

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6972030号  
(P6972030)

(45) 発行日 令和3年11月24日(2021.11.24)

(24) 登録日 令和3年11月5日(2021.11.5)

(51) Int.Cl.	F I
<b>C 1 2 N 15/13 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/13 Z N A
<b>C O 7 K 16/30 (2006.01)</b>	C O 7 K 16/30
<b>C O 7 K 16/46 (2006.01)</b>	C O 7 K 16/46
<b>C O 7 K 16/18 (2006.01)</b>	C O 7 K 16/18
<b>C 1 2 N 15/63 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/63 Z
請求項の数 21 (全 55 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2018-562399 (P2018-562399)	(73) 特許権者	518295325
(86) (22) 出願日	平成29年2月17日 (2017.2.17)		ビーアンドエイチ バイオテクノロジーズ
(65) 公表番号	特表2019-513410 (P2019-513410A)		, エルエルシー
(43) 公表日	令和1年5月30日 (2019.5.30)		B & H BIOTECHNOLOGIES
(86) 国際出願番号	PCT/CN2017/073890		, LLC
(87) 国際公開番号	W02017/140256		アメリカ合衆国、イリノイ 60527、
(87) 国際公開日	平成29年8月24日 (2017.8.24)		ウィローブルック、チョウサー ロード
審査請求日	令和2年2月14日 (2020.2.14)		6520
(31) 優先権主張番号	PCT/CN2016/074146		6520 Chaucer Road,
(32) 優先日	平成28年2月19日 (2016.2.19)		Willowbrook, Illinois
(33) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)		60527, U. S. A.
		(74) 代理人	100065248
			弁理士 野河 信太郎
		(74) 代理人	100159385
			弁理士 甲斐 伸二
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 抗N-アセチルグルコサミン及びN-アセチルガラクトサミンの抗体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

SEQ ID NO: 5 の HVR - L1 配列、SEQ ID NO: 7 または SEQ ID NO: 8 の HVR - L2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L3 配列を含む軽鎖可変領域と、SEQ ID NO: 1 の HVR - H1 配列、SEQ ID NO: 2 の HVR - H2 配列および SEQ ID NO: 3 の HVR - H3 配列を含む重鎖可変領域とを有する、N - アセチルグルコサミンまたは N - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合できる単離モノクローナル抗体。

【請求項 2】

(1) SEQ ID NO: 13 または SEQ ID NO: 14 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、または

(2) SEQ ID NO: 16 または SEQ ID NO: 17 のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 3】

(1) SEQ ID NO: 10 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、または

(2) SEQ ID NO: 11 のアミノ酸配列を含む重鎖を有する請求項 1 または 2 に記載の抗体。

【請求項 4】

抗体断片である請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 5】

ヒト化抗体、ヒト抗体またはキメラ抗体である請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 6】

N - アセチルグルコサミンを含むエピトープおよび N - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 7】

エピトープが癌細胞または炎症細胞によって発現する請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 8】

前記癌細胞は、膵臓腺癌細胞、結腸腺癌細胞、直腸腺癌細胞、食道腺癌細胞、白血病細胞、腺様癌細胞、線維肉腫細胞、十二指腸腺癌細胞、神経膠腫細胞、肝臓癌細胞、肺癌細胞、乳癌細胞、神経膠芽腫細胞、卵巣癌細胞、子宮頸癌細胞よりなる群から選ばれるものである請求項 7 に記載の抗体。

10

【請求項 9】

前記炎症細胞は結腸炎、炎症性腸症、または胃腸炎の腸炎症性細胞であり、またはリウマチ性関節炎の炎症細胞であり、かつ前記エピトープが該炎症細胞の細胞表面に発現する請求項 7 に記載の抗体。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする核酸配列を含む単離ポリヌクレオチド。

20

【請求項 11】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする核酸配列を含むベクター。

【請求項 12】

請求項 10 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 11 に記載のベクターを含む単離宿主細胞。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の抗体と薬学的に許容可能な担体を含む組成物。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の抗体を含有する薬物組成物を含むキット。

【請求項 15】

30

癌を治療または予防するために有効量の前記薬物組成物を個体に投与するための取扱説明書、胃腸疾患を治療または予防するために有効量の前記薬物組成物を個体に投与するための取扱説明書、個体中の癌細胞の存在を測定するための取扱説明書、または、癌にかかっている個体に由来する生物サンプルの N - アセチルグルコサミンまたは N - アセチルガラクトサミンのレベルを測定するための取扱説明書を含む請求項 14 に記載のキット。

【請求項 16】

SEQ ID NO : 5 の HVR - L1 配列、SEQ ID NO : 8 または SEQ ID NO : 7 の HVR - L2 配列および SEQ ID NO : 9 の HVR - L3 配列を含む軽鎖可変領域と、SEQ ID NO : 1 の HVR - H1 配列、SEQ ID NO : 2 の HVR - H2 配列および SEQ ID NO : 3 の HVR - H3 配列を含む重鎖可変領域とを有する、N - アセチルグルコサミンまたは N - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合するキメラ抗原受容体 (CAR)。

40

【請求項 17】

SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 26 または SEQ ID NO : 13 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する請求項 16 に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 18】

SEQ ID NO : 10 または SEQ ID NO : 33 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する請求項 16 または 17 に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 19】

請求項 16 ~ 18 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体をコードする核酸配列を含

50

む単離ポリヌクレオチド。

【請求項 2 0】

請求項 1 6 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体をコードする核酸配列を含むベクター。

【請求項 2 1】

請求項 1 9 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 2 0 のいずれか 1 項に記載のベクターを含む単離 T 細胞。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の交叉引用】

【0 0 0 1】

本願は、2016年2月19日に提出された国際特許出願PCT/CN2016/074146の優先権を主張し、引用により、そのすべての内容が本文に組み込まれる。

【技術分野】

【0 0 0 2】

本発明は、N - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合する抗体、およびそれに関連する組成物、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、生成方法、使用方法、並びにキットに関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

多種多様の原因により、癌は現代医学の治療において最も困難な疾病の一つである。癌は人自体の細胞の異常な活性に由来するものであるため、患者の体内で癌性細胞と正常な細胞とを区別することは困難である。通常、体自身の免疫システムにより癌細胞を識別して除去することは困難である。また「癌」とは個体の病気の集まり、すなわち癌のタイプとサブタイプである。多くの異なる細胞のタイプは、多くの異なる機序により癌になることができ、癌細胞のタイプの中で極めて多い表現型変体を出現させる可能性がある。この多様性は、癌の治療に大きな問題をもたらしており、その理由は、異なるタイプの癌細胞はおそらく診断の異なる識別特性、またはおそらく異なる治療の弱点または抗性特性があるからである。この問題により、単一の治療プランまたは試薬を通じて複数の種類の癌を診断、治療および/または予防方法を提供することは困難になる。腫瘍学は過去十年ほどの間に急速に発展を遂げているが、依然として癌細胞を特異的に識別する新規バイオマーカーが必要とされており、特に多種の癌を特徴付け、正常組織を特徴付けないバイオマーカーが必要とされている。

【0 0 0 4】

細胞表面分子は癌細胞にとって非常に重要である。これらの分子が細胞間の相互作用に関与することは重要である。これは多種の癌細胞の活動、例えば細胞浸潤、転移、免疫システムからの回避、及び治療剤に対する反応にとって重要である。癌細胞は正常細胞と相違し、多くの細胞表面タンパク質を発現することが既に知られている。しかし、多くの細胞表面タンパク質は、糖類（例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン）が付加することによって修飾され、この過程はタンパク質のグリコシル化と言われている。いかにして糖類を付加することで特定の細胞表面タンパク質を修飾させるか、どの糖類はどの細胞表面タンパク質で発見することができるか、および異なるタイプまたは発癌段階でグリコシル化パターンはどのように変化するかということは、研究され始めたばかりの問題である（Moremen, K. W. 等（2012）Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 13（7）：448 - 62）を参照）。このグリコシル化の多様性は、表面のバイオマーカーによる癌細胞認識の複雑さが増加させる。

【0 0 0 5】

従って、依然として癌を診断、治療および予防するための新規バイオマーカーと治療剤が必要とされており、特に癌特異的なグリコシル化パターンを標的とするバイオマーカーと試薬が必要とされている。また、一種または複数の糖質（例えば、N - アセチルグルコ

10

20

30

40

50

サミンまたはN - アセチルガラクトサミン)と特異的に結合する診断および/または治療製剤を改善する必要がある、これらは特に癌、炎症および/または自身の免疫性疾患の治療に役立つ可能性がある。

【0006】

本願で引用した全ての参考文献は、特許出願書類、特許公表書類およびUniProtKB/Swiss-Prot登録番号を含み、これらを引用することにより全体が本願に組み込まれ、各参考文献を引用して組み込まれることを個別かつ具体的に明示する。

【発明の概要】

【0007】

癌を診断、治療および予防するための多種のタイプの癌の新規バイオマーカーと治療剤の需要を満足するために、本発明は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合するモノクローナル抗体(例えば、癌細胞または炎症性細胞が発現する)、およびそれに関連する組成物、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、生成方法、使用方法、並びにキットを提供する。更に、癌細胞の細胞表面に発現するN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合する抗体を投与することにより、個体中の癌を治療または予防する方法、およびN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合する抗体を用いて癌を診断する方法を提供する。これらの組成物と方法によれば、一部の下記の予想できない発見に基づき、多種の異なるタイプの癌の人の癌細胞は、正常な人の組織に比べて、より高レベルのN - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンを発現することを示す。また本発明により予想できない結果を証明、すなわち、癌細胞の細胞表面に発現されるN - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合する抗体が、数種類の異なるタイプの癌の成長速度(体外と体内との二つの場合)が低下することに対して強力かつ有効である。また本発明では予想できない発見、すなわち、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合する抗体を、胃腸疾患、例えば病毒感染、炎症性腸疾患、痔およびリウマチ性関節炎への有効な予防と治療に使用できることが記載されている。

【0008】

一方、本発明は、N - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を提供する。また、これらの抗体を含む組成物、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、並びに生産における有用な方法を提供する。更に、個体に抗体を投与することにより、個体の癌の予防または治療に用いる方法とキットを提供し、前記抗体は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合し、他の抗癌剤を任意に選択して組み合わせることができる。更に、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を個体に投与することにより個体の胃腸疾患の治療と予防に有用な方法とキットを提供する。更に、個体から生物サンプルを得て、生物サンプルをN - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体と接触させて、生物サンプルに結合する抗体の量を測定することにより、個体における癌細胞の存在を測定することに用いる方法とキットを提供し、当該抗体結合は個体に癌細胞が存在することを示す。

【0009】

特定の側面において、本発明は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する単離モノクローナル抗体を提供し、前記抗体はSEQ ID NO: 5のHVR - L1配列、FTSX<sub>1</sub>LX<sub>2</sub>S (SEQ ID NO: 25)のHVR - L2配列、SEQ ID NO: 9のHVR - L3配列を含む軽鎖可変領域(X<sub>1</sub>はT又はSであり、X<sub>2</sub>はQ又はEである)。特定の実施形態において、前記HVR - L2配列はSEQ ID NO: 7のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 13のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定

10

20

30

40

50

の実施形態において、HVR-L2配列はSEQ ID NO: 8のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 14のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 17のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR-H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR-H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR-H3配列を含む重鎖可変領域をさらに含む。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 12のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 13のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 14のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 19のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NOs: 23のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/またはSEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/またはSEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、抗体は抗体断片である。特定の実施形態において、抗体はFab断片、scFv、ミニボディ、ダイアボディ、scFv多量体、または二重特異性抗体断片である。特定の実施形態において、抗体はヒト化抗体である。特定の実施形態において、抗体はヒト抗体である。特定の実施形態において、抗体はキメラ抗体である。特定の実施形態において、抗体はN-アセチルグルコサミンおよびN-アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、エピトープは癌細胞または炎症性細胞によって発現し、該エピトープが癌細胞の細胞表面に発現されている。特定の実施形態において、エピトープは癌細胞の中で発現する。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、癌細胞は、膵臓腺癌細胞、結腸腺癌細胞、直腸腺癌細胞、食道腺癌細胞、白血病細胞、腺様癌細胞、線維肉腫細胞、十二指腸腺癌細胞、神経膠腫細胞、肝臓癌細胞、肺癌細胞、乳癌細胞、神経膠芽腫細胞、卵巣癌細胞、子宮頸部腺癌細胞よりなる群から選ばれるものである。特定の実施形態において、膵臓腺癌細胞は、膵管腺癌細胞である。特定の実施形態において、抗体がエピトープに結合されて癌細胞の成長を抑制する。特定の実施形態において、肺癌細胞は小細胞肺癌細胞、肺扁平上皮癌細胞または肺腺癌細胞である。特定の実施形態において、炎症細胞は結腸炎、炎症性腸症、または胃腸炎の腸炎症性細胞であり、かつエピトープがこれらの炎症細胞の細胞表面に発現する。特定の実施形態において、炎症細胞はリウマチ性関節炎の炎症細胞であり、かつエピトープがこれらの炎症細胞の細胞表面に発現する。特定の実施形態に

10

20

30

40

50

において、リウマチ性関節炎はコラーゲンによって誘発される。

【 0 0 1 0 】

他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体をコードする核酸配列を含む単離ポリヌクレオチドを提供する。さらに他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体をコードする核酸配列を含むベクターを提供する。さらに他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体をコードする核酸配列を含む単離ポリヌクレオチドまたは上記実施形態のいずれかの抗体をコードする核酸配列を含むベクターを含む単離宿主細胞を提供する。さらに他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体をコードする核酸配列を含む単離ポリヌクレオチドまたは上記実施形態のいずれかの抗体をコードする核酸配列を含むベクターを含む単離宿主細胞を提供する。さらに他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体を生成する上記実施形態のいずれかの宿主細胞を培養し、かつ細胞培養物から前記抗体を回収することを含む抗体の製造方法を提供する。さらに他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体の製造方法によって製造する抗体を提供する。他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体および薬学的に許容可能な担体を含む組成物を提供する。

10

【 0 0 1 1 】

他の側面において、本発明は、有効量の上記実施形態のいずれかの抗体を個体に投与する工程を含む、個体の癌の予防または治療に用いる方法を提供する。他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの所定量の抗体及び所定量の他の抗癌剤を個体に投与する工程を含む、個体の癌の予防または治療に用いる方法を提供し、抗体と抗癌剤とを併用することにより、個体の癌の効果的な治療または予防を提供する。特定の実施形態において、個人は癌にかかっているか又は診断される。特定の実施形態において、癌は、膵臓癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、白血病、腺癌、線維肉腫、十二指腸腺癌、脳癌、肝臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌および子宮頸癌よりなる群から選ばれる。特定の実施形態において、個体はヒトである。特定の実施形態において、個体は非ヒト動物である。特定の実施形態において、抗癌剤は化学療法剤である。

20

【 0 0 1 2 】

他の側面において、本発明は、上記実施形態のいずれかの抗体を個体に由来する生物サンプルと接触させる工程、前記抗体と前記サンプルとの結合を測定し、前記抗体と前記サンプルとの結合が前記個体に癌細胞が存在することを示すことができる工程を含む、個体中の癌細胞を測定するための方法を提供する。特定の実施形態において、測定された結合した抗体の量を、対照サンプルに結合した抗体の量と比較する方法を含む。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、抗体と前記生物サンプルとの結合を測定する方法は、E L I S A アッセイ、フローサイトメトリーアッセイ、免疫組織化学アッセイ、免疫蛍光アッセイ、循環腫瘍細胞アッセイ、および免疫金コロイドアッセイよりなる群から選ばれる。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、生物サンプルは、血液、血清、尿、便、乳、精液、唾液、胸液、腹腔液、脳脊髄液、痰、およびいかなる他の体液または分泌物よりなる群から選ばれるものである。特定の実施形態において、個体はヒトである。特定の実施形態において、前記個体は非ヒト動物である。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、前記癌細胞は、膵臓癌細胞、白血病細胞、腺癌細胞、線維肉腫細胞、肺癌細胞、肝臓癌細胞、乳癌細胞、結腸癌または直腸癌細胞、食道癌細胞、胃癌細胞、子宮内膜癌細胞、子宮頸癌細胞、甲状腺癌細胞、脳癌細胞、およびリンパ腫細胞よりなる群から選ばれるものである。

30

40

【 0 0 1 3 】

他の側面において、本発明は、前記実施形態のいずれかに記載の抗体の有効量を個体に投与する工程を含む、個体の胃腸疾患を治療または予防するための方法を提供する。幾つかの実施形態において、個体は胃腸疾患にかかっているか又はそのように診断されている。特定の実施形態において、個体は炎症性腸疾患にかかっている。特定の実施形態において、個体はクローン病にかかっている。特定の実施形態において、個体は潰瘍性結腸炎にかかっている。特定の実施形態において、個体は急性感染性胃腸炎にかかっている。特定

50

の実施形態において、個体は痔にかかっている。特定の実施形態において、個体はウイルスの感染によって引き起こされる胃腸疾患にかかっている。特定の実施形態において、ウイルスの感染はロタウイルス感染または豚流行性下痢ウイルス感染である。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、個体はヒトである。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、個体は非ヒト動物である。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、抗体は静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、鞘内、脳室内、または鼻腔内に投与される。

#### 【 0 0 1 4 】

他の側面において、本発明は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体の有効量を個体に投与する工程を含む、個体のリウマチ性関節炎の予防または治療に用いる方法を提供する。幾つかの実施形態において、個体はリウマチ性関節炎にかかっているか又はそうであると診断されている。幾つかの実施形態において、エピトープが炎症細胞によって発現する。特定の実施形態において、抗体はN - アセチルグルコサミンを含むエピトープおよびN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する。特定の実施形態において、抗体は抗体断片である。特定の実施形態において、抗体はF a b断片、s c F v、ミニボディ、ダイアボディ、s c F v多量体、または二重特異性抗体断片である。特定の実施形態において、抗体はヒト化抗体である。特定の実施形態において、抗体はヒト抗体である。特定の実施形態において、抗体はキメラ抗体である。特定の実施形態において、抗体はS E Q I D

N O : 1 0のアミノ酸配列由来の3つのH V Rを含む重鎖可変領域、およびS E Q I D N O s : 1 2、1 3、1 4、1 9および2 3から選ばれるアミノ酸配列由来の3つのH V Rを含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体がS E Q I D N O : 1 0のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはS E Q I D N O : 1 2のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体がS E Q

I D N O : 1 0のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはS E Q I D N O : 1 3のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体がS E Q I D N O : 1 0のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはS E Q I D N O : 1 4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1 0のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはS E Q I D N O : 1 9のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1 0のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはS E Q I D N O : 2 3のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。

特定の実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1のH V R - H 1配列、S E Q I D N O : 2のH V R - H 2配列およびS E Q I D N O : 3のH V R - H 3配列を含む重鎖可変領域と、S E Q I D N O : 4のH V R - L 1配列、S E Q I D N O : 6のH V R - L 2配列およびS E Q I D N O : 9のH V R - L 3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1 0のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびS E Q I D N O : 1 2のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1 1のアミノ酸配列を含む重鎖、およびS E Q I D N O : 1 5のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体は、S E Q I D N O : 1のH V R - H 1配列、S E Q I D N O : 2のH V R - H 2配列およびS E Q I D N O : 3のH V R - H 3配列を含む重鎖可変領域と、S E Q I D N O : 2 1のH V R - L 1配列、S E Q I D N O : 2 2のH V R - L 2配列およびS E Q I D N O : 9のH V R - L 3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1 0のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびS E Q I D N O : 2 3のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1 1のアミノ酸配列を含む重鎖、およびS E Q I D N O : 2 4のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 1のH V R - H 1配

10

20

30

40

50

列、SEQ ID NO: 2のHVR-H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR-H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 4のHVR-L1配列、SEQ ID NO: 18のHVR-L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR-L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 20のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR-H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR-H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR-H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 5のHVR-L1配列、SEQ ID NO: 7のHVR-L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR-L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 13のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR-H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR-H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR-H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 5のHVR-L1配列、SEQ ID NO: 8のHVR-L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR-L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 14のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 17のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、個体はヒトである。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、個体は非ヒト動物である。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、抗体は静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、鞘内、脳室内、または鼻腔内に投与される。

#### 【0015】

他の側面において、本発明は、前記実施形態のいずれかに記載の抗体を含む薬物組成物を含むキットを提供する。特定の実施形態において、当該キットは、癌を治療または予防するために有効量の薬物組成物を個体に投与するための取扱説明書をさらに含む。幾つかの実施形態において、個体は癌にかかっているか又はそうであると診断されている。特定の側面において、当該キットは、胃腸疾患を治療または予防するために有効量の薬物組成物を個体に投与するための取扱説明書をさらに含む。幾つかの実施形態において、個体は胃腸疾患にかかっているか又はそうであると診断されている。特定の側面において、当該キットは、自己免疫疾患を治療または予防するために有効量の薬物組成物を個体に投与するための取扱説明書をさらに含む。特定の側面において、当該キットは、個体に癌細胞の存在を測定するための取扱説明書をさらに含む。特定の側面において、当該キットは、癌にかかっている個体に由来する生物サンプルにおけるN-アセチルグルコサミンまたはN-アセチルガラクトサミンのレベルを決定するための取扱説明書をさらに含む。

#### 【0016】

他の側面において、本発明は、N-アセチルグルコサミンおよび/またはN-アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体の薬物組成物、およびリウマチ性関節炎を治療または予防するために有効量の薬物組成物を個体に投与するための取扱説明書を含み、前記エピトープが炎症細胞に発現するキットを提供する。幾つかの実施形態において、個体はリウマチ性関節炎にかかっているか又はそうであると診断されている。特定の実施形態において、抗体はN-アセチルグルコサミンを含むエピトープおよびN-アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する。特定の実施形態において、抗体は抗体断片である。特定の実施形態において、抗体はFab断片、scFv、



ミニボディ、ダイアボディ、s c F v多量体、または二重特異性抗体断片である。特定の実施形態において、抗体はヒト化抗体である。特定の実施形態において、抗体はヒト抗体である。特定の実施形態において、抗体はキメラ抗体である。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NOs: 12、13、14、19および23から選ばれるアミノ酸配列由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR - H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR - H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR - H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 4のHVR - L1配列、SEQ ID NO: 6のHVR - L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR - L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体は抗体がSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 12のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体は抗体がSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 15のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR - H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR - H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR - H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 21のHVR - L1配列、SEQ ID NO: 22のHVR - L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR - L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR - H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR - H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR - H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 4のHVR - L1配列、SEQ ID NO: 18のHVR - L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR - L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 20のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR - H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR - H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR - H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 5のHVR - L1配列、SEQ ID NO: 7のHVR - L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR - L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 13のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 1のHVR - H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR - H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR - H3配列を含む重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 5のHVR - L1配列、SEQ ID NO: 8のHVR - L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR - L3配列を含む軽鎖可変領域とを有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、およびSEQ ID NO: 14のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。特定の実施形態において、抗体はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含む重鎖、およびSEQ ID NO: 17のアミノ酸配列を含む軽鎖を有する。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、個体はヒトである。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、個体は非ヒト動物である。前記実施形態のいずれかと組合せてもよい特定の実施形態において、抗体は静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、鞘内、脳室内、または

10

20

30

40

50

鼻腔内に投与される。

【 0 0 1 7 】

他の側面において、本発明は、抗体断片を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を提供し、前記抗体断片は SEQ ID NO: 5 の HVR - L 1 配列、SEQ ID NO: 7 の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列を含む軽鎖可変領域、および/または SEQ ID NO: 1 の HVR - H 1 配列、SEQ ID NO: 2 の HVR - H 2 配列および SEQ ID NO: 3 の HVR - H 3 配列を含む重鎖可変領域を有する。他の側面において、本発明は、抗体断片を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を提供し、前記抗体断片は SEQ ID NO: 5 の HVR - L 1 配列、SEQ ID NO: 8 の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列を含む軽鎖可変領域、および/または SEQ ID NO: 1 の HVR - H 1 配列、SEQ ID

10

NO: 2 の HVR - H 2 配列および SEQ ID NO: 3 の HVR - H 3 配列を含む重鎖可変領域とを有する。他の側面において、本発明は N - アセチルグルコサミンまたは N - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合するキメラ抗原受容体 (CAR) を提供し、前記 CAR は (a) SEQ ID NO: 4 の HVR - L 1 配列、SEQ ID NO: 6 の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列、(b) SEQ ID NO: 21 の HVR - L 1 配列、SEQ ID NO: 22 の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列、(c) SEQ ID NO: 4 の HVR - L 1 配列、SEQ ID NO: 18 の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列、(d) SEQ ID NO: 5 の HVR - L 1 配列、SEQ ID NO: 7 の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列、または (e) SEQ ID NO: 5 の HVR - L 1 配列、SEQ ID NO: 8 の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列を含む軽鎖可変領域と、SEQ ID NO: 1 の HVR - H 1 配列、SEQ ID NO: 2 の HVR - H 2 配列および SEQ ID NO: 3 の HVR - H 3 配列を含む重鎖可変領域とを有する。他の側面において、本発明は N - アセチルグルコサミンまたは N - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合するキメラ抗原受容体 (CAR) を提供し、前記キメラ抗原受容体は SEQ ID NO: 5 の HVR - L 1 配列、FTSX<sub>1</sub>L

20

X<sub>2</sub>S (SEQ ID NO: 25) の HVR - L 2 配列および SEQ ID NO: 9 の HVR - L 3 配列を含む軽鎖可変領域 (X<sub>1</sub> は T 又は S であり、X<sub>2</sub> は Q 又は E である) と、SEQ ID NO: 1 の HVR - H 1 配列、SEQ ID NO: 2 の HVR - H 2 配列および SEQ ID NO: 3 の HVR - H 3 配列を含む重鎖可変領域とを有する。幾つかの実施形態において、HVR - L 2 配列は SEQ ID NO: 8 のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、CAR は SEQ ID NO: 14 または SEQ ID NO: 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、HVR - L 2 配列は SEQ ID NO: 7 のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、CAR は、SEQ ID NO: 12、13、19 または 23 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態では、CAR は SEQ ID NO: 13 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。前記いずれかの実施形態において、CAR は、SEQ ID NO: 10 または SEQ ID NO: 33 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態では、CAR は、SEQ ID NO: 14 または SEQ ID NO: 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、SEQ ID NO: 10 または SEQ ID NO: 33 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とを有する。幾つかの実施形態では、CAR は SEQ ID NO: 12 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、SEQ ID NO: 10 または SEQ ID NO: 33 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態では、CAR は SEQ ID NO: 23 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、SEQ ID NO: 10 または SEQ ID NO: 33 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、CAR は SEQ ID NO: 19 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、SEQ ID NO: 10 または SEQ ID NO: 33 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する。幾

30

40

50

つかの実施形態において、C A RはS E Q I D N O : 1 3のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、S E Q I D N O : 1 0またはS E Q I D N O : 3 3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、軽鎖可変領域と重鎖可変領域はヒト化またはヒトである。幾つかの実施形態において、C A RはヒトCD3 細胞内ドメイン配列を含む。幾つかの実施形態において、C A RはヒトCD28細胞内ドメイン配列を更に含む。幾つかの実施形態において、C A RはN末端からC末端に重鎖可変領域、リンカー、軽鎖可変領域、CD8ヒンジ領域、ヒトCD28細胞内ドメインおよびヒトCD3 細胞内ドメインを含む。幾つかの実施形態において、C A RはS E Q I D N O : 3 4のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、C A RはN - アセチルグルコサミンを含むエピトープおよびN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する。幾つかの実施形態において、エピトープは癌細胞の細胞表面に発現されている。幾つかの実施形態において、癌細胞は膵臓腺癌細胞、結腸腺癌細胞、直腸腺癌細胞、食道腺癌細胞、白血病細胞、腺様癌細胞、線維肉腫細胞、十二指腸腺癌細胞、神経膠腫細胞、肝臓癌細胞、肺癌細胞、乳癌細胞、神経膠芽腫細胞、卵巣癌細胞、子宮頸部腺癌細胞から選ばれるものである。幾つかの実施形態において、膵臓腺癌細胞は膵管腺癌細胞である。幾つかの実施形態において、C A RはT細胞の細胞表面に発現し、かつ癌細胞の細胞表面に発現されるエピトープと結合し、さらに、T細胞を導いて癌細胞を殺滅させる。

10

#### 【 0 0 1 8 】

他の側面において、本発明は前記いずれかの実施形態中のキメラ抗原受容体をコードする核酸配列を含む単離ポリヌクレオチドを提供する。他の側面において、本発明は前記のいずれかの実施形態に記載のキメラ抗原受容体をコードする核酸配列を含むベクターを提供する。幾つかの実施形態において、ベクターはウイルスベクターである。幾つかの実施形態において、ベクターはレンチウイルスベクターである。他の側面において、本発明は前記いずれかの実施形態に記載のポリヌクレオチドまたは前記いずれかの実施形態に記載のベクターを含む単離T細胞を提供する。他の側面において、本発明はT細胞の細胞表面に発現され、かつ前記いずれかの実施形態に記載のC A Rを含む単離T細胞を提供する。幾つかの実施形態において、T細胞はヒトT細胞である。

20

#### 【 0 0 1 9 】

他の側面において、本発明は前記いずれかの実施形態に記載のT細胞を含む有効量の組成物を個体に投与することを含む、個体に癌の治療または予防に用いる方法を提供する。幾つかの実施形態において、癌は膵臓癌、結腸直腸癌、食道癌、白血病、腺癌、繊維肉腫、十二指腸腺癌、脳癌、肝臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、および子宮頸癌よりなる群から選ばれる。幾つかの実施形態において、癌は膵臓癌、結腸直腸癌、肺癌、および脳癌よりなる群から選ばれる。幾つかの実施形態において、個体はヒトである。幾つかの実施形態において、当該方法は、さらに、所定量の他の抗癌剤を個体に投与することを含み、T細胞と前記抗癌剤とを併用することにより、個体の癌の効果的な治療または予防を提供する。幾つかの実施形態において、抗癌剤は化学療法剤である。

30

#### 【 0 0 2 0 】

本発明のその他の実施形態を形成するために、本発明で述べた各種の実施形態のいずれか一つ、いくつか、または全ての性質を組み合わせてもよいことを理解しなければならない。本発明のこれら及び他の実施形態は、当業者に対して自明なものであり、以下、本発明のこれら及び他の実施形態は、下記の詳しい記載により、更に説明する。

40

#### 【 図面の簡単な説明 】

#### 【 0 0 2 1 】

【 図 1 】 図 1 Aと図 1 Bは、ヒト化抗体VK3およびVK4はN - アセチルグルコサミン ( NAcGlu ; 図 1 A ) およびN - アセチルガラクトサミン ( NAcGal ; 図 1 B ) と生体外での結合を示す。

【 図 2 】 図 2 は、無処置群 ( 抗体単独 ) と比較して、N - アセチルグルコサミン ( NAcGlu ) またはN - アセチル - ガラクトサミン ( NAcGal ) による前処理した後、抗体VK3 ( 「 K3 」 ) およびVK4 ( 「 K4 」 ) とN - アセチルグルコサミン ( 10 μ g ) との結合を抑制したこと

50

を示している。

【図3】図3は、トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）誘発のI B Dモデルマウスの腸形態に対するヒト化抗体K3（VK3）およびK4（VK4）の効果を示す。当該効果は7日目の巨視的評価によって評価された。治療群はG1：未治療（n=5）；G2：200 μg アダリムマブ/動物、腹腔内（IP）（n=5）；G3：5 μg VK3/動物、腹腔内（IP）（n=5）；およびG4：5 μg VK4/動物、腹腔内（IP）（n=5）を含む。\*はt検定でのP<0.05を示している（治療群G3と未治療群G1との間で比較する）。

【図4】図4は、TNBS誘発のI B Dモデルの7日目で得られた代表的な全体図を示す。I B Dモデルの誘発から48時間後に抗体を投与した。治療群は上記の図3に示すとおりである。

10

【図5】図5A及び図5Bは、生理食塩水処理群と比較して、コラーゲン誘発関節炎のラットモデルの足腫脹体積（図5A）及び総体重（図5B）に対するヒト化抗体VK2及びVK3の効果を示す。治療群はG1：未治療（n=5）；G2：250 μg/kgの抗体VK2（「K2」）で一日おきに、静脈注射（n=5）；G3：250 μg/kgの抗体VK3（「K3」）で一日おきに、静脈注射（n=5）を含む。

【図6】図6A及び図6Bは、投与後5日目（すなわち、2投与量を投与した後；図6A）または投与後28日目（すなわち、14の投与量を投与した後；図6B）にコラーゲン誘発関節炎のラットモデルの代表的な全体図を示す。治療群は上記の図5A及び図5Bに示すとおりである。

【図7】図7Aと図7Bは、異なる濃度の抗体VK3（図7A；「K3」）とVK4（図7B；「K4」）によるPDX-P3膵臓癌モデルの細胞成長の抑制のパーセントを示す。

20

【図8】図8A-8Cは、未治療群や別の抗体群（7C）と比較して、PDX-P3膵臓癌モデルにおける抗体VK4（「K4」）による腫瘍の体積（図8A）、腫瘍生長抑制（TGI；図8B）、および腫瘍の大きさ（図8Cの画像）の作用効果を示す。

【図9】図9は、異なる濃度の抗体VK3（「K3」）によるPDX-P3直腸癌モデルの細胞成長の抑制のパーセントを示す。

【図10】図10Aと図10Bは、未治療群と比較して、抗体VK3（「K3」）またはVK4（「K4」）によるPDX-P3直腸癌モデルの腫瘍の体積（図10A）および腫瘍生長抑制（TGI；図10B）の効果を示す。

【図11】図11は、陰性対照（リン酸緩衝食塩水、PBS）と比較して、抗体VK3（「K3」）とVK4（「K4」）が複数のヒト腫瘍細胞株の抑制作用に対する反応性を示す。テストした細胞株は、NCI-H446（小細胞肺癌）、H1299（非小細胞肺癌）、ECAP-1090（食道腺癌）、Jurkat（急性T細胞白血病）、ACC-2（膵臓膵腺癌細胞）、HT1080（線維肉腫）、HUTU80（十二指腸腺癌）、MCF-7（乳癌）およびHela（子宮頸癌）を含む。

30

【図12】図12Aは、CAR-T細胞を生成するレンチウイルスのキメラ抗原受容体（CAR）のベクターを作成するためのベクターマップを示す。図12Bは、図12Aに示すレンチウイルスベクターがEcoRI-BamHIで消化した後に予想されるDNAバンドを示す。

【図13】図13は、腫瘍細胞株に対するCAR-T細胞媒介性細胞殺傷を示す。画像は、予定E/T比との標的細胞の溶解パーセントを記述している。A549肺腺癌細胞株、のCAR-T細胞媒介性細胞殺傷の結果を示す。

【図14】図14は、腫瘍細胞株に対するCAR-T細胞媒介性細胞殺傷を示す。画像は、予定E/T比との標的細胞の溶解パーセントを記述している。BxPc-3膵臓腺癌細胞株のCAR-T細胞媒介性細胞殺傷の結果を示す。

40

【図15】図15は、腫瘍細胞株に対するCAR-T細胞媒介性細胞殺傷を示す。画像は、予定E/T比との標的細胞の溶解パーセントを記述している。HCT116結直腸癌細胞株のCAR-T細胞媒介性細胞殺傷の結果を示す。

【図16】図16は、腫瘍細胞株に対するCAR-T細胞媒介性細胞殺傷を示す。画像は、予定E/T比との標的細胞の溶解パーセントを記述している。U87神経膠芽腫細胞株のCAR-T細胞媒介性細胞殺傷の結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0022】

50

本発明には、N - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合できる新しい抗体を提供する。本発明には、複数の体内モデルの中で炎症、癌、および/または自己免疫疾患の1つまたは複数の症状を治療するために、様々な抗体が公開された。特に、既存の抗体に比べてこれらの抗体は効果的な効果がある、例えば炎症性腸病 (IBD) モデルの炎症や潰瘍を緩和し、膠原誘導性関節炎モデルの炎症を軽減し、膵臓癌や直腸癌モデルの腫瘍の成長を抑制する。また、これらの抗体は、一連の異なる腫瘍タイプのヒト腫瘍細胞と結合していることが証明された。ヒトT細胞により発見されるキメラ抗原受容体の場合、N - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンと結合する抗体の可変域を媒介して腫瘍細胞株に対する広く殺傷することを見出した。

#### 【0023】

##### I. 一般的な技術

当業者は、例えば、Sambrook等, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel等eds., (2003)); Harlow and Lane eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney ed. (1987)); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean eds., Oxford University Press, 2000); および Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita等eds., J.B. Lippincott Company, 1993) 等に記載されている広く用いられている方法等の従来技術を用いることにより、本明細書に記載または参照される技術を良く理解し、採用できる。

##### II. 定義

#### 【0024】

本発明をより詳細に説明する前に、本発明は特定の組成物または生物学的システムに限らず、それらはもちろん変更できることを理解するべきである。また、本明細書で用いられる用語は、具体的な実施形態について説明することを目的とするだけのものであり、限定の意図がないことを理解するべきである。

#### 【0025】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用されるように、単数形の「一 (a)」、「一つ (an)」および「当該 (the)」は複数の対象を含み、文の前後に別に明示されている場合はこの限りではない。よって、例えば前述した「分子」は自由に選択して2つ以上のそのような分子の組み合わせ等を含む。

#### 【0026】

本明細書で使用される用語「約」とは、当業者が容易に知られているそれぞれの値について通常の誤差の範囲を示す。本明細書で「約」値、またはパラメータ値が示すことは、この値またはパラメータ自体に対する実施形態を含む (および説明する)。

#### 【0027】

本明細書に記載の側面と実施形態は、各側面と実施形態「を含む」、「からなる」および「基本的に、側面と実施形態からなる」を含むことを理解するべきである。

#### 【0028】

用語「炎症」とは、生体組織が有害な刺激、例えば病原体、損傷した細胞または刺激物に対する複雑な生物反応である。急性炎症の古典的な徴候は、痛み、熱、赤み、腫れ、および機能の喪失を含むがこれに限定されない。炎症は一般的な反応であるので、それは自然免疫のメカニズムであると考えられる。炎症は急性炎症と慢性炎症に分けることができ

10

20

30

40

50

る。急性炎症とは、有害刺激に対する生体の初期反応であることを示し、しかも血漿と白血球（特に顆粒球）が、血液から損傷した組織へ加速運動することによって引き起こされる。一連の生化学的なプロセスを経て、炎症反応を伝播させて成熟するが、傷ついた組織には局所血管系、免疫システム、および種々の細胞が含まれる。長期の炎症は慢性炎症と呼ばれ、炎症部位に存在する細胞種が進行性の変化を引き起こし、且つ炎症プロセスに由来する組織が同時に破壊と治癒がなされることを特徴とする。

#### 【 0 0 2 9 】

用語「炎症細胞」とは、通常、血液中に存在し、かつ溢出を通じて炎症組織へ進んで炎症を起こす組織に役立つ白血球（例えば、好中球、マクロファージ、単球、好酸球、好塩基球およびリンパ球）を示す。いくつかは食細胞として作用し、細菌、ウイルスと細胞破

10

砕片を貪食する。その他は病原性侵入物を損傷する酵素粒子を放出する。白血球は炎症反応を進展および維持する炎症性メディエーターを放出する。一般的には、急性炎症反応は顆粒球を介することに対して、慢性炎症反応は単球およびリンパ球等の単核細胞を介する。幾つかの実施形態において、炎症細胞はTまたはB細胞等のリンパ細胞を含むことができる。

#### 【 0 0 3 0 】

用語「炎症性腸疾患（IBD）」とは、消化管の全てまたは一部の慢性炎症を特徴とする病理的状态を示す。IBDは、主に潰瘍性大腸炎、クローン病を含む。両方とも通常、重度の下痢、痛み、疲労、体重減少等の症状があらわれる。潰瘍性大腸炎は大腸（結腸）と直腸に長期的な炎症や瘡（潰瘍）を引き起こすIBDの形態である。クローン病は消化

20

管の炎症を引き起こすIBDの形態である。クローン病では、炎症がしばしば影響を受けている組織に深く広がっている。炎症は、例えば大腸、小腸または両方等の消化管の異なる領域が関与する。膠原性大腸炎とリンパ球性大腸炎も、炎症性腸疾患と考えられるが、通常、古典的な炎症性腸疾患とは異なると考えられている。

#### 【 0 0 3 1 】

用語「癌」と「癌細胞」とは、無秩序状態の細胞成長を特徴とする動物の生理的状态を示すか又は説明する。癌の例としては、肺癌（小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌細胞を含む）、肝細胞癌、脳癌（悪性乏突起膠腫、膠芽細胞腫や神経膠腫を含む）、胃腸癌（食道癌、胃腫瘍（stomach or gastric cancer）、腸癌、結腸癌、及び直腸癌を含む）、腎明細胞癌、皮膚基底細胞癌、皮膚鱗状細胞癌、喉癌、ホジ

30

キンリンパ腫、甲状腺髄様癌、膵臓癌、腺癌、線維肉腫、子宮頸癌、卵巣癌、膀胱癌、尿路癌、乳癌、子宮内膜や子宮癌、唾液腺癌、前立腺癌、メラノーマ、多発性骨髄腫やB細胞リンパ腫、白血病、十二指腸癌（腺癌）およびそれらに関連する転移腫瘍が挙げられるが、これらに限定されるものではない。幾つかの実施形態において、癌の種類は脳癌、肝癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、及び子宮頸癌から選択される。幾つかの実施形態において、癌細胞は神経膠腫細胞、肝臓癌細胞、肺癌細胞、乳癌細胞、卵巣癌細胞、および子宮頸部腺癌細胞から選択される。幾つかの実施形態において、癌の種類は膵臓癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、白血病、腺癌、線維肉腫、十二指腸腺癌、脳癌、肝臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、および子宮頸癌から選択される。

#### 【 0 0 3 2 】

用語「免疫グロブリン」（Ig）は本明細書中の「抗体」とほとんど同じ意味で使われる。本明細書中の用語「抗体」はもっとも広い意味で使用され、所望の生物活性を示す限り、更に、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも2種の無傷の抗体から形成される多特異的抗体（例えば、二重特異性抗体）、および抗体断片（例えばfabフラグメント、scfv、ミニボディ、ダイアボディ、scfv多量体、または二重特異性抗体断片）を具体的に含有する。

40

#### 【 0 0 3 3 】

本明細書で使用される用語「と特異的に結合する」または「に対して特異的な」とは、測定可能かつ再現できる相互作用（例えば、標的と抗体間の結合）を示し、それは生体分子を含む分子の異種集団の存在下で標的の存在を決定するものである。例えば、標的（エ

50

ピトープであってもよい)と特異的に結合する抗体は、他の標的との結合に比べて、より大きい親和性、アピディティ、より容易におよび/またはより長い持続時間で当該標的に結合する抗体である。幾つかの実施形態では、標的と特異的に結合する抗体の解離定数( $k_d$ )は  $1\mu\text{M}$ 、 $100\text{nM}$ 、 $10\text{nM}$ 、 $1\text{nM}$ または  $0.1\text{nM}$ である。もう一つの実施形態において、特異的結合は、排他的な結合を含んでもよいが排他的な結合は必須ではない。

#### 【0034】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」とは、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを示す。重鎖および軽鎖の可変ドメインは、それぞれ「 $V_H$ 」と「 $V_L$ 」と呼ぶことができる。これらのドメインは一般的には、抗体の最も可変な部分(同じクラスの他の抗体に対する)であり、そして抗原結合部位を含んでいる。

#### 【0035】

用語「可変」は、抗体間で、可変ドメインの特定のセグメントが、配列において広い範囲で異なるという事実を示す。 $V$ ドメインは、抗原結合を仲介し、その特定の抗原に対する特定の抗体の特異性を決定する。しかし、可変性は可変ドメインの全体で均一に分布していない。逆にそれは軽鎖と重鎖の可変ドメインにおける「超可変領域(HVR)」と呼ばれる3つのセグメントに集中している(抗体またはその抗原結合断片に計6つのHVRがある)。本明細書で使用されているように「超可変領域(HVR)」は特異抗原結合を抗体に与える高度に可変な配列を含んでいる。可変領域のより高度な保守部分はフレームワーク領域と呼ばれる(FR)。各鎖におけるHVRはFR領域に近接して一緒に保持され、他の鎖に由来するHVRで、抗体の抗原結合部位の形成に役立つ(Kabat等, Sequences of Immunological Interest, 第五版, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)を参照)。定常ドメインは抗原と抗体との結合に直接関与しないが、様々なエフェクター機能を発揮し、例えば、抗体依存性の細胞毒性に関与する。

#### 【0036】

多くのHVRについての記載は、本発明に用いられ、且つ含まれる。Kabatの相補性決定領域(CDR)は、配列多様性に基づき、最も一般的に使用されているものである(Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。そしてChothiaは構造環の位置を示す(ChothiaとLesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。AbM HVRは、Kabat HVRとChothiaの構造環の間での折衷(compromise)を示し、Oxford Molecular's AbM抗体モデリングソフトウェアにより用いられる。「接触」HVRは獲得可能の複合体の結晶構造解析に基づいている。これらの各HVRの残基を以下に示す。

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

#### 【0037】

HVRは次のような「拡張HVR」：VL中の24-36または24-34(L1)、46-56または50-56(L2)、および89-97または89-96(L3)、並びにVHの中の26-35(H1)、50-65または49-65(H2)、および93-102、94-102または95-102(H3)を含むことができる。これらの定義における各HVRについて、Kabata等により上記の可変領域の残基に対して番号付けする。

#### 【0038】

本明細書に記載の用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均一の抗体集団の中から獲得する抗体を示し、即ち前記抗体は、少量存在することが可能な自然に発生する突然変異及び/又は翻訳後修飾(例えば異性化、アミド化)を除いて同一の集団を含む単独の抗体である。モノクローナル抗体は単一の抗原部位に高く特異的な反応をする。典型的には異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体とは逆に、各モノクローナル抗体は単一の抗原決定基に反応する。

#### 【0039】

修飾語の「モノクローナル」は、ほぼ同種の抗体集団から獲得する抗体の特徴を示し、いかなる特定の方法によって、抗体を製造する必要があると解釈すべきではない。例えば、本発明に用いるモノクローナル抗体は、多種の技術によって生成することができ、例えば、ハイブリドーマ法(例えば、KohlerとMilstein, Nature, 256:495-97(1975))、組換えDNA法(例えば米国特許第4,816,567号参照)、ファージディスプレイ技術(例えばClackson等, Nature, 352:624-628(1991)参照)、および動物中でヒトまたはヒト化の抗体を産生することに用いる技術であって前記ヒトまたはヒト化の抗体はヒト免疫グロブリン遺伝子座またはヒト免疫グロブリンをコードする配列の一部または全部を有するものが挙げられる(例えばJakobovits等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:2551(1993); Lonberg等, Nature 368:856-859(1994)参照)。

#### 【0040】

「抗体断片」は完全な抗体の一部を含んでいるものであり、好ましくは完全な抗体の抗原結合および/または可変領域である。抗体断片の例は、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>とFv断片；ミニボディ；ダイアボディ；scFv；scFv多量体；線形抗体(linear antibody)；単鎖抗体分子；及び抗体断片から形成された二重特異性または多特異的抗体を含む。

#### 【0041】

「一本鎖Fv」(「sFv」または「scFv」とも略される)は、単一ポリペプチド鎖に連結されるVHおよびVL抗体ドメインを含む抗体断片である。好ましくは、更にscFvポリペプチドはVHとVLとのドメインの間にあるポリペプチドのリンカーを含み、当該リンカーはscFvと抗原結合のための所望の構造にさせることができる。scFvの概要に関して、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113巻, RosenburgとMoore eds, Springer-Verlag, New York, 第269-315頁(1994)を参照すればよい。

#### 【0042】

用語「ダイアボディ」は、Vドメインの鎖内のペアリングではなく、V<sub>H</sub>とV<sub>L</sub>ドメインの鎖間でのペアリングを達成する短いリンカー(約5~10残基)を用いてscFv断片(前記段落を参照)を構成することにより製造される小さい抗体断片を意味する。それにより2つの断片、即ち、2つの抗原結合サイトを有する断片が生じる。ダイアボディについては更に詳しく説明する。例えばEP404,097; WO93/11161; Hollinger等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:6444-48(1993)を参照すればよい。

#### 【0043】

10

20

30

40

50



具体的には、本明細書におけるモノクローナル抗体は、所望の生物活性を示す限り、「キメラ」抗体（免疫グロブリン）及びこれらの抗体の断片を含み、重鎖および／または軽鎖の一部は、特定の種に由来し、または特定の抗体のクラスまたはサブクラスに属する抗体に対応する配列と同一または相同であるが、鎖の残り部分は、もう一つの種に由来し、または別の抗体のクラスまたはサブクラスに属する抗体に対応する配列と同一または相同である（米国特許第4,816,567号、Morrisson等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 81:6851-55(1984)）。

#### 【0044】

ヒト以外（例えばネズミ科の動物）の抗体の「ヒト化」の形態は、ヒト以外の免疫グロブリン由来の最小配列を含むキメラ抗体である。1つの実施形態において、ヒト化抗体はヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）であり、レシピエントからのHVRの残基は、所望の特異性、親和性および／または能力を持つ、ヒト以外（ドナー抗体）の種（例えばマウス、ラット、ウサギまたはヒト以外の霊長類動物）のHVRの残基に置き換えられたものである。詳しい内容については、Jones等, Nature 321:522-525(1986)を参照すればよい。

#### 【0045】

「ヒト抗体」は、ヒト由来の抗体および／または本書に開示のヒト抗体作製のいかなる技術によっても製造される抗体に対応するアミノ酸配列を有する。ヒト抗体は、本分野において既に良く知られた多種の技術を使用することにより產生することができる。例えば、Cole等, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, 77頁(1985); Boerner等, J. Immunol., 147(1):86-95(1991)に記載の方法が挙げられる。

#### 【0046】

「単離」抗体は、その生産環境のコンポーネント（例えば、自然または組換え）から同定、分離および／または回収される抗体である。好ましくは、単離されたポリペプチドは一般的には、抗体の使用に干渉する混入成分（例えば酵素、ホルモン、および他の蛋白質性または非蛋白質性の溶質）が含まれていない。

#### 【0047】

本明細書における用語「治療」とは、臨床病理学過程に治療する個体または細胞の自然過程を変更するために設計された臨床介入を示す。治療の所望の効果は、病気の進行速度を遅らせ、病気の状態を改善または緩解し、予後の緩解や改良をすることを含む。例えば、癌に伴う一つ以上の症状を軽減または除去をするならば、個体への治療は成功である。

#### 【0048】

本明細書における用語「予防」は、個体の中での疾患の発生や再発の予防を含む。個体は特定の種類の癌にかかりやすいか、特定の種類の癌の影響を受けやすいか、または特定の種類の癌の発症リスクが存在しているが、まだ当該疾患にかかったと診断されていないものである。

#### 【0049】

「有効量」とは、所望の治療または予防の結果を達成するために効果的なく必要な投与数及び期間内で）少なくとも1つの量を示す。有効量は、一回または数回に分けて投与することができる。

#### 【0050】

「治療有効量」は、少なくとも、測定できる特定の疾患（例えば、癌）の改善効果をもたらすに必要とされる最小濃度である。本文における治療有効量は、例えば患者の病態、年齢、性別、体重、およびモノクローナル抗体が個体において所望の反応を誘発する能力等の要因に応じて変化する。治療有効量は、モノクローナル抗体の治療上の有益な効果が、いずれかの毒性や有害作用をも上回ったときの量である。「予防有効量」とは、必要な薬剤投与数と期間内で所望の予防的な結果を効果的に達成するための量を示す。しかし、疾患の前と疾患の初期段階では被験者に対して、通常必要ではない予防的投与量を使用し

10

20

30

40

50

ているので、予防有効量は治療有効量より少なくてもよい。

【 0 0 5 1 】

本明細書における、もう一つの化合物または組成物との「併用」投与は、同時投薬及び／または異なる時間での投薬を含む。併用投与は、合剤投薬または単独組成物投薬を含み、異なる投与頻度や間隔で投薬することを含み、かつ同じ投与経路または異なる投与経路を用いる。

【 0 0 5 2 】

治療または予防を目的とする「個体」は、哺乳類として分類されたいかなる動物をも含み、例えばヒト、家畜や農場の動物、および動物園動物、スポーツ動物またはペット動物（例えば犬、馬、ウサギ、ウシ、ブタ、ハムスター、スナネズミ、マウス、フェレット、ラット、猫等を含む。幾つかの実施形態では、前記個体はヒトである。幾つかの実施形態では、前記個体は非ヒト動物である。

10

【 0 0 5 3 】

本明細書における「担体」は、採用した投薬量及び使用濃度にさらされている細胞または哺乳類には無毒である。薬学的に許容可能な担体、賦形剤または安定剤を含む。通常、生理学的に許容可能な担体はpH緩衝水溶液である。生理学的に許容可能な担体の例は、リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸等のバッファ；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン等のタンパク質；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン等のアミノ酸；グルコース、マンノースまたはデキストリンを含む炭水化物；および／またはTWEEN<sup>TM</sup>、ポリエチレングリコール（PEG）とPLURONIC<sup>TM</sup>等の非イオン界面活性剤を含む。

20

【 0 0 5 4 】

「薬学的に許容可能な」バッファと塩は、上記の酸と塩基両者からの酸と塩基付加塩由来のものを含む。特定のバッファおよび／または塩はヒスチジン、コハク酸塩と酢酸塩を含む。

【 0 0 5 5 】

本明細書で、ほとんど同じ意味で使われる「ポリヌクレオチド」または「核酸」とは、任意の長さのヌクレオチドの重合体を示し、DNAとRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチド、または塩基、および／またはそれらの類似物、または、DNAやRNAポリメラーゼまたは合成反応によってポリマーに取り込まれる任意の基質であってもよい。

30

【 0 0 5 6 】

本発明の抗体をコードする「単離」ポリヌクレオチドは、少なくとも一つの混入核酸分子から同定および分離をした核酸分子であり、この核酸分子は通常、その発生する環境において混入核酸分子と結合している。本発明のポリペプチドと抗体をコードする単離核酸分子はその自然に見出される形態またはセッティング以外の形態で存在している。好ましくは、単離核酸はその生産環境に関する全ての成分に結合していないものである。

【 0 0 5 7 】

本発明における用語「ベクター」とは、それがリンクされている他の核酸の核酸分子を輸送できる核酸を意味している。ベクターの種類はプラスミド（即ち、別のDNAセグメントを連結できる環状二本鎖DNA）とウイルスベクターを含む。特定のベクターは、導入された宿主細胞において自律して複製できる（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクターとエピソード哺乳動物ベクター）。他のベクターは、宿主細胞のゲノムに統合されて、宿主ゲノムに伴って複製することができる。また特定のベクターは、作動可能にリンクされている遺伝子の発現を導くことができる。本発明では、このようなベクターを「組換え発現ベクター」と呼ぶか、または「発現ベクター」と省略する。プラスミドは最も常用されているベクター形態であるため、本明細書では「プラスミド」と「ベクター」は、ほとんど同じ意味で使われる。

40

III. 糖類

【 0 0 5 8 】

50

本発明の特定の側面では、糖類を含有するエピトープに関連している。本明細書における「糖類」は、単糖、オリゴ糖や多糖類を示してもよい。単糖類は、フルクトース、グルコース、マンノース、フコース、キシロース、ガラクトース、ラクトース、N - アセチルノイラミン酸、N - アセチルガラクトサミン、N - アセチルグルコサミン、及びシアル酸を含むがそれに限定されない。オリゴ糖は、成分糖のグリコシド結合で連結された複数の糖モノマーを含む糖類の重合体である。

【0059】

糖タンパク質やプロテオ糖とは、糖類に結合する蛋白質を示すが、通常、例えばタンパク質中のアミノ酸側鎖や脂質部分への互換性の単糖類のO - またはN - グリコシド結合を含んでもよい。本明細書における用語「グリカン」と「グリコシル部分」はほぼ同じ意味で使用され、単独の糖類または糖タンパク質の糖類成分としての糖を示す。アスパラギン側鎖のアミド窒素のN - グリコシル化と、セリンおよびトレオニン側鎖のヒドロキシ酸素のO - グリコシル化というグリコシル化の2つのタイプは本分野において既に知られる。他の糖類は、O - GlcNAc、GAG鎖、グリコサミノサッカライド、およびスフィンゴ糖脂質を含むがそれに限定されない。真核生物においてO - とN - 結合型糖類は非常によく存在し、原核生物において見つけることができるが、あまり好ましくない。

【0060】

本発明の特定の側面では、N - アセチルグルコサミン及びN - アセチルガラクトサミンに関する。N - アセチルグルコサミンとは、N - グルコサミン残基を含むいかなるアミノ糖化合物を示してもよい。本明細書におけるN - アセチルグルコサミンとは、単糖類自体、または比較的大きい多糖の構成要素とする単糖類を示してもよい。本明細書におけるN - アセチルグルコサミンは、糖類自体、または糖タンパク質や一つ以上のN - アセチルグルコサミン成分（例えば、N - アセチルグルコサミンを含む単糖または多糖）でグリコシル化されたタンパク質のグリカン成分としての糖を示してもよい。

【0061】

N - アセチルガラクトサミンとは、酢酸部分とN - 結合されたグルコサミンを含む任意の化合物を示してもよい。N - アセチルガラクトサミンとは、N - 結合されたガラクトサミン部分を含む任意のアミノ糖化合物を示してもよい。本明細書におけるN - アセチルガラクトサミンとは、単糖類自体、または比較的大きい多糖の構成要素としての単糖を示してもよい。本明細書におけるN - アセチルガラクトサミンとは、糖類自体、または糖タンパク質や一つ以上のN - アセチルガラクトサミン部分でグリコシル化されたタンパク質（例えば、N - アセチルガラクトサミンを含む単糖または多糖）のグリカン成分としての糖を示してもよい。

【0062】

多くのタンパク質がグリコシル化されていることは知られているが、糖タンパク質は、しばしば細胞外表面（即ち、細胞外）で発見され、または分泌されている。そのため、糖タンパク質は外部の薬剤（例えば、患者へ投与の外因性化合物）に非常に接近しやすい。例えば、特定の糖タンパク質成分を特異的に認識する成分（例えば、抗体やレクチン）は、無傷の生物において、細胞表面上のこれらの糖タンパク質を発現する細胞に結合することができる。特定の糖タンパク質成分を特異的に認識する成分は、分泌される糖類や糖タンパク質、例えば特定の組織サンプル（血液または血清を含むが、それに限定されない）中に見出される遊離の糖または糖タンパク質に結合することができる。

【0063】

本分野において、レクチンは高い特異性で同族の糖部分を認識できる糖結合タンパク質として知られている。これらの非常に特異的な結合相互作用は、例えば、組織に特定の糖の測定（例えば、特定の糖部分でグリコシル化による修飾の細胞表面タンパク質の測定に用いる）に用いてもよい。レクチンは、例えば動物レクチン、植物レクチン、および病原体のレクチンを含んでもよい。哺乳類等の動物では、例えば、排他的に病原体上に見出される、または宿主細胞上の見えにくい炭水化物を認識することにより、レクチンが免疫システムにおいて重要な役割を果たすことは知られている。

## 【 0 0 6 4 】

本発明の特定の側面において、植物レクチンを用いて特定の糖鎖の存在または発現を検出する。例えば、植物レクチンはフルクトース、マンノース、グルコース、フコース、ガラクトース、N - アセチルガラクトサミン、及びN - アセチルグルコサミンに対する特異的なレクチンを含むがそれに限定されない。

IV . 抗体

エピトープとの結合

## 【 0 0 6 5 】

本発明の特定の側面では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体に関する。上記したように、このような抗体は測定可能かつ再現できる相互作用を示し、例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープに結合される。例えば、他の標的に比べてエピトープと特異的に結合する抗体は、より大きな親和性、アビディティ、より容易におよび/またはより長い持続時間でこのエピトープに結合する抗体である。N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープの例は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有糖タンパク質を含み、例えば、癌細胞の表面に発現するN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン部分を有する細胞表面の糖タンパク質が挙げられるが、これらに限定されない。

## 【 0 0 6 6 】

特異的結合は、排他的な結合を含んでもよいが、必須ではない。N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体であるが、それらの抗体はこれらの部分を含んでいない他のエピトープに結合することが発見され、例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと比較してより小さい結合親和性を有していても良い。

## 【 0 0 6 7 】

幾つかの実施形態では、抗体はN - アセチルグルコサミンとN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する。例えば抗体は、N - アセチルグルコサミンを含むエピトープ、及びN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合してもよい。幾つかの実施形態では、抗体は、同時にN - アセチルグルコサミンとN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合してもよい。

## 【 0 0 6 8 】

幾つかの実施形態では、抗体は癌細胞の細胞表面に発現するN - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープとの結合によって、癌細胞の成長を阻害する。本明細書における細胞成長の阻害とは、その増殖率の抑制を示してもよい。理論に束縛されることを希望せずに、抗体は、細胞表面に結合して様々なメカニズムによって細胞の成長を阻害することができる。例えば、細胞表面に結合する抗体は、細胞に対して毒性があり、または他の方法によって細胞死を引き起こす可能性があり、それはアポトーシスや壊死が挙げられるが、それに限定されない。細胞表面に結合する抗体は、細胞増殖を遅くするか、または阻止することができる。細胞表面上の細胞表面糖タンパク質と結合する抗体は、例えば細胞シグナル伝達の機能等の糖タンパクの機能を抑制するか、または強化することができるが、抗体の結合により細胞成長を阻害することができる。細胞表面と結合する抗体は外因性リガンドと競合することができ、前記外因性リガンド、例えば成長因子は、細胞表面への結合によって細胞成長を促進する。このような競合は間接的なものであり、すなわち抗体は外因性リガンドと同様の糖タンパク質上のエピトープに競合的に結合する必要がない。細胞表面に結合する抗体は、免疫システムの一つ以上の成分を引きつけることができ、例えば、ナチュラルキラーやNK細胞は、抗体が結合した細胞の成長を阻害する。異なる抗体が細胞表面上のエピトープに結合することによって細胞の成長を阻害するメカニズムは、細胞コンテキストまたは特異的な抗体またはエピトープに応じて異なる。

抗体の特徴

## 【 0 0 6 9 】

本発明において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する特定の抗体が記載され、特徴決定される。幾つかの実施形態において、PCT/CN2015/087717に記載するように、抗体は1 C 5 C 9である。幾つかの実施形態において、PCT/CN2015/087717に記載するように、抗体は1 C 5 C 9抗体のヒト化形式である。例えば、幾つかの実施形態において、抗体はヒト化の親1 C 5 C 9抗体に由来する。幾つかの実施形態において、ヒト化の親1 C 5 C 9抗体は、Y T F P D Y N I H ( S E Q I D N O : 1 ) のH V R - H 1配列、C I Y P Y N G N T A ( S E Q I D N O : 2 ) のH V R - H 2配列、及びS D L Y Y F G S R G F D ( S E Q I D N O : 3 ) のH V R - H 3配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、ヒト化の親1 C 5 C 9抗体は、R A S Q D I S T Y L N配列( S E Q I D N O : 4 ) のH V R - L 1配列、F T S R L H S ( S E Q I D N O : 6 ) のH V R - L 2配列、及びQ Q G N T L P W ( S E Q I D N O : 9 ) のH V R - L 3配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、ヒト化の親1 C 5 C 9抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖可変領域、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWGQGLTVTVSSA ( S E Q I D N O : 1 0 )、および/または下記のアミノ酸配列含有軽鎖可変領域を有する。

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISTYLNWYQQKPKGAPKLLIYFTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK ( S E Q I D N O : 1 2 )。

幾つかの実施形態において、ヒト化の親1 C 5 C 9抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK ( S E Q I D N O : 1 1 )、および/または下記のアミノ酸配列含有軽鎖を有する。

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISTYLNWYQQKPKGAPKLLIYFTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC ( S E Q I D N O : 1 5 )。

## 【 0 0 7 0 】

幾つかの実施形態において、抗体は1 C 5 C 9抗体のヒト化形式である。幾つかの実施形態において、抗体はS E Q I D N O : 5のH V R - L 1配列、F T S X<sub>1</sub> L X<sub>2</sub> S ( S E Q I D N O : 2 5 ) のH V R - L 2配列およびS E Q I D N O : 9のH V R - L 3配列を含む軽鎖可変領域(X<sub>1</sub>はT又はSであり、X<sub>2</sub>はQ又はEである)を含む軽鎖可変領域を有する。

## 【 0 0 7 1 】

幾つかの実施形態において、抗体はヒト化の1 C 5 - V K 1である。幾つかの実施形態において、抗体は、Y T F P D Y N I H ( S E Q I D N O : 1 ) のH V R - H 1配列、C I Y P Y N G N T A ( S E Q I D N O : 2 ) のH V R - H 2配列、及びS D L Y Y F G S R G F D ( S E Q I D N O : 3 ) のH V R - H 3配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体はQ A S Q D I S T Y L N ( S E Q I D N O : 2 1 ) のH V R - L 1配列、F T S N L E T ( S E Q I D N O : 2 2 ) のH V R - L 2配列、及びQ Q G N T L P W ( S E Q I D N O : 9 ) のH V R - L 3配列を含む軽鎖可変領域を有する。

## 【 0 0 7 2 】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖可変領域、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY

10

20

30

40

50

MELSLRLSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSA (SEQ ID NO: 10) および / または下記のアミノ酸配列含有軽鎖可変領域を有する。DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISTYLNWYQQKPKGAPKLLIYFTSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 23)。

【0073】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖、  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSLRLSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT  
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPSCKDKTHTCPPCPAPELL  
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN  
GKEYCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP  
PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)  
および / または下記のアミノ酸配列含有軽鎖を有する。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISTYLNWYQQKPKGAPKLLIYFTSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 24)。

【0074】

幾つかの実施形態において、抗体はヒト化の1C5-VK2である。幾つかの実施形態において、抗体は、YTFPDYNIH (SEQ ID NO: 1) のHVR-H1配列、CIYPYNGNTA (SEQ ID NO: 2) のHVR-H2配列、及びSDLYYFGSRGFD (SEQ ID NO: 3) のHVR-H3配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、RASQDISTYLN (SEQ ID NO: 4) のHVR-L1配列、FTSSLQS (SEQ ID NO: 18) のHVR-L2配列、及びQQGNTLPW (SEQ ID NO: 9) のHVR-L3配列を含む軽鎖可変領域を有する。

【0075】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖可変領域、  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSLRLSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSA (SEQ ID NO: 10)、および /  
または下記のアミノ酸配列含有軽鎖可変領域を有する。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQKPKGAPKLLIYFTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19)。

【0076】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖、  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSLRLSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT  
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPSCKDKTHTCPPCPAPELL  
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN  
GKEYCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP  
PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)  
、および / または下記のアミノ酸配列含有軽鎖を有する。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQKPKGAPKLLIYFTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 20)。

【0077】

幾つかの実施形態において、抗体はヒト化の1C5-VK3である。幾つかの実施形態において、抗体は、YTFPDYNIH (SEQ ID NO: 1) のHVR-H1配列、CIYPYNGNTA (SEQ ID NO: 2) のHVR-H2配列、及びSDLY

Y F G S R G F D ( S E Q I D N O : 3 ) の H V R - H 3 配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、R A S Q D I S T Y L N ( S E Q I D N O : 5 ) の H V R - L 1 配列、F T S T L Q S ( S E Q I D N O : 7 ) の H V R - L 2 配列、及び Q Q G N T L P W ( S E Q I D N O : 9 ) の H V R - L 3 配列を含む軽鎖可変領域を有する。

#### 【 0 0 7 8 】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖可変領域、  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSA ( S E Q I D N O : 1 0 )、および /  
または下記のアミノ酸配列含有軽鎖可変領域を有する。  
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSTLQSGVPSRFSFGSGSGTDFTLTISLQPE  
DAATYYCQQGNTLPWTFGGGTKEIK ( S E Q I D N O : 1 3 )。

10

#### 【 0 0 7 9 】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖、  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT  
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPELL  
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN  
GKEYCKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT  
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK ( S E Q I D N O : 1 1 )

20

、および / または下記のアミノ酸配列含有軽鎖を有する。  
DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSTLQSGVPSRFSFGSGSGTDFTLTISLQPE  
DAATYYCQQGNTLPWTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC ( S E Q I D N O : 1 6 )。

#### 【 0 0 8 0 】

幾つかの実施形態において、抗体はヒト化の 1 C 5 - V K 4 である。幾つかの実施形態において、抗体は、Y T F P D Y N I H ( S E Q I D N O : 1 ) の H V R - H 1 配列、C I Y P Y N G N T A ( S E Q I D N O : 2 ) の H V R - H 2 配列、及び S D L Y Y F G S R G F D ( S E Q I D N O : 3 ) の H V R - H 3 配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、R A S Q D I S T Y L A ( S E Q I D N O : 5 ) の H V R - L 1 配列、F T S S L E S ( S E Q I D N O : 8 ) の H V R - L 2 配列、及び Q Q G N T L P W ( S E Q I D N O : 9 ) の H V R - L 3 配列を含む軽鎖可変領域を有する。

30

#### 【 0 0 8 1 】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖可変領域、  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSA ( S E Q I D N O : 1 0 )、および /  
または下記のアミノ酸配列含有軽鎖可変領域を有する。  
AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLESVPSRFSFGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDVATYYCQQGNTLPWTFGGGTKEIK ( S E Q I D N O : 1 4 )。

40

#### 【 0 0 8 2 】

幾つかの実施形態において、抗体は、下記のアミノ酸配列含有重鎖、  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWQGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT  
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPELL  
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN  
GKEYCKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT  
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK ( S E Q I D N O : 1 1 )

50

、および / または下記のアミノ酸配列含有軽鎖を有する。

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 17)。

#### 【0083】

幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 12由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 13由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 14由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 19由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10由来の3つのHVRを含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 23由来の3つのHVRを含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 12のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 13のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 14のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態において、抗体は、SEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。

#### 【0084】

本発明に用いる抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片（例えば、Fab、Fab'-SH、Fv、scFvとF(ab')<sub>2</sub>）、キメラ抗体、二重特異性抗体、多価抗体、ヘテロ接合抗体、抗体部分含有融合タンパク質、ヒト化抗体およびその必要な（例えば、N-アセチルグルコサミンまたはN-アセチルガラクトサミンを含むエピトープに対して）必要な特異性を有する抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子のいかなる他の修飾構成、抗体のグリコシル化変異体、抗体のアミノ酸配列変異体、及び共有結合修飾抗体を含む。抗体は、マウス、ラット、ヒトまたは他の任意の起源（キメラまたはヒト化抗体を含む）であってもよい。

#### 【0085】

幾つかの実施形態において、N-アセチルグルコサミンまたはN-アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体はモノクローナル抗体である。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler等, Nature, 256: 495 (1975)で最初に記述するハイブリドーマ法を用い、または組換えDNA法によって作られてもよい（米国特許第4,816,567号）。

#### 【0086】

ハイブリドーマ細胞を培養する培地で抗原（例えばN-アセチルグルコサミンまたはN-アセチルガラクトサミンを含むエピトープ）に対するモノクローナル抗体の生成を分析する。好ましくは、免疫沈降法または体外結合アッセイ、例えば、ラジオイムノアッセイ等（RIA）または酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）により、ハイブリドーマ細胞が生成したモノクローナル抗体の結合特異性を決定する。

#### 【0087】



前記のように、モノクローナル抗体は組換えDNA法によって作製される。モノクローナル抗体をコードするDNAを容易に分離や配列決定して、発現ベクターに置き、大腸菌の細胞またはCHO細胞等の宿主細胞にトランスフェクトし、組換えモノクローナル抗体を生成するために従来の手順を使用する。

#### 【0088】

幾つかの実施形態では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエпитープと特異的に結合する抗体はヒト化抗体である。ヒト化抗体はヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）を含み、前記ヒト免疫グロブリンにおけるレシピエント由来の相補性決定領域（CDR）内の残基が、所望の特異性、親和性と能力を有するヒト以外の種（ドナー抗体）、例えばマウス、ラットやウサギのCDRの残基に置換される。Jones等, Nature 321: 522 - 525 (1986); Riechmann等, Nature 332: 323 - 329 (1988)とPresta, Curr. Opin. Struct. Biol. 2: 593 - 596 (1992)を参照すればよい。

10

#### 【0089】

非ヒト抗体のヒト化に用いる方法は本分野においてよく知られている。一般に、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入したその中の一つ以上のアミノ酸残基を有する。基本的にヒト化は、Jones等, Nature 321: 522 - 525 (1986)の方法に基づいて行うことができる；または非ヒトのCDR配列でヒト抗体に対応の配列を代替する。ヒト化抗体は抗原に対して高い親和性を保持することを確保するために、ヒト化抗体は、3次元モデルを用いて、親配列と種々の概念上のヒト化製品を分析する工程によりヒト化抗体を製造してもよい。三次元免疫グロブリンモデルは、通常得られるものであり、かつ、当業者によく知られているものである。一般に、CDR残基は抗原結合に直接かつ最も実質的に関与して影響を与える。

20

#### 【0090】

幾つかの実施形態において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエпитープと特異的に結合する抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体を産生するための従来公知の方法は、ファージディスプレイ技術と抗原に反応したヒト抗体を生産するトランスジェニック動物の使用を含むがそれに限定されない。

#### 【0091】

幾つかの実施形態において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエпитープと特異的に結合する抗体は、キメラ抗体である。キメラ抗体とは、ある種由来の相補性決定領域（CDR）または可変領域の残基と、他の種由来の定常領域に対応する配列と結合されている抗体を示してもよい。キメラ抗体を生成するための方法は本分野において知られている（例えば、米国特許第4,816,567号参照）。

30

#### 【0092】

幾つかの実施形態において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエпитープと特異的に結合できる抗体は、抗体断片である。幾つかの実施形態では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエпитープと特異的に結合できる抗体はFab断片、scFv、ミニボディ、ダイアボディ、scFv多量体または二重特異性抗体断片である。Fab、FvとscFv抗体断片は、いずれも大腸菌に発現され、それにより分泌されることができるので、これらの断片を直接大量生産させることができ、またはファージライブラリーから単離される。このような線形抗体断片は単一特異性または二重特異性のものであってもよい。

40

#### 【0093】

幾つかの実施形態において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエпитープと特異的に結合できる抗体は、二重特異性抗体である。二重特異性抗体（BsAb）は、少なくとも2つの異なるエпитープに対する結合特異性を持つ抗体であり、同じまたは別のタンパク質上のエпитープを含む。二重特異性抗体を製造するための方法は、本分野において知られている。全長二重特異性抗体の従来の生産は2つの免

50

疫グロブリン重鎖 / 軽鎖の共発現に基づくが、そのうち2つの鎖は異なる特異性を持っている。

【0094】

幾つかの実施形態では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合できる抗体は、多価抗体である。多価抗体とは、2つ以上の抗原結合部位を持つ任意の抗体を示してもよい。幾つかの実施形態では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合できる抗体は、ヘテロ接合抗体 (heteroconjugate antibody) である。ヘテロ接合抗体とは、異なる特異性を持つ2つの抗体を連結することによって (例えば共有結合によって) 作製される任意の抗体を示してもよい。

10

【0095】

異なる側面によれば、所望の結合特異性を持つ抗体可変ドメイン (抗体 - 抗原結合部位) は、免疫グロブリン定常領域の配列と融合される。免疫グロブリン重鎖の融合体と必要な免疫グロブリン軽鎖とをコードするDNAを、異なる発現ベクター中に挿入し、適当な宿主生物にトランスフェクトする。

【0096】

幾つかの実施形態において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を含有する組成物は、薬学的に許容可能な担体、賦形剤、安定剤を含んでもよく、医薬組成物の一部としての投薬量及び使用濃度が、前記担体、賦形剤、または安定剤に暴露されている細胞または哺乳類に対して無毒である。一般的に、生理的に許容可能な担体は水性pH緩衝溶液である。生理的に許容可能な担体の例は、リン酸、クエン酸および他の有機酸のようなバッファ; アスコルビン酸を含む酸化防止剤; 低分子量 (約10残基未満) のポリペプチド; 血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン等のタンパク質; ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー; グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン等のアミノ酸; グルコース、マンノースまたはデキストリン等の単糖類、二糖類と他の炭水化物; EDTA等のキレート剤; マンニトールやソルビトール等の糖アルコール; ナトリウム等の塩形成性対イオン; および/またはTWEEENTM、ポリエチレングリコール (PEG)、PLURONICS TM等の非イオン界面活性剤を含む。

20

ポリヌクレオチド、抗体をコードするベクター、および宿主細胞

30

【0097】

本発明の特定の側面では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体の産生に関する。具体的に、特定の側面において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドに関する。上記したように、ポリヌクレオチドとは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドまたは塩基、および/またはその類似体である。これらのポリヌクレオチドは、宿主細胞において体内で生成し、または体外で転写して生成してもよい。抗体をコードするポリヌクレオチドとは、抗体産生細胞 (例えば、B細胞またはハイブリドーマ) において同定されるとおりの抗体コード配列、または配列に同義の変異のポリヌクレオチドを含み、その自然に存在する対応物と区別されるが、遺伝子コードの固有の縮重により、類似した蛋白質をコードしている配列を有するポリヌクレオチドを示してもよい。本分野において従来公知の手段によってポリヌクレオチドを分離してもよく、PCRを含み、その後PCR反応に基づく沈殿の精製、またはPCR産物含有アガロースゲルのスライス、または宿主細胞由来のポリヌクレオチドを含むベクターを精製する (例えば、大腸菌由来のプラスミド製剤等)。

40

【0098】

本発明の特定の側面では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体をコードする核酸配列を含むベクターに関する。抗体またはその断片を組換えて生成するため、所望の抗体または抗体断片をコードす

50

る核酸を分離し、更にクローニング（DNAの増幅）または発現ために複製可能なベクターに挿入される。ポリクローナルまたはモノクローナル抗体をコードするDNAは（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子と特異的に結合するオリゴヌクレオチドプロンプを用いて）容易に分離されるものであり、従来の手順を使用して、配列は決定される。多くのクローニングおよび/または発現ベクターは市販されている。

#### 【0099】

一般的にベクターは、以下の一つ以上のシグナル配列、複製開始点、一つ以上のマーカー遺伝子、多数の制限エンドヌクレアーゼに対する認識配列を含有する多重クローニング部位、エンハンサー、プロモーターと転写終結配列を含むが、これに限定されない。発現ベクターとクローニングベクターは共に、ベクターを一つ以上の選択された宿主細胞内で複製することが可能な核酸配列を含んでいる。このような配列は、様々な細菌、酵母、およびウイルスについて周知である。発現ベクターとクローニングベクターは、更に、選択可能なマーカーとする選択遺伝子を含み、前記選択遺伝子の発現は抗生物質や他の毒素に対する抵抗性を与え、栄養要求性の不足を補い、または複合培地から供給できない重要な栄養分を提供する。

#### 【0100】

通常、発現ベクターとクローニングベクターは、宿主生物によって認識され、抗体（例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有エпитープと特異的に結合する抗体）をコードする核酸またはその断片と、操作可能に結合するプロモーターを含む。原核生物宿主と共に使用に適したプロモーターは、*phoA* プロモーター、ラクタマーゼとラクトースプロモーター系、アルカリ性ホスファターゼのプロモーター、トリプトファンプロモーター系、および *tac* プロモーター等のハイブリッドプロモーター、また他の既知の細菌のプロモーターにも適している。細菌のシステムに用いられるプロモーターは、抗体と抗体断片をコードするDNAと操作可能に結合するシャインダルガーノ（*Shine-Dalgarno, S.D.*）配列を含む。プロモーター配列は真核生物について知られているものであり、3 - ホスホグリセレートキナーゼまたは他の解糖系酵素の酵母プロモーター、及びウイルスのゲノムから得られた哺乳類動物プロモーターを含む。前記ウイルスとしては、ポリオーマウイルス、サイトメガロウイルス等が挙げられ、且つ、最も好ましくはシミアンウイルス40（*Simian Virus 40, SV 40*）である。種々の異種哺乳類動物のプロモーターは、例えばアクチンプロモーター、免疫グロブリンプロモーター、熱ショックプロモーターも知られている。真核宿主細胞に用いられる発現ベクターは、また転写の終了とmRNAの安定化に必要な配列を含む。

#### 【0101】

本発明の特定の側面において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有エピトープと特異的に結合する抗体をコードする核酸配列を含有するベクターを含む単離宿主細胞に関する。抗体（例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有エピトープと特異的に結合できる抗体）またはその断片をコードするDNAをクローニングまたは発現することに用いる適切な宿主細胞は、グラム陰性またはグラム陽性生物、例えば腸内細菌科の大腸菌（*E. coli*）等原核生物を含む。原核生物以外に、糸状菌や酵母等の真核微生物も宿主のクローニングや発現に適し、例えば出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）が挙げられる。酵母及び糸状菌を治療的なタンパク質の生産に用いるレビューについては、例えば、Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409 - 44（2004）を参照すればよい。グリコシル化抗体または抗体断片の発現に用いる適切な宿主細胞は、多細胞生物に由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物、およびスポドプテラ・フルギペルダ（*Spodoptera frugiperda*, キヤタピラー）、ネッタイシマカ（*Aedes aegypti*, 蚊）、キイロショウジョウバエ（*Drosophila melanogaster*, ショウジョウバエ）またはカイコ（*Bombyx mori*, 蛾）細胞等の昆虫細胞を含む。利用可能な哺乳類動物宿主細胞株の例としては、SV40で形質転換した猿腎臓CV1株（*COS-7, ATCC CRL 1651*）、ヒト胚性腎臓細胞

10

20

30

40

50

胞株（293または懸濁培地における増殖した293または293細胞のサブクローニング、Graham等、J. Gen. Virol. 36:59（1977））、ベビーハムスター腎臓細胞（BHK、ATCC CCL 10）、チャイニーズハムスター卵巣細胞／-DHFR（CHO、Urlaub等、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:4216（1980））、アフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76、ATCC CRL-1587）、ヒト子宮頸癌細胞（HELA、ATCC CCL 2）、及びヒト肝癌細胞株（Hep G2）が挙げられる。抗体生産に適した特定の哺乳類動物宿主細胞株のレビューについては、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248（B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003）, pp. 255 - 268. を参照すればよい。これらの実施例は制限されるものではなく、むしろ例示される。

10

#### 抗体の生産と精製

##### 【0102】

本発明の特定の側面において、抗体をコードする核酸配列を含有するベクターを有する宿主細胞を培養し、かつ細胞培養物から抗体を回収することにより抗体を生成する方法に関する。抗体または抗体断片を生産するために、前記発現またはクローニングベクターを用いて宿主細胞を形質転換し、プロモーターの誘発、形質転換体の選択、または所望の配列をコードする遺伝子の増幅のために適宜に改良した通常の栄養培地で培養する。

##### 【0103】

20

本明細書に記載の抗体（例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有エピトープと特異的に結合できる抗体）と抗体断片の生成に用いられる宿主細胞については、いろいろな培地で培養することができる。Ham's F10（シグマ）、最小必須培地（MEM）、シグマ）、RPMI - 1640（シグマ）及びダルベッコ改変イーグル培地（Dulbecco's Modified Eagle's Medium（DMEM）、シグマ）等の市販の培地は宿主細胞の培養に適している。これらの培地は必要に応じてホルモンや他の成長因子（例えば、インシュリン、トランスフェリン、または表皮成長因子）、塩（例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、リン酸塩）、バッファ、ヌクレオチド、抗生物質、微量元素、及びグルコースまたは同等のエネルギー源を補充することができる。また、当業者に知られている適切な濃度の任意のその他の必要な補充物を含むことができる。培養条件としては、温度、pH等が挙げられ、従来の発現に用いられる宿主細胞の条件をそのまま使用することができ、そして、これは当業者に自明なものである。

30

##### 【0104】

遺伝子組換え技術を用いた場合、抗体（例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有エピトープと特異的に結合できる抗体）または抗体断片は、細胞内、ペリプラズム空間において生成し、または直接培地に分泌されることができる。このような細胞から調製した抗体は、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、アフィニティークロマトグラフィー（例えば、基質（例えば、アガロース）に結合するタンパク質Aまたはタンパク質Gを用いる）を用いて精製することができる。

40

##### 【0105】

一般的に、研究、試験と臨床応用に用いられる抗体を精製する各種の方法は、本分野において公知であるが、前記各種の方法は上記の方法学と一致および／または関心のある特定の抗体に適すると考えられる。

#### V. 癌

##### 【0106】

本発明の特定の側面において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を含有する有効量の組成物を与えることにより、個体の癌の予防と治療に用いる方法に関し、前記エピトープは癌細胞によって発

50

現する。幾つかの実施形態では、エピトープは、癌細胞の細胞表面に発現する。幾つかの実施形態では、抗体は癌細胞の細胞表面に発現するエピトープと結合して癌細胞の成長を抑制する。

#### 【0107】

正常ヒト細胞の細胞表面にほとんど発現しないか又は全く発現しないことに比べて、種々のヒト癌細胞の細胞表面に特定の糖タンパク質が多く発現しており（PCT/CN2015/087717参照）、特にN - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンが発現する。そのため、これらの糖部分は癌の存在を示すバイオマーカーに用いられ、前記バイオマーカーは優先的に、癌細胞を標的として治療薬（例えば、抗体等）に使用されてもよい。便利に、N - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンと特異的な抗体を細胞表面に結合し、これらの糖部分を発現する癌細胞の成長を阻害できる。

10

#### 【0108】

N - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する新規抗体が記載されている。以下に記載するように、それら抗体は、異なる腫瘍異種移植モデルにおいて多種の癌細胞の成長抑制に広く有効である。腫瘍異種移植モデルは本分野において従来公知のヒトの腫瘍の薬物反応を測定や予測するための強力なツールである（例えば、Richmond, A. と Su, Y. (2008) Dis. Model Mech. 1 (2 - 3) : 78 - 82 参照）。これらの抗体は多種の人の腫瘍細胞系にも役立つ。また、IBDと関節炎等の複数の炎症モデルにおいて、これらの抗体が既存の抗体より優れることは発見された。

20

#### 【0109】

本明細書に記載の結果により、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体は、多種の形態のヒト癌に広く有効であることを示す。幾つかの実施形態において、その成長が抗体によって抑制される癌細胞としては、膵臓腺癌細胞、結腸腺癌細胞、直腸腺癌細胞、食道腺癌細胞、白血病細胞、腺様癌細胞、線維肉腫細胞、十二指腸腺癌細胞、神経膠腫細胞、肝臓癌細胞、肺癌細胞、乳癌細胞、神経膠芽腫細胞、卵巣癌細胞、子宮頸部腺癌細胞、結腸癌細胞、胃癌または胃腫瘍細胞、食道癌細胞、および線維肉腫細胞等の群から選択されるものである。

30

#### 【0110】

幾つかの実施形態では、癌細胞は膵臓腺癌細胞である。膵臓腺癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した腺癌細胞を含み、膵臓に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、前記腺癌細胞は膵管腺癌細胞である。

#### 【0111】

幾つかの実施形態では、癌細胞は結腸または直腸腺癌細胞である。結腸または直腸腺癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した腺癌細胞を含み、結腸または直腸に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、前記腺癌細胞は中度に分化した結腸腺癌細胞である。

#### 【0112】

幾つかの実施形態では、癌細胞は神経膠腫細胞または神経膠芽腫細胞である。神経膠腫細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した神経膠腫細胞を含み、グリア細胞、例えば、脳や脊椎のグリア細胞に由来する任意の悪性細胞を示してもよい。神経膠腫細胞とは、神経膠腫細胞の均一な集団または異なる種類のグリア細胞から発生する混合細胞集団を示してもよい。幾つかの実施形態では、神経膠腫細胞は、乏突起膠腫細胞、脳幹膠腫細胞、上衣腫細胞、または視神経膠腫細胞を示してもよい。神経膠腫は、III級星形細胞腫、乏突起神経膠腫と乏突起星形細胞腫を含む。神経膠芽腫細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した神経膠芽腫細胞を含み、グリア細胞（通常、IV級神経膠腫や星形細胞腫を記述するために使用される）、例えば、脳星形グリア細胞に由来するいかなる悪性細胞を示してもよい。神経膠芽腫細胞は、原発性または新発性腫瘍、続発性腫瘍を含み、そして他の細胞タイプと血管を含むことができる。

40

50

## 【 0 1 1 3 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は肝臓癌細胞である。肝臓癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した肝臓癌細胞を含み、肝臓に由来する任意の癌細胞を示してもよい。

## 【 0 1 1 4 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は肺癌細胞である。肺癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した肺癌細胞を含み、肺に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、前記肺癌細胞は非小細胞肺癌細胞であってもよい。幾つかの実施形態では、肺癌細胞は肺腺癌細胞であってもよい。幾つかの実施形態では、肺癌細胞は肺扁平上皮癌細胞であってもよい。幾つかの実施形態では、肺癌細胞は小細胞肺癌細胞であってもよい。

10

## 【 0 1 1 5 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は乳癌細胞である。乳癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した乳癌細胞を含み、乳腺に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、乳癌細胞は非浸潤性乳管癌細胞であってもよい。幾つかの実施形態では、乳癌細胞は浸潤性乳管癌細胞であってもよい。幾つかの実施形態では、乳癌細胞は浸潤性小葉癌細胞であってもよい。

## 【 0 1 1 6 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は卵巣癌細胞である。卵巣癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した卵巣癌細胞を含み、卵巣に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、卵巣癌細胞は表層上皮・間質性腫瘍細胞であってもよい。幾つかの実施形態では、卵巣癌細胞は性索間質性腫瘍細胞であってもよい。幾つかの実施形態では、卵巣癌細胞は、胚細胞腫瘍細胞であってもよい。卵巣癌細胞とは、卵巣癌細胞の均一な集団またはこれらの異なる種類の卵巣癌から発生する混合細胞集団を示してもよい。

20

## 【 0 1 1 7 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は子宮頸部腺癌細胞である。子宮頸部腺癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した子宮頸部腺癌細胞を含み、子宮頸に由来する任意の腺癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、子宮頸部腺癌細胞は腺扁平上皮癌細胞である。

## 【 0 1 1 8 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は結腸癌細胞である。結腸癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した結腸癌細胞を含み、結腸または直腸に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、結腸癌細胞は腺癌細胞である。幾つかの実施形態では、結腸癌細胞は腺扁平上皮癌細胞である。

30

## 【 0 1 1 9 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は、胃癌または胃腫瘍細胞である。胃癌または胃腫瘍細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した胃癌細胞を含み、胃に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、胃癌または胃腫瘍細胞は腺癌細胞である。幾つかの実施形態では、胃癌または胃腫瘍細胞は散在型腺癌細胞（粘液、コロイド、形成性（*initis plastica*）、革袋状胃）細胞である。幾つかの実施形態では、胃癌または胃腫瘍細胞はリンパ腫細胞である。

40

## 【 0 1 2 0 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は食道癌細胞である。食道癌細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した食道癌細胞を含み、食道に由来する任意の癌細胞を示してもよい。幾つかの実施形態では、食道癌細胞は腺癌細胞である。幾つかの実施形態では、食道癌細胞は扁平上皮癌細胞である。

## 【 0 1 2 1 】

幾つかの実施形態では、癌細胞は線維肉腫細胞である。線維肉腫細胞とは、原発腫瘍または他の部位に転移した食道癌細胞を含み、線維性結合組織に由来する任意の癌細胞を示してもよい。

## 【 0 1 2 2 】

50

幾つかの実施形態では、癌細胞は白血病細胞である。白血病細胞とは、慢性、急性、リンパ性と骨髄性の白血病細胞を含み、典型的に骨髄に由来する任意の悪性白血球を示してもよい。例えば、幾つかの実施形態では、白血病細胞は急性T細胞白血病細胞である。

#### 【0123】

幾つかの実施形態では、癌細胞は腺癌細胞であり、原発腫瘍または他の部位に転移した食道癌細胞を含む。幾つかの実施形態では、腺癌細胞は腺様嚢胞癌細胞である。

#### VI. 胃腸疾患とリウマチ性関節炎

#### 【0124】

本発明の特定の側面において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を含有する有効量の組成物を個体に投与することによって、胃腸疾患を治療または予防するための方法に関し、前記エピトープは炎症性細胞によって発現されている。幾つかの実施形態において、個体が本発明が開示した胃腸疾患にかかっているか又はそうであると診断される。

#### 【0125】

幾つかの実施形態では、前記エピトープは炎症性細胞の細胞表面によって発現されている。幾つかの実施形態では、炎症性細胞は結腸炎、炎症性腸疾患または胃腸炎の炎症性細胞であり、前記エピトープは炎症性細胞の細胞表面によって発現されている。本書で説明したように、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープを特異的に認識する抗体は、結腸の炎症部位（例えば、結腸の炎症（結腸炎、IBD、または胃腸炎等）を特徴とする疾患で見られる炎症部位）で結腸中の炎症性細胞（例えば好中球、マクロファージ、単球、好酸球および/または好塩基球等の白血球）に結合することができる。

#### 【0126】

本発明が開示される他の側面において、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を含有する有効量の組成物を個体に投与することによって、リウマチ関節炎を治療または予防するための方法に関する。幾つかの実施形態では、個体がリウマチ関節炎にかかっているか又はそうであると診断される。幾つかの実施形態では、エピトープは炎症性細胞によって発現されている。本明細書に記載の結果により、抗N - アセチルグルコサミンおよび/またはN - アセチルガラクトサミンの抗体（例えば1C5C9抗体、またはVK1、VK2、VK3および/またはVK4等の変異体）は、リウマチ関節炎の一つ以上の症状を効果的に治療することを示す。幾つかの実施形態では、炎症細胞はT細胞またはB細胞である。

#### 【0127】

幾つかの実施形態では、炎症細胞はリウマチ関節炎の炎症細胞である。本発明に記載するように、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープの抗体を特異的な認識は、リウマチ関節炎の一つ以上の症状を治療または予防することに用いてもよい。例えば、これらの抗体は、膠原誘導の関節炎モデルの中で有効であることが証明される。このモデルは、本分野においてリウマチ関節炎の一般的な研究免疫モデルとして知られている（Brand、D.D. など、（2007）Nat.Protoc.2：1269-1275参照）。

#### VII. 治療の方法

#### 癌

#### 【0128】

本発明が開示される特定の側面は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を含有する有効量の組成物を個体に投与することによって、個体の癌を治療または予防するための方法に関する。本発明における予想できない発見とは、癌細胞の細胞表面または癌細胞内に発現することができ、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体は、多種の癌細胞の成長を抑制することに用いることができることである。幾つかの実施形態では、抗体と癌細胞の細胞表面に発現されているエピトープとの結合は

、癌細胞の成長を抑制する。

【0129】

幾つかの実施形態では、癌は、膵臓癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、白血病、腺癌、繊維肉腫、十二指腸腺癌、脳癌、肝臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、結腸癌、胃癌、食道癌と繊維肉腫を含んでもよい。幾つかの実施形態では、個体が本発明に記載の癌にかかっているか又は診断される。本発明では、多種の癌組織はN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを高レベルで発現していることを実証したので、本書に記載されている方法により、多種の癌を広くかつ有効的に治療することができる。幾つかの実施形態では、治療または予防する癌とは、膵臓癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、白血病、腺癌、繊維肉腫、十二指腸腺癌、脳癌、肝臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、結腸癌、胃癌、食道癌と繊維肉腫の原発腫瘍を代表とする原発腫瘍を示す。幾つかの実施形態では、治療または予防をする癌とは、膵臓癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、白血病、腺癌、繊維肉腫、十二指腸腺癌、脳癌、肝臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、結腸癌、胃癌、食道癌と繊維肉腫を代表とする転移性腫瘍を示す。

10

【0130】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は脳癌である。脳癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むが、これに限定されず、脳に由来する任意の癌を示してもよい。脳癌の例としては、神経膠腫、髄膜腫、神経鞘腫、下垂体腺腫を含むがこれに限定されない。脳癌とは、中枢神経系に由来し、例えば脊椎等の癌を示してもよい。

【0131】

20

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は肝臓癌である。肝臓癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、肝臓に由来する任意の癌を示してもよい。肝臓癌の例としては、肝臓癌、胆管癌、肝芽腫を含むがこれに限定されない。

【0132】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は肺癌である。肺癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、肺に由来する任意の癌を示してもよい。肺癌としては、腺癌、扁平上皮癌、大細胞癌等を含む肺非小細胞癌、および肺小細胞癌を含むがこれに限定されない。

【0133】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は乳癌である。乳癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、乳腺に由来する任意の癌を示してもよい。乳癌の例としては、非浸潤性乳管癌、浸潤性乳管癌、トリプルネガティブ乳癌（例えば、プロゲステロン、エストロゲンおよびHER2/neu受容体陰性の細胞から発生した癌）、および炎症性乳癌を含むがこれに限定されない。

30

【0134】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は卵巣癌である。卵巣癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、卵巣に由来する任意の癌を示してもよい。卵巣癌の例としては、表層上皮・間質性腫瘍（例えば、子宮内膜腫瘍、粘液性嚢胞腺癌、漿液性腫瘍を含む）、胚細胞腫瘍、性索間質性腫瘍、混合型卵巣腫瘍を含むがこれに限定されない。

40

【0135】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は子宮頸癌である。子宮頸癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、子宮頸に由来する任意の癌を示してもよい。子宮頸癌の例としては、扁平上皮癌、腺癌、小細胞癌と腺扁平上皮癌、神経内分泌腫瘍、絨毛腺癌（*villoglandular adenocarcinomas*）、および、すりガラス細胞癌を含むがこれに限定されない。

【0136】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は結腸癌である。結腸癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、結腸または直腸に由来する任意の癌を示してもよい。結腸癌の例としては、腺癌および腺扁平上皮癌を含むがこれに限定されない

50



。

## 【 0 1 3 7 】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は胃癌または胃腫瘍である。胃癌または胃腫瘍とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、胃に由来する任意の癌を示してもよい。胃癌または胃腫瘍の例としては、腺癌、びまん型腺癌（粘液、コロイド、形成性、革袋状胃）、リンパ腫を含むがこれに限定されない。

## 【 0 1 3 8 】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は食道癌である。食道癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、食道癌に由来する任意の癌を示してもよい。食道癌の例としては、腺癌と扁平上皮癌を含むがこれに限定されない。

10

## 【 0 1 3 9 】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は線維肉腫である。線維肉腫とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、線維性結合組織に由来する任意の癌を示してもよい。

## 【 0 1 4 0 】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は膵臓癌である。膵臓癌とは、上記した細胞から発生した癌を含むがこれに限定されず、膵臓から発生した癌等の膵臓癌に由来する任意の癌、例えば、膵管癌細胞を示してもよい。

## 【 0 1 4 1 】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は白血病である。白血病とは、上記した細胞を含むがこれに限定されず、悪性白血球に由来する任意の癌、例えば、急性T細胞白血病細胞を示してもよい。

20

## 【 0 1 4 2 】

幾つかの実施形態では、治療または予防する癌は腺癌である。腺癌とは、上記した細胞を含むがこれに限定されず、上皮における腺構造に由来する任意の癌、例えば、腺様嚢胞癌細胞または十二指腸腺癌を示してもよい。

投与と併用療法

## 【 0 1 4 3 】

本分野において周知である任意の方法は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を含む有効量の組成物を個体に投与することに用いることができ、例えば、ボラスとしてまたは一定期間にわたって連続注入による静脈内投与、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液嚢内、髄腔内、経口、局所、または吸入路等によって投与する。幾つかの実施形態では、抗体を経口投与する。幾つかの実施形態では、該組成物は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合できる抗体と別のタンパク質、例えば、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンと特異的に結合しないタンパク質を含んでいる。本分野において周知である任意の方法により、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合できる抗体を含む組成物の有効量を確定してもよく、上記のような多くの個体特性に依存してもよい。

30

40

## 【 0 1 4 4 】

本発明に開示される特定の側面においては、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体と所定量の他の抗癌剤を含有する有効量の組成物を個体に投与することによって、個体における癌の治療または予防する方法に関し、前記抗体と抗癌剤との併用によって個体の癌を治療または予防する方法を提供する。本分野において周知である任意の適切な抗癌剤は、本書に記載の抗体と併用することができる。抗癌剤は抗体（抗体 - 薬物複合体を含む）、小分子、免疫治療剤、分化誘導剤、標的治療剤、ホルモンを含んでもよい。

## 【 0 1 4 5 】

幾つかの実施形態では、抗癌剤は化学療法剤である。多くの種類の化学療法剤が本分野

50

において知られている。化学療法剤の例としては、代謝拮抗物質（例えば、5 - フルオロウラシルまたはカペシタピン）、アントラサイクリン系薬物、抗腫瘍抗生物質（例えば、アクチノマイシンD、マイトマイシンC、ブレオマイシン）、有糸分裂阻害剤（例えば、タキソール（登録商標）またはエポチロン等の多く類）、コルチコステロイド、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、エトポシド）、アルキル化剤、及び白金薬物（例えば、シスプラチン、オキサリプラチン（oxalaplatin）またはカルボプラチン）を含むがこれに限定されない。これらの薬物を例として提供し、化学療法剤の選択を制限することを目的としていない。

胃腸疾患とリウマチ性関節炎

【0146】

10

本発明の特定の側面においては、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を含む有効量の組成物を個体に投与することによって個体の胃腸疾患を治療または予防する方法に関する。本発明における予想できない発見とは、炎症細胞の細胞表面によって発現され、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体を、自己免疫と感染性疾患を含む多種の胃腸疾患の治療または予防に用いることができることである。

【0147】

本明細書で述べたように、本発明の方法は個体での各種胃腸疾患と自己免疫疾患に有効である。幾つかの実施形態では、個体は炎症性腸疾患にかかっている。本発明の炎症性腸疾患は、慢性または急性であってもよい。本分野において周知されるように、炎症性腸疾患等の多くの胃腸疾患は、組織中で症状を呈することができ、小腸と大腸、口、胃、食道、肛門を含むがこれらに限定されない。幾つかの実施形態では、炎症性腸疾患は結腸炎（転換、リンパ球性、膠原性または不確定性大腸炎等）またはベーチェット病（Behcet's disease）を含んでもよい。

20

【0148】

幾つかの実施形態では、個体はクローン病にかかっている。幾つかの実施形態では、個体は潰瘍性結腸炎にかかっている。幾つかの実施形態では、個体は急性感染性胃腸炎にかかっている。幾つかの実施形態では、個体は痔にかかっている。幾つかの実施形態では、個体はリウマチ関節炎にかかっている。

【0149】

30

幾つかの実施形態では、個体はウイルスの感染によって引き起こされる胃腸疾患にかかっている。胃腸疾患を引き起こすウイルスは、ロタウイルス、ノロウイルス（noroviruses）、アデノウイルス、アストロウイルスを含むがこれに限定されない。幾つかの実施形態では、ウイルス感染はロタウイルス感染症である。

【0150】

幾つかの実施形態では、胃腸疾患または自己免疫性疾患にかかった個体はヒトである。幾つかの実施形態では、胃腸疾患または自己免疫性疾患にかかった個体は非ヒト動物である。

【0151】

胃腸疾患または自己免疫性疾患の治療又は予防に適用されている組成物の多くの投与方法は、本分野において周知である。幾つかの実施形態では、本発明の抗体は静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、鞘内、脳室内、または鼻腔内に投与されてもよい。

40

キメラ抗原受容体（CAR）T細胞治療

【0152】

本発明では、さらに例を挙げて（下記の実施例5を参照）本発明の任意の抗体がCAR-T細胞療法等のCAR中の応用を説明する。CAR-T細胞療法は、本分野で知られている治療法であり、この方法は、T細胞シグナル分子の膜貫通膜に融合する抗体の抗原結合領域（例えばscFvの単鎖可変断片）と細胞内シグナルドメインを利用する。これらのCAR-T細胞は通常それらに由来の抗体の特異性によって抗原（例えば加工していない抗原

50

）を識別し、それによって治療の目的に達するためにT細胞をリダイレクトし、例えば、炎症性疾患を遮断するために標的には特定の抗原を持つ腫瘍細胞またはTreg細胞をリダイレクトする。さらに詳細な説明はDai, H. 等. (2016) J. Natl. Cancer Inst. 108 (7) : djv439を参照すればよい。

#### 【0153】

免疫療法は、患者の免疫システムの力を利用して病気に対抗する療法である。免疫療法の一つのアプローチは、腫瘍を識別し、そして攻撃するように患者自身の免疫細胞を遺伝子操作することである。このような養子細胞移植 (ACT) と呼ばれる方法は、これまでの小規模な臨床試験に限られているが、これら遺伝子操作免疫細胞を使った療法は、進行した患者の中で著しい反応を生じる。

10

#### 【0154】

ACTの構築モジュールはT細胞であり、これは患者自身の血液から集められた免疫細胞である。収集した後、T細胞は遺伝子操作を経て、キメラ抗原受容体 (CAR) と呼ばれる特殊な受容体をその表面で生ずる。CARは、T細胞が腫瘍細胞上の特異的なタンパク質 (抗原) を識別することを許容するタンパク質である。これら遺伝子操作CAR-T細胞は、その後実験室でその数量を数十億まで増殖させる。そして、増殖したCAR-T細胞集団を患者に注入する。注入後、T細胞は患者の体内で増殖し、そしてその遺伝子操作受容体の導きで、表面に抗原を有する癌細胞を認識し、そして殺す。

#### 【0155】

N - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミン、または明らかなN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン部分を有する糖複合体は、腫瘍細胞上のハーバー抗原 (harbor antigen) であってもよく、そして本発明と先の特許に開示の抗原を認識する抗体は腫瘍抗原受容体であり得る。そのため、本発明の一つの側面は、抗体K3、K4、およびN - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミン、または明らかなN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン部分を有する糖複合体を認識する抗体 (例えば、このような抗体の抗原結合断片または重鎖および/または軽鎖可変域を有する抗体断片) をコードする遺伝子を、患者に由来するT細胞中で、当該T細胞にCARが発生するように遺伝子操作することである。これらの工程化を経て改造したCAR-T細胞は、本発明で述べたIBDとリウマチ性関節炎等の癌と自己免疫性疾患の治療に用いることができる。

20

30

#### 【0156】

幾つかの実施形態では、CARはSEQ ID NO: 5のHVR-L1配列、SEQ ID NO: 7のHVR-L2配列、SEQ ID NO: 9のHVR-L3配列を有する軽鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 1のHVR-H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR-H2配列、SEQ ID NO: 3のHVR-H3配列を有する重鎖可変領域を有する抗体断片である。幾つかの実施形態では、CARはSEQ ID NO: 5のHVR-L1配列、SEQ ID NO: 8のHVR-L2配列、SEQ ID NO: 9のHVR-L3配列を有する軽鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 1のHVR-H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR-H2配列、SEQ ID NO: 3のHVR-H3配列を有する重鎖可変領域を有する抗体断片である。

40

#### 【0157】

本発明の特定の側面はキメラ抗原受容体 (CAR) に関する。幾つかの実施形態では、CARはN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体はSEQ ID NO: 5のHVR-L1配列、FTSX<sub>1</sub>LX<sub>2</sub>S (SEQ ID NO: 25) のHVR-L2配列およびSEQ ID NO: 9のHVR-L3配列を含む軽鎖可変領域 (X<sub>1</sub>はT又はSであり、X<sub>2</sub>はQ又はEである)、および/またはSEQ ID NO: 1のHVR-H1配列、SEQ ID NO: 2のHVR-H2配列およびSEQ ID NO: 3のHVR-H3配列を含む重鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態では、HVR-L2配列は、SEQ ID NO: 7またはSEQ ID NO: 8のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形

50

態では、C A RはN - アセチルグルコサミンを含むエピトープおよびN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する。

【 0 1 5 8 】

幾つかの実施形態では、C A RはS E Q I D N O : 1 4またはS E Q I D N O : 2 6のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。幾つかの実施形態では、C A RはS E Q I D N O : 1 3のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する。

【 0 1 5 9 】

幾つかの実施形態では、C A Rは、S E Q I D N O : 1 0またはS E Q I D N O : 3 3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有する。

【 0 1 6 0 】

幾つかの実施形態では、軽鎖可変領域と重鎖可変領域はヒト化またはヒトである。

【 0 1 6 1 】

本分野においてよく知られているように、通常、C A Rは、T細胞受容体の信号伝達を高める1つ以上のポリペプチドドメイン、例えば、CD3 および/またはCD28細胞内ドメインを含む(Maher, J. et al. (2002) Nat. Biotechnol. 20:70-75 and Savoldo, B. et al. (2011) J. Clin. Invest. 121:1822-1826を参照すればよい)。幾つかの実施形態では、C A RはヒトCD3 (別名CD247)細胞内ドメイン配列を含む。幾つかの実施形態では、ヒトCD3 とは、ヒトCD247遺伝子によってコードされるポリペプチドを指し、例えばNCBI RefSeq Gene ID No. 919 および/または UniProt Accession No. P20963が挙げられる。幾つかの実施形態では、C A Rは、さらに、ヒトCD28細胞内ドメインの配列を含む。幾つかの実施形態では、ヒトCD28とは、ヒトCD28遺伝子によってコードされるポリペプチドを指し、例えばNCBI RefSeq Gene ID No.940および/またはUniProt Accession No.P10747が挙げられる。

【 0 1 6 2 】

幾つかの実施形態では、C A RのN末端からC末端までには重鎖可変領域、リンカー、軽鎖可変領域、CD8ヒンジ領域、ヒトCD28細胞内ドメインおよびヒトCD3 細胞内ドメインを含む。例えば、幾つかの実施形態では、C A Rは、S E Q I D N O : 3 4のアミノ酸配列を含む。

【 0 1 6 3 】

本発明に示すように、本発明に開示されるC A Rは、T細胞によって発現される(細胞表面上)場合、腫瘍細胞の破壊を誘導することができる。例えば、C A Rは、癌細胞(例えば、本発明で開示される癌細胞)の細胞表面に発現されるエピトープ(例えば、N - アセチルグルコサミン及び/又はN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープ)に結合することができる。幾つかの実施形態では、C A Rは癌細胞の細胞表面で発現されるエピトープと結合して、T細胞が癌細胞を殺すことになる。

【 0 1 6 4 】

更に、本発明のC A Rをコードする核酸配列を含む単離ポリヌクレオチドを提供する。まだ、本発明のC A Rをコードする核酸配列を含むベクターを提供する。幾つかの実施形態では、ベクターはウイルスベクターである。様々なタイプのウイルスベクターは、本分野でよく知られ、レンチウイルスベクター、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス(AAV)、および単純ヘルペスウイルス(HSV)ベクターを含むが、これらに限定されない。さらに、本発明のC A Rをコードする核酸配列および/または細胞表面に発現される本発明のC A Rを含む単離T細胞(例えば、ヒトT細胞)を提供する。

【 0 1 6 5 】

本発明に開示のC A R(およびそれに関連する単離ヌクレオチド、ベクター、単離T細胞)は、本発明に開示の治療方法、例えば本発明に記載される癌の治療や予防の方法に用いることができる。したがって、本発明は、有効量のT細胞(例えば本発明のC A Rを発現するT細胞)を含む組成物を個体に投与する個体の癌の予防または治療のための方法を提供する。幾つかの実施形態では、癌は膵臓癌、結腸直腸癌、食道癌、白血病、腺癌、線維肉腫、十二指腸腺癌、脳癌、肝臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、および子宮頸癌の群から選ば

10

20

30

40

50

れるものを含むが、これらに限定されない。幾つかの実施形態では、癌は膵臓癌、結腸直腸癌、肺癌、または脳癌であり、本発明に記載のサブタイプを含む。幾つかの実施形態では、個体はヒトである。

#### 【0166】

幾つかの実施形態では、これらの方法はまだ他の抗癌剤を投与することを含み、例えば本発明に記載の併用療法を参照すればよい。幾つかの実施形態では、T細胞と抗癌剤とを併用することにより、個体の癌の効果的な予防や治療の方法を提供することができる。幾つかの実施形態では、抗癌剤は化学療法剤である。

#### V I I I . 測定方法

#### 【0167】

本発明の特定の側面において、下記の工程により、個体に癌細胞の存在を測定するための方法に関する。個体から生物サンプルを得て、生物サンプルを、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体に接触させ、且つ生物サンプルと抗体との結合量を測定し、抗体の結合は個体の癌細胞の存在を示す。

また本明細書では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープと特異的に結合する抗体は、どのようにして個体の癌の存在を測定するために用いられるかが記載されているが、これは、血清サンプルでのN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンレベルの上昇と癌の存在との間の相関性による。これらの方法は、多くの種類の癌の測定に用いられてもよく、肺癌、肝臓癌、乳癌、結腸または直腸癌、食道癌、胃癌、子宮体癌、子宮頸癌、甲状腺癌、脳癌、リンパ腫を含むが、これに限定されるものではない。

#### 【0168】

抗体と、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープとの間の特異的結合は、本分野において周知である任意の方法によって測定することができる。抗体とエピトープとの間の結合の測定に用いられる方法は、本分野において周知のものであり、E L I S A (酵素免疫測定法) アッセイ、免疫組織化学 (I H C) アッセイ、免疫蛍光アッセイ、フローサイトメトリー、C T C (循環腫瘍細胞) アッセイと免疫金コロイドアッセイを含んでもよい。これらの典型的なアッセイは、当業者に公知のものであり、より詳細な説明については、例えば、Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manualを参照すればよい。E L I S A法の例として、直接法、間接法、競合法、サンドイッチ法のE L I S Aを含むことができる。いかなる表面でも使用してもよく、プレート (例えば96ウェルプレート) やカラムを含むがこれらに限定されない。

#### 【0169】

幾つかの実施形態では、上記で測定したN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを含むエピトープに結合する抗体の量を、対照サンプルで測定される結合した抗体の量と比較してもよい。対照サンプルに結合する抗体の量を比べて、生物サンプルに結合する抗体の量の上昇は、個体での癌細胞の存在を示している。上記で述べたように、対照サンプルは、検査すべき個体由来の生物サンプルを用いて製造してもよい。対照サンプルの例としては、癌にかかっていない個体に由来するサンプル、または既知量のN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを有するサンプルを含む。非限定的な例としては、本文に記載の方法を用い、検査個体に由来する血清を測定し、且つ、健康的 (即ち、癌にかかっていない) な個体の血清と比較する。このような場合では、健康的な個体または既知量のN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミンを有する血清に比べて、検査個体に由来する血清中の抗体の結合の上昇は、個体の癌細胞の存在を示している。

#### 【0170】

いずれの体液または切片も、本発明の生物サンプルとして用いてもよい。生物サンプルの例としては、血液、血清、尿、糞便、乳、精液、唾液、胸液、腹腔液、脳脊髄液、痰、いずれの他の体液や分泌物を含むがこれに限定されない。

## 【 0 1 7 1 】

ここで示されるように、個体中の多くの種類の癌細胞をここで説明する方法を用いて測定することができる。測定できる個体中の癌細胞の例としては、肺癌細胞、肝臓癌細胞、乳癌細胞、結腸癌または直腸癌細胞、食道癌細胞、胃癌細胞、子宮内膜癌細胞、子宮頸癌細胞、甲状腺癌細胞、脳癌細胞、およびリンパ腫細胞を含むがこれに限定されない。

## 【 0 1 7 2 】

また、糖類関連のバイオマーカー自体は、癌や他の疾患の患者における自己抗体の測定に用いてもよい。これらの自己抗体は糖類と結合することができ、当該糖類は癌組織やその他の病気の組織や細胞上またはその中に特異的に発現され、または血液、尿、糞便、乳、精液、唾液、体液または分泌物に放出される。体液または分泌物は、胸液、腹腔液、脳脊髄液、痰および臓器のスミア ( s m e a r s ) を含むがこれに限定されない。幾つかの実施形態では、糖類関連バイオマーカーは、N - アセチルグルコサミン、N - アセチルガラクトサミンまたはフコース、または明らかな ( d i s t i n c t ) N - アセチルグルコサミン、N - アセチルガラクトサミンまたはフコースを有する複合糖質を含むがこれに限定されない。

I X . キット

## 【 0 1 7 3 】

本発明の特定の側面は、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有エピトープと特異的に結合する抗体を含有する医薬組成物を含むキットに関する。幾つかの実施形態では、前記キットは、更に、癌を治療するための有効量の医薬組成物を個体に投与するための取扱説明書を含むことができる。これらの取扱説明書とは、通常に適応症、用法、用量、投与、禁忌、包装品と併用される他の薬剤および/またはこれらの薬剤使用上の注意事項等の情報を含む薬剤の商用パッケージに含まれる指示情報を含む取扱説明書を示す。

## 【 0 1 7 4 】

本発明のキットに用いられる適切な容器は、ボトル、バイアル (例えば、二室バイアル)、注射器 (例えば、シングルまたはデュアルチャンバーの注射器)、および試験管を含む。該製品は、容器上または容器に関連するラベルまたはパッケージを更に含んでもよいが、それにより製剤の調製および/または使用を指示することができる。また、ラベルまたはパッケージは、前記製剤が経口投与または他の投与方法で用いられてもよく、個体の癌を治療又は予防するためであることを更に指示することができる。製造される製品は、また他のバッファ、希釈剤、フィルタ、針、注射器、取扱説明書を有する添付書類等の商業、治療、ユーザーの立場から所望の他の材料を含んでいる。

## 【 0 1 7 5 】

幾つかの実施形態では、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有エピトープと特異的に結合する抗体を含有する医薬組成物を含むキットは、個体に癌細胞の存在を測定するための取扱説明書を更に含んでもよい。これらの取扱説明書は、通常にE L I S A測定キット、免疫組織化学 ( I H C ) アッセイキット、免疫蛍光測定キット、フローサイトメトリーアッセイキット、C T C (循環腫瘍細胞) アッセイキットと免疫金コロイドアッセイキットの商用パッケージに含まれる取扱説明書を示してもよい。本発明のキットは、個体中の癌細胞の存在を測定するために有用であるいずれの他の試薬を含む、例えば、96ウェルマイクロタイタープレート、ウシ血清アルブミン等の非特異的蛋白質、本発明の抗体と結合して他の抗原結合に影響しない二次抗体、蛍光や化学発光マーカー等の測定可能なシグナルを生成する酵素と基質 (例えば、セイヨウワサビペルオキシダーゼとT M B ) 等の測定するための試薬が挙げられる。

## 【 0 1 7 6 】

本発明の特定の側面においては、N - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン含有医薬組成物、医薬組成物を用いて癌や炎症にかかった個体中の自己抗体の存在を測定するための取扱説明書または他の試薬を含むキットに関する。これらの取扱説明書は、通常にE L I S Aアッセイキット、免疫組織化学 ( I H C ) アッセイキット、免疫

10

20

30

40

50

蛍光アッセイキット、フローサイトメトリーアッセイキット、CTC（循環腫瘍細胞）アッセイキットと免疫金コロイドアッセイキットを含む商用パッケージに含まれる取扱説明書を示してもよい。本発明のキットは、個体中の癌細胞の存在を測定するのに有用であるいずれの他の試薬を含む、例えば、96ウェルマイクロタイタープレート、ウシ血清アルブミン等の非特異的蛋白質、本発明の抗体と結合して他の抗原結合に影響しない二次抗体、蛍光や化学発光マーカー等の測定可能なシグナルを生成する酵素と基質（例えば、セイヨウワサビペルオキシダーゼとTMB）等の測定するための試薬が挙げられる。

#### 【0177】

本取扱説明書は、当業者が本発明を充分に実施することができると考えられるものである。ここで記載の内容以外に、前記の説明に基づき、本発明の種々の変更は当業者にとって自明なものであり、添付の特許請求の範囲内にある。全ての目的としては、本明細書で引用される出版物、特許書類、特許出願書類の全体をそのまま本発明に引用される。

#### 【実施例】

#### 【0178】

以下の実施例を参照することで、本発明をより完全に理解することができる。しかし、それらが発明の範囲を限定すると解釈されるべきではない。ここで記載した実施例及び実施形態は説明の目的のためだけであり、当業者はそれを基に様々な補正や変更を行なうことができ、これらの補正や変更は、本願の趣旨及び範囲内に含まれ、また添付の特許請求の範囲内に含まれる。

実施例1：ヒト化抗体とN - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンの結合

#### 【0179】

正常なヒトの細胞に比べて、癌細胞に優先的に発現するバイオマーカーの同定は、癌の診断、治療、及び/又は予防を補助するために、新しいアッセイおよび治療方法の設計をすることができる。この需要を満たすために、本明細書にはN - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンに結合するモノクローナル抗体を記載している。

#### 【0180】

Ma b - 1 C 5 C 9 は、癌細胞の成長阻害、循環癌細胞の測定、IBD中の治療に有効であることが実証された（PCT/CN2015/087717参照）。その後、Ma b - 1 C 5 C 9 をヒト化した。共同の重鎖可変領域（VH）と異なる軽鎖可変領域（VH）を有するヒト化1 C 5 C 9 の変異体を述べている。PCT/CN2015/087717で述べたように、異なるIBD体内動物モデルにおいて、ヒト化1 C 5 C 9 抗体の効果、結合、及び毒性を測定した。

#### 【0181】

ここでは、ヒト化1 C 5 C 9 の新規変異体1C5-VK3（「VK3」）と1C5-VK4（「VK4」）を提供している。次のような実施例では、複数のIBD、関節炎および癌の体内動物モデルにおいて、これらの抗体の結合と効果を測定した。

材料と方法

結合活性の特性化

#### 【0182】

100  $\mu$ l N - アセチルグルコサミン（NAcGluまたはNAG）およびN - アセチルガラクトサミン（NAcGal）を1  $\mu$ g/mlの濃度で96ウェルプレートのウェルに被覆し、且つ一晩を経過後に、洗浄してブロックした。ヒト化抗体クローン1C5-VK3（K3）と1C5-VK4（K4）を測定した。

#### 【0183】

テスト抗体をプレートに加えた後に、プレートを洗浄し、HRP接合抗ヒトIgGを二次試薬として、結合を測定した。標準比色アッセイによりHRPを測定し、OD<sub>450nm</sub>で結合を分析した。他の測定において、NAcGluで被覆したプレートに加える前に、それぞれの抗体を、20  $\mu$ lのNAcGluとNAcGalを1  $\mu$ g/mlの濃度で15分間予め混合した。残りの測定は上記のとおりである。

マウスIBDモデル

10

20

30

40

50

## 【 0 1 8 4 】

50 %エタノールに溶解した 120 mg / mL のトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS : シグマアルドリッチ) を 0.15 mL 用量で経肛門投与し、6 ~ 8 週の雌の BALB / c マウス (体重 17 ~ 19 g) に急性大腸炎を誘発した。マウスを 5 つの治療群に分けた。

G1 : 未治療 (n = 5)

G2 : 200 µg の抗体 アダリムマブ (Humira) (Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG) / 動物で治療、腹腔内注射 (IP) (n = 5)

G3 : 5 µg の抗体 K3 / 動物で治療、腹腔内注射 (IP) (n = 5)

G4 : 5 µg の抗体 K4 / 動物で治療、腹腔内注射 (IP) (n = 5)。

10

## 【 0 1 8 5 】

G2 ~ G4 マウスの治療は、TNBS による IBD 誘導後、48 時間から 1 日 1 回、4 日間継続して投与した。

## 【 0 1 8 6 】

各群のマウスの体重と臨床的な兆候を IBD モデルの毎日に記録した。TNBS による IBD モデルの誘発から 48 時間後、対照群 (G1) の 2 匹のマウスを殺し、全ての結腸組織を採取した。最終投与から 1 日 (24 時間) 後に、全ての動物に対する処理を終了した (コースの 7 日目)。次の表 1 に示すポイントによれば、グロス病理 (結腸重量、潰瘍) と組織学的評価 (結腸組織切片の標準 HE 染色) のために、全ての結腸組織を採取し、代表図が得られた。図 4 に示す標準組織学的手法を用いて結腸組織病理学の性状を評価した。

20

## 【 表 1 】

結腸組織評価の得点シート

得点	現象
0	無損傷
1	充血、潰瘍なし
2	充血および腸管壁の肥厚、潰瘍なし
3	1 部位の潰瘍および腸管壁の肥厚
4	2 部位以上の潰瘍および炎症
5	0.5 cm の炎症および重大な損傷
6 - 10	1 cm の重大な損傷。0.5cm 損傷毎に、得点を 1 増加し、最高得点が 10 である。

30

## コラーゲン誘発性関節炎 (CIA) モデル

40

## 【 0 1 8 7 】

約 8 週の Lewis ラットに、牛 II 型コラーゲンを免疫原として、週に 1 回免疫し、3 週間続けた。顕著な炎症性腫脹性関節を有するラットは、ランダムに 3 つの群に分けられた。

第 1 群 (G1) : 対照、未治療、n = 5

第 2 群 (G2) : 250 µg/kg 抗体 1C5-VK2 (「K2」) で一日おきに治療、静脈注射 (IP) (n = 5)

第 3 群 (G3) : 250 µg の抗体 K3 / 動物で一日おきに治療、静脈注射 (IP) (n = 5)

## 【 0 1 8 8 】

週に 2 回足体積と体重を測定し、週に 1 回代表的な画像を撮影した。最終投与から 1 日 (24 時間) 後に、全ての動物に対する処理を終了した (コースの 28 日目)。踝や膝の組

50



組織を採取して組織学的評価を行い、関節の骨液、軟骨、骨の状態を含み；胸腺や脾臓を収集し、計量および臓器係数の計算をした。血液も採集して血清を分離した。

膵臓癌の患者源性異種移植腫瘍（PDX）モデル

【0189】

膵臓癌の患者源性異種移植腫瘍（PDX）マウスモデルを採用して抗体-K4の抗腫瘍効果を評価する。Nu/Nuマウス（6週）と、未治療47歳の女性患者の原発性低分化膵臓管腺癌のヒト腫瘍組織を用いてPDXモデルを構築した。

生体外試験

【0190】

CellTiter-Glo（CTG）発光細胞生存率を行った。簡単に言えば、K3とK4は、上記の膵臓癌モデルからのPDX-P3腫瘍組織の腫瘍細胞と共に6日間培養し、それからCTG薬剤を加えて、そしてメーカーの説明書（Promega, Madison, USA）によって蛍光信号を読み取った。対照として単独で腫瘍細胞を使用した。対照組と各試験組を比較することによって細胞の成長抑制率を計算した。

生体内試験

【0191】

PDX-P2膵臓組織をNu/Nuマウス（6週）に接種して16日間続いた。腫瘍の体積が約200mm<sup>3</sup>のマウスをランダムに3つの群に分けた：第1群（G1）：対照、未治療；第2群（G2）：50 μgの抗体K4 / 動物で一日おきに1回治療；第3群（G3）：100 μgの抗体 / 動物で一日おきに1回治療。週に2回腫瘍の大きさ（体積）とマウスの体重を測定した。投与後37日目から腫瘍を採取して測定した。TGIは下記の式を用いて計算した。

$$TGI\% = [1 - (T_i - T_0) / (V_i - V_0)] \times 100$$

その中、Tは試験群の腫瘍の大きさ、Vは対照群の腫瘍の大きさ、0は投与前の腫瘍の大きさを表し、「i」は時点を表す。

結直腸癌の患者源性異種移植腫瘍（PDX）モデル

生体外試験

【0192】

K3は、中分化型結腸腺癌を有する67歳の男性からのPDX-P3直腸腫瘍組織の腫瘍細胞と共に6日間培養した。その後CTG試薬を加えて、そしてメーカーの説明書によって蛍光信号を読み取った。対照として単独で腫瘍細胞を使用した。対照組と各試験組を比較することによって細胞の成長抑制率を計算した。

生体内試験

【0193】

NCGマウス（6週）と治療していない47歳男性の原発性低分化直腸腺癌患者のヒト腫瘍組織を用いて、直腸癌のマウスPDXモデルを構築した。PDX-P2直腸組織をNCGマウス（6週）に接種して22日間続いた。腫瘍の体積が約80～100mm<sup>3</sup>のマウスをランダムに3つの群に分けた：第1群（G1）：対照、未治療；第2群（G2）：50 μgの抗体K3 / 動物で一日おきに1回治療；第3群（G3）：50 μgの抗体K4 / 動物で一日おきに1回治療。週に2回腫瘍の大きさ（体積）とマウスの体重を測定した。投与後17日目から腫瘍を採取して測定した。TGIの計算式は上記で述べたとおりである。

抗体と腫瘍細胞の生体外結合

【0194】

ELISA法でモノクローン抗体とヒト腫瘍細胞の結合を検出した。簡単に言えば、ヒト腫瘍細胞を96ウェル組織培養プレートで約90%の合流にインキュベートした。そして、培養基を除去し、100 μlの無血清の新鮮な培地を加え、培地を捨て4 下でふたをせず乾燥するまでタブレットを保存した。プレートは、結合試験に用いるまで密封された。

【0195】

ELISA実験では、100 μL / ウェルの抗体K3とK4を、上記のヒト腫瘍細胞で被覆された96ウェルプレートに二連に加え、室温で1時間インキュベートした。洗浄後、ワサビペルオキシダーゼ（HRP）接合抗ヒトIgGを二次試薬として用い、TMB（3,3',5,5'-

10

20

30

40

50

テトラメチルベンジジン) ペルオキシダーゼEIA基質キット (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) はHRP標識抗体の測定に用いた。ELISA法では測定器によってOD<sub>450</sub>で読み取った。OD<sub>450</sub>値に基づいて結果を確定した。リン酸緩衝食塩水 (PBS) は陰性対照とした。

#### 結果

##### 【0196】

図1Aと1Bでは、この2種の抗体はNAcGlu (図1A) およびNAcGal (図1B) に対して、用量依存的に結合することを示している。図2では、K3とK4の結合はNAcGluとNAcGalの前処理によって抑制されることを示している。これらの結果は、K3とK4がN - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンを特異的に識別することが明らかになった。2種のヒト化抗体K3とK4についてのより詳しく説明は、以下で述べる通りである。

10

実施例2：マウスIBDとラットCIAモデルにおけるN - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンのヒト化抗体の効果を測定する

##### 【0197】

マウスとラットIBDモデルを使って病気の発病メカニズムと治療の標的を研究した。上記したように、マウスに急性大腸炎が誘発され、アダリムマブの効果と比較し、ヒト化K3とK4の投与による体重、下痢等の臨床徴候、および結腸の状態に及ぼす効果を測定した。上記表1に提供されるキーによって、結腸の状態の巨視的評価を行って、抗体治療の効果を測定した。治療群G1～G4におけるマウス結腸の結腸炎の存在を評価した結果を図4に示す。

20

##### 【0198】

図3に示すように、未治療の対照群と比較して、K3(G3)で治療して得点を有意に減少させたことは、抗体治療によって潰瘍や炎症の病状が有意に緩解されたことを示している。アダリムマブ(G2)の治療によって潰瘍や炎症の病状が有意に緩解されなかったことに留意すべきである。

##### 【0199】

これらの結腸サンプルから採取した代表的な全体図を、図4に示す。対照群の全ての未治療マウス(G1)は、潰瘍、炎症と組織の壊死の大腸炎を示した。G2群において、一つ(#1)は潰瘍や炎症がなくて腸管壁の肥厚を示し、四つ(#2、3、4、5)は潰瘍または炎症または両者ともを有する大腸炎を示した。G3群において、二つ(#1と#2)は腸管壁の肥厚、軽度炎症であり、顕著な潰瘍がないことを示し、三つ(#3、4、5)は潰瘍や炎症がないことを示した。G4群において、三つ(#1、2、4、5)は潰瘍や軽度炎症がなくて腸管壁の肥厚を示した。

30

##### 【0200】

これらの結果は、K3で治療することによって潰瘍や炎症を有意に緩解されたことを示した。K4の治療は改善されたが、巨視的評価得点は統計的意義がない。その結果、K3とK4はいずれもアダリムマブよりも、より良い治療効果を有することを示した。

##### 【0201】

マウスとラットのコラーゲン誘発関節炎(CIA)モデルを使ってリウマチ性関節炎の発病メカニズムと治療の標的を研究した。CIAの主な病理の特徴は、多形核と単核細胞の浸潤を伴う増殖性滑膜炎、パンヌス形成、軟骨退化、骨の侵食、線維化が含まれている。該病気の発症は、II型コラーゲンに対する強いT細胞とB細胞の炎症反応に伴う。疾病活性は、罹患した関節における炎症の腫脹(足の体積や厚み)を経時的に測定することによって決定される。

40

##### 【0202】

上記で述べたラットCIAモデルを使った。図5A、5B、及び図6Bに示すように、対照群と比較して、抗体VK3による治療は、ラットの踝と膝の炎症程度が著しく低下している。VK3は抗体VK2よりも炎症を減らすことができる。

##### 【0203】

代表的な全体図は図6A及び図6Bに示す。図6Aは投与後の5日目(2回投与後)で得られた

50

代表的な全体図を示す。すべてのラットの踝と膝はいずれも腫れ、発赤、発熱した。すべてのラットは足を引きずって歩く。図6Bは投与後の28日目（14回投与後）で得られた代表的な全体図を示す。

#### 【0204】

これらの結果は、炎症性疾患のIBDおよび関節炎モデルにおけるK3とK4の有効性を示す。

実施例3：PDX癌モデルにおけるN - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンのヒト化抗体の効果の測定

#### 【0205】

上記で述べたように、膵臓癌のPDXモデルを用いて抗体K3とK4を測定した。生体外試験の結果は以下の通りである。図7Aと7Bに示すように、異なる濃度下での抗体K3(図7A)とK4(図7B)によってPDX-P3膵臓癌細胞の細胞成長が抑制することができる。抗体K3とK4(20 µg/mlの濃度)によってそれぞれ膵臓癌細胞の成長が51.7%と71.8%抑制された。

#### 【0206】

生体内試験の結果は以下の通りである。図8A~8Cに示すように、抗体K4は、試験終了後、腫瘍成長を約62%抑制した。腫瘍成長に対するK4の効果は、腫瘍体積の経時的分析(図8A)、TGI(図8B)、および腫瘍の巨視評価(図8C)によって実証された。

#### 【0207】

上記で述べたように、次に、結腸直腸癌PDXモデルを使用してK3とK4を測定した。生体外試験の結果は以下の通りである。図9に示すように、抗体K3(10 µg/mlの濃度)によって直腸腫瘍細胞の成長が49.6%抑制された。

#### 【0208】

生体内試験の結果は以下の通りである。図10Aと10Bに示すように、抗体K3とK4は、試験終了後、それぞれ腫瘍細胞の成長が23%と63%抑制された。これらの結果は、複数の腫瘍モデルを用いて生体外及び生体内の腫瘍細胞の成長に対するK3とK4の抑制効果を実証した。

実施例4：N - アセチルグルコサミンおよびN - アセチルガラクトサミンのヒト化抗体に対する腫瘍細胞株の生体外結合

#### 【0209】

ELISA法を用いてヒト腫瘍細胞に対するヒト化モノクローナル抗体K3とK4の結合を特性化した。NCI-H446(小細胞肺癌)、H1299(非小細胞肺癌)、ECAP-1090(食道腺癌)、Jurkat(急性T細胞白血病)、ACC-2(膵臓癌細胞)、HT1080(線維肉腫)、HUTU80(十二指腸腺癌)、MCF-7(乳癌)およびHeLa(子宮頸癌)を含む、多種のヒト腫瘍細胞株に対する抗体K3とK4の反応活性を測定した。

#### 【0210】

図11に示すように、ヒト化モノクローナル抗体K3及びK4はヒト腫瘍細胞に結合することができる。理論に束縛されることを希望せず、これらの結果から、図11に例示されている腫瘍抗原は、N - アセチルグルコサミン及び/又はN - アセチルガラクトサミン、又は明らかなN - アセチルグルコサミン又はN - アセチルガラクトサミン成分を有する糖複合体のいずれかを含むことが分かる。これらの結果は、K3とK4が広範囲のヒト腫瘍細胞型に結合できることを示した。

実施例5：キメラ抗原受容体を有するT細胞の腫瘍細胞殺傷

#### 【0211】

抗体K4の重鎖および軽鎖可変領域は、キメラ抗原受容体(CAR)に用いるために再結合され、このような特異性を有するCAR-T細胞がT細胞を仲介する癌細胞(例えばN-アセチルグルコサミン及び/又はN-アセチルガラクトサミンを発現する腫瘍細胞株)殺傷に影響を及ぼす可能性を試験した。

レンチウイルスベクターの構築と生産

#### 【0212】

抗体K4に基づくVH(SEQ ID NO:33)とVL(SEQ ID NO:26)の

10

20

30

40

50

構造域を有する全長 C A R が合成され、Lentie-Puroベクターにサブクローニングされた。この構造は、N末端からC末端まで、シグナル配列、VHドメイン、リンカー、VLドメイン、CD8ヒンジ、CD28細胞内ドメイン、CD3 細胞内ドメインのドメイン構造を有し、そして EF-1 プロモーターにより調節される（図12A）。特に、CD3 細胞内ドメインを除いて、CD28シグナル細胞内ドメインの結合は、C A R - T 細胞の反応を再誘導して増幅することが証明されている（Maher, J. et al. (2002) Nat. Biotechnol. 20:70-75を参照すればよい）。挿入はSanger配列測定によって確認された。Qiagen plasmid maxi prep kitを用いて組換えLenti-CD274- C A R -puroを製造した。C A R の完全なアミノ酸配列は S E Q I D N O : 3 4 に示している。

#### 【 0 2 1 3 】

10

レンチウイルスを製造するために、約15cmの培養皿に約 $5 \times 10^6$ 個の細胞を接種し、10%のFBSを含むDMEM培地を25ml加えた。細胞は37℃、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで一晩インキュベートした。次に、PEI貯蔵液（polyscience, CAT# 23966-2）とレンチウイルスパッケージングシステム（Lenti- C A R、Lenti-Mix）を室温まで加熱する。ピペットで十分に均一に混合した後、6ウェルプレート中の1つのウェルに2mlのPBS、10 µgのLenti- C A R、および11 µgのLenti-Mixプラスミドを加えて、その後、100 µMの26 µLのPEIを加え、そして直ちに混合した。該プレートを室温で10分間インキュベートした。

#### 【 0 2 1 4 】

15cmの培養皿にPEI/DNAコンプレックスを加え、穏やかに振った。培養皿はインキュベーターで6~8時間インキュベートして培地を交換した。培養皿を48時間連続インキュベートした。48時間後に上清液を採取し、0.45 µm膜で濾過した。濾液を50000 × g、4℃で2時間遠心分離し、再び沈殿物を1mLのPBSで懸濁した。ウイルス貯蔵液をアリコートして-80℃に貯蔵される。

20

#### 【 0 2 1 5 】

レンチウイルスを滴定するために、液体窒素からHT1080細胞を回復し、そして指数成長期に達するまで継代した。24ウェルプレートにウェルあたりに50000個の細胞を接種し、500 µLの培地を補足した。細胞は37℃、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで一晩インキュベートした。

#### 【 0 2 1 6 】

各ウェルに $10^{-2}$ 、 $10^{-1}$ 、1または10 µLのレンチウイルスおよび最終濃度6 µg/mlのポリブレンを共に加え、37℃、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで96時間インキュベートした。

30

#### 【 0 2 1 7 】

PBSで細胞を洗浄し、ゲノムDNA精製キット（Lifetech、CAT# K0512）によりゲノムDNAを抽出した。NanoDrop 2000分光光度計（Thermo Fisher Scientific）がDNA濃度の測定に用いられた。

#### PCR検出

#### 【 0 2 1 8 】

成功した形質導入を検出するため、表2に示すようにPCR反応を行った。プライマーは下記の表3に示される。WPRE（ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント）及びALB（アルブミン）は、レンチウイルスプラスミド中のウイルス滴定のための既知配列を表す。Barczak, W. et al. (2015) Mol. Biotechnol. 57:195-200を参照すればよい。

40

【表 2】

PCR 反応の混合液

試薬	体積(20 $\mu$ L)
2×PCR 混合液	10
プローブ混合物 (WPRE プローブ、ALB プローブ)	0.4
プライマー混合物 (WPRE F&R、ALB F&R)	0.4
PCR グレード水	4.2

10

【表 3】

PCR 診断のためのプライマー

プライマー	配列 (5' -3' )	SEQ ID NO	蛍光団
WPRE F	GGCACTGACAATTCCGTGGT	27	
WPRE R	AGGGACGTAGCAGAAGGACG	28	
WPRE プローブ	ACGTCCTTTCCATGGCTGCTCGC	29	5' -FAM-BHQ1-3'
ALB F	GCTGTCATCTCTTGTGGGCTGT	30	
ALB R	ACTCATGGGAGCTGCTGGTTC	31	
ALB プローブ	CCTGTCATGCCACACAAATCTCTCC	32	5' -FAM-BHQ1-3'

20

## 【 0 2 1 9 】

新しい96ウェルプレートを用意し、各ウェルに5  $\mu$  lのゲノムDNAサンプルまたは標準サンプルを加えると共に、15  $\mu$  LのPCR反応混合液を加えた。プレートは膜で密封し、1分間遠心分離された。PCR反応熱循環は表4に示されている。

30

【表 4】

PCR 熱循環

	温度 (°C)	時間 (sec)
初期ホットスタート/変性	95	30
ステップ 1-2 は 40 サイクルを繰り返す		
ステップ 1	95	5
ステップ 2	60	30

40

C A R - T 細胞の構築

## 【 0 2 2 0 】

C A R - T 細胞を分離するためには、Lymphoprep<sup>TM</sup>密度勾配培地 (STEMCELL Technologies) を管反転によって混合し、15mlのLymphoprep<sup>TM</sup>をバイオセーフティキャビネット内の50mlチューブに加えた。末梢血液サンプルは1体積のPBSで希釈した。希釈された血液サンプルを緩やかにLymphoprep<sup>TM</sup>の上部に加え、室温で800 × g、30分間遠心分離された。

## 【 0 2 2 1 】

遠心分離後、上部の黄色い血清と無色のLymphoprep<sup>TM</sup>試薬の間の界面からPBMCを採取し

50

、そしてPBSで1回洗浄した。PBSで細胞密度を $1 \times 10^6$ 細胞/mLに調整した。細胞懸濁液の中に磁気免疫ビーズ (Magnetic Dynabeads) を加えて、ビーズと細胞の比率は3:1であり、室温で30分間インキュベートした。CD3+T細胞を磁気体で分離し、PBSで細胞を1回洗浄した。

#### 【0222】

300U/ml IL-2、5ng/mL IL-15と10ng/mL IL-7を含むX-vivo15培地で細胞/免疫ビーズを再懸濁した。細胞を48時間連続にインキュベートした。

レンチウイルスによる初代T細胞の形質転換

#### 【0223】

細胞密度を完全培地で $1 \times 10^6$ 細胞/mLに調整した。レンチウイルス量の計算は以下の通りである：ウイルス体積 (ml) = (MOI\*細胞数)/ウイルス力価。

10

#### 【0224】

レンチウイルスと6 $\mu$ g/mLのポリブレンを培養プレートに加え、800 $\times$ g、1時間遠心分離された。遠心分離後、細胞は37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで24時間インキュベートされ、使用準備が整うまで継代培養した。

CAR-T細胞による標的細胞の溶解

#### 【0225】

標的細胞は液体窒素から回復され、検出前に2回まで通常的に継代した。細胞密度を $5 \times 10^5$ 細胞/mLに調整し、96ウェルプレートに100 $\mu$ L/ウェルで接種した。プレートを5%CO<sub>2</sub>で37 $^{\circ}$ Cインキュベーターで一晩インキュベートした。

20

#### 【0226】

無血清RPMI1640培地を用いてCAR-T細胞を再懸濁し、記載されるE/T比に従って96ウェルプレートに添加した。このプレートをインキュベーターに戻し、6時間維持した。

#### 【0227】

培養後、溶解バッファーを「最大溶解」コントロールウェルに加え、1200 $\times$ g、5min遠心分離された。50 $\mu$ Lの上清液を新しい96ウェルプレートに移し、LDH基質を添加した。プレートを15分間インキュベートして、マイクロウェルプレート測定器によってOD<sub>490nm</sub>を読み取った。残りの上清液をアリコートしてELISA検出に用いられ、サイトカインの分泌を確定することにする。

#### 【0228】

溶解率は次のように計算される

溶解% = (OD各ウェル - OD最小溶解) / (OD最大溶解 - OD最小溶解)  $\times$  100 %

30

結果

#### 【0229】

組換えレンチウイルスベクターはEcoRIとBamHIで消化し、アガロースゲル電気泳動で予期された断片 (図12B) を示した。正確な構造を検証するために、組換えベクターはさらに配列決定された。これらの結果から、図12Aに示したベクターが作成に成功したことが明らかになった。

#### 【0230】

40

このレンチウイルスで形質導入されたCAR-T細胞が標的細胞を効果的に殺傷することを証明するために、A549肺腺癌細胞を標的細胞とし、CAR-T細胞を細胞溶解試験中のエフェクタ細胞として使用した。2種の細胞は合計8時間インキュベートした後に、細胞上清を採集して細胞殺傷を指示するLDHの量を決定した。図13に示すように、たとえE/T比が0.5:1と低い場合でも、CAR-T細胞は標的細胞を効果的に除去することができる。これらの結果によると、前の実施例に示すように、K4抗体の可変領域は、N-アセチルグルコサミン及び/又はN-アセチル-ガラクトサミン (または、明らかなN-アセチルグルコサミン又はN-アセチル-ガラクトサミン部分を有する糖複合体) に結合し、キメラ抗原受容体が初代ヒトT細胞に形質導入される場合、標的腫瘍細胞を効果的に殺傷できることが明らかになった。

50

## 【 0 2 3 1 】

C A R - T 細胞ストラテジーが一連の腫瘍細胞を殺傷できることを証明するために、脾臓 (BxPc-3)、結直腸 (HCT116) と神経膠芽腫 (U87) の腫瘍細胞株の殺傷試験に C A R - T 細胞をテストした。まず、細胞溶解試験では、BxPc-3 脾臓癌細胞を標的細胞として、C A R - T 細胞をエフェクタ細胞として使用した。2種の細胞は合計8時間インキュベートした後に、細胞上清を採集して細胞殺傷を指示するLDHの量を決定した。図14に示すように、たとえE/T比が0.5 : 1と低い場合でも、C A R - T 細胞はBxPc-3細胞を効果的に除去することができる。

## 【 0 2 3 2 】

次に、細胞溶解試験では、HCT116結直腸癌細胞を標的細胞として、C A R - T 細胞をエフェクタ細胞として使用した。2種の細胞は合計8時間インキュベートした後に、細胞上清を採集して細胞殺傷を指示するLDHの量を決定した。図15に示すように、E/T比が0.5 : 1と低い場合でも、C A R - T 細胞もHCT116細胞を効果的に除去することができる。

## 【 0 2 3 3 】

そして、細胞溶解試験では、U87神経膠芽腫細胞を標的細胞として、C A R - T 細胞を効果細胞としている。C A R - T 細胞をエフェクタ細胞として使用した。2種の細胞は合計8時間インキュベートした後に、細胞上清を採集して細胞殺傷を指示するLDHの量を決定した。図16に示すように、E/T比が0.5 : 1と低い場合でも、C A R - T 細胞もU87細胞を効果的に除去することができる。

## 【 0 2 3 4 】

まとめると、これらの結果は、K4抗体特異性を有するC A Rを有するヒトT細胞は、肺、脾臓、結腸直腸、および脳癌細胞株の細胞を効果的に殺傷することができ、このC A R - T 細胞アプローチを仲介した腫瘍細胞の殺傷が幅広い適用性を有することが判明した。

## 配列

説明をしない限り、全てのポリペプチド配列はいずれもN末端からC末端にかかる形態で示される。説明をしない限り、すべての核酸の配列は5' 3' の形態で示される。

ヒト化親1C5C9と1C5C9-VK1/VK2/VK3/VK4 HVR-H1:

YTFPDYNIH (SEQ ID NO: 1)

ヒト化親1C5C9と1C5C9-VK1/VK2/VK3/VK4 HVR-H2:

CIYPYNGNTA (SEQ ID NO: 2)

ヒト化親1C5C9と1C5C9-VK1/VK2/VK3/VK4 HVR-H3:

SDLYYFGSRGFD (SEQ ID NO: 3)

ヒト化親1C5C9/1C5C9-VK2 HVR-L1:

RASQDISTYLN (SEQ ID NO: 4)

ヒト化1C5C9-VK3/VK4 HVR-L1:

RASQDISTYLA (SEQ ID NO: 5)

ヒト化親1C5C9 HVR-L2:

FTSRLHS (SEQ ID NO: 6)

ヒト化1C5C9-VK3 HVR-L2:

FTSTLQS (SEQ ID NO: 7)

ヒト化1C5C9-VK4 HVR-L2:

FTSSLES (SEQ ID NO: 8)

ヒト化親1C5C9と1C5C9-VK1/VK2/VK3/VK4 HVR-L3:

QQGNTLPW (SEQ ID NO: 9)

ヒト化親と1C5C9-VK1/VK2/VK3/VK4重鎖可変領域:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSLRLSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWGQGLTVSSA (SEQ ID NO: 10)

ヒト化親と1C5C9-VK1/VK2/VK3/VK4重鎖:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY

MELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT  
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL  
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN  
GKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP  
PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

ヒト化親1C5C9軽鎖可変領域:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQKPGKAPKLLIYFTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 12)

ヒト化1C5C9-VK3軽鎖可変領域:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDAATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13)

ヒト化1C5C9-VK4軽鎖可変領域:

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDVATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 14)

ヒト化親1C5C9軽鎖:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQKPGKAPKLLIYFTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15)

ヒト化1C5C9-VK3軽鎖:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDAATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 16)

ヒト化1C5C9-VK4軽鎖:

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDVATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 17)

ヒト化1C5C9-VK2 HVR-L2:

FTSSLQS (SEQ ID NO: 18)

ヒト化1C5-VK2軽鎖可変領域:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19)

ヒト化1C5-VK2軽鎖:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLNWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 20)

ヒト化1C5C9-VK1 HVR-L1:

QASQDISTYLN (SEQ ID NO: 21)

ヒト化1C5C9-VK1 HVR-L2:

FTSNLET (SEQ ID NO: 22)

ヒト化1C5-VK1軽鎖可変領域:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISTYLNWYQQKPGKAPKLLIYFTSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 23)

ヒト化1C5-VK1軽鎖:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISTYLNWYQQKPGKAPKLLIYFTSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
EDIATYYCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 24)

共通エリアヒト化1C5C9-VK3/-VK4 HVR-L2:

FTSX1LX2S (SEQ ID NO: 25)

C A R 用のVK4軽鎖可変領域

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE

10

20

30

40

50



EDFATYYCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFI (SEQ ID NO: 26)

WPREフォワードプライマー

GGCACTGACAATTCCGTGGT (SEQ ID NO: 27)

WPREリバースプライマー

AGGGACGTAGCAGAAGGACG (SEQ ID NO: 28)

WPREプローブ

ACGTCCTTTCCATGGCTGCTCGC (SEQ ID NO: 29)

ALBフォワードプライマー

GCTGTCACTCTTGTGGGCTGT (SEQ ID NO: 30)

ALBリバースプライマー

ACTCATGGGAGCTGCTGGTTC (SEQ ID NO: 31)

ALBプローブ

CCTGTCATGCCACACAAATCTCTCC (SEQ ID NO: 32)

C A R 用のVK4重鎖可変領域

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTAYAKKFQGRVTMTRDTSISTAY  
MELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWGGTLVTVSSG (SEQ ID NO: 33)

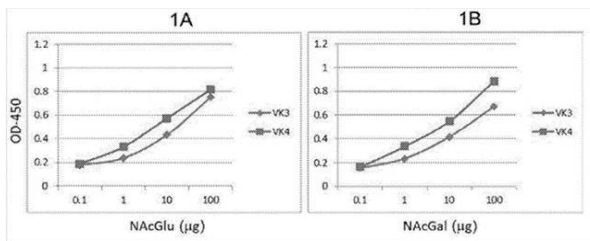
C A R アミノ酸配列

MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPDYNIHWVRQAPGQGLEWMGCIYPYNGNTA  
YAKKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSDLYYFGSRGFDYWGGTLVTVSSAGGGGSGGGGSGGGGSA  
IQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISTYLAWYQQKPGKAPKLLIYFTSSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE  
DFATYYCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFITTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC  
DFWLVVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAP  
AYKQGGNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ  
GLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 34)

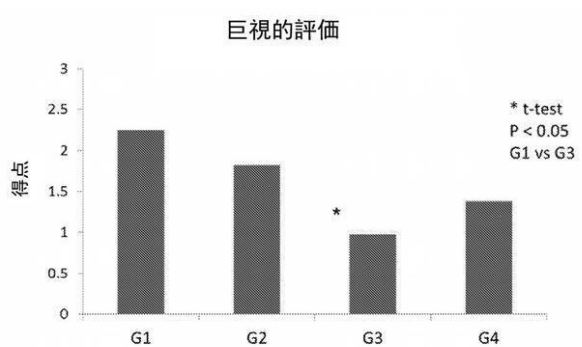
10

20

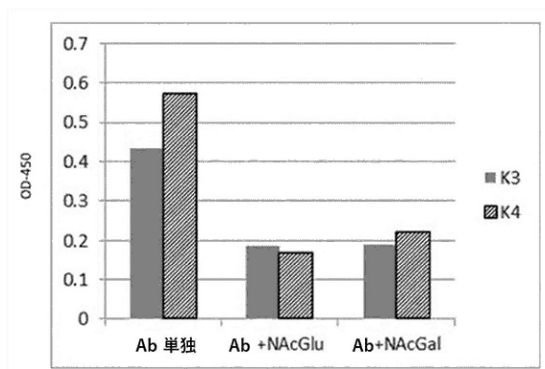
【図 1】



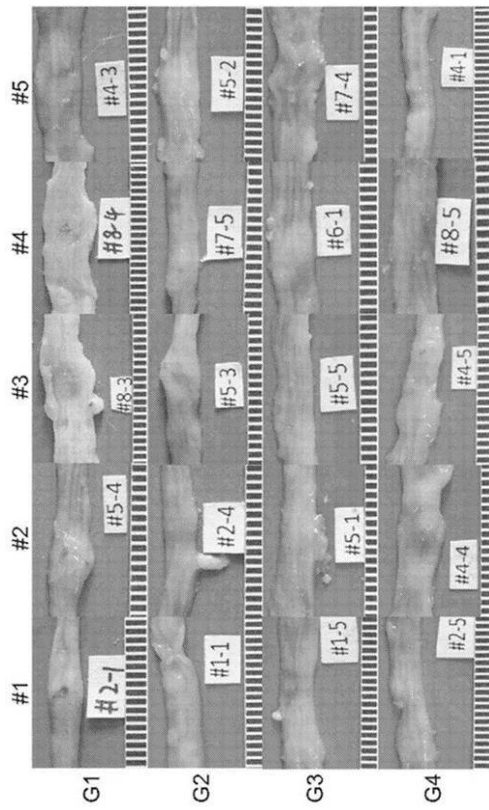
【図 3】



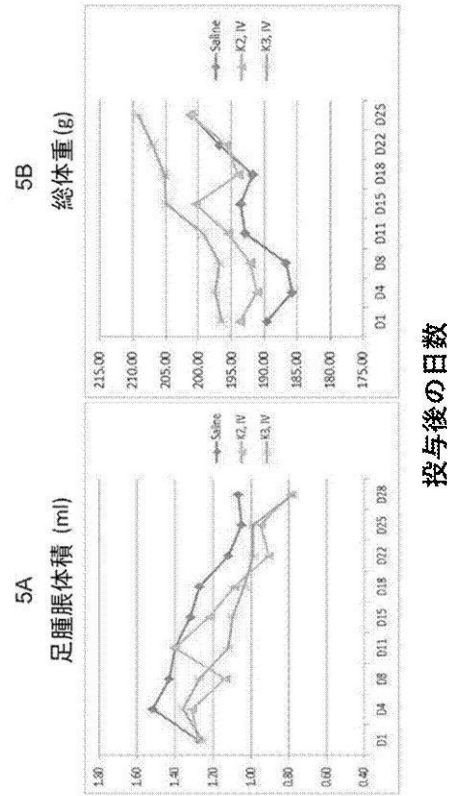
【図 2】



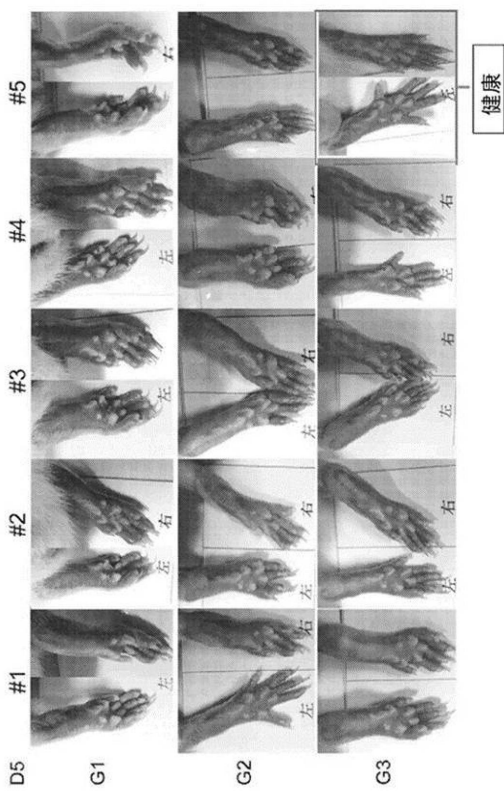
【図 4】



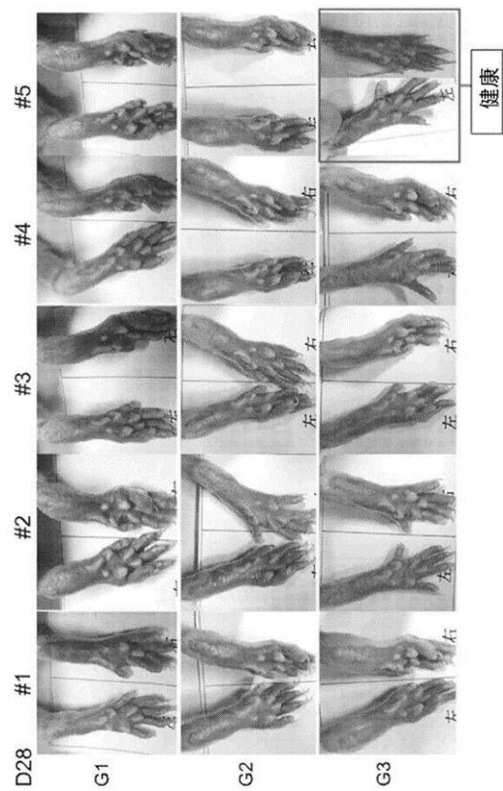
【図 5】



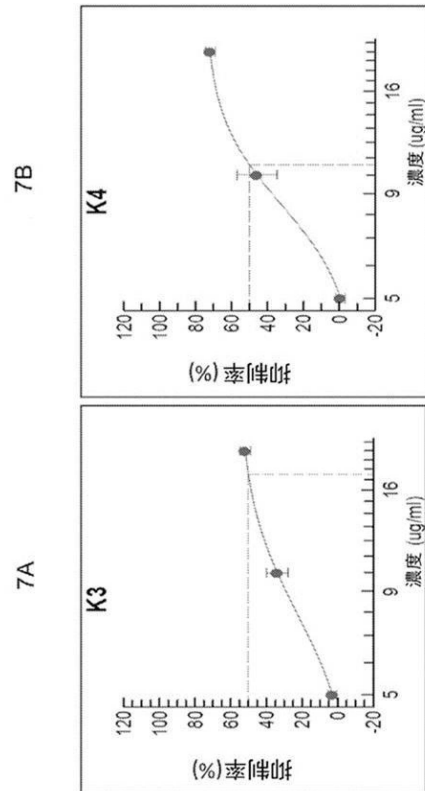
【図 6 A】



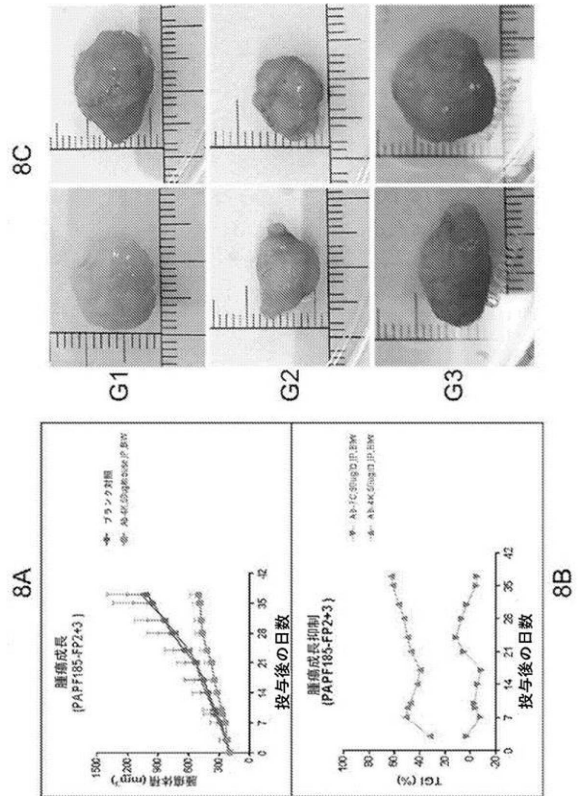
【図 6 B】



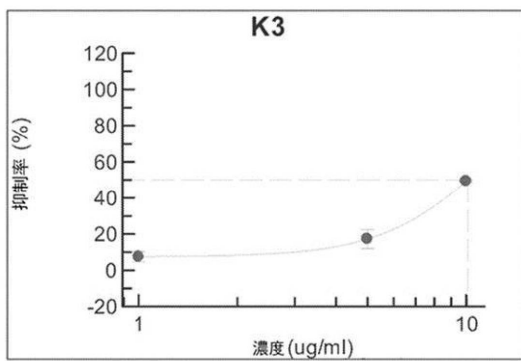
【図 7】



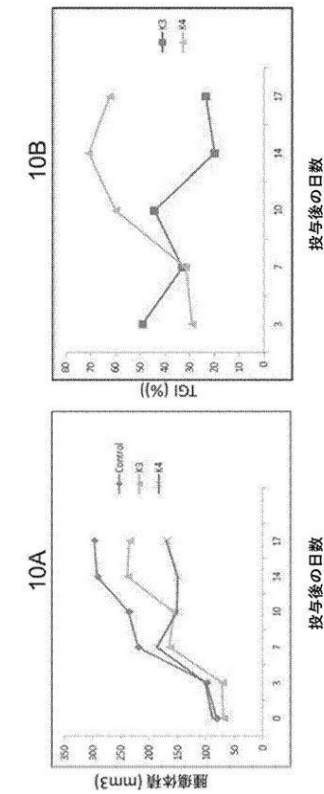
【図 8】



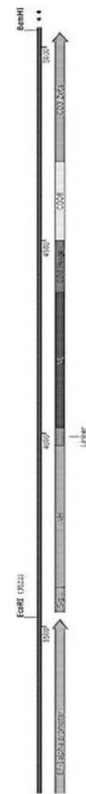
【図 9】



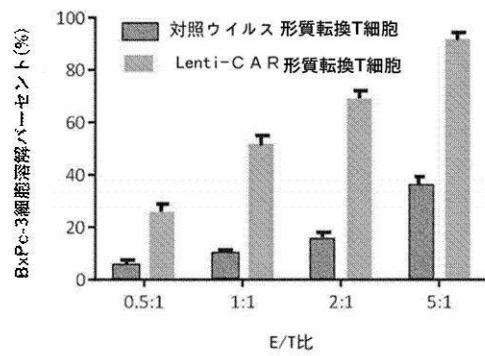
【図 10】



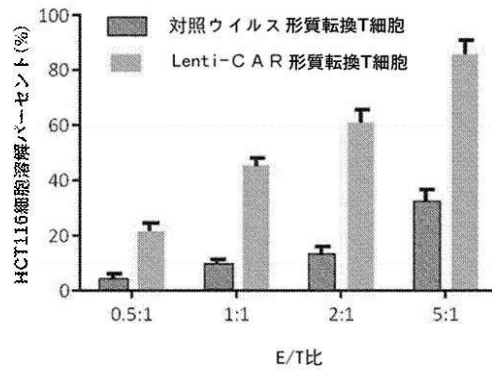
【 図 1 2 A 】



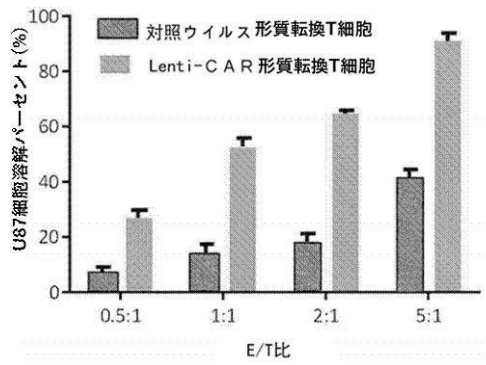
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



【図 16】



【配列表】

0006972030000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395 T
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00 1 0 1
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02
G 0 1 N	33/574 (2006.01)	G 0 1 N	33/574 D
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/53 D
		G 0 1 N	33/53 Y

(74)代理人 100163407

弁理士 金子 裕輔

(74)代理人 100166936

弁理士 稲本 潔

(74)代理人 100174883

弁理士 富田 雅己

(72)発明者 ワン, ファイルー

中華人民共和国、ベイジン 1 0 2 2 0 9、チャンピン ディストリクト、ベイチージャ タウン、ディンシ ロード、ベイジン - ヤン - ファン、ビルディング 2 3、 3 0 9

審査官 玉井 真人

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 1 / 0 5 4 3 5 9 (WO, A 2)

再公表特許第 9 0 / 0 0 2 7 6 1 (JP, A 1)

特表 2 0 0 5 - 5 3 5 7 2 3 (JP, A)

国際公開第 2 0 1 1 / 1 3 5 8 6 9 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 1 0 / 0 5 0 5 2 8 (WO, A 1)

特開平 0 2 - 2 5 5 0 9 7 (JP, A)

国際公開第 2 0 1 4 / 1 5 9 2 3 4 (WO, A 1)

米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 6 4 2 1 6 (US, A 1)

米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 2 5 4 9 7 1 (US, A 1)

米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 0 8 5 9 8 1 (US, A 1)

国際公開第 2 0 0 8 / 0 5 5 2 4 2 (WO, A 2)

米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 2 5 4 8 9 8 (US, A 1)

国際公開第 2 0 1 4 / 1 5 9 2 4 4 (WO, A 2)

国際公開第 2 0 1 4 / 1 0 0 3 8 5 (WO, A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

C07K 1/00 - 19/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

UniProt/GeneSeq