(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-547523
(P2023-547523A)
(43)公表日　令和5年11月10日(2023.11.10)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*45/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/06		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*31/436 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/436		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*31/519 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/519		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ	*31/506 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/506		４Ｃ０８７
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	４Ｈ０４５

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全133頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-526938(P2023-526938)
(86)(22)出願日　令和3年11月8日(2021.11.8)
(85)翻訳文提出日　令和5年6月1日(2023.6.1)
(86)国際出願番号　PCT/EP2021/080888
(87)国際公開番号　WO2022/101120
(87)国際公開日　令和4年5月19日(2022.5.19)
(31)優先権主張番号　20206567.8
(32)優先日　令和2年11月10日(2020.11.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(31)優先権主張番号　21155823.4
(32)優先日　令和3年2月8日(2021.2.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(31)優先権主張番号　21172623.7
最終頁に続く

(71)出願人　514099673
エフ・ホフマン－ラ・ロシュ・アクチェンゲゼルシャフト
スイス国 シーエイチ－４０７０ バーゼル グレンツァッハーシュトラーセ １２４
(74)代理人　110002077
園田・小林弁理士法人
(72)発明者　ヘーゲル， エレーヌ セシル
スイス国 ８９５２ シュリーレン， ヴァーギシュトラーセ １０， シー／オー ロッシュ グリクアート アーゲー
(72)発明者　クライン， クリスティアン
スイス国 ８９５２ シュリーレン， ヴァーギシュトラーセ １０， シー／オー ロッシュ グリクアート アーゲー
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　Ｔ細胞係合剤関連の有害作用の防止又は軽減

(57)【要約】
本発明は、サイトカイン放出症候群などのＴ細胞係合剤に関連する有害作用の防止又は軽減に関する。具体的には、本発明は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲの阻害剤を使用した、そのような有害作用の防止又は軽減に関する。
【選択図】なし

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
個体における疾患の治療における使用のためのＴ細胞係合剤であって、前記治療が、
（ａ）個体へのＴ細胞係合剤の投与、並びに
（ｂ）個体へのヤヌスキナーゼ（ＪＡＫ）及び／又は哺乳類ラパマイシン標的タンパク質（ｍＴＯＲ）シグナル伝達の阻害剤の投与
を含む、Ｔ細胞係合剤。
【請求項２】
個体における疾患の治療のための医薬の製造におけるＴ細胞係合剤の使用であって、前記治療が、
（ａ）個体へのＴ細胞係合剤の投与、並びに
（ｂ）個体へのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与
を含む、使用。
【請求項３】
個体における疾患の治療のための方法であって、前記方法が、
（ａ）個体へのＴ細胞係合剤の投与、並びに
（ｂ）個体へのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与
を含む、方法。
【請求項４】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の防止又は軽減のためである、請求項１～３のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、使用又は方法。
【請求項５】
個体へのＴ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の防止又は軽減における使用のためのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤。
【請求項６】
Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の防止又は軽減のための医薬の製造における、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の使用。
【請求項７】
個体へのＴ細胞係合剤の投与に関連する有害作用を防止又は軽減する方法であって、個体へのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与を含む、方法。
【請求項８】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤が、ｍＴＯＲ阻害剤であり、任意に、シロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスからなる群から選択される、請求項１～７のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項９】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤が、ＪＡＫ阻害剤、任意にＪＡＫ１及び／又はＪＡＫ２阻害剤、任意に、ルキソリチニブ、バリシチニブ、トファシチニブ又はフェドラチニブである、請求項１～８のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１０】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）が、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害を引き起こす、請求項１～９のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１１】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）が、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こさない、請求項１～１０のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１２】

阻害が完全な阻害であり、又は臨床的に意味があり、且つ／又は統計的に有意な阻害である、請求項１０又は１１に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１３】
有害作用が、
（ｉ）サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）；
（ｉｉ）発熱、低血圧及び／又は低酸素症；及び／又は
（ｉｉｉ）１つ又は複数のサイトカイン、特に、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインの上昇した血清レベル
である、請求項４～１２のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１４】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が、（個体における）有害作用の（臨床的）発現時に行われる、請求項４～１３のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１５】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が、
（ｉ）Ｔ細胞係合剤の投与前、投与と同時、又は投与後；
（ｉｉ）断続的又は連続的；及び／又は
（ｉｉｉ）経口、又は非経口、特に静脈内
である、請求項１～１４のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１６】
ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が、Ｔ細胞係合剤の第１の投与に付随しており、任意に、Ｔ細胞係合剤の第１の投与の前、投与と同時又は投与の後である、請求項１～１５のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１７】
Ｔ細胞係合剤の投与が、
（ｉ）有効用量において；
（ｉｉ）非経口、特に静脈内；及び／又は
（ｉｉｉ）個体へのＴ細胞係合剤の第１の投与
である、請求項１～１６のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１８】
Ｔ細胞係合剤が、Ｔ細胞二重特異性抗体又はＣＡＲ－Ｔ細胞である、請求項１～１７のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項１９】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、ＣＤ３及び標的細胞抗原に結合する、請求項１８に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２０】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、ＣＤ３に結合する抗原結合部分及び標的細胞抗原に結合する抗原結合部分を含む、請求項１８又は１９に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２１】
標的細胞抗原が、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）である、請求項１９又は２０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２２】

Ｔ細胞二重特異性抗体が、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と
（ｉｉ）ＣＥＡに結合する第２の抗原結合部分であって、配列番号１２の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号１３のＨＣＤＲ２、及び配列番号１４のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号１５の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号１６のＬＣＤＲ２及び配列番号１７のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗原結合部分
を含む、請求項２１に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２３】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、ＣＥＡに結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む、請求項２１又は２２に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２４】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２、及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれかが交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、
（ｉｉ）ＣＥＡに結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号１２の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号１３のＨＣＤＲ２、及び配列番号１４のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号１５の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号１６のＬＣＤＲ２、及び配列番号１７のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み；第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、
（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、
第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメインと
を含む、請求項２１～２３のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２５】
Ｔ細胞二重特異性抗体の第１の抗原結合部分が、配列番号１０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含み、且つ／又はＴ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分が、配列番号１８のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１９のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む、請求項２１～２４のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項２６】
Ｔ細胞二重特異性抗体のＦｃドメインが、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインが、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ又は複数のアミノ酸置換を含む、請求項２３～２５のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２７】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、シビサタマブである、請求項１８～２６のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２８】
標的細胞抗原が、ＣＤ２０である、請求項１９又は２０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項２９】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と
（ｉｉ）ＣＤ２０に結合する第２の抗原結合部分であって、配列番号２４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号２５のＨＣＤＲ２、及び配列番号２６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号２７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号２８のＬＣＤＲ２及び配列番号２９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗原結合部分
を含む、請求項２８に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３０】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、ＣＤ２０に結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む、請求項２８又は２９に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３１】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２、及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれかが交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、
（ｉｉ）ＣＤ２０に結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号２４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号２５のＨＣＤＲ２、及び配列番号２６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号２７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号２８のＬＣＤＲ２、及び配列番号２９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、
（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、
第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメイ

ンと
を含む、請求項２８～３０のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３２】
Ｔ細胞二重特異性抗体の第１の抗原結合部分が、配列番号１０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含み、且つ／又はＴ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分が、配列番号３０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号３１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む、請求項２８～３１のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３３】
Ｔ細胞二重特異性抗体の第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子であり、Ｔ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）従来のＦａｂ分子である、請求項２８～３２のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３４】
Ｔ細胞二重特異性抗体のＦｃドメインが、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインが、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ若しくは複数のアミノ酸置換を含む、請求項３０～３３のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３５】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、グロフィタマブである、請求項１８～２０及び２８～３４のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３６】
標的細胞抗原が、ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４である、請求項１９又は２０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３７】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号３７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号３８のＨＣＤＲ２、及び配列番号３９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号４０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４１のＬＣＤＲ２及び配列番号４２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と
（ｉｉ）ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４に結合する第２の抗原結合部分であって、配列番号４５の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号４６のＨＣＤＲ２、及び配列番号４７のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号４８の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４９のＬＣＤＲ２及び配列番号５０のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗

原結合部分
を含む、請求項３６に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３８】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４に結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む、請求項３６又は３７に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項３９】
Ｔ細胞二重特異性抗体が、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号３７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号３８のＨＣＤＲ２、及び配列番号３９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号４０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４１のＬＣＤＲ２、及び配列番号４２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれかが交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、
（ｉｉ）ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４に結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号４５の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号４６のＨＣＤＲ２、及び配列番号４７のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号４８の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４９のＬＣＤＲ２、及び配列番号５０のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、
（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、
第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメインと
を含む、請求項３６～３８のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項４０】
Ｔ細胞二重特異性抗体の第１の抗原結合部分が、配列番号４３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号４４のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含み、且つ／又はＴ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分が、配列番号５１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号５２のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む、請求項３６～３９のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項４１】
Ｔ細胞二重特異性抗体の第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子であり、Ｔ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン

酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）従来のＦａｂ分子である、請求項３６～４０のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項４２】

Ｔ細胞二重特異性抗体のＦｃドメインが、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインが、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ若しくは複数のアミノ酸置換を含む、請求項３８～４１のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項４３】

標的細胞抗原が、ＣＤ１９である、請求項１９又は２０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項４４】

Ｔ細胞二重特異性抗体が、

（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号６１の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６２のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域、又は配列番号６４のＨＣＤＲ１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６５のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と

（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２の抗原結合部分であって、配列番号６７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号６８のＨＣＤＲ２、及び配列番号６９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号７１のＬＣＤＲ２及び配列番号７２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗原結合部分

を含む、請求項４３に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項４５】

Ｔ細胞二重特異性抗体が、ＣＤ１９に結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む、請求項４３又は４４に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項４６】

Ｔ細胞二重特異性抗体が、

（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号６１の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６２のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域、又は配列番号６４のＨＣＤＲ１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６５のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２、及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれかが交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、

（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号６７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号６８のＨＣＤＲ２、及び配列番号６９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号７１のＬＣＤＲ２、及び配列番号７２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、

（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、

第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメインと
を含む、請求項４３～４５のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項４７】
Ｔ細胞二重特異性抗体の第１の抗原結合部分が、配列番号６３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列又は配列番号６６のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含み、且つ／又はＴ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分が、配列番号７３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号７４のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む、請求項４３～４６のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項４８】
Ｔ細胞二重特異性抗体の第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子であり、Ｔ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）従来のＦａｂ分子である、請求項４３～４７のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項４９】
Ｔ細胞二重特異性抗体のＦｃドメインが、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインが、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ若しくは複数のアミノ酸置換を含む、請求項４５～４８のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項５０】
（Ｔ細胞係合剤によって治療されるべき）疾患が、がん、特にＴ細胞係合剤の標的細胞抗原を発現するがんである、請求項１～４９のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項５１】
がんが、
（ｉ）癌胎児性抗原（ＣＥＡ）発現がんである；且つ／又は
（ｉｉ）結腸直腸がん、肺がん、膵臓がん、乳がん、及び胃がんからなる群から選択される
請求項５０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。
【請求項５２】

がんが、
（ｉ）ＣＤ２０発現がんである、
（ｉｉ）Ｂ細胞がんである、且つ／又は
（ｉｉ）非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、濾胞性リンパ腫（ＦＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、及び辺縁帯リンパ腫（ＭＺＬ）からなる群から選択される
請求項５０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項５３】

がんが、ＭＡＧＥ－Ａ４発現がんである、請求項５０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項５４】

がんが、
（ｉ）ＣＤ１９発現がんである、
（ｉｉ）Ｂ細胞がんである、且つ／又は
（ｉｉ）非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）及び慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）からなる群から選択される
請求項５０に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項５５】

（Ｔ細胞係合剤によって治療されるべき）疾患が、自己免疫疾患、特にループス、より具体的には全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）又はループス腎炎（ＬＮ）である、請求項４３～４９のいずれか一項に記載のＴ細胞係合剤、ＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法。

【請求項５６】

上に記載された発明。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、サイトカイン放出症候群などのＴ細胞係合剤に関連する有害作用の防止又は軽減に関する。具体的には、本発明は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲの阻害剤を使用した、そのような有害作用の防止又は軽減に関する。

【背景技術】

【０００２】

Ｔ細胞二重特異性抗体（ＴＣＢ）又はキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞（ＣＡＲ－Ｔ細胞）などのＴ細胞係合剤は、がん免疫治療薬として大きな期待が寄せられている。しかしながら、Ｔ細胞係合剤による治療は、オンターゲットオン腫瘍、オンターゲットオフ腫瘍の細胞傷害活性及びサイトカイン放出による安全上の責任を伴うことがある。Ｔ細胞係合剤について報告されている最も一般的な有害作用の１つは、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）である。この複雑な臨床症候群は、発熱、低血圧、呼吸不全を特徴とし、ＩＬ－６、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、及びＩＬ－１０などの炎症誘発性サイトカインの放出に関連している（例えば、Ｓｈｉｍａｂｕｋｕｒｏ－Ｖｏｒｎｈａｇｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ Ｃａｎｃｅｒ （２０１８）６，５６を参照）。これらの生命を脅かす毒性を軽減するためのアプローチが大いに必要とされている。Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブは、ＣＡＲ－Ｔ細胞（Ｗｅｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ Ａｄｖａｎｃｅｓ（２０１９）３，７１１－７；Ｍｅｓｔｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ（２０１９）１１，ｅａａｕ５９０７）並びにＴＣＢ（Ｌｅｃｌｅｒｃｑ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ Ｃａｎｃｅｒ（２０２０）８（Ｓｕｐｐｌ ３）：Ａ６９０（ａｂｓｔｒａｃｔ ６５３））の有害作用の防止又は軽減の有

力な候補として同定された。しかしながら、ダサチニブは、これらの薬剤の望ましい活性と望ましくない活性を区別することなく、ＣＡＲ－Ｔ細胞の機能性とＴＣＢ誘導性Ｔ細胞の機能性を完全にオフにする。Ｔ細胞係合剤の治療効果を維持しながら、その有害作用を防止又は軽減する方法が非常に望ましい。ＩＬ－６又はＴＮＦ－αなどの個々のサイトカインの遮断は、ＴＣＢ誘導性Ｔ細胞活性に影響を与えずにＣＲＳを防止するための戦略として提案された（Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ　Ｔｒａｎｓｌ　Ｍｅｄ　１１，ｅａａｘ８８６１（２０１９））。抗ＩＬ－６治療（例えば、トシリズマブによる）のほかに、グルココルチコイドもＣＲＳの管理に使用される。しかし、一部の患者はこれらのアプローチに対して抵抗性であり、ＣＲＳ軽減のための新しいアプローチを開発する必要性が高まっている。

【発明を実施するための形態】

【０００３】

発明の説明

本発明者らは、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤を使用して、Ｔ細胞係合療法によるＣＲＳを軽減できることを発見した。テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスなどのｍＴＯＲ阻害剤、及びルキソリチニブなどのＪＡＫ阻害剤は、ＴＣＢ誘導性標的細胞死滅を維持しながら、ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を強力に防止することが見出された。結果は、ＴＣＢ依存性サイトカイン放出と標的細胞死滅のメカニズムを切り離すことができる証拠を提供し、そして、ｍＴＯＲ及び／又はＪＡＫ阻害剤は、Ｔ細胞係合療法に関連するＣＲＳの軽減のために、ステロイド又はＩＬ－６／ＩＬ－６Ｒ遮断などの現在使用されている戦略に対する魅力的な可能性のある優れた代替手段又は補完手段であることを示唆している。

【０００４】

したがって、第１の態様では、本発明は、個体における疾患の治療における使用のためのＴ細胞係合剤を提供し、ここで前記治療は、

（ａ）個体へのＴ細胞係合剤の投与、並びに

（ｂ）個体へのヤヌスキナーゼ（ＪＡＫ）及び／又は哺乳類ラパマイシン標的タンパク質（ｍＴＯＲ）シグナル伝達の阻害剤の投与

を含む。

【０００５】

本発明はさらに、個体における疾患の治療のための医薬の製造におけるＴ細胞係合剤の使用を提供し、ここで、前記治療は、

（ａ）個体へのＴ細胞係合剤の投与、並びに

（ｂ）個体へのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与

を含む。

【０００６】

本発明はまた、個体における疾患の治療のための方法を提供し、ここで、前記方法は、

（ａ）個体へのＴ細胞係合剤の投与、並びに

（ｂ）個体へのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与

を含む。

【０００７】

上記態様のいずれかによれば、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の防止又は軽減のためであり得る。

【０００８】

別の態様では、本発明は、個体へのＴ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の防止又は軽減における使用のためのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤を提供する。

【０００９】

本発明はさらに、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の防止又は軽減のための医薬の製造における、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の使用を提供する。

【００１０】

本発明はまた、個体へのＴ細胞係合剤の投与に関連する有害作用を防止又は軽減する方法であって、個体へのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与を含む、方法を提供する。

【００１１】

上記及び本明細書に記載の使用のためのＴ細胞係合剤、使用のためのＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤、使用又は方法は、単独で又は組み合わせて、以下に記載される特徴のいずれかを組み込むことができる（文脈が別段の指示をしない限り）。

【００１２】

本明細書で特に定義しない限り、用語は、当技術分野で一般的に使用されるものとして本明細書で使用される。

【００１３】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤はｍＴＯＲ阻害剤である。より具体的な態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤は、ｍＴＯＲキナーゼ阻害剤、特に小分子ｍＴＯＲキナーゼ阻害剤である。

【００１４】

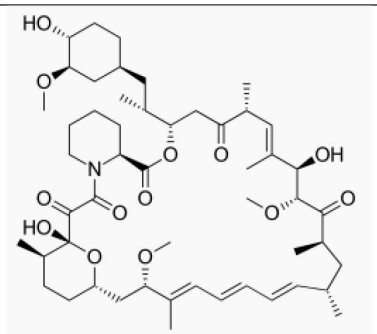
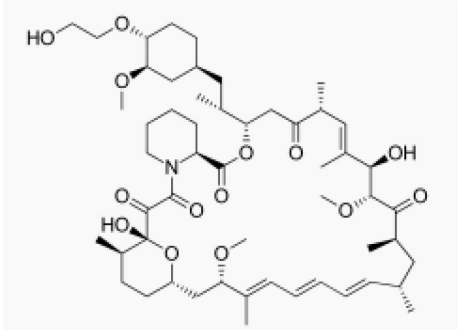
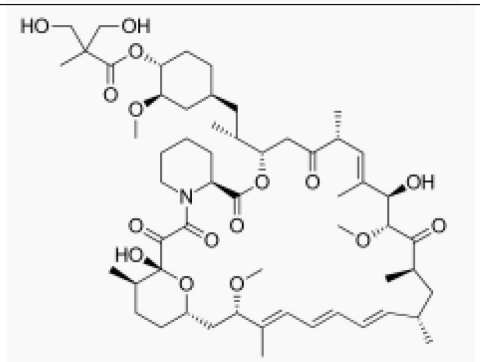
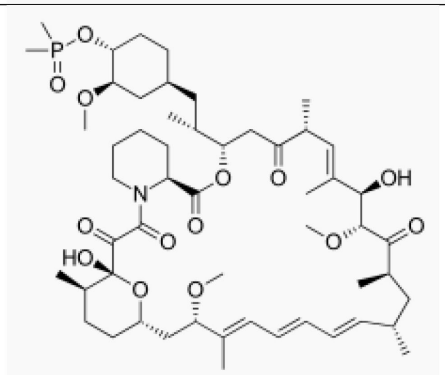
「ｍＴＯＲ」は、哺乳類ラパマイシン標的タンパク質（ＦＫ５０６結合タンパク質１２－ラパマイシン複合体関連タンパク質１（ＦＲＡＰ１）としても知られる）を表し、ホスファチジルイノシトール３キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）関連キナーゼのファミリーに属するセリン／スレオニン特異的プロテインキナーゼである。これは、異なる細胞プロセスを調節する２つの異なるタンパク質複合体、ｍＴＯＲ複合体１（ＴＯＲＣ１）とｍＴＯＲ複合体２（ＴＯＲＣ２）のコアコンポーネントとして機能する。ヒトｍＴＯＲは、ＵｎｉＰｒｏｔエントリーＰ４２３４５（バージョン２１８）に記載されている。ｍＴＯＲ阻害剤は、ｍＴＯＲを阻害する化合物である。ｍＴＯＲの最も確立された阻害剤は、ラパマイシンの誘導体であるいわゆるラパログである。ラパログには、シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、及びリダフォロリムスが含まれる。第２世代のｍＴＯＲ阻害剤は、ｍＴＯＲの触媒部位でＡＴＰと競合するように設計されたＡＴＰ競合的ｍＴＯＲキナーゼ阻害剤である。

【００１５】

本発明において有用であると考えられる例示的なｍＴＯＲ阻害剤は、以下の表１に提供される。

【００１６】

表１．ｍＴＯＲ阻害剤

ＩＮＮ	構造
シロリムス	
エベロリムス	
テムシロリムス	
リダフォロリムス	

【００１７】

いくつかの態様では、ｍＴＯＲ阻害剤はラパマイシンの誘導体（ラパログとしても知られる）である。

【００１８】

いくつかの態様では、ｍＴＯＲ阻害剤は、シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス及びリダフォロリムスからなる群、特にシロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスからなる群から選択される。

【００１９】

特定の態様では、ｍＴＯＲ阻害剤はシロリムスである。さらなる特定の態様では、ｍＴ

ＯＲ阻害剤はテムシロリムスである。さらなる特定の態様では、ｍＴＯＲ阻害剤はエベロリムスである。

【００２０】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤はＪＡＫ阻害剤である。より具体的な態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤は、ＪＡＫキナーゼ阻害剤、特に小分子ＪＡＫキナーゼ阻害剤である。

【００２１】

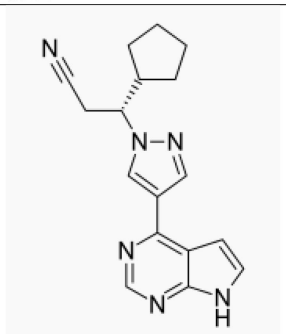
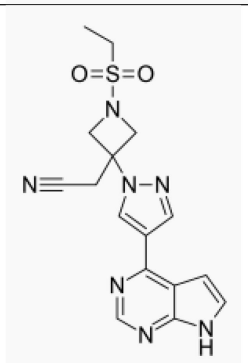
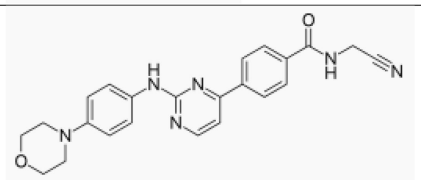
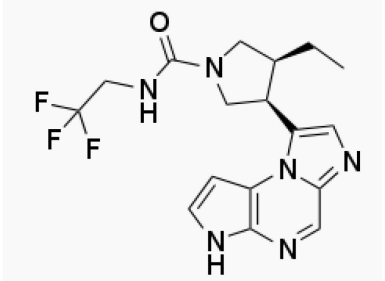
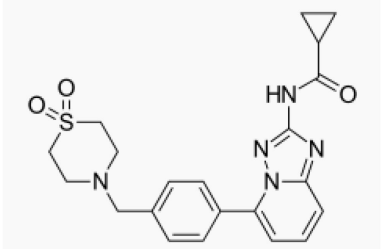
「ＪＡＫ」はヤヌスキナーゼを表し、ＪＡＫ／ＳＴＡＴ経路を介してサイトカイン媒介シグナルを伝達する細胞内非受容体チロシンキナーゼのファミリーを指す。ＪＡＫは２つのほぼ同一のリン酸転移ドメインを持ち、１つはキナーゼ活性を示し、もう１つは最初のキナーゼ活性を負に制御する。４つのＪＡＫファミリーメンバーは、ＪＡＫ１、ＪＡＫ２、ＪＡＫ３、及びＴＹＫ２（チロシンキナーゼ２）である。本明細書の特定の態様では、ＪＡＫは、ＪＡＫ１及び／又はＪＡＫ２（ＪＡＫ１／２）である。ヒトＪＡＫ１及びＪＡＫ２は、それぞれＵｎｉＰｒｏｔエントリーＰ２３４５８（バージョン２２１）及びＰ６０６７４（バージョン２２４）に記載されている。ＪＡＫ阻害剤（ジャキニブとも呼ばれる）は、ＪＡＫファミリーの酵素（ＪＡＫ１、ＪＡＫ２、ＪＡＫ３、ＴＹＫ２）の１つ又は複数の活性を阻害し、それによってＪＡＫ／ＳＴＡＴシグナル伝達経路を妨害する化合物である。

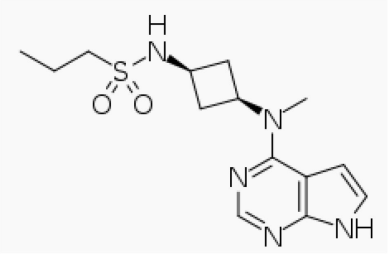
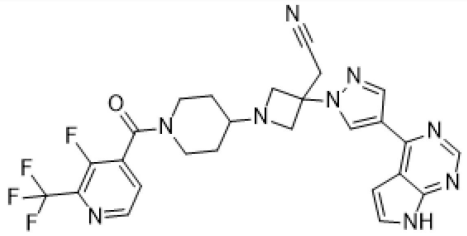
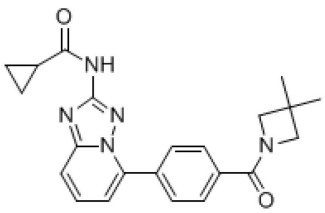
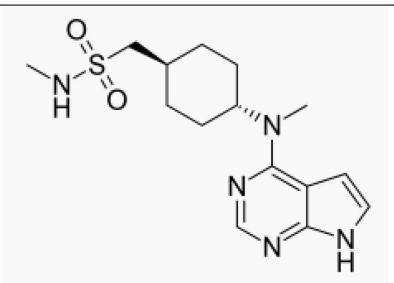
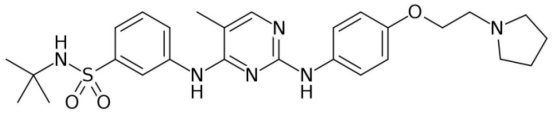
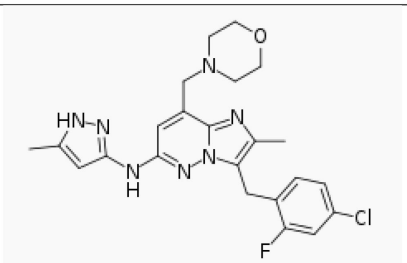
【００２２】

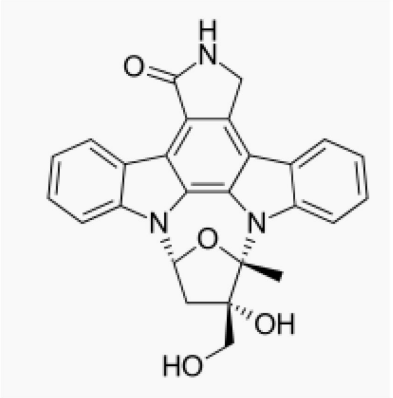
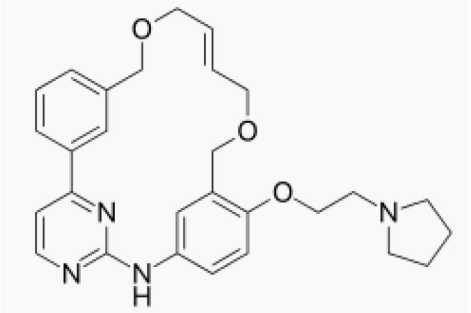
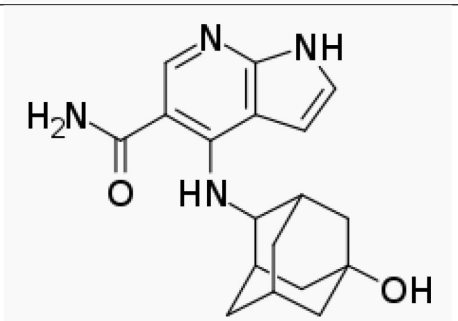
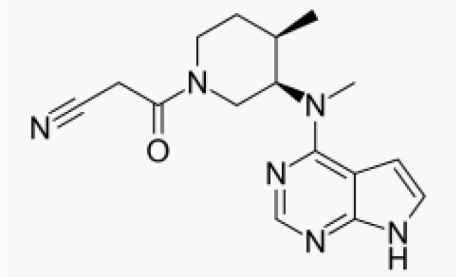
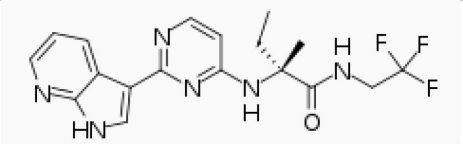
本発明において有用であると考えられる例示的なＪＡＫ阻害剤は、以下の表２に提供される。

【００２３】

表２．ＪＡＫ阻害剤。

ＩＮＮ	主な特異性	構造
ルキソリチニブ	ＪＡＫ１， ＪＡＫ２	
バリシチニブ	ＪＡＫ１， ＪＡＫ２	
モメロチニブ	ＪＡＫ１， ＪＡＫ２	
ウパダシチニブ	ＪＡＫ１	
フィルゴチニブ	ＪＡＫ１	

アブロシチニブ	ＪＡＫ１	
イタシチニブ	ＪＡＫ１	
ソルシチニブ	ＪＡＫ１	
オクラシチニブ	ＪＡＫ１	
フェドラチニブ	ＪＡＫ２	
ガンドチニブ	ＪＡＫ２	

レスタウルチニブ	ＪＡＫ２	
パクリチニブ	ＪＡＫ２	
ペフィシチニブ	汎ＪＡＫ（ＪＡＫ３）	
トファシチニブ	汎ＪＡＫ（ＪＡＫ３）	
デセルノチニブ	ＪＡＫ３	

【００２４】

いくつかの態様では、ＪＡＫ阻害剤は、ＪＡＫ１及び／又はＪＡＫ２（ＪＡＫ１／２）阻害剤である。いくつかの態様では、ＪＡＫ阻害剤は、ルキソリチニブ、バリシチニブ、モメロチニブ、ウパダシチニブ、フィルゴチニブ、アブロシチニブ、イタシチニブ、ソルシチニブ、オクラシチニブ、フェドラチニブ、ガンドチニブ、レスタウルチニブ、及びパクリチニブからなる群から選択される。

【００２５】

特定の態様では、ＪＡＫ阻害剤は、ＪＡＫ１及びＪＡＫ２阻害剤である。特定のそのような態様では、ＪＡＫ阻害剤は、ルキソリチニブ、バリシチニブ、及びモメロチニブから

なる群から選択される。
【００２６】
いくつかの態様では、ＪＡＫ阻害剤はＪＡＫ１阻害剤である。特定のそのような態様では、ＪＡＫ阻害剤は、ウパダシチニブ、フィルゴチニブ、アブロシチニブ、イタシチニブ、ソルシチニブ、及びオクラシチニブからなる群から選択される。
【００２７】
いくつかの態様では、ＪＡＫ阻害剤はＪＡＫ２阻害剤である。特定のそのような態様では、ＪＡＫ阻害剤は、フェドラチニブ、ガンドチニブ、レスタウルチニブ、及びパクリチニブからなる群から選択される。特定のそのような態様では、ＪＡＫ阻害剤はフェドラチニブである。
【００２８】
いくつかの態様では、ＪＡＫ阻害剤は汎ＪＡＫ阻害剤である。特定のそのような態様では、ＪＡＫ阻害剤は、トファシチニブ又はペフィシチニブ、特にトファシチニブである。
【００２９】
特定の態様では、ＪＡＫ阻害剤はルキソリチニブである。さらに特定の態様では、ＪＡＫ阻害剤はバリシチニブである。いくつかの態様では、ＪＡＫ阻害剤はトファシチニブである。いくつかの態様では、ＪＡＫ阻害剤はフェドラチニブである。
【００３０】
特定の態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤は、シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、及びルキソリチニブからなる群から選択される。さらに特定の態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤は、シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、ルキソリチニブ、及びバリシチニブからなる群から選択される。
【００３１】
いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の活性の阻害を引き起こす。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の別の活性の阻害を引き起こさない。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の第１の活性の阻害を引き起こすが、Ｔ細胞係合剤の第２の活性の阻害を引き起こさない。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は完全な阻害である。
【００３２】
いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の第１の活性の阻害及びＴ細胞係合剤の第２の活性の阻害を引き起こし、ここで、第１の活性の前記阻害は、第２の活性の前記阻害よりも強い。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の第１の活性の阻害及びＴ細胞係合剤の第２の活性の阻害を引き起こし、ここで、第１の活性の前記阻害は、完全な阻害であり、第２の活性の前記阻害は部分的阻害である。
【００３３】
Ｔ細胞係合剤の「活性」は、Ｔ細胞係合剤によって引き起こされる個体の身体における反応を指す。そのような活性には、Ｔ細胞、特にＣＤ４＋　Ｔ細胞及び／若しくはＣＤ８＋　Ｔ細胞の細胞応答、例えば、増殖、分化、サイトカイン分泌、細胞傷害性エフェクター分子の放出、細胞傷害活性、及び活性化マーカーの発現など、並びに／又は標的細胞、特にＴ細胞係合剤の標的細胞抗原を発現する標的細胞（例えば、腫瘍細胞）に対する効果、例えば、標的細胞の溶解などが含まれ得る。
【００３４】
いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、免疫細胞、特に（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞によるサイトカイン分泌の阻害を引き起こす。いくつかの態様では、前記サイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインである。免疫細胞は、Ｔ細胞、マクロファージ、単球

、ＮＫ細胞などの様々な免疫細胞型を含み得る。いくつかの態様では、前記Ｔ細胞は、ＣＤ８＋　Ｔ細胞又はＣＤ４＋　細胞である。いくつかの態様では、前記阻害は完全な阻害である。

【００３５】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の活性化の阻害を引き起こさない。いくつかの態様では、前記阻害は完全な阻害である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の活性化の阻害を引き起こし、ここで前記阻害は部分的阻害である。

【００３６】

本明細書で使用される「Ｔ細胞の活性化」又は「Ｔ細胞活性化」は、Ｔリンパ球、特にＣＤ４＋又はＣＤ８＋　Ｔ細胞の、増殖、分化、細胞傷害性エフェクター分子の放出、細胞傷害活性、及び活性化マーカーの発現から選択される１つ又は複数の細胞応答を指す。Ｔ細胞活性化を測定するための適切なアッセイは、当技術分野で知られており、本明細書に記載されている。特定の態様では、Ｔ細胞活性化は、活性化マーカーの発現、特に（場合によりフローサイトメトリーによって測定される）ＣＤ２５及び／又はＣＤ６９の発現である。特定の態様では、Ｔ細胞活性化は、Ｔ細胞上のＣＤ２５及び／又はＣＤ６９の発現を、例えばフローサイトメトリーにより測定することによって決定される。

【００３７】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の細胞傷害活性の阻害を引き起こさない。いくつかの態様では、前記阻害は完全な阻害である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の細胞傷害活性の阻害を引き起こし、ここで前記阻害は部分的阻害である。

【００３８】

Ｔ細胞の「細胞傷害活性」とは、Ｔリンパ球、特にＣＤ４＋又はＣＤ８＋　Ｔ細胞による標的細胞の溶解（すなわち死滅）の誘導を指す。細胞傷害活性は、典型的には、Ｔリンパ球からのグランザイムＢ及び／又はパーフォリンなどの細胞傷害性エフェクター分子の放出に関連するＴリンパ球の脱顆粒を伴う。

【００３９】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞によるサイトカイン分泌の阻害を引き起こすが、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の活性化及び／又は細胞傷害活性の阻害を引き起こさない。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は完全な阻害である。

【００４０】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞によるサイトカイン分泌の阻害、並びに（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の活性化及び／又は細胞傷害活性の阻害を引き起こし、ここで、サイトカイン分泌の前記阻害は、活性化及び／又は細胞傷害活性の前記阻害よりも強い。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞によるサイトカイン分泌の阻害、並びに（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の活性化及び／又は細胞傷害活性の阻害を引き起こし、ここで、サイトカイン分泌の前記阻害は完全な阻害であり、活性化及び／又は細胞傷害活性の前記阻害は部分的阻害である。

【００４１】

本明細書における阻害は、部分的阻害又は完全な阻害であり得る。完全な阻害は、部分的な阻害よりも強い阻害である。いくつかの態様における部分的阻害は、３０％以下、４０％以下、５０％以下、６０％以下、又は７０％以下の阻害である。いくつかの態様では、部分的阻害は、３０％以下の阻害である。いくつかの態様では、部分的阻害は、４０％以下の阻害である。いくつかの態様では、部分的阻害は、５０％以下の阻害である。いく

つかの態様では、部分的阻害は、６０％以下の阻害である。いくつかの態様では、部分的阻害は、７０％以下の阻害である。いくつかの態様における完全な阻害は、少なくとも８０％、少なくとも９０％、又は１００％の阻害である。いくつかの態様では、完全な阻害は、少なくとも８０％の阻害である。いくつかの態様では、完全な阻害は、少なくとも９０％の阻害である。いくつかの態様では、完全な阻害は、１００％の阻害である。いくつかの態様では、部分的阻害は、５０％以下の阻害であり、完全な阻害は、少なくとも８０％の阻害である。いくつかの態様では、完全な阻害は臨床的に意味があり、且つ／若しくは統計的に有意であり、並びに／又は部分的な阻害は臨床的に意味がなく、且つ／若しくは統計的に有意ではない。

【００４２】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、個体における１つ又は複数のサイトカインの血清レベルの減少を引き起こす。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、個体における免疫細胞、特にＴ細胞による１つ又は複数のサイトカインの分泌の減少を引き起こす。いくつかの態様では、前記１つ又は複数のサイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される。免疫細胞は、Ｔ細胞、マクロファージ、単球、ＮＫ細胞などの様々な免疫細胞型を含み得る。

【００４３】

いくつかの態様では、前記減少は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤が（個体に）所定の時間投与されなかった後も持続する。いくつかの態様では、前記時間量は、約１時間、２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、１２時間、１６時間、２０時間、２４時間、３６時間、４８時間、７２時間、又は９６時間である。いくつかの態様では、前記減少は、Ｔ細胞係合剤のその後の投与後にも持続される。特に、前記減少は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が停止された後／ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤のさらなる投与がなされなかった後でも持続される。血清レベル／サイトカイン分泌の前記減少は、特に、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤を投与していない個体（同じ個体を含む）における血清レベル／サイトカイン分泌と比較したものである（すなわち、そのような場合、血清レベル／サイトカイン分泌は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与なし／投与前の血清レベル／サイトカイン分泌と比較して減少している）。血清レベル／サイトカイン分泌の前記減少は、特に、Ｔ細胞係合剤の投与（特に第１の投与）を伴うがＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与を伴わない個体（同じ個体を含む）における血清レベル／サイトカイン分泌と比較したものである（すなわち、そのような場合、血清レベル／サイトカイン分泌は、Ｔ細胞係合剤の投与あり／投与後であるが、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与なし／投与前の血清レベル／サイトカイン分泌と比較して減少している）。前記減少がなければ、血清レベル／サイトカイン分泌は、Ｔ細胞係合剤（の投与）に関連して特に上昇／増加し得る。いくつかの態様では、前記減少は臨床的に意味があり、且つ／又は統計的に有意である。いくつかの態様では、前記減少は、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、又は少なくとも７０％である。いくつかの態様では、前記減少は少なくとも３０％である。いくつかの態様では、前記減少は少なくとも４０％である。いくつかの態様では、前記減少は少なくとも５０％である。いくつかの態様では、前記減少は少なくとも６０％である。いくつかの態様では、前記減少は少なくとも７０％である。

【００４４】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害を引き起こす。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こさない。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害を引

き起こすが、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こさない。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は完全な阻害である。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は臨床的に意味があり、且つ／又は統計的に有意である。

【００４５】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害、及びＴ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こし、ここで、有害作用の阻害は、所望の効果の阻害よりも強い。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害、及びＴ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こし、ここで、有害作用の阻害は完全な阻害であり、有益な効果の阻害は部分的阻害である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤（の投与）は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害、及びＴ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こし、ここで、有害作用の前記阻害は、臨床的に意味があり、且つ／又は統計的に有意な阻害であり、有益な効果の前記阻害は、臨床的に意味があり、且つ／又は統計的に有意な阻害ではない。

【００４６】

「所望の効果」とは、本明細書では特にＴ細胞係合剤を用いた個体の治療における薬物療法から得られる有益且つ所望の効果であり、すなわち、例えば腫瘍細胞の死滅、腫瘍増殖の減少又は遅延、腫瘍体積の減少、腫瘍転移の減少又は防止、無増悪又は全生存期間の増加、疾患症状の軽減などの治療効果又は予防効果である。

【００４７】

「有害作用」は、「副作用」又は「有害事象」と表記されることもあり（特に臨床試験において）、本明細書では特にＴ細胞係合剤を用いた、個体の治療における薬物療法から得られる有害且つ望ましくない効果である。

【００４８】

本発明によれば、有害作用は、Ｔ細胞係合剤の投与に関するものである。いくつかの態様では、有害作用は、Ｔ細胞係合剤の第１の投与に関連している。いくつかの態様では、有害作用は、Ｔ細胞係合剤の第１の投与時に起こる。いくつかの態様では、有害作用は、主に、又はＴ細胞係合剤の第１の投与時にのみ起こる。いくつかの態様では、有害作用は、Ｔ細胞係合剤の投与、特に第１の投与から１２時間、２４時間、３６時間、４８時間、７２時間又は９６時間以内に起こる。いくつかの態様では、特に、Ｔ細胞係合体の単回投与のみが行われる場合（Ｔ細胞係合剤による治療の過程で）、有害作用は、Ｔ細胞係合剤の投与から３日、４日、５日、６日、７日、１０日、１４日又は２１日以内に起こる。

【００４９】

いくつかの態様では、前記有害作用は、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）である。

【００５０】

「サイトカイン放出症候群」（「ＣＲＳ」と略される）は、治療剤（例えば、Ｔ細胞係合剤）の投与中又は投与直後（例えば、１日以内）の対象の血液中の腫瘍壊死因子アルファ（ＴＮＦ－α）、インターフェロンガンマ（ＩＦＮ－γ）、インターロイキン－６（ＩＬ－６）、インターロイキン－１０（ＩＬ－１０）などのサイトカインのレベルの増加であって、有害な症状を引き起こすことを指す。ＣＲＳは、治療剤に対する有害反応であり、治療剤の投与に適時に関連する。典型的には、治療剤の投与中又は投与直後、すなわち、典型的には投与（典型的には注入）後２４時間以内に、主には第１の投与時に起こる。場合によっては、例えばＣＡＲ－Ｔ細胞の投与後、ＣＲＳはまた、ＣＡＲ－Ｔ細胞の増殖時に、例えば投与後数日後にのみ発生する可能性がある。通常、その後の投与により発生率と重症度は減少する。症状は、症候性の不快感から致命的な事象まで多岐にわたり、発熱、悪寒、めまい、高血圧、低血圧、低酸素症、呼吸困難、不穏状態、発汗、潮紅、皮膚発疹、頻脈、頻呼吸、頭痛、腫瘍痛、吐き気、嘔吐及び／又は臓器不全を含み得る。ＣＲＳは、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ（２０１４）１２４：１８８－１９５又はＬｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｌ Ｂｌｏｏｄ Ｍａｒｒｏｗ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ（２０

１９）２５（４）：６２５－６３８（それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）によって確立された修正サイトカイン放出症候群の等級付けシステムに従って等級付けされる場合がある。ＣＲＳの総説については、例えば、Ｓｈｉｍａｂｕｋｕｒｏ－Ｖｏｒｎｈａｇｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｆｏｒ ＩｍｍｕｎｏＴｈｅｒａｐｙ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ（２０１８）６：５６（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）を参照のこと。

【００５１】

いくつかの態様では、前記有害作用は、発熱、低血圧及び／又は低酸素症である。

【００５２】

いくつかの態様では、前記有害作用は、１つ又は複数のサイトカインの上昇した血清レベルである。前記上昇した血清レベルは、特に、健常個体の血清レベル、及び／又はＴ細胞係合剤を投与していない個体（同じ個体を含む）の血清レベルと比較したものである（すなわち、そのような場合、血清レベルは、Ｔ細胞係合剤を投与しない場合の血清レベルと比較して上昇している）。いくつかの態様では、前記１つ又は複数のサイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される。

【００５３】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、（個体における）有害作用の（臨床的）発現時に行われる。前記投与は、例えば、有害作用の発現（すなわち、発熱などの有害作用の臨床症状の発生）後の約１時間、２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、１２時間、１６時間、２０時間又は２４時間以内であり得る。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、（個体における）有害作用の（臨床的）発現に応答する。

【００５４】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の投与前である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の投与と同時である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の投与後である。ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が、Ｔ細胞係合剤の投与の前又は後である場合、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤のそのような投与は、例えば、Ｔ細胞係合剤の投与前又は投与後のそれぞれ約１時間、２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、１２時間、１６時間、２０時間又は２４時間以内であり得る。ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、断続的又は連続的であり得る。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は経口である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤は、非経口、特に静脈内である。

【００５５】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の活性の阻害を引き起こすのに十分な用量である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の別の活性の阻害を引き起こすには不十分な用量である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の第１の活性の阻害を引き起こすのに十分な用量であるが、Ｔ細胞係合剤の第２の活性の阻害を引き起こすには不十分な用量である。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は完全な阻害である。

【００５６】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、免疫細胞、特に（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞によるサイトカイン分泌の阻害を引き起こすのに十分な用量である。いくつかの態様では、前記サイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインである。免疫細胞は、Ｔ細胞、マク

ロファージ、単球、ＮＫ細胞などの様々な免疫細胞型を含み得る。いくつかの態様では、前記Ｔ細胞は、ＣＤ８＋　Ｔ細胞又はＣＤ４＋　細胞である。いくつかの態様では、前記阻害は完全な阻害である。

【００５７】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の活性化の阻害を引き起こすには不十分な用量である。いくつかの態様では、前記阻害は完全な阻害である。

【００５８】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の細胞傷害活性の阻害を引き起こすには不十分な用量である。いくつかの態様では、前記阻害は完全な阻害である。

【００５９】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞によるサイトカイン分泌の阻害を引き起こすのに十分な用量であるが、（Ｔ細胞係合剤によって誘導される）Ｔ細胞の活性化及び／又は細胞傷害活性の阻害を引き起こすには不十分な用量である。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は完全な阻害である。

【００６０】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、個体における１つ又は複数のサイトカインの血清レベルの減少を引き起こすのに十分な用量である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、個体における免疫細胞、特にＴ細胞による１つ又は複数のサイトカインの分泌の減少を引き起こすのに十分な用量である。いくつかの態様では、前記１つ又は複数のサイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される。免疫細胞は、Ｔ細胞、マクロファージ、単球、ＮＫ細胞などの様々な免疫細胞型を含み得る。

【００６１】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害を引き起こすのに十分な用量である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こすには不十分な用量である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用の阻害を引き起こすのに十分な用量であるが、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する所望の効果の阻害を引き起こすには不十分な用量である。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は完全な阻害である。これらの態様のいくつかでは、前記阻害は臨床的に意味があり、且つ／又は統計的に有意である。

【００６２】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、有効用量である。

【００６３】

薬剤、例えばＪＡＫ及び／若しくはｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤又はＴ細胞係合剤の「有効量」又は「有効用量」は、所望の治療又は予防結果を達成するのに必要な投薬量及び期間で有効な量を指す。

【００６４】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤に利用可能な用量強度に等しい用量である。通常、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の特定の阻害剤について、いくつかの用量強度（すなわち、特定量の有効成分を含む錠剤又はカプセルなどの剤形）が利用可能である。そのような（商業的に）利用可能な用量強度でＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤を投与することが最も好都合であろう。例えば、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシ

グナル伝達の阻害剤がエベロリムスである場合、それは好ましくは２．５ｍｇ、５ｍｇ、７．５ｍｇ又は１０ｍｇの用量で投与され得る（投与は好ましくは経口投与である）。例えば、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤がシロリムスである場合、それは好ましくは０．５ｍｇ、１ｍｇ又は２ｍｇの用量で投与され得る（投与は好ましくは経口投与である）。例えば、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤がルキソリチニブである場合、好ましくは５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ、２０ｍｇ又は２５ｍｇの用量で投与され得る（投与は好ましくは経口投与である）。ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤がテムシロリムスである場合、例えば１２．５ｍｇ又は２５ｍｇの用量で投与され得る（投与は好ましくは静脈内投与であり、特に２５ｍｇ／ｍｌ活性成分の溶液を使用する）。

【００６５】

いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は毎日である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、１日１回である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、本明細書で言及したような用量で１日１回である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、有害作用が持続する期間である（すなわち、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、有害作用の発現から、有害作用の減少又は消失までである）。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、有害作用が防止又は軽減された後に中止される。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、有害作用の減少又は消失後に停止される。前記減少は、特に臨床的に意味があり、且つ／又は統計的に有意である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、１回、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回又は１０回、特に、Ｔ細胞係合剤による個体の治療の過程において、１回、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回又は１０回である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、１日、２日、３日、４日、５日、６日、７日、８日、９日又は１０日間である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、１日１回で、１日、２日、３日、４日、５日、６日、７日、８日、９日又は１０日間である。ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、一般に、Ｔ細胞係合剤の投与に付随している。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の第１の投与に付随している。前記第１の投与は、特に、Ｔ細胞係合剤による個体の治療の過程におけるＴ細胞係合剤の第１の投与である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の第１の投与と同時である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の第１の投与の前である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の第１の投与の後である。いくつかの態様では、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与は、Ｔ細胞係合剤の第１の投与の後であり、Ｔ細胞係合剤の第２の投与の前である。ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が、Ｔ細胞係合剤の（第１の）投与の前又は後である場合、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤のそのような投与は、例えば、Ｔ細胞係合剤の投与前又は投与後のそれぞれ約１時間、２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、１２時間、１６時間、２０時間、２４時間、４８時間又は７２時間以内であり得る。

【００６６】

いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与よりも長期間である。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の投与が停止された後も継続する。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は単回投与又は反復投与である。Ｔ細胞係合剤による個体の治療の過程において、Ｔ細胞係合剤は１回又は数回投与され得る。例えば、Ｔ細胞係合剤による個体の治療は、Ｔ細胞係合剤の１つ又は複数の投与をそれぞれが含む複数の治

療サイクルを含むことができる。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は、第１及び第２の投与を含む。

【００６７】

本発明における使用のために、Ｔ細胞係合剤は、良好な医療行為と一致する様式で調製され、投薬され、投与されるであろう。この文脈で考慮すべき要因としては、治療される特定の障害、治療される特定の哺乳動物、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与スケジュール、及び医療従事者に知られている他の要因が挙げられる。

【００６８】

いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は有効用量においてである。全身投与の場合、有効用量は、細胞培養アッセイなどのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイから最初に推定することができる。次いで、細胞培養で決定されるＩＣ$_{50}$を含む循環濃度範囲を達成するために、動物モデルにおいて用量を調製することができる。このような情報は、ヒトでの有用な用量をより正確に決定するために使用することができる。初期投与量は、当技術分野で周知の技術を使用して、動物モデルなどのｉｎ　ｖｉｖｏデータから推定することもできる。投与量及び投与間隔は、治療効果を維持するのに十分なＴ細胞係合剤の血漿レベルを提供するために個別に調整され得る。注射による投与のための通常の患者投与量は、約０．１～５０ｍｇ／ｋｇ／日、典型的には約０．５～１ｍｇ／ｋｇ／日の範囲である。治療上有効な血漿レベルは、毎日複数の用量を投与することによって達成することができる。血漿中のレベルは、例えば、ＨＰＬＣによって測定することができる。

【００６９】

疾患の予防又は治療のために、有効量のＴ細胞係合剤を投与することができる。Ｔ細胞係合剤の適切な投与経路及び投与量は、治療すべき疾患の種類、Ｔ細胞係合剤の種類、疾患の重症度及び経過、個体の臨床状態、個体の臨床歴及び治療に対する応答、並びに主治医の裁量に基づいて決定することができる。投薬は、投与が短期間であるか長期かに応じて、任意の適切な経路、例えば、静脈内注射又は皮下注射などの注射によるものであり得る。本明細書では、様々な時点にわたる単回又は複数回の投与、ボーラス投与、及びパルス注入を含むがこれらに限定されない様々な投薬スケジュールが企図される。

【００７０】

Ｔ細胞係合剤並びにＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナルの阻害剤は、任意の適切な経路で投与することができ、同じ投与経路で投与しても、異なる投与経路で投与してもよい。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は非経口、特に静脈内である。

【００７１】

いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は、個体へのＴ細胞係合剤の第１の投与であり、特に、Ｔ細胞係合剤による個体の治療の過程におけるＴ細胞係合剤の第１の投与である。

【００７２】

いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤（の投与）は、Ｔ細胞の活性化を誘導する（すなわち、引き起こす又は増加させる）。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤（の投与）は、Ｔ細胞の細胞障害活性を誘導する。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤（の投与）は、Ｔ細胞によるサイトカイン分泌を誘導する。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、及びＧＭ－ＣＳＦからなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインである。いくつかの態様では、前記Ｔ細胞はＣＤ８＋　Ｔ細胞又はＣＤ４＋　細胞である。

【００７３】

いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は、特にがんの部位（例えば、固形腫瘍がん内）におけるＴ細胞、特に細胞傷害性Ｔ細胞の活性化をもたらす。前記活性化は、Ｔ細胞の増殖、Ｔ細胞の分化、Ｔ細胞によるサイトカイン分泌、Ｔ細胞からの細胞傷害性エフェクター分子の放出、Ｔ細胞の細胞傷害活性、及びＴ細胞による活性化マーカーの発現を含み得る。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤の投与は、がんの部位（例えば、固形腫瘍が

ん内）におけるＴ細胞、特に細胞傷害性Ｔ細胞の数の増加をもたらす。

【００７４】

「Ｔ細胞係合剤」とは、Ｔ細胞、特に細胞傷害性Ｔ細胞の活性を通じてその効果を発揮する免疫療法剤を意味する。Ｔ細胞のそのような活性は、増殖、分化、活性化マーカーの発現、サイトカイン分泌、細胞傷害性エフェクター分子の放出及び／又は細胞傷害活性などの、Ｔ細胞、特にＣＤ４＋　Ｔ細胞及び／又はＣＤ８＋　Ｔ細胞の細胞応答（複数可）を含み得る。本明細書で企図されるＴ細胞係合剤は、典型的には、腫瘍細胞などの標的細胞上の標的細胞抗原への結合を可能にする抗原結合部分を含む。そのようなＴ細胞係合剤は、Ｔ細胞の活性を通じて標的細胞の溶解など、それらの標的細胞への効果を発揮する。例示的なＴ細胞係合剤には、Ｔ細胞二重特異性抗体、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）発現Ｔ細胞（ＣＡＲ－Ｔ細胞）、及びＩｍｍＴＡＣ（“Ｉｍｍｕｎｅ　ｍｏｂｉｌｉｓｉｎｇ　ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ｔ－ｃｅｌｌ　ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ　Ａｇａｉｎｓｔ　Ｃａｎｃｅｒ”（「がんに対する免疫動員性モノクローナルＴ細胞受容体」）；Ｔ細胞及び標的細胞に結合できる、操作されたＴＣＲ及び抗体断片の二重特異性融合タンパク質）又は標的細胞上の特定の抗原決定基に結合できる操作されたＴ細胞受容体を特徴とするＴＣＲ修飾Ｔ細胞（ＴＣＲ－Ｔ細胞）などのＴ細胞受容体（ＴＣＲ）ベースのアプローチが挙げられる。

【００７５】

本発明の特定の態様では、Ｔ細胞係合剤は、Ｔ細胞二重特異性抗体である。

【００７６】

他の態様では、Ｔ細胞係合剤は、ＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの態様では、ＣＡＲ－Ｔ細胞は、ユニバーサルＣＡＲ－Ｔ細胞である。「ユニバーサル」ＣＡＲ－Ｔ細胞とは、標的細胞抗原に結合する抗体などのアダプター分子を介して標的細胞抗原に結合するＣＡＲ－Ｔ細胞を意味する。ユニバーサルＣＡＲ－Ｔ細胞は、アダプター分子に結合する抗原結合部分を含むＣＡＲを発現し、アダプター分子は標的細胞抗原に結合する。異なるアダプター分子（異なる標的細胞抗原への結合する）を介して、ユニバーサルＣＡＲ－Ｔ細胞は、標的細胞抗原ごとに異なるＣＡＲを発現させる必要なく、異なる標的細胞抗原に結合することができる。アダプター分子は、（ｉ）ＣＡＲが結合でき、（ｉｉ）標的細胞抗原に結合することができる分子、例えば、標的細胞抗原に結合し、ＣＡＲが結合できるＦｃ領域を含む抗体などである。いくつかの態様では、ＣＡＲ－Ｔ細胞は、抗体Ｆｃ領域、特にＩｇＧ　Ｆｃ領域、より具体的にはＩｇＧ$_1$　Ｆｃ領域、及び特にヒトＦｃ領域に結合する抗原結合部分を含むＣＡＲを発現する。いくつかの態様では、ＣＡＲ－Ｔは、アミノ酸置換Ｐ３２９Ｇ（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックス番号付け）を含む、ＩｇＧ　Ｆｃ領域、特にヒトＩｇＧ$_1$　Ｆｃ領域に結合する抗原結合部分を含むＣＡＲを発現する。特定のそのような態様では、抗原結合部分はｓｃＦｖである。他の態様では、ＣＡＲ－Ｔは、野生型Ｆｃ領域、特に野生型ヒトＩｇＧ$_1$　Ｆｃ領域に結合する抗原結合部分を含むＣＡＲを発現する。特定のそのような態様では、抗原結合部分は、ＣＤ１６又はそのＦｃ結合断片（例えば、ＣＤ１６の細胞外ドメイン）である。

【００７７】

いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤は、ＩｍｍＴＡＣである。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤は、ＴＣＲ－Ｔ細胞である。

【００７８】

以下に、本発明で使用され得るＴ細胞二重特異性抗体について説明する。

【００７９】

「Ｔ細胞二重特異性抗体」とは、Ｔ細胞（通常、ＣＤ３などのＴ細胞に発現する抗原決定基を介して）及び標的細胞（通常、ＣＥＡ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４など、標的細胞で発現する抗原決定基を介して）に同時に結合することを含め、結合することができる抗体を意味する。

【００８０】

本発明による好ましい態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、Ｔ細胞上の抗原決定基（す

なわち、ＣＤ３などの第１の抗原）及び標的細胞上の抗原決定基（すなわち、ＣＥＡ、ＣＤ１９、ＣＤ２０又はＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４などの第２の抗原）に同時に結合することができる。いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３及び標的細胞抗原への同時結合によってＴ細胞及び標的細胞を架橋することができる。さらにより好ましい態様では、そのような同時結合は、標的細胞、特に標的細胞抗原（例えば、ＣＥＡ、ＣＤ１９、ＣＤ２０又はＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４）発現腫瘍細胞の溶解をもたらす。いくつかの態様では、このような同時結合は、Ｔ細胞の活性化をもたらす。いくつかの態様では、このような同時結合は、増殖、分化、サイトカイン分泌、細胞傷害性エフェクター分子放出、細胞傷害活性、及び活性化マーカーの発現の群から選択される、Ｔ細胞の細胞応答をもたらす。いくつかの態様では、標的細胞抗原への同時の結合なしでのＣＤ３へのＴ細胞二重特異性抗体の結合は、Ｔ細胞活性化をもたらさない。いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、Ｔ細胞の細胞傷害活性を標的細胞へ再指向することができる。好ましい態様では、前記再指向性は、標的細胞によるＭＨＣ媒介ペプチド抗原提示、及び／又はＴ細胞の特異性とは無関係である。

【００８１】

「二重特異性」という用語は、抗体が少なくとも２つの異なる抗原決定基に結合できることを意味する。典型的には、二重特異性抗体は２つの抗原結合部位を含み、その各々は異なる抗原決定基に特異的である。特定の態様では、二重特異性抗体は、２つの抗原決定基、特に２つの異なる細胞上で発現される２つの抗原決定基を同時に結合することができる。

【００８２】

本明細書で使用される場合、「抗原決定基」という用語は、「抗原」及び「エピトープ」と同義であり、抗原結合部分－抗原複合体を形成する、抗原結合部分が結合するポリペプチド高分子上の部位（例えば、アミノ酸の連続伸長部又は異なる領域の非連続アミノ酸から構成される配座構成）を指す。有用な抗原決定基は、例えば、腫瘍細胞の表面上に、ウイルス感染した細胞の表面上に、他の疾患細胞の表面上に、免疫細胞の表面上に、血清中で遊離して、及び／又は細胞外マトリックス（ＥＣＭ）中に認めることができる。

【００８３】

本明細書で使用される場合、「抗原結合部分」という用語は、抗原決定基に結合する（特異的に結合することを含む）ポリペプチド分子を指す。いくつかの態様では、抗原結合部分は、それが付着している実体（例えば、第２の抗原結合部分）を、標的部位、例えば、抗原決定基を有する特定のタイプの腫瘍細胞に向かわせることができる。さらなる態様では、抗原結合部分は、その標的抗原、例えばＴ細胞受容体複合体抗原を介してシグナル伝達を活性化することができる。抗原結合部分には、本明細書でさらに定義する抗体及びその断片が含まれる。特定の抗原結合部分は、抗体重鎖可変領域と抗体軽鎖可変領域とを含む、抗体の抗原結合ドメインを含む。特定の態様では、抗原結合部分は、本明細書でさらに定義され、当技術分野で知られている抗体定常領域を含み得る。有用な重鎖定常領域は、α、δ、ε、γ又はμの５つのアイソタイプのいずれかを含む。有用な軽鎖定常領域は、κ及びλの２つのアイソタイプのいずれかを含む。

【００８４】

「特異的結合」とは、結合が抗原に対して選択的であり、望ましくない相互作用又は非特異的相互作用と区別できることを意味する。本明細書において、「結合（ｂｉｎｄ）」又は「結合（ｂｉｎｄｉｎｇ）」という用語は、一般に「特異的結合」を指す。特定の抗原決定基に結合する抗原結合部分の能力は、酵素結合免疫吸着法（ＥＬＩＳＡ）又は当業者によく知られた他の技術、例えば表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）技術（例えばＢＩＡｃｏｒｅ計器上での解析）（Ｌｉｌｊｅｂｌａｄ ｅｔ ａｌ．，Ｇｌｙｃｏ Ｊ １７，３２３３２９（２０００））、及び古典的結合アッセイ（Ｈｅｅｌｅｙ，Ｅｎｄｏｃｒ Ｒｅｓ ２８，２１７２２９（２００２））により測定することができる。いくつかの態様では、抗原結合部分の無関係なタンパク質への結合の程度は、例えばＳＰＲによって測定した場合、抗原結合部分の抗原への結合の約１０％未満である。特定の態様では、抗原

に結合する抗原結合部分、又はその抗原結合部分を含む抗体は、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、又は≦０．００１ｎＭ（例えば、１０$^{-8}$Ｍ以下、例えば１０$^{-8}$Ｍから１０$^{-13}$Ｍまで、例えば１０$^{-9}$Ｍから１０$^{-13}$Ｍまで）の解離定数（K_D）を有する。

【００８５】

「親和性」は、分子の単一の結合部位（例えば、受容体）とその結合パートナー（例えば、リガンド）との間の非共有相互作用の合計の強度を指す。本明細書で使用される場合、特に断らない限り、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗原結合部分と抗原、又は受容体とそのリガンド）のメンバー間の１：１の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子Ｘのパートナー Ｙに対する親和性は、通常、解離定数（K_D）で表すことができ、これは解離速度定数と会合速度定数（それぞれk_{off}及びk_{on}）の比である。したがって、速度定数の比が同じでままである限り、同等の親和性は異なる速度定数を含み得る。親和性は、本明細書に記載のものを含む、当技術分野で知られている十分に確立された方法によって測定することができる。親和性を測定するための特定の方法は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）である。

【００８６】

「ＣＤ３」は、特に断らない限り、霊長類（例えば、ヒト）、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル）及びげっ歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来の任意の天然ＣＤ３を指す。この用語は、「完全長」の、未処理のＣＤ３、並びに細胞内でのプロセシングから生じた任意の形態のＣＤ３を包含する。この用語は、ＣＤ３の天然に存在するバリアント、例えばスプライスバリアント又は対立遺伝子バリアントも包含する。いくつかの態様では、ＣＤ３はヒトＣＤ３、特にヒトＣＤ３のイプシロンサブユニット（ＣＤ３ε）である。ヒトＣＤ３εのアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ（ｗｗｗ．ｕｎｉｐｒｏｔ．ｏｒｇ）アクセッション番号Ｐ０７７６６（バージョン１４４）、又はＮＣＢＩ（ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／）ＲｅｆＳｅｑＮＰ＿０００７２４．１に示されている。配列番号１も参照のこと。カニクイザル［Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ］のアミノ酸配列ＣＤ３εは、ＮＣＢＩ ＧｅｎＢａｎｋ番号ＢＡＢ７１８４９．１に示されている。配列番号２も参照のこと。

【００８７】

本明細書で使用される「標的細胞抗原」は、標的細胞、例えば、がん細胞又は腫瘍間質の細胞などの腫瘍中の細胞の表面に提示される抗原決定基を指す（その場合、「腫瘍細胞抗原」）。好ましくは、標的細胞抗原はＣＤ３ではなく、且つ／又はＣＤ３とは異なる細胞で発現される。いくつかの態様では、標的細胞抗原はＣＥＡ、特にヒトＣＥＡである。いくつかの態様では、標的細胞抗原はＣＤ２０、特にヒトＣＤ２０である。他の態様では、標的細胞抗原は、ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４、特にヒトＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４である。いくつかの態様では、標的細胞抗原はＣＤ１９、特にヒトＣＤ１９である。

【００８８】

本明細書で使用される場合、抗原結合部分などに関して「第１」、「第２」、又は「第３」という用語は、各タイプの部分が１つより多く存在する場合に区別するための便宜上使用される。これら用語の使用は、特に断らない限り、二重特異性抗体の特定の順序又は配向を付与することを意図していない。

【００８９】

本明細書で使用される「価」という用語は、抗体中の指定された数の抗原結合部位の存在を意味する。したがって、「抗原への一価結合」という用語は、抗体中の抗原に特異的な１つ（及び１つ以下）の抗原結合部位の存在を意味する。

【００９０】

本明細書における「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、様々な抗体構造を包含し、限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む。

【００９１】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書では交換可能に使用され、天然抗体構造と実質的に類似した構造を有する抗体を指す。

【００９２】

「抗体断片」とは、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部を含む、インタクトな抗体以外の分子である。抗体断片の例には、限定されないが、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２、ダイアボディ、直鎖状抗体、単鎖抗体分子（例えばｓｃＦｖ）、及び単一ドメイン抗体が含まれる。所定の抗体断片の総説については、Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｍｅｄ．９，１２９－１３４（２００３）を参照のこと。ｓｃＦｖ断片の総説については、例えば、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅ ｅｄｓ．，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）を参照；また、国際公開第９３／１６１８５号；並びに米国特許第５５７１８９４号及び第５５８７４５８号も参照のこと。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、且つｉｎ ｖｉｖｏ半減期が増加したＦａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$断片の議論については、米国特許第５８６９０４６号を参照のこと。ダイアボディは、二価又は二重特異性であり得る２つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、ＥＰ４０４０９７号；国際公開第１９９３／０１１６１号；Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｍｅｄ ９，１２９－１３４（２００３）；及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９０，６４４４－６４４８（１９９３）を参照のこと。トリアボディ及びテトラボディもＨｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｍｅｄ ９，１２９－１３４（２００３）に記載されている。単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全部若しくは一部又は軽鎖可変ドメインの全部若しくは一部を含む抗体断片である。特定の態様では、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ；例えば、米国特許第６２４８５１６号を参照）。抗体断片は様々な技術で作製することができ、限定されないが、本明細書に記載されるように、インタクトな抗体のタンパク分解、並びに組換え宿主細胞（例えば、大腸菌又はファージ）による生産を含む。

【００９３】

「可変領域」又は「可変ドメイン」という用語は、抗体の抗原への結合に関与する抗体の重鎖又は軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれＶＨ及びＶＬ）は、一般に類似の構造を持ち、各ドメインは４つの保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）と３つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む。例えば、Ｋｉｎｄｔ ｅｔ ａｌ．，Ｋｕｂｙ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６^{ｔｈ} ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏ．，ｐａｇｅ ９１（２００７）を参照のこと。抗原結合特異性を付与するには、単一のＶＨ又はＶＬドメインで十分である。可変領域配列に関して本明細書で使用される「Ｋａｂａｔ番号付け」は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１）によって規定された番号付けシステムを指す。

【００９４】

本明細書で使用される場合、重鎖及び軽鎖のすべての定常領域及びドメインのアミノ酸位置は、Ｋａｂａｔ，ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ ｅｄ．，Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１）に記載される、本明細書では「Ｋａｂａｔによる番号付け」又は「Ｋａｂａｔ番号付け」と呼ばれるＫａｂａｔ番号付けシステムに従って番号付けされる。具体的には、Ｋａｂａｔ番号付けシステム（Ｋａｂａｔ，ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃ

ａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ　ｅｄ．，Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１）の６４７－６６０頁参照）は、カッパ及びラムダアイソタイプの軽鎖定常ドメインＣＬに使用され、また、本明細書では「Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け」と呼ぶことによってこの場合さらに明確化されるＫａｂａｔ　ＥＵインデックス番号付けシステム（６６１－７２３頁参照）が、重鎖定常ドメイン（ＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３）に使用される。

【００９５】

本明細書で使用される「超可変領域」又は「ＨＶＲ」という用語は、配列が超可変であり、抗原結合特異性を決定する抗体可変ドメインの各領域、例えば「相補性決定領域」（「ＣＤＲ」）を指す。通常、抗体は、６つのＨＶＲ；ＶＨに３つ（ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３）、及びＶＬに３つ（ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、ＬＣＤＲ３）を含む。本明細書における例示的なＣＤＲは、

（ａ）アミノ酸残基２６－３２（Ｌ１）、５０－５２（Ｌ２）、９１－９６（Ｌ３）、２６－３２（Ｈ１）、５３－５５（Ｈ２）、及び９６－１０１（Ｈ３）に生じる超可変ループ（Ｃｈｏｔｈｉａ　ａｎｄ　Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７））；

（ｂ）アミノ酸残基２４－３４（Ｌ１）、５０－５６（Ｌ２）、８９－９７（Ｌ３）、３１－３５ｂ（Ｈ１）、５０－６５（Ｈ２）及び９５－１０２（Ｈ３）に生じるＣＤＲ（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ　Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１））；及び

（ｃ）アミノ酸残基２７ｃ－３６（Ｌ１）、４６－５５（Ｌ２）、８９－９６（Ｌ３）、３０－３５ｂ（Ｈ１）、４７－５８（Ｈ２）及び９３－１０１（Ｈ３）に生じる抗原接触（ＭａｃＣａｌｌｕｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６２：７３２－７４５（１９９６））が含まれる。

【００９６】

別途指示がない限り、ＣＤＲは、上掲のＫａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．に従って決定される。当業者であれば、ＣＤＲの名称はまた、上掲のＣｈｏｔｈｉａ、上掲のＭｃＣａｌｌｕｍ又は他の科学的に認められた命名法に従って決定することができることを理解するであろう。

【００９７】

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

【００９８】

抗体又は免疫グロブリンの「クラス」は、抗体又は免疫グロブリンの重鎖が保有する定常ドメイン又は定常領域の種類を指す。抗体の５つの主要なクラス、すなわちＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ及びＩｇＭがあり、これらのいくつかは、さらにサブクラス（アイソタイプ）、例えば$Ig G_1$、$Ig G_2$、$Ig G_3$、$Ig G_4$、IGA_1、及び$Ig A_2$に分けることができる。免疫グロブリンの様々なクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

【００９９】

「Ｆａｂ分子」は、免疫グロブリンの重鎖のＶＨ及びＣＨ１ドメイン（「Ｆａｂ重鎖」）と、軽鎖のＶＬ及びＣＬドメイン（「Ｆａｂ軽鎖」）とからなるタンパク質を指す。

【０１００】

「クロスオーバー」Ｆａｂ分子（「Ｃｒｏｓｓｆａｂ」とも称される）とは、Ｆａｂ重

鎖と軽鎖の可変ドメイン又は定常ドメインが交換されている（すなわち互いによって置き換えられている）Ｆａｂ分子を意味し、すなわちクロスオーバーＦａｂ分子は、軽鎖可変ドメインＶＬ及び重鎖定常ドメイン１　ＣＨ１（ＶＬ－ＣＨ１、Ｎ末端からＣ末端方向）から構成されるペプチド鎖と、重鎖可変ドメインＶＨ及び軽鎖定常ドメインＣＬ（ＶＨ－ＣＬ、Ｎ末端からＣ末端方向）から構成されるペプチド鎖とを含む。明確にするために、Ｆａｂ軽鎖とＦａｂ重鎖の可変ドメインが交換されているクロスオーバーＦａｂ分子では、重鎖定常ドメイン１　ＣＨ１を含むペプチド鎖は、本明細書では（クロスオーバー）Ｆａｂ分子の「重鎖」と呼ばれる。逆に、Ｆａｂ軽鎖とＦａｂ重鎖の定常ドメインが交換されているクロスオーバーＦａｂ分子では、重鎖可変ドメインＶＨを含むペプチド鎖は、本明細書では（クロスオーバー）Ｆａｂ分子の「重鎖」と呼ばれる。

【０１０１】

これに対して、「従来の」Ｆａｂ分子とは、その天然フォーマットのＦａｂ分子、すなわち重鎖の可変ドメイン及び定常ドメイン（ＶＨ－ＣＨ１、Ｎ末端からＣ末端方向）からなる重鎖と、軽鎖の可変ドメイン及び定常領域（ＶＬ－ＣＬ、Ｎ末端からＣ末端方向）からなる軽鎖とを含むＦａｂ分子を意味する。

【０１０２】

「免疫グロブリン分子」という用語は、天然に存在する抗体の構造を有するタンパク質を指す。例えば、ＩｇＧクラスの免疫グロブリンは、ジスルフィド結合している２つの軽鎖及び２つの重鎖から構成される約１５００００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。Ｎ末端からＣ末端に、各重鎖は可変重鎖ドメイン又は重鎖可変領域とも呼ばれる可変ドメイン（ＶＨ）を有し、それに続いて重鎖定常領域とも呼ばれる３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３）を有する。同様に、Ｎ末端からＣ末端に、各軽鎖は可変軽鎖ドメイン又は軽鎖可変領域とも呼ばれる可変ドメイン（ＶＬ）を有し、それに続いて軽鎖定常領域とも呼ばれる定常軽鎖（ＣＬ）ドメインを有する。免疫グロブリンの重鎖は、α（ＩｇＡ）、δ（ＩｇＤ）、ε（ＩｇＥ）、γ（ＩｇＧ）又はμ（ＩｇＭ）と呼ばれる５種類のうちの１つに割り当てることができ、そのうちのいくつかはサブタイプ、例えばγ$_1$（ＩｇＧ$_1$）、γ$_2$（ＩｇＧ$_2$）、γ$_3$（ＩｇＧ$_3$）、γ$_4$（ＩｇＧ$_4$）、α$_1$（ＩｇＡ$_1$）及びα$_2$（ＩｇＡ$_2$）にさらに分類することできる。免疫グロブリンの軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）とラムダ（λ）と呼ばれる２種類のうちの１つに割り当てることができる。免疫グロブリンは、本質的に、免疫グロブリンのヒンジ領域を介して結合された２つのＦａｂ分子とＦｃドメインからなる。

【０１０３】

「Ｆｃドメイン」又は「Ｆｃ領域」という用語は、本明細書において、定常領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために使用される。この用語は、天然配列Ｆｃ領域及びバリアントＦｃ領域を含む。ＩｇＧ重鎖のＦｃ領域の境界はわずかに変動し得るが、ヒトＩｇＧ重鎖のＦｃ領域は通常、重鎖のＣｙｓ２２６から又はＰｒｏ２３０から、カルボキシル末端までと定義される。しかしながら、宿主細胞によって産生された抗体は、重鎖のＣ末端から１つ又は複数、特に１つ又は２つのアミノ酸の翻訳後切断を受けることがある。したがって、完全長重鎖をコードする特定の核酸分子の発現によって宿主細胞によって産生される抗体は、完全長重鎖を含み得るか、又は完全長重鎖の切断されたバリアントを含み得る。これは、重鎖の最後の２つのＣ末端アミノ酸がグリシン（Ｇ４４６）及びリジン（Ｋ４４７、Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）である場合に当てはまる。したがって、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）又はＣ末端グリシン（Ｇｌｙ４４６）とリジン（Ｋ４４７）は、存在する場合も存在しない場合もある。本明細書に別途指定のない限り、Ｆｃ領域又は定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，１９９１（上記も参照）に記載されている、ＥＵインデックスとも呼ばれるＥＵ番号付けシステムに従う。本明細書で使用されるＦｃドメイ

ンの「サブユニット」は、二量体Ｆｃドメインを形成する２つのポリペプチドのうちの１つ、すなわち、安定した自己会合が可能な免疫グロブリン重鎖のＣ末端定常領域を含むポリペプチドを指す。例えば、ＩｇＧ　Ｆｃドメインのサブユニットは、ＩｇＧ　ＣＨ２及びＩｇＧ　ＣＨ３定常ドメインを含む。

【０１０４】

「Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾」は、Ｆｃドメインサブユニットを含むポリペプチドと同一のポリペプチドとの会合によるホモダイマーの形成を低減又は防止する、ペプチド骨格の操作又はＦｃドメインサブユニットの翻訳後修飾である。本明細書で使用される会合を促進する修飾は、会合することが望ましい２つのＦｃドメインサブユニット（すなわちＦｃドメインの第１及び第２のサブユニット）の各々に対して行われる別々の修飾を特に含み、この修飾は２つのＦｃドメインサブユニットの会合を促進するために互いに対して相補的である。例えば、会合を促進する修飾は、これらＦｃドメインサブユニットの一方又は両方の構造又は電荷を、それらの会合がそれぞれ立体的に又は静電気的に望ましいものになるように変化させる。したがって、（ヘテロ）二量体化は、第１のＦｃドメインサブユニットを含むポリペプチドと第２のＦｃドメインサブユニットを含むポリペプチドとの間に起こり、これらは、サブユニットの各々に融合したさらなる構成成分（例えば抗原結合部分）が同じでないという意味で同一ではない可能性がある。いくつかの態様では、会合を促進する修飾は、Ｆｃドメイン内のアミノ酸変異、具体的にはアミノ酸置換を含む。特定の態様では、会合を促進する修飾は、Ｆｃドメインの２つのサブユニットの各々に、別個のアミノ酸変異、具体的にはアミノ酸置換を含む。

【０１０５】

「エフェクター機能」という用語は、抗体のアイソタイプによって異なる、抗体のＦｃ領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例には：Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）；Ｆｃ受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）；抗体依存性細胞貪食（ＡＤＣＰ）；サイトカイン分泌；抗原提示細胞による免疫複合体媒介抗原取り込み；細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方制御；及びＢ細胞の活性化が含まれる。

【０１０６】

参照ポリペプチド配列に関する「パーセント（％）アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入した後、いかなる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした場合の、参照ポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定するためのアラインメントは、当分野の技術の範囲内にある種々の方法、例えばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、Ｃｌｕｓｔａｌ Ｗ，Ｍｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェア又はＦＡＳＴＡプログラムパッケージのような公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大の整列を達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列を整列させるための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、ここでの目的のために、％アミノ酸配列同一性の値は、ＦＡＳＴＡパッケージバージョン３６．３．８ｃのｇｇｓｅａｒｃｈプログラムを用いて又はその後ＢＬＯＳＵＭ５０比較行列を用いて生成される。ＦＡＳＴＡプログラムパッケージは、Ｗ．Ｒ．Ｐｅａｒｓｏｎ ａｎｄ Ｄ．Ｊ．Ｌｉｐｍａｎ（１９８８），“Ｉｍｐｒｏｖｅｄ Ｔｏｏｌｓ ｆｏｒ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ”，ＰＮＡＳ ８５：２４４４－２４４８；Ｗ．Ｒ．Ｐｅａｒｓｏｎ（１９９６）“Ｅｆｆｅｃｔｉｖｅ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ” Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．２６６：２２７－２５８；及びＰｅａｒｓｏｎ ｅｔ．ａｌ．（１９９７）Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ４６：２４－３６によって作成されたものであり、ｈｔｔｐ：／／ｆａｓｔａ．ｂｉｏｃｈ．ｖｉｒｇｉｎｉａ．ｅｄｕ／ｆａｓｔａ＿ｗｗｗ２／ｆａｓｔａ＿ｄｏｗｎ．ｓｈｔｍｌから公的に入手可能である。あるいは、ｈｔｔｐ：／／ｆａｓｔａ．ｂｉｏｃ

ｈ．ｖｉｒｇｉｎｉａ．ｅｄｕ／ｆａｓｔａ＿ｗｗｗ２／ｉｎｄｅｘ．ｃｇｉでアクセス可能な公的サーバが、ローカルではなくグローバルなアラインメントを確実に実施するために、ｇｇｓｅａｒｃｈ（ｇｌｏｂａｌ　ｐｒｏｔｅｉｎ：ｐｒｏｔｅｉｎ）プログラム及びデフォルトオプション（ＢＬＯＳＵＭ５０；ｏｐｅｎ：－１０；ｅｘｔ：－２；Ｋｔｕｐ＝２）を使用して、配列を比較するために使用可能である。パーセントアミノ酸同一性は、出力アラインメントヘッダ中に与えられる。

【０１０７】

「活性化Ｆｃ受容体」は、抗体のＦｃドメインの結合に続いて、受容体保有細胞を刺激してエフェクター機能を実行するシグナル伝達事象を誘発するＦｃ受容体である。ヒト活性化Ｆｃ受容体には、ＦｃγＲＩＩＩａ（ＣＤ１６ａ）、ＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）、ＦｃγＲＩＩａ（ＣＤ３２）及びＦｃαＲＩ（ＣＤ８９）が含まれる。

【０１０８】

「結合の低減」、例えばＦｃ受容体への結合の減少は、例えばＳＰＲによって測定される、それぞれの相互作用に対する親和性の減少を指す。明確にするために、この用語には、親和性をゼロ（又は分析方法の検出限界未満）に減少させること、すなわち相互作用の完全な消失も含まれる。逆に、「結合の増加」とは、それぞれの相互作用に対する結合親和性の増加を指す。

【０１０９】

「融合した」とは、構成成分（例えば、Ｆａｂ分子及びＦｃドメインサブユニット）がペプチド結合によって、直接又は１つ以上のペプチドリンカーを介して連結されることを意味する。

【０１１０】

特定の態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３及び標的細胞抗原に結合する。したがって、いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３に結合する抗原結合部分及び標的細胞抗原に結合する抗原結合部分を含む。

【０１１１】

いくつかの態様では、第１及び／又は第２の抗原結合部分はＦａｂ分子である。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれかが交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である。そのような態様では、第２の抗原結合部分は、好ましくは従来のＦａｂ分子である。

【０１１２】

Ｔ細胞二重特異性抗体の第１及び第２の抗原結合部分が両方ともＦａｂ分子であり、抗原結合部分の１つ（特に第１の抗原結合部分）において、Ｆａｂ軽鎖とＦａｂ重鎖の可変ドメインＶＬとＶＨが互いに置換されているいくつかの態様では、

ｉ）第１の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が正に帯電したアミノ酸によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第１の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸又は２１３位のアミノ酸が、負に帯電したアミノ酸によって置換されているか（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）；或いは

ｉｉ）第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が正に帯電したアミノ酸によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸又は２１３位のアミノ酸が、負に帯電したアミノ酸によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１１３】

Ｔ細胞二重特異性抗体は、ｉ）及びｉｉ）で言及された両方の修飾を含まない。ＶＨ／ＶＬ交換を有する抗原結合部分の定常ドメインＣＬ及びＣＨ１は、互いに置換されていない（すなわち、交換されないままである）。

【０１１４】

より具体的な態様では、

ｉ）第１の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第１の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸又は２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されているか（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）；
或いは
ｉｉ）第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸又は２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１１５】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸又は２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１１６】

さらなる態様では、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１１７】

好ましい態様では、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１１８】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸がリジン（Ｋ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸がリジン（Ｋ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸がグルタミン酸（Ｅ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸がグルタミン酸（Ｅ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１１９】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸がリジン（Ｋ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸がアルギニン（Ｒ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸がグルタミン酸（Ｅ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸がグルタミン酸（Ｅ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１２０】
特定の態様では、上記の態様によるアミノ酸置換が、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬ及び定常ドメインＣＨ１において行われる場合、第２の抗原結合部分の定常ドメインＣＬはカッパアイソタイプのものである。
【０１２１】
いくつかの態様では、第１の抗原結合部分と第２の抗原結合部分が、任意にペプチドリンカーを介して、互いに融合される。
【０１２２】
いくつかの態様では、第１及び第２の抗原結合部分はそれぞれＦａｂ分子であり、（ｉ）第２の抗原結合部分がＦａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しているか、又は（ｉｉ）第１の抗原結合部分がＦａｂ重鎖のＣ末端において第２の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合している。
【０１２３】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３に対する一価の結合を提供する。
【０１２４】
特定の態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３に結合する単一の抗原結合部分、及び標的細胞抗原に結合する２つの抗原結合部分を含む。したがって、いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、標的抗原に結合する第３の抗原結合部分、特にＦａｂ分子、より具体的には従来のＦａｂ分子を含む。第３の抗原結合部分は、第２の抗原結合部分に関して本明細書に記載されるすべての特徴（例えば、ＣＤＲ配列、可変領域配列、及び／又は定常領域中のアミノ酸置換）を、単独で又は組み合わせて組み込むことができる。いくつかの態様では、第３の抗原部分は第１の抗原結合部分と同一である（例えば、従来のＦａｂ分子でもあり、同じアミノ酸配列を含む）。
【０１２５】
特定の態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインをさらに含む。いくつかの態様では、ＦｃドメインはＩｇＧ　Ｆｃドメインである。特定の態様では、ＦｃドメインはＩｇＧ$_1$　Ｆｃドメインである。他の態様では、ＦｃドメインはＩｇＧ$_4$　Ｆｃドメインである。さらに特定の態様では、Ｆｃドメインは、位置Ｓ２２８（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックス番号付け）にアミノ酸置換、特にアミノ酸置換Ｓ２２８Ｐを含むＩｇＧ４　Ｆｃドメインである。このアミノ酸置換は、ＩｇＧ$_4$抗体のｉｎ　ｖｉｖｏでのＦａｂアーム交換を減少させる（Ｓｔｕｂｅｎｒａｕｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｄｒｕｇ　Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ　ａｎｄ　Ｄｉｓｐｏｓｉｔｉｏｎ　３８，８４－９１（２０１０）を参照）。さらなる特定の態様では、ＦｃドメインはヒトＦｃドメインである。特に好ましい態様では、ＦｃドメインはヒトＩｇＧ$_1$　Ｆｃドメインである。ヒトＩｇＧ$_1$　Ｆｃ領域の例示的な配列は、配列番号３に与えられる。
【０１２６】
第１の抗原結合部分、第２の抗原結合部分、及び存在する場合には、第３の抗原結合部分がそれぞれＦａｂ分子であるいくつかの態様では、（ａ）（ｉ）第２の抗原結合部分がＦａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、且つ第１の抗原結合部分がＦａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しているか、又は（ｉｉ）第１の抗原結合部分がＦａｂ重鎖のＣ末端において第２の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、且つ第２の抗原結合部分がＦａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しているかのいずれかであり；（ｂ）存在する場合、第３の抗原結合部分がＦａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している。
【０１２７】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、本質的に、第１、第２及び第３の抗原結合部分（特にＦａｂ分子）、第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成され

るＦｃドメイン、並びに任意に１つ又は複数のペプチドリンカーからなる。

【０１２８】

Ｔ細胞二重特異性抗体の構成成分は、互いに直接、又は好ましくは、１つ若しくは複数の適切なペプチドリンカーを介して融合され得る。Ｆａｂ分子の融合がＦｃドメインのサブユニットのＮ末端に対するものである場合、それは典型的には免疫グロブリンヒンジ領域を介したものである。

【０１２９】

抗原結合部分は、直接又は１つ以上のアミノ酸、典型的には約２～２０アミノ酸を含むペプチドリンカーを介して、Ｆｃドメインに、又は互いに融合していてもよい。ペプチドリンカーは当技術分野で知られており、本明細書に記載されている。適切な非免疫原性ペプチドリンカーには、例えば、（G_4S）$_n$、（SG_4）$_n$、（G_4S）$_n$、G_4（SG_4）$_n$又は（G_4S）$_n$$G_5$ペプチドリンカーが含まれる。「ｎ」は通常１から１０、典型的には２から４の整数である。いくつかの態様では、前記ペプチドリンカーは、少なくとも５アミノ酸の長さを有し、いくつかの態様では５～１００の長さ、さらなる態様では１０～５０アミノ酸の長さを有する。いくつかの態様では、前記ペプチドリンカーは、（ＧｘＳ）$_n$又は（ＧｘＳ）$_n$Ｇ$_m$であり、ここで、Ｇ＝グリシン、Ｓ＝セリン、及び（ｘ＝３、ｎ＝３、４、５又は６、及びｍ＝０、１、２又は３）又は（ｘ＝４、ｎ＝１、２、３、４又は５及びｍ＝０、１、２、３、４又は５）であり、いくつかの態様では、ｘ＝４及びｎ＝２又は３であり、さらなる態様では、ｘ＝４及びｎ＝２であり、さらにさらなる態様では、ｘ＝４、ｎ＝１及びｍ＝５である。いくつかの態様では、前記ペプチドリンカーは（G_4S）$_2$である。他の態様では、前記ペプチドリンカーはG_4SG_5である。さらに、リンカーは、免疫グロブリンヒンジ領域（の一部）を含み得る。特にＦａｂ分子がＦｃドメインサブユニットのＮ末端に融合している場合、追加のペプチドリンカーの有無にかかわらず、免疫グロブリンヒンジ領域又はその一部を介して融合され得る。

【０１３０】

特定の態様では、Ｆｃドメインは、Ｆｃドメインの第１のサブユニット及び第２のサブユニットの会合を促進する修飾を含む。ヒトＩｇＧ　Ｆｃドメインの２つのサブユニット間のタンパク質間相互作用が最も広範囲に及ぶ部位は、ＣＨ３ドメインにある。したがって、いくつかの態様では、前記修飾は、ＦｃドメインのＣＨ３ドメインにある。

【０１３１】

特定の態様では、Ｆｃドメインの第１のサブユニット及び第２のサブユニットの会合を促進する前記修飾は、いわゆる「ノブ・イントゥー・ホール」修飾であり、Ｆｃドメインの２つのサブユニットの一方に「ノブ」修飾を、Ｆｃドメインの２つのサブユニットの他方に「ホール」修飾を含む。「ノブ・イントゥー・ホール」技術は、例えば米国特許第５７３１１６８号；同第７６９５９３６号；Ｒｉｄｇｗａｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔ　Ｅｎｇ　９，６１７－６２１（１９９６）及びＣａｒｔｅｒ，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈ　２４８，７－１５（２００１）に記載されている。一般的に、この方法は、第１のポリペプチドの接触面に隆起（「ノブ」）を、第２のポリペプチドの接触面に対応する空洞（「ホール」）を導入し、その結果隆起が空洞内に配置することができ、ヘテロ二量体形成を促進しホモ二量体形成を妨げるようにする。隆起は、第１のポリペプチドの接触面からの小さなアミノ酸側鎖をより大きな側鎖（例えば、チロシン又はトリプトファン）で置き換えることによって構築される。隆起と同じ又は類似のサイズの相補的空洞は、大きなアミノ酸側鎖をそれよりも小さなアミノ酸側鎖（例えばアラニン又はスレオニン）で置き換えることによって、第２のポリペプチドの接触面に作り出される。

【０１３２】

したがって、いくつかの態様では、Ｆｃドメインの第１のサブユニットのＣＨ３ドメイン内のアミノ酸残基が、より大きな側鎖体積を有するアミノ酸残基で置き換えられ、それにより、第１のサブユニットのＣＨ３ドメイン内部に、第２のサブユニットのＣＨ３ドメイン内部の空洞内に配置可能な隆起が生成され、Ｆｃドメインの第２のサブユニットのＣＨ３ドメイン内のアミノ酸残基が、より小さな側鎖体積を有するアミノ酸残基で置き換え

られ、それにより、第２のサブユニットのＣＨ３ドメイン内部に、第１のサブユニットのＣＨ３ドメイン内部の隆起を配置可能な空洞が生成される。好ましくは、より大きな側鎖体積を有する前記アミノ酸残基は、アルギニン（Ｒ）、フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、及びトリプトファン（Ｗ）からなる群から選択される。好ましくは、より小さな側鎖体積を有する前記アミノ酸残基は、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）、及びバリン（Ｖ）からなる群から選択される。隆起及び空洞は、ポリペプチドをコードする核酸を改変することによって、例えば部位特異的変異誘発によって、又はペプチド合成によって作製することができる。

【０１３３】

特定のそのような態様では、Ｆｃドメインの第１のサブユニットにおいて、３６６位のスレオニン残基がトリプトファン残基で置き換えられ（Ｔ３６６Ｗ）、Ｆｃドメインの第２のサブユニットにおいて、４０７位のチロシン残基がバリン残基で置き換えられ（Ｙ４０７Ｖ）、任意に３６６位のスレオニン残基がセリン残基で置き換えられ（Ｔ３６６Ｓ）、３６８位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられる（Ｌ３６８Ａ）（Ｋａｂａｔ ＥＵインデックスによる番号付け）。さらなる態様では、Ｆｃドメインの第１のサブユニットにおいてさらに、３５４位のセリン残基がシステイン残基で置き換えられ（Ｓ３５４Ｃ）、又は３５６位のグルタミン酸残基がシステイン残基で置き換えられ（Ｅ３５６Ｃ）（特に３５４位のセリン残基がシステイン残基で置き換えられる）、Ｆｃドメインの第２のサブユニットにおいてさらに、３４９位のチロシン残基がシステイン残基によって置き換えられる（Ｙ３４９Ｃ）（Ｋａｂａｔ ＥＵインデックスによる番号付け）。好ましい態様では、Ｆｃドメインの第１のサブユニットはアミノ酸置換Ｓ３５４Ｃ及びＴ３６６Ｗを含み、Ｆｃドメインの第２のサブユニットはアミノ酸置換Ｙ３４９Ｃ、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖを含む（Ｋａｂａｔ ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１３４】

いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、Ｆｃ受容体への結合及び／又はエフェクター機能を低下させる１つ又は複数のアミノ酸置換を含む。

【０１３５】

特定の態様では、Ｆｃ受容体はＦｃγ受容体である。いくつかの態様では、Ｆｃ受容体はヒトＦｃ受容体である。いくつかの態様では、Ｆｃ受容体は、活性化Ｆｃ受容体である。特定の態様では、Ｆｃ受容体は活性化ヒトＦｃγ受容体、より具体的にはヒトＦｃγＲＩＩＩａ、ＦｃγＲＩ又はＦｃγＲＩＩａ、最も具体的にはヒトＦｃγＲＩＩＩａである。いくつかの態様では、エフェクター機能は、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、抗体依存性細胞介在性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、抗体依存性細胞食作用（ＡＤＣＰ）、及びサイトカイン分泌の群から選択される１つ又は複数である。特定の態様では、エフェクター機能はＡＤＣＣである。

【０１３６】

典型的には、同じ１つ又は複数のアミノ酸置換が、Ｆｃドメインの２つのサブユニットのそれぞれに存在する。いくつかの態様では、１つ又は複数のアミノ酸置換は、ＦｃドメインのＦｃ受容体への結合親和性を低下させる。いくつかの態様では、１つ又は複数のアミノ酸置換は、ＦｃドメインのＦｃ受容体への結合親和性を少なくとも２分の１、少なくとも５分の１、又は少なくとも１０分の１低下させる。

【０１３７】

いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、Ｅ２３３、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｎ２９７、Ｐ３３１及びＰ３２９の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む（Ｋａｂａｔ ＥＵインデックスによる番号付け）。より具体的な態様では、Ｆｃドメインは、Ｌ２３４、Ｌ２３５及びＰ３２９の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む（Ｋａｂａｔ ＥＵインデックスによる番号付け）。いくつかの態様では、Ｆｃドメインはアミノ酸置換Ｌ２３４Ａ及びＬ２３５Ａを含む（Ｋａｂａｔ ＥＵインデックスによる番号付け）。いくつかのそのような態様では、Ｆｃドメインは、ＩｇＧ$_1$ Ｆｃドメイン、特にヒトＩｇＧ$_1$ Ｆｃドメインである。いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、Ｐ３２９位にアミノ酸置換を

含む。さらに具体的な態様では、アミノ酸置換は、Ｐ３２９Ａ又はＰ３２９Ｇ、特にＰ３２９Ｇである（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。いくつかの態様では、Ｆｃドメインは、Ｐ３２９位に、並びにＥ２３３、Ｌ２３４、Ｌ２３５、Ｎ２９７及びＰ３３１から選択される位置にさらなるアミノ酸置換を含む（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。さらに具体的な態様では、さらなるアミノ酸置換は、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｌ２３５Ｅ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｄ又はＰ３３１Ｓである。特定の態様では、Ｆｃドメインは、Ｐ３２９、Ｌ２３４及びＬ２３５位にアミノ酸置換を含む（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。さらに特定の態様では、Ｆｃドメインは、アミノ酸変異Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇ（「Ｐ３２９Ｇ　ＬＡＬＡ」、「ＰＧＬＡＬＡ」又は「ＬＡＬＡＰＧ」）を含む。具体的には、好ましい態様では、Ｆｃドメインの各サブユニットは、アミノ酸置換Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇを含み（ＫａｂａｔＥＵインデックス番号付け）、すなわち、Ｆｃドメインの第１のサブユニット及び第２のサブユニットの各々において、２３４位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられており（Ｌ２３４Ａ）、２３５位のロイシン残基がアラニン残基で置き換えられており（Ｌ２３５Ａ）、３２９位のプロリン残基がグリシン残基で置き換えられている（Ｐ３２９Ｇ）（ＫａｂａｔＥＵインデックスによる番号付け）。いくつかのそのような態様では、Ｆｃドメインは、ＩｇＧ$_1$　Ｆｃドメイン、特にヒトＩｇＧ$_1$　Ｆｃドメインである。

【０１３８】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原は、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）である。

【０１３９】

「癌胎児性抗原」又は「ＣＥＡ」（癌胎児性抗原関連細胞接着分子５（ＣＥＡＣＡＭ５）としても知られる）は、特に断らない限り、霊長類（例えばヒト）、非ヒト霊長類（例えばカニクイザル）及びげっ歯類（例えばマウス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来の任意の天然ＣＥＡを指す。この用語は、「完全長」の、未処理のＣＥＡ、並びに細胞内でのプロセシングから生じた任意の形態のＣＥＡを包含する。この用語は、ＣＥＡの天然に存在するバリアント、例えばスプライスバリアント又は対立遺伝子バリアントも包含する。いくつかの態様では、ＣＥＡはヒトＣＥＡである。ヒトＣＥＡのアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ（ｗｗｗ．ｕｎｉｐｒｏｔ．ｏｒｇ）アクセッション番号Ｐ０６７３１、又はＮＣＢＩ（ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／）ＲｅｆＳｅｑ　ＮＰ＿００４３５４．２に示されている。いくつかの態様では、ＣＥＡは細胞膜結合ＣＥＡである。いくつかの態様では、ＣＥＡは、細胞の表面、例えばがん細胞の表面に発現したＣＥＡである。

【０１４０】

ＣＥＡに結合する本発明に有用なＴ細胞二重特異性抗体は、例えばＰＣＴ公報国際公開第２０１４／１３１７１２号（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【０１４１】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分、及びＣＥＡに結合する第２の抗原結合部分を含む。

【０１４２】

いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０１４３】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号１２の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号１３のＨＣＤＲ２、及び配列番号１４のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号１５の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号１６のＬＣＤＲ２及び配列番号１７

のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。
【０１４４】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と
（ｉｉ）ＣＥＡに結合する第２の抗原結合部分であって、配列番号１２の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号１３のＨＣＤＲ２、及び配列番号１４のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号１５の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号１６のＬＣＤＲ２及び配列番号１７のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗原結合部分
を含む。
【０１４５】
いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号１０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号１０の重鎖可変領域配列と、配列番号１１の軽鎖可変領域配列とを含む。
【０１４６】
いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号１８のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１９のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号１８の重鎖可変領域配列と、配列番号１９の軽鎖可変領域配列とを含む。
【０１４７】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、本明細書に記載のように、ＣＥＡに結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む。
【０１４８】
好ましい態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２、及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれか、特に定常領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、
（ｉｉ）ＣＥＡに結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号１２の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号１３のＨＣＤＲ２、及び配列番号１４のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号１５の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号１６のＬＣＤＲ２、及び配列番号１７のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、
（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、
第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメイ

ンと
を含む。
【０１４９】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＥＡ及びＣＤ３に結合する）の第１の抗原結合部分は、配列番号１０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号１０の重鎖可変領域配列と、配列番号１１の軽鎖可変領域配列とを含む。
【０１５０】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＥＡ及びＣＤ３に結合する）の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号１８のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１９のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号１８の重鎖可変領域及び配列番号１９の軽鎖可変領域を含む。
【０１５１】
上記の態様によるＦｃドメインは、Ｆｃドメインに関連して上記で説明した特徴のすべてを、単独で又は組み合わせて組み込むことができる。
【０１５２】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＥＡ及びＣＤ３に結合する）のＦｃドメインは、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインは、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ若しくは複数のアミノ酸置換を含む。
【０１５３】
いくつかの態様では、抗原結合部分及びＦｃ領域は、ペプチドリンカーによって、特に配列番号２１及び配列番号２３のようなペプチドリンカーによって互いに融合している。
【０１５４】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＥＡ及びＣＤ３に結合する）は、配列番号２０の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号２１の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、配列番号２２の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、及び配列番号２３の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチドを含む。いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＥＡ及びＣＤ３に結合する）は、配列番号２０の配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号２１の配列を含むポリペプチド、配列番号２２の配列を含むポリペプチド、及び配列番号２３の配列を含むポリペプチドを含む。
【０１５５】
好ましい態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、シビサタマブ（ＷＨＯ　Ｄｒｕｇ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（医薬品物質の国際一般名）、推奨ＩＮＮ：リスト８０、２０１８年、第３２巻、第３号、ｐ．４３８）である。
【０１５６】
いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原は、ＣＤ２０である。
【０１５７】
「Ｂリンパ球抗原Ｂ１」としても知られる「ＣＤ２０」は、特に断らない限り、霊長類（例えば、ヒト）、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル）及びげっ歯類（例えば、マウ

ス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来の任意の天然ＣＤ２０を指す。この用語は、「完全長」の、未処理のＣＤ２０、並びに細胞内でのプロセシングから生じた任意の形態のＣＤ２０を包含する。この用語は、ＣＤ２０の天然に存在するバリアント、例えばスプライスバリアント又は対立遺伝子バリアントも包含する。いくつかの態様では、ＣＤ２０はヒトＣＤ２０である。ヒトＣＤ２０は、ＵｎｉＰｒｏｔ（ｗｗｗ．ｕｎｉｐｒｏｔ．ｏｒｇ）アクセッション番号Ｐ１１８３６（エントリーバージョン２００）に記載されており、ヒトＣＤ２０のアミノ酸配列も配列番号３６に示されている。

【０１５８】

ＣＤ２０に結合する本発明に有用なＴ細胞二重特異性抗体は、例えば、国際公開第２０１６／０２０３０９号（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【０１５９】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分と、ＣＤ２０に結合する第２の抗原結合部分とを含む。

【０１６０】

いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０１６１】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号２４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号２５のＨＣＤＲ２、及び配列番号２６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号２７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号２８のＬＣＤＲ２及び配列番号２９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０１６２】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、

（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と

（ｉｉ）ＣＤ２０に結合する第２の抗原結合部分であって、配列番号２４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号２５のＨＣＤＲ２、及び配列番号２６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号２７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号２８のＬＣＤＲ２及び配列番号２９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗原結合部分

を含む。

【０１６３】

いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号１０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号１０の重鎖可変領域配列と、配列番号１１の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０１６４】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号３０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号３１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号３０の重鎖可変領域配列と、配列番号３１の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０１６５】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、本明細書に記載のように、ＣＤ２０に結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む。

【０１６６】

好ましい態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、

（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２、及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれか、特に可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、

（ｉｉ）ＣＤ２０に結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号２４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号２５のＨＣＤＲ２、及び配列番号２６のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号２７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号２８のＬＣＤＲ２、及び配列番号２９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、

（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、

第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメインとを含む。

【０１６７】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ２０及びＣＤ３に結合する）の第１の抗原結合部分は、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子であり、Ｔ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）従来のＦａｂ分子である。

【０１６８】

特に、上記の態様では、（ｉｉ）の第２及び第３のＦａｂ分子の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸はリジン（Ｋ）によって置換されていてもよく（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸は、リジン（Ｋ）又はアルギニン（Ｒ）、特にアルギニン（Ｒ）（Ｋａｂａｔによるナンバリング）によって置換されていてもよく、（ｉｉ）の第２及び第３のＦａｂ分子の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸はグルタミン酸（Ｅ）によって置換されていてもよく（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸はグルタミン酸（Ｅ）によって置換されていてもよい（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１６９】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ２０及びＣＤ３に結合する）の第１の抗原結合部分は、配列番号１０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸

配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号１０の重鎖可変領域配列と、配列番号１１の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０１７０】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ２０及びＣＤ３に結合する）の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号３０のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号３１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号３０の重鎖可変領域及び配列番号３１の軽鎖可変領域を含む。

【０１７１】

上記の態様によるＦｃドメインは、Ｆｃドメインに関連して上記で説明した特徴のすべてを、単独で又は組み合わせて組み込むことができる。

【０１７２】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ２０及びＣＤ３に結合する）のＦｃドメインは、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインは、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ若しくは複数のアミノ酸置換を含む。

【０１７３】

いくつかの態様では、抗原結合部分及びＦｃ領域は、ペプチドリンカーによって、特に配列番号３３及び配列番号３５のようなペプチドリンカーによって互いに融合している。

【０１７４】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ２０及びＣＤ３に結合する）は、配列番号３２の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号３３の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、配列番号３４の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、及び配列番号３５の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチドを含む。いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ２０及びＣＤ３に結合する）は、配列番号３２の配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号３３の配列を含むポリペプチド、配列番号３４の配列を含むポリペプチド、及び配列番号３５の配列を含むポリペプチドを含む。

【０１７５】

好ましい態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、グロフィタマブ（ＷＨＯ　Ｄｒｕｇ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（医薬品物質の国際一般名）、推奨ＩＮＮ：リスト８３、２０２０年、第３４巻、第１号、ｐ．３９）である。

【０１７６】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原は、ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４である。

【０１７７】

「ＭＡＧＥ－Ａ４」は、がん精巣抗原（ＣＴＡ）のＭＡＧＥファミリーのメンバーである「黒色腫関連抗原４」を表す。タンパク質のＭＡＧＥ－Ａファミリーは、Ｘｑ２６－２８にクラスター化され、保存されたドメイン（ＭＡＧＥホモロジードメイン、ＭＨＤ）の存在によって特徴付けられる１２の高度に相同な遺伝子を含む。ヒトＭＡＧＥ－Ａ４は、ＵｎｉＰｒｏｔ（ｗｗｗ．ｕｎｉｐｒｏｔ．ｏｒｇ）アクセッション番号．Ｐ４３３５８（エントリーバージョン１６３）に記載されており、また、ヒトＭＡＧＥ－Ａ４のアミノ酸配列は本明細書の配列番号５７に示されている。本明細書で使用される「ＭＡＧＥ－Ａ

４」は、特に断らない限り、霊長類（例えば、ヒト）、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル）及びげっ歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来の任意の天然ＭＡＧＥ－Ａ４を指す。この用語は、「完全長」の、未処理のＭＡＧＥ－Ａ４、並びに細胞内でのプロセシングから生じた任意の形態のＭＡＧＥ－Ａ４を包含する。この用語は、ＭＡＧＥ－Ａ４の天然に存在するバリアント、例えばスプライスバリアント又は対立遺伝子バリアントも包含する。一態様では、ＭＡＧＥ－Ａ４は、ヒトＭＡＧＥ－Ａ４、特に配列番号５７のタンパク質である。

【０１７８】

「ＭＡＧＥ－Ａ４$_{p230-239}$」又は「ｐ２３０－２３９ペプチド」とは、アミノ酸配列ＧＶＹＤＧＲＥＨＴＶ（配列番号５８；配列番号５７のＭＡＧＥ－Ａ４タンパク質の位置２３０～２３９）を有するＭＡＧＥ－Ａ４由来ペプチドを意味する。

【０１７９】

「ＨＬＡ－Ａ２」、「ＨＬＡ－Ａ＊０２」、「ＨＬＡ－Ａ０２」、又は「ＨＬＡ－Ａ＊２」（交換可能に使用される）は、ＨＬＡ－Ａ血清型群におけるヒト白血球抗原血清型を指す。ＨＬＡ－Ａ２タンパク質（それぞれのＨＬＡ遺伝子によってコードされる）は、β２ミクログロブリンサブユニットをさらに含む、それぞれのクラスＩ　ＭＨＣ（主要組織適合複合体）タンパク質のα鎖を構成する。特定のＨＬＡ－Ａ２タンパク質は、ＨＬＡ－Ａ２０１（ＨＬＡ－Ａ０２０１、ＨＬＡ－Ａ０２．０１、又はＨＬＡ－Ａ＊０２：０１とも呼ばれる）である。特定の態様では、本明細書に記載のＨＬＡ－Ａ２タンパク質はＨＬＡ－Ａ２０１である。ヒトＨＬＡ－Ａ２の例示的な配列は、配列番号５９で与えられる。

【０１８０】

「ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４」は、ＨＬＡ－Ａ２分子と、ＭＡＧＥ－Ａ４由来ペプチド（本明細書では「ＭＡＧＥ－Ａ４ペプチド」とも呼ばれる）、具体的にはｐ２３０－２３９ペプチドとの複合体（「ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４$_{p230-239}$」）を指す。

【０１８１】

ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４に結合する本発明に有用なＴ細胞二重特異性抗体は、例えば、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＥＰ２０２０／０８６６１４（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【０１８２】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分、及びＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４、特にＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４$_{p230-239}$に結合する第２の抗原結合部分を含む。

【０１８３】

いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号３７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号３８のＨＣＤＲ２、及び配列番号３９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号４０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４１のＬＣＤＲ２及び配列番号４２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０１８４】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号４５の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号４６のＨＣＤＲ２、及び配列番号４７のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号４８の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４９のＬＣＤＲ２及び配列番号５０のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０１８５】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、

（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号３７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号３８のＨＣＤＲ２、及び配列番号３９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号４０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４１のＬＣＤＲ２及び配列番号４２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と

（ｉｉ）ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４に結合する第２の抗原結合部分であって、配列番

号４５の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号４６のＨＣＤＲ２、及び配列番号４７のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号４８の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４９のＬＣＤＲ２及び配列番号５０のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗原結合部分
を含む。

【０１８６】

いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号４３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号４４のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号４３の重鎖可変領域配列と、配列番号４４の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０１８７】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号５１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号５２のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号５１の重鎖可変領域配列と、配列番号５２の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０１８８】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、本明細書に記載のように、ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４に結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む。

【０１８９】

好ましい態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号３７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号３８のＨＣＤＲ２、及び配列番号３９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号４０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４１のＬＣＤＲ２、及び配列番号４２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれか、特に可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、
（ｉｉ）ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４に結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号４５の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号４６のＨＣＤＲ２、及び配列番号４７のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号４８の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号４９のＬＣＤＲ２、及び配列番号５０のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、
（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、
第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメインと
を含む。

【０１９０】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４及びＣＤ３に結合する）の第１の抗原結合部分は、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子であり、Ｔ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立

して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）従来のＦａｂ分子である。

【０１９１】

特に、上記の態様では、（ｉｉ）の第２及び第３のＦａｂ分子の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸はリジン（Ｋ）によって置換されていてもよく（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸は、リジン（Ｋ）又はアルギニン（Ｒ）、特にアルギニン（Ｒ）（Ｋａｂａｔによるナンバリング）によって置換されていてもよく、（ｉｉ）の第２及び第３のＦａｂ分子の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸はグルタミン酸（Ｅ）によって置換されていてもよく（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸はグルタミン酸（Ｅ）によって置換されていてもよい（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０１９２】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４及びＣＤ３に結合する）の第１の抗原結合部分は、配列番号４３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号４４のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号４３の重鎖可変領域配列と、配列番号４４の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０１９３】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４及びＣＤ３に結合する）の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号５１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号５２のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号５１の重鎖可変領域及び配列番号５２の軽鎖可変領域を含む。

【０１９４】

上記の態様によるＦｃドメインは、Ｆｃドメインに関連して上記で説明した特徴のすべてを、単独で又は組み合わせて組み込むことができる。

【０１９５】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４及びＣＤ３に結合する）のＦｃドメインは、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインは、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ若しくは複数のアミノ酸置換を含む。

【０１９６】

いくつかの態様では、抗原結合部分及びＦｃ領域は、ペプチドリンカーによって、特に配列番号５４及び配列番号５６のようなペプチドリンカーによって互いに融合している。

【０１９７】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４及びＣＤ３に結合する）は、配列番号５３の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号５４の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、配列番号５５の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％

同一である配列を含むポリペプチド、及び配列番号５６の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチドを含む。いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４及びＣＤ３に結合する）は、配列番号５３の配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号５４の配列を含むポリペプチド、配列番号５５の配列を含むポリペプチド、及び配列番号５６の配列を含むポリペプチドを含む。

【０１９８】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原は、ＣＤ１９である。

【０１９９】

「ＣＤ１９」は、分化クラスター１９（Ｂリンパ球抗原ＣＤ１９又はＢリンパ球表面抗原Ｂ４としても知られている）を表し、特に断らない限り、霊長類（例えば、ヒト）、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル）及びげっ歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来の任意の天然ＣＤ１９を指す。この用語は、「完全長」の、未処理のＣＤ１９、並びに細胞内でのプロセシングから生じた任意の形態のＣＤ１９を包含する。この用語は、ＣＤ１９の天然に存在するバリアント、例えばスプライスバリアント又は対立遺伝子バリアントも包含する。いくつかの態様では、ＣＤ１９はヒトＣＤ１９である。ヒトタンパク質ＵｎｉＰｒｏｔ（ｗｗｗ．ｕｎｉｐｒｏｔ．ｏｒｇ）アクセッション番号Ｐ１５３９１（バージョン２１１）又はＮＣＢＩ（ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／）ＲｅｆＳｅｑ　ＮＰ＿００１７６１．３を参照のこと。ヒトＣＤ１９の例示的な配列は、配列番号６０で与えられる。

【０２００】

ＣＤ１９に結合する本発明のための有用なＴ細胞二重特異性抗体は、例えば、ＥＰ出願番号２０１８１０５６．１及び２０１８０９６８．８（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【０２０１】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分と、ＣＤ１９に結合する第２の抗原結合部分とを含む。

【０２０２】

いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号６１の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６２のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０２０３】

他の態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号６４の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６５のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０２０４】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号６７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号６８のＨＣＤＲ２、及び配列番号６９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号７１のＬＣＤＲ２及び配列番号７２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含む。

【０２０５】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、

（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号６１の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６２のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域、又は配列番号６４のＨＣＤＲ１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６５のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第１の抗原結合部分；と

（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２の抗原結合部分であって、配列番号６７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号６８のＨＣＤＲ２、及び配列番号６９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；並びに配列番号７０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号７１のＬＣＤＲ２及び配列番号７２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む、第２の抗原結合部分
を含む。

【０２０６】

いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号６３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列、又は配列番号６６のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号３５のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号６３の重鎖可変領域配列又は配列番号６６の重鎖可変領域配列と、配列番号１１の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０２０７】

いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号７３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号７４のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２の抗原結合部分は、配列番号７３の重鎖可変領域配列と、配列番号７４の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０２０８】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、本明細書に記載のように、ＣＤ１９に結合する第３の抗原結合部分並びに／又は第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインを含む。

【０２０９】

好ましい態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体は、
（ｉ）ＣＤ３に結合する第１の抗原結合部分であって、配列番号６１の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６２のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域、又は配列番号６４のＨＣＤＲ１、配列番号５のＨＣＤＲ２、及び配列番号６５のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号８のＬＣＤＲ２、及び配列番号９のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域又は定常領域のいずれか、特に可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子である、第１の抗原結合部分と、
（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分であって、配列番号６７の重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）１、配列番号６８のＨＣＤＲ２、及び配列番号６９のＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、配列番号７０の軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）１、配列番号７１のＬＣＤＲ２、及び配列番号７２のＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含み、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分の各々がＦａｂ分子、特に従来のＦａｂ分子である、第２の抗原結合部分及び第３の抗原結合部分と、
（ｉｉｉ）第１のサブユニット及び第２のサブユニットから構成されるＦｃドメインであって、
第２の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端において第１の抗原結合部分のＦａｂ重鎖のＮ末端に融合しており、第１の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第１のサブユニットのＮ末端に融合しており、第３の抗原結合部分が、Ｆａｂ重鎖のＣ末端においてＦｃドメインの第２のサブユニットのＮ末端に融合している、Ｆｃドメインと
を含む。

【０２１０】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）の第１

の抗原結合部分は、Ｆａｂ軽鎖及びＦａｂ重鎖の可変領域が交換されているクロスオーバーＦａｂ分子であり、Ｔ細胞二重特異性抗体の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸が、独立して、リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）又はヒスチジン（Ｈ）によって置換されており（Ｋａｂａｔによる番号付け）、定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されており（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸が、独立して、グルタミン酸（Ｅ）又はアスパラギン酸（Ｄ）によって置換されている（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）従来のＦａｂ分子である。

【０２１１】

特に、上記の態様では、（ｉｉ）の第２及び第３のＦａｂ分子の定常ドメインＣＬにおいて、１２４位のアミノ酸はリジン（Ｋ）によって置換されていてもよく（Ｋａｂａｔによる番号付け）、１２３位のアミノ酸は、リジン（Ｋ）又はアルギニン（Ｒ）、特にアルギニン（Ｒ）（Ｋａｂａｔによるナンバリング）によって置換されていてもよく、（ｉｉ）の第２及び第３のＦａｂ分子の定常ドメインＣＨ１において、１４７位のアミノ酸はグルタミン酸（Ｅ）によって置換されていてもよく（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）、２１３位のアミノ酸はグルタミン酸（Ｅ）によって置換されていてもよい（Ｋａｂａｔ　ＥＵインデックスによる番号付け）。

【０２１２】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）の第１の抗原結合部分は、配列番号６３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％同一である重鎖可変領域配列、又は配列番号６６のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号１１のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第１の抗原結合部分は、配列番号６３の重鎖可変領域配列又は配列番号６６の重鎖可変領域配列と、配列番号１１の軽鎖可変領域配列とを含む。

【０２１３】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）の第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号７３のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である重鎖可変領域配列と、配列番号７４のアミノ酸配列と少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％同一である軽鎖可変領域配列とを含む。いくつかの態様では、第２及び（存在する場合）第３の抗原結合部分は、配列番号７３の重鎖可変領域及び配列番号７４の軽鎖可変領域を含む。

【０２１４】

上記の態様によるＦｃドメインは、Ｆｃドメインに関連して上記で説明した特徴のすべてを、単独で又は組み合わせて組み込むことができる。

【０２１５】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）のＦｃドメインは、Ｆｃドメインの第１のサブユニットと第２のサブユニットとの会合を促進する修飾を含み、且つ／又はＦｃドメインは、Ｆｃ受容体への結合及び／若しくはエフェクター機能を低下させる１つ若しくは複数のアミノ酸置換を含む。

【０２１６】

いくつかの態様では、抗原結合部分及びＦｃ領域は、ペプチドリンカーによって、特に配列番号７５、配列番号７６及び配列番号７７のようなペプチドリンカーによって互いに融合している。

【０２１７】

いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）は、配

列番号７８の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号７５の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、配列番号７７の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、及び配列番号７９の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチドを含む。いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）は、配列番号７８の配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号７５の配列を含むポリペプチド、配列番号７７の配列を含むポリペプチド、及び配列番号７９の配列を含むポリペプチドを含む。

【０２１８】

他の態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）は、配列番号７８の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号７６の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、配列番号７７の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチド、及び配列番号８０の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を含むポリペプチドを含む。いくつかの態様では、Ｔ細胞二重特異性抗体（ＣＤ１９及びＣＤ３に結合する）は、配列番号７８の配列を含むポリペプチド（特に２つのポリペプチド）、配列番号７６の配列を含むポリペプチド、配列番号７７の配列を含むポリペプチド、及び配列番号８０の配列を含むポリペプチドを含む。

【０２１９】

いくつかの態様では、（Ｔ細胞係合剤によって治療される）疾患はがんである。

【０２２０】

本明細書で使用される場合、「治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」（及び「治療する（ｔｒｅａｔ）」又は「治療すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」などのその文法的変形）は、治療される個体の疾患の自然な経過を変える試みにおける臨床的介入を指し、予防のために、又は臨床病理学の過程で実施され得る。治療の望ましい効果には、限定されないが、疾患の発症又は再発を予防すること、症状の緩和、疾患の直接的又は間接的な病理学的帰結の縮小、転移の予防、疾患の進行の速度を遅らせること、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善が含まれる。

【０２２１】

「がん」という用語は、制御されていない細胞増殖を典型的に特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指す。がんの例には、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれるが、これらに限定されない。がんの非限定的な例には、白血病などの血液がん、膀胱がん、脳がん、頭頸部がん、膵臓がん、胆管がん、甲状腺がん、肺がん、乳がん、卵巣がん、子宮がん、子宮頸がん、子宮内膜がん、食道がん、結腸がん、結腸直腸がん、直腸がん、胃がん、前立腺がん、皮膚がん、扁平上皮癌、肉腫、骨がん、及び腎臓がんが含まれる。他の細胞増殖障害には、限定されないが、腹部、骨、乳房、消化器系、肝臓、膵臓、腹膜、内分泌腺（副腎、副甲状腺、下垂体、睾丸、卵巣、胸腺、甲状腺）、眼、頭頸部、（中枢及び末梢）神経系、リンパ系、骨盤、皮膚、軟組織、脾臓、胸部、及び泌尿生殖器系に位置する腫瘍が含まれる。前がん状態又は前がん病変及びがん転移も含まれる。

【０２２２】

いくつかの態様では、がんは、Ｔ細胞係合剤（例えば、Ｔ細胞二重特異性抗体）の標的細胞抗原を発現するがんである。

【０２２３】

いくつかの態様では、がんは、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）発現がんである（特に、Ｔ細胞係合剤、例えばＴ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原がＣＥＡである態様において）。「ＣＥＡ陽性がん」又は「ＣＥＡ発現がん」とは、がん細胞におけるＣＥＡの発現又は過剰発現を特徴とするがんを意味する。ＣＥＡの発現は、例えば免疫組織化学（ＩＨＣ）又はフローサイトメトリーアッセイにより決定され得る。いくつかの態様では、がんはＣＥＡを発現する。いくつかの態様では、がんは、ＣＥＡに特異的な抗体を使用する免疫組織化学（ＩＨＣ）によって決定されるように、腫瘍細胞の少なくとも２０％、好ましくは少なくとも５０％又は少なくとも８０％においてＣＥＡを発現する。

【０２２４】

いくつかの態様では、がんは、結腸がん、肺がん、卵巣がん、胃がん、膀胱がん、膵臓がん、子宮内膜がん、乳がん、腎臓がん、食道がん、前立腺がん、又は本明細書に記載される他のがんである。

【０２２５】

特定の態様では、がんは、結腸直腸がん、肺がん、膵臓がん、乳がん、及び胃がんからなる群から選択されるがんである。好ましい態様では、がんは結腸直腸がん（ＣＲＣ）である。いくつかの態様では、結腸直腸がんは、転移性結腸直腸がん（ｍＣＲＣ）である。いくつかの態様では、結腸直腸がんは、マイクロサテライト安定（ＭＳＳ）結腸直腸がんである。いくつかの態様では、結腸直腸がんは、マイクロサテライト安定転移性結腸直腸がん（ＭＳＳ　ｍＣＲＣ）である。

【０２２６】

いくつかの態様では、がんは、ＣＤ２０発現がんである（特に、Ｔ細胞係合剤、例えばＴ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原がＣＤ２０である態様において）。「ＣＤ２０陽性がん」又は「ＣＤ２０発現がん」とは、がん細胞におけるＣＤ２０の発現又は過剰発現を特徴とするがんを意味する。ＣＤ２０の発現は、例えば、定量的リアルタイムＰＣＲ（ＣＤ２０　ｍＲＮＡレベルを測定する）、フローサイトメトリー、免疫組織化学（ＩＨＣ）又はウエスタンブロットアッセイによって決定され得る。いくつかの態様では、がんはＣＤ２０を発現する。いくつかの態様では、がんは、ＣＤ２０に特異的な抗体を使用する免疫組織化学（ＩＨＣ）によって決定されるように、腫瘍細胞の少なくとも２０％、好ましくは少なくとも５０％又は少なくとも８０％においてＣＤ２０を発現する。

【０２２７】

いくつかの態様では、がんはＢ細胞がん、特にＣＤ２０陽性Ｂ細胞がんである。いくつかの態様では、がんは、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、濾胞性リンパ腫（ＦＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、辺縁帯リンパ腫（ＭＺＬ）、多発性骨髄腫（ＭＭ）又はホジキンリンパ腫（ＨＬ）からなる群から選択される。特定の態様では、がんは、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、濾胞性リンパ腫（ＦＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、及び辺縁帯リンパ腫（ＭＺＬ）からなる群から選択される。より特定の態様では、がんはＮＨＬ、特に再発性／難治性（ｒ／ｒ）ＮＨＬである。いくつかの態様では、がんはＤＬＢＣＬである。いくつかの態様では、がんはＦＬである。いくつかの態様では、がんはＭＣＬである。いくつかの態様では、がんはＭＺＬである。

【０２２８】

いくつかの態様では、がんは、ＭＡＧＥ－Ａ４発現がんである（特に、Ｔ細胞係合剤、例えばＴ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原がＨＬＡ－Ａ２／ＭＡＧＥ－Ａ４である態様において）。「ＭＡＧＥ－Ａ４陽性がん」又は「ＭＡＧＥ－Ａ４発現がん」とは、がん細胞におけるＭＡＧＥ－Ａ４の発現又は過剰発現を特徴とするがんを意味する。

【０２２９】

いくつかの態様では、がんは、肺がん、頭頸部がん、膀胱がん、食道がん、皮膚がん、胃がん、及び卵巣がんからなる群から選択されるがんである。

【０２３０】
いくつかの態様では、がんは、ＣＤ１９発現がんである（特に、Ｔ細胞係合剤、例えばＴ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原がＣＤ１９である態様において）。「ＣＤ１９陽性がん」又は「ＣＤ１９発現がん」とは、がん細胞におけるＣＤ１９の発現又は過剰発現を特徴とするがんを意味する。ＣＤ１９の発現は、例えば、定量的リアルタイムＰＣＲ（ＣＤ１９　ｍＲＮＡレベルを測定する）、フローサイトメトリー、免疫組織化学（ＩＨＣ）又はウエスタンブロットアッセイによって決定され得る。いくつかの態様では、がんはＣＤ１９を発現する。いくつかの態様では、がんは、ＣＤ１９に特異的な抗体を使用する免疫組織化学（ＩＨＣ）によって決定されるように、腫瘍細胞の少なくとも２０％、好ましくは少なくとも５０％又は少なくとも８０％においてＣＤ１９を発現する。

【０２３１】
いくつかの態様では、がんはＢ細胞がん、特にＣＤ１９陽性Ｂ細胞がんである。いくつかの態様では、がんはＢ細胞リンパ腫又はＢ細胞白血病である。いくつかの態様では、がんは、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）又は慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）である。

【０２３２】
いくつかの態様では、がんは、Ｔ細胞係合剤によって治療可能である。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤は、がんの治療に適応される。

【０２３３】
いくつかの態様では、がんは、固形腫瘍がんである。「固形腫瘍がん」とは、（例えば、一般的には固形腫瘍を形成しない白血病などの血液がんとは対照的に）肉腫又は癌腫などの患者の体内の特定の位置にある個別の腫瘍塊（腫瘍転移も含む）を形成する悪性腫瘍を意味する。固形腫瘍がんの非限定的な例には、膀胱がん、脳がん、頭頸部がん、膵臓がん、肺がん、乳がん、卵巣がん、子宮がん、子宮頸がん、子宮内膜がん、食道がん、結腸がん、結腸直腸がん、直腸がん、胃がん、前立腺がん、皮膚がん、扁平細胞癌腫、骨がん、肝臓がん及び腎臓がんが含まれる。本発明の文脈で企図される他の固形腫瘍がんには、限定されないが、腹部、骨、乳房、消化器系、肝臓、膵臓、腹膜、内分泌腺（副腎、副甲状腺、脳下垂体、睾丸、卵巣、胸腺、甲状腺）、眼、頭頸部、神経系（中枢及び末梢）、リンパ系、骨盤、皮膚、軟組織、筋肉、脾臓、胸部領域及び泌尿生殖器系に位置する腫瘍が含まれる。前がん状態又は前がん病変及びがん転移も含まれる。

【０２３４】
Ｔ細胞係合剤、例えばＴ細胞二重特異性抗体の標的細胞抗原がＣＤ１９であるいくつかの態様では、（Ｔ細胞二重特異性抗体によって治療されるべき）疾患は自己免疫疾患である。特定の態様では、自己免疫疾患はループス、特に全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）又はループス腎炎（ＬＮ）である。

【０２３５】
本明細書における「個体」又は「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、限定されないが、家畜動物（例えばウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ウマ）、霊長類（例えばヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、及びげっ歯類（例えばマウス及びラット）が含まれる。特定の態様では、個体又は対象はヒトである。いくつかの態様では、個体は、疾患、特に、Ｔ細胞係合剤によって治療可能な又は治療されるべき疾患を有する。いくつかの態様では、個体は、がん、特に、Ｔ細胞係合剤によって治療可能な又は治療されるべきがんを有する。特に、本明細書における個体は、がんの１つ又は複数の徴候、症状、又は他の指標を経験しているか又は経験したことのある、治療に適格な任意の単一のヒト対象である。いくつかの態様では、個体は、がんを有するか、又はがん、特に上記のがんのいずれかと診断されている。いくつかの態様では、個体は、局所進行性がん若しくは転移性がんを有するか、又は局所進行性がん若しくは転移性がんと診断されている。個体は、Ｔ細胞係合剤（例えば、Ｔ細胞二重特異性抗体）若しくは別の薬物で以前に治療されていてもよく、又はそのような治療を受けていなくてもよい。特定の態様では、患者はＴ細胞係合剤（例えばＴ細胞二重特異性抗体）で以前に治療されていない。患者は、Ｔ細胞係合剤療

法が開始される前に、Ｔ細胞係合剤以外の（例えば、Ｔ細胞二重特異性抗体以外の）１つ又は複数の薬物を含む療法で治療されていてもよい。

【０２３６】

いくつかの態様では、個体は、１つ又は複数のサイトカインの上昇した血清レベルを有する。いくつかの態様では、前記上昇した血清レベルは、個体へのＴ細胞係合剤の投与に関連している。前記上昇した血清レベルは、特に、健常個体の血清レベル、及び／又はＴ細胞係合剤を投与していない個体（同じ個体を含む）の血清レベルと比較したものである（すなわち、そのような場合、血清レベルは、Ｔ細胞係合剤を投与しない場合の血清レベルと比較して上昇している）。いくつかの態様では、前記１つ又は複数のサイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される。

【０２３７】

本発明の態様のいずれかによるサイトカインは、インターロイキン（ＩＬ）－６、インターフェロン（ＩＦＮ）－γ、ＩＬ－１０、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）－α、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、単球走化性タンパク質（ＭＣＰ）－１、ＩＬ－１β、ＩＬ－８、ＩＬ－４、及びＩＬ－２からなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインであり得る。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＣＰ－１、及びＩＬ－１βからなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、及びＧＭ－ＣＳＦからなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１０及びＴＮＦ－αからなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ及びＩＬ－１０からなる群から選択される１つ又は複数のサイトカインである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－６である。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＦＮ－γである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－１０である。いくつかの態様では、サイトカインは、ＴＮＦ－αである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＧＭ－ＣＳＦである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＭＣＰ－１である。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－１βである。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－８である。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－４である。いくつかの態様では、サイトカインは、ＩＬ－２である。

【０２３８】

好ましくは、本発明の態様のいずれかによるＴ細胞は細胞傷害性Ｔ細胞である。いくつかの態様では、Ｔ細胞は$CD4^+$又は$CD8^+$　Ｔ細胞である。いくつかの態様では、Ｔ細胞は$CD8^+$　Ｔ細胞であるいくつかの態様では、Ｔ細胞は$CD4^+$　Ｔ細胞である

【０２３９】

いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤による治療又はＴ細胞係合剤の投与は、個体における応答をもたらし得る。いくつかの態様では、応答は完全な応答であり得る。いくつかの態様では、応答は、治療の中止後に持続する応答であり得る。いくつかの態様では、応答は、治療の中止後に持続する完全な応答であり得る。いくつかの態様では、応答は部分応答であり得る。いくつかの態様では、応答は、治療の中止後に持続する部分応答であり得る。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤並びにＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤による治療又は投与は、Ｔ細胞係合剤単独で（すなわち、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤なしで）の治療又は投与と比較して、応答を改善し得る。いくつかの態様では、Ｔ細胞係合剤並びにＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤の治療又は投与は、Ｔ細胞係合剤単独で（すなわち、ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤なしで）治療された対応する患者集団と比較して、患者集団における奏効率を増加させ得る。

【０２４０】

Ｔ細胞係合剤は、治療において単独で、又は他の薬剤と一緒に使用され得る。例えば、

Ｔ細胞係合剤は、少なくとも１つの追加の治療剤と共投与され得る。特定の態様では、追加の治療剤は、抗がん剤、例えば、化学療法剤、腫瘍細胞増殖の阻害剤、又は腫瘍細胞アポトーシスの活性化剤である。

【０２４１】

ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤は、Ｔ細胞係合剤の投与に関連する有害作用、特にＣＲＳの防止又は軽減のために、単独で、又は１つ以上の他の薬剤と一緒に使用することができる。ＪＡＫ及び／又はｍＴＯＲシグナル伝達の阻害剤は、例えば、ＩＬ－６Ｒアンタゴニスト（例えば、トシリズマブ）、ステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン又はデキサメタゾンなどのコルチコステロイド）又はＴＮＦ－αアンタゴニスト（例えば、エタネルセプト）と一緒に使用することができる。

【０２４２】

アミノ酸配列

	配列	配列番号
ヒトＣＤ３	ＭＱＳＧＴＨＷＲＶＬＧＬＣＬＬＳＶＧＶＷＧＱＤＧＮＥＥＭＧＧ ＩＴＱＴＰＹＫＶＳＩＳＧＴＴＶＩＬＴＣＰＱＹＰＧＳＥＩＬＷＱ ＨＮＤＫＮＩＧＧＤＥＤＤＫＮＩＧＳＤＥＤＨＬＳＬＫＥＦＳＥＬ ＥＱＳＧＹＹＶＣＹＰＲＧＳＫＰＥＤＡＮＦＹＬＹＬＲＡＲＶＣＥ ＮＣＭＥＭＤＶＭＳＶＡＴＩＶＩＶＤＩＣＩＴＧＧＬＬＬＬＶＹＹ ＷＳＫＮＲＫＡＫＡＫＰＶＴＲＧＡＧＡＧＧＲＱＲＧＱＮＫＥＲＰ ＰＰＶＰＮＰＤＹＥＰＩＲＫＧＱＲＤＬＹＳＧＬＮＱＲＲＩ	１
カニクイザル ＣＤ３	ＭＱＳＧＴＲＷＲＶＬＧＬＣＬＬＳＩＧＶＷＧＱＤＧＮＥＥＭＧＳ ＩＴＱＴＰＹＱＶＳＩＳＧＴＴＶＩＬＴＣＳＱＨＬＧＳＥＡＱＷＱ ＨＮＧＫＮＫＥＤＳＧＤＲＬＦＬＰＥＦＳＥＭＥＱＳＧＹＹＶＣＹ ＰＲＧＳＮＰＥＤＡＳＨＨＬＹＬＫＡＲＶＣＥＮＣＭＥＭＤＶＭＡ ＶＡＴＩＶＩＶＤＩＣＩＴＬＧＬＬＬＬＶＹＹＷＳＫＮＲＫＡＫＡ ＫＰＶＴＲＧＡＧＡＧＧＲＱＲＧＱＮＫＥＲＰＰＰＶＰＮＰＤＹＥ ＰＩＲＫＧＱＱＤＬＹＳＧＬＮＱＲＲＩ	２
ｈＩｇＧ１ Ｆｃ領域	ＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴ ＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤ ＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨ ＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫ ＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫ ＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳ ＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥ ＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰ	３
ＣＤ３　ＨＣ ＤＲ１	ＴＹＡＭＮ	４
ＣＤ３　ＨＣ ＤＲ２	ＲＩＲＳＫＹＮＮＹＡＴＹＹＡＤＳＶＫＧ	５
ＣＤ３　ＨＣ ＤＲ３	ＨＧＮＦＧＮＳＹＶＳＷＦＡＹ	６
ＣＤ３　ＬＣ ＤＲ１	ＧＳＳＴＧＡＶＴＴＳＮＹＡＮ	７
ＣＤ３　ＬＣ ＤＲ２	ＧＴＮＫＲＡＰ	８
ＣＤ３　ＬＣ ＤＲ３	ＡＬＷＹＳＮＬＷＶ	９
ＣＤ３　ＶＨ	ＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳ ＴＹＡＭＮＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＲＩＲＳＫＹＮＮＹＡＴ ＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＤＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡ ＥＤＴＡＶＹＹＣＶＲＨＧＮＦＧＮＳＹＶＳＷＦＡＹＷＧＱＧＴＬ ＶＴＶＳＳ	１０
ＣＤ３　ＶＬ	ＱＡＶＶＴＱＥＰＳＬＴＶＳＰＧＧＴＶＴＬＴＣＧＳＳＴＧＡＶＴ ＴＳＮＹＡＮＷＶＱＥＫＰＧＱＡＦＲＧＬＩＧＧＴＮＫＲＡＰＧＴ ＰＡＲＦＳＧＳＬＬＧＧＫＡＡＬＴＬＳＧＡＱＰＥＤＥＡＥＹＹＣ ＡＬＷＹＳＮＬＷＶＦＧＧＧＴＫＬＴＶＬ	１１
ＣＥＡ　ＨＣ ＤＲ１	ＥＦＧＭＮ	１２
ＣＥＡ　ＨＣ ＤＲ２	ＷＩＮＴＫＴＧＥＡＴＹＶＥＥＦＫＧ	１３
ＣＥＡ　ＨＣ ＤＲ３	ＷＤＦＡＹＹＶＥＡＭＤＹ	１４

CEA LCDR1	KASAAVGTYVA	15
CEA LCDR2	SASYRKR	16
CEA LCDR3	HQYYTYPLFT	17
CEA VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT EFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATY VEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVS S	18
CEA VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVG TYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQ YYTYPLFTFGQGTKLEIK	19
CEA VL－CL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVG TYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQ YYTYPLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	20
CEA VH－CH1－Fc（ホール，PGLALA）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT EFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATY VEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K	21
CD3 VL－CH1	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT TSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYC ALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSC	22
CEA VH－CH1－CD3 VH－CL－Fc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT EFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATY VEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV	23

（ノブ，ＰＧＬＡＬＡ）	ＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳ ＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰ ＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＥＶＱＬＬ ＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＴＹＡＭＮ ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＲＩＲＳＫＹＮＮＹＡＴＹＹＡＤＳ ＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＤＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶ ＹＹＣＶＲＨＧＮＦＧＮＳＹＶＳＷＦＡＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ ＡＳＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮ ＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤ ＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴ ＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥ ＡＡＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶ ＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥ ＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶ ＳＮＫＡＬＧＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰ ＣＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＷＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳ ＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤ ＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬ ＳＰＧＫ	
ＣＤ２０　ＨＣＤＲ１	ＹＳＷＩＮ	２４
ＣＤ２０　ＨＣＤＲ２	ＲＩＦＰＧＤＧＤＴＤＹＮＧＫＦＫＧ	２５
ＣＤ２０　ＨＣＤＲ３	ＮＶＦＤＧＹＷＬＶＹ	２６
ＣＤ２０　ＬＣＤＲ１	ＲＳＳＫＳＬＬＨＳＮＧＩＴＹＬＹ	２７
ＣＤ２０　ＬＣＤＲ２	ＱＭＳＮＬＶＳ	２８
ＣＤ２０　ＬＣＤＲ３	ＡＱＮＬＥＬＰＹＴ	２９
ＣＤ２０　ＶＨ	ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＡＦＳ ＹＳＷＩＮＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＲＩＦＰＧＤＧＤＴＤＹ ＮＧＫＦＫＧＲＶＴＩＴＡＤＫＳＴＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＮＶＦＤＧＹＷＬＶＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ	３０
ＣＤ２０　ＶＬ	ＤＩＶＭＴＱＴＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＫＳＬＬ ＨＳＮＧＩＴＹＬＹＷＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＱＭＳＮＬＶ ＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶ ＹＹＣＡＱＮＬＥＬＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ	３１
ＣＤ２０　ＶＬ－ＣＬ（ＲＫ）	ＤＩＶＭＴＱＴＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＫＳＬＬ ＨＳＮＧＩＴＹＬＹＷＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＱＭＳＮＬＶ ＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶ ＹＹＣＡＱＮＬＥＬＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶ ＦＩＦＰＰＳＤＲＫＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫ ＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬ ＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶ ＴＫＳＦＮＲＧＥＣ	３２
ＣＤ２０　ＶＨ－ＣＨ１（ＥＥ）－Ｆｃ（ホール，	ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＡＦＳ ＹＳＷＩＮＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＲＩＦＰＧＤＧＤＴＤＹ ＮＧＫＦＫＧＲＶＴＩＴＡＤＫＳＴＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＮＶＦＤＧＹＷＬＶＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡ ＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＥＤ	３３

PGLALA)	YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL GAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDEL TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	
CD3 VH－CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS TYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTL VTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	34
CD20 VH－CH1（EE）－CD3 VL－CH1－Fc（ノブ，PGLALA）	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFS YSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDY NGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQE PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANW VQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSP	35
ヒトCD20	MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMQSGPKPL FRRMSSLVGPTQSFFMRESKTLGAVQIMNG LFHIALGGLLMIPAGIYAPICVTVWYPLWG GIMYIISGSLLAATEKNSRKCLVKGKMIMN SLSLFAAISGMILSIMDILNIKISHFLKME SLNFIRAHTPYINIYNCEPANPSEKNSPST QYCYSIQSLFLGILSVMLIFAFFQELVIAG IVENEWKRTCSRPKSNIVLLSAEEKKEQTI EIKEEVVGLTETSSQPKNEEDIEIIPIQEE EEEETETNFPEPPQDQESSPIENDSSP	36

CD3 HCDR1	GYTMN	37
CD3 HCDR2	LINPYKGVSTYNQKFKD	38
CD3 HCDR3	SGYYGDSDWYFDV	39
CD3 LCDR1	RASQDIRNYLN	40
CD3 LCDR2	YTSRLES	41
CD3 LCDR3	QQGNTLPWT	42
CD3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFT GYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTY NQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTV SS	43
CD3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIR NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQ GNTLPWTFGQGTKVEIK	44
MAGE-A4 HCDR1	KAMS	45
MAGE-A4 HCDR2	SISPSGGSTYYNDNVLG	46
MAGE-A4 HCDR3	DVGFFDE	47
MAGE-A4 LCDR1	RASQSISSYLA	48
MAGE-A4 LCDR2	DASIRDI	49
MAGE-A4 LCDR3	QQYSSYPYT	50
MAGE-A4 VH	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFK AMSWVRQAPGKGLEWVGSISPSGGSTYYND NVLGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDVGFFDEWGQGTLVTVSS	51
MAGE-A4 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIS SYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASIRDIGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YSSYPYTFGQGTKLEIK	52
MAGE-A4 VL-CL (RK)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIS SYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASIRDIGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YSSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV	53

	DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	
MAGE－A4 VH－CH1（EE）－Fc（ホール，PGLALA）	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFK AMSWVRQAPGKGLEWVGSISPSGGSTYYND NVLGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDVGFFDEWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDE KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQV SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	54
CD3 VH－CL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFT GYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTY NQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTV SSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC	55
MAGE－A4 VH－CH1（EE）－CD3 VL－CH1－Fc（ノブ，PGLALA）	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFK AMSWVRQAPGKGLEWVGSISPSGGSTYYND NVLGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDVGFFDEWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDE KVEPKSCDGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGT KVEIKSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSP	56
ヒトMAGE－A4	MSSEQKSQHCKPEEGVEAQEEALGLVGAQA PTTEEQEAAVSSSSPLVPGTLEEVPAAESA GPPQSPQGASALPTTISFTCWRQPNEGSSS	57

	QEEEGPSTSPDAESLFREALSNKVDELAHF LLRKYRAKELVTKAEMLERVIKNYKRCFPV IFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTLV TCLGLSYDGLLGNNQIFPKTGLLIIVLGTI AMEGDSASEEEEIWEELGVMGVYDGREHTVY GEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARY EFLWGPRALAETSYVKVLEHVVRVNARVRI AYPSLREAALLEEEEGV	
p230－239ペプチド	GVYDGREHTV	58
HLA－A2	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDD TQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYW DGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEA GSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDG KDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAA HVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGT FQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPL TLRWE	59
ヒトCD19	MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEE GDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKP FLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQ MGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGE LFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGK LMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSL NQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRG PLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMW VMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTMSF HLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYL IFCLCSLVGILHLQRALVLRRKRKRMTDPT RRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSG LGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGA LGSRSPPGVGPEEEEGEGYEEPDSEEDSEF YENDSNLGQDQLSQDGSGYENPEDEPLGPE DEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLS PHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAA PQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGP DPAWGGGGRMGTWSTR	60
CD3　HCDR1	SYAMN	61
CD3　HCDR3	HTTFPSSYVSYYGY	62
CD3　VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFQFS SYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHTTFPSSYVSYYGYWGQGTL VTVSS	63
CD3　HCDR1	SYAMN	64
CD3　HCDR3	ASNFPASYVSYFAY	65

ＣＤ３　ＶＨ	ＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳ ＳＹＡＭＮＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＲＩＲＳＫＹＮＮＹＡＴ ＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＤＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡ ＥＤＴＡＶＹＹＣＶＲＡＳＮＦＰＡＳＹＶＳＹＦＡＹＷＧＱＧＴＬ ＶＴＶＳＳ	６６
ＣＤ１９　ＨＣＤＲ１	ＤＹＩＭＨ	６７
ＣＤ１９　ＨＣＤＲ２	ＹＩＮＰＹＮＤＧＳＫＹＴＥＫＦＱＧ	６８
ＣＤ１９　ＨＣＤＲ３	ＧＴＹＹＹＧＰＱＬＦＤＹ	６９
ＣＤ１９　ＬＣＤＲ１	ＫＳＳＱＳＬＥＴＳＴＧＴＴＹＬＮ	７０
ＣＤ１９　ＬＣＤＲ２	ＲＶＳＫＲＦＳ	７１
ＣＤ１９　ＬＣＤＲ３	ＬＱＬＬＥＤＰＹＴ	７２
ＣＤ１９　ＶＨ	ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴ ＤＹＩＭＨＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＹＩＮＰＹＮＤＧＳＫＹ ＴＥＫＦＱＧＲＶＴＭＴＳＤＴＳＩＳＴＡＹＭＥＬＳＲＬＲＳＤＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＴＹＹＹＧＰＱＬＦＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳ Ｓ	７３
ＣＤ１９　ＶＬ	ＤＩＶＭＴＱＴＰＬＳＬＳＶＴＰＧＱＰＡＳＩＳＣＫＳＳＱＳＬＥ ＴＳＴＧＴＴＹＬＮＷＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＲＶＳＫＲＦ ＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶ ＹＹＣＬＱＬＬＥＤＰＹＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫ	７４
ＣＤ１９　ＶＨ－ＣＨ１（ＥＥ）－ＣＤ３　ＶＬ－ＣＨ１－Ｆｃ（ノブ，ＰＧＬＡＬＡ）	ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴ ＤＹＩＭＨＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＹＩＮＰＹＮＤＧＳＫＹ ＴＥＫＦＱＧＲＶＴＭＴＳＤＴＳＩＳＴＡＹＭＥＬＳＲＬＲＳＤＤ ＴＡＶＹＹＣＡＲＧＴＹＹＹＧＰＱＬＦＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳ ＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶ ＥＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳ ＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰ ＳＮＴＫＶＤＥＫＶＥＰＫＳＣＤＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＱＡＶＶＴ ＱＥＰＳＬＴＶＳＰＧＧＴＶＴＬＴＣＧＳＳＴＧＡＶＴＴＳＮＹＡ ＮＷＶＱＥＫＰＧＱＡＦＲＧＬＩＧＧＴＮＫＲＡＰＧＴＰＡＲＦＳ ＧＳＬＬＧＧＫＡＡＬＴＬＳＧＡＱＰＥＤＥＡＥＹＹＣＡＬＷＹＳ ＮＬＷＶＦＧＧＧＴＫＬＴＶＬＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳ ＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧ ＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳ ＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤ ＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＡＡＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬ ＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧ ＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱ ＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＧＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧ ＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＣＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＷＣＬＶＫＧ ＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤ ＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡ ＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰ	７５
ＣＤ１９　ＶＨ－ＣＨ１（ＥＥ）－Ｃ	ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴ ＤＹＩＭＨＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＹＩＮＰＹＮＤＧＳＫＹ ＴＥＫＦＱＧＲＶＴＭＴＳＤＴＳＩＳＴＡＹＭＥＬＳＲＬＲＳＤＤ	７６

D３　VL－CH１－Ｆｃ（ノブ，PGLALA）	TAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV EDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGGQAVVT QEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA NWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYS NLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSP	
CD１９　VH－CH１（EE）－Ｆｃ（ホール，PGLALA）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKY TEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDD TAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV EDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	７７
CD１９　VL－CL（RK）	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLE TSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCLQLLEDPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	７８
CD３　VH－CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFQFS SYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRHTTFPSSYVSYYGYWGQGTL VTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	７９

CD３　VH－CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRASNFPASYVSYFAYWGQGTL VTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	８０

【図面の簡単な説明】
【０２４３】
【図１】アッセイ設定。ＭＫＮ４５　ＮｕｃＬｉｇｈｔＲｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞を、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢ、ｍＴＯＲ又はＪＡＫ阻害剤、及び末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）と共培養した。Ｅ：Ｔ＝５０，０００　ＰＢＭＣ：５，０００標的細胞。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（３時間ごとに１スキャン、ズーム１０倍、位相と赤色の取得時間４００ｍｓ）を使用して、標的細胞の死滅の動態を追跡した。
【図２】図１に記載したアッセイにおける、０ｎＭから１０００ｎＭの範囲の濃度のシロリムス（Ａ）、エベロリムス（Ｂ）、及びテミシロリムス（Ｃ）の存在下での１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ細胞のリアルタイム死滅。％死滅は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋ｍＴＯＲ阻害剤コントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナーの技術的複製（ｔｅｃｈｎｉｃａｌ　ｒｅｐｌｉｃａｔｅ）の平均値＋ＳＥＭ。
【図３】図１に記載したアッセイにおける、７２時間の時点で測定されたＴＣＢ媒介性標的細胞死滅に対するシロリムス（Ａ）、エベロリムス（Ｂ）、及びテムシロリムス（Ｃ）の漸増濃度の効果。７２時間の時点での％死滅は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋ｍＴＯＲ阻害剤コントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。
【図４】図１に記載したアッセイにおける、７２時間の時点で測定されたＰＢＭＣ生存率に対するエベロリムス（Ａ）、シロリムス（Ｂ）、及びテムシロリムス（Ｃ）の漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ™　Ｆｉｘａｂｌｅ　Ａｑｕａ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎを使用したフローサイトメトリーでＰＢＭＣの生存率を測定した。１人の代表的なドナー。
【図５】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後７２時間の時点でのＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現、並びにＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現に対するエベロリムスの漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を７２時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。１人の代表的なドナー。
【図６】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後７２時間の時点でのＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現、並びにＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現に対するシロリムスの漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を７２時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。１人の代表的なドナー。
【図７】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後７２時間の時点でのＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現、並びにＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現に対するテムシロリムスの漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を７２時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。１人の代表的なドナー。
【図８】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後７２時間の時点で測定されたサイトカイン放出（ＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）、ＩＬ－４（Ｇ）、ＩＬ－１０（Ｈ）、ＭＣＰ－１（Ｉ））に対するシロリムス、エベロリムス、及びテムシロリムスの漸増濃度の効果。技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。１人の代表的なドナー。
【図９】（Ａ）図１のアッセイにおける、０ｎＭから１００ｎＭの範囲の濃度のルキソリチニブの存在下での１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ細胞のリアルタイム死滅。（Ｂ）図１のアッセイにおける１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後６９時

間の時点で測定された標的細胞の死滅に対するルキソリチニブの漸増濃度の効果。％死滅は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋ルキソリチニブコントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナー（Ａ）の技術的複製の平均値。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図１０】図１のアッセイにおける、６９時間の時点でのＰＢＭＣ生存率に対するルキソリチニブの漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ™ Ｆｉｘａｂｌｅ Ａｑｕａ Ｄｅａｄ Ｃｅｌｌ Ｓｔａｉｎを使用したフローサイトメトリーでＰＢＭＣの生存率を測定した。１人の代表的なドナー。

【図１１】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後６９時間の時点でのＣＤ８＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現、並びにＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞及びＣＤ４＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現に対するルキソリチニブの漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ４＋ Ｔ細胞及びＣＤ８＋ Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現を６９時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図１２】図１のアッセイにおける、６９時間の時点で１０ｎＭ ＣＥＡ－ＴＣＢによって誘導されたサイトカイン放出（ＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）、ＩＬ－４（Ｇ）、ＩＬ－１０（Ｈ）、ＭＣＰ－１（Ｉ））に対するルキソリチニブの漸増濃度の効果。技術的複製からの上清を６９時間においてプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図１３】Ｉｎ ｖｉｔｒｏ死滅アッセイの設定。Ｃｅｌｌ Ｔｒａｃｅ™ Ｖｉｏｌｅｔ（ＣＴＶ）標識ＷＳＵ ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を、ルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの０ｎＭから１０００ｎＭまでの漸増用量の存在下で、ＰＢＭＣ［Ｅ：Ｔ＝２００’０００：２０’０００］、ＣＤ２０－ＴＣＢと共培養した。

【図１４】１ｎＭ ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおけるＣＴＶ ＷＳＵ ＤＬＣＬ２腫瘍細胞死滅に対するルキソリチニブ（Ａ）、テムシロリムス（Ｂ）、シロリムス（Ｃ）及びエベロリムス（Ｄ）の漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞とＰＢＭＣをプールし、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ™近赤外死細胞色素で染色して、フローサイトメトリーにより死滅ＣＴＶ標識ＷＳＵ ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を除外できるようにした。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図１５】１ｎＭ ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおける、ＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現、並びにＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現に対するルキソリチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞及びＰＢＭＣをプールし、ＣＤ４＋ Ｔ細胞及びＣＤ８＋ Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図１６】１ｎＭ ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおける、ＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現、並びにＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現に対するテムシロリムスの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞及びＰＢＭＣをプールし、ＣＤ４＋ Ｔ細胞及びＣＤ８＋ Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図１７】１ｎＭ ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおける、ＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現、並びにＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現に対するシロリムスの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞及びＰＢＭＣをプールし、ＣＤ４＋ Ｔ細胞及びＣＤ８＋ Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図１８】１ｎＭ ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおける、ＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現、並びにＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及

びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現に対するエベロリムスの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞及びＰＢＭＣをプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図１９】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおけるＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）及びＩＬ－６（Ｅ）の放出に対するルキソリチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図２０】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおけるＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）及びＩＬ－６（Ｅ）の放出に対するテムシロリムスの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図２１】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおけるＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）及びＩＬ－６（Ｅ）の放出に対するシロリムスの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図２２】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについての図１３のアッセイにおけるＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）及びＩＬ－６（Ｅ）の放出に対するエベロリムスの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図２３】図１のアッセイにおける、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α；Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃５０２９２２（抗体Ｍａｂ１１））、５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ；Ｒｏｃｈｅ社内）、１μＭデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、０．１μＭデキサメタゾン、５０ｎＭダサチニブ（ｄａｓａ）、５０ｎＭルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、５０ｎＭテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、４０ｎＭシロリムス（ｓｉｒｏ）、５０ｎＭエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の存在下における、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ細胞のリアルタイム死滅。％死滅は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋対応する化合物コントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋ＳＤ。

【図２４】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによって誘導されたＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）発現に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を６６時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ

【図２５】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによって誘導されたＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）発現に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を６６時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図２６－１】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによって誘導されたサイトカイン放出（ＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－４（Ｄ）、ＩＬ－８（Ｅ）、ＩＬ－１０（Ｆ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｇ））、ＭＣＰ－１（Ｈ））

に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。技術的複製からの上清を６６時間においてプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図２６－２】図１のアッセイにおける、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによって誘導されたサイトカイン放出（ＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－４（Ｄ）、ＩＬ－８（Ｅ）、ＩＬ－１０（Ｆ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｇ））、ＭＣＰ－１（Ｈ））に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。技術的複製からの上清を６６時間においてプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図２７】ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性Ｂ細胞死滅に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２００００：２００００）、漸増する濃度のＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製を２４時間においてプールし、ＣＤ１９＋　Ｂ細胞をフローサイトメトリーで測定した。Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ™　Ｆｉｘａｂｌｅ　Ａｑｕａ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎを使用して、死滅Ｂ細胞をＣＤ１９＋　Ｂ細胞から除外した。１人の代表的なドナー。

【図２８】ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導Ｂ細胞死滅に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２００００：２００００）、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製を２４時間においてプールし、ＣＤ１９＋　Ｂ細胞をフローサイトメトリーで測定した。Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ™　Ｆｉｘａｂｌｅ　Ａｑｕａ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎを使用して、死滅Ｂ細胞をＣＤ１９＋　Ｂ細胞から除外した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図２９】ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性Ｔ細胞活性化に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２００００：２００００）、漸増する濃度のＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製を２４時間においてプールし、ＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９並びにＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定した。１人の代表的なドナー。

【図３０】ＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）発現に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２００００：２００００）、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製を２４時間においてプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図３１】ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）発現に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔ

ｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２０００００：２００００）、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製を２４時間においてプールし、ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図３２－１】ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出（ＴＮＦ－α（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＩＬ－２（Ｃ）、ＩＬ－１β（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－４（Ｆ）、ＩＬ－１０（Ｇ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｈ））に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２０００００：２００００）、漸増する濃度のＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製からの上清を２４時間においてプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。１人の代表的なドナー。

【図３２－２】ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出（ＴＮＦ－α（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＩＬ－２（Ｃ）、ＩＬ－１β（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－４（Ｆ）、ＩＬ－１０（Ｇ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｈ））に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２０００００：２００００）、漸増する濃度のＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製からの上清を２４時間においてプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。１人の代表的なドナー。

【図３３－１】ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出（ＴＮＦ－α（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＩＬ－２（Ｃ）、ＩＬ－１β（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－４（Ｆ）、ＩＬ－１０（Ｇ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｈ））に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２０００００：２００００）、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製からの上清を２４時間においてプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図３３－２】ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出（ＴＮＦ－α（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＩＬ－２（Ｃ）、ＩＬ－１β（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－４（Ｆ）、ＩＬ－１０（Ｇ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｈ））に対する抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）、抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、エベロリムス（ｅｖｅｒｏ）の効果。ＷＳＵ標的細胞をＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝２０００００：２００００）、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢ及び対応する化合物と共培養した。技術的複製からの上清を２４時間においてプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図３４】Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイの設定。Ｃｅｌｌ　Ｔｒａｃｅ™　Ｖｉｏｌｅｔ（ＣＴＶ）標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞をＰＢＭＣ［Ｅ：Ｔ＝２００’０００：２０’０００］と共培養し、ＣＤ２０－ＴＣＢで１８時間刺激した。１８時間の時点で、１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのテムシロリムス、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのエベロリムスを系内に添加した。

【図３５】代表的な３人のドナー（Ｄ１－Ｄ３）について、ルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス添加前の図３４のアッセイにおける１８時間の時点でのＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２標的細胞死滅。１８時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞とＰＢＭＣをプールし、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ™近赤外死細胞色素で染色して、

フローサイトメトリーにより死滅ＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を除外できるようにした。
【図３６】代表的な３人のドナー（Ｄ１－Ｄ３）について、ルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス添加前の図３４のアッセイにおける１８時間の時点でのＣＤ８＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現。１８時間の時点で技術的複製をプールし、フローサイトメトリーによってＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞上のＣＤ２５の発現を測定した。
【図３７】ルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス添加後の図３４のアッセイにおける４４時間の時点でのＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２標的細胞死滅。４４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞とＰＢＭＣをプールし、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ^{TM}近赤外死細胞色素で染色して、フローサイトメトリーにより死滅ＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を除外できるようにした。１人の代表的なドナー。
【図３８】図３４のアッセイにおける、ルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加後の、ＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現、並びにＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現の発現。４４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞及びＰＢＭＣをプールし、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現をフローサイトメトリーによって測定した。１人の代表的なドナー。
【図３９】図３４のアッセイにおけるルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加前（１８時間）及び添加後（４４時間）のＩＬ－２（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）、ＩＬ－１β（Ｅ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｆ）のレベル。１８時間及び４４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。１人の代表的なドナー。
【図４０】図３４のアッセイにおける、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢに対するルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加前（１８時間）及び後（４４時間）のＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２標的細胞死滅。１８時間及び４４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞とＰＢＭＣをプールし、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ^{TM}近赤外死細胞色素で染色して、フローサイトメトリーにより死滅ＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を除外できるようにした。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。
【図４１】図３４のアッセイにおける、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢに対するルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加前（１８時間）及び後（４４時間）の、ＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）の発現。１８時間及び４４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞及びＰＢＭＣをプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。
【図４２】図３４のアッセイにおける、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢに対するルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加前（１８時間）及び後（４４時間）の、ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）の発現。１８時間及び４４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞及びＰＢＭＣをプールし、ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現をフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。
【図４３－１】図３４のアッセイにおける、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢに対するルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加前（１８時間）及び後（４４時間）のＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）、及びＩＬ－１β（Ｅ）のレベル。１８時間及び４４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。
【図４３－２】図３４のアッセイにおける、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢに対するルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加前（１８時間）及び後（４４時間）のＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）、

及びＩＬ－１β（Ｅ）のレベル。１８時間及び４４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図４３－３】図３４のアッセイにおける、１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢに対するルキソリチニブ、テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムスの添加前（１８時間）及び後（４４時間）のＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）、及びＩＬ－１β（Ｅ）のレベル。１８時間及び４４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図４４】０ｎＭから１０００ｎＭの範囲の漸増濃度のルキソリチニブの存在下での８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによるＡ３７５　ＮｕｃＬｉｇｈｔＲｅｄ（ＮＬＲ）細胞のリアルタイム死滅。Ａ３７５　ＮＬＲ標的細胞を、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ（８ｎＭ）、ルキソリチニブ、及びＰＢＭＣ、Ｅ：Ｔ＝５０，０００　ＰＢＭＣ：５０００標的細胞と共培養した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）（３時間ごとに１スキャン、ズーム１０倍、位相と赤色の取得時間４００ｍｓ）を使用して、死滅を追跡した。％死滅は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋ルキソリチニブコントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋ＳＤ。

【図４５－１】８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－１β（Ｆ）、ＩＬ－８（Ｇ）、ＭＣＰ－１（Ｈ）及びＩＬ－１０（Ｉ）のレベルに対するルキソリチニブの漸増濃度（ｃ）の効果。７２時間の時点で、上清を収集し、サイトメトリービーズアレイ（ＣＢＡ）によってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図４５－２】８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－１β（Ｆ）、ＩＬ－８（Ｇ）、ＭＣＰ－１（Ｈ）及びＩＬ－１０（Ｉ）のレベルに対するルキソリチニブの漸増濃度（ｃ）の効果。７２時間の時点で、上清を収集し、サイトメトリービーズアレイ（ＣＢＡ）によってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図４５－３】８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－１β（Ｆ）、ＩＬ－８（Ｇ）、ＭＣＰ－１（Ｈ）及びＩＬ－１０（Ｉ）のレベルに対するルキソリチニブの漸増濃度（ｃ）の効果。７２時間の時点で、上清を収集し、サイトメトリービーズアレイ（ＣＢＡ）によってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図４６】０ｎＭから１０００ｎＭの範囲の漸増濃度のシロリムス（Ａ）、テムシロリムス（Ｂ）、エベロリムス（Ｃ）の存在下での８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによるＡ３７５　ＮｕｃＬｉｇｈｔＲｅｄ（ＮＬＲ）細胞のリアルタイム死滅。Ａ３７５　ＮＬＲ標的細胞を、８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ、ｍＴＯＲ阻害剤及びＰＢＭＣ、Ｅ：Ｔ＝５０，０００　ＰＢＭＣ：５０００標的細胞と共培養した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）（３時間ごとに１スキャン、ズーム１０倍、位相と赤色の取得時間４００ｍｓ）を使用して、死滅を追跡した。％死滅は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋ｍＴＯＲ阻害剤コントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋ＳＥＭ。

【図４７－１】８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－１β（Ｆ）、ＩＬ－８（Ｇ）、ＭＣＰ－１（Ｈ）及びＩＬ－１０（Ｉ）のレベルに対する、シロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスの漸増濃度（ｃ）の効果。７２時間の時点で、上清を収集し、ＣＢＡによってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図４７－２】８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－１β（Ｆ）、ＩＬ－８（Ｇ）、ＭＣＰ－１（Ｈ）及びＩＬ－１０（Ｉ）のレベルに対する、シロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスの漸増濃度（ｃ）の効果。７２時間の時点で、上清を収集し、ＣＢＡによってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図４７－３】８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－１β（Ｆ）、ＩＬ－８（Ｇ）、ＭＣＰ－１（Ｈ）及びＩＬ－１０（Ｉ）のレベルに対する、シロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスの漸増濃度（ｃ）の効果。７２時間の時点で、上清を収集し、ＣＢＡによってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図４８】ＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されたＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２標的細胞死滅に対するバリシチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞とＰＢＭＣをプールし、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ^{TM}近赤外色素で染色して、フローサイトメトリーにより死滅ＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を除外できるようにした。１人の代表的なドナー。

【図４９】１ｎＭ　１ＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されたＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２標的細胞死滅に対するバリシチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの腫瘍細胞とＰＢＭＣをプールし、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ^{TM}近赤外色素で染色して、フローサイトメトリーにより死滅ＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を除外できるようにした。ｎ＝２人のドナーの平均値。

【図５０】ＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導された、ＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｂ）Ｔ細胞上のＣＤ６９に対するバリシチニブの漸増濃度と、ＣＤ４＋（Ｃ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現の効果。２４時間の時点で、技術的複製をプールし、フローサイトメトリーによってＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を測定した。１人の代表的なドナー。

【図５１】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについてのＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）発現に対するバリシチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製をプールし、フローサイトメトリーによってＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を測定した。ｎ＝２人のドナーの平均値。

【図５２】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについてのＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ａ）及びＣＤ２５（Ｂ）発現に対するバリシチニブの濃度漸増の効果。２４時間の時点で、技術的複製をプールし、フローサイトメトリーによってＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を測定した。ｎ＝２人のドナーの平均値。

【図５３－１】ＣＤ２０－ＴＣＢの用量反応に関する死滅アッセイにおけるＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）レベルに対するバリシチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。１人の代表的なドナー。

【図５３－２】ＣＤ２０－ＴＣＢの用量反応に関する死滅アッセイにおけるＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）レベルに対するバリシチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。１人の代表的なドナー。

【図５４－１】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについてのＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）レベルに対するバリシチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝２人のドナーの平均値。

【図５４－２】１ｎＭ　ＣＤ２０－ＴＣＢについてのＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）

、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）レベルに対するバリシチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝２人のドナーの平均値。

【図５５】０ｎＭから１０００ｎＭの範囲の濃度のバリシチニブ（Ａ）及びルキソリチニブ（Ｂ）の存在下での１ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ細胞のリアルタイム死滅。ＭＫＮ４５　ＮＬＲ標的細胞を、１ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢ及びＪＡＫ阻害剤を補充した培地中でＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝５０，０００　ＰＢＭＣ：５０００標的細胞）と共培養した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）（３時間ごとに１スキャン、ズーム１０倍、位相と赤色の取得時間４００ｍｓ）を使用して、死滅を追跡した。％死滅は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋ルキソリチニブ又はバリシチニブのコントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋ＳＥＭ。

【図５６】１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後７２時間の時点でのＣＤ４＋（Ａ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｂ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現に対するバリシチニブとルキソリチニブの漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５の発現を６９時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＤ。

【図５７－１】１０ｎＭ　ＣＥＡによる処置後のＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）の放出に対するバリシチニブとルキソリチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。％阻害は、各キナーゼ阻害剤濃度のサイトカインレベルをキナーゼ阻害剤が添加されていない条件に対して正規化することによって計算した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図５７－２】１０ｎＭ　ＣＥＡによる処置後のＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ）、ＩＬ－６（Ｅ）、ＩＬ－８（Ｆ）の放出に対するバリシチニブとルキソリチニブの漸増濃度の効果。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。％阻害は、各キナーゼ阻害剤濃度のサイトカインレベルをキナーゼ阻害剤が添加されていない条件に対して正規化することによって計算した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋／－ＳＥＭ。

【図５８】０ｎＭから１０００ｎＭの範囲の漸増濃度のバリシチニブ（Ａ）及びルキソリチニブ（Ｂ）の存在下での２５ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによるＡ３７５　ＮｕｃＬｉｇｈｔＲｅｄ（ＮＬＲ）細胞のリアルタイム死滅。Ａ３７５　ＮＬＲ標的細胞を、２５ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ及びＪＡＫ阻害剤を補充した培地中でＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝５０，０００　ＰＢＭＣ：５０００標的細胞）と共培養した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）（３時間ごとに１スキャン、ズーム１０倍、位相と赤色の取得時間４００ｍｓ）を使用して、死滅を追跡した。死滅［％］は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋ＪＡＫ阻害剤コントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図５９】２５ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＧＭ－ＣＳＦ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＩＦＮ－γ（Ｃ）、ＴＮＦ－α（Ｄ）、ＩＬ－１β（Ｅ）及びＩＬ－６（Ｆ）レベルに対するバリシチニブの漸増濃度（０－１００ｎＭ）の効果。６９時間の時点で、上清を収集し、ＣＢＡによってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図６０】２５ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによって誘導されたＧＭ－ＣＳＦ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＩＦＮ－γ（Ｃ）、ＴＮＦ－α（Ｄ）、ＩＬ－１β（Ｅ）及びＩＬ－６（Ｆ）レベルに対するルキソリチニブの漸増濃度（０－１００ｎＭ）の効果。６９時間の時点で、上清を収集し、ＣＢＡによってサイトカインを分析した。１人の代表的なドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＤ。

【図６１】１００ｎＭのルキソリチニブ又は１００ｎＭのシロリムスの存在下及び非存在下での、ＰＧＬＡＬＡ　ＣＡＲ－Ｔ細胞（Ａ）及びＣＤ１６　ＣＡＲ－Ｔ細胞（Ｂ）によ

るＣＴＶ標識ＷＳＵ腫瘍細胞死滅。ＰＧＬＡＬＡ　ＣＡＲ－Ｔ細胞及びＣＤ１６　ＣＡＲ－Ｔ細胞を、１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）又は１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）の存在下及び非存在下で、ＣＴＶ標識ＷＳＵ腫瘍細胞（Ｅ：Ｔ＝１０：１）と、ＰＧＬＡＬＡ－ＦＣ（ＰＧＬＡＬＡ　ＣＡＲ－Ｔ細胞の場合）又は野生型Ｆｃ（ＣＤ１６　ＣＡＲ－Ｔ細胞の場合）を有する漸増濃度の抗ＣＤ２０　ＩｇＧとともに共培養した。２４時間の時点で、技術的複製をプールし、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ^{TM}近赤外色素で染色して、フローサイトメトリーにより死滅ＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞を除外できるようにした。１人の代表的なドナー。

【図６２】ＰＧＬＡＬＡ　ＣＡＲ－Ｔ細胞によって誘導されたＧＭ－ＣＳＦ（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＩＬ－２（Ｃ）、及びＴＮＦ－α（Ｄ）に対する１００ｎＭのルキソリチニブ及び１００ｎＭのシロリムスの効果。ＰＧＬＡＬＡ　ＣＡＲ－Ｔ細胞を、ＣＴＶ標識ＷＳＵ腫瘍細胞（Ｅ：Ｔ＝１０：１）及び漸増濃度のＰＧＬＡＬＡ－Ｆｃ抗ＣＤ２０　ＩｇＧとともに、それぞれ１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）又は１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）の存在下及び非存在下で共培養した。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝２人のドナーの平均値。

【図６３】ＣＤ１６　ＣＡＲ－Ｔ細胞によって誘導されたＧＭ－ＣＳＦ（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＩＬ－２（Ｃ）、及びＴＮＦ－α（Ｄ）に対する１００ｎＭのルキソリチニブ及び１００ｎＭのシロリムスの効果。ＣＤ１６　ＣＡＲ－Ｔ細胞を、ＣＴＶ標識ＷＳＵ腫瘍細胞（Ｅ：Ｔ＝１０：１）及び漸増濃度の野生型Ｆｃ抗ＣＤ２０　ＩｇＧとともに、１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）又は１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）の存在下及び非存在下で共培養した。２４時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインをルミネックスで分析した。ｎ＝２人のドナーの平均値。

【図６４】Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイの設定。ＰＢＭＣを、異なるキナーゼ阻害剤（１００ｎＭ）を補充した培地中で漸増濃度のＣＤ１９－ＴＣＢの存在下でＣｅｌｌＴｒａｃｅ^{TM}Ｖｉｏｌｅｔ（ＣＴＶ）標識ＳＵＤＬＨ－８腫瘍細胞（Ｅ：Ｔ＝１０：１）と２４時間共培養した。

【図６５－１】図６４のアッセイ（２４時間）におけるＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＳＵＤＬＨ－８死滅（Ａ）及びＴ細胞活性化（Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ）に対する１００ｎＭのダサチニブ（Ｓｒｃ阻害剤）、シロリムス（ｍＴＯＲ阻害剤）及びルキソリチニブ（ＪＡＫ１／２阻害剤）の効果。Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ染色を使用して生細胞から除外された死滅ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞（Ａ）、ＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現、ＣＤ４＋（Ｄ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｅ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現の代表的なフローサイトメトリープロット。３人のうち１人の代表的なドナー、１０ｎＭ　ＣＤ１９－ＴＣＢ。

【図６５－２】図６４のアッセイ（２４時間）におけるＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＳＵＤＬＨ－８死滅（Ａ）及びＴ細胞活性化（Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ）に対する１００ｎＭのダサチニブ（Ｓｒｃ阻害剤）、シロリムス（ｍＴＯＲ阻害剤）及びルキソリチニブ（ＪＡＫ１／２阻害剤）の効果。Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ染色を使用して生細胞から除外された死滅ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞（Ａ）、ＣＤ４＋（Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ）Ｔ細胞上のＣＤ６９発現、ＣＤ４＋（Ｄ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｅ）Ｔ細胞上のＣＤ２５発現の代表的なフローサイトメトリープロット。３人のうち１人の代表的なドナー、１０ｎＭ　ＣＤ１９－ＴＣＢ。

【図６６】図６４のアッセイにおけるＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞のＣＤ１９－ＴＣＢ依存性死滅に対する１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｏ）及び１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）の効果。ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞の死滅は、死細胞の除外を可能にするＬｉｖｅ／Ｄｅａｄ染色を使用して２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定された。ｎ＝３人のドナーの平均値＋標準偏差（ＳＤ）。

【図６７】図６４のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性Ｔ細胞活性化に対する１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｏ）及び１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）の効果。ＣＤ４＋（Ａ、Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ、Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を、２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ。

【図６８】図６４のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性サイトカイン放出に対する１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｏ）及び１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）の効果。上清中のＩＬ－２（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）及びＧＭ－ＣＳＦ（Ｅ）のレベルをルミネックスにより測定した（２４時間）。３人のうち１人の代表的なドナー。

【図６９】Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイの設定。ＰＢＭＣを、異なるＪＡＫキナーゼ阻害剤（１００ｎＭ）を補充した培地中で漸増濃度のＣＤ１９－ＴＣＢの存在下でＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞（Ｅ：Ｔ＝１０：１）と２４時間共培養した。

【図７０】図６９のアッセイにおける、ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞のＣＤ１９－ＴＣＢ依存性死滅に対する１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、１００ｎＭのバリシチニブ（ｂａｒｉ）、及び１００ｎＭのトファシチニブ（ｔｏｆａ）の効果。ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞の死滅は、死細胞の除外を可能にするＬｉｖｅ／Ｄｅａｄ染色を使用して２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定された。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ。

【図７１】図６９のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性Ｔ細胞活性化に対する１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、１００ｎＭのバリシチニブ（ｂａｒｉ）、及び１００ｎＭのトファシチニブ（ｔｏｆａ）の効果。ＣＤ４＋（Ａ、Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ、Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現を、２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ。

【図７２】図６９のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性サイトカイン放出に対する１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、１００ｎＭのバリシチニブ（ｂａｒｉ）、及び１００ｎＭのトファシチニブ（ｔｏｆａ）の効果。上清中のＩＬ－２（Ａ）、ＩＦＮ－γ（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）及びＧＭ－ＣＳＦ（Ｅ）のレベルをルミネックスにより測定した（２４時間）。３人のうち１人の代表的なドナー。

【図７３】Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイの設定。ＰＢＭＣを、異なるキナーゼ阻害剤（１００ｎＭ）、デキサメタゾン（１００ｎＭ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）又は５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）を補充した培地中で漸増濃度のＣＤ１９－ＴＣＢの存在下でＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞（Ｅ：Ｔ＝１０：１）と２４時間共培養した。

【図７４】図７３のアッセイにおけるＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞のＣＤ１９－ＴＣＢ依存性死滅に対する１００ｎＭのデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）若しくは５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）（Ａ）、又は１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）、若しくは１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）（Ｂ）の効果。ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞の死滅は、死細胞の除外を可能にするＬｉｖｅ／Ｄｅａｄ染色を使用して２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定された。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（フリードマン検定）による＊ｐ≦０．０３３２、＊＊ｐ≦０．００２１。

【図７５－１】図７３のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性Ｔ細胞活性化に対する１００ｎＭのデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）若しくは５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）（Ａ、Ｂ）、又は１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭの

テムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）、若しくは１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）（Ｃ、Ｄ）の効果。ＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５（Ａ、Ｃ）及びＣＤ６９（Ｂ、Ｄ）の発現を、２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（フリードマン検定）による＊ｐ≦０．０３３２、＊＊ｐ≦０．００２１。

【図７５－２】図７３のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性Ｔ細胞活性化に対する１００ｎＭのデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）若しくは５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）（Ａ、Ｂ）、又は１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）、若しくは１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）（Ｃ、Ｄ）の効果。ＣＤ４＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５（Ａ、Ｃ）及びＣＤ６９（Ｂ、Ｄ）の発現を、２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（フリードマン検定）による＊ｐ≦０．０３３２、＊＊ｐ≦０．００２１。

【図７６－１】図７３のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性Ｔ細胞活性化に対する１００ｎＭのデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）若しくは５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）（Ａ、Ｂ）、又は１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）、若しくは１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）（Ｃ、Ｄ）の効果。ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５（Ａ、Ｃ）及びＣＤ６９（Ｂ、Ｄ）の発現を、２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（フリードマン検定）による＊ｐ≦０．０３３２、＊＊ｐ≦０．００２１。

【図７６－２】図７３のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性Ｔ細胞活性化に対する１００ｎＭのデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）若しくは５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）（Ａ、Ｂ）、又は１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）、若しくは１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）（Ｃ、Ｄ）の効果。ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５（Ａ、Ｃ）及びＣＤ６９（Ｂ、Ｄ）の発現を、２４時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝３人のドナーの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（フリードマン検定）による＊ｐ≦０．０３３２、＊＊ｐ≦０．００２１。

【図７７－１】図７３のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性サイトカイン放出に対する１００ｎＭのデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）若しくは５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）（Ａ－Ｄ）、又は１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）、若しくは１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）（Ｅ－Ｈ）の効果。上清中のＩＦＮ－γ（Ａ、Ｅ）、ＩＬ－２（Ｂ、Ｆ）、ＴＮＦ－α（Ｃ、Ｇ）及びＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ、Ｈ）のレベルをルミネックスにより測定した（２４時間）。ｎ＝３人のドナーの平均値＋平均値の標準誤差（ＳＥＭ）。

【図７７－２】図７３のアッセイにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ依存性サイトカイン放出に対する１００ｎＭのデキサメタゾン（ｄｅｘａ）、５μｇ／ｍＬの抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α）若しくは５μｇ／ｍＬの抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ）（Ａ－Ｄ）、又は１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのテムシロリムス（ｔｅｍｓｉ）、１００ｎＭのエベロリムス（ｅｖｅｒｏ）、若しくは１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）（Ｅ－Ｈ）の効果。上清中のＩＦＮ－γ（Ａ、Ｅ）、ＩＬ－２（Ｂ、Ｆ）、ＴＮＦ－α（Ｃ、Ｇ）及びＧＭ－ＣＳＦ（Ｄ、Ｈ）のレベルをルミネックスにより測定した（２４時間）。ｎ＝３人のドナーの平均値＋平均値の標準誤差（ＳＥＭ）。

【図７８】Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイの設定。ＰＢＭＣを、漸増濃度のＣＤ１９－ＴＣＢの存在下でＣＴＶ標識ＮＡＬＭ－６細胞（Ｅ：Ｔ＝１０：１）と２４時間共培養した。２４時間の時点で、培地に１００ｎＭのダサチニブ、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのルキソリチニブを補充した。

【図７９】図７８のアッセイにおける、２４時間の活性化後に系内に添加した場合の、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅に対する１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）の効果。ＣＴＶ標識ＮＡＬＭ－６細胞の死滅は、死細胞の除外を可能にするＬｉｖｅ／Ｄｅａｄ染色を使用して２４時間及び４８時間の時点でフローサイトメトリーによって測定された。２人のうち１人の代表的なドナー。

【図８０】図７８のアッセイにおける、２４時間の活性化後に系内に添加した場合の、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対する１００ｎＭのダサチニブ（ｄａｓａ）、１００ｎＭのシロリムス（ｓｉｒｏ）、１００ｎＭのルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）の効果。上清中のＩＦＮ－γ（Ａ）、ＴＮＦ－α（Ｂ）、ＩＬ－２（Ｃ）、及びＩＬ－６（Ｄ）のレベルをルミネックスにより測定した（２４時間及び４８時間）。２人のうち１人の代表的なドナー。

【図８１】Ｉｎ　ｖｉｖｏ実験のタイムライン及び投与スケジュール。ヒト化ＮＳＧマウスを、０．５ｍｇ／ｋｇのＣＤ１９－ＴＣＢ（静脈内）と、（ｉ）６ｘ５０ｍｇ／ｋｇのダサチニブ（経口）、（ｉｉ）６ｘ３０ｍｇ／ｋｇのルキソリチニブ（経口）、（ｉｉｉ）４ｘ５ｍｇ／ｋｇのシロリムス（経口）、（ｉｖ）２ｘ１ｍｇ／ｋｇ、１ｘ０．５ｍｇ／ｋｇ、及び１ｘ０．２５ｍｇ／ｋｇのデキサメタゾン（経口）とで、又は（ｖ）２ｘ１０ｍｇ／ｋｇ、１ｘ５ｍｇ／ｋｇ、１ｘ２．５ｍｇ／ｋｇのメチルプレドニゾロン（経口）とで同時治療し、或いは３０ｍｇ／ｋｇのオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））（ＧｐＴ）（静脈内）で前治療し、次いで、０．５ｍｇ／ｋｇのＣＤ１９－ＴＣＢ（静脈内）で治療した。

【図８２】図８１に記載される実験におけるＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性Ｂ細胞枯渇に対するオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）及びメチルプレドニゾロン（ＭＰ）の効果。ＣＤ２０＋　Ｂ細胞数は、ＣＤ１９－ＴＣＢによる治療後４８時間（Ａ）及び７２時間（Ｂ）で採取された血液のフローサイトメトリーによって測定された。ｎ＝４匹のマウス又はｎ＝３匹のマウス（ｄｅｘａ、ＭＰ、及びＧｐＴ）の平均値＋／－ＳＥＭ、一元配置分散分析（クラスカルウォリス検定）による＊ｐ≦０．０３３２、＊＊ｐ≦０．００２１。

【図８３】図８１に記載される実験におけるＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性Ｂ細胞枯渇に対するオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）及びメチルプレドニゾロン（ＭＰ）の効果。ＣＤ２０＋　Ｂ細胞数は、ＣＤ１９－ＴＣＢによる治療後７２時間の時点で採取された脾臓においてフローサイトメトリーによって測定された。ｎ＝４匹のマウス又はｎ＝３匹のマウス（ビヒクル、ｄｅｘａ、ＭＰ及びＧｐＴ）の平均値＋／－ＳＥＭ。

【図８４】図８１に記載される実験におけるＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）、ダサチニブ（ｄａｓａ）、シロリムス（ｓｉｒｏ）、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）及びメチルプレドニゾロン（ＭＰ）の効果。ヒトＩＦＮ－γ（ｈＩＦＮ－γ）（Ａ）、ヒトＩＬ－２（ｈＩＬ－２）（Ｂ）、ヒトＴＮＦ－α（ｈＴＮＦ－α）（Ｃ）、ヒトＩＬ－６（ｈＩＬ－６）（Ｄ）のレベルは、ＣＤ１９－ＴＣＢによる治療の６時間後に採取された血清においてルミネックスによって測定された。ｎ＝４匹のマウス又はｎ＝３匹のマウス（ｄｅｘａ、ＭＰ及びＧｐＴ）の平均値＋／－ＳＥＭ。

【図８５】０ｎＭから１０００ｎＭの範囲の漸増濃度のフェドラチニブの存在下での１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮｕｃＬｉｇｈｔＲｅｄ（ＮＬＲ）細胞のリア

ルタイム死滅。ＭＫＮ４５　ＮＬＲ標的細胞を、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢ及びフェドラチニブを補充した培地中でＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝５０，０００　ＰＢＭＣ：５０００標的細胞）と共培養した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）（３時間ごとに１スキャン、ズーム１０倍、位相と赤色の取得時間４００ｍｓ）を使用して、死滅を追跡した。死滅［％］は、ｔ＝０時間の値と各時点の標的細胞＋ＰＢＭＣ＋フェドラチニブコントロールウェルの値で全赤色面積を正規化することにより測定された。１人のドナーの技術的複製の平均値＋／－ＳＥＭ。

【図８６】１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによる処置後７２時間の時点でのＣＤ４＋（Ａ、Ｂ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｃ、Ｄ）Ｔ細胞上のＣＤ２５（Ｂ、Ｄ）及びＣＤ６９（Ａ、Ｃ）発現に対するフェドラチニブの漸増濃度の効果。技術的複製をプールし、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５の発現を７２時間の時点でフローサイトメトリーによって測定した。１人のドナー。

【図８７】１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによって誘導されたＩＦＮ－γ（Ａ）、ＩＬ－２（Ｂ）、ＴＮＦ－α（Ｃ）、ＩＬ－６（Ｄ）及びＩＬ－８（Ｅ）レベルに対するフェドラチニブの漸増濃度（０－１０００ｎＭ）の効果。７２時間の時点で、技術的複製からの上清をプールし、サイトカインレベルをルミネックスで分析した。１人のドナー。

【図８８】ＣＤ１９－ＴＣＢはｉｎ　ｖｉｔｒｏでリンパ腫ＰＤＸ細胞を死滅させる。リンパ腫ＰＤＸ細胞をアッセイ当日に解凍し、ＣＴＶ色素で標識し、ＣＤ１９－ＴＣＢの存在下でＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝１０：１）とともに２４時間培養した。（Ａ）ＣＴＶ標識ＰＤＸ細胞の死滅を、プールされた技術的複製におけるフローサイトメトリーによって測定した（ｎ＝３人のＰＢＭＣドナーの平均値＋／－ＳＤ）。（Ｂ－Ｅ）ＣＤ４＋（Ｂ、Ｃ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（Ｄ、Ｅ）Ｔ細胞上のＣＤ６９（Ｂ、Ｄ）及びＣＤ２５（Ｃ、Ｅ）の発現を、プールされた技術的複製におけるＴ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定した（ｎ＝３人のＰＢＭＣドナーの平均値＋／－ＳＤ）。

【図８９】Ｉｎ　ｖｉｖｏ実験のタイムライン及び投与スケジュール。ヒト化ＮＳＧマウスにリンパ腫ＰＤＸ（５００万細胞、ｓ．ｃ．）を移植した。腫瘍が２００ｍｍ^{3}の大きさに達したとき、マウスはその腫瘍サイズに基づいて８又は７の群に無作為化され、ビヒクル（静脈内）、０．５ｍｇ／ｋｇのＣＤ１９－ＴＣＢ（静脈内）単独、０．５ｍｇ／ｋｇのＣＤ１９－ＴＣＢ（黒い実線の矢印、静脈内）と共に２０ｍｇ／ｋｇのダサチニブ（「Ｓｒｃｉ」、点線矢印、経口）、５ｍｇ／ｋｇのシロリムス（「ｍＴＯＲｉ」、破線矢印、経口）、３０ｍｇ／ｋｇのルキソリチニブ（「ＪＡＫｉ」、点線矢印、経口）、１ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇのデキサメタゾンを２回、若しくは０．２５ｍｇ／ｋｇのデキサメタゾンを４回（「ｄｅｘａ」、破線矢印、経口）、キナーゼ阻害剤及びデキサメタゾン単独で毎週治療し、又はＣＤ１９－ＴＣＢによる第１の治療の３日前に３０ｍｇ／ｋｇのオビヌツズマブ（「ＧｐＴ」、灰色の実線矢印、静脈内）で前治療した。キナーゼ阻害剤は、第１のＣＤ１９－ＴＣＢ投与日に２回投与され（Ｄ１６、ＣＤ１９－ＴＣＢ投与１時間前に１回、その後１回）、その後の２日間に１回（シロリムス）又は２回（ダサチニブ、ルキソリチニブ）（Ｄ１７、Ｄ１８）投与され、同様にその後の各ＣＤ１９－ＴＣＢ投与１時間前にも１回投与された。

【図９０】ビヒクル、オビヌツズマブ前治療（ＧｐＴ）、又は単剤療法としてのＣＤ１９－ＴＣＢと比較した、シロリムス単独又はＣＤ１９－ＴＣＢと組み合わせた場合の腫瘍増殖曲線。腫瘍体積はノギスを使用して週に２～３回測定した。ｎ＝６～８匹のマウスの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（クラスカルウォリス検定）による＊ｐ≦０．０５、＊＊ｐ≦０．０１、＊＊＊ｐ≦０．００１。

【図９１】ビヒクル、オビヌツズマブ前治療（ＧｐＴ）、又は単剤療法としてのＣＤ１９－ＴＣＢと比較した、ルキソリチニブ単独又はＣＤ１９－ＴＣＢと組み合わせた場合の腫瘍増殖曲線。腫瘍体積はノギスを使用して週に２～３回測定した。ｎ＝６～８匹のマウスの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（クラスカルウォリス検定）による＊ｐ≦０．０５、＊＊ｐ≦０．０１、＊＊＊ｐ≦０．００１。

【図９２】ビヒクル、オビヌツズマブ前治療（ＧｐＴ）、又は単剤療法としてのＣＤ１９

－ＴＣＢと比較した、ダサチニブ単独又はＣＤ１９－ＴＣＢと組み合わせた場合の腫瘍増殖曲線。腫瘍体積はノギスを使用して週に２～３回測定した。ｎ＝６～８匹のマウスの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（クラスカルウォリス検定）による＊ｐ≦０．０５、＊＊ｐ≦０．０１、＊＊＊ｐ≦０．００１。

【図９３】ビヒクル、オビヌツズマブ前治療（ＧｐＴ）、又は単剤療法としてのＣＤ１９－ＴＣＢと比較した、デキサメタゾン単独又はＣＤ１９－ＴＣＢと組み合わせた場合の腫瘍増殖曲線。腫瘍体積はノギスを使用して週に２～３回測定した。ｎ＝６～８匹のマウスの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（クラスカルウォリス検定）による＊ｐ≦０．０５、＊＊ｐ≦０．０１、＊＊＊ｐ≦０．００１。

【図９４－１】（Ａ）ＩＬ－２、（Ｂ）ＩＦＮ－γ、（Ｃ）ＴＮＦ－α、及び（Ｄ）ＩＬ－６のＣＤ１９－ＴＣＢ媒介性放出に対するシロリムス（ｍＴＯＲ阻害剤）、ルキソリチニブ（ＪＡＫ１／２阻害剤）、ダサチニブ（Ｓｒｃ阻害剤）、及びデキサメタゾンの効果。ＣＤ１９－ＴＣＢによる第１の注入から６時間後に採取した血清中のサイトカインレベルをルミネックスによって測定した。ｎ＝６～８匹のマウスの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（クラスカルウォリス検定）による＊ｐ≦０．０５、＊＊ｐ≦０．０１、＊＊＊ｐ≦０．００１。

【図９４－２】（Ａ）ＩＬ－２、（Ｂ）ＩＦＮ－γ、（Ｃ）ＴＮＦ－α、及び（Ｄ）ＩＬ－６のＣＤ１９－ＴＣＢ媒介性放出に対するシロリムス（ｍＴＯＲ阻害剤）、ルキソリチニブ（ＪＡＫ１／２阻害剤）、ダサチニブ（Ｓｒｃ阻害剤）、及びデキサメタゾンの効果。ＣＤ１９－ＴＣＢによる第１の注入から６時間後に採取した血清中のサイトカインレベルをルミネックスによって測定した。ｎ＝６～８匹のマウスの平均値＋ＳＤ、一元配置分散分析（クラスカルウォリス検定）による＊ｐ≦０．０５、＊＊ｐ≦０．０１、＊＊＊ｐ≦０．００１。

【図９５】Ｉｎ　ｖｉｖｏ実験のタイムライン及び投与スケジュール。ヒト化ＮＳＧマウスを、ビヒクル又は０．１５ｍｇ／ｋｇのＣＤ２０－ＴＣＢ（静脈内）単独で、若しくは異なる用量のｍＴＯＲ阻害剤（経口）（２、５、又は１０ｍｇ／ｋｇのシロリムス、１０ｍｇ／ｋｇのテムシロリムス、及び１０ｍｇ／ｋｇのエベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（経口）（３０又は６０ｍｇ／ｋｇのルキソリチニブ）及びＳｒｃ阻害剤（経口）（１０又は５０ｍｇ／ｋｇのダサチニブ）と組み合わせて治療し、又は３０ｍｇ／ｋｇのオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））（ＧｐＴ）（静脈内）で前治療した。１群当たりｎ＝４匹のマウス。

【図９６】図９５に記載した実験における、４８時間（Ａ）及び７２時間（Ｂ）におけるＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性Ｂ細胞枯渇に対するオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）、ルキソリチニブ、ダサチニブ、シロリムス、エベロリムス、テムシロリムスの効果。ヒトＣＤ４５＋（ｈｕＣＤ４５）細胞中のＣＤ１９＋　Ｂ細胞の割合を、ＣＤ２０－ＴＣＢによる治療の４８時間後及び７２時間後に採取した血液中のフローサイトメトリーによって測定した。ｎ＝４匹のマウス又はｎ＝３匹のマウス（エベロリムス群）の平均値＋／－ＳＥＭ。ビヒクル群との統計的比較を表（Ｃ）に要約する。ｐ値はクラスカルウォリス検定によって計算した。

【図９７】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＩＦＮ－γのレベル。２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ（エベロリムス群）。

【図９８】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＩＬ－２のレベル。（エベロリムス群）の２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝

３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ。
【図９９】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＴＮＦ－αのレベル。２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ（エベロリムス群）。
【図１００】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＩＬ－６のレベル。２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ（エベロリムス群）。
【図１０１】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＩＰ－１０（ＣＸＣＬ１０）のレベル。２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ（エベロリムス群）。
【図１０２】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＭＣＰ－１（ＣＣＬ２）のレベル。２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ（エベロリムス群）。
【図１０３】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＩＬ－８のレベル。２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ（エベロリムス群）。
【図１０４】ＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）又はオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））前治療（ＧｐＴ）と組み合わせた治療後４時間（Ａ）と２４時間（Ｂ）の、図９５に記載の実験によるマウス血清中のＧＭ－ＣＳＦのレベル。２４時間後のｎ＝４匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ、又はｎ＝３匹のマウスの平均値＋／－ＳＥＭ（エベロリムス群）。
【実施例】
【０２４４】
実施例
以下は、本発明の方法及び組成物の実施例である。上に提供された一般的な説明が与えられると、様々な他の態様が実施され得ることが理解される。
【０２４５】
実施例１．ｍＴＯＲ阻害剤シロリムスは、ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅への影響を最小限に抑えながら、ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を防止する。
【０２４６】
ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅に対するシロリムスの阻害効果を評価するために、我々は、漸増濃度のシロリムスを補充した培地中で、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ＭＫＮ４５ ＮｕｃＬｉｇｈｔ Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞、及び１０ｎＭ ＣＥＡ－ＴＣＢ（配列番号４～２３）を使用して死滅アッセイを実施した（図１）。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標

）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。１μＭ（約９１５ｎｇ／ｍＬ）から１２．５ｎＭ（約１１．４ｎｇ／ｍＬ）の範囲のシロリムスの用量は、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ標的細胞の死滅を部分的にのみ減少させた（図２Ａ及び図３Ａ）。

【０２４７】

アッセイ終了時（７２時間）に、ＰＢＭＣの生存率に対するシロリムスの影響を検証するために、ＰＢＭＣを生／死染色で染色した。１μＭ（約９１５ｎｇ／ｍＬ）から１２．５ｎＭ（約１１．４ｎｇ／ｍＬ）の範囲の濃度では、シロリムスは１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＰＢＭＣ生存率に直接的な影響を与えなかった（図４Ｂ）。生ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も、Ｔ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。シロリムスは、ＣＤ８＋Ｔ細胞上のＣＤ６９の発現に影響を与えなかったが、２５ｎＭを超える濃度でＣＤ４＋Ｔ細胞上ではＣＤ６９の発現を約４５％から約２５％に減少させた。２５ｎＭを超える濃度では、シロリムスはＣＤ４＋　Ｔ細胞ではＣＤ２５の発現を約４５％から約１５％に、ＣＤ８＋　Ｔ細胞では約７５％から４０％に減少させた（図６）。

【０２４８】

最後に、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するシロリムスの影響を決定するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルをルミネックスによって測定した。任意の濃度のシロリムスの存在下で、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＭＣＰ－１、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、及びＧＭ－ＣＳＦのレベルは、シロリムス処置を受けなかった試料と比較して、非常に低いことがわかった（図８）。１２．５ｎＭから１μＭの全範囲にわたるシロリムス濃度は、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対して同等の影響をもたらし、シロリムスがサイトカイン放出を強く下方制御することを示した。

【０２４９】

シロリムスは、ＴＣＢによって引き起こされる標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全に阻害するわけではないが、試験した最低用量でもサイトカイン放出を強力に減少させる。

【０２５０】

別のＴＣＢでも同様の実験が行われた。ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２細胞を、１ｎＭのＣＤ２０－ＴＣＢ（配列番号４～１１、２４～３５）の存在下、シロリムスの用量を０ｎＭから１０００ｎＭまで漸増させながら、ＰＢＭＣと共培養した（図１３）。ＣＴＶ標識ＷＳＵ標的細胞の死滅（図１４Ｃ）、並びにＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現（図１７）を、２４時間の時点で、それぞれＴＣＢ有効性及びＴ細胞活性化に対するシロリムスの効果の読み取り値として測定した。最後に、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するシロリムス濃度の漸増の影響を評価するために、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、及びＩＬ－６のレベルをルミネックスによって測定した（図２１）。ＣＥＡ－ＴＣＢでの知見と一致して、シロリムスは、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全には阻害しなかったが、１２．５ｎＭを超える濃度でＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されるサイトカイン放出を強力に減少させた。

【０２５１】

実施例２．ｍＴＯＲ阻害剤テムシロリムスは、ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅への影響を最小限に抑えながら、ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を防止する。

【０２５２】

ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅に対するテムシロリムスの阻害効果を評価するために、我々は、漸増濃度のテムシロリムスを補充した培地中で、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞、及び１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した（図１）。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ

Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。１μＭ（約１０３１ｎｇ／ｍＬ）から１２．５ｎＭ（約１２．９ｎｇ／ｍＬ）の範囲のテムシロリムスの用量は、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ標的細胞の死滅を部分的にのみ減少させた（図２Ｃ及び図３Ｃ）。

【０２５３】

アッセイ終了時（７２時間）に、ＰＢＭＣの生存率に対するテムシロリムスの影響を検証するために、ＰＢＭＣを生／死染色で染色した。１μＭ（約１０３１ｎｇ／ｍＬ）から１２．５ｎＭ（約１２．９ｎｇ／ｍＬ）の範囲の濃度では、テムシロリムスは１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＰＢＭＣ生存率に直接的な影響を与えなかった（図４Ｃ）。生ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も、Ｔ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。テムシロリムスは、ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９の発現に影響を与えなかったが、２５ｎＭを超える濃度でＣＤ４＋　Ｔ細胞上ではＣＤ６９の発現を約４５％から約２５％に減少させた。２５ｎＭを超える濃度では、テムシロリムスはＣＤ４＋　Ｔ細胞ではＣＤ２５の発現を約４５％から約１５％に、ＣＤ８＋　Ｔ細胞では約７５％から４０％に減少させた（図７）。

【０２５４】

ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するテムシロリムスの影響を決定するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルをルミネックスによって測定した。任意の濃度のテムシロリムスの存在下で、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＭＣＰ－１、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、及びＧＭ－ＣＳＦのレベルは、テムシロリムス処置を受けなかった試料と比較して、非常に低いことがわかった（図８）。１２．５ｎＭから１μＭの全範囲にわたるテムシロリムス濃度は、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対して同等の影響をもたらし、テムシロリムスがサイトカイン放出を強く下方制御することを示した。

【０２５５】

テムシロリムスは、ＴＣＢによって引き起こされる標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全に阻害するわけではないが、試験した最低用量でもサイトカイン放出を強力に減少させる。

【０２５６】

同様の実験をＣＤ２０－ＴＣＢを用いて実施した。ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２細胞を、１ｎＭのＣＤ２０－ＴＣＢの存在下、テムシロリムスの用量を０ｎＭから１０００ｎＭまで漸増させながら、ＰＢＭＣと共培養した（図１３）。ＣＴＶ標識ＷＳＵ標的細胞の死滅（図１４Ｂ）、並びにＣＤ４＋及びＣＤ８＋上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現（図１６）を、２４時間の時点で、それぞれＴＣＢ有効性及びＴ細胞活性化に対するテムシロリムスの効果の読み取り値として測定した。最後に、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するテムシロリムス濃度の上昇の影響を評価するために、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、及びＩＬ－６のレベルをルミネックスによって測定した（図２０）。ＣＥＡ－ＴＣＢでの知見と一致して、テムシロリムスは、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全には阻害しなかったが、１２．５ｎＭを超える濃度でＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されるサイトカイン放出を強力に減少させた。

【０２５７】

実施例３．ｍＴＯＲ阻害剤エベロリムスは、ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅への影響を最小限に抑えながら、ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を防止する。

【０２５８】

ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅に対するエベロリムスの阻害効果を評価するために、我々は、漸増濃度のエベロリムスを補充した培地中で、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞、及び１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した（図１）。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シ

グナルの経時的な損失を捕捉した。１μＭ（約９５９ｎｇ／ｍＬ）から１２．５ｎＭ（約１２．０ｎｇ／ｍＬ）の範囲のエベロリムスの用量は、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ標的細胞の死滅を部分的にのみ減少させた（図２Ｂ及び図３Ｂ）。

【０２５９】

アッセイ終了時（７２時間）に、ＰＢＭＣの生存率に対するエベロリムスの影響を検証するために、ＰＢＭＣを生／死染色で染色した。１μＭ（約９５９ｎｇ／ｍＬ）から１２．５ｎＭ（約１２．０ｎｇ／ｍＬ）の範囲の濃度では、エベロリムスは１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＰＢＭＣ生存率に直接的な影響を与えなかった（図４Ａ）。生ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も、Ｔ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。エベロリムスは、ＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９の発現に影響を与えなかったが、２５ｎＭを超える濃度でＣＤ４＋　Ｔ細胞上ではＣＤ６９の発現を約４５％から約２５％に減少させた。２５ｎＭを超える濃度では、エベロリムスはＣＤ４＋　Ｔ細胞ではＣＤ２５の発現を約４５％から約１５％に、ＣＤ８＋　Ｔ細胞では約７０％から４０％に減少させた（図５）。

【０２６０】

ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するエベロリムスの影響を決定するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルをルミネックスによって測定した。任意の濃度のエベロリムスの存在下で、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＭＣＰ－１、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、及びＧＭ－ＣＳＦのレベルは、エベロリムス処置を受けなかった試料と比較して、非常に低いことがわかった（図８）。１２．５ｎＭから１μＭの全範囲にわたるエベロリムス濃度は、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対して同等の影響をもたらし、エベロリムスがサイトカイン放出を強く下方制御することを示した。

【０２６１】

エベロリムスは、ＴＣＢによって引き起こされる標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全に阻害するわけではないが、試験した最低用量でもサイトカイン放出を強力に減少させる。

【０２６２】

同様の実験をＣＤ２０－ＴＣＢを用いて実施した。ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２細胞を、１ｎＭのＣＤ２０－ＴＣＢの存在下、エベロリムスの用量を０ｎＭから１０００ｎＭまで漸増させながら、ＰＢＭＣと共培養した（図１３）。ＣＴＶ標識ＷＳＵ標的細胞の死滅（図１４Ｄ）、並びにＣＤ４＋及びＣＤ８＋上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現（図１８）を、２４時間の時点で、それぞれＴＣＢ有効性及びＴ細胞活性化に対するエベロリムスの効果の読み取り値として測定した。最後に、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するエベロリムス濃度の漸増の影響を評価するために、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、及びＩＬ－６のレベルをルミネックスによって測定した（図２２）。ＣＥＡ－ＴＣＢでの知見と一致して、エベロリムスは、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全には阻害しなかったが、１２．５ｎＭを超える濃度のＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されるサイトカイン放出を強力に減少させた。

【０２６３】

実施例４．ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブは、ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅への影響を最小限に抑えながら、ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を防止する。

【０２６４】

ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅に対するルキソリチニブの阻害効果を評価するために、我々は、漸増濃度のルキソリチニブを補充した培地中で、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ＭＫＮ４５　ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞、及び１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した（図１）。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。１００ｎＭ（約３０．７ｎｇ／ｍＬ）から６．２５ｎＭ（約１．９ｎｇ／ｍＬ）の範囲のルキソリチニブの用量は、１０ｎＭ

ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ標的細胞の死滅を部分的にのみ減少させた（図９Ａ及びＢ）。

【０２６５】

アッセイ終了時（６９時間）に、ＰＢＭＣの生存率に対するルキソリチニブの影響を検証するために、ＰＢＭＣを生／死染色で染色した。１００ｎＭ（約３０．７ｎｇ／ｍＬ）から６．２５ｎＭ（約１．９ｎｇ／ｍＬ）の範囲の濃度では、ルキソリチニブは１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＰＢＭＣ生存率に直接的な影響を与えなかった（図１０）。生ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も、Ｔ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。ルキソリチニブは、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞の両方におけるＣＤ２５及びＣＤ６９の発現に用量依存的に影響を及ぼした（図１１）。ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９発現に対するルキソリチニブの漸増用量の効果は、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５発現に対する効果よりも顕著ではなかった。

【０２６６】

ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するルキソリチニブの影響を決定するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルをルミネックスによって測定した。漸増用量のルキソリチニブの存在下で、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢで処置した試料中のＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＭＣＰ－１、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、及びＧＭ－ＣＳＦのレベルは、ルキソリチニブ処置を受けなかった試料と比較して、非常に低いことがわかった（図１２）。ルキソリチニブは、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出全体を強く下方制御した。

【０２６７】

ルキソリチニブは、ＴＣＢによって引き起こされる標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全に阻害するわけではないが、試験した最低用量でもサイトカイン放出を強力に減少させる。

【０２６８】

同様の実験をＣＤ２０－ＴＣＢを用いて実施した。ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２細胞を、１ｎＭのＣＤ２０－ＴＣＢの存在下、ルキソリチニブの用量を０ｎＭから１０００ｎＭまで漸増させながら、ＰＢＭＣと共培養した（図１３）。ＣＴＶ標識ＷＳＵ標的細胞の死滅（図１４Ａ）、並びにＣＤ４＋及びＣＤ８＋上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現（図１５）を、２４時間の時点で、それぞれＴＣＢ有効性及びＴ細胞活性化に対するルキソリチニブの効果の読み取り値として測定した。最後に、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するシロリムス濃度の漸増の影響を評価するために、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、及びＩＬ－６のレベルをルミネックスによって測定した（図１９）。ルキソリチニブは、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性標的細胞の死滅とＴ細胞の活性化を完全には阻害しなかったが、２５ｎＭを超える濃度のＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されるＩＬ－６及びＩＦＮ－γ放出を強力に減少させた。ｍＴＯＲ阻害剤とは異なり、ルキソリチニブはＴＮＦ－α、ＩＬ－２、及びＧＭ－ＣＳＦの放出に対して強い影響を与えなかった。

【０２６９】

実施例５．ＴＣＢ媒介性標的死滅、Ｔ細胞活性化、及びサイトカイン放出における、ｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）及びＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）と抗ＴＮＦ－α抗体、抗ＩＬ－６Ｒ抗体、デキサメタゾン及びダサチニブの効果。

【０２７０】

抗ＴＮＦ－α抗体、抗ＩＬ－６Ｒ抗体、デキサメタゾン及びダサチニブと比較したｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス及びエベロリムス）及びＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）のＴＣＢ媒介性標的細胞死滅に対する影響を評価するために、我々は、異なる化合物を補充した培地中で、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、ＭＫＮ４５　ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞、及び１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢを使用して、死滅アッセイを実施した（図１）。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉ

ｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。中和抗ＴＮＦ－α抗体及び抗ＩＬ－６Ｒ抗体（５μｇ／ｍｌ）は、ＴＣＢ単独と比較した場合、標的細胞死滅の動態にも、最大標的細胞死滅にも影響を与えなかった。５０ｎＭ　ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、５０ｎＭ　ｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）は、１μＭ及び０．１μＭのデキサメタゾンと同様に標的細胞の死滅に同様の影響を与え、５０ｎＭのダサチニブの添加により、ＴＣＢ誘導性標的細胞死滅が完全にスイッチオフになった。（図２３）。

【０２７１】

アッセイ終了時（６６時間）に、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現をフローサイトメトリーによって測定し、Ｔ細胞活性化に対する異なる化合物の影響を評価した。ｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）及びＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）は、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９発現にデキサメタゾン又はダサチニブよりも穏やかな影響を与えたが、抗ＴＮＦ－α抗体及び抗ＩＬ－６Ｒ抗体はＴ細胞活性化に影響を与えなかった（図２４及び図２５）。

【０２７２】

ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対する異なる化合物の影響を決定するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルをルミネックスによって測定した。キナーゼ阻害剤及びデキサメタゾンの使用は、ＴＮＦ－α及びＩＬ－６などの特定のサイトカインに対する中和抗体と比較して、ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出の全体的な減少をもたらした（図２６）。ダサチニブは、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出、Ｔ細胞活性化及び標的細胞死滅を完全に防止し、一方、ｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）とＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）は、Ｔ細胞の活性化と標的細胞の死滅に対して穏やかな効果を示しながら、独立してサイトカイン放出を阻害した。ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブは、ｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス及びエベロリムス）ほど強くはＩＬ－２レベルを低下させなかった（図２６Ｂ）。

【０２７３】

ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）及びＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）の効果は、デキサメタゾン及びダサチニブと同等であり、抗ＴＮＦ－α抗体及び抗ＩＬ－６Ｒ抗体と比較して強力である。一方、ｍＴＯＲ阻害剤とＪＡＫ阻害剤は、ダサチニブと比較して、死滅有効性とＴ細胞活性化に対する影響が低くなる。

【０２７４】

別のＴＣＢでも同様の実験が行われた。ＷＳＵ細胞は、漸増用量のＣＤ２０－ＴＣＢ、及びｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、ダサチニブ、デキサメタゾン、抗ＴＮＦ－α抗体又は抗ＩＬ－６Ｒ抗体の存在下でＰＢＭＣとともに共培養された。Ｂ細胞の死滅を、２４時間の時点でのＴＣＢ有効性に対する様々な化合物の影響の読み取り値として測定した（図２７及び２８）。ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現を、２４時間の時点でのＴ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定した（図２９、３０及び３１）。最後に、ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対する異なる処置の影響を評価するために、サイトカイン（ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＧＭ－ＣＳＦ、及びＩＬ－１β）のレベルが、ルミネックスによって分析された図３２及び３３）。ＣＥＡ－ＴＣＢで見られるように、ｍＴＯＲ（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）及びＪＡＫ（ルキソリチニブ）阻害剤は、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対してデキサメタゾン及びダサチニブと同等の効果を有し、全体的なサイトカイン放出を減少させる点で、抗ＴＮＦ－α抗体及び抗ＩＬ－６Ｒ抗体よりも強力な効果を有する。ダサチニブとは異なり、ｍＴＯＲ（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）阻害剤とＪＡＫ（ルキソリチニブ）阻害剤は、Ｂ細胞の死滅を防止せず、ＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されたＴ細胞の活性化をスイッチオフしな

かったことから、ＴＣＢの有効性に強く影響しないことが示唆された。

【０２７５】

まとめると、ｍＴＯＲ阻害剤及びＪＡＫ阻害剤は、ダサチニブ（Ｓｒｃ阻害剤）やデキサメタゾンよりも死滅有効性及びＴ細胞活性化に対する影響が低い。その代わり、死滅効果及びＴ細胞活性化に対するそれらの影響は、抗ＴＮＦ－α抗体又は抗ＩＬ－６Ｒ抗体と同等の影響である。一方、デキサメタゾンやダサチニブなどのｍＴＯＲ阻害剤及びＪＡＫ阻害剤は、抗ＴＮＦ－α抗体又は抗ＩＬ－６Ｒ抗体よりも強力にサイトカイン放出を減少させる。ｍＴＯＲ阻害剤とＪＡＫ阻害剤の活性の差は、ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出と細胞傷害性のアンカップリングを示しており、これらの化合物がＣＲＳ緩和のためのステロイド又はＩＬ－６／ＩＬ－６Ｒ遮断の魅力的な代替物又は補完物であり得ることを示唆している。

【０２７６】

実施例６．事前に活性化されたエフェクター細胞からのＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するシロリムス、テムシロリムス、エベロリムス及びルキソリチニブの効果

【０２７７】

ｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）及びＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）が、ＣＤ２０－ＴＣＢの処置によって誘導されるサイトカインのさらなる放出を防止できるかどうかを評価するために、これらを活性化の１８時間後にｉｎｖｉｔｒｏ死滅アッセイに追加した。このアッセイでは、ＣＴＶ標識ＷＳＵＤＬＣＬ２腫瘍細胞を、漸増用量のＣＤ２０－ＴＣＢの存在下でＰＢＭＣと１８時間共培養した。１８時間の時点で、１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのテムシロリムス、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのエベロリムスを系内に添加した（図３４）。１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのテムシロリムス、１００ｎＭのシロリムス、又は１００ｎＭのエベロリムスの添加前にＴ細胞が活性化されたかどうかを検証するために、腫瘍細胞死滅、Ｔ細胞活性化及びサイトカイン放出を１８時間の時点で測定した。ＴＣＢの有効性に対する影響に関して、ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対する１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのテムシロリムス、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのエベロリムスの追加の影響を評価するため；サイトカイン放出、Ｔ細胞活性化、及び腫瘍細胞死滅を４４時間の時点で測定した。

【０２７８】

１８時間の時点で、ＣＤ２０－ＴＣＢによる処置により、ＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞の死滅をもたらし（図３５）、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞の両方においてＣＤ２５が上方制御され（図３６）、このことはアッセイ系において異なる阻害剤を添加する前にＴ細胞が活性化されたことを示している。１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのテムシロリムス、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのエベロリムスの添加は、４４時間の時点で測定されたＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞死滅（図３７）及びＴ細胞活性化（図３８）に影響を与えなかった。しかし、ｍＴＯＲ阻害剤（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）の添加により、１８時間から４４時間の間にＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－６、及びＧＭ－ＣＳＦの放出、さらに低い程度ではあるがＴＮＦ－α及びＩＬ－１βの放出が止まった（図３９）。ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）の添加は、１８時間から４４時間の間、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－６のさらなる産生を防止し、より低い程度ではあるがＧＭ－ＣＳＦ及びＴＮＦ－αの産生も防止したが、ＩＬ－２のさらなる産生は防止しなかった（図３９）。

【０２７９】

さらに、これらの結果は、１ｎＭの固定されたＣＤ２０－ＴＣＢ濃度で３人のドナーについて確認された。１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのテムシロリムス、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのエベロリムスの添加は、１８時間から４４時間の間でさらなるＣＴＶ標識ＷＳＵ　ＤＬＣＬ２腫瘍細胞死滅（図４０）及びＴ細胞活性化（図４１及び４２）に影響を与えなかった。しかし、１００ｎＭのテムシロリムス、１００ｎＭ

のシロリムス、又は１００ｎＭのエベロリムスの添加により、１８時間から４４時間の間、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＩＬ－６のさらなる放出、及びより低い程度でのＴＮＦ－αとＩＬ－１βの放出を防止した（図４３）。１００ｎＭのルキソリチニブの添加は、ＩＦＮ－γ及びＩＬ－６のさらなる放出を防止し、より低い程度ではあるがＴＮＦ－α及びＩＬ－１βの放出を防止したが、ＩＬ－２放出は防止しなかった（図４３）。

【０２８０】

全体として、これらのデータは、ｍＴＯＲ（テムシロリムス、シロリムス、及びエベロリムス）及びＪＡＫ（ルキソリチニブ）阻害剤が、ＣＤ２０－ＴＣＢの有効性に強い影響を与えずに、事前に活性化されたエフェクター細胞からのＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を迅速にスイッチオフできることを示唆している。

【０２８１】

実施例７．ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブは、ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅への影響を最小限に抑えながら、ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を防止する。

【０２８２】

ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅及びサイトカイン放出に対するルキソリチニブの効果を、追加のＴＣＢであるＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ（配列番号３７～５６）を使用して評価した。実施例４と同様に、０ｎＭから１００ｎＭの範囲の漸増濃度のルキソリチニブを補充した培地中で末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、Ａ３７５　ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞及び８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、死滅の読み取り値として経時的な赤色蛍光タンパク質シグナルの損失を捕捉し、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性の標的細胞死滅に対するルキソリチニブの効果を評価した。最後に、アッセイ終了時（７２時間）に上清を収集し、ルミネックスによってサイトカインを測定して、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するルキソリチニブの漸増濃度の効果を評価した。

【０２８３】

ルキソリチニブはＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢによる腫瘍細胞死滅を防止しなかったが（図４４）、ＩＦＮ－γ（図４５Ａ）、ＴＮＦ－α（図４５Ｃ）、ＩＬ－８（図４５Ｇ）、ＩＬ－６（図４５Ｅ）、ＭＣＰ－１（図４５Ｈ）、ＩＬ－１０（図４５Ｉ）及びＩＬ－１β（図４５Ｆ）のレベルは、ルキソリチニブの濃度が増加するにつれて減少した。ＧＭ－ＣＳＦ（図４５Ｄ）及びＩＬ－２（図４５Ｂ）のレベルは、ＣＥＡ－ＴＣＢ及びＣＤ２０－ＴＣＢで生成されたデータと一致して、ルキソリチニブによる影響を受けなかった。したがって、ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブは、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を、その有効性やＩＬ－２及びＧＭ－ＣＳＦレベルに影響を与えずに軽減する魅力的なアプローチとなる可能性がある。

【０２８４】

実施例８．ｍＴＯＲ阻害剤のシロリムス、テムシロリムス、エベロリムスは、ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅への影響を最小限に抑えながら、ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を防止する。

【０２８５】

ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅及びサイトカイン放出に対する、シロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスの効果を、追加のＴＣＢであるＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢを使用して評価した。実施例１～３と同様に、０ｎＭから１００ｎＭの範囲の漸増濃度のシロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスを補充した培地中で末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、Ａ３７５　ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞及び８ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。最後に、アッセイ終了時（７２時間）に上清を収集し、ルミネックスによってサイトカインを測定して、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するシロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスの漸増濃度の

効果を評価した。

【０２８６】

シロリムス、テムシロリムス及びエベロリムスは、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅を防止しなかったが（図４６Ａ、Ｂ、Ｃ）、ＩＦＮ－γ（図４７Ａ）、ＩＬ－２（図４７Ｂ）、ＴＮＦ－α（図４７Ｃ）、ＩＬ－８（図４７Ｇ）、ＩＬ－６（図４７Ｅ）、ＭＣＰ－１（図４７Ｈ）及びＩＬ－１０（図４７Ｉ）を含む試験したサイトカインの大部分のレベルは、シロリムス、テムシロリムス及びエベロリムスの濃度が増加するにつれて減少した。ＣＥＡ－ＴＣＢ及びＣＤ２０－ＴＣＢで生成されたデータと一致して、ｍＴＯＲ阻害剤のシロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムスは、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を、その有効性に影響を与えずに軽減する魅力的なアプローチとなる可能性がある。

【０２８７】

実施例９．ＪＡＫ阻害剤バリシチニブは、ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を、その有効性に影響を与えずに効率的に防止することができる。

【０２８８】

ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅及びサイトカイン放出に対するＪＡＫ１／２阻害剤バリシチニブの阻害効果を評価するために、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、漸増濃度のバリシチニブを添加した培地中で、ＣＴＶ標識ＷＳＵ標的細胞及びＣＤ２０－ＴＣＢと共培養した。２４時間の時点で、死滅したＣＴＶ細胞を排除することにより、フローサイトメトリーによって腫瘍細胞死滅を測定した。上清を収集し、サイトカインをルミネックスによって測定した。さらに、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定し、Ｔ細胞活性化に対するバリシチニブの影響を評価した。

【０２８９】

その結果、０ｎＭから１００ｎＭの範囲のバリシチニブ濃度は、ＣＤ４＋（図５０Ａ、Ｃ及び５１）及びＣＤ８＋（図５０Ｂ、Ｄ及び５２）Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現によって示されるように、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅（図４８及び４９）及びＴ細胞活性化を損なわなかった。１μＭのより高い濃度では、バリシチニブは、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅（図４８及び４９）及びＴ細胞活性化（図５０Ａ～Ｄ、５１及び５２）をわずかに減少させた。他のＪＡＫ阻害剤ルキソリチニブと同様に、バリシチニブの漸増用量により、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－６及びＩＬ－８（図５３Ａ、Ｃ、Ｄ、Ｅ及びＦ、図５４Ａ、Ｃ、Ｄ、Ｅ及びＦ）のレベルは減少したが、ＩＬ－２は減少しなかった（図５３Ｂ、図５４Ｂ）。

【０２９０】

バリシチニブは、ＣＤ２０－ＴＣＢによって引き起こされるＣＴＶＷＳＵ腫瘍細胞の死滅とＴ細胞活性化を防止しなかったが、１２．５ｎＭから１００ｎＭの範囲の用量でＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を強力に減少させた。したがって、ＪＡＫ阻害剤バリシチニブは、ルキソリチニブに加えて、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を、その有効性に影響を与えずに軽減するために使用できる可能性がある。

【０２９１】

実施例１０．ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅、Ｔ細胞活性化及びサイトカイン放出に対するＪＡＫ阻害剤バリシチニブの効果は、ＪＡＫ阻害剤ルキソリチニブと同等である。

【０２９２】

ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出、Ｔ細胞活性化及び腫瘍細胞死滅に対するバリシチニブの効果がルキソリチニブの効果と同等であるかどうかを検証するため、我々は、漸増濃度のルキソリチニブ及びバリシチニブを補充した培地中で、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、ＭＫＮ４５　ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞、並びに１０ｎＭ及び１ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。７２時間の時点で、ＣＤ４＋

Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５の発現をフローサイトメトリーによって測定し、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性Ｔ細胞活性化に対するバリシチニブ及びルキソリチニブの影響を評価した。最後に、アッセイ終了時（７２時間）に上清を収集し、ルミネックスによってサイトカインを測定して、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するバリシチニブとルキソリチニブの効果を評価した。サイトカイン阻害のパーセンテージは、キナーゼ阻害剤の非存在下で見出されたサイトカインのパーセンテージとして計算され、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するバリシチニブとルキソリチニブの効果を比較することができた。

【０２９３】

バリシチニブ及びルキソリチニブは両方とも、０ｎＭから１００ｎＭの範囲の漸増濃度では、１ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによって誘導されるＭＫＮ４５　ＮＬＲ腫瘍細胞の死滅を防止しなかった（図５５Ａ及びＢ）。１μＭのより高い濃度では、バリシチニブ及びルキソリチニブの両方が、ＭＫＮ４５　ＮＬＲ腫瘍細胞の死滅を部分的に防止した（図５５Ａ及びＢ）。ルキソリチニブと同等に、バリシチニブの漸増濃度は、ＣＤ４＋（図５６Ａ）及びＣＤ８＋（図５６Ｂ）Ｔ細胞上のＣＤ２５の発現を減少させ、ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性Ｔ細胞活性化に対するバリシチニブの効果はルキソリチニブと同等であることが示された。ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－６及びＩＬ－８レベルの阻害の程度（図５７Ａ、Ｃ、Ｄ、Ｅ及びＦ）は、ルキソリチニブ及びバリシチニブの漸増濃度について同様であった。ルキソリチニブで観察されたことと一致して、バリシチニブの濃度を漸増させてもＩＬ－２は減少しなかった（図５７Ｂ）。

【０２９４】

バリシチニブとルキソリチニブの比較は、別のＴＣＢであるＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢを使用して行われた。ＣＥＡ－ＴＣＢと同様に、０ｎＭから１００ｎＭの範囲の漸増濃度のルキソリチニブとバリシチニブを補充した培地中で末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、Ａ３７５　ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）標的細胞及び２５ｎＭ　ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するバリシチニブとルキソリチニブの効果を評価するために、アッセイ終了時（７２時間）に収集された上清中のサイトカインをルミネックスによって測定した。

【０２９５】

ＣＥＡ－ＴＣＢを用いて生成されたデータと一致して、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅に対するバリシチニブの効果（図５８Ａ）は、０ｎＭから１００ｎＭの漸増濃度においてルキソリチニブ（図５８Ｂ）と同等であった。さらに、ＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１β及びＩＬ－６放出に対するバリシチニブの効果（図５９Ａ～Ｆ）も、０ｎＭから１００ｎＭの範囲の濃度ではルキソリチニブ（図６０Ａ～Ｆ）と同等である。

【０２９６】

要約すると、ＣＥＡ－ＴＣＢ及びＭＡＧＥＡ４－ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞の死滅、Ｔ細胞活性化、及びサイトカイン放出に対するバリシチニブの効果は、ルキソリチニブと同等である。したがって、ルキソリチニブに加えて、バリシチニブは、ＴＣＢ誘導性放出を軽減するための魅力的なアプローチとなる。

【０２９７】

実施例１１．ＪＡＫ阻害剤ルキソリチニブとｍＴＯＲ阻害剤シロリムスは、ＣＡＲ－Ｔ細胞誘導性サイトカイン放出を防止する。

【０２９８】

ＣＡＲ－Ｔ細胞によって誘導されるサイトカイン放出に対するＪＡＫ阻害剤ルキソリチニブ及びｍＴＯＲ阻害剤シロリムスの効果を評価するため、我々は、１００ｎＭのルキソリチニブ又は１００ｎＭのシロリムスを補充した培地中の漸増濃度のＰＧＬＡＬＡ　Ｆｃ及び野生型Ｆｃ抗ＣＤ２０　ＩｇＧの存在下で、ＰＧＬＡＬＡ及びＣＤ１６ユニバーサル

ＣＡＲ－Ｔ細胞（抗Ｐ３２９Ｇ－Ｆｃ　ｓｃＦｖ（ＰＧＬＡＬＡ　Ｆｃに結合）又はＣＤ１６（野生型Ｆｃに結合）を含むＣＡＲを有するＣＡＲ－Ｔ細胞）をＣＴＶ　ＷＳＵ腫瘍細胞と共培養する死滅アッセイを実施した。ルキソリチニブとシロリムスがＣＡＲ－Ｔ細胞による腫瘍細胞の死滅を防止するかどうかを検証するために、２４時間の時点で、フローサイトメトリーによってＣＴＶ　ＷＳＵ腫瘍細胞の死滅を測定した。ルキソリチニブ及びシロリムスがＣＡＲ－Ｔ細胞によって誘導されるサイトカイン放出を減少させるかどうかを検証するために、７２時間の時点で、アッセイの上清中のサイトカインをルミネックスによって測定した。

【０２９９】

その結果、シロリムスもルキソリチニブも、ＰＧＬＡＬＡ（図６１Ａ）及びＣＤ１６（図６１Ｂ）ＣＡＲ－Ｔ細胞による腫瘍細胞の死滅を防止しなかった。ＰＧＬＡＬＡ（図６２）及びＣＤ１６（図６３）ＣＡＲ－Ｔ細胞の両方について、ルキソリチニブは、ＩＦＮ－γ（図６２Ｂ及び６３Ｂ）、ＴＮＦ－α（図６２Ｄ及び６３Ｄ）及びＧＭ－ＣＳＦ（図６２Ａ及び６３Ｄ）の放出を減少させたが、ＩＬ－２（図６２Ｃ及び６３Ｃ）では減少させず、これはＴＣＢに関する知見と一致している。最後に、シロリムスは、試験したすべてのサイトカイン、すなわちＩＦＮ－γ（図６２Ｂ及び６３Ｂ）、ＴＮＦ－α（図６２Ｄ及び６３Ｄ）、ＧＭ－ＣＳＦ（図６２Ａ及び６３Ａ）及びＩＬ－２（図６２Ｃ及び６３Ｃ）の放出を強力に減少させた。

【０３００】

全体として、このデータは、ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブとｍＴＯＲ阻害剤シロリムスが、ＣＡＲ－Ｔ細胞の有効性に影響を与えずに、ＣＡＲ－Ｔ細胞によって誘導されるサイトカイン放出を防止する魅力的なアプローチである可能性があることを示唆している。

【０３０１】

実施例１２．ｍＴＯＲ阻害剤のシロリムス、テムシロリムス、エベロリムスとＪＡＫ阻害剤のルキソリチニブは、サイトカイン放出を強力に減少させる一方で、ＣＤ１９－ＴＣＢ依存性細胞死滅とＴ細胞活性化を防止しない。

【０３０２】

ｍＴＯＲ阻害剤シロリムス、エベロリムス及びテムシロリムス、並びにＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブの、ＴＣＢ誘導性Ｔ細胞傷害性、Ｔ細胞活性化及びサイトカイン放出に対する効果を、別のＴＣＢであるＣＤ１９－ＴＣＢ（配列番号５、７～９、１１、６４～７４、７６～７８、８０）を使用して評価した。ＰＢＭＣを、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブも含む異なるキナーゼ阻害剤の存在下で、ＣｅｌｌＴｒａｃｅ™　Ｖｉｏｌｅｔ（ＣＴＶ）標識ＳＵＤＬＨ－８腫瘍細胞及び漸増濃度のＣＤ１９－ＴＣＢとともに共培養した（図６４）。アッセイ終了時（２４時間）に、ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞の死滅を、生／死染色による死滅ＳＵＤＬＨ－８細胞の排除によるフローサイトメトリーによって測定した。ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も、Ｔ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。最後に、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するｍＴＯＲ、ＪＡＫ、及びＳｒｃ阻害剤の効果を評価するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルを測定した。

【０３０３】

結果として、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブとは異なり、ｍＴＯＲ阻害剤及びＪＡＫ阻害剤は、ＣＤ１９－ＴＣＢ依存性ＳＵＤＬＨ－８死滅を防止しなかった（図６５Ａ、図６６）。死滅に対する効果と一致して、ｍＴＯＲ及びＪＡＫ阻害剤は、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブとは対照的に、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現を遮断しなかった（図６５Ｂ～Ｅ、図６７）。最後に、ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブは、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－６及びＧＭ－ＣＳＦの放出を防止し、より低い程度ではあるが、ＩＬ－２の放出も防止する一方で、ｍＴＯＲ阻害剤は４つのサイトカインすべての放出を強力に減少させた（図６８）。

【０３０４】

全体として、ｍＴＯＲ、ＪＡＫ、及びＳｒｃ阻害剤の活性の差から、ＣＤ１９－ＴＣＢによるＴ細胞の細胞傷害性とサイトカイン放出のアンカップリングが明らかになった。さらに、これらのデータは、ｍＴＯＲ阻害剤のシロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、及びＪＡＫ１／２阻害剤のルキソリチニブが、腫瘍細胞の死滅とＴ細胞の活性化を防止しない一方で、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を軽減できる可能性があることを示唆している。Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブは、サイトカイン放出と死滅の両方を遮断するためにＴ細胞の機能性をスイッチオフにする必要がある腫瘍外毒性又は高悪性度ＣＲＳに対する解毒剤としてむしろ存在する。

【０３０５】

実施例１３．ＪＡＫ阻害剤のバリシチニブ及びトファシチニブは、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性腫瘍細胞死滅、Ｔ細胞活性化、及びサイトカイン放出に対してルキソリチニブと同等の効果を有している。

【０３０６】

ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性Ｔ細胞傷害性、Ｔ細胞活性化及びサイトカイン放出に対するＪＡＫ阻害剤バリシチニブ及びトファシチニブの効果をルキソリチニブと比較するために、ＰＢＭＣを、１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのバリシチニブ及び１００ｎＭのトファシチニブの存在下で、ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８腫瘍細胞及び漸増濃度のＣＤ１９－ＴＣＢとともに共培養した（図６９）。アッセイ終了時（２４時間）に、ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞の死滅を、生／死染色による死滅ＳＵＤＬＨ－８細胞の排除によるフローサイトメトリーによって測定した。ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も、Ｔ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。最後に、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するＪＡＫ阻害剤の効果を評価するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルを測定した。

【０３０７】

ルキソリチニブと同様に、バリシチニブ及びトファシチニブは、ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８腫瘍細胞のＣＤ１９－ＴＣＢ依存性死滅を防止せず（図７０）、ＣＤ４＋（図７１Ａ及びＢ）Ｔ細胞及びＣＤ８＋（図７１Ｃ及びＤ）Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も防止しなかった。さらに、ＪＡＫ阻害剤のバリシチニブ及びトファシチニブは、ルキソリチニブと同等に、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－６及びＧＭ－ＣＳＦ放出を防止し、より低い程度ではあるが、ＩＬ－２放出を防止した（図７２）。バリシチニブとトファシチニブは、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を防止する一方で、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＴ細胞活性化とＴ細胞細胞傷害性を遮断することはなく、ルキソリチニブと同等の効力を持つように見えた。

【０３０８】

最後に、この実験は、バリシチニブとトファシチニブが、ルキソリチニブの代替物として、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を軽減するための２つの追加のＪＡＫ阻害剤となる可能性があることを示唆している。

【０３０９】

実施例１４．ＪＡＫ阻害剤ルキソリチニブ、ｍＴＯＲ阻害剤シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、及びＳｒｃ阻害剤ダサチニブと現在のＣＲＳ軽減アプローチとの比較。

【０３１０】

ＪＡＫ及びｍＴＯＲ阻害剤の使用が、ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出の軽減のために使用される現在のアプローチと同等かどうかを検証するため、我々は、キナーゼ阻害剤の効果をコルチコステロイドデキサメタゾン、並びに抗ＴＮＦ－α抗体及び抗ＩＬ－６Ｒ抗体の使用とｉｎ　ｖｉｔｒｏで比較した。そのため、ＰＢＭＣを、ｍＴＯＲ、ＪＡＫ、及びＳｒｃ阻害剤、並びにデキサメタゾン、抗ＴＮＦ－α抗体（ａＴＮＦ－α；Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃５０２９２２（抗体Ｍａｂ１１））及び抗ＩＬ－６Ｒ抗体（ａＩＬ－６Ｒ；Ｒｏｃｈｅ社内）の存在下で、ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８腫瘍細胞及び漸増濃度のＣＤ１９－ＴＣＢとともに共培養した（図７３）。アッセイ終了時（２４時間）に、ＣＤ１９－Ｔ

ＣＢ依存性死滅に対する異なる軽減アプローチの効果を評価するために、ＣＴＶ標識ＳＵＤＬＨ－８細胞の死滅を、生／死染色による死滅ＳＵＤＬＨ－８細胞の排除によるフローサイトメトリーによって測定した。次いで、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現も、Ｔ細胞活性化の効果についての読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。最後に、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するＪＡＫ阻害剤の効果を検討するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルを測定した。

【０３１１】

デキサメタゾン、抗ＴＮＦ－α抗体、抗ＩＬ－６Ｒ抗体と同等に、ｍＴＯＲ阻害剤のシロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムス、並びにＪＡＫ１／２阻害剤のルキソリチニブは、ＣＴＶ　ＳＵＤＬＨ－８細胞のＣＤ１９－ＴＣＢ依存性死滅を防止しなかった－これはＳｒｃ阻害剤のダサチニブと異なる（図７４）。また、ｍＴＯＲ及びＪＡＫ阻害剤、並びにデキサメタゾン、抗ＴＮＦ－α及び抗ＩＬ－６Ｒは、Ｔ細胞の活性化を完全に遮断するＳｒｃ阻害剤ダサチニブとは対照的に、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５（図７５Ａ及びＣ、図７６Ａ及びＣ）及びＣＤ６９（図７５Ｂ及びＤ、図７６Ｂ及びＤ）の発現は防止しなかった。最後に、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＩＦＮ－γ及びＴＮＦ－αに対するｍＴＯＲ阻害剤シロリムス、テムシロリムス及びエベロリムス、並びにＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブの効果は、デキサメタゾンの効果と同等であった（図７７）。ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＩＬ－２及びＧＭ－ＣＳＦに対するｍＴＯＲ阻害剤の効果はデキサメタゾンの効果と同等であったが、これら２つのサイトカインに対するＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブの効果は弱かった（図７７）。ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、及びＧＭ－ＣＳＦの減少におけるＪＡＫ及びｍＴＯＲ阻害剤の効果は、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、及びＧＭ－ＣＳＦレベルをわずかに減少させるだけの抗ＩＬ－６Ｒ抗体の効果よりも強力で、或いはＴＮＦ－αを特異的に減少させ、より低い程度ではあるがＩＦＮ－γ、ＩＬ－２及びＧＭ－ＣＳＦを減少させる抗ＴＮＦ－α抗体の効果よりも強力であった。最後に、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブは、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出の完全な阻害を示し（図７７）、これは死滅及びＴ細胞活性化の阻害と相関している。

【０３１２】

要約すると、この実験は、ｍＴＯＲ阻害剤のシロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、及びＪＡＫ１／２阻害剤のルキソリチニブの効果は、ＣＤ１９－ＴＣＢ依存性サイトカイン放出を減少させる一方で、Ｔ細胞細胞傷害性とＴ細胞活性化を防止しない副腎皮質ステロイドのデキサメタゾンの効果と同等であることを示唆している。さらに、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するｍＴＯＲ阻害剤のシロリムス、テムシロリムス、及びエベロリムス並びにＪＡＫ１／２阻害剤のルキソリチニブの効果は、ＩＬ－６Ｒ及びＴＮＦ－αの遮断よりも強いことが示された。まとめると、このデータは、ＪＡＫ阻害剤及びｍＴＯＲ阻害剤が、抗ＩＬ－６Ｒ抗体又は抗ＴＮＦ－α抗体、さらにはコルチコステロイドの使用に代わる、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出の軽減のための代替アプローチとなる可能性があることを強調している。

【０３１３】

実施例１５．事前に活性化されたエフェクター細胞からのＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するシロリムス（例示的なｍＴＯＲ阻害剤として）、ルキソリチニブ（例示的なＪＡＫ阻害剤として）及びダサチニブ（例示的なＳｒｃ阻害剤として）の効果。

【０３１４】

ｍＴＯＲ阻害剤シロリムス、ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブ、及びＳｒｃ阻害剤ダサチニブが、ＣＤ１９－ＴＣＢの治療によって誘導されるサイトカインのさらなる放出を防止できるかどうかを評価するために、これらを活性化の２４時間後にｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイに追加した（図７８）。このアッセイでは、ＣＴＶ標識ＮＡＬＭ－６腫瘍細胞を、漸増用量のＣＤ１９－ＴＣＢの存在下でＰＢＭＣと２４時間共培養した。２４時間の時点で、１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのダサ

チニブを系内に添加した。異なるキナーゼ阻害剤の添加前にＴ細胞が活性化されたかどうかを検証するために、２４時間の時点で腫瘍細胞の死滅及びサイトカイン放出を測定した（図７９及び８０）。最後に、サイトカイン放出及び腫瘍細胞死滅を４８時間の時点で測定し、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対する１００ｎＭのルキソリチニブ、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのダサチニブの添加の効果を、死滅に対する効果と比較して評価した。

【０３１５】

２４時間の時点で、ＣＤ１９－ＴＣＢによる処置によりＣＴＶ標識ＮＡＬＭ－６腫瘍細胞の死滅をもたらし（図７９）、ＩＦＮ－γ（図８０Ａ）、ＴＮＦ－α（図８０Ｂ）、ＩＬ－２（図８０Ｃ）及びＩＬ－６（図８０Ｄ）が放出され、これは、キナーゼ阻害剤の添加前にＴ細胞が活性化されていることを示している。１００ｎＭのルキソリチニブ又は１００ｎＭのシロリムスの添加は、４８時間の時点で測定されたＣＴＶ標識ＮＡＬＭ－６腫瘍細胞の死滅を防止しなかったが（図７９）、一方、１００ｎＭのダサチニブの添加は、ＮＡＬＭ－６腫瘍細胞の死滅を中程度に減少させた。しかし、１００ｎＭのシロリムス又は１００ｎＭのダサチニブの添加は、２４時間から４８時間の間にＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－２及びＩＬ－６のさらなる放出を防止したが（図８０）、１００ｎＭのルキソリチニブの添加は、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α及びＩＬ－６のさらなる放出と、より低い程度ではあるがＩＬ－２の放出を防止するだけであった（図８０）。

【０３１６】

全体として、この実験は、ｍＴＯＲ阻害剤シロリムス及びＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブが、ＣＤ１９－ＴＣＢの有効性に影響を与えない一方で、事前に活性化されたエフェクター細胞からのＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を迅速に停止できることを示唆している。一方、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブは、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性のＴ細胞細胞傷害性も低下させながら、事前に活性化されたエフェクター細胞からのＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を迅速にスイッチオフすることができる。

【０３１７】

実施例１６．ヒト化ＮＳＧマウスにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出の減少におけるＪＡＫ阻害剤ルキソリチニブ、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブ及びｍＴＯＲ阻害剤シロリムスの効果は、コルチコステロイドであるデキサメタゾン及びメチルプレドニゾロンの効果、及びオビヌツズマブによる前治療と同等である。

【０３１８】

ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブ、ｍＴＯＲ阻害剤シロリムス、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブ、オビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））による前治療、コルチコステロイドであるデキサメタゾン及びメチルプレドニゾロンのＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出とＢ細胞枯渇に対する効果をｉｎ　ｖｉｖｏで評価した。したがって、ヒト化ＮＳＧマウスをオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））で前治療した後、０．５ｍｇ／ｋｇ　ＣＤ１９－ＴＣＢで治療し、又は、０．５ｍｇ／ｋｇ　ＣＤ１９－ＴＣＢと（ｉ）４ｘ５ｍｇ／ｋｇのシロリムス、（ｉｉ）６ｘ３０ｍｇ／ｋｇのルキソリチニブ、（ｉｉｉ）６ｘ５０ｍｇ／ｋｇのダサチニブ、（ｉｖ）２ｘ１ｍｇ／ｋｇ、１ｘ０．５ｍｇ／ｋｇ及び１ｘ０．２５ｍｇ／ｋｇのデキサメタゾン、若しくは（ｖ）２ｘ１０ｍｇ／ｋｇ、１ｘ５ｍｇ／ｋｇ及び１ｘ２．５ｍｇ／ｋｇのメチルプレドニゾロンとで同時治療した（図８１）。臨床においてルキソリチニブ、ダサチニブ、及びシロリムスの薬力学的プロファイルを最もよく再現し、その結果生じる曝露がＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を防止するのに十分であるかどうかを検証するために、ダサチニブとルキソリチニブは１日２回経口投与され、シロリムスは１日目に１日２回、その後１日１回経口投与された。

【０３１９】

４８時間及び７２時間の時点で、尾静脈出血によって血液を採取し、ＣＤ２０＋　Ｂ細胞数をフローサイトメトリーによって測定し（図８２Ａ及びＢ）、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性Ｂ細胞枯渇に対する異なる治療の効果を評価した。４８時間及び７２時間の時点で、ＣＤ１９－ＴＣＢ単独による治療と同様に、オビニツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））

前治療（ＧｐＴ）とそれに続くＣＤ１９－ＴＣＢ治療の効果により、Ｂ細胞の完全枯渇を引き起こした。一方、ルキソリチニブ（ｒｕｘｏ）とシロリムス（ｓｉｒｏ）は、デキサメタゾン（ｄｅｘａ）やメチルプレドニゾロン（ＭＰ）と同様に、Ｂ細胞の枯渇をわずかに防止し、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブ（ｄａｓａ）よりも穏やかな阻害効果であり、ＣＤ１９－ＴＣＢの有効性を完全に防止しなかった（図８２Ａ）。７２時間の時点で、ルキソリチニブ及びシロリムスの効果はデキサメタゾンの効果と同等であったが、Ｂ細胞枯渇の防止においてはメチルプレドニゾロンよりも強力であるように見え（図８２Ｂ）、これはＣＤ１９－ＴＣＢの活性に対する小さな阻害効果を示している。７２時間の時点で、ダサチニブはＢ細胞の枯渇を完全に遮断できなくなった。その半減期は約６～７時間であり、ダサチニブの投与は１日２回のみであるため、曝露の欠如により、ＣＤ１９－ＴＣＢが部分的に活性化し、その結果Ｂ細胞が枯渇したことが説明できる可能性がある。実験終了時（７２時間）に脾臓を採取し、Ｂ細胞数をフローサイトメトリーによって測定した（図８３）。血液中の観察と一致して、ルキソリチニブとシロリムスは、デキサメタゾンと同様に、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＣＤ２０＋　Ｂ細胞枯渇を部分的にしか防止しなかった。しかし、それらの阻害効果はメチルプレドニゾロンよりも強かった（図８３）。７２時間の時点で、ダサチニブは脾臓におけるＣＤ２０＋　Ｂ細胞の枯渇を防止しなかったが、これはおそらく曝露不足のためである（図８３）。予想通り、オビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））による前治療は、２つの枯渇抗体の二重活性によりＣＤ２０＋　Ｂ細胞の完全な枯渇をもたらした（図８３）。

【０３２０】

最後に、ＣＤ１９－ＴＣＢによる治療の６時間後に血液から血清を採取し、ルミネックスによってサイトカインレベルを測定して、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対する異なる治療の効果を評価した（図８４）。ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性のＩＦＮ－γ（図８４Ａ）及びＩＬ－６放出（図８４Ｄ）に対するシロリムス、ルキソリチニブ、デキサメタゾン及びメチルプレドニゾロンの効果は、オビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））による前治療と同等であった。ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性ＩＬ－２（図８４Ｂ）及びＴＮＦ－α（図８４Ｃ）に対するシロリムス、デキサメタゾン及びメチルプレドニゾロンの効果は、Ｇａｚｙｖａによる前治療と同等であった。しかし、ルキソリチニブの効果は、ＩＬ－２とＴＮＦ－αを減少させる効果においてわずかに弱かったようである。全体として、ｍＴＯＲ及びＪＡＫ阻害剤の効果は、ＩＬ－２及びＴＮＦ－α放出に対するルキソリニブのより穏やかな効果により、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を減少させることにおいて、コルチコステロイドであるデキサメタゾン及びメチルプレドニゾロンの効果、並びにオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））による前治療の効果と同等であることが判明した。

【０３２１】

ｉｎ　ｖｉｔｒｏでの知見と一致して、ルキソリチニブ又はシロリムスとＣＤ１９－ＴＣＢとの同時治療は、デキサメタゾンやメチルプレドニゾロンと同様に、ヒト化ＮＳＧマウスにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を制御することができたが、Ｂ細胞枯渇を完全に防止することができなかった。さらに、ＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出の防止におけるルキソリチニブ、シロリムス、デキサメタゾン及びメチルプレドニゾロンの効果は、オビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））による前治療と同等であったが、後者の方がより強力なＢ細胞枯渇を誘導した。

【０３２２】

実施例１７．ＪＡＫ阻害剤フェドラチニブは、ＴＣＢ媒介性標的細胞死滅への影響を最小限に抑えながら、ＣＥＡ－ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を防止する。

【０３２３】

別のＪＡＫ阻害剤であるフェドラチニブのＴＣＢ媒介性標的細胞死滅、Ｔ細胞活性化及びサイトカイン放出に対する効果を評価するために、我々は、漸増濃度のフェドラチニブを補充した培地中で、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、ＮｕｃＬｉｇｈｔ　Ｒｅｄ（ＮＬＲ）ＭＫＮ４５腫瘍細胞、及び１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢを使用して死滅アッセイを実施した

。Ｉｎｃｕｃｙｔｅ（登録商標）システム（Ｅｓｓｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、標的細胞死滅の読み取り値として赤色蛍光タンパク質シグナルの経時的な損失を捕捉した。１２．５ｎＭから１μＭの範囲のフェドラチニブの用量は、１０ｎＭ　ＣＥＡ－ＴＣＢによるＭＫＮ４５　ＮＬＲ標的細胞死滅を部分的にのみ減少させ、１μＭ未満の用量ではわずかな効果しか有さなかった（図８５）。

【０３２４】

アッセイ終了時（７２時間）に、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現が、Ｔ細胞活性化の読み取り値としてフローサイトメトリーによって測定された。フェドラチニブは、１μＭ未満の濃度では、ＣＤ４＋　Ｔ細胞（図８６Ａ、Ｂ）及びＣＤ８＋　Ｔ細胞（図８６Ｃ、Ｄ）上のＣＤ６９及びＣＤ２５の発現に影響を与えなかった。

【０３２５】

ＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出に対するフェドラチニブの効果を決定するために、アッセイの上清中のサイトカインのレベルをルミネックスによって測定した。５０ｎＭから１μＭの範囲の濃度のフェドラチニブの存在下では、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＬ－６、及びＩＬ－８のレベルが減少した（図８７）。

【０３２６】

全体として、このデータは、フェドラチニブがＣＥＡ－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を減少させる一方で、Ｔ細胞細胞傷害性及びＴ細胞活性化を防止しないことを示唆している。

【０３２７】

実施例１８．ｍＴＯＲ及びＪＡＫ阻害剤は、リンパ腫ＰＤＸ担持マウスにおけるＣＤ１９－ＴＣＢ抗腫瘍活性を抑制しない。

【０３２８】

ＣＤ１９－ＴＣＢ抗腫瘍活性に対するＳｒｃ阻害、デキサメタゾン、又はオビヌツズマブ（ＧｐＴ）による前治療と比較したｍＴＯＲ及びＪＡＫ阻害の影響を評価するために、ヒト化ＮＳＧマウスのリンパ腫患者由来異種移植片（ＰＤＸ）モデルを使用した。まず、死滅アッセイを使用して、ＰＤＸ細胞がｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＣＤ１９－ＴＣＢによる処置により死滅するかどうかを検証した。リンパ腫ＰＤＸ細胞を、ＣＤ１９－ＴＣＢの存在下でＰＢＭＣ（Ｅ：Ｔ＝１０：１）と共培養した。リンパ腫ＰＤＸ細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでＣＤ１９－ＴＣＢによって効率的に枯渇され（図８８Ａ）、その結果、ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞上のＣＤ２５及びＣＤ６９の発現によって示されるように、Ｔ細胞活性化がもたらされた（図８８Ｂ～Ｅ）。次に、ＰＤＸ担持マウスをビヒクル、シロリムス（５ｍｇ／ｋｇ）、ルキソリチニブ（３０ｍｇ／ｋｇ）、ダサチニブ（２０ｍｇ／ｋｇ）、デキサメタゾン（１ｍｇ／ｋｇを２回、０．５ｍｇ／ｋｇ、０．２５ｍｇ／ｋｇを４回）を単独で又はＣＤ１９－ＴＣＢ（０．５ｍｇ／ｋｇ）、ＣＤ１９－ＴＣＢ（０．５ｍｇ／ｋｇ）を単独療法として組み合わせて若しくはオビヌツズマブ前治療（ＧｐＴ）（３０ｍｇ／ｋｇ）と組み合わせて治療した。異なるキナーゼ阻害剤及びデキサメタゾンを、ＣＤ１９－ＴＣＢによる第１の治療の１時間前に投与し、その後、主に第１の注入時に起こるサイトカイン放出を抑制するために、１日１回又は２回、３日間投与した（図８９）。さらに、残留サイトカイン分泌を防止するために、それらは後続の各治療の１時間前にも投与された（図８９）。デキサメタゾンとシロリムスの両方を単剤として投与すると、腫瘍増殖の減少が誘導されたが、有意ではなかった（図９０及び９３）。ＣＤ１９－ＴＣＢと組み合わせると、得られた抗腫瘍活性はＣＤ１９－ＴＣＢ単独と同等であったが、シロリムス及びデキサメタゾンは初回注入時のＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α及びＩＬ－６放出を抑制した（図９０、９３及び９４）。同様に、ルキソリチニブとの同時治療は、ＣＤ１９－ＴＣＢ抗腫瘍活性への干渉を最小限に抑え、ＩＬ－６を減少させ、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、及びＩＬ－２放出をより低い程度に減少させた（図９１及び９４）。サイトカインレベルに対するルキソリチニブ、シロリムス及びデキサメタゾンの効果は、オビヌツズマブ前治療の効果よりも強いように見えたが、抗腫瘍効果に対するそれら

の効果は同様であった（図９０、９１、９３及び９４）。また、ダサチニブは、初回注入時にＴ細胞由来サイトカイン（ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－２、及びＩＬ－６）を大幅に減少させたが、ＣＤ１９－ＴＣＢ抗腫瘍効果を有意に抑制しなかった。これは、ダサチニブの阻害効果が可逆的であるため、本実験におけるダサチニブの一時的な使用がＣＤ１９－ＴＣＢ誘導性Ｔ細胞細胞傷害性を継続的に遮断しなかったことを示している（図９２及び９４）。

【０３２９】

まとめると、このデータは、ＪＡＫ阻害剤ルキソリチニブとｍＴＯＲ阻害剤シロリムスの一時的な使用は、ＣＤ１９－ＴＣＢの初回注入時のＴ細胞媒介性サイトカイン放出を抑制しながら抗腫瘍効果を損なわないことを示し、ＴＣＢ関連のＣＲＳを軽減するためのこれらの化合物の使用を支持している。

【０３３０】

実施例１９．非腫瘍担持ヒト化ＮＳＧマウスにおけるＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出及びＢ細胞枯渇に対するルキソリチニブ（ＪＡＫ１／２阻害剤）、ｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、エベロリムス、テムシロリムス）及びダサチニブ（Ｓｒｃ阻害剤）の効果。

【０３３１】

本実験では、小分子キナーゼ阻害剤の短いＰＫ／ＰＤ特性とＣＤ２０－ＴＣＢの長いＰＫ／ＰＤ特性のｉｎ　ｖｉｖｏでの組み合わせが、ヒト化ＮＳＧマウスにおいてサイトカイン放出を効率的にスイッチオフするかどうかを検証した。さらに、末梢血中のＣＤ１９＋　Ｂ細胞を測定することにより、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブと比較して、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性Ｂ細胞枯渇に対するＪＡＫ及びｍＴＯＲ阻害剤の効果も評価した。

【０３３２】

図９５に記載のように、ヒト化ＮＳＧマウスを、０．１５ｍｇ／ｋｇのＣＤ２０－ＴＣＢ単独又はｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス）、ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）、Ｓｒｃ阻害剤（ダサチニブ）と組み合わせて治療するか、オビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））で前治療した。ｍＴＯＲ、ＪＡＫ、及びＳｒｃキナーゼ阻害剤の異なる用量を試験し、Ｂ細胞枯渇への干渉を最小限に抑えながら、ＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を減少させる最適な用量を決定した。シロリムスについては２、５、及び１０ｍｇ／ｋｇの用量が試験され、他のｍＴＯＲ阻害剤であるテムシロリムス及びエベロリムスには最高用量の１０ｍｇ／ｋｇのみが使用された。ルキソリチニブについては３０及び６０ｍｇ／ｋｇの用量が試験され、ダサチニブについては１０及び５０ｍｇ／ｋｇの用量が試験された。臨床投与経路を再現するために、図９５に示すように、異なるキナーゼ阻害剤を１日１回又は２回経口（経口）投与した。ＣＤ２０－ＴＣＢによる治療の４時間後及び２４時間後にマウスから採血し（図９５）、ルミネックスによるサイトカインレベル測定用の血清を収集した。さらに、ＣＤ２０－ＴＣＢによる治療後４８時間及び７２時間（終了）に血液を採取し、フローサイトメトリーによりヒトＣＤ４５＋　細胞中のＣＤ１９＋　Ｂ細胞の割合を測定した（図９５）。

【０３３３】

その結果、２、５、１０ｍｇ／ｋｇのシロリムス、１０ｍｇ／ｋｇのエベロリムス、又は１０ｍｇ／ｋｇのテムシロリムス（ｍＴＯＲ阻害剤）との同時治療は、末梢血中のヒトＣＤ４５＋　細胞中のＣＤ１９＋　Ｂ細胞のパーセンテージによって示されるように、ＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されるＢ細胞枯渇を防げなかった（図９６Ａ～Ｃ）。しかしながら、ＩＦＮ－γ（図９７Ａ、Ｂ）、ＩＬ－２（図９８Ａ、Ｂ）、ＴＮＦ－α（図９９Ａ、Ｂ）、ＩＬ－６（図１００Ａ、Ｂ）、ＩＰ－１０（図１０１Ａ、Ｂ）、ＭＣＰ－１（図１０２）Ａ、Ｂ）、ＩＬ－８（図１０３Ａ、Ｂ）、及びＧＭ－ＣＳＦ（図１０４Ａ、Ｂ）のレベルによって示されるように、ｍＴＯＲ阻害剤はＣＤ２０－ＴＣＢ誘導性サイトカイン放出を持続的に減少させた。さらに、ｍＴＯＲ阻害剤によるサイトカイン放出の減少は、このモデルにおけるダサチニブ及びオビヌツズマブ（Ｇａｚｙｖａ（登録商標））の前治療と同等であった（図９７～１０４）。全体として、ｍＴＯＲ阻害剤は、ＴＣＢ活性

を最大４８時間スイッチオフしたＳｒｃ阻害剤ダサチニブとは異なり、２～１０ｍｇ／ｋｇの用量でＢ細胞枯渇を維持しながら、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を強力に減少させた。

【０３３４】

３０及び５０ｍｇ／ｋｇのルキソリチニブ（ＪＡＫ１／２阻害剤）との同時治療は、末梢血中のヒトＣＤ４５＋　細胞中のＣＤ１９＋　Ｂ細胞のパーセンテージによって示されるように、ＣＤ２０－ＴＣＢによって誘導されるＢ細胞枯渇をわずかに防げた（図９６Ａ～Ｃ）。Ｂ細胞枯渇に対する阻害効果は、ルキソリチニブの用量に依存しているようである。さらに、ＩＦＮ－γ（図９７Ａ、Ｂ）、ＩＬ－２（図９８Ａ、Ｂ）、ＴＮＦ－α（図９９Ａ、Ｂ）、ＩＬ－６（図１００Ａ、Ｂ）、ＩＰ－１０（図１０１Ａ、Ｂ）、ＭＣＰ－１（図１０２）Ａ、Ｂ）、ＩＬ－８（図１０３Ａ、Ｂ）、及びＧＭ－ＣＳＦ（図１０４Ａ、Ｂ）のレベルによって示されるように、ルキソリチニブは、ＩＬ－２及びＧＭ－ＣＳＦ放出を除いて、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を持続的に減少させた（図９７Ａ、Ｂ）。全体として、ＪＡＫ１／２阻害剤ルキソリチニブとの同時治療は、４８時間までＴＣＢ活性を完全にスイッチオフにするＳｒｃ阻害剤ダサチニブとは異なり、３０～６０ｍｇ／ｋｇの用量でＢ細胞の枯渇を最小限に防止しながら、ＩＬ－２とＧＭ－ＣＳＦを除いてＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性サイトカイン放出を減少させた。

【０３３５】

要約すると、このデータは、ｍＴＯＲ及びＪＡＫ阻害剤とＣＤ２０－ＴＣＢの組み合わせが、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでの観察と一致して、ヒト化ＮＳＧにおけるサイトカイン放出を減少させたことを示している。ＪＡＫ阻害剤（ルキソリチニブ）及びｍＴＯＲ阻害剤（シロリムス、エベロリムス、及びテムシロリムス）は、Ｓｒｃ阻害剤ダサチニブとは対照的に、ＣＤ２０－ＴＣＢ媒介性Ｂ細胞枯渇を最小限に抑えた。これは、抗腫瘍効果を維持しながら、ＣＤ２０－ＴＣＢの初回注入時のサイトカイン放出を防止するための有望なアプローチとなる可能性があることを示している。

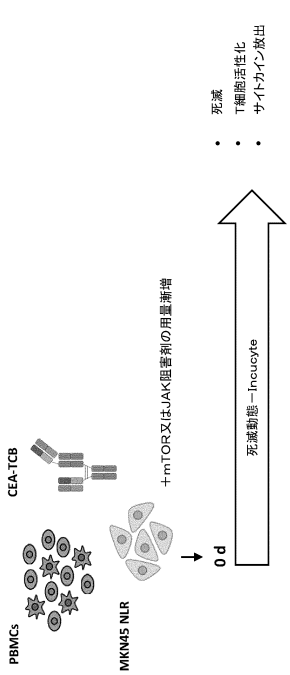
＊　＊　＊

【０３３６】

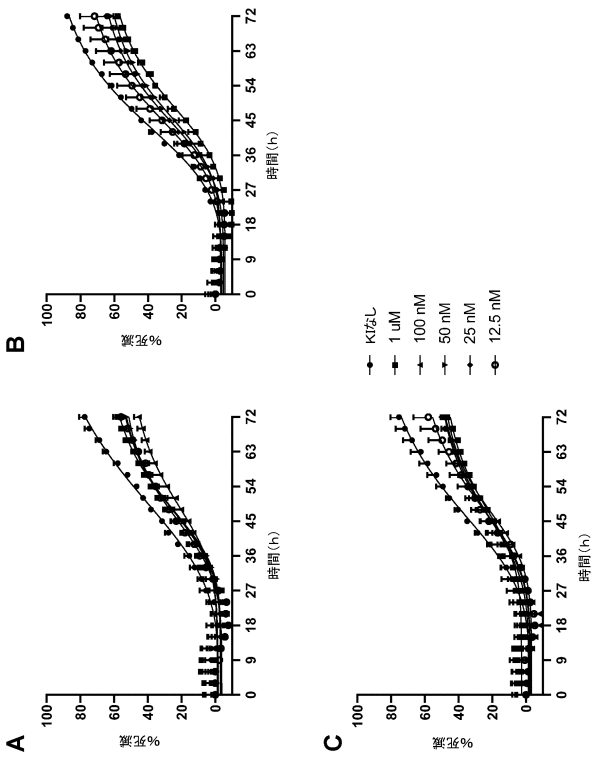
理解を明確にするために、上記発明は図示及び例示によって程度詳細に説明されているが、これらの説明及び例示は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書に引用されるすべての特許及び科学文献の開示は、参照によりその全体が明示的に組み込まれる。

【図面】

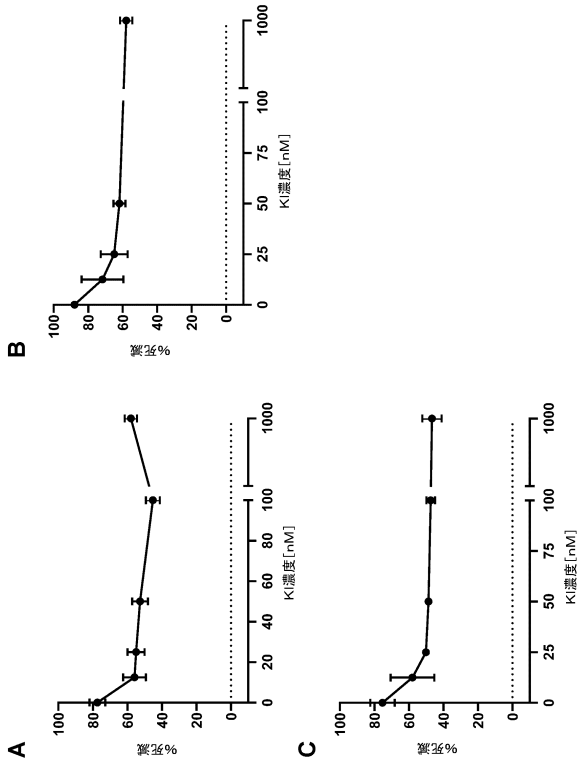
【図１】


CEA-TCB
PBMCs
MKN45 NLR
＋mTOR又はJAK阻害剤の用量漸増
0 d
死滅動態－Incucyte
・死滅
・T細胞活性化
・サイトカイン放出

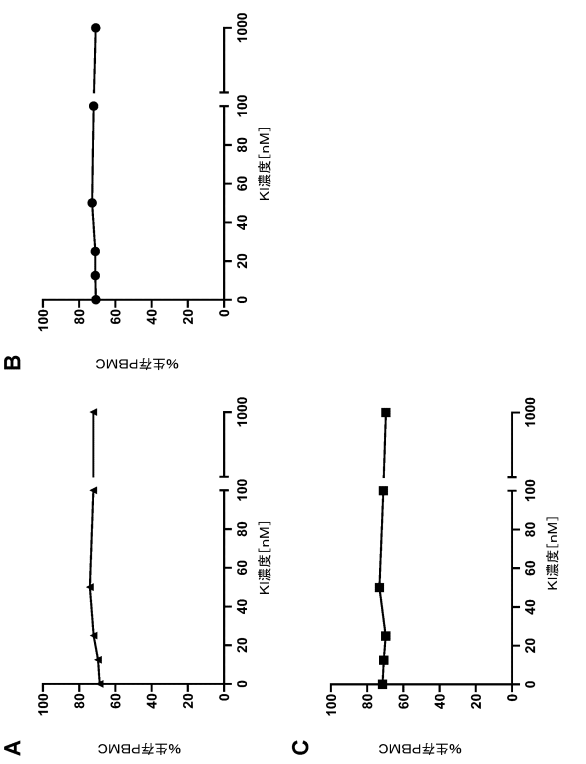
【図２】


A
B
C
%死滅
時間(h)
KitなL
1 uM
100 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM

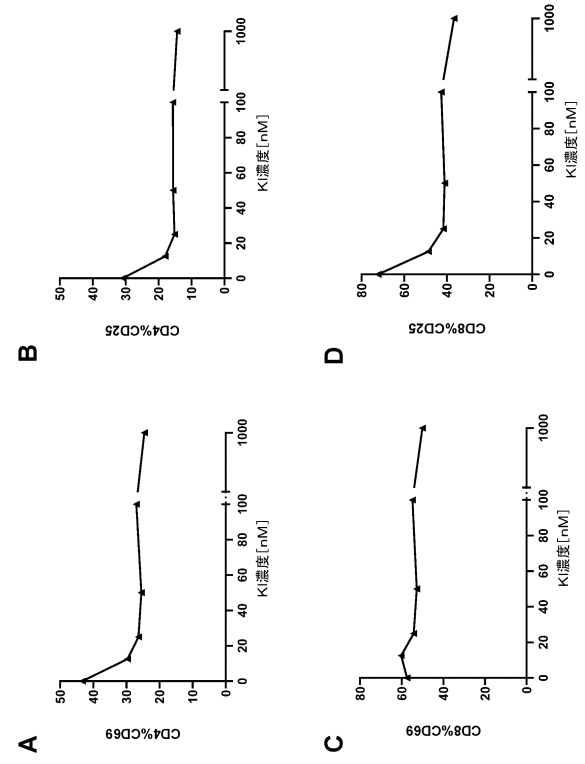
【図３】


A
B
C
%死滅
Ki濃度[nM]

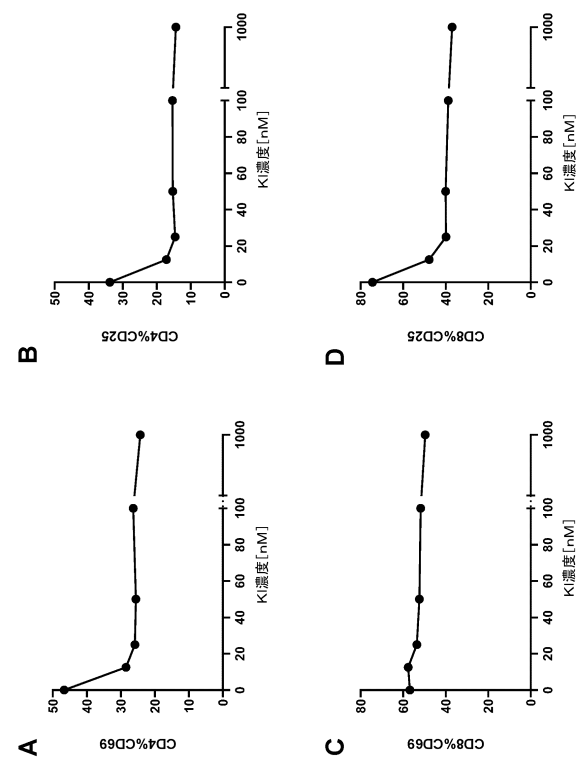
【図４】


A
B
C
%生存PBMC
Ki濃度[nM]

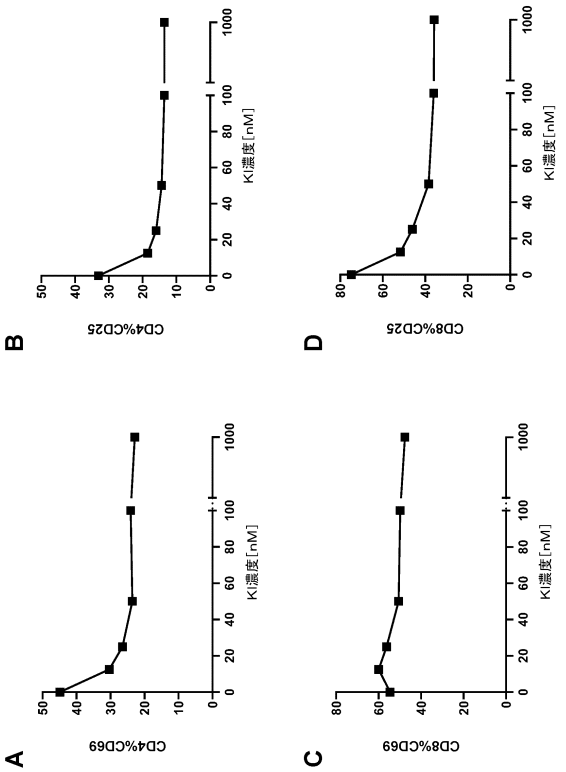
【図５】


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
Ki濃度[nM]

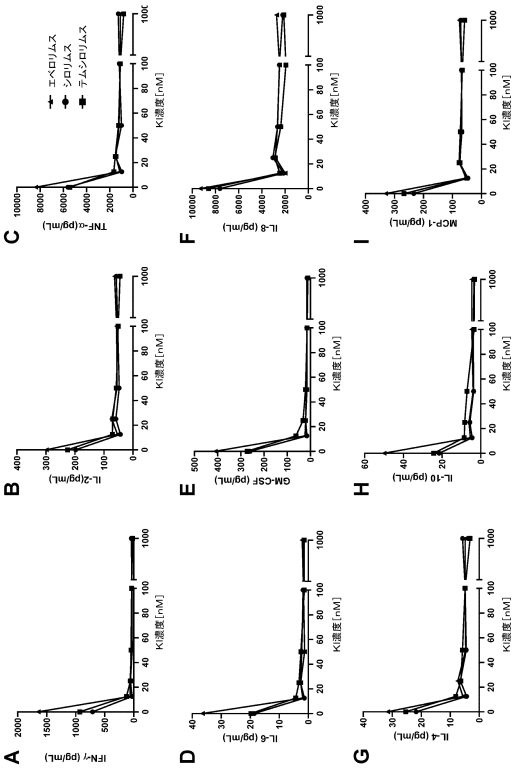
【図６】


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
Ki濃度[nM]

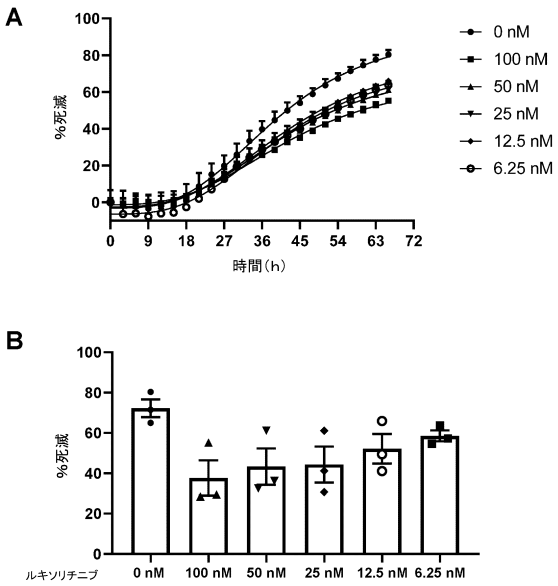
【図７】


A
CD4%CD69
KI濃度[nM]
B
CD4%CD25
KI濃度[nM]
C
CD8%CD69
KI濃度[nM]
D
CD8%CD25
KI濃度[nM]

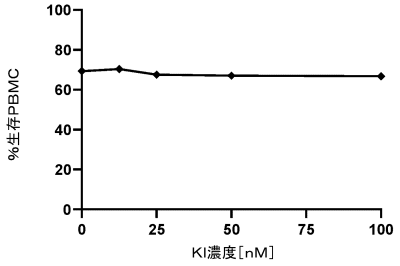
【図８】


A
IFN-γ (pg/mL)
B
IL-2(pg/mL)
C
TNF-α(pg/mL)
エベロリムス
シロリムス
テムシロリムス
D
IL-6 (pg/mL)
E
GM-CSF (pg/mL)
F
IL-8 (pg/mL)
G
IL-4 (pg/mL)
H
IL-10 (pg/mL)
I
MCP-1 (pg/mL)
KI濃度[nM]

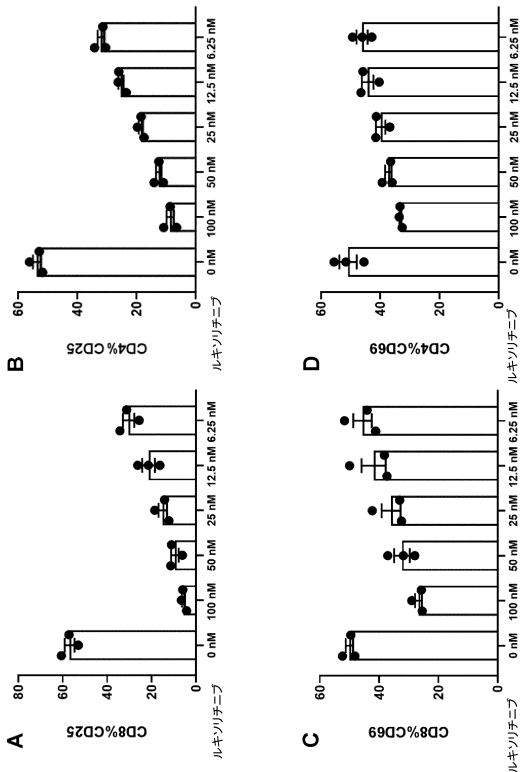
【図９】


A
%死滅
時間(h)
0 nM
100 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.25 nM
B
%死滅
ルキソリチニブ
0 nM
100 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.25 nM

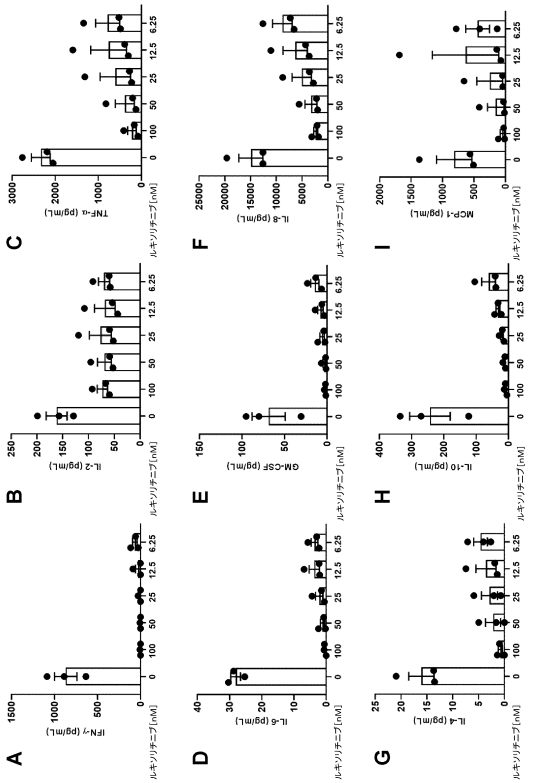
【図１０】


%生存PBMC
KI濃度[nM]

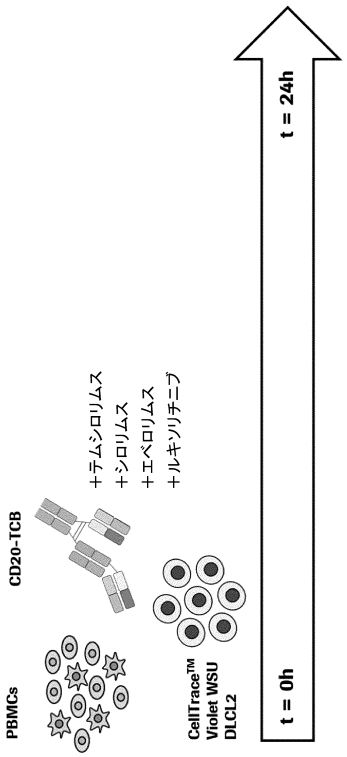
【図１１】



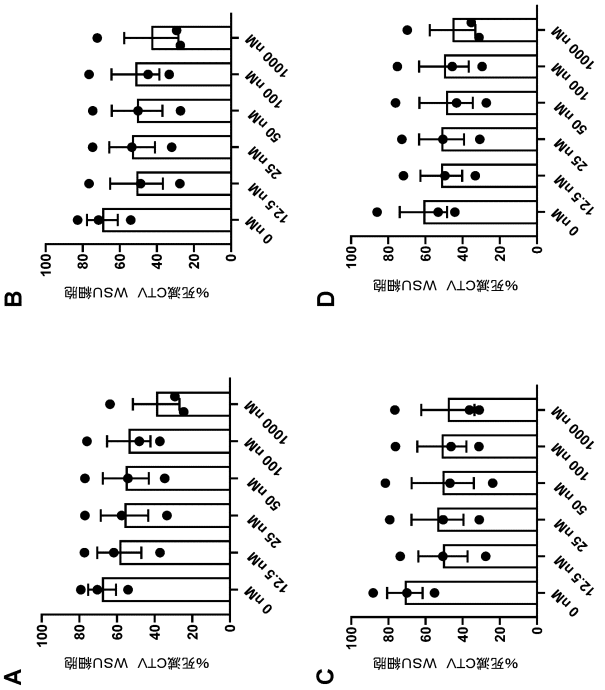
【図１２】



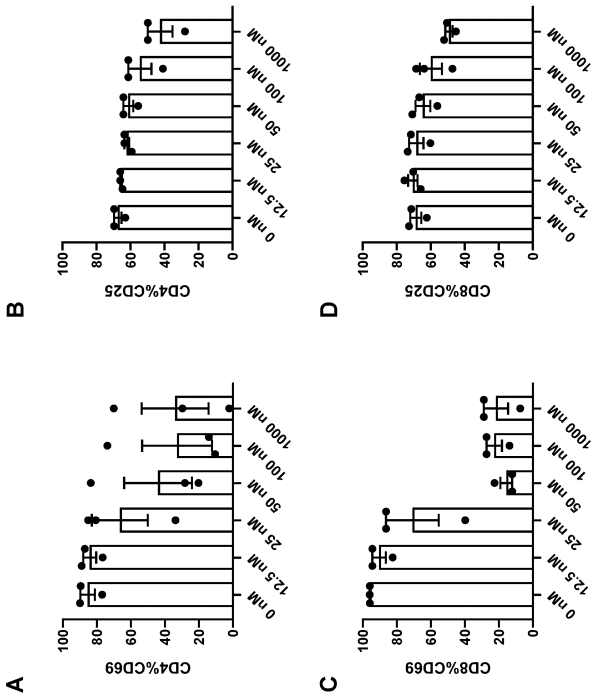
【図１３】



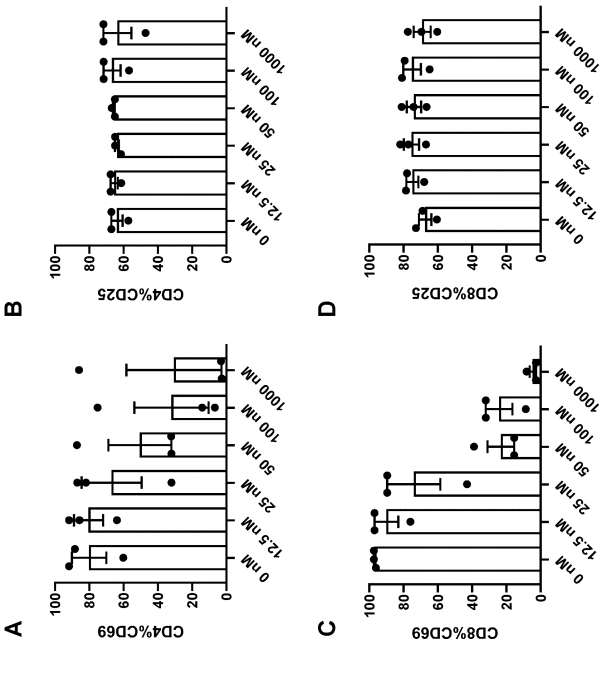
【図１４】



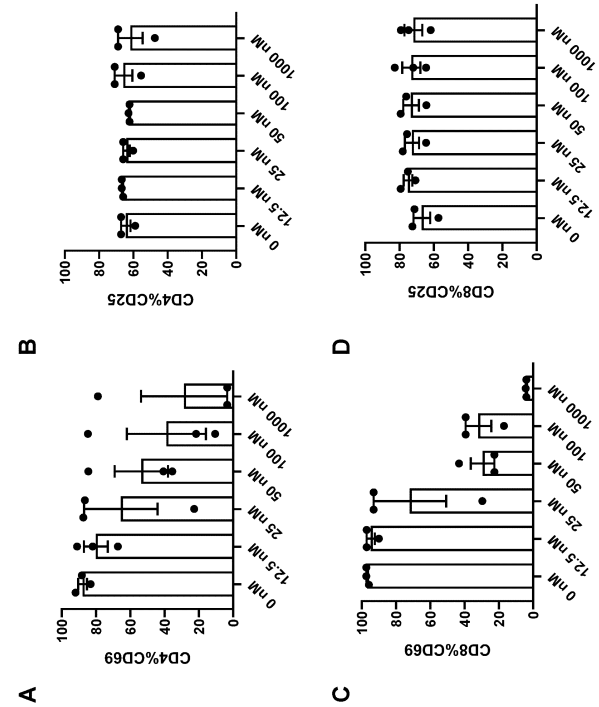
【図１５】



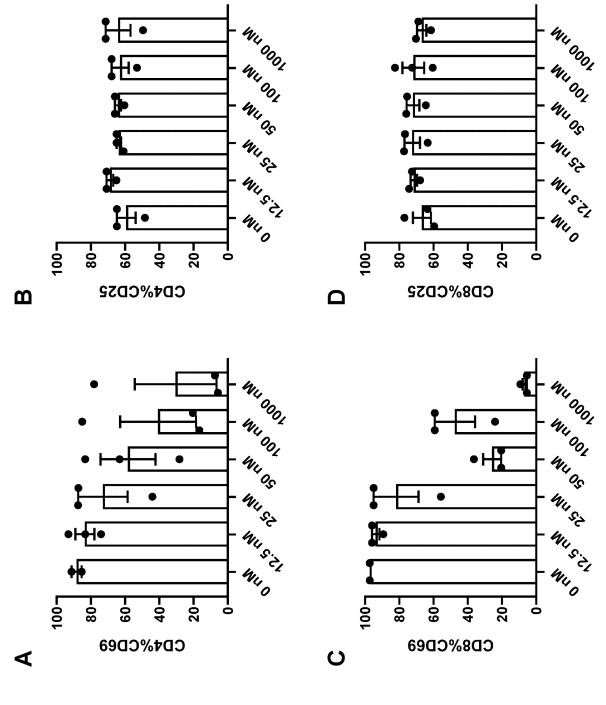
【図１６】



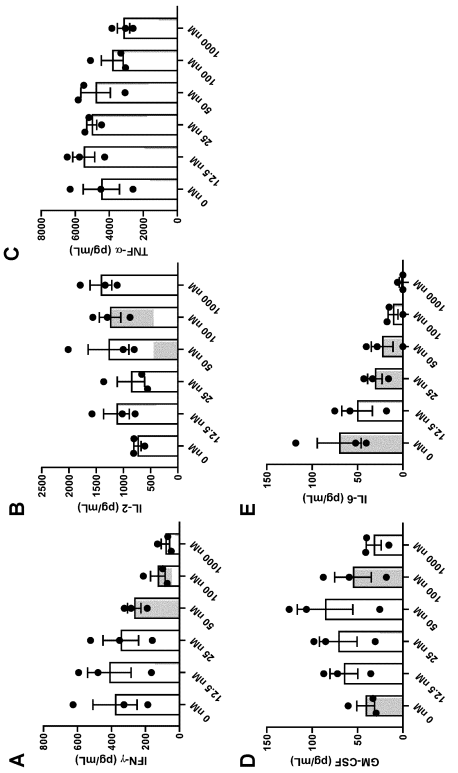
【図１７】



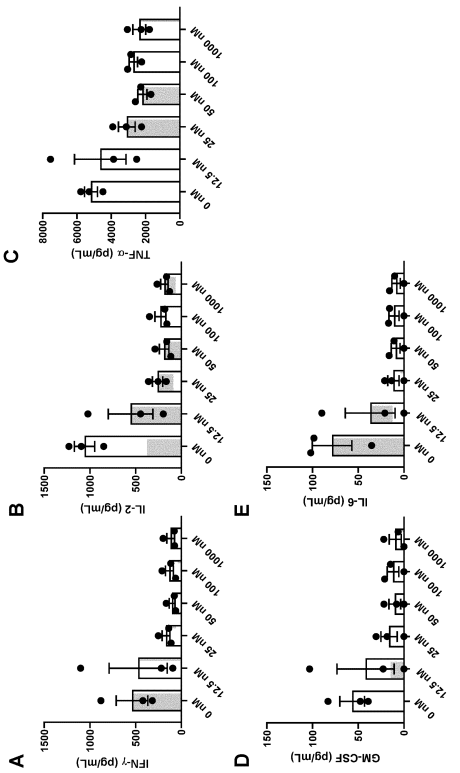
【図１８】



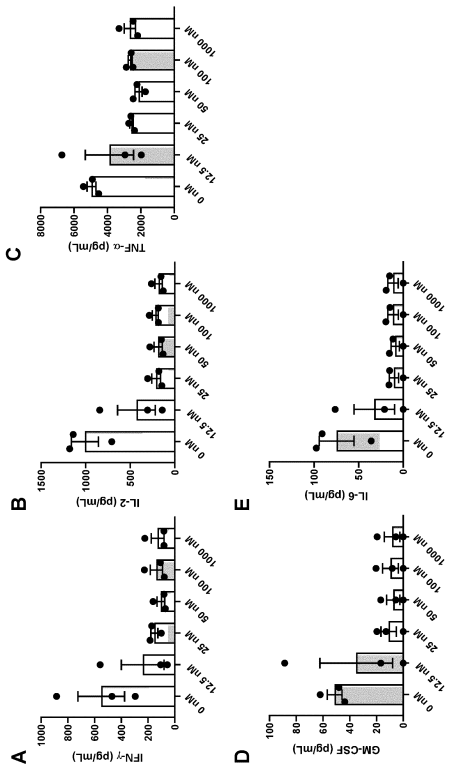
【図１９】



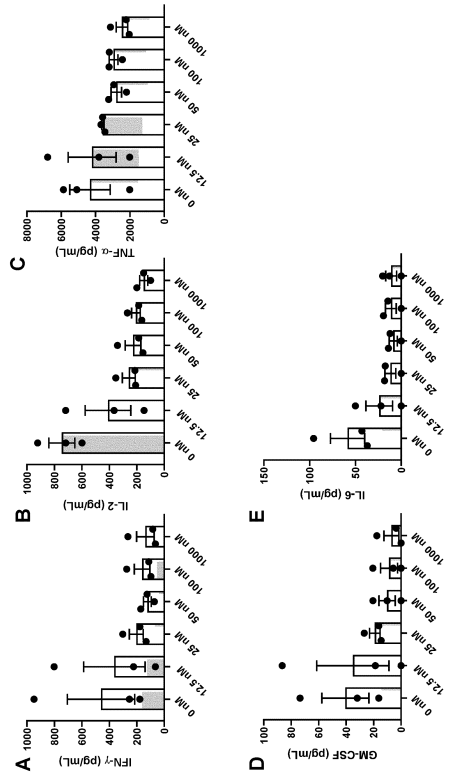
【図２０】



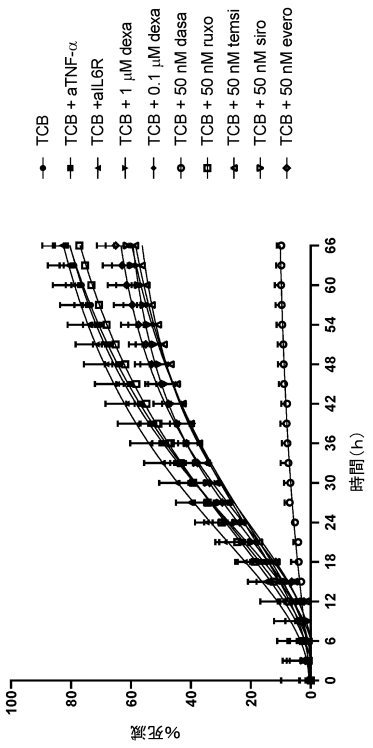
【図２１】



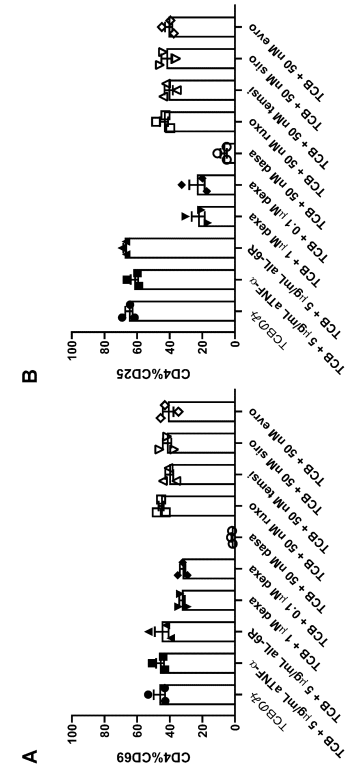
【図２２】



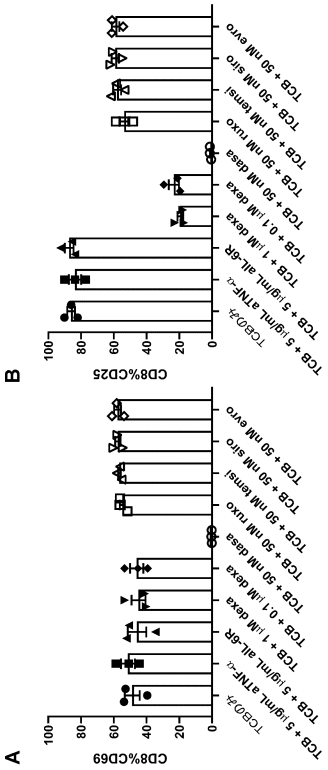
【図２３】



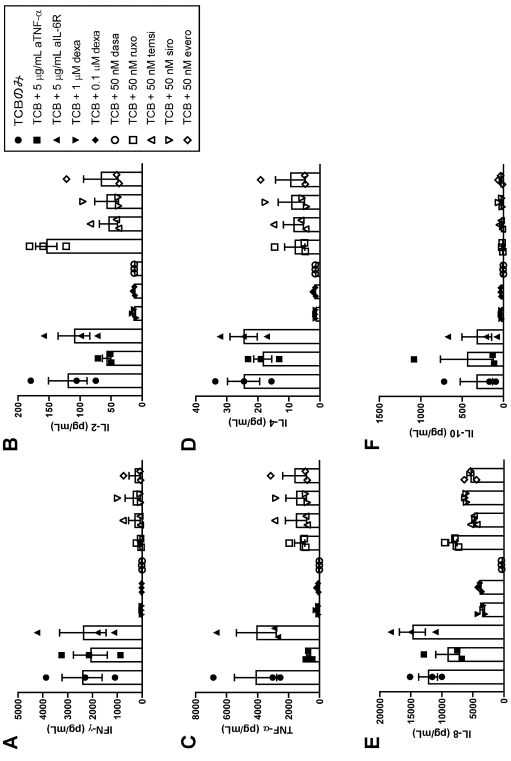
【図２４】



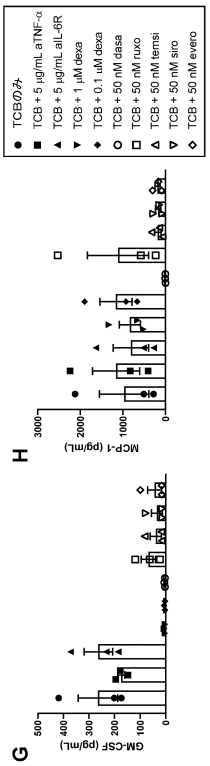
【図２５】



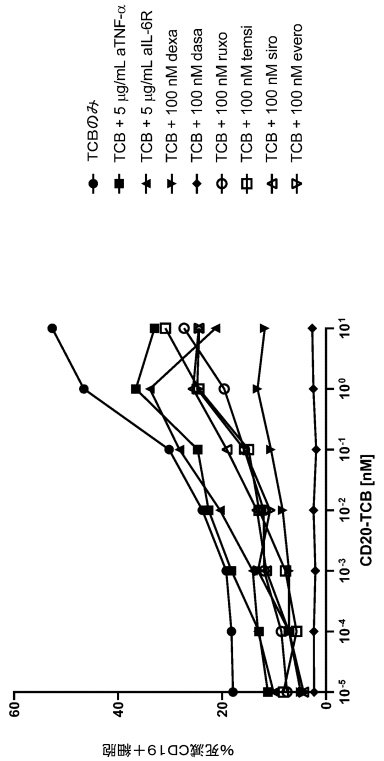
【図２６－１】



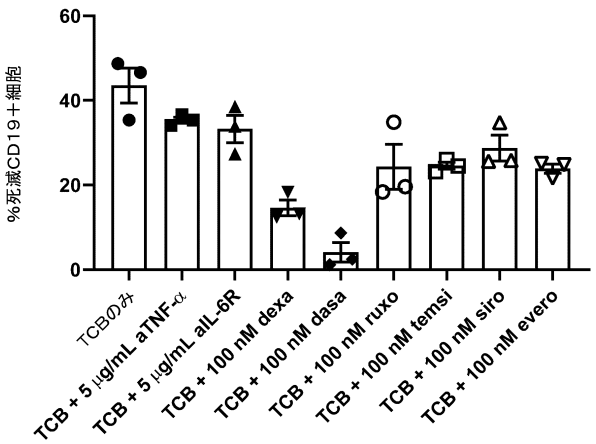
【図２６－２】



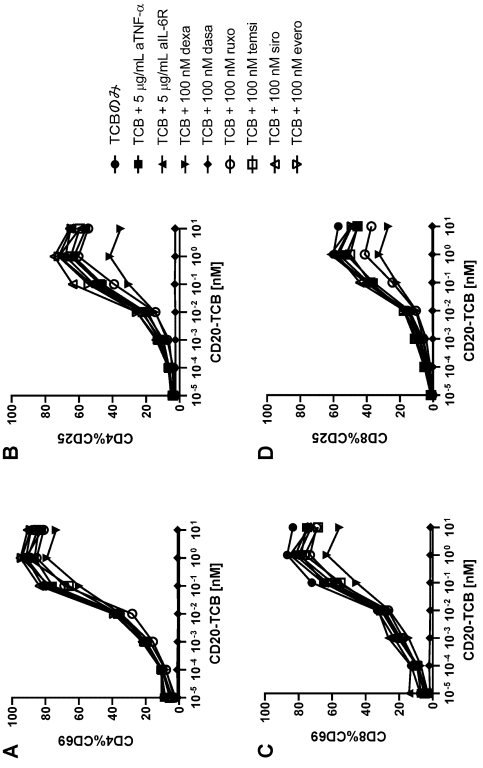
【図２７】



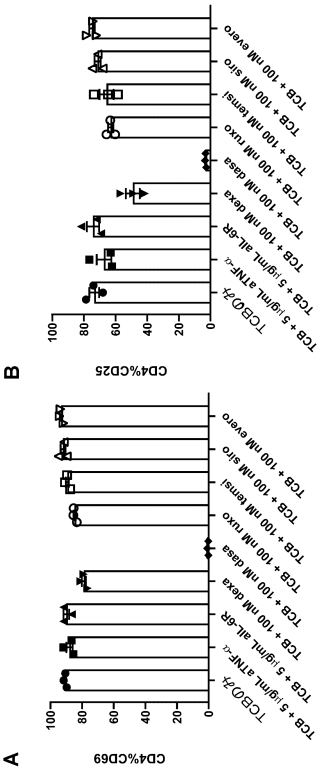
【図２８】



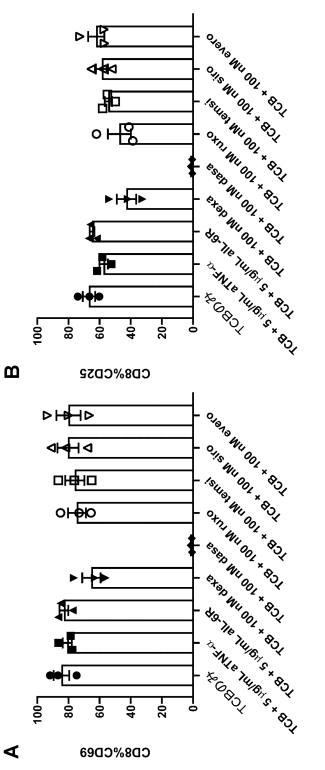
【図２９】



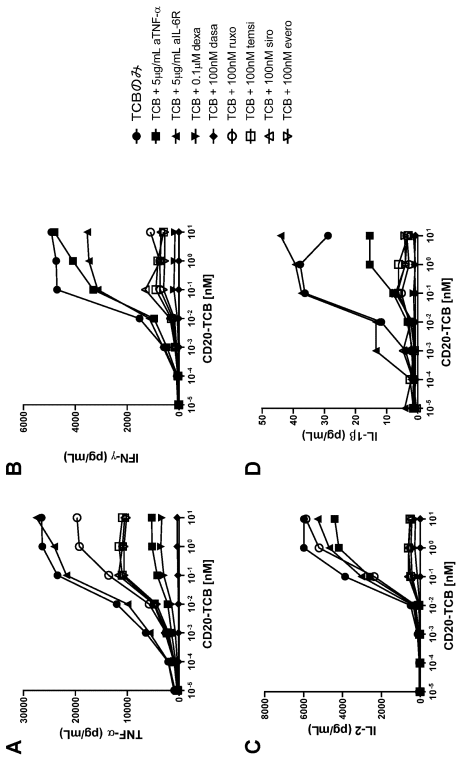
【図３０】



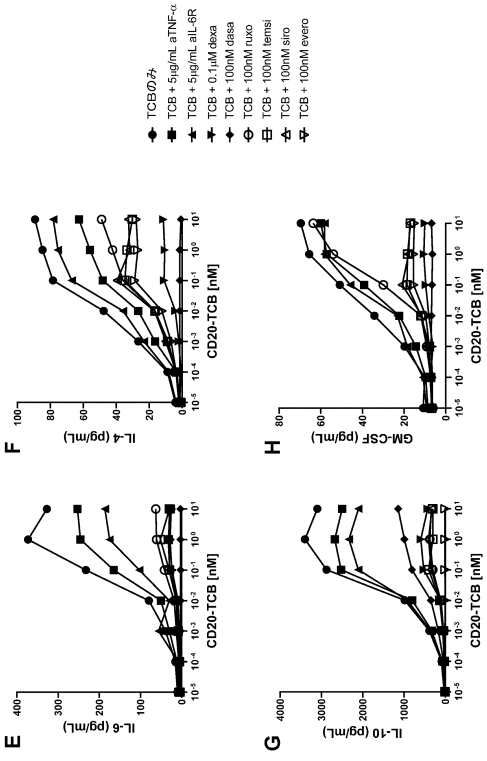
【図３１】



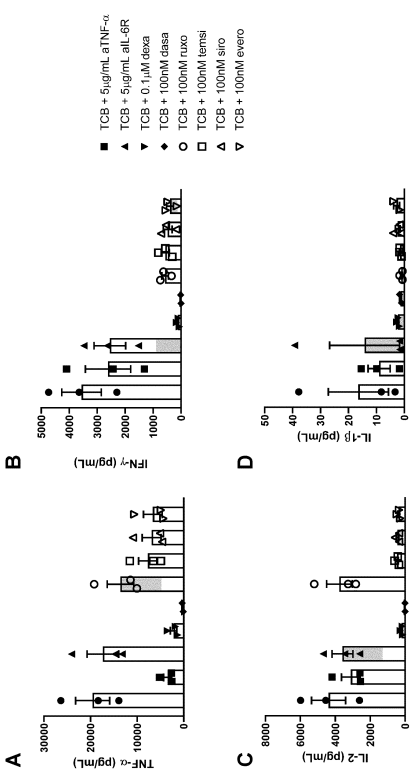
【図３２－１】



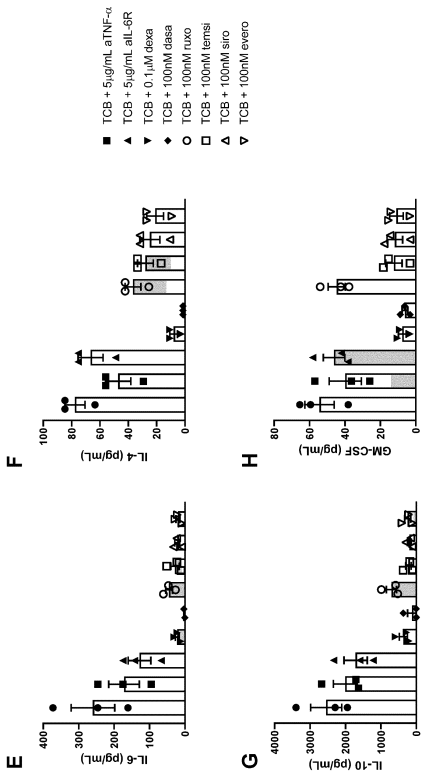
【図３２－２】



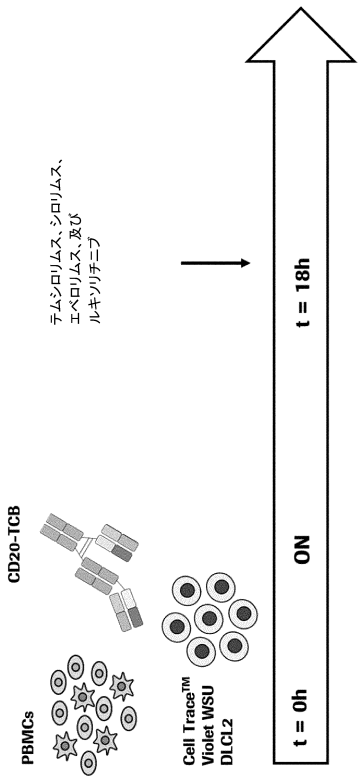
【図３３－１】



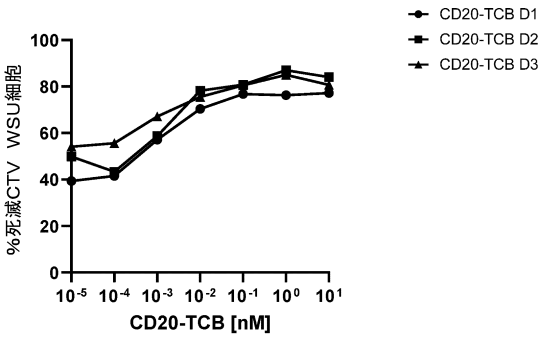
【図３３－２】



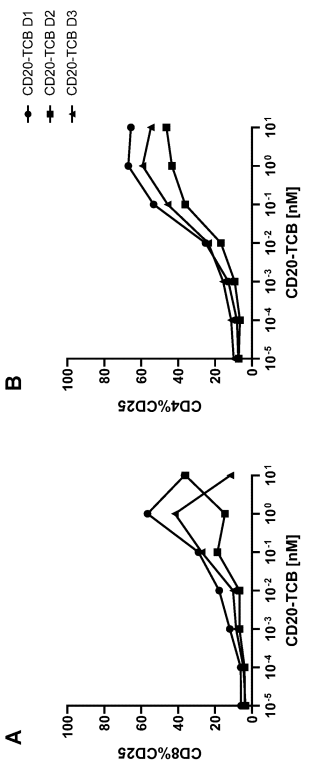
【図３４】



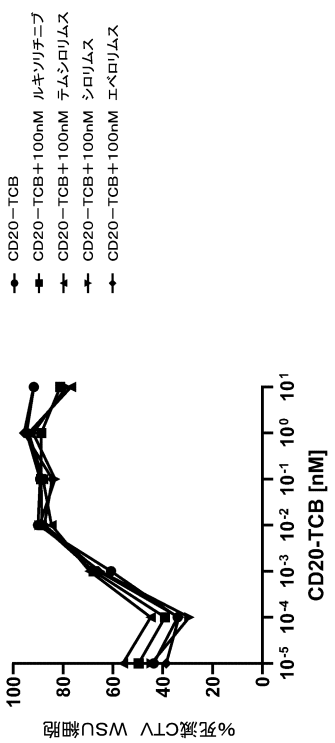
【図３５】



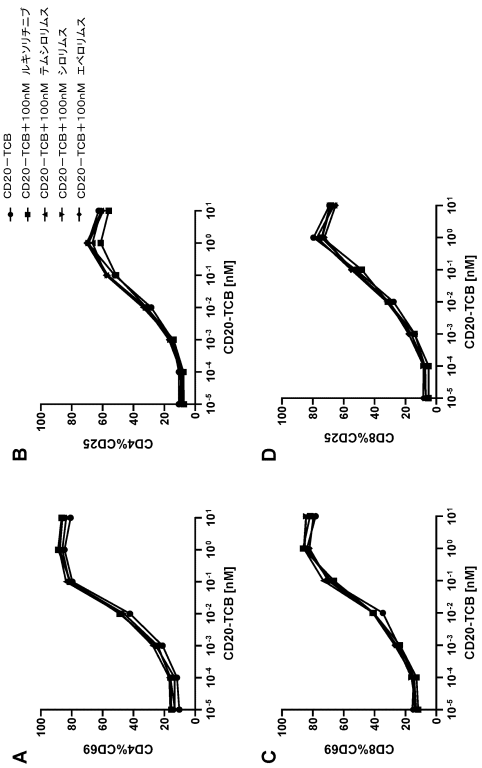
【図３６】



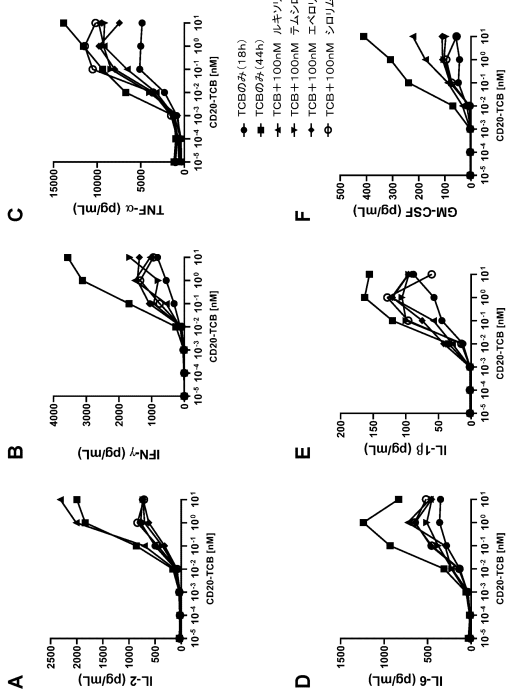
【図３７】



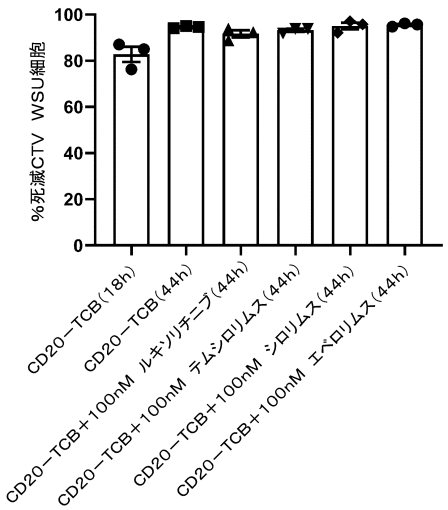
【図３８】



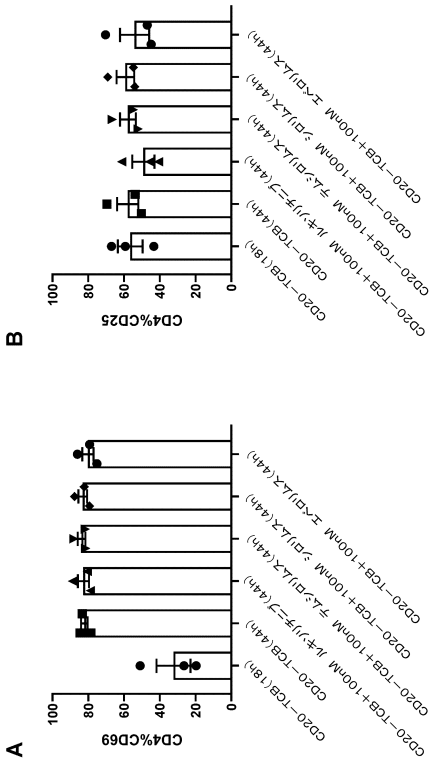
【図３９】



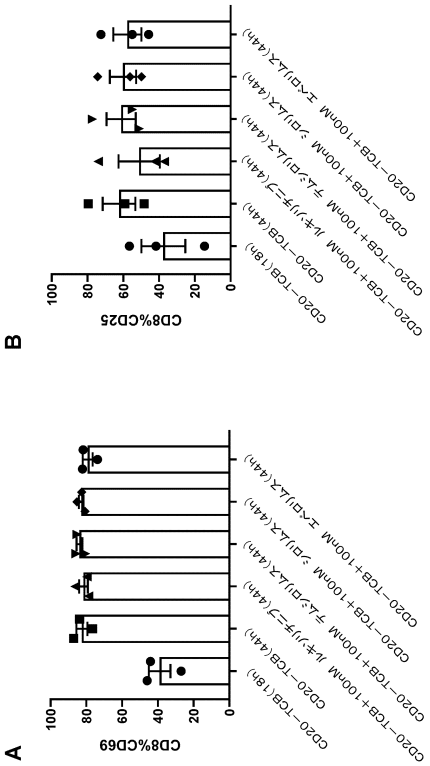
【図４０】



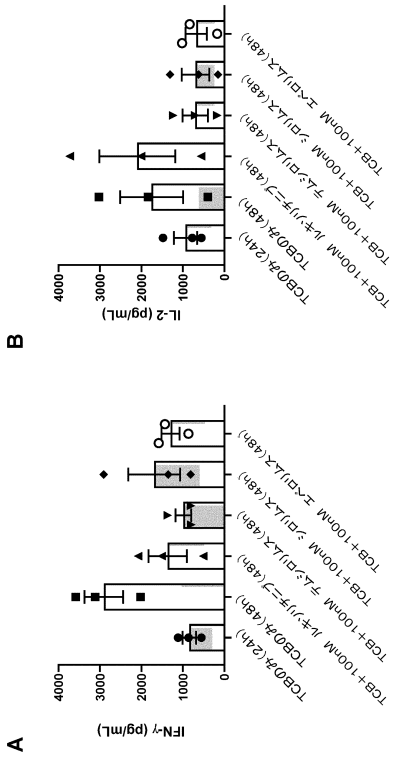
【図４１】



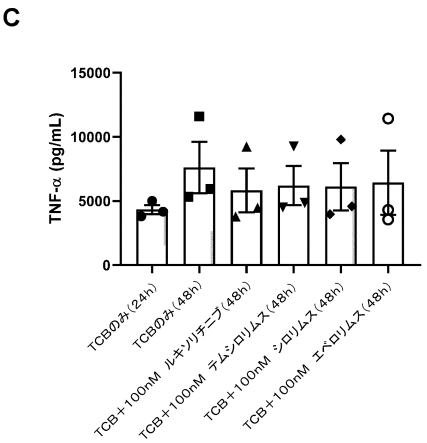
【図４２】



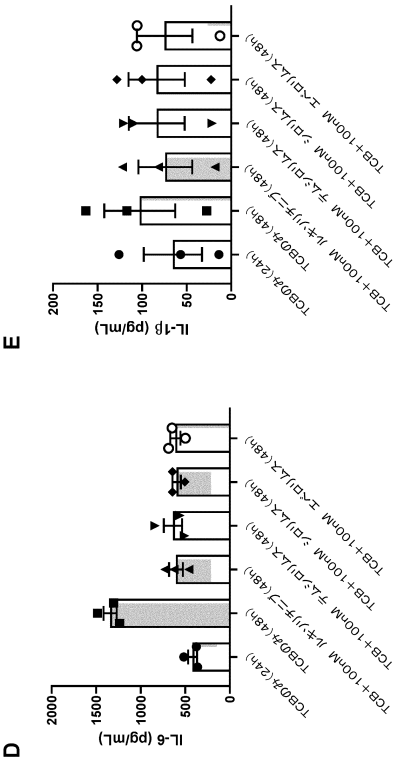
【図４３－１】



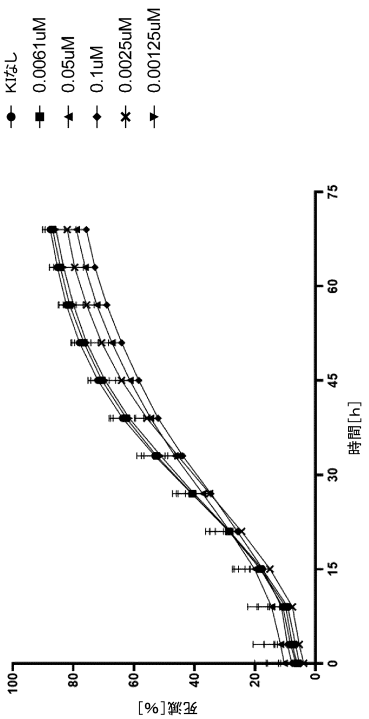
【図４３－２】



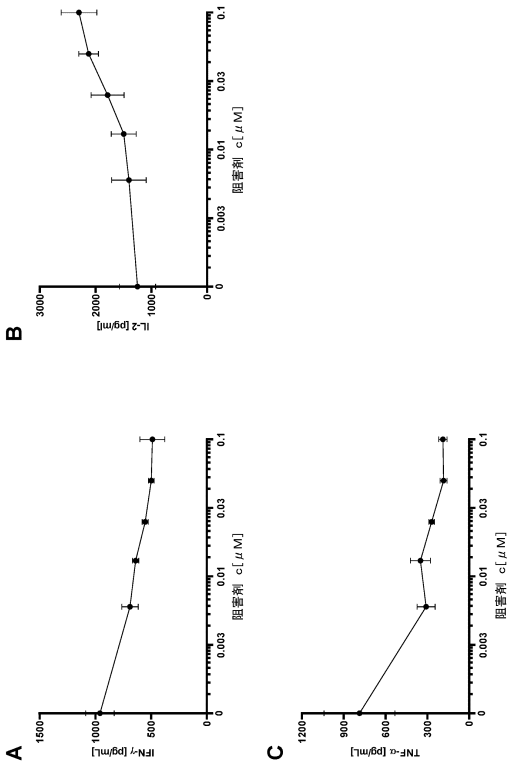
【図４３－３】



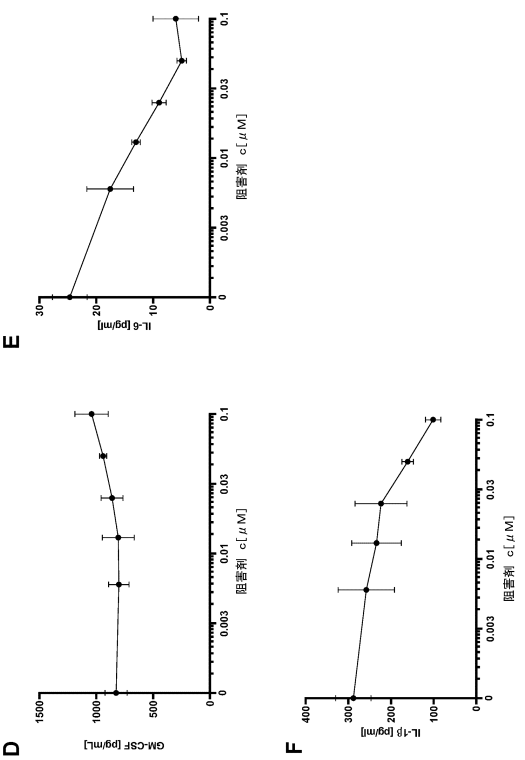
【図４４】



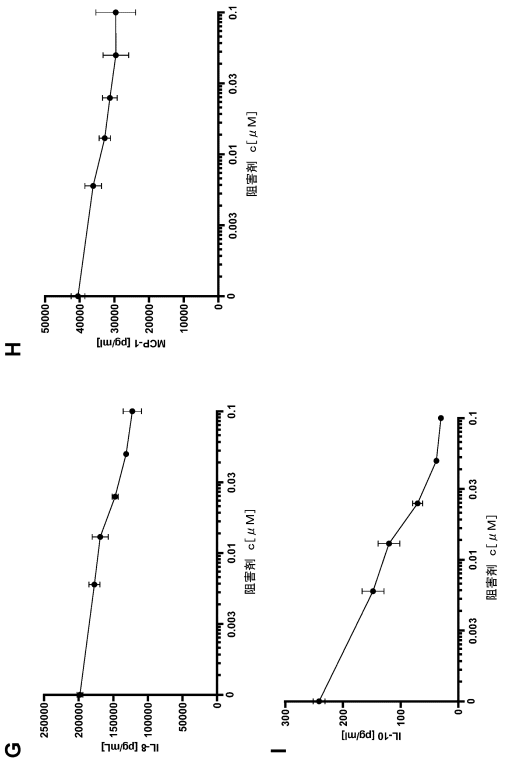
【図４５－１】



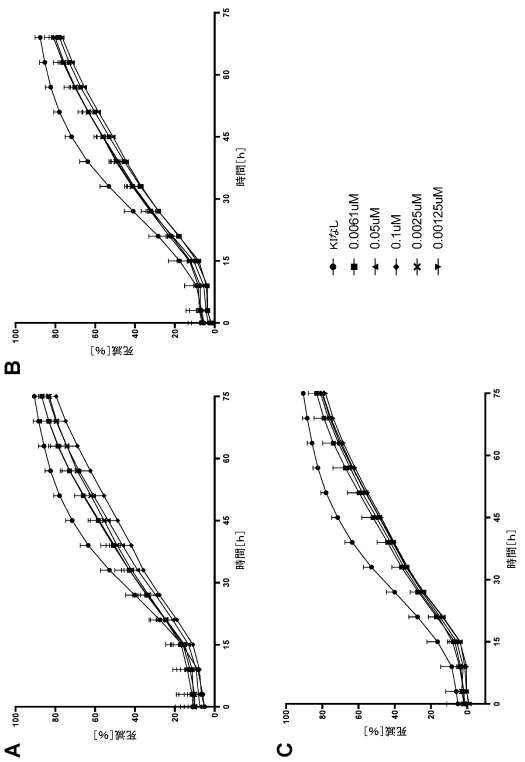
【図４５－２】



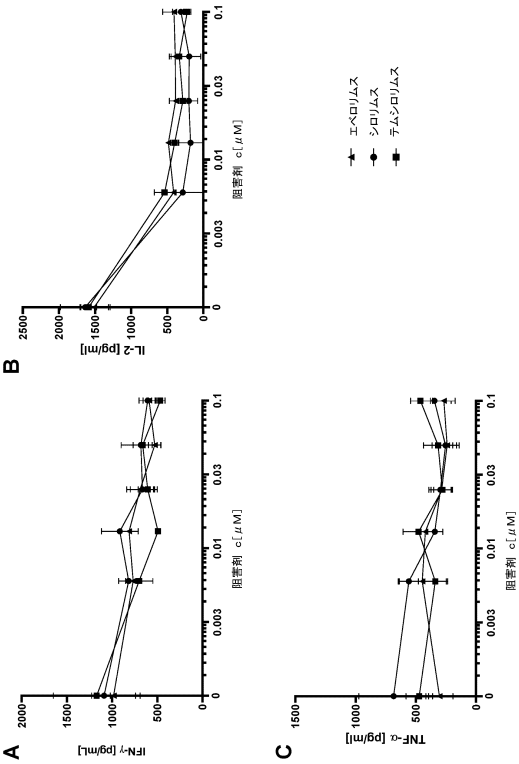
【図４５－３】



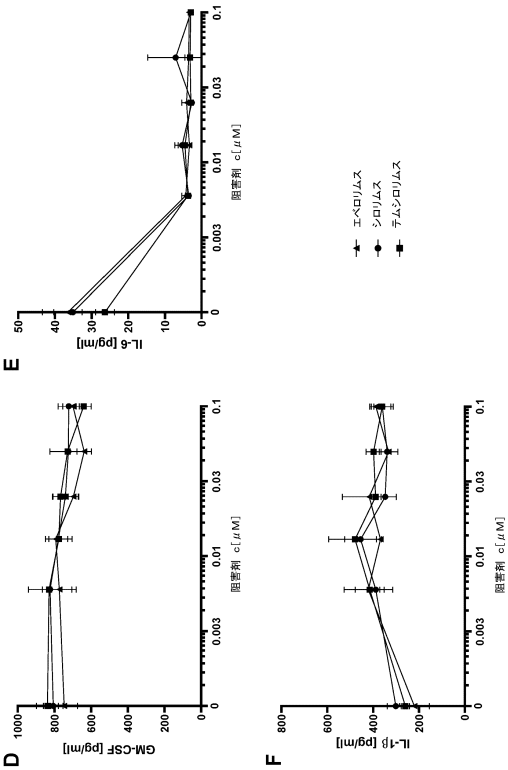
【図４６】



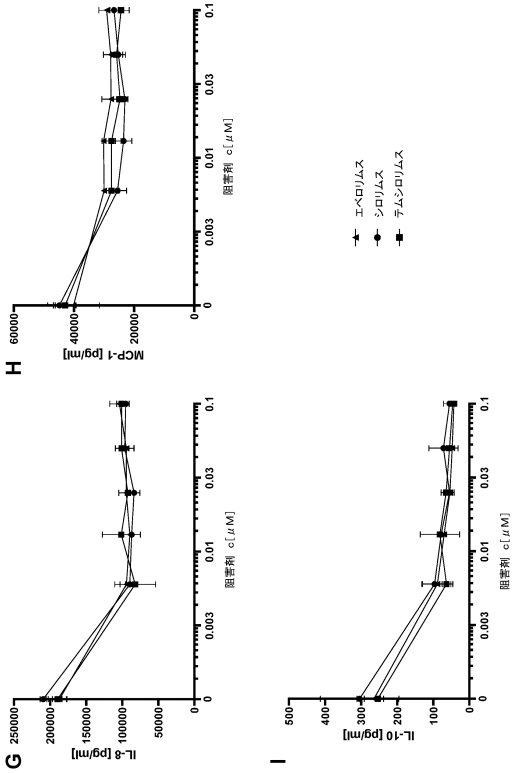
【図４７－１】



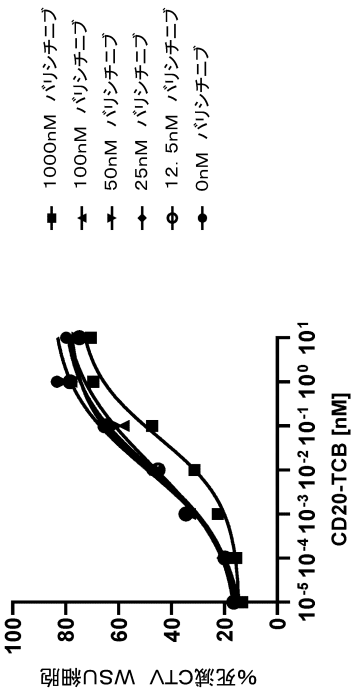
【図４７－２】



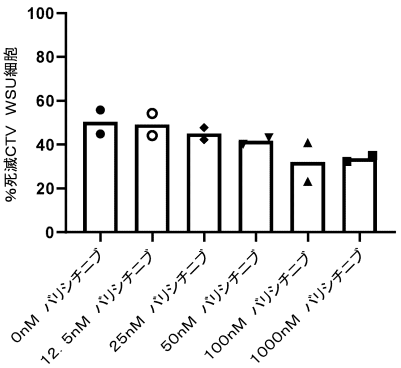
【図４７－３】



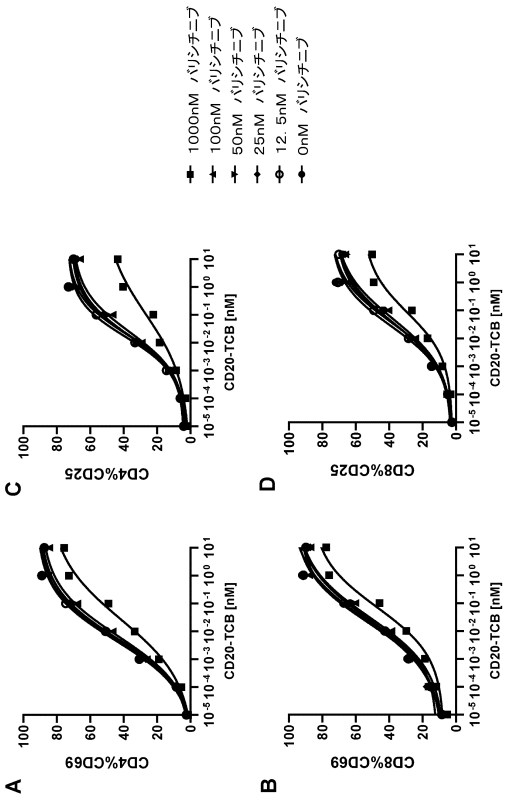
【図４８】



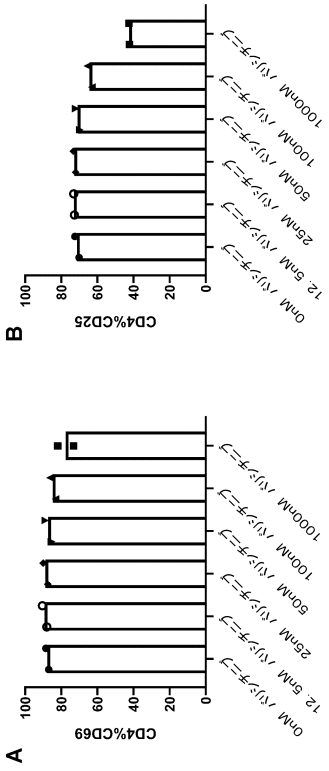
【図４９】



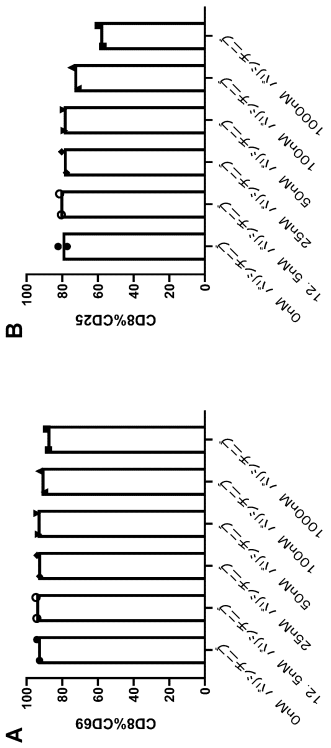
【図５０】



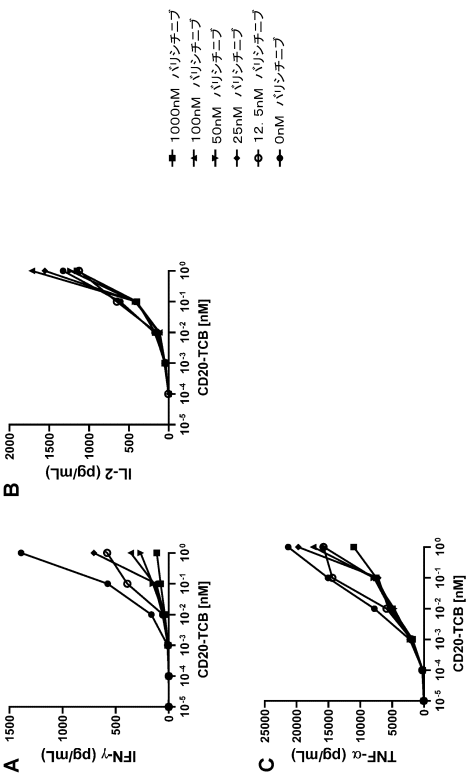
【図５１】



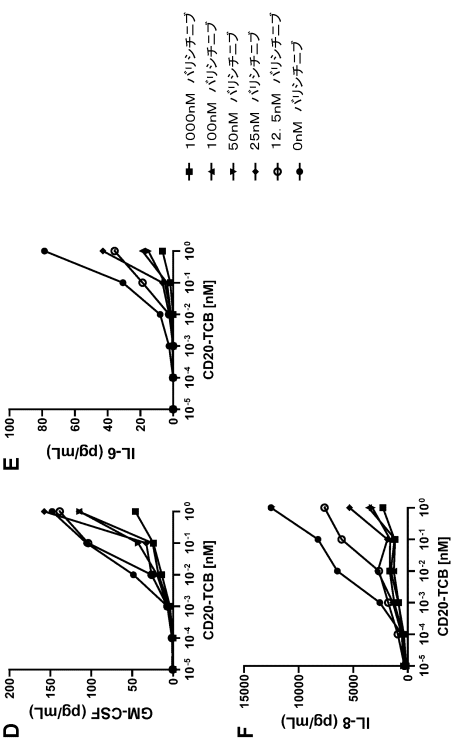
【図５２】



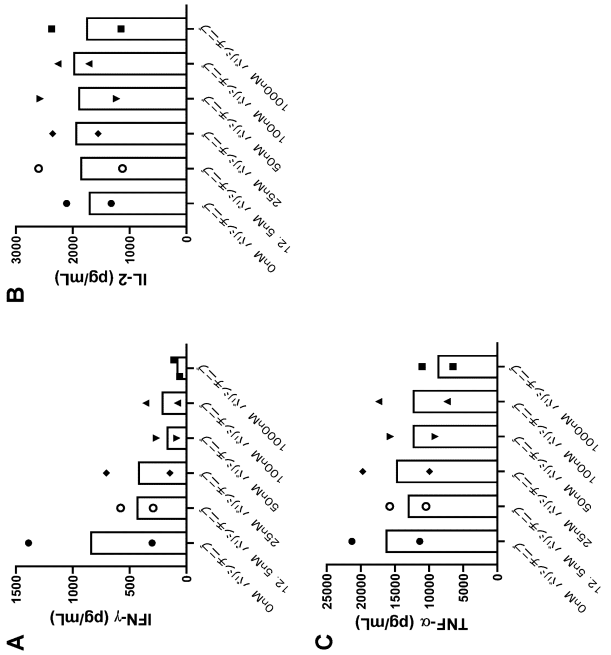
【図５３－１】



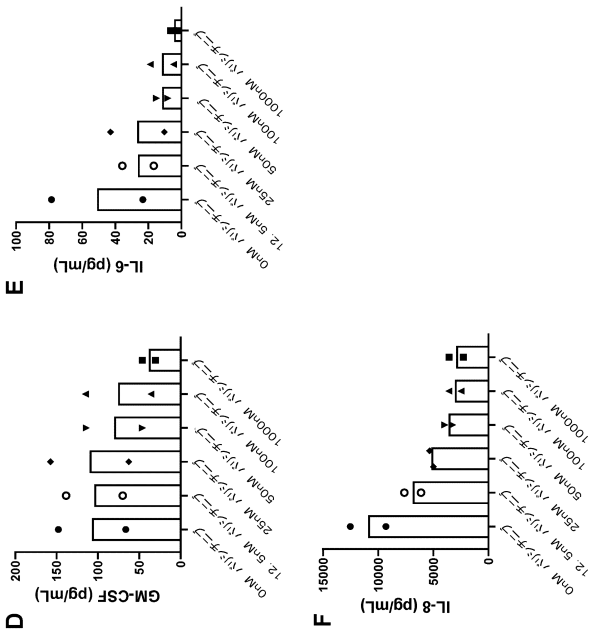
【図５３－２】



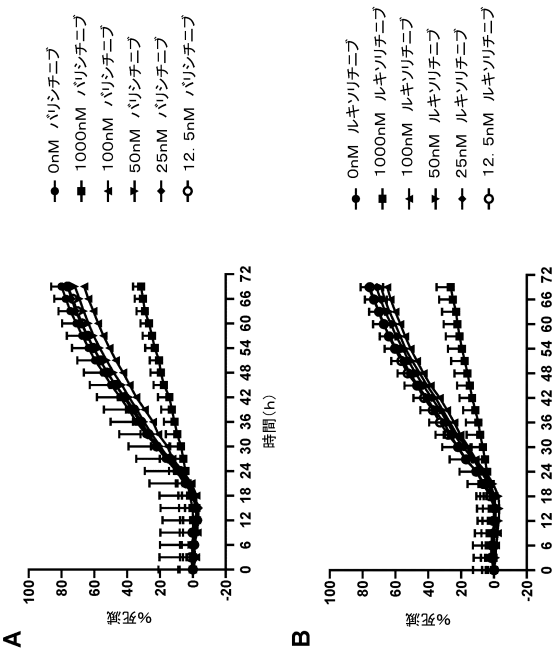
【図５４－１】



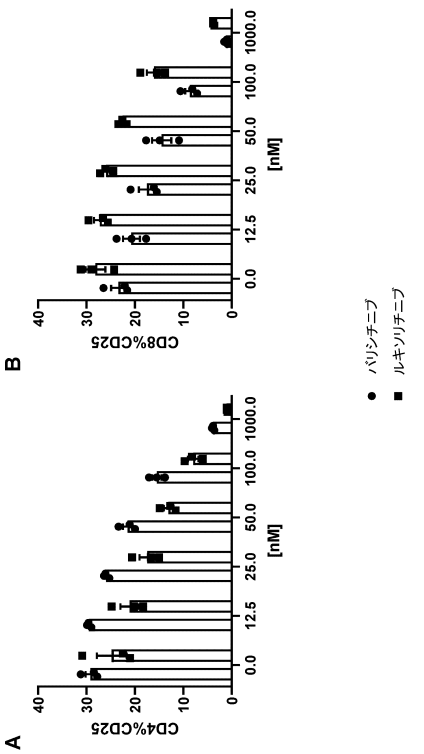
【図５４－２】



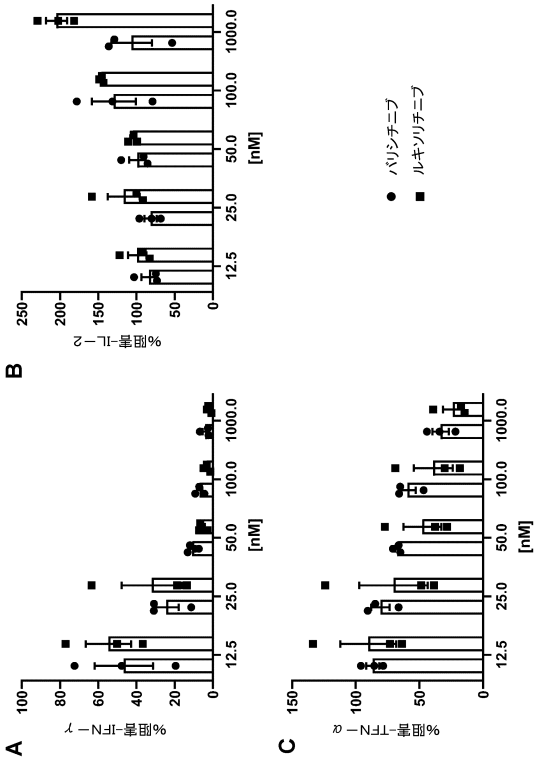
【図５５】



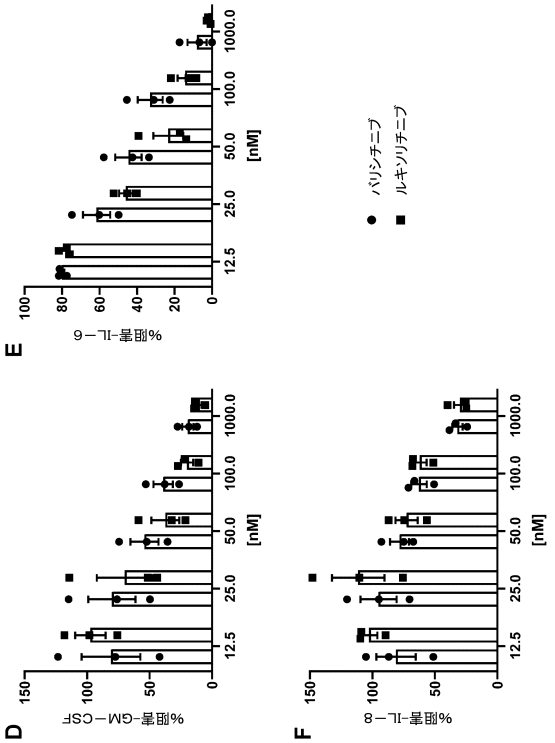
【図５６】



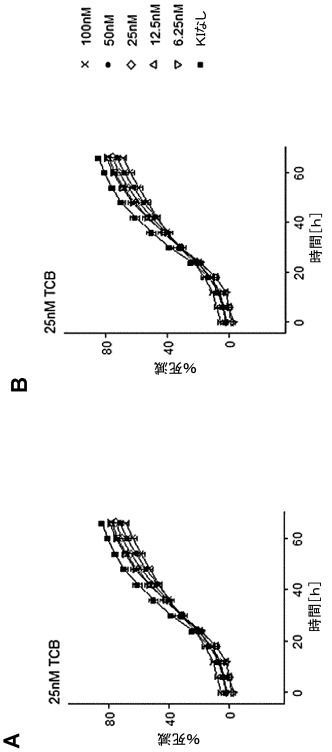
【図５７－１】



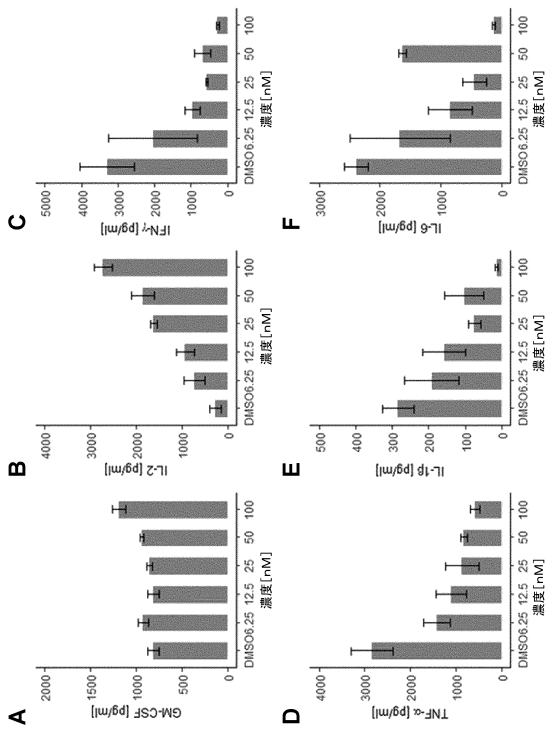
【図５７－２】



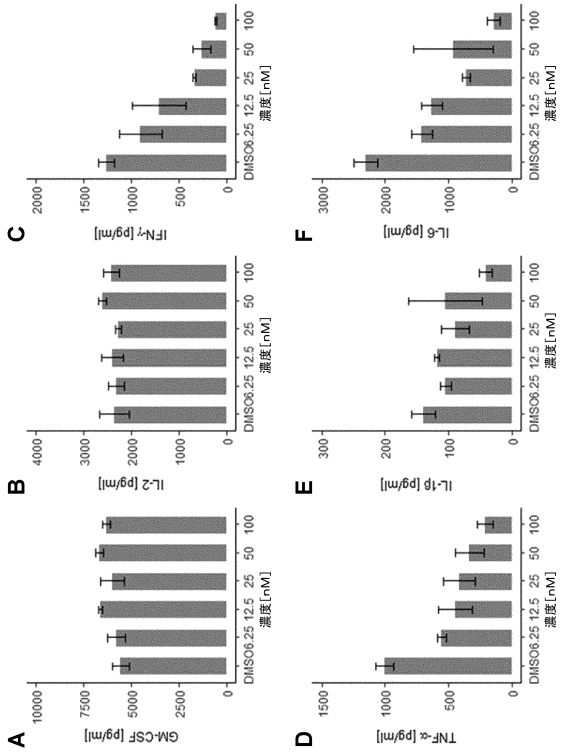
【図５８】



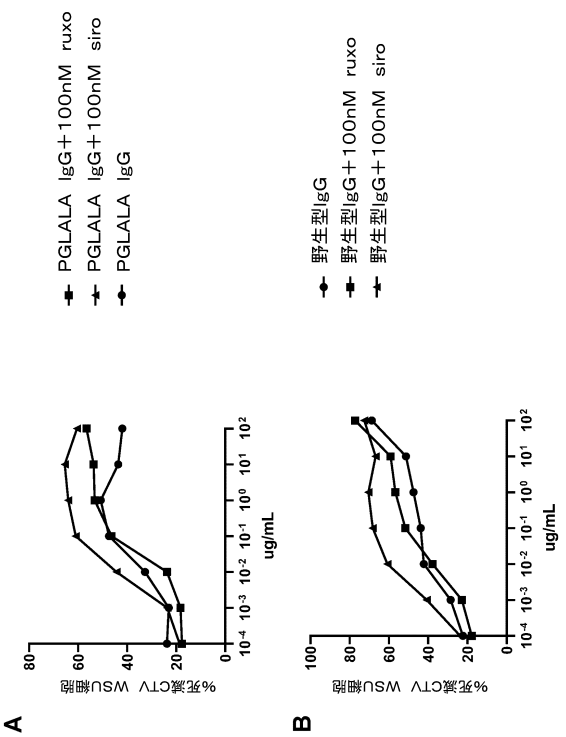
【図５９】



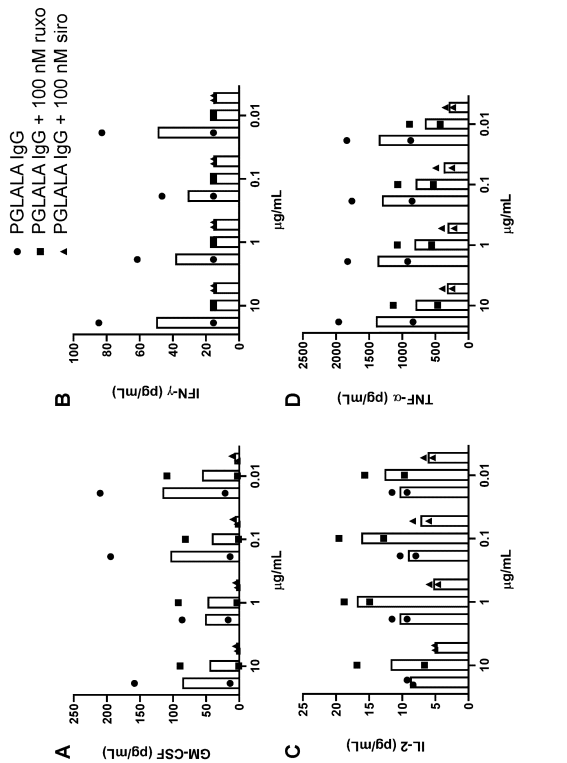
【図６０】



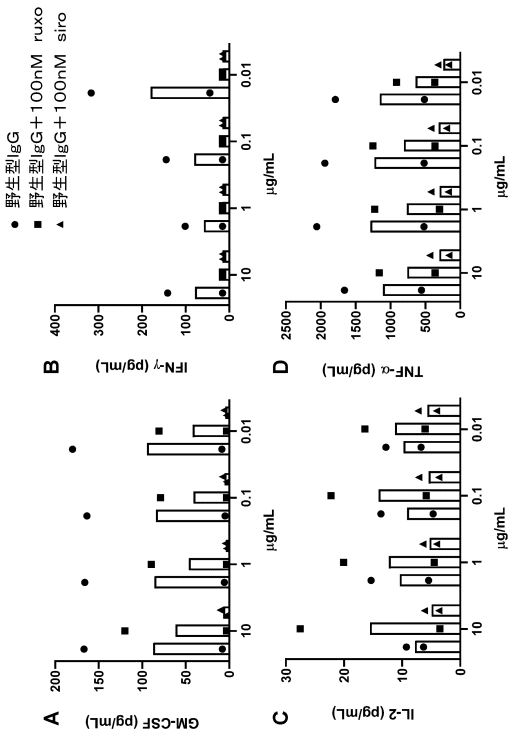
【図６１】



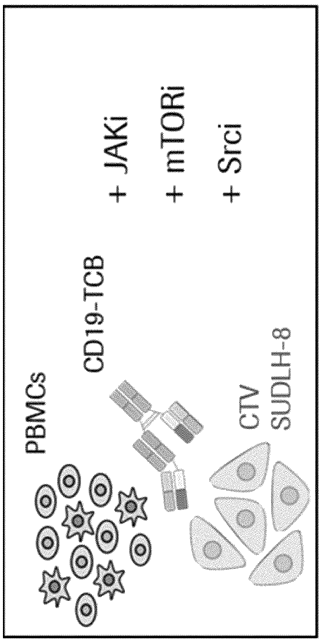
【図６２】



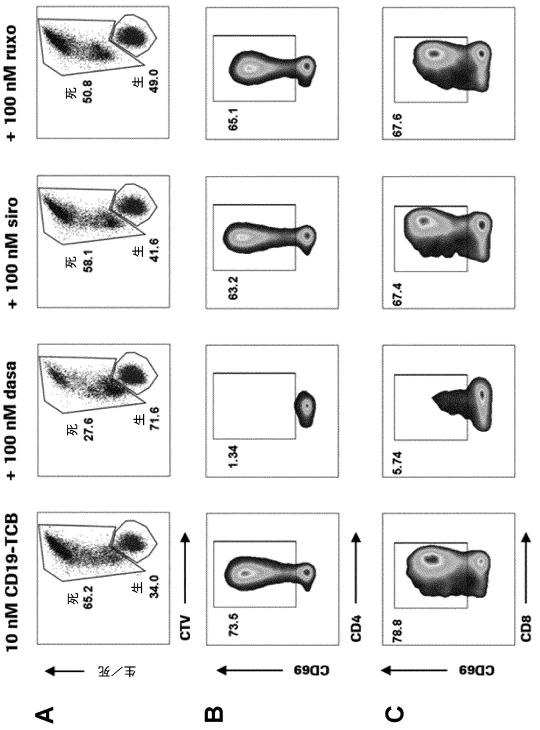
【図６３】



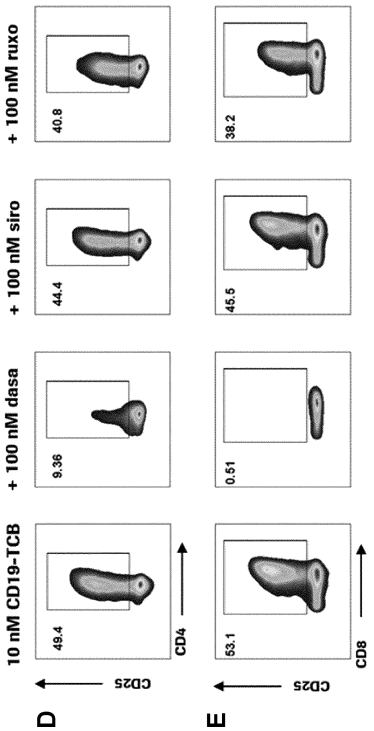
【図６４】



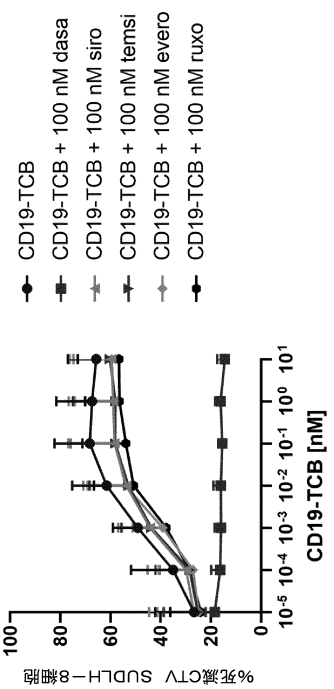
【図６５－１】



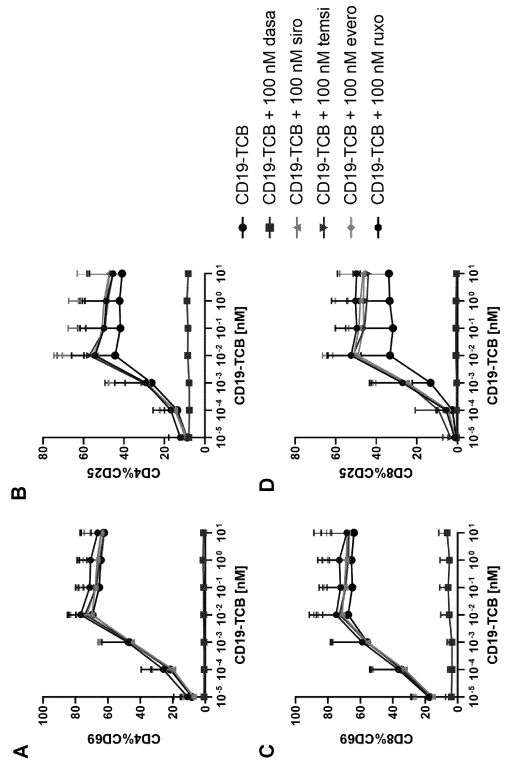
【図６５－２】



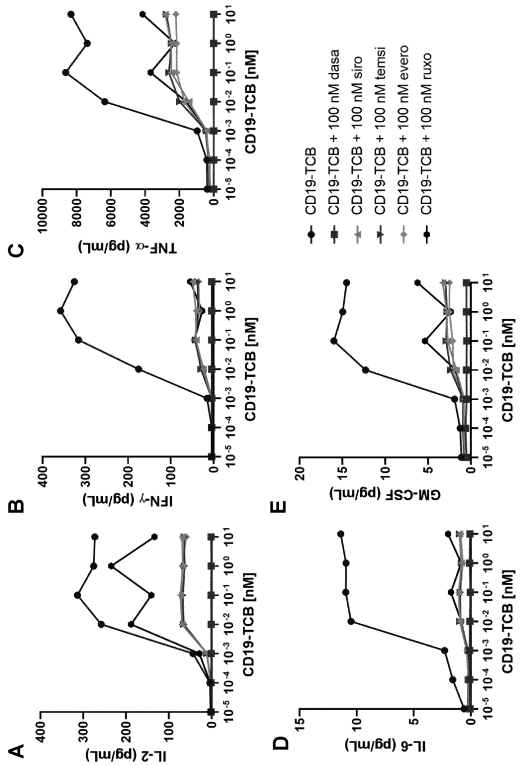
【図６６】



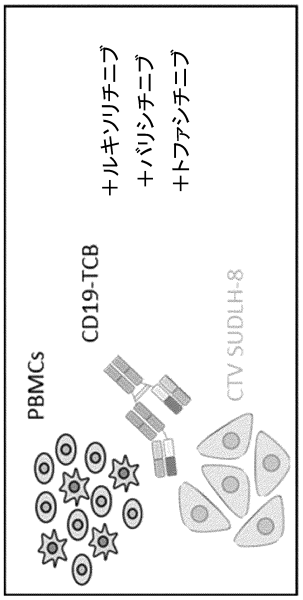
【図６７】



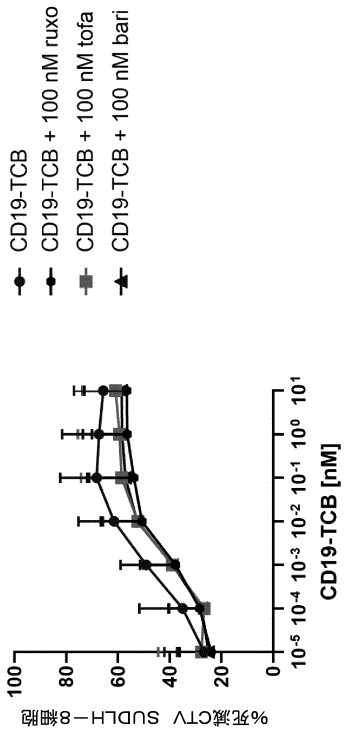
【図６８】



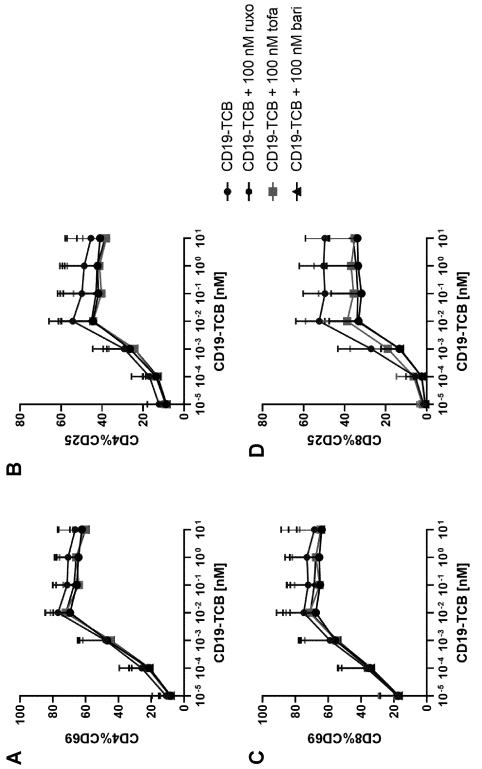
【図６９】



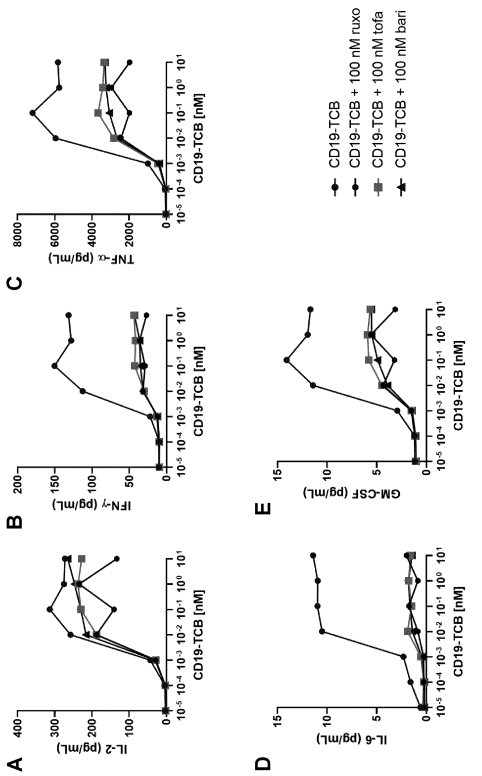
【図７０】



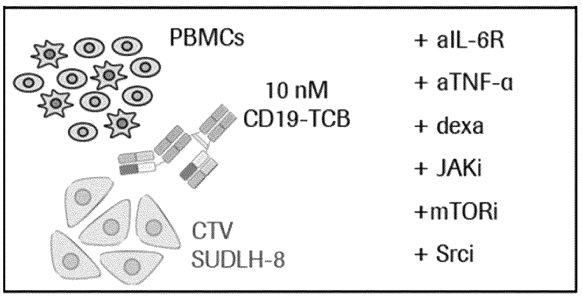
【図７１】



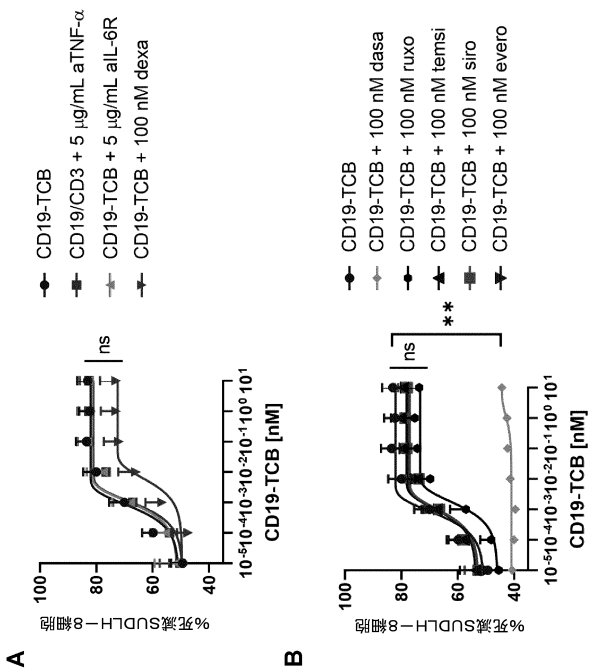
【図７２】



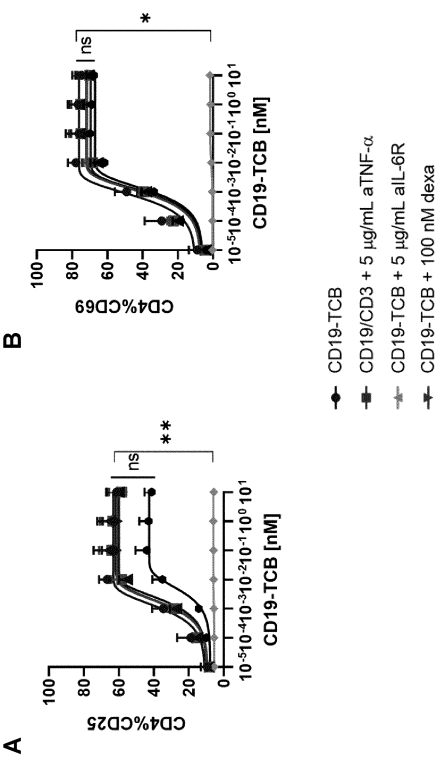
【図７３】



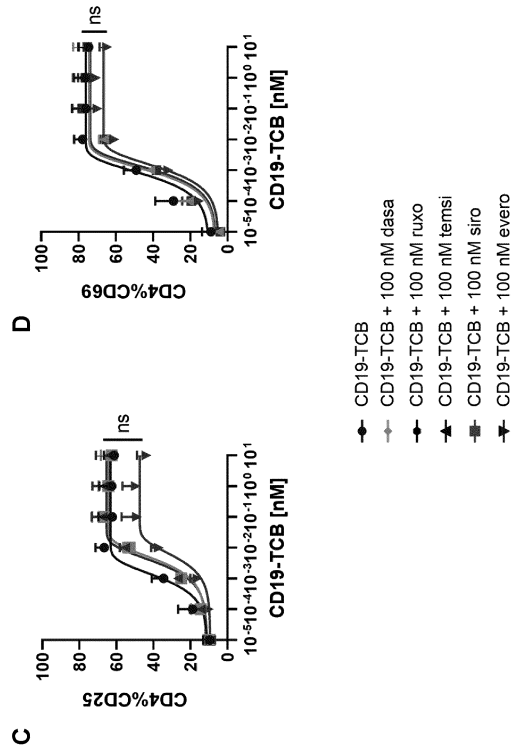
【図７４】



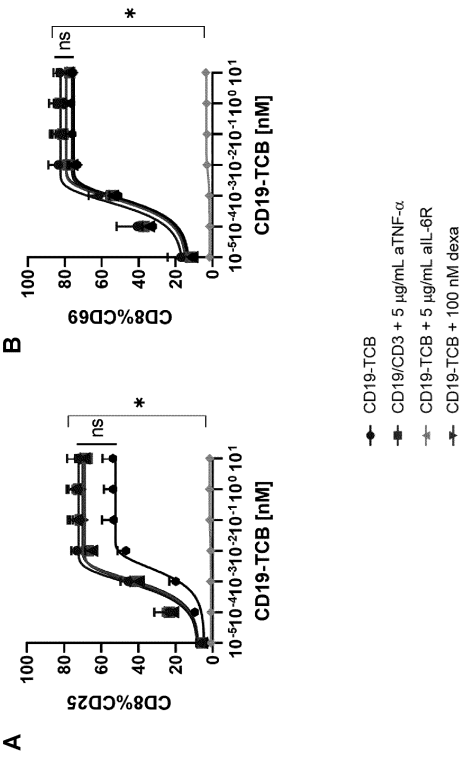
【図７５－１】



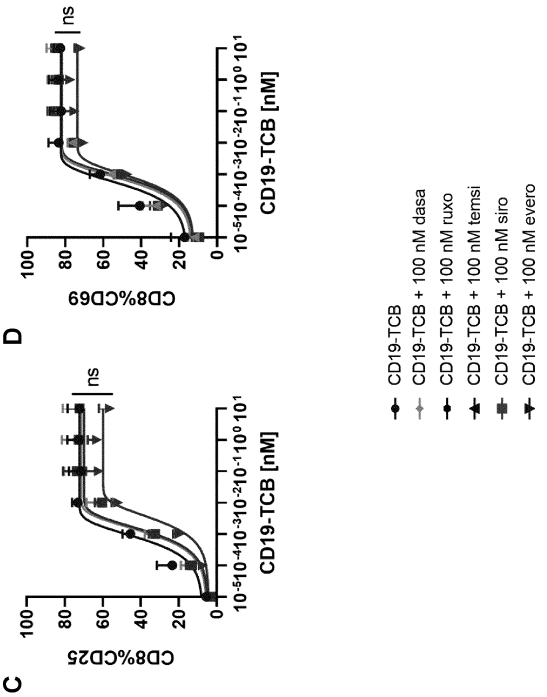
【図７５－２】



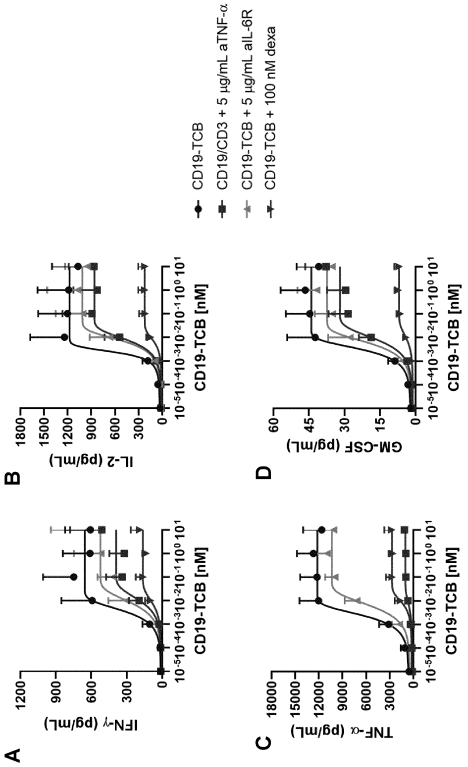
【図７６－１】



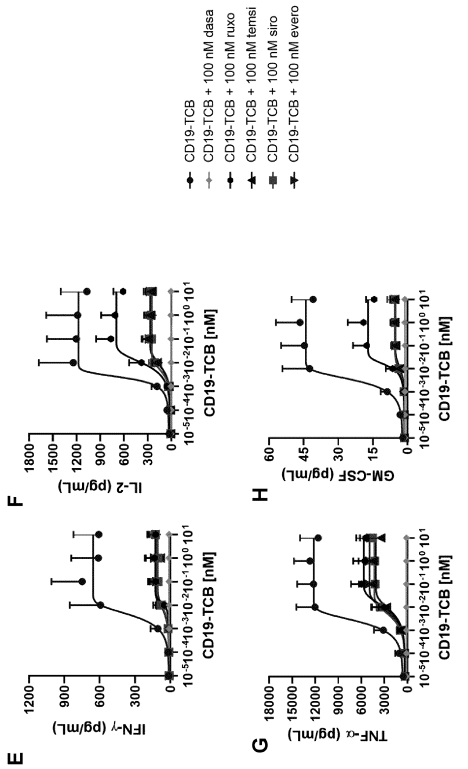
【図７６－２】



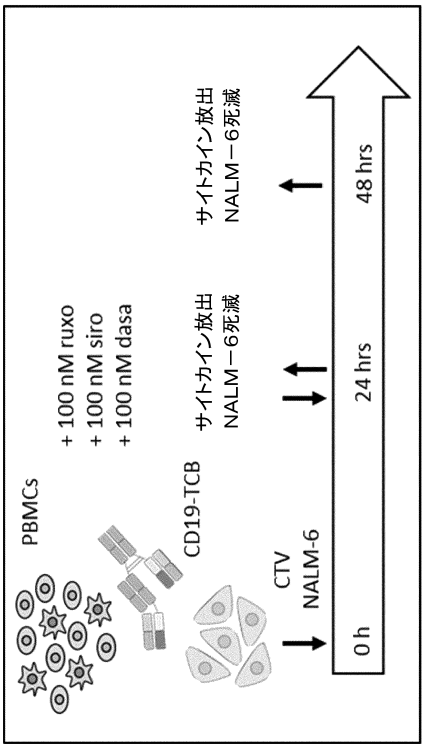
【図７７－１】



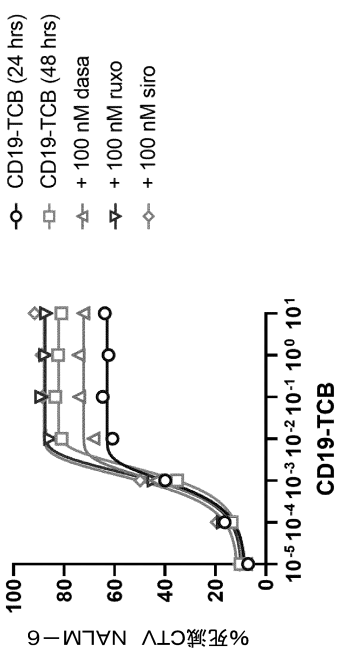
【図７７－２】



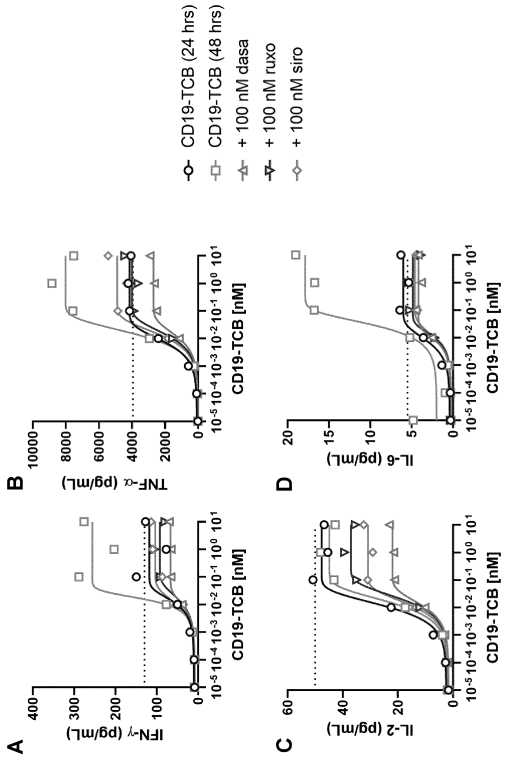
【図７８】



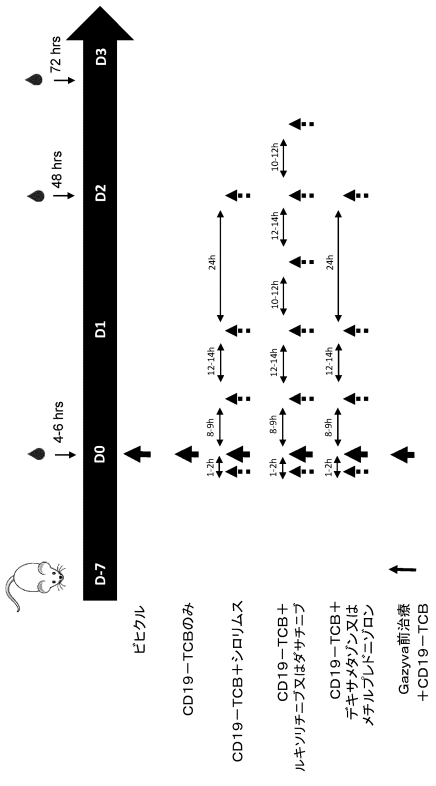
【図７９】



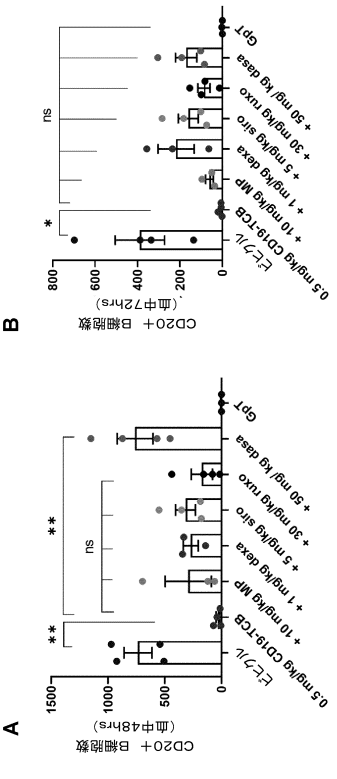
【図８０】



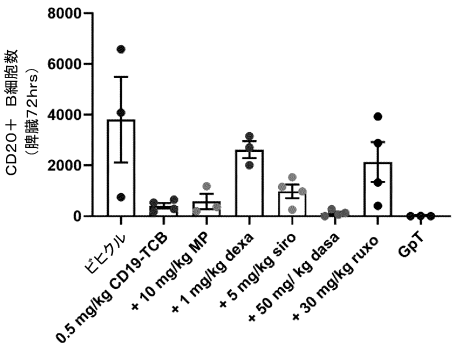
【図８１】



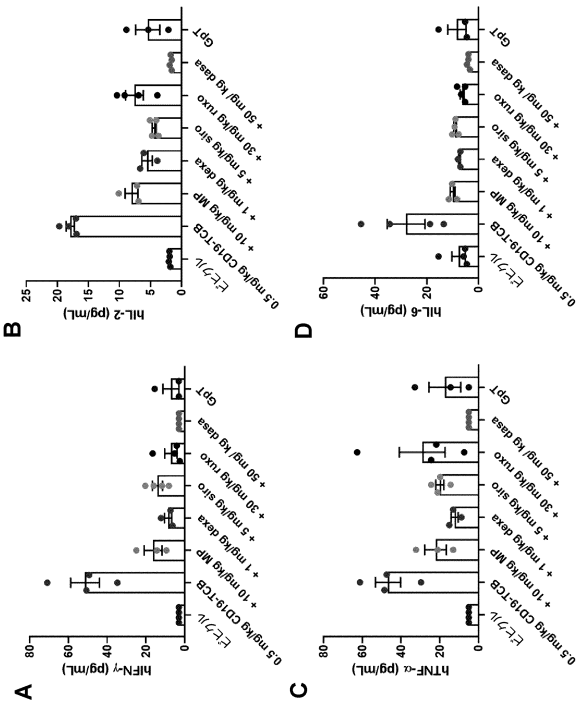
【図８２】



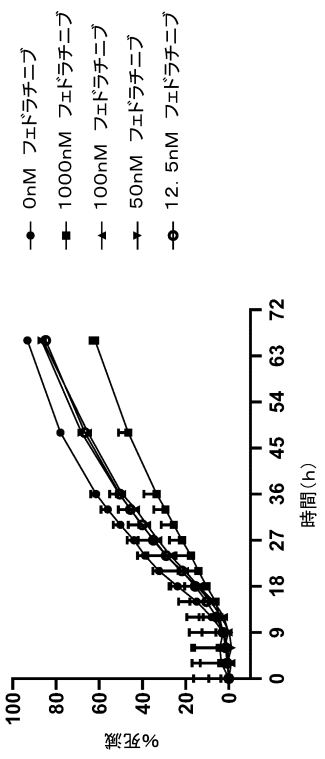
【図８３】



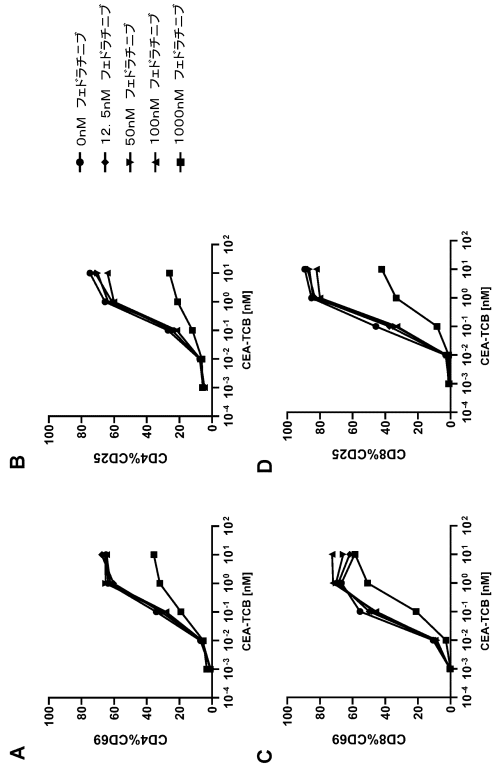
【図８４】



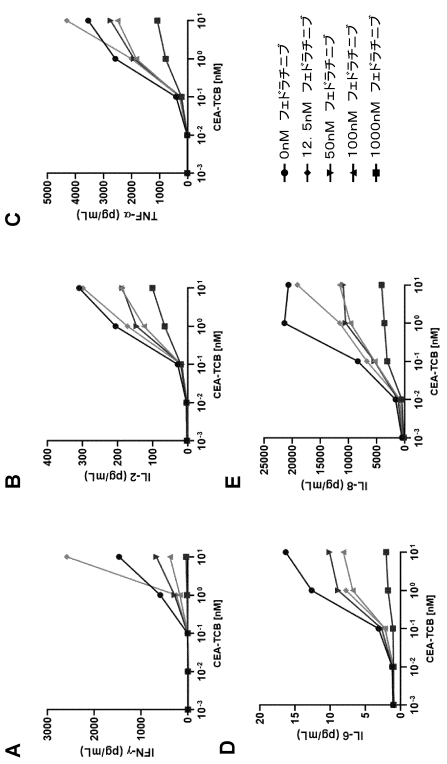
【図８５】



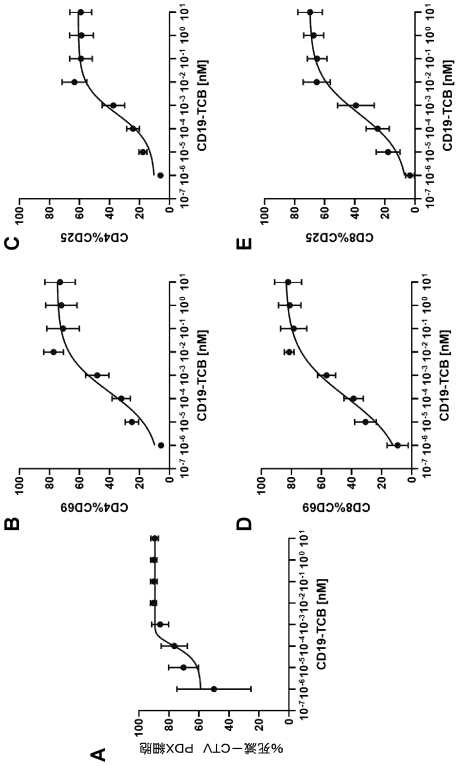
【図８６】



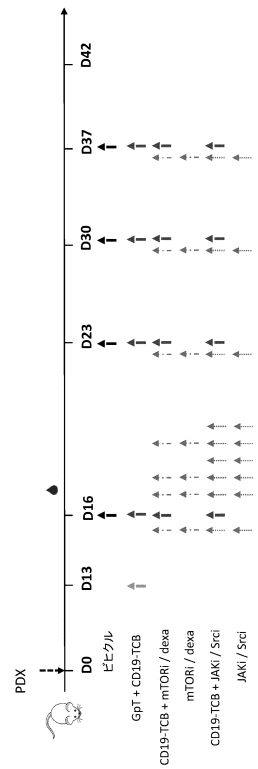
【図８７】



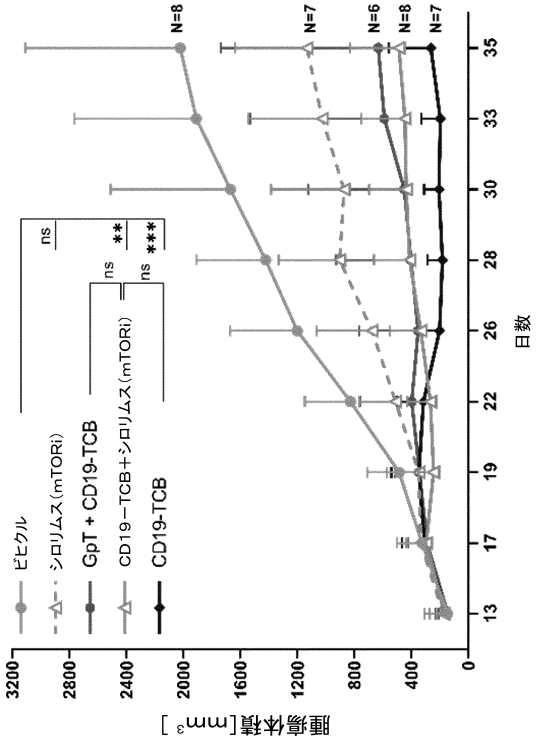
【図８８】



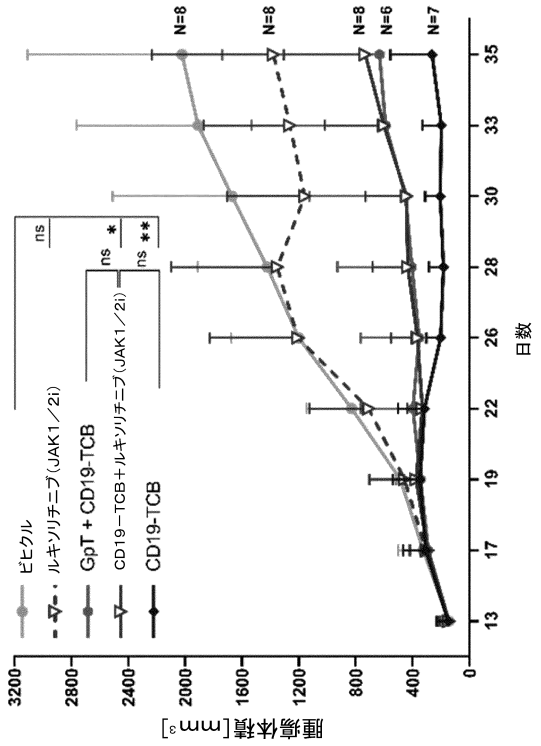
【図８９】



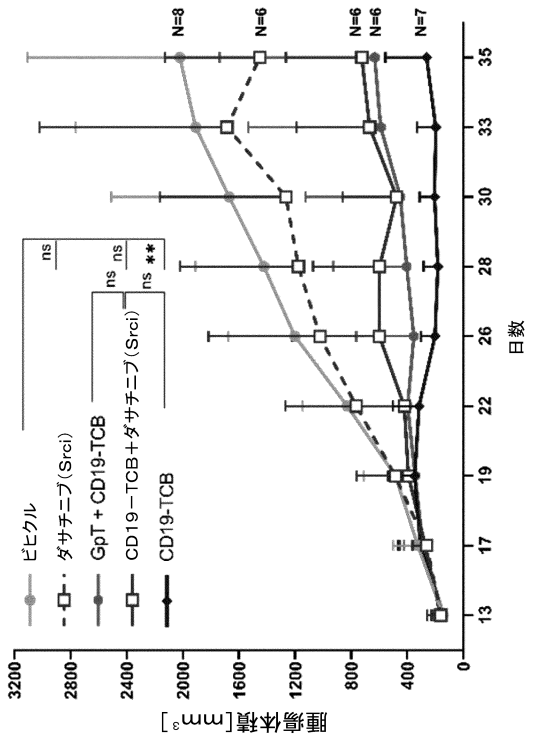
【図９０】



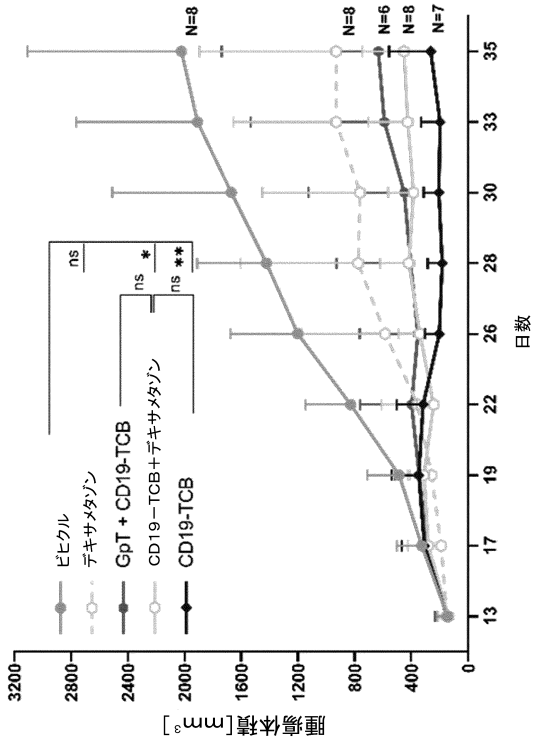
【図９１】



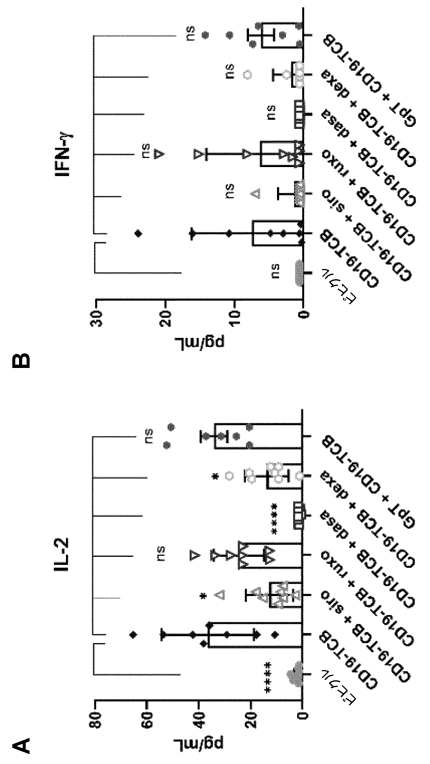
【図９２】



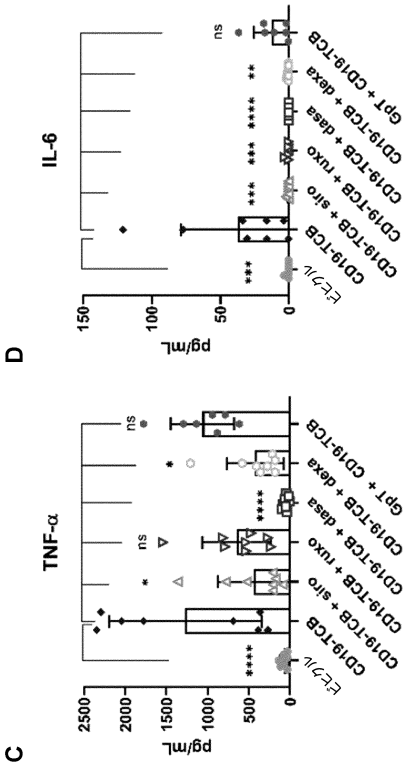
【図９３】



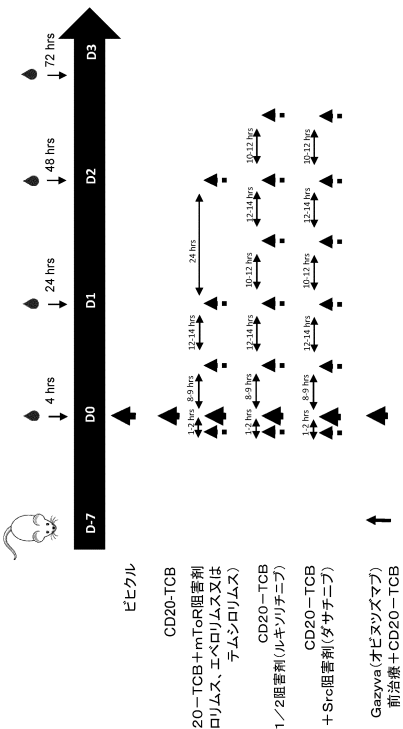
【図９４－１】



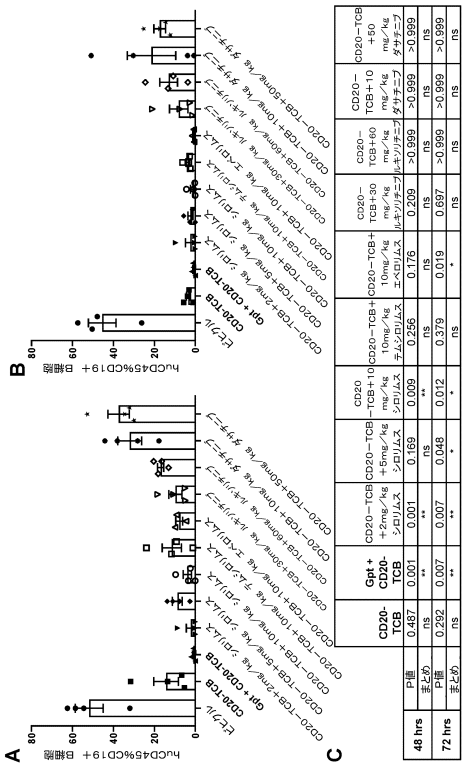
【図９４－２】



【図９５】



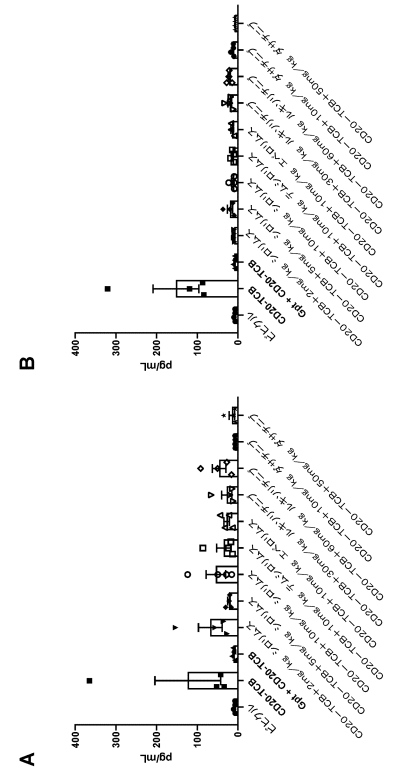
【図９６】



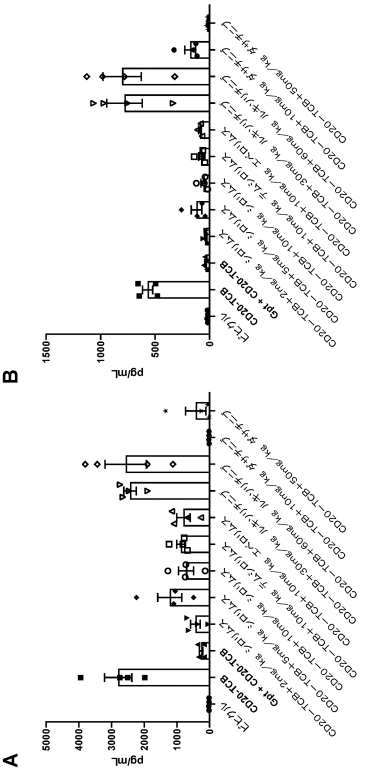
C

		CD20-TCB	Gpt + CD20-TCB	CD20-TCB +2mg/kg シロリムス	CD20-TCB +5mg/kg シロリムス	CD20 -TCB+10 mg/kg シロリムス	CD20-TCB+ 10mg/kg テムシロリムス	CD20-TCB+ 10mg/kg エベロリムス	CD20- TCB+30 mg/kg ルキソリチニブ	CD20- TCB+60 mg/kg ダサチニブ	CD20- TCB+10 mg/kg ダサチニブ	CD20-TCB +60 mg/kg ダサチニブ
48 hrs	P値	0.487	0.001	0.001	0.169	0.009	0.256	0.176	0.209	>0.999	>0.999	>0.999
	まとめ	ns	**	**	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
72 hrs	P値	0.292	0.007	0.007	0.048	0.012	0.379	0.019	0.697	>0.999	>0.999	>0.999
	まとめ	ns	**	**	*	*	ns	*	ns	ns	ns	ns

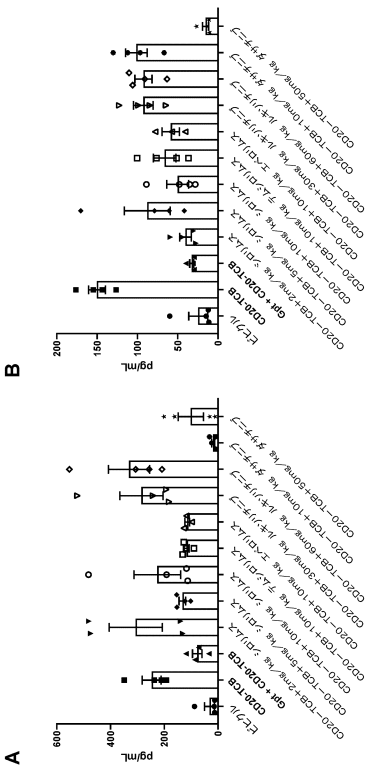
【図９７】



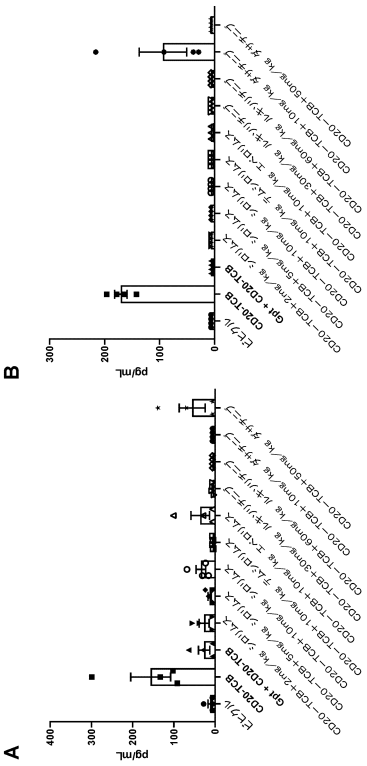
【図９８】



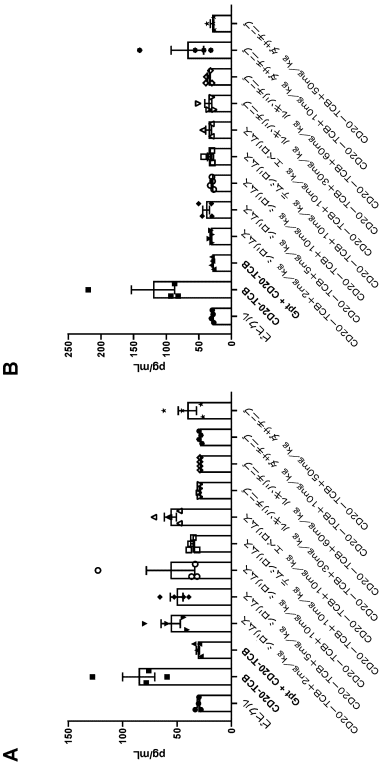
【図９９】



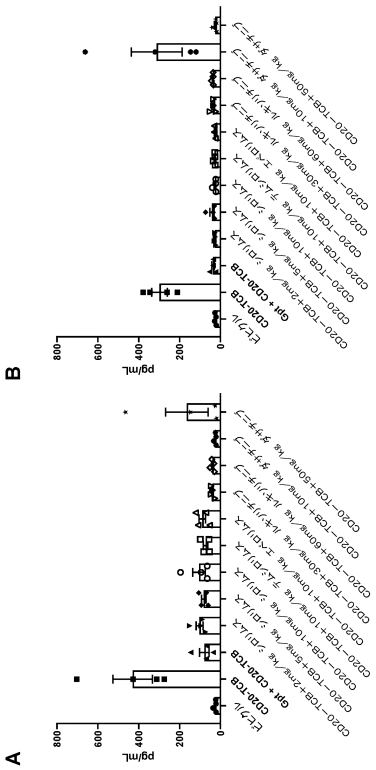
【図１００】



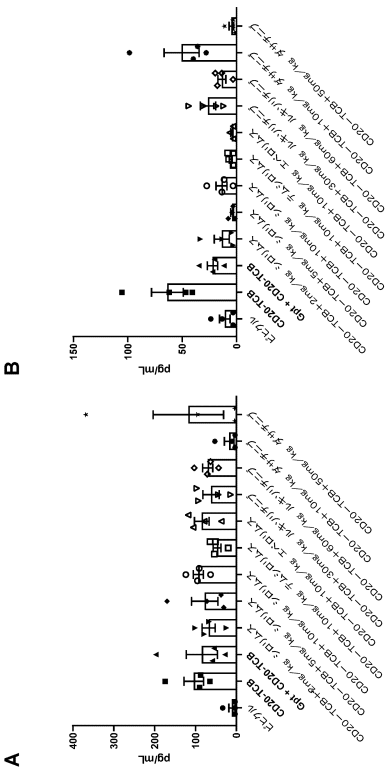
【図１０１】



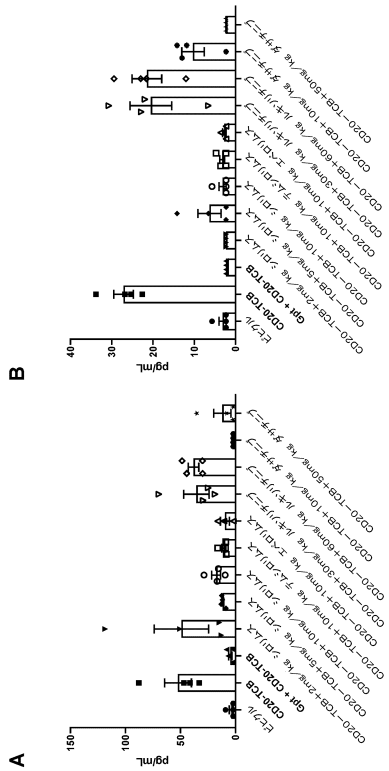
【図１０２】



【図１０３】



【図１０４】



【配列表】
2023547523000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/080888

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/00 A61K31/00 A61K39/395 A61P35/00 A61K31/436
C07K16/28 A61K31/519 A61K35/17 A61P37/02
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61P A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	US 2019/336504 A1 (GILL SAAR [US] ET AL) 7 November 2019 (2019-11-07) paragraphs [0341], [0352], [0813], [0822], [0829], [0859], [0849], [0856], [0866], [0870], [0895], [1066]; example 1	1-18,50, 52,54,56 1-56
X Y	US 2019/112380 A1 (CHAUDHARY PREET M [US]) 18 April 2019 (2019-04-18) paragraphs [0101], [0223], [0572], [0599], [0731]	1-18, 50-52, 54,56 1-56

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
2 February 2022	11/02/2022

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Zellner, Eveline

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/080888

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ROMAN H KHADKA ET AL: "Management of cytokine release syndrome: an update on emerging antigen-specific T cell engaging immunotherapies", IMMUNOTHERAPY, vol. 11, no. 10, 5 June 2019 (2019-06-05), pages 851-857, XP055770874, GB ISSN: 1750-743X, DOI: 10.2217/imt-2019-0074	1-7, 9-18,50, 52,54,56
Y	page 855, paragraph 4	1-56
X	HUARTE EDUARDO ET AL: "Prophylactic Itacitinib (INCB039110) for the Prevention of Cytokine Release Syndrome Induced By Chimeric Antigen Receptor T-Cells (CAR-T-cells) Therapy", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 134, 13 November 2019 (2019-11-13), page 1934, XP086672034, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2019-128288	1-7, 10-13, 15,16, 18,52, 54,56
Y	page 1 - page 2	1-56
Y	US 2020/172627 A1 (BACAC MARINA [CH] ET AL) 4 June 2020 (2020-06-04) paragraphs [0020] - [0023], [0154], [0578]	1-54
Y	WO 2020/169698 A1 (F HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH]; HOFFMANN-LA ROCHE INC [US]) 27 August 2020 (2020-08-27) page 29, line 6 - page 31, line 12 page 32, line 28 - line 32	1-56

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2021/080888

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

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

   a. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      [ ] on paper or in the form of an image file.

   b. [ ] furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      [ ] in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. [ ] In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2021/080888

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2019336504 A1	07-11-2019	AU 2017295886 A1	31-01-2019
		CA 3030837 A1	18-01-2018
		CN 110461315 A	15-11-2019
		EP 3484455 A2	22-05-2019
		JP 2019525956 A	12-09-2019
		SG 11201900344Y A	27-02-2019
		US 2019336504 A1	07-11-2019
		WO 2018013918 A2	18-01-2018
US 2019112380 A1	18-04-2019	AU 2017244108 A1	04-10-2018
		AU 2021203975 A1	08-07-2021
		CA 3018382 A1	05-10-2017
		CN 109715207 A	03-05-2019
		EP 3436070 A2	06-02-2019
		JP 2019510498 A	18-04-2019
		KR 20180130534 A	07-12-2018
		US 2019112380 A1	18-04-2019
		WO 2017172981 A2	05-10-2017
US 2020172627 A1	04-06-2020	AU 2018276419 A1	17-10-2019
		BR 112019022558 A2	19-05-2020
		CA 3059010 A1	06-12-2018
		CN 110603266 A	20-12-2019
		EP 3630829 A1	08-04-2020
		JP 2020521791 A	27-07-2020
		KR 20200014304 A	10-02-2020
		TW 201902512 A	16-01-2019
		US 2020172627 A1	04-06-2020
		WO 2018220099 A1	06-12-2018
WO 2020169698 A1	27-08-2020	NONE	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
A61K	*35/17*	*(2015.01)*	A61K	39/395	N	
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61K	35/17		
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	111	
A61P	*9/02*	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	9/02		
A61P	*35/02*	*(2006.01)*	A61P	43/00	105	
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*37/06*	*(2006.01)*	A61P	35/02		
A61P	*13/12*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
C07K	*16/46*	*(2006.01)*	A61P	37/06		
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	A61P	13/12		
			A61P	43/00	121	
			C07K	16/46	ZNA	
			C07K	16/28		

(32)優先日　令和3年5月7日(2021.5.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(31)優先権主張番号　21187472.2
(32)優先日　令和3年7月23日(2021.7.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW
(72)発明者　ルクレール， ガブリエル
スイス国 ８９５２ シュリーレン， ヴァーギシュトラーセ １０， シー／オー ロッシュ グリクアート アーゲー
(72)発明者　トーソ， アルベルト
スイス国 ４０７０ バーゼル， グレンツァッハーシュトラーセ １２４， ツェー／オー エフ．ホフマン－ラ ロシュ アクチェンゲゼルシャフト
(72)発明者　ジマーマン， ティナ
スイス国 ４０７０ バーゼル， グレンツァッハーシュトラーセ １２４， ツェー／オー エフ．ホフマン－ラ ロシュ アクチェンゲゼルシャフト

Ｆターム（参考）
4C084 AA20 MA02 MA52 MA55 MA66 NA05 NA14 ZA071 ZA072 ZA431 ZA432 ZA811 ZA812 ZB051 ZB052 ZB081 ZB082 ZB212 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZC202 ZC411 ZC412 ZC75
4C085 AA13 AA14 BB01 BB11 BB41 BB42
4C086 AA01 AA02 BC42 CB05 CB22 GA07 GA16 MA02 MA04 MA52 MA55 MA66 NA05 NA14 ZA07 ZA43 ZA81 ZB05 ZB08 ZB21 ZB26 ZB27 ZC20 ZC41 ZC75
4C087 AA01 AA02 BB37 BB65 CA04 MA02 MA52 MA55 MA66 NA05 NA13 ZA07 ZA43 ZA81 ZB05 ZB08 ZB21 ZB26 ZB27 ZC20 ZC41 ZC75
4H045 AA11 AA20 BA10 BA41 DA76 EA20