

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7645204号
(P7645204)

(45)発行日 令和7年3月13日(2025.3.13)

(24)登録日 令和7年3月5日(2025.3.5)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	31/337 (2006.01)	A 6 1 K	31/337
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395 D
A 6 1 K	31/282 (2006.01)	A 6 1 K	39/395 N
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/282
請求項の数 2 外国語出願 (全83頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2022-201(P2022-201)	(73)特許権者	509012625
(22)出願日	令和4年1月4日(2022.1.4)		ジェネンテック, インコーポレイテッド
(62)分割の表示	特願2020-34955(P2020-34955)の分割		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー ウェイ 1
原出願日	平成26年12月17日(2014.12.17)	(74)代理人	110002077
(65)公開番号	特開2022-61996(P2022-61996A)		園田・小林弁理士法人
(43)公開日	令和4年4月19日(2022.4.19)	(72)発明者	キム, チョン
審査請求日	令和4年2月1日(2022.2.1)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 - 4 9 9 0, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1
(31)優先権主張番号	61/917,264	(72)発明者	チャン, ジャンヌ
(32)優先日	平成25年12月17日(2013.12.17)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 - 4 9 9 0, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		最終頁に続く
前置審査			

(54)【発明の名称】 PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを使用する癌の治療方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

MPDL3280Aを含む、個体において非小細胞肺癌（NSCLC）を治療するかまたはNSCLCの進行を遅延させるための医薬であって、

前記医薬は、（i）ナブ-パクリタキセル又はパクリタキセル、及び（ii）カルボプラチンと組み合わせて使用され、かつ

MPDL3280Aは、3週間に一回、静脈内投与される、医薬。

【請求項2】

MPDL3280Aを含む、個体において非小細胞肺癌（NSCLC）を治療するかまたはNSCLCの進行を遅延させるための医薬であって、

前記医薬は、（i）ナブ-パクリタキセルまたはパクリタキセル、（ii）カルボプラチン、及び（iii）ベバシズマブと組み合わせて使用される、医薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2013年12月17日出願の米国仮特許出願第61／917，264号に対する優先権を主張するものである。

【0002】

本発明は、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することにより個体にお

いて癌を治療し免疫機能を増強させる方法に関する。

【背景技術】

【0003】

T細胞に対して2つの全く異なるシグナルを提供することは、抗原提示細胞（APC）による休止Tリンパ球のリンパ球活性化のための広く受け入れられているモデルである。このモデルはさらに、非自己免疫寛容と自己免疫寛容との判別も提供する。一次シグナルまたは抗原特異的シグナルは、主要組織適合性複合体（MHC）に関して提示された外来性抗原ペプチドの認識の後にT細胞レセプター（TCR）を通して伝達される。第2シグナルまたは共刺激シグナルは、APC上で発現された共刺激分子によりT細胞に送達され、T細胞を誘発してクローン性増殖、サイトカイン分泌及びエフェクター機能を促進する。共刺激が不在である場合、T細胞は抗原刺激に対し不応性となり得、その結果、外来性または内在性のいずれかの抗原に対する寛容原性応答がもたらされる。

10

【0004】

2シグナルモデルにおいて、T細胞は、正及び負の両方の二次共刺激シグナルを受け取る。このような正及び負のシグナルの調節は、免疫寛容を維持し自己免疫を防止する一方で、宿主の防御免疫応答を最大にするために決定的に重大な意味をもつ。負の2次シグナルは、T細胞寛容の誘発に必要であると思われ、一方正のシグナルはT細胞の活性化を促進する。単純な2シグナルモデルはなお、ナイーブリンパ球について有効な説明を提供するものの、宿主の免疫応答は動的プロセスであり、共刺激シグナルはまた、抗原曝露されたT細胞に対しても提供され得る。

20

【0005】

共刺激の機序は、共刺激シグナルの操作が細胞ベースの免疫応答を増強または終結させるための手段を提供するため、治療上興味深いものである。T細胞の機能不全またはアレルギーは、PD-L1及びPD-L2を含むリガンドに結合する阻害性レセプターであるプログラム死1ポリペプチド（PD-1）の誘発型及び持続型発現と同時に発生する。PD-L1は、多くの癌において過剰発現され、多くの場合、予後不良に付随する。腫瘍浸潤Tリンパ球の大部分は、正常な組織内のTリンパ球及び末梢血Tリンパ球とは対照的に主としてPD-1を発現し、これは、腫瘍反応性T細胞上のPD-1のアップレギュレーションが、抗腫瘍免疫応答の機能障害に寄与し得ることを示している。これは、PD-1発現T細胞と相互作用するPD-L1発現腫瘍細胞により媒介されるPD-L1シグナル伝達の利用に起因することが考えられ、T細胞活性の減衰及び免疫学的監視の回避の結果としてもたらす。したがって、PD-L1/PD-L2相互作用の阻害は、腫瘍のCD8+T細胞媒介死滅を増強させる可能性がある。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

最適な治療的処置では、腫瘍の成長を直接阻害する作用物質とPD-1レセプター／リガンド相互作用の遮断とを組合わせてよい。さまざまな癌の治療、安定化、予防及び／または発達遅延のための最適な療法に対するニーズが存在する。

【課題を解決するための手段】

40

【0007】

本発明は、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することによって、癌を有する個体において癌を治療し免疫機能を増強させるための方法に関する。

【0008】

一態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための方法であって、個体に対して有効量のヒトPD-1軸結合アンタゴニストとタキサンとを投与することを含む方法の特徴とする。一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト及びPD-L2結合アンタゴニストからなる群から選択される。

【0009】

50

上述の態様の一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L1に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L2に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L1及びPD-L2の両方に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、MDX-1106（ニボルマブ）、MK-3475（ランブロリズマブ）、CT-011（ビジリズマブ）及びAMP-224からなる群から選択される。

10

【0010】

上述の態様の他の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストはPD-L1結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-1に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、B7-1に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-1及びB7-1の両方に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、抗体は、YW243、55、S70、MPDL3280A、MDX-1105及びMEDE4736からなる群から選択される。一部の実施形態において、抗体は、配列番号19のHVR-H1配列、配列番号20のHVR-H2配列、及び配列番号21のHVR-H3配列を含む重鎖と；配列番号22のHVR-L1配列、配列番号23のHVR-L2配列及び配列番号24のHVR-L3配列を含む軽鎖とを含む。一部の実施形態において、抗体は、配列番号26のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

20

【0011】

前述の態様の一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストはPD-L2結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストはイムノアドヘシンである。

【0012】

30

上述の態様の先行する実施形態のいずれにおいても、癌は非限定的に、乳癌（トリプルネガティブ乳癌（TNBC）を含む）、膀胱癌（尿路上皮膀胱癌（UBC）、筋内浸潤性膀胱癌及びBCG不応性非筋内浸潤性膀胱癌を含む）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、腎細胞癌（腎細胞癌腫を含む）、前立腺癌、肝癌、膵臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、子宮内膜癌、腎癌、卵巣癌、中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（骨髄異形成症候群（MDS）及び多発性骨髄腫を含む）であり得る。特定の実施形態において、癌は、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、膀胱癌（UBCを含む）、乳癌（TNBCを含む）、腎細胞癌腫、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（骨髄異形成症候群（MDS）及び多発性骨髄腫を含む）であり得る。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はUBCである。一部の実施形態において、乳癌はTNBCである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍はMDSまたは多発性骨髄腫である。

40

【0013】

上述の態様の先行実施形態のいずれかにおいて、個体は、癌を有するかまたは癌と診断されている。一部の実施形態において、個体における癌細胞はPD-L1を発現する。

【0014】

上述の態様の先行実施形態のいずれかにおいて、治療は結果として、個体においての応答をもたらす可能性がある。一部の実施形態において、応答は完全寛解である。一部の実

50

施形態において、応答は治療の中止後の持続性寛解である。一部の実施形態において、応答は治療の中止後も持続する完全寛解である。

【0015】

上述の態様の先行実施形態のいずれかにおいて、タキサンは、PD-1軸結合アンタゴニストの前に、PD-1軸結合アンタゴニストと同時に、またはPD-1軸結合アンタゴニストの後に投与される。一部の実施形態において、タキサンは、ナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルである。一部の実施形態において、タキサンはナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンはパクリタキセルである。

【0016】

別の態様において、本発明は、有効量のPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することを含む、癌を有する個体においての免疫機能増強方法の特徴とする。一部の実施形態において、個体におけるCD8+T細胞は、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンの投与前に比べ増強されたプライミング、活性化、増殖及び／または細胞溶解活性を有する。一部の実施形態において、CD8+T細胞の数は、組合せの投与前に比べて増加している。一部の実施形態において、CD8+T細胞は抗原特異的CD8+T細胞である。一部の実施形態において、Treg機能は、前記組合せの投与前に比べて抑制されている。一部の実施形態において、T細胞の消耗は、前記組合せの投与前に比べて減少している。一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト及びPD-L2結合アンタゴニストからなる群から選択される。

【0017】

上述の態様の一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L1に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L2に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L1及びPD-L2の両方に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、MDX-1106（ニボルマブ）、MK-3475（ランブロリズマブ）、CT-011（ビジリズマブ）及びAMP-224からなる群から選択される。

【0018】

上述の態様の他の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストはPD-L1結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-1に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、B7-1に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-1及びB7-1の両方に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、抗体は、YW243.55.S70、MPDL3280A、MDX-1105及びMEDI4736からなる群から選択される。一部の実施形態において、抗体は、配列番号19のHVR-H1配列、配列番号20のHVR-H2配列、及び配列番号21のHVR-H3配列を含む重鎖と；配列番号22のHVR-L1配列、配列番号23のHVR-L2配列及び配列番号24のHVR-L3配列を含む軽鎖とを含む。一部の実施形態において、抗体は、配列番号26のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0019】

前述の態様の他の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストはPD-L2結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストはイムノアドヘンシで

10

20

30

40

50

ある。

【0020】

上述の態様の先行する実施形態のいずれにおいても、癌は、乳癌（トリプルネガティブ乳癌（TNBC）を含む）、膀胱癌（尿路上皮膀胱癌（UBC）、筋内浸潤性膀胱癌及びBCG不応性非筋内浸潤性膀胱癌を含む）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、腎細胞癌（腎細胞癌腫を含む）、前立腺癌、肝癌、脾臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、子宮内膜癌、腎癌、卵巣癌、中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（骨髓異形成症候群及び多発性骨髓腫を含む）であり得る。特定の実施形態において、癌は、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、膀胱癌（UBCを含む）、乳癌（TNBCを含む）、腎細胞癌腫、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（例えば骨髓異形成症候群（MDS）及び多発性骨髓腫）であり得る。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はUBCである。一部の実施形態において、乳癌はTNBCである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍はMDSまたは多発性骨髓腫である。

10

【0021】

一部の実施形態において、個体における癌細胞はPD-L1を発現する。一部の実施形態において、タキサンはナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルである。一部の実施形態において、タキサンはナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンはパクリタキセルである。

20

【0022】

上述の態様のいずれか1つの一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンは、静脈内、筋内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内または鼻腔内投与される。

【0023】

上述の態様のいずれか1つの一部の実施形態において、方法にはさらに、有効量の化学療法剤を投与することが含まれていてよい。一部の実施形態において、化学療法剤は白金系の化学療法剤である。一部の実施形態において、白金系の化学療法剤はカルボプラチンである。

30

【0024】

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための薬剤の製造におけるヒトPD-1軸結合アンタゴニストの使用であって、薬剤が、ヒトPD-1軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、前記治療には、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形での薬剤の投与が含まれる、使用を特徴とする。

【0025】

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための薬剤の製造におけるタキサンの使用であって、薬剤が、タキサン及び任意の薬学的に許容可能な担体を含み、前記治療には、ヒトPD-1軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形での薬剤の投与が含まれる、使用を特徴とする。

40

【0026】

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させる上で使用するための、ヒトPD-1軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物であって、治療には、第2の組成物と組合せた形での前記組成物の投与が含まれ、第2の組成物がタキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む、組成物を特徴とする。

【0027】

50

別の態様において、本発明は、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させる上で使用するための、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物であって、治療には、第2の組成物と組合せた形で前記組成物の投与が含まれ、第2の組成物がヒトPD-1軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む、組成物を特徴とする。

【0028】

別の態様において、本発明は、PD-1軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む薬剤と；個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるためのタキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形で薬剤を投与するための指示書を含む添付文書とを含むキットを特徴とする。

10

【0029】

別の態様において、本発明は、PD-1軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む第1の薬剤と、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む第2の薬剤とを含むキットを特徴とする。一部の実施形態において、キットは、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるために第1の薬剤及び第2の薬剤を投与するための指示書を含む添付文書をさらに含む。

【0030】

別の態様において、本発明は、タキサンと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む薬剤と；個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるためのPD-1軸結合アンタゴニストと任意の薬学的に許容可能な担体とを含む組成物と組合せた形で薬剤を投与するための指示書を含む添付文書と、を含むキットを特徴とする。

20

【0031】

先行する態様のいずれか1つにおいて、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト及びPD-L2結合アンタゴニストからなる群から選択されていてよい。一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L1に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L2に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L1及びPD-L2の両方に対するPD-1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、MDX-1106（ニボルマブ）、MK-3475（ランブロリズマブ）、CT-011（ピジリズマブ）及びAMP-224からなる群から選択される。一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストはPD-L1結合アンタゴニストである。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-1に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、前記PD-L1結合アンタゴニストが、B7-1に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-1及びB7-1の両方に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは抗体である。一部の実施形態において、抗体は、YW243.55.S70、MPDL3280A、MDX-1105及びMEDI4736からなる群から選択される。一部の実施形態において、抗体は、配列番号19のHVR-H1配列、配列番号20のHVR-H2配列、及び配列番号21のHVR-H3配列を含む重鎖と；配列番号22のHVR-L1配列、配列番号23のHVR-L2配列及び配列番号24のHVR-L3配列を含む軽鎖とを含む。一部の実施形態において、抗体は、配列番号26のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

30

40

【0032】

先行する態様のいずれか1つにおいて、前記タキサンは、ナブパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルであってよい。一部の

50

実施形態において、タキサンは、ナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンはパクリタキセルである。

【0033】

本明細書中に記載のさまざまな実施形態の特性の1つ、一部または全てを組合わせて、本発明の他の実施形態を形成してもよいということを理解すべきである。本発明のこれらの及び他の実施形態は、当業者には明らかとなるものである。本発明のこれらの及び他の実施形態については、後出の詳細な説明によりさらに記述される。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】抗PD-L1抗体とパクリタキセル+カルボプラチンの組合せ療法の、C57BL/6マウスの体内の同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおける対照抗体またはパクリタキセル+カルボプラチン単独に比べて相乗的な抗腫瘍効果を実証していることを示すグラフである。このグラフは、時間の関数として、各治療グループの腫瘍体積の3次スプライン適合を示す。3次スプライン適合は、治療グループ1つあたりの全データに適合する最高の平滑曲線を選択する数学アルゴリズムである。およそ100~200mm³の確立した皮下MC38腫瘍を有するマウスを、腹腔内（IP）注射による80mg/kgの単回投与のカルボプラチンに加えて静脈内（IV）注射による10mg/kgのパクリタキセル、そして3週間にわたり週3回の割合で投薬された10mg/kgの抗gp120抗体または抗PD-L1（クローン25A1 mIgG2a, DANA）で治療した。1グループあたりのマウス数N=10。

10

【図2A】C57BL/6マウスの体内の同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおける抗PD-L1抗体（αPD-L1）単剤療法の効能を、デキサメタゾン（Dex）が抑制することを示すグラフである。図2Aは、各治療グループの腫瘍体積の3次スプライン適合を示し、一方図2Bは、個別のマウスについてのプロット（トレリスプロット）を示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の3次スプライン適合を示す）。図2B内の各グラフは、対照グループの3次スプライン適合を表わす破線を含む。図2Bについては、およそ300mm³にある水平破線は、進行体積についての1つの基準である（初期腫瘍体積の2倍）。32mm³より低い腫瘍体積（図2B内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ100~200mm³の確立した皮下MC38腫瘍を有するマウスを、4mg/kg IVで単回投与の生理食塩水またはデキサメタゾンのいずれかで治療し、12時間後に、3週間にわたり週3回の割合で10mg/kg IPで対照抗gp120抗体または抗PD-L1（クローン25A1 mIgG2a, DANA）のいずれかで治療した。1グループあたりのマウス数N=10。

20

30

【図2B】C57BL/6マウスの体内の同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおける抗PD-L1抗体（αPD-L1）単剤療法の効能を、デキサメタゾン（Dex）が抑制することを示すグラフである。図2Aは、各治療グループの腫瘍体積の3次スプライン適合を示し、一方図2Bは、個別のマウスについてのプロット（トレリスプロット）を示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の3次スプライン適合を示す）。図2B内の各グラフは、対照グループの3次スプライン適合を表わす破線を含む。図2Bについては、およそ300mm³にある水平破線は、進行体積についての1つの基準である（初期腫瘍体積の2倍）。32mm³より低い腫瘍体積（図2B内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ100~200mm³の確立した皮下MC38腫瘍を有するマウスを、4mg/kg IVで単回投与の生理食塩水またはデキサメタゾンのいずれかで治療し、12時間後に、3週間にわたり週3回の割合で10mg/kg IPで対照抗gp120抗体または抗PD-L1（クローン25A1 mIgG2a, DANA）のいずれかで治療した。1グループあたりのマウス数N=10。

40

【図3】デキサメタゾンがOTI養子T細胞移入及びワクチン接種モデルにおける抗原特異的T細胞応答を阻害することを示すグラフである。CD8+T細胞は、OTI Thy

50

1. 1マウスから精製され、マウス1匹につき250万個の細胞の割合でIV注射された。翌日、レシピエントマウスに対して、完全長オバルブミンに融合した抗DEC205 250 ngをIPでワクチン接種し、それに加えて4 mg/kgの生理食塩水またはデキサメタゾンのいずれかをIVで単回投与した。2日後に、マウスを安楽死させ、フローサイトメトリーにより脾臓から総OTICD8+細胞を計数した。1グループあたりのマウス数N=5。各符号は個別のマウスを表わす。両側で対応のないt検定により、P値を計算した。

【図4A】抗PD-L1抗体及びナブパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標）、Abx）+カルボプラチン（Carbo）の組合せ療法が結果として強い相乗的抗腫瘍効果をもたらし、持続性完全寛解（マウス8匹中4匹）を達成し、これが、C57BL/6マウスの体内の同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおいて90日超継続したことを示すグラフである。このグラフは、時間の関数として腫瘍体積を示す。図4Aは、各治療グループの腫瘍体積の3次スプライン適合を示し、一方図4Bは、個別のマウスについてのトレリスプロットを示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の3次スプライン適合を示す）。図4B内の各グラフは、対照グループの3次スプライン適合を表わす破線を含む。図4Bについては、およそ600 mm³にある水平破線は、進行体積についての1つの基準である（初期腫瘍体積の2倍）。32 mm³より低い腫瘍体積（図4B内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ300 mm³の確立した皮下MC38腫瘍を有するマウスを、3週間週3回の割合で10 mg/kgのIP注射により投与された抗gp120対照抗体または抗PD-L1抗体（クローンYW243.55.S70 mIgG2a.DANA）、そしてそれに加えて指示通り3週間毎週75 mg/kg IPの生理食塩水またはカルボプラチンプラス、3週間毎週15 mg/kg IVのABRAXANE（登録商標）で治療した。1グループあたりのマウス数N=8。

【図4B】抗PD-L1抗体及びナブパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標）、Abx）+カルボプラチン（Carbo）の組合せ療法が結果として強い相乗的抗腫瘍効果をもたらし、持続性完全寛解（マウス8匹中4匹）を達成し、これが、C57BL/6マウスの体内の同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおいて90日超継続したことを示すグラフである。このグラフは、時間の関数として腫瘍体積を示す。図4Aは、各治療グループの腫瘍体積の3次スプライン適合を示し、一方図4Bは、個別のマウスについてのトレリスプロットを示す（黒色曲線は、各治療グループについての腫瘍体積の3次スプライン適合を示す）。図4B内の各グラフは、対照グループの3次スプライン適合を表わす破線を含む。図4Bについては、およそ600 mm³にある水平破線は、進行体積についての1つの基準である（初期腫瘍体積の2倍）。32 mm³より低い腫瘍体積（図4B内に水平破線で示されている）は、目に見えるものの、小さ過ぎて正確に測定できない。およそ300 mm³の確立した皮下MC38腫瘍を有するマウスを、3週間週3回の割合で10 mg/kgのIP注射により投与された抗gp120対照抗体または抗PD-L1抗体（クローンYW243.55.S70 mIgG2a.DANA）、そしてそれに加えて指示通り3週間毎週75 mg/kg IPの生理食塩水またはカルボプラチンプラス、3週間毎週15 mg/kg IVのABRAXANE（登録商標）で治療した。1グループあたりのマウス数N=8。

【図5A】抗PD-L1抗体及びナブパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））+カルボプラチン療法で予めMC38一次腫瘍が治癒したマウス（図1Aに記載の完全寛解を達成するマウス）が、抗腫瘍T細胞記憶応答を生成することを示すグラフである。新たなMC38腫瘍細胞での二次再免疫の時点で、腫瘍は、100%（4/4）治癒マウスにおいて成長することができなかった。図5Aは、二次抗原投与から7日後に収穫した脾臓細胞が、一次抗原投与されたナイーブマウスに匹敵する数のCD4+及びCD8+T細胞を有することを示している。図5Bは、PMAプラスイオノマイシンでのインビトロ刺激の時点で、治癒したマウス由来のT細胞が、細胞内のサイトカイン染色により評価される通り、一次抗原投与を受けたマウスに比べて増強されたインターフェロン-γ（IF

10

20

30

40

50

N- γ) 産生を有していることを示すフローサイトメトリー分析の結果を示している。エラーバーは、 $n=5$ (一次抗原投与を受けたマウス) または $n=4$ (治療したマウス、二次抗原投与) の標準偏差を表わし、フローサイトメトリードットプロットは、各グループからの一匹のマウスを表わす。P 値は、両側で対応のない t 検定により計算された。

【図 5 B】抗 PD-L1 抗体及びナブパクリタキセル (ABRAXANE (登録商標)) + カルボプラチン療法で予め MC38 一次腫瘍が治療したマウス (図 1 A に記載の完全寛解を達成するマウス) が、抗腫瘍 T 細胞記憶応答を生成することを示すグラフである。新たな MC38 腫瘍細胞での二次再免疫の時点で、腫瘍は、100% (4/4) 治療マウスにおいて成長することができなかった。図 5 A は、二次抗原投与から 7 日後に収穫した脾臓細胞が、一次抗原投与されたナイーブマウスに匹敵する数の CD4+ 及び CD8+ T 細胞を有することを示している。図 5 B は、PMA プラスイオノマイシンでのインビトロ刺激の時点で、治療したマウス由来の T 細胞が、細胞内のサイトカイン染色により評価される通り、一次抗原投与を受けたマウスに比べて増強されたインターフェロン- γ (IFN- γ) 産生を有していることを示すフローサイトメトリー分析の結果を示している。エラーバーは、 $n=5$ (一次抗原投与を受けたマウス) または $n=4$ (治療したマウス、二次抗原投与) の標準偏差を表わし、フローサイトメトリードットプロットは、各グループからの一匹のマウスを表わす。P 値は、両側で対応のない t 検定により計算された。

【図 6 A】タキサン及びカルボプラチンを用いた抗 PD-L1 抗体 (MPDL3280A) の組合せ療法の効能を試験する第 1 b 相臨床試験からの結果を示すグラフである。図 6 A は、MPDL3280A、ナブパクリタキセル (ABRAXANE (登録商標)) 及びカルボプラチンでの治療後の経時的腫瘍サイズ変化を示すグラフである。客観的応答率 (ORR) は患者数で 9/14 であり、完全寛解 (CR) 3 名、部分寛解 (PR) 6 名であった。図 6 B は、パクリタキセル+カルボプラチンを伴う MPDL3280A での治療後の経時的腫瘍サイズ変更を示すグラフである。ORR は患者数で 2/6 (33%) であり、部分寛解 2 名であった。

【図 6 B】タキサン及びカルボプラチンを用いた抗 PD-L1 抗体 (MPDL3280A) の組合せ療法の効能を試験する第 1 b 相臨床試験からの結果を示すグラフである。図 6 A は、MPDL3280A、ナブパクリタキセル (ABRAXANE (登録商標)) 及びカルボプラチンでの治療後の経時的腫瘍サイズ変化を示すグラフである。客観的応答率 (ORR) は患者数で 9/14 であり、完全寛解 (CR) 3 名、部分寛解 (PR) 6 名であった。図 6 B は、パクリタキセル+カルボプラチンを伴う MPDL3280A での治療後の経時的腫瘍サイズ変更を示すグラフである。ORR は患者数で 2/6 (33%) であり、部分寛解 2 名であった。

【発明を実施するための形態】

【0035】

I. 定義

本発明について詳述する前に、本発明が、特定の組成物または生物学系に限定されるものではなく、これらは当然変動し得るということを理解すべきである。また、本明細書中で使用される専門用語が、特定の実施形態を説明することだけを目的としたものであって、限定的であるように意図されていないということも理解すべきである。

【0036】

本明細書及び添付図面中で使用されている単数形態の「a」、「an」及び「the」は、内容が明らかに相反する意味を指示しているのでないかぎり、複数の指示対象をも含む。したがって例えば、「a molecule」という言及は、任意には 2 つ以上のこのような分子の組合せなども含む。

【0037】

本明細書中で使用されている「約 (およそ)」という用語は、この技術的分野における当業者にとって直ちに公知であるそれぞれの値についての通常の誤差範囲を意味する。本明細書中の「約 (およそ)」付きの値またはパラメータに対する言及は、その値またはパラメータ自体に向けられた実施形態を含む (かつ説明する)。

【0038】

本明細書中に記載の本発明の態様及び実施形態は、これらの態様及び実施形態「を含む」、「からなる」及び「本質的にそれからなる」ことを含むものと理解される。

【0039】

「PD-1軸結合アンタゴニスト」なる用語は、PD-1軸パートナーとその結合パートナーのいずれか1つ以上との相互作用を阻害して、PD-1シグナル伝達軸上のシグナル伝達の結果としてもたらされるT細胞の機能不全を除去し、その結果T細胞の機能（例えば増殖、サイトカイン産生、及び／または標的細胞死滅）を回復または増強する分子を意味する。本明細書中で使用されるPD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト及びPD-L2結合アンタゴニストを含む。

10

【0040】

「PD-1結合アンタゴニスト」なる用語は、PD-1とPD-L1及び／またはPD-L2などのその結合パートナーの1つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する分子を意味する。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、その結合パートナーの1つ以上に対するPD-1の結合を阻害する分子である。特定の態様では、PD-1結合アンタゴニストは、PD-L1及び／またはPD-L2に対するPD-1の結合を阻害する。例えば、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、ならびにPD-1とPD-L1及び／またはPD-L2との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1を通じたTリンパ球媒介型シグナル伝達時点で発現される細胞表面タンパク質によってまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを減少させて、機能不全T細胞の機序不全を弱める（例えば、抗原認識に対するエフェクター応答を増強させる）。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは抗PD-1抗体である。特定の態様では、PD-1結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるMDX-1106（ニボルマブ）である。別の特定の態様では、PD-1結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるMK-3475（ラムプロリズマブ）である。別の特定の態様では、PD-1結合アンタゴニストは本明細書に記載されるCT-011（ビジリズマブ）である。別の特定の態様において、PD-1結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるAMP-224である。

20

30

【0041】

「PD-L1結合アンタゴニスト」なる用語は、PD-1のPD-1及び／またはB7-1などのその結合パートナーのいずれか1つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する分子を意味する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1のその結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様では、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-1及び／またはB7-1に対するPD-L1の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、ならびにPD-L1とPD-1及び／またはB7-1などのその結合パートナーの1つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1を通じたTリンパ球媒介型シグナル伝達時点で発現される細胞表面タンパク質によってまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを減少させて、機能不全T細胞の機序不全を弱める（例えば、抗原認識に対するエフェクター応答を増強させる）。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは抗PD-L1抗体である。特定の態様では、抗PD-L1抗体は、本明細書に記載されるYW243.55.S70である。別の特定の態様では、抗PD-L1抗体は、本明細書に記載されるMDX-1105である。さらに別の特定の態様では、抗PD-L1抗体は本明細書に記載されるMPDL3280Aである。さらに別の特定の態様において、抗PD-L1抗体は、本明細書に記載されるMEI4736である。

40

50

【0042】

「PD-L2結合アンタゴニスト」なる用語は、PD-L2とPD-1などのその結合パートナーのいずれか1つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する分子を意味する。一部の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは、その結合パートナーの1つ以上に対するPD-L2の結合を阻害する分子である。特定の態様では、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-1に対するPD-L2の結合を阻害する。一部の実施形態において、PD-L2アンタゴニストは、抗PD-L2抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、ならびにPD-L2のPD-1などのその結合パートナーのいずれか1つ以上との相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑制または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2を通じたTリンパ球媒介型シグナル伝達時点で発現される細胞表面タンパク質によってまたはそれを通して媒介される負の共刺激シグナルを減少させて、機能不全T細胞の機序不全を弱める（例えば、抗原認識に対するエフェクター応答を増強させる）。一部の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストはイムノアドヘシンである。

10

【0043】

本明細書中で使用される「タキサン」は、チューブリンに結合して、微小管のアセンブリ及び安定化を促進しかつ／または微小管脱重合を防止し得るジペルテンである。本明細書中に含まれるタキサンは、タキソイド10-デアセチルパッカチンIII及び／またはその誘導体を含んでいる。例示的タキサンとしては、パクリタキセル（すなわち、TAXOL（登録商標）、CAS #33069-62-4）、ドセタキセル（すなわち、TAXOTERE（登録商標）、CAS #114977-28-5）、ラロタキセル、カルバジタキセル、ミラタキセル、テセタキセル、及び／またはオラタキセルがあるが、これらに限定されない。一部の実施形態において、タキサンは、アルブミンでコーティングされたナノ粒子（例えばナノアルブミン結合型（ナブ）-パクリタキセル、すなわちABRAXANE（登録商標）及び／またはナブドセタキセルABI-008）である。一部の実施形態では、タキサンはナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンは、ナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））である。一部の実施形態において、タキサンは、CREMAPHOR（登録商標）（例えばTAXOL（登録商標））及び／またはTween、例えばポリソルベート80（例えばTAXOTERE）（登録商標）中に調合される。一部の実施形態において、タキサンは、リポゾーム封入タキサンである。一部の実施形態において、タキサンは、タキサンのプロドラッグ形態及び／またはコンジュゲート形態（例えば、パクリタキセル、パクリタキセルポリグルメクス及び／またはリノレイルカルボネート-パクリタキセルに共有結合コンジュゲートされたDHA）である。一部の実施形態において、パクリタキセルは、実質的に全く界面活性剤の無い状態で（例えばCREMAPHOR及び／またはTween-例えばTOCOSOL（登録商標）パクリタキセルの不在下で）調合される。

20

30

【0044】

免疫機能不全との関連での「機能不全」なる用語は、抗原刺激に対する免疫応答性が低下した状態を意味する。この用語には、抗原認識は発生し得るものの、次の免疫応答が感染または腫瘍成長を制御するのに有効でない「消耗」及び／またはアネルギーの両方の共通要素が含まれる。

40

【0045】

本明細書中で使用される「機能不全の」という用語にはまた、抗原認識に対し不応性のまたは無応答性の、具体的には、抗原認識を下流側のT細胞エフェクター機能、例えば増殖、サイトカイン産生（例えばIL-2）及び／または標的細胞死滅へと翻訳する能力の障害も含まれる。

【0046】

「アネルギー」なる用語は、T細胞レセプターを通して送達される不完全なまたは不充

50

分なシグナル（例えば ras 活性化の不在下での細胞内 Ca^{+2} の増加）の結果としてもたらされる抗原刺激に対する無応答性状態を意味する。T細胞アネルギーはまた、共刺激の不在下で抗原を用いた刺激の時点でも結果として発生し、その結果、細胞は、共刺激の状況下でさえ抗原による後続する活性化に対して不応性となる。無応答性状態は多くの場合、インターロイキン2の存在によって乗り越えられる。アネルギーT細胞はクローン性増殖を受けず、かつ／またはエフェクター機能を獲得する。

【0047】

「消耗」なる用語は、多くの慢性感染症及び癌の間に発生する持続的なTCRシグナル伝達から生じるT細胞機能不全状態としてのT細胞消耗を意味する。これは、それが不完全なまたは不十分なシグナル伝達を通してではなく、持続的なシグナル伝達から生じるという点で、アネルギーと区別される。それは、低いエフェクター機能、阻害性レセプターの持続した発現、及び機能性エフェクターまたは記憶T細胞のものとは全く異なる転写状態により、定義づけられる。消耗は、感染及び腫瘍の最適な制御を妨げる。消耗は、外因性の負の調節経路（例えば免疫調節サイトカイン）ならびに細胞内因性負の調節（共刺激）経路（PD-1、B7-H3、B7-H4など）の両方によりもたらされ得る。

【0048】

「T細胞機能を増強させる」とは、生物学的機能を持続または増幅させるように、あるいは消耗したまたは不活性のT細胞を再生させるまたは再活性化するように、T細胞を誘発する、それに働きかける、またはそれを刺激することを意味する。T細胞機能の増強の例には、治療介入前のレベルに比較した場合の、CD8+T細胞由来の γ インターフェロンの分泌増加、増殖の増大、抗原応答性の上昇（例えば、ウイルスまたは病原体または腫瘍のクリアランス）が含まれる。一実施態様において、増強のレベルは少なくとも50%、あるいは60%、70%、80%、90%、100%、120%、150%、または200%である。このような増強の測定方法は、当業者にとって公知である。

【0049】

「T細胞機能不全障害」は、抗原刺激に対する応答性の低下を特徴とするT細胞の障害または状態である。特定の実施態様において、T細胞機能不全障害は、PD-1を通じた不適切なシグナル伝達の増大に特に関連付けられる障害である。別の実施態様において、T細胞機能不全障害は、T細胞がアネルギー状態にあるか、あるいは、サイトカインを分泌し、増殖し、または細胞溶解活性を発揮する能力が低下している障害である。特定の態様では、応答性の低下により、免疫原性を発現する病原体または腫瘍の制御の効果が失われる結果となる。T細胞の機能不全を特徴とするT細胞機能不全障害の例には、消散していない急性感染症、慢性感染症、及び腫瘍免疫が含まれる。

【0050】

「腫瘍免疫」は、腫瘍が免疫認識及びクリアランスを回避するプロセスを意味する。したがって、治療概念として、腫瘍免疫は、このような回避が減衰し、処理され、腫瘍が認識されて免疫系により攻撃される場合、「処置」されていることになる。腫瘍認識の例には、腫瘍結合、腫瘍収縮、及び腫瘍クリアランスが含まれる。

【0051】

「免疫原性」は、免疫応答を引き起こす特定の物質の能力を意味する。腫瘍は免疫原性であり、腫瘍原性を増強させることは、免疫応答による腫瘍細胞のクリアランスを助ける。腫瘍原性の増強の例には、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンでの治療が含まれる。

【0052】

「持続性寛解」は、治療の中止後の腫瘍増殖の減少に対する持続的効果を意味する。例えば、投与段階の開始時におけるサイズと比べて、腫瘍サイズは同じであるか、または小さいものにとどまるかもしれない。一部の実施形態において、持続性寛解は、治療持続時間と少なくとも同じ長さ、例えば、治療持続時間の1.5倍、2.0倍、2.5倍、または3.0倍の長さを有する。

【0053】

本明細書で使用される「癌の再発を減少させるまたは阻害する」とは、腫瘍または癌の再発または腫瘍または癌の進行を減少させるまたは阻害することを意味する。本明細書中で開示される通り、癌の再発及び／または癌の進行には、限定するものではないが、癌の転移を含む。

【0054】

本明細書で使用される「完全寛解」または「CR」とは、全ての標的病変の消滅を意味する。

【0055】

本明細書で使用される「部分寛解」または「PR」とは、ベースライン長経和（SLD）を基準として、標的病変のSLDの少なくとも30%の減少を意味する。

10

【0056】

本明細書で使用される「疾病安定」または「SD」とは、治療を開始してからの最小SLDを基準として、PRにふさわしくなるのに十分な標的病変の収縮も、PDにふさわしくなるのに十分な増大もないことを意味する。

【0057】

本明細書で使用される「疾病進行」または「PD」は、治療の開始以降に記録された最小のSLDを基準とする、標的病変のSLDの少なくとも20%の増大または1つ以上の新たな病変の存在を意味する。

【0058】

本明細書で使用される「無憎悪生存期間」（PFS）は、治療中及び治療後の、治療対象疾病（例えば癌）が悪化しない時間的長さを意味する。無憎悪生存期間には、患者が完全寛解または部分寛解を有する時間量、ならびに患者が疾病の安定を経験した時間量が含まれてよい。

20

【0059】

本明細書で使用される「全応答率」または「客観的応答率」（ORR）とは、完全寛解（CR）率と部分寛解（PR）率の和を意味する。

【0060】

本明細書で使用される「全生存率」（OS）とは、特定の持続時間の後に生存している確率の高いグループ内の個体の百分率を意味する。

【0061】

「医薬調合物」とは、活性成分の生物活性が有効となることができるようにする形態を有し、その調合物を投与する予定の対象にとって許容できないほど毒性の高い追加の構成成分を全く含まない調製物を意味する。このような調合物は無菌である。薬学的に許容可能な賦形剤（ビヒクル、添加剤）は、利用される活性成分を有効用量だけ提供するために対象の哺乳動物に合理的に投与され得る賦形剤である。

30

【0062】

本明細書で使用される「治療」とは、臨床病理学の経過の間に治療対象となっている個体または細胞の自然の経過を改変することを意図する臨床的介入を意味する。所望される治療の効果には、疾病の進行速度の低下、疾病状態の改善または軽減、及び寛解または予後の改善が含まれる。例えば、個体は、癌細胞の増殖の低減（または破壊）、疾病の結果としての症候の減少、疾病を患う者の生活の質の向上、疾病を治療するのに必要とされる他の薬剤の用量減少及び／または個体の延命を含めて（ただしこれらに限定されない）、癌に付随する1つ以上の症候が緩和または除去された場合に、「治療」に成功したことになる。

40

【0063】

本明細書で使用される疾病の「進行を遅延させる」とは、疾病（例えば、癌）の発生を延ばす、妨げる、減速させる、遅らせる、安定させる、及び／または先送りにすることを意味する。この遅延の時間的長さは、病歴及び／または治療対象の個体の履歴に応じて変動し得る。当業者には自明であるように、十分なまたは有意な遅延は、事実上、個体が疾病を発症しないという意味で予防を包含する。例えば、転移の発生といった末期癌を遅延

50

させられるかもしれない。

【0064】

「有効量」とは、少なくとも特定の障害の測定可能な改善または予防を達成するために必要な最小量である。本明細書において、有効量は、患者の病状、年齢、性別、体重、及び個体において所望の応答を惹起する作用物質の能力といった要因に応じて変動し得る。また、有効量とは、治療的に有益な効果が、治療のいずれの毒性または有害効果よりも勝る量でもある。予防的使用の場合、有益なまたは所望される結果には、疾患の生化学的、組織学的、及び／または挙動的症候、その合併症、並びに疾患の発達中に出現する中間の病理学的表現型を含めて、疾病の、リスクを排除または減少させること、重症度を下げること、あるいは開始を遅らせることといった結果が含まれる。治療的使用の場合、有益なまたは所望される結果には、疾病の結果としての1つ以上の症候を低減すること、疾病を患う者の生活の質を向上させること、疾病の治療に必要な他の薬剤の用量を減らすこと、及びターゲティングによるなどして別の薬剤の効果を増強すること、疾病の進行を遅らせること、及び／または延命することといった臨床結果が含まれる。癌または腫瘍の場合、有効量の薬剤は、癌細胞の数を減少させる；腫瘍のサイズを小さくする；癌細胞の周辺器官への浸潤を阻害する（即ち、ある程度緩慢にする、望ましくは止める）；腫瘍の転移を阻害する（即ち、ある程度緩慢にする、望ましくは止める）；腫瘍の成長をある程度阻害する；及び／または障害に付随する1つ以上の症候をある程度和らげるうえで効果を有する可能性がある。有効量は、1回以上の投与回数で投与することができる。本発明の目的において、薬剤、化合物、または医薬組成物の有効量とは、直接的にまたは間接的に、

10

20

【0065】

本明細書で使用される「～と併せて」とは、別の治療様式を追加した1つの治療様式の投与を意味する。したがって、「～と併せて」は、個体に対する一治療様式の投与の前、最中、または後の、他の治療様式の投与を意味する。

30

【0066】

「障害」とは、哺乳動物を問題の障害に罹患しやすくする病的状態を含めた、慢性及び急性障害または疾病を含む（ただしこれらに限定されない）、治療により恩恵を受けると考えられるあらゆる身体条件である。

【0067】

「細胞増殖性障害」及び「増殖性障害」なる用語は、或る程度の異常細胞増殖に付随する障害を意味する。一実施形態において、細胞増殖性障害は癌である。一実施形態において、細胞増殖性障害は腫瘍である。

【0068】

本明細書で使用される「腫瘍」なる用語は、悪性であるか良性であるかに関わらず、全ての新生細胞成長及び増殖、及び全ての前癌及び癌細胞及び組織を意味する。「癌」、「癌性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」及び「腫瘍」なる用語は、本明細書中で言及されているように、互いに排他的ではない。

40

【0069】

「癌」及び「癌性」なる用語は、典型的に無制御の細胞成長を特徴とする哺乳動物の生理学的状態を意味するか、または記述する。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫及び白血病または悪性リンパ腫が含まれるがこれらに限定されない。このような癌のさらに詳細な例には、扁平上皮癌（例えば上皮性扁平上皮細胞癌）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、及び肺の扁平上皮癌を含めた肺癌、腹膜の癌、肝細胞癌、消化管癌及び消化管間質癌を含めた胃癌、膵臓癌、グリア芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱

50

癌（例えば尿路上皮膀胱癌（U B C）、筋内浸潤性膀胱癌（M I B C）及びB C G不応性非筋内浸潤性膀胱癌（N M I B C））、尿路癌、肝癌、乳癌（例えばH E R 2 + 乳癌及び、エストロゲンレセプター（E R -）、プロゲステロンレセプター（P R -）及びH E R 2（H E R 2 -）陰性であるトリプルネガティブ乳癌（T N B C））、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌（例えば腎細胞癌（R C C））、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌腫、肛門癌、陰茎癌腫、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端性黒子性黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（N H L）；小リンパ球性（S L）N H L；中悪性度／濾胞性N H L；中悪性度びまん性N H L；高悪性度免疫芽球性N H L；高悪性度リンパ芽球性N H L；高悪性度小型非開裂性細胞N H L；巨大病変N H L；マントル細胞リンパ腫；A I D S 関連リンパ腫；及びヴァルデンストレームマクログロブリン血症を含む）；慢性リンパ球性白血病（C L L）；急性リンパ芽球性白血病（A L L）；急性骨髄性白血病（A M L）；ヘアリー細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病（C M L）；及び移植後リンパ増殖性疾患（P T L D）、骨髄異形成症候群（M D S）、ならびに母斑症に随伴する異常血管増殖、浮腫（例えば脳腫瘍に伴うもの）、メーグス症候群、脳並びに頭部及び頸部癌、及びそれに随伴する転移が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、本発明の方法及び組成物による治療に敏感に反応する癌は、乳癌（例えばトリプルネガティブ乳癌）、膀胱癌（例えばU B C、M I B C、及びN M I B C）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（例えば扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（N H L）、腎細胞癌（例えばR C C）、前立腺癌、肝癌、脾臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、卵巣癌、中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（例えばM D S及び多発性骨髄腫）であり得る。一部の実施形態において、癌は、小細胞肺癌、グリア芽腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌腫、胃癌、結腸直腸癌（C R C）、及び肝細胞癌腫から選択される。他の実施形態において、癌は、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、グリア芽腫、及び乳癌腫（これらの癌の転移形態も含む）から選択される。特定の実施形態において、癌は、肺癌（例えば、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌）、膀胱癌（例えばU B C）、乳癌（例えばT N B C）、R C C、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（例えばM D S及び多発性骨髄腫）から選択される。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はU B Cである。一部の実施形態において、乳癌は、T N B Cである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍は、M D Sまたは多発性骨髄腫である。

【0070】

本明細書で使用される「細胞毒性剤」なる用語は、細胞にとって有害である（例えば細胞死を引き起こす、増殖を阻害する、または他の形で細胞の機能を妨げる）任意の作用物質を意味する。細胞毒性剤には、放射性同位元素（例えばA t ²¹¹、I ¹³¹、I ¹²⁵、Y ⁹⁰、R e ¹⁸⁶、R e ¹⁸⁸、S m ¹⁵³、B i ²¹²、P ³²、P b ²¹²及びL uの放射性同位元素；化学療法剤；成長阻害剤；酵素及びそのフラグメント、例えば核酸分解酵素；及び毒素、例えば小分子毒素、または、細菌、真菌、植物または動物由来の酵素活性毒素（そのフラグメント及び／または変異体を含む）が含まれるが、これらに限定されない。例示的な細胞毒性剤は、抗微小管剤、白金配位錯体、アルキル化剤、抗生剤、トポイソメラーゼI阻害薬、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼI阻害剤、ホルモン及びホルモン類似体、シグナル伝達経路阻害薬、非レセプターチロシンキナーゼ血管形成阻害薬、免疫療法薬、アポトーシス促進薬、L D H - Aの阻害薬、脂肪酸生合成阻害薬、細胞周期シグナル伝達阻害薬、H D A C阻害薬、プロテアソーム阻害薬、及び癌代謝阻害薬から選択可能である。一実施形態において、細胞毒性剤は、白金系化学療法薬である。一実施形態において、細胞毒性剤は、E G F Rのアンタゴニストである。一実施形態において、細胞毒性剤はN -（3 -エチニルフェニル） - 6，7 - ビス（2 - メトキシエトキシ）キナゾリン - 4 - アミン（例えば、エルロチニブ、T A R C E V A（商標））である。一実施形態において、細胞毒性剤はR A F阻害薬である。一実施形態において、R A F阻害薬は

10

20

30

40

50

BRAF及び／またはCRAF阻害薬である。一実施形態において、RAF阻害薬は、ベムラフェニブである。一実施形態において、細胞毒性剤はPI3K阻害薬である。

【0071】

本明細書で使用される「化学療法薬」には、癌の治療に有用な化合物が含まれる。化学療法薬の例としては、エルロチニブ（TARCEVA（登録商標）、Genentech／OSI Pharm.）、ボルテゾミブ（VELCADE（登録商標）、Millenium Pharm.）、ジスルフィラム、エピガロカテキンガレート、サリノスポラミドA、カルフィルゾミブ、17-AAG（ゲルダナマイシン）、ラジシコール、ラクテートデヒドロゲナーゼA（LDH-A）、フルヴェストラント（FASLODEX（登録商標）、AstraZeneca）、スニチブ（SUTENT（登録商標）、Pfizer／Sugen）、レトロゾール（FEMARA（登録商標）、Novartis）、イマチニブメシレート（GLEEVEC（登録商標）、Novartis）、フィナスネート（VATALANIB（登録商標）、Novartis）、オキサリプラチン（ELOXATIN（登録商標）、Sanofi）、5-FU（5-フルオロウラシル）、ロイコボリン、ラパマイシン（Sirolimus、RAPAMUNE（登録商標）、Wyeth）、ラパチニブ（TYKERB（登録商標）、GSK572016、Glaxo Smith Kline）、ロナファミブ（SCH 66336）、ソラフェニブ（NEXAVAR（登録商標）、Bayer Labs）、ゲフィチニブ（IRESSA（登録商標）、AstraZeneca）、AG1478、アルキル化剤例えば、チオテパ及びCYTOXAN（登録商標）シクロスホスファミド；アルキルスルホネート類、例えばブスルファン、インブrosulfan及びピボスulfan；アジリジン類、例えばベンゾドパ、カルボクオン、メツレドパ及びウレドパ；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド及トリメチロメラミンを含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；アセトゲニン類（特にブラタシン及びブラタシノン）；カンプトテシン（トポテカン及びイリノテカンを含む）；ブリオスタチン；カリスタチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成類似体を含む）；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8）；アデノコルチコステロイド類（プレドニゾン及びプレドニゾロンを含む）サイプロテロンアセテート；5α-レダクターゼ フィナスステリド及びデュタステリドを含む）；ポリノスタット、ロミデプシン、パノビノスタット、バルプロ酸、モセチノスタットドラスタチン；アルデスロイキン、タルクデュオカルマイシン（合成類似体、KW-2189及びCB1-TM1を含む）；エリテロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンジスタチン；ナイトロジェンマスタード類、例えばクロラムブシル、クロマファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンビチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタード；ニトロソウレア類、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムヌスチン；抗生物質、例えばエンジイン抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシンγ1I及びカリケアマイシンω1I（Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 33:183-186（1994）））；ダイネミシンAを含むダイネミシン；ビスホスホネート類、例えばクロドロネート；エスペラマイシン；ならびにネオカルチノスタチン発色団及び関連する色素タンパクエンジイン抗生物質発色団）、アクラシノマイシン類、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン類、カクチノマイシン、カラビシン、カミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシニス類、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6-ジアゾ-5-オキソ-ε-ノルロイシン、ADRIAMYCIN（登録商標）（ドキソルビシン）、モルホリノードキソルビシン、シアノモルホリノードキソルビシン、2-ピロリノードキソルビシン及びデオキシドキソルビシン）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン類、例えばマイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルビ

10

20

30

40

50

シン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；代謝拮抗剤、例えばメトトレキサート及び5-フルオロウラシル（5-FU）；葉酸類似体、例えばデノブテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート；プリン類似体、例えばフルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジン類似体、例えばアンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン；アンドロゲン類、例えばカルステロン、ドロモスタノロンプロピオネート、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗アドレナール、例えばアミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充薬、例えばフォリン酸；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビスアントレン；エダトレキサート；デフォファミン；デメコルチン；ジアジコン；エルフォミチン；エリプチニウムアセテート；エボチロン；エトグルシド；ガリウムニトレート；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシノイド類、例えばメイタンシン及びアンサミトシン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダムノール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメト；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖類複合体（JHS Natural Products, Eugene, OR）；ラゾキサン；リゾキシシン；シゾフラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特に、T-2トキシシン、ベラクリンA、ロリジンA及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキサン；クロラムブシル；GEMZAR（登録商標）（ゲムシタビン）；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；ピンブラスチン；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；NAVELBINE（登録商標）（ビノレリビン）；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カペシタビン（XELODA（登録商標））；イバンドロネート；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイド、例えばレチノイン酸及び上述のいずれかのものの薬学的に許容可能な塩、酸及び誘導体が含まれる。

【0072】

化学療法薬には、分子の不可欠な部分として白金を含む有機化合物を含む「白金系」化学療法薬も含まれる。典型的には、白金系の化学療法薬は、白金の配位錯体である。白金系化学療法薬は、当該技術分野において、「プラチン」と呼ばれることがある。白金系の化学療法薬の例としては、カルボプラチン、シスプラチン及びオキサリプラチンが含まれるが、これらに限定されない。

【0073】

化学療法薬はまた、(i) 例えばタモキシフェン（NOLVADEX（登録商標）；クエン酸タモキシフェンを含む）、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、ヨードキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン及びFARESTON（登録商標）（トレミフェンシトレート）を含む、抗エストロゲン及び選択的エストロゲンレセプターモジュレータ（SERM）などの腫瘍に対するホルモン作用を調節または阻害するように作用する抗ホルモン剤、(ii) 例えば4（5）-イミダゾール類、アミノグルテチミド、MEGASE（登録商標）（メゲストロールアセテート）、AROMASIN（登録商標）（エキセメスタン；Pfizer）、ホルメスタニー、ファドロゾール、RIVISOR（登録商標）（ボロゾール）、FEMARA（登録商標）（レトロゾール；Novartis）及びARIMIDEX（登録商標）（アナストロゾール；AstraZeneca）などの副腎内のエストロゲン産出を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害薬；(iii) フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド及びゴセレリンなどの抗アンドロゲン；ブ

セレリン、トリプテリリン、メドロキシプロゲステロンアセテート、ジエチルスチルベストロール、プレマリン、フルオキシメステロン、全てのトランスレチノイン酸、フェンレチニドならびにトロキサシタピン（1，3 - ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；（iv）タンパク質キナーゼ阻害薬；（v）脂質キナーゼ阻害薬；（vi）アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、例えばPKC-α、Raf及びH-Rasなどの異常細胞増殖に関与するシグナル伝達経路内の遺伝子の発現を阻害するもの；（vii）VEGF発現阻害剤（例えばANGIOZYME（登録商標））及びHER2発現阻害剤などのリボザイム；（viii）例えばALLOVECTIN（登録商標）、LEUVECTIN（登録商標）及びVAXID（登録商標）；PROLEUKIN（登録商標）、rIL-2；などの遺伝子療法ワクチンといったワクチン；LURTOTECAN（登録商標）；ABARELIX（登録商標）rmRHなどのトポイソメラーゼⅠ阻害薬；及び（ix）以上のものの薬学的に許容可能な塩、酸及び誘導体も含んでいる。

【0074】

化学療法薬にはまた、抗体、例えばアレムツズマブ（Campath）、ベバシズマブ（AVASTIN（登録商標）、Genentech）；セツキシマブ（ERBITUX（登録商標）、Imclone）；パニツマブ（VECTIBIX（登録商標）、Amgen）、リツキシマブ（RITUXAN（登録商標）、Genentech/BioGen Idec）、ペルツズマブ（OMNITARG（登録商標）、2C4、Genentech）、トラツズマブ（HERCEPTIN（登録商標）、Genentech）、トシツモマブ（Bexxar、Corixa）及び抗体薬コンジュゲート、ゲムツズマブ、オゾガマイシン（MYLOTARG（登録商標）、Wyeth）も含まれる。本発明の化合物と組合わせた作用物質としての治療上の潜在的可能性を有する追加のヒト化モノクローナル抗体としては、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネオズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴール、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマブ、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シブロツズマブ、シプリズマブ、ソントツズマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビシリズマブ、及びインターロイキン-12 p40タンパク質を認識するように遺伝子的に修飾された組換え型排他的ヒト配列完全長IgG₁λ抗体である抗インターロイキン-12（ABT-874/J695，Wyeth Research and Abbott Laboratories）が含まれる。

【0075】

化学療法薬にはまた、EGFRに結合するかまたは他の形でEGFRと直接相互作用し、そのシグナル伝達活性を妨げるまたは減少させる化合物を意味しかつ代替的には「EGFRアンタゴニスト」としても言及される「EGFR阻害薬」も含まれる。このような作用物質の例としては、EGFRに結合する抗体及び小分子が含まれる。EGFRに結合する抗体の例には、MAb579（ATCC CRL HB8506）、MAb455（ATCC CRL HB8507）、MAb225（ATCC CRL 8508）、MAb528（ATCC CRL 8509）（米国特許第4，943，533号参照）及びその変異体、例えば、キメラ化225（C225またはセツキシマブ：ERBUTIX（登録商標）及び再構成ヒト225（H225）（例えばWO96/40210、Imclone Systems Inc. 参照）；完全ヒトEGFR標的化抗体であるIMC-11F8（Imclone）；II型突然変異体EGFRに結合する抗体（米国特許第5，252

10

20

30

40

50

， 290号）；米国特許第5，891，996号に記載の、EGFRに結合するヒト化及びキメラ抗体；及びABX-EGFまたはマニツムマブなどの、EGFRに結合するヒト抗体（WO98/50433、Abgenix/Amgen参照）；EMD 55900（Stragliotto et al., Eur. J. Cancer 32A:636～640（1996））；EGFR結合についてEGF及びTGF- α の両方と競合するEGFRに対して向けられたヒト化EGFR抗体であるEMD7200（マツズマブ）（EMD/Merck）；ヒトEGFR抗体、HuMax-EGFR（GenMab）；E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3及びE7.6.3として公知でありUS6,235,883中に記載の完全ヒト抗体；MDX-447（Medarex Inc）；及びmAb806またはヒト化mAb806（Johns et al., J. Biol. Chem. 279（29）：30375～30384（2004））が含まれる。抗EGFR抗体は、細胞毒性剤とコンジュゲートされてよく、こうしてイムノコンジュゲートを生成する（例えば、EP659439A2、Merck Patent GmbHを参照）。EGFRアンタゴニストには、小分子、例えば、米国特許：第5,616,582号、第5,457,105号、第5,475,001号、第5,654,307号、第5,679,683号、第6,084,095号、第6,265,410号、第6,455,534号、第6,521,620号、第6,596,726号、第6,713,484号、第5,770,599号、第6,140,332号、第5,866,572号、第6,399,602号、第6,344,459号、第6,602,863号、第6,391,874号、第6,344,455号、第5,760,041号、第6,002,008号及び第5,747,498号ならびにWO98/14451、WO98/50038、WO99/09016及びWO99/24037というPCT公報に記載の化合物が含まれる。特定の小分子EGFRアンタゴニストには、OSI-774（CP-358774、エルロチニブ、TARCEVA（登録商標）Genentech/OSI Pharmaceuticals）；PD 183805（CI1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]-6-キナゾリニル]-、ジヒドロクロリド、Pfizer Inc.）；ZD1839、ゲフィチニブ（IRESSA（登録商標）4-(3'-クロロ-4'-フルオロアニリノ)-7-メトキシ-6-(3-モルホリノプロポキシ)キナゾリン、AstraZeneca）；ZM 105180（（6-アミノ-4-(3-メチルフェニル-アミノ)-キナゾリン、Zeneca）；BIBX-1382（N8-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-N2-(1-メチルピペリジン-4-イル)-ピリミド[5,4-d]ピリミジン-2,8-ジアミン、Boehringer Ingelheim）；PKI-166（（R）-4-[4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-1H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-フェノール）；（R）-6-(4-ヒドロキシフェニル)-4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン）；CL-387785（N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチナミド）；EKB-569（N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブタンアミド）（Wyeth）；AG1478（Pfizer）；AG1571（SU 5271；Pfizer）；二重EGFR/HER2チロシンキナーゼ阻害剤、例えばラパチニブ（TYKERB（登録商標）、GSK572016またはN-[3-クロロ-4-[(3-フルオロフェニル)メトキシ]フェニル]-6-[5-[[2-メチルスルホニル)エチル]アミノ]メチル]-2-フラニル]-4-キナゾリンアミン）が含まれる。

【0076】

化学療法薬にはまた、先行段落中に指摘されているEGFR標的化薬剤を含む「チロシンキナーゼ阻害薬」；小分子HER2チロシンキナーゼ阻害薬、例えばTakedaから入手可能なTAK165；ErbB2レセプターチロシンキナーゼの経口選択的阻害薬であるCP-724,714（Pfizer及びOSI）；EGFRに選好的に結合するも

10

20

30

40

50

のHER2及びEGFR過剰発現細胞を両方共阻害するEKB-569 (Wyethより入手可) などの二重HER阻害薬; 経口HER2及びEGFRチロシンキナーゼ阻害薬であるラパチニブ (GSK572016; Glaxo-SmithKlineより入手可); PKI-166 (Novartisより入手可); カネルチニブ (CI-1033; Pharmacia) などの汎HER阻害薬; Raf-1シグナル伝達を阻害するISIS Pharmaceuticalsから入手可能なアンチセンス剤ISIS-5132などのRaf-1阻害薬; イマチニブメシレート (GLEEVEC (登録商標)、Glaxo SmithKlineより入手可) などの非HER標的化チロシンキナーゼ阻害薬; スニチニブ (SUTENT (登録商標)、Pfizerより入手可) などの多重標的化チロシンキナーゼ阻害薬; 例えばバタラニブ (PTK787/ZK222584、Novartis/Schering AGより入手可) などのVEFGレセプターチロシンキナーゼ阻害薬; MAPK細胞外調節型キナーゼI阻害薬CI-1040 (Pharmaciaより入手可); キナゾリン類、例えばPD 153035, 4-(3-クロロアニリノ) キナゾリン; ピリドピリミジン類; ピリミドピリミジン類; ピロロピリミジン類、例えばCGP59326、CGP60261及びCGP62706; ピラゾロピリミジン類、4-(フェニルアミノ)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン類; クルクミン (ジフェルロイルメタン、4,5-ビス(4-フルオロアニリノ)フタルイミド); ニトロチオフエン部分を含むチルホスチン; PD-0183805 (Warner-Lambert); アンチセンス分子 (例えばHERをコードする核酸); キノキサリン類 (米国特許第5,804,396号); トリホスチン類 (米国特許第5,804,396号); ZD6474 (Astra Zeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); 汎HER阻害剤、例えばCI-1033 (Pfizer); アフィニタック (ISIS 3521; Isis/Lilly); イマチニブメシレート (GLEEVEC (登録商標)); PKI 166 (Novartis); GW2016 (Glaxo SmithKline); CI-1033 (Pfizer); EKB-569 (Wyeth); セマキシニブ (Pfizer); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); INC-1C11 (Imclone)、ラパマイシン (シロリムス、RAPAMUNE (登録商標)); あるいは、米国特許第5,804,396号; WO1999/09016 (American Cyanamid); WO1998/43960 (American Cyanamid); WO1997/38983 (Warner Lambert); WO1999/06378 (Warner Lambert); WO1999/06396 (Warner Lambert); WO1996/30347 (Pfizer, Inc); WO1996/33978 (Zeneca); WO1996/3397 (Zeneca) 及びWO1996/33980 (Zeneca) という特許公報のいずれかに記載のものも含まれる。

【0077】

化学療法薬にはまた、デキサメタゾン、インターフェロン類、コルヒチン、メトプリン、シクロスポリン、アンホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、生BCG、ベバクジマブ、ベキサロテン、クラドリビン、クロファラビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキン、デクスラゾキサソ、エポエチンアルファ、エロチニブ、フィルグラスチム、ヒストレリンアセテート、イブリツモマブ、インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2b、レナリドミド、レバミゾール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン、ネララビン、ノフェツモマブ、オブレルベキン、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマラーゼ、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド2ナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスブリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、VM-26、6-TG、トレミフェン、トレチノイン、ATRA、バルルピシン、ゾレドロネート及びゾレドロン酸及びその薬学的に許容可能な塩も含まれる。

10

20

30

40

50

【0078】

化学療法薬にはまた、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセテート、コルチゾンアセテート、チキソコルトールピバレート、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、バタメタゾン、バタメタゾンナトリウムホスフェート、デキサメタゾン、デキサメタゾンナトリウムホスフェート、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン-17-ブチレート、ヒドロコルチゾン-17-バレート、アクロメタゾンジプロピオネート、バタメタゾンバレート、バタメタゾンジプロピオネート、プレドニカルベート、クロバタゾン-17-ブチレート、クロバタゾール-17-プロピオネート、フルオコルトロンカプロエート、フルオコルトロンピバレート及びフルプレドニデンアセテート；免疫選択的抗炎症性ペプチド（ImSAID）、例えばフェニルアラニン-グルタミン-グリシン（FEG）及びそのD-異性体型（feG）（IMULAN BioTherapeutics, LLC）；抗リウマチ薬、例えばアザチオプリン、シクロスポリン（シクロスポリンA）、D-ペニシラミン、金塩、ヒドロキシクロロキン、レフルノミドミノサイクリン、スルファサラジン；腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）ブロッカー、例えばエタネルセプト（Enbrel）、インフリキシマブ（Remicade）、アダリムマブ（Humira）、セルトリズマブペゴール（Cimzia）、ゴリムマブ（Simpsoni）、インターロイキン1（IL-1）ブロッカー、例えばアナキンラ（Kineret）、T細胞共刺激ブロッカー、例えばアバタセプト（Orencia）、インターロイキン6（IL-6）ブロッカー、例えばトシリズマブ（ACTEMERA（登録商標））；インターロイキン13（IL-13）ブロッカー、例えばレブリキズマブ、インターフェロンアルファ（IFN）ブロッカー、例えばロンタリズマブ；ベータ7インテグリンブロッカー、例えばrhUMA b Beta7；IgE経路ブロッカー、例えば抗M1プライム（Anti-M1 prime）；分泌型ホモトリマーLTa3及び膜結合型ヘテロトリマーLTa1/ β 2ブロッカー、例えば抗リンホトキシナルファ（LTa）；放射性同位元素（例えば、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²及びLuの放射性同位元素）；さまざまな治験薬、例えばチオプラチン、PS-341、フェニルブチレート、ET-18-OC₃H₇、またはファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬（L-739749、L-744832）、ポリフェノール類、例えばケルセチン、レスベラトロール、ピセアタンノール、エピガロカテキンガレート、テアフラビン類、フラバノール類、プロシアニジン類、ベツリン酸及びその誘導体；自食作用阻害薬、例えばクロロキン；デルター9-テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標））；ベータ-ラパコン；ラパコール；コルヒチン類；ベツリン酸；アセチルカンブトデシン、スコポレクチン、及び9-アミノカンブトデシン）；ポドフィロトキシン；テガフル（UFTORAL（登録商標））；ベキサロテン（TARGRETIN（登録商標））；ビスホスホネート類、例えばクロドロネート（例えば、BONEFOS（登録商標）またはOSTAC（登録商標））、エチドロネート（DIDROCAL（登録商標））、NE-58095、ゾレドロ酸／ゾレドロネート（ZOMETA（登録商標））、アレンドロネート（FOSAMAX（登録商標））、パミドロネート（AREDIA（登録商標））、チルドロネート（SKELID（登録商標））、またはリセドロネート（ACTONEL（登録商標））；及び上皮成長因子レセプター（EGF-R）；ワクチン、例えばTHERATOPE（登録商標）ワクチン；ペリホシン、COX-2阻害薬（例えばセレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害薬（例えばPS341）；CCI-779；チピファルニブ（R11577）；オラフェニブ、ABT510；Bcl-2阻害薬、例えばオブリメルセンナトリウム（GENA SENSE（登録商標））；ピキサントロン；ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬、例えばロナファルニブ（SCH6636、SARASAR（商標））；及び以上のいずれかのものの薬学的に許容可能な塩、酸または誘導体；ならびに以上の2つ以上のものの組合せ、例えばシクロホストファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン及びプレドニゾロンの組合せ療法の略語であるCHOP；及び5-Fu及びロイコボ

10

20

30

40

50

リンと組合わされたオキサリプラチン（ELOXATIN（商標））を用いた治療計画の略語であるFOLFOXも含まれる。

【0079】

化学療法薬にはまた、鎮痛、解熱及び抗炎症効果を有する非ステロイド系抗炎症薬も含まれる。NSAIDは、酵素シクロオキシゲナーゼの非選択的阻害薬を含む。NSAIDの具体例には、アスピリン、プロピオン酸誘導体、例えばイブプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン及びナプロキセン、酢酸誘導体、例えばインドメタシン、スリンダク、エトドラク、ジクロフェナク、エノール酸誘導体、例えばピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ドロキシカム、ロルノキシカム及びイソキシカム、フェナム酸誘導体、例えばメフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、トルフェナム酸、ならびにCOX-2阻害剤、例えばセレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、パレコキシブ、ロフェコキシブ、ロフェコキシブ及びバルデコキシブが含まれる。NSAIDの適応症としては、リウマチ性関節炎、骨関節炎、炎症性関節症、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、ライター症候群、急性痛風、月経困難症、転移性骨痛、頭痛及び偏頭痛、術後疼痛、炎症及び組織傷害に起因する軽度乃至中度の疼痛、発熱、腸閉塞及び腎疝痛などの状態の症候軽減が考えられる。

10

【0080】

本明細書中で使用される「成長阻害物質」とは、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞の成長を阻害する化合物または組成物を意味する。一実施形態において、成長阻害物質は、抗体が結合する抗原を発現する細胞の増殖を防止するまたは減少させる成長阻害抗体である。別の実施形態において、成長阻害物質は、S期の細胞の百分率を有意に減少させるものであってよい。成長阻害物質の例としては、細胞周期の進行（S期以外の場所における）を遮断する作用物質、例えば、G1阻止及びM期阻止を誘発する作用物質がある。従来のM期ブロッカーには、ビンカ類（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン及びトポイソメラーゼII阻害薬、例えばドキシソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド及びブレオマイシンが含まれる。G1を阻止するこれらの作用物質はまた、S期阻止、例えばDNAアルキル化剤、例えばタモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5-フルオロウラシル及びara-Cまで波及する。さらなる情報は、Mendelsohn and Israel, eds., The Molecular Basis of Cancer, Chapter 1, 表題「Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs」by Murakami et al. (W. B. Saunders, Philadelphia, 1995), 例えばp. 13に見出すことができる。

20

30

【0081】

「放射線療法」とは、正常に機能する細胞の能力を制限するかまたは細胞全体を破壊するのに十分な損傷を細胞に対して誘発するための定方向ガンマ線またはベータ線の使用を意味する。当該技術分野では治療の線量及び持続時間を決定する多くの方法が存在することがわかるだろう。典型的な治療は、一回投与として施され、典型的線量は一日あたり10～200単位（グレイ）の範囲内である。

40

【0082】

治療を目的とした「対象」または「個体」とは、ヒト、飼育及び家畜動物、及び動物園、スポーツまたはペット動物、例えばイヌ、ウマ、ネコ、畜牛などを含めた哺乳動物として分類される任意の動物を意味する。好ましくは、哺乳動物はヒトである。対象または個体は、患者であってよい。

【0083】

本明細書中の「抗体」なる用語は、最も広義で用いられ、具体的にはモノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び所望の生物活性を示すかぎりにおいて抗体フラグメントも網羅している。

50

【0084】

「単離された」抗体とは、同定され、その天然の環境の一構成成分から分離及び／または回収された抗体である。その天然の環境の汚染性構成成分は、抗体の研究、診断または治療目的の使用と干渉すると考えられる材料であり、酵素、ホルモン及び他のタンパク様または非タンパク様溶質が含まれるかもしれない。一部の実施形態において、抗体は、例えば（１）ロウリーの方法により決定される通り、抗体重量で９５％超そして、一部の実施形態においては９９重量％超まで；（２）例えばスピニングカップ配列決定装置などを用いて少なくとも１５個のＮ末端または内部アミノ酸配列残基を得るのに十分な程度まで、または（３）例えばクマシーブルーまたは銀染色を用いて還元または非還元条件の下でＳＤＳ－ＰＡＧＥによる均質性に至るまで精製される。抗体の天然の環境の少なくとも１つの構成成分は存在しないものであるため、単離された抗体には、組換え型細胞の内部のインサイチュ抗体が含まれる。しかしながら通常は、単離された抗体は、少なくとも１回の精製ステップによって調製されるものである。

10

【0085】

「天然抗体」とは通常、２本の同一の軽（Ｌ）鎖と２本の同一の重（Ｈ）鎖とで構成される約１５０，０００ダルトンのヘテロテトラマー糖タンパク質である。各軽鎖は、１つの共有ジスルフィド結合によって重鎖に結合され、一方ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で変動する。各々の重鎖及び軽鎖はまた、規則的に離隔された鎖内ジスルフィド架橋を有する。各重鎖は一方の末端に可変ドメイン（ V_H ）とそれに続くいくつかの定常ドメインを有する。各軽鎖は、一方の末端に可変ドメイン（ V_L ）を、そして他方の末端に定常ドメインを有する。軽鎖の定常ドメインは、重鎖の第１の定常ドメインと整列させられ、軽鎖の可変ドメインは、重鎖の可変ドメインと整列させられる。特定のアミノ酸残基は、軽鎖と重鎖の可変ドメインの間に界面を形成すると考えられている。

20

【0086】

「定常ドメイン」なる用語は、抗原結合部位を含む可変ドメインである免疫グロブリンのもう一方の部分に比べてより保存度の高いアミノ酸配列を有する、免疫グロブリン分子の部分の意味する。定常ドメインは、重鎖の C_H1 、 C_H2 及び C_H3 ドメイン（集合的に C_H ）及び軽鎖の C_HL （または C_L ）を含む。

【0087】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを意味する。重鎖の可変ドメインは、「 V_H 」として言及される場合がある。軽鎖の可変ドメインは、「 V_L 」として言及される場合がある。これらのドメインは、概して、抗体の最も可変的な部分であり、抗原結合部位を含む。

30

【0088】

「可変」なる用語は、可変ドメインのある特定の部分が抗体間で広範に配列が異なり、特定の各抗体のその特定の抗原についての特異性及び結合において使用されるという事実を意味している。しかしながら、可変性は、抗体の可変ドメイン全体にわたり均等に分布してはいない。可変性は、軽鎖及び重鎖の可変ドメインの両方において、超可変領域（ HVR ）と呼ばれる３つのセグメント内に集中している。可変ドメインのより保存度の高い部分は、フレームワーク領域（ FR ）と呼ばれる。天然重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々４つの FR 領域を含み、これらの領域は、大部分は、ベータシート構造を結合し場合によってはベータシート構造の一部を成すループを形成する３つの HVR によって結合されて、１つのベータシート立体配置を採用している。各鎖内の HVR は、 FR 領域により互いに近接して保持されており、もう一方の鎖由来の HVR と共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Kabat et al., Sequences of Protein of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)を参照のこと）。定常ドメインは、抗原に対する抗体の結合に直接関与せず、さまざまなエフェクター機能、例えば抗体依存性細胞毒性における抗体の関与などを

40

50

示す。

【0089】

任意の哺乳動物種由来の抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（「κ」）及びラムダ（「λ」）と呼ばれる2つの明らかに異なるタイプの1つに割当てることができる。

【0090】

本明細書で使用されるIgG「アイソタイプ」または「サブクラス」なる用語は、免疫グロブリンのその定常領域の化学的特性及び抗原特性によって定義されるサブクラスのいずれかを意味する。

【0091】

抗体（免疫グロブリン）を、その重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて異なるクラスに割当てることができる。免疫グロブリンには5つの主要クラス、すなわちIgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、これらのうちのいくつかはさらにサブクラス（アイソタイプ）、例えばIgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及びIgA₂に分割され得る。異なる免疫グロブリンクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、γ、ε、γ及びμと呼ばれる。異なる免疫グロブリンクラスのサブユニット構造及び3次元立体配置は周知であり、Abbas et al. Cellular and Mol. Immunology, 4th ed. (W. B. Saunders, Co., 2000) 内に一般的に説明されている。抗体は、1つ以上の他のタンパク質またはペプチドとの抗体の共有結合または非共有結合会合によって形成されるより大きい融合分子の一部である場合がある。

【0092】

「全長抗体」、「インタクト抗体」及び「全抗体」なる用語は、本明細書において、以下で定義づけする抗体フラグメントではなく、その実質的に無傷な形態での抗体を意味するために互換的に使用されている。これらの用語は、特にFc領域を含む重鎖を伴う抗体を意味する。

【0093】

本明細書の目的では「ネーキッド抗体」とは、細胞毒性部分または放射性標識にコンジュゲートしていない抗体である。

【0094】

「抗体フラグメント」は、好ましくはその抗原結合領域を含むインタクト抗原の一部分を含む。一部の実施形態において、本明細書中に記載の抗体フラグメントは、抗原結合フラグメントである。抗体フラグメントの例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂及びFvフラグメント；二重特異性抗体；線状抗体；一本鎖抗体分子；及び抗体フラグメントで形成された多特異性抗体が含まれる。

【0095】

抗体のパパイン消化は、各々単一の抗原結合部位を伴う「Fab」フラグメントと呼ばれる2つの同一の抗原結合フラグメントと、（その名前が容易に結晶化するその能力を反映している）残留「Fc」フラグメントとを産生する。ペプシン処理は、2つの抗原組合せ部位を有しかつそれでも抗原を架橋できるF(ab')₂フラグメントを生成する。

【0096】

「Fv」は、完全抗原結合部位を含む最小抗体フラグメントである。一実施形態において、2本鎖Fv種は、密な非共有結合の1つの重鎖及び軽鎖可変ドメインの2量体で構成されている。一本鎖Fv（scFv）種では、1つの重鎖と1つの軽鎖の可変ドメインが、柔軟なペプチドリンカーにより共有結合で結合され得、こうして、軽鎖及び重鎖は、2本鎖Fv種の場合に類似する「2量体」構造で会合できるようになっている。各々の可変ドメインの3つのHVRが相互作用してVH-VL 2量体の表面上で抗原結合部位を画定するのは、この立体配置においてである。集合的に、6つのHVRは、抗体に対して抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン（または1つの抗原に特異的な3つのHVRのみを含むFvの半分）でさえ、完全な結合部位より親和性は低いものの

10

20

30

40

50

、抗原を認識し結合する能力を有する。

【0097】

Fabフラグメントは、重鎖及び軽鎖可変ドメインを含み、また、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第1の定常ドメイン(CH1)も含む。Fab'フラグメントは、抗体ヒンジ領域由来の1つ以上のシステインを含む重鎖CH1ドメインのカルボキシ末端における数個の残基の付加により、Fabフラグメントと異なっている。Fab'-SHは、本明細書において、定常ドメインのシステイン残基(単複)が遊離チオール基を担持しているFab'に対する呼称である。F(ab')₂抗体フラグメントは当初、間にヒンジシステインを有するFab'フラグメントの対として産生された。抗体フラグメントの他の化学的カップリングもまた公知である。

10

【0098】

「一本鎖Fv」または「scFv」抗体フラグメントは、抗体のVH及びVLドメインを含み、ここでこれらのドメインは、単一のポリペプチド鎖内に存在している。概して、scFvポリペプチドはさらに、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成できるようにするポリペプチドリンカーをVH及びVLドメインの間に含む。scFvの概説は、例えばPluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies中, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York, 1994), pp. 269~315を参照のこと。

【0099】

「ダイアボディ」とは、同じポリペプチド鎖内の軽鎖可変ドメイン(VL)に結合された重鎖可変ドメイン(VH)(VH-VL)を含む、2つの抗原結合部位を有する抗体フラグメントを意味する。同じ鎖上の2つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを使用することによって、ドメインは、別の鎖の相補的ドメインと強制的に対合させられ、2つの抗原結合部位を作り上げる。ダイアボディは、2価あるいは二重特異性であってよい。ダイアボディは、例えばEP404, 097; WO1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129~134(2003); 及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444~6448(1993)中でさらに完全に説明されている。トリアボディ及びテトラボディもまた、Hudson et al., Nat. Med. 9:129~134(2003)中で説明されている。

20

30

【0100】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」なる用語は、実質的に均質な抗体の集団から得た1つの抗体を意味し、例えば、この集団を含む個別の抗体は、わずかな量で存在する可能性のある考えられる突然変異、例えば天然に発生する突然変異を除いて同一である。したがって、「モノクローナル」という修飾語句は、個別の抗体の混合物ではないものとしての抗体の性質を表わしている。ある特定の実施形態において、このようなモノクローナル抗体は典型的に、1つの標的に結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、ここで標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列からの単一の標的結合ポリペプチド配列の選択を含むプロセスによって得られたものである。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローンまたは組換え型DNAクローンのプールなどの複数のクローンから唯一のクローンを選択することであり得る。選択された標的結合配列は、例えば標的に対する親和性を改善するため、標的結合配列をヒト化するため、細胞培養におけるその産生を改善するため、インビボでのその免疫原性を減少させるため、多特異性抗体を創出するためなどで、さらに改変可能であること、そして、改変された標的結合配列を含む抗体もまた本発明のモノクローナル抗体であることを理解すべきである。異なる決定基(エピトープ)に対して向けられた異なる抗体を典型的に含んでいるポリクローナル抗体調製物とは異なり、モノクローナル抗体調製物の各々のモノクローナル抗体は、1つの抗原についての単一の決定基に対して向けられている。その特異性に加えて、モノクローナル抗体調製物は、典型的に他の免疫グロブリンにより汚染されていないと

40

50

いう点が有利である。

【0101】

「モノクローナル」という修飾語句は、抗体の実質的に均質な集団から得られるものとしての抗体の性質を表わし、いずれかの特定の方法による抗体の産生が求められるものとして解釈されるべきではない。例えば、本発明にしたがって使用されるべきモノクローナル抗体は、例えばハイブリドーマ方法（例えばKohler and Milstein, *Nature*, 256:495~97 (1975); Hongo et al., *Hybridoma*, 14(3):253~260 (1995)、Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563~681 (Elsevier, N. Y., 1981))、組換え型DNA方法（例えば米国特許第4816, 567号参照）、ファージディスプレイ技術（例えばClackson et al., *Nature*, 352:624~628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581~597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2):299~310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073~1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467~12472 (2004); 及びLee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119~132 (2004) 参照)、及び、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部分または全てを有する動物内でヒトまたはヒト様抗体を産生するための技術（例えばWO1998/24893; WO1996/34096; WO1996/33735; WO1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362:255~258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7:33 (1993); 米国特許第5, 545, 807号; 同第5, 545, 806号; 同第5, 569, 825号; 同第5, 625, 126号; 同第5, 633, 425号; 及び同第5, 661, 016号; Marks et al., *Bio/Technology* 10:779~783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368:856~859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14:845~851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14:826 (1996); 及びLonberg et al., *Intern. Rev. Immunol.* 13:65~93 (1995) 参照)を含めたさまざまな技術により作製されてよい。

【0102】

本明細書において、モノクローナル抗体には具体的には、重鎖及び／または軽鎖の一部分が、特定の種に由来するかまたは特定の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体内の対応する配列と同一であるかまたは相同であり、一方鎖（単複）の残りの部分は、別の種に由来するかまたは別の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体内の対応する配列と同一であるかまたは相同である「キメラ」抗体、ならびに所望の生物活性を示しているかぎりにおいてこのような抗体のフラグメントが含まれる（例えば米国特許第4, 816, 567号; 及びMorrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851~6855 (1984)を参照)。キメラ抗体には、抗体の抗原結合領域が、目的の抗原を用いてマカクザルに免疫付与することなどによって産生された抗体から誘導されているPRIMATTIZED（登録商標）抗体が含まれる。

【0103】

非ヒト（例えばマウス）抗体の「ヒト化された」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来

10

20

30

40

50

する最小配列を含むキメラ抗体である。一実施形態において、ヒト化抗体は、レシピエントのHVR由来の残基が、所望の特異性、親和性及び／または能力を有するマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）のHVR由来の残基と交換されているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。一部の場合において、ヒト免疫グロブリンのFR残基は、対応する非ヒト残基で交換される。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体内またはドナー抗体内に見出されない残基を含む場合がある。これらの修飾は、抗体性能をさらに改良するために行なわれてよい。一般に、ヒト化抗体は、超可変ループの全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FRの全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである、少なくとも1つそして典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、任意にはまた、免疫グロブリン定常領域（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分をも含む。さらなる詳細については、例えばJones et al., Nature 321:522~525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323~329 (1988); 及びPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593~596 (1992)を参照のこと。また例えばVaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105~115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035~1038 (1995); Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428~433 (1994); 及び米国特許第6,982,321号及び同第7,087,409号も参照のこと。

【0104】

「ヒト抗体」は、ヒトが産生する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有し、かつ／または本明細書中で開示されているヒト抗体の作製技術のいずれかを用いて作製されたものである。ヒト抗体についてのこの定義は、具体的に非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外している。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリを含む、当該技術分野において公知のさまざまな技術を用いて産生可能である。Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。同じくヒトモノクローナル抗体の調製のために利用可能であるのは、Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86~95 (1991)中に記載されている方法である。またvan Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5:368~74 (2001)も参照のこと。ヒト抗体は、抗原投与にตอบสนองして、ヒト抗体を産生するように修飾されているもののその内因性遺伝子座が無能力化されているトランスジェニック動物、例えば免疫付与されたゼノマウスに対して抗原を投与することによって調製可能である（例えばXENOMOUSE（商標）技術に関する米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号を参照のこと）。また、例えば、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されるヒト抗体に関するLi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557~3562 (2006)も参照のこと。

【0105】

「種依存性抗体」は、第2の哺乳動物種由来のその抗原の相同体についてそれが有する結合親和性に比べて、第1の哺乳動物種由来の抗原に対してより強い結合親和性を有する抗体である。通常、種依存性抗体は、ヒト抗原に対して「特異的に結合する」（例えば約 1×10^{-7} M以下、好ましくは約 1×10^{-8} M以下そして好ましくは約 1×10^{-9} M以下の結合親和性（Kd）値を有する）が、ヒト抗原に付するその結合親和性の少なくとも50分の1または少なくとも約500分の1または少なくとも約1000分の1の結合親和性を第2の非ヒト哺乳動物種由来の抗原の相同体に対して有する。種依存性抗体は、以上で定義された通りのさまざまなタイプの抗体のいずれかであってよいが、好ましくは

、ヒト化またはヒト抗体である。

【0106】

「超可変領域」、「HVR」または「HV」なる用語は、本明細書において使用される場合、配列が超可変的でありかつ／または構造的に定義されたループを形成する抗体可変ドメインの領域を意味する。概して、抗体は、6つのHVR；すなわちVH内に3つ（H1、H2、H3）そしてVL内に3つ（L1、L2、L3）のHVRを含む。天然抗体内で、H3及びL3は、6つのHVRのうち最大の多様性を示し、特にH3は、抗体に対して優れた特異性を付与する特有の役割を果たすものと考えられている。例えばXu et al., *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N. J., 2003)を参照のこと。10
実際、重鎖のみで構成された天然に発生するラクダ抗体は、軽鎖の不在下で機能的でかつ安定している。例えばHamers-Casterman et al., *Nature* 363:446-448 (1993); Sherif et al., *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996)を参照のこと。

【0107】

いくつかのHVR描写が使用されており、本明細書中で包含されている。Kabat相補性決定領域（CDR）は配列の可変性に基づくものであり、最も一般的に使用されている（（Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）。Chothiaは、その代り、構造ループの場所に言及している（（Chothia and Lesk J. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)）。AbM HVRは、Kabat HVRとChothia構造ループの間の妥協案であり、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアにより使用されている。「接触」HVRは、利用可能な複雑な結晶構造の分析に基づくものである。これらのHVRの各々に由来する残基を以下に記す：20

ループ	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat付番)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia付番)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

【0108】

HVRは、VL中の24-36または24-34（L1）、46-56または50-56（L2）及び89-97または89-96（L3）及びVH中の26-35（H1）、50-65または49-65（H2）及び93-102、94-102、または95-102（H3）という「拡張HVR」を含んでいてよい。可変ドメイン残基は、これらの定義の各々について上記Kabat et al. にしたがって付番される。40

【0109】

「フレームワーク」または「FR」残基は、本明細書中で定義されているHVR残基以外の可変ドメイン残基である。

【0110】

「Kabat中にある通りの可変ドメイン残基の付番」または「Kabat中にある通50

りのアミノ酸位置の付番」及びそれらの変形形態は、上記Kabat et al. 中の抗体の編集物の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインのために使用された付番システムを意味する。この付番システムを使用すると、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインのFRまたはHVRの短縮またはその中への挿入に対応するより少ないまたは付加的なアミノ酸を含んでいる場合がある。例えば、重鎖可変ドメインは、H2の残基52の後に単一のアミノ酸インサート（Kabatによると残基52a）を、そして重鎖FR残基82の後に挿入された残基（例えば、Kabatによると残基82a、82b及び82cなど）を含む可能性がある。Kabatの残基付番は、「標準的」Kabat付番済み配列と抗体の配列の相同性領域における整列によって、所与の抗体について決定され得る。

【0111】

Kabat付番システムは、概して、可変ドメイン内の残基（おおよそ軽鎖の残基1～107及び重鎖の残基1～113付近）に言及する時に使用される（例えばKabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）。「EU付番システム」または「EU指標」は、概して、免疫グロブリン重鎖定常領域内の残基に言及する場合に使用される（例えば、上記Kabat et al. 内で報告されたEU指標）。「Kabat中にある通りのEU指標」とは、ヒトIgG1EU抗体の残基付番を意味する。

【0112】

「線状抗体」なる表現は、Zapata et al. (1995 *Protein Eng*, 8(10):1057～1062)中に記載の抗体を意味する。簡単に言うと、これらの抗体は、相補的軽鎖ポリペプチドと共に一対の抗原結合領域を形成する一対のタンデムFdセグメント（VH-CH1-VH-CH1）を含む。線状抗体は二重特異的または単一特異的であり得る。

【0113】

本明細書で使用される「結合する」、「～に特異的に結合する」または「～に対し特異的である」なる用語は、生体分子を含む分子の不均一集団の存在下での標的の存在を決定するものである抗体と標的の間の結合などの測定可能かつ再現可能な相互作用を意味する。例えば、（エピトープであり得る）標的に結合するかまたは特異的に結合する抗体は、他の標的に対してそれが結合するよりも大きい親和性、結合活性で、より容易にかつ／またはより長い時間、この標的と結合する抗体である。一実施形態において、無関係の標的に対する抗体の結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定される標的に対する抗体の結合の約10%未満である。ある特定の実施形態において、標的に対し特異的に結合する抗体は、1 μM以下、100 nM以下、10 nM以下、1 nM以下、または0.1 nM以下の解離定数（Kd）を有する。ある特定の実施形態において、抗体は、異なる種に由来するタンパク質の間に保存される1つのタンパク質上のエピトープに対して特異的に結合する。別の実施形態において、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、これを必要とするわけではない。

【0114】

II. PD-1軸結合アンタゴニスト

本明細書中に提供されているのは、有効量のPD-1軸結合アンタゴニストとタキサンを個体に投与することを含む、個体において癌を治療するまたは癌の進行を遅延させるための方法である。同じく本明細書中に提供されているのは、有効量のPD-1軸結合アンタゴニストとタキサンを個体に投与することを含む、癌を有する個体において免疫機能を増強させる方法である。例えば、PD-1軸結合アンタゴニストには、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト及びPD-L2結合アンタゴニストが含まれる。PD-1（プログラム死1）は、当該技術分野において「プログラム細胞死1」、「PDCD1」、「CD279」及び「SLEB2」とも呼ばれている。例示的な1つのヒトPD-1は、niProtKB/Swiss-Prot受託番号Q15116中に示さ

10

20

30

40

50

れている。PD-L1（プログラム死リガンド1）は、当該技術分野において、「プログラム細胞死1リガンド1」、「PDCD1LG1」、「CD274」、「B7-H」及び「PDL1」とも呼ばれている。例示的な1つのヒトPD-L1は、UniProtKB/Swiss-Prot受託番号Q9NZQ7.1中に示されている。PD-L2（プログラム死リガンド2）は、当該技術分野において、「プログラム細胞死1リガンド2」、「PDCD1LG2」、「CD273」、「B7-DC」、「Btdc」及び「PDL2」とも呼ばれている。例示的な1つのヒトPD-L2は、UniProtKB/Swiss-Prot受託番号Q9BQ51中に示されている。一部の実施形態において、PD-1、PD-L1及びPD-L2は、ヒトPD-1、PD-L1及びPD-L2である。

【0115】

一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様において、PD-1リガンド結合パートナーは、PD-L1及び／またはPD-L2である。別の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1のそのリガンド結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様において、PD-L1結合パートナーは、PD-1及び／またはB7-1である。別の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2のその結合パートナーに対する結合を阻害する分子である。特定の態様において、PD-L2結合パートナーは、PD-1である。アンタゴニストは、抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘンシ、融合タンパク質またはオリゴペプチドであってよい。

【0116】

一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは抗PD-1抗体（例えばヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体）である。一部の実施形態において、抗PD-1抗体は、MDX-1106（ニボルマブ）、MK-3475（ランブロリズマブ）及びCT-011（ピジリズマブ）からなる群から選択される。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストはイムノアドヘンシ（例えば、定常領域（例えば免疫グロブリン配列のFc領域）に融合したPD-L1またはPD-L2の細胞外またはPD-1結合部分を含むイムノアドヘンシ）である。一部の実施形態において、PD-1結合アンタゴニストはAMP-224である。一部の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体である。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体は、YW243.55.S70、MPDL3280A、MDX-1105及びMEI4736からなる群から選択される。抗体YW243.55.S70は、WO2010/077634中に記載の抗PD-L1である。BMS-936559としても公知であるMDX-1105は、WO2007/005874中に記載の抗PD-L1抗体である。MEI4736は、WO2011/066389及びUS2013/034559中に記載の抗PD-L1モノクローナル抗体である。MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558またはニボルマブとしても公知であるMDX-1106は、WO2006/121168中に記載の抗PD-1抗体である。ランブロリズマブとしても公知であるMK-3475は、WO2009/114335中に記載の抗PD-1抗体である。hBAT、hBAT-1またはピジリズマブとしても公知であるCT-011は、WO2009/101611中に記載の抗PD-1抗体である。B7-DCIgとしても公知であるAMP-224は、WO2010/027827及びWO2011/066342中に記載のPD-L2-Fc融合可溶レセプターである。

【0117】

一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体である。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体は、PD-L1とPD-1の間、及び／またはPD-L1とB7-1の間の結合を阻害することができる。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体は、モノクローナル抗体である。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体は、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及び(Fab')₂フラグメントからなる群から選択される抗体フラグメントである。一部の実施形態において、抗PD-L1

抗体は、ヒト化抗体である。一部の実施形態において、抗PD-1抗体は、ヒト抗体である。

【0118】

本発明の方法に有用である抗PD-L1抗体及びそれを作製する方法の例は、参照により本明細書に援用されているPCT特許出願WO2010/077634、WO2007/005874、WO2011/066389及びUS2013/034559中に記載されている。本発明において有用である抗PD-L1抗体（このような抗体を含む組成物を含む）は、癌を治療するためにタキサンと組合せて使用してよい。

【0119】

抗PD-1抗体

一部の実施形態において、抗PD-1抗体はMDX-1106である。「MDX-1106」の代替的名称としては、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558またはニボルマブがある。一部の実施形態において、抗PD-1抗体はニボルマブ（CAS登録番号：946414-94-4）である。またさらなる実施形態において、提供されているのは、配列番号1由来の重鎖可変領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び／または配列番号2由来の軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、単離された抗PD-1抗体である。またさらなる実施形態において、提供されているのは、重鎖及び／または軽鎖配列を含む単離された抗PD-1抗体であり、ここで、

(a) 重鎖配列は、重鎖配列：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQA
PGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLF
LQMNSLRAEDTAVYYCATND D YWGQGTLVTVSSASTKGPS
VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLG TKTYTCNV DH
KPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPETCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
LPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
LVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY
SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
(配列番号1) に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有し、かつ

(b) 軽鎖配列は、軽鎖配列：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG
QAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEP
EDFAVYYCQQSSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC (配列番号2) に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有する。

【0120】

抗PD-L1抗体

一部の実施形態において、調合物中の抗体は、重鎖及び／または軽鎖配列中に少なくとも1つ（例えば少なくとも2つ、少なくとも3つまたは少なくとも4つ）のトリプトファンを含む。一部の実施形態において、アミノ酸トリプトファンは、抗体のHVR領域、フレームワーク領域及び／または定常領域内にある。一部の実施形態において、抗体は、H

VR領域内に2つまたは3つのトリプトファン残基を含む。一部の実施形態において、調合物中の抗体は抗PD-L1抗体である。PDL1、B7-H1、B7-4、CD274及びB7-Hとしても公知であるPD-L1（プログラム死リガンド1）は、膜貫通タンパク質であり、それとPD-1との相互作用は、T細胞活性化及びサイトカイン産生を阻害する。一部の実施形態において、本明細書中に記載の抗PD-L1抗体は、ヒトPD-L1に結合する。本明細書中に記載の方法内で使用可能である抗PD-L1抗体の例は、その全体が参照により本明細書に援用されているPCT特許出願WO2010/077634A1及びUS8,217,149の中に記載されている。

【0121】

一部の実施形態において、抗PD-L1抗体は、PD-L1とPD-1の間及び／またはPD-L1とB7-1の間の結合を阻害することができる。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体はモノクローナル抗体である。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体は、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及び(Fab')₂フラグメントからなる群から選択される抗体フラグメントである。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体はヒト化抗体である。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体はヒト抗体である。

【0122】

WO2010/077634A1及びUS8,217,149に記載の抗PD-L1抗体は、本明細書中に記載の方法の中で使用されてよい。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体は、配列番号3の重鎖可変領域配列及び／または配列番号4の軽鎖可変領域配列を含む。またさらなる実施形態において、提供されているのは、重鎖可変領域及び／または軽鎖可変領域配列を含む単離された抗PD-L1抗体であり、ここで、

(a) 重鎖配列は、重鎖配列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLVTVSA（配列番号3）に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有し、かつ

(b) 軽鎖配列は、軽鎖配列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGGTKVEIKR（配列番号4）に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有する。

【0123】

一実施形態において、抗PD-L1抗体は、HVR-H1、HVR-H2及びHVR-H3配列を含む重鎖可変領域を含み、ここで、

(a) HVR-H1配列はGFTFSX₁SWIHであり（配列番号5）、

(b) HVR-H2配列はAWIX₂PYGGSX₃YYADSVKKGであり（配列番号6）、

(c) HVR-H3配列はRHWPGGFDYであり（配列番号7）、

さらにここで、X₁はDまたはGであり；X₂はSまたはLであり；X₃はTまたはSである。1つの特定の態様において、X₁はDであり；X₂はSであり、X₃はTである。

【0124】

別の態様において、ポリペプチドはさらに、(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)という式にしたがったHVR間に並置された可変領域重鎖フレームワーク配列を含む。さらに別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列

に由来する。さらなる一態様では、フレームワーク配列は、VHサブグループIIIIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、フレームワーク配列の少なくとも1つは、以下の通りである：

HC-FR1は、EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS（配列番号：8）

HC-FR2は、WVRQAPGKGLEWV（配列番号：9）

HC-FR3は、RFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR（配列番号：10）

HC-FR4は、WGQGTLVTVSA（配列番号：11）。

【0125】

またさらなる態様において、重鎖ポリペプチドはさらにHVR-L1、HVR-L2及びHVR-L3を含む可変領域軽鎖と組合わされており、ここで

(a) HVR-L1配列は、RASQX₄X₅X₆TX₇X₈Aであり（配列番号：12）；

(b) HVR-L2配列は、SASX₉LX₁₀Sであり（配列番号：13）；

(c) HVR-L3配列は、QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅Tであり（配列番号：14）；

ここで、X₄はDまたはV；X₅はVまたはI；X₆はSまたはN；X₇はAまたはF；X₈はVまたはL；X₉はFまたはT；X₁₀はYまたはA；X₁₁はY、G、F、またはS；X₁₂はL、Y、FまたはW；X₁₃はY、N、A、T、G、FまたはI；X₁₄はH、V、P、TまたはI；X₁₅はA、W、R、PまたはTである。またさらなる態様において、X₄はD；X₅はV；X₆はS；X₇はA；X₈はV；X₉はF；X₁₀はY；X₁₁はY；X₁₂はL；X₁₃はY；X₁₄はH；X₁₅はAである。

【0126】

またさらなる態様において、軽鎖はさらに、(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)という式にしたがったHVR間に並置された可変領域軽鎖フレームワーク配列を含む。またさらなる態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、フレームワーク配列は、VLカップIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、フレームワーク配列の少なくとも1つは、以下の通りである：

LC-FR1は、DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC（配列番号15）

LC-FR2は、WYQQKPGKAPKLLIY（配列番号16）

LC-FR3は、GVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY（配列番号17）

LC-FR4は、FGQGTKVEIKR（配列番号18）。

【0127】

別の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗PD-L1抗体または抗原結合フラグメントであり、ここで

(a) 重鎖は、HVR-H1、HVR-H2及びHVR-H3を含み、ここでさらに、

(i) HVR-H1配列は、GFTFSX₁SWIHであり（配列番号5）

(ii) HVR-H2配列は、AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKKGであり（配列番号6）

(iii) HVR-H3配列は、RHWPGGFDYであり（配列番号7）、及び

(b) 軽鎖は、HVR-L1、HVR-L2及びHVR-L3を含み、ここでさらに、

(i) HVR-L1配列は、RASQX₄X₅X₆TX₇X₈Aであり（配列番号12）

(ii) HVR-L2配列は、SASX₉LX₁₀Sであり（配列番号13）；及び

(iii) HVR-L3配列は、QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅Tであり（配列番号14）、ここで式中、X₁はDまたはG；X₂はSまたはL；X₃はTまたはS；X₄はDまたはV；X₅はVまたはI；X₆はSまたはN；X₇はAまたはF；X₈はVまたはL；X₉はFまたはT；X₁₀はYまたはA；X₁₁はY、G、FまたはS；X₁₂はL、

Y、FまたはW；X₁₃はY、N、A、T、G、FまたはI；X₁₄はH、V、P、TまたはI；X₁₅はA、W、R、PまたはTである。特定の一態様において、X₁はD；X₂はS及びX₃はTである。別の態様において、X₄はD；X₅はV；X₆はS；X₇はA；X₈はV；X₉はF；X₁₀はY；X₁₁はY；X₁₂はL；X₁₃はY；X₁₄はH；X₁₅はAである。なお、さらに別の態様では、X₁はD；X₂はSでありX₃はT、X₄はD；X₅はV；X₆はS；X₇はA；X₈はV；X₉はF；X₁₀はY；X₁₁はY；X₁₂はL；X₁₃はY；X₁₄はH及びX₁₅はAである。

【0128】

さらなる一態様において、重鎖可変領域は、(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)といったHVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)といったHVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含む。またさらなる態様において、フレームワーク配列はヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列はKababサブグループI、IIまたはIII配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、VHサブグループIIIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の1つ以上が配列番号8、9、10及び11として明記される。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、KababカッパI、II、IIIまたはIVサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、VLカッパIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の1つ以上は、配列番号15、16、17及び18として明記される。

【0129】

またさらなる特定の態様において、抗体はさらにヒトまたはマウス定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はIgG1である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3からなる群から選択されている。またさらなる態様では、マウス定常領域はIgG2Aである。またさらなる態様では、抗体は、低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる態様では、最小限のエフェクター機能は「エフェクターレスFc突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施形態においては、エフェクターレスFc突然変異は、定常領域内のN297AまたはD265A/N297A置換である。

【0130】

また別の実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む、抗PD-L1抗体であり、ここで、

(a) 重鎖はさらに、それぞれGFTFSDSWIH (配列番号19)、AWISPYGGSTYYADSVKG (配列番号20)、及びRHWPGGFDY (配列番号21) に対して少なくとも85%の配列同一性を有するHVR-H1、HVR-H2及びHVR-H3配列をさらに含むか、または

(b) 軽鎖はさらに、それぞれRASQDVSTAVA (配列番号22)、SASFLYS (配列番号23) 及びQQYLYHPAT (配列番号24) に対して少なくとも85%の配列同一性を有するHVR-L1、HVR-L2及びHVR-L3配列をさらに含む。

【0131】

特定の態様では、配列同一性は、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%である。

【0132】

別の態様では、重鎖可変領域は、(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR

2) - (HVR-H2) - (HC-FR3) - (HVR-H3) - (HC-FR4) といった、HVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(LC-FR1) - (HVR-L1) - (LC-FR2) - (HVR-L2) - (LC-FR3) - (HVR-L3) - (LC-FR4) といった、HVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含む。また別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、KababatsubグループI、IIまたはIII配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、VHサブグループIIIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の1つ以上は、配列番号8、9、10及び11として明記される。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、KababatsubI、II、IIIまたはIVサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、VLカッパIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の1つ以上は、配列番号15、16、17及び18として明記される。

10

【0133】

またさらなる特定の態様では、抗体はさらにヒトまたはマウスの定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はIgG1である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はIgG2Aである。またさらなる特定の態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスFc突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施態様では、エフェクターレスFc突然変異は、定常領域内の置換N297AまたはD265A/N297A置換である。

20

【0134】

別のさらなる実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む、単離された抗PD-L1抗体であり、ここで、

(a) 重鎖配列は、重鎖配列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS (配列番号25) に対して少なくとも85%の配列同一性を有する、かつ／または

30

(b) 軽鎖配列は、軽鎖配列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (配列番号4) に対して少なくとも85%の配列同一性を有する。

【0135】

特定の態様では、配列同一性は、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%である。別の態様では、重鎖可変領域は、(HC-FR1) - (HVR-H1) - (HC-FR2) - (HVR-H2) - (HC-FR3) - (HVR-H3) - (HC-FR4) といった、HVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(LC-FR1) - (HVR-L1) - (LC-FR2) - (HVR-L2) - (LC-FR3) - (HVR-L3) - (LC-FR4) といった、HVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含む。また別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。さらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、KababatsubグループI、II、またはIII配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、VHサブグループIIIコンセンサスフレームワークであ

40

50

る。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の1つ以上は、配列番号8、9、10及びWGQGT L V T V S S（配列番号27）として明記される。

【0136】

またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、K a b a tカップI、II、IIIまたはIVサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、V LカップIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の1つ以上は、配列番号15、16、17及び18として明記される。

【0137】

またさらなる特定の態様では、抗体はさらにヒトまたはマウスの定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 2、I g G 3、I g G 4からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はI g G 1である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、I g G 1、I g G 2 A、I g G 2 B、I g G 3からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はI g G 2 Aである。またさらなる態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、原核細胞内の産生の結果としてもたらされる。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスFc突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施態様では、エフェクターレスFc突然変異は、定常領域内の置換N 2 9 7 AまたはD 2 6 5 A / N 2 9 7 A置換である。

【0138】

さらなる態様では、重鎖可変領域は、(H C - F R 1) - (H V R - H 1) - (H C - F R 2) - (H V R - H 2) - (H C - F R 3) - (H V R - H 3) - (H C - F R 4)といった、H V R間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(L C - F R 1) - (H V R - L 1) - (L C - F R 2) - (H V R - L 2) - (L C - F R 3) - (H V R - L 3) - (L C - F R 4)といった、H V R間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含む。またさらなる態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、K a b a tサブグループI、II、またはIII配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、V HサブグループIIIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の1つ以上は、以下の通りである：

H C - F R 1 E V Q L V 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（配列番号29）

H C - F R 2 W V R Q A P G K G L E W V A（配列番号30）

H C - F R 3 R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R（配列番号10）

H C - F R 4 W G Q G T L V T V S S（配列番号27）。

【0139】

またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、K a b a tカップI、II、IIまたはIVサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、V LカップIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の1つ以上は、以下の通りである：

L C - F R 1 D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C（配列番号15）

L C - F R 2 W Y Q Q K P G K A P K L L I Y（配列番号16）

L C - F R 3 G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C（配列番号17）

L C - F R 4 F G Q G T K V E I K（配列番号28）。

【0140】

またさらなる特定の態様では、抗体はヒトまたはマウスの定常領域をさらに含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 2、I g G 3、I g G

10

20

30

40

50

4からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はIgG1である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はIgG2Aである。またさらなる特定の態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスFc突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる態様では、エフェクターレスFc突然変異は、定常領域内のN297AまたはD265A/N297A置換である。

【0141】

また別の実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む抗PD-L1抗体であり、ここで、

(c) 重鎖はさらに、それぞれGFTFSDSWIH（配列番号19）、AWISPYGGSTYYADSVKG（配列番号20）、及びRHWPGGFDY（配列番号21）に対して少なくとも85%の配列同一性を有するHVR-H1、HVR-H2及びHVR-H3配列をさらに含み、かつ／または

(d) 軽鎖はさらに、それぞれRASQDVSTAVA（配列番号22）、SASFLYS（配列番号23）及びQQYLYHPAT（配列番号24）に対して少なくとも85%の配列同一性を有するHVR-L1、HVR-L2及びHVR-L3配列を含む。

【0142】

特定の態様では、配列同一性は、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%である。

【0143】

別の態様では、重鎖可変領域は、(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)といった、HVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)といった、HVR間に並置された1つ以上のフレームワーク配列を含む。また別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、KabataサブグループI、II、またはIII配列に由来する。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列は、VHサブグループIIIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、重鎖フレームワーク配列の1つ以上は、配列番号8、9、10及びWGQGTLVTVSSASTK（配列番号31）として明記される。

【0144】

またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、KabataカップI、II、IIIまたはIVサブグループ配列に由来する。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、VLカップIコンセンサスフレームワークである。またさらなる態様では、軽鎖フレームワーク配列の1つ以上は、配列番号15、16、17及び18として明記されている。またさらなる特定の態様では、抗体はさらに、ヒトまたはマウスの定常領域を含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はIgG1である。またさらなる態様では、マウス定常領域は、IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3からなる群から選択される。またさらなる態様では、マウス定常領域はIgG2Aである。またさらなる特定の態様では、抗体は低いまたは最小限のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターレスFc突然変異」または脱グリコシル化の結果としてもたらされる。またさらなる実施態様では、エフェクターレスFc突然変異は、定常領域内の置換N297AまたはD265A/N297A置換である。

【0145】

またさらなる実施態様において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む、単離された抗PD-L1抗体であり、ここで、

(a) 重鎖配列は、重鎖配列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQA
PGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSASTK (配列番号26) に対して少なくとも85%の配列同一性を有する、または

(b) 軽鎖配列は、軽鎖配列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPG
GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (配列番号4) に対して少なくとも85%の配列同一性を有する。

【0146】

一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含み、ここで軽鎖可変領域配列が配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有する、単離された抗PD-L1抗体である。一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含み、ここで重鎖可変領域配列が配列番号26のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有する、単離された抗PD-L1抗体である。一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含み、ここで軽鎖可変領域配列が配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有し、かつ重鎖可変領域配列が配列番号26のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%の配列同一性を有する、単離された抗PD-L1抗体である。一部の実施形態において、重鎖及び／または軽鎖のN末端にある1、2、3、4または5個のアミノ酸残基は、欠失、置換または修飾されていてよい。

【0147】

またさらなる実施形態において、提供されているのは、重鎖と軽鎖を含み、ここで

(a) 重鎖配列が、重鎖配列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQA
PGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD

SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPG（配列番号32）に対して少なくとも85%の配列同一性を有し、かつ／
または

（b）軽鎖配列が、軽鎖配列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKP
GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC（配列番号33）に対して少なくとも85%の配列同一性を有する、単離された抗PD-L1抗体である。

10

【0148】

一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖配列を含み、ここで軽鎖配列が配列番号33のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有する、単離された抗PD-L1抗体である。一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖配列を含み、ここで重鎖配列が配列番号32のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有する、単離された抗PD-L1抗体である。一部の実施形態において、提供されているのは、重鎖及び軽鎖配列を含み、ここで軽鎖配列が配列番号33のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有し、かつ重鎖配列が配列番号32のアミノ酸配列に対して少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有する、単離された抗PD-L1抗体である。

20

30

【0149】

一部の実施形態において、単離された抗PD-L1抗体は、脱グリコシル化されている。抗体のグリコシル化は典型的に、N-結合型またはO-結合型である。N-結合型とは、アスパラギン残基の側鎖に対する炭水化物部分の付着を意味する。トリペプチド配列であるアスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-トレオニン（ここでXは、プロリンを除く任意のアミノ酸である）は、アスパラギン側鎖に対する炭水化物部分の酵素付着についての認識配列である。したがって、ポリペプチド内のこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を作り上げる。O-結合型グリコシル化は、糖であるN-アセイルガラクトサミン、ガラクトースまたはキシロースのうちの1つのヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはトレオニンに対する付着を意味するが、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリジンを使用してもよい。抗体からのグリコシル化部位の除去は、上述のトリペプチド配列（N結合型グリコシル化部位の場合）の1つが除去されるような形でアミノ酸配列を改変することにより、簡便に達成される。改変は、グリコシル化部位内部のアスパラギン、セリンまたはトレオニン残基を別のアミノ酸残基（例えばグリシン、アラニンまたは同類置換）で置換することにより行なわれる。

40

【0150】

50

本明細書中の実施形態のいずれにおいても、単離された抗PD-L1抗体は、UniProtKB/Swiss-Prot受託番号Q9NZQ7.1中に示されているヒトPD-L1またはその変異体などのヒトPD-L1に対し結合することができる。

【0151】

またさらなる実施形態において、提供されているのは、本明細書中に記載の抗体のいずれかをコードする単離された核酸である。一部の実施形態において、核酸はさらに、前述した抗PD-L1抗体のいずれかをコードする核酸の発現に好適であるベクターを含む。またさらなる特定の態様において、ベクターは、核酸の発現に好適である宿主細胞内にある。またさらなる特定の態様において、宿主細胞は、真核細胞または原核細胞である。またさらなる特定の態様において、真核細胞は、哺乳動物細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞である。

10

【0152】

抗体またはその抗原結合フラグメントは、当該技術分野において公知の方法を用いて、例えばこのような抗体またはフラグメントを産生するのに好適な条件下で、発現に好適な形の前述の抗PD-L1抗体または抗原結合フラグメントのいずれかをコードする核酸を含む宿主細胞を培養すること及び抗体またはフラグメントを回収することを含むプロセスによって、作製されてよい。

【0153】

III. 抗体の調製

本明細書中に記載の抗体は、抗体生成のための当該技術分野において利用可能な技術を用いて調製され、その例示的方法について以下の節でより詳細に説明する。

20

【0154】

抗体は、目的の抗原（例えばPD-L1（例えばヒトPD-L1）、PD1（例えばヒトPD-L1）、PD-L2（例えばヒトPD-L2）など）に対して向けられている。好ましくは、抗原は、生物学的に重要なポリペプチドであり、障害を患う哺乳動物に対する抗体の投与は、この哺乳動物の体内に治療的利益を結果としてもたらすことができる。

【0155】

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供されている抗体は、1 μ M以下、150 nM以下、100 nM以下、50 nM以下、10 nM以下、1 nM以下、0.1 nM以下、0.01 nM以下または0.001 nM以下（例えば 10^{-8} M以下、例えば 10^{-8} M $\sim$ 10^{-13} M、 10^{-9} M $\sim$ 10^{-13} M）の解離定数（Kd）を有する。

30

【0156】

一実施形態において、Kdは、以下の検定により説明される通り、目的の抗体及びその抗原のFabバージョンを用いて実施される放射性標識抗原結合検定（RIA）によって測定される。抗原に対するFabの溶液結合親和性は、力価測定系の未標識抗原の存在下で最低限の濃度の（ 125 I）標識抗原を用いてFabを平衡化し、次に抗Fab抗体でコーティングされたプレートを用いて結合した抗原を捕捉することによって測定される（例えばChen et al., J. Mol. Biol. 293:865~881 (1999) 参照）。検定条件を確立するためには、50 mMの炭酸ナトリウム（pH 9.6）中の捕捉用抗Fab抗体（Cappel Labs）5 μ g/mlを用いて、MICROTITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）をコーティングし、その後、室温（およそ23°C）で2~5時間PBS中の2%（w/v）ウシ血清アルブミンでブロックする。非吸着性プレート（Nunc #269620）内で、100 pMまたは26 pM [125 I] - 抗原を目的のFabの連続希釈物と混合する。次に目的のFabを一晩インキュベートする。ただしインキュベーションは、確実に平衡に達するようにするために、より長い時間（例えば約65時間）続けてもよい。その後、混合物を、捕捉プレートに移して室温で（例えば1時間）インキュベーションする。次いで、溶液を除去し、PBS中の0.1%のポリソルベート20（TWEEN-20（登録商標））を用いてプレートを8回洗浄する。プレートが乾燥した時点で、150 μ l/ウェルの閃光物質（MICROSCINT-20（商標）：Packard）を添加し、

40

50

10分間TOPCOUNT（商標）ガンマカウンタ（Packard）上でプレートを計数する。最大結合の20%以下の濃度を提供する各Fabを、競合結合検定で使用するために選択する。

【0157】

別の実施形態によると、BIAcore（登録商標）-2000またはBIAcore（登録商標）-3000（BIAcore, Inc., Piscataway, NJ）を使用する表面プラズモン共鳴検定を用いて、およそ10応答単位（RU）で固定化抗原CM5チップを用いて25℃でKdを測定する。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ（CM5、BIAcore, Inc）を、供給業者の指示にしたがってN-エチル-N'-（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミドヒドロクロリド（EDC）及びN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）で活性化させる。抗原を10mMの酢酸ナトリウム、pH4.8で5µg/ml（およそ0.2µM）まで希釈させてから、5µl/分の流速で注入して、カップリングされたタンパク質およそ10応答単位（RU）を達成する。抗原注入の後、1Mのエタノールアミンを注入して未反応基を遮断する。反応速度測定のためには、およそ25µl/分の流速で25℃で、0.05%のポリソルベート20（TWEEN-20（商標））表面活性剤（PBST）を伴うPBS中に、Fabの2倍連続希釈物（0.78nM～500nM）を注入する。会合及び解離センサーグラムを同時適合させることにより、単一の1対1のLangmuir結合モデル（BIAcore（登録商標）Evaluation Software version 3.2）を用いて、会合速度（Kon）及び解離速度（Koff）を計算する。平衡解離定数（Kd）はKoff/Kon比として計算する。例えばChen et al., J. Mol. Biol. 293:865～881（1999）を参照のこと。上述の表面プラズモン共鳴検定により、会合速度が $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を超えた場合には、ストップフローが備わった分光光度計（Aviv Instruments）または攪拌型キュベットを伴う8000系SLM-AMINCO（商標）分光光度計（Thermo Spectronic）などの分光計内で測定される増大する濃度の抗原の存在下で、PBS、pH7.2中の20nMの抗抗原抗体（Fab形態）の25℃での蛍光発光強度の増減（励起=295nm；発光=340nm、16nmの帯域通過）を測定する蛍光消光技術を使用することによって、会合速度を決定することができる。

【0158】

（i）抗原の調製

任意には、他の分子にコンジュゲートされた可溶性抗原またはフラグメントを、抗体生成用免疫原として使用することができる。レセプターなどの膜貫通分子については、これらのフラグメント（例えばレセプターの細胞外ドメイン）を免疫原として使用することができる。代替的には、膜貫通分子を発現する細胞を免疫原として使用することができる。このような細胞は、天然の供給源（例えば癌の細胞株）に由来するものであり得、あるいは膜貫通分子を発現するために組換え型技術により形質転換された細胞であってもよい。抗体を調製するのに有用である他の抗原及びその形態は、当業者には明らかとなるものである。

【0159】

（ii）ある特定の抗体をベースとした方法

好ましくは関連する抗原及びアジュバントを、皮下（sc）または腹腔内（ip）に多数回注射することにより、動物の体内にポリクローナル抗体を産生させる。例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を通したコンジュゲーション）、N-ヒドロキシスクシンイミド（リジン残基を通して）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、SOCl₂またはR¹N=C=NR（式中R及びR¹は異なるアルキル基である）などの二官能性剤または誘導体化剤を用いてキーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリンまたはダイズトリプシン阻害剤など、免疫付与すべき種の体内で免疫原性のあるタンパク質に対して、関連する抗原をコンジュゲートすることが、有用であるかもしれない。

【0160】

完全フロインドアジュバント3体積と、例えば100 μ gまたは5 μ gのタンパク質またはコンジュゲート（それぞれウサギまたはマウス用）を組合せ、溶液を多数の部位で皮内注射することによって、抗原、免疫原性コンジュゲートまたは誘導体に対する免疫を動物に付与する。1ヵ月後に、完全フロインドアジュバント中の原初の量の1/5～1/10のペプチドまたはコンジュゲートを用いて多数の部位での皮下注射により動物に追加免疫を施す。7～14日後に、動物を出血させ、抗体力価について血清を検定する。力価が水平状態に達するまで、動物に追加免疫を行なう。好ましくは、動物には、同じ抗原のコンジュゲートではあるものの異なるタンパク質にかつ／または異なる架橋試薬を通してコンジュゲートされたものを用いて、追加免疫を施す。コンジュゲートはまた、タンパク質融合体として組換え型細胞培養内で作製することもできる。また、ミョウバンなどの凝集剤を用いて免疫応答を増強させることも好適である。

10

【0161】

本発明のモノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature, 256: 495 (1975) により最初に記述され、ヒト-ヒトハイブリドーマに関して例えば Hongo et al., Hybridoma, 14 (3): 253～260 (1995); Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563～681 (Elsevier, N. Y., 1981)、及び Ni, Xiandai Mi anyixue, 26 (4): 265～268 (2006) 中にさらに記載されているハイブリドーマ法を用いて作製可能である。追加の方法としては、例えば、ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒト天然IgM抗体の産生に関する米国特許第7, 189, 826号中に記載の方法が含まれる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）は、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20 (3): 927～937 (2005) 及び Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27 (3): 185～91 (2005) 中に記載されている。

20

30

【0162】

さまざまなハイブリドーマ技術については、例えば米国特許出願公開第2006/258841; 2006/183887号（完全ヒト抗体）、同第2006/059575号; 同第2005/287149号; 同第2005/100546号; 及び同第2005/026229号; 及び米国特許第7, 078, 492号及び同第7, 153, 507号を参照のこと。ハイブリドーマ法を用いてモノクローナル抗体を生産するための例示的プロトコルは、以下のように説明される。一実施形態においては、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターに免疫を付与して、免疫付与に使用されるタンパク質に対して特異的に結合する抗体を産生するかまたは産生する能力を有するリンパ球を惹起させる。本発明のポリペプチドまたはそのフラグメント及びモノホスホリルリピドA (MPL) /トレハロースジクリノミコレート (TDM) (Ribi Immunochem. Research, Inc., Hamilton, MT) などのアジュバントを皮下 (SC) または腹腔内 (IP) に多数回注射することによって、動物の体内に抗体を産生させる。本発明のポリペプチド（例えば抗原）またはそのフラグメントは、当該技術分野において周知の方法、例えば、その一部が本明細書においてさらに説明されている組換え型方法によって調製されてよい。免疫付与された動物由来の血清を、抗抗原抗体について検定し、任意には追加免疫付与が行なわれる。抗抗原抗体を産生する動物由来のリンパ球を単離する。代替的には、リンパ球をインビトロで免疫付与してもよい。

40

【0163】

その後、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を用いて、リンパ球を骨髓腫細胞

50

と融合させてハイブリドーマ細胞を形成する。例えば、Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59~103 (Academic Press, 1986)を参照のこと。効率良く融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベルの産生を支援し、かつHAT培地などの培地に対する感応性を有する骨髓腫細胞を使用することができる。例示的の骨髓腫細胞としては、マウス骨髓腫株、例えばSalk Institute Cell Distribution Center, San Diego, Calif. USAから入手可能なMOPC-21及びMPC-11マウス腫瘍由来のもの、そしてAmerican Type Culture Collection, Rockville, Md. USAから入手可能なSP-2またはX63-Ag8-653細胞があるが、これらに限定されない。ヒト骨髓腫及びマウス-ヒトのヘテロ骨髓腫細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の生産用として記載されている(Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51~63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

10

【0164】

こうして調製されたハイブリドーマ細胞は、好適な培地、例えば、未融合の親骨髓腫細胞の成長または生存を阻害する1つ以上の物質を含む培地内に播種され成長させられる。例えば、親骨髓腫細胞に酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPRT)が欠落している場合、ハイブリドーマのための培地は典型的には、HGPRT-欠損細胞の成長を妨げる物質である、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン(HAT培地)を含むことになる。好ましくは、無血清ハイブリドーマ細胞培養方法が、例えばEven et al., Trends in Biotechnology, 24(3), 105~108(2006)中に記載の通り、ウシ胎仔血清などの動物由来の血清の使用を減少させるために使用される。

20

【0165】

ハイブリドーマ細胞培養の生産性を改善するための手段としてのオリゴペプチドについては、Franek, Trends in Monoclonal Antibody Research, 111~122(2005)中に記載されている。具体的には、標準培地を或る種のアミノ酸(アラニン、セリン、アスパラギン、プロリン)またはタンパク質加水分解物画分を用いて富化し、3~6個のアミノ酸残基からなる合成オリゴペプチドによりアポトーシスを著しく抑制することができる。ペプチドは、ミリモルまたはそれ以上の濃度で存在する。

30

【0166】

ハイブリドーマ細胞が中で成長している培地を、本発明の抗体に結合するモノクローナル抗体の産生について検定してよい。ハイブリドーマ細胞により産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、ラジオイムノアッセイ(RIA)または酵素免疫測定法(ELISA)などのインビトロ結合検定によってかまたは免疫沈降によって決定されてよい。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えばスキャッチャード分析によって決定され得る。例えばMunson et al., Anal. Biochem., 107:220(1980)を参照のこと。

40

【0167】

所望の特異性、親和性及び／または活性を有する抗体を産生するハイブリドーマ細胞を同定した後、希釈手順を制限することによってクローンをサブクローニングし、標準的方法により成長させてよい。例えば上記Godingを参照のこと。この目的での好適な培地としては、例えば、D-MEMまたはRPMI-1640培地がある。さらに、動物の体内の腹水腫瘍としてインビボでハイブリドーマ細胞を成長させてよい。サブクローニングによって分泌されるモノクローナル抗体を、例えばプロテインA-セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析または親和性クロマトグラフィな

50

どの従来の免疫グロブリン精製手順により、培地、腹水または血清から好適な形で分離する。ハイブリドーマ細胞からのタンパク質の単離のための1つの手順は、US 2005/176122及び米国特許第6,919,436号中に記載されている。方法には、リオトロピック塩などの最小限の塩を結合プロセスにおいて使用すること、そして好ましくは溶出プロセスにおいて少量の有機溶媒も使用することが含まれる。

【0168】

(iii) ライブラリ由来の抗体

本発明の抗体は、所望の活性（単複）を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることによって単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてこのようなライブラリをスクリーニングするためのさまざまな方法が、当該技術分野において公知である。追加の方法は例えばHoogenboom et al., in *Methods in Molecular Biology* 178:1~37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)において概説され、例えばMcCafferty et al., *Nature* 348:552~554; Clackson et al., *Nature* 352:624~628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581~597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161~175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2):299~310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073~1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467~12472 (2004); 及びLee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119~132 (2004)の中にさらに記載されている。

【0169】

ある特定のファージディスプレイ方法では、Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433~455 (1994)中に記載の通り、VH及びVL遺伝子のレパートリが、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により別個にクローニングされ、ファージライブラリ中で無作為に組換えられ、次にこれらのライブラリを抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、一本鎖Fv(scFv)フラグメントとしてかまたはFabフラグメントのいずれかとして抗体フラグメントをディスプレイする。免疫付与された供給源由来のライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なく免疫原に対する高親和性抗体を提供する。代替的には、Griffiths et al., *EMBO J*, 12:725~734 (1993)により記述されている通り、ナイーブのレパートリを(例えばヒトから)クローニングして、いかなる免疫付与も無しで広範囲の非自己抗原、また自己抗原に対しても単一の抗体原を提供することができる。最後に、Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381~388 (1992)により記述されている通り、幹細胞から再配置されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマを用いて、極めて可変的なCDR3領域をコードし、インビトロで再配置を遂行することによって、ナイーブライブラリを合成的に作製することも可能である。ヒト抗体ファージライブラリについて記載している特許公報としては、例えば米国特許第5,750,373号及び米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号及び同第2009/0002360号が含まれる。

【0170】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体フラグメントは、本明細書において、ヒト抗体またはヒト抗体フラグメントと見なされる。

【0171】

(iv) キメラ、ヒト化及びヒト抗体

ある特定の実施形態において、本明細書中に提供されている抗体はキメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば米国特許第4,816,567号；及びMorriso
n et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851~6
855 (1984) 中に記載されている。一実施例において、キメラ抗体は、非ヒト可変
領域（例えばマウス、ラット、ハムスター、ウサギまたは非ヒト霊長類、例えばサルに由
来する可変領域）及びヒト定常領域を含む。さらなる実施例において、キメラ抗体は、ク
ラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更されている「クラススイッチ型」抗体であ
る。キメラ抗体は、その抗原結合フラグメントを含む。

10

【0172】

ある特定の実施形態において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト
抗体は、親非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持する一方でヒトに対する免疫原性を減少
させるために、ヒト化される。概してヒト化抗体は、その内部ではHVR、例えばCDR
（またはその一部分）が非ヒト抗体に由来しFR（またはその一部分）がヒト抗体配列に
由来している1つ以上の可変ドメインを含んでいる。ヒト化抗体は、任意には、ヒト定常
領域の少なくとも一部分も含むものである。一部の実施形態において、ヒト化抗体内の一
部のFR残基は、非ヒト抗体（例えばHVR残基が由来した抗体）由来の対応する残基と
置換されて、例えば抗体の特異性または親和性を回復または改善する。

【0173】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えばAlmagro and Fransson
, Front. Biosci. 13:1619~1633 (2008) 中で概説されてお
り、さらに例えばRiechmann et al., Nature 332:323~3
29 (1988) ; Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci.
USA 86:10029~10033 (1989) ; 米国特許第5,821,337号
、同第7,527,791号、同第6,982,321号、及び同第7,087,409
号 ; Kashmiri et al., Methods 36:25~34 (2005) (S
DR (a-CDR) グラフトについて記載) ; Padlan, Mol. Immunol.
. 28:489~498 (1991) (「リサーチフェイシング」について記載) ; Dal
l'Acqua et al., Methods 36:43~60 (2005) (「FRシ
ャップル」について記載) ; 及びOsborn et al., Methods 36:
61~68 (2005) 及びKlimka et al., Br. J. Cancer, 83
:252~260 (2000) (FRシャップルに対する「誘導選択」アプローチについ
て記載) の中に記載されている。

20

30

【0174】

ヒト化のために使用してよいヒトフレームワーク領域には、「ベストフィット」法（例
えばSims et al., J. Immunol. 151:2296 (1993) を参照）
を用いて選択されたフレームワーク領域；軽鎖または重鎖可変領域の特定のサブグループ
のヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えばCarter et
al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992) ;
及びPresta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993) を
参照）；ヒト成熟（体細胞変異した）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系列フレ
ームワーク領域（例えばAlmagro and Fransson, Front. Bios
ci. 13:1619~1633 (2008) を参照）；及び、FRライブラリのスクリ
ーニングに由来するフレームワーク領域（例えばBaca et al., J. Biol.
Chem. 272:10678~10684 (1997) 及びRosok et al.,
J. Biol. Chem. 271:22611~22618 (1996) を参照）が含ま
れるが、これらに限定されない。

40

【0175】

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供されている抗体は、ヒト抗体である。

50

ヒト抗体は、当該技術分野において公知のさまざまな技術を用いて生産され得る。ヒト抗体は、一般的に、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368~74 (2001) 及び Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450~459 (2008) 中に記載されている。

【0176】

ヒト抗体は、抗原投与に応答して、ヒト可変領域を有するインタクトヒト抗体またはインタクト抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に対して免疫原を投与することによって調製されてよい。このような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座に置き換わるかまたは染色体外で存在するかまたは動物の染色体内に無作為に組込まれるヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含んでいる。このようなトランスジェニックマウスにおいて、内因性免疫グロブリン遺伝子座は概してすでに不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説には、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117~1125 (2005) を参照のこと。また、例えば XENOMOUSE (商標) 技術について記載する米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号; HUMAB (登録商標) 技術について記載する米国特許第5,770,429号; K-M MOUSE (登録商標) 技術について記載する米国特許第7,041,870号; 及び VELOCIMOUSE (登録商標) 技術について記載する米国特許出願公開第US2007/0061900号も参照のこと。このような動物によって生成されるインタクト抗体由来のヒト可変領域は、例えば異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、さらに修飾されてよい。

【0177】

ヒト抗体は、ハイブリドーマをベースとする方法によっても作製可能である。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株について記述されてきた。(Kozbor J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51~63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及び Boerner et al., J. Immunol., 147:86 (1991) 参照)。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体も、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557~3562 (2006) 中に記載されている。追加の方法としては、例えば米国特許第7,189,826号(ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトIgM抗体の産生について記載)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265~268 (2006) (ヒト-ヒトハイブリドーマについて記載) 中に記載されているものが含まれる。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)はまた、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927~937 (2005) 及び Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185~91 (2005) 中にも記載されている。

【0178】

ヒト由来ファージディスプレイライブラリから選択されたFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって、ヒト抗体を生成してもよい。このような可変ドメイン配列を、次に所望のヒト定常領域と組合せてもよい。抗体ライブラリからヒトライブラリを選択するための技術について、以下で説明する。

【0179】

(v) 抗体フラグメント

抗体フラグメントは、酵素消化などの従来の手段によってかまたは組換え技術により生成されてよい。ある特定の状況においては、全抗体ではなく抗体フラグメントを使用する

のが有利である。フラグメントはサイズが比較的小さいことから、急速なクリアランスを可能にし、固形腫瘍に対するアクセスの改善を導くかもしれない。ある特定の抗体フラグメントの概説については、Hudson et al. (2003) Nat. Med. 9: 129~134を参照のこと。

【0180】

抗体フラグメントの生産のために、さまざまな技術が開発されてきた。従来、これらのフラグメントは、インタクト抗体のタンパク質分解消化を介して誘導された（例えばMorimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107~117 (1992)；及びBrennan et al., Science, 229:81 (1985)を参照のこと）。しかしながら、これらのフラグメントは今や、組換え型宿主細胞により直接生産可能である。Fab、Fv及びScFv抗体フラグメントは全て、大腸菌内で発現され大腸菌により分泌され、こうしてこれらのフラグメントを大量に容易に生産することが可能である。抗体フラグメントは、以上で論述した抗体ファージライブラリから単離され得る。代替的には、Fab'-SHフラグメントは、大腸菌から直接回収可能であり、化学的にカップリングされてF(ab')₂フラグメントを形成する(Carter et al., Bio/Technology 10:163~167 (1992))。別のアプローチによると、F(ab')₂フラグメントは、宿主細胞培養から直接単離可能である。サルベージレセプター結合エピトープ残基を含む、インビボ半減期の増大したFab及びF(ab')₂フラグメントが米国特許第5,869,046号中に記載されている。抗体フラグメントの生産のための他の技術は、当業者には明らかになるものである。ある特定の実施形態において、抗体は一本鎖Fvフラグメント(scFv)である。例えばWO93/16185；米国特許第5,571,894号；及び同第5,587,458号を参照のこと。Fv及びscFvは、定常領域が欠如したインタクトな組合せ部位を伴う唯一の種である；したがって、これらは、インビボ使用中、低い非特異的結合に好適であるかもしれない。scFv融合タンパク質を構築して、scFvのアミノまたはカルボキシ末端のいずれかでエフェクタータンパク質の融合を生み出すことができる。上記Antibody Engineering, ed. Borrebaeckを参照のこと。抗体フラグメントはまた、例えば米国特許第5,641,870号中に記載の通り、「線状抗体」であってもよい。このような線状抗体は、単一特異性または二重特異性であってよい。

【0181】

(vi) 多特異性抗体

多特異性抗体は、少なくとも2つの異なるエピトープに対する結合特異性を有し、ここでエピトープは通常、異なる抗原に由来する。このような分子は通常、2つの異なるエピトープ（すなわち二重特異性抗体、BsAb）に結合するものの、本明細書中で使用される場合この表現には、三重特異性抗体などの追加の特異性を有する抗体も包含される。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体フラグメント（例えばF(ab')₂二重特異性抗体）として調製可能である。

【0182】

二重特異性抗体を作製する方法は、当該技術分野において公知である。完全長二重特異性抗体の従来の生産は、2つの鎖が異なる特異性を有する、2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の同時発現に基づいている（例えばMillstein et al., Nature, 305:537~539 (1983)を参照のこと）。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖の無作為的な組合せのため、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は、10個の異なる抗体分子の潜在的混合物を産生し、そのうち1個のみが正しい二重特異性構造を有している。通常親和性クロマトグラフィステップによって行なわれる正しい分子の精製は、かなり面倒であり、生成物の収量は低い。類似の手順は、WO93/08829及びTraunecker et al., EMBO J., 10:3655~3659 (1991)中に開示されている。

【0183】

二重特異性抗体を作製するための当該技術分野において公知の1つのアプローチは、「ノブ・イントゥ・ホール」または「プロチュバランス・イントゥ・キャビティ」アプローチである（例えば米国特許第5,731,168号参照）。このアプローチでは、2つの免疫グロブリンポリペプチド（例えば重鎖ポリペプチド）は各々1つの界面を含む。一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面は、もう一方の免疫グロブリンポリペプチド上の対応する界面と相互作用し、こうして2つの免疫グロブリンポリペプチドが会合できるようにしている。これらの界面は、一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面内にある「ノブ」または「突起（プロチュバランス）」（これらの用語は、本明細書内では互換的に使用されてよい）が、もう一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面内にある「ホール」または「空洞（キャビティ）」（これらの用語は、本明細書内では互換的に使用されてよい）と対応するような形で工学操作されていてよい。一部の実施形態では、ホールは、ノブと同一のまたは類似したサイズのものであり、2つの界面が相互作用する場合に一方の界面のノブが、他方の界面の対応するホール内に位置付け可能となるような形で、好適に位置付けされる。理論に束縛されることは望まないものの、このことは、ヘテロ多量体を安定化させ、他の種、例えばホモ多量体よりもヘテロ多量体の形成を好むことに有利に作用すると考えられる。一部の実施形態においては、このアプローチを用いて、2つの異なる免疫グロブリンポリペプチドのヘテロ多量体化を促進し、異なるエピトープの結合特異性を有する2つの免疫グロブリンポリペプチドを含む二重特異性抗体を創出してもよい。

【0184】

一部の実施形態において、ノブは、小さいアミノ酸側鎖をより大きな側鎖で置き換えることによって構築され得る。一部の実施形態において、大きいアミノ酸側鎖をより小さい側鎖で置き換えることにより、ホールを構築してよい。ノブまたはホールは、原初の界面内に存在してもよいし、あるいは、合成により導入されてもよい。例えば、少なくとも1つの「原初の」アミノ酸残基を少なくとも1つの「インポート」アミノ酸残基と置き換えるように界面をコードする核酸配列を改変することによって、ノブまたはホールを合成により導入してもよい。核酸配列を改変するための方法には、当該技術分野において周知の標準的分子生物学技術が含まれるかもしれない。さまざまなアミノ酸残基の側鎖体積が、下表に示されている。一部の実施形態において、原初の残基は、小さい側鎖体積を有し（例えばアラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、トレオニンまたはバリン）、ノブを形成するためのインポート残基は、天然に発生するアミノ酸であり、アルギニン、フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファンを含み得る。一部の実施形態において、原初の残基は、大きい側鎖体積（例えばアルギニン、フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファン）を有し、ホールを形成するためのインポート残基は天然に発生するアミノ酸でありアラニン、セリン、トレオニン及びバリンを含むかもしれない。

【0185】

表1：アミノ酸残基の特性

10

20

30

40

50

アミノ酸	一文字略語	質量 ^a (ダルトン)	体積 ^b (Å ³)	アクセス可能な 表面積 ^c (Å ²)
アラニン (A l a)	A	71.08	88.6	115
アルギニン (A r g)	R	156.20	173.4	225
アスパラギン (A s n)	N	114.11	117.7	160
アスパラギン酸 (A s p)	D	115.09	111.1	150
システイン (C y s)	C	103.14	108.5	135
グルタミン (G l n)	Q	128.14	143.9	180
グルタミン酸 (G l u)	E	129.12	138.4	190
グリシン (G l y)	G	57.06	60.1	75
ヒスチジン (H i s)	H	137.15	153.2	195
イソロイシン (I l e)	I	113.17	166.7	175
ロイシン (L e u)	L	113.17	166.7	170
リシン (L y s)	K	128.18	168.6	200
メチオニン (M e t)	M	131.21	162.9	185
フェニルアラニン (P h e)	F	147.18	189.9	210
プロリン (P r o)	P	97.12	122.7	145
セリン (S e r)	S	87.08	89.0	115
トレオニン (T h r)	T	101.11	116.1	140
トリプトファン (T r p)	W	186.21	227.8	255
チロシン (T y r)	Y	163.18	193.6	230
バリン (V a l)	V	99.14	140.0	155

^a アミノ酸の分子量から水の分子量を減じたもの。数値の出典は、Handbook of Chemistry and Physics, 43th ed. Cleveland, Chemical Rubber Publishing Co., 1961。

^b 数値の出典は、A. A. Zamyatnin, Prog. Biophys. Mol. Biol. 24:107~123, 1972。

^c 数値の出典は、C. Chothia, J. Mol. Biol. 105:1~14, 1975。アクセス可能な表面積は、この参考文献の図6~20内に定義されている。

【0186】

一部の実施形態において、ノブまたはホールを形成するための原初の残基は、ヘテロ多量体の三次元構造に基づいて同定される。3次元構造を得るための当該技術分野において公知の技術としては、X線結晶学及びNMRがあると考えられる。一部の実施形態において、界面は、免疫グロブリン定常ドメインのCH3ドメインである。これらの実施形態において、ヒトIgG1のCH3/CH3界面には、4つの逆平行β鎖の上に位置設定された各ドメイン上の16の残基が関与する。理論により束縛されることは望まないものの、突然変異を受けた残基は、好ましくは、ノブが、パートナーCH3ドメイン内の補償ホールではなくむしろ周囲の溶媒により収容され得る危険性を最小限におさえるため、2つの

中央逆平行 β 鎖上に位置設定される。一部の実施形態において、2つの免疫グロブリンポリペプチド内の対応するノブ及びホールを形成する突然変異は、下表に示された1つ以上の対に対応する。

【0187】

表2. 対応するノブ及びホール形成突然変異の例示的セット

第1の免疫グロブリンのCH3	第2の免疫グロブリンのCH3
T366Y	Y407T
T366W	Y407A
F405A	T394W
Y407T	T366Y
T366Y:F405A	T394W:Y407T
T366W:F405W	T394S:Y407A
F405W:Y407A	T366W:T394S
F405W	T394S

突然変異は、原初の残基と、それに続く、K a b a t付番システムを用いた位置、そして次にインポート残基（全ての残基は、一文字アミノ酸コードで提供されている）によって表示されている。複数の突然変異はコロンで分けられている。

【0188】

一部の実施形態において、免疫グロブリンポリペプチドは、上記表2中に列挙した1つ以上のアミノ酸置換を含むCH3ドメインを含む。一部の実施形態において、二重特異性抗体には、表2の左欄に列挙した1つ以上のアミノ酸置換を含むCH3ドメインを含む第1の免疫グロブリンポリペプチドと、表2の右欄に列挙した1つ以上の対応するアミノ酸置換を含むCH3ドメインを含む第2の免疫グロブリンポリペプチドとが含まれる。

【0189】

上述の通りのDNAの突然変異の後、1つ以上の対応するノブまたはホール形成突然変異を伴う修正された免疫グロブリンポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、当該技術分野において公知の標準的な組換え技術及び細胞系を用いて、発現され精製され得る。例えば米国特許第5,731,168号；同第5,807,706号；同第5,821,333号；同第7,642,228号；同第7,695,936号；同第8,216,805号；米国特許出願公開第2013/0089553号；及びSpieß et al., Nature Biotechnology 31:753~758, 2013を参照のこと。修飾された免疫グロブリンポリペプチドは、大腸菌などの原核宿主細胞またはCHO細胞などの真核宿主細胞を用いて生産される。同時培養において宿主細胞内で、対応するノブ及びホール担持免疫グロブリンポリペプチドを発現させヘテロ多量体として共に精製してもよく、あるいは、これらを単一の培養内で発現させ、別個に精製し、インビトロで組立ててもよい。一部の実施形態において、細菌宿主細胞の2つの菌株（1つはノブを伴う免疫グロブリンポリペプチドを発現するもの、もう1つはホールを伴う免疫グロブリンポリペプチドを発現するもの）は、当該技術分野において公知の標準的細菌培養技術を用いて同時培養される。一部の実施形態において、2つの菌株は、例えば培養中で等しい発現レベルを達成するように1つの特定の比率で混合されてよい。一部の実施形態において、2つの菌株は、50:50、60:40または70:30の比率で混合されてよい。ポリペプチド発現の後、細胞を共に溶解させてよく、タンパク質を抽出してよい。ホモ多量体対ヘテロ多量体種の存在度を測定することを可能にする当該技術分野において公知の標準的技術としては、サイズ排除クロマトグラフィが含まれ得る。一部の実施形態において、各々の修飾された免疫グロブリンポリペプチドを、標準的組換え技術を用いて別

個に発現させ、これらをインビトロで合わせてアセンブリしてもよい。アセンブリは、例えば、各々の修飾された免疫グロブリンポリペプチドを精製し、それらを等しい質量で混合しインキュベートし、ジスルフィドを還元し（例えば、ジチオトレイトールで処理することによる）、濃縮し、かつポリペプチドを再度酸化させることによって、達成される。形成した二重特異性抗体を、カチオン交換クロマトグラフィを含めた標準的技術を用いて精製し、サイズ排除クロマトグラフィを含めた標準的技術を用いて測定してよい。これらの方法のさらに詳しい説明については、Speiss et al., Nat. Biotechnol. 31: 753~8, 2013を参照のこと。一部の実施形態において、修飾された免疫グロブリンポリペプチドを、CHO細胞中で別個に発現させ、上述の方法を用いてインビトロでアセンブリしてよい。

10

【0190】

異なるアプローチによると、所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン（抗体-抗原組合せ部位）が、免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合される。融合は、好ましくは、ヒンジ、CH2及びCH3領域の少なくとも一部分を含む、免疫グロブリン重鎖定常ドメインとの融合である。少なくとも1つの融合に存在する軽鎖結合に必要な部位を含む第1の重鎖定常領域（CH1）を有するのが、典型的である。免疫グロブリン重鎖融合と、望ましい場合には免疫グロブリン軽鎖とをコードするDNAが、別個の発現ベクター内に挿入され、好適な宿主生体内に同時トランスフェクトされる。こうして、構築の際に使用される3つのポリペプチド鎖の不等な比率が最適な収量を提供する場合に、実施形態において3つのポリペプチドフラグメントの相互の割合を調整する上で大きな柔軟性が得られる。しかしながら、等しい比率での少なくとも2つのポリペプチド鎖の発現が結果として高い収量をもたらす場合、あるいは比率が特別な重要性を全くもたない場合、1つの発現ベクター内に2つのまたは3つ全てのポリペプチド鎖のためのコーディング配列を挿入することが可能である。

20

【0191】

このアプローチの一実施形態において、二重特異性抗体は、一方のアーム内の第1の結合特異性を有するハイブリッド免疫グロブリン重鎖と、もう一方のアーム内の（第2の結合特異性を提供する）ハイブリッド免疫グロブリン重鎖-軽鎖対とで構成されている。この非対称構造は、二重特異性分子の半分の中のみ免疫グロブリン軽鎖の存在が容易な分離法を提供することから、望ましくない免疫グロブリン鎖の組合せからの所望の二重特異性化合物の分離を容易にすることが発見された。このアプローチは、WO94/04690中に開示されている。二重特異性抗体の生成のさらなる詳細については、例えばSuresh et al., Methods in Enzymology, 121: 210 (1986)を参照のこと。

30

【0192】

WO96/27011に記載の別のアプローチによると、一对の抗体分子の間の界面は、組換え型細胞培養から回収されるヘテロ二量体の百分率を最大限にするために工学操作され得る。1つの界面は、抗体定常ドメインのCH3ドメインの少なくとも一部分を含む。この方法において、第1の抗体分子の界面由来の1つ以上の小さいアミノ酸側鎖は、より大きい側鎖（例えばチロシンまたはトリプトファン）で置き換えられる。大きいアミノ酸側鎖をより小さい側鎖（例えばアラニンまたはトレオニン）で置き換えることにより、第2の抗体分子の界面上に、大きな側鎖（単複）と同一のまたは類似のサイズの補償用「空洞」が創出される。こうして、ホモ二量体などの他の望ましくない最終産物に比べてヘテロ二量体の収量を増大させるための機序が提供される。

40

【0193】

二重特異性抗体には、架橋または「ヘテロコンジュゲート」抗体が含まれる。例えばヘテロコンジュゲート内の抗体の一方は、アビジンに、そしてもう一方はビオチンにカップリングされ得る。このような抗体は、例えば、望ましくない細胞に対して免疫系細胞を標的化するために（米国特許第4,676,980号）そしてHIV感染の治療のために（WO91/00360、WO92/200373及びEP03089）提案されてきた。

50

ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の便利な架橋方法を用いて作製されてよい。好適な架橋剤が当該技術分野において周知であり、いくつかの架橋技術と共に米国特許第4,676,980号に開示されている。

【0194】

抗体フラグメントから二重特異性抗体を生成するための技術もまた、文献中で開示されている。例えば二重特異性抗体は、化学的結合を用いて調製可能である。Brennan et al., Science, 229:81 (1985)は、インタクト抗体をタンパク質溶解により分割してF(ab')₂フラグメントを生成する手順について記載している。これらのフラグメントは、ジチオール錯化剤亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元されて、隣接ジチオールを安定化し、分子間ジスルフィド形成を防ぐ。生成されたF(ab')₂フラグメントは、次にチオニトロベンゾエート(TNB)誘導体に変換される。F(ab')₂-TNB誘導体の1つは、その後、メルカプトエチルアミンでの還元によりF(ab')₂-チオールに再度変換され、等モル量の他のF(ab')₂-TNB誘導体と混合されて二重特異性抗体を形成する。産生された二重特異性抗体は、酵素の選択的固定化用の作用物質として使用可能である。

【0195】

近年の進歩によって、化学的にカップリングされて二重特異性抗体を形成することのできる大腸菌由来のF(ab')₂-SHフラグメントの直接的回収が容易になった。Shalaby et al., J. Exp. Med., 175:217~225 (1992)は、完全にヒト化された二重特異性抗体F(ab')₂分子の産生について記載している。各々のF(ab')₂フラグメントは、大腸菌から別個に分泌され、インビトロでの定方向化学カップリングに付されて二重特異性抗体を形成する。

【0196】

組換え型細胞培養から直接二重特異性抗体フラグメントを作製し単離するためのさまざまな技術もまた記述されてきた。例えば、二重特異性抗体は、ロイシン・ジッパーを用いて生産されてきた。Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547~1553 (1992)。Fos及びJunタンパク質由来のロイシン・ジッパーペプチドは、遺伝子融合により2つの異なる抗体のF(ab')₂部分に結合された。抗体ホモ二量体はヒンジ領域で還元されて、単量体を形成し、次に再度酸化されて抗体ヘテロ二量体を形成する。この方法は、また、抗体ホモ二量体の産生のためにも利用可能である。Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444~6448 (1993)により記載されている「ダイアボディ」技術は、二重特異性抗体フラグメントを作製するための代替的機序を提供した。フラグメントは、同じ鎖上の2つのドメインの間の対合を可能にするには短すぎるリンカーにより軽鎖可変ドメイン(V_L)に結合された重鎖可変ドメイン(V_H)を含む。したがって、1つのフラグメントのV_H及びV_Lドメインは、別のフラグメントの相補的V_L及びV_Hドメインを強制的に対合させられて、2つの抗原結合部位を形成する。1本鎖Fv(scFv)二量体を使用することによる二重特異性抗体フラグメントの作製のための別の戦略もまた報告されている。Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照のこと。

【0197】

二重特異性抗体フラグメントを作製するための別の技術は、「二重特異性T細胞エンゲージャ」またはBiTE(登録商標)アプローチ(例えばWO2004/106381、WO2005/061547、WO2007/042261及びWO2008/119567参照)である。このアプローチは、単一のポリペプチド上に配置された2つの抗体可変ドメインを利用する。例えば単一のポリペプチド鎖は、2つのドメイン間の分子内会合を可能にするのに十分な長さのポリペプチドリinkerによって分離された可変重鎖(V_H)と可変軽鎖(V_L)ドメインを各々有する2つの一本鎖Fv(scFv)フラグメントを含む。この単一のポリペプチドはさらに、2つのscFvフラグメント間にポリペプチドスペーサ配列を含む。各scFvは異なるエピトープを認識し、これらのエピトープは、異なる細胞型に特異的であってよく、こうして、2つの異なる細胞型の細胞は、各sc

Fvがその同種エピトープと係合させられた時点で、近接させられるかまたは係留される。このアプローチの1つの特定の実施形態には、悪性細胞または腫瘍細胞などの標的細胞により発現された細胞表面抗原を認識する別のscFvに結合された、T細胞上のCD3ポリペプチドなどの、免疫細胞により発現される細胞表面抗原を認識するscFvが含まれる。

【0198】

単一のポリペプチドであるため、二重特異性T細胞エンゲージャは、例えばCHO細胞株などの当該技術分野において公知の任意の原核または真核細胞発現系を用いて、発現されてよい。しかしながら、単量体の意図された活性以外の生物活性を有する可能性のある他の多量体種から、単量体二重特異性T細胞エンゲージャを分離するためには、特異的精製技術（例えばEP1691833参照）が必要であるかもしれない。1つの例示的精製スキームにおいては、分泌されたポリペプチドを含む溶液が最初に金属親和性クロマトグラフィに付され、ポリペプチドは、イミダゾール濃度勾配を用いて溶出される。この溶出液は、アニオン交換クロマトグラフィを用いてさらに精製され、ポリペプチドは、塩化ナトリウム濃度の勾配を用いて溶出される。最後に、この溶出液は、多量体種から単量体を分離するため、サイズ排除クロマトグラフィに付される。

【0199】

3以上の原子価を有する抗体が企図される。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Tuft et al. J. Immunol. 147:60 (1991)。

【0200】

(vii) 単ドメイン抗体

一部の実施形態において、本発明の抗体は、単ドメイン抗体である。単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全部または一部分あるいは軽鎖可変ドメインの全部または一部分を含む単ポリペプチド鎖である。ある特定の実施形態では、単ドメイン抗体はヒト単ドメイン抗体である(Domantis, Inc., Waltham, Mass.; 例えば米国特許第6,248,516B1号参照)。一実施形態において、単ドメイン抗体は、抗体の重鎖ドメインの全部または一部分で構成される。

【0201】

(viii) 抗体変異体

一部の実施形態において、本明細書中に記載の抗体のアミノ酸配列の修飾（単複）が企図されている。例えば、抗体の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善することが所望されるかもしれない。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列内に適切な変化を導入することによってか、またはペプチド合成によって調製されてよい。このような修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列内部の残基からの欠失、及び／またはその中への挿入及び／またはその置換が含まれる。最終的構成体が所望の特性を有することを条件として、最終的構成体に到達するために、欠失、挿入及び置換の任意の組合せを行なうことができる。配列が作製される時に、対象の抗体アミノ酸配列内にアミノ酸改変を導入してよい。

【0202】

(ix) 置換、挿入及び欠失変異体

ある特定の実施形態においては、1つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換による突然変異誘発のための目的の部位としては、HVRとFRがある。保存的置換が、表1中で「保存的置換」の見出しの下で示されている。より実質的な変化は、表1中に、「例示的置換」という見出しの下で、かつアミノ酸側鎖クラスに関連して以下でさらに説明する通りに提供されている。アミノ酸置換を、目的の抗体内に導入し、所望の活性、例えば抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少またはADCCまたはCDCの改善について生成物をスクリーニングしてよい。

【0203】

表3. 例示的置換

10

20

30

40

50

原初の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala

10

原初の残基	例示的置換	好ましい置換
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

20

【0204】

アミノ酸は、共通の側鎖特性に応じて分類してよい：

- a. 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- b. 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- c. 酸性：Asp、Glu；
- d. 塩基性：His、Lys、Arg；
- e. 鎖配向に影響を及ぼす残基：Gly、Pro；
- f. 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

30

【0205】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのクラスの一構成員の別のクラスとの交換を伴う。

【0206】

1つのタイプの置換変異体には、親抗体（例えばヒト化またはヒト抗体）の1つ以上の超可変領域の置換が関与する。概して、さらなる研究のために選択された結果として得られた変異体（単複）は、親抗体に関するある特定の生物学的特性（例えば親和性の増大、免疫原性の減少）における修飾（例えば改善）を有しかつ／または親抗体のある特定の生物学的特性を実質的に保持するものである。1つの例示的な置換変異体は、例えば本明細書中に記載のもののようなファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を用いて簡便な形で生成可能である親和性の成熟抗体である。簡単に言うと、1つ以上のHVR残基が突然変異を受け、変異体抗体はファージ上でディスプレイされ、特定の生物活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングされる。

40

【0207】

例えば抗体親和性を改善するために、HVR中で改変（例えば置換）を行なってよい。このような改変は、HVR「ホットスポット」すなわち体細胞成熟プロセス中に高頻度で突然変異を受けるコドンによりコードされる残基（例えばChowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179~196 (2008) 参照）及び／またはS

50

D R (a-C D R) 内で行なわれてよく、結果として得られる変異体 V H または V L は、結合親和性についてテストされる。二次ライブラリからの構築及び再選択による親和性成熟については、例えば H o o g e n b o o m e t a l . (M e t h o d s i n M o l e c u l a r B i o l o g y 178:1~37 (O' B r i e n e t a l . , e d . , H u m a n P r e s s , T o t o w a , N J , (2001)) 中に記載されている。親和性成熟に関する一部の実施形態において、さまざまな方法（例えばエラープローン P C R、鎖シャッフルまたはオリゴヌクレオチド指向性突然変異誘発）のいずれかにより成熟のために選択された可変的遺伝子の中に、多様性が導入される。その後、二次ライブラリが創出される。ライブラリは次に、所望の親和性を有するあらゆる抗体変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法には、複数の H V R 残基（例えば、一度に 4~6 個の残基）が無作為化される H V R 指向性アプローチが関与する。抗原結合に関与する H V R 残基は、例えばアラニン走査突然変異誘発またはモデリングを用いて、特異的に同定されてよい。C D R-H 3 及び C D R-L 3 は、特に標的化される場合が多い。

10

【0208】

ある特定の実施形態においては改変が抗原を結合する抗体の能力を実質的に減少させないかぎりにおいて、1つ以上の H V R の内部で、置換、挿入または欠失を発生させてよい。例えば、結合親和性を実質的に減少させない保存的改変（例えば本明細書中で提供されている通りの保存的置換）を H V R 内で行なってよい。このような改変は、H V R 「ホットスポット」または S D R の外側であってよい。上述の変異体 V H 及び V L 配列のある特定の

20

【0209】

突然変異誘発のために標的化され得る抗体の残基または領域の同定のための有用な方法は、C u n n i n g h a m a n d W e l l s (1989) S c i e n c e , 244:1081~1085 により記載されている通り、「アラニン走査突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、1つの残基または標的残基群（例えば A r g、A s p、H i s、L y s 及び G l u などの荷電残基）が同定され、中性または負に帯電したアミノ酸（例えばアラニンまたはポリアラニン）により置き換えられて、抗原と抗体の相互作用がもたらされているか否かを決定する。初期置換に対する機能的感応性を示すアミノ酸の場所において、さらなる置換を導入してもよい。代替的または付加的には、抗原-抗体複合体の結晶構造が抗体と抗原の間の接点を同定する。このような接触残基及び隣接する残基は、置換候補として標的化されるか除去される。変異体をスクリーニングして、所望の特性を含んでいるか否かを決定してよい。

30

【0210】

アミノ酸配列の挿入には、1個の残基から百以上の残基を含むポリペプチドに至る長さ範囲のアミノ及び／またはカルボキシル末端融合、並びに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N 末端メチオニル残基を伴う抗体がある。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体の血清半減期を増大させる酵素（例えば A D E P T 用）またはポリペプチドに対する抗体の N 末端または C 末端の融合が含まれる。

40

【0211】

(x) グリコシル化変異体

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供されている抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増減させるために改変される。抗体に対するグリコシル化部位の付加または欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が創出または除去されるようにアミノ酸配列を改変することによって、簡便に達成可能である。

【0212】

抗体が F c 領域を含む場合、それに付着した炭水化物は改変され得る。哺乳動物細胞により産生される天然抗体は、概して F c 領域の C H 2 ドメインの A s n 297 に対して N-結合により付着させられる分岐、二分岐オリゴ糖を含む。例えば W r i g h t e t a

50

し、TIBTECH 15:26~32 (1997)を参照のこと。オリゴ糖は、さまざまな炭水化物、例えばマンノース、N-アセチルグルコサミド (GlcNAc)、ガラクトース及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」内でGlcNAcに付着したフコースを含んでいてよい。一部の実施形態において、本発明の抗体内のオリゴ糖の修飾を、一定の改善された特性を伴う抗体変異体を創出するために行なうてよい。

【0213】

一実施形態において、Fc領域に付着した炭水化物構造のフコースが減少しているかまたは欠落していて、ADCC機能を改善するかもしれない、Fc領域を含む抗体変異体が提供されている。具体的には、本明細書では、野生型CHO細胞内で産生される同じ抗体上のフコースの量に比べて減少したフコースを有する抗体が企図されている。すなわち、これらは、天然CHO細胞により産生された場合に有すると思われる量よりも低い量のフコースを有することを特徴としている（例えば、天然グリコシル化パターンを生成するCHO細胞、例えば天然FUT8遺伝子を含むCHO細胞）。ある特定の実施形態において、抗体は、その上のN結合グリカンの約50%、40%、30%、20%、10%または5%未満がフコースを含んでいる抗体である。例えば、このような抗体内のフコースの量は、1%~80%、1%~65%、5%~65%または20%~40%であってよい。ある特定の実施形態において、抗体は、その上のN結合グリカンのいずれもフコースを含んでいない、すなわち抗体が完全にフコース無しであるか、または全くフコースを含まないかまたはアフコシル化されている抗体である。フコースの量は、例えばWO2008/077546に記載の通り、MALD-TOF質量分析法により測定されるAsn297に付着した全ての糖構造（例えば複合体、ハイブリッド及び高マンノース構造）の和との関係におけるAsn297における糖鎖内部のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297とは、Fc領域内の約297位（Fc領域残基のEU付番）にあるアスパラギン残基を意味するが、抗体内のわずかな配列変動に起因して、Asn297はまた、297位の上流側または下流側約±3アミノ酸の位置、すなわち294位と300位の間に位置設定されてもよい。このようなフコース化変異体は、改善されたADCC機能を有する場合がある。例えば米国特許出願公開第US2003/0157108号（Presta, L.）；同第US2004/0093621号（Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd）を参照のこと。「脱フコース化」または「フコース欠損」抗体変異体に関連する刊行物の例としては、US2003/0157108；WO2000/61739；WO2001/29246；US2003/0115614；US2002/0164328；US2004/0093621；US2004/0132140；US2004/0110704；US2004/0110282；US2004/0109865；WO2003/085119；WO2003/084570；WO2005/035586；WO2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239~1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)がある。脱フコース化抗体を産生できる細胞株の例には、タンパク質フコース化が欠損しているLec13CHO細胞（Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533~545 (1986)）；米国特許出願第US2003/0157108 A1号；及びWO2004/056312 A1、特に実施例11）、及びノックアウト細胞株、例えばアルファ-1,6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞（例えばYamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)；Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680~688 (2006)；及びWO2003/085107を参照）が含まれる。

【0214】

さらに、例えば抗体のFc領域に付着した二分岐オリゴ糖がGlcNAcにより二分されている二分オリゴ糖を伴う抗体変異体が提供される。このような抗体変異体は、低いフ

10

20

30

40

50

コース化及び／または改善されたADCC機能を有する場合がある。このような抗体変異体の例は、例えば、WO2003/011878；米国特許第6,602,684号；US2005/0123546、及びFerrara et al., Biotechnology and Bioengineering, 93(5):851~861(2006)中に記載されている。Fc領域に付着したオリゴ糖内の少なくとも1つのガラクトース残基を伴う抗体変異体もまた提供される。このような抗体変異体は、改善されたCDC機能を有する場合がある。このような抗体変異体は、例えばWO1997/30087；WO1998/58964；及びWO1999/22764中に記載されている。

【0215】

ある特定の実施形態において、本明細書中に記載のFc領域を含む抗体変異体は、FcγRIIIに結合できる。ある特定の実施形態において、本明細書中に記載のFc領域を含む抗体変異体は、ヒトエフェクタ細胞の存在下でADCC活性を有し、ヒト野生型IgG1Fc領域を含む他の点では同じである抗体に比べて、ヒトエフェクタ細胞の存在下で高いADCC活性を有する。

【0216】

(xi) Fc領域変異体

ある特定の実施形態において、本明細書中で提供された抗体のFc領域内に1つ以上のアミノ酸修飾を導入して、Fc領域変異体を生成することが可能である。Fc領域変異体は、1つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば置換）を含むヒトFc領域配列（例えばヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4Fc領域）を含んでいてよい。

【0217】

ある特定の実施形態において、本発明は、全てではないものの一部のエフェクター機能を有し、そのためインビボでの抗体の半減期が重要であるものの一部のエフェクター機能（例えば補体及びADCC）が不要または有害である利用分野のための望ましい候補となっている抗体変異体を企図している。CDC及び／またはADCC活性の減少／消耗を確認するためにインビトロ及び／またはインビボ細胞毒性検定を行なうことができる。例えば、抗体にFcγR結合が欠如している（ひいてはADCC活性が欠如している確率が高い）もののFcRn結合活性は保持されていることを確認するために、Fcレセプター（FcR）結合検定を実施することができる。ADCCを媒介するための一次細胞であるNK細胞は、FcγRIIIのみを発現し、一方単球は、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIを発現する。造血細胞上のFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457~492(1991)の464頁の表3内に要約されている。目的の分子のADCC活性を査定するためのインビトロ検定の非限定的例は、米国特許第5,500,362号（例えばHellstrom et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059~7063(1986)を参照）及びHellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499~1502(1985)；5,821,337(Bruggemann et al., J. Exp. Med. 166:1351~1361(1987)を参照）に記載されている。代替的には、非放射性検定方法を利用してもよい（例えばフローサイトメトリー用ACTI（商標）非放射性細胞毒性検定(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA；及びCytotox 96（登録商標）非放射性細胞毒性検定(Promega, Madison, WI)を参照のこと）。このような検定のための有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞(PBMC)及びナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。代替的にまたは付加的には、目的の分子のADCC活性を、例えばClynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652~656(1998)中で開示されているものなどの動物モデルの体内で、インビボで査定してもよい。抗体がC1qに結合できず、ひいては、CDC活性が欠如していることを確認するために、C1q結合検定もまた実施してよい。例えばWO2006/029879及びWO2005/100402中のC1q及びC3C結合ELISAを参照のこと。補体活性化を査定するために、CDC検定を実施して

10

20

30

40

50

もよい（例えばGazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg et al., Blood 101:1045~1052 (2003); 及びCragg et al., Blood 103:2738~2743 (2004)を参照のこと）。当該技術分野において公知の方法を用いて、FcRn結合及びインビボクリアランス／半減期の決定を実施することができる（例えば、Petkova et al., Int'l. Immunol. 18 (12):1759~1769 (2006)を参照のこと）。

【0218】

低いエフェクター機能を有する抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327及び329のうちの1つ以上の置換を伴う抗体が含まれる（米国特許第6,737,056号）。このようなFc突然変異体には、アラニンに対する残基265及び297の置換を伴ういわゆる「DANA」Fc突然変異体を含めた、アミノ酸位265、269、270、297及び327のうちの1つ以上において置換を伴うFc突然変異体が含まれる（米国特許第7,332,581号）。

【0219】

FcRsに対する結合が改善または減少しているある特定の抗体変異体が記述されている（例えば、米国特許第6,737,056号; WO2004/056312、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9 (2):6591~6604 (2001)を参照のこと）。

【0220】

ある特定の実施形態において、1つの抗体変異体は、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えばFc領域の298、333及び／または334位（残基のEU付番）の置換を伴う1つのFc領域を含む。例示的实施形態において、抗体は、そのFc領域内に、S298A、E333A及びK334Aというアミノ酸置換を含む。

【0221】

一部の実施形態において、例えば米国特許第6,194,551号、WO99/51642、及びIdusogie et al., J. Immunol. 164:4178~4184 (2000)に記載の通り、改変された（すなわち改良または減少された）C1q結合及び／または補体依存型細胞毒性（CDC）を結果としてもたらす改変が、Fc領域内で行なわれる。

【0222】

半減期が増大し、胎児に対する母体IgGの移送を担う新生児Fcレセプター（FcRn）に対する結合が改善された抗体（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 及びKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)）は、US2005/0014934A1（Hinton et al.）中に記載されている。これらの抗体は、FcRnに対するFc領域の結合を改善する1つ以上の置換を内部に伴うFc領域を含む。このようなFc変異体には、238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424または434というFc領域残基のうちの1つ以上における置換、例えばFc領域残基434の置換（米国特許第7,371,826号）を伴うものが含まれる。Fc領域変異体の他の例に関しては、Duncan & Winter, Nature 322:738~40 (1988); 米国特許第5,648,260号; 米国特許第5,624,821号; 及びWO94/29351も参照のこと。

【0223】

(xii) 抗体誘導体

本発明の抗体はさらに、当該技術分野において公知であり容易に入手可能な追加の非タンパク質様部分を含むようにさらに修飾され得る。ある特定の実施形態において、抗体の誘導体化に好適な部分は、水溶性ポリマーである。水溶性ポリマーの非限定的例としては、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコ

10

20

30

40

50

ポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／マレイン酸無水物コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（ n -ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチレン化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール及びその混合物が含まれるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、その水中安定性に起因する製造上の利点があるかもしれない。ポリマーは、任意の分子量のものであってよく、分岐または非分岐であってよい。抗体に付着するポリマーの数は、変動する場合があります、2つ以上のポリマーが付着する場合、それらは同じ分子でも異なる分子でもあり得る。概して、誘導体化のために使用されるポリマーの数及び／またはタイプは、改善すべき抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が1つの療法において規定の条件下で使用されるか否かなどを含めた（ただしこれらに限定されない）考慮事項に基づいて決定可能である。

【0224】

（xiii）ベクター、宿主細胞及び組換え方法

抗体は、組換え方法を用いて生産することもできる。抗抗原抗体の組換え生産のためには、抗体をコードする核酸が単離され、さらなるクローニング（DNAの増幅）または発現のために複製可能なベクター内に挿入される。抗体をコードするDNAは、従来の手順を用いて（例えば抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することなどによって）、直ちに単離され配列決定されてよい。多くのベクターが利用可能である。ベクター構成成分には概して、シグナル配列、複製起点、1つ以上のマーカー遺伝子、エンハンサー要素、プロモーター、及び転写終結配列のうちの1つ以上が含まれるが、これらに限定されない。

【0225】

（a）シグナル配列構成成分

本発明の抗体は、組換えによって直接的にのみならず、好ましくはシグナル配列または成熟タンパク質またはポリペプチドのN末端に特異的分割を有する他のポリペプチドである異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとして生産されてよい。選択される異種シグナル配列は好ましくは、宿主細胞により認識され処理された（例えばシグナルペプチダーゼにより分割された）ものである。天然抗体シグナル配列を認識し処理しない原核生物宿主細胞については、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、Ippまたは耐熱性エンテロトキシンIIリーダーからなる群から選択された原核生物シグナル配列により置換される。酵母分泌については、天然シグナル配列は、例えば、酵母インベルターゼリーダー、因子リーダー（*Saccharomyces*及び*Kluyveromyces* α -因子リーダーを含む）または酸ホスファターゼリーダー、C. albicansグルコアミラーゼリーダーまたはWO90/13646中に記載のシグナルによって置換され得る。哺乳動物細胞発現においては、哺乳動物シグナル配列ならびにウイルス分泌リーダー、例えば単純ヘルペスgDシグナルが利用可能である。

【0226】

（b）複製起点

発現及びクローニングベクターは両方共、1つ以上の選択された宿主細胞中でベクターが複製できるようにする核酸配列を含む。概して、クローニングベクター内で、この配列は、ベクターが宿主染色体DNAに依存せずに複製できるようにする配列であり、複製起点または自己複製配列を含む。このような配列は、さまざまな細菌、酵母及びウイルスについて周知である。プラスミドpBR322由来の複製起点は、大部分のグラム陰性菌に好適であり、2 μ プラスミド起点は酵母に好適であり、さまざまなウイルス起点（SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSVまたはBPV）が、哺乳動物細胞内のクローニングベクターに好適である。概して、複製起点構成成分は、哺乳動物発現ベクターには必要とされない（SV40起点は、それが初期プロモーターを含むことのみを理由として、

典型的に使用され得る。

【0227】

(c) 選択遺伝子構成成分

発現及びクローニングベクターは、選択可能マーカーとも呼ばれる選択遺伝子を含んでいてよい。典型的な選択遺伝子は、(a) アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートまたはテトラサイクリンなどの、抗生物質または他の毒素に対する耐性を付与するか、(b) 栄養要求性欠損症を補足するか、または(c) 例えば、*Bacilli*のためのD-アラニンラセマーゼをコードする遺伝子など、複合培地から入手可能でない必須栄養素を供給するタンパク質をコードする。

【0228】

選択スキームの一例は、宿主細胞の成長を阻むための薬剤を利用する。異種遺伝子で首尾よく形質転換されるこれらの細胞は、薬剤耐性を付与するタンパク質を産生し、こうして選択療法を生き抜く。このような優性選択の例では、薬剤ネオマイシン、ミコフェノール酸及びハイグロマイシンが使用される。

【0229】

哺乳動物細胞のための好適な選択可能マーカーの別の例は、DHFR、グルタミンシンセターゼ(GS)、チミジンキナーゼ、メタロチオネインI及びII、好ましくは、霊長類メタロチオネイン遺伝子、アデノシンデアミナーゼ、オルニチンデカルボキシラーゼなど抗体コーディング核酸を捕捉する能力のある細胞の同定を可能にするものである。

【0230】

例えば、DHFR遺伝子で形質転換された細胞は、DHFRの競合的アンタゴニストであるメトトレキセート(Mtx)を含む培地の中で形質転換体を培養することにより同定される。これらの条件下で、DHFR遺伝子は、他の任意の同時形質転換された核酸と共に増幅される。内因性DHFR活性が欠損したチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞株(例えばATCC CRL-9096)を使用してよい。

【0231】

代替的には、GS遺伝子で形質転換された細胞は、GSの阻害物質であるL-メチオニンスルフォキシミン(Msx)を含む培地内で形質転換体を培養することによって同定される。これらの条件下で、GS遺伝子は、任意の他の同時形質転換された核酸と共に増幅される。GS選択/増幅系を上述のDHFR選択/増幅系と組合せて使用してもよい。

【0232】

代替的には、目的の抗体をコードするDNA配列、野生型DHFR遺伝子及び別の選択可能マーカー、例えばアミノグリコシド3'-ホスホトランスフェラーゼ(APH)で形質転換または同時形質転換された宿主細胞(特に、内因性DHFRを含む野生型宿主)を、アミノグリコシド抗生物質、例えばカナマイシン、ネオマイシン、またはG418などの選択可能マーカーについて、選択剤を含む培地内での細胞成長により選択することができる。米国特許第4,965,199号を参照のこと。

【0233】

酵母中で使用するための好適な選択遺伝子は、酵母プラスミドYRp7中に存在するtrp1遺伝子である(Stinchcomb et al., Nature, 282:39 (1979))。trp1遺伝子は、例えばATCC番号44076またはPEP4-1などのトリプトファン中で成長する能力が欠如している突然変異体酵母菌株のための選択マーカーを提供する。Jones, Genetics, 85:12 (1977)。酵母宿主細胞ゲノム中のtrp1病変の存在は、このとき、トリプトファンの不在下での成長により形質転換を検出するための有効な環境を提供する。同様にして、Leu2-欠損酵母菌(ATCC20,622または38,626)は、Leu2遺伝子を担持する公知のプラスミドによって補完される。

【0234】

さらに、*Kluyveromyces*酵母の形質転換のためには、1.6 µmの環状プラスミドpKD1由来のベクターを使用することができる。代替的には、*K. lacti*

10

20

30

40

50

sのための組換え型子牛キモシンの大量生産用の発現系が報告された。Van den Berg, Bio/Technology, 8:135 (1990)。Kluyveromycesの工業用菌株による成熟組換え型ヒト血清アルブミンの分泌のための安定したマルチコピー発現ベクターもまた開示されている。Fleer et al., Bio/Technology, 9:968~975 (1991)。

【0235】

(d) プロモーター構成成分

発現及びクローニングベクターは、概して、宿主生体により認識され抗体をコードする核酸に作動的に結合されたプロモーターを含んでいる。原核生物宿主と共に使用するのに好適なプロモーターとしては、phoAプロモーター、 β -ラクタマーゼ及びラクトースプロモーター系、アルカリホスファターゼプロモーター、トリプトファン(trp)プロモーター系、及びハイブリッドプロモーター、例えばtacプロモーターが含まれる。しかしながら、他の公知の菌株プロモーターも好適である。細菌系内で使用するためのプロモーターはまた、抗体をコードするDNAに対して作動的に結合されたShine-Dalgarno(S.D.)配列を含む。

【0236】

真核生物について、プロモーター配列は公知である。事実上全ての真核生物が、転写が開始される部位から上流側に約25~30塩基のところに位置設定されたAT富有領域を有している。多くの遺伝子の転写開始点から70~80塩基上流側に見い出される別の配列は、CNCAAT領域であり、ここでNは任意のヌクレオチドであってよい。大部分の真核生物遺伝子の3'末端にあるのは、コーディング配列の3'末端に対するポリAテールの付加のためのシグナルであり得るAATAAA配列である。これらの配列は全て、真核生物発現ベクター内に好適な形で挿入される。

【0237】

酵母宿主と共に使用するための好適なプロモーター配列の例としては、3-ホスホグリセレートキナーゼまたは他の糖分解酵素、例えばエノラーゼ、グリセルアルデヒド-3-ホスフェートデヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルベートデカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース-6-ホスフェートイソメラーゼ、3-ホスホグリセレートムターゼ、ピルベートキナーゼ、トリオースホスフェートイソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ及びグルコキナーゼについてのプロモーターが含まれる。

【0238】

成長条件により制御される転写の付加的な利点を有する誘発可能なプロモーターである他の酵母のプロモーターは、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソシトクロムC、酸性ホスファターゼ、窒素代謝と結びつけられる分解性酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド-3-ホスフェートデヒドロゲナーゼ、及びマルトース及びガラクトース利用を担う酵素のためのプロモーター領域である。酵母発現において使用するのに好適なベクター及びプロモーターは、EP73,657にさらに記載されている。酵母エンハンサーも酵母プロモーターと共に使用すると有利である。

【0239】

哺乳動物宿主細胞内のベクターからの抗体転写は、例えば、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス(例えば、アデノウイルス2)、ウシ乳頭腫ウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス、シミアンウイルス40(SV40)などのウイルスのゲノムから、または、異種哺乳動物プロモーター、例えばアクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーターから、熱ショックプロモーターから得られたプロモーターにより制御され得るが、この場合、このようなプロモーターが宿主細胞系と相容性を有することが条件となる。

【0240】

SV40ウイルスの初期及び後期プロモーターは、SV40複製起点も含むSV40制限フラグメントとして簡便に得られる。ヒトサイトメガロウイルスの最初期プロモーターは、HindIII-E制限フラグメントとして簡便に得られる。ベクターとしてウシ乳

10

20

30

40

50

頭腫ウイルスを用いて哺乳動物宿主内でDNAを発現するための系が、米国特許第4,419,444号中で開示されている。この系の修正が米国特許第4,601,978号中に記載されている。また、単純ヘルペスウイルス由来のチミジンキナーゼプロモータの制御下でのマウス細胞内のヒト β -インターフェロンcDNAの発現に関するReyes et al., Nature 297:598~601 (1982)も参照のこと。代替的には、プロモーターとして、ラウス肉腫ウイルス長末端反復を使用することもできる。

【0241】

(e) エンハンサー要素の構成成分

高等真核生物による本発明の抗体をコードするDNAの転写は、多くの場合、ベクター内にエンハンサー配列を挿入することによって増大させられる。現在、哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が公知である（グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェットタンパク質及びインスリン）。しかしながら典型的には、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーが使用される。例としては、複製起点の後期側のSV40エンハンサー（bp100~270）、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側のポリオーマエンハンサー、及びアデノウイルスエンハンサーが含まれる。また、真核生物プロモーターの活性化のための増強要素についてのYaniv, Nature 297:17~18 (1982)も参照のこと。エンハンサーは、抗体コーディング配列に対し5'位または3'位にあるベクター内にスプライシングされてよいが、好ましくはプロモーターから部位5'のところに位置設定される。

【0242】

(f) 転写終結構成成分

真核宿主細胞（酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒトまたは他の多細胞生体由来の有核細胞）中で使用される発現ベクターはまた、転写の終結及びmRNAの安定化に必要な配列を含むものである。このような配列は、一般に、真核生物またはウイルスのDNAまたはcDNAの5'及び場合によっては3'未翻訳領域から入手可能である。これらの領域は、抗体をコードするmRNAの未翻訳部分内のポリアデニル化フラグメントとして転写されたヌクレオチドセグメントを含む。1つの有用な転写終結構成成分は、ウシ成長ホルモンポリアデニル化領域である。WO94/11026及びその中で開示されている発現ベクターを参照のこと。

【0243】

(g) 宿主細胞の選択及び形質転換

本明細書中のベクター内でDNAをクローニングまたは発現するための好適な宿主細胞は、上述した原核生物、酵母または高等真核細胞である。この目的での好適な原核生物には、真正細菌、例えばグラム陰性またはグラム陽性微生物、例えば、腸内細菌科、例えばエシェリキア属、例えばE. coli、Enterobacter、Erwinia、Klebsiella、Proteus、サルモネラ菌、例えばSalmonella typhimurium、セラシア属、例えばSerratia marcescans、及び赤痢菌、ならびにバチルス菌、例えばB. subtilis及びB. licheniformis（例えば1989年4月12日公開のDD266,710中に開示されたB. licheniformis 41P）、シュードモナス菌、例えばP. aeruginosa及びストレプトミセス、が含まれる。1つの好ましいE. coliクローニング宿主はE. coli 294 (ATCC 31,446)であるが、E. coli B、E. coli X1776 (ATCC 31,537)、及びE. coli W3110 (ATCC 27,325)などの他の菌株も好適である。これらの例は、限定的ではなくむしろ例示的なものである。

【0244】

完全長抗体、抗体融合タンパク質及び抗体フラグメントは、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない場合、例えば治療用抗体が、それ自体腫瘍細胞の破壊における有効性を示す細胞毒性剤（例えば毒素など）にコンジュゲートされている場合、細菌内で産生させることができる。完全長抗体は、循環内においてより長い半減期を有す

10

20

30

40

50

る。E. coli 内での産生は、より高速でより費用効果性が高い。細菌中の抗体フラグメント及びポリペプチドの発現については、例えば翻訳開始領域 (TIR) 及び発現及び分泌の最適化のためのシグナル配列について記載している米国特許第 5, 648, 237 号 (Carter et al.)、米国特許第 5, 789, 199 号 (Joly et al.)、米国特許第 5, 840, 523 号 (Simmons et al.) を参照のこと。また、E. coli 内の抗体フラグメントの発現について記載する Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N. J., 2003), pp. 245~254 も参照のこと。発現の後、抗体を可溶性画分中の E. coli 細胞ペーストから単離してよく、例えばアイソタイプに応じてプロテイン A または G カラムを通して精製することができる。最終的精製は、例えば CHO 細胞内で発現された抗体を精製するためのプロセスと同様に実施可能である。

【0245】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物も、抗体コーディングベクターのための好適なクローニングまたは発現宿主である。Saccharomyces cerevisiae あるいは一般的なパン酵母が、下等真核生物宿主微生物の中でも最も一般的に使用されている。しかしながら、多くの他の属、種及び菌株、例えば Schizosaccharomyces pombe; Kluyveromyces 宿主、例えば K. lactis、K. fragilis (ATCC 12, 424)、K. bulgaricus (ATCC 16, 045)、K. wickerhamii (ATCC 24, 178)、K. waltii (ATCC 56, 500)、K. drosophilum (ATCC 36, 906)、K. thermotolerans、及び K. marxianus; yarrowia (EP 402, 226); Pichia pastoris (EP 183, 070); Candida; Trichoderma reesia (EP 244, 234); Neurospora crassa; Schwanniomycetes、例えば Schwanniomycetes occidentalis; 及び糸状菌、例えば Neurospora、Penicillium、Tolypocladium、及び Aspergillus 宿主、例えば A. nidulans 及び A. niger が一般的に入手可能であり、かつ本明細書において有用である。治療用タンパク質の生産のための酵母及び糸状菌の使用について論述する概説としては、例えば、Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409~1414 (2004) を参照のこと。

【0246】

グリコシル化経路が「ヒト化」され、その結果として部分的または完全にヒトグリコシル化パターンを有する抗体が産生されることになる或る種の真菌及び酵母菌株を選択してよい。例えば (Pichia pastoris 内のヒトグリコシル化経路のヒト化について記載する) Li et al., Nat. Biotech. 24: 210~215 (2006); 及び上記の Gerngross et al., を参照のこと。

【0247】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞は、多細胞生体 (無脊椎動物及び脊椎動物) にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫の細胞が含まれる。多くのバキュロウイルス菌株及び変異体ならびに Spodoptera frugiperda (ヨウトガ、幼虫)、Aedes aegypti (ネッタイシマカ、蚊)、Aedes albopictus (ヒトスジシマカ、蚊)、Drosophila melanogaster (ショウジョウバエ)、及び Bombyx mori (カイコ) などの宿主に由来する対応する許容状態の昆虫宿主細胞が同定されている。トランスフェクションのためのさまざまなウイルス菌株は、例えば Autographa californica NPV 及び Bombyx mori NPV の Bm-5 菌株が一般に入手可能であり、このようなウイルスを、特に Spodoptera frugiperda 細胞のトランスフェクションのために、本発明に係る本明細書中のウイルスとして使用してよい。

【0248】

宿主として、綿、トウモロコシ、ジャガイモ、ダイズ、ペチュニア、トマト、ウキクサ (Leninaceae)、アルファルファ (M. truncatula) 及びタバコの植物細胞培養も、宿主として利用可能である。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号及び同第6,417,429号 (トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES (商標) 技術について記載) も参照のこと。

【0249】

宿主として、脊椎動物細胞を使用してよく、培養 (組織培養) 中の脊椎動物細胞の伝播が、日常的手順となっている。有用な哺乳動物宿主細胞株の例としては、SV40により形質転換されたサル腎CV1株 (COS-7、ATCC CRL1651) ; ヒト胚腎臓株 (懸濁培養中で成長のためにサブクローニングされた293または293細胞、Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)) ; ベビーハムスター腎細胞 (BHK、ATCC CCL10) ; マウスセルトリ細胞 (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23:243~251 (1980)) ; サル腎細胞 (CV1 ATCC CCL70) ; アフリカミドリザル腎細胞 (VERO-76、ATCC CRL-1587) ; ヒト子宮頸癌細胞 (HELA、ATCC CCL2) ; イヌ腎細胞 (MDCK、ATCC CCL34) ; バッファローラット肝細胞 (BRL3A、ATCC CRL1442) ; ヒト肺細胞 (W138、ATCC CCL75) ; ヒト肝細胞 (Hep G2、HB8065) ; マウス乳腺腫瘍 (MMT060562、ATCC CCL51) ; TRI細胞 (Mather et al., Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44~68 (1982)) ; MRC5細胞 ; FS4細胞 ; 及びヒト肝癌株 (Hep G2) がある。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFR⁻ CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)) ; 及び骨髓腫細胞株、例えばNS0及びSp2/0が含まれる。抗体産生に好適な或る種の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えばYazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N. J., 2003), pp. 255~268を参照のこと。

【0250】

宿主細胞は、抗体産生のための上述の発現またはクローニングベクターを用いて形質転換され、プロモーターを誘発するか、形質転換体を選択するかまたは所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために必要に応じて修飾された従来の栄養培地中で培養される。

【0251】

(h) 宿主細胞の培養

本発明の抗体を生産するために使用される宿主細胞は、さまざまな培地中で培養されてよい。宿主細胞の培養のためには、Ham's F10 (Sigma)、Minimal Essential Medium (MEM), (Sigma)、RPMI-1640 (Sigma) 及びダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM)、(Sigma) などの市販の培地が好適である。さらに、Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979)、Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980)、米国特許第4,767,704号 ; 同第4,657,866号 ; 同第4,927,762号 ; 同第4,560,655号 ; または同第5,122,469号 ; WO 90/03430 ; WO 87/00195 ; または米国特許再発行第30,985号中に記載の培地のいずれかを、宿主細胞用の培地として使用してよい。これらの培地のうちのいずれも、必要に応じて、ホルモン及び/または他の成長因子 (例えばインシュリン、トランスフェリンまたは表皮成長因子)、塩 (例えば塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム及びリン酸塩)、緩衝液 (例えばHEPES)、ヌクレオチド (例えばアデノシン及びチミジン)、抗生物質 (例えばGENTAMYCIN (商標) 薬剤)、微量元素 (ミクロモル範囲内の最終濃度で通常存在する無機化合物として定義される)、及びグルコースまたは等価のエネルギー源で補足されてよい。当業者にとって公知と思われる他の任意

の必要な補足物質も含まれていてよい。温度、pHなどの培養条件は、発現のために選択された宿主細胞で従来使用されたものであり、当業者にとっては明らかである。

【0252】

(xiv) 抗体の精製

組換え型技術を使用する場合、抗体は、細胞膜周辺腔内において細胞内で産生されるか、または培地内に直接分泌され得る。抗体が細胞内で産生される場合、最初のステップとして、宿主細胞または溶解したフラグメントのいずれかである粒子状残屑が、例えば遠心分離または限外濾過によって除去される。Carter et al., Bio/Technology 10:163~167 (1992) は、E. coliの細胞膜周辺腔に分泌される抗体を単離するための手順について記載している。簡単に言うと、細胞ペーストが酢酸ナトリウム (pH 3.5)、EDTA及びフェニルメチルスルホニルフルオリド (PMSF) の存在下で約30分間かけて解凍される。細胞残屑は、遠心分離によって除去することができる。抗体が培地内に分泌される場合、このような発現系由来の上清が、概してまず市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばAmiconまたはMillipore Pellicon限外濾過ユニットを用いて濃縮される。上述のステップのいずれかの中に、タンパク質分解を阻害するためにPMSFなどのプロテアーゼ阻害薬を含み入れてよく、外来性汚染物質の成長を防止するために抗生物質を含み入れてもよい。

【0253】

細胞から調製された抗体組成物は、例えばヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ、疎水性相互作用クロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析及び親和性クロマトグラフィなどを用いて精製可能であるが、典型的に好ましい精製ステップの1つに入るのは親和性クロマトグラフィである。親和性リガンドとしてのプロテインAの好適性は、抗体内に存在する任意の免疫グロブリンFcドメインの種及びアイソタイプにより左右される。ヒト $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ または $\gamma 4$ 重鎖に基づく抗体を精製するためには、プロテインAを使用することができる (Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1~13 (1983))。全てのマウスアイソタイプ及びヒト $\gamma 3$ については、プロテインGが推奨される (Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986))。親和性リガンドが付着しているマトリクスは、最も多くの場合アガロースであるが、他のマトリクスも利用可能である。機械的に安定したマトリクス、例えば制御された細孔ガラスまたはポリ (スチレンジビニル) ベンゼンなどの機械的に安定したマトリクスは、アガロースで達成され得るものよりも速い流速そして短い処理時間を可能にする。抗体が C_H3 ドメインを含む場合、精製のためにはBakerbond ABX (商標) 樹脂 (J. T. Baker, Phillipsburg, N. J.) が有用である。タンパク質精製のための他の技術、例えばイオン交換カラム上での分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカ上のクロマトグラフィ、ヘパリン上のクロマトグラフィ アニオンまたはカチオン交換樹脂 (例えばポリアスパラギン酸カラムなど) 上のSEPHAROSE (商標) クロマトグラフィ、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、及び硫酸アンモニウム沈殿法が、回収すべき抗体に応じて、また利用可能である。

【0254】

概して、研究、試験及び臨床における抗体を調製するためのさまざまな方法が、上述の方法と一貫して、かつ／または特定の目的の抗体について当業者が妥当と見なすように、当該技術分野において充分に確立されている。

【0255】

(xv) 生物学的に活性な抗体の選択

上述の通りに産生された抗体を、1つ以上の「生物活性」検定に付して、治療的見地から有益な特性をもつ抗体を選択するかまたは、抗体の生物活性を保持する調合及び条件を選択することができる。抗体を、その産生対象である抗原を結合する能力についてテストすることができる。例えば、当該技術分野において公知の方法 (例えばELISA、Western Blotなど) を使用してよい。

【0256】

例えば、抗PD-L1抗体について、抗体の抗原結合特性を、PD-L1に対する結合能力を検出する検定において評価することが可能である。一部の実施形態において、抗体の結合を、例えば飽和結合；ELISA；及び／または競合検定（例えばRIA）により決定してよい。また、例えば治療薬としてのその有効性を評価するために抗体を、他の生物活性検定に付してもよい。このような検定は、当該技術分野において公知であり、抗体の標的抗原及び意図された用途に左右される。例えば、米国特許第8,217,149号中に記載されているように、CD8+T細胞、リンパ球性脈絡骨膜炎ウイルス（LCMV）マウスモデル及び／または同系腫瘍モデル内で、抗体によるPD-L1遮断の生物学的効果を査定することができる。

【0257】

目的の抗原上の特定のエピトープに結合する抗体（例えばPD-L1に対する例の抗PD-L1抗体の結合を遮断するもの）についてスクリーニングするため、Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)に記載されているもののような日常的な交差遮断検定を実施することができる。代替的には、Champe et al., J. Biol. Chem. 270:1388~1394 (1995)に記載されている通りのエピトープマッピングを実施して抗体が目的のエピトープに結合するか否か決定することができる。

【0258】

IV. 医薬組成物及び調合物

本明細書中でまた提供されているのは、本明細書中に記載のPD-1軸結合アンタゴニスト及び／または抗体（例えば抗PD-L1抗体）そして薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物及び調合物である。本発明はまた、ナブパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））、パクリタキセルまたはドセタキセルなどのタキサンを含む医薬組成物及び調合物をも提供する。

【0259】

本明細書中に記載の医薬組成物及び調合物は、凍結乾燥された調合物または水溶液の形で、所望の純度を有する有効成分（例えばPD-1軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサン）と1つ以上の薬学的に許容可能な担体とを混合することによって調製可能である（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）。薬学的に許容可能な担体は概して、利用される投薬量及び濃度でレシピエントにとって非毒性であり、緩衝液、例えばリン酸塩、クエン酸塩及び他の有機酸；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（例えば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、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリシン；単糖類、二糖類及びグルコース、マンノースまたはデキストリンを含む他の炭水化物；キレート剤、例えばEDTA；糖類、例えばスクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成対イオン、例えばナトリウム；金属錯体（例えばZnタンパク質錯体）；及び／または非イオン界面活性剤、例えばポリエチレングリコール（PEG）を含むが、これらに限定されない。本明細書において、例示的な薬学的に許容可能な担体にはさらに、間質性薬物分散剤、例えば可溶性中性-活性ヒアルロニダーゼグリコプロテイン（sHASEGP）、例えばヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼグリコプロテイン、例えばrHuPH20（HYLENEX（登録商標）、Baxter International, Inc.）が含まれる。rHuPH20を含めた、ある特定の例示的sHASEGP及び使用方法については、米国特許出願公開第2005/0260186

10

20

30

40

50

号及び同第2006／0104968号中に記載されている。1つの態様において、sHASEGPは、1つ以上の追加のグリコサナミノグリカナーゼ、例えばコンドロイチナーゼと組合わされる。

【0260】

例示的な凍結乾燥された抗体調合物は、米国特許第6,267,958号中に記載されている。水性抗体調合物には、米国特許第6,171,586号及びWO2006／044908中に記載されるものが含まれ、これらの調合物は、ヒスチジン-アセテート緩衝液を含んでいる。

【0261】

本明細書中の組成物及び調合物はまた、治療中の特定の適応症のため必要に応じて2つ以上の有効成分、好ましくは互いに不利な影響をもたない相補的活性を有する有効成分を含んでいてよい。このような有効成分は、好適には、意図された目的のために有効である量で組合せた形で存在する。

【0262】

有効成分は、コロイド薬剤送達系（例えばリポソーム、アルブミン小球体、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル）中、またはマクロエマルジョン中のそれぞれヒドロキシメチルセルロースまた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、例えば液滴形成技術または界面重合によって調製されるマイクロカプセル中に封入されていてよい。このような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) 中に開示されている。

【0263】

持続放出性調製物を調製してもよい。持続放出性調製物の好適な例としては、抗体を含む固体疎水性ポリマーの半透マトリクスがあり、このマトリクスは、整形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形をしている。インビボ投与のために使用すべき調合物は、概して無菌である。無菌性は、例えば、無菌濾過膜を通した濾過などにより容易に達成できる。

【0264】

IV. 治療方法

本明細書中に提供されているのは、有効量のPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサン（例えばナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））またはパクリタキセル）を個体に投与することを含む、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させる方法である。一部の実施形態において、治療の結果、治療後の個体の体内に応答がもたらされる。一部の実施形態において、応答は、完全寛解である。一部の実施形態において、治療は、治療の中止後、個体の体内に持続性寛解を結果としてもたらす。本明細書中に記載の方法は、癌治療のために腫瘍免疫原性を増大させる場合など、免疫原性の増強が所望される状態を治療する上で使用することができる。また、本明細書中に提供されているのは、有効量のPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサン（例えばナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））またはパクリタキセル）を個体に対して投与することを含む、癌を有する個体において免疫機能を増強する方法である。当該技術分野において公知であり本明細書中に記載されているPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンのいずれも、本方法内で使用してよい。一部の実施形態において、方法はさらに、白金系の化学療法剤を投与することを含む。一部の実施形態において、白金系の化学療法剤は、カルボプラチンである。

【0265】

一部の実施形態において、個体は、ヒトである。一部の実施形態において、個体は癌を患っている。一部の実施形態において、癌は乳癌（例えばトリプルネガティブ乳癌）、膀胱癌（例えばUBC、MIBC及びNMIBC）、結腸直腸癌、直腸癌、肺癌（扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌）、グリア芽腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、腎細胞癌（例えばRCC）、前立腺癌、肝癌、膵臓癌、軟部組織肉腫、カポジ肉腫

10

20

30

40

50

、カルチノイド癌腫、頭頸部癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、子宮内膜癌、腎癌、卵巣癌、中皮腫、及びヘム悪性腫瘍（例えばMDS及び多発性骨髄腫）である。一部の実施形態において、癌は、小細胞肺癌、グリア芽腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌腫、胃癌、結腸直腸癌（CRC）、または肝細胞癌腫の中から選択される。特定の実施形態において、癌は、肺癌（例えば扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌を含む）、膀胱癌（例えばUBC）、乳癌（例えばTNBC）、CRC、黒色腫、結腸直腸癌、及びヘム悪性腫瘍（例えばMDS）及び多発性骨髄腫の中から選択される。一部の実施形態において、肺癌は、扁平上皮または非扁平上皮癌であり得る非小細胞肺癌である。一部の実施形態において、膀胱癌はUBCである。一部の実施形態において、乳癌はTNBCである。一部の実施形態において、ヘム悪性腫瘍はMDSまたは多発性骨髄腫である。

10

【0266】

一部の実施形態において、個体は、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを用いた組合せ治療の前に癌療法での治療を受けている。一部の実施形態において、個体は、1つ以上の癌療法に対する耐性をもつ癌を有する。一部の実施形態において、癌療法に対する耐性には、癌または難治性癌の再発が含まれる。再発とは、治療後の、原初の部位または新規の部位における癌の再出現を意味してよい。一部の実施形態において、癌療法に対する耐性には、抗癌療法を用いた治療中の癌の進行が含まれる。一部の実施形態において、癌療法に対する耐性には、治療に対し応答しない癌が含まれる。癌は、治療の始期に耐性を有している場合もあれば、治療中に耐性を得る場合もある。一部の実施形態において、癌は、早期癌または末期癌である。

20

【0267】

一部の実施形態において、本発明の組合せ療法は、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンの投与を含む。PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサン（例えばナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））またはパクリタキセル）は、当該技術分野において公知の任意の好適な方法で投与されてよい。例えば、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンは、逐次的に（異なる時点で）あるいは同時に（同じ時点で）投与されてよい。一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、タキサンとは別個の組成物中にある。一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、タキサンと同じ組成物中にある。

【0268】

PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンは、同じ投与経路でまたは異なる投与経路で投与されてよい。一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは静脈内、筋内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内または鼻腔内投与される。一部の実施形態において、タキサンは、静脈内、筋内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内または鼻腔内投与される。疾病の予防または治療のために、有効量のPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。PD-1軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンの適切な投薬量は、治療すべき疾病のタイプ、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンのタイプ、疾病の重症度及び経過、個体の臨床的状態、個体の臨床的履歴、及び治療に対する応答、及び主治医の裁量に基づいて決定されてよい。

30

40

【0269】

一般的提案として、ヒトに対して投与される抗体（例えば抗PD-L1抗体）の治療上の有効量は、1回またはそれ以上の回数のいずれの投与であるかに関わらず、患者の体重1kgあたり約0.01～約50mgの範囲内にある。一部の実施形態において、使用される抗体は、例えば一日一回の投与で、約0.01～約45mg/kg、約0.01～約40mg/kg、約0.01～約35mg/kg、約0.01～約30mg/kg、約0.01～約25mg/kg、約0.01～約20mg/kg、約0.01～約15mg/kg、約0.01～約10mg/kg、約0.01～約5mg/kg、または約0.01～約1mg/kgである。一部の実施形態において、抗体は、15mg/kgの割合で投与される。しかしながら、他の投薬計画も有用であり得る。一実施形態において、本明細

50

書中に記載の抗PD-L1抗体は、ヒトに対して、21日サイクルの一日目に、約100mg、約200mg、約300mg、約400mg、約500mg、約600mg、約700mg、約800mg、約900mg、約1000mg、約1100mg、約1200mg、約1300mg、約1400mg、または約1500mgの用量で投与される。一部の実施形態において、抗PD-L1抗体MPDL3280Aは、3週間に一回（q3w）1200mgの割合でIV（静脈内）投与される。この用量は、単回投与としてかまたは点滴などの複数回投与（例えば2回または3回）として投与されてよい。組合せ治療において投与される抗体の用量は、単回治療に比べて減らされてよい。この療法の進捗は、従来の技術により容易に監視される。

【0270】

一般的な提案として、ヒトに対して投与されるタキサン（例えばナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））またはパクリタキセル）の治療上有効な量は、投与回数が1回であるかそれ以上であるかとは無関係に、約25～約300mg/m²（例えば約25mg/m²、約50mg/m²、約75mg/m²、約100mg/m²、約125mg/m²、約150mg/m²、約175mg/m²、約200mg/m²、約225mg/m²、約250mg/m²、約275mg/m²、または約300mg/m²）の範囲内にある。例えば、一部の実施形態において、約100mg/m²のナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））が投与される。一部の実施形態において、週一回（q1w）100mg/m²の割合で、ナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））がIVで投与される。一部の実施形態において、約200mg/m²のパクリタキセルが投与される。一部の実施形態において、3週間に一回200mg/m²の割合でパクリタキセルがIV投与される。一部の実施形態において、タキサン（例えばナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））またはパクリタキセル）が、週一回、2週間に一回、3週間に一回、4週間に一回、各21日サイクルの1日目、8日目及び15日目、または各28日サイクルの1日目、8日目及び15日目に投与されてよい。

【0271】

一部の実施形態において、方法にはさらに、追加の療法が含まれていてよい。追加の療法は、放射線療法、外科手術（例えば、腫瘍摘出術及び乳腺切除術）、化学療法、遺伝子療法、DNA療法、ウイルス療法、RNA療法、免疫療法、骨髄移植術、ナノセラピー、モノクローナル抗体療法、または以上のものの組合せであってよい。追加療法は、アジュバントまたはナノアジュバント療法の形をとってよい。一部の実施形態において、追加の療法は、小分子酵素阻害薬または抗転移剤の投与である。一部の実施形態において、追加の療法は、副作用制限剤（例えば鎮吐剤などの、治療の副作用の発生及び／または重症度を低下させるよう意図された作用物質）の投与である。一部の実施形態において、追加の療法は、放射線療法である。一部の実施形態において、追加の療法は、外科手術である。一部の実施形態において、追加の療法は、放射線療法と外科手術の組合せである。一部の実施形態において、追加の療法は、ガンマ照射である。一部の実施形態において、追加の療法はPI3K/AKT/mTOR経路を標的とする療法、HSP90阻害薬、チューブリン阻害薬、アポトーシス阻害薬及び／または化学予防剤である。追加の療法は、本明細書中に記載の化学療法剤のうちの1つ以上であってよい。

【0272】

一部の実施形態において、方法にはさらに、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンと共に白金系化学療法剤を投与することが含まれる。一部の実施形態において、白金系化学療法剤はカルボプラチンである。カルボプラチンの投薬量及び投与は当該技術分野において周知である。カルボプラチンの例示的投薬量は、6mg/mlの曲線下標的面積（AUC）で投与される。一部の実施形態において、カルボプラチンは、3週間に一回、静脈内投与される。

【0273】

一部の実施形態において、方法には、抗PD-L1抗体MPDL3280Aを、3週間に一回（q3w）1200mgの割合でIV投与し、ナブ-パクリタキセル（ABRAX

10

20

30

40

50

A N E（登録商標）を一週間に一回（q 1 w）1 0 0 m g / m²の割合でI V投与し、カルボプラチンを3週間に一回（q 3 w）6 m g / m lの標的A U Cで、I V投与することが含まれる。一部の実施形態において、方法には、抗P D - L 1抗体M P D L 3 2 8 0 Aを3週間に一回（q 3 w）1 2 0 0 m gの割合でI V投与し、パクリタキセルを3週間に一回2 0 0 m g / m²の割合でI V投与し、カルボプラチンを3週間に一回（q 3 w）6 m g / m lの標的A U Cで、I V投与することが含まれる。

【0 2 7 4】

V. 他の組合せ療法

また本明細書中で提供されているのは、個体に対して、別の抗癌剤または癌療法と併用してヒトP D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与することを含む、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるための方法である。一部の実施形態において、方法には、個体に対して、別の抗癌剤または癌療法と併用して、ヒトP D - 1軸結合アンタゴニスト、タキサン及び白金系化学療法剤を投与することが含まれる。

【0 2 7 5】

一部の実施形態においては、P D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを、化学療法または化学療法剤と併用して投与してよい。一部の実施形態においては、放射線療法または放射線療法剤と併用してP D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、標的療法または標的療法剤と併用して、P D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、免疫療法または免疫療法剤、例えばモノクローナル抗体と併用して、P D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【0 2 7 6】

理論に束縛されることは望まないものの、共刺激分子を活性化することによってかまたは負の共刺激分子を阻害することによってT細胞刺激を増強することで、腫瘍細胞死を促進させ、こうして癌が治療されるかまたは癌の進行が遅延されることになると考えられている。一部の実施形態においては、活性化共刺激分子に対し向けられたアゴニストと併用してP D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態において、活性化共刺激分子には、C D 4 0、C D 2 2 6、C D 2 8、O X 4 0、G I T R、C D 1 3 7、C D 2 7、H V E M、またはC D 1 2 7が含まれていてよい。一部の実施形態において、活性化共刺激分子に対して向けられたアゴニストは、C D 4 0、C D 2 2 6、C D 2 8、O X 4 0、G I T R、C D 1 3 7、C D 2 7、H V E M、またはC D 1 2 7に結合するアゴニスト抗体である。一部の実施形態においては、阻害共刺激分子に対して向けられたアンタゴニストと併用して、P D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態において、阻害共刺激分子には、C T L A - 4（C D 1 5 2としても公知）、P D - 1、T I M - 3、B T L A、V I S T A、L A G - 3、B 7 - H 3、B 7 - H 4、I D O、T I G I T、M I C A / B、またはアルギナーゼが含まれていてよい。一部の実施形態において、阻害共刺激分子に対して向けられたアンタゴニストは、C T L A - 4、P D - 1、T I M - 3、B T L A、V I S T A、L A G - 3、B 7 - H 3、B 7 - H 4、I D O、T I G I T、M I C A / B、またはアルギナーゼに結合するアンタゴニスト抗体である。

【0 2 7 7】

一部の実施形態においては、P D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを、C T L A - 4（C D 1 5 2としても公知）に対して向けられたアンタゴニスト、例えば遮断抗体と併用して投与してもよい。一部の実施形態においては、イピリムマブ（M D X - 0 1 0、M D X - 1 0 1、またはY E R V O Y（登録商標）としても公知）と併用してP D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態においては、トレメリムマブ（チシリムマブまたはC P - 6 7 5、2 0 6としても公知）と併用して、P D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態においては、B 7 - H 3（C D 2 7 6としても公知）に対して向けられたアンタゴニスト、例えば遮断抗体と併用して、P D - 1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施

形態においては、MGA271と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してもよい。一部の実施形態においては、TGFベータに対して向けられたアンタゴニスト、例えばメテリムマブ（CAT-192としても公知）、フレソリムマブ（GC1008としても公知）またはLY2157299と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【0278】

一部の実施形態においては、キメラ抗原レセプター（CAR）を発現するT細胞（例えば細胞毒性T細胞またはCTL）の養子免疫伝達を含む治療と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、優性負TGFベータレセプター、例えば優性-負TGFベータII型レセプターを含むT細胞の養子免疫伝達を含む治療と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、HERCREEMプロトコル（例えばClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954を参照）を含む治療と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【0279】

一部の実施形態においては、CD137（TNFRSF9、4-1BBまたはILAとしても公知）に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ウレルマブ（BMS-663513として公知）と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、CD40に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、CP-870893と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、OX40（CD-134としても公知）に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、抗OX40抗体（例えばAgonOX）と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、CD27に対して向けられたアゴニスト、例えば活性化抗体と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、CDX-1127と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、インドレアミン-2，3-ジオキシゲナーゼ（IDO）に対して向けられたアンタゴニストと併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、IDOアンタゴニストは、1-メチル-D-トリプトファン（1-D-MTとしても公知）である。

【0280】

一部の実施形態においては、抗体-薬剤コンジュゲートと併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、抗体-薬剤コンジュゲートは、メルタンシンまたはモノメチルオーリスタチンE（MMAE）を含む。一部の実施形態においては、抗NaPi2b抗体-MMAEコンジュゲート（DNIB0600AまたはRG7599としても公知）と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、トラスツズマブエムタンシン（T-DM1、アドートランスツズマブエムタンシン、またはKADCYLA（登録商標）、Genentechとしても公知）と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、DMUC5754Aと併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、エンドテリンBレセプター（EDNBR）を標的とする抗体-薬剤コンジュゲート、例えばMMAEとコンジュゲートされたEDNBRに対して向けられた抗体と併用して、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【0281】

一部の実施形態においては、血管形成阻害薬と併用して、PD-1軸結合アンタゴニス

10

20

30

40

50

ト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、VEGFに対して向けられた抗体、例えばVEGF-Aと併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ベバシズマブ(AVASTIN(登録商標)、Genetechとしても公知)と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、アンジオポイエチン2(Ang2としても公知)に対して向けられた抗体と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、MED13617と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【0282】

一部の実施形態においては、抗腫瘍薬と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、CSF-1R(M-CSFRまたはCD115としても公知)を標的とする作用物質と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、抗CSF-1R(IMC-CS4としても公知)と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、インターフェロン、例えばインターフェロンアルファまたはインターフェロンガンマと併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、ロフェロンA(組換え型インターフェロンアルファ2aとしても公知)と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、GM-CSF(組換え型ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、rhGM-CSF、サルグラモスチムまたはLEUKINE(登録商標)としても公知)と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、IL-2(アルデスロイキンまたはPROLEUKIN(登録商標)としても公知)と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、IL-12と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、CD20を標的とする抗体と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、CD20を標的とする抗体は、オビヌツズマブ(GA101またはGAZYVA(登録商標)としても公知)またはリツキシマブである。一部の実施形態においては、GITRを標的とする抗体と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、GITRを標的とする抗体は、TRX518である。

【0283】

一部の実施形態においては、癌ワクチンと併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態において、癌ワクチンは、ペプチド癌ワクチンであり、これは一部の実施形態において、カスタムメードの癌ワクチンである。一部の実施形態において、ペプチド癌ワクチンは、多価長鎖ペプチド、マルチペプチド、ペプチドカクテル、ハイブリッドペプチドまたはペプチドパルス樹状細胞ワクチン(例えばYamada et al., Cancer Sci, 104:14~21, 2013参照)である。一部の実施形態においては、アジュバントと併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、TLRアゴニスト、例えばポリ-ICIC(HILTONOL(登録商標)としても公知)、LPS、MPL、またはCpG ODNを含む治療と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、腫瘍壊死因子(TNF)アルファと併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、IL-1と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、HMGB1と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、IL-10アンタゴニストと併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、IL-4アンタゴニストと併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、IL-13アンタゴニストと併用してPD-1軸結合ア

10

20

30

40

50

ンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、H V E M アンタゴニストと併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、例えばI C O S - L またはI C O S に対して向けられたアゴニスト抗体を投与することによって、I C O S アゴニストと併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、C X 3 C L 1 を標的とする治療と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、C X C L 9 を標的とする治療と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、C X C L 1 0 を標的とする治療と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、C C L 5 を標的とする治療と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、L F A - 1 またはI C A M 1 アゴニストと併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、セレクトインアゴニストと併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【0284】

一部の実施形態においては、標的療法と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、B - R a f の阻害物質と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ベムラフェニブ (Z E L B O R A F (登録商標) としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ダブラフェニブ (T A F I N L A R (登録商標) としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、エルロチニブ (T A R C E V A (登録商標) としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、M E K、例えばM E K 1 (M A P 2 K 1 としても公知) またはM E K 2 (M A P 2 K 2 としても公知) の阻害物質と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、コビメチニブ (G D C - 0 9 7 3 またはX L - 5 1 8 としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、トラメチニブ (M E K I N I S T (登録商標) としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、K - R a s の阻害物質と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、c - M e t の阻害物質と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、オナルツズマブ (M e t M A b としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、A l k の阻害物質と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、A F 8 0 2 (C H 5 4 2 4 8 0 2 またはアレクチニブとしても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ホスファチジルイノシトール3 - キナーゼ (P I 3 K) の阻害物質と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、B K M 1 2 0 と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、イデラリシブ (G S - 1 1 0 1 またはC A L - 1 0 1 としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、ペリフォシン (K R X - 0 4 0 1 としても公知) と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、A k t の阻害物質と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、M K 2 2 0 6 と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、G S K 6 9 0 6 9 3 と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、G D C - 0 9 4 1 と併用してP D - 1 軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、m T O R の阻害物質と併

10

20

30

40

50

用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、シロリムス（ラパマイシンとしても公知）と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、テムシロリムス（CCI-779またはTORISEL（登録商標）としても公知）と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、エベロリムス（RAD001としても公知）と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、リダフォロリムス（AP-23573、MK-8669またはデフォロリムスとしても公知）と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、OSI-027と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、AZD8055と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、INK128と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、二重PI3k/mTOR阻害薬と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、XL765と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、GDC-0980と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、BEZ235（NVP-BEZ235としても公知）と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、BGT226と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、GSK2126458と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、PF-04691502と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。一部の実施形態においては、PF-05212384（PKI-587としても公知）と併用してPD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンを投与してよい。

【0285】

VI. 製造品またはキット

本発明の別の実施形態においては、PD-1軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンを含む製造品及び／またはキットが提供されている。一部の実施形態において、製造品またはキットはさらに、個体において癌を治療するかまたは癌の進行を遅延させるためまたは癌を有する個体の免疫機能を増強する目的でタキサンと併用してPD-1軸結合アンタゴニストを使用するための指示書を含む添付文書を含んでいる。本明細書中に記載のPD-1軸結合アンタゴニスト及び／またはタキサンのいずれも、製造品またはキット内に含まれていてよい。

【0286】

一部の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサンは、同じ容器または別個の容器内に入っている。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋及びシリンジがある。容器は、ガラス、プラスチック（例えばポリ塩化ビニルまたはポリオレフィン）、金属合金（例えばステンレス鋼またはハステロイ）などのさまざまな材料から形成されてよい。一部の実施形態において、容器は調合物を保持し、容器上または容器に付随するラベルは、使用上の指示を表示してよい。製造品またはキットは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、シリンジ及び指示書を伴う添付文書を含めた、商業的見地及びユーザーの見地から見て望ましい他の材料をさらに含み得る。一部の実施形態において、製造品は、さらに1つ以上の別の作用物質（例えば化学療法剤及び抗腫瘍薬）を含む。1つ以上の作用物質のための好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋及びシリンジがある。

【0287】

本明細書は、当業者が本発明を実施できるようにするために十分なものと見なされる。本明細書中に示され記載されたものに加えて、本発明のさまざまな修正が、上述の説明から当業者には明らかとなり、添付のクレームの範囲内に入るものである。

【実施例】

【0288】

本発明は、以下の実施例を参照することによりさらに完全に理解されるものである。しかしながら、これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものと見なされてはならない。本明細書中に記載の実施例及び実施形態は、単に例示を目的とするものであること、そしてそれに照らしたさまざまな修正及び変更が当業者に示唆され、それらは本出願の精神及び範囲ならび添付のクレームの範囲内に含まれられるべきものであることが理解される。

【0289】

実施例1：抗PD-L1抗体及びナブ-パクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））+カルボプラチンを用いた組合せ治療が、MC38結腸直腸腫瘍モデルにおける持続的な完全寛解を達成した。

材料及び方法

インビボ腫瘍モデル

MC38結腸直腸腫瘍細胞株をGenentechにおいて維持した。7～10週齢のC57BL/6雌マウス（Charles River Laboratories; Hollister, CA）の右片側脇腹に、100000個のMC38細胞を皮下接種した。腫瘍がおよそ100～300mm³の平均腫瘍体積に達した時点で、マウスを採用し、治療グループへと無作為に選び、次の初日に抗体及び／または化学治療を開始した。

【0290】

経時的に同じ動物由来の腫瘍体積の反復測定値を分析するために、混合モデリングアプローチを使用した（Pinheiro et al. nlmle: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R. package version 3.1-108（2013））。このアプローチは、反復測定値と研究終了前の少量の脱落の両方に対処するものである。異なる治療におけるlog₂（腫瘍体積）の時間的経過に非線形プロファイルを適応させるために、立方回帰スプラインを使用した。適合は、nlmeパッケージ、バージョン3.1-108（R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria）を用いて、R内部の線形混合効果モデル、バージョン2.15、2を介して行なった。

【0291】

図5A～5Bに示されているMC38再免疫試験のために、先に抗PD-L1+ABRAXANE（登録商標）+カルボプラチンの組合せで処置した治療マウスに対して、原発腫瘍の反対側の脇腹に、100000個のMC38細胞を皮下接種した。並行して、ナイーブ雌C57BL/6マウスにもまた100000個のMC38細胞を接種した。7日後に、全てのマウスを安楽死させ、フローサイトメトリー分析のため脾臓を収穫した。全ての動物実験は、動物保護法及び実験動物の管理と使用に関する指針及び動物実験委員会（IACUC）指針中に記載されている指針及び規則にしたがって実施した。

【0292】

再免疫を受けたマウスの脾細胞培養のインビトロ刺激

96ウェルのU字底プレート内で、10ng/mlのホルボール12-ミリステート13-アセテート（PMA）及び1μg/mlのイオノマイシン（Sigma-Aldrich; St. Louis, MO）プラスGOLGIPLUG（商標）（ブレフェルジンA）（BD Biosciences; San Jose, CA）を用いて、37℃で4時間、1ウェルあたり1000000個の細胞の割合で3連で脾細胞を培養した。細胞を収穫し、表面マーカーCD4 FITC（フルオレセインイソチオシアネート）、CD3 PE（フィコエリスリン）、及びCD8 PerCp-Cy5.5（BD Biosciences）で染色し、氷上で30分間4%のパラホルムアルデヒドを用いて定着させた。1倍の透過化緩衝液（BD Biosciences）で細胞を透過化しラット抗マウス抗インターフェロン-γ（IFN-γ）-アロフィコシアニン（APC）でコンジュゲートされた抗体またはラットIgG1-APCアイソタイプ対照抗体（BD Biosciences）で染色し、FACSDIVA（商標）ソフトウェアを用いてBD Biosci

10

20

30

40

50

ences LSR IIに流した。FlowJoソフトウェア(TreeStar)を用いて、フローサイトメトリー分析を行なった。

【0293】

抗体及び治療

全ての治療抗体をGenentechにおいて生成した。対照抗体は、抗gp120マウスIgG1(mIgG1)、クローン10E7.1D2であった。抗PD-L1を、ヒト/マウス逆キメラ、クローンYW243.55.S70 mIgG2a.DANAまたは完全マウスクローン25A1 mIgG2a.DANAのいずれかであった。ABRAXANE(登録商標)は、Abraxis Bioscience, Inc(Celgene; Summit, NJ所有)から得た。カルボプラチンは、Hospira, Inc.(Lake Forest, IL)から得た。デキサメタゾンは、West-Ward Pharmaceuticals(Eatontown, NJ)から得た。服薬スケジュール及び投与経路は、図面の簡単な説明において示した。抗体をPBSまたは20mMの酢酸ヒスチジン、240mMのスクロース、0.02%のポリソルベート20、pH5.5のいずれかの中で希釈した。化学療法剤及びデキサメタゾンを生理食塩水中で希釈した。

【0294】

インビボワクチン接種研究

ドナーOTI Thy1.1雌の脾臓及び腸間膜リンパ節(Genentechコロニー)から、MACS CD8単離キット(Miltenyi Biotec)を用いて、OTI Thy1.1CD8+ T細胞を負の選択により単離した。精製したCD8+細胞をCFSE(Life Technologies; Grand Island, NY)で標識化し、 2.5×10^6 個の細胞を、雌のC57BL/6の雌レシピエント(Charles River Laboratories)の体内に静脈内(IV)注射した。翌日、完全長オバルブミン(Genentech生産)に融合した抗DEC205を250ng腹腔内注射(IP)によりマウスにワクチン接種し、これに加えて体重1kgあたり4mgの割合で生理食塩水またはデキサメタゾンをIV注射した。ワクチン接種から2日後に、マウスを安楽化させ、分析のために脾臓を収穫した。脾臓細胞懸濁液の総細胞計数を、定量の公知の濃度の蛍光ビーズ(カタログ番号9003-53-6, Polysciences, Inc.; Warrington, PA)に対する、生細胞事象の比率を用いてフローサイトメトリーにより決定した。Thy1.1 PE-Cy7及びCD8 Pacific Blue(BD Biosciences)で染色することによりフローサイトメトリーによってOTI CD8+ T細胞を同定し、FACSDIVA(商標)ソフトウェアを用いてBD Biosciences LSR IIに流した。フローサイトメトリー分析を、FlowJoソフトウェア(TreeStar)を用いて行なった。

【0295】

結果

この研究は、前臨床マウス腫瘍モデルにおける癌療法という状況下での抗PD-L1抗体の効果を評価した。同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおける対照の抗体またはパクリタキセル+カルボプラチン単独での治療(図1)に比べた場合、抗PD-L1抗体(クローン25A1 mIgG2a.DANA)及びパクリタキセル+カルボプラチンでの組合せ治療は、結果として、相乗的抗腫瘍応答をもたらした。対照の抗体またはパクリタキセル+カルボプラチン単独のグループ(図1)では部分寛解を有するマウスがいなかったのに比べて、10%のマウス(1/10)が、抗PD-L1及びパクリタキセル+カルボプラチンの組合せに対する部分寛解を有していた。腫瘍サイズの縮小を結果としてもたらした強い抗腫瘍応答を、本実施例において初期腫瘍体積からの50%超で100%未満の減少として定義される部分寛解(PR)、または本実施例において腫瘍体積の100%減少として定義される完全寛解として追跡した。抗PD-L1抗体及びパクリタキセル+カルボプラチンでの組合せ治療はまた、無増悪時間を延長した。対照抗体についての無増悪時間(TTP)(この実施例では初期腫瘍体積の5倍として定義される)は、11日であり、パクリタキセル+カルボプラチンについては、15.5日であり、抗PD-L1抗体及

10

20

30

40

50

びパクリタキセル+カルボプラチンの組合せ治療については、25日であった。

【0296】

臨床の場合において、（潜在的に毒性の溶媒中に調合されている）パクリタキセルでの治療には、典型的に、過敏性反応の尤度を低下させるためデキサメタゾンなどのコルチコステロイドによる前投薬が関与する。しかしながら、デキサメタゾンなどのコルチコステロイドは、免疫抑制効果を有し、T細胞応答を阻害する可能性があり、このことがそれ自体抗PD-L1薬などのPD-1軸結合アンタゴニストの活性を低減させる。一貫して、デキサメタゾンの投与は、同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおける単剤抗PD-L1治療の効能を無効にした（図2A及び2B）。さらに、デキサメタゾンは、OTI養子T細胞移入及びワクチン接種モデルにおいて抗原特異的T細胞応答を阻害した（図3）。したがって、理論による束縛は望まないものの、デキサメタゾンなどのコルチコステロイドによる治療は、抗PD-L1療法などのPD-1軸結合アンタゴニストの利益の一部を減衰させるかまたは相殺して、T細胞の機能及び腫瘍のCD8+ T細胞媒介型死滅などの抗腫瘍応答を促進するT細胞の能力の増強を減少させるかもしれない。

【0297】

抗PD-L1抗体（キメラYW243.55.S70.mIgG2a.DANA）及びナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））+カルボプラチンでの組合せ治療は結果として、同系MC38結腸直腸腫瘍モデルにおける対照の抗体、単剤抗PD-L1抗体またはABRAXANE（登録商標）+カルボプラチン単独での治療に比べて、予想外に強い相乗的抗腫瘍効能をもたらした（図4A及び4B）。組合せ型抗PD-L1抗体及びABRAXANE（登録商標）+カルボプラチン療法は、4/8のマウスにおいて90日超持続する持続的完全寛解を達成した（図4A及び4B）。この相乗効果は、抗PD-L1とパクリタキセル+カルボプラチン組合せ治療の結果として観察される相乗効果よりもさらに強い。TTP（初期腫瘍体積の5倍）は、対照の抗体単独については11.5日、抗PD-L1抗体単独については9日、ABRAXANE（登録商標）+カルボプラチンについては13.5日であり、抗PD-L1抗体とABRAXANE（登録商標）+カルボプラチンの組合せ療法については該当せず、この場合4/8のマウスが完全退縮を示した。これは、抗PD-L1抗体とABRAXANE（登録商標）+カルボプラチンの組合せ療法が、抗PD-L1抗体及びパクリタキセル+カルボプラチン組合せ治療に比べて高レベルで、大きく無憎悪期間を延長することを表わしている。さらに、抗PD-L1とABRAXANE（登録商標）+カルボプラチン治療の組合せ治療由来の全ての治癒マウス（すなわち完全寛解を示すマウス）は、同じMC38腫瘍細胞株での二次的抗原投与を完全に拒絶することができ、この療法がT細胞記憶応答を生成することを示した（図5A～5B）。これらの治癒マウス由来の脾細胞のインビトロ再刺激は、ナイーブ一次抗原投与マウスに比べて、CD4+T及びCD8+T細胞の両方からのインターフェロン-ガンマ（IFN-γ）の産生の増強によって観察される通り、T細胞エフェクター機能の増大を示した（図5A～5B）。

【0298】

意外なほど強い抗腫瘍相乗活性及び、完全寛解及びT細胞記憶応答の生成を得る予想外の能力は、PD-1軸結合アンタゴニスト及びタキサン、例えばナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））を用いた組合せ療法の治療上の利点を表わす。さらに、パクリタキセル治療とは異なり、ナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））治療には典型的に、デキサメタゾンなどのコルチコステロイドでの前投薬が関与しない。ここで提示される結果は、PD-1軸結合アンタゴニスト（例えば抗PD-L1抗体）及びナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））を用いた組合せ療法がまた、コルチコステロイドの使用を回避しひいては潜在的な不利な効果の尤度を減少させることができるより単純な治療計画を可能にするということを示している。

【0299】

実施例2：ナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））及びカルボプラチンと抗PD-L1抗体との組合せ治療は、非小細胞肺癌患者について第1b相臨床試験に

において完全寛解を達成した

非小細胞肺癌（NSCLC）患者について、抗PD-L1抗体（MPDL3280A）を、タキサン（ナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））またはパクリタキセル）及びカルボプラチンと組合せた形で用いた組合せ治療の効能を評価するために第1b相臨床研究を実施した。

【0300】

この臨床研究のための投薬プロトコルは、以下の通りであった：

1) MPDL3280A／ABRAXANE（登録商標）／カルボプラチン組合せ療法：
（a）3週間に一回（q3w）1200mgの割合でIV投与されるMPDL3280A；
（b）一週間に一回（q1w）100mg／m²の割合でIV投与されるABRAXANE（登録商標）；及び（c）3週間に一回（q3w）、6mg／mLの標的曲線下面積（AUC）でIV投与されるカルボプラチン。

2) MPDL3280A／パクリタキセル／カルボプラチン組合せ療法：（a）3週間に一回（q3w）1200mgの割合でIV投与されるMPDL3280A；（b）3週間に一回（q3w）220mg／m²の割合でIV投与されるパクリタキセル；（c）3週間に一回（q3w）6mg／mLの標的AUCでIV投与されるカルボプラチン。

【0301】

表4は、ABRAXANE（登録商標）及びカルボプラチンと組合せた形でMPDL3280Aにより治療された14人の患者の研究結果を示す。表5は、パクリタキセル＋カルボプラチンと組合せた形でMPDL3280Aにより治療された6名の患者の研究結果を示す。

【0302】

表4：MPDL3280A／ABRAXANE（登録商標）／カルボプラチンの組合せ治療の効能

成果	百分率（n／N）
客観的応答率（ORR）	64.3%（9／14）
完全寛解（CR）	21.4%（3／14）
部分寛解（PR）	42.9%（6／14）
疾病の安定（SD）	28.6%（4／14）
疾病の進行（PD）	7.1%（1／14）

【0303】

表5：MPDL3280A／パクリタキセル／カルボプラチンの組合せ治療の効能

成果	百分率（n／N）
客観的応答率（ORR）	33.3%（2／6）
完全寛解（CR）	0
部分寛解（PR）	33.3%（2／6）
疾病の安定（SD）	66.7%（4／6）
疾病の進行（PD）	0

【0304】

表4及び図6Aに示されている通り、MPDL3280A及びナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））＋カルボプラチンによる組合せ治療は、64.3%の客観的応答率（ORR、CR＋PR）で、予想外に強い抗腫瘍効能を結果としてもたらした。意外にも、MPDL3280A及びナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））＋カルボプラチンの組合せ療法により治療された患者の21.4%（3／14）が

、完全寛解（すなわち検出可能な腫瘍塊の完全な不在）を達成した。患者の42.9%（6／14）が部分寛解を経験した。

【0305】

MPDL3280Aとパクリタキセル＋カルボプラチンでの組合せ治療もまた、抗腫瘍効能を結果としてもたらしたが、それは、試験対象の比較的小さい試料サイズにおいて、MPDL3280A／ナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））＋カルボプラチンの組合せ療法よりは幾分かロバスト性が低いものであった。MPDL3280A及びパクリタキセル＋カルボプラチンの組合せ療法についてのORRは、33.3%で、両方の応答者共、部分寛解を体験している（表5及び図6B）。

【0306】

実施例1中に示した前臨床試験と一貫して、意外なほどに強い抗腫瘍活性及び、持続した完全寛解を得る予想外の能力は、PD-1軸結合アンタゴニスト（例えば抗PD-L1抗体）及びタキサン、例えばナブーパクリタキセル（ABRAXANE（登録商標））による組合せ療法の主要な治療上の利点を表わす。

10

20

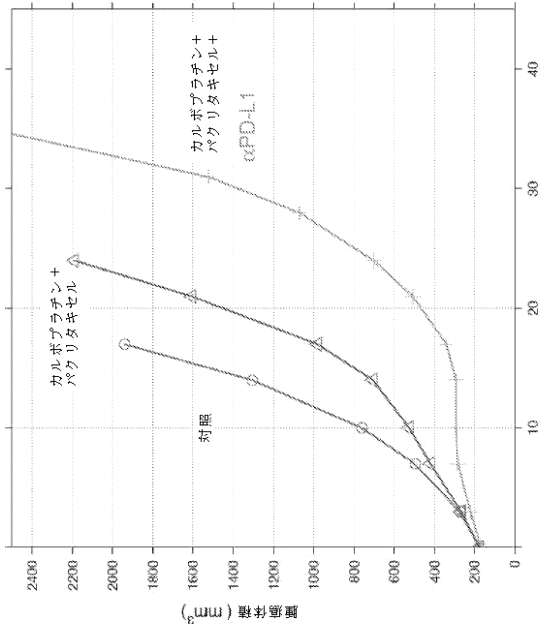
30

40

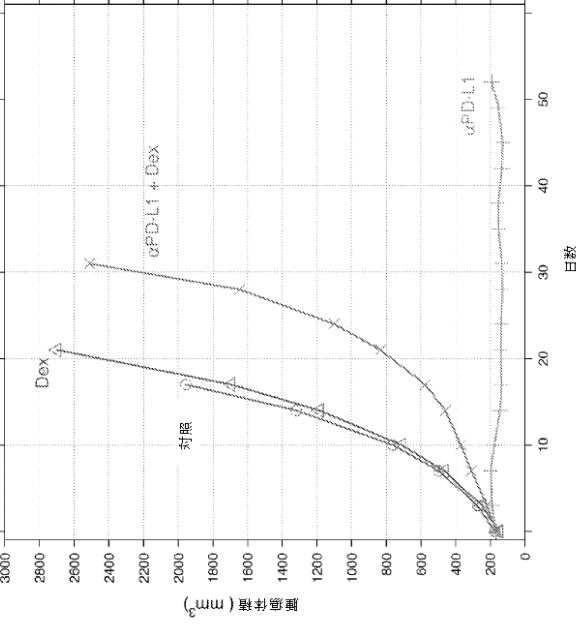
50

【図面】

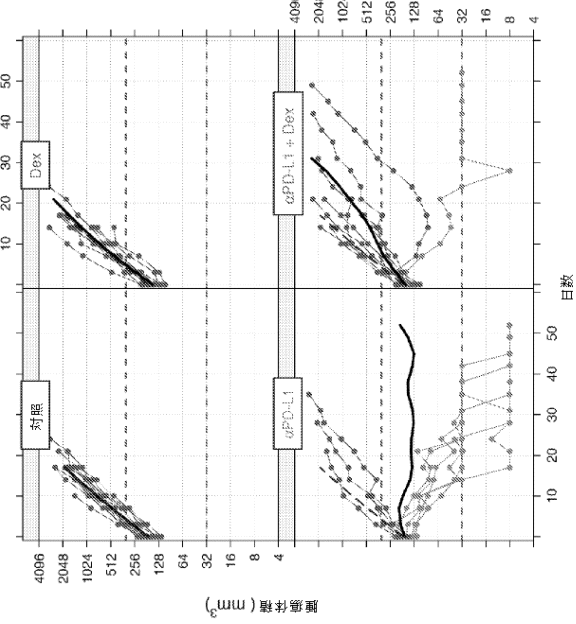
【図 1】



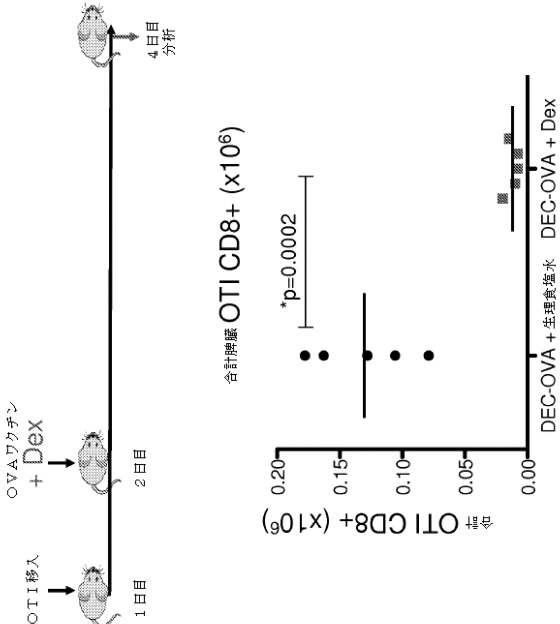
【図 2 A】



【図 2 B】



【図 3】



10

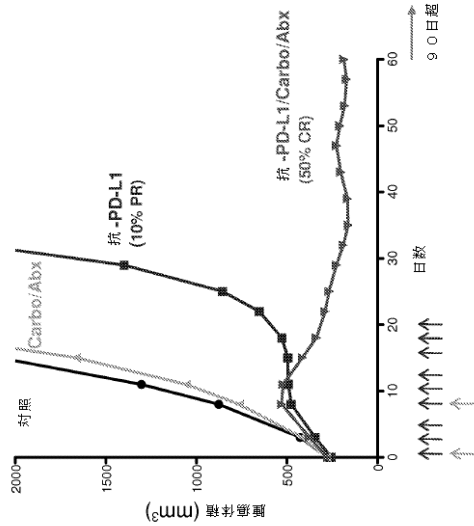
20

30

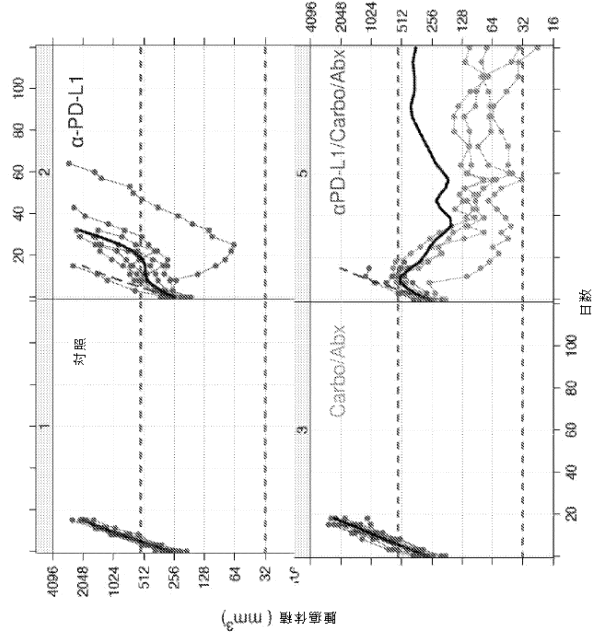
40

50

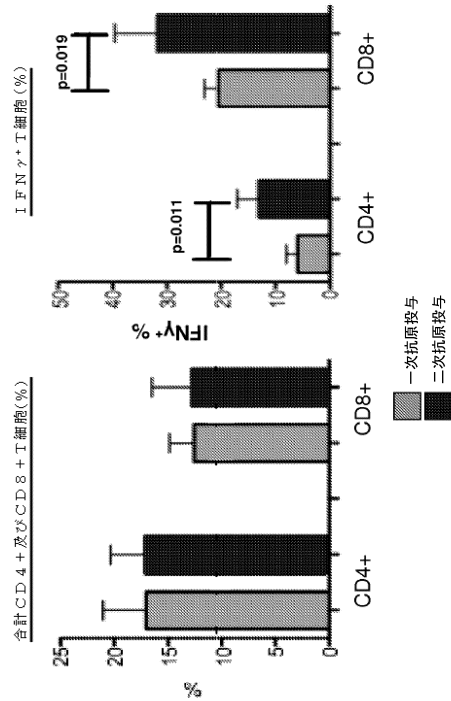
【図 4 A】



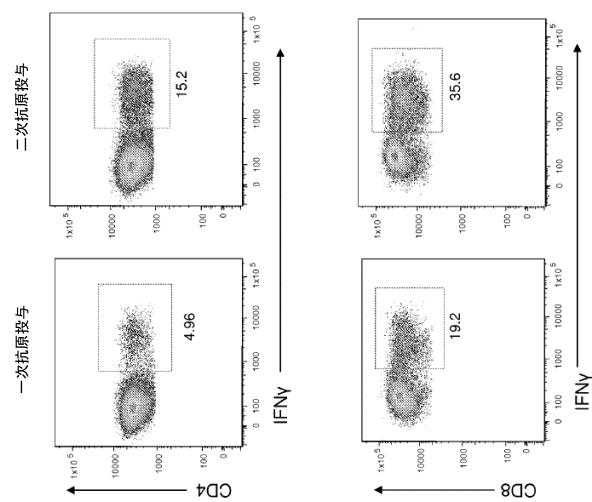
【図 4 B】



【図 5 A】



【図 5 B】



10

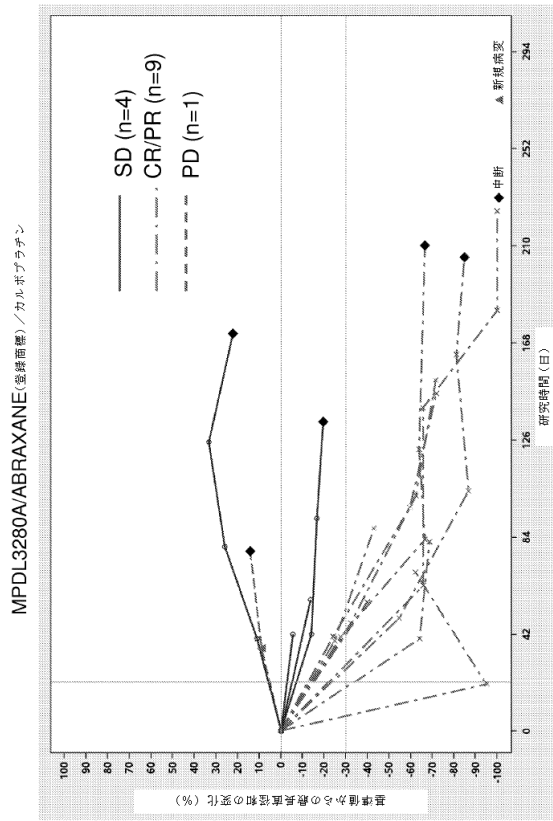
20

30

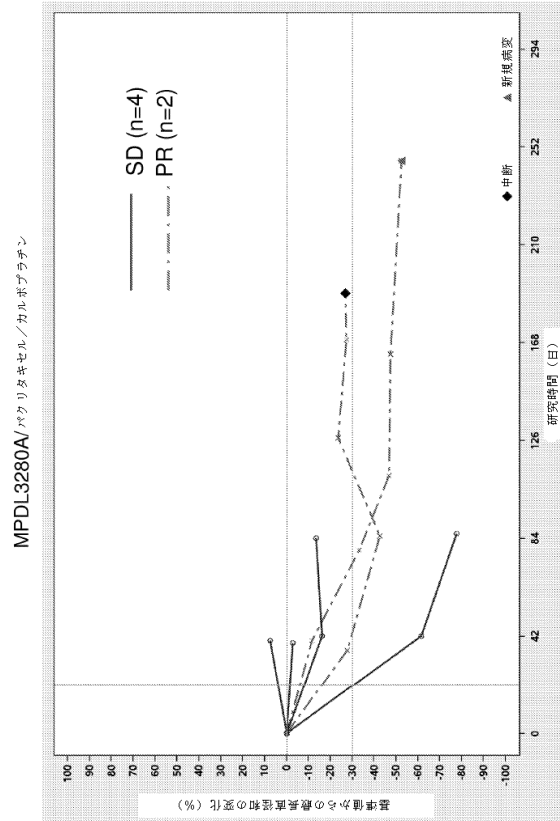
40

50

【図 6 A】



【図 6 B】



【配列表】

0007645204000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	43/00
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 P	37/04
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 0 7 K	16/28
		C 1 2 N	15/13

審査官 清野 千秋

(56)参考文献 特許第 6 8 4 1 6 5 6 (J P , B 2)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 3 3 7

A 6 1 K 4 5 / 0 0

A 6 1 K 3 9 / 3 9 5

A 6 1 K 3 1 / 2 8 2

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 4 3 / 0 0

A 6 1 P 3 7 / 0 4

C 0 7 K 1 6 / 2 8

C 1 2 N 1 5 / 1 3

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)