞が存在していることを示す、請求項20又は21に記載の方法。

40

【請求項23】

前記試験生体サンプルが哺乳動物細胞、組織、又は血液である、請求項20～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

in vivo法又はin vitro法である、請求項20～23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

50

哺乳動物において癌を治療、予防及び／又は改善するための方法であって、前記哺乳動物に請求項 1～15 のいずれか一項に記載の抗体又は誘導体を含む少なくとも 1 有効用量の医薬組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 26】

前記癌が乳癌、腺癌上皮成長因子受容体（EGF-R）乳癌、基底乳癌、エストロゲン受容体（ER）ルミナル乳癌、ER 陽性タモキシフェン耐性ルミナル乳癌、レトロゾール耐性ルミナル乳癌、胆道癌、膀胱癌、脳癌、膠芽腫、大腸癌、類表皮癌、扁平上皮癌、食道癌、胃癌、肝細胞癌、腎臓癌、喉頭癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、骨髄腫／白血病、卵巣癌、前立腺癌、及び子宮癌からなる群から選択される、請求項 25 に記載の方法。

10

【請求項 27】

前記抗体がそれに結合した細胞傷害性エフェクター部分を含み、任意選択により、前記エフェクター部分は、細胞傷害性薬物、毒素、ジフテリア A 鎖、外毒素 A 鎖、リシン A 鎖、アブリン A 鎖、クルシン、クロチン、フェノマイシン、エノマイシン、及び放射性化学物質からなる群から選択される、請求項 25 又は 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記抗体が前記抗体と前記エフェクター部分の間に配置された切断可能なリンカーを含み、前記切断可能なリンカーは、細胞中に又は細胞内で前記エフェクター部分を放出する、請求項 25～27 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 29】

前記抗体が抗体－薬物複合体が投与される、請求項 25～28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

複数用量が前記動物に投与され；及び／又は前記抗体が約 1～50 mg/kg の投与量で投与される、請求項 25～29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

細胞内又は細胞上の hu PGRN の発現を検出するためのキットであって、請求項 1～30 のいずれか一項に記載の抗体又は誘導体及び使用説明書を含む、キット。

【請求項 32】

前記細胞が乳癌、腺癌上皮成長因子受容体（EGF-R）乳癌、基底乳癌、エストロゲン受容体（ER）ルミナル乳癌、ER 陽性タモキシフェン耐性ルミナル乳癌、レトロゾール耐性ルミナル乳癌、胆道癌、膀胱癌、脳癌、膠芽腫、大腸癌、類表皮癌、扁平上皮癌、食道癌、胃癌、肝細胞癌、腎臓癌、喉頭癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、骨髄腫／白血病、卵巣癌、前立腺癌、及び子宮癌細胞からなる群から選択される、請求項 31 に記載のキット。

30

【請求項 33】

前記抗体又は誘導体が凍結乾燥形態である、請求項 30～32 のいずれか一項に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

40

【0001】

関連出願

本願は、2022 年 2 月 24 日に出願された米国仮出願第 63/313,304 号の優先権を主張するものであり、その全体が本明細書の一部として援用される。

技術分野

本明細書では、完全ヒトモノクローナル抗体（mAb）を提供する。より詳しくは、本明細書では、GP88 としても知られるヒトプログラニュリンと特異的に結合する mAb を記載する。プログラニュリンの他の名称として、グラニュリン／エピセリン前駆体、GEP、及びアクログラニンがある。

【背景技術】

50

【0002】

癌の有望な新規治療及び診断標的が同定され、PC細胞由来成長因子（PCDF）（グラニュリンーエピセリン前駆体〔GEP又はGP88〕又はプログラニュリンとしても知られる）と呼ばれている。PCDF（本明細書ではプログラニュリンと呼称）は、プログラニュリン前駆体のタンパク質分解性プロセッシングによって誘導される6つのダブルシステインリッチポリペプチドのファミリーであるエピセリン／グラニュリンの前駆体と同一の、20kDaの炭水化物部分と68kDaのコアタンパク質を含む88kDaの糖タンパク質である(Bhandari, V. et al., Proc Natl Acad Sci USA 89(5): 1715-1719, 1992)。このファミリーの最初に同定されたメンバーは、ラット腎臓から単離された6kDaのポリペプチド成長調節因子エピセリン1及び2(Shoyab, M., et al., Proc Natl Acad Sci 87(20): 7912, 1990)又はヒト顆粒球抽出物由来のグラニュリン(Bateman et al. Biochem Biophys Res Commun 173(3): 1161-1168, 1990)である。

10

【0003】

エピセリン及びグラニュリンの相補的デオキシリボ核酸（cDNA）のクローニングは、それが、7.5kDaのシステインリッチエピセリン／グラニュリンリピート、シグナルペプチド、及びいくつかの推定グリコシル化部位を含む63kDaのタンパク質をコードすることを示した(Bhandari, V. et al., Proc Natl Acad Sci U S A 89(5): 1715-1719, 1992)。クローニングされ発現された前駆体の生物学的機能に関する研究は、それが生物学的に不活性であることを示唆した(Bhandari, V. et al., 1992 and P 20 lowman, G. et al., J Biol Chem 267(18): 13073-13078, 1992)。このことから、生物学的活性を獲得するためには、前駆体が6kDaの分子形態にプロセッシングされる必要があるという仮説が導かれた。この仮説に基づき、大きな分子量の形態はグラニュリン／エピセリン前駆体又はPGRNと定義され、現在ではプログラニュリンと呼ばれている。通常の生理条件下では、プログラニュリンは分泌されないが、成熟グラニュリン／エピセリンの前駆体として機能する。腫瘍性の高い奇形腫PC細胞株の培養培地から自己分泌型成長因子を精製したことを報告したSerrero研究室による研究は、17アミノ酸のシグナルペプチドと生物学的に活性な成長因子としての20kDaの炭水化物部分を有する88kDaの糖タンパク質として前駆体が生理的に存在することを初めて証明した(Zhou, G. et al., J Biol Chem 268(15): 10863-10869, 1993)。上皮又は間 30 葉起源のいくつかの細胞株に関する他の研究(Zanocco-Marani, T., et al., Cancer Res 59(20): 5331-5340, 1999; He, Z. et al., Cancer Research 62(19): 5590, 2002; He, Z. et al., J Mol Med 81(10): 600-612, 2003; Serrero, G, Biochem Biophys Res Commun 308(3): 409-413, 2003)では、プログラニュリンの自己分泌産生と分泌の獲得は、in vivoで調節を欠いた成長をもたらして腫瘍形成に至り、プログラニュリンが腫瘍性成長因子として作用することを示している。

20

30

【0004】

より高い自己分泌型プログラニュリンの発現レベルが、最高の悪性度を持つ乳癌細胞と関連している。例えば、プログラニュリンのメッセンジャーリボ核酸（mRNA）及びタンパク質発現は、不死化した非腫瘍性の乳腺上皮MCF-10A細胞及びエストロゲン受容体陽性（ER+）MCF-7細胞では非常に低い。対照的に、MDA-MB-468、453及び231などのより侵襲的なエストロゲン受容体陰性（ER-）細胞株では、プログラニュリンレベルの劇的な増加が見られる(Lu, R. et al., Proc Natl Acad Sci USA 97(8): 3993-3998, 2000)。更なる研究により、プログラニュリンがヒト乳癌細胞における17-βエストラジオール（E2）の増殖促進作用を媒介することが立証され、その中で、E2依存性MCF-7細胞におけるプログラニュリンの過剰発現は、E2受容体の状態及びE2応答性の変化なしに細胞をE2非依存性にし、細胞をタモキシフェン耐性にする(Lu, R. et al., Proc Natl Acad Sci USA 98(1): 142-147, 2001)。更に、プログラニュリンを過剰発現する腫瘍を持つタモキシフェン投与マウスは、タモキシフェンを投与していないマウスよりも大きな腫瘍を形成することが発見されており、 40 50

このことは、プログラニユリンを過剰発現するER+乳癌細胞は、タモキシフェンの増殖抑制効果に耐性を持つようになっただけでなく、タモキシフェンに不利な応答を示して*in vivo*での腫瘍増殖の刺激につながることを示している。タモキシフェンに対する耐性を付与することに加え、ER+乳癌細胞におけるプログラニユリンの過剰発現が、フルベストラント (FASLODEX)、アロマターゼ阻害剤レトロゾール、及び化学療法剤ドキソルビシンに対する耐性をもたらすことを示すデータもある (Tangkeangsirisin, W. et al., *Carcinogenesis* 25(9): 1587-1592, 2004; Abrhale; T. et al., *BMJ Cancer* 11: 231, 2011; Tangkeangsirisin, W. et al., *Advances in Breast Cancer Research Vol. 3 No. 3*: 11, 2014)。この後者の所見は、Kudohらによる研究 (Kudoh, R. et al., *Cancer Research* 60(15): 4161, 2000) により裏付けられ、マイクロアレイ解析で、プログラニユリンがドキソルビシン耐性乳癌細胞MCF-7/D40において有意に (12倍を超えて) 上方調節された遺伝子として同定された。又、ドキソルビシンで15時間処理したMCF-7細胞では、プログラニユリンが17倍に上方調節されていた。これらの結果は、乳癌におけるプログラニユリン発現の増加が化学療法耐性と関連していることを示している。

10

【0005】

プログラニユリン受容体は完全にはクローニングされていないので、それについてはほとんど知られていないが、増殖と生存を媒介するプログラニユリン依存性シグナル伝達経路がいくつかの研究室によって調べられている (Arechavaleta-Velasco, F. et al., *Med Oncol* 34(12): 194, 2017)。受容体に関しては、特異的、時間及び温度依存的なプログラニユリンの細胞への結合が飽和していることが示されている。架橋剤DSSを用いたビオチン化プログラニユリンのヒト乳癌細胞への架橋では、見かけの分子量が約190~200kDaの架橋腕の存在が示され、推定受容体の見かけの分子量は100~110kDaであることが示唆された (Xia et al., *Biochem Biophys Res Commun* 245(2): 539-543, 1998)。プログラニユリンに結合又は反応しない細胞は、このような架橋タンパク質複合体を呈さなかった。プログラニユリンによって媒介される細胞内シグナル伝達経路には、MAPK/ERK 1/2、PI-3キナーゼ、及びFAKが含まれ、細胞周期調節タンパク質サイクリンD1及びサイクリンBの活性化につながる (Zanocco-Marani, T. et al., *Cancer Res* 59(20): 5331-5340, 1999; Lu, R. et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 98(1): 142-147, 2001; He, Z. et al., *J Mol Med* 81(10): 600-612, 2003; Jones, M. B. et al., *Clin Cancer Res* 9(1): 44-51, 2003)。プログラニユリンとその受容体は、Her-2過剰発現乳癌において、EGF受容体ではなくHer-2受容体とクロストークし、Her-2のリン酸化をもたらし、続いてハーセプチン耐性をもたらすことが示されている (Kim, W. E. et al., *Clin Cancer Res* 12(14 Pt 1): 4192-4199, 2006)。

20

30

【0006】

プログラニユリンの生存機能に関して、作用機序を検討したところ、プログラニユリンはbcl-2の発現をアップレギュレートすることによってタモキシフェンのアポトーシス効果をブロックし、又、血管新生因子である血管内皮成長因子 (VEGF) 及びアンジオポエチン-2の発現を強く刺激することが示された (Tangkeangsirisin, W., et al., *Carcinogenesis* 25(9): 1587-1592, 2004)。プログラニユリンがVEGFを刺激したことから、プログラニユリンが転移に関与する他の過程も刺激するかどうかの検討が行われた。プログラニユリンをMCF-7細胞で過剰発現させるか外因的に添加すると、遊走、マトリックスメタロプロテアーゼ-9の発現及び浸潤が刺激された (Tangkeangsirisin, W. et al., Tangkeangsirisin, W. et al., *Cancer Res* 64(5): 1737-1743, 2004; Tangkeangsirisin, W. et al., *Carcinogenesis* 25(9): 1587-1592, 2004)。MMP-9に加えてMMP-2の活性化も報告されている (He, Z. et al., *J Mol Med* 81(10): 600-612, 2003)。このように、プログラニユリンは、少なくとも部分的には、それぞれVEGFとマトリックスメタロプロテアーゼの発現を刺激することによって媒介される血管新生と腫瘍細胞浸潤を刺激する (He, Z. et al., *Cancer Res*

40

50

earch 62(19): 5590, 2002; He et al., 2003; Tangkeangsirisin, W. et al., Cancer Res 64(5): 1737-1743, 2004; Tangkeangsirisin, W. et al., Carcinogenesis 25(9): 1587-1592, 2004)。これらのデータは、プログラニュリンレベルの増加が転移の増加と関連していることを示唆している。

最近、ヒトプログラニュリンに特異的に結合するAG01と呼ばれるヒト／マウスキメラモノクローナル抗体が*in vivo*で有効であることが示された。MDA-MB-231皮下腫瘍を有するマウスのAG01処置は、腫瘍増殖速度及び腫瘍重量の有意な減少を示したが、体重及び臓器質量は影響を受けなかった(Guha, R. et al., Breast Cancer Res Treat 186(3): 637-653, 2021)。

【発明の概要】

【0007】

よって、ヒトプログラニュリンと特異的に結合し、患者においてヒト癌を治療するのに有用な、ヒトプログラニュリンに対するmAb、特に完全ヒトmAbの必要がある。

【0008】

本発明では、プログラニュリン(PGRN、又はGP88)と結合するモノクローナル抗体、又は抗原結合フラグメントが提供される。本発明には、ヒトプログラニュリン(GP88)と K_D 100 pM以下で結合する単離された抗体、又は抗原結合フラグメントが記載される。例えば、本明細書に記載される単離された抗体又は抗原結合フラグメントは、ヒトプログラニュリンと K_D 10 pM以下、1 pM以下、0.1 pM以下、又は0.01 pM以下で結合し得る。より具体的には、本明細書に記載される単離された抗体又は抗原結合フラグメントは又、下記のOctetアッセイによって測定した場合に、又は当業者に利用可能な任意のアッセイによって測定した場合にヒトプログラニュリンと K_D 0.05 pM以下又は0.4 pM以下で結合し得る。本明細書の特定のmAbは、(a)ヒトプログラニュリンと特異的に結合するマウス可変領域、及び(b)ヒト定常領域を含むキメラモノクローナル抗体mAb AG01(Guha, R. et al., 2021)と競合しない。本明細書には、ヒトプログラニュリンと結合し、更に結合に関して本明細書に記載されるようなmAb 16C11、10B3、10C8又は14A6と競合する単離された抗体、又はその抗原結合フラグメントが記載される。本明細書には、mAb 16C11、10B3、10C8又は14A6と同じエピトープと結合する単離された抗体、又はその抗原結合フラグメントが記載される。特に、本明細書のmAbは、表1に挙げられたアミノ酸配列(当技術分野で標準的な一文字略号を用いて表記)を有する抗ヒトプログラニュリン抗体を含む。これらの可変領域は、IgG1/ κ アイソタイプ定常領域に連結可能である。CDR残基のChothiananバッキングシステム及びKabatananバッキングシステムは当技術分野で周知であり、Dondelinger, M., et al., Front Immunol 9:2278, 2018に更に記載され、以下の表1に示されるアミノ酸配列を決定するために使用された。可変領域(V_H 及び V_L)をコードする例示的cDNA配列も又以下に示す。モノクローナル抗体は、表1に記載される抗体の完全な重鎖及び／又は軽鎖を更に含み得る。いくつかの実施形態では、モノクローナル抗体は、このような重鎖及び／又は軽鎖の抗原結合ドメイン、例えば、表1に示されるCDRを含み得る。いくつかの実施形態では、本開示は、10C8、16C11、14A6、又は10B3抗体(又はその機能的フラグメント、例えば、そのCDR及び／若しくは可変領域)をコードするヌクレオチド配列、及び／又は等価なもの特定のaミノ酸配列を提供し、ここで、等価な配列は、配列番号1~56のいずれかのaミノ酸配列及び表4に示される情報から、並びに本明細書に開示される、及び／又はそうでなければ当業者に利用可能であるような機能的アッセイ及びその他のアッセイを用いて容易に導くことができる。いくつかの実施形態では、本開示は又、このようなヌクレオチド配列(好ましい実施形態では、配列番号57~64のいずれか又はその誘導体)を含む及び／又はからなる単離された核酸を含む発現ベクター、並びにそのような発現ベクターを含む宿主細胞(例えば、細胞株)も提供する。本明細書に記載されるものは、本明細書のモノクローナル抗体の重鎖又は軽鎖をコードする単離された核酸、単離された核酸を含む発現ベクター、及び発現ベクターを含む細胞株に関する。又、

10

20

30

40

50

本明細書には、プログラニユリンを発現する癌性細胞を有する患者を特定し、その患者に本明細書に記載されるような抗体又は抗原結合フラグメントを投与することによる、患者における癌を治療する方法も記載される。卵巣癌、乳癌、多発性骨髄腫、肺癌、腎臓癌、前立腺癌、肝細胞癌、子宮癌、膀胱癌、胆道癌、食道癌、胃癌、喉頭癌、脳癌、白血病及び膠芽腫を含む様々なヒト癌がプログラニユリンを発現することが知られている。別段の定義が無い限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。前述の一般的な説明及び以下の詳細な説明はいずれも、例示及び説明に過ぎず、これに限定されないことを理解されたい。更なる特徴は、一部は以下の説明で示され、又は本明細書に記載されるような実施によって知ることができる。前述の特徴及び他の特徴は、例示の実施形態に関する以下の説明を考慮すれば、当業者には明らかになるであろう。

10

【0009】

添付の図面及び写真は、本明細書に組み込まれ、本明細書の一部を構成するものであり、いくつかの実施形態を示し、また詳細な説明と共に本明細書の原理を説明することに寄与する。AG01は、図面も含め本明細書に挙げられるc4F10と同じmAbであることに留意されたい。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】図1は、異なる抗プログラニユリン(PRGN又はGP88)mAbの異なるmAb濃度での、MDA-MB-231細胞に対するフロー結合を示す棒グラフである。

20

【図2】図2は、異なる抗プログラニユリンmAbに関するMDA-MB-231細胞の遊走パーセンテージを示す棒グラフである。

【図3】図3は、in vivo腫瘍増殖モデルにおいて特定の抗体による処置後の腫瘍体積を示す棒グラフである。このモデルでは、無胸腺マウスへのMDA-MB-231細胞の注射を用いる。「ip」という用語は、本明細書の治療mAbの腹腔内注射を指す。

【図4】図4は、新規な完全ヒトmAb 10C8を用いてマウスを処置した場合の腫瘍体積を示す線グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本開示は、ヒトプログラニユリン(hu PRGN、又はPRGN、又はGP88)と特異的に結合し、プログラニユリン(GP88)を発現することが当業者により認識されている、又は見出されているものの中でも、限定されるものではないが、乳癌(例えば、トリプルネガティブ乳癌(例えばMDA-MB-231細胞株を用いて例示できる)、腺癌上皮成長因子受容体(EGF-R)乳癌(例えばMDA-MB-468細胞株を用いて例示できる)、基底乳癌(例えばHS578T細胞株を用いて例示できる)、エストロゲン受容体(ER)ルミナル乳癌(例えばMCF-7細胞株を用いて例示できる)、ER陽性タモキシフェン耐性ルミナル乳癌(例えばTamR MCF-7細胞株を用いて例示できる)、レトロゾール耐性ルミナル乳癌(例えばACLR TUSM細胞株を用いて例示できる))、卵巣癌、子宮癌、前立腺癌、膀胱癌(例えばT24細胞株を用いて例示できる)、腎臓癌、肝細胞癌、胆道癌、食道癌、大腸癌、胃癌、喉頭癌、肺癌(例えば、非小細胞肺癌(例えばH1299細胞株を用いて例示できる)、肺腺癌(例えばA549細胞株を用いて例示できる))、脳癌、骨髄腫/白血病、中皮腫(例えばMSTO-H11細胞株を用いて例示できる)、類表皮又は扁平上皮癌(例えばA431細胞株を用いて例示できる)などの癌を治療するために使用できる、限定されるものではないが完全ヒトモノクローナル抗体を含む抗体に関する。好ましい実施形態では、例示的細胞株(例えば、癌を例示できる)は、標準的なアッセイで、プログラニユリン(GP88)を発現し及び/又はそれと結合すること、本開示の抗体及び/若しくは誘導体によって結合されるか、又は本開示の抗体及び/若しくは誘導体によって阻害されるプログラニユリン(GP8)結合を有すること、並びに/或いはin vitroで(例えば、遊走アッセイを用いて)及び/又はin vivoで(例えば、異種移植を用いて)抗体及び/又は誘導体に応答す

30

40

50

ることが知られている、又、示すことができるものである。いくつかの実施形態では、本開示は、ヒトプログラニユリン（G P 8 8）と結合し、更に結合に関して抗体 1 0 C 8、1 6 C 1 1、1 4 A 6、若しくは 1 0 B 3 抗体（又はその機能的フラグメント、例えば、その C D R 及び／又は可変領域）と競合する単離された抗体、その 1 以上の抗原結合フラグメント；その重鎖及び軽鎖可変領域（表 1 参照）；並びに／又はそのような抗体の C D R（表 1 参照）を含むポリペプチド；及び／又はその誘導體（例えば、保存的アミノ酸置換を含む（例えば、表 4 参照））を提供し、それらはいずれも等価なものと考えられる。特に、本明細書の m A b は、表 1 に挙げられた各 C D R のアミノ酸配列を有する抗ヒトプログラニユリン（G P 8 8）抗体、又は本明細書に開示されるような、若しくはそうでなければ当業者に認識されるようなその変異体を含む。

10

【 0 0 1 2 】

好ましい実施形態では、本開示の抗体は、以下のアミノ酸配列及びヌクレオチド配列を含む。本開示の好ましい抗体は、1 0 C 8、1 6 C 1 1、1 4 A 6、又は 1 0 B 3 抗体の相補性決定領域（C D R）を含み得る。表 1 は、C h o t h i a 法及び K a b a t 法を用いて、1 0 C 8、1 6 C 1 1、1 4 A 6、又は 1 0 B 3 抗体の C D R を示している。

20

30

40

50

【表 1】

表 1

モノクローナル抗体 C D R

抗体	10C8	16C11	14A6	10B3
H-CDR1 (Chothia)	GYTLTSY (配 列番号1)	GFTFSSY (配 列番号15)	GFTFSNY (配 列番号29)	GFTLSGY (配 列番号43)
H-CDR2 (Chothia)	SAYNGN (配列 番号2)	WYDGSK (配列 番号16)	WYDGSN (配 列番号30)	WYDGSD (配列 番号44)
H-CDR3 (Chothia)	ELLWFGELLS QYYYYGMDV (配 列番号3)	DRGIGGDY (配 列番号17)	GHSVSGGDY (配列番号31)	DRGAVAGDY (配 列番号45)
L-CDR1 (Chothia)	RASQNISRWL A (配列番号4)	KSSQTVLYSSN NKNYLA (配列 番号18)	RASQSVNSFL N (配列番号 32)	KSSQSVLYNSN NKNLLA (配列 番号46)
L-CDR2 (Chothia)	RASSLET (配列 番号5)	WASTRES (配 列番号19)	AASSLQS (配 列番号33)	WASTRES (配 列番号47)
L-CDR3 (Chothia)	QQYNSYYT (配 列番号6)	QQYYSTPYT (配 列番号20)	QQSYSTPYT (配 列番号34)	QQYYGTPYT (配 列番号48)
H-CDR1 (Kabat)	SYGIS (配列番 号7)	SYAMH (配列 番号21)	NYGMH (配列 番号35)	GYGMH (配列 番号49)
H-CDR2 (Kabat)	WISAYNGNTN YAQKLQG (配 列番号8)	VIWYDGSKKY NADSVKG (配 列番号22)	VIWYDGSNK YYADSVKG (配 列番号36)	VIWYDGSDKN YADSVKG (配 列番号50)
H-CDR3 (Kabat)	ELLWFGELLS QYYYYGMDV (配 列番号9)	DRGIGGDY (配 列番号23)	GHSVSGGDY (配列番号37)	DRGAVAGDY (配 列番号51)
L-CDR1 (Kabat)	RASQNISRWL A (配列番号10)	KSSQTVLYSSN NKNYLA (配列 番号24)	RASQSVNSFL N (配列番号 38)	KSSQSVLYNSN NKNLLA (配列 番号52)
L-CDR2 (Kabat)	RASSLET (配列 番号11)	WASTRES (配 列番号25)	AASSLQS (配 列番号39)	WASTRES (配 列番号53)
L-CDR3 (Kabat)	QQYNSYYT (配 列番号12)	QQYYSTPYT (配 列番号26)	QQSYSTPYT (配 列番号40)	QQYYGTPYT (配 列番号54)

10

20

30

40

50

V _H	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTLT SYGISWVRQA PGQGLEWMG WISAYNGNTN YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMERLSLRSD DTAVYYCARE LLWFGELLSQ YYYYGMDVW GQGTTVTVSS (配列番号13)	QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFSS YAMHWVRQA PGKGLEWVAV IWYDGSKKYN ADSVKGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDRG IGGDYWGQGT LVTVSS (配列 番号27)	QVQLVESGG GVVQPGRSL RLSCAASGFT FSNYGMHWV RQAPGKGLE WVAVIWYDG SNKYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTA VYYCARGHS VSGGDYWG QGTLVTVSS (配列番号41)	QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTLS GYGMHWVRQ APDKGLEWVA VIWYDGSDKN YADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDR GAVAGDYWG QGTLVTVSS (配 列番号55)
V _L	DIQMTQSPST LSASVGDRV TCRASQNISR WLAWYQQKP GKAPKLLIFRA SSLETGVPSRF GGSGSGTEFT LTISLQPDDF ATYYCQQYNS YYTFGQGTRL EIK (配列番号 14)	DIVMTQSPDSL AVSLGERATIN CKSSQTVLYSS NNKNYLAWY QQKPGQPPKL LIYWASTRESG VPDRFSGGGS GTDFTLTISL QAEDVAVYYC QQYYSTPYTF GQGTKLEIN (配 列番号28)	DIQMTQSPSS LSASVGDRV TITCRASQSV NSFLNWFYQQ TPGKAPKLLI YAASSLQSGV PPRFSGSGSG TDFTLTISL QPEDFATYY CQQSYSTPY TFGQGTKLEI N (配列番号 42)	DIVMTQSPDSL AVSLGERATIN CKSSQSVLYNS NNKNLLAWFR QKPGQPPKLL IYWASTRESGV PDRFSGSGSG TDFTLTISLQ AEDVAVYFCQ QYYGTPYTFG QGTKLEIK (配 列番号56)

10

20

30

40

50

【0013】

いくつかの実施形態では、本開示は、プログラニユリンを発現する細胞に内部移行し、HER2との結合に関してトラスツズマブと競合する完全ヒト抗プログラニユリン抗体、並びにそれらの中和特性並びに内部移行特性のためにそのような抗体を使用するための方法を提供する。好ましい実施形態では、このような抗体には、本明細書で10C8、16C11、14A6、若しくは10B3と呼ばれるもの、並びに／又はそのような抗体によって含まれるCDR（表1参照）；これらの重鎖及び軽鎖可変領域（表1参照）；並びに／又はこれらの誘導体（例えば、保存的アミノ酸置換（例えば表4参照）を含む）が含まれる。いくつかの実施形態では、本開示は、内部移行し、プログラニユリンとの結合に関して本明細書に開示される抗体又は誘導体と競合しない完全ヒト抗プログラニユリン抗体、並びにそれらの内部移行特性を研究するための方法を提供する。好ましい実施形態では、このような抗体には、本明細書で10C8、16C11、14A6、若しくは10B3と呼ばれるもの；これらの重鎖及び軽鎖可変領域を含むもの（表1参照）；並びに／又は表1のCDRを含むもの；並びに／又はこれらの誘導体（例えば、保存的アミノ酸置換（例えば表4参照）を含むもの）が含まれる。これらの抗体は、表1に示される抗体の少なくとも一部（最も好ましくは、これらのCDRを含む）及び／又は完全な重鎖及び／又は軽鎖、及び／又は表1に示されるCDRを含むこれらの誘導体を更に含み得る。いくつかの好ましい実施形態では、このような抗体は、表1に示される抗体又はその等価物に関して以下に示される重鎖可変（「V_H」）又は軽鎖可変（「V_L」）ポリペプチド（それぞ

れVH又はVL「鎖」)のアミノ酸配列を有し得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される単離された抗体、又は抗原結合フラグメントは、下記のOctetアッセイによって測定した場合(例えば、本明細書の実施例の節を参照)、又は当業者に利用可能な任意のアッセイによって測定した場合にヒトプログラニユリンと 3.6×10^{-9} モル

(M)までの K_D で結合する。いくつかの実施形態では、本開示は、表1のいずれかのアミノ酸配列(すなわち、配列番号1~56)及び表4に示される情報から容易に導くことができる10C8、16C11、14A6、又は10B3抗体との等価物の特定のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列、及び／又はこれらの等価物／誘導体を提供する。好ましい実施形態では、10C8抗体は、配列番号1~3と7~9;又は配列番号4~6と10~12;及び／又は配列番号13と配列番号14;又は本明細書に開示されるような、若しくはそうでなければ当業者に認識されるようなその変異体を含む。好ましい実施形態では、16C11抗体は、配列番号15~17と21~23;又は配列番号18~20と24~26;及び／又は配列番号27と配列番号28;又は本明細書に開示されるような、若しくはそうでなければ当業者に認識されるようなその変異体を含む。好ましい実施形態では、14A6抗体は、配列番号29~31と35~37;又は配列番号32~34と38~40;及び／又は配列番号41と配列番号42;又は本明細書に開示されるような、若しくはそうでなければ当業者に認識されるようなその変異体を含む。好ましい実施形態では、10B3抗体は、配列番号43~45と49~51;又は配列番号46~48と52~54;及び／又は配列番号55と配列番号56;又は本明細書に開示されるような、若しくはそうでなければ当業者に認識されるようなその変異体を含む。

10

20

【0014】

いくつかの実施形態では、本開示は又、このようなヌクレオチド配列(好ましい実施形態では、以下に示されるような、又はこれらの誘導体)を含む及び／又はからなる単離された核酸を含む発現ベクター、並びにこのような発現ベクターを含む宿主細胞(例えば、細胞株)を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、プログラニユリンを含む癌を治療するための抗体及び／又はこれらのフラグメント(例えば、CDR)(これらは特に断りのない限り、本明細書では「抗体」と総称される)を使用するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は又、患者における癌を治療する方法であって、プログラニユリンを発現する癌性細胞を有する患者を特定すること、及び患者に本明細書に記載されるような抗体又は抗原結合フラグメントを投与することによる方法を提供する。限定されるものではないが、卵巣癌、乳癌、多発性骨髄腫、肺癌、腎臓癌、前立腺癌、肝細胞癌、子宮癌、膀胱癌、胆道癌、食道癌、胃癌、喉頭癌、脳癌、白血病及び膠芽腫を含む様々なヒト癌がプログラニユリンを発現することが知られている。よって、本明細書では、いくつかの好ましい実施形態において、ヒトプログラニユリン(PGRN)と特異的に結合し、乳癌などの癌を治療するために使用できる完全ヒトモノクローナル抗体が提供される。

30

【0015】

本明細書では又、本明細書に記載される1以上のものなどの抗体と当業者に利用可能な別のものとの組合せの使用も企図される。例えば、いくつかの実施形態では、組合せは、他の抗体を用いずに1以上の抗体のみを用いて得られた結果(例えば、中和アッセイ)との統計的に有意な差をもたらすように特定することができる。いくつかの実施形態では、組合せは、相加的及び／又は好ましくは相乗的な活性を示す。いくつかの実施形態では、組合せは、10C8、16C11、14A6、若しくは10B3抗体(又はその誘導体)と、他の抗体及び／又は複合体を含み得る。又、標準治療で使用される化学療法剤と組み合わせることもでき、その一部は抗プログラニユリン療法と併用される。このような組成物の抗体は、2つ以上の異なるモノクローナル抗体若しくはこれらの誘導体のような異なる実体であってもよいし、又は二機能性抗体(複数の結合特異性を含む単一の抗体又はその誘導体)のような同一の実体で見られてもよい。本明細書に記載されるような組合せは、CTLA-4に対する抗体など、免疫細胞の機能に影響を及ぼす可能性のある1以上の他の薬剤と組み合わせてもよい。当業者であれば、多くのこのような組合せが、本明細書

40

50

に記載されるような使用に適切であり得ることを認識するであろう。

【0016】

「抗体」という用語は、本明細書で使用する場合、完全抗体及びその任意の抗原結合フラグメント（すなわち、「抗原結合部分」）又は一本鎖を意味する。完全抗体は、ジスルフィド結合によって鎖内接続した少なくとも2本の重（H）鎖と2本の軽（L）鎖を含む糖タンパク質である。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書では V_H と略される）と重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、 $CH1$ 、 $CH2$ 及び $CH3$ という3つのドメインから構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書では V_L と略される）と軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、 CL という1つのドメインから構成される。 V_H 領域と V_L 領域は、相補性決定領域（ CDR ）と呼ばれる超可変性の領域に更に細分することができ、フレームワーク領域（ FR ）と呼ばれるより保存された領域が挿入されている。各 V_H 及び V_L は、アミノ末端からカルボキシ末端へ次の順： $FR1$ 、 $CDR1$ 、 $FR2$ 、 $CDR2$ 、 $FR3$ 、 $CDR3$ 、 $FR4$ で配置された3つの CDR と4つの FR から構成される。重鎖と軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、宿主組織、又は免疫系の種々の細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第1成分（ $C1q$ ）を含む因子との免疫グロブリンの結合を媒介し得る。「キメラ抗体」という用語は、（a）抗原結合部位（可変領域）が、クラス、エフェクター機能及び／若しくは種が異なる若しくは変更された定常領域、又はキメラ抗体に新規な特性を付与する全く異なる分子、例えば、酵素、毒素、ホルモン、成長因子、薬物などと連結されるように、定常領域、又はその一部が変更、置換又は交換されているか；或いは（b）可変領域、又はその一部が、抗原特異性が異なる又は変更されている可変領域で変更、置換又は交換されている、抗体分子である。例えば、マウス抗体は、その定常領域をヒト免疫グロブリン由来の定常領域で置換することによって改変することができる。ヒト定常領域で置換することで、キメラ抗体は抗原を認識するその特異性を保持しながら、元のマウス抗体と比較してヒトにおける抗原性を低下させることができる。

10

20

【0017】

「アイソタイプ」という用語は、重鎖定常領域遺伝子によって提供される抗体クラス（例えば、 IgM 、 IgE 、 IgG 、例えば $IgG1$ 又は $IgG4$ ）を指す。アイソタイプは又、 Fc 機能を変化させるため、例えば、エフェクター機能又は Fc 受容体への結合を増強又は低減させるために改変がなされているこれらのクラスの1つの改変型も含む。アイソタイプは又、軽鎖定常領域によって提供される抗体クラス（例えば、 κ 、 λ ）も指す。抗体は、安定性、グリコシル化又は他の修飾のパターン、エフェクター細胞機能、薬物動態などの1以上の抗体特性に影響を及ぼす1以上の変異を含む Fc 領域を含み得る。いくつかの実施形態では、抗体は、グリコシル化が低減又は最小化されている。いくつかの実施形態では、抗体は、エフェクター機能が除去又は低減されている。例示的な Fc 変異としては、限定されるものではないが、（i）ヒト $IgG1$ Fc 領域変異 $L234A$ 、 $L235A$ 、 $G237A$ 、及び $N297A$ ；（ii）ヒト $IgG2$ Fc 領域変異 $A330S$ 、 $P331S$ 、及び $N297A$ ；並びに（iii）ヒト $IgG4$ Fc 領域変異 $S228P$ 、 $E233P$ 、 $F234V$ 、 $L235A$ 、 $deIG236$ 、及び $N297A$ （ EU ナンバリング）が挙げられる。いくつかの実施形態では、ヒト $IgG2$ Fc 領域は、 $A330S$ 及び $P331S$ 変異を含む。いくつかの実施形態では、ヒト $IgG4$ Fc 領域は、 $S228P$ 及び $L235E$ 変異を含む。細胞表面抗原を標的とする抗体は、免疫細胞上の Fc 受容体（ FcR ）の関与に関連する免疫刺激性及びエフェクター機能を誘発することができる。 IgG （ γ 受容体）、 IgE （ η 受容体）、 IgA （ α 受容体）、及び IgM （ μ 受容体）など、特定のクラスの抗体に特異的な多数の Fc 受容体が存在する。 Fc 領域と細胞表面の Fc 受容体との結合は、抗体でコートされた粒子の貪食（抗体依存性細胞媒介性貪食、又は $ADCP$ ）、免疫複合体のクリアランス、キラー細胞による抗体でコートされた細胞の溶解（抗体依存性細胞媒介性細胞傷害、又は $ADCC$ ）、及び炎症性メディエーターの放出、胎盤移行、及び免疫グロブリン産生の制御など、多くの生物学的応答を誘

30

40

50

発することができる。更に、補体の C 1 成分が抗体に結合すると、補体系を活性化することができる。補体の活性化は細胞の病原体の溶解に重要であり得る。しかしながら、補体の活性化は炎症応答を刺激することもあり、自己免疫過敏症又はその他の免疫学的疾患にも関与することがある。特定の F c 受容体に結合する能力が低減又は除去された変異 F c 領域は、局所の細胞又は組織を損傷又は破壊せずにリガンド機能を標的化、活性化又は中和することによって働く治療用抗体及び F c 融合ポリペプチド構築物の開発に有用である。F c ドメインモノマーは、第 2 及び第 3 の抗体定常ドメイン（例えば、C H 2 及び C H 3）を含むポリペプチド鎖を指す。いくつかの実施形態では、F c ドメインモノマーは又、ヒンジドメインも含む。いくつかの実施形態では、F c ドメインモノマーは、I g G、I g E、I g M、I g A、及び I g D など、任意の免疫グロブリン抗体アイソタイプのものである。更に、いくつかの実施形態では、F c ドメインモノマーは、任意の I g G サブタイプ（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 2 a、I g G 2 b、I g G 2 c、I g G 3、及び I g G 4）のものである。F c ドメインにおける更なる変異及びそれらの変異の生物学的結果は当技術分野で周知であり、本明細書の抗体にも当てはめることができる。例えば、米国特許出願公開第 2 0 2 2 0 0 0 2 4 3 4 号参照。

10

20

30

40

50

【0018】

抗体の「抗原結合部分」又は「抗原結合フラグメント」という用語は、本明細書で使用する場合、所与の抗原（例えばヒトグラニュリン）と特異的に結合する能力を保持する無傷抗体の 1 以上のフラグメントを指す。抗体の抗原結合機能は、無傷抗体のフラグメントによって遂行され得る。抗体の抗原結合部分又は抗原結合フラグメントという用語内に包含される結合フラグメントの例としては、F a b フラグメント、V_L、V_H、C L 及び C H 1 ドメインからなる一価フラグメント；F (a b)₂ フラグメント、ヒンジ領域においてジスルフィド橋により連結された 2 つの F a b フラグメントを含む二価フラグメント；V_H 及び C H 1 ドメインからなる F d フラグメント；抗体の単腕の V_L 及び V_H ドメインからなる F v フラグメント；V_H ドメイン又は V_L ドメインからなるシングルドメイン抗体 (d A b) フラグメント (Ward et al., 1989 Nature 341:544-546)；並びに単離された相補性決定領域 (C D R) が挙げられる。更に、F v フラグメントの 2 つのドメイン V_L と V_H は別の遺伝子によってコードされているが、それらは組換え法を用いて、人工ペプチドリンカーによって連結することができ、これにより、V_L 領域と V_H 領域が対となって一価分子を形成している単一のタンパク質鎖（一本鎖 F v (s c F v) として知られる；例えば、Bird et al., 1988 Science 242:423-426；及び Huston et al., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883 参照）としての作製が可能となる。このような一本鎖抗体には、抗体の 1 以上の抗原結合部分又はフラグメントが含まれる。これらの抗体フラグメントは、当業者に公知の従来の技術を用いて得られ、それらのフラグメントは無傷抗体と同様の方法で有用性がスクリーニングされる。抗原結合フラグメントは又、シングルドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、v-NAR 及びビス-s c F v（例えば、Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136 参照）に組み込むこともできる。抗体の抗原結合部分は、I I I 型フィブロネクチン (F n 3) などのポリペプチドに基づく足場にグラフトすることができる。（フィブロネクチンポリペプチドモノボディを記載している米国特許第 6, 7 0 3, 1 9 9 号参照）。抗原結合フラグメントは、相補的軽鎖ポリペプチドと共に抗原結合領域の対を形成する 1 対のタンデム F v セグメント (V_H-C H 1-V_H-C H 1) を含む一本鎖分子に組み込むことができる (Zapata et al., 1995 Protein Eng. 8(10):1057-1062；及び米国特許第 5, 6 4 1, 8 7 0 号)。

【0019】

「エピトープ」という用語は、抗体に特異的に結合することができるタンパク質決定基を意味する。エピトープは通常、アミノ酸又は糖側鎖などの化学的に活性な表面分子群からなり、通常、特定の三次元の構造的特徴並びに特定の電荷の特徴を有する。立体構造的エピトープと非立体構造的エピトープは、前者への結合は変性溶媒の存在下で失われるが

、後者への結合は失われないことで区別される。「結合特異性」という用語は、本明細書で使用する場合、個々の抗体の結合部位が、1つだけの抗原決定基（例えば、エピトープ）と反応する（例えば、それに対して親和性を有する）能力を指す。抗体（例えば、ヒトプログラニユリン結合抗体）に「特異的に（又は選択的に）結合する」という表現は、タンパク質及び他の生物製剤の異種集団における同族抗原の存在を決定する結合反応を指す。「抗原を認識する抗体」と「抗原に特異的な抗体」という表現は、本明細書では「抗原に特異的に結合する抗体」という用語と互換的に使用される。本明細書で使用する場合、「親和性」という用語は、単一の抗原部位における抗体と抗原の相互作用の強さを指す。各抗原部位内で、抗体の「腕」の可変領域は、多数の部位で抗原と弱い非共有結合力で相互作用し、相互作用が多いほど親和性が強くなる。「 K_{assoc} 」又は「 K_a 」という用語は、本明細書で使用する場合、特定の抗体－抗原相互作用の会合率を指すことを意図し、一方、「 K_{dis} 」又は「 K_d 」という用語は、本明細書で使用する場合、特定の抗体－抗原相互作用の解離率を指すことを意図する。「 K_D 」という用語は、本明細書で使用する場合、 K_d と K_a の比（すなわち、 K_d/K_a ）から得られ、モル濃度（ M ）として表される解離定数を指すことを意図する。抗体の K_D 値は、当技術分野で十分に確立された方法を用いて決定することができる。抗体の K_D を決定するための方法としては、 $Biacore$ システムなどのバイオセンサーシステムを用いた表面プラズモン共鳴の測定、又は溶液平衡滴定（ SET ）による溶液での親和性の測定が挙げられる。本明細書で使用する場合、抗体又はその抗原結合フラグメント（例えば、 Fab フラグメント）に対する「高親和性」という用語は、一般に K_D が $10^{-9} M$ 以下の抗体又は抗原結合フラグメントを指す。

10

20

【0020】

「単離された抗体」という用語は、抗原特異性が異なる他の抗体を実質的に含まない抗体を指す（例えば、プログラニユリンと特異的に結合する単離された抗体は、プログラニユリン以外の抗原と特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。しかしながら、プログラニユリンと特異的に結合する単離された抗体は、他の抗原、例えば、ヒト以外の種のプログラニユリンと交差反応性を持ち得る。更に、単離された抗体は、他の細胞材料及び／又は化学物質を実質的に含まないものであり得る。「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」という用語は、本明細書で使用する場合、単一の分子組成物の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性及び親和性を示す。「ヒト抗体」という用語は、本明細書で使用する場合、フレームワークとCDR領域の両方がヒト起源の配列に由来する可変領域を有する抗体を含むことを意図する。更に、抗体が定常領域を含む場合、その定常領域もそのようなヒト配列、例えば、ヒト生殖細胞系列に由来するか、又はヒト生殖細胞系列の変異型である。ヒト抗体は、ヒト配列によってコードされてないアミノ酸残基（例えば、*in vitro*でランダム突然変異誘発若しくは部位特異的突然変異誘発によって導入された突然変異又は*in vivo*における体細胞突然変異）を含み得る。「ヒトモノクローナル抗体」という用語は、フレームワークとCDR領域の両方がヒト配列に由来する可変領域を有する単一の結合特異性を示す抗体を指す。一実施形態では、ヒトモノクローナル抗体は、（i）ヒト重鎖導入遺伝子と軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト動物、例えばトランスジェニックマウスから得られるB細胞が、（ii）不死化細胞と融合されたものを含むハイブリドーマによって産生される。「ヒト化」抗体とは、非ヒト抗体の反応性を保持すると共にヒトにおける免疫原性が低い抗体である。これは、例えば、非ヒトCDR領域を保持し、抗体の残りの部分をそれらのヒトの対応部分（すなわち、定常領域並びに可変領域のフレームワーク部分）で置換することによって達成することができる。例えば、Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855, 1984; Morrison and Oi, Adv. Immunol., 44:65-92, 1988; Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536, 1988; Padlan, Molec. Immun., 28:489-498, 1991; 及び Padlan, Molec. Immun., 31:169-217, 1994 参照。ヒト操作技術の他の例としては、限定されるものではないが、米国特許第 5, 766, 886 号に開示されてい

30

40

50

る X o m a 技術挙げられる。

【0021】

「アミノ酸」という用語は、天然アミノ酸及び合成アミノ酸、並びに天然アミノ酸と同様に機能するアミノ酸類似体及びアミノ酸模倣体を指す。天然アミノ酸は、遺伝コードによりコードされているもの、並びにその後修飾されたアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタミン酸、及び α -ホスホセリンである。アミノ酸類似体とは、天然アミノ酸と同じ基本化学構造、すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基に結合した α 炭素を有する化合物、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキド、メチオニンメチルスルホニウムを指す。このような類似体は、修飾されたR基（例えば、ノルロイシン）又は修飾されたペプチド骨格を有するが、天然アミノ酸と同じ基本化学構造を保持する。アミノ酸模倣体とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を持つが、天然アミノ酸と同様に機能する化学化合物を指す。

10

【0022】

「保存的に改変された変異体」という用語は、アミノ酸配列と核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された変異体とは、同一の若しくは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸を指すか、又はその核酸は、アミノ酸配列をコードしない場合には、本質的に同一の配列を指す。遺伝コードの縮重のために、多数の機能的に同一の核酸が、任意の所与のタンパク質をコードする。例えば、コドンG C A、G C C、G C G及びG C Uは総てアミノ酸アラニンをコードする。よって、アラニンがある1つのコドンによって特定されているいずれの位置でも、そのコドンは、コードされるポリペプチドを変更することなく、記載されている対応するコドンのいずれに変更することもできる。このような核酸のバリエーションは、保存的改変バリエーションの一種としての「サイレントバリエーション」である。ポリペプチドをコードする本発明のいずれの核酸配列も、その核酸の全ての可能性のあるサイレントバリエーションを表す。当業者ならば、核酸の各コドン（通常メチオニンに対する唯一のコドンであるA U G、及び通常トリプトファンのコドンであるT G Gを除く）は、機能的に同一の分子を得るために改変可能であることを認識するであろう。よって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレントバリエーションは、記載された各配列に暗示されている。

20

【0023】

ポリペプチド配列に関して、「保存的に改変された変異体」には、アミノ酸の、化学的に同等のアミノ酸での置換をもたらす、ポリペプチド配列に対する個々の置換、欠失又は付加を含む。機能的に同等のアミノ酸を示す保存的置換表は当技術分野で周知である。このような保存的に改変された変異体は、多型変異体、種間同族体、及び対立遺伝子に加えてのものであって、これらを排除しない。以下の8つの群には互いに保存的置換となるアミノ酸が含まれる：1）アラニン（A）、グリシン（G）；2）アスパラギン酸（D）、グルタミン酸（E）；3）アスパラギン（N）、グルタミン（Q）；4）アルギニン（R）、リシン（K）；5）イソロイシン（I）、ロイシン（L）、メチオニン（M）、バリン（V）；6）フェニルアラニン（F）、チロシン（Y）、トリプトファン（W）；7）セリン（S）、トレオニン（T）；及び8）システイン（C）、メチオニン（M）（例えば、Creighton, Proteins (1984)参照）。いくつかの実施形態では、「保存的配列改変」という用語は、そのアミノ酸配列を含む抗体の結合の特徴に著しい影響を及ぼさない、又は著しく変化させないアミノ酸改変を指して使用される。

30

40

【0024】

当業者に理解されるであろうアミノ酸の標準的な三文字又は他の略号を用いて、保存的及び非保存的と考えられるアミノ酸置換を、以下の表2に示す。

【表 2】

表 2

元のアミノ酸残基	元のアミノ酸残基の例示的保存的置換	元のアミノ酸残基の好ましい保存的置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 ジアミノ酪酸, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

10

20

30

【0025】

2つ以上の核酸配列又はポリペプチド配列に関して「同一」又は100%の「同一性」という用語は、2つ以上の配列又は部分配列が同じであることを指す。2つの配列が、以下の配列比較アルゴリズムの1つを使用して、又は手動アラインメントと目視検査によって測定した場合に、比較ウィンドウ又は指定領域にわたって最大一致が得られるように比較及びアラインした際に、指定された割合のアミノ酸残基又はヌクレオチドが同一（すなわち、指定領域にわたって、又は指定されていない場合には全配にわたって60%の同一性、任意選択により65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、若しくは99%の同一性）であれば、2つの配列は「実質的に同一」である。任意選択により、同一性は、少なくとも約50ヌクレオチド（若しくは10アミノ酸）長の領域にわたって、又は100～500若しくは1000以上のヌクレオチド（若しくは20、50、200以上のアミノ酸）長の領域にわたって存在する。配列比較について、一般に、ある配列を参照配列とし、それと検定配列を比較する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、検定配列と参照配列をコンピューターに入力し、必要に応じて部分配列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムパラメーターを指定する。デフォルトのプログラムパラメーターを使用することもできるし、別のパラメーターを指定することもできる。次に、配列比較アルゴリズムがプログラムパラメーターに基づいて、参照配列に対する検定配列の配列同一性パーセントを計算する。「比較ウィンドウ」は、本明細書で使用する場合、20～600、通常約50～約200、より通常には約100～約150からなる群から選択される連続位置の数のいずれか1つのセグメントの参照を含み、2つの配列が最適にアラインさ

40

50

れた後に、この中で配列が同じ数の連続位置の参照配列と比較され得る。比較のための配列のアラインメントの方法は、当技術分野において周知である。比較のための配列の最適アラインメントは、例えば、Smith and Waterman (1970) *Adv. Appl. Math.* 2: 482cのローカルホモロジーアルゴリズム、Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443, 1970のホモロジーアライメントアルゴリズム、Pearson and Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, 1988の類似性探索法、これらのアルゴリズムのコンピューター実装 (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.のGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA)、又は手動アライメントと目視検査 (例えば、Brent et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (Ringbough ed., 2003)参照) によって実施できる。配列同一性及び配列類似性パーセントを決定するために適したアルゴリズムの2つの例が、BLASTとBLAST2.0アルゴリズムであり、それぞれAltschul et al., *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402, 1977;及びAltschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990に記載されている。BLAST解析を実行するソフトウェアは、National Center for Biotechnology Informationで公開されている。このアルゴリズムは、まず、クエリー配列中の長さWの短いワードが、データベース配列中の同じ長さのワードとアラインした際に、ある正の値の閾値スコアTと一致する、又は満たすことを確認することで、高スコア配列対 (HSP) を特定することを含む。Tは隣接ワードスコア閾値と呼ばれる (Altschul et al., 前掲)。これらの最初の隣接ワードヒットは、それらを含む長いHSPを見つけるための検索を開始するためのシードとして働く。ワードヒットは各配列に沿って、累積アラインメントスコアが増加し得る限り両方向に延伸される。累積スコアは、ヌクレオチド配列の場合、パラメータM (残基が一致する対の報酬スコア; 常に0より大きい) とN (残基が不一致の場合のペナルティスコア; 常に0より小さい) を用いて計算される。アミノ酸配列の場合には、スコアリングマトリックスを用いて累積スコアを計算する。累積アラインメントスコアがその最大達成値から量Xだけ低下した場合、1以上の負のスコアの残基アラインメントの蓄積により累積スコアがゼロ以下になった場合、又はいずれかの配列の末端に到達した場合には、各方向のワードヒットの延伸は停止する。BLASTアルゴリズムのパラメーターW、T、及びXは、アラインメントの感度と速度を決定する。BLASTNプログラム (ヌクレオチド配列の場合) は、デフォルトとして、ワード長 (W) 11、期待値 (E) 10、M=5、N=-4、及び両鎖の比較を使用する。アミノ酸配列の場合、BLASTPプログラムは、デフォルトとしてワード長3、期待値 (E) 10、及びBLOSUM62スコアリングマトリックス (Henikoff and Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915, 1989参照) アラインメント (B) 50、期待値 (E) 10、M=5、N=-4、及び両鎖の比較を使用する。BLASTアルゴリズムは又、2つの配列間の類似性の統計的分析も実行する (例えば、Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5787, 1993参照)。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性の尺度の1つは、最小和確率 (P (N)) であり、これは2つのヌクレオチド配列又はアミノ酸配列間の一致が偶然に起こる確率の指標となる。例えば、検定核酸と参照核酸の比較における最小和確率が約0.2未満、又は約0.01未満、又は約0.001未満の場合、その核酸は参照配列に類似しているとみなされる。又、2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ALIGNプログラム (バージョン2.0) に組み込まれたE. Meyers and W. Miller (*Comput. Appl. Biosci.*, 4:11-17, 1988)のアルゴリズムを使用し、PAM120ウエイトレシジュテーブル、ギャップペナルティー12及びギャップペナルティー4を用いて決定することもできる。更に、2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ (gcg.comで入手可能) のGAPプログラムに組み込まれているNeedleman and Wunsch (*J. Mol. Biol.* 48:444-453, 1970)アルゴリズムを使用し、Blossom62マトリックス又はPAM250マトリックスのいずれかとギャップウエイト16、14、12、10、8、6、又は4、及びレングスウエイト1、2、3、4、5、又は6を用いて決定すること

10

20

30

40

50

もできる。

【0026】

上述した配列同一性のパーセンテージ以外に、2つの核酸配列又はポリペプチドが実質的に同一であることを示すもう1つの指標は、第1の核酸によってコードされるポリペプチドが、下記のように、第2の核酸によってコードされるポリペプチドに対して惹起された抗体と免疫学的に交差反応性であることである。従って、あるポリペプチドは、例えば、2つのペプチドが保存的置換によってのみ異なる場合、第2のポリペプチドと典型的には実質的に同一である。2つの核酸配列が実質的に同一であることを示すもう1つの指標は、下記のように、2つの分子又はこれらの相補体がストリンジェントな条件下で互いにハイブリダイズすることである。2つの核酸配列が実質的に同一であることを示す更にもう1つの指標は、同じプライマーを用いて配列を増幅できることである。

10

【0027】

本抗体、又はその抗原結合フラグメントは、配列番号1～56（すなわち、表1に示されるCDR配列、VH配列及び／又はVL配列）の少なくとも1つと少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%の同一性を有する1以上のアミノ酸配列を含むことが好ましい。いくつかの実施形態では、10C8、16C11、14A6、又は10B3抗体の等価物としては、誘導体がPGRN（好ましくは、ヒトPGRN（GP88））との結合能を維持する限り、好ましくはそのCDRの保存的アミノ酸置換（表2参照）を3つまで含む、10C8、16C11、14A6、又は10B3抗体のCDRの1以上の誘導体が含まれる。いくつかの実施形態では、10C8、16C11、14A6、又は10B3抗体の等価物としては、誘導体がPGRN（好ましくは、hupGRN）との結合能を維持する限り、10C8、16C11、14A6、又は10B3抗体の、好ましくはそのCDRの外側の保存的アミノ酸置換（表2参照）を10個まで含む、VH鎖及び／又はVL鎖の1以上の誘導体が含まれる。好ましい実施形態では、このような置換はいずれも、（例えば、二重特異性抗体を提供するための）1以上の検出可能な標識、細胞傷害性薬剤、及び／又は他のペイロードとの抗体のコンジュゲーションを可能にするか、又は抗体のコンジュゲーションに干渉しない。

20

【0028】

「核酸」という用語は、本明細書では「ポリヌクレオチド」という用語と互換的に使用され、デオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチド及び一本鎖若しくは二本鎖の形態のこれらのポリマーを指す。この用語は、既知のヌクレオチド類似体又は修飾された骨格残基若しくは結合を含む核酸を包含し、それらは合成物、天然物、及び非天然物であり、参照核酸と類似の結合特性を有し、参照ヌクレオチドと同様に代謝される。このような類似体の例としては、限定されるものではないが、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルーメチルホスホネート、2-Ο-メチルリボヌクレオチド、ペプチド核酸（PNA）が挙げられる。別段の指示がない限り、特定の核酸配列は、明示的に示された配列だけでなく、その保存的に改変された変異体（例えば、縮重コドン置換）及び相補配列も暗示的に包含する。具体的には、以下に詳述するように、縮重コドン置換は、1以上の選択された（又は全ての）コドンの3位が混合塩基及び／又はデオキシイノシン残基で置換された配列を生成することによって達成され得る（Batzner et al., Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991; Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985; 及び Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994）。

30

40

【0029】

特定の実施形態では、本明細書に記載の1以上の抗体をコードする核酸分子は、以下により詳細に記載されるように、1以上の発現ベクターに挿入することができる。このような実施形態において、抗体は、そのアミノ酸配列に対応するヌクレオチドによってコードされ得る。種々のアミノ酸（AA）をコードするヌクレオチドの特定の組合せ（コドン）は、当業者に使用される種々の参照文献に記載されるように、当技術分野で周知である（

50

例えば、Lewin, B. Genes V, Oxford University Press, 1994参照)。前記抗体のアミノ酸をコードするヌクレオチド配列は、例えば表3を参照して確認することができる。核酸変異体では、その抗体をコードするヌクレオチドの任意の組合せを用いることができる。

【表3】

表3

アミノ酸 (AA) をコードするコドン

AA	コドン	AA	コドン	AA	コドン	AA	コドン
Phe (F)	TTT	Ser (S)	TCT	Tyr (Y)	TAT	Cys (C)	TGT
	TTC		TCC		TAC		TGC
Leu (L)	TTA		TCA	TERM	TAA	TERM	TGA
	TTG		TCG		TAG	Trp (W)	TGG
	CTT	Pro (P)	CCT	His (H)	CAT	Arg (R)	CGT
	CTC		CCC		CAC		CGC
	CTA		CCA	Gln (Q)	CAA		CGA
	CTG		CCG		CAG		CGG
Ile (I)	ATT	Thr (T)	ACT	Asn (N)	AAT	Ser (S)	AGT
	ATC		ACC		AAC		AGC
	ATA		ACA	Lys (K)	AAA	Arg (R)	AGA
Met (M)	ATG		ACG		AAG		AGG
Val (V)	GTT	Ala (A)	GCT	Asp (D)	GAT	Gly (G)	GGT
	GTC		GCC		GAC		GGC
	GTA		GCA	Glu (E)	GAA		GGA
	GTG		GCG		GAG		GGG

10

20

【0030】

可変重鎖 (V_H) アミノ酸配列及び可変軽鎖 (V_L) アミノ酸配列をコードする例示的ヌクレオチド (例えばcDNA) 配列を以下に示す。

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTAACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGC
GACAGGCCCCCTGGACAAGGTCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGT
AACACAAATTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATC
CACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGT
ATTATTGTGCGAGAGAGTTATTATGGTTTCGGGGAGTTATTATCCCAATACTATTAC
TACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG (配列番号
57 (10C8 V_H));

30

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT
CACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAAAATATTAGTCGCTGGTTGGCCTGGTATCAGC
AGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAACTCCTGATCTTTAGGGCATCTAGTTTAGAACT
GGGGTCCCATCAAGGTTTCGGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACCAT
CAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTT
ATTACACTTTTGGCCAGGGGACCAGGCTGGAGATCAAAC (配列番号58 (10C8 V_L));
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGCCATGCACTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGT
AAAAAATACAATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTC
CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGT
ATTACTGTGCGAGAGATAGGGGGATAGGTGGGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTG
GTCACCGTCTCCTCAG (配列番号59 (16C11 V_H));

40

50

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGC
CACCATCAACTGCAAGTCCAGTCAGACTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAAGT
ACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGG
GCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCGGGGGTCTGGGAC
AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACT
GTCAACAATATTATAGTACTCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATC
AACC (配列番号60 (16C11 V_L));
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGT
AATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCAGAGACAATTC
CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTCT
ATTACTGTGCGAGAGGGCACTCTGTTTCGGGGGGTGACTACTGGGGCCAGGGAACC
CTGGTCACCGTCTCCTCA (配列番号61 (14A6 V_H));
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT
CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCGTGAACAGCTTCTTGAATTGGTATCAGC
AGACACCAGGGAAAGCCCCCTAACTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGT
GGGGTCCCACCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT
CAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTA
CCCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAC (配列番号62 (14A6 V
L));
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCCCTCAGTGGCTATGGCATGCACTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGACAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGT
GATAAAACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTTCACCATCTCCAGAGACAATTC
CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGT
ATTACTGTGCGAGAGATCGAGGAGCAGTGGCTGGTGACTACTGGGGCCAGGGAACC
CTGGTCACCGTCTCCTCAG (配列番号63 (10B3 V_H));及び
GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGC
CACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTTATACAACCTCCAACAATAAGAACC
TCTTAGCCTGGTTCCGGCAGAAACCGGGACAGCCTCCTAAGTTGCTCATTACTGG
GCGTCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGGTTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGAC
AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTTCT
GTCAGCAATATTATGGTACTCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATC
AAAC (配列番号64 (10B3 V_L)).

10

20

30

40

50

【0031】

これらのヌクレオチド配列のバリエーションも本明細書で企図される。それらを含む組成物も企図される。このようなバリエーションは、本明細書に開示された又は当業者に認識されるようなCDR又はこれらの変異体を含む抗体、又はポリペプチドをコードする。当業者ならば、10C8、16C11、14A6、又は10B3抗体に相当する特定のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列は、配列番号57～64のいずれかのアミノ酸配列と表3に示される情報から容易に導くことができることを理解する。例えば、アミノ酸配列GYTLTSY (配列番号1)と表3に示される情報から、そのアミノ酸配列がヌクレオチド配列GGCTACACCCTGACCAGCTAC (配列番号65)によってコードされ得ることが推論され得る。当業者ならば、配列番号1～56及びこれらの誘導体をコードするヌクレオチド配列も同様に推定でき、そのようなヌクレオチド配列が本明細書で企図されることを理解するであろう。本開示は又、そのようなヌクレオチド配列 (好ましい実施形態では、配列番号57～64又はこれらの誘導体のいずれか)を含む及び／又はからなる単離された核酸を含む発現ベクター、並びにそのような発現ベクターを含む宿主細胞 (例えば、細胞株)も提供する。

【0032】

「作動可能に連結される」という用語は、2つ以上のポリヌクレオチド（例えばDNA）セグメントの間の機能的関係を指す。一般に、この用語は、転写調節配列と転写される配列の機能的関係を指す。例えば、プロモーター又はエンハンサー配列は、適当な宿主細胞又は他の発現系においてコード配列の転写を刺激又は調節する場合、そのコード配列と機能的に連結されている。一般に、転写される配列に機能的に連結されているプロモーター転写調節配列は、転写される配列と物理的に連続し、すなわち、それらはシス作用型である。しかしながら、エンハンサーなどのいくつかの転写調節配列は、物理的に連続している必要はなく、又はそれらが転写を増強するコード配列に近接している必要もない。

本明細書で使用する場合、「最適化された」という用語は、生産細胞又は生物、一般に真核細胞、例えば、ピキア(Pichia)細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)又はヒト細胞で好まれるコドンを用いてアミノ酸配列をコードするようにヌクレオチド配列が改変されていることを意味する。最適化ヌクレオチド配列は、「親」配列としても知られる開始ヌクレオチド配列によって元々コードされているアミノ酸配列を完全に又はできる限り保持するように操作されている。本明細書において、最適化配列は、哺乳動物細胞に好まれるコドンを有するように操作されている。しかしながら、他の真核細胞又は原核細胞におけるこれらの配列の最適化された発現も本明細書で想定される。最適化されたヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列も又、最適化されていると言える。

【0033】

「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、本明細書ではアミノ酸残基のポリマーを指して互換的に使用される。この用語は、1以上のアミノ酸残基が対応する天然アミノ酸の人工的な化学的模倣体であるアミノ酸ポリマー、並びに天然アミノ酸ポリマー及び非天然アミノ酸ポリマーに適用される。別段の指示がない限り、特定のポリペプチド配列には、その保存的に改変された変異体も暗示的に包含する。

「組換えヒト抗体」という用語は、本明細書で使用する場合、ヒト免疫グロブリン遺伝子に関してトランスジェニック又はトランスクロモソーマルである動物（例えばマウス）又はそれから調製されたハイブリドーマから単離された抗体、ヒト抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から、例えばトランスフェクト体から単離された抗体、組換え、コンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体など、組換え手段によって調製、発現、作出又は単離されたあらゆるヒト抗体、及びヒト免疫グロブリン遺伝子配列の全部又は一部の他のDNA配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、作出又は単離された抗体が含まれる。このような組換えヒト抗体は、フレームワーク及びCDR領域がヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する。特定の実施形態では、しかしながら、このような組換えヒト抗体には、*in vitro*突然変異誘発（又はヒトIg配列に関してトランスジェニックな動物を使用する場合には、*in vivo*体細胞突然変異誘発）を行うことができ、従って、組換え抗体のV_H領域及びV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列のV_H及びV_L配列に由来し、それに関連しているものの、*in vivo*のヒト抗体生殖細胞系レパートリー内には天然には存在しない配列である。

【0034】

「組換え宿主細胞」（又は単に「宿主細胞」）又は「細胞株」という用語は、組換え発現ベクターが導入されている細胞を指す。このような用語が特定の対象細胞だけでなくそのような細胞の後代も指すことを意図するものと理解されたい。突然変異又は環境の影響により、次世代に特定の改変が起こる可能性があるため、そのような後代は実際には親細胞と同一ではない場合があるが、それでも本明細書で使用する場合「宿主細胞」又は「細胞株」という用語の範囲にやはり含まれる。

「対象」という用語は、ヒト及び非ヒト動物を含む。非ヒト動物には、全ての脊椎動物（例えば、哺乳動物及び非哺乳動物）、例えば、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル）、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、及び爬虫類が含まれる。特に記載がなければ、「患者」又は「対象」という用語は、本明細書では互換的に使用される。

【0035】

本明細書で使用する場合、任意の疾患又は障害（例えば乳癌）の「治療」という用語は、一実施形態では、疾患又は障害を改善すること（すなわち、疾患又はその少なくとも1つの臨床症状の発生を緩徐化又は停止又は軽減すること）を指す。別の実施形態では、「治療」とは、患者が認識できないものも含め少なくとも1つの物理的パラメーターを軽減又は改善することを指す。更に別の実施形態では、「治療」とは、物理的に（例えば、認識できる症状の安定化）、生理学的に（例えば、物理的パラメーターの安定化）、又はその両方で疾患又は障害を変調することを指す。更に別の実施形態では、「治療」とは、患又は障害の発症又は進展又は進行を予防すること又は遅延させることを指す。プログラニユリンを発現する癌に関連する病態又は障害を含む本明細書に記載される適応症に関して「予防」。

10

【0036】

「ベクター」という用語は、それが連結されている別のポリヌクレオチドを輸送できるポリヌクレオチド分子を指すことを意図する。ベクターの1つのタイプが「プラスミド」であり、プラスミドは、付加的DNAセグメントが連結され得る環状の二本鎖DNAループを指す。ベクターのもう1つのタイプが、アデノ随伴ウイルスベクター（AAV、又はAAV2）などのウイルスベクターであり、付加的DNAセグメントをウイルスゲノムに連結することができる。特定のベクターは、それらが導入された宿主細胞内で自律的複製能を有する（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞に導入された際に宿主細胞のゲノムに組み込まれ、それにより、宿主ゲノムと共に複製される。更に、特定のベクターは、それらが作動可能に連結されている遺伝子の発現を命令することができる。このようなベクターは、本明細書では「組換え発現ベクター」（又は単に「発現ベクター」）と呼ばれる。一般に、組換えDNA技術において有用な発現ベクターは、多くの場合、プラスミドの形態である。プラスミドは最も慣用されているベクター形態であるので、本明細書において「プラスミド」と「ベクター」は互換的に使用することができる。しかしながら、ウイルスベクター（例えば、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス）などのような等価の機能を果たす他の形態の発現ベクターも含むことを意図する。

20

【0037】

抗体は薬物と結合させて抗体-薬物複合体（ADC）を形成することができる。一般に、ADCは、薬物と抗体の間にリンカーを含む。リンカーは、分解性リンカー又は非分解性リンカーであり得る。分解性リンカーは一般に細胞内環境で容易に分解され、例えば、リンカーは、標的部位で分解されて、抗体から薬物が放出される。好適な分解性リンカーとしては、例えば、細胞内プロテアーゼ（リソソームプロテアーゼ若しくはエンドソームプロテアーゼなど）によって分解され得るペプチジル含有リンカー、又は糖リンカー、例えば、グルクロニダーゼによって分解され得るグルクロニド含有リンカーなど、酵素的に分解されるリンカーが挙げられる。ペプチジルリンカーとしては、例えば、バリニン-シトルリン、フェニルアラニン-リシン又はバリニン-アラニンなどのジペプチドが挙げられる。他の好適な分解性リンカーとしては、例えば、pH感受性リンカー（例えば、ヒドラゾンリンカーなど、5.5未満のpHで加水分解されるリンカー）及び還元条件下で分解するリンカー（例えば、ジスルフィド結合リンカー）が挙げられる。非分解性リンカーは一般に、抗体がプロテアーゼによって加水分解される条件下で薬物を放出する。

30

40

【0038】

抗体に連結されるまで、リンカーは特定のアミノ酸残基を反応し得る反応性基を有し、その反応性基によって連結が達成される。スルフヒドリル特異的反応性基が好ましく、例えば、マレイミド化合物、ハロゲン化アミド（ヨウ素、臭素、又はクロロなど）；ハロゲン化エステル（ヨウ素、臭素、又はクロロなど）；ハロゲン化メチルケトン（ヨウ素、臭素又はクロロなど）、ベンジルハリド（ヨウ素、臭素又はクロロなど）；ビニルスルホン、二硫化ピリジル；3,6-ジ（水銀メチル）ジオキサンなどの水銀誘導体、対イオン

50

は、酢酸イオン、塩化物イオン又は硝酸イオンである；及びポリメチレンジメチルスルフィドチオスルホネートが挙げられる。リンカーは、例えば、チオスクシンイミドを介して抗体に連結されたマレイミドを含み得る。薬物は、細胞増殖を阻害する任意の細胞傷害性薬又は免疫抑制薬であり得る。複数の実施形態において、リンカーは抗体と薬物を連結し、薬物はリンカーと結合可能な官能基を有する。例えば、薬物は、リンカーとの結合を形成し得るアミノ基、カルボキシル基、スルフヒドリル基、ヒドロキシル基、又はケトン基を有し得る。薬物がリンカーに直接連結される場合、薬物は抗体に連結されるまで反応性基を有する。有用な薬物カテゴリーとしては、例えば、抗チューブリン薬、DNA副溝結合試薬、DNA複製阻害剤、アルキル化試薬、抗生物質、葉酸拮抗薬、代謝拮抗薬、化学療法増感剤、トポイソメラーゼ阻害剤、ピンカアルカロイドなどが挙げられる。典型的な細胞傷害性薬物としては、例えば、オーリスタチン、カンプトテシン、デュオカルマイシン、エトポシド、メイタンシン及びメイタンシノイド（例えば、DM1及びDM4）、タキサン、ベンゾジアゼピン又はベンゾジアゼピン含有薬（例えば、ピロロ[1,4]ベンゾジアゼピン（PBD）、インドリノベンゾジアゼピン及びオキサゾリジノベンゾジアゼピン及びピンカアルカロイドが挙げられる。

10

【0039】

本明細書に記載されるように、薬物-リンカーを用いて、簡単な一段階でADCを形成することができる。他の実施形態では、二機能性リンカー化合物を用いて、二段階又は多段階工程でADCを形成することができる。例えば、第一段階でシステイン残基をリンカーの反応性部分と反応させ、次の段階でリンカー上の官能基を薬物と反応させてADCを形成する。一般に、リンカー上の官能基は、薬物成分上の適当な反応性基との特異的な反応を促進するように選択される。限定されない例として、アジドに基づく部分を用いて、薬物成分上の反応性アルキニル基と特異的に反応させることができる。薬物は、アジドとアルキニル基の間の1、3-双極子環付加によってリンカーに共有結合される。他の有用な官能基としては、例えば、ケトン及びアルデヒド（ヒドラジド及びアルコキシアミンと反応させるのに好適）、ホスフィン（アジドと反応させるのに好適）；イソシアン酸及びイソチオシアンネート（アミン及びアルコールと反応させるのに好適）；並びにN-ヒドロキスクシンイミドエステルなどの活性化エステル（アミン及びアルコールと反応させるのに好適）が挙げられる。これらの連結戦略及び"Bioconjugation Technology", 第2版 (Elsevier) に記載されているものなどの他の連結戦略は、当業者に周知である。当業者ならば、薬物部分とリンカーとの選択的反応に関して、反応性官能基の相補的対が選択される場合、相補的対の各メンバーはリンカーと薬物の両方に使用できることを理解できる。

20

30

【0040】

これらの抗体は、癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌 [TNBC] を含む乳癌）又はプログラニュリン発現の上昇を示す他の疾患の治療薬として使用可能である。トリプルネガティブ乳癌は、癌細胞がエストロゲン、プロゲステロン及びHER2タンパク質に対する受容体を持たない場合である。「中和」という用語により、その抗体は、実験動物及びヒトにおいて、細胞増殖を刺激する能力又は腫瘍増殖を誘導する能力を含む、腫瘍形成につながるプログラニュリンの任意の生物学的活性を阻害又はブロックする能力を有するものと理解されたい。有効量の抗プログラニュリン抗体がヒトを含む哺乳動物に様々な経路で投与される。

40

【0041】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、PGRN（好ましくは、hu PGRN）と結合する単離されたモノクローナル抗体、例えば、ヒトモノクローナル抗体を提供し、好ましくは、抗体10C8、16C11、14A6、又は10B3（併用可能）である。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、ヒト抗体、ヒトIgG、ヒトIgG1、ヒトIgG2、ヒトIgG2a、ヒトIgG2b、ヒトIgG3、ヒトIgG4、ヒトIgM、ヒトIgA、ヒトIgA1、ヒトIgA2、ヒトIgD、ヒトIgE、イヌ抗体、イヌIgGA、イヌIgGB、イヌIgGC、イヌIgGD、ニワトリ抗体、ニワトリIg

50

A、ニワトリIgD、ニワトリIgE、ニワトリIgG、ニワトリIgM、ニワトリIgY、ヤギ抗体、ヤギIgG、マウス抗体、マウスIgG、ブタ抗体、ラット抗体、ラマ抗体、アルパカ抗体、サメ抗体及びラクダ抗体に由来する。いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、任意選択により、Fab、Fab₂、Fab'一本鎖抗体、F_v、一本鎖、一重特異性抗体、二重特異性抗体、三量体抗体、多重特異性抗体、多価抗体、キメラ抗体、イヌーヒトキメラ抗体、イヌーマウスキメラ抗体、イヌFcを含む抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、イヌ化抗体、CDRグラフト抗体、サメ抗体、及びナノボディからなる群から選択される、本明細書に開示される抗体の誘導体を提供する。

【0042】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、固定的に結合された検出可能な標識を含み、任意選択により、前記検出可能な標識は、フルオレセイン、DyLight、Cy3、Cy5、FITC、HiLyte Fluor 555、HiLyte Fluor 647、5-カルボキシ-2,7-ジクロロフルオレセイン、5-カルボキシフルオレセイン、5-FAM、ヒドロキシトリプタミン、5-ヒドロキシトリプタミン(5-HAT)、6-カルボキシフルオレセイン(6-FAM)、FITC、6-カルボキシ-1,4-ジクロロ-2',7'-ジクロロフルオレセイン(TET)、6-カルボキシ-1,4-ジクロロ-2',4',5',7'-テトラクロロフルオレセイン(HEX)、6-カルボキシ-4',5'-ジクロロ-2',7'-ジメトキシフルオレセイン(6-JOE)、アレクサフルオル、アレクサフルオル350、アレクサフルオル405、アレクサフルオル430、アレクサフルオル488、アレクサフルオル500、アレクサフルオル514、アレクサフルオル532、アレクサフルオル546、アレクサフルオル555、アレクサフルオル568、アレクサフルオル594、アレクサフルオル610、アレクサフルオル633、アレクサフルオル635、アレクサフルオル647、アレクサフルオル660、アレクサフルオル680、アレクサフルオル700、アレクサフルオル750、BODIPY蛍光団、BODIPY 492/515、BODIPY 493/503、BODIPY 500/510、BODIPY 505/515、BODIPY 530/550、BODIPY 542/563、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650-X、BODIPY 650/665-X、BODIPY 665/676、FL、FL ATP、FIEセラミド、R6G SE、TMR、TMR-Xコンジュゲート、TMR-X、SE、TR、TR ATP、TR-X SE、ローダミン、ローダミン110、ローダミン123、ローダミンB、ローダミンB 200、ローダミンBB、ローダミンBG、ローダミンBエクストラ、5-カルボキシテトラメチルローダミン(5-TAMRA)、5 GLD、6-カルボキシローダミン6G、リサミン、リサミンローダミンB、ファリシジン(Phallicidine)、ファロイジン、ローダミンレッド、ロード-2,6-カルボキシ-X-ローダミン(ROX)、カルボキシ-X-ローダミン(5-ROX)、スルホローダミンB can C、スルホローダミンGエクストラ、6-カルボキシテトラメチルローダミン(TAMRA)、テトラメチルローダミン(TRITC)、ローダミンWT、テキサスレッド、及びテキサスレッド-Xからなる群から選択される、本明細書に開示される抗体の誘導体を提供する。

【0043】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、それに結合されたエフェクター部分を含み、任意選択により、前記エフェクター部分は、細胞傷害性薬物、毒素、ジフテリアA鎖、外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、クルシン、クロチン、フェノマイシン、エノマイシン、及び放射性化学物質からなる群から選択され、任意選択により、抗体とエフェクター部分の間に配置された切断可能なリンカーを含み、前記切断可能なリンカーは、細胞中に又は細胞内で前記エフェクター部分を放出する、本明細書に開示される抗体の誘導体を提供する。いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、本開示の抗体をコードし、任意選択により、核酸配列は本明細書に開示されるものである単離されたポリヌクレオチド、並びにそれを含む発現ベクター及び宿主細胞を提供する。いくつかの好ましい実施形

態では、本開示は、少なくとも本明細書に開示される抗体若しくは誘導体；このような抗体若しくは誘導体をコードする少なくとも1つの単離されたポリヌクレオチド；又はこのようなポリヌクレオチドを含む少なくとも1つの発現ベクター；並びに／又はこのようなポリヌクレオチド及び／若しくは発現ベクターを含む少なくとも1つの宿主細胞；又はこれらの組合せ；並びに薬学上許容される担体を含む組成物を提供する。

【0044】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、細胞上のPGRNを検出するための方法であって、試験生体サンプルを本開示の抗体又は誘導体と接触させること及び前記生体サンプル又はその成分に結合した抗体を検出することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、これらの方法は、試験生体サンプル又はその成分との結合の量と対照生体サンプル又はその成分との結合の量を比較することを含み、前記対照生体サンプル又はその成分に比べて前記試験生体サンプル又はその成分との結合が増加していれば、前記試験生体サンプル（例えば、試験生体サンプルは、哺乳動物細胞、組織、又は血液である）にPGRN（好ましくは、hu PGRN）を発現する細胞が存在していることを示す。この方法は、in vivo法又はin vitro法であり得る。

【0045】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、哺乳動物において癌を治療、予防及び／又は改善するための方法であって、前記哺乳動物に本開示の抗体又は誘導体を含む少なくとも1有効用量の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、それに結合された細胞傷害性エフェクター部分を含み、任意選択により、前記エフェクター部分は、細胞傷害性薬物、毒素、ジフテリアA鎖、外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、クルシン、クロチン、フェノマイシン、エノマイシン、及び放射性化学物質からなる群から選択される、このような抗体を提供する。いくつかの実施形態では、このような抗体は、抗体とエフェクター部分の間に配置された切断可能なリンカーを含むことができ、前記切断可能なリンカーは、細胞中に又は細胞内でエフェクター部分を放出する。いくつかのこのような実施形態では、抗体は、抗体-薬物複合体として投与される。いくつかの実施形態では、複数用量が動物に投与され、且つ／又は抗体は約1～50mg/kgの投与量で投与される。

【0046】

本明細書に記載される抗体（例えばポリペプチド）及び核酸は又、宿主に投与する前に1以上の薬学上許容される担体と合わせてもよい。薬学上許容される担体は、生物学的に又はそれ以外の点で望ましくないものではない材料であり、例えばその材料は、望ましくないいずれの生物学的効果も引き起こすことなく、又はそれが含有される医薬組成物の他の成分のいずれにも有害な相互作用を生じることなく、対象に投与され得る。当業者に周知であるように、担体は当然のことながら、有効成分の分解を最小限とし、対象における有害な副作用を最小限とするように選択される。好適な医薬担体及びそれらの製剤は、例えば、Remington's: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, David B. Troy編, Lippicott Williams & Wilkins (2005)に記載されている。一般に、製剤を等張とするために、製剤には適当な量の薬学上許容される塩が使用される。薬学上許容される担体の例としては、限定されるものではないが、無菌水、生理食塩水、リンゲル溶液のような緩衝溶液、及びデキストロース溶液が挙げられる。溶液のpHは一般に約5～約8又は約7～約7.5である。他の担体としては、ポリペプチド又はこれらのフラグメントを含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスなどの徐放性製剤が挙げられる。マトリックスは、成形品、例えば、フィルム、リポソーム又は微粒子の形態であってもよい。例えば、投与経路及び投与される組成物の濃度に応じて、特定の担体がより好ましい場合があることは当業者には明らかであろう。担体は、ヒト又は他の対象へのポリペプチド及び／又はこれらのフラグメントの投与に好適なものである。医薬組成物は、免疫原性ポリペプチドに加えて、担体、増粘剤、希釈剤、緩衝剤、保存剤、界面活性剤、アジュバント、免疫賦活薬も含み得る。医薬組成物は又、抗菌薬、抗炎症薬及び麻酔薬などの1以上の有効成分も含み得る。医薬組成物は、従来の薬学上許容される担体、アジュバン

10

20

30

40

50

ト、及びビヒクルを含有する単位剤形で、経口投与、非経口投与、吸入スプレーによる投与、直腸投与、節内投与、又は局所投与が可能である。「薬学上許容される担体」又は「生理学上許容される担体」という用語は、本明細書で使用する場合、医薬組成物としての核酸、ポリペプチド、又はペプチドの送達を達成又は促進するのに適した1以上の製剤材料を指す。「医薬組成物」は、治療上有効な量の核酸又はポリペプチドを含む組成物である。「有効量」及び「治療上有効な量」という用語はそれぞれ、任意選択の治療効果（例えば、PGRN発現細胞、例えば癌性PGRN発現細胞の排除）を見出すために使用される抗体、核酸などの量を指す。

【0047】

哺乳動物宿主において1以上の病態（例えば癌）を治療するための方法であって、前記哺乳動物に少なくとも1以上の有効量の1以上の本明細書に記載される抗体（及び／又はこれらの誘導体）を投与することを含む方法も提供される。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体10C8、16C11、14A6、又は10B3のCDR及び／又は可変領域の組合せのうち1以上を含むモノクローナル抗体又はそのフラグメント若しくは誘導体；表1に示される、及び／又は本明細書に開示されるヌクレオチド配列によりコードされる、又は当業者に認識され得るようなアミノ酸配列；並びに／或いは置換誘導体及び／若しくはこれらのフラグメント；並びにいくつかの実施形態では、これらの保存的置換変異体である。1以上の抗体は、約1～約50mg/kg、約1～約30mg/kg、又は約5～約30mg/kg（例えば、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、又は40mg/kgのいずれか）の投与量で投与され得る。特定の実施形態では、1以上の抗体は、哺乳動物に約10mg/kgで1回以上、（例えば、皮内、静脈内、経口、直腸）投与され得る。複数用量が投与される場合、各投与で用量はほぼ同量又は異なる量の抗体を含むことができる。投与は又、同じ間隔又は異なる間隔で互いに時間的に離すことができる。例えば、投与は、約6、12、24、36、48、60、72、84、又は96時間、1週間、2週間、3週間、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、1.5年、2年、3年、4年、5年、又はこれらの期間のいずれかの前、後及び／若しくは間のいずれかの期間だけ離すことができる。いくつかの実施形態では、抗体は、他の薬剤（例えば、抗感染薬及び／又は化学療法薬）と共に投与してもよい。このような他の薬剤は、抗体とほぼ同時に、又は異なる時点及び／又は頻度で投与してもよい。当業者により容易に決定できるように、このような方法の他の実施形態も適切であり得る。

【0048】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、a) それぞれ配列番号1、2、及び3のCDR配列を含む重鎖可変領域と配列番号4、5、及び6のCDR配列を含む軽鎖可変領域；b) それぞれ配列番号7、8、及び9のCDR配列を含む重鎖可変領域と配列番号10、11及び12のCDR配列を含む軽鎖可変領域；c) それぞれ配列番号13、14、及び15のCDR配列を含む重鎖可変領域と配列番号16、17、及び18のCDR配列を含む軽鎖可変領域；d) それぞれ配列番号19、20、21のCDR配列を含む重鎖可変領域と配列番号22、23、及び24のCDR配列を含む軽鎖可変領域；e) それぞれ配列番号1～3と7～9のCDR配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；f) それぞれ配列番号4～6と10～12のCDR配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；g) それぞれ配列番号13と配列番号14を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；h) それぞれ配列番号15～17と21～23のCDR配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；i) それぞれ配列番号18～20と24～26のCDR配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；j) それぞれ配列番号27と配列番号28を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；k) それぞれ配列番号29～31と35～37のCDR配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；l) それぞれ配列番号32～34と38～40のCDR配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；m) それぞれ配列番号41と配列番号42を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；

n) それぞれ配列番号 43～45 と 49～51 の CDR 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；o) それぞれ配列番号 46～48 と 52～54 の CDR 配列を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；p) それぞれ配列番号 55 と配列番号 56 を含む重鎖可変領域と軽鎖可変領域；又は a)～p) のいずれか 1 つの誘導体を含み、ヒトプログランニューリンと特異的に結合する、単離された抗体又はその抗原結合フラグメントを提供する。いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、a) それぞれ配列番号 25 を含む重鎖可変領域と配列番号 27 を含む軽鎖可変領域；b) それぞれ配列番号 29 を含む重鎖可変領域と配列番号 31 を含む軽鎖可変領域；c) それぞれ配列番号 33 を含む重鎖可変領域と配列番号 35 を含む軽鎖可変領域；又は d) それぞれ配列番号 37 を含む重鎖可変領域と配列番号 39 を含む軽鎖可変領域を含む、単離された抗体又はその抗原結合フラグメントを提供する。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、*in vitro* 及び／又は *in vivo* において *hu* PGRN を発現する細胞に内部移行する。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、細胞上の *hu* PGRN 受容体との結合に関してトラスツズマブと競合する。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、細胞上の *hu* PGRN 受容体との結合に関してトラスツズマブと競合しない。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、10C8、16C11、14A6、及び 10B3、又はこれらの誘導体である。いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、このような抗体の組合せを提供する。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、単離されたモノクローナル抗体である。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、ヒト抗体、ヒト IgG、ヒト IgG1、ヒト IgG2、ヒト IgG2a、ヒト IgG2b、ヒト IgG3、ヒト IgG4、ヒト IgM、ヒト IgA、ヒト IgA1、ヒト IgA2、ヒト IgD、ヒト IgE、イヌ抗体、イヌ IgGA、イヌ IgGB、イヌ IgGC、イヌ IgGD、ニワトリ抗体、ニワトリ IgA、ニワトリ IgD、ニワトリ IgE、ニワトリ IgG、ニワトリ IgM、ニワトリ IgY、ヤギ抗体、ヤギ IgG、マウス抗体、マウス IgG、ブタ抗体、ラット抗体、ラマ抗体、アルパカ抗体、サメ抗体及びラクダ抗体に由来する。いくつかの好ましい実施形態では、抗体の誘導体は、Fab、Fab2、Fab'、一本鎖抗体、F_v、一本鎖、一重特異性抗体、二重特異性抗体、三量体抗体、多重特異性抗体、多価抗体、キメラ抗体、イヌーヒトキメラ抗体、イヌーマウスキメラ抗体、イヌ Fc を含む抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、イヌ化抗体、CDR グラフト抗体、サメ抗体、及びナノボディからなる群から選択される。いくつかの好ましい実施形態では、抗体又は誘導体は、固定的に結合された検出可能な標識を含み、任意選択により、前記検出可能な標識は、フルオレセイン、DyLight、Cy3、Cy5、FITC、HiLyte Fluor 555、HiLyte Fluor 647、5-カルボキシ-2，7-ジクロロフルオレセイン、5-カルボキシフルオレセイン、5-FAM、ヒドロキシトリプタミン、5-ヒドロキシトリプタミン（5-HAT）、6-カルボキシフルオレセイン（6-FAM）、FITC、6-カルボキシ-1，4-ジクロロ-2'，7'-ジクロロフルオレセイン（TET）、6-カルボキシ-1，4-ジクロロ-2'，4'，5'，7'-テトラ-クロロフルオレセイン（HEX）、6-カルボキシ-4'，5'-ジクロロ-2'，7'-ジメトキシフルオレセイン（6-JOE）、アレクサフルオル、アレクサフルオル 350、アレクサフルオル 405、アレクサフルオル 430、アレクサフルオル 488、アレクサフルオル 500、アレクサフルオル 514、アレクサフルオル 532、アレクサフルオル 546、アレクサフルオル 555、アレクサフルオル 568、アレクサフルオル 594、アレクサフルオル 610、アレクサフルオル 633、アレクサフルオル 635、アレクサフルオル 647、アレクサフルオル 660、アレクサフルオル 680、アレクサフルオル 700、アレクサフルオル 750、BODIPY 蛍光団、BODIPY 492／515、BODIPY 493／503、BODIPY 500／510、BODIPY 505／515、BODIPY 530／550、BODIPY 542／563、BODIPY 558／568、BODIPY 564／570、BODIPY 576／589、BODIPY 581／591、BODIPY 630／650-X、BODIPY 650／665-X、BODIPY 665／676、FL、FL ATP、FI-

セラミド、R6G SE、TMR、TMR-Xコンジュゲート、TMR-X、SE、TR、TR ATP、TR-X SE、ローダミン、ローダミン110、ローダミン123、ローダミンB、ローダミンB 200、ローダミンBB、ローダミンBG、ローダミンBエクストラ、5-カルボキシテトラメチルローダミン(5-TAMRA)、5 GLD、6-カルボキシローダミン6G、リサミン、リサミンローダミンB、ファリシジン(Phallicidine)、ファロイジン、ローダミンレッド、ロードー2、6-カルボキシ-X-ローダミン(ROX)、カルボキシ-X-ローダミン(5-ROX)、スルホローダミンB can C、スルホローダミンGエクストラ、6-カルボキシテトラメチルローダミン(TAMRA)、テトラメチルローダミン(TRITC)、ローダミンWT、テキサスレッド、及びテキサスレッド-Xからなる群から選択される。いくつかの好ましい実施形態では、抗体又は誘導体は、それに結合されたエフェクター部分を含み、任意選択により、前記エフェクター部分は、細胞傷害性薬物、毒素、ジフテリアA鎖、外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、クルシン、クロチン、フェノマイシン、エノマイシン、及び放射性化学物質からなる群から選択される。いくつかの好ましい実施形態では、抗体又は誘導体は、抗体とエフェクター部分の間に配置された切断可能なリンカーを含むことができ、前記切断可能なリンカーは、細胞中に又は細胞内でエフェクター部分を放出する。いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、任意選択により、配列番号57~64の少なくとも1つの核酸配列を有する本明細書に開示される抗体をコードする単離されたポリヌクレオチドを提供する。いくつかの好ましい実施形態では、ポリヌクレオチドは、1以上のこのようなポリヌクレオチドを含む発現ベクターであり得る。いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、単離されたポリヌクレオチド及び／又は発現ベクターを含む宿主細胞を提供する。いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、少なくとも任意のこのような抗体及び／若しくは誘導体；それらをコードする少なくとも1つの単離されたポリヌクレオチド；それらを含む及び／若しくはコードする少なくとも1つの発現ベクター；並びに／又はそれらを含む少なくとも1つの宿主細胞；或いはこれらのいずれかの組合せ；並びに薬学上許容される担体を含む組成物を提供する。

10

20

30

40

【0049】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、細胞上のhu PGRN(GP88)を検出するための方法であって、試験生体サンプルを本開示の抗体又は誘導体と接触させること及び生体サンプル又はその成分に結合したそれを検出することを含む方法を提供する。いくつかの好ましい実施形態では、前記細胞は、乳癌、腺癌上皮成長因子受容体(EGF-R)乳癌、基底乳癌、エストロゲン受容体(ER)ルミナル乳癌、ER陽性タモキシフェン耐性ルミナル乳癌、レトロゾール耐性ルミナル乳癌、胆道癌、膀胱癌、脳癌、膠芽腫、大腸癌、類表皮癌、扁平上皮癌、食道癌、胃癌、肝細胞癌、腎臓癌、喉頭癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、骨髄腫／白血病、卵巣癌、前立腺癌、及び子宮癌細胞からなる群から選択され得る。いくつかの好ましい実施形態では、これらの方法は、試験生体サンプル又はその成分との結合の量を生体サンプル又はその成分との結合の量を比較することを含むことができ、前記対照生体サンプル又はその成分に比べて前記試験生体サンプル又はその成分との結合が増加していれば、前記試験生体サンプルにPGRNを発現する細胞が存在していることを示す。いくつかの好ましい実施形態では、試験生体サンプルは、哺乳動物細胞、組織、又は血液であり得る。いくつかの好ましい実施形態では、この方法は、in vivo法又はin vitro法である。

40

50

【0050】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、哺乳動物において癌を治療、予防及び／又は改善する方法であって、前記哺乳動物に本開示の抗体又は誘導体を含む少なくとも1有効用量の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。いくつかの好ましい実施形態では、癌は、乳癌、腺癌上皮成長因子受容体(EGF-R)乳癌、基底乳癌、エストロゲン受容体(ER)ルミナル乳癌、ER陽性タモキシフェン耐性ルミナル乳癌、レトロゾール耐性ルミナル乳癌、胆道癌、膀胱癌、脳癌、膠芽腫、大腸癌、類表皮癌、扁平上皮癌、食道癌、胃癌、肝細胞癌、腎臓癌、喉頭癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、骨

髄腫／白血病、卵巣癌、前立腺癌、及び子宮癌からなる群から選択される。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、それに結合された細胞傷害性エフェクター部分を含み、任意選択により、前記エフェクター部分は、細胞傷害性薬物、毒素、ジフテリアA鎖、外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、クルシン、クロチン、フェノマイシン、エノマイシン、及び放射性化学物質からなる群から選択される。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、抗体とエフェクター部分の間に配置された切断可能なリンカーを更に含み、前記切断可能なリンカーは、細胞中に又は細胞内でエフェクター部分を放出する。いくつかの好ましい実施形態では、抗体は、抗体－薬物複合体として投与される。いくつかの好ましい実施形態では、複数用量が動物に投与され、且つ／又は抗体は約1～50mg/kgの投与量で投与される。

10

【0051】

いくつかの好ましい実施形態では、本開示は、細胞内又は細胞上のh u P G R Nの発現を検出するためのキットであって、前記請求項のいずれか一項に記載の抗体又は誘導体及び使用説明書を含むキットを提供する。いくつかの好ましい実施形態では、細胞は、乳癌、腺癌上皮成長因子受容体（E G F－R）乳癌、基底乳癌、エストロゲン受容体（E R）ルミナル乳癌、E R陽性タモキシフェン耐性ルミナル乳癌、レトロゾール耐性ルミナル乳癌、胆道癌、膀胱癌、脳癌、膠芽腫、大腸癌、類表皮癌、扁平上皮癌、食道癌、胃癌、肝細胞癌、腎臓癌、喉頭癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、骨髓腫／白血病、卵巣癌、前立腺癌、及び子宮癌細胞からなる群から選択される。いくつかの好ましい実施形態では、抗体又は誘導体は、凍結乾燥形態である。

20

【実施例】

【0052】

以下の実施例は、本明細書に記載されるモノクローナル抗体に関する。

実施例1．ヒトプログラニユリンに対する高親和性完全ヒトモノクローナル抗体の発見及び単離

ヒト組換えh i s タグ付き全長プログラニユリンを用いたヒト化マウスT C－m A b（商標）の免疫誘導。これらのマウスの特徴は公開されている（Moriwaki, A. et al., *Exp Cell Res* 390(2): 111914, 2020）。ヒトA b産生T cマウス（T C－m A bマウス）は、マウスI gノックアウトバックグラウンドに全ヒトI g重鎖及びκ鎖遺伝子座を含むマウス由来操作染色体を安定的に維持している。ヒト免疫グロブリン（I g）遺伝子座を有するミニ染色体を保有するトランスクロモソミック（T c）マウスは、目的の抗原で免疫した場合、完全ヒト治療用モノクローナル抗体（A b）の開発に寄与し得る。この場合、T C－m A bマウスをヒト組換えプログラニユリンで免疫した。免疫したマウスの血清の力価を、H R P結合ヤギ抗ヒトF c二次抗体と共にニッケルプレートに固定化したヒトプログラニユリンを用いるE I A（プログラニユリンE I A）によって確認した。最も高い抗プログラニユリン力価を有するマウスを用いて、マウス骨髓腫H L－1細胞とエレクトロポレーションにより融合させた脾臓及びリンパ節のB細胞を回収した。融合したハイブリドーマは、10cmの組織培養プレートの半固形ハイブリドーマ培養培地Dに単細胞として播種した。11日後、1,726個の単一ハイブリドーマクローンを半固形培地プレートから採取し、96ウェルディッシュのハイブリドーマ培養培地E中に移した（ウェルに1クローン）。3日後、ハイブリドーマクローンの培養培地をプログラニユリンE I Aによってアッセイした。このアッセイにより多数のクローンが得られた。184クローンはO D₆₅₀が3.0を超え、387クローンはO D₆₅₀が3.0～2.0、423クローンはO D₆₅₀が2.0～1.0、334クローンはO D₆₅₀が1～0.5であった。O D₆₅₀>3.0の上位184クローンを、上記のようなプログラニユリンE I Aによる確認スクリーニングのために48ウェルプレートに移した。170クローンが強い陽性と確認された。これらのクローンを6ウェルプレートの培地E中に2反復で播種した。細胞を液体窒素中での長期保存のための適切な培養条件で凍結保存し、分泌されたI gを含有する培養培地を、将来の評価及び目的のハイブリドーマの選択のために回収し保存した。これらのクローンから120の抗体産生クローンを調製した。

30

40

50

【 0 0 5 3 】

実施例 2 . 抗プログラニュリンモノクローナル抗体クローンの更なる抗原結合の特性評価及び選択

i n v i t r o 増殖アッセイ 選択されたクローンからの培養培地を、癌細胞を含む細胞の増殖生存経路でよく知られたシグナル伝達分子である E R K 1 / 2 のリン酸化 (p - E R K 1 / 2) と A K T のリン酸化 (p - A K T) を阻害することによって、T N B C 細胞 M D A - M B - 2 3 1 の増殖を阻害するそれらの能力についてアッセイした。このアッセイは G u h a ら、2 0 2 1 年に記載されている。このアッセイを用いて、A G 0 1 を添加すると、E R K 1 / 2 (M A P キナーゼ又は M A P K) と生存シグナル伝達分子 p - A K T のリン酸化が用量依存的に阻害されることが示された。E I A によりプログラニュリンとの結合が陽性であった全てのヒトハイブリドーマクローンを、M D A - M B - 2 3 1 トリプルネガティブ乳癌細胞を用いたこのシグナル伝達分子リン酸化アッセイで調べた。これらのアッセイに基づくと、4 5 のクローンが、対照としてヒト I g G で処理した対照細胞と比較して、5 0 % を超えるレベルで p - E R K 1 / 2 、 p - A C T 又はその両方に対して阻害活性を示した。アッセイを繰り返すことで、p - E R K 1 / 2 の阻害を示すクローンの数は更に 3 8 に絞られた。結果を表 4 に示す。

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 4
クローニングされたモノク
ローナル抗体の活性

クローン	pERK1/2	pAKT
CONTROL	100	100
4F10	20	10
6F6	100	10
7E 6	100	10
7G1	90	50
8F7	50	80
8G6	120	50
8H2	200	50
9D2	100	
9E 12	80	
9H3	100	20
9G7	100	
9G8	80	
10B1	100	
10B3	10	50
10C7	10	10
10C8	8	20
10D4	150	
10D7	120	
10D8	100	
10F10	10	
10F5	10	
10H12	10	10
10H6	20	20
10H9	100	
11A11	80	
11B7	80	
11C1	90	20
11C10	20	20
11D10	20	50
11E 2	10	50
11E 8	300	
11G7	100	
11G9	75	
11H7	100	
12A3	100	
12A9	50	
12B9	150	
12C3	120	
12D1	10	50
12E 12	8	10
12E 2	10	10
12G1	8	10

10

20

30

40

50

【表 4－2】

13A2	100	
13B10	75	
13B7	100	
13D4	100	
13F1	300	
13F2	300	
13G1	300	
13G7	50	8
13H2	300	
13H7	300	
13H9	200	
14A6	50	8
14A9	50	20
14B1	100	
14B5	100	
14B9	50	50
14D8	20	50
14E 5	50	20
1EF12	100	10
14F4	80	
14F6	200	
14G4	200	
15a9	200	
15B10	100	
15C5	100	
15C8	80	50
15C9	200	
15D1	100	50
15D10	100	
15D5	200	
15E 1	200	
15E 5	100	10
15F2	200	
15F5	100	
16F6	100	
15G11	130	
15G5	200	
15H1	200	
15H5	50	200
15H6	50	10
15H8	200	
15H7	50	
16A6	100	
16A8	100	50
16B1	100	50
16B11	100	
16B2	200	
16B3	200	

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

16C11	80	40
1E 2	300	
16E 4	300	
16G2	50	10
16G9	200	
16H1	200	
16H5	100	40
16G4	300	
16G5	300	
17B12	300	
17F5	300	
17G12	300	
17G3	300	
18B12	300	
18B5	300	
18B6	100	50
18B9	300	
18C1	300	
18C11	300	
18C6	100	50
18D1	300	
18D9	300	
18E 1	300	
18E 5	300	
18F12	100	
18F6	200	10
18F8	200	
18F8	200	
18G11	200	
18G2	200	
18G5	50	50
18G9	100	10

10

20

30

【0054】

pERK1 / 2 及び / 又は p-AKT を、50% を超えて阻害した抗体を産生したクローンを灰色で強調している。次に、これらの45のクローンの、MDA-MB-231細胞へのプログラニユリンの結合を用量依存的に阻害する能力を調べた。

40

【0055】

フローサイトメトリーによるプログラニユリンの結合 結合アッセイは、本明細書に含まれる説明を用い、INTELLICYTフローサイトメーターにて行った。ヒト胚腎臓HEK-293とTNBC MDA-MB-231の2つの細胞株、及び非小細胞癌細胞株H1299などのいくつかの他の癌細胞へのプログラニユリンの結合を阻害する抗プログラニユリン抗体の能力を含む更なる結合アッセイも行った。アッセイした45のmAbのうち、11のクローン（表5に太字で示す）が、用量依存的にプログラニユリン結合を阻害することができた抗体を産生した。

50

【表 5】

表 5

MDA-MB-231細胞上のプログラニ
ュリンフロー結合の阻害

クローン	対照に対 する%	クローン	対照に対 する%
hIgG	100	hIgG	100
c4F10	83	14A6	116
6F6	130	14A9	115
7E 6	104	14B9	45
7G1	187	14D8	140
8F7	120	14E 5	121
8G6	116	14F12	149
8H2	145	15C8	123
10B3	62	15D1	144
10C7	91	15E 5	148
10C8	55	15H5	119
10F10	78	15H6	71
10F5	76	15H7	110
10H12	121	16A8	111
10H6	122	16B1	135
11C1	129	16C11	60
11C10	85	16G2	130
11D10	82	16H5	138
11E 2	136	18B6	108
12D1	144	18C6	125
12E 12	126	18F5	176
12E 2	155	18G5	53
12G1	140	18G9	141
13G7	126	9H3	48

【0056】

*in vitro*アッセイでp-ERK1/2をブロックできたいくつかの抗体は、プログラニユリンの結合を阻害する活性はほとんどなく、又はプログラニユリンの細胞への結合を刺激することさえあった。いくつかのアッセイを組み合わせることで更に選択を行った後、4つの抗体が検討された。図1は、このアッセイでその添加がプログラニユリンの結合の増加をもたらした14A6を除き、ヒト抗プログラニユリン抗体がTNBC MDA-MB-231細胞へのプログラニユリンの結合を用量依存的に阻害し、AG01よりも高い活性を持つことを示している。

【0057】

Octetによる結合親和性の決定 OctetRed96 BLI技術を用いて、選択された完全ヒト抗体のプログラニユリンへの結合の特徴を調べた。この方法を簡単に記載する。アッセイは25℃で行った。水和前（1時間）の抗ヒトFc捕捉（AHC）センサーのプレコンディショニングは、センサーを再生バッファーに浸漬した後、中和バッファー（PBS）に浸漬するというサイクルを3回繰り返すことで行った。抗プログラニユリンはmAbs 20 μg/mlで360秒間、プレコンディショニングしたバイオセンサーで捕捉した。次に、センサーをプログラニユリン希釈液と同様のベースラインバッファー（PBS）に浸した。その後、センサーをプログラニユリン含有ウェルに示されているよ

うに420秒間浸漬した。解離ステップは、アッセイバッファー（PBS）で600秒間行った。K_Dは、上記の実験条件を用いて、K_{on}とK_{off}に基づいて決定した。表6に選択したmAbのK_Dを示す。特に、mAb 16C11、10B3、10C8及び14A6は、10⁻⁹M未満のK_Dを有し、10C8は、K_D 4×10⁻¹²Mで最も高い親和性を有する。これらの4つのmAbは、Iso-Gold Rapid Isotypingに基づいて、IgG1/κアイソタイプを含むと決定された。

【表6】

表6

Octetアッセイ*を用いた選択されたモノクローナル抗体のK_D

ローディング mAb ID	応答	K _D (M)	K _{on} (1/Ms)	K _{off} (1/s)	Full X ²	Full R ²
16C11	0.9324	4.76 x 10 ⁻¹⁰	1.52 x 10 ⁵	7.21 x 10 ⁵	Full X ²	Full R ²
10B3	0.7975	1.36 x 10 ⁻¹⁰	8.68 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁵	0.0569	0.9961
10C8	0.8898	4.13 x 10 ⁻¹²	1.30 x 10 ⁵	5.38 x 10 ⁷	0.0078	0.9995
10C7	0.6235	1.07 x 10 ⁻⁹	8.65 x 10 ⁴	9.28 x 10 ⁵	0.038	0.9976
18G9	0.027	1.32 x 10 ⁻⁵	7.82 x 10 ²	1.04 x 10 ²	0.0681	0.4423
14A6	0.6397	5.87 x 10 ⁻¹⁰	5.03 x 10 ⁴	2.95 x 10 ⁵	0.0014	0.9999
14F12	0.9831	5.23 x 10 ⁻⁹	1.53 x 10 ⁵	7.98 x 10 ⁴	0.0446	0.9967

*センサータイプ:AHC;抗体濃度:50 nM;分析物: huPGRN

【0058】

AG01エピトープへのモノクローナル抗体の結合 これらのmAbがmAb AG01のエピトープと類似又は重複するエピトープを有するかどうかを決定する方法として、選択された完全ヒト抗体のいずれかがプログラニユリンとの結合に関してAG01と競合するかどうかを決定するために実験を行った。これにはDafferner, A. et al., Chem Res Toxicol 30:1897-1910, 2017に記載された方法に従い、OctetRed96上のBio-Layer Interferometryを使用した。各クローンをOctetRed96上でAG01と試験モノクローナルとプログラニユリンの同時タンデム結合を調べた。アッセイは基本的に、AG01をAHCセンサーに又はプログラニユリンをHIS1Kセンサーに捕捉することによって行い、試験抗体のペアリング能又はブロッキング能を試験した。それらの結果は、選択された4つの完全ヒトプログラニユリン抗体クローンは、AG01に先に占有されたプログラニユリンに、何ら干渉することなく結合することを示す。これらのデータは、選択された4つの抗体16C11、11C8、10B3及び14A6が、AG01が結合するエピトープとは異なるエピトープに結合することを示している。これらの結果は、Myszka, D. et al. (Biophys J 75:583-59, 1998)に記載されている方法を用いたBiacoreによるAG01とmAb 16C11の詳細な表面プラズモン共鳴分析を使用して確認された。

【0059】

実施例3：抗プログラニユリンモノクローナル抗体の機能活性

遊走アッセイ Guhara、2021に記載された遊走アッセイに従う。陽性対照としてのAG01と比較して、TNBC MDA-MB-231細胞の遊走を用量依存的に最もよく阻害するクローンを選択するために、11個のクローンをトランスウェルチャンバー遊走アッセイで調べた。MDA-MB-231細胞の遊走を用量依存的に阻害する能力について、6つのクローンを更に保持した。図2の結果は、これらのmAbはAG01より高くないとしても同等のレベルでMDA-MB-231細胞の遊走を阻害できることを示す。特に、完全ヒトmAbを10μg/mlで添加すると、MDA-MB-231細胞の遊走が30～50%阻害されたのに対し、AG01は同程度の遊走阻害に50μg/mlの濃度を必要とした(Guha et al., 2021)。

【0060】

実施例4：in vivo腫瘍形成に対する抗プログラニュリンモノクローナル抗体の効果

次に、最も親和性の高いこれらのmAb（16C11、10C8、10B3及び14A6）を、in vivoにおいて、雌無胸腺ヌードマウスの側腹部に皮下注射したMDA-MB-231細胞の腫瘍増殖を阻害する能力について調べた。プログラニュリン発現は腫瘍形成の亢進と関連していること(Tangkeangsirisin, Hayashi et al., 2004)、及びTNBC腫瘍を有するマウスは、抗プログラニュリン抗体AG01で処置すると腫瘍増殖抑制を示したこと(Guha, et al., 2021)が示されている。そこで、Guha, et al., 2021に記載された方法を用い、TNBC細胞株MDA-MB-231の腫瘍増殖を阻害する完全ヒト抗プログラニュリン抗体の能力を調べた。これらのヌードマウスで3つの抗体を試験した。全ての抗体を5mg/kgの濃度でアッセイした。無胸腺雌のマウスに10⁶個のMDA-MB-231細胞を皮下注射した。腫瘍が100mm³に達した際に、マウスを各群7匹の様々な試験群に無作為化した。抗体は5mg/kgの用量で週2回腹腔内に注射した。腫瘍の大きさは、週2回、抗体を注射する前にノギスを用いて測定し、腫瘍寸法から腫瘍体積を求めた。

10

図3は、AG01陽性対照及びヒトIgG陰性対照と比較した場合の、処置25日目に決定された腫瘍体積に対する完全ヒト抗体の腹腔内注射の効果を示す。このデータは、陽性対照として使用したAG01と比較して、選択された抗体が様々な程度の腫瘍阻害を示したことを示している。これらのデータは、選択された4つの抗体はmAb A01と同等以上の有効性でTNBC細胞株の腫瘍増殖を阻害できることを示している。

20

これらのデータ及びmAb 10C8の結合データに基づいて、mAb 10C8及びAG01の抗腫瘍活性の更なる比較を、治療コースを通して行った。図4のグラフは、処置期間を通しての10C8による腫瘍増殖抑制を示している。10C8は同じ用量5mg/kgでAG01の2倍の腫瘍阻害活性を有する（ $P < 0.006$ ）。対照としてのヒトIgGに比べて10C8を週2回注射した場合、腫瘍増殖は50%阻害された。

【0061】

他の実施形態は、本明細書で提供される明細書及び指示を考慮すれば、当業者には明らかとなろう。本明細書及び実施例は例示として見なされるにすぎず、本明細書における真の範囲及び精神は、以下の特許請求の範囲によって示されることが意図される。

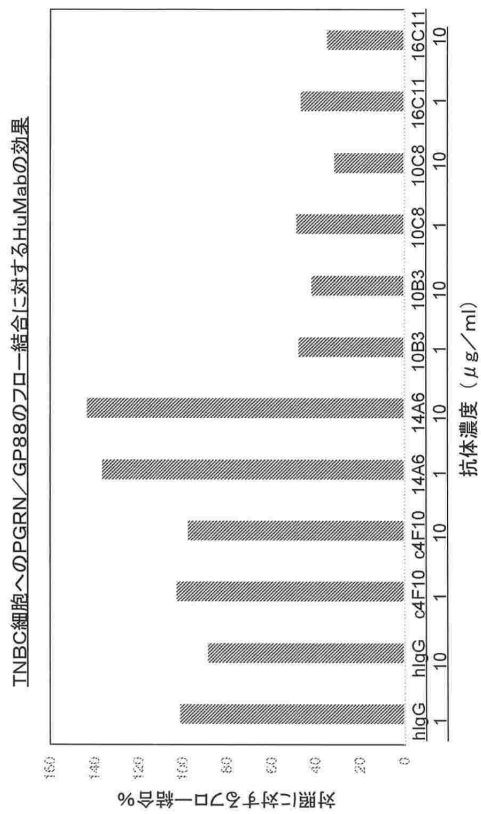
30

40

50

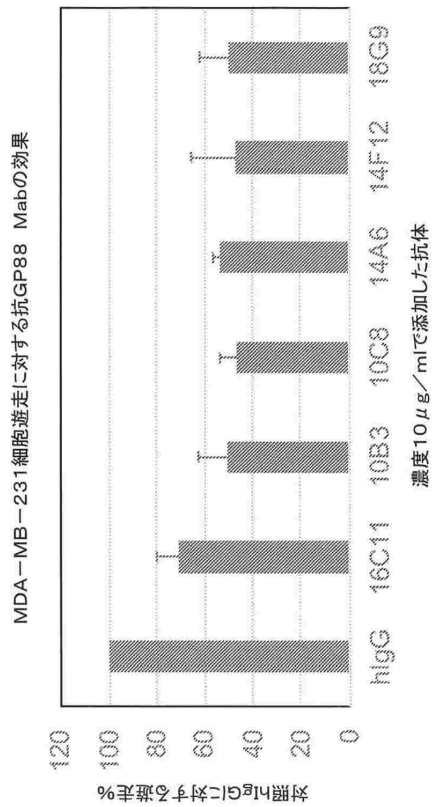
【図面】
【図 1】

FIG. 1



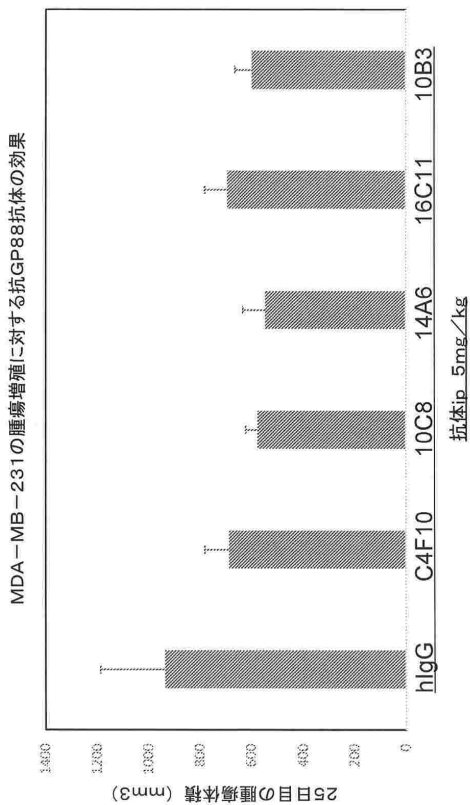
【図 2】

FIG. 2



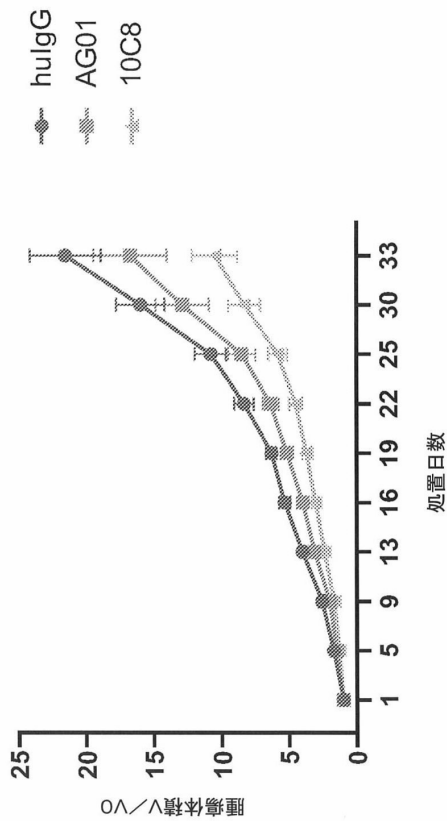
【図 3】

FIG. 3



【図 4】

FIG. 4



【配列表】

2025508868000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63169

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - INV. C07K 16/00, C07K 16/18 (2023.01) ADD. A61K 39/395, C12N 15/13 (2023.01) CPC - INV. C07K 16/00, C07K 16/18 ADD. C07K 2317/565, C07K 2317/50, A61K 2039/505 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHING et al., Chickens with humanized immunoglobulin genes generate antibodies with high affinity and broad epitope coverage to conserved targets. InMabs. January 2018; Vol. 10, No. 1, pp. 71-80. especially p. 74, col 2, para 3-4; p. 75, col 2, para 1 to p. 76, col 1, para 1; Figure 5C	1, 3
A	US 2015/0197554 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.) 16 July 2015 (16.07.2015) para [0017]; SEQ ID NO: 57	1, 3
A	US 2018/0134782 A1 (AGENSYS, INC.) 17 May 2018 (17.05.2018) abstract; para [0023]; SEQ ID NO: 10	1, 3
A	CN 108196061 A (SHAANXI NORMAL UNIVERSITY) 22 June 2018 (22.06.2018) full document, especially claim 2	1, 3
A	CHING et al., Common light chain, chickens produce human antibodies of high affinity and broad epitope coverage for the engineering of bispecifics. InMabs. January 2021; Vol. 13, No. 1, p. 1862451. full document	1, 3
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 19 July 2023 (19.07.2023)		Date of mailing of the international search report AUG 30 2023
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Kari Rodriguez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63169

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed.

b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),

☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63169

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-33
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

—continued on extra sheet—

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1 and 3 (in part), limited to the 10C8 antibody (SEQ ID NOS: 1-6, 13-14)

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63169

--continued from: Box No. III Observations where unity of invention is lacking--

Group I+, claims 1-3, directed to an isolated antibody or antigen binding fragment thereof that specifically binds to human progranulin. The anti-progranulin will be searched to the extent that the anti-progranulin encompasses the 10C8 antibody, comprising heavy chain variable region SEQ ID NO: 13 (CDR SEQ ID NOs: 1, 2, and 3), and light chain variable region SEQ ID NO: 14 (CDR SEQ ID NOs: 4, 5, and 6). The first named invention was determined based on this being the first listed set of heavy and light CDR sequences (claim 1), and the correct corresponding antibody heavy and light chain variable region sequences (claim 2 [see instant application specification p. 8-9, Table 1 sequences]). This first named invention has been selected based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines. It is believed that claims 1 and 3(in part) encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the anti-progranulin is the 10C8 antibody, comprising heavy chain variable region SEQ ID NO: 13 (CDR SEQ ID NOs: 1, 2, and 3), and light chain variable region SEQ ID NO: 14 (CDR SEQ ID NOs: 4, 5, and 6). Additional anti-progranulin sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected anti-progranulin sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be where the 16C11 antibody comprising heavy chain variable region SEQ ID NO: 27 (CDR SEQ ID NOs: 15, 16, and 17), and light chain variable region SEQ ID NO: 28 (CDR SEQ ID NOs: 18, 19 and 20), (claims 1 and 3(in part)).

[Note, many of the sequence SEQ ID NOs listed in claims 1 and 2 of the instant application are not correct [see instant application specification p. 8-9, Table 1 sequences]. For example, instant claim 2 states that SEQ ID NO: 25 and SEQ ID NO: 27 are heavy and light chain variable region sequences, respectively. However, SEQ ID NO: 25 is an LCDR2 sequence for antibody 16C11, and SEQ ID NO: 27 is a heavy chain variable sequence for antibody 16C11]

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a unique anti-progranulin sequence(s), and is considered a distinct technical feature.

No technical features are shared between the peptide amino acid sequences of Group I+ and accordingly these groups lack unity a priori.

Common Technical Features

Additionally, even if the inventions listed as Group I+ were considered to share the technical feature of including: an isolated antibody or antigen binding fragment thereof, comprising: a heavy chain variable region comprising three CDR sequences, and 3 and a light chain variable region comprising three CDR sequences, wherein the antibody or antigen binding fragment thereof specifically binds to human progranulin, this shared technical feature is disclosed by CN 108196061 A to Shaanxi Normal University (hereinafter "SNNU").

SNNU teaches an isolated antibody or antigen binding fragment thereof, comprising: a heavy chain variable region comprising three CDR sequences, and 3 and a light chain variable region comprising three CDR sequences, wherein the antibody or antigen binding fragment thereof specifically binds to human progranulin (claim 2 [English translation] "The coated antibody 4F10 is a mouse anti-human monoclonal antibody against a gRNA domain in human PGRN").

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Group I+ inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

Continuation of item 4 above: claims 4-33 are held unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 35/02 (2006.01)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)
A 6 1 K 9/19 (2006.01)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)
G 0 1 N 33/531 (2006.01)
C 1 2 N 5/09 (2010.01)
C 1 2 N 5/078 (2010.01)

C 1 2 N 1/21
C 1 2 N 5/10
C 1 2 Q 1/02
A 6 1 K 39/395 T
A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 35/02
A 6 1 K 39/395 Y
A 6 1 K 49/00
A 6 1 K 47/68
A 6 1 K 9/19
G 0 1 N 33/53 D
G 0 1 N 33/531 A
C 1 2 N 5/09
C 1 2 N 5/078

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

弁理士 松田 七重

(74)代理人 100136249

弁理士 星野 貴光

(72)発明者 セレーロ ジネット

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 0 4 2 エリコット シティ サヴォイ コート 1 0 2 0 0

F ターム (参考)

4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ08 QQ79 QR48 QR72 QR77 QS33
 4B065 AA01X AA01Y AA57X AA57Y AA72X AA72Y AA83X AA83Y AA90X AA90Y
 AB01 AC14 BA02 CA25 CA44 CA46
 4C076 AA30 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59 FF70
 4C085 AA14 AA26 BB11 DD62 EE01 HH11 HH13 KA04 LL18
 4H045 AA10 AA30 BA09 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74