(19)日本国特許庁(JP)

# (12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7536654号
(P7536654)

(45)発行日　令和6年8月20日(2024.8.20)

(24)登録日　令和6年8月9日(2024.8.9)

| (51)国際特許分類 | | FI | | |
|---|---|---|---|---|
| *Ａ６１Ｋ　39/395 (2006.01)* | | Ａ６１Ｋ | 39/395 | Ｎ |
| *Ａ６１Ｐ　35/00 (2006.01)* | | Ａ６１Ｋ | 39/395 | Ｔ |
| *Ａ６１Ｋ　9/08 (2006.01)* | | Ａ６１Ｐ | 35/00 | |
| *Ａ６１Ｋ　47/18 (2017.01)* | | Ａ６１Ｋ | 9/08 | |
| *Ａ６１Ｋ　47/26 (2006.01)* | | Ａ６１Ｋ | 47/18 | |

請求項の数　21　（全89頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-563980(P2020-563980)
(86)(22)出願日　令和1年5月13日(2019.5.13)
(65)公表番号　特表2021-523906(P2021-523906A)
(43)公表日　令和3年9月9日(2021.9.9)
(86)国際出願番号　PCT/IB2019/000541
(87)国際公開番号　WO2019/220204
(87)国際公開日　令和1年11月21日(2019.11.21)
審査請求日　令和4年5月12日(2022.5.12)
(31)優先権主張番号　18382327.7
(32)優先日　平成30年5月14日(2018.5.14)
(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　18382359.0
(32)優先日　平成30年5月25日(2018.5.25)
最終頁に続く

(73)特許権者　508098350
メドイミューン・リミテッド
ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ Ｌｉｍｉｔｅｄ
英国シービー２・０エイエイ、ケンブリッジ、フランシス・クリック・アベニュー１、ケンブリッジ・バイオメディカル・キャンパス
１ Ｆｒａｎｃｉｓ Ｃｒｉｃｋ Ａｖｅｎｕｅ， Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｃａｍｐｕｓ， Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ ＣＢ２ ０ＡＡ， ＵＮＩＴＥＤ ＫＩＮＧＤＯＭ
(73)特許権者　520394621
フンダシオ・プリバダ・インスティトゥト・ディンベスティガシオ・オンコロジ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＬＩＦに対する抗体及びそれらの投与形態

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

癌を有する個体を治療するための医薬組成物であって、

ａ）配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；

ｂ）配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；

ｃ）配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；

ｄ）配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；

ｅ）配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）；及び

ｆ）配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）、を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を含み、

約１５００ｍｇの前記組み換え抗体用量で前記個体に静脈内投与される、医薬組成物。

【請求項２】

前記組み換え抗体は、グリコシル化ＬＩＦに結合する、請求項１に記載の医薬組成物。

【請求項３】

前記組み換え抗体は、ヒト化される、請求項１又は２に記載の医薬組成物。
【請求項４】
前記組み換え抗体は、脱免疫化される、請求項１～３の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項５】
前記組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む、請求項１～４の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項６】
前記組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である、請求項５に記載の医薬組成物。
【請求項７】
前記組み換え抗体は、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）$_2$、単一ドメイン抗体、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）若しくはナノボディである、請求項１～４の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項８】
前記組み換え抗体は、約２００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する、請求項１～７の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項９】
前記組み換え抗体は、約１００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する、請求項１～７の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項１０】
前記組み換え抗体は、配列番号４２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるＶＨ配列、及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるＶＬ配列を含む、請求項１～７の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項１１】
前記ＶＨ配列は、配列番号４２に記載の前記アミノ酸配列と同一であり；及び前記ＶＬ配列は、配列番号４６に記載の前記アミノ酸配列と同一である、請求項１０に記載の医薬組成物。
【請求項１２】
前記癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫若しくは軟部組織癌を含む、請求項１～１１の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項１３】
前記癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌若しくは膵臓腺癌を含む、請求項１２に記載の医薬組成物。
【請求項１４】
薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤をさらに含む、請求項１～１３の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項１５】
約６．０のｐＨを有する、請求項１４に記載の医薬組成物。
【請求項１６】
約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、前記組み換え抗体を約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含む、請求項１５に記載の医薬組成物。
【請求項１７】
週に約１回投与される、請求項１～１６の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項１８】
隔週に約１回投与される、請求項１～１６の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項１９】
３週毎に約１回投与される、請求項１～１６の何れか一項に記載の医薬組成物。
【請求項２０】
癌を有する個体を治療するための医薬組成物であって、

ａ）配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）、及び配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）、を含み、配列番号５８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるアミノ酸配列を備える免疫グロブリン重鎖配列；並びに
ｂ）配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）、及び配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）、を含み、配列番号６２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるアミノ酸配列を備える免疫グロブリン軽鎖配列、を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を含み、
約１５００ｍｇの前記組み換え抗体用量で前記個体に静脈内投与される、医薬組成物。
【請求項２１】
前記免疫グロブリン重鎖配列は、配列番号５８に記載の前記アミノ酸配列と同一であり；及び前記免疫グロブリン軽鎖配列は、配列番号６２に記載の前記アミノ酸配列と同一である、請求項２０に記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１８年５月１４日に出願された欧州特許出願公開第１８３８２３２７．７号、２０１８年５月２５日に出願された欧州特許出願公開第１８３８２３５９．０号、２０１９年３月２６日に出願された欧州特許出願公開第１９３８２２０８．７号、２０１９年５月３日に出願された欧州特許出願公開第１９３８２３３１．７号に対する優先権及びそれらの利点を主張するものであり、それらのそれぞれは、全体として本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００２】
白血病抑制因子（ＬＩＦ）は、細胞分化の阻害を含む様々な生物活性に関係するインターロイキン６（ＩＬ－６）型サイトカインである。ヒトＬＩＦは、ｇｐ１３０と共にヘテロ二量体化する細胞表面ＬＩＦ受容体（ＬＩＦＲ又はＣＤ１１８）に結合することによって生物学的効果を発揮する２０２アミノ酸のポリペプチドである。これは、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（ＭＡＰＫ）及びヤーヌス活性化キナーゼ（ＪＡＫ／ＳＴＡＴ）の経路等の、増殖促進シグナル伝達経路の活性化をもたらす。ＬＩＦの高い発現レベル及び高い血清レベルは、多数のタイプの癌にとっての不良な予後と関連することが証明されている。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００３】
本明細書では、ＬＩＦ活性に拮抗する、又はＬＩＦ活性を遮断する抗ＬＩＦ抗体について記載する。本明細書に記載される抗ＬＩＦ抗体は、癌を治療するために有用である。特に、所定の抗ＬＩＦ抗体は、治療有効量で投与されるとマウス及び非ヒト霊長類の両方の癌モデルにおける腫瘍容積の減少において優れた驚くべき有効性を生じさせた。従って、本開示は、特定の用量（体重ベースの投与及びフラット投与の両方）で特異的抗ＬＩＦ抗体を使用して癌を治療する方法及び医薬組成物を含む。
【０００４】
一態様では、本明細書で記載されるのは、癌を有する個体を治療する方法であって、そ

の個体に：（ａ）配列番号１～３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；（ｂ）配列番号４若しくは５の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；（ｃ）配列番号６～８の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；（ｄ）配列番号９若しくは１０の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；（ｅ）配列番号１１若しくは１２の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）；及び（５）配列番号１３に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含む方法であり：ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇ（ミリグラム）の用量で個体に投与される方法である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、グリコシル化ＬＩＦに結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ヒト抗体フレームワーク領域に由来する少なくとも１つのフレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ヒト化される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、脱免疫化される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）$_2$、単一ドメイン抗体、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）又はナノボディである。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及びＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号２（ＧＦＴＦＳＨＡＷ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号５（ＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号１０（ＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１２（ＳＶＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及びＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号３（ＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号７（ＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及びＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である１つ以上の重鎖フレームワーク１（ＶＨ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である重鎖フレームワーク２（ＶＨ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である重鎖フレームワーク３（ＶＨ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である重鎖フレームワーク４（ＶＨ－ＦＲ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換

え抗体は、配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の重鎖フレームワーク１（ＶＨ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である重鎖フレームワーク２（ＶＨ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である重鎖フレームワーク３（ＶＨ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である重鎖フレームワーク４（ＶＨ－ＦＲ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク１（ＶＬ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である軽鎖フレームワーク２（ＶＬ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である軽鎖フレームワーク３（ＶＬ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である軽鎖フレームワーク４（ＶＬ－ＦＲ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク１（ＶＬ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク２（ＶＬ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク３（ＶＬ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク４（ＶＬ－ＦＲ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の少なくとも１つに結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の少なくとも５つに結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の少なくとも１０に結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫又は軟部組織癌を含む。所定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌又は膵臓腺癌を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、医薬製剤の一成分として投与されるが、医薬製剤は、組み換え抗体を含み、及び薬学的に許容される薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤を更に含む。所定の実施形態では、医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する。所定の実施形態では、医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、ここで組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる。所定の実施形態では、組み換え抗体は、静脈内投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、週１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、隔週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、４週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組

み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される。

【０００５】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、癌を有する個体を治療する方法であって、その個体に：（ａ）配列番号４１、４２、４４若しくは６６の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖可変領域（ＶＨ）配列、及び（ｂ）配列番号４５～４８の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含む方法であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。所定の実施形態では、ＶＨ配列は、配列番号４２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であり；及びＶＬ配列は、配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である。所定の実施形態では、ＶＨ配列は、配列番号４２に記載のアミノ酸配列と同一であり；及びＶＬ配列は、配列番号４６に記載のアミノ酸配列と同一である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫又は軟部組織癌を含む。所定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌又は膵臓腺癌を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、医薬製剤の一成分として投与されるが、医薬製剤は、組み換え抗体を含み、及び薬学的に許容される薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤を更に含む。所定の実施形態では、医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する。所定の実施形態では、医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、ここで組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる。所定の実施形態では、組み換え抗体は、静脈内投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、隔週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、４週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される。

【０００６】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、癌を有する個体を治療する方法であって、その個体に：（ａ）配列番号５７～６０若しくは６７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖配列、及び（ｂ）配列番号６１～６４の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖配列を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含む方法であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量で個体に投与される。所定の実施形態では、免疫グロブリン重鎖配列は、配列番号５８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であり；及び免疫グロブリン軽鎖配列は、配列番号６２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、

９７％、９８％若しくは９９％同一である。所定の実施形態では、免疫グロブリン重鎖配列は、配列番号５８に記載のアミノ酸配列と同一であり；及び免疫グロブリン軽鎖配列は、配列番号６２に記載のアミノ酸配列と同一である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫又は軟部組織癌を含む。所定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌又は膵臓腺癌を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、医薬製剤の一成分として投与されるが、医薬製剤は、組み換え抗体を含み、及び薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤を更に含む。所定の実施形態では、医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する。所定の実施形態では、医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、ここで組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる。所定の実施形態では、組み換え抗体は、静脈内投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、隔週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、４週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される。

【０００７】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、個体における癌を治療する際に使用するための医薬製剤であって、医薬製剤は、薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤及び組み換え抗体を含み、組み換え抗体は、白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合し、及び：（ａ）配列番号１～３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；（ｂ）配列番号４若しくは５の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；（ｃ）配列番号６～８の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；（ｄ）配列番号９若しくは１０の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；（ｅ）配列番号１１若しくは１２の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）；及び（ｆ）配列番号１３に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）を含む医薬製剤であり：ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。所定の実施形態では、医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、ここで組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる。所定の実施形態では、医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、グリコシル化ＬＩＦに結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ヒト抗体フレームワーク領域に由来する少なくとも１つのフレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ヒト化される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、脱免疫化される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）$_2$、単一ドメイン抗体、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）又はナノボディである。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号４（ＱＩＫ

ＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及びＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号２（ＧＦＴＦＳＨＡＷ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号５（ＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号１０（ＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１２（ＳＶＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及びＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号３（ＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号７（ＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及びＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である１つ以上の重鎖フレームワーク１（ＶＨ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である重鎖フレームワーク２（ＶＨ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である重鎖フレームワーク３（ＶＨ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である重鎖フレームワーク４（ＶＨ－ＦＲ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の重鎖フレームワーク１（ＶＨ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である重鎖フレームワーク２（ＶＨ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である重鎖フレームワーク３（ＶＨ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である重鎖フレームワーク４（ＶＨ－ＦＲ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク１（ＶＬ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である軽鎖フレームワーク２（ＶＬ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である軽鎖フレームワーク３（ＶＬ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である軽鎖フレームワーク４（ＶＬ－ＦＲ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク１（ＶＬ－ＦＲ１）領域アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク２（ＶＬ－ＦＲ２）領域アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク３（ＶＬ－ＦＲ３）領域アミノ酸配列及び配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一である１つ以上の軽鎖フレームワーク４（ＶＬ－Ｆ

Ｒ４）領域アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の少なくとも１つに結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の少なくとも５つに結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の少なくとも１０に結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫又は軟部組織癌を含む。所定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌又は膵臓腺癌を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、静脈内投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、隔週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、４週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される。

【０００８】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、個体における癌を治療する際に使用するための医薬製剤であって、医薬製剤は、薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤及び組み換え抗体を含み、組み換え抗体は、白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合し、及び：（ａ）配列番号４１、４２、４４若しくは６６の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖可変領域（ＶＨ）配列、及び（ｂ）配列番号４５～４８の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を含む医薬製剤であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。所定の実施形態では、医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含むが、ここで組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる。所定の実施形態では、医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、グリコシル化ＬＩＦに結合する。所定の実施形態では、ＶＨ配列は、配列番号４２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であり；及びＶＬ配列は、配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である。所定の実施形態では、ＶＨ配列は、配列番号４２に記載のアミノ酸配列と同一であり；及びＶＬ配列は、配列番号４６に記載のアミノ酸配列と同一である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）$_2$、単一ドメイン抗体、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）又はナノボディである。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定

の実施形態では、組み換え抗体は、約１００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫又は軟部組織癌を含む。所定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌又は膵臓腺癌を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、静脈内投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、隔週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、４週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される。

【０００９】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、個体における癌を治療する際に使用するための医薬製剤であって、医薬製剤は、薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤及び組み換え抗体を含み、組み換え抗体は、白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合し、及び：（ａ）配列番号５７～６０若しくは６７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖配列、及び（ｂ）配列番号６１～６４の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖配列を含む医薬製剤であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。所定の実施形態では、医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、ここで組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる。所定の実施形態では、医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、グリコシル化ＬＩＦに結合する。所定の実施形態では、免疫グロブリン重鎖配列は、配列番号５８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であり；及び免疫グロブリン軽鎖配列は、配列番号６２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一である。所定の実施形態では、免疫グロブリン重鎖配列は、配列番号５８に記載のアミノ酸配列と同一であり；及び免疫グロブリン軽鎖配列は、配列番号６２に記載のアミノ酸配列と同一である。所定の実施形態では、組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫又は軟部組織癌を含む。所定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌又は膵臓腺癌を含む。所定の実施形態では、組み換え抗体は、静脈内投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、隔週に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、４週毎に約１回投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される。所定の実施形態では、組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される。

さらに以下の項に記載の態様が本明細書で記載される：

［項１］

癌を有する個体を治療する方法であって、前記個体に：

ａ）配列番号１～３の何れか１つに規定したアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；

ｂ）配列番号４若しくは５の何れか１つに規定したアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；

ｃ）配列番号６～８の何れか１つに規定したアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；

ｄ）配列番号９若しくは１０の何れか１つに規定したアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；

ｅ）配列番号１１若しくは１２の何れか１つに規定したアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）；及び

ｆ）配列番号１３に規定したアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）、を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含み、

ここで、前記組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量で前記個体に投与される方法。

［項２］

前記組み換え抗体は、グリコシル化ＬＩＦに結合する、上記項１に記載の方法。

［項３］

前記組み換え抗体は、ヒト化される、上記項１又は２に記載の方法。

［項４］

前記組み換え抗体は、脱免疫化される、上記項１～３の何れか一項に記載の方法。

［項５］

前記組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む、上記項１～４の何れか一項に記載の方法。

［項６］

前記組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である、上記項５に記載の方法。

［項７］

前記組み換え抗体は、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）$_2$、単一ドメイン抗体、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）若しくはナノボディである、上記項１～４の何れか一項に記載の方法。

［項８］

前記組み換え抗体は、約２００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する、上記項１～７の何れか一項に記載の方法。

［項９］

前記組み換え抗体は、約１００ピコモル未満の解離定数（$K_D$）でＬＩＦに特異的に結合する、上記項１～７の何れか一項に記載の方法。

［項１０］

前記ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及び前記ＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む、上記項１～９の何れか一項に記載の方法。

［項１１］

前記ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号２（ＧＦＴＦＳＨＡＷ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号５（ＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴ）に記載のアミノ酸配列を

含み、前記ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号１０（ＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１２（ＳＶＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及び前記ＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む、上記項１～９の何れか一項に記載の方法。

［項１２］

前記ＶＨ－ＣＤＲ１は、配列番号３（ＨＡＷＭＨ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＨ－ＣＤＲ２は、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＨ－ＣＤＲ３は、配列番号７（ＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ－ＣＤＲ１は、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ－ＣＤＲ２は、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列を含み、及び前記ＶＬ－ＣＤＲ３は、配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列を含む、上記項１～９の何れか一項に記載の方法。

［項１３］

前記癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫若しくは軟部組織癌を含む、上記項１～１２の何れか一項に記載の方法。

［項１４］

前記癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌若しくは膵臓腺癌を含む、上記項１３に記載の方法。

［項１５］

前記組み換え抗体は、医薬製剤の一成分として投与され、前記医薬製剤は、組み換え抗体及び薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤を含む、上記項１～１４の何れか一項に記載の方法。

［項１６］

前記医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する、上記項１５に記載の方法。

［項１７］

前記医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、ここで前記組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる、上記項１５に記載の方法。

［項１８］

前記組み換え抗体は、静脈内投与される、上記項１～１７の何れか一項に記載の方法。

［項１９］

前記組み換え抗体は、週に約１回投与される、上記項１～１８の何れか一項に記載の方法。

［項２０］

前記組み換え抗体は、隔週に約１回投与される、上記項１～１８の何れか一項に記載の方法。

［項２１］

前記組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される、上記項１～１８の何れか一項に記載の方法。

［項２２］

前記組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される、上記項１～２１の何れか一項に記載の方法。

［項２３］

前記組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される、上記項１～２１の何れか一項に記載の方法。

［項２４］

前記組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される、上記項１～２１の何れか一項に記載の方法。

［項２５］
前記組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される、上記項１～２１の何れか一項に記載の方法。
［項２６］
癌を有する個体を治療する方法であって、前記個体に：
ａ）配列番号４１、４２、４４若しくは６６の何れか１つに記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるアミノ酸配列を備える免疫グロブリン重鎖可変領域（ＶＨ）配列；及び
ｂ）配列番号４５～４８の何れか１つに記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるアミノ酸配列を備える免疫グロブリン軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含み、
ここで、前記組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量で前記個体に投与される方法。
［項２７］
前記ＶＨ配列は、配列番号４２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であり；及び前記ＶＬ配列は、配列番号４６に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約９０％同一である、上記項２６に記載の方法。
［項２８］
前記ＶＨ配列は、配列番号４２に記載の前記アミノ酸配列と同一であり；及び前記ＶＬ配列は、配列番号４６に記載の前記アミノ酸配列と同一である、上記項２６に記載の方法。
［項２９］
前記組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む、上記項２６～２８の何れか一項に記載の方法。
［項３０］
前記組み換え抗体は、ＩｇＧ抗体である、上記項２９に記載の方法。
［項３１］
前記癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫若しくは軟部組織癌を含む、上記項２６～３０の何れか一項に記載の方法。
［項３２］
前記癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌若しくは膵臓腺癌を含む、上記項３１に記載の方法。
［項３３］
前記組み換え抗体は、医薬製剤の一成分として投与され、前記医薬製剤は、組み換え抗体を含み、及び薬学的に許容される薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤を更に含む、上記項２６～３２の何れか一項に記載の方法。
［項３４］
前記医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する、上記項３３に記載の方法。
［項３５］
前記医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含み、ここで前記組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる、上記項３３に記載の方法。
［項３６］
前記組み換え抗体は、静脈内投与される、上記項２６～３５の何れか一項に記載の方法。
［項３７］
前記組み換え抗体は、週に約１回投与される、上記項２６～３６の何れか一項に記載の方法。
［項３８］
前記組み換え抗体は、隔週に約１回投与される、上記項２６～３６の何れか一項に記載の方法。

［項３９］
前記組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される、上記項２６～３６の何れか一項に記載の方法。
［項４０］
前記組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される、上記項２６～３９の何れか一項に記載の方法。
［項４１］
前記組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される、上記項２６～３９の何れか一項に記載の方法。
［項４２］
前記組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される、上記項２６～３９の何れか一項に記載の方法。
［項４３］
前記組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される、上記項２６～３９の何れか一項に記載の方法。
［項４４］
癌を有する個体を治療する方法であって、前記個体に：
ａ）配列番号５７～６０若しくは６７の何れか１つに記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるアミノ酸配列を備える免疫グロブリン重鎖配列；及び
ｂ）配列番号６１～６４の何れか１つに記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であるアミノ酸配列を備える免疫グロブリン軽鎖配列を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含み、
ここで、前記組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量で前記個体に投与される方法。
［項４５］
前記免疫グロブリン重鎖配列は、配列番号５８に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約９０％同一であり；及び前記免疫グロブリン軽鎖配列は、配列番号６２に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約９０％同一である、上記項４４に記載の方法。
［項４６］
前記免疫グロブリン重鎖配列は、配列番号５８に記載の前記アミノ酸配列と同一であり；及び前記免疫グロブリン軽鎖配列は、配列番号６２に記載の前記アミノ酸配列と同一である、上記項４４に記載の方法。
［項４７］
前記組み換え抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖及び２本の免疫グロブリン軽鎖を含む、上記項４４～４６の何れか一項に記載の方法。
［項４８］
前記癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫若しくは軟部組織癌を含む、上記項４４～４７の何れか一項に記載の方法。
［項４９］
前記癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌若しくは膵臓腺癌を含む、上記項４８に記載の方法。
［項５０］
前記組み換え抗体は、医薬製剤の一成分として投与され、前記医薬製剤は、組み換え抗体及び薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤を含む、上記項４４～４９の何れか一項に記載の方法。
［項５１］
前記医薬製剤は、約６．０のｐＨを有する、上記項５０に記載の方法。
［項５２］
前記医薬製剤は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポ

リソルベート８０を含み、ここで前記組み換え抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度で含まれる、上記項５０に記載の方法。
［項５３］
前記組み換え抗体は、静脈内投与される、上記項４４～５２の何れか一項に記載の方法。
［項５４］
前記組み換え抗体は、週に約１回投与される、上記項４４～５３の何れか一項に記載の方法。
［項５５］
前記組み換え抗体は、隔週に約１回投与される、上記項４４～５３の何れか一項に記載の方法。
［項５６］
前記組み換え抗体は、３週毎に約１回投与される、上記項４４～５３の何れか一項に記載の方法。
［項５７］
前記組み換え抗体は、約７５０ｍｇの用量で投与される、上記項４４～５６の何れか一項に記載の方法。
［項５８］
前記組み換え抗体は、約１１２５ｍｇの用量で投与される、上記項４４～５６の何れか一項に記載の方法。
［項５９］
前記組み換え抗体は、約１５００ｍｇの用量で投与される、上記項４４～５６の何れか一項に記載の方法。
［項６０］
前記組み換え抗体は、約２０００ｍｇの用量で投与される、上記項４４～５６の何れか一項に記載の方法。
【図面の簡単な説明】
【００１０】
【図１】様々な抗ＬＩＦヒト化抗体のＬＩＦ誘導性ＳＴＡＴ３リン酸化の阻害を示しているウェスタンブロットを示す図である。
【図２Ａ－２Ｂ】ＬＩＦ誘導性ＳＴＡＴ３リン酸化ヒト化及び親５Ｄ８抗体の阻害を示しているウェスタンブロットを示す図である。
【図３Ａ】ｈ５Ｄ８抗体を使用したＵ－２５１細胞におけるＬＩＦ阻害についてのＩＣ$_{50}$を示す図である。
【図３Ｂ】内因性ＬＩＦ刺激条件下でのｐＳＴＡＴ３のｒ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８阻害の代表的ＩＣ$_{50}$用量反応曲線を示す図である。代表的な曲線を示した（ｎ＝１　ｈ５Ｄ８、ｎ＝２　ｒ５Ｄ８）。
【図４】本開示に記載した様々なモノクローナル抗体のＬＩＦ誘導性ＳＴＡＴ３リン酸化の阻害を示しているウェスタンブロットを示す図である。
【図５】ヒト患者由来の多形性膠芽腫（ＧＢＭ）、ＮＳＣＬＣ（非小細胞肺癌）、卵巣癌及び結腸直腸癌腫瘍におけるＬＩＦ発現の免疫組織学的染色及び定量を示す図である。バーは、平均±ＳＥＭを表す。
【図６】ヒト化５Ｄ８抗体を使用した非小細胞肺癌のマウスモデルにおいて実施した実験を示すグラフである。
【図７Ａ】ＧＢＭの同所性マウスモデルにおけるＵ２５１の阻害にｒ５Ｄ８が及ぼす効果を示す図である。第２６日の定量を示した。
【図７Ｂ】ヒトＵ２５１　ＧＢＭ細胞を発現するルシフェラーゼが接種され、その後１００、２００若しくは３００μｇのｈ５Ｄ８若しくはビヒクルで週２回治療されたマウスからのデータを示す図である。腫瘍サイズは、第７日にバイオルミネセンス（Ｘｅｎｏｇｅｎ　ＩＶＩＳスペクトル）によって決定した。グラフは、個々の腫瘍測定値を示しており、水平バーは平均±ＳＥＭを示している。統計的有意性は、対応のないノンパラメトリッ

クのマン・ホイットニーＵ検定を使用して計算した。
【図８Ａ】同系マウスモデルにおける卵巣癌細胞の増殖の阻害にｒ５Ｄ８が及ぼす効果を示す図である。
【図８Ｂ】第２５日の腫瘍の個々の測定値を示す図である。
【図８Ｃ】ｈ５Ｄ８がマウスに週２回２００μｇの用量で投与された場合に腫瘍増殖における有意な減少を示す図である（ｐ＜０．０５）。記号は、平均＋ＳＥＭであり、統計的有意性は、ビヒクルと（対応のないノンパラメトリックのマン・ホイットニーＵ検定を用いて）比較した。
【図９Ａ】同系マウスモデルにおける結腸直腸癌の増殖の阻害にｒ５Ｄ８が及ぼす効果を示す図である。
【図９Ｂ】第１７日の腫瘍の個々の測定値を示す図である。
【図１０Ａ】ＣＣＬ２２＋細胞の代表的な画像及び定量と共に、ＧＢＭの同所性マウスモデルにおける腫瘍部位のマクロファージ浸潤の減少を示す図である。
【図１０Ｂ】ヒト器官型組織スライス培養モデルにおけるマクロファージ浸潤の減少を示す図である。代表的な画像（左）及び定量（右）を示した。
【図１０Ｃ】ＣＣＬ２２＋細胞の代表的な画像及び定量と共に、卵巣癌の同所性マウスモデルにおける腫瘍部位のマクロファージ浸潤の減少を示す図である。
【図１０Ｄ】ＣＣＬ２２＋細胞の代表的な画像及び定量と共に、結腸直腸癌の同所性マウスモデルにおける腫瘍部位のマクロファージ浸潤の減少を示す図である。
【図１１Ａ】卵巣癌の同所性マウスモデルにおけるｒ５Ｄ８を用いた治療後の非脊髄性エフェクター細胞の増加を示す図である。
【図１１Ｂ】結腸大腸癌の同所性マウスモデルにおけるｒ５Ｄ８を用いた治療後の非脊髄性エフェクター細胞の増加を示す図である。
【図１１Ｃ】ＮＳＣＬＣ癌のマウスモデルにおけるｒ５Ｄ８を用いた治療後のＣＤ４＋ＴＲＥＧ細胞のパーセンテージの減少を示す図である。
【図１２】抗ＣＤ４及び抗ＣＤ８枯渇抗体の存在下若しくは非存在下において腹腔内投与されたＰＢＳ（コントロール）若しくはｒ５Ｄ８を用いて週２回治療されたＣＴ２６腫瘍を有するマウスからのデータを示す図である。グラフは、平均腫瘍容積＋ＳＥＭとして現れた第１３日での個別腫瘍測定値を示す図である。群間の統計的有意差は、対応のないノンパラメトリックのマン・ホイットニーＵ検定によって決定した。Ｒ５Ｄ８は、ＣＴ２６腫瘍の増殖を阻害した（＊ｐ＜０．０５）。ｒ５Ｄ８による腫瘍増殖阻害は、抗ＣＤ４及び抗ＣＤ８枯渇抗体の存在下で有意に減少した（＊＊＊＊ｐ＜０．０００１）。
【図１３Ａ】ＬＩＦとの複合体中のｈ５Ｄ８　Ｆａｂの共結晶構造の概観を例示する図である。ｇｐ１３０相互作用部位が、ＬＩＦの表面上にマッピングされている（濃い影付き）。
【図１３Ｂ】１００Å$^2$より大きい埋め込まれた表面積を備える塩橋及びｈ５Ｄ８残基を形成する残基を示している、ＬＩＦとｈ５Ｄ８との詳細な相互作用を例示している図である。
【図１４Ａ】５つのｈ５Ｄ８　Ｆａｂ結晶構造の重ね合わせを例示しており、様々な化学的条件において結晶化されるにもかかわらず高度の類似性度を示す図である。
【図１４Ｂ】対応のないＣｙｓ１００によって媒介されるファンデルワールス相互作用の大規模なネットワークを例示する図である。この残基は、整列しており、ＨＣＤＲ１及びＨＣＤＲ３の立体構造を成形することに関与するが、望ましくないジスルフィドスクランブリングには関与しない。残基間の間隔は、破線で示して標識した。
【図１５Ａ】ＥＬＩＳＡによるヒトＬＩＦへのｈ５Ｄ８　Ｃ１００突然変異体の結合を例示する図である。
【図１５Ｂ】ＥＬＩＳＡによるマウスＬＩＦへのｈ５Ｄ８　Ｃ１００突然変異体の結合を例示する図である。
【図１６Ａ】ｈ５Ｄ８がＯｃｔｅｔによるＬＩＦとＬＩＦＲとの結合を遮断しないことを例示する図である。ＬＩＦへのｈ５Ｄ８の連続的結合にはＬＩＦＲが続いた。

【図１６Ｂ－１６Ｃ】固定化ＬＩＦＲ又はｇｐ１３０へのＬＩＦ／ｍＡｂ複合体結合のＥＬＩＳＡ分析を例示する図である。種特異的ペルオキシダーゼのシグナルは、抗ＩｇＧ抗体（（－）及びｈ５Ｄ８に対する抗ヒト、ｒ５ｄ８及びＢ０９に対する抗ラット）に結合し、固定化ＬＩＦＲ（図１６Ｂ）又はｇｐ１３０（図１６Ｃ）コーティングプレートに結合するｍＡｂ／ＬＩＦ複合体の抗体部分を検出した。

【図１７Ａ－１７Ｂ】７２種のヒト組織におけるＬＩＦ（図１６Ａ）又はＬＩＦＲ（図１６Ｂ）のｍＲＮＡ発現を例示する図である。

【図１８Ａ－１８Ｃ】３カ所の標的病変、２カ所の直筋病変及び１カ所の骨盤後膣円蓋病変へのｈ５Ｄ８（７５０ｍｇ）治療のサイクル７（「Ｃ７」）並びに以前の放射線療法ポートの画像を示す図である。図１８Ａは、直筋＃１を示した。標的病変（１）は、左のパネルに示し、ＸＲＴ照射病変（２）は、右のパネルに示した。サイズ：３７．８ｍｍ。図１８Ｂは、直筋＃２を示した。標的病変（３）は、左のパネルに示し、ＸＲＴ照射病変（４）は、右のパネルに示した。サイズ：２４．３ｍｍ。図１８Ｃは、骨盤後膣円蓋を示している。標的病変（５）は、右のパネルに示し、ＸＲＴ照射病変（６）は、右のパネルに示した。サイズ：２５ｍｍ。

【図１９】対象０２１０－００３についての初回投与の期間に比較した飽和ＬＩＦ安定化を示す図である。

【図２０Ａ－２０Ｃ】０２０１－００３からの腫瘍生検におけるＬＩＦ阻害の潜在的作用機序を示すバイオマーカーの調節のエビデンスを示す図である。データは、ｈ５Ｄ８治療においてと比較した予備ｈ５Ｄ８治療の結果を示している。図２０Ａは、抗腫瘍免疫をＣＤ６８頻度における変化率（％）；ＣＤ８頻度における変化率（％）；及びＦｏｘｐ３頻度における変化率（％）として示している。図２０Ｂは、マクロファージ表現型特性解析をＣＤ１６３頻度における変化率（％）；ＣＤ２０６頻度における変化率（％）；及びＭＨＣＩＩ頻度における変化率（％）として示している。図２０Ｃは、ｐＳＴＡＴ３へｈ５Ｄ８治療が及ぼす効果をｐＳＴＡＴ３＋について染色された核内の変化率（％）として示している。

【図２１Ａ－２１Ｃ】対象０３０１－００３からの腫瘍生検におけるＬＩＦ阻害の潜在的作用機序を示すバイオマーカーの調節のエビデンスを示す図である。データは、ｈ５Ｄ８治療においてと比較した予備ｈ５Ｄ８治療の結果を示している。図２１Ａは、抗腫瘍免疫をＣＤ６８頻度における変化率（％）；ＣＤ８頻度における変化率（％）；及びＦｏｘｐ３頻度における変化率（％）として示している。図２１Ｂは、マクロファージ表現型特性解析をＣＤ１６３頻度における変化率（％）；ＣＤ２０５頻度における変化率（％）；及びＭＨＣＩＩ頻度における変化率（％）として示している。図２１Ｃは、ｐＳＴＡＴ３へｈ５Ｄ８治療が及ぼす効果をｐＳＴＡＴ３＋について染色された核内の変化率（％）として示している。

【図２２】対象０３０１－００４からの腫瘍生検におけるＬＩＦ阻害の作用の潜在的機序を示すバイオマーカーの調節のエビデンスを示す図である。データは、ｈ５Ｄ８治療においてと比較した予備ｈ５Ｄ８治療の結果を示している。図２２は、抗腫瘍免疫をＣＤ６８頻度における変化率（％）；ＣＤ８頻度における変化率（％）；及びＦｏｘｐ３頻度における変化率（％）として示している。

【図２３】対象０２０１－００４についての初回投与の期間に比較したＬＩＦ安定化パターンを示す図である。

【図２４】対象０２０１－００４からの腫瘍生検におけるＬＩＦ阻害の作用の潜在的機序を示すバイオマーカーの調節のエビデンスを示す図である。データは、ｈ５Ｄ８治療と比較した予備ｈ５Ｄ８治療の結果を示している。図２４は、マクロファージ表現型特性解析をＣＤ１６３頻度における変化率（％）；ＣＤ２０５頻度における変化率（％）；及びＭＨＣＩＩ頻度における変化率（％）として示している。

【図２５】対象０３０１－００２についての初回投与の期間に比較した飽和ＬＩＦ安定化を示す図である。

【図２６】用量コホート１～５の患者におけるｈ５Ｄ８曝露を示す図である。用量コホー

ト１～５における初回注入の開始時に比較して患者におけるｈ５Ｄ８血漿中レベルの幾何平均を示した。追加の治療サイクルを示した（３週間毎のｍｇ数）。各コホート内で分析した患者数は：コホート１　ｎ＝２、コホート２　ｎ＝１、コホート３　ｎ＝１０、コホート４　ｎ＝８及びコホート５　ｎ＝３であった。

【図２７Ａ－２７Ｂ】初回注入時に比較して用量コホート１～５におけるｈ５Ｄ８を用いた治療後の患者におけるＬＩＦ安定化を示す図である。図２７Ｂは、用量コホート１～４におけるｈ５Ｄ８の最初の２サイクル後の患者における総ＬＩＦレベルを示している。

【発明を実施するための形態】

【００１１】

他に定義されない限り、本明細書で使用する全ての技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同一の意味を有する。本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用する単数形「１つの（ａ）、（ａｎ）」及び「その（ｔｈｅ）」は、文脈上、そうではないとする明確な指示がない限り、複数の指示対象を含む。本明細書の「又は」との何らかの言及は、他に記載がない限り、「及び／又は」を含むことが意図されている。

【００１２】

一態様では、本明細書で記載されるのは、癌を有する個体を治療する方法であって、その個体に：（ａ）配列番号１～３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；（ｂ）配列番号４若しくは５の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；（ｃ）配列番号６～８の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；（ｄ）配列番号９若しくは１０の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；（ｅ）配列番号１１若しくは１２の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）；及び（５）配列番号１３に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含む方法であり：ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇ（ミリグラム）の用量で個体に投与される方法である。

【００１３】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、癌を有する個体を治療する方法であって、その個体に：（ａ）配列番号４１、４２、４４若しくは６６の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖可変領域（ＶＨ）配列、及び（ｂ）配列番号４５～４８の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含む方法であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。

【００１４】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、癌を有する個体を治療する方法であって、その個体に：（ａ）配列番号５７～６０若しくは６７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖配列、及び（ｂ）配列番号６１～６４の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖配列を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体を投与するステップを含む方法であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量で個体に投与される。

【００１５】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、個体における癌を治療する際に使用するた

めの医薬製剤であって、医薬製剤は、薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤及び組み換え抗体を含み、組み換え抗体は、白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合し、及び：（ａ）配列番号１～３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；（ｂ）配列番号４若しくは５の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；（ｃ）配列番号６～８の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；（ｄ）配列番号９若しくは１０の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；（ｅ）配列番号１１若しくは１２の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）；及び（ｆ）配列番号１３に記載のアミノ酸配列を含む免疫グロブリン軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）を含む医薬製剤であり：ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。

【００１６】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、個体における癌を治療する際に使用するための医薬製剤であって、医薬製剤は、薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤及び組み換え抗体を含み、組み換え抗体は、白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合し、及び：（ａ）配列番号４１、４２、４４若しくは６６の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖可変領域（ＶＨ）配列、及び（ｂ）配列番号４５～４８の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を含む医薬製剤であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。

【００１７】

別の態様では、本明細書で記載されるのは、個体における癌を治療する際に使用するための医薬製剤であって、医薬製剤は、薬学的に許容される賦形剤、担体若しくは希釈剤及び組み換え抗体を含み、組み換え抗体は、白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合し、及び：（ａ）配列番号５７～６０若しくは６７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖配列、及び（ｂ）配列番号６１～６４の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖配列を含む医薬製剤であり、ここで組み換え抗体は、約７５～約２０００ｍｇの用量でその個体に投与される。

【００１８】

他に記載がない限り、本明細書で使用する用語「約」は、記載した量の少なくとも１０％多いか少ない量を意味する。

【００１９】

本明細書で使用する用語「個体」、「対象」及び「患者」は、互換的に使用され、腫瘍、癌又は他の新生物を有すると診断された、又はそれらに罹患していると疑われるヒトを含む。

【００２０】

本明細書で使用する用語「治療する」若しくは「治療するステップ」は、個体の生理学的若しくは疾患状態と関連する少なくとも１つの徴候若しくは症状を緩和するために設計若しくは意図された前記生理学的若しくは疾患状態への介入を意味する。本明細書で記載される癌に関して治療する若しくは治療するステップは、完全緩解、部分奏効、治療される癌若しくは腫瘍の進行の遅延、腫瘍サイズ若しくは腫瘍負荷の減少又は腫瘍若しくは腫瘍負荷の増殖の遅延を誘導することが意図された介入を指す。治療するステップは、癌若しくは腫瘍の転移若しくは悪性度を減少させることが意図された介入も更に意味する。当業者であれば、疾患に罹患した個体の不均一な集団を前提にすると、必ずしも全個体が所定の治療に同等に応答する、又は全く応答しないことを認識するであろう。それでも、こ

れらの個体は治療されると考えられる。成功が得られない治療は、一般に、疾患の進行及び様々な治療薬を用いた追加の治療の必要性を生じさせる。所定の態様では、本明細書に記載される抗体及び方法は、癌の緩解を維持するため、又は治療された癌に関して同一の癌若しくは異なる癌の再発を防止するために使用できる。

【００２１】

本明細書で使用する「チェックポイント阻害剤」は、生体内のＴ細胞の抗腫瘍／抗癌活性を負に調節する、生体によって生成される生物学的分子（「チェックポイント分子」）を阻害する薬物を意味する。チェックポイント分子は、腫瘍、腫瘍微細環境内の免疫細胞又は腫瘍微細環境内には存在しないが血流内又はリンパ系内に存在する免疫細胞によって生成され得る。チェックポイント分子には、制限なく、ＰＤ－１、ＰＤＬ－１、ＰＤＬ－２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ－３、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＳＩＧＬＥＣ７、ＰＶＲ、ＴＩＧＩＴ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７Ｈ４及びＮＯＸ２が挙げられる。

【００２２】

他に記載されない限り、本明細書で使用する用語「抗体」には、抗体の抗原結合フラグメント、即ち全長抗体によって結合された抗原に特異的に結合する能力を維持する抗体フラグメント、例えば、１つ以上のＣＤＲ領域を維持するフラグメントが挙げられる。抗体フラグメントの例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２及びＦｖフラグメント；ディアボディ；直鎖状抗体；重鎖抗体、一本鎖抗体分子、例えば、一本鎖可変領域フラグメント（ｓｃＦｖ）、ナノボディ及び例えば二重特異性抗体等の別個の特異性を備える抗体フラグメントから形成された多重特異性抗体が挙げられるが、それらに限定されない。所定の実施形態では、抗体は、個体の抗体への免疫応答を減少させるような方法でヒト化される。例えば、抗体は、キメラ、例えばヒト定常領域を備える非ヒト可変領域、又は、例えばヒト定常領域及び可変領域フレームワーク配列を備える非ヒトＣＤＲ領域であるＣＤＲグラフト化領域であり得る。所定の実施形態では、抗体は、ヒト化の後に脱免疫化される。脱免疫化は、抗体の定常領域内での１つ以上のＴ細胞エピトープを除去すること、又は突然変異させることを含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、モノクローナルである。本明細書で使用する「組み換え抗体」は、２つの異なる種又は２つの異なる起源に由来する１つのアミノ酸配列を含む抗体であり、合成分子、例えば、非ヒトＣＤＲ領域及びヒトフレームワーク若しくは定常領域を含む抗体を含む。所定の実施形態では、本発明の組み換え抗体は、組み換えＤＮＡ分子から生成される、又は合成される。

【００２３】

用語「癌」及び「腫瘍」は、無秩序な細胞増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的状態に関する。癌は、１群の細胞が制御されない増殖又は望ましくない増殖を提示する１クラスの疾患である。癌細胞は、他の場所にも伝播することができ、これは転移の形成をもたらし得る。身体内での癌細胞の広がりは、例えば、リンパ液又は血液を介して発生し得る。制御されない増殖、侵入及び転移形成は、更に癌の悪性特性と呼ばれる。これらの悪性特性は、典型的には侵襲又は転移しない良性腫瘍から癌を識別する。

【００２４】

参照ポリペプチド若しくは抗体配列に比較したパーセント（％）配列同一性は、最大のパーセント配列同一性を得るため、及び配列同一性の一部として保存的置換を全く考慮せずに、必要があれば、配列を整列させ、ギャップを導入した後に、参照ポリペプチド若しくは抗体配列内のアミノ酸残基と同一である候補配列内のアミノ酸残基の百分率である。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、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ又はＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェア等の公的に利用可能なコンピューターソフトウェアを使用し、公知である様々な方法で達成することができる。配列を整列させるための適切なパラメーターは、比較される配列の全長に渡って最高のアラインメントを達成するために必要とされるアルゴリズムを含めて決定することができる。しかし、本明細書のためには、％アミノ酸配列同一性値は、配列比較用コンピュータープログラムＡＬＩＧＮ－２を使用して生成される。ＡＬＩＧＮ－２配列比較用コンピュータープログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．によって作製され

、ソースコードは、著作権登録番号第ＴＸＵ５１００８７号の下で登録されている米国著作権局、Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　Ｄ．Ｃ．，２０５５９においてユーザー文書と共に提出されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆ．から公的に入手できる、又はソースコードから収集することができる。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、デジタルＵＮＩＸ　Ｖ４．０Ｄを含むＵＮＩＸオペレーティングシステム上で使用するために収集されなければならない。全配列比較パラメーターは、ＡＬＩＧＮ－２プログラムによって設定され、変動しない。

【００２５】

ＡＬＩＧＮ－２がアミノ酸配列比較のために使用される状況では、所定のアミノ酸配列Ａの所定のアミノ酸配列Ｂに対する％アミノ酸配列同一性（又は所定のアミノ酸配列Ｂとの所定の％アミノ酸配列同一性を有する、又は含む所定のアミノ酸配列Ａであると言うことができる）は、次のように計算される：比率Ｘ／Ｙの１００倍（式中、Ｘは、Ａ及びＢのプログラムのアラインメントにおいて配列アラインメントプログラムＡＬＩＧＮ－２によって完全な一致であるとスコア付けされたアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂにおけるアミノ酸残基の総数である）。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合は、Ａ対Ｂの％アミノ酸配列同一性がＢ対Ａの％アミノ酸配列同一性と等しくないことは理解されるであろう。他に特別に記載されない限り、本明細書で使用する全％アミノ酸配列同一性は、ＡＬＩＧＮ－２コンピュータープログラムを使用して直前の段落において記載したように入手される。

【００２６】

用語「エピトープ」には、例えば抗体等の抗原結合タンパク質によって結合され得る任意の決定基が含まれる。エピトープは、抗原を標的とする抗原結合タンパク質によって結合される抗原の一領域であり、その抗原がタンパク質である場合は、抗原結合タンパク質に直接接触する特異的アミノ酸を含む。最も頻回には、エピトープはタンパク質上に存在するが、一部の例では、単糖類又は脂質等の他の種類の分子上に存在することもできる。エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基若しくはスルホニル基等の分子の化学的に活性な表面基を含んでいてもよく、特定の三次元構造特性及び／又は特定の電荷特性を有し得る。一般に、特定に標的抗原に対して特異的な抗体は、タンパク質及び／又は高分子の複合混合物中の標的抗原上のエピトープを優先的に認識するであろう。

【００２７】

本明細書に記載される抗体の構造的属性

相補性決定領域（「ＣＤＲ」）は、抗体の抗原結合特異性に対して主として責任を負う免疫グロブリン（抗体）可変領域の一部である。ＣＤＲ領域は、抗体が同一標的又はエピトープに特異的に結合する場合でさえ、１つの抗体から次の抗体へ高度に可変性である。重鎖可変領域は、略称のＶＨ－ＣＤＲ１、ＶＨ－ＣＤＲ２及びＶＨ－ＣＤＲ３である３つのＣＤＲ領域を含み；並びに軽鎖可変領域は、略称のＶＬ－ＣＤＲ１、ＶＬ－ＣＤＲ２及びＶＬ－ＣＤＲ３である３つのＣＤＲ領域を含む。これらのＣＤＲ領域は、ＣＤＲ１を最もＮ末端に及びＣＤＲ３を最もＣ末端にして可変領域内で連続的に並んでいる。ＣＤＲの間に組み入れられているのは、この構造に寄与し、ＣＤＲ領域よりもはるかに低い変動性を提示するフレームワーク領域である。重鎖可変領域は、略称のＶＨ－ＦＲ１、ＶＨ－ＦＲ２、ＶＨ－ＦＲ３及びＶＨ－ＦＲ４である４つのフレームワーク領域を含み；並びに軽鎖可変領域は、略称のＶＬ－ＦＲ１、ＶＬ－ＦＲ２、ＶＬ－ＦＲ３及びＶＬ－ＦＲ４である４つのフレームワーク領域を含む。２本の重鎖及び軽鎖を含む完全な全長サイズの二価抗体は：３つの固有の重鎖ＣＤＲ及び３つの固有の軽鎖ＣＤＲを含む１２のＣＤＲ；４つの固有の重鎖ＦＲ領域及び４つの固有の軽鎖ＦＲ領域を含む１６のＦＲ領域を含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、最小限で３つの重鎖ＣＤＲを含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、最小限で３つの軽鎖ＣＤＲを含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、最小限で３つの重鎖ＣＤＲ及び３つの軽鎖ＣＤＲを含む。所定のＣＤＲ又はＦＲの正確なアミノ酸配列境界は、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１），“Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏ

ｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，”５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（「Ｋａｂａｔ」ナンバリングスキーム）；Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ ｅｔ ａｌ．，（１９９７）ＪＭＢ ２７３，９２７－９４８（「Ｃｈｏｔｈｉａ」ナンバリングスキーム）；ＭａｃＣａｌｌｕｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６２：７３２－７４５（１９９６），“Ａｎｔｉｂｏｄｙ－ａｎｔｉｇｅｎ ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ：Ｃｏｎｔａｃｔ ａｎａｌｙｓｉｓ ａｎｄ ｂｉｎｄｉｎｇ ｓｉｔｅ ｔｏｐｏｇｒａｐｈｙ，”（「Ｃｏｎｔａｃｔ」ナンバリングスキーム）；Ｌｅｆｒａｎｃ ＭＰ ｅｔ ａｌ．，“ＩＭＧＴ ｕｎｉｑｕｅ ｎｕｍｂｅｒｉｎｇ ｆｏｒ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ａｎｄ Ｔ ｃｅｌｌ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎｓ ａｎｄ Ｉｇ ｓｕｐｅｒｆａｍｉｌｙ Ｖ－ｌｉｋｅ ｄｏｍａｉｎｓ，“Ｄｅｖ Ｃｏｍｐ Ｉｍｍｕｎｏｌ，２００３ Ｊａｎ；２７（１）：５５－７７（「ＩＭＧＴ」ナンバリングスキーム）；及びＨｏｎｅｇｇｅｒ Ａ ａｎｄ Ｐｌｕｅｃｋｔｈｕｎ Ａ，“Ｙｅｔ ａｎｏｔｈｅｒ ｎｕｍｂｅｒｉｎｇ ｓｃｈｅｍｅ ｆｏｒ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎｓ：ａｎ ａｕｔｏｍａｔｉｃ ｍｏｄｅｌｉｎｇ ａｎｄ ａｎａｌｙｓｉｓ ｔｏｏｌ，”Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ，２００１ Ｊｕｎ ８；３０９（３）：６５７－７０，（「Ａｈｏ」ナンバリングスキーム）によって記載されたものを含む多数の周知のスキームの何れかを使用して容易に決定することができる。ＣＤＲは、本明細書では様々なナンバリングシステム、本明細書ではＫａｂａｔ、ＩＭＧＴ、Ｃｈｏｔｈｉａナンバリングシステム又はこれら３種の任意の組み合わせを用いて提供される可変配列から同定される。所定のＣＤＲ又はＦＲの境界は、同定のために使用するスキームに依存して変動する可能性がある。例えば、Ｋａｂａｔスキームは、構造的アラインメントに基づくが、他方Ｃｈｏｔｈｉａスキームは、構造情報に基づく。Ｋａｂａｔ及びＣｈｏｔｈｉａ両方のスキームについてのナンバリングは、最も一般的な抗体領域配列長に基づいており、挿入文字、例えば「３０ａ」が付随する挿入及び一部の抗体において出現する欠失を伴う。これら２つのスキームは、異なる位置で所定の挿入及び欠失（「インデル」）を配置し、異なるナンバリングを生じさせる。Ｃｏｎｔａｃｔスキームは、複雑な結晶構造の分析に基づいており、多くの態様においてＣｈｏｔｈｉａナンバリングスキームと類似である。所定の実施形態では、ＣＤＲは、ＩＭＧＴ、Ｃｈｏｔｈｉａ、Ｋａｂａｔ、Ｃｏｎｔａｃｔ及びＡｈｏ法の任意の組み合わせによって定義することができる。

【００２８】

用語「可変領域」若しくは「可変ドメイン」は、抗体を抗原に結合させることに関係する抗体重鎖若しくは軽鎖のドメインを指す。自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有し、各ドメインは、４つの保存フレームワーク領域（ＦＲ）及び３つのＣＤＲを含む（例えば、Ｋｉｎｄｔ ｅｔ ａｌ．Ｋｕｂｙ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６ｔｈ ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏ．，ｐａｇｅ ９１（２００７）を参照されたい）。単一ＶＨ又はＶＬドメインは、抗原結合特異性を付与するために十分な可能性がある。更に、特定抗原に結合する抗体は、相補的ＶＬ若しくはＶＨドメインそれぞれのライブラリーをスクリーニングするためにＶＨ若しくはＶＬドメインを使用して抗原に結合する抗体から単離することができる（例えば、Ｐｏｒｔｏｌａｎｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５０：８８０－８８７（１９９３）；Ｃｌａｒｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）を参照されたい）。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、ラット起源の可変領域を含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、ラット起源のＣＤＲを含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、マウス起源の可変領域を含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、マウス起源のＣＤＲを含む。

【００２９】

例えば、抗体親和性を改善するために、ＣＤＲにおいて変化（例えば、置換）を加えることができる。そのような変化は、体性成熟中の高い突然変異率を備えるコドンをコーディングするＣＤＲにおいて加えることができ（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏ

ｄｓ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９－１９６（２００８）を参照されたい）、生じた変異体は、結合親和性について試験することができる。親和性成熟（例えば、エラープローンＰＣＲ、鎖シャッフリング、ＣＤＲのランダム化又はオリゴヌクレオチド指定突然変異誘発を使用して）を使用すると、抗体親和性を改善することができる（例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（２００１）を参照されたい）。抗原結合に関係するＣＤＲ残基は、例えば、アラニンスキャニング突然変異誘発又はモデリングを使用して特異的に同定することができる（例えば、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５（１９８９）を参照されたい）。ＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３は特に、頻回に標的化される。又は、若しくは追加して、抗原－抗体複合体の結晶構造は、抗体と抗原との間の接触点を同定するために分析される。そのような接触残基及び隣接残基は、置換の候補として標的化する、又は排除することができる。変異体は、スクリーニングすると、それらが所望の特性を含有するかどうかを決定することができる。

【００３０】

所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、可変領域に加えて定常領域を含む。重鎖定常領域（$C_H$）は、可変領域のＣ末端である全長重鎖ポリペプチドのＣ末端に位置する、$C_H1$、$C_H2$、$C_H3$及び$C_H4$と略記される４つのドメインを含む。軽鎖定常領域（$C_L$）は、$C_H$よりはるかに小さく、可変領域のＣ末端である全長軽鎖ポリペプチドのＣ末端に位置する。定常領域は、高度に保存されており、僅かに異なる機能及び特性と関連する様々なアイソタイプを含む。所定の実施形態では、定常領域は、標的抗原へ結合する抗体にとって必須ではない。所定の実施形態では、抗体の定常領域、重鎖及び軽鎖の両方が、抗体結合にとって必須ではない。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、軽鎖定常領域、重鎖定常領域の１つ以上又はその両方が欠如する。大多数のモノクローナル抗体は、更に４つのサブクラスＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$及びＩｇＧ$_4$に分けられる、ＩｇＧアイソタイプのモノクローナル抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、任意のＩｇＧサブクラスを含む。所定の実施形態では、ＩｇＧサブクラスは、ＩｇＧ$_1$を含む。所定の実施形態では、ＩｇＧサブクラスは、ＩｇＧ$_2$を含む。所定の実施形態では、ＩｇＧサブクラスは、ＩｇＧ$_3$を含む。所定の実施形態では、ＩｇＧサブクラスは、ＩｇＧ$_4$を含む。

【００３１】

抗体は、相補体及びＦｃ受容体に結合することに責任を負うフラグメント結晶化領域（Ｆｃ領域）を含む。Ｆｃ領域は、抗体分子の$C_H2$、$C_H3$及び$C_H4$領域を含む。抗体のＦｃ領域は、相補体及び抗体依存性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）を活性化することに責任を負っている。Ｆｃ領域は、抗体の血清半減期に更に寄与する。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域は、相補体媒介性細胞溶解を促進する１つ以上のアミノ酸置換を含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域は、ＡＤＣＣを促進する１つ以上のアミノ酸置換を含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域は、相補体媒介性細胞溶解を減少させる１つ以上のアミノ酸置換を含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域は、Ｆｃ受容体への抗体の結合を増加させる１つ以上のアミノ酸置換を含む。所定の実施形態では、Ｆｃ受容体は、ＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）、ＦｃγＲＩＩＡ（ＣＤ３２）、ＦｃγＲＩＩＩＡ（ＣＤ１６ａ）、ＦｃγＲＩＩＩＢ（ＣＤ１６ｂ）又はそれらの任意の組み合わせを含む。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域は、抗体の血清半減期を増加させる１つ以上のアミノ酸置換を含む。所定の実施形態では、抗体の血清半減期を増加させる１つ以上のアミノ酸置換は、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への抗体の親和性を増加させる。

【００３２】

一部の実施形態では、本開示の抗体は、ｉｎ ｖｉｖｏの抗体の半減期が重要ではあるが、それでも所定のエフェクター機能（相補体及びＡＤＣＣ等）は不必要又は有害である用途にとって所望の候補にさせる、一部の、しかし全部ではないエフェクター機能を有す

る変異体である。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及び／又はｉｎ　ｖｉｖｏ細胞傷害性アッセイを実施すると、ＣＤＣ及び／又はＡＤＣＣ活性の減少／枯渇を確証することができる。例えば、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実施すると、抗体にはＦｃγＲ結合が欠如している（従って、おそらくＡＤＣＣ活性が欠如している）が、しかしＦｃＲｎ結合能力を維持していることを確証することができる。対象の分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイの非限定的例は、米国特許第５，５００，３６２号明細書及び同第５，８２１，３３７号明細書に記載されている。又は、非放射性アッセイ法（例えば、ＡＣＴＩ（商標）及びＣｙｔｏＴｏｘ　９６（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ）を使用することができる。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、単球、マクロファージ及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が挙げられる。

【００３３】

抗体は、増加した半減期及び新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への改善された結合を有し得る（例えば、米国特許出願公開第２００５／００１４９３４号明細書を参照されたい）。このような抗体は、ＦｃＲｎへのＦｃ領域の結合を改善するその中の１つ以上の置換を備えるＦｃ領域を含むことができ、ＥＵナンバリングシステムに従って１つ以上のＦｃ領域残基：２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４又は４３４での置換を備えるそれらのＦｃ領域を含むことができる（例えば、米国特許第７，３７１，８２６号明細書を参照されたい）。Ｆｃ領域変異体の他の例もまた、企図されている（例えば、Ｄｕｎｃａｎ＆Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ　３２２：７３８－４０（１９８８）；米国特許第５，６４８，２６０号明細書及び同第５，６２４，８２１号明細書；並びに国際公開第９４／２９３５１号パンフレットを参照されたい）。

【００３４】

臨床において有用な抗体は、ヒト個体における免疫原性を減少させるために「ヒト化される」ことが多い。ヒト化抗体は、モノクローナル抗体療法の安全性及び有効性を改善する。ヒト化の１つの一般的方法は、任意の適切な動物（例えば、マウス、ラット、ハムスター）においてモノクローナル抗体を生成し、定常領域をヒト定常領域で置換することであり、この方法で改変された抗体は、「キメラ」と呼ばれる。別の一般的方法は、非ヒトＶ－ＦＲをヒトＶ－ＦＲで置換する「ＣＤＲグラフト化」である。ＣＤＲグラフト化法では、ＣＤＲ領域を除く全残基は、ヒト起源の残基である。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、ヒト化される。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、キメラである。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、ＣＤＲグラフト化される。

【００３５】

ヒト化は、一般に、抗体の全親和性を減少させる、又は抗体の全親和性に殆ど影響を及ぼさない。本明細書で記載されるのは、ヒト化後にそれらの標的に対する予想外により大きな親和性を有する抗体である。所定の実施形態では、ヒト化は、抗体に対する親和性を１０％増加させる。所定の実施形態では、ヒト化は、抗体に対する親和性を２５％増加させる。所定の実施形態では、ヒト化は、抗体に対する親和性を３５％増加させる。所定の実施形態では、ヒト化は、抗体に対する親和性を５０％増加させる。所定の実施形態では、ヒト化は、抗体に対する親和性を６０％増加させる。所定の実施形態では、ヒト化は、抗体に対する親和性を７５％増加させる。所定の実施形態では、ヒト化は、抗体に対する親和性を１００％増加させる。親和性は、適切には表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）を使用して測定される。所定の実施形態では、親和性は、グリコシル化ヒトＬＩＦを使用して測定される。所定の実施形態では、グリコシル化ヒトＬＩＦは、ＳＰＲチップの表面に固定化される。所定の実施形態では、抗体は、約３００ナノモル未満、２００ナノモル、１５０ナノモル、１２５ナノモル、１００ナノモル、９０ナノモル、８０ナノモル、７０ナノモル、６０ナノモル、５０ナノモル、４０ナノモル未満の$K_D$で結合する。

【００３６】
本開示の抗体
本明細書に記載した抗体は、ヒトＬＩＦをコードするＤＮＡを用いて免疫したラットから生成した。
【００３７】
所定の実施形態では、本明細書で記載されるのは、配列番号１～３の何れか１つに記載のＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号４又は５の何れか１つに記載のＶＨ－ＣＤＲ２及び配列番号６～８の何れか１つに記載のＶＨ－ＣＤＲ３を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体（５Ｄ８）である。所定の実施形態では、本明細書で記載されるのは、配列番号９若しくは１０の何れか１つに記載のＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号１１若しくは１２に記載のＶＬ－ＣＤＲ２及び配列番号１３に記載のＶＬ－ＣＤＲ３を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書で記載されるのは、配列番号１～３の何れか１つに記載のＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号４若しくは５の何れか１つに記載のＶＨ－ＣＤＲ２及び配列番号６～８の何れか１つに記載のＶＨ－ＣＤＲ３、配列番号９若しくは１０の何れか１つに記載のＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号１１若しくは１２に記載のＶＬ－ＣＤＲ２及び配列番号１３に記載のＶＬ－ＣＤＲ３を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、抗体は、ヒトＬＩＦに特異的に結合する。
【００３８】
所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ４領域アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号２４に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域は、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％若しくは９５％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８

％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域及び１つ以上のヒト軽鎖領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列、配列番号２４に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４領域アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号２４に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域は、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域及び１つ以上のヒト軽鎖領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列、配列番号２４に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、抗体は、ヒトＬＩＦに特異的に結合する。

【００３９】

５Ｄ８

本明細書に記載した抗体は、ヒトＬＩＦをコードするＤＮＡを用いて免疫したラットから生成した。１つのそのような抗体（５Ｄ８）をクローン化して（Ｋａｂａｔ及びＩＭＧＴ　ＣＤＲナンバリング法の組み合わせを使用して）シークエンシングすると、次のアミ

ノ酸配列：配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に対応するＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に対応するＶＨ－ＣＤＲ２、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に対応するＶＨ－ＣＤＲ３、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に対応するＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に対応するＶＬ－ＣＤＲ２及び配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に対応するＶＬ－ＣＤＲ３を含むＣＤＲを含む。この抗体は、ＣＤＲグラフト化によってヒト化されており、ヒト化バージョンは、ｈ５Ｄ８と呼ばれる。

【００４０】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のものと少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のものと少なくとも８０％、９０％若しくは９５％同一であるＶＨ－ＣＤＲ２及び配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のものと少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＨ－ＣＤＲ３を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のものと少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のものと少なくとも８０％同一であるＶＬ－ＣＤＲ２及び配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のものと少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＬ－ＣＤＲ３を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書で記載されるのは、配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のＶＨ－ＣＤＲ２、配列番号６（ＴＣＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のＶＨ－ＣＤＲ３、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のＶＬ－ＣＤＲ２及び配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のＶＬ－ＣＤＲ３を含むＩＬＦに特異的に結合する抗体である。所定の保存的アミノ酸置換は、本開示のＣＤＲのアミノ酸配列において想定されている。所定の実施形態では、抗体は、配列番号１、４、６、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３又は４つのアミノ酸が異なるＣＤＲを含む。所定の実施形態では、抗体は、配列番号１、４、６、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と１、２、３若しくは４つのアミノ酸が異なり、結合親和性に１０％超、２０％超若しくは３０％超の影響を及ぼさないＣＤＲを含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ４領域アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号２４に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配

列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域は、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域及び１つ以上のヒト軽鎖領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列、配列番号２４に記載のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列の全てを含む。所定の実施形態では、抗体は、ヒトＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４領域アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号２４に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域は、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域及び１つ以上のヒト軽鎖領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に

記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列、配列番号２４に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、抗体は、ヒトＬＩＦに特異的に結合する。

【００４１】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のものと少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＨ－ＣＤＲ１アミノ酸配列、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のものと少なくとも８０％、９０％若しくは９５％同一であるＶＨ－ＣＤＲ２アミノ酸配列及び配列番号８（ＴＳＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のものと少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＨ－ＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のアミノ酸配列と少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＬ－ＣＤＲ１アミノ酸配列、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のアミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるＶＬ－ＣＤＲ２アミノ酸配列及び配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のアミノ酸配列と少なくとも８０％若しくは９０％同一であるＶＬ－ＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号１（ＧＦＴＦＳＨＡＷＭＨ）に記載のＶＨ－ＣＤＲ１アミノ酸配列、配列番号４（ＱＩＫＡＫＳＤＤＹＡＴＹＹＡＥＳＶＫＧ）に記載のＶＨ－ＣＤＲ２アミノ酸配列、配列番号８（ＴＳＷＥＷＤＬＤＦ）に記載のＶＨ－ＣＤＲ３アミノ酸配列、配列番号９（ＲＳＳＱＳＬＬＤＳＤＧＨＴＹＬＮ）に記載のＶＬ－ＣＤＲ１アミノ酸配列、配列番号１１（ＳＶＳＮＬＥＳ）に記載のＶＬ－ＣＤＲ２アミノ酸配列及び配列番号１３（ＭＱＡＴＨＡＰＰＹＴ）に記載のＶＬ－ＣＤＲ３アミノ酸配列を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の保存的アミノ酸置換は、本開示のＣＤＲのアミノ酸配列において想定されている。所定の実施形態では、抗体は、配列番号１、４、８、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３又は４つのアミノ酸が異なるＣＤＲを含む。所定の実施形態では、抗体は、配列番号１、４、８、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と１、２、３若しくは４つのアミノ酸が異なり、結合親和性に１０％超、２０％超若しくは３０％超の影響を及ぼさないＣＤＲを含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ４領域アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号２４に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくと

も約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域は、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域及び１つ以上のヒト軽鎖領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列、配列番号２４に記載のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列の全てを含む。所定の実施形態では、抗体は、ヒトＬＩＦに特異的に結合する。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号１４～１７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１８若しくは１９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０～２２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号２３～２５の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４領域アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号２４に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、ＬＩＦに特異的に結合する抗体は：配列番号２６～２９の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３０～３３の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３４～３７の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列又は配列番号３８～４０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト軽鎖フレームワーク領域は、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、１つ以上のヒト重鎖フレームワーク領域及び１つ以上のヒト軽鎖領域は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号１９に記載のアミノ酸配列と同一である

ＶＨ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号２０に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ３アミノ酸配列、配列番号２４に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＨ－ＦＲ４アミノ酸配列、配列番号２７に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ１アミノ酸配列、配列番号３１に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ２アミノ酸配列、配列番号３５に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ３アミノ酸配列及び配列番号３８に記載のアミノ酸配列と同一であるＶＬ－ＦＲ４アミノ酸配列を含む。所定の実施形態では、抗体は、ヒトＬＩＦに特異的に結合する。

【００４２】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号４１、４２及び４４の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％又は約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号４１、４２及び４４の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号４５～４８の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％又は約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号４５～４８の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、抗体は、ヒトＬＩＦに特異的に結合する。

【００４３】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号４２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖可変領域及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号４２に記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖可変領域及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。

【００４４】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号６６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖可変領域及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号６６に記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖可変領域及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖可変領域を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。

【００４５】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号５７～６０の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号６１～６４の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号５７～６０の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号６１～６４の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。

【００４６】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号５８に記載のアミノ酸配列

と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号６２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号５８に記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号６２に記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号６７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号６２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号６７に記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号６２に記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。

【００４７】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号３に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；配列番号４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；配列番号７に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；配列番号９に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；及び配列番号１１に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）及び配列番号１３に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体である。

【００４８】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号２に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；配列番号５に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；配列番号６に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；配列番号１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；及び配列番号１２に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）；及び配列番号１３に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体である。所定の保存的アミノ酸置換は、本開示のＣＤＲのアミノ酸配列において想定されている。所定の実施形態では、抗体は、配列番号２、５、６、１０、１２及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３又は４つのアミノ酸が異なるＣＤＲを含む。所定の実施形態では、抗体は、配列番号２、５、６、１０、１２及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３若しくは４つのアミノ酸が異なり、結合親和性に１０％超、２０％超若しくは３０％超の影響を及ぼさないＣＤＲを含む。

【００４９】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号３に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域１（ＶＨ－ＣＤＲ１）；配列番号４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域２（ＶＨ－ＣＤＲ２）；配列番号７に記載のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域３（ＶＨ－ＣＤＲ３）；配列番号９に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域１（ＶＬ－ＣＤＲ１）；及び配列番号１１に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域２（ＶＬ－ＣＤＲ２）及び配列番号１３に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域３（ＶＬ－ＣＤＲ３）を含む白血病抑制因子（ＬＩＦ）に特異的に結合する組み換え抗体である。所定の保存的アミノ酸置換は、本開示のＣＤＲのアミノ酸配列において想定されている。所定の実施形態では、抗体は、配列番号３、４、７、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３又は４つのアミノ酸が異なるＣＤＲを含む。所定の実施形態では、抗体は、配列番号３、４、７、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３若しくは４つのアミノ酸が異なり、結合親和

性に１０％超、２０％超若しくは３０％超の影響を及ぼさないＣＤＲを含む。
【００５０】
所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号４９～５２の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号５３～５６の何れか１つに記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号４９～５２の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号５３～５６の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。
【００５１】
所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号５０に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号５４に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号５０に記載のアミノ酸配列を含むヒト化重鎖及び配列番号５４の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含むヒト化軽鎖を含むＬＩＦに特異的に結合する抗体である。
【００５２】
治療上有用なＬＩＦ抗体に結合されたエピトープ
本明細書に記載されるのは、結合するとＬＩＦ生物活性（例えば、ＳＴＡＴ３リン酸化）を阻害し、ｉｎ　ｖｉｖｏでの腫瘍増殖を阻害する、ヒトＬＩＦの固有のエピトープである。本明細書に記載されるエピトープは、ヒトＬＩＦタンパク質の２つの別個の位相ドメイン（αヘリックスＡ及びＣ）中に存在する２本の不連続な一続きのアミノ酸（ヒトＬＩＦの残基１３～残基３２及び残基１２０～１３８）から成る。この結合は、弱い（ファンデルワールス引力）、中間（水素結合）及び強い（塩橋）相互作用である。所定の実施形態では、接触残基は、抗ＬＩＦ抗体上に残基を備える水素結合を形成するＬＩＦ上の残基である。所定の実施形態では、接触残基は、抗ＬＩＦ抗体上に残基を備える塩橋を形成するＬＩＦ上の残基である。所定の実施形態では、接触残基は、ファンデルワールス引力を生じさせ、抗ＬＩＦ抗体における残量の少なくとも５、４若しくは３オングストローム（Å）を備える、及び少なくとも５、４若しくは３Å内にあるＬＩＦ上の残基である。
【００５３】
所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の任意の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０個に結合するＣＤＲを含む単離抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する単離抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する単離抗体である。所定の実施形態では、抗体は、強い、又は中間的な相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、強い相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、ＬＩＦのヘリックスＡ及びＣと相互作用する。所定の実施形態では、抗体は、ｇｐ１３０とのＬＩＦ相互作用を遮断

する。
【００５４】
所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の任意の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０個の残基に結合する配列番号１、４、６、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を備えるＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する配列番号１、４、６、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を備えるＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、抗体は、強い、又は中間的な相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、強い相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。
【００５５】
所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の任意の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０個の残基に結合する配列番号１、４、８、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を備えるＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する配列番号１、４、８、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を備えるＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、抗体は、強い、又は中間的な相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、強い相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。
【００５６】
所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号１、４、６、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３、４若しくは５個のアミノ酸が異なり、及び下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の任意の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０個に結合するＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号１、４、６、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３、４若しくは５個のアミノ酸が異なり、及び下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の全てに結合するＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、抗体は、強い、又は中間的な相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、強い相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。
【００５７】
所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号１、４、８、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３、４若しくは５個のアミノ酸が異なり、及び下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の任意の１、２、３、４

、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０個に結合するＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは、配列番号１、４、８、９、１１及び１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列とは１、２、３、４若しくは５個のアミノ酸が異なり、及び下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の全てに結合するＣＤＲを含む抗体である。所定の実施形態では、抗体は、強い、又は中間的な相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、強い相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。

【００５８】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号４２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化重鎖可変領域アミノ酸配列及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化軽鎖可変領域アミノ酸配列を含むＬＩＦに特異的に結合し、及び下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の任意の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０個に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号４２に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化重鎖可変領域アミノ酸配列及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化軽鎖可変領域アミノ酸配列を含むＬＩＦに特異的に結合し、及び下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する抗体である。所定の実施形態では、抗体は、強い、又は中間的な相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、強い相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。

【００５９】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号６６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化重鎖可変領域アミノ酸配列及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化軽鎖可変領域アミノ酸配列を含むＬＩＦに特異的に結合し、及び下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５若しくはＨ１３８の任意の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０個に結合する抗体である。所定の実施形態では、本明細書に記載されるのは：配列番号６６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化重鎖可変領域アミノ酸配列及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約８０％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％若しくは約９９％同一であるヒト化軽鎖可変領域アミノ酸配列を含むＬＩＦに特異的に結合し、下記の残基：配列番号６８のＡ１３、Ｉ１４、Ｒ１５、Ｈ１６、Ｐ１７、Ｃ１８、Ｈ１９、Ｎ２０、Ｑ２５、Ｑ２９、Ｑ３２、Ｄ１２０、Ｒ１２３、Ｓ１２７、Ｎ１２８、Ｌ１３０、Ｃ１３１、Ｃ１３４、Ｓ１３５又はＨ１３８の全てに結合する抗体である。所定の実施形態では、抗体は、強い、又は中間的な相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。所定の実施形態では、抗体は、強い相互作用に抗体と共に参加する残基にのみ結合する。

【００６０】

治療適応

所定の実施形態では、本明細書に開示される抗体は、細胞内のＬＩＦシグナル伝達を阻害する。所定の実施形態では、Ｕ－２５１細胞内での血清飢餓条件下での抗体の生物学的阻害についてのＩＣ$_{50}$は、約１００、７５、５０、４０、３０、２０、１０、５又は１ナノモル以下である。所定の実施形態では、Ｕ－２５１細胞内での血清飢餓条件下での抗体の生物学的阻害についてのＩＣ$_{50}$は、約９００、８００、７００、６００、５００、４００、３００、２００又は１００ナノモル以下である。

【００６１】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるｈ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８の用量は、ＬＩＦを発現する腫瘍及び癌を治療するために有用である。所定の実施形態では、本開示の抗体を用いて治療される個体は、治療のためにＬＩＦ陽性の腫瘍／癌を有すると選択されている。所定の実施形態では、腫瘍は、ＬＩＦ陽性である、又は高レベルのＬＩＦを産生する。所定の実施形態では、ＬＩＦ陽性は、参照値又は規定の病理学的基準と比較して決定される。所定の実施形態では、ＬＩＦ陽性の腫瘍は、腫瘍がそれに由来する非形質転換細胞よりも２倍超、３倍超、５倍超、１０倍超、１００倍以上のＬＩＦを発現する。所定の実施形態では、腫瘍は、ＬＩＦの後天性異所性発現を有する。ＬＩＦ陽性の腫瘍は、例えば、抗ＬＩＦ抗体を用いた免疫組織学的検査（ＩＨＣ）を用いて組織学的に；例えばリアルタイムＰＣＲ若しくはＲＮＡ－ｓｅｑ等のｍＲＮＡ定量等の一般に使用される分子生物学的方法によって；又は例えば、ウェスタンブロット、フローサイトメトリー、ＥＬＩＳＡ若しくはホモジニアスタンパク質定量アッセイ（例えば、ＡｌｐｈａＬＩＳＡ（登録商標））等によるタンパク質定量法によって決定することができる。所定の実施形態では、抗体は、癌であると診断された患者を治療するために使用することができる。所定の実施形態では、癌は、１個以上の癌幹細胞を含む、又は１個以上の癌幹細胞である。

【００６２】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるｈ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８の用量は、ＬＩＦ受容体（ＣＤ１１８）を発現する癌における腫瘍を治療するために有用である。ＬＩＦ受容体陽性の腫瘍は、組織学的に、又はフローサイトメトリーによって決定できる、及び所定の実施形態では、アイソタイプコントロールより２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍超大きなＬＩＦ受容体抗体に結合する細胞を含む。所定の実施形態では、腫瘍は、ＬＩＦ受容体の後天性異所性発現を有する。所定の実施形態において、癌は、癌幹細胞である。所定の実施形態では、ＬＩＦ陽性の腫瘍又は癌は、抗ＬＩＦ抗ＬＩＦ抗体を用いる免疫組織学的検査（ＩＨＣ）によって決定することができる。所定の実施形態では、ＬＩＦ陽性の腫瘍は、腫瘍のトップ１０％、２０％、３０％、４０％又はトップ５０％にあるＬＩＦレベルを用いるＩＨＣ分析によって決定される。

【００６３】

本明細書に記載されるｈ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８の用量は、数多くの転帰に影響を及ぼす。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、コントロール抗体（例えば、アイソタイプコントロール）と比較して、腫瘍モデルにおいて腫瘍中のＭ２マクロファージの存在を少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上減少させることができる。Ｍ２マクロファージは、ＩＨＣ切片中のＣＣＬ２２及び／又はＣＤ２０６を染色することによって、又は腫瘍浸潤性免疫細胞若しくは骨髄細胞のフローサイトメトリーによって同定することができる。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、コントロール抗体（例えば、アイソタイプコントロール）と比較した場合に、ＬＩＦのｇｐ１３０腫瘍への結合を少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上減少させることができる。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、コントロール抗体（例えば、アイソタイプコントロール）と比較して、ＬＩＦ応答性細胞系においてＬＩＦシグナル伝達を少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上減少させることができる。ＬＩＦシグナル伝達は、例えば、リン酸化ＳＴＡＴ３（ＬＩＦシグナル伝達の下流標的）に対するウェスタンブロットによって測定することができる。本明細書

の抗体は、更に他のＩＬ－６ファミリーメンバーのサイトカインと比較して、ＬＩＦに対して高度に特異的である。所定の実施形態では、抗体は、任意の他のＩＬ－６ファミリーメンバーのサイトカインの親和性の約１０倍、約５０倍又は約１００倍超の親和性でヒトＬＩＦに結合する。所定の実施形態では、ＬＩＦ抗体は、哺乳動物系において生成される他のＩＬ－６ファミリーメンバーのサイトカインには結合しない。所定の実施形態では、抗体は、哺乳動物系において生成されているオンコスタチンＭには結合しない。

【００６４】

本明細書に記載されるｈ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８の用量は、腫瘍又は癌負荷の予後指標であるバイオマーカーのレベルを改善するための方法において有用である。糖鎖抗原－１２５（ＣＡ－１２５）、糖鎖抗原１９－９（ＣＡ１９－９）及び癌胎児抗原（ＣＥＡ）等の腫瘍マーカーは、陽性の予後指標である。一般に、これらの抗原の低レベルは、治療の成功と相関する。所定の実施形態では、ｈ５Ｄ８は、その中での増量を含めながら、隔週、３週毎若しくは４週毎に約１回、約１１２５若しくは１５００の用量で投与されると、血清中ＣＥＡ、ＣＡ１９－９、ＣＡ－１２５若しくはそれらの組み合わせを減少させる。所定の実施形態では、腫瘍関連マーカーは、ＣＡ１９－９、ＣＡ－１２５、ＣＥＡ又はそれらの組み合わせを含む。所定の実施形態では、腫瘍関連マーカーは、ＣＥＡを含む。所定の実施形態では、腫瘍関連マーカーは、ＣＡ－１２５を含む。所定の実施形態では、腫瘍関連マーカーは、ＣＡ１９－９を含む。ＣＡ１９－９、ＣＡ－１２５、ＣＥＡ若しくはそれらの組み合わせのレベルは、本明細書に記載される治療の結果として、約１０％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％若しくは５０％減少させることができる。

【００６５】

本明細書に記載されるｈ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８の用量は、更に腫瘍／癌負荷の他の予後指標又は疾患の影響を改善するためにも使用することができる。所定の実施形態では、予後指標は、米国東海岸癌臨床試験グループ（「ＥＣＯＧ」）ステータスである。ＥＣＯＧステータスは、下記の：０、全く問題なく活動できる；発病前と同じ日常生活が制限なく行える；１、肉体的に激しい活動は制限されるが、歩行可能で、軽作業や座っての作業は行うことができる。例：軽い家事、事務作業；２、歩行可能で自分の身の回りのことは全て可能だがいかなる作業もできない。日中の５０％以上はベッド外で過ごす；３、限られた自分の身の回りのことしかできない。日中の５０％以上をベッドか椅子で過ごす；４、全く動けない。自分の身の回りのことは全くできない。完全にベッドか椅子で過ごす；５、死んでいる、のように０～５にスケーリングされる。所定の実施形態では、本方法及び用量は、ＥＣＯＧスコアを１、２、３又は４低下させる。所定の実施形態では、個体のＥＣＯＧステータスは、０、１、２又は３に減少させられる。所定の実施形態では、個体のＥＣＯＧステータスは、少なくとも３、６、９又は１２カ月間は増加しない。所定の実施形態では、個体のＥＣＯＧステータスは、ｈ５Ｄ８がその中での増量を含めながら隔週、３週毎若しくは４週毎に約１回、約１１２５若しくは１５００の用量で投与されると、０若しくは１に減少させられる。進行におけるこの改善又は遅延は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０回以上の治療後に見られるであろう。

【００６６】

所定の実施形態では、ｈ５Ｄ８治療は「安定（ｓｔａｂｌｅ－ｄｉｓｅａｓｅ）」をもたらす。所定の実施形態では、本明細書に記載されるｈ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８の用量は、治療中の少なくとも３、６、１２、１５、１８、２４、３０又は３６カ月間は「安定」を生じさせる。所定の実施形態では、本明細書に記載される抗体及び用量は、その中での増量を含めながら隔週、３週毎若しくは４週毎に約１回、約１１２５若しくは１５００の用量で投与されるｈ５ｄ８を用いた治療中、少なくとも３、６、１２、１５、１８、２４、３０、若しくは３６カ月間は「安定」を生じさせる。所定の実施形態では本明細書に記載される抗体及び用量は、その中での増量を含めながら隔週、３週毎若しくは４週毎に約１回、約１１２５若しくは１５００の用量で投与されるｈ５ｄ８を用いた治療中、少なくとも１２カ月間は「安定」を生じさせる。進行におけるこの遅延は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０回以上の治療後に見られるであろう。

【００６７】

所定の実施形態では、本明細書に記載されるｈ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８の用量は、癌又は腫瘍を治療するために有用である。所定の実施形態では、ｈ５Ｄ８は、少なくとも１種の他の治療を用いて難治性である癌を治療するために有用である。所定の実施形態では、治療は、化学療法又は免疫療法（例えば、免疫チェックポイント阻害剤療法）である。所定の実施形態では、免疫療法は、ＰＤ－１、ＰＤＬ－１、ＰＤＬ－２又はそれらの任意の組み合わせを標的とする免疫療法である。所定の実施形態では、免疫療法は、ポリオウイルス受容体（ＰＶＲ）、ＴＩＧＩＴ又はそれらの任意の組み合わせを標的とする免疫療法である。所定の実施形態では、癌は、乳癌、心臓腫瘍、肺癌、小腸癌、結腸癌、脾臓癌、腎臓癌、膀胱癌、頭部癌、頸部癌、卵巣癌、前立腺癌、脳腫瘍、膵臓癌、皮膚癌、骨腫瘍、骨髄の癌、血腫、胸腺腫瘍、子宮癌、精巣癌及び肝腫瘍を含む。所定の実施形態では、本発明の抗体を用いて治療することができる腫瘍は、腺腫、腺癌、血管肉腫、星状細胞腫、上皮癌、胚細胞腫、膠芽腫、神経膠腫、血管内皮腫、血管肉腫、血腫、肝芽細胞腫、白血病、リンパ腫、髄芽細胞腫、黒色腫、神経芽細胞腫、骨肉腫、網膜芽腫、横紋筋肉腫、肉腫及び／又は奇形腫を含む。所定の実施形態では、腫瘍／癌は、末端黒子型黒色腫、光線性角化症、腺癌、腺様嚢胞癌、腺腫、腺肉腫、腺扁平上皮癌、星状細胞腫瘍、バルトリン腺癌、基底細胞癌、気管支腺癌、毛管カルチノイド癌、癌肉腫、胆管癌、軟骨肉腫、嚢胞腺腫、内胚葉洞腫瘍、子宮内膜異型増殖症、子宮内膜間質肉腫、子宮内膜腺癌、上衣腫瘍、スウィング肉腫、限局性結節過形成、ガストロノーマ、生殖細胞系腫瘍、膠芽腫、グルカゴノーマ、血管芽細胞腫、血管内皮腫、血管腫、幹細胞腺腫、肝腺腫症、肝細胞癌、インスリナイト（ｉｎｓｕｌｉｎｉｔｅ）、上皮内新生物、上皮内扁平上皮癌、浸潤性扁平上皮癌、大細胞癌、脂肪肉腫、肺癌、リンパ芽球性白血病、リンパ球性白血病、平滑筋肉腫、黒色腫、悪性黒色腫、悪性中皮腫瘍、神経鞘腫瘍、髄芽細胞腫、中皮腫、粘液性類表皮癌、骨髄性白血病、神経芽細胞腫、神経上皮腺癌、結節型黒色腫、骨肉腫、卵巣癌、乳頭状漿液性腺癌、下垂体腫瘍、プラスマ細胞腫、偽肉腫、前立腺癌、肺芽細胞腫、腎細胞癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、肉腫、漿液性腫瘍、扁平上皮癌、小細胞癌、軟部組織癌、ソマトスタチン産生腫瘍、扁平上皮癌、扁平上皮細胞癌、未分化癌、ブドウ膜黒色腫、疣状癌、膣／外陰癌、ＶＩＰ産生腫瘍（ＶＩＰｐｏｍａ）及びウィルムス腫瘍の群から選択される。所定の実施形態では、本発明の１種以上の抗体を用いて治療すべき腫瘍／癌は、脳腫瘍、頭頸部癌、結腸直腸癌、急性骨髄性白血病、プレＢ細胞急性リンパ芽球性白血病、膀胱癌、星状細胞腫、好ましくはグレードＩＩ、ＩＩＩ若しくはＩＶ星状細胞腫、膠芽腫、多形性膠芽腫、小細胞癌及び非小細胞癌、好ましくは非小細胞肺癌、肺腺腫、転移性黒色腫、アンドロゲン非依存性転移性前立腺癌、アンドロゲン依存性転移性前立腺癌、前立腺腺癌及び乳癌、好ましくは乳管癌及び／又は乳癌を含む。所定の実施形態では、本開示の抗体で治療される癌は、膠芽腫を含む。所定の実施形態では、本開示の１種以上の抗体で治療される癌は、膵臓癌を含む。所定の実施形態では、本開示の１種以上の抗体で治療される癌は、卵巣癌を含む。所定の実施形態では、本開示の１種以上の抗体で治療される癌は、肺癌を含む。所定の実施形態では、本開示の１種以上の抗体で治療される癌は、前立腺癌を含む。所定の実施形態では、本開示の１種以上の抗体で治療される癌は、結腸癌を含む。所定の実施形態では、治療される癌は、膠芽腫、膵臓癌、卵巣癌、結腸癌、前立腺癌又は肺癌を含む。所定の実施形態では、癌は、他の治療に難治性である。所定の実施形態では、治療される癌は、再発性である。所定の実施形態では、癌は、再発性／難治性の膠芽腫、膵臓癌、卵巣癌、結腸癌、前立腺癌又は肺癌である。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍、膠芽腫、胃癌、皮膚癌、前立腺癌、膵臓癌、乳癌、精巣癌、甲状腺癌、頭頸部癌、肝臓癌、腎臓癌、食道癌、卵巣癌、結腸癌、肺癌、リンパ腫又は軟部組織癌を含む。所定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、上皮性卵巣癌又は膵臓腺癌を含む。所定の実施形態では、癌は、進行性固形腫瘍を含む。所定の実施形態では、癌は、虫垂癌、直腸癌、転移性混合型脂肪肉腫及び傍神経節腫を含む。

【００６８】

治療方法

所定の実施形態では、抗体は、例えば、皮下、腹腔内、静脈内、筋肉内、腫瘍内又は大脳内等の抗体含有医薬組成物を投与するために好適な任意の経路によって投与することができる。所定の実施形態では、抗体は、静脈内投与される。所定の実施形態では、抗体は、例えば、週１回、週２回、月１回、月２回等の好適な投与スケジュールで投与される。所定の実施形態では、抗体は、３週毎に約１回投与される。抗体は、任意の治療有効量で投与され得る。所定の実施形態では、治療上許容される量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇである。所定の実施形態では、治療上許容される量は、約１ｍｇ／ｋｇ～約４０ｍｇ／ｋｇである。所定の実施形態では、治療上許容される量は、約５ｍｇ／ｋｇ～約３０ｍｇ／ｋｇである。ｈ５Ｄ８抗体は、ｈ５Ｄ８抗体が投与される個体の体重又は質量とは無関係に、固定用量で投与することができる。ｈ５Ｄ８抗体は、個体が少なくとも約３７．５ｋｇの質量を有することを前提にして、ｈ５Ｄ８抗体が投与される個体の体重又は質量とは無関係に固定用量で投与することができる。約７５ｍｇ～約２０００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量を投与することができる。約２２５ｍｇ～約２０００ｍｇ、約７５０ｍｇ～約２０００ｍｇ、約１１２５ｍｇ～約２０００ｍｇ又は約１５００ｍｇ～約２０００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量を投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、約７５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、約２２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、約７５０ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、約１１２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、約１５００ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、約２０００ｍｇで投与することができる。

【００６９】

ｈ５Ｄ８の他の用量は、企図されている。ｈ５Ｄ８の固定用量は、約５０、１００、１５０、１７５、２００、２５０、３００、３２５、３５０、３７５、４００、４２５、４５０、４７５、５００、５２５、５５０、５７５、６００、６２５、６５０、６７５、７００、７２５、７７５、８００、８２５、８５０、８７５、９００、９２５、９５０、９７５、１０００、１０２５、１０５０、１０７５、１１００、１１５０、１１７５、１２００、１２２５、１２５０、１２７５、１３００、１３２５、１３５０、１３７５、１４００、１４２５、１４５０、１４７５、１５２５、１５５０、１５７５、１６００、１６２５、１６５０、１６７５、１７００、１７２５、１７５０、１７７５、１８００、１８２５、１８５０、１８７５、１９００、１９２５、１９５０、１９７５、２０２５、２０５０、２０７５又は２１００ｍｇで投与することができる。これらの用量の何れも、週に約１回、隔週に約１回、３週毎に約１回又は４週毎に約１回投与することができる。

【００７０】

約７５ｍｇ～約２０００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回投与することができる。約７５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回投与することができる。約２２５ｍｇ～約１５００ｍｇ、約７５０ｍｇ～約１５００ｍｇ、約１１２５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回、約７５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回、約２２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回、約７５０ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回、約１１２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回、約１５００ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、週に約１回、約２０００ｍｇで投与することができる。

【００７１】

約７５ｍｇ～約２０００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回投与することができる。約７５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回で投与することができる。約２２５ｍｇ～約１５００ｍｇ、約７５０ｍｇ～約１５００ｍｇ、約１１２５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回、約７５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回、約２２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回、約７５０ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週

に約１回、約１１２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回、約１５００ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、隔週に約１回、約２０００ｍｇで投与することができる。

【００７２】

約７５ｍｇ～約２０００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回投与することができる。約７５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回投与することができる。約２２５ｍｇ～約１５００ｍｇ、約７５０ｍｇ～約１５００ｍｇ、約１１２５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回、約７５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回、約２２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回、約７５０ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回、約１１２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回、約１５００ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、３週毎に約１回、約２０００ｍｇで投与することができる。

【００７３】

約７５ｍｇ～約２０００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回投与することができる。約７５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回投与することができる。約２２５ｍｇ～約１５００ｍｇ、約７５０ｍｇ～約１５００ｍｇ、約１１２５ｍｇ～約１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回、約７５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回、約２２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回、約７５０ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回、約１１２５ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回、約１５００ｍｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の固定用量は、４週毎に約１回、約２０００ｍｇで投与することができる。

【００７４】

ｈ５Ｄ８抗体は、ｈ５Ｄ８抗体が投与される個体の体重又は質量に基づく用量で投与することができる。約１ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇのｈ５Ｄ８の体重調整用量を投与することができる。約３ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇ又は約２０ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇのｈ５Ｄ８の体重調整用量を投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、約１ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、約３ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、約１０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、約１５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、約２０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、約２５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。

【００７５】

約１ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇのｈ５Ｄ８の体重調整用量は、３週毎に約１回投与することができる。約３ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ～約２０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇ若しくは約２０ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇのｈ５Ｄ８の体重調整用量は、毎週、隔週、３週毎若しくは４週毎に約１回投与することができる。

【００７６】

ｈ５Ｄ８の他の体重調整用量は、企図されている。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、約２ｍｇ／ｋｇ、４ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、７ｍｇ／ｋｇ、８ｍｇ／ｋｇ、９ｍｇ／ｋｇ、１１ｍｇ／ｋｇ、１２ｍｇ／ｋｇ、１３ｍｇ／ｋｇ、１４ｍｇ／ｋｇ、１６ｍｇ／ｋｇ、１７ｍｇ／ｋｇ、１８ｍｇ／ｋｇ、１９ｍｇ／ｋｇ、２１ｍｇ／ｋｇ、２２ｍｇ／ｋｇ、２３ｍｇ／ｋｇ、２４ｍｇ／ｋｇ、２６ｍｇ／ｋｇ、２７ｍｇ／ｋｇ、２８ｍｇ／ｋｇ、２９ｍｇ／ｋｇ又は３０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。これらの用量の何れも、週１回、隔週に約１回、３週毎に約１回又は４週毎に約１回投与することが

できる。
【００７７】
ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、週１回、約１ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、週１回、約３ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、週１回、約１０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、週１回、約１５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、週１回、約２０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、週１回、約２５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。
【００７８】
ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、隔週に約１回、約１ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、隔週に約１回、約３ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、隔週に約１回、約１０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、隔週に約１回、約１５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、隔週に約１回、約２０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、隔週に約１回、約２５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。
【００７９】
ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、３週毎に約１回、約１ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、３週毎に約１回、約３ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、３週毎に約１回、約１０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、３週毎に約１回、約１５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、３週毎に約１回、約２０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、３週毎に約１回、約２５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。
【００８０】
ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、４週毎に約１回、約１ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、４週毎に約１回、約３ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、４週毎に約１回、約１０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、４週毎に約１回、約１５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、４週毎に約１回、約２０ｍｇ／ｋｇで投与することができる。ｈ５Ｄ８の体重調整用量は、４週毎に約１回、約２５ｍｇ／ｋｇで投与することができる。
【００８１】
本明細書で記載される用量の何れかは、少なくとも約６０分間の時間に渡ってｉｖ投与することができる；しかしながら、この時間は、各個別投与に適切な条件に基づいてある程度変動し得る。
【００８２】
本明細書に記載される用量は、約１５～約２０日間のｈ５Ｄ８の血清／血漿半減期を生じさせることができる。所定の実施形態では、用量は、約１６～１９日間の血清半減期を生じさせる。所定の実施形態では、用量は、約１７～１８日間の血清半減期を生じさせる。所定の実施形態では、７５０ｍｇ、１１２５ｍｇ若しくは１５００ｍｇで投与されたｈ５Ｄ８の用量は、約１７若しくは１８日間の血清半減期を生じさせる。
【００８３】
本明細書に記載される用量の何れも、本明細書に記載される癌／腫瘍を治療するための組成物として調製することができる。
【００８４】
薬学的に許容される賦形剤、担体及び希釈剤
所定の実施形態では、本開示の抗体は、無菌溶液中に懸濁させて投与される。所定の実施形態では、溶液は、生理学的に適切な塩濃度（例えば、ＮａＣｌ）を含む。所定の実施形態では、溶液は、約０．６％～１．２％のＮａＣｌを含む。所定の実施形態では、溶液は、約０．７％～１．１％のＮａＣｌを含む。所定の実施形態では、溶液は、約０．８％

～１．０％のＮａＣｌを含む。所定の実施形態では、抗体の高濃縮ストック液は、約０．９％のＮａＣｌ中に希釈することができる。所定の実施形態では、溶液は、約０．９％のＮａＣｌを含む。所定の実施形態では、溶液は、下記の：緩衝液、例えば、酢酸塩、クエン酸塩、ヒスチジン、コハク酸塩、リン酸塩、重炭酸塩及びヒドロキシメチルアミノメタン（Ｔｒｉｓ）；界面活性剤、例えば、ポリソルベート８０（Ｔｗｅｅｎ　８０）、ポリソルベート２０（Ｔｗｅｅｎ　２０）、ポリソルベート及びポロキサマー１８８；ポリオール／二糖類／多糖類、例えば、グルコース、デキストロース、マンノース、マンニトール、ソルビトール、スクロース、トレハロース及びデキストラン４０；アミノ酸、例えば、ヒスチジン、グリシン若しくはアルギニン；酸化防止剤、例えば、アスコルビン酸、メチオニン；並びにキレート剤、例えば、ＥＧＴＡ若しくはＥＧＴＡの１種以上を更に含む。所定の実施形態では、本開示の抗体は、凍結乾燥して輸送／貯蔵され、投与前に再構成される。所定の実施形態では、凍結乾燥抗体製剤は、マンニトール、ソルビトール、スクロース、トレハロース及びデキストラン４０等の増量剤を含む。所定の実施形態では、本開示の抗ＬＩＦ抗体は、有用な治療場所で希釈すべき濃縮ストック液として輸送及び貯蔵することができる。所定の実施形態では、ストック液は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース、約０．０１％のポリソルベート及び約２０ｍｇ／ｍＬの抗ＬＩＦ抗体を含む。所定の実施形態では、溶液のｐＨは、約６．０である。所定の実施形態では、個体に投与される形態は、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース、約０．０１％のポリソルベート８０及び約２０ｍｇ／ｍＬのｈ５Ｄ８抗体を含む水溶液である。所定の実施形態では、溶液のｐＨは、約６．０である。

【００８５】

本明細書に記載されるｈ５Ｄ８抗体は、約２０ｍｇ／ｍＬの濃度のｈ５Ｄ８抗体、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を含む無菌溶液が充填されたバイアルを含むキットに含めることができる。バイアルは、使い捨てのガラスバイアルであってよい。使い捨てのガラスバイアルは、約１０ｍＬの約２０ｍｇ／ｍＬの濃度のｈ５Ｄ８抗体、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を充填することができる。所定の実施形態では、溶液のｐＨは、約６．０である。本明細書に記載されるｈ５Ｄ８抗体は、適切な量の無菌希釈液中で再構成された場合に濃度が約２０ｍｇ／ｍＬのｈ５Ｄ８抗体、約２５ｍＭのヒスチジン、約６％のスクロース及び約０．０１％のポリソルベート８０を産生する、ｈ５Ｄ８抗体を含む凍結乾燥組成物が充填されたバイアルを含むキットに含めることができる。バイアルは、使い捨てのガラスバイアルであってよい。

【００８６】

本明細書に記載される抗体は、最終的には患者に送達すべき用量レベルに依存して様々な方法で投与するために、投与又は調製又は希釈することができる。これは、例えば、微粒子物質を減少させるために、例えば、患者の用量の薬学的特性を最適化するために実施することができる。ｈ５Ｄ８は、患者に送達される最終用量とは無関係に、約８ｍｇ／ｍＬの濃度で調製することができる。所定の実施形態では、ｈ５Ｄ８は、約１０、９、８、７、６、５又は４ｍｇ／ｍＬ以下のレベルで調製することができる。所定の実施形態では、ｈ５Ｄ８は、約１、２、３、４、５、６又は７ｍｇ／ｍＬ超のレベルで調製することができる。

【実施例】

【００８７】

下記の例示的実施例は、本明細書に記載される組成物及び方法の実施形態の代表的なものであるが、決して限定的であることは意図されていない。

【００８８】

実施例１－ＬＩＦに対して特異的なラット抗体の生成

ヒトＬＩＦのアミノ酸２３～２０２をコードするｃＤＮＡを発現プラスミド内にクローン化した（Ａｌｄｅｖｒｏｎ　ＧｍｂＨ，Ｆｒｅｉｂｕｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）。微粒子衝撃（「遺伝子銃」）のための携帯型器具を使用するＤＮＡ被覆金粒子の皮内適用によっ

て、実験用ラット（ウィスター系）の群を免疫した。一過性でトランスフェクトされたＨＥＫ細胞上の細胞表面発現は、ＬＩＦタンパク質のＮ末端に付加されたタグを認識する抗タグ抗体を用いて確証した。一連の免疫後に血清試料を収集し、上述した発現プラスミドを用いて一過性でトランスフェクトしたＨＥＫ細胞を対象にフローサイトメトリーで試験した。抗体産生細胞を単離し、標準手法に従ってマウス骨髄腫細胞（Ａｇ８）と融合させた。ＬＩＦに対して特異的なハイブリドーマ産生抗体を上述したようにフローサイトメトリーアッセイにおけるスクリーニングによって同定した。陽性ハイブリドーマ細胞の細胞ペレットは、ＲＮＡ保護剤（ＲＮＡｌａｔｅｒ、製品番号：ＡＭ７０２０、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して調製し、更に抗体の可変ドメインをシークエンシングするために処理した。

【００８９】

実施例２－ＬＩＦに対して特異的なマウス抗体の生成

ヒトＬＩＦのアミノ酸２３～２０２をコードするｃＤＮＡを発現プラスミド内にクローン化した（Ａｌｄｅｖｒｏｎ　ＧｍｂＨ，Ｆｒｅｉｂｕｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）。微粒子衝撃（「遺伝子銃」）のための携帯型器具を使用するＤＮＡ被覆金粒子の皮内適用によって、実験用マウス（ＮＭＲＩ系）の群を免疫した。一過性でトランスフェクトされたＨＥＫ細胞上の細胞表面発現は、ＬＩＦタンパク質のＮ末端に付加されたタグを認識する抗タグ抗体を用いて確証した。一連の免疫後に血清試料を収集し、上述した発現プラスミドを用いて一過性でトランスフェクトしたＨＥＫ細胞を対象にフローサイトメトリーで試験した。抗体産生細胞を単離し、標準手法に従ってマウス骨髄腫細胞（Ａｇ８）と融合させた。ＬＩＦに対して特異的なハイブリドーマ産生抗体を上述したようにフローサイトメトリーアッセイにおけるスクリーニングによって同定した。陽性ハイブリドーマ細胞の細胞ペレットは、ＲＮＡ保護剤（ＲＮＡｌａｔｅｒ、製品番号：ＡＭ７０２０、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して調製し、更に抗体の可変ドメインをシークエンシングするために処理した。

【００９０】

実施例３－ＬＩＦに対して特異的なラット抗体のヒト化

その後のヒト化のために、ラット免疫由来の１つのクローン（５Ｄ８）を選択した。ヒト化は、標準ＣＤＲグラフト化法を用いて実施した。重鎖及び軽鎖領域は、標準分子クローニング技術を用いて５Ｄ８ハイブリドーマからクローン化し、サンガー法によってシークエンシングした。次にヒト重鎖及び軽鎖可変配列に対してＢＬＡＳＴサーチを実施し、各々から４つの配列をヒト化のための受容体フレームワークとして選択した。これらの受容体フレームワークは、Ｔ細胞応答エピトープを除去するために脱免疫化した。５Ｄ８の重鎖及び軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３は、４つの異なる重鎖受容体フレームワーク（Ｈ１～Ｈ４）並びに４つの異なる軽鎖フレームワーク（Ｌ１～Ｌ４）内にクローン化した。次に全１６種の抗体を：ＣＨＯ－Ｓ細胞（Ｓｅｌｅｘｉｓ）における発現；ＬＩＦ－誘導性ＳＴＡＴ３リン酸化の阻害；及び表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）による結合親和性について試験した。これらの実験は、表１に要約した。

【００９１】

【表１】

| 表１ 5D8 ヒト化の要約 | | | |
|---|---|---|---|
| 重鎖軽鎖の組み合わせ | 図１からの LIF 誘導性 pSTAT3 の阻害 | SPR $K_{D1}$ による親和性(pM) | 発現 (ug/mL) |
| H0L0 | +++ | 133±46 | 393 |
| H1L1 | - | N/A | 627 |
| H1L2 | +++ | 55±23 | 260 |
| H1L3 | +++ | 54±31 | 70 |
| H1L4 | - | N/A | 560 |
| H2L1 | - | N/A | 369 |
| H2L2 | +++ | 52±22 | 392 |
| H2L3 | ++ | 136±19 | 185 |
| H2L4 | - | N/A | 78 |
| H3L1 | N/A | N/A | 発現なし |
| H3L2 | N/A | N/A | 発現なし |
| H3L3 | N/A | N/A | 発現なし |
| H3L4 | N/A | N/A | 発現なし |
| H4L1 | - | N/A | 259 |
| H4L2 | ++ | 913±308 | 308 |
| H4L3 | + | | 252 |
| H4L4 | - | N/A | 186 |
| N/A=試みられなかった;H0L0=全長ラット重鎖及び軽鎖可変領域を備えるキメラ抗体 | | | |

【００９２】

１０日間の細胞培養後に、トランスフェクト細胞の発現性能をフェドバッチ培養内のエルレンマイヤーフラスコ（細胞３×１０$^5$個／ｍＬで播種する、培養容積：２００ｍＬ）内で比較した。この時点に細胞を採取し、プロテインＡカラムを使用して分泌抗体を精製し、その後に定量した。Ｈ３重鎖を使用した抗体を除く全ヒト化抗体が発現した。Ｈ２及びＬ２可変領域は、他の可変領域（配列番号４２及び配列番号４６）と比較して良好に機能した。

【００９３】

チロシン７０５でのＬＩＦ誘導性ＳＴＡＴ３リン酸化の阻害は、ウェスタンブロットに

よって決定した。Ｕ２５１神経膠腫細胞は、６ウエルプレート内で細胞１００，０００個／ウエルの密度で平板培養した。細胞は、任意の処置前２４時間に渡り完全培地中で培養し、処置後に細胞を８時間に渡り血清飢餓させた。その後、細胞を濃度１０μｇ／ｍｌの指示した抗体と共に一晩に渡り。処置後、リン酸塩及びプロテアーゼ阻害剤を含有する放射免疫沈降アッセイ（ＲＩＰＡ）溶解バッファー中でタンパク質を入手し、定量し（ＢＣＡタンパク質アッセイ、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）、ウェスタンブロットにおいて使用した。ウェスタンブロットのために、膜は１時間に渡り５％のスキムミルク－ＴＢＳＴ中でブロックし、一次抗体と共に一晩（ｐ－ＳＴＡＴ３、製品番号９１４５、Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ又はＳＴＡＴ３、製品番号９１３２、Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ）又は３０分間（βアクチン－ペルオキシダーゼ、製品番号Ａ３８５４、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）に渡りインキュベートした。次にＴＢＳＴを用いて膜を洗浄し、二次抗体と共にインキュベートし、再び洗浄した。タンパク質は、化学発光（ＳｕｐｅｒＳｉｇｎａｌ Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ、製品番号３４０７６、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）によって検出した。これらの結果は、図１に示した。ｐＳＴＡＴ３バンドが濃いほど、存在する阻害は少ない。標識化５Ｄ８（非ヒト化ラット）、Ａ（Ｈ０Ｌ０）、Ｃ（Ｈ１Ｌ２）、Ｄ（Ｈ１Ｌ３）及びＧ（Ｈ２Ｌ２）レーンにおいては、阻害が高度であった；Ｈ（Ｈ２Ｌ３）、Ｏ（Ｈ４Ｌ２）及びＰ（Ｈ４Ｌ３）における阻害は、中等度であった；Ｂ（Ｈ１Ｌ１）、Ｅ（Ｈ１Ｌ４）、Ｆ（Ｈ２Ｌ１）、Ｉ（Ｈ２Ｌ４）、Ｎ（Ｈ４Ｌ１）及びＱ（Ｈ４Ｌ４）においては、阻害が存在しなかった。

【００９４】

ＬＩＦ誘導性ＳＴＡＴ３リン酸化の阻害を示した抗体は、次に結合親和性を決定するためにＳＰＲによって分析した。手短には、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）２００２ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔを使用して、アミン結合ｈＬＩＦのＡ（Ｈ０Ｌ０）、Ｃ（Ｈ１Ｌ２）、Ｄ（Ｈ１Ｌ３）並びにＧ（Ｈ２Ｌ２）、Ｈ（Ｈ２Ｌ３）及びＯ（Ｈ４Ｌ２）ヒト化抗体への結合を観察した。速度定数及び親和性は、６種のリガンド濃度での全センサーチップ表面上で生成された全センサーグラムの数学的センサーグラムフィッティング（ラングミュア相互作用モデル［Ａ＋Ｂ＝ＡＢ］）によって決定した。速度定数及び親和性を計算するためには、各濃度の最良近似曲線（最小$\chi^2$）を使用した。表１を参照されたい。

【００９５】

この実験セットアップでは検体として二価抗体を使用したので、最良近似センサーグラムもまた、ヒト化抗体の標的結合機序に関するより詳細な洞察を得るために、二価検体近似モデル［Ａ＋Ｂ＝ＡＢ；ＡＢ＋Ｂ＝ＡＢ２］に基づいて分析した。二価近似モデル［Ａ＋Ｂ＝ＡＢ；ＡＢ＋Ｂ＝ＡＢ２］を使用した運動センサーグラム分析は、ｍＡｂ試料の相対親和性ランキングを確証した。

【００９６】

より詳細な分析を行うために、その高い結合親和性及びバッチ培養からの高い収率のために、Ｈ２及びＬ２を含むヒト化５Ｄ８を選択した。

【００９７】

実施例４－クローン５Ｄ８のヒト化はＬＩＦへの結合を改善する

本出願者らは、更なる分析のためにＨ２Ｌ２クローン（ｈ５Ｄ８）を選択し、親ラット５Ｄ８（ｒ５Ｄ８）及びマウスクローン１Ｂ２への結合についてＳＰＲによって比較した。１Ｂ２抗体は、以前にｔｈｅ Ｄｅｕｔｓｃｈｅ Ｓａｍｍｌｕｎｇ ｖｏｎ Ｍｉｋｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｅｎ ａｎｄ Ｚｅｌｌｋｕｌｔｕｒｅｎ ＧｍｂＨに預託された、以前に開示されたマウス抗ＬＩＦ抗体（ＤＳＭ ＡＣＣ３０５４）であり、比較目的のために含めた。大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）細胞及びＨＥＫ－２９３細胞それぞれから精製された組み換えヒトＬＩＦをリガンドとして使用した。ヒト又は大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）起源由来のＬＩＦは、アミン結合化学を使用してＢｉａｃｏｒｅ光センサーチップの表面に共有結合させ、結合親和性は、速度定数から計算した。

【００９８】

材料及び方法

大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）由来ヒトＬＩＦは、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅから入手した；参照ＬＩＦ　１０１０；ＨＥＫ－２９３細胞由来ヒトＬＩＦは、ＡＣＲＯ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓから入手した；参照ＬＩＦ－Ｈ５２１ｂ。ＬＩＦは、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ａｍｉｎｅ結合キット（ＢＲ－１０００－５０；ＧＥ－Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｕｐｐｓａｌａ）を用いてセンサーチップに結合させた。試料は、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）２００２　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ上でＣＭ５光センサーチップ（ＢＲ－１０００－１２；ＧＥ－Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｕｐｐｓａｌａ）を用いてランさせた。機械（ＢＲ－１００１－８８；ＧＥ－Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｕｐｐｓａｌａ）のラン中にはＢｉａｃｏｒｅ　ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液を使用した。結合センサーグラムの動態分析は、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　４．１ソフトウェアを使用して実施した。速度定数及び親和性は、検体濃度を増加させながらの全センサーチップ表面上で生成された全センサーグラムの数学的センサーグラムフィッティング（ラングミュア相互作用モデル［Ａ＋Ｂ＝ＡＢ］）によって決定した。センサーグラムは更に、決定されたラングミュア抗体－標的親和性（例えば、親和力の寄与）への二価の寄与に基づく推定値を生成するために、成因分析を含む、二価検体センサーグラムフィッティングモデル［Ａ＋Ｂ＝ＡＢ；ＡＢ＋Ｂ＝ＡＢ$_2$］に基づいて分析した。各濃度の最良近似曲線（最小$\chi^2$）を使用して速度定数及び親和性を計算した。これらの親和性実験の要約は、表２（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）中で作製されたヒトＬＩＦ）及び表３（ＨＥＫ２９３細胞中で作製されたヒトＬＩＦ）に示した。

【００９９】

【表２】

| **表 2 ヒト化後の改善された 5D8 の結合** | $K_D$ [pM] | |
|---|---|---|
| hLIF *(大腸菌(E. coli))* | ラングミュア 1:1 センサーグラムフィッティング | 二価検体フィッティング |
| マウス 1B2 | 400±210 | 1500±200 |
| r5D8 (ラット) | 130±30 | 780±130 |
| h5D8 (ヒト化) | 26±14 | 82±25 |

【０１００】

【表３】

| **表 3 ヒト化後の改善された 5D8 の結合** | $K_D$ [pM] | |
|---|---|---|
| hLIF (HEK 293) | ラングミュア 1:1 センサーグラムフィッティング | 二価検体フィッティング |
| マウス 1B2 | 320±150 | 3900±900 |
| r5D8 (ラット) | 135±100 | 410±360 |
| h5D8 (ヒト化) | 13±6 | 63±30 |

【０１０１】

この実験セットからのラングミュア１：１センサーグラムフィッティングモデルは、ヒト化５Ｄ８（ｈ５Ｄ８）抗体がマウス１Ｂ２及びｒ５Ｄ８よりもヒトＬＩＦへ約１０～２５倍高い親和性で結合したことを示している。

【０１０２】

次に、ｈ５Ｄ８抗体をＳＰＲによって多数の種のＬＩＦに対して試験した。ｈ５Ｄ８ＳＰＲ結合動態検査は、様々な種及び発現系：ヒトＬＩＦ（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）、ＨＥＫ２９３細胞）；マウスＬＩＦ（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）、ＣＨＯ細胞）；ラットＬＩＦ（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ））；カニクイザルＬＩＦ（酵母、ＨＥＫ２９３細胞）に由来する組み換えＬＩＦ検体に対して実施した。

【０１０３】

材料及び方法

ｈ５Ｄ８抗体は、非共有的なＦｃ特異的捕獲によってセンサーチップ表面に固定化した。組み換えＩｇ（Ｆｃ）特異的黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）タンパク質Ａ／ＧをＬＩＦ検体への抗ＬＩＦ抗体の立体的に均一且つ柔軟性の提示を許容する捕獲剤として使用した。ＬＩＦ検体の入手源は、下記の通りである：ヒトＬＩＦ（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）由来；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ参照番号ＬＩＦ　１０５０）；ヒトＬＩＦ（ＨＥＫ細胞由来、ＡＣＲＯ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　ＬＩＦ－Ｈ５２１）；マウスＬＩＦ（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ製品番号ＮＦ－ＬＩＦ２０１０）；マウスＬＩＦ（ＣＨＯ細胞由来；Ｒｅｐｒｏｋｉｎｅ製品番号ＲＣＰ０９０５６）；サルＬＩＦ（酵母、Ｋｉｎｇｆｉｓｈｅｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈ製品番号ＲＰ１０７４Ｙ）；ＨＥＫ－２９３細胞中で生成されたサルＬＩＦ。全ｈ５Ｄ８は、数種の種由来のＬＩＦへの結合を示した。この親和性実験の要約は、表４に示した。

【０１０４】

【表４】

| 表 4 ヒト化 5D8 の<br>広範な種応答性 | ラングミュア 1:1 センサーグラムフィッティング | | |
|---|---|---|---|
| 検体 | 平均 $K_a$<br>(1/Ms)[$10^5$] | 平均 $K_d$ (1/S)<br>[$10^{-5}$] | 平均 $K_D$<br>[pM] |
| ヒト LIF (大腸菌(E.coli)) | 8.5 ± 0.7 | 7.2 ± 0.7 | 86 ± 9 |
| ヒト LIF (HEK-293) | 5.5 ± 0.02 | 3.1 ± 0.7 | 56 ± 13 |
| マウス LIF (大腸菌(E.coli)) | 21.4 ± 3.7 | 5.7 ± 1.0 | 27 ± 6 |
| マウス LIF(CHO 細胞) | 6.5 ± 0.7 | 1.1 ± 0.3 | 17 ± 4 |
| カニクイザル LIF (酵母) | 6.3 ± 0.8 | 5.4± 0.7 | 89 ± 10 |
| カニクイザル LIF (HEK-293) | 2.4 ± 0.2 | 3.3± 0.3 | 134 ± 6 |

【０１０５】

実施例５－ヒト化クローン５Ｄ８はｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＳＴＡＴ３のＬＩＦ誘導性リン酸化を阻害する

ｈ５Ｄ８の生物学的活性を決定するために、ヒト化バージョン及び親バージョンをＬＩＦ活性化の細胞培養モデルにおいて試験した。図２Ａは、神経膠腫細胞系をヒトＬＩＦと共にインキュベートした場合にヒト化クローンがＳＴＡＴ３リン酸化（Ｔｙｒ　７０５）の増加した阻害を示すことを示している。図２Ｂは、ｈ５Ｄ８抗体の様々な希釈物を用いて反復した、図２Ａの同一セットアップを用いた実験を示している。

【０１０６】

方法
Ｕ２５１神経膠腫細胞は、細胞１５０，０００個／ウエルの密度で６ウエルプレート内で平板培養した。細胞は、任意の処置前の２４時間に渡り完全培地中で培養した。その後、細胞は、１０μｇ／ｍｌの濃度でｒ５Ｄ８抗ＬＩＦ抗体若しくはｈ５Ｄ８抗ＬＩＦ抗体を用いて一晩処置した、又は処置しなかった（コントロール細胞）。
【０１０７】
処置後、リン酸塩及びプロテアーゼ阻害剤を含有する放射免疫沈降アッセイ（ＲＩＰＡ）溶解バッファー中でタンパク質を入手し、定量し（ＢＣＡタンパク質アッセイ、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）、ウェスタンブロットにおいて使用した。ウェスタンブロットのために、膜は１時間に渡り５％のスキムミルク－ＴＢＳＴ中でブロックし、一晩（ｐ－ＳＴＡＴ３、製品番号９１４５、Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ若しくはＳＴＡＴ３、製品番号９１３２、Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ）又は３０分間（βアクチン－ペルオキシダーゼ、製品番号Ａ３８５４、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）に渡り一次抗体と共にインキュベートした。次にＴＢＳＴを用いて膜を洗浄し、必要であれば二次抗体と共にインキュベートし、再び洗浄した。タンパク質は、化学発光（Ｓｕｐｅｒ Ｓｉｇｎａｌ Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ、製品番号３４０７６、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）によって検出した。
【０１０８】
実施例６－Ｕ－２５１細胞中でのＬＩＦの内因性レベルへのｈ５Ｄ８抗体処置のＩＣ$_{50}$値
本出願者らは、更に、Ｕ－２５１細胞中の血清飢餓条件下でのｈ５Ｄ８に対する生物学的阻害について、４９０ピコモル（図３Ａ）と極めて低いＩＣ$_{50}$を決定した。代表的な結果については図３Ａ及び３Ｂ並びに表５を参照されたい。
【０１０９】
【表５】

表５

| 細胞系の組織 | 細胞系の名称 | 処置 | IC$_{50}$ (nM) | | | | IC$_{90}$ (nM) | JAK 阻害率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 内因性 LIF 条件 | | | n=1 | n=2 | 平均 | SD | 平均 | 平均 |
| GBM | U251 | h5D8 | 0.78 | 0.54 | 0.66 | 0.12 | 4.1 | 84% |
| | | r5D8 | 1.6 | 1.5 | 1.4 | 0.15 | 8.5 | 86% |
| | | | 1.2 | 1.4 | | | | |

【０１１０】
方法
Ｕ－２５１細胞を（条件によって）６ｃｍプレート当たり細胞６００，０００個で播種した。細胞を血清飢餓（０．１％のＦＢＳ）下の３７℃で一晩、対応する濃度（滴定）においてｈ５Ｄ８により処置した。ｐＳＴＡＴ３に対する陽性コントロールとして、組み換えＬＩＦ（Ｒ＆Ｄ番号：７７３４－ＬＦ／ＣＦ）を使用して３７℃で１０分間に渡り１．７９ｎＭで細胞を刺激した。ｐＳＴＡＴ３の陰性コントロールとして、ＪＡＫ Ｉ阻害剤（Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ番号４２００９９）を３７℃で３０分間に渡り１μＭで使用した。細胞は次に、ＭＳＤ Ｍｅｓｏ Ｓｅｃｔｏｒ Ｓ６００によって検出可能なタンパク質レベルを測定するために、Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｍｕｌｔｉ－Ｓｐｏｔアッセイシステム Ｔｏｔａｌ ＳＴＡＴ３（製品番号：Ｋ１５０ＳＮＤ－２）及びリ

ン－ＳＴＡＴ３（Ｔｙｒ７０５）（製品番号：Ｋ１５０ＳＶＤ－２）キットのプロトコルに従って溶解物のために氷上で採取した。

【０１１１】

実施例７－ヒトＬＩＦに特異的に結合する追加の抗体

ヒトＬＩＦに特異的に結合する他のラット抗体クローン（１０Ｇ７及び６Ｂ５）を同定し、それらの結合特性の要約を下記の表６に示したが、クローン１Ｂ２が比較として機能した。

【０１１２】

方法

動的リアルタイム結合分析は、検体として組み換えＬＩＦ標的タンパク質［ヒトＬＩＦ（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ））；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ製品番号：ＬＩＦ　１０１０及びヒトＬＩＦ（ＨＥＫ２９３細胞）；ＡＣＲＯ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ製品番号：ＬＩＦ－Ｈ５２１ｂ］を適用して、ＣＭ５光センサーチップの表面上に固定化した抗ＬＩＦ　ｍＡｂである１Ｂ２、１０Ｇ７及び６Ｂ５を対象に実施した。

【０１１３】

速度定数及び親和性は、包括的（センサーグラムセットの同時フィッティング）並びに単一曲線フィッティングアルゴリズムを適用するラングミュア１：１結合モデルを使用する数学的センサーグラムフィッティングによって入手した。包括的フィッティングの妥当性は、$k_{obs}$分析によって評価した。

【０１１４】

【表６】

| 表 6 追加の抗 LIF 抗体の親和性の測定 | | ラングミュア 1:1 センサーグラムフィッティング | | |
|---|---|---|---|---|
| 検体 | クローン | 平均 $K_a$ (1/Ms) | 平均 $K_d$ (1/S) | 平均 $K_D$ [nM] |
| ヒト LIF *(大腸菌(E.coli))* | 1B2 | 1.1 ± 0.4E5 | 1.1 ± 0.3E-3 | 9.7 ± 1.4 |
| ヒト LIF (HEK-293) | 1B2 | 2.0 ± 0.04E6 | 1.4 ± 0.2E-3 | 0.7 ± 0.03 |
| ヒト LIF *(大腸菌(E.coli))* | 10G7 | 7.9 ± 5.8E4 | 6.0 ± 2.3E-4 | 12.6 ± 9.5 |
| ヒト LIF (HEK-293) | 10G7 | 3.6 ± 1.75E5 | 3.1 ± 0.5E-4 | 1.1 ± 0.6 |
| ヒト LIF *(大腸菌(E.coli))* | 6B5 | N/A | N/A | N/A |
| ヒト LIF (HEK-293) | 6B5 | 3.6 ± 1.7E5 | 3.1± 0.5E-4 | 62 ± 6 |

【０１１５】

実施例８－追加の抗ＬＩＦ抗体はｉｎ　ｖｉｔｒｏのＳＴＡＴ３のＬＩＦ誘導性リン酸化を阻害する

追加のクローンをそれらが細胞培養中でＳＴＡＴ３のＬＩＦ誘導性リン酸化を阻害する能力について試験した。図４に示したように、クローン１０Ｇ７及び以前に詳述したｒ５Ｄ８は、１Ｂ２クローンと比較して、ＬＩＦ誘導性ＳＴＡＴ３リン酸化の高度の阻害を示した。陽性コントロールとして抗ＬＩＦポリクローナル抗血清（陽性）を含めた。６Ｂ５は阻害を示さなかったが、これはこの実験において使用した非グリコシル化ＬＩＦへの６Ｂ５結合の欠如の可能性があることによって説明することができる。

【０１１６】

方法

患者由来神経膠腫細胞を６ウエルプレート内で細胞１５０，０００個／ウエルの密度で平板培養した。細胞は、任意の処置前の２４時間に渡り、Ｂ２７（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、ペニシリン／ストレプトマイシン及び成長因子（２０ｎｇ／ｍｌのＥＧＦ及び２０ｎｇ／ｍｌのＦＧＦ－２［ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ］）が補給されたＮｅｕｒｏｂａｓａｌ培地（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）から成るＧＢＭ培地中で培養した。次の日、細胞は、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）中又は組み換えＬＩＦ＋指示した抗体の混合物中で生成した組み換えＬＩＦ（抗体については１０μｇ／ｍｌ及び組み換えＬＩＦについては２０ｎｇ／ｍｌの最終濃度）を用いて１５分間に渡り処置した、又は処置しなかった。処置後、リン酸塩及びプロテアーゼ阻害剤を含有する放射免疫沈降アッセイ（ＲＩＰＡ）溶解バッファー中でタンパク質を入手し、定量し（ＢＣＡタンパク質アッセイ、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）、ウェスタンブロットにおいて使用した。ウェスタンブロットのために、膜は１時間に渡り５％のスキムミルク－ＴＢＳＴ中でブロックし、一晩（ｐ－ＳＴＡＴ３、製品番号９１４５、Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ）又は３０分間（βアクチン－ペルオキシダーゼ、製品番号Ａ３８５４、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）に渡り一次抗体と共にインキュベートした。次にＴＢＳＴを用いて膜を洗浄し、必要であれば二次抗体と共にインキュベートし、再び洗浄した。タンパク質は、化学発光（ＳｕｐｅｒＳｉｇｎａｌ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ、製品番号３４０７６、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）によって検出した。

【０１１７】

実施例９－ＬＩＦは複数の腫瘍タイプに渡って高度に過剰発現する

ＬＩＦ発現の程度を決定するために、多数のヒト腫瘍タイプを対象に免疫組織学的検査を実施した。図５に示したように、ＬＩＦは、多形性膠芽腫（ＧＢＭ）、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、卵巣癌及び結腸直腸癌（ＣＲＣ）において高度に発現する。

【０１１８】

実施例１０－ヒト化クローンｈ５Ｄ８は非小細胞肺癌のマウスモデルにおける腫瘍増殖を阻害する

ヒト化５Ｄ８クローンがｉｎ　ｖｉｖｏでのＬＩＦ陽性の癌を阻害する能力を決定するために、この抗体を非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）のマウスモデルにおいて試験した。図６は、ビヒクル陰性コントロールに比較した、この抗体を用いて治療されたマウスにおける腫瘍増殖の減少を示している。

【０１１９】

方法

高いＬＩＦレベルを備えるマウス非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）細胞系ＫＬＮ２０５は、ｉｎ　ｖｉｖｏ化学発光モニタリングのためにホタルルシフェラーゼ遺伝子を発現するレンチウイルスを用いて安定性で感染させた。マウスモデルを開発するために、$5\times10^{5}$個のＫＬＮ２０５非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）細胞は、肋間穿刺によって８週齢の免疫応答同系ＤＢＡ／２マウスの左肺に正所性で植え込んだ。マウスには、コントロールビヒクル又は１５ｍｇ／ｋｇ又は３０ｍｇ／ｋｇのｈ５Ｄ８抗体を週２回腹腔内投与し、化学発光によって腫瘍増殖を監視した。化学発光イメージングのために、マウスには、１～２％の吸入イソフルラン麻酔下で０．２ｍＬの１５ｍｇ／ｍＬのＤ－ルシフェリン麻酔の腹腔内注射を実施した。化学発光シグナルは、高感受性冷却ＣＣＤカメラから成るＩＶＩＳシステム２０００シリーズ（Ｘｅｎｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐ．，Ａｌａｍｅｄａ，ＣＡ，ＵＳＡ

）を使用して監視した。Ｌｉｖｉｎｇ　Ｉｍａｇｅソフトウェア（Ｘｅｎｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐ．）を使用して、画像データにグリッドを追加し、枠で囲まれた各領域内の全化学発光シグナルを積分した。データは、関心対象領域（ＲＯＩ）内の全光子束放射（光子／秒）を使用して分析した。結果は、ｈ５Ｄ８抗体を用いた治療が腫瘍緩解を促進することを証明している。データは、平均±ＳＥＭとして提示した。

【０１２０】

実施例１１－ｈ５Ｄ８は多形性膠芽腫のマウスモデルにおける腫瘍増殖を阻害する

ヒト細胞系Ｕ２５１を発現するルシフェラーゼを用いた正所性ＧＢＭ腫瘍モデルにおいて、ｒ５Ｄ８は、週２回、３００μｇのｒ５Ｄ８及びｈ５Ｄ８が腹腔内（ＩＰ）注射によって投与されたマウスにおいて腫瘍容積を有意に減少させた。この試験の結果は、図７Ａに示した（治療後第２６日での定量）。この実験は更に、２００μｇ又は３００μｇを用いて治療したヒト化ｈ５Ｄ８マウスを使用して実施し、治療７日後に腫瘍の統計的有意な減少を示した。

【０１２１】

方法

ルシフェラーゼを安定性で発現するＵ２５１細胞を採取し、ＰＢＳ中で洗浄し、４００ｇで５分間に渡り遠心し、ＰＢＳ中に再懸濁させ、自動セルカウンター（Ｃｏｕｎｔｅｓｓ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて計数した。細胞は、最高生存率を維持するために氷上で維持した。マウスには、ケタミン（Ｋｅｔｏｌａｒ５０（登録商標））／キシラシン（Ｒｏｍｐｕｎ（登録商標））（それぞれ、７５ｍｇ／ｋｇ及び１０ｍｇ／ｋｇ）の腹腔内投与により麻酔した。各マウスは、定位器具内に注意深く配置し、固定した。頭部の毛髪は脱毛クリームを用いて除去し、頭蓋骨を露出させるために外科用メスを用いて頭皮を切開した。ラムダに向かって側方に１．８ｍｍ及び前方に１ｍｍの座標で、小さな切開部をドリルで注意深く作製した。深さ２．５ｍｍで、右線条体内へハミルトン３０Ｇシリンジを使用して５μＬの細胞を接種した。頭部切開部はＨｙｓｔｏａｃｒｙｌ組織接着剤（Ｂｒａｕｎ）を用いて閉鎖し、マウスには皮下鎮痛性メロキシカム（Ｍｅｔａｃａｍ（登録商標））（１ｍｇ／ｋｇ）を注射した。各マウスに植え込まれた最終細胞数は、３×$10^5$個であった。

【０１２２】

マウスは、週２回、腹腔内投与されたｈ５Ｄ８により治療した。治療は、腫瘍細胞接種直後の第０日に開始した。マウスは、ｈ５Ｄ８又はビヒクルコントロールの全２回の投与を受けた。

【０１２３】

体重及び腫瘍容積：体重は、週２回測定し、腫瘍増殖は、第７日に化学発光（Ｘｅｎｏｇｅｎ　ＩＶＩＳスペクトル）によって定量した。ｉｎ　ｖｉｖｏでの化学発光活性を定量するために、マウスをイソフルオラン（ｉｓｏｆｌｕｏｒａｎｅ）により麻酔し、ルシフェリン基質（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）（１６７μｇ／ｋｇ）を腹腔内注射した。

【０１２４】

バイオルミネセンス（Ｘｅｎｏｇｅｎ　ＩＶＩＳスペクトル）によって決定した腫瘍サイズを第７日に評価した。各治療群についての個々の腫瘍測定及び平均±ＳＥＭを計算した。統計的有意性は、対応のないノンパラメトリックのマン・ホイットニーＵ検定を使用して決定した。

【０１２５】

実施例１２－ｈ５Ｄ８は卵巣癌のマウスモデルにおける腫瘍増殖を阻害する

ｒ５Ｄ８の有効性を他の２種の同系腫瘍モデルにおいて評価した。卵巣同所性腫瘍モデルＩＤ８における週２回３００μｇのｒ５Ｄ８のＩＰ投与は、腹部容積によって測定される腫瘍増殖を有意に阻害した（図８Ａ及び８Ｂ）。図８Ｃの結果は、ｈ５Ｄ８が更に２００μｇ超の用量でも腫瘍容積を減少させたことを示している。

【０１２６】

方法

ＩＤ８細胞を１０％のウシ胎児血清（ＦＢＳ）（Ｇｉｂｃｏ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、４０Ｕ／ｍＬのペニシリン及び４０μｇ／ｍＬのストレプトマイシン（ＰｅｎＳｔｒｅｐ）（Ｇｉｂｃｏ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）並びに０．２５μｇ／ｍＬのＰｌａｓｍｏｃｉｎ（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）が補給されたダルベッコの改変イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｇｉｂｃｏ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中で培養した。

【０１２７】

ＩＤ８細胞を採取し、ＰＢＳ中で洗浄し、４００ｇで５分間遠心し、ＰＢＳ中に再懸濁させた。細胞は最高生存率を維持するために氷上で維持し、２００μＬの細胞懸濁液は、２７Ｇのニードルを用いて腹腔内注射した。マウスに植え込まれた最終細胞数は、５×１０$^{6}$個であった。

【０１２８】

マウスを指示した様々な用量で腹腔内投与されたｈ５Ｄ８の週２回の投与により治療した。体重を週２回測定し、腫瘍の進行は、カリパス（Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して腹囲を測定することによって監視した。

【０１２９】

実施例１３－ｒ５Ｄ８は結腸直腸癌のマウスモデルにおける腫瘍増殖を阻害する

皮下結腸ＣＴ２６腫瘍を有するマウスにおいて、ｒ５Ｄ８（週２回、３００μｇのＩＰ投与）は、腫瘍増殖を有意に阻害した（図９Ａ及び９Ｂ）。

【０１３０】

方法

ＣＴ２６細胞を１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）、４０Ｕ／ｍＬのペニシリン及び４０μｇ／ｍＬのストレプトマイシン（ＰｅｎＳｔｒｅｐ）並びに０．２５μｇ／ｍＬのＰｌａｓｍｏｃｉｎが補給されたロズウェルパーク記念研究所培地（ＲＰＭＩ［Ｇｉｂｃｏ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ］）中で培養した。

【０１３１】

ＣＴ２６細胞（８×１０$^{5}$個）をトリプシン化し、ＰＢＳですすぎ洗い、４００ｇで５分間に渡り遠心し、１００μＬのＰＢＳ中に再懸濁させた。細胞は、細胞死を回避するために氷上で維持した。ＣＴ２６細胞は、２７Ｇのニードルを用いる皮下注射によってマウスに投与した。

【０１３２】

３００μｇのｒ５Ｄ８又はビヒクルコントロールは、ＣＴ２６細胞植え込み後第３日から週２回、腹腔内投与（ＩＰ）を介してマウスに投与した。

【０１３３】

体重及び腫瘍容積は、週３回測定した。腫瘍容積は、カリパス（Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を用いて測定した。

【０１３４】

実施例１４－ｒ５Ｄ８は腫瘍モデルにおける炎症性浸潤を減少させる

Ｕ２５１　ＧＢＭ正所性モデルでは、Ｍ２極性化マクロファージのマーカーであるＣＣＬ２２の発現は、図１０Ａに示したようにｒ５Ｄ８により治療された腫瘍において有意に減少した。この所見は、更に、図１０Ｂに示したように（ＭＲＣ１及びＣＣＬ２２の両方について、上方のコントロールを下方の治療済みと比較されたい）、３例の患者試料が治療後にＣＣＬ２２及び（同様にＭ２マクロファージのマーカーである）ＣＤ２０６（ＭＲＣ１）の発現における有意な減少を示したｒ５Ｄ８を使用して生理学的に重要な器官型組織切片培養モデルにおいても確証された。更に、ｒ５Ｄ８は、免疫応答マウスにおける同系ＩＤ８（図１０Ｃ）及びＣＴ２６（図１０Ｄ）腫瘍におけるＣＣＬ２２$^{+}$Ｍ２マクロファージも又減少させた。

【０１３５】

実施例１５－ｒ５Ｄ８は非骨髄性エフェクター細胞を増加させる

更なる免疫機序を調査するために、ｒ５Ｄ８が腫瘍微細環境内でＴ細胞及び他の非骨髄性エフェクター細胞に及ぼす効果を評価した。卵巣正所性ＩＤ８同系モデルにおいて、ｒ

５Ｄ８治療は、図１１Ａに示したように腫瘍内ＮＫ細胞の増加並びに全及び活性化ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞の増加を生じさせた。同様に、同系結腸ＣＴ２６腫瘍モデルにおいて、ｒ５Ｄ８は、１１Ｂにおいて示したように、腫瘍内ＮＫ細胞を増加させ、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を増加させ、ＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＦｏｘＰ３＋Ｔ－ｒｅｇ細胞を減少させる傾向を示した。ＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＦｏｘＰ３＋Ｔ－ｒｅｇ細胞における減少の傾向は、更に、図１１Ｃに示したようにｒ５Ｄ８治療後の同系正所性ＫＬＮ２０５腫瘍モデルにおいても観察された。有効性を媒介するためのＴ細胞の動員と一致して、ＣＴ２６モデルにおけるＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞の欠失は、図１２に示したように、ｒ５Ｄ８の抗腫瘍有効性を阻害した。

【０１３６】

Ｔ細胞を欠失させるための方法

ＣＴ２６細胞は、１０％のウシ胎児血清（ＦＢＳ）（Ｇｉｂｃｏ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、４０Ｕ／ｍＬのペニシリン及び４０μｇ／ｍＬのストレプトマイシン（ＰｅｎＳｔｒｅｐ）（Ｇｉｂｃｏ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）並びに０．２５μｇ／ｍＬのＰｌａｓｍｏｃｉｎ（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）が補給されたＲＰＭＩ培養培地（Ｇｉｂｃｏ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中で培養した。ＣＴ２６細胞（５×１０$^{5}$個）を収集し、ＰＢＳですすぎ洗い、４００ｇで５分間に渡り遠心し、１００μＬのＰＢＳ中に再懸濁させた。細胞は、細胞死を回避するために氷上で維持した。ＣＴ２６細胞は、２７Ｇのシリンジを用いる皮下注射によってマウスの左右の側腹部に投与された。マウスは、試験デザインに指示したように、腹腔内投与されたｒ５Ｄ８により週２回治療された。ビヒクルコントロール（ＰＢＳ）、ラットｒ５Ｄ８及び／又は抗ＣＤ４及び抗ＣＤ８は、試験デザインに記載したように、腹腔内注射（ＩＰ）によってマウスに週２回投与された。全抗体治療は、同時に投与された。

【０１３７】

実施例１６－ヒトＬＩＦとの複合体中のｈ５Ｄ８の結晶構造

ｈ５Ｄ８の結晶構造は、ｈ５Ｄ８が結合したＬＩＦ上のエピトープを決定するため、及び結合すると沈降するｈ５Ｄ８の残渣を決定するために、３．１Åの分解能に分解された。共結晶構造は、ＬＩＦのＮ末端ループがｈ５Ｄ８の軽鎖可変領域と重鎖可変領域の間の中央に位置することを解明した（図１３Ａ）。更に、ｈ５Ｄ８は、ＬＩＦのヘリックスＡ及びＣ上の残基と相互作用し、それにより不連続である立体構造エピトープ形成した。結合は、幾つかの塩橋、Ｈ結合及びファンデルワールス相互作用によって駆動される（表７、図１３Ｂ）。ＬＩＦのｈ５Ｄ８エピトープは、ｇｐ１３０との相互作用の領域に及ぶ。Ｂｏｕｌａｎｇｅｒ，Ｍ．Ｊ．，Ｂａｎｋｏｖｉｃｈ，Ａ．Ｊ．，Ｋｏｒｔｅｍｍｅ，Ｔ．，Ｂａｋｅｒ，Ｄ．＆ Ｇａｒｃｉａ，Ｋ．Ｃ．Ｃｏｎｖｅｒｇｅｎｔ ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ ｆｏｒ ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ ｏｆ ｄｉｖｅｒｇｅｎｔ ｃｙｔｏｋｉｎｅｓ ｂｙ ｔｈｅ ｓｈａｒｅｄ ｓｉｇｎａｌｉｎｇ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｇｐ１３０．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｃｅｌｌ １２，５７７－５８９（２００３）を参照されたい。結果は、下記の表７に要約し、図１３に描出した。

【０１３８】

【表７】

| 表 7 ヒト LIF との複合体中の h5D8 の X 線結晶構造の要約 | | |
|---|---|---|
| LIF 残基 (エピトープ) | 相互作用のタイプ | h5D8 の残基 (抗原結合部位、Kabat によるナンバリング) |
| **Ala13** | VDW | L-Tyr49, L-Asn53 |
| **Ile14-O** | HB | L-Ser50-OG |
| **Ile** | VDW | L-His30, L-Tyr32, L-Tyr49, L-Ser50 |
| | | H-Trp97 |
| **Arg15-NE** | SB | L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2 |
| **Arg15-NH1** | SB | L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2 |
| **Arg15-NH2** | SB | L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2 |
| **Arg15-O** | HB | L-Asn34-ND2 |
| **Arg15** | VDW | L-Asn34, L-Leu46, L-Tyr49, L-Glu55, L-Ser56 |
| | | H-Glu96, H-Trp97, H-Asp98, H-Leu99, H-Asp101 |
| **His16-NE2** | SB | H-Asp101-OD2 |
| **His16** | VDW | L-Tyr32, L-Asn34, L-Met89 |
| | | H-Trp95, H-Glu96, H-Trp97, H-Asp101 |
| **Pro17** | VDW | L-Tyr32, L-Ala91 |
| | | H-Trp97 |
| **Cys18** | VDW | L-Tyr32 |
| | | H-Trp33, H-Trp97 |
| **His19-NE2** | SB | H-Glu96-OE1, H-Glu96-OE2 |
| **His19** | VDW | H-His31, H-Trp33, H-Glu96 |
| **Asn20-OD1** | HB | H-Lys52-NZ |
| **Asn20-ND2** | HB | H-Asp53-OD1 |
| **Asn20** | VDW | H-Trp33, H-Lys52, H-Asp53 |
| **Gln25-NE2** | HB | H-Asp53-OD2 |
| **Gln25** | VDW | H-His31, H-Ser52C, H-Asp53 |
| **Gln29** | VDW | H-His31 |
| **Gln32** | VDW | H-Lys52B |
| **Asp120-OD2** | HB | H-Ser30-OG |
| **Asp120** | VDW | H-Thr28, H-Ser30 |
| **Arg123-NE** | HB | H-Thr28-OG |
| **Arg123** | VDW | H-Thr28 |
| **Gly124** | VDW | H-His31 |

【０１３９】

【表８】

| | | |
|---|---|---|
| **Leu125** | VDW | H-His31 |
| **Ser127-OG** | HB | H-Asp98-OD2 |
| **Ser127-O** | HB | H-Trp97-NE1 |
| **Ser127** | VDW | H-His31, H-Trp97, H-Asp98 |
| **Asn128-OD1** | HB | H-His31-NE2 |
| **Asn128** | VDW | H-His31 |
| **Leu130** | VDW | H-Trp97 |
| **Cys131** | VDW | H-Trp97 |
| **Cys134** | VDW | H-Trp97 |
| **Ser135-O** | HB | L-His30-NE2 |
| **Ser135** | VDW | L-His30 |
| **His138** | VDW | L-His30 |
| **VDW**、ファンデルワールス (低エネルギー結合); **HB**、水素結合 (中エネルギー結合); **SB**、塩橋 (高エネルギー結合) | | |

【０１４０】

方法

ＬＩＦは、ＨＥＫ ２９３Ｓ（Ｇｎｔ Ｉ$^{-}$／$^{-}$）細胞中において一過性で発現させ、Ｎｉ－ＮＴＡ親和性クロマトグラフィーを使用し、その後に２０ｍＭのＴｒｉｓ（ｐＨ８．０）及び１５０ｍＭのＮａＣｌを用いるゲル濾過クロマトグラフィーによって精製した。組み換えｈ５Ｄ８ Ｆａｂは、ＨＥＫ ２９３Ｆ細胞中で一過性で発現させ、ＫａｐｐａＳｅｌｅｃｔ親和性クロマトグラフィーを使用し、その後にカチオン交換クロマトグラフィーによって精製した。精製されたｈ５Ｄ８ Ｆａｂ及びＬＩＦを１：２．５のモル比で混合し、３０分間に渡り室温でインキュベートし、その後にＥｎｄｏＨを用いて脱グリコシル化した。引き続いてゲル濾過クロマトグラフィーを使用して複合体を精製した。この複合体を２０ｍｇ／ｍＬに濃縮し、希薄マトリックススクリーンを使用する結晶化トライアルのためにセットアップした。結晶は、４℃で、１９（ｖ／ｖ）％のイソプロパノール、１９（ｗ／ｖ）％のＰＥＧ ４０００、５（ｖ／ｖ）％のグリセロール、０．０９５Ｍのクエン酸ナトリウム（ｐＨ５．６）を含有する条件下で形成された。結晶は、カナディアン・ライト・ソース（Ｃａｎａｄｉａｎ Ｌｉｇｈｔ Ｓｏｕｒｃｅ：ＣＬＳ）での０８ＩＤ－１ビームラインで３．１Åの分解能に分解した。データを収集し、Ｋａｂｓｃｈ ｅｔ ａｌ．Ｘｄｓ．Ａｃｔａ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ．Ｓｅｃｔｉｏｎ Ｄ，Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ ６６，１２５－１３２（２０１０）によってＸＤＳを使用して処理及びスケーリングした。構造は、Ｐｈａｓｅｒ ａｓ ｐｅｒ ＭｃＣｏｙ ｅｔ ａｌ．Ｐｈａｓｅｒ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃ ｓｏｆｔｗａｒｅ．Ｊ Ａｐｐｌ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ ４０，６５８－６７４（２００７）を使用する分子置換法によって決定した。構造が許容可能なＲ$_{work}$及びＲ$_{free}$に収束するまで、Ｃｏｏｔ及びｐｈｅｎｉｘ．ｒｅｆｉｎｅを使用して、モデルの構築及び精錬の数回の反復を実施した。Ｅｍｓｌｅｙ ｅｔ ａｌ．Ｆｅａｔｕｒｅｓ ａｎｄ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｏｆ Ｃｏｏｔ．Ａｃｔａ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ．Ｓｅｃｔｉｏｎ Ｄ，Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ ６６，４８６－５０１（２０１０）；及びＡｄａｍｓ，ｅｔ ａｌ．ＰＨＥＮＩＸ：ａ ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｐｙｔｈｏｎ－ｂａｓｅｄ ｓｙｓｔｅｍ ｆｏｒ ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ｓｏｌｕｔｉｏｎ．Ａｃｔａ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ．Ｓｅｃｔｉｏｎ Ｄ，Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ

ａｐｈｙ ６６，２１３－２２１（２０１０）のそれぞれを参照されたい。図面は、ＰｙＭＯＬ（Ｔｈｅ ＰｙＭＯＬ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｇｒａｐｈｉｃｓ Ｓｙｓｔｅｍ，Ｖｅｒｓｉｏｎ ２．０ Ｓｃｈｒｏｅｄｉｎｇｅｒ，ＬＬＣ）において生成された。

【０１４１】

実施例１７－ｈ５Ｄ８はＬＩＦに対する高度の特異性を有する。

本発明者らは、結合特異性を決定するために、ｈ５Ｄ８の他のＬＩＦファミリーメンバーへの結合を試験しようと考えた。Ｏｃｔｅｔ９６分析を使用すると、ｈ５Ｄ８のヒトＬＩＦへの結合は、両方のタンパク質が大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）中で生成された場合、ＬＩＦの最高ホモロジーＩＬ－６ファミリーメンバーであるオンコスタチンＭ（ＯＳＭ）の結合のおよそ１００倍である。両方のタンパク質が哺乳動物系中で生成された場合は、ｈ５Ｄ８は、ＯＳＭへの結合を示さない。データは、表８に要約した。

【０１４２】

【表９】

表 8 Octet によって測定したサイトカインに対する h5D8 親和性測定の要約

| | KD [M] | kon [1/Ms] | kdis [1/s] |
|---|---|---|---|
| h5D8 + huLIF (大腸菌(E.coli)) | 4.3E-10 +/- 2.0E-11 | 3.1E+05 +/- 3.1E+03 | 1.3E-04 +/- 5.8E-06 |
| h5D8 + huLIF (哺乳動物) | 1.3E-09 +/- 7.2E-11 | 1.2E+05 +/- 1.3E+03 | 1.5E-04 +/- 8.5E-06 |
| h5D8 + huOSM (大腸菌(E.coli)) | 3.6E-08 +/- 1.4E-09 | 8.5E+04 +/- 3.1E+03 | 3.1E-03 +/- 4.1E-05 |
| h5D8 + huOSM (哺乳動物) | ND | ND | ND |
| h5D8 + huIL-6 大腸菌(E.coli)) | ND | ND | ND |

ND =結合なし

【０１４３】

方法

Ｏｃｔｅｔ結合実験：試薬は、製造業者が提供したマニュアルに従って使用及び調製した。基本的速度実験は、下記：センサー／プログラムのセットアップ：ｉ）平衡化（６０秒間）；ｉｉ）装填（１５秒間）；ｉｉｉ）ベースライン（６０秒間）；ｉｖ）会合（１８０秒間）；及びｖ）解離（６００秒間）のように、Ｏｃｔｅｔ Ｄａｔａ Ａｃｑｕｉｓｉｔｉｏｎソフトウェアのバージョン９．０．０．２６を使用して実施した。

【０１４４】

サイトカインに対するｈ５Ｄ８のＯｃｔｅｔ親和性：基本的速度実験は、Ｏｃｔｅｔデータ取得ソフトウェアのバージョン９．０．０．２６を使用して下記のように実施した：アミン反応性第二世代バイオセンサー（ＡＲ２Ｇ）は、少なくとも１５分間に渡り水中で水和させた。ｈ５Ｄ８のバイオセンサーへのアミン共役結合は、Ａｍｉｎｅ Ｃｏｕｐｌｉｎｇ Ｓｅｃｏｎｄ Ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎキットを用いてＦｏｒｔｅＢｉｏ Ｔｅｃｈｎｉｃａｌ Ｎｏｔｅ ２６（参考文献を参照されたい）に従って実施した。浸漬ステップは、下記：ｉ）水中での６０秒間の平衡化；ｉｉ）水中の２０ｍＭのＥＣＤ、１０ｍＭのスルホ－ＮＨＳ中での３００秒間の活性化；ｉｉｉ）１０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ６．０）、１０μｇ／ｍｌのｈ５Ｄ８中での６００秒間の固定化；ｉｖ）１Ｍのエタノールアミン（ｐＨ８．５）中での３００秒間のクエンチ；ｖ）水中での１２０秒間のベースライン、次に速度実験は、その後の３０℃、１０００ｒｐｍでの浸漬及びリードステップを

用いて実施した；ｖｉ）１×の反応速度緩衝液中で６０秒間のベースライン；ｖｉｉ）１×の反応速度緩衝液中の１８０秒間のサイトカインの適切な連続希釈液の会合；ｖｉｉｉ）１×の速度緩衝液中の３００秒間の解離；ｉｘ）１０ｍＭのグリシン（ｐＨ２．０）及び１×の反応速度緩衝液それぞれの間で交番する３回の再生／中和サイクル（３サイクルについてそれぞれ５秒間）のように、３０℃、１０００ｒｐｍで実施した。バイオセンサーは、再生後、その後の結合分析のために再使用した。

【０１４５】

哺乳動物細胞から生成したヒト組み換えＬＩＦ（ＬＩＦ－Ｈ５２１ｂ）は、ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓからであった；哺乳動物細胞中で生成したヒト組み換えＯＳＭ（８４７５－ＯＭ／ＣＦ）は、Ｒ＆Ｄからであった；及び大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）細胞中で生成したヒト組み換えＯＳＭ（２９５－ＯＭ－０５０／ＣＦ）は、Ｒ＆Ｄからであった。

【０１４６】

実施例１８－ｈ５Ｄ８　ｆａｂの結晶構造

ｈ５Ｄ８　Ｆａｂの５種の結晶構造は、極めて広範囲の化学的条件下で決定した。これらの構造の高い分解能は、ＣＤＲ残基の立体構造が低い柔軟性と関連しており、様々な化学的環境において高度に類似であることを示している。この抗体の固有の特徴は、可変重鎖領域の１００位における非標準システインの存在である。構造分析は、システインが対になっておらず、溶媒が殆ど到達できないことを示している。

【０１４７】

ｈ５Ｄ８　Ｆａｂは、そのＩｇＧのパパイン消化、その後に標準的な親和性、イオン交換及びサイズクロマトグラフィー技術を用いた精製によって得た。蒸気拡散法を使用して結晶を得ると、分解能が１．６５Å～２．０Åの範囲に渡る５種の結晶構造が決定された。全構造は、５種の異なるｐＨレベル：５．６、６．０、６．５、７．５及び８．５に渡る結晶化条件にもかかわらず、同一結晶空間群に分解され、類似の単位格子寸法（Ｐ２１２１２１、ａ～５３．８Å、ｂ～６６．５Å、ｃ～１４３．３Å）を備えていた。従って、これらの結晶構造は、結晶充填アーチファクトによって妨げられないｈ５Ｄ８Ｆａｂの三次元配置を広範囲の化学的条件に渡って比較することを可能にする。

【０１４８】

電子密度は、全相補性決定領域（ＣＤＲ）残基について観察され、これらは引き続いてモデリングされた。著明にも、ＬＣＤＲ１及びＨＣＤＲ２は、浅部ＬＣＤＲ３及びＨＣＤＲ３領域と一緒に抗原結合部位の中心で結合溝を形成する細長い立体構造を採用していた（図１４Ａ）。５種の構造は、０．１９７Å～０．３２７Åの範囲に渡る全原子の二乗平均根偏差を伴って、全残基に渡って高度に類似である（図１４Ａ）。これらの結果は、ＣＤＲ残基の立体構造が５．６～８．５の範囲に渡るｐＨレベル並びに１５０ｍＭ～１Ｍの範囲に渡るイオン強度を含めて、様々な化学的環境において維持されることを示した。ｈ５Ｄ８抗原結合部位の静電表面の分析は、優勢な疎水性パッチを伴わずに正に荷電及び負に荷電した領域が親水特性に同等に寄与することを解明した。ｈ５Ｄ８は、ＨＣＤＲ３の塩基（Ｃｙｓ１００）での非標準システインの珍しい特徴を有する。全５種の構造において、この遊離システインは整列させられており、ジスルフィドスクランブルを形成することはない。更に、遊離システインは、Ｃｙｓ（システニル化）又はグルタチオン（グルタチオン化）の添加によって改変されず、主鎖と重鎖のＬｅｕ４、Ｐｈｅ２７、Ｔｒｐ３３、Ｍｅｔ３４、Ｇｌｕ１０２及びＬｅｕ１０５の側鎖原子とのファンデルワールス相互作用（３．５～４．３Åの距離）を作り出す（図１４Ｂ）。最後に、Ｃｙｓ１００は、ＣＤＲ１及びＨＣＤＲ３の立体構造を媒介することに関係していると思われる、大部分が埋め込まれた構造残基である。従って、本出願者らの５種の結晶構造におけるこの領域の均質な配置によって観察されるように、他のシステインとの反応性を有する可能性は低い。

【０１４９】

方法

ｈ５Ｄ８－１　ＩｇＧは、Ｃａｔａｌｅｎｔ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓから入手し、２５ｍＭのヒスチジン、６％のスクロース、０．０１％のポリソルベート８０、ｐＨ６．０中で調

製した。調製したＩｇＧは、ＰＢＳ、１．２５ｍＭのＥＤＴＡ、１０ｍＭのシステイン中の３７℃で１時間に渡り、１：１００のμｇのパパイン（Ｓｉｇｍａ）を用いた消化前に、１０ＫのＭＷＣＯコンセントレーター（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を用いてＰＢＳ中で広範に緩衝液交換させた。パパイン消化ＩｇＧは、ＡＫＴＡ　Ｓｔａｒｔクロマトグラフィーシステム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用してプロテインＡカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に通して流動させた。ｈ５Ｄ８　Ｆａｂを含有するプロテインＡフロースルーを回収し、１０ＫのＭＷＣＯコンセントレーター（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を使用して２０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ５．６）中で緩衝液交換させた。結果として生じた試料は、ＡＫＴＡ　Ｐｕｒｅクロマトグラフィーカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用してＭｏｎｏ　Ｓカチオン交換カラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）上に装填した。１Ｍの塩化カリウムの勾配を用いた溶出は、２０ｍＭのＴｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭの塩化ナトリウム、ｐＨ８．０．でのＳｕｐｅｒｄｅｘ　２００　Ｉｎｃｒｅａｓｅゲル濾過カラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して回収され、濃縮され、均一なサイズに精製された優勢ｈ５Ｄ８　Ｆａｂピークを生じさせた。ｈ５Ｄ８　Ｆａｂの高純度は、還元及び非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥにより確証された。

【０１５０】

精製したｈ５Ｄ８　Ｆａｂは、１０ＫのＭＷＣＯコンセントレーター（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を用いて２５ｍｇ／ｍＬに濃縮した。Ｏｒｙｘ　４ディスペンサー（Ｄｏｕｇｌａｓ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）を使用し、２０℃で希薄マトリックス９６条件の市販のスクリーンＪＣＳＧ　ＴＯＰ９６（Ｒｉｇａｋｕ　Ｒｅａｇｅｎｔｓ）及びＭＣＳＧ－１（Ａｎａｔｒａｃｅ）を用いて蒸気拡散結晶化実験をセットアップした。結晶を入手し、５種の結晶化条件：１）０．０８５Ｍのクエン酸ナトリウム、２５．５（ｗ／ｖ）％のＰＥＧ　４０００、０．１７Ｍの酢酸アンモニウム、１５（ｖ／ｖ）％のグリセロール、ｐＨ５．６；２）０．１ＭのＭＥＳ、２０（ｗ／ｖ）％のＰＥＧ　６０００、１Ｍの塩化リチウムｐＨ６．０；３）０．１ＭのＭＥＳ、２０（ｗ／ｖ）％のＰＥＧ　４０００、０．６Ｍの塩化ナトリウム、ｐＨ６．５；４）０．０８５ＭのＨＥＰＥＳナトリウム、１７（ｗ／ｖ）％のＰＥＧ　４０００、８．５（ｖ／ｖ）％の２－プロパノール、１５（ｖ／ｖ）％のグリセロール、ｐＨ７．５；及び５）０．０８ＭのＴｒｉｓ、２４（ｗ／ｖ）％のＰＥＧ　４０００、０．１６Ｍの塩化マグネシウム、２０（ｖ／ｖ）％のグリセロール、ｐＨ８．５、に従って４日後に採取した。液体窒素中での急速冷凍の前に、結晶を含有する母液には、必要に応じて５～１５（ｖ／ｖ）％のグリセロール又は１０（ｖ／ｖ）％のエチレングリコールを補給した。結晶にはＡｄｖａｎｃｅｄ　Ｐｈｏｔｏｎ　ＳｏｕｒｃｅでＸ線シンクロトロン放射を受けさせ、ビームライン２３－ＩＤ－Ｄ（Ｃｈｉｃａｇｏ，ＩＬ）及び回折パターンをＰｉｌａｔｕｓ３　６Ｍ検出器上で記録した。データは、ＸＤＳを用いて処理し、構造は、Ｐｈａｓｅｒを用いる分子置換によって決定した。精錬は、Ｃｏｏｔにおける反復モデル構築を用いたＰＨＥＮＩＸにおいて実施した。図面は、ＰｙＭＯＬにおいて生成された。全ソフトウェアには、ＳＢＧｒｉｄを通してアクセスした。

【０１５１】

実施例１９－ｈ５Ｄ８保存結合（ｐｒｅｓｅｒｖｅ　ｂｉｎｄｉｎｇ）のシステイン１００での突然変異

ｈ５Ｄ８の分析は重鎖の可変領域における１００位（Ｃ１００）での遊離システイン残基を解明した。ｈ５Ｄ８変異体は、ヒト及びマウスＬＩＦに対する結合及び親和性を特徴付けるために、Ｃ１００を各天然型アミノ酸と置換することによって生成した。結合は、ＥＬＩＳＡ及びＯｃｔｅｔアッセイを用いて特徴付けた。結果は、表９に要約した。ＥＬＩＳＡのＥＣ５０曲線は、図１５に示した（図１５Ａ、ヒトＬＩＦ及び図１５Ｂ、マウスＬＩＦ）。

【０１５２】

【表１０】

| 表9 Octetアッセイによって決定した親和性及びELISAによって決定したEC50の要約 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 突然変異 | 親和性/ $k_D$ (M) | | 結合 EC50 (nM) | |
| | ヒトLIF | マウスLIF | ヒトLIF | マウスLIF |
| C100 | <1.0E-12 ± 2.252E-11 | 9.946E-11 ± 8.272E-12 | 0.09878 | 0.1605 |
| C100S | 8.311E-10 ± 5.886E-11 | 2.793E-09 ± 5.925E-11 | n.d. | n.d. |
| C100Q | 3.87E-09 ± 1.55E-10 | 2.84E-09 ± 4.85E-11 | 10.18 | 26.33 |
| C100N | 5.59E-09 ± 1.01E-10 | 6.68E-09 ± 9.8E-11 | 13.18 | 45.87 |
| C100E | 2.67E-09 ± 4.64E-11 | 4.1E-09 ± 7.56E-11 | 7.179 | 25.3 |
| C100D | 2.02E-09 ± 8.08E-11 | 6.49E-09 ± 7.16E-11 | 11.89 | 22.88 |
| C100T | 4.36E-10 ± 2.1E-11 | 1.02E-09 ± 1.77E-11 | 5.575 | 8.753 |
| C100G | 2.49E-09 ± 4.2E-11 | 3.33E-09 ± 5.42E-11 | 21.94 | 40.17 |
| C100P | 2.74E-10 ± 2.97E-10 | <1.0E-12 ± 7.64E-10 | 34.44 | 101.9 |
| C100A | <1.0E-12 ± 2.713E-11 | <1.0E-12 ± 1.512E-11 | 0.6705 | 0.9532 |
| C100V | <1.0E-12 ± 1.805E-11 | <1.0E-12 ± 8.086E-12 | 0.2785 | 0.3647 |
| C100L | <1.0E-12 ± 1.963E-11 | 1.998E-10 ± 1.055E-11 | 0.454 | 0.547 |
| C100I | <1.0E-12 ± 1.424E-11 | 3.361E-11 ± 7.545E-12 | 0.299 | 0.3916 |
| C100M | 1.155E-09 ± 3.400E-11 | 2.676E-09 ± 2.449E-11 | 0.7852 | 1.563 |
| C100F | 4.376E-09 ± 1.127E-10 | 1.147E-08 ± 9.099E-11 | 8.932 | 21.53 |
| C100Y | 1.444E-08 ± 1.159E-09 | 2.514E-08 ± 2.047E-09 | n.d. | n.d. |
| C100W | 2.508E-08 ± 7.036E-09 | 4.819E-08 ± 4.388E-09 | n.d. | n.d. |
| C100H | 1.304E-10 ± 1.416E-10 | 4.284E-09 ± 1.231E-10 | 8.254 | n.d. |
| C100K | 7.477E-08 ± 1.581E-09 | 6.053E-08 ± 2.589E-09 | n.d. | n.d. |
| C100R | 1.455E-07 ± 6.964E-09 | 5.142E-08 ± 3.247E-09 | n.d. | n.d. |

【０１５３】

方法

ＥＬＩＳＡ：ヒト及びマウスＬＩＦへのｈ５Ｄ８　Ｃ１００変異体の結合は、ＥＬＩＳＡによって決定した。組み換えヒト又はマウスＬＩＦタンパク質を４℃で一晩かけて１μｇ／ｍＬでＭａｘｉｓｏｒｐ　３８４ウエルプレート上にコーティングした。プレートは、室温で２時間に渡り１×ブロッキング緩衝液を用いてブロックした。各ｈ５Ｄ８　Ｃ１００変異体の滴定を追加し、室温で１時間に渡り結合するに任せた。プレートをＰＢＳ＋０．０５％のＴｗｅｅｎ－２０により３回洗浄した。ＨＲＰ結合抗ヒトＩｇＧを添加し、室温で３０分間に渡り結合するに任せた。プレートはＰＢＳ＋０．０５％のＴｗｅｅｎ－２０を用いて３回洗浄し、１×のＴＭＢ基質を用いて展開させた。反応は１ＭのＨＣｌを用いて停止させ、４５０ｎｍでの吸光度を測定した。図面及び非線形回帰分析の生成は、Ｇｒａｐｈｐａｄ　Ｐｒｉｓｍを用いて実施した。

【０１５４】

Ｏｃｔｅｔ　ＲＥＤ９６：ヒト及びマウスＬＩＦに対するｈ５Ｄ８　Ｃ１００変異体の親和性は、Ｏｃｔｅｔ　ＲＥＤ９６システムを用いてＢＬＩによって決定した。ｈ５Ｄ８　Ｃ１００変異体を抗ヒトＦｃバイオセンサー上に７．５μｇ／ｍＬで装填し、その後に１×速度緩衝液中で３０秒間のベースラインが続いた。ヒト又はマウスＬＩＦタンパク質の滴定は、９０秒間に渡り装填されたバイオセンサーに関連しており、３００秒間に渡り１×の速度緩衝液中で解離するに任せた。ＫＤは、１：１の包括的フィッティングモデルを使用し、データ分析ソフトウェアによって計算した。

【０１５５】
実施例２０－ｈ５Ｄ８はｉｎ　ｖｉｔｒｏでｇｐ１３０へのＬＩＦの結合をブロックする
　ｈ５Ｄ８がＬＩＦがＬＩＦＲに結合することを防止するかどうかを決定するために、Ｏｃｔｅｔ　ＲＥＤ　９６プラットフォームを使用する分子結合アッセイを実施した。ｈ５Ｄ８は、抗ヒトＦｃ捕獲によってＡＨＣバイオセンサー上に装填した。次に、バイオセンサーをＬＩＦ中に浸漬すると、予想通りに、会合が観察された（図１６Ａ、中央の３番目）。その後に、バイオセンサーを様々な濃度のＬＩＦＲ中に浸漬した。用量依存性会合が観察された（図１６Ａ、右の３番目）。コントロール実験は、この会合がＬＩＦ特異的であり（図示していない）、ｈ５Ｄ８又はバイオセンサーとの非特異的相互作用には起因しないことを証明した。
【０１５６】
　ｈ５Ｄ８及びＬＩＦの結合を詳細に特徴付けるために、一連のＥＬＩＳＡ結合実験を実施した。ｈ５Ｄ８及びＬＩＦをプレインキュベートし、次に組み換えヒトＬＩＦＲ（ｈＬＩＦＲ）又はｇｐ１３０の何れかをコーティングしたプレートに導入した。ｈ５Ｄ８／ＬＩＦ複合体とコーティングされた基質との間の結合の欠如は、ｈ５Ｄ８が何らかの方法でＬＩＦの受容体への結合を崩壊させたことを示している。更に、ＬＩＦ（アイソタイプコントロール、（－）で指示した）には結合しなかった、又は公知の結合部位（Ｂ０９はＬＩＦ結合についてｇｐ１３０又はＬＩＦＲの何れかと競合しない；ｒ５Ｄ８は、ｈ５Ｄ８のラット親バージョンである）でＬＩＦに結合する何れかであるコントロール抗体も又使用した。ＥＬＩＳＡの結果は、ｈ５Ｄ８／ＬＩＦ複合体がｈＬＩＦＲに（ｒ５Ｄ８／ＬＩＦ複合体と同様に）結合できたことを示しており、これは、これらの抗体がＬＩＦ／ＬＩＦＲ会合を妨害しないことを示している（図１６Ａ）。これとは対照的に、ｈ５Ｄ８／ＬＩＦ複合体（及びｒ５Ｄ８／ＬＩＦ複合体）は、組み換えヒトｇｐ１３０に結合することができなかった（図１６Ｂ）。これは、ＬＩＦがｈ５Ｄ８に結合した場合に、ＬＩＦのｇｐ１３０結合部位が影響を受けたことを示している。
【０１５７】
実施例２１－ヒト組織中でのＬＩＦ及びＬＩＦＲの発現
　ＬＩＦ及びＬＩＦＲの発現レベルを決定するために、多数の様々なタイプのヒト組織を対象に定量的リアルタイムＰＣＲを実施した。図１７Ａ及び１７Ｂに示した平均発現レベルは、全ＲＮＡの１００ｎｇ当たりのコピー数である。大多数の組織は、全ＲＮＡの１００ｎｇ当たり少なくとも１００コピーを発現した。ＬＩＦ　ｍＲＮＡの発現は、ヒト脂肪組織（腸間膜回腸［１］）、血管組織（脈絡叢［６］及び腸間膜［８］）及び臍帯［６８］組織中で最高であり、脳組織（皮質［２０］及び黒質［２８］）中で最低であった。ＬＩＦＲ　ｍＲＮＡの発現は、ヒト脂肪組織（腸間膜回腸［１］）、血管組織（肺［９］）、脳組織［１１～２８］及び甲状腺［６６］組織中で最高であり、ＰＢＭＣ［３１］中で最低であった。カニクイザル組織中のＬＩＦ及びＬＩＦＲ　ｍＲＮＡの発現レベルは、ヒト組織中で観察された発現レベルと類似であり、ここでＬＩＦ発現は脂肪組織中で高く、ＬＩＦＲ発現は、脂肪組織中で高く、ＰＢＭＣ中で低かった（データは示していない）。
【０１５８】
　図１７Ａ及び図１７Ｂについての組織のナンバリングは：１－脂肪（腸間膜回腸）；２－副腎；３－膀胱；４－膀胱（三角部）；５－血管（脳：中脳動脈）；６－血管（脈絡叢）；７－血管（冠動脈）；８－血管（腸間膜（結腸））；９－血管（肺）；１０－血管（腎臓）；１１－脳（扁桃）；１２－脳（尾状核）；１３－脳（小脳）；１４－脳（皮質：前帯状）；１５－脳（皮質：後帯状）；１６－脳（皮質：前頭部－側頭部）；１７－脳（皮質：前頭部－中頭部）；１８－脳（皮質：後頭部）；１９－脳（皮質：前頭頂）；２０－脳（皮質：側頭部）；２１－脳（背側縫線核）；２２－脳（海馬）；２３－脳（視床下部：前部）；２４－脳（視床下部：後部）；２５－脳（青斑核）；２６－脳（延髄）；２７－脳（側座核）；２８－脳（黒質）；２９－胸部；３０－盲腸；３１－末梢血単核球（ＰＢＭＣ）；３２－結腸；３３－後根神経節（ＤＲＧ）；３４－十二指腸；３５－卵管；３６－胆嚢；３７－心臓（左心房）；３８－心臓（左心室）；３９－回腸；４０－空腸；

４１－腎臓（皮質）；４２－腎臓（髄質）；４３－腎臓（骨盤）；４４－肝臓（実質）；４５－肝臓（気管支：主）；４６－肝臓（気管支：第３次）；４７－肺（実質）；４８－リンパ腺（扁桃腺）；４９－筋肉（骨格）；５０－食道；５１－卵巣；５２－膵臓；５３－松果体；５４－下垂体；５５－胎盤；５６－前立腺；５７－直腸；５８－皮膚（包皮）；６９－脊髄；６０－脾臓（実質）；６１－胃（洞）；６２－胃（本体）；６３－胃（基底部）；６４－胃（幽門管）；６５－精巣；６６－甲状腺；６７－気管；６８－臍帯；６９－尿管；７０－子宮（頸部）；７１－子宮（子宮筋層）；及び７２－輸精管である。

【０１５９】

実施例２２－用量の選択、用量の増加及び一様な投与

抗ＬＩＦ抗体の用量選択、用量の増加及び一様な投与については、下記に記載する。ｈ５Ｄ８の安全性評価のためには、マウス及びカニクイザルを使用した。

【０１６０】

１００ｍｇ／ｋｇまでの週１回ＩＶ投与を摂取したマウス及びサルにおける４週間のＧＬＰ毒性試験において、治療関連性有害作用は全く観察されなかった。従って、重篤な毒性が発現しない最大投与量（ＨＮＳＴＤ）は、＞１００ｍｇ／ｋｇであり、無毒性量（ＮＯＡＥＬ）は、本試験の条件下で両方の動物種において１００ｍｇ／ｋｇ ＩＶであると確証された。用量は、ヒト等価量（ＨＥＤ）を確証するためにスケーリングした。ＨＥＤを推定するためには、体表面積（ＢＳＡ）をベースとするスケーリングアプローチを採用した。これらのＧＬＰ毒性試験に基づいて、最高推奨初回投与量（ＭＲＳＤ）を下記に示すように推定した：

・ マウスＮＯＡＥＬからの１０倍の安全係数を用いた０．８１ｍｇ／ｋｇ ＩＶ ＨＥＤ
・ マウスにおける１０％に重篤な毒性を発現する投与量に基づく＞１０ｍｇ／ｋｇ ＩＶ
・ カニクイザルＮＯＡＥＬからの１０倍の安全係数を用いた３．２ｍｇ／ｋｇ ＩＶ ＨＥＤ
・ ＨＮＳＴＤの１／６に基づく＞１６．７ｍｇ／ｋｇ ＩＶ

毒性試験に基づいて、第１相試験における進行癌患者集団のための保存的アプローチを考慮に入れると、１ｍｇ／ｋｇ（又は７５ｍｇの一様な用量）ＩＶのＭＲＳＤは、データによって支持された。

【０１６１】

ＭＲＳＤを設定する際には、薬理的活性量（ＰＡＤ）も又考察されてきた。現在までに利用可能なマウス薬理学モデルにおける薬理学、ＰＫ及びＬＩＦ安定化データに基づいて、下記のアプローチを使用してＰＡＤを推定した。Ｕ２５１マウス異種移植片モデルにおける用量反応に基づいて、最適有効用量は、週２回約３００μｇ ＩＰであると思われ、この用量レベルは、約２３０μｇ／ｍＬの最終投与前のトラフ血清中濃度と関連していた。血清中ＬＩＦレベルの最大安定化はこのモデルにおけるこの３００μｇの用量で達成されていたというエビデンスがあり、これは更に、１０、３０及び１００ｍｇ／ｋｇの用量でのマウスＧＬＰ毒性試験における血清中ＬＩＦ安定化データによっても支持された。サルＰＫデータに当てはめ、ヒトに対してスケーリングした２コンパートメントモデルを使用すると、３週毎の１５００ｍｇの臨床用量は、約５００μｇ／ｍＬの$C_{trough}$を提供するであろう。同様に、このＵ２５１マウス異種移植片モデルにおける週２回２０μｇの最小有効量は、約２０μｇ／ｍＬの最終投与前のトラフ血清中濃度と関連していた；この２０μｇの用量で達成したのは約５０％の最大血清中ＬＩＦ安定化だけであるというエビデンスがあり、これは、マウスＰＫ忍容性試験における０．５ｍｇ／ｋｇ ＩＶの用量で最小ＬＩＦ安定化が得られるというエビデンスによって支持された。３週毎の７５ｍｇの臨床用量は、約２５μｇ／ｍＬの$C_{trough}$を提供するであろう。マウス同系モデルから入手できる追加のＰＫ－ＰＤ（ＬＩＦ安定化）データは、Ｕ２５１マウス異種移植片モデルに由来するＰＡＤを支持した。

【０１６２】

従って、７５ｍｇ（ｉ．ｖ．）の開始用量は、マウス及びサルにおける両方の毒性試験データ並びにマウス異種移植片モデルにおける最小有効用量に基づいて適切であると見な

された。１５００～２０００ｍｇの最高臨床用量は、毒性試験データによって支持された。一様な投与アプローチは、試験物品関連有害所見の非存在と結び付けると、動物モデルにおける線状ＰＫの観察に基づいて適切であった。

【０１６３】

実施例２３－ｈ５Ｄ８についての第１相用量エスカレーション及び用量漸増試験

第１相臨床試験は、癌の断面積に対する単剤療法におけるｈ５Ｄ８の安全性プロフィール及び適正な投与を確証するために策定された。主目的は：１）進行性固形腫瘍を有する患者におけるｈ５Ｄ８の安全性及び忍容性を評価する；２）ｈ５Ｄ８単剤療法のための推奨用量を決定する；及び３）ＲＥＣＩＳＴ　１．１基準に従って、ｈ５Ｄ８の全奏効率（ＯＲＲ）によって測定される、予備的抗腫瘍活性を評価することであった。副次的目的は：ｈ５Ｄ８のＰＫ及び免疫原性を特徴付ける；及び２）ＲＥＣＩＳＴ　１．１による病勢コントロール率（ＤＣＲ）及び無増悪生存率（ＰＦＳ）を含む、進行性固形腫瘍を有する患者における有効性パラメーターを評価することであった。探索的目的は：１）薬物動態、薬力学と患者安全性及び抗腫瘍活性へのｈ５Ｄ８曝露との間の関係を探索する；ｂ）抗腫瘍ＬＩＦ発現がｈ５Ｄ８の抗腫瘍活性と相関するかどうかを評価する；ｃ）周辺及び腫瘍におけるｈ５Ｄ８の薬力学的作用を特徴付ける、及びｄ）探索的バイオマーカーにｈ５Ｄ８治療が及ぼす影響を特徴付けることであった。

【０１６４】

本試験は、オープンラベルの第１相試験として設計され、進行性固形腫瘍患者を登録した。本試験は、Ｑ３Ｗで１回静脈内に投与されるｈ５Ｄ８の一様な用量を用いる加速滴定３＋３デザインで実施され、現在も実施されている（７５ｍｇ、２２５ｍｇ、７５０ｍｇ、１１２５ｍｇ及び１５００ｍｇの用量コホートで）。

【０１６５】

抗腫瘍反応試験は、癌臨床試験の固形癌の治療効果判定のガイドライン（ＲＥＣＩＳＴ）１．１によって評価するように設計した。評価は、ベースライン時及び初期６カ月間は６週毎及び次に確証された疾患の進行又は患者の離脱までのその後は１２週間毎に実施するように設計された。有害事象は、有害事象共通用語基準（ＣＴＣＡＥ）、バージョン４．０３に従って等級分けされ、試験中及び最終治療後３０日間は連続的に評価されるように設計された。

患者４１例が登録され、投与された。患者の人口学的統計は、表１０に示した。

【０１６６】

【表１１】

| 表 10 | コホート 1-5 |
|---|---|
| メジアン年齢(範囲) | 64.5 (36-78) |
| 性別、数 (%) | |
| 男性 | 20 (50%) |
| 女性 | 20 (50%) |
| 人種、数 (%) | |
| 白人 | 33 (82.5%) |
| 黒人 | 4 (10%) |
| アジア人 | 2 (5%) |
| その他 | 1 (2.5%) |
| 腫瘍の型、数(%) | |
| 膵臓癌 | 13 (31.7%) |
| 卵巣癌 | 5 (12.2%) |
| 結腸直腸癌 | 3 (7.3%) |
| 前立腺癌 | 3 (7.3%) |
| 虫垂癌 | 2 (4.9%) |
| 胆管癌 | 3 (4.9%) |
| 鼻咽喉癌 | 4 (4.9%) |
| NSCLC | 5 (4.9%) |
| 直腸癌 | 6 (4.9%) |
| 扁平上皮癌 | 7 (4.9%) |
| 腺様嚢胞癌 (ACC) | 1 (2.4%) |
| 黒色腫 | 1 (2.4%) |
| 転移性粘液様脂肪肉腫 | 1 (2.4%) |
| 傍神経節腫 | 1 (2.4%) |
| 子宮癌 | 1 (2.4%) |

【０１６７】

用量制限毒性（ＤＬＴ）は、下記：１）ｈ５Ｄ８に関連がある可能性があるとしてデータレビュー委員会（ＤＲＣ）と一致して治験責任者の同意の下で評価される、サイクル１後の２１日間中の第１日に観察されたもの；２）任意の薬物関連グレード≧３の有害事象（ＡＥ）、の通りに規定した。明確な代替の説明及び事前に規定された、自己限定性のグレード３ＡＥを備えるＡＥは、下記：１）適切な薬物療法を用いると７２時間以内にグレード≦２に寛解する疲労、悪心、嘔吐又は下痢；２）臨床上有意ではないと見なされる一過性（持続時間≦７２時間）のグレード３の生化学的異常；３）≦７２時間持続するグレード３の好中球減少症；及び４）臨床的に有意な出血を伴わないグレード３の血小板減少症、を含めて非ＤＬＴであると見なされた。サイクル２の第１日の開始を１４日間を超えて遅延させる任意のグレードの薬物関連ＡＥは、ＤＲＣによってＤＬＴであると見なされる可能性がある。コホート１～５の現在までの安全性試験要約は、表１１に示した。

【０１６８】

【表１２】

| 表 11 安全性試験の要約 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | コホート 1 | コホート 2 | コホート 3 | コホート 4 | コホート 5 | 総計 |
| 有害事象(AE)を示した患者の数 | 2 (N = 2) | 1 (N = 1) | 10 (N = 10) | 8 (N=10) | 6 (N = 11) | 27 (79.4%) (N = 34) |
| グレード≥3 の AE を有する患者の数 | 2 (10) | 0 | 6 (11) | 1 (1) | 1 (1) | 10 (23) (29.4%) |
| h5D8 関連性 AE を有する患者の数 | 0 | 1 (2) | 4 (8) | 3 (9) | 3 (5) | 11 (24) (32.4%) |
| SAE | 8 | 0 | 8 | 0 | 2 | 18 |
| h5D8 関連性 SAE | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 致死的 AE | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| 注射関連性 AE | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| C1(21 日間)中の DLT | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 遅延性 DLT | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| h5D8 の投与中断を誘発した AE | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| h5D8 の投与中止を誘発した AES | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| h5D8 の用量変更を誘発した AES | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

【０１６９】
何れの用量でも、用量制限毒性又は忍容性問題は観察されていない。概して、これらのデータは、ｈ５８が、試験した全ての用量で安全且つ良好に忍容されたことを示している。
【０１７０】
実施例２４－ｈ５Ｄ８を用いて治療された患者のケーススタディ
対象０１０６－００２は、転移性疾患のために４ラインの事前の全身性抗癌療法により複数回の予備治療を受けていた、ステージＩＶの膵臓癌を有する６８歳の白人の女性である。対象は、最初はステージＩＩ／ＩＩＩの中等度から低分化までの膵管腺癌を有すると診断された。対象は、約１６７日間に渡りネオアジュバントであるＦＬＯＦＩＲＩＮＯＸ

を用いて治療され、部分奏効を達成した。対象は、「治癒的」腹腔鏡下膵体尾部切除術及び膵脾合併切除術を受け、その後に約７カ月間に渡りアジュバントのゲムシタビンの投与を受けた時点に、対象は膵床における再発性「進行」を発生した。対象がゲムシタビン及びＡｂｒａｘａｎｅによる治療を約２カ月間受けると、部分奏効の最良効果が得られたが、その後に膵床及び腹腔リンパ節における「進行」が続いた。対象はその後、約２週間に渡り５ＦＵ及びＯｎｉｖｙｄｅ（リポソームイリノテカン）を摂取したが、これは毒性のために投薬中止された。約２カ月間、対象は研究用Ｗｎｔ阻害剤（Ｓａｍｕｍｅｄ）を用いて治療されたが、横隔膜の上下の悪性リンパ節腫脹症を伴う「進行」を有していた。約４カ月間に渡り、対象は、ピリミジンヌクレオシド代謝阻害剤（Ｆｕｊｉｆｌｉｍ）を摂取し、「部分奏効」である最良効果が生じた。対象は、Ｘ線所見上の進行並びに増加するＣＡ１９－９が確証されたので、ｈ５Ｄ８臨床試験に登録された。彼女がｈ５Ｄ８臨床試験の前に受けた治療の結果は、表１３に要約した。（ＰＲ＝部分奏効；ＰＤ＝進行；ＳＤ＝安定）

【０１７１】

【表１３】

表 12

| 緩和的抗癌療法 | PD 前の療法の実施期間 | 最良効果 | 治療開始時の CA19-9 | 最良効果時の CA19-9 | PD 時の CA19-9 |
|---|---|---|---|---|---|
| ゲムシタビン /Abraxane | 2 カ月間 | PR | 63 | UNK | 97 |
| Wnt 阻害剤 | 2 カ月間 | PD | 1088 | NA | 4195 |
| ピリミジンヌクレオシド阻害剤 | 4 カ月間 | PR | 4195 | 1249 | 1658 |

【０１７２】

対象は、彼女のｈ５Ｄ８の初回用量を１１２５ｍｇで摂取したが、ごく最近の用量は、約１６５日後のサイクル９（Ｃ９）（１５００ｍｇ）であった。ベースライン時に、対象は、臨床的に有意な検査異常値を有していなかった；米国東海岸癌臨床試験グループ（「ＥＣＯＧ」）ステータス＝１；１６５８の上昇したＣＡ１９－９。２本のリンパ節（１本は胸部及び１本は腹部）は標的病変であると同定されたが、腹部リンパ節腫脹症は非標的病変であると同定された。サイクル３の第１日（「Ｃ３Ｄ１」）に、彼女のＥＣＯＧステータスは０に改善し、ＣＡ１９－９は１０６９に低下し、総合ＲＥＣＩＳＴ効果は「安定」であった。歴史的に、ＣＡ１９－９は、疾患の信頼できる予測マーカーであった。医師によると、腹痛のために必要とされたオキシコドンの使用は、もはや必要ではなかった。対象はサイクル６を摂取し、約２週間後、患者の鎮痛要件は増大し、治験実施機関からは遠隔の地で入院した。現在、対象は、１日２回、麻薬性鎮痛薬を必要とするベースラインに戻っている。対象は、反復スキャンを受け、「安定」を示した。彼女のＣＡ１９－９はサイクル５の時点に増加したが、サイクル９にはベースラインより下及びサイクル３での初期低下より下に戻った。結果は表１３に示した。対象は、治療からの有害事象を全く経験しなかった。

【０１７３】

【表１４】

| 表 13 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **腫瘍マーカー** | **ベースライン** | **C3** | **C5** | **C7** | **C9** |
| CA 19-9 (U/mL) | 1658 | 1069 | 1224 | 1397 | 1045.8 |
| **RECIST 標的病変** | **ベースライン** | **C3** | **C5** | **C7** | **C9** |
| 胸部 | 15mm | 17mm | 14mm | 14mm | 13mm |
| 腹部 | 19mm | 19mm | 20mm | 18mm | 15mm |
| **LD の合計** | 34mm | 36mm | 34mm | 32mm | 28mm |
| **非標的病変** | | | | | |
| 腹部 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| | | | | | |
| **新規な病変** | NA | なし | なし | なし | なし |
| | | | | | |
| **総合効果** | NA | 安定 | 安定 | 安定 | 安定 |

【０１７４】

対象０１０２－００１は、６ラインの全身性抗癌療法によって複数回の予備治療を受けていたステージＩＶの子宮平滑筋肉腫を有する７８歳の白人女性である。対象は、最初にＴ１Ｂ子宮平滑筋肉腫を有すると診断され、治癒的ＴＡＨ／ＢＳＯを受けた局所的再発が初期診断の約３年後に発生したが、これは外科的切除術により治療された；化学放射線療法は拒否された。対象は、約２年後に再発し、４サイクルのゲムシタビン及びドセタキセルにより治療されたがまちまちな応答を示した。対象は次に、３サイクルのドキシルを摂取し、得られた最良効果は「進行」であった。この後に２カ月間のビノレルビンが摂取され、得られた最良効果はＰＤであった。トラベクチジンは、約４カ月間投与されてまちまちな応答を示し、毒性のために投薬が中止された。対象は、次に４カ月間のＤＴＩＣにより治療されたが、得られた最良効果はＰＤであった。対象は、約２２日間に渡り１０分割での計３７５０ｃＧｙに渡り主要骨髄内腫瘤への放射線療法（ＸＲＴ）を受け、引き続いて約１カ月間に渡りＶｏｔｒｉｅｎｔを摂取したが、得られた最良効果はＰＤであった。彼女の以前の治療の結果は、表１４に示した。

【０１７５】

【表１５】

| 表 14 | | |
|---|---|---|
| **緩和的抗癌療法** | **PD 前の療法の期間** | **最良効果** |
| ゲムシタビン/ドセタキセル | 3 カ月間 | まちまち |
| ドキソルビシン | 2 カ月間 | PD |
| ビノレルビン | 2 カ月間 | PD |
| トラベクチジン | 毒性に対して D/C | まちまち |
| DTIC | 4 カ月間 | PD |
| Votrient | 2 カ月間 | PD |

【０１７６】
ベースライン時に、対象は臨床的有意な検査値を有していなかった；ＥＣＯＧ＝１、及び１３の上昇したＣＡ－１２５。対象は、ｈ５Ｄ８の初回用量を７５０ｍｇで摂取し、彼女のＣＡ－１２５はＣ３によって９へ減少していた。Ｃ５の評価時、彼女のＣＡ－１２５は８であり、総合ＲＥＣＩＳＴ効果は、「安定」であった。
【０１７７】
彼女のベースラインスキャンから、１カ所の肺病変、１カ所の肝病変、２カ所の直筋及び１カ所の骨盤盲嚢病変が標的病変であると同定され、腹腔病変は、非標的病変であると同定された。Ｃ７の評価時、彼女のＣＡ－１２５は９であり、対象は、「安定」の総合ＲＥＣＩＳＴ効果を有していた。３カ所の標的病変及び以前の放射線療法ポートのＣ７画像は、図１８Ａ～Ｃに示した。上記の結果は、表１５に示した。
【０１７８】
【表１６】

表 15

| 腫瘍マーカー | ベースライン | C3 | C5 | C7 | EOT |
|---|---|---|---|---|---|
| CA-125 (U/mL) | 13 | 9 | 8 | 9 | 10 |
| **RECIST 標的病変** | **ベースライン** | **C3** | **C5** | **C7** | **EOT** |
| 肺 | 13.4mm | 17.7mm | 15.7mm | 20.0mm | 27.1mm |
| 肝臓 | 14.9mm | 14.5mm | 17.7mm | 18.1mm | 22.6mm |
| 直筋 M #1 | 39.1mm | 37.6mm | 38.0mm | 37.8mm | 40.1mm |
| 直筋 M #2 | 31.9mm | 26.6mm | 22.7mm | 24.3mm | 28.5mm |
| 盲嚢 | 36.9mm | 28.3mm | 24.9mm | 25.0mm | 25.0mm |
| LD の合計 | 136.2 mm | 124.7mm | 119mm | 125.2mm | 143.3mm |
| 非標的病変 | | | | | |
| 腹膜結節 | 存在する | 非 CR/ 非 PD | 非 CR/ 非 PD | 非 CR/ 非 PD | NE |
| 新規な病変 | 非適用 | なし | なし | なし | なし |
| | | | | | |
| 総合効果 | 非適用 | 安定 | 安定 | 安定 | 進行 |

【０１７９】
対象０１０１－００１は、転移性疾患のために一次全身性抗癌療法を受けていた、ステージＩＶのＫＲＡＳ＋結腸直腸癌を有する５０歳の白人女性である。対象は、最初にステージＩＩＩの中等度分化型結腸直腸腺癌（Ｔ３Ｎ２Ｍ０）を有すると診断された。対象は、治癒的ロボット使用低位前方切除術を受け、その後に約７カ月間に渡りアジュバントの５ＦＵ及びＦＯＬＦＯＸを摂取した。対象は約２年後に肺転移を再発し、待機的管理を選択し、彼女のステージＩＶ疾患のために緩和的全身性療法を受けなかった。再発の約１年後、肺転移は進行し続けた。対象は、ｍＣＲＣのための第一線化学療法を拒絶し、彼女の第一線療法としてｈ５Ｄ８臨床試験を選択した。
【０１８０】
対象は、彼女のｈ５Ｄ８の初回用量を２２５ｍｇで摂取し、最近の用量は、約４カ月後のＣ６（７５０ｍｇ）であった。ベースライン時に、対象は、臨床的有意な検査異常を有していなかった；ＥＣＯＧステータス＝０；１１．８の上昇した腫瘍マーカー（ＣＥＡ）。２カ所の右肺下葉が標的病変であると同定され、２カ所の非標的病変（卵巣及び骨）が

同定された。Ｃ３評価時に、応答は「安定」であり、ＣＥＡは、１１．８に上昇していた。Ｃ５評価時に、対象は「安定」を有していたが、Ｃ６治療後に放射線的進行が続いた。結果は、表１６に示した。

【０１８１】

【表１７】

表 16

| 腫瘍マーカー | ベースライン | C3 | C5 | EOT |
|---|---|---|---|---|
| CEA | 10.5 | 11.8 | 17.9 | 20.1 |
| **RECIST 標的病変** | **ベースライン** | **C3** | **C5** | **EOT** |
| 肺 #1 | 12.8mm | 13.9mm | 15.7mm | 18.6mm |
| 肺 #2 | 11.7 mm | 12.1mm | 12.7mm | 13.5mm |
| **LD の合計** | 24.5 mm | 26mm | 28.4mm | 32.1mm |
| **非標的病変** | | | | |
| 骨 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 報告されなかった |
| 卵巣 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 報告されなかった |
| **新規な病変** | 非適用 | なし | なし | なし |
| | | | | |
| **総合効果** | 非適用 | 安定 | 安定 | 進行 |

【０１８２】

対象０１０６－００５は、卵管癌を有する７５歳の白人女性である。対象は、治癒的ＴＡＨ　ＢＳＯ、ＬＮ摘出術及び減量術を受け、その後にアジュバントのカルボプラチン及びタキソールを投与された。対象は、約５年後に悪性腺症を再発し、大動脈分岐部でのＬＮへの緩和的放射線療法（５５ｃＧｙ）を受けた。対象はＬＮの進行を有し、大動脈周囲のＬＮへの緩和的放射線療法（６０ｃＧｙ）を受けた。対象は、肺転移を発現し、約１カ月間に渡り治験薬であるＢＥＴ阻害剤を用いて治療されたが、これは毒性のために投薬が中止され、その後に約４カ月間に渡り治験薬の抗ＰＤ－１が投与され、「安定」の最良効果が得られた。次に対象は約２００日間に渡り治験薬のＴＩＧＩＴ阻害剤を用いて治療され、「安定」の最良効果が得られた。進行後、対象は約４カ月間に渡り治験薬のモノクローナル抗体を用いて治療され、「安定」の最良効果が得られた。対象は、進行が確証され、ｈ５Ｄ８臨床試験に登録された。彼女の以前の治療の結果は、表１７に示した。

【０１８３】

【表１８】

表 17

| 緩和的抗癌療法 | PD 前の療法の期間 | 最良効果 |
|---|---|---|
| 抗 PDL-1 | 16 カ月間 | SD |
| TIGIT 阻害剤 | 7 カ月間 | SD |
| ピリミジンヌクレオシド阻害剤 | 4 カ月間 | SD |

【０１８４】

対象は、ｈ５Ｄ８の初回投与の７５０ｍｇを摂取した；Ｃ４での２カ月後、ｈ５Ｄ８サイクルの用量は、１１２５ｍｇに増量された。彼女の最終用量（Ｃ６）は、この用量エスカレーションの約４４日後に投与された。対象は、治療の約１カ月後に放射線的進行を有

し、彼女のＥＯＴ（治験薬投与終了）来院を実施した。ベースライン時に、対象は臨床的有意な検査値を有しておらず、ＥＣＯＧパフォーマンスステータス＝１であった。対象は、血液中の腫瘍マーカーを発現しなかった。２カ所の肺病変（１カ所は右上肺葉及び１カ所は左胸郭入口）が標的病変であると選択され、非標的病変としては複数の肺結節が選択された。対象は、治療関連性有害事象を経験しなかった。これらの治験の結果は、表１８に示した。

【０１８５】

【表１９】

表 18

| 標的病変 | ベースライン | サイクル 3 | サイクル 5 | EOT |
|---|---|---|---|---|
| RUL | 20mm | 20 mm | 22 mm | 28 mm |
| 左胸郭入口 | 36mm | 40 mm | 41 mm | 44 mm |
| LD の合計 | 56 mm | 60 mm | 63 mm | 72 mm |
| 非標的病変 | | | | |
| 肺結節 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| | | | | |
| 新規な病変 | 非適用 | なし | なし | なし |
| | | | | |
| 総合効果 | 非適用 | 安定 | 安定 | 進行 |

【０１８６】

対象０３０１－００２は、卵巣癌を有すると診断された６６歳の白人女性である。対象は、ネオアジュバントであるカルボプラチン及びタキソールにより治療され、その後に約４カ月後に治癒的子宮摘出術、ＢＳＯ及び大網切除術を受け、更に約３カ月間に渡り追加のカルボプラチン／タキソール投与が行われた。対象は約８カ月間で再発し、約６カ月間に渡りカルボプラチン／タキソールを用いた緩和的化学療法を摂取した；最良効果は報告されていない。対象はこの化学療法の約３カ月後に放射線的進行を示し、約７カ月間に渡りドキソルビシンにより治療され、「安定」の最良効果が得られた；対象は、約４カ月後に再度進行した。対象は、次に約３カ月間に渡り単剤のタキソールを摂取したが、得られた最良効果は「進行」であった。約６カ月間、対象はゲムシタビン及びカルボプラチンにより治療され、「安定」の最良効果が得られた。対象は、この治療の約３カ月後に放射線的進行を有し、ｈ５Ｄ８臨床試験に登録された。彼女の以前の治療からの結果は、表１９に示した。

【０１８７】

【表２０】

表 19

| 緩和的抗癌療法 | PD 前の療法の期間 | 最良効果 |
|---|---|---|
| カルボプラチン/タキソール | 9 カ月間 | 不明 |
| ドキソルビシン | 11 カ月間 | SD |
| タキソール | 2~3 カ月間 | PD |
| カルボプラチン/ゲムシタビン | 5 カ月間 | 評価不能 |

【０１８８】

対象は、１５００ｍｇのｈ５Ｄ８の初回投与を摂取した。彼女の直近の投与Ｃ７は、約５カ月後であった。ベースライン時に、対象は臨床的有意な検査値を有しておらず、ＥＣ

ＯＧパフォーマンスステータス＝０であった。彼女のＣＡ－１２５は、ベースライン時に４１２．３であった。３カ所の病変（１カ所は膵インプラント、１カ所は下肋部における軟部組織及び１カ所の胸膜結節）が標的病変として選択され、３カ所の非標的病変（肝臓、腹膜及び後腹膜結節）が同定された。対象は、治療関連性有害事象を経験しなかった。彼女の治験の結果は、表２０に示した。

【０１８９】

【表２１】

| 表 20 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **腫瘍マーカー** | **ベースライン** | **サイクル 3** | **サイクル 5** | **サイクル 7** |
| CA 125 | 412.3 | 実施されなかった | 1071.7 | 1613.6 |
| **標的病変** | **ベースライン** | **サイクル 3** | **サイクル 5** | **サイクル 7** |
| 右胸膜結節 | 24mm | 25 mm | 25 mm | 26 mm |
| 下肋部 ST 塊 | 51mm | 52 mm | 52 mm | 61 mm |
| 膵インプラント | 32mm | 30 mm | 32 mm | 57 mm |
| **LD の合計** | 107 mm | 107 mm | 109 mm | 144 |
| **非標的病変** | | | | |
| 肝領域 V | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| 腹膜 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| 後腹膜 LN | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| **新規な病変** | 非適用 | なし | なし | なし |
| | | | | |
| **総合効果** | 非適用 | 安定 | 安定 | 進行 |

【０１９０】

対象０１０２－００４は、頭頸部癌と診断された６５歳の白人女性である。対象は、治癒的全舌切除術を受け、１カ月後にアジュバント放射線療法（６０００ｃＧｙ）を受けた。対象は約１０カ月後に肺転移を伴って再発し、その後に約１週間に渡り放射線照射（５０００ｃＧｙ）を受けた。肺疾患の進行が見られ、放射線照射の８カ月後に新規な骨転移が見られ、対象は約１年間と４５日間に渡りイピリムマブ及びニボルマブにより治療され、「安定」の最良効果が得られた。対象は、放射線的進行を有し、ｈ５Ｄ８臨床試験に登録された。彼女の以前の治療の結果は、表２１に示した。

【０１９１】

【表２２】

| 表 21 | | |
|---|---|---|
| **緩和的抗癌療法** | **PD 前の療法の期間** | **最良効果** |
| イピリムマブ/ニボルマブ | 13 カ月間 | SD |

【０１９２】

対象は、彼女のｈ５Ｄ８の初回用量を１５００ｍｇで摂取し、直近の用量は、約１５５日後のＣ７の投与であった。ベースライン時に、対象は臨床的有意な検査値を有しておらず、ＥＣＯＧパフォーマンスステータス＝１であった。対象は、末梢血腫瘍マーカーを発現しなかった。４カ所の病変（２カ所の肺病変及び２カ所の胸膜病変）は、標的病変であると選択され、２カ所の骨病変は、非標的病変であると同定された。結果は、表２２に示した。

【０１９３】
【表２３】

| 表 22 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **標的病変** | **ベースライン** | **サイクル 3** | **サイクル 5** | **サイクル 7** |
| RLL | 37mm | 35.4 mm | 36.3 mm | 39.4 mm |
| RUL | 37.8 mm | 36.8 mm | 37.2 mm | 40.8 mm |
| 胸膜 | 13.3mm | 13.6 mm | 13.9 mm | 14.3 mm |
| 胸膜 | 37.3 mm | 37.5 mm | 38.4 | 38.6mm |
| **LD の合計** | 125.4 mm | 123.3 mm | 125.8 | 133.1 |
| **非標的病変** | | | | |
| 骨 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| 骨 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| **新規な病変** | 非適用 | なし | なし | なし |
| | | | | |
| **総合効果** | 非適用 | 安定 | 安定 | 安定 |

【０１９４】
対象０２０１－００３は、粘液性脂肪肉腫を有すると診断された５７歳の白人男性である。対象は、ネオアジュバントであるアドリアマイシン及びイフォスファミドにより約４カ月間及び右脹脛へのネオアジュバントの放射線療法（５０００ｃＧｙ）により約３５日間に渡り治療された。対象は次に、右脹脛の治癒的な広範な切除術、後脛骨神経の切除術並びに膝窩、前脛骨及び後脛骨及び腓骨血管の摘出術を受けた。対象は、胸膜疾患及び胸部における悪性リンパ節腫脹症を再発した。対象は、約４１日間に渡りゲムシタビン及びタキソテレにより治療され、得られた最良効果は「進行」であった。対象は次に、４カ月間に渡りダカルバジンにより治療され、「部分奏効」の最良効果が得られた。対象は、２２日後に放射線的進行を有し、ｈ５Ｄ８臨床試験に登録された。彼女の以前の治療の結果は、表２３に示した。
【０１９５】
【表２４】

| 表 23 | | |
|---|---|---|
| **緩和的抗癌療法** | **PD 前の療法の期間** | **最良効果** |
| ゲムシタビン/タキソテレ | 1 カ月間 | PD |
| DTIC | 4 カ月間 | PR |

【０１９６】
対象は、彼女のｈ５Ｄ８の初回用量を１１２５ｍｇで摂取し、直近の用量は、約１３６日後の（Ｃ６）（１５００ｍｇ）であった。ベースライン時に、対象は、臨床的有意な検査異常値を有しておらず、ＥＣＯＧパフォーマンスステータス＝１であった。対象は、末梢血腫瘍マーカーを有していなかった。２カ所の胸膜塊が標的病変として選択され、３カ所（１カ所の胸膜塊及び２カ所のＬＮＳ）の非標的病変が選択された。結果は、表２４に示した。対象は、治療関連性有害事象を経験していなかった。
【０１９７】

【表２５】

| 表 24 | | | |
|---|---|---|---|
| **標的病変** | **ベースライン** | **サイクル 3** | **サイクル 5** |
| 右下胸膜塊 | 110mm | 106 mm | 103 mm |
| 右上胸膜塊 | 56mm | 61 mm | 64 mm |
| **LD の合計** | 166 mm | 167 mm | 167 mm |
| **非標的病変** | | | |
| 右胸膜塊 | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| 右横隔膜上 LN | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| 右気管傍 LN | 存在する | 非 CR 非 PD | 非 CR 非 PD |
| **新規な病変** | 非適用 | なし | なし |
| | | | |
| **総合効果** | 非適用 | 安定 | 安定 |

【０１９８】

実施例２５－ｈ５Ｄ８治療への陽性の応答を示すバイオマーカー

対象０２０１－００３は、骨髄性脂肪肉腫を有すると診断された５７歳の白人男性である。彼の現在の治療の結果は、表２３に示した。１２週間後の対象のｈ５Ｄ８Ｃ５の評価は、彼の巨大な肺転移性標的病変のＲＥＣＩＳＴ基準によると増加を示さなかった（１６７ｍｍ）。表２４を参照されたい。対象は治療レジメン（＋１４週間）を受けており、最良効果は「安定」であると記録された。ｈ５Ｄ８治療のバイオマーカーを決定するために転移性肺部位からの生検試料を収集した。生検が採取された時点に、対象は、飽和ＬＩＦ安定化のエビデンスを示した。対象０２０１－００３のＬＩＦ安定化は、図１９に示した。

【０１９９】

抗腫瘍免疫についてのバイオマーカーは、「治療中（ｏｎ－ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」生検において予備ｈ５Ｄ８治療に比較して観察された。結果は、図２０Ａ～Ｃに示した。結果は、ＣＤ８陽性Ｔ細胞浸潤における増加を示しており、更に腫瘍関連性マクロファージ（「ＴＡＭ」）集団における増加も又示している。図２０Ａを参照されたい。ＴＡＭは、免疫賦活表現型（ＭＨＣＩＩ＋）を示した。図２０Ｂを参照されたい。ｐＳＴＡＴ３＋核における減少も又観察された。図２０Ｃを参照されたい。

【０２００】

対象０３０１－００３は、ステージＩＶの後腹膜傍神経節腫を有する４７歳の白人女性である。彼女のｈ５Ｄ８治療前の結果は、表２５に示した。

【０２０１】

【表２６】

| 表 25 | | |
|---|---|---|
| **緩和的抗癌療法** | **PD 前の療法の期間** | **最良効果** |
| シクロホスファミド/ビンクリスチン/ダカルバジン | 2 年間 | PR |
| 選択的 RET 阻害剤 | 5 カ月間 | SD |
| オクトレオチド | 4 カ月間 | SD |

【０２０２】

６週間後の彼女のｈ５Ｄ８　Ｃ３の評価は、肺及び肝臓転移性標的病変のＲＥＣＩＳＴ基準による安定性ＣＥＡレベル（０．５ｎｇ／ｍｌ）及び「安定」を示した。対象は、治

療レジメン（＋１１週間）に留まり、最良効果は「安定」であったと記録された。ｈ５Ｄ８治療のバイオマーカーを決定するために、転移性肝臓部位からの生検試料を収集した。ＬＩＦ安定化データは、この時点には処理されなかった。

【０２０３】

抗腫瘍免疫についてのバイオマーカーは、「治療中」生検において予備ｈ５Ｄ８治療に比較して観察された。結果は、図２１Ａ～Ｃに示した。これらの結果は、ＣＤ８陽性Ｔ細胞浸潤における増加を示した。図２１Ａ及び抑制表現型（ＣＤ１６３＋；ＣＤ２０６＋）に向かう低下したＴＡＭ偏極を参照されたい。図２１Ｂを参照されたい。ｐＳＴＡＴ＋核における減少も又観察された。図２１Ｃを参照されたい。

【０２０４】

対象０３０１－００４は、ステージＩＶの膵臓腺癌を有する７４歳の白人男性である。対象は、ｈ５Ｄ８治療の前に２種の治療を受けていた。彼の以前の治療の結果は、表２６に示した。

【０２０５】

【表２７】

表 26

| 緩和的抗癌療法 | PD 前の療法の期間 | 最良効果 |
|---|---|---|
| ゲムシタビン-NAB パクリタキセル | 3 カ月間 | PR |
| FOLFOX | 2 カ月間 | PD |

【０２０６】

対象０３０１－００４は、極めて侵襲性の強い癌を有し、これはＦＯＬＦＯＸ上の即時「進行」状態を含めて、腫瘍発生時に投与された２種の第一線治療療法に本質的に急速に失敗した。対象は、ｈ５Ｄ８治療レジメン（６週間）を受けた。生検試料は、転移性肝臓部位から収集した。ＬＩＦ安定化データは、この時点には処理されなかった。

【０２０７】

抗腫瘍免疫についてのバイオマーカーは、「治療中」生検において予備ｈ５Ｄ８治療に比較して観察された。結果は、図２２に示した。免疫組織化学検査は、ＬＩＦ$^{low}$と特徴付けられる対象を生じさせた。高度に攻撃性の化学療法レジメンを受けていて迅速な疾患進行にもかかわらず、ＣＤ８＋Ｔ細胞集団の拡張が腫瘍微小環境において観察された。図２２を参照されたい。マクロファージ集団への穏当な作用が観察された（データは示していない）。更に、ｐＳＴＡＴ３＋核における差は観察されなかった（データは示していない）。

【０２０８】

対象０２０１－００４は、ステージＩＶの黒色腫を有する６６歳の白人男性である。対象には、ｈ５Ｄ８臨床試験の前に１種の治療が投与されていた。最良効果は評価できず、結果は示されていない（ニボルマブ；４カ月間）。失敗に終わったニボルマブ治療は、深刻な腫瘍免疫抑制を示した。対象は、治療レジメン（６週間）を受けており、最良効果は「進行」であると記録された。生検試料は、転移性皮膚部位から収集した。生検試料の収集時、対象においては概して高レベルのＬＩＦが安定化アッセイによって観察され、ＬＩＦ安定化の飽和のエビデンスは得られなかった。ＬＩＦ安定化アッセイの結果は、表２３に示した。

【０２０９】

抗腫瘍免疫についてのバイオマーカーは、「治療中」生検において予備ｈ５Ｄ８治療に比較して観察された。結果は、図２４に示した。免疫組織化学的検査は、ＬＩＦ$^{high}$と特徴付けられる対象を生じさせた。マクロファージ分析は、腫瘍微小環境（ＴＭＥ）に限定され、Ｔ細胞活性における変化を殆ど示さなかった（データは示していない）。ＭＨＣＩＩ＋では、増加したマクロファージ表現型偏極が観察された。図２４を参照されたい。

用手病理検査の予備試験結果は、ｐＳＴＡＴ３＋核が治療中試料において減少することを示している。

【０２１０】

対象０３０１－００２は、卵巣癌を有すると診断された６６歳の白人女性である。彼女の現在の治療の結果は、表１９に示した。１２週間後の対象のｈ５Ｄ８　Ｃ５の評価は、ＣＡ１９－９（４１２～１０７２Ｕ／ｍｌ）における増加を示したが、彼女の標的病変はＲＥＣＩＳＴ基準による有意な増加を示さなかった（１０７～１０９ｍｍ）。表２０を参照されたい。対象は治療レジメン（＋１６週間）を受けており、最良効果は「安定」であると記録された。ｈ５Ｄ８治療のバイオマーカーを決定するために、転移性リンパ節部位からの生検試料を収集した。生検が採取された時点に、対象は、飽和ＬＩＦ安定化のエビデンスを示した。対象０２０１－００３のＬＩＦ安定化は、図２５に示した。

【０２１１】

抗腫瘍免疫についてのバイオマーカーは、「治療中」生検において予備ｈ５Ｄ８治療に比較して観察された。腫瘍免疫バイオマーカーにおける観察可能な変化はなかった（データは示していない）。免疫組織化学検査は、ＬＩＦ$^{low}$と特徴付けられる対象を生じさせた。

【０２１２】

効果的なｈ５Ｄ８治療のためのバイオマーカーを決定するための上記のアッセイの結果の要約は、表２７に示した。複数のパラメーターは、増加した抗腫瘍免疫、ＴＡＭ調節及びＬＩＦシグナル伝達にｈ５Ｄ８治療が及ぼす効果を証明している（ＮＣ＝変化なし；ＮＥ＝効果なし）。

【０２１３】

【表２８】

表 27

| 腫瘍のタイプ | 生検の部位 | 用量 (mg) | ステータス | CD8 の浸潤 | TAM の除去 | pSTAT3 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 傍神経節腫 | 肝臓 | 1125 | +11 週間 | + | M2 中で- | - |
| 骨髄性脂肪肉腫 | 肺 | 1125 | +14 週間 | ++ | M1 中で++ | NC |
| 膵臓癌 | 肝臓 | 1125 | 6 週間 | + | NC | NC |
| 黒色腫 | 皮膚 | 1125 | 6 週間 | - | +/- | - |
| 卵巣癌 | リンパ節 | 1500 | +16 週間 | - | NE | NE |

【０２１４】

実施例２６－ｈＤ５を投与された対象におけるｈ５Ｄ８のＰＫ／ＰＤ

ヒトにおけるｈ５Ｄ８抗体の薬物動態を決定するために、ｈ５Ｄ８のレベルを臨床試験から治療された患者の血清中で測定した。手短には、ヒト血清試料中のｈ５Ｄ８抗体の定量は、サンドイッチイムノアッセイによって実施した。患者の血清試料中のｈ５Ｄ８抗体は、ｒｈｕＬＩＦ（組み換えヒトＬＩＦ）被覆ＭＳＤプレート上に捕捉し、スルホ標識抗ヒトＩｇＧ（スルホ抗ｈ５ｄ８－Ｆａｂ２－ＩｇＧ）抗体により検出した。スルホシグナルは、ＭＳＤリーダーＳ６００によって測定し、ｈ５Ｄ８標準曲線を使用して定量した。図２６に示した結果は、ｈ５Ｄ８が約１７日間の推定半減期を伴う標準薬物動態を示すことを明らかにした。更に、これらの結果は、ｈ５Ｄ８が３週毎の７５０～１５００ｍｇの用量範囲に渡って線形ＰＫを示し、標的媒介性薬物動態の飽和が２２５ｍｇ超で発生することを示している。

【０２１５】

標的ＬＩＦがｈ５Ｄ８抗体に関与するかどうかを決定するために、捕捉ＥＬＩＳＡアッセイを使用して治療後の全ＬＩＦレベルを決定した。ＬＩＦの半減期は血漿中では比較的

に短く、ｈ５Ｄ８によって結合されると増加し、増加した血漿中ＬＩＦレベルをもたらす。従って、末梢血中のＬＩＦレベルの増加は、ターゲットエンゲージメントを指示する。図２７Ａ～Ｂは、ｈ５Ｄ８の静脈内投与を摂取した後の複数の患者における全ＬＩＦレベルの時間経過を示している。これらをまとめると、データは、非飽和投与レベルでの３サイクルの薬物投与後の標的飽和を示している（コホート２～３）。図２７Ｂを参照されたい。

【０２１６】

患者血清試料中の全ＬＩＦレベルは、サンドイッチイムノアッセイによって定量した。手短には、ＭＳＤプレートは、抗ＬＩＦ　Ａ４捕捉抗体（ウサギモノクローナル）を用いてスポットコーティングした。患者血清試料と共にインキュベーションした後、結合ＬＩＦ／ｈ５Ｄ８複合体は、スルホタグ標識抗ＬＩＦ抗体７Ｃ３　ＰＢ００１によって検出した。スルホシグナルは、ＭＳＤリーダーＳ６００によって測定し、患者血清ＬＩＦ／ｈ５Ｄ８レベルは、ｒｈＬＩＦ／ｈ５Ｄ８標準曲線を使用して定量した。

【０２１７】

本発明の好ましい実施形態を本明細書に示して記載してきたが、当業者にはそのような実施形態が例としてのみ提供されていることは明白であろう。今では、本発明から逸脱することなく、当業者であれば、数多くの変形、変化及び置換を思い付くであろう。本発明を実施する際には、本明細書に記載した本発明の実施形態の様々な変形を使用できることを理解すべきである。

【０２１８】

全ての刊行物、特許出願、交付済み特許及び本明細書に言及した他の文献は、各個別の刊行物、特許出願、交付済み特許又は他の文献が詳細に、且つ個別にその全体として参照により本明細書に組み込まれると指示されたかのように、参照により本明細書に組み込まれる。参考文献によって組み込まれた本文中に含有される定義は、本開示における定義とそれらが矛盾する程度まで除外される。

【０２１９】

配列表

【表２９】

| 配列番号 | 配列 |
|---|---|
| 1 | GFTFSHAWMH |
| 2 | GFTFSHAW |
| 3 | HAWMH |
| 4 | QIKAKSDDYATYYAESVKG |
| 5 | IKAKSDDYAT |
| 6 | TCWEWDLDF |
| 7 | WEWDLDF |
| 8 | TSWEWDLDF |
| 9 | RSSQSLLDSDGHTYLN |
| 10 | QSLLDSDGHTY |
| 11 | SVSNLES |
| 12 | SVS |
| 13 | MQATHAPPYT |
| 14 | EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS |
| 15 | QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAAS |
| 16 | EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS |
| 17 | EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATS |
| 18 | WVRQAPGKGLEWVA |
| 19 | WVRQAPGKGLEWVG |
| 20 | RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYC |
| 21 | RFSISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYC |
| 22 | RFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYC |
| 23 | WGQGTLVTVSS |
| 24 | WGQGTMVTVSS |
| 25 | WGQGTTVTVSS |
| 26 | DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC |
| 27 | DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISC |
| 28 | DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC |
| 29 | DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISC |
| 30 | WFQQRPGQSPRRLIY |
| 31 | WLQQRPGQPPRLLIY |
| 32 | WLLQKPGQPPQLLIY |
| 33 | WLQQRPGQSPRRLIY |
| 34 | GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC |
| 35 | GVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC |
| 36 | GVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC |
| 37 | GVPDRFNGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYC |
| 38 | FGQGTKLEIK |
| 39 | FGGGTKVEIK |
| 40 | FGQGTKVEIK |
| 41 | EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSS |

【０２２０】

【表３０】

| | |
|---|---|
| 42 | QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMVTVSS |
| 43 | EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISR DNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTTVTVSS |
| 44 | EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSS |
| 45 | DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIK |
| 46 | DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQPPRLLIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIK |
| 47 | DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLLQKPGQPPQLLIYSVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKVEIK |
| 48 | DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFNGSGSGTDF TLSISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKVEIK |
| 49 | MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAK SDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK |
| 50 | MGWTLVFLFLLSVTAGVHSQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAK SDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK |
| 51 | MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAK SDDYATYYAESVKGRFSISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK |
| 52 | MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAK SDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK |
| 53 | MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWFQQRPGQSPRRLIYSVS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC |
| 54 | MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQPPRLLIYSVS NLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC |
| 55 | MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLLQKPGQPPQLLIYSVSN LESGVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC |

【０２２１】

【表３１】

| | |
|---|---|
| 56 | MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQSPRRLIYSVS<br>NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT<br>ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV<br>TKSFNRGEC |
| 57 | EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRD<br>DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF<br>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV<br>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br>ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 58 | QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR<br>DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK<br>DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH<br>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY<br>RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA<br>VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 59 | EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISR<br>DNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC<br>PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE<br>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 60 | EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR<br>DDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC<br>PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE<br>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 61 | DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFT<br>LKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW<br>KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 62 | DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQPPRLLIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTL<br>KISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK<br>VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 63 | DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLLQKPGQPPQLLIYSVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTL<br>KISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK<br>VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 64 | DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFT<br>LSISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW<br>KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 65 | **BLANK** |
| 66 | QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR<br>DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSWEWDLDFWGQGTMVTVSS |
| 67 | QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR<br>DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTSWEWDLDFWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD<br>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC<br>PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE<br>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 68 | SPLPITPVNATCAIRHPCHNNLMNQIRSQLAQLNGSANALFILYYTAQGEPFPNNLDKLCGPNVTDFPPFHANGTEK<br>AKLVELYRIVVYLGTSLGNITRDQKILNPSALSLHSKLNATADILRGLLSNVLCRLCSKYHVGHVDVTYGPDTSGKDVF<br>QKKKLGCQLLGKYKQIIAVLAQAF |

【図面】

【図１】

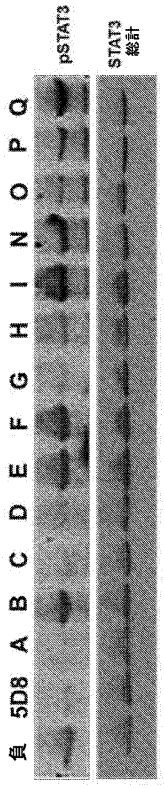



図 1

【図２Ａ－２Ｂ】

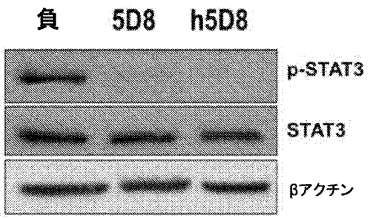



図 2A

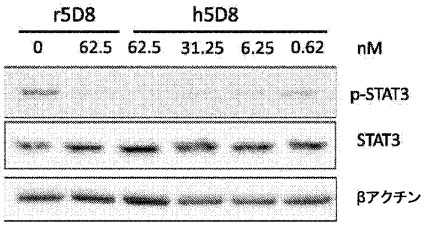



図 2B

【図３Ａ－３Ｂ】

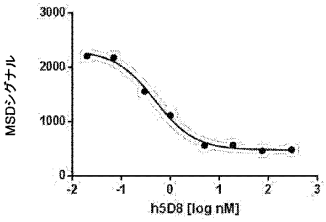



図 3A

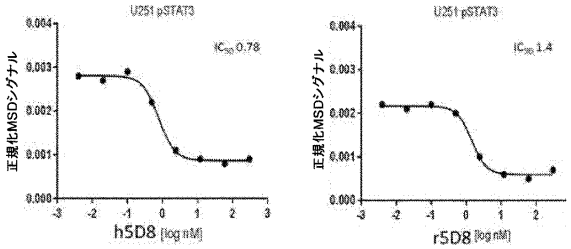



図 3B

【図４】

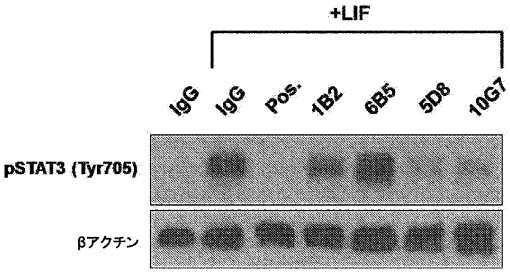



図 4

【図５】

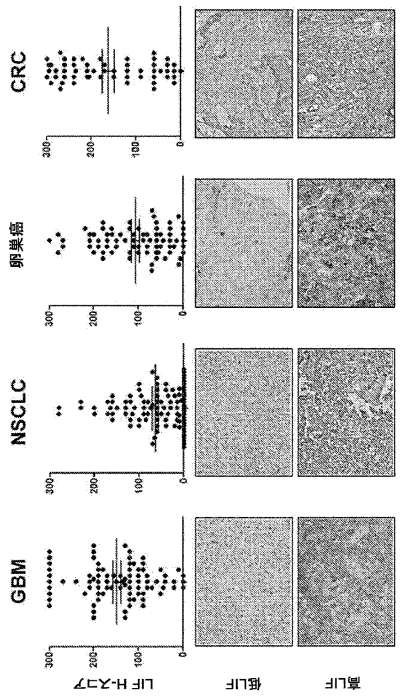



図 5

【図６】

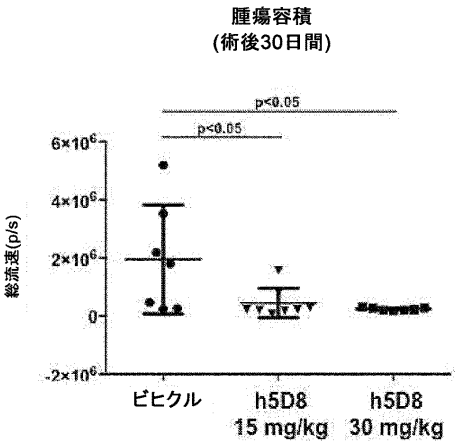



図 6

【図７Ａ－７Ｂ】

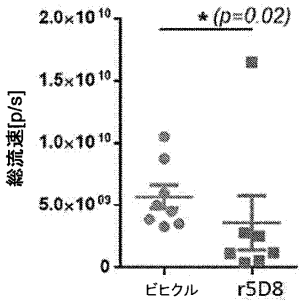



図 7A

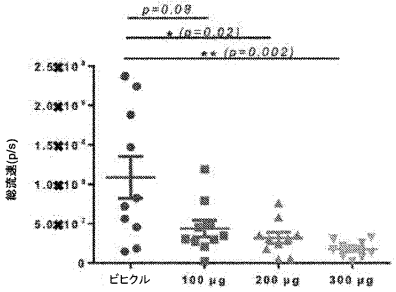



図 7B

【図８Ａ－８Ｃ】

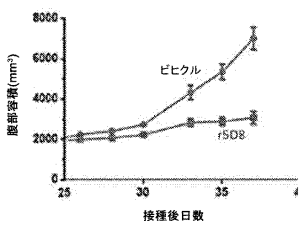



図 8A

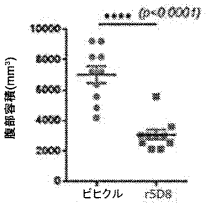



図 8B

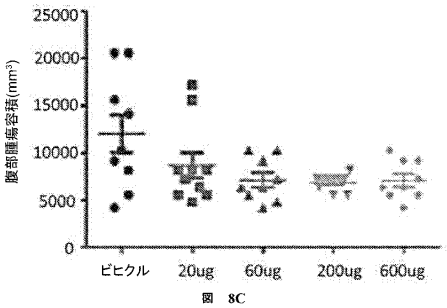



図 8C

【図９Ａ－９Ｂ】

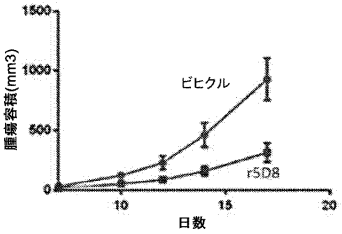



図 9A

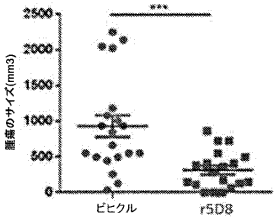



図 9B

【図１０Ａ】

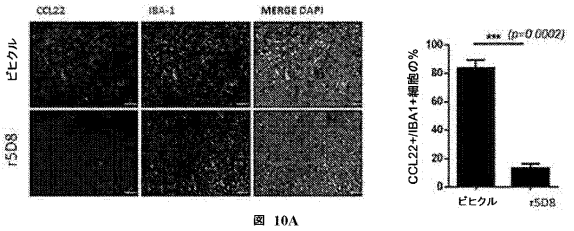



図 10A

【図１０Ｂ】

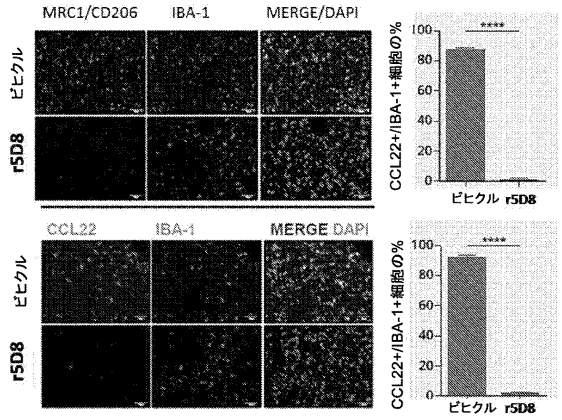



図 10B

【図１０Ｃ－１０Ｄ】

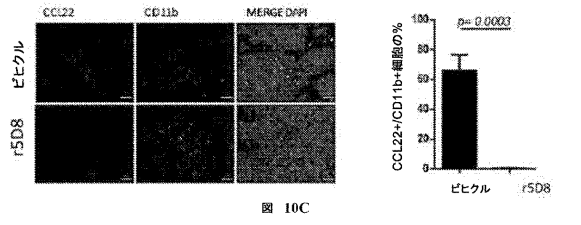



図 10C

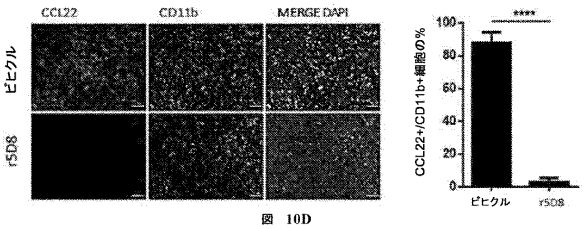



図 10D

【図１１Ａ】

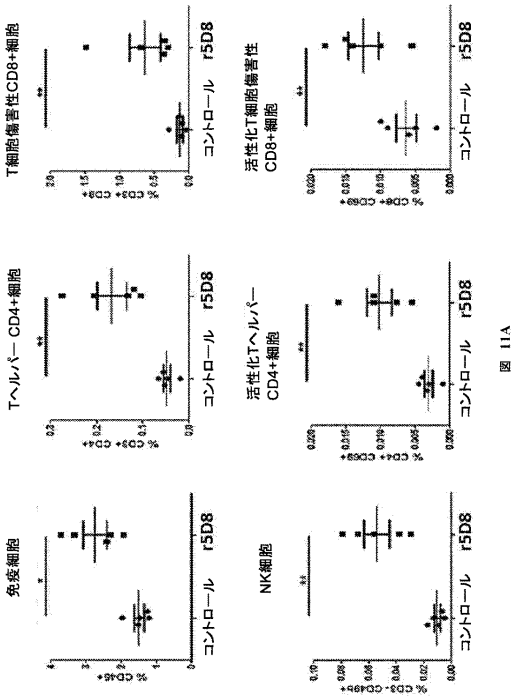



図 11A

【図１１Ｂ】

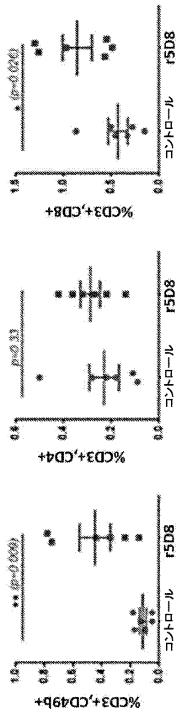



図 11B

【図１１Ｃ】

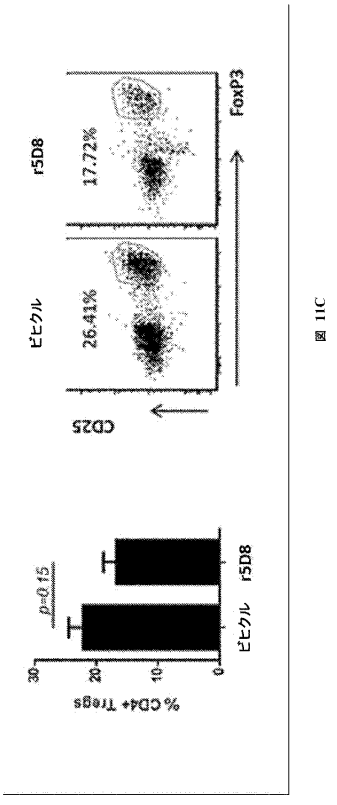



図 11C

【図１２】

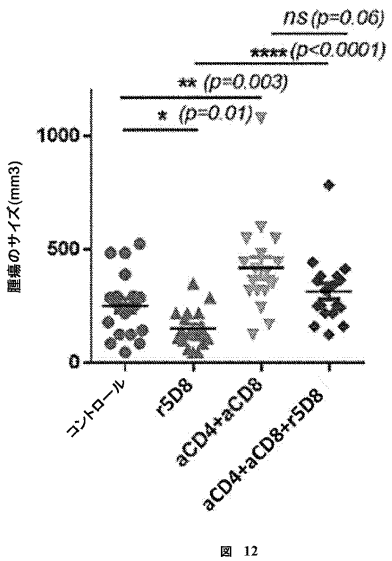



図 12

【図１３Ａ－１３Ｂ】

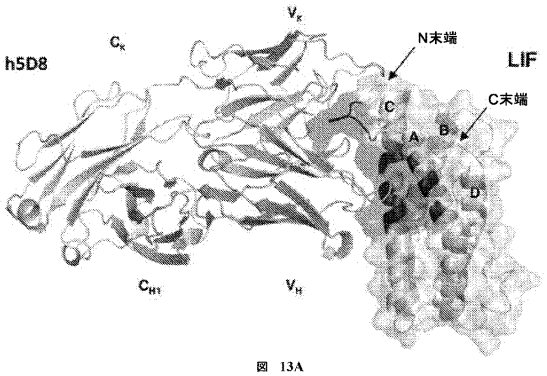



図 13A

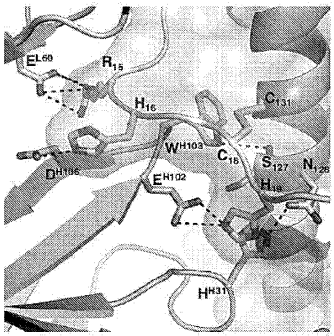


図 13B

【図１４Ａ】

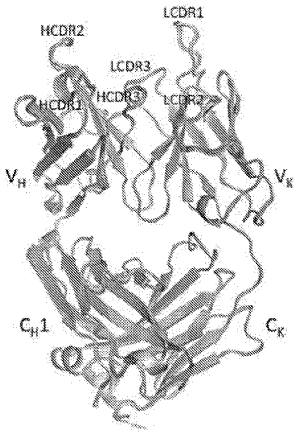



図 14A

【図１４Ｂ】

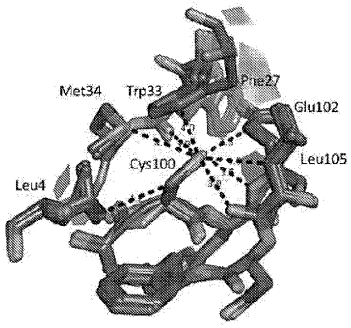



図 14B

【図１５Ａ－１５Ｂ】

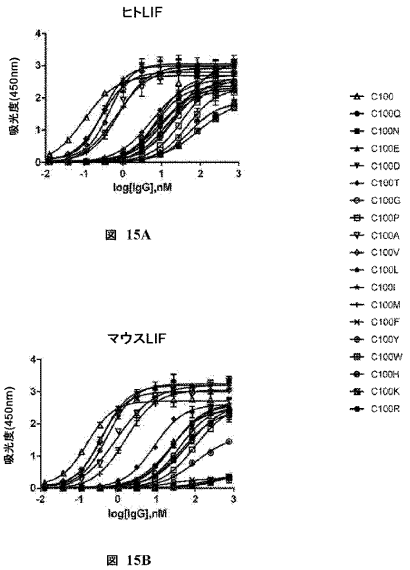



図 15A




図 15B

【図１６Ａ－１６Ｃ】

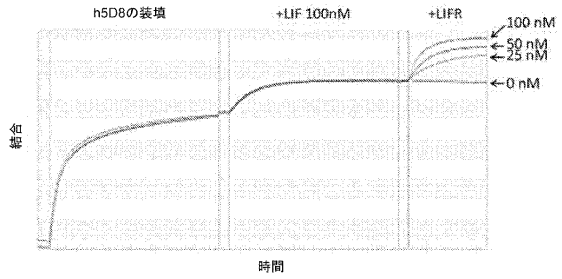



図 16A

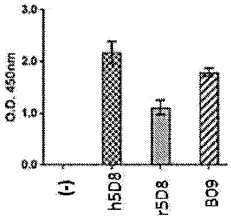



図 16B

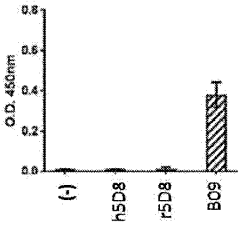



図 16C

【図１７Ａ】

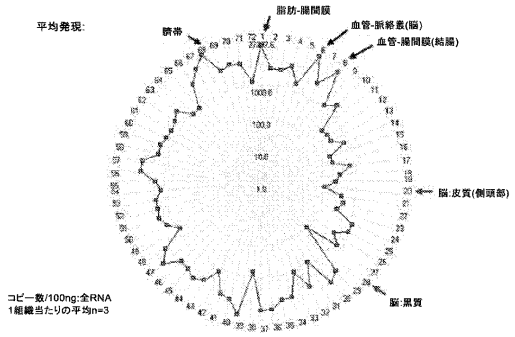



図 17A

【図１７Ｂ】

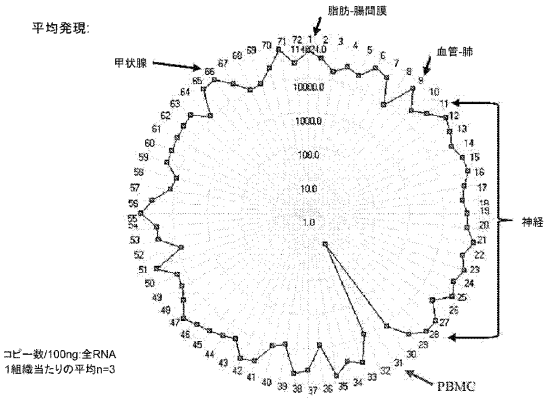



図 17B

【図１８Ａ】

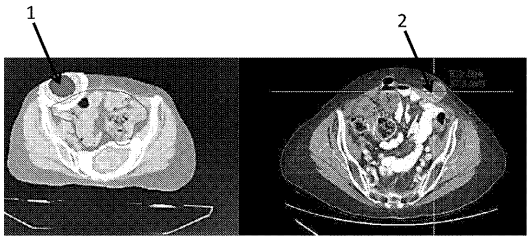



図 18A

【図１８Ｂ】

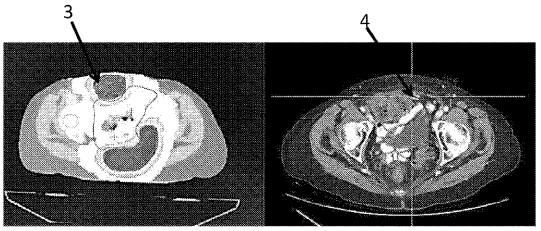



図 18B

【図１８Ｃ】

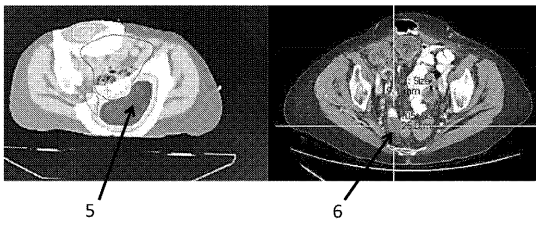



図 18C

【図１９】

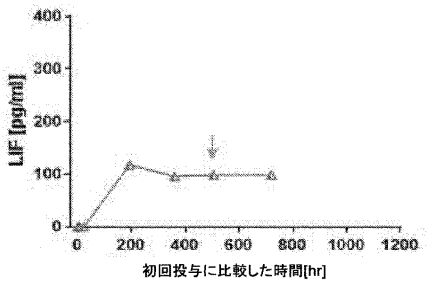



図 19

【図２０Ａ－２０Ｂ】

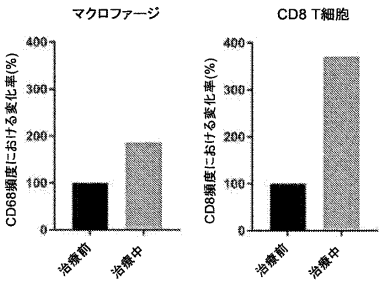



図 20A

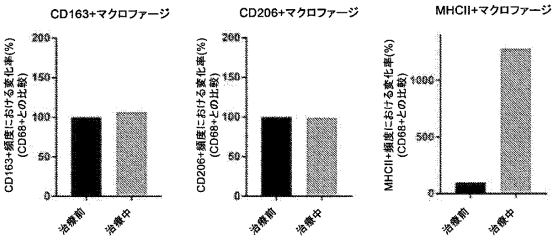



図 20B

【図２０Ｃ】

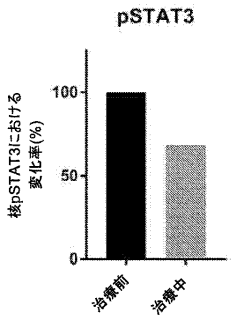



図 20C

【図２１Ａ】

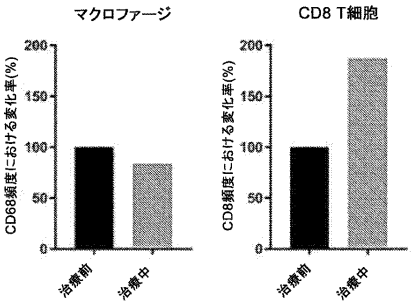



図 21A

【図２１Ｂ－２１Ｃ】

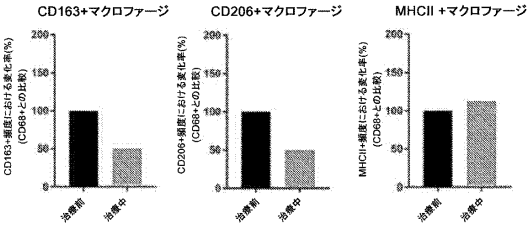



図 21B

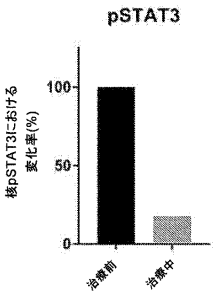



図 21C

【図２２】

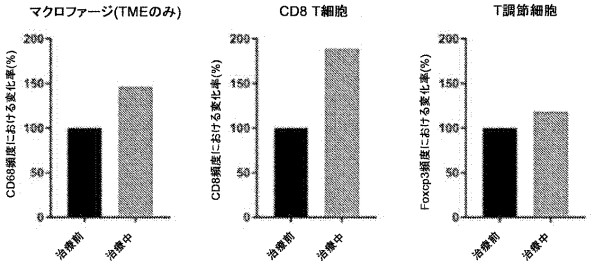



図 22

【図２３】

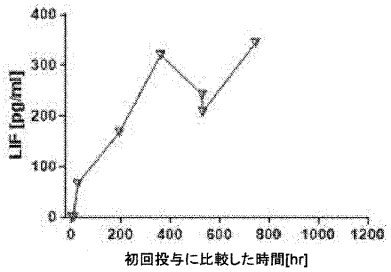



図 23

【図２４】

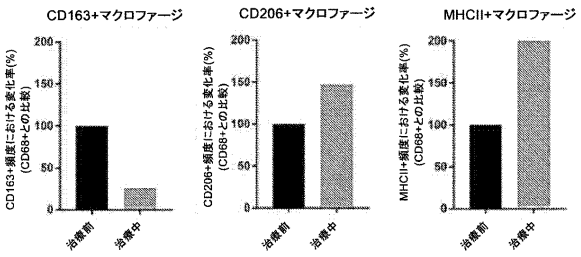



図 24

【図２５】

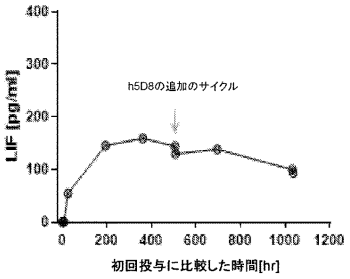



図 25

【図２６】

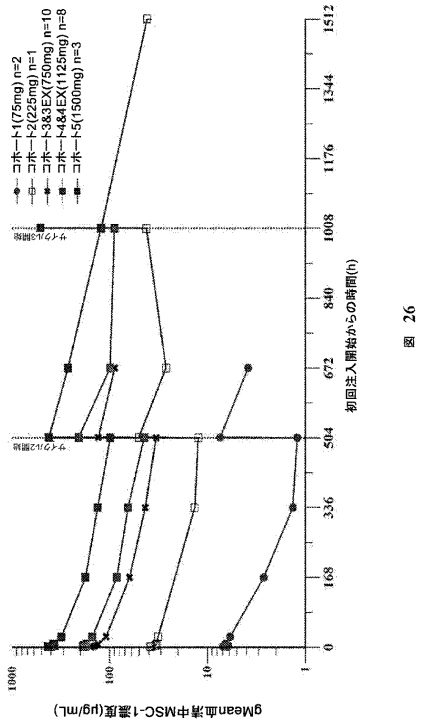



図 26

【図２７Ａ】

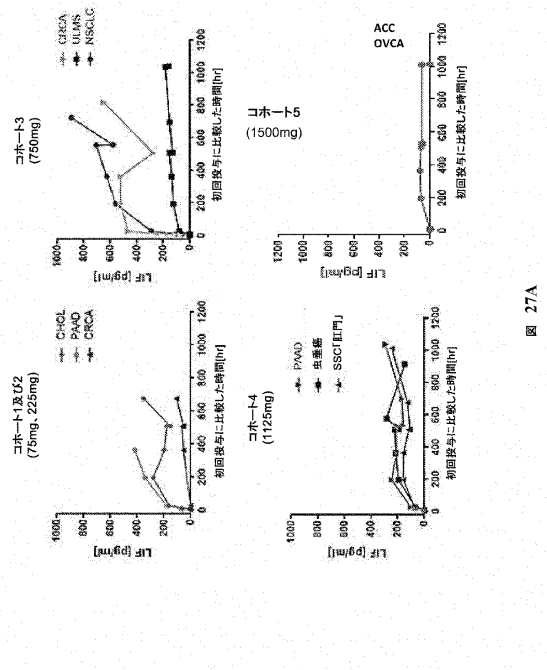



図 27A

【図２７Ｂ】

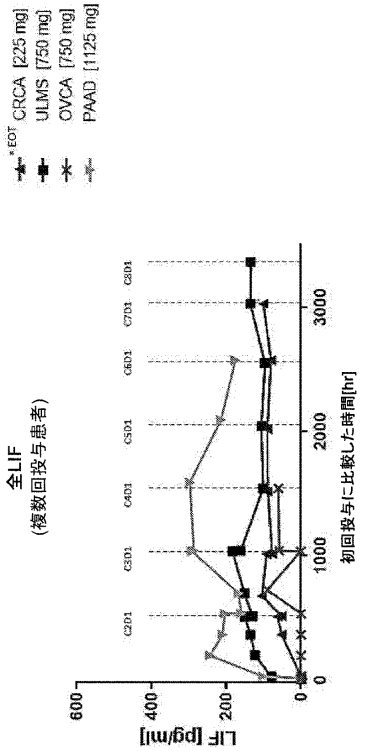



図 27B

【配列表】

0007536654000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類
*C07K 16/24 (2006.01)*
*C07K 16/46 (2006.01)*

FI
A61K 47/26
C07K 16/24 ZNA
C07K 16/46

(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 19382208.7
(32)優先日 平成31年3月26日(2019.3.26)
(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 19382331.7
(32)優先日 令和1年5月3日(2019.5.3)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)

カ・デ・バイ・エブロン
ＦＵＮＤＡＣＩＯ ＰＲＩＶＡＤＡ ＩＮＳＴＩＴＵＴ Ｄ’ＩＮＶＥＳＴＩＧＡＣＩＯ ＯＮＣＯＬＯＧＩＣＡ ＤＥ ＶＡＬＬ ＨＥＢＲＯＮ
スペイン０８０３５バルセロナ、ナザレト１１５－１１７番、エディフィシ・セレックス
(73)特許権者 519219807
ファンダシオ プリヴァダ インスティタシオ カタラナ デ レセルカ アイ エスタディス アヴァンキャッツ
スペイン ０８０１０ バルセロナ パセイグ・ルイス・カンパニーズ ２３
(74)代理人 100106518
弁理士 松谷 道子
(74)代理人 100138911
弁理士 櫻井 陽子
(72)発明者 ジョアン・セオアネ・スアレス
スペイン０８０３５バルセロナ、カレル・ナザレト１１５－１１７番、エディフィシ・セレックス
(72)発明者 ジュディット・アニド・フォルゲイラ
スペイン０８０３５バルセロナ、カレル・ナザレト１１５－１１７番、エディフィシ・セレックス

審査官 石井 裕美子
(56)参考文献
特表２０１３－５２３７９６（ＪＰ，Ａ）
特表２０１２－５２２７５６（ＪＰ，Ａ）
特表２０１７－５２７５８２（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１７／０８９６１４（WO，Ａ１）
特表２０１７－５３４６１７（ＪＰ，Ａ）
Oncotarget，2014年，Vol.5, No.3，pp.788-801
Journal of Immunological Methods，1992年，Vol.156，pp.9-17
(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３９／００－３９／４４
Ｃ０７Ｋ １６／００－１６／４６
Ａ６１Ｋ ９／００－ ９／７２
Ａ６１Ｋ ４７／００－４７／６９
Ａ６１Ｐ １／００－４３／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）