

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5843884号  
(P5843884)

(45) 発行日 平成28年1月13日(2016. 1. 13)

(24) 登録日 平成27年11月27日(2015. 11. 27)

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 N 15/09 (2006. 01)

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C O 7 K 16/28 (2006. 01)

C O 7 K 16/28

A 6 1 K 39/395 (2006. 01)

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 P 37/02 (2006. 01)

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 29/00 (2006. 01)

A 6 1 P 37/02

請求項の数 6 (全 56 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-547710 (P2013-547710)  
 (86) (22) 出願日 平成23年12月30日(2011. 12. 30)  
 (65) 公表番号 特表2014-509837 (P2014-509837A)  
 (43) 公表日 平成26年4月24日(2014. 4. 24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/068235  
 (87) 国際公開番号 W02012/092612  
 (87) 国際公開日 平成24年7月5日(2012. 7. 5)  
 審査請求日 平成26年12月25日(2014. 12. 25)  
 (31) 優先権主張番号 61/470, 406  
 (32) 優先日 平成23年3月31日(2011. 3. 31)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/428, 699  
 (32) 優先日 平成22年12月30日(2010. 12. 30)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 000002934  
 武田薬品工業株式会社  
 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号  
 (74) 代理人 100080791  
 弁理士 高島 一  
 (72) 発明者 イライアス、キャスリーン アン  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94  
 080、サウス サン フランシスコ、イ  
 ースト グランド アヴェニュー 285  
 、 タケダ サン フランシスコ インコ  
 ーポレーテッド内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗CD38抗体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒトCD38（配列番号1）及びカニクイザルCD38（配列番号2）に特異的に結合する単離された抗体であって、

a) 以下を含む重鎖可変領域：

i) 配列番号3を含む第1のCDR；

ii) 配列番号4を含む第2のCDR；

iii) 配列番号5を含む第3のCDR；及び

b) 以下を含む軽鎖可変領域：

i) 配列番号6を含む第1のCDR；

ii) 配列番号7を含む第2のCDR；

iii) 配列番号8を含む第3のCDR；

を含み、

前記重鎖可変領域が配列番号9を含み、前記軽鎖可変領域が配列番号10を含む、  
 抗体。

【請求項2】

重鎖が配列番号21を含み、軽鎖が配列番号22を含む、請求項1記載の単離された抗体。

【請求項3】

ヒトCD38（配列番号1）及びカニクイザルCD38（配列番号2）に特異的に結合

する単離された抗体であって、

a) 以下を含む重鎖可変領域：

- i) 配列番号 13 を含む第 1 の C D R ；
- i i) 配列番号 14 を含む第 2 の C D R ；
- i i i) 配列番号 15 を含む第 3 の C D R ；及び

b) 以下を含む軽鎖可変領域：

- i) 配列番号 16 を含む第 1 の C D R ；
- i i) 配列番号 17 を含む第 2 の C D R ；
- i i i) 配列番号 18 を含む第 3 の C D R ；

を含み、

前記重鎖可変領域が配列番号 11 を含み、前記軽鎖可変領域が配列番号 12 を含む、  
抗体。

10

【請求項 4】

重鎖が配列番号 19 を含み、軽鎖が配列番号 20 を含む、請求項 3 記載の単離された抗体。

【請求項 5】

さらに F c ドメインを含む、請求項 1 記載の単離された抗体。

【請求項 6】

前記 F c ドメインがヒトである、請求項 5 記載の単離された抗体。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

(背景)

本願は、2010年12月30に出願されたUS 61/428,699；2011年3月31日に  
出願されたUS 61/470,382；2011年3月31日に  
出願されたUS 61/470,406；及び2011年5月11日に  
出願されたUS 61/485,104の35 U.S.C. § 119(e) 下での利益を主張し、これらの  
出願は全て、その全体が参照によって本明細書に援用される。

【背景技術】

【0002】

CD38は、サイクリックADPリボースヒドロラーゼとしても知られ、長いC末端細胞外ドメインと、短いN末端細胞質ドメインとを有するII型膜貫通糖タンパク質である。CD38は、CD157及びAplysia ADPRを含む、関連する膜結合酵素又は可溶性酵素のグループのメンバーである。この酵素ファミリーは、NADをサイクリックADPリボース又はニコチン酸(nicotinic acid)-アデニンジヌクレオチドホスフェートに変換する独特の能力を有する。

30

【0003】

さらに、CD38は、Ca<sup>2+</sup>動員に関与すること、及び多数のシグナル伝達分子(ホスホリパーゼC、ZAP-70、syk及びc-cblを含む)のチロシンリン酸化を介したシグナル伝達に関与することが報告されている。これらの観察結果に基づいて、CD38は、リンパ系細胞の正常な発達の間、その成熟及び活性化において重要なシグナル伝達分子であることが提案された。

40

【0004】

造血細胞の間での様々な機能的効果は、CD38媒介性のシグナル伝達に起因しており、これには、リンパ球増殖、サイトカイン放出、B細胞及び骨髄性細胞の発達及び生存の制御、並びに樹状細胞の成熟誘導が含まれる。

【0005】

それにも関わらず、シグナル伝達及び造血におけるCD38の正確な役割は不明確なままである。なぜなら、シグナル伝達研究の大半は、CD38を異所的に過剰発現する細胞株及び抗CD38モノクローナル抗体(非生理的リガンドである)を使用しているからで

50

ある。

【0006】

CD38の予測される天然リガンドは、CD31(PECAM-1;血小板内皮細胞接着分子-1)である。CD31は、130kDの免疫グロブリンスーパーファミリーメンバーであり、循環血小板、好中球、単球及びナイーブBリンパ球の表面に発現している。機能的には、CD31は接着分子として作用とすると考えられる。CD38とCD31の相互作用が、白血病細胞の生存の促進に作用し得ることが示唆されている。

【0007】

単一分子を欠損した動物モデルは、多くの例において、その動物における分子の生物学的役割を理解する基本的ツールである。その根底にある前提は、タンパク質が必須の機能を発揮しているなら、その完全な喪失により、当該機能の完全な喪失がもたらされるというものである。

【0008】

CD38ノックアウトマウスが作出されている。これらの動物は、組織関連NADase活性のほぼ完全な喪失を示す。それにも関わらず、これらの動物は生存可能であり、これにより、CD38及びその活性は生存には必要ではないとの結論が導かれる。しかしながら、これらのマウスは、先天性免疫の欠損及びT細胞依存性液性免疫応答の低下を示す。

【0009】

マウスでの結果とは対照的に、ヒトにおいては、CD38の欠如と生存とは相容れないとの強力な状況証拠が存在する。新生児由来の5,000超の血液サンプルを分析しても、CD38<sup>+</sup>個体を一つも同定できなかった;これは、マウスとは異なって、CD38が生存に必要であることを示唆する。従って、CD38機能についてマウスで観察された結果をヒトに外挿できるかは不明である。

【0010】

CD38は、多くの造血器悪性腫瘍、及び様々な造血器悪性腫瘍に由来する細胞株で上方制御されており、当該悪性腫瘍としては、非ホジキンリンパ腫(NHL)、バーキットリンパ腫(BL)、多発性骨髄腫(MM)、B細胞慢性リンパ性白血病(B-CLL)、B細胞及びT細胞急性リンパ性白血病(ALL)、T細胞リンパ腫(TCL)、急性骨髄性白血病(AML)、有毛細胞白血病(HCL)、ホジキンリンパ腫(HL)及び慢性骨髄性白血病(CML)が挙げられる。一方、造血系の最も未発達な多能性幹細胞はCD38<sup>+</sup>である(図1)。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

抗ガン剤の発見及び開発における最近の進歩にも関わらず、CD38発現腫瘍を伴う多くの種類のガンは、依然として予後が不良である。従って、このような種類のガンを治療するための方法が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0012】

(本発明の要旨)

本明細書では、CD38に結合するための試薬及び方法、並びにCD38特異的抗体を含むCD38特異的結合剤を用いた、CD38関連疾患の治療方法及びCD38の検出方法を提供する。

【0013】

従って、いくつかの実施態様において、ヒトCD38(配列番号1)及びカニクイザルCD38(配列番号2)に特異的な単離された抗体を記載する。この抗体は、重鎖可変領域と軽鎖可変領域から構成されており、ここで重鎖可変領域は、3つの相補性決定領域(CDRs)であるHC DR1、HC DR2及びHC DR3から構成され、軽鎖可変領域も3つのCDRであるLC DR1、LC DR2及びLC DR3から構成される。CDRの配列は、HC DR1(配列番号3)、HC DR2(配列番号4)、HC DR3(配列番号5

10

20

30

40

50

)、L C D R 1 ( 配列番号 6 )、L C D R 2 ( 配列番号 7 ) 及び L C D R 3 ( 配列番号 8 ) により表される。

【 0 0 1 4 】

他の実施態様において、単離された抗体は重鎖可変領域から構成されており、ここで重鎖可変領域の配列は配列番号 9 により包含される。他の実施態様において、単離された抗体は軽鎖可変領域から構成されており、ここで軽鎖可変領域の配列は配列番号 1 0 により包含される。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施態様において、単離された抗体は重鎖可変領域から構成されており、ここで重鎖可変領域の配列は配列番号 9 により包含される。他の実施態様において、単離された抗体は軽鎖可変領域から構成されており、ここで軽鎖可変領域の配列は配列番号 1 0 により包含される。重鎖可変領域と軽鎖可変領域のこの組合せは、A b 7 9 と称される。

【 0 0 1 6 】

いくつかの実施態様において、単離された抗体は、重鎖及び軽鎖から構成されており、ここで重鎖の配列は配列番号 1 1 により包含され、軽鎖は配列番号 1 2 により包含される。

【 0 0 1 7 】

いくつかの実施態様において、単離された抗体は F c ドメインを含む。他の実施態様において、F c ドメインはヒト F c ドメインである。さらに他の実施態様において、F c ドメインは変異型 F c ドメインである。

【 0 0 1 8 】

いくつかの実施態様において、配列番号 1 1 の重鎖をコードする単離された核酸を提供する。他の実施態様において、配列番号 1 2 の軽鎖をコードする単離された核酸を提供する。

【 0 0 1 9 】

いくつかの実施態様において、配列番号 1 1 の重鎖をコードする単離された核酸と、配列番号 1 2 の軽鎖をコードする単離された核酸とを含む、宿主細胞を提供する。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施態様において、本発明の抗体の製造方法を提供する。当該方法は、配列番号 1 1 の重鎖をコードする単離された核酸と、配列番号 1 2 の軽鎖をコードする単離された核酸とを含む宿主細胞を、前記単離された核酸が発現し、抗体が製造される条件下で培養する工程を包含する。

【 0 0 2 1 】

いくつかの実施態様において、ヒト C D 3 8 ( 配列番号 1 ) 及びカニクイザル C D 3 8 ( 配列番号 2 ) に特異的な単離された抗体を記載する。この抗体は、6 つの C D R から構成されており、ここで、この抗体の各 C D R は、0 個、1 個又は 2 個のアミノ酸置換により、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7 及び配列番号 8 とは異なり得る。

【 0 0 2 2 】

他の実施態様において、ヒト C D 3 8 ( 配列番号 1 ) 及びカニクイザル C D 3 8 ( 配列番号 2 ) に特異的な単離された抗体を記載する。この抗体は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域から構成されており、ここで重鎖可変領域は、3 つの相補性決定領域 ( C D R s ) である H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 から構成されており、軽鎖可変領域も 3 つの C D R である L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 から構成されている。C D R の配列は、H C D R 1 ( 配列番号 1 3 )、H C D R 2 ( 配列番号 1 4 )、H C D R 3 ( 配列番号 1 5 )、L C D R 1 ( 配列番号 1 6 )、L C D R 2 ( 配列番号 1 7 ) 及び L C D R 3 ( 配列番号 1 8 ) により表される。

【 0 0 2 3 】

他の実施態様において、単離された抗体は重鎖可変領域から構成されており、ここで重鎖可変領域の配列は配列番号 1 9 により包含される。他の実施態様において、単離された

10

20

30

40

50

抗体は軽鎖可変領域から構成されており、ここで軽鎖可変領域の配列は配列番号 20 により包含される。

【0024】

いくつかの実施態様において、単離された抗体は重鎖可変領域から構成されており、ここで重鎖可変領域の配列は配列番号 19 により包含される。他の実施態様において、単離された抗体は軽鎖可変領域から構成されており、ここで軽鎖可変領域の配列は配列番号 20 により包含される。重鎖可変領域と軽鎖可変領域のこの組合せは A b 19 と称される。

【0025】

いくつかの実施態様において、単離された抗体は、重鎖及び軽鎖から構成されており、ここで重鎖の配列は配列番号 21 により包含され、軽鎖は配列番号 22 により包含される。

10

【0026】

いくつかの実施態様において、重鎖をコードする配列番号 21 の単離された核酸を提供する。他の実施態様において、軽鎖をコードする配列番号 22 の単離された核酸を提供する。

【0027】

いくつかの実施態様において、配列番号 21 の重鎖をコードする単離された核酸と、配列番号 22 の軽鎖をコードする単離された核酸とを含む、宿主細胞を提供する。

【0028】

いくつかの実施態様において、本発明の抗体の製造方法を提供する。当該方法は、配列番号 21 の重鎖をコードする単離された核酸と、配列番号 22 の軽鎖をコードする単離された核酸とを含む宿主細胞を、前記単離された核酸が発現し、抗体が製造される条件下で培養する工程を包含する。

20

【0029】

他の実施態様において、ヒト C D 3 8 (配列番号 1) 及びカニクイザル C D 3 8 (配列番号 2) に特異的な単離された抗体を記載する。この抗体は、6つの C D R から構成されており、ここで、この抗体の各 C D R は、0個、1個又は2個のアミノ酸置換により、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17 及び配列番号 18 とは異なり得る。

【0030】

30

いくつかの実施態様において、ヒト C D 3 8 (配列番号 1) 及びカニクイザル C D 3 8 (配列番号 2) に特異的に結合する単離された抗 C D 3 8 抗体を提供し、ここで該抗体は、約  $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$  以上の K D でヒト C D 3 8 に結合し、約  $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$  以上の K D でカニクイザル C D 3 8 と結合する。

【0031】

いくつかの実施態様において、ヒト C D 3 8 及び / 又はカニクイザル C D 3 8 との結合について A b 7 9 及び / 又は A b 1 9 と競合する抗体を提供する。

【0032】

これらの及び他の実施態様、特徴及び潜在的利点は、以下の記載及び図面を参照することにより明らかとなるだろう。

40

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図 1】図 1 は、リンパ系細胞の C D 3 8 発現プロファイルを示し、星印は C D 3 8 高発現を示す。C D 3 8 発現は、プロ B 細胞 (C D 3 4 + C D 1 9 + C D 2 0 -)、活性化 B 細胞 (C D 1 9 + C D 2 0 +)、形質細胞 (C D 1 3 8 + C D 1 9 - C D 2 0 -)、活性化 C D 4 + 及び C D 8 + T 細胞、N K T 細胞 (C D 3 + C D 5 6 +) 及び N K 細胞 (C D 5 6 + C D 1 6 +) において同定された。さらに、C D 3 8 発現は、リンパ球前駆細胞 (C D 3 4 + C D 4 5 R A + C D 1 0 + C D 1 9 -) でも見られるが、リンパ系幹細胞では見られない。さらに、成熟 D C 及び活性化単球において C D 3 8 発現の増加が見られる。

【図 2】図 2 は A b 7 9 及び A b 1 9 の重鎖及び軽鎖の配列を示す。

50

【図3】図3は、ヒト及びカニクイザルCD38の配列を表す。

【図4】図4は、ベンチマーク1及び2、Ab19及びAb79の各抗体に結合するヒトCD38のエピトープを示す。

【図5】図5は、市販のヒトCD38抗体を用いた、SLE患者由来のPMBCにおけるCD38発現の増加を示す。

【図6】図6は、投与24時間後のカニクイザルにおける細胞数の変化の割合を示す。

【図7】図7は、Ab79の単回投与後の枯渇の回復を示す。

【図8】図8は、Ab79の単回投与後の全てのIgアイソタイプの有意な減少に関して、単一のHuSCIDマウスから得られた結果を示す。

【図9】図9は、実施例に記載のとおり、HuSCIDマウスにおけるAb79枯渇活性についての図8と同様である。

【図10】図10は、Ab79処置時のHuSCIDモデルにおける抗破傷風応答(anti-tetanus response)の有意な減少を示す。

【図11】図11は、再度HuSCIDモデルにおいて(本質的には移植片対宿主モデルの一種)、Ab79処置時の生存率の有意な増加を示す。

【図12】図12は、ヒト及びマウスPBMCにおける、それぞれに対する市販の抗体を用いたCD38抗原の発現差を示す。

【図13】図13は、代替(surrogate)マウス抗CD38抗体が、末梢血由来の免疫細胞を枯渇することを示す、炎症状況における治療効果を示す。

【0034】

(本発明の詳細な説明)

#### 概説

CD38の細胞外ドメインは、ADPリボシルシクラーゼ活性とADPリボシルヒドロラーゼ活性の両方を有する、二機能(bifunctional)酵素活性を有することが示されている。従って、CD38は、NAD<sup>+</sup>のcADPRへの変換を触媒でき(シクラーゼ)、さらにそれをADPリボースに加水分解できる(ヒドロラーゼ)。cADPRは、細胞増殖、分化及びアポトーシスに重要なセカンドメッセンジャーアクティビティであるカルシウムの細胞内ストアからの動員に機能する。

【0035】

CD38の発現の増加は、造血起源の様々な疾患で報告されており、慢性リンパ芽球性白血病におけるネガティブな予後マーカーとして記載されている。このような疾患としては、多発性骨髄腫(Jackson et al. (1988))、慢性リンパ芽球性白血病(Moribito et al. (2001)、Jelinek et al. (2001)、Chevalier et al. (2002)、Durig et al. (2002))、B細胞慢性リンパ性白血病、B細胞急性リンパ性白血病を含む急性リンパ芽球性白血病(Keyhani et al (2000))、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、原発性全身性アミロイドーシス、マントル細胞リンパ腫、前リンパ球性/骨髄性白血病、急性骨髄性白血病(Keyhani et al. (1993))、慢性骨髄性白血病(Marinov et al. (1993))、濾胞性リンパ腫、NK細胞白血病及び形質細胞白血病が挙げられるが、これらに限定されない。このように、CD38は、造血系疾患の治療において有用な標的を提供する。

【0036】

複数の抗CD38抗体が、CD38関連ガンの治療について臨床試験されている。従って、治療効果及び/又は診断的適用を有するCD38に対する抗体が有用である。本発明は、異なるCD38エピトープに結合する、2つの異なる抗CD38のCDRセットであって、CD38のヒト及びカニクイザル形態の両方に結合するもの、並びにこれらのCDRを含む抗体を提供する。

【0037】

さらに、本発明は、活性化リンパ球と関連する炎症及び/又は免疫学的障害(具体的には自己免疫疾患を含む)の診断及び/又は治療における、抗CD38抗体の利用を見出す

10

20

30

40

50

ことを示す。本明細書で示すとおり、CD38は未熟な造血細胞で発現し、成熟細胞では下方制御され、活性化リンパ球及び形質細胞において高レベルで再発現する。例えば、CD38の高発現は、活性化B細胞、形質細胞、活性化CD4+T細胞、活性化CD8+T細胞、NK細胞、NKT細胞、成熟樹状細胞(DC)及び活性化単球で見られる。

#### 【0038】

本明細書における発見は、CD38に対する自己抗体の存在が、糖尿病、慢性自己免疫性甲状腺炎及びグレーブス病と関連するという点で驚くべきものである(Antonelli et al., Clin. Exp. Immunol. 2001 126:426-431; Mallone et al., Diabetes 50:752(2001)及びAntonelli et al., J. Endocrinol. Invest. 27:695-707(2004)を参照されたい。これらは全て参照により援用される)。

10

#### 【0039】

従って、本発明の抗体は多数の疾患の診断及び/又は治療における利用が見出されており、当該疾患としては、以下に記載の自己免疫疾患に限定されないが、全身性エリテマトーデス(SLE)、関節リウマチ(RA)、炎症性腸疾患(IBD)及び潰瘍性大腸炎が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0040】

従って、例えば、高い形質細胞を呈するSLE患者や、CD20に基づく治療に不応性のRA患者などの、高い形質細胞量を有する患者が選択され得る。

#### 【0041】

20

本発明の治療的抗CD38抗体は、CD38陽性細胞と結合し、その結果、CDC、ADC及びアポトーシス経路(これらに限定されない)を含む複数の作用メカニズムを介して、活性化リンパ球などのこれらの細胞の枯渇をもたらし、本明細書で概説するように、自己免疫疾患の治療及び/又は改善を導く。

#### 【0042】

ガン臨床試験におけるいくつかの抗CD38抗体では見られない利点の一つは、カニクイザルCD38に結合できることである。なぜなら、これらの霊長類は前臨床試験での利用が見出されており、従って、投与、毒性、有効性などの初期の評価につながり得るからである。

#### 【0043】

30

#### CD38タンパク質

従って、本発明は、ヒトCD38タンパク質に特異的に結合する(及び、以下に記載のとおり、追加として、好ましくは、霊長類CD38タンパク質に特異的に結合する)単離された抗CD38抗体を提供する。当分野で既知のとおり、CD38タンパク質は多数の種で見られる。本発明で特に有用なものは、ヒトCD38タンパク質と霊長類CD38タンパク質、特に、臨床試験で使用する霊長類、例えば、カニクイザル(マカカ・ファシキュラリス(Macaca fascicularis)、カニクイザル(Crab-eating macaque)、本明細書では「サイノ」(cyno)と称する場合もある)などのCD38タンパク質の両方に結合する抗体である。「ヒトCD38」又は「ヒトCD38抗原」とは、配列番号1、又はエピトープなどの機能性断片(本明細書で定義するとおり)のタンパク質を意味する。一般に、CD38は、短い細胞質内テイル、膜貫通ドメイン及び細胞外ドメインを有し、特定の実施態様において、本発明の抗体は、CD38タンパク質の細胞外部分と結合する。本明細書において「カニクイザルCD38」とは、ヒトCD38と92%同一である配列番号2を意味する。

40

#### 【0044】

CD38の同義語には、ADPリボシルシクラーゼ1、cADPrヒドロラーゼ1、Cd38-rs1、サイクリックADP-リボースヒドロラーゼ1、I-19及びNIM-R5抗原が含まれる。

#### 【0045】

いくつかの実施態様において、本発明の抗CD38 Ab79抗体は、多数のアミノ酸

50

残基においてC D 3 8と相互作用し、該アミノ酸残基としては、K 1 2 1、F 1 3 5、Q 1 3 9、D 1 4 1、M 1 4 2、D 2 0 2、V 2 0 3、H 2 0 5、Q 2 3 6、E 2 3 9、W 2 4 1、S 2 7 4、C 2 7 5、K 2 7 6、F 2 8 4、C 2 8 7、V 2 8 8、K 2 8 9、N 2 9 0、P 2 9 1、E 2 9 2、D 2 9 3が挙げられる。本明細書で概説するように、これらの残基と相互作用する他の抗体も、治療及び診断的適用における使用が見出される。

#### 【0046】

いくつかの実施態様において、本発明の抗C D 3 8抗体は、任意選択で(いくつかの場合においては好ましくは)、C D 1 5 7などのC D 3 8ファミリーの他のメンバーと結合しない。例えば、本明細書における好ましい実施態様は、配列番号23(Genbankアクセッション番号NP\_004325)のヒトC D 1 5 7と結合しない。

10

#### 【0047】

##### 抗体

本発明は、抗C D 3 8抗体、通常は本明細書に記載のとおり、治療及び/又は診断抗体を提供する。本発明での使用が発見される抗体は、本明細書に記載のとおり、多数のフォーマットをとることができ、これには、従来の抗体、並びに抗体誘導体、断片及び模倣物(mimetics)(以下に記載)が挙げられる。原則として、本発明は、本明細書で定義するとおり6個のCDRのセット(以下に記載のとおり、少数のアミノ酸の変化を含む)を含む抗体構造を提供する。

#### 【0048】

従来の抗体構造ユニットは、典型的には4量体を含む。各4量体は、典型的には、2つの同一のポリペプチド鎖対からなり、各対は、1つの「軽」鎖(典型的には約25kDaの分子量を有する)と1つの「重」鎖(典型的には、約50~70kDaの分子量を有する)を有する。ヒト軽鎖は、軽鎖と軽鎖に分類される。重鎖は、 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ 、又は $\epsilon$ に分類され、それぞれ、IgM、IgD、IgG、IgA及びIgEとして抗体アイソタイプを定義する。IgGは複数のサブクラスを有し、サブクラスとしては、IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4が挙げられるがこれらに限定されない。IgMは、IgM1及びIgM2を含むサブクラスを有するが、これらに限定されない。従って、本明細書で使用される場合、「アイソタイプ」は、その定常領域の化学的及び抗原的特徴により定義される免疫グロブリンの任意のサブクラスを意味する。既知のヒト免疫グロブリンアイソタイプは、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM1、IgM2、IgD及びIgEである。治療用抗体には、アイソタイプ及び/又はサブクラスのハイブリッドも含まれ得ることが理解されるべきである。

20

30

#### 【0049】

各鎖のアミノ末端部分には、抗原認識に主に関与する約100~110以上のアミノ酸の可変領域が含まれる。可変領域では3つのループが重鎖及び軽鎖の各Vドメインについて集合しており、抗原結合部位を形成する。各ループは、相補性決定領域とも称され(以下、「CDR」とも称する)、この部分におけるアミノ酸配列の変異(variation)が最も顕著である。「可変」とは、可変領域の特定のセグメントが、抗体の配列において広範囲に異なるという事実を意味する。可変領域内の可変性は、均一に分布していない。代わりに、V領域は、それぞれ9~15アミノ酸長以上の「超可変領域」と称される極度に可変性の短い領域により分離される15~30アミノ酸のフレームワーク領域(FR)と称される比較的不变のストレッチからなる。

40

#### 【0050】

各VH及びVLは、3つの超可変領域(「相補性決定領域」、「CDR」と4つのFRからなり、以下の順序でアミノ末端からカルボキシ末端へ配置される:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

#### 【0051】

超可変領域は、一般に、軽鎖可変領域における、アミノ酸残基約24~34(LCDR1;「L」は軽鎖を意味する)、50~56(LCDR2)及び89~97(LCDR3)と重鎖可変領域における、約31~35B(HCDR1;「H」は重鎖を意味する)、

50

50～65 (HCDR2) 及び 95～102 (HCDR3) のアミノ酸残基; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5<sup>th</sup> Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)、及び/又は超可変性ループを形成するそれらの残基(例えば、軽鎖可変領域における残基 26～32 (LCDR1)、50～52 (LCDR2) 及び 91～96 (LCDR3) と、重鎖可変領域における 26～32 (HCDR1)、53～55 (HCDR2) 及び 96～101 (HCDR3); Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917 を包含する。本発明の具体的な CDR は以下に記載する。

10

#### 【0052】

本明細書にわたり、可変ドメインの残基(およそ、軽鎖可変領域の残基 1～107 及び重鎖可変領域の残基 1～113)について言及する場合には、Fc 領域で使用される EU ナンバーシステムとともに、Kabat ナンバリングシステムを通常用いる(例えば、Kabat et al., 上記(1991))。

#### 【0053】

CDR は、抗原結合の形成に寄与し、より詳細には、抗体のエピトープ結合部位の形成に寄与する。「エピトープ」とは、パラトープとして知られる、抗体分子の可変領域における特異的な抗原結合部位と相互作用する決定基を意味する。エピトープは、アミノ酸や糖側鎖などの分子にグループ分けされ、通常、特異的な構造特性及び特異的な電荷特性を有する。単一の抗原が、2 以上のエピトープを有してもよい。例えば、本明細書で示すとおり、「Ab19」及び「Ab79」と本明細書で称する 2 つの異なる抗体は、CD38 分子上の異なるエピトープに結合する。

20

#### 【0054】

エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基(エピトープの免疫優性コンポーネント (immunodominant component) と称される)、及び結合に直接関与しない他のアミノ酸残基(特異的な抗原結合ペプチドにより有効に阻害されるアミノ酸残基など)(換言すれば、当該アミノ酸残基は、特異的な抗原結合ペプチドのフットプリント (footprint) 内である)を含んでよい。

#### 【0055】

エピトープは、立体構造であるか、直線状であるかのいずれかであってよい。立体構造エピトープは、直線状のポリペプチド鎖の異なるセグメントから空間的に並置されたアミノ酸により製造される。直線状エピトープは、ポリペプチド鎖の隣接アミノ酸残基により作製されたものである。立体構造及び非立体構造エピトープは、変性溶媒の存在下、後者ではなく前者との結合が失われることで区別され得る。

30

#### 【0056】

エピトープは、典型的には、特有の空間配置において、少なくとも 3 つ、通常は、少なくとも 5 又は 8～10 アミノ酸を含む。同一のエピトープを認識する抗体は、1 つの抗体が、標的抗原ともう一つの抗体との結合をブロックする能力を示す単純な免疫アッセイで検証することができ、これは、例えば、実施例で概説するような、「ビニング (binning)」などである。実施例に示すような X 線結晶学研究により、図 4 に示すとおり、本発明の抗体 (Ab19 及び Ab79 を含む) と従来技術の抗体 (ベンチマーク 1 及びベンチマーク 2) の両方に結合するアミノ酸残基が同定される。

40

#### 【0057】

本発明において、実施例で概説するとおり Ab79 は、CD38 の多数のアミノ酸残基と相互作用し、該アミノ酸残基としては、K121、F135、Q139、D141、M142、E239、W241、S274、C275、K276、F284、V288、K289、N290、P291、E292 及び D293 が挙げられる。これらの残基は、S274 がシアン (cyan) で実際には F274 である以外は、ヒト及びカニクイザル (cyan monkeys) の両方で同一であることに留意すべきである。これらの残基

50

は、免疫優性エピトープ及び／又は特異的抗原結合ペプチドのフットプリント内の残基を表してよい。

【0058】

本発明において、A b 1 9 は、異なるエピトープと結合し、これには、G 9 1、E 1 0 3、E 1 0 3 4、D 1 0 5、Q 1 0 7、M 1 1 0、K 1 1 1、T 1 1 4、Q 1 1 5、T 1 4 8、V 1 9 2、R 1 9 4、R 1 9 5、F 1 9 6、A 1 9 9、H 2 2 8、N 2 2 9、Q 2 3 1、E 2 3 3 及び K 2 3 4 が挙げられる。これらの残基は、M 1 1 0 がシアン ( c y a n ) では V 1 1 0 であり、A 1 9 9 がシアン ( c y a n ) では T 1 9 9 であることを除いて、ヒトとカニクイザル ( c y a n m o n k e y s ) の両方で同一であることに留意すべきである。

10

【0059】

従って、いくつかの実施態様において、これらのエピトープのいずれかでの結合により A B 7 9 及び A b 1 9 と競合する抗体も自己免疫疾患を治療するために使用され得る。A b 7 9 と B M 1 は、いくらか重複しており、従って、A b 7 9 と競合するが B M 1 とは競合しない抗体の本発明での使用も見出される点に留意すべきである。

【0060】

従って、本発明は、ヒト及びシアン ( c y a n ) C D 3 8 の両方に結合し、これらの残基の少なくとも 8 0 %、9 0 %、9 5 % 又は 9 8 % と相互作用する抗体を提供する。言い換えれば、相互作用ゾーンの表面領域は、これらの残基の領域に過ぎない。

【0061】

各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能に主に関与する定常領域を定義する。K a b a t らは、重鎖及び軽鎖可変領域の多数の一次配列を集めた。配列の保存の程度に基づいて、彼らは、個々の一次配列を C D R とフレームワークとに分類し、そのリストを作成した ( S E Q U E N C E S O F I M M U N O L O G I C A L I N T E R E S T , 5<sup>th</sup> e d i t i o n , N I H p u b l i c a t i o n , N o . 9 1 - 3 2 4 2 , E . A . K a b a t e t a l . を参照されたい。参照によりその全体が本明細書に援用される)。

20

【0062】

免疫グロブリンの I g G サブクラスでは、重鎖に複数の免疫グロブリンドメインが存在する。本明細書において「免疫グロブリン ( I g ) ドメイン」とは、異なる三次構造を有する免疫グロブリンの領域を意味する。本発明で関心のあるものは、重鎖定常 ( C H ) ドメインとヒンジドメインを含む、重鎖ドメインである。I g G 抗体との関連において、I g G アイソタイプはそれぞれ 3 つの C H 領域を有する。従って、I g G との関連において「C H」ドメインは以下のとおりである：「C H 1」とは、K a b a t に示す E U インデックスに従って、1 1 8 ~ 2 2 0 位を意味する。「C H 2」とは、K a b a t に示す E U インデックスに従って、2 3 7 ~ 3 4 0 位を意味し、「C H 3」とは、K a b a t に示す E U インデックスに従って、3 4 1 ~ 4 4 7 位を意味する。

30

【0063】

重鎖の別のタイプの I g ドメインはヒンジ領域である。本明細書において「ヒンジ」又は「ヒンジ領域」又は「抗体ヒンジ領域」又は「免疫グロブリンヒンジ領域」とは、抗体の第一と第二の定常領域の間のアミノ酸を含むフレキシブルなポリペプチドを意味する。構造的には、I g G C H 1 ドメインは、E U 2 2 0 位で終了し、I g G C H 2 ドメインは、E U 2 3 7 位の残基で開始する。従って、I g G についての抗体ヒンジは、本明細書では、2 2 1 位 ( I g G 1 の D 2 2 1 ) から 2 3 6 位 ( I g G 1 では G 2 3 6 ) を含むと定義され、ここで、番号付けは K a b a t に示す E U インデックスに従うものである。いくつかの実施態様において、例えば F c 領域との関連で、下方 ( l o w e r ) のヒンジが含まれ、「下方のヒンジ」とは一般に 2 2 6 位又は 2 3 0 位を意味する。

40

【0064】

本発明で特に関心があるのは F c 領域である。本明細書で使用する場合、「F c」又は「F c 領域」又は「F c ドメイン」とは、第一の定常領域免疫グロブリンドメインを除く

50

抗体定常領域を含むポリペプチドを意味し、いくつかの場合においては、ヒンジの一部も含まれる。従って、Fcとは、IgA、IgD及びIgGの最後の2つの定常領域免疫グロブリンドメイン、IgE及びIgMの最後の3つの定常領域免疫グロブリンドメイン、並びにこれらのドメインのN末端のフレキシブルなヒンジを意味する。IgAとIgMについては、FcにJ鎖が含まれてもよい。IgGについては、Fcドメインは、免疫グロブリンドメインC<sub>2</sub>及びC<sub>3</sub>(C<sub>2</sub>及びC<sub>3</sub>)、並びにC<sub>1</sub>(C<sub>1</sub>)とC<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>)の間の方のヒンジを含む。Fc領域の境界は変化するといえ、ヒトIgG重鎖Fc領域は通常、そのカルボキシ末端にC<sub>2</sub>S<sub>26</sub>又はP<sub>230</sub>残基を含むものと定義され、ここで番号付けはKabatsに示すEUインデックスに従う。いくつかの実施態様において、以下に詳述するとおり、アミノ酸修飾がFc領域でなされて、例えば、1つ以上のFcRレセプター、又はFcRnレセプターとの結合が変更される。

10

#### 【0065】

いくつかの実施態様において、抗体は完全長である。本明細書において「完全長抗体」とは、抗体の天然の生物学的形態を構成する構造を意味し、これは、可変及び定常領域を含み、本明細書で概説するとおり1つ以上の修飾を含む。

#### 【0066】

あるいは、抗体は、様々な構造、例えば、抗体断片、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、ミニボディ、ドメイン抗体、合成抗体(本明細書では「抗体模倣物」と称する場合もある)、キメラ抗体、ヒト化抗体、抗体融合物(「抗体コンジュゲート」とも称される場合がある)、及びそれぞれの断片などであってよいが、これらに限定されない。構造は依然として依存する。

20

#### 【0067】

一実施態様において、抗体は抗体断片である。具体的な抗体断片としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：(i)VL、VH、CL及びCH1ドメインからなるFab断片；(ii)VH及びCH1ドメインからなるFd断片；(iii)単一抗体のVL及びVHドメインからなるFv断片；(iv)単一の可変領域からなるdAb断片(Ward et al., 1989, Nature 341: 544-546、参照により全体を援用する)；(v)単離されたCDR領域；(vi)2つの結合したFab断片を含む二価の断片であるF(ab')<sub>2</sub>断片；(vii)単鎖Fv分子(scFv)であって、VHドメイン及びVLドメインが、2つのドメインが会合して抗原結合部位を形成することができるペプチドリinkerにより結合されているもの(Bird et al., 1988, Science 242: 423-426、Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 5879-5883、参照によりその全体が援用される)；(viii)二重特異性単鎖Fv(WO 03/11161、参照により本明細書に援用される)；及び(ix)遺伝子融合により構築された多価又は多重特異性(multispecific)断片である「ダイアボディ」又は「トリアボディ」(Tomlinson et al., 2000, Methods Enzymol. 326: 461-479; WO 94/13804; Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90: 6444-6448、参照により全て、その全体が援用される)。

30

40

#### 【0068】

##### キメラ及びヒト化抗体

いくつかの実施態様において、抗体は異なる種由来の混合物であってよく、例えば、キメラ抗体及び/又はヒト化抗体などであってよい。すなわち、本発明において、CDRセットは、本明細書において配列により具体的に記載されるもの以外のフレームワーク及び定常領域とともに使用されてよい。

#### 【0069】

一般に、「キメラ抗体」及び「ヒト化抗体」はともに、2以上の種由来の領域を組み合わせた抗体を意味する。例えば、「キメラ抗体」は、従来、マウス(又はいくつかの場合ではラット)由来の可変領域(1つ以上)とヒト由来の定常領域(1つ以上)とを含む。

50

「ヒト化抗体」は、通常、ヒト抗体で見られる配列と交換された可変ドメインフレームワーク領域を有している非ヒト抗体を意味する。一般に、ヒト化抗体においては、CDRを除く抗体全体は、ヒト起源のポリヌクレオチドによりコードされるか、又はそのCDR内を除いてそのような抗体と同一である。CDRは、そのいくつか又は全てが非ヒト生物由来の核酸によりコードされ、ヒト抗体可変領域のシートフレームワークへとグラフトされて抗体を作っており、その特異性はグラフトされたCDRにより決定される。このような抗体の作製は、例えば、WO 92/11018、Jones, 1986, Nature 321:522-525、Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-1536などに記載されており、これらは全て、参照によりその全体が本明細書に援用される。選択されたアクセプターフレームワーク残基の対応するドナー残基への「復帰突然変異 (Backmutation)」は、多くの場合、最初のグラフト構築物で失われた親和性を取り戻すために必要である (US 5530101; US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 6180370; US 5859205; US 5821337; US 6054297; US 6407213、これらは全て、参照によりその全体が援用される)。ヒト化抗体は、最も有利には、少なくとも免疫グロブリン定常領域の一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのものを含み、従って、典型的にはヒトFc領域を含む。ヒト化抗体は、遺伝子組換えされた免疫系を有するマウスを用いて作製されてもよい。Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-654、参照によりその全体が援用される。非ヒト抗体をヒト化及び再形成のための様々な技術及び方法が当分野で公知である (Tsurushita & Vasquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (USA) 及びそこで引用される参考文献を参照されたい。これらは全て、参照によりその全体が援用される)。ヒト化方法としては、以下に記載の方法が挙げられるが、これらに限定されない: Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-329; Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536; Queen et al., 1989, Proc Natl Acad Sci, USA 86:10029-33; He et al., 1998, J. Immunol. 160:1029-1035; Carter et al., 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:4285-9; Presta et al., 1997, Cancer Res. 57(20):4593-9; Gorman et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4181-4185; O'Connor et al., 1998, Protein Eng 11:321-8、これら全て、参照によりその全体が援用される。ヒト化、又は非ヒト抗体可変領域の免疫原性を低下させる他の方法には、例えば、Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973 (参照によりその全体が援用される) などに記載されるような表面再形成 (resurfacing) 方法が含まれてよい。一実施態様において、親抗体は、当分野で既知であるとおり、親和性成熟されている。構造に基づく方法は、ヒト化及び親和性成熟について実施されてよく、例えばUS SN 11/004,590に記載される方法などである。選択に基づく方法は、抗体可変領域をヒト化及び/又は親和性成熟するために実施されてよく、この方法としては、以下に記載の方法が挙げられるが、これらに限定されない: Wu et al., 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca et al., 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684; Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem. 271(37):22611-22618; Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:8910-8915; Krauss et al., 2003, Protein Engineering 16(10):753-759 (これらは

10

20

30

40

50

全て、参照によりその全体が援用される)。他のヒト化方法は、CDRの一部のみのグラフを伴ってよく、これには、以下に記載の方法が挙げられるが、これらに限定されない：US 5,810,510; Tan et al., 2002, J. Immunol. 169: 1119-1125; De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169: 3076-3084 (これらは全て、参照によりその全体が援用される)。

#### 【0070】

一実施態様において、本発明の抗体は、多重特異性抗体、とりわけ二重特異性抗体であってよく、二重特異性抗体は、「ダイアボディ」と称される場合もある。これらは、2つ(以上)の異なる抗原、又は同一抗原上の異なるエピトープに結合する抗体である。ダイアボディは、当分野で既知の様々な方法で作製され得(Holliger and Winter, 1993, Current Opinion Biotechnol. 4: 446-449、参照によりその全体が援用される)、例えば、化学的に又はハイブリッドハイブリドーマ(hybrid hybridoma)から調製され得る。

#### 【0071】

一実施態様において、抗体はミニボディである。ミニボディは、CH3ドメインと連結されたscFvを含む最小化抗体様タンパク質である。Hu et al., 1996, Cancer Res. 56: 3055-3061、参照によりその全体が援用される。いくつかの場合において、scFvはFc領域と連結され得、ヒンジ領域のいくつか又は全体を含んでよい。

#### 【0072】

本発明の抗体は、通常、単離されるか、又は組換えられる。「単離される」とは、本明細書で開示する様々なポリペプチドを記載するために使用する場合、ポリペプチドが発現される細胞又は細胞培養物から同定され且つ分離され、及び/又は回収されたポリペプチドを意味する。通常、単離されたポリペプチドは、少なくとも1つの精製工程により調製される。「単離された抗体」とは、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を意味する。例えば、CD38と特異的に結合する単離された抗体は、CD38以外の抗原と特異的に結合する抗体を実質的に含まない。

#### 【0073】

しかしながら、ヒトCD38又はカニクイザルCD38のエピトープ、アイソフォーム又は変異体と特異的に結合する単離された抗体は、例えば、CD38種ホモログ(species homolog)などの他の種由来の他の関連抗原と交差反応性を有してよい。さらに、単離された抗体は、他の細胞物質及び/又は化学物質を実質的に含まないものであってよい。

#### 【0074】

異なる特異性を有する単離されたモノクローナル抗体は、良く定義された組成物中で組み合わせられ得る。従って、例えば、Ab79及びAb19は、所望する場合、単一の製剤で組み合わせられ得る。

#### 【0075】

本発明の抗CD38抗体は、CD38リガンド(例えば、配列番号1及び2のヒト及びカニクイザルCD38タンパク質など)と特異的に結合する。「特異的結合」又は「特異的に結合する」、又は特定の抗原若しくはエピトープに「特異的」とあるとは、非特異的相互作用と測定可能な程度に異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、コントロール分子の結合と比較して、分子の結合を決定することにより測定でき、コントロール分子は、通常、結合活性を有さない類似構造の分子である。例えば、特異的結合は、標的と類似するコントロール分子との競合により決定され得る。

#### 【0076】

特定の抗原又はエピトープに対する特異的結合は、例えば、少なくとも約 $10^{-4}$  M、少なくとも約 $10^{-5}$  M、少なくとも約 $10^{-6}$  M、少なくとも約 $10^{-7}$  M、少なくとも約 $10^{-8}$  M、少なくとも約 $10^{-9}$  M、或いは少なくとも約 $10^{-10}$  M、少なくと

10

20

30

40

50

も約  $10^{-11}$  M、少なくとも約  $10^{-12}$  M以上の抗原又はエпитープに対するKDを有する抗体により示され得、ここで、KDとは、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離速度を意味する。典型的には、抗原に特異的に結合する抗体は、抗原又はエпитープに対するコントロール分子について20～、50～、100～、500～、1000～、5,000～、10,000～倍以上のKDを有する。

#### 【0077】

さらに、特定の抗原又はエпитープに対する特異的結合は、例えば、コントロールに対するエпитープについて少なくとも20～、50～、100～、500～、1000～、5,000～、10,000～倍以上の抗原又はエпитープに対するKA又はKaを有する抗体により示され得、ここで、KA又はKaは、特定の抗体 - 抗原相互作用の結合 (association) 速度を意味する。

10

#### 【0078】

##### 抗体修飾

本発明は、さらに変異抗体も提供する。すなわち、本発明の抗体は多数の修飾がなされてよく、これには、CDRにおけるアミノ酸修飾 (親和性成熟)、Fc領域におけるアミノ酸修飾、グリコシル化変異体、他のタイプの共有結合修飾などが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0079】

本明細書において「変異体」とは、少なくとも1つのアミノ酸修飾によって親ポリペプチドのものと異なるポリペプチド配列を意味する。アミノ酸修飾には、置換、挿入、及び欠失が含まれてよく、多くの場合、前者が好ましい。

20

#### 【0080】

一般に、本明細書に記載するとおり、タンパク質の機能が依然として存在する限り、変異体には任意数の修飾が含まれてよい。すなわち、Ab79又はAb19のいずれかのCDRで作製されたアミノ酸変異体の場合、例えば、抗体は、ヒト及びカニクイザルCD38の両方に依然として、特異的に結合すべきである。同様に、アミノ酸変異体が、Fc領域で作製された場合、例えば、変異抗体は、抗体の特定の適用又は適応のため、必要なレセプター結合機能を保持すべきである。

#### 【0081】

しかしながら、一般に、多くの場合、そのゴールは最小数の修飾で機能を変更することであるので、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10個のアミノ酸置換が通常利用される。いくつかの場合において、1～5個修飾が存在し、多くの実施態様においては、1～2、1～3、及び1～4個の修飾の使用も認められる。

30

#### 【0082】

アミノ酸修飾の数は、機能的ドメインの範囲内であってよいことに留意すべきである：例えば、野生型又は改変タンパク質のFc領域では1～5個の修飾、例えばFv領域では1～5個の修飾を有することが望ましい場合がある。変異ポリペプチド配列は、親配列 (例えば、Ab79及び/又はAb19の可変領域、定常領域、並びに/又は重鎖及び軽鎖配列など) と少なくとも約80%、85%、90%、95%又は最大で98若しくは99%の同一性を有することが好ましい。配列サイズにもよるが、同一性の割合は、アミノ酸の数によって決まることに留意すべきである。

40

#### 【0083】

本明細書において「アミノ酸置換」又は「置換」とは、親ポリペプチド配列の特定の位置のアミノ酸を別のアミノ酸と交換することを意味する。例えば、置換S100Aとは、100位のセリンをアラニンと交換した変異ポリペプチドをいう。本明細書で使用する場合、「アミノ酸挿入」又は「挿入」とは、親ポリペプチド配列の特定の位置のアミノ酸の追加を意味する。本明細書で使用する場合に、「アミノ酸欠失」又は「欠失」とは、親ポリペプチド配列における特定の位置のアミノ酸の除去を意味する。

#### 【0084】

本明細書で使用する場合、「親ポリペプチド」、「親タンパク質」、「前駆体ポリペ

50

チド」又は「前駆体タンパク質」とは、変異体を作製するためにその後修飾される、非修飾のポリペプチドを意味する。通常、本明細書における親ポリペプチドはA b 7 9 及びA b 1 9 である。親ポリペプチドは、ポリペプチド自体、親ポリペプチドを含む組成物、又はそれをコードするアミノ酸配列をいうこともある。従って、本明細書で使用する場合、「親F c ポリペプチド」とは、変異体を作製するために修飾されるF c ポリペプチドを意味し、本明細書で使用する場合、「親抗体」とは、変異抗体を作製するために修飾される抗体を意味する。

【0085】

本明細書において「野生型」又は「WT」又は「天然」とは、アレル変異を含む、天然で発見されるアミノ酸配列又はヌクレオチド配列を意味する。WTタンパク質、ポリペプチド、抗体、免疫グロブリン、IgGなどは、意図的に修飾されていないアミノ酸配列又はヌクレオチド配列を有する。

10

【0086】

本明細書において「変異F c 領域」とは、少なくとも1つのアミノ酸修飾によって、野生型F c 配列のものとは異なるF c 配列を意味する。F c 変異体は、F c ポリペプチド自体、F c 変異体ポリペプチドを含む組成物、又はアミノ酸配列をいうこともある。

【0087】

いくつかの実施態様において、1つ以上のアミノ酸修飾が、抗体(A b 7 9 又はA b 1 9 のいずれか)の1つ以上のCDRにおいてなされる。一般に、1又は2又は3個のアミノ酸のみが、いずれかの単一のCDRにおいて置換され、通常は4から、5、6、7、8、9又は10個以上の変化はCDRのセット内ではなされない。しかしながら、任意のCDRにおいて、置換されないか、1個、2個又は3個の置換のいずれかの組合せが、任意の他の置換と、独立して任意選択で組み合わせられ得る。

20

【0088】

いくつかの場合において、CDRにおけるアミノ酸修飾は、「親和性成熟」と称される。「親和性成熟された」抗体は、1つ以上のCDRにおいて1つ以上の変更を有するものであり、その結果、これらの変更を有さない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性が改善される。いくつかの場合において、稀ではあるが、その抗原に対する抗体の親和性を低下させることが望ましい場合があるが、通常、これは好ましくない。

【0089】

30

親和性成熟は、「親」抗体と比較して、少なくとも約10%~50~100~150%以上、又は1~5倍、抗原に対する抗体の結合親和性を増加させるためになされ得る。好ましい親和性成熟抗体は、標的抗原に対して、ナノモル、又はさらにはピコモル親和性を有する。親和性成熟抗体は、既知の手順により製造される。例えば、重鎖可変(VH)ドメイン及び軽鎖可変(VL)ドメインシャッフリングによる親和性成熟を記載したMarks et al., 1992, Biotechnology 10:779-783を参照されたい。CDR及び/又はフレームワーク残基のランダム変異導入法は、以下に記載される:例えば、Barbas, et al., 1994, Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813; Shier et al., 1995, Gene 169:147-155; Yelton et al., 1995, J. Immunol. 155:1994-2004; Jackson et al., 1995, J. Immunol. 154(7):3310-9; 及びHawkins et al., 1992, J. Mol. Biol. 226:889-896など。

40

【0090】

あるいは、アミノ酸修飾は、「サイレント」である、例えば、抗原に対する抗体の親和性を有意に変更しない、本発明の抗体の1つ以上のCDRでなされ得る。これらは、発現を最適化する(本発明の抗体をコードする核酸についてなし得る)ことを含む様々な理由でなされ得る。

【0091】

従って、変異CDR及び抗体は、本発明のCDR及び抗体の定義内に含まれる; すなわ

50

ち、本発明の抗体は、A b 7 9 及び A b 1 9 の 1 つ以上の C D R において、アミノ酸修飾を含み得る。さらに、以下で概説するとおり、アミノ酸修飾は、C D R 外の任意の領域（フレームワーク及び定常領域を含む）において、独立して任意選択でなされ得る。

#### 【 0 0 9 2 】

いくつかの実施態様において、ヒト C D 3 8（配列番号 1）及びカニクイザル C D 3 8（配列番号 2）に対して特異的な、A b 7 9 及び A b 1 9 変異抗体を記載する。この抗体は 6 つの C D R からなり、ここで、この抗体の各 C D R は、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7 及び配列番号 8 と 0、1 又は 2 個のアミノ酸置換により異なり得る。他の実施態様において、変異抗 C D 3 8 抗体は、6 つの C D R からなり、ここで、この抗体の各 C D R は、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7 及び配列番号 1 8 と 0、1 又は 2 個のアミノ酸置換により異なり得る。

10

#### 【 0 0 9 3 】

いくつかの実施態様において、本発明の抗 C D 3 8 抗体は、変異 F c ドメインからなる。当分野で既知のとおり、抗体の F c 領域は、多数の F c レセプター及びリガンドと相互作用し、エフェクター機能と称される重要な機能的能力の数々を与える。これらの F c レセプターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：（ヒトにおける）アイソフォーム F c R I a、F c R I b 及び F c R I c を含む F c R I（C D 6 4）；アイソフォーム F c R I I a（アロタイプ H 1 3 1 及び R 1 3 1 を含む）、F c R I I b（F c R I I b - 1 及び F c R I I b - 2 を含む）及び F c R I I c を含む F c R I I（C D 3 2）；並びにアイソフォーム F c R I I I a（アロタイプ V 1 5 8 及び F 1 5 8 を含む、抗体依存性細胞傷害（A D C C）と関連する）及び F c R I I I b（アロタイプ F c R I I I b - N A 1 及び F c R I I I b - N A 2 を含む）を含む F c R I I I（C D 1 6）；F c R n（新生児型レセプター）、C 1 q（補体依存性細胞傷害（C D C）に關与する補体タンパク質）並びに F c R n（血清半減期に關与する新生児型レセプター）。適した修飾は、以下で一般に概説されるように、1 つ以上の位置でなされ得る：例えば、U S 特許出願 1 1 / 8 4 1 , 6 5 4 及びそこで引用される参考文献、U S 2 0 0 4 / 0 1 3 2 1 0、U S 2 0 0 5 / 0 0 5 4 8 3 2、U S 2 0 0 6 / 0 0 2 4 2 9 8、U S 2 0 0 6 / 0 1 2 1 0 3 2、U S 2 0 0 6 / 0 2 3 5 2 0 8、U S 2 0 0 7 / 0 1 4 8 1 7 0、U S S N 1 2 / 3 4 1 , 7 6 9、U S 特許 N o . 6 , 7 3 7 , 0 5 6、U S 特許 N o . 7 , 6 7 0 , 6 0 0、U S 特許 N o . 6 , 0 8 6 , 8 7 5（これらは全て、参照によりその全体が援用される）（特に、F c レセプターとの結合を増加させる特定のアミノ酸置換について）。

20

30

#### 【 0 0 9 4 】

上記で概説する修飾に加えて、他の修飾がなされ得る。例えば、分子は、V H ドメインと V L ドメインを連結するジスルフィド架橋の組込みにより安定化され得る（R e i t e r e t a l . , 1 9 9 6 , N a t u r e B i o t e c h . 1 4 : 1 2 3 9 - 1 2 4 5、参照によりその全体が援用される）。さらに、以下で概説するようになされ得る抗体の様々な共有結合修飾が存在する。

#### 【 0 0 9 5 】

抗体の共有結合修飾は、本発明の範囲内に含まれ、常にではないが通常は、翻訳後に行われる。例えば、選択された側鎖又は N 末端若しくは C 末端残基と反応可能な有機誘導体化剤を抗体の特定のアミノ酸残基と反応させることにより、複数のタイプの抗体共有結合修飾が分子に導入される。

40

#### 【 0 0 9 6 】

最も一般的には、システイニル残基が、クロロ酢酸又はクロロアセトアミドなどの - ハロアセテート（及び対応するアミン）と反応して、カルボキシメチル又はカルボキシアミドメチル誘導体を生成する。システイニル残基はまた、プロモトリフルオロアセトン、- プロモ - -（5 - イミドゾイル）プロピオン酸、クロロアセチルホスフェート、N - アルキルマレイミド、3 - ニトロ - 2 - ピリジルジスルフィド、メチル 2 - ピリジル

50

ジスルフィド、p - クロロメルクリベンゾアート、2 - クロロメルクリ - 4 - ニトロフェノール、又はクロロ - 7 - ニトロベンゾ - 2 - オキサ - 1 , 3 - ジアゾールなどとの反応により、誘導体化されてよい。

#### 【 0 0 9 7 】

ヒスチジル残基は、ジエチルピロカーボネートとp H 5 . 5 ~ 7 . 0 で反応させることにより誘導体化される。なぜなら、この薬剤は、ヒスチジル側鎖に対して比較的特異的だからである。パラ - ブロモフェナシルブロミドも有用である；反応は、p H 6 . 0 で0 . 1 M カコジル酸ナトリウム中で実施されることが好ましい。

#### 【 0 0 9 8 】

リシニル ( l y s i n y l ) 及びアミノ末端残基は、コハク酸又は他のカルボン酸無水物と反応する。この薬剤を用いた誘導体化は、リジニル残基の電荷を逆転させる効果を有する。 - アミノ含有残基を誘導体化するために適した他の薬剤は、メチルピコリンイミデートなどのイミドエステル；ピリドキサルホスフェート；ピリドキサル；クロロポロヒドリド；トリニトロベンゼンスルホン酸；O - メチルイソウレア；2 , 4 - ペンタンジオン；及びグリオキシル酸とのアミノ基転移酵素触媒反応が挙げられる。

#### 【 0 0 9 9 】

アルギニル残基は、1 つ又は複数の従来の試薬との反応により修飾され、これらのなかには、フェニルグリオキサル、2 , 3 - ブタンジオン、1 , 2 - シクロヘキサンジオン、及びニンヒドリンがある。アルギニン残基の誘導体化は、グアニジン官能基の高いp K a により、反応がアルカリ条件で実施されることを必要とする。さらに、これらの試薬は、

#### 【 0 1 0 0 】

チロシル残基の特定の修飾は、チロシル残基にスペクトル標識を導入することに特に関心がある場合には、芳香族ジオゾニウム化合物又はテトラニトロメタンと反応させることによりなされてよい。最も一般的には、N - アセチルイミドゾール及びテトラニトロメタンを用いて、それぞれ、O - アセチルチロシル種及び3 - ニトロ誘導体を形成する。チロシル残基は、1 2 5 I 又は1 3 1 I を用いてヨウ素化して、ラジオイムノアッセイ、クロラミンT法（適しているとして上記に記載したもの）で使用するための標識されたタンパク質を調製する。

#### 【 0 1 0 1 】

カルボキシル側鎖基（アスパルチル又はグルタミル）は、カルボジイミド（ $R' - N = C = N - R$ ）〔式中、R 及びR ' は、任意選択で異なるアルキル基である〕との反応により選択的に修飾され、例えば、1 - シクロヘキシル - 3 - （2 - モルホリニル - 4 - エチル）カルボジイミド、1 - エチル - 3 - （4 - アゾニア - 4 , 4 - ジメチルペンチル）カルボジイミドなどである。さらに、アスパルチル及びグルタミル残基は、アンモニウムイオンとの反応によりアスパラギニル及びグルタミニル残基に変換される。

#### 【 0 1 0 2 】

二官能性剤を用いた誘導体化は、以下に記載の方法に加えて様々な方法で使用するため、水不溶性のサポートマトリックス又は表面への抗体の架橋に有用である。一般的に使用される架橋剤としては、例えば、1 , 1 - ビス（ジアゾアセチル） - 2 - フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N - ヒドロキシスクシンイミドエステル、例えば、4 - アジドサリチル酸とのエステル、ホモ二官能性イミドエステル（3 , 3 ' - ジチオビス（スクシンイミジルプロピオネート）などのジスクシンイミジルエステルを含む）及び二官能性マレイミド（ビス - N - マレイミド - 1 , 8 - オクタンなど）が挙げられる。メチル - 3 - [（p - アジドフェニル）ジチオ]プロピオイミデートなどの誘導体化剤は、光の存在下で架橋を形成できる光活性化可能（p h o t o a c t i v a t a b l e）な中間体を生成する。あるいは、サイノモルガソジェン（c y n o m o l g u s o g e n）プロミド活性炭水化物などの反応性水不溶性マトリックス及び反応性基質（U . S . 特許No . 3 , 9 6 9 , 2 8 7 ; 3 , 6 9 1 , 0 1 6 ; 4 , 1 9 5 , 1 2 8 ; 4 , 2 4 7 , 6 4 2 ; 4 , 2 2 9 , 5 3 7 ; 及び4 , 3 3 0 , 4 4 0（全て参照により援用される）に記載のもの）が

10

20

30

40

50

タンパク質固定化に用いられる。

#### 【0103】

グルタミル及びアスパラギニル残基は、それぞれ、対応するグルタミル及びアスパルチル残基に頻繁に脱アミノ化される。あるいは、これらの残基は、中程度の酸性条件下で脱アミド化される。これらの残基のいずれの形態も、本発明の範囲内に含まれる。

#### 【0104】

他の修飾として、プロリン及びリシンのヒドロキシル化、セリル又はスレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リシン、アルギニン及びヒスチジン側鎖の - アミノ基のメチル化 (T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79 - 86 [1983]、参照によりその全体が援用される)、N - 末端アミンのアセチル化、及びC末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

#### 【0105】

さらに、当業者に理解されるように、標識 (蛍光、酵素、磁気、放射性などを含む) は全て抗体 (及び本発明の他の組成物) に追加され得る。

#### 【0106】

##### グリコシル化

別のタイプの共有結合修飾は、グリコシル化での変更である。別の実施態様において、本明細書で開示する抗体は、1つ以上の改変糖型 (engineered glycoform) を含むよう修飾され得る。本明細書で使用される場合、「改変糖型」とは抗体と共有結合した炭水化物組成物を意味し、ここで、前記炭水化物組成物は、化学的に親抗体のものとは異なる。改変糖型は、エフェクター機能の増強又は低下を含む (これらに限定されない) 種々の目的のために有用であり得る。改変糖型の好ましい形態は、アフコシル化 (afucosylation) であり、これは、おそらくFc RIIIIaレセプターへの強固 (tighter) な結合を介して、ADCC機能の増加と関連することを示している。これに関連して、「アフコシル化」とは、宿主細胞で製造される抗体の大多数が、実質的にフコースを欠いていることを意味し、例えば、作製された抗体の90~95~98%が、抗体の炭水化物部分 (通常、Fc領域のN297で結合される) の成分として相当量 (appreciable) のフコースを有さないことを意味する。機能的に定義すると、アフコシル化抗体は、通常、Fc RIIIIaレセプターに対して、少なくとも50%以上の親和性を示す。

#### 【0107】

改変糖型は、当分野で既知の様々な方法で作製されてよい (Umana et al., 1999, *Nat Biotechnol* 17:176-180; Davies et al., 2001, *Biotechnol Bioeng* 74:288-294; Shields et al., 2002, *J Biol Chem* 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, *J Biol Chem* 278:3466-3473; US6,602,684; USSN10/277,370; USSN10/113,929; PCT WO00/61739A1; PCT WO01/29246A1; PCT WO02/31140A1; PCT WO02/30954A1 (全て参照によりその全体が援用される); (Potelligent (登録商標) 技術 [Biowa, Inc., Princeton, NJ]; GlycoMAb (登録商標) グリコシル化改変技術 [Glycart Biotechnology AG, Zurich, Switzerland])。これらの技術の多くが、Fc領域に共有結合するフコシル化及び/又は二分化 (bisecting) オリゴ糖のレベルを制御することに基づき、例えば、種々の生物又は細胞株 (改変されたか、そうではないもの)、例えば、Lec-13 CHO細胞又はラットハイブリドーマYB2/0細胞などでIgGを発現させること、グリコシル化経路に關与する酵素 (例えば、FUT8 [1,6-フコシルトランスフェラーゼ (1,6-fucosyltransferase)] 及び/

10

20

30

40

50

又は 1 - 4 - N - アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ I I I [ G n T I I I ] ) を制御すること、又は I g G を発現させた後に 1 つ以上の炭水化物を修飾することなどによる。例えば、「糖改変抗体 ( sugar engineered antibody )」又は Seattle Genetics の「SEA 技術」は、製造の間にフコシル化を阻害する修飾されたサッカリドを添加することにより機能する；例えば、20090317869 を参照されたい ( 参照によりその全体が援用される )。改変糖型は、典型的には、異なる炭水化物又はオリゴ糖を意味し、従って、抗体は、改変糖型を含み得る。

#### 【 0 1 0 8 】

あるいは、改変糖型は、異なる炭水化物又はオリゴ糖を含む I g G 変異体を意味してもよい。当分野で既知のとおり、グリコシル化パターンは、タンパク質の配列 ( 例えば、以下に記載する特定のグリコシル化アミノ酸残基の有無 )、又はタンパク質が製造される宿主細胞若しくは生物の両方によって決まり得る。特定の発現系を以下に記載する。

#### 【 0 1 0 9 】

ポリペプチドのグリコシル化は、典型的には、N 結合型又は O 結合型のいずれかである。N 結合型とは、炭水化物部分がアスパラギン残基の側鎖に結合することを意味する。アスパラギン - X - セリン及びアスパラギン - X - スレオニンのトリペプチド配列 ( ここで、X はプロリン以外の任意のアミノ酸である ) は、炭水化物部分のアスパラギン側鎖への酵素結合に対する認識配列である。従って、ポリペプチドにこれらのトリペプチド配列のいずれかが存在することにより、潜在的グリコシル化部位が形成される。O 結合型グリコシル化とは、糖である N - アセチルガラクトサミン、ガラクトース又はキシロースの 1 つの、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリン又はトレオニンへの結合を意味するが、5 - ヒドロキシプロリン又は 5 - ヒドロキシリシンを使用してもよい。

#### 【 0 1 1 0 】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、上記トリペプチド配列の 1 つ以上を含むようにアミノ酸配列を変更 ( alteration ) することにより都合よく達成される ( N 結合型グリコシル化部位について )。変更は、1 つ以上のセリン又はスレオニン残基の出発配列への付加、又はそれによる置換によりなされてもよい ( O 結合型グリコシル化部位について )。容易にするために、抗体アミノ酸配列は、DNA レベルでの変化を介して好ましくは変更され、特に、所望のアミノ酸に翻訳されるコドンが作製されるように、予め選択した塩基で標的ポリペプチドをコードする DNA を変異させることによる。

#### 【 0 1 1 1 】

抗体上の炭水化物部分の数を増加させる別の手段は、化学的又は酵素的にグリコシドをタンパク質に結合させることによる。これらの手順は、N 結合型及び O 結合型グリコシル化に関するグリコシル化能力を有する宿主細胞でのタンパク質製造を必要としないという点において有利である。使用される結合様式によって、1 つ以上の糖が以下に結合されてよい：( a ) アルギニン及びヒスチジン、( b ) 遊離カルボキシル基、( c ) 遊離スルフィドリル基 ( システインのものなど )、( d ) 遊離ヒドロキシル基 ( セリン、スレオニン、ヒドロキシプロリンのものなど )、( e ) 芳香族残基 ( フェニルアラニン、チロシン、トリプトファンのものなど )、又は ( f ) グルタミンのアミド基。これらの方法は、WO 87 / 05330 及び Applin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259 - 306 に記載されており、これらはともに参照によりその全体が援用される。

#### 【 0 1 1 2 】

出発抗体に存在する炭水化物部分の除去 ( 例えば、翻訳後 ) は、化学的又は酵素的に達成されてよい。化学的な脱グリコシル化は、化合物トリフルオロメタンスルホン酸又は同等の化合物へのタンパク質の暴露を必要とする。この処理により、結合する糖 ( N - アセチルグルコサミン又は N - アセチルガラクトサミン ) を除く、大部分又は全ての糖が切断される一方で、ポリペプチドは無傷のままである。化学的脱グリコシル化は、Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259 : 52 及び Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118

10

20

30

40

50

: 131に記載されており、これらはともに参照によりその全体が援用される。ポリペプチド上の炭水化物部分の酵素的切断は、Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138: 350 (参照によりその全体が援用される)に記載されるとおり、様々なエンド及びエキソ-グリコシダーゼを使用することにより達成できる。潜在的グリコシル化部位でのグリコシル化は、Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257: 3105 (参照によりその全体が援用される)に記載されるとおり、化合物ツニカマイシンの使用により妨げられ得る。ツニカマイシンは、タンパク質-N-グリコシド結合の形成を阻害する。

#### 【0113】

抗体の共有結合修飾の別のタイプは、様々な非タンパク性ポリマーと抗体との結合を含み、当該ポリマーとしては、例えば、Nektar Therapeuticsの2005-2006PEGカタログ(Nektarウェブサイトから入手可能)、US特許No. 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192又は4,179,337(これらは全て参照によりその全体が援用される)に記載されるように、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレンなどの各種ポリオールが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、当分野で既知のとおり、アミノ酸置換は、PEGなどのポリマーの付加を容易にするために、抗体内の様々な位置で行われてよい。例えば、U.S.公報No. 2005/0114037A1(参照によりその全体が援用される)を参照されたい。

#### 【0114】

##### 特定のCDR及び可変領域の実施態様

本発明は、それぞれ特定のCDRセット(上記で概説するように、いくつかのアミノ酸置換を含む)を有する多数の抗体を提供する。上記で概説するように、抗体は、6つのCDRのセット、可変領域、又は全長の重鎖及び軽鎖(定常領域を含む)により定義される。さらに、上記で概説するように、アミノ酸置換がなされてもよい。一般に、CDR内の变化との関連で、アミノ酸修飾は、CDRの長さが比較的短いことに起因して、なされ得るアミノ酸修飾の数に関して通常記載される。これは、可変、定常又は全長配列に導入され得るアミノ酸修飾の数の議論にも適用できる一方、変化の数に加えて、「%同一性」に関してこれらの変化を定義することも適切である。従って、本明細書に記載されるように、本発明内に含まれる抗体は、本明細書に列挙した配列番号と80、85、90、95、98又は99%同一である。

#### 【0115】

Ab79抗体の関連で、CDRのセットは以下のとおりである: 重鎖の3つのCDRは、HC DR1配列番号3(HC DR1)、配列番号4(HC DR2)及び配列番号5(HC DR3)を含み、かつ軽鎖の3つのCDRは、配列番号6(LC DR1)、配列番号7(LC DR2)及び配列番号8(LC DR3)を含む。

#### 【0116】

Ab19の関連で、CDRのセットは以下のとおりである: HC DR1(配列番号13)、HC DR2(配列番号14)及びHC DR3(配列番号15)、並びにLC DR1(配列番号16)、LC DR2(配列番号17)及びLC DR3(配列番号18)。

#### 【0117】

本発明から特に排除される抗体は、配列番号24及び25(ベンチマーク1の重鎖及び軽鎖)並びに配列番号26及び27(ベンチマーク2の重鎖及び軽鎖)のものである。これらの抗体は、下記のカニクイザルCD38と交差反応しないことに留意すべきである。

#### 【0118】

本発明の抗体は、ヒト及びカニクイザルCD38と交差反応し、従って種交差反応性抗体(species cross-reactive antibody)である。「種交差反応性抗体」とは、第一の哺乳動物種由来の抗原に対する結合親和性とほぼ同一の、第二の哺乳動物種由来のその抗原のホモログに対する結合親和性を有する抗体である。種交差反応性は、例えば、第一の哺乳動物種の抗原に対する抗体のKDを、第二の哺乳動物

種のその抗原ホモログに対する同一抗体のK Dで割った比率として表すことができ、当該比率は、1 . 1、1 . 2、1 . 3、1 . 4、1 . 5、2、5、10、15、最大で20である。あるいは又はさらに、抗体は、第二の種に投与されて治療又は診断効果を示す場合に、「種交差反応性」である。従って、本ケースでは、本発明の抗体は、カクニイザルC D 3 8と交差反応性であり、カニクイザル霊長類に投与されて前臨床効果を示し、従って、交差反応性と考えられる。

#### 【0119】

いくつかの実施態様において、ヒトC D 3 8及び/又はカニクイザルC D 3 8との結合に対して、本発明の抗体(例えば、A b 7 9及び/又はA b 1 9)と競合する抗体を提供するが、これには、B M 1又はB M 2のいずれも含まれない。2つ以上の抗C D 3 8抗体によるC D 3 8又はC D 3 8の一部との結合の競合は、当分野で既知の任意の適した技術により決定されてよい。

#### 【0120】

本発明の関連で競合とは、試験化合物の存在下、本発明の抗体(例えば、A b 7 9又はA b 1 9)が、例えばC D 3 8などの特定の結合パートナーと結合する性向を、検出可能に有意に減少させることをいう。典型的には、競合とは、E L I S AやB i a c o r e(登録商標)アッセイなどの標準的な技術により測定されるように、競合物質の存在下、本発明の抗体がC D 3 8と結合するのを少なくとも約10~100%減少させることを意味する。従って、例えば、競合についての基準を、少なくとも約10%の相対的阻害が検出される;少なくとも約15%の相対的阻害が検出される;又は、少なくとも約20%の相対的阻害が検出された後、抗体は十分に競合すると考えられる、と設定することが可能である。競合抗体の属するエピトープが抗原中に近接して位置する場合、競合は、C D 3 8結合の約40%超の相対的阻害により特徴付けられてよい(例えば、少なくとも約45%阻害、例えば少なくとも約50%阻害、例えば少なくとも約55%阻害、例えば少なくとも約60%阻害、例えば少なくとも約65%阻害、例えば少なくとも約70%阻害、例えば少なくとも約75%阻害、例えば少なくとも約80%阻害、例えば少なくとも約85%阻害、例えば少なくとも約90%阻害、例えば少なくとも約95%阻害、又はそれより高いレベルの相対的阻害)。

#### 【0121】

いくつかの場合において、競合的結合アッセイの1つ以上の成分が、診断的適用の関連で、以下に記載するように標識される。

#### 【0122】

競合は、2以上のC D 3 8エピトープについて、及び/又はC D 3 8の一部について、抗C D 3 8抗体間で存在してもよい場合もあり、例えば、C D 3 8の特定の領域の抗体結合特性がその断片中に保持される場合、例えば、様々な試験断片に位置するうまく提示された(well-presented)直線状エピトープ、又は十分に大きなC D 3 8断片及びC D 3 8で提示される立体構造エピトープの場合などである。

#### 【0123】

競合の評価は、典型的には、本発明の抗体、C D 3 8(ヒト若しくはカニクイザルのいずれか、又は両方)、及び試験分子を用いて、相対的阻害結合を評価することを伴う。試験分子としては任意の分子が挙げられ、他の抗体、低分子、ペプチドなどが挙げられる。化合物は、他に存在する分子に対する、問題となる分子の選択性及び/又は特異性に関する情報が比較により与えられるのに十分な量で混合される。

#### 【0124】

試験化合物、C D 3 8及び本発明の抗体の量は変更されてよい。例えば、E L I S A評価のためには、約5~50µg(例えば、約10~50µg、約20~50µg、約5~20µg、約10~20µgなど)の抗C D 3 8抗体及び/又はC D 3 8標的が、競合が存在するかを評価するために必要である。条件は、結合に適するべきでもある。典型的には、生理学的又はほぼ生理学的条件(例えば、約20~40の温度、pH=約7~8など)が、抗C D 3 8:C D 3 8結合に適する。

## 【 0 1 2 5 】

多くの場合、競合は、E L I S A 及び / 又は F A C S 分析により決定されるように、約 5 % よりもかなり高い相対的阻害により特徴づけられる。特定の状況 (例えば、C D 3 8 に結合する別のペプチド又は分子 (例えば、C D 3 8 の天然の結合パートナー、例えば、C D 3 1 抗原とも称される C D 3 1、E n d o C A M、G P I I A、P E C A M - 1、血小板 / 内皮細胞接着分子、天然に存在する抗 C D 3 8 抗体など) の結合を阻害するという目的の機能を有するよう設計された新規抗体について、競合アッセイを用いて選択又はスクリーニングする場合) では、競合に適したレベルの基準 / 決定因子として、より高い相対的阻害の閾値を設定することが望ましい場合がある。

## 【 0 1 2 6 】

いくつかの実施態様において、本発明の抗 C D 3 8 抗体は、C D 3 8 の 1 つ以上の残基又は領域と特異的に結合するが、C D 3 8 と相同性を有する他のタンパク質、例えば、B S T - 1 (骨髄間質細胞抗原 - 1)、M o 5 (C D 1 5 7 と称される) などと交差反応しないものである。

## 【 0 1 2 7 】

典型的には、交差反応性の欠如は、適切なアッセイ条件下、十分量の分子を用いた E L I S A 及び / 又は F A C S 分析により評価される場合、分子間の相対的競合阻害が約 5 % 未満であることを意味する。

## 【 0 1 2 8 】

C D 3 8 活性の阻害

開示する抗体は、リガンド - レセプター相互作用のブロック、又はレセプターコンポーネント相互作用の阻害での使用が見出され得る。本発明の抗 C D 3 8 は、「遮断 (b l o c k i n g)」又は「中和」するものであってよい。「中和抗体」は、C D 3 8 への結合により、C D 3 8 の生物活性、例えば、リガンドと相互作用する能力、酵素活性、シグナリング能力、及び特に活性化リンパ球を生じさせる能力を阻害する抗体を意味することが意図される。C D 3 8 の生物活性の阻害は、当分野で既知の複数の標準的 i n v i t r o 又は i n v i v o アッセイの 1 つ以上により評価され得る (以下の実施例を参照されたい)。

## 【 0 1 2 9 】

「結合を阻害する」又は「結合を遮断する」(例えば、C D 3 8 結合パートナーと C D 3 8 との結合の阻害 / 遮断について言及する場合) には、部分的及び完全な阻害 / 遮断の両方が包含される。C D 3 8 結合パートナーと C D 3 8 との結合の阻害 / 遮断は、阻害又は遮断されることなく C D 3 8 結合パートナーが C D 3 8 と結合した場合に生じる細胞シグナリングの正常なレベル又はタイプを低下又は変更してもよい。阻害及び遮断はまた、抗 C D 3 8 抗体と接触しないリガンドと比較して、抗 C D 3 8 抗体と接触させた場合の C D 3 8 結合パートナーと C D 3 8 との結合親和性が、測定可能に減少することを含むことが意図され、例えば、C D 3 8 結合パートナーと C D 3 8 との結合が、少なくとも約 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 9 % 又は 1 0 0 % 遮断されることなどである。

## 【 0 1 3 0 】

開示する抗 C D 3 8 抗体はまた、細胞増殖を阻害してもよい。「増殖を阻害する」とは、抗 C D 3 8 抗体と接触しない細胞の増殖と比較して、抗 C D 3 8 抗体と接触した場合の同一の細胞の増殖が、測定可能に減少することを含み、例えば、細胞培養物の増殖が少なくとも約 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 9 % 又は 1 0 0 % 阻害されることなどである。

## 【 0 1 3 1 】

いくつかの実施態様において、開示する抗 C D 3 8 抗体は、活性化リンパ球及び形質細胞を枯渇することができる。この文脈での「枯渇」とは、未処理の動物と比較した場合に、活性化リンパ球及び / 又は形質細胞の血清レベル (例えば、カニクイザル (c y a n m o n k e y) で試験する場合) での測定可能な減少を意味する。一般に、少なくとも約

10

20

30

40

50

10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、99%又は100%の枯渇が見られる。さらに、下記実施例で示すとおり、本発明の抗体が示す特定の利点の一つは、投与後にこれらの細胞が復元可能なことである；すなわち、いくつかの治療で知られるように（例えば、抗CD20抗体を用いた場合など）、細胞枯渇が長期間継続すると、所望しない副作用が生じ得る。本明細書で示すように、活性化リンパ球及び/又は形質細胞の効果は復元可能である。

#### 【0132】

##### 本発明の抗体の製造方法

本発明は、開示する抗CD38抗体の製造方法をさらに提供する。これらの方法は、本発明の抗体をコードする、1つ以上の単離された核酸を含む宿主細胞を培養する工程を含む。当業者に理解されるように、これは、抗体の特性に応じて、様々な方法で実施され得る。いくつかの実施態様において、本発明の抗体が全長の従来の抗体である場合、例えば、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域である場合には、例えば、抗体が製造され、単離可能な条件下で実施される。

#### 【0133】

一般に、本発明の抗体をコードする核酸を提供する。このようなポリヌクレオチドは、重鎖及び軽鎖それぞれの可変領域及び定常領域の両方をコードするものであるが、本明細書に記載の組成物に従って、他の組合せも本発明により企図される。本発明は、開示するポリヌクレオチド由来のオリゴヌクレオチド断片、及びこれらのポリヌクレオチドと相補的な核酸配列も企図する。

#### 【0134】

ポリヌクレオチドはRNAの形態であってもDNAの形態であってもよい。DNA、cDNA、ゲノムDNA、核酸アナログ及び合成DNAの形態であるポリヌクレオチドは、本発明の範囲内である。DNAは二本鎖であっても一本鎖であってもよく、一本鎖の場合には、コーディング（センス）鎖又は非コーディング（アンチセンス）鎖であってもよい。ポリペプチドをコードするコーディング配列は、本明細書で提供するコーディング配列と同一であってもよく、又は異なるコーディング配列であっても、遺伝コードの冗長性又は縮重の結果として、本明細書で提供するDNAと同一のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

#### 【0135】

いくつかの実施態様において、本発明の抗体をコードする1つ以上の核酸は、発現ベクターに組み込まれ、当該発現ベクターは、導入される宿主細胞の染色体外であるか、又はそのゲノム中にインテグレートされるよう設計され得る。発現ベクターは、任意数の適切な制御配列（転写及び翻訳調節配列、プロモーター、リボソーム結合部位、エンハンサー、複製起点などが挙げられるが、これらに限定されない）又は他の要素（選択遺伝子など）を含むことができ、これらは全て、当分野でよく知られるように操作可能に連結される。いくつかの場合、2つの核酸を用いて、それぞれを異なる発現ベクターに入れるか（例えば、第一の発現ベクターに重鎖、第二の発現ベクターに軽鎖）、あるいはそれらを同一の発現ベクターに入れることができる。制御配列の選択を含む、1つ以上の発現ベクターの設計は、宿主細胞の選択、所望するタンパク質の発現レベルなどの因子によって決まり得ることが当業者に理解されるだろう。

#### 【0136】

一般に、選択される宿主細胞に適した任意の方法（例えば、トランスフォーメーション、トランスフェクション、エレクトロポレーション、インフェクションなど）を用いて、1つ以上の核酸が1つ以上の発現調節要素に操作可能に連結されるように（例えば、ベクターにおいて、細胞でのプロセスにより作出される構築物において、宿主細胞のゲノムにインテグレートされて）、核酸及び/又は発現に適した宿主細胞に導入され、組換え宿主細胞が作出される。得られた組換え宿主細胞は、発現に適した条件下（例えば、インデューサーの存在下、適した非ヒト動物中、適した塩、増殖因子、抗生物質、栄養補助剤などを添加した適した培地など）で維持でき、それによりコードされた1つ以上のポリペプチ

ドが製造される。いくつかの場合において、重鎖が1つの細胞で製造され、軽鎖が別の細胞で製造される。

#### 【0137】

発現のための宿主として利用可能な哺乳動物細胞株は当分野で既知であり、American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VAから入手可能な多くの不死化細胞株が含まれ、これには、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、HEK 293細胞、NSO細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎臓 (BHK) 細胞、サル腎臓細胞 (COS)、ヒト肝細胞ガン細胞 (例えば、Hep G2)、及び多数の他の細胞株が挙げられるが、これらに限定されない。細菌、酵母、昆虫及び植物を含む (これらに限定されない) 非哺乳動物細胞を用いて、組換え抗体を発現させることもできる。いくつかの実施態様において、抗体は、ウシやニワトリなどのトランスジェニック動物において製造することができる。

10

#### 【0138】

抗体分子生物学、発現、精製及びスクリーニングの一般的な方法は、例えば、Kontermann & Dubelにより編集されたAntibody Engineering, Springer, Heidelberg, 2001 and 2010 Hayhurst & Georgiou, 2001, Curr Opin Chem Biol 5:683-689; Maynard & Georgiou, 2000, Annu Rev Biomed Eng 2:339-76; 及びMorrison, S. (1985) Science 229:1202に記載される。

20

#### 【0139】

##### 適用及び適応

本発明の抗体が作製された場合には、CD38関連疾患の診断及びその治療を含む様々な適用での使用が見出される。

#### 【0140】

##### CD38関連病態

一つの側面において、本発明は、炎症性疾患及び免疫疾患と関連する病態を診断及び治療する方法を提供し、特に、活性化リンパ球と関連する疾患の診断及び治療方法を提供する。本明細書に示すように、CD38は、未成熟な造血細胞で発現し、成熟細胞で下方制御され、活性化リンパ球及び形質細胞において高レベルで再発現する。例えば、CD38の高発現は、活性化B細胞、形質細胞、活性化CD4+T細胞、活性化CD8+T細胞、NK細胞、NK T細胞、成熟樹状細胞 (DC) 及び活性化単球で見られる。

30

#### 【0141】

本発明の治療抗CD38抗体は、CD38陽性細胞と結合し、その結果、CDC及びADCC経路の両方を含む複数の作用メカニズムを介して、活性化リンパ球などのこれらの細胞を枯渇させる。

#### 【0142】

従って、本発明の抗体を用いて、疾患要素としてCD38発現の増加又はCD38発現細胞数の増加を示す任意の自己免疫疾患を治療してよい。これら疾患として、以下の疾患が挙げられるが、これらに限定されない：同種臍島移植片拒絶 (allogeneic islet graft rejection)、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性アジソン病、抗好中球細胞質抗体 (ANCA)、副腎の自己免疫疾患、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性心筋炎、自己免疫性好中球減少症、自己免疫性卵巣炎及び精巣炎、自己免疫性血小板減少症、自己免疫性蕁麻疹、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、真菌ミオパチー、キャスルマン症候群、セリアックスブルー皮膚炎、慢性疲労免疫機能障害症候群、慢性炎症性脱髄性多発性神経障害、チャージ-スト劳斯症候群、癬痕性類天疱瘡、CREST症候群、寒冷凝集素病、クローン病、皮膚筋炎、円板状狼瘡、本態性混合型寒冷グロブリン血症、第8因子欠乏症、線維筋痛-線維筋炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギランバレー、グッドパスチャー症候群、移植片対宿主病 (GVHD)、橋本甲状腺炎、血友病A、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑

40

50

病（ITP）、IgA腎症、IgM多発ニューロパシー、免疫介在性血小板減少症、若年性関節炎、川崎病、扁平苔癬、エリテマトーデス、メニエール病、混合性結合組織病、多発性硬化症、1型糖尿病、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、結節性多発性動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛、多発性筋炎及び皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー現象、ライター症候群、関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、固形臓器移植拒絶、スティッフマン症候群、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎／巨細胞性動脈炎、血栓性血小板減少性紫斑病、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、血管炎、例えば、疱疹状皮膚炎型血管炎（*dermatitis herpetiformis vasculitis*）、白斑、及びウェジナー肉芽腫症。

10

#### 【0143】

特定の使用は、いくつかの実施態様において、多数の疾患の診断及び／又は治療に使用するための本発明の抗体の使用であり、当該疾患としては、限定されないが自己免疫疾患が挙げられ、自己免疫疾患としては、全身性エリテマトーデス（SLE）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、潰瘍性大腸炎及び移植片対宿主病が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0144】

従って、例えば、高い形質細胞を示すSLE患者や、CD20に基づく治療に不応性を示すRA患者などの高い形質細胞量を有する患者を選択できる。

#### 【0145】

20

一つの側面において、本発明は、医薬上有効量の開示抗体を患者に投与する工程を含む、CD38を発現する細胞の増殖と関連する病態の治療法を提供する。ある実施態様において、病態はガンであり、特定の実施態様において、ガンは血液ガンである。他の特定の実施態様において、病態は、多発性骨髄腫、慢性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ性白血病、形質細胞白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、B-細胞リンパ腫又はバーキットリンパ腫である。

#### 【0146】

特定の病態は、CD38を発現する細胞と関連し、特定の病態は、細胞表面上のCD38の過剰発現、高密度発現又は上方制御された発現と関連することが当分野で既知である。細胞集団がCD38を発現するかどうかは、当分野で既知の方法、例えば、所与の集団において、CD38と特異的に結合する抗体により標識された細胞の割合をフローサイトメトリーにより決定する方法や、免疫組織化学アッセイなどにより決定でき、これは、診断的適用について以下で一般に記載するとおりである。例えば、CD38の発現が細胞の約10～30%で検出される細胞集団は、CD38に対して弱陽性（*weak positivity*）を有するとみなすことができ；CD38の発現が細胞の約30%超で検出される細胞集団は、CD38に対して明確に（*definite*）陽性であるとみなすことができるが（*Jackson et al. (1988), Clin. Exp. Immunol. 72: 351-356*で示すとおり）、とはいえ他の基準を用いて、細胞集団がCD38を発現するかを決定できる。細胞表面上の発現密度は、当分野で既知の方法、例えば、CD38と特異的に結合する抗体を用いて蛍光標識されている細胞の平均蛍光密度をフローサイトメトリーにより測定することなどにより、決定できる。

30

40

#### 【0147】

いくつかの実施態様において、本発明の組成物及び方法は、「血液ガン」などのガンに適用され、この用語は、血液形成組織の悪性新生物を意味し、白血病、リンパ腫及び多発性骨髄腫を包含する。CD38発現と関連する病態の非限定的な例として、以下を挙げることができるが、これらに限定されない：多発性骨髄腫（*Jackson et al. (1988), Clin. Exp. Immunol. 72: 351-356*）、B細胞慢性リンパ性白血病（B-CLL）（*Durig et al. (2002), Leukemia 16: 30-5; Morabito et al. (2001), Leukemia Research 25: 927-32; Marinov et al. (199*

50

3), Neoplasma 40(6):355-8;及びJelinek et al. (2001), Br. J. Haematol. 115:854-61)、急性リンパ芽球性白血病(Keyhani et al. (1999), Leukemia Research 24:153-9;及びMarinov et al. (1993), Neoplasma 40(6):355-8)、慢性骨髄性白血病(Marinov et al. (1993), Neoplasma 40(6):355-8)、急性骨髄性白血病(Keyhani et al. (1999), Leukemia Research 24:153-9)、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性(myelogenous又はmyeloid)白血病(CML)、急性骨髄性(myelogenous又はmyeloid)白血病(AML)、急性リンパ性白血病(ALL)、有毛細胞白血病(HCL)、骨髄異形成症候群(MDS)、又は急性期慢性骨髄性白血病(CML-BP)、及びこれらの白血病の全てのサブタイプ(当分野で公知の形態学的、組織化学的及び免疫学的技術により定義されるもの)。

10

#### 【0148】

「新生物」又は「新生物病態(neoplastic condition)」とは、正常なコントロールを失い、その結果1以上の症状(制御不能の増殖、分化の欠如、局所的な組織浸潤及び転移を含む)を生じることにより特徴づけられる、細胞増殖と関連する病態を意味する。

#### 【0149】

本発明のいくつかの実施態様において、血液ガンは、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、急性骨髄性白血病(AML)及び急性リンパ性白血病(ALL)からなる群から選択される。

20

#### 【0150】

さらに、CD38発現が、例えば、B細胞慢性リンパ性白血病(Durig et al. (2002), Leukemia 16:30-5;及びMorabito et al. (2001), Leukemia Research 25:927-32)及び急性骨髄性白血病(Keyhani et al. (1999), Leukemia Research 24:153-9)などの病態を有する患者に対する予後指標であることが当分野で既知である。

#### 【0151】

CLLは、西側諸国における成人の最も一般的は白血病である。CLLは、リンパ節や他のリンパ系組織に關与する、成熟した外観を有するリンパ球のクローン性増殖であり、骨髄への進行性浸潤を有し、末梢血での存在がみられる。B細胞型(B-CLL)が、大部分のケースの代表である。

30

#### 【0152】

##### B-CLL

B-CLLは、長年にわたり、持続的な形で骨髄及び末梢血に蓄積する反応不顕性の単クローン性B系細胞の進行性の増加により特徴付けられる難病である。CD38の発現は、B-CLLに対する独立した予後不良因子と考えられる。Hamblin et al., Blood 99:1023-9(2002)。

40

#### 【0153】

B-CLLの現在の標準的治療法は、一時的な緩和であり、細胞増殖抑制剤であるクロラムブシル又はフルダラピンを用いて主に実施される。再発した場合には、リツキシマブ(CD20に対するモノクローナル抗体)又はキャンパス(CD52に対するモノクローナル抗体)と組み合わせてフルダラピン、シクロホスファミドを用いる併用療法が多くの場合開始される。従って、B-CLLの治療に対して、未だ満たされていない重大な医学的ニーズが存在する。いくつかの実施態様において、開示する抗CD38抗体を用いたB-CLLの治療方法を提供する(かつ、以下で概説するように、これは、任意選択且つ独立して、上記薬物のいずれかを含む併用療法を用いて実施されてよい)。

#### 【0154】

50

B - C L L は、緩慢性と進行性の2つのサブタイプにより特徴付けられる。これらの臨床表現型は、免疫グロブリン重鎖可変領域 ( I g V H ) 遺伝子における体細胞突然変異の有無と相関する。本明細書で使用する場合、緩慢性 B - C L L とは、変異した I g V H 遺伝子を有し、且つ / 又は緩慢性 B - C L L と関連する1つ以上の臨床表現型を示す対象における障害を意味する。本明細書で使用する場合、進行性 B - C L L とは、変異していない I g V H 遺伝子を有し、且つ / 又は進行性 B - C L L と関連する1つ以上の臨床表現型を示す対象における障害を意味する。

#### 【 0 1 5 5 】

#### 多発性骨髄腫

多発性骨髄腫は、骨髄における形質細胞の新生増殖により特徴付けられる B 細胞系の悪性障害である。現在治療レジメンは、中等度の奏効率を示す。しかし、全体の生存率は横ばいでしかなく、平均生存期間はおおよそ3年である。従って、多発性骨髄腫の治療に対して、未だ満たされていない重大な医学的ニーズが存在する。いくつかの実施態様において、開示する抗 C D 3 8 抗体を用いた多発性骨髄腫の治療方法を提供する。

#### 【 0 1 5 6 】

C D 3 8 は、最終的に B 細胞に分化する形質細胞に高度に発現する。

#### 【 0 1 5 7 】

骨髄腫細胞の増殖は、様々な作用を引き起こし、これには、骨における溶解性病変 ( 穴 )、赤血球数の減少、異常タンパク質の産生 ( 腎臓、神経及び他の臓器へのダメージを伴う )、免疫系機能の低下及び血中カルシウムレベルの上昇 ( 高カルシウム血症 ) が挙げられる。

#### 【 0 1 5 8 】

現在の治療オプションには、化学療法、好ましくは、可能であれば自家幹細胞移植 ( A S C T ) と関連する化学療法が含まれる。

#### 【 0 1 5 9 】

#### 意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症及びくすぶり型多発性骨髄腫

いくつかの実施態様において、開示抗体を用いた単クローン性免疫グロブリン血症の治療方法を提供する。他の実施態様において、開示抗体を用いたくすぶり型多発性骨髄腫の治療方法を提供する。

#### 【 0 1 6 0 】

意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症 ( M G U S ) 及びくすぶり型多発性骨髄腫 ( S M M ) は、骨髄における単クローン性形質細胞増殖と、末端器官障害の欠如により特徴付けられる無症候性の前腫瘍性障害である。

#### 【 0 1 6 1 】

くすぶり型多発性骨髄腫 ( S M M ) は、症候性又は活動型多発性骨髄腫への高い進行リスクを有する、形質細胞の無症候性増殖障害である ( N . E n g l . J . M e d . 3 5 6 ( 2 5 ) : 2 5 8 2 - 2 5 9 0 ( 2 0 0 7 ) ) 。

#### 【 0 1 6 2 】

S M M を定義する国際コンセンサス基準が 2 0 0 3 年に採択され、当該基準は、患者が、 > 3 0 g / L の M タンパク質レベル、及び / 又は > 1 0 % の骨髄クローン性形質細胞を有することを必要とする ( B r . J . H a e m a t o l . 1 2 1 : 7 4 9 - 5 7 ( 2 0 0 3 ) ) 。患者は、骨病変又は症状を含む臓器又は関連組織の損傷を有してはならない ( B r . J . H a e m a t o l . 1 2 1 : 7 4 9 - 5 7 ( 2 0 0 3 ) ) 。

#### 【 0 1 6 3 】

最近の研究により、2つの S M M サブセットが同定されている： i ) 進行性疾患を有する患者及び i i ) 非進行性疾患を有する患者 ( B r . J . H a e m a t o l . 1 2 1 : 6 3 1 - 6 3 6 ( 2 0 0 3 ) ) 。 M G U S を定義する国際コンセンサス基準は、患者が、 < 3 0 g / L の M タンパク質レベル、 < 1 0 % の骨髄形質細胞、及び骨病変又は症状を含む臓器又は関連組織の損傷を有さないことを必要とする ( B r . J . H a e m a t o l . 1 2 1 : 7 4 9 - 5 7 ( 2 0 0 3 ) ) 。

10

20

30

40

50

## 【0164】

SMMは、末端器官障害が存在しないことから、意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症(MGUS)と類似する(N. Engl. J. Med. 356(25):2582-2590(2007))。しかしながら、臨床的には、SMMは、20年で活動型多発性骨髄腫又はアミロイドーシスに進行する可能性が遥かに高い(SMMでは78%の確率であるのに対し、MGUSでは21%)(N. Engl. J. Med. 356(25):2582-2590(2007))。

## 【0165】

In Vivo投与のための抗体組成物

本発明に従って使用される抗体の製剤は、任意選択で医薬上許容される担体、賦形剤又は安定化剤とともに、所望の純度を有する抗体を混合することにより保存のために凍結乾燥製剤又は水溶性の形態で調製される(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980])。許容される担体、賦形剤又は安定化剤は、実施される用量及び濃度において、レシipientに対して非毒性であり、リン酸、クエン酸及び他の有機酸などのバッファー；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；保存料(オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；ベンザルコニウムクロリド、ベンゼトニウムクロリド；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；アルキルパペン(メチル又はプロピルパラペンなど)；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾールなど)；低分子量(約10残基未満)ポリペプチド；タンパク質(血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリンなど)；親水性ポリマー(ポリビニルピロリドンなど)；アミノ酸(グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン又はリシンなど)；単糖、二糖及び他の炭水化物(グルコース、マンノース又はデキストリンを含む)；キレート化剤(EDTAなど)；糖類(スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなど)；塩形成カウンターイオン(ナトリウムなど)；金属錯体(例えば、Zn-タンパク質錯体)；及び/又は非イオン性界面活性剤(TWEEN(商標)、PLURONICS(商標)又はポリエチレングリコール(PEG)など)が挙げられる。

## 【0166】

本明細書における製剤は、治療されるべき特定の適応のために、必要に応じて2以上の活性化合物を含んでよく、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的な活性を有するものである。例えば、他の特異性を有する抗体を提供することが望ましいことがある。あるいは、又はさらに、組成物は、細胞毒性剤、サイトカイン、増殖阻害剤及び/又は低分子アンタゴニストを含んでよい。このような分子は、意図される目的のために有効な量で組み合わせて適切に存在する。

## 【0167】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術又は界面重合により、調製されたマイクロカプセル中に封入されてよく、例えば、コロイド状ドラッグデリバリーシステム(例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)又はマクロエマルジョンにおける、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ-(メチルメタクリレート)マイクロカプセルなどである。このような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に記載されている。

## 【0168】

In vivo投与のために使用されるべき製剤は、無菌であるか、ほぼ無菌に近いものであるべきである。これは、滅菌ろ過膜を介したろ過により容易に達成される。

## 【0169】

徐放性調製物を調製してよい。徐放性調製物の適した例としては、抗体を含む固形疎水性ポリマーの半透過性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは、例えば、フィルム

又はマイクロカプセルなどの成形品の形態である。徐放性調製物の例としては、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（２-ヒドロキシエチル-メタクリレート）又はポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（U.S.特許No. 3,773,919）、L-グルタミン酸とガンマエチル-L-グルタメートのコポリマー、非分解性エチレン-ビニルアセテート、分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、例えば、LUPRON DEPOSIT（商標）（乳酸-グリコール酸コポリマーとロイプロリドアセテートからなる注入可能なマイクロスフェア）、及びポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン-ビニルアセテート及び乳酸-グリコール酸などのポリマーは、100日間にわたって分子を放出することができるが、ある種のヒドロゲルは、より短い期間、タンパク質を放出する。

10

#### 【0170】

カプセル化された抗体が、長期間体内で保持される場合、37℃での湿気の曝露の結果、それらは変性又は凝集し得、結果として生物学的活性を喪失し、免疫原性の潜在的变化を引き起こす。合理的戦略として、関与するメカニズムに応じた安定化が考案され得る。例えば、凝集メカニズムが、チオ-ジスルフィド交換を介した分子内S-S結合形成であることを発見した場合には、スルフヒドリル残基を修飾し、酸性溶液から凍結乾燥し、含水量を調節し、適切な添加物をしようし、特定のポリマーマトリックス組成物を開発することにより、安定化が達成され得る。

#### 【0171】

投与様式

20

本発明の抗体及び化学療法剤は、既知の方法に従って対象に投与され、例えば、ボラスとして又は一定期間にわたる持続注入による静脈内投与、筋肉内、腹腔内、脳髄腔内（intracerebrospinal）、皮下、関節内、滑液内、クモ膜下腔内、経口、局所又は吸入による経路により患者に投与される。抗体の静脈内又は皮下投与が好ましい。

#### 【0172】

治療様式

本発明の方法において、治療は、疾患又は病態に対する正の治療応答（positive therapeutic response）を提供するために使用される。「正の治療応答」とは、疾患若しくは病態の改善、及び/又は疾患若しくは病態と関連する症状の改善を意図する。例えば、正の治療応答は、疾患における以下の改善の1つ以上を意味し得る：（1）新生細胞数の減少；（2）新生細胞死の増加；（3）新生細胞生存の阻害；（5）腫瘍増殖の阻害（すなわち、ある程度遅らせる、好ましくは停止）；（6）患者生存率の増加；及び（7）疾患又は病態と関連する1つ以上の症状のある程度の緩和。

30

#### 【0173】

任意の所与の疾患又は病態に対する正の治療応答は、その疾患又は病態に特異的な標準化された応答基準により決定され得る。腫瘍応答は、スクリーニング技術、例えば、磁気共鳴画像（MRI）スキャン、X-放射線イメージング、コンピューター断層撮影（CT）スキャン、骨スキャンイメージング、内視鏡検査及び腫瘍生検サンプリング（骨髄穿刺（BMA）を含む）及び循環腫瘍細胞の計測などを用いて、腫瘍形態の変化（すなわち、全腫瘍組織量、腫瘍サイズなど）について評価できる。

40

#### 【0174】

これらの正の治療応答に加えて、治療を受ける対象は、疾患と関連する症状において、改善の有益な効果を受け得る。

#### 【0175】

従って、B細胞腫瘍について、対象は、いわゆるB症状、すなわち、盗汗、発熱、体重減少及び/又は蕁麻疹の低下を受け得る。前ガン状態について、抗CD38療法での治療は、例えば、意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症（MGUS）に罹患した対象における多発性骨髄腫の発症などの、関連する悪性疾患の発症までの期間を遮断及び/又は引き延ばし得る。

50

## 【 0 1 7 6 】

疾患の改善は、完全寛解として特徴付けられてよい。「完全寛解」とは、骨髄腫の場合には、なんらかの以前は異常であった放射線学的検査、骨髄、及び脳脊髄液（ＣＳＦ）又は異常な単クローン性タンパク質の正常化とともに、臨床的に検出可能な疾患がなくなることを意図する。

## 【 0 1 7 7 】

このような応答は、本発明の方法による治療後、少なくとも４～８週間、場合によっては６～８週間持続してよい。あるいは、疾患における改善は、部分寛解として分類されてよい。「部分寛解」とは、新たな病変の不在下で、全ての測定可能な腫瘍組織量（すなわち、対象に存在する悪性細胞数、又は測定される腫瘍塊の大部分又は異常な単クローン性タンパク質の量）が少なくとも約５０％減少し、それが４～８週間又は６～８週間持続し得ることを意図する。

10

## 【 0 1 7 8 】

本発明の治療は、「治療上有効量」の使用される医薬を含む。「治療上有効量」とは、必要な用量及び期間で、所望の治療結果を達成するのに有効な量をいう。

## 【 0 1 7 9 】

治療上有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別及び体重や、個体において所望の反応を導く医薬の能力などの要因によって変動し得る。治療上有効量はまた、抗体又は抗体部分の毒性又は有害作用のいずれかより治療上有益な効果が上回るものである。

## 【 0 1 8 0 】

腫瘍療法における「治療上有効量」は、疾患の進行を一定に保つ能力により測定されてよい。ガンを阻害する化合物の能力は、ヒト腫瘍における有効性を予測する動物モデル系で評価されてよい。

20

## 【 0 1 8 1 】

あるいは、組成物のこの特性は、当業者に既知の *in vitro* アッセイにより、化合物が細胞増殖を阻害する能力又はアポトーシスを誘導する能力を調べることにより評価されてよい。治療化合物の治療上有効量は、腫瘍サイズを減少させるか、あるいは対象における症状を改善し得る。当業者であれば、対象のサイズ、対象の症状の重篤度、及び特定の組成物又は選択される投与経路などの因子に基づいて、このような量を決定できるだろう。

30

## 【 0 1 8 2 】

用量レジメンは、最適な所望の反応（例えば、治療応答）を提供するために調整される。例えば、単回ボラスを投与してよく、複数の分割量を時間をかけて投与してよく、又は用量を比例的に減少又は増加（危急的治療状況により示されるとおり）させてもよい。非経口組成物は、投与を容易にするために、また投薬量を一様にするために、投薬単位形態に製剤化してもよい。本明細書で使用する場合、投薬単位形態（*dosage unit form*）とは、治療されるべき対象のために単一用量として適切な、物理的に別個の単位を意味し、各単位は、必要な医薬担体と関連して所望の治療効果を生じるよう計算された、予め決められた量の活性化合物を含む。

## 【 0 1 8 3 】

本発明の投薬単位形態についての規格は、（a）活性化合物に特有の特性及び達成されるべき特定の治療効果、並びに（b）個体における治療感受性（*treatment of sensitivity*）のために、そのような活性化合物を配合する当分野に固有の限界、により決定され、それらに直接依存する。

40

## 【 0 1 8 4 】

本発明で使用される抗CD38抗体についての有効量及び投薬レジメンは、治療されるべき疾患又は病態によって決まり、当業者により決定され得る。

## 【 0 1 8 5 】

本発明で使用される抗CD38抗体の治療上有効量についての非限定的な例示範囲は、約０．１～１００mg/kg、例えば約０．１～５０mg/kgなど、例えば約０．１～

50

20 mg / kg、例えば約 0.1 ~ 10 mg / kg、例えば約 0.5、例えば約 0.3、約 1、又は約 3 mg / kg などである。別の実施態様において、抗体は、1 mg / kg 以上の用量、例えば 1 ~ 20 mg / kg の用量、例えば 5 ~ 20 mg / kg の用量、例えば 8 mg / kg の用量で投与される。

#### 【0186】

当分野の通常の技術を有する医師であれば、必要な医薬組成物の有効量を容易に決定し、処方し得る。例えば、医師又は獣医は、所望の治療効果を達成するのに必要な量よりも低いレベルで、医薬組成物に用いられる医薬の用量をスタートし、所望の効果が達成されるまで徐々に用量を増加させることができる。

#### 【0187】

一実施態様において、抗 CD38 抗体は、1 週間の投与量が 10 ~ 500 mg / kg、例えば 200 ~ 400 mg / kg で注入により投与される。このような投与は、例えば、1 ~ 8 回 (3 ~ 5 回など)、反復してよい。投与は、2 ~ 24 時間、例えば 2 ~ 12 時間の期間に亘って持続注入により実施されてよい。

#### 【0188】

一実施態様において、毒性を含む副作用を低下させることが必要な場合には、抗 CD38 抗体は、24 時間超などの長期間に亘ったゆっくりした持続注入により投与される。

#### 【0189】

一実施態様において、抗 CD38 抗体は、1 週間の投与量が 250 mg ~ 2000 mg、例えば 300 mg、500 mg、700 mg、1000 mg、1500 mg 又は 2000 mg などで、最大 8 回、例えば 4 ~ 6 回など投与される。投与は、2 ~ 24 時間、例えば 2 ~ 12 時間などに亘る持続注入により実施されてよい。このようなレジメンは、例えば 6 ヶ月又は 12 ヶ月後に、必要に応じて 1 回以上反復されてよい。用量は、例えば、生物学的サンプルを取り出し、抗 CD38 抗体の抗原結合領域を標的とする抗イディオタイプ抗体を用いることにより、投与時の血中の本発明の化合物量を測定することにより決定されるか、又は調整されてよい。

#### 【0190】

さらなる実施態様において、抗 CD38 抗体は、2 ~ 12 週間、例えば 3 ~ 10 週間、例えば 4 ~ 8 週間、週に一回投与される。

#### 【0191】

一実施態様において、抗 CD38 抗体は、維持療法により投与され、これは、例えば、6 ヶ月以上の期間、週に一回投与される。

#### 【0192】

一実施態様において、抗 CD38 抗体は、抗 CD38 抗体の一回の注入とそれに続く放射性同位体結合抗 CD38 抗体の注入を含むレジメンにより投与される。レジメンは、例えば 7 ~ 9 日後などに反復されてよい。

#### 【0193】

本発明に従った治療は、非限定例として、単回又は分割量を 24、12、8、6、4 若しくは 2 時間ごとに又は任意の組合せで使用して、治療の開始後、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 又は 40 日目に少なくとも 1 回、あるいはまた 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 又は 20 週目に少なくとも 1 回、又はその任意の組合せで、一日当たり、約 0.1 ~ 100 mg / kg、例えば 0.5、0.9、1.0、1.1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、45、50、60、70、80、90 又は 100 mg / kg の抗体量を一日当たりの用量として提供してよい。

#### 【0194】

いくつかの実施態様において、その抗CD38抗体分子は、1つ以上の追加の治療剤、例えば化学療法剤と組み合わせて使用する。DNA損傷化学療法剤の非限定例として、トポイソメラーゼⅠ阻害剤（例えば、イリノテカン、トポテカン、カムトテシン及びそのアナログ又は代謝物、ドキシソルピシンなど）；トポイソメラーゼⅡ阻害剤（例えば、エトポシド、テニポシド、ダウノルビシンなど）；アルキル化剤（例えば、メルファラン、クロラムブシル、ブスルファン、チオテパ、イフォスファミド、カルムスチン、ロムスチン、セムスチン、ストレプトゾシン、デカルバジン、メトトレキサート、マイトマイシンC、シクロホスファミドなど）；DNAインターカレーター（例えば、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチンなど）；DNAインターカレーター及びフリーラジカルジェネレーター（ブレオマイシンなど）；及びヌクレオシド模倣物（例えば、5-フルオロウラシル、カペシチピン、ゲムシタピン、フルダラビン、シタラビン、メルカプトプリン、チオグアニン、ペントスタチン、ヒドロキシウレアなど）が挙げられる。

10

#### 【0195】

細胞複製を妨げる化学療法剤として、以下が挙げられる：パクリタキセル、ドセタキセル及び関連アナログ；ビンクリスチン、ビンブラスチン及び関連アナログ；サリドマイド、レナリドミド及び関連アナログ（例えば、CC-5013、CC-4047など）；タンパク質チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、イマチニブメシレート及びゲフィチニブ）；プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ）；NF- $\kappa$ B阻害剤（I $\kappa$ Bキナーゼの阻害剤を含む）；ガンで過剰発現するタンパク質と結合し、それにより細胞複製を下方制御する抗体（例えば、トラスツズマブ、リツキシマブ、セツキシマブ、ベバシズマブなど）；及びガンで上方制御、過剰発現又は活性化されることが既知のタンパク質又は酵素の他の阻害剤であって、その阻害が細胞複製を下方制御するもの。

20

#### 【0196】

いくつかの実施態様において、本発明の抗体は、ベルケイド（登録商標）（ボルテゾミブ）での治療前、同時、又は後に使用できる。

#### 【0197】

##### 診断用途

提供する抗CD38抗体は、CD38と関連する腫瘍又は自己免疫疾患病態の*in vitro*又は*in vivo*イメージングでの使用も見出される。いくつかの実施態様において、本明細書の記載の抗体は、診断及び治療のために使用され、又は診断のみに使用される。抗CD38抗体を診断と治療の両方に使用する場合には、いくつかの実施態様は、診断抗体が治療抗体との結合に競合しないように、2つの異なるエピトープに対する2つの異なる抗CD38抗体に依拠するが、とはいえ、いくつかの場合では同一の抗体を両方の目的のために使用できる。例えば、いくつかの例において、Ab19抗体を診断的（通常、以下に記載のように標識される）に使用し、一方でAb79を治療的に使用するが、逆もまた同様である。従って、本発明に含まれる組成物は、診断抗体と治療抗体を含むものであり、いくつかの実施態様においては、診断抗体は本明細書に記載のように標識される。さらに、治療抗体と診断抗体の組成物は、本明細書で概説するように、他の薬物と同時投与されてもよい。

30

#### 【0198】

多くの実施態様において、診断抗体は標識される。本明細書において「標識される」とは、本明細書に開示する抗体が、スクリーニング又は診断手順で検出できるよう結合される1つ以上の要素、アイソトープ又は化合物を有することを意味する。一般に、標識は複数のクラスに分類される：a)免疫標識（抗体により認識される融合パートナーとして組み込まれるエピトープであってよい）、b)同位体標識（放射性同位体又は重同位体であってよい）、c)低分子標識（蛍光及び比色（colorimetric）色素、又は他の標識方法を可能にするビオチンなどの分子を含んでよい）、及びd)粒子などの標識（超音波標識のためのバブルを含む）又は体内イメージングを可能にする常磁性標識。当分野で既知であるように、標識は任意の位置で抗体に組み込まれてよく、タンパク質発現の間に*in vitro*又は*in vivo*で組み込まれてよい。

40

50

## 【0199】

診断は、下記に記載するように体全体のイメージングを可能にする診断抗体の投与により *in vivo* で実施されることもでき、又は患者から取り出したサンプル上で *in vitro* で実施することもできる。この関連において、「サンプル」には、体液（血液、尿、血清、リンパ液、唾液、肛門及び膣分泌物、汗及び精液を含むがこれらに限定されない）、及び関連組織の生検から得られるものなどの組織サンプルを含む（これらに限定されない）、任意数の物を含む。

## 【0200】

いくつかの実施態様において、*in vivo* イメージングは、例えば、超音波、CT スキャン、X線、MRI 及び PET スキャン、並びに光学技術（体の表面に近い腫瘍について光学標識を用いるものなど）を含む（これらに限定されない）ものにより実施される。

10

## 【0201】

CD38 と関連する疾患の *in vivo* イメージングは、任意の適した技術により実施されてよい。例えば、 $^{99}\text{Tc}$ -標識、又は別の線放射同位体での標識を用いて、抗 CD38 抗体を標識してよい。この技術の変形例として、ガンマカメラ技術よりも画像を改善するために磁気共鳴映像法 (MRI) の使用が挙げられてよい。同様の免疫シンチグラフィ法及び原理は、例えば、Srivastava (ed.), Radiolabeled Monoclonal Antibodies For Imaging And Therapy (Plenum Press 1988), Chase, "Medical Applications of Radioisotopes", in Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Gennaro et al., (eds.), pp. 624-652 (Mack Publishing Co., 1990)、及び Brown, "Clinical Use of Monoclonal Antibodies", in Biotechnology And Pharmacy 227-49, Pezzuto et al., (eds.) (Chapman & Hall 1993) などに記載されている。

20

## 【0202】

一実施態様において、本発明は、抗 CD38 抗体が検出促進剤に結合され、結合抗体を血流に注入することなどにより宿主に投与して、宿主における標識抗体の存在及び位置を分析する、*in vivo* イメージング方法を提供する。この技術、及び本明細書で提供する任意の他の診断方法を介して、本発明は、ヒト患者、又はヒト患者から得られた生物学的サンプルにおける、疾患関連細胞の存在をスクリーニングする方法を提供する。

30

## 【0203】

診断イメージングについては、放射性同位体を抗 CD38 抗体に直接結合させるか、又は媒介となる (intermediary) 官能基を用いることにより間接的に結合させるかのいずれかであってよい。有用な媒介となる官能基としては、エチレンジアミンテトラ酢酸、ジエチレントリアミンペンタ酢酸などのキレーターが挙げられる（例えば、U.S. 特許 No. 5,057,313 を参照されたい）。放射性同位体に結合させた抗 CD38 抗体を伴うこのような診断アッセイにおいて、患者にデリバリーされる結合抗 CD38 抗体の用量は、典型的には、検出及び正確な測定を可能にする、最小限の半減期、最小限の体内保持及び最小限の同位体量の最もよい組み合わせについて同位体を選択することを通じて、可能な限り低いレベルで維持される。

40

## 【0204】

放射性同位体及び放射線不透過性剤に加えて、診断方法は、色素（例えば、ビオチン-ストレプトアジピン複合体など）、造影剤、蛍光化合物又は分子、及び増強剤（例えば、常磁性イオン）（磁気共鳴イメージング (MRI)）（例えば、MRI 技術、及び MRI 増強剤に結合する抗体の調製を記載した U.S. 特許 No. 6,331,175 など参照されたい）について）に結合させた抗 CD38 抗体を用いて実施してよい。このような診

50

断 / 検出剤は、磁気共鳴イメージングで使用するための剤、及び蛍光化合物から選択されてよい。

#### 【0205】

抗CD38抗体に放射性金属又は常磁性イオンを負荷するために、イオンを結合するための多様なキレート基が結合されたロングテールを有する試薬と、抗体とを反応させる必要があり得る。このようなテールは、ポリリシンや多糖などのポリマー、又はキレート基との結合が可能なペンダント基を有する他の誘導体化若しくは誘導可能な鎖、例えば、ポリフィリン、ポリアミン、クラウンエーテル、ビスチオセミカルバゾン、ポリオキシム、及びこの目的のために有用であることが既知の基などであってよい。

#### 【0206】

キレートは、標準化学を用いて抗CD38抗体に結合されてよい。キレートは、免疫反応性の最小限の喪失、及び最小限の凝集及び / 又は内部交差反応性を有する分子への結合形成を可能にする基により抗CD38抗体に通常は結合される。

#### 【0207】

潜在的に有用な金属キレート組み合わせの例として、2-ベンジル-DTPA及びそのモノメチル及びシクロヘキシルアナログが挙げられ、通常のエネルギ範囲である60~4,000keVの診断同位体、例えば、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{5}\text{O}$ 、 $^{76}\text{Br}$ など(ラジオイメージングについて)とともに使用される。

#### 【0208】

標識として、放射性核種、放射性物質造影剤、常磁性イオン、金属、蛍光標識、化学発光標識、超音波造影剤、光活性剤が挙げられる。このような診断剤は公知であり、このような公知の診断剤のいずれも使用してよい。診断剤の非限定的な例として、放射性核種、例えば、 $^{110}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{94}\text{mTc}$ 、 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99}\text{mTc}$ 、 $^{120}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{154-158}\text{Gd}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{51}\text{Mn}$ 、 $^{52}\text{mMn}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{72}\text{As}$ 、 $^{75}\text{Br}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 、 $^{82}\text{mRb}$ 、 $^{83}\text{Sr}$ 、又は他の -、 - 若しくは陽電子放射体などが挙げられてよい。

#### 【0209】

使用される常磁性イオンとして、クロム(III)、マンガン(II)、鉄(III)、鉄(II)、コバルト(II)、ニッケル(II)、銅(II)、ネオジム(III)、サマリウム(III)、イットルビウム(III)、ガドリニウム(III)、バナジウム(II)、テルビウム(III)、ジスプロシウム(III)、ホルミウム(III)又はエルビウム(III)を挙げてよい。金属造影剤として、ランタン(III)、金(III)、鉛(II)又はビスマス(III)を挙げてよい。

#### 【0210】

超音波造影剤は、リポソーム、例えばガス封入(filled)リポソームを含んでよい。放射線不透過性診断剤は、化合物、バリウム化合物、ガリウム化合物及びタリウム化合物から選択されてよい。

#### 【0211】

これらの及び同様のキレートは、マンガン、鉄、カドリニウムなどの非放射線金属と複合化させる場合に、抗CD38抗体に関連して、MRI診断方法に有用であり得る。NOTA、DOTA、TETAなどの大環状キレートは、様々な金属及び放射性金属で有用であり、とりわけ、それぞれ、ガリウム、イットリウム及び銅の放射性核種で有用である。このような金属キレート複合体は、対象となる金属に対する環のサイズを調節することにより非常に安定化させ得る。 $^{223}\text{Ra}$ などの核種との安定した結合について関心対象である大環状ポリエーテルなどの他の環系キレートも診断方法に適切であり得る。

#### 【0212】

従って、本発明は、診断抗CD38抗体結合体であって、抗CD38抗体結合体が造影

10

20

30

40

50

剤（例えば、磁気共鳴イメージング、コンピューター断層撮影法、超音波造影増強剤などのため）又は例えば、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、オージェ電子 $^{-}$ 、又は陽電子放出同位体などであってよい放射性核種に結合されている、結合体を提供する。

#### 【0213】

抗CD38抗体はまた、例えば、特定の細胞、組織又は血清における対象抗原の発現を検出するのに有用であり得る。診断的適用のために、抗体は典型的には、*in vitro* アッセイで検出可能な部分で標識される。当業者に理解されるように、*in vitro* 試験での使用に適した標識は広範囲にわたって存在する。本発明のこの側面での使用に適した色素（*dye*）としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：蛍光ランタニド複合体（ユーロピウム及びテルビウムを含む）、フルオレセイン、ローダミン、テトラムエチルローダミン、エオシン、エリスロシン、クマリン、メチル-クマリン、量子ドット（「ナノクリスタル」とも称される；U.S. Ser. No. 09/315,584を参照されたい（参照により援用される））、ピレン、マラカイトグリーン、スチルベン、ルシファアーイエロー、カスケードブルー（商標）、テキサスレッド、Cy色素（Cy3、Cy5など）、アレクサを含むアレクサ色素、フィコエリトリン、ボディピー及びMolecular Probes Handbook by Richard P. Hauglandの第6版に記載の他のもの（参照により本明細書に援用される）。

#### 【0214】

次いで、染色された組織は、腫瘍におけるCD38関連ペプチド量のインディケーターとして放射活性を計測するために評価され得る。例えば、浸潤性ガン細胞の存在に対するバイオマーカーとしてCD38を使用する場合においては、このような技術の使用により得られた画像を用いて、患者、哺乳動物又は組織における生体分布を評価してよい。

#### 【0215】

##### 製品

他の実施態様において、上述の障害の治療に有用な物質を含む製品を提供する。当該製品は、容器とラベルを含む。適した容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ及び試験管などが挙げられる。容器は、ガラスやプラスチックなど様々な物質から成型されてよい。容器は、病態の治療に有効な組成物を保持し、滅菌アクセスポート（例えば、容器は、皮下注射針による穿刺可能なストッパーを有する注入可能な溶液バッグ又はバイアルであってよい）を有してよい。組成物中の活性剤は抗体である。容器上に又は容器に付随するラベルは、組成物が、選択する病態の治療に使用されることを示す。製品はさらに、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液、デキストロース溶液などの医薬上許容されるバッファーを含む第二の容器を含んでよい。製品は、商業上及びユーザーの点から見て好ましい他の物質をさらに含んでよく、これには、他のバッファー、希釈剤、フィルター、ニードル、シリンジ及び使用方法を記載した添付文書が挙げられる。

#### 【実施例】

#### 【0216】

以下の実施例は、本発明を例証するために提供するものであり、本発明を何ら限定するものではない。

#### 【0217】

実施例1：ヒト、カニクイザル及びマウスCD38をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクター構築物

ヒトCD38（*huCD38*）を発現するベクターを構築するために、*huCD38*をコードするポリヌクレオチドをOrigene Technologies Trueclone（登録商標）*human*から得たcDNAから単離した。G418（Geneticin）耐性トランスフェクタントの選択を可能にするネオマイシン耐性（*neo<sup>R</sup>*）遺伝子を含む安定な発現ベクター（XOMA, Inc.）に単離した*huCD38*をクローニングした。選択されたトランスフェクタントに存在する*huCD38*遺伝子をシーケンシングして、任意の配列エラーを同定した。GenbankアクセッションNM\_001775から外れた配列エラーをPCR部位特異的変異導入により訂正した。最終的なベ

クターDNAを5'シーケンシングにより確認した。

【0218】

カニクイザルCD38 (cyCD38) を発現するベクターを構築するために、Biochain Institute's cDNA-monkey (カニクイザル) - 正常脾臓組織から得たDNAからcyCD38をコードするポリヌクレオチドを単離した。G418 (Geneticin) 耐性トランスフェクタントの選択を可能にするneo<sup>R</sup> 遺伝子を含む安定な発現ベクター (XOMA, Inc.) に単離したcyCD38をクローニングした。選択されたトランスフェクタントに存在するcyCD38遺伝子をシーケンシングして、任意の配列エラーを同定した。GenbankアクセッションAY555148から外れた配列エラーをPCR部位特異的変異導入により訂正した。最終的なベクターDNAをシーケンシングにより確認した。

10

【0219】

マウスCD38 (moCD38) を発現するベクターを構築するためにOrigene's TrueORFコレクションから得たDNAからmoCD38をコードするポリヌクレオチドを単離した。G418 (Geneticin) 耐性トランスフェクタントの選択を可能にするneo<sup>R</sup> 遺伝子を含む安定な発現ベクター (XOMA, Inc.) に単離したmoCD38をクローニングした。選択されたトランスフェクタントに存在するmoCD38遺伝子をシーケンシングして、任意の配列エラーを同定した。GenbankアクセッションNM\_007646から外れた配列エラーをPCR部位特異的変異導入により訂正した。最終的なベクターDNAをシーケンシングにより確認した。

20

【0220】

実施例2: CD38を発現するチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞の開発

huCD38、muCD38及びcyCD38を発現するCHO細胞を開発するために、CHO細胞を直鎖化DNAでトランスフェクトした。選択下で一週間置いた後、フローサイトメトリーにより細胞をソーティングし、最も高いhuCD38、muCD38又はcyCD38発現細胞 (最大15%) を96ウェルプレートに播種して、単一コロニーを生じさせた。残りの細胞も選択下で播種し、バックアップコロニーを生じさせた。播種してからおよそ12~14日後に単一コロニーを同定し、96ディープウェルプレートに移した。第二継代後、FACS分析によりクローンをスクリーニングした。トップの産生クローンを継代し、振とうフラスコに広げた。マイコプラズマAVA試験及びスケールアップのために、トップの2クローンを凍結及び/又は培養した。

30

【0221】

播種性 (disseminated) ゼノグラフトモデルのためのルシフェラーゼレポーターを構築するために、CMVプロモーター/ルシフェラーゼ遺伝子/ネオマイシン選択可能なマーカーを含む市販のベクター (Promega, Madison, WI) を用いて、Dauidバーキットリンパ腫細胞の安定発現株を作製した。

【0222】

実施例3: ファージディスプレイライブラリー及びCD38と結合する薬剤のスクリーニング

標的特異抗体のファージディスプレイライブラリーからの選択は、Marksらにより記載される方法 (2004, Methods Mol. Biol. 248: 161-76) に従って実施した。簡単に述べると、ファージディスプレイライブラリーを室温で1時間、100 pmolのビオチン化CD38とともにインキュベートし、次いで100 µLのストレプトアビジンビーズ懸濁液 (DYNABEADS (登録商標) M-280 Streptavidin, Invitrogen) を用いて、形成した複合体を捕捉した。洗浄バッファー (PBS中5%ミルク) でビーズを洗浄することにより非特異的なファージを除去した。結合したファージを0.5 mLの100 nMトリエチルアミン (TEA) で溶出し、等量の1M TRIS-CI (pH 7.4) を添加することによりすぐに中和した。溶出したファージプールを用いて、対数増殖期のTG1 E. coliに感染させ、Marksらの上記文献に記載のように、ファージミドをレスキューした。選択を計3

40

50

ラウンド繰り返した。

#### 【0223】

あるいは、固定化したCD38 (R&D systems) に対してファージディスプレイライブラリーをパンニングして、CD38との結合能力を有する抗体断片パネルを同定した。パンニングは、標準的なプロトコルを用いて実施した(例えば、Methods in Molecular Biology, vol. 178: Antibody Phage Display: Methods and Protocols Edited by: P. M. O'Brien and R. Aitken, Humana Press; "Panning of Antibody Phage-Display Libraries", Coomber, D. W. J., pp. 133 - 145、及び "Selection of Antibodies Against Biotinylated Antigens", Chames et al., pp. 147 - 157を参照されたい)。簡単に述べると、NUNC (登録商標) MAXISORPプレートの3つのウェルに、PBS中、10 µg/mLの濃度の組換えCD38 (R&D Systems) 50 µLをコーティングした。4 で一晩インキュベートした後、PBS中5%ミルクを用いて、結合していない結合部位を1時間、室温でブロッキングした。次いで、5%ミルク/PBS中、およそ200 µLのファージライブラリーをブロッキングしたウェルに添加し、室温でおよそ1~2時間インキュベートした。ウェルを洗浄し、結合したファージを標準的な方法を用いて溶出した(例えば、Sambrook and Russell, Molecule Cloning: A Laboratory Manual, 3<sup>rd</sup> Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001を参照されたい)。溶出したファージは、対数増殖期にあるE. coli TG1宿主細胞への感染を介して増幅させた。2,500 RPMで5分間遠心分離することにより感染TG1細胞を回収し、15 cmの2YT-アンピシリン-2%グルコース寒天プレート上に播種し、30 で一晩インキュベートした。ついで、増幅させたファージを用いてパンニング工程を繰り返した。パンニング、溶出及び増幅のサイクルを3ラウンド繰り返した。

#### 【0224】

パンニングが完了した後、播種したTG1細胞由来の単一コロニーを用いて、96ウェルプレート中、培地に接種した。ミクロ培養をOD600 = 0.6まで増殖させ、その時点で、1 mMのIPTGを添加することにより可溶性scFVの発現を誘導し、シェーカー中、30 で一晩インキュベートした。遠心分離により細菌をペレット化し、標準的なELISAアッセイ及びFACS結合アッセイにより固定化CD38に結合するscFVを試験するために、ペリプラズム抽出物を用いた。

#### 【0225】

FACS結合スクリーニングのために、CD38を安定発現するCHO細胞を用いて、天然の膜結合CD38に結合する能力についてペリプラズム抽出物(PPE)中のscFvをスクリーニングした。親及びCHOトランスフェクタント(ヒトCD38又はカニクイザルCD38又はマウスCD38発現細胞株)を、PBS (Life Technologies)、0.5% BSA (Sigma-Aldrich) 及び0.1% NaN<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich) (FACSバッファー) 中、別々に、 $2 \times 10^6$  細胞/mLで再懸濁した。CD38を発現しない親CHO細胞をネガティブコントロールとして使用した。25 µLの細胞アリコート(V底96ウェルプレート(Costar Cat # 3897))に播種し、mycタグscFv抗体断片を含むペリプラズム抽出物25 µLを細胞に添加し、次いで混合物を4 で30分間インキュベートした。次いで、細胞を2回洗浄し、その後、ペレットを25 µLのマウス抗c-myc (FACSバッファー中、1/1000) (Roche) に再懸濁し、再度4 で30分間インキュベートした。次いで、細胞を2回洗浄し、FACSバッファー(Jackson labs) 中、1/200希釈した抗マウスIgG-PE 25 µL中に再懸濁し、再度、4 で30分間インキュベートした。次いで、細胞を2回洗浄して、過剰な非結合抗体を除去し、70 µLのFA

C Sバッファーに再懸濁し、B D F A C S s c a n (登録商標)で分析した。得られたデータをF l o w J o s o f t w a r e (T r e e S t a r , I n c . )を用いて評価した。陽性サンプルは、親C H O細胞株(C D 3 8<sup>+</sup>)の平均蛍光強度に対する、C D 3 8トランスフェクトC H O細胞の平均蛍光強度を比較することにより同定した。

#### 【0226】

ヒトC D 3 8に結合した抗体クローンをシーケンシングして、独特のクローンを同定した。次いで、独特のs c F vクローンを、B i a c o r e (登録商標)分析により決定されたオフレートに基づき、ランク付けした。標準的なアミンカップリングケミストリーにより(B i a c o r e (登録商標))、2 0 0 R U ~ 5 0 0 R Uのヒト組換えC D 3 8 (R & D S y s t e m s<sup>®</sup> cat # 2 4 0 4 - A C又は同等物)をC M 5又は同等のチップに固定した。リファレンススポットも調製し、これを活性化し、次いでタンパク質を固定化することなくブロッキングした。これは、アセテートバッファー(p H 5 . 0)中、1 ~ 3 μ g / m Lに抗原を希釈し、必要なレベルが固定化されるまで(3 ~ 5)分間、活性化表面に注入することにより実施した。次いで、表面をエタノールアミンでブロッキングした。ペリプラズム抽出物を、2 m g / m L B S A (ウシ血清アルブミン)を有する、アッセイランニングバッファー1 0 m M H E P E S、1 5 0 m M N a C l、3 m M E D T A (エチレンジアミンテトラ酢酸)及び0 . 0 5 %ポリソルベート2 0 (p H 7 . 4)で1 : 1に希釈した。希釈したペリプラズム抽出物を表面プラズモン共鳴(S P R)表面に、3 0分で、3 0 0秒間と追加の9 0 0秒間(モニタリングされる解離時間)で注入した。1 0 0 m M H C lを8秒間、1回注入して再生(r e g e n e r a t i o n)させた。リファレンススポットから得られたデータを、活性表面から得られたデータから減算し、次いでB i a c o r e (登録商標)T 1 0 0ソフトウェアにおいて1 : 1解離モデルを用いて、解離曲線をフィッティングした。

#### 【0227】

トップランクのs c F vクローンをI g G 1抗体に変換した。保持された結合特性を保証し、種間交差反応性を評価するため、親C H O細胞、並びにヒト、マウス及びカニクイザルC D 3 8を発現するC H O細胞を用いて、I g G 1再フォーマット(r e f o r m a t t e d)クローンに対しF A C S結合スクリーニングを繰り返した。I g G再フォーマットクローンのF A C S特徴付けを上述のとおり実施したが、抗c - m y c抗体及び抗マウスI g G - P Eの添加からなる工程は、全長ヒトI g Gの結合が、フィコエリトリン結合抗ヒトI g G (J a c k s o n L a b s)の添加により検出される1回の工程に置き換えた。

#### 【0228】

実施例4 : I g G再フォーマットクローンのi n v i t r o細胞系アッセイ

約1 5 0のクローンをヒトI g G 1抗体として再フォーマットし、以下に記載するとおり、アッセイのパネルを用いて、5つ(A b 1 9、A b 4 3、A b 7 2、A b 7 9及びA b 1 1 0)を十分に評価した。I n v i t r o及びi n v i v oアッセイの両方におけるI g G再フォーマットクローンのパフォーマンスを2つの抗体、B M T K 4 - 1 (ベンチマーク1、B M - 1又はB M T K - 1とも称する)(配列番号2 4及び2 5 ; 重鎖及び軽鎖可変領域)及びB M T K 4 - 2 (ベンチマーク2、B M - 2又はB M T K - 2とも称する)(配列番号2 6及び2 7 ; 重鎖及び軽鎖可変領域)と比較した。これらのアミノ酸配列は、それぞれ、既知の抗C D 3 8抗体ダラツムマブ(H u M a x - C D 3 8とも称され、国際公開No . 0 6 / 0 9 9 8 7 5に開示される)及びS A R 6 5 0 9 8 4 (国際公開No . 0 8 / 0 4 7 2 4 2に開示される)に由来した。呼吸系発疹ウイルスを認識する臨床的に認可された抗体であるパリビズマブ(S Y N A G I S (登録商標))(M e d l m m u n e)をC D 3 8結合に対するネガティブコントロールとした。

#### 【0229】

実施例5 : 免疫蛍光法によるA b 7 9結合の検出

A l e x a F l u o r (登録商標)4 8 8色素で標識されたA b 7 9を正常ヒト結腸直腸組織、前立腺及びリンパ凍結切片に適用した。A l e x a F l u o r (登録商標)

10

20

30

40

50

488色素で標識されたパリビズマブ (Synagis (登録商標)) をネガティブ染色コントロールとした。得られた免疫蛍光像を図4に示す。正常ヒト結腸直腸組織、前立腺及びリンパ節において、Ab79について観察された染色パターンは、市販のポリクローナル抗CD38抗体で見られたものと同一であった (データ示さず)。

#### 【0230】

Alexa Fluor (登録商標) 488色素標識されたAb79を正常及び多発性骨髄腫の骨髄試料にも適用した (データ示さず)。Ab79は正常骨髄細胞の~10%と結合したのに対し、多発性骨髄腫の骨髄細胞は>90%がAb79結合を示した (4つの試験サンプルのうち4つにおいて)。

#### 【0231】

Ab79が多数の細胞株 (MOLP-8、DAUDI、RPMI及びMCF7) と結合する能力についても検証した。MOLP-8 (ヒト多発性骨髄腫)、DAUDI (パーキットリンパ腫罹患者由来のリンパ芽球) 及びRPMI (慢性骨髄性白血病罹患者から樹立された細胞株) 細胞はすべて、Ab79による結合を示した。乳癌株であるMCF7は、Ab79結合に対して、概してネガティブであるようだった (データ示さず)。

#### 【0232】

Alexa Fluor (登録商標) 488結合抗体を8µmのクリオスタット凍結切片上で染色し、エタノール/アセトン混合物で5分間固定し、その後、湿度制御チャンバー中、室温で1時間、抗体とともにインキュベートした。次いで、切片を洗浄し、DAPI含有包埋剤 (Vector Laboratories, cat#H1500) を添加し、カバーガラスをのせた。

#### 【0233】

実施例6：多発性骨髄腫 (MM) 及び慢性リンパ性白血病 (CLL) に対するAb79発現の評価

多発性骨髄腫患者由来の骨髄サンプルに対するAb79結合は、CD138<sup>+</sup>細胞の濃縮 (enrichment) 後か、或いはCD138<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> / <sup>1°</sup> 細胞のゲーティングによるかのいずれかによりフローサイトメトリーにより分析した (図7A)。Ab79は、6つの多発性骨髄腫サンプルのうち4つにおいて、>95%の細胞で発現が見られた。Ab79の結合パターンは、臨床検査室で使用された抗CD38抗体のものと、概して類似しているようであった。さらに、Ab79は、慢性リンパ性白血病罹患者由来の細胞と結合した (図7B)。

#### 【0234】

MM及びCLLと結合するAb79をFACSにより測定するために、患者サンプルを24時間以内に処理した。製造者の指示書に従って、Ficoll-Paque (商標) (GE Healthcare) により末梢血単核細胞を単離した。括弧内のクローンと以下の抗体パネルを用いて、発現分析を実施した。MMパネル：Ab79-Alexa Fluor (登録商標) 488、CD45-PerCP (2D1)、CD138-APC (MI15)。CLLパネル：Ab79-Alexa Fluor (登録商標) 488；CD5-PE (UCHT2)、CD45-PerCP (2D1)、CD19-APC (SJ25C1)。5µLのPE、PerCP若しくはAPC標識抗体、又は10µLのAlexa Fluor (登録商標) 488標識抗体又はアイソタイプコントロールを、100µLの0.2×10<sup>6</sup> PBMC又はCD138濃縮細胞 (骨髄穿刺液由来) のいずれかを含む各ウェル又はチューブに添加した。サンプルを室温で30分間インキュベートし、その後、製造者の指示書に従って、赤血球細胞をBD Pharmlyseを用いて溶解した。全てのサンプルをFACSバッファーで3回洗浄した。1%パラホルムアルデヒドでサンプルを固定し、BD FACSCanto (商標) II又はBD FACSLiber (商標) で分析した。

#### 【0235】

実施例7：抗CD38誘導CDCアッセイ

カニクイザル交差反応性クローンを、補体依存性細胞傷害 (CDC) を誘導する能力に

10

20

30

40

50

ついて試験した。MOLP-8細胞を、50  $\mu$ Lの完全培地(10%胎児ウシ血清を添加したRPMI)中、黒色の96ウェル平底組織培養プレートにウェル当たり10,000細胞の密度で播種した。50  $\mu$ Lの2 $\times$ 抗CD38抗体、コントロールIgG抗体又は培地のみを各ウェルに添加し、室温で10分間インキュベートしておいた。細胞株に応じて量を変更した(2~15  $\mu$ L)精製ウサギ補体(cat#CL3441 Cedarlane Laboratories, Canada)を、コントロールウェル以外の各ウェルに添加した。37℃で1時間インキュベートした後、プレートを室温にし、ウェル当たり100  $\mu$ LのセルタイターCytotox Glo(商標)試薬(Promega G7571/G7573)を添加し、プレートを5~7分間振とうさせ、発光をEnVision(登録商標)(Perkin Elmer)発光プレートリーダーで読み取った。試験条件:細胞のみ;細胞+補体;細胞+IgGコントロール+補体;細胞+抗体+補体。CDC%は、下記式を用いて計算した:

$$100 - (RLU_T / RLU_C) \times 100$$

[式中、RLU<sub>T</sub>は、試験サンプルの相対発光単位(relative luminescence unit)であり、RLU<sub>C</sub>は、補体だけのサンプルの相対発光単位である]。統計分析はPRISMソフトウェアを用いて実施した。抗体濃度に対するCDC%をプロットすることにより決定されたEC<sub>50</sub>値を表1に示す。

#### 【0236】

#### 実施例8:抗CD38誘導ADCCアッセイ

抗体依存性細胞介在性細胞傷害(ADCC)は、標的細胞としてDaudi、MOLP-8及びRPMI-8226細胞株を用いて評価した。Stanford Blood Center(Palo Alto, CA)から得られた軟膜又はLRSから、Ficoll-Plaque(商標)分離によりエフェクター細胞としてPBMCを単離した。PBS中2%FBSを用いて試料を1:3希釈した。35mLの希釈試料の下に15mLのFicoll-Plaque(商標)(GE Healthcare)を徐々に層状にし、1800rpm(ブレーキオフ)で25分間遠心分離した。PBMCを含む濁った中間層を集め、PBS中2%FBSで3回洗浄し、10%DMSO/FBS中、アリコート当たり50 $\times$ 10<sup>6</sup>細胞/mLのアリコートを凍結した。必要な場合には、凍結したPBMCアリコートを融解し、2 $\times$ 10<sup>6</sup>/mLで、10%FBS/RMPi+5ng/mL組換えヒトIL2(R&D systems #202-IL)中、一晚培養した。

#### 【0237】

ADCCアッセイのために、すべての工程は完全培地中で実施した。ウェル当たり5000の標的細胞を、50  $\mu$ Lの3 $\times$ 抗CD38、コントロールIgG又は培地のみが添加された96ウェルプレートに播種し、その後、50  $\mu$ LのヒトエフェクターPBMCを、標的:エフェクター(T:E)細胞が1:25~1:50となる比率で添加した。~30秒間、800rpmでプレートを簡単に遠心分離して、全ての細胞を近づけた。37℃で4時間後、プレートを1100rpmで5分間遠心分離し、100  $\mu$ Lの上清を白色プレートに移した。100  $\mu$ LのCytotox Glo(商標)試薬(Promega cat#G9292)を上清に添加し、プレートを20~30分間、RTで振とうさせた。発光をEnVision(登録商標)(Perkin Elmer)発光プレートリーダーで読み取り、特異的溶解の割合を下記式を用いて測定した:

$$(RLU_T / RLU_{E/T}) / (RLU_L / RLU_{E/T}) \times 100$$

[式中、RLU<sub>T</sub>は、試験サンプルの相対発光単位であり、RLU<sub>E/T</sub>は、標的細胞及びエフェクター細胞のみを含むサンプルの相対発光単位であり、RLU<sub>L</sub>は、Triton X-100で溶解した細胞についての相対発光単位である。]統計分析は、PRISMソフトウェアを用いて実施した。抗体濃度に対する特異的溶解%をプロットすることにより決定されたEC<sub>50</sub>値を表1に示す。

#### 【0238】

【表 1】

I g G再フォーマット抗体のCDC、ADCC及びアポトーシス活性

抗体	CDC EC50 nM (MOLP-8)	ADCC EC50 nM (DAUDI)	ADCC EC50 nM (MOLP-8)	ADCC EC50 nM (RPMI-8226)	アポトーシス EC50 nM (DAUDI)
BM-1	0.48 ± 0.16	0.03 ± 0.02	0.036 ± 0.013	0.13 ± 0.03	0.057
BM-2	0.65 ± 0.18	0.04 ± 0.02	0.024 ± 0.005	0.15 ± 0.04	0.062
Ab19	0.98 ± 0.26	0.08 ± 0.03	0.038 ± 0.008	0.46 ± 0.15	0.032
Ab43	2.2	0.12 ± 0.09	0.027 ± 0.018	3.84 ± 1.34	1.56
Ab72	0.66 ± 0.49	0.14 ± 0.12	0.193 ± 0.037	2.35 ± 0.99	0.35
Ab79	1.1 ± 0.39	0.03 ± 0.02	0.047 ± 0.012	0.46 ± 0.19	0.048
Ab110	1.99 ± 0.71	0.24 ± 0.17	0.874 ± 0.804	2.98 ± 0.91	0.40
Ab164	2.00 ± 0.83	ND	0.165 ± 0.154	1.2 ± 0.24	0.31

## 【0239】

実施例9：FACSによる親和性決定

CD38を発現するMOLP-8細胞は、およそ200万細胞/mLの生存細胞濃度で、1% FBSバッファーに懸濁した。試験すべきmAbは、1×PBS中、2つの96ウェルプレート上、ウェルにわたって段階希釈（2倍）した。各滴定（titration）の最後のウェルは、バッファーのみを含んだ。最終体積が300~L/ウェルとなり、各ウェルがおよそ100,000細胞含むように各ウェルに追加のPBS及び細胞懸濁液を追加した。mAbを下記に列挙し、滴定で使用した、対応する最終的なmAb結合部位濃度（2×分子濃度）範囲も示す：

ベンチマーク1、[mAb]結合部位 = 50.8 nM ~ 49.7 pM

ベンチマーク2、[mAb]結合部位 = 49.5 nM ~ 48.3 pM

Ab43、[mAb]結合部位 = 49.3 nM ~ 48.2 pM

Ab110、[mAb]結合部位 = 204 nM ~ 49.9 pM

Ab79、[mAb]結合部位 = 103 nM ~ 25.3 pM

Ab72、[mAb]結合部位 = 103 nM ~ 25.2 pM

Ab19、[mAb]結合部位 = 100 nM ~ 12.2 pM

プレートをプレートシェーカーに4で5時間置き、その後、プレートを1×PBSで4、3回洗浄した。次いで、200µLの99 nM Cy5ヤギ抗ヒトIgG Fc特異ポリクローナル抗体（Jackson ImmunoResearch Laboratories, #109-175-008）を各ウェルに添加し、プレートを4で30分間振とうさせた。プレートを再度1×PBSで4、2回洗浄し、次いで、FACS Canto（商標）II HTSフローサイトメーターを用いて、独特のmAb結合部位濃度を含む各ウェルについて、5000イベントの平均蛍光強度（MFI）を記録した。抗体結合部位濃度の関数としての平均蛍光強度のプロットは、KDを見積もるための下記式を用いて、Scientist 3.0ソフトウェアで非線形フィッティングした：

$$F = p \left[ \frac{(KD + LT + n(M)) - \{(KD + LT + n(M))^2 - 4n(M)(LT)\}^{1/2}}{2} \right] / 2 + B$$

[式中、F（平均蛍光強度）、LT（トータルのmAb結合部位濃度）、p（mAbに結合する任意の蛍光単位に関する比例定数）、M（細胞内モル濃度；300µL中、100,000細胞に基づいて0.553 fM）、n（細胞当たりのレセプター数）、B（バックグラウンドシグナル）、及びKD = 平衡解離定数。]。

## 【0240】

各抗体の滴定曲線について、KDの見積もりはPとして得、n、B及びLDは、非線形分析において自由にフロート（floated freely）させた。上記方程式の詳細な導出については、Drake and Klakamp（2007）, “A rigorous multiple independent binding site

model for determining cell-based equilibrium dissociation constants”, J. Immunol. Methods 318:157-62 (参照により本明細書に援用される)を参照されたい。全ての抗体について得られたKDのものを、括弧内において各フィットの95%信頼区間とともに親和性が減少した順に表3に列記する。抗体結合部位濃度(2×分子濃度)を非線形曲線フィッティングのために使用した。

#### 【0241】

実施例10: Biacore (登録商標)による親和性決定

可溶性CD38エクトドメイン(ECD)に対するIgG抗体の親和性は、22、Biacore (商標) A100上で、表面プラズモン共鳴(SPR)分析により決定した。ヤギ抗ヒトIgGポリクローナル抗体(Caltag H10500)を、チップの4つ全てのフローセル内のスポット1、2、4及び5への標準的なアミンカップリングを用いて、CM5バイオセンサーチップに固定化した。各スポット上の固定化レベルは、5865RU~6899RUの範囲であった。ヒトCD38はR&D Systems (Cat#2404-AC, Lot#PEH020812A)から得た。CD38のストック濃度は、Paceら((1995) “How to measure and predict molar absorption coefficient of a protein” Protein Science 4(11):2411-23 and Pace and Grimsley (2004) “Spectrophotometric determination of protein concentration”, in Current Protocols in Protein Science, Chapter 3: Unit 3.1)に詳述される方法を用いて決定した(各参考文献の教示は参照により本明細書に援用される)。

#### 【0242】

HEPES緩衝生理食塩水、0.005%ポリソルベート20を脱ガスし、濾過したBSAを最終濃度100µg/mLで添加することによりランニングバッファを調製した。8つの精製mAb全てをランニングバッファでおよそ2µg/mLに希釈した。予備実験により、~100RUと同じくらいの表面容量(R<sub>max</sub>)を維持するために捕捉されるべき捕捉されるべき各mAbの量を見積もった。各mAb捕捉/抗原注入サイクルについて、mAbは、それぞれのリファレンス表面として働くスポット2と4に近接する、各フローセル内のスポット1及び5で捕捉された。各希釈mAbは、10µL/分の流速で1分間捕捉され、その後、表面を安定化するため、ランニングバッファを3分間流した。HuCD38は、全ての4つのフローセルに120秒間、30µL/分、193.7nM~3.0nM(2×段階希釈)の濃度範囲にわたって注入し、その後、15分間解離段階とした。サンプルは全てランニングバッファ中で調製し、二重参照(double referencing)のために散在(interspersed)された7つのバッファ注入物を用いてランダムに3連で注入した。10mMのグリシン(pH1.7)での20秒間のパルスを行き、表面を再生した。

#### 【0243】

全てのセンサーグラムデータをScrubber 2.0cソフトウェアで処理し、Scrubber 2.0cの1:1相互作用モデルにグローバルにフィッティングさせた。得られた結合定数を表2に示す。

#### 【0244】

【表 2】

抗体	FACS KD(nM) MOLP-8	FACS KD(pM) RPMI-8226	Biacore Ka (M-1s-1)	Biacore Kd(s-1)	Biacore KD(nM)
BM-1	1.1(0.9)	802	$4.49 \times 10^4$	$2.46 \times 10^{-3}$	54.8
BM-2	1.6(0.6)	428	$4.24 \times 10^5$	$2.27 \times 10^{-3}$	5.4
Ab19	0.4(0.3)	-	$1.54 \times 10^5$	$8.10 \times 10^{-4}$	5.3
Ab79	1.2(1.1)	508	$1.22 \times 10^5$	$6.75 \times 10^{-4}$	5.5
Ab72	0.6(0.4)	-	$1.44 \times 10^4$	$1.82 \times 10^{-3}$	126
Ab110	1.0(0.1)	-	$1.22 \times 10^5$	$1.71 \times 10^{-1}$	1400
Ab43	1.1(0.3)	-	$2.72 \times 10^5$	$1.46 \times 10^{-1}$	537
Ab164	1.4(0.7)	-	$1.99 \times 10^5$	$7.15 \times 10^{-2}$	359

10

## 【 0 2 4 5 】

## 実施例 11：免疫蛍光内在化アッセイ

免疫蛍光技術を用いて、抗CD38抗体のMOLP-8細胞への内在化を評価した。MOLP-8細胞を集め、Alexa Fluor（登録商標）488に直接結合させた各抗CD38抗体1 $\mu$ gを用いて、RPMI-1640中、 $5 \times 10^6$ 細胞を4、10分間染色した。1%BSA含有PBSで細胞を洗浄し、 $1 \times 10^6$ 細胞を4又は37で3時間又は6時間インキュベートした。2 $\mu$ gのウサギ抗Alexa Fluor（登録商標）488抗体（Invitrogen）を用いて、4、30分間、表面染色をクエンチした。細胞を洗浄し、1%PFAを含むPBSで固定し、Microtest 96ウェルプレート（BD Biosciences）に移し、FACSCanto（商標）II（BD Biosciences）フローサイトメーターを用いたフローサイトメリーにより評価するか、ImageXpress（登録商標）Micro（Molecular Devices）を20倍の倍率で用いて画像化するかのいずれかを行った。

20

## 【 0 2 4 6 】

## 実施例 12：Biacore（登録商標）によるエピトープマッピング

Biacore（登録商標）A100機器を用いて、2つのベンチマーク抗体とAb19及びAb79をマッピングした。最初に、NHS/EDCカップリング化学を用いて、CM5チップ上に高密度及び低密度で抗体を固定化した。エピトープマッピング実験の各サイクルについて、CD38をこれらの表面上に最初に注入した。次いで、ELISAフォーマットにおけるサンドイッチアッセイと類似して、独特の抗体（固定化抗体のセットから得られたもの）をCD38/抗体複合体を含む表面上に注入した。各サイクルの最後にリン酸パルスを用いて表面を再生した。BSA添加HBS-P（10 mM 10 HEPES pH 7.4、150 mM NaCl、0.005%）P-20を用いて、22でデータを集めた。得られたセンサーグラムをBiacore（登録商標）A100 Evaluationソフトウェアパッケージの「Epitope Mapping」モジュールとScrubber for A100データセットのトライアルバージョンを用いて処理した。再現データを使用して、表3に示すとおり、2つの別々の実験から上記4つのmAbに対する二元4 $\times$ 4マトリックスを作製した。

30

40

## 【 0 2 4 7 】

【表 3】

	Ab79	BM1	Ab19	BM2
Ab79	0	0	1	1
BM1	0	0	1	0
Ab19	1	1	0	0
BM2	1	0	0	0

## 【 0 2 4 8 】

50

実施例 13：腫瘍学における *in vivo* 分析

ヒトリンパ腫の播種性 Daudi - ルシフェラーゼモデルについて、Ab 19 及び Ab 79 の *in vivo* 有効性を試験した。Taconic Laboratories から得た 6 ~ 8 週齢のメス C B . 17 S C I D マウスに  $1 \times 10^6$  個の Daudi - L u c 腫瘍細胞を静脈注射した。研究 7 日目に、パリビズマブ、Ab 79、Ab 19、ベンチマーク 1 及びベンチマーク 2 をマウス腹腔内に注射した。I V I S X e n o g e n s y s t e m ( C a l i p e r L i f e S c i e n c e s ) を用いて、21 日目から毎週、生物発光イメージングを実施し、全身腫瘍組織量をモニタリングした。イメージングのために、イメージングの 10 分前にルシフェラーゼ基質 ( 150 mg / k g ) を動物に I P 注射し、次いでイソフルラン下で動物を麻酔し、イメージングした。結果を図 8 及び 9 に示す。

10

## 【 0 2 4 9 】

## 実施例 14：炎症性 / 免疫学的疾患の相関

C D 3 8 は、活性化後の P B M C 細胞において劇的に上方制御されることが示された。正常ドナー由来の静止 P M B C では、20 % 未満の静止細胞が C D 3 8 を発現し、レセプター数は、細胞当たりおよそ 10 , 000 ~ 20 , 000 と計算される。正常ドナー由来に対して、活性化 P M B C は、60 ~ 75 % の細胞が C D 3 8 を発現しており、レセプター数は細胞当たり 110 , 000 ~ 160 , 000 と示された。

## 【 0 2 5 0 】

さらに、図 5 に示すように、S L E 患者由来の P M B C において、C D 3 8 の発現上昇が示された。

20

## 【 0 2 5 1 】

C D 3 8 の過剰発現についてサンプルを免疫組織学的に試験した。S L E 患者由来の 19 のサンプルを分析したところ、B 及び T メモリー細胞並びに p D C において、C D 3 8 発現の上昇が観察された。3 人の R A 患者を分析したところ、3 人の患者全てにおいて、滑膜組織における C D 3 8 形質細胞の浸潤が示され、Ab 79 での滑膜組織の染色が増加した。7 人のクローン病患者及び 6 人の潰瘍性大腸炎患者を分析したところ、結腸の平滑筋 ( 患者由来の 2 つの初代細胞サンプルについて試験 ) において、C D 3 8 発現形質細胞の浸潤が示された。同数の正常患者で試験した場合、これらの結果は示されなかった点に留意すべきである。

30

## 【 0 2 5 2 】

## 実施例 15：抗 C D 3 8 抗体を用いた枯渇

カニクイザルへ Ab 79 を投与すると、リンパ球、B 及び T 細胞並びに N K 細胞の有意な減少が示される。抗体を図 6 に示す容量で 30 分間の I V 注射を介して投与し、24 時間でデータを集めた。同様のデータを 4 日目、7 日目、11 日目及び 18 日目でも示された ( s o w n ) 。

しかしながら、p K / p D データは、投与後の動物の回復を示す。図 7 に示すように、リンパ球数は、単回の I V 30 分注入投与後 ( たとえ最も高用量であっても ) 、数日後にコントロール数と同程度まで回復し、これは、リンパ球前駆細胞の問題ではないことを示している。

40

## 【 0 2 5 3 】

## 実施例 16：自己免疫疾患モデル

3 つの異なるモデルを使用する。

H u S c i d マウスモデルを、偽移植片対宿主モデル ( p s e u d o - g r a v t - v - h o s t モデル ) 、抗破傷風応答 ( a n t i - t e t a n u s r e s p o n s e ) 、I g G 枯渇、及び全生存に対するモデルとした。C B 17 / H u S C I D マウスに A S G M 1 を注入して N K 細胞を枯渇させ、次いで、一日後にヒト P B M C を注入した。ヒト I g ランダム化のために集めた血清を用いて、生着 ( e n g r a f t m e n t ) は 7 ~ 10 日間で進行することが可能であった。一日後、マウスに Ab 79 を 10 mg / k g 、その後 T T d を注入し、4 日後に第 2 の投与を、その 3 日後に第 3 の投与を行い、ヒト I g 計

50

測及び抗破傷風検出のために、その3日後に血清を集めた（最初の投与から計10日）。単一のマウスドナーから得られた結果を図8に示す。図8では、処理時の全てのIgアイソタイプの有意な減少を示す。図9は、各レシピエントグループに対する平均Igレベルの結果を示しており、各データポイントはグループごとの平均値を表す（ $n = 5 \sim n = 10$ ）。図10は、Ab79処理時の抗破傷風応答の有意な低下を示す。最後に、図11は、Ab79処理を用いた場合の、全体の有意な生存率を示す。

#### 【0254】

##### 代替マウス実験

Ab79は、げっ歯類CD38と交差反応しないので、代替抗体（surrogate antibody）を開発した。事前準備として、ヒトCD38に対する市販抗体及びマウスCD38に対する市販抗体を用いて、ヒト及びマウス間の細胞タイプ中でのCD38発現レベルの有意な差を示し（図12を参照されたい）、その病気の生態が異なることを示す。従って、サルモデルにおいて、サルCD38と交差反応する抗体を用いることは、かなり有利な結果を生じ得る。

脾臓、血液及び骨髄（データ示さず）、並びに末梢血（図13を参照されたい）から集めたCD38+細胞の同様の枯渇を示す、代替抗体を開発した。さらに、マウス代替抗体を10mg/kgで単回投与してから1、2又は3日後に集めた脾臓、血液及び骨髄における、枯渇の反応速度を図14に示す。血中B細胞の急速な枯渇が24時間以内に示され、脾臓及び骨髄では、よりゆっくりとした枯渇が示された。

#### 【0255】

##### マウスSLEモデル

血液からは、以下の中間の読み出し（interim readout）（例えば、2週間ごと）を用いて、MRL/lprモデルにおける代替マウス抗CD38を試験する：抗dsDNA自己抗体、CBC、FACS（T/B細胞枯渇について）、尿におけるタンパク質アルブミン及び皮膚炎。最終的な読み出しとして以下が挙げられるが、これらに限定されない：血液からは、抗dsDNA自己抗体、CBC、FACS（T/B細胞枯渇について）、脾臓、リンパ節及び骨髄からは、臓器重量、免疫細胞数、FACS（T/B細胞枯渇について）、腎臓からは、臓器重量、組織病理（H&E and PAS）、IC沈着、炎症細胞、及び皮膚炎症（組織病理）。

#### 【0256】

##### コラーゲン誘導関節炎（CIA）モデル

マウス代替抗体を用いてマウスCIAモデルを使用し、7つのマウスグループにて、前予防的、予防的及び治療的有効性の両方を評価した。全てのマウスを0日目にCII/CFIAで免疫し、21日目にCII/CFIAでブーストし、通常、21日目から42日目に疾患の進行が生じた（研究終了）。0日目（前予防）から開始して、グループ1（10匹のマウス）に1週間に2回、10mg/kgの代替抗体をIP注射した。グループ2（ $n = 10$ ）でも同様に投与したが、21日目から開始した。グループ3（ $n = 10$ ）では、疾患発症時（25～28日目）に同様に注射した。グループ4（ $n = 10$ ）は、0日目に、hIgG1（例えば、アイソタイプ）を用いたが同一レベルで投与した。グループ5（ $n = 10$ ）では、hIgG1を同一レベルで投与したが21日目から開始した、グループ6（ $n = 10$ ）では、21日目に、0.5mg/Lのデキサメタゾン水を投与し、グループ7（ $n = 5$ ）は処置しなかった。

各グループについて $n = 3$ を用いて、カニクイザルCIA研究を実施し、グループ1はナイーブ動物であり、ビヒクルのみである。グループ2は、Ab79を3mg/kg又は10mg/kg、q1w（予防的処置はコラーゲン免疫後7日目に開始する）で単回投与する。グループ3は、治療的処置のために、疾患発症時、21日目又は28日目から開始して、3mg/kg又は10mg/kg q1wのAb79である。グループ4は、疾患発症時にも、デキサメタゾンで0.1mg/kg q1dで処置する。

#### 【0257】

（配列表）

配列番号1 (CD38ホモ・サピエンス; NP\_001766.2)

MANCEFS PVS GDKPCCRLS RRAQLCLGVSI LVL I L V V V L A  
V V V P R W R Q Q W S G P G T T K R F P E T V L A R C V K Y T E I H P E M R H V  
D C Q S V W D A F K G A F I S K H P C N I T E E D Y Q P L M K L G T Q T V P C N  
K I L L W S R I K D L A H Q F T Q V Q R D M F T L E D T L L G Y L A D D L T W C  
G E F N T S K I N Y Q S C P D W R K D C S N N P V S V F W K T V S R R F A E A A  
C D V V H V M L N G S R S K I F D K N S T F G S V E V H N L Q P E K V Q T L E A  
W V I H G G R E D S R D L C Q D P T I K E L E S I I S K R N I Q F S C K N I Y R  
P D K F L Q C V K N P E D S S C T S E I

【0258】

10

配列番号2 (CD38 マカカ・ファシキュリス (Macaca fascicularis); AAT36330.1)

MANCEFS PVS GDKPCCRLS RRAQVCLGVCLLVLL I L V V V V  
A V V L P R W R Q Q W S G S G T T S R F P E T V L A R C V K Y T E V H P E M R H  
V D C Q S V W D A F K G A F I S K Y P C N I T E E D Y Q P L V K L G T Q T V P C  
N K T L L W S R I K D L A H Q F T Q V Q R D M F T L E D M L L G Y L A D D L T W  
C G E F N T F E I N Y Q S C P D W R K D C S N N P V S V F W K T V S R R F A E T  
A C G V V H V M L N G S R S K I F D K N S T F G S V E V H N L Q P E K V Q A L E  
A W V I H G G R E D S R D L C Q D P T I K E L E S I I S K R N I R F F C K N I Y  
R P D K F L Q C V K N P E D S S C L S G I

【0259】

20

配列番号3 (HCDR1 Ab79)

GFTFDDYG

【0260】

配列番号4 (HCDR2 Ab79)

ISWNGGKT

【0261】

配列番号5 (HCDR3 Ab79)

ARGSLFHDSSGFYFGH

【0262】

30

配列番号6 (LCDR1 Ab79)

SSNIGDNY

【0263】

配列番号7 (LCDR2 Ab79)

RDS

【0264】

配列番号8 (LCDR3 Ab79)

QSYDSSLSGS

【0265】

配列番号9 (重鎖Ab79)

EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F D D Y G M S W V R Q A  
P G K G L E W V S D I S W N G G K T H Y V D S V K G Q F T I S R D N S K N T L Y  
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G S L F H D S S G F Y F G H W G Q G T L V T  
V S S A S T K G P S V F P L A

【0266】

40

配列番号10 (軽鎖Ab79)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGDNYVSWYQQ L  
P G T A P K L L I Y R D S Q R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I S G L R  
S E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G S V F G G G T K L T V L G Q P K A N P T V T  
L F P P S S E E L

50

## 【0267】

配列番号11(重鎖Ab19)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNYDMTWVRQA  
 PGKGLEWVAVISYDGSDDKDYADSVKGRFTISRDN SKNTLY  
 LQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYGFSGPSMDVWGQGTLVTV  
 SSASTKGPSVFPLA

## 【0268】

配列番号12(軽鎖Ab19)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSNTVNWYQQ L  
 PGTAPKLLIYSDSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLR  
 SEDEADYYCQSYDSSLSGSRVFGGGTKLTVLGQPKANPTV  
 TLFPPSSSEEL

10

## 【0269】

配列番号13(HCDR1 Ab19)

GFTFNNYD

## 【0270】

配列番号14(HCDR2 Ab19)

ISYDGSDDK

## 【0271】

配列番号15(HCDR3 Ab19)

ARVYYYGFSGPSMDV

20

## 【0272】

配列番号16(LCDR1 Ab19)

NSNIGSNT

## 【0273】

配列番号17(LCDR2 Ab19)

SDS

## 【0274】

配列番号18(LCDR3 Ab19)

QSYDSSLSGSR

30

## 【0275】

配列番号19(重鎖Ab19)w/定常(constant)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNYDMTWVRQA  
 PGKGLEWVAVISYDGSDDKDYADSVKGRFTISRDN SKNTLY  
 LQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYGFSGPSMDVWGQGTLVTV  
 SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT  
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT  
 QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL  
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN  
 GKEYYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSR  
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP  
 PVLDSDDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS C SVMHEALHNNH  
 YTQKSLSLSPGK

40

## 【0276】

配列番号20(軽鎖Ab19)w/定常

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSNTVNWYQQ L  
 PGTAPKLLIYSDSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLR  
 SEDEADYYCQSYDSSLSGSRVFGGGTKLTVLGQPKANPTV  
 TLFPPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV

50

KAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQV  
THEGSTVEKTVAPTECS

【0277】

配列番号21(重鎖Ab79)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGM SWVRQA  
PGKGLEWVSDISWNGGKTHYVDSVKGQFTISRDN SKNTLY  
LQMNSLRAEDTAVYYCARGSLFHDSSGFYFGHWGQG TLTVT  
VSSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV  
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLG  
TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEL  
LGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK  
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL  
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTT  
PPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHN  
HYTQKSLSLSPGK

10

【0278】

配列番号22(軽鎖Ab79)

QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGDNYVSWYQQL  
PGTAPKLLIYRDSQRP SGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLR  
SEDEADYYCQSYDSSL SGSVFGGGT KLTVLGQPKANPTVT  
LFPPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVK  
AGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVT  
HEGSTVEKTVAPTECS

20

【0279】

配列番号23(CD157ホモ・サピエンス; NP\_004325)

MAAQGCAASRLQLQLQLQLQLQLQLQLQLQLAAGGARARWRGEGTS  
AHLRDI FLGRCAEYRALLSPEQRNKNCTAIWEAFKVALDK  
DPCSVLP SDYDLFINLSRHSIPRDKSLFWENSHLLVNSFA  
DNTRRFMP LSDVLYGRVADFLSWCRQKND SGLDYQSCPTS  
EDCENNPVDSFWKRASIQYSKDS SGGVIHVMLNGSEPTGA  
YPIKGGFFADYEIPNLQKEKITRIE IWVMHEIGGPNVESCG  
EGSMKVL EKRLKDMGFQYSCINDYRPVKLLQCV D HSTHPD  
CALKSAAAATQRKAPSLYTEQRAGLI IPLFLVLASRTQL

30

【0280】

配列番号24(ベンチマーク1; 重鎖可変領域)

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQA  
PGKGLEWVSAISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLY  
LQMNSLRAEDTAVYFCAKD KILWFGE PVFDYWGQG TLTVT  
SS

40

【0281】

配列番号25(ベンチマーク1; 軽鎖可変領域)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP  
GQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP  
EDFAVYYCQQR SNWPPTFGQGT KVEIKR

【0282】

配列番号26(ベンチマーク2; 重鎖可変領域)

QVQLVQSGAEVAKPGT SVKLSCKASGYTF T DYWMQWVKQR  
PGQGLEWIGTIYPGDGDTGYAQKFQ GKATLTADKSSKTVY  
MHLSSSLASEDS AVYYCARGDYYGSNSLDYWGQG TSVTVSS

50

## 【0283】

配列番号27(ベンチマーク2;軽鎖可変領域)

DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSTITCKASQDVSTVVAWYQQKP  
GQSPRRLIYSASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFITSSVQA  
EDLAVYYCQQHYSPPYTFGGGTTKLEIKR

## 【0284】

配列番号28(重鎖Ab43)

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAAS GFT FSS YGMHWVRQA  
PGKGLEWVSRINSDGSSSTSYADSMKGQFTISRDN SKNTLY  
LQMNSLRAEDTAVYYCARGGYYYAMDVWGQGT LVT VSSA  
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSW  
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY  
ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP  
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY  
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE  
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV L  
DSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQ  
KSLSLSLSPGK

10

## 【0285】

配列番号29(軽鎖Ab43)

QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGGSSNIGYKTVNWYQQL  
PGTAPKLLIYDNNKRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLR  
SEDEADYYCAAWDDSLNGLVFGGGTKLTVLGQPKANPTVT  
LFPPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVK  
AGVETTKPSKQSN NKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYSCQVT  
HEGSTVEKTVAPTECS

20

## 【0286】

配列番号30(重鎖Ab72)

EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAAS GFT FSS YGMNWVRQA  
PGKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY  
LQMNSLRAEDTAVYYCAKDSNYDFWSGYYYGMDVWGQGT L  
VT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPE  
PVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS  
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA  
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE  
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD  
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL P  
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK  
TTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEAL  
HNHYTQKSLSLSLSPGK

30

40

## 【0287】

配列番号31(軽鎖Ab72)

QSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGGSSNIGSKTVSWYQQL  
PGTAPKLLIYDNNKRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLR  
SEDEADYYC SSYAARSTNIIFGGGTKLTVLGQPKANPTVT  
LFPPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVK  
AGVETTKPSKQSN NKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYSCQVT  
HEGSTVEKTVAPTECS

## 【0288】

50

## 配列番号 3 2 ( 重鎖 A b 1 1 0 )

E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A  
 P G K G L E W V S I I Y S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L  
 Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R R A T W G G A T H D Y W G Q G T L V T V S S A  
 S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W  
 N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y  
 I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P  
 S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y  
 V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E  
 Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M  
 T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L  
 D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q  
 K S L S L S P G K

【 0 2 8 9 】

## 配列番号 3 3 ( 軽鎖 A b 1 1 0 )

Q S V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S S N I G S N T V N W Y Q Q L  
 P G T A P K L L I Y R N N Q R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I S G L R  
 S E D E A D Y Y C A T W D D S L N G V L F G G G T K L T V L G Q P K A N P T V T  
 L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K  
 A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T  
 H E G S T V E K T V A P T E C S

【 0 2 9 0 】

## 配列番号 3 4 ( 重鎖 A b 1 9 ) w / 定常

E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F N N Y D M T W V R Q A  
 P G K G L E W V A V I S Y D G S D K D Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y  
 L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R V Y Y Y G F S G P S M D V W G Q G T L V T V  
 S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T  
 V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T  
 Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L  
 G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F  
 N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N  
 G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R  
 E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P  
 P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H  
 Y T Q K S L S L S P G K

【 0 2 9 1 】

## 配列番号 3 5 ( 軽鎖 A b 1 9 ) w / 定常

Q S V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S N S N I G S N T V N W Y Q Q L  
 P G T A P K L L I Y S D S N R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I S G L R  
 S E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G S R V F G G G T K L T V L G Q P K A N P T V  
 T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V  
 K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V  
 T H E G S T V E K T V A P T E C S

【 0 2 9 2 】

本発明の実施態様を明確にするために、詳細に参照により本発明を説明するが、添付の特許請求の範囲に定義される発明の範囲から逸脱することなく、改作及び改変が可能であることは明らかである。より詳細には、特に有利な例として、本明細書において本発明のいくつかの側面を特定するが、本発明は、これらの特定の本発明の側面により限定される必要はないことが企図される。

【 図 2 】

図 2 A

Ab79 重鎖 (SEQ ID NO:21)

EVOLLESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSDIS  
WNGGKTHYVDSVKGQGTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSLFH  
DSSGFYFGHWQGGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF  
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVN  
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  
EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV  
LHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK  
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD  
KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ab79 軽鎖 (SEQ ID NO:22)

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSNIGDNYVSWYQQLPGTAPKLLIYRDSQ  
RPSGVPRDRFSGSKSGTSASLAIISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSVFGGGKLT  
VLGQPKANPTVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVK  
AGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP  
TECS

Ab19 重鎖 (SEQ ID NO:11)

EVOLLESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFNNDMTWVRQAPGKGLEWVAVI  
SYDGSDDKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYY  
FGSGPMDVWGQGTLYTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY  
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVN  
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  
EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV  
LHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTK  
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD  
KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

図 2 B

Ab19 軽鎖 (SEQ ID NO:12)

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSNSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSDSN  
RPSGVPRDRFSGSKSGTSASLAIISGLRSEDEADYYCQSYDSSLSGSRVFGGKTL  
TVLGQPKANPTVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV  
KAGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP  
TECS

【 図 4 】

BM2		BM1		TSF19		TSF79	
E	76	N	120	G	91	K	121
H	79	K	121	E	103	F	135
E	104	F	135	E	104	Q	139
Q	107	Q	139	D	105	D	141
M	110	D	141	Q	107	M	142
K	111	D	202	M	110	E	239
L	112	V	203	K	111	W	241
G	113	H	205	T	114	S	274
T	114	Q	236	Q	115	C	275
Q	115	T	237	T	148	K	276
T	116	E	239	V	192	F	284
V	117	W	241	R	194	V	288
C	119	Q	272	R	195	K	289
T	148	F	273	F	196	N	290
L	150	S	274	E	198	P	291
T	191	C	275	A	199	E	292
V	192	K	276	H	228	D	293
R	194	F	284	N	229	S	294
R	195	P	291	Q	231		
F	196	E	292	E	233		
E	198	T	297	K	234		
A	199	S	298				
Q	231						
E	233						
K	234						

【 図 3 】

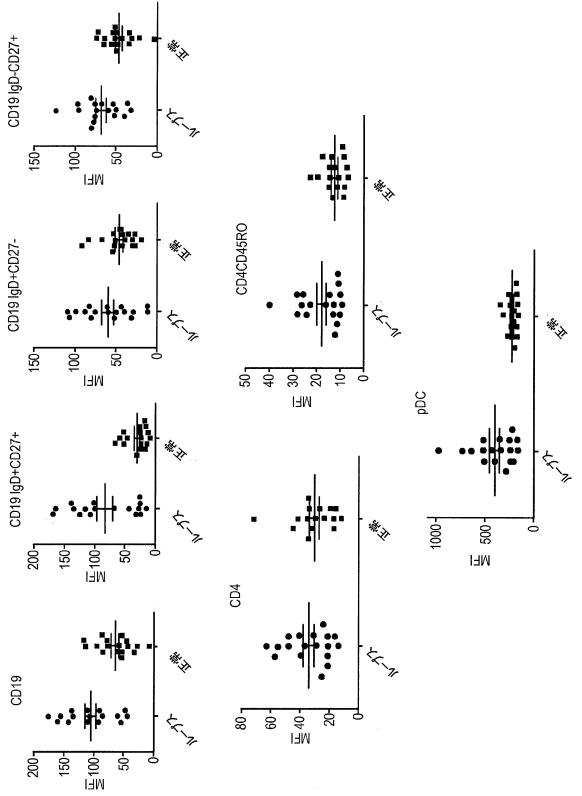
CD38 ホモ・サビエンス (Accession NP\_001766.2; SEQ ID NO:1)

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRAQLCLGVSLVLILVVLAVVVPRWRQQWSGPGTTKR  
FPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQT  
VPCNKILLWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDTLGLYADDLTWCGEFNTSKINYQSCP  
DWRKDCSNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSEVHNQ  
PEKVQTLAEAVIIHGGREDSRDLCQDPTIKELESII SKRNIFQSKN IYRPDKFLQCVKNPE  
DSSCTSEI

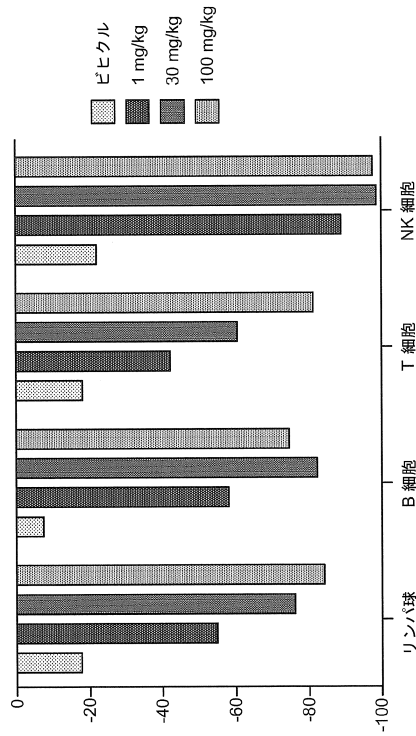
CD38 マカカ・ファシキュラリス/カニクイザル/*Crab eating macaque* (Accession AAT36330.1; SEQ ID NO:2)

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRAQVCLGVCLLVLLILVVVAVVLPWRWRQQWSGSGTTS  
RFPETVLARCVKYTEVHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKYPCNITEEDYQPLVKLGTQ  
TVPCNKTLTWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDMLLGYLADDLTWCGEFNTFEINYQSC  
PDWRKDCSNNPVSVFWKTVSRRFAETACGVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSEVHNH  
QPEKVQALEAVIIHGGREDSRDLCQDPTIKELESII SKRNIRFFCKN IYRPDKFLQCVKN  
PEDSSCLSGI

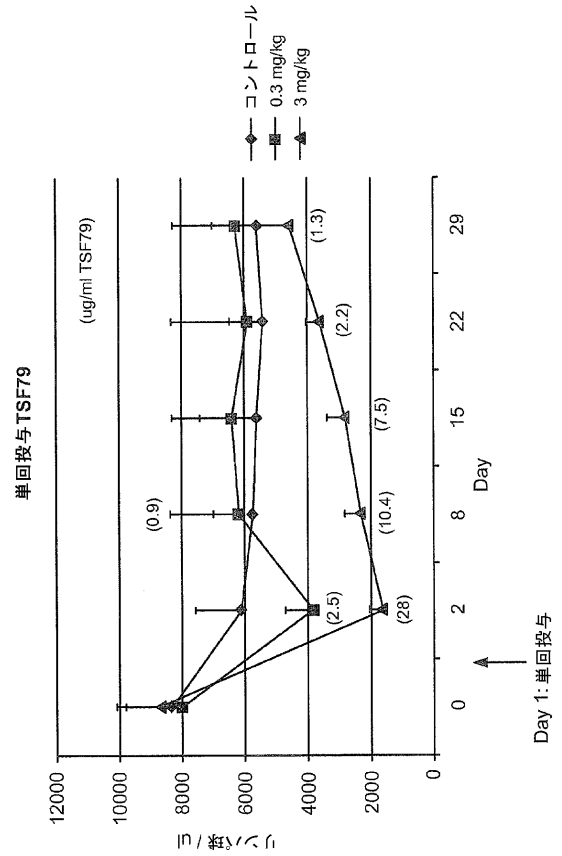
【 図 5 】



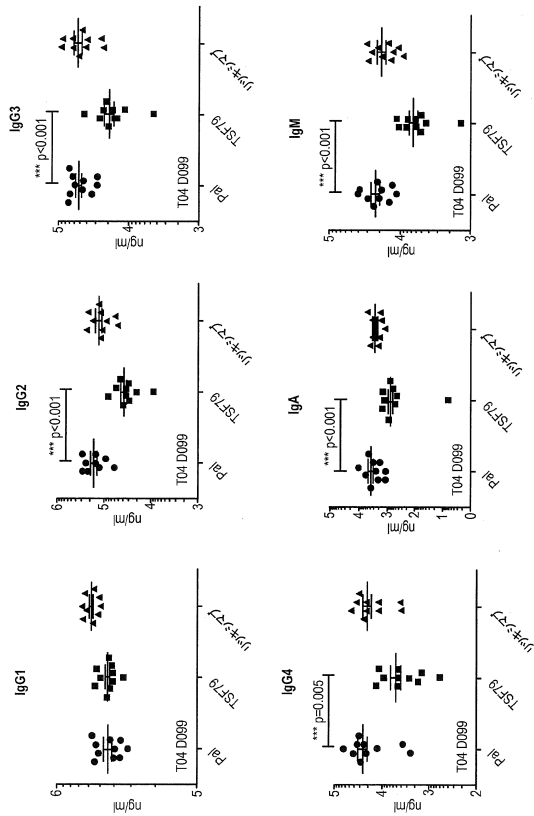
【図 6】



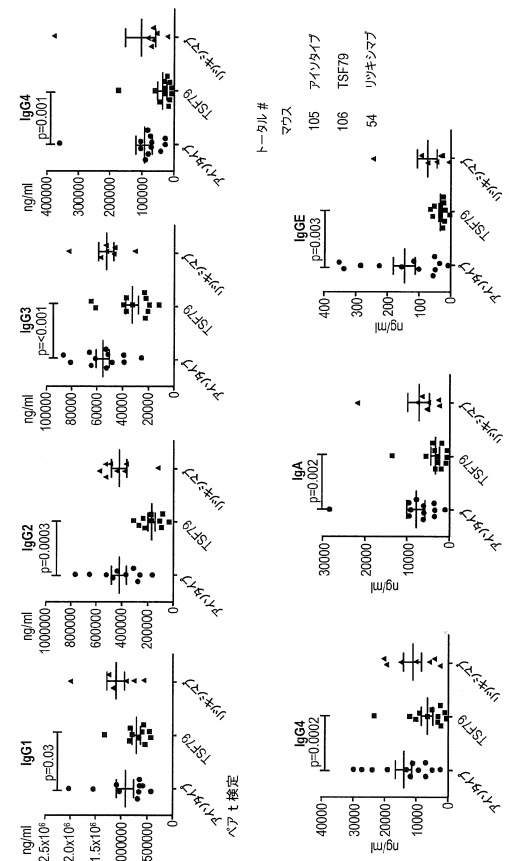
【図 7】



【図 8】

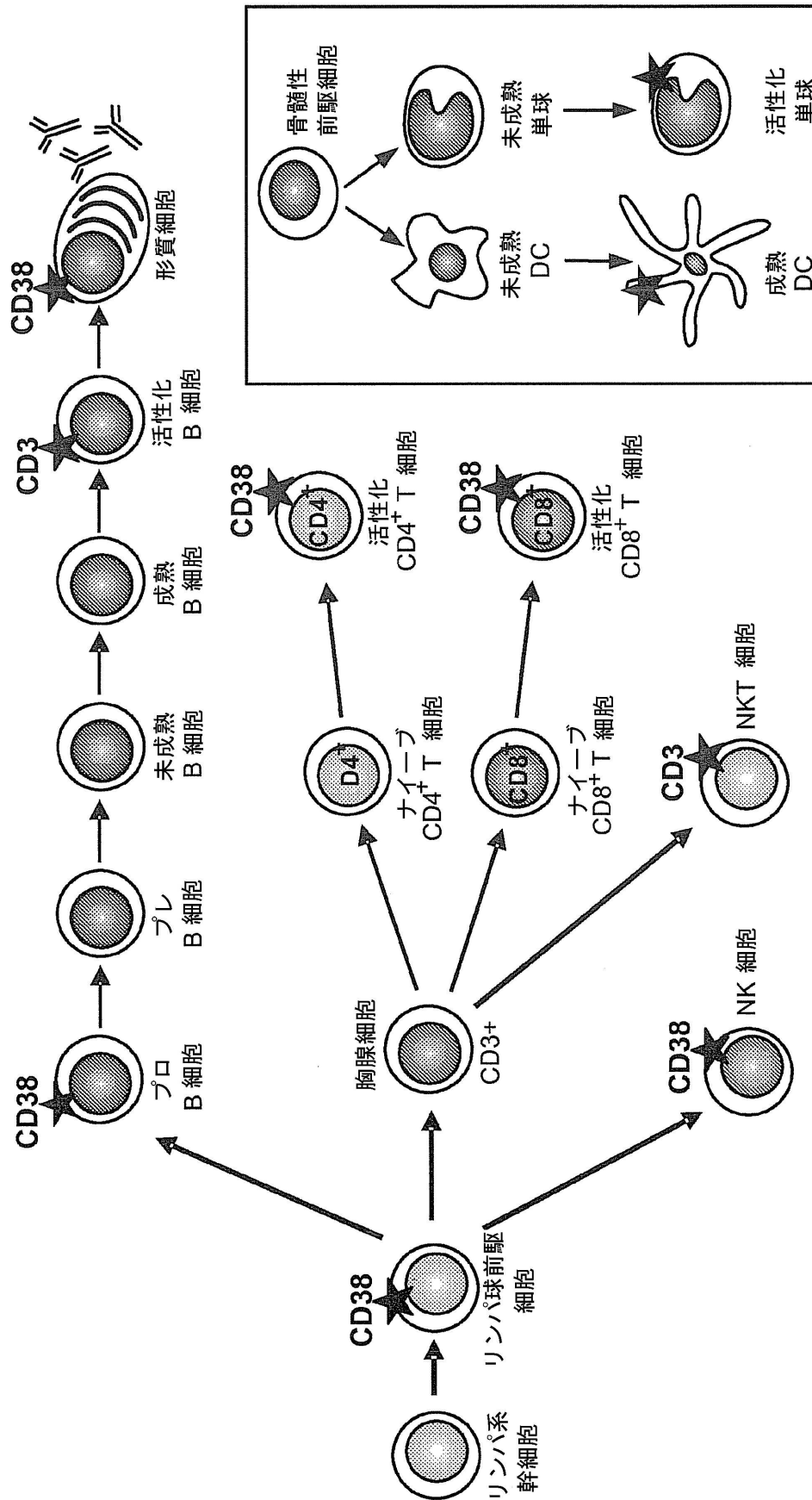


【図 9】





【図 1】



【配列表】

0005843884000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	29/00 1 0 1
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	1/04
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/06
			C 1 2 P	21/08

- (31)優先権主張番号 61/485,104  
 (32)優先日 平成23年5月11日(2011.5.11)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 61/470,382  
 (32)優先日 平成23年3月31日(2011.3.31)  
 (33)優先権主張国 米国(US)

## 早期審査対象出願

## 前置審査

- (72)発明者 ランデス、グレゴリー  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94080、サウス サン フランシスコ、イースト グラ  
 ンド アヴェニュー 285、 タケダ サン フランシスコ インコーポレーテッド内
- (72)発明者 シン、シュエーター  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94080、サウス サン フランシスコ、イースト グラ  
 ンド アヴェニュー 285、 タケダ サン フランシスコ インコーポレーテッド内
- (72)発明者 コーヴァー、ウーター  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94080、サウス サン フランシスコ、イースト グラ  
 ンド アヴェニュー 285、 タケダ サン フランシスコ インコーポレーテッド内
- (72)発明者 ドレイク、アンドリュー ウォーリング  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94080、サウス サン フランシスコ、イースト グラ  
 ンド アヴェニュー 285、 タケダ サン フランシスコ インコーポレーテッド内
- (72)発明者 ハーク - フレンショー、マリー  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94080、サウス サン フランシスコ、イースト グラ  
 ンド アヴェニュー 285、 タケダ サン フランシスコ インコーポレーテッド内
- (72)発明者 スネル、ジェルジュ パル  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94080、サウス サン フランシスコ、イースト グラ  
 ンド アヴェニュー 285、 タケダ サン フランシスコ インコーポレーテッド内
- (72)発明者 ブハスカー、ヴィナイ  
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94080、サウス サン フランシスコ、イースト グラ  
 ンド アヴェニュー 285、 タケダ サン フランシスコ インコーポレーテッド内

審査官 田中 晴絵

- (56)参考文献 国際公開第2006/125640(WO, A1)  
 国際公開第2012/092616(WO, A1)  
 国際公開第2010/021874(WO, A2)  
 国際公開第2009/077993(WO, A2)  
 特表2001-509817(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C07K 16/00 - 16/46

C12N 15/00 - 15/90

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/EMBASE/BIOSIS/WPIDS(STN)