

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-532017

(P2019-532017A)

(43) 公表日 令和1年11月7日 (2019.11.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C O 7 K 16/46 Z N A	4 B O 6 4
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C O 7 K 16/28	4 B O 6 5
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	C O 7 K 16/30	4 C O 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 H O 4 5
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 74 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-501628 (P2019-501628)	(71) 出願人	506139369
(86) (22) 出願日	平成29年7月14日 (2017.7.14)		フレッド ハッチンソン キャンサー リ
(85) 翻訳文提出日	平成31年3月7日 (2019.3.7)		サーチ センター
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/042264		アメリカ合衆国 ワシントン州 シアトル
(87) 国際公開番号	W02018/014001		フェアビュー アベニュー ノース 1
(87) 国際公開日	平成30年1月18日 (2018.1.18)		1 0 0
(31) 優先権主張番号	62/362, 397	(74) 代理人	110001173
(32) 優先日	平成28年7月14日 (2016.7.14)		特許業務法人川口国際特許事務所
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(72) 発明者	メーリン, クリストファー
(31) 優先権主張番号	62/480, 230		アメリカ合衆国、ワシントン・98109
(32) 優先日	平成29年3月31日 (2017.3.31)		、シアトル、フェアビュー・アベニュー・
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		ノース・1100

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がんを治療するための異なるエピトープ結合を示す複数の二重特異性結合ドメイン構築物

(57) 【要約】

がんを治療するための二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループを記載する。グループにおける各 B S - B D C は、該グループにおける別の B S - B D C により標的化されるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープとは異なるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープを標的化する。前記の異なるがん抗原エピトープは同一がん抗原上に存在しうる。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

二重特異性結合ドメイン構築物（BS - BDC）のグループであって、該グループにおける各 BS - BDC が、

（i）該グループ内の別の BS - BDC により標的化されるがん抗原エピトープとは非重複性及び非反復性であるがん抗原エピトープ、並びに

（ii）該グループ内の別の BS - BDC により標的化される免疫細胞活性化エピトープとは非重複性及び非反復性である免疫細胞活性化エピトープを標的化し、

ここで、該非重複性及び非反復性がん抗原エピトープの 2 つが ROR 1 上に位置し、該非重複性及び非反復性免疫細胞活性化エピトープの 1 つが CD 3 上に位置し、該非重複性及び非反復性免疫細胞活性化エピトープの 1 つが CD 28 上に位置する、グループ。

10

【請求項 2】

少なくとも 1 つの BS - BDC が、R 11 抗体の CDRL 1、CDRL 2、CDRL 3、CDRH 1、CDRH 2 及び CDRH 3 配列を含む scFV を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 3】

少なくとも 1 つの BS - BDC が、R 12 抗体の CDRL 1、CDRL 2、CDRL 3、CDRH 1、CDRH 2 及び CDRH 3 配列を含む scFV を含む、請求項 1 記載のグループ。

20

【請求項 4】

少なくとも 1 つの BS - BDC が、2A2 抗体の CDRL 1、CDRL 2、CDRL 3、CDRH 1、CDRH 2 及び CDRH 3 配列を含む scFV を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 5】

少なくとも 1 つの BS - BDC が、OKT 3 抗体の CDRL 1、CDRL 2、CDRL 3、CDRH 1、CDRH 2 及び CDRH 3 配列を含む scFV を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 6】

少なくとも 1 つの BS - BDC が、9D7 抗体の CDRL 1、CDRL 2、CDRL 3、CDRH 1、CDRH 2 及び CDRH 3 配列を含む scFV を含む、請求項 1 記載のグループ。

30

【請求項 7】

少なくとも 1 つの BS - BDC が、TGN 1412 抗体の CDRL 1、CDRL 2、CDRL 3、CDRH 1、CDRH 2 及び CDRH 3 配列を含む scFV を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 8】

配列番号 238 を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 9】

配列番号 239 を含む、請求項 1 記載のグループ。

40

【請求項 10】

配列番号 240 を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 11】

配列番号 241 を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 12】

配列番号 242 を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 13】

配列番号 243 を含む、請求項 1 記載のグループ。

【請求項 14】

配列番号 244 を含む、請求項 1 記載のグループ。

50

【請求項 15】

二重特異性結合ドメイン構築物（BS - BDC）のグループであって、該グループにおける各 BS - BDC が、該グループにおける別の BS - BDC により標的化されるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープとは異なるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープを標的化し、ただし、該がん抗原エピトープの少なくとも 2 つが同一がん抗原上に存在する、グループ。

【請求項 16】

前記の異なるがん抗原エピトープが非重複性及び / 又は非反復性である、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 17】

前記の異なるがん抗原エピトープの全てが同一がん抗原上に存在する、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 18】

前記同一がん抗原が ROR 1 であり、前記の異なるエピトープが ROR 1 - A 及び ROR 1 - B により標的化され、又は ROR 1 - a 及び ROR 1 - B により標的化される、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 19】

前記の異なるがん抗原エピトープの全てが同一がん抗原上に存在しない、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 20】

前記 BS - BDC グループが更に、異なるがん抗原上の異なるがん抗原エピトープを標的化する、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 21】

前記の異なるがん抗原エピトープが、前記の少なくとも 2 つの標的化エピトープを含有するがん抗原とは異なるがん抗原上のがん抗原エピトープを含む、請求項 20 記載のグループ。

【請求項 22】

(i) 少なくとも 2 つの標的化エピトープを含有するがん抗原が ROR 1 であり、前記の異なるがん抗原が CD 33 である；

(ii) 少なくとも 2 つの標的化エピトープを含有するがん抗原が CD 33 であり、前記の異なるがん抗原が PD - L 1 である；

(iii) 少なくとも 2 つの標的化エピトープを含有するがん抗原が CD 19 であり、前記の異なるがん抗原が PD - L 1 である；又は

(iv) 少なくとも 2 つの標的化エピトープを含有するがん抗原が CD 123 であり、前記の異なるがん抗原が CD 33 である、請求項 20 記載のグループ。

【請求項 23】

前記の異なるがん抗原エピトープが、

(i) ROR 1 及び CD 33；

(ii) CD 33 及び PD - L 1；

(iii) CD 19 及び PD - L 1；

(iv) CD 123 及び CD 33；

(v) CD 19、CD 20、CD 22、ROR 1、CD 33、CD 123 及び WT - 1 の 2 以上；

(vi) PSMA、WT 1、PSCA 及び SV 40 T の 2 以上；

(vii) HER 2、ERBB 2 及び ROR 1 の 2 以上；

(viii) L 1 - CAM、MUC - CD、葉酸受容体、ルイス Y、ROR 1、メソテリン及び WT - 1 の 2 以上；又は

(ix) メソテリン、CEA、CD 24 及び ROR 1 の 2 以上に存在する、請求項 20 記載のグループ。

【請求項 24】

前記同一がん抗原がBCMA、CAIX、CD19、CD20、CD22、CD33、CD123、CD133、ERBB2、葉酸受容体、HER2、ルイスY、L1-CAM、メソテリン、MUC-CD、PD-L1、PSCA、PSMA、ROR1、SV40T又はWT-1である、請求項15記載のグループ。

【請求項 25】

前記グループにおけるBS-BDCがR11、R12、2A2又はY31のVH、VL及び/又はCDR配列を含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 26】

前記グループにおけるBS-BDCが8F5、12B12、4H10、11D5、13E11、1H7、11D11又はM195のVH、VL及び/又はCDR配列を含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 27】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、異なるT細胞活性化因子上に存在する、請求項15記載のグループ。

【請求項 28】

前記の異なるT細胞活性化因子がCD3及びCD28；CD3及びCD8；又はCD8及びCD28である、請求項27記載のグループ。

【請求項 29】

前記グループにおけるBS-BDCがOKT3、OKT8又は9D7のCDR配列を含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 30】

前記グループが4個以下のBS-BDCを含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 31】

前記グループが、第1 ROR1エピトープ及びCD3を標的化するBS-BDCと、第2 ROR1エピトープ及びCD28を標的化するBS-BDCとを含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 32】

前記グループが、ROR1及びCD28を標的化するBS-BDCと、CD33及びCD3を標的化するBS-BDCとを含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 33】

前記グループが、CD33及びCD3を標的化するBS-BDCと、PD-L1及びCD28を標的化するBS-BDCとを含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 34】

前記グループが、CD19及びCD3を標的化するBS-BDCと、PD-L1及びCD28を標的化するBS-BDCとを含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 35】

前記グループが、CD123及びCD3の第1エピトープを標的化するBS-BDCと、CD123及びCD28の第2エピトープを標的化するBS-BDCとを含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 36】

前記グループが、CD33及びCD3を標的化するBS-BDCと、CD123及びCD28を標的化するBS-BDCとを含む、請求項15記載のグループ。

【請求項 37】

前記の異なるがん抗原エピトープがROR1、CD33、CD19、PD-L1及び/又はCD123上に存在する、請求項15記載のグループ。

【請求項 38】

前記グループにおけるBS-BDCが、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16及び配列番号17から選択されるCDR配列を含む、請求項15記載のグループ。

10

20

30

40

50

【請求項 39】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22 及び配列番号 23 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 40】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28 及び配列番号 29 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 41】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34 及び配列番号 35 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

10

【請求項 42】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 40 及び配列番号 41 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 43】

前記グループにおける B S - B D C が F M C 63、S J 25 C 1 及び / 又は H D 37 の C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 44】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46 及び配列番号 47 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

20

【請求項 45】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 52 及び配列番号 53 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 46】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58 及び配列番号 59 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

30

【請求項 47】

前記グループにおける B S - B D C がリツキシマブ、オファツムマブ及び / 又はハーセプチンの C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 48】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84、配列番号 85、配列番号 86 及び配列番号 87 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 49】

前記グループにおける B S - B D C が、C D R 配列 (i) 配列番号 267、配列番号 268、配列番号 269、配列番号 270、配列番号 271 及び配列番号 272、又は (i i) 配列番号 273、配列番号 274、配列番号 275、配列番号 276、配列番号 277 及び配列番号 259 を含む、請求項 15 記載のグループ。

40

【請求項 50】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 88、配列番号 89、配列番号 90、配列番号 91、配列番号 92 及び配列番号 93 から選択される C D R 配列を含む、請求項 15 記載のグループ。

【請求項 51】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 94、配列番号 95、配列番号 96、配列番号 97、配列番号 98 及び配列番号 99 から選択される C D R 配列を含む、請求項

50

15記載のグループ。

【請求項52】

前記グループにおけるBS-BDCがCD33を標的化し、ここで、CD33が、(i)全長CD33(CD33^{FL})、(ii)エキソン2を欠くCD33のスプライス変異体(CD33^{E2})のみ、又は(iii)それがCD33^{FL}であるかCD33^{E2}であるかにかかわらず、CD33である、請求項15記載のグループ。

【請求項53】

前記グループにおけるBS-BDCが、配列番号76、配列番号77、配列番号78、配列番号79、配列番号80及び配列番号81から選択されるCDR配列を含む、請求項15記載のグループ。

10

【請求項54】

前記グループにおけるBS-BDCが、配列番号253、配列番号254、配列番号255、配列番号256、配列番号257及び配列番号258から選択されるCDR配列を含む、請求項15記載のグループ。

【請求項55】

前記グループにおけるBS-BDCが5D12、85F、12B12、4H10、11D5、13E11、1H7、11D11又はM195のV_L及びV_H鎖を含む、請求項15記載のグループ。

【請求項56】

前記グループにおけるBS-BDCが5D12、85F、12B12、4H10、11D5、13E11、1H7、11D11又はM195のV_LおよびV_H鎖からのCDR配列を含む、請求項15記載のグループ。

20

【請求項57】

二重特異性結合ドメイン構築物(BS-BDC)のグループであって、該グループにおける各BS-BDCが、

(i)該グループ内の別のBS-BDCにより標的化されるがん抗原エピトープとは非重複性及び非反復性であるがん抗原エピトープ、並びに

(ii)該グループ内の別のBS-BDCにより標的化される免疫細胞活性化エピトープとは非重複性及び非反復性である免疫細胞活性化エピトープを標的化し、

30

ここで、該非重複性及び非反復性がん抗原エピトープの2つがCD33上に位置し、該非重複性及び非反復性免疫細胞活性化エピトープの2つがCD3上と4-1BB、PD-1、LAG3、TIM-3、BTLA、CTLA-4、CD200又はVISTAの1以上の上に位置する、グループ。

【請求項58】

免疫細胞がT細胞、ナチュラルキラー細胞又はマクロファージである、請求項57記載のグループ。

【請求項59】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが同一免疫細胞活性化因子上に存在する、請求項57記載のグループ。

40

【請求項60】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、異なる免疫細胞活性化因子上に存在する、請求項57記載のグループ。

【請求項61】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、同一免疫細胞活性化因子上及び異なる免疫細胞活性化因子上に存在する、請求項57記載のグループ。

【請求項62】

免疫細胞活性化エピトープの少なくとも1つがT細胞上に存在する、請求項57記載のグループ。

【請求項63】

50

前記同一免疫細胞活性化因子がＣＤ３であり、前記の異なるエピトープが、Ｔ細胞ＣＤ３二量体を含む異なるインパリアントタンパク質上に存在する、請求項６１記載のグループ。

【請求項６４】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープがＣＤ３及びＣＤ２８、ＣＤ３及びＣＤ８、又はＣＤ８及びＣＤ２８上に存在する、請求項５７記載のグループ。

【請求項６５】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープがＣＤ３、ＣＤ８及びＣＤ２８上に存在する、請求項５７記載のグループ。

【請求項６６】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープがＣＤ３、ＣＤ２８及びＣＤ１３７上に存在する、請求項５７記載のグループ。

【請求項６７】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、（ｉ）ＣＤ３、（ｉｉ）ＣＤ３、及び（ｉｉｉ）ＣＤ２８上に存在する、請求項５７記載のグループ。

【請求項６８】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、（ｉ）ＣＤ２８、（ｉｉ）ＣＤ２８、及び（ｉｉｉ）ＣＤ３上に存在する、請求項５７記載のグループ。

【請求項６９】

前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ８３、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＬＦＡ－１、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ及びＢ７－Ｈ３の１以上に存在する、請求項５７記載のグループ。

【請求項７０】

前記グループにおけるＢＳ－ＢＤＣがＯＫＴ３、ＯＫＴ８、９Ｄ７又はＨｕ２６ＢのＣＤＲ配列を含む、請求項１５又は５７記載のグループ。

【請求項７１】

前記グループにおけるＢＳ－ＢＤＣがＯＫＴ３、２０Ｇ６－Ｆ３、４Ｂ４－Ｄ７、４Ｅ７－Ｃ９及び／又は１８Ｆ５－Ｈ１０のＣＤＲ配列を含む、請求項１５又は５７記載のグループ。

【請求項７２】

前記グループにおけるＢＳ－ＢＤＣが、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４及び配列番号１０５から選択されるＣＤＲ配列を含む、請求項１５又は５７記載のグループ。

【請求項７３】

前記グループにおけるＢＳ－ＢＤＣが、配列番号１０７、ＫＶＳ、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１及び配列番号１１２から選択されるＣＤＲ配列を含む、請求項１５又は５７記載のグループ。

【請求項７４】

前記グループにおけるＢＳ－ＢＤＣが、配列番号１１３、ＫＶＳ、配列番号１１５、配列番号１１６、配列番号１１７及び配列番号１１８から選択されるＣＤＲ配列を含む、請求項１５又は５７記載のグループ。

【請求項７５】

前記グループにおけるＢＳ－ＢＤＣが、配列番号１１９、ＫＶＳ、配列番号１２１、配列番号１２２、配列番号１２３及び配列番号１２４から選択されるＣＤＲ配列を含む、請求項１５又は５７記載のグループ。

【請求項７６】

前記グループにおけるＢＳ－ＢＤＣが、配列番号１２５、ＫＶＳ、配列番号１２７、配列番号１２８、配列番号１２９及び配列番号１３０から選択されるＣＤＲ配列を含む、請求項１５又は５７記載のグループ。

【請求項７７】

10

20

30

40

50

前記グループにおける B S - B D C が 9 D 7、9 . 3、K O L T - 2、1 5 E 8、2 4 8 . 2 3 . 2、E X 5 . 3 D 1 0 及び / 又は 5 . 1 1 A 1 の C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 7 8】

前記グループにおける B S - B D C が O K T 8 を含む、請求項 5 7 記載のグループ。

【請求項 7 9】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 2 6、配列番号 2 2 7、配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9、配列番号 2 3 0 及び配列番号 2 3 1 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 8 0】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 6 1、配列番号 2 6 2、配列番号 2 6 3、配列番号 2 6 4、配列番号 2 6 5 及び配列番号 2 6 6 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 8 1】

免疫細胞活性化エピトープの少なくとも 1 つがナチュラルキラー細胞上に存在する、請求項 5 7 記載のグループ。

【請求項 8 2】

前記グループにおける B S - B D C が 5 C 6、1 D 1 1、m A b 3 3、P 4 4 - 8、S K 1 及び / 又は 3 G 8 の C D R 配列を含む、請求項 8 1 記載のグループ。

【請求項 8 3】

前記グループにおける B S - B D C が配列番号 2 3 2 の可変軽鎖領域及び配列番号 2 3 3 の可変重鎖領域を含む、請求項 8 1 記載のグループ。

【請求項 8 4】

免疫細胞活性化エピトープがマクロファージ上に存在する、請求項 5 7 記載のグループ。

【請求項 8 5】

前記グループにおける B S - B D C が M 1 / 7 0、K P 1 及び / 又は a b 8 7 0 9 9 の C D R 配列を含む、請求項 8 4 記載のグループ。

【請求項 8 6】

免疫細胞活性化エピトープの少なくとも 1 つが免疫細胞抑制因子上に存在する、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 8 7】

免疫細胞抑制因子が 4 - 1 B B、P D - 1、L A G 3、T I M - 3、B T L A、C T L A - 4、C D 2 0 0 及び V I S T A の 1 以上を含む、請求項 8 5 記載のグループ。

【請求項 8 8】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 6 1、配列番号 2 6 2、配列番号 2 6 3、配列番号 2 6 4、配列番号 2 6 5 及び配列番号 2 6 6 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 8 9】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 0、I N H 及び配列番号 1 5 2 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 0】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 5 4、配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 6、配列番号 1 5 7、配列番号 1 5 8 及び配列番号 1 5 9 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 1】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 6 0、配列番号 1 6 1、配列番号 1 6 2、配列番号 1 6 3、配列番号 1 6 4 及び配列番号 1 6 5 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

10

20

30

40

50

【請求項 9 2】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 6 7、配列番号 1 6 8、配列番号 1 6 9、配列番号 1 7 0、配列番号 1 7 1 及び配列番号 1 7 2 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 3】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 7 4、A A S、配列番号 1 7 6、配列番号 1 7 7、配列番号 1 7 8 及び配列番号 1 7 9 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 4】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 8 1、配列番号 1 8 2、配列番号 1 8 3、配列番号 1 8 4、配列番号 1 8 5 及び配列番号 1 8 6 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 5】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 8 7、配列番号 1 8 8、配列番号 1 8 9、配列番号 1 9 0、配列番号 1 9 1 及び配列番号 1 9 2 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 6】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 9 4、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 6、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 8 及び配列番号 1 9 9 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 7】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 0 0、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 2、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 4 及び配列番号 2 0 5 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 8】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 0 6、配列番号 2 0 7、配列番号 2 0 8、配列番号 2 0 9、配列番号 2 1 0 及び配列番号 2 1 1 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 9 9】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 1 3、配列番号 2 1 4、配列番号 2 1 5、配列番号 2 1 6、配列番号 2 1 7 及び配列番号 2 1 8 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 1 0 0】

前記グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 2 0、配列番号 2 2 1、配列番号 2 2 2、配列番号 2 2 3、S A S 及び配列番号 2 2 5 から選択される C D R 配列を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 1 0 1】

前記グループが 2、3 又は 4 個の B S - B D C を含む、請求項 1 5 又は 5 7 記載のグループ。

【請求項 1 0 2】

配列番号 2 3 8、配列番号 2 3 9、配列番号 2 4 0、配列番号 2 4 1、配列番号 2 4 2、配列番号 2 4 3、配列番号 2 4 4、配列番号 2 4 5、配列番号 2 4 6、配列番号 2 4 7、配列番号 2 4 8、配列番号 2 4 9、配列番号 2 5 0、配列番号 2 5 1 及び配列番号 2 5 2 から選択される少なくとも 2 つの二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) を含む、二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループ。

【請求項 1 0 3】

配列番号 2 3 8、配列番号 2 3 9、配列番号 2 4 0、配列番号 2 4 1、配列番号 2 4 2、配列番号 2 4 3、配列番号 2 4 4、配列番号 2 4 5、配列番号 2 4 6、配列番号 2 4 7、配列番号 2 4 8、配列番号 2 4 9、配列番号 2 5 0、配列番号 2 5 1 及び配列番号 2 5 2 から選択される 3 個の二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) を含む、二重特

10

20

30

40

50

異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループ。

【請求項 1 0 4】

配列番号 2 3 8、配列番号 2 3 9、配列番号 2 4 0、配列番号 2 4 1、配列番号 2 4 2、配列番号 2 4 3、配列番号 2 4 4、配列番号 2 4 5、配列番号 2 4 6、配列番号 2 4 7、配列番号 2 4 8、配列番号 2 4 9、配列番号 2 5 0、配列番号 2 5 1 及び配列番号 2 5 2 から選択される 4 個の二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) を含む、二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループ。

【請求項 1 0 5】

B S - B D C が s c F v である、請求項 1 5、5 7 又は 1 0 2 記載のグループ。

【請求項 1 0 6】

請求項 1 5、5 7 又は 1 0 2 記載のグループを含む組成物。

【請求項 1 0 7】

請求項 1 0 6 記載の組成物の治療量を投与することにより、がんの治療を要する対象においてがんを治療することを含む、がんの治療を要する対象におけるがんの治療方法。

【請求項 1 0 8】

前記治療が治療に対するがん細胞の耐性を克服する、請求項 1 0 7 記載の方法。

【請求項 1 0 9】

対象のがんの変化に関して対象をモニターすることを含む、請求項 1 0 7 記載の方法。

【請求項 1 1 0】

異なるグループの B S - B D C と共に組成物を投与することを含む、請求項 1 0 7 記載の方法。

【請求項 1 1 1】

異なるグループの B S - B D C と共に組成物を投与することが、前記モニターの結果に基づく、請求項 1 1 0 記載の異なるグループの B S - B D C と共に組成物を投与することを含む方法。

【請求項 1 1 2】

前記モニターの結果がクローンの出現を示す、請求項 1 1 1 記載の方法。

【請求項 1 1 3】

前記モニターの結果が治療耐性クローンの出現を示す、請求項 1 1 1 記載の方法。

【請求項 1 1 4】

前記モニターの結果が腫瘍微小環境における免疫抑制を示す、請求項 1 1 1 記載の方法。

【請求項 1 1 5】

前記モニターの結果が腫瘍微小環境における T 細胞抑制を示す、請求項 1 1 1 記載の方法。

【請求項 1 1 6】

免疫応答の刺激を要する対象において免疫応答を刺激する方法であって、免疫応答の刺激を要する対象に請求項 1 0 6 記載の組成物の治療量を投与し、それにより、免疫応答の刺激を要する対象において免疫応答を刺激することを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 1 6 年 7 月 1 4 日付け出願の第 6 2 / 3 6 2 , 3 9 7 号及び 2 0 1 7 年 3 月 3 1 日付け出願の第 6 2 / 4 8 0 , 2 3 0 号 (それらのそれぞれの全体を、本明細書に完全に記載されているものとして、参照により本明細書に組み入れることとする) に基づく優先権を主張するものである。

【0 0 0 2】

本開示は、がんを治療するための複数の二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) を提供する。グループ内の各 B S - B D C は、該グループ内の別の B S - B D C により

10

20

30

40

50

標的化されるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープとは異なる、がん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープを標的化する。前記の異なるがん抗原エピトープは、同一がん抗原上に存在しうる。

【背景技術】

【0003】

がん治療の進歩にもかかわらず、該疾患に関連した死亡率は依然として極めて高い。例えば、多数の小児患者の臨床成績の改善にもかかわらず、米国においては、がんは依然として、乳児期を過ぎた小児における主要死亡原因である。したがって、小児がんを含むがんに対する有効な新規治療方法の必要性に疑問の余地はない。

【0004】

抗体を使用してがん細胞を標的化することは、非特異的毒性を制限した、腫瘍細胞を排除する有力な手段として、高い期待を集めた。しかし、多数の患者にとって、単一抗体の使用は有効ではない。

【0005】

二重特異性T細胞結合抗体は、T細胞をがん細胞に引き寄せてがん細胞を破壊することを目的として、腫瘍細胞上のがん抗原とT細胞活性化エピトープとの両方に結合する。例えば、US 2008/0145362を参照されたい。現在の二重特異性T細胞結合抗体治療薬は単一特異性の抗体由来結合ドメインのペアを含む。該ペアの一方のメンバーはがん抗原エピトープを標的化し、該ペアの他方のメンバーはT細胞活性化エピトープを標的化する。2つの異なるT細胞活性化エピトープ（例えば、CD3及びCD28）を標的化するそのような抗体を組合せて使用することを検討した研究者もいる。残念ながら、このアプローチも同様に、期待された治療効果を達成していない。したがって、当技術分野においては、特に、より難治性の又は治療困難ながん型を有する患者のための、より有効ながん治療方法が依然として緊急に必要とされている。

【0006】

がん細胞のような望ましくない細胞型を標的化し殺傷するために免疫系のT細胞を遺伝的に操作することにおいて、進歩が達成されている。例えば、特定の標的抗原に結合する細胞外成分と、細胞外成分が標的抗原に結合した際にT細胞の作用を導く細胞内成分とを有する分子を発現するように、T細胞が遺伝的に操作されている。一例としては、細胞外成分は、がん細胞上で見出される標的抗原に結合するように設計されることが可能であり、結合したら、結合したがん細胞を破壊するように、細胞内成分がT細胞に指令する。そのような分子の例には、遺伝的に操作されたT細胞受容体（TCR）及びキメラ抗原受容体（CAR）が含まれる。

【0007】

TCR及び/又はCAR修飾T細胞は、経時的に出現する再発性又は進行性のがん細胞を攻撃しうる、がん細胞に対する免疫記憶を該T細胞が生成しうるという点で、大きな利点をもたらすが、該T細胞が正常組織上の標的を異常又は外来性と認識すると、この免疫記憶は自己免疫毒性を招く可能性がある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】米国特許出願公開第2008/0145362号明細書

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

開示の概要

本開示は、がんを治療するための複数の二重特異性結合ドメイン構築物（BS-BDC）を提供する。あるグループ内の各BS-BDCは、該グループ内の別のBS-BDCによって結合されるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープとは異なるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープに結合する。前記の異なるがん抗原エピトープ

10

20

30

40

50

は、同一がん抗原上に存在することが可能であり、特定の実施形態においては、同一がん抗原上の非重複性の異なるがん抗原エピトープである。この進歩は、幾つかの利点をもたらす。第1に、あるグループ内のBS-BDCは、異なるがん抗原エピトープに結合するため、結合に関する競合がより少なく、立体障害が減少する。第2に、異なる免疫細胞活性化エピトープに結合することにより、免疫細胞同時刺激シグナルが得られる。免疫細胞活性化エピトープ（例えば、T細胞受容体及び同時刺激受容体）を認識する結合ドメインは、あるグループ内の異なるBS-BDC上に位置するため、該グループは、がん細胞の存在下でのみ、T細胞活性化を誘導する。このアプローチは、多種多様ながんを標的化するために利用されうる汎用プラットフォームを提供する。

【0010】

少なくとも2つのがん抗原エピトープ及び少なくとも2つの免疫細胞活性化エピトープを標的化するBS-BDCの記載されているグループの使用は、がん細胞のT細胞媒介性殺傷に対する予想外の相乗効果をもたらした。更に、BS-BDCの記載されているグループの使用は、意外にも、単一の二重特異性T細胞結合抗体構築物に対するがん細胞耐性を克服した。

【0011】

多数の現在利用可能な治療法と比較した場合の、開示されているアプローチの追加的な利点は、開示されているBS-BDCが、自己免疫毒性を招きうるCAR修飾T細胞療法のような個別化遺伝子治療を要することなく、特定のがんを有する患者に普遍的に投与されうる「既製(off-the-shelf)」療法として提供されうることを含む。更に、治療に対する個々の患者の応答がモニター可能であり、それに応じて投与量を調節して、治療の悪影響、例えばサイトカインストームを、回避することが可能である。注入された前活性化細胞の腫瘍ホーミングに基づく、活性化T細胞を患者の体内に注入することとは対照的に、該治療はまた、がんの部位において特異的にT細胞を活性化する。

【0012】

開示されているBS-BDCはまた、個々の患者の疾患の経過を経時的に追跡する組合せとしても使用されうる。例えば、CD28は、T細胞上で発現される免疫細胞活性化エピトープを与える。しかし、継続的なT細胞活性化の後、（腫瘍微小環境の場合と同様に）T細胞はCD28の発現を経時的にダウンレギュレーションして、このエピトープを介したT細胞活性化の機会を減少させうる。したがって、CD28に結合するBS-BDCから治療が有益に開始されうるが、時間の経過と共に、このBS-BDCは、抑制性T細胞エピトープの活性化を逆転させ又は遮断するエピトープに結合するもの（例えば、4-1BB(CD137)、PD-1、TIM-3、LAG3、VISTA）で置換されうる。BS-BDCグループのそのような多数の有益で発展的な組合せが本明細書に記載されている。

【発明の効果】

【0013】

前記理由の全てにより、BS-BDCの記載されているグループは、がんに対する進行中の闘いにおいて重要かつ顕著な進歩をもたらす。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1A】図1A。T細胞及びがん細胞に結合したT細胞結合性BS-BDCの同時多重相互作用の図示。この図示されている実施形態においては、グループ内の1つのBS-BDCがCD3及びROR1上のエピトープに結合する。このグループ内の第2のBS-BDCは、同じT細胞上のCD28及びROR1上の異なるエピトープに結合する。

【図1B】図1B。例示的なBS-BDCフォーマット。

【図2】図2。T細胞同時刺激の際のがん細胞/T細胞BS-BDCの細胞傷害性。

【図3A】図3A及び3B。CD28指向性BS-BDCによるT細胞同時活性化は標的抗原陽性がん細胞の存在に厳密に依存している。

【図3B】図3A及び3B。CD28指向性BS-BDCによるT細胞同時活性化は標的

10

20

30

40

50

抗原陽性がん細胞の存在に厳密に依存している。

【図 4 A】図 4 A ~ 4 D。CD 28 指向性 BS - BDC による T 細胞同時活性化は ROR 1 / CD 3 抗体誘導性細胞傷害性を増強する。

【図 4 B】図 4 A ~ 4 D。CD 28 指向性 BS - BDC による T 細胞同時活性化は ROR 1 / CD 3 抗体誘導性細胞傷害性を増強する。

【図 4 C】図 4 A ~ 4 D。CD 28 指向性 BS - BDC による T 細胞同時活性化は ROR 1 / CD 3 抗体誘導性細胞傷害性を増強する。

【図 4 D】図 4 A ~ 4 D。CD 28 指向性 BS - BDC による T 細胞同時活性化は ROR 1 / CD 3 抗体誘導性細胞傷害性を増強する。

【図 5】図 5。第 2 のがん細胞抗原を標的化する CD 28 指向性 BS - BDC での T 細胞同時活性化は治療用二重特異性 T 細胞結合抗体の抗がん活性を増強する。

【図 6 A】図 6 A ~ 図 6 C。PD - L 1 / CD 28 抗体は二重特異性抗体に対する PD - L 1 媒介性耐性を克服しうる。

【図 6 B】図 6 A ~ 図 6 C。PD - L 1 / CD 28 抗体は二重特異性抗体に対する PD - L 1 媒介性耐性を克服しうる。

【図 6 C】図 6 A ~ 図 6 C。PD - L 1 / CD 28 抗体は二重特異性抗体に対する PD - L 1 媒介性耐性を克服しうる。

【図 7】図 7。NF B レポーター Jurkat (ジャーカット) 系を使用して測定した場合、R 11 及び 2A2 は、異なるが重複する ROR 1 エピトープに結合し、一方、R 12 は、異なり非重複性の ROR 1 エピトープに結合する。

【図 8 - 1】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 2】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 3】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 4】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 5】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 6】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 7】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 8】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 9】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 10】図 8。裏づける配列。

【図 8 - 11】図 8。裏づける配列。

【発明を実施するための形態】

【0015】

詳細な説明

がん治療の進歩にもかかわらず、該疾患に関連した死亡率は依然として極めて高い。例えば、多数の小児患者の臨床成績の改善にもかかわらず、米国においては、がんは依然として、乳児期を過ぎた小児における主要死亡原因である。したがって、小児がんを含むがんに対する有効な新規治療方法の必要性に疑問の余地はない。

【0016】

抗体を使用してがん細胞を標的化することは、限られた非特異的毒性を有する、腫瘍細胞を排除する有力な手段として、高い期待を集めた。しかし、多数の患者にとって、単一抗体の使用は有効ではない。

【0017】

二重特異性 T 細胞結合抗体は、T 細胞をがん細胞に引き寄せてがん細胞を破壊することを目的として、腫瘍細胞上のがん抗原と T 細胞活性化エピトープとの両方に結合する。例えば、US 2008 / 0145362 を参照されたい。現在の二重特異性 T 細胞結合抗体治療薬は単一特異性の抗体由来結合ドメインのペアを含む。該ペアの一方のメンバーはがん抗原エピトープを標的化し、該ペアの他方のメンバーは T 細胞活性化エピトープを標的化する。2 つの異なる T 細胞活性化エピトープ (例えば、CD 3 及び CD 28) を標的化するそのような抗体を組合せて使用することを検討した研究者もいる。残念ながら、こ

10

20

30

40

50

のアプローチも同様に、期待された治療効果を達成していない。したがって、当技術分野においては、特に、より難治性の又は治療困難ながん型を有する患者のための、より有効ながん治療方法が依然として緊急に必要とされている。

【0018】

本開示は、がんを治療するための複数の二重特異性結合ドメイン構築物（BS-BDC；例えば、二重特異性抗体）を提供する。グループ内の各BS-BDCは、該グループ内の別のBS-BDCによって結合されるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープとは異なるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープに結合する。前記の異なるがん抗原エピトープは同一がん抗原上に存在することが可能であり、特定の実施形態においては、同一がん抗原上の非反復性の異なるがん抗原エピトープである。この進歩は幾つかの利点をもたらす。第1に、グループ内のBS-BDCは、異なるがん抗原エピトープに結合するため、結合に関する競合がより少なく、立体障害が減少する。第2に、異なる免疫細胞活性化エピトープに結合することにより、同時刺激シグナリングが達成される。T細胞受容体及び同時刺激受容体を認識する結合ドメインは、異なるBS-BDC上に位置するため、該BS-BDCグループは、がん細胞の存在下でのみ、T細胞活性化を誘導する。このアプローチは、多種多様ながんを標的化するために利用されうる汎用プラットフォームを提供する。

10

【0019】

少なくとも2つのがん抗原エピトープ及び少なくとも2つの免疫細胞活性化エピトープを標的化するBS-BDCの記載されているグループの使用は、がん細胞のT細胞媒介性殺傷に対する予想外の相乗効果をもたらした。更に、BS-BDCの記載されているグループの使用は、意外にも、単一の二重特異性T細胞結合抗体構築物に対するがん細胞耐性を克服した。

20

【0020】

多数の現在利用可能な治療法と比較した場合の、開示されているアプローチの追加的な利点は、開示されているBS-BDCが、CAR修飾T細胞療法のような個別化遺伝子治療を要することなく、特定のがんを有する患者に普遍的に投与されうる「既製（off-the-shelf）」療法として提供されうることを含む。更に、治療に対する個々の患者の応答がモニター可能であり、それに応じて投与量を調節して、治療の悪影響、例えばサイトカインストームを回避することが可能である。注入された前活性化細胞の腫瘍ホーミングに基づく、活性化T細胞を患者の体内に注入することとは対照的に、該治療はまた、がんの部位において特異的にT細胞を活性化する。

30

【0021】

開示されているBS-BDCはまた、個々の患者の疾患の経過を経時的に追跡する組合せとしても使用されうる。特定の実施形態においては、投与されたBS-BDCは、免疫系の状態（例えば、活性化の段階）、治療に対する応答の段階及び/又はがん細胞により発現されるがん抗原の変化に基づいて、治療レジメンの経過にわたって変化しうる。BS-BDC間の変化は、最初のBS-BDCの投与の少なくとも1時間後、又は最初のBS-BDCの投与の数日後、数週間後若しくは数ヵ月後まで、生じうる。特定の実施形態においては、投与されたBS-BDCの変化は、例えば、対象サンプルからのフィードバック（例えば、血液検査）による継続的な対象のモニターに基づく。特定の実施形態においては、投与されたBS-BDCの変化は、免疫状態及び/若しくはがん周期における予測可能な変化又は治療に対する予想される応答に基づいて、予めプログラム（計画）される。特定の実施形態においては、投与されたBS-BDCの変化は、例えばプログラム可能なポンプの使用に基づいて、予めプログラムされ、自動的に生成されうる。投与されたBS-BDCの変化は急性的に生じる可能性があり、又は徐々に変化しうる。

40

【0022】

特定の実施形態においては、患者は免疫活性化の変化に関してモニターされることが可能であり、投与されたBS-BDCは、異なる免疫活性化エピトープを標的化するBS-BDCへと変化されうる。一例としては、CD28は、T細胞上で発現される免疫細胞活

50

性化エピトープを与える。しかし、継続的なT細胞活性化の後、(腫瘍微小環境の場合と同様に)T細胞はCD28の発現を経時的にダウンレギュレーションして、このエピトープを介したT細胞活性化の機会を減少させる。したがって、CD28に結合するBS-BDCから治療が有益に開始されうるが、時間の経過と共に、このBS-BDCは、抑制性T細胞エピトープの活性化を逆転させ又は遮断するエピトープに結合するもの(例えば、4-1BB(CD137)、PD-1、TIM-3、LAG3、VISTA)で置換されうる。BS-BDCグループのそのような多数の有益で発展的な組合せが本明細書に記載されている。

【0023】

特定の実施形態においては、患者はがん抗原の発現の変化に関してモニターされることが可能であり、投与されたBS-BDCは、異なるがん抗原を標的化するBS-BDCへと交換されうる。がん抗原の発現は、しばしば、がんの経過中に変化する。一例としては、抗がん薬であるトラスツズマブの分子標的であるHer-2は治療中にダウンレギュレーションされて、治療耐性を招きうる(Shira, Breast Cancer Research 2014 16:R33)。特定の実施形態においては、Her-2を標的化するBS-BDCで治療されている患者はHer-2のダウンレギュレーションに関してモニターされることが可能であり、それらのがんがHer-2発現を喪失又は低減した場合には、該患者は、異なるがん抗原を標的化するBS-BDCで治療されうる。EGFRは、治療の経過中にダウンレギュレーションされるがん抗原のもう1つの例である。

【0024】

治療の経過中、投与されたBS-BDCグループは、標的化がん抗原、標的化免疫活性化エピトープ又はその両方を変化させるように進化しうる。変化は、標的化がん抗原及び/若しくは免疫細胞活性化エピトープの付加;標的化がん抗原及び/若しくは免疫細胞活性化エピトープの除去;並びに/又は標的化がん抗原及び/若しくは免疫細胞活性化エピトープの置換を反映しうる。

【0025】

前記理由の全てにより、BS-BDCに記載されているグループは、がんに対する進行中の闘いにおいて重要かつ顕著な進歩をもたらす。

【0026】

示されている「とは異なる」は、標的化エピトープが配列及び/又は構造において互いに異なることを意味する。特定の実施形態においては、異なることに加えて、標的化エピトープは非重複性でもある。「非重複性」は、あるグループにおける1つのBS-BDCの、エピトープへの結合が、該グループにおける少なくとも1つの他のBS-BDCの存在により、競合結合アッセイにおいて統計的に有意な度合では低減しないことを意味する。非重複性エピトープは、異なる分子上のエピトープであることが可能であり(例えば、ROR1及びCD33;CD3及びCD28)、あるいは、同一分子上に位置する非重複性エピトープであることが可能である(例えば、非重複性ROR1エピトープ;非重複性CD3エピトープ)。同一抗原上の、異なる非反復性エピトープは、空間的には互いに物理的に異なるが配列においては互いに反復性であるエピトープを除外する。例えば、MUC1は反復配列を有し、本明細書において定義されているとおり、該配列内の反復は非反復性ではなく、異なっている。

【0027】

T細胞の「同時刺激」は、BS-BDCグループの複数メンバーの存在下では、BS-BDCグループの単一メンバーのみの存在下よりも頑強なT細胞応答が観察されることを意味する。

【0028】

特定の実施形態においては、本明細書に開示されているBS-BDCグループは、SMITEグループと称されうる。SMITEは、「同時多重相互作用T細胞エンゲージ」結合ドメイン構築物(例えば、抗体、scFv)を表す。この用語は、開示されているBS-BDCグループが、2つの異なるがん抗原エピトープに結合した場合に、2つの異なる

10

20

30

40

50

免疫細胞活性化エピトープにエンゲージ（結合）することを表す。免疫細胞活性化エピトープの結合は時間的に重複して、がん細胞の部位における頑強なT細胞活性化を引き起こす。

【0029】

BS - BDCのグループは2つ、3つ又は4つのBS - BDCを含みうる。グループが2つのBS - BDC（ペア）を含む場合、該ペアの各メンバーは、異なるがん抗原エピトープ及び異なる免疫細胞活性化エピトープに結合する。グループが3つのBS - BDCを含む場合、該グループの各メンバーは、異なるがん抗原エピトープ及び異なる免疫細胞活性化エピトープに結合することが可能であり（3つのがん抗原エピトープ及び3つの免疫細胞活性化エピトープを標的化する）、あるいは、3メンバーグループ（すなわち、3つのメンバーからなるグループ）の2つのメンバーは同一がん抗原エピトープを標的化することが可能であり、該3メンバーグループの2つのメンバーは同一免疫細胞活性化エピトープを標的化することが可能である。同じ原理が4メンバーグループにも当てはまる。すなわち、あるグループが4つのBS - BDCを含む場合、該グループの各メンバーは、異なるがん抗原エピトープ及び異なる免疫細胞活性化エピトープに結合しうる（4つのがん抗原エピトープ及び4つの免疫細胞活性化エピトープを標的化する）。あるいは、該グループのメンバーのサブセットは共通のがん抗原エピトープ及び/又は免疫細胞活性化エピトープを標的化しうる。メンバーの数にかかわらず、各グループは少なくとも2つの異なるがん抗原エピトープを標的化し、特定の実施形態においては、少なくとも2つの異なる免疫細胞活性化エピトープを標的化する。特定の実施形態においては、各グルーピングは少なくとも2つの異なるがん抗原エピトープ及び共通の免疫細胞活性化エピトープ（例えば、CD3又はCD28）を標的化する。

10

20

【0030】

BS - BDCの開示されているグループは、多種多様ながん、例えば副腎がん、膀胱がん、血液がん、骨がん、脳腫瘍、乳がん、がん腫、子宮頸がん、結腸がん、結腸直腸がん、子宮体がん、耳鼻咽喉（ENT）がん、子宮内膜がん、食道がん、胃腸がん、頭頸部がん、ホジキン病、腸がん、腎臓がん、喉頭がん、白血病、肝臓がん、リンパ節がん、リンパ腫、肺がん、メラノーマ、中皮腫、骨髄腫、鼻咽頭がん、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔がん、卵巣がん、脾臓がん、陰茎がん、咽頭がん、前立腺がん、直腸がん、肉腫、精上皮腫、皮膚がん、胃がん、奇形腫、精巣がん、甲状腺がん、子宮がん、膣がん、血管腫瘍及びそれらの転移を標的化するために使用されうる、汎用プラットフォームを提供する。

30

【0031】

本開示の態様を以下に更に詳細に記載する。

【0032】

BS - BDCフォーマット。BS - BDCフォーマットは、がん抗原エピトープに結合する第1結合ドメインと免疫細胞活性化エピトープに結合する第2結合ドメインとを含むタンパク質を含む。例示的な二重特異性抗体フォーマットは、例えば、WO2009/080251、WO2009/080252、WO2009/080253、WO2009/080254、WO2010/112193、WO2010/115589、WO2010/136172、WO2010/145793及びWO2010/145793に記載されている。

40

【0033】

種々の結合ドメインは、抗体、フィブロネクチン、アフィボディ、天然リガンド（例えば、CD28に関するCD80及びCD86）などのような複数の起源に由来しうる。特定の実施形態において、結合ドメインは、がん抗原エピトープ又は免疫細胞活性化エピトープ（例えば、T細胞受容体）に特異的に結合する全抗体又はその結合フラグメント、例えば、Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fc及び一本鎖Fvフラグメント（scFv）、若しくは免疫グロブリンの任意の生物学的に有効なフラグメントに由来しうる。抗体又は抗原結合性フラグメントには、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒ

50

ト抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、二重特異性抗体、ミニボディ及び直鎖状抗体の全部又は一部が含まれる。

【0034】

ヒト化抗体又はヒト由来の結合ドメインを含むBS-BDCは、非ヒト抗体と比較して、ヒトにおいて低下した免疫原性を有し、少数の非免疫原性エピトープを有する。結合ドメインは、一般に、ヒト対象において低下した抗原性を示すように選択される。結合ドメインは、特に、選択されたがん抗原エピトープ又は免疫細胞活性化エピトープに特異的に結合する任意のペプチドを含みうる。結合ドメインの起源には、種々の種からの抗体可変領域（これは、抗体、sFv、scFv、Fab、scFvに基づくグラバボディ（grababody）、又は可溶性VHドメイン若しくはドメイン抗体の形態でありうる）が含まれる。これらの抗体は、重鎖可変領域のみを用いて抗原結合領域を形成しうる。すなわち、これらの機能的抗体は重鎖のみのホモ二量体である（「重鎖抗体」と称される）（Jespersら, Nat. Biotechnol. 22:1161, 2004; Cortez-Retamozoら, Cancer Res. 64:2853, 2004; Baralら, Nature Med. 12:580, 2006; 及びBarthelemyら, J. Biol. Chem. 283:3639, 2008）。

10

【0035】

部分的又は完全合成抗体のファージディスプレイライブラリーが利用可能であり、選択されたエピトープに結合しうる抗体又はそのフラグメントに関してスクリーニングされうる。例えば、結合ドメインは、関心標的に特異的に結合するFabフラグメントに関してFabファージライブラリーをスクリーニングすることにより特定されうる（Hoetら, Nat. Biotechnol. 23:344, 2005を参照されたい）。ヒト抗体のファージディスプレイライブラリーも利用可能である。また、簡便な系（例えば、マウス、HuMAbマウス（登録商標）、TCマウス（商標）、KMマウス（登録商標）、ラマ、ニワトリ、ラット、ハムスター、ウサギなど）において免疫原として関心標的を使用するハイブリドーマ開発の伝統的な方法が、結合ドメインを開発するために使用されうる。特定の実施形態においては、結合ドメインは、標的化がん細胞及び/又はT細胞により発現される選択されたエピトープに特異的に結合し、非特異的成分又は無関係な標的とは交差反応しない。結合ドメイン内のCDRをコードするアミノ酸配列又はポリヌクレオチド配列は、一旦特定されると、単離及び/又は決定されうる。

20

30

【0036】

結合ドメインの代替的起源には、ランダムペプチドライブラリーをコードする配列、又は代替的非抗体スカフォールドのループ領域における操作された多様性のアミノ酸をコードする配列、例えば、scTCR（Lakeら, Int. Immunol. 11:745, 1999; Maynardら, J. Immunol. Methods 306:51, 2005; 米国特許第8,361,794号）、mAb²又はFcab（商標）（例えば、PCT特許出願公開番号WO 2007/098934; WO 2006/072620）、アフイボディ（affibody）、アビマー（avimer）、フィノマー（fynomer）、細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質-4（Weidleら, Cancer Gen. Proteo. 10:155, 2013）及びその他（Nordら, Protein Eng. 8:601, 1995; Nordら, Nat. Biotechnol. 15:772, 1997; Nordら, Euro. J. Biochem. 268:4269, 2001; Binzら, Nat. Biotechnol. 23:1257, 2005; Boersma及びPluckthun, Curr. Opin. Biotechnol. 22:849, 2011）が含まれる。

40

【0037】

特定の実施形態においては、抗体フラグメントは、BS-BDCにおける1以上の結合ドメインとして使用される。「抗体フラグメント」は、エピトープに結合する能力を保有する、完全又は全長抗体の一部を意味する。抗体フラグメントの例には、Fv、scFv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、ダイアボディ及び直鎖状抗体が

50

含まれる。

【0038】

一本鎖可変フラグメント (s c F v) は、短いリンカーペプチドに連結された免疫グロブリンの重鎖及び軽鎖の可変領域の融合タンパク質である。F v フラグメントは抗体の単一アームの V L ドメイン及び V H ドメインを含む。F v フラグメントの2つのドメインである V L 及び V H は別々の遺伝子によりコードされているが、それらは連結されることが可能であり、例えば、V L 領域と V H 領域がペアになって1価分子 (一本鎖 F v (s c F v)) を形成している単一タンパク質としてそれらが生成されることを可能にする合成リンカーにより、組換え法を用いて、それらは連結されうる。F v 及び s c F v に関する更なる情報に関しては、例えば、Birdら, Science 242 (1988) 423 - 426; Hustonら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (1988) 5879 - 5883; Plueckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg 及び Moore (編), Springer-Verlag, New York), (1994) 269 - 315; WO1993/16185; 米国特許第5, 571, 894号; ならびに米国特許第5, 587, 458号を参照されたい。

10

【0039】

F a b フラグメントは、V L、V H、C L 及び C H 1 ドメインを含む1価抗体フラグメントである。F (a b')₂ フラグメントは、ヒンジ領域におけるジスルフィド架橋により連結された2つの F a b フラグメントを含む2価フラグメントである。インビボ半減期が増加した F a b 及び F (a b')₂ フラグメントの考察に関しては、米国特許第5, 869, 046号を参照されたい。ダイアボディは、2価でありうる2つのエピトープ結合部位を含む。例えば、EP 0404097; WO1993/01161; 及び Holligerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993) 6444 - 6448を参照されたい。二重アフィニティ再標的化抗体 (DART (商標); ダイアボディ形態に基づくが、更なる安定化のためのC末端ジスルフィド架橋を特徴とする (Mooreら, Blood 117, 4542 - 51 (2011))) も使用されうる。抗体フラグメントは、単離された CDR をも含みうる。抗体フラグメントの総説は、Hudsonら, Nat. Med. 9 (2003) 129 - 134を参照されたい。

20

【0040】

抗体フラグメントは、本明細書に記載されているとおり、無傷抗体のタンパク質分解消化及び組換え宿主細胞 (例えば、ヒト懸濁細胞株、大腸菌 (E. coli) 又はファージ) による製造を含む種々の技術により製造されうる。抗体フラグメントは、無傷抗体の場合と同様にして、それらの結合特性に関してスクリーニングされうる。

30

【0041】

特定の実施形態においては、B S - B D C は結合ドメインとしてのエピトープに対する天然受容体又はリガンドをも含む。例えば、結合標的が P D - L 1 を含む場合、結合ドメインは P D - 1 (例えば、P D - 1 / 抗 C D 3 融合体を含む) を含む。結合のための受容体融合体の一例は、Enbre1 (登録商標) (Amgen) である。天然受容体又はリガンドはまた、結合を増強するために修飾されうる。例えば、ベータラセプト (beta1 accept) はアパタセプト (abat accept) の修飾形態である。特定の実施形態においては、B S - B D C は、食作用を誘導する天然受容体又はリガンドを含む。カルレティキュリン (calreticulin) (UniProt ID No. P27797) は、健常細胞の小胞体に局在するタンパク質であるが、瀕死細胞においては、それは細胞表面に移動し、マクロファージのような免疫細胞による食作用を誘導する。特定の実施形態においては、結合ドメインは、カルレティキュリン、又は食作用を誘導しうるカルレティキュリンの一部を含む。

40

【0042】

結合は、結合ドメインの多量体化から生じるアビディティの増強によっても増強される。当技術分野で公知の任意のスクリーニング方法が、抗原エピトープに対するアビディ

50

ティの増強を特定するために使用されうる。

【0043】

特定の実施形態においては、BS-BDC形態は、特に標的化されるがん抗原及び免疫細胞活性化エピトープに関して選択された結合ドメインを含有するブリナツモマブ (blinatumomab) に基づくものでありうる。特定の実施形態においては、BS-BDC形態は、特に標的化されるがん抗原及び免疫細胞活性化エピトープに関して選択された結合ドメインを含有するAMG330に基づくものでありうる。

【0044】

特定の実施形態において、BS-BDC形態は、軽鎖のC末端に結合した一本鎖抗体を含みうる (例えば、*Oncology*, 2017; 6(3): e1267891を参照されたい)。Fc領域の存在は、タンパク質半減期の維持に役立ちうるため、この形態は有用でありうる。Fcは幾つかの受容体と相互作用し、そして免疫応答に寄与しうるため、Fc領域の存在も有用でありうる。抗体-scFv融合体もまた、有用でありうる。なぜなら、該抗体部分はそのエピトープに二量体様態で結合し (これはアビディティを増強する)、そして該scFv部分はそのエピトープに単量体様態で結合する (これは、例えば、T細胞エピトープへの結合に有用でありかつ標的 (例えば、がん細胞) の存在下でのみ多量体化を可能にするのに有用である) からである。これらの実施形態は、「三重特異性」でありうる。

【0045】

使用されうる追加的なBS-BDC形態の総説としては、Brinkmann & Kontermann, *mAbs*, 2017, 9: 2, 182-212, DOI: 10.1080/19420862.2016.1268307を参照されたい。

【0046】

「エピトープ」は、抗原結合性タンパク質、例えば抗体又はT細胞受容体より結合されうる任意の決定基を含む。エピトープは、その抗原を標的化する抗原結合性タンパク質により結合される抗原の領域であり、その抗原がタンパク質である場合には、該抗原結合性タンパク質と直接接触する特定の残基を含む。特定の実施形態においては、「エピトープ」は、対応する結合ドメインにより結合されるタンパク質標的上の結合部位を意味する。結合ドメインは、直鎖状エピトープ (例えば、5~12個の連続的アミノ酸の伸長を含むエピトープ) に結合するか、又は結合ドメインは、タンパク質標的の短い伸長の幾つかの空間的配置により形成される三次元構造に結合する。結合ドメインにより、例えば、抗体又は抗体フラグメントのエピトープ認識部位又はパラトープにより認識される三次元エピトープは、エピトープ分子の三次元の表面の特徴と考えられうる。これらの特徴は、結合ドメインの対応結合部位に厳密に嵌合し、それにより、結合ドメインとその標的タンパク質との結合が促進される。特定の実施形態においては、エピトープは以下の2つのレベルを有するとみなされうる: (i) 抗体又は結合ドメインが投じる暗影と考えられうる「被覆パッチ (covered patch)」、及び (ii) 個々の関与側鎖及びバックボーン (骨格) 残基。したがって、結合はイオン相互作用、水素結合及び疎水性相互作用の集合体によるものである。

【0047】

「結合する」は、 10^{-8} M以下、特定の実施形態においては 10^{-5} M~ 10^{-13} M、特定の実施形態においては 10^{-5} M~ 10^{-10} M、特定の実施形態においては 10^{-5} M~ 10^{-7} M、特定の実施形態においては 10^{-8} M~ 10^{-13} M、又は特定の実施形態においては 10^{-9} M~ 10^{-13} Mの解離定数 ($1(D)$) で、結合ドメインがその標的エピトープと会合することを意味する。この語は更に、結合ドメインが、存在する他の生体分子に結合しないこと (例えば、それが、 10^{-4} M以上、特定の実施形態においては 10^{-4} M~1 Mの解離定数 (KD) で、他の生体分子に結合すること) を示すために用いられうる。標的化エピトープは、適切なインビトロ条件下及び本明細書に記載されているインビボ条件下でその対応BS-BDC結合ドメインにより結合されるエピトープである。特定の実施形態においては、結合のための適切なインビトロ条件は、室

温又は37 でほぼ生理的 pH (7 . 4) の緩衝化塩溶液を含みうる。

【 0 0 4 8 】

標的化がん抗原エピトープ。がん細胞抗原はがん細胞により発現される。本開示の重要な特徴の1つは、がん抗原ががん細胞によって優先的に発現される必要がないことである。これは、有意な S M I T E 誘発性免疫細胞活性化ががん細胞の存在下でのみ生じるからである。一例として、P D - L 1 はがん細胞及び非がん細胞により発現される。

【 0 0 4 9 】

特定の実施形態においては、がん細胞抗原はがん細胞によって優先的に発現される。「優先的に発現される」は、がん細胞抗原が、他の細胞型と比較して、がん細胞上で、より高いレベルで見出されることを意味する。幾つかの例においては、がん抗原は標的化がん細胞型によってのみ発現される。他の例においては、がん抗原は、標的化がん細胞型上で、非標的細胞上よりも少なくとも25%、35%、45%、55%、65%、75%、85%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%多く発現される。

10

【 0 0 5 0 】

以下の表は、B S - B D C で標的化されうる特定のがん及びがん抗原の例を示す。

【 0 0 5 1 】

【表 1】

標的化がん	がん抗原
白血病/リンパ腫	CD19, CD20, CD22, ROR1, CD33, WT-1, CD123
多発性骨髄腫	B 細胞成熟抗原(BCMA)
前立腺がん	PSMA, WT1, 前立腺幹細胞抗原(PSCA), SV40 T
乳がん	HER2, ERBB2, ROR1
幹細胞がん	CD133
卵巣がん	L1-CAM, MUC16 の細胞外ドメイン(MUC-CD), 葉酸結合タンパク質(葉酸受容体), ルイス Y, ROR1, メソテリン, WT-1
中皮腫	メソテリン
腎細胞がん	カルボキシル-アンヒドラーゼ-IX (CAIX);
メラノーマ	GD2
脾臓がん	メソテリン, CEA, CD24, ROR1
肺がん	ROR1

20

30

【 0 0 5 2 】

より詳細な例においては、がん細胞抗原には以下のものが含まれる。

【 0 0 5 3 】

【表 2】

がん抗原	配列
PSMA	KSSNEATNITPKHNMKAFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQ SQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIINEDGNEIFNTSLFEPPPPGY ENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVAR YGKVFRGNKVKNALAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQ RGNILNLNGAGDPLTPGYPANAYARRGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKLE KMGGSAAPPDSSWRGSLKVPYNVGPFGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNV IGTLRGAVEPDYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGAAVWHEIVRSFGTLKKEGW RPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLQERGVAYINADSSIEGNYTL RVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSGMPRISK LGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFY DPMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVLPFDCRDYAVVLRKYADKIYSIMKH PQEMKTYSVSFDSLFSVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMF LERAFIDPLGLPDRPFYRHVIYAPSSHNKYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKA WGEVKRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA (配列番号 1)
PSCA	MKAVLLALLMAGLALQPGTALLCYSCAKQVSNEDCLQVENCTQLGEQCWTA RIRAVGLLTVISKGCSLNCVDDSDQDYVVGKKNITCCDLDLCNASGAHALQPA AAILALLPALGLLLWGPQQL (配列番号 2)
メテリン	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLGETGQEAAPLDGVL ANPPNISSLSPRQLLGFCAEVSGLSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLA HRLSEPPEDLDALPLDLLLFLNPDAFSGPQACTHFFSRITKANVDLLPRGAPE RQRLLPAALACWGVRSLLSEADVRLGGLACDLPGRFVAESAEVLLPRLVS CPGPLDQDQQAARAALQGGGPPYGPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIIR SIPQGIVAARWRQRSSRDPSWRQPRTLPRFRREVEKTACPSGKKAREIDE SLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELYPQGYPE SVIQHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLCTLKALLEVNKGHEMSPQVATLIDRFV KGRGQLDKDLDLTAFYPGYLCSLSPEELSSVPPSSIWAVRPQDLDTCDPR QLDVLYPKARLAFQNMNGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATF MKLRTDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDLDTL GLGLQGGIPNGYLVLDLSVQEALSGTPCLLGPVLTVLALLLASTLA (配列番号 3)
CD19	MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTW SRESPLKPFLLKLSLGLPGLGIHMRPLASWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSE KAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMS PKLYVWAKDRPEIWEGEPPCVPPRDSLNNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPP DSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVWVETGLLLPRATAQD AGKYYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSL VGILHLQRALVLRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTS GLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEEGEG YEEDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNA ESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSADWPSREATSLGSQSSEDMRGILYA

10

20

30

	APQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGWSTR (配列番号 4)
CD20	MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMQSGPKPLFRRMSSLVGPTQSFFMRESKT LGAVQIMNGLFHIALGGLLMIPAGIYAPICVTWYPLWGGIMYIISGSLLAATEK NSRKCLVKGKMIMNSLSLFAAISGMILSIMDILNIKISHFLKMESLNFIHAHTPYI NIYNCEPANPSEKNSPSTQYCYSIQSLFLGILSVMLIFAFFQELVIAGIVENEWK RTCSRPKSNIVLLSAEEKKEQTIEIKEEVVGLTETSSQPKNEEDIEIPIQEEEE ETETNFPEPPQDQESSPIENDSSP (配列番号 5)
CD33(全長)	MPLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYDYK NSPVHGYWFREGAISRDSVPATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSL SIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPG HSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPRTHSSVLIITPRPQDHGT NLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVHG AIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKK SKLHGPTETSSCSGAAPTVMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (配列番号 6)
CD33 (デルタE2 変異体)	MPLLLLLPLLWADLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWL SAAPTSLGPRTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTY VPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVHGAIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHR RKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKSKLHGPTETSSCSGAAPTVMDEE LHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (配列番号 7)
CD33 (C末端 トランケート化を 伴う)	MPLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYDYK NSPVHGYWFREGAISRDSVPATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSL SIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPG HSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPRTHSSVLIITPRPQDHGT NLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVHG AIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASVPR (配列番号 8)
ROR1	MHRPRRRGTRPPLLALLAALLAARGAAQETELSVSAELVPTSSWNISSEL NKDSYLTLDPEMNNITTSLGQTAELHCKVSGNPPPTIRWFKNDAPVVQEPRR LSFRSTIYGSRLRIRNLDTTDTGYFQCVATNGKEVVSSTGVLFVKFGPPPTAS PGYSDEYEEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESLHMQGEIENQITAAFTMI GTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSSVPKPRDLRDECEILENVLCQT EYIFARSNPMILMRLKLPNCEDLPQPESPEAANCIRIGIPMADPINKNHNKCYNS TGVDYRGTVSVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPELNGGHSYCRNPG NQKEAPWCFTLDENFKSDLCDIPACDSKDSKEKNKMEILYILVPSVAIPLAIAL LFFFCVCRNNQKSSAPVQRQPKHVRGQNVEMSMNLNAYKPKSKAKELPLS AVRFMEELGECAGFKIYKGHLYLPGMDHAQLVAIKTLKDYNPNPQQWTEFQQ EASLMAELHHPNIVCLLGAVTQECPVCMLEFYINQGDLEFLIMRSPHSDVG CSSDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSSHFFVHKDLAARNILIGEQLH VKISDLGLSREIYSADYYRVQSKSLLPIRWMPPEAIMYGKFSSDSDIWSFGVV LWEIFSFGQLQPYYGFSNQEVIMVRKRQLLPCSEDCPPRMYSMLMTECWNEIP SRRPRFKDIHVRLRSWEGLSSHTSSTTPSGGNATTQTTSLSASPVSNLSNPR YPNYMFPSQGITPQQQIAGFIGPPIPNQRFIPINGYPIPPGYAAFPAAHYQPT GPPRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVTSPLSSGSNQEANIPLLPHMSIP NHPGGMGITVFGNKSQKPYKIDSKQASLLGDANIHGHTESMISAE (配列番号 9)
WT1	IEGRHMRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRYFKLSHLQMHRSR KHTGEKPYQCDFKDCERRFFRSDQLKRHRHRTGVKPFQCKTCQRKFSRS DHLKTHTRTHTGEKPFSCRWPSQKKFARSDELVRHHNMHQRNMTKLQLA

10

20

30

40

	L (配列番号 10)
CD123	MVLLWLTLLIALPCLLQTKEDPNPPITNLRMKAKAQQLTWDLNRNVTDIECV KDADYSMPAVNNSYCQFGAISLCEVTNYTVRVANPPFSTWILFPENSGKPW AGAENLTCWIHDVDFLSCSWAVGPGAPADVQYDLYLNVANRRQQYECLHY KTDAQGTRIGCRFDDISRLSSGSQSSHILVRGRSAAFGIPCTDKFVVFQSIEIL TPPNMTAKCNKTHSFMHWKMRSHFNRFYELQIQKRMQPVITEQVRDRTS FQLLNPGTYTVQIRARERVYEFLSAWSTPQRFECDEEGANTRAWRTSLLIA LGTLLALVCVFVICRRYLVQMRLFPRIPHMKDPIGDSFQNDKLWWVEAGKAG LEECLVTEVQVQKT (配列番号 11)

【 0 0 5 4 】

10

当業者に理解されるとおり、標的化抗原は、シグナルペプチド、例えば、配列番号 6 ~ 8 における代表的な C D 3 3 抗原の下線付き断片を欠いている可能性がある。更に、理解されるとおり、「同一（同じ）がん抗原」は、両方の標的化エピトープが同一がん抗原分子上に存在することを可能にし、必ずしもそれを必要としない。すなわち、例えば、R O R 1 の 2 つの異なるエピトープが標的化される場合、グループにおける 1 つの B S - B D C は第 1 R O R 1 分子上の第 1 エピトープに結合することが可能であり、該グループにおける第 2 B S - B D C は、異なる R O R 1 分子上の第 2 エピトープに結合することが可能である。同様に、第 1 及び第 2 エピトープは同一 R O R 1 分子上の第 1 及び第 2 B S - B D C により結合されうる。

【 0 0 5 5 】

20

特定の実施形態においては、B S - B D C グループ内に存在するがん抗原エピトープ結合ドメインはそれぞれ、異なる R O R I エピトープ（例えば、R O R 1 - A 及び R O R 1 - B）を標的化する。

【 0 0 5 6 】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、A S G F D F S A Y Y M（配列番号 1 2）を含む C D R L 1 配列、T I Y P S S G（配列番号 1 3）を含む C D R L 2 配列及び A D R A T Y F C A（配列番号 1 4）を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、D T I D W Y（配列番号 1 5）を含む C D R H 1 配列、V Q S D G S Y T K R P G V P D R（配列番号 1 6）を含む C D R H 2 配列及び Y I G G Y V F G（配列番号 1 7）を含む C D R H 3 配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。

30

【 0 0 5 7 】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、Q A S Q S I D S N L A（配列番号 1 8）を含む C D R L 1 配列、R A S N L A S（配列番号 1 9）を含む C D R L 2 配列及び L G G V G N V S Y R T S（配列番号 2 0）を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、D Y P I S（配列番号 2 1）を含む C D R H 1 配列、F I N S G G S T W Y A S W V K G（配列番号 2 2）を含む C D R H 2 配列及び G Y S T Y Y C D F N I（配列番号 2 3）を含む C D R H 3 配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。これらは R 1 1 抗体の C D R 配列を表す。

40

【 0 0 5 8 】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、T L S S A H K T D T I D（配列番号 2 4）を含む C D R L 1 配列、G S Y T K R P（配列番号 2 5）を含む C D R L 2 配列及び G A D Y I G G Y V（配列番号 2 6）を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なく

50

とも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、A Y Y M S（配列番号27）を含むCDRH1配列、T I Y P S S G K T Y Y A T W V N G（配列番号28）を含むCDRH2配列及びD S Y A D D G A L F N I（配列番号29）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。これらはR12抗体のCDR配列を表す。

【0059】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、K A S Q N V D A A V A（配列番号30）を含むCDRL1配列、S A S N R Y T（配列番号31）を含むCDRL2配列及びQ Q Y D I Y P Y T（配列番号32）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、D Y E M H（配列番号33）を含むCDRH1配列、A I D P E T G G T A Y N Q K F K G（配列番号34）を含むCDRH2配列及びY Y D Y D S F T Y（配列番号35）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。これらは2A2抗体のCDR配列を表す。

【0060】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、Q A S Q S I G S Y L A（配列番号36）を含むCDRL1配列、Y A S N L A S（配列番号37）を含むCDRL2配列及びL G S L S N S D N V（配列番号38）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、S H W M S（配列番号39）を含むCDRH1配列、I I A A S G S T Y Y A N W A K G（配列番号40）を含むCDRH2配列及びD Y G D Y R L V T F N I（配列番号41）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。これらはY31抗体のCDR配列を表す。

【0061】

R O R Iに特異的な多数の追加的な抗体が当業者に公知であり、配列、エピトープ結合及びアフィニティに関して容易に特徴づけられうる。例えば、W O 2 0 0 8 0 7 6 8 6 8、W O / 2 0 0 8 1 0 3 8 4 9、W O 2 0 1 0 0 8 0 6 9、W O 2 0 1 0 1 2 4 1 8 8、W O 2 0 1 1 0 7 9 9 0 2、W O 2 0 1 1 0 5 4 0 0 7、W O 2 0 1 1 1 5 9 8 4 7、W O 2 0 1 2 0 7 6 0 6 6、W O 2 0 1 2 0 7 6 7 2 7、W O 2 0 1 2 0 4 5 0 8 5及びW O 2 0 1 2 0 9 7 3 1 3を参照されたい。

【0062】

特定の実施形態においては、BS-BDCグループ内に存在するがん抗原エピトープ結合ドメインはそれぞれ、異なるCD19エピトープを標的化する。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、CD19に特異的なV_H及びV_L領域を含む結合ドメイン（例えば、s c F v）を含む。特定の実施形態においては、V_H及びV_L領域はヒト体である。例示的なV_H及びV_L領域は抗CD19特異的モノクローナル抗体F M C 6 3のセグメントを含む。特定の実施形態においては、結合ドメイン（例えば、s c F v）はヒト体又はヒト化体であり、R A S Q D I S K Y L N（配列番号42）を含むCDRL1配列、S R L H S G V（配列番号43）を含むCDRL2配列及びG N T L P Y T F G（配列番号44）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。結合ドメイン（例えば、s c F v）はヒト体又はヒト化体であり、D Y G V S（配列番号45）を含むCDRH1配列、V T W G S E T T Y Y N S A L K S（配列番号46）を含むCDRH2配列及びY A M D Y W G（配列番号47）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。S J 2 5 C 1及びH D 3 7のような他のCD19標的化抗体が公知である（S J 2 5 C 1: B e j c e k ら, C a n c e r R e s 2 0 0 5, P M I D 7 5 3 8 9 0 1; H D 3 7: P e z u t t o ら, J I 1 9 8 7

10

20

30

40

50

, P M I D 2 4 3 7 1 9 9)。

【 0 0 6 3 】

特定の実施形態においては、B S - B D C グループ内に存在するがん抗原エピトープ結合ドメインはそれぞれ、異なるP S M A エピトープを標的化する。P S M A に特異的な多数の抗体が当業者に公知であり、配列、エピトープ結合及びアフィニティに関して容易に特徴づけられうる。結合ドメインは抗メソテリンリガンド（卵巣がん、膵臓がん及び中皮腫の治療に関連している）をも含む。当業者に理解されたとおり、異なるがん抗原エピトープ結合ドメインは、（とりわけ）本明細書に開示されているがん抗原上の多数の異なるエピトープに結合しうる。既に示されているとおり、特定の実施形態においては、異なるエピトープが同一がん抗原上に存在する。特定の実施形態においては、異なるエピトープが、異なるがん抗原上に存在する。

10

【 0 0 6 4 】

特定の実施形態においては、B S - B D C グループ内に存在するがん抗原エピトープ結合ドメインはそれぞれ、異なるC D 2 0 エピトープを標的化する。リツキシサン（R i t u x a n）（リツキシマブ（R i t u x i m a b）, G e n e n t e c h）はC D 2 0 陽性非ホジキンリンパ腫のC D 2 0 を標的化し、アルゼラ（A r z e r r a）（オフアツムマブ（O f a t u m u m a b）, N o v a r t i s）は、C D 2 0 の異なるエピトープを標的化する。

【 0 0 6 5 】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのB S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、R A S S S V S Y I H（配列番号48）を含むC D R L 1 配列、A T S N L A S（配列番号49）を含むC D R L 2 配列及びQ Q W T S N P P T（配列番号50）を含むC D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのB S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、S Y N M H（配列番号51）を含むC D R H 1 配列、A I Y P G N G D T S Y N Q K F K G（配列番号52）を含むC D R H 2 配列及びS T Y Y G G D W Y F N V（配列番号53）を含むC D R H 3 配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。これらは2 B 8 抗体のC D R 配列を表す。

20

【 0 0 6 6 】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのB S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、R A S Q D V N T A V A W（配列番号54）を含むC D R L 1 配列、Y S A S F L E S（配列番号55）を含むC D R L 2 配列及びQ Q H Y T T P T（配列番号56）を含むC D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのB S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、S G F N T K D T Y I H W（配列番号57）を含むC D R H 1 配列、R I Y P T N G Y T R Y A D S V K G R（配列番号58）を含むC D R H 2 配列及びW G G D G F Y A M D V（配列番号59）を含むC D R H 3 配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、s c F v）である。これらは4 D 5 抗体のC D R 配列を表す。

30

40

【 0 0 6 7 】

特定の実施形態においては、B S - B D C グループ内に存在するがん抗原エピトープ結合ドメインはそれぞれ、異なるC D 3 3 エピトープを標的化する。

【 0 0 6 8 】

特定の実施形態においては、B S - B D C は全長C D 3 3（C D 3 3^{F L}）のみに、又はエクソン2を欠くC D 3 3 のスプライス変異体（C D 3 3^{E 2}）のみに、又は（i i i）それがC D 3 3^{F L}であるかC D 3 3^{E 2}であるかにかかわらず、C D 3 3 に結合する。異なるC D 3 3 アイソフォームを標的化するB S - B D C のグループは、より高い比率のC D 3 3 発現細胞を標的化しうる。なぜなら、それらは、C D 3 3^{F L}及びC D 3 3^{E 2}を発現する細胞を標的化しうるからである。更に、C D 3 3^{E 2}に結合するB

50

S - B D C は、C D 3 3 ^{E 2} 変異体を発現するが C D 3 3 ^{F L} タンパク質を発現しない細胞に対する治療標的化をもたらす。

【 0 0 6 9 】

図 8 においては、以下の特異性を有する B S - B D C に関して、以下の可変軽鎖 (V _L) 及び可変重鎖 (V _H) が示されている。

【 0 0 7 0 】

【 表 3 】

抗体名	特異的な対象	鎖	配列番号
5D12	CD33 ^{FL}	V _L	60
		V _H	61
8F5	CD33 ^{FL}	V _L	62
		V _H	63
12B12	CD33 ^{ΔE2}	V _L	64
		V _H	65
4H10	CD33 ^{ΔE2}	V _L	66
		V _H	67
11D5	CD33 ^{ΔE2}	V _L	68
		V _H	69
13E11	CD33 ^{ΔE2}	V _L	70
		V _H	71
1H7	CD33 ^{FL} 及び CD33 ^{ΔE2}	V _L	72
		V _H	73
11D11	CD33 ^{ΔE2}	V _L	74
		V _H	75

10

20

30

40

50

【 0 0 7 1 】

C D R の明確な描写及び抗体の結合部位を含む残基の特定は、抗体の構造を解明すること及び / 又は抗体 - エピトープ複合体の構造を解明することにより達成されうる。特定の実施形態においては、これは X 線結晶学のような方法により達成されうる。

【 0 0 7 2 】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、R A S E V D N Y G I S F M N (配列番号 7 6) を含む C D R L 1 配列、A A S N Q G S (配列番号 7 7) を含む C D R L 2 配列及び Q Q S K E V P W (配列番号 7 8) を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化 C D 3 3 結合ドメイン (例えば、s c F v) である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、D Y N M H (配列番号 7 9) を含む C D R H 1 配列、Y I Y P Y N G G T G Y N Q K F K S (配列番号 8 0) を含む C D R H 2 配列及び G R P A M D Y (配列番号 8 1) を含む C D R H 3 配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化 C D 3 3 結合ドメイン (例えば、s c F v) である。これらは M 1 9 5 又は H u M 1 9 5 抗体の C D R 配列を表す。

【 0 0 7 3 】

特定の実施形態においては、CD33結合ドメインは、配列番号253を含むCDRL1配列、配列番号254を含むCDRL2配列及び配列番号255を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、CD33結合ドメインは、配列番号256を含むCDRH1配列、配列番号257を含むCDRH2配列及び配列番号258を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。これらは1H7抗体のCDR配列を表す。

【0074】

特定の実施形態においては、BS-BDCグループ内に存在するがん抗原エピトープ結合ドメインはそれぞれ、異なるPD-L1エピトープを標的化する。特定の実施形態においては、PD-L1結合ドメインは、RASQDVSTAVA（配列番号267）を含むCDRL1配列、SASFLLYS（配列番号268）を含むCDRL2配列及びQQYLYHPAT（配列番号269）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、PD-L1結合ドメインは、SGFTFSDSWIH（配列番号270）を含むCDRH1配列、WISPYGGSTYYADSVKG（配列番号271）を含むCDRH2配列及びRHWPGGFDDY（配列番号272）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

【0075】

特定の実施形態においては、PD-L1結合ドメインは、TGTSSTDVGGYNYVS（配列番号273）を含むCDRL1配列、DVSNNRPS（配列番号274）を含むCDRL2配列及びSSYTSSTRV（配列番号275）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、PD-L1結合ドメインは、SGFTFS SYIMM（配列番号276）を含むCDRH1配列、SIYPSGGITFYADTVKG（配列番号277）を含むCDRH2配列及びIKLGTVTTVDY（配列番号259）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

【0076】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのPD-L1結合ドメインは、RASQSVSSYL（配列番号82）を含むCDRL1配列、DASNRAAT（配列番号83）を含むCDRL2配列及びQQRSNWPRRT（配列番号84）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、DYGFS（配列番号85）を含むCDRH1配列、WITAYNGNTNYAQKLQG（配列番号86）を含むCDRH2配列及びDYFYGM DY（配列番号87）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。これらは3G10抗体のCDR配列を表す。PD-L1に結合する多数の追加的な配列は、例えば、US 2016/0222117に記載されている。

【0077】

特定の実施形態においては、BS-BDCグループ内に存在するがん抗原エピトープ結合ドメインはそれぞれ、異なるCD123エピトープを標的化する。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、抗CD123 7G3抗体のCDRを含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、RASESVDNYGNTFMH（配列番号88）を含むCDRL1配列、RASNLES（配列番号89）を含むCDRL2配列及びQQSNEDPPT（配列番号90）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのがん抗原エピトープ結合ドメインは、NYGMN（配列番号91）を含むCDRH1配列、WINTYTGETYSADF KG（配列番号92）を含むCDRH2配列及びSGGYDPM DY（配列番号93）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。これらは、米国特許第8,163,279号に記載されている抗体3271

10

20

30

40

50

6 の C D R 配列を表す。

【 0 0 7 8 】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、R S N K S L L H S N G N T Y L Y (配列番号 9 4) を含む C D R L 1 配列、R M S N L A S (配列番号 9 5) を含む C D R L 2 配列及び M Q H L E Y P Y T (配列番号 9 6) を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン (例えば、s c F v) である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも 1 つの B S - B D C のがん抗原エピトープ結合ドメインは、N Y W M N (配列番号 9 7) を含む C D R H 1 配列、R I D P S D S E S H Y N Q K F K D (配列番号 9 8) を含む C D R H 2 配列及び Y D Y D D T M D Y (配列番号 9 9) を含む C D R H 3 配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン (例えば、s c F v) である。これらは、米国特許第 8 , 1 6 3 , 2 7 9 号に記載されている抗体 3 2 7 0 3 の C D R 配列を表す。

10

【 0 0 7 9 】

免疫細胞活性化エピトープ。本開示の S M I T E による局所的活性化のために標的化されうる免疫細胞には、例えば、T 細胞、ナチュラルキラー (N K) 細胞及びマクロファージが含まれる。

【 0 0 8 0 】

T 細胞活性化は 2 つの異なるシグナル [すなわち、抗原依存性一次活性化を開始させ、T 細胞受容体様シグナルを与えるもの (一次細胞質シグナリング配列) 、及び抗原非依存的に作用して、二次又は同時刺激シグナルを与えるもの (二次細胞質シグナリング配列)] によりもたらされうる。本明細書に開示されている B S - B D C グループは、結合時に T 細胞活性化を誘導する T 細胞活性化エピトープの任意の組合せを標的化しうる。そのような T 細胞活性化エピトープの例は、C D 2 、C D 3 、C D 7 、C D 2 7 、C D 2 8 、C D 3 0 、C D 4 0 、C D 8 3 、4 - 1 B B (C D 1 3 7) 、O X 4 0 、リンパ球機能関連抗原 - 1 (L F A - 1) 、L I G H T 、N K G 2 C 及び B 7 - H 3 を含む T 細胞マーカー上に存在する。遮断されうる T 細胞抑制受容体には、4 - 1 B B 、P D - 1 、L A G 3 、T I M - 3 、B T L A 、C T L A - 4 及び C D 2 0 0 が含まれる。

20

【 0 0 8 1 】

C D 3 は T 細胞受容体の一次シグナル伝達要素である。C D 3 は、ガンマ () 、デルタ () 、イプシロン () 、ゼータ () 及びエータ () 鎖と称されるインバリアントタンパク質の一群から構成される。鎖、及び鎖は構造的に関連しており、それぞれは、I g 様細胞外定常ドメイン及びそれに続く膜貫通領域及び 4 0 個を超えるアミノ酸の細胞質ドメインを含有する。鎖及び鎖は、明らかに異なる構造を有し、両方は僅か 9 アミノ酸の非常に短い細胞外領域、膜貫通領域並びに及び鎖にそれぞれ 1 1 3 アミノ酸及び 1 1 5 アミノ酸を含む長い細胞質テールを有する。C D 3 複合体におけるインバリアントタンパク質鎖は会合して、鎖と鎖との非共有結合性ヘテロ二量体 () 、又は鎖と鎖との非共有結合性ヘテロ二量体 () 、又は鎖と鎖との非共有結合性ヘテロ二量体 () 、あるいは 2 つの鎖のジスルフィド結合ホモ二量体 () を形成する。C D 3 複合体の 9 0 % はホモ二量体を含む。

30

40

【 0 0 8 2 】

C D 3 鎖の細胞質領域は、免疫受容体チロシンに基づく活性化モチーフ (I T A M) と称されるモチーフを含む。このモチーフは、I g E 及び I g G に対する F c 受容体並びに B 細胞受容体複合体の I g - / I g - ヘテロ二量体を含む多数の他の受容体において見出される。I T A M 部位は細胞質チロシンキナーゼと会合し、T C R 媒介誘発後のシグナル伝達に参与する。C D 3 においては、鎖、鎖及び鎖はそれぞれ、I T A M の単一コピーを含有し、一方、鎖及び鎖はそれらの長い細胞質領域内に 3 つの I T A M を含有する。実際、鎖及び鎖は T 細胞活性化シグナル伝達経路における主要な役割を担っている。

【 0 0 8 3 】

50

CD3は全ての成熟T細胞上で発現される。特定の実施形態においては、CD3結合ドメイン（例えば、scFv）はOKT3抗体（ブリナツモマブにおいて使用されているものと同じ）に由来する。OKT3抗体は米国特許第5,929,212号に詳細に記載されている。それは、SASSSVSYM N（配列番号100）を含むCDRL1配列、RWIYDTSKLAS（配列番号101）を含むCDRL2配列及びQQWSSNPFT（配列番号102）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、KASGYTFTRYTMH（配列番号103）を含むCDRH1配列、INPSRGYTNYNQKFKD（配列番号104）を含むCDRH2配列及びYYDDHYCLDY（配列番号105）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。

10

【0084】

以下の配列は、CD3に結合する能力を保有するOKT3に由来するscFvである。

【0085】

【化1】

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGGLWIGYINPSRGY
TNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
SGGGGSGGGGSGGGGSGQIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKR
WIYDTSKLASGVP AHFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR
(配列番号106)

20

それはまた、CD3結合ドメインとして使用されうる。

【0086】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、QSLVHNNGNTY（配列番号107）を含むCDRL1配列、KVSを含むCDRL2配列及びGQGTQYPFT（配列番号109）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、GFTFTKAW（配列番号110）を含むCDRH1配列、IKDKSNSYAT（配列番号111）を含むCDRH2配列及びRGVYYALSPFDY（配列番号112）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。これらは20G6-F3抗体のCDR配列を表す。

30

【0087】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、QSLVHDNNGNTY（配列番号113）を含むCDRL1配列、KVSを含むCDRL2配列及びGQGTQYPFT（配列番号115）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、GFTFSNAW（配列番号116）を含むCDRH1配列、IKARSNNYAT（配列番号117）を含むCDRH2配列及びRGTYYYASKPFDY（配列番号118）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例えば、scFv）である。これらは4B4-D7抗体のCDR配列を表す。

40

【0088】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、QSLVHNNGNTY（配列番号119）を含むCDRL1配列、KVSを含むCDRL2配列及びGQGTQYPFT（配列番号121）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン（例え

50

ば、s c F v)である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのB S - B D CのC D 3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、G F T F S N A W (配列番号1 2 2)を含むC D R H 1配列、I K D K S N N Y A T (配列番号1 2 3)を含むC D R H 2配列及びR Y V H Y G I G Y A M D A (配列番号1 2 4)を含むC D R H 3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン(例えば、s c F v)である。これらは4 E 7 - C 9抗体のC D R配列を表す。

【0089】

特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのB S - B D CのC D 3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、Q S L V H T N G N T Y (配列番号1 2 5)を含むC D R L 1配列、K V Sを含むC D R L 2配列及びG Q G T H Y P F T (配列番号1 2 7)を含むC D R L 3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン(例えば、s c F v)である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのB S - B D CのC D 3 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、G F T F T N A W (配列番号1 2 8)を含むC D R H 1配列、K D K S N N Y A T (配列番号1 2 9)を含むC D R H 2配列及びR Y V H Y R F A Y A L D A (配列番号1 3 0)を含むC D R H 3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン(例えば、s c F v)である。これらは1 8 F 5 - H 1 0抗体のC D R配列を表す。

【0090】

抗C D 3抗体、結合ドメイン及びC D Rの追加的な例はW O 2 0 1 6 / 1 1 6 6 2 6において見出されうる。T R 6 6も使用されうる。

【0091】

C D 2 8は、ヒトにおける末梢T細胞の80%に存在する表面糖タンパク質であり、休止T細胞及び活性化T細胞の両方に存在する。C D 2 8はB 7 - 1 (C D 8 0)及びB 7 - 2 (C D 8 6)に結合し、公知の同時刺激分子の中で最も強力である(Juneら, Immunol. Today 15:321(1994); Linsleyら, Ann. Rev. Immunol. 11:191(1993))。特定の実施形態においては、C D 2 8結合ドメイン(例えば、s c F v)はC D 8 0、C D 8 6又は9 D 7抗体に由来する。C D 2 8に結合する追加的な抗体には、9 . 3、K O L T - 2、1 5 E 8、2 4 8 . 2 3 . 2及びE X 5 . 3 D 1 0が含まれる。更に、1 Y J Dは、分裂促進性抗体(5 . 1 1 A 1)のF a bフラグメントと複合体を形成したヒトC D 2 8の結晶構造を与える。特定の実施形態においては、9 D 7と競合しない抗体が選択される。

【0092】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのB S - B D CはC D 2 8のエピトープに結合する。特定の実施形態においては、C D 2 8結合ドメインはT G N 1 4 1 2抗体のC D Rを含む。特定の実施形態においては、C D 2 8結合ドメインは、H A S Q N I Y V W L N (配列番号1 3 1)を含むC D R L 1配列、K A S N L H T (配列番号1 3 2)を含むC D R L 2配列及びQ Q G Q T Y P Y T (配列番号1 3 3)を含むC D R L 3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、C D 2 8結合ドメインは、S Y Y I H (配列番号1 3 4)を含むC D R H 1配列、C I Y P G N V N T N Y N E K F K D (配列番号1 3 5)を含むC D R H 2配列及びS H Y G L D W N F D V (配列番号1 3 6)を含むC D R H 3配列を含む可変重鎖を含む。

【0093】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのB S - B D CはC D 8 0 / C D 8 6のエピトープに結合する。C D 8 0 (B 7 - 1、UniProt ID No. P 3 3 6 8 1、配列番号1 3 7とも称される)及びC D 8 6 (B 7 - 2、UniProt ID No. P 4 2 0 8 1、配列番号1 3 8とも称される)は共に、T細胞活性化及び生存のための同時刺激シグナルを与える。特定の実施形態においては、C D 8 0 / C D 8 6結合ドメイン(例えば、s c F v)は、米国特許第7,531,175号に記載されている1以上のモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、C D 8 0 / C D 8 6結合ドメインは、S V S S S I S S S N L H (配列番号1 3 9)を含むC D R L 1

配列、G T S N L A S (配列番号 1 4 0) を含む C D R L 2 配列及び Q Q W S S Y P L T (配列番号 1 4 1) を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、C D 8 0 / C D 8 6 結合ドメインは、D Y Y M H (配列番号 1 4 2) を含む C D R H 1 配列、W I D P E N G N T L Y D P K F Q G (配列番号 1 4 3) を含む C D R H 2 配列及び E G L F F A Y (配列番号 1 4 4) を含む C D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。

【0094】

活性化 T 細胞は 4 - 1 B B (C D 1 3 7) を発現する。T 細胞は更に、ヘルパー細胞 (C D 4 + T 細胞) 及び細胞傷害性 T 細胞 (C T L、C D 8 + T 細胞) (これは細胞溶解性 T 細胞を含む) に分類されうる。T ヘルパー細胞は、とりわけ、形質細胞への B 細胞の成熟並びに細胞傷害性 T 細胞及びマクロファージの活性化を含む免疫学的過程において他の白血球を補助する。これらの細胞は、それらの表面上で C D 4 タンパク質を発現するため、C D 4 + T 細胞としても公知である。ヘルパー T 細胞は、それが、抗原提示細胞 (A P C) の表面上で発現される M H C クラス I I 分子によりペプチド抗原と共に提示されると、活性化される。それは、一旦活性化されると、急速に分裂し、活性免疫応答を調節又は補助するサイトカインと称される小さなタンパク質を分泌する。

【0095】

特定の実施形態は、C D 3、T L R 2 若しくは C D 2 8 に結合することにより、並びに / 又は 4 - 1 B B、P D - 1、L A G 3、T I M - 3、B T L A、C T L A - 4、C D 2 0 0 及び / 若しくは V I S T A に結合して C D 4 T 細胞の抑制を遮断することにより、C D 4 T 細胞を活性化することを含みうる。

【0096】

T L R 2 (U n i P r o t I D N o . O 6 0 6 0 3、配列番号 1 4 5) は細菌性リポタンパク質及び他の微生物細胞壁成分に対する自然免疫応答に関与する。特定の実施形態においては、T L R 2 結合ドメインは抗 T L R 2 抗体に由来する。商業的に入手可能な抗 T L R 2 抗体には、抗 h T L R 2 - I g A 及び m A b - h T L R 2 (共に I n v i v o g e n から入手可能) が含まれる。

【0097】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも 1 つの B S - B D C は同時刺激受容体 4 - 1 B B のエピトープに結合する。4 - 1 B B は C D 1 3 7 又は T N F S F 9 (U n i P r o t I D N o . Q 0 7 0 1 1、配列番号 1 4 6) と称され、T 細胞同時刺激受容体である。特定の実施形態においては、4 - 1 B B 結合ドメイン (例えば、s c F v) は、米国特許第 9, 382, 328 B 2 号に記載されているモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、4 - 1 B B 結合ドメインは、R A S Q S V S (配列番号 1 4 7) を含む C D R L 1 配列、A S N R A T (配列番号 1 4 8) を含む C D R L 2 配列及び Q R S N W P P A L T (配列番号 1 4 9) を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、4 - 1 B B 結合ドメインは、Y Y W S (配列番号 1 5 0) を含む C D R H 1 配列、I N H を含む C D R H 2 配列及び Y G P G N Y D W Y F D L (配列番号 1 5 2) を含む C D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。

【0098】

特定の実施形態においては、4 - 1 B B 結合ドメインは、S G D N I G D Q Y A H (配列番号 2 6 1) を含む C D R L 1 配列、Q D K N R P S (配列番号 2 6 2) を含む C D R L 2 配列及び A T Y T G F G S L A V (配列番号 2 6 3) を含む C D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、4 - 1 B B 結合ドメインは、G Y S F S T Y W I S (配列番号 2 6 4) を含む C D R H 1 配列、K I Y P G D S Y T N Y S P S (配列番号 2 6 5) を含む C D R H 2 配列及び G Y G I F D Y (配列番号 2 6 6) を含む C D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。

【0099】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも 1 つの B S - B D C はプログラム細胞死タンパク質 1 (P D - 1) のエピトープに結合する。P D - 1 は C D 2 7 9 (U n i P r o t I D N o . Q 1 5 1 1 6、配列番号 1 5 3) と称され、T 細胞免疫応答

10

20

30

40

50

の調節に關与する抑制性細胞表面受容体である。特定の実施形態においては、PD - 1 結合ドメイン（例えば、scFv）は、米国特許公開第2011/0271358号に記載されているモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、PD - 1 結合ドメインは、RASQSVSTSGYSYMH（配列番号154）を含むCDRL1配列、FGSNLES（配列番号155）を含むCDRL2配列及びQHSWEIPYT（配列番号156）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、PD - 1 結合ドメインは、SSWIH（配列番号157）を含むCDRH1配列、YIYPSTGFTEYNQKF KD（配列番号158）を含むCDRH2配列及びWRDSSGYHAMDY（配列番号159）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

【0100】

特定の実施形態においては、PD - 1 結合ドメイン（例えば、scFv）は、米国特許出願第20090217401A1号に記載されているモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態では、PD - 1 結合ドメインは、RASQSVSSYL A（配列番号160）を含むCDRL1配列、DASNRA T（配列番号161）を含むCDRL2配列及びQQSSNWPR T（配列番号162）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、PD - 1 結合ドメインは、NSGMH（配列番号163）を含むCDRH1配列、VLWYDGS KRY YADS VKG（配列番号164）を含むCDRH2配列及びNDDY（配列番号165）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

【0101】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS - BDCはリンパ球活性化遺伝子3タンパク質（LAG3）のエピトープに結合する。LAG3はCD223（UniProt ID No. P18627、配列番号166）とも称され、HLAクラスII抗原に結合し、リンパ球の活性化に關与する。特定の実施形態においては、LAG3 結合ドメイン（例えば、scFv）は、PCT特許公開WO/2014/008218に記載されているモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、LAG3 結合ドメインは、RASQSIS SYL A（配列番号167）を含むCDRL1配列、DASNRA T（配列番号168）を含むCDRL2配列及びQQRSNWPL T（配列番号169）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、LAG3 結合ドメインは、DYYWN（配列番号170）を含むCDRH1配列、EINH RGSTNSNP S L K S（配列番号171）を含むCDRH2配列及びGYS DYEY NWFD P（配列番号172）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

【0102】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS - BDCはT細胞免疫グロブリンムチン受容体3（TIM - 3）のエピトープに結合する。TIM - 3はHAV cr - 2又はTIMD - 3（UniProt ID No. Q9TDQ0；配列番号173）としても公知であり、自然免疫応答及び適応免疫応答において抑制的な役割を果たす細胞表面受容体である。特定の実施形態においては、TIM - 3 結合ドメイン（例えば、scFv）は、米国特許公開第2015/0218274号に記載されているモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、TIM - 3 結合ドメインは、SESV EY YGTSL（配列番号174）を含むCDRL1配列、AASを含むCDRL2配列及びSRKDP S（配列番号176）を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、TIM - 3 結合ドメインは、GYTFTSY（配列番号177）を含むCDRH1配列、YPGN GD（配列番号178）を含むCDRH2配列及びVG GAFPM DY（配列番号179）を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

【0103】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS - BDCはB及びTリンパ球アテニューエーター（BT LA）のエピトープに結合する。BT LAはCD272（UniProt ID No. Q7Z6A9、配列番号180）としても公知であり、リンパ球の免疫応答を抑制する抑制性受容体である。特定の実施形態においては、BT LA

10

20

30

40

50

結合ドメイン（例えば、s c F v）は、米国特許公開第2012/0288500号に記載されている1以上のモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、B T L A 結合ドメインは、R A S Q S V S S S Y L A（配列番号181）を含むC D R L 1 配列、G A S S R A T（配列番号182）を含むC D R L 2 配列及びQ Q Y G S S I T（配列番号183）を含むC D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、B T L A 結合ドメインは、T I G V G V N（配列番号184）を含むC D R H 1 配列、L I Y W D D D K R Y S P S L K R（配列番号185）を含むC D R H 2 配列及びS G I T E V R G V I I H Y Y G M D V（配列番号186）を含むC D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。

【0104】

特定の実施形態においては、B T L A 結合ドメインは、R A S Q S V S S S Y L A（配列番号187）を含むC D R L 1 配列、G A S S R A T（配列番号188）を含むC D R L 2 配列及びQ Q Y G S S P P I T（配列番号189）を含むC D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、B T L A 結合ドメインは、T S G M C V S（配列番号190）を含むC D R H 1 配列、L I D W D D V K Y Y S S S L K T（配列番号191）を含むC D R H 2 配列及びI R F T M F R G V Y Y Y Y G L D V（配列番号192）を含むC D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。

【0105】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのB S - B D Cは細胞傷害性Tリンパ球タンパク質5（C T L A - 4）のエピトープに結合する。C T L A - 4はC D 1 5 2（UniProt ID No. P16410、配列番号193）としても公知であり、T細胞応答の主要な負の調節因子である抑制性受容体である。特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメイン（例えば、s c F v）は、米国特許第6,984,720号に記載されているモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメインはH u 2 6 B 抗体のC D Rを含む。特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメインは、R A S Q S V G S S Y L A（配列番号194）を含むC D R L 1 配列、G A F S R A T（配列番号195）を含むC D R L 2 配列及びQ Q Y G S S P W T（配列番号196）を含むC D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメインは、S Y T M H（配列番号197）を含むC D R H 1 配列、F I S Y D G N N K Y Y A D S V K G（配列番号198）を含むC D R H 2 配列及びT G W L G P F D Y（配列番号199）を含むC D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。

【0106】

特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメインは、R A S Q G I S S W L A（配列番号200）を含むC D R L 1 配列、A A S S L Q S（配列番号201）を含むC D R L 2 配列及びQ Q Y N S Y P P T（配列番号202）を含むC D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメインは、S Y G M H（配列番号203）を含むC D R H 1 配列、V I W Y D G S N K Y Y A D S V K G（配列番号204）を含むC D R H 2 配列及びA P N Y I G A F D V（配列番号205）を含むC D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。

【0107】

特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメインは、S A T S S I T Y M S（配列番号206）を含むC D R L 1 配列、D T S N L A S（配列番号207）を含むC D R L 2 配列及びQ Q W S S Y P L T（配列番号208）を含むC D R L 3 配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、C T L A - 4 結合ドメインは、S Y G V Y（配列番号209）を含むC D R H 1 配列、V I W A G G T T N Y N S A L M S（配列番号210）を含むC D R H 2 配列及びG P P H A M M K R G Y A M D Y（配列番号211）を含むC D R H 3 配列を含む可変重鎖を含む。これらは、米国特許出願US 20020039581 A 1に記載されているC D R 配列を表す。

【0108】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS-BDCはCD200のエピトープに結合する。CD200(ox-2膜糖タンパク質としても公知である; UniProt ID No. P41217、配列番号212)は、免疫細胞に抑制性シグナルを送達しうるタンパク質である。特定の実施形態においては、CD200結合ドメイン(例えば、scFv)は、米国特許公開第2013/0189258号に記載されている1以上のモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、CD200結合ドメインは、RASESVDSYGNSFMH(配列番号213)を含むCDRL1配列、RASNLES(配列番号214)を含むCDRL2配列及びQQSNE DPRT(配列番号215)を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、CD200結合ドメインは、GFTFSGFAMS(配列番号216)を含むCDRH1配列、SISSGGTTYLLDSVKG(配列番号217)を含むCDRH2配列及びGNYYSGTSDY(配列番号218)を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

10

20

30

40

50

【0109】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS-BDCは、T細胞活性化前駆体のV型免疫グロブリンドメイン含有抑制因子(VISTA; NP_071436.1; 配列番号219)のエピトープに結合する。VISTAに対する結合ドメインは、例えば、R&D Systems, LifeSpan Biosciences, Invitrogen, BioLegend, BD Biosciences及びAbcamから入手可能な抗体に由来しうる。特定の実施形態においては、VISTA結合ドメイン(例えば、scFv)は、米国特許出願第2017/0051061号又は国際特許公開WO2015097536A2に記載されている1以上のモノクローナル抗体に由来する。特定の実施形態においては、VISTA結合ドメイン(例えば、scFv)は、VISTAに結合しVISTAシグナリングを抑制する抗体JNJ-61610588に由来する。特定の実施形態においては、VISTA結合ドメインは、GGTFSSY(配列番号220)を含むCDRL1配列、IIPIFT(配列番号221)を含むCDRL2配列及びARSSYGW(配列番号222)を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含む。特定の実施形態においては、VISTA結合ドメインは、QSIDTR(配列番号223)を含むCDRH1配列、SASを含むCDRH2配列及びQQSAYNP(配列番号225)を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含む。

【0110】

細胞傷害性T細胞は腫瘍細胞を破壊する。これらの細胞は、それらの表面にCD8糖タンパク質を発現するため、CD8+ T細胞としても公知である。これらの細胞は、身体のほぼ全ての細胞の表面上に存在するMHCクラスIに関連する抗原に結合することにより、それらの標的を認識する。特定の実施形態は、CD3、CD28若しくは4-1BBに結合することにより、及び/又はPD-1、LAG3、TIM-3若しくはVISTAに結合してCD8 T細胞の抑制を遮断することにより、CD8 T細胞を活性化することを含む。

【0111】

CD8上のエピトープに結合する結合ドメインを含む、本明細書に開示されている特定の実施形態。特定の実施形態においては、CD8結合ドメイン(例えばscFv)はOKT8抗体に由来する。例えば、特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD8 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、RTSRSSISQYLA(配列番号226)を含むCDRL1配列、SGSTLQS(配列番号227)を含むCDRL2配列及びQQHNENPLT(配列番号228)を含むCDRL3配列を含む可変軽鎖を含むヒト又はヒト化結合ドメイン(例えば、scFv)である。特定の実施形態においては、グループにおける少なくとも1つのBS-BDCのCD8 T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、GFNIKD(配列番号229)を含むCDRH1配列、RIDPANDNT(配列番号230)を含むCDRH2配列及びGYGYVFDH(配列番号231)を含むCDRH3配列を含む可変重鎖を含むヒト又はヒト化結合ド

メイン（例えば、s c F v）である。これらはO K T抗体のC D R配列を表す。

【0112】

特定の実施形態においては、結合ドメインは、関心のある標的エピトープに特異的なV - C、V - C、V - V ペアを含む、又はV / 及びC / 鎖（例えば、V - C、V - C、V - V）を含む一本鎖T細胞受容体（s c T C R）である。特定の実施形態においては、T細胞活性化エピトープ結合ドメインは公知T C R（例えば、高アフィニティT C R）のV、V、C又はCに由来する又は基づくことが可能である。

【0113】

特定の実施形態においては、T細胞活性化エピトープ結合ドメインは、公知T C RのV、V、C又はCと比較した場合の1以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個）の挿入、1以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個）の欠失、1以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個）のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換又は非保存的アミノ酸置換）又は前記変化の組合せを含む。挿入、欠失又は置換はV、V、C又はC領域（これらの領域のアミノ若しくはカルボキシ末端又は両端を含む）のどこに存在していてもよいが、ただし、各C D Rは変化を含まないか、又は多くとも1つ、2つ若しくは3つの変化を含み、V、V、C又はC領域を含む結合ドメインは、野生型に類似したアフィニティでその標的に尚も特異的に結合しうる。

【0114】

特定の実施形態においては、ナチュラルキラー細胞（NK細胞、K細胞及びキラー細胞としても公知である）はS M I T Eによる局所的活性化のために標的化される。NK細胞は、細胞膜を破壊する顆粒を放出することによりアポトーシス又は細胞溶解を誘導することが可能であり、サイトカインを分泌して他の免疫細胞をリクルートしうる。

【0115】

NK細胞の表面上で発現される活性化タンパク質の例には、N K G 2 D、C D 8、C D 1 6、K I R 2 D L 4、K I R 2 D S 1、K I R 2 D S 2、K I R 3 D S 1、N K G 2 C、N K G 2 E、N K G 2 D及び天然細胞傷害性受容体（N C R）ファミリーの幾つかのメンバーが含まれる。リガンド結合の際にNK細胞を活性化するN C Rの例には、N K p 3 0、N K p 4 4、N K p 4 6、N K p 8 0及びD N A M - 1が含まれる。

【0116】

NK細胞受容体に結合し、NK細胞の活性化を誘導及び/又は増強する商業的に入手可能な抗体の例には、N C G 2 Dに結合しそれを活性化する5 C 6及び1 D 1 1（B i o L e g e n d（登録商標）S a n D i e g o, C Aから入手可能）、K I R 2 D L 4に結合しそれを活性化するm A b 3 3（B i o L e g e n d（登録商標）から入手可能）、N K p 4 4に結合しそれを活性化するP 4 4 - 8（B i o L e g e n d（登録商標）から入手可能）、C D 8に結合しそれを活性化するS K 1、並びにC D 1 6に結合しそれを活性化する3 G 8が含まれる。

【0117】

特定の実施形態においては、B S - B D CはNK細胞抑制性受容体に結合し、それを遮断して、NK細胞活性化を増強しうる。結合及び遮断されうるNK細胞抑制性受容体の例には、K I R 2 D L 1、K I R 2 D L 2 / 3、K I R 3 D L 1、N K G 2 A及びK L R G 1が含まれる。特定の実施形態においては、NK細胞抑制性受容体K I R 2 D L 1及びK I R 2 D L 2 / 3に結合し、それらを遮断する結合ドメインは、配列

【0118】

【化2】

EIVLTQSPVTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG
SGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWMTFGQGTKLEIKRT（配列番号 232）

の可変軽鎖領域、及び配列

【 0 1 1 9 】

【 化 3 】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCA

SGGTFSFYAISWVRQAPGQGLEWMGGFIPIFGAANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLR

SDDTAVYYCARIPSGSYYYDYDMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 233)

の可変重鎖領域を含む。

【 0 1 2 0 】

追加的なNK細胞活性化抗体はWO / 2 0 0 5 / 0 0 0 3 1 7 2 及び米国特許第 9 , 4 1 5 , 1 0 4 号に記載されている。

10

【 0 1 2 1 】

特定の実施形態においては、マクロファージはSMITEによる局所的活性化のために標的化される。マクロファージは、食作用として公知の過程で細胞、細胞片及び/又は異物を飲み込み消化しうる一種の白血球(又は白血球細胞)である。

【 0 1 2 2 】

BS-BDCグループは、マクロファージの表面上で発現されるタンパク質に結合するように設計されうる。マクロファージ(及びそれらの前駆体、単球)の表面上で発現される活性化タンパク質の例には、CD11b、CD11c、CD64、CD68、CD119、CD163、CD206、CD209、F4/80、IFGR2 Toll様受容体(TLR)1~9、IL-4R 及びMARCOが含まれる。マクロファージの表面上で発現されるタンパク質に結合する商業的に入手可能な抗体には、CD11bに結合しそれを活性化するM1/70(BioLegend(登録商標)から入手可能)、CD68に結合しそれを活性化するKP1(ABCAM(登録商標)、Cambridge, United Kingdomから入手可能)、及びCD163に結合しそれを活性化するab87099(ABCAM(登録商標)から入手可能)が含まれる。

20

【 0 1 2 3 】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS-BDCはCD40のエピトープに結合する。CD40(又は腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー5、UniProt ID No. P25942、配列番号234)は、マクロファージにおいて活性化シグナルを伝達しうる受容体である。特定の実施形態においては、CD40結合ドメインはCD40活性化抗体CP-870,893に由来する。

30

【 0 1 2 4 】

特定の実施形態においては、マクロファージ(及びそれらの前駆体、単球)により発現される抑制性タンパク質の例には、プログラム細胞死リガンド1及び2(PD-L1及びPD-L2)及びガレクチン9(Gal-9)が含まれる。

【 0 1 2 5 】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS-BDCはPD-L1に結合し、それを抑制する。PD-L1(CD274又はB7-H1としても公知; UniProt ID No. Q9NZQ7、配列番号235)はT細胞増殖及びサイトカイン産生を抑制しうる。特定の実施形態においては、PD-L1結合ドメインは抗PD-L1抗体に由来しうる。PD-L1を遮断する商業的に入手可能な抗体の一例はニボルマブ(Nivolumab)である。PD-L1に結合し、それを中和する中和抗体の一例はモノクローナル抗体71213(BPS Bioscienceから入手可能)である。

40

【 0 1 2 6 】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS-BDCはPD-L2のエピトープに結合する。PD-L2(CD273としても公知; UniProt ID No. Q9WUL5、配列番号236)はTIM-3と相互作用し、調節性T細胞の増殖を誘導し、細胞傷害性T細胞のアポトーシスを誘導しうる。特定の実施形態においては、PD-L2結合ドメインは抗PD-L2抗体に由来する。商業的に入手可能なPD-L2抗体の一例には、TY25(Abcamから入手可能なab21107)が含まれる。

50

【0127】

特定の実施形態においては、グループ内の少なくとも1つのBS-BDCはGal-9 (UniProt ID No. O00182、配列番号237)のエピトープに結合する。特定の実施形態においては、Gal-9結合ドメインは、TIM-3への結合を遮断する抗Gal-9抗体に由来しうる。TIM-3結合を遮断する商業的に入手可能な抗Gal-9抗体の一例は9M1-3 (Biolegendから入手可能)である。

【0128】

特定の実施形態においては、SMITEは病原体認識受容体(PRR)を標的化しうる。PRRは、危険なシグナルを認識し、自然免疫応答を活性化及び/又は増強するタンパク質又はタンパク質複合体である。PRRの例には、グラム陰性菌を認識するTLR4/MD-2複合体、真菌及び他の病原体上のマンノース部分を認識するデクチン(Dectin)-1及びデクチン-2、グラム陽性菌を認識するTLR2/TLR6又はTLR2/TLR1ヘテロ二量体、フラジェリンを認識するTLR5、ならびにDNAにおけるCpGモチーフを認識するTLR9(CD289)が含まれる。特定の実施形態においては、BS-BDCはTLR4/MD-2、デクチン-1、デクチン-2、TLR2/TLR6、TLR2/TLR1、TLR5及び/又はTLR9に結合し、活性化しうる。

【0129】

特定の実施形態においては、SMITEは補体系を標的化しうる。補体系は、抗原結合抗体により誘導され補体タンパク質のシグナル伝達に関与して免疫認識及び抗体被覆抗原の排除をもたらす免疫経路を意味する。特定の実施形態においては、BS-BDCは補体活性化抗体に結合しうる。

【0130】

示されているとおり、特定の実施形態においては、本開示の結合ドメインV_H領域は、公知モノクローナル抗体のV_Hに由来又は基づくことが可能であり、公知モノクローナル抗体のV_Hと比較した場合の1以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個)の挿入、1以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個)の欠失、1以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換又は非保存的アミノ酸置換)又は前記変化の組合せを含みうる。挿入、欠失又は置換はV_H領域(この領域のアミノ若しくはカルボキシ末端又は両端を含む)のどこに存在していてもよいが、ただし、各CDRは変化を含まないか、又は多くとも1つ、2つ若しくは3つの変化を含み、修飾V_H領域を含む結合ドメインは、野生型結合ドメインに類似したアフィニティでその標的に尚も特異的に結合しうる。

【0131】

特定の実施形態においては、本開示の結合ドメインにおけるV_L領域は、公知モノクローナル抗体のV_Lに由来又は基づくことが可能であり、公知モノクローナル抗体のV_Lと比較した場合の1以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個)の挿入、1以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個)の欠失、1以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換又は非保存的アミノ酸置換)又は前記変化の組合せを含む。挿入、欠失又は置換はV_L領域(この領域のアミノ若しくはカルボキシ末端又は両端を含む)のどこに存在していてもよいが、ただし、各CDRは変化を含まないか、又は多くとも1つ、2つ若しくは3つの変化を含み、修飾V_L領域を含む結合ドメインは、野生型結合ドメインに類似したアフィニティでその標的に尚も特異的に結合しうる。

【0132】

特定の実施形態においては、結合ドメインは、軽鎖可変領域(V_L)又は重鎖可変領域(V_H)又は両方の既知アミノ酸配列に対して少なくとも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%、少なくとも99.5%又は100%同一である配列を含む又は該配列であり、ここで、各CDRは、関心のあ

10

20

30

40

50

の変化を含まないか、又は多くとも1つ、2つ若しくは3つの変化を含む。

【0133】

特定の実施形態は、2つの異なるがん抗原エピトープ並びにCD3及びCD28に結合するBS-BDCグループを含む。特定の実施形態は、異なるがん抗原エピトープ並びにCD3、CD28及びCD137(4-1BB)に結合するBS-BDCグループを含む。特定の実施形態は、異なるがん抗原エピトープ、並びに(i)CD3上の2つの異なるエピトープ及び(ii)CD28に結合するBS-BDC基を含む。特定の実施形態は、異なるがん抗原エピトープ、並びに(i)CD28上の2つの異なるエピトープ及び(ii)CD3に結合するBS-BDCグループを含む。

【0134】

特定の実施形態は、ROR1/CD3、ROR1/CD28、CD33/CD3、CD19/CD3、CD123/CD3、CD33/CTLA-4、CD33/CD28、CD123/CD28、及びPD-L1/CD28に結合するBS-BDCを含む。特定の実施形態は、以下の表1に示されているとおり、T細胞活性化エピトープと組合せられたがん抗原エピトープを使用しうる。

【0135】

【表4】

表1. 例示的な標的化がん抗原エピトープ/T細胞活性化エピトープの組合せ

	CD3	CD28	CD8
ROR1-A	ROR1-A/CD3	ROR1-A/CD28	ROR1-A/CD8
ROR1-a	ROR1-a/CD3	ROR1-a/CD28	ROR1-a/CD8
ROR1-B	ROR1-B/CD3	ROR1-B/CD28	ROR1-B/CD8

【0136】

この表及び本明細書の他の部分においては、ROR1-AはR11と同義に解釈されることが可能であり、ROR1-Bは2A2と同義に解釈されることが可能であり、ROR1-aはR12と同義に解釈されることが可能である。R12抗体は、R11及び2A2により結合されるエピトープとは異なる非重複性であるエピトープを標的化する。R11及び2A2は、異なる非競合性であるエピトープを標的化し、したがって、これらの2つはROR-1に同時に結合しうる。

【0137】

前記表におけるROR1エピトープは、本明細書に開示されている他のがん抗原(例えば、CD19、CD33、PSMA、メソテリン、CD123、PD-L1)由来のエピトープで置換されうる。特定の実施形態はBS-BDCグループ内にROR1/CD3及びROR1/CD28BS-BDCを含む。特定の実施形態はBS-BDCグループ内にROR1/CD28及びCD33/CD3BS-BDCを含む。特定の実施形態はBS-BDCグループ内にCD33/CD3及びPD-L1/CD28BS-BDCを含む。特定の実施形態はBS-BDCグループ内にCD19/CD3及びPD-L1/CD28BS-BDCを含む。特定の実施形態はBS-BDCグループ内にCD123/CD28及びCD123/CD3BS-BDCを含む。特定の実施形態はBS-BDCグループ内にCD33/CD3及びCD123/CD28BS-BDCを含む。

【0138】

特定の実施形態においては、BS-BDCの各グループは同一がん抗原上の少なくとも2つの異なるエピトープを標的化する。追加的なエピトープが標的化される場合、該追加的なエピトープは同一がん抗原上に存在することが可能であり、又は異なるがん抗原上に存在することが可能である。

【0139】

本明細書に記載されているBS-BDCグループ内で使用されうる二重特異性T細胞結合抗体の特定の例には、とりわけ、MDT000098(配列番号238;bAb__2A

10

20

30

40

50

2 - C D 2 8 - H i s)、M D T 0 0 0 0 9 9 (配列番号 2 3 9 ; b A b _ _ 2 A 2 - C D 8 - H i s)、M D T 0 0 0 1 0 0 (配列番号 2 4 0 ; b A b _ _ R 1 1 - C D 3 - M y c - H i s)、M D T 0 0 0 3 2 7 (配列番号 2 4 1 ; b A b _ _ R 1 1 - C D 3 - H i s (M D T 0 0 0 1 0 0 の形態 2))、M D T 0 0 0 3 4 6 (配列番号 2 4 2 ; b A b _ _ R 1 1 - C D 2 8 - H i s)、M D T 0 0 0 3 2 0 (配列番号 2 4 3 ; b A b _ _ R 1 2 - C D 3 - H i s)、M D T 0 0 0 3 4 7 (配列番号 2 4 4 ; _ b A b _ _ R 1 2 - C D 2 8 - H i s)、M D T 0 0 0 3 1 9 (配列番号 2 4 5 ; _ b A b _ _ 2 A 2 - C D 3 - H i s)、M D T 0 0 0 3 5 9 (配列番号 2 4 6 ; _ b A b _ _ P D L 1 - C D 2 8 - H i s)、M D T 0 0 0 4 7 9 (配列番号 2 4 7 ; _ s c F v _ _ C D 2 8 _ T G N 1 4 1 2 - H i s)、M D T 0 0 0 4 8 0 (配列番号 2 4 8 ; _ s c F v _ _ P D L 1 _ T e c e n t r i q - H i s)、M D T 0 0 0 2 4 4 (配列番号 2 4 9 ; _ b A b _ _ B l i n c y t o - H i s)、M D T 0 0 0 2 4 5 (配列番号 2 5 0 ; b A b _ _ A M G 3 3 0 - H i s)、M D T 0 0 0 4 7 0 (配列番号 2 5 1 ; _ b A b _ _ B l i n c y t o - C D 2 8 - H i s)、R O R 1 及び 4 - 1 B B を標的化する B S - B D C (配列番号 2 5 2 ; b A b _ _ R 1 2 - C D 1 3 7 - H i s)、W O 2 0 1 4 / 1 6 7 0 2 2 に記載されている R O R 1 / C D 3 二重特異性抗体、C D 1 9 / C D 3 抗体 (プリナツモマブ)、U S 2 0 1 6 / 0 2 0 8 0 0 1 に記載されている C D 1 9 / C D 3 抗体、並びに / 又は U S 2 0 1 4 / 0 3 0 2 0 3 7 及び U S 2 0 1 4 / 0 3 0 8 2 8 5 に記載されている H e r 2 / C D 3 抗体が含まれる。

10

20

【 0 1 4 0 】

示されているとおり、B S - B D C の結合ドメインはリンカーを介して連結されうる。リンカーは、B S - B D C の結合ドメイン間のコンホメーション移動のための柔軟性及び空間を提供しうるアミノ酸配列である。任意の適切なリンカーが、使用されうる。リンカーの例は、C h e n ら , A d v D r u g D e l i v R e v . 2 0 1 3 O c t 1 5 ; 6 5 (1 0) : 1 3 5 7 - 1 3 6 9 において見出されうる。リンカーは、標的に対する所望の機能ドメイン提示に応じて、柔軟性、剛性又は半剛性でありうる。一般的に使用される柔軟性 (可動性) リンカーには、G l y - S e r リンカー、例えば、G G S G G G S G G S G (配列番号 1 2 0)、G G S G G G S G S G (配列番号 1 5 1) 及び G G S G G G S G (配列番号 1 7 5) が含まれる。追加的な例には、G G G S G G G G S (配列番号 2 2 4)、G G G S G G G S (配列番号 1 0 8) 及び G G S G G S (配列番号 1 1 4) が含まれる。1 以上の抗体ヒンジ領域及び / 又は免疫グロブリン重鎖定常領域、例えば C H 3 のみ又は C H 2 C H 3 配列を含むリンカーも使用されうる。

30

【 0 1 4 1 】

幾つの場合には、柔軟性リンカーは、個々の用途に必要な結合ドメインの距離又は配置を維持し得ない可能性がある。これらの場合には、剛性又は半剛性リンカーが有用でありうる。剛性又は半剛性リンカーの例には、プロリンに富むリンカーが含まれる。特定の実施形態においては、プロリンに富むリンカーは、偶然のみに基づいて予想されるものより多数のプロリン残基を有するペプチド配列である。特定の実施形態においては、プロリンに富むリンカーは、少なくとも 3 0 %、少なくとも 3 5 %、少なくとも 3 6 %、少なくとも 3 9 %、少なくとも 4 0 %、少なくとも 4 8 %、少なくとも 5 0 % 又は少なくとも 5 1 % のプロリン残基を有するものである。プロリンに富むリンカーの特定の例には、プロリンに富む唾液タンパク質 (唾液 P r 蛋白) (P R P) の断片が含まれる。

40

【 0 1 4 2 】

特定の実施形態においては、本明細書に開示されている B S - B D C は、P e c h m a n ら , A m J P h y s i o l 2 9 4 : R 1 2 3 4 - R 1 2 3 9 , 2 0 0 8 に記載されているようなダイダロス (D a e d a l u s) 発現系を使用して形成される。ダイダロス系は、ゲノムサイレンシングを低減又は予防し、デシグラムレベルの発現の安定性を維持するのを助けるために、導入ベクターにおける最小化遍在性クロマチンオープニングエレメントの含有を利用する。この系は、2 9 3 F r e e s t y l e のような無血清適応ヒト懸濁細胞株の分泌経路を使用することによる他のタンパク質製造方法の、面倒で時間

50

のかかる工程を回避しうる。最適化レンチウイルスベクターを使用して、70 kDaまでのサイズの適切にフォールディングした翻訳後修飾エンドトキシン非含有タンパク質が、20~100 mg/lの収量で、通常の小規模(100 ml)の培養において得られうる。これらの収量においては、ほとんどのタンパク質は、構造的、生物物理学的又は治療の用途での使用に直接的に適した単一のサイズ排除クロマトグラフィー工程を用いて精製されうる。Bandaranayakeら, *Nucleic Acids Res.*, 2011 (Nov); 39 (21)。幾つかの場合には、本明細書に記載されている方法による製造の純度ゆえに、クロマトグラフィーによる精製は不要かもしれない。

【0143】

特定の実施形態は、適切な調節配列に機能的に連結された1以上の目的タンパク質をコードする核酸配列を含むDNA構築物(例えば、キメラ遺伝子、発現カセット、発現ベクター、組換えベクターなど)を使用する。そのようなDNA構築物は、天然に存在するDNA分子ではなく、目的の選択されたタンパク質を発現させるためにDNAを宿主細胞内に導入するのに有用である。

10

【0144】

機能的に連結(された)は、コードされたタンパク質が発現されるようにDNA配列を連結すること(配列の順序、配列の配向及び種々の配列の相対的間隔を含む)を意味する。発現制御配列をコード配列に機能的に連結する方法は当技術分野においてよく知られている。例えば、Maniatisら, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, N.Y., 1982; 及びSambrookら, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989を参照されたい。

20

【0145】

発現制御配列は、転写又は翻訳の制御に何らかの形で関与するDNA配列である。適切な発現制御配列並びにそれらを製造及び使用する方法は当技術分野においてよく知られている。発現制御配列は一般にプロモーターを含む。プロモーターは誘導性又は構成的でありうる。それは、天然に存在するものであることが可能であり、天然に存在する種々のプロモーターの一部分から構成されることが可能であり、又は部分的若しくは全体的に合成物であることが可能である。プロモーター設計のための指針は、プロモーター構造の研究、例えば、Harley及びReynolds, *Nucleic Acids Res.*, 15, 2343-2361, 1987の研究により示されている。また、転写開始位置に対するプロモーターの位置が最適化されうる。例えば、Robertsら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76:760-764, 1979を参照されたい。

30

【0146】

プロモーターは1以上のエンハンサーエレメントを含むことが可能であり、又は1以上のエンハンサーエレメントを含むように修飾されうる。特定の実施形態においては、プロモーターは複数のエンハンサーエレメントを含む。エンハンサーエレメントを含むプロモーターは、それらを含まないプロモーターと比較して高いレベルの転写をもたらしうる。

40

【0147】

効率的な発現のためには、コード配列は3'非翻訳配列に機能的に連結されうる。特定の実施形態においては、3'非翻訳配列は転写終結配列及びポリアデニル化配列を含みうる。3'非翻訳領域は、例えば、遺伝子の隣接領域から得られうる。

【0148】

特定の実施形態では、5'非翻訳リーダー配列も使用されうる。5'非翻訳リーダー配列は、5'CAP部位から翻訳開始コドンまで伸長するmRNAの一部である。

【0149】

特定の実施形態においては、Avitag(アビタグ)アミノ酸配列“GLNDIFEAQKIEWHE”(配列番号126)をコードするヌクレオチド、及び6xヒスチジン

50

タグコード配列“HHHHHHH（配列番号260）”を付加することにより、「hisavvi」タグが遺伝子のN末端又はC末端に付加されうる。Avitagアビディータグは、タンパク質精製のためのビオチン-アビジン又はビオチン-ストレプトアビジンに基づく相互作用、ならびに抗ビオチン抗体を使用する免疫生物学的方法（例えば、免疫ブロット法又は免疫蛍光法）を可能にするためにビオチンリガーゼによりビオチン化される。6×ヒスチジンタグは、Ni-2+アフィニティークロマトグラフィーを用いるタンパク質精製を可能にする。

【0150】

本明細書に開示されているタンパク質をコードする核酸配列は、当業者により誘導される。核酸配列はまた、種々の配列多型、突然変異及び/又は配列変異体の1以上を含む。特定の実施形態においては、配列多型、突然変異及び/又は配列変異体は、コードされたタンパク質の機能に影響を及ぼさない。配列はまた、天然配列の縮重コドン、又はコドン優先性を付与するために導入されうる配列を含みうる。

10

【0151】

幾つかの態様においては、DNA構築物は、真核細胞の核内に外来DNAを導入することを含む技術であるトランスフェクションにより導入されうる。幾つかの態様においては、タンパク質は一過性トランスフェクションにより合成されうる（DNAは真核細胞のゲノムに組み込まれないが、遺伝子は24～96時間発現される）。外来DNAを宿主細胞内に導入するためには種々の方法が使用可能であり、リン酸カルシウムによる方法、デンドリマーによる方法、リボソームによる方法及びカチオン性ポリマーの使用による方法を含む化学的手段により、トランスフェクションが達成されうる。トランスフェクションの非化学的方法には、エレクトロポレーション、ソノポレーション、光学的トランスフェクション、プロトプラスト融合、インパレフェクション（impalefection）及び流体力学的運搬が含まれる。幾つかの実施形態においては、トランスフェクションは、遺伝子銃を含む、粒子に基づく方法により達成可能であり、この場合、DNA構築物を不活性固体のナノ粒子に結合させ、ついでこれを標的細胞の核内に直接的に「射撃（shoot）」する。粒子に基づく他のトランスフェクション方法には、磁石を利用するトランスフェクション及びインパレフェクションが含まれる。

20

【0152】

特定の実施形態においては、BS-BDCは、投与の利益をもたらすために修飾される。特定の実施形態においては、修飾BS-BDCは、1以上のアミノ酸が非アミノ酸成分で置換されているもの、又はアミノ酸が官能基にコンジュゲート化されている又は他の状態で官能基がアミノ酸に結合しているものを含む。修飾アミノ酸は、例えば、グリコシル化アミノ酸、PEG化アミノ酸、ファルネシル化アミノ酸、アセチル化アミノ酸、ビオチン化アミノ酸、脂質部分にコンジュゲート化されたアミノ酸、又は有機誘導体物質にコンジュゲート化されたアミノ酸でありうる。アミノ酸は、例えば、組換え製造中に翻訳と同時に若しくは翻訳後に修飾されることが可能であり（例えば、哺乳類細胞における発現中のN-X-S/TモチーフにおけるN結合グリコシル化）、又は合成手段により修飾される。修飾アミノ酸は配列の内部又は配列の末端に存在しうる。修飾は亜硝酸化構築物をも含む。

30

40

【0153】

PEG化は、特に、ポリエチレングリコール（PEG）ポリマー鎖がタンパク質のような他の分子に共有結合されるプロセスである。タンパク質をPEG化する幾つかの方法が文献に報告されている。例えば、タンパク質のN末端及びリシン残基の遊離アミン基をPEG化するために、N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）-PEGが使用された。還元剤の存在下でタンパク質のアミノ末端をPEG化するために、アルデヒド基を含有するPEGが使用されている。タンパク質中のシステイン残基の遊離チオール基を選択的にPEG化するために、マレイミド官能基を有するPEGが使用されている。アセチル-フェニルアラニン残基の部位特異的PEG化が行われうる。

【0154】

50

PEGへのタンパク質の共有結合は、体内のタンパク質の半減期を延ばすための有用な方法であることが証明されている (Abuchowski, A.ら, *Cancer Biochem. Biophys.*, 1984, 7: 175 - 186; Hershfild, M. S.ら, *N. Engl. J. Medicine*, 1987, 316: 589 - 596; 及び Meyers, F. J.ら, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1991, 49: 307 - 313)。タンパク質へのPEGの結合は、該分子を酵素分解から保護するだけでなく、身体からのそれらのクリアランス速度をも低下させる。タンパク質に結合したPEGのサイズは、タンパク質の半減期に大きな影響を及ぼしている。クリアランスを減少させるPEG化の能力は、一般に、タンパク質に結合しているPEG基の数の関数ではなく、改変タンパク質の全分子量の関数である。通常、PEGが大きいほど、結合タンパク質のインビボ半減期は長くなる。また、PEG化はタンパク質凝集を低減し (Suzukiら, *Biochem. Bioph. Acta* vol. 788, pg. 248 (1984))、タンパク質の免疫原性を改変し (Abuchowskiら; *J. Biol. Chem.* vol. 252 pg. 3582 (1977))、例えばPCT公開番号WO92/16221に記載されているとおり、タンパク質溶解度を増加させうる。

10

20

30

40

50

【0155】

幾つかのサイズのPEGが商業的に入手可能であり (Nektar Advanced PEGylation Catalog 2005 - 2006; 及びNOF DDS Catalogue Ver 7.1)、それらは、目標循環半減期を有するタンパク質を製造するのに適している。種々の活性PEGが使用されており、それらには、mPEGスクシンイミジルスクシナート、mPEGスクシンイミジルカルボナート、及びPEGアルデヒド、例えばmPEG - プロピオンアルデヒドが含まれる。

【0156】

公開データベースにより提供される配列情報を用いて、本明細書に開示されているシステム及び方法と共に使用されうる追加的な遺伝子及びタンパク質配列を特定することが可能である。

【0157】

結合ドメイン配列及びコード遺伝子配列の考察に関して既に示されているとおり、本明細書に開示され及び参照されている配列の変異体も含まれる。タンパク質の変異体には、例えば、図4～6に記載されている尺度においてタンパク質の機能に悪影響を及ぼさない1以上の保存的アミノ酸置換又は1以上の非保存的置換を有するものが含まれうる。「保存的置換」は、以下の保存的置換群のうちの1つに見出される置換を含む：群1：アラニン (Ala)、グリシン (Gly)、セリン (Ser)、トレオニン (Thr)；群2：アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)；群3：アスパラギン (Asn)、グルタミン (Gln)；群4：アルギニン (Arg)、リジン (Lys)、ヒスチジン (His)；群5：イソロイシン (Ile)、ロイシン (Leu)、メチオニン (Met)、バリン (Val)；及び群6：フェニルアラニン (Phe)、チロシン (Tyr)、トリプトファン (Trp)。

【0158】

また、アミノ酸は、類似した機能又は化学構造若しくは組成 (例えば、酸性、塩基性、脂肪族、芳香族、硫黄含有) により、保存的置換基に分類されうる。例えば、脂肪族群は、置換の目的では、Gly、Ala、Val、Leu及びIleを含みうる。互いに保存的置換と見なされるアミノ酸を含有する他の群は以下のものを含む：硫黄含有：Met及びシステイン (Cys)；酸性：Asp、Glu、Asn及びGln；小さな脂肪族、非極性又はわずかに極性の残基：Ala、Ser、Thr、Pro、及びGly；極性負荷電残基及びそれらのアミド：Asp、Asn、Glu及びGln；極性正電荷残基：His、Arg及びLys；大きな脂肪族非極性残基：Met、Leu、Ile、Val及びCys；並びに大きな芳香族残基：Phe、Tyr及びTrp。追加的な情報はCreighton (1984) *Proteins*, W. H. Freeman and Companyに見出される。

【 0 1 5 9 】

他の箇所に記載されているとおり、遺伝子配列の変異体は、統計的に有意な程度にはコード産物の機能に影響を及ぼさないコドン最適化変異体、配列多型、スプライス変異体及び/又は突然変異を含むうる。

【 0 1 6 0 】

本明細書に開示されているタンパク質及び核酸配列の変異体は、本明細書に記載又は開示されているタンパク質及び核酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、80%の配列同一性、85%の配列同一性、90%の配列同一性、95%の配列同一性、96%の配列同一性、97%の配列同一性、98%の配列同一性又は99%の配列同一性を有する配列をも含む。

10

【 0 1 6 1 】

「%の配列同一性（配列同一性の百分率）」は、配列を比較することにより決定される、2以上の配列間の関係を意味する。当技術分野においては、「同一性」は、一連の配列間のマッチ（一致）により決定される、タンパク質及び核酸配列間の配列関連性の度合をも意味する。「同一性」（「類似性」と称されることも多い）は、以下のものに記載されている方法（それらに限定されるものではない）を含む公知方法によって容易に計算される：Computational Molecular Biology (Lesk, A. M. 編) Oxford University Press, NY (1988); Biocomputing: Informatics and Genome Projects (Smith, D. W. 編) Academic Press, NY (1994); Computer Analysis of Sequence Data, Part I (Griffin, A. M. 及び Griffin, H. G. 編) Humana Press, NJ (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology (Von Heijne, G. 編) Academic Press (1987); 及び Sequence Analysis Primer (Gribkov, M. 及び Devereux, J. 編) Oxford University Press, NY (1992)。同一性を決定するための好ましい方法は、試験される配列の間で最良のマッチを与えるように設計される。同一性及び類似性を決定するための方法は、公的に利用可能なコンピュータープログラムにおいて体系化されている。配列アラインメント及び同一性の割合の計算は、LASERGENE バイオインフォマティクスコンピューティングスイート (DNASTAR, Inc., Madison, Wisconsin) の Megalign プログラムを使用して行われうる。また、配列の多重アラインメントは、デフォルトパラメーター (GAP PENALTY = 10, GAP LENGTH PENALTY = 10) で Clustal アラインメント法 (Higgins 及び Sharp CABIOS, 5, 151 - 153 (1989)) を使用して行われうる。関連プログラムには、GCG プログラム一式 (Wisconsin Package Version 9.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin); BLASTP、BLASTN、BLASTX (Altschul, J. Mol. Biol. 215: 403 - 410 (1990)); DNASTAR (DNASTAR, Inc., Madison, Wisconsin); 及び Smith-Waterman アルゴリズムを組み込んだ FASTA プログラム (Pearson, Comput. Methods Genome Res., [Proc. Int. Symp.] (1994), Meeting Date 1992, 111 - 20. 編者: Suhai, Sandor. 出版社: Plenum, New York, N. Y.) も含まれる。本開示の文脈においては、配列分析ソフトウェアが分析に使用される場合、分析の結果は、参照されるプログラムの「デフォルト値」に基づく理解されるであろう。「デフォルト値」は、最初の初期化時にソフトウェアに最初にロードされた値又はパラメーターの任意の組合せを意味する。

20

30

40

【 0 1 6 2 】

BS - BDC は対象への投与のために単独で又は組合せて組成物へと製剤化（処方）さ

50

れうる。特定の実施形態においては、組成物は、薬学的に許容される担体と共に製剤化された、本明細書に開示されている少なくとも2つのBS-BDCを含む。

【0163】

BS-BDCの塩及び/又はプロドラッグも使用されうる。

【0164】

薬学的に許容される塩には、BS-BDCの活性を保持し、薬学的使用に許容される任意の塩が含まれる。薬学的に許容される塩は、酸、他の塩、又は酸若しくは塩に変換されるプロドラッグの投与の結果としてインビボで形成されうる任意の塩をも意味する。

【0165】

適切な薬学的に許容される酸付加塩は無機酸又は有機酸から製造されうる。そのような無機酸の例としては、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、炭酸、硫酸及びリン酸が挙げられる。適切な有機酸は、脂肪族、脂環式、芳香族、アリール脂肪族、複素環式、カルボン酸及びスルホン酸クラスの有機酸から選択されうる。

10

【0166】

適切な薬学的に許容される塩基付加塩には、アルミニウム、カルシウム、リチウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウム及び亜鉛から製造される金属塩、又はN,N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、N-メチルグルカミン、リジン、アルギニン及びプロカインから製造される有機塩が含まれる。

20

【0167】

プロドラッグは、投与後に、例えばBS-BDCの開裂により又は生物学的に不安定な基の加水分解によって治療的に活性な化合物に変換される活性成分を含む。

【0168】

特定の実施形態においては、組成物は、組成物の少なくとも0.1% w/v又はw/w、組成物の少なくとも1% w/v又はw/w、組成物の少なくとも10% w/v又はw/w、組成物の少なくとも20% w/v又はw/w、組成物の少なくとも30% w/v又はw/w、組成物の少なくとも40% w/v又はw/w、組成物の少なくとも50% w/v又はw/w、組成物の少なくとも60% w/v又はw/w、組成物の少なくとも70% w/v又はw/w、組成物の少なくとも80% w/v又はw/w、組成物の少なくとも90% w/v又はw/w、組成物の少なくとも95% w/v又はw/w、あるいは組成物の少なくとも99% w/v又はw/wのBS-BDCを含む。

30

【0169】

例示的な一般に使用される薬学的に許容される担体には、あらゆる吸収遅延剤、抗酸化剤、結合剤、緩衝剤、増量剤若しくは充填剤、キレート剤、コーティング、崩壊剤、分散媒体、ゲル、等張剤、潤滑剤、保存剤、塩、溶媒若しくは共溶媒、安定剤、界面活性剤、及び/又は運搬ビヒクルが含まれる。

【0170】

例示的な抗酸化剤には、アスコルビン酸、メチオニン及びビタミンEが含まれる。

【0171】

例示的な緩衝剤には、シトレートバッファー、スクシナートバッファー、タルトレートバッファー、フマレートバッファー、グルコナートバッファー、オキサレートバッファー、ラクタートバッファー、アセタートバッファー、ホスファートバッファー、ヒスチジンバッファー及び/又はトリメチルアミン塩が含まれる。

40

【0172】

例示的なキレート剤としては、EDTAが挙げられる。

【0173】

例示的な等張剤には、多価糖アルコール、例えば三価以上の糖アルコール、例えばグリセリン、エリトリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール又はマンニトールが含まれる。

【0174】

50

例示的な保存剤には、フェノール、ベンジルアルコール、メタクレゾール、メチルパラベン、プロピルパラベン、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、ハロゲン化ベンザルコニウム、塩化ヘキサメトニウム、アルキルパラベン、例えばメチル又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及び3-ペンタノールが含まれる。

【0175】

安定剤は、増量剤から、BS-BDCを可溶化する又は変性若しくは容器壁への付着を防止するのを助ける添加剤までの機能を含みうる広範な範疇の賦形剤を意味する。典型的な安定剤には、多価糖アルコール；アミノ酸、例えばアルギニン、リジン、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アラニン、オルニチン、L-ロイシン、2-フェニルアラニン、グルタミン酸及びトレオニン；有機糖又は糖アルコール、例えばラクトース、トレハロース、スタキオース、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、リビトール、ミオイニシトール、ガラクトール、グリセロール及びシクリトール、例えばイノシトール；PEG；アミノ酸ポリマー；硫黄含有還元剤、例えば尿素、グルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、アルファ-モノチオグリセロール及びチオ硫酸ナトリウム；低分子量ポリペプチド（すなわち、10残基未満）；タンパク質、例えばヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；単糖類、例えばキシロース、マンノース、フルクトース及びグルコース；二糖類、例えばラクトース、マルトース及びスクロース；三糖類、例えばラフィノース；並びに多糖類、例えばデキストランが含まれうる。安定剤は、典型的には、治療剤の重量に対して0.1~10,000重量部の範囲で存在する。

【0176】

本明細書に開示されている組成物は、例えば注射、吸入、注入、灌流、洗浄又は摂取による投与用に製剤化されうる。本明細書に開示されている組成物は更に、静脈内、皮内、動脈内、結節内、リンパ内、腹腔内、病巣内、前立腺内、腔内、直腸内、局所、髄腔内、腫瘍内、筋肉内、小胞内、経口及び/又は皮下投与用に、より詳細には、静脈内、皮内、動脈内、結節内、リンパ内、腹腔内、病巣内、前立腺内、腔内、直腸内、髄腔内、腫瘍内、筋肉内、小胞内及び/又は皮下注射による投与用に製剤化されうる。

【0177】

注射用には、組成物は、水溶液として、例えば、ハンクス液、リンガー液又は生理食塩水を含むバッファー緩衝液中で製剤化されうる。水溶液は、製剤化剤、例えば懸濁化剤、安定剤及び/又は分散剤を含みうる。あるいは、製剤は、適切なビヒクル、例えば発熱物質非含有無菌水で使用前に還元するための凍結乾燥形態及び/又は粉末形態でありうる。

【0178】

経口投与には、組成物は錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤などとして製剤化されうる。経口固形製剤、例えば散剤、カプセル剤及び錠剤の場合、適切な賦形剤には、結合剤（トラガカントガム、アラビアゴム、コーンスターチ、ゼラチン）、増量剤、例えば糖類、例えばラクトース、スクロース、マンニトール及びソルビトール；リン酸二カルシウム、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウム；セルロース調製物、例えばトウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム及び/又はポリビニルピロリドン（PVP）；顆粒化剤；並びに結合剤が含まれる。所望により、崩壊剤、例えばコーンスターチ、ジャガイモデンプン、アルギン酸、架橋ポリビニルピロリドン、寒天又はアルギン酸若しくはその塩、例えばアルギン酸ナトリウムが添加されうる。所望により、固形剤形は、標準的な技術を用いて、糖衣又は腸溶コーティングされうる。香味料、例えばペパーミント、ウィンターグリーンオイル、チェリーフレーバー、オレンジフレーバーなども使用されうる。

【0179】

組成物はエアロゾルとして製剤化されうる。特定の実施形態においては、エアロゾルは、無水、液体又は乾燥粉末吸入器の一部として提供される。加圧バック又はネブライザーからのエアロゾルスプレーも、適切な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素又は他の適切なガスと共に使用されうる。加圧エアロゾルの場合、投与単位は、定量を送達するための弁を設けることにより決定されうる。BS - BDCと適切な粉末基剤（例えば、ラクトース又はデンプン）との粉末混合物を含む、吸入器又は吹送器における使用のためのゼラチンのカプセル剤及びカートリッジも処方（製剤化）されうる。

【0180】

組成物はデポー製剤としても製剤化されうる。デポー製剤は、適切なポリマー材料若しくは疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルジョンとして）又はイオン交換樹脂を使用して、あるいは難溶性誘導体、例えば難溶性塩として製剤化されうる。

【0181】

また、組成物は、少なくとも1つのBS - BDCグループを含む固体ポリマーの半透性マトリックスを利用する徐放系として製剤化されうる。種々の徐放性材料が確立されており、当業者によく知られている。徐放系は、それらの化学的性質に応じて、投与後に数週間から100日以上にわたってBS - BDCを放出しうる。デポー製剤は、注射；非経口注射；点眼；又は細い針を介した注射による軟組織、体腔若しくは時には血管内への移植により投与されうる。

【0182】

デポー製剤は、所望のラクチド：グリコリド比、平均分子量、多分散性及び末端基化学のポリ（ラクチド）、ポリ（グリコリド）、ポリ（カプロラクトン）及びポリ（ラクチド）-コ（グリコリド）（PLG）を含む種々の生分解性ポリマーを含みうる。種々のグレードを使用して種々のポリマータイプを種々の比率で混合することにより、寄与するポリマーのそれぞれから取り入れられる特性が得られうる。

【0183】

異なる溶媒（例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチル、トリアセチン、N - メチルピロリドン、テトラヒドロフラン、フェノール又はそれらの組合せ）の使用は微粒子のサイズ及び構造を改変して、放出特性を調節しうる。他の有用な溶媒には、水、エタノール、ジメチルスルホキシド（DMSO）、N - メチル - 2 - ピロリドン（NMP）、アセトン、メタノール、イソプロピルアルコール（IPA）、安息香酸エチル及び安息香酸ベンジルが含まれる。

【0184】

例示的な放出修飾剤には、界面活性剤、洗剤、内相増粘剤、錯化剤、界面活性分子、共溶媒、キレート剤、安定剤、セルロースの誘導体、（ヒドロキシプロピル）メチルセルロース（HPMC）、HPMCアセタート、セルロースアセタート、ブルロニック（例えば、F68 / F127）、ポリソルベート、Span（登録商標）（Croda Americas, Wilmington, Delaware）、ポリ（ビニルアルコール）（PVA）、Brij（登録商標）（Croda Americas, Wilmington, Delaware）、スクロースアセタートイソブチラート（SAIB）、塩及びバッファーが含まれうる。

【0185】

ポリソルベート、ジオクチルスルホスクシナート、ポロキサマー、PVAを含む界面活性剤のような微粒子の外部相境界に分配する賦形剤はまた、粒子安定性及び侵食速度、水和及びチャネル構造、界面輸送並びに動力学を含む特性を、好ましい状態で改変しうる。

【0186】

開示されている徐放性デポー製剤の追加的な加工は、トリス、シトラート又はヒスチジンのようなバッファー中、マンニトール、スクロース、トレハロース及びグリシンを含む安定化賦形剤を、ポリソルベート、PVA及びジオクチルスルホスクシナートのような他の成分と共に利用しうる。元の懸濁液の類似サイズ及び性能特性に還元（再構成）される

10

20

30

40

50

非常に低い水分の散剤（粉末）を製造するために、凍結乾燥サイクルも用いられうる。

【0187】

本明細書に開示されている任意の組成物は、投与の利益を越える有意に有害なアレルギー性の又は他の有害な反応を引き起こさないものを含む任意の他の薬学的に許容される担体を有利に含む。例示的な薬学的に許容される担体及び製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990に開示されている。更に、製剤は、米国FDA生物学的標準局（U.S. FDA Office of Biological Standards）及び／又は他の関連する外国の規制当局により要求される無菌性、発熱性、一般的安全性及び純度基準を満たすように製造されうる。

10

【0188】

特定の実施形態においては、BS - BDC組成物には、免疫原性組成物が含まれる。免疫原性組成物は、対象において免疫応答を刺激する組成物を意味する。免疫応答は、例えばT細胞応答でありうる。T細胞応答は、例えば、IL - 2のようなサイトカインの産生を測定することにより検出されうる。

【0189】

特定の実施形態においては、BS - BDC組成物には、治療用組成物が含まれる。治療用組成物は、対象を治療する組成物を意味する。治療は、本明細書の他の箇所に記載されているとおり、対象の疾患又は症状の軽減により検出されうる。

【0190】

キット。本明細書は、本明細書に記載されているBS - BDC及び／又は組成物の1以上を含む1以上の容器を含むキットをも開示する。そのような容器には、医薬品又は生物学的製品の製造、使用又は販売を規制する政府機関により規定された形式の注意書きが付随していてもよく、この注意書きは、ヒトへの投与のための製造、使用又は販売の、当局による承認を表す。特定の実施形態においては、キット内のBS - BDCグループは、個々の対象の予想される疾患経過の評価に基づいて選択される。特定の実施形態においては、キット内のBS - BDCは、対象の現在の病態の継続的な評価に基づいて個々の対象に関して更新される。

20

【0191】

本明細書に開示されている方法は、対象（ヒト、獣医動物（イヌ、ネコ、爬虫類、鳥類など）、家畜（ウマ、ウシ、ヤギ、ブタ、ニワトリなど）及び研究動物（サル、ラット、マウス、魚類など）を、本明細書に開示されている組成物で治療することを含む。対象の治療は、治療的有効量を送達することを含む。治療的有効量には、有効量、予防的処置及び／又は治療的処置をもたらす量が含まれる。

30

【0192】

「有効量」は、対象において所望の生理学的変化をもたらすのに必要な組成物の量である。例えば、有効量は免疫原性効果をもたらさう。有効量は、しばしば、研究目的で投与される。本明細書に開示されている有効量は、がんの発生又は進行の評価に関連した動物モデル又はインビトロアッセイにおける統計的に有意な効果をもたらさう。免疫原性組成物は有効量で提供されることが可能であり、この場合、有効量は免疫応答を刺激する。

40

【0193】

「予防的処置」は、がんの徴候若しくは症状を示さず、又はがんの初期の徴候若しくは症状のみを示す対象に施される処置を含み、この場合、治療は、がんを更に進展させるリスクを低減又は減少させる目的で施される。したがって、予防的処置は、がんを予め防ぐ治療（処置）として機能する。特定の実施形態においては、予防的処置は、原発性がん腫瘍部位からの転移が生じるのを低減し、遅延させ、又は予防する。

【0194】

「治療的処置」は、がんの症状又は徴候を示す対象に施される処置を含み、がんのそれらの徴候又は症状を軽減又は排除する目的で対象に施される。治療的処置は、がんの存在

50

若しくは活性を低減、制御若しくは除去し、及び／又はがんの副作用を低減、制御若しくは除去しうる。

【0195】

有効量としての機能、予防的処置又は治療的処置は相互に排他的ではなく、特定の実施形態においては、投与される用量は2以上の処置タイプを達成しうる。

【0196】

特定の実施形態においては、治療的有效量は抗がん効果をもたらす。抗がん効果は、がん細胞数の減少、転移数の減少、腫瘍体積の減少、余命の延長、がん細胞における化学療法若しくは放射線感受性の誘発、がん細胞近傍の血管新生の抑制、がん細胞増殖の抑制、腫瘍成長の抑制、転移の予防若しくは低減、対象の寿命の延長、がん関連疼痛の軽減、及び／又は治療後のがんの再燃若しくは再発の低減を含む。

10

【0197】

「腫瘍」は、細胞（新生細胞又は腫瘍細胞と称される）の異常増殖により形成される腫脹又は病変である。「腫瘍細胞」は、急速な無制御細胞増殖により増殖する異常細胞であって、新たな増殖を開始した刺激が停止した後も増殖し続ける異常細胞である。腫瘍は、正常組織との機能的協調及び構造的組織化の部分的又は完全な欠如を示し、通常、良性、前悪性又は悪性でありうる明瞭な組織塊を形成する。

【0198】

投与の場合には、インビトロアッセイ及び／又は動物モデル研究からの結果に基づいて、治療的有效量（本明細書においては用量とも称される）が最初に推定されうる。そのような情報は、関心のある対象における有用な用量をより正確に決定するために用いられる。特定の対象に投与される実際の投与量は、標的、体重、状態の重症度、がんの種類、がんの病期、過去の又は併用される治療的介入、対象の特異性及び投与経路を含む身体的及び生理学的要因のようなパラメータを考慮して、医師、獣医又は研究者により決定されうる。

20

【0199】

有用な用量は、0.1～5 µg/kg又は0.5～1 µg/kgの範囲でありうる。他の非限定的な例においては、用量は、1 µg/kg、15 µg/kg、30 µg/kg、50 µg/kg、55 µg/kg、70 µg/kg、90 µg/kg、150 µg/kg、350 µg/kg、500 µg/kg、750 µg/kg、1000 µg/kg、0.1～5 mg/kg、又は0.5～1 mg/kgを含みうる。他の非限定的な例においては、用量は、1 mg/kg、10 mg/kg、30 mg/kg、50 mg/kg、70 mg/kg、100 mg/kg、300 mg/kg、500 mg/kg、700 mg/kg、1000 mg/kg又はそれ以上を含みうる。

30

【0200】

治療的有效量は、治療レジメンの過程で単一又は複数の用量を（例えば、毎日、隔日、3日ごと、4日ごと、5日ごと、6日ごと、毎週、2週間ごと、3週間ごと、毎月、2か月ごと、3か月ごと、4か月ごと、5か月ごと、6か月ごと、7か月ごと、8か月ごと、9か月ごと、10か月ごと、11か月ごと又は毎年）投与することにより達成されうる。

【0201】

特定の実施形態においては、BS-BDCは、プログラム可能なポンプ（例えば、インスリンポンプ）のようなポンプにより投与されうる。特定の実施形態においては、例えばプログラムされたポンプを使用して、異なるBS-BDCの段階的投与が達成されうる。

40

【0202】

特定の実施形態においては、BS-BDCは短い半減期（例えば、短いインビボ半減期）を有していて、該BS-BDCは、ポンプによる連続的注入を用いて投与される。特定の実施形態においては、5時間未満のインビボ半減期を有する任意のBS-BDCが連続的注入により投与されうる。これとは対照的に、抗体は、それらのより大きなサイズ及びFc部分ゆえに、数週間のインビボ半減期を有することが可能であり、Fc部分を含有する二重特異性形態も同様に、延長したインビボ半減期を有しうる。

50

【0203】

特定の実施形態においては、自己免疫毒性を引き起こすことなくがんの再発を低減又は排除するために或る時間間隔で治療の有効量が投与される。

【0204】

本明細書に記載されている医薬組成物は、注射、吸入、注入、灌流、洗浄又は摂取（これらに限定されるものではない）により投与されうる。投与経路には、静脈内、皮内、動脈内、非経口、鼻腔内、結節内、リンパ内、腹腔内、病巣内、前立腺内、腔内、直腸内、局所、髄腔内、腫瘍内、筋肉内、小胞内、経口、皮下及び／又は舌下投与、より詳細には、静脈内、皮内、動脈内、非経口、鼻腔内、結節内、リンパ内、腹腔内、病巣内、前立腺内、腔内、直腸内、局所、髄腔内、腫瘍内、筋肉内、小胞内、経口、皮下及び／又は舌下注射が含まれうる。

10

【0205】

示されているとおり、特定の実施形態においては、BS - BDCの投与は対象の治療レジメンの経過中に経時的に進展する。BS - BDCのグループは、組合わされて多種多様なタイプのがんに対処可能であり、個々の対象に対して個別化されうる（例えば、A + B；A + C；A + F；B + F；など）。同様に、BS - BDCグループの投与の非常に個別化された態様が存在しうる。その場合、新興（emerging）クローンを特定するために、及びBS - BDCのペアを選択して新興クローンを特異的に処理するために、例えばポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、ディープシーケンシング、フローサイトメトリー又は免疫組織化学（IHC）を用いて、対象サンプル（例えば、液体生検、標準生検）を評価する。この「カセット」アプローチは、耐性クローンの出現（新興出現）をモニターすること、及びBS - BDCの新たな組合せによりそれらを迅速に処理することを含みうる。「新興クローン」は、クローンが由来するがん細胞の集団の優性遺伝子型とは異なる、1以上の対立遺伝子を有するがん細胞又はがん細胞のクローン集団を意味しうる。「薬物耐性クローン」は、1以上の抗がん薬に対する耐性を付与する新たな対立遺伝子を獲得したがん細胞又はがん細胞のクローン集団を意味しうる。患者のがんは、新たながんクローン及び／又は治療耐性クローンの出現に関して、例えば、患者由来のがんサンプルからのDNAを配列決定することによりモニターされうる。

20

【0206】

特定の実施形態においては、患者は腫瘍微小環境における免疫抑制及び／又はT細胞抑制に関してモニターされうる。微小環境における免疫抑制及び／又はT細胞抑制は、例えば、患者由来のサンプルにおけるサイトカインレベル及び／又はT細胞数を測定することによりモニターされうる。

30

【0207】

特定の実施形態においては、本明細書に開示されている方法は腫瘍微小環境における免疫細胞を活性化することを含む。特定の実施形態においては、腫瘍微小環境における免疫細胞の活性化は腫瘍微小環境におけるT細胞抑制を低減又は逆転させることを含む。T細胞抑制は、例えば調節性T細胞により引き起こされうる、T細胞活性化の遮断又は低減を意味しうる。T細胞抑制を測定するための方法は、例えば、McMurchy & Levings, European Journal of Immunology 42 (1): 27 - 34において見出されうる。腫瘍微小環境におけるT細胞抑制の低減又は逆転は、CD28結合性BS - BDCを、免疫細胞抑制因子の活性を低下させるBS - BDCで置換することを含みうる。このアプローチは、腫瘍微小環境におけるT細胞が、継続的な活性化の後でCD28の発現を低減する場合に有益である。

40

【0208】

例示的な実施形態

1. 二重特異性結合ドメイン構築物（BS - BDC）のグループ（群）であって、該グループにおける各BS - BDCが、該グループにおける別のBS - BDCにより標的化されるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープとは異なるがん抗原エピトープ及び免疫細胞活性化エピトープを標的化し、ただし、少なくとも2つの標的化がん抗原エ

50

トープが同一がん抗原上に存在する、グループ。

【0209】

2. 前記の異なるがん抗原エピトープが非重複性及び／又は非反復性である、実施形態1記載のグループ。

【0210】

3. 前記の異なる標的化がん抗原エピトープの全てが同一がん抗原上に存在する、実施形態1又は2記載のグループ。

【0211】

4. 該同一がん抗原がBCMA、CAIX、CD19、CD20、CD22、CD33、CD133、ERBB2、葉酸受容体、HER2、ルイスY、L1-CAM、メソテリン、MUC-CD、PSCA、PSMA、ROR1、SV40 T、WT-1、PD-L1又はCD123である、実施形態3記載のグループ。

10

【0212】

5. 該同一がん抗原がROR1であり、前記の異なる非重複性エピトープがROR1-A及びROR1-Bにより標的化され、又はROR1-a及びROR1-Bにより標的化される、実施形態3記載のグループ。

【0213】

6. BS-BDCグループが更に、異なるがん抗原上の異なるがん抗原エピトープを標的化する、実施形態1又は2記載のグループ。

【0214】

7. 前記の異なるがん抗原エピトープが

(i) ROR1及びCD33；

(ii) CD33及びPD-L1；

(iii) CD19及びPD-L1；

(iv) CD123及びCD33；

(v) CD19、CD20、CD22、ROR1、CD33、CD123及びWT-1の2以上；

(vi) PSMA、WT1、PSCA及びSV40 Tの2以上；

(vii) HER2、ERBB2及びROR1の2以上；

(viii) L1-CAM、MUC-CD、葉酸受容体、ルイスY、ROR1、メソテリン及びWT-1の2以上；又は

(ix) メソテリン、CEA、CD24及びROR1の2以上に存在する、実施形態6記載のグループ。

20

30

【0215】

8. 前記の異なるがん抗原エピトープがROR1、CD33、CD19、CD123及び／又はPD-L1上に存在する、実施形態6記載のグループ。

【0216】

9. グループにおけるBS-BDCがR11、R12、2A2及び／又はY31のCDR配列を含む、実施形態1～8のいずれか1項記載のグループ。

【0217】

10. 該グループにおけるBS-BDCが、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16及び配列番号17から選択されるCDR配列を含む、実施形態1～9のいずれか1項記載のグループ。

40

【0218】

11. 該グループにおけるBS-BDCが、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22及び配列番号23から選択されるCDR配列を含む、実施形態1～10のいずれか1項記載のグループ。

【0219】

12. 該グループにおけるBS-BDCが、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28及び配列番号29から選択されるCDR配列を含む、実

50

施形態 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 0 】

1 3 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 3 0 、配列番号 3 1 、配列番号 3 2 、配列番号 3 3 、配列番号 3 4 及び配列番号 3 5 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 1 】

1 4 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 3 6 、配列番号 3 7 、配列番号 3 8 、配列番号 3 9 、配列番号 4 0 及び配列番号 4 1 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 2 】

1 5 . 該グループにおける B S - B D C が F M C 6 3 、 S J 2 5 C 1 及び / 又は H D 3 7 の C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 1 4 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 3 】

1 6 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 4 2 、配列番号 4 3 、配列番号 4 4 、配列番号 4 5 、配列番号 4 6 及び配列番号 4 7 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 1 5 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 4 】

1 7 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 4 8 、配列番号 4 9 、配列番号 5 0 、配列番号 5 1 、配列番号 5 2 及び配列番号 5 3 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 1 6 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 5 】

1 8 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 5 4 、配列番号 5 5 、配列番号 5 6 、配列番号 5 7 、配列番号 5 8 及び配列番号 5 9 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 1 7 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 6 】

1 9 . 該グループにおける B S - B D C がリツキシマブ (R i t u x i m a b) 、 オファツムマブ (O f a t u m u m a b) 及び / 又はハーセプチン (H e r c e p t i n) の C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 1 8 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 7 】

2 0 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 7 6 、配列番号 7 7 、配列番号 7 8 、配列番号 7 9 、配列番号 8 0 及び配列番号 8 1 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 1 9 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 8 】

2 1 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 5 3 、配列番号 2 5 4 、配列番号 2 5 5 、配列番号 2 5 6 、配列番号 2 5 7 及び配列番号 2 5 8 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 2 0 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 2 9 】

2 2 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 8 2 、配列番号 8 3 、配列番号 8 4 、配列番号 8 5 、配列番号 8 6 及び配列番号 8 7 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 2 1 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 0 】

2 3 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 8 8 、配列番号 8 9 、配列番号 9 0 、配列番号 9 1 、配列番号 9 2 及び配列番号 9 3 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 2 2 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 1 】

2 4 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 9 4 、配列番号 9 5 、配列番号 9 6 、配列番号 9 7 、配列番号 9 8 及び配列番号 9 9 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 2 3 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 2 】

2 5 . 該グループにおける B S - B D C が、 (i) 配列番号 2 6 7 、配列番号 2 6 8 、

10

20

30

40

50

配列番号 269、配列番号 270、配列番号 271 及び配列番号 272、又は (i i) 配列番号 273、配列番号 274、配列番号 275、配列番号 276、配列番号 277 及び配列番号 259 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 24 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 3 】

26．該グループにおける B S - B D C が全長 C D 3 3 (C D 3 3 ^{F L}) を標的化する、又はエキソン 2 を欠く C D 3 3 のスプライス変異体 (C D 3 3 ^{E 2}) のみを標的化する、又は (i i i) C D 3 3 ^{F L} であるか C D 3 3 ^{E 2} であるかにかかわらず C D 3 3 を標的化する、実施形態 1 ~ 4 又は 6 ~ 25 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 4 】

27．該グループにおける B S - B D C が 5 D 1 2、8 5 F、1 2 B 1 2、4 H 1 0、1 1 D 5、1 3 E 1 1、1 H 7 又は 1 1 D 1 1 の V_L 及び V_H 鎖を含む、実施形態 26 記載のグループ。

【 0 2 3 5 】

28．該グループにおける B S - B D C が 5 D 1 2、8 5 F、1 2 B 1 2、4 H 1 0、1 1 D 5、1 3 E 1 1、1 H 7、1 1 D 1 1 又は M 1 9 5 の V_L および V_H 鎖からの C D R 配列を含む、実施形態 25 又は 26 記載のグループ。

【 0 2 3 6 】

29．免疫細胞が T 細胞、ナチュラルキラー細胞又はマクロファージである、実施形態 1 ~ 28 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 7 】

30．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが同一免疫細胞活性化因子上に存在する、実施形態 1 ~ 29 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 8 】

31．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、異なる免疫細胞活性化因子上に存在する、実施形態 1 ~ 29 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 3 9 】

32．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが同一免疫細胞活性化因子上及び異なる免疫細胞活性化因子上に存在する、実施形態 1 ~ 29 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 4 0 】

33．免疫細胞活性化エピトープが T 細胞上に存在する、実施形態 1 ~ 32 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 4 1 】

34．該同一免疫細胞活性化因子が C D 3 であり、前記の異なるエピトープが、T 細胞 C D 3 二量体を含む異なるインバリアントタンパク質上に存在する、実施形態 32 記載のグループ。

【 0 2 4 2 】

35．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが C D 3 及び C D 2 8、C D 3 及び C D 8、又は C D 8 及び C D 2 8 上に存在する、実施形態 31 又は 32 記載のグループ。

【 0 2 4 3 】

36．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが C D 3、C D 8 及び C D 2 8 上に存在する、実施形態 31 又は 32 記載のグループ。

【 0 2 4 4 】

37．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが C D 3、C D 2 8 及び C D 1 3 7 上に存在する、実施形態 31 又は 32 記載のグループ。

【 0 2 4 5 】

38．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、(i) C D 3、(i i) C D 3、及び (i i i) C D 2 8 上に存在する、実施形態 31 又は 32 記載のグループ。

【 0 2 4 6 】

39．前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、(i) C D 2 8、(i i) C D 2 8

10

20

30

40

50

、及び (i i i) C D 3 上に存在する、実施形態 3 1 又は 3 2 記載のグループ。

【 0 2 4 7 】

4 0 . 前記の異なる免疫細胞活性化エピトープが、C D 2、C D 3、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 8 3、C D 1 3 7、O X 4 0、L F A - 1、L I G H T、N K G 2 C 及び B 7 - H 3 の 1 以上に存在する、実施形態 1 ~ 3 9 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 4 8 】

4 1 . 該グループにおける B S - B D C が O K T 3、O K T 8 又は 9 D 7 の C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 0 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 4 9 】

4 2 . 該グループにおける B S - B D C が O K T 3、2 0 G 6 - F 3、4 B 4 - D 7、4 E 7 - C 9 及び / 又は 1 8 F 5 - H 1 0 の C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 1 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 5 0 】

4 3 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 0 0、配列番号 1 0 1、配列番号 1 0 2、配列番号 1 0 3、配列番号 1 0 4 及び配列番号 1 0 5 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 4 2 記載のグループ。

【 0 2 5 1 】

4 4 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 0 7、K V S、配列番号 1 0 9、配列番号 1 1 0、配列番号 1 1 1 及び配列番号 1 1 2 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 4 2 又は 4 3 記載のグループ。

【 0 2 5 2 】

4 5 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 1 3、K V S、配列番号 1 1 5、配列番号 1 1 6、配列番号 1 1 7 及び配列番号 1 1 8 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 4 2 ~ 4 4 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 5 3 】

4 6 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 1 9、K V S、配列番号 1 2 1、配列番号 1 2 2、配列番号 1 2 3 及び配列番号 1 2 4 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 4 2 ~ 4 5 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 5 4 】

4 7 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 2 5、K V S、配列番号 1 2 7、配列番号 1 2 8、配列番号 1 2 9 及び配列番号 1 3 0 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 4 2 ~ 4 6 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 5 5 】

4 8 . 該グループにおける B S - B D C が 9 D 7、9 . 3、K O L T - 2、1 5 E 8、2 4 8 . 2 3 . 2、E X 5 . 3 D 1 0、5 . 1 1 A 1 及び / 又は T G N 1 4 1 2 の C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 4 7 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 5 6 】

4 9 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 3 1、配列番号 1 3 2、配列番号 1 3 3、配列番号 1 3 4、配列番号 1 3 5 及び配列番号 1 3 6 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 0 記載のグループ。

【 0 2 5 7 】

5 0 . 該グループにおける B S - B D C が O K T 8 を含む、実施形態 1 ~ 4 9 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 5 8 】

5 1 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 2 2 6、配列番号 2 2 7、配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9、配列番号 2 3 0 及び配列番号 2 3 1 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 0 記載のグループ。

【 0 2 5 9 】

5 2 . 免疫細胞活性化エピトープがナチュラルキラー細胞上に存在する、実施形態 1 ~

10

20

30

40

50

5 1 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0260】

5 3 . 該グループにおける B S - B D C が配列番号 2 3 2 の可変軽鎖領域及び配列番号 2 3 3 の可変重鎖領域を含む、実施形態 5 2 記載のグループ。

【0261】

5 4 . 該グループにおける B S - B D C が 5 C 6 、 1 D 1 1 、 m A b 3 3 、 P 4 4 - 8 、 S K 1 及び / 又は 3 G 8 の C D R 配列を含む、実施形態 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0262】

5 5 . 免疫細胞活性化エピトープがマクロファージ上に存在する、実施形態 1 ~ 5 4 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0263】

5 6 . 該グループにおける B S - B D C が M 1 / 7 0 、 K P 1 及び / 又は a b 8 7 0 9 9 の C D R 配列を含む、実施形態 5 5 記載のグループ。

【0264】

5 7 . 免疫細胞活性化エピトープの少なくとも 1 つが免疫細胞抑制因子上に存在する、実施形態 1 ~ 5 6 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0265】

5 8 . 免疫細胞抑制因子が 4 - 1 B B 、 P D - 1 、 L A G 3 、 T I M - 3 、 B T L A 、 C T L A - 4 、 C D 2 0 0 及び V I S T A の 1 以上を含む、実施形態 5 7 記載のグループ。

【0266】

5 9 . 該グループにおける B S - B D C が、C D R 配列 (i) 配列番号 1 4 7 、配列番号 1 4 8 、配列番号 1 4 9 、配列番号 1 5 0 、 I N H 及び配列番号 1 5 2 、又は (i i) 配列番号 2 6 1 、配列番号 2 6 2 、配列番号 2 6 3 、配列番号 2 6 4 、配列番号 2 6 5 及び配列番号 2 6 6 を含む、実施形態 5 7 又は 5 8 記載のグループ。

【0267】

6 0 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 5 4 、配列番号 1 5 5 、配列番号 1 5 6 、配列番号 1 5 7 、配列番号 1 5 8 及び配列番号 1 5 9 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 7 ~ 5 9 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0268】

6 1 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 6 0 、配列番号 1 6 1 、配列番号 1 6 2 、配列番号 1 6 3 、配列番号 1 6 4 及び配列番号 1 6 5 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 7 ~ 6 0 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0269】

6 2 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 6 7 、配列番号 1 6 8 、配列番号 1 6 9 、配列番号 1 7 0 、配列番号 1 7 1 及び配列番号 1 7 2 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 7 ~ 6 1 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0270】

6 3 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 7 4 、 A A S 、配列番号 1 7 6 、配列番号 1 7 7 、配列番号 1 7 8 及び配列番号 1 7 9 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 7 ~ 6 2 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0271】

6 4 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 8 1 、配列番号 1 8 2 、配列番号 1 8 3 、配列番号 1 8 4 、配列番号 1 8 5 及び配列番号 1 8 6 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 7 ~ 6 3 のいずれか 1 項記載のグループ。

【0272】

6 5 . 該グループにおける B S - B D C が、配列番号 1 8 7 、配列番号 1 8 8 、配列番号 1 8 9 、配列番号 1 9 0 、配列番号 1 9 1 及び配列番号 1 9 2 から選択される C D R 配列を含む、実施形態 5 7 ~ 6 4 のいずれか 1 項記載のグループ。

10

20

30

40

50

【 0 2 7 3 】

66. 該グループにおけるBS - BDCが、配列番号194、配列番号195、配列番号196、配列番号197、配列番号198及び配列番号199から選択されるCDR配列を含む、実施形態57～65のいずれか1項記載のグループ。

【 0 2 7 4 】

67. 該グループにおけるBS - BDCが、配列番号200、配列番号201、配列番号202、配列番号203、配列番号204及び配列番号205から選択されるCDR配列を含む、実施形態57～66のいずれか1項記載のグループ。

【 0 2 7 5 】

68. 該グループにおけるBS - BDCが、配列番号206、配列番号207、配列番号208、配列番号209、配列番号210及び配列番号211から選択されるCDR配列を含む、実施形態57～67のいずれか1項記載のグループ。

10

【 0 2 7 6 】

69. 該グループにおけるBS - BDCが、配列番号213、配列番号214、配列番号215、配列番号216、配列番号217及び配列番号218から選択されるCDR配列を含む、実施形態57～68のいずれか1項記載のグループ。

【 0 2 7 7 】

70. 該グループにおけるBS - BDCが、配列番号220、配列番号221、配列番号222、配列番号223、SAS及び配列番号225から選択されるCDR配列を含む、実施形態57～69のいずれか1項記載のグループ。

20

【 0 2 7 8 】

71. 該グループが2、3又は4個のBS - BDCを含む、実施形態1～70のいずれか1項記載のグループ。

【 0 2 7 9 】

72. 二重特異性結合ドメイン構築物(BS - BDC)のグループであって、該グループにおけるBS - BDCが第1 ROR1エピトープ及びCD3を標的化し、該グループにおける第2 BS - BDCが第2 ROR1エピトープ及びCD28を標的化する、グループ。

【 0 2 8 0 】

73. 二重特異性結合ドメイン構築物(BS - BDC)のグループであって、該グループにおけるBS - BDCがROR1エピトープ及びCD28を標的化し、該グループにおける第2 BS - BDCがCD33エピトープ及びCD3を標的化する、グループ。

30

【 0 2 8 1 】

74. 二重特異性結合ドメイン構築物(BS - BDC)のグループであって、該グループにおけるBS - BDCがROR1エピトープ及びCD3を標的化し、該グループにおける第2 BS - BDCがCD33エピトープ及びCD28を標的化する、グループ。

【 0 2 8 2 】

75. 二重特異性結合ドメイン構築物(BS - BDC)のグループであって、該グループにおけるBS - BDCがCD33エピトープ及びCD3を標的化し、該グループにおける第2 BS - BDCがPD - L1エピトープ及びCD28を標的化する、グループ。

40

【 0 2 8 3 】

76. 二重特異性結合ドメイン構築物(BS - BDC)のグループであって、該グループにおけるBS - BDCがCD33エピトープ及びCD28を標的化し、該グループにおける第2 BS - BDCがPD - L1エピトープ及びCD3を標的化する、グループ。

【 0 2 8 4 】

77. 二重特異性結合ドメイン構築物(BS - BDC)のグループであって、該グループにおけるBS - BDCがCD19エピトープ及びCD3を標的化し、該グループにおける第2 BS - BDCがPD - L1エピトープ及びCD28を標的化する、グループ。

【 0 2 8 5 】

78. 二重特異性結合ドメイン構築物(BS - BDC)のグループであって、該グループ

50

ブにおける B S - B D C が C D 1 9 エピトープ及び C D 2 8 を標的化し、該グループにおける第 2 B S - B D C が P D - L 1 エピトープ及び C D 3 を標的化する、グループ。

【 0 2 8 6 】

7 9 . 二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループであって、該グループにおける B S - B D C が C D 1 2 3 エピトープ及び C D 3 エピトープを標的化し、該グループにおける第 2 B S - B D C が C D 1 2 3 エピトープ及び C D 2 8 エピトープを標的化する、グループ。

【 0 2 8 7 】

8 0 . 二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループであって、該グループにおける B S - B D C が C D 3 3 エピトープ及び C D 3 エピトープを標的化し、該グループにおける第 2 B S - B D C が C D 1 2 3 エピトープ及び C D 2 8 エピトープを標的化する、グループ。

10

【 0 2 8 8 】

8 1 . C D 2 8 を標的化する B S - B D C が、免疫細胞抑制因子エピトープを抑制する B S - B D C で置換されている、実施形態 7 1 ~ 8 0 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 8 9 】

8 2 . 免疫細胞抑制因子エピトープが 4 - 1 B B 、 P D - 1 、 L A G 3 、 T I M - 3 、 B T L A 、 C T L A - 4 、 C D 2 0 0 及び / 又は V I S T A 上に位置する、実施形態 8 1 記載のグループ。

【 0 2 9 0 】

20

8 3 . 該グループの投与が、腫瘍微小環境における免疫細胞抑制を低減又は逆転させる、実施形態 8 1 記載のグループ。

【 0 2 9 1 】

8 4 . 該グループの投与が、腫瘍微小環境における T 細胞抑制を低減又は逆転させる、実施形態 8 1 記載のグループ。

【 0 2 9 2 】

8 5 . 配列番号 2 3 8 、配列番号 2 3 9 、配列番号 2 4 0 、配列番号 2 4 1 、配列番号 2 4 2 、配列番号 2 4 3 、配列番号 2 4 4 、配列番号 2 4 5 、配列番号 2 4 6 、配列番号 2 4 7 、配列番号 2 4 8 、配列番号 2 4 9 、配列番号 2 5 0 、配列番号 2 5 1 及び配列番号 2 5 2 から選択される少なくとも 2 つの二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) を含む、二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループ。

30

【 0 2 9 3 】

8 6 . 配列番号 2 3 8 、配列番号 2 3 9 、配列番号 2 4 0 、配列番号 2 4 1 、配列番号 2 4 2 、配列番号 2 4 3 、配列番号 2 4 4 、配列番号 2 4 5 、配列番号 2 4 6 、配列番号 2 4 7 、配列番号 2 4 8 、配列番号 2 4 9 、配列番号 2 5 0 、配列番号 2 5 1 及び配列番号 2 5 2 から選択される 3 個の二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) を含む、二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループ。

【 0 2 9 4 】

8 7 . 配列番号 2 3 8 、配列番号 2 3 9 、配列番号 2 4 0 、配列番号 2 4 1 、配列番号 2 4 2 、配列番号 2 4 3 、配列番号 2 4 4 、配列番号 2 4 5 、配列番号 2 4 6 、配列番号 2 4 7 、配列番号 2 4 8 、配列番号 2 4 9 、配列番号 2 5 0 、配列番号 2 5 1 及び配列番号 2 5 2 から選択される 4 個の二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) を含む、二重特異性結合ドメイン構築物 (B S - B D C) のグループ。

40

【 0 2 9 5 】

8 8 . B S - B D C グループが s c F v を含む、実施形態 1 ~ 8 7 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 9 6 】

8 9 . B S - B D C グループが二重特異性抗体を含む、実施形態 1 ~ 8 8 のいずれか 1 項記載のグループ。

【 0 2 9 7 】

50

90．実施形態1～89のいずれか1項記載のグループを含む組成物。

【0298】

91．実施形態90記載の組成物の治療量を対象に投与し、それにより、がんの治療を要する対象においてがんを治療することを含む、がんの治療を要する対象におけるがんの治療方法。

【0299】

92．該治療が治療に対するがん細胞の耐性を克服する、実施形態91記載の方法。

【0300】

93．対象のがんの変化に関して対象をモニターすることを含む、実施形態91又は92記載の方法。

【0301】

94．異なるグループのBS-BDCと共に組成物を投与することを含む、実施形態91～93のいずれか1項記載の方法。

【0302】

95．異なるグループのBS-BDCと共に該組成物を投与することが該モニターの結果に基づく、実施形態94記載の方法。

【0303】

96．該モニターの結果がクローンの出現を示す、実施形態95記載の方法。

【0304】

97．該モニターの結果が治療耐性クローンの出現を示す、実施形態95又は96記載の方法。

【0305】

98．該モニターの結果が腫瘍微小環境における免疫抑制を示す、実施形態95～97のいずれか1項記載の方法。

【0306】

99．該モニターの結果が腫瘍微小環境におけるT細胞抑制を示す、実施形態95～98のいずれか1項記載の方法。

【0307】

100．治療に対するがん細胞の耐性を克服するための、実施形態1～99のいずれか1項記載のグループ、組成物又は方法の使用。

【0308】

101．耐性を克服することが、腫瘍微小環境における免疫抑制を低減又は逆転させることに基づく、実施形態100記載の使用。

【0309】

102．耐性を克服することが、腫瘍微小環境におけるT細胞抑制を低減又は逆転させることに基づく、実施形態100又は101記載の使用。

【0310】

103．対象において免疫応答を刺激するための、前記実施形態のいずれか1項記載のグループ又は組成物の使用。

【0311】

104．免疫応答の刺激を要する対象において免疫応答を刺激する方法であって、それを要する対象に実施形態90記載の組成物の治療量を投与し、それにより、それを要する対象において免疫応答を刺激することを含む方法。

【実施例】

【0312】

[実施例1]

新規「クリニック対応(clinic ready)」SMITE抗体治療薬の開発及びヒト化のための合理的な計算タンパク質設計アプローチを可能にするために、フレッドハッチンソンがん研究センター(Fred Hutchinson Cancer Research Center)(FHCR C)抗体開発施設及び分子設計治療コア(An

10

20

30

40

50

t i b o d y D e v e l o p m e n t F a c i l i t y a n d t h e M o l e c u l a r D e s i g n T h e r a p e u t i c s C o r e) を用いる。この研究で使用するヒト材料の説明を以下に示す。

【0313】

健常ドナーT細胞： 過去の二重特異性抗体研究において用いたのと同様に、IRBにより承認された研究プロトコルに基づくFHCRC造血細胞処理コア(Hematopoietic Cell Processing Core)により、白血球アフェレーシスにより、健常成人ボランティアから、刺激されていない単核細胞を集める。T細胞を磁気細胞選別により富化させ、ついでアリコートとして非識別状態で凍結し、使用するまで液体窒素中で保存する。解凍した細胞アリコートを、がん細胞からの分離が可能となるようCell Blue Burgundyで標識する。

10

【0314】

二重特異性T細胞結合抗体の最大活性にはT細胞同時刺激が必要である： 急性白血病細胞系及び遺伝子操作された垂系を使用して、CD33/CD3及びCD19/CD3抗体、AMG330並びにプリナツモマブのインビトロ活性に対する抑制性(PD-L1及びPD-L2)及び活性化(CD80及びCD86)T細胞リガンドの影響を試験した。つぎに、これらの実験を、急性白血病患者から得たサンプルを使用して繰返した。結果は、PD-L1又はPD-L2の発現は二重特異性T細胞結合抗体の細胞溶解活性を低下させるが、CD80又はCD86の発現はそれらの活性を増強することを示した。これに一致して、同時刺激性T細胞受容体CD28に対する活性化抗体との同時処理は急性白血病細胞株における二重特異性T細胞結合抗体誘導性細胞傷害性を有意に増強した。12個のAML患者検体において、CD28の同時活性化はまた、初代白血病細胞におけるAMG330の活性を増強した($P = 0.023$)。総合すると、これらの知見は、二重特異性T細胞結合抗体の最大活性にはT細胞補助受容体活性化が必要であることを示しており、T細胞への同時刺激シグナルの供与がこれらの物質に対する耐性を克服しうることを示唆している。他の研究者による過去の研究は、CD3×CD28交差反応性二重特異性抗体が大きな治療ウィンドウをもたらしうることを示しており、この場合、腫瘍細胞依存性T細胞活性化のみが誘導され、全身性腫瘍細胞非依存性T細胞活性化は回避される。

20

【0315】

特定の実施形態においては、SMITE抗体アプローチは2つの二重特異性T細胞結合抗体(すなわち、一方はCD3(又はCD8)に対するものであり、他方はCD28に対するものである)の併用を要する。最大活性化シグナルをT細胞に伝達するためには、両方の抗体が時間重複状態でROR1に結合する必要がある。これらの研究のためには、3つのROR1抗体からの十分に確認された公的に利用可能な配列が使用されう。関心のある初期抗体セットにおいては、ROR1-A抗体(クローン: R11)及びROR1-B抗体(クローン: 2A2)は同一エピトープに結合し、ROR1への結合に関して互いに競合する。ROR1-B抗体(クローン: R12)は非重複性近位エピトープに結合し、その他の2つの抗体のうちのいずれか一方と同時にROR1に結合しう。これら3つのROR1抗体のscFv、並びにCD3(クローン: OKT3)、CD8(クローン: OKT8)及びCD28(クローン: 9D7)を認識する公的に入手可能な抗体のscFvを使用して、柔軟性ROR1指向性SMITE抗体プラットフォームを形成する交換可能な結合モジュールを含有するビルディングブロックとして、二重特異性T細胞結合抗体を作製する(例えば、表1を参照されたい)。精製用の6×ヒスチジンタグとBir-Aリガーゼによる特異的ビオチン化のためのavitagを含む「hisavi」構築物として、全ての抗体を作製する。

30

40

【0316】

ROR1-A、ROR1-a及びROR1-B抗体由来のROR1を標的化する一本鎖構築物が、発現されるとおりに設計されている。Biacoreチップを使用する表面プラズモン共鳴(SPR)分析により実証されるとおり、これらの一本鎖構築物はROR1抗原に対する頑強なアフィニティを保有する。ついで、サイズ排除クロマトグラフィーを

50

用いて、ROR1 - A及びROR1 - Bに由来する一本鎖構築物はROR1に同時に結合することが実証された。ついで、2つの二重特異性T細胞結合抗体分子を設計し、成功裏に発現させた。2リットルの調製物を使用して、aROR1 - a/aCD28及びaROR1 - B/aCD3構築物に関して、それぞれ、22.4mg及び14.4mgの収量を得た。どちらの製造においても、凝集、分解又はミスフォールディングはほとんど観察されず、aROR1 - B/aCD3構築物はROR1に結合することが確認され、これは抗体配列から高品質二重特異性T細胞結合抗体への変換の成功を示している。

【0317】

実験的アプローチ： 抗体産生： 既に記載されている特製ダイダロス (Daedalus) レンチウイルス導入系を使用して、全ての抗体を作製する。簡潔に説明すると、各構築物を、切断可能なC末端6×His-Aviタグと共に親発現プラスミド (IRES-GFPを含む) 内にクローニングし、ポリエチレンイミン (PEI) を使用して、BirAピオチンリガーゼを安定に発現する293T細胞内に (pSPAX2及びpMD2Gと共に) コトランスフェクトする。得られたレンチウイルスを使用して、懸濁適応293F細胞への導入を行い、GFPを使用してタンパク質発現をモニターする。分泌された抗体を導入の2週間後に回収し、ついで、通常のアフィニティークロマトグラフィーを使用して馴化培地から精製する。ついで、サイズ排除クロマトグラフィー及びSDS-PAGEを使用して、個々の分子の安定性及び凝集傾向を判定する。

【0318】

SPRバイオセンサー上に捕捉されたROR1への個々の二重特異性T細胞結合抗体の結合を、既に記載されているとおりにBiacore T100装置 (GE Healthcare) で定量し (例えば、Fintonら, Autoreactivity and exceptional CDR plasticity (but not unusual polyspecificity) hinder elicitation of the anti-HIV antibody 4E10. PLoS Pathog. 2013; 9(9): e1003639、及びFintonら, Ontogeny of recognition specificity and functionality for the broadly neutralizing anti-HIV antibody 4E10. PLoS Pathog. 2014; 10(9): e1004403を参照されたい)、前記で要約されているとおりに、初期ROR1 scFvに関して成功裏に行う。二重特異性T細胞結合抗体とCD3、CD8又はCD28との間のSPR相互作用分析を可能にするための試薬は現在入手可能でないため、抗His抗体と共に適切な標的抗原陽性/陰性細胞株を使用して、フローサイトメトリーに基づくアッセイを用いてT細胞への抗体分子の結合を測定する。

【0319】

全ての二重特異性T細胞結合抗体の細胞溶解特性を、他の二重特異性T細胞結合抗体を特徴づけるために成功裏に用いられている比較インビトロアッセイにおいて決定する。ROR1 + 初代腫瘍細胞 (JeKo) 及びトランスフェクト化細胞 (K562/ROR1) がこれらの研究に利用可能であり、必要に応じて、追加的な細胞株の作製を可能にするROR1発現構築物も利用可能である。適切なROR1 - 細胞 (例えば、親K562細胞又はMKN45細胞) は陰性対照として有用である。ROR1 + 又はROR1 - 細胞株を、種々のE:T細胞比で添加された健常ドナーTの存在下又は非存在下、種々の濃度の個々の二重特異性T細胞結合抗体を含む225µLの適切な培地において、5~10,000細胞/ウェルで96ウェル丸底プレート内でインキュベートする。48時間後、非生存可能細胞を検出するために4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール (DAPI) を使用して、細胞数及び薬物誘発細胞傷害性を、LSRIIサイトメーターを使用して決定する。健常ドナーT細胞を添加する実験においては、前方/側方散乱特性及びCellVueブルゴーニュ色素に関する陰性度により、がん細胞を特定する。

【0320】

得られたBS-BDCグループ、特に、CD3に対するものは、単独で使用された場合

に強力な細胞溶解特性を有する。しかし、予備的な知見に基づけば、それらがT細胞同時刺激シグナル伝達をも活性化するようにそれらをグループとして使用する場合に、二重特異性T細胞結合抗体の有効性が増強されうると予想される。CD3及びCD28指向性抗体の組合せが最良の応答をもたらすと予想されるが、このモジュラー系は、先験的に決定された分子セットに探索を限定することなく、最良の抗体の組合せを経験的に決定することを可能にする。これらの二重特異性T細胞結合抗体グループは、(1つ又は2つのT細胞抗原を標的化すると同時に)2つの非重複性ROR1エピトープを同時に標的化することが、単一ROR1エピトープを標的化することと比較した場合の利点をもたらすことを示すのにも有用である。最も好ましい生物物理学的及び細胞溶解的特性を有する抗体グループを特定する。次に、選択した抗体グループをヒト化する。現在の臨床におけるほとんどの抗体はマウス抗体のヒト化形態である。二重特異性T細胞結合分子のマウス形態は有用性を有しうるが、免疫原性が臨床開発における欠点となりうる。ヒト化は、中和抗体の生成を最小限にするための一般に認められている技術であるため、この工程はそれらの臨床開発に必須であると考えられており、したがって、候補分子開発の可能な限り早い段階に組み込まれるであろう。

10

20

30

40

50

【0321】

実験的アプローチ：二重特異性T細胞結合抗体のグループを、T細胞抗原(例えば、CD3及びCD28又はCD8及びCD28)に対する特異性及び非重複性ROR1エピトープ認識(例えば、ROR1-A及びROR1-B又はROR1-a及びROR1-B)に基づいて合理的に選択した。潜在的に関心が持たれるこれらのグループに加えて、SMITE抗体としてはそれほど適していないと予想される少数のグループ(例えば、ROR1-A及びROR1-a、又はCD3及びCD8)も試験する。次に、これらの抗体グループを標的抗原結合の分析及び薬物誘発性細胞傷害性の決定に付す。単独で使用される個々の抗体は比較分析に役立つ。また、ROR1発現細胞の存在下でSMITE細胞抗体構築物がT細胞サイトカイン放出を誘発する能力をELISA及び細胞内フローサイトメトリーによる共培養実験において評価する。ついで、抗体グループを生物物理学的特性及び細胞溶解特性に基づいてランク付けし、最も高い関心が持たれるグループを、FHCRCコア施設において常套的に利用可能な労働集約的な標準的な方法を用いて抗体ヒト化に付す。このアプローチは主に、多数のマウス・バーニアゾーン(vernier zone)残基が必要だと判断された場合に、表面残基に焦点を絞って、結合を保持させるために必要に応じてマウスに戻されるバーニアゾーン残基の突然変異での相補性決定領域(CDR)グラフィングに基づくものである。分子治療コア(Molecular Therapeutic Core)は、多数の候補分子の作製に適した24ウェルのロボットトランスダクション及び発現系を有する。

【0322】

個別に使用した場合より良好な細胞溶解特性を併用時に示すBS-BDCのグループを特定する。しかし、2つの二重特異性T細胞結合抗体の同時結合は少なくとも1つのBS-BDCのリンカー長の調節を要すると考えられうる。ロボット発現施設の使用は、必要に応じて、リンカー設計の数回の反復を可能にする。

【0323】

ヒト化ROR1指向性抗体のグループを作製して、リード分子を特定し、ついで、それを(例えば、大型動物における毒性に関して)より広範な前臨床試験において試験し、最終的に臨床に移すことが可能である。

【0324】

関心のある構築物を、血液腫瘍細胞モデル(Jeko)及び固形腫瘍細胞モデル(MDA-MB231)に相当するヒトT細胞及びホタルルシフェラーゼ発現ROR1+腫瘍細胞(Jeko及びMDA-MB231)を移植したNSGマウスにおいて抗腫瘍活性をもたらすそれらの能力に関して試験する。関心のある抗体の血清半減期を決定するための研究のために、NSGマウスも使用する。これらの研究においては、血液を安楽死時の心臓穿刺により採取し、質量分析又はシンチレーション計数により分析する。これらの研究

は、更なる試験に使用されうるリード候補ヒト化抗体二重特異性T細胞結合分子を特定する。

【0325】

[実施例2]

図3A及び3Bは、CD28指向性二重特異性抗体でのT細胞同時活性化が標的抗原陽性がん細胞の存在に厳密に依存することを示している。これらの実験では、ROR1陰性親K562細胞又はROR1発現K562細胞を、示されているとおりにモノクローナルCD28又はROR1/CD28抗体の存在下又は非存在下、1:1のE:T比で、健常ドナーT細胞と共にCD3抗体(クローンOKT3)でコートされたウェル内でインキュベートした。48時間後、CD69及びCD25の細胞表面発現の測定によるフローサイトメトリーによりT細胞活性化を定量化した。T細胞活性化は、活性化CD3抗体が存在する場合に、ほぼ独占的に見られた。ROR1陰性がん細胞の存在下では、T細胞同時活性化は活性化CD28モノクローナル抗体では可能であったが、ROR1/CD28抗体ではそうではなかった。一方、ROR1陽性がん細胞の存在下では、T細胞共活性化はモノクローナルCD28抗体及びROR1/CD28抗体の両方で可能であった。総合すると、これらのデータは、モノクローナルCD28抗体を使用した場合のがん細胞標的(「非特異的」)T細胞活性化の見解に一致しており、一方、CD28指向性二重特異性T細胞結合抗体でのT細胞同時活性化は、モノクローナルCD28抗体で見られるものと同等に効率的であったが、標的抗原陽性がん細胞の存在に厳密に依存していた。

10

20

【0326】

図4A~4Dは、CD28指向性二重特異性抗体でのT細胞同時活性化がROR1/CD3抗体誘導性細胞傷害性を増強することを示している。ROR1を発現するように強制されたK562細胞(K562/ROR1)を、示されているとおりの種々の濃度のROR1/CD28抗体MDT347(ROR1抗体クローンR12からの可変ドメインを含む)又はモノクローナルCD28抗体(クローンCD28.2)(4B、4D)を伴って又は伴わずに、ROR1/CD3抗体MDT319(ROR1抗体クローン2A2からの可変ドメインを含む)(4A、4B)又はROR1/CD3抗体MDT340(非交差反応性ROR1抗体クローンR12からの可変ドメインを含む)(4C、4D)の存在下、1:1のE:T比で健常ドナーT細胞と共にインキュベートした。48時間後、細胞数及び薬物誘発性細胞傷害性を決定した。ROR1/CD3抗体は共に、ROR1導入K562細胞において用量依存的な細胞傷害性を引き起こす。この細胞傷害性は、モノクローナルCD28抗体又はROR1/CD28抗体のいずれかでの同時処理によって有意に増強されうる。この増強効果の大きさはモノクローナルCD28抗体とROR1/CD28抗体とにおいて同等である。

30

40

【0327】

図5は、第2のがん細胞抗原を標的化するCD28指向性二重特異性抗体でのT細胞同時活性化が治療用二重特異性T細胞結合抗体の抗がん活性を増強することを示している。ROR1を発現することを強制されたCD33^{dim+}K562細胞(K562/ROR1)を、示されているとおりに種々の濃度のROR1/CD28抗体(MDT347)を伴って又は伴わずに、CD33/CD3抗体の存在下、1:1のE:T比で健常ドナーT細胞と共にインキュベートした。48時間後、細胞数及び薬物誘発性細胞傷害性を決定した。低レベルのCD33のみを発現するこれらのK562細胞において、CD33/CD3抗体は、限られた単剤活性を有する。ROR1を標的化しCD28を同時活性化する第2抗体との組合せはCD33/CD3抗体と用量依存的に相乗作用をもたらし、薬物誘発性細胞傷害性を実質的に増強する。

【0328】

図6A~6Cは、PD-L1/CD28抗体が二重特異性抗体に対するPD-L1媒介耐性を克服しうることを示している。親CD33+TF-1細胞(6A)、CD19+RCV-ACV細胞(6B)又はCD19+REH細胞(6C)、及びPD-L1を過剰発現する対応垂系を、示されているとおりにPD-L1/CD28抗体(MDT35

50

9) を伴って又は伴わずに、適切な場合にはCD33/CD3又はCD19/CD3抗体の存在下、健常ドナーT細胞と共にE:Tの比でインキュベートした。48時間後、細胞数及び薬物誘発性細胞傷害性を決定した。既に示されているとおり(Laszloら, Blood Cancer J 2015)、PD-L1の過剰発現は二重特異性抗体誘導性細胞傷害性に対する白血病細胞の耐性の類縁事象を招く。PD-L1/CD28抗体はこの耐性を完全に克服しうる。

【0329】

リード候補抗体が特定されたら、前臨床安全性及び初期ヒト臨床試験のための臨床等級の抗体の大規模製造を開始する。現在のグッド・マニファクチャリング・プロセス(Good Manufacturing Processes)(cGMP)研究施設としてのFHCRCの生物製剤製造施設(Biologics Production Facility)はフェーズ1/2試験用の検証済みの生物製剤を製造可能であることに注目することが重要である。例えば、OKT3抗体に由来するCD3に対するscFvは、プリナツモマブにおいて使用されているものと同じであり、一方、scFv配列から誘導されているCD28抗体はインビボでT細胞を活性化することが実証されている。

【0330】

統計的な考慮： 主として、ペア分析に関する標準的な記述統計量を用い、これは生物統計学者と協議して行われる。

【0331】

当業者に理解されるとおり、本明細書に開示されている各実施形態は、その特定の記載されている要素、工程、成分又は構成部分を含む、それらから本質的になる、又はそれらからなることが可能である。したがって、「含む」又は「含み」なる語は、「含む、からなる、又はから本質的になる」を表すと解釈されるべきである。「含む」なる移行句は、限定的なものではなく包含することを意味し、特定されていない要素、工程、成分又は構成部分を、たとえ大量であっても、包含することを可能にする。「からなる」なる移行句は、特定されていない任意の要素、工程、成分又は構成部分を除外する。「から本質的になる」なる移行句は、実施形態の範囲を、特定されている要素、工程、成分又は構成部分、及び該実施形態に実質的に影響を及ぼさないものに限定する。実質的効果はがん細胞へのBS-BDCグループの結合の後でT細胞活性化における統計的に有意な減少を引き起こすであろう。

【0332】

特に示されていない限り、本明細書及び特許請求の範囲において用いられている成分の量、特性、例えば分子量、反応条件などを表す全ての数は、全ての場合において、「約」なる語により修飾されていると理解されるべきである。したがって、特に断られていない限り、本明細書及び特許請求の範囲に記載されている数値のパラメータは、本発明により得られることが求められる所望の特性に応じて変動しうる近似値である。少なくとも、そして均等論の適用を特許請求の範囲に限定する試みとしてではなく、各数値のパラメータは、少なくとも、示されている有効桁数を考慮して、そして通常の丸め技法を適用することにより解釈されるべきである。更なる明確さが要求される場合、「約」なる語は、表示されている数値又は範囲と共に用いられる場合に当業者によって合理的にそれに帰される意味を有し、すなわち、表示値又は範囲より幾分多い又は幾分少ないことを示し、表示値の $\pm 20\%$ 、表示値の $\pm 19\%$ 、表示値の $\pm 18\%$ 、表示値の $\pm 17\%$ 、表示値の $\pm 16\%$ 、表示値の $\pm 15\%$ 、表示値の $\pm 14\%$ 、表示値の $\pm 13\%$ 、表示値の $\pm 12\%$ 、表示値の $\pm 11\%$ 、表示値の $\pm 10\%$ 、表示値の $\pm 9\%$ 、表示値の $\pm 8\%$ 、表示値の $\pm 7\%$ 、表示値の $\pm 6\%$ 、表示値の $\pm 5\%$ 、表示値の $\pm 4\%$ 、表示値の $\pm 3\%$ 、表示値の $\pm 2\%$ 、又は表示値の $\pm 1\%$ 以内を示す。

【0333】

本発明の広範な範囲を記載する数値的範囲及びパラメータは近似値であるにもかかわらず、特定の実施例に記載されている数値は可能な限り正確に示されている。しかし、いずれの数値も、それらのそれぞれの試験測定値において見出される標準偏差から必然的に生じ

る或る誤差を本質的に含む。

【0334】

本発明を説明する文脈において（特に、以下の特許請求の範囲の文脈において）用いられる単数形は、本明細書に特に示されていない限り又は文脈に明らかに矛盾しない限り、単数形及び複数形の両方を含むと解釈されるべきである。本明細書における値の範囲の列挙は、該範囲内に含まれるそれぞれの別々の値を個々に指す簡潔な方法として機能することを単に意図している。本明細書に特に示されていない限り、各個の値は、本明細書において個別に列挙されている場合と同様に、本明細書に組み入れられる。本明細書に記載されている全ての方法は、本明細書に特に示されていない限り又は文脈に明らかに矛盾しない限り、任意の適切な順序で実施されうる。本明細書に記載されている全ての例又は例示的な用語（例えば、「のような」）の使用は、単に本発明をより明瞭にすることを意図しており、別に特許請求されている本発明の範囲を限定しない。本明細書におけるいかなる語も、本発明の実施に必須の任意の特許請求されていない要素を示すと解釈されるべきではない。

10

【0335】

本明細書に開示されている本発明の代替的要素又は実施形態のグループ分けは、限定的なものとして解釈されるべきではない。各グループメンバーは、個々に、又は該グループの他のメンバー若しくは本明細書に見出される他の要素との任意の組合せで言及され及び特許請求されうる。簡便性及び／又は特許性の理由により、グループのメンバーの1以上がグループに含まれうる又はグループから除外されうると予想される。いずれかのそのような包含又は除外が生じる場合、本明細書は、修正されたものとしてグループを含み、したがって、特許請求の範囲で用いられる全てのマーカッシュグループの、書面による記載を満たすと見なされる。

20

【0336】

本発明を実施するための本発明者らに知られている最良の形態を含む、本発明の特定の実施形態が本明細書に記載されている。もちろん、これらの記載されている実施形態に対する変形は、前記の記載を読めば当業者に明らかになるであろう。本発明者は、当業者がそのような変形形態を適宜使用することを想定しており、本発明者らは、本明細書に具体的に記載されている以外の様態で本発明が実施されることを意図している。したがって、本発明は、適用可能な法律によって許容されているとおり、本出願における特許請求の範囲に列挙されている内容の全ての修飾及び均等物を含む。更に、本明細書に特に示されていない限り又は文脈に明らかに矛盾しない限り、前記要素の、その全ての可能な変形における任意の組合せが本発明に包含される。

30

【0337】

更に、本明細書全体にわたって、特許、印刷刊行物、学術論文及び他の文書によるテキスト（本明細書において参照されている資料）に対する多数の参照がなされている。参照されている資料のそれぞれの全体を、それらの参照されている教示のために、本明細書に個々に組み入れることとする。

【0338】

最後に、本明細書に開示されている本発明の実施形態は本発明の原理の例示であると理解されるべきである。用いられうる他の修飾も本発明の範囲内である。したがって、限定的ではない例示として、本明細書の教示に従い、本発明の代替構成が用いられうる。したがって、本発明は、示され記載されている厳密にそのとおりのものには限定されない。

40

【0339】

本明細書に示されている詳細は例示としてのものであり、本発明の好ましい実施形態の例示的説明を目的としたものであるに過ぎず、本発明の種々の実施形態の原理及び概念的態様の最も有用で容易に理解される説明であると考えられるものを提供するために示されている。この点において、本発明の基本的理解に必要なものより詳細に本発明の構造的詳細を示すための試みはなされておらず、図面及び／又は実施例と共に示されている説明は、本発明の幾つかの形態がどのように実際に具体化されうるかを当業者に明らかにしてい

50

【 0 3 4 0 】

10

【圖 2】

FIG. 2

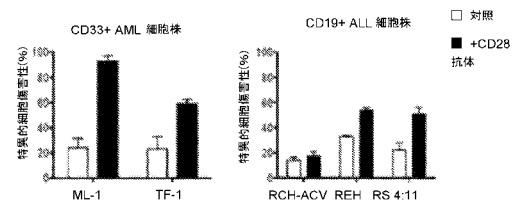
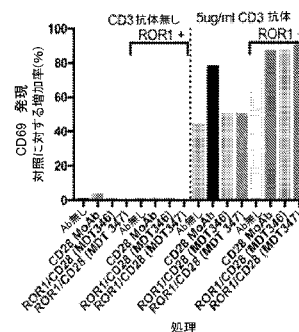


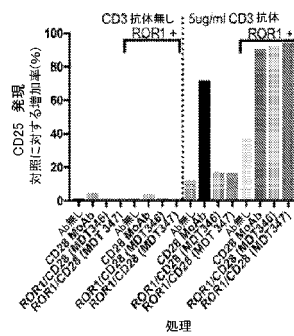
FIG. 3A

FIG. 1B



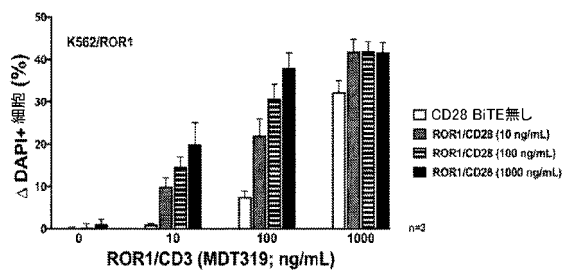
【 図 3 B 】

FIG. 3B



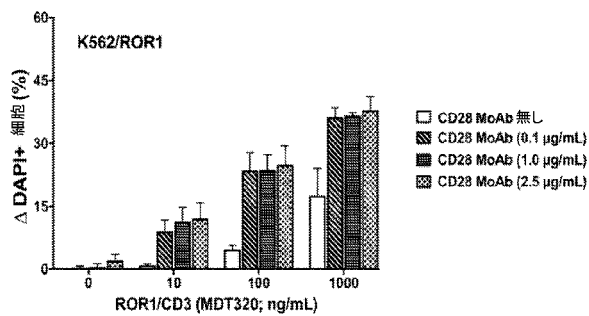
【 図 4 A 】

FIG. 4A



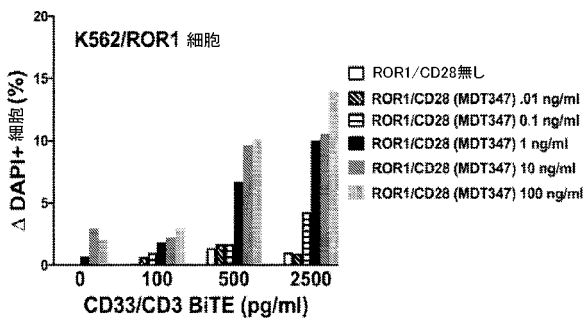
【 図 4 D 】

FIG. 4D



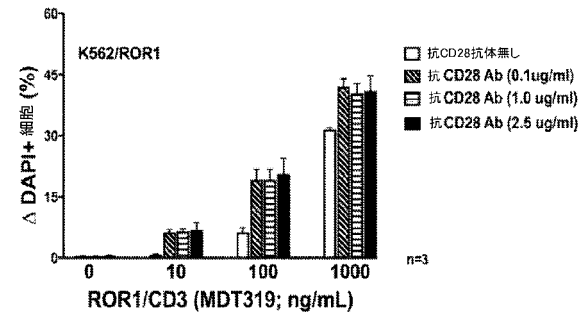
【 図 5 】

FIG. 5



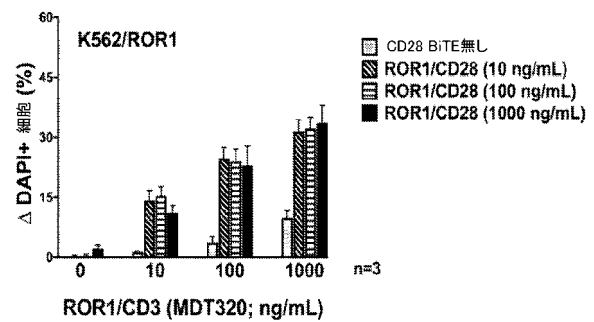
【 図 4 B 】

FIG. 4B



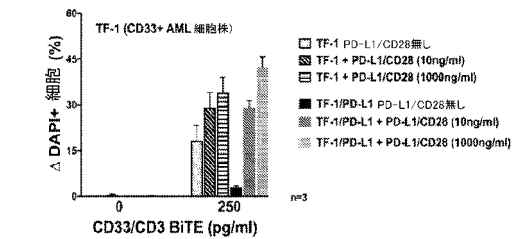
【 図 4 C 】

FIG. 4C



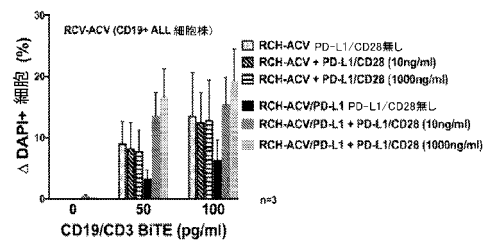
【 図 6 A 】

FIG. 6A



【 図 6 B 】

FIG. 6B



MDT000498
Ab_CD33_13E11_mimgG1_重链
Ab 特异性: ΔE2
IgG1
METDTLLTLLVLLLVWPGSTGKVLQVQSGAELVKGASVKLSGSKASGYTFTDYTHLWKORSQGQLEWIGW
FPTSGSYNNYERFDKATLTADKSSSTYMIELSRLTSDVASVYFCARHFGFDYWGAGDTLTIVSSAKTTP
SVTDCVQVIAHTMGLVQKGYPEVTVTVGKSSGSSVITFAVLKSLDPLTIVTVTVSPRFS
YDVTNVNHPASTSVKIDVPRDCCGCKPTVYESSVFTPKPKWLTLTLPKTVTVAVISKDDEW
FSWIFDQVQVQVQTPQREEGNTSRFSVSELPIMHQDWLNGKFKRVNSAAFPATKCTKGRPKAP
QVYTIPTPPKCSMAKQVSLTOMITDFFEDITVEWQVNGQAPYKNTQPSYFYSKLNVQKSNW
EAGTNTSCVSLHGLHNHTKSLSPSGK (配列番号 7)

【図 8 - 4】

FIG. 8 (つづき)

MDT000551
Ab_CD33_1H7_mmlgG1_ 軽鎖
Ab 特異性: FL and ΔE2
IgG1
METDTLLLVWLLLVWPGSTGDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDINYYLNWYQQKPDGTVKLL
IYYSSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFSLTISNLEQEDIATYFCQQDDALPYTFGGGKLEIKRADAAPT
SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSDSTYSMSSTLT
TKDEYERHNSYTCETHKTSTSPVKSFNRNEC (配列番号 72)

MDT000552
Ab_CD33_1H7_mmlgG1_ 重鎖
Ab 特異性: FL and ΔE2 E2
IgG1
METDTLLLVWLLLVWPGSTGQVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSNYYMMNWVKQRPQKG
LEWIGQINPGDGDITNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDRDYFDYWGQ
GTTLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSSGLSSGVHTFPAVLQ
SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASSTKVDDKIEPRGPTIKPCPPCKCAPNLLGGPSVFIF
PPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDSEDDPDVQISWFWVNNIEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH
QDWMSGKEFKCKVKNNDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKQVTLTCMVTDFMPED
YVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSGDSYFMYSKLREVEKNWVERNYSQSCVVHEGLHNNHHTTKSFS
RTPGK (配列番号 73)

MDT000553
Ab_CD33_11D11_mmlgG1_ 軽鎖
Ab 特異性: ΔE2
IgG2a
METDTLLLVWLLLVWPGSTGDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYYLNWYQQKPDGTVKLL
IYYTSLRHSGVPSRFSGSGSGTDSLITSNLEQEDIATYFCQQGSTLPPTFGGGTKLEIKRADAAPT
SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSDSTYSMSSTLT
TKDEYERHNSYTCETHKTSTSPVKSFNRNEC (配列番号 74)

MDT000554
Ab_CD33_11D11_mmlgG1_ 重鎖
Ab 特異性: ΔE2
IgG2a
METDTLLLVWLLLVWPGSTGEVNLVESGGGLVQSGRSLRLSCATSGFTSFDFYMEWVRQAPGKGL
EWIAASRNKAANDYITEYKASVKGRFIVSRDTSQSILYQMNALRAEDTAIYCTRTDGPMDYWGQG
TSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAGTSMVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSSGLSSGVHTFPAVLQ
DLYTLSSSVTVSPSRPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDV
LTLTLTPKYTCVVYDSDKDDPEVQGSWFWDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVELPIMHODWLNGK
EFKCRVNSAFAPIEKTISTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFPEDITVEWQWN
GQPAENYKNTOPIMNTNGSYFVYSKLVNQSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNNHTEKLSHSPGK
(配列番号 75)

【図 8 - 6】

FIG. 8 (つづき)

LAG3
MWAEQFLGLFLQPLWVAPVKLPQGAIEVWVWAQEGAPALPCSPITPLQDLSLLRRA
GVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGHPAAPSSWGRPRRRYTVLSVPGGLRSSRLPLQ
PRVQLDERGRQGRDQFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRQASMTASP
PGSLRASDWI/LNCSFSRPRDPASVHWFNRNGQGRVPRRESPHHLAESFLFLPQVSPM
DSGPWGICILTYRDFGNVSIMYNTLVGLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTFRSL
TAKWTPPGGPDLLVTGNDGDFTLREDVSAQAAGTYTCHHLQEQLNATVTLAIITVP
KSFSGPSGLKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPRSFSGPWLAEQAQALLSQPWQQQ
LYQGERLLGAAYVFTELSSPGAQRSGRAPALPAGHLLFLLGLVLSLLLTGAFGHLW
RRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIELEQEPEPEPEPEPEPEPEPEQL (配列番号
166)

TIM-3
MFSHLFPDCVLLVLLLLTRSSVEYRAEVGQNALYPCFYTPAAPGNLVPCVWGKGACPV
FECGNVVLRTDERDNYWT SRYWNLGDFRKGQDVSITIENVLADSGIYCCRIQIPGIMNDE
KFNLKLVIPAKVTPAPTRQRDFTAAFRMLTTRGHGPAETQLTGLSLPDINLTQISTLANEL
RDSRLANDLRDGSATIRIGIYGAGICAGLALIFGALIFKWYSHSKEIQNLISLISLANLPPS
GLANAAVEGIRSEENIYTIENVEYEEPENEYCYVSSRRQPSQLGCRFAMP (配列番号
173)

BTLA
MKTLPALMTGKLFWFFLPIPLYLDIWNHKGESCDVQLYKROSEHSILAGDPFELECPVKY
CANRPHVTWCKLNGTTCVKLEDROTWSKEEKNSFFLHFEPVLPNDNGSYRCSANFQSN
LIESHSTLYYTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYRLLPLGGLPILITTCFLCCLLRHQG
KQNELSDTAGREINLVDHLKSEQTEASTRQNSQVLLSETGIYDNDPDLCFRMOEGSEVY
SNPCLREENKPGIVYASLNHSV/GPNSRLARNVKEAPTEYASICVRS (配列番号 180)

CTLA-4
MACLGFQRHKAQLNATRTWPCTLFFLLFIPVFCAMHVAQPAVVLAASSRGIAFSVCEYA
SPGKATEVRVTVLROADSQVTEVCAATYMMGNELFLDDSICTGSSGNQVNLTIQGLRA
MDTGLEYICKVELMYPPIYGLIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLWLLAAVSSQLFFYSFLLTAV
SLSKMLKKRSLPTTGYYVKMPPEPECEKQFQPIFIPIN (配列番号 193)

CD200
MERLVIRMPFSLSTYSLVWMAAVVLCTAQVQVVTDQEREQLYTPASLKCSLQNAQEAL
IVTWKKKAVSPENMVTFSENHGVIQAPYKDKINITQLGQNSTITFWNITLEDGECYMQAL
FNTFGFGISGTCALTVYVQPIVSLHYFKSEDLHNITCSATARPAPMVFWKVPFRSGIENSTV
TLSHNGTISVTSLHDKPNQVGKEVICQVLHLGTVTDQKTVNKGYWFVPLLLSIVSL
VILLVLISILLYWKRHRNQDRGELSQQGVQKMT (配列番号 212)

【図 8 - 5】

FIG. 8 (つづき)

CD80
MGHTRRQGTSPSKCPYLNFFQLLVLAGLSHFCSGVIHVTKVEKEVATLSCGHNVVEELAQ
T R IYVQKEKKMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDITNNLSIVLALRPSDEGTGYECVVLKYEKDAF
KREHLAEVTLVKADFTPTSPISDFEPTSNIRRIICSTSGGFPEPHLSWLENGEELNAINTTVSQ
DPETELYAVSSKLDNFMTTNHSFMCLIKYGHLRVNQTFNWNNTTKQEHPDNLPSWAITLISV
NGFVICCLTYCFAPRCRERRRNERLRRESVRPV (配列番号 137)

CD86
MDPQCTMGLSNILFVMAFLLSGAAPLKQIAYFNETADLPQCFANSQNSLSLVFWQDQEN
LVNLVEVYLGKEKFDSDVHSKYMGRTSFSDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKPTGMIRIQ
MNSLSVLANFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQMSQ
DNVTELYDVSISSLSVSFPDVTSMNTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPGPPDPHIPWTAVLPTVI
ICVMVFCLLWKKWKKKRPRNSYKCGTNTMERESEQTKKREKIHIPERSDEAQRVFKSSKTS
CDCKSDTDCF (配列番号 138)

TLR2
MPHTLWMVWVLGVIISLSKEESSNQASLSCDRNGICKGSSGSLNSIPSGLTEAVKSLDLSNNR
ITYISNDSLQRCVNQLALVLTSGNITIEEDSFSSLSGLEHLDLSYNYLSNLSSSWFKPLSSLT
LNLGNPYKTLGETSLFSLHTKLQILRVGNMDTFTKIRKDFAGLTFLLEELEIDASDLQSYEPKS
LKSIGNVSHLHMKQHILLLEIFVDVTSSVECLELRDITDITFHFSELSTGETNSLKKKFTFRNV
KITDESFLQVMKLLNQISGLLEFDDCTLNGVGNFRASDNDRVIDPGKVELTIRRLHPIRFYL
FYDLSTLYSLTERVKRITVENSKVFLVPCLLSQHLKSLEYLDLSENLMVEEYKNSACEDAWPS
LQTLILRNQHLASLEKTGETLTLKNLTNIDISKNSFHMPETCQWPEKMKYLNLSSTRIHVS
GT CIPKTLLELDVSNNNLNLFSNLNLPLKELYISRNKMLTLPDASLLPMLLVKISRNAITTFKSKEQ
LDSFHTLKTLEAGGNFICCEFLSFTQEQQALAKVLIDWPANYLDCDPSHVRGQVQDVRLSV
SECHRTALVSGMCCALFLLILLTGVLCHRFHGLWYMKMMWAWLQAKRPRKAPSRNICYDA
FVYSYERDAYVVENLMVQLEENFNPPFKLCLHKRDFIPGKWIIDNIDSIEKSHKTVFVLSNFV
KSEWCKYELDFSHRFLDENNDAAIILLLEPIEKKAIPQRFCKLRKIMNTKTYLEWPMDEAQR
GFWVNLRAAIKS (配列番号 145)

4-1BB
MGNCSNIVATLLLVNFERTSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQR
TDCICRQCKGVFRTRKECSTSNACEDCTPGFHLGAGCSMCQECQKQGLTKKGCKDC
CFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSADLSPGASSVTPPAPARE
PGHSPQIISFFALTSTALLFLFLTLRFSSVVKRGRKLLYIFKQPMRVPQTQTQEDG
CSCRFPEEEEGCEL (配列番号 146)

PD-1
MPIQAPWPVWVAVLQWLRPGWFLDSPRDPWNPPTFPALLVTEGDNATFTCSFNST
ESFVLNWRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFVRQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGT
YLCGAILAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSFIRHHSEHVRHGMELQVQT
LVWVLAIVCSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFVSVDYGLDFQWREKTPPEPPVCPVEQ
TEYATVFPSPGMDTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (配列番号 153)

【図 8 - 7】

FIG. 8 (つづき)

VISTA
MGVPTALEAGSWRWGSLLFALFLAASLGPVAAFVATPYSLVYCPGEQNVLTLCRLL
GPVQDKGHDVTYKTYWYRSSRGVEQVTCSERRPIRNLTFODLHLHHGGHQAANTSHDL
AQRHGLEASDHHGNFSTMRNLTLTDSGLYCVLVEIRHHSEHVRHGMELQVQT
GKDAFNSCNVYPSSSQDSENITAAALATGACVIG/LCLPILLLYYQORQAASNRRAQE
LVRMDSNIQGIENPGFEASPPAQGIPEAKVRHPLSYVAQRQPSSESRHLLSEPSTPLS
PPGPGDVFFPSLDVPDPSPNFVI (配列番号 219)

CD40
MVRLPLQCVLWGCLLTAVHPEPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVSDCTEFTET
ECLPCGESEFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQKGTSETDITICTEEGWHCT
EACESCVLHRSRCSPGFVGKQIATGVSDTICEPCPVGFFSNVSSAFEKCHPWTSCTEK
YLCCGAILAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSFIRHHSEHVRHGMELQVQT
GKDAFNSCNVYPSSSQDSENITAAALATGACVIG/LCLPILLLYYQORQAASNRRAQE
LVRMDSNIQGIENPGFEASPPAQGIPEAKVRHPLSYVAQRQPSSESRHLLSEPSTPLS
PPGPGDVFFPSLDVPDPSPNFVI (配列番号 219)

PD-L1
MRIFAVFIMTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYSGNSMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEM
EDKNIQFVHGEEELKVQHSSYRQARLLKQDLSLGNALQITDVKLQDAGVYRCMIS
YGGADYKRI/TKVKNAPYNNKINRLVVDVPTSEHLETCQAEQYPAKPVITVSDHQLV
SOKGTTTTNKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVPELPAHPP
NERTHLV/LGAILLCLGVALTFIFRLR/KGRMM/DVKKGIQDQTNSSKKQSDTHLEET
(配列番号 235)

PD-L2
MLLLLPIILNLSQLHPVAALFTVTPAKVEYTVVDVGSVSLCEDFDRRECTELEGIASLQ
KVENDTSLQSERATLLEEQLPLGKALFHIPSQVQRDSQYRCLVICGAAWDYKYLTVK
VKASYMRIDTRILEVPGTGEVQLTCQARGYPLAEVSWQNVSPANTSHIRTPEGYQV
TSVRLKPKQPSRNFSCMFVWNAHMKELTSAIDPLSRMEPKVPRTWPLHVFIAPACTIALIF
LAIVIQKRRI (配列番号 236)

Gal-9
MAFSGSQAPYLSPAVPFSGTIQGGQLQDGLQITVNGTVLSSSGTRFVNFQTGFSGNDI
AFHFNPRFEDGGYVVCNTRQNGSWGPEERKTHMPFQKGMFPLDCLFLVQSSDFKVM
VNGILFVQYFHRVPFHRVDTISVNGSVQSLYISFQNPRTVPVQPAFSTVPFSQVCFPP
RPRGRQKPPGVWPNANPAPITQTVIHTVQSAPGQMFSTPAIPPMYPHPAYMPPIFT
ILGLGYPSKILLSGTVLPSAQRFHINLCSGNHIAFLHNPFRDENAVVRNTQIDNSWGS
EERSLPRKMPFVRGQSFVSWLCEAHCLKVAVDQGHLEFYHRLNLPNTINRLEVGG
DIQLTHVQT (配列番号 237)

【図 8 - 8】

FIG. 8 (つづき)

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIVMTQSQKIMSTTVGDRVSITCKASQNVDAAVAWYQQKPGQ
SPKLLIYASASNRYYTGVDPDRFTGSGSGDTFLTISNMQSEDLADYFCQQYDIYPYTFGGGKTLEI
KGGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFSDEMHVWIQTPVHG
LEWIGAIDPETGGTAYNQKFKKAILTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTGYDYDSFTY
WGQGTLLVTVSAGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQG
LEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYFCTRSHYGLDWNF
DVWGGGTTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCHASQNIYVWL
NWWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQQGQTYPY
TFGGGKTVEIKKLEIHLHHHHH (配列番号 238)

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIVMTQSQKIMSTTVGDRVSITCKASQNVDAAVAWYQQKPGQ
SPKLLIYASASNRYYTGVDPDRFTGSGSGDTFLTISNMQSEDLADYFCQQYDIYPYTFGGGKTLEI
KGGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFSDEMHVWIQTPVHG
LEWIGAIDPETGGTAYNQKFKKAILTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTGYDYDSFTY
WGQGTLLVTVSAGGGGSQVQLLESGPELLKPGASVKMSCKASGYTFTDYNMHWVKQSHGKS
LEWIGIYIYPYTGTYNQKFNKATLTVDSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARNFRYTYWYF
DVWGGGTTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGSDIQMTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSDY
NSLMHWYQQKPGQPPKVLIIYLANLESGVPRFSGSGSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQN
NEDPYTFGGGKTLEIKRHHHHH (配列番号 239)

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPELVTMTQPSSTSGAVGGTITNCQASQSIDSNLAWFQQKPGQ
PPTLLIYRASNLASGVPSRFGSGSRSGTEYLTISGVQREDAATYYCLGGVGNVSYRTSFGGGT
EVVYKGGGSGGGSGGGSGGGSQVQSEKGLDVTLPAGNLTLCTASGSDINDYPISWVRQAPG
KGLEWIGFINSGGSTWYASWVKGRFTISRTSTTVDLKMSTLTTDDTATYFCARGYSTYYGDFN
IWGPGLTVTISGGGSDIKLQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWWKQRPQGL
EW/GYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDY
WGQGTLLTVSSVEGGSGGGSGGGSGGGGVDIQLTQSPAIMASAPGEKVTMTCRASSSVSYM
NWWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSYSLTISMEADAATYYCQQWSSN
PLTFGAGTKLELKEQLISEEDLHHHHH (配列番号 240)

METDTLLWVLLWVPGSTGELVMTQTPSSTSGAVGGTITNCQASQSIDSNLAWFQQKPGQ
PPTLLIYRASNLASGVPSRFGSGSRSGTEYLTISGVQREDAATYYCLGGVGNVSYRTSFGGGT
EVVYKGGGSGGGSGGGSGGGSQVQSEKGLDVTLPAGNLTLCTASGSDINDYPISWVRQAPG
KGLEWIGFINSGGSTWYASWVKGRFTISRTSTTVDLKMSTLTTDDTATYFCARGYSTYYGDFN
IWGPGLTVTISGGGSDIKLQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWWKQRPQGL
EW/GYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDY
WGQGTLLTVSSVEGGSGGGSGGGSGGGGVDIQLTQSPAIMASAPGEKVTMTCRASSSVSYM
NWWYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSYSLTISMEADAATYYCQQWSSN
PLTFGAGTKLELKH HHHHH (配列番号 241)

【図 8 - 10】

FIG. 8 (つづき)

METDTLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLI
YASAFLYSGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQDYLYHPATFGQGTVEIKGGGGSGGGG
SGGGGSEVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSIHWVWRQAPGKLEWAWISPYGGSTYY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLTVSSGGGGSQVQ
LVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATL
VDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGGGTTVTVSSH HHHHH
QMTQSPSSLASVGDRTVITCHASQNIYVWLNWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFGSGSGDT
FLTITISLQPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGKTVEIKHHHHH (配列番号 246)

METDTLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCHASQNIYVWLNWYQQKPGKAPKLLI
YKASNLHTGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGKTVEIKGGGGSGGG
GSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNY
NEKFKDRATLTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGGGTTVTVSSH HHHHH
(配列番号 247)

METDTLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLI
YASAFLYSGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQDYLYHPATFGQGTVEIKGGGGSGGG
SGGGGSEVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSIHWVWRQAPGKLEWAWISPYGGSTYY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLTVSSH HHHHH
(配列番号 248)

METDTLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLI
YASAFLYSGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQDYLYHPATFGQGTVEIKGGGGSGGG
GSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWAWISPYGGSTYY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLTVSSH HHHHH
(配列番号 249)

METDTLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLI
YASAFLYSGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQDYLYHPATFGQGTVEIKGGGGSGGG
GSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWAWISPYGGSTYY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLLTVSSH HHHHH
(配列番号 250)

【図 8 - 9】

FIG. 8 (つづき)

METDTLLWVLLWVPGSTGELVMTQTPSSTSGAVGGTITNCQASQSIDSNLAWFQQKPGQPP
TLLIYRASNLASGVPSRFGSGSRSGTEYLTISGVQREDAATYYCLGGVGNVSYRTSFGGGTEVVV
KGGGGSGGGSGGGSGGGSQVQSEKGLDVTLPAGNLTLCTASGSDINDYPISWVRQAPGKLEW
GFINSGGSTWYASWVKGRFTISRTSTTVDLKMSTLTTDDTATYFCARGYSTYYGDFNIWGPGL
VTISGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGCIYPG
NVNTNYNEKFKDRATLTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGGGTTVT
SSGGGGSGGGSGGGSGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCHASQNIYVWLNWYQQKPGKAPK
LLIYKASNLHTGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGKTVEIKHHH
HHH (配列番号 242)

METDTLLWVLLWVPGSTGELVMTQSPSVSAALGSPAKITCTLSA HKTDTIDWYQQLGGEAPR
YLMQVQSDGSYTKRPGVDRFSGSSSGADRYLIIPSVQADDEADYYCGADYIGGYVFGGGTQLT
VTGGGGSGGGSGGGSGGGSQVQSEKGLDVTLPAGNLTLCTASGSDINDYPISWVRQAPGK
GLEWATITPSSGKTYATWVNGRFTISSDNAQNTVDLQMNLSLTAADRATYFCARDSYADGAL
FNIWGPGLTVTISGGGGSDIKLQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWWKQRPQGL
LEWIGIYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDY
WGQGTLLTVSSVEGGSGGGSGGGSGGGGVDIQLTQSPAIMASAPGEKVTMTCRASSSVSYM
WYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSYSLTISMEADAATYYCQQWSSNPLT
FGAGTKLELKH HHHHH (配列番号 243)

METDTLLWVLLWVPGSTGELVMTQSPSVSAALGSPAKITCTLSA HKTDTIDWYQQLGGEAPR
YLMQVQSDGSYTKRPGVDRFSGSSSGADRYLIIPSVQADDEADYYCGADYIGGYVFGGGTQLT
VTGGGGSGGGSGGGSGGGSQVQSEKGLDVTLPAGNLTLCTASGSDINDYPISWVRQAPGK
GLEWATITPSSGKTYATWVNGRFTISSDNAQNTVDLQMNLSLTAADRATYFCARDSYADGAL
FNIWGPGLTVTISGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGL
LEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDV
WGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGVDIQLTQSPAIMASAPGEKVTMTCRASSSVSYM
WYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSYSLTISMEADAATYYCQQWSSNPLT
FGAGTKLELKH HHHHH (配列番号 244)

METDTLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSQKIMSTTVGDRVSITCKASQNVDAAVAWYQQKPGQSP
KLLIYASASNRYYTGVDPDRFTGSGSGDTFLTISNMQSEDLADYFCQQYDIYPYTFGGGKTLEIKG
GGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFSDEMHVWIQTPVHG
LEWIGAIDPETGGTAYNQKFKKAILTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTGYDYDSFTYWGQGT
LLVTVSAGGGGSQVQLVQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWWKQRPQGLEWIGIYINP
SRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTLLT
VSSVEGGSGGGSGGGSGGGGVDIQLTQSPAIMASAPGEKVTMTCRASSSVSYMWNWYQQKSGT
SPKRWIYDTSKVASGVPRFSGSGSGTSYSLTISMEADAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLEL
KH HHHHH (配列番号 245)

【図 8 - 11】

FIG. 8 (つづき)

METDTLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVQYDGSYLNWYQQIPGPQ
PKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGDTFLTINIHPEVKEVDAATYHCQGSTEDPYTFGGGKTLEIKGG
SGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVRQAPGQGLEWIG
QGDCTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTVGRYYAYMDYWGQGT
TVTVSSGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGCIYPGN
VNTNYNEKFKDRATLTVDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGGGTTVTVSS
GGGGSGGGSGGGSGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCHASQNIYVWLNWYQQKPGKAPKLLIYKAS
NLHTGVPSRFGSGSGDTFLTITISLQPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGKTVEIKHHHHH (配列番号
251)

METDTLLWVLLWVPGSTGELVMTQSPSVSAALGSPAKITCTLSA HKTDTIDWYQQLGGEAPRYLM
QVQSDGSYTKRPGVDRFSGSSSGADRYLIIPSVQADDEADYYCGADYIGGYVFGGGTQLTVTGGG
GGGGSGGGSGGGSGGGSQVQLVQSGAELVRPGSLTLSCASGDFSAIYMSWVRQAPGKLEWATIT
PSSGKTYATWVNGRFTISSDNAQNTVDLQMNLSLTAADRATYFCARDSYADGALFNIWGPGLTVI
SSGGGGSEVOLVQSGAEVKKPGESLRISCKSGSYFSTWISWVRQMPGKLEWMMGKIYPGDSYT
NYSFSGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCYARGYGFIDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGG
SGGGGGSSYELTQPPSVSVSGGTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVLVIYQDKNPSGIPE
RFGSGNSGNTATLISGTQAMDEADYYCATYTGFGSLAVFGGGTKTLVHHHHH (配列番号 252)

【配列表】

2019532017000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 17/42284
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/395, C07K 16/28, C12N 15/09 (2017.01) CPC - C07K 2319/00, C07K 2319/30, C07K 14/70521, C07K 14/7051		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History Document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History Document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History Document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y --- A	US 2015/0306141 A1 (FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER) 29 October 2015 (29.10.2015) para [0072], [0074], [0075], [0081], [0085], [0086], [0116], [0118], [0120], [0144], [0161], [0191], [0226], [0246]	1-3, 15-17, 25, 27-28, 30-31, 37, 101/15, 105/15, 106/15 <hr/> 39-40 <hr/> 10, 14, 102, 105/102, 106/102
Y	US 2013/0251642 A1 (RADER et al.) 26 September 2013 (26.09.2013) para [0011], [0016], SEQ ID NOs: 31-36, 40-45,	39-40
A	US 2011/0165161 A1 (LIN et al.) 7 July 2011 (07.07.2011) SEQ ID NO: 43	10, 14, 102, 105/102, 106/102
A	US 2014/0242081 A1 (HAMMOND et al.) 28 August 2014 (28.08.2014) SEQ ID NO: 52	10, 14, 102, 105/102, 106/102
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
Date of the actual completion of the international search 16 November 2017		Date of mailing of the international search report 05 DEC 2017
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-1774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/42264

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

----- please see extra sheet -----

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-3, 10, 14, 15-17, 25, 27-28, 30-31, 37, 39-40, 101 (in part), 102, 105 (in part), 106 (in part), limited to BS-BDC sequences SEQ ID NOs: 240, 244 and CDR sequences SEQ ID NOs: 18-23, 24-29

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/42264

Continuation of: Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+: Claims 1-106, drawn to compositions comprising a group of bi-specific domain constructs (BS-BDC). The group of BS-BDC will be searched to the extent that the BS-BDC encompasses the first two named BS-BDC, wherein: the different cancer antigen epitopes are on the same cancer antigen (cancer antigen ROR1), wherein the cancer antigen epitopes on ROR1 are ROR1-A (R11) and ROR1-a (R12); and the different immune cell activating epitopes are CD3 and CD28. These first two named BS-BDC are namely:
 - the first BS-BDC comprising first cancer cell antigen epitope ROR1-A (R11) and first immune cell activating epitope CD3, i.e. R11-CD3 -Myc-His (SEQ ID NO: 240), and
 - the second BS-BDC comprising second cancer cell antigen epitope ROR1-a (R12) and second immune cell activating epitope CD28, i.e. R12-CD28-His (SEQ ID NO: 244).

It is believed that claims 1-3, 10, 14, 15-17, 25, 27-28, 30-31, 37, 39-40, 101 (in part), 102, 105 (in part), 106 (in part), limited to BS-BDC sequences SEQ ID NO: 240 (R11-CD3) and SEQ ID NO: 244 (R12-CD28), encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass a group of BS-BDC comprising first BS-BDC of SEQ ID NO: 240 (R11-CD3) and second BS-BDC of SEQ ID NO: 244 (R12-CD28). [Note: Claims 39 and 40 are included in the first named invention because Claim 39 CDR sequences of SEQ ID NO: 18-23 correspond to the R11 antibody and Claim 40 CDR sequences of SEQ ID NOs: 24-29 correspond to the R12 antibody]. Additional BS-BDCs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected BS-BDC(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be wherein the group of BS-BDC further comprises a third BS-BDC, comprising a third cancer cell antigen epitope ROR1-B (2A2) and immune cell activating epitope CD28, namely the BS-BDC of 2A2-CD28-His (SEQ ID NO: 238), i.e. claims 1-4, 8, 10, 14, 15-18, 25, 27-28, 30-31, 37, 39-41, 101 (in part), 102, 105 (in part), 106 (in part), limited to the first two named BS-BDC set forth above and an additional third BS-BDC of 2A2-CD28-His (SEQ ID NO: 238).

Group II: Claims 107-115, drawn to a method for treating cancer

Group III: Claims 116 drawn to a method for stimulating an immune response

The inventions listed as Groups I+, II, III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Group I+ requires compositions of matter comprising BS-BDC, not required by Groups II and III. Further, the technical feature of each of the inventions listed as Group I+ is the specific BS-BDC recited therein. Each invention requires a BS-BDC comprising a different combination of cancer cell antigen epitope and immune cell activating epitope, not required by any of the other inventions

Group II requires method steps for treating cancer, not required by Groups I+ and III.

Group III requires method steps for stimulating an immune response, not required by Groups I+ and II.

Common Technical Features

The feature shared by Groups I+, II, and III is a group of bi-specific binding domain constructs (BS-BDC) wherein each BS-BDC in the group targets

- (i) a cancer antigen epitope that is non-overlapping and non-repetitive with a cancer antigen epitope targeted by another BS-BDC within the group and
- (ii) an immune cell activating epitope that is non-overlapping and non-repetitive with an immune cell activating epitope targeted by another BS-BDC within the group.

The feature shared by the inventions listed as Group I+ is a composition comprising said group of BS-BDC.

The feature shared by Groups II and III is a method of administering a group of BS-BDC.

— please see continuation on next extra sheet —

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/42264

Continuation of: Box No. III Observations where unity of invention is lacking

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical features are taught by US 2015/0306141 A1 to Fred Hutchinson Cancer Research Center (hereinafter "FHCRC").

FHCRC discloses a group of bi-specific binding domain constructs (BS-BDC) (para [0144] "Chimeric receptors can be constructed with a specificity for any cell surface marker by utilizing antigen binding fragments or antibody variable domains of, for example, antibody molecules. The antigen binding molecules can be linked to one or more cell signaling modules. In embodiments, cell signaling modules include CD3 transmembrane domain, CD3 intracellular signaling domains, and CD28 transmembrane domains"; para [0264] "Chimeric receptors are artificial receptors that include an extracellular antigen-binding scFv, a spacer domain that provides separation of the scFv from the cell membrane and an intracellular signaling module that mediates T cell activation") wherein each BS-BDC in the group targets (i) a cancer antigen epitope (para [0074] "In embodiments, the chimeric receptor nucleic acid comprises a polynucleotide coding for a ligand binding domain. In embodiments, the ligand binding domain specifically binds to a tumor or viral specific antigen"; para [0075] "Tumor antigens are proteins that are produced by tumor cells that elicit an immune response. The selection of the ligand binding domain of the invention will depend on the type of cancer to be treated, and may target tumor antigens or other tumor cell surface molecules. . . . Tumor antigens and cell surface molecules are well known in the art and include, for example . . . ROR1"; para [0085] "In specific embodiments, the target antigen is ROR1. . . . In a specific embodiment, the chimeric receptor construct includes a scFV sequence from R12 antibody"; para [0086] "In specific embodiments, the target antigen is ROR1. . . . In a specific embodiment, the chimeric receptor construct includes a scFV sequence from R11 antibody") and (ii) an immune cell activating epitope (para [0072] "The disclosure provides a chimeric receptor nucleic acid useful for transforming or transducing lymphocytes for use in adoptive immunotherapy"; para [0116] "In embodiments, the chimeric receptor nucleic acid comprises a polynucleotide coding for an intracellular signaling domain. The intracellular signaling domain provides for activation of one function of the transduced cell expressing the chimeric receptor upon binding to the ligand expressed on tumor cells"; para [0118] "In a preferred embodiment, the intracellular signaling domain of the chimeric receptor can be designed to comprise the CD3-zeta signaling domain"; para [0120] "In one embodiment, the intracellular signaling domains comprises all or a portion of the signaling domain of CD3-zeta or variant thereof and all or a portion of the signaling domain of CD28 or a variant thereof").

FHCRC does not specifically teach that the cancer antigen epitope is non-overlapping and non-repetitive with a cancer antigen epitope targeted by another BS-BDC within the group; or that the immune cell activating epitope is non-overlapping and non-repetitive with an immune cell activating epitope targeted by another BS-BDC within the group. However, FHCRC does teach that the BS-BDCs can be designed to target different cancer antigen epitopes (para [0081] "In embodiments, a number of different antibodies that bind to a particular tumor cell surface molecules can be isolated and characterized"; para [0191] "The ROR1 chimeric receptors were designed from ROR1 specific scFVs with different affinities"; para [0226] "The affinity of the scFV selected for designing a chimeric receptor is an additional parameter that could affect T-cell recognition. We generated and characterized a panel of ROR1-specific mAbs of different affinities") and can further comprise a variety of different immune cell activating epitopes (para [0069] "A variety of combinations of primary and costimulatory intracellular signaling domain may be employed to enhance the in vivo efficacy of the chimeric receptor. In embodiments, different constructs of the chimeric receptor can be tested in an in vivo animal model to determine efficacy for tumor killing"). Given that a variety of different combinations of cancer antigen epitopes and immune cell activating epitopes can be targeted by each BS-BDC construct, one of ordinary skill in the art would have found it obvious to have BS-BDCs wherein the cancer antigen epitope is non-overlapping and non-repetitive with a cancer antigen epitope targeted by another BS-BDC within the group; and wherein the immune cell activating epitope is non-overlapping and non-repetitive with an immune cell activating epitope targeted by another BS-BDC within the group.

FHCRC further teaches a composition comprising said group of BS-BDC (para [0140] "the adoptive cellular immunotherapy compositions are useful in the treatment of a disease or disorder including a solid tumor, hematologic malignancy, breast cancer or melanoma"; para [0161] "The disclosure provides for an adoptive cellular immunotherapy composition").

FHCRC further teaches a method of administering a group of BS-BDC (para [0175] "The disclosure also provides methods of performing cellular immunotherapy in a subject having a disease or disorder comprising: administering a composition of lymphocytes expressing a chimeric receptor as described herein"; para [0188] "In embodiments, the composition as described herein are administered intravenously, intraperitoneally, intratumorally, into the bone marrow, into the lymph node, and/or into cerebrospinal fluid. In embodiments, the chimeric receptor engineered compositions are delivered to the site of the tumor").

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I+, II, III therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
C 1 2 N 5/09 (2010.01)	A 6 1 K 39/395	Y
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 N 5/0786 (2010.01)	C 1 2 N 5/09	
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 5/0786	
	C 1 2 N 15/13	
	C 1 2 N 15/62	Z

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. プルロニック

- (72)発明者 コレンティ, コリン
アメリカ合衆国、ワシントン・9 8 1 0 9、シアトル、フェアビュー・アベニュー・ノース・1 1 0 0
- (72)発明者 オルソン, ジェイムズ
アメリカ合衆国、ワシントン・9 8 1 0 9、シアトル、フェアビュー・アベニュー・ノース・1 1 0 0
- (72)発明者 ウォルター, ローランド・ビー
アメリカ合衆国、ワシントン・9 8 1 0 9、シアトル、フェアビュー・アベニュー・ノース・1 1 0 0
- (72)発明者 バンダーラナイケ, アショク
アメリカ合衆国、ワシントン・9 8 1 0 9、シアトル、フェアビュー・アベニュー・ノース・1 1 0 0
- (72)発明者 ラースロー, ジョージ・エス
アメリカ合衆国、ワシントン・9 8 1 0 9、シアトル、フェアビュー・アベニュー・ノース・1 1 0 0

F ターム(参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 CE12 DA01
4B065 AA93X AA94X AC20 BD39 CA44
4C085 AA02 AA14 AA16 AA21 BB31 CC22 CC23 DD62 EE01 GG02
GG03 GG04 GG05 GG06 GG08
4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74 GA26