

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7586813号
(P7586813)

(45)発行日 令和6年11月19日(2024.11.19)

(24)登録日 令和6年11月11日(2024.11.11)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28
A 6 1 P	31/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
		Z N A	
		N	
請求項の数 18 (全180頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号 特願2021-511561(P2021-511561)		(73)特許権者 517041235	
(86)(22)出願日 令和1年8月30日(2019.8.30)		アレクトル エルエルシー	
(65)公表番号 特表2021-534797(P2021-534797 A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0	
(43)公表日 令和3年12月16日(2021.12.16)		8 0 , サウス サンフランシスコ, オ	
(86)国際出願番号 PCT/US2019/048994		イスター ポイント ブールヴァード 1	
(87)国際公開番号 WO2020/047374		3 1 , スイート 6 0 0	
(87)国際公開日 令和2年3月5日(2020.3.5)		(74)代理人 110002077	
審査請求日 令和4年8月30日(2022.8.30)		園田・小林弁理士法人	
(31)優先権主張番号 62/726,053		(72)発明者 カルブ, パトリシア	
(32)優先日 平成30年8月31日(2018.8.31)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0	
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		8 0 , サウス サンフランシスコ, オ	
		イスター ポイント ブールヴァード 1	
		3 1 , スイート 6 0 0 , シー／オー	
		アレクトル エルエルシー	
		(72)発明者 ラム, ヘレン	
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 抗 C D 3 3 抗体及びその使用方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項1】

C D 3 3 に結合する単離された抗体であって、前記抗体は、H V R − H 1、H V R − H 2、及びH V R − H 3を含む重鎖可変領域並びにH V R − L 1、H V R − L 2、及びH V R − L 3を含む軽鎖可変領域を含み、

H V R − H 1 が配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 2 が配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 3 が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 1 が配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 2 が配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含み、及びH V R − L 3 が配列番号 5 8 のアミノ酸配列を含む；

H V R − H 1 が配列番号 9 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 2 が配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 3 が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 1 が配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 2 が配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含み、及びH V R − L 3 が配列番号 5 8 のアミノ酸配列を含む；

H V R − H 1 が配列番号 9 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 2 が配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 3 が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 1 が配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 2 が配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含み、及びH V R − L 3 が配列番号 5 8 のアミノ酸配列を含む；

H V R − H 1 が配列番号 9 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 2 が配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、H V R − H 3 が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 1 が配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含み、H V R − L 2 が配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含み、

HVR-H1が配列番号22のアミノ酸配列を含み、HVR-H2が配列番号33のア

50

HVR-H1が配列番号30のアミノ酸配列を含み、HVR-H2が配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3が配列番号40のアミノ酸配列を含み、HVR-L1が配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2が配列番号53のアミノ酸配列を含み

50

配列番号 69 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 99 のアミノ酸配列を

50

配列番号 90 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 101 のアミノ酸配列

50

を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 90 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 102 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 90 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 103 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 91 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 100 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 91 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 101 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 91 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 102 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

10

配列番号 91 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 103 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 92 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 101 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 92 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 103 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 93 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 101 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 93 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 103 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

20

配列番号 83 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 101 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 83 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 103 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 92 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 100 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 92 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 102 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 93 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 100 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

30

配列番号 93 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 102 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 83 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 100 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 83 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 102 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む；

配列番号 120 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 122 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む；または

配列番号 121 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 122 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む

40

請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 3】

重鎖可変領域が、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 を含み、且つ軽鎖可変領域が、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 61 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 4】

前記抗体が、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 102 の

50

アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 2 に記載の抗体。

【請求項 5】

前記抗体が：

(a) 配列番号 1 2 0 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む；または

(b) 配列番号 1 2 1 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む

請求項 2 または 4 に記載の抗体。

【請求項 6】

(i) 前記抗体は、モノクローナル抗体である；及び／または

(i i) 前記抗体は、I g G クラス、I g M クラス、または I g A クラスのものである、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 7】

前記抗体は、I g G クラスのものであり、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 アイソタイプを有する、請求項 6 に記載の抗体。

【請求項 8】

(i) 前記抗体は、F c 領域において C 1 2 7 S、L 2 3 4 A、L 2 3 4 F、L 2 3 5 A、L 2 3 5 E、S 2 6 7 E、K 3 2 2 A、L 3 2 8 F、A 3 3 0 S、P 3 3 1 S、E 3 4 5 R、E 4 3 0 G、S 4 4 0 Y、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される残基位置に 1 つ以上のアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従う；

(i i) 前記抗体は、I g G 4 アイソタイプを有し、残基位置 2 2 8 に S 2 2 8 P アミノ酸置換、残基位置 2 3 4 に L 2 3 4 A アミノ酸置換、及び残基位置 2 3 5 に L 2 3 5 A アミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従う；または (i i i)：

(a) F c 領域は、位置 E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(b) F c 領域は、位置 L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、及び P 3 3 1 S にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(c) F c 領域は、位置 L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、P 3 3 1 S、及び E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(d) F c 領域は、位置 K 3 2 2 A 及び E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(e) F c 領域は、位置 P 3 3 1 S 及び E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(f) F c 領域は、位置 A 3 3 0 S、P 3 3 1 S、及び E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(g) F c 領域は、位置 K 3 2 2 A、A 3 3 0 S、及び P 3 3 1 S にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(h) F c 領域は、位置 K 3 2 2 A、P 3 3 1 S、及び E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(i) F c 領域は、位置 E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(j) F c 領域は、位置 A 3 3 0 S、P 3 3 1 S、及び E 4 3 0 G にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(k) F c 領域は、位置 S 2 6 7 E 及び L 3 2 8 F にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(l) F c 領域は、位置 C 1 2 7 S にアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E U ナンバリングに従うか、

(m) F c 領域は、位置 E 3 4 5 R、E 4 3 0 G、及び S 4 4 0 Y にアミノ酸置換を含

10

20

30

40

50

み、前記残基位置のナンバリングは、E Uナンバリングに従うか、

(n) F c領域は、位置P 3 3 1 Sにアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E Uナンバリングに従うか、または

(o) F c領域は、位置L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、及びP 3 3 1 Sにアミノ酸置換を含み、前記残基位置のナンバリングは、E Uナンバリングに従う、

請求項1～7のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項9】

(i) 前記抗体は、ヒトC D 3 3またはカニクイザルC D 3 3タンパク質上のアミノ酸残基を含むエピトープに結合する抗体断片である；

(i i) 前記抗体は、ヒトC D 3 3、ヒトC D 3 3の天然に存在するバリエント、及びヒトC D 3 3の疾患バリエントからなる群から選択される1つ以上のヒトタンパク質に結合する抗体断片である、

請求項1～8のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項10】

前記抗体断片は、ヒトC D 3 3、ヒトC D 3 3の天然に存在するバリエント、及びヒトC D 3 3の疾患バリエントからなる群から選択される1つ以上のヒトタンパク質に結合する第2の抗体断片に架橋されている、及び／または前記断片は、F a b、F a b'、F a b'-S H、F (a b') 2、F v、またはs c F v断片である、

請求項9に記載の抗体。

【請求項11】

(i) 前記抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗C D 3 3抗体よりも少なくとも1.8倍低いヒトC D 3 3についての解離定数(K_D)を有し、前記K_Dは、B i o L a y e r干渉法によって決定される；

(i i) 前記抗体は、200 p Mまたは200 p M未満のヒトC D 3 3についての解離定数(K_D)を有し、前記K_Dは、B i o L a y e r干渉法によって決定される；

(i i i) 前記抗体は、フローサイトメトリーによって測定して40 p M未満の半数有効濃度(E C₅₀)で、i n v i t r oでC D 3 3の細胞表面レベルを低下させる；及び／または

(i v) 前記抗体は、配列番号118のアミノ酸配列を含むF c領域を含む、

請求項1～10のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項12】

請求項1～11のいずれか1項に記載の抗体の軽鎖及び重鎖をコードする核酸配列を含む、1つ以上の単離された核酸。

【請求項13】

請求項12に記載の1つ以上の核酸を含む、1つ以上のベクター。

【請求項14】

請求項13に記載の1つ以上のベクターを含む、単離された宿主細胞。

【請求項15】

C D 3 3に結合する抗体を生成する方法であって、前記抗体が生成されるように請求項14に記載の細胞を培養することを含む、方法。

【請求項16】

前記細胞によって生成された前記抗体を回収することを更に含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

請求項1～11のいずれか1項に記載の抗体並びに薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項18】

認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、タウパチー病、感染症、及びがんからなる群から選択される疾患、障害、または傷害を予防し、

10

20

30

40

50

そのリスクを低下させ、または治療する方法であって、それを必要とする個体に、治療有効量の抗体を投与することを含む方法において使用するための、請求項1～11のいずれか1項に記載の抗体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2018年8月31日に出願された米国仮特許出願第62／726，053号に基づく利益を主張するものであり、この仮出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

ASCIIテキストファイルによる配列表の提出

ASCIIテキストファイルでの次の提出物の内容は、その全体において参照により本明細書に組み込まれる：コンピュータ可読形態（CRF）の配列表（ファイル名：735022002840SEQULIST.TXT、記録日：2019年8月26日、サイズ：112KB）。

【0003】

本開示の技術分野

本開示は、抗CD33抗体及びかかる抗体の治療的使用に関する。

【背景技術】

【0004】

骨髄細胞表面抗原CD33前駆体（CD33）は、Siglec-3としても知られ、未熟型及び成熟型の骨髄細胞、樹状細胞、及びミクログリア細胞などの免疫細胞及び造血細胞上に発現する1型免疫グロブリン様膜貫通タンパク質である。（Crocker et al. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255-266、McMillan and Crocker (2008) Carbohydr Res. 343:2050-2056、Von Gunten and Bochner (2008) Ann NY Acad Sci. 1143:61-82、Handgretinger et al. (1993) Immunol Lett. 37:223-228、及びHernandez-Caselles et al. (2006) J Leukoc Biol. 79:46-58）。CD33は、Ig様C2型（免疫グロブリン様）及びIg様V型（免疫グロブリン様）の細胞外ドメイン、ならびに2つのITIM様モチーフをその細胞質ドメインに含む。CD33の3つの選択的スプライシング型（アイソフォーム）が同定されており、これはCD33Mと命名された高分子量バリエーション、ならびにIg様V型ドメイン（リガンド結合部位）及びVドメインとCドメインとを連結するジスルフィド結合を欠いている小さいアイソフォームCD33mを含む。

【0005】

拡張コホート（例えば、数千の個体）に対して行われたゲノムワイド関連研究（GWAS）により、CD33の一塩基多型（SNP）rs3865444^{CC}（別称rs3826656）及びrs3865444^{AA}が、遅発型アルツハイマー病（AD）のリスクの遺伝的修飾因子として同定された。腫瘍学において、CD33の発現減少をもたらすCD33バリエーションは、小児の急性骨髄性白血病（AML）の生存率の改善に関連することが示されている。寛解後の3年全生存率は、CD33の完全長発現低下に関連するrs3865444^{AA}バリエーションとの強い連鎖不均衡にあるバリエーションrs35112940^{GG}の保有者では84%+/-8%である。非保護的アレルの場合、寛解率は68%+/-15%である。また、保護的アレルの保有者でも、再発リスクが低く、無病生存率が高い。同様に、完全長CD33の発現の46%超の低下に関連するrs12459419のマイナーバリエーションアレル（TT）についてホモ接合型である患者では、バリエーションCC及びCTの保有者（52%対31%）よりも疾患の転帰が好ましく、診断上の芽細胞CD33発現が他の遺伝子型よりも著しく低い傾向が強い。これは、抗CD33抗体及び有毒なカ

10

20

30

40

50

リケアマイシン γ 誘導体での治療を受ける患者にさえ当てはまる (Mortland et al., (2013) Clin Cancer Res; 1-8)。2459419^{TT}アレルの保有者は、完全長CD33の発現の25%超の低減を示すrs12459419^{CT}アレルの保有者と同様に、アルツハイマー病のリスクの低減も示す (Malik M. et al. (2015) Human Molecular Genetics, 1-14)。これは、CD33の発現または機能の低減がアルツハイマー病及びがんにおいて有益であり得ることを示唆している。

【0006】

CD33に対する抗体は、例えば、US7,342,110、US7,557,189、US8,119,787、US8,337,855、US8,124,069、US5,730,982、WO2012/074097、WO2004/043344、WO1993/020848、WO2012/045752、WO2007/014743、WO2003/093298、WO2011/036183、WO1991/009058、WO2008/058021、WO2011/038301、WO2016/201389、WO2016/201388、Hoyer et al (2008) Am J Clin Pathol, 129:316-323、Rollins-Ravel and Roth (2012) Histopathology 60:933-942、Perez-Olivaria et al (2011) Glycobiol 21:757-770、Ferlasso et al (2000) Eur J Immunol 30:827-833、Vitale et al (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98:5764-5769、Jandus et al (2011) Biochem Pharmacol 82:323-332、O'Reilly and Paulson (2009) Trends Pharmacol Sci 30:240-248、Jurcic (2012) Curr Hematol Malign Rep 7:65-73、及びRicart (2011) Clin Cancer Res 17:6417-6427に記載されている。

【0007】

したがって、望まれないCD33活性に関連する疾患、障害、及び病態を治療するための治療用抗CD33抗体が必要とされている。

【0008】

本明細書で引用される全ての参考文献は、特許、特許出願及び公開文献を含め、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【0009】

本開示は、一般に、ヒトCD33に特異的に結合する抗体、例えば、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、抗体断片などを含む組成物、及びかかる組成物を使用する方法を対象とする。

【0010】

本開示の特定の態様は、少なくとも部分的には、改善及び／または向上した機能的特徴を有する抗CD33抗体の同定に基づく。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）と比べて、1つ以上の改善及び／または向上した機能的特徴を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照抗CD33抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）のものよりも高いCD33（例えば、ヒトCD33）に対する親和性を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）のものよりも低い半数有効濃度（EC₅₀）で、ヒト初代樹状細胞などのヒト細胞に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照抗体（例

例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体)のものよりも低い半数有効濃度(ED₅₀)で、CD33の細胞レベルを低下させる(例えば、細胞表面レベルを低下させる、または下げる)。

【0011】

したがって、一態様において、本開示は、CD33タンパク質に結合する抗体であって、該抗体は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号8~30から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号39~40から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号53~55から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号58~62から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、抗体に関する。

10

【0012】

別の態様では、本開示は、CD33タンパク質に結合する抗体であって、該抗体は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54のHVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3を含む、抗体に関する。

20

【0013】

別の態様では、本開示は、CD33タンパク質に結合する抗体であって、該抗体は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、軽鎖可変領域は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54のHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3を含む、抗体に関する。

30

【0014】

別の態様では、本開示は、CD33タンパク質に結合する抗体であって、該抗体は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54のHVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3を含み、軽鎖可変領域は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7

40

50

H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54のHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3を含む、抗体に関する。

【0015】

別の態様では、本開示は、CD33タンパク質に結合する抗体であって、該抗体は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54の重鎖可変領域を含み、該抗体は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54の軽鎖可変領域を含む、抗体に関する。

【0016】

別の態様では、本開示は、CD33タンパク質に結合する抗体であって、該抗体は、配列番号68～93から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び／または配列番号97～103から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、抗体に関する。

【0017】

別の態様では、本開示は、CD33タンパク質に結合する抗体であって、該抗体は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54の重鎖可変領域を含み、該抗体は、抗体6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、または6C7H54の軽鎖可変領域を含む、抗体に関する。

【0018】

別の態様では、本開示は、CD33に結合する単離された抗体であって、該抗体は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含み、軽鎖可変領域は、配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号61のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、単離された抗体に関する。

【0019】

別の態様では、本開示は、CD33に結合する単離された抗体であって、該抗体は、配列番号83のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号102のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、単離された抗体に関する。

【0020】

別の態様では、本開示は、CD33に結合する単離された抗体であって、該抗体は、
(a) 配列番号120のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号122のアミノ酸配列を含む軽鎖、または
(b) 配列番号121のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号122のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、単離された抗体に関する。

【0021】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、重鎖可変領域は、VH FR1、VH FR2、VH FR3、及びVH FR4から選択される1つ、2つ、3つ、または4つのフレームワーク領域を含み、VH FR1は、配列番号5～6からなる群から選択される配列を含み、VH FR2は、配列番号31～32からなる群から選択される配列を含み、VH FR3は、配列番号34～36からなる群から選択される配列を含み、VH FR4は、配列番号41の配列を含み、軽鎖可変領域は、VL FR1、VL FR2、VL FR3、及びVL FR4から選択される1つ、2つ、3つ、または4つのフレームワーク領域を含み、VL FR1は、配列番号42～46からなる群から選択される配列を含み、VL FR2は、配列番号48～51からなる群から選択される配列を含み、VL FR3は、配列番号56～57からなる群から選択される配列を含み、VL FR4は、配列番号63～64からなる群から選択される配列を含む。

【0022】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、IgGクラス、IgMクラス、またはIgAクラスのものである。いくつかの実施形態において、本抗体は、IgGクラスのものであり、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、本抗体は、IgG4アイソタイプを有し、本抗体は、残基位置228にS228Pアミノ酸置換、残基位置234にF234Aアミノ酸置換、及び残基位置235にL235Aアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、本抗体は、Fc領域においてC127S、L234A、L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S、E345R、E430G、S440Y、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される残基位置に1つ以上のアミノ酸置換を含み、残基のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従うか、Fc領域は、位置L234A、L235A、及びP331Aにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従うか、Fc領域は、位置L234A、L235A、P331A、及びE430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従うか、Fc領域は、位置K322A及びE430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従うか、Fc領域は、位置P331S及びE430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従うか、Fc領域は、位置A330S、P331S、及びE430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、

10

20

30

40

50

EUナンバリングに従うか、Fc領域は、位置K322A、A330S、及びP331Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従うか、Fc領域は、位置K322A、P331S、及びE430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従うか、Fc領域は、位置E430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従うか、Fc領域は、位置A330S、P331S、及びE430Gにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従うか、Fc領域は、位置S267E及びL328Fにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従うか、Fc領域は、位置C127Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従うか、またはFc領域は、位置E345R、E430G、及びS440Yにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。

10

【0023】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、CD33タンパク質は、哺乳動物タンパク質またはヒトタンパク質である。いくつかの実施形態において、CD33タンパク質は、野生型タンパク質である。いくつかの実施形態において、CD33タンパク質は、天然に存在するバリエーションである。先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、CD33タンパク質は、ヒト樹状細胞、ヒトマクロファージ、ヒト単球、ヒト破骨細胞、ヒト好中球、ヒトT細胞、ヒトヘルパーT細胞、ヒト細胞傷害性T細胞、ヒト顆粒球、及びヒトミクログリアからなる群から選択される1つ以上の細胞上に発現している。

20

【0024】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、ヒトCD33タンパク質に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本抗体は、ヒトCD33タンパク質に結合し、別の種由来のCD33オースログまたはホモログと交差反応しない。先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、ヒトCD33または哺乳動物CD33タンパク質上のアミノ酸残基を含むエピトープに結合する抗体断片である。先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、ヒトCD33、ヒトCD33の天然に存在するバリエーション、及びヒトCD33の疾患バリエーションからなる群から選択される1つ以上のヒトタンパク質に結合する抗体断片である。いくつかの実施形態において、抗体断片は、ヒトCD33、ヒトCD33の天然に存在するバリエーション、及びヒトCD33の疾患バリエーションからなる群から選択される1つ以上のヒトタンパク質に結合する第2の抗体断片に架橋されている。いくつかの実施形態において、断片は、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、またはscFv断片である。

30

【0025】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、ヒト化抗体、二重特異性抗体、モノクローナル抗体、多価抗体、コンジュゲート抗体、またはキメラ抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、第1の抗原及び第2の抗原を認識する二重特異性抗体である。いくつかの実施形態において、第1の抗原は、CD33であり、第2の抗原は、血液脳関門を通過する輸送を促進する抗原；トランスフェリン受容体(TR)、インスリン受容体(HIR)、インスリン様成長因子受容体(IGFR)、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質1及び2(LPR-1及び2)、ジフテリア毒素受容体、CRM197、ラマ単一ドメイン抗体、TMM 30(A)、タンパク質形質導入ドメイン、TAT、Syn-B、ペネトラチン、ポリアルギニンペプチド、アンジオペプチド、及びANG1005からなる群から選択される血液脳関門を通過する輸送を促進する抗原；病因ペプチドまたはタンパク質及び病因核酸からなる群から選択される病因物質であって、病因ペプチドまたはタンパク質は、アミロイドβ、アミロイドβオリゴマー、アミロイドβ斑、アミロイド前駆体タンパク質またはその断片、タウ、IAPP、α-シヌクレイン、TDP-43、FUSタンパク質、C9orf72(9番染色体オープン

40

50

ンリーディングフレーム72)、c9RANタンパク質、プリオンタンパク質、PrPSc、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジスムターゼ、アタキシン、アタキシン1、アタキシン2、アタキシン3、アタキシン7、アタキシン8、アタキシン10、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質AI、血清アミロイドA、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β2ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピテリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖AL、S-IBMタンパク質、リピート関連非ATG(RAN)翻訳産物、ジペプチドリピート(DPR)ペプチド、グリシン-アラニン(GA)リピートペプチド、グリシン-プロリン(GP)リピートペプチド、グリシン-アルギニン(GR)リピートペプチド、プロリン-アラニン(PA)リピートペプチド、ユビキチン、及びプロリン-アルギニン(PR)リピートペプチドからなる群から選択され、病因核酸は、アンチセンスGGCCCC(G2C4)リピート伸長RNAである、病因物質；免疫細胞上に発現しているリガンド及び／またはタンパク質であって、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD38、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR5、CD39、CD70、CD73、TREM1、TREM2、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、SirpA、CD47、CSF1-受容体、及びホスファチジルセリンからなる群から選択されるリガンド及び／またはタンパク質；ならびに1つ以上の腫瘍細胞上に発現しているタンパク質、脂質、多糖、または糖脂質である。

【0026】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、病因ペプチド、病因タンパク質、アミロイドβ、アミロイドβオリゴマー、アミロイドβ斑、アミロイド前駆体タンパク質またはその断片、タウ、IAPP、α-シヌクレイン、TDP-43、FUSタンパク質、C9orf72(9番染色体オープンリーディングフレーム72)、プリオンタンパク質、PrPSc、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジスムターゼ、アタキシン、アタキシン1、アタキシン2、アタキシン3、アタキシン7、アタキシン8、アタキシン10、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質AI、血清アミロイドA、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β2ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピテリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖AL、S-IBMタンパク質、リピート関連非ATG(RAN)翻訳産物、ジペプチドリピート(DPR)ペプチド、グリシン-アラニン(GA)リピートペプチド、グリシン-プロリン(GP)リピートペプチド、グリシン-アルギニン(GR)リピートペプチド、プロリン-アラニン(PA)リピートペプチド、ユビキチン、及びプロリン-アルギニン(PR)リピートペプチド、ならびにこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される病因物質に特異的に結合する1つ以上の抗体と組み合わせ、またはCD40、OX40、ICOS、CD28、CD137/4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD38、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR3、DR5、CD39、CD70、CD73、LAG3、TREM1、TREM2、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、SirpA、CD47、CSF1-受容体、ホスファチジルセリン、病因核酸、アンチセンスGGCCCC(G2C4)リピート伸長RNA、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される免疫調節タンパク質に結合する1つ以上の抗体と組み合わせ使用される。

【0027】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体よりも少なくとも1.8倍低いヒトCD33についての解

10

20

30

40

50

離定数 (K_D) を有し、 K_D は、**BioLayer** 干渉法によって決定される。

【0028】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、約 2 nM ~ 約 200 pM の範囲、または約 200 pM 未満のヒト CD33 についての解離定数 (K_D) を有し、 K_D は、**BioLayer** 干渉法によって決定される。

【0029】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、CD33 の細胞表面レベルを低下させる。いくつかの実施形態において、CD33 は、ヒト樹状細胞の表面上に発現している。いくつかの実施形態において、本抗体は、*in vitro* で CD33 の細胞表面レベルを低下させる。いくつかの実施形態において、本抗体は、フローサイトメトリーによって測定して 40 pM 未満の半数有効濃度 (EC_{50}) で、*in vitro* で CD33 の細胞表面レベルを低下させる。

【0030】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、1 つ以上の疾患関連ミクログリア (DAM) マーカーの発現を増大させる。いくつかの実施形態において、1 つ以上の DAM マーカーは、ApoE3、Tyrobp、B2m、Trem2、Cst7、Ctsl、Lpl、Cd9、Axl、Csfl、Ccl6、Itgax、Clec7a、Lilrb4、Timp2、またはこれらの任意の組み合わせである。

【0031】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び 6C7H54、ならびにこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される 1 つ以上の抗体と、ヒト CD33 への結合について競合する。

【0032】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び 6C7H54 からなる群から選択される抗体として本質的に同じか、またはそれと重複する CD33 エピトープに結合する。

【0033】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本抗体は、配列番号 118 のアミノ酸配列を含む Fc 領域を有する。

【0034】

先行実施形態のいずれかと組み合わせられ得るいくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含み、(a) HVR-H1 は、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、HVR-H2 は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含

10

20

30

40

50

50

50

50

【 0 0 3 5 】

50

50

、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む。

【0036】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載される抗体のいずれかをコードする核酸配列を含む単離された核酸に関する。

【0037】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載される核酸のいずれかを含有するベクターに関する。いくつかの実施形態において、ベクターは、発現ベクター及び／またはディスプレイベクターである。

【0038】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載される核酸またはベクターのいずれかを含有する単離された宿主細胞に関する。

10

【0039】

別の態様では、本開示は、CD33 に結合する抗体を生成する方法であって、抗体が生成されるように本明細書に記載される宿主細胞のいずれかを培養することを含む、方法に関する。いくつかの実施形態において、本方法は、細胞によって生成された抗体を回収することを更に含む。

【0040】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載される方法のいずれかによって生成された抗体に関する。

【0041】

別の態様では、本開示は、本明細書に記載される抗体のいずれか及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物に関する。いくつかの実施形態において、本開示は、薬剤の調製のための本明細書に記載される抗体のいずれかの使用に関する。

20

【0042】

別の態様では、本開示は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、タウパチー病、感染症、及びがんからなる群から選択される疾患、障害、または傷害を予防し、そのリスクを低下させ、または治療する方法であって、それを必要とする個体に、治療有効量の本明細書に記載される抗体のいずれかを投与することを含む、方法に関する。いくつかの実施形態において、疾患、障害、または傷害は、がんである。いくつかの実施形態において、がんは、膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、及び多発性骨髄腫からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、本開示は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、タウパチー病、感染症、及びがんからなる群から選択される疾患、障害、または傷害を予防し、そのリスクを低下させ、または治療するのに有用な薬剤の調製のための本明細書に記載される抗体のいずれかの使用に関する。いくつかの実施形態において、疾患、障害、または傷害は、がんである。いくつかの実施形態において、がんは、膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、及び多発性骨髄腫からなる群から選択される。

30

40

【0043】

本明細書に記載される様々な実施形態の特性のうちの1つ、一部、または全てを組み合わせ、本発明の他の実施形態を形成してもよいことを理解されたい。本発明のこれら及び他の態様は、当業者には明らかになるであろう。本発明のこれら及び他の実施形態を、以下の詳細な説明によって更に説明する。

【図面の簡単な説明】

【0044】

50

【図 1】本開示の抗 CD 33 抗体が初代ヒト樹状細胞に結合することを示すデータを提示する。

【図 2】本開示の抗 CD 33 抗体がヒト樹状細胞における CD 33 細胞表面レベルを下方制御することを示すデータを提示する。

【図 3】本開示の抗 CD 33 抗体が初代ヒト樹状細胞に結合することを示すデータを提示する。

【図 4】本開示の抗 CD 33 抗体がヒト CD 33 及びカニクイザル (c y n o) CD 33 タンパク質に結合することを示すデータを提示する。

【図 5】本開示の抗 CD 33 抗体がヒト樹状細胞における CD 33 の細胞表面レベルを下方制御することを示すデータを提示する。

10

【図 6】A 及び B は、本開示の抗 CD 33 抗体が組み換えヒト CD 33 に結合することを示すデータを提示する。

【図 7】本開示の抗 CD 33 抗体が初代ヒト樹状細胞に結合することを示すデータを提示する。

【図 8】A 及び B は、樹状細胞における CD 33 の細胞表面レベルの様々な本開示の抗 CD 33 抗体による低下を比較するデータを提示する。

【図 9】本開示の抗 CD 33 抗体バリエントが初代ヒト樹状細胞に結合することを示すデータを提示する。

【図 10】A 及び B は、それぞれ、本開示の抗 CD 33 抗体バリエントがヒト CD 33 及びカニクイザル CD 33 タンパク質に結合することを示すデータを提示する。

20

【図 11】本開示の抗 CD 33 抗体バリエントが初代ヒト樹状細胞における CD 33 の細胞表面レベルを低下させることを示すデータを提示する。

【図 12 A】Fc バリエントを含む抗 CD 33 抗体バリエントが初代ヒト樹状細胞における CD 33 の細胞表面レベルを低下させることを示すデータを提示する。

【図 12 B】Fc バリエントを含む抗 CD 33 抗体バリエントが初代ヒト樹状細胞における CD 33 の細胞表面レベルを低下させることを示すデータを提示する。

【図 12 C】Fc バリエントを含む抗 CD 33 抗体バリエントが初代ヒト樹状細胞における CD 33 の細胞表面レベルを低下させることを示すデータを提示する。

【発明を実施するための形態】

【0045】

30

本開示は、抗 CD 33 抗体（例えば、モノクローナル抗体）；かかる抗体を作製及び使用する方法；かかる抗体を含む医薬組成物；かかる抗体をコードする核酸；ならびにかかる抗体をコードする核酸を含む宿主細胞に関する。

【0046】

本明細書に記載または参照される技術及び手法は、当業者には一般に熟知されており、従来の方法論、例えば、Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.、Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003)、Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000) に記載されているような広く利用されている方法論を使用して一般的に用いられている。

40

【0047】

I. 定義

「CD 33」または「CD 33 ポリペプチド」という用語は、特記なき限り、本明細書では同義に使用され、本明細書では、霊長類（例えば、ヒト及びカニクイザル）及びげっ歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源に由来する任意の天然 CD 33 を意味する。いくつかの実施形態において、この用語は、野生型配列

50

と、天然に存在するバリエーション配列、例えば、スプライスバリエーションまたはアレルバリエーションの両方を包含する。いくつかの実施形態において、この用語は、「完全長」のプロセッシングされていないCD33とともに、細胞内でのプロセッシングから生じる任意の形態のCD33を包含する。いくつかの実施形態において、CD33は、ヒトCD33アイソフォーム1（NCBI参照配列：NP_001763.3）である。いくつかの実施形態において、例示的なヒトCD33のアミノ酸配列は、配列番号1である。カニクイザルCD33のアミノ酸配列は、配列番号2（NCBI参照配列：XP_005590138.1）である。

【0048】

「抗CD33抗体」、「CD33に結合する抗体」、及び「CD33に特異的に結合する抗体」という用語は、抗体が診断剤及び／または治療剤としてCD33を標的とするのに有用となるように十分な親和性でCD33に結合することができる抗体を意味する。一実施形態において、無関係の非CD33ポリペプチドへの抗CD33抗体の結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定したとき、CD33への抗体の結合の約10%未満である。特定の実施形態において、CD33に結合する抗体は、 $<1\mu\text{M}$ 、 $<100\text{nM}$ 、 $<10\text{nM}$ 、 $<1\text{nM}$ 、 $<0.1\text{nM}$ 、 $<0.01\text{nM}$ 、または $<0.001\text{nM}$ （例えば、 10^{-8}M 以下、例えば $10^{-8}\text{M}\sim 10^{-13}\text{M}$ 、例えば、 $10^{-9}\text{M}\sim 10^{-13}\text{M}$ ）の解離定数（KD）を有する。特定の実施形態において、抗CD33抗体は、異なる種に由来するCD33間で保存されるCD33のエピトープに結合する。

【0049】

抗体の標的分子への結合に関して、特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド標的上のエピトープへの「特異的結合」またはそれに「特異的に結合する」またはそれに「特異的」という用語は、非特異的相互作用とは測定可能な程度に異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、ある分子の結合を対照分子の結合と比較して決定することによって測定することができる。例えば、特異的結合は、標的に類似した対照分子、例えば、過剰量の非標識標的との競合によって決定され得る。この場合、特異的結合は、標識標的のプローブへの結合が過剰量の非標識標的によって競合的に阻害される場合に示される。特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド標的上のエピトープへの「特異的結合」またはそれに「特異的に結合する」またはそれに「特異的」という用語は、本明細書で使用される場合、例えば、標的へのKDが約 10^{-4}M 以下、 10^{-5}M 以下、 10^{-6}M 以下、 10^{-7}M 以下、 10^{-8}M 以下、 10^{-9}M 以下、 10^{-10}M 以下、 10^{-11}M 以下、 10^{-12}M 以下である、またはKDが $10^{-4}\text{M}\sim 10^{-6}\text{M}$ もしくは $10^{-6}\text{M}\sim 10^{-10}\text{M}$ もしくは $10^{-7}\text{M}\sim 10^{-9}\text{M}$ の範囲である分子によって表され得る。当業者には理解されるであろうが、親和性及びKD値は逆相関している。抗原に対する高い親和性は、低いKD値によって測定される。一実施形態において、「特異的結合」という用語は、ある分子がいかなる他のポリペプチドまたはポリペプチドエピトープにも実質的に結合することなく特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド上のエピトープに結合するような結合を意味する。

【0050】

「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書では「抗体」と同義に使用される。本明細書における「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、例えば少なくとも2つのインタクト抗体から形成されたもの、及び抗体断片（ただし、所望の生物学的活性を呈する場合に限る）を具体的に包含する。

【0051】

「天然抗体」とは、通常、2つの同一の軽（「L」）鎖及び2つの同一の重（「H」）鎖から構成される約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。各軽鎖は、1つのジスルフィド共有結合によって重鎖に結合しているが、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で異なる。各重鎖及び軽鎖は、規則的な間隔を置いた鎖内ジスルフィド架橋も有する。各重鎖は、一方の末端に可変ドメイン（V

10

20

30

40

50

H)を有し、これにいくつかの定常ドメインが続く。各軽鎖は、一方の末端に可変ドメイン(V_L)を有し、他方の末端に定常ドメインを有する。軽鎖の定常ドメインは重鎖の第1の定常ドメインと並び、軽鎖の可変ドメインは重鎖の可変ドメインと並ぶ。特定のアミノ酸残基は、軽鎖及び重鎖の可変ドメイン間に界面を形成すると考えられている。

【0052】

異なるクラスの抗体の構造及び特性については、例えば、Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6を参照されたい。

10

【0053】

いずれの脊椎動物種由来の軽鎖も、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいてカップ(「κ」)及びラムダ(「λ」)と呼ばれる2つの明確に異なる種類のうちの1つに割り当てることができる。免疫グロブリンは、重鎖の定常ドメイン(CH)のアミノ酸配列に応じて、異なるクラスまたはアイソタイプに割り当てることができる。免疫グロブリンには、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMの5つのクラスがあり、それぞれ、アルファ(「α」)、デルタ(「δ」)、イプシロン(「ε」)、ガンマ(「γ」)、及びミュー(「μ」)と表記される重鎖を有する。γ及びαのクラスは、CH配列及び機能の比較的わずかな相違に基づいてサブクラス(アイソタイプ)に更に分類され、例えばヒトは、次のサブクラス: IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2を発現する。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元構成は周知であり、例えば、Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W. B. Saunders Co., 2000)に大まかに記載されている。

20

【0054】

本開示の抗CD33抗体などの抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを意味する。重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、それぞれ、「V_H」及び「V_L」という場合がある。これらのドメインは、一般に、抗体のうち(同じクラスの他の抗体と比べて)可変性が最も高い部分であり、抗原結合部位を含む。

【0055】

30

「可変」という用語は、可変ドメインの特定のセグメントの配列が、本開示の抗CD33抗体などの抗体間の配列で大幅に異なるという事実に関するものである。可変ドメインは抗原結合を媒介し、特定の抗原に対する特定の抗体の特異性を定義する。しかしながら、可変性は、可変ドメイン全体に均一に分布しているわけではない。むしろ、軽鎖と重鎖の両方の可変ドメイン中の超可変領域(HVR)と呼ばれる3つのセグメントに集中している。可変ドメインのうち、より高度に保存された部分は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々、4つのFR領域を含み、これらの大部分は、3つのHVRで接続されたβシート構成をとり、これら3つのHVRはループを形成し、このループがβシート構成を接続し、場合によってはその一部を形成している。各鎖内のHVRは、FR領域によって近接して互いに結び付いており、他方の鎖のHVRとともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する(Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)を参照されたい)。定常ドメインは、抗体の抗原への結合に直接関与しないが、抗体依存性細胞毒性における抗体の関与などの様々なエフェクター機能を呈する。

40

【0056】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体集団から得られる抗体、例えば本開示の抗CD33モノクローナル抗体を意味する。すなわち、その集団に含まれる個々の抗体は、微量で存在し得る可能性のある天然に存在する変異

50

及び／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化など）を除き、同一である。モノクローナル抗体は、単一の抗原性部位に対するものであり、高度に特異的である。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。その特異性に加えて、モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ培養によって合成され、他の免疫グロブリンが夾雑していないという点で有利である。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体集団から得られるという抗体の特徴を示すものであり、いずれかの特定の方法による抗体の生成を必要とするものとして解釈されてはならない。例えば、本開示に従って使用されるモノクローナル抗体は、次の方法、すなわち、DNA（複数可）、ウイルス様粒子、ポリペプチド（複数可）、及び／または細胞（複数可）のうちの1つ以上を用いたラット、マウス、ウサギ、モルモット、ハムスター及び／またはニワトリを含むがこれらに限定されない動物の免疫法、ハイブリドーマ法、B細胞クローニング方法、組み換えDNA法、ならびにヒト免疫グロブリン遺伝子座またはヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部または全てを有する動物においてヒト抗体またはヒト様抗体を生成するための技術のうちの1つ以上を含むがこれらに限定されない、種々の技術によって作製することができる。

10

【0057】

「完全長抗体」、「インタクト抗体」、または「全抗体」という用語は同義に使用され、抗体断片とは対照的に実質的にインタクトな形態にある本開示の抗CD33抗体などの抗体を意味する。具体的には、全抗体は、Fc領域を含む重鎖及び軽鎖を有するものを含む。定常ドメインは、天然配列の定常ドメイン（例えば、ヒト天然配列の定常ドメイン）であってもよいし、そのアミノ酸配列バリエーションであってもよい。場合によっては、インタクト抗体は、1つ以上のエフェクター機能を有し得る。

20

【0058】

「抗体断片」とは、インタクト抗体が結合する抗原に結合するインタクト抗体の一部分を含む、インタクト抗体以外の分子を意味する。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂及びFv断片；ダイアボディ；線状抗体（米国特許第5641870号、実施例2；Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062(1995)を参照されたい）；一本鎖抗体分子、及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が挙げられる。

30

【0059】

本開示の抗CD33抗体などの抗体をパepsin消化すると、「Fab」断片と呼ばれる2つの同一の抗原結合性断片と、残りの「Fc」断片とが生成される。「Fc」断片とは、容易に結晶化できることを反映した呼称である。Fab断片は、軽鎖全体と、それに加えて重鎖の可変領域ドメイン(V_H)と、一方の重鎖の第1の定常ドメイン(C_{H1})とからなる。各Fab断片は、抗原結合に関しては一価であり、すなわち、単一の抗原結合部位を有する。抗体をpepsin処理すると、単一の大きなF(ab')₂断片が得られる。この断片は、異なる抗原結合活性を有する2つのジスルフィド結合したFab断片にほぼ対応し、依然として抗原を架橋することができる。Fab'断片は、C_{H1}ドメインのカルボキシ末端に、抗体ヒンジ領域に由来する1つ以上のシステインを含む、いくつかの追加の残基を有する点で、Fab断片とは異なる。Fab'-SHとは、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が遊離チオール基を持つFab'の本明細書における呼称である。F(ab')₂抗体断片は、元来、ヒンジシステインを間に有する一対のFab'断片として生成された。抗体断片の他の化学カップリングも公知である。

40

【0060】

Fc断片は、ジスルフィドによって互いに結び付けられた両重鎖のカルボキシ末端部分を含む。抗体のエフェクター機能はFc領域の配列によって決定される。この領域はまた、特定の細胞型に見出されるFc受容体(FcR)によって認識される。

【0061】

本開示の抗CD33抗体などの抗体の「機能性断片」は、インタクト抗体の一部分を含

50

み、これは一般に、インタクト抗体の抗原結合領域もしくは可変領域、または修飾されたFcR結合能力を保持する、または有する、抗体のFc領域を含む。抗体断片の例としては、線状抗体、一本鎖抗体分子、及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が挙げられる。

【0062】

「ダイアボディ」という用語は、短いリンカー（約5～10個の残基）をV_HドメインとV_Lドメインとの間に用い、可変ドメインの鎖内ペアリングではなく鎖間ペアリングが達成されるようにし、それによって二価断片、すなわち2つの抗原結合部位を有する断片が生じるようにsFv断片（前段落参照）を構築することによって調製された、小さな抗体断片を意味する。二重特異性ダイアボディは、2つの抗体のV_Hドメイン及びV_Lドメインが異なるポリペプチド鎖上に存在している、2つの「交差」sFv断片のヘテロ二量体である。

【0063】

本明細書で使用される場合、「キメラ抗体」とは、本開示のキメラ抗CD33抗体などの抗体（免疫グロブリン）であって、重鎖及び／または軽鎖の一部が、特定の種に由来する抗体または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一または相同であり、鎖（複数可）の残部が、別の種に由来する抗体または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一または相同である抗体、ならびにかかる抗体の断片（ただし、所望の生物学的活性を呈する場合に限る）を意味する。本明細書における目的のキメラ抗体としては、PRIMATIZED（登録商標）抗体が挙げられ、この抗体の抗原結合領域は、例えば、マカクザルを目的の抗原で免疫することによって生成される抗体に由来する。本明細書で使用される場合、「ヒト化抗体」は、「キメラ抗体」のサブセットとして使用される。

【0064】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」型、例えば本開示の抗CD33抗体のヒト化型は、非ヒトHVR由来のアミノ酸残基及びヒトFR由来のアミノ酸残基を含むキメラ抗体である。特定の実施形態において、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、そのHVR（例えば、CDR）の全てまたは実質的に全ては、非ヒト抗体のものに対応し、FR全てまたは実質的に全ては、ヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、場合により、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含み得る。抗体、例えば非ヒト抗体の「ヒト化型」とは、ヒト化を経た抗体を意味する。

【0065】

「ヒト抗体」とは、ヒトによって生成された本開示の抗CD33抗体などの抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有し、及び／または本明細書に開示されるヒト抗体を作製するための技術のいずれかを使用して作製された抗体である。このヒト抗体の定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を明確に除外する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリ及び酵母ディスプレイライブラリを含む当該技術分野で公知の様々な技術を使用して生成することができる。ヒト抗体は、抗原投与に応答してかかる抗体を生成するように修飾されているが内因性遺伝子座が無効化されているトランスジェニック動物、例えば、免疫化異種マウスに抗原を投与することにより調製することができ、また、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術によって生成することもできる。

【0066】

本明細書で使用されるとき、「超可変領域」、「HVR」、「またはHV」という用語は、抗体可変ドメイン、例えば本開示の抗CD33抗体の抗体可変ドメインのうち、配列に超可変性がある及び／または構造的に定義されたループを形成する領域を意味する。一般に、抗体は、6つのHVRを含み、3つがV_Hにあり（H1、H2、H3）、3つがV_Lにある（L1、L2、L3）。天然抗体では、H3及びL3が6つのHVRのうち最も高い多様性を示し、特にH3は、優れた特異性を抗体に与えるうえで固有の役割を果たすと考えられている。重鎖のみからなる天然に存在するラクダ科抗体は、軽鎖がない状態で、

10

20

30

40

50

機能的であり、安定している。

【0067】

HVRに関するいくつかの記述が本明細書で使用されており、本明細書に包含される。いくつかの実施形態において、HVRは、配列可変性に基づくKabatによる相補性決定領域(CDR)であり得、最も一般的に使用されているものである(Kabatら、上掲)。いくつかの実施形態において、HVRは、Chothia CDRであり得る。Chothiaは、配列可変性ではなく、構造的ループの位置に関するものである(Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。いくつかの実施形態において、HVRは、AbM HVRであり得る。AbM HVRは、Kabat CDRとChothia構造的ループとの間の折衷案に相当し、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されている。いくつかの実施形態において、HVRは、「接触」HVRであり得る。「接触」HVRは、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づく。これらのHVRの各々の残基を、以下に示す。

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

【0068】

HVRは、次の「伸長HVR」を含み得る：VL中、24～36または24～34 (L1)、46～56または50～56 (L2)、及び89～97または89～96 (L3)、ならびにVH中、26～35 (H1)、50～65または49～65 (好ましい実施形態) (H2)、及び93～102、94～102、または95～102 (H3)。可変ドメイン残基は、これらの伸長HVRの定義の各々に対して、Kabatら (上掲) に従ってナンバリングされる。

【0069】

「フレームワーク」または「FR」残基は、本明細書に定義されるHVR残基以外の可変ドメイン残基である。

【0070】

本明細書で使用する「アクセプターヒトフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来するVLまたはVHフレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに「由来する」アクセプターヒトフレームワークは、当該フレームワークと同じアミノ酸配列を含んでもよいし、既存のアミノ酸配列変化を含んでもよい。いくつかの実施形態において、既存のアミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、または2以下である。既存のアミノ酸変化がVH中に存在する場合、好ましいアミノ酸変化は、位置71H、73H、及び78Hのうちの3個、2個、または1個のみに生じ、例えば、当該位置のアミノ酸残基は、71A、73T、及び／または78Aであり得る。一実施形態において、VLアクセプターヒトフレームワークの配列は、VLヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

【0071】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンのVL配列またはVHフ

レームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンのV_L配列またはV_H配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループから行われる。一般に、配列のサブグループは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)にあるようなサブグループである。例として、V_Lの場合、サブグループは、Kabatら(上掲)にあるようなサブグループカッパI、カッパII、カッパIII、またはカッパIVであり得る。更に、V_Hの場合、サブグループは、Kabatら(上掲)にあるようなサブグループI、サブグループII、またはサブグループIIIであり得る。
【0072】

10

例えば本開示の抗CD33抗体の特定位置における「アミノ酸修飾」は、特定の残基の置換もしくは欠失、または特定の残基に隣接する少なくとも1つのアミノ酸残基の挿入を意味する。特定の残基に「隣接する」挿入とは、その1~2個の残基内への挿入を意味する。挿入は、特定残基のN末端側またはC末端側であり得る。本明細書において好ましいアミノ酸修飾は、置換である。

【0073】

「親和性成熟」抗体、例えば本開示の親和性成熟抗CD33抗体とは、その1つ以上のHVRに1つ以上の変化を有し、その結果、抗原に対する抗体の親和性が、それらの変化(複数可)を有しない親抗体と比較して向上した抗体である。一実施形態において、親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモルまたは更にはピコモルの親和性を有する。親和性成熟抗体は、当該技術分野で公知の手法によって生成される。例えば、Marks et al. Bio/Technology 10:779-783 (1992)は、V_HドメインとV_Lドメインのシャッフリングによる親和性成熟について記載している。HVR及び/またはフレームワーク残基のランダム変異誘発は、例えば、Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994)、Schier et al. Gene 169:147-155 (1995)、Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995)、Jackson et al. J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995)、及びHawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)に記載されている。

20

30

【0074】

「Fv」は、完全な抗原認識部位及び抗原結合部位を含む最小の抗体断片である。この断片は、1つの重鎖及び1つの軽鎖の可変領域ドメインが非共有結合で緊密に会合した二量体からなる。これら2つのドメインの折り畳みにより、抗原結合のためのアミノ酸残基を寄与し、抗原結合特異性を抗体に与える6つの超可変ループ(H鎖及びL鎖から各々3ループ)が生じる。しかしながら、単一の可変ドメイン(または抗原に特異的な3つのHVRだけを含むFvの半分)であっても、結合部位全体よりも低い親和性であるにせよ、抗原を認識し結合する能力を有する。

【0075】

40

「一本鎖Fv」は、「sFv」または「scFv」とも略され、結合して単一のポリペプチド鎖になったV_H及びV_Lの抗体ドメインを含む抗体断片である。好ましくは、sFvポリペプチドは、V_HドメインとV_Lドメインとの間にポリペプチドリンカーを更に含み、これによりsFvは、抗原結合に望ましい構造を形成することができる。

【0076】

抗体「エフェクター機能」は、抗体のFc領域(天然配列Fc領域またはアミノ酸配列バリエーションFc領域)に起因する生物学的活性を意味し、抗体アイソタイプによって異なる。

【0077】

本明細書における「Fc領域」という用語は、天然配列Fc領域及びバリエーションFc領

50

域を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は多様であり得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は通常、Cys 226位のアミノ酸残基から、またはPro 230から、そのカルボキシル末端まで広がると定義される。Fc領域のC末端リジン（EUNANバリングシステムによると残基447）は、例えば、抗体の生成もしくは精製中に、または抗体の重鎖をコードする核酸を組み換え操作することにより、除去され得る。したがって、インタクト抗体の組成物は、全K447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されていない抗体集団、及びK447残基を有する抗体と有しない抗体との混合物を有する抗体集団を含み得る。本開示の抗体における使用に好適な天然配列Fc領域には、ヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4が含まれる。

10

【0078】

「天然配列Fc領域」は、天然にみられるFc領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトFc領域には、天然配列ヒトIgG1 Fc領域（非A及びAアロタイプ）、天然配列ヒトIgG2 Fc領域、天然配列ヒトIgG3 Fc領域、及び天然配列ヒトIgG4 Fc領域、ならびにそれらの天然に存在するバリエーションが含まれる。

【0079】

「バリエーションFc領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾、好ましくは1つ以上のアミノ酸置換（複数可）により、天然配列Fc領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、バリエーションFc領域は、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域と比較して、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域内に少なくとも1つのアミノ酸置換、例えば、約1～約10のアミノ酸置換、好ましくは約1～約5のアミノ酸置換を有する。本明細書におけるバリエーションFc領域は、好ましくは、天然配列Fc領域及び／または親ポリペプチドのFc領域と少なくとも約80%の相同性、最も好ましくはそれらと少なくとも約90%の相同性、より好ましくはそれらと少なくとも約95%の相同性を有する。

20

【0080】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を表す。好ましいFcRは、天然配列ヒトFcRである。更に、好ましいFcRは、IgG抗体に結合するもの（ガンマ受容体）であり、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIサブクラスの受容体を含み、これらの受容体のアレルバリエーション及び選択的スプライシング形態を含む。FcγRII受容体は、FcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「抑制性受容体」）を含み、これらは、同様のアミノ酸配列を有し、主にその細胞質ドメインが異なる。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質ドメインに免疫受容体活性化チロシンモチーフ（「ITAM」）を含む。抑制性受容体FcγRIIBは、その細胞質ドメインに免疫受容体抑制性チロシンモチーフ（「ITIM」）を含む。他のFcRは、今後同定されるものを含め、本明細書では「FcR」という用語に包含される。FcRはまた、抗体の血清中半減期を延長し得る。

30

【0081】

本明細書で使用される場合、ペプチド、ポリペプチド、または抗体配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（%）」及び「相同性」は、配列をアラインし、必要に応じてギャップを導入して、最大の配列同一性パーセントを達成した後に、いかなる保存的置換も配列同一性の一部とみなさずに、特定のペプチドまたはポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である、候補配列中のアミノ酸残基の割合を意味する。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、当該技術分野の技術範囲内にある様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMEGALIGN（商標）（DNASTAR）ソフトウェアなどの公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者であれば、比較する配列の完全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な当該技術分野において公知の任意のアルゴリズムを含め、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。

40

【0082】

50

「競合する」という用語は、同じエピトープについて競合する抗体（例えば、中和抗体）の文脈で使用される場合、試験される抗体が、共通の抗原（例えば、CD33またはその断片）に対する参照分子（例えば、リガンド、または参照抗体）の特異的結合を防止または阻害する（例えば、低減させる）、アッセイにおいて決定される、抗体間の競合を意味する。抗体が別の抗体と競合するかどうかを決定するには、多数の種類の競合結合アッセイ、例えば、固相直接または間接ラジオイムノアッセイ（RIA）、固相直接または間接酵素イムノアッセイ（EIA）、サンドイッチ競合アッセイ（例えば、Stahli et al., 1983, Methods in Enzymology 9:242-253を参照されたい）、固相直接ビオチン-アビジンEIA（例えば、Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137:3614-3619を参照されたい）、固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ（例えば、Harlow and Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Pressを参照されたい）、1-125標識を使用した固相直接標識RIA（例えば、Morel et al., 1988, Molec. Immunol. 25:7-15を参照されたい）、固相直接ビオチン-アビジンEIA（例えば、Cheung, et al., 1990, Virology 176:546-552を参照されたい）、及び直接標識RIA（Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82）を使用することができる。典型的に、かかるアッセイは、固体表面に結合した精製された抗原、またはこれらのいずれかを有する細胞、未標識の試験抗体、及び標識された参照抗体の使用を伴う。競合的阻害は、試験抗体の存在下で固体表面または細胞に結合した標識の量を決定することによって測定される。通常、試験抗体は過剰量で存在する。競合アッセイによって同定される抗体（競合抗体）には、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体と、立体障害が生じるのに十分な程度に、参照抗体の結合するエピトープに近い、近接するエピトープに結合する抗体とが含まれる。競合結合を決定する方法に関する更なる詳細をここで提供する。通常、競合抗体が過剰量で存在するとき、競合抗体は、共通の抗原に対する参照抗体の特異的結合を少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、97.5%、及び／または約100%阻害する（例えば、低減させる）。

【0083】

本明細書で使用される場合、CD33ポリペプチドと第2のポリペプチドとの間の「相互作用」は、限定するものではないが、タンパク質間相互作用、物理的相互作用、化学的相互作用、結合、共有結合、及びイオン結合を包含する。本明細書で使用される場合、抗体が2つのポリペプチド間の相互作用を中断、低減、または完全に消失させるとき、その抗体は、2つのポリペプチド間の「相互作用を阻害する」。その本開示の抗体が2つのポリペプチドのうちの1つに結合するとき、その抗体は、2つのポリペプチド間の「相互作用を阻害する」。いくつかの実施形態において、相互作用は、少なくとも約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、97.5%、及び／または約100%阻害され得る。

【0084】

「エピトープ」という用語には、抗体が結合することのできるあらゆる決定基が含まれる。エピトープは、抗原のうち、その抗原を標的とする抗体が結合する領域であり、抗原がポリペプチドである場合には、抗体に直接接触する特定のアミノ酸を含む。ほとんどの場合、エピトープはポリペプチド上に存在するが、いくつかの事例では、他の種類の分子、例えば核酸上に存在することもある。エピトープ決定基は、化学的に活性な表面分子群、例えばアミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基またはスルホニル基を含み得、特定の三次元構造的特徴、及び／または特定の電荷特徴を有し得る。一般に、特定の標的抗原に特異的な抗体は、ポリペプチド及び／または高分子の複合混合物において、標的抗原上のエピトープを優先的に認識する。

【0085】

「アゴニスト」抗体または「活性化」抗体とは、抗体が抗原に結合した後、抗原の1つ以上の活性または機能を誘導する（例えば、増大させる）抗体である。

【0086】

「アンタゴニスト」抗体または「遮断」抗体または「阻害」抗体とは、抗体が抗原に結合した後、1つ以上のリガンドに対する抗原の結合を低減させる、阻害する、及び／または消失させる（例えば、減少させる）抗体、及び／または、抗体が抗原に結合した後、抗原の1つ以上の活性または機能を低減させる、阻害する、及び／または消失させる（例えば、減少させる）抗体である。いくつかの実施形態において、アンタゴニスト抗体、または遮断抗体、または阻害抗体は、1つ以上のリガンドへの抗原の結合及び／または抗原の1つ以上の活性もしくは機能を実質的または完全に阻害する。

10

【0087】

「単離された」抗体、例えば単離された本開示の抗CD33抗体は、その産生環境の成分から（例えば、自然にまたは組み換え的に）同定、分離、及び／または回収されたものである。好ましくは、単離された抗体は、その産生環境に由来する他の全ての夾雑成分と会合していない。その産生環境に由来する夾雑成分、例えば、組み換えトランスフェクト細胞に起因するものなどは、典型的に抗体の研究上、診断上、または治療上の使用を妨げる物質であり、これらには、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性または非タンパク質性の溶質が含まれ得る。好ましい実施形態において、本抗体は、（1）抗体が、例えば、ローリー法によって決定したときに、95重量%超、いくつかの実施形態では99重量%超になるまで、（2）スピニングカップ配列決定装置の使用により、少なくとも15個のN末端もしくは内部アミノ酸配列の残基を得るのに十分な程度になるまで、または（3）クマシーブルー染色もしくは好ましくはシルバー染色を使用して、非還元条件もしくは還元条件下でSDS-PAGEによって均質性が得られるまで、精製される。単離された抗体には、組み換えT細胞内でのin situ抗体が含まれるが、これは、抗体の天然環境の少なくとも1つの構成成分が存在していないためである。しかしながら、通常、単離されたポリペプチドまたは抗体は、少なくとも1つの精製ステップによって調製される。

20

【0088】

本開示の抗CD33抗体などの抗体をコードする「単離された」核酸分子は、その核酸分子が生成された環境において通常会合している少なくとも1つの夾雑核酸分子から同定及び分離された核酸分子である。好ましくは、単離された核酸は、産生環境に関連する全ての成分と会合していない。本明細書のポリペプチド及び抗体をコードする単離された核酸分子は、天然にみられる形態または状況とは異なる形態で存在する。したがって、単離された核酸分子は、細胞内に天然に存在する本明細書のポリペプチド及び抗体をコードする核酸とは区別される。

30

【0089】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、結合している別の核酸を輸送することができる核酸分子を意味することを意図する。ベクターの一種には「プラスミド」がある。プラスミドは、環状二本鎖DNAで、追加のDNAセグメントをライゲーションすることができるものを意味する。別の種類のベクターは、ファージベクターである。別の種類のベクターは、ウイルスペクターであり、この場合、追加のDNAセグメントは、ウイルスゲノム中にライゲーションすることができる。特定のベクターは、導入された宿主細胞中で自己複製が可能である（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクター及びエピソード哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソード哺乳動物ベクター）は、宿主細胞に導入すると、宿主細胞のゲノム中に組み込むことができ、これにより宿主ゲノムとともに複製される。更に、特定のベクターは、作動可能に連結した遺伝子の発現を導くことができる。そのようなベクターは、本明細書において、「組み換え発現ベクター」または単に「発現ベクター」という。一般に、組み換えDNA技術において利用される発現ベクターは、プラスミドの形態である場合が多い。本明細書において、「プラスミド」及び「ベクター」は、プラスミドがベクターのうちで最も一般的に使用される形態であるため、同義に使用され得る。

40

50

【0090】

「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、本明細書では同義に使用され、任意の長さのヌクレオチドの重合体を意味し、DNA及び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、修飾ヌクレオチドもしくは塩基、及び／またはそれらの類似体、あるいはDNAもしくはRNAポリメラーゼによりまたは合成反応により重合体中に組み込まれ得る任意の基質であり得る。

【0091】

「宿主細胞」は、ポリヌクレオチド挿入物を組み込むためのベクター（複数可）のレシピエントになり得るか、レシピエントになっている個々の細胞または細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一の宿主細胞の子孫を含み、その子孫は、自然発生的、偶発的または意図的な変異により、元の親細胞と必ずしも完全に同一でない場合がある（形態学的またはゲノムDNA相補鎖において）。宿主細胞は、本開示のポリヌクレオチド（複数可）を*in vivo*でトランスフェクトした細胞を含む。

10

【0092】

本明細書で使用される「担体」には、用いられる投与量及び濃度で、その担体に曝露される細胞または哺乳動物に対して無毒である、薬学的に許容される担体、賦形剤または安定剤が含まれる。

【0093】

本明細書で使用される場合、「予防する」という用語は、個体における特定の疾患、障害、または病態の発生または再発に対する予防法を提供することを含む。個体は、特定の疾患、障害、もしくは病態にかかりやすく感受性があり得る、またはかかる疾患、障害、もしくは病態を発症するリスクがあり得るが、その疾患、障害、または病態の診断を未だ受けていないものである。

20

【0094】

本明細書で使用される場合、特定の疾患、障害、または病態を発症する「リスクがある」個体は、検出可能な疾患または疾患の症状を有していてもいなくてもよく、本明細書に記載される治療方法の前に、検出可能な疾患または疾患の症状を呈していてもいなくてもよい。「リスクがある」とは、個体が1つ以上のリスク因子を有することを意味し、リスク因子は、当該技術分野で公知である特定の疾患、障害、または病態の発症と相関する測定可能なパラメータである。これらのリスク因子のうちの1つ以上を有する個体は、これらのリスク因子のうちの1つ以上を有しない個体と比べ、特定の疾患、障害、または病態を発症する可能性が高い。

30

【0095】

本明細書で使用される場合、「治療」という用語は、臨床病理の過程で治療される個体の自然経過を変化させるように設計された臨床的介入を意味する。治療の望ましい効果としては、特定の疾患、障害または病態の進行速度の減少、病的状態の回復または緩和、及び寛解または予後の改善が挙げられる。個体が「治療」に成功するのは、例えば、特定の疾患、障害、または病態に関連する1つ以上の症状が軽減または消失した場合である。

【0096】

「有効量」は、少なくとも、所望の治療結果または予防結果を達成するために必要な投与量及び期間で、有効な量を意味する。有効量は、1回以上の投与で提供され得る。本明細書における有効量は、個体の病状、年齢、性別及び体重、ならびに個体において所望の応答を引き起こす治療の能力などの因子によって異なり得る。有効量はまた、治療のあらゆる毒性または有害な影響よりも治療上有益な効果が勝るものでもある。予防的使用に関して、有益な結果または望ましい結果には、疾患のリスクの消失もしくは低下、重症度の軽減、または疾患（疾患の生化学的、組織学的及び／または行動学的症状、その合併症、ならびに疾患の発症中に呈示される中間的な病理学的表現型を含む）の発生の遅延などの結果が含まれる。治療的使用に関して、有益な結果または望ましい結果には、疾患に起因する1つ以上の症状の減弱、疾患の罹患者の生活の質の向上、疾患の治療に必要な他の薬の用量の減少、標的化などを介した別の薬の効果の増大、疾患進行の遅延、及び／または

40

50

生存期間延長などの臨床的結果が含まれる。薬物、化合物または医薬組成物の有効量は、直接的または間接的に、予防的処置または治療的処置を実施するのに十分な量である。臨床的文脈において理解されるように、薬物、化合物、または医薬組成物の有効量は、別の薬物、化合物、または医薬組成物との併用で達成されてもよいし、そうでなくてもよい。したがって、「有効量」は、1つ以上の治療剤を投与するという文脈で考慮されてもよく、また、1つ以上の他の薬剤との併用で望ましい結果が達成され得るまたは達成される場合、単一の薬剤が有効量で与えられるとみなされてもよい。

【0097】

治療、予防、またはリスク低減を目的とする「個体」は、ヒト、飼育動物及び家畜、ならびに動物園、競技用またはペット用の動物、例えば、イヌ、ウマ、ウサギ、ウシ、ブタ、ハムスター、アレチネズミ、マウス、フェレット、ラット、ネコなどを含む、哺乳動物に分類される任意の動物を意味する。いくつかの実施形態において、個体はヒトである。

10

【0098】

本明細書で使用される場合、別の化合物または組成物との「併用」投与は、同時投与及び／または異なる時間での投与を含む。併用投与はまた、合剤としての投与または別個の組成物としての投与を包含し、異なる投与頻度または間隔での投与、及び同じ投与経路または異なる投与経路を使用した投与を含む。いくつかの実施形態において、併用投与とは、同じ治療レジメンの一部としての投与である。

【0099】

本明細書で使用される「約」という用語は、この技術分野における当業者であれば容易に理解するそれぞれの値の通常の誤差範囲を意味する。本明細書における「約」を付した値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象にした実施形態を含む（かつ記載する）ものである。

20

【0100】

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場合、単数形「a」、「an」及び「the」は、文脈が特に明示しない限り、複数形を含む。例えば、「抗体」への言及は、1つの抗体からモル量などの多数の抗体までの言及であり、当業者に公知のその等価物を含むなどということである。

【0101】

本明細書に記載される本開示の態様及び実施形態は、態様及び実施形態を「含む」、態様及び実施形態「からなる」、ならびに態様及び実施形態「から本質的になる」ことを含むことを理解されたい。

30

【0102】

概説

本開示は、部分的には、1つ以上の改善及び／または向上した機能的特徴を（例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する抗CD33抗体と比べて）呈する抗CD33抗体（例えば、改善／向上した動態でCD33の細胞表面レベルを低下させる及び／またはCD33に結合する抗体を含む）；かかる抗体を作製及び使用する方法；かかる抗体を含む医薬組成物；かかる抗体をコードする核酸；ならびにかかる抗体をコードする核酸を含む宿主細胞に関する。

40

【0103】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、抗体がCD33と1つ以上の天然グリカンリガンドとの間の相互作用を阻害する能力に少なくとも部分的に起因する1つ以上の活性を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、CD33の分解、下方制御、切断、受容体脱感作、及び／またはリソソーム標的化を誘導することによって抗体がCD33の細胞発現（例えば、細胞表面発現）を低減させる能力に少なくとも部分的に起因する1つ以上の活性を有し得る。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、以下の特性のうちの1つ以上を呈する：a) 配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する抗CD33抗体のものよりも低いヒトCD33についての解離定数（ K_D ）を有する；b) 初代ヒト樹状細胞など

50

のヒト細胞に結合する；c）配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する抗CD33抗体のものよりも低い半数有効濃度（EC₅₀）でCD33の細胞表面レベルを低下させる（例えば、*in vitro*で初代ヒト樹状細胞上のCD33の細胞表面レベルを低下させる）；d）例えば、解離定数（K_D）が表面プラズモン共鳴もしくはBioLayer干渉法によって決定される場合、約0.061 nM～約0.40 nMの範囲であり得るヒトCD33についてのK_Dを有する；及び／またはe．例えば、半数有効濃度（EC₅₀）がフローサイトメトリーによって*in vitro*で決定される場合、約78 pM～約40 pMの範囲であり得るEC₅₀でCD33の細胞表面レベルを低下させる（例えば、*in vitro*で初代ヒト樹状細胞上のCD33の細胞表面レベルを低下させる）。本明細書に開示されるように、半数有効濃度（EC₅₀）は、本開示の抗CD33抗体が細胞上または細胞内のCD33の細胞レベルを、未処理の細胞のものの半分まで低下させる濃度、またはその抗体が細胞上のCD33に結合する最大半数を達成する濃度を意味する。

【0104】

有利なことには、本開示の抗CD33抗体は、対照抗CD33抗体（例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する対照抗CD33抗体）と比較してより強力に（例えば、低いEC₅₀で）CD33の細胞表面発現（例えば、最大約1.6倍または最大18倍）を低減させる（例えば、実施例3参照）。更に、有利なことには、本開示の抗CD33抗体は、対照抗CD33抗体（例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する対照抗CD33抗体）と比較してより高いCD33に対する親和性（例えば、最大およそ7倍高い親和性）（例えば、表面プラズモン共鳴によって測定してより低いK_D値）を有する。驚くべきことに、CD33に対する親和性の増大は、CD33の細胞表面発現の低減の能力または効力の増大と必ずしも相関するとは限らない。

【0105】

本開示の特定の態様は、少なくとも部分的には、細胞上のCD33の細胞表面レベルを低下させ、1つ以上のCD33活性（限定するものではないが、例えば、単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞及び／またはミクログリアの細胞増殖の低減；樹状細胞、骨髓由来樹状細胞、単球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、M2ミクログリア、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、及び／またはM2マクロファージによって誘導されるT細胞増殖の低減；好中球、樹状細胞、骨髓由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの生存率低下；好中球、樹状細胞、骨髓由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの増殖の減少；好中球、樹状細胞、骨髓由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの遊走の阻害；好中球、樹状細胞、骨髓由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの1つ以上の機能の低下；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの増殖の低減；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの全体的機能性の低下；膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、及び甲状腺癌から選択される異なる種類のがんに対する

10

20

30

40

50

有益な免疫応答の阻害；認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、本態性振戦、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、及び多発性硬化症から選択される異なる種類の神経障害に対する有益な免疫応答の阻害；腫瘍細胞上のCD33リガンドへの結合；樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、T細胞、好中球、及び／またはマクロファージ上のCD33リガンドへの結合；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上による腫瘍細胞殺傷の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上の抗腫瘍細胞増殖活性の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上の抗腫瘍細胞転移活性の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上で発現するCD86などの1つ以上の炎症性受容体の発現の調節；免疫抑制性樹状細胞、免疫抑制性マクロファージ、骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫抑制性好中球、及び制御性T細胞のうちの1つ以上の腫瘍への浸潤の増強；腫瘍、末梢血、または他のリンパ系器官における腫瘍促進性骨髄／顆粒球免疫抑制性細胞の数の増大；骨髄由来抑制性細胞腫瘍促進活性の増大；腫瘍殺傷能を有する腫瘍特異的Tリンパ球の活性化の低下；腫瘍殺傷能を有する腫瘍特異的Tリンパ球の浸潤の減少；腫瘍成長速度の増大；腫瘍再発率の増大；抗腫瘍T細胞応答を調節する1つ以上の免疫療法（場合により、1つ以上の免疫療法は、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137／4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR-5、CD39、CD70、TREM1、TREM2、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、SirpA、CD447、CSF-1受容体、及びこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上のタンパク質を標的とする免疫療法である）、または1つ以上の化学療法剤及び／またはがんワクチンの有効性の低下）の低減、中和、防止、または抑制をもたらす改善／向上した能力を含め、1つ以上の改善及び／または向上した機能的特徴を（例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する抗CD33抗体と比べて）呈する抗CD33抗体の同定に基づく。

【0106】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗CD33抗体によるがんの治療は、(i) 腫瘍浸潤性CD3⁺T細胞の数の増大；(ii) 非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞におけるCD33の細胞レベルの低下（場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は、腫瘍浸潤性細胞であるか、または場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は血液中に存在する）；(iii) 非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞の数の低減（場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は、腫瘍浸潤性細胞であるか、または場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は血液中に存在する）；(iv) 1つ以上の細胞におけるPD-L1、PD-L2、B7-H7、B7-H3、CD200R、CD163、及び／またはCD206レベルの低下（場合により、1つ以上の細胞は、非腫瘍形成性骨髄由来抑制性細胞(MDSC)である）；(v) 固形腫瘍の腫瘍成長速度の減少；(vi) 腫瘍体積の低減；(vii) 1つ以上のPD-1阻害剤の有効性の増大；(viii) 1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法の有効性の増大（場合により、1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法は、CTLA4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、LAG3、またはこれらの任

10

20

30

40

50

意の組み合わせのうちの1つ以上を標的とする) ; (i x) 1つ以上の化学療法剤の有効性の増大 (場合により、化学療法剤のうちの1つ以上は、ゲムシタビン、カペシタビン、アントラサイクリン、ドキソルビシン (*Adriamycin* (登録商標))、エピルビシン (*Ellence* (登録商標))、タキサン、パクリタキセル (*Taxol* (登録商標))、ドセタキセル (*Taxotere* (登録商標))、5-フルオロウラシル (5-FU)、シクロホスファミド (*Cytosan* (登録商標))、カルボプラチン (*Paraplatin* (登録商標))、及びこれらの任意の組み合わせである) ; (x) 非腫瘍形成性骨髄由来抑制性細胞 (M D S C) の存在下でのT細胞の増殖の増大 ; (x i) 非腫瘍形成性骨髄由来抑制性細胞 (M D S C) の分化、生存、及び／または1つ以上の機能の阻害 ; ならびに (x i i) 化学的または放射性毒素にコンジュゲートした場合の固形腫瘍及び関連する血管におけるC D 3 3発現免疫抑制性非腫瘍形成性骨髄細胞及び／または非腫瘍形成性C D 1 4発現細胞の殺傷を行い得る。

【 0 1 0 7 】

いくつかの実施形態において、本開示の骨髄細胞は、限定するものではないが、C D 4 5 + C D 1 4 + 骨髄細胞、C D 1 4 + 骨髄細胞、及び骨髄由来抑制性細胞 (M D S C) を含む。いくつかの実施形態において、本開示の骨髄細胞は、非腫瘍形成性骨髄細胞である。免疫抑制性細胞は、骨髄由来抑制性細胞 (M D S C) といわれる場合もある。ヒトの場合、M D S C は、次のマーカーの組み合わせのうちの1つによって定義され得る : (1) C D 1 4 + H L A - D R l o w / -、(2) C D 1 4 + I L 4 R α +、(3) C D 1 4 + H L A - D R - I L 4 R α +、(4) C D 3 4 + C D 1 4 + C D 1 1 b + C D 3 3 +、(5) C D 1 1 b + C D 1 4 + C D 3 3 +、(6) C D 3 3 + H L A - D R -、(7) L i n - H L A - D R -、(8) L i n - H L A - D R - C D 3 3 +、(9) L i n - H L A - D R - C D 3 3 + C D 1 1 b +、(1 0) L i n - C D 3 3 + C D 1 1 b + C D 1 5 +、(1 1) L i n - H L A - D R - C D 3 3 + C D 1 1 b + C D 1 4 - C D 1 5 +、(1 2) C D 1 1 b + C D 1 4 - C D 3 3 +、(1 3) C D 1 1 b + C D 1 4 - H L A - D R - C D 3 3 + C D 1 5 +、(1 4) C D 3 3 + H L A - D R - C D 1 5 +、(1 5) C D 1 5 + I L 4 R α +、(1 6) C D 1 1 b + C D 1 5 + C D 6 6 b +、(1 7) C D 1 5 + F S C l o w S S C h i g h、(1 8) C D 1 5 h i g h C D 3 3 +、(1 9) C D 1 1 b + C D 1 4 - C D 1 5 +、(2 0) C D 6 6 b + S S C h i g h、及び (2 1) C D 1 1 b + C D 1 5 + (*Solito Set al. Annals of the NY Academy of Sciences, 2014* も参照されたい) 。マウスの場合、M D S C は、表面マーカーC D 4 5 +、C D 1 1 b +、G r 1 +、及び／またはI L 4 R α +の発現によって定義され得る。更なる例示的な免疫抑制性単球系列は、C D 4 5 +、C D 1 1 b +、G r 1 l o w ; 及びC D 4 5 +、C D 1 1 c +である。

【 0 1 0 8 】

C D 3 3 タンパク質

一態様において、本開示は、本開示のC D 3 3 タンパク質内のエピトープなどの領域と相互作用する、または別様に結合する、単離された (例えば、モノクローナル) 抗体などの抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本抗体は、(例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する抗C D 3 3抗体と比べて) 改善／向上した動態で本開示のC D 3 3 タンパク質内のエピトープなどの領域と相互作用する、または別様に結合する。いくつかの実施形態において、本抗体は、対照抗体のものよりも (例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を有する抗C D 3 3抗体と比べて) 低い半数有効濃度 (E C 5 0) で、樹状細胞などのヒト細胞上のC D 3 3 タンパク質内のエピトープなどの領域と相互作用する、または別様に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗C D 3 3抗体は、C D 3 3 タンパク質に結合し、C D 3 3 タンパク質に結合した後、1つ以上のC D 3 3 活性、例えば、細胞上のC D 3 3 発現に関連する活性を調節する。したがって、本明細書で使用される場合、本開示のC D 3 3 タンパク質は、限定するものではないが、哺乳動物C D 3 3 タンパク質、ヒトC D 3 3 タンパク質、マウスC D 3 3 タンパク質、及びラット

10

20

30

40

50

CD33タンパク質を含む。

【0109】

CD33は、CD33分子、Siglec3、Siglec-3、CD33抗原（Gp67）、P67、Gp67、シアル酸結合Ig様レクチン3、骨髄細胞表面抗原CD33、またはFLJ00391と様々に呼ばれている。

【0110】

CD33は、限定するものではないが、マクロファージ、樹状細胞、破骨細胞、単球、及びミクログリアなどの骨髄系細胞で主に発現する免疫グロブリン様受容体である。いくつかの実施形態において、CD33は、CD64と受容体シグナル伝達複合体を形成する。いくつかの実施形態において、CD33シグナル伝達は、PI3Kまたは他の細胞内シグナルの下流阻害をもたらす。骨髄細胞では、Toll様受容体（TLR）シグナルが、例えば感染応答という文脈において、CD33活性の阻害に重要である。TLR、例えばマクロファージ及び樹状細胞において発現するTLRは、病理学的炎症応答においても重要な役割を果たす。

【0111】

ヒトCD33のアミノ酸配列を配列番号1として以下に提示する：

```
MPLLLLLLPLLWAGALAMPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYDKNSPVHGYWFREGAIIIS
RDSFVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDP SRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLSV
HVTDLTHRPKILIPGTLEPGH SKNLTCVSWACEQGTPIPSWLSAAPTSLGPRTHSSVLIITPRPQ
DHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFFPGDGS GKQETRAGVVHGAIGGAGVTALLA
LCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKSKLHGPTETSSCSGAAPT VEMDEELHY
ASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ
```

【0112】

カニクイザルCD33のアミノ酸配列を配列番号2として以下に提示する：

```
MDGEHLKGRNQGAQETSASDMPLLLLLLPLLWAGALAMPVRVLEQESVTVQEGLCVLVPCTFFHFPVPY
HTRNSPVHGYWFREGAIVSLDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDP SRNNCSLSIVDARRRDNGSYF
FRMEKGSTKYSYKSTQLSVHVTDLTHRPQILIPGALDPDHSKNLTCSVPWACEQGTPIPSWMSAAPT
SLGLRTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFPGAGVTTERTIQLNVSYASQNPRTDIFLGDGSGKQGV
VQGAIGGAGVTVLLALCLCLIFFTVKTHRRKAARTAVGRIDTHPATGPTSSKHQKSKLHGATETSGC
SGTTLTVEMDEELHYASLNFHGMNPSEDSTEYSEVRTQ
```

【0113】

いくつかの実施形態において、CD33は、シグナル配列を含むプレタンパク質である。いくつかの実施形態において、CD33は、成熟タンパク質である。いくつかの実施形態において、成熟CD33タンパク質は、シグナル配列を含まない。いくつかの実施形態において、成熟CD33タンパク質は、細胞上に発現している。いくつかの実施形態において、成熟CD33タンパク質は、限定するものではないが、ヒト樹状細胞、ヒトマクロファージ、ヒト単球、ヒト破骨細胞、ヒト好中球、ヒトT細胞、ヒトヘルパーT細胞、ヒト細胞傷害性T細胞、ヒト顆粒球、及びヒトミクログリアを含む細胞で、例えば細胞の表面で発現している。本開示の抗CD33抗体は、本明細書に開示される任意の細胞上に発現している本開示のCD33タンパク質のいずれかに結合し得る。

【0114】

ヒトCD33などの本開示のCD33タンパク質は、限定するものではないが、配列番号1のアミノ酸残基1～17に位置するシグナル配列、配列番号1のアミノ酸残基19～135に位置する細胞外免疫グロブリン様可変型（IgV）ドメイン、配列番号1のアミ

10

20

30

40

50

ノ酸残基 145～228 に位置する Ig 様 C2 型ドメイン、配列番号 1 のアミノ酸残基 260～282 に位置する膜貫通ドメイン、配列番号 1 のアミノ酸残基 338～343 に位置する ITIM モチーフ 1、及び配列番号 1 のアミノ酸残基 356～361 に位置する ITIM モチーフ 2 を含むいくつかのドメインを含む。当業者には理解されるであろうが、本開示のドメインの開始残基及び終了残基は、ドメインの決定に使用されるコンピュータモデリングプログラムまたは使用される方法に応じて異なり得る。

【0115】

本開示の特定の態様は、ヒト CD33、または限定するものではないが哺乳動物 CD33 タンパク質及び他の種由来の CD33 オーソログを含むそのホモログに結合する抗 CD33 抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、改善／向上した結合動態及び／または CD33 の細胞レベルの低下などの改善した活性で（例えば、配列番号 3 の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 4 の配列を含む軽鎖可変領域を有する抗 CD33 抗体と比べて）、ヒト CD33、またはそのホモログに結合する。

10

【0116】

したがって、本明細書で使用される場合、本開示の「CD33」タンパク質は、限定するものではないが、哺乳動物 CD33 タンパク質、ヒト CD33 タンパク質、霊長類 CD33 タンパク質、マウス CD33 タンパク質、及びラット CD33 タンパク質を含む。更に、本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト CD33 タンパク質、霊長類 CD33 内のエピトープに結合し得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト CD33 に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、カニクイザル CD33 に結合し得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト CD33 及びカニクイザル CD33 に結合し得る。

20

【0117】

いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、pH 依存的に CD33 に結合し得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、中性 pH で CD33 に結合し、CD33 タンパク質から解離することなく内在化され得る。あるいは、酸性 pH で、本開示の抗体は、内在化した後、CD33 から解離し、次いで、エンドソーム／リソソーム経路によって分解される。特定の実施形態において、抗 CD33 抗体は、5.5～8.0、5.5～7.5、5.5～7.0、5.5～6.5、5.5～6.0、6.0～8.0、6.5～8.0、7.0～8.0、7.5～8.0、6.0～7.5、6.0～7.0、6.5～7.5 の範囲の pH で CD33 に結合する。特定の実施形態において、抗 CD33 抗体は、6.0 未満、5.5 未満、5.0 未満、4.5 未満、4.0 未満、3.5 未満、3.0 未満、2.5 未満、または 2.0 未満の pH で CD33 から解離する。

30

【0118】

いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、本開示の野生型 CD33 タンパク質、その天然に存在するバリエント、及び／またはその疾患バリエントに結合する。

【0119】

いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、ヒト CD33 のバリエントに結合し、このバリエントは、(C) ヌクレオチドの一塩基多型 (SNP) rs3865444C を含む。いくつかの実施形態において、CD33 の細胞レベルを低下させる及び／または CD33 と結合もしくは相互作用する本開示の抗体は、ヒト CD33 のバリエントに結合し、このバリエントは、(A) ヌクレオチドの SNP rs3865444A を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト CD33 のバリエントに結合し、このバリエントは、SNP rs3865444^{A/C} または rs3865444^{C/C} を含む。

40

【0120】

いくつかの実施形態において、CD33 の細胞レベルを低下させる及び／または CD33 と結合もしくは相互作用する本開示の抗体は、ヒト CD33 のバリエントに結合し、このバリエントは、GG ヌクレオチド、AA ヌクレオチド、または AG ヌクレオチドの SNP rs35112940 を含む。いくつかの実施形態において、CD33 の細胞レベル

50

を低下させる及び／またはCD33と結合もしくは相互作用する本開示の抗体は、ヒトCD33のバリエーションに結合し、このバリエーションは、CC、CT、またはTT遺伝子型のSNP rs12459419を含む。特定の実施形態において、対象は、GGヌクレオチド、CGヌクレオチド、またはCCヌクレオチドのコーディングSNP、rs1803についてホモ接合性またはヘテロ接合性を有する。

【0121】

いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベルを低下させる及び／またはCD33と結合もしくは相互作用する本開示の抗体は、限定するものではないが、ヒト樹状細胞、ヒトマクロファージ、ヒト単球、ヒト破骨細胞、ヒト好中球、ヒトT細胞、ヒトヘルパーT細胞、ヒト細胞傷害性T細胞、ヒト顆粒球、及びヒトミクログリアを含む細胞の表面上に発現したCD33タンパク質に結合する。いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベルを低下させる及び／またはCD33と結合もしくは相互作用する本開示の抗体は、細胞表面上に発現したCD33タンパク質に結合し、表面に発現しているCD33タンパク質に結合した後、本開示の少なくとも1つのCD33活性を調節する（例えば、誘導または阻害する）。本開示のいくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33タンパク質に特異的に結合する。本開示のいくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、少なくとも1つの追加のSiglecタンパク質に更に結合する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、少なくとも1つの追加のSiglecタンパク質の1つ以上の活性または少なくとも1つの追加のSiglecタンパク質を発現する細胞の1つ以上の活性を調節する。

【0122】

CD33リガンド

本開示のCD33タンパク質は、1つ以上のCD33リガンドと相互作用する（例えば、結合する）ことができる。

【0123】

例示的なCD33リガンドとしては、限定するものではないが、シアル酸、シアル酸含有糖脂質、シアル酸含有糖タンパク質、 α -2, 6-結合シアル酸含有糖脂質、 α -2, 6-結合シアル酸含有糖タンパク質、 α -2, 3-結合シアル酸含有糖脂質、 α -2, 3-結合シアル酸含有糖タンパク質、 α -1-酸糖タンパク質（AGP）、CD24タンパク質、ガングリオシド（例えば、シアル酸付加グリカンに結合したセラミドを含む糖脂質）、分泌型ムチン、赤血球上に発現したCD33リガンド、細菌細胞上に発現したCD33リガンド、アポトーシス細胞上に発現したCD33リガンド、腫瘍細胞上に発現したCD33リガンド、ウイルス上に発現したCD33リガンド、樹状細胞上に発現したCD33リガンド、神経細胞上に発現したCD33リガンド、グリア細胞上に発現したCD33リガンド、ミクログリア上に発現したCD33リガンド、アストロサイト上に発現したCD33リガンド、 β アミロイド斑上のCD33リガンド、タウのもつれ（Tau tangles）上のCD33リガンド、病因タンパク質上のCD33リガンド、病因ペプチド上のCD33リガンド、マクロファージ上に発現したCD33リガンド、ナチュラルキラー細胞上に発現したCD33リガンド、T細胞上に発現したCD33リガンド、ヘルパーT細胞上に発現したCD33リガンド、細胞傷害性T細胞上に発現したCD33リガンド、B細胞上に発現したCD33リガンド、腫瘍埋没型免疫抑制性樹状細胞上に発現したCD33リガンド、腫瘍埋没型免疫抑制性マクロファージ上に発現したCD33リガンド、骨髄由来抑制性細胞上に発現したCD33リガンド、及び制御性T細胞上に発現したCD33リガンドが挙げられる。いくつかの実施形態において、本開示のCD33リガンドは、ガングリオシドである。ガングリオシドは、概して、共通するラクトーセラミドコア及び1つ以上のシアル酸残基を共有する。

【0124】

好適なガングリオシドリガンドの更なる例を表Aに列挙する。概して、ガングリオシドは、1つ以上のシアル酸（例えば、n-アセチルノイラミン酸、NANA）が糖鎖上に結合したスフィンゴ糖脂質から構成される分子である。

表A：例示的なガングリオシドCD33リガンドの構造

GM2-1=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-?)bDGalNAc(1-?)bDGalNAc(1-?)bDG1cp(1-1)Cer	
GM3=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GM2, GM2a(?)=bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GM2b(?)=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GM1, GM1a=bDGalp(1-3)bDGalNAc[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
アジアロ-GM1, GA1=bDGalp(1-3)bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	10
アジアロ-GM2, GA2=bDGalpNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GM1b=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GD3=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GD2=bDGalpNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GD1a=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GD1 α =aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-6)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GD1b=bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	20
GT1a=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GT1, GT1b=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
OAc-GT1b=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)aXNeu5Ac9Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GT1c=bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GT3=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGal(1-4)bDG1c(1-1)Cer	30
GQ1b=aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-3)bDGalNAc(1-4)[aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)]bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer	
GGal=aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-1)Cer	
式中、	
aNeu5Ac=5-アセチル- α -ノイラミン酸	
aNeu5Ac9Ac=5, 9-ジアセチル- α -ノイラミン酸	
bDGalp= β -D-ガラクトピラノース	
bDGalpNAc=N-アセチル- β -D-ガラクトピラノース	
bDG1cp= β -D-グルコピラノース	
Cer=セラミド(一般的なN-アシル化スフィンゴイド)	40

【0125】

抗CD33抗体

本開示の特定の態様は、1つ以上の改善及び／または向上した機能的特徴を含む抗CD33抗体に関する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照または対照の抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）と比べて、1つ以上の改善及び／または向上した機能的特徴を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照または対照の抗CD33抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）の

10

20

30

40

50

ものよりも高いCD33（例えば、ヒトCD33）に対する親和性を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照または対照の抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）のものよりも低い半数有効濃度（EC₅₀）で、ヒト初代樹状細胞などのヒト細胞に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照または対照の抗体（例えば、配列番号3の配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4の配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）のものよりも低い半数有効濃度（EC₅₀）で、CD33の細胞レベルを低下させる（例えば、細胞表面レベルを低下させる、または下げる）。

【0126】

CD33の細胞レベルとは、限定するものではないが、CD33の細胞表面レベル、CD33の細胞内レベル、及びCD33の総レベルを意味し得る。いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベルの低下は、CD33の細胞表面レベルの低下を含む。いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベル（例えば、CD33の細胞表面レベル）を低下させる本開示の抗CD33抗体は、次の特性のうちの1つ以上を有する：（1）1つ以上のCD33活性を阻害または低減する；（2）CD33がそのリガンドの1つ以上に結合することを阻害または低減する能力；（3）CD33発現細胞におけるCD33発現を低減させる能力；（4）CD33タンパク質と相互作用する、結合する、またはそれを認識する能力；（5）CD33タンパク質と特異的に相互作用または結合する能力；及び（6）本明細書において記載または企図される疾患または障害の任意の態様を治療し、改善し、または予防する能力。

【0127】

本開示の抗CD33抗体は、標的抗原（例えば、ヒトCD33）に対してナノモルまたは更にはピコモルの親和性を有し得る。特定の実施形態において、抗体の解離定数（K_D）は、約0.001～約100nMである。特定の実施形態において、抗体のK_Dは、約0.01～約10nMである。特定の実施形態において、抗体のK_Dは、約0.23～約3.88nMである。いくつかの実施形態において、抗体のK_Dは、約100nM、90nM、80nM、70nM、60nM、50nM、40nM、30nM、20nM、10nM、9.5nM、9nM、8.5nM、8nM、7.5nM、7nM、6.5nM、6nM、5.5nM、5nM、4.5nM、4nM、3.5nM、3nM、2.5nM、2nM、1.5nM、1nM、0.9nM、0.8nM、0.7nM、0.6nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM、0.1nM、.05nM、.01nM、または.005nM以下である。いくつかの実施形態において、抗体のK_Dは、約0.40nM未満である。いくつかの実施形態において、抗体のK_Dは、約0.30nM未満である。いくつかの実施形態において、抗体のK_Dは、約0.20nM未満である。いくつかの実施形態において、K_Dは、約0.10nM未満である。いくつかの実施形態において、抗体のK_Dは、約0.061nMである。いくつかの実施形態において、抗体のK_Dは、約.001nM、.005nM、.01nM、.05nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1nM、1.5nM、2nM、2.5nM、3nM、3.5nM、4nM、4.5nM、5nM、5.5nM、6nM、6.5nM、7nM、7.5nM、8nM、8.5nM、9nM、9.5nM、10nM、20nM、30nM、40nM、50nM、60nM、70nM、80nM、または90nM以上である。すなわち、抗体のK_Dは、約100nM、90nM、80nM、70nM、60nM、50nM、40nM、30nM、20nM、10nM、9.5nM、9nM、8.5nM、8nM、7.5nM、7nM、6.5nM、6nM、5.5nM、5nM、4.5nM、4nM、3.5nM、3nM、2.5nM、2nM、1.5nM、1nM、0.9nM、0.8nM、0.7nM、0.6nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM、0.1nM、.05nM、.01nM、または.005nMの上限、及び約.001nM、.005nM、.01nM、.05nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6

10

20

30

40

50

nM、0.7 nM、0.8 nM、0.9 nM、1 nM、1.5 nM、2 nM、2.5 nM、3 nM、3.5 nM、4 nM、4.5 nM、5 nM、5.5 nM、6 nM、6.5 nM、7 nM、7.5 nM、8 nM、8.5 nM、9 nM、9.5 nM、10 nM、20 nM、30 nM、40 nM、50 nM、60 nM、70 nM、80 nM、または90 nMの独立して選択される下限を有する親和性の範囲であって、下限が上限未満である範囲のいずれかであり得る。いくつかの実施形態において、抗体の K_D は、約10 nM、約9 nM、約8 nM、約7 nM、約6 nM、約5 nM、約4 nM、約3 nM、約2 nM、約1 nM、約900 pM、約800 pM、約700 pM、約600 pM、約500 pM、約400 pM、約300 pM、約200 pM、または約100 pMのいずれかである。抗体の親和性を測定する様々な方法が当該技術分野において公知であり、これには、例えば、表面プラズモン共鳴またはBioLayer干渉法を使用することが含まれる（例えば、以下の実施例3参照）。いくつかの実施形態において、CD33についての K_D は、およそ25℃の温度で決定される。いくつかの実施形態において、CD33についての K_D は、およそ4℃の温度で決定される。いくつかの実施形態において、 K_D は、一価抗体（例えば、Fab）または一価形態の完全長抗体を使用して決定される。いくつかの実施形態において、 K_D は、二価抗体及び単量体組み換えCD33タンパク質を使用して決定される。

【0128】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照抗CD33抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）よりも低いCD33についての解離定数（ K_D ）を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、標的についての参照抗CD33抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）の K_D よりも少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%低い標的（例えば、ヒトCD33）についての K_D を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、標的についての参照抗CD33抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）の K_D よりも少なくとも約1倍、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約12.5倍、少なくとも約15倍、少なくとも約17.5倍、少なくとも約20倍、少なくとも約22.5倍、少なくとも約25倍、少なくとも約27.5倍、少なくとも約30倍、少なくとも約50倍、または少なくとも約100倍低い標的（例えば、ヒトCD33）についての K_D を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する抗CD33抗体よりも少なくとも7倍高いヒトCD33についての K_D を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する抗CD33抗体よりも少なくとも1.8倍高いヒトCD33についての K_D を有する。いくつかの実施形態において、親和性は、表面プラズモン共鳴によって測定される。いくつかの実施形態において、親和性は、およそ25℃の温度で測定される。いくつかの実施形態において、親和性は、およそ4℃の温度で測定される。いくつかの実施形態において、親和性は、以下の実施例に記載されるような実験的アプローチを使用して測定される。

【0129】

本開示の抗CD33抗体は、ピコモル範囲の半数有効濃度（EC₅₀）（例えば、初代

10

20

30

40

50

ヒト樹状細胞を使用して *in vitro* で測定した場合) で CD33 の細胞レベル (例えば、細胞表面レベル) を低下させ得る。特定の実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 0.1 ~ 約 500 pM である。特定の実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 1 ~ 約 250 pM である。特定の実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 27 pM ~ 約 40 pM である。特定の実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 78 pM ~ 約 40 pM である。いくつかの実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 500 pM、400 pM、300 pM、250 pM、225 pM、200 pM、175 pM、150 pM、125 pM、100 pM、75 pM、50 pM、25 pM、10 pM、1 pM、または 0.5 pM 以下である。いくつかの実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 74.3 pM 未満である。いくつかの実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 0.1 pM、0.5 pM、1 pM、10 pM、25 pM、50 pM、75 pM、100 pM、125 pM、150 pM、175 pM、200 pM、225 pM、250 pM、300 pM、または 400 pM 以上である。すなわち、抗体の EC₅₀ は、約 500 pM、400 pM、300 pM、250 pM、225 pM、200 pM、175 pM、150 pM、125 pM、100 pM、75 pM、50 pM、25 pM、10 pM、1 pM、または 0.5 pM の上限、及び約 0.1 pM、0.5 pM、1 pM、10 pM、25 pM、50 pM、75 pM、100 pM、125 pM、150 pM、175 pM、200 pM、225 pM、250 pM、300 pM、または 400 pM の独立して選択される下限を有する範囲であって、下限が上限未満である範囲のいずれかであり得る。いくつかの実施形態において、抗体の EC₅₀ は、約 1 pM、2 pM、3 pM、4 pM、5 pM、6 pM、7 pM、8 pM、9 pM、10 pM、15 pM、20 pM、25 pM、30 pM、35 pM、40 pM、45 pM、50 pM、55 pM、60 pM、65 pM、70 pM、75 pM、80 pM、85 pM、90 pM、95 pM、100 pM、105 pM、110 pM、115 pM、120 pM、125 pM、130 pM、135 pM、140 pM、145 pM、150 pM、155 pM、160 pM、165 pM、170 pM、175 pM、180 pM、185 pM、190 pM、195 pM、または 200 pM のいずれかである。抗体の EC₅₀ 値を測定する様々な方法が当該技術分野において公知であり、これには、例えば、フローサイトメトリーによるものが含まれる (例えば、以下の実施例 3 参照)。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、初代ヒト樹状細胞を使用して *in vitro* で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、初代ヒト単球を使用して *in vitro* で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、初代ヒトマクロファージを使用して *in vitro* で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、ヒト CD33 をトランスフェクトした培養細胞を使用して *in vitro* で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、およそ 4℃ の温度で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、およそ 25℃ の温度で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、およそ 35℃ の温度で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、およそ 37℃ の温度で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、一価抗体 (例えば、Fab) または一価形態の完全長抗体を使用して決定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、増大した Fc 受容体結合を示す定常領域を含む抗体を使用して決定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀ は、低減した Fc 受容体結合を示す定常領域を含む抗体を使用して決定される。

【0130】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、参照抗 CD33 抗体 (例えば、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗 CD33 抗体) よりも低い EC₅₀ (例えば、初代ヒト樹状細胞を使用して *in vitro* で測定した場合) で、CD33 の細胞レベルを低下させる (例えば、細胞表面レベルを低下させる、または下げる)。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、参照抗 CD33 抗体 (例えば、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗 CD33 抗体) の EC₅₀ よりも少なくとも約 5%、少なくとも約 10%、少なくとも約 15%、少な

10

20

30

40

50

くとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%低いEC₅₀で、CD33の細胞レベルを低下させる（例えば、細胞表面レベルを低下させる、または下げる）。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、参照抗CD33抗体（例えば、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体）のEC₅₀よりも少なくとも約1倍、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約12.5倍、少なくとも約15倍、少なくとも約17.5倍、少なくとも約20倍、少なくとも約22.5倍、少なくとも約25倍、少なくとも約27.5倍、少なくとも約30倍、少なくとも約50倍、または少なくとも約100倍低いEC₅₀で、CD33の細胞レベルを低下させる（例えば、細胞表面レベルを低下させる、または下げる）。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する抗CD33抗体よりも少なくとも1.2倍～1.6倍または1.1倍～1.6倍低いEC₅₀を有する。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、初代ヒト樹状細胞を使用して*in vitro*で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、初代ヒト単球を使用して*in vitro*で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、初代ヒトマクロファージを使用して*in vitro*で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、ヒトCD33をトランスフェクトした培養細胞を使用して*in vitro*で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、フローサイトメトリーによって測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、およそ25℃の温度で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、およそ35℃の温度で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、およそ37℃の温度で測定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、増大したFc受容体結合を示す定常領域を含む抗体を使用して決定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、低減したFc受容体結合を示す定常領域を含む抗体を使用して決定される。いくつかの実施形態において、EC₅₀は、以下の実施例3に記載されるような実験的アプローチを使用して測定される。

【0131】

本明細書に記載されるまたは当該技術分野で公知である任意の*in vitro*細胞ベースアッセイまたは好適な*in vivo*モデルが、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）の阻害を測定するために使用され得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を、本明細書に記載されるまたは当該技術分野で公知である任意の*in vitro*アッセイまたは細胞ベース培養アッセイを利用して飽和抗体濃度で少なくとも21%、少なくとも22%、少なくとも23%、少なくとも24%、少なくとも25%、少なくとも26%、少なくとも27%、少なくとも28%、少なくとも29%、少なくとも30%、少なくとも31%、少なくとも32%、少なくとも33%、少なくとも34%、少なくとも35%、少なくとも36%、少なくとも37%、少なくとも38%、少なくとも39%、少なくとも40%、少なくとも41%、少なくとも42%、少なくとも43%、少なくとも44%、少なくとも45%、少なくとも46%、少なくとも47%、少なくとも48%、少なくとも49%、少なくとも50%、少なくとも51%、少なくとも52%、少なくとも53%、少なくとも54%、少なくとも55%、少なくとも56%、少なくとも57%、少なくとも58%、少なくとも59%、少なくとも60%、少なくとも61%、少なくとも62%、少なくとも63%、少なくとも64%、少なくとも65%、少なくとも66%、少なくとも67%、少なくとも68%、少なくとも69%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73

％、少なくとも74％、少なくとも75％、少なくとも76％、少なくとも77％、少なくとも78％、少なくとも79％、少なくとも80％、少なくとも81％、少なくとも82％、少なくとも83％、少なくとも84％、少なくとも85％、少なくとも86％、少なくとも87％、少なくとも88％、少なくとも89％、少なくとも90％、少なくとも91％、少なくとも92％、少なくとも93％、少なくとも94％、少なくとも95％、少なくとも96％、少なくとも97％、少なくとも98％、少なくとも99％、またはそれ以上阻害する。

【0132】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、CD33の細胞表面クラスター化を阻害する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、限定するものではないが、LCK及びFYNなどのSrcファミリーチロシンキナーゼによるTy r-340及びTy r-358のリン酸化；チロシン特異的タンパク質ホスファターゼSHP1及びSHP2の動員及び結合；Dynamini-1のグアニンヌクレオチド交換因子として作用するPLC-γ1の動員及び結合；SH2ドメイン含有タンパク質（例えば、Crkl）の動員及び結合；脾臓チロシンキナーゼSykの動員及び結合；SH3-SH2-SH3成長因子受容体結合タンパク質2（Grb2）の動員及び結合；複数のSH2含有タンパク質の動員及び結合；タンパク質キナーゼCによるSer-307及びSer-342のリン酸化；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞好中球、及び／またはミクログリアにおける1つ以上の抗炎症性サイトカインIL-4、IL-10、IL-13、IL-35、IL-16、TGF-β、IL-1Ra、G-CSF、及びTNF、IFN-β1a、IFN-β1b、またはIL-6の可溶性受容体の発現の調節；細胞内カルシウム動員の減少；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアにおける1つ以上の炎症誘発性サイトカインIFN-α4、IFN-β、IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-8、CRP、IL-20ファミリーメンバー、LIF、IFN-γ、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、CRP、IL-33、MCP-1、及びMIP-1-βの発現の調節；C1qa、C1qB、C1qC、C1s、C1R、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CS TA、VSI G4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5A P、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX、PYCARD、CD14、CD16、HLA-DR、及びCCR2から選択される1つ以上のタンパク質の発現の調節；細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）リン酸化の阻害；複数の細胞タンパク質に対するチロシンリン酸化の減少；C-Cケモカイン受容体7（CCR7）の発現の調節；CCL19発現細胞及びCCL21発現細胞へのミクログリア細胞走化性の阻害；ホスホイノシチド3-キナーゼの活性化；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞及び／またはミクログリアの細胞増殖の低減；樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、M2ミクログリア、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、及び／またはM2マクロファージによって誘導されるT細胞増殖の低減；破骨細胞生成の阻害、破骨細胞形成速度の減少、またはその両方；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの生存率低下；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの増殖の減少；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの遊走の阻害；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞

10

20

30

40

50

、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの1つ以上の機能の低下；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの成熟の阻害；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの細胞死及びアポトーシスの増大；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの食作用活性の低減；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの増殖の低減；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの全体的機能性の低下、ITAM含有受容体のリン酸化；ITAMシグナル伝達を媒介するシグナル伝達分子のリン酸化；パターン認識受容体の活性化の低下；Toll様受容体の活性化の低下；細胞破片及びタンパク質破片のクリアランスの損傷関連の活性化の低下；CD33とそのリガンドの1つ以上との間の相互作用；CD33とCD64などの共受容体との間の相互作用；アポトーシス性ニューロンクリアランス、神経組織破片クリアランス、機能不全シナプスクリアランス、非神経組織破片クリアランス、細菌もしくは他の異物クリアランス、病因タンパク質クリアランス、及び腫瘍細胞クリアランスから選択される1つ以上の種類のクリアランスの低下；アポトーシス性ニューロン、神経組織破片、非神経組織破片、細菌、他の異物、病因タンパク質、病因ペプチド、病因核酸、病因脂質、または腫瘍細胞のうちの1つ以上の食作用の阻害；病因核酸のクリアランスの阻害（例えば、病因核酸は、アンチセンスGGCCCC（G2C4）リピート伸長RNAである）；アミロイドβ、アミロイドβ斑、アミロイド前駆体タンパク質またはその断片、タウ、IAPP、α-シヌクレイン、TDP-43、FUSタンパク質、C9orf72（9番染色体オープンリーディングフレーム72）、c9RANタンパク質、プリオンタンパク質、PrPSc、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジスムターゼ、アタキシン、アタキシン1、アタキシン2、アタキシン3、アタキシン7、アタキシン8、アタキシン10、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質AⅠ、血清アミロイドA、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β2ミクログロブリン、ゲルソリン、ケラトエピテリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖AL、S-IBMタンパク質、リピート関連非ATG（RAN）翻訳産物、ジペプチドリピート（DPR）ペプチド、グリシンアラニン（GA）リピートペプチド、グリシンプロリン（GP）リピートペプチド、グリシンアルギニン（GR）リピートペプチド、プロリンアラニン（PA）リピートペプチド、ユビキチン、及びプロリンアルギニン（PR）リピートペプチドから選択される病因タンパク質のクリアランスの活性化；膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、及び甲状腺癌から選択される異なる種類のがんに対する有益な免疫応答の阻害；認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、本態性振戦、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、及び多発性硬化症から選択される異なる種類の神経障害に対する有益な免疫応答の阻害；ループス、急性及び慢性大腸炎、損傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、及び骨パジェット病から選択される異なる種類の炎症性障害及び感染性障害に対する有益な免疫応答の阻害；腫瘍細胞上のCD33リガンドへの結合；樹状細胞

10

20

30

40

50

、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、T細胞、好中球、及び／またはマクロファージ上のCD33リガンドへの結合；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上による腫瘍細胞殺傷の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上の抗腫瘍細胞増殖活性の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上の抗腫瘍細胞転移活性の阻害；免疫抑制性樹状細胞、免疫抑制性マクロファージ、骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、または制御性T細胞の促進；TREM1、TREM2、FcγR、DAP10、及びDAP12などの1つ以上のITAMモチーフ含有受容体の阻害；モチーフD／Ex0-2YxxL／IX6-8YxxL／I（配列番号104）を含む1つ以上の受容体の阻害；病原体関連分子パターン（PAMP）を特定する受容体、及び損傷関連分子パターン（DAMP）を特定する受容体などの1つ以上のパターン認識受容体（PRR）によるシグナル伝達の阻害；1つ以上のToll様受容体によるシグナル伝達の阻害；JAK-STATシグナル伝達経路の阻害；活性化B細胞の核内因子カッパ軽鎖エンハンサー（NFκB）の阻害；PLCγ／PKC／カルシウム動員の阻害；PI3K／Akt、Ras／MAPKシグナル伝達の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上に発現したCD86などの1つ以上の炎症性受容体の発現の低減；1つ以上のCD33依存的遺伝子の発現増大；破壊されたCD33依存的遺伝子発現の正常化；ならびにNFAT転写因子などの1つ以上のITAM依存的遺伝子の発現減少のうちの1つ以上の相殺を含め、CD33タンパク質の1つ以上の活性を阻害する。

【0133】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、限定するものではないが、腫瘍浸潤性CD3⁺T細胞の数の増大；CD14⁺骨髄細胞、例えば腫瘍浸潤性CD14⁺骨髄細胞及び血液中に存在するCD14⁺骨髄細胞におけるCD33の細胞レベルの低下；CD14⁺骨髄細胞、例えば腫瘍浸潤性CD14⁺骨髄細胞及び血液中に存在するCD14⁺骨髄細胞の数の低減；骨髄由来抑制性細胞（MDSC）などの1つ以上の細胞におけるPD-L1、PD-L2、B7-H7、B7-H3、CD200R、CD163、及び／またはCD206レベルの低下；固形腫瘍の腫瘍成長速度の減少；腫瘍体積の低減；1つ以上のPD-1阻害剤の有効性の増大；1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法、例えばCTL4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、LAG3、またはこれらの任意の組み合わせのうちの1つ以上を標的とするチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法の有効性の増大；1つ以上の化学療法剤の有効性の増大（場合により、化学療法剤のうちの1つ以上は、ゲムシタビン、カペシタビン、アントラサイクリン、ドキソルビシン（Adriamycin（登録商標））、エピルビシン（Erlence（登録商標））、タキサン、パクリタキセル（Taxol（登録商標））、ドセタキセル（Taxotere（登録商標））、5-フルオロウラシル（5-FU）、シクロホスファミド（Cytosan（登録商標））、カルボプラチン（Paraplatin（登録商標））、オキサリプラチン（Elotaxin（登録商標））、ロイコボリン、テモゾロミド（Temodar（登録商標））、及びこれらの任意の組み合わせである）；骨髄由来抑制性細胞（MDSC）の存在下でのT細胞の増殖の増大；骨髄由来抑制性細胞（MDSC）の分化、生存、及び／または1つ以上の機能の阻害；ならびに化学的または放射性毒素にコンジュゲートした場合の固形腫瘍及び関連する血管におけるCD33発現免疫抑制性非腫瘍形成性骨髄細胞及び／または非腫瘍形成性CD14発現細胞の殺傷を含む、CD33タンパク質の1つ以上の活性を呈する。

【0134】

いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、本開示のCD33タンパク質と、1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を阻害し、CD33リガンドは、限定するものではないが、赤血球上に発現したCD33リガンド、細菌細胞上に発

10

20

30

40

50

現したCD33リガンド、アポトーシス細胞上に発現したCD33リガンド、腫瘍細胞上に発現したCD33リガンド、ウイルス上に発現したCD33リガンド、樹状細胞上に発現したCD33リガンド、神経細胞上に発現したCD33リガンド、グリア細胞上に発現したCD33リガンド、ミクログリア上に発現したCD33リガンド、アストロサイト上に発現したCD33リガンド、βアミロイド斑上のCD33リガンド、タウのもつれ上のCD33リガンド、病因タンパク質上のCD33リガンド、病因ペプチド上のCD33リガンド、マクロファージ上に発現したCD33リガンド、ナチュラルキラー細胞上に発現したCD33リガンド、T細胞上に発現したCD33リガンド、ヘルパーT細胞上に発現したCD33リガンド、細胞傷害性T細胞上に発現したCD33リガンド、B細胞上に発現したCD33リガンド、腫瘍埋没型免疫抑制性樹状細胞上に発現したCD33リガンド、腫瘍埋没型免疫抑制性マクロファージ上に発現したCD33リガンド、骨髄由来抑制性細胞上に発現したCD33リガンド、制御性T細胞上に発現したCD33リガンド、分泌型ムチン、シアル酸、シアル酸含有糖脂質、シアル酸含有糖タンパク質、α-2, 6-結合シアル酸含有糖脂質、α-2, 6-結合シアル酸含有糖タンパク質、α-2, 3-結合シアル酸含有糖脂質、α-2, 3-結合シアル酸含有糖タンパク質、α-1-酸糖タンパク質（AGP）、CD24タンパク質、及びガングリオシドを含む。

【0135】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、細胞表面上に発現した本開示のCD33タンパク質に結合し、ネイキッド抗体は、CD33タンパク質と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を阻害する。いくつかの実施形態において、本CD33タンパク質に結合する本開示の抗CD33抗体は、CD33タンパク質と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を、細胞表面上または細胞内部のいずれかで、当該タンパク質と相互作用できるCD33の有効レベルを下げることによって、阻害する。いくつかの実施形態において、本CD33タンパク質に結合する本開示の抗CD33抗体は、CD33の分解を誘導することによって、CD33タンパク質と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を阻害する。

【0136】

本明細書で使用される場合、CD33のレベルとは、CD33をコードする遺伝子の発現レベル、CD33をコードする1つ以上の転写産物の発現レベル、CD33タンパク質の発現レベル、及び／または細胞内部及び／または細胞表面上に存在するCD33タンパク質の量を意味し得る。CD33のレベルを決定するには、遺伝子の発現、転写、翻訳、及び／またはタンパク質の存在量もしくは局在化のレベルを測定するための当該技術分野において公知の任意の方法を使用することができる。

【0137】

更に、本開示の抗CD33抗体は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、損傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、骨パジェット病、膀胱癌、肺癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、多発性骨髄腫、真性多血症、本態性血小板増加症、原発性もしくは特発性骨髄線維症、原発性もしくは特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、CD33を発現する腫瘍、甲状腺癌を含むがん、感染症、CNSヘルペス、寄生虫感染症、Trypan

osome 感染症、Cruzi 感染症、Pseudomonas aeruginosa 感染症、Leishmania donovani 感染症、B 群 Streptococcus 感染症、Campylobacter jejuni 感染症、Neisseria meningitidis 感染症、I 型 HIV、及び／または Haemophilus influenza を予防し、そのリスクを低下させ、または治療するために使用され得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、それを必要とする個体において 1 つ以上の免疫細胞の生存、成熟、機能、遊走、もしくは増殖を誘導もしくは促進するために；またはそれを必要とする個体において制御性 T 細胞、腫瘍埋没型免疫抑制性樹状細胞、腫瘍埋没型免疫抑制性マクロファージ、骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、急性骨髄性白血病（AML）細胞、慢性リンパ性白血病（CLL）細胞、及び／または慢性骨髄性白血病（CML）細胞の活性、機能、もしくは生存率を低下させるために使用され得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、モノクローナル抗体である。

【0138】

いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、CD33 の細胞レベル（例えば、細胞表面レベル、細胞内レベル、及び／または総レベル）を低下させる。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、CD33 の下方制御を誘導する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、CD33 の切断を誘導する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、CD33 の内在化を誘導する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、CD33 のシェディングを誘導する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、CD33 の分解を誘導する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、CD33 の脱感作を誘導する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用して、CD33 を一時的に活性化する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用し、CD33 の細胞レベルの低下及び／または CD33 と 1 つ以上の CD33 リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）の阻害を誘導する前に CD33 を一時的に活性化する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用し、CD33 の分解を誘導する前に CD33 を一時的に活性化する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用し、CD33 の切断を誘導する前に CD33 を一時的に活性化する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用し、CD33 の内在化を誘導する前に CD33 を一時的に活性化する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用し、CD33 のシェディングを誘導する前に CD33 を一時的に活性化する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用し、CD33 発現の下方制御を誘導する前に CD33 を一時的に活性化する。いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、リガンド模倣体として作用し、CD33 の脱感作を誘導する前に CD33 を一時的に活性化する。

【0139】

いくつかの実施形態において、単離された本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、モノクローナル抗体、多価抗体、またはキメラ抗体である。かかる抗体の例示的説明は、本開示の随所に見出される。

【0140】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト CD33、またはそのホモログ（限定するものではないが、哺乳動物 CD33 タンパク質を含む）に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト CD33 に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、ヒト CD33 に結合し、他の種由来の CD33 オーソログまたはホモログと交差反応しない。いくつかの実施形

態において、本開示の抗CD33抗体は、ヒトCD33に結合するが、カニクイザルCD33には結合しない。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、ヒトCD33とカニクイザルCD33の両方に結合する。

【0141】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、細胞表面上に発現した本開示のCD33タンパク質に結合し、表面に発現しているCD33タンパク質に結合した後、本開示の1つ以上のCD33活性を調節する（例えば、誘導または阻害する）。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、不活性抗体である。

【0142】

抗CD33抗体結合領域

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、立体構造エピトープに結合し得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、非連続的CD33エピトープに結合し得る。いくつかの実施形態において、非連続的CD33エピトープは、2個以上のペプチド、3個以上のペプチド、4個以上のペプチド、5個以上のペプチド、6個以上のペプチド、7個以上のペプチド、8個以上のペプチド、9個以上のペプチド、または10個以上のペプチドを含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上のペプチドを含むCD33エピトープに結合し得る。本明細書に開示されるように、CD33エピトープは、配列番号1のアミノ酸配列の5個以上、6個以上、7個以上、8個以上、9個以上、10個以上、11個以上、12個以上、13個以上、14個以上、15個以上、16個以上、17個以上、18個以上、19個以上、もしくは20個以上のアミノ酸残基、または配列番号1のアミノ酸配列に対応する哺乳動物CD33タンパク質上の5個以上、6個以上、7個以上、8個以上、9個以上、10個以上、11個以上、12個以上、13個以上、14個以上、15個以上、16個以上、17個以上、18個以上、19個以上、もしくは20個以上のアミノ酸残基を含む、1つ以上のペプチドを含み得る。

【0143】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体が結合するCD33エピトープと同じか、またはそれと重複するヒトCD33のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体が結合するものと本質的に同じCD33エピトープに結合する。

【0144】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体の結合を競合的に阻害する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗CD33抗体と、CD33（例えばヒトCD33）への結合について競合する。

【0145】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、表7、8、9、10、11、及び12に列挙された抗体のいずれかから選択される少なくとも1つの抗体の結合を競合的に阻害する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、

6 C 7 H 4 3、6 C 7 H 4 4、6 C 7 H 4 5、6 C 7 H 4 6、6 C 7 H 4 7、6 C 7 H 4 8、6 C 7 H 4 9、6 C 7 H 5 0、6 C 7 H 5 1、6 C 7 H 5 2、6 C 7 H 5 3、及び6 C 7 H 5 4、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される少なくとも1つの抗体の結合を競合的に阻害する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体が、6 C 7 H 1、6 C 7 H 2、6 C 7 H 3、6 C 7 H 4、6 C 7 H 5、6 C 7 H 6、6 C 7 H 7、6 C 7 H 8、6 C 7 H 9、6 C 7 H 10、6 C 7 H 11、6 C 7 H 12、6 C 7 H 13、6 C 7 H 14、6 C 7 H 15、6 C 7 H 16、6 C 7 H 17、6 C 7 H 18、6 C 7 H 19、6 C 7 H 20、6 C 7 H 21、6 C 7 H 22、6 C 7 H 23、6 C 7 H 24、6 C 7 H 25、6 C 7 H 26、6 C 7 H 27、6 C 7 H 28、6 C 7 H 29、6 C 7 H 30、6 C 7 H 31、6 C 7 H 32、6 C 7 H 33、6 C 7 H 34、6 C 7 H 35、6 C 7 H 36、6 C 7 H 37、6 C 7 H 38、6 C 7 H 39、6 C 7 H 40、6 C 7 H 41、6 C 7 H 42、6 C 7 H 43、6 C 7 H 44、6 C 7 H 45、6 C 7 H 46、6 C 7 H 47、6 C 7 H 48、6 C 7 H 49、6 C 7 H 50、6 C 7 H 51、6 C 7 H 52、6 C 7 H 53、及び6 C 7 H 54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の抗体と、CD33への結合について競合するのは、抗CD33抗体が、6 C 7 H 1、6 C 7 H 2、6 C 7 H 3、6 C 7 H 4、6 C 7 H 5、6 C 7 H 6、6 C 7 H 7、6 C 7 H 8、6 C 7 H 9、6 C 7 H 10、6 C 7 H 11、6 C 7 H 12、6 C 7 H 13、6 C 7 H 14、6 C 7 H 15、6 C 7 H 16、6 C 7 H 17、6 C 7 H 18、6 C 7 H 19、6 C 7 H 20、6 C 7 H 21、6 C 7 H 22、6 C 7 H 23、6 C 7 H 24、6 C 7 H 25、6 C 7 H 26、6 C 7 H 27、6 C 7 H 28、6 C 7 H 29、6 C 7 H 30、6 C 7 H 31、6 C 7 H 32、6 C 7 H 33、6 C 7 H 34、6 C 7 H 35、6 C 7 H 36、6 C 7 H 37、6 C 7 H 38、6 C 7 H 39、6 C 7 H 40、6 C 7 H 41、6 C 7 H 42、6 C 7 H 43、6 C 7 H 44、6 C 7 H 45、6 C 7 H 46、6 C 7 H 47、6 C 7 H 48、6 C 7 H 49、6 C 7 H 50、6 C 7 H 51、6 C 7 H 52、6 C 7 H 53、及び6 C 7 H 54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の抗体のCD33への結合を、抗CD33抗体の非存在下でのCD33への結合と比較して約50%~100%の範囲の量で低減させるときである。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体が、6 C 7 H 1、6 C 7 H 2、6 C 7 H 3、6 C 7 H 4、6 C 7 H 5、6 C 7 H 6、6 C 7 H 7、6 C 7 H 8、6 C 7 H 9、6 C 7 H 10、6 C 7 H 11、6 C 7 H 12、6 C 7 H 13、6 C 7 H 14、6 C 7 H 15、6 C 7 H 16、6 C 7 H 17、6 C 7 H 18、6 C 7 H 19、6 C 7 H 20、6 C 7 H 21、6 C 7 H 22、6 C 7 H 23、6 C 7 H 24、6 C 7 H 25、6 C 7 H 26、6 C 7 H 27、6 C 7 H 28、6 C 7 H 29、6 C 7 H 30、6 C 7 H 31、6 C 7 H 32、6 C 7 H 33、6 C 7 H 34、6 C 7 H 35、6 C 7 H 36、6 C 7 H 37、6 C 7 H 38、6 C 7 H 39、6 C 7 H 40、6 C 7 H 41、6 C 7 H 42、6 C 7 H 43、6 C 7 H 44、6 C 7 H 45、6 C 7 H 46、6 C 7 H 47、6 C 7 H 48、6 C 7 H 49、6 C 7 H 50、6 C 7 H 51、6 C 7 H 52、6 C 7 H 53、及び6 C 7 H 54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の抗体のCD33への結合を、抗CD33抗体の非存在下でのCD33への結合と比較して少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なく

10

20

30

40

50

50

1：の比、1：10の比、1：9の比、1：8の比、1：7の比、1：6の比、1：5の比、1：4の比、1：3の比、1：2の比、1：0.75の比、1：0.5の比、1：0.25の比、1：0.1の比、1：0.075の比、1：0.050の比、1：0.025の比、1：0.01の比、1：0.0075の比、1：0.0050の比、1：0.0025の比、1：0.001の比、1：0.00075の比、1：0.00050の比、1：0.00025の比、または1：0.0001の比に対応する量で存在する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の抗体の量と比較して約1.5倍～100倍の範囲、または100倍超の過剰量で存在する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の抗体の量と比較して約2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍、または100倍の過剰量で存在する。

【0146】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、表7、8、9、10、11及び12に列挙された抗体のいずれかから選択される少なくとも1つの抗体が結合するCD33エピトープと同じか、またはそれと重複するヒトCD33のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される少なくとも1つの抗体が結合するCD33エピトープと同じか、またはそれと重複するヒトCD33のエピトープに結合する。

【0147】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、表7、8、9、10、11

及び12に列挙された抗体のいずれかから選択される少なくとも1つの抗体が結合するものと本質的に同じCD33エピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される少なくとも1つの抗体が結合するものと本質的に同じCD33エピトープに結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための例示的な方法の詳細は、Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) に提示されている。

【0148】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の抗体と、CD33（例えば、ヒトCD33）への結合について競合する。

【0149】

当該技術分野で公知である任意の好適な競合アッセイまたはCD33結合アッセイ、例えばBIACore分析、ELISAアッセイ、またはフローサイトメトリーを利用して、抗CD33抗体が、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の抗体と、CD33への結合について競合するかどうかを決定することができる。例示的な競合アッセイでは、固定化されたCD33または細胞表面上にCD33を発現している細胞を、CD33（例えば、ヒトまたは非ヒト霊長類）に結合する標識された第1の抗体と、CD33への結合について第1の抗体と競合する能力が試験される未標識の第2の抗体を含む溶液中で、インキュベートする。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたCD33またはCD33発現細胞を、標識された第1の抗体を含むが未標識の第2の抗体を含まない溶液中でインキュベ

ートする。第1の抗体がCD33に結合できるようにする条件下でのインキュベーション後、余剰の未結合抗体を除去し、固定化されたCD33またはCD33発現細胞に関連する標識の量を測定する。固定化されたCD33またはCD33発現細胞に関連する標識の量が試験試料中で対照試料と比べて実質的に低減している場合、それは、第2の抗体がCD33への結合について第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY) を参照されたい。

【0150】

抗CD33抗体の軽鎖及び重鎖可変領域

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、HVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3（表7に示す）から選択される1つ以上（例えば、1つ以上、2つ以上、または3つ全て）のHVRを含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、重鎖可変領域は、HVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3（表7に示す）を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、HVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3（表8に示す）から選択される1つ以上（例えば、1つ以上、2つ以上、または3つ全て）のHVRを含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、重鎖可変領域は、HVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3（表8に示す）を含む。

【0151】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、(a) 6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、6C7H54、及びこれらの任意の組み合わせから選択される抗体のうちのいずれか1つのHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3から選択される少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む軽鎖可変領域；及び／または(b) 6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、6C7H54、及びこれらの任意の組み合わせから選択される抗体のうちのいずれか1つのHVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3から選択される少なくとも1つ、2つ、または3つのHVRを含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、(i) 6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C

10

20

30

40

50

7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、
6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H4
2、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7
H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及
び6C7H54から選択される抗体のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(ii) 6C7
H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6
C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6
C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19
、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H
25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C
7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、
6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H4
2、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7
H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及
び6C7H54から選択される抗体のアミノ酸配列を含むHVR-L2；(iii) 6C
7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、
6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、
6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H1
9、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7
H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6
C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36
、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H
42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C
7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、
及び6C7H54から選択される抗体のアミノ酸配列を含むHVR-L3；(iv) 6C
7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、
6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、
6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H1
9、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7
H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6
C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36
、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H
42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C
7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、
及び6C7H54から選択される抗体のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(v) 6C7
H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6
C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6
C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19
、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H
25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C
7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、
6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H4
2、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7
H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及
び6C7H54から選択される抗体のアミノ酸配列を含むHVR-H2；ならびに(vi)
6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7
H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H
13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C
7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、
6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H3

10

20

30

40

50

0、6 C 7 H 3 1、6 C 7 H 3 2、6 C 7 H 3 3、6 C 7 H 3 4、6 C 7 H 3 5、6 C 7 H 3 6、6 C 7 H 3 7、6 C 7 H 3 8、6 C 7 H 3 9、6 C 7 H 4 0、6 C 7 H 4 1、6 C 7 H 4 2、6 C 7 H 4 3、6 C 7 H 4 4、6 C 7 H 4 5、6 C 7 H 4 6、6 C 7 H 4 7、6 C 7 H 4 8、6 C 7 H 4 9、6 C 7 H 5 0、6 C 7 H 5 1、6 C 7 H 5 2、6 C 7 H 5 3、及び6 C 7 H 5 4から選択される抗体のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3、HVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3は、6 C 7 H 1、6 C 7 H 2、6 C 7 H 3、6 C 7 H 4、6 C 7 H 5、6 C 7 H 6、6 C 7 H 7、6 C 7 H 8、6 C 7 H 9、6 C 7 H 10、6 C 7 H 11、6 C 7 H 12、6 C 7 H 13、6 C 7 H 14、6 C 7 H 15、6 C 7 H 16、6 C 7 H 17、6 C 7 H 18、6 C 7 H 19、6 C 7 H 20、6 C 7 H 21、6 C 7 H 22、6 C 7 H 23、6 C 7 H 24、6 C 7 H 25、6 C 7 H 26、6 C 7 H 27、6 C 7 H 28、6 C 7 H 29、6 C 7 H 30、6 C 7 H 31、6 C 7 H 32、6 C 7 H 33、6 C 7 H 34、6 C 7 H 35、6 C 7 H 36、6 C 7 H 37、6 C 7 H 38、6 C 7 H 39、6 C 7 H 40、6 C 7 H 41、6 C 7 H 42、6 C 7 H 43、6 C 7 H 44、6 C 7 H 45、6 C 7 H 46、6 C 7 H 47、6 C 7 H 48、6 C 7 H 49、6 C 7 H 50、6 C 7 H 51、6 C 7 H 52、6 C 7 H 53、及び6 C 7 H 54、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される抗体のEUもしくはKabat CDR、Chothia CDR、または接触CDRの配列を含む。

【0152】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、(a) 配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b) 配列番号52～55から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号58～62から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3のうちの1つ以上を含み、及び／または重鎖可変ドメインは、(a) 配列番号8～30から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号38～40から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3のうちの1つ以上を含む。

【0153】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含み、(a) HVR-H1は、配列番号8のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号38のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号52のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号58のアミノ酸配列を含み、(b) HVR-H1は、配列番号8のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号58のアミノ酸配列を含み、(c) HVR-H1は、配列番号9のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号54のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号58のアミノ酸配列を含み、(d) HVR-H1は、配列番号9のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号55のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号58のアミノ酸配列を含み、(e) HVR-H1は、配列番号9のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号55のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号58のアミノ酸配列を含み、(f) HVR-H1は、配列番号10のアミノ酸配列を含み、HVR

50

50

酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号40のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号62のアミノ酸配列を含み、(gg)HVR-H1は、配列番号30のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号60のアミノ酸配列を含み、(hh)HVR-H1は、配列番号30のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号62のアミノ酸配列を含み、(ii)HVR-H1は、配列番号23のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号60のアミノ酸配列を含み、(jj)HVR-H1は、配列番号23のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号62のアミノ酸配列を含み、(kk)HVR-H1は、配列番号30のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号59のアミノ酸配列を含み、(ll)HVR-H1は、配列番号30のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号61のアミノ酸配列を含み、(mm)HVR-H1は、配列番号28のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号59のアミノ酸配列を含み、(nn)HVR-H1は、配列番号28のアミノ酸配列を含み、HVR-H2は、配列番号33のアミノ酸配列を含み、HVR-H3は、配列番号39のアミノ酸配列を含み、HVR-L1は、配列番号47のアミノ酸配列を含み、HVR-L2は、配列番号53のアミノ酸配列を含み、HVR-L3は、配列番号61のアミノ酸配列を含む。

【0154】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される抗体のうちのいずれか1つの軽鎖可変領域；及び／または6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7

10

20

30

40

50

H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される抗体のうちのいずれか1つの重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、表11に列挙された、もしくは6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される抗体のうちのいずれか1つの軽鎖可変領域；及び／または表12に列挙された、もしくは6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される抗体のうちのいずれか1つの重鎖可変領域を含む。

【0155】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号94～103のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、及び／または配列番号65～93のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号94のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号65のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号94のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号66のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号95のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号65のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号95のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号67のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号95のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号66のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号96のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号65のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号96のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号67のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号97のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号68のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号98のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号69のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号97のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号69のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号94のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ド

10

20

30

40

50

50

含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 101 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 91 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 102 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 91 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 103 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 91 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 101 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 103 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 101 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 103 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 101 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 103 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 102 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 102 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖可変ドメインは、配列番号 102 のアミノ酸配列を含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む。

【0156】

いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体であって、上述の実施形態のいずれかにあるような V_H、及び上述の実施形態のいずれかにあるような V_L を含む抗体が提供される。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体であって、上述の実施形態のいずれかにあるような V_H、及び上述の実施形態のいずれかにあるような V_L を含む抗体が本明細書に提供される。一実施形態において、本開示の抗 CD33 抗体は、配列番号 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、及び 93 から選択される V_H 配列、ならびに配列番号 94、95、96、97、98、99、100、101、102、及び 103 から選択される V_L 配列（これらの配列の翻訳後修飾を含む）を含む。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び 6C7H54 から選択される抗体の V_H 配列及び V_L 配列を含む。

【0157】

いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体であって、上述の実施形態のいずれかにあるような V_H、及び上述の実施形態のいずれかにあるような V_L を含む抗体が提供され

る。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、配列番号65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、及び93から選択されるV_H配列、ならびに配列番号94、95、96、97、98、99、100、101、102、及び103から選択されるV_L配列（これらの配列の翻訳後修飾を含む）を含む。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される抗体のV_H配列及びV_L配列を含む。

【0158】

別の態様では、本開示の抗CD33抗体は、配列番号65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、または93のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（V_H）配列を含む。特定の実施形態において、配列番号65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、または93のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するV_H配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、その配列を含む抗CD33抗体は、CD33に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、合計1～10個のアミノ酸が、配列番号65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、または93において置換され、挿入され、及び／または欠失している。特定の実施形態において、合計1～5個のアミノ酸が、配列番号65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、または93において置換され、挿入され、及び／または欠失している。特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRにおいて）生じる。場合により、抗CD33抗体は、配列番号65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、または93のV_H配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の一実施形態では、V_Hは、（a）表7に示されるHVR-H1のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）表7に示されるHVR-H1のアミノ酸配列を含むHVR-H2、（c）表7に示されるHVR-H3のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0159】

別の態様では、本開示の抗CD33抗体は、配列番号94、95、96、97、98、99、100、101、102、または103のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。特定の実施形態において、配列番号94、95、96、97、98、99、100、101、102、または1

03のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するV_L配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、その配列を含む抗CD33抗体は、CD33に結合する能力を保持する。いくつかの実施形態において、合計1～10個のアミノ酸が、配列番号94、95、96、97、98、99、100、101、102、または103において置換され、挿入され、及び／または欠失している。特定の実施形態において、合計1～5個のアミノ酸が、配列番号94、95、96、97、98、99、100、101、102、または103において置換され、挿入され、及び／または欠失している。特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FRにおいて）生じる。場合により、抗CD33抗体は、配列番号94、95、96、97、98、99、100、101、102、または103のV_L配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の一実施形態では、V_Lは、（a）表8に示されるHVR-L1のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）表8に示されるHVR-L2のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）表8に示されるHVR-L3のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

10

【0160】

いくつかの実施形態において、（a）配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、（c）配列番号38のアミノ酸配列を含むHVR-H3、（d）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（e）配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（f）配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む抗CD33抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H1である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H2である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H3である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H4である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H5である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H6である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H7である。

20

30

【0161】

いくつかの実施形態において、（a）配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、（c）配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H3、（d）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（e）配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（f）配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む抗CD33抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H8である。

【0162】

いくつかの実施形態において、（a）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、（c）配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H3、（d）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（e）配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（f）配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む抗CD33抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H9である。

40

【0163】

いくつかの実施形態において、（a）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、（c）配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H3、（d）配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（e）配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（f）配列番号58のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む抗CD33抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施

50

【 0 1 6 4 】

【 0 1 6 5 】

10

【 0 1 6 6 】

20

【 0 1 6 7 】

30

【 0 1 6 8 】

40

【 0 1 6 9 】

【 0 1 7 0 】

50

【 0 1 7 2 】

10

20

30

40

50

【 0 1 7 8 】

【 0 1 7 9 】

【 0 1 8 0 】

【 0 1 8 1 】

【 0 1 8 2 】

【 0 1 8 3 】

【 0 1 8 4 】

7 H 3 9 であ

50

ーナル抗体 6 C 7 H 4 9 である。

【0185】

いくつかの実施形態において、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む抗 CD33 抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 3 2 である。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 4 0 である。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 4 3 である。

10

【0186】

いくつかの実施形態において、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む抗 CD33 抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 3 3 である。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 4 1 である。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 5 0 である。

20

【0187】

いくつかの実施形態において、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む抗 CD33 抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 3 4 である。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 4 2 である。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 4 4 である。

30

【0188】

いくつかの実施形態において、(a) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 40 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 59 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む抗 CD33 抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 3 5 である。

【0189】

いくつかの実施形態において、(a) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 40 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む抗 CD33 抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗 CD33 抗体は、抗 CD33 モノクローナル抗体 6 C 7 H 3 6 である。

40

【0190】

いくつかの実施形態において、(a) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 40 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 61 のアミノ

50

【 0 1 9 1 】

【 0 1 9 2 】

【0193】

【 0 1 9 4 】

【 0 1 9 5 】

【 0 1 9 6 】

【 0 1 9 7 】

いくつかの実施形態において、(a) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 47 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む抗 CD33 抗体が本明細書に提供される。いくつかの実

施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H52である。
【0198】

いくつかの実施形態において、(a)配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号59のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む抗CD33抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H53である。
【0199】

いくつかの実施形態において、(a)配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号47のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号61のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む抗CD33抗体が本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗CD33モノクローナル抗体6C7H54である。
【0200】

本明細書では、抗CD33抗体が提供される。提供される抗体は、例えば、CD33が媒介する及び／またはCD33に関連する疾患、病態、または障害の診断または治療に有用である。

【0201】

いくつかの実施形態において、上記実施形態のいずれかによる抗CD33抗体は、ヒト化抗体及び／またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、抗体断片、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、またはF(ab')₂断片である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、実質的に完全長の抗体、例えば、本明細書に定義されるIgG1抗体、IgG2a抗体、または他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

【0202】

いくつかの実施形態において、上記実施形態のいずれかによる抗CD33抗体は、以下に記載される特長のうちのいずれかを、単独でまたは組み合わせて組み込むことができる。

【0203】

抗CD33抗体結合親和性

本明細書に提供される抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本抗体は、 $<1\mu\text{M}$ 、 $<100\text{nM}$ 、 $<10\text{nM}$ 、 $<1\text{nM}$ 、 $<0.1\text{nM}$ 、 $<0.01\text{nM}$ 、または $<0.001\text{nM}$ （例えば、 10^{-8}M 以下、例えば、 $10^{-8}\text{M}\sim 10^{-13}\text{M}$ 、例えば、 $10^{-9}\text{M}\sim 10^{-13}\text{M}$ ）の解離定数（ K_d ）を有する。解離定数は、ELISA、表面プラズモン共鳴（SPR）、バイオレイヤー干渉法（例えば、ForteBioによるOctet Systemを参照されたい）、等温滴定熱量測定（ITC）、示差走査熱量測定（DSC）、円偏光二色性（CD）、ストップフロー分析、及び比色または蛍光によるタンパク質融解分析などの任意の生化学的技術または生物物理学的技術を含む、任意の分析技術によって決定され得る。一実施形態において、 K_d は、放射標識抗原結合アッセイ（RIA）によって測定される。いくつかの実施形態において、RIAは、目的の抗体のFabバージョン及びその抗原を用い、例えばChen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999)に記載されているように行われる。いくつかの実施形態において、 K_d は、BIACORE表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定され、例えば、BIACORE-2000またはBIACORE-3000（Biacore, Inc., Piscataway, NJ）を使用したアッセイは、約10応答単位（RU）で固定化抗原CM5チップを用い、25℃で行われる。いくつかの実施形態において、 K_D は、一価抗体（例えば、Fab）または完全長抗体を使用して決定される。いくつかの実施形態において、 K_D は、一価形態の完全長抗体を使用して決定される。

【0204】

抗体断片

本明細書に提供される抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本抗体は、抗体断片である。抗体断片としては、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、及びscFv断片、ならびに以下に記載される他の断片が挙げられるが、これらに限定されない。特定の抗体断片の概説については、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003) を参照されたい。scFv断片の概説については、例えば、WO93/16185、ならびに米国特許第5571894号及び同第5587458号を参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、延長されたin vivo半減期を有するFab及びF(ab')₂断片の詳細については、米国特許第5869046号を参照されたい。

10

【0205】

ダイアボディは、二価または二重特異性であり得る2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、EP404097、WO1993/01161、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003) を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディもHudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003) に記載されている。単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部、または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部を含む、抗体断片である。特定の実施形態において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である（例えば、米国特許第6248516号を参照されたい）。

【0206】

抗体断片は、本明細書に記載されるように、インタクト抗体のタンパク分解消化のほか、組み換え宿主細胞（例えば、E. coliまたはファージ）による産生を含むがこれらに限定されない、様々な技術によって作製され得る。

20

【0207】

キメラ抗体及びヒト化抗体

本明細書に提供される抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本抗体は、キメラ抗体である。特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第4816567号に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルなどの非ヒト霊長類に由来する可変領域）及びヒト定常領域を含む。更なる例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のクラスまたはサブクラスから変化した「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体には、それらの抗原結合性断片が含まれる。

30

【0208】

本明細書に提供される抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本抗体は、ヒト化抗体である。典型的に、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減するために、ヒト化される。特定の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒトにおいて実質的に非免疫原性である。特定の実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト化抗体の由来となる別の種に由来する抗体と実質的に同じ標的親和性を有する。例えば、米国特許第5530101号、同第5693761号、同第5693762号、及び同第5585089号を参照されたい。特定の実施形態において、免疫原性を低減しながら、抗原結合ドメインの天然の親和性を減弱することなく修飾され得る、抗体可変ドメインのアミノ酸が同定される。例えば、米国特許第5766886号及び同第5869619号を参照されたい。一般に、ヒト化抗体は、HVR（またはそれらの一部分）が非ヒト抗体に由来し、FR（またはそれらの一部分）がヒト抗体配列に由来する、1つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、場合により、ヒト定常領域の少なくとも一部分も含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体におけるいくつかのFR残基は、例えば、抗体の特異性または親和性を復元または向上させるために、非ヒト抗体（例えば、HVR残基の由来となる抗体）に由来する対応する残基で置換される。

40

【0209】

ヒト化抗体及びそれらを作製する方法は、例えば、Almagro et al. Fro

50

nt. Biosci. 13:1619-1633 (2008) に概説されており、例えば米国特許第5821337号、同第7527791号、同第6982321号、及び同第7087409号に更に記載されている。ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域としては、「ベストフィット」法（例えば、Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993) を参照されたい）を使用して選択されるフレームワーク領域；特定のサブグループの軽鎖または重鎖可変領域を持つヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285 (1992)、及び Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993) を参照されたい）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系列フレームワーク領域（例えば、Almagro and Fransson Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) を参照されたい）；及びFRライブラリのスクリーニングから得られるフレームワーク領域（例えば、Baca et al. J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) 及び Rosok et al. J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996) を参照されたい）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0210】

ヒト抗体

本明細書に提供される抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で公知の様々な技術を使用して生成することができる。ヒト抗体については、van Dijk et al. Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74 (2001) 及び Lonberg Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008) に一般的に記載されている。

【0211】

ヒト抗体は、抗原投与に応答してインタクトヒト抗体またはヒト可変領域を有するインタクト抗体を産生するように修飾されているトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製することができる。マウス抗体の産生に欠損があり、ヒトIg遺伝子座の大きな断片を有するマウス系統は、マウス抗体を産生せずにヒト抗体を産生するであろうという予想のもとに、かかるマウス系統が工学操作される場合がある。大きなヒトIg断片により、大きく可変性のある遺伝子の多様性、ならびに抗体の産生及び発現の適切な調節が保たれ得る。抗体の多様化及び選択、ならびにヒトタンパク質に対する免疫寛容の欠如のためにマウス機序を利用することにより、これらのマウス系統において複製されたヒト抗体のレパトリーは、ヒト抗原を含め、任意の目的の抗原に対する高い親和性があり完全なヒト抗体をもたらし得る。ハイブリドーマ技術を使用すれば、所望の特異性を有する抗原特異的ヒトMAbを生成及び選択することができる。特定の例示的な方法は、米国特許第5545807号、EP546073、及びEP546073に記載されている。また、例えば、XENOMOUSE（商標）技術を説明している米国特許第6075181号及び同第6150584号、HUMAB（登録商標）技術を説明している米国特許第5770429号、K-M MOUSE（登録商標）技術を説明している米国特許第7041870号、ならびにVELOCIMOUSE（登録商標）技術を説明している米国特許出願公開第US2007/0061900号も参照されたい。かかる動物によって生成されたインタクト抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることにより、更に修飾され得る。

【0212】

ヒト抗体は、ハイブリドーマに基づく方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫細胞株及びマウス-ヒト異種骨髓腫細胞株については報告されている（例えば、Kozbor J. Immunol. 133:3001 (1984) 及び Boerner et al. J. Immunol. 147:86 (1991) を参照されたい）。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されるヒト抗体についても、Li et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:

3557-3562 (2006)に記載されている。更なる方法としては、例えば、米国特許第7189826号(ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトIgM抗体の産生について記載している)に記載されるものが挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)についても、Vollmers et al. *Histology and Histopathology* 20(3):927-937 (2005)及びVollmers et al. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 27(3):185-91 (2005)に記載されている。ヒト抗体は、ヒト由来のファージディスプレイライブラリから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成することもできる。かかる可変ドメイン配列は、次いで所望のヒト定常ドメインと組み合わせてもよい。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技術を以下に記載する。

【0213】

本明細書に提供される抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本抗体は、*in vitro*法及び／または所望される1つの活性もしくは複数の活性を有する抗体についてのコンビナトリアルライブラリのスクリーニングによって単離されたヒト抗体である。好適な例としては、ファージディスプレイ(CAT、Morphosys、Dyax、Biosite/Medarex、Xoma、Symphogen、Alexion(旧称Proliferon)、Affimed)、リボソームディスプレイ(CAT)、酵母ディスプレイ(Adimab)などが挙げられるが、これらに限定されない。特定のファージディスプレイ法では、VH及びVL遺伝子のレパートリーをポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローニングし、ファージライブラリでランダムに組み換え、次いでこれを、Winter et al. *Ann. Rev. Immunol.* 12:433-455 (1994)に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてかかるライブラリをスクリーニングする種々の方法が、当該技術分野では公知である。Sidhu et al. *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310, 2004、Lee et al. *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093, 2004、Fellouse *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004)、及びLee et al. *J. Immunol. Methods* 284(-2):119-132 (2004)も参照されたい。ファージは典型的には、抗体断片を一本鎖Fv(scFv)断片またはFab断片のいずれかとして提示する。免疫化源由来のライブラリは、ハイブリドーマを構築する必要なく、免疫原に対する高親和性抗体をもたらす。あるいは、Griffiths et al. *EMBO J.* 12:725-734 (1993)に記載されるように、ナイーブレパートリーを(例えばヒトから)クローニングして、いかなる免疫化も行わずに、広範な非自己抗原及び自己抗原に対する単一の抗体源をもたらすことができる。最後に、ナイーブラライブラリは、Hoogenboom et al. *J. Mol. Biol.*, 227:381-388, 1992に記載されるように、再編成されていないV遺伝子セグメントを幹細胞からクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマーを使用して可変性の高いHVR3領域をコードし、*in vitro*で再編成を達成することにより、合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリについて記載している特許公報としては、例えば、米国特許第5750373号、ならびに米国特許公開第2007/0292936号及び同第2009/0002360号が挙げられる。ヒト抗体ライブラリから単離された抗体は、本明細書ではヒト抗体またはヒト抗体断片とみなされる。

【0214】

Fc領域を含む定常領域

特定の実施形態において、抗CD33抗体は、アンタゴニスト抗体である。特定の実施形態において、抗CD33抗体は、アゴニスト抗体または不活性抗体である。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、IgGクラス、IgMクラス、またはI

g Aクラスのものである。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、IgGクラスのものであり、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプを有する。本明細書に提供される抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本抗体は、Fcを含む。いくつかの実施形態において、Fcは、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、及び／またはIgG4アイソタイプである。いくつかの実施形態において、本抗体は、IgGクラス、IgMクラス、またはIgAクラスのものである。

【0215】

特定の実施形態において、Fc領域は、以下の表Eに列挙されるFcバリエントを含む。Fcバリエントは、表Eに示すように、C末端リジン残基を含んでも含まなくてもよい。

表E：ヒトFcバリエント

ヒトFcバリエント	アミノ酸配列	配列番号
IgG1 - WT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	106
IgG1 - WT 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	107
IgG1 - LALAPS (L234A、 L235A、及び P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAEEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	108
IgG1 - LALAPS (L234A、 L235A、及び P331S) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAEEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	109
IgG1 - PS (P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV	110

10

20

30

40

50

ヒト Fc バリアント	アミノ酸配列	配列番号
	KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLSDSGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
IgG1 - PS (P331S) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLSDSGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	111
IgG1 - PSEG (P331S 及び E430G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLSDSGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHGAALHNHYTQKSLSLSPGK	112
IgG1 - PSEG (P331S 及び E430G) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLSDSGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHGAALHNHYTQKSLSLSPG	113
IgG1 - NSLF (N325S 及び L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLSDSGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	114
IgG1 - NSLF (N325S 及び L328F) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV	115

10

20

30

40

50

ヒトFc バリアント	アミノ酸配列	配列番号
	KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
IgG1 - PS (P331S) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	111
IgG1 - PSEG (P331S 及び E430G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHGAALHNHYTQKSLSLSPGK	112
IgG1 - PSEG (P331S 及び E430G) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHGAALHNHYTQKSLSLSPG	113
IgG1 - NSLF (N325S 及び L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	114
IgG1 - NSLF (N325S 及び L328F) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV	115

10

20

30

40

50

ヒト Fc バリアント	アミノ酸配列	配列番号
	KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
IgG1 - SELF (S267E 及び L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDEHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	116
IgG1 - SELF (S267E 及び L328F) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDEHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	117
IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	118
IgG2 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	119

【0216】

更なる抗CD33抗体、例えば、本開示のCD33タンパク質に特異的に結合する抗体は、その物理的／化学的特性及び／または生物学的活性について、当該技術分野で公知の様々なアッセイにより、同定、スクリーニング、及び／または解析することができる。

【0217】

Fcγ受容体と結合できる抗CD33抗体

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、Fcγ受容体に結合する能力を保持する。いくつかの実施形態において、かかる抗体は、受容体活性化と適合する正確なエピトープ特異性を有するとき、例えばCD33受容体をクラスター化し、一時的に

10

20

30

40

50

刺激する特長を有し得る。いくつかの実施形態において、かかる抗体は、後に、CD33の分解、CD33の脱感作、CD33の切断、CD33の内在化、CD33のシェディング、CD33発現の下方制御、及び／またはCD33のリソソーム分解を誘導することによって、CD33発現及び／またはCD33タンパク質の1つ以上の活性の長期持続的阻害剤として作用し得る。

【0218】

In vivoにおいて、本開示の抗CD33抗体は、考えられる複数の機序のうちのいずれか1つ以上によって、受容体をクラスター化し、CD33を一時的に活性化することができる。IgG2などのヒト抗体のいくつかのアイソタイプは、その特有の構造により、受容体をクラスター化し、または受容体をクラスター化構造に保持する固有の能力を有することで、Fc受容体に結合することなく、CD33などの受容体を一時的に活性化する（例えば、White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148）。

10

【0219】

いくつかの実施形態において、他の抗体は、隣接する細胞上のFcγ受容体に結合することによって、受容体（例えば、CD33）をクラスター化することができる。いくつかの実施形態において、抗体の定常IgG Fc領域がFcγ受容体に結合すると、抗体の凝集が生じることがあり、次に、これらの抗体がその可変領域を介して受容体に結合し、受容体を凝集させ得る（Chu et al (2008) Mol Immunol, 45: 3926-3933、及びWilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101-113）。いくつかの実施形態において、in vivoで抗体をクラスター化するには、サイトカイン分泌、酸化的バースト、食作用の増大、及び抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）の増強を誘起しない抑制性Fcγ受容体FcγRIIb（FcγRIIb）への結合が好ましい方法であり、これは、FcγRIIbへの結合が、有害な免疫応答作用に関連しないからである。

20

【0220】

本開示の抗CD33抗体が受容体をクラスター化し得る機序は他にもある。例えば、一緒に架橋された抗体断片（例えば、Fab断片）を使用すると、上記のように、Fcγ受容体に結合するFc領域を有する抗体と同様の様式で、受容体（例えば、CD33）をクラスター化することができる。いくつかの実施形態において、架橋された抗体断片（例えば、Fab断片）は、細胞表面上で受容体クラスター化を誘導し、標的（例えば、CD33）上の適切なエピトープに結合する場合、アゴニスト抗体として一時的に機能し得る。

30

【0221】

したがって、いくつかの実施形態において、CD33タンパク質に結合する本開示の抗体は、そのエピトープ特異性により、CD33に結合し、1つ以上のCD33活性を一時的に活性化した後、例えば、CD33の細胞レベルを低下させ、1つ以上のCD33活性を阻害し、及び／またはCD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を阻害する抗体を含み得る。いくつかの実施形態において、かかる抗体は、CD33上のリガンド結合部位に結合して天然リガンドの作用を一時的に模倣することができる、またはリガンド結合部位ではない1つ以上のドメインに結合することによって標的抗原を刺激してシグナルを伝達することができる。いくつかの実施形態において、かかる抗体は、リガンド結合に干渉しない。いくつかの実施形態において、抗体がCD33上のリガンド結合部位に結合するかしないかにかかわらず、本抗体は、後に、CD33の分解、CD33の脱感作、CD33の切断、CD33の内在化、CD33のシェディング、CD33発現の下方制御、及び／またはCD33のリソソーム分解を誘導することによって、CD33発現及び／またはCD33タンパク質の1つ以上の活性の長期持続的阻害剤として作用し得る。

40

【0222】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、CD33タンパク質の1つ以上の活性を一時的に誘導する抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、細

50

胞内に発現しているCD33タンパク質に結合した後、1つ以上の活性を一時的に誘導する。いくつかの実施形態において、CD33タンパク質は、細胞表面上に発現している。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体によって一時的に誘導されるCD33タンパク質の1つ以上の活性は、限定するものではないが、LCK及びFYNなどのSrcファミリーチロシンキナーゼによるTyr-340及びTyr-358のリン酸化；チロシン特異的タンパク質ホスファターゼSHP1及びSHP2の動員及び結合；Dynamin-1のグアニンヌクレオチド交換因子として作用するPLC-γ1の動員及び結合；SH2ドメイン含有タンパク質（例えば、Crkl）の動員及び結合；脾臓チロシンキナーゼSykの動員及び結合；SH3-SH2-SH3成長因子受容体結合タンパク質2（Grb2）の動員及び結合；複数のSH2含有タンパク質の動員及び結合；タンパク質キナーゼCによるSer-307及びSer-342のリン酸化；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞好中球、及び／またはミクログリアにおける1つ以上の炎症性サイトカインIL-4、IL-10、IL-13、IL-35、IL-16、TGF-β、IL-1Ra、G-CSF、及びTNF、IFN-β1a、IFN-β1b、またはIL-6の可溶性受容体の発現の調節；細胞内カルシウム動員の減少；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアにおける1つ以上の炎症誘発性サイトカインIFN-α4、IFN-β、IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-8、CRP、IL-20ファミリーメンバー、LIF、IFN-γ、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、CRP、IL-33、MCP-1、及びMIP-1-βの発現の調節；C1qa、C1qB、C1qC、C1s、C1R、C4、C2、C3、ITGB2、HMOX1、LAT2、CASP1、CSTA、VSIG4、MS4A4A、C3AR1、GPX1、TyroBP、ALOX5AP、ITGAM、SLC7A7、CD4、ITGAX、PYCARD、CD14、CD16、HLA-DR、及びCCR2から選択される1つ以上のタンパク質の発現の調節；細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）リン酸化の阻害；複数の細胞タンパク質に対するチロシンリン酸化の減少；C-Cケモカイン受容体7（CCR7）の発現の調節；CCL19発現細胞及びCCL21発現細胞へのミクログリア細胞走化性の阻害；ホスホイノシチド3-キナーゼの活性化；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞及び／またはミクログリアの細胞増殖の低減；樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、M2ミクログリア、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、及び／またはM2マクロファージによって誘導されるT細胞増殖の低減；破骨細胞生成の阻害、破骨細胞形成速度の減少、またはその両方；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの生存率低下；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの増殖の減少；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの遊走の阻害；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミクログリアの1つ以上の機能の低下；好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、顆粒球、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及び／またはM2ミク

10

20

30

40

50

ログリアの成熟の阻害；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの細胞死及びアポトーシスの増大；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの食作用活性の低減；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの増殖の低減；単球、マクロファージ、T細胞、樹状細胞、好中球、及び／またはミクログリアの全体的機能性の低下、ITAM含有受容体のリン酸化；ITAMシグナル伝達を媒介するシグナル伝達分子のリン酸化；パターン認識受容体の活性化の低下；Toll様受容体の活性化の低下；細胞破片及びタンパク質破片のクリアランスの損傷関連の活性化の低下；CD33とそのリガンドの1つ以上との間の相互作用；CD33とCD64などの共受容体との間の相互作用；アポトーシス性ニューロンクリアランス、機能不全シナプスクリアランス、神経組織破片クリアランス、非神経組織破片クリアランス、細菌もしくは他の異物クリアランス、病因タンパク質クリアランス、及び腫瘍細胞クリアランスから選択される1つ以上の種類のクリアランスの低下；アポトーシス性ニューロン、神経組織破片、非神経組織破片、細菌、他の異物、病因タンパク質、病因ペプチド、病因核酸、病因脂質、または腫瘍細胞のうちの1つ以上の食作用の阻害；病因核酸のクリアランスの阻害（例えば、病因核酸は、アンチセンスGGCCCC（G2C4）リピート伸長RNAである）；アミロイドβ、アミロイドβ斑、アミロイド前駆体タンパク質またはその断片、タウ、IAPP、α-シヌクレイン、TDP-43、FUSタンパク質、C9orf72（9番染色体オープンリーディングフレーム72）、c9RANタンパク質、プリオンタンパク質、PrPSc、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジスムターゼ、アタキシン、アタキシン1、アタキシン2、アタキシン3、アタキシン7、アタキシン8、アタキシン10、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質AⅠ、血清アミロイドA、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β2ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピテリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖AL、S-I BMタンパク質、リピート関連非ATG（RAN）翻訳産物、ジペプチドリピート（DPR）ペプチド、グリシン-アラニン（GA）リピートペプチド、グリシン-プロリン（GP）リピートペプチド、グリシン-アルギニン（GR）リピートペプチド、プロリン-アラニン（PA）リピートペプチド、ユビキチン、及びプロリン-アルギニン（PR）リピートペプチドから選択される病因タンパク質のクリアランスの活性化；膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、及び甲状腺癌から選択される異なる種類のがんに対する有益な免疫応答の阻害；認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、本態性振戦、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、及び多発性硬化症から選択される異なる種類の神経障害に対する有益な免疫応答の阻害；ループス、急性及び慢性大腸炎、損傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、及び骨パジェット病から選択される異なる種類の炎症性障害及び感染性障害に対する有益な免疫応答の阻害；アポトーシス性ニューロン、神経組織破片、機能不全シナプス、非神経組織破片、細菌、他の異物、病因タンパク質、病因ペプチド、病因核酸、または腫瘍細胞のうちの1つ以上の食作用の阻害（病因核酸は、アンチセンスGGCCCC（G2C4）リピート伸長RNAであり得、病因タンパク質は、アミロイドβ、アミロイドβオリゴマー、アミロイドβ斑、アミロイド前駆体タンパク質またはその断片、タウ、IAPP、α-シヌクレイン、TDP-43、FUSタンパク質、C9orf72（9番染色体オープンリーディングフレーム72）、c9RANタンパク質、プリオンタンパク質、PrPSc、ハンチンチン、カ

10

20

30

40

50

ルシトニン、スーパーオキシドジスムターゼ、アタキシン、アタキシン1、アタキシン2、アタキシン3、アタキシン7、アタキシン8、アタキシン10、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質AⅠ、血清アミロイドA、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β2ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピテリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖AL、S-IBMタンパク質、リピート関連非ATG(RAN)翻訳産物、ジペプチドリピート(DPR)ペプチド、グリシン-アラニン(GA)リピートペプチド、グリシン-プロリン(GP)リピートペプチド、グリシン-アルギニン(GR)リピートペプチド、プロリン-アラニン(PA)リピートペプチド、ユビキチン、及びプロリン-アルギニン(PR)リピートペプチドを含み得、腫瘍細胞は、膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、または甲状腺癌から選択されるがん由来し得る)；腫瘍細胞上のCD33リガンドへの結合；樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、T細胞、好中球、及び／またはマクロファージ上のCD33リガンドへの結合；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上による腫瘍細胞殺傷の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上の抗腫瘍細胞増殖活性の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上の抗腫瘍細胞転移活性の阻害；免疫抑制性樹状細胞、免疫抑制性マクロファージ、骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、または制御性T細胞の促進；TREM1、TREM2、FcγR、DAP10、及びDAP12などの1つ以上のITAMモチーフ含有受容体の阻害；モチーフD/E x O-2 Y x x L/I x 6-8 Y x x L/I(配列番号104)を含む1つ以上の受容体の阻害；病原体関連分子パターン(PAMP)を特定する受容体、及び損傷関連分子パターン(DAMP)を特定する受容体などの1つ以上のパターン認識受容体(PRR)によるシグナル伝達の阻害；1つ以上のToll様受容体によるシグナル伝達の阻害；JAK-STATシグナル伝達経路の阻害；活性化B細胞の核内因子カッパ軽鎖エンハンサー(NFκB)の阻害；PLCγ/PKC/カルシウム動員の阻害；PI3K/Akt、Ras/MAPKシグナル伝達の阻害；ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、または細胞傷害性T細胞のうちの1つ以上に発現したCD86などの1つ以上の炎症性受容体の発現の調節；1つ以上のCD33依存的遺伝子の発現増大；破壊されたCD33依存的遺伝子発現の正常化；ならびにNFAT転写因子などの1つ以上のITAM依存的遺伝子の発現減少を含み得る。本開示の抗CD33抗体は、CD33タンパク質の1つ以上の活性を一時的に誘導するその能力について、当該技術分野で公知であり本明細書に開示される任意の好適な技術またはアッセイを利用して試験され得る。かかる抗体が一時的に誘導する活性にかかわらず、かかる抗体は、後に、CD33の分解、CD33の脱感作、CD33の切断、CD33の内在化、CD33のシェディング、CD33発現の下方制御、及び／またはCD33のリソソーム分解を誘導することによって、CD33発現及び／またはCD33タンパク質の1つ以上の活性の長期持続的阻害剤として作用し得る。いくつかの実施形態において、CD33抗体は、Fc受容体への結合とは関係なくCD33タンパク質の1つ以上の活性を一時的に誘導する。

【0223】

例示的な抗体Fcアイソタイプ及び修飾を以下の表Bに記載する。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体に結合できる本開示の抗CD33抗体は、以下の表Bに列挙されるFcアイソタイプを有する。

10

20

30

40

表 B : Fc γ 受容体に結合できる例示的な抗CD33 抗体Fc アイソタイプ

Fc アイソタイプ	変異 (EU ナンバリングスキーム)
IgG1	N297A
IgG1	D265A 及び N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A 及び L235A L234A 及び G237A L234A 及び L235A 及び G237A
IgG1	D270A、及び/または P238D、及び/または L328E、 及び/または E233D、及び/または G237D 及び/または H268D、及び/または P271G、及び/または A330R
IgG1	P238D 及び L328E 及び E233D 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び L328E 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び S267E 及び L328F 及び E233D 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び S267E 及び L328F 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG2	V234A 及び G237A
IgG4	L235A 及び G237A 及び E318A
IgG4	S228P 及び L236E
IgG2/4 ハイブリッド	IgG2 aa 118~260 及び IgG4 aa 261~447
	H268Q 及び V309L; ならびに A330S 及び P331S
IgG1	C226S 及び C229S 及び E233P 及び L234V 及び L235A
IgG1	L234F 及び L235E 及び P331S
IgG2	C232S または C233S
IgG2	A330S 及び P331S
IgG1	S267E 及び L328F S267E 単独
IgG2	S267E 及び L328F
IgG4	S267E 及び L328F
IgG2	カッパ(軽鎖)LC を含む WT HC カッパ LC を含む HC C127S カッパ LC C214S カッパ LC C214S 及び HC C233S カッパ LC C214S 及び HC C232S 上記変異のいずれかと P330S 及び P331S 変異 WT IgG1 の F(ab') ₂ 断片及び上記変異のいずれか
IgG1	IgG1 の定常重鎖 1 (CH1) 及びヒンジ領域を IgG2 の CH1 及びヒンジ領域で置換

10

20

30

40

50

Fc アイソタイプ	変異 (EU ナンバリングスキーム)
	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP (配列番号 105) カッパ LC を含む
IgG1	上記変異のいずれかと A330L/A330S 及び/または L234F 及び/または L235E 及び/または P331S
IgG1、IgG2、また は IgG4	上記変異のいずれかと M252Y 及び/または S254T 及 び/または T256E
マウス IgG1、マウ ス IgG2a、マウス IgG2b	マウス疾患モデルの場合
IgG4	WT
IgG1	上記変異のいずれかと E430G、E430S、E430F、 E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y、 S440W 及び/またはこれらの任意の組み合わせ。
IgG2	上記変異のいずれかと E430G、E430S、E430F、 E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y、 S440W 及び/またはこれらの任意の組み合わせ。

10

20

【0224】

表 B に記載されるアイソタイプに加えて、理論に束縛されることを望むものではないが、ヒト Fcγ 受容体 I、IIA、IIC、IIIA、IIIB 及び/またはマウス Fcγ 受容体 I、II 及び IV に結合する、ヒト IgG1 または IgG3 アイソタイプの抗体及びそれらの変異体 (例えば Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 2009, 20:685-691) も、一過性アゴニスト抗体として作用し得ると考えられる。

30

【0225】

いくつかの実施形態において、Fcγ 受容体結合抗体は、IgG クラス、IgM クラス、または IgA クラスのものである。いくつかの実施形態において、Fcγ 受容体結合抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、本抗体は、Fc 領域において任意の組み合わせで C127S、L234A、L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S、E345R、E430G、S440Y からなる群から選択される残基位置に 1 個以上 (例えば、1 個以上、2 個以上、3 個以上、4 個以上、5 個以上、6 個以上、7 個以上、8 個以上、9 個以上、10 個以上、11 個以上、12 個以上、または 13 個全ての) アミノ酸置換を含む (残基位置は EU ナンバリングに従う)。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 E430G にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 L234A、L235A、及び P331A にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 L234A、L235A、P331A にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 K322A 及び E430G にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 P331S 及び E430G にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 A330S、P331S、及び E430G にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 K322A、A330S、及び P331S にアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc 領域は、位置 K322A、P3

40

50

31S、及びE430Gにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置A330S、P331S、及びE430Gにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置S267E及びL328Fにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置C127Sにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E345R、E430G及びS440Yにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置P331Sにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置L234A、L235A、及びP331Sにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置S267E及びL328Fにアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態において、上記アミノ酸置換のナンバリングは、EUNanバリングに従う。

10

【0226】

特定の実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、IgG2アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、ヒトIgG2定常領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトIgG2定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、抑制性Fc受容体に結合する。特定の実施形態において、抑制性Fc受容体は、抑制性Fc-γ受容体IIB（FcγIIB）である。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含む（例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比べて）。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、V234A（Alegre et al., (1994) Transplantation 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) Cell Immunol, 200:16-26）、G237A（Cole et al., (1999) Transplantation, 68:563-571）、H268Q、V309L、A330S、P331S（US2007/0148167; Armour et al., (1999) Eur J Immunol 29:2613-2624; Armour et al., (2000) The Haematology Journal 1 (Suppl. 1):27; Armour et al., (2000) The Haematology Journal 1 (Suppl. 1):27）、C232S、及び／またはC233S（White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148）、S267E、L328F（Chu et al., (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933）、M252Y、S254T、及び／またはT256Eから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUNanバリング規則に従う。

20

30

【0227】

いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、C127Sアミノ酸置換を含む重鎖定常ドメインを含むIgG2アイソタイプを有し、ここで、アミノ酸の位置は、EUNanバリング規則に従う（White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148、Lightle et al., (2010) PROTEIN SCIENCE 19:753-762、及びWO2008079246）。

【0228】

いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、C214Sアミノ酸置換を含むカッパ軽鎖定常ドメインを含むIgG2アイソタイプを有し、ここで、アミノ酸の位置は、EUNanバリング規則に従う（White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148、Lightle et al., (2010) PROTEIN SCIENCE 19:753-762、及びWO2008079246）。

40

【0229】

特定の実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、IgG1アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、マウスIgG1定常領域を含む。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、ヒトIgG1定常領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトIgG1定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、抑制性Fc受容体に結合する。特定の実施

50

形態において、抑制性Fc受容体は、抑制性Fc-γ受容体IIIB (FcγIIIB) である。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含む（例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比べて）。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、N297A (Bolt S et al. (1993) Eur J Immunol 23:403-411)、D265A (Shields et al. (2001) R. J. Biol. Chem. 276, 6591-6604)、D270A、L234A、L235A (Hutchins et al. (1995) Proc Natl Acad Sci USA, 92:11980-11984; Alegre et al., (1994) Transplantation 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) Cell Immunol, 200:16-26)、G237A (Alegre et al. (1994) Transplantation 57:1537-1543. 31; Xu et al. (2000) Cell Immunol, 200:16-26)、P238D、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G、A330R、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E (McEarchern et al., (2007) Blood, 109:1185-1192)、P331S (Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA 2008, 105:20167-20172)、S267E、L328F、A330L、M252Y、S254T、T256E、N297Q、P238S、P238A、A327Q、A327G、P329A、K322A、及び／またはT394Dから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従う。

【0230】

いくつかの実施形態において、本抗体は、IgG2アイソタイプ重鎖定常ドメイン1 (CH1) 及びヒンジ領域を含む (White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148)。特定の実施形態において、IgG2アイソタイプのCH1及びヒンジ領域は、ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP (配列番号105) のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体Fc領域は、S267Eアミノ酸置換、L328Fアミノ酸置換、もしくはその両方、及び／またはN297AもしくはN297Qアミノ酸置換を含み、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従う。

【0231】

特定の実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、IgG4アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、ヒトIgG4定常領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトIgG4定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、抑制性Fc受容体に結合する。特定の実施形態において、抑制性Fc受容体は、抑制性Fc-γ受容体IIIB (FcγIIIB) である。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含む（例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比べて）。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、L235A、G237A、S228P、L236E (Reddy et al., (2000) J Immunol, 164:1925-1933)、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T、及び／またはT256Eから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従う。

【0232】

特定の実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、ハイブリッドIgG2/4アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、Fcγ受容体結合抗体は、ヒトIgG2のアミノ酸118~260 (EUナンバリングに従う) と、ヒトIgG4のアミノ酸26

1～447（EUNanバリングに従う）とを含むアミノ酸配列を含む（WO1997/11971；WO2007/106585）。

【0233】

特定の実施形態において、本抗体は、マウスIgG4定常領域を含む（Bartholomaeus, et al. (2014). J. Immunol. 192, 2091-2098）。

【0234】

いくつかの実施形態において、Fc領域は、A330L、L234F、L235E、またはP331S（EUに従う）及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される1つ以上の追加のアミノ酸置換を更に含む。

【0235】

特定の実施形態において、本抗体は、Fc領域においてC127S、L234A、L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S、E345R、E430G、S440Y、及びこれらの任意の組み合わせから選択される残基位置に1つ以上のアミノ酸置換を含み、残基のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、L234A、L235A、及びP331Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G及びP331Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G及びK322Aにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、A330S、及びP331Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、K322A、A330S、及びP331Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、K322A、及びA330Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、K322A、及びP331Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置S267E及びL328Fにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置C127Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E345R、E430G及びS440Yにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置L234A、L235A、及びP331Sにアミノ酸置換を含み、残基位置のナンバリングは、EUNanバリングに従う。

【0236】

不活性抗体

本開示の抗CD33抗体の別のクラスには、不活性抗体が含まれる。本明細書で使用される場合、「不活性」抗体とは、その標的抗原（例えば、CD33）に特異的に結合するが、抗原機能を調節する（例えば、低下／阻害するまたは活性化／誘導する）ことはない抗体を意味する。例えば、CD33の場合、不活性抗体は、CD33の細胞レベルを調節せず、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を調節せず、またはCD33タンパク質の1つ以上の活性を調節しない。いくつかの実施形態において、細胞表面上でCD33をクラスター化する能力を有しない抗体は、受容体活性化と適合するエピトープ特異性を有している場合であっても、不活性抗体であり得る。

【0237】

いくつかの実施形態において、CD33タンパク質に結合する抗体には、CD33に結合するが、そのエピトープ特異性または特徴により、CD33の細胞レベルを低下させず、及び／またはCD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合

10

20

30

40

50

）を阻害しない抗体が含まれ得る。いくつかの実施形態において、かかる抗体は、例えば、毒素（例えば、化学療法薬）を腫瘍細胞へ輸送するためのカーゴとして使用することができる。したがって、いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、CD33に結合するが、CD33細胞レベルを低下させること、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を阻害すること、またはCD33タンパク質の1つ以上の活性を誘導することができない不活性抗体である。

【0238】

細胞上のCD33の細胞レベルを低下させる抗体も、低下させない抗体も、1つ以上のFcγ受容体への結合の低減を示す不活性Fc領域と組み合わせることができる。このようなFc領域及び修飾の例を以下の表Cに記載する。いくつかの実施形態において、不活性Fc領域を含む抗体は、以下の表Cに列挙されるFcアイソタイプを有する。

【0239】

抑制性抗CD33抗体

本開示の抗CD33抗体の第3のクラスには、1つ以上のCD33活性を遮断するか、または別様に阻害する抗体が含まれる。いくつかの実施形態において、CD33タンパク質に結合する抗体には、CD33の細胞レベル（例えば、CD33の細胞表面レベル）を低下させ、CD33及び／または1つ以上のCD33リガンドの間の相互作用（例えば、結合）を阻害し、CD33タンパク質の1つ以上の活性を阻害する抗体が含まれ得る。かかる抗体は、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用（例えば、結合）を防止すること、または1つ以上のCD33リガンドの存在下でCD33の細胞外ドメインから細胞の細胞質内へのシグナル伝達を防止することのいずれかによって、CD33タンパク質の1つ以上の活性を阻害する。抗体はまた、CD33の分解、CD33の脱感作、CD33の切断、CD33の内在化、CD33のシェディング、CD33発現の下方制御、及び／またはCD33のリソソーム分解を誘導することによりCD33の細胞表面レベルを低下させることによって、CD33タンパク質の1つ以上の活性を阻害し得る。いくつかの実施形態において、かかる抗CD33抗体は、CD33を一時的に活性化しない場合がある。

【0240】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、本開示の一過性抗CD33アゴニスト抗体のエピトープ特異性を有し得るが、Fcγ受容体に結合することができないFcドメインを有しているため、例えば、CD33を一時的にクラスター化し、活性化することはできない。

【0241】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、限定するものではないが、次の活性のうちの1つ以上を有する：シアル酸含有糖脂質またはシアル酸含有糖タンパク質などの1つ以上のCD33リガンドへのCD33タンパク質の結合を減少させる能力、サイトカインシグナル伝達（SOCs）タンパク質（例えば、SOCs3タンパク質）のサプレッサーのCD33タンパク質への結合を減少させる能力、CD33タンパク質のプロテアソーム分解を増大させる能力、循環樹状細胞、マクロファージ、単球、T細胞、及び／またはミクログリアの表面上のCD33の機能的発現を低減させる能力、LCK及びFYNなどのSrcファミリーチロシンキナーゼによるTyr-340及びTyr-358のリン酸化を減少させる能力、チロシン特異性タンパク質ホスファターゼSHP1及びSHP2の動員及び結合を減少させる能力、Dynam-1のグアニンヌクレオチド交換因子として作用するPLC-γ1の動員及び結合を減少させる能力、Crklの動員及び結合を減少させる能力、脾臓チロシンキナーゼSykの動員及び結合を減少させる能力、SH3-SH2-SH3成長因子受容体結合タンパク質2（Grb2）の動員及び結合を減少させる能力、複数のSH2含有タンパク質の動員及び結合を減少させる能力、細胞内カルシウム動員を増大させる能力、炎症誘発性サイトカインIL-1β、IL-8、及びTNF-αの生成を調節する能力、ホスホイノシチド3-キナーゼの活性化を低下させる能力、単球、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、及び／またはミクログリアの増殖

を増大させる能力、単球、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、及び／またはミクログリアの生存率を高める能力、複数の細胞タンパク質に対するチロシンリン酸化を増大させる能力、単球、マクロファージ、樹状細胞及び／またはミクログリアの食作用活性を増大させる能力、単球、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、及び／またはミクログリアの細胞増殖を増大させる能力、ITAMシグナル伝達を媒介するシグナル伝達分子のリン酸化を増大させる能力、パターン認識受容体の機能を増大させる能力、Toll様受容体の機能を増大させる能力、損傷関連分子パターン(DAMP)受容体の機能を増大させる能力、CCR7ケモカイン受容体7(CCR7)の発現を調節する能力、ならびに細胞破片及びタンパク質破片のクリアランスを増大させる能力。

【0242】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上のFcγ受容体への結合の低減を示すFc領域を有する。このようなFc領域及び修飾の例を以下の表Cに記載する。いくつかの実施形態において、本抗体は、以下の表Cに列挙されるFcアイソタイプを有する。

【0243】

Fcγ受容体への結合が低減した抗体Fcアイソタイプ

いくつかの実施形態において、Fcγ受容体への結合が低減した抗CD33抗体は、以下の表Cに列挙されるFcアイソタイプを有する。

10

20

30

40

50

表C：Fcγ受容体への結合が低減した例示的な抗CD33抗体Fcアイソタイプ

Fc アイソタイプ	変異(EU ナンバリングスキーム)
IgG1	N297A または N297Q 及び/または D270A
IgG1	D265A、D270A、及び/または N297A
IgG1	L234A 及び L235A
IgG2	V234A 及び G237A
IgG4	F235A 及び G237A 及び E318A E233P 及び/または F234V N297A または N297Q
IgG4	S228P 及び L236E S241P S241P 及び L248E S228P 及び F234A 及び L235A
IgG2	H268Q 及び V309L 及び A330S 及び P331S
IgG1	C220S 及び C226S 及び C229S 及び P238S
IgG1	C226S 及び C229S 及び E233P 及び L234V、及び L235A
IgG1	E233P 及び L234V 及び L235A 及び G236 欠失 P238A D265A N297A A327Q または A327G P329A
IgG1	K322A 及び L234A 及び L235A
IgG1	L234F 及び L235E 及び P331S
IgG1 または IgG4	T394D
IgG2	C232S または C233S N297A または N297Q
IgG2	V234A 及び G237A 及び P238S 及び H268A 及び V309L 及び A330S 及び P331S
IgG1、IgG2、または IgG4	Δa、b、c、ab、ac、g 修飾
IgG1	上記変異のいずれかと A330L または L234F 及び/または L235E 及び/または P331S
IgG1、IgG2、または IgG4	上記変異のいずれかと M252Y 及び/または S254T 及び/または T256E

10

20

30

40

【0244】

特定の実施形態において、抗CD33抗体は、IgG1アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、本抗体は、マウスIgG1定常領域を含む。いくつかの実施形態において、本抗体は、ヒトIgG1定常領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトIgG1定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含む（例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比べて）。

【0245】

いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、N297A、N297Q（

50

Bolt S et al. (1993) Eur J Immunol 23:403-411)、D265A、D270A、L234A、L235A (McEarchern et al., (2007) Blood, 109:1185-1192)、C226S、C229S (McEarchern et al., (2007) Blood, 109:1185-1192)、P238S (Davis et al., (2007) J Rheumatol, 34:2204-2210)、E233P、L234V (McEarchern et al., (2007) Blood, 109:1185-1192)、P238A、A327Q、A327G、P329A (Shields RL, et al., (2001) J Biol Chem. 276 (9):6591-604)、K322A、L234F、L235E (Hezareh, et al., (2001) J Virol 75, 12161-12168; Oganessian et al., (2008). Acta Crystallographica 64, 700-704)、P331S (Oganessian et al., (2008) Acta Crystallographica 64, 700-704)、T394D (Wilkinson et al. (2013) MAb 5 (3):406-417)、A330L、M252Y、S254T、及び／またはT256Eから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従う。特定の実施形態において、Fc領域は、グリシン236 (EUナンバリング規則に従う) に対応する位置にアミノ酸欠失を更に含む。

【0246】

いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、C220Sアミノ酸置換 (EUナンバリング規則に従う) を含む重鎖定常領域を含むIgG1アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、Fc領域は、A330L、L234F、L235E、及び／またはP331S (EUナンバリング規則に従う) から選択される1つ以上の更なるアミノ酸置換を更に含む。特定の実施形態において、抗CD33抗体は、IgG2アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、ヒトIgG2定常領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトIgG2定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含む (例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比べて)。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、P238S、V234A、G237A、H268A、H268Q、H268E、V309L、N297A、N297Q、V309L、A330S、P331S、C232S、C233S、M252Y、S254T、及び／またはT256Eから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従う (Vafa O. et al., (2014) Methods 65:114-126)。

【0247】

特定の実施形態において、抗CD33抗体は、IgG4アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、ヒトIgG4定常領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトIgG4定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含む (例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比べて)。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、E233P、F234V、L235A、G237A、E318A (Hutchins et al. (1995) Proc Natl Acad Sci USA, 92:11980-11984)、S228P、L234A/F234A、L236E、S241P、L248E (Reddy et al., (2000) J Immunol, 164:1925-1933; Angal et al., (1993) Mol Immunol. 30 (1):105-8; US 8614299 B2; Vafa O. et al., (2014) Methods 65:114-126)、T394D、M252Y、S254T、T256E、N297A、及び／またはN297Qから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従う。いくつかの実施形態において、本抗体は、IgG4アイソタイプを有し、残基

位置 228 に S228P アミノ酸置換、残基位置 234 に F234A アミノ酸置換、及び残基位置 235 に L235A アミノ酸置換を含む（残基位置は EU ナンバリングに従う）。

【0248】

いくつかの実施形態において、Fc 領域は、M252Y、S254T、及び／または T256E から選択される 1 つ以上の更なるアミノ酸置換を更に含み、ここで、アミノ酸の位置は、EU ナンバリング規則に従う。

【0249】

更なる IgG 変異

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される IgG1 バリエーションのうちの 1 つ以上は、補体活性化をなくすために、A330L 変異（Lazar et al., (2006) Proc Natl Acad Sci USA, 103:4005-4010）、または L234F、L235E、及び／または P331S 変異のうちの 1 つ以上（Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA, 105:20167-20172）と組み合わせることができ、ここで、アミノ酸の位置は、EU ナンバリング規則に従う。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される IgG バリエーションは、抗 CD33 抗体のヒト血清中半減期を向上させる 1 つ以上の変異（例えば、EU ナンバリング規則に従った M252Y、S254T、T256E 変異）と組み合わせることができる（Dall'Acqua et al., (2006) J Biol Chem, 281:23514-23524、及び Strohl et al., (2009) Current Opinion in Biotechnology, 20:685-691）。

【0250】

いくつかの実施形態において、本開示の IgG4 バリエーションは、抗体の安定化を向上させるために、S228P 変異（EU ナンバリング規則に従う）（Angal et al., (1993) Mol Immunol, 30:105-108）及び／または Peters et al., (2012) J Biol Chem. 13;287(29):24525-33）に記載されている 1 つ以上の変異と組み合わせることができる。

【0251】

二重特異性抗体

本開示の特定の態様は、本開示の CD33 タンパク質上の 1 つ以上のドメイン及び第 2 の抗原に結合する二重特異性抗体に関する。二重特異性抗体を生成する方法は、当該技術分野で周知であり、本明細書に記載される。いくつかの実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、本開示の CD33 タンパク質の 1 つ以上のアミノ酸残基、例えば、ヒト CD33（配列番号 1）の 1 つ以上のアミノ酸残基、または配列番号 1 のアミノ酸残基に対応する CD33 タンパク質上のアミノ酸残基に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、第 1 の抗原及び第 2 の抗原を認識する。いくつかの実施形態において、第 1 の抗原は、CD33 タンパク質またはその天然に存在するバリエーションである。いくつかの実施形態において、第 2 の抗原もまた、CD33 タンパク質またはその天然に存在するバリエーションである。いくつかの実施形態において、第 2 の抗原は、血液脳関門を通過する輸送を促進する抗原である（例えば、Gabathuler R., Neurobiol. Dis. 37(2010)48-57 を参照されたい）。このような第 2 の抗原には、限定するものではないが、トランスフェリン受容体（TR）、インスリン受容体（HIR）、インスリン様成長因子受容体（IGFR）、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質 1 及び 2（LPR-1 及び 2）、ジフテリア毒素受容体、CRM197、ラマ単一ドメイン抗体、TMEM30（A）、タンパク質形質導入ドメイン、TAT、Syn-B、ペネトラチン、ポリアルギニンペプチド、ANG1005 などのアンジオペプチド（例えば、Gabathuler, 2010 参照）、ならびに血液脳関門内皮細胞上に豊富に存在する他の細胞表面タンパク質（例えば、Daneman et al., PLoS One. 2010 Oct 29;5(10):e13741 参照）が含まれる。いくつかの実施形態において、第 2 の抗原は、限定するものではないが、アミロイド

β、アミロイドβオリゴマー、アミロイドβ斑、アミロイド前駆体タンパク質またはその断片、タウ、IAPP、α-シヌクレイン、TDP-43、FUSタンパク質、C9orf72（9番染色体オープンリーディングフレーム72）、c9RANタンパク質、プリオンタンパク質、PrPSc、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジスムターゼ、アタキシン、アタキシン1、アタキシン2、アタキシン3、アタキシン7、アタキシン8、アタキシン10、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質AI、血清アミロイドA、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β2ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピテリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖AL、S-IBMタンパク質、リピート関連非ATG（RAN）翻訳産物、ジペプチドリピート（DPR）ペプチド、グリシン-アラニン（GA）リピートペプチド、グリシン-プロリン（GP）リピートペプチド、グリシン-アルギニン（GR）リピートペプチド、プロリン-アラニン（PA）リピートペプチド、ユビキチン、及びプロリン-アルギニン（PR）リピートペプチドを含む、病因タンパク質である。いくつかの実施形態において、第2の抗原は、免疫細胞上に発現している1つ以上のリガンド及び／またはタンパク質であり、限定するものではないが、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137／4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD38、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR5、CD39、CD70、CD73、TREM1、TREM2、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、SirpA、CD47、CSF1-受容体、CD3、及びホスファチジルセリンを含む。いくつかの実施形態において、第2の抗原は、1つ以上の腫瘍細胞上に発現しているタンパク質、脂質、多糖または糖脂質である。

【0252】

抗体断片

本開示の特定の態様は、本開示のCD33タンパク質、CD33タンパク質の天然に存在するバリエーション、及びCD33タンパク質の疾患バリエーションのうちの1つ以上に結合する抗体断片に関する。いくつかの実施形態において、抗体断片は、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、またはscFv断片である。

【0253】

いくつかの実施形態において、抗体断片は、第2のCD33抗体と組み合わせて、及び／またはアミロイドβ、アミロイドβオリゴマー、アミロイドβ斑、アミロイド前駆体タンパク質またはその断片、タウ、IAPP、α-シヌクレイン、TDP-43、FUSタンパク質、C9orf72（9番染色体オープンリーディングフレーム72）、c9RANタンパク質、プリオンタンパク質、PrPSc、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジスムターゼ、アタキシン、アタキシン1、アタキシン2、アタキシン3、アタキシン7、アタキシン8、アタキシン10、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質AI、血清アミロイドA、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β2ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピテリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖AL、S-IBMタンパク質、リピート関連非ATG（RAN）翻訳産物、ジペプチドリピート（DPR）ペプチド、グリシン-アラニン（GA）リピートペプチド、グリシン-プロリン（GP）リピートペプチド、グリシン-アルギニン（GR）リピートペプチド、プロリン-アラニン（PA）リピートペプチド、ユビキチン、及びプロリン-アルギニン（PR）リピートペプチド、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される病因タンパク質に特異的に結合する1つ以上の抗体と組み合わせて、またはCD40、OX40、ICOS、CD28、CD137／4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD38、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR5、CD39、CD70、CD73、TREM1、TREM2、CD47、

CSF-1受容体、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、ホスファチジルセリン、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される免疫調節タンパク質に結合する1つ以上の抗体と組み合わせて使用される。

【0254】

いくつかの実施形態において、本開示の抗体断片は、本開示の抗CD33抗体のいずれかと同じエピトープと結合する機能性断片であってもよい。いくつかの実施形態において、抗体断片は、本開示の抗CD33抗体または抗体断片を小型化したものであり、対応する完全長抗体と同じエピトープを有するが、分子量がかなり小さいものである。このような小型化した抗CD33抗体断片は、より優れた脳透過能を有し、半減期がより短くなり得るため、イメージング及び診断用途に有利である（例えば、Lutje Set al., Bioconjug Chem. 2014 Feb 19; 25 (2): 335-41、Tavare Ret al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Jan 21; 111 (3): 1108-13、及びWiehr Set al., Prostate. 2014 May; 74 (7): 743-55を参照されたい）。したがって、いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体断片は、対応する完全長抗体と比較して良好な脳透過能を有し、及び／または対応する完全長抗体と比較して短い半減期を有する。

【0255】

抗体フレームワーク

本明細書に記載される抗体はいずれもフレームワークを更に含む。いくつかの実施形態において、フレームワークは、ヒト免疫グロブリンフレームワークである。例えば、いくつかの実施形態において、抗体（例えば、抗CD33抗体）は、上記実施形態のいずれかにあるようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークを更に含む。ヒト免疫グロブリンフレームワークがヒト抗体の一部である場合もあれば、非ヒト抗体が1つ以上の内因性フレームワークをヒトフレームワーク領域（複数可）に置き換えることによってヒト化される場合もある。ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域としては、「ベストフィット」法（例えば、Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993)を参照されたい）を使用して選択されるフレームワーク領域；特定のサブグループの軽鎖または重鎖可変領域を持つヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 89: 4285 (1992)、及びPresta et al., J. Immunol., 151: 2623 (1993)を参照されたい）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系列フレームワーク領域（例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008)を参照されたい）；及びFRライブラリのスクリーニングから得られるフレームワーク領域（例えば、Baca et al., J. Biol. Chem. 272: 10678-10684 (1997)及びRosok et al., J. Biol. Chem. 271: 22611-22618 (1996)を参照されたい）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0256】

完全長抗体

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、上述の可変重鎖配列を含む完全長重鎖と、上述の可変軽鎖配列を含む完全長軽鎖とを含む。特定の実施形態において、抗CD33抗体は、配列番号120または121の完全長重鎖配列、及び配列番号122の完全長軽鎖配列を含む。

【0257】

CD33活性

免疫関連タンパク質の発現の調節

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、細胞内に発現しているCD

10

20

30

40

50

33タンパク質に結合した後、PD-L1、PD-L2、B7-H2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の発現を調節し得る。発現の調節（例えば、増大または減少）には、限定するものではないが、遺伝子発現における調節、転写発現における調節、またはタンパク質発現における調節が含まれ得る。遺伝子、転写産物（例えば、mRNA）、及び／またはタンパク質の発現を決定するには、当該技術分野で公知である任意の方法が使用され得る。例えば、ノーザンブロット分析は、抗炎症メディエーターの遺伝子発現レベルを決定するために使用され得、RT-PCRは、抗炎症メディエーターの転写のレベルを決定するために使用され得、ウェスタンブロット分析は、抗炎症メディエーターのタンパク質レベルを決定するために使用され得る。

【0258】

本明細書で使用される場合、PD-L1、PD-L2、B7-H2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の発現が調節され得るのは、その発現が、本開示の抗CD33抗体で治療される対象の1つ以上の細胞において、該抗体で治療されていない対応する対象の1つ以上の細胞において発現したPD-L1、PD-L2、B7-H2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の発現と比較して調節される（例えば、増大または減少する）場合である。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、対象の1つ以上の細胞におけるPD-L1、PD-L2、B7-H2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の発現を、該抗体で治療されていない対応する対象の1つ以上の細胞におけるPD-L1、PD-L2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の発現と比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%調節し得る。他の実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、対象の1つ以上の細胞におけるPD-L1、PD-L2、B7-H2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の発現を、該抗体で治療されていない対応する対象の1つ以上の細胞におけるPD-L1、PD-L2、B7-H2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の発現と比較して、例えば少なくとも1.5倍、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍調節する。

【0259】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、限定するものではないが、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、損傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経ループス、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、

10

20

30

40

50

外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、骨パジェット病、ならびに膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、多発性骨髄腫、真性多血症、本態性血小板増加症、原発性もしくは特発性骨髄線維症、原発性もしくは特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、CD33を発現する腫瘍、甲状腺癌を含むがん、感染症、CNSヘルペス、寄生虫感染症、Trypanosome感染症、Cruzii感染症、Pseudomonas aeruginosa感染症、Leishmania donovani感染症、B群Streptococcus感染症、Campylobacter jejuni感染症、Neisseria meningitidis感染症、I型HIV、ならびにHaemophilus influenzaを含む、PD-L1、PD-L2、B7-H2、B7-H3、CD200R、CD163及び／またはCD206の異常なレベルに関連する病態及び／または疾患を予防し、そのリスクを低下させ、または治療するのに有用である。

【0260】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上の神経変性疾患関連ステージ2ミクログリア型（疾患関連ミクログリア（DAM）マーカー）の発現を調節する（例えば、増大させる）ことができる。疾患関連ミクログリアとは、静止型または非活性化型のミクログリアと比較して、ApoE3、Tyrobp、B2m、Trem2、Cst7、Ctsl、Lpl、Cd9、Axl、Csfl、Ccl6、Itgax、Clec7a、Lilrb4、Timp2の発現増大、ならびにミクログリア恒常性維持分子Cx3cr1及びP2ry12またはP2ry13の発現減少を呈するミクログリアを意味する。

【0261】

したがって、いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、個体の1つ以上の細胞における1つ以上のDAMマーカー、すなわちApoE3、Tyrobp、B2m、Trem2、Cst7、Ctsl、Lpl、Cd9、Axl、Csfl、Ccl6、Itgax、Clec7a、Lilrb4、Timp2、またはこれらの任意の組み合わせの発現を、抗CD33抗体で治療されていない対応する個体の1つ以上の細胞における1つ以上のDAMマーカー、例えばApoE3、Tyrobp、B2m、Trem2、Cst7、Ctsl、Lpl、Cd9、Axl、Csfl、Ccl6、Itgax、Clec7a、Lilrb4、Timp2、及びこれらの任意の組み合わせの発現と比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%増大させ得る。Keren-Shaul et al. Cell 169:1276-1290 (2017)を参照されたい。この文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。他の実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、個体の1つ以上の細胞における1つ以上のDAMマーカー、例えばApoE3、Tyrobp、B2m、Trem2、Cst7、Ctsl、Lpl、Cd9、Axl、Csfl、Ccl6、Itgax、Clec7a、Lilrb4、Timp2、Trem2、及びこれらの任意の組み合わせの発現を、抗CD33抗体で治療されていない対応する個体の1つ以上の細胞における1つ以上のDAMマーカー、例えばApoE3、Tyrobp、B2m、Trem2、Cst7、C

10

20

30

40

50

t s l、L p l、C d 9、A x l、C s f 1、C c l 6、I t g a x、C l e c 7 a、L i l r b 4、T i m p 2、及びこれらの任意の組み合わせの発現と比較して、例えば少なくとも1.5倍、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍調節する（例えば、増大させる）。いくつかの実施形態において、DAMマーカーはC s t 7である。いくつかの実施形態において、DAMマーカーはC c l 6である。いくつかの実施形態において、DAMマーカーはI t g a xである。いくつかの実施形態において、調節は、発現の増大である。いくつかの実施形態において、DAMの数またはその発現の増大は、炎症活性を伴わないミクログリア食作用活性の増大を含め、ミクログリア食作用活性の増大に関連する。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、少なくとも1つのミクログリアチェックポイント分子によってミクログリア免疫活性に課される制限を解除または回避することにより、DAMの数または発現の増大をもたらす。

【0262】

本明細書では更に、個体が抗CD33抗体治療に対するレスポnderであるかノンレスポnderであるかを決定する方法であって、(a)治療前の個体から得られた該個体由来の試料中の1つ以上の神経変性疾患関連ステージ2ミクログリア型(DAM)マーカー、例えばA p o E 3、T y r o b p、B 2 m、T r e m 2、C s t 7、C t s l、L p l、C d 9、A x l、C s f 1、C c l 6、I t g a x、C l e c 7 a、L i l r b 4、T i m p 2、及びこれらの任意の組み合わせのレベルを測定するステップ、(b)第1の治療後の時点で個体から得られた該個体由来の試料中の1つ以上の神経変性疾患関連ステージ2ミクログリア型(DAM)マーカー、例えばA p o E 3、T y r o b p、B 2 m、T r e m 2、C s t 7、C t s l、L p l、C d 9、A x l、C s f 1、C c l 6、I t g a x、C l e c 7 a、L i l r b 4、T i m p 2、及びこれらの任意の組み合わせのレベルを測定するステップ、ならびに(c)ステップi)で測定されたレベルをステップi)で測定されたレベルと比較するステップを含み、該レベル間の差は、該個体がレスポnderであるかノンレスポnderであることを示す、方法が提供される。いくつかの実施形態において、該レベル間の差は、上昇であり、該個体がレスポnderであることを示す。いくつかの実施形態において、該レベル間の差は、低下または無変化であり、該個体がノンレスポnderであることを示す。いくつかの実施形態において、DAMマーカーはC s t 7である。いくつかの実施形態において、DAMマーカーはC c l 6である。いくつかの実施形態において、DAMマーカーはI t g a xである。

【0263】

抗原特異的T細胞の増殖を誘導する骨髄由来樹状細胞の能力の向上または正常化

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、細胞内に発現しているCD33タンパク質に結合した後、抗原特異的T細胞の増殖を誘導する骨髄由来樹状細胞の能力を向上及び／または正常化し得る。

【0264】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、対象の1つ以上の骨髄由来樹状細胞において抗原特異的T細胞の増殖を誘導する骨髄由来樹状細胞の能力を、該抗体で治療されていない対応する対象の1つ以上の骨髄由来樹状細胞において抗原特異的T細胞の増殖を誘導する骨髄由来樹状細胞の能力と比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75

％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％、または少なくとも２００％向上及び／または正常化し得る。他の実施形態において、抗ＣＤ３３アンタゴニスト抗体は、対象の１つ以上の骨髓由来樹状細胞において抗原特異的Ｔ細胞の増殖を誘導する骨髓由来樹状細胞の能力を、該抗体で治療されていない対応する対象の１つ以上の骨髓由来樹状細胞において抗原特異的Ｔ細胞の増殖を誘導する骨髓由来樹状細胞の能力と比較して、例えば少なくとも少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍、または少なくとも１０倍向上及び／または正常化し得る。

【０２６５】

いくつかの実施形態において、本開示の抗ＣＤ３３抗体は、限定するものではないが、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、損傷治療、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、骨パジェット病、ならびに膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、多発性骨髄腫、真性多血症、本態性血小板増加症、原発性もしくは特発性骨髄線維症、原発性もしくは特発性骨髄硬化症、骨髓由来腫瘍、ＣＤ３３を発現する腫瘍、甲状腺癌を含むがん、感染症、ＣＮＳヘルペス、寄生虫感染症、Trypanosome感染症、Cruz i 感染症、Pseudomonas aeruginosa 感染症、Leishmania donovani 感染症、B群Streptococcus 感染症、Campylobacter jejuni 感染症、Neisseria meningitidis 感染症、I型HIV、ならびにHaemophilus influenzaを含む、抗原特異的Ｔ細胞の増殖を誘導する骨髓由来樹状細胞の能力の低下または失調に関連する病態及び／または疾患を予防し、そのリスクを低下させ、または治療するのに有益である。

【０２６６】

ＣＤ３３発現細胞の増殖及び生存

いくつかの実施形態において、本開示の抗ＣＤ３３抗体は、細胞上に発現しているＣＤ３３タンパク質に結合した後、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、及びミクログリア細胞の増殖、生存、及び／または機能を増大させ得る。

【０２６７】

ミクログリア細胞は、脳及び脊髄の常在性マクロファージであるグリア細胞の一種であ

り、したがって、中枢神経系（CNS）の能動免疫防御の第1形態として、かつ主要形態として作用する。ミクログリア細胞は、脳内の総グリア細胞集団の20%を構成する。ミクログリア細胞は、CNSからブランク、損傷ニューロン、及び感染因子を絶えず清掃している。脳及び脊髄は、易損性の神経組織に大多数の病原体が到達するのを防ぐ血液脳関門として知られる一連の内皮細胞によって身体の他の部分から分離されていることから、「免疫特権」器官とみなされる。感染因子が脳内に直接導入された場合、または血液脳関門を通過した場合、ミクログリア細胞は、感染因子が感受性の神経組織に損傷を与える前に、迅速に反応して炎症を制限し、感染因子を破壊しなければならない。身体の他の部分からの抗体を利用できない（血液脳関門を通過するほど小さい抗体はほとんどない）ため、ミクログリアは、異物を認識し、それを飲み込み、T細胞を活性化する抗原提示細胞として作用しなければならない。このプロセスは、致命的になり得る損傷を防ぐために迅速に行われなければならないので、ミクログリア細胞は、CNS中の小さな病的変化に対してさえ極めて敏感である。ミクログリア細胞は、この感受性を、部分的には、細胞外カリウムのわずかな変化にも反応する特有のカリウムチャネルを有することによって達成する。

【0268】

本明細書で使用される場合、本開示のマクロファージは、限定するものではないが、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、及びM2マクロファージを含む。本明細書で使用される場合、本開示のミクログリア細胞は、限定するものではないが、M1ミクログリア細胞、活性化M1ミクログリア細胞、及びM2ミクログリア細胞を含む。

【0269】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、樹状細胞、単球、及び／またはマクロファージ上のCD80、CD83及び／またはCD86の発現を増大させ得る。

【0270】

本明細書で使用される場合、マクロファージ、樹状細胞、単球、T細胞、好中球、及び／またはミクログリアの増殖速度、生存、及び／または機能は、本開示の抗CD33抗体で治療した対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリアの増殖速度、生存、及び／または機能が、該抗体で治療されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、T細胞、好中球、及び／またはミクログリアの増殖速度、生存、及び／または機能を上回る場合、発現の増大を含み得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、T細胞、及び／またはミクログリアの増殖速度、生存、及び／または機能を、該抗体で治療されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、T細胞、及び／またはミクログリアの増殖速度、生存、及び／または機能と比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%増大させ得る。他の実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、T細胞、及び／またはミクログリアの増殖速度、生存、及び／または機能を、該抗体で治療されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、T細胞、及び／またはミクログリアの増殖速度、生存、及び／または機能と比較して、例えば少なくとも1.5倍

、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍増大させ得る。

【0271】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、限定するものではないが、
認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツ
フェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー
病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、ループス、急性及び慢性大腸炎、関
節リウマチ、損傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、
本態性振戦、中枢神経ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症
、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節
変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、
外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、気道感染症、敗
血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、
骨形成、大理石骨病、骨パジェット病、ならびに膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、
子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、
膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性
白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、多発
性骨髄腫、真性多血症、本態性血小板増加症、原発性もしくは特発性骨髄線維症、原発
性もしくは特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、CD33を発現する腫瘍、甲状腺癌を含むがん
、感染症、CNSヘルペス、寄生虫感染症、Trypanosome感染症、Cruz
i感染症、Pseudomonas aeruginosa感染症、Leishmania
donovani感染症、B群Streptococcus感染症、Campylobacter
jejuni感染症、Neisseria meningitidis感染症、
I型HIV、ならびにHaemophilus influenzaを含む、樹状細胞、
好中球、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、
T細胞、及び／またはミクログリアの増殖、生存、アポトーシス増大及び／または機能の
低下に関連する病態及び／または疾患を予防し、そのリスクを低下させ、または治療する
のに有益である。

【0272】

免疫細胞のCD33依存的活性化

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、細胞傷害性
T細胞、ヘルパーT細胞、またはその両方の活性を増大させ得る。いくつかの実施形態に
おいて、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、限定するものではないが、膀胱癌、
脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、
黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、及び甲状腺癌など
の固形腫瘍を含む腫瘍を含む、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、またはその両方の活
性の減少に関連する病態及び／または疾患を予防し、そのリスクを低下させ、または治療
するのに有益である。

【0273】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、T細胞、細胞
傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、
好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリ
ア細胞の増殖、生存、活性、及び／または数の増大を誘導し得る。いくつかの実施形態に
おいて、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、骨髄由来抑制性細胞（MDSC）の

存在下で、T細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖、生存、活性、及び／または数の増大を誘導する。

【0274】

本明細書で使用される場合、T細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖速度、生存、活性、及び／または数は、本開示の抗CD3抗体で治療した対象におけるT細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖速度、生存、活性、及び／または数が、該抗体で治療されていない対応する対象におけるT細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖速度、生存、活性、及び／または数を上回る場合、割合の増大を含み得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD3抗体は、対象におけるT細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖、生存、活性、及び／または数を、該抗体で治療されていない対応する対象におけるT細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖、生存、活性、及び／または数のレベルと比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%増大させ得る。他の実施形態において、本開示の抗CD3抗体は、対象におけるT細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖、生存、活性、及び／または数を、該抗体で治療されていない対応する対象におけるT細胞、細胞傷害性T細胞、CD3⁺T細胞、ヘルパーT細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリア細胞の増殖、生存、活性、及び／または数のレベルと比較して、例えば少なくとも1.5倍、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍増大させ得る。

【0275】

腫瘍関連免疫細胞のCD3依存性阻害

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD3アゴニスト抗体は、活性を減少させ、増殖を減少させ、生存率を低下させ、機能性を低下させ、腫瘍もしくはリンパ系器官（例えば、脾臓及びリンパ節）への浸潤、CD14⁺骨髄細胞の数を減少させ、腫瘍成長速

10

20

30

40

50

度を減少させ、腫瘍体積を低減させ、骨髄由来抑制性細胞（M D S C）の分化、生存、及び／または1つ以上の機能を低減もしくは阻害し、及び／または制御性T細胞もしくは抑制性腫瘍埋没型免疫抑制性樹状細胞、もしくは腫瘍関連マクロファージ、もしくは骨髄由来抑制性細胞のアポトーシスを促進し得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33アゴニスト抗体は、限定するものではないが、CD33を発現しない固形腫瘍、例えば膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、甲状腺癌、及びCD33を発現する血液腫瘍、例えば白血病細胞を含む腫瘍を含む、1つ以上の種類の免疫抑制性細胞の活性に関連する病態及び／または疾患を予防し、そのリスクを低下させ、または治療するのに有益である。

10

【0276】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、CD14⁺骨髄細胞の数を減少させ、腫瘍成長速度を減少させ、腫瘍体積を低減させ、または骨髄由来抑制性細胞（M D S C）の分化、生存、及び／または1つ以上の機能を低減もしくは阻害し得る。

【0277】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、対象において、該抗体で治療されていない対応する対象におけるCD14⁺骨髄細胞の数、腫瘍成長速度、腫瘍体積、または骨髄由来抑制性細胞（M D S C）の分化、生存、及び／または1つ以上の機能のレベルと比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%、CD14⁺骨髄細胞の数を減少させ、腫瘍成長速度を減少させ、腫瘍体積を低減させ、または骨髄由来抑制性細胞（M D S C）の分化、生存、及び／または1つ以上の機能を低減もしくは阻害し得る。他の実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、対象において、該抗体で治療されていない対応する対象におけるCD14⁺骨髄細胞の数、腫瘍成長速度、腫瘍体積、または分化、生存、及び／または骨髄由来抑制性細胞（M D S C）の1つ以上の機能のレベルと比較して、例えば少なくとも1.5倍、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍、CD14⁺骨髄細胞の数を減少させ、腫瘍成長速度を減少させ、腫瘍体積を低減させ、または骨髄由来抑制性細胞（M D S C）の分化、生存、及び／または1つ以上の機能を低減もしくは阻害し得る。

20

30

40

【0278】

チェックポイント阻害療法の有効性の増大

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法、例えばPD-1阻害剤、またはCTL4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、及び／またはLAG3のうちの1つ以上を標的とする療法の有効性を増大させ得る。

【0279】

50

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法、例えばPD-1阻害剤、またはCTL4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、及び／またはLAG3のうちの1つ以上を標的とする療法を受けている対象において、かかる1つ以上の療法の有効性を、1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法、例えばPD-1阻害剤、またはCTL4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、及び／またはLAG3のうちの1つ以上を標的とする療法を受けており、該抗体で治療されていない対応する対象におけるかかる1つ以上の療法の有効性のレベルと比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%増大させ得る。他の実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法、例えばPD-1阻害剤、またはCTL4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、及び／またはLAG3のうちの1つ以上を標的とする療法を受けている対象において、かかる1つ以上の療法の有効性を、1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法、例えばPD-1阻害剤、またはCTL4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、及び／またはLAG3のうちの1つ以上を標的とする療法を受けており、該抗体で治療されていない対応する対象におけるかかる1つ以上の療法の有効性のレベルと比較して、例えば少なくとも1.5倍、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍増大させ得る。

【0280】

化学療法剤の有効性の増大

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体は、ゲムシタビン、カペシタビン、アントラサイクリン、ドキソルビシン（Adriamycin（登録商標））、エピルビシン（Erlence（登録商標））、タキサン、パクリタキセル（Taxol（登録商標））、ドセタキセル（Taxotere（登録商標））、5-フルオロウラシル（5-FU）、シクロホスファミド（Cytosan（登録商標））、カルボプラチン（Paraplatin（登録商標））、オキサリプラチン（Eloxatin（登録商標））、ロイコボリン、及び／またはテモゾロミド（Temodar（登録商標））などの1つ以上の化学療法剤の有効性を増大させ得る。

【0281】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上の化学療法剤を受けている対象において、かかる1つ以上の療法の有効性を、1つ以上の化学療法剤を受けており、該抗体で治療されていない対応する対象におけるかかる1つ以上の療法の有効性のレベルと比較して、例えば少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%

、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%増大させ得る。他の実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、かかる1つ以上の療法を受けている対象において、1つ以上の化学療法剤の有効性を、かかる1つ以上の療法を受けており、該抗体で治療されていない対応する対象における1つ以上の化学療法剤の有効性のレベルと比較して、例えば少なくとも1.5倍、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍増大させ得る。

【0282】

抗体の調製

本開示の抗CD33抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体及びキメラ抗体、ヒト抗体、抗体断片（例えば、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv、及びF(ab')₂）、二重特異性抗体及び多特異性抗体、多価抗体、ヘテロコンジュゲート抗体、コンジュゲート抗体、ライブラリ由来抗体、改変されたエフェクター機能を有する抗体、抗体の一部分を含む融合タンパク質、ならびに本開示のCD33タンパク質のアミノ酸残基を有するエピトープなどの抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意の他の改変形態（抗体のグリコシル化バリエーション、抗体のアミノ酸配列バリエーション、及び共有結合的に修飾された抗体を含む）を包含し得る。抗CD33抗体は、ヒト、ネズミ、ラットまたは任意の他の起源であってよい（キメラ抗体またはヒト化抗体を含む）。

【0283】

（1）ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体、例えば抗CD33ポリクローナル抗体は、一般に、関連抗原及びアジュバントの皮下（sc）注射または腹腔内（ip）注射を複数回行うことによって動物内で産生される。関連抗原（例えば、精製されたまたは組み換えの本開示のCD33タンパク質）を、免疫しようとする種において免疫原性であるタンパク質、例えば、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、またはダイズトリプシン阻害剤に、二官能性剤または誘導体化剤、例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を介したコンジュゲート）、N-ヒドロキシスクシンイミド（リジン残基を介する）、グルタルアルデヒド、コハク酸無水物、SOCl₂、またはR¹N=C=NR（式中、R及びR¹は独立して低級アルキル基である）を使用して、コンジュゲートすることが有用であり得る。用いることができるアジュバントの例としては、フロイント完全アジュバント及びMPL- α -TDMアジュバント（モノホスホリルリピドA、合成トレハロースジコリノミコール酸エステル）が挙げられる。当業者であれば、過度な実験をすることなく、免疫化プロトコルを選択することができる。

【0284】

所望の抗原、免疫原性コンジュゲート、または誘導体に対する動物の免疫化は、例えば、100 μ g（ウサギの場合）または5 μ g（マウスの場合）のタンパク質またはコンジュゲートを3倍量のフロイント完全アジュバントと合わせ、この溶液を複数部位に皮内注射することによってなされる。1か月後、フロイント完全アジュバント中のペプチドまたはコンジュゲートの元の量の1/5～1/10を複数部位に皮下注射することによって動物に追加免疫を行う。7～14日後、動物から採血し、血清の抗体力価をアッセイする。

力価が安定状態に達するまで、動物に追加免疫を行う。コンジュゲートはまた、組み換え細胞培養でタンパク質融合体として作製することができる。また、ミョウバンなどの凝集剤も免疫応答を高めるのに好適である。

【0285】

(2) モノクローナル抗体

抗CD33モノクローナル抗体などのモノクローナル抗体は、実質的に同種の抗体集団から得られるものであり、すなわち、その集団に含まれる個々の抗体は、微量で存在し得る可能性のある天然に存在する変異及び／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除き、同一である。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、異なる抗体の混合物ではないという抗体の特徴を示す。

【0286】

例えば、抗CD33モノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature, 256:495 (1975) に最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して作製されてもよいし、組み換えDNA法（米国特許第4,816,567号）によって作製されてもよい。

【0287】

ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターを上述のように免疫化することで、免疫化に使用されるタンパク質（例えば、精製されたまたは組み換えの本開示のCD33タンパク質）に特異的に結合する抗体を産生する、または産生することができるリンパ球が生じる。あるいは、リンパ球は、in vitroで免疫化してもよい。次いで、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用し、リンパ球を骨髓腫細胞と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する（Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, p. 59-103 (Academic Press, 1986)）。

【0288】

免疫剤は、典型的に、抗原性タンパク質（例えば、精製されたまたは組み換えの本開示のCD33タンパク質）またはその融合バリエーションを含む。一般に、ヒト起源の細胞が所望される場合には、末梢血リンパ球（「PBL」）が使用されるのに対し、非ヒト哺乳動物起源が所望される場合には、脾臓細胞またはリンパ節細胞が使用される。次いで、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用し、リンパ球を不死化細胞株と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する。Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103。

【0289】

不死化細胞株は、通常、形質転換された哺乳動物細胞、特にげっ歯類、ウシまたはヒト起源の骨髓腫細胞である。通常、ラットまたはマウスの骨髓腫細胞株が用いられる。このように調製されたハイブリドーマ細胞を、融合していない親骨髓腫細胞の増殖または生存を阻害する1つ以上の物質を好ましくは含む好適な培養培地に播種し、増殖させる。例えば、親骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPR TまたはHPR T）を欠く場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的に、HGPR T欠損細胞の増殖を妨げる物質であるヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン（HAT培地）を含む。

【0290】

好ましい不死化骨髓腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による安定した高レベルの抗体産生を支援し、HAT培地などの培地に感受性を示すものである。なかでも、MOPC-21及びMPC-11マウス腫瘍に由来するもの（Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USAから入手可能）、ならびにSP-2細胞及びその誘導体（例えば、X63-Ag8-653）（American Type Culture Collection, Manassas, Virginia USAから入手可能）などの

10

20

30

40

50

マウス骨髓腫株が好ましい。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫細胞株及びマウス-ヒト異種骨髓腫細胞株についても報告されている (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984)、Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

【0291】

ハイブリドーマ細胞を増殖させる培養培地は、抗原（例えば、本開示のCD33タンパク質）に対するモノクローナル抗体の産生についてアッセイされる。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降または *in vitro* 結合アッセイ、例えばラジオイムノアッセイ (RIA) または酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) によって決定される。

10

【0292】

ハイブリドーマ細胞を培養する培養培地は、所望の抗原（例えば、本開示のCD33タンパク質）に対するモノクローナル抗体の存在についてアッセイされ得る。好ましくは、モノクローナル抗体の結合親和性及び特異性は、免疫沈降または *in vitro* 結合アッセイ、例えばラジオイムノアッセイ (RIA) または酵素結合アッセイ (ELISA) によって決定され得る。このような技術及びアッセイは、当該技術分野で公知である。例えば、結合親和性は、Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980) のスキッチャード分析によって決定され得る。

20

【0293】

所望の特異性、親和性、及び／または活性を持つ抗体を産生するハイブリドーマ細胞を同定した後、クローンを限界希釈法によってサブクローニングし、標準的な方法によって増殖させることができる (Goding、上掲)。この目的に好適な培養培地には、例えば、D-MEM培地またはRPMI-1640培地が含まれる。更に、ハイブリドーマ細胞は、哺乳動物において *in vivo* で腫瘍として増殖させてもよい。

【0294】

サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体は、従来の免疫グロブリン精製手法、例えば、プロテインA-セファロースクロマトグラフィー、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、及び上述の他の方法などによって、培養培地、腹水、または血清から好適に分離される。

30

【0295】

抗CD33モノクローナル抗体は、組み換えDNA法、例えば米国特許第4,816,567号に開示された方法及び上述の方法によっても作製され得る。モノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手法を使用して（例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合するオリゴヌクレオチドプローブを使用して）容易に単離及び配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、このようなDNAの好ましい供給源として機能する。DNAが単離されたら、そのDNAを発現ベクターに入れることができ、次いで、これを、さもなければ免疫グロブリンタンパク質を産生しないE. coli細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、または骨髓腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトすることにより、かかる組み換え宿主細胞中でモノクローナル抗体を合成させる。抗体をコードするDNAの細菌における組み換え発現についての総説には、Skerra et al., Curr. Opin. Immunol., 5:256-262 (1993) 及びPluckthun, Immunol. Rev. 130:151-188 (1992) がある。

40

【0296】

特定の実施形態において、抗CD33抗体は、McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990) に記載される技術を使用して生成された抗体ファージライブラリから単離することができる。Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991) 及びMarks et al., J.

50

Mol. Biol., 222:581-597 (1991) は、それぞれ、ファージライブラリからのマウス抗体及びヒト抗体の単離について記載している。後続の公開文献は、鎖シャッフリングによる高親和性（ナノモル（「nM」）範囲）のヒト抗体の生成（Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992)）、ならびに非常に大きいファージライブラリを構築するための方策としてのコンビナトリアル感染及び *in vivo* 組み換え（Waterhouse et al., Nucleic Acids Res., 21:2265-2266 (1993)）について記載している。したがって、これらの技術は、所望の特異性を持つモノクローナル抗体（例えば、本開示の CD33 タンパク質に結合するもの）を単離するための従来のモノクローナル抗体ハイブリドーマ技術の実行可能な代替案である。

10

【0297】

抗体またはその断片をコードする DNA はまた、例えば、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード配列を相同マウス配列の代わりに置き換えることによって（米国特許第 4,816,567 号、Morrison, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)）、または免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全てもしくは一部を共有結合させることによって、改変することができる。典型的には、かかる非免疫グロブリンポリペプチドを、ある抗体の定常ドメインの代わりに置き換えて、またはある抗体の 1 つの抗原結合部位の可変ドメインの代わりに用いて、ある抗原に対して特異性を有する 1 つの抗原結合部位と、異なる抗原に対して特異性を有する別の抗原結合部位とを含むキメラ二価抗体を作り出す。

20

【0298】

本明細書に記載されるモノクローナル抗体（例えば、本開示の抗 CD33 抗体またはその断片）は、一価であり得、その調製については、当該技術分野で周知である。例えば、1 つの方法は、免疫グロブリンの軽鎖及び修飾された重鎖の組み換え発現を必要とする。重鎖は、重鎖架橋を防止するように、一般に Fc 領域内の任意の点でトランケートされる。あるいは、関連するシステイン残基を、別のアミノ酸残基で置換するか、架橋を防止するように欠失させてもよい。In vitro 法も一価抗体の調製に好適である。抗体を消化して、その断片、特に Fab 断片を生成することは、当該技術分野において公知の常法を使用して達成することができる。

【0299】

キメラまたはハイブリッドの抗 CD33 抗体もまた、架橋剤を必要とするものを含め、合成タンパク質化学における公知の方法を使用して *in vitro* で調製され得る。例えば、ジスルフィド交換反応を使用して、またはチオエーテル結合を形成することにより、免疫毒素を構築してもよい。この目的に好適な試薬の例としては、イミノチオレート及びメチル-4-メルカプトブチルイミデートが挙げられる。

30

【0300】

（3）ヒト化抗体

本開示の抗 CD33 抗体またはその抗体断片は、ヒト化抗体またはヒト抗体を更に含む。非ヒト（例えば、マウス）抗体のヒト化型は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含む、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、またはその断片（例えば、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab')₂、または抗体の他の抗原結合サブ配列）である。ヒト化抗体には、レシピエントの相補性決定領域（CDR）の残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、またはウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）の CDR の残基に置き換えられている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）が含まれる。場合により、ヒト免疫グロブリンの Fv フレームワーク残基が、対応する非ヒト残基に置き換えられる。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体にも、移入された CDR またはフレームワーク配列にも見出されない残基を含み得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも 1 つ、典型的には 2 つの可変ドメインの実質的に全てを含み、ここで、CDR 領域の全てまたは実質的に全ては、非ヒト免疫グロブリンの CDR 領域に対応し、FR 領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列の FR 領

40

50

域である。ヒト化抗体はまた、最適には、免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンの少なくとも一部を含む。Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)、及びPresta, Curr. Opin. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)。

【0301】

非ヒト抗体のヒト化方法は、当該技術分野で周知である。一般に、ヒト化抗体は、ヒト以外の供給源から導入された1つ以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、多くの場合、「移入」残基と呼ばれ、典型的には「移入」可変ドメインから得られる。ヒト化は、本質的に、Winter及び共同研究者ら、Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)、Riechmann et al., Nature 332:323-327 (1988)、Verhoeyen et al., Science 239:1534-1536 (1988)の方法に従って、またはげっ歯類のCDRもしくはCDR配列をヒト抗体の対応する配列の代わりに用いることによって行うことができる。したがって、このような「ヒト化」抗体は、インタクトなヒト可変ドメインよりも実質的に小さい部分が、非ヒト種由来の対応する配列で置換されている、キメラ抗体である（米国特許第4,816,567号）。実際には、ヒト化抗体は、典型的に、いくつかのCDR残基と、場合によりいくつかのFR残基とが、げっ歯類抗体の類似部位の残基で置換されているヒト抗体である。

【0302】

ヒト化抗体の作製に使用されるヒト可変ドメインの選択は、軽鎖と重鎖の両方で、抗原性を低減させることが非常に重要である。いわゆる「ベストフィット」法では、げっ歯類抗体の可変ドメインの配列を、既知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリに対してスクリーニングする。次いで、げっ歯類の配列に最も近いヒト配列を、ヒト化抗体のヒトフレームワーク（FR）とする。Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993)、Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定のサブグループの全ヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワークを使用する。同じフレームワークをいくつかの異なるヒト化抗体に使用することができる。Carter et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:4285 (1992)、Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993)。

【0303】

更に、抗体は、抗原に対する高い親和性及び他の好ましい生物学的特性を保ったままヒト化されることが重要である。この目的を達成するために、好ましい方法によれば、ヒト化抗体は、親配列及びヒト化配列の三次元モデルを使用して親配列と様々な概念上のヒト化産物について分析するプロセスによって、調製される。三次元免疫グロブリンモデルは一般に利用可能であり、当業者にはよく知られている。選択された免疫グロブリン候補配列から推定される三次元立体構造を例示及び表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示を検討することにより、当該免疫グロブリン候補配列の機能において残基が果たすと予想される役割の分析、すなわち、免疫グロブリン候補がその抗原と結合する能力に影響する残基の分析が可能となる。このようにして、標的抗原または抗原（例えば、本開示のCD33タンパク質）に対する親和性の増大などの所望の抗体特性が達成されるように、レシピエント及び移入配列からFR残基を選択し、組み合わせることができる。一般に、CDR残基は、抗原結合への影響に直接的かつ最も実質的に関与している。

【0304】

様々な形態のヒト化抗CD33抗体が企図される。例えば、ヒト化抗CD33抗体は、Fabなどの抗体断片であってよく、これは場合により、免疫コンジュゲートを生成するために、1つ以上の細胞傷害剤（複数可）とコンジュゲートされる。あるいは、ヒト化抗CD33抗体は、インタクトIgG1抗体などのインタクト抗体であってもよい。

【0305】

(4) 抗体断片

特定の実施形態において、全抗体の抗CD33抗体ではなく、抗CD33抗体断片を使用する利点がある。断片サイズがより小さければ、迅速なクリアランス及び良好な脳透過性が可能になる。

【0306】

抗体断片を生成するための技術は、様々なものが開発されている。従来、これらの断片は、インタクト抗体のタンパク分解消化によって得られていた（例えば、Morimoto et al., J. Biochem. Biophys. Method. 24:107-117 (1992)、及びBrennan et al., Science 229:81 (1985)を参照されたい）。しかしながら、これらの断片は、現在、組み換え宿主細胞によって、例えば、本開示の抗CD33抗体をコードする核酸を使用して、直接生成することができる。Fab、Fv及びscFv抗体断片は全て、E. coli中で発現及び分泌され得るため、これらの断片の大量生産が容易になっている。抗CD33抗体断片は、上述の抗体ファージライブラリから単離することもできる。あるいは、Fab'-SH断片をE. coliから直接回収し、化学的にカップリングして、F(ab')₂断片を形成することができる（Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)）。別のアプローチでは、F(ab')₂断片を組み換え宿主細胞培養から直接単離することができる。in vivo半減期が延長されたFab及びF(ab')₂抗体断片の生成については、米国特許第5,869,046号に記載されている。他の実施形態において、最適な抗体は、一本鎖Fv断片(scFv)である。WO93/16185、米国特許第5,571,894号及び米国特許第5,587,458号を参照されたい。抗CD33抗体断片は、例えば、米国特許第5,641,870号に記載されている「線状抗体」であってもよい。かかる線状抗体断片は、単一特異性であっても二重特異性であってもよい。

【0307】

(5) 二重特異性抗体及び多特異性抗体

二重特異性抗体(BsAb)は、同じまたは別のタンパク質（例えば、1つ以上の本開示のCD33タンパク質）上のエピトープを含む、少なくとも2つの異なるエピトープに対する結合特異性を有する抗体である。あるいは、BsAbの1つの部分を標的CD33抗原に結合するように武装させてもよく、別の部分を第2のタンパク質に結合するアームと組み合わせてもよい。このような抗体は、完全長抗体または抗体断片から得ることができる（例えば、F(ab')₂二重特異性抗体）。

【0308】

二重特異性抗体の作製方法は、当該技術分野で公知である。完全長の二重特異性抗体の従来の生成は、2対の免疫グロブリン重鎖／軽鎖の同時発現に基づくものであり、これらの2つの鎖は、異なる特異性を有する。Milstein et al., Nature, 305:537-539 (1983)。免疫グロブリンの重鎖と軽鎖は、ランダムな組み合わせであるため、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は、10種の異なる抗体分子の混合物を産生する可能性があり、正しい二重特異性構造を有するのは、これらのうちの1つのみである。正しい分子の精製は、通常はアフィニティークロマトグラフィーステップにより行われるが、かなり煩雑であり、生成物の収率は低くなる。同様の手法がWO93/08829及びTraunecker et al., EMBO J., 10:3655-3659 (1991)に開示されている。

【0309】

異なるアプローチでは、所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン（抗体-抗原結合部位）を免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合させる。融合は、好ましくは、ヒンジ、CH2及びCH3領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとの融合である。軽鎖結合に必要な部位を含む第1の重鎖定常領域(CH1)が、融合体のうちの少なくとも1つに存在するのが好ましい。免疫グロブリン重鎖融合体をコードするDNA

と、所望により、免疫グロブリン軽鎖をコードするDNAとを別個の発現ベクターに挿入し、好適な宿主生物にコトランスフェクトする。こうすると、構築に使用される3つのポリペプチド鎖の割合が異なるときに最適な収率が得られる実施形態では、3つのポリペプチド断片の相互比率を調節するうえで優れた柔軟性がもたらされる。しかしながら、少なくとも2つのポリペプチド鎖の発現が同じ割合であるときに高収率が得られる場合、または割合に特定の重要性がない場合には、2つまたは3つ全てのポリペプチド鎖のコード配列を1つの発現ベクターに挿入することが可能である。

【0310】

このアプローチの好ましい一実施形態において、二重特異性抗体は、第1の結合特異性を有する一方のアームのハイブリッド免疫グロブリン重鎖と、他方のアームのハイブリッド免疫グロブリン重鎖－軽鎖対（第2の結合特異性を提供する）から構成される。この非対称構造は、免疫グロブリン軽鎖が二重特異性分子の半分のみに存在することにより容易な分離方法が提供されるため、不要な免疫グロブリン鎖の組み合わせから所望の二重特異性化合物を分離するのが簡便になることが見出された。このアプローチは、WO94/04690に開示されている。二重特異性抗体の生成に関する更なる詳細については、例えば、Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121:210 (1986) を参照されたい。

【0311】

WO96/27011または米国特許第5,731,168号に記載される別のアプローチによれば、一对の抗体分子間の界面を工学操作して、組み換え細胞培養物から回収されるヘテロ二量体の割合を最大にすることができる。好ましい界面は、抗体定常ドメインのCH3領域の少なくとも一部を含む。この方法では、第1の抗体分子の界面の1つ以上の小さいアミノ酸側鎖を、より大きい側鎖（例えば、チロシンまたはトリプトファン）に置き換える。この大きい側鎖（複数可）と同一または同様の大きさの補償「キャビティ」を、第2の抗体分子の界面上に、大きいアミノ酸側鎖をより小さいアミノ酸側鎖（例えば、アラニンまたはトレオニン）に置き換えることによって作り出す。これにより、ホモ二量体などの他の不要な最終産物よりもヘテロ二量体の収率が増大する機構が提供される。

【0312】

二重特異性抗体を抗体断片から生成するための技術は、文献で説明されている。例えば、二重特異性抗体は、化学結合を使用して調製することができる。Brennan et al., *Science* 229:81 (1985) は、インタクト抗体をタンパク分解的に切断してF(ab')₂断片を生成する手法を記載している。これらの断片を、ジチオール錯化剤である亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元して、隣接ジチオールを安定させ、分子間ジスルフィド形成を防止する。次いで、生成されたF(ab')₂断片を、チオニトロ安息香酸（TNB）誘導体に変換する。次いで、F(ab')₂－TNB誘導体のうちの1つをF(ab')₂－TNB誘導体に再変換して、二重特異性抗体を形成する。生成された二重特異性抗体は、酵素の選択的固定化のための作用物質として使用することができる。

【0313】

F(ab')₂断片をE. coliから直接回収し、化学的にカップリングして、二重特異性抗体を形成することもできる。Shalaby et al., *J. Exp. Med.* 175:217-225 (1992) は、完全ヒト化二重特異性抗体F(ab')₂分子の生成について記載している。各F(ab')₂断片をE. coliから別々に分泌させ、in vivoで指向性化学的カップリングに供することで、二重特異性抗体が形成された。このように形成された二重特異性抗体は、ErbB2受容体を過剰発現する細胞及び正常なヒトT細胞に結合するとともに、ヒト乳房腫瘍標的に対するヒト細胞傷害性リンパ球の溶解活性を誘発することができた。

【0314】

組み換え細胞培養物から二価抗体断片を直接的に作製及び単離するための様々な技術も報告されている。例えば、ロイシンジッパーの使用により、二価ヘテロ二量体が生成されている。Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):154

10

20

30

40

50

7-1553 (1992)。Fos及びJunタンパク質に由来するロイシンジッパーペプチドを、遺伝子融合によって、2つの異なる抗体のFab'部分に結合し、この抗体ホモ二量体をヒンジ領域で還元して単量体を形成し、次いで、これを再び酸化することで、抗体ヘテロ二量体が形成された。Hollinger et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)に記載された「ダイアボディ」技術は、二重特異性／二価抗体断片を作製するための代替的機構を提供している。当該断片は、同じ鎖上の2つのドメイン間で対合が形成されないような短いリンカーによって軽鎖可変ドメイン(V_L)に接続された重鎖可変ドメイン(V_H)を含む。したがって、1つの断片のV_Hドメイン及びV_Lドメインを、別の断片の相補的なV_Lドメイン及びV_Hドメインと対合させ、それにより、2つの抗原結合部位を形成する。一本鎖Fv(sFv)二量体の使用によって二重特異性／二価抗体断片を作製する別の方策も報告されている。Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照されたい。

【0315】

2価を超える抗体も企図される。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991)。

【0316】

例示的な二重特異性抗体は、所与の分子(例えば、本開示のCD33タンパク質)上の2つの異なるエピトープに結合し得る。あるいは、特定のタンパク質を発現する細胞に細胞防御機構を集中させるために、CD33シグナル伝達成分を標的とするアームを、T細胞受容体分子(例えば、CD2、CD3、CD28またはB7)などの白血球上の誘発分子、またはFcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)及びFcγRIII(CD16)などのIgG(FcγR)のFc受容体に結合するアームと組み合わせてもよい。また、二重特異性抗体を使用して、特定のタンパク質を発現する細胞に細胞傷害剤を局在化させることができる。このような抗体は、タンパク質結合アームと、細胞傷害剤または放射性核種キレート剤、例えば、EOTUBE、DPTA、DOTAまたはTETAに結合するアームとを有する。目的の二重特異性抗体の別のものは、目的のタンパク質に結合し、更に組織因子(TF)に結合する。

【0317】

(6) 多価抗体

多価抗体は、その抗体が結合する抗原を発現する細胞によって、二価抗体よりも速く内在化(及び／または異化)され得る。本開示の抗CD33抗体またはその抗体断片は、3つ以上の抗原結合部位を有する(IgMクラス以外の)多価抗体(例えば、四価抗体)であり得、抗体のポリペプチド鎖をコードする核酸の組み換え発現によって容易に生成することができる。多価抗体は、二量体化ドメイン、及び3つ以上の抗原結合部位を含み得る。好ましい二量体化ドメインは、Fc領域またはヒンジ領域を含む。このシナリオでは、抗体は、Fc領域と、Fc領域のアミノ末端側に3つ以上の抗原結合部位とを含むことになる。本明細書における好ましい多価抗体は、3～約8の抗原結合部位を含むが、好ましくは4つの抗原結合部位を含む。多価抗体は、少なくとも1つのポリペプチド鎖(好ましくは2つのポリペプチド鎖)を含み、ここで、ポリペプチド鎖(複数可)は、2つ以上の可変ドメインを含む。例えば、ポリペプチド鎖(複数可)は、VD1-(X1)n-VD2-(X2)n-Fcを含み得、ここで、VD1は第1の可変ドメインであり、VD2は第2の可変ドメインであり、FcはFc領域の1つのポリペプチド鎖であり、X1及びX2はアミノ酸またはポリペプチドを表し、nは0または1である。同様に、ポリペプチド鎖(複数可)は、V_H-C_H1-可動性リンカー-V_H-C_H1-Fc領域鎖またはV_H-C_H1-V_H-C_H1-Fc領域鎖を含み得る。本明細書における多価抗体は、好ましくは、少なくとも2つ(好ましくは4つ)の軽鎖可変ドメインポリペプチドを更に含む。本明細書における多価抗体は、例えば、約2～約8の軽鎖可変ドメインポリペプチドを含み得る。ここで企図される軽鎖可変ドメインポリペプチドは、軽鎖可変ドメインを含み、場合により、CLドメインを更に含む。多価抗体は、CD33抗原だけでなく、限定するもの

ではないが、更なる抗原である、 $A\beta$ ペプチド抗原、または α シヌクレインタンパク質抗原、またはタウタンパク質抗原、またはTDP-43タンパク質抗原、またはプリオンタンパク質抗原、またはハンチンチンタンパク質抗原、またはRAN翻訳産物抗原、例えば、グリシン-アラニン (GA)、グリシン-プロリン (GP)、グリシン-アルギニン (GR)、プロリン-アラニン (PA)、もしくはプロリン-アルギニン (PR) から構成されるジペプチドリピート (DPRペプチド)、インスリン受容体、インスリン様成長因子受容体、トランスフェリン受容体、または抗体の血液脳関門を通過する輸送を促進する任意の他の抗原を認識し得る。

【0318】

(7) ヘテロコンジュゲート抗体

ヘテロコンジュゲート抗体もまた、本開示の範囲内である。ヘテロコンジュゲート抗体は、共有結合した2つの抗体 (例えば、本開示の抗CD33抗体またはその抗体断片) から構成される。例えば、ヘテロコンジュゲート中の抗体の一方がアビジンにカップリングされ、他方がビオチンにカップリングされ得る。このような抗体は、例えば、望まれない細胞に免疫系細胞を標的化するために提案されており (米国特許第4,676,980号)、HIV感染症の治療に使用されている。国際公開第WO91/00360号、同第WO92/200373号、及びEP0308936。抗体は、架橋剤を必要とするものを含め、合成タンパク質化学における公知の方法を使用して *in vitro* で調製され得ることが企図される。例えば、ジスルフィド交換反応を使用して、またはチオエーテル結合を形成することにより、免疫毒素を構築してもよい。この目的に好適な試薬の例としては、イミノチオレート及びメチル-4-メルカプトブチルイミデート、ならびに例えば米国特許第4,676,980号に開示されているものが挙げられる。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の簡便な架橋方法を使用して作製することができる。好適な架橋剤は、当該技術分野で周知であり、いくつかの架橋技術とともに、米国特許第4,676,980号に開示されている。

【0319】

(8) エフェクター機能の工学操作

本開示の抗CD33抗体を修飾して、抗体のエフェクター機能を改変し、及び／または血清中半減期を延長することが望ましい場合がある。例えば、定常領域上のFc受容体結合部位を修飾または変異させて、特定のFc受容体、例えばFc γ RI、Fc γ RII、及び／またはFc γ RIIIに対する結合親和性を除去または低減させることができる。いくつかの実施形態において、エフェクター機能は、抗体のFc領域 (例えば、IgGのCH2ドメイン中) のN-グリコシル化を除去することによって低下する。いくつかの実施形態において、エフェクター機能は、PCT WO99/58572及びArmour et al., Molecular Immunology 40:585-593 (2003)、Reddy et al., J. Immunology 164:1925-1933 (2000) に記載されるように、ヒトIgGの233~236、297、及び／または327~331などの領域を修飾することによって低下する。

【0320】

抗体の血清中半減期を延長させるには、例えば、米国特許第5,739,277号に記載されるように、サルベージ受容体結合エピトープを抗体 (特に抗体断片) 中に組み込むことができる。本明細書で使用される場合、「サルベージ受容体結合エピトープ」という用語は、IgG分子の *in vivo* 血清中半減期を延長させる要因となるIgG分子 (例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄) のFc領域のエピトープを意味する。

【0321】

(9) 他のアミノ酸配列修飾

本開示の抗CD33抗体またはその抗体断片のアミノ酸配列修飾もまた企図される。例えば、抗体または抗体断片の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善することが望ましいことがある。抗体または抗体断片のアミノ酸配列バリエーションは、その抗体もしくは

10

20

30

40

50

は抗体断片をコードする核酸中に適切なヌクレオチド変化を導入することによって、またはペプチド合成によって調製される。かかる修飾としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／またはその残基への挿入、及び／またはその残基の置換が挙げられる。欠失、挿入及び置換は、最終的な構築物に到達するように、任意の組み合わせがなされる。ただし、最終的な構築物が所望の特徴（すなわち、本開示のCD33タンパク質と結合し、または物理的に相互作用する能力）を有することを条件とする。また、アミノ酸の変化により、抗体の翻訳後プロセスも変わる場合があり、例えば、グリコシル化部位の数または位置が変更する場合がある。

【0322】

変異誘発に好ましい位置である抗CD33抗体の特定の残基または領域を同定するのに有用な方法は、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれ、Cunningham and Wells in Science, 244:1081-1085 (1989)に記載される。この場合、標的残基のうちのある残基または群（例えば、arg、asp、his、lys及びgluなどの荷電残基）を特定し、これを中性アミノ酸または負に荷電したアミノ酸（最も好ましくはアラニンまたはポリアラニン）で置き換え、アミノ酸と標的抗原との相互作用に影響を与えるようにする。次いで、その置換部位に、またはその置換部位の代わりに、更なるバリエーションまたは他のバリエーションを導入することによって、当該置換に対して機能感受性を示すアミノ酸位置を精密化する。したがって、アミノ酸配列変化を導入する部位は予め決定されているが、変異自体の性質は、予め決定される必要はない。例えば、所与の部位における変異の働きを分析するためには、標的コドンまたは標的領域でアラニンスキャニングまたはランダム変異誘発を行い、発現した抗体バリエーションを所望の活性についてスクリーニングする。

【0323】

アミノ酸配列の挿入には、1残基から100以上の残基を含有するポリペプチドの長さまで及ぶアミノ（「N」）末端及び／またはカルボキシ（「C」）末端の融合、ならびに1つまたは複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体または細胞傷害性ポリペプチドに融合した抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入バリエーションには、抗体の血清中半減期を延長させる酵素またはポリペプチドを抗体のN末端またはC末端に融合することが含まれる。

【0324】

別の種類のバリエーションは、アミノ酸置換バリエーションである。これらのバリエーションは、抗体分子内に、異なる残基に置き換えられた少なくとも1つのアミノ酸残基を有する。置換変異導入に関して最も関心ある部位は、超可変領域を含むが、FRの変化も企図される。保存的置換について、以下の表Dに「好ましい置換」という見出しで示す。かかる置換が生物学的活性に変化をもたらす場合は、表Dに「例示的な置換」と表示される、またはアミノ酸クラスに関して以下に更に記載される、より実質的な変化を導入し、産物をスクリーニングしてもよい。

10

20

30

40

50

表D：アミノ酸置換

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; asp、lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; ノルロイシン	leu
Leu (L)	ノルロイシン; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; ノルロイシン	leu

【0325】

抗体の生物学的特性の実質的な改変は、（a）置換領域内のポリペプチド主鎖の構造、例えば、シートもしくはヘリックスの立体構造、（b）標的部位における分子の電荷もしくは疎水性、または（c）側鎖の嵩を維持することに対する作用が著しく異なる置換を選択することによって達成される。天然に存在する残基は、共通する側鎖特性に基づいて次の各群に分類される：

- （1）疎水性：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile；
- （2）中性親水性：cys、ser、thr；
- （3）酸性：asp、glu；
- （4）塩基性：asn、gln、his、lys、arg；
- （5）鎖配向に影響する残基：gly、pro；及び
- （6）芳香族性：trp、tyr、phe。

【0326】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスに交換することを伴う。

【0327】

抗体の適切な立体構造の維持に関与しない任意のシステイン残基を、通常、セリンで置換して、分子の酸化安定性を改善し、異常な架橋を防止することもできる。逆に、システイン結合（複数可）を抗体に付加すると、その安定性を改善することができる（特に、抗

体がFv断片などの抗体断片である場合)。

【0328】

特に好ましい種類の置換バリエーションは、親抗体（例えばヒト化抗体またはヒト抗CD33抗体）の1つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、得られるバリエーション（複数可）で、更なる開発のために選択されるものは、その生成源となる親抗体と比べて改善された生物学的特性を有する。かかる置換バリエーションを生成するための簡便な方法は、ファージディスプレイを使用した親和性成熟を伴う。簡潔に述べると、いくつかの超可変領域部位（例えば、6～7つの部位）を変異させて、可能性のある全てのアミノ置換を各部位に生成する。このようにして生成された抗体バリエーションを、繊維状ファージ粒子から、各粒子内にパッケージングされたM13の遺伝子III産物への融合体として一価形態で提示させる。次いで、ファージが提示したバリエーションを、本明細書に開示されるような生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。修飾の候補となる超可変領域部位を同定するためには、アラニンスキャニング変異誘発を行って、抗原結合に著しく寄与する超可変領域残基を同定することができる。あるいは、または更に、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析して、抗体と抗原（例えば、本開示のCD33タンパク質）との間の接触点を同定することが有益であり得る。かかる接触残基及び隣接残基は、本明細書に詳述される技術による置換の候補である。かかるバリエーションが生成されたら、本明細書に記載されるようにバリエーションのパネルをスクリーニングに供し、1つ以上の関連アッセイにおいて優れた特性を有する抗体を更なる開発のために選択することができる。

【0329】

抗体の別の種類のアミノ酸バリエーションは、抗体の元のグリコシル化パターンを変化させる。変化とは、抗体中に認められる1つ以上の炭水化物部分の欠失、及び／または抗体中に存在しない1つ以上のグリコシル化部位の付加を意味する。

【0330】

抗体のグリコシル化は、典型的に、N結合型またはO結合型のいずれかである。N結合型とは、炭水化物部分がアスパラギン残基の側鎖に結合したものを意味する。トリペプチド配列であるアスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-トレオニン（式中、Xは、プロリン以外の任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分がアスパラギン側鎖に酵素的に結合するための認識配列である。したがって、ポリペプチド中にこれらのトリペプチド配列のいずれかが存在すれば、潜在的なグリコシル化部位が生じる。O結合型グリコシル化とは、糖類のN-アセイルガラクトサミン（N-acetylgalactosamine）、ガラクトースまたはキシロースのうちの1つが、ヒドロキシアミノ酸（5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリジン）も使用され得るが、最も一般的にはセリンまたはトレオニン）に結合することを意味する。

【0331】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、上述のトリペプチド配列のうちの1つ以上を含むようにアミノ酸配列を変化させることによって簡便に達成される（N結合型グリコシル化部位の場合）。この変化は、元の抗体の配列への1つ以上のセリンまたはトレオニン残基の付加またはそれによる置換によって行うこともできる（O結合型グリコシル化部位の場合）。

【0332】

抗IgE抗体のアミノ酸配列バリエーションをコードする核酸分子は、当該技術分野で公知の種々の方法によって調製される。これらの方法は、天然源からの単離（天然に存在するアミノ酸配列バリエーションの場合）、または先に調製されたバリエーションもしくは非バリエーション型の抗体（例えば、本開示の抗CD33抗体）もしくは抗体断片のオリゴヌクレオチドによる（または部位特異的な）変異誘発、PCR変異誘発、及びカセット変異誘発による調製を含むが、これらに限定されない。

【0333】

（10）抗体コンジュゲート

本開示の抗CD33抗体またはその抗体断片は、検出可能なマーカー、毒素、または治

10

20

30

40

50

療剤にコンジュゲートすることができる。検出可能なマーカー、毒素、または治療剤などの分子を抗体にコンジュゲートするには、当該技術分野で公知である任意の好適な方法を使用してよい。

【0334】

例えば、薬物コンジュゲーションは、生物学的活性のある細胞傷害性（抗がん性）ペイロードまたは薬物を、特定の腫瘍マーカー（例えば、理想的には腫瘍細胞内または腫瘍細胞上にのみ認められるタンパク質）を特異的に標的とする抗体にカップリングすることを伴う。抗体は、これらのタンパク質を体内で追跡し、がん細胞表面に付着する。抗体と標的タンパク質（抗原）との間の生化学的反応は、腫瘍細胞内のシグナルを誘発し、次いで腫瘍細胞は、その抗体を細胞毒素とともに吸収し、または内在化する。ADCが内在化されると、細胞傷害薬物が放出され、がんを殺傷する。この標的化により、理想的には、薬物の副作用が低減し、他の化学療法剤よりも治療域が広がる。抗体をコンジュゲートする技術は、開示されており、当該技術分野では公知である（例えば、Jane de Lartigue, *OncLive* July 5, 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; 及び Ducry et al., (2010). *Bioconjugate Chemistry* 21 (1): 5-13 を参照されたい）。

【0335】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、リシン、リシンA鎖、ドキソルビシン、ダウノルビシン、メイタンシノイド、タキソール、臭化エチジウム、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン、アクチノマイシン、ジフテリア毒素、*Pseudomonas* 外毒素 (PE) A、PE40、アブリン、アブリンA鎖、モデシンA鎖、αサルシン、ゲロニン、ミトゲリン、レトストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、クリシン、クロチン、カリケアミシン、*Saponaria officinalis* 阻害剤、糖質コルチコイド、アウリスタチン、オーロマイシン、イットリウム、ビスマス、コンブレスタチン、デュオカルマイシン、ドラスタチン、cc1065、及びシスプラチンから選択される毒素にコンジュゲートされ得る。

【0336】

(11) 他の抗体修飾

本開示の抗CD33抗体またはその抗体断片を更に修飾して、当該技術分野において公知であり、容易に入手可能な更なる非タンパク質性部分を含有させることができる。好ましくは、抗体の誘導体化に好適な部分は、水溶性ポリマーである。水溶性ポリマーの非限定的な例には、ポリエチレングリコール (PEG)、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ(n-ビニルピロリドン) ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性により、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであってよく、分岐でも非分岐でもよい。抗体に結合させるポリマーの数は様々であり得、2つ以上のポリマーを結合させる場合、それらは同じ分子であっても異なる分子であってもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／または種類は、限定するものではないが、改善しようとする抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定条件下の療法で使用されるかどうかなどの検討事項に基づいて決定することができる。かかる技術及び他の好適な処方は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Phila

delphia College of Pharmacy and Science (2000) に開示されている。

【0337】

結合アッセイ及び他のアッセイ

本開示の抗CD33抗体の抗原結合活性は、例えば、ELISA、表面プラズモン共鳴(SPR)、ウェスタンブロットなどの公知の方法によって試験することができる。

【0338】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体のいずれかと競合する抗体を同定するために、競合アッセイが使用され得る。いくつかの実施形態において、表7、8、9、10、11、及び12に列挙された、または6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される抗体のうちのいずれかと、CD33への結合について競合する抗体を同定するために、競合アッセイが使用され得る。特定の実施形態において、そのような競合抗体は、表7、8、9、10、11、及び12に列挙された、または6C7H1、6C7H2、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、6C7H7、6C7H8、6C7H9、6C7H10、6C7H11、6C7H12、6C7H13、6C7H14、6C7H15、6C7H16、6C7H17、6C7H18、6C7H19、6C7H20、6C7H21、6C7H22、6C7H23、6C7H24、6C7H25、6C7H26、6C7H27、6C7H28、6C7H29、6C7H30、6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H35、6C7H36、6C7H37、6C7H38、6C7H39、6C7H40、6C7H41、6C7H42、6C7H43、6C7H44、6C7H45、6C7H46、6C7H47、6C7H48、6C7H49、6C7H50、6C7H51、6C7H52、6C7H53、及び6C7H54から選択される抗体のうちのいずれかが結合するものと同じエпитープ（例えば、線状エпитープまたは立体構造エпитープ）に結合する。抗体が結合するエпитープをマッピングするための例示的な方法の詳細は、Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols,” in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) に提示されている。

【0339】

例示的な競合アッセイでは、固定化されたCD33または細胞表面上にCD33を発現している細胞を、CD33（例えば、ヒトまたは非ヒト霊長類）に結合する標識された第1の抗体と、CD33への結合について第1の抗体と競合する能力が試験される未標識の第2の抗体とを含む溶液中で、インキュベートする。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたCD33またはCD33発現細胞を、標識された第1の抗体を含むが未標識の第2の抗体を含まない溶液中でインキュベートする。第1の抗体がCD33に結合できるようにする条件下でのインキュベーション後、余剰の未結合抗体を除去し、固定化されたCD33またはCD33発現細胞に関連する標識の量を測定する。固定化されたCD33またはCD33発現細胞に関連する標識の量が試験試料中で対照試料と比べて実質的に低減している場合、それは、第2の抗体がCD33への結合について第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring

10

20

30

40

50

g Harbor, NY) を参照されたい。

【0340】

核酸、ベクター、及び宿主細胞

本開示の抗CD33抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されている組み換え法及び組成物を使用して生成することができる。いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体のうちのいずれかをコードするヌクレオチド配列を有する単離された核酸が提供される。かかる核酸は、抗CD33抗体のV_Lを含むアミノ酸配列及び／またはV_Hを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／または重鎖）をコードし得る。いくつかの実施形態において、かかる核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。いくつかの実施形態では、かかる核酸を含む宿主細胞も提供される。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、（1）抗体のV_Lを含むアミノ酸配列及び抗体のV_Hを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のV_Lを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクター、及び抗体のV_Hを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクターを含む（例えば、それらで形質転換されている）。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、真核細胞、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。本開示の宿主細胞は、限定するものではないが、単離細胞、*in vitro*培養細胞、及び*ex vivo*培養細胞も含む。

10

【0341】

本開示の抗CD33抗体の作製方法を提供する。いくつかの実施形態において、本方法は、抗CD33抗体をコードする核酸を含む本開示の宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することを含む。いくつかの実施形態において、抗体は、その後、宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収される。

20

【0342】

本開示の抗CD33抗体を組み換え産生するには、抗CD33抗体をコードする核酸を単離し、1つ以上のベクターに挿入して、宿主細胞内で更なるクローニング及び／または発現を行う。かかる核酸は、従来の手法を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用して）容易に単離及び配列決定され得る。

【0343】

本開示の抗CD33抗体またはその断片、本明細書に記載されるポリペプチド（抗体を含む）のいずれかをコードする核酸配列を含む好適なベクターとしては、限定するものではないが、クローニングベクター及び発現ベクターが挙げられる。好適なクローニングベクターは、標準的技術に従って構築することもでき、あるいは当該技術分野において入手可能な多数のクローニングベクターから選択することもできる。選択されるクローニングベクターは、使用予定の宿主細胞に応じて様々であり得るが、有用なクローニングベクターは、一般に、自己複製能を有し、特定の制限エンドヌクレアーゼの標的を1つ有し得、及び／またはベクターを含むクローンの選択に使用することができるマーカーの遺伝子を保有し得る。好適な例としては、プラスミド及び細菌ウイルス、例えば、pUC18、pUC19、Bluescript（例えば、pBS SK+）及びその誘導体、mpl8、mpl9、pBR322、pMB9、Cole1、pCR1、RP4、ファージDNA、ならびにpSA3及びpAT28などのシャトルベクターが挙げられる。これら及び多くの他のクローニングベクターが、BioRad、Stratagene、及びInvitrogenなどの商業的供給業者から入手可能である。

30

【0344】

抗体コーディングベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、本開示の抗CD33抗体は、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない場合には、細菌において産生され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現について（例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号、及び同第5,840,523号）。発現後、抗体は、可

40

50

溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離され得、更に精製され得る。

【0345】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物もまた、抗体コーディングベクターに好適なクローニング宿主または発現宿主であり、これらには、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌株及び酵母株が含まれる（例えば、Gerngross Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)；及びLi et al. Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)）。

【0346】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞は、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）から得ることもできる。無脊椎動物細胞の例には、植物細胞及び昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞とともに、特に、Spodoptera frugiperda細胞のトランスフェクションに使用することができる、多数のバキュロウイルス株が同定されている。植物細胞培養物もまた、宿主として利用することができる（例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、及び同第6,417,429号（トランスジェニック植物で抗体を産生するためのPLANTIBODIES（商標）技術について記載している））。

【0347】

脊椎動物細胞も宿主として使用され得る。例えば、懸濁液中で増殖するように適合された哺乳動物細胞株が、有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40により形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7）；ヒト胎児由来腎臓株（293細胞または例えばGraham et al. J. Gen Virol. 36:59 (1977)に記載されているような293細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)に記載されているTM4細胞）；サル腎臓細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76）；ヒト子宮頸癌細胞（HELA）；イヌ科腎臓細胞（MDCK）；バッファローラット肝細胞（BRL 3A）；ヒト肺細胞（W138）；ヒト肝細胞（Hep G2）；マウス乳腺腫瘍（MMT 060562）；例えば、Mather et al. Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)に記載されているTRI細胞；MRC 5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、DHFR-CHO細胞（Urlaub et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)）を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞；ならびにY0、NS0及びSp2/0などの骨髓腫細胞株が挙げられる。抗体産生に好適な特定の哺乳動物宿主細胞株の総説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)を参照されたい。

【0348】

医薬組成物／製剤

本明細書では、本開示の抗CD33抗体及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物及び／または医薬製剤が提供される。

【0349】

いくつかの実施形態において、薬学的に許容される担体は、用いられる投与量及び濃度においてレシピエントに無毒であることが好ましい。本明細書に記載される抗体は、固体、半固体、液体、または気体の形態にある調製物に製剤化され得る。このような製剤の例としては、限定するものではないが、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒、軟膏、液剤、坐剤、注射剤、吸入剤、ゲル、マイクロスフェア、及びエアロゾルが挙げられる。薬学的に許容される担体は、所望の製剤に応じて、動物またはヒトへの投与のための医薬組成物を製剤化するために一般的に使用されるビヒクルである希釈剤の薬学的に許容される無毒の担体を含み得る。特定の実施形態において、医薬組成物は、例えば組成物のpH、浸透圧、

10

20

30

40

50

粘度、清澄性、色、等張性、匂い、無菌性、安定性、分解速度もしくは放出速度、吸着性または浸透性を改変する、維持する、または保つための製剤材料を含み得る。

【0350】

特定の実施形態において、薬学的に許容される担体としては、アミノ酸（例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン）；抗菌薬；抗酸化剤（例えばアスコルビン酸、亜硫酸ナトリウムまたは亜硫酸水素ナトリウム）；バッファー（例えばホウ酸、炭酸水素、 Tris-HCl 、クエン酸、リン酸または他の有機酸）；増量剤（例えばマンニトールまたはグリシン）；キレート剤（例えばエチレンジアミン四酢酸（EDTA））；錯化剤（例えばカフェイン、ポリビニルピロリドン、 β -シクロデキストリンまたはヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン）；充填剤；単糖類；二糖類；及び他の炭水化物（例えばグルコース、マンノースまたはデキストリン）；タンパク質（例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン）；着色剤、香味剤、及び希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（例えばポリビニルピロリドン）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（例えばナトリウム）；防腐剤（例えば塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸または過酸化水素）；溶媒（例えばグリセリン、プロピレングリコールまたはポリエチレングリコール）；糖アルコール（例えばマンニトールまたはソルビトール）；懸濁化剤；界面活性剤または湿潤剤（例えばプルロニック、PEG、ソルビタンエステル、ポリソルベート、例えばポリソルベート20、ポリソルベート80、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサポール（tyloxapol））；安定性向上剤（例えばスクロースまたはソルビトール）；張度向上剤（例えばアルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム、マンニトールソルビトール）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤及び／または薬学的アジュバントが挙げられるが、これらに限定されない。様々な種類の投与に好適な製剤の更なる例は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Pharmaceutical Press 22nd ed. (2013)に見出すことができる。薬物送達法の簡潔な総説については、Langer, Science 249: 1527-1533 (1990)を参照されたい。

【0351】

非経口投与に好適な製剤には、抗酸化剤、バッファー、静菌剤、及び製剤を意図されるレシipientの血液と等張にする溶質を含み得る水性及び非水性の等張性無菌注射液剤と、懸濁化剤、可溶化剤、粘稠化剤、安定剤、及び防腐剤を含み得る水性及び非水性の無菌懸濁剤とが含まれる。

【0352】

製剤は、脳または中枢神経系で保持され、安定化するように最適化され得る。作用物質が頭蓋区画に投与される場合、その作用物質がその区画内に保持され、拡散せず、または拡散しても血液脳関門を通過しないことが望ましい。安定化技術には、分子量の増大を達成するために、架橋、多量体化、またはポリエチレングリコール、ポリアクリルアミド、中性タンパク質担体などの基への連結などが含まれる。

【0353】

保持を増大させるための他の方策には、本開示の抗CD33抗体などの抗体を生分解性または生体内分解性のあるインプラント中に封じ込めることが含まれる。治療的活性物質の放出速度は、ポリマーマトリックスを介した輸送速度及びインプラントの生分解速度によって制御される。インプラントは、粒子、シート、パッチ、ブランク、繊維、マイクロカプセルなどであってよく、選択された挿入部位に適合する任意のサイズまたは形状であってよい。用いることができる生分解性ポリマー組成物は、分解したときに単量体などの生理学的に許容される分解生成物を生じる、有機エステルまたはエーテルであり得る。無水物、アミド、オルトエステルなどを、単独でまたは他の単量体と組み合わせて使用してもよい。これらのポリマーは、縮合ポリマーである。ポリマーは、架橋されていても架橋されていなくてもよい。特に対象となるのは、ヒドロキシ脂肪族カルボン酸のポリマー（

ホモポリマーまたはコポリマーのいずれか) 及び多糖である。対象となるポリエステルには、D-乳酸、L-乳酸、ラセミ乳酸、グリコール酸、ポリカプロラクトン、及びこれらの組み合わせのポリマーが含まれる。対象となる多糖には、アルギン酸カルシウム及び官能化セルロース、特に、非水溶性であり分子量が約5 kD～500 kDであることを特徴とするカルボキシメチルセルロースエステルなどがある。生分解性ヒドロゲルも本開示のインプラントに用いることができる。ヒドロゲルは、典型的に、液体を吸収する能力を特徴とするコポリマー材料である。用いることができる例示的な生分解性ヒドロゲルは、Heller in: Hydrogels in Medicine and Pharmacy, N. A. Peppas ed., Vol. III, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp 137-149に記載されている。

10

【0354】

医薬の投与量

本開示の抗CD33抗体を含む本開示の医薬組成物は、公知の方法に従って、例えば、ボーラスもしくはある期間にわたる連続注入による静脈内投与、筋肉内、腹腔内、脳髄内、頭蓋内、脊髄内、皮下、関節内、髄液内、髄腔内、経口、局所または吸入の各経路によって、該抗体での治療を必要とする個体、好ましくはヒトに投与することができる。

【0355】

本開示の医薬組成物の投与量及び所望の薬物濃度は、想定される特定の用途に応じて異なり得る。適切な投与量または投与経路の決定は、十分に当業者の技術範囲内である。動物実験は、ヒトの治療に有効な用量を決定するための信頼性の高い指針を提供する。有効量の種間スケールリングは、Mordenti, J. and Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp. 42-46に記載される原則に従って行うことができる。

20

【0356】

本開示の抗CD33抗体のいずれかをin vivo投与する場合、通常投与量は、投与経路に応じて、個体の体重を基準に1日当たり約10 ng/kg～約100 mg/kg以上、好ましくは約1 mg/kg/日～10 mg/kg/日の範囲であり得る。治療される疾患、障害または病態の重症度に応じて数日以上にわたる反復投与の場合、治療は、症状の所望の抑制が達成されるまで継続される。

30

【0357】

例示的な投薬レジメンは、約2 mg/kgの初回用量の抗CD33抗体を投与し、続いて、約1 mg/kgの週1回の維持用量を隔週で投与することを含み得る。医師が達成しようとする薬物動態減衰のパターンに応じて、他の投薬レジメンが有用である場合もある。例えば、週1～21回の個体への投薬が本明細書において企図される。特定の実施形態において、約3 µg/kg～約2 mg/kgの範囲（例えば約3 µg/kg、約10 µg/kg、約30 µg/kg、約100 µg/kg、約300 µg/kg、約1 mg/kg及び約2 mg/kg）での投薬を用いることができる。特定の実施形態において、投薬頻度は、1日3回、1日2回、1日1回、隔日1回、週1回、2週間に1回、4週間に1回、5週間に1回、6週間に1回、7週間に1回、8週間に1回、9週間に1回、10週間に1回、または月1回、2か月に1回、3か月に1回またはそれ以上である。治療の経過は、従来の技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。投薬レジメンは、投与される抗CD33抗体を含め、使用される用量とは関係なく、経時的に変えてもよい。

40

【0358】

特定の抗CD33抗体の投与量は、抗CD33抗体の投与を1回以上受けている個体において経験的に決定され得る。個体には、漸増用量の抗CD33抗体が投与される。抗CD33抗体の有効性を評価するために、本開示の疾患、障害、または病態（例えば、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、痙攣、網膜ジストロフィー、外傷性脳

50

傷害、脊髄傷害、長期抑圧、アテローム動脈硬化性血管疾患、及び正常老化の望ましくない症状)のうちのいずれかの臨床症状がモニタリングされ得る。

【0359】

本開示の抗CD33抗体の投与は、例えば、レシピエントの生理学的状態、投与の目的が治療的であるか予防的であるか、また当業者に知られる他の要素に応じて、連続的であっても間欠的であってもよい。抗CD33抗体の投与は、予め選択された期間にわたって本質的に連続的になされてもよいし、一連の間隔を空けた投与であってもよい。

【0360】

特定の投与量及び送達方法に関する指針は、文献に提示されている。例えば、米国特許第4,657,760号、同第5,206,344号、または同第5,225,212号を参照されたい。異なる製剤が異なる治療及び異なる障害に有効であり、特定の器官または組織の治療を意図した投与が別の器官または組織への投与とは異なる様式の送達を必要とし得ることは、本開示の範囲内である。更に、投与量は、1回以上の別個の投与によって投与されてもよいし、または連続注入によって投与されてもよい。病態に応じて数日以上にわたる反復投与の場合、治療は、疾患症状の所望の抑制が達成されるまで継続される。しかしながら、他の投与量レジメンも有用であり得る。この治療の経過は、従来の技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。

【0361】

治療的使用

本明細書に開示されるように、本開示の抗CD33抗体は、様々な疾患及び障害を予防し、そのリスクを低下させ、または治療するために使用され得る。

【0362】

本開示の抗CD33抗体は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、損傷治療、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、骨パジェット病、ならびに膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性リンパ性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、多発性骨髄腫、真性多血症、本態性血小板増加症、原発性もしくは特発性骨髄線維症、原発性もしくは特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、CD33を発現する腫瘍、甲状腺癌を含むがん、感染症、CNSヘルペス、寄生虫感染症、Trypanosoma感染症、Cruzi感染症、Pseudomonas aeruginosa感染症、Leishmania donovani感染症、B群Streptococcus感染症、Campylobacter jejuni感染症、Neisseria meningitidis感染症、I型HIV、及び／またはHaemophilus influenzaを予防し、そのリスクを低下させ、または治療するために使用され得る。いくつかの実施形態において、CD33抗体は、アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、不活性抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、アンタゴニスト抗体である。

【0363】

いくつかの実施形態において、本開示は、CD33の細胞レベルを低下させ、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用を阻害し、またはその両方を行う治療有効量の本開示の抗体を、それを必要とする個体に投与することにより、認知症、前頭側頭

10

20

30

40

50

型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、損傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、骨パジェット病、がん、膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、多発性骨髄腫、真性多血症、本態性血小板増加症、原発性もしくは特発性骨髄線維症、原発性もしくは特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、CD33を発現する腫瘍、甲状腺癌、感染症、CNSヘルペス、寄生虫感染症、Trypanosome感染症、Cruzi感染症、Pseudomonas aeruginosa感染症、Leishmania donovani感染症、B群Streptococcus感染症、Campylobacter jejuni感染症、Neisseria meningitidis感染症、I型HIV、及び／またはHaemophilus influenzaを予防し、そのリスクを低下させ、または治療する方法を提供する。

【0364】

いくつかの実施形態において、本開示は、CD33の細胞レベルを低下させ、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用を阻害し、またはその両方を行う治療有効量の本開示の抗体を、それを必要とする個体に投与することにより、がんを予防し、そのリスクを低下させ、または治療する方法を提供する。いくつかの実施形態において、本抗体は、（a）免疫抑制性樹状細胞、免疫抑制性マクロファージ、免疫抑制性好中球、非腫瘍形成性骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞、及び制御性T細胞のうちの1つ以上の増殖、成熟、遊走、分化、及び／または機能の促進；（b）免疫抑制性樹状細胞、免疫抑制性マクロファージ、免疫抑制性好中球、非腫瘍形成性骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、及び制御性T細胞のうちの1つ以上の腫瘍への浸潤の増強；（c）腫瘍、末梢血、または他のリンパ系器官における腫瘍促進性骨髄／顆粒球免疫抑制性細胞及び／または非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞の数の増大；（d）腫瘍殺傷能を有する腫瘍特異的Tリンパ球の活性化の低下；（e）腫瘍殺傷能を有する腫瘍特異的Tリンパ球の浸潤の減少；（f）腫瘍体積の増大；（g）腫瘍成長速度の増大；（h）転移の増大；（i）腫瘍再発率の増大；（j）1つ以上のPD-1リガンドの発現の増大；（k）抗腫瘍T細胞応答を調節する1つ以上の免疫療法（場合により、1つ以上の免疫療法は、CD40、OX40、ICOS、CD28、CD137／4-1BB、CD27、GITR、PD-L1、CTLA4、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、HVEM、LIGHT、BTLA、CD38、TIGIT、VISTA、KIR、GAL9、TIM1、TIM3、TIM4、A2AR、LAG3、DR5、CD39、CD70、CD73、TREM1、TREM2、Siglec-5、Siglec-7、Siglec-9、Siglec-11、SirpA、CD47、CSF-1受容体、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される1つ以上のタンパク質を標的とする免疫療法である）、または1つ以上のがんワクチンの有効性の低下；ならびに（l）1つ以上の化学療法剤の有効性の低下（場合により、化学療法剤のうちの1つ以上は、ゲムシタビン、カペシタビン、アントラサイクリン、ドキソルビシン（Adriamycin（登録商標））、エピルビシン（Erlence（登録商標））、タキサン、パクリタキセル（Taxol（登録商標））、ドセタキセル（Taxotere（登録商標））、5-フルオロウラシル（5-FU）、シクロホスファミド（Cytosan

(登録商標))、カルボプラチン (Paraplatin (登録商標))、オキサリプラチン (Eloxatin (登録商標))、ロイコボリン、テモゾロミド (Temodar (登録商標))、及びこれらの任意の組み合わせである) から選択される、1つ以上のCD33活性を阻害する。いくつかの実施形態において、本抗体は、(a) 腫瘍浸潤性CD3⁺T細胞の数の増大；(b) 非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞におけるCD33の細胞レベルの低下(場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は、腫瘍浸潤性細胞であるか、または場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は血液中に存在する)；(c) 非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞の数の低減(場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は、腫瘍浸潤性細胞であるか、または場合により、非腫瘍形成性CD14⁺骨髄細胞は血液中に存在する)；(d) 1つ以上の細胞におけるPD-L1レベルの低下(場合により、1つ以上の細胞は、非腫瘍形成性骨髄由来抑制性細胞(MDSC)である)；(e) 固形腫瘍の腫瘍成長速度の減少；(f) 腫瘍体積の低減；(g) 1つ以上のPD-1阻害剤の有効性の増大；(h) 1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法の有効性の増大(場合により、1つ以上のチェックポイント阻害療法及び／または免疫調節療法は、CTL4、アデノシン経路、PD-L1、PD-L2、OX40、TIM3、LAG3、またはこれらの任意の組み合わせのうちの1つ以上を標的とする)；(i) 1つ以上の化学療法剤の有効性の増大(場合により、化学療法剤のうちの1つ以上は、ゲムシタビン、カペシタビン、アントラサイクリン、ドキシソルビシン (Adriamycin (登録商標))、エピルビシン (Erlence (登録商標))、タキサン、パクリタキセル (Taxol (登録商標))、ドセタキセル (Taxotere (登録商標))、5-フルオロウラシル (5-FU)、シクロホスファミド (Cytosan (登録商標))、カルボプラチン (Paraplatin (登録商標))、オキサリプラチン (Eloxatin (登録商標))、ロイコボリン、テモゾロミド (Temodar (登録商標))、及びこれらの任意の組み合わせである)；ならびに(j) 化学的または放射性毒素にコンジュゲートした場合の固形腫瘍及び関連する血管におけるCD33発現免疫抑制性骨髄細胞及び／またはCD14発現細胞の殺傷から選択される1つ以上の活性を呈する。

【0365】

本明細書に開示されるように、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上の免疫細胞(例えば、自然免疫細胞または適応免疫細胞)の生存、成熟、機能、遊走、または増殖を誘導及び／または促進するのに使用されてもよい。いくつかの実施形態において、本開示は、CD33の細胞レベルを低下させ、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用を阻害し、またはその両方を行う治療有効量の本開示の抗体を個体に投与することによって、それを必要とする当該個体において、1つ以上の免疫細胞の生存、成熟、機能、遊走、または増殖を誘導または促進する方法を提供する。いくつかの実施形態において、1つ以上の免疫細胞は、樹状細胞、マクロファージ、ミクログリア、好中球、T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、及びこれらの任意の組み合わせから選択される。

【0366】

いくつかの実施形態において、本抗体は、抗CD33アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、初めにアゴニストとして作用し、次いで長期アンタゴニスト抗体として作用する、本開示の一過性抗CD33アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、不活性抗CD33抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、抗CD33アンタゴニスト抗体である。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33の細胞レベル(例えば、細胞表面レベル、細胞内レベル、または総レベル)を低下させる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33の分解を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33の切断を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33の内在化を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33のシェディングを誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33発現の下方制御を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用(例えば、結合)を阻害する。いくつかの実施形態において、抗

CD33抗体は、CD33を一時的に活性化し、次いで、CD33の分解を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33を一時的に活性化し、次いで、CD33の切断を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33を一時的に活性化し、次いで、CD33の内在化を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33を一時的に活性化し、次いで、CD33のシェディングを誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33発現を一時的に活性化し、次いで、CD33発現の下方制御を誘導する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33を一時的に活性化し、次いで、CD33の発現減少を誘導する。特定の実施形態において、個体は、一塩基多型(SNP) rs3865444 CCまたはACを有するCD33バリエーションアレルを有する。特定の実施形態において、個体は、一塩基多型(SNP) 2459419 CCまたはCTを有するCD33バリエーションアレルを有する。

10

【0367】

本明細書に開示されるように、本開示の抗CD33抗体は、更に、制御性T細胞、腫瘍埋没型免疫抑制性樹状細胞、腫瘍埋没型免疫抑制性マクロファージ、骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、急性骨髄性白血病(AML)細胞、慢性リンパ性白血病(CLL)細胞、及び／または慢性骨髄性白血病(CML)細胞の活性、機能、または生存率を低下させるために使用され得る。いくつかの実施形態において、本開示は、CD33と結合または相互作用する治療有効量の抗体を個体に投与することにより、それを必要とする当該個体において、制御性T細胞、腫瘍埋没型免疫抑制性樹状細胞、腫瘍埋没型免疫抑制性マクロファージ、骨髄由来抑制性細胞、腫瘍関連マクロファージ、急性骨髄性白血病(AML)細胞、慢性リンパ性白血病(CLL)細胞、または慢性骨髄性白血病(CML)細胞の活性、機能、または生存率を低下させる方法を提供する。いくつかの実施形態において、本抗体は、アンタゴニスト抗体、不活性抗体、またはアゴニスト抗体から選択される。いくつかの実施形態において、本抗体は、単離された本開示の抗CD33抗体または抗CD33抗体コンジュゲートである。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体コンジュゲートは、検出可能なマーカー、毒素、または治療剤にコンジュゲートされた抗CD33抗体を含む。

20

【0368】

本明細書に開示されるように、本開示の抗CD33抗体は、1つ以上の細胞で、*in vitro*または*in vivo*でCD33の細胞レベルを低下させるため、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用を阻害するため、またはその両方のために使用され得る。いくつかの実施形態において、本開示は、治療有効量の単離された本開示の抗CD33抗体を個体に投与することにより、それを必要とする当該個体において、1つ以上の細胞でCD33の細胞レベルを低下させ、CD33と1つ以上のCD33リガンドとの間の相互作用を阻害し、またはその両方を行う方法を提供する。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33の細胞レベルを*in vivo*で低下させる。

30

【0369】

本明細書に開示されるように、本開示の抗CD33抗体は、限定するものではないが、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、T細胞、及びマクロファージ、及び／または細胞株を含む1つ以上の細胞で、CD33の細胞レベルを低下させるために使用され得る。いくつかの実施形態において、本開示は、治療有効量の本開示の抗CD33抗体を個体に投与することにより、それを必要とする当該個体において、1つ以上の細胞でCD33の細胞レベルを低下させる方法を提供する。いくつかの実施形態において、1つ以上の細胞は、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、T細胞、及びマクロファージ、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33の細胞レベルを*in vivo*で低下させる。CD33の細胞レベルとは、限定するものではないが、CD33の細胞表面レベル、CD33の細胞内レベル、及びCD33の総レベルを意味し得る。いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベルの低下は、CD33の細胞表面レベルの低下を含む。本明細書で使用

40

50

される場合、CD33の細胞表面レベルは、本明細書に記載されるまたは当該技術分野で公知である任意の*in vitro*細胞ベースアッセイまたは好適な*in vivo*モデルによって測定され得る。いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベルの低下は、CD33の細胞内レベルの低下を含む。本明細書で使用される場合、CD33の細胞内レベルは、本明細書に記載されるまたは当該技術分野で公知である任意の*in vitro*細胞ベースアッセイまたは好適な*in vivo*モデルによって測定され得る。いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベルの低下は、CD33の総レベルの低下を含む。本明細書で使用される場合、CD33の総レベルは、本明細書に記載されるまたは当該技術分野で公知である任意の*in vitro*細胞ベースアッセイまたは好適な*in vivo*モデルによって測定され得る。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、CD33の分解、CD33の切断、CD33の内在化、CD33のシェディング、及び／またはCD33発現の下方制御を誘導する。いくつかの実施形態において、CD33の細胞レベルは、*in vitro*細胞アッセイを利用して、初代細胞（例えば、樹状細胞、骨髓由来樹状細胞、単球、ミクログリア、T細胞、及びマクロファージ）または細胞株について測定される。

10

【0370】

本開示の他の態様は、抗CD33抗体での治療を必要とする対象をその治療のために選択する方法であって、a. 試料（例えば、血液試料）を対象から得ることと、b. 対象に存在するCD33アレルを検出することと、c. 対象が1つ以上のCD33アレルを有する場合、CD33と結合または相互作用する抗体での治療のために対象を選択することとを含む、1つ以上のCD33アレルは、rs3865444^{AC}、及びrs3865444^{CC}からなる群から選択される方法に関する。本開示の他の態様は、CD33と結合または相互作用する抗体に対する応答性の評価を、それを必要とする対象において行う方法であって、a. 抗CD33抗体を対象に投与する前に対象から得られた血液試料中の非腫瘍形成性骨髓細胞におけるCD45⁺及びCD14⁺の発現レベルを測定することと、b. 対象に治療有効量の抗体を投与することと、c. 抗CD33抗体の投与後に対象から得られた血液試料中の非腫瘍形成性骨髓細胞におけるCD45⁺及びCD14⁺の発現レベルを測定することとを含む、抗CD33抗体の投与後の非腫瘍形成性骨髓細胞におけるCD45⁺CD14⁺のレベルの低下は、対象がその薬剤に対する応答性を持つことを示す、方法に関する。血液試料などの試料を得るための任意の好適な方法を使用してよい。更に、CD33バリエーション及び／またはアレルを検出する任意の公知の方法、例えばSNP分析を使用してもよいことが理解されよう。いくつかの実施形態において、応答性を評価する方法は、1つ以上の追加の治療有効量の抗体を投与することを更に含む。いくつかの実施形態において、対象はヒトである。

20

30

【0371】

いくつかの実施形態において、個体は、CD33のバリエーションを有する。いくつかの実施形態において、バリエーションは、限定するものではないが、(a) SNP rs3865444^{AC}；(b) SNP rs3865444^{CC}；(c) SNP rs35112940GG、AA、AG；及び(d) SNP rs12459419CC、CTまたはTT；ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の多型を含む。

40

【0372】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、抗CD33抗体または二重特異性抗CD33抗体と、パターン認識受容体に結合する抗体、Toll様受容体に結合する抗体、損傷関連分子パターン(DAMP)受容体に結合する抗体、及び／またはサイトカインに結合する抗体もしくはインターロイキンに結合する抗体)との共投与を更に伴い得る。

【0373】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体、及び／または1つ以上の標準的もしくは試験的な抗がん療法を個体に投与することを更に含む得る。いくつかの実施形態において、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、抗CD33抗体と組み合

50

わせて投与される。いくつかの実施形態において、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗PD-L2抗体、抗PD-1抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、及び抗HVEM抗体、抗Bリンパ球Tリンパ球アテニュエーター（BTLA）抗体、抗キラー抑制性受容体（KIR）抗体、抗GAL9抗体、抗TIM3抗体、抗A2AR抗体、抗LAG-3抗体、抗ホスファチジルセリン抗体、抗CD27抗体、抗TNFα抗体、抗Siglec-5抗体、抗Siglec-7抗体、抗Siglec-9抗体、抗Siglec-11抗体、抗TREM1アンタゴニスト抗体、抗TREM2アンタゴニスト抗体、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される。いくつかの実施形態において、1つ以上の標準的または試験的な抗がん療法は、放射線療法、細胞傷害性化学療法、標的療法、イマチニブ療法、トラスツズマブ療法、エタネルセプト療法、養子細胞移入（ACT）療法、キメラ抗原受容体T細胞移入（CAR-T）療法、ワクチン療法、及びサイトカイン療法から選択される。

【0374】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体を個体に投与することを更に含み得る。いくつかの実施形態において、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、抗CD33抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、抗CCL2抗体、抗CSF-1抗体、抗IL-2抗体、及びこれらの任意の組み合わせから選択される。

【0375】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、刺激性チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体を個体に投与することを更に含み得る。いくつかの実施形態において、刺激性チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体は、抗CD33抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、刺激性チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体は、抗CD40アゴニスト抗体、抗OX40アゴニスト抗体、抗ICOSアゴニスト抗体、抗CD28アゴニスト抗体、抗TREM1アゴニスト抗体、抗TREM2アゴニスト抗体、抗CD137/4-1BBアゴニスト抗体、抗CD27アゴニスト抗体、抗糖質コルチコイド誘導性TNFR関連タンパク質GITRアゴニスト抗体、及びこれらの任意の組み合わせから選択される。

【0376】

いくつかの実施形態において、本開示の方法は、少なくとも1つの刺激性サイトカインを個体に投与することを更に含み得る。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの刺激性サイトカインは、抗CD33抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの刺激性サイトカインは、IFN-α4、IFN-β、IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-8、CRP、IL-20ファミリーメンバー、LIF、IFN-γ、OSM、CNTF、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、CXCL10、IL-33、CRP、IL-33、MCP-1、MIP-1-β、及びこれらの任意の組み合わせから選択される。

【0377】

いくつかの実施形態において、対象または個体は、哺乳動物である。哺乳動物は、限定するものではないが、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、及びげっ歯類（例えば、マウス及びラット）を含む。いくつかの実施形態において、対象または個体は、ヒトである。

【0378】

認知症

認知症は、それまでに障害のなかった人において、正常な老化から予想され得るものを超える全体的認知能力の重大な損失として現れる非特異的症候群（すなわち、徴候及び症状の集まり）である。認知症は、特有の全体的な脳傷害の結果として、変化しないこともある。あるいは、認知症は、進行性であり、身体の損傷または疾患によって長期的な減退

10

20

30

40

50

がもたらされる場合もある。認知症は、高齢者集団においてより多く一般的にみられるが、65歳以前に発症することもある。認知症によって影響を受ける認知領域には、限定するものではないが、記憶、注意持続時間、言語及び問題解決が含まれる。一般に、個体が認知症と診断されるまでには、少なくとも6か月間、症状が存在する必要がある。

【0379】

認知症の例示的な形態には、限定するものではないが、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、意味性認知症、及びレビー小体型認知症が含まれる。

【0380】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、認知症を予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体は、認知症を有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

10

【0381】

前頭側頭型認知症

前頭側頭型認知症（FTD）は、脳の前頭葉の進行性変性から生じる病態である。この変性は、時間の経過とともに側頭葉に進むことがある。罹患率では、FTDは、アルツハイマー病（AD）に次いで、初老年性認知症症例の20%を占める。FTDの臨床的特徴には、記憶障害、行動異常、人格変化、及び言語障害が含まれる（Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24:186-194 (2008); Neary, D., et al., Neurology 51:1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58:1615-1621 (2002)）。

20

【0382】

FTD症例のかなりの部分が常染色体優性の様式で遺伝するが、症状は、たとえ1つの家族であっても、行動障害を伴うFTDから、原発性進行性失語まで、大脳皮質基底核神経節変性症までの範囲にわたることがある。FTDは、ほとんどの神経変性疾患と同様に、罹患脳における特定のタンパク質凝集の病理学的存在によって特徴付けることができる。歴史的に、FTDに関する最初の記述は、神経原線維変化またはピック球における過リン酸化タウタンパク質の神経細胞内蓄積の存在を認めたものである。微小管関連タンパク質タウの因果的役割は、いくつかの家族において、タウタンパク質をコードする遺伝子の変異を同定することによって裏付けられた（Hutton, M., et al., Nature 393:702-705 (1998)）。しかしながら、FTD脳の大部分は、過リン酸化タウの蓄積を示さず、ユビキチン（Ub）及びTAR DNA結合タンパク質（TDP43）に対して免疫反応性を呈する（Neumann, M., et al., Arch. Neurol. 64:1388-1394 (2007)）。Ub封入体（FTD-U）を有するこれらのFTD症例の大部分は、プログリンユリン遺伝子に変異を持つことが示された。

30

【0383】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、FTDを予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体を投与することで、FTDを有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

40

【0384】

アルツハイマー病

アルツハイマー病（AD）は、認知症の最も一般的な形態である。この疾患に治療法はなく、進行するにつれて悪化し、最終的には死に至る。ほとんどの場合、ADは、65歳を越えた人において診断される。しかしながら、あまり一般的ではない早期発症型のアルツハイマー病は、より早期に発症することがある。

【0385】

50

アルツハイマー病の一般的症状には、近時事象の想起困難などの行動症状、認知症状、混乱、易刺激性及び攻撃性、気分変動、言語障害、ならびに長期の記憶喪失が含まれる。疾患が進行するにつれて、身体機能が失われ、最終的に死に至る。アルツハイマー病は、未知かつ不定の期間にわたって進行してから完全に顕性化するものであり、何年も診断未確定で進行する場合がある。

【0386】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、アルツハイマー病を予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体を投与することで、アルツハイマー病を有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

10

【0387】

パーキンソン病

パーキンソン病は、特発性もしくは原発性パーキンソニズム、低運動性硬直症候群（HRS）、または振戦麻痺と呼ばれることもあり、運動系制御に影響を与える神経変性脳障害である。脳内におけるドーパミン産生細胞の進行性死がパーキンソン病の主要な症状を引き起こす。ほとんどの場合、パーキンソン病は、50歳を越えた人において診断される。パーキンソン病は、ほとんどの人で特発性（原因不明）である。しかしながら、遺伝的要因がこの疾患にも関与している。

【0388】

パーキンソン病の症状には、限定するものではないが、手、腕、足、顎及び顔の振戦、四肢及び胴の筋強剛、運動の遅さ（運動緩慢）、姿勢反射障害、歩行困難、神経精神障害、発語または行動の変化、うつ病、不安、疼痛、精神病、認知症、幻覚ならびに睡眠問題が含まれる。

20

【0389】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、パーキンソン病を予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体を投与することで、パーキンソン病を有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

【0390】

筋萎縮性側索硬化症（ALS）

本明細書で使用される場合、筋萎縮性側索硬化症（ALS）または運動ニューロン疾患またはルーゲーリッグ病は、同義に使用され、急速に進行する筋力低下、筋萎縮及び線維束性収縮、筋痙縮、発話困難（構音障害）、嚥下困難（嚥下障害）ならびに呼吸困難（呼吸障害）を特徴とする様々な病因を有する消耗性疾患を意味する。

30

【0391】

プログラニューリンがALSに関与し（Schymick, J C et al., (2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry.; 78:754-6）、TDP-43などのALS原因タンパク質に起因する損傷を防ぐ（Laird, A S et al., (2010). PLoS ONE 5:e13368）ことが示されている。pro-NGFがp75を介して脊髄傷害後の乏突起膠細胞及び皮質脊髄ニューロンの死を誘導することも実証された（Beatty et al., Neuron (2002), 36, pp. 375-386; Giehl et al, Proc. Natl. Acad. Sci USA (2004), 101, pp 6226-30）。

40

【0392】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、ALSを予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体を投与することで、筋萎縮性側索硬化症を有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

【0393】

ハンチントン病

50

ハンチントン病（HD）は、ハンチンチン遺伝子（HTT）の常染色体優性変異によって引き起こされる遺伝性神経変性疾患である。ハンチンチン遺伝子内のサイトカイン-アデニン-グアニン（CAG）のトリプレットリピートが伸長すると、当該遺伝子によってコードされるハンチンチンタンパク質（Htt）の変異型が産生される。この変異型ハンチンチンタンパク質（mHtt）は毒性があり、ニューロン死に関与する。ハンチントン病の症状は、35～44歳の間に現れるのが最も一般的であるが、あらゆる年齢で発生し得る。

【0394】

ハンチントン病の症状には、限定するものではないが、運動機能障害、痙攣様不規則運動（舞踏運動）、異常な眼球運動、バランス障害、痙攣、咀嚼困難、嚥下困難、認知障害、発語変化、記憶障害、思考困難、不眠、疲労、認知症、人格変化、うつ病、不安及び強迫的行動が含まれる。

【0395】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、ハンチントン病（HD）を予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体を投与することで、ハンチントン病を有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

【0396】

タウパチー病

タウパチー病またはタウオパチーは、脳内における微小管関連タンパク質タウの凝集によって引き起こされる神経変性疾患の一種である。アルツハイマー病（AD）が最もよく知られたタウパチー病であり、タウタンパク質がニューロン内で不溶性神経原線維変化（NFT）の形態で蓄積することを伴う。他のタウパチー病及び障害には、進行性核上性麻痺、ボクサー認知症（慢性外傷性脳症）、17番染色体に連鎖する前頭側頭型認知症パーキンソンニズム、Lytico-Bodig病（グアムのパーキンソン-認知症複合症候群）、神経原線維変化優性認知症、神経節膠腫及び神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳症、結節性硬化症、ハレルフォルデン・スパッツ病、リポフスチン症、ピック病、皮質基底核変性症、嗜銀顆粒病（AGD）、ハンチントン病、ならびに前頭側頭葉変性症が含まれる。

【0397】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、タウパチー病を予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体を投与することで、タウパチー病を有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

【0398】

多発性硬化症

多発性硬化症（MS）は、散在性硬化症または散在性脳脊髄炎と呼ばれることもある。MSは、脳及び脊髄の軸索を覆う脂質性ミエリン鞘が損傷を受けて、脱髄及び瘢痕化ならびに広範な徴候及び症状が生じる炎症性疾患である。MSは、脳及び脊髄の神経細胞が互いに効果的に情報伝達を行う能力に影響を及ぼす。神経細胞は、ミエリンと呼ばれる絶縁性物質内にある軸索と呼ばれる長い線維に沿って活動電位と呼ばれる電気信号を送ることによって情報を伝達している。MSでは、身体自体の免疫系がミエリンを攻撃し、損傷を与える。ミエリンが失われると、軸索は、シグナル伝達を効果的に行うことができなくなる。MSの発症は、通常、若年成人で起こり、女性でより一般的である（http://en.wikipedia.org/wiki/Multiple_sclerosis-cite_note-pmid18970977-1）。

【0399】

MSの症状には、限定するものではないが、感覚喪失または打診痛などの感覚変化；感覚減退及び感覚異常などの刺痛またはしびれ感；筋力低下；クローヌス；筋痙攣；移動困難；運動失調などの協調及びバランス困難；構音障害などの発語障害または嚥下障害など

10

20

30

40

50

の嚥下困難；眼振、視神経炎（眼閃を含む）及び複視などの視覚問題；疲労；急性または慢性の疼痛；ならびに膀胱及び腸管障害；様々な程度の認知障害；うつ病または気分不安定の感情症状；通常の周辺温度よりも高い温度に曝されることにより現存する症状が増悪するウートホフ現象；ならびに頸部を曲げると背中から下方に電気が走ったような感覚があるレルミット徴候が含まれる。

【0400】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体を投与することで、多発性硬化症を予防し、そのリスクを低下させ、及び／または治療することができる。いくつかの実施形態において、抗CD33抗体を投与することで、多発性硬化症を有する個体において、1つ以上のCD33活性を調節することができる。

10

【0401】

がん

本開示の更なる態様は、治療有効量の単離された本開示の抗CD33抗体を、それを必要とする個体に投与することにより、がんを予防し、そのリスクを低下させ、または治療する方法を提供する。単離された本開示の抗体のいずれも、これらの方法で 사용할ことができる。いくつかの実施形態において、単離された抗体は、本開示のアゴニスト抗体である。他の実施形態において、単離された抗体は、本開示のアンタゴニスト抗体である。他の実施形態において、単離された抗体は、本開示の不活性抗体である。他の実施形態において、単離された抗体は、本開示の抗体コンジュゲートである。

【0402】

20

本明細書に開示されるように、腫瘍微小環境は、Tリンパ球、マクロファージ、及び骨髄／顆粒球系細胞を含む、雑多な免疫浸潤物を含有することが知られている。腫瘍中の制御性T細胞、腫瘍埋没型免疫抑制性骨髄細胞、及び／またはM2-マクロファージの存在及び活性は、予後不良と関連している。対照的に、細胞傷害性T細胞の存在及び活性は、がん治療に有益である。細胞傷害性T細胞の活性を直接的または間接的に向上させ、様々な免疫抑制性細胞の数及び活性を低下させる療法は、大きな治療上の利益をもたらすことが期待される。将来的に重要な前臨床試験では、免疫抑制性細胞を標的とする薬物（例えば、CSF1／CSF1R遮断抗体）と細胞傷害性T細胞を活性化する免疫チェックポイント遮断抗体との間の相乗効果が示された。このことから、両方の細胞型を操作すると、個々の療法があまり効果的でない腫瘍モデルにおいて有効性が示されることが示唆される（Zhu Y；Cancer Res. 2014 Sep 15；74（18）：5057-69）。したがって、いくつかの実施形態において、骨髄細胞、T細胞のサブセット、及び腫瘍関連免疫細胞上に発現するCD33を遮断することにより、有益な抗腫瘍免疫応答が刺激され、その結果、治療的な抗腫瘍免疫応答が生じ得る。

30

【0403】

いくつかの実施形態において、がんを予防し、そのリスクを低下させ、またはがんを有する個体を治療する方法は、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体を当該個体に投与することを更に含む。抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する抗体の例には、限定するものではないが、抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗PD-L2抗体、抗PD-1抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、及び抗HVEM抗体、抗BTLA抗体、抗GAL9抗体、抗TIM3抗体、抗A2AR抗体、抗LAG-3抗体、抗ホスファチジルセリン抗体、ならびにこれらの任意の組み合わせが含まれる。いくつかの実施形態において、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、本開示の抗CD33アンタゴニスト抗体と組み合わせて投与される。

40

【0404】

いくつかの実施形態において、本開示の方法によって予防または治療されるがんには、限定するものではないが、扁平細胞癌（例えば、扁平上皮細胞癌）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及び肺扁平上皮癌を含む肺癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌及び消化管間質癌を含む胃癌、膵臓癌、膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、尿路癌、ヘパト

50

ーマ、乳癌、結腸癌、直腸癌、大腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝癌、肛門癌、陰茎癌、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端黒子型黒色腫、結節性黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫；慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ芽球性白血病（ALL）；毛様細胞性白血病；慢性骨髄芽球性白血病；及び移植後リンパ球増殖性疾患（PTLD）、及び母斑症に伴う血管増殖異常、浮腫（脳腫瘍に伴うものなど）、メイグス症候群、脳癌及び頭頸部癌、ならびに関連する転移が含まれる。いくつかの実施形態において、がんは、大腸癌である。いくつかの実施形態において、がんは、非小細胞肺癌、膠芽腫、神経芽細胞腫、腎細胞癌、膀胱癌、卵巣癌、黒色腫、乳癌、胃癌、及び肝細胞癌から選択される。いくつかの実施形態において、がんは、トリプルネガティブ乳癌である。いくつかの実施形態において、がんは、早期がんであっても末期がんであってもよい。いくつかの実施形態において、がんは、原発性腫瘍であり得る。いくつかの実施形態では、がんは、上記の種類のいずれかのがんに由来する第2の部位における転移性腫瘍であってもよい。

10

【0405】

いくつかの実施形態において、本開示の抗CD33抗体は、限定するものではないが、膀胱癌、乳癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、及び甲状腺癌を含むがんを予防し、そのリスクを低下させ、または治療するために使用され得る。

【0406】

いくつかの実施形態において、本開示は、治療有効量の本開示の抗CD33抗体を個体に投与することにより、がんを予防し、そのリスクを低下させ、またはがんを有する個体を治療する方法を提供する。

20

【0407】

いくつかの実施形態において、本方法は、抑制性免疫チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体、及び／または別の標準的もしくは試験的な抗がん療法を個体に投与することを更に含む。いくつかの実施形態において、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、本開示の抗CD33抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗PD-L2抗体、抗PD-1抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、及び抗HVEM抗体、抗Bリンパ球Tリンパ球アテニューエーター（BTLA）抗体、抗キラー抑制性受容体（KIR）抗体、抗GAL9抗体、抗TIM3抗体、抗A2AR抗体、抗LAG-3抗体、抗ホスファチジルセリン抗体、抗CD27抗体、ならびにこれらの任意の組み合わせから選択される。いくつかの実施形態において、標準的または試験的な抗がん療法は、放射線療法、細胞傷害性化学療法、標的療法、イマチニブ（Gleevec（登録商標））、トラスツズマブ（Herceptin（登録商標））、養子細胞移入（ACT）、キメラ抗原受容体T細胞移入（CAR-T）、ワクチン療法、及びサイトカイン療法から選択される1つ以上の療法である。

30

【0408】

いくつかの実施形態において、本方法は、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体を個体に投与することを更に含む。いくつかの実施形態において、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、本開示の抗CD33抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体は、抗CCL2抗体、抗CSF-1抗体、抗IL-2抗体、及びこれらの任意の組み合わせから選択される。

40

【0409】

いくつかの実施形態において、本方法は、刺激性免疫チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体を個体に投与することを更に含む。いくつかの実施形態において、刺激性チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体は、本開示の抗CD33抗体と組み合わせて投与される。いく

50

つかの実施形態において、刺激性チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体は、抗CD40アゴニスト抗体、抗OX40アゴニスト抗体、抗ICOSアゴニスト抗体、抗CD28アゴニスト抗体、抗CD137/4-1BBアゴニスト抗体、抗CD27アゴニスト抗体、抗糖質コルチコイド誘導性TNFR関連タンパク質GITRアゴニスト抗体、及びこれらの任意の組み合わせから選択される。

【0410】

いくつかの実施形態において、本方法は、少なくとも1つの刺激性サイトカインを個体に投与することを更に含む。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの刺激性サイトカインは、本開示の抗CD33抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの刺激性サイトカインは、TNF- α 、IL-6、IL-8、CRP、IL-2ファミリーメンバー、LIF、OSM、CNTF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-8、CRP、IFN- α 、IFN- β 、IL-2、IL-18、GM-CSF、G-CSF、及びこれらの任意の組み合わせから選択される。

10

【0411】

いくつかの実施形態において、対象または個体は、哺乳動物である。哺乳動物は、限定するものではないが、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、及びげっ歯類（例えば、マウス及びラット）を含む。いくつかの実施形態において、対象または個体は、ヒトである。

【0412】

本明細書において提供される抗体（及び任意の追加の治療剤）は、非経口、肺内、鼻腔内、病巣内投与、脳髄内、頭蓋内、脊髄内、髄液内、髄腔内、経口、局所、または吸入の各経路を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入としては、筋肉内投与、ボーラスもしくはある期間にわたる連続注入による静脈内投与、動脈内投与、関節内投与、腹腔内投与、または皮下投与が挙げられる。いくつかの実施形態において、投与は、静脈内投与である。いくつかの実施形態において、投与は、皮下である。投薬は、任意の好適な経路によるもの、例えば、投与が短時間であるか長期であるかに部分的に応じて、静脈内注射または皮下注射などの注射によるものであり得る。単回投与または様々な時点における複数回投与、ボーラス投与、及びパルス注入を含むがこれらに限定されない、様々な投薬スケジュールが本明細書で企図される。

20

【0413】

本明細書において提供される抗体は、適正な医療行為と一致する様式で製剤化され、投薬され、投与されるものとする。この文脈において考慮すべき要素には、治療される特定の障害、治療される特定の哺乳動物、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与スケジュールリング、及び医師に知られる他の要素が含まれる。本抗体は、必須ではないが、場合により、問題の障害を予防または治療するために現在使用されている1つ以上の薬剤とともに製剤化される。そのような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上述の他の要素に左右される。これらは一般的に、本明細書に記載されるものと同じ投与量及び投与経路で使用されるか、または本明細書に記載される投与量の約1～99%、もしくは経験的／臨床的に適切と判断される任意の投与量及び任意の経路で使用される。

30

【0414】

疾患の予防または治療の場合、本開示の抗体の適切な投与量（単独または1つ以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用する場合）は、治療される疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が予防目的で投与されるか治療目的で投与されるか、治療歴、患者の臨床歴及び抗体への応答、ならびに主治医の判断に左右される。本抗体は、好適には、1回で、または一連の治療にわたり、患者に投与される。

40

【0415】

疾患の種類及び重症度に応じて、抗体約1 μ g/kg～15 mg/kg（例えば、0.1 mg/kg～10 mg/kg）が、患者に投与する初回候補投与量であってよく、これは例えば、1回以上の別個の投与によるものか、または連続注入によるものかにかかわら

50

ない。1つの典型的な一日投与量は、上述の要素に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ～ $100\text{mg}/\text{kg}$ の範囲またはそれ以上であり得る。病態に応じて数日以上にわたる反復投与の場合、治療は、一般的に、疾患症状の所望の抑制が生じるまで継続される。抗体の例示的な投与量の1つは、約 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ ～約 $10\text{mg}/\text{kg}$ の範囲内である。したがって、約 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 、または $10\text{mg}/\text{kg}$ （またはこれらの任意の組み合わせ）の1つ以上の用量が患者に投与され得る。かかる用量は、間欠的に、例えば、毎週または3週間毎（例えば、患者が約2～約20回、または例えば約6回用量の抗体を受けるように）投与され得る。特定の実施形態において、投薬頻度は、1日3回、1日2回、1日1回、隔日1回、週1回、2週間に1回、4週間に1回、5週間に1回、6週間に1回、7週間に1回、8週間に1回、9週間に1回、10週間に1回、または月1回、2か月に1回、3か月に1回またはそれ以上である。高い初回負荷量を投与した後に、1回以上の低い用量を投与してもよい。しかしながら、他の投与量レジメンも有用であり得る。この治療の経過は、従来の技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。

10

【0416】

診断的使用

本抗体のいずれかのいくつかの実施形態において、本明細書において提供される抗CD33抗体のうちのいずれも、試料または個体におけるCD33の存在を検出するために有用である。本明細書で使用される「検出する」という用語は、定量的検出または定性的検出を包含する。本明細書では、個体または個体由来する組織試料におけるCD33の検出などの診断目的で本開示の抗体を使用する方法が提供される。いくつかの実施形態において、個体はヒトである。

20

【0417】

検出法は、抗原に結合した抗体の定量を含み得る。生体試料中の抗体の検出は、免疫蛍光顕微鏡法、免疫細胞化学、免疫組織化学、ELISA、FACS分析、免疫沈降、またはマイクロポジトロン放出断層撮影を含む、当該技術分野において公知の任意の方法で行うことができる。特定の実施形態において、抗体は、例えば、 ^{18}F で放射性標識され、その後、マイクロポジトロン放出断層撮影分析を利用して検出される。抗体結合はまた、ポジトロン放出断層撮影（PET）、X線コンピュータ断層撮影、単一光子放射コンピュータ断層撮影（SPECT）、コンピュータ断層撮影（CT）、及びコンピュータ体軸断層撮影（CAT）などの非侵襲的技術によって、患者において定量され得る。

30

【0418】

キット／製造品

本明細書では、本明細書に記載される抗CD33抗体を含む製造品（例えば、キット）が提供される。製造品は、本明細書に記載される抗体を含む1つ以上の容器を含み得る。容器は、バイアル、ボトル、ジャー、軟包装（例えば、密封マイラーバッグまたはプラスチック袋）などを含むがこれらに限定されない、任意の好適な包装であってよい。容器は、単位用量、バルク包装（例えば、複数回用量包装）または分割単位用量でもよい。

【0419】

いくつかの実施形態において、キットは、第2の薬剤を更に含み得る。いくつかの実施形態において、第2の薬剤は、注射用静菌水（BWF I）、リン酸緩衝食塩水、リンゲル液、及びデキストロース溶液などを含むがこれらに限定されない、薬学的に許容されるバッファまたは希釈剤である。いくつかの実施形態において、第2の薬剤は、薬学的活性物質である。

40

【0420】

製造品のうちのいずれかのいくつかの実施形態において、製造品は、本開示の方法に従った使用のための説明書を更に含む。説明書は、一般的に、意図される治療についての投与量、投薬スケジュール、及び投与経路に関する情報を含む。いくつかの実施形態において、これらの説明書は、本開示のいずれかの方法に従って、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧

50

水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、タウパチー病、那須・ハコラ病、脳卒中、急性外傷、慢性外傷、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、損傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性散在性脳脊髄炎、肉芽腫症、サルコイドーシス、老人病、痙攣、脊髄傷害、外傷性脳傷害、加齢性黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性、気道感染症、敗血症、眼感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、骨パジェット病、ならびに膀胱癌、脳癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、多発性骨髄腫、真性多血症、本態性血小板増加症、原発性もしくは特発性骨髄線維症、原発性もしくは特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、CD33を発現する腫瘍、甲状腺癌を含むがん、感染症、CNSヘルペス、寄生虫感染症、Trypanosome感染症、Cruzi感染症、Pseudomonas aeruginosa感染症、Leishmania donovani感染症、B群Streptococcus感染症、Campylobacter jejuni感染症、Neisseria meningitidis感染症、I型HIV、ならびにHaemophilus influenzaから選択される疾患、障害、または傷害を予防し、そのリスクを低下させ、またはそれを有する個体を治療するために、単離された本開示の抗体（例えば、本明細書に記載される抗CD33抗体）を投与することに関する記述を含む。いくつかの実施形態において、説明書は、抗CD33抗体及び第2の薬剤（例えば、第2の薬学的活性物質）の使用に関する説明を含む。

【0421】

いくつかの実施形態において、説明書は、例えば、個体において、組織試料において、または細胞において、CD33タンパク質を検出する方法の記述を含む。キット及び／または製造品は、個体が疾患を有するか、及び疾患の段階を判定することに基づいて、治療に好適な個体を選択することに関する記述を更に含み得る。

【0422】

いくつかの実施形態において、キット及び／または製造品は、本開示の別の抗体（例えば、抑制性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体、及び／または刺激性チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体）及び／または少なくとも1つの刺激性サイトカインを更に含み得る。いくつかの実施形態において、キット及び／または製造品は、本開示のいずれかの方法に従って、本明細書に記載される抗CD33抗体と組み合わせて抗体及び／または刺激性サイトカインを使用するための説明書、本明細書に記載される抗CD33抗体を抗体及び／または刺激性サイトカインと組み合わせて使用するための説明書、または本明細書に記載される抗CD33抗体ならびに抗体及び／または刺激性サイトカインを使用するための説明書を更に含み得る。

【0423】

説明書は、一般的に、意図される治療についての投与量、投薬スケジュール、及び投与経路に関する情報を含む。容器は、単位用量、バルク包装（例えば、複数回用量包装）または分割単位用量でもよい。本開示のキット及び／または製造品に付属する説明書は、典型的に、ラベルまたは添付文書（例えば、キットに含まれる書面）に書かれた説明書であるが、機械で読み取り可能な説明書（例えば、磁気ディスクまたは光学式記憶ディスクに保存された説明書）も許容される。

【0424】

ラベルまたは添付文書は、その組成物が、例えば、本開示の疾患を治療するために使用されることを示す。本明細書に記載される方法のうちのいずれかを実施するための説明書が提供されてもよい。

【0425】

本開示のキット及び／または製造品は、好適な包装がなされる。好適な包装としては、バイアル、ボトル、ジャー、軟包装（例えば、密封マイラーバッグまたはプラスチック袋）などが挙げられるが、これらに限定されない。特定のデバイス、例えば吸入器、経鼻投与デバイス（例えば、アトマイザー）、またはミニポンプなどの注入デバイスと組み合わせて使用するためのパッケージも企図される。キット及び／または製造品は、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針によって貫通可能な栓を有する静注液バッグまたはバイアルであってよい）。容器も同様に、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針によって貫通可能な栓を有する静注液バッグまたはバイアルであってよい）。組成物中の少なくとも1つの活性物質は、本明細書に記載される抗CD33抗体である。容器は、第2の薬学的活性物質を更に含んでもよい。

10

【0426】

キット及び／または製造品は、場合により、バッファー及び説明情報などの追加の構成要素を備えてもよい。通常、キットは、容器と、その容器に付属または関連するラベルまたは添付文書（複数可）とを含む。

【0427】

本開示は、以下の実施例を参照することによって、より十分に理解されるであろう。しかしながら、これらは、本開示の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本開示全体にわたる全ての引用は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【実施例】

20

【0428】

実施例1：マウス抗CD33抗体のヒト化、及びかかるヒト化バリエーションの結合パラメータ

以下の実施例の目的は、マウス抗ヒトCD33抗体である6C7のヒト化バリエーションを生成すること、及びこのヒト化抗体のCD33への結合を解析することであった。マウス6C7抗体は、配列EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSGVGSGFTFSNYCMNWVRQSPEKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYVESVKGRFTISRDDSKSRVYLQMNNLRGEDTGFFYYCTRDGYYPFAFWGQGTLLVTVSA（配列番号3）を含む重鎖可変領域、及びQLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQQQPLKPPKYVMELEKKDGSHTGDIPIPRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEAIIYICGVGDITIKEQFVYVFGGGTKVTVL（配列番号4）の配列を含む軽鎖可変領域を含むものであった。抗CD33抗体6C7は、以前にWO2016/201388に開示されており、ここで、重鎖可変領域は配列番号65によってコードされるものであり、軽鎖可変領域は配列番号242によってコードされるものであった。

30

【0429】

親マウス抗体のCDRを、そのマウス抗体と配列が最も近いヒト生殖系列フレームワークにグラフトすることにより、抗CD33抗体6C7をヒト化した。1つ以上のフレームワーク復帰変異を有する抗体も生成した。抗CD33抗体6C7のヒト化抗体を合計7種生成した（6C7H1～6C7H7）。抗CD33抗体の重鎖可変領域配列は、以下の表11に示してある。抗CD33抗体の軽鎖可変領域配列は、以下の表12に示してある。

40

【0430】

6C7のヒト化抗CD33抗体7種の初代樹状細胞に対する結合をフローサイトメトリーによって評価し、抗CD33抗体6C7の可変重鎖配列及び可変軽鎖配列を含んだ抗CD33 6C7キメラ抗体のものと結合性を比較した。RosetteSep（商標）単球単離抗体カクテル（StemCell Technologies）を使用して健康なヒトドナーの血液から単球を単離した。単離された単球を100ng/mLのGM-CSF及び100ng/mLのIL-4（PeproTech）で樹状細胞に分化させた。樹状細胞を抗CD33抗体の希釈物とともに30分間、暗所の氷上でインキュベートし、続いて蛍光的にコンジュゲートされた抗ヒトIgG二次抗体とともに30分間インキュベ

50

トした。細胞をFACSバッファー（PBS+2%FBS、2mMEDTA）中で2回洗浄し、フローサイトメトリーをBD FACS Cantoで行った。FlowJoソフトウェア（Ashland, OR）を使用してデータを分析した。結果を図1に示す。

【0431】

樹状細胞への結合について試験した7種のヒト化抗体のうち、6C7H3、6C7H4、6C7H5、6C7H6、及び6C7H7の5種の抗体のみが細胞に結合した。これらの実験において、抗CD33抗体6C7H1及び6C7H2は樹状細胞に結合しなかった。

【0432】

実施例2：ヒト化抗CD33抗体によるCD33細胞表面下方制御

以下の実施例の目的は、ヒト化抗CD33 6C7抗体（上記の実施例1に記載したようなもの）が初代ヒト樹状細胞上のCD33の細胞表面レベルを低下させることができるかどうかを試験することであった。

【0433】

RosetteSep（商標）単球単離抗体カクテル（StemCell Technologies）を使用して健康なヒトドナーの血液から単球を単離した。単離された単球を100ng/mLのGM-CSF及び100ng/mLのIL-4（PeproTech）で樹状細胞に分化させた。樹状細胞を、10%Hyclone FBS、2mMグルタミン、pen/strep、及び非必須アミノ酸を補った2mLのRPMI中に、96ウェルプレートに100,000細胞/ウェルで播種するか、24ウェルプレートに200,000細胞/mLで播種するか、または6ウェルディッシュに500,000細胞で播種した。抗CD33抗体またはアイソタイプ対照抗体をウェルに加え、24時間、37℃、5%CO₂でインキュベートした。標準的技術に従うFACS分析によって細胞表面受容体発現を検出した。簡潔に述べると、細胞を抗CD33-FITCクローンHIM3-4（BD Biosciences）とともに30分間、暗所の氷上でインキュベートした。細胞をFACSバッファー（PBS+2%FBS、2mMEDTA）中で2回洗浄し、フローサイトメトリーをBD FACS Cantoで行った。FlowJoソフトウェア（Ashland, OR）を使用してデータを分析し、CD33表面発現を、抗体の非存在下での発現と比較した受容体発現のパーセントとして計算した。結果を図2に示す。

【0434】

試験した4種全てのヒト化抗CD33抗体（6C7H3、6C7H5、6C7H6、6C7H7）も、抗CD33キメラ抗体6C7も、樹状細胞の表面上のCD33の細胞表面レベルを低下させることができ、抗CD33抗体6C7H5がヒト化抗体では最も強力であった。

【0435】

実施例3：抗CD33抗体6C7H5の工学操作及びかかる修飾抗体の解析

以下の実施例の目的は、抗CD33抗体6C7H5の結合特性及び他の望ましい機能的特性を維持しつつ、抗体を不安定にし得る配列を除去した、抗CD33抗体6C7H5のバリエーションを生成し、解析することであった。

【0436】

ヒト化抗体の重鎖及び／または軽鎖における標的変異誘発によって抗CD33抗体6C7H5の工学操作を行い、その後、抗体バリエーションを哺乳動物細胞で発現させ、更なる分析のために精製した。HVR H3及びHVR L2に修飾を含んだ6C7H5のバリエーション抗体24種を生成した。これら24種の抗体の組み換えCD33への結合をELISAによって試験したところ、24種中1種の抗体のみがバックグラウンドレベルを超える結合を示した（データは示さない）。この抗体、抗体6C7H8の重鎖可変領域HVR配列は、以下の表7に示してある。この抗体の軽鎖可変領域HVR配列は、以下の表8に示してある。この抗体の重鎖フレームワーク領域は、以下の表9に示してある。この抗体の軽鎖フレームワーク領域は、以下の表10に示してある。この抗体の重鎖可変領域配列は、以下の表11に示してある。この抗体の軽鎖可変領域配列は、以下の表12に示してある。

10

20

30

40

50

【0437】

樹状細胞及びカニクイザルCD33への結合

抗CD33抗体6C7H8の哺乳動物細胞への結合を、上記の実施例1に記載した方法を使用したフローサイトメトリーにより、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ の抗体濃度で試験した。結果を図3に示す。

【0438】

抗CD33抗体6C7H8は、親ヒト化抗体、抗CD33抗体6C7H5、及び抗CD33抗体6C7キメラ抗体と同様のレベルで樹状細胞に結合することが見出された。

【0439】

抗CD33抗体6C7H8のカニクイザルCD33への結合についても、ELISAによって評価した。簡潔に述べると、ELISAプレートを組み換えヒトCD33タンパク質（Sino Biologicals）または組み換えカニクイザルCD33タンパク質（Novoタンパク質）で一晩コーティングし、その後、抗体を加え、2時間インキュベートした。結合した抗体を西洋ワサビペルオキシダーゼ-抗ヒトIgG抗体コンジュゲート（Jackson ImmunoResearch）で検出し、TMBで発色させた。結果を図4に示し、以下の表4にまとめる。

【0440】

抗体6C7H8、その親抗体である6C7H5、及び6C7キメラ抗体は全て、ヒトCD33に同様に結合した。対照的に、抗体6C7H5及び6C7キメラ抗体はカニクイザルCD33に対して中程度の結合を示したが、抗CD33抗体6C7H8は、カニクイザルCD33への結合をほとんどまたは全く呈さなかった。

【0441】

表面CD33の下方制御

抗CD33抗体6C7H8が樹状細胞の表面上のCD33のレベルを低下させる能力について、上記の実施例2に記載した方法を使用して評価した。結果を図5に示し、以下の表1にまとめる。

表1：6C7キメラ抗体、親ヒト化6C7H5、及び6C7H8によるCD33細胞表面下方制御

抗体	受容体下方制御、 (EC_{50}) (pM) :
6C7キメラ抗体	43.0
6C7H5	42.4
6C7H8	77.9

【0442】

抗CD33抗体6C7H8は、樹状細胞の表面上のCD33のレベルを低下させたが、親ヒト化抗体（抗体6C7H5）及び6C7キメラ抗体と比較すると若干低減した効力を呈した。

【0443】

ヒト化6C7H8のバリエーション

抗体6C7H5にはあったが抗体6C7H8では低減していた結合特性及び他の機能的特性を復元するために、更なるタンパク質工学操作を抗CD33抗体6C7H8に行った。抗体6C7H8のHVR H1、HVR L2、ならびに重鎖のフレームワーク1及びフレームワーク2の標的変異誘発を行うことにより、35種の更なる抗CD33抗体を生成した。別個の工学操作アプローチでは、標的変異誘発による抗体6C7H8のHVR H1の標的変異誘発により、19種の更なるバリエーション抗CD33抗体が得られた。抗CD33抗体の組み換えCD33への結合をELISAによって試験した。結果を図6A及び図6Bに示す。

【0444】

HVR H1及びHVR L2に修飾を含む35種の抗CD33抗体のうち、3種の抗体だけがバックグラウンドレベルを超えるCD33への結合を呈した。これら3種の抗CD33抗体（6C7H9、6C7H10、及び6C7H11）のCD33への結合については、図6Aに示してある。図6Bに示すように、HVR H1に修飾を含む19種の抗CD33抗体、すなわち抗体バリエーション6C7H12～6C7H30は、様々なCD33結合性を呈したが、抗体6C7H25が最も強い結合を示し、6C7H13、6C7H19、6C7H27、及び6C7H30を含むいくつかの抗体は、バックグラウンドレベルを超える中程度の結合しか示さなかった。抗体バリエーション6C7H9～6C7H30の重鎖可変領域HVR配列は、以下の表7に示してある。抗体の軽鎖可変領域HVR配列は、以下の表8に示してある。抗体の重鎖フレームワーク領域は、以下の表9に示してある。抗体の軽鎖フレームワーク領域は、以下の表10に示してある。抗体の重鎖可変領域配列は、以下の表11に示してある。抗体の軽鎖可変領域配列は、以下の表12に示してある。

【0445】

ヒト化6C7H8のバリエーション：親和性パラメータ

ヒトCD33に対する抗体バリエーションの親和性パラメータを、BioLayer干渉法により、標準的技術（Estepe et al. (2013) MAbs 5(2):270-8）に従うForteBioアッセイで測定し、親抗体（抗体6C7H8）及び親ヒト化抗体（抗体6C7H5）のものと比較した。簡潔に述べると、抗体を抗ヒトFc Biosensors（Pall ForteBio）で捕捉した。次いで、組み換えヒトCD33（10nM、Sino Biologicals）を、捕捉された抗CD33表面に結合させた（会合時間200秒、解離時間1200秒）。ローカルフィッティングを使用して、各抗体の会合速度定数及び解離速度定数（それぞれ k_a 及び k_d ）を抽出した。見かけの親和性定数（ K_D ）を比率 k_d/k_a から計算した。結果を以下の表2に示す。

10

20

30

40

50

表 2：抗体バリエントの親和性パラメータ

抗体	見かけの k_a (Ms) ⁻¹	見かけの k_d (s ⁻¹)	見かけの K_D (nM)
6C7H5	2.75E+05	1.20E-04	0.436
6C7H8	5.72E+05	4.13E-04	0.722
6C7H10	1.47E+06	8.23E-04	0.561
6C7H12	7.49E+05	6.94E-04	0.926
6C7H13	8.01E+05	3.10E-03	3.88
6C7H14	9.91E+05	7.98E-04	0.805
6C7H15	8.01E+05	8.25E-04	1.03
6C7H16	1.30E+06	1.02E-03	0.782
6C7H17	6.13E+05	5.23E-04	0.853
6C7H18	1.05E+06	6.40E-04	0.609
6C7H19	4.79E+06	1.14E-03	0.238
6C7H20	7.39E+05	4.57E-04	0.619
6C7H21	4.98E+05	2.63E-04	0.528
6C7H22	2.41E+06	1.13E-03	0.467
6C7H23	1.24E+06	6.91E-04	0.558
6C7H24	1.37E+06	7.57E-04	0.552
6C7H25	5.29E+05	1.30E-04	0.246
6C7H26	1.32E+06	9.44E-04	0.718
6C7H27	1.34E+06	3.65E-03	2.73
6C7H28	1.13E+06	8.59E-04	0.76
6C7H29	8.75E+05	8.68E-04	0.991
6C7H30	4.65E+06	5.90E-03	1.27

10

20

30

【0446】

ヒト化6C7H8のバリエント：樹状細胞結合性

抗体バリエントの初代ヒト樹状細胞への結合を、実施例1に記載した方法に従い、2 μ g/mLの抗体濃度で評価した。結果を図7に示す。

【0447】

HVR H1及びHVR L2に修飾を含む3種の抗体バリエントのうち、2種の抗体、6C7H10及び6C7H11のみが、親抗体(6C7H8)、親ヒト化抗体(6C7H5)、または6C7キメラ抗体のものと同様のレベルで樹状細胞に結合した。6C7H9抗体バリエントは、実質的に低減した樹状細胞結合性を呈した。HVR1に修飾を含む19種の抗CD33抗体バリエントのうち、14種の抗体は、親抗体(6C7H8)、親ヒト化抗体(6C7H5)、または6C7キメラ抗体のものと同様のレベルで樹状細胞に結合した。5種の抗CD33抗体(6C7H13、6C7H19、6C7H22、6C7H27、及び6C7H30)は、あらゆる親抗体のものと比べて60%未満の結合を呈した。これら5種の抗CD33抗体の見かけの親和性定数(K_D)は親抗体の10倍以内であったが、低減した細胞結合性を呈した5種全ての抗CD33抗体が、最も高い解離速度定数を有していた。

40

【0448】

ヒト化6C7H8のバリエント：表面CD33の下方制御

抗CD33抗体バリエント6C7H9～6C7H30が樹状細胞の表面上のCD33のレベルを低下させる能力について、実施例2に記載した方法に従って評価した。抗CD3

50

3 抗体バリエントを、親抗体（6 C 7 H 8）、親ヒト化抗体（6 C 7 H 5）、及び 6 C 7 キメラ抗体と比較した。半数有効濃度（E C₅₀）及び C D 3 3 の最大低下を以下の表 3 にまとめる。11 種の抗 C D 3 3 抗体バリエント（6 C 7 H 1 0、6 C 7 H 1 3、6 C 7 H 1 7、6 C 7 H 1 9、6 C 7 H 2 0、6 C 7 H 2 1、6 C 7 H 2 2、6 C 7 H 2 3、6 C 7 H 2 4、6 C 7 H 2 5、及び 6 C 7 H 3 0）に関するこれらの試験の結果は、図 8 A 及び図 8 B に示してある。ここでは、これらのバリエントを親 6 C 7 H 8 抗体、親 6 C 7 H 5 ヒト化抗体、及び 6 C 7 キメラ抗体と比較している。

表 3：6 C 7 キメラ抗体、親ヒト化 6 C 7 H 5、6 C 7 H 8、及び 6 C 7 H 8 の抗体バリエントによる C D 3 3 細胞表面下方制御

抗体	受容体下方制御、 (EC ₅₀) (pM)：	6C7H5 と比較した 効力の増加倍率	CD33 の最大低下 (残存%)
6C7 キメラ抗体	43.0	－	20.6
6C7H5	42.4	－	21.0
6C7H8	77.9	0.5	21.5
6C7H10	777.6	0.1	21.2
6C7H12	159.8	0.3	27.5
6C7H13	3642.9	0.01	nd
6C7H14	164.4	0.3	28.4
6C7H15	251.6	0.2	27.7
6C7H16	305.3	0.1	28.0
6C7H17	51.9	0.8	32.1
6C7H18	148.3	0.3	29.2
6C7H19	nd	nd	nd
6C7H20	40.8	1.0	29.0
6C7H21	34.7	1.2	28.3
6C7H22	1228.0	0.03	nd
6C7H23	120.1	0.4	26.2
6C7H24	319.4	0.1	22.5
6C7H25	27.6	1.6	30.3
6C7H26	174.6	0.2	28.3
6C7H27	1515.1	0.03	nd
6C7H28	146.9	0.3	27.6
6C7H29	134.3	0.3	27.3
6C7H30	nd	nd	nd

nd：効力が弱いため値を割り当てられなかった

【0449】

これらの抗体は、樹状細胞の表面上の C D 3 3 レベルを低下させる様々な効力を呈した。予想通り、6 C 7 H 1 3、6 C 7 H 1 9、6 C 7 H 2 2、6 C 7 H 2 7、及び 6 C 7 H 3 0 により例示される、実質的に低減した細胞結合性を示した抗 C D 3 3 抗体は、C D 3 3 の下方制御において実質的に低減した効力を有していた。更に 10 種の抗 C D 3 3 抗体も、細胞表面 C D 3 3 レベル低下効力の低減を示した（例えば、親ヒト化抗体 6 C 7 H 5 で観察されたものと比較して、細胞表面 C D 3 3 レベル低下効力の改善率が 0.1 倍～0.3 倍であった）。4 種の抗 C D 3 3 抗体（6 C 7 H 1 7、6 C 7 H 2 0、6 C 7 H 2 1、及び 6 C 7 H 2 5）は、同様またはわずかに改善した細胞表面 C D 3 3 レベル低下効力を示し、改善率は親ヒト化抗 C D 3 3 抗体 6 C 7 H 5 で観察されたものと比較して 0.8

倍～1.6倍であった。驚くべきことに、同様または改善した効力を持つ抗CD33抗体のうちの数種の親和性は、抗体6C7H10、6C7H14、6C7H16、6C7H18、6C7H24、6C7H26、及び6C7H28により例示される、CD33を下方制御する効力の低減を示した抗体の親和性と同様であった。したがって、標的に対する抗CD33抗体の親和性は、細胞表面上のCD33を下方制御する抗CD33抗体の能力を予測するものではなかった。

【0450】

抗CD33抗体6C7H17、6C7H20、6C7H21、及び6C7H25がCD33を下方制御する効力は、親ヒト化抗体（6C7H5）及び6C7キメラ抗体で観察されたものと比較して同様かまたはわずかに改善していたが、同様または改善した効力を有する抗CD33抗体バリエーションは、それほど大きなCD33レベルの最大低下を示さなかった。

10

【0451】

更なる抗体バリエーション

結合及び機能的活性が改善した抗体を得るために、HVR H1、HVR H3、HVR L2、HVR L3、重鎖フレームワーク1、重鎖フレームワーク2、重鎖フレームワーク3、軽鎖フレームワーク1、及び軽鎖フレームワーク2における標的変異誘発により、本開示の抗CD33抗体の更なる工学操作を行い、24種の更なる抗CD33抗体バリエーション（6C7H31～6C7H54）を得た。抗CD33抗体バリエーション6C7H31～6C7H54の重鎖可変領域HVR配列は、以下の表7に示してある。抗体の軽鎖可変領域HVR配列は、以下の表8に示してある。抗体の重鎖フレームワーク領域は、以下の表9に示してある。抗体の軽鎖フレームワーク領域は、以下の表10に示してある。抗体の重鎖可変領域配列は、以下の表11に示してある。抗体の軽鎖可変領域配列は、以下の表12に示してある。

20

【0452】

更なる抗体バリエーション：樹状細胞及びカニクイザルCD33への結合

抗CD33抗体バリエーション6C7H31～6C7H54の初代ヒト樹状細胞への結合を、実施例1に記載した方法に従ったフローサイトメトリーにより、1 µg/mLの抗体濃度で評価した。抗CD33抗体バリエーションを、親ヒト化抗体（6C7H5）及び6C7キメラ抗体と比較した。これらの試験の結果を図9に示す。

30

【0453】

樹状細胞への結合について試験した24種の抗CD33抗体バリエーションのうち、18種の抗CD33抗体バリエーションは、親ヒト化抗体（6C7H5）及び6C7キメラ抗体で観察されたものと同様の初代ヒト樹状細胞結合性を呈した。6種の抗CD33抗体（6C7H31、6C7H32、6C7H33、6C7H34、6C7H42、及び6C7H43）は、これらの細胞に対する結合の若干の低減を示した。

【0454】

抗CD33抗体バリエーションがカニクイザルCD33に結合する能力について、上述の方法に従い、ELISAアッセイで更に評価した。抗CD33抗体バリエーションを、親ヒト化抗体（6C7H5）及び6C7キメラ抗体と比較した。結果を以下の表4にまとめる。また、抗CD33抗体バリエーションのうちの8種に関する結合データを図10A及び10Bに示す。

40

表 4 : 抗 CD33 抗体バリエーションのヒト CD33 及びカニクイザル CD33 への結合

抗体	ヒト CD33 への結合 (EC ₅₀) (nM) :	カニクイザル CD33 への結合 (EC ₅₀) (nM) :	相対的効力(ヒト/カニクイザル)	相対的最大結合 (カニクイザル/ヒト)
6C7 キメラ抗体	0.17	2.96	0.06	0.47
6C7H5	0.16	3.84	0.04	0.50
6C7H8	0.21	nd	nd	0.06
6C7H21	0.16	nd	nd	nd
6C7H31	0.21	nd	nd	0.02
6C7H32	0.20	nd	nd	0.01
6C7H33	0.17	nd	nd	0.01
6C7H34	0.17	nd	nd	0.01
6C7H35	0.21	nd	nd	0.04
6C7H36	0.13	4.00	0.03	0.34
6C7H37	0.26	5.62	0.05	0.45
6C7H38	0.21	4.87	0.04	0.36
6C7H39	0.23	nd	nd	0.02
6C7H40	0.19	nd	nd	0.03
6C7H41	0.23	nd	nd	0.13
6C7H42	0.20	nd	nd	0.08
6C7H43	0.17	nd	nd	0.11
6C7H44	0.18	nd	nd	0.09
6C7H45	0.15	nd	nd	0.31
6C7H46	0.19	16.75	0.01	0.23
6C7H47	0.22	0.42	0.52	0.43
6C7H48	0.17	1.19	0.14	0.53
6C7H49	0.30	nd	nd	nd
6C7H50	0.22	nd	nd	0.21
6C7H51	0.19	nd	nd	0.08
6C7H52	0.23	1.70	0.14	0.47
6C7H53	0.18	25.59	0.01	0.39
6C7H54	0.28	0.57	0.49	0.73

nd : カニクイザル CD33 への結合が弱いため値を計算できなかった

【0455】

試験した 26 種の抗 CD33 抗体バリエーションのうち 19 種は、カニクイザル CD33 への結合を示さなかったか、または親ヒト化抗体 (6C7H5) もしくは 6C7 キメラ抗体で観察されたものと比較して実質的に低減した結合を示した。3 種の抗 CD33 抗体 (6C7H36、6C7H37、及び 6C7H38) は、親ヒト化抗体 (6C7H5) 及び 6C7 キメラ抗体で観察された場合と同様にカニクイザル CD33 に結合した。4 種の抗 CD33 抗体 (6C7H47、6C7H48、6C7H52、及び 6C7H54) は、実質的に改善したカニクイザル CD33 結合性を示した。1 種の抗 CD33 抗体、6C7H54 は、驚くべきことに、改善された効力と、カニクイザル CD33 への最も強い最大結合

の両方を示した。

【0456】

更なる抗体バリエーション：親和性パラメータ

ヒトCD33及びカニクイザルCD33に対する抗CD33抗体6C7H54の親和性パラメータを、BioLayer干渉法により、上述の方法に従うForteBioアッセイで測定した。結果を以下の表5にまとめる。

表5：ヒトCD33及びカニクイザルCD33に対する6C7H54の結合親和性

抗原	見かけの k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	見かけの k_d (s ⁻¹)	見かけの K_D (nM)
ヒト CD33	5.45E+05	3.32E-05	0.061
カニクイザル CD33	5.89E+05	1.05E-04	0.178

10

【0457】

抗CD33抗体6C7H54は、親ヒト化抗体（6C7H5）または6C7キメラ抗体で観察されたものと比較して予想外に改善されたヒトCD33親和性を有することが見出された（表2参照）。更に、抗体6C7H54のカニクイザルCD33に対する結合親和性は、この抗体のヒトCD33に対する結合親和性の3倍以内であることが見出された。

【0458】

更なる抗体バリエーション：表面CD33の下方制御

24種の抗CD33抗体バリエーション（6C7H31～6C7H54）が樹状細胞の表面上のCD33のレベルを低下させる能力について、上記の実施例2に記載した方法に従って更に評価した。抗CD33抗体バリエーションを、ヒト樹状細胞上のCD33細胞表面レベルを低下させる能力について、親ヒト化抗体、6C7H5、及び6C7キメラ抗体と比較した。半数有効濃度（EC₅₀）を以下の表6にまとめる。また、抗CD33バリエーションのうちの3種（6C7H38、6C7H47、及び6C7H54）に関する結果は図11に示してあり、ここでは、これらのバリエーションを親6C7H5ヒト化抗体及び6C7キメラ抗体と比較している。

20

30

40

50

表 6 : 抗体バリエント 6 C 7 H 3 1 ~ 6 C 7 H 5 4 による細胞表面 C D 3 3 の下方制御

抗体	受容体下方制御、 (EC ₅₀) (pM) :	6C7H5 と比較した 効力の増加倍率
6C7 キメラ抗体	43.0	—
6C7H5	42.4	—
6C7H31	67.7	0.6
6C7H32	47.2	0.9
6C7H33	50.0	0.8
6C7H34	60.3	0.7
6C7H35	51.0	0.8
6C7H36	49.1	0.9
6C7H37	59.3	0.7
6C7H38	27.0	1.6
6C7H39	38.7	1.1
6C7H40	37.2	1.1
6C7H41	34.2	1.2
6C7H42	39.4	1.1
6C7H43	49.8	0.9
6C7H44	45.7	0.9
6C7H45	44.5	1.0
6C7H46	61.7	0.7
6C7H47	59.0	0.7
6C7H48	56.3	0.8
6C7H49	69.7	0.6
6C7H50	57.8	0.7
6C7H51	42.4	1.0
6C7H52	47.7	0.9
6C7H53	35.4	1.2
6C7H54	30.2	1.2

【 0 4 5 9 】

抗 C D 3 3 抗体の全てが樹状細胞の表面上の C D 3 3 を低下させ、親ヒト化抗体（ 6 C 7 H 5 ）及び 6 C 7 キメラ抗体で観察されたものの 2 倍以内の効力を呈した。最も強いカニクイザル C D 3 3 結合性を示した 2 種の抗 C D 3 3 抗体（ 6 C 7 H 4 7 及び 6 C 7 H 5 4 ）のうち、抗体 6 C 7 H 5 4 は、C D 3 3 の下方制御において効力が高く、かつ、これらの細胞上の C D 3 3 の細胞表面レベルを低下させる、または下げることに於いて、親ヒト化抗体（ 6 C 7 H 5 ）と 6 C 7 キメラ抗体のいずれよりも効力が高かった。抗体の全てが同様の C D 3 3 最大低下を呈した（図 1 1、データは示さない）。上述の工学操作法を使用して生成された 2 4 種の抗 C D 3 3 抗体バリエントのうち、また、4 つの工学操作キャンペーンによって生成された合計 1 0 2 種の抗 C D 3 3 抗体バリエントのうち、抗 C D 3 3 抗体 6 C 7 H 5 4 は、強力な C D 3 3 下方制御と細胞表面 C D 3 3 レベルの最大低下の両方を呈した。更に、この抗 C D 3 3 抗体は、ヒト C D 3 3 とカニクイザル C D 3 3 の両方に対して、親ヒト化抗体（ 6 C 7 H 5 ）及び 6 C 7 キメラ抗体で観察されたものと比較して予想外に改善された親和性を示した。

表 7 : 抗 C D 3 3 抗体の重鎖 H V R - H 1、H V R - H 2、及び H V R - H 3 の配列

抗体	HVR-H1	配列 番号	HVR-H2	配列 番号	HVR-H3	配列 番号
6C7H1 ; 6C7H2 ; 6C7H3 ; 6C7H4 ; 6C7H5 ; 6C7H6 ; 6C7H7	NYCMN	8	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	DGYVVPFAY	38
6C7H8	NYCMN	8	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H9 ; 6C7H10 ; 6C7H11	EYAMN	9	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H12	NYGMN	10	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H13	NYFMN	11	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H14	NYAMN	12	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H15	NYSMN	13	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H16	NYLMN	14	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H17	NYVMN	15	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H18	NYHMN	16	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H19	NYRMN	17	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H20	NYPMN	18	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H21	NYQMN	19	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H22	NYTMN	20	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H23	NYVMN	21	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H24	NYNMN	22	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39

10

20

30

40

50

抗体	HVR-H1	配列 番号	HVR-H2	配列 番号	HVR-H3	配列 番号
6C7H25 ; 6C7H47 ; 6C7H48 ; 6C7H53 ; 6C7H54	NYEMN	23	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H26	NYIMN	24	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H27	DYTMN	25	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H28	DYSMN	26	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H29	AYSMN	27	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H30	NYWMN	28	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H31 ; 6C7H32 ; 6C7H33 ; 6C7H34	EYDML	29	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H35 ; 6C7H36 ; 6C7H37 ; 6C7H38	EYAML	30	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFTY	40
6C7H39 ; 6C7H40 ; 6C7H41 ; 6C7H42	EYDML	29	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H43 ; 6C7H44 ; 6C7H49 ; 6C7H50	EYDML	29	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H45 ; 6C7H46 ; 6C7H51 ; 6C7H52	EYAML	30	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39

10

20

30

40

50

表 8 : 抗 C D 3 3 抗体の軽鎖 H V R - L 1、H V R - L 2、及び H V R - L 3 の配列

抗体	HVR-L1	配列番号	HVR-L2	配列番号	HVR-L3	配列番号
6C7H1 ; 6C7H2 ; 6C7H3 ; 6C7H4 ; 6C7H5 ; 6C7H6 ; 6C7H7	TLSSQHST YTIE	47	LKKDGSHTGD	52	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H8 ; 6C7H10 ; 6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ; 6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 6C7H30	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H9	TLSSQHST YTIE	47	LKKKGSHSTGD	54	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H11	TLSSQHST YTIE	47	LKKGGSHSTGD	55	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H31 ; 6C7H35 ; 6C7H39 ; 6C7H49 ; 6C7H51 ; 6C7H53	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGVTIK EQFVYV	59
6C7H32 ; 6C7H36 ; 6C7H40 ; 6C7H43 ; 6C7H45 ; 6C7H47	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGHTIK EQFVYE	60
6C7H33 ; 6C7H37 ; 6C7H41 ; 6C7H50 ; 6C7H52 ; 6C7H54	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGHTIK EQFVYV	61
6C7H34 ; 6C7H38 ; 6C7H42 ; 6C7H44 ; 6C7H46 ; 6C7H48	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGLTIK EQFVYV	62

10

20

30

40

50

表 9 : 抗 C D 3 3 抗体の重鎖フレームワーク配列

抗体	VH FR1	配列 番号	VH FR2	配列 番号	VH FR3	配列番 号	VH FR4	配列 番号
6C7H1 ; 6C7H3 ; 6C7H6	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS LYLQMN SLKTED TAVYYC AR	34	WGQGT LVTSS	41
6C7H2 ; 6C7H5 ; 6C7H8	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAGS GFTFS	6	WVRQAPG KGLEWVA	32	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGYYC TR	35	WGQGT LVTSS	41
6C7H4 ; 6C7H7	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAGS GFTFS	6	WVRQAPG KGLEWVA	32	RFTISR DDSKNS LYLQMN SLKTED TAVYYC TR	36	WGQGT LVTSS	41
6C7H9 ; 6C7H10 ; 6C7H11	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGYYC TR	35	WGQGT LVTSS	41
6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ;	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAGS GFTFS	6	WVRQAPG KGLEWVA	32	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGYYC TR	35	WGQGT LVTSS	41

10

20

30

40

50

抗体	VH FR1	配列 番号	VH FR2	配列 番号	VH FR3	配列番 号	VH FR4	配列 番号
6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 6C7H30 ; 6C7H47 ; 6C7H48 ; 6C7H53 ; 6C7H54								
6C7H31 ; 6C7H32 ; 6C7H33 ; 6C7H34	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GSTFS	7	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	35	WGQGTL VTVSS	41
6C7H35 ; 6C7H36 ; 6C7H37 ; 6C7H38 ; 6C7H43 ; 6C7H44 ; 6C7H45 ; 6C7H46 ; 6C7H49 ; 6C7H50 ; 6C7H51 ; 6C7H52	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	35	WGQGTL VTVSS	41
6C7H39 ; 6C7H40 ; 6C7H41 ; 6C7H42	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDTKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	37	WGQGTL VTVSS	41

10

20

30

40

50

表 10 : 抗CD3抗体の軽鎖フレームワーク配列

抗体	VL FR1	配列 番号	VL FR2	配列番 号	VL FR3	配列番号	VL FR4	配列 番号
6C7H1 ; 6C7H2	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WHQQQ PEKGP RYLMK	48	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H3 ; 6C7H4 ; 6C7H5 ; 6C7H8 ; 6C7H10 ; 6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ; 6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 6C7H30	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQQ PEKGP RYLME	49	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H6 ; 6C7H7	QLVL TQSP SASA SLGA SAKL TC	43	WYQQQ PEKGP RYVME	50	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SIQSE DEADY IC	57	FGGGTKV TVL	64

10

20

30

40

50

抗体	VL FR1	配列 番号	VL FR2	配列番 号	VL FR3	配列番号	VL FR4	配列 番号
6C7H9 ; 6C7H11	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQQ PEKGP RYLME	49	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H31 ; 6C7H35 ; 6C7H39 ; 6C7H49 ; 6C7H51 ; 6C7H53	QPVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	44	WYQQQ PEKGP RYLME	49	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H32 ; 6C7H36 ; 6C7H40 ; 6C7H43 ; 6C7H45 ; 6C7H47 ; 6C7H33 ; 6C7H37 ; 6C7H41 ; 6C7H50 ; 6C7H52 ; 6C7H54	QLML TQSP SASA SLGA SVKL TC	45	WYQQQ PGKGP RYLME	51	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H34 ; 6C7H38 ; 6C7H42 ; 6C7H44 ; 6C7H46 ; 6C7H48	QPML TQSP SASA SLGA SVKL TC	46	WYQQQ PGKGP RYLME	51	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63

10

20

30

40

50

表 1 1 : 抗 C D 3 3 抗体の重鎖可変領域配列

抗体	HCVR	配列番号
6C7H1 ; 6C7H3 ; 及び 6C7H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQ MNSLKTEDTAVYYCARDGYVPFAYWGQGTLLTVSS	65
6C7H2 及び 6C7H5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRDGYVPFAYWGQGTLLTVSS	66
6C7H4 及び 6C7H7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQ MNSLKTEDTAVYYCTRDGYVPFAYWGQGTLLTVSS	67
6C7H8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	68
6C7H9 ; 6C7H10 ; 及び 6C7H11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAMNWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	69
6C7H12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYGMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	70
6C7H13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYFMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	71
6C7H14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	72
6C7H15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYSMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	73
6C7H16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYLMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	74
6C7H17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYYMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	75
6C7H18	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYHMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	76
6C7H19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYRMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	77

10

20

30

40

50

抗体	HCVR	配列番号
6C7H20	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYPMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	78
6C7H21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYQMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	79
6C7H22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYTMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	80
6C7H23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYVMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	81
6C7H24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYNMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	82
6C7H25 ; 6C7H47 ; 6C7H48 ; 6C7H53 ; 及び 6C7H54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYEMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	83
6C7H26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYIMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	84
6C7H27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYTMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	85
6C7H28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYSMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	86
6C7H29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSAYSMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	87
6C7H30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYWMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	88
6C7H31 ; 6C7H32 ; 6C7H33 ; 及び 6C7H34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSEYDMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	89
6C7H35 ; 6C7H36 ; 6C7H37 ; 及び 6C7H38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSEYAMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFTYWGQGLTVTVSS	90

10

20

30

40

50

抗体	HCVR	配列番号
6C7H39 ; 6C7H40 ; 6C7H41 ; 及び 6C7H42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDTKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	91
6C7H43 ; 6C7H44 ; 6C7H49 ; 及び 6C7H50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	92
6C7H45 ; 6C7H46 ; 6C7H51 ; 及び 6C7H52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGTLLTVSS	93

10

20

30

40

50

表 1 2 : 抗 C D 3 3 抗体の軽鎖可変領域配列

抗体	LCVR	配列 番号
6C7H1 及び 6C7H2	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWHQ QQPEKGPRYLMKLKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	94
6C7H3 ; 6C7H4 ; 及び 6C7H5	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	95
6C7H6 及び 6C7H7	QLVLTQSPSASASLGASAKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYVMELKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYICVGDTIKEQFVYVFGGGTK VTVL	96
6C7H8 ; 6C7H10 ; 6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ; 6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 及び 6C7H30	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	97
6C7H9	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	98
6C7H11	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKGGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	99
6C7H31 ; 6C7H35 ; 6C7H39 ; 6C7H49 ; 6C7H51 ; 及び 6C7H53	QPVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGVTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	100
6C7H32 ; 6C7H36 ; 6C7H40 ; 6C7H43 ; 6C7H45 ; 及び 6C7H47	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGHTIKEQFVYEFGGGTK LTVL	101

10

20

30

40

50

抗体	LCVR	配列 番号
6C7H33 ; 6C7H37 ; 6C7H41 ; 6C7H50 ; 6C7H52 ; 及び 6C7H54	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIEWYQ QQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGHTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	102
6C7H34 ; 6C7H38 ; 6C7H42 ; 6C7H44 ; 6C7H46 ; 及び 6C7H48	QPMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIEWYQ QQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGLTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	103

10

【0460】

実施例4：Fc領域が抗CD33抗体の内在化に与える影響の解析

この実施例の目的は、抗CD33抗体が*in vitro*及び*in vivo*で初代骨髄細胞上のCD33の細胞表面レベルを低下させる能力に対するFcの影響を評価することであった。

【0461】

抗体のFc領域は、細胞の表面上に発現したFcγ受容体と相互作用することができ、CD33を内因的に発現する骨髄及び他の免疫細胞は、複数のFcγ受容体も発現する。したがって、様々なヒトIgGアイソタイプの抗体のFcと細胞表面Fcγ受容体との間の相互作用及び抗体のクラスター化能力が、受容体を内在化する抗体の能力に及ぼす影響について試験した。

20

【0462】

6C7H8、6C7H10、または6C7H54の可変領域を含む抗CD33抗体、及び様々なヒトIgGバリエーションを生成した。試験したFcは、IgG1（全てのFcγ受容体に結合する）；IgG1 P331S（P331S変異を含み、減少したC1q結合性を示すが、全てのFcγ受容体に結合する）；IgG1 IgG1 SELF（S267E及びL328F変異を含み、CD32B及びCD32AのR131バリエーションへの向上した結合を呈する）；IgG2（CD32Aにしか実質的結合を示さない）；及びIgG1 LALAPS（L234A、L235A、及びP331S変異を含み、Fcγ受容体のいずれに対しても結合をほとんどまたは全く呈さない）を含んだ。抗体が初代ヒト樹状細胞上の細胞表面CD33のレベルを低下させる能力について、実施例2に記載した方法に従って評価した。データを図12A、12B、及び12Cに示す。表13は、半数有効濃度（EC50）及び抗体による最大CD33下方制御をまとめている。

30

40

50

表 1 3 : F c バリエーション抗 CD 3 3 抗体による CD 3 3 細胞表面下方制御

抗体	受容体下方制御、(pM、EC ₅₀)	IgG1 と比べた効力の変化倍率	最大下方制御 (CD33 残存%)
6C7H8 IgG1	77.9	–	21.5
6C7H8 IgG1 LALAPS	83.7	0.93	67.4
6C7H10 IgG1	777.6	–	21.2
6C7H10 IgG2	772.5	1.01	24.2
6C7H10 IgG1 SELF	30.1	25.8	19.6
6C7H10 IgG1 LALAPS	1352.2	0.58	62.3
6C7H54 IgG1	30.2	–	26.1
6C7H54 IgG2	25.3	1.20	14.3
6C7H54 IgG1 PS	12.6	2.40	23.9

10

【 0 4 6 3 】

異なる F c バリエーションを使用して構築された抗 CD 3 3 抗体は、樹状細胞の表面上の CD 3 3 のレベルを低下させる様々な能力を呈した。IgG1 SELF の抗体 6 C 7 H 1 0 は、CD 3 3 の下方制御において抗体 6 C 7 H 1 0 IgG1 抗体よりも 25.8 倍強力であったため、IgG1 SELF アイソタイプが最も強い効力を示した。これら 2 つの抗体は、同様の CD 3 3 レベル最大低下を示した。驚くべきことに、抗体 6 C 7 H 8 IgG1 LALAPS 及び抗体 6 C 7 H 1 0 IgG1 LALAPS 抗体は、CD 3 3 の下方制御において、それらの同族野生型 IgG1 抗体よりも実質的に効果が低く、両方の IgG1 LALAPS 抗体による CD 3 3 レベルの低下は 40 % 未満であった。抗体 6 C 7 H 1 0 IgG2 及び抗体 6 C 7 H 5 4 IgG2 抗体は、効力において、それらの野生型 IgG1 対応物と同様であった。抗体 6 C 7 H 1 0 IgG2 抗体による CD 3 3 の最大低下は抗体 6 C 7 H 1 0 IgG1 によるものと同様であったが、抗体 6 C 7 H 5 4 IgG2 抗体は、抗体 6 C 7 H 5 4 IgG1 よりも大きな CD 3 3 最大低下を示した。対照的に、抗体 6 C 7 H 5 4 IgG1 PS は、CD 3 3 の下方制御において、抗体 6 C 7 H 5 4 IgG1 で観察されたものと比較してわずかに改善された効力を示したが、これら 2 つの抗体は、同様の CD 3 3 最大低下を示した。これらのデータは、F c 領域が抗 CD 3 3 抗体による効力と受容体最大低下の両方に強く影響したことを示し、受容体下方制御が抗体と 1 つ以上の F c γ 受容体との相互作用によって向上することを示唆している。

20

30

非公式の配列表

CD 3 3 配列 (配列番号 1 ~ 2)

ヒト CD 3 3 のアミノ酸配列 (配列番号 1) :

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

40

カニクイザル CD 3 3 のアミノ酸配列 (配列番号 2) :

50

MDGEHLKGRNQGAQETSASDMPLLLLPLLWAGALAMDPRV
RLEVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPVPYHTRNSPVHGYWF
REGAIVSLDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRL LGDPSRNNC
SLSIVDARRRDNGSYFFRMEKGSTKYSYKSTQLSVHVTDL
THRPQILIPGALDPDHSKNLTCSVPWACEQGTPPIFSWMS
AAPTSLGLRTTHSSVLIITPRPQDHGTNLT CQVKFPGAGV
TTERTIQLNVSYASQNPRTDIFLGDGSGKQGVVQGAIGGA
GVTVLLALCLCLIFFTVKTHRRKAARTAVGRIDTHPATGP
TSSKHQKKSKLHGATETSGCSGTTLT VEMDEELHYASLNF
HGMNPSEDTSTEYSEVRTQ

10

参照抗CD33抗体配列（配列番号3～4）

マウス6C7抗体の重鎖可変領域（配列番号3）

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVGS GF TFSNYCMNWVRQS
PEKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYVESVKGRFTISRDDSKSR
VYLQMNNLRGEDTG FYYCTRDGYYPFA YWGQGTLVTVSA

マウス6C7抗体の軽鎖可変領域（配列番号4）

QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSTYTI EWYQQQP
LKPPKYVMELKKDGSHSTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSIS
NIQPEDEAIIYICGVGDTIKEQFVYVFGGGTKVTVL

20

30

40

50

重鎖超可変領域配列（配列番号 8 ～ 3 0、3 3、3 8 ～ 4 0）

抗体	HVR-H1	配列 番号	HVR-H2	配列 番号	HVR-H3	配列 番号
6C7H1 ; 6C7H2 ; 6C7H3 ; 6C7H4 ; 6C7H5 ; 6C7H6 ; 6C7H7	NYCMN	8	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	DGYVVPFAY	38
6C7H8	NYCMN	8	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H9 ; 6C7H10 ; 6C7H11	EYAMN	9	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H12	NYGMN	10	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H13	NYFMN	11	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H14	NYAMN	12	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H15	NYSMN	13	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H16	NYLMN	14	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H17	NYYMN	15	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H18	NYHMN	16	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H19	NYRMN	17	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H20	NYPMN	18	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H21	NYQMN	19	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H22	NYTMN	20	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H23	NYVMN	21	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39
6C7H24	NYNMN	22	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYVVPFAY	39

10

20

30

40

50

抗体	HVR-H1	配列 番号	HVR-H2	配列 番号	HVR-H3	配列 番号
6C7H25 ; 6C7H47 ; 6C7H48 ; 6C7H53 ; 6C7H54	NYEMN	23	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H26	NYIMN	24	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H27	DYTMN	25	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H28	DYSMN	26	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H29	AYSMN	27	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H30	NYWMN	28	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H31 ; 6C7H32 ; 6C7H33 ; 6C7H34	EYDML	29	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H35 ; 6C7H36 ; 6C7H37 ; 6C7H38	EYAML	30	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFTY	40
6C7H39 ; 6C7H40 ; 6C7H41 ; 6C7H42	EYDML	29	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H43 ; 6C7H44 ; 6C7H49 ; 6C7H50	EYDML	29	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39
6C7H45 ; 6C7H46 ; 6C7H51 ; 6C7H52	EYAML	30	EIRLKSNNYVT NYAASVKG	33	AGYYVPFAY	39

10

20

30

40

50

軽鎖超可変領域配列（配列番号 47、52～55、58～62）

抗体	HVR-L1	配列番号	HVR-L2	配列番号	HVR-L3	配列番号
6C7H1 ; 6C7H2 ; 6C7H3 ; 6C7H4 ; 6C7H5 ; 6C7H6 ; 6C7H7	TLSSQHST YTIE	47	LKKDGSHTGD	52	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H8 ; 6C7H10 ; 6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ; 6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 6C7H30	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H9	TLSSQHST YTIE	47	LKKKGSHSTGD	54	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H11	TLSSQHST YTIE	47	LKKGGSHSTGD	55	GVGDTIK EQFVYV	58
6C7H31 ; 6C7H35 ; 6C7H39 ; 6C7H49 ; 6C7H51 ; 6C7H53	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGVTIK EQFVYV	59
6C7H32 ; 6C7H36 ; 6C7H40 ; 6C7H43 ; 6C7H45 ; 6C7H47	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGHTIK EQFVYE	60
6C7H33 ; 6C7H37 ; 6C7H41 ; 6C7H50 ; 6C7H52 ; 6C7H54	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGHTIK EQFVYV	61
6C7H34 ; 6C7H38 ; 6C7H42 ; 6C7H44 ; 6C7H46 ; 6C7H48	TLSSQHST YTIE	47	LKKEGSHSTGD	53	GVGLTIK EQFVYV	62

10

20

30

40

50

重鎖フレームワーク配列（配列番号 5 ～ 7、3 1 ～ 3 2、3 4 ～ 3 7、4 1）

抗体	VH FR1	配列 番号	VH FR2	配列 番号	VH FR3	配列番 号	VH FR4	配列 番号
6C7H1 ; 6C7H3 ; 6C7H6	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS LYLQMN SLKTED TAVYYC AR	34	WGQGT LVTSS	41
6C7H2 ; 6C7H5 ; 6C7H8	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAGS GFTFS	6	WVRQAPG KGLEWVA	32	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	35	WGQGT LVTSS	41
6C7H4 ; 6C7H7	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAGS GFTFS	6	WVRQAPG KGLEWVA	32	RFTISR DDSKNS LYLQMN SLKTED TAVYYC TR	36	WGQGT LVTSS	41
6C7H9 ; 6C7H10 ; 6C7H11	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	35	WGQGT LVTSS	41
6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ;	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAGS GFTFS	6	WVRQAPG KGLEWVA	32	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	35	WGQGT LVTSS	41

10

20

30

40

50

抗体	VH FR1	配列 番号	VH FR2	配列 番号	VH FR3	配列番 号	VH FR4	配列 番号
6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 6C7H30 ; 6C7H47 ; 6C7H48 ; 6C7H53 ; 6C7H54								
6C7H31 ; 6C7H32 ; 6C7H33 ; 6C7H34	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GSTFS	7	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	35	WGQGT LTVSS	41
6C7H35 ; 6C7H36 ; 6C7H37 ; 6C7H38 ; 6C7H43 ; 6C7H44 ; 6C7H45 ; 6C7H46 ; 6C7H49 ; 6C7H50 ; 6C7H51 ; 6C7H52	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDSKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	35	WGQGT LTVSS	41
6C7H39 ; 6C7H40 ; 6C7H41 ; 6C7H42	EVQLV ESGGG LVQPG GSLRL SCAAS GFTFS	5	WVRQAPG KGLEWVG	31	RFTISR DDTKNS VYLQMN SLKTED TGVYYC TR	37	WGQGT LTVSS	41

10

20

30

40

50

軽鎖フレームワーク配列（配列番号 42～46、48～51、56～57、63～64）

抗体	VL FR1	配列 番号	VL FR2	配列番 号	VL FR3	配列番号	VL FR4	配列 番号
6C7H1 ; 6C7H2	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WHQQQ PEKGP RYLMK	48	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H3 ; 6C7H4 ; 6C7H5 ; 6C7H8 ; 6C7H10 ; 6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ; 6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 6C7H30	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQQ PEKGP RYLME	49	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H6 ; 6C7H7	QLVL TQSP SASA SLGA SAKL TC	43	WYQQQ PEKGP RYVME	50	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SIQSE DEADY IC	57	FGGGTKV TVL	64

10

20

30

40

50

抗体	VL FR1	配列 番号	VL FR2	配列番 号	VL FR3	配列番号	VL FR4	配列 番号
6C7H9 ; 6C7H11	QLVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	42	WYQQQ PEKGP RYLME	49	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H31 ; 6C7H35 ; 6C7H39 ; 6C7H49 ; 6C7H51 ; 6C7H53	QPVL TQSP SASA SLGA SVKL TC	44	WYQQQ PEKGP RYLME	49	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H32 ; 6C7H36 ; 6C7H40 ; 6C7H43 ; 6C7H45 ; 6C7H47 ; 6C7H33 ; 6C7H37 ; 6C7H41 ; 6C7H50 ; 6C7H52 ; 6C7H54	QLML TQSP SASA SLGA SVKL TC	45	WYQQQ PGKGP RYLME	51	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63
6C7H34 ; 6C7H38 ; 6C7H42 ; 6C7H44 ; 6C7H46 ; 6C7H48	QPML TQSP SASA SLGA SVKL TC	46	WYQQQ PGKGP RYLME	51	GIPDR FSGSS SGAER YLTIS SLQSE DEADY YC	56	FGGGTKL TVL	63

10

20

30

40

50

重鎖可変領域配列（配列番号 6 5 ～ 9 3）

抗体	HCVR	配列番号
6C7H1 ; 6C7H3 ; 及び 6C7H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQ MNSLKTEDTAVYYCARDGYYPFAYWGQGLTVTVSS	65
6C7H2 及び 6C7H5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRDGYYPFAYWGQGLTVTVSS	66
6C7H4 及び 6C7H7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQ MNSLKTEDTAVYYCTRDGYYPFAYWGQGLTVTVSS	67
6C7H8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYCMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	68
6C7H9 ; 6C7H10 ; 及び 6C7H11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAMNWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	69
6C7H12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYGMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	70
6C7H13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYFMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	71
6C7H14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	72
6C7H15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYSMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	73
6C7H16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYLMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	74
6C7H17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYMMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	75
6C7H18	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYHMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	76
6C7H19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYRMNWVRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGYYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	77

10

20

30

40

50

抗体	HCVR	配列番号
6C7H20	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYPMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	78
6C7H21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYQMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	79
6C7H22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYTMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	80
6C7H23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYVMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	81
6C7H24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYNMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	82
6C7H25 ; 6C7H47 ; 6C7H48 ; 6C7H53 ; 及び 6C7H54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYEMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	83
6C7H26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYIMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	84
6C7H27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSDYTMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	85
6C7H28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSDYSMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	86
6C7H29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSAYSMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	87
6C7H30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSNYWMNWRQAPG KGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	88
6C7H31 ; 6C7H32 ; 6C7H33 ; 及び 6C7H34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFSEYDMLWRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFAYWGQGLTVTVSS	89
6C7H35 ; 6C7H36 ; 6C7H37 ; 及び 6C7H38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFSEYAMLWRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYCTRAGYYVPFTYWGQGLTVTVSS	90

10

20

30

40

50

抗体	HCVR	配列番号
6C7H39 ; 6C7H40 ; 6C7H41 ; 及び 6C7H42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDTKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLVTVSS	91
6C7H43 ; 6C7H44 ; 6C7H49 ; 及び 6C7H50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYDMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLVTVSS	92
6C7H45 ; 6C7H46 ; 6C7H51 ; 及び 6C7H52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEYAMLWVRQAPG KGLEWVGEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNSVYLQ MNSLKTEDTGVIYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLVTVSS	93

10

20

30

40

50

軽鎖可変領域配列（配列番号 9 4 ～ 1 0 3）

抗体	LCVR	配列 番号
6C7H1 及び 6C7H2	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWHQ QQPEKGPRYLMKLKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	94
6C7H3 ; 6C7H4 ; 及び 6C7H5	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	95
6C7H6 及び 6C7H7	QLVLTQSPSASASLGASAKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYVMELKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSIQSEDEADYYICVGDTIKEQFVYVFGGGTK VTVL	96
6C7H8 ; 6C7H10 ; 6C7H12 ; 6C7H13 ; 6C7H14 ; 6C7H15 ; 6C7H16 ; 6C7H17 ; 6C7H18 ; 6C7H19 ; 6C7H20 ; 6C7H21 ; 6C7H22 ; 6C7H23 ; 6C7H24 ; 6C7H25 ; 6C7H26 ; 6C7H27 ; 6C7H28 ; 6C7H29 ; 及び 6C7H30	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	97
6C7H9	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	98
6C7H11	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKGGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSLQSEDEADYYCGVGDTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	99
6C7H31 ; 6C7H35 ; 6C7H39 ; 6C7H49 ; 6C7H51 ; 及び 6C7H53	QPVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPEKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSLQSEDEADYYCGVGVTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	100
6C7H32 ; 6C7H36 ; 6C7H40 ; 6C7H43 ; 6C7H45 ; 及び 6C7H47	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISSLQSEDEADYYCGVGHTIKEQFVYEFGGGTK LTVL	101

10

20

30

40

50

抗体	LCVR	配列 番号
6C7H33 ; 6C7H37 ; 6C7H41 ; 6C7H50 ; 6C7H52 ; 及び 6C7H54	QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGHTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	102
6C7H34 ; 6C7H38 ; 6C7H42 ; 6C7H44 ; 6C7H46 ; 及び 6C7H48	QPMLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSQHSTYTIIEWYQ QQPGKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAE RYLTISLQSEDEADYYCGVGLTIKEQFVYVFGGGTK LTVL	103

10

その他の配列**モチーフD／Ex0-2YxxL／IX6-8YxxL／I（配列番号104）****ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVT
VS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSN
FGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP（配列
番号105）**

20

30

40

50

ヒトFcバリエーション配列

ヒトFcバリエーション	アミノ酸配列	配列番号
IgG1-WT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	106
IgG1-末端リジンなしのWT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	107
IgG1-LALAPS (L234A、 L235A、及び P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	108
IgG1-LALAPS (L234A、 L235A、及び P331S) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	109
IgG1-PS (P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV	110

10

20

30

40

50

ヒト Fc バリアント	アミノ酸配列	配列番号
	KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
IgG1-PS (P331S) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	111
IgG1-PSEG (P331S 及び E430G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHGALHNHYTQKSLSLSPGK	112
IgG1-PSEG (P331S 及び E430G) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHGALHNHYTQKSLSLSPG	113
IgG1-NSLF (N325S 及び L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	114
IgG1-NSLF (N325S 及び L328F) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV	115

10

20

30

40

50

ヒトFcバリアント	アミノ酸配列	配列番号
	KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
IgG1-SELF (S267E 及び L328F)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDEHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	116
IgG1-SELF (S267E 及び L328F) 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDEHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA FPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	117
IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	118
IgG2 末端リジンなし	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	119

完全長抗体配列（6C7H54可変領域；IgG2）

末端リジンありの重鎖（配列番号120）

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGGFTFSNYEMNWVRQA
 PGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNS
 VYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLVTVSS
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQT
 YTCNVVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPVAGPSVF
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDG

VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC
KVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSD
GSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

末端リジンなしの重鎖（配列番号121）

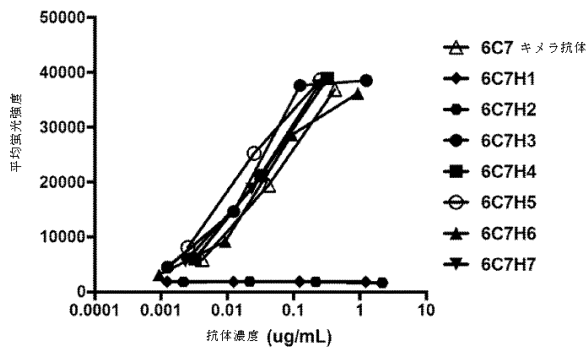
EVQLVESGGGLVQP GGS LRLSCAGSGFTFSNYEMNWVRQA
PGKGLEWVAEIRLKSNNYVTNYAASVKGRFTISRDDSKNS
VYLQMNSLKTEDTGVYYCTRAGYYVPFAYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQT
YTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCP APPVAGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC
KVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSD
GSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG

軽鎖（配列番号122）

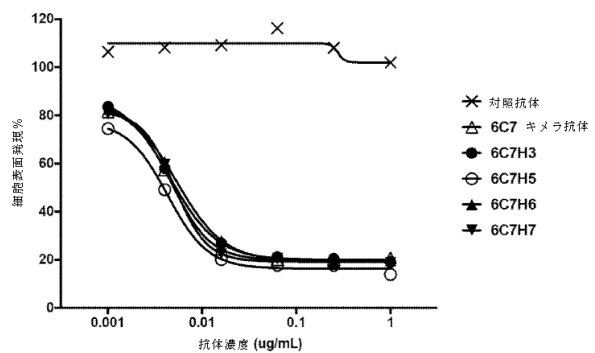
QLMLTQSPSASASLGASVKLTCTLS SQHSTYTYIEWYQQQP
GKGPRYLMELKKEGSHSTGDGIPDRFSGSSSGAERYLTIS
SLQSEDEADYYCGVGHTIKEQFVYVFGGGTKLTVLGQPKA
APSVTLFPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD
SSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY
SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

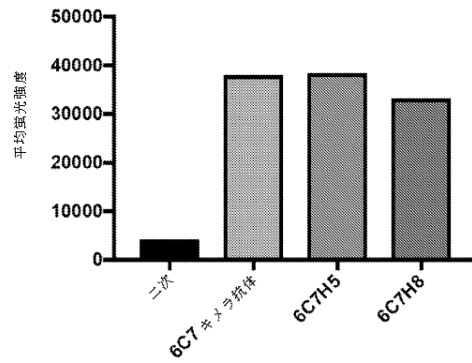
20

30

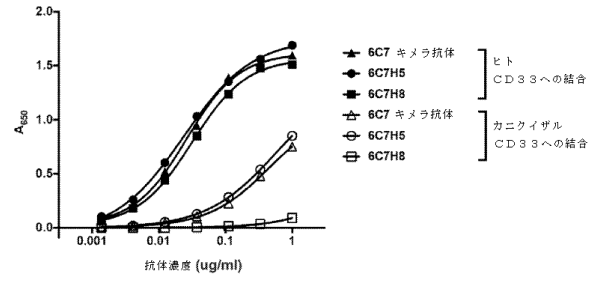
40

50

【図 3】

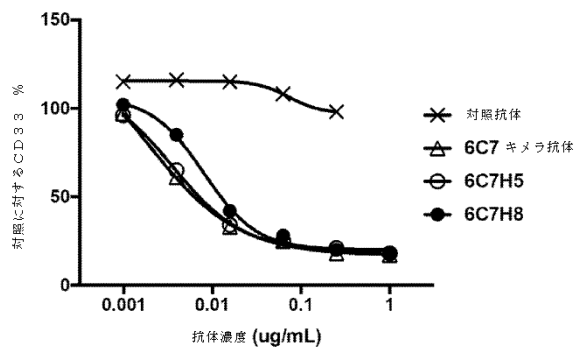


【図 4】

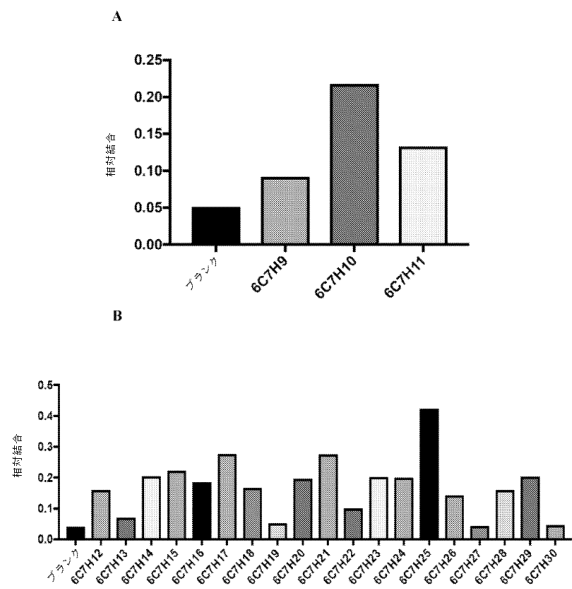


10

【図 5】



【図 6】



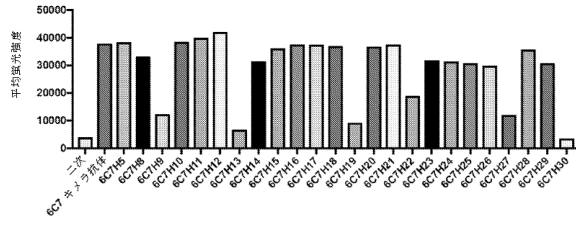
20

30

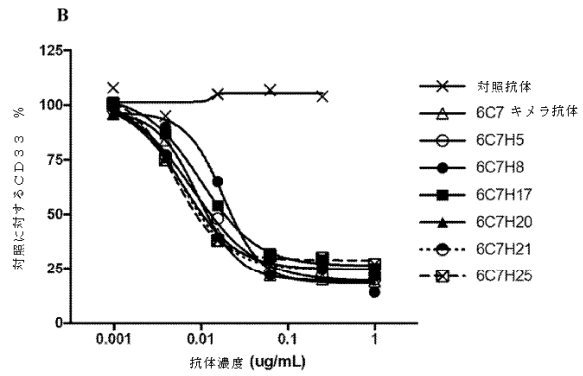
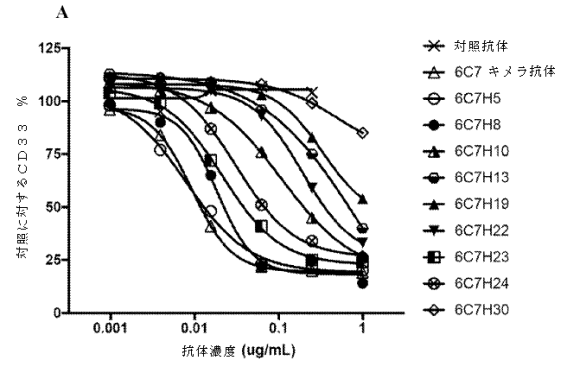
40

50

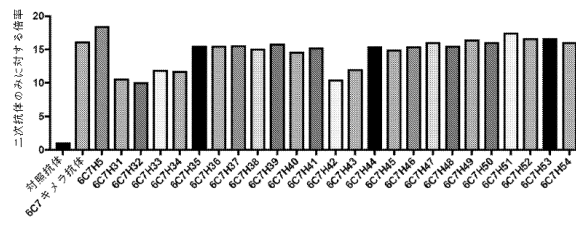
【図 7】



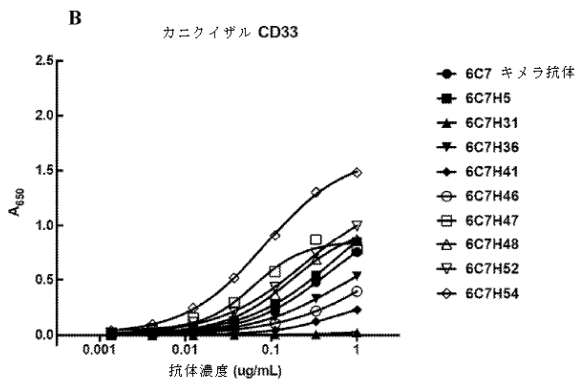
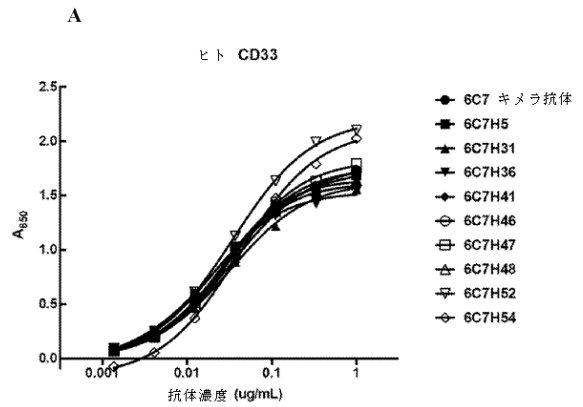
【図 8】



【図 9】



【図 10】



10

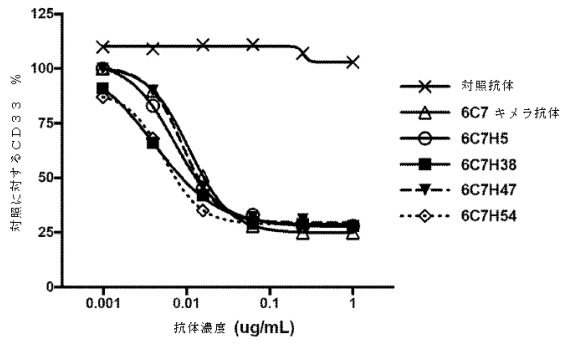
20

30

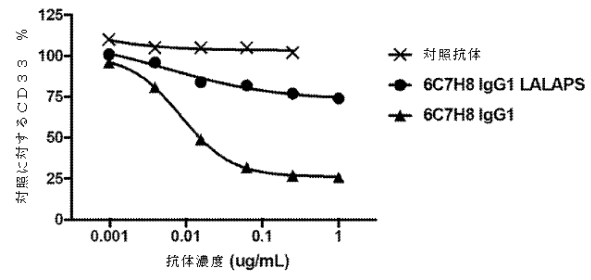
40

50

【図 1 1】

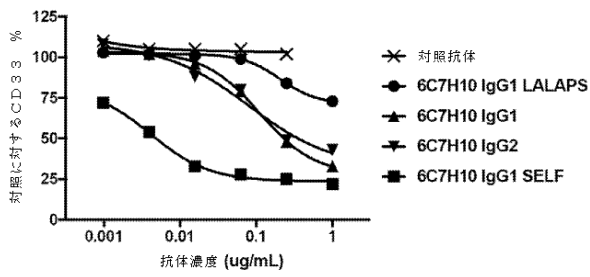


【図 1 2 A】

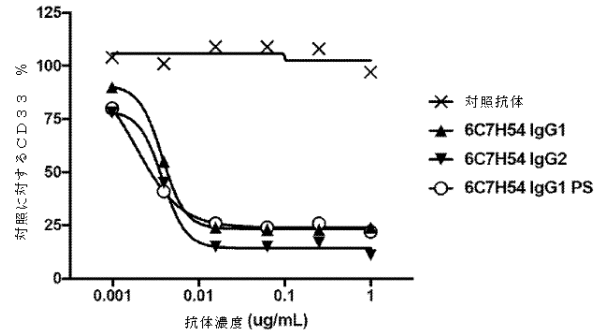


10

【図 1 2 B】



【図 1 2 C】



20

【配列表】

0007586813000001.app

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	
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 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

(72)発明者 ホー, ウェー－シャン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

(72)発明者 ブレスタ, レナード

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

(72)発明者 ローゼンタール, アーノン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

審査官 長谷川 強

(56)参考文献 特表 2 0 1 8 - 5 1 8 1 7 6 (J P, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 0 7 K 1 6 / 2 8
A 6 1 K 3 9 / 3 9 5
A 6 1 P 2 5 / 2 8
A 6 1 P 3 1 / 0 0
A 6 1 P 3 5 / 0 0
C 0 7 K 1 6 / 4 6
C 1 2 N 1 / 1 5
C 1 2 N 1 / 1 9
C 1 2 N 1 / 2 1
C 1 2 N 5 / 1 0
C 1 2 N 1 5 / 1 3
C 1 2 N 1 5 / 6 3
C 1 2 P 2 1 / 0 8
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)