

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-529676

(P2015-529676A)

(43) 公表日 平成27年10月8日(2015.10.8)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A61K 39/00</b> (2006.01)	A 61 K 39/00	Z 4 C084
<b>A61K 39/395</b> (2006.01)	A 61 K 39/395	N 4 C085
<b>A61K 39/12</b> (2006.01)	A 61 K 39/395	D 4 H045
<b>A61K 39/235</b> (2006.01)	A 61 K 39/12	
<b>A61K 39/145</b> (2006.01)	A 61 K 39/235	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 56 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-531646 (P2015-531646)	(71) 出願人	597134902 ザ ユニバーシティ オブ バーミンガム The University of B irmingham イギリス、バーミンガム ビー15 2テ ィーティー、エッジバストン (番地なし) Edgbaston Birmingham B15 2TT United Ki ngdom
(86) (22) 出願日	平成25年9月17日 (2013.9.17)	(74) 代理人	110000729 特許業務法人 ユニアス国際特許事務所
(85) 翻訳文提出日	平成27年5月14日 (2015.5.14)		
(86) 國際出願番号	PCT/GB2013/052427		
(87) 國際公開番号	W02014/045022		
(87) 國際公開日	平成26年3月27日 (2014.3.27)		
(31) 優先権主張番号	1216649.2		
(32) 優先日	平成24年9月18日 (2012.9.18)		
(33) 優先権主張国	英國 (GB)		

最終頁に続く

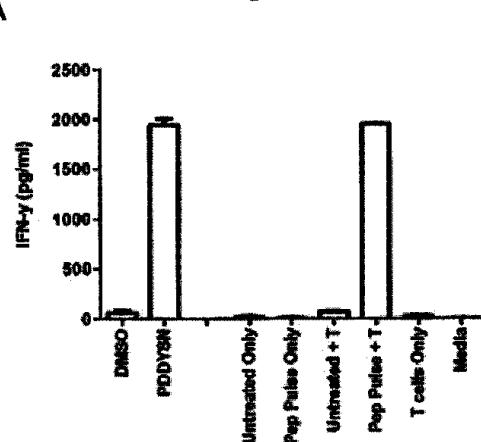
(54) 【発明の名称】作用物質および方法

## (57) 【要約】

本発明は、(i) T細胞抗原、および(ii) CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかの結合パートナーを含む作用物質であって、該作用物質がCD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞に結合した後、該作用物質が内部移行し、該T細胞抗原が、T細胞によって認識されうる形態で該細胞の表面に提示される、作用物質に関する。

【選択図】図2 A

Figure 2



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(i) T細胞抗原、および

(ii) CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかの結合パートナー

を含む作用物質であって、該作用物質がCD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞に結合した後、該作用物質が内部移行し、該T細胞抗原が、T細胞によって認識されうる形態で該細胞の表面に提示される、作用物質。

10

## 【請求項 2】

前記T細胞抗原が、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかの前記結合パートナーに付着し、その結果前記T細胞抗原が、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する前記細胞内で前記結合パートナーから放出されうる、請求項1に記載の作用物質。

20

## 【請求項 3】

前記T細胞抗原が、細胞内プロテアーゼによって前記結合パートナーから放出されうる、請求項2に記載の作用物質。

## 【請求項 4】

前記作用物質が、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞に結合した後、前記作用物質が内部移行し、前記T細胞抗原が、MHC分子またはグループI CD1分子に結合することによって前記細胞の表面に提示される、請求項2に記載の作用物質。

## 【請求項 5】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかの前記結合パートナーが、抗体、ホルモン、増殖因子、サイトカイン、または受容体リガンドのいずれかである、請求項1から4のいずれかに記載の作用物質。

30

## 【請求項 6】

前記結合パートナーが抗体である、請求項5に記載の作用物質。

## 【請求項 7】

前記抗体が、BU69またはSGN-70またはSGN-75などの抗CD70抗体である、請求項6に記載の作用物質。

## 【請求項 8】

前記抗体が、ミラツズマブなどの抗CD74抗体である、請求項6に記載の作用物質。

40

## 【請求項 9】

前記T細胞抗原が、対象における既存のT細胞応答を誘発することができるものである、請求項1から8のいずれかに記載の作用物質。

## 【請求項 10】

前記T細胞抗原が、ペプチド、ポリペプチド、ホスホペプチド、またはリン脂質もしくはスフィンゴ脂質などの脂質のいずれかである、請求項1から9のいずれかに記載の作用物質。

## 【請求項 11】

前記抗原がウイルス由来抗原である、請求項9または10に記載の作用物質。

## 【請求項 12】

50

前記抗原が、エプスタインバーウイルス（例えば、HHV4）、サイトメガロウイルス（例えば、ヒトサイトメガロウイルス）、水痘带状疱疹ウイルス、単純ヘルペスウイルス、アデノウイルス、ライノウイルス、インフルエンザウイルスのいずれかに由来し、または破傷風トキソイドなどのワクチンに由来する、請求項1から11のいずれかに記載の作用物質。

【請求項13】

前記T細胞抗原が、MHCクラスII拘束性抗原、またはグループI CD1分子に結合することができる抗原である、請求項1から12のいずれかに記載の作用物質。

【請求項14】

医療で使用するための、請求項1から13のいずれかに記載の作用物質。

10

【請求項15】

請求項1から13のいずれかに記載の作用物質、および薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項16】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置する方法であって、請求項1から13のいずれかに記載の作用物質を投与するステップを含む、方法。

【請求項17】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態の予防または処置において使用するための、請求項1から13のいずれかに記載の作用物質。

20

【請求項18】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の調製における、請求項1から13のいずれかに記載の作用物質の使用。

【請求項19】

前記対象に前記作用物質を投与するステップの前に、(i)前記対象のMHC対立遺伝子、および(ii)T細胞抗原に対する前記対象の細胞傷害性T細胞応答の一方または両方が判定される、請求項16に記載の方法。

30

【請求項20】

さらなる治療剤を前記対象に投与するステップをさらに含む、請求項16または19に記載の方法。

【請求項21】

(i)請求項1から13のいずれかに記載の作用物質、および(ii)さらなる治療剤を含む組成物またはキットオブパーツ。

【請求項22】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態の予防または処置において使用するための、請求項1から13のいずれかに記載の作用物質およびさらなる治療剤。

40

【請求項23】

前記対象がさらなる治療剤も投与される、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態の予防または処置において使用するための請求項1から13のいずれかに記載の作用物質。

【請求項24】

50

前記対象が請求項 1 から 13 のいずれかに記載の作用物質も投与される、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態の予防または処置において使用するための治療剤。

【請求項 25】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の調製における、請求項 1 から 13 のいずれかに記載の作用物質およびさらなる治療剤の使用。

10

【請求項 26】

前記対象がさらなる治療剤も投与される、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の調製における、請求項 1 から 13 のいずれかに記載の作用物質の使用。

【請求項 27】

前記対象が請求項 1 から 13 のいずれかに記載の作用物質も投与される、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の調製における治療剤の使用。

20

【請求項 28】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる前記状態が、腫瘍（良性もしくは悪性）または自己免疫状態のいずれかである、請求項 1 から 14、17、および 22 から 24 のいずれかに記載の作用物質、請求項 16、19、および 20 のいずれかに記載の方法、請求項 15 もしくは 21 に記載の組成物もしくはキットオブパーツ、または請求項 18 および 25 から 27 のいずれかに記載の使用。

30

【請求項 29】

CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる前記状態が腫瘍であり、前記作用物質中の前記 T 細胞抗原がペプチドである、請求項 1 から 14、17、22 から 24、および 28 のいずれかに記載の作用物質、請求項 16、19、20、および 28 のいずれかに記載の方法、請求項 15、21、および 28 のいずれかに記載の組成物もしくはキットオブパーツ、または請求項 18 および 25 から 28 のいずれかに記載の使用。

40

【請求項 30】

前記治療剤が、CD22、CD23、CD30、CD74、CD70、CD43、CD44、CD47、CD54、CD58、CD62L、CD95、HLA-DR、CD59、CD55 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる前記状態を予防または処置するのに適しているものである、請求項 20、28、および 29 のいずれかに記載の方法、請求項 21、28、および 29 のいずれかに記載の組成物もしくはキットオブパーツ、請求項 22 から 24、28、および 29 のいずれかに記載の作用物質、または請求項 25 から 29 のいずれかに記載の使用。

【請求項 31】

前記さらなる治療剤が、ワクチン、免疫刺激薬、生ウイルス、抗がん剤、本発明の作用物質に対する抗体応答の阻害剤、およびプロテアーゼ阻害剤のいずれか 1 種または複数で

50

ある、請求項 20 および 28 から 30 のいずれかに記載の方法、請求項 21 および 28 から 30 のいずれかに記載の組成物もしくはキットオブパーツ、請求項 22 から 24 および 28 から 30 のいずれかに記載の作用物質、または請求項 25 から 30 のいずれかに記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫療法剤に関する。特に、本発明は、腫瘍または他の疾患を引き起こす細胞などの望まれない細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するのに使用されうる作用物質に関する。

10

【背景技術】

【0002】

悪性疾患を標的にする免疫療法戦略は、トランスレーショナルな臨床研究の活発な分野であり、数十年にわたって存在している。現在のモデルは、がんが宿主の免疫療法操作で処置されうる機能的または体質的免疫不全症を代表することを指示している。これらの取り組みは、2つの群に広く分類されうる。第1の群は、ワクチン接種、サイトカインサポート (IL-2、IFN)、または免疫抑制環境の低減 (イピリムマブ) などの対策によって内因性抗腫瘍免疫を増強またはサポートする機能を果たし、一方、第2の群は、機能的免疫応答の成分の絶対的欠乏を回復することを求める (抗体を用いた受動免疫療法、TCR導入、幹細胞移植、および養子免疫療法)。これらの手法は、高度に有効な機能的抗腫瘍免疫応答が実際に可能であるという主張によって統一されている。いくつかの場合において、有効な抗腫瘍免疫応答についての議論の余地のない証拠が存在するが、腫瘍免疫学のこの心柱は、大きな取り組みにもかかわらず、がんを有する患者の大多数にとって利用可能な有効な免疫療法はまったくないという現在の臨床的現実によって圧倒的に論駁されている。ほとんどすべてのがんワクチン接種治験は、否定的な結果をもたらしており、陽性データをもたらすものは、最も頻繁には小さい効果を実証している。現実は、治療抗体は、わずかな例外があるものの、腫瘍学の分野では非常に少ない臨床的利益を提供するということである。

20

【0003】

悪性組織を代わりに標的にするように内因性抗ウイルス免疫応答を効率的に分子的に再指向することができる治療戦略を開発することができれば、それは、悪性疾患を処置するための新しい強力で安全な手法を提供することができる。

30

【0004】

大多数の細胞傷害性治療抗体は、補体依存性細胞傷害 (CDC) および抗体依存性細胞傷害 (ADCC) などのその抗がん効果をもたらすのに免疫学的エフェクター機構を利用する。重要なことに、すべての細胞 (健康および悪性の両方) は、自己免疫を防ぐために免疫応答による攻撃を制限する多数の機構を有する。これは、高レベルの組織反応性抗体が、しばしば臓器炎症を誘起するが、めったに完全な臓器破壊を誘導しない自己免疫疾患との関連で明白である。実際に、真性糖尿病などの完全な組織破壊が観察される自己免疫疾患は、抗体指向機構ではなくCTL応答に依存することが知られている。

40

【0005】

治療抗体の芳しくない有効性を改善するために、細胞傷害性エフェクター機構 (例えば、糖鎖工学) とより良好に関係する免疫複合体 (放射性核種 / 毒素) および操作された抗体が使用されている。しかし、このような作用物質の臨床試験は、大部分は失望させるまであり、毒性に悩まされている。一例は、抗腫瘍剤に腫瘍を選択的に標的とするよう開発された抗体-薬物コンジュゲート (ADC) である (US5,773,001; US5,767,285; US5,739,116; US5,693,762; US5,585,089; US2006/0088522; US2011/0008840; US7,659,241; Hughes (2010)、Nat Drug Discov, 9: 6

50

65、Lash(2010)；In vivo: The Business & Medicine Report, 32~38；Mahatoら(2011)、Adv Drug Deliv Rev, 63:659；Jeffreyら(2006)、BMC L, 16:358；Drugs R D, 11(1):85~95を参照)。ADCは一般に、腫瘍細胞に存在する標的に対するモノクローナル抗体、細胞傷害性薬、および抗体を薬物に付着させるリンカーを含む。しかし、ほんの数種のADCが現在、臨床開発の後期にあり、臨床的成功が達成しにくいことが証明されているものである。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

10

したがって、より大きい有効性およびより低い毒性を有するより有効な免疫療法剤の要望が残っている。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明の作用物質は、再指向免疫療法(re-directed immunotherapy)の一例である。これは、がんなどの状態における望まれない細胞を標的にするように外来抗原を持つ細胞を通常標的にする既存の免疫応答を再指向する概念に関する。この概念は、望まれない細胞が免疫細胞の標的になるように、望まれない細胞のマーカー抗原の提示を必要とする。

【0008】

20

WO 95/17212には、ペプチド性T細胞抗原および細胞結合パートナーからなるコンジュゲート、ならびに再指向免疫療法におけるこれらの使用が記載されている。コンジュゲートは、結合パートナーが表面受容体に結合した後、標的細胞内に内部移行すると言われ、T細胞抗原がコンジュゲートからプロセシングされ、MHC分子との複合体の形態で細胞表面に発現される。T細胞受容体が複合体を認識すると、標的細胞に対する細胞毒性T細胞応答が誘導される。しかし、どの結合パートナーが内部移行、およびしたがって後続のT細胞抗原の提示を可能にし、どれが可能にしないかは、WO 95/17212から予測することができない。有効にペプチド抗原を提示することが示された唯一の受容体は、B細胞の抗原受容体であった。その通常の役割は、ヘルパーT細胞を提示するために抗原に結合しそれを内部移行させることである。しかし、WO 95/17212には、もしあればどの他の受容体が同じ結果をもたらすことが保証されているかについてのガイドンスが提供されていない。

30

【0009】

驚くべきことに、かつ予想外に、本発明者らは、再指向免疫療法において有用性を有する特定の抗原、すなわちCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95を今では同定している。ウイルス由来ペプチドを有するこれらの抗原のそれぞれを標的にすると、in vitroでウイルス特異的T細胞の活性化が増大し、驚くべきことに、抗原のそれぞれがペプチドの内部移行、および細胞表面での後続の提示を可能にすることを示す。

40

【0010】

CD70(TNF<sub>SF7</sub>)は、腫瘍壞死因子(TNF)スーパーファミリーのメンバーである。これは、II型内在性膜タンパク質であり、CD27のリガンドである。このタンパク質は、抗原活性化TおよびBリンパ球内で一過性に発現され、CD27との相互作用により、T-およびB-細胞機能が調節される。特に、このタンパク質は、標的細胞の死、生存、および同時刺激を制御するように作用する。CD70は、正常リンパ球および樹状細胞の限られたサブセットによって発現されるが、広い範囲の血液悪性腫瘍および一部の固形腫瘍によって異常に発現される。

【0011】

CD74は、MHCクラスIIシャペロンであり、免疫細胞で炎症性サイトカインマク

50

ロファージ遊走阻止因子（MIF）の膜受容体として機能する。MIFがCD74に結合すると、MAPKおよびAkt経路によって下流シグナル伝達が活性化され、細胞増殖および生存が促進される。免疫細胞による発現と並んで、CD74過剰発現がいくつかの非CNSがんにおいて観察されており、これらの腫瘍中のCD74発現は一般に、攻撃的挙動および芳しくない患者予後に関連する。

## 【0012】

CD22は、そのN末端に位置した免疫グロブリン（Ig）ドメインを有するシアル酸に特異的に結合するレクチンのSIGLECファミリーに属する分子である。これは、成熟B細胞の表面に見つかり、いくつかの未成熟B細胞により少ない程度に見つかる。CD22は、免疫系の過剰活性化および自己免疫疾患の発症を予防する調節分子であると考えられている。これは、慢性リンパ球性白血病および非ホジキンリンパ腫を含めた多くのB細胞悪性腫瘍に存在する。

10

## 【0013】

染色体6のヒト白血球抗原複合体によってコードされるHLA-DR MHCクラスII細胞表面受容体。HLA-DRおよびそのリガンドの複合体は、長さが9アミノ酸以上のペプチドであり、T細胞受容体（TCR）のリガンドを構成する。HLA-DR分子は、シグナル伝達に応答して上方制御される。HLA-DRは、HLA-DR発現の増大がより良好な予後の転帰に関係する、結腸直腸癌を含めた様々ながんで見つかる。

20

## 【0014】

CD23は、アレルギー、および寄生虫に対する耐性に関与する抗体アイソタイプであるIgEの「低親和性」受容体であり、IgEレベルの調節において重要である。抗体受容体の多くと異なり、CD23は、C型レクチンである。これは、成熟B細胞、活性化マクロファージ、好酸球、濾胞樹状細胞、および血小板に見つかる。CD23は、B細胞悪性腫瘍、例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、およびB細胞慢性リンパ球性白血病などにおいてB細胞に見つかる。

20

## 【0015】

CD30は、腫瘍壊死因子受容体ファミリーの細胞膜タンパク質および腫瘍マーカーである。この受容体は、活性化TおよびB細胞によって発現されるが、休止TおよびB細胞によって発現されない。TRAF2およびTRAF5は、この受容体と相互作用することができ、NF-カッパBを活性化するシグナル伝達を媒介する。これは、アポトーシスの正の調節因子であり、自己反応性CD8エフェクターT細胞の増殖能を制限し、自己免疫に対して体を保護することも示されている。CD30は、未分化大細胞リンパ腫を含めたT細胞リンパ腫に見つかり、ホジキンリンパ腫を含めたB細胞リンパ腫によって発現されている。

30

## 【0016】

CD43は、ヒトTリンパ球、単球、顆粒球、およびいくつかのBリンパ球の表面の重要なシアロ糖タンパク質であり、これは、免疫機能に重要であると思われ、T細胞活性化に関与する生理学的リガンド-受容体複合体の一部でありうる。CD43は、T細胞リンパ腫の90%超で存在し、B細胞リンパ芽球性リンパ腫を実証するパネルの一部としても有用であり得、理由は、この状態における悪性細胞がCD43陽性であることが多いためである。これはまた、顆粒球およびこれらの前駆体を染色し、したがって、骨髄腫瘍の有効なマーカーでありうる。

40

## 【0017】

CD44は、細胞間相互作用、細胞接着、および遊走に関与する細胞表面糖タンパク質である。これは、ヒアルロン酸の受容体であり、他のリガンド、例えば、オステオポンチン、コラーゲン、およびマトリックスマタロプロテイナーゼ（MMP）などと相互作用することもできる。これは、リンパ球活性化、再循環およびホーミング、造血、および腫瘍転移を含めた多種多様な細胞機能に参加する。CD44は、様々なスプライス形式で見つかり、CD44のバリエーションは、いくつかの乳がんおよび前立腺がんの幹細胞の細胞表面マーカーとして報告されている。これは、上皮性卵巣がん患者の生存時間の延長の指

50

標としても見られている。CD44バリエントアイソフォームはまた、頭頸部扁平上皮癌の進行に関連している。

【0018】

CD47は、細胞外マトリックスへの細胞接着後に起こる細胞内カルシウム濃度の増大に関与する膜タンパク質である。このタンパク質は、トロンボスponginのC末端細胞結合性ドメインの受容体でもあり、膜輸送およびシグナル伝達において役割を果たすことができる。CD47は、多くのタイプのがんで見つかる分子であり、マクロファージによる通常のスカベンジングから隠すために膀胱がん細胞によって使用される。

【0019】

CD54（細胞内接着分子1としても公知）は、一般に内皮細胞および免疫系の細胞で発現される細胞表面糖タンパク質である。これは、タイプCD11a / CD18またはCD11b / CD18のインテグリンに結合する。CD54は、転移において役割を果たすことと関係付けられているB細胞リンパ芽球性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、および他の内皮がんでも見つかる。

10

【0020】

CD55（補体崩壊促進因子としても公知）は、細胞表面の補体系を調節する70kDaの膜タンパク質である。C3bBb複合体（第2経路のC3-コンバターゼ）のアセンブリーを防止し、または事前に形成されたコンバターゼの解体を促進し、したがって細胞膜傷害複合体の形成を遮断する。この糖タンパク質は、造血および非造血細胞の中で広く分布している。これは、結腸直腸および前立腺を含めた多くの内皮癌で見つかる。

20

【0021】

CD58は、抗原提示細胞（APC）、特にマクロファージに発現される細胞接着分子である。これは、T細胞のCD2に結合し、T細胞とプロフェッショナル抗原提示細胞との間の接着の強化に重要である。この接着は、T細胞がペプチド：MHC複合体のAPCの表面を見てリンパ節を放浪しているとき、T細胞活性化の前のT細胞と抗原提示細胞との間の一過性の最初の遭遇の一部として起こる。これは、B細胞リンパ芽球性リンパ腫および粘膜関連リンパ組織リンパ腫を含めた多くのリンパ腫で発現される。

20

【0022】

CD59は、C5b678に結合し、C9が結合および重合するのを防止することによって補体膜侵襲複合体を阻害する。これは、「自己」細胞上に、補体がこれらに損傷を与えるのを防止するために存在する。これは、広い組織分布を有し、乳がんおよび前立腺がんと関係付けられている。

30

【0023】

CD62Lは、リンパ球に見つかる細胞接着分子である。これは、シアル化炭水化物基を認識するタンパク質のセレクチンファミリーに属する。これは、ADAM17によって切断される。これは、リンパ球が高内皮細静脈を介して二次リンパ組織に入るための「ホーミング受容体」として作用する。これは、慢性リンパ球性白血病を含めたB細胞リンパ腫、および成人T細胞リンパ腫を含めたT細胞リンパ腫で見つかっている。

【0024】

CD95（Fasリガンドとしても公知）は、プログラム細胞死（アポトーシス）に導く細胞表面の細胞死受容体である。これは、多くの細胞型で見つかり、卵巣癌および結腸直腸癌を含めた多くのタイプのがんにおいて関係付けられている。

40

【発明を実施するための形態】

【0025】

したがって、本発明の第1の態様は、

(i) T細胞抗原、および

(ii) CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナー

を含む作用物質であって、作用物質がCD70、CD74、CD22、HLA-DR、C

50

D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞に結合した後、作用物質が内部移行し、T 細胞抗原が、T 細胞によって認識されうる形態で細胞の表面に提示される、作用物質を提供する。

## 【 0 0 2 6 】

疑義を回避するために、結合パートナーが C D 7 0 に対するものであるとき、作用物質は、C D 7 0 を発現する細胞に結合するなどである。

## 【 0 0 2 7 】

## T 細胞抗原

「T 細胞抗原」とは、T 細胞応答を誘発するようにT 細胞に提示されうる任意の抗原の意味を含む。例えば、T 細胞抗原は、C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の表面で M H C 分子またはグループ I C D 1 分子によってT 細胞に提示されうる。抗原が細胞の表面に提示された後、細胞は、異質なものとして認識され、T 細胞の標的となり、T 細胞の一部は、異質な生物、例えば、ウイルス、真菌、細菌、マイコバクテリア、もしくは原生動物などによって感染された、またはがん性（例えば、悪性）となった異質細胞を排除する自然の機能を有する。したがって、T 細胞抗原は、C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する望まれない細胞の分子によって提示されうるものであってもよいことが理解されるであろう。

## 【 0 0 2 8 】

T 細胞抗原は、本発明の作用物質が投与される対象において既存のT 細胞応答を誘発することができるものであることが理解されるであろう。一般に、T 細胞抗原は、A P C 内の交差提示を介してその抗原の新しい一次T 細胞応答を生じるものではない。別の言い方をすれば、T 細胞抗原は、対象内のいくつかのT 細胞が既に感作されているものである。対象の細胞が所与の抗原に対して感作されているか否かの判定は、以下および実施例でさらに記載するように、対象に由来する単離された末梢血単核細胞を抗原と接触させ、細胞増殖の標準アッセイを使用することによって行うことができる。

## 【 0 0 2 9 】

一実施形態では、本発明の作用物質は、その中に含まれているT 細胞抗原に特異的な新しいT 細胞応答を生じるものではない。したがって、本発明は、T 細胞抗原、および C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかの結合パートナーを含む作用物質であって、作用物質が C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞に結合した後、作用物質が内部移行し、T 細胞抗原が、T 細胞によって認識されうる形態で細胞の表面に提示され、T 細胞抗原が対象における既存のT 細胞応答を誘発することができる、作用物質を含む。

## 【 0 0 3 0 】

「T 細胞」とは、C D 4 + 、 C D 8 + 、 T 細胞、および N K - T 細胞を含めたすべてのタイプのT 細胞を含む。好ましくは、T 細胞は、C D 4 + T 細胞であり、このうち、ヘルパーおよび細胞傷害性 C D 4 + T 細胞の両方が公知である（A p p a y V ( 2 0 0 4 ) 、 C l i n E x p I m m u n o l 、 1 3 8 ( 1 ) : 1 0 ~ 1 3 ）。

## 【 0 0 3 1 】

当技術分野で知られているように、抗原提示の機構は、T 細胞のタイプに依存することとなる。任意の提示ルートを使用してもよく、ただし抗原は、T 細胞応答を誘発することができる。言い換えれば、本発明の作用物質が内部移行した後、T 細胞抗原は、T 細胞応答を誘発することができるよう細胞の表面に提示され得なければならない。好まし

10

20

30

40

50

くは、以下でさらに記載するように、T細胞抗原は、MHCクラスIIプロセシング機構に入り、MHCクラスII分子に提示される。

【0032】

好ましくは、T細胞抗原は、免疫優勢抗原（例えば、既存の免疫優性応答を誘発する抗原）である。「免疫優性」とは、抗原が抗原を持つ細胞を殺すことにおいて高い規模、感度、組織ホーミング特性、および効率を伴ってT細胞応答を誘発する意味を含む。一般に、免疫優性応答は、対象のCD8<sup>+</sup>またはCD4<sup>+</sup>T細胞の0.1%超を占める。所与の抗原に対するT細胞応答の程度の判定は、例えば対象に由来する単離された末梢血単核細胞を抗原と接触させ、当技術分野で公知の細胞増殖の標準アッセイを使用することによって行うことができる。免疫応答の程度を判定するのに適当なアッセイとしては、ELISPOT、細胞内サイトカイン染色、HLA-ペプチド四量体染色、増殖アッセイ、活性化アッセイ（例えば、CD69）、CD107動員アッセイ、または代謝アッセイ（例えば、MTT）がある。

10

【0033】

適当なT細胞抗原の例としては、ペプチド、ポリペプチド、ホスホペプチド、またはリン脂質もしくはスフィンゴ脂質などの脂質のいずれかがあり、これらのそれぞれのさらなる例を以下に示す。最も好ましくは、T細胞抗原は、ペプチドまたはポリペプチドである。

20

【0034】

T細胞抗原がペプチドまたはポリペプチドである場合、一般にこれは、MHCクラスII分子に結合しているとき、T細胞受容体によって認識されうるものである。T細胞抗原は、MHCクラスII分子のみに結合するMHCクラスII拘束性抗原でありうる。抗原は、特定のバリエントMHCクラスII分子（例えば、特定の対象において見つかる天然バリエント）のみに結合する場合があり、または抗原は、任意のMHCクラスII分子に結合することができる場合がある（すなわち、抗原は、無差別である）ことが理解される。

20

【0035】

一実施形態では、T細胞抗原は、MHCクラスII分子、例えば、HLA-DP、HLA-DQ、またはHLA-DRのいずれかなどに結合することができる。一般的なMHCクラスIIタイプとしては、DR1、DR3、DR4、DR7、DR52、DQ1、DQ2、DQ4、DQ8、およびDP1がある。MHCクラスII分子は、抗原提示細胞、例えば、樹状細胞、B細胞、およびマクロファージなどを含めた免疫細胞に発現される。したがって、T細胞抗原がMHCクラスIIに拘束されている場合、本発明の作用物質は、リンパ腫または自己免疫疾患などの症状を処置するのに使用することができる。しかし、MHCクラスII分子は、非免疫細胞で上方制御され得（例えば、IFN-ガンマで刺激された後）、したがって他の状態も処置されうることが理解されるであろう。

30

【0036】

使用することができる無差別ペプチドの一例は、Alexanderら（2000）、The Journal of Immunology、164：1625～1633で定義されたPADRE MHCクラス-IIエピトープ；aKXVAWTLLKAAZC（a=d-アラニン、X=L-シクロヘキシリアルアラニン、Z=アミノカプロン酸）（配列番号1）である。このエピトープは、人工物であるので、これは、本発明の作用物質を投与する前に免疫応答を生じさせるためにワクチンで患者に最初に導入される必要がある。使用することができる別の無差別ペプチドは、破傷風断片Cペプチドである。

40

【0037】

好都合なことには、T細胞抗原は、MHCクラスII分子によって認識される免疫原性ペプチドである。このようなペプチドは通常、9～22アミノ酸の長さを有する。好ましくは、ペプチドは、免疫優性ペプチドである。

【0038】

免疫優性ペプチドの例には、内因性抗ウイルス応答を誘発するウイルス由来ペプチドが

50

含まれる。したがって、ペプチドは、内因性ウイルス、例えば、水痘-帯状疱疹ウイルス、単純ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、エピスタインバーウイルス、またはインフルエンザなどに由来しうる。本明細書に記載の結合パートナーのいずれか（例えば、CD22結合パートナー）と組み合わせて使用することができる特に好適な例は、ヒトサイトメガロウイルス（CMVもしくはヒトヘルペスウイルス5/HHV5）またはエピスタイン-バーウイルス（EBVもしくはHHV4）；ヘルペスウイルス、例えば、HHV1、HHV2、およびHHV3など；インフルエンザウイルスA；インフルエンザウイルスB；ライノウイルス；アデノウイルス；ならびにヘパドナウイルスに由来するペプチドがあり、これらの具体例は、以下に示されている。

## 【0039】

10

ヒトサイトメガロウイルス（HHV5）については、免疫優勢抗原は、よく特徴付けられており（参照により本明細書に組み込まれているSylwester AWら、J. Exp. Med.、2005年9月5日；202(5)：673～85を参照）、したがってSylwesterらに記載されている抗原を本発明で使用することができる。特に、Sylwesterらは、213の予測されたヒトCMVタンパク質について、10アミノ酸が重複している連続した15merのペプチドを合成した。これにより、ORFまたはサブORF特異的ミックスに配列された13, 687ペプチドが生成された。ORF UL55(gB)、UL83(pp65)、UL86、UL99(pp28)、UL122(IE2)、UL36、UL48、UL32(pp150)、UL113、IRS-1、UL123(IE1)、UL25、UL141、UL52、およびUL82(pp71)に由来するペプチドは、ほとんどのCD4+T細胞応答を誘発することが見出された。したがって、ペプチドがこれらのORFの1つに由来する場合、これは特に好適である。

20

## 【0040】

使用することができる特定のサイトメガロウイルスT細胞抗原を以下に列挙する。

## 【0041】

30

pp65などのサイトメガロウイルス抗原のCD4+T細胞エピトープは、PQYS EHPFTSQYRIQ（配列番号1）、FTSQYRIQGKLEYRHT（配列番号2）、LLQTGIGHVRVSQL（配列番号43）、NPQPFMRPHERN GFT（配列番号4）、EPDVYYTSAFVFPPTK（配列番号5）、IIKPGKISHIMLDVA（配列番号6）、AGILALARNLVPMPVATV（配列番号7）、KYQEFFFWDANDIYRI（配列番号8）を含み、；gBについて、これらは、DYSNTHSTRYV（配列番号9）、CMLTITTARSKYPYH（配列番号10）、およびVFETSGGLVVFWQGI（配列番号11）を含み；IE1について、これらは、VRVDMVRHRIKEHMLKKYTQ（配列番号12）およびNYIVPEDKREMWMACIKE LH（配列番号13）を含み；gHについて、これらは、HELLVLVKKAQL（配列番号14）を含む。

## 【0042】

40

エピスタインバーウイルス（EBVまたはHHV4）について、免疫優性タンパク質もよく特徴付けられており、Hiscoop ADら、Ann Rev Immunol.、2007；25：587～617（参照により本明細書に組み込まれている）に示されている。Hiscoopらから適応させた適当なT細胞エピトープのリストを以下に示す。

## 【0043】

## 【表1】

表3: EBV溶菌および潜伏周期タンパク質(cycle protein)において同定されたCD4+  
T細胞エピトープ(Hislopらから適応)

EBV 抗原	エピトープ 座標	エピトープ 配列	(配列 番号)	HLA 拘束
<b>潜伏周期タンパク質</b>				
EBNA1	71-85	RRPQKRPSCIGCKGT	(15)	10
	403-417	RPFHPVGEADYFEY	(16)	
	429-448	VPPGAIEQGPADDPGEGPST	(17)	
	434-458	EQGPTDDPGEGPSTGPRGQ		
		GDGGR (18)		
	455-469	DGGRRKKGGWFGRHR	(19)	
	474-493	SNPKFENIAEGLRVLLARSH	(20)	
	475-489	NPKFENIAEGLRALL	(21)	
	479-498	ENIAEGLRVLLARSHVERTT	(22)	DQ7
	481-500	AEGLRALLARSHVERTTDE	(23)	DQ2/3
	485-499	LRALLARSHVERTTD	(24)	20
	499-523	EEGNWVAGVFVYGGSKTSLY		
		NLRRG (25)		
	509-528	VYGGSKTSLYNLRRGTALAI	(26)	
	515-528	TSLYNLRRGTALAI	(27)	DR11
	518-530	YNLRRGTALAIIPQ	(28)	DR1
	519-533	NLRRGRTALAIIPQCRL	(29)	DP3
	519-543	EEGNWVAGVFVYGGSKTSLYN		
		LRRG (30)		
	527-541	AIPQCRLTPLSRLPF	(31)	
	529-543	PQCRLTPLSRLPFGM	(32)	DR13
	544-563	APGPGPQPLRESIVCYFM	(S43)	DR14
	549-568	PQPGPLRESIVCYFMVFLQT	(S44)	30
		(34)		
	551-570	PGPLRESIVCYFMVFLQTHI	(35)	DR1
	554-573	LRESIVCYFMVFLQTHIFAE	(36)	
	554-578	LRESIVCYFMVFLQTHIFAEVLKDA	(37)	
	561-573	YFMVFLQTHIFAE	(38)	DR11,12,13
	563-577	MVFLQTHIFAEVLKD	(39)	DR15

	564-583	VFLQTHIIFAEVLKDAIKDL (40)	DP5	
	574-593	VLKDAIKDLVMTKPAFTCNI (41)		
	589-613	PTCNKVTVCASFDDGVDLPPW FPPM (42)		
	594-613	RVTVCASFDDGVDLPPWFPPM (43)		
	607-619	PPWFPPMVEGAAA (44)	DQ2	
EBNA2	11-30	GQTYHLIVDTLALHGGQTYH (45)	DR4	
	46-65	IPLTIFVGENTGVPPPLPPP (46)		
	131-150	MRMLWMMANYIVRQSRGDRGL (47)		10
	206-225	LPPATLVPPRPTRPTTLPP (48)		
	276-295	PRSPPTVFYNIPPMPLPPSQL (49)	DR7,52a,52b,52c	
	280-290	TVFYNIPPMPL (50)	DQ2/DQ7	
	301-320	PAQPPPGVINDQQLHHLPSG (51)	DR17	
EBNA3A	364-383	EDLPCIVSRGGPKVKRPPIF (52)	DR15	
	780-799	GPWVPEQWMFQGAPPSQGTP (53)	DR1	
	649-668	QVADVVRAPGVPMQPQYF (54)		
EBNA3B				20
EBNA3C	66-80	NRGWMQRIRRRLRR (55)		
	100-119	PHDITYPYTARNIRDAACRAV (56)	DR16	
	141-155	ILCFVMAARQRLQDI (57)	DR13	
	386-400	SDDELPYIDPNMEPV (58)	DQ5	
	401-415	QQRPVMFVSRVPAKK (59)		
	546-560	QKRAAPPTVSPSDTG (60)		
	586-600	PPAAGPPAAGPRILA (61)		
	626-640	PPVVRMFMRERQLPQ (62)		
	649-660	PQCFWEMRAGREITQ (63)		
	741-760	PAPQAPYQGYQEPPAPQAPY (64)	DR1/DR4	30
	916-930	PSMPFASDYSQGAFT (65)		
	961-986	AQEILSDNSEISVFPK (66)		
LMP1	11-30	GPPRPPLGPPLSSSIGLALL (67)	DR7 & DR9	
	130-144	LWRLGATIWQLLAFFF (68)		
	181-206	LIWMYYHGPRHTDEHHHDDS (69)	DR16	
	206-225	QATDDSSHESDSNSNEGRHH (70)	DQ2	
	211-236	SSHESDSNSNEGRHLLVSG (71)	DQB1*0601	
	212-226	SGHESDSNSNEGRHHH (72)		
	340-354	TDGGGGHSHDSGHGG (73)		
LMP2	73-87	DYQPLGTQDQSLYLG (74)	DR4 or DR16	
	149-163	STVVTATGLALSLLL (75)		
	169-182	SSYAAAQRKLLTPV (76)		

189-208	VTFFAICLTWRIEDPPFNSI (77)	DRB1*0901
194-213	ICLTWRIEDPPFNSILFALL (78)	DRB1*1001
224-243	VLVMLVLLILAYRRRWRRLT (79)	
385-398	STEFIPNLFCMLLL (80)	
419-438	TYGPVFMSLGGLLTMVAGAV (81)	DQB1*0601

## 溶菌周期タンパク質

10

BHRF1	171-189 122-133 45-57	AGLTLSSLVICSYLFISRG (82) PYVVVDLSVRGM (83) TVVLRYHVLEEI (84)	DR2 DR4 DR4
BZLF1	174-188 207-221	ELEIKRYKNRVASRK (85) KSSENDRLRLLLKQM (86)	DR13 DQB1*0402
BLLF1	61-81	LDLFGQLTPHTKAVYQPRGA (87)	DRw15
(gp350)	65-79 130-144 163-183	FGQLTPHTKAVYQPR (88) VYFQDVFGTMWCHHA (89) DNCNSTNI TAVVRAQGLDVTL (90)	DRB1*1301 DQB1*0402 DRw11
BALF4 (gp110)	482-496 575-589	AWCLETQKRQNMVLRE (91) DNEIFLTKKMTEVCQ (92)	DPB1*1301 DRB1*0801

20

## 【 0 0 4 4 】

T細胞抗原（例えば、ペプチド）は、生きたワクチン、例えば、麻疹、流行性耳下腺炎、風疹（MMR）、もしくはHHV3などに由来するもの；またはマイコバクテリア、特にBCGでの免疫化によって誘起されるものなどの細胞内細菌に由来するものでありうることが理解される。このようなペプチドは、当技術分野で周知である。同様に、T細胞抗原（例えば、ペプチド）は、破傷風トキソイド、例えば、P2、P4、またはP30などに由来しうる。したがって、T細胞抗原（例えば、ペプチド）は、感染性病原体に対する先のワクチン接種によって生じた対象における既存の免疫応答を誘発するものでありうることが理解されるであろう。T細胞抗原に対して感作されたT細胞の数を増やすために、T細胞抗原を含むワクチンで対象をワクチン接種または追加免疫することが望ましい場合があるということになる。例えば、対象は、関連したT細胞抗原を含む本発明の作用物質を投与される前に、破傷風毒素でワクチン接種されてもよい。

30

## 【 0 0 4 5 】

多くの人は、これらのワクチンで小児期にワクチン接種されるので、彼らは、これらのT細胞抗原に対して感作されているT細胞を含んでいる可能性があることが理解されるであろう。したがって、一実施形態では、T細胞抗原は、小児期ワクチンに見つかるもの、好ましくは日常的に使用されるもの、例えば、MMR、麻疹、BCG、黄熱病、ポリオ、V2V、およびインフルエンザなどである。

40

## 【 0 0 4 6 】

好適ではないが、T細胞抗原（例えば、ペプチド）は、対象のT細胞をin vitroで抗原に曝露することによって生じた対象における既存の免疫応答を誘発するものであってもよい。

## 【 0 0 4 7 】

ペプチドは、周知の化学手順、例えば、溶液もしくは固相合成、または当技術分野で公知である従来の溶液法によってカップリングされたタンパク質断片から開始する溶液中の半合成などによって生成することができる。代わりに、ペプチドは、組換え法を含めた

50

確立された方法によって合成することができる。

【0048】

T細胞抗原は、ポリペプチドまたはペプチドであることが好適であるが、他の抗原も免疫応答を誘発することができ、したがって本発明において有用性を有することが分かる。例えば、T細胞は、MHC関連ペプチド抗原を認識せず、MHCに拘束されない。いくつかのT細胞クローニは、小リン酸化分子、ピロリン酸化化合物（例えば、HMB PP（E-4-ヒドロキシ-3-メチル-ブタ-2-エニル-ピロリン酸）およびIPP（イソペンテニルピロリン酸））、アルキルアミン、またはCD1分子と呼ばれる「非古典的な」クラスI MHC様分子によって提示されうる脂質（例えば、リン酸化脂質）を認識する。同様に、NK-T細胞（例えば、V24V11細胞）は、CD1分子に結合した脂質（例えば、-gal-セラミドなどのセラミド）を認識する。したがって、T細胞抗原は、T細胞応答を誘発することが知られているこれらの分子のいずれであってもよい。もちろん、T細胞抗原は、細胞内に作用物質が内部移行した後、これらの分子のいずれかに提示されうるものでなければならない。

10

【0049】

作用物質が、自己免疫性またはアレルギー性疾患を処置するために以下に記載するように使用される場合、T細胞抗原は、それぞれ自己抗原またはアレルゲンでありうることが理解されるであろう。このように、障害の一因となっている免疫応答は、障害と闘うように望まれない細胞に再指向される。

20

【0050】

T細胞抗原は、T細胞応答を依然として誘発することができるという条件で化学修飾することができることが理解される。このような化学修飾として、例えば、ニッケルなどの金属の付加を挙げることができ、理由は、ある特定のアレルギー患者において、結合したニッケル原子を有するペプチドを認識するT細胞があることが示されているためである（Romagnoliら、1991、EMBO J、10:1303~1306）。T細胞抗原は、免疫原性を増強する有機分子によって修飾することもできる（Romeroら、1993、J Immunol、150:3825~3831）。他の修飾としては、リン酸化、アセチル化、アルキル化、アシル化、アミド化、グリコシル化、メチル化、シトルリン化、ニトロ化、硫酸化、およびヒドロキシル化、酸または塩基との塩の形成、末端カルボキシル基のエステルまたはアミドの形成、およびN-t-ブトキシカルボニルなどのアミノ酸保護基の付着がある。

30

【0051】

T細胞抗原がペプチドであるとき、これは、DNAによってコードされる天然に存在するアミノ酸および/あるいは「D」異性型でのアミノ酸を含み、またはN-メチル化アミノ酸、もしくはベータアミノ酸、もしくはペプトイドの使用を組み込んでいる1つまたは複数の非天然アミノ酸を含むことができ、ただしこれは、対応するT細胞によって認識されることが理解される。したがってペプチドは、上述したペプチドのいずれかの構造的フィーチャーを模倣するペプチド「模倣体」、すなわち、ペプチド模倣体でありうる。例えば、T細胞抗原は、レトロ-インベルソペプチドでありうる。

40

【0052】

同様に、T細胞抗原は、ペプチドであるとき、ミモトープ、すなわち、天然エピトープの構造を模倣する天然または非天然アミノ酸から構成されるペプチドでありうる。ミモトープは、T細胞をより強力に刺激することが多い。

【0053】

好ましくは、T細胞抗原は、Tリンパ球の非存在下で実質的に無毒性である。「実質的に無毒性」とは、抗原が、シュードモナス外毒素などの毒素と比較して、相当に低い毒性を有し、または好ましくは、検出可能な毒性をまったく有さないことを意味する。

【0054】

当業者は、<http://www.immuneepitope.org> (Vita R, Zarebski L, Greenbaum JA, Emami H, Hoof I

50

、Salimi N、Damle R、Sette A、Peters B.、The immune epitope database 2.0.、Nucleic Acids Res.、2010年1月；38（データベース版）：D854-62.、Epub、2009年11月11日）で利用可能なデータベースを使用して、本発明で使用されるさらなるT細胞抗原を同定することができるであろう。

#### 【0055】

##### 結合パートナー

「CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナー」とは、それぞれ、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかに結合する任意の分子の意味を含む。このように、本発明の作用物質は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の表面に結合することができる。

#### 【0056】

「CD70」とは、そのアミノ配列が図1Aに示されており、受託番号P32970を有するヒトCD70を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD70の結合パートナーは、図1Aに列挙された配列を有するヒトCD70の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。CD70の結合パートナーには、図1A中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD70、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来するCD70の結合パートナーも含まれる。

#### 【0057】

「CD74」とは、そのアミノ配列が図1Bに示されており、受託番号P04233を有するヒトCD74を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD74の結合パートナーは、図1Bに列挙された配列を有するヒトCD74の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。CD74の結合パートナーには、図1B中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD74、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来するCD74の結合パートナーも含まれる。

#### 【0058】

「CD22」とは、そのアミノ配列が図1Bに示されており、受託番号P20273を有するヒトCD22を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD22の結合パートナーは、図1Cに列挙された配列を有するヒトCD22の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。CD22の結合パートナーには、図1C中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD22、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来するCD22の結合パートナーも含まれる。

#### 【0059】

10

20

30

40

50

「 H L A - D R 」とは、そのアミノ配列が図 1 D に示されており、受託番号 Q 2 9 7 6 9 を有するヒト H L A - D R を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、 H L A - D R の結合パートナーは、図 1 D に列挙された配列を有するヒト H L A - D R の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の 1 つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。 H L A - D R の結合パートナーには、図 1 D 中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種における H L A - D R 、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来する H L A - D R の結合パートナーも含まれる。

10

## 【 0 0 6 0 】

「 C D 2 3 」とは、そのアミノ配列が図 1 E に示されており、受託番号 P 0 6 7 3 4 を有するヒト C D 2 3 を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、 C D 2 3 の結合パートナーは、図 1 E に列挙された配列を有するヒト C D 2 3 の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の 1 つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。 C D 2 3 の結合パートナーには、図 1 E 中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種における C D 2 3 、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来する C D 2 3 の結合パートナーも含まれる。

20

## 【 0 0 6 1 】

「 C D 3 0 」とは、そのアミノ配列が図 1 F に示されており、受託番号 P 2 8 9 0 8 を有するヒト C D 3 0 を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、 C D 3 0 の結合パートナーは、図 1 F に列挙された配列を有するヒト C D 3 0 の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の 1 つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。 C D 3 0 の結合パートナーには、図 1 F 中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種における C D 3 0 、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来する C D 3 0 の結合パートナーも含まれる。

30

## 【 0 0 6 2 】

「 C D 4 3 」とは、そのアミノ配列が図 1 G に示されており、受託番号 P 1 6 1 5 0 を有するヒト C D 4 3 を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、 C D 4 3 の結合パートナーは、図 1 G に列挙された配列を有するヒト C D 4 3 の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の 1 つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。 C D 4 3 の結合パートナーには、図 1 G 中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種における C D 4 3 、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来する C D 4 3 の結合パートナーも含まれる。

40

## 【 0 0 6 3 】

「 C D 4 4 」とは、そのアミノ配列が図 1 H に示されており、受託番号 P 1 6 0 7 0 を有するヒト C D 4 4 を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、 C D 4 4 の結合パートナーは、図 1 H に列挙された配列を有するヒト C D 4 4 の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の 1 つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。

50

CD44の結合パートナーには、図1H中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD44、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または霊長類などに由来するCD44の結合パートナーも含まれる。

【0064】

「CD47」とは、そのアミノ配列が図1Iに示されており、受託番号P08722を有するヒトCD47を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD47の結合パートナーは、図1Iに列挙された配列を有するヒトCD47の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリエントへの結合パートナーを含む。CD47の結合パートナーには、図1I中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD47、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または霊長類などに由来するCD47の結合パートナーも含まれる。

10

【0065】

「CD54」とは、そのアミノ配列が図1Jに示されており、受託番号P05362を有するヒトCD54を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD54の結合パートナーは、図1Jに列挙された配列を有するヒトCD54の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリエントへの結合パートナーを含む。CD54の結合パートナーには、図1J中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD54、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または霊長類などに由来するCD54の結合パートナーも含まれる。

20

【0066】

「CD55」とは、そのアミノ配列が図1Kに示されており、受託番号P08174を有するヒトCD55を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD55の結合パートナーは、図1Kに列挙された配列を有するヒトCD55の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリエントへの結合パートナーを含む。CD55の結合パートナーには、図1K中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD55、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または霊長類などに由来するCD55の結合パートナーも含まれる。

30

【0067】

「CD58」とは、そのアミノ配列が図1Lに示されており、受託番号P19256を有するヒトCD58を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD58の結合パートナーは、図1Lに列挙された配列を有するヒトCD58の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリエントへの結合パートナーを含む。CD58の結合パートナーには、図1L中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD58、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または霊長類などに由来するCD58の結合パートナーも含まれる。

40

【0068】

「CD59」とは、そのアミノ配列が図1Mに示されており、受託番号P13987を

50

有するヒトCD59を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD59の結合パートナーは、図1Mに列挙された配列を有するヒトCD59の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。CD59の結合パートナーには、図1M中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD59、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来するCD59の結合パートナーも含まれる。

## 【0069】

「CD62L」とは、そのアミノ配列が図1Nに示されており、受託番号P14151を有するヒトCD62Lを含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD62Lの結合パートナーは、図1Nに列挙された配列を有するヒトCD62Lの結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。CD62Lの結合パートナーには、図1N中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD62L、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来するCD62Lの結合パートナーも含まれる。

10

20

30

40

## 【0070】

「CD95」とは、そのアミノ配列が図1Oに示されており、受託番号P25445を有するヒトCD95を含む。しかし、ある特定のポリペプチドは、多型であることが周知であり、この配列のいくつかの天然バリエーションが存在しうることが理解される。したがって、一実施形態では、CD95の結合パートナーは、図1Oに列挙された配列を有するヒトCD95の結合パートナーに限定されず、アミノ酸残基の1つまたは複数が別のアミノ酸と置き換えられているその天然に存在するバリアントへの結合パートナーを含む。CD95の結合パートナーには、図1O中のものに対するオルソロガス配列を有する他の種におけるCD95、例えば、他の哺乳動物、例えば、ウマ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウス、モルモット、または靈長類などに由来するCD95の結合パートナーも含まれる。

30

## 【0071】

以下でさらに記載するように、本発明の作用物質は、医療で使用するために対象に投与してもよい。作用物質が投与される対象に関して、作用物質は、その種のCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかに結合する結合パートナーを含むことが好適である。例えば、対象がヒトであるとき、作用物質は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかのヒトの結合パートナーを含むなどである。

## 【0072】

好ましくは、結合パートナーは、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかに選択的に結合する。例えば、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーが、その細胞によって発現される少なくとも1種の他の実体についてより、大きくとも5分の1、または10分の1であり、好ましくは100分の1または500分の1より低いK<sub>d</sub>値（解離定数）（すなわち、より高い親和性）を有する場合、好適である。より好ましくは、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、C

50

D30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーは、その細胞によって発現される少なくとも1種の他の実体についてより、1000分の1または500分の1より低いK<sub>d</sub>値を有する。K<sub>d</sub>値は、当技術分野で周知の方法を使用して容易に決定することができる。

## 【0073】

結合パートナーは、ポリペプチド、ペプチド、小分子、またはペプチド模倣体のいずれかでありうる。

## 【0074】

好適な実施形態では、結合パートナーは、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95に結合する抗体である。

## 【0075】

結合パートナーは、BU69もしくはSGN-70もしくはSGN-75のいずれかなどの抗CD70抗体、またはeBioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD74、クローンLN2）であってもよい（Epsteinら、1984、*Immuno*l.、133(2):1028；Lambら、1991、*PNAS*、88(14):5998）。

## 【0076】

結合パートナーは、ミラツズマブなどの抗CD74抗体であってもよい（Becker-Hermannら、2005、*Mol. Biol. Cell.*、16(11):5061）。

## 【0077】

結合パートナーは、エプラツズマブなどの抗CD22抗体であってもよい（Stein R.ら、*Cancer Immunol Immunother*、37:293~298(1993年10月)）。

## 【0078】

結合パートナーは、eBioscience製市販抗体（抗ヒトHLA-DR、クローンL243）などの抗HLA-DR抗体であってもよい（Brodsky FM.A.、*Immunogenetics*、1984;19(3):179~94；Engleman EG、Warnke R、Fox RI、Dillley J、Benike CJ、Levy R.、*Proc Natl Acad Sci USA*、1981年3月；78(3):1791~5）。

## 【0079】

結合パートナーは、eBioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD23、クローンEBVCS2）などの抗CD23抗体であってもよい（Knapp W.、B. Dorkenら編(1989)、*Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*、Oxford University Press、New York；McMichael A.J.、P.C.L. Beverleyら編(1987)、*Leucocyte Typing II: White Cell Differentiation Antigens*、Oxford University Press、New York；Bernard A.ら編(1981)、*Leukocyte Typing*、Springer-Verlag）。

## 【0080】

結合パートナーは、eBioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD30、クローンBerH2）などの抗CD30抗体であってもよい（Tamiolakis Dら、*Int J Biol Sci*、2005年；1:135~140；Polski JM、Janney CG.、Ber-H2 Mod Pathol.、1999年9月；12(9):903~6；Horie R、Watanabe T.、*J Immun*

10

20

30

40

50

01、1998；10：457～470）。

【0081】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD43、クローンeBio84-3C1）などの抗CD43抗体であってもよい（Borchet L、Lozano F、Villella R、Vives J.、Eur J Immunol.、1987年10月；17（10）：1523～6；Schlossman S.、L. Bloumseilら編、1995、Leucocyte Typing V：White Cell Differentiation Antigens、Oxford University Press、New York）。

【0082】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD44、クローンIM7）などの抗CD44抗体であってもよい（Trowbridge, I. S. .、J. Lesleyら、1982、Immunogenetics、15（3）：299～312；Lesley, J. およびI. S. Trowbridge、1982.、Immunogenetics、15（3）：313～20；Maiti A、Maki G、Johnson P.、Science、1998年10月30日；282（5390）：941～3）。

【0083】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD47、クローンB6H12）などの抗CD47抗体であってもよい（Grimbert P、Bouguermouh Sら、J Immunol.、2006年9月15日；177（6）：3534～41；Lagadec P、Dejoux Oら、2003年6月15日；101（12）：4836～43）。

【0084】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD54、クローンeBio KAT1）などの抗CD54抗体であってもよい（Lehmann JCら、J Immunol.、2003年9月1日；171（5）：2588～93；Arai Kら、Int J Pancreatol.、1999年8月；26（1）：23～31）。

【0085】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD55、クローン143-30）などの抗CD55抗体であってもよい（Knapp, W.、B. Dorkenら編（1989）、Leucocyte Typing IV：White Cell Differentiation Antigens、Oxford University Press、New York）。

【0086】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD58、クローンTS2/9）などの抗CD58抗体であってもよい（Arieh Oら、Cellular Signaling、2009：21：1100～1108；Osborn Lら、J. Exp. Med.、1995年1月；181：429～434）。

【0087】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD59、クローンOV9A2）などの抗CD59抗体であってもよい（Alegretti APら、Cell Immunol.、2010；265（2）：127～32；Deckert Mら、Eur J Immunol.、1992年11月；22（11）：2943～7）。

【0088】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD59、クローンDREG-56）などの抗CD62L抗体であってもよい（Jutila MAら、J. Immunol.、8月15日；169（4）：1768～73；Schloss

10

20

30

40

50

man, S.、L. Bloomsellら編、1995、Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens、Oxford University Press、New York)。

## 【0089】

結合パートナーは、e Bioscience製市販抗体（精製された抗ヒトCD59、クローンAPO-1-1）などの抗CD95抗体であってもよい（Rajasagi, Mら、Journal of Leukocyte Biology、2009；85：251～261；Fluhr, Hら、Journal of Cell Science、2007；120：4126～4133）。

## 【0090】

代わりに、結合パートナーは、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかに非免疫センス（non-immune sense）で特異的に結合する任意の分子またはその部分であってもよい。したがって、特異的結合パートナーは、ホルモン、増殖因子、サイトカイン、または受容体リガンド（例えば、アゴニストもしくはアンタゴニスト）のいずれかでありうる。

## 【0091】

CD70は、CD27に結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD70の結合パートナーは、CD27である。

## 【0092】

CD74は、マクロファージ遊走阻止因子（MIF）に結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD74の結合パートナーは、MIFである。

## 【0093】

CD23は、IgEに結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD23の結合パートナーは、IgEである。

## 【0094】

CD30は、CD30Lに結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD30の結合パートナーは、CD30Lである。

## 【0095】

CD43は、シアル酸残基に結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD43の結合パートナーは、シアル酸である。

## 【0096】

CD44は、ヒアルロン酸、コラーゲン、およびオステオポンチンに結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD44の結合パートナーは、ヒアルロン酸、コラーゲン、およびオステオポンチンのいずれかである。

## 【0097】

CD47は、トロンボスponginに結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD47の結合パートナーは、トロンボスponginである。

## 【0098】

CD54は、LFA-2に結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD54の結合パートナーは、LFA-2である。

## 【0099】

CD58は、CD2に結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD58の結合パートナーは、CD2である。

## 【0100】

CD62Lは、末梢リンパ節アドレシンに結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD62Lの結合パートナーは、末梢リンパ節アドレシンである。

## 【0101】

CD95は、FasL（CD95L）に結合することが知られており、したがって一実施形態では、CD95の結合パートナーは、FasL（CD95L）である。

10

20

30

40

50

## 【0102】

H L A - D R は、 C D 4 に結合することが知られており、したがって一実施形態では、 H L A - D R の結合パートナーは、 C D 4 である。

## 【0103】

本明細書において、用語「抗体」は、それだけに限らないが、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、単鎖、F a b 断片、F a b 発現ライブラリーによって生成される断片、および二重特異性抗体を含む。このような断片としては、標的物質についてその結合活性を保持する全抗体の断片、F v、F ( a b ' )、およびF ( a b ' ) 2 断片、ならびに単鎖抗体 ( s c F v ) 、融合タンパク質、および抗体の抗原結合部位を含む他の合成タンパク質がある。抗体の一部のみを含む結合パートナーは、血液からのクリアランスの速度を最適化することによって有利となり得、F c 部分に起因する非特異的結合を受ける可能性が低い場合がある。ドメイン抗体 ( d A b ) 、ダイアボディ、ラクダ抗体、および操作されたラクダ抗体も含まれる。さらに、ヒトに投与するために、抗体およびこれらの断片は、現在当技術分野で周知であるヒト化抗体であってもよい ( Janeeway ら ( 2001 ) Immunobiology 、 5 版、 Garland Publishing ) ； An ら ( 2009 ) 、 Therapeutic Monoclonal Antibodies : From Bench to Clinic 、 ISBN : 978 - 0 - 470 - 11791 - 0 ) 。

10

## 【0104】

非対称 I g G 様抗体 ( 例えば、トリオマブ / クアドローマ、 Trion Pharma / Fresenius Biotech ；ノブイントウホール、 Genentech ； Cross MAbs 、 Roche ；静電的マッチ抗体 ( electrostatically matched antibody ) 、 AMGEN ； LUZ - Y 、 Genentech ；鎖交換操作ドメイン ( S E E D ) ボディ、 EMD Serono ；バイオロニック ( biolonic ) 、 Merus ；および F a b 交換抗体、 Genmab ) 、対称 I g G 様抗体 ( 例えば、デュアルターゲティング ( D T ) - I g 、 GSK / Domantis ；ツーインワン抗体、 Genentech ；架橋 M A b 、 karmanos cancer center ； m A b <sup>2</sup> 、 F - star ；および Cov X - body 、 Cov X / Pfizer ) 、 I g G 融合物 ( 例えば、デュアル可変ドメイン ( D V D ) - I g 、 Abbott ； I g G 様二重特異性抗体、 Eli Lilly ； T s 2 A b 、 MedImmune / AZ ； B s A b 、 ZymoGenetics ； HERCULES 、 Biogen Idec ； T v A b 、 Roche ) 、 F c 融合物 ( 例えば、 S c F v / F c 融合物、 Academic Institution ； SCORPION 、 Emergent Biosolutions / Trubion 、 ZymoGenetics / BMS ；デュアル親和性リターゲティング技術 ( F c - D A R T ) 、 MacroGenics ；デュアル ( S c F v ) <sub>2</sub> - F a b 、 National Research Center for Antibody Medicine 、 F a b 融合物 ( 例えば、 F ( a b ) <sub>2</sub> 、 Medarex / AMGEN ；デュアルアクションまたは B i s - F a b 、 Genentech ；ドックアンドロック ( D N L ) 、 Immunomedicis ；二価二重特異性、 Biotechnol ；および F a b - F v 、 UCB - Celltech ) 、 S c F v - およびダイアボディベース抗体 ( 例えば、二重特異性 T 細胞エンゲージャー ( engager ) ( B i T E : b i s p e c i f i c T c e l l e n g a g e r ) 、 Micromet ；タンデムダイアボディ ( T and a b ) 、 Affimed ； D A R T 、 MacroGenetics ；単鎖ダイアボディ、 Academic ； T C R 様抗体、 A I T 、 Receptor Logics ；ヒト血清アルブミン S c F v 融合物、 Merrimack ；および COMBODIES 、 Epigen Biotech 、 Ig G / non - Ig G 融合物 ( 例えば、免疫サイトカイン、 EMD Serono 、 Philogen 、 Immunogene 、 Immunomedicis ；スーパー抗原融合タンパク質、 Active Biotech ；およびがんに対する免疫動員 m T C R 、 ImmTAC ) 、ならびにオリゴクローナル抗体 ( 例えば、 Sympheogen および Merus ) も含まれる。

20

30

40

50

## 【0105】

抗体は、本明細書に記載の特異性決定領域と一緒に、参照により本明細書に組み込まれているCarter (2006)、「Potent antibody therapeutics by design」、Nat Rev Immunol.、6 (5) : 343~57、およびCarter (2011)、「Introduction to current and future protein therapeutics: a protein engineering perspective」、Exp Cell Res.、317 (9) : 1261~9によって記載された抗体様足場のいずれかを有することができる。したがって、用語「抗体」は、アフィボディおよび非免疫グロブリンベース骨格も含む。例としては、アドネクチン、アンチカリン、アフィリン、トランスポディ、ダルピン、三量体X、マイクロプロテイン、フィノマー、アビマー、セントグリン、およびカルビトール(エカランチド)がある。

10

## 【0106】

全抗体ではなく抗体断片を使用する利点は、数倍である。より小さいサイズの断片は、固体組織のより良好な浸透などの薬理学的性質を改善しうる。さらに、抗原結合性断片、例えば、Fab、Fv、ScFv、およびdAb抗体断片などは、E. coliまたは酵母内で発現され、これらから分泌され得、したがって、実験室での好都合な生産および工業規模での経済的な生産を可能にする。また、このような断片は、Fc成分を欠いているため毒生物学的安全性の増大を可能にする。

20

## 【0107】

抗体は、IgG、IgE、IgA、IgM、およびIgDクラスのいずれかのものであり得、任意の種に由来しうる。抗体がIgGである場合、これは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4のいずれかでありうる。しかし、作用物質が特定の宿主に投与するためであるとき、抗体、または少なくともその定常領域は、その宿主に由来することが好適である。例えば、作用物質がヒトに投与されることになるとき、抗体は好ましくは、ヒト抗体またはヒト化抗体であるなど。

## 【0108】

CD70またはCD74に結合する適当な抗体は、当技術分野で長い歴史を持つ技術を使用して当業者によって作製することができる。モノクローナル抗体および抗体断片を調製する方法は、当技術分野で周知であり、ハイブリドーマ技術(Kohler & Milstein (1975)、「Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity.」、Nature.、256 : 495~497)；抗体ファージディスプレイ(Winterら(1994)、「Making antibodies by phage display technology.」、Annu. Rev. Immunol.、12 : 433~455)；リボソームディスプレイ(Schaffitzelら(1999)、「Ribosome display: an in vitro method for selection and evolution of antibodies from libraries.」、J. Immunol. Methods.、231 : 119~135)；および反復コロニーフィルタースクリーニング(Giovannoniら(2001)、「Isolation of anti-angiogenesis antibodies from a large combinatorial repertoire by colony filter screening.」Nucleic Acids Res.、29 : E27)を含む。さらに、本発明で使用するのに適している抗体および抗体断片は、例えば、以下の刊行物に記載されている：「Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications」、Hurrell(CRC Press、1982)；「Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques」、H. Zola、CRC Press、1987、ISBN : 0-84936-476-0；「Antibodies: A Laboratory

30

40

50

ory Manual」、1版、Harlow & Lane編、Cold Spring Harbor Laboratory Press、New York、1988、ISBN 0-87969-314-2；「Using Antibodies: A Laboratory Manual」、2版、Harlow & Lane編、Cold Spring Harbor Laboratory Press、New York、1999、ISBN 0-87969-543-9；および「Handbook of The Therapeutic Antibodies」、Stefan Dubel編、1版、-Wiley-VCH、Weinheim、2007。ISBN：3-527-31453-9。

#### 【0109】

10

##### 内部移行および細胞の表面での提示

「作用物質が内部移行し、T細胞抗原が、T細胞によって認識されうる形態で細胞の表面に提示される」とは、作用物質が細胞内に取り込まれ（例えば、エンドサイトーシスによって）、T細胞抗原が、T細胞による認識を可能にする形態で細胞の表面で引き続いて提示される意味を含む。このような認識は、例えば、T細胞をT細胞抗原を提示している細胞と接触させ、当技術分野で公知の細胞増殖についての標準アッセイを使用した後、T細胞の活性化を評価することによって容易に判定することができる。免疫応答の程度を判定するための適当なアッセイとしては、ELISPOT、細胞内サイトカイン染色、増殖アッセイ、活性化アッセイ（例えば、CD69）、CD107動員アッセイ、または代謝アッセイ（例えば、MTT）がある。例えば、ELISAまたは多重化ビーズ技術を使用して活性化誘導分泌型サイトカインを検出するアッセイも適している。

#### 【0110】

20

内部移行は、フローサイトメトリーベースアッセイなどの当技術分野で公知の任意の適当なアッセイを使用して評価することができる。例えば、作用物質をフルオレセインイソチオシアネート（FITC）などの蛍光色素とカップリングすることができ、標的細胞を作用物質で標識することができる。1～24時間後、弱酸（例えば、クエン酸）が標的細胞に添加され、洗浄後、細胞がフローサイトメーターで分析される。蛍光色素が細胞表面に依然としてある場合、酸が蛍光色素を消光することになり、フローサイトメーターでシグナルがまったくないはずであり、それによって作用物質が内部移行していないことを実証する。作用物質の内部移行がある場合、蛍光色素は、酸にとってアクセス可能でなく、消光効果はまったくないはずである。これは、フローサイトメーターで陽性シグナルがあることを意味するはずであり、それによって作用物質の内部移行を実証する。

#### 【0111】

30

慣例的な手順を使用して、T細胞抗原が、細胞の表面への抗原の外側ローディングではなく、T細胞抗原の内部移行の後にT細胞に提示されているか否かを判定することができる理解されるであろう。例えば、細胞を、内部移行が防止される条件下で本発明の作用物質に曝露することができる。適当な条件は、作用物質、例えば、パラホルムアルデヒドもしくはグルタルアルデヒドなどを使用して細胞を軽く固定すること、または約4以下の温度で実験を実施することであってもよい。内部移行が、提示されるT細胞抗原にとって必要条件である場合、内部移行が抑制された後、T細胞の活性化はまったくないはずである。代わりに、細胞内プロセシング経路の阻害剤を使用して、T細胞抗原の提示が内部移行に続くのか、または外側ローディングの結果であるのかを確認することができる。例えば、MHCクラスII細胞内プロセシング経路の阻害剤を、当技術分野で周知であり、以下でさらに記載するように使用することができる。

#### 【0112】

40

好適な実施形態では、T細胞抗原は、内部移行し、古典的MHCクラスIIプロセシング経路に入るものである。例えば、T細胞抗原ペプチドは、エンドサイトーシス小胞内のタンパク質分解によって作用物質から放出され、細胞表面に搬出される前にMHCクラスII分子に結合した状態になることができる。T細胞抗原がMHCクラスII経路によってプロセシングされるか否かの評価は、当技術分野で標準的な業務であり、経路の公知の

50

阻害剤、例えば、クロロキノンおよびモネンシンなどの存在下および非存在下でプロセシングについて試験することを含みうる。

【0113】

細胞内部でのT細胞抗原のプロセシングを促進するために、T細胞抗原が、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーに付着し、その結果T細胞抗原が、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞内で結合パートナーから放出されうる場合、好適である。適当な付着は、以下に示されており、様々なヘテロ二官能性架橋剤、例えば、ペプチドを、例えば、抗体の外部表面の遊離アミン基に付着させることができるスルホ-SMCCなどを含む。他の架橋剤を使用して、ペプチドを他の官能基（例えば、カルボキシル、ヒドロキシル部分）または炭水化物基に付着させることができる。一般に、付着は、共有結合性であるが、強い非共有結合性付着、例えば、ビオチン-アビジンまたはハプテン-特異的抗体（例えば、ジゴキシゲニン）などを使用してもよい。

10

【0114】

一実施形態では、T細胞抗原は、細胞内プロテアーゼによって結合パートナーから放出されうる。

20

【0115】

いずれの理論にも束縛されることを望むことなく、本発明者らは、MHCクラスII拘束ペプチドを含む作用物質が細胞内に内部移行した後、作用物質は、エンドリソソームが酸性化された状態になるMHCクラスIIプロセシング経路と同じ様式でプロセシングされることになると考える。酸性化により、カテプシンなどの様々なエンドソームおよびリソソームベースプロテアーゼが活性化され、これらは一緒に、作用物質を分解し、それによって作用物質からペプチドを放出する。タンパク質分解は、ペプチド自体に作用しないことが理解されるであろう。次いでペプチドは、MHCクラスII分子にロードされ、細胞表面に提示されうる。

【0116】

結合パートナーからのT細胞抗原の放出は、細胞表面に提示されるT細胞抗原を認識するT細胞抗原特異的T細胞を使用して試験することができる。T細胞抗原が放出された場合、T細胞は、細胞表面のT細胞抗原を認識するはずであり、これは、先述したT細胞認識アッセイにおける陽性シグナルによって判定される。T細胞抗原が放出されなかつた場合、T細胞認識アッセイにおいて陰性シグナルがあるはずである。T細胞抗原は、フルオロフォアを使用して標識することもでき、直接的な細胞イメージングなどの技法を使用してT細胞抗原の分布を評価することもできる。

30

【0117】

T細胞抗原は、T細胞抗原が結合パートナーから細胞外に放出されうる様式でCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーに付着しないことが理解されるであろう。むしろ、T細胞抗原は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞内に内部移行し、その表面に提示されなければならない。したがって、好ましくは、T細胞抗原は、T細胞抗原が、例えば、細胞外プロテアーゼ、ヌクレアーゼ、リパーゼ、リアーゼ、ホスファターゼ、またはカルボヒドラーーゼの任意の1種または複数によって細胞外に結合パートナーから放出されうる様式でCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーに付着しない。これを保証するために、作用物質が、CD70、CD74、CD2

40

50

2、 H L A - D R、 C D 2 3、 C D 3 0、 C D 4 3、 C D 4 4、 C D 4 7、 C D 5 4、 C D 5 5、 C D 5 8、 C D 5 9、 C D 6 2 L、 または C D 9 5 のいずれかの結合パートナーから T 細胞抗原を放出するように作用する細胞外分子（例えば、プロテアーゼ、ヌクレアーゼ、リパーゼ、リアーゼ、ホスファターゼ、カルボヒドラーーゼ）によって切断可能な部位を含まない場合、好適である。例えば、作用物質は、がん細胞などの C D 7 0、 C D 7 4、 C D 2 2、 H L A - D R、 C D 2 3、 C D 3 0、 C D 4 3、 C D 4 4、 C D 4 7、 C D 5 4、 C D 5 5、 C D 5 8、 C D 5 9、 C D 6 2 L、 または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の近傍に存在する細胞外分子（例えば、特定のプロテアーゼ）によって切断可能な部位（例えば、特定のプロテアーゼ切断部位）を含まない場合がある。これにより、本発明の作用物質の必要なサイズが低減されることになることが理解されるであろう。例えば、T 細胞抗原がペプチドである場合、本発明の作用物質は一般に、（i）22 アミノ酸未満（例えば、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、または10 アミノ酸未満）の長さを有し、T 細胞抗原を含み、またはそれからなるペプチド、および（ii）ペプチドに付着する結合パートナー（例えば、抗体）を含む。

10

#### 【0118】

所与の配列がプロテアーゼによって切断されうるか否か、切断されうる場合、どのプロテアーゼであるかを判定することは、当業者の通常の業務である。タンパク質分解的切断配列の多数の研究があり、所与の配列に向けたタンパク質分解活性を判定するのに多くのプログラムが利用可能である（例えば、Sigma Aldrich プログラム）。タンパク質分解およびプロテアーゼ認識配列についての豊富な情報を含有するデータベース（例えば、M E R O P および P M A P ）も存在する。任意の適当な方法を使用することができる。

20

#### 【0119】

##### 発明の作用物質の合成

好都合なことには、T 細胞抗原は、リンカーによって C D 7 0、 C D 7 4、 C D 2 2、 H L A - D R、 C D 2 3、 C D 3 0、 C D 4 3、 C D 4 4、 C D 4 7、 C D 5 4、 C D 5 5、 C D 5 8、 C D 5 9、 C D 6 2 L、 または C D 9 5 のいずれかの結合パートナーに接合される。「リンカー」とは、結合パートナーを T 細胞抗原に付着させる化学部分の意味を含む。

30

#### 【0120】

一実施形態では、リンカーは、細胞外プロテアーゼなどの細胞外分子によって切断可能な部位を含まない。したがって、一実施形態では、結合パートナーを T 細胞抗原に接合する任意の部分は、細胞外プロテアーゼなどの細胞外分子によって切断可能な部位を含まない。

#### 【0121】

T 細胞抗原は、 C D 7 0、 C D 7 4、 C D 2 2、 H L A - D R、 C D 2 3、 C D 3 0、 C D 4 3、 C D 4 4、 C D 4 7、 C D 5 4、 C D 5 5、 C D 5 8、 C D 5 9、 C D 6 2 L、 または C D 9 5 のいずれかの結合パートナーに共有結合的に、または非共有結合的に結合されうることが理解される。好ましくは、T 細胞抗原は、 C D 7 0、 C D 7 4、 C D 2 2、 H L A - D R、 C D 2 3、 C D 3 0、 C D 4 3、 C D 4 4、 C D 4 7、 C D 5 4、 C D 5 5、 C D 5 8、 C D 5 9、 C D 6 2 L、 または C D 9 5 のいずれかの結合パートナーに共有結合的に付着している。

40

#### 【0122】

一実施形態では、T 細胞抗原および C D 7 0、 C D 7 4、 C D 2 2、 H L A - D R、 C D 2 3、 C D 3 0、 C D 4 3、 C D 4 4、 C D 4 7、 C D 5 4、 C D 5 5、 C D 5 8、 C D 5 9、 C D 6 2 L、 または C D 9 5 のいずれかの結合パートナーは、リンカーによって共有結合的に付着している。

#### 【0123】

したがって、T 細胞抗原（例えば、ペプチド）および C D 7 0、 C D 7 4、 C D 2 2、 H L A - D R、 C D 2 3、 C D 3 0、 C D 4 3、 C D 4 4、 C D 4 7、 C D 5 4、 C D 5

50

5、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーは、O'Sullivanら、Anal. Biochem.、(1979)100、100~108に一般に記載されているものなどの分子を架橋する従来の様式のいずれかによって好都合なことには連結することができる。例えば、T細胞抗原(例えば、ペプチド)またはCD70もしくはCD74の結合パートナーの一方を、チオール基で富化させることができ、他方を、これらのチオール基と反応することができる二官能性剤、例えば、ヨード酢酸のN-ヒドロキシスクシンイミドエステル(NHIA)、またはN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPD P)、コンジュゲートされる種間にジスルフィド架橋を組み込むヘテロ二官能性架橋剤と反応させることができる。例えば、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステルで実現されるアミドおよびチオエーテル結合は、一般に、ジスルフィド結合よりin vitroで安定である。

10

## 【0124】

ビス-マレイミド試薬は、チオール基(例えば、抗体のシステイン残基のチオール基)を別のチオール含有部分(例えば、T細胞抗原またはリンカー中間体のチオール基)に、逐次または同時様式で付着させることができ。チオール基と反応性である、マレイミドを除く他の官能基としては、ヨードアセトアミド、プロモアセトアミド、ビニルピリジン、ジスルフィド、ピリジルジスルフィド、イソシアネート、およびイソチオシアネートがある。

20

## 【0125】

さらなる有用な架橋剤としては、穏やかな条件下でスルフィドリル基の脱保護を可能にする一級アミンのチオール化試薬であるS-アセチルチオグリコール酸N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(SATA)(Julianら(1983)、Anal. Biochem.、132、68)、スペルイミノ酸ジメチルニ塩酸塩、およびN,N'-o-フェニレンジマレイミドがある。

## 【0126】

特に好適な架橋剤としては、スルホスクシンイミジル4-[N-マレイミドメチル]シクロヘキサン-1-カルボキシレート(スルホ-SMCC)、スルホスクシンイミジル6-(3'-(2-ピリジルジチオ)-プロピオンアミド)ヘキサノエート(スルホ-LC-SPDP)、およびN-[-(マレイミドプロピオン酸]ヒドラジド、トリフルオロ酢酸塩(BMPH)がある。

30

## 【0127】

多数のホモ二官能性およびヘテロ二官能性架橋化学反応が、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーをT細胞抗原に接合するのに適切であるはずであり、任意のこののような化学反応を使用することができることが理解されるであろう。例えば、シュタウディンガーライゲーション化学反応(ホスフィン-アジド化学反応)を使用するクリック化学を使用することができる。

40

## 【0128】

T細胞抗原およびCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーは、互いに直接架橋される必要はないが、1つまたは複数のスペーサー部分を介して付着してもよいことが理解される。例えば、T細胞抗原は、さらにCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーと架橋される化学部分と架橋されてもよい。一般に、スペーサー部分は、立体障害を防止する機能を果たすことができるが、作用物質は、T細胞抗原が放出されるように細胞内に分解されることが期待されているので、1つまたは複数のスペーサー部分は要求されないことが理解されるであろう。

50

## 【0129】

特定の実施形態では、T細胞抗原およびCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーが共有結合的に付着しており、抗原および結合パートナーがともにペプチドまたはポリペプチドである場合、2つの成分は、核酸分子によってコードされうる融合ポリペプチドの一部でありうることが理解される。本発明は、核酸分子およびこれらを含有する宿主細胞を含む。例えば、抗体結合パートナーは、当技術分野で十分確立された遺伝子操作技法を使用してT細胞抗原を含有するように遺伝子操作することができる。したがって、T細胞抗原は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーのポリペプチド配列内に埋め込まれ、またはその末端にある場合があり、ただし、これは、内部移行後にCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の表面に提示されうるように放出されうることが理解されるであろう。適切には、T細胞抗原およびCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーは、両部分がこれらのそれぞれの活性を保持するように接合され、その結果、作用物質は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞を標的にすることができ、T細胞抗原は、免疫応答を誘発するように細胞によって提示されうる。T細胞抗原および結合パートナーは、リンカーペプチドによって接合されうる。適当なリンカーペプチドは、一般にランダムコイルコンホメーションを探るものであり、例えば、ポリペプチドは、アラニンもしくはプロリン、またはアラニンとプロリン残基の混合物を含有することができる。好ましくは、リンカーは、2から100の間のアミノ酸残基、より好ましくは2から50の間、さらにより好ましくは4から20の間のアミノ酸残基を含有する。しかし、上記に論じたように、T細胞抗原が放出されるように作用物質が細胞内に分解されることを考慮するとリンカーペプチドは、本質的でないことに気付くであろう。

10

20

30

40

## 【0130】

CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの適当な結合パートナーをコードするポリヌクレオチドは、当技術分野で公知であり、またはCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかと相互作用することが知られているタンパク質の配列、もしくはヌクレオチド配列データベース、例えば、GenBank、EMBL、およびdbESTデータベースなどに含まれている配列からなど、公知の配列から容易に設計することができる。適当なT細胞抗原をコードするポリヌクレオチドは、当技術分野で公知であり、または公知の配列から容易に設計し、作製することができる。

40

## 【0131】

適当なリンカーペプチドをコードするポリヌクレオチドは、リンカーペプチド配列から容易に設計し、作製することができる。

## 【0132】

したがって、本発明で使用される作用物質をコードするポリヌクレオチドは、周知の遺伝子操作技法を使用して容易に構築することができる。

## 【0133】

次いで核酸が適当な宿主内で発現されて、本発明の作用物質を生成する。したがって、本発明の作用物質をコードする核酸を、本明細書に含まれる教示を考慮して適切に改良さ

50

れた公知の技法に従って使用して発現ベクターを構築することができ、次いでこれが使用されて、本発明の作用物質の発現および生成のために適切な宿主細胞が形質転換される。

【0134】

本発明の作用物質をコードする核酸を、適切な宿主内に導入するためには、多種多様な他の核酸配列と接合することができる理解される。コンパニオン核酸は、当技術分野で周知であるように、宿主の性質、宿主内に核酸を導入する様式、およびエピソームの維持または組込みが望まれるか否かに依存することになる。

【0135】

代替の実施形態では、T細胞抗原およびCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーは、非共有結合的に付着している。しかし、非共有結合性付着は、対象に作用物質を投与した後、作用物質が細胞に局在化されるのを可能にし、T細胞抗原がその表面に提示されるのを可能にするように十分に安定でなければならないことが理解されるであろう。一般に、非共有結合は、 $K_d < 10^{-9}$ の親和性を有するべきである。非共有結合については、免疫学的結合、またはビオチン/アビジンもしくはストレプトアビジンを介した結合がそれぞれ好適である。例えば、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95の結合パートナーは、その一つの特異性が望まれない細胞によって発現される実体に指向し、その1つの特異性がT細胞抗原またはその部分に指向している二重特異性抗体とすることができる。また、T細胞抗原を、ひいては二重特異性抗体の特異性が指向する別の物質にカップリングすることが可能である。例えば、T細胞抗原は、二重特異性抗体によって認識されるさらなるペプチド配列を含有してもよい。別の可能性は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーを、例えば、ストレプトアビジンにカップリングし、一方T細胞抗原は、ビオリンにカップリングされることを伴い、逆の場合も同様である。非共有結合性相互作用が形成されうる他の手段としは、ロイシンジッパー配列または親和性結合がある。いずれにしても、T細胞抗原とCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかをそれぞれ発現する細胞内に作用物質が内部移行した後、T細胞抗原がT細胞によって認識されうる形態で細胞の表面に提示されうるようなものでなければならない。

【0136】

本明細書に記載のアミノ酸残基は一般に、天然「L」異性型である。しかし、「D」異性型の残基を、ある特定の状況では、L-アミノ酸残基と置換することができ、ただし作用物質のT細胞抗原は、T細胞によって認識されうる形態でCD70またはCD74を発現する細胞の表面に依然として提示されうる。この定義には、別段の具体的な指示のない限り、アミノ酸類似体（ペニシラミン、3-メルカプト-D-バリンなど）、天然に存在する非タンパク質新生アミノ酸（ノルロイシンなど）、ベータ-アミノ酸、アザペプチド、N-メチル化アミノ酸、およびアミノ酸の特徴であることが当技術分野で知られている性質を有する化学合成化合物を含めた化学修飾アミノ酸も含まれる。用語「タンパク質新生」は、アミノ酸が、周知の代謝経路によって細胞内のタンパク質中に組み込まれうることを示す。この定義には、官能性側基が化学的に誘導体化されているアミノ酸も含まれる。このような誘導体化分子としては、例えば、遊離アミノ基が誘導体化されてアミン塩酸塩、p-トルエンスルホニル基、カルボベンゾキシ基、t-ブチルオキシカルボニル基、クロロアセチル基、またはホルミル基を形成している分子がある。遊離カルボキシル基を誘導体化して、塩、メチルおよびエチルエステル、または他のタイプのエステルもしくは

10

20

30

40

50

ヒドラジドを形成することができる。遊離水酸基を誘導体化して、O-アシルまたはO-アルキル誘導体を形成することができる。20の標準アミノ酸のうちの1つまたは複数の天然に存在するアミノ酸誘導体を含有するペプチド部分も誘導体として含まれる。

【0137】

したがって本発明の作用物質のペプチド部分は、本明細書に記載のアミノ酸配列を含み、またはそれからなるペプチドの構造的フィーチャーを模倣するペプチド「模倣体」、すなわち、ペプチド模倣体でありうることが理解される。ペプチド模倣体は、治療的使用、分解に対する耐性、浸透性、または経口投与の可能性においてさらにより有利となりうる。

【0138】

ペプチド模倣体の設計における主要目的は、ペプチダーゼによる切断および不活化に対する模倣体の感受性を低減することであった。Shermanら(1990)が開示したものなどの一手法では、1つまたは複数のアミド結合が本質的に等比体積の様式で様々な化学官能基によって置き換えられている。この段階的な手法は、活性類似体が得られたという点でいくらかの成功をもたらした。場合によっては、これらの類似体は、その天然に存在する対応物より長い生物学的半減期を有することが示された。別の手法では、様々な非コードまたは修飾アミノ酸、例えば、D-アミノ酸およびN-メチルアミノ酸などが、哺乳動物ペプチドを修飾するのに使用された。代わりに、推定生理活性配座が、環化などの共有結合修飾、または-L-ラクタムもしくは他のタイプの架橋の組込みによって安定化された(Weberら、1978、およびThorsettら、1983)。Rich(1986)が開示した別の手法は、酵素阻害剤設計において遷移状態類似体概念を適用することによってペプチド模倣体を設計することであった。例えば、スタチンの2級アルコールは、ペプシン基質の固着アミド結合(sessile amide bond)の四面体遷移状態を模倣することが知られている。他の手法には、アザペプチドおよびベータ-アミノ酸の使用が含まれる。

【0139】

レトロ-インベルソペプチドも「ペプチド模倣体」の定義に含まれる。レトロ-インベルソペプチド(全-D-レトロまたはレトロ-エナンチオペプチドとしても公知)とは、L-アミノ酸のすべてがD-アミノ酸と置き換えられており、ペプチド結合が保存されているペプチドの意味を含む。したがって、このペプチドは、親L-配列のものと逆順序でアセンブルされたD-アミノ酸から構成されている。レトロ-インベルソペプチドは、当技術分野で公知の方法、例えば、Meziereら(1997)、J. Immunol. 159、3230~3237に記載されたものなどによって合成することができる。この手法では、骨格を伴い、親ペプチドと非常に同様のままである側鎖の配向を伴わない変化を含有する擬ペプチドが作製される。レトロ-逆ペプチドは、タンパク質分解に対する耐性である。

【0140】

したがって、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナー、T細胞抗原、および本明細書に記載のスペーサー部分のいずれかがペプチドまたはポリペプチドであるとき、これらのペプチドまたはポリペプチドの任意の1つまたは複数を、親ペプチドまたはポリペプチドのそれぞれの活性を保持する対応するペプチド模倣体と置換することができることが理解されるであろう。これは、本発明の作用物質にプロテアーゼ耐性を付与し、それによってその安定性を改善するのに役立つことができる。したがって、例えば、T細胞抗原がCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの結合パートナーに、1つまたは複数のペプチドスペーサー部分を介して付着しているとき、これらのスペーサー部分の1つまたは複数がペプチド模倣体である、例えば、スペーサー部分の天然に存在するアミノ酸の1つまたは複数が、例えば、安定性を改善するために置き

換えられ、または修飾されていることが望ましい場合がある。

【0141】

本発明の作用物質のペプチド部分の安定性を増大させる別の手法は、一方または両方の末端に安定化基を有することである。一般的な安定化基としては、アミド、アセチル、ベンジル、フェニル、トシリ、アルコキシカルボニル、アルキルカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、および同様の末端基修飾がある。追加の修飾には、エキソペプチダーゼ活性を阻害するために、末端において「L」アミノ酸の代わりに「D」アミノ酸、およびアミノもしくはカルボキシ末端ではなくアミド、またはアミノ末端ではなくアセチルを使用することが含まれる。したがって、本発明の作用物質が露出したペプチド末端を有するときはいつでも、その末端は、キャッシング部分、好ましくは分子量が200Da未満である部分を有しうることが理解される。さらなるキャッシング部分としては、ナフチル基またはポリエチレングリコール基がある。レトロ-インベルソペプチドは、既に相対的に安定であり、したがって追加のキャッシング部分を必要としない場合があることが理解される。

10

【0142】

好ましくは、本発明の作用物質は、37で少なくとも24時間の血漿中の半減期を有する。

【0143】

本発明の作用物質を、これが容易に検出されうるように、例えば、これをビオチン化することによって、または当技術分野で公知の任意の検出可能標識、例えば、放射標識、蛍光標識、または酵素標識などを組み込むことによって修飾することが望ましい場合がある。

20

【0144】

上述したように、本発明者らは、本発明の作用物質を、特定の様式でCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する特定の細胞を殺すように既存の免疫応答を再指向するのに使用することができることを示した。CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞は、生物学的または医学的状態または障害の病理を少なくとも部分的に媒介する細胞であることが多いので、本発明の作用物質は、大きな治療可能性を提供する。

30

【0145】

したがって、本発明の第2の態様は、医療で使用するための本発明の第1の態様による作用物質を提供する。

【0146】

本発明の第3の態様は、本発明の第1の態様による作用物質、および薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物も提供する。

【0147】

本発明の第4の態様は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置する方法であって、本発明の第1の態様による作用物質を投与するステップを含む、方法を提供する。このように、本発明の作用物質は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞に結合し、内部移行の後、T細胞抗原が細胞の表面に提示され、これらをT細胞の標的にする。疑義を回避するために、特定の標的（例えば、CD70）の結合パートナーを含む作用物質が、特定の標的（例えば、CD70）を発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するのに使用されることになる。

40

50

## 【0148】

したがって、本方法は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかによって特徴付けられる状態（例えば、がん）を有する、またはその状態を発症するリスクのある対象を同定するステップ、対象に本発明の第1の態様による作用物質を投与するステップ、およびCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の数を判定する試験を行うことによって、または対象の臨床症状を監視することによって、対象におけるCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞のレベルを監視するステップを伴うことができる。監視ステップの結果に応じて、より多くの作用物質を投与する必要がある場合がある。  
10

## 【0149】

本発明は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するのに使用するための本発明の第1の態様による作用物質を含む。

## 【0150】

本発明は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の調製における本発明の第1の態様による作用物質の使用を含む。  
20

## 【0151】

「CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態」とは、病理の少なくとも一部がCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって媒介される任意の生物学的または医学的状態または障害を含む。この状態は、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって引き起こされる場合があり、あるいはCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在が状態の効果でありうる。  
30

## 【0152】

CD70およびCD74は一般に、B細胞によって発現され、したがって一般に状態は、病理の少なくとも一部がB細胞によって媒介されるものである。例えば、CD70(CD27L)は、いくつかの血液悪性腫瘍およびいくつかの癌腫（例えば、腎細胞癌；Ji l a v e a n u r a、Human Palhol、43(9)：1394）で異常に発現される腫瘍壞死因子ファミリーのメンバーである。CD74は、MHCクラス-I分子と並行して発現され、プロフェッショナル抗原提示細胞、例えば、B-細胞、単球、マクロファージ、および樹状細胞などで発現される。状態は、これらの細胞の1種または複数に影響するものでありうる。  
40

## 【0153】

CD70またはCD74を発現する細胞はしばしば、リンパ腫およびいくつかのタイプの癌腫に関与する。したがって、状態が腫瘍（例えば、悪性疾患）であり、CD70またはCD74を発現する細胞が、腫瘍細胞または腫瘍関連組織（例えば、腫瘍線維芽細胞ま  
50

たは腫瘍血管)である場合、特に好適である。状態は、任意のがん、例えば、乳がん、卵巣がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、膀胱がん、腎がん、黒色腫、肺がん、前立腺がん、精巣がん、甲状腺がん、脳腫瘍、食道がん、胃がん、膵がん、結腸直腸がん、肝がん、白血病、骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ芽球性白血病、リンパ球増殖性障害、骨髄異形成障害、骨髄増殖性疾患、および前癌性疾患などでありうる。

【0154】

C D 7 4 を発現する細胞は、アレルギー性および自己免疫疾患にも関連しており、したがってさらなる好適な実施形態では、結合パートナーが C D 7 4 に対するものであるとき、状態は、アレルギー性または自己免疫疾患である。例としては、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、および免疫性血小板減少性紫斑病がある。

10

【0155】

本明細書に開示の他の標的のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態には、これらの標的の上記考査において述べたものが含まれる。

【0156】

以下の表は、本明細書に開示の標的のそれぞれについての細胞発現データ、および各標的に関連した状態を提供する。したがって、本発明の作用物質が特定の標的の結合パートナーを含むとき、作用物質は、以下の表に示したその標的に関連する状態の1つを予防または処置するのに使用することができる。

【0157】

20

【表2】

標的	細胞発現データ	標的に関連した疾患
HLA-DR	B細胞	B細胞リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病)
	B細胞	自己免疫疾患(例えば、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、自己免疫性血球減少)
	骨髄細胞(マクロファージ、クッパー細胞)	骨髄性白血病
	抗原提示細胞(樹状細胞、ランゲルハンス細胞)	
	血漿細胞	骨髄腫、アミロイド、プラズマ細胞腫
		自己免疫疾患(例えば、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、自己免疫性血球減少)
CD74	B細胞	B細胞リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫)
	B細胞	自己免疫疾患(例えば、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、自己免疫性血球減少)
	骨髄細胞(マクロファージ、クッパー細胞)	骨髄性白血病
	抗原提示細胞(樹状細胞、ランゲルハンス細胞)	
	血漿細胞	骨髄腫、アミロイド、プラズマ細胞腫
		自己免疫疾患(例えば、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、自己免疫性血球減少)
CD22	B細胞	B細胞リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病)
	B細胞	自己免疫疾患(例えば、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、自己免疫性血球減少)
CD23	B細胞	B細胞リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病)

10

20

30

40

		ンリンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病)
	B細胞	自己免疫疾患(例えば、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、自己免疫性血球減少)
CD43	T細胞	自己免疫疾患(例えば、真性糖尿病、自己免疫性肝炎)。
	単球	
	B細胞	B細胞リンパ芽球性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫
CD44	がん幹細胞	乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、頭頸部癌、白血病、および消化管癌を含めた多くのタイプのがん。
	扁平上皮癌	頭頸部がん
CD47	広い組織発現	
CD54	血管内皮	血管炎、カポジ肉腫
	T細胞	自己免疫疾患(例えば、真性糖尿病、自己免疫性肝炎)。
	B細胞	B細胞リンパ芽球性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫
CD58	血管内皮	血管炎、カポジ肉腫
	T細胞	自己免疫疾患(例えば、真性糖尿病、自己免疫性肝炎)。
	B細胞	B細胞リンパ芽球性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫
CD55	広範な組織発現(血液および上皮)	
CD59	広範な組織発現(血液および上皮)	
CD62L	B細胞	慢性リンパ球性白血病、
	T細胞	成人T細胞白血病
CD95	遍在する—多くの細胞型で上方制御されうる	卵巣癌、肝癌および結腸直腸癌を含めた多数
CD30	活性化T細胞	未分化大細胞リンパ腫&胎生期癌

10

20

30

40

	活性化B細胞	古典的なホジキンリンパ腫
CD70	B細胞	ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫
	腎臓	腎細胞癌
		脾臓(25%)、喉頭/咽頭(22%)、黒色腫(16%)、卵巣(15%)、肺(10%)、および大腸(9%)も

10

## 【0158】

CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる他の状態は、当業者によって容易に判定することができる。例えば、細胞でのCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの発現プロファイルは、核酸(例えば、DNAもしくはRNA転写物)またはタンパク質レベルを測定するための慣例的なアッセイを使用して生検試料(例えば、がん患者からの)で実施してもよい。トランスクリプトミクスまたはプロテオミクス技法を使用することができる。また、免疫組織化学検査および免疫蛍光を使用して、組織内の抗原発現を定量化することができる。

20

## 【0159】

状態の予防または処置とは、患者における症状の低減もしくは軽減(すなわち、対症的使用)、悪化もしくは進行からの症状の予防、障害の処置(例えば、原因物質の阻害もしくは排除による)、または状態もしくは障害の、これらがない対象における予防の意味を含む。

## 【0160】

本発明の作用物質は、診療所における個別化医療に適しており、それによって患者に投与されるべき最も適切な作用物質が、診療所において判定され、かつ選択または調製されることが理解されるであろう。例えば、対象に作用物質を投与するステップの前に、以下のいずれかを判定してもよい:(i)対象のMHC対立遺伝子および/または(ii)T細胞抗原に対する対象のT細胞応答(例えば、細胞傷害性T細胞応答)。対象のMHC対立遺伝子は、抗原レベルで血清学的アッセイによって、または遺伝子レベルでDNAアッセイを使用することによって評価することができる。所与の抗原が、対象における特定のT細胞応答(例えば、細胞傷害性T細胞応答)を刺激するか否かの判定は、対象から単離された末梢血単核細胞を抗原と接触させ、細胞増殖の標準アッセイを使用することによって行うことができる。

30

## 【0161】

したがって、本発明の第4の態様の方法は、(i)CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態(例えば、がん)を有する、またはその状態を発症するリスクのある対象を同定するステップ、(ii)対象から試料を採取するステップ、(iii)試料を分析して、その対象における状態を予防または処置する最適のT細胞抗原を同定するステップ、(iv)本発明の作用物質を調製するステップ、(v)対象に作用物質を投与するステップ、および(v)CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞の数を判定する試験を行うことによって、または対象の臨床症状を監視することによって、対象におけるCD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD4

40

50

7、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかを発現する細胞のレベルを監視するステップを含みうる。

【0162】

特定の患者に使用されるべき最も適切な作用物質を選択および任意選択で調製するのに装置を使用してもよいことが理解される。例えば、装置は、対象からの1つまたは複数の試料の自動分析を実施し、この分析に基づいて、その対象の特定の要求に合わせた作用物質を選択および任意選択で調製することができる。したがって、装置は、試料に対して血清学的アッセイを実施して対象のMHC対立遺伝子を判定し、この試験に基づいて、様々なペプチドを、T細胞応答（例えば、細胞傷害性T細胞応答）の誘発におけるこれらの効率について判定し、その結果その患者に使用するのに最良のT細胞抗原を同定することができる。同様に、装置は、対象に由来する（例えば、生検試料に由来する）細胞の発現プロファイルを実施し、その結果、CD70、CD74、CD22、HLA-DR、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95のいずれかの適当な結合パートナーを判定することができる。

10

【0163】

診療所でこれらのステップの任意の1つまたは複数を実施することによって、特定の対象のために適応させた作用物質を調製することができる。例えば、作用物質は、患者のMHC分子に結合し、強いT細胞応答を誘発することが分かっているT細胞抗原を含有することができる。

20

【0164】

一実施形態では、対象は、本発明の第1の態様による作用物質に加えてさらなる治療剤を投与される。例えば、特定の状態を予防または処置するのに作用物質を投与するとき、その状態と闘うのに有用であることが分かっているさらなる治療剤を投与してもよい。一例として、作用物質が、がんを処置するためのものであるとき、さらなる抗がん剤（例えば、抗新生物化学療法）を、本発明の作用物質とともに対象に投与してもよい。同様に、さらなる治療剤は、アレルギー性疾患、炎症疾患、再生医療、および神経再生疾患（neuroregenerative disease）において治療用途を有することが分かっているものであります。

30

【0165】

さらなる治療剤は、本発明の作用物質と同じ時間に（すなわち、任意選択で共製剤での同時投与）、または本発明の作用物質と異なる時間に（すなわち、逐次投与）投与してもよいことが理解される。

【0166】

さらなる治療剤は、ワクチン；免疫刺激薬；抗がん剤；本発明の作用物質に対する抗体応答を阻害する作用物質；および/またはプロテアーゼ阻害剤の任意の1種または複数であります。

【0167】

例えば、使用される特定のT細胞抗原に対するエフェクター免疫応答を追加免疫するために、対象にT細胞抗原をワクチン接種し、かつ/または免疫賦活剤、例えば、IL-2、IL-7、IFN、GM-CSF、メトホルミン、レナリドミドなどを投与し、かつ/またはイビリムマブなどの抗免疫調節剤を投与することができる。同様に、さらなる治療剤は、T細胞抗原に対する免疫応答を刺激するのに使用されるCMVなどの生ウイルスであってもよい。これは、例えば、輸血によって実施されうる。

40

【0168】

対象が免疫抑制剤を投与されている者である場合、これらの免疫抑制剤は、本発明の作用物質を投与されるとき、または投与される前に対象から取り除かれる（例えば、処置を中止することによって）ことも理解される。

【0169】

50

同様に、有害な抗体応答が *in vivo* で誘発される、本発明の作用物質に関するいずれの免疫原性の問題も回避することを目的とした方法を使用することが望ましい場合がある。例えば、対象に、B 細胞の活性を阻害することが分かっている 1 種または複数の作用物質、例えば、リツキシマブ、シクロホスファミド、S y k 阻害剤、抗 B A F F 抗体（例えば、ベリムマブ）、抗 C D 2 2 抗体、抗 C D 2 0 抗体、および抗 C D 1 9 抗体のいずれかなどを投与することもでき、これらのすべては、さらなる治療剤と見なすことができる。この場合、例えば、B 細胞を除去するための前処置として、本発明の作用物質の前に B 細胞の阻害剤が対象に投与される場合、特に好適である。

## 【 0 1 7 0 】

したがって、本発明は、C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するのに使用するための、( i ) 本発明の第 1 の態様による作用物質、および( i i ) さらなる治療剤を含む組成物を含む。本発明の作用物質およびさらなる治療剤が同時にまたは順次投与されうることを考慮すると、本発明は、さらなる治療剤を投与される対象における C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するのに使用するために、本発明の第 1 の態様による作用物質を含むことが理解されるであろう。本発明は、本発明の第 1 の態様による作用物質を投与される対象における C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するのに使用するために治療剤を含むことにもなる。

## 【 0 1 7 1 】

同様に、本発明は、C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の製造における( i ) 本発明の第 1 の態様による作用物質、および( i i ) さらなる治療剤を含む組成物の使用を含む。やはり、本発明の作用物質およびさらなる治療剤が同時にまたは順次投与されうることを考慮すると、本発明は、さらなる治療剤を投与される対象における C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の製造における、本発明の第 1 の態様による作用物質を含む組成物の使用を含むことが理解されるであろう。本発明は、本発明の第 1 の態様による作用物質を投与される対象における C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる状態を予防または処置するための医薬の製造における治療剤の使用を含むことにもなる。

## 【 0 1 7 2 】

本発明は、C D 7 0 、 C D 7 4 、 C D 2 2 、 H L A - D R 、 C D 2 3 、 C D 3 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 7 、 C D 5 4 、 C D 5 5 、 C D 5 8 、 C D 5 9 、 C D 6 2 L 、または C D 9 5 のいずれかを発現する細胞の存在によって特徴付けられる同じ状態を予防または治療するのに適した、( i ) 本発明の第 1 の態様による作用物質、および( i i ) さらなる治療剤を含む組成物も提供する。直前の 2 つの段落で述べた治療剤は、本発明の作用物質によって処置可能である場合、望まれない細胞の存在によって特徴付けられる同じ状態を処置するのに適した作用物質でありうることが理解される。

## 【 0 1 7 3 】

10

20

30

30

40

50

本発明の作用物質を単独で投与することが可能であるが、1種または複数の許容される担体と一緒に医薬製剤としてこれを提供することが好ましい。担体は、治療剤と適合性があり、そのレシピエントに有害でないという意味で「許容され」なければならない。一般に、担体は、滅菌されており、無発熱物質である水または生理食塩水となる。

【0174】

適切な場合、製剤は、好都合なことには単位剤形で提供することができ、薬学の分野で周知の方法のいずれかによって調製することができる。このような方法は、活性成分（望まれない細胞によって特徴付けられる状態を処置または予防するための作用物質）を1種または複数の副成分を構成する担体と会合させるステップを含む。一般に、製剤は、活性成分を液体担体もしくは微粉化した固体担体、または両方と均一かつ密接に会合させ、次いで必要であれば、生成物を成形することによって調製される。

10

【0175】

経口投与に適した本発明による製剤は、それぞれ所定量の活性成分を含有する別個の単位、例えば、カプセル、カシェ剤、または錠剤などとして；粉末もしくは顆粒として；水性液体もしくは非水液体中の溶液もしくは懸濁液として；または水中油型液体エマルジョンもしくは油中水型液体エマルジョンとして提供することができる。活性成分は、ボーラス、舐剤、またはペーストとしても提供することができる。

【0176】

錠剤は、任意選択で1種または複数の副成分とともに圧縮または成型によって作製される。圧縮錠剤は、任意選択で結合剤（例えば、ポビドン、ゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース）、滑沢剤、不活性な希釈剤、防腐剤、崩壊剤（例えば、ナトリウムデンブングリコレート、架橋ポビドン、架橋ナトリウムカルボキシメチルセルロース）、表面活性剤または分散剤と混合して、粉末または顆粒などの自由流動形での活性成分を適当な機械で圧縮することによって調製することができる。湿製錠剤は、不活性な液体希釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物を適当な機械で成型することによって作製することができる。錠剤は、任意選択で被覆し、または刻み目をつけてもよく、例えば、所望の放出プロファイルをもたらす様々な比率でヒドロキシプロピルメチルセルロースを使用して、中の活性成分が徐放または制御放出されるように製剤化してもよい。

20

【0177】

口内局部投与に適した製剤としては、風味主成分、通常スクロースとアカシアまたはトラガカント中に活性成分を含むロゼンジ；不活性主成分、例えば、ゼラチンとグリセリンまたはスクロースとアカシアなどの中に活性成分を含む香錠；および適当な液体担体中に活性成分を含むマウスウォッシュがある。

30

【0178】

非経口投与に適した製剤としては、抗酸化剤、緩衝液、静菌薬、および製剤を意図されたレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有しうる水性および非水性滅菌注射液；ならびに懸濁剤および増粘剤を含みうる水性および非水性滅菌懸濁液がある。製剤は、単位用量または複数回用量容器、例えば、密閉されたアンプルおよびバイアルで提供してもよく、使用直前に滅菌液体担体、例えば、注射用水の添加のみを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）条件で貯蔵してもよい。即席の注射液および懸濁液は、先に記載した種類の滅菌粉末、顆粒、および錠剤から調製されうる。

40

【0179】

本発明の作用物質は、坐剤もしくはペッサリーの形態で投与することができ、またはこれらは、ローション剤、溶液、クリーム、軟膏、もしくは粉剤の形態で局部的に塗布されてもよい。作用物質は、例えば、皮膚パッチの使用によって経皮投与されてもよい。

【0180】

好適な単位投与製剤は、活性成分の一日用量もしくは単位、一日サブ用量、またはこれらの適切な画分を含有するものである。

【0181】

特に上述した成分に加えて、本発明の製剤は、対象になっている製剤のタイプを考慮し

50

て当技術分野で慣例的な他の作用物質を含んでもよく、例えば、経口投与に適したもののは、香味剤を含みうることが理解されるべきである。

【0182】

個体に投与される作用物質の量は、特定の個体の状態と闘うのに有効な量である。量は、医師によって決定されうる。

【0183】

好ましくは、本明細書に記載の発明の任意の態様との関連で、処置される対象はヒトである。代わりに、対象は、動物、例えば、飼いならされた動物（例えば、イヌもしくはネコ）、実験動物（例えば、実験用げっ歯類、例えば、マウス、ラット、もしくはウサギ）、または農業で重要な動物（すなわち、家畜）、例えば、ウマ、ウシ、ヒツジ、もしくはヤギであってもよい。

10

【0184】

本発明の好適な実施形態では、作用物質中のT細胞抗原はペプチドであり、作用物質は、がんを予防または処置するのに使用される。

【0185】

一実施形態では、CD70の結合パートナーは、BU69抗体（抗CD70、Birmingham Universityなどの抗CD70抗体であり（Leucocyte Typing V(1995) : SF Schlossmann編、OUP、Oxford）、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV（配列番号9）またはPDDYSNTHSTRYV（配列番号108）を含む。

20

【0186】

一実施形態では、CD74の結合パートナーは、抗CD74（eBioscience）（精製された抗ヒトCD74、クローン：LN2）などの抗CD74抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV（配列番号9）またはPDDYSNTHSTRYV（配列番号108）を含む。

【0187】

一実施形態では、CD70の結合パートナーは、BU69抗体（抗CD70、Birmingham Universityなどの抗CD70抗体であり（Leucocyte Typing V(1995) : SF Schlossmann編、OUP、Oxford）、T細胞抗原は、PRSPTVFYNI PPPMPLPPLPPSQL（配列番号49）を含む。

30

【0188】

一実施形態では、CD22の結合パートナーは、抗CD22（BD Bioscience）（精製された抗ヒトCD22、クローン：HIB22）などの抗CD22抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV（配列番号9）またはPDDYSNTHSTRYV（配列番号108）を含む。

【0189】

一実施形態では、CD23の結合パートナーは、抗CD23（BD Bioscience）（精製された抗ヒトCD23、クローン：M-L233）などの抗CD23抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV（配列番号9）またはPDDYSNTHSTRYV（配列番号108）を含む。

40

【0190】

一実施形態では、CD30の結合パートナーは、抗CD30（BD Bioscience）（精製された抗ヒトCD30、クローン：BerH8）などの抗CD30抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV（配列番号9）またはPDDYSNTHSTRYV（配列番号108）を含む。

【0191】

一実施形態では、CD43の結合パートナーは、抗CD43（BD Bioscience）（精製された抗ヒトCD43、クローン：1G10）などの抗CD43抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV（配列番号9）またはPDDYSNTHSTR

50

Y V (配列番号 108) を含む。

【0192】

一実施形態では、CD44の結合パートナーは、抗CD44 (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD44、クローン：515)などの抗CD44抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

【0193】

一実施形態では、CD47の結合パートナーは、抗CD47 (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD47、クローン：B6H12)などの抗CD47抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

10

【0194】

一実施形態では、CD54の結合パートナーは、抗CD54 (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD54、クローン：28/CD54)などの抗CD54抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

20

【0195】

一実施形態では、CD55の結合パートナーは、抗CD55 (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD55、クローン：IA10)などの抗CD55抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

20

【0196】

一実施形態では、CD58の結合パートナーは、抗CD58 (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD58、クローン：1C3 (AICD58.6))などの抗CD58抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

30

【0197】

一実施形態では、CD59の結合パートナーは、抗CD59 (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD59、クローン：p282 (H19))などの抗CD59抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

30

【0198】

一実施形態では、CD62Lの結合パートナーは、抗CD62L (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD62L、クローン：SK11)などの抗CD62L抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

40

【0199】

一実施形態では、CD95の結合パートナーは、抗CD95 (BD Bioscience) (精製された抗ヒトCD95、クローン：EOS9.1)などの抗CD95抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

40

【0200】

一実施形態では、HLA-DRの結合パートナーは、抗HLA-DR (BD Bioscience) (精製された抗ヒトHLA-DR、クローン：G46-6)などの抗HLA-DR抗体であり、T細胞抗原は、DYSNTHSTRYV (配列番号9) またはPDDYSNTHSTRYV (配列番号108) を含む。

50

【0201】

本発明を、以下の図面および実施例を活用してさらに詳細に記載する。

【図面の簡単な説明】

【0202】

【図1】ヒトCD70、CD74、HLA-DR、CD22、CD23、CD30、CD43、CD44、CD47、CD54、CD55、CD58、CD59、CD62L、またはCD95（配列番号：93～107）のアミノ酸配列を示す図である。

【図2】抗体ペプチド-エピトープコンジュゲートの内部移行後の再指向されたウイルス特異的T細胞の *in vitro* 活性を実証するデータを示す図である。（A）PDDYSNTHSTRYV（配列番号108）ペプチドのBU69抗体（抗CD70、Birmingham University）へのコンジュゲーションを通じたCD4+サイトメガロウイルス特異的T細胞によるリンパ芽球様細胞株の認識。標的細胞の認識は、抗体が特定のペプチドとコンジュゲートしているときのみ存在する。対照は、外因性ペプチドの存在下でのみ標的細胞に対するT細胞の特異性を実証する。（B）5個のT細胞と1個の標的細胞の比でウイルスペプチドDYSENTHSTRYVとコンジュゲートしたBU69で標識された標的細胞の細胞傷害性。ペプチドがコンジュゲートしたBU69抗体は、ウイルスペプチドで外因的にパルスされた標的細胞の55%の細胞傷害性と比較して40%の細胞傷害性を媒介する。BU69抗体が無関係のウイルスペプチドとコンジュゲートしていたとき、毒性はほとんど見られなかった。（C）PDDYSNTHSTRYVペプチドの抗CD74抗体（eBiosciences）へのコンジュゲーションを通じたCD4+サイトメガロウイルス特異的T細胞によるリンパ芽球様細胞株の認識。標的細胞の認識は、抗体が特定のペプチドとコンジュゲートしているときのみ存在する。対照は、外因性ペプチドの存在下でのみ標的細胞に対するT細胞の特異性を実証する。（D）ヘテロ二官能性架橋剤スルホ-SMCの存在下または非存在下でのPDDYSNTHSTRYVペプチドのBU69抗体へのコンジュゲーションを通じたCD4+サイトメガロウイルス特異的T細胞によるリンパ芽球様細胞株の認識。標的細胞の認識は、架橋剤が存在しないときの応答の欠如と比較して、抗体が架橋剤の存在下でコンジュゲートしているときのみ存在する。対照は、外因性ペプチドの存在下でのみ標的細胞に対するT細胞の特異性を実証する。（E）MHCクラスIまたはクラスII抗原プロセシング経路の阻害剤の存在下または非存在下でのPDDYSNTHSTRYVペプチドのBU69抗体へのコンジュゲーションを通じたCD4+サイトメガロウイルス特異的T細胞によるリンパ芽球様細胞株の認識。標的細胞の認識は、細胞が、未処置の対照（PDDYSNTHSTRYV）と比較して、MHCクラスIIプロセシング経路の阻害剤（クロロキンおよびモネンシン）の存在下で培養されているときのみ低減される。MHCクラスIプロセシング経路の阻害剤の存在下で培養された細胞に向けたT細胞応答の差異はまったくない。（F）同族抗原PRSPTVFYNI<sub>n</sub>PPMPLPPSQLペプチドのBU69抗体（抗CD70、Birmingham University）へのコンジュゲーションを通じたCD4+エピスタインバーウィルス特異的T細胞によるリンパ芽球様細胞株の認識。標的細胞の認識は、抗体が特定のペプチドとコンジュゲートしているときのみ存在する。対照は、外因性ペプチドの存在下でのみ標的細胞に対するT細胞の特異性を実証する。（G～S）二次抗体にコンジュゲートしたペプチド抗原PDDYSNTHSTRYVの認識を通じたCD4+サイトメガロウイルス特異的T細胞によるリンパ芽球様細胞株の認識。標的細胞を、標的細胞の表面で発現されるタンパク質（例えば、CD22、CD23、HLA-DRなど）に結合することができる一次抗体で最初に標識した。次いでペプチドPDDYSNTHSTRYVとコンジュゲートした二次抗体（抗マウスIgG）を使用して、標的細胞に結合した抗体を標識した。APEC複合体で標識された標的細胞は、IFN- $\gamma$ の生成によって判定されるように、ペプチド特異的T細胞によって認識される。対照は、外因性ペプチドの存在下でのみ標的細胞に対するT細胞の特異性を実証する。

#### 【実施例】

#### 【0203】

実施例1：抗体ペプチドエピトープコンジュゲート（APEC）によるT細胞の刺激  
本発明者らは、T細胞抗原を特定の細胞表面標的に標的化することによって、T細胞抗原は、T細胞応答が開始されるように内部移行し、細胞の表面に提示されうることを示した。

10

20

30

40

50

## 【0204】

図2Aは、作用物質で標識された標的細胞のT細胞認識を実証する。抗CD70抗体をペプチド(PDDYSNTHSTRYV)と、またはペプチドを用いずに(DMSO)コンジュゲートし、標的細胞を標識するのに使用する。ペプチドを含まない抗体で標識された細胞は、T細胞によって認識されず、標的細胞およびT細胞を一晩インキュベートした後、培養上清中にIFN- $\gamma$ が存在しないことによって実証される。免疫原性ペプチドとコンジュゲートされた抗体で標識された細胞は、培養上清中のIFN- $\gamma$ の存在に起因してT細胞によって強く認識される。これらの結果は、ペプチドが抗体から放出され、MHCクラスII分子と複合体を形成して細胞表面に提示されたことを示唆する。

## 【0205】

対照細胞は、標的細胞単独による、または免疫原性ペプチドとのインキュベーションに応答したIFN- $\gamma$ 放出はまったくないことを実証する。また、免疫原性ペプチドの非存在下でT細胞によるIFN- $\gamma$ 放出はまったくないが、標的細胞が外因性免疫原性ペプチドで標識された後、T細胞の強い認識があり、T細胞がペプチド特異的であり、標的細胞によって天然に発現される任意の他のペプチドを認識しないことを実証する。最後に、培養中の時間全体にわたって、T細胞によるIFN- $\gamma$ の自然放出はまったくない。

## 【0206】

図2Bでは、標的細胞は、対照ペプチド(ビオチン-RPHERNFGTVL)または試験ペプチド(PDDYSNTHSTRYV)を含有する抗CD70 APECで標識されている。標識された標的細胞をペプチド特異的T細胞とともに6時間インキュベートし、抗CD20抗体で染色し、フローサイトメトリー分析をする。CD70-PDDYSNTHSTRYV APECで標識された標的細胞は、T細胞によって認識され、ビオチン-RPHERNFGTVLで標識された標的細胞と比較して、6時間後にウェル中に残っている標的細胞の数の低減がある。ここで結果は、APECで標識された標的細胞に対するT細胞細胞傷害性の間接法を実証する。

## 【0207】

対照細胞をペプチドでパルスし、または未処置のままにし、T細胞とともに6時間培養した。フローサイトメーターでの分析により、外因性ペプチドをロードされた標的細胞は、T細胞によって標的化され、一方、未処置のままにされた標的細胞は、T細胞によって無視されることが実証された。

## 【0208】

図2Cでは、標的細胞は、ペプチドなし(DMSO)、対照ペプチド(ビオチン-RPHERNFGTVL)、または試験ペプチド(PDDYSNTHSTRYV)を含有する抗CD74 APECで標識されている。ペプチド特異的T細胞とともに培養した後、試験ペプチドを含有するAPECで標識された標的細胞は、IFN- $\gamma$ の放出によって実証されたように認識され、一方、ペプチドを有さない、または対照ペプチドを有するAPECで標識された標的細胞は認識されなかった。

## 【0209】

図2Dでは、スルホ-SMCCを添加して、または添加しないで、ペプチドなし対照としてのDMSO、および試験ペプチドPDDYSNTHSTRYVを使用して抗CD70 APECを生成した。これは、ペプチドの抗体へのコンジュゲーションは、ヘテロ二官能性架橋剤を利用してあり、いずれの他の化学的相互作用も介していないことを実証するためであった。標的細胞をAPECで標識し、T細胞とともに16時間培養した。細胞培養液の上清をIFN- $\gamma$ の存在についてアッセイした。コンジュゲーションがスルホ-SMCCの非存在下で行われると、対照または試験APECで標識された標的細胞の認識はまったくなく、細胞の表面に提示されるペプチドはまったくないことを示唆する。コンジュゲーションがスルホ-SMCCの存在下で行われると、試験APEC(PDDYSNTHSTRYV)で標識された標的細胞に対するT細胞応答があり、対照APEC(DMSO)で標識された標的細胞に対するT細胞応答はまったくない。この結果は、APECを生成するためのペプチドの抗体へのコンジュゲーション中のSMCCの要件を実証す

10

20

30

40

50

る。

【0210】

図2Eでは、標的細胞を、HLAクラスIおよびクラスIIプロセシング経路の阻害剤の存在下で抗CD70-PDDYSNTHSTRYV-APECで標識した。T細胞を標識された標的細胞に添加し、引き続いて6時間培養した後、上清をIFN- $\gamma$ の存在についてアッセイした。ラクタシスチン、ペプスタチン、または3-メチルアデニン（クラスIプロセシング経路の阻害剤）の添加は、阻害剤の非存在下（PDDYSNTHSTRYV）で培養された細胞と比較して同様のレベルのT細胞認識を実証する。モネンシン、クロロキン、およびロイペプチド（クラスIIプロセシング経路の様々な態様の阻害剤）の添加は、生成されるIFN- $\gamma$ の量の減少を実証し、APECは、HLAクラスIIプロセシング経路を介してプロセシングされることを示唆する。

10

【0211】

図2Fでは、EBV由来ペプチドPRSPTVFYNI<sup>1</sup>PPMPLPPSQLおよびAPECで標識された標的細胞を使用して抗CD70-APECを生成した。ペプチド特異的T細胞を標的細胞に添加し、16時間一緒に培養し、上清をIFN- $\gamma$ の存在についてアッセイした。試験APEC（PRSPTVFYNI<sup>1</sup>PPMPLPPSQL）で標識された標的細胞は、T細胞によって認識され、一方、対照APEC（DMSOまたはビオチン-RPHERNFGTVL）で標識された標的細胞は、T細胞によって認識されなかった。

20

【0212】

外因性ペプチドでパルスされた対照細胞は、T細胞によって強く認識され、一方、未処置の標的細胞は、T細胞によって認識されなかった。T細胞によるIFN- $\gamma$ の自然放出は、これらが単独で培養されたとき、まったくなかった。

【0213】

図2G～図2Sでは、抗マウスIgG二次抗体をCMV由来ペプチドPDDYSNTHSTRYVとコンジュゲートした。標的細胞を、様々な細胞表面分子を標的にする一次抗体で最初に標識し、次いでペプチドでコンジュゲートされた二次抗体を使用して二度標識した。ペプチド特異的T細胞を標的細胞に添加し、16時間一緒に培養し、上清をIFN- $\gamma$ の存在についてアッセイした。様々な一次抗体で染色した後試験APECで標識した標的細胞は、T細胞によって認識された。

30

【0214】

外因性ペプチドでパルスされた対照細胞は、T細胞によって強く認識され、一方、未処置の標的細胞は、T細胞によって認識されなかった。T細胞によるIFN- $\gamma$ の自然放出は、これらが単独で培養されたとき、まったくなかった。

【0215】

実施例2：システイン化ペプチドの抗体への化学的コンジュゲーションの標準操作手順  
1. システイン化ペプチドを10mg/mlの最終濃度までDMSOに溶解させる。  
2. スルホスクシンイミジル4-[N-マレイミドメチル]シクロヘキサン-1-カルボキシレート（スルホ-SMCC）1mgを秤量し、リン酸緩衝液（PBS）200 $\mu$ l中に溶解させる。

40

a. スルホ-SMCCの代わりに他のヘテロ二官能性架橋剤、例えば、とりわけ、スルホスクシンイミジル6-[3'-[2-ピリジルジチオ]-プロピオンアミド]ヘキサノエート（スルホ-LC-SPDP）、およびN-[マレイミドプロピオン酸]ヒドラジド、トリフルオロ酢酸塩（BMPH）を使用することができる。

3. 抗体50 $\mu$ l（10mg/ml、抗体500 $\mu$ g）を溶解したスルホ-SMCCに添加し、室温で30分間インキュベートする。

4. カラムを1,500gで1分間最初に回転させることによってZeba Spin脱塩カラム（7kDaの分子量）（Thermo Fisher）を洗浄して、エタノール（貯蔵緩衝液）を除去する。

5. PBS 300 $\mu$ lを添加し、1,500gで1分間回転させる。溶出液を取り出し

50

、さらに2回繰り返す。

6. 抗体-SMCC 125 μlをカラムに添加し、十分に混合し、2分間インキュベートする。

7. 結合した抗体を溶出するために、1,500gで2分間遠心分離し、溶出液を収集する。

8. DMSO中に先に溶解させたペプチド5 μlをSMCC活性化抗体に添加し、室温で30分間インキュベートする。

9. カラムを13,000rpmで30秒間最初に回転させることによってプロテインGカラム(GE Healthcare)を洗浄して、エタノール(貯蔵緩衝液)を除去する。

10. PBS 500 μlを添加し、プロテインGビーズを十分に混合した後、13,000rpmで30秒間回転させる。溶出液を取り出し、洗浄をさらに2回繰り返す。

11. 抗体-SMCCをプロテインGカラムに添加し、十分に混合し、5分間インキュベートする。13,000rpmで30秒間遠心分離し、溶出液を取り出す。

12. PBS 500 μlを添加することによって抗体を洗浄し、ビーズを十分混合した後、13,000rpmで30秒間回転させ、溶出液を取り出す。このステップをさらに2回繰り返す。

13. 結合した抗体を溶出するために、0.1Mクエン酸125 μlをビーズに添加し、室温で2分間インキュベートする。カラムを1.5mlのエッペンドルフ内に入れ、13,000rpmで30秒間回転させ、溶出液を収集する。

14. 溶出を2回繰り返し、総溶出体積を250 μlにする。

15. 0.2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 750 μlを添加してpHを約7に上げる。室温で10分間放置する。これで抗体-ペプチドコンジュゲートを、細胞を染色するのに使用することができる。

16. 抗体を4で貯蔵する。

#### 【図1ABC】

##### (A) ヒトCD70のアミノ酸配列

```
MPEEGSGCSVRRPYCCVLRALVPLVAGLVICLWVCIQRFAAQQQQLPLESLGWDVAELQ
LNHTGPQDPRLWVGGPALGRSLHIGPELDKGQLRIHRDGIYMVHICVTLAICCSTTASR
HHPTTLAVGICSPASRSISLRLSFHQGCTIASQRLTPLARGDTLCTNLGTLPLPSRNTDETFF
GVQWVVRP
```

##### (B) ヒトCD74のアミノ酸配列

```
MHRRRSRSRCEDQKPVMDQQRDLISNNEQLPMLGLRRGAPESKCSRGALYTGFSLVTLL
LAGQATTAYFLYQQQGRDLKLTVTQSQNLLENLRMKLPKPKPVSKMRMATTPLMQALPM
GALPGPMQNAKTYGNMTEDHVMHLLQNAQPLKVPYPPKGSPENLRHLKNTMETIDWKV
FESWMHHWLLFEMSRHSLEQKPTDAPPVLTCKQEEVSHIPAVHPGSFRPKCDENGNYLP
LQCYGSIGYCWCVFPNGTEVPNTRSRGHNCSESLEDPSSGLGVTKQDGLGVPM
```

##### (C) ヒトHLA-DRアルファのアミノ酸配列

```
MAISGVPVLGFFIAVILMSAQESWAIKEEHVIIQAEFYLPDQSGEFGMFDGDGEIFHVD
MAKKETVWRLEEFGRFASFEAQGALANIAVDKANLEIMTKRSNYTPITNVPPETVVLNTS
PVELREPNVILCIFDKFTPVVNVTVLRLNGKPVTTGSETVFLPREDHILFRKFHYLPFLP
STEDVYDCRVEHVGGLDEPLKKHWEFDAPSPLPETTENVVCALGLTVGLVGIIGTIFIIK
GVRKSNAERRGPL
```

#### 【図1D】

##### (D) ヒトCD22のアミノ酸配列

###### アルファ形態

```
MHLLGPWLLLVLEYLAFLSDSSKVVFEHPETLYAWEGACVWIPICTYRALGDLESFLFH
NPEYNKNTSKFDGTRLYESTKDGKVPSSEQRKVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLR
MESKTEK/WMERIHLNVSERPFPPIQLPPEIQUESQEVTLTCLLNFSCYGYPIQLQWLLEG
VPMRQAAVTSTSLSKVFTRSPQWPSHKGIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKHK
PPKKVTTVQNPMPIREGDTVTLCNYYNSNPNSVTRYEWKPHGAEPEPSLGVLKIQNVGW
DNTTIAACACNSWCSWASPVNALNVQYAPRDRVVRKIKPLSEIHSGNNSVSLQCDFSSHPK
EVQFWKEKNGRLLGKESQLNFDSDISPEDAGSYSCWVNNNSIGQTAWSKAWTLEVLVYAPRRLR
VSMSPGDQVMEGKSATLTCSANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKLRLEPVVKVQHSGA
Y
WCGTNTSVKGKGRSPSLSTLVYVYSPETIGRRVAVGLGSLAIIICGLKLQRWWKRTQ
QQGLOENSSGGSFFVRNKKVRRAPLSEGPSPHSLGCVNPMEDGISYTTLRFPEMNIPRTGD
AESEMQRPPPPDCDDTVTYSALHKRQVGDYENVIPDFPDEGEIHYSLEIQFGVGERPQAQ
ENVDYVILKH
```

###### ベータ形態

```
MHLLGPWLLLVLEYLAFLSDSSKVVFEHPETLYAWEGACVWIPICTYRALGDLESFLFH
NPEYNKNTSKFDGTRLYESTKDGKVPSSEQRKVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLR
MESKTEK/WMERIHLNVSERPFPPIQLPPEIQUESQEVTLTCLLNFSCYGYPIQLQWLLEG
VPMRQAAVTSTSLSKVFTRSELKSPQWPSHKGIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKHK
TPKLEIKVTPSDAIREGDSVTMTCVSSNPEVTTVSVLKDGTSLKKQNTFTLNLREV
KDQSGKYYCCQVSNNDVGPGRSEEVFLQVQYAPEPSTVQILHSPAVEGGSQVEFLCMSLANPL
PTNYTWYHNGKEMQGRTEEKVHPKLPWHAQTSVAENILGTGQRGPGAEVDQVYPPK
KVTIVQNPMPIREGDTVTLCNYYNSNPNSVTRYEWKPHGAEPEPSLGVLKIQNVGDNT
IAACACACNSWCSWASPVNALNVQYAPRDRVVRKIKPLSEIHSGNNSVSLQCDFSSHPKEVQ
FPWEKNGRLLGKESQLNFDSDISPEDAGSYSCWVNNNSIGQTAWSKAWTLEVLVYAPRRLR
SPGDQVMEGKSATLTCSANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKLRLEPVVKVQHSGAYWC
Q
GTNSVKGKGRSPSLSTLVYVYSPETIGRRVAVGLGSLAIIICGLKLQRWWKRTQ
LQENSSQSFVVRNKKVRRAPLSEGPSPHSLGCVNPMEDGISYTTLRFPEMNIPRTGD
AESEMQRPPPPDCDDTVTYSALHKRQVGDYENVIPDFPDEGEIHYSLEIQFGVGERPQAQ
ENVDYVILKH
```

## 【図1E】

## (E) ヒトCD23のアミノ酸配列

MEEGQYSEIEELP RRRCCRRGTQIVLLGLVTAALWAGLTL LLLWHWDTTQSQLKQLEERA  
ARNVSQVSKNLESHHGDQMACKSGSTQISQEELERAEQQLKSQDLELSWNLNGLQADL  
SSFKSQELNERNEASDLLELRREEVTKLRLMELQVSSGFCNTCPKEWINKFQRKCYFGKG  
TKQWVHARYACDDMEGQLVSIHSPEEQDFLTKHASPHTGSWIGRLRNLDKGEFIVWDGSHV  
DYSNWPAPGEPTSRSGEDCVMMRGSGRWNDACDRKLGAWVCDRLATCTPPASEGSASE  
SMGPDSPRDPDGRPLPTSAPLHS

## 【図1F G】

## (F) ヒトCD30のアミノ酸配列

MVRVLAALGLLFLGALARFPQDRPFDTCGHNPShYYDKAVRRCCYRCPMGLFPTQQCPQ  
RPTDCRKQCEPDYYLDEADRCTACVTCRSDDLVEKTPCAWNSSRVCECRPGMFCSTS  
N  
SCARCFHFVCPAGMIVKPGTAQKNTVCEPASPGVSPACASPECKPSSGTIPQAKPT  
PVSPATSSASTMPVRGGTRLAQEAASKLTRAPDPSVGRPSSDPGLSPTQCPCEGSDC  
RKQCEPDYYLDEAGRTRACVCSRDDLVEKTPCAWNSSRTCECRPGMTCATSATNSCARC  
VPYPICAETVKPQDMAEKTDTFEAPPLGTQPDNCNPTPENGEAPASTSPQSLVDSQA  
SKTLPITPSVPLSTGKPVLDAGPVFLVWILVLLVVVGSSAFLLCHRRACRKRIQKL  
HLCYVQTSQPKELEVDSRPRRSSTOLRSGASVTEVAEERGLMSQPLMETCHSGVAAYL  
ESLPLQDASPAGGPSSPRLPEPVRSTEHTNNKIEKYMADTV/IVGTVKAELPEGRGL  
AGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEGKEDPLPTAASGK

## (G) ヒトCD43のアミノ酸配列

MATL LLLGVVSPDALGSTTAVQPTSGEPLVSTSEPLSSKMYTTSITSDPKADSTGD  
QTSA LPPSTSINEGSPWTSIGASTGSPLEPPTTQEVSIKMSVSPQETPHATSPVAPI  
TANSLGSHTVGGTTTNSPETSSRTSGAPVTTAASSLESRTSGTSPGPPLTMATVLETSK  
GTGPPVTMATSLETSTGTPVMTTGSLEPSSGASGPQVSSVKLSTMMSPTTSTNA  
STVPRNPDENSRGMLPVAVLVALLAVLVLLVALLWRRRQKRTGALVLSRGKRNGV  
DAWAGPAQVPEEGAVTVGGSGGDKGSGFPDGEGRSSRPTLTFGRRKSRQGS  
E  
LKSGSGPSLKGEEEPLVASEDGAVIDAPAPDEPEGGDGAAP

## 【図1H】

## (H) ヒトCD44のアミノ酸配列

MDKFVWWHAAGLCLVPLSLAQIDLNITCRAGFVHFVEKNGRYSISRTEAADLCKAFNSTL  
PTMAQMEKALISGFETCRYGFIEGHVVPIRHPSNICAANNTGVVYILSTSNTSQYDTCFNF  
ASAPPEECDTSVTDLNAFDGPTITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIPSPNTDDVSS  
GSSERSSTSSTGGYIYTFSTVHPPIPDEDPSPWITDSTDRIPATTLMSTSATATETAKRQE  
TWDWFSWLFPLPSKSNHHTTOMAGTSSNTISAGWEPNEENEDERDRHLSFSGSGIDDD  
EDFDISTTIPRAFHTKQNQDWTPNPSHSNPVLLQTTTRMTDVDRNGTTAYEGNWN  
PEAHPLIHHHEEEETP+STSTIATQATPSSTTEETATQKEQWFGNRWHEGYRQTPKEDS  
HSTTGTAAASAHSTHMPQGRRTPSPEDSSWTFNPNISHPMGRGHQAGRRMDMDSHSIT  
LQPTANPNTGLVEDLDRTPGLSMTTQQNSQSFSTSHEGLEEDKDHTTSTLSSRNNDV  
TGGRRDPNHSSEGSTTLEGGTSHYPTKESRTFIPVTSAKTGSFGVTAVTGVDSNSNVN  
SLSGDQDTFHPSGSHTTHGSESDGHSGSQEGGANNTSGPRTPQIPEWLLIASLALL  
AIIJAVCIAVNSRRRCGKKKLVINSNGANGAEDRKPSGLNGEASKSQEMVHLVNKESSET  
PDQFMTADETRNLQNVDMKIGV

## 【図1I J】

## (I) ヒトCD47のアミノ酸配列

MWPLVAALLLGSACCGSAQLLNKNTKSVEFTFCNDTVVPCFVNMEAQNTEEVYKWKF  
KGRDITYTFDGANLKVTPDFFSAKIEVSQLKGDAKLDKMDASLHSHTGNYTCVEFELT  
REGETIIELKRYVWSFSPNENILVIFPIAIIFWQGFGIKTLKYSRSGGMDEKTIA  
VAGLVITVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAIGLTSFVIA  
ILVQVIAYIAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ  
PPRKAVEEPLNAFKESKGMMNDE

## (J) ヒトCD54のアミノ酸配列

MAPSSPRPALPALLVLLGALFPGPQNAQTSVSPSKVILPRGGSVLVTCSCTSCDQPKLLGI  
ETPLPKKEELLPGNNRKVYELSNVQEDSQPMYCNSCPDGQSTAKTFLTVWTPVERELAP  
LPSWQPVGNKLTLRCQVVEGGAPRANLTVLLRGEKELKREPAVGEPAEVTTVLVRDRDH  
GANFSCTEELDRPQGLELFNTSAPYQLOTFVLPATPPQLVSPRVLLEVDTQGTVCSCLD  
GLFPVSEAVQVHLALGDQRNLNPTVYGNDSFSAKASVSVTAEDEGTQRLTCAVILGNQSQE  
TLQTVTISFPAPNVLTKPEVSEGTEVTVKCEAHPRAKVTLNGVPAQPLGPRQALLKA  
TPEDNGRSFSCSATLEVAGQQLHKNQTRELRVLYGPRRLDERDCPGNWTPENSQTPMC  
Q  
AVGNPLPELKLKDGTFLPIGESVTVTRDLEGTYLCSRARSTQGEVTRKVTVNVLSPRYE  
IVIITVAAVIMGATAGLSTLYNQRKIKYRLQQAKGTPMKPNTQATPP

## 【図1K L M】

## (K) ヒトCD55のアミノ酸配列

MTVAPRSVPAALPPLLGEPLPRLLLVLLCPLAVWGDCGLPPDVNAQPALEGRTSFPEDTV  
ITYKCEESFVKIPGEKDSVCLKGQSQWSDIEEFCRNRCVPTLNSASLQKPYITQNYFP  
VGTVEVECRPGYRREPSLSPKLTCLQNLKWTAVSFCKKSCPNPGEIRNGQIDVPGGI  
LFGATISFCNTGYKLGSTSSFCNLGSQSSQVNSDPLPECREYCPAPPQIDNGIIQGER  
DHYGRQSVTYACNKGTMIGEHSYIYCTVNNDEGEWSGPPECRGKSLTSVKPPVQKPT  
TVNVTTEVSPSTSQTKTTPNAQATRSTPVSRTKHFHETTPNGSGTTSGGTRLLS  
GHTCFTLTGLLGTLVMTGLLT

## (L) ヒトCD58のアミノ酸配列

MVAGSDAGRALGVLSVVCCLLHCFGIFSCFSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVLKEVLWKKQK  
DKVAELENSEFRAFSSFKNRVYLDVTSGSLTIYNTSSDEDEYEMESPNTDTMKFFLYV  
LESLPSTLTCAUTNGSIEVQCMYPEHYNSHRGLIMYSWDCPMEQCKRNNTSIVYKFMEND  
LPQKIQCTLSNPFLNTTSSIIITTCIPSSGHSRHYALIPIPLAVITTCIVLYMNGILKC  
DRKPDRTNSN

## (M) (アイソフォーム2)

MVAGSDAGRALGVLSVVCCLLHCFGIFSCFSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVLKEVLWKKQK  
DKVAELENSEFRAFSSFKNRVYLDVTSGSLTIYNTSSDEDEYEMESPNTDTMKFFLYV  
LESLPSTLTCAUTNGSIEVQCMYPEHYNSHRGLIMYSWDCPMEQCKRNNTSIVYKFMEND  
LPQKIQCTLSNPFLNTTSSIIITTCIPSSGHSRHYALIPIPLAVITTCIVLYMNGILKC  
DRKPDRTNSN

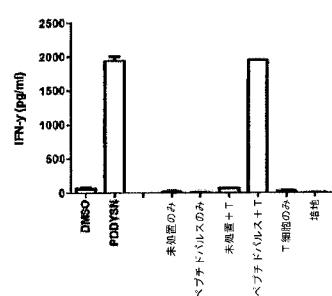
## (N) ヒトCD62Lのアミノ酸配列

## 【図1N O】

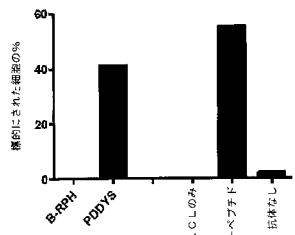
MIFPWKQCSTQRDLWNIFKLWGWMLCCDFLAHHGDCWTYHYSEKPMNWQRARRFCR  
DN  
YTDLVIAQNAEIEYELKTPFSRSYYWIGIRKIGGIVWTWVGTNKSLEEEAENWGDGEPE  
NKKNKEDCVEIYIKRNKDAGKWNNDACHKLKAALCYTASCQPVCSGHGECVEINNYTC  
NCDVGYYGPQCQFVQCEPCEAPELGTMDCTHPLGNFSFSSQCAFSCSEGTNLTGIE  
CGPFGNWSSPEPTCCQVICCEPLSAPDLGIMNCSPHLASFSTSACTFICSEGTEL  
KCKTICESSGIWSNPSPICQKLDKFSMIEKEGDYNPLFIPVAVMVTAFGLAFIILWARRKK  
GKKSKRSMNDP  
YTDLVAQNAEIEYELKTPFSRSYYWIGIRKIGGIVWTWVGTNKSLEEEAENWGDGEPE  
NKKNKEDCVEIYIKRNKDAGKWNNDACHKLKAALCYTASCQPVCSGHGECVEINNYTC

【図2 A B】

A

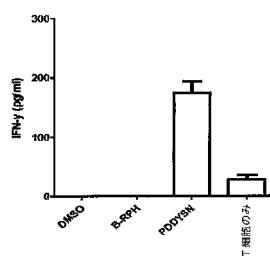


B

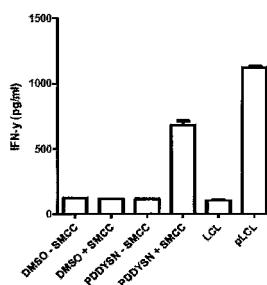


【図2 C D】

C

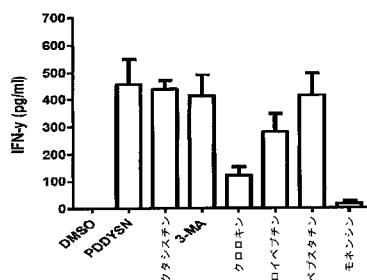


D

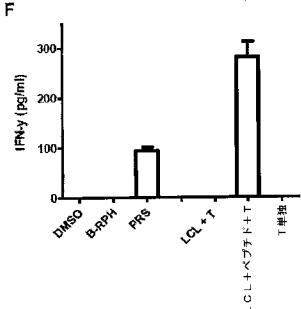


【図2 E F】

E

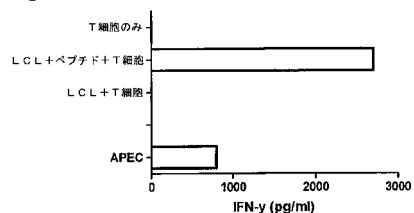


F

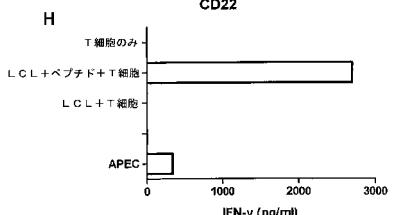


【図2 G H I】

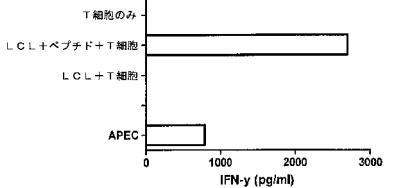
G



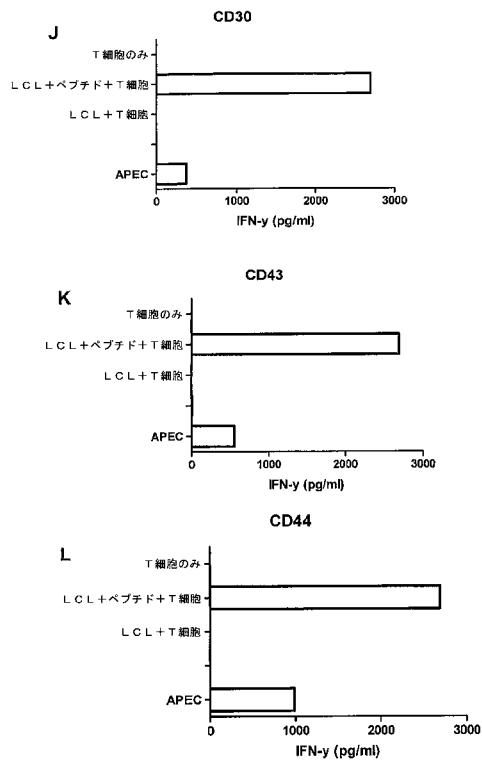
H



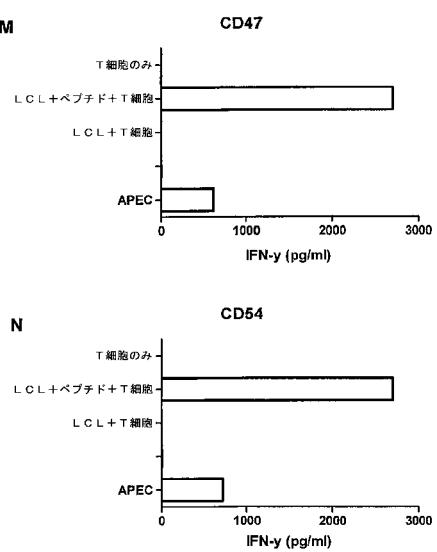
I



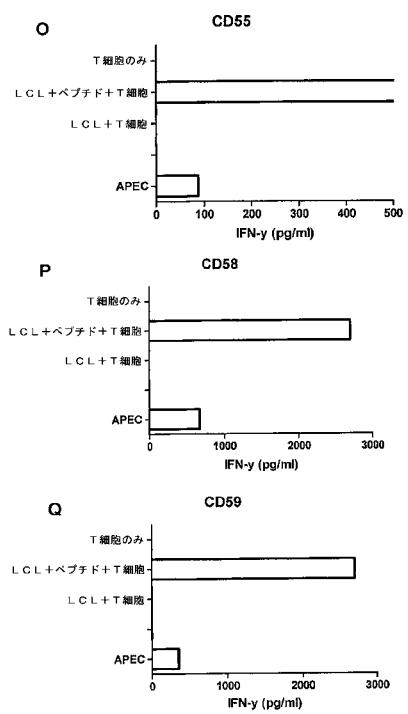
【図2 J K L】



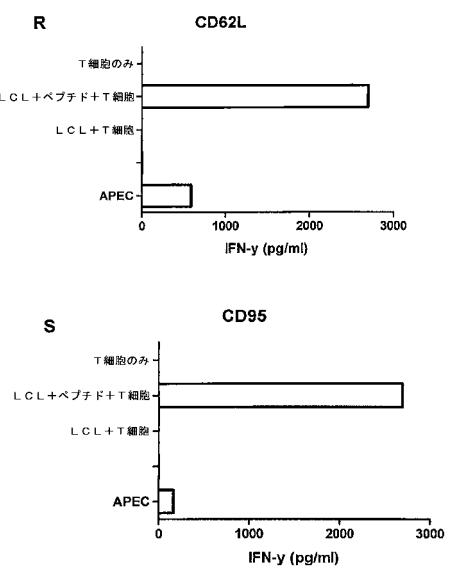
【図2 M N】



【図2 O P Q】



【図2 R S】



【配列表】

2015529676000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/GB2013/052427

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. A61K39/395 A61K47/00 C07K19/00  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
G01N A61K C07K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EBERL G ET AL: "AN ANTI-CD19 ANTIBODY COUPLED TO A TETANUS TOXIN PEPTIDE INDUCES EFFICIENT FAS LIGAND (FASL)-MEDIATED CYTOTOXICITY OF A TRANSFORMED HUMAN B CELL LINE BY SPECIFIC CD4+ T CELLS", CLINICAL AND EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING LTD, GB, vol. 114, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 173-178, XP008062486, ISSN: 0009-9104, DOI: 10.1046/J.1365-2249.1998.00710.X abstract -----	1-31
X	WO 97/23237 A1 (IMMUNOMEDICS INC [US]; HANSEN HANS J [US]), 3 July 1997 (1997-07-03) claim 13; example 5 ----- -/-	1-10, 12-27, 29-31

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

16 January 2014

02/05/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fleitmann, J

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/GB2013/052427

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

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

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

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-31(partially)

## Remark on Protest

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

International Application No. PCT/ GB2013/ 052427

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-31(partially)

An agent comprising: (i) a T cell antigen, and (ii) a binding partner for CD22

---

2-15. claims: 1-31(partially)

An agent comprising: (i) a T cell antigen, and (ii) a binding partner for one of the antigens selected from the following list: CD23, CD30, CD74, CD70, CD43, CD44, CD47, CD54, CD58, CD62L, CD95, HLA-DR, CD59, CD55,

---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2013/052427

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>KREITMAN ROBERT J ET AL: "Phase I trial of anti-CD22 recombinant immunotoxin moxetumomab pasudotox (CAT-8015 or HA22) in patients with hairy cell leukemia.", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY 20 MAY 2012, vol. 30, no. 15, 20 May 2012 (2012-05-20), pages 1822-1828, XP009175514, ISSN: 1527-7755 abstract page 1825, left-hand column, paragraph 2 page 1823, left-hand column, paragraph 3</p> <p>-----</p>	1-6, 9-18, 21-31
X	<p>EP 0 659 438 A1 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE]) 28 June 1995 (1995-06-28)</p> <p>page 7, line 23 - line 27; claims 1-9</p> <p>-----</p>	1-6,9, 10, 12-19, 28,29
X	<p>R. F. ALDERSON ET AL: "CAT-8015: A Second-Generation Pseudomonas Exotoxin A-Based Immunotherapy Targeting CD22-Expressing Hematologic Malignancies", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 15, no. 3, 1 February 2009 (2009-02-01), pages 832-839, XP055096229, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1456 abstract</p> <p>-----</p>	1-6
E	<p>WO 2013/139789 A1 (DEUTSCHES KREBSFORSCH [DE]) 26 September 2013 (2013-09-26)</p> <p>claim 1; figures 1-10,13</p> <p>-----</p>	1-6, 9-16,28, 29
A,P	<p>R. MAZOR ET AL: "Identification and elimination of an immunodominant T-cell epitope in recombinant immunotoxins based on Pseudomonas exotoxin A", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 109, no. 51, 18 December 2012 (2012-12-18), pages E3597-E3603, XP055096210, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1218138109 abstract</p> <p>-----</p>	1-31

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/GB2013/052427

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9723237	A1 03-07-1997	AU	721927 B2	20-07-2000
		AU	1287197 A	17-07-1997
		CA	2240834 A1	03-07-1997
		EP	0881910 A1	09-12-1998
		EP	2057999 A2	13-05-2009
		JP	2000503003 A	14-03-2000
		JP	2008115196 A	22-05-2008
		WO	9723237 A1	03-07-1997
<hr/>				
EP 0659438	A1 28-06-1995	AU	1317695 A	10-07-1995
		EP	0659438 A1	28-06-1995
		WO	9517212 A1	29-06-1995
<hr/>				
WO 2013139789	A1 26-09-2013	NONE		
<hr/>				

## フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 39/25 (2006.01)	A 6 1 K 39/145	
A 6 1 K 39/245 (2006.01)	A 6 1 K 39/25	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/245	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
	C 0 7 K 16/28	Z N A

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

(72)発明者 コボールド、マーク

イギリス国 ビー15 2ティーティー、ユニバーシティ オブ バーミンガム、メディカル スクール、エムアールシー センター フォー イミューン レギュレーション、デパートメント オブ クリニカル イミュノロジー

(72)発明者 ミラー、デイヴィッド

イギリス国 ビー15 2ティーティー、ユニバーシティ オブ バーミンガム、メディカル スクール、エムアールシー センター フォー イミューン レギュレーション、デパートメント オブ クリニカル イミュノロジー

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA02 NA05 ZB082 ZB092 ZB262 ZC752

4C085 AA02 AA03 AA05 AA13 AA14 AA15 BA51 BA55 BA77 BA78  
BA79 BA83 CC23 EE03  
4H045 AA11 CA40 DA76 EA31 FA71