(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-538573
(P2024-538573A)
(43)公表日　令和6年10月23日(2024.10.23)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07K 16/28	*(2006.01)*	C07K	16/28		4B064
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	35/00	ZNA	4C084
A61P 31/00	*(2006.01)*	A61P	31/00		4C085
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	45/00		4H045
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全34頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-518745(P2024-518745)
(86)(22)出願日　令和4年9月30日(2022.9.30)
(85)翻訳文提出日　令和6年5月27日(2024.5.27)
(86)国際出願番号　PCT/EP2022/077270
(87)国際公開番号　WO2023/052581
(87)国際公開日　令和5年4月6日(2023.4.6)
(31)優先権主張番号　21200496.4
(32)優先日　令和3年10月1日(2021.10.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　517452497
マブ ディスカバリー ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング
ＭＡＢ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ ＧｍｂＨ
ドイツ連邦共和国８２３９８ポリング，タッシローシュトラーセ２
(74)代理人　100136629
弁理士　鎌田 光宜
(74)代理人　100080791
弁理士　高島 一
(74)代理人　100125070
弁理士　土井 京子
(74)代理人　100121212
弁理士　田村 弥栄子
(74)代理人　100174296
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　免疫刺激剤としてのアゴニスト性ＣＤ４０抗体

(57)【要約】
本発明は、ヒトＣＤ４０受容体に特異的に結合し、Ｆｃｙを介するＣＤ４０受容体クロスリンクに非依存的にＣＤ４０シグナル伝達を誘導し、免疫刺激剤として使用することができる、ヒト化モノクローナルアゴニスト性抗体、又はその抗原結合断片に関する。
【選択図】なし

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
医薬用途、特に免疫刺激剤としての使用のための、
ヒトＣＤ４０受容体に特異的に結合し、Ｆｃγを介するＣＤ４０受容体クロスリンクに非依存的にＣＤ４０シグナル伝達を誘導することができる、アゴニスト性モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、
ａ）配列番号３のＣＤＲ１Ｈ領域、配列番号４のＣＤＲ２Ｈ領域及び配列番号５のＣＤＲ３Ｈ領域を含むＶＨ領域と、
ｂ）配列番号６のＣＤＲ１Ｌ領域、配列番号７のＣＤＲ２Ｌ領域及び配列番号８のＣＤＲ３Ｌ領域を含むＶＬ領域と
を含み、
該ＣＤＲは本発明によるそれらの活性を損なわない任意の１以上のアミノ酸変異を含んでもよく、
０．１～１ｍｇ／ｋｇ体重の用量で投与される、該抗体又はその断片。
【請求項２】
抗体又はその断片が、０．２～０．９ｍｇ／ｋｇ体重、好ましくは０．３～０．７ｍｇ／ｋｇ、又はまたは０．４～０．５ｍｇ／ｋｇの用量で投与される、請求項１に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項３】
抗体がヒト化ＩｇＧ１ＬＡＬＡ抗体である、請求項１又は２に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項４】
抗体が、少なくともヒトＩｇＧ１　Ｆｃ領域のＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ、またはヒトＩｇＧ４　Ｆｃ領域のＳ２２８Ｐ及びＬ２３５Ｅのアミノ酸置換を含む、請求項３に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項５】
抗体が、配列番号１の重鎖可変（ＶＨ）領域と少なくとも８５％同一であるＶＨ領域を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項６】
抗体が、配列番号２の軽鎖可変（ＶＬ）領域と少なくとも８５％同一であるＶＬ領域を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項７】
感染症及び／又はがんの予防又は治療における、先行する請求項のいずれか一項に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項８】
がんが固形腫瘍である、請求項７に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項９】
がんが、膵臓がん、進行膵臓がん、肺がん、非小細胞肺（ＮＳＣＬ）がん、気管支肺胞細胞肺がん、骨がん、膵臓がん、皮膚がん、頭頸部がん、皮膚又は眼内黒色腫、卵巣がん、直腸がん、肛門部がん、胃がん（stomach cancer）、胃がん（gastric cancer）、結腸がん、乳がん、腎臓がん、ホジキンリンパ腫、肝臓がん、胆のうがん、膀胱がん、前立腺がん、甲状腺がん、唾液腺がん、又は子宮がんを含む群から選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項１０】
先行する請求項のいずれか一項に記載の使用のための抗体又はその断片であって、該抗体又はその断片が、細胞毒性剤または細胞増殖抑制剤、放射線療法、標的療法、免疫療法又は手術と組み合わせて使用される、抗体又はその断片。
【請求項１１】
抗体又はその断片が、少なくとも１つの免疫チェックポイント阻害剤、好ましくは抗ＴＩＧＩＴ、抗ＰＤ－Ｌ１、抗ＰＤ－１、抗ＣＴＬＡ－４、抗ＣＤ１３７、抗ＬＡＧ－３、

抗ＴＩＭ－３、抗ＯＸ４０、および／または抗ＧＩＴＲからなる群から選択される少なくとも１つの免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用される、先行する請求項のいずれか一項に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項１２】
抗体又はその断片が、単回投与又は複数回投与として投与される、先行する請求項のいずれか一項に記載の使用のための抗体又はその断片。
【請求項１３】
薬学的に許容される担体と、先行する請求項のいずれか一項に記載の抗体又は断片の治療有効量とを含む医薬組成物であって、該医薬組成物が、０．１～１ｍｇ／ｋｇ体重の用量の抗体又は断片の投与に適合される、医薬組成物。
【請求項１４】
請求項１３に記載の医薬組成物であって、より長期間にわたる抗体又は断片の放出制御、好ましくは抗体又は断片の持続放出のためのデポー製剤である、医薬組成物。
【請求項１５】
静脈内投与又は皮下投与に適合された、請求項１３又は１４に記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、免疫刺激剤としての使用のための、ヒトＣＤ４０受容体に特異的に結合し、ＦｃγＲを介したＣＤ４０受容体クロスリンクに非依存的なＣＤ４０シグナル伝達を誘導し得るヒト化モノクローナルアゴニスト性抗体、又はその抗原結合断片に関する。
【背景技術】
【０００２】
がん免疫療法における近年の成功により、免疫系は、大部分とは言わないまでも多くのがんを制御することができるという仮説が復活し、多くの低分子薬では見られない方法で持続的な応答を生み出す場合もある。アゴニスト性のＣＤ４０モノクローナル抗体（ｍＡｂ）は、様々な機序により抗がん免疫を生みだす可能性を有する、新たな治療の選択肢を提供する。
【０００３】
ＣＤ４０は細胞表面分子であり、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）受容体スーパーファミリーのメンバーである。それは、樹状細胞、Ｂ細胞、及び単球等の抗原提示細胞（ＡＰＣ）、並びに多くの非免疫細胞や広範囲の腫瘍上に広く発現している。
【０００４】
ＣＤ４０の天然のリガンドはＣＤ１５４であり、それは活性化されたＴリンパ球の表面上に主として発現し、免疫応答のためにＴ細胞を「助ける」主要な成分を提供する。ＡＰＣ上のＣＤ４０を介したシグナル伝達は、主に、ヘルパーＴ細胞がＡＰＣをライセンシングする能力を仲介する。ＤＣ上のＣＤ４０のリガンドとの結合（ligation）は、例えば、共刺激性及びＭＨＣ分子の表面発現の増加、炎症誘発性サイトカインの産生、及びＴ細胞トリガリングの増強を誘導する。休止しているＢ細胞上のＣＤ４０のリガンドとの結合は、抗原提示機能と増殖を増大させる。
【０００５】
ＣＤ４０シグナル伝達の結果は多面的であり、ＣＤ４０を発現している細胞の型と、ＣＤ４０シグナルが提供されている微小環境に依存する。ＴＮＦ受容体ファミリーの幾つかの他のメンバーと同様に、ＣＤ４０シグナル伝達は、ＣＤ４０細胞質末端の内在的なシグナル伝達活性によるというよりも、むしろアダプター分子により仲介される。受容体が会合すると下流のキナーゼ群が活性化され、多成分のシグナル伝達複合体はＣＤ４０からサイトゾルに移動し、特性がよく知られた幾つかのシグナル伝達経路が活性化される。
【０００６】
拮抗性のヒトＣＤ４０抗体は、当該技術分野で知られている。データによると、毒性とＦｃγとの架橋形成との間に相関があることが示されているが、臨床試験された治療用の

抗ＣＤ４０抗体のほとんどは、Ｆｃγとの架橋形成を介して作用する。それゆえ、Ｆｃγを介したＣＤ４０受容体架橋形成が低減した、サイレントなＦｃ変異体が開発されている。ヒトＩｇＧ１のＦｃ領域の個別の変異は、例えば米国出願公開第２０１８／０１１８８４３号に記載されている。

【０００７】

最近計画された免疫調節的なアプローチでは、免疫系ががん細胞を認識して破壊する能力を増強するために、ＣＤ４０を標的としたアゴニストモノクローナル抗体（ｍＡｂ）が使用されている。各々の前臨床研究は、アゴニスト性のＣＤ４０　ｍＡｂはＡＰＣを活性化して、抗腫瘍性Ｔ細胞応答を促進し、Ｔ細胞免疫の非存在下でがんを制御する能力を有する細胞傷害性骨髄細胞を育てることができると示している。従って、アゴニスト性のＣＤ４０　ｍＡｂは、ＣＴＬＡ－４又はＰＤ－１等の、ネガティブなチェックポイント分子を遮断することにより免疫賦活化を達成するｍＡｂとは根本的に異なっている。

【０００８】

国際公開第２０１９／０５７７９２号は、ヒトＣＤ４０受容体に特異的に結合し、Ｆｃγを介したＣＤ４０受容体架橋形成に非依存的なＣＤ４０シグナル伝達を誘導し得るヒト化モノクローナルアゴニスト性抗体又はその抗原結合断片を記載する。

【０００９】

このように、アゴニスト性のＣＤ４０　ｍＡｂは、新規な免疫療法、特にがん免疫療法のための有望な戦略を提示する。しかしながら、それらの潜在的な細胞傷害性の副作用に関して懸念が提起されている。アゴニスト性のモノクローナルＣＤ４０抗体は、サイトカイン放出症候群、自己免疫反応、血栓塞栓性症候群（血小板と内皮細胞によるＣＤ４０の発現による）、活性化誘導性の細胞死又は寛容（tolerance）をもたらす過剰免疫刺激、及び腫瘍血管新生を引き起こす、という可能性がある。これらの効果は、不都合な毒性又は腫瘍増殖の促進を引き起こし得る。機序としては、アゴニスト性の、ＣＤ４０及び他のＴＮＦ受容体ファミリーを標的化する抗体が、Ｆｃγ受容体と相互作用する能力が、動物研究における毒性の発生と関連付けられている（Li & Ravetch 2012, Xuら, 2003, Byrneら, 2016）。

【００１０】

従って、毒性の副作用が最少であるか、もしくは無い、有効な免疫療法を提供する必要性がある。本出願では、アゴニスト性のＣＤ４０抗体の免疫調節能力を評価した。ある抗体は、過剰な毒性作用を引き起こすことなく免疫刺激効果を引き出す、意外にも広い治療域を有することがわかった。

【発明の概要】

【００１１】

本発明は、免疫刺激剤としての使用のための、ヒトＣＤ４０受容体に特異的に結合し、Ｆｃγを介したＣＤ４０受容体架橋形成に非依存的なＣＤ４０シグナル伝達を誘導するモノクローナル抗体、又はその抗原結合断片を提供する。本発明によれば、該抗体又は抗体断片は、患者への投与のために、患者のｋｇ体重あたり約０．１～１ｍｇの1回用量で提供される。この範囲で、それらは、毒性の副作用があったとしても無視できる程度でありつつ、強力な免疫刺激効果を引き出すことができる。本発明はまた、免疫系を刺激することが望まれる状態や疾患の処置、例えば、感染症の予防又は治療における使用、並びに、がんに罹患した患者の治療のための使用に適した、前記抗体を含む医薬組成物を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００１２】

【図１】（Ａ）示したゲーティング戦略に従って、フローサイトメトリーによりアカゲザルＰＢＭＣ中のＣＤ２０＋Ｂ細胞、ＣＤ１４＋古典的単球（ＣＭ）、ＣＤ１１ｃ＋骨髄性樹状細胞（ＭＤＣ）およびＣＤ１２３＋形質細胞様樹状細胞（ＰＤＣ）の表現型を同定した。代表的な動物１頭を示す。（Ｂ）異なるアカゲザル免疫細胞におけるＣＤ４０のベースライン発現。ＣＤ４０の平均蛍光強度（ＭＦＩ）を示す。

【００１３】
まず、ＭＡＢ２７３をアカゲザルＰＢＭＣに対してｉｎ　ｖｉｔｒｏで試験し、この抗体が交差反応性を示すかどうか、またアカゲザルモデルを用いてｉｎ　ｖｉｖｏでこの抗体を研究できるかどうかを確認した。フローサイトメトリーによるゲーティング戦略を図１Ａに示す。
【００１４】
Ｂ細胞はＣＤ４０のベースライン発現が最も高く、次いで形質細胞様樹状細胞（ＰＤＣ）、骨髄性樹状細胞（ＭＤＣ）と続くが、古典的単球（ＣＭ）はＣＤ４０のベースライン発現が比較的低い（図１Ｂ）。
【００１５】
【図２】アカゲザルＰＢＭＣをＭＡＢ２７３（１、１０、２０μｇ／ｍｌ）、アイソタイプコントロールＡｂ（１、１０、２０μｇ／ｍｌ）、またはＴＬＲ７／８Ｌ（５μｇ／ｍｌ）で２４時間刺激した。ＭＤＣおよびＢ細胞上の細胞活性化マーカー（ＣＤ８６、ＣＤ７０）、リンパ節ホーミングマーカー（ＣＣＲ７）およびＣＤ４０の表面発現量をフローサイトメトリーで評価した。データは４つの独立した実験から得られた。ＭＦＩ値はｎ＝４匹で示した。統計解析には両側対のｔ検定を用いた。
【００１６】
次に、ＭＡＢ２７３で２４時間刺激した後の細胞の表現型分化をｉｎ　ｖｉｔｒｏで解析した。異なる細胞亜集団にゲーティングを行い、特にＣＤ４０を発現する細胞に注目した（図１）。その結果、次のことがわかった。
・ＭＡＢ２７３はＭＤＣとＢ細胞を活性化し、ＣＤ８６、ＣＤ７０、ＣＣＲ７の発現をアップレギュレートした（図２Ａ）。アイソタイプ・コントロール抗体ではアップレギュレーションは見られなかった。
・ＣＤ４０染色に関しては、データは、ＣＤ４０染色抗体はＭＡＢ２７３の結合によってブロックされるため、ＭＡＢ２７３で培養した後の細胞ではＣＤ４０発現を検出できないことを示している。
・ＰＤＣとＣＭの活性化は見られないか、限定的であった（図２Ｂ）。
【００１７】
【図３】アカゲザルＰＢＭＣを抗ＣＤ４０　Ａｂ（１、１０、２０μｇ／ｍｌ）、アイソタイプコントロールＡｂ（１、１０、２０μｇ／ｍｌ）、またはＴＬＲ７／８Ｌ（５μｇ／ｍｌ）で２４時間刺激した。細胞培養から採取した上清中のＴＮＦおよびＩＬ－１２ｐ７０のレベルを測定した。ｎ＝４動物。
【００１８】
これは次のことを示している。
・ＭＡＢ２７３は１μｇ／ｍｌでも１０μｇ／ｍｌでも低レベルのＴＮＦ分泌を刺激したが、２０μｇ／ｍｌでは毒性のためと思われるさらに低いレベルであった。陽性対照としてＴＬＲ７／８リガンドを用いた。対照的に、アイソタイプコントロール抗体はＴＮＦを誘導しなかった。
・培養物からはＩＬ－１２ｐ７０は検出されなかった。そのＥＬＩＳＡキットの検出レベル以下で産生された可能性がある。
・いずれにせよ、大量のＩＬ－１２ｐ７０の分泌は、ＭＡＢ２７３によるアカゲザルＰＢＭＣのｉｎ　ｖｉｔｒｏ刺激では誘導されなかったと結論できる。
【００１９】
【図４】（Ａ）ゲーティング戦略。（Ｂ）ヒトＰＢＭＣを０．２５μＭのＣｅｌｌＴｒａｃｅ　Ｖｉｏｌｅｔで３７℃、２０分間標識した後、ＭＡＢ２７３（１、０．１、０．０１、０．００１μｇ／ｍｌ）、抗ＣＤ４０　Ａｂ（１、０．１、０．０１、０．００１μｇ／ｍｌ）、ＣｐＧ　Ｂ（１μｇ／ｍｌ）またはＳＥＢ（０．２μｇ／ｍｌ）で６日間刺激した。Ｂ細胞の増殖状態はフローサイトメトリーで評価した。
【００２０】
ＭＡＢ２７３で６日間培養した後のＢ細胞増殖アッセイも行った。これは次のことを示

している。
・検出可能なＢ細胞増殖は、異なる濃度のＭＡＢ２７３で処理したＰＢＭＣ、特に０．１μｇ／ｍｌ群で観察された（図４）。しかし、抗ＣＤ４０　Ａｂ群では増殖は観察されなかった。陽性対照としてのＣｐＧ群では、予想通り強い増殖が認められた。
【００２１】
【図５】新鮮な血液サンプル（３５０μｌ）を臨床化学検査のためにＡｄｌｅｇｏ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ　ＡＢ（Ｋａｒｏｌｉｎｓｋａ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｔ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｐａｒｋに本拠を置く）に送った。
【００２２】
　ｉｎ　ｖｉｔｒｏ試験の後、６頭のアカゲザルを３つのグループに分け、ＭＡＢ２７３をｉｎ　ｖｉｖｏで３つの異なる条件で試験した。まず１ｍｇ／ｋｇを静脈内投与し、２番目のグループには１０倍低用量、３番目のグループにも１０倍低用量を静脈内投与した。肝機能と腎機能の一連の検査である臨床化学検査を行った。
【００２３】
　これは次のことを示している。
・１ｍｇ／ｋｇ　ｉ．ｖ．投与群では、いくつかのパラメータが健康な基準範囲を超えて上昇した。この群では、食欲不振、嘔吐、行動の変化といった副作用も見られた。
・０．１ｍｇ／ｋｇ　ｉ．ｖ．に減量した用量では、顕著な副作用は認められなかった。
・０．１ｍｇ／ｋｇのｓ．ｃ．投与では顕著な副作用は認められなかった。
・０．１ｍｇ／ｋｇ投与群（ｉ．ｖ．とｓ．ｃ．の両方）では、ほとんどすべてのパラメータが正常範囲内にとどまった（図５）。
【００２４】
【図６】新鮮な血液サンプル（３５０μｌ）をＡｄｌｅｇｏ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ　ＡＢ（Ｋａｒｏｌｉｎｓｋａ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｔ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｐａｒｋ所在）に送り、全血球計算（ＣＢＣ）を行った。
【００２５】
　全血球計算では、ＭＡＢ２７３投与後の細胞数の変動は顕著であった。
【００２６】
　これは次のことを示している。
・血小板の急激な減少と顆粒球の急激な増加は、すべての群で投与後３０分から４時間ですでに観察された（図６）。
・細胞数の変動は用量依存的で、１ｍｇ／ｋｇ　ｉ．ｖ．投与群では顕著に効果が拡大した。
【００２７】
【図７】投与後の血漿中ＭＡＢ２７３濃度を自社のカスタムＥＬＩＳＡアッセイで測定した。ＵＬＯＤ＝検出上限（６７９６７．１ｎｇ／ｍＬ），ＬＬＯＤ＝検出下限（０．０４７ｎｇ／ｍＬ），ＬＬＯＱ＝定量下限（０．２６１　ｎｇ／ｍＬ）。ｎ＝２匹／群。
【００２８】
　投与後の血漿中ＭＡＢ２７３濃度の測定にはＥＬＩＳＡ法を用いた。
【００２９】
　これは次のことを示している。
・ＭＡＢ２７３は投与後３０分で、特に経静脈投与群ではすでに十分に検出可能であった（図７）。
・高用量投与群では、ＭＡＢ２７３濃度のピークは３０分から４時間頃に現れ、その後徐々に低下し始め、１４日目には検出されなくなった。
・低用量静脈内投与群では、３０分後に最高濃度が検出され、７日目に検出されなくなるまで継続的に減少した。
・低用量ｓ．ｃ．投与群では、ＭＡＢ２７３濃度のピークはより遅く（３日目頃）現れ、７～１４日目に検出されなくなるまでこの濃度が長く続いた。最高濃度は他の２群に比べて比較的低かった。

【００３０】
【図８】（Ａ）ゲーティング戦略。（Ｂ）アカゲザルＰＢＭＣの細胞頻度をフローサイトメトリーで評価した。ｎ＝２動物／群。
【００３１】
免疫細胞数の変動をサブセット・レベルでさらに細分化し、その活性化状態を解析するために、１４パラメータのフローサイトメトリーパネルを用いて、ＰＢＭＣサンプルを縦断的に追跡した（図８Ａ）。解析された細胞サブセット頻度は、全血球数（ＣＢＣ）データに対して正規化された（図６）。
【００３２】
これは次のことを示している。
・細胞の変動は、好中球の急激な増加とＢ細胞およびＭＤＣの一過性の減少という、ＣＢＣデータと同様の傾向をたどった（図８Ｂ）。
・観察された動態は、循環から組織への免疫細胞の再分布、そして骨髄からの新しい免疫細胞の再増殖と解釈できる。
【００３３】
【図９】アカゲザルＰＢＭＣ上のＣＤ４０の細胞表面発現をフローサイトメトリーで評価した。ＣＤ４０の平均蛍光強度（ＭＦＩ）を示す。ｎ＝２動物／群。
【００３４】
ＭＡＢ２７３による細胞表面ＣＤ４０のターゲティングは、フローサイトメトリーで競合蛍光抗体の結合消失を定量することで評価した（図２に記載）。
【００３５】
これは次のことを示している。
・ＭＡＢ２７３はＢ細胞とＭＤＣ上のＣＤ４０を迅速かつ効果的に封鎖した（図９）。
・ＣＤ４０検出の動態は、血漿中のＭＡＢ２７３の薬物動態に従った（図７）。
・検出可能なＣＤ４０発現の回復は、骨髄からの新しい細胞の出現、および生体内での抗体の半減期によるものかもしれない。
【００３６】
【図１０】共同刺激マーカーであるＣＤ８０のアカゲザルＰＢＭＣにおける細胞表面発現をフローサイトメトリーで評価した。ＣＤ８０の平均蛍光強度（ＭＦＩ）を示す。ｎ＝２動物／群。
【００３７】
フェノタイピングによる活性化もフローサイトメトリーで解析した。
【００３８】
これは次のことを示している。
・共刺激マーカーであるＣＤ８０の発現は、ＭＡＢ２７３投与直後から増加し、その後、特にｉ．ｖ．投与群でＢ細胞が減少した（図１０）。
・ＡＰＣの表現型が急速に成熟した後、細胞は循環から離れ、新しい未熟なＡＰＣの再増殖が起こる。
【００３９】
【図１１】リンパ節ホーミングマーカーであるＣＣＲ７をアカゲザルＰＢＭＣ上でフローサイトメトリーにより評価した。ＣＣＲ７の平均蛍光強度（ＭＦＩ）を示す。ｎ＝２動物／群。
【００４０】
ＣＤ８０の発現と同様に、我々は次のことを見出した。
・リンパ節ホーミングマーカーであるＣＣＲ７の発現も、Ｂ細胞で急速に増加し、後に減少した（図１１）。
・理由はおそらくＣＤ８０と同じだろう。
【００４１】
【図１２】血漿中サイトカイン（ＩＦＮ－γおよびＩＬ－６）濃度は、ＥＬＩＳＡキットを用いて製造業者のプロトコールに従って測定した。ｎ＝２動物／群。

【００４２】
血漿中の炎症性サイトカインの全身レベルをＥＬＩＳＡで評価した。我々は次のことを検出した。
・ＩＦＮ－γとＩＬ－６はいずれも、高用量投与の１日目または２日目のみに有意に増加した（図１２）。
・ＴＮＦ－αとＩＬ－１２　ｐ７０は、高感度ＥＬＩＳＡキット（ＴＮＦ　ＥＬＩＳＡキット：ＢＭＳ２２３ＨＳ、ＢＭＳ６５４、３５１２Ｍ－１Ｈ－６、ＩＬ－１２　ｐ７０　ＥＬＩＳＡキット：ＢＭＳ６４６）を追加しても検出範囲外であった。
【００４３】
これは次のことを示している。
・低用量群で全身性のサイトカイン放出がなかったことは、観察されたより良好な安全性プロファイルと一致している。
【００４４】
【図１３】ＰＢＭＣ（Ａ）とＢＡＬ（Ｂ）におけるＡｇ特異的Ｔ細胞の経時的変化。集計データはバックグラウンド減算。プライム免疫とブースター免疫は、それぞれ０週目と７週目に行った（３匹の動物には０．１ｍｇ／ｋｇのＨＩＶエンベロープペプチドを単独でｓ．ｃ．投与し、別の３匹の動物には０．１ｍｇ／ｋｇのＨＩＶエンベロープペプチドと０．１ｍｇ／ｋｇのＭＡＢ２７３のｓ．ｃ．投与をプライムとブースターの両方で併用した）。
【００４５】
２回目のブースター免疫も行った。今回は、６匹すべての動物に１ｍｇ／ｋｇのＨＩＶエンベロープペプチドをｓ．ｃ．投与し、１１週目に０．１ｍｇ／ｋｇのＭＡＢ２７３をｓ．ｃ．投与した。個々のデータは点で示した。ｎ＝３動物／群。
【００４６】
これは次のことを示している。
・エンベロープ特異的ＣＤ４およびＣＤ８　Ｔ細胞応答は両群で誘導されたが、そのレベルは低かった。ＨＩＶ１－エンベロープペプチド０．１ｍｇ／ｋｇの用量が最適ではなかったのかもしれない。
・にもかかわらず、エンベロープ特異的ＣＤ４およびＣＤ８　Ｔ細胞の頻度は、ペプチドのみを投与されたグループと比較して、ＭＡＢ２７３グループの方が全体的に高かった。
・ＭＡＢ２７３とより高用量のペプチドを全動物に投与した２回目のブースターでは、両群の動物でＴ細胞応答のブースター効果が認められた。
・ＰＢＭＣでの反応に加えて、Ｔ細胞反応もＢＡＬで検出された。
【００４７】
【図１４】異なる組織における異なる細胞集団からのＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６８０シグナルのヒストグラム。コントロール＝同じ動物の末梢血Ｂ細胞（ただし追跡免疫の直前）。ｎ＝３動物。
【００４８】
最後に、投与後のＭＡＢ２７３の生体内分布を評価するために、３匹の動物に０．１ｍｇ／ｋｇのＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６８０標識ＭＡＢ２７３をｓ．ｃ．投与した。動物は２４時間後または４８時間後に投与を中止し、剖検を行って組織にＭＡＢ２７３が存在するかどうかを評価した。
【００４９】
これは次のことを示している。
・Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６８０シグナルは、注射部位（Ｌ．皮膚）および注射部位を排出する特定のＬＮ（Ｌ．鼠径部、Ｌ．ｃｏｍ．腸骨およびＰａｒａａｏｒｔｉｃ　ＬＮ）でのみ検出された。
・Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６８０シグナルは、注射部位からＬＮが離れるほど徐々に減少した。
・２４時間後と比較して、４８時間後ではより多くのＭＡＢ２７３がより遠くのＬＮに到

達していた。
・インビボでＭＡＢ２７３の標的となった主な細胞集団は、単球、ＭＤＣ、好中球であった。
・これらの非ナイーブ動物では、抗ＭＡＢ２７３　ＩｇＧが全身への播種を妨げているためと思われる。
【００５０】
【図１５】配列（アミノ酸は１文字コード）　可変領域（ＶＲ）の完全な配列：　重鎖：　ＶＨ全長：　配列番号１　軽鎖：　ＶＬ全長：　配列番号２
【００５１】
相補性決定領域（ＣＤＲ）：
重鎖：　ＣＤＲ－Ｈ１：　配列番号３
　　ＣＤＲ－Ｈ２：　配列番号４
　　ＣＤＲ－Ｈ３：　配列番号５
【００５２】
軽鎖：　ＣＤＲ－Ｌ１：　配列番号６
　　ＣＤＲ－Ｌ２：　配列番号７
　　ＣＤＲ－Ｌ３：　配列番号８
【発明を実施するための形態】
【００５３】
定義
　用語「抗体」は、抗体全体及び抗体断片を含むが、それらに限定されるものではなく、本発明の特性を示す限り、様々な形態の抗体構造を包含する。
【００５４】
　「抗体断片」とは、無傷抗体が結合する抗原に結合する、無傷抗体の部分を含む、無傷抗体以外の分子を言う。抗体断片の例には、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’-ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２；ダイアボディー；直鎖抗体；一本鎖抗体分子（例えばｓｃＦｖ）；及び抗体断片から形成される多重特異的な抗体が挙げられるが、それらに限定される訳ではない。
【００５５】
　本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」又は「モノクロ－ナル抗体組成物」とは、単一のアミノ酸組成の抗体分子の調製物を言う。
【００５６】
　用語「ヒト化抗体」又は「ヒト化バージョンの抗体」とは、抗体エンジニアリングの結果として、重鎖と軽鎖の両方がヒト化されている抗体を言う。ヒト化された鎖は典型的にはＶ領域のアミノ酸配列が変えられている鎖であって、それによって、全体として解析されると、元の種の生殖系列配列よりもヒトの生殖系列配列に、ホモロジーにおいてより近いものである。ヒト化の評価は、結果として得られたアミノ酸配列に基づいて行われ、方法論それ自体に基づいて行われるものではない。
【００５７】
　本明細書で使用される用語「標的又は抗標的抗体に対して特異的に結合する」とは、ＥＬＩＳＡにより測定された、それぞれの抗原（標的）又は抗原発現細胞への抗体の結合を言うものであり、ここで前記ＥＬＩＳＡは好ましくは、それぞれの抗原を固相担体へ被覆すること、それぞれの抗原又はタンパク質との免疫複合体の形成を許容する条件下において前記抗体を添加すること、本発明による抗体に対して結合する二次抗体を使用し、且つペルオキシダーゼに仲介される発色を使用して、光学密度値（ＯＤ）の測定による前記免疫複合体を検出することを含む。
【００５８】
　本発明における用語「抗原」とは、免疫接種のために使用される抗原、又はタンパク質であって前記抗原をそのタンパク質配列の一部として含むものを言う。例えば、免疫接種

のために、タンパク質の細胞外ドメインの断片（例えば最初の２０アミノ酸）を使用することができ、検出／アッセイ等のために、そのタンパク質の細胞外ドメイン又は全長タンパク質を使用することができる。

【００５９】

本明細書における「特異的に結合する」又は「特異的に認識される」とは、抗原について適切な親和性を示す抗体、好ましくは顕著な交差反応性を示さない抗体を意味する。

【００６０】

「顕著な交差反応性を示さない」抗体とは、望ましくない他のタンパク質と、かなりの結合しない（と思われる）ものである。特異的な結合は、そのような結合を測定するための任意の分野で認識される手段、例えばＥＬＩＳＡ等の競合的結合アッセイにより測定することができる。

【００６１】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」とは、ある抗体であって、参照抗体のその抗原への結合を競合アッセイにおいて５０％以上阻害する抗体、及び逆に、参照抗体が、その抗体のその抗原への結合を競合アッセイにおいて５０％以上阻害する抗体を言う。

【００６２】

本明細書で使用される「本発明による抗体の可変領域（又はドメイン）」（軽鎖の可変領域（ＶＬ）、重鎖の可変領域（ＶＨ））とは、抗原の抗体への結合に直接的に関与する、軽鎖と重鎖の領域のペアのそれぞれを意味する。可変軽鎖及び重鎖領域は同じ一般構造を有し、それぞれの領域は４つのフレームワーク（ＦＲ）領域を含み、その配列は広く保存され、３つの相補性決定領域であるＣＤＲにより連結されている。

【００６３】

本明細書で使用する用語「抗体の抗原結合部分」とは、抗原結合を担っている抗体のアミノ酸残基を言う。抗体の抗原結合部分は、好ましくは「相補性決定領域」又は「ＣＤＲ」に由来するアミノ酸残基を含む。ＣＤＲ配列は、Kabatら, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第５版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)により規定される。この番号付けシステムを使用して、実際の直鎖のアミノ酸配列は、可変領域のＦＲ又はＣＤＲの短縮、又はそれへの挿入に相当する、より少ない又は追加のアミノ酸を含んでもよい。例えば重鎖可変領域は、Ｈ２の残基５２の後の単一のアミノ酸挿入（Ｋａｂａｔによる残基５２ａ）と、重鎖ＦＲ残基８２の後に挿入された残基（例えば、Ｋａｂａｔによる残基８２ａ、８２ｂ、及び８２ｃ等）を含んでもよい。所定の抗体についての残基のＫａｂａｔの番号付けは、「標準」のＫａｂａｔ番号付けがされた配列との、その抗体の配列の相同な領域におけるアラインメントにより決定されてもよい。

【００６４】

「定常領域（定常部分）」は抗体の抗原への結合に直接的には関与していないが、例えばエフェクター機能も示す。ヒトＩｇＧ１に対応する重鎖定常領域遺伝子断片はγ１鎖と呼ばれる。ヒトＩｇＧ３に対応する重鎖定常領域遺伝子断片はγ３鎖と呼ばれる。ヒト定常γ重鎖は、Kabat, E.A.ら, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第５版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)により、及びBrueggemann, M.ら, J. Exp. Med. 166 (1987) 1351-1361; Love, T.W.ら Methods Enzymol. 178 (1989) 515-527により詳細に述べられている。

【００６５】

本明細書中の用語「Ｆｃ領域」とは、少なくとも定常領域の一部を含む、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を規定するために使用される。その用語は天然配列のＦｃ領域と変異体Ｆｃ領域を含む。

【００６６】

本明細書中で特定されない限り、Ｆｃ領域又は定常領域のアミノ酸残基の番号付けは、Kabatら, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版. Public

Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)の中に述べられている通りの、ＥＵインデックスとも呼ばれる、ＥＵ番号付けシステムに従う。

【００６７】

「変異体Ｆｃ領域」はアミノ酸配列を含み、そのアミノ酸配列は、本明細書中で規定された少なくとも１つの「アミノ酸修飾」のために、「天然」又は「野生型」のＦｃ領域配列のそれとは異なっている。

【００６８】

本明細書中で使用される用語「Ｆｃ変異体」とは、Ｆｃドメインの中に修飾を含んでいるポリペプチドをいう。その修飾は付加、欠失、又は置換であることができる。置換は天然に存在するアミノ酸及び天然に存在しないアミノ酸を含むことができる。変異体は非天然アミノ酸を含んでもよい。

【００６９】

用語「Ｆｃ領域含有ポリペプチド」は、抗体等のＦｃ領域を含むポリペプチドをいう。

【００７０】

用語「Ｆｃ受容体」又は「ＦｃＲ」とは、抗体のＦｃ領域に結合する受容体を述べるために使用される。ＩｇＧ抗体に結合するＦｃＲ（ガンマ受容体）には、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩサブクラスの受容体（これらの受容体の対立遺伝子の変異体及びオルタナティブスプライシング型を含む）が含まれる。ＦｃγＲＩＩ受容体はＦｃγＲＩＩＡ（「活性化受容体」）及びＦｃγＲＩＩＢ（「抑制性受容体」）を含み、それらは類似したアミノ酸配列を有するが、主としてその細胞質ドメインにおいて異なっている。活性化受容体であるＦｃγＲＩＩＡは、その細胞質ドメインの中に、免疫受容体チロシンに基づく活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含む。抑制性受容体であるＦｃγＲＩＩＢは、その細胞質ドメインの中に免疫受容体チロシンに基づく抑制モチーフ（ＩＴＩＭ）を含む（Daeron, M., Annu. Rev. Immunol. 15 (1997) 203-234の中の総説を見よ）。ＦｃＲは、Ravetch及びKinet, Annu. Rev. Immunol 9 (1991) 457-492; Capelら, Immunomethods 4 (1994) 25-34;及びde Haasら J. Lab. Clin. Med. 126 (1995) 330-41に総説されている。将来に同定されるべきものを含めて他のＦｃＲは、本明細書中の用語「ＦｃＲ」に包含される。その用語は新生児の受容体であるＦｃＲｎも含み、それは母親のＩｇＧの胎児への運搬を担っている（Guyerら, J. Immunol. 117 (1976) 587 及びKimら, J. Immunol. 24 (1994) 249）。

【００７１】

本明細書中で使用される「ＩｇＧ　Ｆｃリガンド」とは、任意の生物に由来する、ＩｇＧ抗体のＦｃ領域に結合してＦｃ／Ｆｃリガンド複合体を形成する分子、好ましくはポリペプチドを意味する。ＦｃリガンドにはＦｃγＲ、ＦｃＲｎ、Ｃ１ｑ、Ｃ３、マンナン結合レクチン、マンノース受容体、ブドウ球菌タンパク質Ａ、連鎖球菌タンパク質Ｇ、及びウイルスＦｃγＲが含まれるが、それらに限定される訳ではない。ＦｃリガンドはＦｃ受容体のホモログ（ＦｃＲＨ）も含むが、それはＦｃγＲと相同性を有するＦｃ受容体のファミリーである（Davisら, Immunological Reviews 190 (2002) 123-136、全体として参照することにより組み込まれる）。ＦｃリガンドはＦｃに結合する未発見の分子を含んでもよい。特定のＩｇＧ　ＦｃリガンドはＦｃＲｎとＦｃガンマ受容体である。本明細書中で使用される「Ｆｃリガンド」は、任意の生物に由来し、抗体のＦｃ領域に結合してＦｃ／Ｆｃリガンド複合体を形成する分子、好ましくはポリペプチドを意味する。

【００７２】

本明細書中で使用される「Ｆｃガンマ受容体」、「ＦｃγＲ」、又は「ＦｃガンマＲ」とは、ＩｇＧ抗体のＦｃ領域に結合し、ＦｃγＲ遺伝子によりコードされるタンパク質のファミリーの任意のメンバーを意味するものである。ヒトにおいてこのファミリーは、アイソフォームであるＦｃγＲＩＡ、ＦｃγＲＩＢ、及びＦｃγＲＩＣを含むＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）；アイソフォームであるＦｃγＲＩＩＡ（アロタイプＨ１３１とＲ１３１を含

む）、ＦｃγＲＩＩＢ（ＦｃγＲＩＩＢ－１とＦｃγＲＩＩＢ－２を含む）、及びＦｃγＲＩＩｃを含むＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２）；並びにアイソフォームであるＦｃγＲＩＩＩＡ（アロタイプＶ１５８とＦ１５８を含む）、及びＦｃγＲＩＩＩｂ（アロタイプＦｃγＲＩＩＢ－ＮＡ１とＦｃγＲＩＩＢ－ＮＡ２を含む）を含むＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６）（Jefferisら, Immunol Lett 82(2002)）のみならず、任意の未発見のヒトＦｃγＲ若しくはＦｃγＲアイソフォーム又はアロタイプを含むが、それらに限定されるものではない。ＦｃγＲは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、及びサルを含むが、それらに限定されるものではなく、任意の生物に由来してよい。マウスＦｃγＲは、ＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）、ＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２）、ＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６）、及びＦｃγＲＩＩＩ－２（ＣＤ１６－２）のみならず、任意の未発見のマウスＦｃγＲ若しくはＦｃγＲアイソフォーム又はアロタイプを含むが、それらに限定されるものではない。

【００７３】

本明細書中で使用される「ＦｃＲｎ」又は「新生児のＦｃ受容体」とは、ＩｇＧ抗体Ｆｃ領域に結合し、少なくとも部分的にＦｃＲｎ遺伝子によりコードされるタンパク質を意味するものである。ＦｃＲｎは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、及びサルを含むが、それらに限定されるものではなく、任意の生物に由来してもよい。本技術分野で知られているように、機能を有するＦｃＲｎタンパク質は、しばしば重鎖と軽鎖と呼ばれる２つのポリペプチドを含む。軽鎖はベーター２－ミクログロブリンであり、重鎖はＦｃＲｎ遺伝子によりコードされている。本明細書中で特に明記しない限り、ＦｃＲｎ又はＦｃＲｎタンパク質は、ＦｃＲｎ重鎖とベーター２－ミクログロブリンの複合体をいう。

【００７４】

ペプチド又はポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列の同一性パーセント（％）」とは、配列のアラインメントとギャップの導入を行った後に、もし必要ならば、最大パーセントの配列同一性を達成するために、如何なる保存的置換も配列同一性の一部分として考慮することなく、候補配列の中のアミノ酸残基が、特定のペプチド又はポリペプチド配列の中のアミノ酸残基と同一であるパーセンテージであると規定される。アミノ酸配列の同一性のパーセントを決定する目的のアラインメントは、例えば、公表されているコンピューターソフトウェアであるＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、又はＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェア等を使用して、本技術分野の技能の範囲内である種々な方法により達成することができる。

【００７５】

「抗体依存性細胞仲介性細胞傷害」と「ＡＤＣＣ」とは、細胞に仲介される反応をいい、その反応においてＦｃＲを発現する非特異的な細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、及びマクロファージ）が、標的細胞上の結合した抗体を認識し、引き続いてその標的細胞の溶解を引き起こす。ＡＤＣＣを仲介するための主要な細胞であるＮＫ細胞はＦｃγＲＩＩＩのみを発現する一方、単球はＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ及びＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞上のＦｃＲ発現は、RavetchとKinet, Annu. Rev. Immunol 9 (1991) 457-492の464ページの表３に要約されている。

【００７６】

用語「抗体依存性細胞貪食」と「ＡＤＣＰ」とは、抗体に被覆された細胞が、免疫グロブリンＦｃ領域に結合する貪食性免疫細胞（例えば、マクロファージ、好中球、及び樹状細胞）により、全体的又は部分的のいずれにせよ取り込まれる（internalized）プロセスをいう。

【００７７】

本明細書中で使用される用語「抗体エフェクター機能（複数可）」又は「エフェクター機能」とは、ＩｇＧのＦｃエフェクタードメイン（複数可）（例えば免疫グロブリンのＦｃ領域）が寄与している機能をいう。そのような機能は、例えば、Ｆｃエフェクタードメイン（複数可）の、貪食若しくは溶解活性を有する免疫細胞上のＦｃ受容体への結合により、又はＦｃエフェクタードメインの補体系の成分のへの結合によりもたらされる。典型的なエフェクター機能は、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、及びＣＤＣである。

【００７８】
「Ｃ１ｑ」は、免疫グロブリンのＦｃ領域のための結合部位を含むポリペプチドである。Ｃ１ｑは２つのセリンプロテアーゼであるＣ１ｒとＣ１ｓと共に、複合体Ｃ１を形成し、それは補体依存性細胞障害（ＣＤＣ）経路の最初の成分である。
【００７９】
抗体の「クラス」とは、それの重鎖が持つ定常ドメイン又は定常領域の型をいう。抗体の主要なクラスは５つあり：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭ、これらの幾つかをさらにサブクラス（アイソタイプ）、例えばIgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2に分けてもよい。免疫グロブリンの異なったクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。
【００８０】
薬剤例えば医薬製剤の「有効量」とは、望まれる治療又は予防の結果を達成するために、投与量において必要な期間有効である量をいう。
【００８１】
本明細書において使用される用語「感染症」は、感染性生物によって引き起こされるあらゆる疾患を指す。感染性生物は、ウイルス（例えば、ＲＮＡウイルス、ＤＮＡウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）、Ａ型、Ｂ型およびＣ型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）、エプスタイン－バーウイルス（ＥＢＶ）、ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ））、寄生虫（例えば、Ｐｌａｓｍｏｄｉａ種、Ｌｅｉｓｈｍａｎｉａ種、Ｓｃｈｉｓｔｏｓｏｍａ種、Ｔｒｙｐａｎｏｓｏｍａ種などの原虫およびメタゾア病原体）、細菌（例えば、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉａ、特にＭ．ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｉ、Ｅ．ｃｏｌｉ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｉ）、真菌（例えば、Ｃａｎｄｉｄａ種、Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ種）、Ｐｎｅｕｍｏｃｙｓｔｉｓ ｃａｒｉｎｉｉ、並びにプリオンを含み得る。
【００８２】
本明細書中において使用される用語「がん」は、例えば、肺がん、非小細胞肺（ＮＳＣＬ）がん、細気管支肺胞細胞（bronchioloalviolarcell）肺がん、骨がん、膵臓がん（pancreatic cancer）、進行膵臓がん腫皮膚がん、頭部又は頸部のがん、皮膚又は眼内黒色腫、子宮がん、卵巣がん、直腸がん、肛門領域のがん、胃がん（stomach cancer）、胃がん（gastric cancer）、結腸がん、乳がん、子宮がん、卵管のがん腫、子宮内膜のがん腫、子宮頸部のがん腫、膣のがん腫、外陰部のがん腫、ホジキン病、食道のがん、小腸のがん、内分泌系のがん、甲状腺のがん、副甲状腺のがん、副腎のがん、軟組織の肉腫、尿道のがん、陰茎のがん、前立腺がん、膀胱のがん、腎臓又は尿管のがん、腎細胞がん腫、腎盂のがん腫、中皮腫、肝細胞がん、胆道がん、中枢神経系（ＣＮＳ）の新生物、脊髄軸腫瘍、脳幹グリオーマ、多形神経膠芽腫、星状細胞腫、神経鞘腫（schwanomas）、上衣腫（ependymonas）、髄芽腫、髄膜腫、扁平上皮がん、下垂体線腫、リンパ腫、リンパ球性白血病（上記のがんの何れかの難治性のバージョンを含む）又は上記のがんの1つ以上の組み合わせであってもよい。
【００８３】
本明細書において、「免疫療法」という用語は、免疫応答（例えば、能動的または受動的免疫応答）を意図した、および／または免疫応答を生じる、疾患または異常の処置、例えば、治療的または予防的処置を指す。
【００８４】
「免疫療法剤」という用語は、免疫療法に使用するための1つ以上の免疫原、免疫グロブリン、抗体、抗体フラグメント、またはそれらの組み合わせを含むか、またはそれらからなる薬剤を指す。従って、本明細書で使用される用語「免疫療法剤」には、免疫原、免疫グロブリン、抗体、または抗体フラグメントをコードする核酸も含まれる。このような核酸は、ＤＮＡまたはＲＮＡであり得る。免疫原をコードする核酸セグメントは、典型的には、被験体または患者の意図する標的細胞におけるＤＮＡセグメントの発現を可能にす

るプロモーターおよびエンハンサーなどの調節エレメントに連結される。
【００８５】
「免疫原性薬剤」または「免疫原」は、患者への投与時に、それ自体に対する免疫学的応答を誘導することが可能であり、任意でアジュバントと併用される。「免疫原性組成物」とは、免疫原性薬剤を含む組成物である。
【００８６】
「アジュバント」とは、免疫原と一緒に投与すると免疫原に対する免疫応答を増強するが、単独で投与すると免疫応答を生じない化合物を指す。アジュバントは、リンパ球の動員、Ｂ細胞および／またはＴ細胞の刺激、マクロファージの刺激など、いくつかのメカニズムによって免疫応答を増強することができる。
【００８７】
発明の詳細な説明
本発明は、医療における免疫刺激剤としての、アゴニスト性ＣＤ４０抗体またはその抗原結合断片を提供する必要性に応えるものである。本発明によれば、抗体または抗体断片は、患者の体重１ｋｇあたり約０．１～１ｍｇの用量で患者に投与するために提供される。この範囲において、本明細書に記載の特異的抗体は、有意な細胞毒性を惹起することなく、所望のシグナル伝達能および臨床効果を提供することが可能である。
【００８８】
ＷＯ２０１９／０５７７９２のうち、アゴニスト性ＣＤ４０抗体の１つが特に大きな治療域を有することが見出された。それは、患者の体重あたり０．１ｍｇという非常に少量ですでに有効であり、主要な毒性作用は１０倍を超える用量でのみ生じる。本発明に従って使用するための抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３のＣＤＲ１Ｈ領域、配列番号４のＣＤＲ２Ｈ領域、及び配列番号５のＣＤＲ３Ｈ領域を含むＶＨ領域、並びに、配列番号６のＣＤＲ１Ｌ領域、配列番号７のＣＤＲ２Ｌ領域、及び配列番号８のＣＤＲ３Ｌ領域を含むＶＬ領域を含み、ここでＣＤＲは本発明によるそれらの活性を減少させない任意の１つ以上のアミノ酸変異を含んでもよい。
【００８９】
好ましくは、ＣＤＲは、それらの各々の配列番号と、少なくとも９１％、好ましくは９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％の配列同一性を有する。
【００９０】
好ましくは、抗体は、配列番号３のＣＤＲ１Ｈ領域、配列番号４のＣＤＲ２Ｈ領域および配列番号５のＣＤＲ３Ｈ領域を含むＶＨ領域、ならびに配列番号６のＣＤＲ１Ｌ領域、配列番号７のＣＤＲ２Ｌ領域および配列番号８のＣＤＲ３Ｌ領域を含むＶＬ領域を含む。
【００９１】
他の態様において、本発明による使用のための抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１のアミノ酸配列と、少なくとも８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％の配列同一性を有する重鎖可変（ＶＨ）領域を含む。
【００９２】
特定の態様では、少なくとも６０％、７０％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％の同一性を有するＶＨ配列は、参照配列に対して置換（例えば保存的置換）、挿入、又は欠失を含み、それによって本抗体は各々の抗原と特異的に結合する能力を保持する。好ましくは、重鎖可変領域（ＶＨ）配列は配列番号１である。
【００９３】
本発明はまた、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する軽鎖可変（ＶＬ）領域を含む抗体に関する。

【００９４】
特定の態様では、少なくとも６０％、７０％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するＶＬ配列は、参照配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含み、それによって抗体は、各々の抗原に対して本発明に従って特異的に結合する能力を保持する。好ましくは、軽鎖可変領域（ＶＬ）配列は配列番号２である。
【００９５】
特定の態様では、前記ＶＬ配列において、１～１０個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。他の態様では、前記ＶＨ配列において、１～１０個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。特定の態様では、前記ＶＨまたはＶＬ配列の各々において、１～１０個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。前記置換、挿入、または欠失は、ＣＤＲの外側の領域（すなわち、ＦＲ内）で生じてもよい。
【００９６】
好ましい態様において、抗体はヒト化ＩｇＧ１ＬＡＬＡ抗体、特にヒト化ＩｇＧ１型抗体であり、ヒトＦｃ１領域の２３４位および２３５位に少なくとも２つのアラニンアミノ酸を有する。したがって、好ましい態様によれば、ＩｇＧ１ＬＡＬＡは、ヒトＦｃ１領域の変異Ｌ２３４ＡおよびＬ２３５Ａを含む。別の態様では、抗体は、少なくともヒトＩｇＧ４　Ｆｃ領域のＳ２２８ＰおよびＬ２３５Ｅのアミノ酸置換を含む。
【００９７】
さらに好ましくは、抗体は組換え分子である。
【００９８】
本発明による使用のためのアゴニスト性モノクローナル抗体、またはその抗原結合断片は、ヒトＣＤ４０受容体に結合し、Ｆｃγ媒介ＣＤ４０受容体クロスリンクとは非依存的にＣＤ４０シグナル伝達を誘導することができる。さらに、野生型ＩｇＧ　Ｆｃγレセプターシグナル伝達、または先行技術の抗体のＦｃγシグナル伝達と比較した場合、ヒトＦｃγレセプターを介したシグナル伝達能の減少または枯渇を示す可能性がある。
【００９９】
特定の態様において、本発明による使用のためのアゴニスト性モノクローナルＣＤ４０抗体、またはその抗原結合断片は、野生型ＩｇＧ　Ｆｃγと比較して、ヒトＦｃγ受容体に対する親和性の減少または枯渇を示す。好ましい態様によれば、抗体はＦｃγレセプターに結合せず、それに対応して抗体はＦｃγを介するＣＤ４０レセプターのクロスリンクを誘発しない。
【０１００】
本発明による使用のための抗体は、投与後、アカゲザルＣＤ４０発現免疫細胞に迅速に結合し、コスティミュレイトリーマーカーおよびホーミングマーカー（例えば、ＣＤ８０、ＣＣＲ７）のアップレギュレーションを示す。薬物動態学的解析によると、本発明の抗体または抗体断片は約１週間循環中に持続する。全身性のサイトカイン分泌（例えばＴＮＦ、ＩＬ－１２）は低い。高用量を投与した場合のみ、ＩＦＮγとＩＬ－６の一過性の増加が観察される。抗体は、末梢において血小板とリンパ球の一過性の減少と顆粒球の増加を誘導し、免疫活性化を示す。さらに、抗原特異的免疫を増強するアジュバント効果が観察される。０．１～１ｍｇ／ｋｇ（静脈内投与または皮下投与）の上記範囲の投与により、同等かつ長期にわたる強固な細胞性およびサイトカインの全身性免疫応答が誘導される。このことは、抗体による古典的シグナル伝達が非常に強力なＣＤ４０活性化を誘導することを示している。
【０１０１】
まとめると、上記で定義した抗体またはその断片によるＣＤ４０の古典的活性化は、毒性作用を伴わずに、ＮＨＰにおいて適切な全身性免疫応答を誘導する。本発明のアゴニスト性抗ＣＤ４０抗体（ＭＡＢ２７３）は、抗原提示細胞の強力な活性化プロファイルを示し、抗原特異的Ｔ細胞応答を増強することから、細胞傷害性Ｔ細胞免疫を誘導するための

ユニークなアジュバント候補となり得る。
【０１０２】
本発明による使用のための抗体のさらなる特徴は、ＷＯ２０１９／０５７７９２に記載されており、その開示は参照により本明細書に組み込まれる。
【０１０３】
本発明によれば、抗体またはその断片は、患者の体重１ｋｇあたり約０．１～１ｍｇの用量で患者に投与するために提供される。好ましくは、用量は１ｍｇ未満、例えば０．９ｍｇ／ｋｇ未満、または０．８ｍｇ／ｋｇ未満である。好ましい態様では、用量は約０．２～０．７ｍｇ／ｋｇ、０．３～０．６ｍｇ／ｋｇ、または０．４～０．５ｍｇ／ｋｇの範囲である。
【０１０４】
上記抗体の有利な特性により、上記抗体は免疫調節剤として、特に感染症および／または癌の治療または予防に使用することができる。
【０１０５】
一態様において、抗体またはその断片は、感染症の予防または治療に使用される。感染症には、ウイルス感染（例えば、ＲＮＡウイルス、ＤＮＡウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）、Ａ型、Ｂ型及びＣ型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）、エプスタイン－バーウイルス（ＥＢＶ）、ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ））、寄生虫感染（例えば、Ｐｌａｓｍｏｄｉａ種、Ｌｅｉｓｈｍａｎｉａ種、Ｓｃｈｉｓｔｏｓｏｍａ種、Ｔｒｙｐａｎｏｓｏｍａ種などの原虫およびメタゾア病原体）、細菌感染（例えば、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉａ、特にＭ．ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｉ、Ｅ．ｃｏｌｉ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｉ）、真菌感染（例えば、Ｃａｎｄｉｄａ種、Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ種、Ｐｎｅｕｍｏｃｙｓｔｉｓ　ｃａｒｉｎｉｉ）、およびプリオンが含まれる。
【０１０６】
上記で定義した抗体またはその断片は、感染症に罹患した患者の免疫応答をサポートすることができる。さらに、抗体またはその断片は、患者に投与される免疫原に対する免疫学的応答を増強することができる。例えば、抗体またはその断片は、それゆえ、感染症から保護するために患者の免疫応答を誘発することを意図した免疫原を含むワクチン中またはそれに加えて投与することができる。任意に、抗体またはその断片は、この目的のためにさらなるアジュバントおよび賦形剤と組み合わせることができる。
【０１０７】
患者はまた、１つ以上のさらなる治療、例えば免疫療法剤などの医薬を受けることができることがさらに理解されよう。免疫療法は、例えば、免疫チェックポイント阻害を含むことができ、抗ＴＩＧＩＴ、抗ＰＤ－Ｌ１、抗ＰＤ－１、抗ＣＴＬＡ－４、抗ＣＤ１３７、抗ＬＡＧ－３、抗ＴＩＭ－３、抗ＯＸ４０、および／または抗ＧＩＴＲなどの１つまたは複数の免疫チェックポイント阻害剤を使用することができる。
【０１０８】
別の態様では、抗体またはその断片は、がんに罹患している患者の治療に使用される。
【０１０９】
前記がんは、膵臓がん、進行膵臓がん腫、肺がん、非小細胞肺（ＮＳＣＬ）がん、細気管支肺胞細胞（bronchioloalviolarcell）肺がん、骨がん、膵臓がん、皮膚がん、頭頸部がん、皮膚又は眼内黒色腫、卵巣がん、直腸がん、肛門領域のがん、胃がん（stomach cancer）、胃がん（gastric cancer）、結腸がん、乳がん、腎臓がん、ホジキンリンパ腫、肝臓がん、胆嚢がん、膀胱がん、前立腺がん、甲状腺がん、唾液腺がん、又は子宮がんを含む群から選択される１つ以上の型のがんであり得る。
【０１１０】
特定の態様では、がんは固形腫瘍である。
【０１１１】
態様によっては、がんはＣＤ４０発現がんであることも可能である。しかしながら、こ

れは本発明の抗体の効果的な機能のためには必要ではない。

【０１１２】

さらに、抗体は、患者の単独治療として、あるいは併用治療（この併用治療は、医薬的な細胞毒性剤または細胞増殖抑制剤、放射線治療、標的治療、および／または手術であってもよい）の一部として使用できることが理解されよう。

【０１１３】

よって、患者はまた、（特に感染症やがんに対する）１以上のさらなる治療、例えば、医薬（細胞毒性剤または細胞増殖抑制剤、放射線治療、標的治療、および／または手術等）を受けることができる。

【０１１４】

よって、いくつかの態様では、本発明の抗体は、細胞毒性剤または細胞増殖抑制剤、放射線療法、標的療法および／または免疫療法と組み合わせて、がんの治療に使用される。

【０１１５】

本発明の抗体は、細胞毒性剤又は細胞増殖抑制剤、放射線療法、標的療法、及び／又は免疫療法に対して応答が不十分である及び／又は耐性である患者の治療において使用することもできる。

【０１１６】

前記放射線療法は、外部照射療法、接触ｘ線近接照射療法、近接照射療法、全身放射線療法、又は術中放射線療法を含む群から選択されてもよい。

【０１１７】

本発明の細胞毒性又は細胞増殖抑制抗がん剤は、タキサン、アントラサイクリン、アルキル化剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤、キナーゼ阻害剤、ヌクレオチドアナログ、ペプチド抗生物質、及び白金に基づく薬剤を含む群に由来してもよい。

【０１１８】

好ましくは標的とされる抗がん剤が標的療法の中で使用され、下記：セツキシマブ、ゲフィチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、パニツムマブ等の抗ＥＧＦＲ化合物、トラスツズマブ、アド－ラスツズマブ、エムタンシン、ペルツズマブ等の抗ＨＥＲ２化合物、ベバシズマブ、アフリベルセプト、及びペガプタニブ等のＶＥＧＦ標的化化合物、並びにスニチニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、バンデタニブ、カボザンチニブ、及びレゴラフィニブ等のチロシンキナーゼ阻害剤、の１つ又はその組み合わせから選択される。

【０１１９】

患者が免疫療法を受けている場合には、これは免疫チェックポイント阻害剤であり得、１つ以上の免疫チェックポイント阻害剤を使用してもよい。１つ以上の免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－Ｌ１、抗ＰＤ－１、抗ＣＴＬＡ－４、抗ＣＤ１３７、抗ＬＡＧ－３、抗ＴＩＭ－３、抗ＯＸ４０、及び／又は抗ＧＩＴＲを含む群から選択されてもよい。

【０１２０】

本発明の抗体を、ヒトＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲと特異的に結合する抗体と組み合わせて、及び／又は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、ウレルマブ、ウトミルマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、トレメリムマブ、イピリムマブの薬剤と組み合わせて使用することもできる。

【０１２１】

本発明のいくつかの態様では、抗体またはその断片は、週１回から月１回の投与レジメンで使用される。投与量は、患者における用量が常に１ｍｇ／ｋｇ体重を超えないようにする。好ましくは、患者の投与量は常に１ｍｇ／ｋｇ体重未満、例えば０．９ｍｇ／ｋｇ未満である。実質的な効果を得るためには、投与量を長期にわたって患者の０．１ｍｇ／ｋｇ体重以上に保つことができる。

【０１２２】

別の態様において、本発明は、薬学的に許容される担体および治療有効量の抗体または

抗体断片を含む医薬組成物に関し、医薬組成物は、０．１～１ｍｇ／ｋｇ体重の用量の抗体または断片の投与に適合される。

【０１２３】

本発明の医薬組成物は、抗体または断片を長期間にわたって制御放出するために適合させることができ、好ましくは抗体または断片を持続放出するためのデポー製剤である。

【０１２４】

具体的な態様では、医薬組成物は、免疫原と組み合わせて、上記の抗体またはその断片を含むワクチンである。このようなワクチンは、特に感染症の予防に使用することができる。この場合、免疫原は、免疫学的応答を誘導することができる疾患関連抗原である。

【０１２５】

別の態様において、医薬組成物は、がんに罹患している患者の治療に使用するためのものである。そのようながんは固形腫瘍であり得る。がんはまた、膵臓がん、進行膵臓がん腫、肺がん、非小細胞肺（ＮＳＣＬ）がん、気管支肺胞細胞肺がん、骨がん、膵臓がん、皮膚がん、頭頸部がん、皮膚または眼内黒色腫、卵巣がん、直腸がん、肛門領域のがん、胃がん（stomach cancer）、胃がん（gastric cancer）、結腸がん、乳がん、腎臓がん、ホジキンリンパ腫、肝臓がん、胆のうがん、膀胱がん、前立腺がん、甲状腺がん、唾液腺がん、又は子宮がんを含む群から選択され得る。

【０１２６】

本組成物はまた、化学療法、放射線療法、標的療法および／または免疫療法と組み合わせてがんの治療に使用することもできる。前記免疫療法は、免疫チェックポイント阻害であり得る。

【０１２７】

前記組成物で治療される患者は、化学療法、放射線療法、標的療法および／または免疫療法に対して不十分な応答および／または耐性を示すものであり得る。

【０１２８】

本発明の医薬組成物はまた、１種以上の細胞毒性、細胞増殖抑制性または標的化抗がん化合物と組み合わせてがんの治療に使用することもできる。

【０１２９】

それは１つ以上の免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用することができ、前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＴＩＧＩＴ、抗ＰＤ－Ｌ１、抗ＰＤ－１、抗ＣＴＬＡ－４、抗ＣＤ１３７、抗ＬＡＧ－３、抗ＴＩＭ－３、抗ＯＸ４０、および／または抗ＧＩＴＲを含む群から選択することができる。

【０１３０】

該組成物はまた、ヒトＰＤ－Ｌ１、ＴＩＧＩＴ、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲに特異的に結合する抗体と組み合わせて、および／または薬剤ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ウレルマブ、ウトミルマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、トレメリムマブ、イピリムマブと組み合わせて使用することもできる。

【０１３１】

また、週１回から月１回の投与で使用することもできる。

【０１３２】

別の態様では、本発明は、治療が必要な個体に有効量の抗体を投与することを含む治療方法にも関し、その投与量は０．１～１ｍｇ／ｋｇ体重の範囲である。そのような個体は、感染症および／またはがんに罹患している患者であってもよい。したがって、本発明はまた、感染症およびがん（例えば固形がん）の治療方法に関する。

【０１３３】

それを必要とする個体に投与するステップは、局所投与、例えば、患者の腫瘍への局所投与（例えば、腫瘍内または腫瘍周囲）を含み得る。好ましくは、投与は皮下投与または静脈内投与である。

【０１３４】

例えば、がんは、前立腺がん；乳がん；結腸直腸がん；膵臓がん；卵巣がん；肺がん；子宮頸がん；横紋筋肉腫；神経芽腫；多発性骨髄腫；白血病、急性リンパ芽球性白血病、黒色腫、膀胱がんおよび膠芽腫からなる群から選択され得る。

【０１３５】

本発明の治療方法は、患者への本発明の抗体ベースの薬剤の単独投与、または併用治療（このさらなる治療は、免疫療法、薬学的細胞毒性剤または細胞増殖抑制剤、放射線療法、標的治療および／または手術であってもよい）の一部として構成され得ることがさらに理解されるであろう。

【０１３６】

実際、上記で詳述した本発明の抗体のすべての特徴および有利な特性は、本発明による抗体の治療方法および使用方法にも反映され、かつ含まれる。

【実施例】

【０１３７】

下記の実施例は図と表と共に本発明を説明するために使用される。

【０１３８】

材料と方法

動物

本研究は、動物実験に関する現地倫理委員会の承認を得た。インド原産アカゲザル雄６頭（毒性試験）／雄３頭及び雌３頭（免疫原性／生体分布試験）をカロリンスカ研究所Ａｓｔｒｉｄ Ｆａｇｒａｅｕｓ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙで飼育した。すべての処置は、Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｆｏｒ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ ａｎｄ Ａｃｃｒｅｄｉｔａｔｉｏｎ ｏｆ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ａｎｉｍａｌ Ｃａｒｅのガイドラインに従って行った。

【０１３９】

予防接種とサンプル採取［１－４］

毒性試験は時間をずらして行い、動物を３群に分けた。最初の２匹には１ｍｇ／ｋｇの抗ＣＤ４０ ｍＡｂ（ＭＡＢ２７３、Ｉｃａｎｏ ＭＡＢ ＧｍｂＨ）を静脈内（ｉ．ｖ．）投与し、続く２匹には０．１ｍｇ／ｋｇのＭＡＢ２７３をｉ．ｖ．投与し、最後の２匹には０．１ｍｇ／ｋｇのＭＡＢ２７３を皮下（ｓ．ｃ．）投与した。ｉ．ｖ．投与では、伏在静脈に抗体を点滴し、総量は２５ｍｌで、５分ごとに１分間に約４ｍｌずつ段階的に投与し、３０分間に２５ｍｌを投与した。ｓ．ｃ．投与の場合は、抗体を左四頭筋上の皮膚に０．５ｍｌの皮下注射を１回行った。採血はＭＡＢ２７３投与前、３０分後、４時間後、２４時間後、４８時間後、７２時間後、１週間後、２週間後、３週間後、４週間後に４ｍＬヘパリンチューブで行った。免疫原性試験のため、プライミング免疫は０日目に行った。６頭のアカゲザルを２群（ｎ＝３）に分けた。グループ１には０．１ｍｇ／ｋｇのＨＩＶエンベロープペプチド（ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ社、ペプチド合成サービス）を単独で、グループ２には０．１ｍｇ／ｋｇのＨＩＶエンベロープペプチドと０．１ｍｇ／ｋｇのＭＡＢ２７３を組み合わせてｓ．ｃ．投与した。２回目のブースター免疫は１１週目に行い、６頭すべてのアカゲザルに１ｍｇ／ｋｇのＨＩＶエンベロープペプチドと０．１ｍｇ／ｋｇのＭＡＢ２７３のｓ．ｃ．投与を組み合わせたｓ．ｃ．投与を行った。採血は、０日目、プライム投与４８時間後、１週目、２週目、３週目、７週目、８週目、９週目、１１週目、ブースター投与４８時間後、１２週目、１３週目に行い、気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）は９週目と１３週目に採取した。生体内分布研究では、Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ６８０標識ＭＡＢ２７３を０．１ｍｇ／ｋｇ ｓ．ｃ．投与し、２４時間後または４８時間後に動物を剖検し、その後組織を採取し、分析した。

【０１４０】

安全性臨床化学及び血液学検査［５，６］

ヘパリン添加血液の血液学的分析は、Ｂｏｕｌｅ Ｖｅｔ Ｃｏｎ対照血液を用いたＱＣ後、Ｅｘｉｇｏ Ｖｅｔ装置（Ｍｏｄｅｌ Ｈ４００，Ｂｏｕｌｅ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ ＡＢ，Ｓｐａｎｇａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を用いて採取後８時間以内に行った

。分析したパラメータは、ＲＢＣ、ＨＣＴ、ＭＣＶ、ＲＤＷ％、ＲＤＷａ、ＨＧＢ、ＭＣＨ、ＭＣＨＣ、ＰＬＴ、ＭＰＶ、ＷＢＣ、ＬＹＭ、ＧＲＡＮ、ＭＯＮＯであった。

【０１４１】

ヘパリン化血漿サンプルはＡＢＡＸＩＳ Ｖｅｔｓｃａｎ ＶＳ２ ３．１．３５ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎａｌｙｚｅｒ （Ｔｒｉｏｌａｂ，Ｓｏｌｎａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を用いて分析した。分析したパラメータは、Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｌｉｖｅｒ Ｐｒｏｆｉｌｅローター（Ｔｒｉｏｌａｂ）上のＴＢＩＬ、ＢＵＮ、ＢＡ、ＡＬＰ、ＡＬＢ、ＡＬＴ、ＣＨＯＬ、およびＧＧＴで、個々のＱＣコントロールを有する。

【０１４２】

血液サンプルの処理［２－４，７］

末梢血単核球（ＰＢＭＣ）は、Ｆｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｆａｉｒｆｉｅｌｄ，ＣＴ）密度勾配遠心により、血液サンプルを２２００ｒｐｍで２５分間、ブレーキや加速なしで分離した。ＰＢＭＣを洗浄し、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中で維持した。サンプルは直ちに染色するか、９０％熱不活性化ウシ胎児血清（ＦＢＳ）と１０％ＤＭＳＯ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）を用いて凍結し、－１７０℃で保存した。

【０１４３】

自然細胞プロファイルのためのフローサイトメトリー［２，３，７，８］

新鮮なＰＢＭＣをＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ™ Ｆｉｘａｂｌｅ Ｂｌｕｅ Ｄｅａｄ Ｃｅｌｌ Ｓｔａｉｎ Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｌ２３１０５）で染色した後、メーカーのプロトコールに従ってＦｃＲ Ｂｌｏｃｋｉｎｇ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ，１３０－０５９－９０１）でブロッキングした。その後、以下のように表面染色パネルを行った。

【０１４４】

【表１】

Marker	Color	Clone	Vendor	Cat no.	ul/Test
CD40	FITC	5C3	BioLegend	334306	5
NKg2a (CD159a)	PE	IM3291U	Beckman Coulter	Z199	2,5
CD80	BV421	L307.4	BD	564160	2,5
CCR7	PE-Dazzle 594	G043H7	Biolegend	353236	2
CD123	PerCp-Cy5.5	7G3	BD	558714	1,25
CD3	APC-Cy7	SP34-2	BD	557757	1,25
CD66	APC	TET2	Miltenyi	130-118-539	1,25
CD70	BV786	Ki-24	BD	565338	1,25
HLA-DR	BV650	L243	Biolegend	307650	1,25
CD11c	PE-Cy7	3.9	BioLegend	301608	0,625
CD16	AF700	38G	BD	560713	0,625
CD20	BV605	2H7	BioLegend	302334	0,625
CD14	BV510	M5E2	Biolegend	301842	0,625

【０１４５】

染色と洗浄後、ＰＢＭＣを１％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）に再懸濁し、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ）で取得した。データ解析はＦｌｏｗＪｏｖ１０を用いて行った。

【０１４６】

Ｂ細胞増殖アッセイ［２，４］

細胞濃度１００万／ｍｌのヒトＰＢＭＣを、０．２５μＭ ＣｅｌｌＴｒａｃｅ Ｖｉｏｌｅｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社製）により、３７℃で２０分間標識した。標識したヒトＰＢＭＣを、１μｇ／ｍｌ、０．１μｇ／ｍｌ、０．０１μｇ／ｍｌ、または０．００

１μｇ／ｍｌのＭＡＢ２７３または抗ＣＤ４０　Ａｂ（クローン５Ｃ３、ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、３３４３０６）で刺激した。コントロールとして、細胞を１μｇ／ｍｌ　ＣｐＧＢ（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）、０，２μｇ／ｍｌ　ＳＥＢ（Ｓｉｇｍａ）で刺激するか、あるいは刺激せずに、完全培地（ＲＰＭＩ１６４０、１０％　ＦＢＳ、１％　Ｌ－グルタミン、１％　ペニシリン／ストレプトマイシン）中で６日間培養した。培養後、細胞をＰＢＳで洗浄し、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ™　Ｆｉｘａｂｌｅ　Ｂｌｕｅ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，　Ｌ２３１０５）で染色した後、メーカーのプロトコールに従ってＦｃＲ　Ｂｌｏｃｋｉｎｇ　Ｒｅａｇｅｎｔ（ＭｉｌｔｅｎｙｉＢｉｏｔｅｃ，　１３０－０５９－９０１）でブロッキングした。その後、以下のように表面染色パネルを行った。

【０１４７】

【表２】

Marker	Color	Clone	Vendor	Cat no.	ul/Test
CD19	ECD	J3-119	Beckman	A07770	4
CD3	APC-Cy7	SP34-2	BD	557757	1,25
CD20	BV605	2H7	Biolegend	302334	0,625

【０１４８】

染色と洗浄後、ＰＢＭＣを１％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）に再懸濁し、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ）で取得した。データ解析はＦｌｏｗＪｏｖ１０を用いて行った。

【０１４９】

Ｔ細胞刺激［２－４，７］

１００万細胞／ｍＬの新鮮なＰＢＭＣまたはＢＡＬサンプルの細胞を、０，２％　ＤＭＳＯ＋ＣＤ１０７ａ染色抗体＋Ｒ１０（ｕｎｓｔｉｍ）、２ｕｇ／ｍＬ　ＨＩＶ　Ｅｎｖｅｌｏｐｅ　ｐｅｐｔｉｄｅｓ＋ＣＤ１０７ａ染色抗体＋Ｒ１０、または１ｕｇ／ｍＬＳＥＢ＋ＣＤ１０７ａ染色抗体＋Ｒ１０中、３７℃で一晩培養した。染色の６時間前に、１０ｕｇ／ｍｌ　Ｂｒｅｆｅｌｄｉｎ　Ａ（ＢＦＡ；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）と１０ｕｇ／ｍｌ　ｍｏｎｅｎｓｉｎ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を培養液に添加した。培養後、細胞をＰＢＳで洗浄し、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ™　Ｆｉｘａｂｌｅ　Ｂｌｕｅ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，　Ｌ２３１０５）で染色した。その後、以下のように表面染色パネルを行った。

【０１５０】

【表３】

Marker	Color	Clone	Vendor	Cat no.	ul/Test
OX40	BV510	L106	BD	745040	2,5
CCR7	BV786	G043H7	Biolegend	353230	2
CD103	FITC	2G5	Beckman	B49222	2
CD8a	BV711	RPA-T8	Biolegend	301044	1,25
CD4	PE-Cy55	S3.5	Invitrogen	MHCD0418	1,25
CD45RA	BV650	5H9	BD	740608	0,20

【０１５１】

染色・洗浄後、Ｃｙｔｏｆｉｘ／Ｃｙｔｏｐｅｒｍ　ｋｉｔ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用いて細胞を透過処理し、下のパネルのように細胞内を染色した。

【０１５２】

【表４】

Marker	Color	Clone	Vendor	Cat no.	ul/Test
4-1BB	APC	4B4-1	BD	550890	5
IL-2	PE	MQ1-17H12	BD	559334	2
CD69	ECD	TP1.55.3	Beckman	6607110	1,5
CD3	APC-Cy7	SP34.2	BD	557757	0,5
IFNg	AF700	B27	Biolegend	506516	0,5

【０１５３】

染色と洗浄後、細胞を１％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）に再懸濁し、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ）で取得した。データ解析はＦｌｏｗＪｏ　ｖ１０を用いて行った。

【０１５４】

追跡実験のフローサイトメトリー［２，４］

異なる組織から採取した新鮮細胞を、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ™ Ｆｉｘａｂｌｅ Ｂｌｕｅ Ｄｅａｄ Ｃｅｌｌ Ｓｔａｉｎ Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｌ２３１０５）で染色した後、メーカーのプロトコールに従ってＦｃＲ Ｂｌｏｃｋｉｎｇ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ，１３０－０５９－９０１）でブロッキングした。その後、以下のように表面染色パネルを行った。

【０１５５】

【表５】

Marker	Color	Clone	Vendor	Cat no.	ul/Test
CD1a	PE	SK9	BD	333167	5
CD209	PerCP-Cy55	DCN46	BD	558263	5
CD40	FITC	5C3	BioLegend	334306	5
CD11c	PE-Cy7	3.9	Biolegend	301608	3
CD14	BV711	M5E2	Biolegend	301838	2,5
CD66abce	APC	TET2	Miltenyi	130-118-539	2
CD45	BV605	D058-1283	BD	564098	2
CCR7	PE-Dazzle 594	G043H7	Biolegend	353236	2
CD3	APC-Cy7	SP34-2	BD	557757	2
CD8	APC-Cy7	RPA-T8	BD	557760	2
CD20	APC-Cy7	L27	BD	335829	2
HLA-DR	PE-Cy55	Tu36	Life Tech	MHLDR18	1
CD123	BV510	6H6	Biolegend	306022	1
CD80	BV650	L307.4	BD	564158	0,5
CD16	BV421	3G8	Biolegend	302038	0,5

【０１５６】

染色と洗浄後、細胞を１％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）に再懸濁し、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ）で取得した。データ解析はＦｌｏｗＪｏ　ｖ１０を用いて行った。

【０１５７】

ＭＡＢ２７３の薬物動態解析のためのＥＬＩＳＡアッセイ［５，９］

血漿中のＭＡＢ２７３濃度は、自社のカスタムＥＬＩＳＡアッセイにより測定した。Ｇｒｅｉｎｅｒ－Ｂｉｏ Ｏｎｅ ９６ ｗｅｌｌ ｈａｌｆ－ａｒｅａ ＥＬＩＳＡ ｐｌａｔｅ（ＶＷＲ，７３８－００３２）を、新鮮なＰＢＳ中のＣＤ４０タンパク質（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ，Ａ４２５６５）で、４℃で一晩コーティングした。プレート

を、５％牛乳を含むＰＢＳで室温（ＲＴ）で１時間ブロッキングした。希釈した血漿をプレートに加え、室温で２時間インキュベートした。ＭＡＢ２７３は、サルの交差吸着ポリクローナルヤギ抗ヒトＩｇＧ　ＨＲＰ抗体（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，２０４９－０５）の１：５，０００希釈液を加えて検出し、ＴＭＢ基質（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）を加えてシグナルを発現させた。等容量の１Ｍ　Ｈ２ＳＯ４の添加で反応を停止し、光学密度（ＯＤ）を４５０ｎｍで、バックグラウンドを５５０ｎｍで読み取った。各インキュベーションステップの間に、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ　２０を添加したＰＢＳを用いてプレートを３回洗浄した。

【０１５８】

血漿中サイトカイン検出のためのＥＬＩＳＡ測定法［２，３，７］

アカゲザルの血漿サンプルを、ＥＬＩＳＡキット（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒのＥＰ８ＲＢ、ＢＭＳ２２３ＨＳ、ＢＭＳ６５４およびＢＭＳ６４６、ならびにＭａｂｔｅｃｈの３４６０－１Ｈ－６および３５１２Ｍ－１Ｈ－６）により、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－６、ＴＮＦおよびＩＬ－１２ｐ７０レベルについて評価した。アッセイはメーカーのプロトコールに従って行った。

【０１５９】

参考文献

1. F, L., et al., Efficient Targeting and Activation of Antigen-Presenting Cells In Vivo after Modified mRNA Vaccine Administration in Rhesus Macaques. Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy, 2017. 25(12).

2. EA, T., et al., Human Anti-CD40 Antibody and Poly IC:LC Adjuvant Combination Induces Potent T Cell Responses in the Lung of Nonhuman Primates. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 2015. 195(3).

3. EA, T., et al., Monocytes Acquire the Ability to Prime Tissue-Resident T Cells via IL-10-Mediated TGF-βRelease. Cell reports, 2019. 28(5).

4. S, O., et al., Route of Vaccine Administration Alters Antigen Trafficking but Not Innate or Adaptive Immunity. Cell reports, 2020. 30(12).

5. J, R., et al., Immune modulation with weekly dosing of an agonist CD40 antibody in a phase I study of patients with advanced solid tumors. Cancer biology & therapy, 2010. 10(10).

6. DA, K., D. R, and R. JV, Toxicity of an Fc-engineered anti-CD40 antibody is abrogated by intratumoral injection and results in durable antitumor immunity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018. 115(43).

7. EA, T., et al., TLR-adjuvanted nanoparticle vaccines differentially influence the quality and longevity of responses to malaria antigen Pfs25. JCI insight, 2018. 3(10).

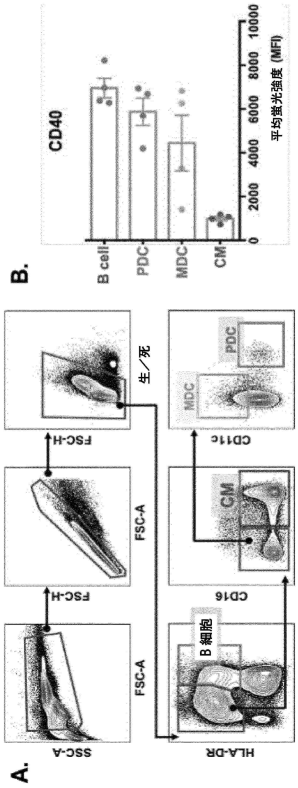
8. F, L., et al., Dissociation of skeletal muscle for flow cytometric characterization of immune cells in macaques. Journal of immunological methods, 2015. 425.

9. NH, S., et al., Results from an Integrated Safety Analysis of Urelumab, an Agonist Anti-CD137 Monoclonal Antibody. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 2017. 23(8).

【図面】

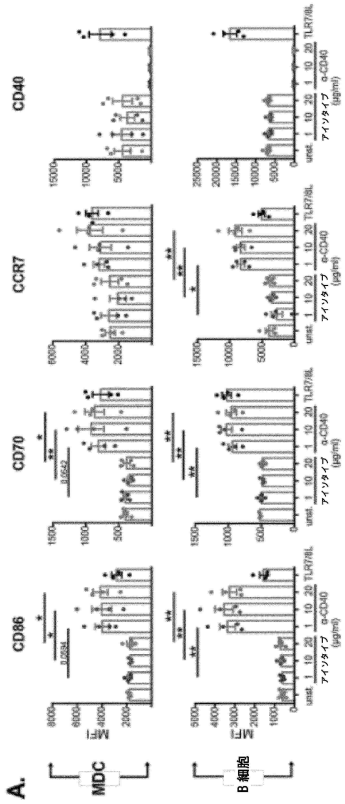
【図１】

図１



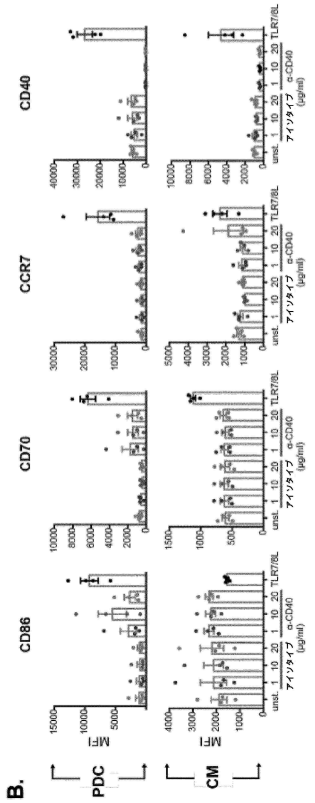
【図２－１】

図２



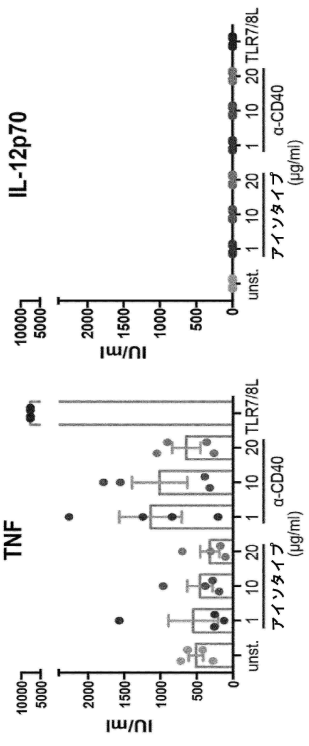
【図２－２】

図２（続き）



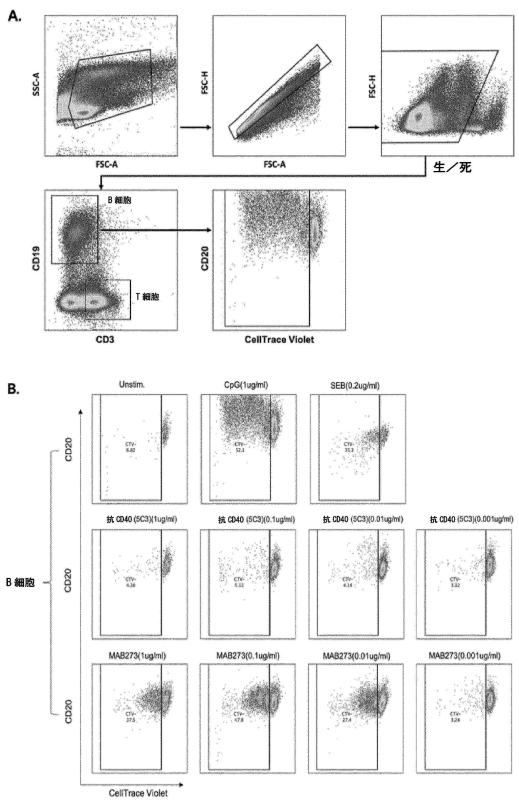
【図３】

図３



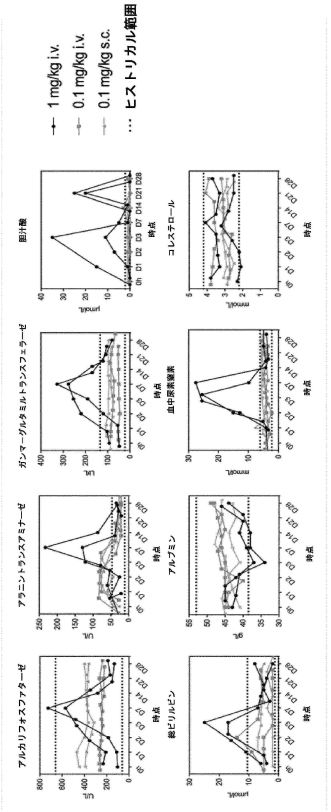
【図４】

図４



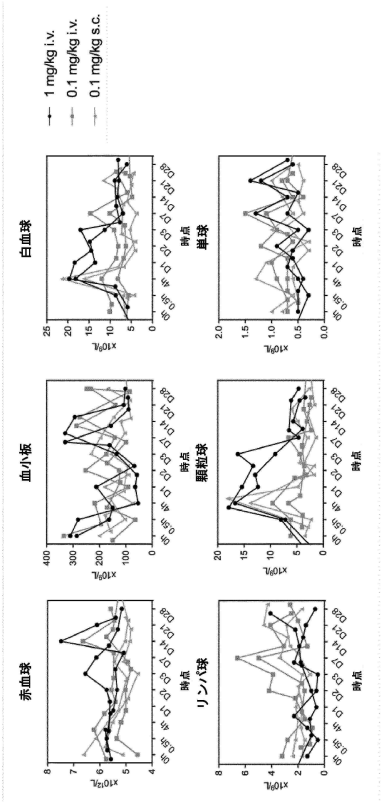
【図５】

図５



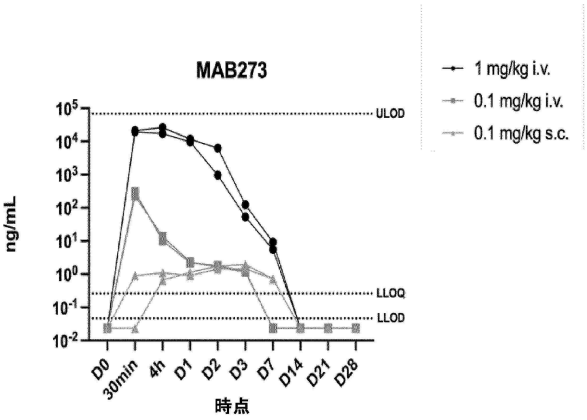
【図６】

図６



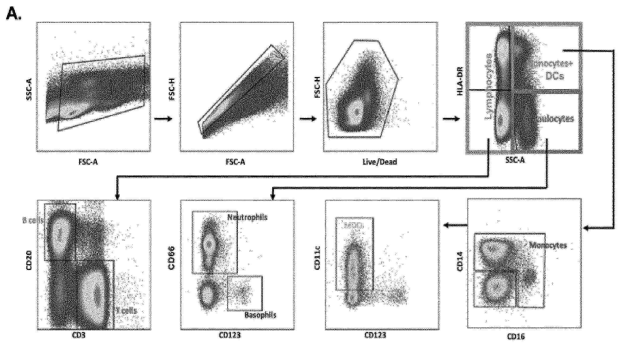
【図７】

図７



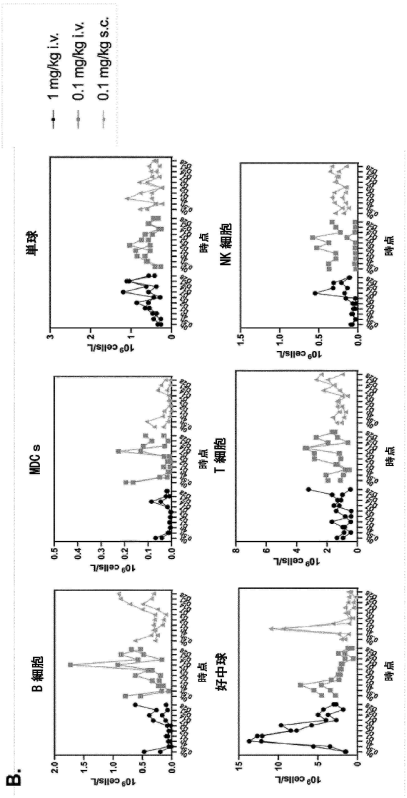
【図８Ａ】

図８Ａ



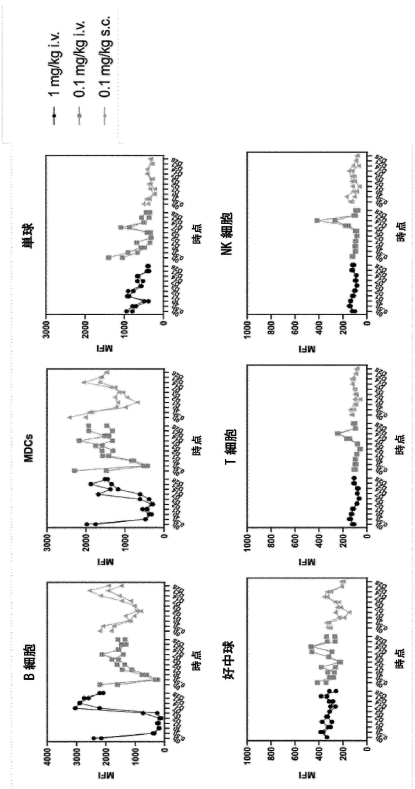
【図８Ｂ】

図８Ｂ（続き）



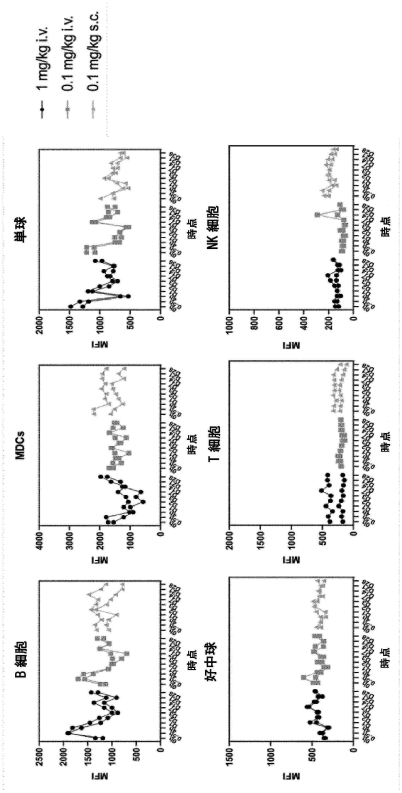
【図９】

図９



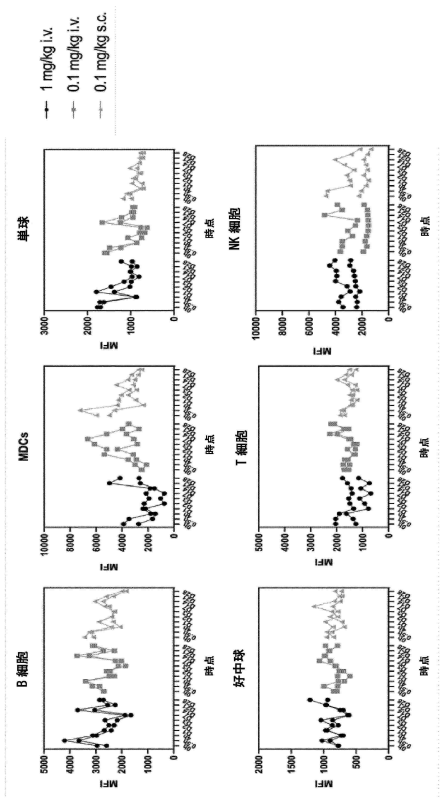
【図１０】

図１０



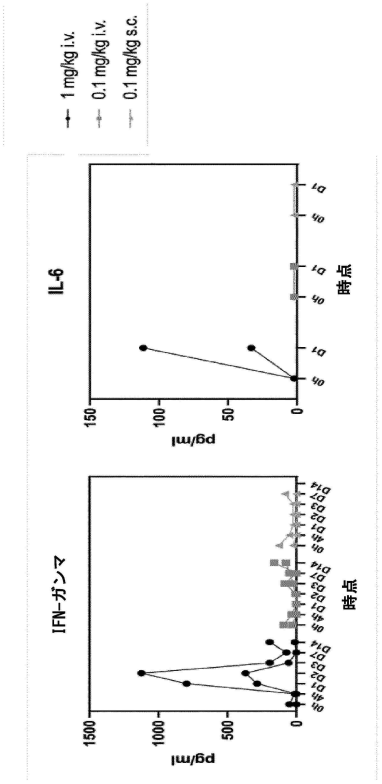
【図１１】

図１１



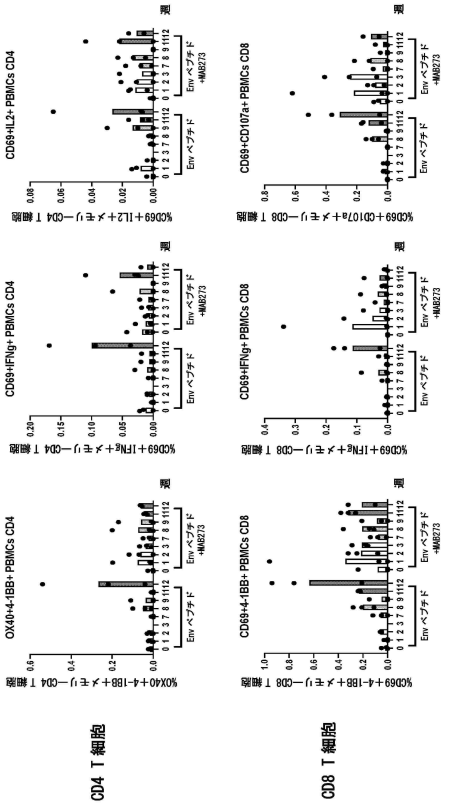
【図１２】

図１２



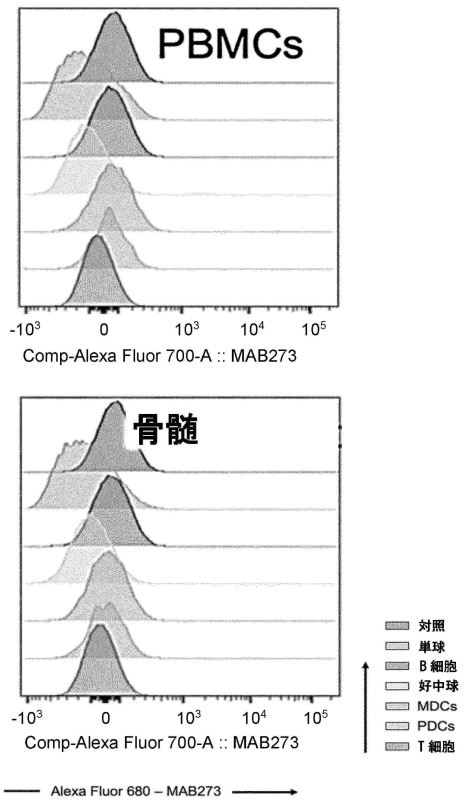
【図１３】

図１３



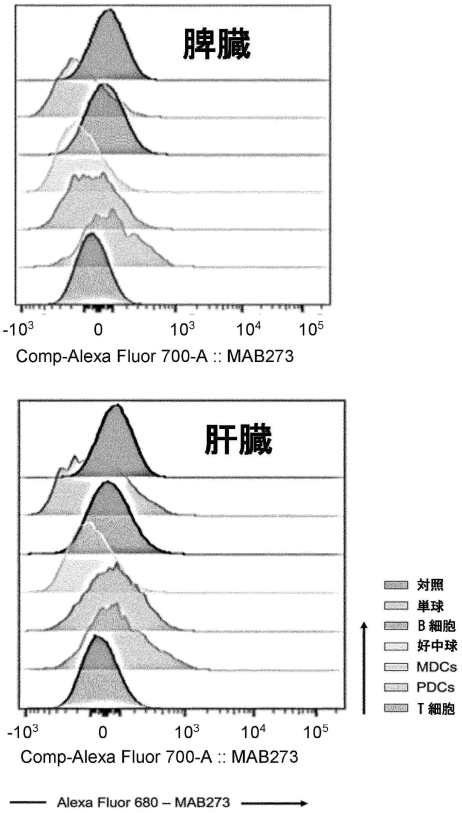
【図１４－１】

図１４



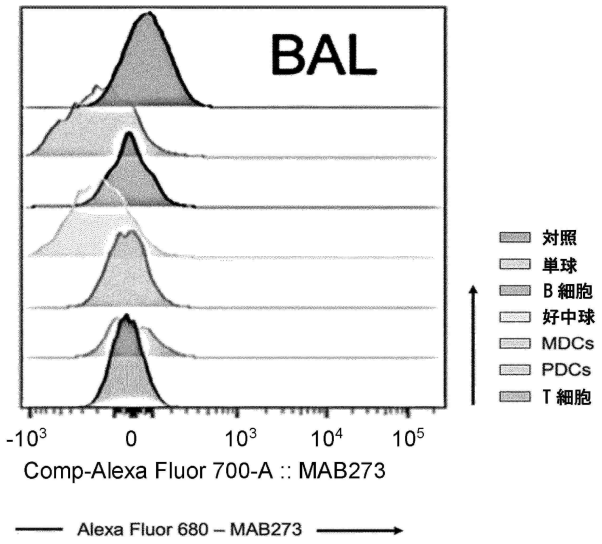
【図１４－２】

図１４（続き）



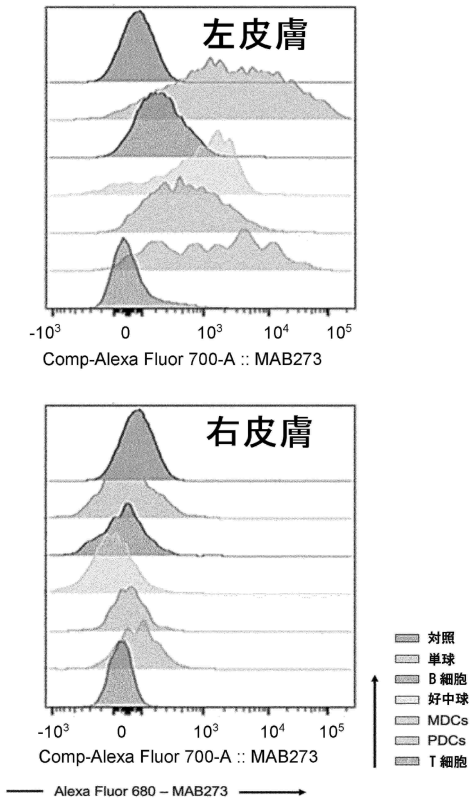
【図１４－３】

図１４（続き）



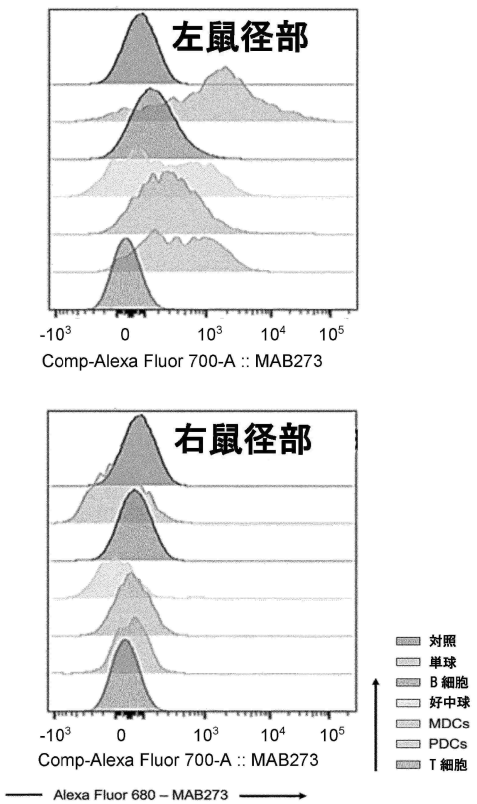
【図１４－４】

図１４（続き）



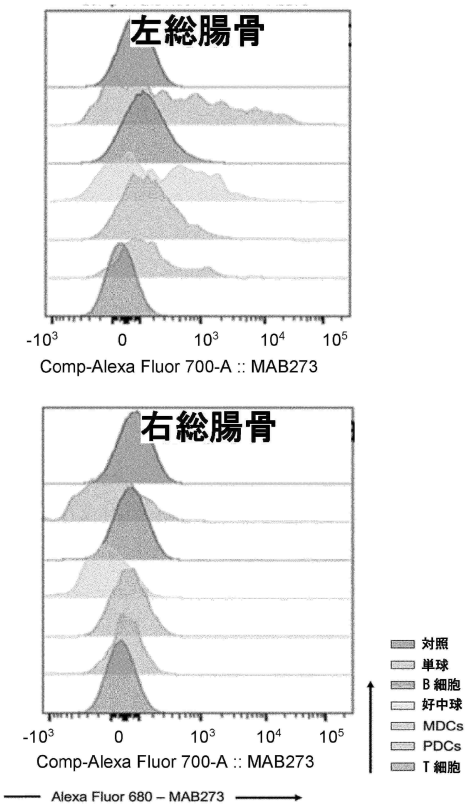
【図１４－５】

図１４（続き）



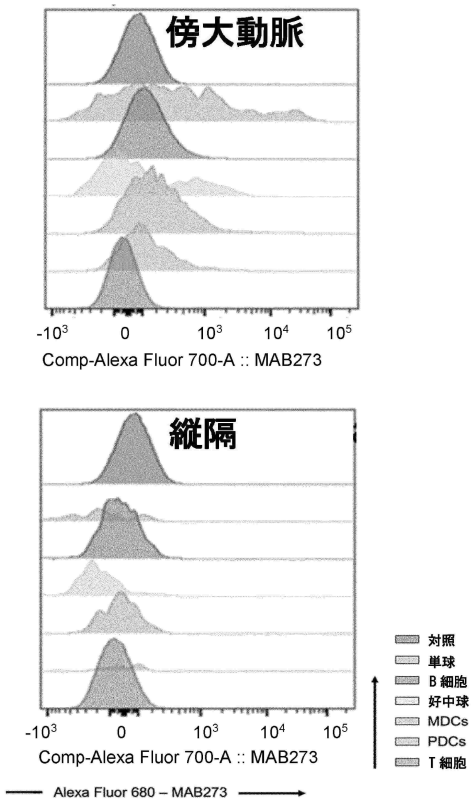
【図１４－６】

図１４（続き）



【図１４－７】

図１４（続き）



【図１５】

図１５

配列番号	完全重鎖 VR 配列
1	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSSNTMCWVRQAPGKGLEWVACIYAGSSGSTY YASWAKGRFTISKDISKTTLYLQMNSLRAEDTATYFCARGLSRFSLWGQGTLVTVSS

配列番号	完全 k-軽鎖 VR 配列
2	DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISNYLAWYQQKPGQAPKLLIYDASKLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQGGDYYGSSYVVAFGGGTKVVIK

配列番号	CDR_H1 配列
3	SNTMC

配列番号	CDR_H2 配列
4	CIYAGSSGSTYYASWAKG

配列番号	CDR_H3 配列
5	GLSRFSL

配列番号	CDR_L1 配列
6	QASQSISNYLA

配列番号	CDR_L2 配列
7	DASKLAS

配列番号	CDR_L3 配列
8	QGGDYYGSSYVVA

【配列表】

2024538573000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/077270

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61P35/00 C07K16/28 A61K39/00
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)
A61P A61K C07K

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	US 2020/239583 A1 (FISCHER STEPHAN [DE] ET AL) 30 July 2020 (2020-07-30) claim all; example all	1-15 2
Y	US 2016/152713 A1 (BEDIAN VAHE [US] ET AL) 2 June 2016 (2016-06-02) example all	2

☐ 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
12 January 2023	19/01/2023

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2022/077270

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

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

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

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2022/077270

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2020239583 A1	30-07-2020	AU 2018335828 A1	05-03-2020
		BR 112020003988 A2	01-09-2020
		CA 3075221 A1	28-03-2019
		CN 111225924 A	02-06-2020
		EA 202090791 A1	17-06-2020
		EP 3684813 A1	29-07-2020
		IL 272770 A	30-04-2020
		JP 2020534292 A	26-11-2020
		KR 20200063139 A	04-06-2020
		SG 11202002366V A	29-04-2020
		US 2020239583 A1	30-07-2020
		WO 2019057792 A1	28-03-2019
		ZA 202001066 B	29-09-2021
US 2016152713 A1	02-06-2016	AP 1918 A	13-11-2008
		AR 039067 A1	09-02-2005
		AU 2002356926 A2	19-05-2003
		BR 0214137 A	14-09-2004
		CA 2466128 A1	15-05-2003
		CL 2009001779 A1	05-02-2010
		CN 1582165 A	16-02-2005
		CN 103450360 A	18-12-2013
		CR 7343 A	28-10-2004
		CR 10878 A	12-01-2011
		CU 23745 A3	31-01-2012
		CY 1115675 T1	25-01-2017
		DK 1476185 T3	14-10-2013
		DO P2002000507 A	15-05-2003
		EA 200400654 A1	30-12-2004
		EC SP045093 A	23-07-2004
		EG 25801 A	08-08-2012
		EP 1476185 A2	17-11-2004
		EP 2343086 A2	13-07-2011
		ES 2432968 T3	05-12-2013
		GE P20074222 B	25-10-2007
		GT 200200228 A	26-09-2008
		HK 1069122 A1	13-05-2005
		HN 2002000318 A	10-03-2003
		HR P20040525 A2	30-04-2005
		HU 0402247 A2	28-01-2005
		IL 161823 A	27-02-2014
		IS 7253 A	06-05-2004
		JP 4616555 B2	19-01-2011
		JP 5547532 B2	16-07-2014
		JP 5848232 B2	27-01-2016
		JP 2005508176 A	31-03-2005
		JP 2010213704 A	30-09-2010
		JP 2013099333 A	23-05-2013
		KR 20050063749 A	28-06-2005
		MA 27139 A1	03-01-2005
		ME 00503 B	10-10-2011
		MX PA04004467 A	16-05-2005
		MY 137641 A	27-02-2009
		NI 200200128 A	11-01-2010
		NO 334339 B1	10-02-2014
		NZ 533180 A	28-03-2008
		OA 12725 A	28-06-2006
		PA 8557701 A1	19-12-2003

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2022/077270

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		PE 20030846 A1	11-10-2003
		PL 214289 B1	31-07-2013
		PL 214634 B1	30-08-2013
		PT 1476185 E	05-11-2013
		RS 39204 A	15-12-2006
		SI 1476185 T1	31-12-2013
		TN SN04078 A1	01-06-2006
		TW I331040 B	01-10-2010
		TW 201034686 A	01-10-2010
		US 2003211100 A1	13-11-2003
		US 2006093600 A1	04-05-2006
		US 2007190051 A1	16-08-2007
		US 2009130715 A1	21-05-2009
		US 2009169563 A1	02-07-2009
		US 2010098694 A1	22-04-2010
		US 2012225014 A1	06-09-2012
		US 2013024956 A1	24-01-2013
		US 2016152713 A1	02-06-2016
		UY 27537 A1	28-02-2003
		WO 03040170 A2	15-05-2003
		ZA 200404207 B	31-08-2005

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*37/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｍ	
Ｃ０７Ｋ	*16/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		
Ｃ１２Ｐ	*21/08*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/18		
Ｃ１２Ｎ	*15/13*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/08		
			Ｃ１２Ｎ	15/13		

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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

弁理士　當麻 博文
(74)代理人　100137729
弁理士　赤井 厚子
(74)代理人　100152308
弁理士　中 正道
(74)代理人　100201558
弁理士　亀井 恵二郎
(72)発明者　フィッシャー、シュテファン
ドイツ国、８２３９８ ポリング、タッシローシュトラーセ ２、マブ ディスカバリー ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング内

Ｆターム（参考）　4B064 AG27 CA19 CC24 DA01
4C084 AA19 NA05 ZB072 ZB261 ZB262 ZC412 ZC751
4C085 AA14 BB01 BB11 BB36 EE01 GG02 GG04
4H045 AA11 AA30 BA10 BA40 BA50 BA71 BA72 CA40 DA76 EA20
FA74