

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7237951号

(P7237951)

(45)発行日 令和5年3月13日(2023.3.13)

(24)登録日 令和5年3月3日(2023.3.3)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 16/28

Z N A

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/19

請求項の数 16 (全58頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-518573(P2020-518573)

(86)(22)出願日 平成30年6月8日(2018.6.8)

(65)公表番号 特表2020-522281(P2020-522281
A)

(43)公表日 令和2年7月30日(2020.7.30)

(86)国際出願番号 PCT/EP2018/065243

(87)国際公開番号 WO2018/224685

(87)国際公開日 平成30年12月13日(2018.12.13)

審査請求日 令和3年6月7日(2021.6.7)

(31)優先権主張番号 62/517,150

(32)優先日 平成29年6月8日(2017.6.8)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/517,149

(32)優先日 平成29年6月8日(2017.6.8)

最終頁に続く

(73)特許権者 519435843

ブラック ペルト セラピューティクス

リミテッド

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス

ハートフォードシャー スティーブニッジ

ガネルズ ウッド ロード スティーブニ

ッジ バイオサイエンス カタリスト ア

クセルレーター ビルディング

(74)代理人 110000796

弁理士法人三枝国際特許事務所

(72)発明者 メルヒールズ バスカル

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス

ハートフォードシャー スティーブニッジ

ガネルズ ウッド ロード スティーブニ

ッジ バイオサイエンス カタリスト シ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 C D 3 8 調節抗体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) 可変重鎖相補性決定領域 3 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 3 アミノ酸配列 (配列番号 3) ;

b) 可変重鎖相補性決定領域 1 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 1 アミノ酸配列 (配列番号 1) ;

c) 可変重鎖相補性決定領域 2 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 2 アミノ酸配列 (配列番号 2) ;

d) 可変軽鎖相補性決定領域 1 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 1 アミノ酸配列 (配列番号 5) ;

e) 可変軽鎖相補性決定領域 2 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 2 アミノ酸配列 (配列番号 6) ; および

f) 可変軽鎖相補性決定領域 3 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 3 アミノ酸配列 (配列番号 7) 、 Q Q D E A V F T (配列番号 10) および Q Q D S A V F T (配列番号 11) から選択される配列 ;

を含む、抗 C D 3 8 抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 2】

前記抗体またはその抗原結合断片が、 a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 1 2 3 アミノ酸配列 (配列番号 4) を含む可変重鎖を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 3】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 8、配列番号 16 又は配列番号 17 から選択される配列を含む可変軽鎖をさらに含む、請求項 1 又は 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 4】

前記抗体またはその抗原結合断片が：

a) 配列番号 1 の配列を含む H C D R 1、配列番号 2 の配列を含む H C D R 2、配列番号 3 の配列を含む H C D R 3、配列番号 5 の配列を含む L C D R 1、配列番号 6 の配列を含む L C D R 2、および配列番号 7 の配列を含む L C D R 3 を含む抗体またはその抗原結合断片；

b) 配列番号 1 の配列を含む H C D R 1、配列番号 2 の配列を含む H C D R 2、配列番号 3 の配列を含む H C D R 3、配列番号 5 の配列を含む L C D R 1、配列番号 6 の配列を含む L C D R 2、および配列番号 10 の配列を含む L C D R 3 を含む抗体またはその抗原結合断片；

c) 配列番号 1 の配列を含む H C D R 1、配列番号 2 の配列を含む H C D R 2、配列番号 3 の配列を含む H C D R 3、配列番号 5 の配列を含む L C D R 1、配列番号 6 の配列を含む L C D R 2、および配列番号 11 の配列を含む L C D R 3 を含む抗体またはその抗原結合断片；

d) 配列番号 4 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 8 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片；

e) 配列番号 4 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 16 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片；

f) 配列番号 4 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 17 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片；

g) 配列番号 12 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 15 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片；

h) 配列番号 12 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 13 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片；および

i) 配列番号 12 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 14 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片；

からなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 5】

前記抗体またはその抗原結合断片が：

a) モノクローナル抗体、F a b 断片、F (a b ') 2 断片、一本鎖可変断片 (s c F v)、s c F v - F c 断片、または一本鎖抗体 (s c A b) である；

b) I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4 アイソタイプ抗体からなる群から選択される；及び / 又は

c) 二重特異性抗体、多重特異性抗体、または治療薬もしくは診断薬をさらに含むイムノコンジュゲートに含まれる；及び / 又は

d) 脱フコシル化されている；

請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする核酸分子。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の核酸分子を含む核酸ベクター。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の核酸ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の宿主細胞を培養することによって請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載

10

20

30

40

50

の抗体またはその抗原結合断片を産生するための方法。

【請求項 1 0】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片を含む組成物。

【請求項 1 1】

薬学的に許容される担体または賦形剤をさらに含む、請求項 1 0 に記載の組成物。

【請求項 1 2】

がんの治療における使用のための、請求項 1 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片を含む、がんを治療するための組成物。

【請求項 1 4】

第 2 の薬剤をさらに含む、請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記がんが固形腫瘍または血液癌である、請求項 1 3 または 1 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 6】

請求項 1 0 に記載の組成物を容器内に含むキット。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0 0 0 1】

C D 3 8 は、特にニコチンアミドアデニンジヌクレオチドから環状アデノシン二リン酸リボース (c A D P R) を産生する重要な A D P - リボシルシクラーゼとして酵素活性を有する I I 型膜受容体糖タンパク質である。異なる細胞外刺激により c A D P R 産生が誘導され得る。c A D P R は、細胞増殖、分化、接着、およびシグナル伝達等の多くの細胞機能に関与する細胞内カルシウム貯蔵の動員に重要である。C D 3 8 は、当初は白血球活性化マーカーと特定されていたが、細胞シグナル伝達および細胞恒常性活性が寄与された受容体および外酵素としての 2 つの役割を果たす。C D 3 8 は、慢性リンパ球性白血病、骨髄腫、および卵巣癌等の悪性腫瘍を含む様々なヒト疾患に関連している (Q u a r o n a V , e t a l . , 2 0 1 3 , W e i W , e t a l . , 2 0 1 4) 。

【0 0 0 2】

C D 3 8 は、T リンパ球および B リンパ球ならびに N K 細胞等のエフェクター細胞を含むが、制御性 T および B 細胞、脊髄由来抑制性細胞 (M D S C) 、または腫瘍関連マクロファージ等の免疫抑制性細胞も含む、免疫応答に関与する多くの細胞型 (手短に免疫細胞と称される) の表面に見られる (C h e v r i e r S e t a l . 2 0 1 7) 。例えば、肺癌患者において、抗 P D - 1 治療により、高レベルの C D 3 8 を発現した P D - 1 発現 T 細胞の増殖が誘導された (K a m p h o r s t A O e t a l . , 2 0 1 7) 。免疫細胞の生物学的活性のための、具体的には、生理学的および病理学的条件下での免疫応答の調節のための c A D P R - および C D 3 8 媒介性 C a ²⁺ シグナル伝達の重要性が文献に記載されている (M o r a n d i F e t a l . , 2 0 1 5 , R a h S Y e t a l . , 2 0 1 5) 。

【0 0 0 3】

C D 3 8 は、全ての病期の多発性骨髄腫患者および予後不良の C L L 患者におけるがん細胞によって高度に発現される。主に C D 3 8 アンタゴニストまたは阻害剤としての役割を果たす化合物を生成することによって様々な C D 3 8 標的療法が開発されている (d e W e e r s M e t a l . , 2 0 1 1 , v a n d e D o n k N W e t a l . , 2 0 1 6 , H o r e n s t e i n A L e t a l . , 2 0 1 7) 。C D 3 8 アゴニストとしての役割を果たす抗 C D 3 8 モノクローナル抗体 (I B 4 という名前のもの等) は、いくつかの活性の中でもとりわけ、カルシウムイオンの動員、C D 3 8 シェディング、N K 細胞媒介性細胞傷害性、サイトカイン分泌 (具体的にはインターロイキン 6 およびインターフェロンガンマ) 、およびヒト T リンパ球の増殖を誘導することも特徴とし、免疫毒

10

20

30

40

50

素を生成するように修飾された (Malavasi F et al., 2008、Hara-Yokoyama M et al., 2008、Frasca L et al., 2006、Karakasheva T et al., 2015)。免疫細胞へのかかるプラスの影響は、Ca²⁺動員、CD38 酵素活性の阻害、および/または細胞内シグナル伝達経路の活性化の誘導に関連し得る。

【0004】

モノクローナル抗体は、CD38 発現腫瘍細胞の標的 direct 死滅のために開発され、臨床試験で有望な結果を示している。しかしながら、かかる抗 CD38 抗体の活性は、CD38 ががん細胞の表面に高度に発現される腫瘍に制限され得る。固形腫瘍では、CD38 の発現は、一般に、腫瘍細胞上でより低いか、または不在であり、エフェクターおよび抑制性の両方で腫瘍浸潤免疫細胞に関連し得る。したがって、CD38 特異的アゴニストまたは調節特性と標的細胞死滅または活性化等の異なる成分の組み合わせに由来する活性および医薬品開発との適合性を提示し、がんの治療、具体的には固形癌の治療に利用され得る抗 CD38 抗体が依然として必要とされている。

【発明の概要】

【0005】

いくつかの実施形態では、本発明は、新規の CD38 調節抗体薬剤を提供する。いくつかの実施形態では、提供される CD38 調節抗体薬剤は、CD38 に、具体的にはヒト CD38 に特異的に、多くの実施形態ではヒト CD38 細胞外ドメイン内の部位に結合する抗体または抗原結合断片である。

【0006】

いくつかの実施形態では、提供される抗体または抗原結合断片は、CD38 の 1 つ以上の特徴を調節する。すなわち、いくつかの実施形態では、CD38 のレベルおよび/もしくはは活性、ならびに/またはその 1 つ以上の下流効果は、提供される抗体が不在の場合と比較して提供される抗体が存在した場合に検出可能に改変される。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、CD38 のレベルおよび/もしくはは活性、ならびに/またはその 1 つ以上の下流効果は、提供される抗体が存在した場合、参照 CD38 調節抗体薬剤 (既知の望ましい特質、例えば、CD38 の 1 つ以上の特徴を刺激する既知の能力を有する、例えば、IB-4 等の参照抗 CD38 抗体) が存在した場合と同等の条件下で観察されたものと同等であるか、またはそれを超える。

【0007】

多くの実施形態では、CD38 の 1 つ以上の特徴は、提供される CD38 調節抗体薬剤 (例えば、抗 CD38 抗体またはその抗原結合断片) が存在した場合、強化される。例えば、いくつかの実施形態では、提供される CD38 調節抗体薬剤 (例えば、抗 CD38 抗体またはその抗原結合断片) の存在は、増加した免疫細胞活性化および/または増殖と相關する。したがって、提供される CD38 調節抗体薬剤は、多くの場合、本明細書で「アゴニスト」と称される。しかしながら、当業者であれば、本開示の教示が提供される抗体またはその抗原結合断片の特定の作用機構に限定されないことを理解するであろう。提供される抗体の関連する構造的および/または機能的特徴は、本明細書に記載されており、自明である。

【0008】

いくつかの実施形態では、提供される CD38 調節抗体薬剤 (例えば、CD38 抗体または抗原結合断片) は、例えば、ある特定の免疫エフェクター細胞 (例えば、NK 細胞および/または T 細胞) に対する影響を特徴とし得る。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、提供される CD38 調節抗体薬剤 (例えば、CD38 抗体または抗原結合断片) は、例えば、免疫抑制性細胞に対する影響を特徴とし得る。例えば、いくつかの実施形態では、提供される CD38 調節抗体薬剤は、NK 細胞および T 細胞等の免疫エフェクター細胞に対する活性化特性、および免疫抑制性細胞等の CD38 高度発現細胞に対する細胞傷害性特性を呈する。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、提供される CD38 調節抗体薬剤は、ヒト CD38 細胞外ドメイン内の特定のエピトープへの

結合に関連し、かつ／またはそれらを薬学的使用および／または製造に特に従順なものにする１つ以上の特徴を特徴とする。

【 0 0 0 9 】

提供されるＣＤ３８調節抗体薬剤（例えば、提供される抗体またはその抗原結合断片（またはそのバリエーション））、それらを含む組成物、および／またはそれらの使用を含む提供される技術が、医学に有用である。いくつかの実施形態では、かかる提供される技術は、がん療法および／または予防に有用である。

【 0 0 1 0 】

いくつかの実施形態では、提供されるＣＤ３８調節抗体薬剤は、a C D 3 8 - b - 3 2 9の配列を有する抗体、およびより一般に１つ以上のその抗原結合断片または部分であるか、またはそれを含む抗体または薬剤、例えば、可変重鎖相補性決定領域３としてa C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 3 アミノ酸配列（配列番号３）を含み、かつ／またはいくつかの実施形態ではa C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 1（配列番号１）配列およびH C D R 2（配列番号２）配列の一方または両方を含み、かつ／またはヒトＣＤ３８細胞外ドメインの結合においてa C D 3 8 - b - 3 2 9と競合する抗体または薬剤によって例証される。いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、 10^{-8} Mの範囲、またはそれ以下（ 10^{-9} Mの範囲）のK dでヒトＣＤ３８に結合する。いくつかの実施形態では、K dは、 $10^{-8} \sim 10^{-9}$ である。抗体またはその抗原結合断片の結合親和性を評価するためのK dは、表面プラズモン共鳴（S P R）、例えば、B i a c o r e分析またはF o r t e B i o O c t e t S y s t e m sを使用した分析を含む標準の方法論によって得られ得る。

【 0 0 1 1 】

いくつかの実施形態では、提供されるＣＤ３８調節抗体薬剤（例えば、提供される抗体またはその抗原結合断片）は、a C D 3 8 - b - 3 2 9によって結合されるヒトＣＤ３８上のエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、かかる提供されるＣＤ３８調節抗体薬剤は、ヒトＣＤ３８細胞外ドメインに結合し得る。いくつかの実施形態では、提供されるＣＤ３８調節抗体薬剤は、ＣＤ３８のエピトープ（例えば、本明細書に記載のまたはさもない場合当該技術分野で既知の１つ以上のアッセイを使用して評価される場合）、具体的には、a C D 3 8 - b - e pと特定されるものに結合し得る。いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、ヒトおよびカニクイザルＣＤ３８（例えば、ヒトおよびカニクイザルＣＤ３８上の細胞外エピトープ）に 10^{-8} の範囲のK d値で結合し得る。

【 0 0 1 2 】

いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、（非突然変異体ヒトＣＤ３８（配列番号９）と比較して）突然変異体ヒトＣＤ３８に結合し、突然変異体ヒトＣＤ３８において、２７４位のセリン残基がフェニルアラニンで置換されている。

【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、（非突然変異体ヒトＣＤ３８（配列番号９）と比較して）突然変異体ヒトＣＤ３８に結合し、突然変異体ヒトＣＤ３８において、２０２位のアスパラギン酸残基がグリシン残基で置換されている。

【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、（非突然変異体ヒトＣＤ３８（配列番号９）と比較して）突然変異体ヒトＣＤ３８に結合し、突然変異体ヒトＣＤ３８において、２７４位のセリン残基がフェニルアラニンで置換されており、２０２位のアスパラギン酸残基がグリシン残基で置換されている。

【 0 0 1 5 】

とりわけ、本開示は、本明細書に記載の特に有用なＣＤ３８調節抗体薬剤（例えば、抗ＣＤ３８抗体またはその抗原結合断片）（例えば、ヒトＣＤ３８（例えば、その細胞外エピトープ）への特異的結合、１つ以上の本明細書に記載のＣＤＲ配列要素の包含（任意選択的にH C D R 1因子および／またはH C D R 2因子と組み合わせた、特にH C D R 3配

10

20

30

40

50

列要素の包含)、本明細書に記載の細胞活性化活性、本明細書に記載の細胞傷害性活性(例えば、それらの表面で比較的高いCD38レベルで免疫制御性細胞に対して)、およびそれらの組み合わせ等のある特定の構造的および/または機能的特徴を特徴とする抗CD38抗体またはその抗原結合断片)を特定および/または特徴付けるために利用され得る手順(図1)を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の特に有用な抗CD38抗体は、複数のかかる特徴を特徴とする。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の1つ以上の抗体は、CD38調節抗体薬剤として特徴付けられ得る。

【0016】

したがって、本明細書に例証されるように、aCD38-b-329配列(具体的には、aCD38-b-329-HCDR3(配列番号3)および/またはaCD38-b-329-LCDR3(配列番号7))を含むある特定の抗体および/または抗原結合断片は、かかる望ましい構造的および/または機能的特徴を特徴とし、かかる抗体および/またはその抗原結合断片は、本明細書でCD38調節抗体薬剤と称され得る。加えて、本開示によれば、aCD38-b-329と競合する抗体およびその抗原結合断片が特に有用な抗体であり得、かかる抗体および/またはその抗原結合断片は、本明細書でCD38調節抗体薬剤とも称され得る。

【0017】

本明細書に記載の抗体(および/またはその抗原結合断片)は、医学(例えば、療法および/または予防、例えば、がんの治療)に特に有用であり得、かつ/またはヒトCD38細胞外ドメイン内のエピトープ、例えば、aCD38-b-e pと特定されるものを標的とすることを必要とするか、またはそれを含む方法に関する使用のためのものであり得る。提供される抗体またはその抗原結合断片は、最も適切なアイソタイプ、具体的には、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4アイソタイプ抗体からなる群からのヒトアイソタイプ、より具体的には、ヒトIgG1を提示するように調製され得る。

【0018】

一態様では、本発明は、aCD38-b-329-HCDR3アミノ酸配列(配列番号3)およびそれを含むポリペプチド、例えば、可変重鎖相補性決定領域3としてaCD38-b-329-HCDR3アミノ酸配列(配列番号3)を含む抗体または抗原結合断片等を提供する。いくつかの実施形態では、かかる抗体または抗原結合断片は、

- a) 可変重鎖相補性決定領域1としてaCD38-b-329-HCDR1アミノ酸配列(配列番号1)、および/または
- b) 可変重鎖相補性決定領域2としてaCD38-b-329-HCDR2アミノ酸配列(配列番号2)等のさらなるaCD38-b-329アミノ酸配列要素を含むことをさらに特徴とし得る。

【0019】

いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、aCD38-b-329-HCDR123アミノ酸配列(配列番号4)に含まれるもの等の抗体フレーム配列によって特異的に分離された上で定義された可変重鎖相補性決定領域(すなわち、aCD38-b-329アミノ酸配列要素)を、特にそれらの結合特性および機能的特性を正しく発揮するために、さらに正しい順序で含み得る。例えば、いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、aCD38-b-329-HCDR123アミノ酸配列(配列番号4、またはそのHCDR1、HCDR2、およびHCDR3配列)を含み得、任意選択的に、

- a) 可変軽鎖相補性決定領域1としてaCD38-b-329-LCDR1アミノ酸配列(配列番号5)、
- b) 可変軽鎖相補性決定領域2としてaCD38-b-329-LCDR2アミノ酸配列(配列番号6)、および
- c) 可変軽鎖相補性決定領域3としてaCD38-b-329-LCDR3アミノ酸配列(配列番号7)を含み得る。

【0020】

10

20

30

40

50

したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 1 2 3 アミノ酸配列（配列番号 4）を含む可変重鎖を含む単離された抗体またはその抗原結合断片を提供する。好ましくは、かかる単離された抗体またはその抗原結合断片は、実施例に記載されるように、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 1 2 3 アミノ酸配列（配列番号 8）を含む可変軽鎖をさらに含む。

【 0 0 2 1 】

いくつかの実施形態では、a C D 3 8 - b - 3 2 9 の可変重鎖配列は、配列：

QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSDYWGWIWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKS
RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGQYSSGWYAYPFDMWGQGTMTVTSS (配列番号 12)

10

を含み、a C D 3 8 - b - 3 2 9 の可変軽鎖配列は、配列：

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSG
SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDGAFTFGGGTKVEIK (配列番号 15)

を含む。

【 0 0 2 2 】

本発明は、H C D R 3 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 3 の配列を含み、かつ a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 3、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 - L C D R 3、および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 - L C D R 3 からなる群から選択される配列を有する L C D R 3 を含む抗体またはその抗原結合断片も提供する。

20

【 0 0 2 3 】

本発明は、H C D R 1 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 1 の配列、H C D R 2 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 2 の配列、H C D R 3 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 3 の配列、L C D R 1 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 1 の配列、L C D R 2 として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 2 の配列を含み、かつ a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 3、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 - L C D R 3、および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 - L C D R 3 からなる群から選択される配列を有する L C D R 3 を含む抗体またはその抗原結合断片も提供する。

30

【 0 0 2 4 】

本発明は、可変重鎖領域として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 1 2 3 の配列を含み、かつ a C D 3 8 - b - 3 2 9 - L C D R 1 2 3、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 - L C D R 1 2 3、および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 - L C D R 1 2 3 からなる群から選択される配列を有する可変軽鎖領域を含む抗体またはその抗原結合断片も提供する。

【 0 0 2 5 】

本発明は、可変重鎖領域として a C D 3 8 - b - 3 2 9 - V H の配列を含み、かつ a C D 3 8 - b - 3 2 9 - V L、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 - V L、および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 - V L からなる群から選択される配列を有する可変軽鎖領域を含む抗体またはその抗原結合断片も提供する。

40

【 0 0 2 6 】

本発明は、a C D 3 8 - b - 3 2 9 の C D R 配列または重鎖もしくは軽鎖可変配列等の参照配列に対してある特定の同一性を有するバリエーション抗体およびその抗原結合断片も提供する。かかる抗体およびその抗原結合断片は、本明細書で C D 3 8 調節抗体薬剤とも称され得る。

【 0 0 2 7 】

例えば、いくつかの実施形態では、抗 C D 3 8 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 1 2 と少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 C D 3 8 抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 1 2 と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖配列を含む。いくつ

50

【 0 0 2 8 】

10

【 0 0 2 9 】

20

【 0 0 3 0 】

30

【 0 0 3 1 】

40

【 0 0 3 2 】

50

実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片は、配列番号4と少なくとも98%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変重鎖配列および配列番号8と少なくとも98%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む可変軽鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片は、配列番号4のアミノ酸配列を含む可変重鎖配列および配列番号8のアミノ酸配列を含む可変軽鎖配列を含む。

【0033】

かかるバリエーション抗体およびその抗原結合断片は、aCD38-b-329について本明細書に開示される重鎖および軽鎖可変配列を有する抗体およびその抗原結合断片について記載されるものと同じ（または実質的に同じ）機能および薬理学的特性を保持し得るか、または呈し得る。

【0034】

さらに、aCD38-b-329アミノ酸配列は、上で定義されたaCD38-b-329アミノ酸配列要素に対する置換の数によって定義される抗体配列も指す。例えば、かかる配列は、可変重鎖相補性決定領域3（HCDR3）として、aCD38-b-329-HCDR3（配列番号3）内に最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸置換を含む配列を含み得る。さらなる実施形態では、aCD38-b-329アミノ酸配列は、可変重鎖相補性決定領域1、2、および3（HCDR1、HCDR2、およびHCDR3）として、aCD38-b-329-HCDR1、aCD38-b-329-HCDR2、およびaCD38-b-329-HCDR3内に最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸置換を含む配列、より好ましくは、aCD38-b-329-HCDR123（配列番号4）内または配列番号12内に最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸置換を含む配列を含む抗体配列も指す。いくつかの実施形態では、aCD38-b-329アミノ酸配列は、可変重鎖配列として、可変重鎖配列のフレームワーク領域内に最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸置換を含む配列を含む抗体配列も指す。かかるaCD38-b-329アミノ酸配列要素およびかかる置換を提示する抗体は、aCD38-b-329、一般にCD38調節抗体薬剤の結合および/または機能的特性を依然として提示し得る。

【0035】

かかるaCD38-b-329アミノ酸配列は、可変軽鎖相補性決定領域3（LCDR3）として、aCD38-b-329-LCDR3（配列番号7）内に最大1、2、3、または4個のアミノ酸置換を含む配列も含み得る。さらなる実施形態では、aCD38-b-329アミノ酸配列は、可変軽鎖相補性決定領域1、2、および3（LCDR1、LCDR2、およびLCDR3）として、aCD38-b-329-LCDR1、aCD38-b-329-LCDR2、およびaCD38-b-329-LCDR3内に最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸置換を含む配列、より好ましくは、aCD38-b-329-LCDR123（配列番号8）内または配列番号15内に最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸置換を含む配列を含む抗体配列も指す。いくつかの実施形態では、aCD38-b-329アミノ酸配列は、可変軽鎖配列として、可変軽鎖配列のフレームワーク領域内に最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のアミノ酸置換を含む配列を含む抗体配列も指す。かかるaCD38-b-329アミノ酸配列要素およびかかる置換を提示する抗体は、aCD38-b-329、一般にCD38調節抗体薬剤の結合および/または機能的特性を依然として提示し得る。

【0036】

したがって、一実施形態では、本発明は、以下を含む抗CD38抗体薬剤（すなわち、抗体またはその抗原結合断片、および本明細書に記載のそのバリエーション、例えば、DGモチーフを除去するように突然変異させたバリエーション）を提供する：

a. aCD38-b-329（またはそのバリエーション、例えば、その親和性成熟バリエーション）の可変重鎖領域配列、またはaCD38-b-329（またはそのバリエーション、例

10

20

30

40

50

えば、その親和性成熟バリエーション)の可変重鎖領域配列と比較して最大5個のアミノ酸置換を有する可変重鎖領域配列、および/または

b . a C D 3 8 - b - 3 2 9 (またはそのバリエーション、例えば、その親和性成熟バリエーション)の可変軽鎖領域配列、またはa C D 3 8 - b - 3 2 9 (またはそのバリエーション、例えば、その親和性成熟バリエーション)の可変軽鎖領域配列と比較して最大5個のアミノ酸置換を有する可変軽鎖領域配列。

アミノ酸置換を組み込み得るa C D 3 8 - b - 3 2 9 重鎖は、配列番号4および12を含む。アミノ酸置換を組み込み得るa C D 3 8 - b - 3 2 9 軽鎖は、配列番号8、13、14、15、16、および17を含む。

【0037】

アミノ酸置換は、好ましくは、本抗体の機能的特性に悪影響を及ぼさないか、または実質的に悪影響を及ぼさない。したがって、これらの置換は、保存的アミノ酸置換とみなされ得る。好ましくは、アミノ酸置換が生じる場合、それらは、重鎖および/または軽鎖可変領域の全長が変化しないように、1:1の比率で生じる。

【0038】

本発明は、抗体の軽鎖または重鎖内のいずれのD Gモチーフも、例えば、アスパラギン酸異性化に対する感受性を低下させるように改変され得る抗体またはその抗原結合断片、および/または抗体の軽鎖または重鎖内のいずれのメチオニンも、例えば、メチオニン酸化を低減するように改変され得る抗体またはその抗原結合断片も提供する。例えば、D Gモチーフは、モチーフ内のアミノ酸の一方または両方を異なるアミノ酸で置換するように改変され得る。例えば、かかるモチーフは、E G、D Q、またはD Aに突然変異し得る。メチオニン残基は、それを異なるアミノ酸、例えば、ロイシンまたはフェニルアラニンで置換するように改変され得る。

【0039】

したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体またはその断片は、当該技術分野で標準であるように、D Gモチーフ、具体的にはC D R領域内に現れるD Gモチーフを除去または修飾するように突然変異して、アスパラギン酸異性化に対する感受性を低下させ得る。このように修飾されたかかる抗体は、最終配列に到達する前にさらなる修飾(例えば、親和性成熟)を経る必要があり得る。

【0040】

本発明の一実施形態では、本明細書に開示される抗体のC D R 1、C D R 2、およびC D R 3配列(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9のC D R 1、C D R 2、およびC D R 3配列)、または本明細書に開示されるいずれかの抗体の可変重鎖および可変軽鎖(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9の可変重鎖および可変軽鎖)であるが、C D R(存在する場合)内の少なくとも1つのD Gモチーフが異なるモチーフに変化した特定の配列とは異なる配列を有するバリエーション抗体が提供される。開示されるバリエーションは、a C D 3 8 - b - 3 2 9について記載されるように使用および製剤化され得る。

【0041】

例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9は、そのL C D R 3配列内にD Gモチーフを含む。いくつかの実施形態では、D Gモチーフのアスパラギン酸が異なるアミノ酸に変化し得、かつ/またはD Gモチーフのグリシンが異なるアミノ酸に変化し得る。かかる実施形態では、抗C D 3 8抗体またはその抗原結合断片は、例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9であり得るか、またはそれに由来し得る。これらの実施形態のうちのいくつかでは、バリエーション抗体またはその抗原結合断片は、表4に提供されるV L C D R 3配列(a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6およびa C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7とラベル付けされたもの)を有する。例えば、バリエーションL C D R 3配列(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6バリエーションL C D R 3配列またはa C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6バリエーションL C D R 3配列)は、a C D 3 8 - b - 3 2 9のL C D R 1配列および/またはL C D R 2配列を含む抗体に組み込まれ得る。一実施形態では、バリエーションL C D R 3配列(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6バリエーションL C D R 3配列またはa C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7バリエーションL

10

20

30

40

50

C D R 3 配列) は、a C D 3 8 - b - 3 2 9 の L C D R 1 配列、L C D R 2 配列、H C D R 1 配列、H C D R 2 配列、および H C D R 3 配列を含む抗体に組み込まれ得る。いくつかの実施形態では、バリエーション抗体またはその抗体結合断片は、a C D 3 8 - b - 3 2 9 の可変重鎖および可変軽鎖配列であるが、L C D R 3 配列が D G モチーフを除去するように突然変異した配列を含み得る(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 - L C D R 3 または a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 - L C D R 3 が代わりに L C D R 3 として存在し得る)。バリエーション抗 C D 3 8 抗体は、親 a C D 3 8 - b - 3 2 9 のいずれかおよび恐らく全ての結合特性および機能的特性を有するさらなる抗体を提供する。開示されるバリエーションは、a C D 3 8 - b - 3 2 9 について記載されるように使用および製剤化され得る。

【0042】

したがって、バリエーション抗体 a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 は、

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSDYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLK
SRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGQYSSGWYAYPFDMWGQGTMTVTSS (配列番号 12)

の配列を含む重鎖可変領域および

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFGSG
GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDEAVFTFGGGTKVEIK (配列番号 13)

の配列を含むバリエーション軽鎖を含むことを特徴とし得る。

【0043】

バリエーション抗体 a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 は、

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSDYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLK
SRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGQYSSGWYAYPFDMWGQGTMTVTSS (配列番号 12)

の配列を含む重鎖可変領域および

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFGSG
GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDSAVFTFGGGTKVEIK (配列番号 14)

の配列を含むバリエーション軽鎖を含むことを特徴とし得る。

【0044】

本発明は、親和性成熟抗体、例えば、本明細書に開示される抗体のうちのいずれかに由来する親和性成熟バリエーションも提供する。一実施形態では、親和性成熟抗体は、改変された D G モチーフおよび / または N G モチーフを有し、かつ / またはいずれかのメチオニン残基を除去するか、またはそれを突然変異させるように改変された親和性成熟抗体である。開示される親和性成熟バリエーションは、a C D 3 8 - b - 3 2 9 について記載されるように使用および製剤化され得る。

【0045】

いくつかの実施形態では、本発明は、抗 C D 3 8 抗体を調製する方法を提供し、本方法は、本明細書に記載の抗体(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9、またはその抗原結合断片もしくはバリエーション)を提供することと、その抗体を親和性成熟に供することと、を含み、産生された抗体は、親抗体よりも高い親和性で C D 3 8 に結合する。好ましくは、産生された抗体は、例えば、K d によって測定される、C D 3 8 に結合する親抗体よりも少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、より好ましくは少なくとも 50 % 高い親和性で C D 3 8 に結合する。親和性を測定するための方法は、当該技術分野で既知であり、以下の実施例に記載される。かかる方法によって産生された親和性成熟抗体は、他の抗 C D 3 8 抗体薬剤について本明細書に記載されるように製剤化および使用され得る。

【 0 0 4 6 】

親和性成熟は、当業者に既知の任意の好適な方法に従って行われ得る。例えば、インビトロ抗体ディスプレイシステムが、高親和性を有する特定の抗体の生成に広く使用されている。これらのシステムでは、表現型（すなわち、抗体断片）が遺伝子型（すなわち、抗体遺伝子）に結合されて、抗体の配列の直接決定が可能になる。抗体レパートリーのディスプレイを達成して、その後の結合剤の選択が可能になるいくつかのシステムが開発されており、選択ストリンジェンシーを増加させることにより、徐々に高くなる親和性のバリエーションの選択が可能になる。抗体断片は、酵母で、リボソームで、ファージディスプレイ粒子で、またはDNAへの直接結合によって発現され得る。

【 0 0 4 7 】

現在の抗体親和性成熟法は、2つの突然変異誘発カテゴリー、確率のおよび非確率的に属する。エラープロンポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、突然変異誘発因子細菌株、および飽和突然変異誘発が、確率的突然変異誘発法の典型的な例である。非確率的技法は、多くの場合、アラニンスキャニングまたは部位特異的突然変異誘発を使用して、特定のバリエーションの限定された収集物を生成する。加えて、親抗体のシャッフルされたバリエーションを得るためのシャッフリングアプローチを使用して、抗体親和性をさらに改善することもできる。

【 0 0 4 8 】

したがって、本発明の一実施形態では、親和性成熟法は、確率的突然変異誘発（例えば、エラープロンポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、突然変異誘発因子細菌株、または飽和突然変異誘発）、非確率的突然変異誘発（例えば、アラニンスキャニングまたは部位特異的突然変異誘発）、シャッフリング（例えば、DNAシャッフリング、鎖シャッフリング、またはCDRシャッフリング）、および修飾を導入するためのCRISPR-Cas9システムの使用からなる群から選択される。

【 0 0 4 9 】

親和性成熟法は、例えば、Rajpal et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(24): 8466-71, Steinwand et al., MAbs, 2014, 6(1): 204-18、ならびにTherapeutic Antibodies, Wiley, 2014, Chapter 6, Antibody Affinity (115~140頁)に記載されている。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物を調製する方法が提供され、本方法は、上記の方法（すなわち、親和性成熟によって抗体を産生するための方法）に従って調製された抗体を提供することと、本抗体を少なくとも1つ以上の薬学的に許容される賦形剤と共製剤化することと、を含む。薬学的組成物の調製に使用される抗体は、aCD38-b-329の親和性成熟バリエーションであり得る。かかる方法によって産生された薬学的組成物は、他の抗CD38抗体薬剤について本明細書に記載の本発明の治療法に使用され得る。

【 0 0 5 1 】

本明細書に記載の提供される抗体および/またはその抗原結合断片（例えば、1つ以上のaCD38-b-329アミノ酸配列要素、例えば、aCD38-b-329-HCDR3またはaCD38-b-329-HCDR123を含み得、かつ/またはヒトCD38および非ヒト霊長類CD38、例えば、カニクイザルCD38等への結合においてaCD38-b-329と競合し得るCD38調節抗体薬剤）は、様々な型式のうちのいずれかで提供され得る。例えば、いくつかの実施形態では、適切な型式は、モノクローナル抗体、ドメイン抗体、一本鎖抗体、Fab断片、F(ab')₂断片、一本鎖可変断片（scFv）、scFv-Fc断片、一本鎖抗体（scAb）、アプタマー、またはナノボディであり得るか、またはそれらを含み得る。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片（および具体的にはモノクローナル抗体）は、ウサギ、マウス、キメラ、ヒト化、または完全ヒト抗体またはその抗原結合断片であり得る。いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、最も適切であり得るように、IgG、IgA、

10

20

30

40

50

I g E、またはI g Mアイソタイプのもの（好ましくはヒトのもの）であり得る。いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、I g Gアイソタイプ、より具体的には、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4アイソタイプ（好ましくはヒトI g G 1）であり得る。いくつかの実施形態では、提供される抗体またはその抗原結合断片は、（例えば、さらなる結合部分および／または機能的部分を、a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列等のC D 3 8 調節抗体薬剤に結合させることが望ましい場合、例えば、多重特異性結合剤の一部として提供され、単離された抗体または抗原結合は、二重特異性抗体、多重特異性抗体、または当該技術分野で利用可能であり得る他の多重特異性型式に含まれ得る。

【 0 0 5 2 】

10

いくつかの実施形態では、提供されるC D 3 8 調節抗体薬剤は、C D 3 8 結合実体（例えば、抗C D 3 8 抗体またはその抗原結合断片）およびコンジュゲートされたペイロード、例えば、治療薬または診断薬を含む。多くのかかる実施形態では、この薬剤は、「イムノコンジュゲート」とみなされ、かつ／または「イムノコンジュゲート」と称される。抗体 - 薬物等の特定のイムノコンジュゲートを生成するために使用され得る技術および化合物の例は、文献（B e c k A e t a l . , 2 0 1 7）に記載されており、いくつかの既知の抗C D 3 8 抗体に適用可能なものであると記載されている（W O 2 0 1 6 / 1 6 6 3 0 4）。

【 0 0 5 3 】

20

いくつかの実施形態では、本発明は、本発明は、提供される抗体またはその抗原結合断片を特定するa C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、かかる配列は、ヒトC D 3 8 の細胞外ドメイン内のエピトープ（a C D 3 8 - b - e p 等）に結合し、かつ任意選択的に、単離されたタンパク質として、またはC D 3 8 を発現する細胞（免疫細胞または細胞株等、例えば、R a j i 細胞）の表面のいずれかで、カニクイザルおよび／またはマウスC D 3 8 の対応するエピトープにも結合する提供される抗体またはその抗原結合断片を特定する。

【 0 0 5 4 】

本発明は、本発明のC D 3 8 調節抗体薬剤によって結合されるエピトープと同じ（または同様の）エピトープに結合するC D 3 8 調節抗体薬剤も提供する。例えば、一実施形態では、（a C D 3 8 - b - 3 2 9（またはそのバリエーション））と同じ（または同様の）エピトープに結合する抗体が提供される。

30

【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヒトC D 3 8 のエピトープに特異的に結合する抗C D 3 8 抗体または抗原結合断片を提供し、このエピトープは、配列番号9のアミノ酸65～79に含まれる1個以上のアミノ酸残基（すなわち、a C D 3 8 - b - e p）を含む。好ましくは、このエピトープは、少なくとも4個のアミノ酸を含み、このエピトープは、配列番号9のアミノ酸65～79に含まれる1個以上のアミノ酸を含む。好ましくは、このエピトープは、少なくとも5個のアミノ酸、少なくとも6個のアミノ酸、少なくとも7個のアミノ酸、少なくとも8個のアミノ酸、少なくとも9個のアミノ酸、少なくとも10個のアミノ酸、少なくとも11個のアミノ酸、少なくとも12個のアミノ酸、少なくとも13個のアミノ酸、または少なくとも14個またはそれ以上のアミノ酸を含み、このエピトープは、配列番号9のアミノ酸65～79に含まれる1個以上のアミノ酸を含む。このエピトープは、直鎖状または立体構造的、すなわち、不連続のいずれかであり得る。いくつかの実施形態では、抗C D 3 8 抗体または抗原結合断片は、ヒトC D 3 8 のエピトープに特異的に結合し、このエピトープは、配列番号9のアミノ酸65～79に含まれる少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、または少なくとも14個またはそれ以上のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、抗C D 3 8 抗体または抗原結合断片は、配列番号9のアミノ酸65～79を含むエピトープに結合する。

40

50

【0056】

いくつかの実施形態では、本発明は、同じエピトープにおいて、具体的には、実施例において a C D 3 8 - b - e p (タンパク質配列 A R C V K Y T E I H P E M R H、U n i p r o t 配列 P 2 8 9 0 7 内のアミノ酸 6 5 ~ 7 9、配列番号 9) と特定されたエピトープにおいて競合する、単離されたタンパク質として、かつヒト C D 3 8 を発現する細胞の表面でのヒト C D 3 8 細胞外ドメインへの結合を可能にする、a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列を含み、かつ/または 1 つ以上の a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列要素を含む抗体またはその抗原結合断片と同等の結合特徴を提示する(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - H C D R 3 アミノ酸配列(配列番号 3)を含み、かつ/または a C D 3 8 - b - 3 2 9 と競合する)抗体またはその抗原結合断片をスクリーニングおよび/または特徴付けるための手順を提供する。

10

【0057】

さらに、本発明は、1 つ以上の a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列要素を含む抗体またはその抗原結合断片と同等の機能的特徴を提示する抗体またはその抗原結合断片をスクリーニングするための手順も提供し、かかる特徴は、細胞活性化および細胞傷害性活性であり、C D 3 8 調節抗体薬剤の役割を果たす。これらの範囲で、インビトロ/エクスピボアッセイ、細胞ベースのアッセイ、および/または動物モデルで評価される場合、かかる特徴のうちのいずれかであるが、これらの恐らく全ての存在を確立するために、候補抗体が、実施例に記載のアッセイ(図 1 を参照のこと)または当該技術分野で既知の他のアッセイで試験され得る。

20

【0058】

いくつかの実施形態では、本発明は、a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列等の C D 3 8 調節抗体薬剤を含む単離された抗体またはその抗原結合断片をコードする核酸分子を提供する。いくつかの実施形態では、かかる提供される核酸分子は、コドン最適化核酸配列を含み得、かつ/または宿主細胞、例えば、最近、酵母、昆虫、魚、マウス、サル、またはヒト細胞等での発現に適切な核酸ベクター内の発現カセットに含まれ得る。

【0059】

いくつかの実施形態では、本発明は、C D 3 8 調節抗体薬剤(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列を含む)の 1 つ以上の特性、例えば、本明細書に記載の特性を有する提供される C D 3 8 調節抗体薬剤(例えば、抗体またはその抗原結合断片)を発現する異種核酸分子(例えば、DNA ベクター)を含む宿主細胞を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、C D 3 8 調節抗体薬剤(例えば、a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列を含む)の 1 つ以上の特性、例えば、本明細書に記載の特性を有する C D 3 8 調節抗体薬剤(例えば、抗体またはその抗原結合断片)を調製する方法を提供する。いくつかの実施形態では、かかる方法は、核酸(例えば、ベクターを含み得、かつ/またはベクターを介して宿主細胞に送達され得る異種核酸)を含む宿主細胞を培養することを含み得る。いくつかの実施形態では、かかる宿主細胞(および/または異種核酸配列)は、C D 3 8 調節抗体薬剤(例えば、本抗体またはその抗原結合断片)が宿主細胞から分泌され(例えば、それが細胞培養上清から単離され得るように)、かつ/または細胞表面に曝露されるように配置および構築される(例えば、かかる a C D 3 8 - b - 3 2 9 アミノ酸配列および配列要素が、モノクローナル抗体の特異性を T 細胞にグラフトする人工 T 細胞受容体で見られるように、かかる細胞との関連で使用されるか、またはかかる細胞と一緒に使用されるよう意図されている場合)。

30

40

【0060】

いくつかの実施形態では、本抗体またはその抗原結合断片(またはそのバリエーション)は、脱フコシル化され得る。抗体グリコシル化が、抗体(例えば、モノクローナル抗体、組換え抗体、および/または別様に操作または単離された抗体)の活性、薬物動態、および薬力学に影響を及ぼし得、Fc 融合タンパク質および特定の技術を利用して、所望のグリコシル化プロファイルを有する抗体を得ることができることが周知である(L i u L , 2 0 1 5)。本発明に従う使用のための抗体(例えば、C D 3 8 調節抗体薬剤であり得る

50

か、またはCD38調節抗体薬剤とされ得る抗体を含む、例えば、本明細書に記載の抗CD38抗体)の細胞傷害性を支持するエフェクター機能は、抗体のフコシル化レベルを低下させる方法を使用して強化され得る。かかる特性を提示する特定のaCD38-b-329配列要素を含む抗体は、例えば、フコシル化能力を有しないか、またはフコシル化能力が低下した抗体(これらのうちのいくつかは市販されている(Potelligent(Lonza)GlyMAXX(ProBiogen)等))を産生し得る細胞株を遺伝子操作するための技術を使用して、aCD38-b-329配列を発現させることによって、または製造プロセスを操作することによって、例えば、オスモル濃度を制御することによって、かつ/または酵素阻害剤を使用することによって生成され得、例えば、EP2480671に記載の方法も参照されたい。

10

【0061】

いくつかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載の(具体的には、例えば、aCD38-b-329抗体またはその抗原結合断片、およびそれらのバリエーションを含む、例えば、本明細書でCD38調節抗体薬剤と称される抗体について記載の)望ましい特性を有する提供される抗体またはその抗原結合断片を含む組成物(例えば、薬学的組成物)を提供する。いくつかの実施形態では、かかる提供される組成物は、治療的使用、診断的使用、または予防的使用等の医学的使用を目的とし、かつ/またはそれらで使用される。いくつかの実施形態では、かかる提供される組成物は、薬学的に許容される担体または賦形剤をさらに含み得、かつ/またはがんの治療に使用するためのものであり得る。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、当該技術分野で既知のように、1つ以上の担体、賦形剤、塩、緩衝剤等と製剤化され得る。当業者であれば、所与の方法および/または投与部位、例えば、非経口投与(例えば、皮下、筋肉内、または静脈内注射)、粘膜、腫瘍内、腫瘍周辺、経口、または局所投与に特に望ましく、かつ/または有用であり得るものを含む、様々な製剤化技術を認識し、それらを容易に利用することができる。多くの実施形態では、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤(例えば、抗CD38抗体またはその抗原結合部分)を含む提供される薬学的組成物は、非経口送達(例えば、注射および/または注入による)用に製剤化される。いくつかの実施形態では、かかる提供される薬学的組成物は、例えば、予充填シリンジまたはバイアル型式で提供され得る。いくつかの実施形態では、かかる提供される薬学的組成物は、例えば、乾燥(例えば、凍結乾燥)形態で提供および/または利用され得、あるいは、いくつかの実施形態では、かかる提供される薬学的組成物は、液体形態(例えば、溶液、懸濁液、分散液、乳濁液等)、ゲル形態等で提供および/または利用され得る。

20

30

【0062】

いくつかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載の(例えば、aCD38-b-329アミノ酸配列要素を含む)CD38調節抗体薬剤(例えば、抗CD38抗体またはその抗原結合断片)の使用、および/またはそれらを含む組成物の使用、がん、例えば、B細胞悪性腫瘍、リンパ腫、(ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、急性リンパ性白血病、骨髄腫)、骨髄増殖性障害、固形腫瘍(例えば、乳癌(breast carcinoma)、扁平上皮細胞癌、結腸癌、頭頸部癌、肺癌、泌尿生殖器癌、直腸癌、胃癌、肉腫、黒色腫、食道癌、肝臓癌、睾丸癌、子宮頸癌、肥満細胞腫、血管腫、眼癌、喉頭癌、口腔癌、中皮腫、皮膚癌、直腸癌、咽喉癌、膀胱癌、乳癌(breast cancer)、子宮癌、前立腺癌、肺癌、脾臓癌、腎臓癌、胃癌、非小細胞肺癌、および卵巣癌)の治療および/または治療のための薬剤の製造における使用を提供する。上記のがんは、特定の腫瘍関連マーカーおよび抗原、例えば、CD20、HER2、PD-1、PD-L1、SLAMF7、CD47、CD137、CD134、TIM3、CD25、CD38、GITR、EGFR等、または高頻度マイクロサテライト不安定性(MSI-H)もしくはミスマッチ修復欠損(dMMR)と称されるバイオマーカーを有すると特定されたがんの存在に基づいて定義することもできる。さらに、かかる状態は、上記のがんの前癌性非侵襲性状態、例えば、上皮内癌、くすぶり型骨髄腫、意義不明の単クローン性高ガンマグロブリン血症モノクローナル、頸部上皮内癌、MALTomas

40

50

／GALTo mes、および様々なリンパ増殖性障害を定義する際にも考慮され得る。好ましくはいくつかの実施形態では、治療される対象は、固形腫瘍を有する。一実施形態では、対象は、血液癌を有する。いくつかの実施形態では、対象は、CD38陽性腫瘍を有する。

【0063】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、対象におけるがんを治療する方法を提供し、本方法は、対象に、本明細書に記載の（例えば、aCD38-b-329アミノ酸配列を含む）提供されるCD38調節抗体薬剤（例えば、抗CD38抗体またはその抗原結合断片）を含む組成物の有効量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、提供される方法は、対象に、少なくとも1つの追加の薬剤または療法を同時にまたは任意の順序で順次に投与する（すなわち、対象が併用療法を受けるようになる）ことをさらに含み得る。いくつかの実施形態では、かかる少なくとも1つの追加の薬剤または療法は、抗がん剤（例えば、化学療法剤）、放射線療法（X線照射を外部から身体に当てることによって、または放射線コンジュゲート化合物を投与することによって）、抗腫瘍抗原またはマーカー抗体（例えば、抗原またはマーカーが、CD4、CD25、CA125、PSMA、c-MET、VEGF、CD137、VEGFR2、CD20、HER2、HER3、SLAMF7、CD326、CAIX、CD40、CD47、またはEGF受容体である）、チェックポイント阻害剤または免疫調節抗体（例えば、PD-1、PD-L1、TIM3、CD25、GITR、CD134、CD134L、CD137L、CD80、CD86、B7-H3、B7-H4、B7RP1、LAG3、ICOS、TIM3、GAL9、CD28、AP2M1、SHP-2、OX-40等を標的とする抗体）、ワクチン、アジュバント、使用基準プロトコル、がん細胞を標的とするか、またはがん細胞に対する免疫応答を刺激する1つ以上の他の化合物、またはそれらの任意の組み合わせであり得るか、またはそれらを含み得る。ある特定の具体的な実施形態では、かかる少なくとも1つの追加の薬剤または療法が抗体であるか、またはそれを含む場合、かかる抗体の型式および／またはかかる抗体によって標的とされる抗原は、文献で列記されるものから選択され、恐らく所与のがんに適合され得る（Sliwowski M & Mellman I, 2013、Redman JM et al., 2015、Kijanka M et al., 2015）。

【0064】

なおさらに、本発明は、本明細書に記載の（例えば、aCD38-b-329アミノ酸配列を含む）提供される抗体またはその抗原結合断片、またはかかる単離された抗体または抗原結合断片の投与、保管、または他の使用を可能にする関連組成物を含む様々なキットまたは製品を提供する。好ましくは、キットは、かかる組成物を、任意選択的に、1つ以上の製品、希釈剤、試薬、固相、および／またはキットの正しい使用に関する指示と一緒に含む容器（vessel）、シリンジ、バイアル、または他の容器（container）を含む。

【0065】

医学的使用のための、具体的には、がんの治療のためのaCD38-b-329の検証は、異なる実験設定および／またはがん由来の細胞株のパネルを使用して細胞ベースのアッセイにおいてその活性のより広範な分析を行うことによって行われ得る。しかしながら、CD38調節抗体薬剤活性に関連する免疫学的機構を考慮して、さらなる関連データは、がんが誘導された動物モデルまたはがん細胞が異種移植片もしくは同系／同種がん由来の細胞として移植された動物モデルで生成され得る。加えて、これらの動物モデルは、PBM C（すなわち、ヒト化PBM Cマウスモデル）またはCD34+造血幹細胞（すなわち、CD34+ヒト化マウス）等のヒト細胞の移植を必要とし、マウス系におけるヒト免疫細胞でのCD38調節抗体薬剤の活性の評価を可能にすることができる。

【0066】

その前に、CD38調節抗体薬剤配列が、薬学的および／または技術的理由のためより適切な抗体フレームにクローン化および発現され得る。例えば、かかる配列（恐らくコド

10

20

30

40

50

ン最適化VHおよびVLコード配列として)は、ヒトIgG1定常領域(hIgG1)と一緒にクローン化され得、および適切な抗体発現ベクターおよび細胞株(CHO由来の細胞株、例えば、CHO-S等)を使用して発現され得る。ヒトIgG1型式の抗体におけるCD38調節抗体薬剤の発現および分泌は、(親和性クロマトグラフィー、ゲル濾過、および/または他の適切な技法によって)後に抗体を精製するために使用される細胞溶解物中の還元条件下でのトランスフェクションおよび上清中の非還元条件下でのトランスフェクション後に分析され得る。ヒトIgG1型式(CD38調節抗体薬剤-hIgG1)でのCD38調節抗体薬剤の結合および機能的特性は、以下の実施例に記載のアッセイを使用することによって分析され得る。例えば、CD38キラーアゴニスト-hIgG1は、フローサイトメトリーを使用して、ヒトおよびカニクイザルPBMCへの結合について評価され得る。特定の免疫細胞集団への結合は、特定の免疫細胞集団に対する1つ以上の特異的マーカー、例えば、CD3、CD45、CD56、およびCD159(NKG2A)(NK細胞の場合)、CD14(単球の場合)、CD19(B細胞の場合)、および/またはCD4/CD8(T細胞の場合)を使用してフローサイトメトリーで評価され得る。
【0067】

10

さらに、ヒト健常ドナーおよび/または患者から単離されたヒト原発腫瘍細胞および免疫細胞に対するCD38調節抗体薬剤-hIgG1抗体の影響が評価され得る。個々の免疫細胞集団への潜在的影響をより詳細に調査するために、CD38調節抗体薬剤-hIgG1抗体を使用して、腫瘍(および/もしくはリンパ節等の他の臓器)から単離されたPBMC、細胞、ならびに/または精製されたヒトCD8およびCD4T細胞、制御性T細胞、MDSC細胞、樹状細胞、マクロファージおよび単球、好中球、NK細胞、ならびに他の細胞型を処理することができる。潜在的読み出しは、サイトカイン放出、細胞死滅、細胞増殖、および/または活性化、アポトーシス、抗原特異的および/もしくは同種応答、またはそれらの任意の組み合わせを含む。あるいは、マウスまたは非ヒト霊長類が処理され得、細胞状態が、フローサイトメトリーを使用して、またはそれらの動物から様々な臓器および/または細胞を単離した後に追跡され得る。

20

【0068】

CD38調節抗体薬剤-hIgG1抗体のさらなる特性は、CD38調節抗体薬剤-hIgG1抗体の、CD38発現細胞(NK細胞またはT細胞等)、CD38酵素活性、CD38誘導性Ca²⁺レベルおよびタンパク質リン酸化、CD38シェディングおよび/もしくは内部移行、細胞内経路(例えば、NFkB経路)のCD38誘導性活性化、ならびに/またはCD31および他の受容体タンパク質(例えば、CD16、TCR、BCR等)との相互作用への影響を研究することによって、単独で、または組み合わせで評価され得る。CD38下流活性における後者のプロセスの関与も、これらのプロセスの特異的阻害剤を使用して評価され得る。その後、aCD38調節抗体薬剤-hIgG1抗体がカニクイザルに投与された場合、これらの細胞効果がインピボで追跡され得る。

30

【0069】

本発明のいくつかの実施形態では、本抗体(および本明細書に記載のそのバリエーション、例えば、DGモチーフを除去するように突然変異させたバリエーション)は、有利な活性プロファイルを有し得る。例えば、一実施形態では、本抗体またはその抗原結合断片(およびそのバリエーション)は、

40

- CD38+標的細胞に対する抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性(ADCC)活性を呈し得、
- 同じまたは実質的に同じ条件下でのグラツムマブと比較して、CD38+標的細胞に対する補体依存性細胞傷害性(CDC)または低下したCDC活性を呈さず、
- 抗体依存性細胞食作用(ADCP)を呈し得、かつ/または
- 免疫エフェクター細胞活性化を誘導し得る。

【0070】

好ましくは、aCD38-b-329またはその抗原結合断片(またはそのバリエーション)は、同じまたは実質的に同じ条件下でのグラツムマブと比較して、CD38+標的細胞

50

に対する低下したC D C活性を呈する。

【0071】

抗C D 3 8抗体またはその抗原結合断片の抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性(A D C C)活性は、実施例に記載のアッセイを使用して、例えば、標的細胞としてC D 3 8 + D a u d i細胞およびエフェクター細胞としてヒトP B M C細胞を使用して、インビトロで決定され得、標的細胞のエフェクター細胞に対する比率は、約50 : 1 ~ 約25 : 1である。

【0072】

C D 3 8 + 標的細胞に対する補体依存性細胞傷害性(C D C)活性は、実施例に記載のアッセイを使用して、例えば、10%補体の存在下でC D 3 8 + D a u d i細胞および/またはR a j i細胞を使用して、インビトロで決定され得る。C D C活性は、ヒト補体の存在下で抗体濃度を最大10 μ g / m Lに増加させて標的細胞を処理することによって決定され得る。いくつかの実施形態では、C D C活性は、10%補体の存在下でC D 3 8 + 細胞、すなわち、C D 3 8 + D a u d i細胞の最大細胞溶解パーセンテージを測定することによって決定され得る。所与の抗体の最大溶解は、実験間で異なり得る。したがって、例えば、E C 5 0値ならびに/または参照抗体(ドラツムマブ等)と比較した最大溶解%および/もしくはE C 5 0の倍差を含む、C D C活性を測定するための他の測定基準を考慮することが有益である。したがって、ドラツムマブと比較してより低いC D C活性の決定は、いずれかの値のドラツムマブと比較した最大溶解%、E C 5 0、および/または倍変化を参照し得る。

【0073】

本発明の好ましい一実施形態では、C D 3 8調節抗体薬剤は、C D Cを、
a) ドラツムマブよりも少なくとも0.5倍高い(またはより好ましくは少なくとも1倍高い)E C 5 0で、または
b) ドラツムマブが呈する最大溶解%の半以下である、10%補体の存在下でのR a j i細胞および/またはD a u d i細胞において測定される最大溶解%で呈し得る。

【0074】

言うまでもなく、ドラツムマブのC D Cは、比較のために同じまたは実質的に同じ条件下で決定される。C D C活性は、最大約10 μ g / m Lの抗体濃度を使用して決定され得る。当業者であれば、最大細胞溶解を決定する際に、最大細胞溶解がより低い抗体濃度で生じ得るため、10 μ g / m Lの濃度が必ずしも必要とされるわけではないが、10 μ g / m Lが必要に応じて使用され得ることを理解するであろう。

【0075】

いくつかの実施形態では、ドラツムマブと比較したC D C活性の低下は、抗体またはその抗原結合断片のE C 5 0が、同じまたは実質的に同じ条件下でのドラツムマブのE C 5 0よりも少なくとも約0.5倍高い(すなわち、少なくとも約1.5倍高い)、または好ましくは少なくとも約1倍高い(すなわち、少なくとも約2倍高い)ようなものである。例えば、抗体またはその抗原結合断片のE C 5 0は、10%補体の存在下でのD a u d i細胞および/またはR a j iに対するドラツムマブのE C 5 0よりも少なくとも約0.5倍高い、または好ましくは約1倍高い。

【0076】

いくつかの実施形態では、本抗体またはその抗原結合断片(またはそのバリエーション)は、C D 3 8 + D a u d i細胞および/またはR a j i細胞に対する少なくとも約0.05 μ g / m LのE C 5 0でC D Cを誘導する(かつ任意選択的にC D CによるかかるC D 3 8 + 発現細胞の60%未満の溶解を引き起こす)。いくつかの実施形態では、本抗体またはその断片は、C D 3 8 + D a u d i細胞および/またはR a j i細胞に対する少なくとも約0.05 μ g / m L、少なくとも約0.10 μ g / m L、または少なくとも約0.15 μ g / m LのE C 5 0でC D Cを誘導する(かつ任意選択的に最大約10 μ g / m Lの抗体濃度でC D CによるかかるC D 3 8 + 発現細胞の60%未満の溶解を引き起こす)。

【0077】

いくつかの実施形態では、抗C D 3 8抗体またはその抗原結合断片(またはそのバリエーション)

ント)は、CD38発現細胞に対する抗体依存性細胞食作用(ADCP)を呈し得る。ADCP活性は、FcγRIIaを発現するエフェクター細胞としてJurkat細胞におけるFcγRIIa結合を測定するレポーター細胞アッセイによって決定され得る。エフェクター細胞は、NFAT誘導性ルシフェラーゼも発現する。このアッセイにおける標的細胞は、CD38発現Raji細胞であり得る。NFATシグナル伝達を測定して、活性を決定することができる。

【0078】

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片(またはそのバリエーション)は、インビトロで生成された制御性T細胞に対するADCPを誘導し得る。これは、実施例で論じられるように測定され得る。

【0079】

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片(またはそのバリエーション)は、同じまたは実質的に同じ条件下でのグラツムマブと比較してより高い量でT細胞活性化を誘導し得る。いくつかの実施形態では、T細胞活性化は、ルシフェラーゼレポーターJurkat細胞におけるNFATシグナル伝達を測定することによって決定され得る。いくつかの実施形態では、ルシフェラーゼレポーターJurkat細胞において測定された抗CD38抗体またはその抗原結合断片によって誘導されたNFATシグナル伝達は、同じまたは実質的に同じ条件下で測定されたグラツムマブのNFATシグナル伝達よりも少なくとも約10%高い。いくつかの実施形態では、NFATシグナル伝達は、同じまたは実質的に同じ条件下で測定されたグラツムマブのNFATシグナル伝達よりも少なくとも約15%、少なくとも約20%、または少なくとも約30%高い。

【0080】

Jurkat細胞におけるNFATルシフェラーゼレポーターアッセイでは、NFATシグナル伝達は、可溶性CD3モノクローナル抗体の存在下で、相対発光単位(RLU)で測定され得る。CD3モノクローナル抗体は、1μg/mLの濃度であり得、Jurkat細胞は、約5μg/mL~約40μg/mL(例えば、10μg/mL)の濃度の抗CD38抗体で刺激され得る。かかるアッセイを使用して、NFATシグナル伝達は、CD3のみでの刺激のRLUがベースラインとして使用された場合、同じまたは実質的に同じ条件下で測定されたグラツムマブのNFATシグナル伝達よりも少なくとも約30%高い場合がある。

【0081】

T細胞活性化は、T細胞増殖の増加および/またはサイトカイン分泌の増加をさらに特徴とし得、サイトカインは、IL-2、TNF-、IFN-、IL-10、およびGM-CSFからなる群から選択され得る。

【0082】

T細胞増殖は、実施例で見られるように、例えば、72時間のインキュベーション後に10μg/mLの抗体濃度および0.1μg/mLまたは0.5μg/mLの抗CD38抗体の存在下で決定されるように測定され得る。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片は、未処理細胞と比較してCD4+細胞および/またはCD8+細胞のT細胞増殖を少なくとも約20%増加させる。いくつかの実施形態では、T細胞増殖は、未処理細胞と比較して少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、または少なくとも約40%増加する。

【0083】

好ましくは、抗CD38抗体またはその抗原結合断片(またはそのバリエーション)は、CD4+細胞および/またはCD8+細胞におけるT細胞増殖を、同じまたは実質的に同じ条件下(例えば、同じ抗体濃度で72時間のインキュベーション)で、ヒトIgG1で処理された細胞と比較して少なくとも約0.5倍(すなわち、少なくとも1.5倍)または少なくとも1倍(すなわち、少なくとも2倍)または少なくとも2倍(すなわち、少なくとも3倍)または少なくとも3倍(すなわち、少なくとも4倍)増加させる。

【0084】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片（またはそのバリエーション）は、同じまたは実質的に同じ条件下でのダラツムマブによって誘導されるものよりも高い量で、CD4+細胞および/またはCD8+細胞におけるIL-2、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10、および/またはGM-CSFからなる群から選択されるサイトカインの分泌を誘導する。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片は、ダラツムマブと比較してGM-CSFの分泌を増加させる。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片は、ダラツムマブと比較してIL-2の分泌を増加させる。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体またはその抗原結合断片は、ダラツムマブと比較してIL-2、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10、およびGM-CSFの分泌を増加させる。サイトカイン分泌は、実施例に提供されるように、例えば、72時間のインキュベーション後に10 μ g/mLの抗体濃度で決定されるように測定され得る。

10

【0085】

したがって、抗CD38抗体またはその抗原結合断片（またはそのバリエーション）は、CD38+標的細胞に対する抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性（ADCC）活性を呈し、同じまたは実質的に同じ条件下でのダラツムマブと比較してCD38+標的細胞に対する低下したCDC活性を呈し、免疫エフェクター細胞活性化を誘導し、T細胞増殖を誘導し、IL-2、IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、およびIL-10を含むサイトカイン分泌の増加を誘導する。

【0086】

20

本発明は、抗体aCD38-b-329のバリエーションまたは誘導体も含む。抗体またはその抗原結合断片のバリエーションまたは誘導体（例えば、aCD38-b-329-m6およびaCD38-b-329-m7）は、それらが由来する抗体と同じ機能的プロファイル（すなわち、薬理学的特性）を共有し得る。同様に、本発明は、CD38への結合においてaCD38-b-329（またはそのバリエーション）と競合する抗体または抗原結合断片を含む。かかる競合抗体は、aCD38-b-329と同じ機能的プロファイル（すなわち、薬理学的特性）を有し得る。

【0087】

CD38調節抗体薬剤-hIgG1（例えば、aCD38-b-329-hIgG1抗体）とヒトCD38との間の分子間相互作用についてのさらなる洞察を得るために、aCD38-b-329-hIgG1抗体およびヒトCD38タンパク質の結晶構造が決定され得る。aCD38-b-329-hIgG1抗体の溶解性および安定性が、溶解性研究、加速ストレス研究、凍結融解研究、および公式安定性研究によって評価され得る。抗体の凝集は、目視検査、サイズ排除クロマトグラフィー、ならびに動的光散乱およびOD₂₈₀/OD₃₂₀吸光度によって追跡され得る。

30

【図面の簡単な説明】

【0088】

【図1】aCD38-b-329を、本発明による1つ以上の特性を有するアゴニスト抗CD38抗体、具体的には、CD38調節抗体薬剤を定義するもの：薬学的に関連した標的細胞死滅（例えば、ADCC、ADCP、およびCDCアッセイで測定される）、免疫細胞（細胞生存および/もしくは増殖、サイトカイン分泌、ならびに/または活性化マーカー等の特性を測定するための、Treg、CD8およびCD4⁺T細胞、NK細胞、樹状細胞、MDS、マクロファージ、ならびに/または単球等）への影響、CD38酵素活性またはCD38媒介性シグナル伝達への影響、CD38を発現する（または発現しない）がん細胞への影響、他の薬物（例えば、腫瘍抗原を標的とする抗体または他の抗がん剤）との組み合わせ、ならびに/または凝集する傾向のある配列に関連する安定性問題を特定するため抗体配列および型式、可変ドメイン内でのグリコシル化部位または遊離システインの存在、ならびに/または影響（例えば、Fab、ナノボディ、二重/多重特異性抗体としてヒトIgG1フレーム内、または非抗体足場内）を示す本明細書に記載のものと特定するためのスクリーニング手順を要約する流れ図である。

40

50

【図2】関連タンパク質配列(A)、aCD38-b-329タンパク質配列。スクリーニング手順によって最初に特定された重鎖および軽鎖抗体のフレーム配列(それぞれ、aCD38-b-329-HCDR123(配列番号4)およびaCD38-b-329-LCDR123(配列番号8))内の重鎖(aCD38-b-329-HCDR1(配列番号1)、aCD38-b-329-HCDR2(配列番号2)、およびaCD38-b-329-HCDR3(配列番号3))、ならびに軽鎖(aCD38-b-329-LCDR1(配列番号5)、aCD38-b-329-LCDR2(配列番号6)、およびaCD38-b-329-LCDR3(配列番号7))の各CDRを別個に示し、下線を引いてある。DGモチーフ(二重下線を引いたもの)は、抗体の異性化および分解のためのホットスポットを示し(Sydow J et al. 2014)、aCD38-b-329のいずれかおよび恐らく全ての結合特性および機能的特性を有する代替の抗CD38抗体を提供するために突然変異させられ得る。(B)ドラツムマブエピトープ(本明細書でDARAep-aおよびDARAep-bとして示される2つのヒトCD38領域によって形成されたWO2006/099875に特定および開示されるDARA)の一方と比較した、ヒトCD38の配列(UniprotコードP28907)(配列番号9)であり、異なるボックスが、細胞質ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞外ドメイン内の予め特定されたaCD38-b-329主要エピトープの位置(aCD38-b-ep)を特定する。

10

【図3】ヒト由来の細胞を増加した抗体濃度で使用し、本分析をCD8陽性細胞またはCD4陽性細胞に限定し、かつヒトIgG1アイソタイプ対照、ドラツムマブ(DARA)および一次抗体の存在下のいずれかと比較することによる、PBMCで発現したCD38へのaCD38-b-329結合の特徴付け。

20

【図4】いずれのさらなる腫瘍標的抗体の投与とも無関係の細胞ベースのモデルにおけるドラツムマブ(DARA)または陰性対照抗体(抗ヒトCD3またはヒトIgG1アイソタイプ)と比較したaCD38-b-329の機能的特徴付け。(A)aCD38-b-329は、各グラフに示されるように、TCR媒介性CD4およびCD8 T細胞増殖のパーセンテージを増加させる。(IgG1および抗CD38抗体の各々を10、5、2.5 μg/mLで試験し、抗CD3を0.1 μg/mLで試験する)。(B)aCD38-b-329は、TCR活性化CD4/CD8 T細胞による選択されたサイトカインの分泌を増加させる(試験した5体のドナーのうち5体で同様のパターン)。

30

【図5】細胞傷害性に関するDARAと比較したaCD38-b-329の機能的特徴付け。(A)この直接的抗体媒介性死滅効果は、ドラツムマブ(DARA)と同様に抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性(ADCC)を伴うが、DARAとは異なり、補体依存性細胞傷害性(CDC、文献に記載されるように、DARAのCDCが特に有意である)は伴わない。(B)さらに、aCD38-b-329を、活性が抗体架橋によってあまり増加しないDARAと比較した場合、Dauid細胞において決定された標的細胞死滅は、抗体架橋によって強く誘導される。

【図6】示される日数にわたるDauid細胞(A)およびRamos細胞(B)の静脈内投与に基づく2体のがんモデルにおける動物生存率に関するaCD38-b-329(10 mg/kgで投与)の機能的特徴付け。aCD38-b-329での処理は、陰性対照と比較して、動物生存率を増加させる。Dauidモデルにおいて、ドラツムマブ(DARA)と比較した場合でも、aCD38-b-329が生存率を増加させる。

40

【図7】バリエーションaCD38-b-329抗体、A)aCD38-b-329-m6およびB)aCD38-b-329-m7の関連重鎖および軽鎖タンパク質配列。aCD38-b-329-m6の場合、それぞれ、aCD38-b-329-m6-HCDR123(配列番号4)およびaCD38-b-329-m6-LCDR123(配列番号16)のフレーム配列内、aCD38-b-329-m7の場合、それぞれ、aCD38-b-329-m7-HCDR123(配列番号4)およびaCD38-b-329-m7-LCDR123(配列番号17)のフレーム配列内の重鎖および軽鎖の各CDRに下線を引いてある。

50

【図 8】D a r a および I g G 1 対照と比較した D a u d i 細胞へのバリエーション配列の結合。C D 3 8 発現ヒト細胞株 (D a u d i) への結合を、抗 C D 3 8 一次抗体を 2 0 μ g / m L で、続いて、半対数希釈系列 (7 点) で添加し、その後、二次抗体で染色することによって試験した。a C D 3 8 - b - 3 2 9 バリエーションは、親 a C D 3 8 - b - 3 2 9 および D A R A と同様の D a u d i 細胞への結合を示す。

【図 9】細胞傷害性に関する D A R A と比較した a C D 3 8 - b - 3 2 9 およびそのバリエーション配列の機能的特徴付け。a C D 3 8 - b - 3 2 9 およびそのバリエーション配列、ならびに D A R A は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性 (A D C C) による C D 3 8 + 細胞株 (D a u d i) の死滅を誘導し、活性 (E C 5 0 または最大溶解) に検出可能な差はなかった。

10

【図 1 0】示される日数にわたる R a j i 細胞 (A) および R a m o s 細胞 (B) の静脈内投与に基づく 2 体のがんモデルにおける動物生存率に関する a C D 3 8 - b - 3 2 9 ならびにバリエーション a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 (全て 1 0 m g / k g で投与) の機能的特徴付け。両モデルにおいて、a C D 3 8 - b - 3 2 9 での処理は、陰性対照と比較して、動物生存率を増加させる。両モデルにおいて、バリエーション a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 での処理は、陰性対照と比較して、かつグラツムマブ (D A R A) と比較して、動物生存率を増加させる。

【図 1 1】B i a c o r e 2 0 0 0 での H i s タグ付き r h C D 3 8 に対する精製された抗体 (I g G 1) の S P R に基づく分析。A) a C D 3 8 - b - 3 2 9、B) a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6、および C) a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7。

20

【図 1 2】O c t e t Red 9 6 機器でのバイオ層干渉分光法によって測定される、グラツムマブ (図 1 1 B) と比較した、H i s タグ付き組換えヒト C D 3 8 への a C D 3 8 - b - 3 2 9 (図 1 1 A) の結合を示す。4 . 2 n M の r h C D 3 8 - H i s、続いて、様々な濃度の抗体 (図に示される) を N i N T A バイオセンサに充填し、その後、それらを動態緩衝液中で解離させた。

【図 1 3】O c t e t における競合アッセイ。第 1 の抗体の固定化 r h C D 3 8 への結合を、再び第 1 の抗体 (グラツムマブ (対照として)) または第 2 の抗体 (a C D 3 8 - b - 3 2 9) のいずれかによって追跡する。非競合抗体が他の抗体 (示されず) の存在下で C D 3 8 に結合する (図示されず) 一方で、同じエピトープに結合する抗体が競合し、さらなる結合が観察されないであろう。

30

【図 1 4】O c t e t Red 9 6 機器でのバイオ層干渉分光法によって測定される、H i s タグ付き組換えヒト C D 3 8 への抗 C D 3 8 抗体 a C D 3 8 - b - 3 2 9 の結合を示す。4 . 2 n M の r h C D 3 8 - H i s、続いて、8 n M の抗体を N i N T A バイオセンサに充填し、その後、それらを動態緩衝液中で解離させた。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 8 9 】

本明細書で使用されるある特定の用語の定義、技術的な意味、および実施形態が以下に提供され、これらのうちの多くまたは大半は、当業者の共通の理解を確認する。

【 0 0 9 0 】

40

投与：本明細書で使用される場合、「投与」という用語は、対象への組成物の投与を指す。動物対象 (例えば、ヒト) への投与は、任意の適切なルートにより得る。例えば、いくつかの実施形態では、投与は、気管支 (気管支滴下を含む)、頰側、経腸、動脈内、皮下、胃内、髄内、筋肉内、鼻腔内、腹腔内、髄腔内、静脈内、心室内、特定の臓器または組織内 (例えば、肝臓内、腫瘍内、腫瘍周辺等)、粘膜、経鼻、経口、直腸、皮下、舌下、局所、気管 (気管内滴下を含む)、経皮、腔内、および硝子体であり得る。投与は、間欠投薬を含み得る。あるいは、投与は、少なくとも選択された時間にわたる連続投薬 (例えば、灌流) を含み得る。当該技術分野で既知のように、抗体療法は、一般に、例えば、静脈内、皮下、または腫瘍内注射 (例えば、特に腫瘍内の高用量が所望される場合) によって非経口投与される。

50

【0091】

薬剤：本明細書で使用される場合「薬剤」という用語は、例えば、ポリペプチド、核酸、サッカリド、小分子、金属、またはそれらの組み合わせを含む、任意の化学的分類の化合物または実体を指し得る。本発明に従って利用され得る薬剤の特定の実施形態は、小分子、薬物、ホルモン、抗体、抗体断片、アプタマー、核酸（例えば、*siRNA*、*shRNA*、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム）、ペプチド、ペプチド模倣薬等を含む。薬剤は、ポリマーであり得るか、またはそれを含み得る。

【0092】

抗体：本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、*CD38*、ヒト*CD38*、具体的には細胞外ヒト*CD38*、より具体的にはヒト*CD38*細胞外ドメイン等の特定の標的抗原への特異的結合を与えるのに十分な標準的な免疫グロブリン配列要素を含むポリペプチドを指す。当該技術分野で既知のように、天然に産生されるインタクトな抗体は、2つの同一の重鎖ポリペプチド（各々約50kD）および2つの同一の軽鎖ポリペプチド（各々約25kD）で構成され、それらが互いに結合して一般に「Y字形」構造と称されるものになる、およそ150kDの四量体作用物質である。各重鎖は、少なくとも4つのドメイン（各約110アミノ酸長）、アミノ末端可変（*VH*）ドメイン（*Y*構造の端部に位置する）、続いて、3つの定常ドメイン：*CH1*、*CH2*、およびカルボキシ末端*CH3*（*Y*の幹の基部に位置する）で構成される。「スイッチ」として既知の短い領域は、重鎖可変領域と重鎖定常領域を連結する。「ヒンジ」は、*CH2*ドメインおよび*CH3*ドメインを抗体の残り部分に連結する。このヒンジ領域内の2つのジスルフィド結合は、インタクトな抗体における2つの重鎖ポリペプチドを互いに連結する。各軽鎖は、別の「スイッチ」によって互いに分離された2つのドメイン、アミノ末端可変（*VL*）ドメイン、続いて、カルボキシ末端定常（*CL*）ドメインで構成される。インタクトな抗体四量体は、重鎖と軽鎖が単一のジスルフィド結合によって互いに連結された2つの重鎖 - 軽鎖二量体で構成され、2つの他のジスルフィド結合が重鎖ヒンジ領域を互いに連結し、二量体が互いに連結されて四量体が形成されるようになる。天然に産生された抗体は、典型的には*CH2*ドメインがグリコシル化されており、各ドメインは、圧縮逆平行ベータバレル内に互いに密集した2つのベータシート（例えば、3本、4本、または5本鎖シート）から形成された「免疫グロブリンフォールド」を特徴とする構造を有する。各可変ドメインは、「相補性決定領域」として既知の3つの超可変ループ（例えば、*Kabat* 番号付けスキームに従って決定される、当該技術分野で理解される*CDR1*、*CDR2*、および*CDR3*）ならびに4つのいくらか不変の「フレームワーク」領域（*FR1*、*FR2*、*FR3*、および*FR4*）を含む。天然抗体がフォールドすると、ドメインに構造的フレームワークを提供するベータシート由来の*FR*領域ならびに重鎖および軽鎖の両方由来の*CDR*ループ領域が三次元空間内で一緒になり、それらが*Y*構造の端部に位置する単一の超可変抗原結合部位を作製する。天然に存在する抗体の*Fc*領域は、補体系の要素に結合し、例えば、細胞傷害性を媒介するエフェクター細胞を含むエフェクター細胞上の受容体にも結合する。当該技術分野で既知のように、*Fc*受容体に対する*Fc*領域の親和性および/または他の結合特質は、抗体の開発可能性を改善することができるグリコシル化または他の修飾によって調節され得る（*Jarascch A et al.*, 2015）。

【0093】

いくつかの実施形態では、本発明に従って産生および/または利用される抗体は、かかるグリコシル化が修飾または操作された*Fc*ドメインを含むグリコシル化*Fc*ドメインを含む。本発明の目的のために、ある特定の実施形態では、天然抗体で見られる十分な免疫グロブリンドメイン配列を含む任意のポリペプチドまたはポリペプチド複合体は、かかるポリペプチドが天然に産生される（例えば、抗原に反応する生物によって生成される）か、または組換え操作、化学合成、もしくは他の人工系もしくは方法論によって産生されるかにかかわらず、「抗体」と称され得、かつ/または「抗体」として使用され得る。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体のパネルとして生成されるポリクローナルまたはオリゴクローナルであり、各々単一の抗体配列に結合し、抗原内のほぼ別個のエピトープ（異

10

20

30

40

50

なる参照抗CD38抗体に結合されるヒトCD38細胞外ドメイン内の異なるエピトープ等)に結合する。

【0094】

ポリクローナル抗体またはオリゴクローナル抗体は、文献に記載されるように医学的使用のために単一調製物で提供され得る(Kearns J D et al., 2015)。いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナルである。いくつかの実施形態では、抗体は、マウス、ウサギ、霊長類、またはヒト抗体の特徴を示す定常領域配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体配列要素は、当該技術分野で既知のように、ヒト化、霊長類化、キメラ等である。さらに、本明細書で使用される「抗体」という用語は、適切な実施形態では(別途明記されない限りまたは文脈から明らかでない限り)、代替の提示での抗体の構造的および機能的特徴を利用するための当該技術分野で既知であるか、または当該技術分野で開発された構築物または型式、例えば、以下で定義される抗原結合断片のうちのいずれかを指し得る。例えば、本発明に従って利用される抗体は、インタクトなIgG、IgE、およびIgM、二重または多重特異性抗体(例えば、Zybodyes(登録商標)等)、一本鎖可変ドメイン(scFv)、ポリペプチド-Fc融合物、Fab、ラクダ科抗体、重鎖サメ抗体(IgNAR)、マスク抗体(例えば、Probodies(登録商標))、または細胞表面での発現および曝露を可能にするポリペプチドとの融合タンパク質(モノクローナル抗体の特異性をT細胞に移植するために使用される人工T細胞受容体を得るための構築物内のscFvとして)から選択されるが、これらに限定されない型式である。いくつかの実施形態では、抗体は、天然に産生された場合に有するであろう共有結合的修飾(例えば、グリカンの結合)を欠き得る。あるいは、抗体は、共有結合的修飾(例えば、グリカン、ペイロード[例えば、検出可能な部分、治療的部分、触媒部分等]、または他のペンダント基[例えば、ポリエチレングリコール等]の結合)を含み得る。

【0095】

抗原：本明細書で使用される「抗原」という用語は、免疫応答を誘発し、かつ/またはT細胞受容体(例えば、MHC分子によって提示された場合)および/またはB細胞受容体に結合する作用物質を指す。抗原特異的抗体の産生を伴うか、またはCD38細胞外ドメインについて実施例に示される、体液性応答を誘発する抗原は、抗体ライブラリをスクリーニングし、さらに特徴付けられる候補抗体配列を特定するために使用され得る。

【0096】

抗原結合断片：本明細書で使用される場合、「抗原結合断片」という用語は、抗体によって標的とされる抗原に特異的に結合する能力を抗原結合断片に与えるのに十分な本明細書に記載の抗体の1つ以上の部分を含む(include)または含む(comprise)作用物質を包含する。例えば、いくつかの実施形態では、この用語は、特異的結合を与えるのに十分な免疫グロブリン構造要素を含むいずれのポリペプチドまたはポリペプチド複合体も包含する。例示の抗原結合断片としては、小モジュラー免疫薬(「SMIP(商標)」)、一本鎖抗体、ラクダ科抗体、単ドメイン抗体(例えば、サメ単ドメイン抗体)、一本鎖またはタンデムダイアボディ(TandAb(登録商標))、VHH、Anticalin(登録商標)、ナノボディ(登録商標)、ミニボディ、BiTE(登録商標)、アンキリン反復タンパク質またはDARPIN(登録商標)、Avimer(登録商標)、DART、TCR様抗体、Adnectin(登録商標)、Affilin(登録商標)、Trans-body(登録商標)、Affibody(登録商標)、TrimerX(登録商標)、MicroProtein、Centyrin(登録商標)、CoVXボディ、二環式ペプチド、Kunitzドメイン由来の抗体構築物、または任意の他の抗体断片(それらが所望の生物学的活性を呈する限り)が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、この用語は、他のタンパク質構造、例えば、ステープルペプチド、抗体様結合ペプチド模倣薬、抗体様結合足場タンパク質、モノボディ、および/または他の非抗体タンパク質足場、例えば、文献で概説されるもの(Vazquez-Lombardi R et al., 2015)を包含する。いくつかの実施形

10

20

30

40

50

態では、抗原結合断片は、アミノ酸配列が相補性決定領域（CDR）として当業者によって認識される1つ以上の構造要素を含むポリペプチドであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合断片は、アミノ酸配列が、本明細書に記載の抗CD38抗体（例えば、aCD38 - a - 329アミノ酸配列要素）に見られるものと実質的に同一の少なくとも1つの参照CDR（例えば、少なくとも1つの重鎖CDRおよび/または少なくとも1つの軽鎖CDR）、具体的には、少なくとも1つの重鎖CDR、例えば、HC DR3（例えば、aCD38 - b - 329 - HC DR3配列）を含むポリペプチドであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合断片は、アミノ酸配列が、かかる参照CDRと比較して配列が同一であるか、または参照CDRが由来する抗体（例えば、aCD38 - b - 329）の標的への結合を維持しながら少数の（例えば、1、2、3、または4つの）アミノ酸改変（例えば、置換、付加、または欠失、多くの場合、置換）を含むかのいずれかである、少なくとも1つのCDR（例えば、少なくとも1つの重鎖CDRおよび/または少なくとも1つの軽鎖CDR）を含むポリペプチドであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合断片は、参照抗体の重鎖または軽鎖由来の（例えば、aCD38 - b - 329）由来の3つ全てのCDR（またはいくつかの実施形態では、それらと実質的に同一の配列）を含むポリペプチドまたはその複合体であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合断片は、参照抗体由来の（例えば、aCD38 - b - 329由来の）6つ全てのCDR（またはいくつかの実施形態では、それらと実質的に同一の配列）を含むポリペプチドまたはその複合体であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合断片は、参照抗体（例えば、aCD38 - b - 329）の重鎖および/または軽鎖可変ドメイン（またはいくつかの実施形態では、それらと実質的に同一の配列）を含むポリペプチドまたはその複合体であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、「抗原結合断片」という用語は、非ペプチド構造および非タンパク質構造、例えば、核酸アプタマー、例えば、RNAアプタマーおよびDNAアプタマーを包含する。アプタマーは、ポリペプチド等の特定の標的に結合するオリゴヌクレオチド（例えば、DNA、RNA、またはそれらの類似体もしくは誘導体）である。アプタマーは、様々な分子標的、例えば、小分子、タンパク質、核酸、さらには細胞および組織に特異的に結合する短い合成一本鎖オリゴヌクレオチドである。これらの小核酸分子は、タンパク質または他の細胞標的に特異的に結合することができる二次構造および三次構造を形成することができ、本質的に抗体の化学的等価物である。アプタマーは、高度に特異的であり、比較的小さいサイズであり、非免疫原性である。アプタマーは、一般に、SELEX（Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment）として既知のバイオパニング法から選択される（例えば、Ellington et al. Nature. 1990; 346 (6287): 818 - 822、Tuerk et al., Science. 1990; 249 (4968): 505 - 510、Ni et al., Curr Med Chem 2011; 18 (27): 4206 - 14を参照のこと）。任意の所与の標的に対するアプタマーを生成する方法は、当該技術分野で周知である。アフィマーを含むペプチドアプタマーも包含される。アフィマーは、特定の標的タンパク質に対する高親和性結合表面を提供するペプチドループをディスプレイするように操作された小さく高度に安定したタンパク質である。これは、シスタチンのシステインプロテアーゼ阻害剤ファミリーに由来する低分子量（12 ~ 14 kDa）のタンパク質である。アフィマータンパク質は、シスタチンタンパク質の折り畳みに基づく安定したタンパク質である足場から成る。それらは、抗体と同様の高親和性および特異性で異なる標的タンパク質に結合するようにランダム化され得る2つのペプチドループおよびN末端配列をディスプレイする。タンパク質足場でのペプチドの安定化は、ペプチドがとり得る可能な立体構造を制約し、それ故に、遊離ペプチドのライブラリと比較して結合親和性および特異性を増加させる。

【0097】

配列同一性パーセント（％）：2つの配列間の「配列同一性」パーセント（％）は、当該技術分野で既知の方法を使用して決定され得る。ペプチド、ポリペプチド、または抗体

10

20

30

40

50

配列に対する配列同一性は、配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入して、最大配列同一性パーセントを達成した後の、いずれの保存的置換も配列同一性の一部とみなさない、特定のペプチドまたはポリペプチド配列内のアミノ酸残基と同一の候補配列内のアミノ酸残基のパーセンテージと定義され得る。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のための整列は、当該技術分野の技術の範囲内の様々な方法で、例えば、公的に入手可能なコンピュータソフトウェア、例えば、BLAST、BLAST-2（ギャップ付きBLASTを含む）、およびBLASTp（タンパク質の場合）（Altschul S F et al（1997））、またはデフォルトパラメータを使用するFASTAを使用し

て達成され得る。

【0098】

生体試料。本明細書で使用される場合、「生体試料」または「試料」という用語は、典型的には、本明細書に記載の目的とする生物学的源（例えば、組織または生物または細胞培養物）から得られるか、またはそれに由来する試料を指す。目的とする源は、動物またはヒト等の生物であり得る。生体試料は、生体組織または生体液を含み得る。

【0099】

がん：「がん」、「悪性腫瘍」、「新生物」、「腫瘍（tumor）」、「腫瘍（tumour）」、および「癌腫」は、それらが細胞増殖の著しい制御不能を特徴とする異常増殖表現型を呈するように、比較的異常な、制御不能の、かつ／または自律的な増殖を呈する細胞を指すために本明細書で同義に使用される。概して、本出願における検出または治療のための目的とする細胞には、前癌性（例えば、良性）、悪性、前転移性、転移性、および非転移性細胞が含まれる。本開示の教示は、ありとあらゆるがんに関し得る。非限定的な例をほんの数例挙げると、いくつかの実施形態では、本開示の教示は、1つ以上のがん、例えば、造血癌（白血病、リンパ腫（ホジキンおよび非ホジキン）、骨髄腫、および骨髄増殖性症候群を含む）、肉腫、黒色腫、腺腫、固形組織癌、口腔、咽喉、喉頭、および肺扁平上皮癌、肝臓癌、泌尿生殖器癌、例えば、前立腺癌、子宮頸癌、膀胱癌、子宮癌、および子宮内膜癌、ならびに腎細胞癌、骨癌、脾臓癌、皮膚癌、皮膚または眼内黒色腫、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、頭頸部癌、乳癌、胃腸癌、および神経系癌、良性病変、例えば、乳頭腫等に適用される。本発明の抗体は、CD38+発現腫瘍の治療に使用され得る。

【0100】

CD38調節抗体薬剤。「CD38調節抗体薬剤」という用語は、本明細書に記載の特定の特性を示すCD38調節抗体薬剤（例えば、抗CD38抗体）を指すために本明細書で使用される。多くの実施形態では、本明細書に記載の望ましいCD38調節抗体薬剤は、それらが免疫エフェクター細胞を刺激し、かつ／または免疫細胞機能を修飾し、免疫抑制性細胞または腫瘍細胞（例えば、いずれの場合も、それらの表面にCD38を発現する）等のCD38発現細胞に対して細胞傷害性であるか、またはCD38発現細胞の食作用を誘導する（例えば、高レベルのCD38を発現する）ことを特徴とする。いくつかの実施形態では、CD38調節抗体薬剤は、免疫細胞（例えば、免疫細胞と、具体的には、CD38を発現する免疫細胞と接触した場合）および腫瘍細胞に対するaCD38-b-329の活性とかなり同等の活性（例えば、レベルおよび／またはタイプ）を特徴とする。いくつかの実施形態では、関連活性は、ADCP、CDCの不在下でのADCC、直接死滅、ある特定のCD38発現細胞（例えば、高発現細胞）の枯渇、エフェクター免疫細胞の活性化、T細胞、B細胞、またはNK細胞増殖の促進、免疫細胞活性の調節（例えば、抑制性マクロファージの炎症性マクロファージへの再分極）、T細胞レパートリーの歪み等、およびそれらの組み合わせであるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、CD38調節抗体薬剤は、存在またはレベルがCD38のレベルおよび／もしくは活性と相関し、かつ／またはCD38活性の特徴を示す1つ以上の特徴または結果と相関する実体または部分である。いくつかの実施形態では、レベルおよび／または活性の増加は、実体（複数可）または部分（複数可）の不在下でのさもなければ同等の条件下で観察されたものに対して評価または決定される。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では

10

20

30

40

50

、レベルおよび／または活性の増加は、参照CD38調節抗体薬剤（例えば、多くの実施形態ではIB4等のCD38アゴニスト抗体である適切な参照抗CD38抗体）が存在する場合の同等の条件下で観察されたものと同等であるか、またはそれを超える。多くの実施形態では、本開示による使用のためのCD38調節抗体薬剤は、CD38に、典型的にはその細胞外ドメインに直接または間接的に結合する実体または部分であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、CD38調節抗体薬剤は、本明細書に例証される抗CD38抗体、その抗原結合断片（例えば、1つ以上のCDR、全ての重鎖CDR、全ての軽鎖CDR、全てのCDR、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、または重鎖可変領域および軽鎖可変領域の両方を含む）、その親和性成熟バリエーション（またはその抗原結合断片）、または前述のうちのいずれかの任意の代替の型式（例えば、キメラ、ヒト化、多重特異性、代替アイソタイプ等）であるか、それを含むか、またはCD38への結合においてそれと競合する。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤は、本明細書に開示されるように、ヒトCD38（aCD38-b-e-pと特定される配列等）内の関連エピトープのスクリーニング、製造、（前）臨床試験、および／もしくは特定に、かつ／または特定の文脈において製剤化、投与、および／もしくは有効性に（例えば、がん療法に）有利な特徴であり得る1つ以上の特徴を特徴とし得る。

10

【0101】

併用療法：本明細書で使用される場合、「併用療法」という用語は、対象が2つ以上の治療レジメン（例えば、2つ以上の治療薬）に同時に曝露される状況を指す。いくつかの実施形態では、2つ以上の薬剤が同時に投与され得る。あるいは、かかる薬剤は、順次に投与され得るか、さもなければ、かかる薬剤は、重複投薬レジメンで投与される。

20

【0102】

同等の：本明細書で使用される場合、「同等の」という用語は、互いに同一ではない場合があるが、観察された差または類似点に基づいて正当に結論を下すことができるように、それらの間の比較（例えば、レベルおよび／または活性のタイプにより）を可能にするのに十分に同様の2つ以上の薬剤、実体、状況、効果、条件セットを指す。かかる同等の条件セット、効果、状況、個体、または集団は、複数の実質的に同一の特徴および1つまたは少数の多様な特徴を特徴とする。当業者であれば、同等とみなされる2つ以上のかかる薬剤、実体、状況、条件セット、効果、または集団等についてどの程度の同一性が任意の所与の状況で必要とされるかを文脈から理解するであろう。

30

【0103】

含む：1つ以上の指名された要素またはステップを「含む」と本明細書に記載される組成物または方法には制約がなく、要素またはステップが必須であるが、他の要素またはステップがその組成物または方法の範囲内で追加され得ることを意味する。1つ以上の指名された要素またはステップを「含む（comprising）」と記載される（またはそれらを「を含む（comprise）」）いずれの組成物または方法も、同じ指名された要素またはステップ「から本質的になる（consisting essentially of）」（またはそれら「から本質的になる（consist essentially of）」）対応するより限定された組成物または方法も説明し、この組成物または方法が指名された必須の要素またはステップを含み、その組成物または方法の基本的かつ新規の特性（複数可）に実質的に影響を及ぼさない追加の要素またはステップも含み得ることを意味することも理解される。

40

【0104】

グラツムマブ：本明細書で使用される場合、「グラツムマブ」という用語は、WO2006/099875で公開されたVH配列およびVL配列を有し、かつヒトIgG1モノクローナル抗体である抗体を含む。例えば、以下に提供される配列を含む可変重鎖および軽鎖配列を有する。

重鎖：

50

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDILWFGEPVFDYWGQGTLLTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGK (配列番号 18)

10

軽鎖：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD
FTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC (配列番号 19)

【 0 1 0 5 】

20

剤形：本明細書で使用される場合、「剤形」という用語は、対象に投与するための活性薬剤（例えば、治療薬または診断薬）の物理的に別個の単位を指す。各単位は、所定の量の活性薬剤を含む。いくつかの実施形態では、かかる量は、関連集団に投与されたときに所望のまたは有益な結果と関連させるように決定された投薬レジメン（すなわち、治療的投薬レジメン）に従う投与に適切な単位投薬量（またはその全部分）である。当業者であれば、特定の対象に投与され治療的組成物または治療薬の総量が 1 名以上の主治医によって決定され、かつ複数の剤形の投与を伴い得ることを理解する。

【 0 1 0 6 】

投薬レジメン：本明細書で使用される場合、「投薬レジメン」という用語は、対象に個別に投与され、典型的には、時間で隔てられた一組の単位用量（典型的には 2 つ以上）を指す。いくつかの実施形態では、所与の治療薬は、1 つ以上の用量を含み得る推奨される投薬レジメンを有する。いくつかの実施形態では、投薬レジメンは、各々が同じ長さの時間で互いに隔てられた複数の用量を含む。あるいは、投薬レジメンは、複数の用量および個々の用量を隔てる少なくとも 2 つの異なる時間を含む。いくつかの実施形態では、投薬レジメン内の全ての用量は、同じ単位用量の量のものである。あるいは、投薬レジメン内の異なる用量は、異なる量のものである。いくつかの実施形態では、投薬レジメンは、第 1 の用量を第 1 の用量の量で含み、続いて、1 つ以上の追加の用量を第 1 の用量の量とは異なる第 2 の用量の量で含む。投薬レジメンは、第 1 の用量を第 1 の用量の量で含み得、続いて、1 つ以上の追加の用量を第 1 の用量の量と同じ第 2 の用量の量で含み得る。いくつかの実施形態では、投薬レジメンは、関連集団にわたって投与されたときに所望のまたは有益な結果と関連する（すなわち、治療的投薬レジメンである）。

30

40

【 0 1 0 7 】

エピトープ：本明細書で使用される場合、「エピトープ」という用語は、抗体または抗原結合断片によって結合される抗原の一部分を指す。いくつかの実施形態では、抗原がポリペプチドである場合、エピトープは、抗原において共有結合的に隣接していないが、抗原が関連立体構造である場合に三次元空間内で互いに近接している抗原の一部分で構成されるという点で、立体構造的である。例えば、CD38 の場合、立体構造的エピトープは、CD38 細胞外ドメイン内で隣接していないアミノ酸残基で構成されるものであり、直鎖状エピトープは、CD38 細胞外ドメイン内で隣接しているアミノ酸残基で構成されるものである。いくつかの実施形態では、本発明に従って利用されるエピトープは、本明細

50

書に提供されるCD38調節抗体薬剤によって（例えば、aCD38-b-e pと定義されるaCD38-b-329によって）結合される参照を用いて提供される。抗原配列由来のペプチドとの競合、異なる種由来のCD38配列への結合、切断、および/または突然変異誘発（例えば、アラニンスキャニングまたは他の部位特異的突然変異誘発による）、ファージディスプレイに基づくスクリーニング、または（共）結晶学技法を含む、aCD38-b-329のエピトープの正確な配列および/または特にアミノ酸残基を決定するための手段は、文献および実施例で既知である。

【0108】

患者：本明細書で使用される場合、「患者」または「対象」という用語は、提供される組成物が、例えば、実験目的、診断目的、予防目的、美容目的、および/または治療目的で投与されるか、または投与され得る任意の生物を指す。典型的な患者には、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、および/またはヒト等の哺乳動物）が含まれる。いくつかの実施形態では、患者は、ヒトである。いくつかの実施形態では、患者は、1つ以上の障害または状態に罹患しているか、またはそれに罹り易い。患者は、障害または状態の1つ以上の症状を示し得るか、または1つ以上の障害または状態（がん等、または1つ以上の腫瘍の存在）と診断された場合がある。いくつかの実施形態では、患者は、かかる疾患、障害、または状態を診断および/または治療するためのある特定の療法を受けているか、またはそれを受けていた。

10

【0109】

薬学的に許容される：本明細書で使用される場合、本明細書に開示される組成物を製剤化するために使用される担体、希釈剤、または賦形剤に適用される「薬学的に許容される」という用語は、担体、希釈剤、または賦形剤が組成物の他の成分と適合しなければならず、かつそのレシピエントに有害ではないことを意味する。

20

【0110】

薬学的組成物：本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」という用語は、活性薬剤が1つ以上の薬学的に許容される担体と一緒に製剤化される組成物を指す。いくつかの実施形態では、活性薬剤は、関連集団に投与されたときに所定の治療効果を達成する統計的に有意な可能性を示す治療レジメンにおける投与に適切な単位用量の量で存在する。薬学的組成物は、経口投与、例えば、水薬（水溶液もしくは非水溶液または懸濁液）、錠剤、例えば、口腔、舌下、および体内吸収を目標とするもの、ボラス、粉末、顆粒、舌に塗布するためのペースト、非経口投与、例えば、皮下、筋肉内、静脈内、腫瘍内、または滅菌溶液もしくは懸濁液として硬膜外注射、または持続放出製剤、局所適用（例えば、皮膚、肺、もしくは口腔に適用されるクリーム、軟膏、または放出制御パッチもしくは噴霧剤として）、腔内、直腸内、舌下、眼内、経皮、経鼻、肺、および他の粘膜表面に適応したものを含む、投与のために固体または液体形態で製剤化され得る。

30

【0111】

固形腫瘍：本明細書で使用される場合、「固形腫瘍」という用語は、通常嚢胞も液体領域も含まない組織の異常な塊を指す。固形腫瘍は、良性または悪性であり得る。異なる型の固形腫瘍は、それらが由来する細胞の型にちなんで名付けられる。固形腫瘍の例は、肉腫（海綿骨、軟骨、脂肪、筋肉、血管、造血、または線維性結合組織等の組織における間葉由来の形質転換細胞由来のがんを含む）、癌腫（上皮細胞由来の腫瘍を含む）、黒色腫、リンパ腫、中皮腫、神経芽細胞腫、網膜芽腫等である。固形腫瘍を含むがんとしては、脳癌、肺癌、胃癌、十二指腸癌、食道癌、乳癌、結腸・直腸癌、腎臓癌、膀胱癌、腎臓癌、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、黒色腫、口腔癌、肉腫、眼癌、甲状腺癌、尿道癌、陰癌、頸部癌、リンパ腫等が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0112】

治療有効量：本明細書で使用される場合、「治療有効量」という用語は、治療的投薬レジメンに従って疾患および/または状態に罹患しているか、またはそれに罹り易い集団に投与されたときに、かかる疾患および/または状態を治療するのに十分な量（例えば、薬剤または薬学的組成物の量）を意味する。治療有効量は、疾患、障害、および/または状

50

態の１つ以上の症状の発生率および／または重症度を低下させ、安定させ、かつ／またはその発症を遅延させるものである。当業者であれば、「治療有効量」が特定の対象において成功的治療が達成されることを実際に必要としないことを理解するであろう。

【０１１３】

治療：本明細書で使用される場合、「治療」（同様に「治療する」または「治療すること」と）という用語は、１つ以上の症状を部分的または完全に緩和し、改善し、軽減し、抑制し、その発症を遅延させ、その重症度を低下させ、かつ／またはその発生率を低下させる物質（例えば、aCD38 - b - 329によって例証される、提供されるCD38調節抗体薬剤、または任意の他の薬剤）の任意の投与を指す。いくつかの実施形態では、治療は、aCD38 - b - 329等のCD38調節抗体薬剤の直接投与（例えば、静脈内、腫瘍内、または腫瘍周辺注射用の、任意選択的に薬学的に許容される担体、賦形剤、および／またはアジュバントを含む、注射可能な水性組成物として）、または対象から（例えば、マーカーの発現の存在または不在に基づく選択ありまたはなしで、血液、組織、または腫瘍から）細胞を得ることと、かかる細胞をaCD38 - b - 329等のCD38調節抗体薬剤とエキスピボで接触させることと、かかる細胞を対象に投与する（マーカーの発現の存在または不在に基づく選択ありまたはなしで）こととを含むレジメンを使用した投与を含み得る。

10

【０１１４】

投薬および投与。本発明による使用のための本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤（例えば、aCD38 - b - 329 - HCDR3アミノ酸配列を含む、例えば、抗CD38またはその抗原結合断片）を含む薬学的組成物は、当業者に既知であり、かつ／または当業者が利用可能な様々な技法および／または技術のうちのいずれかを使用して、保管および／または送達のために調製され得る。いくつかの実施形態では、提供されるCD38調節抗体薬剤は、例えば、関連適応症のために、米国食品医薬品局（FDA）および／または欧州医薬品庁（EMA）等の規制当局によって承認された投薬レジメンに従って投与される。いくつかの実施形態では、提供されるCD38調節抗体薬剤は、それら自体が、例えば、関連適応症のために、米国食品医薬品局（FDA）および／または欧州医薬品庁（EMA）等の規制当局によって承認された投薬レジメンに従って投与され得る、１つ以上の他の薬剤または療法と組み合わせて投与される。しかしながら、いくつかの実施形態では、提供されるCD38調節抗体薬剤の使用により、CD38調節抗体薬剤療法と組み合わせて使用される承認された薬剤または療法の投薬回数の低減（例えば、より少ない量の１回以上の用量、より少ない投薬回数、および／または投薬頻度の低減）が可能になり得る。投薬および投与は、同様に投与される他の薬物、患者状況、および／またはCD38調節抗体薬剤（例えば、イムノコンジュゲート、ナノボディ、または二重特異性抗体として修飾されたもの）の型式にも適合され得る。

20

30

【０１１５】

さらに、いくつかの実施形態では、特定の細胞型であるか、特定の腫瘍もしくはその型であるか、または特定の患者集団（例えば、遺伝子マーカーを持つ患者集団）であるかにかかわらず、タイミングおよび／またはCD38の閾値発現レベルに基づいて、投薬レジメンを調整すること、具体的には、順次投薬レジメンを設計することが望ましくあり得る。いくつかのかかる実施形態では、治療的投薬レジメンは、療法前および／または療法中に１つ以上の誘導性マーカーの発現または他の基準を評価する検出方法と組み合わせられ得るか、またはそれを考慮して調整され得る。

40

【０１１６】

いくつかの実施形態では、本発明による投薬および投与は、任意のまたは様々な形態で１つ以上の生理学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤と組み合わせられた所望の純度を有する活性薬剤を利用する。これらには、例えば、液体、半固体および固体剤形、例えば、液体溶液（例えば、注射可能および注入可能な溶液）、分散液または懸濁液、錠剤、丸剤、粉末、リポソーム、および坐薬が含まれる。好ましい形態は、典型的には、注射可能および注入可能な溶液、例えば、抗体でヒト対象を治療するために使用されるもの

50

と同様の組成物の形態での、意図される投与方法および／または治療的適用に依存し得る。

【0117】

いくつかの実施形態では、成分（複数可）は、移植片、経皮パッチ、およびマイクロカプセル化送達系を含む、放出制御製剤等の薬剤（複数可）を急速な放出および／または分解から保護する担体とともに調製され得る。ポリ無水物、ポリグリコール酸、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸等の生分解性生体適合性ポリマーが使用され得る。概して、各活性薬剤は、良好な医療行為と一致しており、かつ関連薬剤（複数可）（例えば、抗体等の作用物質）に適切な薬学的組成物および投薬レジメンを使用して、治療有効量で製剤化、投薬、および投与される。活性薬剤を含む薬学的組成物は、経口、粘膜、吸入、局所、口腔、経鼻、直腸、または非経口（例えば、対象の組織の物理的突破およびかかる突破口を通した薬学的組成物の投与を含む、静脈内、注入、腫瘍内、節内、皮下、腹腔内、筋肉内、皮内、経皮、または他の種類の投与）を含むが、これらに限定されない当該技術分野で既知の任意の適切な方法によって投与され得る。

10

【0118】

いくつかの実施形態では、特定の活性薬剤のための投薬レジメンは、例えば、対象における目的とする１つ以上の組織または体液における特定の所望の薬物動態プロファイルまたは他の曝露パターンを達成するために、間欠または連続（例えば、灌流または持続放出系による）投与を含み得る。いくつかの実施形態では、組み合わせで投与される異なる薬剤は、異なる送達経路により、かつ／または異なるスケジュールに従って投与され得る。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、第１の活性薬剤の１回以上の用量が、１つ以上の他の活性薬剤と実質的に同時に、いくつかの実施形態では、一般的な経路により、かつ／または単一の組成物の一部として投与される。

20

【0119】

所与の治療レジメンの経路および／または投薬スケジュールを最適化する際に考慮される要因としては、例えば、治療される特定のがん（例えば、型、病期、位置等）、対象の臨床状態（例えば、年齢、全般的な健康状態、体重等）、薬剤の送達部位、薬剤の本質（例えば、抗体または他のタンパク質ベースの化合物）、薬剤の投与方法および／または経路、併用療法の存在または不在、ならびに他の医師に既知の要因が挙げられ得る。

【0120】

当業者であれば、例えば、特定の送達経路が用量に影響を及ぼし得、かつ／または必要とされる用量が送達経路に影響を及ぼし得ることを理解するであろう。例えば、特定の部位または位置内（例えば、組織または臓器内）で特に高い濃度の薬剤を目的とする場合、集中的送達（例えば、腫瘍内送達）が所望され得、かつ／または有用であり得る。いくつかの実施形態では、特定の薬学的組成物および／または利用される投薬レジメンの１つ以上の特徴は、例えば、所望の治療効果または応答（例えば、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤の機能的特徴に関連する治療的または生物学的応答）を最適化するために、経時的に変更され得る（例えば、任意の個々の用量における活性量を増加または減少させる、用量間の時間間隔を増加または減少させる等）。概して、本発明による活性薬剤の投薬の種類、量、および頻度は、関連薬剤（複数可）が哺乳動物、好ましくは、ヒトに投与されるときに適用される安全性および有効性要件によって支配されている。概して、投薬のかかる特徴は、療法なしで観察されたものと比較して、特定の、典型的には、検出可能な治療的応答を提供するように選択される。本発明の文脈において、例示の望ましい治療的応答は、腫瘍成長の阻害および／または軽減、腫瘍サイズ、転移、腫瘍に関連する症状および副作用のうちの１つ以上、ならびにがん細胞のアポトーシスの増加、１つ以上の細胞マーカーまたは循環マーカーの治療的に関連した減少または増加等を含み得るが、これらに限定されない。かかる基準は、様々な免疫学的方法、細胞学的方法、および文献に開示される他の方法のうちのいずれかによって容易に評価され得る。例えば、CD38調節抗体薬剤の治療有効量は、単独で、またはさらなる薬剤と組み合わせで、実施例に記載されるようにがん細胞の死滅を強化するのに十分であると決定され得る。

30

40

【0121】

50

活性薬剤またはかかる薬剤を含む組成物としてのCD38調節抗体薬剤の治療有効量は、1つ以上の要因、例えば、治療される疾患または状態、疾患の病期、治療される哺乳動物の年齢および健康および身体状態、疾患の重症度、投与される特定の化合物等を含む、例えば、それらを考慮する当該技術分野で利用可能な技法を使用して容易に決定され得る。

【0122】

いくつかの実施形態では、治療有効量は、少なくとも約0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、少なくとも約0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、少なくとも約0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、少なくとも約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、少なくとも約5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、少なくとも約10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、またはそれ以上（例えば、約100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重）であり得る活性薬剤の有効用量（および/または単位用量）である。当業者であれば、いくつかの実施形態では、かかるガイドラインが活性薬剤の分子量に対して調整され得ることを理解するであろう。投薬量は、投与経路、治療サイクル、またはその結果として増加用量でのaCD38-b-329-HCDR3アミノ酸配列を含む単離された抗体またはその抗原結合断片の投与に関連して最大許容用量および用量制限毒性（存在する場合）を決定するために使用され得る用量増加プロトコルによっても異なり得る。

【0123】

治療的組成物は、典型的には、滅菌されており、製造および保管条件下で安定していなければならない。本組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、分散液、リポソーム、または高薬物濃度に好適な他の秩序構造として製剤化され得る。滅菌の注射可能な溶液は、上に列挙される成分のうちの1つまたはそれらの組み合わせとともに必要量の抗体を適切な溶媒に組み込み、その後、濾過滅菌することによって調製され得る。概して、分散液は、活性化合物を、塩基性分散媒体および上に列挙されるもの由来の他の必要な成分を含む滅菌ビヒクルに組み込むことによって調製される。滅菌の注射可能な溶液を調製するための粉末の場合、好ましい調製方法は、活性成分および先に滅菌濾過された溶液由来の任意の追加の所望の成分の粉末をもたらす真空乾燥および凍結乾燥である。溶液の適切な流動性が、例えば、コーティングを使用することによって、分散液の場合には必要な粒径の維持によって、かつ界面活性剤の使用によって維持され得る。注射可能な組成物の持続的吸収は、組成物中に吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを含むことによってもたらされ得る。

【0124】

各薬剤の製剤は、望ましくは、滅菌濾過膜を通した濾過によって達成され得るように滅菌であり、その後、ボラス投与または連続投与に好適な形態でパッケージングまたは販売されるべきである。注射可能な製剤は、防腐剤を含むアンプルまたは多用量容器等の単位剤形で調製、パッケージング、または販売され得る。非経口投与用の製剤としては、本明細書で論じられる油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液、乳濁液、ペースト、および移植可能な持続放出または生分解性製剤が挙げられるが、これらに限定されない。滅菌の注射可能な製剤は、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒、例えば、水または1,3ブタンジオールを使用して調製され得る。有用な他の非経口的に投与可能な製剤としては、活性成分を微結晶形態で、リポソーム調製物で、または生分解性ポリマー系の成分として含むものが挙げられる。持続放出または移植のための組成物は、薬学的に許容されるポリマーまたは疎水性材料、例えば、乳濁液、イオン交換樹脂、難溶性ポリマー、または塩を含み得る。

【0125】

本発明による使用のための各薬学的組成物は、用いられる投薬量および濃度で対象に非毒性の薬学的に許容される分散剤、湿潤剤、懸濁剤、等張剤、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、担体、賦形剤、塩、または安定剤を含み得る。かかるさらなる薬学的に許容される化合物の非包括的なリストには、緩衝液、例えば、リン酸、クエン酸、および他の有機酸；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸およびメチオニン；薬理的に許容されるアニオンを含む塩（例えば、酢酸塩、安息香酸塩、重炭酸塩、重硫酸塩、イソチオン酸塩、乳酸塩、ラクトピオン酸塩、ラウリン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、サリチル酸塩、

10

20

30

40

50

ステアリン酸塩、塩基性酢酸塩、コハク酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩、テオクル酸塩、トシル酸塩、トリエチオダイド、および吉草酸塩）；防腐剤（例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；塩化ナトリウム；フェノール、ブチル、もしくはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルもしくはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3 - ペンタノール；およびm - クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、グルタミン酸、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジン；単糖、二糖、および他の炭水化物、例えば、グルコース、マンノース、もしくはデキストリン；キレート剤、例えば、EDTA；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム；金属錯体（例えば、Zn - タンパク質錯体）；ならびに／または非イオン性界面活性剤、例えば、TWEEN（商標）、PLURONICS（商標）、もしくはポリエチレングリコール（PEG）が含まれる。

【0126】

いくつかの実施形態では、2つ以上の活性薬剤が本発明に従って利用される場合、かかる薬剤は、同時にまたは順次に投与され得る。いくつかの実施形態では、1つの薬剤の投与は、別の薬剤の投与に対して特異的に時間調整される。いくつかの実施形態では、組み合わせで投与される薬剤に所望の相対投薬レジメンは、例えば、エクスピボ、インピボ、および／またはインピトロモデルを使用して、評価されるか、または実験的に決定され得、いくつかの実施形態では、かかる評価または経験的決定は、（例えば、関連させるように）特定の患者または患者集団においてインピボで行われる。

【0127】

いくつかの実施形態では、本発明の実施において利用される1つ以上の活性薬剤は、少なくとも2つのサイクルを含む間欠投薬レジメンに従って投与される。2つ以上の薬剤が組み合わせで投与され、かつ各々がかかる間欠サイクルレジメンによって投与される場合、異なる薬剤の個々の用量は、互いに組み合わせられ得る。いくつかの実施形態では、第2の薬剤の1つ以上の用量は、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤の用量の後に投与される。いくつかの実施形態では、第2の薬剤の各用量は、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤の用量の後に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤は、患者の応答に応じて、1、2、4週間、またはそれ以上の期間にわたる1回以上の治療サイクル内で、かかるサイクルを同じレジメンで繰り返す（または投与間の間隔を延長することによって）、同じ経路によるその後の投与のみならず、皮下（または筋肉内）投与および腫瘍内投与等の投与経路の交替も含むレジメンで投与され得る。また、いくつかの実施形態では、従う正確なレジメン（例えば、用量の数、用量の間隔（例えば、互いに対して、または別の療法の投与等の別の事象に対して）、用量の量等は、1回以上の他のサイクルと比較して1回以上のサイクルにおいて異なり得る。

【0128】

本明細書に記載の投与経路、投薬量、および／またはレジメンのうちのいずれかを使用して、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤が、例えば、生検、血液試料、および／または他の臨床基準を使用して患者において測定される1つ以上の基準を考慮して、特定され、特徴付けられ、かつ／または検証され得る。いくつかの実施形態では、腫瘍サイズおよび／または転移の直接評価の代替案として、またはそれに加えて、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤の治療的有効性は、1つ以上の異なる一般的基準：がん細胞に対する直接的細胞傷害性（がん細胞のアポトーシスおよび壊死）、腫瘍浸潤免疫細胞（CD4陽性および／もしくはCD8陽性腫瘍浸潤T細胞等）の増加、血液中を循環する免疫細胞（リンパ球、NK細胞、単球、樹状細胞、マクロファージ、B細胞等の全集団または特定の亜集団）の増加、ならびに／または応答患者または無応答患者のいずれかのための治療前と治療後と比較したいくらかの差次的発現の提示（RNAシーケンシング、質量フローサイトメトリー、および／または他の質量シーケンシングアプローチによって決定されるもの

10

20

30

40

50

）が評価される方法で決定され得る。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、かかる特定、特徴付け、および／または検証は、１つ以上の特異的タンパク質または１組以上のタンパク質のmRNAおよび／またはタンパク質発現をスクリーニングすることによる分子レベルでのフォローアップを含み得る。いくつかの実施形態では、１つ以上のかかる技法は、例えば、組織分布ならびに／または腫瘍内の（もしくは腫瘍付近の）および／もしくは血液中を循環する特定の細胞集団のマーカーに関連し得る、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤に対する応答の特定またはそれを評価するための関連情報を可能にし得る。

【0129】

かかるアプローチおよび免疫生物学的データにより、１つ以上の有効性および／または安全性パラメータまたは特性の決定が可能になり得るのみならず、いくつかの実施形態では、例えば、所与の適応症についての１つ以上の臨床試験において単独で、かつ／またはさらなる治療の利点を提供し得る他の薬物、標準治療プロトコル、もしくは免疫療法と組み合わせられて利用され得る、特定の用量、経路、または投薬レジメンの選択についての理論的根拠が提供され得る。したがって、本発明の一連のさらなる実施形態では、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤は、かかる製剤での治療後または治療前の患者の細胞または組織（腫瘍、血液試料、または血液画分等）における１つ以上の遺伝子のRNAおよび／またはタンパク質レベルでの発現の組み合わせ存在（および／または不在）を決定した後、疾患（がん等）に罹患している患者を治療する方法または疾患（がん等）を予防する方法において使用される。したがって、かかる方法により、１つ以上のバイオマーカー、または望ましいCD38調節抗体薬剤の治療有効量に関連したより複雑な遺伝子発現シグネチャ（または細胞集団分布）、対象がCD38調節抗体薬剤での治療後に抗腫瘍または抗感染応答を有し得ると予測する治療関連バイオマーカー（複数可）、または対象がCD38調節抗体薬剤での治療後に化合物での治療に応答し得ると予測する治療関連バイオマーカー（複数可）の特定が可能になり得る。

【0130】

あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、本明細書に開示される特定のCD38調節抗体薬剤の投薬および投与は、予め確立され得、かつ／またはヒトがんおよび／もしくは他のヒト組織におけるCD38発現を考慮して（例えば、様々ながん、組織、および／または患者における間質および／または免疫サブセットにおけるCD38分布についてのデータを収集することによって）後に評価され得る。かかるデータは、様々な免疫亜集団と非免疫亜集団におけるCD38発現の関係ならびに／またはその細胞浸潤物尺度および／もしくはがん細胞もしくは免疫細胞のサブセット（Foxp3およびPD-1/PD-L1等）に関連したがん関連マーカーとの関係を特定するための一般的な技術（フローサイトメトリー、質量サイトメトリー、免疫組織化学、またはmRNA発現ライブラリ等）を一般的ながん型および／または組織（中枢神経系、食道、胃、肝臓、結腸、直腸、肺、膀胱、心臓、腎臓、甲状腺、膵臓、子宮、皮膚、乳、卵巣、前立腺、および睪丸）にわたって使用することによって生成され得る。CD38発現は、腫瘍組織（NK細胞および他のエフェクターまたは制御性免疫細胞等）における免疫サブセットに限定される場合があり（または限定されない場合があり）、陽性的場合、CD38発現と免疫チェックポイント阻害剤との間の相関が決定され得、それ故に、かかる免疫チェックポイント阻害剤を標的とする化合物と組み合わせたCD38調節抗体薬剤の適切な使用を示唆する。

【0131】

製品およびキット。本発明のいくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤は、別個の製品で提供される。本発明のいくつかの実施形態では、CD38調節抗体薬剤を含む製品は、ラベルを有する容器内に提供されるか、またはそれとともに提供される。好適な容器には、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、および試験管が含まれ得る。いくつかの実施形態では、容器は、ガラスまたはプラスチック等の任意のまたは様々な材料から形成され得る。いくつかの実施形態では、容器は、特定の疾患、障害、もしくは状態、またはその病期もしくは型の治療に効果的な組成物を保持する。いくつかの実

10

20

30

40

50

施形態では、容器は、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針によって穿孔可能な栓を有する静脈注射用溶液袋またはバイアルであり得る）。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤を含む組成物は、ゴム栓およびアルミニウムシールを有する透明なガラスバイアル内にパッケージングされる。容器上のラベル、または容器に関連するラベルは、組成物が選択した状態の治療に使用されることを示す。

【0132】

いくつかの実施形態では、製品は、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液、およびデキストロース溶液等の薬学的に許容される緩衝液を含む別個の容器をさらに含み得、かつ/または商業的観点および利用者の観点から望ましい他の材料、例えば、他の緩衝液、希釈剤、充填剤、針、シリンジ、および使用に関する指示を記載した添付文書をさらに含み得る。例えば、いくつかの実施形態では、製品は、0.1 mg/mL、1 mg/mL、10 mg/mL、またはより高い濃度の最終濃度で、適切な希釈剤および緩衝液とともに製剤化される、滅菌水溶液として、合計2 mg、5 mg、10 mg、20 mg、50 mg、またはそれ以上を含む静脈注射用製剤中への薬剤の各々の提供を可能にし得る。

【0133】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD38調節抗体薬剤は、キットとともに提供されるか、またはキットとともに提供されない任意の適切な水溶液で再構成される凍結乾燥形態で部品キット内に、または任意の適合性薬学的担体を使用して他の種類の投薬装置内に提供され得る。CD38調節抗体薬剤の1つ以上の単位剤形は、パックまたは分注ディスペンサデバイス内に提供され得る。かかるパックまたはデバイスは、例えば、金属またはプラスチックホイル、例えば、ブリスターパックを含み得る。かかる部品キットを正しく使用するために、これは、緩衝液、希釈剤、充填剤、針、シリンジ、およびがんの治療における使用に関する指示を記載した添付文書をさらに含み得る。

【0134】

いくつかの実施形態では、製品または本明細書に記載のキットに関連する指示は、正しい使用法について知らせるために使用され得、かつ/または製品および/もしくはキット内の薬剤、製剤、および他の材料の可能な効果を監視するための、ラベル、小冊子、出版物、記録物、図表、または任意の他の手段の形態であり得る。指示は、製品と一緒に提供され得、かつ/またはキット内に提供され得る。

【実施例】

【0135】

実施例1：インビトロでのCD38に結合する抗体の生成
材料および方法

CD38抗原の調製。ヒト、カニクイザル(Cyno)、およびマウスCD38タンパク質の組換えヒスチジンタグ付き細胞外ドメインを、Sino Biological Inc. から購入した。タンパク質試薬のビオチン化を、EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit (Thermo Scientific、カタログ番号21425) を使用して行った。CD38抗原を約1 mg/mLに濃縮し、緩衝液をPBSに交換した後、1:7.5モル比でビオチン化試薬(EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit、Thermo Scientific、カタログ番号21425) を添加した。混合物を4で一晩保持した後、別の緩衝液に交換して、溶液中の遊離ビオチンを除去した。ビオチン化を、標識タンパク質のストレプトアビジンセンサ結合により確認した。

【0136】

抗CD38抗体のライブラリ照合および抗CD38抗体を単離するための選択方法論。各々が約 10^9 の多様性の8つのナイーブヒト合成酵母ライブラリを、以前に説明されたように、モノクローナル抗体を発現する酵母細胞株のハイスループットスクリーニングおよび選択のために設計し、生成し、増殖させた (Xu Y et al, 2013、WO 2009/036379、WO 2010/105256、WO 2012/009568)

。8つの並列選択を、単量体ヒトCD38ベースの選択のための8つのナイーブライブラリを使用して行った。

【0137】

第1の2回の選択ラウンドのために、Miltenyi MACsシステムを利用する電磁ビーズ選別技法を、本質的に記載されるように行った(Siegel et al., 2004)。簡潔には、酵母細胞(約 10^{10} 細胞/ライブラリ)を、0.1%BSAを含むFACS洗浄緩衝液PBS中で、3mLの100nMビオチン化単量体ヒトCD38抗原と室温で15分間インキュベートした。50mLの氷冷洗浄緩衝液で1回洗浄した後、細胞ペレットを40mLの洗浄緩衝液中に再懸濁させ、500 μ LのStreptavidin MicroBeads(Miltenyi Biotec, Germany、カタログ番号130-048-101)を酵母細胞に添加し、4で15分間インキュベートした。次に、酵母細胞をペレット化し、5mLの洗浄緩衝液中に再懸濁させ、MACSLSCラム(Miltenyi Biotec, Germany、カタログ番号130-042-401)に装填した。5mLを装填した後、ラムを3mLのFACS洗浄緩衝液で3回洗浄した。ラムを磁場から除去し、酵母細胞を5mLの成長培地で溶出し、その後、一晚成長させた。

10

【0138】

2回のMACSLSCラウンド後、5回の選別ラウンドを、フローサイトメトリー(FACS)を使用して行った。第1のFACS選別ラウンドについて、およそ 4×10^7 の酵母細胞をペレット化し、洗浄緩衝液で3回洗浄し、各々100nMのビオチン化単量体ヒト、マウス、およびカニクイザルCD38抗原と室温で10分間インキュベートした。その後、酵母細胞を2回洗浄し、ヤギ抗ヒトF(ab')₂カップ- FITC(1:100で希釈)(Southern Biotech, USA、カタログ番号2062-02)で、かつ二次試薬としてストレプトアビジンAlexa Fluor 633(Life Technologies, USA、カタログ番号S21375)(1:500で希釈)またはエクストラアビジン(Extravidin)-フィコエリトリン(Sigma-Aldrich, USA、カタログ番号E4011)(1:50で希釈)のいずれかで、4で15分間染色した。氷冷洗浄緩衝液で2回洗浄した後、細胞ペレットを0.4mLの洗浄緩衝液中に再懸濁させ、濾過器で蓋をした選別管に移した。選別を、FACSARIA選別機(BD Biosciences)を使用して行い、選別ゲートを決定して、CD38結合のみを選択した。第1のFACSラウンド由来のマウス選択集団およびカニクイザル選択集団を合わせて2つのプールにした。その後、これらのプールをヒトCD38結合について選別して、試薬多重特異性結合剤を低減するための第2のFACSラウンドにおける交差反応性結合剤を特定した(Xu Y et al., 2013)。第4のFACSラウンドは、100nMのビオチン化単量体CD38を抗原として使用した正の選択から主になった。選択されたクローンの試料をプレーティングし、配列決定した。

20

30

【0139】

ナイーブ選択において特定されたクローンの親和性成熟。第4のFACS選別選択ラウンド出力由来の重鎖を使用して、4つのさらなる選択ラウンドに使用した軽鎖多様化ライブラリを調製した。第1の選択ラウンドは、抗原として100nMのビオチン化単量体ヒトCD38または抗原として200nMのビオチン化単量体マウスCD38のいずれかとコンジュゲートしたMiltenyi MACsビーズを含んだ。MACsビーズ選択後、3回のFACS選別ラウンドを行った。第1のFACSラウンドは、100nMもしくは10nMのヒトCD38または200nMのマウスCD38のいずれかを含んだ。上述の第2のFACSラウンドと並行して、競合選択を、75~100nMの競合IgGを用いて行った。選択ラウンド後、1nMまたは10nMのヒトCD38で第3の正の選別を行った後に、プレーティングした。各FACS選択ラウンド由来の個々のコロニーをIgG配列決定のために選んだ。

40

【0140】

IgGおよびFabの産生および精製。酵母クローンを飽和するまで成長させ、その後

50

、振盪しながら30 で48時間誘導した。誘導後、酵母細胞をペレット化し、上清を精製のために収集した。IgGを、タンパク質Aカラムを使用して精製し、酢酸(pH2.0)で溶出した。Fab断片をパパイン消化によって生成し、Capture Select IgG-CH1親和性マトリックス(Life Technologies、カタログ番号1943200250)で精製した。

【0141】

抗CD38抗体の親和性測定。CD38抗体の親和性を、Forte Bioによりそれらの K_D を測定することによって決定した。Forte Bio親和性測定を、記載されるようにIgGをオンラインでAHQセンサに装填することによって行った(Estep Petal., 2013)。簡潔には、センサをアッセイ緩衝液中で30分間、オフラインで平衡化し、その後、ベースライン確立のためにオンラインで60秒間監視した。結合力測定のために、IgGを装填したセンサを、200nMのヒト、カニクイザル、またはマウスCD38に3分間曝露し、その後、それらをオフ速度測定のために3分間にわたってアッセイ緩衝液に移した。一価結合測定結果を、ビオチン化CD38単量体をSAセンサに装填し、その後、200nMの抗体に曝露することによって得た。反応速度データを、Forte Bioから提供されたデータ分析ソフトウェアの1:1結合モデルを使用してフィッティングした。参照アゴニスト抗CD38抗体についてこのアッセイで確立された K_D 値は、以下の通りである: IB4について、ヒトCD38の場合では 0.9×10^{-8} M、IB4についてカニクイザルCD38には結合しない。

【0142】

抗CD38抗体の結合力測定: Ni-NTAセンサをアッセイ緩衝液中で30分間、オフラインで平衡化し、その後、ベースライン確立のためにオンラインで60秒間監視した。それらに4.2nMの抗原(HISタグ付き組換えヒトCD38)を50分間装填し、その後、それらを洗浄のために0.5分間にわたってアッセイ緩衝液に移し、ベースライン決定のために再びアッセイ緩衝液中に1分間置いた。その後、抗体を異なる濃度(図14および図12に記載される)で30~50分間結合させた。その後、それらをオフ速度測定のために20~30分間にわたってアッセイ緩衝液に移した。反応速度データを、Forte Bioから提供されたデータ分析ソフトウェアにおける1:1結合モデルを使用してフィッティングした。

【0143】

あるいは、抗ヒトCD38抗体の親和性を、25 の周囲実験温度でCM-5センサチップを使用したBiacore 2000におけるSPRによってそれらの K_D を測定することによって決定した。抗ヒト抗体を最初に分析緩衝液(pH7.4、10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05% Tween 20)中で全てのフローセルにわたって固定化して、10分かけて12,000~14,000のRUにした。その後、リガンド(抗体試験物質)を装填して、54~208RUの捕捉レベルにした。その後、分析物(HISタグ付き組換えヒトCD38)を、3200nMから始まり最低濃度0.78nMの2倍希釈した分析緩衝液中で6分間結合させた。解離を分析緩衝液中で10分間行った。試料濃度間の再生ステップを3M MgCl₂中で0.5分間にわたって3回行った。このプロセスを通して25 μ L/分の流量を維持した。反応速度データを、基準を差し引いたBiacoreから提供された分析ソフトウェアにおけるグローバルフィッティングを使用してフィッティングした。

【0144】

エピトープマッピング: 抗体のエピトープマッピングを、標準のサンドイッチマッピングアッセイを使用してForte Bio Octet Red384システム(Pall Forte Bio Corp., USA)で行った。抗ヒトCD38抗体をAHQセンサに装填し、センサ上の非占有Fc結合部位を非関連ヒトIgG1抗体で遮断した。センサを100nMの標的抗原に、その後、第2の抗CD38抗体、参照モノクローナルアゴニストマウス抗ヒトCD38抗体(IB4、Prof. F. Malavasi at Univ. Torino, Italyから快く提供されたもの)に曝露した。データを、Forte

Bio Data Analysis Software 7.0を使用して処理した。抗原会合後の第2の抗体によるさらなる結合が非占有エピトープを示す一方で、結合なしはエピトープ遮断を示す。

【0145】

抗CD38抗体のCD38発現細胞への結合。候補ヒットを、ヒトPBMCへの結合を分析することによって評価する。この目的のために、PBMCを3名のヒトドナー由来の全血から調製し、1 μ M、200 nM、40 nM、8 nM、1.6 nM、320 pM、64 pM、13 pM、および2.5 pMの最終濃度で、aCD38-b-329またはDARAと30分間インキュベートした。その後、細胞を洗浄し、AF488二次抗体で標識した。その後、細胞を、さらなる表面染色抗体：抗CD3 PE-Cy7、抗CD4 APC、および抗CD8 BV451とインキュベートした。試料取得を、BD FACSDivaソフトウェア(BD Biosciences)上で起動する8色(3レーザー)BD FACSCanto IIサイトメーターを使用して行った。分析後処理を、FCS発現(v3.0)ソフトウェア(DeNovoソフトウェア)を使用して行った。異なる細胞集団の相対的割合(%)および平均蛍光強度(MFI)データを小数第2位まで報告した。

【0146】

哺乳類細胞で発現したヒトIgG1としてのaCD38-b-329の再クローン化、産生、および特徴付け。抗体のコドン最適化VHおよびVLコード配列の合成をGeneWizによって行った。可変領域のcDNAを、ヒトIgG1重鎖およびカッパ軽鎖定常領域(それぞれ、P01857およびP01834)を含む抗体発現ベクター(Icosagen, EST)にクローン化した。全長重鎖および軽鎖cDNAを、最終ベクターにおける配列決定によって実証し、その後、CHOに基づく細胞(CHOEBNAL T85)を使用する安定したエピソーム発現系であるQMCF Technology(Icosagen)を使用してそれらを発現させるために再クローン化し、組換えタンパク質、抗体、CHOEBNAL T85細胞の産生に適切なベクターを、抗体産生のために1 μ gの発現プラスミドでトランスフェクトした。48時間トランスフェクトした後、700 μ g/mLのG418を添加して、プラスミド含有細胞集団を選択した。産生のために、温度を30 に変化させ、培養物をさらに供給した。産生の終わりに、培養上清を遠心分離(1000 g、30分、および15)によって精製し、PMSFを添加し、上清を精製まで処理または凍結した。hIgG1抗体を、25 mM NaOAc(pH5, 5)、50 mM NaClまたはPBSのいずれかで、MabSelect Sure親和性クロマトグラフィー、続いて、Superdex 200ゲル濾過によって精製した。CHOEBNAL T85細胞で産生されたヒトIgG1抗体を、組換えウサギCD38(65003-T08H-20、Sino Biological)および組換えラットCD38:(80229-R08H-2、Sino Biological)を使用して、組換えヒトCD38に対する親和性、マウス、ラット、ウサギ、およびカニクイザルCD38に対する交差反応、ならびにエピトープに結合する抗体対選択されたCD38に結合する抗体について特徴付けた。

【0147】

aCD38-b-329エピトープマッピング。ヒトCD38配列(Uniprot登録番号P28907)を表す異なる組の直鎖状単ループ、 α -ターン模倣物、ジスルフィド架橋模倣物、不連続ジスルフィド架橋、不連続エピトープ模倣物ペプチドを、固相Fmoc合成を使用して合成した(Pepscan BV, The Netherlands、Timmermann P et al., 2007、Langedijk JP et al., 2011)。合成したペプチドの各々への抗体の結合を、PepscanベースのELISA(Pepscan, The Netherlands)で試験した。ペプチドアレイを一次抗体溶液とインキュベート(4 で一晩)した。洗浄後、ペプチドアレイを、適切な抗体-ペルオキシダーゼコンジュゲートの1/1000希釈物(2010-05、Southern Biotech)と25 で1時間インキュベートした。洗浄後、ペルオキシダーゼ基質2, 2'-アジノ-ジ-3-エチルベンズチアゾリンスルホネート(

A B T S) および $20 \mu\text{L} / \text{mL}$ の 3 パーセント H_2O_2 を添加した。1 時間後、着色を測定した。着色を電荷結合素子 (C C D) カメラおよび画像処理システムで定量化した。C C D カメラから得た値は、 $0 \sim 3000 \text{ mAU}$ の範囲であり、標準の 96 ウェルプレート E L I S A リーダーと同様である。合成したペプチドの品質を実証するために、別個の組の陽性および陰性対照ペプチドを並行して合成し、非関連対照抗体でスクリーニングした。

【 0 1 4 8 】

抗ヒト C D 3 8 抗体競合アッセイ：抗体競合を、標準の順次結合アッセイを使用して F o r t e B i o O c t e t R e d 9 6 システム (P a l l F o r t e B i o C o r p . , U S A) で行った。 $0.625 \mu\text{g} / \text{mL}$ の H i s タグ付き組換えヒト C D 3 8 を 300 秒間にわたって N i - N T A バイオセンサに装填した。15 秒間洗浄し、ベースラインステップを動態緩衝液で 60 秒間行った後、センサを 66.6 nM の第 1 の抗体 (ダラツムマブ) に 600 秒間、続いて、第 2 の抗 C D 3 8 抗体 (ダラツムマブ (対照) または a C D 3 8 - b - 3 2 9) に (同様に 66.6 nM で 600 秒間) 曝露した。データを、F o r t e B i o D a t a A n a l y s i s S o f t w a r e 9 . 0 を使用して処理した。第 2 の抗体によるさらなる結合が非占有エピトープ (エピトープにおいて競合なし) を示す一方で、結合なしはエピトープ遮断 (エピトープにおいて競合あり) を示す。

【 0 1 4 9 】

結果

組換えヒト C D 3 8 細胞外タンパク質配列 (r h C D 3 8) に結合するモノクローナル抗体 (m A b) を、材料および方法に記載の酵母に基づく抗体提示ライブラリを使用して単離した。これらの抗体を配列決定し、特有のクローンを酵母細胞で産生した (B a r n a r d G C e t a l . , 2010)。特有の抗体配列を発現する各酵母クローンの細胞培養上清を r h C D 3 8 結合についてスクリーニングした。

【 0 1 5 0 】

選択した抗体の K D 値 (親和性および結合力測定結果) および交差ビニング分析を表 1 に提供する。

【 表 1 】

表 1 :

抗体	エピトープ 交差ビ ニング群	親和性			結合力	
		K _D ヒト CD38-HIS 一 価 (M) (Octet)	アイソ タイプ	K _D ヒト CD38-HIS 一 価 (M) (Biacore)	K _D ヒト CD38-HIS 一 価 (M)	アイソタ イプ
aCD38-b- 329	B	$3.38\text{E}-09$	IgG1	$0.62\text{E}-09$	—	—
ダラツムマブ	F	$8.28\text{E}-08$	IgG1	—	$1.80\text{E}-10$	IgG1

【 0 1 5 1 】

O c t e t および B i a c o r e によって測定され、かつダラツムマブと比較した抗 C D 3 8 抗体の組換え一価ヒト C D 3 8 への結合を、図 1 1 A、図 1 2、および図 1 4 に示す。

【 0 1 5 2 】

r h C D 3 8 への結合、配列特有性、および発現レベルに基づいて、m A b のパネルを特定した。これらの抗体を組換えカニクイザルおよびマウス C D 3 8 細胞外ドメインタンパク質配列への結合についてさらに特徴付けた。加えて、エピトープビニングを行い、特定された抗体が参照アゴニスト抗 C D 3 8 抗体 I B 4 のエピトープと重複するエピトープに結合するかを決定した (A u s i e l l o C M e t a l . , 2000、F e r r e

ro E et al., 2004)。クローンを、 $10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-10} \text{ M}$ から成る一価 rhCD38 および / または組換えカニクイザル CD38 細胞外タンパク質配列に対する IgG 結合値を提示するものとして特徴付けた。加えて、各抗体を、参照アゴニスト抗 CD38 抗体 IB4 または市販のダラツムマブ、DARA) と競合するものまたは競合しないものとして特徴付けた。選択した抗体は、表 1 に示されるように異なる交差ビニング群に属する。抗体クローンを、陰性対照として CHO-S 細胞を使用して、フローサイトメトリーによってリンパ芽球様 Raji 細胞等の CD38 を強力に発現するヒト細胞への結合レベルで評価した。さらに、ヒト PBMC (図 3) への結合を確認した。

【0153】

最後に、凝集および非特異的相互作用を起こす傾向がある抗体配列を排除するために、抗体を、多重特異性試薬 (PSR) アッセイおよび親和性捕捉自己相互作用ナノ粒子分光法 (AC-SINS) (初期段階の抗体開発のためのハイスループットスクリーニングを可能にするアプローチ) でスクリーニングした (Liu Y et al., 2014)。抗体のいずれも後者のアッセイで陽性とスコア化されず、したがって、パネルから排除しなかった。

【0154】

上述のように配列決定および特徴付けられた選択したヒットのうち、クローン aCD38-b-329 が、ヒト CD38 結合において IB4 とダラツムマブとも競合しない新規の相補性決定領域 (CDR、図 2) を提示する抗体である。実際には、Pepscan 技術を使用して行ったエピトープマッピング研究により、aCD38-b-329 が、ダラツムマブについて公開されたもの (アミノ酸 233 ~ 246 および 267 ~ 280 を含む 2 つのベータ鎖、図 2B) または他の抗ヒト CD38 抗体について報告されたもの (WO2015/123687 の表 2 を参照のこと) とははっきりと異なる領域内のヒト CD38 に結合し、かつ 10^{-9} M の範囲の Kd 値でヒト CD38 細胞外タンパク質配列に結合することが示されるであろう。抗体競合アッセイは、ダラツムマブが同じエピトープにおいて aCD38-b-329 と競合しない (図 13) ことを示した。

【0155】

したがって、aCD38-b-329 配列 (図 2A) は、CD38 に特異的に結合する抗体を特定し、その用語が本明細書で使用されるように CD38 調節抗体薬剤を定義する機能的特徴に関連したそれらのアゴニスト活性を、細胞ベースのアッセイまたは動物モデルによって機能的に評価することができる。aCD38-b-329-LCDR3 の分析は、抗体特性のうちのいくつかに影響を及ぼし得る製造中の修飾の潜在的標的を表す DG (Asp-Gly) モチーフの存在を示す。この範囲で、いずれか一方または両方の残基が置換され、全てのかかる突然変異体のうち、限られた数の突然変異体 (例えば、Dauidi 細胞の表面に発現したもの) のみがヒト CD38 への結合を維持した aCD38-b-329 ベースの抗体ライブラリ (実施例 2 を参照のこと)。このように、対応する aCD38-b-329 ベースの抗体バリエーションを、CD38 調節抗体薬剤の全ての特性を維持するか、または単に CD38 結合特性を有するものとして試験することができる。これらのバリエーションのさらなる検証を、実施例に開示されるアッセイを使用して続行することができる。

【0156】

実施例 2: CD38 調節抗体薬剤を検証するための細胞ベースのモデル

材料および方法

インビトロ T 細胞活性化アッセイ: 予め凍結させた初代ヒト汎 T 細胞 (Stemcell Technologies) を eFluor450 蛍光色素 (Life Technologies) で標識し、 0.15×10^6 細胞 / ウェルを、抗 CD3 抗体 ($0.1 \mu\text{g} / \text{mL}$ のコーティング濃度、クローン OKT3、eBiosciences) を事前にコーティングし、かつ抗 CD38 調節抗体を、 $10\% \text{ FBS}$ (Sigma)、 2 mM の L-グルタミン (Life Technologies)、および $10,000 \text{ U} / \text{mL}$ の Pen-Strep (Sigma) を含有する RPMI 1640 (Life Techno

10

20

30

40

50

logies) 中 10、5、および 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度でコーティングした 96 ウェルプレート内で 72 時間インキュベートした。T 細胞増殖の読み出しをフローサイトメーターで取得し、生存率色素 (Zombie NIR, BioLegend) で標識した死細胞を排除し、蛍光色素標識抗体 (CD8 - FITC クローン HIT8a eBiosciences、CD25 - PE クローン M-A251 BioLegend、CD4 - BV510 クローン RPA-T4 BioLegend、CD38 - PE - Cy7 クローン HB_7、eBiosciences、CD137 - APC クローン 4B4-1 BioLegend) での染色によって表面マーカーを区別した。上清におけるサイトカイン分析を、製造業者の指示に従って Meso Scale Discovery MSD プラットホームを使用して行い、IFN γ 、IL-2、IL-10、TNF α 、および GM-CSF の発現を決定した (Multiplex アッセイキット、Meso Scale Discovery、図中のアスタリスクは適合曲線範囲を超える値を示す)。

10

【0157】

インビトロ ADCC アッセイ：抗ヒト CD38 抗体の特徴付けのために、Daudi (CD38 陽性) ヒト細胞株を標的細胞として使用し、かつヒト PBMC をエフェクター細胞源として使用して、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性アッセイ (ADCC アッセイ) を行った。エフェクターと標的との比率を、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の最高濃度、続いて、三連での対数希釈系列 (7 点) で、37 °C および 5% CO₂ で 4 時間評価した試験物質 (対照として抗 CD38 一次抗体またはリツキシマブ) を用いて 50:1 または 25:1 で評価した。PBMC を IL-2 で刺激し、IL-2 が共培養アッセイ中に存在した。インビトロ培養前に、標的細胞株を 1 μM のカルセイン A で標識し、2.5 mM のプロベネシドとインキュベートした。溶解細胞が装填したカルセインを上清中に放出し、これにより蛍光測定が可能になる。カルセイン A 放出を Excel および Graph Pad ソフトウェア分析によって分析して、1% サボニン処置値を使用して最大溶解を決定する正規化によって用量反応曲線を生成した。標的細胞溶解パーセンテージを、濃度の対数に対する正規化カルセイン A 放出パーセンテージをグラフ化した XY チャート上にプロットし、データを、EC50 が算出される非線形回帰曲線に当てはめた。

20

【0158】

インビトロ CDC アッセイ：CD38 発現ヒト細胞株 (Daudi) に対する CDC 活性を、細胞を、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の最高濃度、続いて、三連での対数希釈系列 (7 点) (正常ヒト血清補体の最終濃度 10%) で、試験物質 (対照として抗 CD38 一次抗体またはリツキシマブ) で処理することによって試験した。試料を 37 °C および 5% CO₂ で 3 時間培養した。フローサイトメトリ分析前に、培養条件に従って、細胞を洗浄し、ヨウ化プロピジウム (PI) を含む 1 倍 PBS 中に 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の最終濃度で再懸濁させた。全ての細胞を試料取得中にフローサイトメトリによって試験した。PI 陽性細胞のパーセンテージを、濃度の対数に対する PI パーセンテージをグラフ化した XY チャート上にプロットし、データを、EC50 が算出される非線形回帰曲線に当てはめた。

30

【0159】

直接的細胞死アッセイ。CD38 発現ヒト細胞株 (Daudi) に対する直接的プロアポトーシス活性を、細胞を、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の最高濃度、続いて、三連での対数希釈系列 (7 点) で、対照として試験物質 (抗 CD38 一次抗体) またはリツキシマブで処理することによって試験した。Fc 受容体媒介性架橋活性による細胞死を、細胞を、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の最高濃度、続いて、三連での対数連続希釈 (7 点) で、対照として試験物質 (抗 CD38 一次抗体またはリツキシマブ) で処理し、その後、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のウサギ抗ヒト Fc γ 2 (二次抗体) で処理することによって試験した。試料を 37 °C および 5% CO₂ で 24 時間培養した。培養条件に従って、細胞を洗浄し、Annexin V 結合緩衝液および 7-AAD 中に再懸濁させて、細胞死をフローサイトメトリ分析によって試験した。全ての細胞を試料取得中にフローサイトメトリによって試験した。後期アポトーシス細胞パーセンテージを、濃度の対数に対する Annexin V 陽性細胞および 7-AAD 陽性細胞パーセンテージをグラフ化した XY チャート上にプロットし、

40

50

データを、EC50が算出される非線形回帰曲線に当てはめた。

【0160】

統計。Prismソフトウェア(GraphPad)を使用して曲線当てはめを行い、EC50値および最大活性を決定した。

【0161】

結果

同じ実験におけるグラツムマブの結果と比較した、ADCCおよびCDCアッセイからのEC50値および溶解パーセンテージの結果を、表2および3に示す。

【0162】

【表2】

10

表2：標的Dauidi細胞のADCCデータ

抗体	実験	EC50 (ug/mL)	最大溶 解%	DARAのEC 50 (ug/mL)	DARAの 最大溶解
aCD38-b-329	1	0.011	50	0.004	36
aCD38-b-329	2	0.0062	49	0.0025	58

【0163】

【表3】

表3：10%補体での標的Dauidi細胞のCDCデータ

20

抗体	実験	EC50 (ug/ mL)	最大溶解%	DARAの EC50 (ug/ mL)	DARAの 最大溶解
aCD38-b-329	9	該当なし	該当なし	0.11	92

【0164】

実施例1で特徴付けられた他の抗体としてaCD38-b-329候補抗体を免疫細胞に関してさらに評価した。第1の一連の実験では、aCD38-b-329は、ヒトT細胞への用量依存的結合を示す(図3)。T細胞を使用して試験する場合、例えば、かかる細胞の培養のためのプレートをコーティングするためにaCD38-b-329を使用する場合、aCD38-b-329がヒトT細胞活性化を増加させる一方で、参照抗CD38抗体(DARA)ははるかに弱いアゴニスト活性を提示する(図4A)。aCD38-b-329のアゴニスト活性は、DARAと比較して、aCD38-b-329によって誘発されたヒトT細胞によるより強力な炎症性サイトカイン分泌によってさらに強まる(図4B)。加えて、aCD38-b-329およびDARAは、ADCCアッセイにおいて同等の活性を示すが、後者のみがより高いCDC活性を提示する(図5A)。aCD38-b-329によって誘発される低下したCDC効果は、低下した注入部位反応のため、増加した安全性を有する抗CD38抗体を提供するであろう。DARAおよびaCD38-b-329は、aCD38-b-329の活性のみが抗体架橋によって強化されたように見えるが、ヒトPBMCによるCD38発現腫瘍細胞(Dauidi)の死滅において

30

40

【0165】

結論として、aCD38-b-329を、異なる実験設定において免疫細胞に対してCD38調節抗体薬剤の活性を提示する例示の抗CD38抗体と特徴付けた。

【0166】

実施例3：動物モデルにおけるCD38調節抗体薬剤の検証

材料および方法

リンパ腫細胞ベースのモデル。Dauidiヒトバーキットリンパ腫細胞およびRamossヒトバーキットリンパ腫細胞を、10%ウシ胎仔血清を補充した2mMのL-グルタミン+1mMのピルビン酸ナトリウム+4.5g/Lのグルコース+10mMのHepes

50

を含有するRPMI 1640中で培養した。健常雌c b 17 SCIDマウスをCharles Riverから入手した。腫瘍を、200 μ LのRPMI 1640中5 \times 10⁵個のDaudi細胞または5 \times 10⁶個のRamos細胞の動物の尾静脈への静脈内注射によって誘導した。細胞注射を線源(1.44 Gy / マウス、60Co、BioMep, Bretenieres, France)での全身照射の24 ~ 72時間後に行った。マウスを体重によってランダムに処理群分けした(1群当たり8匹のマウス)。第1群の動物には、ビヒクルを5 mL / kgで週2回3週間連続して(TW \times 3)静脈内注射した。第2群の動物には、DARAを10 mg / kg / 注射で週2回3週間連続して(TW \times 3)静脈内注射した。第3群の動物には、aCD38 - b - 329を10 mg / kg / 注射で週2回3週間連続して(TW \times 3)静脈内注射した。マウスを最大8週間後に殺した。

10

【0167】

結果

aCD38 - b - 329の治療的特性を、ヒトがんの動物モデルで、具体的には、ヒト腫瘍細胞の死滅に関するCD38調節抗体薬剤の特性をより適切に評価することができる免疫不全マウスを使用して試験することができる。aCD38 - b - 329は、Daudiモデルにおいてダラツムマブ(DARA)よりも優れており(図6A)、かつ両モデルにおいて対照群よりも優れた(図6Aおよび図6B)効果である、2つの異なる型のヒトリンパ腫細胞を静脈内注射したマウスの生存率を高める顕著な効力を示す。

【0168】

20

これらの特性を、動物生存率の観点のみならず、同時免疫学的効果とともに、文献に記載されるように、固形腫瘍が皮下で増殖するヒトがん株またはヒト初代がん細胞のいずれかの注射に基づくヒト腫瘍(具体的には、固体がん)の他のインビボモデルにおいて(Morton JJ et al. 2016, Holzapfel BM et al., 2015)、かつ腫瘍細胞および免疫細胞が単離された患者から直接単離され、かつ抗CD38抗体に対するそれらの応答(細胞活性化、増殖、サイトカイン産生、および/または細胞死によって測定される)についてインビトロで試験された腫瘍試料の使用に基づいてエクスピボモデルにおいてさらに調査することができる。遠達効果または選択された組織もしくは生体物質における遺伝子発現の変化等のさらなる特徴を、恐らく、aCD38 - b - 329を、異なる用量で、かつ/または他の抗がん剤(キナーゼもしくは他の酵素阻害剤、抗体、放射線/化学療法、アジュバント、またはワクチン等)と組み合わせて投与することによって評価することができる。

30

【0169】

実施例4：aCD38 - b - 329のバリエーションの生成

アスパラギン酸異性を阻止するために、VL CDR3 DG配列についての潜在的な置換のライブラリを生成した。DGモチーフを除去するために、2つの酵母ディスプレイライブラリをaCD38 - b - 329について生成した。第1のライブラリは、アスパラギン酸周辺およびグリシン周辺の両方の縮重プライマーNNKNNKに基づいた。このライブラリは、400の多様性を有した。第2のライブラリは、グリシンを保存する一方でアスパラギン酸に焦点を合わせた縮重プライマーNNKに基づき、20の多様性を有した。これらのライブラリを10 nMのヒトCD38単量体において単一ラウンドで選別し、各系統から96を配列決定し、産生し、上述のように特徴付けた。加えて、合計5つの96ウェルプレートでNNKNNKライブラリから選択して、OctetでrhCD38への結合についてスクリーニングした。限られた数の置換が許容され、最良の親和性を示すバリエーションを選択し、OctetでバリエーションをrhCD38への結合について試験した。最良の親和性を示すバリエーションを、実施例2に記載のアッセイを使用して哺乳類産生およびさらなる特徴付けのために選択した。

40

【0170】

バリエーションの機能的特徴付け：リンパ腫細胞ベースのモデル、Rajiヒトバーキットリンパ腫細胞およびRamosヒトバーキットリンパ腫細胞を、10%ウシ胎仔血清を補

50

充した 2 mM の L - グルタミン + 1 mM のピルビン酸ナトリウム + 4 . 5 g / L のグルコース + 10 mM の H e p e s を含有する R P M I 1 6 4 0 中で培養した。健常雌 c b 1 7 S C I D マウスを C h a r l e s R i v e r から入手した。腫瘍を、200 μ L の R P M I 1 6 4 0 中 5×10^5 個の R a j i 細胞または 5×10^6 個の R a m o s 細胞の動物の尾静脈への静脈内注射によって誘導した。細胞注射を 線源 (1 . 4 4 G y / マウス、60 C o、B i o M e p , B r e t e n i e r e s , F r a n c e) での全身照射の 2 4 ~ 7 2 時間後に行った。マウスを体重によってランダムに処理群分けした (1 群当たり 10 匹のマウス)。第 1 群の動物には、ビヒクルを 5 m L / k g で週 2 回 3 週間連続して (T W \times 3) 静脈内注射した。第 2 群の動物には、D A R A を 10 m g / k g / 注射で週 2 回 3 週間連続して (T W \times 3) 静脈内注射した。第 3 群の動物には、a C D 3 8 - b - 3 2 9 を 10 m g / k g / 注射で週 2 回 3 週間連続して (T W \times 3) 静脈内注射した。第 4 群の動物には、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 を 10 m g / k g / 注射で週 2 回 3 週間連続して (T W \times 3) 静脈内注射し、第 5 群の動物には、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 を 10 m g / k g / 注射で週 2 回 3 週間連続して (T W \times 3) 静脈内注射した。マウスを図に示される時点で 殺した。

【 0 1 7 1 】

結果

バリエント抗体の V H 鎖および V L 鎖の C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 配列を図 7 に示す (a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 の場合、配列番号 4 および配列番号 1 6、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 の場合、配列番号 4 および配列番号 1 7)。D a u d i 細胞結合実験により、バリエント抗体の C D 3 8 への結合が親クローンおよびドラツムマブと同等であったことが確認された (表 4 (図 8 および図 1 1))。

【 表 4 】

表 4 :

	LCDR3 配列	Octet 親和性 K _D (M)	Biacore 親和性 K _D (M)	EC50 (μ g/ mL)	最大 MFI
aCD38-b-329	QQDGAVFT (配列番号 7)	2. 38E-09	0. 62E-09	0. 734	2508
aCD38-b-329-m6	QQDEAVFT (配列番号 10)	1. 99E-08	4. 70E-09	0. 651	2297
aCD38-b-329-m7	QQDSAVFT (配列番号 11)	2. 60E-08	4. 90E-09	0. 745	2213
ドラツムマブ	—	—	—	0. 945	2495

【 0 1 7 2 】

バリエントは、親クローンおよびドラツムマブと同等の A D C C 活性を示した (図 9)。バリエントは、A D C C 活性について親系統よりも低い E C 5 0 (μ g / m L) を有したが、最大溶解については同等であった (表 5)。

10

20

30

40

50

【表 5】

表 5 : A D C C 標的溶解

	EC50 (ug／ mL)	最大溶解%
aCD38－b－329	0. 0062	49
aCD38－b－329－m6	0. 0024	47
aCD38－b－329－m7	0. 0035	43
ダラツムマブ	0. 0025	58
IgG1 アイソタイプ	該当なし	0

10

【 0 1 7 3 】

ペプチドマッピング試料を D T T 還元およびヨードアセトアミドアルキル化によって調製し、トリプシンを使用して消化し、L C - U V - M S システムで分析した。異性化ペプチドおよび非異性化ペプチドのレベルを決定し、異性化ペプチドの%を表 6 に示す。

【表 6】

20

表 6 :

抗体	異性化%
aCD38-b-329	7.4%
aCD38-b-329-m6	0.0%
aCD38-b-329-m7	0.0%

30

【 0 1 7 4 】

a C D 3 8 - b - 3 2 9 およびそのバリエーション a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 の治療的特性を、ヒトがんの動物モデルで、具体的には、ヒト腫瘍細胞の死滅に関する C D 3 8 調節抗体薬剤の特性をより適切に評価することができる免疫不全マウスを使用して試験した。a C D 3 8 - b - 3 2 9 バリエーション、a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 6 および a C D 3 8 - b - 3 2 9 - m 7 は、両モデル (R a j i および R a m o s) においてダラツムマブ (D A R A) よりも優れた効果である、2つの異なる型のヒトリンパ腫細胞を静脈内注射したマウスの生存率を高める顕著な効力を示す (図 1 0)。

40

【 0 1 7 5 】

実施例 5 : 突然変異体 C D 3 8 への抗体結合

材料および方法 : ヒト C D 3 8 の 2 つの突然変異体バージョンを構築した。第 1 のバージョンでは、2 0 2 位で D を G に突然変異させ (D 2 0 2 G)、第 2 のバージョンでは、2 7 4 位で S を F に突然変異させた (S 2 7 4 F)。

【 0 1 7 6 】

突然変異した C D 3 8 タンパク質の各々への a C D 3 8 - b 3 2 9 の結合を評価し、ダラツムマブと比較した。

【 0 1 7 7 】

50

結果

結果は、aCD38-b-329の結合が、ヒトCD38への突然変異D202Gまたは突然変異S274Fの導入によって影響されなかったことを示した。これを、抗体結合がヒトCD38への突然変異S274Fの導入によって影響されたが、ヒトCD38への突然変異D202Gの導入によって影響されなかったドラツムマブと比較する。これらの結果は、aCD38-b-329がドラツムマブとは異なるエピトープに結合することを確認する。

【0178】

本出願に含まれる配列の要約を以下に提供する。

【表7】

配列番号	抗体配列の説明	別名
1	aCD38-b-329 可変重鎖 CDR1	aCD38-b-329-HCDR1
2	aCD38-b-329 可変重鎖 CDR2	aCD38-b-329-HCDR2
3	aCD38-b-329 可変重鎖 CDR3	aCD38-b-329-HCDR3
4	aCD38-b-329 可変重鎖 CDR1、2、3、および FR2、3	aCD38-b-329-HCDR123 aCD38-b-329-m6-HCDR123 aCD38-b-329-m7-HCDR123
5	aCD38-b-329 可変軽鎖 CDR1	aCD38-b-329-LCDR1
6	aCD38-b-329 可変軽鎖 CDR2	aCD38-b-329-LCDR2
7	aCD38-b-329 可変軽鎖 CDR3	aCD38-b-329-LCDR3
8	aCD38-b-329 可変軽鎖 CDR1、2、3、および FR2、3	aCD38-b-329-LCDR123
9	ヒト CD38	Uniprot 配列 P28907
10	aCD38-b-329-m6 可変軽鎖 CDR3	aCD38-b-329-m6-LCDR3
11	aCD38-b-329-m7 可変軽鎖 CDR3	aCD38-b-329-m7-LCDR3
12	aCD38-b-329 可変重鎖 CDR1、2、3、および FR1、2、3、4	aCD38-b-329-VH aCD38-b-329-m6-VH aCD38-b-329-m7-VH
13	aCD38-b-329-m6 可変軽鎖 CDR1、2、3、および FR1、2、3、4	aCD38-b-329-m6-VL
14	aCD38-b-329-m7 可変軽鎖 CDR1、2、3、および FR1、2、3、4	aCD38-b-329-m7-VL
15	aCD38-b-329 可変軽鎖 CDR1、2、3、および FR1、2、3、4	aCD38-b-329-VL
16	aCD38-b-329-m6 可変軽鎖 CDR1、2、3、および FR2、3	aCD38-b-329-m6-LCDR123
17	aCD38-b-329-m7 可変軽鎖 CDR1、2、3、および FR2、3	aCD38-b-329-m7-LCDR123
18	ドラツムマブ可変重鎖	
19	ドラツムマブ可変軽鎖	

【0179】

等価物および範囲

当業者であれば、本発明が、実施例または本明細書に含まれるある特定の実施形態の他の記述ではなく、添付の特許請求の範囲によって定義されることを理解するであろう。

【0180】

同様に、「a」、「an」、および「the」という単数形は、文脈が別途明確に示さない限り、複数の指示対象を含む。

【0181】

別途上記で定義されない限り、本明細書で使用する全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当業者によって一般に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載のものと同様または同等の任意の方法および材料も、本発明の実施または試験で使用され得る。一般に、本明細書に記載の細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、遺伝学、ならびにタンパク質および核酸化学に関連して使用される命名法、およびそれらの技法は、当技術分野で周知であり、一般に使用されているものであるか、製造業者の仕様書に従うものである。

10

【0182】

本明細書で言及される全ての刊行物は、それらの刊行物が引用されることに関連して方法および/または材料を開示および説明するために参照により本明細書に組み込まれる。

参考文献

Ausiello CM et al., 2000. *Tissue Antigens*. 56: 539 - 47.

Barnard GC et al., 2010. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 37: 961 - 71.

Beck A et al., 2017. *Nat Rev Drug Discov*. 16: 315 - 337.

20

Chevrier S et al., 2017. *Cell*. 169: 736 - 749.

de Weers M et al., 2011. *J Immunol*. 186: 1840 - 8.

Estep P et al., 2013. *MAbs*. 5: 270 - 8.

Ferrero E et al., 2004. *BMC Immunol*. 5: 21.

Frasca L et al., 2006. *Blood*. 107: 2392 - 2399.

Hara-Yokoyama M et al., 2008. *Int Immunopharmacol*. 8: 59 - 70.

Holzappel BM et al., 2015. *Stem Cells*. 33: 1696 - 704.

Horenstein AL et al., 2017. *Hum Antibodies*. 25: 75 - 85.

30

Jarasch A et al., 2015. *J Pharm Sci*. 104: 1885 - 1898.

Kamphorst AO et al., 2017. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 114: 4993 - 4998.

Karakasheva T et al., 2015. *Cancer Res*. 75: 4074 - 85.

Kearns JD et al., 2015. *Mol Cancer Ther*. 14: 1625 - 36.

Kijanka M et al., 2015. *Nanomedicine*. 10: 161 - 174.

40

Langedijk JP et al., 2011. *Analytical Biochemistry*. 417: 149 - 155.

Liu L, 2015. *J Pharm Sci*. 104: 1866 - 84.

Liu Y et al., 2014. *MAbs*. 6: 483 - 92.

Malavasi F et al., 2008. *Physiol Rev*. 88: 841 - 86.

Morandi F et al., 2015. *J Immunol*. 195: 965 - 72.

Morton JJ et al., 2016. *Cancer Res*. 76: 6153 - 6158.

50

- Quarona V et al., 2013. Cytometry B Clin Cytom. 84:207-17.
- Rah SY et al., 2015. Sci Rep. 5:9482.
- Redman JM et al., 2015. Mol Immunol. 67:28-45.
- Siegel RW et al., 2004. J Immunol Methods. 286:141-53.
- Sliwowski M & Mellman I, 2013. Science. 341:1192-8.
- Sydow J et al. 2014. PLoS One. 9:e100736.
- Timmermann P et al., 2007, J. Mol. Recognit., 20, 283-99.
- van de Donk NW et al., 2016. Immunol Rev. 270:95-112.
- Vazquez-Lombardi R et al., 2015. Drug Discov Today. 20:1271-83.
- Xu Y et al., 2013. Protein Eng Des Sel. 26:663-70.
- Wei W et al., 2014. World J Biol Chem. 5:58-67.
- Rajpal et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(24):8466-71.
- Steinwand et al., MAbs, 2014, 6(1):204-18.
- Ellington et al. Nature. 1990; 346(6287):818-822.
- Tuerk et al., Science. 1990; 249(4968):505-510.
- Ni et al., Curr Med Che 2011; 18(27):4206-14.

項1

可変重鎖相補性決定領域3としてaCD38-b-329-HCDR3アミノ酸配列を含む抗体またはその抗原結合断片。

項2

a)可変重鎖相補性決定領域1としてaCD38-b-329-HCDR1アミノ酸配列、および

b)可変重鎖相補性決定領域2としてaCD38-b-329-HCDR2アミノ酸配列をさらに含む、項1に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項3

a)可変軽鎖相補性決定領域1としてaCD38-b-329-LCDR1アミノ酸配列、

b)可変軽鎖相補性決定領域2としてaCD38-b-329-LCDR2アミノ酸配列、および

c)可変軽鎖相補性決定領域3としてaCD38-b-329-LCDR3アミノ酸配列をさらに含む、項1または項2に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項4

前記抗体またはその抗原結合断片が、aCD38-b-329-HCDR123アミノ酸配列を含む可変重鎖を含む、項1、2、または3に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項5

前記抗体またはその抗原結合断片が、aCD38-b-329-LCDR123アミノ酸配列を含む可変軽鎖をさらに含む、項1～4のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項6

前記抗体またはその抗原結合断片が、LCDR3領域内のDGモチーフを除去するよう

に突然変異する、項 3 ~ 5 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 7

前記抗体またはその抗原結合断片が、QQDEAVFTおよびQQDSAVFTからなる群から選択されるLCDR3領域を含む、項 6 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 8

前記抗体またはその抗原結合断片が、

a) 配列番号 1 の配列を含む HCDR1、配列番号 2 の配列を含む HCDR2、配列番号 3 の配列を含む HCDR3、配列番号 5 の配列を含む LCDR1、配列番号 6 の配列を含む LCDR2、および配列番号 7 の配列を含む LCDR3 を含む抗体またはその抗原結合断片、

b) 配列番号 1 の配列を含む HCDR1、配列番号 2 の配列を含む HCDR2、配列番号 3 の配列を含む HCDR3、配列番号 5 の配列を含む LCDR1、配列番号 6 の配列を含む LCDR2、および配列番号 10 の配列を含む LCDR3 を含む抗体またはその抗原結合断片、

c) 配列番号 1 の配列を含む HCDR1、配列番号 2 の配列を含む HCDR2、配列番号 3 の配列を含む HCDR3、配列番号 5 の配列を含む LCDR1、配列番号 6 の配列を含む LCDR2、および配列番号 11 の配列を含む LCDR3 を含む抗体またはその抗原結合断片、

d) 配列番号 4 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 8 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片、

e) 配列番号 4 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 16 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片、

f) 配列番号 4 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 17 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片、

g) 配列番号 12 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 15 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片、

h) 配列番号 12 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 13 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片、および

i) 配列番号 12 の配列を含む重鎖可変領域および配列番号 14 の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片からなる群から選択される、項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 9

前記抗体またはその抗原結合断片が脱フコシル化される、項 1 ~ 8 のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 10

ヒトCD38のエピトープに特異的に結合する抗体または抗原結合断片であって、前記エピトープが、配列番号 9 のアミノ酸 65 ~ 79 に含まれる 1 個以上のアミノ酸残基を含む、抗体または抗原結合断片。

項 11

前記エピトープが、配列番号 9 のアミノ酸 65 ~ 79 を含む、項 9 に記載の抗体または抗原結合断片。

項 12

項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片の親和性成熟バリエーション。

項 13

前記抗体またはその抗原結合断片が、モノクローナル抗体、ドメイン抗体、一本鎖抗体、Fab断片、F(ab')₂断片、一本鎖可変断片(scFv)、scFv-Fc断片、一本鎖抗体(scAb)、アプタマー、またはナノボディである、項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 14

前記抗体またはその抗原結合断片が、ウサギ、マウス、キメラ、ヒト化、または完全ヒ

10

20

30

40

50

ト抗原結合抗体である、項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 1 5

前記抗体が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4 アイソタイプ抗体からなる群から選択される、項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 1 6

前記抗体またはその抗原結合断片が、二重特異性抗体、多重特異性抗体、または治療薬もしくは診断薬をさらに含むイムノコンジュゲートに含まれる、項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 1 7

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒト C D 3 8 の細胞外ドメインに結合する、項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

10

項 1 8

前記抗体またはその抗原結合断片が、細胞表面にヒト C D 3 8 を発現する細胞に結合し、C D 3 8 調節抗体薬剤である、項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

項 1 9

項 1 ~ 1 8 のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする核酸分子。

項 2 0

項 1 9 に記載の核酸分子を含む核酸ベクター。

項 2 1

項 2 0 に記載の核酸ベクターを含む宿主細胞。

20

項 2 2

項 2 1 に記載の宿主細胞を培養することによって項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片を産生するための方法。

項 2 3

項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片を含む組成物。

項 2 4

薬学的に許容される担体または賦形剤をさらに含む、項 2 3 に記載の組成物。

項 2 5

前記組成物が、がんの治療に使用するためのものである、項 2 4 に記載の薬学的組成物。

30

項 2 6

がんを治療するための薬剤の製造における、項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片の使用、または項 2 3 に記載の組成物の使用。

項 2 7

がんを治療するための薬剤の製造における、C D 3 8 の結合において項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の抗体と競合する抗体またはその抗原結合断片の使用。

項 2 8

対象におけるがんを治療する方法であって、前記対象に、項 2 4 に記載の組成物の有効量を投与することを含む、方法。

項 2 9

対象におけるがんを治療する方法であって、前記対象に、C D 3 8 の結合において項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の抗体と競合する抗体またはその抗原結合断片の有効量を投与することを含む、方法。

40

項 3 0

前記対象に、第 2 の薬剤を同時にまたは任意の順序で順次に投与することをさらに含む、項 2 8 または 2 9 に記載の方法。

項 3 1

前記対象が固形腫瘍を有する、項 2 8、2 9、または 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

項 3 2

前記対象が血液癌を有する、項 2 8、2 9、または 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

50

項 3 3

抗CD38抗体を調製する方法であって、項1～18のいずれか一項に記載の抗体を提供することと、前記抗体を親和性成熟に供することと、を含み、産生された前記抗CD38抗体が、親抗体よりも高いCD38に対する親和性を有する、方法。

項 3 4

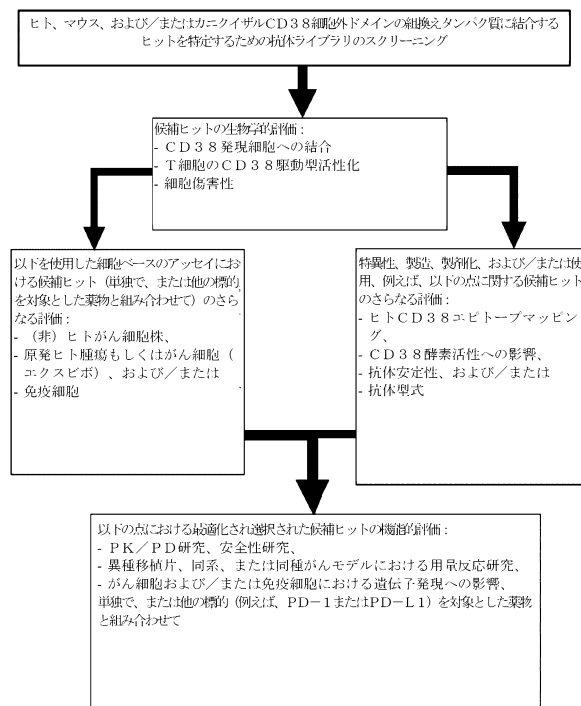
薬学的組成物を調製する方法であって、項 3 3 に記載の方法に従って調製された抗体を提供することと、前記抗体を少なくとも 1 つ以上の薬学的に許容される賦形剤と共製剤化することと、を含む、方法。

項 3 5

項 2 3 に記載の組成物を容器内に含むキット。

【図面】

【 図 1 】



【圖 2】

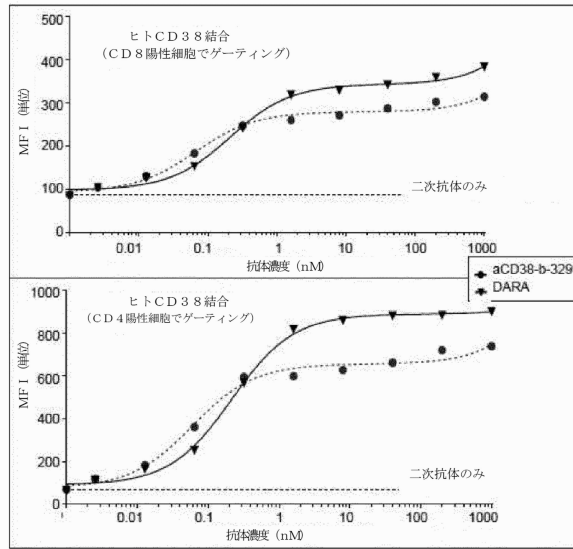
A)

CD38-b-329-HCDR1	aCD38-b-329-HCDR2	aCD38-b-329-HCDR3
GSISSSDYYWG	SIYYSGSTYYNPSLKS	ARGQYSSGWYAYPFDM
aCD38-b-329-HCDR123		
<u>GSISSSDYYWG</u> WIRQPPKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKS ^{RV} TVSDTSKNQFSLK LSSVTADTAVYYC <u>ARGQYSSGWYAYPFDM</u>		
aCD38-b-329-LCDR1	aCD38-b-329-LCDR2	aCD38-b-329-LCDR3
RASQSVRRSSYLA	GASSRAT	QQDGA ^{VT} T
aCD38-b-329-LCDR123		
<u>RASQSVRRSSYLA</u> WYQKPGQAPRLLIYG <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LPEPDFAVYYCQQDGA ^{VT} T		

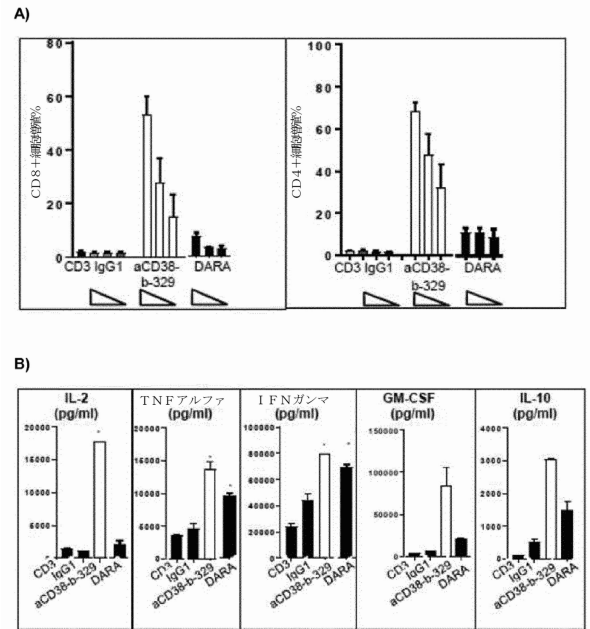
B)

細胞質	膜貫通
10 MANCEFSVPS GDKECCRLSR	30 RQOLCLGVSI
20 LVLLILVVVLA VVV	40 PRWQCV
60 SGPGTTKRFP	80 ETVIA
70 ARCVKY	90 TEIHPEMRH
120 KLGTTQVPCN	140 KILLSRIKD
130 LAHQFTQVQR	150 DMFTLEDITLL
160 GYLADDLTWC	180 GEFNSTKINY
170 QSCPDWRKDC	190 SNNPVSVFWK
210 CDVVVHVLNG	230 SRSKIFDKNS
240 TFGSVEVHNL	260 QFEKVQVILE
280 RDLCDDPTIK	300 ELESIIISKRN
290 IOFSCKNIYR	310 PKDFLOCVN
320 PEDSSCTSEI	

【図 3】

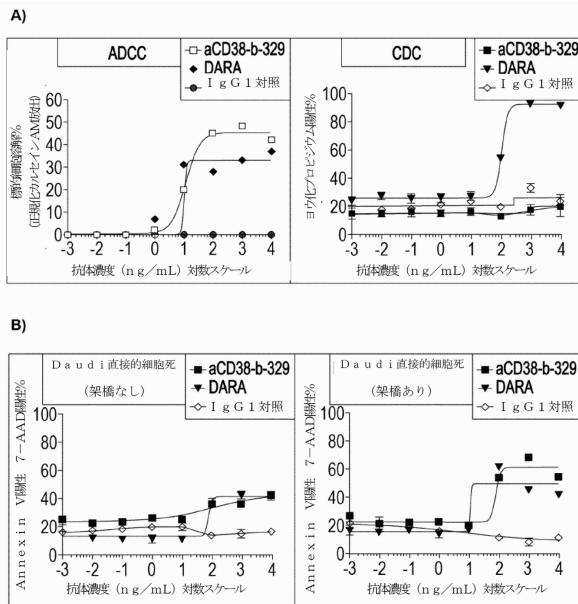


【図 4】

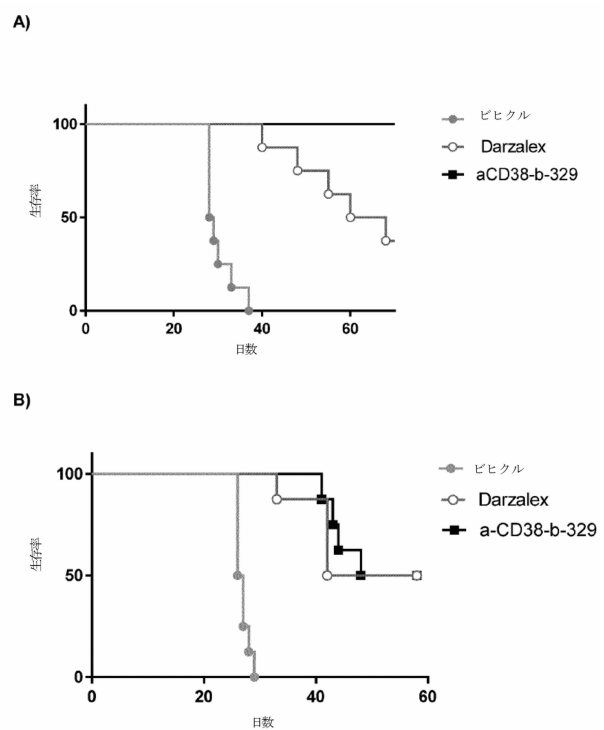


10

【図 5】



【図 6】



20

30

40

50

【 図 7 】

A)

aCD38-b-329-m6-HCDR123:

GSISSDYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK
LSSVTAADTAVYYCARGQYSSGWYAYPFDM

aCD38-b-329-m6-LCDR123:

RASQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRL
EPEDFAVYYCQQDEAVFT

B)

aCD38-b-329-m7-HCDR123:

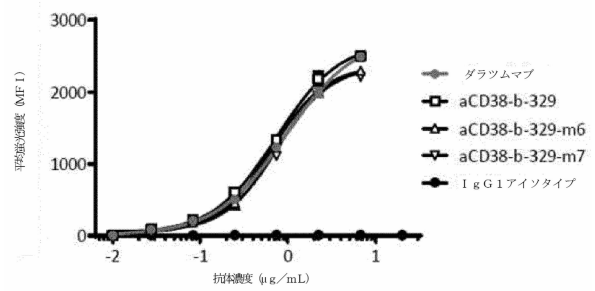
GSISSDYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK
LSSVTAADTAVYYCARGQYSSGWYAYPFDM

aCD38-b-329-m7-LCDR123:

RASQSVRSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRL
EPEDFAVYYCQQDSAVFT

【 図 8 】

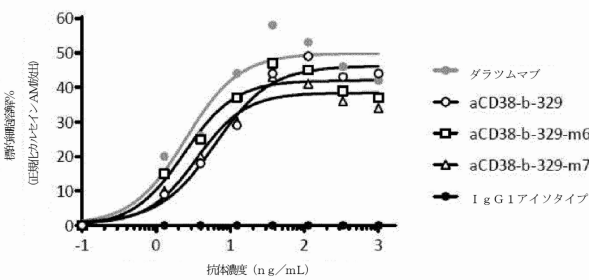
D a u d i 結 合



10

【 図 9 】

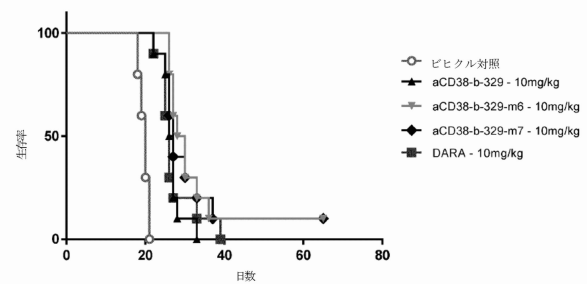
D a u d i の A D C C (カ ル セ イ ン A M 放 出 4 時 間)
ド ナ ー 3 6 2 7



【 図 1 0 】

A)

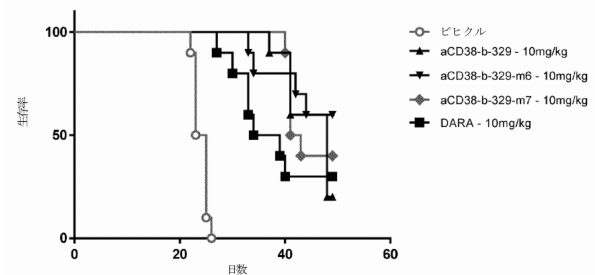
R a j i 静 脈 内 投 与



20

B)

R a m o s 静 脈 内 投 与

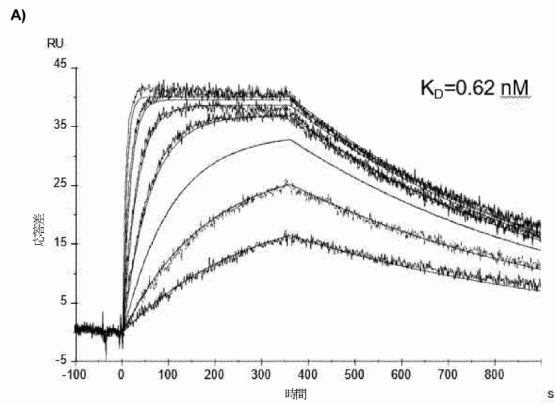


30

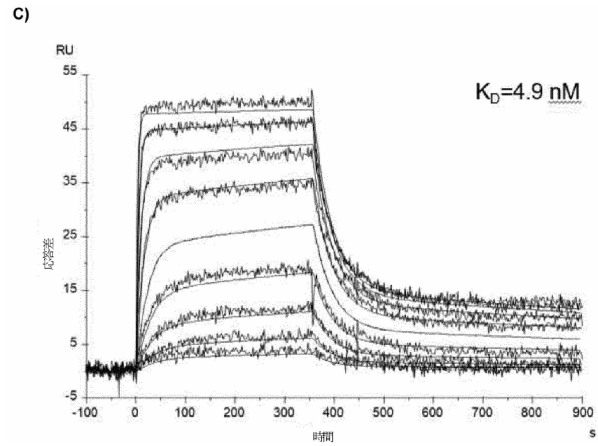
40

50

【図 1 1 - 1】

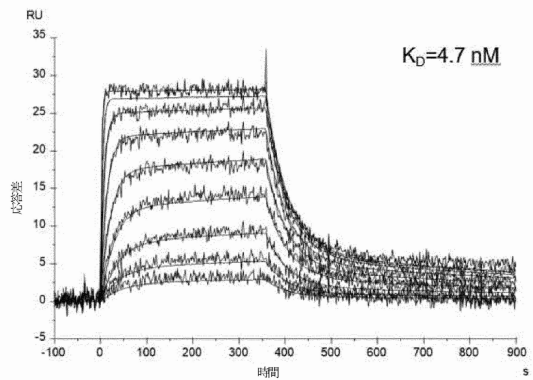


【図 1 1 - 2】



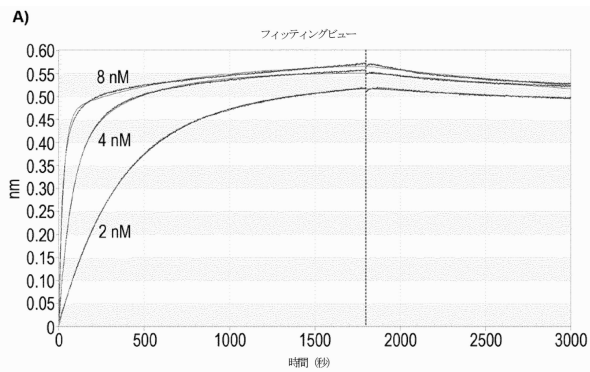
10

B)

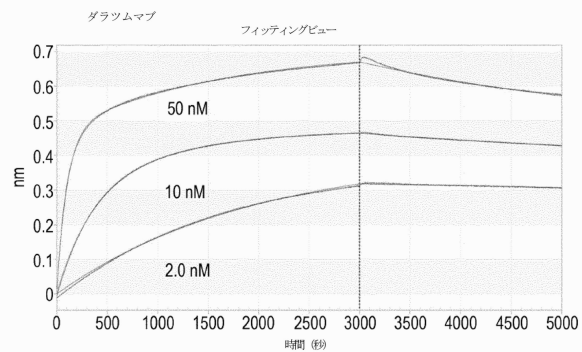


20

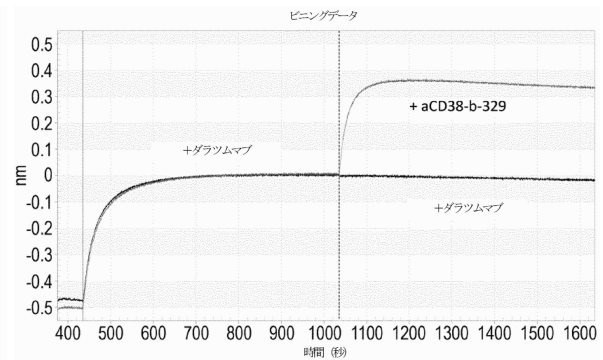
【図 1 2】



B)



【図 1 3】

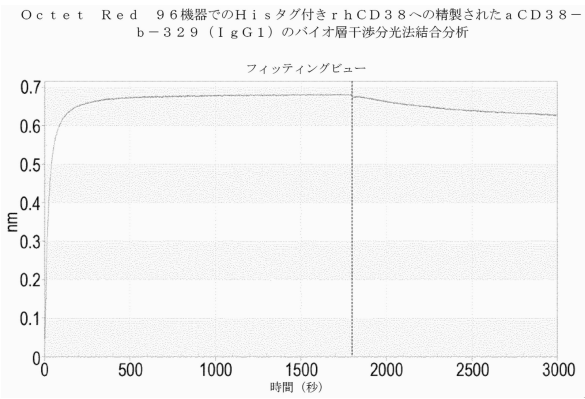


30

40

50

【図 14】



10

【配列表】

0007237951000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 N 15/63 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 35/02 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 49/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 N 15/63
 A 6 1 K 39/395
 A 6 1 K 39/395
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 35/02
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 49/00

Z
 N
 D

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/517,165

(32)優先日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/517,164

(32)優先日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/517,734

(32)優先日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/517,740

(32)優先日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/517,745

(32)優先日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/517,753

(32)優先日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/582,676

(32)優先日 平成29年11月7日(2017.11.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/582,681

(32)優先日 平成29年11月7日(2017.11.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/582,666

(32)優先日 平成29年11月7日(2017.11.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(31)優先権主張番号 62/582,653

(32)優先日 平成29年11月7日(2017.11.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

ーノオー タスク セラピューティクス リミテッド

(72)発明者 グビエ アンヌ

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス ハートフォードシャー ステューブニッジ ガネルズ ウ
ッド ロード ステューブニッジ バイオサイエンス カタリスト シーノオー タスク セラピューテ
ィクス リミテッド

(72)発明者 モウルダー ケヴィン

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス ハートフォードシャー ステューブニッジ ガネルズ ウ
ッド ロード ステューブニッジ バイオサイエンス カタリスト シーノオー タスク セラピューテ
ィクス リミテッド

(72)発明者 アイスラー ニナ

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス ハートフォードシャー ステューブニッジ ガネルズ ウ
ッド ロード ステューブニッジ バイオサイエンス カタリスト シーノオー タスク セラピューテ
ィクス リミテッド

(72)発明者 サリム ジョセフィン

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス ハートフォードシャー ステューブニッジ ガネルズ ウ
ッド ロード ステューブニッジ バイオサイエンス カタリスト シーノオー タスク セラピューテ
ィクス リミテッド

(72)発明者 フィロスト シモーヌ

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス ハートフォードシャー ステューブニッジ ガネルズ ウ
ッド ロード ステューブニッジ バイオサイエンス カタリスト シーノオー タスク セラピューテ
ィクス リミテッド

(72)発明者 ゴイエンチェア コルソ ペアトリス

イギリス国 エスジー 1 2 エフエックス ハートフォードシャー ステューブニッジ ガネルズ ウ
ッド ロード ステューブニッジ バイオサイエンス カタリスト シーノオー タスク セラピューテ
ィクス リミテッド

(72)発明者 バルーア ヘマンタ

アメリカ合衆国 0 3 7 6 6 ニュー ハンプシャー レバノン ルーセント ドライブ 7 シーノ
ー アディマブ エルエルシー

(72)発明者 プリンツ ビアンカ

アメリカ合衆国 0 3 7 6 6 ニュー ハンプシャー レバノン ルーセント ドライブ 7 シーノ
ー アディマブ エルエルシー

審査官 進士 千尋

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 6 / 0 7 1 3 5 5 (W O , A 1)

特表 2 0 1 4 - 5 0 9 1 8 7 (J P , A)

米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 1 2 3 9 5 0 (U S , A 1)

Clinical Cancer Research, 2014, Vol.20, No.17, pp.4574-4583

Blood, 2014, Vol.124, No.21, 3474

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 1 3

C 0 7 K 1 6 / 2 8

C 0 7 K 1 6 / 4 0

C 1 2 P 2 1 / 0 8

C 1 2 N 1 / 1 5

C 1 2 N 1 / 1 9

C 1 2 N 1 / 2 1

C 1 2 N 5 / 1 0

C 1 2 N 1 5 / 6 3
A 6 1 K 3 9 / 3 9 5
A 6 1 K 4 7 / 6 8
A 6 1 P 7 / 0 0
A 6 1 P 3 5 / 0 0
A 6 1 P 3 5 / 0 2
A 6 1 K 4 5 / 0 0
A 6 1 K 4 9 / 0 0
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)
U n i P r o t / G e n e S e q
J S T P l u s (J D r e a m I I I)
J M E D P l u s (J D r e a m I I I)
J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)