

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年4月29日(29.04.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/079958 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 39/395 (2006.01) *A61P 37/02* (2006.01)

A61K 45/00 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01) *C12N 15/13* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2020/039802

(22) 国際出願日: 2020年10月23日(23.10.2020)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2019-194717 2019年10月25日(25.10.2019) JP

(71) 出願人: 第一三共株式会社(DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒1038426 東

京 都 中 央 区 日 本 橋 本 町 三 丁 目 5 番
1 号 Tokyo (JP).

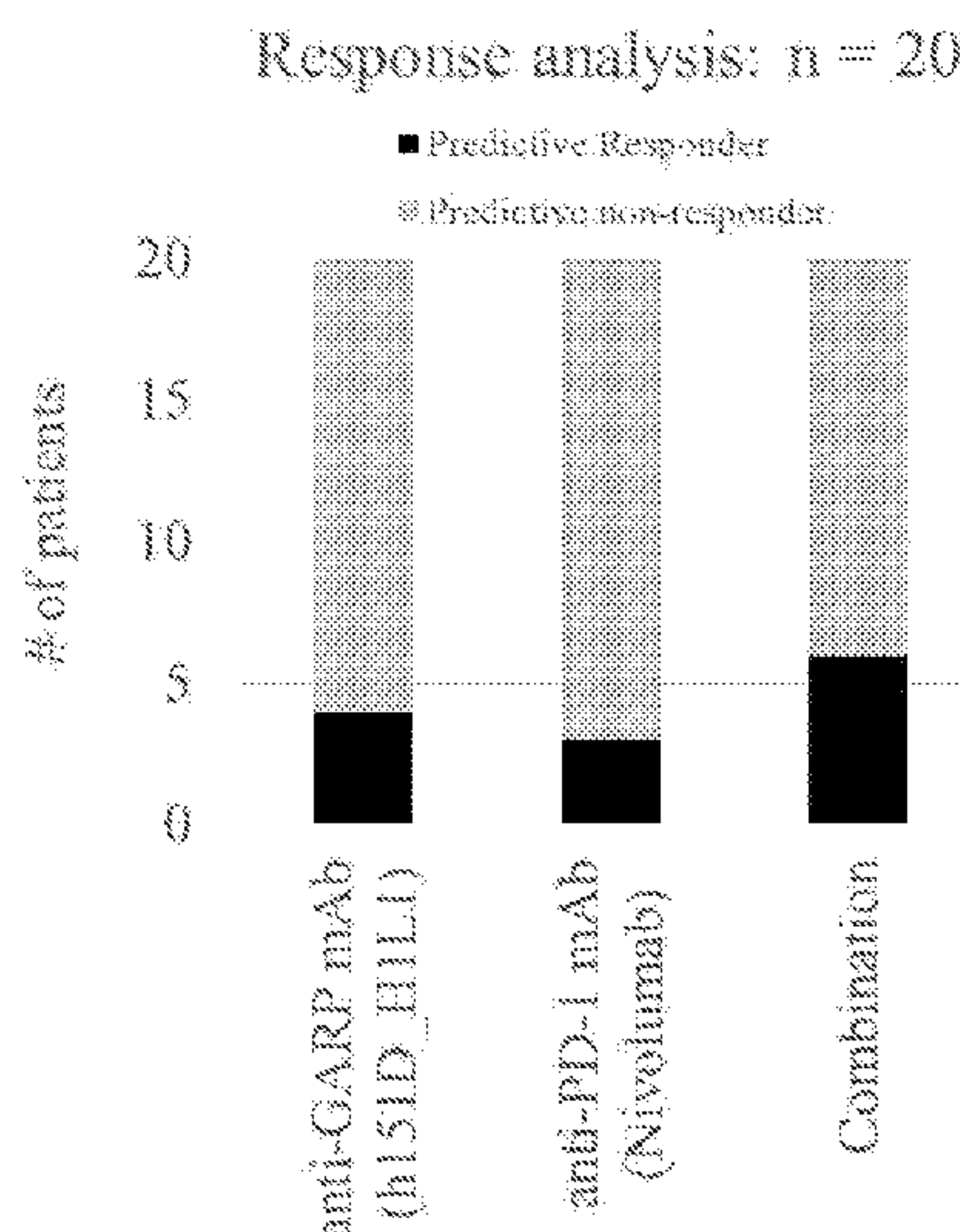
(72) 発明者: 林 新子(HAYASHI Shinko); 〒1038426
東京都中央区日本橋本町三丁目5番1号 第一三
共株式会社内 Tokyo (JP). 石田 さおり(ISHIDA
Saori); 〒1038426 東京都中央区日本橋本町三
丁目5番1号 第一三共株式会社内 Tokyo (JP).
佐藤 一紀(SATOH Kazuki); 〒1038426 東京都
中央区日本橋本町三丁目5番1号 第一三共株
式会社内 Tokyo (JP). 秦 真人(HATA Masato);
〒1038426 東京都中央区日本橋本町三丁目5番
1号 第一三共株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 石橋 公樹, 外(ISHIBASHI Koki et al.);
〒1400005 東京都品川区広町一丁目2番58
号 第一三共株式会社内 Tokyo (JP).

(54) Title: COMBINATION OF ANTI-GARP ANTIBODY AND IMMUNOREGULATOR

(54) 発明の名称: 抗GARP抗体と免疫調節剤の組み合わせ

[図13]



(57) Abstract: Provided are a pharmaceutical composition and the like for use in treatment or prevention of cancer. The pharmaceutical composition and treatment method for treatment of cancer are characterized in that an anti-GARP antibody and an immunoregulator are administered in combination.

(57) 要約: がんの治療又は予防に使用される医薬組成物等を提供する。抗GARP抗体と免疫調節剤が、組み合わされて投与されることを特徴とするがんの治療のための医薬組成物又は治療方法を提供する。

[続葉有]

WO 2021/079958 A1

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

明 細 書

発明の名称： 抗GARP抗体と免疫調節剤の組み合わせ

技術分野

[0001] 本発明は、特定の抗GARP抗体と免疫調節剤が、組み合わせられて投与されることを特徴とする、がんの治療のための医薬組成物及びがんの治療方法に関する。

背景技術

[0002] 制御性T細胞（Treg）は、がん患者の腫瘍域で認められる免疫寛容をもたらす主たる原因細胞である。即ち、がん患者では、腫瘍により活性化されたTregによって、本来働くべき抗腫瘍免疫細胞群が抑制されている状態にあり、このことが腫瘍の増殖につながる（非特許文献1）。

[0003] Glycoprotein-A Repeats Predominant（GARP）は、1回膜貫通構造を有する蛋白質であり（非特許文献2）、活性化したTregの細胞表面に発現し、Latent TGF- β （免疫寛容誘導の重要分子であるTGF- β の前駆体）との複合体を形成する（非特許文献3）。

[0004] Tregと、 $\alpha v \beta 6$ インテグリンを発現するDC等の細胞との、細胞-細胞間相互作用により、GARPを介してTregの細胞表面に留められているLatent TGF- β から成熟化TGF- β が分泌され、TGF- β の免疫抑制シグナルが標的細胞へ直接伝達される（非特許文献4、5）。このTGF- β の成熟化にはGARPの細胞膜上での発現が必要であることが示されている（非特許文献5）が、一方で膜貫通領域を欠損した可溶性GARPをCD4陽性T細胞に直接添加した場合にもCD4陽性T細胞の増殖が抑制される（非特許文献6）ことから、細胞膜上でのTGF- β 成熟化機構を介さない、GARPによる免疫抑制メカニズムの存在も否定できない。

[0005] GARPは、末梢血由来活性化Tregに発現が認められる他に、臨床的にはがん患者の腫瘍患部へ浸潤したT細胞（Tumor Infiltrating

t i n g T c e l l s) 中に存在する T r e g (非特許文献 7)、及び腹水中に存在する T r e g (非特許文献 8)、又は患者末梢血中に存在する T r e g での発現が認められる (非特許文献 9)。

[0006] 抗 G A R P 抗体として、W O 2 0 1 7 / 0 5 1 8 8 8 (特許文献 1) に記載の抗体や W O 2 0 1 5 / 0 1 5 0 0 3 (特許文献 2)、W O 2 0 1 6 / 1 2 5 0 1 7 (特許文献 3)、W O 2 0 1 8 / 2 0 6 7 9 0 (特許文献 4) に記載の M H G - 8、L H G - 1 0 が知られている (非特許文献 1 0)。

[0007] 免疫調節剤は、抗腫瘍免疫を活性化する薬剤である (非特許文献 1 1 ~ 1 3)。免疫調節剤としては、免疫チェックポイント阻害剤として知られる、抗 P D - 1 抗体 (ニボルマブ (N i v o l u m a b) (特許文献 5)、ペムブロリズマブ (P e m b r o l i z u m a b) (特許文献 6) 等) や抗 P D - L 1 抗体 (アテゾリズマブ (A t e z o l i z u m a b) (特許文献 7)、デュルバルマブ (D u r v a l u m a b) (特許文献 8)、アベルマブ (A v e l u m a b) (特許文献 9) 等)、抗 C T L A - 4 抗体 (イピリムマブ (I p i l i m u m a b) (特許文献 1 0)、トレメリムマブ (T r e m e l i m u m a b) (特許文献 1 1) 等) が知られている。

[0008] しかしながら、抗 G A R P 抗体と免疫調節剤との具体的な併用効果は知られていない。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献 1 : W O 2 0 1 7 / 0 5 1 8 8 8

特許文献 2 : W O 2 0 1 5 / 0 1 5 0 0 3

特許文献 3 : W O 2 0 1 6 / 1 2 5 0 1 7

特許文献 4 : W O 2 0 1 8 / 2 0 6 7 9 0

特許文献 5 : W O 2 0 0 6 / 1 2 1 1 6 8

特許文献 6 : W O 2 0 0 8 / 1 5 6 7 1 2

特許文献 7 : W O 2 0 1 0 / 0 7 7 6 3 4

特許文献 8 : W O 2 0 1 1 / 0 6 6 3 8 9

特許文献9：WO 2013／079174

特許文献10：WO 2001／014424

特許文献11：WO 2000／037504

非特許文献

[0010] 非特許文献1：Int J Cancer. 2010 Aug 15; 127 (4) : 759-67.

非特許文献2：PLoS One. 2008; 3 (7) : e2705.

非特許文献3：Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106 (32) : 13445-50.

非特許文献4：Eur J Immunol. 2009; 39 (12) : 3315-22.

非特許文献5：Mol Biol Cell. 2012; 23 (6) : 1129-39.

非特許文献6：Blood. 2013; 122 (7) : 1182-91.

非特許文献7：Eur J Immunol. 2012 Jul; 42 (7) : 1876-85.

非特許文献8：Clin Immunol. 2013 Oct; 149 (1) : 97-110.

非特許文献9：Cancer Res. 2013; 73 : 2435.

非特許文献10：Sci Transl Med. 2015 Apr 22; 7 (284)

非特許文献11：Cancers. 2016 Nov 8 (12) : 106.

非特許文献12：Nat Rev Cancer. 2012 Mar 12 (4) : 252-264

非特許文献13：Cell. 2015 Aug 16 2 (5) : 937.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0011] 本発明は、抗GARP抗体と免疫調節剤とを組み合わせ投与されること

を特徴とするがんの治療のための医薬組成物、抗GARP抗体と免疫調節剤とを組み合わせ投与されることを特徴とするがんの治療方法を提供する。

課題を解決するための手段

[0012] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を行ったところ、抗GARP抗体と免疫調節剤が組み合わされて投与されることにより、優れた抗腫瘍効果を示すことを見出した。

[0013] すなわち、本発明は、以下に関するものである。

〔1〕下記（1）～（3）の特性を有することを特徴とする抗体又はその抗原結合断片、及び、免疫調節剤が、組み合わされて投与されることを特徴とする、がん治療のための医薬組成物；

（1）G l y c o p r o t e i n - A R e p e t i t i o n s P r e d o m i n a n t（GARP）に特異的に結合する、

（2）制御性T細胞の免疫抑制機能に対する阻害活性を有する、及び、

（3）抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性を有する、

〔2〕抗体が、i n v i v oで抗腫瘍活性を有することを特徴とする、〔1〕に記載の医薬組成物、

〔3〕抗体が、以下の（1）又は（2）に記載のCDRH1、CDRH2及びCDRH3を含む重鎖、並びに、CDRL1、CDRL2及びCDRL3を含む軽鎖を含んでなる、〔1〕又は〔2〕に記載の医薬組成物；

（1）配列番号13のアミノ酸番号45～54に記載のアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号13のアミノ酸番号69～78に記載のアミノ酸配列からなるCDRH2及び配列番号13のアミノ酸番号118～125に記載のアミノ酸配列からなるCDRH3、並びに、配列番号15のアミノ酸番号44～54に記載のアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号15のアミノ酸番号70～76に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2及び配列番号15のアミノ酸番号109～117に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3、又は、

（2）配列番号17のアミノ酸番号45～54に記載のアミノ酸配列からな

るCDRH1、配列番号17のアミノ酸番号69～77に記載のアミノ酸配列からなるCDRH2及び配列番号17のアミノ酸番号117～128に記載のアミノ酸配列からなるCDRH3、並びに、配列番号19のアミノ酸番号44～54に記載のアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号19のアミノ酸番号70～76に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2及び配列番号19においてアミノ酸番号109～117に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3、

〔4〕抗体が、以下の（1）～（3）に記載の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、〔1〕～〔3〕のいずれか一つに記載の医薬組成物；

（1）配列番号21のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号25のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、

（2）配列番号23のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号27のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、又は、

（3）配列番号29のアミノ酸番号20～139に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号31のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、

〔5〕抗体が、キメラ抗体である、〔1〕～〔4〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

〔6〕抗体が、ヒト化抗体である、〔1〕～〔4〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

〔7〕抗体が、ヒトIgG1、ヒトIgG2又はヒトIgG4の重鎖定常領域を含む、〔1〕～〔6〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

〔8〕抗体が、以下の（1）～（3）に記載の重鎖及び軽鎖を含む、〔6〕又は〔7〕に記載の医薬組成物；

（1）配列番号21のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号25のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配

列を有する軽鎖、

(2) 配列番号23のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号27のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、又は、

(3) 配列番号29のアミノ酸番号20～469に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号31のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、

〔9〕抗体が、〔2〕～〔8〕のいずれか一つに記載の抗体と、GARPへの結合において競合する、〔1〕に記載の医薬組成物、

〔10〕抗体が、N-結合型糖鎖付加、O-結合型糖鎖付加、N末のプロセッシング、C末のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化、N末におけるメチオニン残基の付加、プロリン残基のアミド化、及び重鎖のカルボキシル末端における1つ又は2つのアミノ酸残基の欠失からなる群より選択される1又は2以上の修飾を含む、〔1〕～〔9〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

〔11〕重鎖のカルボキシル末端において1つ又は数個のアミノ酸残基が欠失している、〔10〕に記載の医薬組成物、

〔12〕2本の重鎖の双方でカルボキシル末端において1つのアミノ酸残基が欠失している、〔10〕又は〔11〕に記載の医薬組成物、

〔13〕重鎖のカルボキシル末端のプロリン残基が更にアミド化されている、〔10〕～〔12〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

〔14〕免疫調節剤が、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L2抗体もしくはその抗原結合断片、抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片、前記抗体又はその抗原結合断片を含む多重特異性抗体、放射線療法、化学放射線療法又はこれらの組み合わせである、〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

[0014] 〔15〕抗PD-1抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ランブロリズ

マブ、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ又はLOPD18である、〔14〕に記載の医薬組成物、

〔16〕抗PD-L1抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ又はアベルマブである、〔14〕に記載の医薬組成物、

〔17〕抗CTLA-4抗体が、イピリムマブ又はトレメリムマブである、〔14〕に記載の医薬組成物、

〔18〕抗体と、免疫調節剤が、それぞれ別異の製剤に有効成分として含有され、同時に又は異なる時間に投与されることを特徴とする、〔1〕～〔17〕のいずれか一つに記載のがん治療のための医薬組成物、

〔19〕免疫調節剤と併用するための、〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の抗体を含む、がん治療のための医薬組成物、

〔20〕免疫調節剤を投与されたがん患者を治療するための、〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の抗体を含む、がん治療のための医薬組成物、

〔21〕免疫調節剤を含み、〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の抗体と併用することにより、該抗体の作用を上昇させる、がん治療のための医薬組成物、

〔22〕〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の抗体と併用するための、免疫調節剤を含む、がん治療のための医薬組成物、

〔23〕〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の抗体を投与されたがん患者を治療するための、免疫調節剤を含む、がん治療のための医薬組成物、

〔24〕〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の抗体を含み、免疫調節剤と併用することにより、免疫調節剤の作用を上昇させる、がん治療のための医薬組成物、

〔25〕がんが、肺がん、腎がん、尿路上皮がん、大腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、血液がん、皮膚がん、甲状腺がん、胆道がん、唾液腺がん、小腸がん、副腎がん、精巣がん、子宮頸がん、子宮体がん、子宮肉腫、胸腺腫、中皮腫、肉腫及びそれらの転移性形態からなる群

より選択される少なくとも一つの治療のための、〔１〕～〔２４〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

〔２６〕下記（１）～（３）の特性を有することを特徴とする抗体又はその抗原結合断片、及び、免疫調節剤が、組み合わされて投与されることを特徴とする、がんの治療方法；

（１）G l y c o p r o t e i n - A R e p e t i t i o n s P r e d o m i n a n t （G A R P）に特異的に結合する、

（２）制御性Ｔ細胞の免疫抑制機能に対する阻害活性を有する、及び、

（３）抗体依存性細胞傷害（A D C C）活性を有する、

〔２７〕抗体が、i n v i v oで抗腫瘍活性を有することを特徴とする、がんの治療方法、

〔２８〕抗体が、以下の（１）又は（２）に記載のC D R H 1、C D R H 2及びC D R H 3を含む重鎖、並びに、C D R L 1、C D R L 2及びC D R L 3を含む軽鎖を含んでなる、〔２６〕又は〔２７〕に記載の治療方法；

（１）配列番号１３においてアミノ酸番号４５～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号１３においてアミノ酸番号６９～７８に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2及び配列番号１３においてアミノ酸番号１１８～１２５に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3、並びに配列番号１５においてアミノ酸番号４４～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 1、配列番号１５においてアミノ酸番号７０～７６に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 2及び配列番号１５においてアミノ酸番号１０９～１１７に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 3、又は

（２）配列番号１７においてアミノ酸番号４５～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号１７においてアミノ酸番号６９～７７に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2及び配列番号１７においてアミノ酸番号１１７～１２８に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3、並びに配列番号１９においてアミノ酸番号４４～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 1、配列番号１９においてアミノ酸番号７０～７６に記載のアミノ酸配列

からなるCDRL2及び配列番号19においてアミノ酸番号109～117に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3、

〔29〕抗体が、以下の(1)～(3)に記載の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、〔26〕～〔28〕のいずれか一つに記載の治療方法；

(1) 配列番号21のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号25のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、

(2) 配列番号23のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号27のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、又は、

(3) 配列番号29のアミノ酸番号20～139に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号31のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、

[0015] 〔30〕抗体が、キメラ抗体である、〔26〕～〔29〕のいずれか一つに記載の治療方法、

〔31〕抗体が、ヒト化抗体である、〔26〕～〔29〕のいずれか一つに記載の治療方法、

〔32〕抗体が、ヒトIgG1、ヒトIgG2又はヒトIgG4の重鎖定常領域を含む、〔26〕～〔31〕のいずれか一つに記載の治療方法、

〔33〕抗体が、以下の(1)～(3)に記載の重鎖及び軽鎖を含む、〔31〕又は〔32〕に記載の治療方法；

(1) 配列番号21のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号25のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、

(2) 配列番号23のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号27のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、又は、

(3) 配列番号29のアミノ酸番号20～469に記載のアミノ酸配列を有

する重鎖及び配列番号 31 のアミノ酸番号 21 ～ 234 に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、

〔34〕抗体が、〔27〕～〔33〕のいずれか一つに記載の抗体と、GAR P への結合において競合する、〔26〕に記載の治療方法、

〔35〕抗体が、N-結合型糖鎖付加、O-結合型糖鎖付加、N末のプロセッシング、C末のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化、N末におけるメチオニン残基の付加、プロリン残基のアミド化、及び重鎖のカルボキシル末端における1つ又は2つのアミノ酸残基の欠失からなる群より選択される1又は2以上の修飾を含む、〔26〕～〔34〕のいずれか一つに記載の治療方法、

〔36〕重鎖のカルボキシル末端において1つ又は数個のアミノ酸残基が欠失している、〔35〕に記載の治療方法、

〔37〕2本の重鎖の双方でカルボキシル末端において1つのアミノ酸残基が欠失している、〔35〕又は〔36〕に記載の治療方法、

〔38〕重鎖のカルボキシル末端のプロリン残基が更にアミド化されている、〔35〕～〔36〕のいずれか一つに記載の治療方法、

〔39〕免疫調節剤が、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L2抗体もしくはその抗原結合断片、抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片、前記抗体又はその抗原結合断片を含む多重特異性抗体、放射線療法、化学放射線療法又はこれらの組み合わせである、〔26〕～〔38〕のいずれか一つに記載の治療方法、

〔40〕抗PD-1抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ランブロリズマブ、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ又はLOPD18である、〔39〕に記載の治療方法、

〔41〕抗PD-L1抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ又はアベルマブである、〔39〕に記載の治療方法、

〔42〕抗CTLA-4抗体が、イピリムマブ又はトレメリムマブである、

〔３９〕に記載の治療方法、

〔４３〕免疫調節剤と併用することを特徴とするがんの治療方法であって、それを必要とするがん患者に、〔２６〕～〔３８〕のいずれか一つに記載の抗体の有効量を投与することを含む、治療方法、

〔４４〕免疫調節剤を投与されたがん患者の治療方法であって、それを必要とする患者に、〔２６〕～〔３８〕のいずれか一つに記載の抗体の有効量を投与することを含む、治療方法、

[0016] 〔４５〕〔２６〕～〔３８〕のいずれか一つに記載の抗体と併用することにより、該抗体の作用を上昇させる方法であって、それを必要とする患者に、免疫調節剤の有効量を投与することを含む、治療方法、

〔４６〕〔２６〕～〔３８〕のいずれか一つに記載の抗体と併用することを特徴とするがんの治療方法であって、それを必要とする患者に、免疫調節剤の有効量を投与することを含む、治療方法、

〔４７〕〔２６〕～〔３８〕のいずれか一つに記載の抗体を投与されたがん患者の治療方法であって、それを必要とする患者に、免疫調節剤の有効量を投与することを含む、治療方法、

〔４８〕免疫調節剤と併用することにより、免疫調節剤の作用を上昇させる方法であって、それを必要とする患者に〔２６〕～〔３８〕のいずれか一つに記載の抗体の有効量を投与することを含む、治療方法、

〔４９〕がんが、肺がん、腎がん、尿路上皮がん、大腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、血液がん、皮膚がん、甲状腺がん、胆道がん、唾液腺がん、小腸がん、副腎がん、精巣がん、子宮頸がん、子宮体がん、子宮肉腫、胸腺腫、中皮腫、肉腫及びそれらの転移性形態からなる群より選択される少なくとも一つの治療のための、〔２６〕～〔４８〕のいずれか一つに記載の治療方法、

〔５０〕〔１〕～〔１２〕のいずれか一つに記載の抗体、及び、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体及び抗ＣＴＬＡ－４抗体からな

る群より選択される 1 又は 2 以上の免疫調節剤を含む、がん治療のためのキット製剤、

〔51〕キットを使用するための取扱説明書をさらに含む、〔50〕に記載の製剤。

〔52〕抗PD-1抗体が、ニボルマブである、〔14〕に記載の医薬組成物。

〔53〕抗PD-1抗体が、ペムブロリズマブである、〔14〕に記載の医薬組成物。

〔54〕抗PD-1抗体が、ニボルマブである、〔39〕に記載の治療方法。

〔55〕抗PD-1抗体が、ペムブロリズマブである、〔39〕に記載の治療方法、

〔56〕免疫調節剤が、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L2抗体もしくはその抗原結合断片、抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片、前記抗体又はその抗原結合断片を含む多重特異性抗体、放射線療法、化学放射線療法、化学療法剤又はこれらの組み合わせである、〔1〕～〔13〕のいずれか一つに記載の医薬組成物、

〔57〕免疫調節剤が、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L2抗体もしくはその抗原結合断片、抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片、前記抗体又はその抗原結合断片を含む多重特異性抗体、放射線療法、化学放射線療法、化学療法剤又はこれらの組み合わせである、〔26〕～〔38〕のいずれか一つに記載の治療方法。

発明の効果

[0017] 本発明により、特定の抗GARP抗体と免疫調節剤が組み合わされて投与されることにより、抗腫瘍効果と安全性面に優れる医薬組成物及び治療方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0018] [図1] c 1 5 1 D 抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号 1 3）を示す図である。

[図2] c 1 5 1 D 抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 1 5）を示す図である。

[図3] c 1 9 8 D 抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号 1 7）を示す図である。

[図4] c 1 9 8 D 抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 1 9）を示す図である。

[図5] h 1 5 1 D－H 1 重鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 1）を示す図である。

。

[図6] h 1 5 1 D－L 1 軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 5）を示す図である。

。

[図7] h 1 5 1 D－H 4 重鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 3）を示す図である。

。

[図8] h 1 5 1 D－L 4 軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 7）を示す図である。

。

[図9] h 1 9 8 D－H 3 重鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 9）を示す図である。

。

[図10] h 1 9 8 D－L 4 軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 3 1）を示す図である。

[図11-1] ドナー A 及び B における c o n t r o l 群、抗 G A R P 抗体 h 1 5 1 D__H 1 L 1 単剤処理群及び抗 P D－1 抗体 n i v o l u m a b 単剤処理群、並びに、抗 G A R P 抗体 h 1 5 1 D__H 1 L 1 及び n i v o l u m a b 併用処理群の $[^3\text{H}]$ -t h y m i d i n e の T e f f 細胞内取り込み量の平均値及び標準誤差（6 ウェル/群）を示す図である。

[図11-2] ドナー C 及び D における c o n t r o l 群、抗 G A R P 抗体 h 1 5 1 D__H 1 L 1 単剤処理群及び抗 P D－1 抗体 n i v o l u m a b 単剤処理群、並びに、抗 G A R P 抗体 h 1 5 1 D__H 1 L 1 及び n i v o l u m a b 併用処理群の $[^3\text{H}]$ -t h y m i d i n e の T e f f 細胞内取り込み量の平均値及び標準誤差（6 ウェル/群）を示す図である。

[図12] 4 名のドナーにおける c o n t r o l 群、抗 G A R P 抗体 h 1 5 1 D

__H 1 L 1 単剤投与群及び抗PD-1抗体nivolumab単剤投与群、並びに、抗GARP抗体h 1 5 1 D__H 1 L 1 及び抗PD-1抗体nivolumab併用投与群のTeff細胞増殖賦活化の指標である相対的AUC値を示す図である。

[図13]CANscript（登録商標）を用いた抗GARP抗体（h 1 5 1 D__H 1 L 1）と抗PD-1抗体nivolumabの併用時臨床効果予測を示す図である。

発明を実施するための形態

[0019] 以下、本発明を実施するための好適な形態について図面を参照しながら説明する。なお、以下に説明する実施形態は、本発明の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これによって本発明の範囲が狭く解釈されることはない。

[0020] 1. GARP

ヒトGARPのアミノ酸配列は配列表の配列番号1（NP__001122394）に記載されている。

[0021] また、上記GARPのアミノ酸配列において、1又は数個のアミノ酸が置換、欠失及び／又は付加されたアミノ酸配列からなり、当該蛋白質と同等の生物活性を有する蛋白質もGARPに含まれる。

[0022] シグナル配列が除かれた成熟ヒトGARPは、配列番号1に示されるアミノ酸配列の20番目から662番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列に相当する。

[0023] また、配列表の配列番号1に示されるアミノ酸配列、又はこれらの配列からシグナル配列が除かれたアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、又は付加されたアミノ酸配列からなり、且つGARPと同等の生物活性を有する蛋白質もGARPに含まれる。更に、ヒトGARP遺伝子座から転写されるスプライシングバリエーションにコードされるアミノ酸配列又は当該アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、又は付加されたアミノ酸配列からなり、且つGARPと同等の生物活性を

有する蛋白質も G A R P に含まれる。

[0024] 2. 抗 G A R P 抗体

本発明の抗体の機能としては、抗原結合活性、抗原の活性を中和する活性、抗原の活性を増強する活性、エフェクター活性（A D C C 活性、抗体依存性細胞媒介食作用（A D C P）活性及び補体依存性細胞傷害（C D C）活性等）を挙げることができるが、これに限らない。

[0025] 本発明の抗体は、好ましくは G A R P に対する特異的結合活性、エフェクター活性、T r e g 機能阻害活性、細胞傷害活性（抗腫瘍活性）のいずれか一つ又はそれらの組み合わせを有し、より好ましくは G A R P に対する特異的結合活性、エフェクター活性（好ましくは、A D C C 活性）を介した T r e g 機能阻害活性による細胞傷害活性（抗腫瘍活性）及びそれらの組み合わせを有する。

[0026] 本発明において「がん」、「癌」及び「腫瘍」は同じ意味で用いられる。

[0027] 本発明の抗体は、G A R P 蛋白質を認識する。言い換えれば、本発明の抗体は G A R P 蛋白質に結合する。かかる抗体は「抗 G A R P 抗体」と表記される。また、本発明の好適な抗体は G A R P 蛋白質を特異的に認識する。言い換えれば、本発明の好適な抗体は G A R P 蛋白質に特異的に結合する。

[0028] 本発明において「特異的な認識」、すなわち「特異的な結合」とは、非特異的な吸着ではない結合を意味する。結合が特異的であるか否かの判定基準としては、例えば、解離定数（D i s s o c i a t i o n C o n s t a n t : 以下、「K D という」）をあげることができる。本発明の好適な抗体の G A R P 蛋白質に対する K D 値は $1 \times 10^{-5} \text{M}$ 以下、 $5 \times 10^{-6} \text{M}$ 以下、 $2 \times 10^{-6} \text{M}$ 以下または $1 \times 10^{-6} \text{M}$ 以下、より好適には $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 以下、 $2 \times 10^{-7} \text{M}$ 以下または $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 以下、より一層好適には $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 以下、 $2 \times 10^{-8} \text{M}$ 以下または $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 以下、更により一層好適には $5 \times 10^{-9} \text{M}$ 以下、 $2 \times 10^{-9} \text{M}$ 以下または $1 \times 10^{-9} \text{M}$ 以下である。

[0029] 本発明における抗原と抗体の結合は、E L I S A 法、R I A 法、S u r f a c e P l a s m o n R e s o n a n c e（以下、「S P R」という）

解析法等により測定または判定することができる。SPR解析に用いる機器としては、BIAcore™ (GEヘルスケア社製)、Protein™ (BioRad社製)、SPR-Navis™ (BioNavis社製)、Spreeta™ (Texas Instruments社製)、SPRi-Plex™ (ホリバ社製)、Autolab SPR™ (Metrohm社製)等を例示することができる。細胞表面上の発現している抗原と抗体との結合は、フローサートメトリー法、Cell ELISA法等により測定することができる。

[0030] 本発明においてADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity) とは、Fcγレセプターを発現する非特異的細胞傷害性細胞 (例えばNK細胞、好中球、及びマクロファージ等) が標的細胞上に結合した抗体を認識して、その後にターゲット細胞の溶解を起こす細胞介在性反応をいう。

[0031] 本発明においてADCP (antibody dependent cell phagocytosis) は、Fcレセプターを発現する貪食細胞 (例えばマクロファージ、好中球等) が標的細胞上に結合した抗体を認識して、その後、ターゲット細胞を細胞内に貪食する細胞介在性反応をいう。

[0032] 本発明においてCDC (complement dependent cytotoxicity) は、補体が抗体を介して腫瘍細胞等の標的細胞を傷害する作用活性をいう。

[0033] ADCC活性、CDC活性およびADCP活性は公知の方法により測定することができる。

[0034] ADCC活性の測定には、目的とする抗原を発現する細胞 (標的細胞) と、その標的細胞を殺傷するエフェクター細胞が用いられる。エフェクター細胞はFcγ受容体を介して、標的細胞に結合した抗体のFc領域を認識する。Fcγ受容体から伝達されるシグナルにより、エフェクター細胞が標的細胞を殺傷する。ヒト由来のFc領域を有する抗体のADCC活性を測定する場合、エフェクター細胞としてヒトNK細胞が用いられる。ヒトNK細胞は

ヒト末梢血単核球（P M B C）から公知の方法により調製することができる。
あるいはP B M Cをそのままエフェクター細胞として用いることもできる。

[0035] A D C P 活性の測定には、目的とする抗原を発現する細胞（標的細胞）と、その標的細胞を貪食する単球やマクロファージなどのエフェクター細胞が用いられる。これらのエフェクター細胞は、ヒト末梢血単核球（P M B C）から公知の方法により分離したモノサイト画分を公知の方法によりマクロファージへと分化誘導させて調製することができる。

[0036] C D C 活性の測定には、目的とする抗原を発現する細胞（標的細胞）と補体成分を用いる。補体成分は、標的細胞に結合した抗体と結合して活性化され、細胞表面で一連の反応を起こし、膜侵襲複合体を形成して標的細胞を殺傷する。この補体成分として、ヒト血清等を用いることができる。

[0037] <抗G A R P 抗体の製造>

G A R P 又はG A R P のアミノ酸配列から選択される任意のポリペプチドを動物に免疫し、生体内に産生される抗体を採取、精製することによって得ることができる。

[0038] （１）抗原の調製

抗G A R P 抗体を作製するための抗原としては、G A R P 又はその少なくとも6個の連続した部分アミノ酸配列からなるポリペプチド、あるいはこれらに任意のアミノ酸配列や担体が付加された誘導体を挙げるることができる。

[0039] G A R P は、ヒトの腫瘍組織あるいは腫瘍細胞から直接精製して使用することができ、また、G A R P を *i n v i t r o* にて合成する、あるいは遺伝子操作により宿主細胞に産生させることによって得ることができる。

遺伝子操作では、具体的には、G A R P の c D N A を発現可能なベクターに組み込んだ後、転写と翻訳に必要な酵素、基質及びエネルギー物質を含む溶液中で合成する、あるいは他の原核生物、又は真核生物の宿主細胞を形質転換させることによってG A R P を発現させることにより、抗原を得ることができる。

[0040] また、膜蛋白質であるG A R P の細胞外領域と抗体の定常領域とを連結し

た融合蛋白質を適切な宿主・ベクター系において発現させることによって、分泌蛋白質として抗原を得ることも可能である。

[0041] (2) 抗GARPモノクローナル抗体の製造

本発明の抗体は、公知の手段によって取得することができる。例えば、この分野で通常実施される方法を用いて、抗原となるGARP又はGARPのアミノ酸配列から選択される任意のポリペプチドを動物に免疫し、生体内に産生される抗体を採取、精製することによって得ることができる。抗原の由来はヒトに限定されず、マウス、ラット等のヒト以外の動物に由来する抗原を動物に免疫することもできる。この場合には、取得された異種抗原に結合する抗体とヒト抗原との交差性を試験することによって、ヒトの疾患に適用可能な抗GARP抗体を選別できる。

[0042] また、抗原に対する抗体を産生する抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることによってハイブリドーマを樹立し、モノクローナル抗体を得ることもできる（例えば、Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p. 495-497; Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p. 365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)）。

[0043] このようにして樹立されたハイブリドーマ株の例としては、GARPハイブリドーマ151D及び198Dを挙げることができる。なお、本明細書中においては、GARPハイブリドーマ151D及び198Dが産生する抗体を、「151D抗体」若しくは「198D抗体」又は単に「151D」若しくは「198D」と記載する（US2018258184参照）。

[0044] 151D抗体の重鎖可変領域は、配列番号3に示されるアミノ酸配列を有する。また、151D抗体の軽鎖可変領域は、配列番号5に示されるアミノ酸配列を有する。なお、配列番号3に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号2に示されるヌクレオチド配列によってコードされている。また、配列番号5に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号4に示

されるヌクレオチド配列によってコードされている。

[0045] 198D抗体の重鎖可変領域は、配列番号7に示されるアミノ酸配列を有する。また、198D抗体の軽鎖可変領域は、配列番号9に示されるアミノ酸配列を有する。なお、配列番号7に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号6に示されるヌクレオチド配列によってコードされている。また、配列番号9に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号8に示されるヌクレオチド配列によってコードされている。

[0046] (3) その他の抗体

本発明の抗体として、前記151D抗体又は198D抗体と同一のエピトープに結合する抗体を挙げることができる。151D抗体（ヒト化151D抗体等）は当該配列においてアミノ酸番号352～392を認識し、及び198D抗体（ヒト化198D抗体等）は当該配列においてアミノ酸番号18～112を認識して結合するので、GARPのアミノ酸配列における当該領域をエピトープとして挙げることができる。

[0047] 新たに作製されたモノクローナル抗体が、上記151D抗体等の結合する部分ペプチド又は部分立体構造に結合すれば、当該モノクローナル抗体が上記151D抗体等の抗体と同一のエピトープに結合すると判定することができる。

また上記151D抗体等の抗体のGARPに対する結合に対して当該モノクローナル抗体が競合する（即ち、当該モノクローナル抗体が、上記151D抗体等とGARPの結合を妨げる）ことを確認することによって、具体的なエピトープの配列又は構造が決定されていなくても、当該モノクローナル抗体が上記151D抗体等の抗体と同一のエピトープに結合すると判定することができる。エピトープが同一であることが確認された場合、当該モノクローナル抗体が上記151D抗体等の抗体と同等の特性を有していることが強く期待される。

[0048] 本発明の抗体には、上記GARPに対するモノクローナル抗体に加え、ヒトに対する異種抗原性を低下させること等を目的として人為的に改変した遺

伝子組換え型抗体、例えば、キメラ（Chimeric）抗体、ヒト化（Humanized）抗体、及びヒト抗体等も含まれる。これらの抗体は、既知の方法を用いて製造することができる。

[0049] また本発明に係る抗GARP抗体としては、下記のキメラ抗体及びヒト化抗体を挙げることができる。

[0050] キメラ抗体としては、抗体の可変領域と定常領域が互いに異種である抗体、例えばマウス又はラット由来抗体の可変領域をヒト由来の定常領域に接合したキメラ抗体を挙げることができる（Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 81, 6851-6855, (1984) 参照）。

[0051] ラット抗ヒトGARP抗体151D由来のキメラ抗体は、配列番号3に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖及び配列番号5に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖からなる抗体であり、任意のヒト由来の定常領域を有して良い。

[0052] また、ラット抗ヒトGARP抗体198D由来のキメラ抗体は、配列番号7に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖及び配列番号9に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖からなる抗体であり、任意のヒト由来の定常領域を有して良い。

[0053] このようなキメラ抗体の例として、配列番号13のアミノ酸番号20～466番目に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号15のアミノ酸番号21～234番目に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖からなる抗体、及び配列表の配列番号17のアミノ酸番号20～469番目に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号19のアミノ酸番号21～234番目に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖からなる抗体を挙げることができる。

[0054] なお、配列表の配列番号13に示される重鎖配列中で、1～19番目に記載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、20～136番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、137～466番目に記載のアミノ酸配列は定常領域である。

[0055] また、配列表の配列番号15に示される軽鎖配列中で、1～20番目に記

載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、21～129番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、130～234番目に記載のアミノ酸配列は定常領域である。

[0056] 更に、配列表の配列番号17に示される重鎖配列中で、1～19番目に記載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、20～139番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、140～469番目に記載のアミノ酸配列は定常領域である。

[0057] また、配列表の配列番号19に示される軽鎖配列中で、1～20番目に記載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、21～129番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、130～234番目のに記載のアミノ酸配列は定常領域である。

[0058] ヒト化抗体としては、相補性決定領域（CDR；complementarity determining region）のみをヒト由来の抗体に組み込んだ抗体（Nature（1986）321，p. 522－525参照）、CDR移植法によって、CDRの配列に加え一部のフレームワークのアミノ酸残基もヒト抗体に移植した抗体（WO90／07861）を挙げることができる。

[0059] 但し、151D抗体由来のヒト化抗体としては、151D抗体の6種全てのCDR配列を保持し、抗腫瘍活性を有する限り、特定のヒト化抗体に限定されない。

[0060] なお、151D抗体の重鎖可変領域は、配列表の配列番号3のアミノ酸番号26～35に記載のアミノ酸配列からなるCDRH1（GFTFSNYYMA）、配列番号3のアミノ酸番号50～59に記載のアミノ酸配列からなるCDRH2（SIGTVGGNTY）、及び配列番号3のアミノ酸番号99～106に記載のアミノ酸配列からなるCDRH3（EDYGGFPH）を保有している。

[0061] また、151D抗体の軽鎖可変領域は、配列表の配列番号5のアミノ酸番号24～34に記載のアミノ酸配列からなるCDRL1（KASQNVGT

NVD)、配列番号5のアミノ酸番号50～56に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2 (GASNRYT)、及び配列番号5のアミノ酸番号89～97に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3 (LQYKYNPYT)を保有している。

[0062] 更に、198D抗体の重鎖可変領域は、配列表の配列番号7のアミノ酸番号26～35に記載のアミノ酸配列からなるCDRH1 (GFSLTSFHV S)、配列番号7のアミノ酸番号50～58に記載のアミノ酸配列からなるCDRH2 (TISSGGGTY)、及び配列番号7のアミノ酸番号98～109に記載のアミノ酸配列からなるCDRH3 (ISGWGHYYVM DV)を保有している。

[0063] また、198D抗体の軽鎖可変領域は、配列表の配列番号9のアミノ酸番号24～34に記載のアミノ酸配列からなるCDRL1 (QASEDIYS GLA)、配列番号9のアミノ酸番号50～56に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2 (GAGSLQD)、及び配列番号9のアミノ酸番号89～97に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3 (QQGLKFPLT)を保有している。

[0064] ラット抗体151Dのヒト化抗体の実例としては、(1)配列表の配列番号21 (h151D-H1)又は配列番号23 (h151D-H4)のアミノ酸番号20～136番目に記載のアミノ酸配列、(2)上記(1)の配列において各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも95%以上の相同性を有するアミノ酸配列、及び(3)上記(1)の配列における各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列において1又は数個のアミノ酸が欠失、置換又は付加されたアミノ酸配列のいずれか一つからなる重鎖可変領域を含む重鎖、並びに(4)配列番号25 (h151D-L1)又は配列番号27 (h151D-L4)のアミノ酸番号21～129番目に記載のアミノ酸配列、(5)上記(4)の配列において各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも95%以上の相同性を有するアミノ酸配列、及び(6)上記(4)の配列における各CDR配列以外のフ

レームワーク領域の配列において1又は数個のアミノ酸が欠失、置換又は付加されたアミノ酸配列のいずれか一つからなる軽鎖可変領域を含む軽鎖の任意の組合せを挙げることができる。

[0065] また、ラット抗体198Dのヒト化抗体の実例としては、(1)配列表の配列番号29(h198D-H3)のアミノ酸番号20～139番目に記載のアミノ酸配列、(2)上記(1)の配列において各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも95%以上の相同性を有するアミノ酸配列、及び(3)上記(1)の配列における各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列において1又は数個のアミノ酸が欠失、置換又は付加されたアミノ酸配列のいずれか一つからなる重鎖可変領域を含む重鎖、並びに(4)配列番号31(h198D-L4)のアミノ酸番号21～129番目に記載のアミノ酸配列、(5)上記(4)の配列において各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列に対して少なくとも95%以上の相同性を有するアミノ酸配列、及び(6)上記(4)の配列における各CDR配列以外のフレームワーク領域の配列において1又は数個のアミノ酸が欠失、置換又は付加されたアミノ酸配列のいずれか一つからなる軽鎖可変領域を含む軽鎖の任意の組合せを挙げることができる。

[0066] ヒト化151D抗体の重鎖及び軽鎖の好適な組合せとしては、配列番号21のアミノ酸番号20～136番目に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を有する重鎖及び配列番号25のアミノ酸番号21～129番目に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有する軽鎖からなる抗体、並びに配列番号23のアミノ酸番号20～136番目に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を有する重鎖及び配列番号27のアミノ酸番号21～129番目に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有する軽鎖からなる抗体を挙げることができる。

[0067] 更に好適な組合せとしては、配列番号21のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号25のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖からなる抗体(h151D-H1L

1)、並びに配列番号23のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号27のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖からなる抗体(h151D-H4L4)を挙げることができる。

[0068] ヒト化198D抗体の重鎖及び軽鎖の好適な組合せとしては、配列番号29のアミノ酸番号20～139番目に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を有する重鎖及び配列番号31のアミノ酸番号21～129番目に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有する軽鎖からなる抗体を挙げることができる。

[0069] 更に好適な組合せとしては、配列番号29のアミノ酸番号20～469に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号31のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖からなる抗体(h198D-H3L4)を挙げることができる。

[0070] 上記の重鎖アミノ酸配列及び軽鎖アミノ酸配列と高い相同性を示す配列を組み合わせることによって、上記の各抗体と同等の細胞傷害性活性を有する抗体を選択することが可能である。このような相同性は、一般的には80%以上の相同性であり、好ましくは85%以上の相同性であり、より好ましくは90%以上の相同性であり、さらにより好ましくは95%以上の相同性であり、最も好ましくは99%以上の相同性である。また、重鎖又は軽鎖のアミノ酸配列に1～数個のアミノ酸残基が置換、欠失又は付加されたアミノ酸配列を組み合わせることによっても、上記の各抗体と同等の細胞傷害性活性を有する抗体を選択することが可能である。

[0071] なお、本明細書中における「数個」とは、1～10個、1～9個、1～8個、1～7個、1～6個、1～5個、1～4個、1～3個、又は1若しくは2個を意味する。

[0072] 二種類のアミノ酸配列間の相同性は、B l a s t a l g o r i t h m
v e r s i o n 2 . 2 . 2 (A l t s c h u l , S t e p h e n F .
, T h o m a s L . M a d d e n , A l e j a n d r o A . S c h a f

fer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), 「Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs」, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402) のデフォルトパラメーターを使用することによって決定することができる。Blast algorithmは、インターネットでwww.ncbi.nlm.nih.gov/blastにアクセスすることによっても使用することができる。なお、本発明の抗体に係るヌクレオチド配列と他の抗体のヌクレオチド配列との間の相同性についても Blast algorithmによって決定することができる。

[0073] なお、ヒト化151D抗体に係る配列表の配列番号21又は配列番号23に示される重鎖アミノ酸配列中で、1～19番目に記載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、20～136番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、137～466番目に記載のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は定常領域である。

[0074] また、ヒト化151D抗体に係る配列表の配列番号25又は配列番号27に示される軽鎖アミノ酸配列中で、1～20番目に記載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、21～129番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、130～234番目に記載のアミノ酸配列は定常領域である。

[0075] 更に、ヒト化198D抗体に係る配列表の配列番号29に示される重鎖アミノ酸配列中で、1～19番目に記載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、20～139番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、140～469番目に記載のアミノ酸配列は定常領域である。

[0076] また、ヒト化198D抗体に係る配列表の配列番号31に示される軽鎖アミノ酸配列中で、1～20番目に記載のアミノ酸配列はシグナル配列であり、21～129番目に記載のアミノ酸配列は可変領域であり、130～234番目に記載のアミノ酸配列は定常領域である。

- [0077] ヒト化151D抗体に係る配列表の配列番号21又は配列番号23に示される重鎖アミノ酸配列は、各々配列表の配列番号20又は配列番号22に示されるヌクレオチド配列によってコードされている。
- [0078] ヒト化198D抗体に係る配列表の配列番号29に示される重鎖アミノ酸配列は、配列表の配列番号28に示されるヌクレオチド配列によってコードされている。
- [0079] ヒト化151D抗体に係る配列表の配列番号25又は配列番号27に示される軽鎖アミノ酸配列は、各々配列表の配列番号24又は配列番号26に示されるヌクレオチド配列によってコードされている。
- [0080] ヒト化198D抗体に係る配列表の配列番号31に示される軽鎖アミノ酸配列は、配列表の配列番号30に示されるヌクレオチド配列によってコードされている。
- [0081] 本発明の抗GARP抗体の一例として、ヒト抗体を挙げることができる。ヒト抗体は、ヒト抗体の重鎖と軽鎖の遺伝子を含むヒト染色体断片を有するヒト抗体産生マウスを用いた方法（Nature Genetics（1997）16, p. 133-143; Nucl. Acids Res.（1998）26, p. 3447-3448; Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects vol. 10, p. 69-73（Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.）, Kluwer Academic Publishers, 1999.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA（2000）97, p. 722-727等を参照）によって取得することができる。
- [0082] また、ヒト抗体ライブラリーより選別したファージディスプレイ由来のヒト抗体を取得する方法（Investigative Ophthalmology & Visual Science.（2002）43（7）, p. 2301-2308; Briefings in Functional Genomics and Proteomics（2002）, 1（

2), p. 189-203; Ophthalmology (2002) 109 (3), p. 427-431, Nature Biotechnology (2005), 23, (9), p. 1105-1116等参照。)により得ることができる。

- [0083] 抗原に結合することで選択されたファージの遺伝子を解析することによって、抗原に結合するヒト抗体の可変領域をコードするDNA配列を決定することができる。抗原に結合するscFvのDNA配列が明らかになれば、抗体の定常領域のDNA配列を連結することにより、当該配列を有するIgG発現ベクターを作製し、適当な宿主に導入して発現させることによりヒト抗体を取得することができる(WO92/01047、WO92/20791、WO93/06213、WO93/11236、WO93/19172、WO95/01438、WO95/15388、Annu. Rev. Immunol (1994) 12, p. 433-455、Nature Biotechnology (2005) 23 (9), p. 1105-1116)。
- [0084] 本発明のヒト抗体としては、更にヒト化151D抗体又はヒト化198D抗体と同一のエピトープに結合する、ヒト抗体を挙げることができる。
- [0085] 本発明の抗体には抗体の修飾体も含まれる。当該修飾体とは、本発明の抗体に化学的又は生物学的な修飾が施されてなるものを意味する。化学的な修飾体には、アミノ酸骨格への化学部分の結合、N-結合又はO-結合炭水化物鎖の化学修飾体等が含まれる。生物学的な修飾体には、翻訳後修飾(例えば、N-結合又はO-結合への糖鎖付加、N末又はC末のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化)されたもの、原核生物宿主細胞を用いて発現させることによりN末にメチオニン残基が付加したもの等が含まれる。また、本発明の抗体又は抗原の検出又は単離を可能にするために標識されたもの、例えば、酵素標識体、蛍光標識体、アフィニティ標識体もかかる修飾物の意味に含まれる。このような本発明の抗体の修飾物は、元の本発明の抗体の安定性及び血中滞留性の改善、抗原性の低減、かかる抗体又は抗原の検出又は単離等に有用である。

[0086] 本発明の抗体に結合している糖鎖修飾を調節すること（グリコシル化、脱フコース化等）によって、抗体依存性細胞傷害活性を増強することが可能である。抗体の糖鎖修飾の調節技術としては、WO 99 / 5 4 3 4 2、WO 00 / 6 1 7 3 9、WO 02 / 3 1 1 4 0、WO 2007 / 1 3 3 8 5 5等が知られているが、これらに限定されるものではない。本発明の抗体には当該糖鎖修飾を調節された抗体も含まれる。

[0087] 本発明の目的に使用するものとしては、「抗体の機能断片」もしくは「抗体の抗原結合断片」が含まれる。「抗体の機能断片」とは、元の抗体が奏する機能の少なくとも一部を奏する抗体断片を意味する。「抗体の機能断片」もしくは「抗体の抗原結合断片」としては、例えば、F a b、F (a b')₂、s c F v、F a b'、一本鎖免疫グロブリン等をあげることができるが、それらに限定されるものではない。かかる抗体の機能断片は、抗体蛋白質の全長分子をパパイン、ペプシン等の酵素で処理することによって得られたものに加え、組換え遺伝子を用いて適当な宿主細胞において産生された組換え蛋白質であってもよい。

[0088] 本発明の抗体は、2つ以上の抗原結合部位を持つ抗体も含まれる。すなわち、1つの抗原上の2つ以上の互いに異なるエピトープ又は2つ以上の抗原上の互いに異なるエピトープに結合することが可能な抗体であり、複数の互いに異なる抗原結合断片を包む。このような多重特異的抗体には、I g G型多重特異性抗体、2種類以上の可変領域を有する多重特異性抗体、例えばタンデム s c F v、一本鎖ダイアボディ、ダイアボディ、及びトリアボディのような抗体断片、共有結合又は非共有結合して連結されている抗体断片を含むが、これらに限定されない。多重特異的抗体はF cを含んでいてもよい。

[0089] 本発明の抗体は、遺伝子組換え技術により、本発明の抗体の重鎖及び軽鎖の各々をコードするc D N A、好ましくは当該c D N Aを含むベクターにより真核細胞を形質転換し、遺伝子組換えヒトモノクローナル抗体を産生する形質転換細胞を培養することにより、当該抗体を培養上清中から得ることも

できる。

[0090] 抗体遺伝子を一旦単離した後、適当な宿主に導入して抗体を作製する場合には、適当な宿主と発現ベクターの組み合わせを使用することができる。抗体遺伝子の具体例としては、本明細書に記載された抗体の重鎖配列をコードする遺伝子、及び軽鎖配列をコードする遺伝子を組み合わせたものを挙げることができる。宿主細胞を形質転換する際には、重鎖配列遺伝子と軽鎖配列遺伝子は、同一の発現ベクターに挿入されていることが可能であり、又別々の発現ベクターに挿入されていることも可能である。

[0091] 真核細胞を宿主として使用する場合、動物細胞、植物細胞、真核微生物を用いることができる。特に動物細胞としては、哺乳類細胞、例えば、サルの細胞であるCOS細胞（Gluzman, Y. Cell (1981) 23, p. 175-182、ATCC CRL-1650）、マウス線維芽細胞NIH3T3（ATCC: No. CRL-1658）やチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞（CHO細胞、ATCC CCL-61）のジヒドロ葉酸還元酵素欠損株（Urlaub, G. and Chasin, L. A. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (1980) 77, p. 4126-4220）を挙げることもできる。

[0092] 原核細胞を使用する場合は、例えば、大腸菌、枯草菌を挙げることもできる。

[0093] これらの細胞に目的とする抗体遺伝子を形質転換により導入し、形質転換された細胞を*in vitro*で培養することにより抗体が得られる。当該培養においては抗体の配列によって収量が異なる場合があり、同等な結合活性を持つ抗体の中から収量を指標に医薬としての生産が容易なものを選別することが可能である。したがって、本発明の抗体には、上記形質転換された宿主細胞を培養する工程、及び当該工程で得られた培養物から目的の抗体を採取する工程を含むことを特徴とする当該抗体の製造方法により得られる抗体も含まれる。

[0094] 哺乳類培養細胞で生産される抗体の重鎖のカルボキシル末端のリジン残基

が欠失することが知られており（J o u r n a l o f C h r o m a t o g r a p h y A, 705:129-134（1995））、また、同じく重鎖カルボキシル末端のグリシン、リジンの2アミノ酸残基が欠失し、新たにカルボキシル末端に位置するプロリン残基がアミド化されることが知られている（A n a l y t i c a l B i o c h e m i s t r y, 360:75-83（2007））。しかし、これらの重鎖配列の欠失及び修飾は、抗体の抗原結合能及びエフェクター機能（補体の活性化や抗体依存性細胞障害作用など）には影響を及ぼさない。

従って、本発明には当該修飾を受けた抗体も含まれ、重鎖カルボキシル末端において1又は2つのアミノ酸が欠失した欠失体、及びアミド化された当該欠失体（例えば、カルボキシル末端部位のプロリン残基がアミド化された重鎖）等を挙げることができる。但し、抗原結合能及びエフェクター機能が保たれている限り、本発明に係る抗体の重鎖のカルボキシル末端の欠失体は上記の種類に限定されない。

本発明に係る抗体を構成する2本の重鎖は、完全長及び上記の欠失体からなる群から選択される重鎖のいずれか一種であっても良いし、いずれか二種を組み合わせたものであっても良い。各欠失体の量比は本発明に係る抗体を産生する哺乳類培養細胞の種類及び培養条件に影響を受け得るが、本発明に係る抗体の主成分としては2本の重鎖の双方でカルボキシル末端の1つのアミノ酸残基が欠失している場合を挙げることができる。具体的には、下記（1）～（3）に記載の抗体を挙げることができる。

（1）配列番号21のアミノ酸番号20～465に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号25のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、

（2）配列番号23のアミノ酸番号20～465に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号27のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、又は、

（3）配列番号29のアミノ酸番号20～468に記載のアミノ酸配列を有

する重鎖及び配列番号 31 のアミノ酸番号 21 ～ 234 に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖。

[0095] 本発明の抗体のアイソタイプとしては、例えば IgG (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4) 等を挙げることができるが、好ましくは IgG1、IgG2 又は IgG4 を挙げることができる。

[0096] 本発明の抗体は、多量化して抗原に対する親和性を高めたものであってもよい。多量化する抗体としては、1種類の抗体であっても、同一の抗原の複数のエピトープを認識する複数の抗体であってもよい。抗体を多量化する方法としては、IgG CH3ドメインと2つの scFv (一本鎖抗体) との結合、ストレプトアビジンとの結合、ヘリックスターナーヘリックスモチーフの導入等を挙げることができる。

[0097] 本発明の抗体は、ポリクローナル抗体であってもよい。ポリクローナル抗体の一例としては、CDRが異なる複数種類の抗体の混合物を挙げることができる。そのようなポリクローナル抗体としては、異なる抗体を産生する細胞の混合物を培養し、当該培養物から精製された抗体を用いることが出来る (WO2004/061104号参照)。

[0098] 抗体の修飾物として、ポリエチレングリコール (PEG) 等の各種分子と結合した抗体を使用することもできる。

[0099] 本発明の抗体は、更にこれらの抗体と他の薬剤がコンジュゲートを形成しているもの (Immunoc conjugate) でもよい。このような抗体の例としては、該抗体が放射性物質や薬理作用を有する化合物と結合している物を挙げることができ (Nature Biotechnology (2005) 23, p. 1137-1146)、例えば、インジウム (111In) カプロマブ ペンデチド (Indium (111In) Capromab pendetide)、テクネチウム (99mTc) ノフェツモマブ メルペンタン (Technetium (99mTc) Nofetumomab merpentan)、インジウム (111In) イブリツモマブ (Indium (111In) Ibritumomab)、イットリウム (90

Y) イブリツモマブ (Y t t r i u m (90Y) l b r i t u m o m a b)、ヨード (131I) トシツモマブ (I o d i n e (131I) T o s i t u m o m a b) 等を挙げることができる。

[0100] 2. 免疫調節剤

本発明において「免疫調節剤」は、抗腫瘍免疫を活性化する薬剤であり、免疫チェックポイント阻害剤、免疫誘導剤もしくは免疫刺激剤等が含まれる。

[0101] 本発明において「免疫チェックポイント阻害剤」とは、免疫抑制系を阻害し、抗腫瘍免疫を活性化する薬剤を示す。

[0102] 本発明において使用される免疫チェックポイント阻害剤は、特に制限はないが、好適には、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、及び、抗CTLA-4抗体を挙げることができ、より好適には、抗PD-1抗体、及び、抗PD-L1抗体を挙げることができる。

[0103] 本発明において「抗PD-1抗体」とは、PD-1 (P r o g r a m m e d c e l l d e a t h - 1 ; C D 2 7 9 ; P D C D 1) に特異的に結合することにより、PD-1と、その結合相手である、PD-L1やPD-L2との相互作用から生じるシグナル伝達を低減、阻害、及び／又は干渉する作用を有する抗体を示す。本発明において使用される抗PD-1抗体としては、臨床での有効性と安全性が確認されていれば特に制限はないが、好適には、ニボルマブ (N i v o l u m a b) (WO2006/121168等)、ペムブロリズマブ (P e m b r o l i z u m a b) (WO2008/156712等)、ランブロリズマブ、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、LOPD18等を、より好適には、ニボルマブ、ペムブロリズマブを挙げることができる。また、本発明において使用される抗GARP抗体との併用効果を前臨床研究において確認する目的で、市販の研究用抗PD-1抗体 (例: c l o n e R M P 1 - 1 4) 等を用いることもできる。

[0104] 本発明において「抗PD-L1抗体」とは、PD-L1 (P r o g r a m m e d c e l l d e a t h l i g a n d 1 ; C D 2 7 4 ; B 7

ーH1) に特異的に結合することにより、PD-L1と、その結合相手である、PD-1やB7.1(CD80)との相互作用から生じるシグナル伝達を低減、阻害、及び／又は干渉する作用を有する抗体を示す。本発明において使用される抗PD-L1抗体としては、臨床での有効性と安全性が確認されていれば特に制限はないが、好適には、アテゾリズマブ(Atezolizumab)(国際公開第2010/077634号等)、デュルバルマブ(Durvalumab)(国際公開第2011/066389号等)、及び、アベルマブ(Avelumab)(国際公開第2013/079174号等)を挙げることができる。また、本発明において使用される抗GARP抗体との併用効果を前臨床研究において確認する目的で、市販の研究用抗PD-L1抗体(例: clone 10F.9G2)等を用いることもできる。

[0105] 本発明において「抗CTLA-4抗体」とは、CTLA-4(Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4; CD152)に特異的に結合することにより、CTLA-4と、その結合相手である、B7.1(CD80)やB7.2(CD86)との相互作用から生じるシグナル伝達を低減、阻害、及び／又は干渉する作用を有する抗体を示す。本発明において使用される抗CTLA-4抗体としては、臨床での有効性と安全性が確認されていれば特に制限はないが、好適には、イピリムマブ(Ipilimumab)(国際公開第2001/014424号等)、及びトレメリムマブ(Tremelimumab)(国際公開第2000/037504号等)を挙げることができる。また、本発明において使用される抗GARP抗体との併用効果を前臨床研究において確認する目的で、市販の研究用抗CTLA-4抗体(例: clone 9H10)等を用いることもできる。

[0106] 本発明において使用される免疫チェックポイント阻害剤は多重特異的抗体を含む。このような多重特異的な分子には、IgG型多重特異性分子、2種類以上の可変領域を有する多重特異性分子、例えばタンデムscFv、一本

鎖ダイアボディ、ダイアボディ、及びトリアボディのような抗体断片、共有結合又は非共有結合して連結されている抗体断片を含むが、これらに限定されない。多重特異的な分子はFcを含んでいてもよい。具体的には、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L2抗体もしくはその抗原結合断片、及び、抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片からなる群より選択される2以上の抗体もしくはその抗原結合断片を含む多重特異性抗体、より好ましくは、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片と抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片を含む二重特異性抗体を挙げることができるが、これに限らない。

[0107] 本発明において「免疫誘導剤」とは、特に制限はないが、好適には、放射線療法（放射線照射）や化学放射線療法、化学療法剤を挙げることができる。本発明において「化学療法剤」とは、Tregの除去やmyeloid-derived suppressor cells (MDSC) の減少等抗腫瘍免疫を惹起する薬剤をいう。例えば、スニチニブ、シクロホスファミド、オキサリプラチン、シスプラチン、ドキシソルビシン、ミトキサントロン、ダウノルビシン、メトトレキサート、ミトキサントロン、ゲムシタビン、ドセタキセル、パクリタキセル、ビンクリスチン、カルボプラチン、ビノレルビン、エルロチニブ、イマチニブ、ニロチニブ、ダサチニブ、ソラフェニブ、ボルテゾミブ、ABT-737、5-FU、テモゾロミド、ダカルバジンが挙げられるが、これに限らない (Nat Rev Drug Discov. 2012 Feb 3; 11 (3) : 215-33、Front Immunol. 2019 Jul 17; 10: 1654、Clin Cancer Res 2009; 15: 2148-2157、Cancer Immunol Immunother (2007) 56: 641-648)。

[0108] 本発明において「免疫刺激剤」とは、特に制限はないが、好適には、アゴニスト抗体、アジュバントを挙げることができる。

[0109] 3. 医薬

以下、本発明に係る抗GARP抗体と免疫調節剤が組み合わされて投与されることを特徴とする医薬組成物及び治療方法、並びに、本発明に係る抗GARP抗体を含有する、抗腫瘍免疫を活性化する作用により改善される疾患の治療に用いることを特徴とする医薬組成物及び治療方法について説明する。

[0110] 本発明の医薬組成物及び治療方法は、抗GARP抗体と、免疫調節剤が、それぞれ別異の製剤に有効成分として含有される、もしくは免疫調節剤における放射線療法もしくは化学放射線療法と組み合わせられ、同時に又は異なる時間に投与されることを特徴とするものであってもよいし、抗GARP抗体と、免疫調節剤が、単一の製剤に有効成分として含有され、投与されることを特徴とするものであってもよい。また、抗腫瘍免疫を活性化する作用により改善される疾患の治療用に、本発明に係る抗GARP抗体が単一の製剤に有効成分として含有され、投与されるものであってもよい。

[0111] 本発明において、「抗体の作用を上昇させる」とは、当該抗体が単剤で投与される場合に比べて、抗腫瘍効果が増強されることを示す。

[0112] 本発明において、「免疫調節剤の作用を上昇させる」とは、当該免疫調節剤が単剤で投与される場合に比べて、抗腫瘍免疫活性化作用が増強されることを示す。

[0113] 本発明の医薬組成物及び治療方法は、がんの治療のために使用することができ、好適には、肺がん、腎がん、尿路上皮がん、大腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、血液がん、皮膚がん、甲状腺がん、胆道がん、唾液腺がん、小腸がん、副腎がん、卵巣がん、子宮頸がん、子宮体がん、子宮肉腫、胸腺腫、中皮腫、肉腫及びそれらの転移性形態からなる群より選択される少なくとも一つの疾患の治療のために使用することができる。より好適には、頭頸部がん、胃がん、食道がん及びそれらの転移性形態からなる群より選択される少なくとも一つの疾患の治療のために使用することができる。

- [0114] 本発明の医薬組成物及び治療方法は、がんの主要な治療法である薬物療法のための薬剤として選択して使用することができ、その結果として、がん細胞の成長を遅らせ、増殖を抑え、更にはがん細胞を破壊することができる。これらの作用によって、がん患者において、がんによる症状からの解放や、QOLの改善を達成でき、がん患者の生命を保って治療効果が達成される。がん細胞の破壊には至らない場合であっても、がん細胞の増殖の抑制やコントロールによってがん患者においてより高いQOLを達成しつつより長期の生存を達成させることができる。
- [0115] このような薬物療法における薬物単独での使用の他、本発明の医薬組成物及び治療方法は、アジュバント療法において他の療法と組み合わせる薬剤としても使用でき、外科手術や、放射線療法、ホルモン療法等と組み合わせることができる。更にはネオアジュバント療法における薬物療法の薬剤として使用することもできる。
- [0116] 以上のような治療的使用の他、本発明の医薬組成物及び治療方法は、微細な転移がん細胞の増殖を押さえ、更には破壊するといった予防効果も期待することができる。例えば、転移過程で体液中にあるがん細胞を抑制し破壊する効果や、いずれかの組織に着床した直後の微細ながん細胞に対する抑制、破壊等の効果が期待できる。したがって、特に外科的ながんの除去後においてのがん転移の抑制、予防効果が期待できる。
- [0117] 本発明の医薬組成物及び治療方法は、患者に対しては全身療法として適用する他、がん組織に局所的に適用して治療効果を期待することができる。
- [0118] 本発明の医薬組成物及び治療方法は、哺乳動物に対して好適に使用することができるが、より好適にはヒトに対して使用することができる。
- [0119] 本発明の医薬組成物は、1種以上の薬学的に適合性の成分を含む薬学的組成物として投与され得る。本発明の医薬組成物において使用される物質としては、投与量や投与濃度において、この分野において通常使用される製剤添加物その他から適宜選択して適用することができる。例えば、上記薬学的組成物は、代表的には、1種以上の薬学的キャリア（例えば、滅菌した液体）を含

む。ここで液体には、例えば、水及び油（石油、動物起源、植物起源、又は合成起源の油）が含まれる。油は、例えば、ラッカセイ油、大豆油、鉱油、ゴマ油等であってよい。水は、上記薬学的組成物が静脈内投与される場合に、より代表的なキャリアである。食塩水溶液、並びにデキストロース水溶液及びグリセロール水溶液もまた、液体キャリアとして、特に、注射用溶液のために使用され得る。適切な薬学的賦形剤は、この分野で公知のものから適宜選択することができる。上記組成物はまた、所望であれば、微量の湿潤剤若しくは乳化剤、又はpH緩衝化剤を含み得る。適切な薬学的キャリアの例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載される。その処方は、投与の態様に対応する。

[0120] 種々の送達システムが公知であり、本発明の医薬組成物を投与するために使用され得る。導入経路としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、及び皮下の経路を挙げることができるが、これらに限定されることはない。投与は、例えば、注入又はボラス注射によるものであり得る。特定の好ましい実施形態において、本発明において使用される抗GARP抗体及び免疫調節剤の投与は、注入によるものである。非経口的投与は、好ましい投与経路である。

[0121] 代表的実施形態において、上記医薬組成物は、ヒトへの静脈内投与に適合した薬学的組成物として、常習的手順に従って処方される。代表的には、静脈内投与のための組成物は、滅菌の等張性の水性緩衝液中の溶液である。必要である場合、上記薬学的組成物はまた、可溶化剤及び注射部位での疼痛を和らげるための局所麻酔剤（例えば、リグノカイン）を含み得る。一般に、上記成分は、例えば、活性剤の量を示すアンプル又はサシェ等に密封してシールされた容器中の乾燥凍結乾燥粉末又は無水の濃縮物として、別個に、又は単位剤形中で一緒に混合して、のいずれかで供給される。上記薬学的組成物が注入によって投与される形態の場合、それは、例えば、滅菌の製薬グレードの水又は食塩水を含む注入ボトルで投薬され得る。上記薬学的組成物が

注射によって投与される場合、注射用滅菌水又は食塩水のアンプルは、例えば、上記成分が投与前に混合され得るように、提供され得る。

[0122] 本発明の医薬組成物及び治療方法は、本発明に係る抗GARP抗体及び免疫調節剤以外のがん治療剤を含んでいてもよい。本発明の医薬組成物及び治療方法は、他のがん治療剤と併用して投与することもでき、これによって抗腫瘍効果を増強させることができる。この様な目的で使用される他のがん治療剤は、本発明の医薬組成物と同時に、別々に、或は連続して個体に投与されてもよいし、それぞれの投与間隔を変えて投与されてもよい。この様ながん治療剤として、5-フルオロウラシル（5-FU）、ペルツズマブ（Pertuzumab）、トラスツズマブ（Trastuzumab）、パクリタキセル（Paclitaxel）、カルボプラチン（Carboplatin）、シスプラチン（Cisplatin）、ゲムシタビン（Gemcitabine）、カペシタビン（Capecitabine）、イリノテカン（Irinotecan）（CPT-11）、ドセタキセル（Docetaxel）、ペメトレキセド（Pemetrexed）、ソラフェニブ（Sorafenib）、ビンブラスチン（Vinblastin）、ビンORELBINE（Vinorelbine）、エベロリムス（Everolims）、タネスピマイシン（Tanespimycin）、ベバシズマブ（Bevacizumab）、オキサリプラチン（Oxaliplatin）、ラパチニブ（Lapatinib）、トラスツズマブエムタンシン（Trastuzumab emtansine）（T-DM1）又は国際公開第2003/038043号に記載の薬剤、更にLH-RHアナログ（リュープロレリン（Leuprorelin）、ゴセレリン（Goserelin）等）、エストラムスチン・フォスフェイト（Estramustine Phosphate）、エストロジェン拮抗薬（タモキシフェン（Tamoxifen）、ラロキシフェン（Raloxifene）等）、アロマターゼ阻害剤（アナストロゾール（Anastrozole）、レトロゾール（Letrozole）、エキセメスタン（Exemestane）等）等を挙げるこ

とができるが、抗腫瘍活性を有する薬剤であれば限定されることはない。

[0123] この様な医薬組成物は、選択された組成と必要な純度を持つ製剤として、凍結乾燥製剤或は液状製剤として製剤化することができる。凍結乾燥製剤として製剤化する際には、この分野において使用される適当な製剤添加物が含まれる製剤であってもよい。また液剤においても同様にして、この分野において使用される各種の製剤添加物を含む液状製剤として製剤化することができる。

[0124] 本発明の医薬組成物及び治療方法の抗腫瘍効果は、免疫賦活化活性もしくは腫瘍細胞増殖抑制活性等を測定することにより確認することができる。また、腫瘍を被検動物に移植したモデルを作成し、本発明の治療剤又は治療方法を施すことによっても確認することができる。本発明の治療剤及び治療方法の抗腫瘍効果は、本発明の抗GARP抗体が前記モデル動物のGARPに結合しない場合、サロゲート抗体を用いて検証することができる。サロゲート抗体は本発明の抗GARP抗体と同一又は類似の結合活性又は機能特性を有することが望ましい。

更に、CANscript (MITRA RXDX, INC) 等の *ex vivo* 評価系によって効果を予測することができる (Nat Commun. 2015 Feb 27 (6); 6169)。

免疫賦活化活性ならびに抗腫瘍効果はWO2017/051888に記載の方法により測定することができる。

[0125] 更に、本発明の医薬組成物及び治療方法の抗腫瘍効果は、臨床試験においても確認することができる。すなわち、がん患者に本発明の治療剤又は治療方法を施し、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) 評価法、WHO評価法、Macdonald評価法、体重測定、及びその他の手法により確認することができ、完全奏効 (Complete response; CR)、部分奏効 (Partial response; PR)、進行 (Progressive disease; PD)、客観的奏効率 (Objective

R e s p o n s e R a t e ; O R R) 、 奏 効 期 間 (D u r a t i o n o f r e s p o n s e ; D o R) 、 無 憎 悪 生 存 期 間 (P r o g r e s s i o n - F r e e S u r v i v a l ; P F S) 、 全 生 存 期 間 (O v e r a l l S u r v i v a l ; O S) 等 の 指 標 に よ り 判 定 す る こ と が で き る。

[0126] 医薬組成物の組成及び濃度は投与方法によっても変化するが、本発明の医薬組成物に含まれる抗GARP抗体及び免疫調節剤は、抗原に対する親和性、すなわち、抗原に対する解離定数(Kd値)の点において、親和性が高い(Kd値が低い)ほど、少量の投与量であっても薬効を発揮させることができる。したがって、抗GARP抗体及び免疫調節剤の投与量は、抗原との親和性の状況に基づいて設定することもできる。本発明に係る抗GARP抗体及び免疫調節剤をヒトに対して投与する際には、例えば、約0.001~100mg/kgを1回或は1~180日間に1回の間隔で複数回投与すればよい。

[0127] 本発明の抗GARP抗体の場合、例えば投与方法として、0.01mg/kg~100mg/kgを1又は2回以上投与する方法を挙げることができる。投与量は、例えば、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、30.0mg/kg、100mg/kgを挙げることができる。また、投与は、1週に1度(q1w)、2週に1度(q2w)、3週に1度(q3w)、または4週に1度(q4w)であってもよい。好ましい投与方法として、例えば、本発明の抗体を3週に1度、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、もしくは10mg/kgを1又は2回以上投与する方法が挙げられる。

[0128] 本発明において使用される免疫チェックポイント阻害剤は、例えば、1回約1~20mg/kg(体重)又は1回約80~1500mgを2~6週間間隔で、約30分間、約60分間、約90分間、又は約30分間以上若しくは約60分間以上かけて静脈内投与(例えば、点滴静注)することができる。投与1回当たりの体重換算における投与量として、例えば、1mg/kg

、 2 mg/kg 、 3 mg/kg 、 4 mg/kg 、 5 mg/kg 、 6 mg/kg 、 7 mg/kg 、 8 mg/kg 、 9 mg/kg 、 10 mg/kg 又は 20 mg/kg が挙げられ、一方、投与1回当たりの投与量としては、例えば、 80 mg 、 200 mg 、 240 mg 、 250 mg 、 280 mg 、 300 mg 、 320 mg 、 350 mg 、 360 mg 、 400 mg 、 420 mg 、 450 mg 、 480 mg 、 500 mg 、 540 mg 、 560 mg 、 600 mg 、 640 mg 、 700 mg 、 720 mg 、 750 mg 、 800 mg 、 840 mg 、 900 mg 、 1000 mg 、 1080 mg 、 1100 mg 、 1120 mg 、 1200 mg 、又は 1500 mg が挙げられる。投与間隔としては、例えば、2週間、3週間、4週間、又は6週間が挙げられ、1回の投与時間としては、例えば、約30分間、約60分間、約90分間、又は約30分間以上若しくは約60分間以上が挙げられる。

上記の用法・用量は、例示であり、これらに限定されない。

[0129] 本発明において使用される抗PD-1抗体がNivolumabの場合には、次の用法・用量にて投与する方法が例として挙げられるがこれらに限定されない。例えば、Nivolumabとして1回 2 mg/kg （体重）を3週間間隔で点滴静注し、又はNivolumabとして1回 3 mg/kg （体重）を2週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、Nivolumabとして1回 1 mg/kg （体重）を3週間間隔で4回点滴静注し、その後、Nivolumabとして1回 3 mg/kg （体重）を2週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、Nivolumabとして1回 3 mg/kg （体重）を3週間間隔で4回点滴静注し、その後、Nivolumabとして1回 3 mg/kg （体重）を2週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、Nivolumabとして1回 240 mg を2週間間隔で、又はNivolumabとして1回 480 mg を4週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、Nivolumabとして1回 80 mg を

3週間間隔で4回点滴静注し、その後、N i v o l u m a bとして1回240mgを2週間間隔又は1回480mgを4週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、N i v o l u m a bとして1回240mgを3週間間隔で4回点滴静注し、その後、N i v o l u m a bとして1回240mgを2週間間隔又は1回480mgを4週間間隔で点滴静注する。

N i v o l u m a bは、30分以上かけて点滴静注される場合がある。

術後補助療法の場合は、例えば、投与期間は12ヵ月間までとする場合がある。

[0130] 本発明において使用される抗PD-1抗体がP e m b r o l i z u m a bの場合には、次の用法・用量にて投与する方法が例として挙げられるがこれらに限定されない。例えば、P e m b r o l i z u m a bとして1回2mg/kg（体重）を3週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、P e m b r o l i z u m a bとして10mg/kg（体重）を2週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、P e m b r o l i z u m a bとして10mg/kg（体重）を3週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、P e m b r o l i z u m a bとして1回200mgを3週間間隔で又は1回400mgを6週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、P e m b r o l i z u m a bとして1回200mgを3週間間隔で点滴静注し、その後、P e m b r o l i z u m a bとして1回200mgを3週間間隔で点滴静注する。

P e m b r o l i z u m a bは、例えば、30分かけて点滴静注投与される場合がある。したがって、別の用法・用量として、例えば、P e m b r o l i z u m a bとして1回200mgを3週間間隔又は1回400mgを6週間間隔で30分間かけて点滴静注する。

術後補助療法の場合は、例えば、投与期間は12ヶ月までとする場合がある。

[0131] 本発明において使用される抗PD-L1抗体がA t e z o l i z u m a b

の場合には、次の用法・用量にて投与する方法が例として挙げられるがこれらに限定されない。例えば、A t e z o l i z u m a bとして1回1200mgを3週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、A t e z o l i z u m a bとして1回840mgを2週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、A t e z o l i z u m a bとして1回1200mgを3週間間隔で点滴静注し、その後、A t e z o l i z u m a bとして1回1200mgを3週間間隔で点滴静注する。

A t e z o l i z u m a bは、例えば、60分かけて点滴静注される場合がある。したがって、例えば、A t e z o l i z u m a bとして1回1200mgを60分かけて3週間間隔で点滴静注し、又はA t e z o l i z u m a bとして1回840mgを60分かけて2週間間隔で点滴静注する。

なお、初回投与の忍容性が良好であれば、2回目以降の投与時間は30分間まで短縮できる場合がある。

[0132] 本発明において使用される抗PD-L1抗体がD u r v a l u m a bの場合には、次の用法・用量にて投与する方法が例として挙げられるがこれらに限定されない。例えば、D u r v a l u m a bとして1回10mg/kg（体重）を2週間間隔で点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、D u r v a l u m a bとして1回1500mgを3週間間隔で4回、点滴静注し、その後、D u r v a l u m a bとして1回1500mgを4週間間隔で点滴静注する。

D u r v a l u m a bは、60分間以上かけて点滴静注される場合がある。したがって、別の用法・用量として、例えば、D u r v a l u m a bとして1回10mg/kg（体重）を2週間間隔で60分間以上かけて点滴静注する。また、別の用法・用量として、例えば、D u r v a l u m a bとして1回1500mgを3週間間隔で4回、60分間以上かけて点滴静注し、その後、D u r v a l u m a bとして1回1500mgを4週間間隔で60分間以上かけて点滴静注する。

体重 30 kg 以下の場合の1回投与量は 20 mg/kg（体重）とする場合がある。

[0133] 本発明において使用される抗PD-L1抗体がAvelumabの場合には、次の用法・用量にて投与する方法が例として挙げられるがこれらに限定されない。例えば、Avelumabとして、1回10 mg/kg（体重）を2週間間隔で点滴静注する。

Avelumabは、1時間以上かけて点滴静注される場合がある。したがって、別の用法・用量として、例えば、Avelumabとして、1回10 mg/kg（体重）を2週間間隔で1時間以上かけて点滴静注する。

[0134] 本発明において使用される抗CTLA-4抗体がIpilimumabの場合には、次の用法・用量にて投与する方法が例として挙げられるがこれらに限定されない。例えば、Ipilimumabとして1回3 mg/kg（体重）を3週間間隔で4回点滴静注する。

別の用法・用量として、例えば、Ipilimumabとして1回1 mg/kg（体重）を3週間間隔で4回点滴静注する。

Ipilimumabは、30分かけて又は90分かけて点滴静注される場合がある。

[0135] 本発明は、がん治療のための医薬組成物を調整するための本発明の抗体の使用、がん治療のための本発明の抗体の使用、本発明の抗体を含むがん治療のためのキットも含む。

実施例

[0136] 以下に示す例によって本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。また、これらはいかなる意味においても限定的に解釈されるものではない。

[0137] 参考例1．抗GARP抗体の作製

WO2017/051888に記載の製造方法に従って、抗GARP抗体h151D__H1L1、h151D__H4L4、h198D__H3L4を作製した。

[0138] 実施例 1. 抗 G A R P 抗体と抗 P D - 1 抗体の T e f f 細胞増殖賦活化に対する併用効果

1) - 1 T r e g、T e f f 及びアクセサリー細胞の調製

健常人ドナーの末梢血単核細胞 (P B M C) より、C D 4 陽性 T 細胞を分離後、蛍光標識した抗 C D 4 抗体及び抗 C D 2 5 抗体を添加して染色し、C D 4 陽性 C D 2 5 陰性 (T e f f) 細胞及び C D 4 陽性 C D 2 5 強陽性 (T r e g) 細胞を f l o w c y t o m e t r y を用いたソーティングにより分離した。

[0139] また、P B M C から C D 3 陽性細胞を除去後、照射線量 0. 3 5 C / k g の X 線を照射してアクセサリー細胞を調製した。

[0140] 1) - 2 共培養アッセイ

T e f f 細胞 (2 0 0 0 c e l l s / w e l l) とアクセサリー細胞 (2 0 0 0 0 c e l l s / w e l l) を混合した後、さらに T r e g 細胞を 1 0 0 0、5 0 0、2 5 0、又は 1 2 5 c e l l s / w e l l となるように添加した。抗 C D 3 抗体及び抗 C D 2 8 抗体 (各 1 n M) 存在下で、抗 G A R P 抗体 (h 1 5 1 D _ H 1 L 1)、及び抗 P D - 1 抗体 (n i v o l u m a b) をそれぞれ終濃度 1 μ g / m L で添加し、3 7 ° C、5 % C O₂ の条件下で 5 日間培養した。その後、[³H]-t h y m i d i n e を添加し (終濃度 1 8 . 5 k B q / m L)、さらに 2 0 時間培養を継続した。細胞回収後、シンチレーションカウンターを用いて各ウェルの [³H]-t h y m i d i n e の細胞内取込値を 1 分間あたりの補正計数値 (C C P M、c o r r e c t e d c o u n t p e r m i n u t e) として計測した。

[0141] 4 名の各ドナーの各培養条件による [³H]-t h y m i d i n e 細胞内取り込み量の平均値及び標準誤差 (6 ウェル/群) を図 1 1 - 1 及び図 1 1 - 2 に示した。T e f f 細胞に対する T r e g 細胞の存在比が大きくなるに従って、[³H]-t h y m i d i n e 細胞内取り込み量が小さくなり、T r e g 細胞により T e f f 細胞の増殖が抑制されること、h 1 5 1 D _ H 1 L 1 処理群及び n i v o l u m a b 処理群で [³H]-t h y m i d i n e 細胞内取り込

み量が増加し、併用群でさらに増加することが示され、抗GARP抗体と抗PD-1抗体の併用効果が確認された。

[0142] 1) - 3 相対活性の算出及び統計解析

1) - 2において得られた、各ドナーにおけるmedium control群のTeff:Treg=1:0 (Treg細胞非添加)の平均カウントに対するそれぞれの相対的平均カウントを算出した。Teff細胞とTreg細胞の共培養比 (Teff:Treg) が1:0、1:1/16、1:1/8、1:1/4、1:1/2のそれぞれの培養で得られる相対的平均カウントがA、B、C、D、Eである際に、相対的AUCを次の式で求めた。

$$AUC = (A + B \times 2 + C \times 2 + D \times 2 + E) / 2$$

得られた4名のドナーの相対的AUC値を用いて、medium control群を対象群とした際のh151D__H1L1処理群及びnivolumab処理群について、並びに、combination群を対象群とした際のh151D__H1L1処理群及びnivolumab処理群について、parametric Dunnett's testにより統計解析を実施した (SAS System Release 9.2、SAS Institute Inc.)。

[0143] 4名のドナーの相対的AUC値及びその平均値を図12に示す。Teff細胞増殖賦活化の指標である相対的AUC値はmedium control群と比較し、h151D__H1L1処理群 (P=0.0102) 及びnivolumab処理群 (P=0.0065) で有意な増加が認められた。さらに、h151D__H1L1処理群 (P=0.0123) 及びnivolumab処理群 (P=0.0180) と比較して併用群で有意な増加が認められた。なお、相対的AUCの平均値において、control IgG処理群はmedium control群の1.08倍であった。

[0144] 実施例2. CANscript (登録商標) を用いた抗GARP抗体と抗PD-1抗体の併用時臨床効果予測

CANscript (登録商標) (MITRA RXDX, INC (以下、

Mittra社))は、がん患者由来がん組織を用いたex-vivo培養モデルであり、がん患者由来のがん組織(がん微小環境構造を維持し、ストローマ細胞、免疫細胞、及びがん細胞を含む)、及び同一患者由来の血清とPBMCとの共培養試験である(Nat Commun. 2015 Feb 27(6); 6169)。がん組織に対する薬剤の反応性は、3日間の共培養後、病理組織像及び代謝活性に基づき定量化される。すなわち、細胞増殖及びアポトーシス誘導は、Ki67及び活性化Caspase-3の免疫化学染色により、また、細胞形態の変化は、H&E(hematoxylin-eosin)染色により評価される。さらに、市販の代謝活性及び細胞生存率判定アッセイキットを用いた培養上清の評価により、経時的な定量化が実施される。これらすべての評価結果は、Mittra社で開発された学習アルゴリズム(SVMpAUC algorithm)を用いてスコア化(M-score)される。SVMpAUCでは、同一患者の実際の臨床での薬剤反応性とCANscriptから得られた定量化された結果を比較学習することで、各薬剤の臨床効果を予測することが可能である。これまでに、4000症例以上のデータを解析しており、M-scoreが25より高い場合、臨床において、CR(complete response)あるいはPR(partial response)を示す確率(positive predictive value)は、87%である。

[0145] 頭頸部扁平上皮がん患者20名から入手したサンプルを用い、抗GARP抗体(h151D__H1L1)、抗PD-1抗体(ニボルマブ)、及びh151D__H1L1とニボルマブの併用時の臨床効果をCANscriptアッセイにより評価、予測した。共培養開始前に、NanoString IO360パネルを用いたRNA発現解析により、がん組織内に浸潤している免疫細胞の割合と組成を解析した結果、免疫プロファイルは患者ごとに大きく異なっていた。これら多様性のあるHNSCC患者由来サンプルに対し、h151D__H1L1及びニボルマブ単独作用時、M-scoreが25より大きい値を示した患者サンプルの割合は、それぞれ、20%(4/20)

及び15% (3/20) であったのに対し、h151D__H1L1とニボルマブの併用時では、30% (6/20) と増加が認められ、頭頸部扁平上皮がんに対する抗GARP抗体と抗PD-1抗体の併用効果が予測された (図13)。

[0146] 実施例3 : CT26.WT皮下移植マウスモデルを用いた抗腫瘍試験及びTumor infiltrating leucocytes (TIL) の解析

3) - 1 抗腫瘍試験における抗GARPサロゲート抗体及び抗PD-1サロゲート抗体との併用効果

American Type Culture Collection (ATCC) から購入したマウス大腸がん細胞株CT26.WTを生理食塩水に懸濁し、 2.0×10^5 cellsを雌CD2F1マウス (日本チャールス・リバー社) の右側腹部に皮下移植した (Day 0)。Day 3及びDay 6に抗マウスPD-1抗体 (5 mg/kg) を投与し、Day 9に無作為に群分けを実施した (各群 n = 9)。さらに、Day 9及びDay 16に抗マウスGARP抗体 (1 mg/kg) 及び抗マウスPD-1抗体 (5 mg/kg) を各単剤投与群及び併用群に投与した。コントロール群はDay 9及びDay 16において薬物を処置しなかった。なお、各抗体はD-PBSで希釈し、10 mL/kgの液量を尾静脈内投与した。1週間に2回、腫瘍の長径及び短径を電子式デジタルキャリパー (Mitutoyo Corp.) で測定し、以下の計算式より推定腫瘍体積を計算した。

[0147] [数1]

$$\text{推定腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = 1/2 \times \text{長径 (mm)} \times [\text{短径 (mm)}]^2$$

[0148] Day 20の推定腫瘍体積 (平均値±標準誤差) において、抗マウスPD-1抗体と抗マウスGARP抗体との併用群は、抗マウスPD-1抗体単剤投与群に対して有意な抗腫瘍効果を示した。

[0149] 3) - 2 TILに対する抗GARPサロゲート抗体及び抗PD-1サロゲート抗体との併用効果

CT26.WTを生理食塩水に懸濁し、 2.0×10^5 cellsを雌CD2F1マウスの右側腹部に皮下移植し（Day 0）、Day 6に無作為に群分けを実施した（各群n = 10）。Day 6及びDay 10に抗マウスGARP抗体（1 mg/kg）及び抗マウスPD-1抗体（5 mg/kg）を各単剤投与群及び併用群に投与した。コントロール群は薬物を処置しなかった。なお、各抗体はD-PBSで希釈し、10 mL/kgの液量を尾静脈内投与した。Day 14に腫瘍を摘出し、すりつぶすことによりTILを得た。がん免疫賦活化の指標として、CD8陽性T細胞におけるinducible T-cell co-stimulator（ICOS）陽性細胞の割合（%）をflow cytometric analysisにより求めた。各単剤群に対する併用群のICOS陽性CD8陽性T細胞の有意な増加が認められた。このとき、CD4陽性T細胞におけるGARP陽性Treg（GARP陽性FOX P3陽性CD4陽性T細胞）の割合（平均値±標準誤差）について、GARP陽性Tregの抗マウスGARP抗体投与群での有意な減少と抗マウスPD-1抗体投与群での有意な増加を確認した。さらに、併用群においてはコントロール群より有意に減少した。

[0150] 3) - 3 抗腫瘍試験における抗GARPサロゲート抗体及び抗PD-L1サロゲート抗体との併用効果

CT26.WTを生理食塩水に懸濁し、 2.0×10^5 cellsを雌CD2F1マウスの右側腹部に皮下移植した（Day 0）。Day 6に無作為に群分けを実施した（各群n = 10）。さらに、Day 6及びDay 11に抗マウスGARP抗体（1 mg/kg）及び抗マウスPD-L1抗体（10 mg/kg）を各単剤投与群及び併用群に投与した。コントロール群は薬物を処置しなかった。なお、各抗体はD-PBSで希釈し、10 mL/kgの液量を尾静脈内投与した。1週間に2回、腫瘍の長径及び短径を電子式デジタルキャリパーで測定し、以下の計算式より推定腫瘍体積を計算した。

[0151] [数2]

$$\text{推定腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = 1/2 \times \text{長径 (mm)} \times [\text{短径 (mm)}]^2$$

[0152] Day 18において、併用群では、抗GARP抗体と抗PD-L1抗体それぞれ単剤群に比べた推定腫瘍体積の縮小が確認された。

[0153] 実施例4：MC38皮下移植マウスモデルを用いた抗腫瘍試験

4) - 1 抗GARPサロゲート抗体及び抗PD-1サロゲート抗体との併用効果

National Cancer Institute (NCI) から入手したマウス大腸がん細胞株MC38を生理食塩水に懸濁し、 5.0×10^5 cellsを雌C57BL/6マウス（日本チャールス・リバー社）の右側腹部に皮下移植し（Day 0）、Day 4に無作為に群分けを実施した（各群n = 10）。Day 4及びDay 10に抗マウスGARP抗体（1 mg/kg）及び抗マウスPD-1抗体（1 mg/kg）を各単剤投与群及び併用群に投与した。コントロール群は薬物を処置しなかった。なお、各抗体はD-PBSで希釈し、10 mL/kgの液量を尾静脈内投与した。1週間に2回、腫瘍の長径及び短径を電子式デジタルキャリパーで測定し、以下の計算式より推定腫瘍体積を計算した。

[0154] [数3]

$$\text{推定腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = 1/2 \times \text{長径 (mm)} \times [\text{短径 (mm)}]^2$$

[0155] Day 18において、併用群では、抗GARP抗体と抗PD-1抗体それぞれ単剤群に比べた推定腫瘍体積の縮小が確認された。

[0156] 4) - 2 抗GARPサロゲート抗体及び抗CTLA-4サロゲート抗体との併用効果

MC38を生理食塩水に懸濁し、 5.0×10^5 cellsを雌C57BL/

6マウスの右側腹部に皮下移植し（Day 0）、Day 4に無作為に群分けを実施した（各群 $n = 10$ ）。Day 4及びDay 11に抗マウスGARP抗体（ 1 mg/kg ）を、Day 4、Day 7、Day 11、及びDay 14に抗マウスCTLA-4抗体（ 10 mg/kg ）を各単剤投与群及び併用群に投与した。なお、各抗体はD-PBSで希釈し、 10 mL/kg の液量を尾静脈内投与した。コントロール群は薬物を処置しなかった。1週間に2回、腫瘍の長径及び短径を電子式デジタルキャリパーで測定し、以下の計算式より推定腫瘍体積を計算した。

[0157] [数4]

$$\text{推定腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = 1/2 \times \text{長径 (mm)} \times [\text{短径 (mm)}]^2$$

[0158] Day 18において、併用群では、抗GARP抗体と抗CTLA4抗体それぞれ単剤群に比べた推定腫瘍体積の縮小が確認された。

産業上の利用可能性

[0159] 本発明の抗GARP抗体を用いることにより、各種がんの治療又は予防が可能となる。

配列表フリーテキスト

[0160] 配列番号1：GARPのアミノ酸配列

配列番号2：151Dの重鎖的可変領域をコードするcDNAのヌクレオチド配列

配列番号3：151Dの重鎖的可変領域のアミノ酸配列

配列番号4：151Dの軽鎖的可変領域をコードするcDNAのヌクレオチド配列

配列番号5：151Dの軽鎖的可変領域のアミノ酸配列

配列番号6：198Dの重鎖的可変領域をコードするcDNAのヌクレオチド配列

配列番号7：198Dの重鎖的可変領域のアミノ酸配列

配列番号 8 : 198D の軽鎖の可変領域をコードする cDNA のヌクレオチド配列

配列番号 9 : 198D の軽鎖の可変領域のアミノ酸配列

配列番号 10 : ヒト軽鎖シグナル配列及びヒト κ 鎖定常領域のアミノ酸をコードする配列を含む DNA 断片のヌクレオチド配列

配列番号 11 : ヒト重鎖シグナル配列及びヒト IgG1 定常領域のアミノ酸をコードする配列を含む DNA 断片のヌクレオチド配列

配列番号 12 : ヒトキメラ抗体 c151D 重鎖のヌクレオチド配列

配列番号 13 : ヒトキメラ抗体 c151D 重鎖のアミノ酸配列

配列番号 14 : ヒトキメラ抗体 c151D 軽鎖のヌクレオチド配列

配列番号 15 : ヒトキメラ抗体 c151D 軽鎖のアミノ酸配列

配列番号 16 : ヒトキメラ抗体 c198D 重鎖のヌクレオチド配列

配列番号 17 : ヒトキメラ抗体 c198D 重鎖のアミノ酸配列

配列番号 18 : ヒトキメラ抗体 c198D 軽鎖のヌクレオチド配列

配列番号 19 : ヒトキメラ抗体 c198D 軽鎖のアミノ酸配列

配列番号 20 : ヒト化抗体 h151D-H1 のヌクレオチド配列

配列番号 21 : ヒト化抗体 h151D-H1 のアミノ酸配列

配列番号 22 : ヒト化抗体 h151D-H4 のヌクレオチド配列

配列番号 23 : ヒト化抗体 h151D-H4 のアミノ酸配列

配列番号 24 : ヒト化抗体 h151D-L1 のヌクレオチド配列

配列番号 25 : ヒト化抗体 h151D-L1 のアミノ酸配列

配列番号 26 : ヒト化抗体 h151D-L4 のヌクレオチド配列

配列番号 27 : ヒト化抗体 h151D-L4 のアミノ酸配列

配列番号 28 : ヒト化抗体 h198D-H3 のヌクレオチド配列

配列番号 29 : ヒト化抗体 h198D-H3 のアミノ酸配列

配列番号 30 : ヒト化抗体 h198D-L4 のヌクレオチド配列

配列番号 31 : ヒト化抗体 h198D-L4 のアミノ酸配列

請求の範囲

[請求項1] 下記（１）～（３）の特性を有することを特徴とする抗体又はその抗原結合断片、及び、免疫調節剤が、組み合わされて投与されることを特徴とする、がん治療のための医薬組成物；

（１）G l y c o p r o t e i n - A R e p e t i t i o n s P r e d o m i n a n t（G A R P）に特異的に結合する、

（２）制御性Ｔ細胞の免疫抑制機能に対する阻害活性を有する、及び、

（３）抗体依存性細胞傷害（A D C C）活性を有する。

[請求項2] 抗体が、i n v i v oで抗腫瘍活性を有することを特徴とする、請求項１に記載の医薬組成物。

[請求項3] 抗体が、以下の（１）又は（２）に記載のC D R H 1、C D R H 2及びC D R H 3を含む重鎖、並びに、C D R L 1、C D R L 2及びC D R L 3を含む軽鎖を含んでなる、請求項１又は２に記載の医薬組成物；

（１）配列番号１３のアミノ酸番号４５～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号１３のアミノ酸番号６９～７８に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2及び配列番号１３のアミノ酸番号１１８～１２５に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3、並びに、配列番号１５のアミノ酸番号４４～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 1、配列番号１５のアミノ酸番号７０～７６に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 2及び配列番号１５のアミノ酸番号１０９～１１７に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 3、又は、

（２）配列番号１７のアミノ酸番号４５～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号１７のアミノ酸番号６９～７７に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2及び配列番号１７のアミノ酸番号１１７～１２８に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3、並びに、配列番号１９のアミノ酸番号４４～５４に記載のアミノ酸配列からなる

るCDRL1、配列番号19のアミノ酸番号70～76に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2及び配列番号19においてアミノ酸番号109～117に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3。

[請求項4] 抗体が、以下の(1)～(3)に記載の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、請求項1～3のいずれか一つに記載の医薬組成物；

(1) 配列番号21のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号25のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、

(2) 配列番号23のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号27のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、又は、

(3) 配列番号29のアミノ酸番号20～139に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号31のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域。

[請求項5] 抗体が、キメラ抗体である、請求項1～4のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[請求項6] 抗体が、ヒト化抗体である、請求項1～4のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[請求項7] 抗体が、ヒトIgG1、ヒトIgG2又はヒトIgG4の重鎖定常領域を含む、請求項1～6のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[請求項8] 抗体が、以下の(1)～(3)に記載の重鎖及び軽鎖を含む、請求項6又は7に記載の医薬組成物；

(1) 配列番号21のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号25のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、

(2) 配列番号23のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号27のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、又は、

(3) 配列番号29のアミノ酸番号20～469に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号31のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖。

[請求項9] 抗体が、請求項2～8のいずれか一つに記載の抗体と、GARPへの結合において競合する、請求項1に記載の医薬組成物。

[請求項10] 抗体が、N-結合型糖鎖付加、O-結合型糖鎖付加、N末のプロセッシング、C末のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化、N末におけるメチオニン残基の付加、プロリン残基のアミド化、及び重鎖のカルボキシル末端における1つ又は2つのアミノ酸残基の欠失からなる群より選択される1又は2以上の修飾を含む、請求項1～9のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[請求項11] 重鎖のカルボキシル末端において1つ又は数個のアミノ酸残基が欠失している、請求項10に記載の医薬組成物。

[請求項12] 2本の重鎖の双方でカルボキシル末端において1つのアミノ酸残基が欠失している、請求項10又は11に記載の医薬組成物。

[請求項13] 重鎖のカルボキシル末端のプロリン残基が更にアミド化されている、請求項10～12のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[請求項14] 免疫調節剤が、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L2抗体もしくはその抗原結合断片、抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片、前記抗体又はその抗原結合断片を含む多重特異性抗体、放射線療法、化学放射線療法、化学療法剤又はこれらの組み合わせである、請求項1～13のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[請求項15] 抗PD-1抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ランブロリズマブ、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ又はLOPD18である、請求項14に記載の医薬組成物。

[請求項16] 抗PD-L1抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ又はアベルマブである、請求項14に記載の医薬組成物。

- [請求項17] 抗CTLA-4抗体が、イピリマブ又はトレメリマブである、請求項14に記載の医薬組成物。
- [請求項18] 抗体と、免疫調節剤が、それぞれ別異の製剤に有効成分として含有され、同時に又は異なる時間に投与されることを特徴とする、請求項1～17のいずれか一つに記載のがん治療のための医薬組成物。
- [請求項19] 免疫調節剤と併用するための、請求項1～13のいずれか一つに記載の抗体を含む、がん治療のための医薬組成物。
- [請求項20] 免疫調節剤を投与されたがん患者を治療するための、請求項1～13のいずれか一つに記載の抗体を含む、がん治療のための医薬組成物。
- [請求項21] 免疫調節剤を含み、請求項1～13のいずれか一つに記載の抗体と併用することにより、該抗体の作用を上昇させる、がん治療のための医薬組成物。
- [請求項22] 請求項1～13のいずれか一つに記載の抗体と併用するための、免疫調節剤を含む、がん治療のための医薬組成物。
- [請求項23] 請求項1～13のいずれか一つに記載の抗体を投与されたがん患者を治療するための、免疫調節剤を含む、がん治療のための医薬組成物。
- [請求項24] 請求項1～13のいずれか一つに記載の抗体を含み、免疫調節剤と併用することにより、免疫調節剤の作用を上昇させる、がん治療のための医薬組成物。
- [請求項25] がんが、肺がん、腎がん、尿路上皮がん、大腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、血液がん、皮膚がん、甲状腺がん、胆道がん、唾液腺がん、小腸がん、副腎がん、精巣がん、子宮頸がん、子宮体がん、子宮肉腫、胸腺腫、中皮腫、肉腫及びそれらの転移性形態からなる群より選択される少なくとも一つの治療のための、請求項1～24のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[請求項26] 下記（１）～（３）の特性を有することを特徴とする抗体又はその抗原結合断片、及び、免疫調節剤が、組み合わされて投与されることを特徴とする、がんの治療方法；

（１）G l y c o p r o t e i n - A R e p e t i t i o n s P r e d o m i n a n t （G A R P）に特異的に結合する

（２）制御性Ｔ細胞の免疫抑制機能に対する阻害活性を有する、及び、

（３）抗体依存性細胞傷害（A D C C）活性を有する。

[請求項27] 抗体が、i n v i v oで抗腫瘍活性を有することを特徴とする、請求項２６に記載の治療方法。

[請求項28] 抗体が、以下の（１）又は（２）に記載のC D R H 1、C D R H 2及びC D R H 3を含む重鎖、並びに、C D R L 1、C D R L 2及びC D R L 3を含む軽鎖を含んでなる、請求項２６又は２７に記載の治療方法；

（１）配列番号１３においてアミノ酸番号４５～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号１３においてアミノ酸番号６９～７８に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2及び配列番号１３においてアミノ酸番号１１８～１２５に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3、並びに配列番号１５においてアミノ酸番号４４～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 1、配列番号１５においてアミノ酸番号７０～７６に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 2及び配列番号１５においてアミノ酸番号１０９～１１７に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 3、又は

（２）配列番号１７においてアミノ酸番号４５～５４に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号１７においてアミノ酸番号６９～７７に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2及び配列番号１７においてアミノ酸番号１１７～１２８に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3、並びに配列番号１９においてアミノ酸番号４４～５４に記

載のアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号19においてアミノ酸番号70～76に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2及び配列番号19においてアミノ酸番号109～117に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3。

[請求項29] 抗体が、以下の(1)～(3)に記載の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、請求項26～28のいずれか一つに記載の治療方法；

(1) 配列番号21のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号25のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、

(2) 配列番号23のアミノ酸番号20～136に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号27のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域、又は、

(3) 配列番号29のアミノ酸番号20～139に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域及び配列番号31のアミノ酸番号21～129に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域。

[請求項30] 抗体が、キメラ抗体である、請求項26～29のいずれか一つに記載の治療方法。

[請求項31] 抗体が、ヒト化抗体である、請求項26～29のいずれか一つに記載の治療方法。

[請求項32] 抗体が、ヒトIgG1、ヒトIgG2又はヒトIgG4の重鎖定常領域を含む、請求項26～31のいずれか一つに記載の治療方法。

[請求項33] 抗体が、以下の(1)～(3)に記載の重鎖及び軽鎖を含む、請求項31又は32に記載の治療方法；

(1) 配列番号21のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号25のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖、

(2) 配列番号23のアミノ酸番号20～466に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号27のアミノ酸番号21～234に記載

のアミノ酸配列を有する軽鎖、又は、

(3) 配列番号29のアミノ酸番号20～469に記載のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号31のアミノ酸番号21～234に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖。

[請求項34] 抗体が、請求項27～33のいずれか一つに記載の抗体と、GARPへの結合において競合する、請求項26に記載の治療方法。

[請求項35] 抗体が、N-結合型糖鎖付加、O-結合型糖鎖付加、N末のプロセッシング、C末のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化、N末におけるメチオニン残基の付加、プロリン残基のアミド化、及び重鎖のカルボキシル末端における1つ又は2つのアミノ酸残基の欠失からなる群より選択される1又は2以上の修飾を含む、請求項26～34のいずれか一つに記載の治療方法。

[請求項36] 重鎖のカルボキシル末端において1つ又は数個のアミノ酸残基が欠失している、請求項35に記載の治療方法。

[請求項37] 2本の重鎖の双方でカルボキシル末端において1つのアミノ酸残基が欠失している、請求項35又は36に記載の治療方法。

[請求項38] 重鎖のカルボキシル末端のプロリン残基が更にアミド化されている、請求項35～37のいずれか一つに記載の治療方法。

[請求項39] 免疫調節剤が、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L1抗体もしくはその抗原結合断片、抗PD-L2抗体もしくはその抗原結合断片、抗CTLA-4抗体もしくはその抗原結合断片、前記抗体又はその抗原結合断片を含む多重特異性抗体、放射線療法、化学放射線療法、化学療法剤又はこれらの組み合わせである、請求項26～38のいずれか一つに記載の治療方法。

[請求項40] 抗PD-1抗体が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ランブロリズマブ、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ又はLOPD18である、請求項39に記載の治療方法。

[請求項41] 抗PD-L1抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ又はアベル

マブである、請求項 39 に記載の治療方法。

[請求項42] 抗CTLA-4抗体が、イピリムマブ又はトレメリムマブである、請求項 39 に記載の治療方法。

[請求項43] 免疫調節剤と併用することを特徴とするがんの治療方法であって、それを必要とするがん患者に、請求項 26～38 のいずれか一つに記載の抗体の有効量を投与することを含む、治療方法。

[請求項44] 免疫調節剤を投与されたがん患者の治療方法であって、それを必要とする患者に、請求項 26～38 のいずれか一つに記載の抗体の有効量を投与することを含む、治療方法。

[請求項45] 請求項 26～38 のいずれか一つに記載の抗体と併用することにより、該抗体の作用を上昇させる方法であって、それを必要とする患者に、免疫調節剤の有効量を投与することを含む、治療方法。

[請求項46] 請求項 26～38 のいずれか一つに記載の抗体と併用することを特徴とするがんの治療方法であって、それを必要とする患者に、免疫調節剤の有効量を投与することを含む、治療方法。

[請求項47] 請求項 26～38 のいずれか一つに記載の抗体を投与されたがん患者の治療方法であって、それを必要とする患者に、免疫調節剤の有効量を投与することを含む、治療方法。

[請求項48] 免疫調節剤と併用することにより、免疫調節剤の作用を上昇させる方法であって、それを必要とする患者に請求項 26～38 のいずれか一つに記載の抗体の有効量を投与することを含む、治療方法。

[請求項49] がんが、肺がん、腎がん、尿路上皮がん、大腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、血液がん、皮膚がん、甲状腺がん、胆道がん、唾液腺がん、小腸がん、副腎がん、精巣がん、子宮頸がん、子宮体がん、子宮肉腫、胸腺腫、中皮腫、肉腫及びそれらの転移性形態からなる群より選択される少なくとも一つの治療のための、請求項 26～48 のいずれか一つに記載の治療方法。

- [請求項50] 請求項1～12のいずれか一つに記載の抗体、及び、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体及び抗CTLA-4抗体からなる群より選択される1又は2以上の免疫調節剤を含む、がん治療のためのキット製剤。
- [請求項51] キットを使用するための取扱説明書をさらに含む、請求項50に記載の製剤。
- [請求項52] 抗PD-1抗体が、ニボルマブである、請求項14に記載の医薬組成物。
- [請求項53] 抗PD-1抗体が、ペムブロリズマブである、請求項14に記載の医薬組成物。
- [請求項54] 抗PD-1抗体が、ニボルマブである、請求項39に記載の治療方法。
- [請求項55] 抗PD-1抗体が、ペムブロリズマブである、請求項39に記載の治療方法。

[図1]

c 1 5 1 D抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号1 3）

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGRSKKLS
CSASGFTFSNYMAWVRQAPTQGLEWVASIGTVGGNTYYR
DSVKGRFTISRDDAKSTLYLQMDSLRS EDTATYYCARE DY
GGFPHWGQGVMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPD TLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC
SVMHEALHNHYTQKSLLSPGK

[図2]

c 1 5 1 D抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号1 5）

配列番号 27：ヒトキメラ抗体 c151D 軽鎖のアミノ酸配列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGNI VMTQSPTSMFISVGDRVT
MNCKASQNVGTNVDWYQQKTGQSPKLLIYGASNRYTGVPD
RFTGSGSGTDFTLTISNMQAEDLAVYDCLQYKYNPYTFGT
GTKLELNRAVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[図3]

c 1 9 8 D抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号17）

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLRESGPGLVQPSQTLST
CTVSGFSLTSFHVSWVRQPPEKGLEWIAATISSGGGTYYNS
ALKSRLSISRDTSKSQVFLKMSTLQTEDTAMYFCARISGW
GHYYVMDVWGQGASVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[図4]

c 1 9 8 D抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号19）

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPASLSGSLGETVT
IQCQASEDIYSGLAWYQQKPGKSPQLLIYGAGSLQDGVPS
RFSGGGSGTHYSLKISSMQTEDEGVYFCQQGLKFPLTFGS
GTKLEIKRAVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[図5]

h 1 5 1 D－H 1 重鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 1）

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSIGTVGGNTYYA
DSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDY
GGFPHWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
KTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[図6]

h 1 5 1 D－L 1 軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 5）

MVLQTQVFISLLLWISGAYGNIVMTQSPDSLAVSLGERAT
INCKASQNVGTNVDWYQQKPGQSPKLLIYGASNRYTGVPD
RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYDCLQYKYNPYTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[図7]

h 1 5 1 D－H 4 重鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 3）

MKHLWFFLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVASIGTVGGNTYYR
DSVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDY
GGFPHWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
KTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[図8]

h 1 5 1 D－L 4 軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 7）

MVLQTQVFISLLWISGAYGNIVMTQSPSSLSASVGDRVT
INCKASQNVGTNVDWYQQKPGKSPKLLIYGASNRYTGVPD
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYDCLQYKYNPYTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[図9]

h 1 9 8 D－H 3 重鎖のアミノ酸配列（配列番号 2 9）

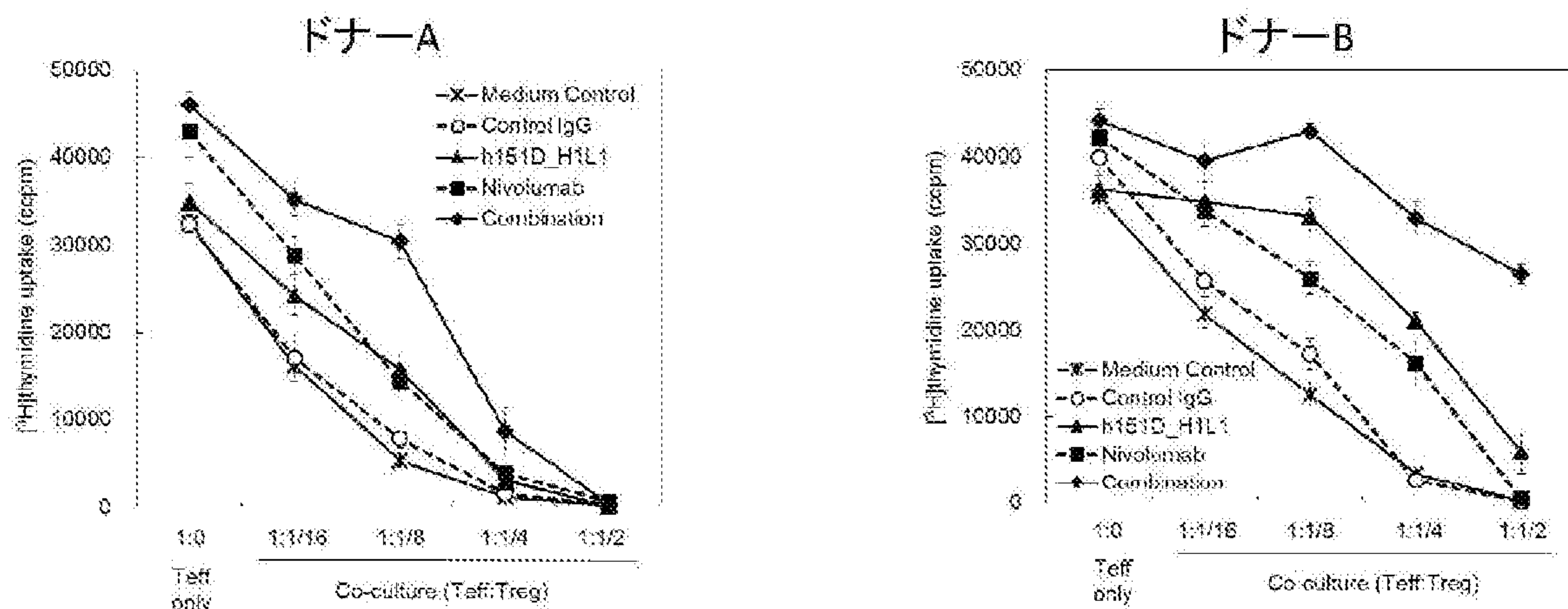
MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSEVQLVESGGGLVKPSQTLST
 CTVSGFSLTSFHVSWVRQPPGKGLEWIAATISSGGGTYYNP
 SLKSRVTISRDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARISGW
 GHYYVMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
 TAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK
 SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
 TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
 VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[図10]

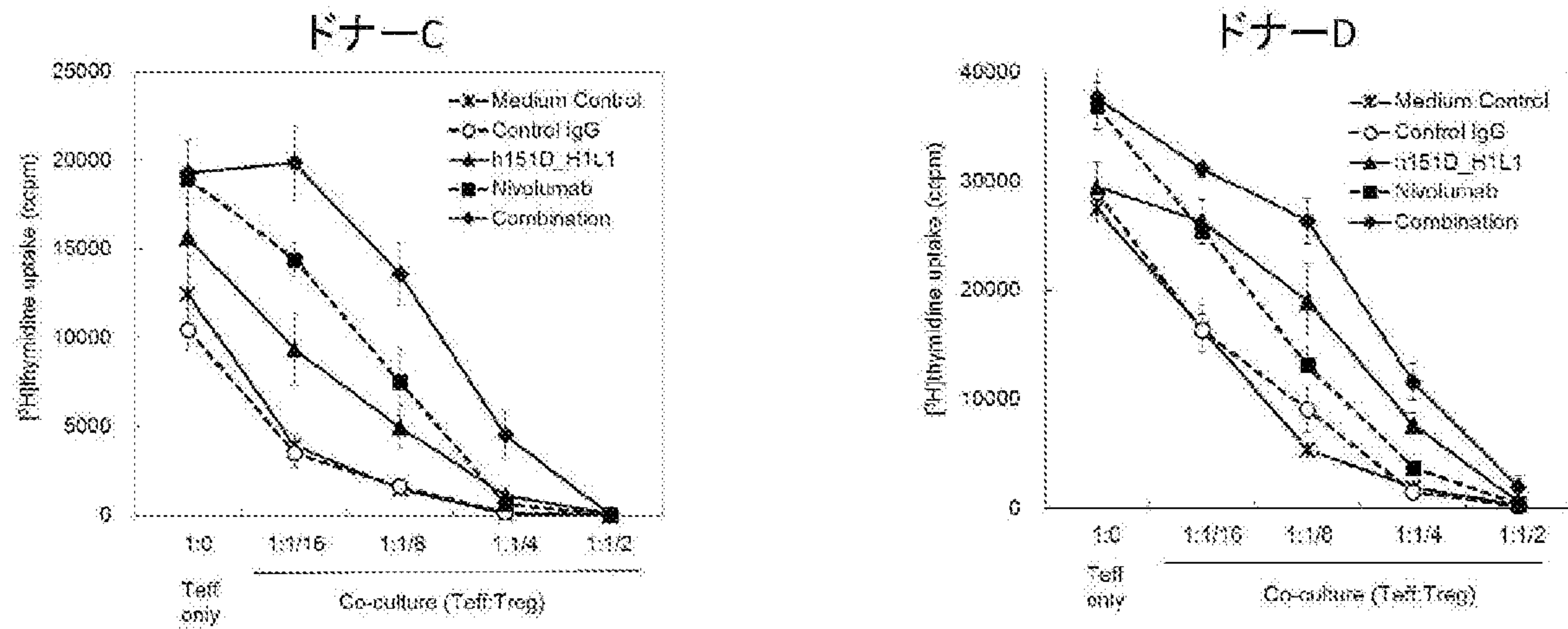
h 1 9 8 D－L 4 軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 3 1）

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRV
 ITCQASEDIYSGLAWEYQQKPGKSPKLLIYGAGSLQDGVPS
 RFSGSGSGTHYTLTISSLQPEDFATYFCQQGLKFPLTFGQ
 GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
 PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

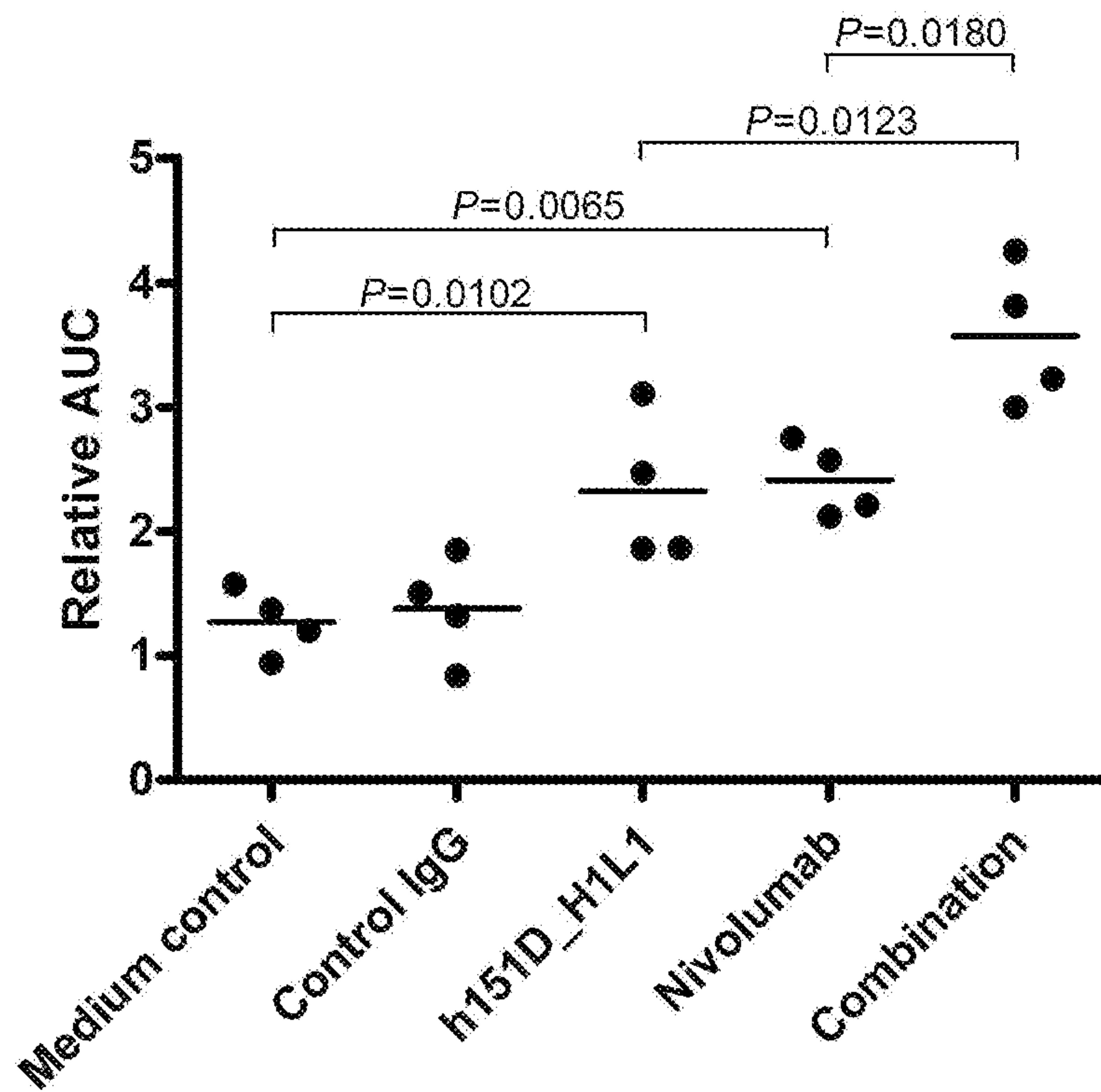
[図11-1]



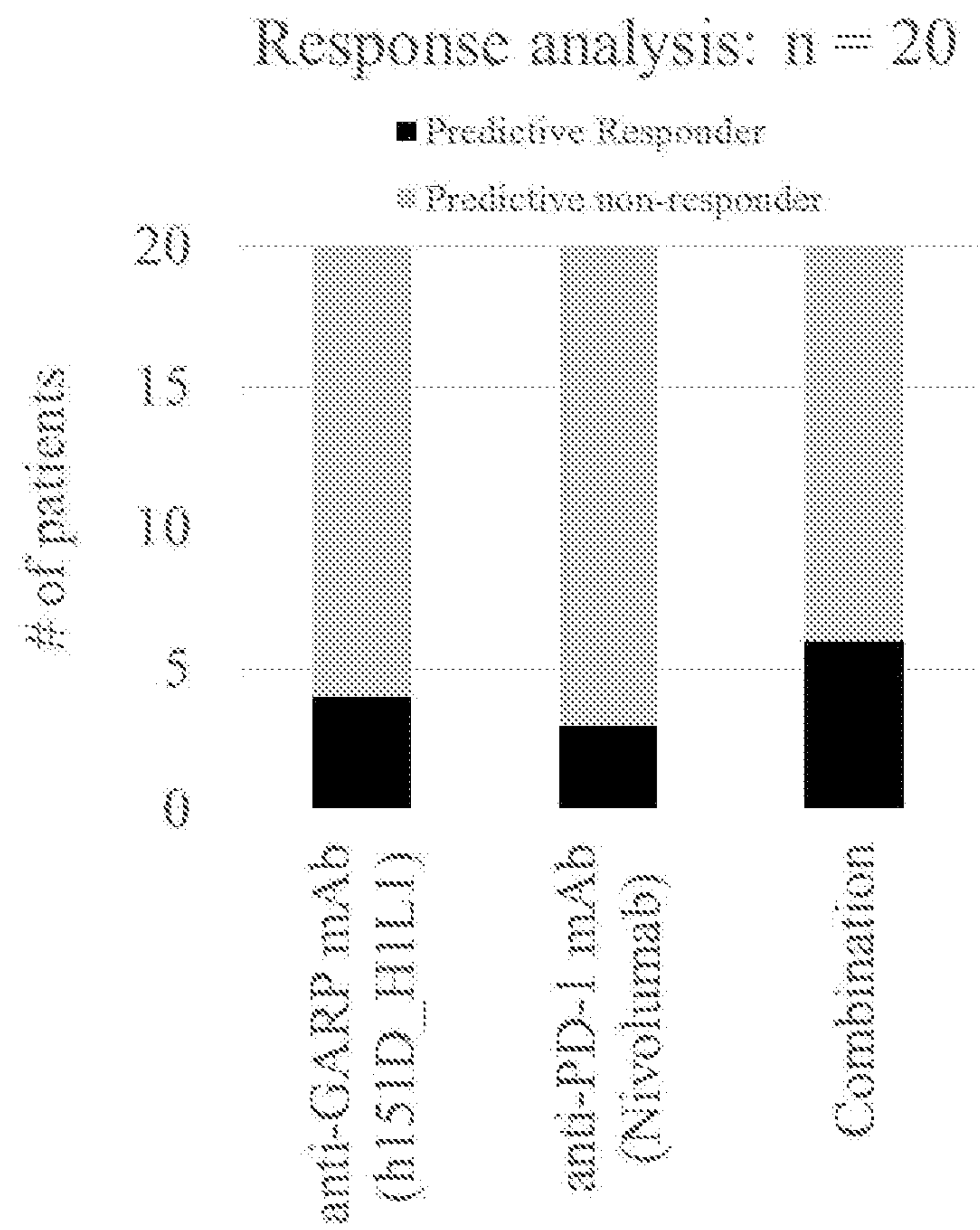
[図11-2]



[図12]



[図13]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/039802

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/395(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i;
 A61P37/02(2006.01)i; A61P43/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)n
 FI: A61K39/395 D ZNA; A61K39/395 N; A61P35/00; A61P43/00 121;
 A61P43/00 111; A61P37/02; A61K45/00; C12N15/13

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)

A61K39/395; A61K45/00; A61P35/00; A61P37/02; A61P43/00; C12N15/13

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN); GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq; UniProt/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/051888 A1 (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) 30 March 2017 (2017-03-30) claims,	1-14, 18-39,
Y	paragraphs [0150]-[0160], examples	43-49
Y	WO 2016/125017 A1 (UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN) 11 August 2016 (2016-08-11) claims, page 74, line 16 to page 75, line 9, page 77, lines 13-14	1-55
Y	WO 2018/222718 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 06 December 2018 (2018-12-06) claims, paragraph [0276]	1-55



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

11 December 2020 (11.12.2020)

Date of mailing of the international search report

28 December 2020 (28.12.2020)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,

Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/039802

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	VARGAS, FA., et al., "Fe-Optimized Anti-CD25 Depletes Tumor-Infiltrating 1-55 Regulatory T Cells and Synergizes with PD-1 Blockade to Eradicate Established Tumors", Immunity, 2017, vol. 46, issue 4, pp. 577-586 summary, page 578, right column, page 582, fig. 1-3	1-55
Y	WO 2018/181425 A1 (SHIONOGI & CO., LTD.) 04 October 2018 (2018-10-04) claims, examples	1-55
Y	JP 2012-500006 A (MEDAREX, INC.) 05 January 2012 (2012-01-05) claims, paragraph [0003], examples	1-55

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2020/039802

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2017/051888 A1	30 Mar. 2017	US 2018/0258184 A1 claims, paragraphs [0256]-[0267], examples EP 3354729 A1	
WO 2016/125017 A1	11 Aug. 2016	US 2016/0251438 A1 EP 3253796 A1	
WO 2018/222718 A1	06 Dec. 2018	JP 2020-522691 A EP 3631454 A1	
WO 2018/181425 A1	04 Oct. 2018	US 2019/0071508 A1 claims, examples EP 3431105 A1	
JP 2012-500006 A	05 Jan. 2012	WO 2010/019570 A2 claims, page 1, lines 18-33, examples US 2011/0150892 A1 EP 2320940 A2	

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2020/039802
A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 39/395(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/02(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)n FI: A61K39/395 D ZNA; A61K39/395 N; A61P35/00; A61P43/00 121; A61P43/00 111; A61P37/02; A61K45/00; C12N15/13		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K39/395; A61K45/00; A61P35/00; A61P37/02; A61P43/00; C12N15/13		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922 - 1996年 日本国公開実用新案公報 1971 - 2020年 日本国実用新案登録公報 1996 - 2020年 日本国登録実用新案公報 1994 - 2020年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CApus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN); GenBank/EMBL/DDBJ/ GeneSeq; UniProt/GeneSeq		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2017/051888 A1 (第一三共株式会社) 30.03.2017 (2017 - 03 - 30) 特許請求の範囲, 段落[0150]-[0160], 実施例	1-14, 18-39, 43-49
Y		1-55
Y	WO 2016/125017 A1 (UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN) 11.08.2016 (2016 - 08 - 11) 特許請求の範囲, p. 74第16行-p. 75第9行, p. 77第13行-第14行	1-55
Y	WO 2018/222718 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 06.12.2018 (2018 - 12 - 06) 特許請求の範囲, 段落[0276]	1-55
Y	VARGAS, FA., et al., Fc-Optimized Anti-CD25 Depletes Tumor-Infiltrating Regulatory T Cells and Synergizes with PD-1 Blockade to Eradicate Established Tumors, Immunity, 2017, vol.46, issue 4, p.577-586 SUMMARY, p.578右欄, p.582, Figure 1-3	1-55
Y	WO 2018/181425 A1 (塩野義製薬株式会社) 04.10.2018 (2018 - 10 - 04) 特許請求の範囲, 実施例	1-55
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に 公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若し くは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を 付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の 後に公表された文献	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵 触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引 用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性 又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献 との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がな いと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 11.12.2020	国際調査報告の発送日 28.12.2020	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 池上 文緒 4U 3765 電話番号 03-3581-1101 内線 3439	

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2012-500006 A (メダレックス インコーポレーティッド) 05.01.2012 (2012 - 01 - 05) 特許請求の範囲, 段落[0003], 実施例	1-55

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2017/051888	A1	30.03.2017	US	2018/0258184	A1	
				特許請求の範囲，段落 [0256]-[0267]，実施例			
				EP	3354729	A1	
WO	2016/125017	A1	11.08.2016	US	2016/0251438	A1	
				EP	3253796	A1	
WO	2018/222718	A1	06.12.2018	JP	2020-522691	A	
				EP	3631454	A1	
WO	2018/181425	A1	04.10.2018	US	2019/0071508	A1	
				特許請求の範囲，実施例			
				EP	3431105	A1	
JP	2012-500006	A	05.01.2012	WO	2010/019570	A2	
				特許請求の範囲，p.1第18 行-第33行，実施例			
				US	2011/0150892	A1	
				EP	2320940	A2	