

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7105200号
(P7105200)

(45)発行日 令和4年7月22日(2022.7.22)

(24)登録日 令和4年7月13日(2022.7.13)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/62

Z

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 19/00

Z N A

C 0 7 K 14/565 (2006.01)

C 0 7 K 14/565

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 16/28

C 1 2 N 15/22 (2006.01)

C 1 2 N 15/22

請求項の数 12 (全129頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-559879(P2018-559879)

(86)(22)出願日 平成29年5月12日(2017.5.12)

(65)公表番号 特表2019-519211(P2019-519211
A)

(43)公表日 令和1年7月11日(2019.7.11)

(86)国際出願番号 PCT/EP2017/061544

(87)国際公開番号 WO2017/194783

(87)国際公開日 平成29年11月16日(2017.11.16)

審査請求日 令和2年5月7日(2020.5.7)

(31)優先権主張番号 62/336,020

(32)優先日 平成28年5月13日(2016.5.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

(73)特許権者 518268352

オリオニス バイオサイエンシズ ビービー
ベルギー国、ビー 9 0 5 2 ヘント、テ
クノロジーパルク 9 4

(73)特許権者 518275408

ブイアイビー ブイゼットダブリュー
ベルギー国、9 0 5 2 ヘント、レイフ
イセストラート 1 2 0

(73)特許権者 516003702

ユニバーシティト ヘント
ベルギー国、ビー 9 0 0 0, ヘント,
シントーピーテルスニューシュトラート
2 5

(74)代理人 100114775

弁理士 高岡 亮一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 標的突然変異体インターフェロン-ベータおよびその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 野生型 I F N β に比べて改善された安全性を付与する 1 つまたは複数の変異を有する、改変型 I F N β と、

(b) 目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む、1 つまたは複数の標的部分と、

を含むキメラタンパク質であって、

前記改変型 I F N β と前記 1 つまたは複数の標的部分は、1 つまたは複数のリンカーで連結されていてもよく、前記改変型 I F N β は、配列番号 1 の F 6 7 G、F 6 7 S、R 7 1 A、L 8 8 G、L 8 8 S、Y 9 2 G、Y 9 2 S、I 9 5 A、N 9 6 G、K 1 2 3 G および R 1 2 4 G から選択される 1 つまたは複数の置換変異を含み、

前記認識ドメインは、単一ドメイン抗体である、

キメラタンパク質。

【請求項 2】

前記改変型 I F N β が、インターフェロン α / β 受容体 (I F N A R) に対する低減された親和性および／またはインターフェロン α / β 受容体 (I F N A R) での低減された活性を示す、請求項 1 に記載のキメラタンパク質。

【請求項 3】

前記改変型 I F N β が、I F N A R 1 に対する低減された親和性を示す、請求項 1 に記載

のキメラタンパク質。

【請求項 4】

前記改変型 I F N β が、

- (i) L 8 8 G および Y 9 2 G ;
- (i i) Y 9 2 G 、 I 9 5 A および N 9 6 G ;
- (i i i) K 1 2 3 G および R 1 2 4 G ;
- (i v) F 6 7 G 、 L 8 8 G および Y 9 2 G ; ならびに
- (v) F 6 7 S 、 L 8 8 S および Y 9 2 S ;

から選択される 1 つまたは複数の変異を含む、請求項 1 に記載のキメラタンパク質。

【請求項 5】

(a) 野生型 I F N β に比べて改善された安全性を付与する 1 つまたは複数の変異を有する、改変型 I F N β と、

(b) 目的の抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む、1 つまたは複数の標的部分と、

を含むキメラタンパク質であって、

前記改変型 I F N β と前記 1 つまたは複数の標的部分は、1 つまたは複数のリンカーで連結されていてもよく、

前記改変型 I F N β は、

- (i) W 2 2 G および R 2 7 G ;
- (i i) L 3 2 A および R 3 5 A ;
- (i i i) L 1 5 1 G および R 1 5 2 A ; ならびに
- (i v) V 1 4 8 G および R 1 5 2 A ;

から選択される配列番号 1 に関しての 1 つまたは複数の置換変異を含み、

前記認識ドメインは、単一ドメイン抗体であり、

前記改変型 I F N β は、I F N A R 2 に対する低減された親和性を示す、キメラタンパク質。

【請求項 6】

前記 1 つまたは複数の変異は、1 つまたは複数の標的部分への付着により回復可能である低減された親和性を付与する、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 7】

前記標的部分は、腫瘍細胞または免疫細胞に向けられる、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 8】

前記単一ドメイン抗体は、V H H、およびヒト化 V H H から選択される、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 9】

2 つ以上の標的部分、および／または 2 つ以上の追加的な改変型シグナル伝達物質、を含む、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質。

【請求項 10】

請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質をコードする、組換え核酸。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の核酸を含む、宿主細胞。

【請求項 12】

癌、感染症、免疫障害、自己免疫疾患、心臓血管疾患、創傷、虚血関連疾患、神経変性疾患および／または代謝疾患のうちの 1 つまたは複数の処置における使用のための医薬であって、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載のキメラタンパク質を含む、医薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

10

20

30

40

50

本出願は、2016年5月13日出願の米国特許仮出願第62/336,020号の利益を主張するものであり、この出願の内容全体は、参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

分野

本発明は、一部が、突然変異体インターフェロン β を含むキメラタンパク質および治療薬としてのその使用に関する。

【0003】

電子手段により提出されたテキストファイルの記載

本明細書と共に電子手段により提出されたテキストファイルの内容は、全体として参照により本明細書に組み入れられる：A computer readable format copy of the Sequence Listing (ファイル名：ORN-019PC_Sequence_listing; 記録日：2017年5月8日; ファイルサイズ：240KB)。

【背景技術】

【0004】

I型インターフェロン(IFN)は、免疫反応において主要な役割を担う多機能性サイトカインファミリーを形成する。ヒトI型IFNは、13の異なる非対立遺伝子アルファサブタイプ、1つのベータサブタイプ、および1つのオメガサブタイプを含む。IFNサブタイプの異なる活性が報告され、かつウイルス性肝炎(IFN α 2)および多発性硬化症(IFN β)を含む、様々な病態の処置のために臨床で用いられてきた。

【0005】

IFN α およびIFN β は、異なる遺伝子によりコードされ、独立して調節される。そのためIFN β は、病原およびグラム陰性菌のLPSなどの、外部シグナルに応答して明確に誘導される。IFN β はまた、マクロファージコロニー刺激因子による、およびサイトカインRANKLによるAP-1経路を介するシグナル伝達に応答して選択的に産生され、それゆえ骨髄細胞および破骨細胞の発生における役割を有する。IFN β の選択的産生のこれらの例(およびその他)は、IFN α を含む、他のI型インターフェロンと異なるIFN β の機能を示す。

【0006】

さらに、数多くの試験で、IFN β が細胞において、IFN α または他のインターフェロンが誘発し得ないシグナルを誘発し得ることが示されている。例えばIFN β は、IFN α と異なり、チロシンリン酸化受容体成分IFNAR1およびIFNAR2の結合を誘導し、IFN受容体に関連する、ヤヌスキナーゼtyk2が欠如する細胞において活性を有する。際立ったこととして、IFN β は、IFNAR2が欠如する細胞においてシグナルを誘発し、遺伝子発現をモジュレートできる。これらの効果は、IFNAR2の非存在下でのIFNAR1へのIFN β の結合により媒介される。IFN α または他のインターフェロンと比較して、IFN β のこの独特の特性は、異なる遺伝子の発現を調節するIFN β の能力と組み合わせられ、IFN β の独特の生物活性プロファイルを強調する。

【0007】

全てのI型IFNは、2種の膜貫通型タンパク質IFNAR1およびIFNAR2で構成される単一の共通の受容体により認識される。配列多様性にもかかわらず、I型IFNは共通の受容体と相互作用する。活性における相対的差異を示す数多くの例が、記録されている。これらの差異の幾つかは、IFNAR1およびIFNAR2での受容体結合選択性により媒介されるようである。例えば、IFN α 2と比較したIFN β の傑出した特性は、IFNAR1に対する約50倍高い親和性である。

【0008】

インターフェロンシグナル複合体の組立てについて長年想定されたモデルは、インターフェロンが最初にIFNAR2を結合し、続いてIFNAR1を動員してシグナル伝達を開始する、というものである。IFN β とIFN α の間の重要な差異は、IFN α がIFNAR2に対し高い親和性を、かつIFNAR1に対し低い親和性を有することである。対

照的に、IFN β はIFNAR2に対し高い親和性を有し、IFN α に比較してIFNAR1に対し高い親和性を有する。この差別的な結合親和性は、IFN β がIFN α に比較して受容体エンゲージメント (engagement) において異なるメカニズムを有することを示す。重要なこととして、IFNAR2を欠くがIFNAR1を保持する細胞中でIFN β がシグナル伝達し得るという生物学的データと合致して、IFNAR1に対するIFN β の高い親和性が、古典的IFNAR1／2複合体を介する単なる潜在的により効率的な、または機能的に異なるシグナル伝達以上のものを必然的に伴う可能性がある。

【0009】

近年の試験は、IFNAR2が欠損した細胞におけるIFN β の活性の根底にあるメカニズムをさらに明らかにした。これらの試験は、a) IFN β がIFNAR2の非存在下で細胞上のIFNAR1に結合し得ること、およびb) IFN β がナノモル親和性にてインビトロでIFNAR1細胞外ドメインに結合し得ること、を示す。並行して、IFNAR1ECDに結合されたIFN β の結晶構造が解明された。対照的に、IFN α はIFNAR1と高親和性複合体を形成できない。さらに、IFN β とIFNAR1との共結晶構造の解析は、IFN β の中核的特性 (CDヘリックスが、IFNAR1結合により立体配座移動 (conformational shift) を受け、IFNAR1との相互作用の主成分に寄与する) がIFNAR1／IFNAR2結合状態での他のインターフェロンでは観察されないことを明らかにし、IFN α を含む、他のタイプのインターフェロンとは異なりIFN β がIFNAR2の非存在下でどのようにIFNAR1を結合し得るかの理解を与えた。言い換えれば、IFN α とは異なりIFN β は、少なくとも2種の異なるタイプの受容体：IFNAR1 (単独) およびIFNAR1／IFNAR2複合体、を通してシグナル伝達し得る。

【0010】

IFN β とIFN α の間の分子差は、治療上重要であると考えられる。例えば近年の研究は、IFN β ／IFNAR1を介したシグナル伝達がインビボで生物学的意義を有するという証拠を提供する。IFN β は、LPSにより誘導される唯一のI型インターフェロンであり、敗血症性ショックのモデルにおける致死の媒介に不可欠である。IFNAR1欠損マウスは、LPSチャレンジの致死的影響から保護される。対照的に、IFNAR2欠損マウスは、野生型マウスと同様の、LPS介在型毒性への感受性を示す。これらの知見は、IFNAR1を介するIFN β シグナル伝達がこの病原性メカニズムに関与する可能性を示唆する。IFNAR2欠損マウスへのIFN β のさらなる投与は毒性を示すが、IFN α は示さない。

【0011】

実際に、IFN β は、骨肉腫、基底細胞癌、子宮頸部異形成、神経膠腫、急性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、ホジキン病、乳癌、黒色腫、ウイルス感染、および多発性硬化症を含む異なるタイプの癌および他の疾患の処置に処方されてきた。

【0012】

しかし、IFN α に比べIFN β が提供する利益にもかかわらず、IFN β の治療的使用はまた、患者の治療範囲を狭め患者に他の疾患をより受け易くさせる疼痛、発熱、悪寒、筋肉痛、関節痛、および他のインフルエンザ様症状などの大きな副作用にも関連する。

【0013】

したがって、最小限の毒性および副作用を生じつつ癌ならびに他の疾患および障害を処置するための安全かつ効果的なIFN β に基づく治療が、依然として必要とされている。

【発明の概要】

【0014】

幾つかの態様において、本発明は、修飾インターフェロナーベータ (IFN β) をシグナル伝達物質として含むキメラタンパク質に関する。一実施形態において、IFN β は、ヒトIFN β である。様々な実施形態において、修飾IFN β は、その生物活性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む。様々な実施形態において、修飾IFN β は、治療性受容体への親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む。一実施形態において、治療

10

20

30

40

50

性受容体は、インターフェロン α/β 受容体（IFNAR）であり、それはIFNAR 1およびIFNAR 2サブユニットで構成される。一実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR 1に対するその親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む。別の実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR 2に対するその親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR 2に対するその親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含み、かつIFNAR 1に対するその親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む。

【0015】

幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、修飾され得る1つまたは複数のさらなるシグナル伝達物質、例えば非限定的にインターフェロン、インターロイキン、および腫瘍壊死因子を含む。様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、非修飾の野生型IFN β に比較して改善された安全性を提供する。

【0016】

様々な実施形態において、キメラタンパク質は、該当する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する認識ドメイン（例えば、単一ドメイン抗体を含む、様々な抗体フォーマットを非限定的に含む抗原認識ドメイン）を有する1つまたは複数の標的部分を含む。様々な実施形態において、標的部分は、1つまたは複数の免疫細胞上で見出されるものを含む、該当する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する認識ドメインを有し、免疫細胞としては、T細胞、細胞障害性Tリンパ球、Tヘルパー細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、ナチュラルキラーT（NKT）細胞、抗腫瘍マクロファージ（例えば、M1マクロファージ）、B細胞、および樹状細胞を挙げることができるが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、該当する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合し、より多くの免疫細胞の1つを効果的に動員する。幾つかの実施形態において、該当する標的（例えば、抗原、受容体）は、1つまたは複数の腫瘍細胞上で見出され得る。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、免疫細胞、例えば腫瘍細胞を殺傷および／または抑制し得る免疫細胞を、作用部位（非限定的例として、腫瘍微細環境など）に動員し得る。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、非細胞構造の一部である該当する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。

【0017】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、癌、感染症、免疫障害、自己免疫疾患、心臓血管疾患、創傷治癒、虚血関連疾患、神経変性疾患、代謝疾患ならびに多くの他の疾患および障害などの様々な疾患または障害の処置に用途を見出し、本発明は、様々な処置の方法を包含する。

【0018】

様々な実施形態において、本発明は、薬剤としての使用のための本明細書に記載されるキメラタンパク質に関する。様々な実施形態において、本発明は、本明細書に記載される癌、感染症、免疫障害、炎症性疾患または状態、および自己免疫疾患の1つまたは複数の処置する際の使用のための本発明のキメラタンパク質に関する。さらに、様々な実施形態において、本発明の薬剤のいずれかは、非限定的に癌、感染症、免疫障害、炎症性疾患または状態、および自己免疫疾患を含む、様々な疾患および障害を処置する際の使用のため、または処置するための薬剤の製造のためであり得る。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】様々なIFN β 含有キメラの抗増殖活性を示す。DaudiおよびWish細胞を、野生型IFN β または様々なIFN β 含有キメラ（「AcTaféron」）を含有する上清の系列希釈と共に3日間、培養した。データを最大増殖の割合%としてプロットし、エラーバーは三重測定標準偏差を表す。パネルA～Uは、パネルタイトルに記載された異なる構築物を示す。例えば、パネルAは、「IFN β 」、即ちいかなる融合も含まない野生型ヒトIFN β （SEQ ID NO: 1）であり、パネルBは、「VHH（CD20）-hIFN β （wt）」、即ちCD20に対するVHHと野生型ヒトIFN β （S

10

20

30

40

50

EQ ID NO: 1) との融合物であり、パネル C は、「VHH (CD20) - hIFN β (R152A)」、即ち CD20 に対する VHH と R152A 突然変異 (SEQ ID NO: 1 に対する) を有する ヒト IFN β との融合物である、などである。

【図 2】STAT1 リン酸化に及ぼす様々な IFN β 含有キメラの影響を示す。CD19 陽性および CD19 陰性細胞における pSTAT1 の平均蛍光強度を、野生型 IFN β (SEQ ID NO: 1) または様々な IFN β 含有キメラ (「Actaferon」) についてプロットした (パネル A ~ I)。パネル J ~ K は、CD19 陰性細胞に対比させた CD19 陽性細胞における野生型 IFN β または IFN β 含有キメラでの pSTAT1 の平均蛍光強度を示す。パネル L ~ M は、野生型 IFN β に対比させた様々な IFN β 含有キメラの標的化効果を示す。パネル N ~ O は、野生型 IFN β 含有キメラ (CD20 に対する VHH と野生型 ヒト IFN β (SEQ ID NO: 1) との融合物) に対比させた様々な突然変異体 IFN β 含有キメラの標的化効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0020】

本発明は、一部には、1 つまたは複数の受容体に対する親和性が低減された修飾 IFN β を含む標的キメラタンパク質が有益な治療特性および低減された副作用を示す、という驚くべき発見に基づく。本発明は、キメラタンパク質を含む医薬組成物、および様々な疾患の処置におけるその使用を提供する。本発明のキメラタンパク質および医薬組成物の投与は、有意に低減された副作用を実現する。

【0021】

修飾インターフェロン

一態様において、本発明は、1 つまたは複数の受容体に対する親和性が低減されたインターフェロンの修飾形態であるシグナル伝達物質を含むキメラタンパク質を提供する。インターフェロン (IFN) は、非常に種々の真核細胞により分泌される公知のサイトカインファミリーである。インターフェロンは、抗ウイルス特性、免疫調整特性、免疫調節特性、および抗増殖特性を含む、種々の生物活性を有し、かつ様々な疾患の処置に治療薬として用いられてきた。インターフェロンは、インターフェロン α (IFN α)、インターフェロン β (IFN β)、インターフェロン γ (IFN γ)、インターフェロン κ (IFN κ)、インターフェロン ϵ (IFN ϵ) または IFN τ (IFN τ)、およびインターフェロン ω (IFN ω) を含む、多数の関連タンパク質を包含する。これらのインターフェロンタンパク質は、種々の細胞型：IFN α (白血球)、IFN β (線維芽細胞)、IFN γ (リンパ球)、IFN ϵ または κ (ケラチノサイト)、IFN ω (白血球) および IFN τ (トロフォブラスト) において産生される。IFN α 、IFN β 、IFN ϵ または κ 、IFN ω 、および IFN τ は I 型インターフェロンとして分類され、一方で IFN γ - ガンマは II 型インターフェロンとして分類される。I 型インターフェロンは全て、IFNAR1 および IFNAR2 サブユニットで構成される、共通受容体である I 型インターフェロン α / β 受容体 (IFNAR) に結合すると思われる。IFNAR は、I 型 IFN の結合により、JAK-STAT シグナル伝達経路を活性化して様々な生物学的効果を誘発する。

【0022】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、シグナル伝達物質として IFN β の修飾形態を含む。様々な実施形態において、IFN β は、IFN β の機能的誘導体、類似体、前駆体、アイソフォーム、スプライスバリエント、または断片を包含する。様々な実施形態において、IFN β は、任意の種に由来する IFN β を包含する。一実施形態において、キメラタンパク質は、マウス IFN β の修飾形態を含む。別の実施形態において、キメラタンパク質は、ヒト IFN β の修飾形態を包含する。ヒト IFN β は、166 のアミノ酸残基を含む約 22 kDa の分子量のポリペプチドである。ヒト IFN β のアミノ酸配列を、以下に示す：

MSYNLLGFLQRRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDP
PEEIKQLQQFQKEDAAITIEMLQNIFAIFRQDSSSTGWN

ETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSL
HLKRYYGRIILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRL
TGYLRN (SEQ ID NO: 1)。

【0023】

幾つかの実施形態において、ヒトIFN β は、ヒトIFN β のグリコシル化形態である、IFN β -1aである。幾つかの実施形態において、ヒトIFN β は、Met-1欠失およびCys-17からSerへの突然変異を有するヒトIFN β の非グリコシル化形態である、IFN β -1bである。

【0024】

IFN β の配列は、当該技術分野で公知である。様々な実施形態において、修飾IFN β は、IFN β の既知の野生型アミノ酸配列と少なくとも約60%、または少なくとも約61%、または少なくとも約62%、または少なくとも約63%、または少なくとも約64%、または少なくとも約65%、または少なくとも約66%、または少なくとも約67%、または少なくとも約68%、または少なくとも約69%、または少なくとも約70%、または少なくとも約71%、または少なくとも約72%、または少なくとも約73%、または少なくとも約74%、または少なくとも約75%、または少なくとも約76%、または少なくとも約77%、または少なくとも約78%、または少なくとも約79%、または少なくとも約80%、または少なくとも約81%、または少なくとも約82%、または少なくとも約83%、または少なくとも約84%、または少なくとも約85%、または少なくとも約86%、または少なくとも約87%、または少なくとも約88%、または少なくとも約89%、または少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性（例えば約60%、または約61%、または約62%、または約63%、または約64%、または約65%、または約66%、または約67%、または約68%、または約69%、または約70%、または約71%、または約72%、または約73%、または約74%、または約75%、または約76%、または約77%、または約78%、または約79%、または約80%、または約81%、または約82%、または約83%、または約84%、または約85%、または約86%、または約87%、または約88%、または約89%、または約90%、または約91%、または約92%、または約93%、または約94%、または約95%、または約96%、または約97%、または約98%、または約99%の配列同一性）を有するアミノ酸配列を含む。

【0025】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を有するヒトIFN β と少なくとも約60%、または少なくとも約61%、または少なくとも約62%、または少なくとも約63%、または少なくとも約64%、または少なくとも約65%、または少なくとも約66%、または少なくとも約67%、または少なくとも約68%、または少なくとも約69%、または少なくとも約70%、または少なくとも約71%、または少なくとも約72%、または少なくとも約73%、または少なくとも約74%、または少なくとも約75%、または少なくとも約76%、または少なくとも約77%、または少なくとも約78%、または少なくとも約79%、または少なくとも約80%、または少なくとも約81%、または少なくとも約82%、または少なくとも約83%、または少なくとも約84%、または少なくとも約85%、または少なくとも約86%、または少なくとも約87%、または少なくとも約88%、または少なくとも約89%、または少なくとも約90%、または少なくとも約91%、または少なくとも約92%、または少なくとも約93%、または少なくとも約94%、または少なくとも約95%、または少なくとも約96%、または少なくとも約97%、または少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性（例えば約60%、または約61%、または約62%、または約63%、または約64%、または約65%、または約66%、または約67%、または約

10

20

30

40

50

68%、または約69%、または約70%、または約71%、または約72%、または約73%、または約74%、または約75%、または約76%、または約77%、または約78%、または約79%、または約80%、または約81%、または約82%、または約83%、または約84%、または約85%、または約86%、または約87%、または約88%、または約89%、または約90%、または約91%、または約92%、または約93%、または約94%、または約95%、または約96%、または約97%、または約98%、または約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0026】

様々な実施形態において、修飾IFN β は、1つまたは複数のアミノ酸突然変異を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、1つまたは複数のアミノ酸突然変異は独立して、置換、挿入、欠失、およびトランケーションから選択され得る。

10

【0027】

幾つかの実施形態において、アミノ酸突然変異はアミノ酸置換であり、かつ保存的および／または非保存的置換を包含し得る。

【0028】

「保存的置換」は、例えば、含まれるアミノ酸残基の極性、電荷、サイズ、溶解度、疎水性、親水性、および／または両親媒性における類似性に基づいて、生成され得る。20種の天然由来アミノ酸は、以下の6つの標準的アミノ酸群に分類できる：(1) 疎水性：Met、Ala、Val、Leu、Ile；(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；(3) 酸性：Asp、Glu；(4) 塩基性：His、Lys、Arg；(5) 鎖の配向に影響を及ぼす残基：Gly、Pro；および(6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

20

【0029】

本明細書で用いられる「保存的置換」は、あるアミノ酸の、先に示された6つの標準的アミノ酸群の同じ群内に列挙された別のアミノ酸による交換と定義される。例えばGluによるAspの交換は、そのように修飾されたポリペプチドにおいて1つの負電荷を保持する。加えて、グリシンとプロリンは、 α -ヘリックスを崩壊するそれらの能力に基づいて、互いに置換され得る。

【0030】

本明細書で用いられる「非保存的置換」は、あるアミノ酸の、先に示された6つの標準的アミノ酸群(1)～(6)の異なる群内に列挙された別のアミノ酸による交換と定義される。

30

【0031】

様々な実施形態において、置換は、非古典的アミノ酸（例えばセレノシステイン、ピロリシン、N-ホルミルメチオニン β -アラニン、GABA、 δ -アミノレブリン酸、4-アミノ安息香酸(PABA)、共通するアミノ酸のD-異性体、2,4-ジアミノ酪酸、 α -アミノイソ酪酸、4-アミノ酪酸、Abu、2-アミノ酪酸、 γ -Abu、 ϵ -Ahx、6-アミノヘキサミン酸、Aib、2-アミノイソ酪酸、3-アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコスム(sarcosine)、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、 ϵ -ブチルグリシン、 ϵ -ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、 β -アラニン、フルオロアミノ酸、デザイナーアミノ酸、例えば β -メチルアミノ酸、 α -メチルアミノ酸、N α -メチルアミノ酸、および一般的なアミノ酸類似体)を含み得る。

40

【0032】

様々な実施形態において、IFN β は、1つまたは複数の突然変異を有するように修飾される。幾つかの実施形態において、突然変異は、修飾IFN β に、非突然変異の、例えば野生型のIFN β 形態に対比して低減された結合親和性、低減された内因活性、および低減された特異的生物活性の1つまたは複数などの、1つまたは複数の減弱された活性を持たせることができる。例えば、非突然変異の、例えば野生型のIFN β 形態に対比して低減された結合親和性、低減された内因活性、および低減された特異的生物活性の1つまた

50

は複数などの、減弱された活性の1つまたは複数は、IFNARなどの治療性受容体においてであり得る。その結果、様々な実施形態において、突然変異は、修飾された可溶性物質に、非突然変異の、例えば野生型のIFN β 形態に対比して低減された全身毒性、低減された副作用、および低減されたオフターゲット効果を持たせることができる。

【0033】

様々な実施形態において、IFN β は、IFNARなどの治療性受容体での結合親和性または活性を低減する突然変異を有するように修飾される。幾つかの実施形態において、野生型IFN β により提供される活性は、治療性受容体で作動性（例えば、治療部位での細胞効果の活性化）である。例えば、野生型IFN β は、治療性受容体を活性化し得る。そのような実施形態において、突然変異は、治療性受容体で低減された活性化活性を有する修飾されたIFN β をもたらす。

10

【0034】

幾つかの実施形態において、治療性受容体で低減された親和性または活性は、標的部分との付着により回復可能である。別の実施形態において、治療性受容体で低減された親和性または活性は、標的部分との付着により実質的に回復可能でない。様々な実施形態において、IFN β が治療性受容体で結合親和性または活性を弱化する突然変異を有するため、本発明の治療性キメラタンパク質はオフターゲット効果を低減する。様々な実施形態において、これは、例えば野生型IFN β で観察される、副作用を低減する。様々な実施形態において、修飾IFN β は、治療活性の部位への途中では実質的に不活性であり、特異的に標的とされる細胞型で実質的に効果を有し、これは望ましくない副作用を大きく低減する。

20

【0035】

様々な実施形態において、修飾IFN β は、IFN β に、1つまたは複数の治療性受容体について減弱または低減された親和性、例えば結合（例えば、K_D）および／または活性化（例えば、K_Aおよび／またはEC₅₀として測定可能）を持たせる、1つまたは複数の突然変異を有する。様々な実施形態において、治療性受容体での低減された親和性は、治療性受容体からの活性および／またはシグナル伝達の減弱を可能にする。

【0036】

様々な実施形態において、修飾IFN β は、IFNARのIFNAR1サブユニットへのその結合またはそれに対するその親和性を低減する、1つまたは複数の突然変異を有する。一実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR1で低減された親和性および／または活性を有する。様々な実施形態において、修飾IFN β は、ヒトIFN β であり、位置F67、R71、L88、Y92、I95、N96、K123、およびR124で1つまたは複数の突然変異を有する。幾つかの実施形態において、1つまたは複数の突然変異は、F67G、F67S、R71A、L88G、L88S、Y92G、Y92S、I95A、N96G、K123G、およびR124Gから選択される置換である。一実施形態において、修飾IFN β は、F67G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、K123G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、F67GおよびR71A突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、L88GおよびY92G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、Y92G、I95A、およびN96G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、K123GおよびR124G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、F67G、L88G、およびY92G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、F67S、L88S、およびY92S突然変異を含む。

30

40

【0037】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、IFNARのIFNAR2サブユニットへのその結合またはそれに対するその親和性を低減する、1つまたは複数の突然変異を有する。一実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR2で低減された親和性および／または活性を有する。様々な実施形態において、修飾IFN β は、ヒトIFN β であり、位置W22、R27、L32、R35、V148、L151、R152、およびY155で

50

1つまたは複数の突然変異を有する。幾つかの実施形態において、1つまたは複数の突然変異は、W22G、R27G、L32A、L32G、R35A、R35G、V148G、L151G、R152A、R152G、およびY155Gから選択される置換である。一実施形態において、修飾IFN β は、W22G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、L32A突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、L32G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、R35A突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、R35G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、V148G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、R152A突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、R152G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、Y155G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、W22GおよびR27G突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、L32AおよびR35A突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、L151GおよびR152A突然変異を含む。一実施形態において、修飾IFN β は、V148GおよびR152A突然変異を含む。

10

【0038】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、以下の突然変異の1つまたは複数を含む：R35A、R35T、E42K、M62I、G78S、A141Y、A142T、E149K、およびR152H。幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、以下の突然変異の1つまたは複数を含む：C17SまたはC17Aとの組み合わせでR35A、R35T、E42K、M62I、G78S、A141Y、A142T、E149K、およびR152H。

20

【0039】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、以下の突然変異の1つまたは複数を含む：本明細書に記載される他のIFN β 突然変異のいずれかとの組み合わせでR35A、R35T、E42K、M62I、G78S、A141Y、A142T、E149K、およびR152H。

【0040】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR1およびIFNAR2サブユニットの両方へのその結合またはそれらに対するその親和性を低減する、1つまたは複数の突然変異を含む。

30

【0041】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR1へのその結合またはそれに対するその親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む、かつIFNAR2へのその結合またはそれに対するその親和性を実質的に低減または除去する1つまたは複数の突然変異を含む。幾つかの実施形態において、そのような修飾IFN β を含むキメラタンパク質は、標的選択性IFNAR1活性を提供し得る（例えば、IFNAR1活性は、標的部分を介する標的化により回復可能である）。

【0042】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、IFNAR1へのその結合またはそれに対するその親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む、かつIFNAR2へのその結合またはそれに対するその親和性を低減する1つまたは複数の突然変異を含む。幾つかの実施形態において、そのような修飾IFN β を含むキメラタンパク質は、標的選択性IFNAR1および／またはIFNAR2活性を提供し得る（例えば、IFNAR1および／またはIFNAR2活性は、標的部分を介する標的化により回復可能である）。

40

【0043】

ヒトIFN β の結晶構造は、公知であり、Karpusas et al., (1998) PNAS, 94(22): 11813-11818に記載される。具体的には、ヒトIFN β の構造は、5つの α -ヘリックス（即ち、A、B、C、D、およびE）と、これらのヘリックスを連結する4つのループ領域（即ち、AB、BC、CD、およびDEループ）と、を含むことが示されている。様々な実施形態において、修飾IFN β は、IFNA

50

Rなどの治療性受容体でのその結合親和性または活性を低減する、A、B、C、D、Eヘリックスならびに／またはAB、BC、CDおよびDEループで1つまたは複数の突然変異を有する。例示的な突然変異は、WO2000/023114およびUS20150011732に記載されており、それらの内容全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置15、16、18、19、22、および／または23にアラニン置換を含むヒトIFNβである。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置28～30、32、および33にアラニン置換を含むヒトIFNβである。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置36、37、39、および42にアラニン置換を含むヒトIFNβである。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置64および67でのアラニン置換と、位置68でのセリン置換と、を含むヒトIFNβである。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置71～73にアラニン置換を含むヒトIFNβである。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置92、96、99、および100にアラニン置換を含むヒトIFNβである。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置128、130、131、および134にアラニン置換を含むヒトIFNβである。例示的な実施形態において、修飾IFNβは、アミノ酸位置149、153、156、および159にアラニン置換を含むヒトIFNβである。

【0044】

様々な実施形態において、修飾IFNβは、野生型IFNβに対比して、治療性受容体（例えば、IFNAR、またはサブユニットIFNAR1および／もしくはIFNAR2のいずれか一方）に対する約1%、または約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約10%～20%、約20%～40%、約50%、約40%～60%、約60%～80%、約80%～100%の親和性を有する。幾つかの実施形態において、結合親和性は、野生型IFNβに対比して、少なくとも約2倍低い、約3倍低い、約4倍低い、約5倍低い、約6倍低い、約7倍低い、約8倍低い、約9倍低い、少なくとも約10倍低い、少なくとも約15倍低い、少なくとも約20倍低い、少なくとも約25倍低い、少なくとも約30倍低い、少なくとも約35倍低い、少なくとも約40倍低い、少なくとも約45倍低い、少なくとも約50倍低い、少なくとも約100倍低い、少なくとも約150倍低い、または約10～50倍低い、約50～100倍低い、約100～150倍低い、約150～200倍低い、または200倍よりもさらに低い。

【0045】

様々な実施形態において、修飾IFNβは、例えば、野生型IFNβに対比して、IFNβの内在活性を約75%、または約70%、または約60%、または約50%、または約40%、または約30%、または約25%、または約20%、または約10%、または約5%、または約3%、または約1%に低減する1つまたは複数の突然変異を含む。

【0046】

幾つかの実施形態において、修飾IFNβは、修飾IFNβに受容体に対する低減された親和性を持たせる1つまたは複数の突然変異を含む。幾つかの実施形態において、受容体に対する修飾IFNβの結合親和性は、受容体に対する標的部分の結合親和性よりも低い。幾つかの実施形態において、この結合親和性の差異は、同じ細胞上の修飾IFNβ／受容体と標的部分／受容体の間にある。幾つかの実施形態において、この結合親和性の差異は、修飾IFNβに局在化されたオンターゲット効果を持たせ、かつ野生型IFNβで観察される副作用の根底にあるオフターゲット効果を最小限に抑えさせることができる。幾つかの実施形態において、この結合親和性は、少なくとも約2倍、または少なくとも約5倍、または少なくとも約10倍、または少なくとも約15倍低い、または少なくとも約20倍低い、または少なくとも約25倍、または少なくとも約30倍低い、または少なくとも約40倍低い、または少なくとも約50倍低い、または少なくとも約60倍低い、または少なくとも約70倍低い、または少なくとも約80倍低い、または少なくとも約90倍

低い、または少なくとも約100倍、または少なくとも約150倍低い、または少なくとも約200倍低い、または少なくとも約250倍低い、または少なくとも約300倍低い、または少なくとも約350倍低い、または少なくとも約400倍低い、または少なくとも約450倍低い、または少なくとも約500倍低い、または少なくとも約550倍低い、または少なくとも約600倍低い、または少なくとも約650倍低い、または少なくとも約700倍低い、または少なくとも約750倍低い、または少なくとも約800倍低い、または少なくとも約850倍低い、または少なくとも約900倍低い、または少なくとも約950倍低い、または少なくとも約1,000倍低い、または少なくとも約1,100倍低い、または少なくとも約1,200倍低い、または少なくとも約1,300倍低い、または少なくとも約1,400倍低い、または少なくとも約1,500倍低い、または少なくとも約1,600倍低い、または少なくとも約1,700倍低い、または少なくとも約1,800倍低い、または少なくとも約1,900倍低い、または少なくとも約2,000倍低い。

【0047】

幾つかの実施形態において、修飾IFN β は、修飾IFN β に、非突然変異の、例えば野生型のIFN β 形態に対比して低減された内因性活性または低減された特異的生物活性を持たせる、1つまたは複数の突然変異を含む。例示的な実施形態において、低減された内在活性または低減された特異的生物活性は、抗増殖活性に関する。別の例示的な実施形態において、低減された内在活性または低減された特異的生物活性は、STAT1リン酸化に関する。幾つかの実施形態において、内在活性または特異的生物活性は、少なくとも約2倍、または少なくとも約5倍、または少なくとも約10倍、または少なくとも約15倍低い、または少なくとも約20倍低い、または少なくとも約25倍、または少なくとも約30倍低い、または少なくとも約40倍低い、または少なくとも約50倍低い、または少なくとも約60倍低い、または少なくとも約70倍低い、または少なくとも約80倍低い、または少なくとも約90倍低い、または少なくとも約100倍、または少なくとも約150倍低い、または少なくとも約200倍低い、または少なくとも約250倍低い、または少なくとも約300倍低い、または少なくとも約350倍低い、または少なくとも約400倍低い、または少なくとも約450倍低い、または少なくとも約500倍低い、または少なくとも約550倍低い、または少なくとも約600倍低い、または少なくとも約650倍低い、または少なくとも約700倍低い、または少なくとも約750倍低い、または少なくとも約800倍低い、または少なくとも約850倍低い、または少なくとも約900倍低い、または少なくとも約950倍低い、または少なくとも約1,000倍低い、または少なくとも約1,100倍低い、または少なくとも約1,200倍低い、または少なくとも約1,300倍低い、または少なくとも約1,400倍低い、または少なくとも約1,500倍低い、または少なくとも約1,600倍低い、または少なくとも約1,700倍低い、または少なくとも約1,800倍低い、または少なくとも約1,900倍低い、または少なくとも約2,000倍低い。受容体結合活性は、当該技術分野で公知の方法を利用して測定され得る。例えば、親和性および／または結合活性は、結合データのスキッチャードプロット分析とコンピュータフィッティング（例えば、Scatchard, 1949）により、またはBrechtrら（1993）により記載される通り、フロースルー条件下での反射干渉分光法により、評定され得る（それらの全ての全体的内容は、参照により本明細書に組み入れられる）。

【0048】

様々な実施形態において、治療性受容体での減弱された活性、治療性受容体での弱化された親和性は、治療活性部位（例えば、本明細書に記載される抗体または抗体フォーマット）で抗原に対する高い親和性を有する標的部分と付着することにより回復可能である。標的化は、修飾IFN β を標的部分に連結することにより実現される。一実施形態において、修飾IFN β は、そのアミノ末端を介して標的部分に連結される。別の実施形態において、修飾IFN β は、そのカルボキシ末端を介して標的部分に連結される。このようにして、本発明のキメラタンパク質は、幾つかの実施形態において、治療性受容体での局在的

10

20

30

40

50

でオンターゲットの、かつ制御された治療作用を提供する。

【0049】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、W22での突然変異を含む。

【0050】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R27での突然変異を含む。

【0051】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、W22での突然変異と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R27での突然変異を含む。

【0052】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、L32での突然変異を含む。

【0053】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R35での突然変異を含む。

【0054】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、L32での突然変異と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R35での突然変異を含む。

【0055】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、F67での突然変異を含む。

【0056】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R71での突然変異を含む。

【0057】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、F67での突然変異と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R71での突然変異を含む。

【0058】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、L88での突然変異を含む。

【0059】

10

20

30

40

50

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、Y 9 2 での突然変異とを含む。
【0060】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、F 6 7 での突然変異と、グリシン (G)、アラニン (A)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、L 8 8 での突然変異と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、Y 9 2 での突然変異とを含む。

10

【0061】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、L 8 8 での突然変異と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、Y 9 2 での突然変異とを含む。

【0062】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、I 9 5 での突然変異と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、Y 9 2 での突然変異とを含む。

20

【0063】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、N 9 6 での突然変異と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、Y 9 2 での突然変異とを含む。

30

【0064】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、Y 9 2 での突然変異と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、I 9 5 での突然変異と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、N 9 6 での突然変異とを含む。

【0065】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、K 1 2 3 での突然変異とを含む。

40

【0066】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン (G)、アラニン (A)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、およびバリン (V) から選択される脂肪族疎水性残基である、R 1 2 4 での突然変異とを含む。

【0067】

幾つかの実施形態において、突然変異体 I F N β は、S E Q I D N O : 1 と、グリシン

50

(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、K123での突然変異と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R124での突然変異とを含む。

【0068】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、L151での突然変異とを含む。

【0069】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R152での突然変異とを含む。

【0070】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、L151での突然変異と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R152での突然変異とを含む。

【0071】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、およびメチオニン(M)から選択される脂肪族疎水性残基である、V148での突然変異とを含む。

【0072】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、V148での突然変異と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、R152での突然変異とを含む。

【0073】

幾つかの実施形態において、突然変異体IFN β は、SEQ ID NO:1と、グリシン(G)、アラニン(A)、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、メチオニン(M)、およびバリン(V)から選択される脂肪族疎水性残基である、Y155での突然変異とを含む。

【0074】

幾つかの実施形態において、本発明は、(a)アミノ酸配列SEQ ID NO:1と、脂肪族疎水性残基である位置W22での突然変異とを有する修飾IFN β と、(b)該当する抗原または受容体に特異的に結合する認識ドメインを含む1つまたは複数の標的部分とを含むキメラタンパク質に関し、修飾IFN β と1つまたは複数の標的部分は場合により1つまたは複数のリンカーによって連結される。様々な実施形態において、位置W22での突然変異は、G、A、L、I、M、およびVから選択される脂肪族疎水性残基である。様々な実施形態において、位置W22での突然変異は、Gである。

【0075】

本発明の修飾インターフェロン β を含む治療薬
標的部分の細胞動員

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、標的(例えば、抗原、受容体)に特異的に結合する認識ドメインを有する1つまたは複数の標的部分をさらに含む。例示の実施形態において、キメラタンパク質は、2、3、4、5、6、7、8、9、10また

10

20

30

40

50

はより多くの標的部分を含み得る。様々な実施形態において、該当する標的（例えば、抗原、受容体）は、1つまたは複数の免疫細胞上で見出され得、免疫細胞としては、T細胞、細胞障害性Tリンパ球、Tヘルパー細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、ナチュラルキラーT（NKT）細胞、抗腫瘍マクロファージ（例えば、M1マクロファージ）、B細胞、樹状細胞、およびそれらのサブセットを挙げることができるが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、該当する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合し、直接的または間接的に、より多くの免疫細胞の1つを効果的に動員する。幾つかの実施形態において、該当する標的（例えば、抗原、受容体）は、1つまたは複数の腫瘍細胞上で見出され得る。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、2つ以上の標的部分を含む。そのような実施形態において、キメラタンパク質は、2つの異なる細胞（例えば、シナプスを生成するため）または同じ細胞（例えば、より集中したシグナル伝達物質効果を得るため）を標的とし得る。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、免疫細胞を、例えば幾つかの実施形態において、治療部位（例えば、1つもしくは複数の疾患細胞、または治療効果のためにモジュレートされる細胞を有する箇所）に、直接的または間接的に動員し得る。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、免疫細胞、例えば腫瘍細胞を殺傷および／または抑制し得る免疫細胞を、作用部位（非限定的例として、腫瘍微細環境など）に、直接的または間接的に動員し得る。

10

【0076】

様々な実施形態において、標的部分は、疾患細胞および／またはエフェクター細胞などの細胞を、直接的または間接的に動員し得る。様々な実施形態において、シグナル伝達物質（例えば、修飾IFN β ）は、標的部分により標的とされる1つまたは複数の細胞（例えば、疾患細胞および／またはエフェクター細胞などの動員された細胞）をモジュレートし得る。例えば、シグナル伝達物質（例えば、修飾IFN β ）は、標的細胞がシグナル伝達物質に対する受容体を発現するか否かに応じて、標的細胞の一方または両方をモジュレートし得る（かつ標的細胞は、エフェクターおよび／または疾患細胞であり得る）。

20

【0077】

幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、免疫細胞のバランスを腫瘍の免疫攻撃に偏るようにシフトできる、またはシフトすることを含む方法に用途を見出す。例えば、本発明のキメラタンパク質は、臨床的に重要な部位で免疫細胞の比率を、腫瘍を殺傷および／または抑制し得る細胞（例えば、T細胞、細胞障害性Tリンパ球、Tヘルパー細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、ナチュラルキラーT（NKT）細胞、抗腫瘍マクロファージ（例えば、M1マクロファージ）、B細胞、樹状細胞またはそれらのサブセット）に偏るように、かつ腫瘍を保護する細胞（例えば、骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）、調節性T細胞（Treg）、腫瘍関連好中球（TAN）、M2マクロファージ、腫瘍関連マクロファージ（TAM）、またはそれらのサブセット）に対抗するように、シフトし得る。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、調節性T細胞に対するエフェクターT細胞の比率を上昇させることができる。

30

【0078】

例えば、幾つかの実施形態において、認識ドメインは、T細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、T細胞を直接的または間接的に動員する。一実施形態において、認識ドメインは、エフェクターT細胞に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、エフェクターT細胞を、例えば幾つかの実施形態において、治療部位（例えば、1つもしくは複数の疾患細胞、または治療効果のためにモジュレートされる細胞を有する位置）に、直接的または間接的に動員する。例示的なエフェクターT細胞としては、細胞障害性T細胞（例えば、 $\alpha\beta$ TCR、CD3 $^{+}$ 、CD8 $^{+}$ 、CD45RO $^{+}$ ）；CD4 $^{+}$ エフェクターT細胞（例えば、 $\alpha\beta$ TCR、CD3 $^{+}$ 、CD4 $^{+}$ 、CCR7 $^{+}$ 、CD62Lhi、IL-7R/CD127 $^{+}$ ）；CD8 $^{+}$ エフェクターT細胞（例えば、 $\alpha\beta$ TCR、CD3 $^{+}$ 、CD8 $^{+}$ 、CCR7 $^{+}$ 、CD62Lhi、IL-7R/CD127 $^{+}$ ）；エフェクターメモリ

40

50

ーT細胞（例えば、CD62L^{low}、CD44⁺、TCR、CD3⁺、IL-7R/CD127⁺、IL-15R⁺、CCR7^{low}）；セントラルメモリーT細胞（例えば、CCR7⁺、CD62L⁺、CD27⁺；またはCCR7^{hi}、CD44⁺、CD62L^{hi}、TCR、CD3⁺、IL-7R/CD127⁺、IL-15R⁺）；CD62L⁺エフェクターT細胞；初期エフェクターメモリーT細胞（CD27⁺CD62L⁻）および後期エフェクターメモリーT細胞（CD27⁻CD62L⁻）（それぞれTemEおよびTemL）を含むCD8⁺エフェクターメモリーT細胞（TEM）；CD127（⁺）CD25（^{low}/⁻）エフェクターT細胞；CD127（⁻）CD25（⁻）エフェクターT細胞；CD8⁺幹細胞メモリーエフェクター細胞（TSCM）（例えば、CD44（^{low}）CD62L（^{high}）CD122（^{high}）sca（⁺））；TH1エフェクターT細胞（例えば、CXCR3⁺、CXCR6⁺およびCCR5⁺；またはαβTCR、CD3⁺、CD4⁺、IL-12R⁺、IFNγR⁺、CXCR3⁺）、TH2エフェクターT細胞（例えば、CCR3⁺、CCR4⁺およびCCR8⁺；またはαβTCR、CD3⁺、CD4⁺、IL-4R⁺、IL-33R⁺、CCR4⁺、IL-17RB⁺、CRTH2⁺）；TH9エフェクターT細胞（例えば、αβTCR、CD3⁺、CD4⁺）；TH17エフェクターT細胞（例えば、αβTCR、CD3⁺、CD4⁺、IL-23R⁺、CCR6⁺、IL-1R⁺）；CD4⁺CD45RO⁺CCR7⁺エフェクターT細胞、ICOS⁺エフェクターT細胞；CD4⁺CD45RO⁺CCR7（⁻）エフェクターT細胞；ならびにIL-2、IL-4および／またはIFNγを分泌するエフェクターT細胞が挙げられる。

【0079】

該当する例示的なT細胞抗原としては、例えばCD8、CD3、SLAMF4、IL-2Rα、4-1BB/TNFRSF9、IL-2Rβ、ALCAM、B7-1、IL-4R、B7-H3、BLAME/SLAMFS、CEACAM1、IL-6R、CCR3、IL-7Rα、CCR4、CXCR1/IL-SRA、CCR5、CCR6、IL-10Rα、CCR7、IL-10Rβ、CCRS、IL-12Rβ1、CCR9、IL-12Rβ2、CD2、IL-13Rα1、IL-13、CD3、CD4、ILT2/CDS5j、ILT3/CDS5k、ILT4/CDS5d、ILT5/CDS5a、インテグリン（Integrin）α4/CD49d、CDS、インテグリンαE/CD103、CD6、インテグリンαM/CD11b、CDS、インテグリンαX/CD11c、インテグリンβ2/CDIS、KIR/CD15S、CD27/TNFRSF7、KIR2DL1、CD2S、KIR2DL3、CD30/TNFRSFS、KIR2DL4/CD15Sd、CD31/PECAM-1、KIR2DS4、CD40リガンド/TNFSF5、LAG-3、CD43、LAIR1、CD45、LAIR2、CDS3、ロイコトリエンB4-R1、CDS4/SLAMF5、NCAM-L1、CD94、NKG2A、CD97、NKG2C、CD229/SLAMF3、NKG2D、CD2F-10/SLAMF9、NT-4、CD69、NTB-A/SLAMF6、共通γ鎖/IL-2Rγ、オステオポンチン、CRACC/SLAMF7、PD-1、CRTAM、PSGL-1、CTLA-4、RANK/TNFRSF11A、CX3CR1、CX3CL1、L-セレクチン、CXCR3、SIRPβ1、CXCR4、SLAM、CXCR6、TCCR/WSX-1、DNAM-1、チモポエチン、EMMPRIN/CD147、TIM-1、EphB6、TIM-2、Fas/TNFRSF6、TIM-3、Fasリガンド/TNFSF6、TIM-4、FcγRIII/CD16、TIM-6、TNFR1/TNFRSF1A、グラニューライシン、TNFRIII/TNFRSF1B、TRAILRI/TNFRSF10A、ICAM-1/CD54、TRAILR2/TNFRSF10B、ICAM-2/CD102、TRAILR3/TNFRSF10C、IFNγR1、TRAILR4/TNFRSF10D、IFNγR2、TSLP、IL-1R1およびTSLPR（および適宜、細胞外ドメインを含む）が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの例示的T細胞抗原の1つまたは複数を結合する。

10

20

30

40

50

【0080】

非限定的例として、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞上で発現されるチェックポイントマーカー、例えばPD-1、CD28、CTLA4、ICOS、BTLA、KIR、LAG3、CD137、OX40、CD27、CD40L、TIM3、およびA2aRの1つまたは複数に対する標的部分を有する。

【0081】

例えば幾つかの実施形態において、認識ドメインは、B細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、B細胞を、例えば幾つかの実施形態において、治療部位（例えば、1つまたは複数の疾患細胞、または治療効果のためにモジュレートされる細胞を有する位置）に、直接的または間接的に動員する。該当する例示的なB細胞抗原としては、例えばCD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD38、CD39、CD40、CD70、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CD77、CD78、CD79a/b、CD80、CD81、CD82、CD83、CD84、CD85、CD86、CD89、CD98、CD126、CD127、CDw130、CD138およびCDw150が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの例示的なB細胞抗原の1つまたは複数を結合する。

【0082】

さらなる例として、幾つかの実施形態において、認識ドメインは、ナチュラルキラー細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、ナチュラルキラー細胞を、例えば幾つかの実施形態において、治療部位（例えば、1つまたは複数の疾患細胞、または治療効果のためにモジュレートされる細胞を有する位置）に、直接的または間接的に動員する。該当する例示的なナチュラルキラー細胞抗原としては、例えばTIGIT、2B4/SLAMF4、KIR2DS4、CD155/PVR、KIR3DL1、CD94、LMIR1/CD300A、CD69、LMIR2/CD300c、CRACC/SLAMF7、LMIR3/CD300LF、DNAM-1、LMIR5/CD300LB、Fc-γRII、LMIR6/CD300LE、Fc-γRI/CD64、MICA、Fc-γRIIB/CD32b、MICB、Fc-γRIIC/CD32c、MULT-1、Fc-γRIIA/CD32a、ネクチン-2/CD112、Fc-γRIII/CD16、NKG2A、FcRH1/IRTA5、NKG2C、FcRH2/IRTA4、NKG2D、FcRH4/IRTA1、NKp30、FcRH5/IRTA2、NKp44、Fc受容体様3/CD16-2、NKp46/NCR1、NKp80/KLRF1、NTB-A/SLAMF6、Rae-1、Rae-1α、Rae-1β、Rae-1デルタ、H60、Rae-1イプシロン、ILT2/CD85j、Rae-1γ、ILT3/CD85k、TREM-1、ILT4/CD85d、TREM-2、ILT5/CD85a、TREM-3、KIR/CD158、TREML1/TLT-1、KIR2DL1、ULBP-1、KIR2DL3、ULBP-2、KIR2DL4/CD158dおよびULBP-3が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの例示的なNK細胞抗原の1つまたは複数を結合する。

【0083】

同じく幾つかの実施形態において、認識ドメインは、マクロファージ/単球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、マクロファージ/単球を、例えば幾つかの実施形態において、治療部位（例えば、1つまたは複数の疾患細胞、または治療効果のためにモジュレートされる細胞を有する位置）に、直接的または間接的に動員する。該当する例示的なマクロファージ/単球抗原としては、例えばSIRP1a、B7-1/CD80、ILT4/CD85d、B7-H1、ILT5/CD85a、共通β鎖、インテグリンα4/CD49d、BLAME/SLAMF8、インテグリンαX/CD11c、CCL6/C10、インテグリンβ2/CD18、CD155/PVR、インテグリンβ3/CD61、CD31/PECA

10

20

30

40

50

M-1、ラテキシン (Latexin)、CD36/SR-B3、ロイコトリエン B4 R1、CD40/TNFRSF5、LIMPIIISR-B2、CD43、LMIR1/CD300A、CD45、LMIR2/CD300c、CD68、LMIR3/CD300LF、CD84/SLAMF5、LMIR5/CD300LB、CD97、LMIR6/CD300LE、CD163、LRP-1、CD2F-10/SLAMF9、MARCO、CRACC/SLAMF7、MD-1、ECF-L、MD-2、EMMPRIN/CD147、MGL2、エンドグリン/CD105、オステオアクチビン/GPNMB、Fc-γ RI/CD64、オステオポンチン、Fc-γ RIIIB/CD32b、PD-L2、Fc-γ RIIC/CD32c、シグレック-3/CD33、Fc-γ RIIIA/CD32a、SIGNR1/CD209、Fc-γ RIIII/CD16、SLAM、GM-CSF Rα、TCCR/WSX-1、ICAM-2/CD102、TLR3、IFNγ RI、TLR4、IFN-ガンマ R2、TREM-1、IL-1 RII、TREM-2、ILT2/CD85j、TREM-3、ILT3/CD85k、TREML1/TLT-1、2B4/SLAMF4、IL-10 Rα、ALCAM、IL-10 Rβ、アミノペプチダーゼN/ANPEP、ILT2/CD85j、共通β鎖、ILT3/CD85k、Clq R1/CD93、ILT4/CD85d、CCR1、ILT5/CD85a、CCR2、インテグリンα4/CD49d、CCR5、インテグリンαM/CD11b、CCR8、インテグリンαX/CD11c、CD155/PVR、インテグリンβ2/CD18、CD14、インテグリンβ3/CD61、CD36/SR-B3、LAIR1、CD43、LAIR2、CD45、ロイコトリエンB4-R1、CD68、LIMPIIISR-B2、CD84/SLAMF5、LMIR1/CD300A、CD97、LMIR2/CD300c、LMIR3/CD300LF、凝固因子III/組織因子、LMIR5/CD300LB、CX3CR1、CX3CL1、LMIR6/CD300LE、CXCR4、LRP-1、CXCR6、M-CSF R、DEP-1/CD148、MD-1、DNAM-1、MD-2、EMMPRIN/CD147、MMR、エンドグリン/CD105、NCAM-L1、Fc-γ RI/CD64、PSGL-1、Fc-γ RIIII/CD16、RP105、G-CSF R、L-セレクチン、GM-CSF Rα、シグレック-3/CD33、HVEM/TNFRSF14、SLAM、ICAM-1/CD54、TCCR/WSX-1、ICAM-2/CD102、TREM-1、IL-6 R、TREM-2、CXCR1/IL-8 RA、TREM-3およびTREML1/TLT-1が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの例示的なマクロファージ/単球抗原の1つまたは複数を結合する。

【0084】

同じく幾つかの実施形態において、認識ドメインは、樹状細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、樹状細胞を、例えば幾つかの実施形態において、治療部位（例えば、1つまたは複数の疾患細胞、または治療効果のためにモジュレートされる細胞を有する位置）に、直接的または間接的に動員する。該当する例示的な樹状細胞抗原としては、例えば、CLEC9A、XCR1、RANK、CD36/SRB3、LOX-1/SR-E1、CD68、MARCO、CD163、SR-A1/MSR、CD5L、SREC-1、CL-PI/COLEC12、SREC-II、LIMPIIISR-B2、RP105、TLR4、TLR1、TLR5、TLR2、TLR6、TLR3、TLR9、4-IBBリガンド/TNFSF9、IL-12/IL-23 p40、4-アミノ-1,8-ナフタルイミド、ILT2/CD85j、CCL21/6CKine、ILT3/CD85k、8-オキソ-dG、ILT4/CD85d、8D6A、ILT5/CD85a、A2B5、インテグリンα4/CD49d、Aαg、インテグリンβ2/CD18、AMICA、ランゲリン、B7-2/CD86、ロイコトリエン B4 RI、B7-H3、LMIR1/CD300A、BLAME/SLAMF8、LMIR2/CD300c、Clq R1/CD93、LMIR3/CD300LF、CCR6、LMIR5/CD300LB CCR7、LMIR6/CD300LE、CD40/TNFRSF5、MAG/シグレック-4-a、CD4

10

20

30

40

50

3、MCAM、CD45、MD-1、CD68、MD-2、CD83、MDL-1/CLEC5A、CD84/SLAMF5、MMR、CD97、NCAMLI、CD2F-10/SLAMF9、オステオアクチビン GPNMB、Chern23、PD-L2、CLEC-1、RP105、CLEC-2、CLEC-8、シグレック-2/CD22、CRACC/SLAMF7、シグレック-3/CD33、DC-SIGN、シグレック-5、DC-SIGNR/CD299、シグレック-6、DCAR、シグレック-7、DCIR/CLEC4A、シグレック-9、DEC-205、シグレック-10、デクチン-1/CLEC7A、シグレック-F、デクチン-2/CLEC6A、SIGNR1/CD209、DEP-1/CD148、SIGNR4、DLEC、SLAM、EMMPRIN/CD147、TCCR/WSX-1、Fc-γ R1/CD64、TLR3、Fc-γ RIIB/CD32b、TREM-1、Fc-γ RIIC/CD32c、TREM-2、Fc-γ RIIA/CD32a、TREM-3、Fc-γ RIII/CD16、TREM1/TLT-1、ICAM-2/CD102およびバニロイド R1が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの例示的なDC抗原の1つまたは複数を結合する。

【0085】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、非限定的に巨核球、血小板、赤血球、肥満細胞、好塩基球、好中球、好酸球、またはそれらのサブセットから選択される免疫細胞上の標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、巨核球、血小板、赤血球、肥満細胞、好塩基球、好中球、好酸球、またはそれらのサブセットを、例えば幾つかの実施形態において、治療部位（例えば、1つまたは複数の疾患細胞、または治療効果のためにモジュレートされる細胞を有する位置）に、直接的または間接的に動員する。

【0086】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、巨核球および/または血小板に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。該当する例示的な巨核球および/または血小板抗原としては、例えば、GP IIb/IIIa、GPIb、vWF、PF4、およびTSPが挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの例示的な巨核球および/または血小板抗原の1つまたは複数を結合する。

【0087】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、赤血球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。該当する例示的な赤血球抗原としては、例えば、CD34、CD36、CD38、CD41a（血小板糖タンパク質IIb/IIIa）、CD41b（GPIIb）、CD71（トランスフェリン受容体）、CD105、グリコフォリンA、グリコフォリンC、c-kit、HLA-DR、H2（MHC-II）、およびアカゲザル抗原が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの例示的な赤血球抗原の1つまたは複数を結合する。

【0088】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、肥満細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。該当する例示的な肥満細胞抗原としては、例えば、SCFR/CD117、FcεRI、CD2、CD25、CD35、CD88、CD203c、C5R1、CMAI、FCERIA、FCER2、TPSABIが挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの肥満細胞抗原の1つまたは複数を結合する。

【0089】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、好塩基球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。該当する例示的な好塩基球抗原としては、例えば、FcεRI、CD203c、CD123、CD13、CD107a、CD107b、およびCD164が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの好塩基球抗原の1つまたは複数を結合する。

10

20

30

40

50

【0090】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、好中球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。該当する例示的な好中球抗原としては、例えば、CD10/CALLA、CD13、CD16（FcRII）、CD18タンパク質（LFA-1、CR3、およびp150、95）、CD45、CD67、およびCD177が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの好中球抗原の1つまたは複数を結合する。

【0091】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、好酸球に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。該当する例示的な好酸球抗原としては、例えば、CD35、CD44およびCD69が挙げられる。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの好酸球抗原の1つまたは複数を結合する。

【0092】

様々な実施形態において、認識ドメインは、当業者に公知の任意の適当な標的、抗原、受容体、または細胞表面マーカーに結合し得る。幾つかの実施形態において、抗原または細胞表面マーカーは、組織特性マーカーである。例示的な組織特異性マーカーとしては、ACE、CD14、CD34、CDH5、ENG、ICAM2、MCAM、NOS3、PECAM1、PROCR、SELE、SELP、TEK、THBD、VCAM1、VWFなどの内皮細胞表面マーカー；ACTA2、MYH10、MYH11、MYH9、MYOCDなどの平滑筋細胞表面マーカー；ALCAM、CD34、COL1A1、COL1A2、COL3A1、FAP、PH-4などの線維芽細胞（間質）細胞表面マーカー；CD1D、K6IRS2、KRT10、KRT13、KRT17、KRT18、KRT19、KRT4、KRT5、KRT8、MUC1、TACSTD1などの上皮細胞表面マーカー；CD13、TFNA、アルファ- ν ベータ-3（ $\alpha\nu\beta3$ ）、E-セレクトリンなどの新生血管構造マーカー；ならびにADIPOQ、FABP4、およびRETNなどの脂肪細胞表面マーカーが挙げられるが、これらに限定されない。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの抗原の1つまたは複数を結合する。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの抗原を有する細胞の1つまたは複数を結合する。

【0093】

幾つかの実施形態において、認識ドメインは、腫瘍細胞に関連する標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する。幾つかの実施形態において、認識ドメインは、腫瘍細胞を直接的または間接的に動員する。例えば、幾つかの実施形態において、腫瘍細胞の直接的または間接的な動員は、腫瘍細胞を殺傷および／または抑制し得る1つまたは複数のエフェクター細胞（例えば、本明細書に記載される免疫細胞）へである。

【0094】

腫瘍細胞、または癌細胞は、身体の臓器および系の正常な機能を妨害する、細胞もしくは組織の非制御的成長および／または細胞生存における異常な増進および／またはアポトーシスの阻害を指す。例えば、腫瘍細胞は、良性および悪性の癌、ポリープ、過形成、および休眠状態の腫瘍または微小転移を包含する。例示的な腫瘍細胞としては、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳および中枢神経系癌、乳癌、腹膜の癌、子宮頸癌、絨毛癌、大腸癌、結合組織癌、消化器系の癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌（gastric cancer）（胃腸癌を含む）、神経膠芽腫、肝細胞癌、ヘパトーマ、上皮内腫瘍、腎臓癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、および肺の扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口および咽頭）、卵巣癌、脾臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系の癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌（stomach cancer）、精巣癌、甲状腺癌、子宮または子宮内膜癌、泌尿器系の癌、外陰部癌、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫、ならびにB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）を含む）、小リンパ球性（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度び

10

20

30

40

50

まん性NHL、高悪性度免疫芽細胞性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非切れ込み核細胞NHL、巨大腫瘤病変NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、およびワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、ヘアリー細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、ならびに他の癌腫および肉腫、および移植後リンパ増殖性疾患（PTLD）、ならびに母斑症に関連する異常な血管増殖、浮腫（例えば、脳腫瘍に関連する）、およびメイグス症候群が挙げられるが、これらに限定されない。

【0095】

同じく腫瘍細胞または癌細胞としては、癌腫（例えば、腺癌、基底細胞癌、扁平上皮癌、および移行細胞癌を含む様々なサブタイプ）、肉腫（例えば、骨および軟組織を含む）、白血病（例えば、急性骨髄性、急性リンパ芽球性、慢性骨髄性、慢性リンパ球性、およびヘアリー細胞を含む）、リンパ腫および骨髄腫（例えば、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫、軽鎖型、非分泌型、MGUS、および形質細胞腫を含む）、ならびに中枢神経系癌（例えば、脳（例えば、神経膠腫（例えば、星細胞腫、乏突起神経膠腫、および上皮腫）、髄膜腫、脳下垂体腺癌、および神経腫、および脊髄腫瘍（例えば、髄膜腫および神経線維腫）を含む）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0096】

例示的な腫瘍抗原としては、MART-1/Melan-A、gp100、ジペプチジルペプチダーゼIV（DPP-IV）、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質（ADABP）、シクロフィリンb、大腸癌関連抗原（Colorectal associated antigen）（CRC）-0017-1A/GA733、癌胎児性抗原（CEA）およびその免疫原性エピトープCAP-1およびCAP-2、etv6、aml1、前立腺特異性抗原（PSA）およびその免疫原性エピトープPSA-1、PSA-2およびPSA-3、前立腺特異性膜抗原（PSMA）、T細胞受容体/CD3-ゼータ鎖、腫瘍抗原のMAGEファミリー（例えば、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2（MAGE-B2）、MAGE-Xp3（MAGE-B3）、MAGE-Xp4（MAGE-B4）、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5）、腫瘍抗原のGAGEファミリー（例えば、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GAGE-9）、BAGE、RAGE、LAGE-1、NAG、GnT-V、MUM-1、CDK4、チロシナーゼ、p53、MUCファミリー、HER2/neu、p21ras、RCAS1、 α -フェトタンパク質、E-カドヘリン、 α -カテニン、 β -および γ -カテニン、p120ctn、gp100 Pmel117、PRAME、NY-ESO-1、cdc27、大腸腺腫症タンパク質（APC）、フォドリン、コネクチン37、Igイディオタイプ、p15、gp75、GM2およびGD2ガングリオシド、ヒトパピローマウイルスタンパク質などのウイルス産物、腫瘍抗原のSmadファミリー、Imp-1、NA、EBVコード化核抗原（EBNA）-1、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、SSX-1、SSX-2（HOM-MEL-40）、SSX-1、SSX-4、SSX-5、SCP-1、CT-7、c-erbB-2、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD56、CD70、CD74、CD138、AGS16、MUC1、GPNMB、Ep-CAM、PD-L1、PD-L2、およびPMSAが挙げられるが、これらに限定されない。様々な実施形態において、キメラタンパク質の標的部分は、これらの腫瘍抗原の1つまたは複数を結合する。

【0097】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、非細胞構造の一部である標的（例えば、抗原、受容体）に特異的に結合する認識ドメインを有する標的部分を有する。幾つかの実施形態において、抗原または受容体は、インタクト細胞または細胞構造の不可欠な成分ではない。幾つかの実施形態において、抗原または受容体は、細胞外抗原または受

10

20

30

40

50

容体である。幾つかの実施形態において、標的は非タンパク質性、非細胞性のマーカーであり、非限定的に、DNAまたはRNAを含む、核酸、例えば、壊死性腫瘍細胞から放出されたDNAまたはコレステロールなどの細胞外沈着物、などを含む。

【0098】

幾つかの実施形態において、該当する標的（例えば、抗原、受容体）は、間質または細胞外マトリックス（ECM）の非細胞成分の一部、またはそれらに関連するマーカーである。本明細書で用いられる間質は、組織または臓器の結合的および支持的フレームワークを指す。間質は、線維芽細胞／筋線維芽細胞、膠細胞、上皮細胞、脂肪細胞、免疫細胞、血管細胞、平滑筋細胞、および免疫細胞などの細胞と、細胞外マトリックス（ECM）および細胞外分子の寄せ集めを包含し得る。様々な実施形態において、該当する標的（例えば、抗原、受容体）は、細胞外マトリックスおよび細胞外分子などの間質の非細胞成分の一部である。本明細書で用いられるECMは、全ての組織および臓器の中に存在する非細胞成分を指す。ECMは、非限定的にタンパク質、糖タンパク質、プロテオグリカンおよび多糖類を含む生化学的に異なる成分の大きな集合体で構成される。ECMのこれらの成分は通常、隣接する細胞により産生され、エキソサイトーシスを介してECM中に分泌される。分泌されるとECM成分は多くの場合、凝集して巨大分子の複雑なネットワークを形成する。様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、ECMの任意の成分上に存在する標的（例えば、抗原または受容体または非タンパク質性分子）を認識する標的部分を含む。ECMの例示的な成分としては、プロテオグリカン、非プロテオグリカンの多糖類、線維、および他のECMタンパク質またはECM非タンパク質、例えば多糖類および／もしくは脂質、またはECM関連分子（例えば、タンパク質または非タンパク質、例えば多糖類、核酸および／または脂質）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0099】

幾つかの実施形態において、標的部分は、ECMプロテオグリカン上の標的（例えば、抗原、受容体）を認識する。プロテオグリカンは、グリコシル化タンパク質である。基本のプロテオグリカン単位は、1つまたは複数の共有結合で付着されるグリコサミノグリカン（GAG）鎖を有するコアタンパク質を含む。プロテオグリカンは、正電荷ナトリウムイオン（Na⁺）を引き寄せる正味の負電荷を有し、それが浸透圧により水分子を引き寄せ、ECMおよび常在細胞を水和状態に保つ。プロテオグリカンはまた、ECM内に成長因子を捕捉および貯蔵することを支援し得る。本発明のキメラタンパク質により標的にされ得る例示的なプロテオグリカンとしては、ヘパラン硫酸塩、コンドロイチン硫酸塩、およびケラタン硫酸塩が挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態において、標的部分は、ヒアルロン酸などの非プロテオグリカン多糖類上の標的（例えば、抗原、受容体）を認識する。

【0100】

幾つかの実施形態において、標的部分は、ECM線維上の標的（例えば、抗原、受容体）を認識する。ECM線維としては、コラーゲン線維およびエラスチン線維が挙げられる。幾つかの実施形態において、標的部分は、コラーゲンまたはコラーゲン線維上の1つまたは複数のエピトープを認識する。コラーゲンは、ECM中で最も豊富なタンパク質である。コラーゲンは、原線維タンパク質としてECM内に存在し、常在細胞に構造的サポートを提供する。1つまたは複数の実施形態において、標的部分は、非限定的に原線維コラーゲン（I、II、III、V、XI型）、FACITコラーゲン（IX、XII、XIV型）、短鎖コラーゲン（VIIII、X型）、基底膜コラーゲン（IV型）、および／またはVI、VII、もしくはXIII型コラーゲンを有するECM内に存在する様々な型のコラーゲンを認識し、それに結合する。エラスチン線維は、組織に弾性を提供し、必要に応じてそれらを緊張させ、その後、本来の状態に戻す。幾つかの実施形態において、標的部分は、エラスチンまたはエラスチン線維上の1つまたは複数のエピトープを認識する。

【0101】

幾つかの実施形態において、標的部分は、非限定的にテネシン、フィブロネクチン、フィブリン、ラミニン、またはニドゲン／エンタクチンを含む1種または複数のECMタン

10

20

30

40

50

パク質を認識する。

【0102】

一実施形態において、標的部分は、テネイシンを認識し、それに結合する。糖タンパク質のテネイシン（TN）ファミリーは、少なくとも4種のメンバー：テネイシン-C、テネイシン-R、テネイシン-X、およびテネイシンWを含む。テネイシンタンパク質の一次構造は、同じ連続した順番で並べられる複数の共通モチーフ：アミノ末端ヘプタドリピート、上皮成長因子（EGF）様リピート、フィブロネクチンIII型ドメインリピート、およびカルボキシル末端フィブリノーゲン様球状ドメインを含む。各タンパク質メンバーは、EGF様およびフィブロネクチンIII型リピートの数および性質における典型的な変動に関連する。アイソフォームバリエーションもまた、特にテネイシン-Cに関連して存在する。テネイシン-Cの27を超えるスプライスバリエーションおよび／またはアイソフォームが、公知である。特別な実施形態において、標的部分は、テネイシン-C A1を認識し、それに結合する。同様に、テネイシン-Rもまた、様々なスプライスバリエーションおよびアイソフォームを有する。テネイシン-Rは通常、二量体または三量体として存在する。テネイシン-Xは、テネイシンファミリーの最大のメンバーであり、三量体として存在することが知られている。テネイシン-Wは、三量体として存在する。幾つかの実施形態において、標的部分は、テネイシンタンパク質上の1つまたは複数のエピトープを認識する。幾つかの実施形態において、標的部分は、テネイシンタンパク質の単量体および／または二量体および／または三量体および／または六量体形態を認識する。

10

【0103】

一実施形態において、標的部分は、フィブロネクチンを認識し、それに結合する。フィブロネクチンは、ECM中で細胞をコラーゲン線維と連結し、ECMを通じて細胞を移動させる、糖タンパク質である。インテグリンへの結合により、フィブロネクチンは、アンフォールドして機能的二量体を形成する。幾つかの実施形態において、標的部分は、フィブロネクチンの単量体および／または二量体形態を認識する。幾つかの実施形態において、標的部分は、フィブロネクチン上の1つまたは複数のエピトープを認識する。例示的実施形態において、標的部分は、フィブロネクチン細胞外ドメインA（EDA）またはフィブロネクチン細胞外ドメインB（EDB）を認識する。高レベルのEDAは、乾癬、関節リウマチ、糖尿病、および癌を含む様々な疾患および障害に関連する。幾つかの実施形態において、標的部分は、EDAアイソフォームを含むフィブロネクチンを認識し、癌細胞を含む疾患細胞にキメラタンパク質を標的化させるために用いられ得る。幾つかの実施形態において、標的部分は、EDBアイソフォームを含むフィブロネクチンを認識する。様々な実施形態において、そのような標的部分は、腫瘍新生血管構造を含む腫瘍細胞にキメラタンパク質を標的化させるために用いられ得る。

20

30

【0104】

一実施形態において、標的部分は、フィブリンを認識し、それに結合する。フィブリンは、ECMのマトリックス網の中で見出されることの多いもう1つのタンパク質物質である。フィブリンは、フィブリンを重合させるフィブリノーゲン上のプロテアーゼトロンビンの作用により形成される。幾つかの実施形態において、標的部分は、フィブリン上の1つまたは複数のエピトープを認識する。幾つかの実施形態において、標的部分は、フィブリンの単量体形態および重合形態を認識する。

40

【0105】

一実施形態において、標的部分は、ラミニンを認識し、それに結合する。ラミニンは、細胞および臓器のタンパク質網の基礎である基板の主成分である。ラミニンは、 α 鎖、 β 鎖、および γ 鎖を含むヘテロ三量体タンパク質である。幾つかの実施形態において、標的部分は、ラミニン上の1つまたは複数のエピトープを認識する。幾つかの実施形態において、標的部分は、ラミニンの単量体、二量体および三量体形態を認識する。

【0106】

一実施形態において、標的部分は、ニドゲンまたはエンタクチンを認識し、それに結合する。ニドゲン／エンタクチンは、高度に保存された硫酸化糖タンパク質のファミリーであ

50

る。それらは、基底膜の主な構成成分を構成し、基底膜中でラミニンおよびコラーゲンⅤ型ネットワークを結び付けるよう機能する。このファミリーのメンバーとしては、ニドゲン-1およびニドゲン-2が挙げられる。様々な実施形態において、標的部分は、ニドゲン-1および／またはニドゲン-2上のエピトープを認識する。

【0107】

様々な実施形態において、標的部分は、本明細書に記載される標的（例えば、ECMタンパク質）のいずれかに存在するエピトープを認識する抗原認識ドメインを含む。一実施形態において、抗原認識ドメインは、タンパク質上に存在する1つまたは複数の線形エピトープを認識する。本明細書で用いられる線形エピトープは、タンパク質上に存在するアミノ酸の任意の連続配列を指す。別の実施形態において、抗原認識ドメインは、タンパク質上に存在する1つまたは複数の立体構造エピトープを認識する。本明細書で用いられる立体構造エピトープは、抗原認識ドメインにより認識され得る特徴および／または形状および／または三次構造を有する三次元表面を形成するアミノ酸の1つまたは複数の区分（不連続であり得る）を指す。

10

【0108】

様々な実施形態において、標的部分は、本明細書に記載される標的（例えば、ECMタンパク質）のいずれかの完全長および／または成熟形態および／またはアイソフォームおよび／またはスプライスバリエーションおよび／または断片および／または任意の他の天然由来のもしくは合成の類似体、バリエーション、もしくは突然変異体に結合し得る。様々な実施形態において、標的部分は、単量体、二量体、三量体、四量体、ヘテロ二量体、多量体および関連の形態を含む、本明細書に記載されるタンパク質の任意の形態に結合し得る。様々な実施形態において、標的部分は、グリコシル化および／またはリン酸化形態などの、本明細書に記載されるタンパク質の任意の翻訳後修飾形態に結合し得る。

20

【0109】

様々な実施形態において、標的部分は、DNAなどの細胞外分子を認識する抗原認識ドメインを含む。幾つかの実施形態において、標的部分は、DNAを認識する抗原認識ドメインを含む。一実施形態において、DNAは、壊死性またはアポトーシス性腫瘍細胞または他の疾患細胞から細胞外空間に放出される。

【0110】

様々な実施形態において、標的部分は、アテローム斑に関連する1つまたは複数の非細胞構造を認識する抗原認識ドメインを含む。2つの型のアテローム斑が、公知である。線維・脂質（線維・脂肪）斑は、動脈の内膜の直下にある脂質沈着細胞の蓄積を特徴とする。内皮の直下に、プラークのアテローム性の核を覆う線維性被膜が存在する。この核は、多量の組織コレステロールおよびコレステロールエステル、フィブリン、プロテオグリカン、コラーゲン、エラスチン、ならびに細胞破片を有する脂質沈着細胞（マクロファージおよび平滑筋細胞）を含む。進行したプラークでは、プラークの中心核は通常、細胞外コレステロール沈着（死んだ細胞から放出）を含み、それが空洞の針状裂隙のあるコレステロール結晶のエリアを形成する。プラークの周辺には、より若い泡沫細胞および毛細血管がある。線維斑は、動脈壁内の内膜下にも存在し、その結果、壁の肥厚および拡大を生じ、時には管腔のまだらな局所的狭窄と、筋肉層の一部の萎縮を生じる。線維斑は、コラーゲン線維（好酸球性）、カルシウムの沈降物（好ヘマトキシリン性）および脂質沈着細胞を含有する。幾つかの実施形態において、標的部分は、フィブリン、プロテオグリカン、コラーゲン、エラスチン、細胞破片、およびカルシウムまたは他の鉱物性沈着物もしくは沈降物などの、これらのプラークの非細胞成分の1種または複数に結合し、それに結合する。幾つかの実施形態において、細胞破片は、死細胞から放出された核酸、例えばDNAまたはRNAである。

30

40

【0111】

様々な実施形態において、標的部分は、神経変性疾患に関連する脳のプラーク中に見出される1種または複数の非細胞構造を認識する抗原認識ドメインを含む。幾つかの実施形態において、標的部分は、アルツハイマー病患者の脳で見出されるアミロイド斑の中に存在

50

する1種または複数の非細胞構造を認識し、それに結合する。例えば、標的部分は、アミロイド斑の主成分であるペプチドアミロイドベータを認識してそれに結合できる。幾つかの実施形態において、標的部分は、ハンチントン病患者に見出される脳のプラーク中に存在する1種または複数の非細胞構造を認識し、それに結合する。様々な実施形態において、標的部分は、レビー小体型認知症および封入体筋炎などの他の神経変性または筋骨格疾患に関連するプラーク中に見出される1種または複数の非細胞構造を認識し、それに結合する。

【0112】

幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、2つ以上の標的部分を含む。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) T細胞、B細胞、樹状細胞、マクロファージ、NK細胞、またはそれらのサブセットから選択される免疫細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) T細胞(非限定的にエフェクターT細胞など)に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) B細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 樹状細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) マクロファージに対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) NK細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。

【0113】

非限定的例として、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えば、CD8、SLAMF4、IL-2 R α 、4-1BB/TNFRSF9、IL-2 R β 、ALCAM、B7-1、IL-4 R、B7-H3、BLAME/SLAMFS、CEACAM1、IL-6 R、CCR3、IL-7 R α 、CCR4、CXCR1/IL-S RA、CCR5、CCR6、IL-10 R α 、CCR7、IL-10 R β 、CCR5、IL-12 R β 1、CCR9、IL-12 R β 2、CD2、IL-13 R α 1、IL-13、CD3、CD4、ILT2/CDS5j、ILT3/CDS5k、ILT4/CDS5d、ILT5/CDS5a、インテグリン α 4/CD49d、CDS、インテグリン α E/CD103、CD6、インテグリン α M/CD11b、CDS、インテグリン α X/CD11c、インテグリン β 2/CD15、KIR/CD15S、CD27/TNFRSF7、KIR2DL1、CD2S、KIR2DL3、CD30/TNFRSFS、KIR2DL4/CD15Sd、CD31/PECAM-1、KIR2DS4、CD40リガンド/TNFSF5、LAG-3、CD43、LAIR1、CD45、LAIR2、CDS3、ロイコトリエンB4-R1、CDS4/SLAMF5、NCAM-L1、CD94、NKG2A、CD97、NKG2C、CD229/SLAMF3、NKG2D、CD2F-10/SLAMF9、NT-4、CD69、NTB-A/SLAMF6、共通 γ 鎖/IL-2 R γ 、オステオポンチン、CRACC/SLAMF7、PD-1、CRTAM、PSGL-1、CTLA-4、RANK/TNFRSF11A、CX3CR1、CX3CL1、L-セレクチン、CXCR3、SIRP β 1、CXCR4、SL

AM、CXCR6、TCCR/WSX-1、DNAM-1、チモポエチン、EMMPRI
N/CD147、TIM-1、EphB6、TIM-2、Fas/TNFRSF6、TI
M-3、Fasリガンド/TNFRSF6、TIM-4、FcγRIII/CD16、T
IM-6、TNFR1/TNFRSF1A、グラニューライシン、TNFRIII/TN
FRSF1B、TRAILRI/TNFRSF10A、ICAM-1/CD54、TRA
ILR2/TNFRSF10B、ICAM-2/CD102、TRAILR3/TNF
RSF10C、IFNγR1、TRAILR4/TNFRSF10D、IFNγR2、
TSLP、IL-1R1、またはTSLPRへの標的化により媒介される、T細胞に対
する標的部分と；(ii)腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾さ
れた（例えば、突然変異体の）シグナル伝達物質のいずれか（例えば、修飾されたIFN
β）と共に有する。

10

【0114】

非限定的例として、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i)T細
胞上で発現されるチェックポイントマーカー、例えばPD-1、CD28、CTLA4、
ICOS、BTLA、KIR、LAG3、CD137、OX40、CD27、CD40L
、TIM3、およびA2aRの1つまたは複数と、(ii)腫瘍細胞に対する標的部分と
を、本明細書に記載される修飾された（例えば、突然変異体の）シグナル伝達物質のい
ずれか（例えば、修飾されたIFNβ）と共に有する。

【0115】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、PD-1に対する1つまたは複
数の標的部分を有する。幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、PD-1ポリ
ペプチドを選択的に結合する1つまたは複数の標的部分を有する。幾つかの実施形態にお
いて、キメラタンパク質は、PD-1ポリペプチドを選択的に結合する1つまたは複数の
抗体、抗体誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、または融合タ
ンパク質を含む。

20

【0116】

一実施形態において、標的部分は、抗PD-1抗体ペムブロリズマブ（別名MK-347
5、KEYTRUDA）、またはその断片を含む。ペムブロリズマブおよび他のヒト化抗
PD-1抗体は、Hamid, et al. (2013) New England Jo
urnal of Medicine 369 (2) : 134-44、US8,354,5
09およびWO2009/114335に開示されており、その開示全体は、参照により
本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法での使
用のためのペムブロリズマブまたはその抗原結合断片は、

30

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQA
PGQGLEWMGGINPSNGGTNF NEKFKNRVTLTTDSSTTTA
YME LKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSVVTVPSSSLG
TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCCPCCPAPEFLGG
PSV FLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQ
EEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMH EALH
NHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:2) ;

40

の amino 酸配列を含む重鎖、および／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWY
QQKPGQAPRLLIYLA SYLES GVPARFSGSGSGTDFTLT
ISSLEPEDFAVYYCQHSRDLP LTFGGGT KVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFFYPREAKVQWKVDNAL

50

QSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYA
CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 3)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【0117】

一実施形態において、標的部分は、抗PD-1抗体であるニボルマブ（別名BMS-936558、MDX-1106、ONO-4538、OPDIVO）、またはその断片を含む。ニボルマブ（クローン5C4）およびPD-1に特異的に結合する他のヒトモノクローナル抗体は、US8,008,449およびWO2006/121168に開示されており、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、ニボルマブまたはその抗原結合断片は、

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL DCKASGITFS NSGMHWVR
QA PGKGLEWVAV IWYDGSKRYY
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCAT
ND DYWGQGT LVT VSSASTKGPS
VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGA
LT SGVHTFPAVL QSSGLYSLS
VVTVPSSSLG TKTYTCNV DH KPSNTKVDKR VESKYGPP
CP PCPAPEFLGG PSVFLFPPKP
KDTLMISRTP EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVH
NA KTKPREEQFN STYRVVSVLT
VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKGQPRE
PQ VYTLPPSQEE MTKNQVSLTC
LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDSDGSFF
LY SRLTVDKSRW QEGNVFSCSV
MHEALHNHYT QKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 4);

のアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQ
KP GQAPRL LIYD ASNRATGIPA
RFGSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTF
GQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGN
SQ ESVTEQDSKD STYSLSSLT
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN R GEC (SEQ ID NO: 5)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【0118】

一実施形態において、標的部分は、抗PD-1抗体であるピジリズマブ（別名CT-011、hBATまたはhBAT-1）、またはその断片を含む。ピジリズマブまたは他のヒト化抗PD-1モノクローナル抗体は、US2008/0025980およびWO2009/101611に開示されており、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗PD-1抗体またはその抗原結合断片は、US2008/0025980のSEQ ID NO: 15~18:

US2008/0025980のSEQ ID NO: 15:

EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCSARSSVSYMHWWYQQKPG
KAPKLLIYRTSNLASGVPSRFGSGSGSGTDFTLTINS LQPE
DFATYYCQQRSS FPLTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 6);

US2008/0025980のSEQ ID NO: 16:

EIVLTQSPSSLSASVGDRVITITCSARSSVSYMHWFQQKPG
KAPKLWIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTINSLQPE
DFATYYCQQRSSFPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 7);
US 2008/0025980のSEQ ID NO: 17:

EIVLTQSPSSLSASVGDRVITITCSARSSVSYMHWFQQKPG
KAPKLWIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYCLTINSLQPE
DFATYYCQQRSSFPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 8);
US 2008/0025980のSEQ ID NO: 18:

EIVLTQSPSSLSASVGDRVITITCSARSSVSYMHWFQQKPG
KAPKLWIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGTSYCLTINSLQPE
DFATYYCQQRSSFPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 9);
から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および/または

US 2008/0025980のSEQ ID NO: 20~24:

US 2008/0025980のSEQ ID NO: 20:

QVQLVQSGSEELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQA
PGQGLQWMGWINTDSGESTYAEEFKGRFVFSLDTSVSTAY
LQITSLTAEDTGMYFCAKVG YDALDYWGQGTLVTVSS (S
EQ ID NO: 10);

US 2008/0025980のSEQ ID NO: 21:

QVQLVQSGSEELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQA
PGQGLQWMGWINTDSGESTYAEEFKGRFVFSLDTSVSTAY
LQITSLTAEDTGMYFCAKVG YDALDYWGQGTLVTVSS (S
EQ ID NO: 11);

US 2008/0025980のSEQ ID NO: 22:

QVQLVQSGSEELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQA
PGQGLQWMGWINTDSGESTYAEEFKGRFVFSLDTSVNTAY
LQITSLTAEDTGMYFCVRVG YDALDYWGQGTLVTVSS (S
EQ ID NO: 12);

US 2008/0025980のSEQ ID NO: 23:

QIQLVQSGSEELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQA
PGQGLQWMGWINTDSGESTYAEEFKGRFVFSLDTSVNTAY
LQITSLTAEDTGMYFCVRVG YDALDYWGQGTLVTVSS (S
EQ ID NO: 13);

US 2008/0025980のSEQ ID NO: 24:

QIQLVQSGSEELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQA
PGQGLKWMGWINTDSGESTYAEEFKGRFAFSLDTSVNTAY
LQITSLNAEDTGMYFCVRVG YDALDYWGQGTLVTVSS (S
EQ ID NO: 14)

から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、
を含む。

【0119】

一実施形態において、標的部分は、US 2008/0025980のSEQ ID NO: 18を含む軽鎖と、US 2008/0025980のSEQ ID NO: 22を含む重鎖とを含む。

【0120】

一実施形態において、標的部分は、AMP-514（別名MEDI-0680）を含む。

【0121】

一実施形態において、標的部分は、WO 2010/027827およびWO 2011/066342に開示された、PD-L2-Fc融合タンパク質AMP-224を含み、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。そのような実施形態において、

10

20

30

40

50

標的部分は、WO2010/027827のSEQ ID NO:4:

LFTVTVPKELYIIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASL
QKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQ
YQCIIIYGVAWDYKYLTTLKVKASYRKINTHILKVPETDEV
ELTCQATGYPLAEVSWPNVSV PANTSHSRTPEGLYQVTSV
LRLKPPPGRNFSCVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHP
TWLLHIFIPFCIIAFIFIATVIALRKQLCQKLYSSKDTTK
RPVTTTKREVNSAI (SEQ ID NO:15)

を含む標的ドメイン、および／または

WO2010/027827のSEQ ID NO:83:

MIFLLMLSLLELQLHQIAALFTVTVPKELYIIIEHGSNVTL
ECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQL
PLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVAWDYKYLTTLKVK
ASYRKINTHILKVPETDEV ELTCQATGYPLAEVSWPNVSV
PANTSHSRTPEGLYQVTSV LRLKPPPGRNFSCVFWNTHVR
ELTLASIDLQSQMEPRTHPTWEPKSCDKTHTCPCPAPEL
LGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:16)、

を含むB7-DC融合タンパク質、

を含み得る。

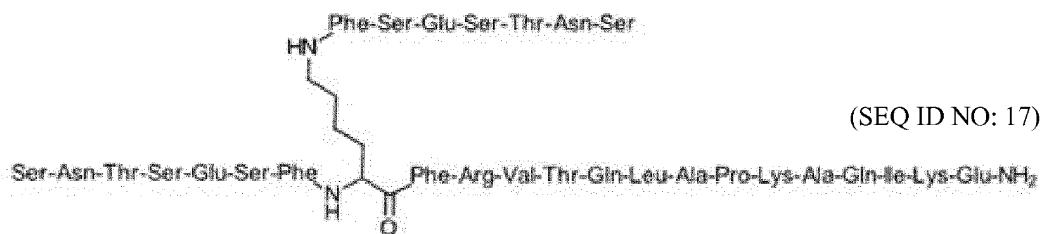
【0122】

一実施形態において、標的部分は、ペプチドAUNP12またはUS2011/0318373もしくは同8,907,053に開示された他のペプチドのいずれかを含む。例えば、標的部分は、

SNTSESEFK (SNTSESF) FRVTQLAPKAQIKE (SEQ ID NO:17) -NH₂

の配列を有するAUNP12 (即ち、化合物8またはUS2011/0318373のSEQ ID NO:49)

【化1】



または: SNTSESF-NH
|
SNTSESEFKFRVTQLAPKAQIKE-NH₂ (SEQ ID NO: 17)

を含み得る。

【0123】

一実施形態において、標的部分は、US2014/0044738に開示された、抗PD-1抗体1E3、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための1E3またはその抗原結合断片は、

EVQLQQSGPV LVKPGASVKM SCKASGYTFT DYYMNWVK
QS HGKSLEWIGN
INPYNGGTTY NQKFKGKATL TVDKSSRTAY MEINSLTS
ED SAVYYCARGR
IYDGS LDYWG QGTALT VSS (SEQ ID NO: 18);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

DIQMTQFPSS LCASQGGKVT VTCKASQDIN NYMAWYQH
KP GKGPRL LIHY
TSTLLSGIPS RFSGSGSGRD YSFSISNLEP EDIATYYC
LQ YDNLWTFGGG
TKLEIK (SEQ ID NO: 19)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0124】

一実施形態において、標的部分は、US 2014/0044738に開示された、抗PD-1抗体1E8、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための1E8またはその抗原結合断片は、

QVQLQQSGAE LAKPGASVRL SCKASGYTFT NYWMHWVK
QR PGQGLEWIGH
INPSSGFTTY NQNFKDKATL TADKSSNTAY MQLSSLTY
ED SAVYFCARED
YDVDYWGQGT TLT VSS (SEQ ID NO: 20);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

DIVMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQSVD TNVAWYQQ
KP GQSPKALIFS
ASYRYS GVPD RFTGSGSGTD FTLTINSVQS EDLAEYFC
QQ YNSYPYTFGS
GTKLEIK (SEQ ID NO: 21)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0125】

一実施形態において、標的部分は、US 2014/0044738に開示された、抗PD-1抗体1H3、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための1H3またはその抗原結合断片は、

EVQLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS DYGMHWVR
QA PEKGLEWVAY
ISSGSYTIYY TDTVKGRFTI SRDNAKNTLF LQMTSLRS
ED TAMYYCARRG
YGSFYEYYFD YWGQGTTTLTV SS (SEQ ID NO: 22);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

QIVLTQSPAL MSASPGKVT MTCSSSSVS YMYWYQQK
PR SSPKPWIYLT
SNLASGVPAR FSGSGSGT SY SLTISSMEAE DAATYYCQ
QW SSNPFTFGSG
TKLEIK (SEQ ID NO: 23)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0126】

10

20

30

40

50

一実施形態において、標的部分は、例えばUS 8, 907, 065およびWO 2008/071447に開示されたPD-1に対するVHHを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、PD-1に対するVHHは、US 8, 907, 065のSEQ ID NO: 347~351:

US 8, 907, 065のSEQ ID No: 347:

EVQLVESGGGLVQAGKSLRLSCAASGSI FSIHAMGWFRQA
PGKEREFVAA

ITWSGGITYYEDSVKGRFTISRDN AKNTVY LQMNSLKPED
TAIYYCAADR

AESSWYDYWGQG GTQVTVSS (SEQ ID NO: 24);

10

US 8, 907, 065のSEQ ID No: 348:

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSI ASIHAMGWFRQA
PGKEREFVAV

ITWSGGITYYADSVKGRFTISRDN AKNTVY LQMNSLKPED
TAIYYCAGDK

HQSSWYDYWGQG GTQVTVSS (SEQ ID NO: 25);

US 8, 907, 065のSEQ ID No: 349:

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSI SSIHAMGWFRQA
PGKEREFVAA

ITWSGGITYYADSLKGRFTISRDN AKNTGY LQMNSLKPED
TAIYYCAADR

20

AQSSWYDYWGQG GTQVTVSS (SEQ ID NO: 26);

US 8, 907, 065のSEQ ID No: 350:

EVQLVESGGGLVQAGGSLGLSCAASGSI FSINAMAWFRQA
PGKEREFVAL

ISWSGGSTYYEDSVKGRFTISRDN AKNTVY LQMNSLKPED
TAIYYCAADR

VDSNWYDYWGQG GTQVTVSS (SEQ ID NO: 27);

US 8, 907, 065のSEQ ID No: 351:

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASG RAFSSGTMGWFRRA
PGKEREFVA

30

SIPWSGGRIYYADSVKGRFTISRDN AQNTVY LQMNSLKPE
DTAVYYCAVK

ERSTGWDFASWGQCTQVTVSS (SEQ ID NO: 28)、
を含む。

【0127】

一実施形態において、標的部分は、US 2011/0271358およびWO 2010/036959に開示された、抗PD-1抗体の任意の1種または、その断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗体またはその抗原結合断片は、

40

US 2011/0271358のSEQ ID NO: 25~29:

US 2011/0271358のSEQ ID No: 25:

QVQLVQSGAELKQPGASVKMSC KASGYSFTSSWIHWVKQA
PGQGLEWIGYIYPSTGFTEYNQKFKDRATLTADKSTSTAY
MELSSSLRSEDSAVYYCARWRDSSGYHAMDYWGQGTSVTVS
S (SEQ ID NO: 29);

US 2011/0271358のSEQ ID No: 26:

QVQLVQSGAEVKQPGASVKMSC KASGYSFTSSWIHWVKQA
PGQGLEWIGYIYPSTGFTEYNQKFKDRATLTADKSTSTAY
MELSSSLRSEDTAVYY3/d10CARWRDSSGYHAMDYWGQGT

50

SVTVSS (SEQ ID NO:30);
 US2011/0271358のSEQ ID No:27:
 QVQLVQSGHEVKQPGASVKMSCKASGYSFTSSWIHWVKQA
 PGQGLEWIGYIYPSTGFTEYNQKFCDRATLTADKSTSTAY
 MELSSLRSEDTAVYYCARWRDSSSGYHAMDYWGQGTLVTVS
 S (SEQ ID NO:31);

US2011/0271358のSEQ ID No:28:
 QVQLVQSGHEVKQPGASVKMSCKASGYSFTSSWIHWVRQA
 PGQGLEWIGYIYPSTGFTEYNQKFCDRATLTADKSTSTAY
 MELSSLRSEDTAVYYCARWRDSSSGYHAMDYWGQGTLVTVS
 S (SEQ ID NO:32);

10

US2011/0271358のSEQ ID No:29:
 QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQA
 PGQGLEWIGYIYPSTGFTEYNQKFCDRATITADKSTSTAY
 MELSSLRSEDTAVYYCARWRDSSSGYHAMDYWGQGTLVTVS
 S (SEQ ID NO:33);

から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

US2011/0271358のSEQ ID NO:30~33:

US2011/0271358のSEQ ID No:30:
 DIVLTQSPASLTLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHY
 QKPDQSPKLLIKFGSNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTIS
 SLEEDFATYYCQHSWEIPYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID N
 O:34);

20

US2011/0271358のSEQ ID No:31:
 DIVLTQSPATLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHY
 QKPDQSPKLLIKFGSNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTIS
 SLEPEDFATYYCQHSWEIPYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID N
 O:35);

US2011/0271358のSEQ ID No:32:
 EIVLTQSPATLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHY
 QKPDQSPKLLIKFGSNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTIS
 SLEPEDFATYYCQHSWEIPYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID N
 O:36);

30

US2011/0271358のSEQ ID No:33:
 DIVLTQSPATLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHY
 QKPDQSPKLLIKFGSNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTIS
 SLEPEDFAVYYCQHSWEIPYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID N
 O:37);

から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、
 を含む。

40

【0128】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、TSR-042 (Tesar o, Inc.)、REGN2810 (Regeneron Pharmaceutical s, Inc.)、PDR001 (Novartis Pharmaceuticals)、およびBGB-A317 (BeiGene Ltd.)から選択される、PD-1に對する1種または複数の抗体、またはその抗体断片を含む。

【0129】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、PD-L1に對する1種または複数の標的部分を有する。幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、PD-L1ポリペプチドを選択的に結合する1種または複数の標的部分を有する。幾つかの実施形態

50

において、キメラタンパク質は、PD-L1ポリペプチドを選択的に結合する1種または複数の抗体、抗体誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、または融合タンパク質を含む。

【0130】

一実施形態において、標的部分は、抗PD-L1抗体であるMEDI4736（別名デュルバルマブ）、またはその断片を含む。MEDI4736は、PD-L1に選択性があり、PD-1およびCD80受容体へのPD-L1の結合を遮断する。本明細書で提供される方法における使用のためのMEDI4736およびその抗原結合断片は、重鎖と軽鎖、または重鎖可変領域と軽鎖可変領域を含む。MEDI4736の配列は、WO/2016/06272に開示されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のためのMEDI4736またはその抗原結合断片は、

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RYWMSWVR
QA PGKGLEWVAN
IKQDGSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRA
ED TAVYYCAREG
GWFGELAFDY WGQGT LVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKS
TS GGTAALGCLV
KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSS
VV TVPSSSLGTQ
TYICNVNHKP SNTKVDKRVE PKSCDKTHTC PPCPAPEF
EG GPSVFLFPPK
PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEV
HN AKTKPREEQY
NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPASIEK
TI SKAKGQPREP
QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESN
GQ PENNYKTTTP
VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHN
HY TQKSLSLSPG
K (SEQ ID NO:38) ;

のアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQRRVS SSYLAWYQ
QK PGQAPRLLIY
DASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYY
CQ QYGS LPWTFG
QGTKVEIKRT VAAPSVFI FP PSDEQLKSGT ASVVCLLN
NF YPREAKVQWK
VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSSTL TLSKADYE
KH KVVACEVTHQ

GLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO:39)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【0131】

例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のためのMEDI4736またはその抗原結合断片は、

WO/2016/06272のSEQ ID NO:4:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQA
PGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGT LVTVS

S (SEQ ID NO: 40);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO/2016/06272のSEQ ID NO: 3:

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
PEDFAVYYCQQYGS LPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 4
1)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0132】

一実施形態において、標的部分は、抗PD-L1抗体アテゾリズマブ（別名MPDL32
80A、RG7446）、またはその断片を含む。例示的实施形態において、本明細書で
提供される方法における使用のためのアテゾリズマブまたはその抗原結合断片は、

EVQLVESGGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFS DSWIHWVRQA
PGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGT LVT VSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVT VSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTV PSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTP E VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLN GKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK (SEQ ID NO: 42);

のアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKP
GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQP
EDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPS VFI FPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVT KSFNRGEC (SEQ ID NO: 43)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【0133】

一実施形態において、標的部分は、抗PD-L1抗体アベルマブ（別名MSB00107
18C）、またはその断片を含む。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法
における使用のためのアベルマブまたはその抗原結合断片は、

EVQLLES GGG LVQP GGS LRL SCAASGFTFS SYIMMWVR
QA PGKGLEWVSS
IYPSGGITFY ADTVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRA
ED TAVYYCARIK
LGT VTTVDYW GQGT LVT VSS ASTKGPSVFP LAPSSKST
SG GTAALGCLVK
DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLS SV
VT VPSSSLGTQT
YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELL
GG PSVFLFPPKP
KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVH
NA KTKPREEQYN

STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKT
IS KAKGQPREPQ
VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNG
QP ENNYKTTTPPV
LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNH
YT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 44);

のアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSSDVG GYNYVSWY
QQ HPGKAPKLM I
YDVSNRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAED EADY
YC SSYTSSSTRV
FGTGTKVTVL GQPKANPTVT LFPPSSEELQ ANKATLVC
LI SDFYPGAVTV
AWKADGSPVK AGVETTKPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQ
WK SHRSYSCQVT

HEGSTVEKTV APTECS (SEQ ID NO: 45)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖、

を含む。

【0134】

一実施形態において、標的部分は、US 2013 / 0309250 および WO 2007 /
005874 に開示された、抗PD-L1抗体BMS-936559（別名12A4、M
DX-1105）、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み
入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための
BMS-936559またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKTSGDTFSTY AISWVRQA
PGQG LEWMGGI IPIFGKAHYA QKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYFCARKFH FVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 46);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP
GQAPRL LIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEP
EDFAVYYCQQRSNWPTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO: 47)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

を含む。

【0135】

一実施形態において、標的部分は、US 2013 / 0309250 および WO 2007 /
005874 に開示された、抗PD-L1抗体3G10、またはその断片を含み、その開
示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で
提供される方法における使用のための3G10またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYGF SWVRQA
PGQG LEWMGWITAYNGNTNYA QKLQGRVTMTTDTSTSTVY
MELRSLRSDDTAVYYCARDYFY GMDVWGQGTTVT VSS (S
EQ ID NO: 48);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYL VWYQQKP
GQAPRL LIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEP
EDFAVYYCQQRSNWPRTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO: 49)
)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

を含む。

10

20

30

40

50

【0136】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/005874に開示された、抗PD-L1抗体10A5、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための10A5またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDVHWVRQA
PGQRL EWMGWLHADTGITKFSQKFQGRVTITRDTSASTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 50);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKP
EKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQYNSSYPYTFGGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 51)

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0137】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/005874に開示された、抗PD-L1抗体5F8、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための5F8またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGGIFSTYAINWVRQA
PGQG L EWMGGIIPIFGTANHAQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARDQGI AAALFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 52);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK
PGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
PEDFAVYYCQQYGSSPWTFGGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 53);

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0138】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/005874に開示された、抗PD-L1抗体10H10、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための10H10またはその抗原結合断片は、

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAVSGFTFDDYVHWVRQA
PGKGL EWVSGISGNSGNIGYADSVKGRFTISRDN AKNSLY
LQMNSLRAEDTALYYCAVPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 54);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKP
EKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQYNSSYPYTFGGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 55)

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0139】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/

10

20

30

40

50

005874に開示された、抗PD-L1抗体1B12、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための1B12またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTS GDTFSSYAISWVRQA
PGQG LEWMGGIIPIFGRAHYAQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 56);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP
GQAPRLLIYDASNRA TGI PARFSGSGSGTDFTLTIS SLEP
EDFAVYYCQQR SNWPTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO: 57)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0140】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/005874に開示された、抗PD-L1抗体7H1、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための7H1またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTS GGT FSSYAISWVRQA
PGQG LEWMGGIIPIFGKAHYAQKFQGRVTITADESTTTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARKYDYVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 58);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP
GQAPRLLIYDASNRA TGI PARFSGSGSGTDFTLTIS SLEP
EDFAVYYCQQR SNWPTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO: 59)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0141】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/005874に開示された、抗PD-L1抗体11E6、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための11E6またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAINWVRQA
PGQG LEWMGGIIPIFGSANYAQKFQDRVTITADESTSAAY
MELSSLRSEDTAVYYCARDSSGWSRY YMDVWGQGTTVTVS
S (SEQ ID NO: 60);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
PEDFAVYYCQQYGS SPFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 61)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0142】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/005874に開示された、抗PD-L1抗体12B7、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための12B7またはその抗原結合断片は、

QVQLVQSGAEVKEPGSSVKVSCKASGGTFNSYAISWVRQA
PGQG LEWMGGIIP LFGIAHYAQKFQGRVTITADESTNTAY

10

20

30

40

50

MDLSSSLRSEDTAVYYCARKYSYVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 62);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP
GQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELP
EDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 63)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0143】

一実施形態において、標的部分は、US2013/0309250およびWO2007/
005874に開示された、抗PD-L1抗体13G4、またはその断片を含み、その開
示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で
提供される方法における使用のための13G4またはその抗原結合断片は、

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGITFDDYGMHWVRQA
PGKGLEWVSGISWNRGRIEYADSVKGRFTISRDNACKNSLY
LQMNSLRAEDTALYYCAKGRFRYFDWFLDYWGQGTLVTVS
S (SEQ ID NO: 64);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIISSALAWYQQKP
GKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQFNSYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 65)

の、
のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0144】

一実施形態において、標的部分は、US2014/0044738に開示された、抗PD
-L1抗体1E12、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組
み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のため
の1E12またはその抗原結合断片は、

EVKLQESGPS LVKPSQTLSSL TCSVTGYSIT SDYWNWIR
KF PGNKLEYVGY
ISYTGSTYYN PSLKSRIISIT RDTSKNQYYL QLNSVTSE
DT ATYYCARYGG
WLSPPFDYWGG GTTTLTVSS (SEQ ID NO: 66);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

DIVMTQSHKL MSTSVGDRVS ITCKASQDVG TAVAWYQQ
KP GQSPKLLIYW
ASTRHTGVPD RFTGSGSGTD FTLTISNVQS EDLADYFC
QQ DSSYPLTFGA
GTKVELK (SEQ ID NO: 67)、

の、
のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0145】

一実施形態において、標的部分は、US2014/0044738に開示された、抗PD
-L1抗体1F4、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組
み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のため
の1F4またはその抗原結合断片は、

EVQLQESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLT TYSINWIR
QP PGKGLEWLG
MWAGGGTNSN SVLKSRLIIS KDNSKSQVFL KMNSLQTD

10

20

30

40

50

DT ARYYCARYYG
NSPYYAIDYW GQGTSTVTSS (SEQ ID NO: 68);
のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または
DIVTTQSHKL MSTSVGDRVS ITCKASQDVG TAVAWYQQ
KP GQSPKLLIYW
ASTRHTGVDP RFTGSGSGTD FTLTISNVQS EDLADYFC
QQ DSSYPLTFGA
GTKVELK (SEQ ID NO: 69)、
のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

10

【0146】

一実施形態において、標的部分は、US2014/0044738に開示された、抗PD-L1抗体2G11、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための2G11またはその抗原結合断片は、
EVKLQESGPS LVKPSQTL SL TCSVTGYSL SDYWNWIR
KF PGNKLEYLGY
ISYTGSTYYN PSLKSRISIT RDT SKNQYYL QLNSVTTE
DT ATYYCARRGG
WLLPFDYWGG GTTLTVSS (SEQ ID NO: 70);
のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または
DIVMTQSPSS LAVSVGEKVS MGCKSSQSLL YSSNQKNS
LA WYQQKPGQSP
KLLIDWASTR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVKAED
LA VYYCQQYYGY
PLTFGAGTKL ELK (SEQ ID NO: 71)、
のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

20

【0147】

一実施形態において、標的部分は、US2014/0044738に開示された、抗PD-L1抗体3B6、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための3B6またはその抗原結合断片は、
EVKLQESGPS LVKPGASVKL SCKASGYTFT SYDINWVK
QR PGQGLEWIGW
IFPRDNNTKY NENFKGKATL TVDTSSTTAY MELHSLTS
ED SAVYFCTKEN
WVGDFDYWGQ GTTLTLSS (SEQ ID NO: 72);
のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または
DIVMTQSPA I MSASPGKVT MTCSASSSIR YMHWWYQQK
PG TSPKRWISDT
SKLTSGVPAR FSGSGSGTSY ALTISMEAE DAATYYCH
QR SSYPWTFGGG
TKLEIK (SEQ ID NO: 73)、
のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

30

40

【0148】

一実施形態において、標的部分は、US2014/0044738およびWO2012/145493に開示された、抗PD-L1抗体3D10、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で

50

提供される方法における使用のための3D10またはその抗原結合断片は、

EVQLQQSGPD LVTPGASVRI SCQASGYTFP DYVMNWVK
QS HGKSL EWIGD
IDPNYGGTTY NQKFKGKAIL TVDRSSSTAY MELRSLTS
ED SAVYYCARGA
LTDWGQGTSL TVSS (SEQ ID NO: 74) ;

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

QIVLSQSPAI LSASPGGEKVT MTCRASSSVS YIYWFQQK
PG SSPKPWIYAT
FNLASGVPAR FSGSGSGT SY SLTISRVE TE DAATYYCQ
QW SNNPLTFGAG
TKLELK (SEQ ID NO: 75) 、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0149】

一実施形態において、標的部分は、US2011/0271358およびWO2010/036959に開示された、抗PD-L1抗体の任意の1つを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗体またはその抗原結合断片は、US2011/0271358のSEQ ID NO: 34~38:

US2011/0271358のSEQ ID No: 34:

EVQLVQSGPELKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQA
PGQRLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGRATLTSDKSTSTAY
MELSSLRSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGT LVT VSS (SEQ
ID NO: 76) ;

US2011/0271358のSEQ ID No: 35:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQA
PGQRLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGRATLTSDKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGT LVT VSS (SEQ
ID NO: 77) ;

US2011/0271358のSEQ ID No: 36:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVRQA
PGQRLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGRATLTSDKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGT LVT VSS (SEQ
ID NO: 78) ;

US2011/0271358のSEQ ID No: 37:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYVMHWVRQA
PGQRLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGRATLTSDKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGT LVT VSS (SEQ
ID NO: 79) ;

US2011/0271358のSEQ ID No: 38:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYVMHWVRQA
PGQRLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGRATITSDKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGT LVT VSS (SEQ
ID NO: 80) ;

から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

US2011/0271358のSEQ ID NO: 39~42:

US2011/0271358のSEQ ID No: 39:

DIVLTQSPASLALSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWY
QQKPGQPPKLLIYAASSVD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTIN

10

20

30

40

50

S L E E E D A A M Y F C Q Q S R R V P Y T F G Q G T K L E I K (SEQ ID NO: 81);

US 2011/0271358のSEQ ID No: 40:

D I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C R A T E S V E Y Y G T S L V Q W Y
Q Q K P G Q P P K L L I Y A A S S V D S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I N
S L E A E D A A M Y F C Q Q S R R V P Y T F G Q G T K L E I K (SEQ ID NO: 82);

US 2011/0271358のSEQ ID No: 41:

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 T E S V E Y Y G T S L V Q W Y
Q Q K P G Q P P K L L I Y A A S S V D S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I N
S L E A E D A A M Y F C Q Q S R R V P Y T F G Q G T K L E I K (SEQ ID NO: 83);

US 2011/0271358のSEQ ID No: 42:

D I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C R A T E S V E Y Y G T S L V Q W Y
Q Q K P G Q P P K L L I Y A A S S V D S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I N
S L E A E D A A T Y F C Q Q S R R V P Y T F G Q G T K L E I K (SEQ ID NO: 84)、

から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【0150】

一実施形態において、標的部分は、WO 2011/066389、US 8,779,108、およびUS 2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体2.7A4、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための2.7A4またはその抗原結合断片は、

WO 2011/066389のSEQ ID No: 2:

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 T Y S M N W V R Q A
P G K G L E W V S S I S S S G D Y I Y Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L F
L Q M N S L K A E D T A V Y Y C A R D L V T S M V A F D Y W G Q G T L V T V S S
(SEQ ID NO: 85);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO 2011/066389のSEQ ID No: 7:

S Y E L T Q P P S V S V S P G Q A A R I T C S G D A L P Q K Y V F W Y Q Q K S G
Q A P V L V I Y E D S K R P S G I P E R F S G S S S G T M A T L T I S G A Q V E
D E A D Y Y C Y S T D R S G N H R V F G G G T R L T V L (SEQ ID NO: 86)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0151】

一実施形態において、標的部分は、WO 2011/066389、US 8,779,108、およびUS 2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体2.9D10、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための2.9D10またはその抗原結合断片は、

WO 2011/066389のSEQ ID No: 12:

E V Q L V 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 S Y W M S W V R Q A
P G K G L E W V A N I K Q D G G E Q Y Y V 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 R D W N Y G Y Y D M D V W G Q G T T V T V S S
(SEQ ID NO: 87);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO2011/066389のSEQ ID No:17:

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWFQQK
PGQAPRLLIIFGTSSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
PEDFAVYYCQQYGSSIFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:88)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0152】

一実施形態において、標的部分は、WO2011/066389、US8,779,108、およびUS2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体2.14H9、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的実施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための2.14H9またはその抗原結合断片は、

WO2011/066389のSEQ ID No:22:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQA
PGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:89);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO2011/066389のSEQ ID No:27:

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
PEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTEVEIK (SEQ ID NO:90)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0153】

一実施形態において、標的部分は、WO2011/066389、US8,779,108、およびUS2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体2.20A8、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的実施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための2.20A8またはその抗原結合断片は、

WO2011/066389のSEQ ID No:32:

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQA
PGKGLEWVSAIRGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAKDLHYDSSGYLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:91);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO2011/066389のSEQ ID No:37:

DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIRSWLAWYQQKP
GKAPKLLIYAIISRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQP
EDFATYYCQQANSFPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:92)

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0154】

一実施形態において、標的部分は、WO2011/066389、US8,779,108、およびUS2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体3.15G8、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的実施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための3.15G8また

10

20

30

40

50

はその抗原結合断片は、

WO2011/066389のSEQ ID No: 42:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQA
PGKGLEWVANIKQDGGGEKYVDSVKGRFTISRDNANKNSLF
LQMNSLRAEDTAVYYCARVQLYSDYFDYWGQGGLVTVSS
(SEQ ID NO: 93);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO2011/066389のSEQ ID No: 47:

DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIISSWLAWYQQKS
GKAPKLLIYAASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDLATYYCQQSHSLPPTFGQGKTKVEIK (SEQ ID NO: 94)

を含む。
のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

【0155】

一実施形態において、標的部分は、WO2011/066389、US8,779,108、およびUS2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体3.18G1、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的実施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための3.18G1またはその抗原結合断片は、

WO2011/066389のSEQ ID No: 52:

EVQLLESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMSWVRQA
PGKGLEWVSTISGSGGFTFSADSVKGRFTISRDNANKNTLF
LQMNSLRVEDSAVYSCAKVLVGFNNGCWDYWGQGGLVTVSS
(SEQ ID NO: 95);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO2011/066389のSEQ ID No: 57:

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG
QAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAG
DEADYYCQVWDSSNDHVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 96);

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0156】

一実施形態において、標的部分は、WO2011/066389、US8,779,108、およびUS2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体2.7A4OPT、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的実施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための2.7A4OPTまたはその抗原結合断片は、

WO2011/066389のSEQ ID No: 62:

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQA
PGKGLEWVSSISSSGDYIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARDLVTSMVAFDYWGQGGLVTVSS
(SEQ ID NO: 97);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO2011/066389のSEQ ID No: 67:

SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPQKYVFWYQQKSG
QAPVLVIYEDSKRPSGIPERFSGSSSGTMTATLTISGAQVE
DEADYYCYSTDRSGNHRVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 98);

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0157】

一実施形態において、標的部分は、WO2011/066389、US8,779,108、およびUS2014/0356353に開示された、抗PD-L1抗体2.14H9OPT、またはその断片を含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための2.14H9OPTまたはその抗原結合断片は、

WO2011/066389のSEQ ID No:72:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQA
PGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGGLTIVTS
S (SEQ ID NO:99);

のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および／または

WO2011/066389のSEQ ID No:77:

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQK
PGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
PEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:100)、

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む。

【0158】

一実施形態において、標的部分は、WO2016/061142に開示された抗PD-L1抗体の任意の1つを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗体またはその抗原結合断片は、WO2016/061142のSEQ ID NO:18、30、38、46、50、54、62、70、および78:

WO2016/061142のSEQ ID No:18:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMYWVRQA
TGQGLEWMGRIDPNSGSTKYNEKFKNRFTISRDDSKNTAY
LQMNSLKTEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTIVTS
S (SEQ ID NO:101);

WO2016/061142のSEQ ID No:30:

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWVRQA
TGQGLEWMGRIDPNSGSTKYNEKFKNRVTITADKSTSTAY
MELSSLRSED TAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTIVTS
S (SEQ ID NO:102);

WO2016/061142のSEQ ID No:38:

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMYWVRQA
PGQGLEWMGRIDPNSGSTKYNEKFKNRVTISVDTSKNQFS
LKLSSVTAADTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTIVTS
S (SEQ ID NO:103);

WO2016/061142のSEQ ID No:46:

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWIRQS
PSRGGLEWLGRIDPNSGSTKYNEKFKNRLTISKDTSKNQVV
LTMTNMDPVD TATYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTIVTS
S (SEQ ID NO:104);

WO2016/061142のSEQ ID No:50:

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMYWIRQP
PGKGLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFKNRVTITADKSTSTAY

10

20

30

40

50

MELSSLRSEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTVTVSS
(SEQ ID NO:105);

WO2016/061142のSEQ ID No:54:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMYWIRQS
PSRGLEWLGRIDPNSGSTKYNEKFKNRFTISRDDSKNTAY
LQMNSLKTEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTVTVSS
(SEQ ID NO:106);

WO2016/061142のSEQ ID No:62:

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMYWVRQA
RGQRLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFKNRFLTISKDTSKNQVV
LTMTNMDPVDATATYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTVTVSS
(SEQ ID NO:107);

10

WO2016/061142のSEQ ID No:70:

QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGYTFTSYWMYWVRQA
PGKGLEWVSRIDPNSGSTKYNEKFKNRVTITADKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTVTVSS
(SEQ ID NO:108);

WO2016/061142のSEQ ID No:78:

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWVRQA
RGQRLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFKNRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTTVTVSS
(SEQ ID NO:109);

20

から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

WO2016/061142のSEQ ID NO:22、26、34、42、58、66
、74、82、および86:

WO2016/061142のSEQ ID No:22:

DIVMTQTPLSLPVTGPASISCKASQDVGTAVAWYLQKP
GQSPQLLIYWASTRHTGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQS
EDFAVYYCQQYNSYPLTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:11
0);

30

WO2016/061142のSEQ ID No:26:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYLQKP
GQSPQLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
EDFATYYCQQYNSYPLTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:11
1);

WO2016/061142のSEQ ID No:34:

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKASQDVGTAVAWYLQKP
GQSPQLLIYWASTRHTGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEA
EDVGVYYCQQYNSYPLTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:11
2);

40

WO2016/061142のSEQ ID No:42:

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKASQDVGTAVAWYLQKP
GQSPQLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQP
EDIATYYCQQYNSYPLTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:11
3);

WO2016/061142のSEQ ID No:58:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQDVGTAVAWYLQKP
GQSPQLLIYWASTRHTGIPPRFSGSGYGTDFTLTINNI
ES
EDAAYYFCQQYNSYPLTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:11
4);

50

WO2016/061142のSEQ ID No:66:
DVVMTQSP LSLPVT LGQPASISCKASQDVGTAVAWYQQKP
GQAPRL LIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP
DDFATYYCQQYN SYPLTFGGQGTKVEIK (SEQ ID NO:115);

WO2016/061142のSEQ ID No:74:
DIQMTQSPSSL SASVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKP
GQAPRL LIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQP
EDIATYYCQQYN SYPLTFGGQGTKVEIK (SEQ ID NO:116);

10

WO2016/061142のSEQ ID No:82:
AIQLTQSPSSL SASVGDRTITCKASQDVGTAVAWYLQKP
GQSPQL LIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQA
EDAATYYCQQYN SYPLTFGGQGTKVEIK (SEQ ID NO:117);

WO2016/061142のSEQ ID No:86:
EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKASQDVGTAVAWYQQKP
GQAPRL LIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP
DDFATYYCQQYN SYPLTFGGQGTKVEIK (SEQ ID NO:118);

20

から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【0159】

一実施形態において、標的部分は、WO2016/022630に開示された抗PD-L1抗体の任意の1つを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗体またはその抗原結合断片は、WO2016/022630のSEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、および46:

WO2016/022630のSEQ ID No:2:
EVKLVE SGGGLVKPGGSLKLSCAASGFI FRSYGMSWVRQT
PEKRLEWVASISSGGSTYYPDSVKGRFTISRDNARNILYL
QMSSLRSEDTAMYDCARGYDSGFAYWGQGT LVT VSE (SEQ ID NO:119);

30

WO2016/022630のSEQ ID No:6:
EVKLVE SGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFRSYGMSWVRQT
PEKRLEWVASISSGGTTYYPDSVKGRFIISRDNARNILYL
QMSSLRSEDTAMYYCAKGYDSGFAYWGQGT LVIVSA (SEQ ID NO:120);

WO2016/022630のSEQ ID No:10:
QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTTYGVHWVRQS
PGKGLEWLGVIWRGVTTDYNAAFMSRLTITKDNSKKSQVFF
KMNSLQANDTAIYYCARLGFIAMDYWGQGT SVTVSS (SEQ ID NO:121);

40

WO2016/022630のSEQ ID No:14:
QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVHWVRQS
PGKGLEWLGVIWSGGVTDYNAAFISRLSISKDNSKKSQVFF
KMNSLQANDTAIYYCARLGFIAMDYWGQGT SVTVSS (SEQ ID NO:122);

WO2016/022630のSEQ ID No:18:
EVKLFE SGGGLVQPGGSLKLSCVASGFDFSTYWMHWVRQA

50

PGQGLEWIGQINPDSTTINYAPSLKDRFIISRDN AKNTLF
LQMSKVRSEDTALYYCAKPGDYG YDFDCWGQGTTLTVSS
(SEQ ID NO:123);

WO2016/022630のSEQ ID No:22:

EVQLQESGPSLVKPSQTL SLTCSVTGDSITSGYWNWIRKF
PGNKLEYMGYISYSGSTYYNPSLKSRI SITRDT SKNQYYL
QLNSVTTEDTATYYCARSL LWFSTGFAYWGQGT LVTVSA
(SEQ ID NO:124);

WO2016/022630のSEQ ID No:26:

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYG VHWVRQS
PGKGLEWLGV IWSGGITDYNAAF KSRLSISKD NSKSQVFF
KMNSLQANDTAIYFCARLG FYAMDYWGQGT SVTVSS (SEQ
ID NO:125);

10

WO2016/022630のSEQ ID No:30:

EVKLVE SGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFRSYGMSWARQI
PEKRLEWVASISSGGTTY YLG SVQGRFTISRDNARNILYL
QMSSLRSEDTAMYYCARGYDAGFAYWGQGT LVS VSE (SEQ
ID NO:126);

WO2016/022630のSEQ ID No:34:

EVQLQESGPSLVKPSQTL SLTCSVTGDSITSGYWTWIRKF
PGNKLEYMGYISYTGSTYYNPSLKSRI SISRDT SKSQYYL
QLNSVTTEDTATYYCARQ RDWLGFAYWGQGT LVTVSA (S
EQ ID NO:127);

20

WO2016/022630のSEQ ID No:38:

EEKLVE SGGGLVKPGGSLKLSCAASGFSFSSYGMSWVRQT
PEKRLEWVASISSGGSIYYPDSVKGRFTISRDNARNILYL
QMSSLRSEDTAMYYCARGYDAGFAFWGQGT LVTASA (SEQ
ID NO:128);

WO2016/022630のSEQ ID No:42:

QITLKE SGP TLVKPTQTLTLTCTVSGFSLSTYGVHWIRQP
PGKALEWLGV IWRGVTTDYNAAFMSRLTITKD NSKNQVVL
TMNNMDPVD TATYYCARLG FYAMDYWGQGT LVTVSS (SEQ
ID NO:129);

30

WO2016/022630のSEQ ID No:46:

EVQLVE SGGGLVKPGGSLRLSCAASGFI FRSYGMSWVRQA
PGKGLEWVASISSGGSTYYYPDSVKGRFTISRDN AKNSLYL
QMNSLRAEDTAVYDCARGYDSGFAYWGQGT LVTVSS (SEQ
ID NO:130);

から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

WO2016/022630のSEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、および48:

40

WO2016/022630のSEQ ID No:4:

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSSS FMHWY
QQKPGQPPKLLIKYASNLESGV PARFSGSGSGTDFTLN IH
PVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKR (SEQ ID
NO:131);

WO2016/022630のSEQ ID No:8:

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSSS SYMHWY
QQKPGQPPKLLIKYASNLESGV PARFSGSGSGTDFTLN IH
PVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIK (SEQ ID N

50

O : 132) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 12 :
SIVMTQTPKFLLVSA GDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKP
GQSPKLLIYYAANRYTGVPDRFTGSGYGTDFTFTISIVQA
EDLAVYFCQQDYTSPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO : 13
3) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 16 :
SIVMTQTPKFLLVSA GDRVTITCKASQSVSNDVGWYQQKP
GQSPKLLIYYASNRYSGVPDRFTGSGYGTDFTFTISTVQA
EDLAVYFCQQDYTSPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO : 13
4) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 20 :
DVLMTQTPLYLPVSLGDQASISCRSSQIIVHSNANTYLEW
FLQKPGQSPKLLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDLG VYYCFQGSHVPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID
NO : 135) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 24 :
QIVLTQSPA IMSASPG EKVTLTCSASSSVSSSYLYWNQQK
PGSSPKVWIYNTSNLASGVPARFSGSGSGTSSYSLTISSME
AEDAASYFCHQWRSYPPTLGAGTKLELK (SEQ ID NO : 1
36) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 28 :
QIVLTQSPA IMSASPG EKVTMTCSANSSVSYMHWWYQQKSG
TSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTSSYSLTISSMGAE
DAATYYCQQWSSNPWTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO : 137
) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 32 :
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWWY
QQKPGQPPKLLIKYASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLN IH
PVEEEDTATYYCQNSWEIPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID N
O : 138) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 36 :
DIVMTQTPSSLAVSLGEKVTMSCKSSQSLLYSSNQKNSLA
WYQQKPGQSPKLLIYWASNRESGVPDRFTGSSSSGTDFTLT
ISSVKAEDLAVYFCQQYYSYPLTFGAGTKLELK (SEQ ID
NO : 139) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 40 :
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYVHWY
QQKPGQPPKLLIKYASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLN IH
PVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID N
O : 140) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 44 :
DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKP
GKAPKLLIYYAANRYTGVPDRFSGSGYGTDFTFTISSLQP
EDIATYFCQQDYTSPYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO : 14
1) ;
WO2016/0226300SEQ ID No : 48 :
DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASQSVSTSSSSSFMHWY
QQKPGQPPKLLIKYASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLTIN
PVEANDTANYYCQHSWEIPYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID N

10

20

30

40

50

O : 1 4 2)

から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【 0 1 6 0 】

一実施形態において、標的部分は、WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 に開示された抗PD-L
1抗体の任意の1つを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例
示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗体またはその
抗原結合断片は、WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID NO : 3 8、5 0、8 2、
および8 6 :

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 3 8 :

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQA
TGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSS (S
EQ ID NO : 1 4 3) ;

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 5 0 :

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWIRQS
PSRGGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSS (S
EQ ID NO : 1 4 4) ;

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 8 2 :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWIRQS
PSRGGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSS (S
EQ ID NO : 1 4 5) ;

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 8 6 :

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQA
PGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCTRWTTGTGAYWGQGTTVTVSS (S
EQ ID NO : 1 4 6) ;

から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID NO : 4 2、4 6、5 4、5 8、6 2、6 6
、7 0、7 4、および7 8 :

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 4 2 :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLLD SG NQKNFLT
WYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTEFTLT
ISS LQPD D F A T Y Y C Q N D Y S Y P Y T F G Q G T K V E I K (SEQ ID
NO : 1 4 7) ;

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 4 6 :

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLLD SG NQKNFLT
WYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPPRFSGSGSGYGTDFTLT
INNIESEDAAYYFCQNDYSYPYTFGQG T K V E I K (SEQ ID
NO : 1 4 8) ;

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 5 4 :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLLD SG NQKNFLT
WYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTF
ISS LQ P E D I A T Y Y C Q N D Y S Y P Y T F G Q G T K V E I K (SEQ ID
NO : 1 4 9) ;

WO 2 0 1 5 / 1 1 2 9 0 0 のSEQ ID No : 5 8 :

DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLLD SG NQKNFLT
WYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTF

10

20

30

40

50

ISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:150);

WO2015/112900のSEQ ID No:62:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLLDSGNQKNFLT
WYQQKPKGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTF
ISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:151);

WO2015/112900のSEQ ID No:66:

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKSSQSLLDSGNQKNFLT
WYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTF
ISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:152);

WO2015/112900のSEQ ID No:70:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLLDSGNQKNFLT
WYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTF
ISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:153);

WO2015/112900のSEQ ID No:74:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLLDSGNQKNFLT
WYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTF
ISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:154);

WO2015/112900のSEQ ID No:78:

DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGNQKNFLT
WYQQKPKGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTF
ISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:155)

から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む。

【0161】

一実施形態において、標的部分は、WO2010/077634およびUS8,217,149に開示された抗PD-L1抗体の任意の1つを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗PD-L1抗体またはその抗原結合断片は、

WO2010/077634のSEQ ID NO:20:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQA
PGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLVTVSA (SEQ ID NO:156);

のアミノ酸配列を含む重鎖領域、および／または

WO2010/077634のSEQ ID No:21:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKP
GKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQLYHPATFGQGGTKVEIKR (SEQ ID NO:157)

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、を含む。

【0162】

一実施形態において、標的部分は、US20120039906に開示されたCNCM寄託番号CNCM I-4122、CNCM I-4080およびCNCM I-4081の

10

20

30

40

50

下でアクセス可能なハイブリドーマから得ることが可能な抗PD-L1抗体の任意の1つを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。

【0163】

一実施形態において、標的部分は、例えばUS8,907,065およびWO2008/071447に開示された抗PD-L1に対するVHHを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、PD-L1に対するVHHは、US8,907,065のSEQ ID NO:394~399:

US8,907,065のSEQ ID No:394:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQA
PGKEREWASSISSSDGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVF
LQMNSLKPEDTAVYSCAASQAPITITATMMKPFYDYWGQGT
QVTVSS (SEQ ID NO:158);

10

US8,907,065のSEQ ID No:395:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAKCWFRQA
PGKEREWVSCISSSDGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVY
LQMNSLKPEDTAVYFCAARHGGPLTVEYFFDYWGQGTQVT
VSS (SEQ ID NO:159);

US8,907,065のSEQ ID No:396:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDYYAIGWFRQA
PGKAREGVSCISGGDNSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVY
LQMNSLKPEDTAVYYCATGGWKYCSGYDPEYIYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO:160);

20

US8,907,065のSEQ ID No:397:

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSQYDVGWYRQA
PGKQRELVAFFSSSGGRTIYPDSVKGRFTFSRDNTKNTVYL
QMTSLKPEDTAVYYCKIDWYLSYWGQGTQVTVSS (SEQ
ID NO:161);

US8,907,065のSEQ ID No:398:

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVDAASNSAMGWYRQA
PGKQREWVARITGGGLIAYTDSVKGRFTISRDNKSTVYL
QMNSLEPEDTAVYYCNTINSRDGWGQGTQVTVSS (SEQ I
D NO:162);

30

US8,907,065のSEQ ID No:399:

EVQLVESGGGLVQAGGSLTISCAASGITFSDSIVSWYRRA
RGKQREWVAGISNGGTTKYAESVLGRFTISRDNKNNVYL
QMNGLNPEDTAVYLCVKVRQYWGQGTQVTVSS (SEQ ID N
O:163)、

を含む。

【0164】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、PD-L2に対する1つまたは複数の標的部分を有する。幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、PD-L2ポリペプチドを選択的に結合する1つまたは複数の標的部分を有する。幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、PD-L2ポリペプチドを選択的に結合する1つまたは複数の抗体、抗体誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、または融合タンパク質を含む。

40

【0165】

一実施形態において、標的部分は、例えばUS8,907,065およびWO2008/071447に開示された抗PD-L2に対するVHHを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、PD-L1に対するVHHは、US8,907,065のSEQ ID NO:449~455:

50

US8, 907, 065のSEQ ID No: 449:
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASESTVLINAMGWYRQA
PGKQRELVASISSGGSTNYADSVKGRFTISRDNANKNTVYL
QMNSLKPEDTAVYYCNADVYPQDYGLGYVEGKVYYGHDYW
GTGTLVTVSS (SEQ ID NO: 164);

US8, 907, 065のSEQ ID No: 450:
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSNYVSNYAMGW
GRQAPGTQRELVASISNGDTTNYADSVKGRFTISRDNANKN
TVYLMNSLKPEDTAVYYCFEHQVAGLTWGGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 165);

10

US8, 907, 065のSEQ ID No: 451:
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGXALKIXVMGWYRQA
PGKQRELVAAITSGGRTNYSDSVKGRFTISGDNAXNTVYL
QMNSLKSEDTAVYYCREWNSGYPPVDYWGGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 166);

US8, 907, 065のSEQ ID No: 452:
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSGTMGWFRRA
PGKEREFVASIPWSGGRTYYADSVKDRFTISRDNAAQNTVF
LQMNSLKPEDTAVYYCAFKERSTGWDFASWGQGGIQVTVSS
(SEQ ID NO: 167);

20

US8, 907, 065のSEQ ID No: 453:
EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTLDYYGIGWFRQA
PGKEREGVSFISGSDGSTYYAESVKGRFTISRDKAKNTVY
LQMNSLKPEDTAVYYCAADPWGPPSIATMTSYEYKHWGQG
TQVTVSS (SEQ ID NO: 168);

US8, 907, 065のSEQ ID No: 454:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYTMIWLRRA
PGKGFVWSTIDKDGNTNYVDSVKGRFAVSRDNTKNTLYL
QMNSLKPEDTAMYYCTKHGSSARGQGTRVTVSS (SEQ ID NO: 169);

30

US8, 907, 065のSEQ ID No: 455:
EVQLVESGGGLVEPGGSLRLSCVASGFTFSSYDMSWVRQA
PGKGLEWVSTINSGGGITYRGSVKGRFTISRDNANKNTLYL
QMNSLKPEDTAVYYCENGSSYRRGQGTTQVTVSS (SEQ ID NO: 170);

を含む。

【0166】

一実施形態において、標的部分は、US2011/0271358およびWO2010/036959に開示された抗PD-L2抗体の任意の1つを含み、その開示全体は、参照により本明細書に組み入れられる。例示的实施形態において、本明細書で提供される方法における使用のための抗体またはその抗原結合断片は、US2011/0271358のSEQ ID NO: 43~47:

40

US2011/0271358のSEQ ID No: 43:
QVQLVQSGAELKKPGASVKMSCKASGYTFTGYTMHWVKQA
PGQGLEWIGYINPRSGYTEYNQKFKDRTTLTADKSTSTAY
MELSSLRSEDSAVYYCARPWFAYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 171);

US2011/0271358のSEQ ID No: 44:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTGYTMHWVKQA
PGQGLEWIGYINPRSGYTEYNQKFKDRTTLTADKSTSTAY

50

MELSSLRSEDTAVYYCARPWFAFWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 172);

US2011/0271358のSEQ ID No: 45:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTGYTMHWVRQA
PGQGLEWIGYINPRSGYTEYNQKFKDRTTTLTADKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARPWFAFWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 173);

US2011/0271358のSEQ ID No: 46:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYTMHWVRQA
PGQGLEWIGYINPRSGYTEYNQKFKDRTTTLTADKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARPWFAFWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 174);

US2011/0271358のSEQ ID No: 47:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYTMHWVRQA
PGQGLEWIGYINPRSGYTEYNQKFKDRTTITADKSTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARPWFAFWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 175);

から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、および／または

US2011/0271358のSEQ ID NO: 48~51:

US2011/0271358のSEQ ID No: 48:

DIVMTQSPASLTVPGEKVTITCKSSQSLLNSGNQKNYLT
WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLT
ISSQLQAEDVAVYYCQNDYSYPLTFTGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 176);

US2011/0271358のSEQ ID No: 49:

DIVMTQSPASLSVTPGEKVTITCKSSQSLLNSGNQKNYLT
WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLT
ISSQLQAEDVAVYYCQNDYSYPLTFTGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 177);

US2011/0271358のSEQ ID No: 50:

DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCKSSQSLLNSGNQKNYLT
WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLT
ISSQLQAEDVAVYYCQNDYSYPLTFTGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 178);

US2011/0271358のSEQ ID No: 51:

DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCKSSQSLLNSGNQKNYLT
WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
ISSQLQAEDVAVYYCQNDYSYPLTFTGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 179);

から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、
を含む。

【0167】

様々な実施形態において、本発明の標的部分は、本明細書に開示される配列のいずれかと少なくとも約60%、少なくとも約61%、少なくとも約62%、少なくとも約63%、少なくとも約64%、少なくとも約65%、少なくとも約66%、少なくとも約67%、少なくとも約68%、少なくとも約69%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約76%、少なくとも約77%、少なくとも約78%、少なくとも約79%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、

10

20

30

40

50

少なくとも約 88%、少なくとも約 89%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、
少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、
少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、
または 100% 同一である（例えば、本明細書に開示される配列のいずれかと約 60%、
または約 61%、または約 62%、または約 63%、または約 64%、または約 65%、
または約 66%、または約 67%、または約 68%、または約 69%、または約 70%、
または約 71%、または約 72%、または約 73%、または約 74%、または約 75%、
または約 76%、または約 77%、または約 78%、または約 79%、または約 80%、
または約 81%、または約 82%、または約 83%、または約 84%、または約 85%、
または約 86%、または約 87%、または約 88%、または約 89%、または約 90%、
または約 91%、または約 92%、または約 93%、または約 94%、または約 95%、
または約 96%、または約 97%、または約 98%、約 99%、または約 100% の配列
同一性）PD-1、PD-L1、および／または PD-L2 を標的とする配列を含み得る。

10

【0168】

様々な実施形態において、本発明の標的部分は、本明細書に開示される通り、PD-1、
PD-L1、および／または PD-L2 を標的にする重鎖、軽鎖、重鎖可変領域、軽鎖可
変領域、相補性決定領域（CDR）、およびフレームワーク領域配列の任意の組み合わせ
を含み得る。

【0169】

PD-1、PD-L1、および／または PD-L2 を選択的に結合する、または標的にす
るさらなる抗体、抗体誘導体もしくはフォーマット、ペプチドもしくはポリペプチド、ま
たは融合タンパク質は、開示全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2011
/066389、US2008/0025980、US2013/0034559、US
8,779,108、US2014/0356353、US8,609,089、US2
010/028330、US2012/0114649、WO2010/027827、
WO2011/066342、US8,907,065、WO2016/062722、
WO2009/101611、WO2010/027827、WO2011/06634
2、WO2007/005874、WO2001/014556、US2011/027
1358、WO2010/036959、WO2010/077634、US8,217
,149、US2012/0039906、WO2012/145493、US2011
/0318373、米国特許第8,779,108号、US20140044738、W
O2009/089149、WO2007/00587、WO2016061142、W
O2016,02263、WO2010/077634、および WO2015/1129
00 に開示される。

20

30

【0170】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) T細胞上のチェックポイント
マーカー、例えば PD-1 に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分、例
えば PD-L1 または PD-L2 とを、本明細書に記載される修飾された（例えば、突然
変異体の）シグナル伝達物質のいずれか（例えば、修飾された IFN β ）と共に有する。
一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞上の PD-1 に対する標的部分
と、腫瘍細胞上の PD-L1 に対する第二の標的部分とを有する。一実施形態において
、本発明のキメラタンパク質は、T細胞上の PD-1 に対する標的部分と、腫瘍細胞上の
PD-L2 に対する第二の標的部分とを有する。

40

【0171】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えば CD8 への標的化によ
り媒介される、T細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本
明細書に記載される修飾された（例えば、突然変異体の）シグナル伝達物質のいずれか（
例えば、修飾された IFN β ）と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタン
パク質は、T細胞上の CD8 に対する標的部分と、腫瘍細胞上の PD-L1 または PD-
L2 に対する第二の標的部分とを有する。

50

【0172】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばCD4への標的化により媒介される、T細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞上のCD4に対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

【0173】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばCD3、CXCR3、CCR4、CCR9、CD70、CD103、または1つもしくは複数の免疫チェックポイントマーカーへの標的化により媒介される、T細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞上のCD3に対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

10

【0174】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばPD-1への標的化により媒介される、T細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。

20

【0175】

非限定的な例として、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばCD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD38、CD39、CD40、CD70、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CD77、CD78、CD79a/b、CD80、CD81、CD82、CD83、CD84、CD85、CD86、CD89、CD98、CD126、CD127、CDw130、CD138、またはCDw150への標的化により媒介される、B細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。

30

【0176】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばCD19、CD20またはCD70への標的化により媒介される、B細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。

【0177】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばCD20への標的化により媒介される、B細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFN β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、B細胞上のCD20に対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

40

【0178】

非限定的な例として、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えば2B4/SLAMF4、KIR2DS4、CD155/PVR、KIR3DL1、CD94、LMIR1/CD300A、CD69、LMIR2/CD300c、CRACC/SLAMF7、LMIR3/CD300LF、DNAM-1、LMIR5/CD300LB、Fc γ RII、LMIR6/CD300LE、Fc γ RI/CD64、MICA、Fc γ RIIB/CD32b、MICB、Fc γ RIIC/CD32c、MULT-1、Fc γ RIIA/CD32a、ネクチン-2/CD112、F

50

C-γ R I I I / C D 1 6、N K G 2 A、F c R H 1 / I R T A 5、N K G 2 C、F c R H 2 / I R T A 4、N K G 2 D、F c R H 4 / I R T A 1、N K p 3 0、F c R H 5 / I R T A 2、N K p 4 4、F c 受容体様 3 / C D 1 6-2、N K p 4 6 / N C R 1、N K p 8 0 / K L R F 1、N T B-A / S L A M F 6、R a e-1、R a e-1 α、R a e-1 β、R a e-1 デルタ、H 6 0、R a e-1 イブシロン、I L T 2 / C D 8 5 j、R a e-1 γ、I L T 3 / C D 8 5 k、T R E M-1、I L T 4 / C D 8 5 d、T R E M-2、I L T 5 / C D 8 5 a、T R E M-3、K I R / C D 1 5 8、T R E M L 1 / T L T-1、K I R 2 D L 1、U L B P-1、K I R 2 D L 3、U L B P-2、K I R 2 D L 4 / C D 1 5 8 d、または U L B P-3 への標的化により媒介される、NK 細胞に対する標的部分と、(i i) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾された I F N β)と共に有する。

10

【0179】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えば K i r 1 アルファ、D N A M-1 または C D 6 4 への標的化により媒介される、NK 細胞に対する標的部分と、(i i) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾された I F N β)と共に有する。

【0180】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えば K I R 1 への標的化により媒介される、NK 細胞に対する標的部分と、(i i) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾された I F N β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、NK 細胞上の K I R 1 に対する標的部分と、腫瘍細胞上の P D-L 1 または P D-L 2 に対する第二の標的部分とを有する。

20

【0181】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えば T I G I T または K I R 1 への標的化により媒介される、NK 細胞に対する標的部分と、(i i) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾された I F N β)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、NK 細胞上の T I G I T に対する標的部分と、腫瘍細胞上の P D-L 1 または P D-L 2 に対する第二の標的部分とを有する。

30

【0182】

非限定的な例として、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えば C L E C-9 A、X C R 1、R A N K、C D 3 6 / S R B 3、L O X-1 / S R-E 1、C D 6 8、M A R C O、C D 1 6 3、S R-A 1 / M S R、C D 5 L、S R E C-1、C L-P I / C O L E C 1 2、S R E C-I I、L I M P I I I S R B 2、R P 1 0 5、T L R 4、T L R 1、T L R 5、T L R 2、T L R 6、T L R 3、T L R 9、4-I B リガンド / T N F S F 9、I L-1 2 / I L-2 3 p 4 0、4-アミノ-1, 8-ナフタルイミド、I L T 2 / C D 8 5 j、C C L 2 1 / 6 C k i n e、I L T 3 / C D 8 5 k、8-オキソ-d G、I L T 4 / C D 8 5 d、8 D 6 A、I L T 5 / C D 8 5 a、A 2 B 5、インテグリン α 4 / C D 4 9 d、A a g、インテグリン β 2 / C D 1 8、A M I C A、ランゲリン、B 7-2 / C D 8 6、ロイコトリエン B 4 R I、B 7-H 3、L M I R 1 / C D 3 0 0 A、B L A M E / S L A M F 8、L M I R 2 / C D 3 0 0 c、C l q R 1 / C D 9 3、L M I R 3 / C D 3 0 0 L F、C C R 6、L M I R 5 / C D 3 0 0 L B、C C R 7、L M I R 6 / C D 3 0 0 L E、C D 4 0 / T N F R S F 5、M A G / シグレック-4-a、C D 4 3、M C A M、C D 4 5、M D-1、C D 6 8、M D-2、C D 8 3、M D L-1 / C L E C 5 A、C D 8 4 / S L A M F 5、M M R、C D 9 7、N C A M L I、C D 2 F-1 0 / S L A M F 9、オステオアクチビン G P N M B、C h e r n 2 3、P D-L 2、C L E C-1、R P 1 0 5、C L E C-2、シグレック-2 / C D 2 2、C R A C C / S L A M F 7、シグレック-3 / C D 3 3、D C-S I G N、シグレック-

40

50

5、DC-SIGNR/CD299、シグレック-6、DCAR、シグレック-7、DCIR/CLEC4A、シグレック-9、DEC-205、シグレック-10、デクチン-1/CLEC7A、シグレック-F、デクチン-2/CLEC6A、SIGNR1/CD209、DEP-1/CD148、SIGNR4、DLEC、SLAM、EMMPRIN/CD147、TCCR/WSX-1、Fc-γ R1/CD64、TLR3、Fc-γ RIIB/CD32b、TREM-1、Fc-γ RIIC/CD32c、TREM-2、Fc-γ RIIA/CD32a、TREM-3、Fc-γ RIII/CD16、TR EML1/TLT-1、ICAM-2/CD102、またはパニロイド R1への標的化により媒介される、樹状細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞または免疫細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。

10

【0183】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばCLEC-9A、DC-SIGN、CD64、CLEC4A、またはDEC205への標的化により媒介される、樹状細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞上のCLEC9Aに対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

【0184】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばCLEC9Aへの標的化により媒介される、樹状細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞上のCLEC9Aに対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

20

【0185】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばXCR1への標的化により媒介される、樹状細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞上のXCR1に対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

30

【0186】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばRANKへの標的化により媒介される、樹状細胞に対する標的部分と、(ii) 腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞上のRANKに対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

40

【0187】

非限定的な例として、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) 例えばSIRP1a、B7-1/CD80、ILT4/CD85d、B7-H1、ILT5/CD85a、共通β鎖、インテグリンα 4/CD49d、BLAME/SLAMF8、インテグリンα X/CD11c、CCL6/C10、インテグリンβ 2/CD18、CD155/PVR、インテグリンβ 3/CD61、CD31/PECAM-1、ラテキシン、CD36/SR-B3、ロイコトリエン B4 R1、CD40/TNFRSF5、LIMPIIISR-B2、CD43、LMIR1/CD300A、CD45、LMIR2/CD300c、CD68、LMIR3/CD300LF、CD84/SLAMF5、LMIR5/CD300LB、CD97、LMIR6/CD300LE、CD163、

50

LRP-1、CD2F-10/SLAMF9、MARCO、CRACC/SLAMF7、MD-1、ECF-L、MD-2、EMMPRIN/CD147、MGL2、エンドグリン/CD105、オステオアクチビン/GPNMB、Fc-γRI/CD64、オステオポンチン、Fc-γRIIB/CD32b、PD-L2、Fc-γRIIC/CD32c、シグレック-3/CD33、Fc-γRIIA/CD32a、SIGNR1/CD209、Fc-γRIII/CD16、SLAM、GM-CSFRα、TCCR/WSX-1、ICAM-2/CD102、TLR3、IFNγRI、TLR4、IFN-γR2、TREM-1、IL-1RII、TREM-2、ILT2/CD85j、TREM-3、ILT3/CD85k、TREML1/TLT-1、2B4/SLAMF4、IL-10Rα、ALCAM、IL-10Rβ、アミノペプチダーゼN/ANPEP、ILT2/CD85j、共通β鎖、ILT3/CD85k、ClqR1/CD93、ILT4/CD85d、CCR1、ILT5/CD85a、CCR2、CD206、インテグリンα4/CD49d、CCR5、インテグリンαM/CD11b、CCR8、インテグリンαX/CD11c、CD155/PVR、インテグリンβ2/CD18、CD14、インテグリンβ3/CD61、CD36/SR-B3、LAIR1、CD43、LAIR2、CD45、ロイコトリエンB4-R1、CD68、LIMPIIISR-B2、CD84/SLAMF5、LMIR1/CD300A、CD97、LMIR2/CD300c、CD163、LMIR3/CD300LF、凝固因子III/組織因子、LMIR5/CD300LB、CX3CR1、CX3CL1、LMIR6/CD300LE、CXCR4、LRP-1、CXCR6、M-CSFR、DEP-1/CD148、MD-1、DNAM-1、MD-2、EMMPRIN/CD147、MMR、エンドグリン/CD105、NCAM-L1、Fc-γRI/CD64、PSGL-1、Fc-γRIIIICD16、RP105、G-CSFR、L-セレクチン、GM-CSFRα、シグレック-3/CD33、HVEM/TNFRSF14、SLAM、ICAM-1/CD54、TCCR/WSX-1、ICAM-2/CD102、TREM-1、IL-6R、TREM-2、CXCR1/IL-8RA、TREM-3、またはTREML1/TLT-1への標的化により媒介される、単球/マクロファージに対する標的部分と、(ii)腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。

【0188】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i)例えばB7-H1、CD31/PECAM-1、CD163、CCR2、またはマクロファージマンノース受容体CD206への標的化により媒介される、単球/マクロファージに対する標的部分と、(ii)腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。

【0189】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i)例えばSIRP1aへの標的化により媒介される、単球/マクロファージに対する標的部分と、(ii)腫瘍細胞に対する標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質のいずれか(例えば、修飾されたIFNβ)と共に有する。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、マクロファージ細胞上のSIRP1aに対する標的部分と、腫瘍細胞上のPD-L1またはPD-L2に対する第二の標的部分とを有する。

【0190】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、チェックポイントマーカー、例えばPD-1/PD-L1またはPD-L2、CD28/CD80またはCD86、CTLA4/CD80またはCD86、ICOS/ICOSLまたはB7RP1、BTLA/HVEM、KIR、LAG3、CD137/CD137L、OX40/OX40L、CD27、CD40L、TIM3/Gal9、およびA2aRの1つまたは複数に対する1つまたは複数の標的部分を有する。

【0191】

幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、同一のまたは異なる免疫細胞に対する2つ以上の標的部分を含む。幾つか実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、(i) T細胞、B細胞、樹状細胞、マクロファージ、NK細胞、またはそれらのサブセットから選択される免疫細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、(ii) T細胞、B細胞、樹状細胞、マクロファージ、NK細胞、またはそれらのサブセットから選択される同一のまたは別の免疫細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを、本明細書に記載される修飾された(例えば、突然変異体の)シグナル伝達物質(例えば、修飾されたIFN β)のいずれか(例えば、修飾IFN β)と共に有する。

【0192】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、同一のまたは別のT細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。例えば、例示的实施形態において、キメラタンパク質は、CD8に対する標的部分と、Clec9Aに対する標的部分とを含み得る。別の例示的实施形態において、キメラタンパク質は、CD8に対する標的部分と、CD3に対する標的部分とを含み得る。別の例示的实施形態において、キメラタンパク質は、CD8に対する標的部分と、PD-1に対する標的部分とを含み得る。

【0193】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、同一のまたは別のB細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。

【0194】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、同一のまたは別の樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。

【0195】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分と、同一のまたは別のマクロファージに対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分と、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、マクロファージに対する1つまたは複数の

の標的部分と、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分と、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分と、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。

【0196】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、同一のまたは別のNK細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、T細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、B細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、マクロファージに対する1つまたは複数の標的部分とを含む。一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、NK細胞に対する1つまたは複数の標的部分と、樹状細胞に対する1つまたは複数の標的部分とを含む。

【0197】

一実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、腫瘍細胞に対する標的部分と、同一のまたは異なる腫瘍細胞に対する第二の標的部分とを含む。そのような実施形態において、標的部分は、本明細書に記載される腫瘍抗原のいずれかに結合し得る。

【0198】

標的部分のフォーマット

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の標的部分は、特異的結合が可能なタンパク質系物質、例えば抗体またはその誘導体である。一実施形態において、標的部分は、抗体を含む。様々な実施形態において、抗体は、2つの重鎖および2つの軽鎖を含む完全長多量体タンパク質である。各重鎖は、1つの可変領域（例えば、V_H）および少なくとも3つの定常領域（例えば、C_{H1}、C_{H2}およびC_{H3}）を含み、各軽鎖は、1つの可変領域（V_L）および1つの定常領域（C_L）を含む。可変領域は、抗体の特異性を決定する。各可変領域は、4つの相対的に保存されたフレームワーク領域（FR）が隣接する相補性決定領域（CDR）としても知られる3つの超可変領域を含む。CDR1、CDR2、およびCDR3と称される3つのCDRは、抗体結合特異性に寄与する。幾つかの実施形態において、抗体は、キメラ抗体である。幾つかの実施形態において、抗体は、ヒト化抗体である。

【0199】

幾つかの実施形態において、標的部分は、抗体の誘導体またはフォーマットを含む。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質の標的部分は、内容が全体として参照により本明細書に組み入れられる、米国特許または米国特許出願のUS7,417,130、US2004/132094、US5,831,012、US2004/023334、US7,250,297、US6,818,418、US2004/209243、US7,838,629、US7,186,524、US6,004,746、US5,475,096、US2004/146938、US2004/157209、US6,994,982、US6,794,144、US2010/239633、US7,803,907、US2010/119446、および／またはUS7,166,697に記載された、単ドメイン抗体、組換え重鎖のみの抗体（VHH）、一本鎖抗体（scFv）、サメの重鎖のみの抗体（VNAR）、マイクロタンパク質（システインノットタンパク質、ノッティン）、DARPin；テトラネクチン；Affibody；Transbody；Anticalin；Adnectin；Affilin；Microbody；ペプチドアプタマー；アルテラーゼ；プラスチック抗体；Phylomer；Stradobody；マキシボディ（maxibody）；Evibody；Fynomer、アルマジロリピートタンパク質、クニツドメイン、アビマー、アトリマー、Probo

dy、Immunobody、Triomab、トロイボディ (troybody) ; ペプボディ (pepboddy) ; Vacciboddy、UniBody ; Affimer、DuoBody、Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、ペプチド模倣分子、または合成分子である。Storz MAb s. 2011 May-Jun ; 3 (3) : 310-317 も参照されたい。

【0200】

一実施形態において、標的部分は、例えばラクダ、サメなどのVHH抗体を生成する生物体由来のVHH、または設計されたVHHなどの、単ドメイン抗体を含む。VHHは、天然由来重鎖抗体の特有の構造的および機能的特性を含む抗体由来治療性タンパク質である。VHH技術は、軽鎖が欠如するラクダ由来の完全に機能的な抗体に基づく。これらの重鎖抗体は、1つの可変ドメイン (VHH) および2つの定常ドメイン (CH2およびCH3) を含む。VHHは、商標 : NANOBODIESとして市販される。

【0201】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の標的部分は、細胞受容体に対する天然リガンドなどの、細胞受容体への特異的結合が可能なタンパク質系物質である。様々な実施形態において、細胞受容体は、非限定的にT細胞、細胞障害性Tリンパ球、Tヘルパー細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、ナチュラルキラーT (NKT) 細胞、抗腫瘍マクロファージ (例えば、M1マクロファージ)、B細胞、樹状細胞、またはそれらのサブセットを含む、1つまたは複数の免疫細胞上で見出される。幾つかの実施形態において、細胞受容体は、巨核球、血小板、赤血球、肥満細胞、好塩基球、好中球、好酸球、またはそれらのサブセット上で見出される。

【0202】

幾つかの実施形態において、標的部分は、ケモカインなどの天然リガンドである。本発明のキメラタンパク質中に含まれ得る例示的なケモカインとしては、CCL1、CCL2、CCL4、CCL5、CCL6、CCL7、CCL8、CCL9、CCL10、CCL11、CCL12、CCL13、CCL14、CCL15、CCL16、CCL17、CCL18、CCL19、CCL20、CCL21、CCL22、CCL23、CCL24、CCL25、CCL26、CCL27、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL4、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL14、CXCL15、CXCL16、CXCL17、XCL1、XCL2、CX3CL1、HCC-4、およびLDGF-PBPが挙げられるが、これらに限定されない。例示的实施形態において、標的部分は、樹状細胞受容体XCR1を認識しそれに結合するケモカインである、XCL1であり得る。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR8を認識しそれに結合するケモカインである、CCL1である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR2またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL2である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1、CCR5、またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL3である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1、CCR5、またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL4である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1またはCCR3またはCCR4またはCCR5を認識しそれに結合するケモカインである、CCL5である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1を認識しそれに結合するケモカインである、CCL6である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR2またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL7である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1またはCCR2またはCCR2BまたはCCR5またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL8である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1を認識しそれに結合するケモカインである、CCL9である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1を認識しそれに結合するケモカインである、CCL10である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR2またはCCR3またはCCR5またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL11

である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR2またはCCR3またはCCR5またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL13である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1またはCCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL14である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1またはCCR3を認識しそれに結合するケモカインである、CCL15である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1、CCR2、CCR5、またはCCR8を認識しそれに結合するケモカインである、CCL16である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR4を認識しそれに結合するケモカインである、CCL17である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR7を認識しそれに結合するケモカインである、CCL19である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR6を認識しそれに結合するケモカインである、CCL20である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR7を認識しそれに結合するケモカインである、CCL21である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR4を認識しそれに結合するケモカインである、CCL22である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR1を認識しそれに結合するケモカインである、CCL23である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR3を認識しそれに結合するケモカインである、CCL24である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR9を認識しそれに結合するケモカインである、CCL25である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR3を認識しそれに結合するケモカインである、CCL26である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR10を認識しそれに結合するケモカインである、CCL27である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CCR3またはCCR10を認識しそれに結合するケモカインである、CCL28である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR1またはCXCR2を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL1である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR2を認識しそれに結合するケモカインであるCXCL2である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR2を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL3である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR3Bを認識しそれに結合するケモカインである、CXCL4である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR2を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL5である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR1またはCXCR2を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL6である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR1またはCXCR2を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL8である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR3を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL9である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR3を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL10である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR3またはCXCR7を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL11である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR4またはCXCR7を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL12である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR5を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL13である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR6を認識しそれに結合するケモカインである、CXCL16である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CXCR2を認識しそれに結合するケモカインである、LDGF-PBPである。別の例示的实施形態において、標的部分は、XCR1を認識しそれに結合するケモカインである、XCL2である。別の例示的实施形態において、標的部分は、CX3CR1を認識しそれに結合するケモカインである、CX3CL1である。

【0203】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、様々な組み合わせで標的部分を含む。例示的实施形態において、本発明のキメラタンパク質は、2つの標的部分を含み得、両方の標的部分は抗体またはその誘導体である。別の例示的实施形態において、本発明のキメラタンパク質は、2つの標的部分を含み得、両方の標的部分は、細胞受容体に対す

10

20

30

40

50

る天然リガンドである。さらなる例示的实施形態において、本発明のキメラタンパク質は、2つの標的部分を含み得、標的部分の一方は、抗体またはその誘導体であり、他方の標的部分は、細胞受容体に対する天然リガンドである。

【0204】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の認識ドメインは、該当する標的（例えば、抗原、受容体）を機能的にモジュレートし（非限定的に、部分的または完全に中和する）、例えば抗原が有する生物学的効果を実質的に阻害、低減、または中和する。例えば様々な認識ドメインが、例えば、腫瘍を担持する患者の、免疫系を能動的に抑制している、または抑制する能力を有する、1つまたは複数の腫瘍抗原を対象とし得る。例えば、幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、免疫阻害シグナル（例えば、チェックポイント阻害剤）、例えばTIM-3、BTLA、PD-1、CTLA-4、B7-H4、GITR、ガレクチン-9、HVEM、PD-L1、PD-L2、B7-H3、CD244、CD160、TIGIT、SIRP α 、ICOS、CD172a、およびTMIGD2の1つまたは複数の機能的にモジュレートする。例えば、幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、免疫阻害シグナルの伝達、非限定的例としてPD-L1もしくはPD-L2とのPD-1の結合ならびに／またはAP2M1、CD80、CD86、SHP-2、およびPPP2R5Aの1つもしくは複数とのCTLA-4の結合、を破壊、遮断、低減、および／または阻害するように操作される。

10

【0205】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の認識ドメインは、該当する標的（例えば、抗原、受容体）を結合するが、それを機能的にモジュレートせず、例えば認識ドメインは、結合抗体である、またはそれに類似している。例えば、様々な実施形態において、認識ドメインは、抗原または受容体を単に標的とするが、抗原または受容体有する生物学的効果を実質的に阻害、低減、または機能的にモジュレートしない。例えば、先に記載されたより小さな抗体フォーマットの幾つか（例えば、例として完全な抗体、に比較して）は、接近するのが困難なエピトープを標的とする能力を有し、より広範囲の特異的結合場所を提供する。様々な実施形態において、認識ドメインは、その生物活性にとって重要な抗原または受容体部位（例えば、抗原活性部位）から物理的に離れたエピトープに結合する。

20

【0206】

そのような非中和の結合は、本明細書に記載されるもののいずれかなどのエフェクター抗原を介して活性免疫細胞を必要な部位に直接的または間接的に動員するために本発明のキメラタンパク質が用いられる方法を含む、本発明の様々な実施形態に用途を見出す。例えば、様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、腫瘍を低減または排除する方法において、CD8を介して細胞障害性T細胞を腫瘍細胞に直接的または間接的に動員するために用いられ得る（例えば、キメラタンパク質は、抗CD8抗原認識ドメインと、腫瘍抗原に対する認識ドメインとを含み得る）。そのような実施形態において、CD8を発現する細胞障害性T細胞を直接的または間接的に動員するが、CD8活性を機能的にモジュレートしないことが、望ましい。反対に、これらの実施形態において、CD8シグナル伝達は、腫瘍を低減するまたは排除する効果の重要な部分である。さらなる例として、腫瘍を低減するまたは排除する様々な方法において、本発明のキメラタンパク質は、CLEC9Aを介して樹状細胞（DC）を直接的または間接的に動員するために用いられ得る（例えば、キメラタンパク質は、抗CLEC9A認識ドメインと、腫瘍抗原に対する認識ドメインとを含み得る）。そのような実施形態において、CLEC9Aを発現するDCを直接的または間接的に動員するが、CLEC9A活性を機能的にモジュレートしないことが、望ましい。反対に、これらの実施形態において、CLEC9Aシグナル伝達は、腫瘍を低減するまたは排除する効果の重要な部分である。

30

40

【0207】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の認識ドメインは、例えば樹状細胞上の、XCR1に結合する。例えば、認識ドメインは、幾つかの実施形態において、XC

50

L1 または非中和抗 XCR1 物質の全てまたは一部を含む。

【0208】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の認識ドメインは、免疫調整抗原（例えば、免疫刺激性または免疫阻害性）に結合する。様々な実施形態において、免疫調整抗原は、4-1BB、OX-40、HVEM、GITR、CD27、CD28、CD30、CD40、ICOSリガンド；OX-40リガンド、LIGHT（CD258）、GITRリガンド、CD70、B7-1、B7-2、CD30リガンド、CD40リガンド、ICOS、ICOSリガンド、CD137リガンドおよびTL1Aの1つまたは複数である。様々な実施形態において、そのような免疫刺激性抗原は、腫瘍細胞上で発現される。様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の認識ドメインは、そのような免疫刺激性抗原を結合するがそれらを機能的にモジュレートせず、それゆえそれらの潜在的な腫瘍を低減するまたは排除する能力の減少または喪失なしに、これらの物質を発現する細胞の動員を可能にする。

10

【0209】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質の認識ドメインは、中和活性を有する2つの認識ドメインを含むか、または非中和（例えば、結合）活性を有する2つの認識ドメインを含むか、または中和活性を有する1つの認識ドメインと非中和（例えば、結合）活性を有する1つの認識ドメインを含む、キメラタンパク質の状況下にあり得る。

【0210】

さらなるシグナル伝達物質

20

一態様において、本発明は、本明細書に記載される修飾IFN β に加えて、1種または複数のシグナル伝達物質（例えば、免疫調整物質）を含むキメラタンパク質を提供する。例示的实施形態において、キメラタンパク質は、本明細書に記載される修飾IFN β に加えて、2、3、4、5、6、7、8、9、10のまたはより多くのシグナル伝達物質を含み得る。様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、その受容体の1つまたは複数に対して低い親和性または活性を有するように修飾され、このことが活性（作動性または拮抗性を含む）の減弱を可能にしかつ／またはキメラタンパク質の非特異的シグナル伝達もしくは望まない封鎖を予防する。

【0211】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、野生型形態では拮抗性であり、その拮抗活性を減弱する1つまたは複数の突然変異を担持する。様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、1つまたは複数の突然変異により拮抗性であり、例えば作動性シグナル伝達物質が拮抗性シグナル伝達物質に変換され、そのような変換されたシグナル伝達物質は、場合により、その拮抗活性を減弱する1つまたは複数の突然変異も担持する（例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2015/007520に記載される通り）。

30

【0212】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、サイトカイン、成長因子、およびホルモンの修飾型から選択される。そのようなサイトカイン、成長因子、およびホルモンの例示としては、リンホカイン、モノカイン、伝統的なポリペプチドホルモン、例えばヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、およびウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インスリン；プロインスリン；レラキシン；プロレラキシン；糖タンパク質ホルモン、例えば濾胞刺激ホルモン（FSH）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、および黄体形成ホルモン（LH）；肝臓成長因子；線維芽成長因子；プロラクチン；胎盤ラクトゲン；腫瘍壊死因子- α および腫瘍壊死因子- β ；ミューラー阻害物質；マウスゴナドトロピン関連ペプチド；インヒビン；アクチビン；血管内皮成長因子；インテグリン；トロンボポエチン（TPO）；NGF- α などの神経成長因子；血小板増殖因子；TGF- α およびTGF- β などのトランスフォーミング成長因子（TGF）；インスリン様成長因子-IおよびII；骨誘発因子；インターフェロン、例えばインターフェロン- α 、インターフェロン- β およびインターフェロン- γ （およびインターフェロンI

40

50

型、II型、およびIII型)など;コロニー刺激因子(CSF)、例えばマクロファージ-CSF(M-CSF);顆粒球-マクロファージ-CSF(GM-CSF);顆粒球-CSF(G-CSF);インターロイキン(IL)、例えばIL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、およびIL-18など;腫瘍壊死因子、例えばTNF α またはTNF β ;ならびに他のポリペプチド因子、例えばLIFおよびkitリガンド(KL)が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で用いられるサイトカイン、成長因子、およびホルモンとしては、天然供給源から得られる、または組換え細菌、真核細胞もしくは哺乳動物細胞培養系から産生されるタンパク質、および天然配列のサイトカインの生物学的活性均等物が挙げられる。

10

【0213】

幾つかの実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は非限定的に、TGF- α およびTGF- β などのトランスフォーミング成長因子(TGF)、上皮成長因子(EGF)、インスリン様成長因子-IおよびIIなどのインスリン様成長因子、線維芽細胞増殖因子(FGF)、ヘレグリン、血小板由来因子(PDGF)、血管内皮成長因子(VEGF)から選択される成長因子の修飾型である。

【0214】

一実施形態において、成長因子は、線維芽細胞増殖因子(FGF)の修飾型である。例示的なFGFとしては、FGF1、FGF2、FGF3、FGF4、FGF5、FGF6、FGF7、FGF8、FGF9、FGF10、FGF11、FGF12、FGF13、FGF14、ネズミFGF15、FGF16、FGF17、FGF18、FGF19、FGF20、FGF21、FGF22、およびFGF23が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0215】

一実施形態において、成長因子は、血管内皮成長因子(VEGF)の修飾型である。例示的なVEGFとしては、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、およびPGF、ならびにVEGF121、VEGF121b、VEGF145、VEGF165、VEGF165b、VEGF189、およびVEGF206などのVEGF-Aの様々なアイソフォームを含むそれらのアイソフォームが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0216】

一実施形態において、成長因子は、トランスフォーミング成長因子(TGF)の修飾型である。例示的なTGFとしては、TGF- α およびTGF- β 、ならびにTGF β 1、TGF β 2およびTGF β 3を含むTGF- β の様々なサブタイプを含むそれらのサブタイプが挙げられるが、これらに限定されない。

【0217】

幾つかの実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、非限定的にヒト絨毛膜ゴナドトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、アンドロゲン、エストロゲン、甲状腺刺激ホルモン、卵胞刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、プロラクチン、成長ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン、抗利尿ホルモン、オキシトシン、サイロトロピン放出ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン、コルチコトロピン放出ホルモン、ソマトスタチン、ドーパミン、メラトニン、チロキシン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン、グルココルチコイド、ミネラルコルチコイド、アドレナリン、ノルアドレナリン、プロゲステロン、インスリン、グルカゴン、アミリン、カルシトリオール、カルシフェロール、心房性ナトリウム利尿性ペプチド、ガストリン、セクレチン、コレシストキニン、神経ペプチドY、グレリン、PYY3-36、インスリン様成長因子(IGF)、レプチン、トロンボポエチン、エリスロポエチン(EPO)、およびアンギオテンシノーゲンから選択されるホルモンの修飾型である。

40

【0218】

幾つかの実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、免疫調整剤、例えばインターロイキン、インターフェロン、および腫瘍壊死因子の1つまたは複数である。

50

【0219】

幾つかの実施形態において、シグナル伝達物質は、例えば IL-1; IL-2; IL-3; IL-4; IL-5; IL-6; IL-7; IL-8; IL-9; IL-10; IL-11; IL-12; IL-13; IL-14; IL-15; IL-16; IL-17; IL-18; IL-19; IL-20; IL-21; IL-22; IL-23; IL-24; IL-25; IL-26; IL-27; IL-28; IL-29; IL-30; IL-31; IL-32; IL-33; IL-35; IL-36 またはその断片、バリエーション、類似体、もしくはファミリーメンバーを含む、インターロイキンである。インターロイキンは、リンパ球、単球、およびマクロファージにより合成される多機能サイトカインの一群である。公知の機能としては、免疫細胞（例えば、Tヘルパー細胞、B細胞、好酸球およびリンパ球）の増殖刺激、好中球およびTリンパ球のケモタクシス、ならびに／またはインターフェロンの阻害が挙げられる。インターロイキン活性は、当該技術分野で公知のアッセイを利用して決定され得る：Matthewsらの *Lymphokines and Interferons: A Practical Approach*, Clemens et al., eds, IRL Press, Washington, D. C. 1987, pp. 221-225; および Orencole & Dinarello (1989) *Cytokine* 1, 14-20。

10

【0220】

幾つかの実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、インターフェロン I、II、および III 型などのインターフェロンの修飾型である。例示的なインターフェロンとしては、例えばインターフェロン-β、インターフェロン-γ、インターフェロン-κ、インターフェロン-ε、インターフェロン-τ、ならびにインターフェロン-ω が挙げられる。

20

【0221】

幾つかの実施形態において、シグナル伝達物質は、非限定的に TNFα、TNFβ、LT-β、CD40L、CD27L、CD30L、FASL、4-1BBL、OX40L、および TRAIL を含む、腫瘍壊死因子 (TNF) または TNF ファミリー中のタンパク質の修飾型である。

【0222】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、1つまたは複数の突然変異を有するシグナル伝達物質の修飾（例えば、突然変異）形態である。様々な実施形態において、突然変異は、修飾シグナル伝達物質に、シグナル伝達物質の非修飾または非突然変異形態、即ち野生型形態に対比して、低減された結合親和性、低減された内因活性、および低減された特異的生物活性の1つまたは複数などの減弱された活性の1つまたは複数を持たせることができる（例えば、同じシグナル伝達物質を野生型形態対修飾された（例えば、突然変異の）形態と比較して）。幾つかの実施形態において、結合または親和性を減弱または低減する突然変異は、結合または活性を実質的に減弱または除去するそのような突然変異を含む。幾つかの実施形態において、結合または親和性を減弱または低減する突然変異は、結合または活性を実質的に低減または除去するそのような突然変異と異なる。結論として、様々な実施形態において、突然変異は、シグナル伝達物質をより安全にする、例えばシグナル伝達物質に、非突然変異形態の、即ち野生型の、シグナル伝達物質に対比して低減された全身毒性、低減された副作用、および低減されたオフターゲット効果を持たせることができる（例えば、同じシグナル伝達物質を野生型形態対修飾された（例えば、突然変異の）形態と比較して）。

30

40

【0223】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、その受容体の1つまたは複数に対するその結合親和性または活性を低減する1つまたは複数の突然変異を有するように修飾される。幾つかの実施形態において、シグナル伝達物質は、受容体に対する結合親和性または活性を実質的に低減または除去する1つまたは複数の突然変異を有するように修飾される。幾つかの実施形態において、野生型シグナル伝達物質により提供される活性は、

50

受容体で作動性である（例えば、治療部位で細胞効果の活性化）。例えば、野生型シグナル伝達物質は、その受容体を活性化させ得る。そのような実施形態において、突然変異は、受容体で低減または除去された活性化活性を有するように修飾されたシグナル伝達物質をもたらす。例えば、突然変異は、低減された活性化シグナルを標的細胞に送達するように修飾されたシグナル伝達物質をもたらし得るか、または活性化シグナルが、除去され得る。幾つかの実施形態において、野生型シグナル伝達物質により提供される活性は、受容体で拮抗性である（例えば、治療部位での細胞効果の遮断または減衰）。例えば、野生型シグナル伝達物質は、受容体を拮抗または阻害し得る。これらの実施形態において、突然変異は、受容体で低減または除去された拮抗活性を有するように修飾されたシグナル伝達物質をもたらす。例えば、突然変異は、低減された阻害性シグナルを標的細胞に送達するように修飾されたシグナル伝達物質をもたらし得るか、または阻害性シグナルが、除去され得る。様々な実施形態において、シグナル伝達物質は、1つまたは複数の突然変異により拮抗性であり、例えば作動性シグナル伝達物質が、拮抗性シグナル伝達物質に変換され（例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO 2015/007520に記載される通り）、そのような変換されたシグナル伝達物質は、場合により、その受容体の1つもしくは複数に対するその結合親和性もしくは活性を低減する、またはその受容体の1つもしくは複数に対する結合親和性もしくは活性を実質的に低減もしくは除去する、1つまたは複数の突然変異も担持する。

10

【0224】

幾つかの実施形態において、受容体で低減された親和性または活性は、標的部分の1つまたは複数の付着により回復可能である。他の実施形態において、受容体で低減された親和性または活性は、標的部分の1つまたは複数の活性により実質的に回復可能でない。

20

【0225】

様々な実施形態において、標的部分（複数可）が実質的な活性化に必要とされる消失した／不十分な結合（例えば、限定なしにおよび／または結合活性）を補填するため、さらなるシグナル伝達物質は、標的細胞上で活性である。様々な実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、治療活性部位への途中では実質的に不活性であり、特異的に標的にされる細胞型上では実質的に効果を有し、これは望ましくない副作用を大きく低減する。

【0226】

幾つかの実施形態において、さらなるシグナル伝達物質は、1つの受容体（即ち、治療性受容体）に対する結合および親和性を減弱または低減する1つまたは複数の突然変異と、第二の受容体で結合または活性を実質的に低減または除去する1つまたは複数の突然変異とを含み得る。そのような実施形態において、これらの突然変異は、同一のまたは異なる位置にあり得る（即ち、同一の突然変異または複数の突然変異）。幾つかの実施形態において、1つの受容体での結合および／または活性を低減する突然変異（複数可）は、別の受容体で実質的に低減または除去する突然変異（複数可）と異なる。幾つかの実施形態において、1つの受容体での結合および／または活性を低減する突然変異（複数可）は、別の受容体で実質的に低減または除去する突然変異（複数可）と同一である。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、治療性受容体で結合および／または活性を減弱し、それゆえより制御されたオンターゲット治療効果（例えば、相対的な野生型シグナル伝達物質）を可能にする突然変異と、別の受容体で結合および／または活性を実質的に低減または除去し、それゆえ副作用を低減する（例えば、野生型シグナル伝達物質に対比して）突然変異、の両方を有する修飾シグナル伝達物質を有する。

30

40

【0227】

幾つかの実施形態において、結合または活性の実質的な低減または除去は、標的部分で実質的に回復可能でない。幾つかの実施形態において、結合または活性の実質的な低減または除去は、標的部分で回復可能である。様々な実施形態において、第二の受容体で結合または活性を実質的に低減または除去することは、他の受容体により媒介される有害作用も予防し得る。代わりにまたは追加として、別の受容体で結合または活性を実質的に低減または除去することは、治療作用部位から離れた治療性キメラタンパク質の封鎖を低減また

50

は排除するため、治療効果を改善させる。例えば、幾つかの実施形態において、これは、他の受容体での損失を補填する本発明のキメラタンパク質を高用量の必要性をなくす。用量を低減するような能力はさらに、副作用のより低い可能性をもたらす。

【0228】

様々な実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、その受容体の1つまたは複数に対し、シグナル伝達物質に、低減された、実質的に低減された、または除去された親和性、例えば結合（例えば、 K_D ）および／または活性化（例えば、修飾シグナル伝達物質がその受容体のアゴニストであれば、例えば K_A および／または EC_{50} として測定できる）および／または阻害（例えば、修飾シグナル伝達物質がその受容体のアンタゴニストであれば、例えば K_I および／または IC_{50} として測定できる）を持たせる、1つまたは複数の突然変異を含む。様々な実施形態において、シグナル伝達物質の受容体で低減された親和性は、活性（作動または拮抗を含む）の減弱を可能にする。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、野生型シグナル伝達物質に対比して、受容体に対する約1%、または約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約10%～20%、約20%～40%、約50%、約40%～60%、約60%～80%、約80%～100%の親和性を有する。幾つかの実施形態において、結合親和性は、野生型シグナル伝達物質に対比して、少なくとも約2倍低い、約3倍低い、約4倍低い、約5倍低い、約6倍低い、約7倍低い、約8倍低い、約9倍低い、少なくとも約10倍低い、少なくとも約15倍低い、少なくとも約20倍低い、少なくとも約25倍低い、少なくとも約30倍低い、少なくとも約35倍低い、少なくとも約40倍低い、少なくとも約45倍低い、少なくとも約50倍低い、少なくとも約100倍低い、少なくとも約150倍低い、または約10～50倍低い、約50～100倍低い、約100～150倍低い、約150～200倍低い、または200倍よりもさらに低い。

【0229】

1つの受容体で結合を低下させ第二の受容体で結合を実質的に低下または減弱させる突然変異をキメラタンパク質が有する実施形態において、1つの受容体に対する修飾シグナル伝達物質の結合親和性の減弱または低減は、他の受容体に対する親和性の実質的な減弱または除去よりも低い。幾つかの実施形態において、1つの受容体に対する修飾シグナル伝達物質の結合親和性における減弱または低減は、他の受容体に対する親和性の実質的な減弱または除去よりも約1%、または約3%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、または約95%低い。様々な実施形態において、実質的な低減または除去は、減弱または低減よりも大きな、結合親和性および／または活性の低減を指す。

【0230】

様々な実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、シグナル伝達物質の内因性活性を、例えば野生型シグナル伝達物質に対比して、約75%、または約70%、または約60%、または約50%、または約40%、または約30%、または約25%、または約20%、または約10%、または約5%、または約3%、または約1%に低減する1つまたは複数の突然変異を含む。

【0231】

様々な実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、本明細書に記載されるサイトカイン、成長因子、およびホルモンの任意の1つの受容体に対する低減された親和性および／または活性をシグナル伝達物質にもたせる1つまたは複数の突然変異を含む。

【0232】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、その受容体（複数可）に対する標的部分（複数可）の結合親和性よりも低い、その受容体に対する低減された親和性をシグナル伝達物質に持たせる、1つまたは複数の突然変異を含む。幾つかの実施形態

において、この結合親和性の差異は、同じ細胞上でシグナル伝達物質／受容体と標的部分／受容体の間にある。幾つかの実施形態において、この結合親和性の差異は、シグナル伝達物質が、例えば突然変異されたシグナル伝達物質に、局在化されたオンターゲット効果を持つこと、および野生型シグナル伝達物質で観察される副作用の根底にあるオフターゲット効果を最小限にすることを可能にする。幾つかの実施形態において、この結合親和性は、少なくとも約2倍、または少なくとも約5倍、または少なくとも約10倍、または少なくとも約15倍低い、または少なくとも約25倍、または少なくとも約50倍低い、または少なくとも約100倍、または少なくとも約150倍である。

【0233】

受容体結合活性は、当該技術分野で公知の方法を利用して測定され得る。例えば、親和性および／または結合活性は、結合データのスキッチャードプロット分析とコンピュータフィッティング（例えば、Scatchard, 1949）により、またはBrechtら（1993）により記載される通りフロースルー条件下での反射干渉分光法により、評定され得る（それらの全ての全体的内容は、参照により本明細書に組み入れられる）。

【0234】

本明細書に記載される野生型シグナル伝達物質のアミノ酸配列は、当該技術分野で周知である。したがって、様々な実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、本明細書に記載されるシグナル伝達物質の公知の野生型アミノ酸配列と少なくとも約60%、少なくとも約61%、少なくとも約62%、少なくとも約63%、少なくとも約64%、少なくとも約65%、少なくとも約66%、少なくとも約67%、少なくとも約68%、少なくとも約69%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約76%、少なくとも約77%、少なくとも約78%、少なくとも約79%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性（例えば、約60%、または約61%、または約62%、または約63%、または約64%、または約65%、または約66%、または約67%、または約68%、または約69%、または約70%、または約71%、または約72%、または約73%、または約74%、または約75%、または約76%、または約77%、または約78%、または約79%、または約80%、または約81%、または約82%、または約83%、または約84%、または約85%、または約86%、または約87%、または約88%、または約89%、または約90%、または約91%、または約92%、または約93%、または約94%、または約95%、または約96%、または約97%、または約98%、または約99%の配列同一性）を有するアミノ酸配列を含む。

【0235】

様々な実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、本明細書に開示されるアミノ酸配列のいずれかと少なくとも約60%、少なくとも約61%、少なくとも約62%、少なくとも約63%、少なくとも約64%、少なくとも約65%、少なくとも約66%、少なくとも約67%、少なくとも約68%、少なくとも約69%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約76%、少なくとも約77%、少なくとも約78%、少なくとも約79%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性（例えば、約60%、または約61%、または約

62%、または約63%、または約64%、または約65%、または約66%、または約67%、または約68%、または約69%、または約70%、または約71%、または約72%、または約73%、または約74%、または約75%、または約76%、または約77%、または約78%、または約79%、または約80%、または約81%、または約82%、または約83%、または約84%、または約85%、または約86%、または約87%、または約88%、または約89%、または約90%、または約91%、または約92%、または約93%、または約94%、または約95%、または約96%、または約97%、または約98%、または約99%の配列同一性)を有するアミノ酸配列を含む。

【0236】

様々な実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、1つまたは複数のアミノ酸突然変異を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、1つまたは複数のアミノ酸突然変異は、独立して、置換、挿入、欠失、およびトランケーションから選択され得る。

【0237】

幾つかの実施形態において、アミノ酸突然変異は、アミノ酸置換であり、本明細書に記載される保存的および／または非保存的置換を包含し得る。

【0238】

本明細書に記載される通り、さらなる修飾シグナル伝達物質は、1つまたは複数の受容体で親和性および／または活性に影響を及ぼす突然変異を担持する。様々な実施形態において、治療性受容体、例えばそれにより所望の治療効果(例えば、作動または拮抗)が媒介される受容体で、親和性および／または活性が低減される。様々な実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、受容体、例えばそれにより所望の治療効果が媒介されない(例えば、結合の無差別性の結果として)受容体で親和性および／または活性を実質的に低減または除去する突然変異を担持する。任意の修飾シグナル伝達物質、例えば本明細書に記載されるサイトカイン、成長因子、およびホルモンの1つ、の受容体は、当該技術分野で公知である。

【0239】

受容体で低減された親和性および／または活性(例えば、作動性)を提供する例示的な突然変異は、それぞれの内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2013/107791(例えば、インターフェロンに関する)、WO2015/007542(例えば、インターロイキンに関する)、およびWO2015/007903(例えば、TNFに関する)に見出される。治療性受容体で低減された親和性および／または活性(例えば、拮抗性)を提供する例示的な突然変異は、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2015/007520に見出される。

【0240】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、I型サイトカイン受容体、II型サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、腫瘍壊死因子受容体(TNFR)スーパーファミリーにおける受容体、TGF- β 受容体、免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーにおける受容体、および／またはチロシンキナーゼスーパーファミリーにおける受容体に対する低減された親和性および／または活性をシグナル伝達物質に持たせる1つまたは複数の突然変異を含む。

【0241】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質に対する受容体は、I型サイトカイン受容体である。I型サイトカイン受容体は、当該技術分野で公知であり、IL2(ベータサブユニット)、IL3、IL4、IL5、IL6、IL7、IL9、IL11、IL12、GM-CSF、G-CSF、LIF、CNTFに対する受容体、ならびにトロンボポエチン(TPO)、プロラクチン、および成長ホルモンに対する受容体も挙げられるが、これらに限定されない。例示的なI型サイトカイン受容体としては、GM-CSF受容体、G-CSF受容体、LIF受容体、CNTF受容体、TPO受容体、およびI型IL受容体が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0242】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質に対する受容体は、II型サイトカイン受容体である。II型サイトカイン受容体は、異種性サブユニット (heterologous subunits) で構成される多量体受容体であり、主にインターフェロンに対する受容体である。この受容体ファミリーとしては、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 、およびインターフェロン- γ 、IL10、IL22、および組織因子に対する受容体が挙げられるが、これらに限定されない。例示的なII型サイトカイン受容体としては、IFN α 受容体 (例えば、IFNAR1およびIFNAR2)、IFN β 受容体、IFN γ 受容体 (例えば、IFNGR1およびIFNGR2)、およびII型IL受容体が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0243】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質に対する受容体は、Gタンパク質共役受容体である。ケモカイン受容体は、7つの膜貫通構造を有し、シグナル伝達のためにGタンパク質に共役された、Gタンパク質共役受容体である。ケモカイン受容体としては、CCケモカイン受容体、CXCケモカイン受容体、CX3Cケモカイン受容体、およびXCケモカイン受容体 (XCR1) が挙げられるが、これらに限定されない。例示的なケモカイン受容体としては、CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR3b、CXCR4、CXCR5、CSCR6、CXCR7、XCR1、およびCX3CR1が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0244】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質に対する受容体は、TNFRファミリーメンバーである。腫瘍壊死因子 (TNFR) ファミリーメンバーは、伸長した分子を生成するCXXCXXCのコアモチーフを取り囲む3つのジスルフィド結合で形成されたステインリッチドメイン (SRD) を共有する。例示的な腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバーとしては、CD120a (TNFRSF1A)、CD120b (TNFRSF1B)、リンホカインベータ受容体 (LTBR、TNFRSF3)、CD134 (TNFRSF4)、CD40 (CD40、TNFRSF5)、FAS (FAS、TNFRSF6)、TNFRSF6B (TNFRSF6B)、CD27 (CD27、TNFRSF7)、CD30 (TNFRSF8)、CD137 (TNFRSF9)、TNFRSF10A (TNFRSF10A)、TNFRSF10B、(TNFRSF10B)、TNFRSF10C (TNFRSF10C)、TNFRSF10D (TNFRSF10D)、RANK (TNFRSF11A)、オステオプロテゲリン (TNFRSF11B)、TNFRSF12A (TNFRSF12A)、TNFRSF13B (TNFRSF13B)、TNFRSF13C (TNFRSF13C)、TNFRSF14 (TNFRSF14)、神経成長因子受容体 (NGFR、TNFRSF16)、TNFRSF17 (TNFRSF17)、TNFRSF18 (TNFRSF18)、TNFRSF19 (TNFRSF19)、TNFRSF21 (TNFRSF21)、およびTNFRSF25 (TNFRSF25) が挙げられる。

30

【0245】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質に対する受容体は、TGF- β 受容体である。TGF- β 受容体は、シングルパスセリン／トレオニンキナーゼ受容体である。TGF- β 受容体としては、TGFBR1、TGFBR2、およびTGFBR3が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0246】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質に対する受容体は、Igスーパーファミリー受容体である。免疫グロブリン (Ig) スーパーファミリーにおける受容体は、免疫グロブリンと構造的相同性を共有する。Igスーパーファミリーにおける受容体としては、インターロイキン-1受容体、CSF-1R、PDGFR (例えば、PDGFRAおよびPDGFRB)、およびSCFRが挙げられるが、これらに限定されない。

50

【0247】

様々な実施形態において、さらなるシグナル伝達物質に対する受容体は、チロシンキナーゼスーパーファミリー受容体である。チロシンキナーゼスーパーファミリーにおける受容体は、当該技術分野で周知である。約58の公知の受容体チロシンキナーゼ（RTK）が存在し、20のサブファミリーに群分けされる。チロシンキナーゼスーパーファミリーにおける受容体としては、FGF受容体、ならびにFGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、およびFGFR5などのそれらの様々なアイソフォームが挙げられるが、これらに限定されない。

【0248】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、別のインターフェロンβである。そのような実施形態において、修飾IFNβ剤は、IFNα/β受容体（IFNAR）、即ちIFNAR1および／またはIFNAR2鎖に対する低減された親和性および／または活性も有する。幾つかの実施形態において、修飾IFNβ剤は、IFNα/β受容体（IFNAR）、即ちIFNAR1および／またはIFNAR2鎖に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0249】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、インターフェロンγである。そのような実施形態において、修飾IFNγ剤は、IFNγ受容体（IFNGR）、即ちIFNGR1およびIFNGR2鎖に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾IFNγ剤は、IFNγ受容体（IFNGR）、即ちIFNGR1および／またはIFNGR2鎖に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0250】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、血管内皮成長因子（VEGF）である。VEGFは、生理学的だけでなく病理学的な血管新生において主要な役割を担い、血管透過性を調節し、かつVEGF受容体を発現する細胞上で成長因子として作用し得る強力な成長因子である。さらなる機能としては、特に、マクロファージ系列および内皮細胞における細胞遊走の刺激が挙げられる。成長因子のVEGFファミリーの複数のメンバーに加え、少なくとも3種の受容体（VEGFR-1、VEGFR-2、およびVEGFR-3）が、存在する。VEGFファミリーのメンバーは、1つよりも多くのVEGFRタイプを結合し活性化することができる。例えば、VEGF-Aは、VEGFR-1および-2を結合し、一方でVEGF-Cは、VEGFR-2および-3を結合し得る。VEGFR-1および-2の活性化は、血管新生を調節し、一方でVEGFR-3活性化は、リンパ管新生に関連する。主要な血管新生促進シグナルは、VEGFR-2の活性化から発生する。VEGFR-1活性化は、血管新生における負の役割におそらく関連することが報告されている。VEGFR-1シグナル伝達が、骨髄由来VEGFR-1陽性細胞（骨における前転移ニッチの形成に寄与する）を介するインビボでの腫瘍の進行に重要であることも報告されている。VEGF-Aに向けた／VEGF-Aを中和する治療抗体に基づく複数の治療が、主に血管新生に依存する様々なヒト腫瘍の処置における使用のために、開発された。しかしこれらは、副作用を生じないことはない。このことは、これらの抗体が一般的な、非細胞／組織特異的VEGF／VEGFR相互作用阻害剤として動作することを思えば、驚くことではなかろう。こうして、VEGF（例えば、VEGF-A）／VEGFR-2阻害を特異的な標的細胞（例えば、腫瘍血管構造の内皮細胞）に制限することが望ましいであろう。

【0251】

幾つかの実施形態において、VEGFは、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、またはVEGF-EおよびVEGF121、VEGF121b、VEGF145、VEGF165、VEGF165b、VEGF189、およびVEGF206などのVEGF-Aの様々なアイソフォームを含むそれらのアイソフォームである。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-1（Flt-1）および／

10

20

30

40

50

または VEGFR-2 (KDR/Flk-1) に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-1 (Flt-1) および／または VEGFR-2 (KDR/Flk-1) に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-2 (KDR/Flt-1) に対する低減された親和性および／もしくは活性、ならびに／または VEGFR-1 (Flt-1) に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。そのような実施形態は、例えば、創傷治癒法または虚血関連疾患（理論に結びつけるのを望むものではないが、内皮細胞の機能および血管新生に及ぼす VEGFR-2 の影響により媒介される）の処置において、用途を見出す。様々な実施形態において、癌および炎症促進活性に結びつく、VEGFR-1 (Flt-1) への結合が、回避される。様々な実施形態において、VEGFR-1 (Flt-1) は、デコイ受容体として作用し、それゆえこの受容体での親和性を実質的に低減または除去し、治療薬の封鎖を回避する。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-1 (Flt-1) に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性、ならびに／または VEGFR-2 (KDR/Flt-1) に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。幾つかの実施形態において、VEGF は、VEGF-C または VEGF-D である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-3 に対する低減された親和性および／または活性を有する。あるいは修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-3 に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0252】

血管新生促進療法もまた、様々な疾患（例えば、虚血性心疾患、出血など）において重要であり、VEGF に基づく治療を包含する。VEGFR-2 の活性化は、血管新生促進性である（内皮細胞上で作用する）。VEGFR-1 の活性化は、炎症細胞（例えば、マクロファージを含む）の遊走の刺激を誘起し、炎症関連の高度血管透過性（hypervascular permeability）を導くことができる。VEGFR-1 の活性化は、骨髄関連腫瘍ニッチ形成を促進することもできる。したがって、VEGFR-2 に選択性のある VEGF に基づく治療が、この場合望ましいであろう。加えて、例えば内皮細胞への、細胞特異性標的化が、望ましいであろう。

【0253】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-2 に対する低減された親和性および／もしくは活性（例えば、拮抗性）を有し、かつ／または VEGFR-1 に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。そのような構築物は、腫瘍内皮細胞マーカー（例えば、PSMA など）に結合する標的部分を介して腫瘍血管構造の内皮細胞に標的されると、そのようなマーカー陽性の細胞では VEGFR-2 活性化を特異的に阻害するが、標的細胞への途中および細胞上（活性化が除去される場合）では VEGFR-1 を活性化せず、したがって例えば、炎症反応の誘発を排除する。これは、VEGF-A 中和療法に比較して、多くの腫瘍タイプに対してより選択的でかつ安全な血管新生抑制療法を提供するであろう。

【0254】

幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、VEGFR-2 に対する低減された親和性および／もしくは活性（例えば、作動性）を有し、かつ／または VEGFR-1 に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。そのような構築物は、血管内皮細胞への標的化を介して、幾つかの実施形態において、VEGFR-1 関連の炎症反応誘発を引き起こさずに血管新生を促進する。つまりそのような構築物は、VEGFR-2 および VEGFR-1 の全身活性化により誘発される副作用のリスクが実質的に低減された標的化された血管新生促進作用を有するであろう。

【0255】

例示的实施形態において、修飾シグナル伝達物質は、VEGF165 であり、それはアミノ酸配列：

VEGF165 (野生型)

APMAEGGGQNHHEVVKFMDVYQRSYCHPIETLVDIFQEYP
DEIEYIFKPSVPLMRCGGCCNDEGLECVPTTEESNITMQI
MRIKPHQGQHIGEMSFLQHNKCECRPKKDRARQENPCGPC
SERRKHLFVQDPQTCKCSCKNTDSRCKARQLELNERTCRC
DKPRR (SEQ ID NO: 180)

を有する。

【0256】

別の例示的实施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、アミノ酸配列

VEGF165b (野生型)

APMAEGGGQNHHEVVKFMDVYQRSYCHPIETLVDIFQEYP
DEIEYIFKPSVPLMRCGGCCNDEGLECVPTTEESNITMQI
MRIKPHQGQHIGEMSFLQHNKCECRPKKDRARQENPCGPC
SERRKHLFVQDPQTCKCSCKNTDSRCKARQLELNERTCRS
LTRKD (SEQ ID NO: 181)

を有するVEGF165bである。

【0257】

これらの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、アミノ酸183で突然変異（例えば、183での置換突然変異、例えば183K、183R、または183H）を有する。理論に結びつけるのを望むものではないが、そのような突然変異は、低減された受容体結合親和性をもたらし得ると考えられる。例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第9,078,860号を参照されたい。

【0258】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、TNF α である。TNFは、細胞増殖、分化、アポトーシス、腫瘍化、ウイルス複製、自己免疫性、免疫細胞の機能および輸送の調節、炎症、ならびに敗血症性ショックを含む、多くの多様な機能を有する多面発現性サイトカインである。それは、標的細胞上の2つの異なる膜受容体：TNFR1 (p55) およびTNFR2 (p75) に結合する。TNFR1は非常に広い発現パターンを示し、一方でTNFR2は、主にリンパ球、Treg、内皮細胞、特定の神経細胞、ミクログリア、心筋細胞および間葉系幹細胞の特定集団上で発現される。非常に異なる生物学的経路が受容体活性化に応答して活性化されるが、幾つかのオーバーラップも存在する。概して言うと、理論に結びつけるのを望むものではないが、TNFR1シグナル伝達は、アポトーシス（細胞死）の誘導に関連し、TNFR2シグナル伝達は、細胞生存シグナルの活性化（例えば、NF κ B経路の活性化）に関連する。TNFの投与は全身毒性であり、これは主に、TNFR1エンゲージメントによる。しかし、TNFR2の活性化も広範囲の活性に関連し、TNFR1と同様に、TNFに基づく治療を開発する際に、TNF標的化および活性に対する制御が重要であることが、留意されなければならない。

【0259】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、TNFR1および／またはTNFR2に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、TNFR1および／またはTNFR2に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。TNFR1は、ほとんどの組織中で発現され、細胞死シグナル伝達に関与するが、対照的にTNFR2は、細胞生存シグナル伝達に関与する。したがって癌を処置する方法に向けた実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、TNFR1に対する低減された親和性および／もしくは活性、ならびに／またはTNFR2に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。これらの実施形態において、キメラタンパク質は、アポトーシスが望ましい細胞、例えば腫瘍細胞または腫瘍血管構造の内皮細胞に標的され得る。細胞生存を促進する方法に向けた実施形態において、例えば、神経変性障害の処置のための神経形成において、修飾シグナル伝達物質は、TNFR2に対する低減された親和性および／もし

10

20

30

40

50

くは活性、ならびに／またはTNFR1に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。別の言い方では、本発明のキメラタンパク質は、幾つかの実施形態において、死のまたは生存のいずれかのシグナルに有利に働く修飾されたTNF α 剤を含む。

【0260】

幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、TNFR1に対する低減された親和性および／もしくは活性、ならびに／またはTNFR2に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する修飾TNFを有する。そのようなキメラは、幾つかの実施形態において、野生型TNF、および／またはTNFR1に対する親和性および／または活性を低減させる突然変異（複数可）のみを担持するキメラに比較して、より強力なアポトーシス誘導物質である。そのようなキメラは、幾つかの実施形態において、腫瘍細胞死または腫瘍血管構造の内皮細胞死を誘導することに（例えば、癌の処置において）用途を見出す。また、幾つかの実施形態において、これらのキメラは、TNFR2を介するTreg細胞の活性化を回避または低減し、したがって例えば、インビボでTNFR1を介する抗腫瘍活性をさらに支援する。

【0261】

幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、TNFR2に対する低減された親和性および／もしくは活性、ならびに／またはTNFR1に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する修飾TNFを有する。そのようなキメラは、幾つかの実施形態において、非限定的に神経形成の刺激を含む、様々な疾患状況における特定の治療目的であり得る、幾つかの細胞型における細胞生存のより強力な活性化物質である。加えて、そのようなTNFR2に好都合なキメラはまた、自己免疫疾患（例えば、クローン病、糖尿病、MS、大腸炎など、および本明細書に記載される多くの他のもの）の処置に有用である。幾つかの実施形態において、キメラは、自己反応性T細胞へ標的される。幾つかの実施形態において、キメラは、Treg細胞活性化および細胞障害性T細胞の間接的抑制を促進する。

【0262】

幾つかの実施形態において、キメラは、例えばTNFR2の活性化および／またはTNFR1の回避により（例えば、TNFR2に対する低減された親和性および／もしくは活性、ならびに／またはTNFR1に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する修飾TNF）、自己反応性T細胞の死を引き起こす。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの自己反応性T細胞は、例えばNF κ B経路活性／シグナル伝達の改変により、改変されたそれらのアポトーシス／生存シグナルを有する。

【0263】

幾つかの実施形態において、TNFR2に基づくキメラは、とりわけ、様々な自己免疫疾患、心疾患、脱髄および神経変性障害、ならびに感染性疾患を含む、疾患におけるさらなる治療適用を有する。

【0264】

一実施形態において、野生型TFN α は、
TNF α

VRSSSRTPSDKPVAHVVANPQAEGLQWLNRRANALLANG
VELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGGQGCPSSTHVLLTHTI
SRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYL
GGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL (S
EQ ID NO:182)

のアミノ酸配列を有する。

【0265】

そのような実施形態において、修飾TNF α 剤は、低減された受容体結合親和性を有する修飾TNF α を生成する、1つまたは複数のアミノ酸位置29、31、32、84、85、86、87、88、89、145、146および147での突然変異を有する。例えば

、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第7,993,636号を参照されたい。

【0266】

幾つかの実施形態において、修飾ヒトTNF α 部分は、例えば内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO/2015/007903に記載された通り、1つまたは複数のアミノ酸位置R32、N34、Q67、H73、L75、T77、S86、Y87、V91、I97、T105、P106、A109、P113、Y115、E127、N137、D143、およびA145（ヒトTNF配列Genbankアクセション番号BAG70306、バージョンBAG70306.1 GI:197692685に従うナンバリング）で突然変異を有する。幾つかの実施形態において、修飾ヒトTNF α 部分は、R32G、N34G、Q67G、H73G、L75G、L75A、L75S、T77A、S86G、Y87Q、Y87L、Y87A、Y87F、V91G、V91A、I97A、I97Q、I97S、T105G、P106G、A109Y、P113G、Y115G、Y115A、E127G、N137G、D143N、A145GおよびA145Tから選択される置換突然変異を有する。一実施形態において、ヒトTNF α 部分は、Y87Q、Y87L、Y87A、およびY87Fから選択される突然変異を有する。別の実施形態において、ヒトTNF α 部分は、I97A、I97Q、およびI97Sから選択される突然変異を有する。さらなる実施形態において、ヒトTNF α 部分は、Y115AおよびY115Gから選択される突然変異を有する。

10

【0267】

幾つかの実施形態において、修飾TNF α 剤は、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2008/124086に記載された通り、N39Y、S147Y、およびY87Hから選択される1つまたは複数の突然変異を有する。

20

【0268】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、TNF β である。TNF β は、ホモ三量体またはLT β （LT α 1 β 2）とヘテロ三量体を形成し得る。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、TNFR1および／またはTNFR2および／またはヘルペスウイルスエンタリメディエータ（HEVM）および／またはLT β Rに対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0269】

一実施形態において、野生型TNF β は、

TNF β
LPGVGLTPSAAQTARQHPKMHLAHSNLKPA AHLIGDPSKQ
NSLLWRANTDRAFLQDGFSLSNSLLVPTSGIYFVYSQVV
FSGKAYSPKATSSPLYLAHEVQLFSSQYPFHVPLLSQKM
VYPGLQEPWLHSMYHGAAAFQLTQGDQLSTHTDGIPHLVLS
PSTVFFGAFAL (SEQ ID NO:183)

のアミノ酸配列を有する。

30

【0270】

そのような実施形態において、修飾TNF β 剤は、TNFR2への低減された受容体結合親和性を有する修飾TNF β を生成する、1つまたは複数のアミノ酸位置106～113での突然変異を有する。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、アミノ酸位置106～113で1つまたは複数の置換突然変異を有する。例示的实施形態において、置換突然変異は、Q107E、Q107D、S106E、S106D、Q107R、Q107N、Q107E/S106E、Q107E/S106D、Q107D/S106E、およびQ107D/S106Dから選択される。別の実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、位置106～113で約1～約3のアミノ酸の挿入を有する。

40

【0271】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾物質は、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2015/007903に記載された通り一本鎖三量体型であり得るT

50

N Fファミリーメンバー（例えば、T N F－アルファ、T N F－ベータ）である。

【0272】

幾つかの実施形態において、修飾物質は、T N F R 1で低減された親和性および／または活性、即ち拮抗活性（例えば、天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO 2 0 1 5／0 0 7 5 2 0を参照）を有するT N Fファミリーメンバー（例えば、T N F－アルファ、T N F－ベータ）である。これらの実施形態において、修飾物質は、場合によりT N F R 2に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性も有する、T N Fファミリーメンバー（例えば、T N F－アルファ、T N F－ベータ）である。幾つかの実施形態において、修飾物質は、T N F R 2で低減された親和性および／または活性、即ち拮抗活性（例えば、天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO 2 0 1 5／0 0 7 5 2 0を参照）を有するT N Fファミリーメンバー（例えば、T N F－アルファ、T N F－ベータ）である。これらの実施形態において、修飾物質は、場合によりT N F R 1に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性も有する、T N Fファミリーメンバー（例えば、T N F－アルファ、T N F－ベータ）である。そのような実施形態の構築物は、例えば、細胞特異的な様式でT N F応答を減衰させる方法において、用途を見出す。幾つかの実施形態において、拮抗性T N Fファミリーメンバー（例えば、T N F－アルファ、T N F－ベータ）は、WO 2 0 1 5／0 0 7 9 0 3に記載された通り一本鎖三量体型である。

【0273】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、T R A I Lである。幾つかの実施形態において、修飾T R A I L剤は、D R 4（T R A I L－R I）および／またはD R 5（T R A I L－R I I）および／またはD c R 1および／またはD c R 2に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾T R A I L剤は、D R 4（T R A I L－R I）および／またはD R 5（T R A I L－R I I）および／またはD c R 1および／またはD c R 2に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0274】

一実施形態において、野生型T R A I Lは、

T R A I L

M A M M E V Q G G P S L G Q T C V L I V I F T V L L Q S L C V A V T Y V Y F T N
E L K Q M Q D K Y S K S G I A C F L K E D D S Y W D P N D E E S M N S P C W Q V
K W Q L R Q L V R K M I L R T S E E T I S T V Q E K Q Q N I S P L V R E R G P Q
R V A A H I T G T R G R S N T L S S P N S K N E K A L G R K I N S W E S S R S G
H S F L S N L H L R N G E L V I H E K G F Y Y I Y S Q T Y F R F Q E E I K E N T
K N D K Q M V Q Y I Y K Y T S Y P D P I L L M K S A R N S C W S K D A E Y G L Y
S I Y Q G G I F E L K E N D R I F V S V T N E H L I D M D H E A S F F G A F L V
G（SEQ ID NO: 184）

のアミノ酸配列を有する。

【0275】

そのような実施形態において、修飾T R A I L剤は、アミノ酸位置T 1 2 7－R 1 3 2、E 1 4 4－R 1 4 9、E 1 5 5－H 1 6 1、Y 1 8 9－Y 2 0 9、T 2 1 4－I 2 2 0、K 2 2 4－A 2 2 6、W 2 3 1、E 2 3 6－L 2 3 9、E 2 4 9－K 2 5 1、T 2 6 1－H 2 6 4およびH 2 7 0－E 2 7 1（ヒト配列Genbankアクセス番号NP_003801、バージョン10NP_003801.1、GI: 4507593に基づくナンバリング；上記参照）で突然変異を含み得る。

【0276】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、T G F αである。そのような実施形態において、修飾T G F α剤は、上皮成長因子受容体（E G F R）に対する低減され

た親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾 TGF α 剤は、上皮成長因子受容体 (EGFR) に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0277】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、TGF β である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、TGFBR1 および／または TGFBR2 に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、TGFBR1 および／または TGFBR2 に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、理論に結びつけるのを望むものではないが、TGF β 受容体に対するリガンドのリザーバーとして作用し得る、TGFBR3 に対する低減された、または実質的に低減もしくは除去された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、TGF β は、TGFBR2 よりも TGFBR1 を、または TGFBR1 よりも TGFBR2 を優先し得る。同様に、LAP は、理論に結びつけるのを望むものではないが、TGF β 受容体に対するリガンドのリザーバーとして作用し得る。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、TGFBR1 および／もしくは TGFBR2 に対する低減された親和性および／もしくは活性、ならびに／または潜在関連ペプチド (LAP) に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。幾つかの実施形態において、そのようなキメラは、カムラチ・エンゲルマン病、または不適切な TGF β シグナル伝達に関連する他の疾患に用途を見出す。

【0278】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾物質は、TGFBR1、TGFBR2、TGFBR3 の1つまたは複数で、低減された親和性および／または活性、即ち拮抗活性（例えば、天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2015/007520を参照）を有する TGFファミリーメンバー（例えば、TGF α 、TGF β ）である。これらの実施形態において、修飾物質は、場合により TGFBR1、TGFBR2、TGFBR3 の1つまたは複数で実質的に低減または除去された親和性および／または活性も有する、TGFファミリーメンバー（例えば、TGF α 、TGF β ）である。

【0279】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾物質は、TGFBR1 および／または TGFBR2 で、低減された親和性および／または活性、即ち拮抗活性（例えば、天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2015/007520を参照）を有する TGFファミリーメンバー（例えば、TGF α 、TGF β ）である。これらの実施形態において、修飾物質は、場合により TGFBR3 で実質的に低減または除去された親和性および／または活性も有する、TGFファミリーメンバー（例えば、TGF α 、TGF β ）である。

【0280】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、IL-1 である。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-1 α または IL-1 β である。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-1R1 および／または IL-1RAcP に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-1R1 および／または IL-1RAcP に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-1R2 に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-1R2 に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。例えば、幾つかの実施形態において、本発明の修飾 IL-1 剤は、IL-1R2 での相互作用を回避し、それゆえ治療薬のためのデコイおよび／またはシンクとしてのその機能を実質的に低減する。

【0281】

一実施形態において、野生型 I L - 1 β は、

I L - 1 ベータ（成熟形態、野生型）

A P V R S L N C T L R D S Q Q K S L V M S G P Y E L K A L H L Q G Q D M E Q Q V
V F S M S F V Q G E E S N D K I P V A L G L K E K N L Y L S C V L K D D K P T L
Q L E S V D P K N Y P K K K M E K R F V F N K I E I N N K L E F E S A Q F P N W
Y I S T S Q A E N M P V F L G G T K G G Q D I T D F T M Q F V S S （S E Q I D
N O : 1 8 5）

のアミノ酸配列を有する。

【0282】

I L 1 は、炎症促進性サイトカインであり、重要な免疫系調節物質である。それは C D 4 T 細胞反応の強力な活性化因子であり、T h 1 7 細胞の割合、ならびに I F N γ および I L - 4 産生細胞の増大を増加させる。I L - 1 は C D 8 + T 細胞の強力な調節物質でもあり、抗原特異性 C D 8 + T 細胞増大、分化、末梢への遊走およびメモリーを増進する。I L - 1 受容体は、I L - 1 R 1 および I L - 1 R 2 を含む。I L - 1 R 1 への結合およびそれを介するシグナル伝達は、それにより I L - 1 が多くの生物学的（および病理学的）活性を媒介するメカニズムを構成する。I L 1 - R 2 はデコイ受容体として機能でき、それにより I L - 1 R 1 を介する相互作用およびシグナル伝達への I L - 1 利用可能性を低減する。

10

【0283】

幾つかの実施形態において、修飾 I L - 1 は、I L - 1 R 1 に対する低減された親和性および／または活性（例えば、作動性活性）を有する。幾つかの実施形態において、修飾 I L - 1 は、I L - 1 R 2 に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。そのような実施形態において、回復可能な I L - 1 / I L - 1 R 1 シグナル伝達、および I L - R 2 での治療性キメラの損失の予防と、それによる必要とされる I L - 1 用量の低下（例えば、野生型、または I L - R 1 についての減弱突然変異（a t t e n u a t i o n m u t a t i o n）のみを担持するキメラに対比して）がある。そのような構築物は、例えば、免疫系を刺激して抗癌反応を開始することなど、例えば、癌を処置する方法、に用途を見出す。

20

【0284】

幾つかの実施形態において、修飾 I L - 1 は、I L - 1 R 1 に対する低減された親和性および／または活性（例えば、拮抗活性、例えば天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、W O 2 0 1 5 / 0 0 7 5 2 0 を参照）を有する。幾つかの実施形態において、修飾 I L - 1 は、I L - 1 R 2 に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。そのような実施形態において、I L - 1 / I L - 1 R 1 シグナル伝達は回復可能でなく、I L - R 2 での治療性キメラの損失の予防と、それによる必要とされる I L - 1 用量の低下（例えば、野生型、または I L - R 1 への減弱突然変異のみを担持するキメラに対比して）が存在する。そのような構築物は、例えば、免疫系を抑制するを含む、例えば、自己免疫疾患を処置する方法、に用途を見出す。

30

【0285】

そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I 型 I L - 1 R に対する低減された結合親和性および低減された生物活性を有する修飾ヒト I L - 1 β を生成する、アミノ酸 5 2 ~ 5 4 の欠失を有する。例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、W O 1 9 9 4 / 0 0 0 4 9 1 を参照されたい。幾つかの実施形態において、修飾ヒト I L - 1 β は、例えば内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、W O 2 0 1 5 / 0 0 7 5 4 2 および W O / 2 0 1 5 / 0 0 7 5 3 6 に記載される通り、I L - 1 R に対し低減された結合を示す、A 1 1 7 G / P 1 1 8 G、R 1 2 0 X、L 1 2 2 A、T 1 2 5 G / L 1 2 6 G、R 1 2 7 G、Q 1 3 0 X、Q 1 3 1 G、K 1 3 2 A、S 1 3 7 G / Q 1 3 8 Y、L 1 4 5 G、H 1 4 6 X、L 1 4 5 A / L 1 4 7 A、Q 1 4 8 X、Q 1 4 8 G / Q 1 5 0 G、Q 1 5 0 G / D 1 5 1 A、M 1 5 2 G、F 1 6 2 A、F 1 6 2 A / Q 1 6 4 E

40

50

、F166A、Q164E/E167K、N169G/D170G、I172A、V174A、K208E、K209X、K209A/K210A、K219X、E221X、E221S/N224A、N224S/K225S、E244K、N245Q（ここで、Xは、アミノ酸の任意の変化、例えば非保守的变化であり得る）（ヒト配列IL-1 β 配列、Genbankアクセション番号NP_000567、バージョンNP_000567.1、GI:10835145を基にしたナンバリング）から選択される1つまたは複数の置換突然変異を有する。幾つかの実施形態において、修飾ヒトIL-1 β は、R120A、R120G、Q130A、Q130W、H146A、H146G、H146E、H146N、H146R、Q148E、Q148G、Q148L、K209A、K209D、K219S、K219Q、E221SおよびE221Kから選択される1つまたは複数の突然変異を有し得る。一実施形態において、修飾ヒトIL-1 β は、突然変異Q131GおよびQ148Gを含む。一実施形態において、修飾ヒトIL-1 β は、突然変異Q148GおよびK208Eを含む。一実施形態において、修飾ヒトIL-1 β は、突然変異R120GおよびQ131Gを含む。一実施形態において、修飾ヒトIL-1 β は、突然変異R120GおよびH146Gを含む。一実施形態において、修飾ヒトIL-1 β は、突然変異R120GおよびK208Eを含む。一実施形態において、修飾ヒトIL-1 β は、突然変異R120G、F162A、およびQ164Eを含む。

【0286】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、IL-2である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-2R α および/またはIL-2R β および/またはIL-2R γ に対する低減された親和性および/または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-2R β および/またはIL-2R γ に対する低減された親和性および/または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-2R α に対する実質的に低減または除去された親和性および/または活性を有する。例えば修飾IL-2がIL-2R β および/またはIL-2R γ で作動性である場合には、そのような実施形態は、癌の処置に関連し得る。例えば、本発明の構築物は、IL2受容体 β および γ を有する、CD8⁺ T細胞（抗腫瘍効果を提供し得る）の減弱された活性化に好適で、かつIL2受容体 α 、 β および γ を有する、Treg（免疫抑制性腫瘍促進効果を提供し得る）に非好適であり得る。さらに、幾つかの実施形態において、IL-2R α よりもIL-2R β および/またはIL-2R γ に対する優先性は、肺浮腫などのIL-2の副作用を回避する。また、例えば修飾IL-2がIL-2R β および/またはIL-2R γ で拮抗性（例えば、天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2015/007520を参照）である場合には、IL-2に基づくキメラは、自己免疫疾患の処置に有用である。例えば、本発明の構築物は、IL2受容体 β および γ を有するCD8⁺ T細胞の減弱された抑制に好適であり（そしてそれゆえ免疫反応を減衰する）、かつIL-2受容体 α 、 β 、および γ を有するTregに非好適であり得る。あるいは、幾つかの実施形態において、IL-2を担持するキメラは、Tregの活性化に、およびそれゆえ免疫抑制に、かつCD8⁺ T細胞の非好適な活性化に好適である。例えば、これらの構築物は、疾患、または免疫抑制から利益を享受する疾患、例えば自己免疫障害の処置に用途を見出す。

【0287】

幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、CD8⁺ T細胞およびIL-2R β および/もしくはIL-2R γ に対する低減された親和性および/もしくは活性、ならびに/またはIL-2R α に対する実質的に低減もしくは除去された親和性および/もしくは活性を有する修飾IL-2剤に向けられる、本明細書に記載される標的部分を有する。幾つかの実施形態において、これらの構築物は、標的化されたCD8⁺ T細胞活性を提供し、Treg細胞に対して一般に不活性である（または実質的に低減された活性を有する）。幾つかの実施形態において、そのような構築物は、野生型IL-2に比較して増強された免疫刺激効果を有するが（例えば、理論に結びつけるのを望むものではないが、T

10

20

30

40

50

regを刺激しないことによる)、IL-2に関連する全身毒性を排除または低減する。

【0288】

一実施形態において、野生型IL-2は、
IL-2 (成熟形態、野生型)

APTSSSTKKKTQLQLEHLLLDLQMI L N G I N N Y K N P K L T R M L
TFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHL
RPRDLISNINVIVLEELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:186)

のアミノ酸配列を有する。

【0289】

そのような実施形態において、修飾IL-2剤は、アミノ酸L72 (L72G、L72A、L72S、L72T、L72Q、L72E、L72N、L72D、L72R、またはL72K)、F42 (F42A、F42G、F42S、F42T、F42Q、F42E、F42N、F42D、F42R、またはF42K) およびY45 (Y45A、Y45G、Y45S、Y45T、Y45Q、Y45E、Y45N、Y45D、Y45RまたはY45K) で1つまたは複数の突然変異を有する。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの修飾IL-2剤は、野生型IL-2に比較して、高親和性IL-2受容体に対する低減された親和性を有し、かつ中等度の親和性のIL-2受容体に対して親和性を保持すると考えられる。例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第2012/0244112号を参照されたい。

【0290】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、IL-3である。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、共通のベータ (ベータcまたはCD131) サブユニットと対合される特有のアルファ鎖を有するヘテロ二量体である、IL-3受容体に対する低減された親和性および/または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、共通のベータ (ベータcまたはCD131) サブユニットと対合される特有のアルファ鎖を有するヘテロ二量体である、IL-3受容体に対する実質的に低減または除去された親和性および/または活性を有する。

【0291】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、IL-4である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、1型および/または2型IL-4受容体に対する低減された親和性および/または活性を有する。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、1型および/または2型IL-4受容体に対する実質的に低減または除去された親和性および/または活性を有する。1型IL-4受容体は、IL-4R α サブユニットと共通 γ 鎖で構成され、IL-4を特異的に結合する。2型IL-4受容体は、IL-13R α 1として公知の異なるサブユニットに結合されるIL-4R α を包含する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、2型IL-4受容体に対する実質的に低減または除去された親和性および/または活性を有する。

【0292】

一実施形態において、野生型IL-4は、
IL-4 (成熟形態、野生型)

HKCDITLQEI I K T L N S L T E Q K T L C T E L T V T D I F A A S K N T T
E K E T F C R A A T V L R Q F Y S H E K D T R C L G A T A Q Q F H R H K Q L I
R F L K R L D R N L W G L A G L N S C P V K E A N Q S T L E N F L E R L K T I M
R E K Y S K C S S (SEQ ID NO:187)

のアミノ酸配列を有する。

【0293】

そのような実施形態において、修飾IL-4剤は、アミノ酸R121 (R121A、R121D、R121E、R121F、R121H、R121I、R121K、R121N、R121P、R121T、R121W)、E122 (E122F)、Y124 (Y124

10

20

30

40

50

A、Y 1 2 4 Q、Y 1 2 4 R、Y 1 2 4 S、Y 1 2 4 T) および S 1 2 5 (S 1 2 5 A) で1つまたは複数の突然変異を有する。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの修飾 I L - 4 剤は、I 型受容体により媒介される活性を維持するが、他の受容体により媒介される生物活性を著しく低減すると考えられる。例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第 6, 4 3 3, 1 5 7 号を参照されたい。

【0 2 9 4】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、I L - 6 である。I L - 6 は、リガンド結合 I L - 6 R 鎖 (C D 1 2 6) およびシグナル伝達成分 g p 1 3 0 を含む細胞表面 I 型サイトカイン受容体複合体を介してシグナル伝達する。I L - 6 はまた、I L - 6 R の細胞外部分である、I L - 6 R の可溶性形態 (s I L - 6 R) に結合し得る。s I L - 6 R / I L - 6 複合体は、神経突起伸展および神経細胞の生存に関与し得、このため再ミエリン化を通じた神経再生において重要であり得る。したがって、幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 6 R / g p 1 3 0 および / または s I L - 6 R に対する低減された親和性および / または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 6 R / g p 1 3 0 および / または s I L - 6 R に対する実質的に低減または除去された親和性および / または活性を有する。

【0 2 9 5】

一実施形態において、野生型 I L - 6 は、
I L - 6 (成熟形態、野生型)

A P V P P G E D S K D V A A P H R Q P L T S S E R I D K Q I R Y I L D G I S A L
R K E T C N K S N M C E S S K E A L A E N N L N L P K M A E K D G C F Q S G F N
E E T C L V K I I T G L L E F E V Y L E Y L Q N R F E S S E E Q A R A V Q M S T
K V L I Q F L Q K K A K N L D A I T T P D P T T N A S L T T K L Q A Q N Q W L Q
D M T T H L I L R S F K E F L Q S S L R A L R Q M (S E Q I D N O : 1 8 8)
のアミノ酸配列を有する。

【0 2 9 6】

そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、アミノ酸配列 5 8、1 6 0、1 6 3、1 7 1 または 1 7 7 で1つまたは複数の突然変異を有する。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの修飾 I L - 6 剤は、I L - 6 R アルファに対する低減された結合親和性および低減された生物活性を示すと考えられる。例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、W O 9 7 / 1 0 3 3 8 を参照されたい。

【0 2 9 7】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 0 である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 0 受容体 - 1 および I L - 1 0 受容体 - 2 に対する低減された親和性および / または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 0 受容体 - 1 および I L - 1 0 受容体 - 2 に対する実質的に低減または除去された親和性および / または活性を有する。

【0 2 9 8】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 1 である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 1 R α および / または I L - 1 1 R β および / または g p 1 3 0 に対する低減された親和性および / または活性を有する。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 1 R α および / または I L - 1 1 R β および / または g p 1 3 0 に対する実質的に低減または除去された親和性および / または活性を有する。

【0 2 9 9】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 2 である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 2 R β 1 および / または I L - 1 2 R β 2 に対する低減された親和性および / または活性を有する。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I L - 1 2 R β 1 および / または I L - 1 2 R β 2 に対する実質的に低減または除去された親和性および / または活性を有する。

【0300】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、IL-13である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-4受容体 (IL-4R α) および IL-13R α 1 に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-4受容体 (IL-4R α) または IL-13R α 1 に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0301】

一実施形態において、野生型 IL-13 は、

IL-13 (成熟形態、野生型)

SPGPVPPSTALRELIEELVNITQNNQKAPLCNGSMVWSINL
TAGMYCAALES LINVSGCSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQ
FSSLHVRDTKIEVAQFVKDLLHLKKLFREGRFN (SEQ ID NO: 189)

のアミノ酸配列を有する。

【0302】

そのような実施形態において、修飾 IL-13 剤は、アミノ酸 13、16、17、66、69、99、102、104、105、106、107、108、109、112、113 および 114 で 1 つまたは複数の突然変異を有する。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの修飾 IL-13 剤は、低減された生物活性を示すと考えられる。例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO 2002/018422 を参照されたい。

【0303】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、IL-18 である。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-18R α および／または IL-18R β に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、IL-18R α および／または IL-18R β に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、シグナル伝達に必要なとされる TIR ドメインが欠如した IL-18R α のアイソフォームである、IL-18R α II 型に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0304】

一実施形態において、野生型 IL-18 は、

IL-18 (野生型)

MAAEPVEDNCINFVAMKFIDNTLYFIAEDDENLES DYFGK
LESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPR
TIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIIISFK
EMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNKMQFESSSYEGYF
LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDL (SEQ ID NO: 190)

のアミノ酸配列を有する。

【0305】

そのような実施形態において、修飾 IL-18 剤は、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO 2015/007542 に記載される通り、Y37-K44、R49-Q54、D59-R63、E67-C74、R80、M87-A97、N127-K129、Q139-M149、K165-K171、R183 および Q190-N191 から選択されるアミノ酸またはアミノ酸領域に 1 つまたは複数の突然変異を含み得る (ヒト IL-18 配列 Genbank アクセション番号 AAV38697、バージョン AAV38697.1、GI: 54696650 に基づくナンバリング)。

【0306】

一実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、IL-33 である。そのような

実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、ST-2受容体およびIL-1RAcPに対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、ST-2受容体およびIL-1RAcPに対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。

【0307】

一実施形態において、野生型IL-33は、

MKPKMKYSTNKISTAKWKNTASKALCFKLGKSQQKAKEVC
PMYFMKLRSGLMIKKEACYFRRETTKRPSLKTGRKHKRHL
VLAACQQQSTVECFAGFISGVQKYTRALHDSSITGISPIT
EYLASLSTYNDQSITFALEDES YEIYVEDLKKDEKKDKVL
LSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLSPTKDFWLHANNKE
HSVELHKCEKPLPDQAFFVLHNMHSNCVSFECKTDPGVFI
GVKDNHLALIKVDSSENLCTENILFKLSET (SEQ ID NO
: 191)

のアミノ酸配列を有する。

【0308】

そのような実施形態において、修飾IL-33剤は、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2015/007542に記載される通り、I113-Y122、S127-E139、E144-D157、Y163-M183、E200、Q215、L220-C227およびT260-E269から選択されるアミノ酸またはアミノ酸領域に1つまたは複数の突然変異を含み得る（ヒト配列Genbankアクセッション番号NP_254274、バージョンNP_254274.1、GI:15559209に基づくナンバリング）。

【0309】

一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、上皮成長因子(EGF)である。EGFは、強力な成長因子のファミリーのメンバーである。メンバーとしては、EGF、HB-EGF、および他のもの、例えばTGFアルファ、アンフィレグリン、ニューレグリン、エピレグリン、ベータセルリンが挙げられる。EGFファミリー受容体としては、EGFR(ErbB1)、ErbB2、ErbB3およびErbB4が挙げられる。これらは、ホモ二量体および／またはヘテロ二量体受容体サブタイプとして機能し得る。異なるEGFファミリーメンバーは、様々な受容体サブタイプに対して差示的な選択性を示す。例えば、EGFは、ErbB1/ErbB1、ErbB1/ErbB2、ErbB4/ErbB2および幾つかの他のヘテロ二量体サブタイプに関連する。HB-EGFは類似のパターンを有するが、ErbB4/4にも関連する。EGF(EGF様)成長因子シグナル伝達の正または負のモジュレーションは、大きな治療的関心である。例えば、EGFRシグナル伝達の阻害は、EGFRシグナル伝達が主な成長促進シグナルを構成する様々な癌の処置における関心である。あるいは、EGFRシグナル伝達の刺激は、例えば、創傷治癒の促進(急性および慢性)、口腔粘膜炎症(非限定的に放射線療法など、様々な癌治療の主な副作用)における、治療的関心である。

【0310】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、ErbB1、ErbB2、ErbB3、および／またはErbB4に対する低減された親和性および／または活性を有する。そのような実施形態は、例えば、創傷を処置する方法において、用途を見出す。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、1つまたは複数のErbB1、ErbB2、ErbB3、およびErbB4に結合し、受容体の活性と拮抗する。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、ErbB1、ErbB2、ErbB3、および／またはErbB4に対する低減された親和性および／または活性を有し、減弱する方式で受容体の活性を拮抗させる。そのような実施形態は、例えば、癌の処置、において用途を見出す。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、ErbB1に対する低減された親和性および／または活性を有する。ErbB1はキナーゼ阻害剤の治療ター

ゲットであり、ほとんどのキナーゼ阻害剤は、それらがあまり選択的でないため、副作用を有する（例えば、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ブリガチニブおよびイコチニブ）。幾つかの実施形態において、減弱された拮抗性 E r b B 1 シグナル伝達は、よりオンターゲットであり、E G F に対する受容体を標的とする他の薬剤よりも少ない副作用を有する。

【0311】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、E r b B 1 に対する低減された親和性および／もしくは活性（例えば、拮抗性、例えば天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO 2 0 1 5 / 0 0 7 5 2 0 を参照）、ならびに／または E r b B 4 もしくはそれが相互作用し得る他のサブタイプに対する、実質的に低減もしくは除去された親和性および／もしくは活性を有する。標的部分を介する特異的標的化により、E r b B 1 / E r b B 1 受容体活性化の細胞選択性の抑制（拮抗性、例えば天然の拮抗活性、または1つもしくは複数の突然変異の結果である拮抗活性、例えば内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO 2 0 1 5 / 0 0 7 5 2 0 を参照）が、実現される（阻害関連の副作用と潜在的に関連する他の受容体サブタイプを関与させずに）。こうしてそのような構築物は、体内の全ての細胞型で E G F R 活性を阻害する E G F R キナーゼ阻害剤とは対照的に、細胞選択的な（例えば、受容体の増幅、過剰発現などにより E G F R シグナル伝達が活性化された腫瘍細胞）抗 E G F R (E r b B 1) 薬物効果を低減された副作用で提供する。

【0312】

幾つかの実施形態において、さらなる修飾シグナル伝達物質は、E r b B 4 および／またはそれが相互作用し得る他のサブタイプに対する低減された親和性および／または活性（例えば、作動性）を有する。標的部分を介して特異的標的細胞を標的にすることにより、E r b B 1 シグナル伝達の選択的活性化が実現される（例えば、上皮細胞）。そのような構築物は、幾つかの実施形態において、特に慢性病の処置および治療薬の外用以外の適用（例えば、全身創傷治癒）のために、副作用が低減された創傷処置（創傷治癒を促進する）に用途を見出す。

【0313】

一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、インスリンまたはインスリン類似体である。幾つかの実施形態において、修飾インスリンまたはインスリン類似体は、インスリン受容体および／または I G F 1 もしくは I G F 2 受容体に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾インスリンまたはインスリン類似体は、インスリン受容体および／または I G F 1 もしくは I G F 2 受容体に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。インスリン受容体での減弱された応答は、糖尿病、肥満、代謝障害などのコントロールを可能にし、一方で I G F 1 または I G F 2 受容体から離れる方向づけが癌促進作用 (p r o c a n c e r e f f e c t s) を回避する。

【0314】

一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、インスリン様成長因子 I またはインスリン様成長因子 I I (I G F - 1 または I G F - 2) である。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I G F - 1 である。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、インスリン受容体および／または I G F 1 受容体に対する低減された親和性および／または活性を有する。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I G F 1 受容体に結合し、受容体の活性に拮抗し得る。そのような実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I G F 1 受容体に対する低減された親和性および／または活性を有し、減弱する方式で受容体の活性を拮抗させる。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、インスリン受容体および／または I G F 1 受容体に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、I G F 2 受容体に対する低減された親和性および／または活性を有し、減弱する

方式で受容体の活性を拮抗させる。一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、インスリン受容体に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有し、したがってインスリンシグナル伝達を妨害しない。様々な実施形態において、これは、癌処置に適用される。様々な実施形態において、本発明の薬剤は、IRアイソフォームAが癌処置に対する抵抗性を誘発するのを予防し得る。

【0315】

一実施形態において、修飾シグナル伝達物質は、EPOである。様々な実施形態において、修飾EPO剤は、野生型EPOまたは本明細書に記載される他のEPOに基づく物質に対比して、EPO受容体（EPOR）および／またはエフリン受容体（EphR）に対する低減された親和性および／または活性を有する。幾つかの実施形態において、修飾EPO剤は、EPO受容体（EPOR）および／またはEph受容体（EphR）に対する実質的に低減または除去された親和性および／または活性を有する。例示的なEPO受容体としては、EPORホモ二量体またはEPOR／CD131ヘテロ二量体が挙げられるが、これらに限定されない。またEPO受容体として挙げられるのは、ベータ共通受容体（βcR）である。例示的なEph受容体としては、EPHA1、EPHA2、EPHA3、EPHA4、EPHA5、EPHA6、EPHA7、EPHA8、EPHA9、EPHA10、EPHB1、EPHB2、EPHB3、EPHB4、EPHB5、およびEPHB6が挙げられるが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、修飾EPOタンパク質は、1つまたは複数の異なるEPO受容体またはEph受容体（例えば、非限定的にEPOR-EPHB4、EPOR-βcR-EPORを含む、ヘテロ二量体、ヘテロ三量体など）を含む受容体に対する低減された親和性をEPOタンパク質に持たせる1つまたは複数の突然変異を含む。また提供されるのは、非限定的にNEPORを含む、内容全体が本明細書に組み入れられる欧州特許出願第2492355号の受容体である。

【0316】

一実施形態において、ヒトEPOは、

【化2】

MGVHECPAWLWLLLSLLSLPLGLPVLGAPPRLICDSRVLE
RYLLEAKEAEENITTTGCAEHCSLNENITVPDTKVNIFYAWKR
MEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQL
HVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPDAASAAPLRTI
TADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR (SEQ ID
NO: 192)

のアミノ酸配列を有する（シグナルペプチドに下線を付す）。

【0317】

一実施形態において、ヒトEPOタンパク質は、

APPRLICDSRVLERYLEAKEAEENITTTGCAEHCSLNENIT
VPDTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQAL
LVNSSQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISP
PDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEA
CRTGDR (SEQ ID NO: 193)

の配列を有する166アミノ酸残基の糖タンパク質であるEPOの成熟形態（シグナルペプチドが切除された）である。

【0318】

ヒトEPOタンパク質の構造は、ヘリックスA、B、C、およびDを含む4ヘリックスバンドルを含むと予測される。様々な実施形態において、修飾EPOタンパク質は、生物活性にとって重要であるEPOタンパク質の4つの領域：即ちアミノ酸残基10-20、44-51、96-108、および142-156に位置する1つまたは複数の突然変異を含む。幾つかの実施形態において、1つまたは複数の突然変異は、残基11-15、44

－51、100－108、および147－151に位置する。これらの残基は、ヘリックスA (Val11、Arg14、およびTyr15)、ヘリックスC (Ser100、Arg103、Ser104、およびLeu108)、ヘリックスD (Asn147、Arg150、Gly151、およびLeu155)、およびA/B連結ループ(残基42－51)に位置する。幾つかの実施形態において、修飾EPOタンパク質は、アミノ酸41－52とアミノ酸147、150、151および155の間の残基に突然変異を含む。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの残基の突然変異は、受容体結合とインビトロ生物活性の両方に実質的な影響を有すると考えられる。幾つかの実施形態において、修飾EPOタンパク質は、残基11、14、15、100、103、104および108で突然変異を含む。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの残基の突然変異は、受容体結合活性に対する軽度の影響と、インビトロ生物活性に対するより大きな影響を有すると考えられる。例示的な置換としては、Val11Ser、Arg14Ala、Arg14Gln、Tyr15Ile、Pro42Asn、Thr44Ile、Lys45Asp、Val46Ala、Tyr51Phe、Ser100Glu、Ser100Thr、Arg103Ala、Ser104Ile、Ser104Ala、Leu108Lys、Asn147Lys、Arg150Ala、Gly151Ala、およびLeu155Alaの1つまたは複数が挙げられるが、これらに限定されない。

【0319】

幾つかの実施形態において、修飾EPOタンパク質は、例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、Eliot, et al. Mapping of the Active Site of Recombinant Human Erythropoietin January 15, 1997; Blood: 89 (2) に列挙されたものなど、生物活性に影響を及ぼし結合に影響を及ぼさない突然変異を含む。

【0320】

幾つかの実施形態において、修飾EPOタンパク質は、受容体の接触に関与するEPOタンパク質の表面残基を含む1つまたは複数の突然変異を含む。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの表面残基の突然変異は、タンパク質フォールディングにおそらくそれほど影響せずしたがっていくらかの生物活性を保持すると考えられる。突然変異され得る例示的な表面残基としては、残基147および150が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な実施形態において、突然変異は、N147A、N147K、R150AおよびR150Eの1つまたは複数をを含む置換である。

【0321】

幾つかの実施形態において、修飾EPOタンパク質は、残基N59、E62、L67、およびL70の1つまたは複数での突然変異と、ジスルフィド結合形成に影響を及ぼす1つまたは複数の突然変異とを含む。理論に結びつけるのを望むものではないが、これらの突然変異は、フォールディングに影響を及ぼし、かつ／または埋もれた位置にあり、したがって生物活性に間接的に影響を及ぼすと考えられる。

【0322】

一実施形態において、修飾EPOタンパク質は、受容体結合を著しく低減するK20E置換を含む。内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、Elliott, et al., (1997) Blood, 89: 493－502を参照されたい。

【0323】

本発明のキメラEPOタンパク質に組み込まれ得るさらなるEPO突然変異は、例えば内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、Elliott, et al., (1997) Blood, 89: 493－502および内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、Taylor et al., (2010) PEDS, 23 (4): 251－260に開示される。

【0324】

様々な実施形態において、シグナル伝達物質は、毒素または毒性酵素である。幾つかの実施形態において、毒素または毒性酵素は、植物および細菌に由来する。例示的な毒素また

10

20

30

40

50

は毒性酵素としては、ジフテリア毒素、緑膿菌毒素、炭疽毒素、リボソーム不活性化タンパク質（RIP）、例えばリシンおよびサポリン、モデクシン、アブリン、ゲロニン、およびポークウィード抗ウイルス性タンパク質が挙げられるが、これらに限定されない。さらなる毒素としては、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、Matthew et al., (2009) Cancer Sci 100(8):1359-65に開示されたものなどが挙げられる。そのような実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、細胞型に特異的な様式で細胞死を誘導するために用いられ得る。そのような実施形態において、毒素は、例えば本明細書の他のシグナル伝達物質について記載される通り、減弱された効果のために毒素の親和性および／または活性を低減するように修飾、例えば突然変異され得る。

10

【0325】

リンカー

幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、場合により1種または複数のリンカーを含む。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、標的部分およびシグナル伝達物質（例えば、修飾IFN β ）を連結するリンカーを含む。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、シグナル伝達物質（例えば、修飾IFN β ）内にリンカーを含む。

【0326】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載されるリンカーのいずれかに単一ヌクレオチド配列として連結された本発明のキメラタンパク質をコードするベクターが提供され、そのようなキメラタンパク質を調製するために用いられ得る。

20

【0327】

幾つかの実施形態において、リンカーの長さが、標的部分およびシグナル伝達物質（例えば、修飾IFN β ）の、それらの受容体への効率的な結合を可能にする。例えば幾つかの実施形態において、リンカーの長さは、標的部分の1つおよびシグナル伝達物質の、同じ細胞上のそれらの受容体への効率的な結合を可能にする。

【0328】

幾つかの実施形態において、リンカーの長さは、同じ細胞上の受容体に対する標的部分の1つとシグナル伝達物質の結合部位間の最小距離に少なくとも等しい。幾つかの実施形態において、リンカーの長さは、同じ細胞上の受容体に対する標的部分の1つとシグナル伝達物質の結合部位間の最小距離の少なくとも2倍、または3倍、または4倍、または5倍、または10倍、または20倍、または25倍、または50倍、または100倍である、またはそれより大きい。

30

【0329】

本明細書に記載される通り、リンカーの長さは、標的部分の1つおよびシグナル伝達物質の、同じ細胞上の受容体への効率的な結合を可能にし、結合は、連続的であり、例えば標的部分／受容体の結合が、シグナル伝達物質／受容体の結合に先行する。

【0330】

幾つかの実施形態において、単一キメラ中に2つのリンカーが存在し、それぞれがシグナル伝達物質を標的部分に連結する。様々な実施形態において、リンカーは、疾患細胞およびエフェクター細胞を有する部位の形成を、いずれかの細胞のモジュレーションを妨害する立体障害を含まずに可能にする長さを有する。

40

【0331】

本発明は、多様なリンカー配列の使用を企図する。様々な実施形態において、リンカーは、天然由来のマルチドメインタンパク質に由来し得るか、または例えば、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、Chichili et al., (2013), Protein Sci. 22(2):153-167、Chen et al., (2013), Adv Drug Deliv Rev. 65(10):1357-1369に記載される通り経験的なリンカーである。幾つかの実施形態において、リンカーは、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、Chen et al., (2013), Adv

50

Drug Deliv Rev. 65 (10) : 1357-1369、および Crasto et al., (2000), Protein Eng. 13 (5) : 309-312 に記載されるものなどのリンカー設計データベースおよびコンピュータプログラムを利用して設計され得る。様々な実施形態において、リンカーは、機能的であり得る。例えば、非限定的に、リンカーは、本発明のキメラタンパク質のフォールディングおよび／もしくは安定性を改善するように、発現を改善するように、薬物動態を改善するように、かつ／または生物活性を改善するように機能し得る。

【0332】

幾つかの実施形態において、リンカーは、ポリペプチドである。幾つかの実施形態において、リンカーは、約100アミノ酸長未満である。例えば、リンカーは、約100、約95、約90、約85、約80、約75、約70、約65、約60、約55、約50、約45、約40、約35、約30、約25、約20、約19、約18、約17、約16、約15、約14、約13、約12、約11、約10、約9、約8、約7、約6、約5、約4、約3、または約2アミノ酸長未満であり得る。幾つかの実施形態において、リンカーは、ポリペプチドである。幾つかの実施形態において、リンカーは、約100アミノ酸長を超える。例えば、リンカーは、約100、約95、約90、約85、約80、約75、約70、約65、約60、約55、約50、約45、約40、約35、約30、約25、約20、約19、約18、約17、約16、約15、約14、約13、約12、約11、約10、約9、約8、約7、約6、約5、約4、約3、または約2アミノ酸長を超え得る。幾つかの実施形態において、リンカーは、柔軟である。別の実施形態において、リンカーは、剛性である。

【0333】

2つ以上の標的部分を有するキメラタンパク質を対象とする幾つかの実施形態において、1つのリンカーは2つの標的部分を互いに連結し、このリンカーは短い長さを有し、1つのリンカーは標的部分およびシグナル伝達物質を連結し、このリンカーは2つの標的部分を連結するリンカーよりも長い。例えば、2つの標的部分を連結するリンカーと、標的部分とシグナル伝達物質を連結するリンカーとのアミノ酸長の差異は、約100、約95、約90、約85、約80、約75、約70、約65、約60、約55、約50、約45、約40、約35、約30、約25、約20、約19、約18、約17、約16、約15、約14、約13、約12、約11、約10、約9、約8、約7、約6、約5、約4、約3、または約2アミノ酸長であり得る。

【0334】

様々な実施形態において、リンカーは、実質的にグリシンおよびセリン残基で構成される（例えば、約30%、または約40%、または約50%、または約60%、または約70%、または約80%、または約90%、または約95%、または約97%のグリシンおよびセリン）。例えば、幾つかの実施形態において、リンカーは、(Gly₄Ser)_nであり、ここでnは、約1~約8、例えば1、2、3、4、5、6、7、または8である。一実施形態において、リンカーの配列は、GGSGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 194) である。さらなる例示的なリンカーとしては、配列LE、GGGGS (SEQ ID NO: 195)、(GGGGS)_n (n=1~4) (SEQ ID NO: 196)、(Gly)₈ (SEQ ID NO: 197)、(Gly)₆ (SEQ ID NO: 198)、(EAAAK)_n (n=1~3) (SEQ ID NO: 199)、A(EAAAK)_nA (n=2~5) (SEQ ID NO: 200)、AEAAAKEAAKA (SEQ ID NO: 201)、A(EAAAK)₄ALEA(EAAAK)₄A (SEQ ID NO: 202)、PAPAP (SEQ ID NO: 203)、KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO: 204)、EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO: 205)、GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO: 206)、および(XP)_n（ここでXは、任意のアミノ酸、例えばAla、LysまたはGluを表す）を有するリンカーが挙げられるが、これらに限定されない。様々な実施形態において、リンカーは、GGSである。

【0335】

幾つかの実施形態において、リンカーは、GGGSE (SEQ ID NO: 207)、GSESG (SEQ ID NO: 208)、GSEGS (SEQ ID NO: 209)、GEGGS GEGSS GEGSS SEGGG SEGGG SEGGG SEGGG (SEQ ID NO: 210)、ならびに4アミノ酸間隔ごとにG、S、およびEが無作為に配置されるリンカーの1つまたは複数である。

【0336】

幾つかの実施形態において、リンカーは、抗体（例えば、サブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4、ならびにIgA1およびIgA2）を含むIgG、IgA、IgD、およびIgE）のヒンジ領域である。様々な実施形態において、リンカーは、抗体（例えば、サブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4、ならびにIgA1およびIgA2）を含むIgG、IgA、IgD、およびIgE）のヒンジ領域である。IgG、IgA、IgD、およびIgEクラスの抗体に見出されるヒンジ領域は、フレキシブルスペースとして作用し、Fab部分を空間的に自由に移動させる。定常領域とは対照的に、ヒンジドメインは、構造的に多様であり、免疫グロブリンクラスおよびサブクラスの間で配列および長さの両方が異なる。例えば、ヒンジ領域の長さおよび柔軟性は、IgGサブクラスの間で異なる。IgG1のヒンジ領域はアミノ酸216-231を含み、それが自由に柔軟であるために、Fab断片が対称軸の周りを回転し、かつ2つの重鎖間ジスルフィド架橋の一番目を中心とする1つの球内を運動できる。IgG2はIgG1よりも短いヒンジを有し、12のアミノ酸残基および4つのジスルフィド架橋を有する。IgG2のヒンジ領域はグリシン残基を欠き、比較的短く、かつ剛性のポリプロリン二重らせんを含み、追加の重鎖間ジスルフィド架橋により安定化される。これらの特性がIgG2分子の柔軟性を制限する。IgG3は、その特有の伸長したヒンジ領域（IgG1ヒンジの約4倍もの長さ）により他のサブクラスと異なり、62アミノ酸を含み（21プロリンおよび11システインを含む）、柔軟でないポリプロリン二重らせんを形成する。IgG3では、Fab断片は、Fc断片から比較的遠く離れており、それがこの分子により大きな柔軟性を与えている。IgG3中の延長したヒンジもまた、他のサブクラスに比較してより高いその分子量の原因である。IgG4のヒンジ領域はIgG1のものよりも短く、その柔軟性は、IgG1のものとIgG2のものとの中間である。ヒンジ領域の柔軟性は、報告ではIgG3 > IgG1 > IgG4 > IgG2の順に低下する。

【0337】

結晶学的研究によれば、免疫グロブリンのヒンジ領域はさらに、3つの領域：上部のヒンジ領域、コア領域、および下部のヒンジ領域に機能的に分別され得る。Shin et al., 1992 Immunological Reviews 130: 87を参照されたい。上部のヒンジ領域は、CH1のカルボキシル末端～運動を制限するヒンジ中の第一の残基、一般には2つの重鎖間で鎖間ジスルフィド結合を形成する第一のシステイン残基、のアミノ酸を含む。上部のヒンジ領域の長さは、抗体の区域的な柔軟性と相関する。コアヒンジ領域は、重鎖間ジスルフィド架橋を含み、下部のヒンジ領域は、CH2ドメインのアミノ末端に接続し、CH2中の残基を含む（同著者）。野生型ヒトIgG1のコアヒンジ領域は、配列Cys-Pro-Pro-Cysを含み、それは、ジスルフィド結合の形成により二量体化されると、ピボットとして作用すると考えられる環状オクタペプチドを生じ、これにより柔軟性を付与する。様々な実施形態において、本発明のリンカーは、任意の抗体（例えば、サブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4、ならびにIgA1およびIgA2）を含むIgG、IgA、IgD、およびIgE）の上部のヒンジ領域、コア領域、および下部のヒンジ領域の1つ、または2つ、または3つを含む。ヒンジ領域はまた1つまたは複数のグリコシル化部位を含み得、それは炭水化物の付着のための複数の構造的に異なるタイプの部位を含む。例えば、IgA1は、ヒンジ領域の17アミノ酸区分の中に5つのグリコシル化部位を含み、分泌性免疫グロブリンにとって有利な特性と見なされる、腸内プロテアーゼに対するヒンジ領域ポリペプチド

10

20

30

40

50

の抵抗性を付与する。様々な実施形態において、本発明のリンカーは、1つまたは複数のグリコシル化部位を含む。様々な実施形態において、リンカーは、ヒトIgG4抗体のヒンジ-CH2-CH3ドメインである。

【0338】

所望なら、本発明のキメラタンパク質は、CH2およびCH3ドメインの一方または両方と、場合によりヒンジ領域とを含む抗体Fc領域に連結され得る。例えば、Fc領域に単一ヌクレオチド配列として連結された本発明のキメラタンパク質をコードするベクターが、そのようなポリペプチドを調製するために用いられ得る。

【0339】

幾つかの実施形態において、リンカーは、PEGなどの合成リンカーである。

【0340】

様々な実施形態において、リンカーは、機能的であり得る。例えば非限定的に、リンカーは、本発明のキメラタンパク質のフォールディングおよび／もしくは安定性を改善するように、発現を改善するように、薬物動態を改善するように、かつ／または生物活性を改善するように機能し得る。別の例において、リンカーは、キメラタンパク質を特定の細胞型または位置に標的化させるように機能し得る。

【0341】

様々な実施形態において、各キメラタンパク質のそれぞれは、別の薬剤とコンジュゲートおよび／または融合されて、半減期を延長させ得る、または他の方法で薬学的および薬物動態的性質を改善し得る。幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、PEG、XTEN（例えば、rPEGとして）、ポリシアル酸（POLYXEN）、アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミンまたはHAS）、エラスチン様タンパク質（ELP）、PAS、HAP、GLK、CTP、トランスフェリンなどの1つまたは複数と融合またはコンジュゲートされ得る。幾つかの実施形態において、キメラタンパク質は、抗体またはFc断片などの抗体断片と融合またはコンジュゲートされ得る。例えば、キメラタンパク質は、ヒト免疫グロブリン（Ig）GのFcドメインのN-末端またはC-末端のいずれかに融合され得る。様々な実施形態において、各キメラタンパク質のそれぞれは、内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、BioDrugs（2015）29：215-239に記載された物質の1つまたは複数に融合される。

【0342】

キメラタンパク質の生成

本発明のキメラタンパク質を生成するための方法が、本明細書に記載される。例えば、本発明のキメラタンパク質をコードするDNA配列（例えば、修飾されたシグナル伝達物質（例えば、修飾されたIFNβ）および標的部分およびリンカーをコードするDNA配列）は、当該技術分野で公知の方法を利用して化学合成され得る。合成DNA配列を、例えば発現制御配列を含む、他の適当なヌクレオチド配列にライゲートして、所望のキメラタンパク質をコードする遺伝子発現構築物を生成できる。したがって、様々な実施形態において、本発明は、本発明のキメラタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸を提供する。

【0343】

本発明のキメラタンパク質をコードする核酸は、発現ベクター中に組み入れられ得（ライゲートされ得）、それはトランスフェクション、形質転換、または形質導入技術を介して宿主細胞中に導入され得る。例えば、本発明のキメラタンパク質をコードする核酸は、レトロウイルス形質導入により宿主細胞中に導入され得る。例示的な宿主細胞は、大腸菌細胞、チャイニーズ・ハムスター卵巣（CHO）細胞、ヒト胎児腎293（HEK293）細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎（BHK）細胞、サル腎細胞（COS）、ヒト肝細胞癌の細胞（例えば、HepG2）、および骨髓腫細胞である。形質転換された宿主細胞は、本発明のキメラタンパク質をコードする遺伝子を宿主細胞に発現させる条件下で生育され得る。したがって、様々な実施形態において、本発明は、本発明のキメラタンパク質をコードする核酸を含む発現ベクターを提供する。様々な実施形態において、本発

10

20

30

40

50

明はさらに、そのような発現ベクターを含む宿主細胞を提供する。

【0344】

特異的な発現および精製条件は、用いられる発現系に応じて異なるであろう。例えば、遺伝子が大腸菌で発現される場合、それは最初、操作された遺伝子を適切な細菌プロモーター、例えば *Trp* または *Tac*、および原核生物シグナル配列から下流に配置することにより、発現ベクター中にクローニングされる。別の例において、該操作された遺伝子が、真核生物宿主細胞、例えば CHO 細胞で発現される場合、それは最初、例えば適切な真核生物プロモーター、分泌シグナル、エンハンサー、および様々なイントロンを含む発現ベクター中に挿入される。遺伝子構築物は、トランスフェクション、形質転換、または形質導入技術を利用して宿主細胞中に導入され得る。

10

【0345】

本発明のキメラタンパク質は、キメラタンパク質をコードする発現ベクターをトランスフェクトされた宿主細胞を、タンパク質の発現を可能にする条件下で生育することにより、生成され得る。発現に続いて、タンパク質は、当該技術分野で周知の技術、例えばグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) およびヒスチジンタグなどのアフィニティータグを利用して、またはクロマトグラフィーにより、回収および精製され得る。

【0346】

したがって、様々な実施形態において、本発明は、本発明のキメラタンパク質をコードする核酸を提供する。様々な実施形態において、本発明は、本発明のキメラタンパク質をコードする核酸を含む宿主細胞を提供する。

20

【0347】

医薬的に許容できる塩および賦形剤

本明細書に記載されるキメラタンパク質は、医薬的に許容できる塩を形成するために、無機もしくは有機酸と反応し得る十分に塩基性の官能基、または無機もしくは有機塩基と反応し得るカルボキシル基を有し得る。医薬的に許容できる酸付加塩は、当該技術分野で周知の通り、医薬的に許容できる酸から形成される。そのような塩としては、例えば全体として参照により本明細書に組み入れられる、*Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2-19 (1977) および *The Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use*. P. H. Stahl and C. G. Wermuth (eds.), Verlag, Zurich (Switzerland) 2002 に列挙された医薬的に許容できる塩が挙げられる。

30

【0348】

医薬的に許容できる塩としては、非限定的例として、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、重酒石酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、サッカリン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩、パモ酸塩、フェニル酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アクリル酸塩、クロロ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、o-アセトキシ安息香酸塩、ナフタレン-2-安息香酸塩、イソ酪酸塩、フェニル酪酸塩、 α -ヒドロキシ酪酸塩、ブチン-1, 4-ジカルボン酸塩、ヘキシン-1, 4-ジカルボン酸塩、カプリン酸塩、カプリル酸塩、ケイ皮酸塩、グリコール酸塩、ヘプタン酸塩、馬尿酸塩、リンゴ酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ニコチン酸塩、フタル酸塩、テレフタル酸塩、プロピオール酸塩、プロピオン酸塩、フェニルプロピオン酸塩、セバシン酸塩、スベリン酸塩、p-ブromoフェニルスルホン酸塩、クロロベンゼンスルホン酸塩、エチルスルホン酸塩、2-ヒドロキシエチルスルホン酸塩、メチルスルホン酸塩、ナフタレン-1-スルホン酸塩、ナフタレン-2-スルホン酸塩、ナフタレン-1, 5

40

50

ースルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、および酒石酸塩が挙げられる。

【0349】

用語「医薬的に許容できる塩」はまた、カルボン酸官能基などの酸性官能基、および塩基を有する本発明の組成物の塩を指す。適切な塩基としては、ナトリウム、カリウムおよびリチウムなどのアルカリ金属の水酸化物；カルシウムおよびマグネシウムなどのアルカリ土類金属の水酸化物；アルミニウムおよび亜鉛などの他の金属の水酸化物；アンモニア、および非置換またはヒドロキシ置換のモノー、ジーまたはトリーアルキルアミン、ジシクロヘキシルアミンなどの有機アミン；トリブチルアミン；ピリジン；N-メチル、N-エチルアミン；ジエチルアミン；トリエチルアミン；モノー、ビスー、またはトリスー（2-ヒドロキシエチル）アミン、2-ヒドロキシ-tert-ブチルアミン、またはトリスー（ヒドロキシメチル）メチルアミンなどのモノー、ビスー、またはトリスー（2-OH-低級アルキルアミン）；N，N-ジメチル-N-（2-ヒドロキシエチル）アミンまたはトリー（2-ヒドロキシエチル）アミンなどのN，N-ジ低級アルキル-N-（ヒドロキシ低級アルキル）アミン；N-メチル-D-グルカミン；ならびにアルギニン、リジンなどのアミノ酸などが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0350】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される組成物は、医薬的に許容できる塩の形態である。

【0351】

医薬組成物および配合剤

20

様々な実施形態において、本発明は、本明細書に記載されるキメラタンパク質と、医薬的に許容できる担体または賦形剤とを含む医薬組成物に関係する。本明細書に記載される任意の医薬組成物は、医薬的に許容できる担体またはビヒクルを含む組成物の成分として、対象に投与され得る。そのような組成物は場合により、適当な投与のための形態を提供するように、適切な量の医薬的に許容できる賦形剤を含み得る。

【0352】

様々な実施形態において、医薬賦形剤は、ピーナッツ油、大豆油、鉱物油、ゴマ油などの、石油、動物起源、植物起源、または合成起源のものを含む、水および油などの液体であり得る。医薬賦形剤は、例えば、生理食塩水、アカシアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、タルク、ケラチン、コロイド状シリカ、尿素などであり得る。加えて、補助剤、安定化剤、増粘剤、滑沢剤、および着色剤が、用いられ得る。一実施形態において、医薬的に許容できる賦形剤は、対象に投与される時に無菌である。水は、本明細書に記載される任意の薬剤が静脈内投与される場合、有用な賦形剤である。生理食塩溶液および水性デキストロースおよびグリセロール溶液もまた、特に注射可能溶液の場合に、液体賦形剤として用いられ得る。適切な医薬賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦、白亜、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなども挙げられる。所望なら、本明細書に記載される任意の薬剤はまた、微量の湿潤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含み得る。適切な医薬賦形剤の他の例は、参照により本明細書に組み入れられる、Remington's Pharmaceutical Sciences 1447-1676 (Alfonso R. Gennaro eds., 19th ed. 1995)に記載される。

30

40

【0353】

本発明は、記載される医薬組成物（および／またはさらなる治療薬）を様々な配合剤中に含む。本明細書に記載される任意の本発明の医薬組成物（および／またはさらなる治療薬）は、溶液、懸濁液、エマルジョン、点滴薬、錠剤、丸薬、ペレット、カプセル、液体含有カプセル、ゼラチンカプセル、粉末、持続放出性配合剤、坐剤、エマルジョン、エアロゾル、スプレー、懸濁液、凍結乾燥粉末、凍結懸濁液、乾燥粉末の形態、または使用に適した任意の他の形態をとり得る。一実施形態において、組成物は、カプセルの形態である。別の実施形態において、組成物は、錠剤の形態である。さらに別の実施形態において、

50

医薬組成物は、ソフトゲルカプセルの形態で配合される。さらなる実施形態において、医薬組成物は、ゼラチンカプセルの形態で配合される。さらに別の実施形態において、医薬組成物は、液体として配合される。

【0354】

必要ならば、本発明の医薬組成物（および／またはさらなる薬剤）はまた、可溶化剤を含み得る。また、薬剤は、当該技術分野で公知の通り、適切なビヒクルまたは送達デバイスで送達され得る。本明細書に概説される併用療法剤は、単一の送達ビヒクルまたは送達デバイスで同時送達され得る。

【0355】

本発明の医薬組成物（および／またはさらなる薬剤）を含む配合剤は、簡便には単位投与剤形で提供され得、薬局業界で周知の方法のいずれかにより調製され得る。そのような方法は一般に、治療薬を、1種または複数の補助成分を構成する担体と会合させるステップを含む。典型的には配合剤は、治療薬を、液体担体、微粉碎固体担体、またはその両方と均一かつ緊密に会合させ、その後、必要に応じて、生成物を所望の配合剤の投与剤形に成形すること（例えば、湿式または乾式造粒、粉末ブレンドなど、それに続く当該技術分野で公知の従来法を利用する打錠）により調製される。

【0356】

様々な実施形態において、本明細書に記載される任意の医薬組成物（および／またはさらなる薬剤）は、本明細書に記載される投与方式に適合する組成物として、日常の手順に従って配合される。

【0357】

投与経路としては、例えば経口、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻内、硬膜外、舌下、鼻内、脳内、腔内、経皮、直腸、吸入、または外用が挙げられる。投与は、局所または全身であり得る。幾つかの実施形態において、投与は、経口で実行される。別の実施形態において、投与は、非経口注射による。投与方式は、実施者の裁量に委ねることができ、ある程度は医学的病状の部位に依存する。ほとんどの例で、投与により、本明細書に記載される任意の薬剤が血流中に放出される。

【0358】

一実施形態において、本明細書に記載されるキメラタンパク質は、経口投与に適合された組成物として日常の手順に従って配合される。経口送達用の組成物は、例えば、錠剤、ロゼンジ、水性もしくは油性懸濁液、顆粒、粉末、エマルジョン、カプセル、シロップ、またはエリキシルの形態であり得る。経口投与される組成物は、医薬品として味の良い調製剤を提供するために、1種または複数の薬剤、例えば、フルクトース、アスパルテーム、またはサッカリンなどの甘味剤；ペパーミント、冬緑油またはチェリーなどの香味剤；着色剤；および防腐剤を含み得る。さらに、錠剤または丸薬の形態では、組成物は、胃腸管における崩壊および吸収を遅延させるようにコーティングされ、それにより長時間にわたる持続的作用を提供できる。浸透圧で能動的に移動する本明細書に記載される任意のキメラタンパク質を取り囲む選択的透過性膜もまた、経口投与される組成物に適する。これらの後者の状況では、カプセル周辺環境からの液体が、移動する化合物に吸収され、化合物が膨張して、開口部を通じて薬剤または薬剤組成物を排出する。これらの送達状況は、即時放出配合剤の急上昇性に反して、本質的に零次の送達プロファイルを提供し得る。モノステアリン酸グリセロールまたはステアリン酸グリセロールなどの時間遅延材料もまた、有用であり得る。経口組成物は、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、および炭酸マグネシウムなどの標準的賦形剤を含み得る。一実施形態において、賦形剤は、医薬品グレードのものである。懸濁液は、活性化合物に加えて、例えば、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトールおよびソルビタンエステル、微結晶セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天、トラガカントなどの懸濁剤、ならびにそれらの混合物を含有し得る。

【0359】

非経口投与（例えば、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下、および動脈内注射および輸液）に適した投与剤形としては、例えば、溶液、懸濁液、分散液、エマルジョンなどが挙げられる。それらはまた、使用の直前に滅菌注射可能媒体中に溶解または懸濁され得る、滅菌固形組成物（例えば、凍結乾燥組成物）の形態で製造され得る。それらは、例えば、当該技術分野で公知の懸濁または分散剤を含有し得る。非経口投与に適した配合成分としては、注射用の水、生理食塩溶液、不揮発油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒などの滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムなどの抗酸化剤；EDTAなどのキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩などの緩衝剤；および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの張度（tonicity）を調整するための薬剤が挙げられる。

10

【0360】

静脈内投与の場合、適切な担体としては、生理食塩水、静菌水、Cremophor E LTM（BASF、ニュージャージー州パーシッパニー所在）またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）が挙げられる。担体は、製造および貯蔵の条件下で安定でなければならず、微生物から防御されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコール）、およびそれらの適切な混合物を含有する溶媒または分散媒であり得る。

【0361】

単独で、または他の適切な成分と組み合わせで、本明細書で提供される組成物は、吸入を介して投与されるエアロゾル（即ち、「噴霧される」）配合剤に作製され得る。エアロゾル配合剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などの、圧縮された許容できる噴射剤の中に入れることができる。

20

【0362】

本明細書に記載される任意の本発明の医薬組成物（および／またはさらなる薬剤）は、制御放出もしくは持続放出手段により、または当業者に周知の送達デバイスにより、投与され得る。例としては、それぞれが全体として参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第3,845,770号；同第3,916,899号；同第3,536,809号；同第3,598,123号；同第4,008,719号；同第5,674,533号；同第5,059,595号；同第5,591,767号；同第5,120,548号；同第5,073,543号；同第5,639,476号；同第5,354,556；および同第5,733,556号に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。そのような投与剤形は、所望の放出プロファイルを多様な割合で提供するために、例えばヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、他のポリマーマトリックス、ゲル、透過性膜、浸透圧系、多層コーティング、微粒子、リポソーム、ミクロスフェア、またはそれらの組み合わせを用いて、1種または複数の有効成分の制御放出または持続放出を提供するのに有用であり得る。本明細書に記載されるものを含む、当業者に公知の適切な制御放出または持続放出配合剤は、本明細書に記載される薬剤の有効成分との使用のために容易に選択され得る。したがって本発明は、非限定的に制御放出または持続放出に適合される錠剤、カプセル、ジェルカプセル、およびカプレットなどの経口投与に適した単一の単位投与剤形を提供する。

30

【0363】

有効成分の制御放出または持続放出は、非限定的にpHの変化、温度の変化、適当な光波長による刺激、酵素の濃度もしくは利用可能性、水の濃度もしくは利用可能性、または他の生理学的条件もしくは化合物を含む、様々な条件により刺激され得る。

40

【0364】

別の実施形態において、制御放出システムは、処置される標的エリアの付近に配置され得、それによりわずかな量の全身用量のみを必要とする（例えば、Goodson, Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)を参照）。Langer, 1

50

990 (Science 249:1527-1533) によるレビューで議論される他の制御放出システムを、用いることもできる。

【0365】

医薬配合剤は、好ましくは無菌である。滅菌は、例えば滅菌濾過膜を通す濾過により、実現され得る。組成物が、凍結乾燥される場合、フィルター滅菌が、凍結乾燥および再構成の前に、または後に実行され得る。

【0366】

投与および投与量

本発明により投与されるキメラタンパク質の実際の用量は、詳細な投与形態および投与方式により異なることは、理解されよう。キメラタンパク質の作用を修飾し得る多くの因子（例えば、体重、性別、食事、投与時間、投与経路、排泄率、対象の状態、薬物併用、遺伝的性質、および反応の感度）が、当業者により考慮され得る。投与は、最大耐容用量内で連続して、または1回もしくは複数回の別個の投与で実施され得る。条件の所与の設定のための最適投与速度は、従来の投薬投与テストを利用して当業者により確定され得る。

【0367】

幾つかの実施形態において、キメラタンパク質の適切な投与量は、約0.01mg/kg～約10g/kg対象体重、約0.01mg/kg～約1g/kg対象体重、約0.01mg/kg～約100mg/kg対象体重、約0.01mg/kg～約10mg/kg対象体重、例えば、約0.01mg/kg、約0.02mg/kg、約0.03mg/kg、約0.04mg/kg、約0.05mg/kg、約0.06mg/kg、約0.07mg/kg、約0.08mg/kg、約0.09mg/kg、約0.1mg/kg、約0.2mg/kg、約0.3mg/kg、約0.4mg/kg、約0.5mg/kg、約0.6mg/kg、約0.7mg/kg、約0.8mg/kg、約0.9mg/kg、約1mg/kg、約1.1mg/kg、約1.2mg/kg、約1.3mg/kg、約1.4mg/kg、約1.5mg/kg、約1.6mg/kg、約1.7mg/kg、約1.8mg/kg、約1.9mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kg、約4mg/kg、約5mg/kg、約6mg/kg、約7mg/kg、約8mg/kg、約9mg/kg、約10mg/kg体重、約100mg/kg体重、約1g/kg体重、約10g/kg体重（それらの間の全ての値および範囲を含む）の範囲にある。

【0368】

キメラタンパク質の個々の用量は、例えば、約0.01mg～約100g、約0.01mg～約75g、約0.01mg～約50g、約0.01mg～約25g、約0.01mg～約10g、約0.01mg～約7.5g、約0.01mg～約5g、約0.01mg～約2.5g、約0.01mg～約1g、約0.01mg～約100mg、約0.1mg～約100mg、約0.1mg～約90mg、約0.1mg～約80mg、約0.1mg～約70mg、約0.1mg～約60mg、約0.1mg～約50mg、約0.1mg～約40mgの有効成分、約0.1mg～約30mg、約0.1mg～約20mg、約0.1mg～約10mg、約0.1mg～約5mg、約0.1mg～約3mg、約0.1mg～約1mg/単位投与剤形、または約5mg～約80mg/単位投与剤形を含む単位投与剤形（例えば、錠剤またはカプセル）で投与され得る。例えば、単位投与剤形は、約0.01mg、約0.02mg、約0.03mg、約0.04mg、約0.05mg、約0.06mg、約0.07mg、約0.08mg、約0.09mg、約0.1mg、約0.2mg、約0.3mg、約0.4mg、約0.5mg、約0.6mg、約0.7mg、約0.8mg、約0.9mg、約1mg、約2mg、約3mg、約4mg、約5mg、約6mg、約7mg、約8mg、約9mg、約10mg、約15mg、約20mg、約25mg、約30mg、約35mg、約40mg、約45mg、約50mg、約55mg、約60mg、約65mg、約70mg、約75mg、約80mg、約85mg、約90mg、約95mg、約100mg、約200mg、約500mg、約1g、約2.5g、約5g、約10g、約25g、約50g、約75g、約100g（それらの間の全ての値および範囲を含む）であり得る。

【0369】

一実施形態において、キメラタンパク質は、約0.01mg～約100g/日、約0.01mg～約75g/日、約0.01mg～約50g/日、約0.01mg～約25g/日、約0.01mg～約10g/日、約0.01mg～約7.5g/日、約0.01mg～約5g/日、約0.01mg～約2.5g/日、約0.01mg～約1g/日、約0.01mg～約100mg/日、約0.1mg～約100mg/日、約0.1mg～約95mg/日、約0.1mg～約90mg/日、約0.1mg～約85mg/日、約0.1mg～約80mg/日、約0.1mg～約75mg/日、約0.1mg～約70mg/日、約0.1mg～約65mg/日、約0.1mg～約60mg/日、約0.1mg～約55mg/日、約0.1mg～約50mg/日、約0.1mg～約45mg/日、約0.1mg～約40mg/日、約0.1mg～約35mg/日、約0.1mg～約30mg/日、約0.1mg～約25mg/日、約0.1mg～約20mg/日、約0.1mg～約15mg/日、約0.1mg～約10mg/日、約0.1mg～約5mg/日、約0.1mg～約3mg/日、約0.1mg～約1mg/日、または約5mg～約80mg/日の量で投与される。様々な実施形態において、キメラタンパク質は、約0.01mg、約0.02mg、約0.03mg、約0.04mg、約0.05mg、約0.06mg、約0.07mg、約0.08mg、約0.09mg、約0.1mg、約0.2mg、約0.3mg、約0.4mg、約0.5mg、約0.6mg、約0.7mg、約0.8mg、約0.9mg、約1mg、約2mg、約3mg、約4mg、約5mg、約6mg、約7mg、約8mg、約9mg、約10mg、約15mg、約20mg、約25mg、約30mg、約35mg、約40mg、約45mg、約50mg、約55mg、約60mg、約65mg、約70mg、約75mg、約80mg、約85mg、約90mg、約95mg、約100mg、約200mg、約500mg、約1g、約2.5g、約5g、約7.5g、約10g、約25g、約50g、約75g、約100g（それらの間の全ての値および範囲を含む）の日用量で投与される。

【0370】

本発明の特定の実施形態によれば、キメラタンパク質を含む医薬組成物は、例えば、1日あたり1回よりも多く（例えば、1日に約2回、約3回、約4回、約5回、約6回、約7回、約8回、約9回、または約10回）、約1日に1回、約1日おき、約2日おき、約1週間に1回、約2週間に1回、約1ヶ月に1回、約2ヶ月に1回、約3ヶ月に1回、約6ヶ月に1回、または約1年に1回投与され得る。

【0371】

併用療法およびさらなる治療薬

様々な実施形態において、本発明の医薬組成物は、さらなる治療薬（複数可）と併せて共投与され得る。共投与は、同時または連続であり得る。

【0372】

一実施形態において、さらなる治療薬および本発明のキメラタンパク質は、対象に同時に投与される。本明細書で用いられる用語「同時に」は、さらなる治療薬とキメラタンパク質が、約30分以下、約20分以下、約10分以下、約5分以下、または約1分以下など、約60分以下の時間的分離を入れて投与される。さらなる治療薬とキメラタンパク質の投与は、単一配合剤（例えば、さらなる治療薬とキメラタンパク質とを含む配合剤）の、または別の配合剤（例えば、さらなる治療薬を含む第一の配合剤、およびキメラタンパク質を含む第二の配合剤）の同時投与によってよい。

【0373】

共投与は、さらなる治療薬とキメラタンパク質の薬理的活性が時間的に重なっており、それにより複合的な治療効果を発揮するような投与のタイミングであれば、治療薬が同時に投与される必要はない。例えば、さらなる治療薬とキメラタンパク質は、連続で投与され得る。本明細書で用いられる用語「連続で」は、さらなる治療薬とキメラタンパク質が約60分よりも長い時間的分離を入れて投与されることを意味する。例えば、さらなる治療薬とキメラタンパク質の連続投与の間の時間は、約60分より長く、約2時間より長く

、約5時間より長く、約10時間より長く、約1日より長く、約2日より長く、約3日より長く、約1週間より長く離れている、約2週間より長く離れている、または約1ヶ月より長く離れていてよい。最適な投与回数は、投与されるさらなる治療薬およびキメラタンパク質の代謝、排泄の速度、および／または薬力学的活性に依存するであろう。さらなる治療薬またはキメラタンパク質細胞のいずれが、最初に投与されてよい。

【0374】

共投与は、治療薬が同じ投与経路により対象に投与される必要もない。むしろ、各治療薬は、任意の適切な経路により、例えば、非経口でまたは非経口でない方法で (non-parenterally)、投与され得る。

【0375】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載されるキメラタンパク質は、別の治療薬と共投与されると、相乗的に作用する。そのような実施形態において、キメラタンパク質とさらなる治療薬は、薬剤が単剤療法の状況で用いられる場合に利用される用量よりも低い用量で投与され得る。

【0376】

幾つかの実施形態において、本発明は、さらなる治療薬としての化学療法剤に関係する。例えば、非限定的に、本発明のキメラタンパク質と化学療法剤のそのような組み合わせは、本明細書の他の箇所に記載される通り、癌の処置に用途を見出す。化学療法剤の例としては、チオテパおよびCYTOXANシクロホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドパ、カルボコン、メツレドパ (meturedopa) およびウレドパ (uredopa) などのアジリジン類；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホルアミドおよびトリメチロールメラミン (trimethylolmelamine) を含むエチレンジアミン類およびメチラメラミン類 (methyllamelamines)；アセトゲニン類 (例えば、ブラタシンおよびブラタシノン)；カンプトテシン (合成類似体トポテカンを含む)；ブリオスタチン；カリストアチン；CC-1065 (そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成類似体を含む)；クリプトフィシン類 (例えば、クリプトフィシン1およびクリプトフィシン8)；ドラスタチン；デュオカルマイシン (合成類似体、KW-2189およびCB1-TM1を含む)；エレウテロビン (eleutherobin)；パンクラチスタチン；サルコジクチン (sarcodictyin)；スポンジスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド (cholorophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベムビシン (novembichin)、フェネステリン (phenesterine)、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどの窒素マスタード類；カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチンおよびラニムヌスチンなどのニトロソウレア類；エンジン抗生物質などの抗生物質 (例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシガンマ1IおよびカリケアマイシンオメガI1 (例えば、Angew Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994) 参照)；ダイネマイシンAを含むダイネマイシン；クロドロネートなどのビスフォスフォネート類；エスペラマイシン；ならびにネオカルチノスタチン発色団および関連する色素タンパク質エネジイン抗生物質発色団)、アクラシノマイシン類、アクチノマイシン、アントラマイシン (anthramycin)、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン (carabycin)、カルミノマイシン (caminomycin)、カルジノフィリン、クロモマイシン類、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6-ジアゾ-5-オキソ-1-ノルロイシン、アドリアマイシン／ドキソルビシン (モルホリノードキソルビシン、シアノモルホリノードキソルビシン、2-ピロリノードキソルビシンおよびデオキシドキソルビシンを含む)、エビルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンCなどのマイトマイシン類、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン (

10

20

30

40

50

potfiromycin)、プロマイシン、ケラマイシン(quelamycin)、ロドルビシン(rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン；メトトレキサートおよび5-フルオロウラシル(5-FU)などの代謝拮抗物質；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクシウリジンなどのピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン類；アミノグルテチミド(minoglutethimide)、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎剤；フロリン酸(frolinic acid)などの葉酸補給剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビスアントレン；エダトラキサート(edatraxate)；デメコルチン；ジアジコン；エルホルニチン(elifornithine)；酢酸エリプチニウム(elliptinium acetate)；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシンおよびアンサマイトシンなどのメイタンシノイド類；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール(mopidanmol)；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット(phenamet)；ピラルビシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK多糖類複合体(JHS Natural Products、オレゴン州ユージーン所在)；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン(sizofuran)；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン(例えば、T-2トキシン、ベラクリン(verracurin)A、ロリジンAおよびアングイジン(anguidine))；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン(gacytosine)；アラビノシド(「Ara-C」)；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド類、例えば、TAXOLパクリタキセル(Bristol-Myers Squibb Oncology、ニュージャージー州プリンストン所在)、ABRAXANE(クレモール不含)、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤(American Pharmaceutical Partners、イリノイ州ショームバーグ111所在)、およびTAXOTEREドセタキセル(Rhone-Poulenc Rorer、フランス、アントニー所在)；クロラムブシル；GEMZARゲムシタビン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、オキサリプラチンおよびカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；白金；エトポシド(VP-16)；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；NAVELBINE ビノレルビン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；XELODA；イバンドロネート；イリノテカン(Camptosar、CPT-11)(イリノテカンと5-FUおよびロイコボリンとの処置レジメンを含む)；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン(DMFO)；レチノイン酸などのレチノイド類；カペシタビン；コンブレタスタチン；ロイコボリン(LV)；オキサリプラチン処置レジメン(FOLFOX)を含む、オキサリプラチン；ラパチニブ(Tykerb)；細胞増殖を低減するPKC- α 、Raf、H-Ras、EGFR(例えば、エルロチニブ(Tarceva))およびVEGF-Aの阻害剤；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。加えて、処置の方法は、放射線の使用をさらに含み得る。加えて、処置の方法は、光線力学療法の使用をさらに含み得る。

【0377】

非限定的に感染性疾患の適用を含む幾つかの実施形態において、本発明は、さらなる治療薬としての抗感染薬に関係する。幾つかの実施形態において、抗感染薬は、非限定的にアバカビル、アシクロビル、アデフォビル、アンブレナビル、アタザナビル、シドフォビル

10

20

30

40

50

、ダルナビル、デラビルジン、ジダノシン、ドコサノール、エファビレンツ、エルビテグラビル、エムトリシタビン、エンフビルチド、エトラビルン、ファムシクロビル、およびホスカルネットを含む抗ウイルス薬である。幾つかの実施形態において、抗感染薬は、非限定的にセファロスポリン系抗生物質（セファレキシン、セフロキシム、セファドロキシル、セファゾリン、セファロチン、セファクロル、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、およびセフトピプロール）；フルオロキノロン系抗生物質（シプロ、Levofloxacin、フロキシム、Tequin、アベロックス、およびノルフロックス）；テトラサイクリン系抗生物質（テトラサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、およびドキシサイクリン）；ペニシリン系抗生物質（アモキシシリン、アンピシリン、ペニシリンV、ジクロキサシリン、カルベニシリン、バンコマイシン、およびメチシリン）；モノバクタム系抗生物質（アズトレオナム）；およびカルバペネム系抗生物質（エルタペネム、ドリペネム、イミペネム／シラスタチン、およびメロペネム）を含む抗菌剤である。幾つかの実施形態において、抗感染薬としては、抗マラリア薬（例えば、クロロキン、キニン、メフロキン、プリマキン、ドキシサイクリン、アルテメーテル／ルメファントリン、アトバコン／プログアニルおよびスルファドキシム／ピリメタミン）、メトロニダゾール、チニダゾール、イベルメクチン、パモ酸ピランテル、およびアルベンダゾールが挙げられる。

【0378】

非限定的に自己免疫適用を含む幾つかの実施形態において、さらなる治療薬は、免疫抑制剤である。幾つかの実施形態において、免疫抑制剤は、ステロイド性抗炎症剤または非ステロイド性抗炎症剤（NSAID）などの抗炎症剤である。ステロイド、特に副腎皮質ステロイドおよびその合成類似体は、当該技術分野で周知である。本発明において有用な副腎皮質ステロイドの例としては、ヒドロキシトリアムシノロン、アルファメチルデキサメタゾン、ベータメチルベタメタゾン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、安息香酸ベタメタゾン、ジプロピオン酸ベタメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、吉草酸クロベタゾール、デソニド、デスオキシメタゾン、デキサメタゾン、二酢酸ジフロラゾン、吉草酸ジフルコルトロン、フルアドレノロン、フルクロロロンアセトニド、ピバル酸フルメタゾン、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、フルコルチン（flucortine）ブチルエステル、フルオコルトロン、酢酸フルプレドニデン（フルプレドニリデン）、フルランドレノロン、ハルシノニド、酢酸ヒドロコルチゾン、酪酸ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、トリアムシノロンアセトニド、コルチゾン、コルトドキソン、フルセトニド、フルドロコルチゾン、二酢酸ジフルオロゾン、フルラドレノロン（fluradrenolone）アセトニド、メドリゾン、アムシナフェル、アムシナフィド、ベタメタゾンおよびそのエステルのバランス（balance）、クロロプレドニゾン、クロコルトロン（clocortelone）、クレスシノロン（clescino lone）、ジクロリゾン、ジフルプレドナート、フルクロロニド、フルニソリド、フルオロメタロン、フルペロロン、フルプレドニゾロン、ヒドロコルチゾン、メプレドニゾン、パラメタゾン、プレドニゾロン、プレドニゾン、ジプロピオン酸ベクロメタゾンが挙げられるが、これらに限定されない。本発明で用いられ得る（NSAIDS）としては、サリチル酸、アセチルサリチル酸、サリチル酸メチル、サリチル酸グリコール、サリチルミド（salicylmide）、ベンジル-2,5-ジアセトキシ安息香酸、イブプロフェン、フリンダク（fulindac）、ナプロキセン、ケトプロフェン、エトフェナマート、フェニルブタゾン、およびインドメタシンが挙げられるが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、免疫抑制剤は、アルキル化剤などの細胞増殖阻害薬、代謝抑制剤（例えば、アザチオプリン、メトトレキサート）、細胞障害性抗生物質、抗体（例えば、バシリキシマブ、ダクリズマブおよびムロモナブ）、抗イムノフィリン剤（例えば、シクロスボリン、タクロリムス、シロリムス）、インターフェロン（interferons）、オピオイド、TNF結合タンパク質、ミコフェノラート、および低分子生物製剤（例えば、フィンゴリモド、ミリオシン）であり得る。さらなる抗炎症剤は、例えば内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第4,537,776号に記載されている。

10

20

30

40

50

【0379】

幾つかの実施形態において、本発明は、さらなる治療薬として肥満を処置するために用いられる様々な薬剤に関係する。肥満を処置するために用いられる例示的な薬剤としては、オルリスタット（例えば、ALLI、XENICAL）、ロラカセリン（例えば、BELVIQ）、フェンテルミン・トピラマート（例えば、QSYMIA）、シブトラメ（sibutramme）（例えば、REDUCTILまたはMERJIDIA）、リモナバント（ACOMPLLA）、エキセナチド（例えば、BYETTA）、プラムリンチド（例えば、SYMLIN）フェンテルミン、ベンズフェタミン、ジエチルプロピオン、フェンジメトラズム（phendimetrazme）、ブプロピオン、およびメトホルミンが挙げられるが、これらに限定されない。食物中の特異的な栄養素を吸収する身体能力を妨害する薬剤、例えばオルリスタット（例えば、ALLI、XENICAL）、グルコマンナン、およびグアールガムが、さらなる薬剤である。食欲を抑制する薬剤、例えばカテコールアミンおよびその誘導体（フェンテルミンおよび他のアンフェタミン系薬物など）、様々な抗うつ剤および気分安定剤（例えば、ブプロピオンおよびトピラマート）、食欲減退薬（例えば、デキセドリン、ジゴキシン）もまた、さらなる薬剤である。身体の代謝を上昇させる薬剤もまた、さらなる薬剤である。

【0380】

幾つかの実施形態において、さらなる治療薬は、食欲抑制剤、神経伝達物質再取り込み阻害剤、ドーパミン作動性アゴニスト、セロトニン作動性アゴニスト、GABA作動性シグナル伝達のモジュレーター、抗けいれん薬、抗うつ剤、モノアミンオキシダーゼ阻害剤、サブスタンスP（NK1）受容体アンタゴニスト、メラノコルチン受容体アゴニストおよびアンタゴニスト、リパーゼ阻害剤、脂肪吸収の阻害剤、エネルギー取込みまたは代謝の調節物質、カンナビノイド受容体モジュレーター、依存症を処置する薬剤、メタボリックシンドロームを処置する薬剤、ペロキシソーム増殖剤活性化受容体（PPAR）モジュレーター、ジペプチジル（dipeptidyl）ペプチダーゼ4（DPP-4）アンタゴニスト、心臓血管疾患を処置するための薬剤、トリグリセリドレベル上昇を処置するための薬剤、低HDLを処置するための薬剤、高コレステロール血症を処置するための薬剤、ならびに高血圧を処置するための薬剤のうちから選択され得る。心臓血管疾患のための幾つかの薬剤としては、スタチン類（例えば、ロバスタチン、アトルバスタチン、フルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチンおよびプラバスタチン）およびオメガ-3剤（例えば、LOVAZA、EPANQVA、VASCERA、エステル化オメガ-3、一般には魚油、オキアミ油、藻類オイル）が挙げられる。幾つかの実施形態において、さらなる薬剤は、アンフェタミン、ベンゾジアゼピン、スルホニルウレア（sulfonylureas）、メグリチニド、チアゾリジンジオン、ビグアニド、ベータブロッカー、XCE阻害剤、利尿剤、硝酸塩、カルシウムチャネルブロッカー、フェンテルミン（phenelamine）、シブトラミン、ロラカセリン（lorcaserin）、セチリスタット、リモナバント、タラナバント、トピラマート、ガバペンチン、バルプロ酸塩、ピガバトリン、ブプロピオン、チアガビン、セルトラリン、フルオキセチン、トラゾドン、ゾニサミド、メチルフェニデート、バレニクリン、ナルトレキソン、ジエチルプロピオン、フェンジメトラジン、レパグリニド（repaglinide）、ナテグリニド、グリメピリド、メトホルミン、ピオグリタゾン、ロシグリタゾン、およびシタグリブチンのうちから選択され得る。

【0381】

幾つかの実施形態において、本発明は、さらなる治療薬として糖尿病を処置するために用いられる薬剤に関係する。例示的な抗糖尿病薬としては、スルホニルウレア（例えば、DYMELOS（アセトヘキサミド）、DIABINASE（クロルプロパミド）、ORINASE（トルブタミド）、およびTOLINASE（トラザミド）、GLUCOTROL（グリピジド）、GLUCOTROL XL（長期放出性）、DIABETA（グリブリド）、MICRONASE（グリブリド）、GLYNASE PRESTAB（グリブリド）、およびAMARYL（グリメピリド））；ビグアニド（例えば、メトホルミン（

10

20

30

40

50

GLUCOPHAGE、GLUCOPHAGE XR、RIOMET、FORTAMET
 、およびGLUMETZA)) ;チアゾリジンジオン(例えば、ACTOS(ピオグリタ
 ザン)およびAVANDIA(ロシグリタゾン) ;アルファグルコシダーゼ阻害剤(例え
 ば、PRECOSE(アカルボース)およびGLYSET(ミグリトール) ;メグリチニ
 ド(例えば、PRANDIN(レパグリニド)およびSTARLIX(ナテグリニド))
 ;ジペプチジルペプチダーゼIV(DPP-IV)阻害剤(例えば、JANUVIA(シ
 タグリプチン)、NESINA(アログリプチン)、ONGLYZA(サキサグリプチン
)、およびTRADJENTA(リナグリプチン)) ;ナトリウム-グルコース共輸送体
 2(SGLT2)阻害剤(例えば、INVOKANA(カナグリフロジン(canagli
 fozin)) ;および混合丸薬(例えば、グリブリド(スルホニルウレア)とメトホル
 ミンを組み合わせたGLUCOVANCE、グリピジド(スルホニルウレア)とメトホル
 ミンを組み合わせたMETAGLIP、およびメトホルミンとロシグリタゾン(AVA
 NDIA)の両方を1つの丸薬中で使用するAVANDAMET、KAZANO(アログ
 リプチンおよびメトホルミン)、OSEN(アログリプチン+ピオグリタゾン)、ME
 TFORMINE経口薬、ACTOS経口薬、BYETTA皮下薬、JANUVIA経口
 薬、WELCHOL経口薬、JANUMET経口薬、グリピジド経口薬、グリメピリド経
 口薬、GLUCOPHAGE経口薬、LANTUS皮下薬、グリブリド経口薬、ONGL
 YZA経口薬、AMARYL経口薬、LANTUS SOLOSTAR皮下薬、BYDU
 REON皮下薬、LEVEMIR FLEXPEN皮下薬、ACTOPLUS MET経口
 薬、GLUMETZA経口薬、TRADJENTA経口薬、プロモクリプチン経口薬、K
 OMBIGLYZE XR経口薬、INVOKANA経口薬、PRANDIN経口薬、L
 EVEMIR皮下薬、PARLODEL経口薬、ピオグリタゾン経口薬、NOVOLOG
 皮下薬、NOVOLOG FLEXPEN皮下薬、VICTOZA 2-PAK皮下薬、H
 UMALOG皮下薬、STARLIX経口薬、FORTAMET経口薬、GLUCOVA
 NCE経口薬、GLUCOPHAGE XR経口薬、NOVOLOG Mix 70-30
 FLEXPEN皮下薬、GLYBURIDE-METFORMIN経口薬、アカルボース
 経口薬、SYMLINPEN 60皮下薬、GLUCOTROL XL経口薬、NOVOL
 IN R注射薬、GLUCOTROL経口薬、DUETACT経口薬、シタグリプチン経
 口薬、SYMLINPEN 120皮下薬、HUMALOG KWIKPEN皮下薬、JA
 NUMET XR経口薬、GLIPIZIDE-METFORMIN経口薬、CYCLO
 SET経口薬、HUMALOG MIX 75-25皮下薬、ナテグリニド経口薬、HUM
 ALOG Mix 75-25 KWIKPEN皮下薬、HUMULIN 70/30皮下
 薬、PRECOSE経口薬、APIDRA皮下薬、Humulin R注、Jentad
 ueto経口薬、Victoza 3-Pak皮下薬、Novolin 70/30皮下
 薬、NOVOLIN N皮下薬、インスリン・デテムル皮下薬、グリブリド・マイクロナイ
 ズド経口薬、GLYNASE経口薬、HUMULIN N皮下薬、インスリン・グラルギ
 ン皮下薬、RIOMET経口薬、ピオグリタゾン-メトホルミン経口薬、APIDRA
 SOLOSTAR皮下薬、インスリン・リスプロ皮下薬、GLYSET経口薬、HUMU
 LIN 70/30 Pen皮下薬、コレセバラム経口薬、シタグリプチン-メトホルミン
 経口薬、DIABETA経口薬、レギュラーヒトインスリン注、HUMULIN N Pe
 n皮下薬、エキセナチド皮下薬、HUMALOG Mix 50-50 KWIKPEN皮
 下薬、リラグチド皮下薬、KAZANO経口薬、レパグリニド経口薬、クロルプロパミド
 経口薬、インスリン・アスパルト皮下薬、NOVOLOG Mix 70-30皮下薬、H
 UMALOG Mix 50-50皮下薬、サキサグリプチン経口薬、ACTOPLUS
 Met XR経口薬、ミグリトール経口薬、NPH ヒト組換え体インスリン皮下薬、イン
 スリンNPHおよびレギュラーヒト皮下薬、トラザミド経口薬、ミフェプリストン経口薬
 、インスリン・アスパルト プロタム-インスリン・アスパルト皮下薬、レパグリニド-
 メトホルミン経口薬、サキサグリプチン-メトホルミン経口薬、リナグリプチン-メトホル
 ミン経口薬、NESINA経口薬、OSEN(アログリプチン+ピオグリタゾン)、トルブタミド経口薬、インスリ
 ン・リスプロ・プロタミンおよびリスプロ皮下薬、プラムリンチド皮下薬、インスリン・

10

20

30

40

50

グルリシン皮下薬、ピオグリタゾン－グリメピリド経口薬、PRANDIMET経口薬、NOVOLOG PenFill皮下薬、リナグリプチン経口薬、エキセナチド・ミクロスフェア皮下薬、KORLYM経口薬、アログリプチン経口薬、アログリプチン－ピオグリタゾン経口薬、アログリプチン－メトホルミン経口薬、カナグリフロジン経口薬、Lispro (HUMALOG)；アスパルト (NOVOLOG)；グルリジン (APIDRA)；レギュラー (NOVOLIN RまたはHUMULIN R)；NPH (NOVOLIN NまたはHUMULIN N)；グラルギン (LANTUS)；デテミル (LEVEMIR)；HUMULINまたはNOVOLIN 70／30；ならびにNOVOLOG Mix 70／30 HUMALOG Mix 75／25または50／50が挙げられるが、これらに限定されない。

【0382】

幾つかの実施形態において、本発明は、さらなる治療薬としてMSを処置するために用いられる薬剤に関係する。例示的なMS薬としては、非限定的に、様々な疾患修飾治療薬が挙げられる：

【表1】

一般名	商品名／会社	頻度／送達経路／通常の用量
テリフルノミド	AUBAGIO (GENZYME)	連日；丸薬を経口摂取；7mg または 14mg
インターフェロンベータ-1a	AVONEX (BIOGEN IDEC)	週 1 回；筋肉内（筋肉の中へ）注射；30 mcg
インターフェロンベータ-1b	BETASERON (BAYER HEALTHCARE PHARMACEUTICALS, INC.)	1 日おき；皮下（皮膚の下へ）注射；250mcg
グラチラマー酢酸塩	COPAXONE (TEVA NEUROSCIENCE)	連日；皮下（皮膚の下へ）注射；20mg (20,000mcg) または週 3 回皮下（皮膚の下へ）注

一般名	商品名／会社	頻度／送達経路／通常の用量
		射；40mg (40,000mcg)
インターフェロンベータ-1b	EXTAVIA (NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORP.)	1 日おき；皮下（皮膚の下へ）注射；250mcg
フィンゴリモド	GILENYA (NOVARTIS PHARMACEUTICALS CORP.)	連日；経口カプセル服用；0.5 mg
アレムツズマブ（抗 CD52 モノクローナル抗体）	LEMTRADA (GENZYME)	5 日連続で静脈内輸液、1 年後に 3 日連続で静脈内輸液 (12 mg)
ミトキサントロン	NOVANTRONE (EMD SERONO)	医療施設内で IV 輸液により 1 年間に 4 回。2 ～ 3 年間にわたりおよそ 8 ～ 12 回の生涯累積用量限界 (140 mg/m ²)
ペグ化インターフェロンベータ-1a	PLEGRIDY (BIOGEN IDEC)	14 日ごと；皮下（皮膚の下へ）注射；125 mcg
インターフェロンベータ-1a	REBIF (EMD SERONO, INC.)	週 3 回；皮下（皮膚の下へ）注射；44 mcg
フマル酸ジメチル (BG-12)	TECFIDERA (BIOGEN IDEC)	1 日 2 回；経口カプセル；1 週間に 120mg、その後 240mg
ナタリズマブ（ヒト化モノクローナル抗体 VLA-4 アンタゴニスト）	TYSABRI (BIOGEN IDEC)	登録された輸液施設での IV 輸液により 4 週間ごと；300 mg
開発中の DMT		
アミロリド（酸感受性イオンチャンネル-1、上皮ナトリウムチャンネル Na ⁺ /H ⁺ 交換物質を標的とする）	PAR PHARMACEUTICAL、PERRIGO COMPANY、SIGMAPHARM LABORATORIES	経口
ATX-MS-1467（ミエリン塩基性タンパク質への主要組織適合複合体クラス II T 細胞応答を標的とする）	APITOPE / MERCK SERONO	皮内、皮下
BAF312（スフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) 受容体サブタイプ S1P1 および S1P5 の B 細胞分布、T 細胞分布を標的とする）	NOVARTIS PHARMA	経口

10

20

30

40

50

一般名	商品名／会社	頻度／送達経路／通常の用量
BGC20-0134(炎症促進性および抗炎症性サイトカインを標的とする)	BTG PLC	経口
BIIB033(LINGO-1(「ロイシンリッチリピートおよび免疫グロブリン様ドメイン含有Nogo 受容体相互作用タンパク質」を標的とする)	BIOGEN	静脈輸液を第一相および第二相治験で使用。皮下注射を第一相治験で使用。
クラドリビン (CD4+T 細胞、DNA 合成および修復、E-セレクチン、細胞内接着分子-1、炎症促進性サイトカインインターロイキン 2 およびインターロイキン 2R、炎症促進性サイトカインインターロイキン 8 および RANTES、サイトカイン分泌、単球およびリンパ球遊走を標的とする)	MERCK SERONO	経口
シクロホスファミド (T 細胞、詳細には CD4+ヘルパーT 細胞、B 細胞を標的とする)	BAXTER HEALTHCARE CORPORATION	経口、月 1 回の静脈内パルス
ダクリズマブ(T 細胞の CD25 免疫モジュレーターを標的とするヒト化モノクローナル抗体)	BIOGEN IDEC/ABBVIE BIOTHERAPEUTICS	月 1 回の IM 注射を計画
ダルファムブリジン(電位依存性カリウムチャネル、デゲネリン/上皮ナトリウムチャネル、サブユニット Cavbeta3 を含む L 型カルシウムチャネルを標的とする)	ACORDA THERAPEUTICS / BIOGEN IDEC	12 時間ごとに 1 錠 (持続放出)、10mg を 1 日 2 回
ドロナビノール(カンナビノイド受容体 CB1、カンナビノイド受容体 CB2 を標的とする)	ABBVIE INC.	経口

10

20

30

40

50

一般名	商品名／会社	頻度／送達経路／通常の用量
フィラテグラスト(アルファ4ベータ1インテグリンを標的とする)	GLAXOSMITHKLINE	経口
GNbAC1MSRV-Env (MS 関連レトロウイルスの外被タンパク質を標的とする)	GENEURO SA / SERVIER	静脈内輸液
イデベノン(活性酸素を標的とする)	SANTHERA PHARMACEUTICALS	PPMS についての臨床試験での経口用量は、2250mg/日(750mg 用量、1日3回)
イミレクロイセル-T(ミエリン特異性自己反応性 T 細胞を標的とする)	OPEXA THERAPEUTICS / MERCK SERONO	製造業者の情報に従い1年に5回皮下投与
ラキニモド	TEVA	0.6mg または 1.2mg 経口錠の連日摂取を計画
マシチニブ (KIT (幹細胞因子 ; c-KIT と呼ばれる) 受容体を標的とし、他のチロシンキナーゼ肥満細胞を選択する)	AB SCIENCE	経口
MEDI-551 (B 細胞受容体複合体の一部であり B 細胞活性化のための閾値を決定する際に機能する B 細胞特異性抗原である、CD19、B 細胞プラズマブラスト、CD19 を発現し (しかし CD20 を発現しない) 多量の抗体を分泌する B 細胞を標的とする ; プラズマブラストの欠失は、病原性自己抗体を含む自己免疫疾患において有用であり得る)	MEDIMMUNE	静脈内、皮下
ミノサイクリン (T 細胞、ミクログリア、白血球遊走、マトリックスメタロプロテイナーゼを標的とする)	様々	ペレット充填カプセルおよび経口懸濁剤として経口利用
MIS416 (SPMS における調節	INNATE	静脈内

10

20

30

40

50

一般名	商品名／会社	頻度／送達経路／通常の用量
の緩んだ免疫系活性をリモデリングし得る、自然免疫系、自然免疫系の病原関連性分子パターン認識受容体、自然免疫系の骨髄細胞を標的とする)	IMMUNOTHERAPEUTICS	
ミコフェノール酸モフェチル（プリン合成を標的とする)	GENENTECHにより製造	経口
ナルトレキソン(オピオイド受容体、Toll 様受容体 4 を標的とする)	様々	「低用量ナルトレキソン」(または「LDN」)として経口形態で低用量（3～4.5mg/日）で投与
オクレリズマブおよびオファツムマブ（CD20 B 細胞抑制を標的とするヒト化モノクローナル抗体)	ROCHE / GSK	静脈内輸液を計画
ONO-4641(スフィンゴシン 1 リン酸受容体を標的とする)	ONO PHARMACEUTICAL CO.	経口
フェニトイン(ナトリウムチャンネルを標的とする)	PFIZER	静脈内、筋肉内（あまり好適でない選択肢）、経口
ボネシモド	ACTELION	未定
ラルテグラビル(レトロウイルススインテグララーゼ、ヘルペスウイルス DNA パッケージングターミナーゼを標的とする)	MERCK	製造業者の情報に従い経口 400mg 錠を 1 日 2 回
RHB-104	REDHILL BIOPHARMA LIMITED	95mg クラリスロマイシン、45mg リファブチン、および 10mg クロファジミン
リルゾール(グルタミン酸作動性神経伝達、グルタミン酸取込みおよび放出、電位依存性ナトリウムチャンネル、プロテインキナーゼ C を標的とする)	COVIS PHARMA / SANOFI	経口

【0383】

幾つかの実施形態において、本発明は、輸血との併用療法に関する。例えば、本発明の組成物は、輸血を補足し得る。幾つかの実施形態において、本発明は、鉄補給剤との併用療法に関する。

【0384】

幾つかの実施形態において、本発明は、1 種または複数の EPO 系薬剤との併用療法に関する。例えば、本発明の組成物は、他の EPO 系薬剤へのアジュバントとして用いられ得る。幾つかの実施形態において、本発明の組成物は、他の EPO 系薬剤への維持療法として用いられる。他の EPO 系薬剤としては、以下のものが挙げられる：非限定的に、ダル

ベポエチン (ARANESP)、EPOCEPT (LUPIN PHARMA)、NANOKINE (NANOGEN PHARMACEUTICAL)、EPOFIT (INTAS PHARMA)、EPOGEN (AMGEN)、EPOGIN、EPREX、(JANSSEN-CILAG)、BINOCRIT (SANDOZ)、PROCRITを含む、エポエチンアルファ；非限定的に、NEORECORMON (HOFFMANN-LA ROCHE)、RECORMON、メトキシポリエチレングリコールエポエチンペーター (MIRCERA、ROCHE)を含む、エポエチンペーター；非限定的に、DYNEPO (赤血球生成刺激タンパク質、SHIRE PLC)を含む、エポエチンデルタ；非限定的にEPOMAXを含む、エポエチンオメガ；非限定的に、SILAPO (STADA) およびRETACRIT (HOSPIRA)を含む、エポエチンゼッタ、ならびに他のEPO、例えば非限定的にEPOCEPT (LUPIN PHARMACEUTICALS)、EPOTRUST (PANACEA BIOTEC LTD)、ERYPROSAFE (BIOCON LTD.)、REPOITIN (SERUM INSTITUTE OF INDIA LIMITED)、VINTOR (EMCURE PHARMACEUTICALS)、EPOFIT (INTAS PHARMA)、ERYKINE (INTAS BIOPHARMACEUTICA)、WEPOX (WOCKHARDT BIOTECH)、ESPOGEN (LG LIFE SCIENCES)、RELIPOIETIN (RELIANCE LIFE SCIENCES)、SHANPOIETIN (SHANTHA BIOTECHNICS LTD)、ZYROP (CADILA HEALTH CARE LTD.)、EPIAO (RHUEPO) (SHENYANG SUNSHINE PHARMACEUTICAL CO. LTD)、CINNAPOIETIN (CINNAGEN)。

【0385】

幾つかの実施形態において、本発明は、1つまたは複数の免疫調整剤、例えば、非限定的に、免疫チェックポイントをモジュレートする薬剤、との併用療法に関する。様々な実施形態において、免疫調整剤は、PD-1、PD-L1、およびPD-L2の1つまたは複数を標的とする。様々な実施形態において、免疫調整剤は、PD-1阻害剤である。様々な実施形態において、免疫調整剤は、PD-1、PD-L1、およびPD-L2の1つまたは複수에特異的な抗体である。例えば、幾つかの実施形態において、免疫調整剤は、非限定的に、ニボルマブ (ONO-4538/BMS-936558、MDX1106、OPDIVO、BRISTOL MYERS SQUIBB)、ペンブロリズマブ (KEYTRUDA、MERCK)、ビジリズマブ (CT-011、CURE TECH)、MK-3475 (MERCK)、BMS 936559 (BRISTOL MYERS SQUIBB)、MPDL3280A (ROCHE)などの抗体である。幾つかの実施形態において、免疫調整剤は、CD137またはCD137Lの1つまたは複数を標的とする。様々な実施形態において、免疫調整剤は、CD137またはCD137Lの1つまたは複수에特異的な抗体である。例えば、幾つかの実施形態において、免疫調整剤は、非限定的に、ウレルマブ (BMS-663513および抗4-1BB抗体としても公知)などの抗体である。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、固形腫瘍および／またはB細胞非ホジキンリンパ腫および／または頭頸部癌および／または多発性骨髄腫の処置のためにウレルマブと（場合によりニボルマブ、リリルマブおよびウレルマブのうちの1つまたは複数と）併用される。幾つかの実施形態において、免疫調整剤は、CTLA-4、AP2M1、CD80、CD86、SHP-2、およびPPP2R5Aの1つまたは複数を標的とする薬剤である。様々な実施形態において、免疫調整剤は、CTLA-4、AP2M1、CD80、CD86、SHP-2、およびPPP2R5Aの1つまたは複수에特異的な抗体である。例えば、幾つかの実施形態において、免疫調整剤は、非限定的に、イピリムマブ (MDX-010、MDX-101、Yervoy、BMS)および／またはトレメリムマブ (Pfizer)などの抗体である。幾つかの実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、黒色腫、前立腺癌、および肺癌の1つまたは複数の処置のためにイピリムマブと（場合によりバビツキシマブと）併用される。様々な実施形態において

10

20

30

40

50

、免疫調整剤は、CD20を標的とする。様々な実施形態において、免疫調整剤は、CD20に特異的な抗体である。例えば、幾つかの実施形態において、免疫調整剤は、非限定的に、オフアツムマブ（GENMAB）、オビヌツズマブ（GAZYVA）、AME-133v（APPLIED MOLECULAR EVOLUTION）、オクレリズマブ（GENENTECH）、TRU-015（TRUBION/EMERGENT）、ベルツズマブ（IMMU-106）などの抗体である。

【0386】

幾つかの実施形態において、本発明は、内容全体が全体として参照により本明細書に組み入れられる、WO2013/10779、WO2015/007536、WO2015/007520、WO2015/007542、およびWO2015/007903に記載された1種または複数のキメラ物質との併用療法に関する。

10

【0387】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載されるキメラタンパク質は、修飾された誘導体、即ち共有結合が組成物の活性を妨害しないような、組成物への任意のタイプの分子の共有結合による誘導体を包含する。例えば、非限定的に、誘導体は、とりわけ、グリコシル化、脂質化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、公知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解性切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結などにより修飾された組成物を含む。数多くの化学修飾のいずれかが、非限定的に特異的な化学的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成を含む、公知の技術により実施され得る。

20

【0388】

さらに別の実施形態において、本明細書に記載されるキメラタンパク質は、例示的实施形態において、毒素、化学療法剤、放射性同位体、およびアポトーシスまたは細胞死を誘発する薬剤を含む、細胞障害剤をさらに含む。そのような薬剤は、本明細書に記載される組成物にコンジュゲートされ得る。

【0389】

本明細書に記載されるキメラタンパク質はしたがって、翻訳後修飾されて、化学的リンカーなどのエフェクター部分、例えば蛍光色素、酵素、基質、生物発光材料、放射性材料、および化学発光部分などの検出可能な部分、または例えばストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒、細胞障害剤、および放射性材料などの機能的部分を付加し得る。

30

【0390】

例示的な細胞障害剤としては、メトトレキサート、アミノプテリン、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン；メクロレタミン、チオエパ（thioepa）クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）、マイトマイシンC、ロムスチン（CCNU）、1-メチルニトロソウレア、シクロホスファミド（cyclophosphamide）、メクロレタミン、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、シスジクロロジアミン白金（II）（DDP）シスプラチンおよびカルボプラチン（パラプラチン）などのアルキル化剤；ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、デトルビシン、カルミノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロンおよびピサントレンを含むアントラサイクリン；ダクチノマイシン（アクチノマイシンD）、プレオマイシン、カリケアマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（AMC）を含む抗生物質；ならびにピンカアルカロイド、ピンクリスチンおよびビンブラスチンなどの有糸分裂阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。他の細胞障害剤としては、パクリタキセル（Taxol）、リシン、緑膿菌外毒素、ゲムシタビン、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシウレア、アスパラギナーゼ、副腎皮質ステロイド、ミトタン（O, P'-（DDD））、インターフェロン、およびこれらの細胞障害剤の混合物

40

50

が挙げられる。

【0391】

さらなる細胞障害剤としては、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ゲムシタビン、カリケアマイシン、ドキシソルビシン、5-フルオロウラシル、マイトマイシンC、アクチノマイシンD、シクロホスファミド、ビンクリスチン、ブレオマイシン、VEGFアンタゴニスト、EGFRアンタゴニスト、プラチン (platin s)、Taxol、イリノテカン、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、ロイコボリン、ステロイド類、シクロホスファミド、メルファラン、ピンカアルカロイド (例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルビン)、ムスチン、チロシンキナーゼ阻害剤、放射線療法剤、性ホルモンアンタゴニスト、選択的アンドロゲン受容体モジュレーター、選択的エストロゲン受容体モジュレーター、PDGFアンタゴニスト、TNFアンタゴニスト、IL-1アンタゴニスト、インターロイキン (例えば、IL-12またはIL-2)、IL-12Rアンタゴニスト、毒素結合モノクローナル抗体、腫瘍抗原特異的モノクローナル抗体、Erbibitux、Avastin、ペルツズマブ、抗CD20抗体、Rituxan、オクレリズマブ、オファツムマブ、DXL625、HERCEPTIN (登録商標) などの化学療法剤、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。リシン、ジフテリア毒素、および緑膿菌毒素などの植物および細菌由来の毒性酵素を、治療薬 (例えば、抗体) にコンジュゲートして、細胞型に特異的な殺傷試薬を生成できる (Youle, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5483 (1980); Gilliland, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:4539 (1980); Krollick, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5419 (1980))。

【0392】

他の細胞障害剤としては、Goldenbergによる米国特許第6,653,104号に記載された細胞障害性リボヌクレアーゼが挙げられる。本発明の実施形態はまた、アルファまたはベータ粒子を放出する放射性核種が錯体形成剤の使用により、またはそれを使用せず、キメラタンパク質に安定してカップリングされた、放射性イムノコンジュゲートに関する。そのような放射性核種としては、リン-32、スカンジウム-47、銅-67、ガリウム-67、イットリウム-88、イットリウム-90、ヨウ素-125、ヨウ素-131、サマリウム-153、ルテチウム-177、レニウム-186またはレニウム-188などのベータ放射体、およびアスタチン-211、鉛-212、ビスマス-212、ビスマス-213またはアクチニウム-225などのアルファ放射体が挙げられる。

【0393】

例示的な検出可能部分としてはさらに、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、アルカリホスファターゼ、ペーターガラクトシダーゼおよびルシフェラーゼが挙げられるが、これらに限定されない。さらなる例示的な蛍光材料としては、ローダミン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート、ウンベリフェロン、ジクロロトリアジニルアミン、フィコエリスリンおよび塩化ダンシルが挙げられるが、これらに限定されない。さらなる例示的な化学発光部分としては、ルミノールが挙げられるが、これに限定されない。さらなる例示的な生物発光材料としては、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられるが、これらに限定されない。さらなる例示的な放射性材料としては、ヨウ素-125、炭素-14、硫黄-35、トリチウムおよびリン-32が挙げられるが、これらに限定されない。

【0394】

処置の方法

本明細書に記載される方法および組成物は、非限定的に、癌、感染症、免疫障害、貧血、自己免疫疾患、心臓血管疾患、創傷治療、虚血関連疾患、神経変性疾患、代謝疾患、ならびに多くの他の疾患および障害を含む、様々な疾患および障害を処置することへの適用を有する。

【0395】

さらに本発明の薬剤のいずれも、非限定的に、癌、感染症、免疫障害、炎症性疾患または状態、および自己免疫疾患を含む、様々な疾患および障害の処置における、または処置のための薬剤の製造における、使用のためであり得る。

【0396】

幾つかの実施形態において、本発明は、癌、心不全、自己免疫疾患、鎌形赤血球病、地中海貧血、失血、輸血反応、糖尿病、ビタミンB12欠乏症、膠原血管病、シュワツハマン症候群、血小板減少性紫斑病、セリアック病、甲状腺機能低下症またはアジソン病などの内分泌腺不全症、クローン病、全身性エリテマトーデス、関節リウマチまたは若年性関節リウマチ、潰瘍性大腸炎などの自己免疫疾患、好酸球性筋膜炎、低免疫グロブリン血症、または胸腺腫／胸腺癌、移植片対宿主病などの免疫障害、前白血病、非造血系症候群（例えば、ダウン、デュボヴィッツ、セッケル）、フェルティ症候群、溶血性尿毒症症候群、骨髓異形成症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、骨髓線維症、汎血球減少症、赤芽球ろう、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、マラリア、タンパク質欠乏、月経過多、全身性硬化症、肝硬変、低代謝状態、およびうっ血性心不全の1つまたは複数の処置、またはそれらを有する患者に関する。

10

【0397】

幾つかの実施形態において、本発明は、癌の処置、または癌を有する患者に関する。本明細書で用いられる癌は、身体臓器および系の正常な機能を妨害し得る任意の非制御の細胞増殖を指し、原発性および転移性腫瘍の両方を包含する。それらの発生場所から遊走し重要臓器に播種する原発性腫瘍または癌は最終的に、罹患した臓器の機能的悪化を介して対象の死を導く可能性がある。転移は、原発腫瘍から他の身体部分への癌細胞播種により生じた、原発腫瘍の場所とは異なる、癌細胞または癌細胞群である。転移は最終的に、対象の死をもたらし得る。例えば、癌は、良性および悪性癌、ポリープ、過形成、ならびに休眠状態の腫瘍または微小転移を包含し得る。

20

【0398】

処置され得る例示的な癌としては、癌腫、例えば、腺癌、基底細胞癌、扁平上皮癌、および移行細胞癌、肉腫（例えば、骨および軟組織を含む）、白血病（例えば、急性骨髄性、急性リンパ芽球性、慢性骨髄性、慢性リンパ球性、およびヘアリー細胞を含む）、リンパ腫および骨髄腫（例えば、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫、軽鎖、非分泌、MGUS、ならびに形質細胞腫を含む）、および中枢神経系癌（例えば、脳（例えば、グリオーマ（例えば、星細胞腫、乏突起神経膠腫、および上衣腫）、髄膜腫、下垂体腺腫、および神経腫）、および脊髄腫瘍（例えば、髄膜腫および神経線維腫）を含む）を含む、様々なサブタイプが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0399】

処置され得る例示的な癌としては、基底細胞癌；胆管癌；膀胱癌；骨癌；脳および中枢神経系癌；乳癌；腹膜の癌；子宮頸癌；絨毛癌；大腸癌；結合組織癌；消化器系癌；子宮内膜癌；食道癌；眼癌；頭頸部癌；胃癌（胃腸癌を含む）；神経膠芽腫；肝癌；肝細胞癌；上皮内新生物；腎臓癌；喉頭癌；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、および肺の扁平上皮癌）；黒色腫；骨髄腫；神経芽細胞腫；口腔癌（唇、舌、口、および咽頭）；卵巣癌；脾臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系癌；唾液腺癌；肉腫；皮膚癌；扁平上皮癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮または子宮内膜癌；泌尿器系の癌、外陰癌；ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫を含むリンパ腫、およびB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）；小リンパ球性（SL）NHL；中悪性度／濾胞性NHL；中悪性度びまん性NHL；高悪性度免疫芽球性NHL；高悪性度リンパ芽球性NHL；高悪性度非分割小細胞NHL；巨大病変を有するNHL；マンツル細胞リンパ腫；AIDS関連リンパ腫；およびヴァルデンストレームマクログロブリン血症を含む）；慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ芽球性白血病（ALL）；ヘアリー細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；他の癌腫および肉腫；ならびに移植後リンパ球増殖性障害（PTLD）、および母斑症に関連する異常な脈

40

50

管増殖、浮腫（例えば、脳腫瘍に関連するもの）、およびメイグス症候群が挙げられるが、これらに限定されない。

【0400】

幾つかの実施形態において、本発明は、微小生物への感染および／または慢性感染の処置、またはそれを有する患者に関する。例示的な感染としては、HIV/AIDS、結核、骨髄炎、B型肝炎、C型肝炎、エプスタイン・バーウイルスまたはパルボウイルス、T細胞白血病ウイルス、細菌過剰症候群、真菌または寄生虫感染が挙げられるが、これらに限定されない。

【0401】

様々な実施形態において、本発明の組成物は、炎症、急性炎症、慢性炎症、呼吸器疾患、アテローム性硬化症、再狭窄、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、敗血症性ショック、関節リウマチ、炎症性腸疾患、骨盤炎症性疾患（inflammatory pelvic disease）、疼痛、炎症性眼疾患、セリアック病、リー症候群、グリセロールキナーゼ欠損症、家族性好酸球増多症（FE）、常染色体劣性遺伝性痙性失調症、喉頭の炎症性疾患、結核、慢性胆嚢炎、気管支拡張症、ケイ肺症および他の塵肺症などの、1種または複数の炎症性疾患または状態を処置または予防するために用いられる。

10

【0402】

様々な実施形態において、本発明の組成物は、多発性硬化症、糖尿病、狼瘡、セリアック病、クローン病、潰瘍性大腸炎、ギラン・バレー症候群、強皮症、グッドパスチャー症候群、ウェゲナー肉芽腫症、自己免疫性てんかん、ラスマッセン脳炎、原発性胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、自己免疫性肝炎、アジソン病、橋本甲状腺炎、線維性筋痛症、メニエール症候群、移植片拒絶（例えば、同種移植片拒絶の予防）、悪性貧血、関節リウマチ、全身エリテマトーデス、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、エリテマトーデス、多発性硬化症、重症筋無力症、ライター症候群、グレーブス病、および他の自己免疫疾患などの、1種または複数の自己免疫疾患または状態を処置または予防するために用いられる。

20

【0403】

様々な実施形態において、本発明の組成物は、非限定的に、冠動脈心疾患（CHD）、脳血管疾患（CVD）、大動脈狭窄、末梢血管疾患、アテローム性硬化症、動脈硬化症、心筋梗塞（心臓発作）、脳血管疾患（卒中）、一過性虚血発作（TIA）、狭心症（安定および不安定）、心房細動、不整脈、弁膜症、および／またはうっ血性心不全を含む、心臓および血管構造に影響を及ぼす疾患または状態などの、心臓血管疾患を処置、制御または予防するために用いられる。

30

【0404】

様々な実施形態において、本発明の組成物は、1種または複数の代謝関連障害を処置または予防するために用いられる。様々な実施形態において、本発明は、1型および2型糖尿病、ならびに肥満関連の糖尿病を含む、糖尿病の処置、制御または予防に有用である。本発明の組成物および方法は、非限定的に糖尿病性腎症、高血糖、耐糖能障害、インスリン抵抗性、肥満、脂質障害、脂質異常症、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、低HDLレベル、高LDLレベル、アテローム性硬化症およびその後遺症、血管再狭窄、過敏性腸症候群、クローン病および潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患、他の炎症状態、膵炎、腹部肥満、神経変性疾患、網膜症、新生物病、脂肪細胞腫瘍、脂肪肉腫などの脂肪細胞癌、前立腺癌および他の癌、例えば胃癌、乳癌、膀胱癌および結腸癌、血管新生、アルツハイマー病、乾癬、高血圧、メタボリックシンドローム（例えば、ヒトが以下の障害の3つ以上を有する：腹部肥満、高トリグリセリド血症、低HDLコレステロール、高血圧、および高い空腹時血漿グルコース値）、卵巣内アンドロゲン過剰症（多嚢胞性卵巣症候群）、および睡眠時無呼吸などの、インスリン抵抗性が要素である他の障害を含む、糖尿病関連障害の処置または予防に有用である。本発明の組成物および方法は、遺伝的または環境的な、および肥満関連の障害を含む、肥満の処置、制御または予防に有用である。本明細書の肥満関連障害は、肥満に関連する、肥満により誘起される、または肥満から生じる。肥満関連障害の例としては、肥満、糖尿病、暴食、過食、および大食、高

40

50

血圧、血漿インスリン濃度の上昇およびインスリン抵抗性、脂質異常症、高脂血症、子宮内膜癌、乳癌、前立腺癌、腎臓癌、結腸癌、骨関節炎、閉塞性睡眠時無呼吸、胆石、心臓疾患、異常な心拍リズムおよび不整脈、心筋梗塞、うっ血性心不全、冠動脈性心疾患、突然死、卒中、多嚢胞性卵巣疾患、頭蓋咽頭腫、ブラダー・ウィリー症候群、フレーリッヒ症候群、GH欠損対象、正常変異型低身長、ターナー症候群、および代謝活性の低下または総除脂肪体重の割合として安静時エネルギー消費量の減少を示す他の病的状態、例えば急性リンパ芽球性白血病の小児などが挙げられる。肥満関連障害のさらなる例は、メタボリックシンドローム、インスリン抵抗性症候群、生殖ホルモン異常、性機能および生殖機能不全、例えば受精能力の障害、不妊、男性の性腺機能低下症および女性の多毛症、母体肥満症に関連する胎児障害、肥満関連の胃食道逆流などの胃腸運動障害、肥満低換気症候群（ピックウィック症候群）などの呼吸器障害、息切れ、心臓血管障害、血管構造の全身炎症などの炎症、動脈硬化、高コレステロール血症、腰痛、胆嚢疾患、高尿酸血症、痛風、腎臓癌、および麻酔危険度の上昇である。本発明の組成物および方法はまた、アルツハイマー病を処置するのに有用である。

【0405】

様々な実施形態において、本発明の組成物は、喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、気管支拡張症、アレルギー性鼻炎、副鼻腔炎、肺血管収縮、炎症、アレルギー、呼吸の阻害（impeded respiration）、呼吸窮迫症候群、嚢胞性線維症、肺高血圧、肺血管収縮、肺気腫、ハンタウイルス肺症候群（HPS）、レフラー症候群、グッドパスチャー症候群、胸膜炎、肺炎、肺水腫、肺線維症、サルコイドーシス、呼吸器合胞体ウイルス感染に関連する合併症、および他の呼吸器疾患などの、1種または複数の呼吸器疾患を処置または予防するために用いられる。

【0406】

幾つかの実施形態において、本発明は、1種または複数の神経変性疾患を処置または予防するために用いられる。例示的な神経変性疾患としては、多発性硬化症（非限定的に、良性多発性硬化症；再発緩解型多発性硬化症（RRMS）；二次進行型多発性硬化症（SPMS）；進行再発型多発性硬化症（PRMS）；および原発進行型多発性硬化症（PPMS）など）、アルツハイマー病（非限定的に、早発性アルツハイマー病、遅発性アルツハイマー病、および家族性アルツハイマー病（FAD）など）、パーキンソン病およびパーキンソニズム（非限定的に、特発性パーキンソン病、血管型パーキンソニズム、薬物誘発性パーキンソニズム、レビー小体型認知症、遺伝性パーキンソン病、若年性パーキンソン病など）、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症（非限定的に、孤発性ALS、家族性ALS、西太平洋地域のALS、若年性ALS、平山病（Hirayama Disease）を含む、ALS）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0407】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、創傷、例えば非治癒の創傷、潰瘍、熱傷または凍傷、慢性または急性創傷、開放性または閉鎖性の創傷、内部または外部創傷（例示的な外部創傷は、透過および非透過創傷である）を処置することに用途を見出す。

【0408】

様々な実施形態において、本発明のキメラタンパク質は、虚血、非限定的例として、急性冠動脈症候群、急性肺傷害（ALI）、急性心筋梗塞（AMI）、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）、動脈閉塞性疾患、動脈硬化、関節軟骨欠損、無菌性全身炎症、アテローム性心臓血管疾患、自己免疫疾患、骨折、脳浮腫、脳低灌流、バージャー病、熱傷、癌、心臓血管疾患、軟骨損傷、脳梗塞、脳虚血、脳卒中、脳血管疾患、化学療法誘発性神経障害、慢性感染、慢性腸間膜虚血、跛行、うっ血性心不全、結合組織損傷、挫傷、冠動脈疾患（CAD）、重症下肢虚血（CLI）、クローン病、深部静脈血栓症、深創傷、潰瘍治癒の遅滞、創傷治癒の遅滞、糖尿病（I型およびII型）、糖尿病性神経障害、糖尿病誘発性虚血、播種性血管内凝固（DIC）、閉栓性脳虚血、凍傷、移植片対宿主病、遺伝性出血性毛細血管拡張性虚血性血管疾患（hereditary hemorrhagic te

10

20

30

40

50

l engiectasia ischemic vascular disease)、高酸素傷害、低酸素症、炎症、炎症性腸疾患、炎症性疾患、腱損傷、間欠性跛行、腸管虚血、虚血、虚血性脳疾患、虚血性心疾患、虚血性末梢血管疾患、虚血性胎盤、虚血性腎疾患、虚血性血管疾患、虚血性再灌流傷害、裂傷、左主幹冠動脈疾患、肢虚血、下肢虚血、心筋梗塞、心筋虚血、臓器虚血、骨関節炎、骨粗鬆症、骨肉腫、パーキンソン病、末梢動脈性疾患(PAD)、末梢動脈疾患、末梢性虚血、末梢神経障害、末梢血管疾患、前癌状態、肺浮腫、肺閉塞症、リモデリング障害、腎虚血、網膜虚血、網膜症、敗血症、皮膚潰瘍、固形臓器移植、脊髄損傷、発作、軟骨下骨嚢胞、血栓症、血栓性脳虚血、組織虚血、一過性脳虚血発作(TIA)、外傷性脳損傷、潰瘍性大腸炎、腎臓の血管疾患、血管炎症状態、フォンヒッペル-リンドウ症候群、または組織もしくは臓器の創傷を処置することに用途を見出す。

10

【0409】

様々な実施形態において、本発明は、慢性腎疾患(例えば、透析からの)および/または抗癌剤(例えば、化学療法剤)および/またはHIV処置(例えば、ジドブジン(INN)またはアジドチミジン(AZT))から生じる貧血、炎症性腸疾患(例えば、クローン病および潰瘍性大腸炎)から生じる貧血、炎症状態に関連する貧血(例えば、関節炎、狼瘡、IBD)、糖尿病、統合失調症、脳性マラリア、再生不良性貧血としての、および癌の処置(例えば、化学療法および/または放射線照射)からの脊髄形成異常、ならびに様々な脊髄形成異常症候群(例えば、鎌形赤血球性貧血、ヘモグロビンSC病、ヘモグロビンC病、アルファーおよびベーター地中海貧血、早産後の新生児貧血、および同等の状態)に関連する貧血を含む、1種または複数の貧血の処置に関する。

20

【0410】

幾つかの実施形態において、本発明は、貧血、即ち赤血球細胞の数および/もしくは赤血球細胞中に見出されるヘモグロビンの量が正常未満である状態の処置、または貧血を有する患者に関する。様々な実施形態において、貧血は、急性または慢性であり得る。例えば、本発明の貧血としては、鉄欠乏性貧血、腎性貧血、慢性疾患/炎症の貧血、大球性胃酸欠乏性貧血(macrocyclic achylic anemia)、若年性悪性貧血および先天性悪性貧血などの悪性貧血、癌関連の貧血、抗癌関連貧血(例えば、化学療法関連の貧血、放射線療法関連の貧血)、赤芽球ろう、芽球が過剰な難治性貧血、再生不良性貧血、X連鎖製鉄芽球性貧血、溶血性貧血、鎌形赤血球性貧血、ESAの産生障害による貧血、骨髓異形成症候群、低色素性貧血、小球性貧血、鉄芽球性貧血、自己免疫性溶血性貧血、クーリー貧血、地中海貧血、ダイヤモンドブラックファン貧血、ファンconi貧血および薬物誘発性免疫溶血性貧血が挙げられるが、これらに限定されない。貧血は、低酸素症、慢性疲労、集中力の欠如、肌色の不良、低血圧、めまいおよび心不全を含む、重篤な症状を引き起こし得る。

30

【0411】

幾つかの実施形態において、本発明は、慢性腎不全から生じる貧血の処置に関する。幾つかの実施形態において、本発明は、透析、血液透析、腹膜透析、血液濾過、血液濾過透析、および腎移植を含む、1種または複数の腎臓代替療法の利用から生じる貧血に関する。

【0412】

幾つかの実施形態において、本発明は、透析を受けていない慢性腎疾患の患者における貧血の処置に関する。例えば、本発明は、ステージ1 CKD、またはステージ2 CKD、またはステージ3 CKD、またはステージ4 CKD、またはステージ5 CKDの患者に関する。幾つかの実施形態において、本発明の患者は、ステージ4 CKDまたはステージ5 CKDである。幾つかの実施形態において、本発明の患者は、腎移植を受けている。幾つかの実施形態において、本発明は、急性腎障害(AKI)を有する患者の貧血の処置に関する。

40

【0413】

幾つかの実施形態において、貧血は、化学療法により誘発される。例えば、化学療法は、任意の骨髓抑制化学療法であり得る。幾つかの実施形態において、化学療法は、Rev l

50

imid、Thalomid、デキサメタゾン、アドリマイシンおよびDoxilの1つまたは複数である。幾つかの実施形態において、化学療法は、シスプラチン（例えば、PLATINOL）およびカルボプラチン（例えば、PARAPLATIN）を含む1種または複数の白金系の薬物である。幾つかの実施形態において、化学療法は、本明細書に記載される化学療法剤の任意の1つである。幾つかの実施形態において、化学療法は、内容が全体として参照により本明細書に組み入れられる、Groopman et al., J Natl Cancer Inst (1999) 91(19):1616-1634に記載された任意の薬剤である。幾つかの実施形態において、本発明の組成物および方法は、後期ステージの癌患者（例えば、ステージIV、またはステージIII、またはステージIIの癌）における化学療法関連の貧血の処置に用いられる。幾つかの実施形態において、本発明の組成物および方法は、ドーズデンス化学療法または他のアグレッシブな化学療法レジメンを受けている癌患者における化学療法関連の貧血の処置に用いられる。

10

【0414】

幾つかの実施形態において、本発明は、白血病、リンパ腫、および多発性骨髄腫などの、1種または複数の血液系の癌を有する患者における貧血の処置に関する。そのような癌は、骨髄に直接影響を及ぼし得る。さらに、本発明は、骨または骨髄に播種した転移癌に関する。幾つかの実施形態において、本発明は、放射線療法を受けている患者における貧血の処置に関する。そのような放射線療法は、骨髄を損傷し、赤血球細胞を生成するその能力を低下させ得る。さらなる実施形態において、本発明は、鉄、ビタミンB12、および葉酸の1つまたは複数の減少または欠如を有する患者における貧血の処置に関する。さらなる実施形態において、本発明は、非限定的に、手術後にまたは内出血を引き起こしている腫瘍からを含む、過剰な出血を有する患者における貧血の処置に関する。さらなる実施形態において、本発明は、慢性疾患の貧血を有する患者における貧血の処置に関する。

20

【0415】

幾つかの実施形態において、本発明の方法および組成物は、赤血球細胞の生成を刺激する。幾つかの実施形態において、本発明の方法および組成物は、骨髄中のコミットされた（committed）赤血球前駆体の分裂および分化を刺激する。

【0416】

本発明の特定の実施形態は、癌患者における化学療法誘発性貧血を処置するのに特に有用である。幾つかの実施形態において、本発明の方法および組成物は、癌患者の化学療法が終了した後のキメラタンパク質の連続投与を可能にする。幾つかの実施形態において、本発明の方法および組成物は、非癌患者に比較して用量を低減せずに癌患者の処置を可能にする。幾つかの実施形態において、本発明の方法および組成物は、化学療法を受けていて治療可能と見なされる癌患者の処置を可能にする。様々な実施形態において、癌患者は、血栓の病歴、最近の手術、長期間の安静または活動制限、および化学療法剤での処置の1つまたは複数を含む。

30

【0417】

キット

本発明はまた、本明細書に記載される任意の薬剤の投与のためのキットを提供する（例えば、様々なさらなる治療薬を伴う、または伴わないキメラタンパク質）。キットは、本明細書に記載される本発明の医薬組成物の少なくとも1種を含む、材料または成分の集合体である。したがって幾つかの実施形態において、キットは、本明細書に記載される医薬組成物の少なくとも1種を含有する。

40

【0418】

キットを構成する成分の厳密な性質は、その意図される目的に依存する。一実施形態において、キットは、ヒト対象を処置する目的で構成される。

【0419】

使用説明書が、キットに含まれ得る。使用説明書は典型的には、癌を処置するなどの、所望の転帰を実行するためにキットの成分を利用することに用いられる技術を記載する有形の表示を含む。場合によりキットはまた、希釈剤、緩衝剤、医薬的に許容できる担体、シ

50

リング、カテーテル、アプリケーター、ピペッティングもしくは測定ツール、包帯材料、または当業者に即座に認識される他の有用な装備などの、他の有用な成分も含有する。

【0420】

キットに集められる材料および成分は、担当者に提供され、それらの操作可能性および有用性を保持する任意の簡便かつ適切な方法で貯蔵され得る。例えば、成分は、室温で、冷蔵温度でまたは凍結温度で提供され得る。成分は典型的には、適切な梱包材中に含まれる。様々な実施形態において、梱包材は、周知の方法により構成されて、好ましくは無菌の、汚染物不含の環境を提供する。梱包材は、キットおよび／またはその成分の内容物および／または目的を示す外部ラベルを有し得る。

【0421】

定義

本明細書で用いられる「a」、「an」または「the」は、1つまたは1つより多くを意味し得る。

【0422】

さらに、参照される数字表示に関連して用いられる場合の用語「約」は、その参照される数字表示の最大で±10%の参照数字表示を意味する。例えば言語「約50」は、45～55の範囲に及ぶ。

【0423】

医学的利用に関連して用いられる場合の「有効量」は、該当する疾患の測定可能な処置、予防、または発病率低下を提供するのに有効な量である。

【0424】

本明細書で用いられる場合、薬剤または刺激の存在下で、そのようなモジュレーションの非存在下に比較して、活性および／または効果の読み出しが少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、またはそれより多く、最大で少なくとも約100%を含むなどの、有意な量だけ減少される場合には、あるものは「減少され」る。当業者に理解されるであろうが、幾つかの実施形態において、活性が減少され、かつ幾つかの下流の読み出しが減少するであろうが、他は上昇する可能性がある。

【0425】

反対に、薬剤または刺激の存在下で、そのような薬剤または刺激の非存在下に比較して、活性および／または効果の読み出しが有意な量だけ、例えば少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、またはそれより多く、最大で少なくとも約100%を含むまたはそれより多く、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約50倍、少なくとも約100倍だけ、増加される場合には、活性は「増加され」る。

【0426】

本明細書で参照される全ての組成の割合%は、他に断りがなければ、全組成物重量による。本明細書で用いられる言語「包含する」およびその変形は、非限定的であることを意図するため、あるリストの項目の詳述は、この技術の組成および方法において有用であり得る他の類似項目を除外しない。同様に、用語「可能性がある」または「場合がある」およびそれらの変形は、非限定的であることを意図するため、実施形態が特定の要素または特色を含む可能性がある、または含む場合があるという詳述は、それらの要素または特色を含まない本発明の技術の他の実施形態を除外しない。

【0427】

包含する、含有する、または有するなどの用語の同義語としての、制限のない用語「含む」が、本発明を説明および特許請求するために本明細書で用いられるが、本発明またはそ

10

20

30

40

50

の実施形態は代わりに、「からなる」または「から本質的になる」などの別の用語を用いて記載される場合がある。

【0428】

本明細書で用いられる言語「好ましい」および「好ましくは」は、特定の状況下で特定の利益を与える技術の実施形態を指す。しかし他の実施形態が、同じまたは別の状況下で好ましい場合もある。さらに、1つまたは複数の好ましい実施形態の詳細は、他の実施形態が有用でないことを示唆しておらず、本発明の技術範囲から他の実施形態を除外することを意図するものではない。

【0429】

治療効果を実現するために必要される本明細書に記載される組成物の量は、特定の目的のために従来の手順に従って経験的に決定され得る。一般に、治療目的で治療薬を投与するために、治療薬は、薬理学的有効用量で与えられる。「薬理学的有効量」、「薬理学的有効用量」、「治療有効量」または「有効量」は、特に障害または疾患を処置するために、所望の生理学的効果を生じるのに十分な量、または所望の結果を実現できる量を指す。本明細書で用いられる有効量は、例えば、障害または疾患の症状の発生を遅延させるため、障害または疾患の症状の経過を改変するため（例えば、疾患の症状の進行を緩徐にする）、障害または疾患の1つまたは複数の症状または症状発現を低減または排除するため、および障害または疾患の症状を回復させるために、十分な量を包含する。治療上の利益はまた、改善が実現されるか否かにかかわらず、根底にある疾患または障害の進行を停止させる、または緩徐にすることを包含する。

【0430】

有効量、毒性、および治療有効性は、例えばLD50（人口の約50%に対する致死用量）およびED50（人口の約50%において治療的に有効な用量）を決定するため、細胞培養または実験動物において標準的医薬手順により決定され得る。投与量は、用いられる投与剤形および利用される投与経路に応じて変動し得る。毒性作用と治療効果の間の用量比が、治療指数であり、LD50/ED50比として表現され得る。幾つかの実施形態において、大きな治療指数を示す組成物および方法が好ましい。治療有効用量は最初に、例えば、細胞培養アッセイを含む、インビトロアッセイから推定され得る。また、用量は、動物モデルで配合されて、細胞培養または適当な動物モデルで決定されたIC50を含む循環血漿濃度範囲を実現できる。血漿中の記載される組成物のレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーにより、測定され得る。任意の特定の投与量の効果は、適切なバイオアッセイによりモニタリングされ得る。投与量は、医師により決定され調整されて、必要に応じて、処置の観察される効果に適合し得る。

【0431】

特定の実施形態において、効果は、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約50%、少なくとも約70%、または少なくとも約90%の定量可能な変化をもたらす。幾つかの実施形態において、効果は、約10%、約20%、約30%、約50%、約70%、もしくはさらに約90%またはより多くの定量可能な変化をもたらす。治療上の利益はまた、改善が実現されるか否かにかかわらず、根底にある疾患または障害の進行を停止させるまたは緩徐にすることを包含する。

【0432】

本明細書で用いられる「処置の方法」は、本明細書に記載される疾患もしくは障害を処置するための組成物の使用、ならびに／または本明細書に記載される疾患もしくは障害を処置するための薬剤を製造する際の使用および／もしくは使用（複数）のための組成物に等しく適用可能である。本発明を、以下の非限定的実施例によりさらに例示する。

【0433】

実施例

IFNAR1またはIFNAR2との相互作用の喪失を導き得、その相互作用と受容体の活性化がAcTakiné（即ち、シグナル伝達物質および標的化剤のキメラ）の効果を介して回復され得る、ヒトインターフェロンβにおける潜在的突然変異が、関連のインタ

10

20

30

40

50

ーフェロン受容体複合体の相同性モデリングおよび構造分析に基づいて選択された。

【0434】

実施例1：IFNAR1との相互作用のためのインターフェロンβ接触残基の同定
ヒトインターフェロンβとIFNAR1の細胞外ドメインの複合体についての相同性モデルを構築した。このモデルでは、PDBコード3WCYおよび1AU1を有する構造を、テンプレートとして用いた。3WCYは、マウスIFNAR1の細胞外ドメインとマウスインターフェロンβの複合体の結晶構造である。1AU1は、ヒトインターフェロンβの結晶構造である。モデル化された配列は、ヒトIFNAR1ではUNIPROTエントリーのP17181に、ヒトインターフェロンβではP01574に対応した。配列を、MAFFT(1)を用いてテンプレートとアライメントし、ヒトおよびマウスインターフェロンベータもまた、UCSFキメラ(2)での構造の重ね合わせを利用してアライメントした。

10

【0435】

ヒトインターフェロンβ-IFNAR1複合体についてのモデルを、モデラー(3)をループモデルクラスと共に用いて構成した。400種のモデルを構成し、最良のDOPEスコアを有するモデルをさらなる解析に選択した。このモデルにおいて、ヒトインターフェロンβとIFNAR1の間の接触を、UCSFキメラで視覚的に検査し、IFNAR1鎖から4オングストローム半径内に側鎖原子を有する残基を、可能な接触残基と見なした。この複合体モデルの接近可能な表面積を視覚化して、IFNAR1とのモデルインターフェースに埋もれたそれらのインターフェロンβ残基を検出した。

20

【0436】

UCSFキメラにおいて、モデルを、PDB IDコード3WCY、3SE3および3SE4の結晶構造と構造的に重ね合わせた。3SE3は、ヒトインターフェロンα2に接触した複合体でのヒトIFNAR1およびIFNAR2の結晶構造である。3SE4は、ヒトインターフェロンωとの複合体でのヒトIFNAR1およびIFNAR2の結晶構造である。3WCY、3SE3および3SE4でのインターフェロン-IFNAR1インターフェースおよび接触をまた、UCSFキメラにおける視覚的検査、アクセス可能な表面測定および距離測定を利用し、かつPDBsum(4)およびPDBePISA(5)での解析を介して同定した。

【0437】

モデルでの、ならびに3WCY、3SE3および3SE4でのインターフェースおよび接触の比較は、接触残基のリストをもたらし、他のインターフェロンでの接触の保存における洞察を与えた。

30

【0438】

接触のリストを、IFNAR1受容体結合に及ぼす、かつ抗増殖および抗ウイルス活性に及ぼすインターフェロンβ(6)およびインターフェロンα2(7~10)中の突然変異の影響を研究した文献データと比較した。リストと、他のインターフェロンにおける接触残基、接触の保存およびこの文献データとの比較に基づき、IFNAR1結合に大きく寄与する可能性が最も高いインターフェロンβ残基を選択した。この解析に基づき、これらの残基の側鎖を単独で、またはアラニンもしくはグリシンとの組み合わせで突然変異させて、立体障害を導入せずに接触を除去することを決定した。

40

【0439】

実施例2：IFNAR2との相互作用のためのインターフェロンβ接触残基の同定
UCSFキメラにおいて、ヒトインターフェロンβの構造(pdbコード1AU1)を、インターフェロンα2とIFNAR1およびIFNAR2との複合体の構造(pdbコード3SE3)に重ね合わせた。この重ね合わせにおいて、IFNAR2鎖と接触するインターフェロンα2およびインターフェロンβの残基を同定した。UCSFキメラにおいて、3SEでの複合体の溶媒接近可能表面積を計算して、IFNAR2とのインターフェースに埋もれたインターフェロンα2残基を視覚化した。

【0440】

50

インターフェロン α 2におけるこれらの接触残基およびIFNAR2との相互作用のためのインターフェロン β 中の可能な接触残基を、インターフェロン α 2(10~12)およびインターフェロン β (6)の報告された変異試験と比較した。

【0441】

この情報を合わせることで、IFNAR2への結合に最も重要であるインターフェロン β 残基を予測した。この解析に基づき、アラニンまたはグリシンへとこれらの残基の側鎖を突然変異させて、立体障害を導入せずに接触を除去した。

【0442】

実施例3：IFN β を含有するキメラの構築および特徴づけ

理論に結びつけるのを望むものではなく、IFNAR2との相互作用に影響を及ぼすために、以下の突然変異を作製した：R152G；R152A；L151G+R152A；V148G；V148G+R152A；Y155G；R35G；R35A；L32G；L32A；L32A + R35A；W22G；およびW22G+R27G。

【0443】

理論に結びつけるのを望むものではなく、IFNAR1との相互作用に影響を及ぼすために、以下の突然変異を作製した：L88G+Y92G；Y92G+I95A+N96G；K123G R124G；K123G；F67G；F67G+L88G+Y92G；F67S+L88S+Y92S；およびF67G+R71A。

【0444】

理論に結びつけるのを望むものではなく、上記からの突然変異の組み合わせを用いて、IFNAR1およびIFNAR2との相互作用に影響を及ぼす突然変異を作製した。

【0445】

内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2013/107791に記載された通り、キメラ構築物を構築した。実施例の材料と方法および実施例1を参照されたい。

【0446】

内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、WO2013/107791の実施例2~10と同様に、機能的特徴づけを実施した。

【0447】

具体的には、ヒトIFN β に基づくキメラ（即ち、AcTaféron）を作製するために、20*Gly-Gly-Serフレキシブルリンカーを介してヒトCD20を標的とするVHHにサイトカインを融合した。この実施例で用いられたVHHは、抗ヒトCD20 VHH(2HCD25)、SEQ ID NO:211であった。IFNAR1またはIFNAR2受容体結合に関与すると考えられる合計18の残基（またはそれらの組み合わせ）を突然変異させた（以下のリスト参照）。これらの突然変異およびCD20標的化効率の影響を、Dauidi(CD20陽性)細胞およびWish(CD20陰性)細胞で抗増殖活性を比較することにより評価した。具体的には、以下のIFN β 含有キメラを特徴づけた：

【0448】

抗huCD20 VHHに連結された野生型hIFN β （理論に結びつけるのを望むものではない）：

1. P-126： hIFN β

IFNAR2との相互作用に影響を及ぼす突然変異体（理論に結びつけるのを望むものではない）：

2. P-166： hIFN β R152A

3. P-167： hIFN β L151G-R152A

4. P-169： hIFN β V148G-R152A

5. P-170： hIFN β Y155G

6. P-171： hIFN β R35G

7. P-172： hIFN β R35A

8. P-173： hIFN β L32G

9. P-174: hIFN β L32A
 10. P-175: hIFN β L32A-R35A
 11. P-176: hIFN β W22G
 12. P-177: hIFN β W22G-R27G

IFNAR1との相互作用に影響を及ぼす突然変異体（理論に結びつけるのを望むものではない）：

13. P-178: hIFN β L88G-Y92G
 14. P-179: hIFN β Y92G-I95A-N96G
 15. P-180: hIFN β K123G-R124G
 16. P-181: hIFN β K123G
 17. P-182: hIFN β F67G
 18. P-183: hIFN β F67G-L88G-Y92G
 19. P-184: hIFN β F67S-L88S-Y92S
 20. P-185: hIFN β F67G-R71A

【0449】

融合タンパク質huCD20 VHH-20*GGG-huIFN β -6*Hisを、哺乳動物発現のためのpCAGGSベクター中にクローニングした。突然変異体を、標準の部位特異性突然変異誘発で作製した。得られた構築物を、リン酸カルシウムを用いてHeK293T細胞にトランスフェクトし、タンパク質を含有する上清を回収し分析に用いた。

【0450】

得られたキメラの抗増殖効果を測定するために、Wish（96ウェルあたり2000細胞）およびDaudi（96ウェルあたり5000細胞）細胞を播種し、一晚培養した。細胞を、野生型IFN β またはキメラを含有する上清の系列希釈で3日間刺激した。増殖を、製造業者の指針に従ってCellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assayを利用して測定した。

【0451】

図1に示された通り、野生型IFN β の抗増殖活性は、DaudiおよびWish細胞で同等であった。抗CD20 VHHへのサイトカインの連結は、Wish細胞（CD20陰性）に比較してDaudi細胞（CD20陽性）で活性を明らかに上昇させ、それによりCD20 VHH標的化効果を示す（24、29倍）。幾つかの突然変異は、Wish細胞では活性を妨害したが、Daudi細胞では妨害しなかった。これらの突然変異は、L151G/R152A；R35A；L32G；L32A；L32A/R35A；W22G；W22G/R27G；およびF67G/R71Aを含んだ。特に、L32A/R35A突然変異は、最大1050倍の標的化効果をもたらし、W22G/R275突然変異は、最大1445倍の標的化効果をもたらした（図1参照）。

【0452】

実施例4：STAT1リン酸化に及ぼすIFN β 含有キメラの影響の特徴づけ

実施例3に記載された18種のIFN β 含有キメラ（即ち、「AcTaferon」）の抗増殖効果の初期スクリーニングの後、以下に列挙される7種の突然変異体をさらに特徴づけた：

【0453】

抗huCD20 VHHに連結された野生型hIFN β ：

1. P-126: hIFN β
 IFNAR2との相互作用に影響を及ぼす突然変異体（理論に結びつけるのを望むものではない）：
 2. P-172: hIFN β R35A
 3. P-173: hIFN β L32G
 4. P-174: hIFN β L32A
 5. P-175: hIFN β L32A-R35A
 6. P-176: hIFN β W22G

7. P-177: hIFN β W22G-R27G

IFNAR1との相互作用に影響を及ぼす突然変異体（理論に結びつけるのを望むものではない）：

8. P-185: hIFN β F67G-R17A

【0454】

これらの突然変異の影響およびCD20標的化効率を、FACSによりヒト末梢血単核細胞（PBMC）でのB細胞対非B細胞でSTAT1リン酸化を誘導する能力を比較することにより評価した。B細胞はCD20陽性であったが、標的抗CD20 VHHとの可能な干渉を回避するために、これらの細胞をCD19発現に基づいて同定した。

【0455】

突然変異体を作製するために、融合タンパク質hCD20 VHH-20*GGG-hIFN β -6*Hisを、哺乳動物発現のためにpCAGGSベクター中にクローニングした。突然変異体を、標準の部位特異性突然変異誘発で作製した。得られた構築物を、リン酸カルシウムを用いてHek293T細胞にトランスフェクトした。タンパク質を、製造業者の指針に従ってTalon金属親和性樹脂（Clontech）を用いて上清から精製し、イミダゾールを、PD10カラム（GE Healthcare）を用いて試料から除去した。

【0456】

健常なドナーのバフィコートからのPBMCを、Lymphoprep（StemCell Technologies）を用いる密度勾配遠心分離を利用して単離した。細胞を、FACS緩衝液（2% FBS、1mM PBS中EDTA）で2回洗浄し、抗ヒトCD19 FITC（SinoBiologicals）により4℃で20分間染色した。2回の洗浄後、細胞を、系列希釈の野生型IFN β またはキメラにより37℃で15分間刺激した。固定（37℃で10分間、Fix Buffer I；BD Biosciences）、易透過（氷上で30分間、Perm III Buffer I；BD Biosciences）および洗浄の後、細胞を、抗STAT1 pY701 Ab（BD Biosciences）で染色した。試料を、FACSCalibur（BD Biosciences）で獲得し、FlowJo Version 10.2ソフトウェア（LLC）で解析した。

【0457】

STAT1リン酸化を誘導する野生型IFN β の能力は、CD19陽性細胞およびCD19陰性細胞で同等であった。抗CD20 VHHへのサイトカインの連結は、CD19陰性細胞に比較してCD19陽性細胞で活性を明らかに上昇させ、それによりCD20 VHH標的化効果を示す（7.1倍）。ほとんどの突然変異は、CD19陰性細胞での活性を明白に低下させたが、CD19陽性細胞では低下させなかった。特に、W22G-R27G突然変異は、最大367倍の標的化効果をもたらし、L32A-R35A突然変異は、最大430倍の標的化効果をもたらした。CD19陽性およびCD19陰性細胞におけるpSTAT1についてのEC50値（ng/ml）を、以下の表に要約する（コンマは小数点を表す）。標的化効果を、CD19陰性細胞でのEC50値をCD19陽性細胞でのEC50値で割ることにより計算した。

10

20

30

40

50

【表 2】

		EC50 (ng/ml)		標的化効果
		CD19陰性	CD19陽性	
wt IFN β - α		0, 6922	0, 4223	
wt	AFN β - α	687, 1	96, 96	7, 1
IFNAR2結合	AFN β - α R35A (P-172)	908, 2	1, 339	678, 3
	AFN β - α L32G (P-173)	2275	20, 93	108, 7
	AFN β - α L32A (P-174)	314, 8	6, 933	45, 4
	AFN β - α L32A-R35A (P-175)	912, 6	2, 12	430, 5
	AFN β - α W22G (P-176)	203, 1	0, 9126	222, 6
	AFN β - α W22G-R27G (P-177)	676, 2	1, 838	367, 9
IFNAR1結合	AFN β - α F67G-R17A	327, 9	25, 49	12, 9

10

20

【0458】

図2は、STAT1リン酸化に及ぼす様々なIFN β 含有キメラの影響を示す。CD19陽性およびCD19陰性細胞における平均蛍光強度を、野生型IFN β （即ち、SEQ ID NO: 1）または様々なIFN β 含有キメラ（「Actaferon」）についてプロットした（パネルA～I）。明瞭にするために、パネルAは、野生型IFN β についてのCD19陽性およびCD19陰性細胞におけるpSTAT1の平均蛍光強度である。パネルBは、抗CD20 VHHに融合された野生型IFN β についてのCD19陽性およびCD19陰性細胞におけるpSTAT1の平均蛍光強度である。パネルC～Iは、抗CD20 VHHに融合された様々な突然変異体IFN β についてのCD19陽性およびCD19陰性細胞におけるpSTAT1の平均蛍光強度を示す。

30

【0459】

図2のパネルJ～Kは、CD19陰性細胞に対比させたCD19陽性細胞における野生型IFN β またはIFN β 含有キメラについてのpSTAT1の平均蛍光強度を示す。

【0460】

図2のパネルL～Mは、野生型IFN β に対比させた様々なIFN β 含有キメラの標的化効果を示す。図2のパネルN～Oは、野生型IFN β 含有キメラ（CD20に対するVHHと野生型ヒトIFN β （SEQ ID NO: 1）の融合物）に対比させた様々な突然変異体IFN β 含有キメラの標的化効果を示す。

【0461】

均等物

40

本発明をその特定の実施形態に関連づけて記載したが、本発明がさらなる改良が可能であること、および本発明が関係する技術分野内で既知の、または慣用的な実践に含まれる通り、先に示された本質的特性に適用され得る通り、そして添付の特許請求の範囲に従う通り、本出願が本発明の原理に概ね従い、そのような本発明の逸脱を含む、本発明の任意の変更、使用または適合を含むことは、理解されよう。

【0462】

当業者は、日常の実験法を利用するだけで、本明細書に具体的に記載された特定の実施形態の数多くの均等物を認識する、または確認できるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲に含まれるものとする。

【0463】

50

参照による組み入れ

本明細書で参照される全ての特許および発行物は、全体として参照により本明細書に組み入れられる。

【0464】

本明細書で議論された発行物は、本出願の出願日以前にそれらの開示だけのために提供されている。本明細書には、先行の発明を考慮して、本発明がそのような発行物に先立つための権利を与えられないことの承認として解釈されるべきものはない。

【0465】

本明細書で用いられる通り、全ての題目は単に、構成のためのものであり、本開示を限定するものではない。いずれの各段落の内容も、全ての段落に等しく適用可能であり得る。

【0466】

参考資料

1. Katoh K & Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol* 30 (4):772-780.
2. Pettersen EF, et al. (2004) UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 25 (13):1605-1612.
3. Webb B & Sali A (2014) Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER. *Curr Protoc Bioinformatics* 47:5 6 1-32.
4. de Beer TA, Berka K, Thornton JM, & Lasowski RA (2014) PDBsum additions. *Nucleic Acids Res* 42 (Database issue):D292-296.
5. Krissinel E & Henrick K (2007) Inference of macromolecular assemblies from crystalline state. *J Mol Biol* 372 (3):774-797.
6. Runkel L, et al. (2000) Systematic mutational mapping of sites on human interferon-beta-1a that are important for receptor binding and functional activity. *Biochemistry* 39 (10):2538-2551.
7. Hu R, Bekisz J, Schmeisser H, McPhie P, & Zoon K (2001) Human IFN-alpha protein engineering: the amino acid residues at positions 86 and 90 are important for antiproliferative activity. *J Immunol* 167 (3):1482-1489.
8. Pan M, et al. (2008) Mutation of the IFNAR-1 receptor binding site of human IFN-alpha2 generates type I IFN competitive antagonists. *Biochemistry* 47 (46):12018-12027.
9. Roisman LC, Jaitin DA, Baker DP, & Schreiber G (2005) Mutational analysis of the IFNAR1 binding site on IFNalpha2 reveals the architecture of a weak ligand-receptor binding-site. *J Mol Biol* 353 (2):271-281.
10. Piehler J, Roisman LC, & Schreiber G (

10

20

30

40

50

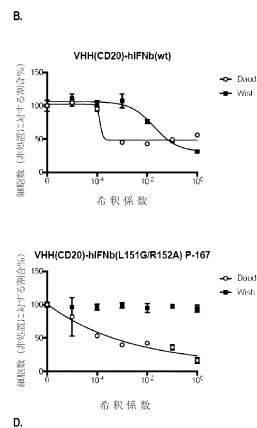
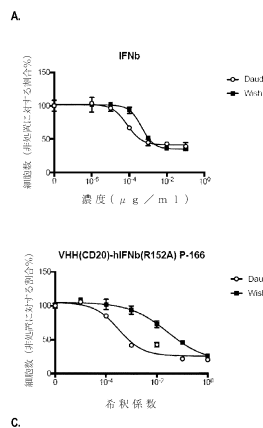
2000) New structural and functional aspects of the type I interferon-receptor interaction revealed by comprehensive mutational analysis of the binding interface. J Biol Chem 275 (51) : 40425-40433.

11. Piehler J & Schreiber G (1999) Mutational and structural analysis of the binding interface between type I interferons and their receptor Ifnar2. J Mol Biol 294 (1) : 223-237.

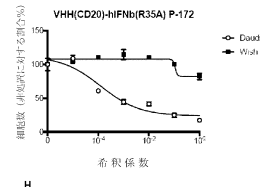
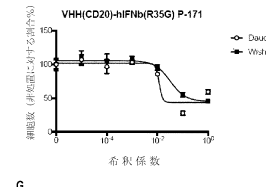
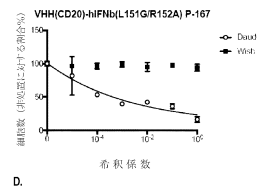
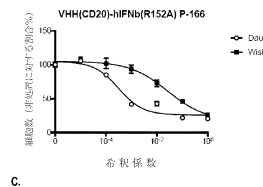
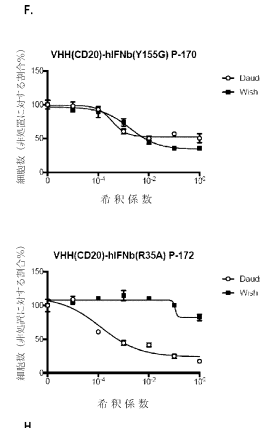
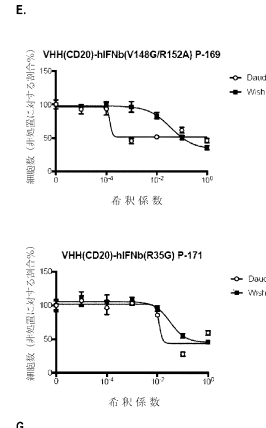
12. Roisman LC, Piehler J, Trosset JY, Scheraga HA, & Schreiber G (2001) Structure of the interferon-receptor complex determined by distance constraints from double-mutant cycles and flexible docking. Proc Natl Acad Sci U S A 98 (23) : 13231-13236.

【図面】

【図 1-1】



【図 1-2】



10

20

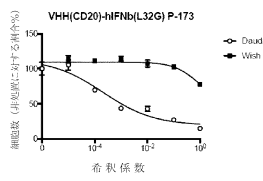
30

40

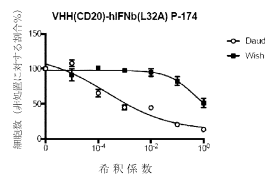
50

【図 1 - 3】

I.

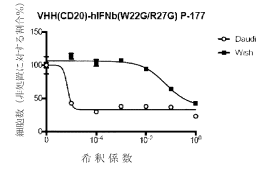


J.

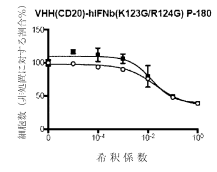
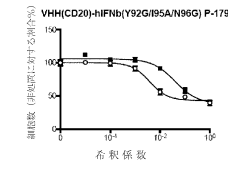
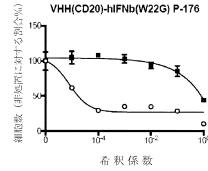
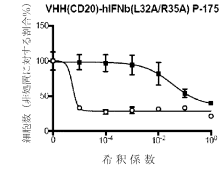
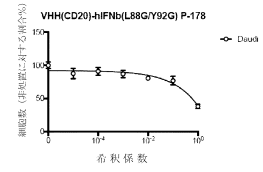


【図 1 - 4】

M.



N.



K.

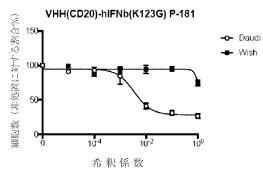
L.

O.

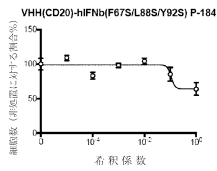
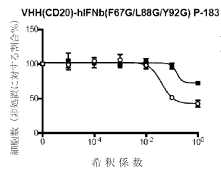
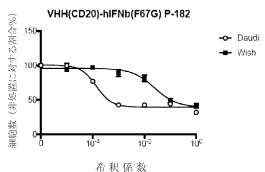
P.

【図 1 - 5】

Q.



R.

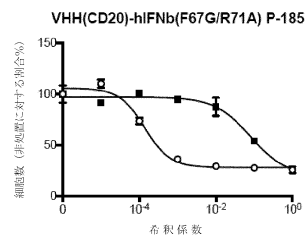


S.

T.

【図 1 - 6】

U.



10

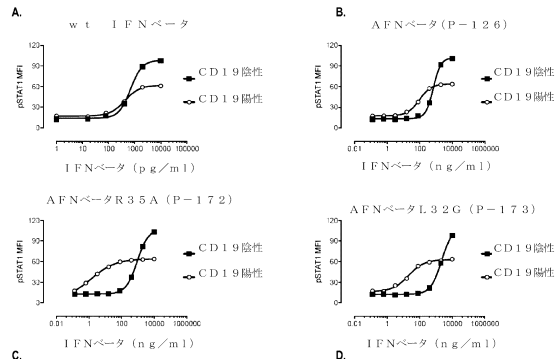
20

30

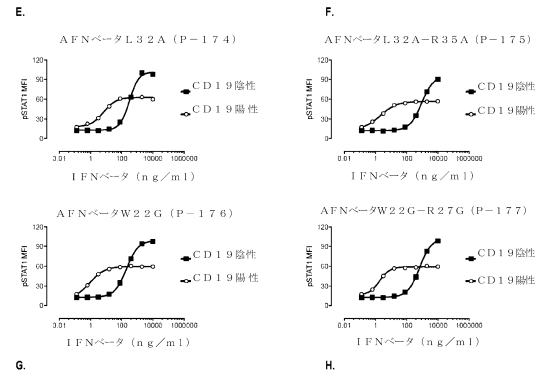
40

50

【図 2-1】

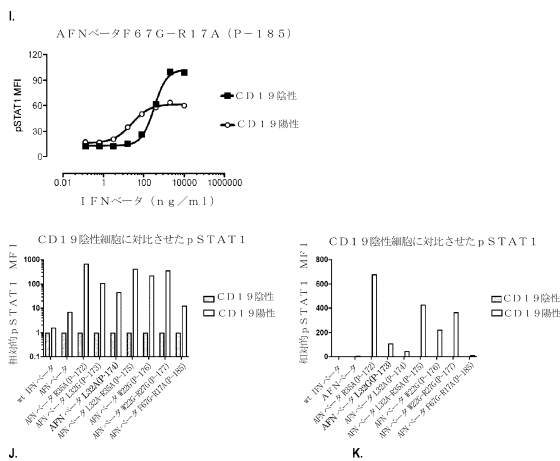


【図 2-2】

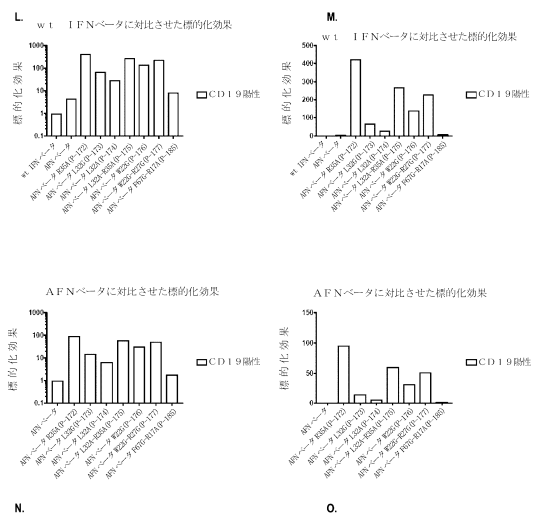


10

【図 2-3】



【図 2-4】



20

【配列表】

0007105200000001.app

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	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/12	(2006.01)	C 1 2 N	15/12	
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	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	7/00	(2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	13/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/02	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	33/06	(2006.01)	A 6 1 P	33/06	
A 6 1 P	5/24	(2006.01)	A 6 1 P	5/24	
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	31/18	(2006.01)	A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	31/06	(2006.01)	A 6 1 P	31/06	
A 6 1 P	31/20	(2006.01)	A 6 1 P	31/20	
A 6 1 P	31/14	(2006.01)	A 6 1 P	31/14	
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	31/12	(2006.01)	A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/10	(2006.01)	A 6 1 P	31/10	
A 6 1 P	33/00	(2006.01)	A 6 1 P	33/00	
A 6 1 K	38/16	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 K	38/21	(2006.01)	A 6 1 K	38/16	
			A 6 1 K	38/21	

(74)代理人 100121511

弁理士 小田 直

(74)代理人 100202751

弁理士 岩堀 明代

(74)代理人 100191086

弁理士 高橋 香元

(72)発明者 クレイ, ニコライ

アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 4 6 6, ニュートン, スイート 2-4 0 0, 2 7 5
グラブ ストリート, オリオニス バイオサイエンシズ, インコーポレイテッド内

(72)発明者 タベルニエル, ジャン

ベルギー国, ビー - 9 8 6 0 バエーゲム, ボトルウェグ 2

(72)発明者 ピールマン, フランク

ベルギー国, 9 0 5 0 ゲンツブルヘ, デジレ メルシエラーン 4 6

審査官 天野 皓己

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

特表2 0 1 5 - 5 1 1 2 1 9 (JP, A)

特表2002-527100 (JP, A)

Biochemistry, 2000年, Vol.39, No.10, pp.2538-2551

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - C12N 15/90

C07K 1/00 - C07K 19/00

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

UniProt/GeneSeq