

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-505350

(P2020-505350A)

(43) 公表日 令和2年2月20日(2020.2.20)

| | | |
|-------------------------------------|---------------------|-------------|
| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
| A 6 1 K 39/395 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 T | 4 C 0 8 4 |
| A 6 1 P 35/00 (2006.01) | A 6 1 P 35/00 | 4 C 0 8 5 |
| A 6 1 P 43/00 (2006.01) | A 6 1 P 43/00 1 2 1 | 4 H 0 4 5 |
| A 6 1 K 38/20 (2006.01) | A 6 1 K 38/20 | |
| A 6 1 K 38/17 (2006.01) | A 6 1 K 38/17 | |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 83 頁) 最終頁に続く | | |

| | | | |
|--------------------|------------------------------|----------|----------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2019-538484 (P2019-538484) | (71) 出願人 | 504389991 |
| (86) (22) 出願日 | 平成30年1月19日 (2018.1.19) | | ノバルティス アーゲー |
| (85) 翻訳文提出日 | 令和1年7月17日 (2019.7.17) | | スイス国 バーゼル リヒトシュトラッセル |
| (86) 国際出願番号 | PCT/IB2018/050348 | | 3 5 |
| (87) 国際公開番号 | W02018/134782 | (74) 代理人 | 100092783 |
| (87) 国際公開日 | 平成30年7月26日 (2018.7.26) | | 弁理士 小林 浩 |
| (31) 優先権主張番号 | 62/448,460 | (74) 代理人 | 100095360 |
| (32) 優先日 | 平成29年1月20日 (2017.1.20) | | 弁理士 片山 英二 |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 | 米国 (US) | (74) 代理人 | 100120134 |
| | | | 弁理士 大森 規雄 |
| | | (74) 代理人 | 100135943 |
| | | | 弁理士 三橋 規樹 |
| | | (74) 代理人 | 100104282 |
| | | | 弁理士 鈴木 康仁 |
| | | 最終頁に続く | |

(54) 【発明の名称】 癌の治療のための組合せ療法

(57) 【要約】

I L - 1 5 / I L - 1 5 R a を抗 P D - 1 抗体分子との組合せで含む複合体の患者への投与のための投与レジメンが開示される。このような投与レジメンは、障害、例えば、癌の予防、治療および／または管理において使用することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における癌を治療する方法であって、

(a) 少なくとも 1 回の初期用量のインターロイキン - 15 (IL - 15) / IL - 15 受容体アルファ (IL - 15 Ra) 複合体とそれに続く反復または漸増用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を；

(b) 抗 PD - 1 抗体分子との組合せで前記対象に投与することを含む方法。

【請求項 2】

IL - 15 / IL - 15 Ra の前記初期用量が、0.5 ~ 2 μ g / kg である、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

IL - 15 / IL - 15 Ra の前記初期用量が、1 μ g / kg である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の前記反復用量が、1 μ g / kg である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の前記漸増用量が、前回用量の 2 倍である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

20

IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の前記初期用量が、1 μ g / kg であり、それに続く前記 IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の漸増用量が、2、4 および 8 μ g / kg である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記用量の前記 IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を、3 週間にわたり週 1 回皮下投与する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を、2 週間にわたり週 3 回皮下投与する、請求項 1 ~ 3、5 および 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

30

前記 IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体が、ヒト IL - 15 およびヒト可溶性 IL - 15 Ra のヘテロ二量体複合体である、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記ヒト IL - 15 が、配列番号 1 のアミノ酸配列の残基 49 ~ 162 を含み、前記ヒト可溶性 IL - 15 Ra が、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記用量の前記抗 PD - 1 抗体分子を、均一用量で投与する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

40

前記抗 PD - 1 抗体分子の前記均一用量が、300 mg または 400 mg である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記用量の前記抗 PD - 1 抗体分子を、4 週間毎に 1 回静脈内投与する、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記抗 PD - 1 抗体分子が、配列番号 29 の VHCDR1 アミノ酸配列；配列番号 30 の VHCDR2 アミノ酸配列；および配列番号 31 の VHCDR3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (VH)；ならびに配列番号 32 の VLCDR1 アミノ酸配列、配列番号 33 の VLCDR2 アミノ酸配列、および配列番号 34 の VLCDR3 アミノ酸配列を含む軽

50

鎖可変領域（V L）を含む、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記抗 P D - 1 抗体分子が、配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む V H および配列番号 4 5 または 6 5 のアミノ酸配列を含む V L を含む、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記抗 P D - 1 抗体分子が、I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 から選択されるヒト重鎖定常領域およびカッパまたはラムダから選択される軽鎖定常領域を含む、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記抗 P D - 1 抗体分子が、

- (a) 配列番号 9 8 または 9 9 の 1 0 8 位におけるセリン - プロリン突然変異を有するヒト I g G 4 重鎖定常領域およびカッパ軽鎖定常領域；
 - (b) 配列番号 1 0 1 の 1 8 0 位におけるアスパラギン - アラニン突然変異を有するヒト I g G 1 重鎖定常領域およびカッパ軽鎖定常領域；
 - (c) 配列番号 1 0 2 の 1 4 8 位におけるアスパラギン酸 - アラニン突然変異および 2 1 2 位におけるプロリン - アラニン突然変異を有するヒト I g G 1 重鎖定常領域、およびカッパ軽鎖定常領域；または
 - (d) 配列番号 1 0 3 の 1 1 7 位におけるロイシン - アラニン突然変異および 1 1 8 位におけるロイシン - アラニン突然変異を有するヒト I g G 1 重鎖定常領域、およびカッパ軽鎖定常領域
- の 1 つ以上を含む、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記抗 P D - 1 抗体分子が、配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 4 7 または 6 7 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

一態様において、追加の薬剤、例えば、抗 P D - 1 抗体との組合せで I L - 1 5 媒介免疫機能を向上させるための、I L - 1 5 受容体アルファ（「I L - 1 5 R a」）に共有または非共有結合しているインターロイキン - 1 5（「I L - 1 5」）を含む複合体の患者への投与のための投与レジメンが、本明細書に記載される。具体的な態様において、組合せの投与レジメンは、免疫系の活性化が有益である障害、例えば、癌の予防、治療、および / または管理において有用である。

【背景技術】

【0 0 0 2】

サイトカインのインターロイキン - 1 5（I L - 1 5）は、体内の多くの細胞により産生されるリンホカインのアルファ - 4 ヘリックスバンドルファミリーのメンバーである。I L - 1 5 は、自然および適応免疫系の両方の活性のモジュレーション、例えば、侵入病原体に対するメモリー T 細胞応答の維持、アポトーシスの阻害、樹状細胞の活性化、ならびにナチュラルキラー（N K）細胞増殖および細胞毒性活性の誘導における極めて重要な役割を担う。

【0 0 0 3】

I L - 1 5 受容体は、複数のサイトカイン受容体により共有される 3 つのポリペプチド、タイプ特異的 I L - 1 5 受容体アルファ（「I L - 1 5 R a」）、I L - 2 / I L - 1 5 受容体ベータ（または C D 1 2 2）（「」）、および共通ガンマ鎖（または C D 1 3 2）（「」）からなる。I L - 1 5 R a は、広範な細胞タイプにより発現されると考えられるが、必ずしも および と同時に発現されない。I L - 1 5 シグナリングは、I L - 1 5 R a、 および のヘテロ二量体複合体を介して； および のヘテロ二量体複

10

20

30

40

50

合体を介して、またはマスト細胞上に見出されるサブユニット、IL-15RXを介して生じることが示されている。

【0004】

IL-15は可溶性タンパク質であるが、内因性IL-15は、血清または体液中で容易に検出可能でない。それというのも、それは主に、いくつかのタイプのアクセサリー細胞により発現または獲得される膜結合形態として生じるためである。例えば、IL-15 mRNAは造血および非造血系の両方の細胞中で検出されるが、T細胞はIL-15を産生しない。その代わり、IL-15はIL-15Raに結合し、T細胞上で細胞表面複合体を形成する。IL-15は、受容体の細胞外ドメインのエキソン2中の「sushiドメイン」を介して高い親和性でIL-15Raに特異的に結合する。トランス-エンドソームリサイクリングおよび細胞表面への再移動後、これらのIL-15複合体は、IL-15R α 低親和性受容体複合体を発現するバースタンダー細胞を活性化させる特性を獲得し、Jak/Stat経路を介するIL-15媒介シグナリングを誘導する。受容体の膜貫通ドメインのすぐ遠位の細胞外ドメイン中の開裂部位において開裂されるIL-15Raの野生型可溶性形態（「sIL-15Ra」）が観察されている。腫瘍壊死因子-アルファ変換酵素（TACE/ADAM17）がこのプロセスに関与するプロテアーゼとして関係している。

10

【0005】

免疫系におけるその多面的役割に基づき、IL-15媒介機能をモジュレートするために設計される種々の治療法が探索されてきた。近年の報告は、IL-15は、sIL-15Ra、またはsushiドメインと複合体化された場合、その免疫向上機能を維持することを示唆している。組換えIL-15およびIL-15/IL-15Ra複合体は、種々の前臨床モデルにおいてメモリーCD8T細胞およびNK細胞の拡大を異なる程度で促進し、腫瘍拒絶を向上させることが示されている。さらに、マウスモデルにおけるIL-15またはIL-15/IL-15Ra複合体含有構築物の腫瘍標的化は、同系腫瘍が移植された免疫コンピテント動物またはヒト腫瘍細胞系が注射されたTおよびB細胞欠損SCIDマウス（NK細胞を保持）のいずれにおいても改善された抗腫瘍応答をもたらした。向上した抗腫瘍活性は、腫瘍内のNKおよび/またはCD8細胞傷害性T細胞拡大の向上をもたらすIL-15含有部分の増加した半減期ならびに腫瘍細胞の表面上のIL-15のトランス提示に依存的であることが考えられる。したがって、IL-15を発現するように遺伝子操作された腫瘍細胞は、T細胞およびNK細胞リクルートメント、増殖および機能を向上させることにより樹立腫瘍の拒絶を促進することも報告された（Zhang et al., (2009) PNAS USA. 106: 7513-7518; Munger et al., (1995) Cell Immunol. 165(2): 289-293; Evans et al., (1997) Cell Immunol. 179(1): 66-73; Klebanoff et al., (2004) PNAS USA. 101(7): 1969-74; Sneller et al., (2011) Blood. 118(26): 6845-6848; Zhang et al., (2012) J. Immunol. 188(12): 6156-6164）。

20

30

【0006】

IL-15は前臨床動物モデルにおいて抗腫瘍活性および生存率増加を示す一方、データはそれがCD8+T細胞上のPD-1を上方調節し、IL-10を増加させる傾向を有し、その治療利益を潜在的に制限することも示した。前臨床試験において、組換えIL-15およびPD-1/PD-L1軸を標的化するチェックポイントモジュレーターを用いる組合せ方針は、単剤療法と比較してPD-1およびIL-10の両方を低減させ、全生存率を増加させた（Yu et al., (2010) Clin. Cancer Res. 2010: 6019-28）。

40

【0007】

抗原に対する免疫応答を媒介するT細胞の能力は、2つの区別されるシグナリング相互作用を要求する（Viglietta et al., (2007) Neurothera

50

peutics 4:666-675; Korman et al. (2007) Adv. Immunol. 90:297-339)。第1に、抗原提示細胞 (APC) の表面上に配置された抗原が抗原特異的ナイーブCD4+T細胞に提示される。このような提示が、T細胞受容体 (TCR) を介してシグナルを送達し、それがT細胞に提示抗原に特異的な免疫応答の開始を指示する。第2に、APCおよび区別されるT細胞表面分子の間の相互作用を介して媒介される種々の共刺激性および阻害性シグナルが、T細胞の活性化および増殖、ならびに最終的にその阻害を始動させる。

【0008】

免疫系は共刺激性および共阻害性リガンドおよび受容体のネットワークにより厳格に制御される。これらの分子は、T細胞活性化のための第2のシグナルを提供し、感染に対する免疫応答を最大化するための正および負のシグナルのネットワークの平衡を提供する一方、自己への免疫を制限する (Wang et al. (Epub Mar. 7, 2011) J. Exp. Med. 208(3):577-92; Lepenies et al. (2008) Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets 8:279-288)。共刺激性シグナルの例としては、APCのB7.1 (CD80) およびB7.2 (CD86) リガンドと、CD4+Tリンパ球のCD28およびCTLA-4受容体との間の結合が挙げられる (Sharpe et al. (2002) Nature Rev. Immunol. 2:116-126; Lindley et al. (2009) Immunol. Rev. 229:307-321)。B7.1またはB7.2のCD28への結合はT細胞活性化を刺激する一方、B7.1またはB7.2のCTLA-4への結合は、このような活性化を阻害する (Dong et al. (2003) Immunolog. Res. 28(1):39-48; Greenwald et al. (2005) Ann. Rev. Immunol. 23:515-548)。CD28は、T細胞の表面上で構成的に発現される (Gross et al. (1992) J. Immunol. 149:380-388) 一方、CTLA-4発現はT細胞活性化後に急速に上方調節される (Linsley et al. (1996) Immunity 4:535-543)。

【0009】

CD28受容体の他のリガンドとしては、「B7スーパーファミリー」としても公知の関連B7分子群が挙げられる (Coylye et al. (2001) Nature Immunol. 2(3):203-209; Sharpe et al. (2002) Nature Rev. Immunol. 2:116-126; Collins et al. (2005) Genome Biol. 6:223.1-223.7; Korman et al. (2007) 前掲)。B7スーパーファミリーのいくつかのメンバー、例として、B7.1 (CD80)、B7.2 (CD86)、誘導性共刺激リガンド (ICOS-L)、プログラム細胞死1リガンド (PD-L1; B7-H1)、プログラム細胞死2リガンド (PD-L2; B7-DC)、B7-H3、B7-H4およびB7-H6が公知である (Collins et al. (2005) 前掲)。

【0010】

プログラム細胞死1 (PD-1) タンパク質は、T細胞調節因子の拡張CD28/CTLA-4ファミリーの阻害性メンバーである (Okazaki et al. (2002) Curr Opin Immunol 14:391779-82; Bennett et al. (2003) J. Immunol. 170:711-8)。CD28ファミリーの他のメンバーとしては、CD28、CTLA-4、ICOSおよびBTLAが挙げられる。PD-1は、他のCD28ファミリーメンバーの不對システイン残基特徴を欠くモノマーとして存在することが示唆される。PD-1は、活性化B細胞、T細胞、および単球上で発現される。

【0011】

PD-1遺伝子は、55kDaのI型膜貫通タンパク質をコードする (Agata et al. (1996) Int Immunol. 8:765-72)。PD-1は、C

10

20

30

40

50

T L A - 4 と構造的に類似するが、B 7 - 1 および B 7 - 2 結合に重要な M Y P P Y モチーフ (配列番号 2 3 6) を欠く。P D - 1 についての 2 つのリガンド P D - L 1 (B 7 - H 1) および P D - L 2 (B 7 - D C) が同定されており、P D - 1 への結合時に T 細胞活性化を下方調節することが示されている (F r e e m a n e t a l . (2 0 0 0) J . E x p . M e d . 1 9 2 : 1 0 2 7 - 3 4 ; C a r t e r e t a l . (2 0 0 2) E u r . J . I m m u n o l . 3 2 : 6 3 4 - 4 3) 。 P D - L 1 および P D - L 2 の両方が、P D - 1 に結合するが、他の C D 2 8 ファミリーメンバーに結合しない B 7 ホモログである。P D - L 1 は、種々のヒト癌において豊富である (D o n g e t a l . (2 0 0 2) N a t . M e d . 8 : 7 8 7 - 9) 。

【 0 0 1 2 】

P D - 1 は、T C R シグナルを負に調節する免疫阻害性タンパク質として公知である (I s h i d a , Y . e t a l . (1 9 9 2) E M B O J . 1 1 : 3 8 8 7 - 3 8 9 5 ; B l a n k , C . e t a l . (E p u b 2 0 0 6 D e c . 2 9) I m m u n o l . I m m u n o t h e r . 5 6 (5) : 7 3 9 - 7 4 5) 。 P D - 1 および P D - L 1 間の相互作用は免疫チェックポイントとして作用し得、それは、例えば、腫瘍浸潤リンパ球の減少、T 細胞受容体媒介増殖の減少、および / または癌性細胞による免疫回避をもたらし得る (D o n g e t a l . (2 0 0 3) J . M o l . M e d . 8 1 : 2 8 1 - 7 ; B l a n k e t a l . (2 0 0 5) C a n c e r I m m u n o l . I m m u n o t h e r . 5 4 : 3 0 7 - 3 1 4 ; K o n i s h i e t a l . (2 0 0 4) C l i n . C a n c e r R e s . 1 0 : 5 0 9 4 - 1 0 0) 。免疫抑制は、P D - 1 と P D - L 1 または P D - L 2 との局所的相互作用の阻害により逆転され得；この効果は、P D - 1 と P D - L 2 との相互作用が同様に遮断された場合に相加的である (I w a i e t a l . (2 0 0 2) P N A S U S A 9 9 : 1 2 2 9 3 - 7 ; B r o w n e t a l . (2 0 0 3) J . I m m u n o l . 1 7 0 : 1 2 5 7 - 6 6) 。

【 0 0 1 3 】

免疫チェックポイント、例として、P D - 1 および P D - L 1 の抗体阻害剤は、種々の固形腫瘍を有する患者において、広い免疫活性化剤、例えば、I L - 2 および I F N - よりも低い毒性で有意な抗腫瘍活性を実証している。P D - 1 を標的化する 2 つのモノクローナル抗体ペムブロリズマブおよびニボルマブは、黒色腫、非小細胞肺癌 (N S C L C) 、トリプルネガティブ乳癌 (T N B C) および他の固形腫瘍において有意な単一薬剤活性を実証している (T o p a l i a n e t a l , (2 0 1 2) N . E n g l . J . M e d . 3 6 6 : 2 4 4 3 - 5 4 ; H a m i d e t a l , (2 0 1 3) , N . E n g l . J . M e d . 3 6 9 : 1 3 4 - 4 4 ; T o p a l i a n e t a l , (2 0 1 4) J . C l i n . O n c o l . 3 2 : 1 0 2 0 - 3 1 ; S e i w e r t e t a l , (2 0 1 4) J . C l i n . O n c o l (M e e t i n g A b s t r a c t s) 3 2 (1 5 s) : 6 0 1 1 ; P o w l e s e t a l , (2 0 1 4) N a t u r e 5 1 5 : 5 5 8 - 6 2 ; G a r o n e t a l , (2 0 1 5) N . E n g l . J . M e d 3 7 2 : 2 0 1 8 - 2 8 ; M o r e n o & R i b a s (2 0 1 5) B r . J . C a n c e r 1 1 2 : 1 4 2 1 - 7 ; R o b e r t e t a l , (2 0 1 5) N . E n g l . J . M e d . 3 7 2 : 3 2 0 - 3 0) 。既に治療された切除不能な黒色腫を有する患者において、ペムブロリズマブおよびニボルマブに対する奏効率はそれぞれ 3 4 % および 3 1 % であり；無進行生存期間はそれぞれ 5 0 週間および 9 . 7 カ月であった (R i b a s e t a l , (2 0 1 4) J . C l i n . O n c o l . (M e e t i n g A b s t r a c t s) 3 2 (1 5 s) : L B A 9 0 0 0 ; T o p a l i a n e t a l , (2 0 1 4) 前掲) 。進行したこれまで未治療の非小細胞肺癌を有する患者において、ペムブロリズマブおよびニボルマブに対する奏効率は 2 6 % および 3 0 % であった (R i z v i e t a l , (2 0 1 4) J . C l i n . O n c o l . (M e e t i n g A b s t r a c t s) 3 2 (1 5 s) : 8 0 0 7 ; G e t t i n g e r e t a l , (2 0 1 4) J . C l i n . O n c o l . (M e e t i n g A b s t r a c t s) 3 2 (1 5 s) : 8 0 2 4) 。上記に詳述した奏効率から把握することができるといえる一部の患者における有意な活性にも

10

20

30

40

50

かかわらず、単一薬剤抗PD-1免疫療法により治療された患者の大多数は、治療利益を得ない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

抗腫瘍免疫を向上させる治療アプローチは、免疫応答、例えば、抗腫瘍免疫応答の1つ以上の段階における複数の構成成分の標的化により免疫応答が最適化される場合により有効に機能し得ることが考えられる。例えば、細胞および体液性免疫応答を向上させる（例えば、食細胞および/または腫瘍浸潤リンパ球（例えば、NK細胞およびT細胞）を刺激、例えば、脱阻害することによる）一方、腫瘍免疫抑制シグナリングを遮断する（例えば、マクロファージ分極化を増加させ、Treg枯渇を増加させ、および/または骨髄由来抑制細胞（MDSC）を減少させることによる）アプローチは、より有効な、および/または長期の治療応答をもたらし得る。したがって、癌免疫療法のための組合せ療法が望まれている。

10

【課題を解決するための手段】

【0015】

したがって、腫瘍微小環境において免疫抑制効果を除去する組合せ療法が本明細書に開示され、したがって、本明細書に開示される組合せは、例えば、障害の治療において優れた有益な効果、例えば、組合せの治療剤の単剤療法投与と比較して向上した抗癌効果、低減した毒性および/または低減した副作用を提供し得る。例えば、組合せにおける治療剤の1つ以上を、単剤療法投与と比較して同一の治療効果を達成することが要求されるよりも低い投与量において、またはより短い投与期間もしくは少ない頻度で投与することができる。したがって、組合せ療法を使用して癌および他の免疫障害を治療するための組成物および方法が開示される。

20

【0016】

一態様において、組合せ療法は、免疫阻害性タンパク質、例えば、PD-1の活性を、免疫向上剤、例えば、sIL-15Raと複合体化されたIL-15との組合せでモジュレートして免疫系を向上させる薬剤を含む。このような組合せ療法は、例えば、癌免疫療法および他の病態、例えば、慢性感染の治療に使用することができる。

【0017】

30

一実施形態において、対象における障害、例えば、過剰増殖病態または障害（例えば、癌）を治療する（例えば、阻害し、低減させ、改善し、または予防する）方法が本明細書に提供される。本方法は、IL-15媒介免疫機能を向上させるための薬剤を対象に投与することを含み、IL-15シグナル伝達を誘導し、IL-15媒介免疫機能を向上させる薬剤を抗PD-1抗体分子、例えば、本明細書に記載の抗PD-1抗体分子との組合せで対象に投与することを含む。より具体的には、IL-15/IL-15Ra複合体を抗PD-1抗体分子との組合せで対象に投与することにより、対象における障害、例えば、過剰増殖病態または障害（例えば、癌）を治療する（例えば、阻害し、低減させ、改善し、または予防する）方法が本明細書に提供される。対象における障害、例えば、過剰増殖病態または障害（例えば、癌）の治療（例えば、阻害、低減、改善、または予防）における使用のための、抗PD-1抗体分子との組合せのIL-15/IL-15Ra複合体も提供される。対象における障害、例えば、過剰増殖病態または障害（例えば、癌）の治療（例えば、阻害、低減、改善、または予防）のための医薬品の調製における使用のための、抗PD-1抗体分子との組合せのIL-15/IL-15Ra複合体がさらに提供される。

40

【0018】

一実施形態において、対象における癌を治療する方法であって、(a)少なくとも1回の初期用量のIL-15/IL-15Ra複合体とそれに続く漸増用量のIL-15/IL-15Ra複合体を；(b)抗PD-1抗体分子との組合せで対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。対象における癌の治療における使用のための、IL-1

50

5 / IL - 15 Ra 複合体および抗 PD - 1 抗体分子であって、(a) 初期用量における IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体とそれに続く漸増用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体が ; (b) 抗 PD - 1 抗体分子との組合せで対象に投与される IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および抗 PD - 1 抗体分子も本明細書に提供される。癌の治療のための医薬品の調製における使用のための、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および抗 PD - 1 抗体分子であって、(a) 初期用量における IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体とそれに続く漸増用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体が ; (b) 抗 PD - 1 抗体分子との組合せで対象に投与される IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および抗 PD - 1 抗体分子がさらに提供される。

【0019】

一実施形態において、IL - 15 と IL - 15 Ra の可溶性形態との複合体を含む組成物が本明細書に提供される。一実施形態において、組成物の IL - 15 は、ヒト IL - 15 である。複合体は、IL - 15 Ra の可溶性形態に共有または非共有結合している IL - 15 を含み得る。特定の実施形態において、ヒト IL - 15 は、IL - 15 Ra の可溶性形態に非共有結合している。特定の実施形態において、組成物のヒト IL - 15 は、表 1 の配列番号 1 のアミノ酸配列または表 1 の配列番号 1 のアミノ酸残基 49 ~ 162 を含み、IL - 15 Ra の可溶性形態は、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、組成物は、医薬組成物である。

【0020】

一実施形態において、プログラム細胞死 1 (PD - 1) に高い親和性および特異性で結合する抗体分子 (例えば、ヒト化抗体分子) が本明細書に提供される。抗体分子をコードする核酸分子、抗体分子を含む医薬組成物および用量配合物も提供される。

【0021】

一実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を、例えば、治療プロトコルの一部として対象に投与することにより、例えば、(a) 初期用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を第 1 の治療サイクルにおいて対象に投与すること ; およびさらなる用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体をそれぞれの連続治療サイクルにおいて対象に投与することにより、または (b) 初期用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を第 1 の治療サイクルにおいて対象に投与すること ; および連続的に高くなる用量の IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体をそれぞれの連続治療サイクルにおいて対象に投与することにより過剰増殖病態または障害、例えば、癌を治療する方法が本明細書に提供される。例えば、一実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を初期用量で第 1 の治療サイクルにおいて対象に投与し、次いで同一用量の反復投与を第 2 および反復治療サイクルにおいて行う。一部の実施形態において、第 1 のサイクルの用量は、0.25 μ g / kg、0.5 μ g / kg、1 μ g / kg、2 μ g / kg、4 μ g / kg または 8 μ g / kg であり、それに同一用量の投与の連続サイクルが続く。ある実施形態において、第 1 のサイクルの用量は、1 μ g / kg であり、それに第 2 のサイクルにおける 1 μ g / kg および第 3 のサイクルにおける 1 μ g / kg の用量が続く。例えば、対象は、それぞれの治療サイクル (28 日間) の間、同一用量を 3 週間にわたり週 1 回、次いで 1 週間の間断を受容し得る。ある実施形態において、用量は、皮下投与 (SC) することができる。例えば、代替実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を初期用量で第 1 の治療サイクルにおいて対象に投与する場合、投与レジメンの第 2 のサイクルにおいて対象に投与される用量を、第 1 のサイクルの間に投与される用量に対して増加させ、第 3 のサイクルの間に対象に投与される用量を第 2 のサイクルの間に投与される用量に対して増加させ、第 4 のサイクルの間に対象に投与される用量を第 3 のサイクルの間に投与される用量に対して増加させ、第 5 のサイクルの間に対象に投与される用量を第 4 のサイクルで投与される用量に対して増加させる、など。一部の実施形態において、第 1 のサイクルの用量は、0.25 μ g / kg であり、それにそれぞれ 0.5 μ g / kg、1 μ g / kg、2 μ g / kg、4 μ g / kg および 8 μ g / kg の用量レベルにおける連続サイクルが続く。ある実施形態において、第 1 のサイクルの用量は、1 μ g / kg であり、それに第 2 のサイクルにおけ

10

20

30

40

50

る $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、第3のサイクルにおける $4 \mu\text{g} / \text{kg}$ および第4のサイクルにおける $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ の用量が続く。例えば、対象は、それぞれの治療サイクル（28日間）の間、同一用量を2週間にわたり週3回、次いで2週間の中断を受容し得る。ある実施形態において、用量は、皮下投与（SC）することができる。

【0022】

一実施形態において、抗PD-1抗体分子を、例えば、治療プロトコルの一部として、例えば、約 $300 \text{mg} \sim 400 \text{mg}$ の抗PD-1抗体分子の用量で対象に3週間毎に1回または4週間毎に1回投与することにより、過剰増殖病態または障害、例えば、癌を治療する方法が本明細書に提供される。一実施形態において、用量は、3週間毎に1回の約 300mg の抗PD-1抗体分子である。別の実施形態において、用量は、4週間毎に1回の約 300mg の抗PD-1抗体分子である。ある実施形態において、用量は、4週間毎に1回の約 400mg の抗PD-1抗体分子である。ある実施形態において、用量は、注入として静脈内投与（IV）することができる。

10

【0023】

別の態様において、本発明は、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子（例えば、IL-15 / IL-15Ra 複合体および / または本明細書に記載の抗PD-1抗体分子）を含む組成物（例えば、1つ以上の組成物または剤形）を特徴とする。IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子を含む配合物、例えば、投薬配合物、およびキット、例えば、治療キットも本明細書に記載される。ある実施形態において、組成物または配合物は、 400mg の抗PD-1抗体分子（例えば、本明細書に記載の抗PD-1抗体分子）を含む。一部の実施形態において、組成物または配合物は、3週間毎に1回投与または使用される。ある実施形態において、組成物または配合物は、4週間毎に1回投与または使用される。

20

【0024】

一態様において、IL-15 媒介免疫機能を向上させる方法であって、IL-15 / IL-15Ra 複合体を用量レジメンにおいて対象に皮下投与することを含み、レジメンにおける投与サイクルが、(a) ある用量のIL-15 / IL-15Ra 複合体を第1の期間にわたり設定時間間隔において対象に皮下投与すること；および (b) IL-15 / IL-15Ra 複合体を第2の期間にわたり投与しないことを含む方法が本明細書に提供される。ある実施形態において、投与サイクルは、2、3、4、5、6回、またはそれ以上反復し、毎回、同一または増加用量のいずれかのIL-15 / IL-15Ra 複合体を用いる。一部の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体は、毎日、1日おき、3、4、5、6または7日毎の頻度において投与する。ある実施形態において、IL-15 / IL-15Ra は、週3回（例えば、月曜日、水曜日、金曜日）投与する。他の実施形態において、第1および第2の期間は異なる。具体的な実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体の第1の投与期間は、1週間～4週間の長さ、2～4週間、2～3週間、または1～2週間である。他の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体の第1の投与期間は、1週間、2週間、3週間または4週間の長さである。一部の実施形態において、第2の期間は、1週間～2ヵ月間、1～8週間、2～8週間、1～6週間、2～6週間、1～5週間、2～5週間、1～4週間、2～4週間、2～3週間、1～2週間、3週間、2週間または1週間の長さである。具体的な実施形態において、第1の期間は、3週間の長さであり、第2の期間は、1週間の長さである。一部の実施形態において、第1のサイクルの第1の期間の間に投与される用量は、同一であり、後続のサイクルについて不変のままである。例えば、第1のサイクルおよびそれぞれの後続のサイクルについての用量は、 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 4 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、または $2 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 8 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、より具体的には、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $4 \mu\text{g} / \text{kg}$ または $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。具体的な実施形態において、用量は、第1のサイクルの第1の期間について $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ であり、それぞれの後続のサイクルについて $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。さらなる実施形態において、第1のサ

30

40

50

イクルの用量は、用量レジメンの1つ以上の後続のサイクルにおいて使用される用量よりも低い。一実施形態において、後続のサイクルの用量は、前回のサイクルのものの2倍である。一実施形態において、第1のサイクルおよびそれぞれの後続のサイクルの用量は、 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、または $5 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 10 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、第1のサイクルおよびそれぞれの後続のサイクルの第1の用量は、 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 4 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、または $2 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、第1のサイクルの用量は、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $4 \mu\text{g} / \text{kg}$ または $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。ある実施形態において、第1のサイクルおよびそれぞれの後続のサイクルの用量は、それぞれ $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、および $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $4 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。

10

【0025】

一実施形態において、抗PD-1抗体分子を、例えば、治療プロトコルの一部として、例えば、約 $300 \text{mg} \sim 400 \text{mg}$ の抗PD-1抗体分子の用量で対象に投与することにより、抗腫瘍免疫を向上させる方法が本明細書に提供される。一部の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、3週間毎に1回または4週間毎に1回投与することができる。ある実施形態において、用量は、約 400mg の抗PD-1抗体分子であり、4週間毎に1回投与する。ある実施形態において、用量は、約 300mg の抗PD-1抗体分子であり、3週間毎に1回投与する。

20

【0026】

一態様において、IL-15 / IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せを、例えば、治療プロトコルの一部として対象に投与することにより、例えば、(a) IL-15 / IL-15Ra複合体を初期用量で対象にSC投与し、抗PD-1抗体分子をIV注入により投与すること；(b) 対象へのIL-15 / IL-15Ra複合体の投与を第1の期間にわたり設定時間間隔において反復すること；(c) IL-15 / IL-15Ra複合体を第2の期間にわたり投与しないこと；および(d) ステップ(a) ~ (c)を同一または漸増用量のIL-15 / IL-15Ra複合体において反復することにより、過剰増殖病態または障害を治療する方法が本明細書に提供される。一部の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra複合体の第1の投与期間は、1週間、2週間、3週間または4週間の長さである。一部の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra複合体の第2の投与期間は、1週間、2週間、3週間または4週間の長さである。他の実施形態において、抗PD-1抗体分子の投与期間は、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間または6週間の長さである。具体的な実施形態において、IL-15 / IL-15Ra複合体の第1の投与期間は、3週間の長さであり、第2の期間は、1週間の長さであり、抗PD-1抗体分子の投与期間は、4週間である。ある実施形態において、第1のサイクルの用量は、用量レジメンの1つ以上の後続のサイクルにおいて使用される用量と同一である。代替実施形態において、第1のサイクルの用量は、用量レジメンの1つ以上の後続のサイクルにおいて使用される用量よりも低い。一実施形態において、後続のサイクルの用量は、前回のサイクルのものの2倍である。一実施形態において、初期用量およびそれぞれの後続または漸増用量におけるIL-15 / IL-15Ra複合体の用量は、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、または $5 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 10 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、初期用量およびそれぞれの後続または漸増用量におけるIL-15 / IL-15Ra複合体の用量は、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 4 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、または $2 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、初期用量およびそれぞれの後続または漸増用量におけるIL-15 / IL-15Ra複合体の用量は、 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $4 \mu\text{g} / \text{kg}$ または $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra複合体との組合せで投与される抗PD-1抗体分子の用量は、約 $300 \text{mg} \sim 400 \text{mg}$ である。一部の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、3週間毎に1回または4週間毎に1回投与する

30

40

50

ことができる。ある実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体との組合せで投与される抗PD - 1抗体分子の用量は、約400mgであり、4週間毎に1回投与する。

【0027】

一態様において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および抗PD - 1抗体分子の組合せを、例えば、治療プロトコルの一部として対象に投与することにより、過剰増殖病態または障害、例えば、癌を治療する方法が本明細書に提供される。一実施形態において、治療プロトコルは、(a) 1μg / kgの用量のIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を対象に最初の3週間の期間にわたり週1回皮下投与すること；および400mgの用量の抗PD - 1抗体分子をIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の第1の投与と同日にIV注入により投与すること；および(b) IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を対象に投与しない第2の1週間の期間後、同一用量のIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を対象に3週間の期間にわたり週1回皮下投与すること；および400mgの用量の抗PD - 1抗体分子を後続用量のIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の第1の投与と同日にIV注入により投与することを含む。一部の実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の用量は、2μg / kg、4μg / kgまたは8μg / kgである。代替実施形態において、治療プロトコルは、(a) 1μg / kgの用量のIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を対象に2週間の第1の期間にわたり週3回（例えば、月曜日、水曜日、金曜日）皮下投与すること；および400mgの用量の抗PD - 1抗体分子をIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の第1の投与と同日にIV注入により投与すること；および(b) IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を対象に投与しない2週間の第2の期間後、より高用量のIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体を対象に2週間の期間にわたり週3回（例えば、月曜日、水曜日、金曜日）皮下投与すること；および400mgの用量の抗PD - 1抗体分子をより高用量のIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の第1の投与と同日にIV注入により投与することを含む。一部の実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の用量は、それぞれの治療サイクルについて、それぞれ2μg / kg、4μg / kg、8μg / kgに増加させる。

【0028】

用量レジメンは、1回、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、もしくはそれ以上、または2～5回、5～10回、10～15回、15～20回、20～25回もしくはそれ以上実施することができる。ある実施形態において、用量漸増レジメンは、少なくとも2ヵ月間、少なくとも3ヵ月間、少なくとも4ヵ月間、少なくとも5ヵ月間、少なくとも6ヵ月間、少なくとも7ヵ月間、少なくとも8ヵ月間、少なくとも9ヵ月間、少なくとも10ヵ月間、少なくとも11ヵ月間、少なくとも1年間またはそれ以上にわたり反復する。ある実施形態において、用量漸増レジメンは、3～6ヵ月間、6～9ヵ月間、6～12ヵ月間、1～1.5年間、1～2年間、1.5～2年間、またはそれ以上にわたり反復する。

【0029】

ある実施形態において、IL - 15の血漿レベルおよび/またはリンパ球数をモニタリングする。一部の実施形態において、対象を、副作用、例えば、血圧の減少および/または体温の増加および/または血漿中のサイトカインの増加についてモニタリングする。ある実施形態において、投与レジメンの第1のサイクルの間に投与されるIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の用量を、対象がいかなる有害効果も有さない場合、連続的に漸増させる。一部の実施形態において、投与レジメンの第1のサイクルの間に投与されるIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体の用量を、対象がいかなる用量制限毒性、例えば、グレード3または4の有害事象、例えば、リンパ球減少、グレード3の顆粒球減少、グレード3の白血球増加(WBC > 100,000 / mm³)、または臓器機能不全も経験しない場合、投与レジメンの後続のサイクルについて漸増させる。

【0030】

IL - 15媒介免疫機能を向上させることが有益である障害の非限定的な例としては、癌、リンパ球減少、免疫不全、感染性疾患、および創傷が挙げられる。具体的な実施形態

において、IL-15 媒介免疫機能を向上させることが有益である障害は、癌、例として、転移性癌である。別の具体的な実施形態において、IL-15 媒介免疫機能を向上させることが有益である癌は、固形腫瘍、例えば、肉腫、癌腫またはリンパ腫を含む。固形腫瘍のより具体的な例としては、乳癌、前立腺癌、肺癌、肝臓癌、膵臓癌、および黒色腫が挙げられる。別の実施形態において、癌は、抗PD-1 抗体分子による治療に病歴的に感受性であり、例えば、黒色腫、非小細胞肺癌または膀胱癌である。代替実施形態において、癌は、抗PD-1 抗体分子による治療に病歴的に耐性である。

【0031】

本明細書に記載の方法により対象に投与されるIL-15 / IL-15Ra 複合体は、野生型IL-15Ra またはIL-15Ra 誘導体に共有または非共有結合している野生型IL-15 またはIL-15 誘導体を含み得る。一実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体は、野生型IL-15 および野生型IL-15Ra を含む。別の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体は、IL-15 誘導体および野生型IL-15Ra を含む。別の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体は、天然存在ヘテロ二量体形態である。別の実施形態において、IL-15 は、ヒトIL-15 であり、IL-15Ra は、ヒトIL-15Ra である。具体的な実施形態において、ヒトIL-15 は、表1の配列番号1のアミノ酸配列または表1の配列番号1のアミノ酸残基49~162を含み、ヒトIL-15Ra は、表1の配列番号6のアミノ酸配列またはその断片を含む。別の実施形態において、IL-15 は、表1の配列番号1のアミノ酸配列または表1の配列番号1のアミノ酸残基49~162を含み、IL-15Ra は、表1の配列番号7または10のアミノ酸配列を含む。具体的な実施形態において、ヒトIL-15 は、表1の配列番号1のアミノ酸配列のアミノ酸残基49~162を含み、ヒトIL-15Ra は、表1の配列番号10のアミノ酸配列を含む。

【0032】

他の実施形態において、IL-15Ra は、グリコシル化がIL-15Ra の質量の少なくとも20%、30%、40%もしくは50%または20%、30%、40%もしくは50%超を占めるようにグリコシル化されている。別の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体は、野生型IL-15 およびIL-15Ra 誘導体を含む。別の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体は、IL-15 誘導体およびIL-15Ra 誘導体を含む。一実施形態において、IL-15Ra 誘導体は、野生型IL-15Ra の可溶性形態である。別の実施形態において、IL-15Ra 誘導体は、内因性プロテアーゼによる開裂を阻害する突然変異を含む。具体的な実施形態において、IL-15Ra の細胞外ドメイン開裂部位は、異種プロテアーゼにより特異的に認識される開裂部位により置き換えられている。一実施形態において、IL-15Ra の細胞外ドメイン開裂部位は、異種細胞外ドメイン開裂部位（例えば、IL-15Ra を開裂させる内因性プロセシング酵素と無関係の別の酵素により認識および開裂される異種膜貫通ドメイン）により置き換えられている。

【0033】

一実施形態において、PD-1 阻害剤は、米国特許出願第2015/0213769号明細書、表題「Antibody Molecules to PD-1 and Uses Thereof」に記載の抗PD-1 抗体分子である。一実施形態において、抗PD-1 抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列からの少なくとも1つの抗原結合領域、例えば、可変領域またはその抗原結合断片を含む。

【0034】

本明細書に記載の抗PD-1 抗体分子は、本明細書に記載の方法における使用に好ましいが、他の抗PD-1 抗体をその代わりに、または本明細書に記載の抗PD-1 抗体分子

との組合せで使用する事ができる。

【0035】

組合せ療法の使用

本明細書に開示される組合せは、以下の1つ以上をもたらし得る：抗原提示の増加、エフェクター細胞機能（例えば、T細胞増殖、IFN-分泌または細胞溶解機能の1つ以上）の増加、制御性T細胞機能の阻害、複数の細胞タイプ、例えば、制御性T細胞、エフェクターT細胞およびNK細胞）の活性に対する効果、腫瘍浸潤リンパ球の増加、T細胞受容体媒介増殖の増加、および癌性細胞による免疫回避の減少。一実施形態において、組合せにおけるIL-15/IL-15Ra複合体の使用は、免疫応答を刺激する。一実施形態において、組合せにおけるPD-1阻害剤の使用は、PD-1の1つ以上の活性を阻害し、低減させ、または中和し、免疫チェックポイントの遮断または低減をもたらす。したがって、このような組合せを使用して対象における免疫応答の向上が望まれる障害、例えば、癌を治療または予防することができる。

10

【0036】

したがって、別の態様において、対象における免疫応答をモジュレートする方法が提供される。本方法は、対象における免疫応答がモジュレートされるように、本明細書に開示される組合せ（例えば、治療有効量のIL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子を含む組合せ）を単独で、または1つ以上の薬剤もしくは手順との組合せで対象に投与することを含む。対象は、哺乳動物、例えば、霊長類、好ましくは、高等霊長類、例えば、ヒト（例えば、本明細書に記載の障害を有し、または有するリスクがある患者）であり得る。一実施形態において、対象は、免疫応答の向上が必要とされている。一実施形態において、対象は、本明細書に記載の障害、例えば、本明細書に記載の癌または感染性障害を有し、または有するリスクがある。ある実施形態において、対象は、免疫不全であり、またはそうなるリスクがある。例えば、対象は、化学療法治療および/または放射線療法を受けており、または受けたことがある。あるいは、または組合せで、対象は、感染の結果として免疫不全であり、またはそうなるリスクがある。

20

【0037】

一態様において、対象における癌または腫瘍を治療する（例えば、低減させ、阻害し、または進行を遅延させることの1つ以上）方法が提供される。本方法は、本明細書に開示される組合せ（例えば、治療有効量のIL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子を含む組合せ）を対象に投与することを含む。

30

【0038】

ある実施形態において、組合せにより治療される癌としては、限定されるものではないが、固形腫瘍、血液癌（例えば、白血病、リンパ腫、骨髄腫、例えば、多発性骨髄腫）、および転移性病変が挙げられる。一実施形態において、癌は、固形腫瘍である。固形腫瘍の例としては、悪性腫瘍、例えば、肉腫および癌腫、例えば、種々の臓器系の腺癌、例えば、肺、乳房、卵巣、リンパ、胃腸管（例えば、結腸）、肛門、生殖器および尿生殖路（例えば、腎細胞、尿路上皮細胞、膀胱細胞、前立腺）、咽頭、CNS（例えば、脳、神経またはグリア細胞）、頭頸部、皮膚（例えば、黒色腫）、および腭臓を冒すもの、ならびに腺癌、例として、悪性腫瘍、例えば、結腸癌、直腸癌、腎細胞癌、肝臓癌、非小細胞肺癌、小腸の癌および食道の癌が挙げられる。癌は、早期、中期、後期または転移性癌であり得る。

40

【0039】

一実施形態において、癌は、肺癌（例えば、非小細胞肺癌（NSCLC）（例えば、扁平および非扁平組織構造を伴うNSCLC、またはNSCLC腺癌））、黒色腫（例えば、進行性黒色腫）、腎臓癌（例えば、腎細胞癌）、肝臓癌、骨髄腫（例えば、多発性骨髄腫）、前立腺癌、膀胱癌、乳癌（例えば、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、またはHer2/neuの1、2または全てを発現しない乳癌、例えば、トリプルネガティブ乳癌）、結腸直腸癌、腭臓癌、頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮癌（HNSCC））、および癌、胃食道癌、甲状腺癌、子宮頸癌、リンパ増殖性疾患（例えば、移植後リンパ

50

増殖性疾患)または血液癌、T細胞リンパ腫、B細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、または白血病(例えば、骨髄性白血病またはリンパ性白血病)から選択される。

【0040】

別の実施形態において、癌は、癌腫(例えば、進行性または転移性癌腫)、黒色腫または肺癌、例えば、非小細胞肺癌から選択される。

【0041】

一実施形態において、癌は、肺癌、例えば、非小細胞肺癌または小細胞肺癌である。

【0042】

一実施形態において、癌は、黒色腫、例えば、進行性黒色腫である。一実施形態において、癌は、他の治療法に応答しない進行性または切除不能な黒色腫である。他の実施形態において、癌は、BRAF突然変異(例えば、BRAF V600突然変異)を有する黒色腫である。さらに他の実施形態において、本明細書に開示される組合せ(例えば、抗PD-1抗体分子を含む組合せ)は、BRAF阻害剤(例えば、ベムラフェニブまたはダブラフェニブ)を用いるまたは用いない抗CTLA4抗体(例えば、イビリムマブ)による治療後に投与する。

10

【0043】

別の実施形態において、癌は、肝細胞癌、例えば、ウイルス感染、例えば、慢性ウイルス肝炎を伴うまたは伴わない進行性肝細胞癌である。

【0044】

別の実施形態において、癌は、前立腺癌、例えば、進行性前立腺癌である。

20

【0045】

さらに別の実施形態において、癌は、骨髄腫、例えば、多発性骨髄腫である。

【0046】

さらに別の実施形態において、癌は、腎臓癌、例えば、腎細胞癌(RCC)(例えば、転移性RCCまたは淡明細胞型腎細胞癌(CCRCC))である。

【0047】

一実施形態において、癌微小環境は、上昇したPD-L1発現のレベルを有する。あるいは、または組合せで、癌微小環境は、増加したIFN および/またはCD8発現を有し得る。

【0048】

ある実施形態において、対象は、抗PD-1抗体分子による治療に病歴的に感受性である癌を有する。例えば、NSCLC、黒色腫および膀胱癌。代替実施形態において、対象は、抗PD-1抗体分子による治療に病歴的に耐性である癌を有する。

30

【0049】

一部の実施形態において、対象は、高いPD-L1レベルまたは発現の1つ以上を有し、もしくは腫瘍浸潤リンパ球(TIL)+ (例えば、増加したTIL数を有する)であり、またはその両方の腫瘍を有し、または有すると同定される。ある実施形態において、対象は、高いPD-L1レベルまたは発現を有し、TIL+である腫瘍を有し、または有すると同定される。一部の実施形態において、本明細書に記載の方法は、高いPD-L1もしくは発現の1つ以上を有し、もしくはTIL+であり、またはその両方の腫瘍を有することに基づき対象を同定することをさらに含む。ある実施形態において、本明細書に記載の方法は、高いPD-L1レベルまたは発現を有し、TIL+である腫瘍を有することに基づき対象を同定することをさらに含む。一部の実施形態において、TIL+である腫瘍は、CD8およびIFN について陽性である。一部の実施形態において、対象は、PD-L1、CD8、および/またはIFN の1、2つまたはそれ以上について陽性である細胞の高い割合を有し、または有すると同定される。ある実施形態において、対象は、PD-L1、CD8、およびIFN の全てについて陽性である細胞の高い割合を有し、または有すると同定される。

40

【0050】

さらなる態様において、本発明は、対象における感染性疾患を治療する方法であって、

50

本明細書に記載の組合せ、例えば、治療有効量の I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体および本明細書に記載の抗 P D - 1 抗体分子を含む組合せを対象に投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、感染性疾患は、肝炎（例えば、C 型肝炎感染）、または敗血症から選択される。

【 0 0 5 1 】

本明細書に記載の組合せは、対象に全身（例えば、経口、非経口、皮下、静脈内、直腸、筋肉内、腹腔内、鼻腔内、経皮、または吸入もしくは腔内設置により）投与することができる。

【 0 0 5 2 】

ある実施形態において、本明細書に記載の方法および組成物は、他の抗体分子、化学療法、他の抗癌療法（例えば、標的抗癌療法、遺伝子療法、ウイルス療法、R N A 療法 骨髄移植、ナノ療法、または腫瘍崩壊薬物）、細胞毒性剤、免疫ベース療法（例えば、サイトカインまたは細胞ベース免疫療法）、外科手術（例えば、腫瘍摘出または乳腺切除）もしくは放射線手順の 1 つ以上、または上記のいずれかの組合せとの組合せで投与する。追加の治療法は、アジュバントまたはネオアジュバント療法の形態であり得る。一部の実施形態において、追加の治療法は、酵素阻害剤（例えば、小分子酵素阻害剤）または転移阻害剤である。組合せで投与することができる例示的な細胞毒性剤としては、抗微小管剤、トポイソメラーゼ阻害剤、代謝拮抗剤、有糸分裂阻害剤、アルキル化剤、アントラサイクリン、ピンカアルカロイド、インターカレート剤、シグナル伝達経路を妨害し得る薬剤、アポトーシスを促進する薬剤、プロテオソーム阻害剤、および放射線（例えば、局所または全身照射（例えば、ガンマ放射線）が挙げられる。他の実施形態において、追加の治療法は、手術もしくは放射線、またはそれらの組合せである。他の実施形態において、追加の治療法は、P I 3 K / A K T / m T O R 経路の 1 つ以上を標的化する治療法、H S P 9 0 阻害剤、またはチューブリン阻害剤である。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 5 3 】

【図 1 - 1】図 1 : ブドウ球菌エンテロトキシン B (S E B) アッセイにおける I L - 2 産生に対する I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体と抗 P D - 1 抗体分子との組合せの投与の相加または相乗効果を示す。I L - 2 発現は 4 人のドナー P B M C 調製物において計測し、I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体を P D R 0 0 1 と同日に（「組合せ同時」）添加し、または抗 P D - 1 抗体分子投与の 7 2 時間後に培養物に新たに調製した I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体を添加した（「組合せ連続」）。アッセイは、4 人の異なるドナー（E - 0 1 2、E 4 2 1、E 4 4 4 および 1 0 1 1）に対してトリプリケートで実施し、結果をそれぞれ図 1 A ~ B、1 C ~ D、1 E ~ F および 1 G ~ H に示す。

【図 1 - 2】（上記の通り。）

【図 1 - 3】（上記の通り。）

【図 1 - 4】（上記の通り。）

【図 1 - 5】（上記の通り。）

【図 1 - 6】（上記の通り。）

【図 1 - 7】（上記の通り。）

【図 1 - 8】（上記の通り。）

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 4 】

少なくとも部分的に、I L - 1 5 と I L - 1 5 R a との複合体、ならびにプログラム細胞死 1 (P D - 1) に高い親和性および特異性で結合する抗体分子（例えば、ヒト化抗体分子）が本明細書に開示される。I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体および抗体分子をコードする核酸分子、発現ベクター、宿主細胞ならびに I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体および抗体分子を作製する方法も提供される。I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体および抗体分子を含む医薬組成物および用量配合物も提供される。本明細書に開示される I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体および抗 P D - 1 抗体分子は、単独で、または組合せで使用

して障害、例えば、癌性障害（例えば、固形および軟部組織腫瘍）、ならびに感染性疾患（例えば、慢性感染性障害または敗血症）を治療し、予防し、および／または診断することができる。したがって、IL - 15 / IL - 15 R α 複合体および抗PD - 1抗体分子の組合せを使用して種々の障害、例として、癌および／または感染性疾患を治療するための組合せ組成物および方法が本明細書に開示される。ある実施形態において、IL - 15 / IL - 15 R α 複合体は、漸増用量レジメンにおいて投与する。ある実施形態において、抗PD - 1抗体分子は、均一または固定用量で投与し、または使用する。

【0055】

理論により拘束されるものではないが、抗腫瘍免疫を向上させる治療アプローチは、免疫応答の異なる段階における複数の標的を介して免疫応答が最適化される場合により有効に機能することが考えられる。例えば、IL - 15 媒介免疫機能の向上をもたらすアプローチは、免疫チェックポイント経路を調節するアプローチとの組合せで、より有効であり、および／または長期の治療応答をもたらし得る。

【0056】

用語

追加の用語が以下に、本出願全体にわたり定義される。

【0057】

本明細書において使用される冠詞「a」および「an」は、その冠詞の文法的対象の1つまたは2つ以上（例えば、少なくとも1つ）を指す。

【0058】

用語「または」は、本明細書において、文脈がそうでないことを明示しない限り、用語「および／または」を意味するために使用され、それと互換的に使用される。

【0059】

「約」および「およそ」は、一般に計測の性質または精度を考慮して、計測される量についての許容可能な誤差の程度を意味する。例示的な誤差の程度は、所与の値または値の範囲の20パーセント（%）以内、典型的には、10%以内、より典型的には、5%以内である。

【0060】

用語「疾患」および「障害」は、病態、特に病理学的病態を指すために互換的に使用される。ある実施形態において、用語「疾患」および「障害」は、IL - 15 シグナル伝達により影響を受ける疾患および／または免疫エフェクター応答の促進により影響を受ける疾患を指すために互換的に使用される。

【0061】

本明細書において使用される用語「治療する」、「治療」および「治療すること」は、障害、例えば、増殖性障害の進行、重症度および／もしくは持続期間の低減もしくは改善、または1つ以上の治療法の施与から生じる障害の1つ以上の症状（好ましくは、1つ以上の識別可能な症状）の改善を指す。具体的な実施形態において、用語「治療する」、「治療」および「治療すること」は、必ずしも患者により識別可能でない少なくとも1つの計測可能な増殖性障害の身体パラメータ、例えば、腫瘍の成長の改善を指す。他の実施形態において、用語「治療する」、「治療」および「治療すること」は、例えば、識別可能な症状の安定化による身体的な、例えば、身体パラメータの安定化による生理学的な、またはその両方での増殖性障害の進行の阻害を指す。他の実施形態において、用語「治療する」、「治療」および「治療すること」は、腫瘍サイズまたは癌性細胞数の低減または安定化を指す。

【0062】

本明細書において使用される用語「治療法（therapies）」および「治療法（therapy）」は、疾患、例えば、癌、感染性疾患、リンパ球減少、および免疫不全、またはそれらに伴う症状の予防、治療、管理、または改善において使用することができる任意のプロトコル、方法、組成物、配合物、および／または薬剤を指し得る。ある実施形態において、用語「治療法（therapies）」および「治療法（therapy）」

10

20

30

40

50

）」は、当業者に公知の疾患またはそれに伴う症状の治療、管理、予防、または改善において有用な生物療法、支持療法、および／または他の治療法を指す。

【0063】

受容体（例えば、IL-15RaまたはIL-15受容体）およびリガンド（例えば、IL-15）相互作用に関して本明細書において使用される用語「特異的に結合する」、「特異的に認識する」および類似の用語は、リガンドおよび受容体間の特異的結合または会合を指す。好ましくは、リガンドは、他の分子よりも受容体についての高い親和性を有する。具体的な実施形態において、リガンドは、野生型IL-15であり、受容体は、野生型IL-15Raである。別の具体的な実施形態において、リガンドは、野生型IL-15/IL-15Ra複合体であり、受容体は、受容体複合体である。さらなる実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体は、受容体複合体に結合し、IL-15媒介シグナル伝達を活性化させる。受容体に特異的に結合するリガンドは、例えば、免疫アッセイ、BIACore（商標）、または当業者に公知の他の技術により同定することができる。

10

【0064】

抗体に関して本明細書において使用される用語「免疫特異的に結合する」および「特異的に結合する」は、抗原（例えば、エピトープまたは免疫複合体）に特異的に結合し、別の分子に特異的に結合しない分子を指す。抗原に特異的に結合する分子は、例えば、免疫アッセイ、BIACore（商標）または当該技術分野において公知の他のアッセイにより決定してより低い親和性で他の抗原に結合し得る。具体的な実施形態において、抗原に結合する分子は、他の抗原と交差反応しない。

20

【0065】

「組合せ」または「との組合せで」は、治療法または治療剤が同時に投与され、送達のために一緒に配合されなければならないことを意味するものではないが、それらの送達方法は本明細書に記載の範囲内である。組合せにおける治療剤は、1つ以上の他の追加の治療法または治療剤と同時に、それよりも前に、またはその後に投与することができる。治療剤または治療プロトコルは、任意の順序で投与することができる。一般に、それぞれの薬剤は、その薬剤について決定された用量で、および／または時間スケジュールで投与する。この組合せにおいて利用される追加の治療剤は、単一組成物中で一緒に投与し、または異なる組成物中で別個に投与することができることがさらに認識される。一般に、組合せにおいて利用される追加の治療剤は、それらが個々に利用されるレベルを超過しないレベルにおいて利用されることが予測される。一部の実施形態において、組合せにおいて利用されるレベルは、個々に利用されるものよりも低い。

30

【0066】

用語「阻害」、「阻害剤」または「アンタゴニスト」は、所与の分子、例えば、免疫チェックポイント阻害因子のあるパラメータ、例えば、活性の低減を含む。例えば、少なくとも5%、10%、20%、30%、40%またはそれ以上の活性、例えば、PD-1またはPD-L1活性の阻害がこの用語に含まれる。したがって、阻害は100%である必要はない。

【0067】

用語「抗癌効果」は、種々の手段、例として、限定されるものではないが、例えば、腫瘍容積の減少、癌細胞数の減少、転移数の減少、余命の延長、癌細胞増殖の減少、癌細胞生存の減少、または癌性病態に伴う種々の生理学的症状の改善により顕在化され得る生物学的効果を指す。「抗癌効果」は、ペプチド、ポリヌクレオチド、細胞および抗体が最初に癌の発生を予防する能力によっても顕在化され得る。

40

【0068】

用語「抗腫瘍効果」は、種々の手段、例として、限定されるものではないが、例えば、腫瘍容積の減少、腫瘍細胞数の減少、腫瘍細胞増殖の減少、または腫瘍細胞生存の減少により顕在化され得る生物学的効果を指す。

【0069】

50

用語「癌」は、異常細胞の急速で無制御な成長を特徴とする疾患を指す。癌細胞は局所的にまたは血流およびリンパ系を介して身体の他の部分に拡散し得る。種々の癌の例は本明細書に記載され、それとしては、限定されるものではないが、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、皮膚癌、膵臓癌、結腸直腸癌、腎臓癌、肝臓癌、脳腫瘍、リンパ腫、白血病、肺癌などが挙げられる。用語「腫瘍」および「癌」は本明細書において互換的に使用され、例えば、両方の用語は、固形および液性、例えば、びまん性または循環腫瘍を包含する。本明細書において使用される用語「癌」または「腫瘍」は、前悪性、ならびに悪性の癌および腫瘍を含む。

【0070】

本明細書において使用される用語「免疫エフェクター」または「エフェクター」「機能」または「応答」は、標的細胞の免疫攻撃を向上させ、または促進する、例えば、免疫エフェクター細胞の機能または応答を指す。例えば、免疫エフェクター機能または応答は、標的細胞の殺滅またはその成長もしくは増殖の阻害を促進するTまたはNK細胞の性質を指す。T細胞の場合、一次刺激および共刺激は免疫エフェクター機能または応答の例である。

10

【0071】

用語「エフェクター機能」は、細胞の特殊化機能を指す。例えば、T細胞のエフェクター機能は、細胞溶解活性またはヘルパー活性、例として、サイトカイン分泌であり得る。

【0072】

本発明の組成物および方法は、規定の配列、またはそれと実質的に同一もしくは類似する配列、例えば、規定の配列と少なくとも85%、90%、95%またはそれ以上同一である配列を有するポリペプチドおよび核酸を包含する。アミノ酸配列に関して、用語「実質的に同一」は、第1および第2のアミノ酸配列が共通の構造ドメインおよび/または共通の機能的活性を有し得るように、第2のアミノ酸配列とi)同一、またはii)第2のアミノ酸配列中のアラインされるアミノ酸残基の保存的置換である十分なまたは最小数のアミノ酸残基を含有する第1のアミノ酸を指すために本明細書において使用される。例えば、参照配列、例えば、本明細書に提供される配列と少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有する共通の構造ドメインを含有するアミノ酸配列。

20

【0073】

ヌクレオチド配列に関して、用語「実質的に同一」は、第1および第2のヌクレオチド配列が共通の機能的活性を有するポリペプチドをコードし、または共通の構造ポリペプチドドメインもしくは共通の機能的ポリペプチド活性をコードするように、第2の核酸配列中のアラインされるヌクレオチドと同一である十分なまたは最小数のヌクレオチドを含有する第1の核酸配列を指すために本明細書において使用される。例えば、参照配列、例えば、本明細書に提供される配列と少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するヌクレオチド配列。

30

【0074】

用語「機能的バリエーション」は、野生型配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有し、または実質的に同一のヌクレオチド配列によりコードされ、野生型配列の1つ以上の活性を有し得るポリペプチドを指す。

40

【0075】

配列間の相同性または配列同一性（これらの用語は、本明細書において互換的に使用される）の計算は、以下の通り実施される。

【0076】

2つのアミノ酸配列の、または2つの核酸配列の同一性パーセントを決定するため、配列を最適比較目的のためにアラインする（例えば、最適アラインメントのためにギャップを第1および第2のアミノ酸または核酸配列の一方または両方に導入することができ、比較目的のために非相同配列を無視することができる）。好ましい実施態様において、比較

50

目的のためにアラインされる参照配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%、95%、いっそうより好ましくは少なくとも100%である。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置におけるアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1の配列中のある位置が、第2の配列中の対応する位置と同一のアミノ酸残基またはヌクレオチドにより占有されている場合、それらの分子は、その位置において同一である（本明細書において使用されるアミノ酸または核酸「同一性」は、アミノ酸または核酸「相同性」と同等である）。

【0077】

2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列の最適アラインメントのために導入することが必要であるギャップ数、およびそれぞれのギャップの長さを考慮してそれらの配列により共有される同一位置の数の関数である。

10

【0078】

2つの配列間の配列の比較および同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。好ましい実施態様において、2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントを、GCGソフトウェアパッケージ（NCBIから入手可能）におけるGAPプログラムに組み込まれたNeedleman and Wunsch（（1970）J. Mol. Biol. 48: 444-453）アルゴリズムを使用して、Blossum 62マトリクスまたはPAM250マトリクス、およびギャップ加重16、14、12、10、8、6、または4および長さ加重1、2、3、4、5、または6を使用して決定する。さらに別の好ましい実施態様において、2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントを、GCGソフトウェアパッケージにおけるGAPプログラムを使用して、NWS gapdna.CMPマトリクスおよびギャップ加重40、50、60、70、または80および長さ加重1、2、3、4、5、または6を使用して決定する。特に好ましいパラメータセット（および特に規定のない限り使用すべきもの）は、ギャップペナルティ12、ギャップ伸張ペナルティ4、およびフレームシフトギャップペナルティ5のBlossum 62スコアリングマトリクスである。

20

【0079】

2つのアミノ酸またはヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、ALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれたE. Meyers and W. Miller（（1989）CABIOS, 4: 11-17）のアルゴリズムを使用して、PAM120加重残基表（weight residue table）、ギャップ長ペナルティ12およびギャップペナルティ4を使用して決定することができる。

30

【0080】

本明細書に記載の核酸およびタンパク質配列を「クエリー配列」として使用して公的データベースに対する検索を実施し、例えば、他のファミリーメンバーまたは関連配列を同定することができる。このような検索は、Altschul, et al.（（1990）J. Mol. Biol. 215: 403-10）のNBLASTおよびXBLASTプログラム（バージョン2.0）を使用して実施することができる。BLASTヌクレオチド検索は、NBLASTプログラム、スコア=100、ワード長=12を用いて実施して本発明の核酸（配列番号1）分子に相同なヌクレオチド配列を得ることができる。BLASTタンパク質検索は、XBLASTプログラム、スコア=50、ワード長=3を用いて実施して本発明のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較目的のためにギャップ付きアラインメントを得るため、Gapped BLASTをAltschul et al.,（（1997）Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402）に記載の通り利用することができる。BLASTおよびGapped BLASTプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、XBLASTおよびNBLAST）のデフォルトパラメータを使用することができる（NCBIから入手可能）。

40

【0081】

本明細書において使用される用語「低いストリンジェンシー、中程度のストリンジェン

50

シー、高いストリンジェンシーまたは極めて高いストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする」は、ハイブリダイゼーションおよび洗浄についての条件を記載する。ハイブリダイゼーション反応を実施するための指針は、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6に見出すことができる。水性および非水性方法がその参考文献に記載されており、いずれのものも使用することができる。本明細書に言及される具体的なハイブリダイゼーション条件は、以下の通りである：1) 低いストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件、約45における6×塩化ナトリウムノクエン酸ナトリウム(SSC)とそれに続く0.2×SSC、0.1%のSDS中での少なくとも50における2回の洗浄(洗浄の温度は、低いストリンジェンシー条件に関して55まで増加させることができる)；2) 中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件、約45における6×SSCとそれに続く0.2×SSC、0.1%のSDS中での60における1回以上の洗浄；3) 高いストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件、約45における6×SSCとそれに続く0.2×SSC、0.1%のSDS中での65における1回以上の洗浄；および好ましくは4) 極めて高いストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件は、65における0.5Mのリン酸ナトリウム、7%のSDSとそれに続く0.2×SSC、1%のSDS中での65における1回以上の洗浄である。極めて高いストリンジェンシー条件(4)が好ましい条件であり、特に規定のない限り使用すべきものである。

10

20

【0082】

本発明の分子は、機能に対する実質的な影響を有さない追加の保存的または非必須アミノ酸置換を有し得ることが理解される。

【0083】

用語「アミノ酸」は、天然か合成かにかかわらず、アミノ官能性および酸官能性の両方を含み、野生型アミノ酸のポリマー中に含まれ得る全ての分子を包含することを意図する。例示的なアミノ酸としては、野生型アミノ酸；そのアナログ、誘導体および同族体；バリエーション側鎖を有するアミノ酸アナログ；ならびに上記のいずれかのいずれかの全ての立体異性体が挙げられる。本明細書において使用される用語「アミノ酸」は、D-またはL-光学異性体の両方およびペプチド模倣体を含む。

30

【0084】

「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基により置き換えられているものである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野において定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖(例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電極性側鎖(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン)、非極性側鎖(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)、ベータ分枝側鎖(例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン)および芳香族側鎖(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)を有するアミノ酸が挙げられる。

40

【0085】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」(一本鎖である場合)は、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すために本明細書において互換的に使用される。ポリマーは直鎖または分枝鎖であり得、修飾アミノ酸を含み得、非アミノ酸により中断されていてよい。本用語は、修飾、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質付加、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作、例えば、標識構成成分とのコンジュゲーションがなされているアミノ酸ポリマーも包含する。ポリペプチドは天然供給源から単離することができ、真核生物もしくは原核生物宿主から組換え技術により産生することができ、または合成手順の生成物であり得る。

【0086】

用語「核酸」、「核酸配列」、「ヌクレオチド配列」、「ポリヌクレオチド配列」、お

50

よび「ポリヌクレオチド」は、互換的に使用される。これらは、デオキシリボヌクレオチドもしくはリボヌクレオチドのいずれか、またはそれらのアナログの任意の長さのヌクレオチドの重合形態を指す。ポリヌクレオチドは一本鎖または二本鎖のいずれかであり得、一本鎖である場合、コード鎖または非コード（アンチセンス）鎖であり得る。ポリヌクレオチドは、修飾ヌクレオチド、例えば、メチル化ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログを含み得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド構成成分により中断されていてよい。ポリヌクレオチドは、重合後に例えば、標識構成成分とのコンジュゲーションによりさらに修飾され得る。核酸は、組換えポリヌクレオチド、またはゲノム、cDNA、天然に生じず、もしくは自然界で見られない配置で別のポリヌクレオチドと結合している半合成、もしくは合成起源のポリヌクレオチドであり得る。

10

【0087】

本明細書において使用される用語「単離」は、その元のまたは天然環境（例えば、野生型の場合、自然環境）から取り出された物質を指す。例えば、生存動物中に存在する野生型ポリヌクレオチドまたはポリペプチドは単離されていないが、ヒト介入により、自然系で併存する物質の一部または全てから分離された同一のポリヌクレオチドまたはポリペプチドは単離されている。このようなポリヌクレオチドは、ベクターの一部であり得、および/またはこのようなポリヌクレオチドもしくはポリペプチドは組成物の一部であり得、そのようなベクターまたは組成物が天然に見出される環境の一部ではない点で依然として単離されている。

20

【0088】

本発明の種々の態様は、以下にさらに詳細に記載される。追加の定義は、本明細書全体にわたり記載される。

【0089】

IL - 15

本明細書において使用される用語「IL - 15」および「インターロイキン - 15」は、野生型IL - 15またはIL - 15誘導体を指す。タンパク質またはポリペプチドに関して本明細書において使用される用語「野生型IL - 15」および「野生型インターロイキン - 15」は、任意の哺乳動物インターロイキン - 15アミノ酸配列、例として未成熟または前駆体および成熟形態を指す。野生型哺乳動物インターロイキン - 15の種々の種のアミノ酸配列についてのGeneBankアクセッション番号の非限定的な例としては、NP_000576（ヒト、未成熟形態）、CAA62616（ヒト、未成熟形態）、NP_001009207（イエネコ（*Felis catus*）、未成熟形態）、AAB94536（ドブネズミ（*Rattus norvegicus*）、未成熟形態）、AAB41697（ドブネズミ（*Rattus norvegicus*）、未成熟形態）、NP_032383（ハツカネズミ（*Mus musculus*）、未成熟形態）、AAR19080（イヌ）、AAB60398（アカゲザル（*Macaca mulatta*）、未成熟形態）、AAI00964（ヒト、未成熟形態）、AAH23698（ハツカネズミ（*Mus musculus*）、未成熟形態）、およびAAH18149（ヒト）が挙げられる。表1に配列番号1に提供される長鎖シグナルペプチド（下線）および成熟ヒト天然IL - 15（イタリック）を含むヒトIL - 15の未成熟/前駆体形態のアミノ酸配列。一部の実施形態において、IL - 15は、哺乳動物IL - 15の未成熟または前駆体形態である。他の実施形態において、IL - 15は、哺乳動物IL - 15の成熟形態である。具体的な実施形態において、IL - 15は、ヒトIL - 15の前駆体形態である。別の実施形態において、IL - 15は、ヒトIL - 15の成熟形態である。一実施形態において、IL - 15タンパク質/ポリペプチドは、単離または精製されている。

30

40

【0090】

核酸に関して本明細書において使用される用語「IL - 15」および「インターロイキン - 15」は、哺乳動物インターロイキン - 15、例として未成熟または前駆体および成熟形態をコードする任意の核酸配列を指す。野生型哺乳動物IL - 15の種々の種のヌクレオチド配列についてのGeneBankアクセッション番号の非限定的な例としては、

50

NM__000585 (human)、NM__008357 (ハツカネズミ (Mus musculus))、および RNU69272 (ドブネズミ (Rattus norvegicus)) が挙げられる。表 1 中の配列番号 2 に提供される長鎖シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列 (下線) および成熟ヒト IL-15 をコードするヌクレオチド配列 (イタリック) を含むヒト IL-15 の未成熟 / 前駆体形態をコードするヌクレオチド配列。具体的な実施形態において、核酸は、単離または精製核酸である。一部の実施形態において、核酸は、哺乳動物 IL-15 の未成熟または前駆体形態をコードする。他の実施形態において、核酸は、哺乳動物 IL-15 の成熟形態をコードする。具体的な実施形態において、IL-15 をコードする核酸は、ヒト IL-15 の前駆体形態をコードする。別の実施形態において、IL-15 をコードする核酸は、ヒト IL-15 の成熟形態をコードする。

10

【0091】

タンパク質またはポリペプチドに関して本明細書において使用される用語「IL-15 誘導体」および「インターロイキン-15 誘導体」は、(a) 野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドと少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、98% または 99% 同一であるポリペプチド；(b) 野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドをコードする核酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、98% または 99% 同一である核酸配列によりコードされるポリペプチド；(c) 野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドに対して 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 個またはそれ以上のアミノ酸突然変異 (すなわち、付加、欠失および / または置換) を含有するポリペプチド；(d) 核酸によりコードされるポリペプチドは、高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドをコードする核酸にハイブリダイズし得る；(e) 高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で少なくとも 20 個の連続アミノ酸、少なくとも 30 個の連続アミノ酸、少なくとも 40 個の連続アミノ酸、少なくとも 50 個の連続アミノ酸、少なくとも 100 個の連続アミノ酸、または少なくとも 150 個の連続アミノ酸の野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドの断片をコードする核酸配列にハイブリダイズし得る核酸配列によりコードされるポリペプチド；および / または；(f) 野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドの断片を指す。IL-15 誘導体としては、哺乳動物 IL-15 ポリペプチドの成熟形態のアミノ酸配列および異種シグナルペプチドアミノ酸配列を含むポリペプチドも挙げられる。具体的な実施形態において、IL-15 誘導体は、野生型ヒト IL-15 ポリペプチドの誘導体である。別の実施形態において、IL-15 誘導体は、ヒト IL-15 ポリペプチドの未成熟または前駆体形態の誘導体である。別の実施形態において、IL-15 誘導体は、ヒト IL-15 ポリペプチドの成熟形態の誘導体である。別の実施形態において、IL-15 誘導体は、例えば、Zhu et al., (2009), J. Immunol. 183:3598 または米国特許第 8,163,879 号明細書に記載の IL-15 N72D である。別の実施形態において、IL-15 誘導体は、米国特許第 8,163,879 号明細書に記載の IL-15 バリエーションのものである。一実施形態において、IL-15 誘導体は、単離または精製されている。

20

30

40

【0092】

好ましい実施形態において、IL-15 誘導体は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、ELISA、BIACore (商標)、共免疫沈降により計測して IL-15 Ra ポリペプチドに結合する野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドの機能の少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、98% または 99% を保持する。別の好ましい実施形態において、IL-15 誘導体は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、電気泳動移動度シフトアッセイ、ELISA および他の免疫アッセイにより計測して IL-15 媒介シグナル伝達を誘導する野生型哺乳動物 IL-15 ポリペプチドの機能の少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、98% または 99% を保持する。具体的な実施形態において、IL-15 誘導体は、例えば、当該技術分野において周知

50

のリガンド／受容体結合アッセイにより評価して I L - 1 5 R a および／または I L - 1 5 R に結合する。同一性パーセントは、当業者に公知の任意の方法を使用して、上記の通り決定することができる。

【0093】

核酸に関して本明細書において使用される用語「I L - 1 5 誘導体」および「インターロイキン - 1 5 誘導体」は、(a) 哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドをコードする核酸配列と少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % 同一である核酸配列；(b) 野生型哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるポリペプチドをコードする核酸配列；(c) 哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドをコードする核酸配列に対して 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 個またはそれ以上の核酸塩基突然変異（すなわち、付加、欠失および／または置換）を含有する核酸配列；(d) 高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドをコードする核酸配列にハイブリダイズする核酸配列；(e) 高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドをコードする核酸配列の断片にハイブリダイズする核酸配列および／または(f) 哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドをコードする核酸配列の断片をコードする核酸配列を指す。具体的な実施形態において、核酸に関する I L - 1 5 誘導体は、ヒト I L - 1 5 ポリペプチドをコードする核酸配列の誘導体である。別の実施形態において、核酸に関する I L - 1 5 誘導体は、ヒト I L - 1 5 ポリペプチドの未成熟または前駆体形態をコードする核酸配列の誘導体である。別の実施形態において、核酸に関する I L - 1 5 誘導体は、ヒト I L - 1 5 ポリペプチドの成熟形態をコードする核酸配列の誘導体である。別の実施形態において、核酸に関する I L - 1 5 誘導体は、例えば、Z h u e t a l . , (2 0 0 9 ; 前掲)、または米国特許第 8 , 1 6 3 , 8 7 9 号明細書に記載の I L - 1 5 N 7 2 D をコードする核酸配列である。別の実施形態において、核酸に関する I L - 1 5 誘導体は、米国特許第 8 , 1 6 3 , 8 7 9 号明細書に記載の I L - 1 5 バリエーションの 1 つをコードする核酸配列である。

【0094】

I L - 1 5 誘導体核酸配列としては、哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチド、例として、I L - 1 5 ポリペプチドの成熟および未成熟形態をコードするコドン最適化核酸配列が挙げられる。他の実施形態において、I L - 1 5 誘導体核酸としては、哺乳動物 I L - 1 5 R N A 転写産物の安定性を増加させるためにアミノ酸配列への影響なしで潜在的スプライス部位および不安定エレメント（例えば、A / T または A / U リッチエレメント）を排除する突然変異を含有する哺乳動物 I L - 1 5 R N A 転写産物をコードする核酸が挙げられる。一実施形態において、I L - 1 5 誘導体核酸配列としては、国際公開第 2 0 0 7 / 0 8 4 3 4 2 号パンフレットに記載のコドン最適化核酸配列が挙げられる。ある実施形態において、I L - 1 5 誘導体核酸配列は、表 1 の配列番号 4 のコドン最適化配列である（そのような核酸配列によりコードされるアミノ酸配列は、表 1 の配列番号 5 に提供される）。

【0095】

好ましい実施形態において、I L - 1 5 誘導体核酸配列は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、E L I S A、B I A c o r e（商標）、共免疫沈降により計測して I L - 1 5 R a に結合する野生型哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドの機能の少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % を保持するタンパク質またはポリペプチドをコードする。別の好ましい実施形態において、I L - 1 5 誘導体核酸配列は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、電気泳動移動度シフトアッセイ、E L I S A および他の免疫アッセイにより計測して I L - 1 5 媒介シグナル伝達を誘導する野生型哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドの機能の少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % を保持するタンパク質またはポリペプチドをコードする。具体的な実施形態において、I L - 1 5 誘導体核酸配列は、例えば、当該技術分野において周知のリガンド／受容体結合アッセイにより評価して I L - 1 5 R a および／ま

たは I L - 1 5 R に結合するタンパク質またはポリペプチドをコードする。

【 0 0 9 6 】

I L - 1 5 R a

本明細書において使用される用語「 I L - 1 5 R a 」および「インターロイキン - 1 5 受容体アルファ」は、野生型 I L - 1 5 R a 、 I L - 1 5 R a 誘導体、または野生型 I L - 1 5 R a および I L - 1 5 R a 誘導体を指す。タンパク質またはポリペプチドに関して本明細書において使用される用語「野生型 I L - 1 5 R a 」および「野生型インターロイキン - 1 5 受容体アルファ」は、任意の哺乳動物インターロイキン - 1 5 受容体アルファ (「 I L - 1 5 R a 」) アミノ酸配列、例として、未成熟または前駆体および成熟形態およびアイソフォームを指す。種々の野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a のアミノ酸配列について 10
の Gene Bank アクセス番号の非限定的な例としては、NP__002180 (ヒト) 、 ABK41438 (アカゲザル (Macaca mulatta)) 、 NP__032384 (ハツカネズミ (Mus musculus)) 、 Q60819 (ハツカネズミ (Mus musculus)) 、 CAI41082 (ヒト) が挙げられる。表 1 の配列番号 6 に提供されるシグナルペプチド (下線) および成熟ヒト I L - 1 5 R a (イタリック) を含む全長ヒト I L - 1 5 R a の未成熟形態のアミノ酸配列。表 1 の配列番号 7 に提供されるシグナルペプチド (下線) および成熟ヒト可溶性 I L - 1 5 R a (イタリック) を含む可溶性ヒト I L - 1 5 R a の未成熟形態のアミノ酸配列。一部の実施形態において、 I L - 1 5 R a は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの未成熟形態である。他の実施形態において、 I L - 1 5 R a は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの成熟形態 20
である。ある実施形態において、 I L - 1 5 R a は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの可溶性形態である。他の実施形態において、 I L - 1 5 R a は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの全長形態である。具体的な実施形態において、 I L - 1 5 R a は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの未成熟形態である。別の実施形態において、 I L - 1 5 R a は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの成熟形態である。ある実施形態において、 I L - 1 5 R a は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの可溶性形態である。他の実施形態において、 I L - 1 5 R a は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの全長形態である。一実施形態において、 I L - 1 5 R a タンパク質またはポリペプチドは、単離または精製されている。

【 0 0 9 7 】

核酸に関して本明細書において使用される用語「 I L - 1 5 R a 」および「インターロイキン - 1 5 受容体アルファ」は、哺乳動物インターロイキン - 1 5 受容体アルファ、例として、未成熟または前駆体および成熟形態をコードする任意の核酸配列を指す。種々の種の野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a のヌクレオチド配列についての Gene Bank アクセス番号の非限定的な例としては、NM__002189 (ヒト) 、 EF033114 (アカゲザル (Macaca mulatta)) 、および NM__008358 (ハツカネズミ (Mus musculus)) が挙げられる。表 1 の配列番号 8 に提供されるシグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列 (下線) および成熟ヒト I L - 1 5 R a をコードするヌクレオチド配列 (イタリック) を含む野生型ヒト I L - 1 5 R a の未成熟形態をコードするヌクレオチド配列。表 1 の配列番号 9 に提供されるシグナルペプチドを 40
コードするヌクレオチド配列 (下線) および成熟ヒト可溶性 I L - 1 5 R a をコードするヌクレオチド配列 (イタリック) を含む可溶性ヒト I L - 1 5 R a タンパク質またはポリペプチドの未成熟形態をコードするヌクレオチド配列) 。具体的な実施形態において、核酸は、単離または精製核酸である。一部の実施形態において、核酸は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの未成熟形態をコードする。他の実施形態において、核酸は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの成熟形態をコードする。ある実施形態において、核酸は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの可溶性形態をコードする。他の実施形態において、核酸は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの全長形態をコードする。具体的な実施形態において、核酸は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの前駆体形態をコードする。別の実施形態において、核酸は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの成熟をコードする。ある実施 50

形態において、核酸は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの可溶性形態をコードする。他の実施形態において、核酸は、ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの全長形態をコードする。

【 0 0 9 8 】

タンパク質またはポリペプチドに関して本明細書において使用される用語「 I L - 1 5 R a 誘導体」および「インターロイキン - 1 5 受容体アルファ誘導体」は、(a) 野生型哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドと少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % 同一であるポリペプチド；(b) 野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドをコードする核酸配列と少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % 同一である核酸配列によりコードされるポリペプチド；(c) 野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドに対して 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 個またはそれ以上のアミノ酸突然変異（すなわち、付加、欠失および/または置換）を含有するポリペプチド；(d) 高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドをコードする核酸配列にハイブリダイズし得る核酸配列によりコードされるポリペプチド；(e) 高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で少なくとも 20 個の連続アミノ酸、少なくとも 30 個の連続アミノ酸、少なくとも 40 個の連続アミノ酸、少なくとも 50 個の連続アミノ酸、少なくとも 100 個の連続アミノ酸、または少なくとも 150 個の連続アミノ酸の野生型哺乳動物 I L - 1 5 ポリペプチドの断片をコードする核酸配列にハイブリダイズし得る核酸配列によりコードされるポリペプチド；(f) 野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの断片；および/または(g) 本明細書に記載の規定の I L - 1 5 R a 誘導体を指す。I L - 1 5 R a 誘導体としては、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの成熟形態のアミノ酸配列および異種シグナルペプチドアミノ酸配列を含むポリペプチドも挙げられる。具体的な実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、野生型ヒト I L - 1 5 R a ポリペプチドの誘導体である。別の実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、ヒト I L - 1 5 ポリペプチドの未成熟形態の誘導体である。別の実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、ヒト I L - 1 5 ポリペプチドの成熟形態の誘導体である。一実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの可溶性形態である。換言すると、ある実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体としては、哺乳動物 I L - 1 5 R a の可溶性形態が挙げられ、それらの可溶性形態は天然存在でない。I L - 1 5 R a 誘導体の他の例としては、本明細書に記載のヒト I L - 1 5 R a のトランケート可溶性形態が挙げられる。具体的な実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、精製または単離されている。

【 0 0 9 9 】

好ましい実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、当該技術分野において周知のアクセシ、例えば、E L I S A、B I A c o r e（商標）、共免疫沈降により計測して I L - 1 5 ポリペプチドに結合する野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの機能の少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % を保持する。別の好ましい実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、当該技術分野において周知のアクセシ、例えば、電気泳動移動度シフトアクセシ、E L I S A および他の免疫アクセシにより計測して I L - 1 5 媒介シグナル伝達を誘導する野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドの機能の少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % を保持する。具体的な実施形態において、I L - 1 5 R a 誘導体は、当該技術分野において周知の方法、例えば、E L I S A などにより評価して I L - 1 5 に結合する。

【 0 1 0 0 】

核酸に関して本明細書において使用される用語「 I L - 1 5 R a 誘導体」および「インターロイキン - 1 5 受容体アルファ誘導体」は、(a) 哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチドをコードする核酸配列と少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % 同一である核酸配列；(b) 野生型哺乳動物 I L - 1 5 R a ポリペプチド

のアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%同一であるポリペプチドをコードする核酸配列；(c)哺乳動物IL-15Raポリペプチドをコードする核酸配列に対して1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個またはそれ以上の核酸突然変異(すなわち、付加、欠失および/または置換)を含有する核酸配列；(d)高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で哺乳動物IL-15Raポリペプチドをコードする核酸配列にハイブリダイズする核酸配列；(e)高いまたは中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で哺乳動物IL-15Raポリペプチドをコードする核酸配列の断片にハイブリダイズする核酸配列；(f)哺乳動物IL-15Raポリペプチドをコードする核酸配列の断片をコードする核酸配列；および/または(g)本明細書に記載の規定のIL-15Ra誘導体をコードする核酸配列を指す。具体的な実施形態において、核酸に関するIL-15Ra誘導体は、ヒトIL-15Raポリペプチドをコードする核酸配列の誘導体である。別の実施形態において、核酸に関するIL-15Ra誘導体は、ヒトIL-15Raポリペプチドの未成熟形態をコードする核酸配列の誘導体である。別の実施形態において、核酸に関するIL-15Ra誘導体は、ヒトIL-15Raポリペプチドの成熟形態をコードする核酸配列の誘導体である。一実施形態において、核酸に関するIL-15Ra誘導体は、可溶性である哺乳動物IL-15Raポリペプチドの誘導体をコードする核酸配列を指す。ある実施形態において、核酸に関するIL-15Ra誘導体は、天然存在でない哺乳動物IL-15Raの可溶性形態をコードする核酸配列を指す。一部の実施形態において、核酸に関するIL-15Ra誘導体は、天然存在でないIL-15Raの可溶性形態であるヒトIL-15Raの誘導体をコードする核酸配列を指す。具体的な実施形態において、IL-15Ra誘導体核酸配列は、単離または精製されている。

【0101】

IL-15Ra誘導体核酸配列としては、IL-15Raポリペプチド、例として、IL-15Raポリペプチドの成熟および未成熟形態をコードするコドン最適化核酸配列が挙げられる。他の実施形態において、IL-15Ra誘導体核酸としては、IL-15RaRNA転写産物の安定性を増加させるためにアミノ酸配列に影響せずに潜在的スプライス部位および不安定エレメント(例えば、A/TまたはA/Uリッチエレメント)を排除する突然変異を含有するIL-15RaRNA転写産物をコードする核酸が挙げられる。ある実施形態において、IL-15Ra誘導体核酸配列は、表1の配列番号11、13のコドン最適化配列である(そのような核酸配列によりコードされるアミノ酸配列は、それぞれ表1の配列番号12、14に提供される)。

【0102】

具体的な実施形態において、IL-15Ra誘導体核酸配列は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、ELISA、BIAcore(商標)、共免疫沈降により計測してIL-15に結合する野生型哺乳動物IL-15Raポリペプチドの機能の少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%を保持するタンパク質またはポリペプチドをコードする。別の好ましい実施形態において、IL-15Ra誘導体核酸配列は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、電気泳動移動度シフトアッセイ、ELISAおよび他の免疫アッセイにより計測してIL-15媒介シグナル伝達を誘導する野生型哺乳動物IL-15Raの機能の少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%を保持するタンパク質またはポリペプチドをコードする。具体的な実施形態において、IL-15Ra誘導体核酸配列は、当該技術分野において周知の方法、例えば、ELISAなどにより評価してIL-15に結合するタンパク質またはポリペプチドをコードする。

【0103】

ヒトIL-15Raの可溶性形態が本明細書に記載される。ヒトIL-15Raのトランケート可溶性形態である規定のIL-15Ra誘導体も本明細書に記載される。これら

の規定の I L - 1 5 R a 誘導体およびヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態は、部分的には、ヒト I L - 1 5 R a のタンパク質分解開裂部位の同定をベースとする。I L - 1 5 R a のグリコシル化に基づき特徴づけされる I L - 1 5 R a の可溶性形態が本明細書にさらに記載される。

【0104】

ヒト I L - 1 5 R a のタンパク質分解開裂は、野生型全長ヒト I L - 1 5 R a の未成熟形態の提供されるアミノ酸配列中で太字で示され、下線が付される残基（すなわち、G l y 1 7 0 および H i s 1 7 1 ）間で生じる：

【化1】

MAPRRARGCR TLGLPALLLL LLLRPPATRG ITCPPPMSE HADIWVKSYS LYSRERYICN
SGFKRKAGTS SLTECVLNKA TNVAHWTPPS LKCIRDPAIV HQRPAAPPSTV TTAGVTPQPE
SLSPSGKEPA ASSPSSNNTA ATTAAIVPGS QLMPSKSPST GTTEISSHES SHGTPSQTTA
KNWELTASAS HQPPGVYPQG HSDTTVAIST STVLLCGLSA VSLACYLKS RQTPPLASVE
MEAMEALPVT WGTSSRDEDL ENCSEHL

10

（表1の配列番号6）

【0105】

したがって、一態様において、ヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態（例えば、ヒト I L - 1 5 R a の精製可溶性形態）であって、ヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態のアミノ酸配列が野生型膜結合ヒト I L - 1 5 R a のタンパク質分解開裂の部位において終結するヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態が本明細書に提供される。特に、ヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態（例えば、ヒト I L - 1 5 R a の精製可溶性形態）であって、ヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態のアミノ酸配列が、P Q G（表1の配列番号20）（Gは、G l y 1 7 0である）で終結するヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態が本明細書に提供される。特定の実施形態において、表1の配列番号7に示されるアミノ酸配列を有するヒト I L - 1 5 R a の可溶性形態（例えば、ヒト I L - 1 5 R a の精製可溶性形態）が本明細書に提供される。一部の実施形態において、（i）表1の配列番号7と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%同一であり；（ii）アミノ酸配列P Q G（表1の配列番号20）で終結するポリペプチドである I L - 1 5 R a 誘導体（例えば、I L - 1 5 R a 誘導体の精製および/または可溶性形態）が本明細書に提供される。他の特定の実施形態において、表1の配列番号10のアミノ酸配列を有するヒト I L - 1 5 R a（例えば、ヒト I L - 1 5 R a の精製可溶性形態）の可溶性形態が本明細書に提供される。一部の実施形態において、表1の配列番号10と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%同一であるポリペプチドである I L - 1 5 R a 誘導体（例えば、I L - 1 5 R a 誘導体の精製および/または可溶性形態）であって、場合により、I L - 1 5 R a 誘導体の可溶性形態のアミノ酸配列がP Q G（表1の配列番号20）で終結する I L - 1 5 R a 誘導体が本明細書に提供される。

20

30

40

【0106】

一部の実施形態において、ヒト I L - 1 5 R a の I L - 1 5 R a 誘導体であって、可溶性であり：（a）I L - 1 5 R a 誘導体のC末端における最後のアミノ酸がアミノ酸残基P Q G H S D T T（表1の配列番号15）からなり；（b）I L - 1 5 R a 誘導体のC末端における最後のアミノ酸がアミノ酸残基P Q G H S D T（表1の配列番号16）からなり；（c）I L - 1 5 R a 誘導体のC末端における最後のアミノ酸がアミノ酸残基P Q G H S D（表1の配列番号17）からなり；（d）I L - 1 5 R a 誘導体のC末端における最後のアミノ酸がアミノ酸残基P Q G H S（表1の配列番号18）からなり；または（e）I L - 1 5 R a 誘導体のC末端における最後のアミノ酸がアミノ酸残基P Q G H（表1の配列番号19）からなる I L - 1 5 R a 誘導体が本明細書に提供される。ある実施形態

50

において、これらの I L - 1 5 R a 誘導体のアミノ酸配列は、表 1 の配列番号 2 1 のアミノ酸配列と少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % 同一である。一部の実施形態において、これらの I L - 1 5 R a 誘導体は精製されている。

【 0 1 0 7 】

別の態様において、I L - 1 5 R a のグリコシル化形態（例えば、I L - 1 5 R a の精製グリコシル化形態）であって、I L - 1 5 R a のグリコシル化が、当業者に公知の技術により評価して I L - 1 5 R a の質量（分子量）の少なくとも 2 0 %、少なくとも 2 5 %、少なくとも 3 0 %、少なくとも 3 5 %、少なくとも 4 0 %、少なくとも 4 5 %、少なくとも 5 0 %、または 2 0 % ~ 2 5 %、2 0 % ~ 3 0 %、2 5 % ~ 3 0 %、2 5 % ~ 3 5 %、3 0 % ~ 3 5 %、3 0 % ~ 4 0 %、3 5 % ~ 4 0 %、3 5 % ~ 4 5 %、4 0 % ~ 5 0 %、4 5 % ~ 5 0 %、2 0 % ~ 4 0 %、もしくは 2 5 % ~ 5 0 % を占める I L - 1 5 R a のグリコシル化形態が本明細書に提供される。I L - 1 5 R a のグリコシル化が占める I L - 1 5 R a （例えば、精製 I L - 1 5 R a ）の質量（分子量）の割合は、例えば、限定されるものではないが、ゲル電気泳動およびゲルの定量的密度測定、ならびに I L - 1 5 R a のグリコシル化形態（例えば、I L - 1 5 R a の精製グリコシル化形態）と、I L - 1 5 R a の非グリコシル化形態（例えば、I L - 1 5 R a の精製非グリコシル化形態）との平均質量（分子量）の比較を使用して決定することができる。一実施形態において、I L - 1 5 R a （例えば、精製 I L - 1 5 R a ）の平均質量（分子量）は、マトリックスとしてシナピン酸を使用する C o v a l X H M - 1 高質量検出器を備える V o y a g e r D e - P r o 上で M A L D I - T O F M S スペクトルを使用して決定することができ、I L - 1 5 R a のグリコシル化形態（例えば、I L - 1 5 R a の精製グリコシル化形態）の質量を I L - 1 5 R a の非グリコシル化形態（例えば、I L - 1 5 R a の精製非グリコシル化形態）の質量と比較してグリコシル化が占める質量の割合を決定することができる。

【 0 1 0 8 】

別の態様において、I L - 1 5 R a のグリコシル化形態であって、I L - 1 5 R a がああるアミノ酸残基においてグリコシル化（N - または O - グリコシル化）されている I L - 1 5 R a のグリコシル化形態が本明細書に提供される。ある実施形態において、以下のグリコシル化部位；（i）I L - 1 5 R a 中のアミノ酸配列

【化 2】

NWELIASASHQPPGVYPQG

（表 1 の配列番号 2 2 ）の 5 位におけるトレオニン上の O - グリコシル化；（i i）I L - 1 5 R a 中のアミノ酸配列

【化 3】

NWELTASASHQPPGVYPQG

（表 1 の配列番号 2 2 ）の 7 位におけるセリン上の O - グリコシル化；（i i i）I L - 1 5 R a 中のアミノ酸配列

【化 4】

ITCPPPMSVEHADIWVK

（表 1 の配列番号 2 3 ）の 8 位におけるセリン上、または I L - 1 5 R a 中のアミノ酸配列

【化 5】

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS

(表 1 の配列番号 24) の 8 位のセリン上の N - グリコシル化 ; (i v) I L - 15 R a 中のアミノ酸配列 I T C P P P M S V E H A D I W V K S Y S L Y S R E R Y I C N S (表 1 の配列番号 24) の S e r 18 上の N - グリコシル化 ; (v) I L - 15 R a 中のアミノ酸配列

【化 6】

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS

(表 1 の配列番号 24) の 20 位におけるセリン上の N - グリコシル化 ; (v i) I L - 15 R a 中のアミノ酸配列

【化 7】

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS

(表 1 の配列番号 24) の 23 位におけるセリン上の N - グリコシル化 ; および / または (v i i) I L - 15 R a 中のアミノ酸配列

【化 8】

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNS

(表 1 の配列番号 24) の 31 位におけるセリン上の N - グリコシル化の 1、2、3、4、5、6、7 つ、または全てにおいてグリコシル化されているヒト I L - 15 R a が本明細書に提供される。

【0109】

具体的な実施形態において、グリコシル化 I L - 15 R a は、野生型ヒト I L - 15 R a である。他の具体的な実施形態において、グリコシル化 I L - 15 R a は、ヒト I L - 15 R a の I L - 15 R a 誘導体である。一部の実施形態において、グリコシル化 I L - 15 R a は、野生型可溶性ヒト I L - 15 R a、例えば、表 1 の配列番号 7 または 10 である。他の実施形態において、グリコシル化 I L - 15 R a は、ヒト I L - 15 R a の可溶性形態である I L - 15 R a 誘導体である。ある実施形態において、グリコシル化 I L - 15 R a は、精製または単離されている。

【0110】

I L - 15 / I L - 15 R a 複合体

本明細書において使用される用語「I L - 15 / I L - 15 R a 複合体」は、互いに共有または非共有結合している I L - 15 および I L - 15 R a を含む複合体を指す。好ましい実施形態において、I L - 15 R a は、I L - 15 についての比較的高い親和性、例えば、当該技術分野において公知の技術、例えば、K i n E x A アッセイ、プラズマ表面共鳴 (例えば、B I A c o r e (商標) アッセイ) により計測して 10 ~ 50 p M の K_D を有する。別の好ましい実施形態において、I L - 15 / I L - 15 R a 複合体は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、電気泳動移動度シフトアッセイ、E L I S A および他の免疫アッセイにより計測して I L - 15 媒介シグナル伝達を誘導する。一部の実施形態において、I L - 15 / I L - 15 R a 複合体は、鎖に特異的に結合する能

10

20

30

40

50

力を保持する。具体的な実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、細胞から単離されている。

【0111】

IL - 15 受容体の サブユニットに結合し、IL - 15 シグナル伝達（例えば、Jak / Stat シグナル伝達）を誘導し、IL - 15 媒介免疫機能を向上させる複合体であって、インターロイキン - 15 受容体アルファ（「IL - 15 Ra」）に共有または非共有結合しているIL - 15を含む複合体（「IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体」）が本明細書に提供される。IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、 受容体複合体に結合し得る。

【0112】

IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、野生型IL - 15またはIL - 15 誘導体および野生型IL - 15 RaまたはIL - 15 Ra 誘導体から構成され得る。ある実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、IL - 15またはIL - 15 誘導体および上記のIL - 15 Raを含む。具体的な実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、IL - 15またはIL - 15 誘導体および表1の配列番号10のアミノ酸配列を有するIL - 15 Raを含む。別の実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、IL - 15またはIL - 15 誘導体および上記のIL - 15 Raのグリコシル化形態を含む。

【0113】

具体的な実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、野生型IL - 15またはIL - 15 Ra 誘導体および可溶性IL - 15 Ra（例えば、野生型可溶性ヒトIL - 15 Ra）を含む。別の具体的な実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、IL - 15 誘導体およびIL - 15 Ra 誘導体から構成される。別の実施形態において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体は、野生型IL - 15およびIL - 15 Ra 誘導体から構成される。一実施形態において、IL - 15 Ra 誘導体は、IL - 15 Raの可溶性形態である。IL - 15 Raの可溶性形態の具体例は、上記のものである。具体的な実施形態において、IL - 15 Raの可溶性形態は、野生型IL - 15 Raの膜貫通ドメイン、および場合により、野生型IL - 15 Raの細胞内ドメインを欠く。別の実施形態において、IL - 15 Ra 誘導体は、野生型IL - 15 Raの細胞外ドメインまたはその断片である。ある実施形態において、IL - 15 Ra 誘導体は、野生型IL - 15 Raのsushidメインまたはエキソン2を含む細胞外ドメインの断片である。一部の実施形態において、IL - 15 Ra 誘導体は、野生型IL - 15 Raのsushidメインまたはエキソン2を含む細胞外ドメインの断片およびエキソン3によりコードされる少なくとも1つのアミノ酸を含む。ある実施形態において、IL - 15 Ra 誘導体は、野生型IL - 15 Raのsushidメインまたはエキソン2を含む細胞外ドメインの断片およびIL - 15 Ra ヒンジ領域またはその断片を含む。ある実施形態において、IL - 15 Raは、表1の配列番号10のアミノ酸配列を含む。

【0114】

別の実施形態において、IL - 15 Ra 誘導体は、野生型IL - 15 Raを開裂させる内因性プロテアーゼによる開裂を阻害する細胞外ドメイン開裂部位中の突然変異を含む。具体的な実施形態において、IL - 15 Raの細胞外ドメイン開裂部位は、異種の公知のプロテアーゼにより認識および開裂される開裂部位により置き換えられている。このような異種プロテアーゼ開裂部位の非限定的な例としては、フーリンプロテアーゼにより認識および開裂されるArg - X - X - Arg（表1の配列番号25）；ならびにトロンビンプロテアーゼにより認識および開裂されるA - B - Pro - Arg - X - Y（表1の配列番号26）（AおよびBは、疎水性アミノ酸であり、XおよびYは、非酸性アミノ酸である）およびGly - Arg - Glyが挙げられる。

【0115】

別の実施形態において、IL - 15は、例えば、国際公開第2007/084342号パンフレットおよび国際公開第2010/020047号パンフレット；ならびに米国特

10

20

30

40

50

許第 5, 965, 726 号明細書；同第 6, 174, 666 号明細書；同第 6, 291, 664 号明細書；同第 6, 414, 132 号明細書；および同第 6, 794, 498 号明細書に記載の方法を使用して IL-15 の発現を向上させるために最適化された核酸配列によりコードされる。

【0116】

ある実施形態において、表 1 の配列番号 22、23 および 24 を参照して上記のグリコシル化部位の 1、2、3、4、5、6、7 つ、または全てにおいてグリコシル化されているヒト IL-15 Ra を含む IL-15 / IL-15 Ra 複合体が本明細書に提供される。具体的な実施形態において、グリコシル化 IL-15 Ra は、野生型ヒト IL-15 Ra である。他の具体的な実施形態において、グリコシル化 IL-15 Ra は、ヒト IL-15 Ra の IL-15 Ra 誘導体である。一部の実施形態において、グリコシル化 IL-15 Ra は、野生型可溶性ヒト IL-15 Ra、例えば、表 1 の配列番号 7 または 10 である。他の実施形態において、グリコシル化 IL-15 Ra は、ヒト IL-15 Ra の可溶性形態である IL-15 Ra 誘導体である。ある実施形態において、IL-15 / IL-15 Ra 複合体は、精製または単離されている。

10

【0117】

IL-15 および IL-15 Ra に加え、IL-15 / IL-15 Ra 複合体は、異種分子を含み得る。一部の実施形態において、異種分子は、タンパク質安定性を増加させる。このような分子の非限定的な例としては、IL-15 または IL-15 Ra のインビボ半減期を増加させるポリエチレングリコール (PEG)、IgG 免疫グロブリンの Fc ドメインもしくはその断片、またはアルブミンが挙げられる。ある実施形態において、IL-15 Ra は、免疫グロブリン (例えば、IgG1) の Fc ドメインまたはその断片にコンジュゲート / 融合している。具体的な実施形態において、IL-15 Ra Fc 融合タンパク質は、表 1 の配列番号 27 または 28 のアミノ酸配列を含む。別の実施形態において、IL-15 Ra Fc 融合タンパク質は、Han et al., (2011), Cytokine 56:804-810、米国特許第 8,507,222 号明細書または米国特許第 8,124,084 号明細書に記載の IL-15 Ra / Fc 融合タンパク質である。異種分子を含むそれらの IL-15 / IL-15 Ra 複合体において、異種分子は、IL-15 および / または IL-15 Ra にコンジュゲートしてよい。一実施形態において、異種分子は、IL-15 Ra にコンジュゲートしている。別の実施形態において、異種分子は、IL-15 にコンジュゲートしている。

20

30

【0118】

IL-15 / IL-15 Ra 複合体の構成成分は、非共有結合もしくは共有結合のいずれかを使用して (例えば、ペプチド結合を介してアミノ酸配列を組み合わせることにより) 直接融合してよく、および / または 1 つ以上のリンカーを使用して組み合わせることができる。IL-15 / IL-15 Ra 複合体の調製に好適なリンカーは、2 つ以上の構成成分と一緒に結合し得るペプチド、アルキル基、化学置換アルキル基、ポリマー、または任意の他の共有結合もしくは非共有結合化学物質を含む。ポリマーリンカーは、当該技術分野において公知の任意のポリマー、例として、ポリエチレングリコール (PEG) を含む。一部の実施形態において、リンカーは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 個またはそれ以上のアミノ酸長のペプチドである。具体的な実施形態において、リンカーは、IL-15 Ra に結合する IL-15 の能力を保存するほど十分長い。他の実施形態において、リンカーは、受容体複合体に結合し、IL-15 シグナル伝達を媒介するアゴニストとして作用する IL-15 / IL-15 Ra 複合体の能力を保存するほど十分長い。

40

【0119】

特定の実施形態において、IL-15 / IL-15 Ra 複合体は、本明細書に記載の方法における使用前 (例えば、細胞を IL-15 / IL-15 Ra 複合体と接触させる前または対象への IL-15 / IL-15 Ra 複合体の投与前)、プレカップリングする。他の実施形態において、IL-15 / IL-15 Ra 複合体は、本明細書に記載の方法にお

50

ける使用前にプレカップリングしない。

【0120】

具体的な実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、ELISPOT、ELISA、および細胞増殖アッセイを使用してIL-15/IL-15Ra複合体が投与されない対象における免疫機能に対して対象における免疫機能を少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも45%、少なくとも40%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも25%、少なくとも20%、または少なくとも10%だけ向上させ、または誘導する。具体的な実施形態において、免疫機能は、サイトカイン放出（例えば、インターフェロン-ガンマ、IL-2、IL-5、IL-10、IL-12、またはトランスフォーミング成長因子（TGF）-ベータ）である。一実施形態において、IL-15媒介免疫機能は、NK細胞増殖であり、それは、例えば、フローサイトメトリーによりアッセイしてNK細胞のマーカー（例えば、CD56）を発現する細胞の数を検出することができる。別の実施形態において、IL-15媒介免疫機能は、抗体産生であり、それは、例えば、ELISAによりアッセイすることができる。一部の実施形態において、IL-15媒介免疫機能は、エフェクター機能であり、それは、例えば、細胞毒性アッセイまたは当該技術分野において周知の他のアッセイによりアッセイすることができる。

10

【0121】

具体的な実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体により向上される免疫機能の例としては、リンパ球の増殖/拡大（例えば、リンパ球数の増加）、リンパ球のアポトーシスの阻害、樹状細胞（または抗原提示細胞）の活性化、および抗原提示が挙げられる。特定の実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体により向上される免疫機能は、CD4⁺T細胞（例えば、Th1およびTh2ヘルパーT細胞）、CD8⁺T細胞（例えば、細胞傷害性Tリンパ球、アルファ/ベータT細胞、およびガンマ/デルタT細胞）、B細胞（例えば、形質細胞）、メモリーT細胞、メモリーB細胞、樹状細胞（未成熟または成熟）、抗原提示細胞、マクロファージ、マスト細胞、ナチュラルキラーT細胞（NK細胞）、腫瘍常在性T細胞、CD122⁺T細胞、またはナチュラルキラー細胞（NK細胞）の数の増殖/拡大またはそれらの活性化である。一実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体は、リンパ球前駆細胞の増殖/拡大またはその数を向上させる。一部の実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体は、CD4⁺T細胞（例えば、Th1およびTh2ヘルパーT細胞）、CD8⁺T細胞（例えば、細胞傷害性Tリンパ球、アルファ/ベータT細胞、およびガンマ/デルタT細胞）、B細胞（例えば、形質細胞）、メモリーT細胞、メモリーB細胞、樹状細胞（未成熟または成熟）、抗原提示細胞、マクロファージ、マスト細胞、ナチュラルキラーT細胞（NK細胞）、腫瘍常在性T細胞、CD122⁺T細胞、またはナチュラルキラー細胞（NK細胞）の数を、陰性対照（例えば、IL-15/IL-15Ra複合体により処理もされず、それと培養もされず、それと接触もされないそれぞれの細胞の数）に対しておよそ1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍またはそれ以上だけ増加させる。

20

30

40

【0122】

具体的な実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体は、ブドウ球菌エンテロトキシンB（SEB）により活性化される全血上のIL-2の発現を増加させる。例えば、IL-15/IL-15Ra複合体は、SEBを単独で使

【0123】

抗PD-1抗体分子

本明細書に記載の抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の方法に従い、単独でまたは本明細書に記載の1つ以上の追加の薬剤との組合せで使用することができる。ある実施態

50

様において、本明細書に記載の組合せは、PD-1阻害剤、例えば、本明細書に記載の抗PD-1抗体分子（例えば、ヒト化抗体分子）を含む。

【0124】

一部の実施態様において、抗PD-1抗体分子（例えば、単離または組換え抗体分子）は、以下の特性の1つ以上を有する：

(i) PD-1、例えば、ヒトPD-1に、高親和性で、例えば、少なくとも約 $10^{-7} M^{-1}$ 、典型的には、約 $10^{-8} M^{-1}$ 、より典型的には、約 $10^{-9} M^{-1} \sim 10^{-10} M^{-1}$ またはそれ以上の親和性定数で結合する；

(ii) CD28にも、CTLA-4にも、ICOSにも、BTLAにも実質的に結合しない；

(iii) PD-1リガンド、例えば、PD-L1もしくはPD-L2、またはその両方へのPD-1の結合を阻害し、または低減させる；

(iv) PD-1上のエピトープ、例えば、表1に記載の抗体BAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eにより認識されるエピトープと同一または類似のエピトープに特異的に結合する；

(v) 表1に記載のBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eと同一または類似の結合親和性もしくは特異性、またはその両方を示す；

(vi) 抗体分子、例えば、表1の配列番号35および45または配列番号55および65のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域と同一または類似の結合親和性もしくは特異性、またはその両方を示す；

(vii) 抗体分子、例えば、表1のヌクレオチド配列の配列番号36および46または配列番号56および66によりコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域と同一または類似の結合親和性もしくは特異性、またはその両方を示す；

(viii) 抗体分子、例えば、表1の配列番号37および47または配列番号57および67のアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖と同一または類似の結合親和性もしくは特異性、またはその両方を示す；

(ix) PD-1への第2の抗体分子の結合を阻害し、例えば、競合阻害し、第2の抗体分子は、本明細書に記載の抗体分子、例えば、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eから選択される抗体分子である；

(x) PD-1に対する第2の抗体分子と同一のまたは重複するエピトープに結合し、第2の抗体分子は、本明細書に記載の抗体分子、例えば、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eから選択される抗体分子である；

(xi) PD-1に対する第2の抗体分子の結合について競合し、および/または同一のエピトープに結合し、第2の抗体分子は、本明細書に記載の抗体分子、例えば、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eから選択される抗体分子である；

(xii) 本明細書に記載の抗体分子、例えば、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eから選択される抗体分子の1つ以上の生物学的特性を有する；

(xiii) 本明細書に記載の抗体分子、例えば、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eから選択される抗体分子の1つ以上の薬物動態特性を有する；

(xiv) PD-1の1つ以上の活性を阻害し、例えば、腫瘍浸潤リンパ球の増加、T細胞受容体媒介増殖の増加、または癌性細胞による免疫回避の減少の1つ以上をもたらす；

(xv) ヒトPD-1に結合し、カニクイザルPD-1と交差反応性である；

(xvi) PD-1のC鎖、CC'ループ、C'鎖、もしくはFGループ内の1つ以上の残基、またはPD-1のC鎖、CC'ループ、C'鎖もしくはFGループの2、3つもしくは全ての組合せに結合し、例えば、結合は、ELISAまたはBIACore（商標）を使用してアッセイする；または

10

20

30

40

50

(x v i i) V H 領域よりも P D - 1 への結合に寄与する V L 領域を有する。

【 0 1 2 5 】

一部の実施態様において、抗体分子は、P D - 1 に、高親和性で、例えば、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子、例えば、本明細書に記載のネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の K_D とほぼ同一、またはそれよりも少なくとも約 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 % もしくは 90 % 高いもしくは低い K_D で結合する。一部の実施態様において、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の K_D は、例えば、B I A c o r e (商標) 法により計測して約 0 . 4、0 . 3、0 . 2、0 . 1、または 0 . 05 n M 未満である。一部の実施態様において、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の K_D は、約 0 . 2 n M 未満、例えば、約 0 . 135 n M である。他の実施態様において、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の K_D は、例えば、P D - 1 を発現する細胞 (例えば、300 . 19 細胞) への結合により計測して約 10、5、3、2、または 1 n M 未満である。一部の実施態様において、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の K_D は、約 5 n M 未満、例えば、約 4 . 60 n M (または約 0 . 69 μ g / m L) である。

10

【 0 1 2 6 】

一部の実施態様において、抗 P D - 1 抗体分子は、P D - 1 に、 1×10^{-4} 、 5×10^{-5} 、または $1 \times 10^{-5} s^{-1}$ よりも遅い、例えば、約 $1.65 \times 10^{-5} s^{-1}$ の K_{off} で結合する。一部の実施態様において、抗 P D - 1 抗体分子は、P D - 1 に、 1×10^4 、 5×10^4 、 1×10^5 または $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ よりも速い、例えば、約 $1.23 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ の K_{on} で結合する。

20

【 0 1 2 7 】

一部の実施態様において、抗体分子の発現レベルは、ネズミまたはキメラ抗体分子、例えば、本明細書に記載のネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の発現レベルよりも高く、例えば、少なくとも約 0 . 5、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 倍高い。一部の実施態様において、抗体分子は、C H O 細胞中で発現される。

【 0 1 2 8 】

一部の実施態様において、抗 P D - 1 抗体分子は、1 つ以上の P D - 1 関連活性を、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子、例えば、本明細書に記載のネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の IC_{50} とほぼ同一またはそれよりも低い、例えば、少なくとも約 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 % または 90 % 低い IC_{50} (50 % 阻害における濃度) で低減させる。一部の実施態様において、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の IC_{50} は、例えば、P D - 1 を発現する細胞 (例えば、300 . 19 細胞) への結合により計測して約 6、5、4、3、2、または 1 n M 未満である。一部の実施態様において、ネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子の IC_{50} は、約 4 n M 未満、例えば、約 3 . 40 n M (または約 0 . 51 μ g / m L) である。一部の実施態様において、低減される P D - 1 関連活性は、P D - 1 への P D - L 1 および / または P D - L 2 の結合である。一部の実施態様において、抗 P D - 1 抗体分子は、ブドウ球菌エンテロトキシン B (S E B) により活性化される末梢血単核細胞 (P B M C) に結合する。他の実施態様において、抗 P D - 1 抗体分子は、S E B により活性化される全血上の I L - 2 の発現を増加させる。例えば、抗 P D - 1 抗体は、アイソタイプ対照 (例えば、I g G 4) を使用する場合の I L - 2 の発現と比較して I L - 2 の発現を少なくとも約 2、3、4、または 5 倍だけ増加させる。

30

40

【 0 1 2 9 】

一部の実施態様において、抗 P D - 1 抗体分子は、改善された安定性を有し、例えば、インビボまたはインビトロでネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子、例えば、本明細書に記載のネズミまたはキメラ抗 P D - 1 抗体分子よりも少なくとも約 0 . 5、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 倍安定である。

【 0 1 3 0 】

一実施態様において、抗 P D - 1 抗体分子はヒト化抗体分子であり、300 ~ 700、400 ~ 650、450 ~ 600 の T 細胞エピトープ分析に基づくリスクスコア、または

50

本明細書に記載のリスクスコアを有する。

【0131】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列からの少なくとも1、2、3または4つの可変領域を含む。

【0132】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列からの少なくとも1または2つの重鎖可変領域を含む。

10

【0133】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列からの少なくとも1または2つの軽鎖可変領域を含む。

20

【0134】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、IgG4、例えば、ヒトIgG4についての重鎖定常領域を含む。一実施態様において、ヒトIgG4は、EUナンバリングによる228位における置換（例えば、Ser-Pro置換）を含む。さらに別の実施態様において、抗PD-1抗体分子は、IgG1、例えば、ヒトIgG1についての重鎖定常領域を含む。一実施態様において、ヒトIgG1は、EUナンバリングによる297位における置換（例えば、Asn-Ala置換）を含む。一実施態様において、ヒトIgG1は、EUナンバリングによる265位における置換、EUナンバリングによる329位における置換、またはその両方（例えば、265位におけるAsp-Ala置換および/または329位におけるPro-Ala置換）を含む。一実施態様において、ヒトIgG1は、EUナンバリングによる234位における置換、EUナンバリングによる235位における置換、またはその両方（例えば、234位におけるLeu-Ala置換および/または235位におけるLeu-Ala置換）を含む。一実施態様において、重鎖定常領域は、表1の配列番号98~103に記載のアミノ配列、またはそれと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列を含む。

30

【0135】

さらに別の実施形態において、抗PD抗体分子は、カップ軽鎖定常領域、例えば、ヒトカップ軽鎖定常領域を含む。一実施態様において、軽鎖定常領域は、表1の配列番号104に記載のアミノ配列、またはそれと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列を含む。

40

【0136】

別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、IgG4、例えば、ヒトIgG4についての重鎖定常領域、およびカップ軽鎖定常領域、例えば、ヒトカップ軽鎖定常領域、例えば、表1に記載のアミノ配列、またはそれと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列を含む重鎖および軽鎖定常領域を含む。一実施態様において、ヒトIgG4は、E

50

Uナンバリングによる228位における置換（例えば、Ser-Pro置換）を含む。さらに別の実施態様において、抗PD-1抗体分子は、IgG1、例えば、ヒトIgG1についての重鎖定常領域、およびカッパ軽鎖定常領域、例えば、ヒトカッパ軽鎖定常領域、例えば、表1に記載のアミノ配列、またはそれと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列を含む重鎖および軽鎖定常領域を含む。一実施態様において、ヒトIgG1は、E Uナンバリングによる297位における置換（例えば、Asn-Ala置換）を含む。一実施態様において、ヒトIgG1は、E Uナンバリングによる265位における置換、E Uナンバリングによる329位における置換、またはその両方（例えば、265位におけるAsp-Ala置換および/または329位におけるPro-Ala置換）を含む。一実施態様において、ヒトIgG1は、E Uナンバリングによる234位における置換、E Uナンバリングによる235位における置換、またはその両方（例えば、234位におけるLeu-Ala置換および/または235位におけるLeu-Ala置換）を含む。

10

20

30

40

50

【0137】

別の実施態様において、抗PD-1抗体分子は、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eのアミノ酸配列、または表1に記載のまたは表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列を含む重鎖可変ドメインおよび定常領域、軽鎖可変ドメインおよび定常領域、またはその両方を含む。抗PD-1抗体分子は、場合により、重鎖、軽鎖、もしくはその両方からのリーダー配列、またはそれと実質的に同一である配列を含む。

【0138】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体の重鎖可変領域、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列からの少なくとも1、2、または3つの相補性決定領域（CDR）を含む。

【0139】

さらに別の実施態様において、抗PD-1抗体分子は、表1に示されるアミノ酸配列、または表1に示されるヌクレオチド配列によりコードされるものを含む重鎖可変領域からの少なくとも1、2、または3つのCDR（またはまとめてCDRの全て）を含む。一実施態様において、CDRの1つ以上（またはまとめてCDRの全て）は、表1に示されるアミノ酸配列、または表1に示されるヌクレオチド配列によりコードされるものに対して1、2、3、4、5、6つまたはそれ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0140】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列の軽鎖可変領域からの少なくとも1、2または3つのCDRを含む。

【0141】

さらに別の実施態様において、抗PD-1抗体分子は、表1に示されるアミノ酸配列、または表1に示されるヌクレオチド配列によりコードされるものを含む軽鎖可変領域からの少なくとも1、2または3つのCDR（またはまとめてCDRの全て）を含む。一実施態様において、CDRの1つ以上（またはまとめてCDRの全て）は、表1に示されるアミノ酸配列、または表1に示されるヌクレオチド配列によりコードされるものに対して1

、2、3、4、5、6つまたはそれ以上の変化、例えば、アミノ酸置換または欠失を有する。

【0142】

一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるものからの6つ全てのCDR、または密接に関連するCDR、例えば、同一であり、もしくは少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更（例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換）を有するCDRを含む。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の任意のCDRを含み得る。ある実施形態において、抗PD-1抗体分子は、軽鎖CDR中の置換、例えば、軽鎖のCDR1、CDR2および/またはCDR3中の1つ以上の置換を含む。

10

【0143】

別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eのいずれかから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列の重鎖可変領域からのKabattらによる少なくとも1、2、もしくは3つのCDR（例えば、表1に記載のKabatt定義による少なくとも1、2、または3つのCDR）；または表1に示されるKabattらによる1、2、もしくは3つのCDRに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更（例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換）を有するものを含む。

20

【0144】

別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eのいずれかから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列の軽鎖可変領域からのKabattらによる少なくとも1、2、もしくは3つのCDR（例えば、表1に記載のKabatt定義による少なくとも1、2、または3つのCDR）；または表1に示されるKabattらによる1、2、もしくは3つのCDRに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更（例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換）を有するものを含む。

30

【0145】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列の重鎖および軽鎖可変領域からのKabattらによる少なくとも1、2、3、4、5、もしくは6つのCDR（例えば、表1に記載のKabatt定義による少なくとも1、2、3、4、5、または6つのCDR）；または表1に示されるKabattらによる1、2、3、4、5、もしくは6つのCDRに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更（例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換）を有するものを含む。

40

【0146】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95

50

%、97%、98%、99%またはそれ以上同一)である配列の重鎖および軽鎖可変領域からのKabatらによる6つ全てのCDR(例えば、表1に記載のKabat定義による6つ全てのCDR);または表1に示されるKabatらによる6つ全てのCDRに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更(例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換)を有するものを含む。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の任意のCDRを含み得る。

【0147】

別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるものの重鎖可変領域からの少なくとも1、2、もしくは3つのChothia超可変ループ(例えば、表1に記載のChothia定義による少なくとも1、2、または3つの超可変ループ);または少なくともPD-1と接触するそれらの超可変ループからのアミノ酸;または表1に示されるChothiaらによる1、2、もしくは3つの超可変ループに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更(例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換)を有するものを含む。

10

【0148】

別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるものの軽鎖可変領域からの少なくとも1、2、もしくは3つのChothia超可変ループ(例えば、表1に記載のChothia定義による少なくとも1、2、または3つの超可変ループ);または少なくともPD-1と接触するそれらの超可変ループからのアミノ酸;または表1に示されるChothiaらによる1、2、もしくは3つの超可変ループに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更(例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換)を有するものを含む。

20

【0149】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体、または表1のヌクレオチド配列によりコードされるものの重鎖および軽鎖可変領域からの少なくとも1、2、3、4、5、もしくは6つの超可変ループ(例えば、表1に記載のChothia定義による少なくとも1、2、3、4、5、または6つの超可変ループ);または少なくともPD-1と接触するそれらの超可変ループからのアミノ酸;または表1に示されるChothiaらによる1、2、3、4、5もしくは6つの超可変ループに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更(例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換)を有するものを含む。

30

【0150】

一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載のBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体の重鎖可変領域からの6つ全ての超可変ループ(例えば、表1に記載のChothia定義による6つ全ての超可変ループ)、または密接に関連する超可変ループ、例えば、同一であり、もしくは少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更(例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換)を有する超可変ループ;または表1に示されるChothiaらによる6つ全ての超可変ループに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更(例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換)を有するものを含む。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の任意の超可変ループを含み得る。

40

【0151】

さらに別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、BAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eから選択される抗体の

50

対応する超可変ループと同一のカノニカル構造、例えば、本明細書に記載の重鎖および／または軽鎖可変ドメインの少なくともループ1および／またはループ2と同一のカノニカル構造を有する少なくとも1、2、または3つの超可変ループを含む。例えば、超可変ループカノニカル構造の説明についてはChothia et al., (1992) J. Mol. Biol. 227: 799-817; Tomlinson et al., (1992) J. Mol. Biol. 227: 776-798参照。これらの構造は、それらの参考文献に記載の表の精査により決定することができる。

【0152】

ある実施態様において、抗PD-1抗体分子は、KabataまたはChothiaらにより定義されるCDRまたは超可変ループの組合せを含む。

10

【0153】

一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、KabataもしくはChothia定義による表1に示されるBAP049-クローン-BもしくはBAP049-クローン-Eから選択される抗体；または表1のヌクレオチド配列によりコードされるもの；または上記配列のいずれかと実質的に同一（例えば、少なくとも80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%またはそれ以上同一）である配列の重鎖可変領域からの少なくとも1、2もしくは3つのCDRもしくは超可変ループ（例えば、表1に記載のKabataまたはChothia定義による少なくとも1、2、または3つのCDRまたは超可変ループ）；または表1に示されるKabataもしくはChothiaによる1、2、もしくは3つのCDRもしくは超可変ループに対して少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3もしくは4つ以下の変更（例えば、置換、欠失または挿入、例えば、保存的置換）を有するものを含む。

20

【0154】

例えば、抗PD-1抗体分子は、例えば、表1に示される、KabataらによるVH CDR1もしくはChothiaらによるVH超可変ループ1、またはそれらの組合せを含み得る。一実施態様において、VH CDR1のKabataおよびChothiaのCDRの組合せは、アミノ酸配列GYFTTYWMH（配列番号93）、またはそれと実質的に同一であるアミノ酸配列（例えば、少なくとも1つのアミノ酸変更を有するが、2、3または4つ以下の変更（例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換）を有する）を含む。抗PD-1抗体分子は、例えば、表1に示される、例えば、KabataらによるVH CDR2~3およびKabataらによるVL CDR1~3をさらに含み得る。したがって、一部の実施態様において、フレームワーク領域は、Kabataらにより定義されるCDRおよびChothiaらにより定義される超可変ループの組合せに基づき定義される。例えば、抗PD-1抗体分子は、ChothiaらによるVH超可変ループ1に基づき定義されるVH FR1およびKabataらによるVH CDR1~2に基づき定義されるVH FR2を含み得る。抗PD-1抗体分子は、例えば、KabataらによるVH CDR2~3に基づき定義されるVH FR3~4およびKabataらによるVL CDR1~3に基づき定義されるVL FR1~4をさらに含み得る。

30

【0155】

抗PD-1抗体分子は、KabataおよびChothia定義によるCDRまたは超可変ループの任意の組合せを含有し得る。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の抗体、例えば、KabataおよびChothia定義によるBAP049-クローン-BまたはBAP049-クローン-Eのいずれかから選択される抗体の軽鎖可変領域からの少なくとも1、2または3つのCDR（例えば、表1に記載のKabataおよびChothia定義による少なくとも1、2、または3つのCDR）を含む。

40

【0156】

本明細書の組合せにおいて、別の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、(i) 配列番号29、配列番号32、または配列番号93から選択されるVH CDR1アミノ酸配列；配列番号30または配列番号33のVH CDR2アミノ酸配列；および配列番号31のVH CDR3アミノ酸配列を含む重鎖可変領域（VH）；ならびに(ii) 配列番号3

50

9 または配列番号 42 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 40 または配列番号 43 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 41 または配列番号 44 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む。

【0157】

一実施形態において、抗 P D - 1 抗体分子は、配列番号 29 の V H C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 30 の V H C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 31 の V H C D R 3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) ; ならびに配列番号 39 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 40 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 41 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む。

【0158】

一実施形態において、抗 P D - 1 抗体分子は、配列番号 32 の V H C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 33 の V H C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 34 の V H C D R 3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) ; ならびに配列番号 42 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 43 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 44 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む。

【0159】

一実施形態において、抗 P D - 1 抗体分子は、配列番号 93 の V H C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 33 の V H C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 34 の V H C D R 3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) ; ならびに配列番号 42 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 43 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 44 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む ; または。

【0160】

一実施形態において、抗 P D - 1 抗体分子は、配列番号 93 の V H C D R 1 アミノ酸配列 ; 配列番号 30 の V H C D R 2 アミノ酸配列 ; および配列番号 31 の V H C D R 3 アミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) ; ならびに配列番号 39 の V L C D R 1 アミノ酸配列、配列番号 40 の V L C D R 2 アミノ酸配列、および配列番号 41 の V L C D R 3 アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む。

【0161】

構築物および細胞

I L - 15 および / または I L - 15 R a および / または抗 P D - 1 抗体分子をコードする核酸は、哺乳動物細胞、細菌、酵母、およびウイルス中での発現のための核酸構築物中に挿入することができる。I L - 15 および I L - 15 R a は、同一の核酸構築物から (例えば、バイシストロン性核酸構築物を使用して) または異なる核酸構築物から (例えば、モノシストロン性核酸構築物を使用して) 組換え発現させることができる。一実施形態において、I L - 15 および I L - 15 R a は、I L - 15 および I L - 15 R a の単一のオープンリーディングフレーム (O R F) を含む単一核酸構築物から組換え発現させることができる。

【0162】

核酸構築物は、I L - 15 および / または I L - 15 R a および / または抗 P D - 1 抗体分子のコード配列に作動可能に結合している 1 つ以上の転写調節エレメントを含み得る。転写調節エレメントは、典型的には、コード配列に対して 5 ' 側であり、I L - 15 および / または I L - 15 R a および / または抗 P D - 1 抗体分子をコードする核酸の転写を指向する。一部の実施形態において、野生型 I L - 15 および / または野生型 I L - 15 R a 遺伝子の転写を調節することが本来見出される転写調節エレメントの 1 つ以上が、転写を制御するために使用される。他の実施形態において、野生型 I L - 15 および / または野生型 I L - 15 R a 遺伝子に対して異種である 1 つ以上の転写調節エレメントが、転写を制御するために使用される。当業者に公知の任意の転写調節エレメントを使用することができる。転写調節エレメントのタイプの非限定的な例としては、構成的プロモーター、組織特異的プロモーター、および誘導性プロモーターが挙げられる。具体的な実施形態において、転写は、少なくとも部分的には、哺乳動物 (一部の実施形態において、ヒト

10

20

30

40

50

）転写調節エレメントにより制御される。具体的な実施形態において、転写は、少なくとも部分的に、強力なプロモーター、例えば、CMVにより制御される。他の態様において、誘導性プロモーターを使用することができる。

【0163】

核酸構築物は、IL-15および/またはIL-15Raおよび/または抗PD-1抗体分子のコード配列に作動可能に結合している1つ以上の転写後調節エレメントも含み得る。転写後調節エレメントは、コード配列に対して5'および/または3'側であり、IL-15および/またはIL-15Raおよび/または抗PD-1抗体分子をコードするRNA転写産物の翻訳の転写後調節を指向し得る。

【0164】

別の態様において、核酸構築物は、例えば、国際公開第1994/12650号パンフレットおよび国際公開第2001/68882号パンフレットに記載の通り、遺伝子の既存の調節領域を、異なる遺伝子から単離された調節配列または新規調節配列により置き換えるベクターを標的化する遺伝子であり得る。ある実施形態において、宿主細胞は、例えば、内因性IL-15および/またはIL-15Ra遺伝子の調節領域を変更することにより内因性IL-15および/またはIL-15Raの産生を増加させるように遺伝子操作することができる。

【0165】

選択される核酸構築物は、種々の因子、例として、限定されるものではないが、転写調節エレメントの強度ならびにIL-15および/またはIL-15Raおよび/または抗PD-1抗体分子を発現させるために使用すべき宿主細胞に依存する。核酸構築物は、プラスミド、ファージミド、コスミド、ウイルスベクター、ファージ、人工染色体などであり得る。一態様において、ベクターは、任意の好適な手段（形質転換、形質移入、コンジュゲーション、プロトプラスト融合、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、直接マイクロインジェクションなど）により適切な宿主細胞中に導入してそれらを形質転換することができるエピソードまたは非相同期組込みベクターであり得る。

【0166】

核酸構築物は、宿主細胞中でのIL-15および/またはIL-15Raおよび/または抗PD-1抗体分子の一過的または安定的発現のためのプラスミドまたは安定的組込みベクターであり得る。安定的発現のため、ベクターは、標的部位またはランダム染色体部位における染色体組込みを媒介し得る。IL-15および/またはIL-15Raおよび/または抗PD-1抗体分子を発現させるために使用することができる宿主細胞-ベクター系の非限定的な例としては、ウイルス（例えば、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、レトロウイルス、レンチウイルスなど）が感染した哺乳動物細胞系；ウイルス（例えば、バキュロウイルス）が感染した昆虫細胞系；微生物、例えば、酵母ベクターを含有する酵母、またはバクテリオファージ、DNA、プラスミドDNA、もしくはコスミドDNAにより形質転換された細菌；および選択マーカーを使用する形質転換により生成された安定的細胞系が挙げられる。一部の実施形態において、核酸構築物は、選択マーカー遺伝子、例として、限定されるものではないが、ネオマイシン（neo）、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（dhfr）およびハイグロマイシン（hyg）を含む。

【0167】

核酸構築物は、モノシストロン性またはマルチシストロン性であり得る。マルチシストロン性核酸構築物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10個もしくはそれ以上、または2~5、5~10もしくは10~20個の範囲の遺伝子/ヌクレオチド配列をコードし得る。例えば、バイシストロン性核酸構築物は、以下の順で、プロモーター、第1の遺伝子（例えば、IL-15）、および第2の遺伝子および（例えば、IL-15Ra）を含み得る。このような核酸構築物において、両方の遺伝子の転写はプロモーターによりドライブされる一方、第1の遺伝子からのmRNAの翻訳は、キャップ依存性スキャニング機序によるものであり、第2の遺伝子からのmRNAの翻訳は、キャップ非依存性機序、例えば、IRESによるものである。

10

20

30

40

50

【0168】

これらの態様を実施するための技術は、特に示されない限り、当業者により定型的に実施される分子生物学、微生物学、ならびに組換えDNA操作および産生の慣用の技術を用いる。例えば、Sambrook, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition; DNA Cloning, Volumes I and II (Glover, Ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (Gait, Ed. 1984); Nucleic Acid Hybridization (Hames & Higgins, Eds. 1984); Transcription and Translation (Hames & Higgins, Eds. 1984); Animal Cell Culture (Freshney, Ed. 1986); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Miller & Calos, Eds. 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods in Enzymology, Volumes 154 and 155 (それぞれWu & Grossman, and Wu, Eds.), (Mayer & Walker, Eds., 1987); Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Academic Press, London, Scopes, 1987), Expression of Proteins in Mammalian Cells Using Vaccinia Viral Vectors in Current Protocols in Molecular Biology, Volume 2 (Ausubel et al., Eds., 1991) 参照。

10

20

【0169】

核酸の発現のために選択される宿主細胞は、細胞の使用目的に依存する。例えば、IL-15および/またはIL-15Raおよび/または抗PD-1抗体分子を内因的に発現する細胞と同様に細胞がグリコシル化するか否かのような因子を、宿主細胞の選択において考慮することができる。

30

【0170】

本明細書の核酸構築物によりコードされるタンパク質を発現させるために使用することができる宿主細胞の非限定的な例としては、哺乳動物細胞、細菌細胞、酵母細胞、初代細胞、不死化細胞、植物細胞および昆虫細胞が挙げられる。具体的な実施形態において、宿主細胞は、哺乳動物細胞系である。哺乳動物細胞系の例としては、限定されるものではないが、COS、CHO、HeLa、NIH3T3、HepG2、MCF7、HEK293、HEK293T、RD、PC12、ハイブリドーマ、ブレB細胞、293、293H、K562、SkBr3、BT474、A204、M07Sb、TF1、Raji、Jurkat、MOLT-4、CTLL-2、MC-IXC、SK-N-MC、SK-N-MC、SK-N-DZ、SH-SY5Y、C127、N0、およびBE(2)-C細胞が挙げられる。発現のための宿主として利用可能な他の哺乳動物細胞系は当該技術分野において公知であり、それとしては、American Type Culture Collection (ATCC) から利用可能な多くの不死化細胞系が挙げられる。

40

【0171】

具体的な実施形態において、IL-15またはIL-15Raをコードする核酸構築物は、同一の宿主細胞または異なる宿主細胞中に同時形質移入または形質移入することができる。場合により、選択マーカー遺伝子をコードする核酸を含む核酸構築物を同一の細胞中に形質移入して形質移入細胞を選択することもできる。IL-15およびIL-15Raをコードする核酸を含む核酸構築物が異なる細胞中に形質移入される場合、異なる細胞により発現されるIL-15およびIL-15Raを単離し、上記のIL-15/IL-15Ra複合体を形成するために好適な条件下で互いに接触させることができる。当業者

50

に公知の任意の技術、例として、例えば、形質転換、形質移入、コンジュゲーション、プロトプラスト融合、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、直接マイクロインジェクション、ならびにウイルス、例として、限定されるものではないが、アデノウイルス、レンチウイルス、およびレトロウイルスによる感染を使用して核酸により宿主細胞を形質移入または形質導入することができる。

【0172】

組換えIL-15およびIL-15Raポリペプチドならびに/または抗PD-1抗体分子の長期高収量産生のため、安定的細胞系を生成することができる。例えば、細胞系は、同一または別個の核酸構築物上に選択マーカー遺伝子を含む本明細書に記載の核酸構築物を使用して形質転換することができる。選択マーカー遺伝子は、同時形質移入により同一の細胞中に導入することができる。ベクターの導入後、細胞を濃縮培地中で1~2日間成長させてから選択培地に交換して導入核酸を良好に発現する細胞の成長および回収を可能とする。安定的形質転換細胞の耐性クローンは、細胞タイプに適切である当該技術分野において周知の組織培養技術を使用して増殖させることができる。特定の実施形態において、細胞系は、無血清培地中で成長するように適合されたものである。一実施形態において、細胞系は、シェーカーフラスコ中で無血清培地中で成長するように適合されたものである。一実施形態において、細胞系は、攪拌または回転フラスコ中で成長するように適合されたものである。ある実施形態において、細胞系は、懸濁液中で培養される。特定の実施形態において、細胞系は、接着しておらず、または非接着細胞として成長するように適合されたものである。ある実施形態において、細胞系は、低カルシウム条件下で成長するように適合されたものである。一部の実施形態において、細胞系は、低血清培地中で培養され、または成長するように適合されている。

【0173】

具体的な実施形態において、本発明の組換えポリペプチドの高収量産生の特に好ましい方法は、米国特許第4,889,803号明細書に記載の連続的に増加するレベルのメトトレキサートの使用によるDHFR欠損CHO細胞中のジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)増幅の使用を介するものである。このような細胞から得られたポリペプチドは、グリコシル化形態であり得る。

【0174】

一実施形態において、細胞系は、野生型ヒトIL-15および野生型可溶性ヒトIL-15Raの安定的ヘテロ二量体を発現するように遺伝子操作し、次いでそれを精製し、ヒトに投与することができる。一実施形態において、IL-15/IL-15Raヘテロ二量体の安定性は、IL-15およびIL-15Raの両方を組換え発現する細胞系から産生された場合に増加する。

【0175】

具体的な実施形態において、宿主細胞は、IL-15および全長IL-15Raを組換え発現する。別の具体的な実施形態において、宿主細胞は、IL-15およびIL-15Raの可溶性形態を組換え発現する。別の具体的な実施形態において、宿主細胞は、IL-15および細胞の表面から開裂されず、細胞と会合したままであるIL-15Raの膜結合形態を組換え発現する。一部の実施形態において、IL-15および/またはIL-15Ra(全長または可溶性形態)を組換え発現する宿主細胞は、別のポリペプチド(例えば、サイトカインまたはその断片)も組換え発現する。

【0176】

ある実施形態において、このような宿主細胞は、このような宿主細胞は、IL-15Raポリペプチドに加え、IL-15ポリペプチドを組換え発現する。IL-15および/またはIL-15Raをコードする核酸を使用してIL-15およびIL-15Raの単離および精製のためにIL-15およびIL-15Raを多量に組換え発現する哺乳動物細胞を生成することができ、好ましくは、IL-15およびIL-15Raは、複合体として会合している。一実施形態において、多量のIL-15/IL-15Ra複合体は、対照細胞(例えば、IL-15、IL-15Ra、もしくはIL-15およびIL-15

R a の両方を組換え発現するように遺伝子操作されていない細胞、または空ベクターを含む細胞)により内因的に発現される I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体の量よりも少なくとも 1 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、1 0 倍、2 0 倍、または 2 0 倍よりも多い、細胞により発現される I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体の量を指す。一部の実施形態において、本明細書に記載の宿主細胞は、当業者に公知の技術(例えば、E L I S A)により計測しておよそ 0 . 1 p g ~ 2 5 p g、0 . 1 p g ~ 2 0 p g、0 . 1 p g ~ 1 5 p g、0 . 1 p g ~ 1 0 p g、0 . 1 p g ~ 5 p g、0 . 1 p g ~ 2 p g、2 p g ~ 1 0 p g、または 5 ~ 2 0 p g の I L - 1 5 を発現する。ある実施形態において、本明細書に記載の宿主細胞は、当該技術分野において公知の技術(例えば、E L I S A)により計測して 1 日当たりおよそ 0 . 1 ~ 0 . 2 5 p g、1 日当たり 0 . 2 5 ~ 0 . 5 p g、1 日当たり 0 . 5 ~ 1 p g、1 日当たり 1 ~ 2 p g、1 日当たり 2 ~ 5 p g、または 1 日当たり 5 ~ 1 0 p g の I L - 1 5 を発現する。具体的な実施形態において、I L - 1 5 R a は、I L - 1 5 R a の可溶性形態である。具体的な実施形態において、I L - 1 5 R a は、安定的ヘテロ二量体で I L - 1 5 と会合している I L - 1 5 R a の可溶性形態であり、それは収量を増加させ、生物活性ヘテロ二量体 I L - 1 5 / 可溶性 I L - 1 5 R a サイトカインの産生および精製を簡易化させる。

【0177】

組換え I L - 1 5 および I L - 1 5 R a ならびに抗 P D - 1 抗体分子は、組換えタンパク質産生および精製の方法を使用して精製することができ、それらは当該技術分野において周知である、例えば、国際公開第 2 0 0 7 / 0 7 0 4 8 8 号パンフレット参照。簡潔に述べると、ポリペプチドは、細胞内で、ペリプラズム空間中で産生することができ、または培地中で直接分泌させることができる。ポリペプチドを含む細胞溶解物または上清は、例えば、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、および親和性クロマトグラフィーを使用して精製することができる。タンパク質精製のための他の技術、例えば、イオン交換カラム上の分別、エタノール沈殿、逆相 H P L C、シリカ上でのクロマトグラフィー、ヘパリン S E P H A R O S E (商標)(ゲル濾過物質; P h a r m a c i a I n c . , P i s c a t a w a y , N e w J e r s e y) 上でのクロマトグラフィー、アニオンまたはカチオン交換樹脂(例えば、ポリアスバラギン酸カラム)上でのクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、S D S - P A G E、および硫酸アンモニウム沈殿も利用可能である。

【0178】

一部の実施形態において、I L - 1 5 および I L - 1 5 R a は、合成し、または異なる細胞により組換え発現させ、続いて単離し、合わせて I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体をインビトロで形成してから対象に投与する。他の実施形態において、I L - 1 5 および I L - 1 5 R a は、合成し、または異なる細胞により組換え発現させ、続いて単離し、次いで I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体をインサイチューまたはインビボで対象に同時投与する。さらに他の実施形態において、I L - 1 5 および I L - 1 5 R a は、合成し、または同一の細胞により一緒に発現させ、形成された I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体を単離する。

【0179】

組成物

I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体を含む組成物が本明細書に提供される。抗 P D - 1 抗体分子を含む組成物も本明細書に提供される。組成物としては、医薬組成物の製造において有用なバルク薬物組成物(例えば、不純または非滅菌組成物)および単位剤形の調製において使用することができる医薬組成物(すなわち、対象または患者への投与に好適な組成物)が挙げられる。組成物(例えば、医薬組成物)は、有効量の I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体もしくは抗 P D - 1 抗体分子、または I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体もしくは抗 P D - 1 抗体分子の組合せおよび薬学的に許容可能な担体を含む。具体的な実施形態において、組成物(例えば、医薬組成物)は、有効量の 1 つ以上の I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体または抗 P D - 1 抗体分子および薬学的に許容可能な担体を含む。一

10

20

30

40

50

部の実施形態において、組成物は、追加の治療薬、例えば、抗癌剤、抗ウイルス剤、抗炎症剤、アジュバントをさらに含む。このような治療薬の非限定的な例は、以下に提供される。

【0180】

具体的な実施形態において、用語「薬学的に許容可能な」は、動物、特にヒトにおける使用について連邦政府の管理機関もしくは州政府により承認されているまたは米国薬局方もしくは一般に認知されている他の薬局方に列記されていることを意味する。用語「担体」は、治療薬と投与される希釈剤、アジュバント（例えば、フロイントアジュバント（完全および不完全）、または、より好ましくは、MF59C.1アジュバント）、賦形剤またはビヒクルを指す。このような医薬担体は、無菌液体、例えば、水および油、例として、石油、動物、植物または合成起源のもの、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油などであり得る。一実施形態において、医薬組成物が静脈内投与される場合、水が担体である。生理食塩水ならびに水性デキストロスおよびグリセロール溶液を液状担体、特に、注射液剤用として用いることもできる。好適な医薬賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、イネ、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。組成物は、所望により、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤も含有し得る。これらの組成物は、液剤、懸濁液剤、乳濁液剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、徐放性配合物などの形態を取り得る。

10

20

【0181】

医薬組成物は、1つ以上の薬学的に許容可能な担体または賦形剤を使用して任意の慣用の様式で配合することができる。具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法に従って対象に投与されるIL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子は、医薬組成物として投与される。

【0182】

一般に、IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子を含む医薬組成物の構成成分は、単位剤形で別個にまたは一緒に混合して供給され、例えば、密閉容器、例えば、活性剤の量を示すアンプルまたは小袋中の乾燥凍結粉末または無水濃縮物として供給される。IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子を注入により投与すべき場合、滅菌された医薬グレードの水または生理食塩水（例えば、PBS）を含有する注入ボトルにより分注することができる。IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子を注射により投与する場合、成分を投与前に混合することができるように注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルを提供することができる。

30

【0183】

一部の実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子は、当業者に公知の任意の方法による投与、例として、限定されるものではないが、非経口（例えば、皮下、静脈内、腫瘍内または筋肉内）投与のために配合することができる。一実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子は、局所または全身非経口投与、例えば、腫瘍内投与のために配合される。具体的な実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子は、それぞれ皮下または静脈内投与のために配合される。一実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子は、薬学的に適合性の溶液中で配合される。

40

【0184】

IL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子は、注射による、例えば、ボラス注射または連続注入による非経口投与のために配合することができる。注射用配合物は、例えば、アンプルまたは複数回投与用容器中で添加された保存剤とともに単位剤形で提供することができる。組成物は、油性または水性ビヒクル中で、懸濁液剤、液剤または乳濁液剤のような形態を取り得、配合剤、例えば、懸濁化剤、安定剤および/または分散剤を含有し得る。あるいは、活性成分は、好適なビヒクル、例えば、滅菌バイロジ

50

エンフリー水による使用前の構成のための粉末形態であり得る。

【0185】

予防および治療的使用のための用量レジメン

一態様において、IL-15 媒介免疫機能を向上させる方法であって、複合体 IL-15 / IL-15Ra 複合体を規定の用量レジメンにおいて対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。IL-15 媒介免疫機能の向上はある障害の予防、治療および / または管理に有益であるため、そのような障害を予防し、治療し、および / または管理する方法であって、それが必要とされる対象に IL-15 / IL-15Ra 複合体を投与することを含む方法が本明細書に提供される。IL-15 媒介免疫機能を向上させることが有益である障害の非限定的な例としては、癌、リンパ球減少、免疫不全、感染性疾患、および創傷が挙げられる。

10

【0186】

一実施形態において、対象における障害を予防し、治療し、および / または管理するにあたり、IL-15 媒介免疫機能の向上がそのような障害の予防、治療および / または管理に有益である方法であって、同一用量の IL-15 / IL-15Ra 複合体を対象に治療サイクルの持続期間にわたり投与することを含む方法が本明細書に提供される。一実施形態において、用量は、 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg}$ および $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ の範囲である。一実施形態において、用量は、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg}$ および $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ の範囲である。具体的な実施形態において、用量は、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ および $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ の範囲である。別の実施形態において、用量は、 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 4 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、用量は、 $2 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、用量は、 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $4 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $6 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。具体的な実施形態において、用量は、 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。ある実施形態において、用量は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 回もしくはそれ以上、または 1 ~ 3、1 ~ 4、2 ~ 4、2 ~ 5、2 ~ 6、3 ~ 6、4 ~ 6、6 ~ 8、5 ~ 8、もしくは 5 ~ 10 回投与される。一部の実施形態において、用量は、5 ~ 7 日間、5 ~ 10 日間、7 ~ 12 日間、7 ~ 14 日間、7 ~ 21 日間または 14 ~ 21 日間の期間にわたり 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 回もしくはそれ以上、または 1 ~ 3、1 ~ 4、2 ~ 4、2 ~ 5、1 ~ 5、2 ~ 6、3 ~ 6、4 ~ 6 もしくは 6 ~ 8 回投与される。具体的な実施形態において、それぞれの用量は、5 ~ 7 日間、5 ~ 10 日間、7 ~ 12 日間、7 ~ 14 日間、7 ~ 21 日間または 14 ~ 21 日間の期間にわたり少なくとも 1、2、3、4、5、6 回またはそれ以上投与される。別の具体的な実施形態において、それぞれの用量は、少なくとも 1 回投与され、対象は、3 週間の期間にわたり週 1 回用量が投与される。

20

30

【0187】

別の実施形態において、対象における障害を予防し、治療し、および / または管理するにあたり、IL-15 媒介免疫機能の向上がそのような障害の予防、治療および / または管理に有益である方法であって、IL-15 / IL-15Ra 複合体を対象に投与レジメンにおいて非投与期間前に投与サイクルにおいて少なくとも 1、2、4 回または 6 回投与することを含む方法が本明細書に提供される。具体的な実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体を 3 週間にわたり週 1 回提供し、4 週目は投与しない。次いで、この投与サイクルを繰り返す。

40

【0188】

代替実施形態において、対象における障害を予防し、治療し、および / または管理するにあたり、IL-15 媒介免疫機能の向上がそのような障害の予防、治療および / または管理に有益である方法であって、(a) 少なくとも 1 回の初期低用量の IL-15 / IL-15Ra 複合体を対象に投与すること；および (b) 連続的に高くなる用量の IL-15 / IL-15Ra 複合体を治療サイクルの持続期間にわたり対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。具体的な実施形態において、対象における癌を予防し、治療し、および / または管理する方法であって、(a) 初期用量の IL-15 / IL-15

50

R a 複合体を対象に治療サイクルの持続期間にわたり投与すること；および（b）連続的に高くなる用量の I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体を対象に治療サイクルの持続期間にわたり投与することを含む方法が本明細書に提供される。具体的な実施形態において、初期用量は、 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg}$ および $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ の範囲である。具体的な実施形態において、初期用量は、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg}$ および $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ の範囲である。別の実施形態において、初期用量は、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ および $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ の範囲である。具体的な実施形態において、初期用量は、 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 4 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、初期用量は、 $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ および $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、初期用量は、約 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、初期用量は、約 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、初期用量は、約 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。別の実施形態において、初期用量は、 $0.1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.25 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $4 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $5 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $6 \mu\text{g} / \text{kg}$ 、 $8 \mu\text{g} / \text{kg}$ である。ある実施形態において、初期用量は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 回もしくはそれ以上、または 1 ~ 3、1 ~ 4、2 ~ 4、2 ~ 5、2 ~ 6、3 ~ 6、4 ~ 6、6 ~ 8、5 ~ 8、もしくは 5 ~ 10 回投与される。一部の実施形態において、初期用量は、5 ~ 7 日間、5 ~ 10 日間、7 ~ 12 日間、7 ~ 14 日間、7 ~ 21 日間もしくは 14 ~ 21 日間の期間にわたり 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 回もしくはそれ以上、または 1 ~ 3、1 ~ 4、2 ~ 4、2 ~ 5、1 ~ 5、2 ~ 6、3 ~ 6、4 ~ 6 もしくは 6 ~ 8 回投与される。ある実施形態において、それぞれの連続的に高くなる用量は、前回用量よりも 1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、もしくは 6 倍高く、または前回用量よりも 1.2 ~ 2、2 ~ 3、2 ~ 4、1 ~ 5、2 ~ 6、3 ~ 4、3 ~ 6、もしくは 4 ~ 6 倍高く、または前回用量よりも 2 倍高い。一部の実施形態において、それぞれの連続的に高くなる用量は、前回用量よりも 25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、105%、110%、115%、120%、125%、130%、135%、140%、145%、150%、155%、160%、165%、170%、175%、180%、185%、190%、195%、または 200% 高い。具体的な実施形態において、それぞれの用量は、5 ~ 7 日間、5 ~ 10 日間、7 ~ 12 日間、7 ~ 14 日間、7 ~ 21 日間または 14 ~ 21 日間の期間にわたり少なくとも 1、2、3、4、5、6 回またはそれ以上投与される。別の具体的な実施形態において、それぞれの用量は少なくとも 1 回投与され、対象は、2 週間の期間にわたり週 7 日間当たり 3 回（例えば、月曜日、水曜日および金曜日）用量を投与される。

【0189】

ある実施形態において、対象は、以下の有害事象、例えば、グレード 3 または 4 の血小板減少、グレード 3 または 4 の顆粒球減少、グレード 3 または 4 の白血球増加（白血球（WBC） $> 100,000 \text{ mm}^3$ ）、グレード 3 または 4 の WBC、リンパ球絶対数（ALC）および / または好中球絶対数（ANC）の減少、リンパ球増加ならびに臓器機能不全（例えば、肝または腎機能不全）についてモニタリングされる。ある実施形態において、用量は増加させず、対象が有害事象、例えば、グレード 3 または 4 の血小板減少、グレード 3 または 4 の顆粒球減少、グレード 3 または 4 の白血球増加（白血球（WBC） $> 100,000 \text{ mm}^3$ ）、グレード 3 または 4 の WBC、リンパ球絶対数（ALC）および / または好中球絶対数（ANC）の減少、リンパ球増加、ならびに臓器機能不全（例えば、肝または腎機能不全）を経験する場合には用量は同一のままであり得、停止または低減させることができる。これらの実施形態によれば、対象に投与される I L - 1 5 / I L - 1 5 R a 複合体の用量は、有害事象が減少または消失するまで低減させることができ、または同一のままであり得る。

【0190】

別の実施形態において、対象における障害を予防し、治療し、および / または管理するにあたり、I L - 1 5 媒介免疫機能の向上がそのような障害の予防、治療および / または

管理に有益である方法であって、IL-15/IL-15Ra複合体を、 $0.25\mu\text{g}/\text{kg} \sim 4\mu\text{g}/\text{kg}$ の初期用量を含む第1のサイクルから開始し、後続のサイクルにおいて用量を前回の用量と比べて2～3倍増加させる用量レジメンにおいてヒト対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。それぞれの用量は、少なくとも1、2、4回または6回投与してから用量を次のレベルに上昇させ、ある用量のIL-15/IL-15Ra複合体の投与後の一定期間（例えば、ある用量のIL-15/IL-15Ra複合体の投与後のおよそ24時間～およそ48時間、およそ24時間～およそ36時間、およそ24時間～およそ72時間、およそ48時間～およそ72時間、およそ36時間～およそ48時間、またはおよそ48時間～60時間および別の用量のIL-15/IL-15Ra複合体の投与前）、対象から得られた試料（例えば、血漿試料）中の遊離IL-15の濃度をモニタリングしてから用量を次のレベルに上昇させる。

10

【0191】

別の実施形態において、対象における障害を予防し、治療し、および/または管理するにあたり、IL-15媒介免疫機能の向上がそのような障害の予防、治療および/または管理に有益である方法であって、IL-15/IL-15Ra複合体を、以下の連続用量：(i) $0.25\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(ii) $0.5\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(iii) $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(iv) $2\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(v) $4\mu\text{g}/\text{kg}$ ；および(vi) $8\mu\text{g}/\text{kg}$ における用量レジメンにおいて対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。ある実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体は、以下の連続用量：(i) $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(ii) $2\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(iii) $4\mu\text{g}/\text{kg}$ ；および(iv) $8\mu\text{g}/\text{kg}$ における用量レジメンにおいて対象に投与する。それぞれの用量は、投与サイクルにおいて少なくとも1、2、4回または6回投与してから用量を次のレベルに上昇させ、ある用量のIL-15/IL-15Ra複合体の投与後の一定期間（例えば、ある用量のIL-15/IL-15Ra複合体の投与後のおよそ24時間～およそ48時間後、およそ24時間～およそ36時間、およそ24時間～およそ72時間、およそ48時間～およそ72時間、およそ36時間～およそ48時間、またはおよそ48時間～60時間および別の用量のIL-15/IL-15Ra複合体の投与前）、対象から得られた試料（例えば、血漿試料）中の遊離IL-15の濃度をモニタリングしてから用量を次のレベルに上昇させる。

20

【0192】

別の実施形態において、対象における癌を予防し、治療し、および/または管理する方法であって、IL-15/IL-15Ra複合体を以下の連続用量：(i) $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(ii) $2\mu\text{g}/\text{kg}$ ；(iii) $4\mu\text{g}/\text{kg}$ ；および(iv) $8\mu\text{g}/\text{kg}$ における用量レジメンにおいて対象に投与することを含み、それぞれの用量を、投与サイクルにおいて少なくとも少なくとも1、2、4回または6回投与してから用量を次のレベルに上昇させる方法が本明細書に提供される。

30

【0193】

特定の実施形態において、対象は、ヒト対象である。ある実施形態において、治療サイクルにおける用量は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10回もしくはそれ以上、または1～3、1～4、1～5、2～4、2～5、1～6、2～6、1～6、3～6、4～6、6～8、5～8、もしくは5～10回投与される。一部の実施形態において、用量は、5～7日間、5～10日間、7～12日間、7～14日間、7～21日間または14～21日間の期間にわたり1、2、3、4、5、6、7、8、9、10回もしくはそれ以上、または1～3、1～4、1～5、2～4、2～5、2～6、1～6、3～6、4～6もしくは6～8回投与される。ある実施形態において、それぞれの用量は、1投与サイクル当たり1、2、3、4、5、6、7、8、9、10回もしくはそれ以上、または1～3、1～4、1～5、2～4、2～5、1～6、2～6、1～6、3～6、4～6、6～8、5～8、もしくは5～10回投与される。具体的な実施形態において、それぞれの用量は、5～7日間、5～10日間、7～12日間、7～14日間、7～21日間または14～21日間の期間にわたり少なくとも1、2、3、4、5、6回もしくはそれ以上、または1～3、1～4、1～5、2～4、2～5、1～6、2～6、1～6、3～6、4～6

40

50

、6～8、5～8、もしくは5～10回投与される。

【0194】

別の具体的な実施形態において、対象は、週7日間当たり3回（例えば、月曜日、水曜日および金曜日）用量を投与される。ある実施形態において、対象は、以下の有害事象、例えば、グレード3または4の血小板減少、グレード3または4の顆粒球減少、グレード3または4の白血球増加（白血球（WBC）>100,000/mm³）、グレード3または4のWBC、リンパ球絶対数（ALC）および/または好中球絶対数（ANC）の減少、リンパ球増加、ならびに臓器機能不全（例えば、肝または腎機能不全）についてモニタリングされる。ある実施形態において、用量は増加させず、対象が有害事象、例えば、グレード3または4の血小板減少、グレード3または4の顆粒球減少、グレード3または白血球増加（白血球（WBC）>100,000/mm³）、グレード3または4のWBC、リンパ球絶対数（ALC）および/または好中球絶対数（ANC）の減少、リンパ球増加、ならびに臓器機能不全（例えば、肝または腎機能不全）を経験する場合には用量は同一のままであり得、停止または低減させることができる。これらの実施形態によれば、対象に投与されるIL-15/IL-15Ra複合体の用量は、有害事象が減少または消失するまで低減させることができ、または同一のままであり得る。

10

【0195】

具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法によれば、それぞれの用量は、3週間にわたり週1回投与される。具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法によれば、それぞれの用量は、2週間にわたり週1回、3回投与される。具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法によれば、それぞれの用量は、2、3、または4週間にわたり週1回、3回投与される。具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法によれば、それぞれの用量は、2、3、または4週間にわたり週1回、6回投与される。具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法によれば、それぞれの用量は、2、3、または4週間にわたり1日おきに1回投与される。具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法によれば、それぞれの用量は、2、3、または4週間にわたり毎日1回投与される。

20

【0196】

ある実施形態において、IL-15/IL-15R 複合体は、本明細書に記載の方法により対象に皮下投与される。一部の実施形態において、IL-15/IL-15R 複合体は、本明細書に記載の方法により対象に静脈内または筋肉内投与される。ある実施形態において、IL-15/IL-15R 複合体は、本明細書に記載の方法により対象に腫瘍内投与される。一部の実施形態において、IL-15/IL-15R 複合体は、本明細書に記載の方法により対象における部位（例えば、感染の部位）に局所投与される。

30

【0197】

ある実施形態において、本明細書に記載の方法により対象から得られる試料は、血液試料である。具体的な実施形態において、試料は血漿試料である。IL-15の基底血漿レベルは、ヒトにおいておよそ1 pg/ml、サル（例えば、マカク）においておよそ8～10 pg/ml、および齧歯動物（例えば、マウス）においておよそ12 pg/mlである。当業者に公知の技術を使用して対象から試料を得ることができる。

40

【0198】

一実施形態において、対象における障害、例えば、対象における過剰増殖病態または障害（例えば、癌）を予防し、治療し、および/または管理する方法であって、抗PD-1抗体分子を対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。一部の実施形態において、抗PD-1抗体分子は、注射により（例えば、皮下または静脈内）、約200 mg～500 mg、例えば、約250 mg～450 mg、約300 mg～400 mg、約250 mg～350 mg、約350 mg～450 mg、または約300 mgもしくは約400 mgの用量（例えば、均一用量）において投与される。投与スケジュール（例えば、均一投与スケジュール）は、例えば、週1回～2、3、4、5、または6週間毎に1回で変動し得る。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、3週間毎に1回または4週間毎に

50

1回、約300mg～400mgの用量で投与される。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、3週間毎に1回、約300mgからの用量で投与される。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、4週間毎に1回、約400mgからの用量で投与される。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、4週間毎に1回、約300mgからの用量で投与される。一実施形態において、抗PD-1抗体分子は、3週間毎に1回、約400mgからの用量で投与される。

【0199】

本明細書に記載の方法によれば、IL-15/IL-15Ra複合体は、対象に医薬組成物中で投与することができる。具体的な実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体は、1つ以上の他の治療薬、例えば、抗PD-1抗体分子との組合せで投与される。組合せ療法としては、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の同時および連続投与が挙げられる。本明細書において使用されるIL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子は、それらが同日に、例えば、同時に、または1、2、3、4、5、6、7、もしくは8時間空けて患者に投与される場合、同時投与され则认为られる。対照的に、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子は、それらが患者に異なる日に投与される、例えば、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子を1日、2日または3日間隔において投与することができる場合、連続的に投与され则认为られる。本明細書に記載の方法において、IL-15/IL-15Ra複合体の投与は、抗PD-1抗体分子の投与の前でも後でもよい。IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子は、同時投与される場合、同一の医薬組成物または異なる医薬組成物中に存在し得る。

【0200】

具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法により向上される免疫機能の例としては、リンパ球の増殖/拡大（例えば、リンパ球数の増加）、リンパ球のアポトーシスの阻害、樹状細胞（または抗原提示細胞）の活性化、および抗原提示が挙げられる。特定の実施形態において、本明細書に記載の方法により向上される免疫機能は、CD4⁺T細胞（例えば、Th1およびTh2ヘルパーT細胞）、CD8⁺T細胞（例えば、細胞傷害性Tリンパ球、アルファ/ベータT細胞、およびガンマ/デルタT細胞）、B細胞（例えば、形質細胞）、メモリーT細胞、メモリーB細胞、樹状細胞（未成熟または成熟）、抗原提示細胞、マクロファージ、マスト細胞、ナチュラルキラーT細胞（NK細胞）、腫瘍常在性T細胞、CD122⁺T細胞、またはナチュラルキラー細胞（NK細胞）の数の増殖/拡大またはそれらの活性化である。一実施形態において、本明細書に記載の方法は、リンパ球前駆細胞の増殖/拡大またはその数を向上させる。一部の実施形態において、本明細書に記載の方法は、CD4⁺T細胞（例えば、Th1およびTh2ヘルパーT細胞）、CD8⁺T細胞（例えば、細胞傷害性Tリンパ球、アルファ/ベータT細胞、およびガンマ/デルタT細胞）、B細胞（例えば、形質細胞）、メモリーT細胞、メモリーB細胞、樹状細胞（未成熟または成熟）、抗原提示細胞、マクロファージ、マスト細胞、ナチュラルキラーT細胞（NK細胞）、腫瘍常在性T細胞、CD122⁺T細胞、またはナチュラルキラー細胞（NK細胞）の数を、陰性対照に対しておよそ1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、またはそれ以上増加させる。

【0201】

具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、ELISPOT、ELISA、および細胞増殖アッセイを使用してIL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せを投与していない対象における免疫機能に対して対象における免疫機能を少なくとも0.2倍、0.5倍、0.75倍、1倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、または少なくとも10倍だけ向上させ、または誘導する。具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、ELISPOT、ELISAおよび細胞増殖アッセイを使用してIL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せを投与していない対象における免疫機能に対して対象に

おける免疫機能を少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも45%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも25%、少なくとも20%、または少なくとも10%だけ向上させ、または誘導する。具体的な実施形態において、免疫機能はサイトカイン放出（例えば、インターフェロン-ガンマ、IL-2、IL-5、IL-10、IL-12、またはトランスフォーミング成長因子（TGF）-ベータ）である。一実施形態において、IL-15 媒介免疫機能はNK細胞増殖であり、それは、例えば、フローサイトメトリーによりアッセイしてNK細胞のマーカー（例えば、CD56）を発現する細胞数を検出することができる。一実施形態において、IL-15 媒介免疫機能はCD8⁺T細胞増殖であり、それは、例えば、フローによりアッセイすることができる。別の実施形態において、IL-15 媒介免疫機能は抗体産生であり、それは、例えば、ELISAによりアッセイすることができる。一部の実施形態において、IL-15 媒介免疫機能はエフェクター機能であり、それは、例えば、細胞毒性アッセイまたは当該技術分野において周知の他のアッセイによりアッセイすることができる。末梢血リンパ球数に対する1つ以上のIL-15/IL-15R 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せの1回以上の投与の効果は、当業者に公知の標準的な技術を使用してモニタリング/評価することができる。哺乳動物における末梢血リンパ球数は、例えば、前記哺乳動物から末梢血の試料を得、例えば、Ficoll-Hypaque（Pharmacia）勾配遠心分離を使用して末梢血の他の構成成分、例えば、血漿からリンパ球を分離し、トリパンブルーを使用してリンパ球を計数することにより決定することができる。哺乳動物における末梢血T細胞数は、例えば、例えばFicoll-Hypaque（Pharmacia）勾配遠心分離の使用を使用して末梢血の他の構成成分、例えば、血漿からリンパ球を分離し、T細胞抗原、例えば、CD3、CD4、およびCD8に指向されるFITCまたはフィコエリスリンにコンジュゲートしている抗体によりT細胞を標識し、FACSによりT細胞の数を計測することにより決定することができる。さらに、T細胞の特定のサブセット（例えば、CD2⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺RO⁺、CD8⁺RO⁺、CD4⁺RA⁺、またはCD8⁺RA⁺）またはNK細胞に対する効果は、当業者に公知の標準的な技術、例えば、FACSを使用して決定することができる。

10

20

30

【0202】

IL-15 および/またはPD-1の血漿レベルは、当業者に公知の標準的な技術を使用して評価することができる。例えば、血漿は、対象から得られた血液試料から得ることができ、血漿中のIL-15 および/またはPD-1のレベルは、ELISAにより計測することができる。

【0203】

癌治療

本明細書において使用される用語「癌」は、組織病理学タイプまたは浸潤のステージにかかわらず癌性成長または癌遺伝子プロセス、転移性組織または悪性形質転換細胞、組織、もしくは臓器の全てのタイプを含むことを意味する。

【0204】

癌を予防し、治療し、および/または管理する方法であって、有効量のIL-15/IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子またはIL-15/IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子を含む組成物を、それが必要とされる対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。具体的な実施形態において、IL-15/IL-15Ra 複合体は、同一の反復用量、あるいは用量漸増レジメンのいずれかにおいて皮下投与される。具体的な実施形態において、抗PD-1抗体分子は、均一投与レジメンにおいて静脈内注入として投与される。

40

【0205】

具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法による対象へのIL-15/IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せの投与は、1、2、もしくは3つまた

50

はそれ以上の結果を達成する：（１）腫瘍または新生物の成長の低減；（２）腫瘍の形成の低減；（３）原発性、局所性および／または転移性癌の根絶、除去または制御；（４）転移拡散の低減；（５）死亡率の低減；（６）生存率の増加；（７）生存期間の増加；（８）寛解患者数の増加；（９）入院率の減少；（１０）入院期間の減少；ならびに（１１）腫瘍のサイズが１０％超だけ、または８％超だけ、または６％超だけ、または４％超だけ増加しない；好ましくは腫瘍のサイズが２％超だけ増加しないような、腫瘍のサイズの維持。

【０２０６】

具体的な実施形態において、本明細書に記載の方法による癌を有する対象（一部の実施形態において、癌についての動物モデル）へのＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒα複合体および抗ＰＤ－１抗体分子の組合せの投与は、当該技術分野において周知のアッセイを使用して計測して、陰性対照を投与した癌を有する対象（一部の実施形態において、癌についての同一の動物モデル）における腫瘍の成長に対して腫瘍の成長を少なくとも２倍、好ましくは少なくとも２．５倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも７倍、または少なくとも１０倍だけ阻害し、または低減させる。別の実施形態において、本明細書に記載の方法による癌を有する対象（一部の実施形態において、癌についての動物モデル）へのＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒα複合体および抗ＰＤ－１抗体分子の組合せの投与は、当該技術分野において周知のアッセイを使用して計測して、陰性対照、またはＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒα複合体もしくは抗ＰＤ－１抗体分子を単一薬剤として投与した癌を有する対象（一部の実施形態において、癌についての同一の動物モデル）における腫瘍の成長に対して腫瘍の成長を少なくとも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％、または少なくとも９５％だけ阻害し、または低減させる。

【０２０７】

癌性障害の例としては、限定されるものではないが、固形腫瘍、血液腫瘍、軟部組織腫瘍、および転移性病変が挙げられる。固形腫瘍の例としては、種々の臓器系の悪性腫瘍、例えば、肉腫、および癌腫（例として、腺癌および扁平上皮癌）、例えば、肝臓、肺、乳房、リンパ、胃腸管（例えば、結腸）、尿生殖路（例えば、腎細胞、尿路上皮細胞）、前立腺および咽頭を冒すものが挙げられる。腺癌としては、悪性腫瘍、例えば、ほとんどの結腸癌、直腸癌、腎細胞癌、肝臓癌、肺の非小細胞癌、小腸の癌および食道の癌が挙げられる。扁平上皮癌としては、例えば、肺、食道、皮膚、頭頸部領域、口腔、肛門、および頸部中の悪性腫瘍が挙げられる。一実施形態において、癌は、黒色腫、例えば、進行期黒色腫である。上記の癌の転移性病変も、本発明の方法および組成物を使用して治療または予防することができる。

【０２０８】

本明細書に開示されるＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒα複合体および抗ＰＤ－１抗体分子の組合せを使用して成長を阻害することができる例示的な癌としては、免疫療法に典型的に応答性である癌が挙げられる。治療のための好ましい癌の非限定的な例としては、黒色腫（例えば、転移性悪性黒色腫）、腎臓癌（例えば、淡明細胞癌）、前立腺癌（例えば、ホルモン不応性前立腺癌）、乳癌、結腸癌および肺癌（例えば、非小細胞肺癌）が挙げられる。さらに、本明細書に記載の組合せ療法を使用して不応性または再発性悪性腫瘍を治療することができる。

【０２０９】

治療することができる他の癌の例としては、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部の癌、皮膚または眼内悪性黒色腫、子宮癌、卵巣癌、腎臓癌、肛門癌、胃食道、胃癌、精巣癌、子宮癌、卵管の癌腫、子宮内膜の癌腫、頸部の癌腫、膣の癌腫、外陰の癌腫、メルケル細胞癌、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、食道の癌、小腸の癌、内分泌系の癌、甲状腺の癌、副甲状腺の癌、副腎の癌、軟部組織の肉腫、尿道の癌、陰茎の癌、慢性または急性

白血病、例として、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、幼児の固形腫瘍、リンパ球性リンパ腫、膀胱の癌、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、腎臓または尿管の癌、腎盂の癌腫、中枢神経系（CNS）の新生物、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊椎軸腫瘍、脳幹グリオーマ、下垂体腺腫、カボジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮癌、T細胞リンパ腫、環境誘導癌、例として、石綿により誘導されるもの（例えば、中皮腫）、および前記癌の組合せが挙げられる。

【0210】

具体的な実施形態において、癌は、黒色腫、腎臓癌、結腸癌、または前立腺癌である。別の実施形態において、癌は、転移性である。

【0211】

IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、1つ以上の他の治療薬、例えば、抗癌剤、サイトカインまたは抗ホルモン剤と一緒に投与して癌を治療および/または管理することができる。抗癌剤の非限定的な例は、以下に記載される。

【0212】

IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、例えば、x線、ガンマ線および他の放射線源の使用を含む放射線療法と一緒に投与して癌細胞を破壊することもできる。具体的な実施形態において、放射線治療は、外部ビーム放射または遠隔療法（放射線が離隔源から指向される）として施与される。他の実施形態において、放射線治療は、内科療法または近接照射療法として施与され、放射能線源は、癌細胞または腫瘍塊に近い身体の内側に配置される。IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子は、化学療法との組合せで投与することもできる。一実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子は、本明細書に記載の方法により放射線療法または化学療法の前、その間またはその後に投与することができる。一実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、手術の前、その間またはその後に投与することができる。

【0213】

一部の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、癌を罹患し、または癌と診断された対象に投与される。他の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体の抗PD-1抗体分子の組合せは、癌を発症しやすく、または発症すると疑われる対象に投与される。

【0214】

ある実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、0～6カ月齢、6～12カ月齢、1～5歳、5～10歳、10～15歳、15～20歳、20～25歳、25～30歳、30～35歳、35～40歳、40～45歳、45～50歳、50～55歳、55～60歳、60～65歳、65～70歳、70～75歳、75～80歳、80～85歳、85～90歳、90～95歳または95～100歳の対象に投与される。他の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、ヒト成人に投与される。ある実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、手術、化学療法および/または放射線療法を受けている、受ける予定である、または受けた対象に投与される。一部の実施形態において、IL-15 / IL-15Ra 複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、不応性患者に投与される。ある実施形態において、不応性患者は、標準的な抗癌療法に不応性の患者である。ある実施形態において、癌が有意に根絶されず、および/または症状が有意に緩和されなかった場合、癌を有する患者は治療法に不応性である。患者が不応性か否かの決定は、そのような背景において当該技術分野において認められている意味の「不応性」を使用して、治療の有効性をアッセイするための当該技術分野において公知の任意の方法によりインビボまたはインビトロのいずれかで行うことができる。種々の実施形態において、癌性腫瘍が減少せず、または増加した場合、癌を有する患者は不応性である。

【0215】

感染性疾患

本発明の他の方法を使用して特定の毒素または病原体に曝露された患者を治療する。したがって、本発明の別の態様は、対象における感染性疾患を治療する方法であって、本明細書に開示される組合せ、例えば、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および抗PD - 1抗体分子を含む組合せを対象に投与し、その結果、対象を感染性疾患について治療することを含む方法を提供する。

【0216】

感染（例えば、急性および/または慢性）の治療において、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および抗PD - 1抗体分子の組合せの投与は、感染に対する自然宿主免疫防御の刺激に加え、またはその代わりに慣用の治療と組み合わせることができる。感染に対する自然宿主免疫防御としては、限定されるものではないが、炎症、発熱、抗体媒介宿主防御、Tリンパ球媒介宿主防御、例として、リンホカイン分泌および細胞傷害性T細胞（特にウイルス感染の間）、補体媒介溶解およびオプソニン化（食作用の容易化）、ならびに食作用が挙げられる。機能不全T細胞を再活性化させる抗PD - 1抗体分子の能力は、慢性感染、特に、細胞媒介免疫が完全回復に重要であるものを治療するために有用である。

10

【0217】

抗体媒介PD - 1遮断は、IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体投与に対するアジュバントとして、またはIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および/もしくはワクチンとの組合せで作用して病原体、毒素および自己抗原に対する免疫応答を刺激することができる。この治療アプローチが特に有用であり得る病原体の例としては、有効なワクチンが現存しない病原体、または慣用のワクチンが完全に有効ではない病原体が挙げられる。これらとしては、限定されるものではないが、HIV、肝炎（A、B、およびC）、インフルエンザ属（*Influenza*）、ヘルペス属（*Herpes*）、ジアルジア属（*Giardia*）、マラリア属（*Malaria*）、リーシュマニア属（*Leishmania*）、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）、緑膿菌（*Pseudomonas Aeruginosa*）が挙げられる。IL - 15 / IL - 15 Ra 複合体およびPD - 1遮断による免疫系刺激は、感染の過程にわたり変更した抗原を提示する作用物質、例えば、HIVによる確立した感染に対して特に有用である。これらの新規エピトープは治療時点において外来物質として認識され、したがって、例えば、PD - 1を介する負のシグナルにより減衰されない強力なT細胞応答を誘発する。

20

30

【0218】

付加/組合せ療法

疾患、例えば、癌、感染性疾患、リンパ球減少、免疫不全および創傷の予防、治療および/または管理のためにIL - 15 / IL - 15 Ra 複合体および抗PD - 1抗体分子との組合せで使用する他の治療法としては、限定されるものではないが、小分子、合成薬物、ペプチド（環状ペプチドを含める）、ポリペプチド、タンパク質、核酸（例えば、DNAおよびRNAヌクレオチド、例として、限定されるものではないが、アンチセンスヌクレオチド配列、3重らせん、RNAi、および生物学的に活性なタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドをコードするヌクレオチド配列）、抗体、合成または天然の無機分子、模倣薬剤、ならびに合成または天然の有機分子が挙げられる。このような治療法の具体例としては、限定されるものではないが、免疫調節剤（例えば、インターフェロン）、抗炎症剤（例えば、アドレノコルチコイド、コルチコステロイド（例えば、ベクロメタゾン、ブデソニド、フルニソリド、フルチカゾン、トリアムシノロン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン、ヒドロコルチゾン、糖質コルチコイド、ステロイド、および非ステロイド性抗炎症性薬（例えば、アスピリン、イブプロフェン、ジクロフェナク、およびCOX - 2阻害剤）、鎮痛薬、ロイコトリエンアンタゴニスト（例えば、モンテルカスト、メチルキサンチン、ザフィルルカスト、およびザイリユートン）、ベータ2 - アゴニスト（例えば、アルブテロール、ビテロール（*biterol*）、フェノテロール、イソエタリエ（*isoetharie*）、メタプロテレノール、ピルブテロール、サルブタモール、テルブタリンホルモテロール、サルメテロール、およびサルブ

40

50

タモールテルブタリン)、抗コリン作動剤(例えば、臭化イプラトロピウムおよび臭化オキシトロピウム)、スルファサラジン、ペニシラミン、ダブソン、抗ヒスタミン薬、抗マラリア剤(例えば、ヒドロキシクロロキン)、抗ウイルス剤(例えば、ヌクレオシド類似体(例えば、ジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビダラビン、イドクスウリジン、トリフルリジン、およびリバビリン)、フォスカーネット、アマンタジン、リマンタジン、サキナビル、インジナビル、リトナビル、およびA Z T)ならびに抗生物質(例えば、ダクチノマイシン(旧名アクチノマイシン)、プレオマイシン、エリスロマイシン、ペニシリン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン(AMC))が挙げられる。

【0219】

IL-15機能/シグナリングおよび/または/免疫チェックポイントモジュレーションにより影響を受ける疾患の予防、管理、および/または治療に有用であることが公知の、またはそれに使用された、もしくは現在使用されている任意の治療法を、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せ療法との組合せで使用することができる。疾患または障害、例えば、癌、感染性疾患、リンパ球減少、免疫不全および創傷の予防、治療および/または管理に使用された、または現在使用されている治療法(例えば、予防または治療剤)に関する情報については、例えば、Gilman et al., Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York, 2001; The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Berkow, M.D. et al. (eds.), 17th Ed., Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Rahway, NJ, 1999; Cecil Textbook of Medicine, 20th Ed., Bennett and Plum (eds.), W.B. Saunders, Philadelphia, 1996, and Physicians' Desk Reference (66th ed., 2012) 参照。

【0220】

IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せ療法に加えて使用することができる1つ以上の他の治療法の非限定的な例としては、免疫調節剤、例えば、限定されるものではないが、化学療法剤および非化学療法免疫調節剤が挙げられる。化学療法剤の非限定的な例としては、メトトレキサート、シクロスポリンA、レフルノミド、シスプラチン、イホスファミド、タキサン、例えば、タキソールおよびパクリタキソール、トポイソメラーゼI阻害剤(例えば、CPT11、トポテカン、9AC、およびGG211)、ゲムシタビン、ピノレルビン、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル(5-FU)、ロイコボリン、ピノレルビン、テモダール、サイトカラシンB、グラミシジンD、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ピンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシンホモログ、ならびにシトキサンが挙げられる。

【0221】

生物学的活性

一態様において、IL-15/IL-15Ra複合体および/または抗PD-1抗体分子は、例えば、抗体応答(体液性応答)または細胞性免疫応答、例えば、サイトカイン分泌(例えば、インターフェロンガンマ)、ヘルパー活性または細胞性細胞毒性であり得る免疫応答を増加させる。一実施形態において、免疫応答の増加は、サイトカイン分泌、抗体産生、エフェクター機能、T細胞増殖、および/またはNK細胞増殖の増加である。このような活性を計測するための種々のアッセイは当該技術分野において周知であり、それとしては、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA; 例えば、Current Protocols in Immunology, Coligan et al. (eds.))

、John Wiley and Sons, Inc. 1997のセクション2.1参照)、抗原特異的T細胞を同定するための「四量体染色」アッセイ(Altman et al., (1996), Science 274:94-96参照)、混合リンパ球標的培養アッセイ(例えば、Palladino et al., (1987), Cancer Res. 47:5074-5079参照)およびインビトロでサイトカイン放出を計測するために使用することができるELISPOTアッセイ(例えば、Scheibenbogen et al., (1997), Int. J. Cancer 71:932-936参照)が挙げられる。

【0222】

一部の態様において、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せにより誘導または向上される免疫応答は、当該技術分野において公知の任意の方法によりアッセイして陰性対照により、または単一薬剤として投与されるIL-15/IL-15Ra複合体もしくは抗PD-1抗体分子により誘発される免疫応答に対して少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、または12倍向上され、または増加する。ある実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せに誘導される免疫応答は、当該技術分野において公知の任意の方法によりアッセイして陰性対照により誘導される免疫応答に対して少なくとも0.5~2倍、少なくとも2~5倍、少なくとも5~10倍、少なくとも10~50倍、少なくとも50~100倍、少なくとも100~200倍、少なくとも200~300倍、少なくとも300~400倍または少なくとも400~500倍だけ向上される。具体的実施形態において、免疫応答を評価するために使用されるアッセイは、抗体産生、サイトカイン産生、または細胞性細胞毒性のレベルを計測し、そのようなアッセイは当該技術分野において周知である。一部の実施形態において、免疫応答を計測するために使用されるアッセイは、抗体またはサイトカインレベルを決定する酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、サイトカイン放出を決定するELISPOTアッセイ、または細胞性細胞毒性を決定する[⁵¹Cr]放出アッセイである。

【0223】

具体的な実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せは、ブドウ球菌エンテロトキシンB(SEB)により活性化される全血上のIL-2の発現を増加させる。例えば、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子は、IL-15/IL-15Ra複合体、抗PD-1抗体分子またはアイソタイプ対照(例えば、IgG4)が単独使用される場合のIL-2の発現と比較してIL-2の発現を少なくとも約2、3、4、または5倍だけ増加させる。このような効果は実施例1において実証され、図1~4に示される。相加または相乗的效果は、IL-15/IL-15Ra複合体を抗PD-1抗体分子と同日に投与した場合が、IL-15/IL-15Ra複合体を抗PD-1抗体分子の投与の72時間後に投与した場合よりも明白であった。

【0224】

一実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せと接触させた癌細胞の増殖または生存度は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、CSFE、BrdU、および放射性チミジン取り込みを使用する細胞増殖アッセイを使用して計測して、陰性対照または単一薬剤としてのIL-15/IL-15Ra複合体または抗PD-1抗体分子と接触させた場合の癌細胞の増殖に対して少なくとも2倍、好ましくは少なくとも2.5倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも7倍、または少なくとも10倍だけ阻害され、または減少する。あるいは、細胞生存度は、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)、細胞溶解時に放出される安定的細胞質酵素を計測するアッセイにより、または細胞溶解時の[⁵¹Cr]の放出により計測することができる。別の実施形態において、IL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せと接触させた癌細胞の増殖は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、CSFE、BrdU、および放射性チミジン取り込みを使用する細胞増殖ア

ッセイを使用して計測して、陰性対照または単一薬剤としてのIL-15/IL-15Ra複合体もしくは抗PD-1抗体分子と接触させた癌細胞に対して少なくとも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%、または少なくとも95%だけ阻害され、または低減する。

【0225】

このようなアッセイを実施することができる癌細胞系は、当業者に周知である。壊死、アポトーシスおよび増殖アッセイを初代細胞、例えば、組織外植片に対して実施することもできる。

10

【0226】

一実施形態において、壊死細胞は、色素、例えば、ニュートラルレッド、トリパンブルー、またはALAMAR(商標)ブルー(Paget et al., (1993), Intl. J. of Oncology 3:473-476)を取り込む細胞の能力の有無により計測される。このようなアッセイにおいて、細胞を、色素含有培地中でインキュベートし、細胞を洗浄し、細胞の色素の取り込みを反映する残留色素を分光光度法により計測する。別の実施形態において、色素はスルホローダミンB(SRB)であり、タンパク質へのその結合を細胞毒性の尺度として使用することができる(Skehan et al., (1990), J. Natl. Cancer Inst. 82:1107-112)。さらに別の実施形態において、テトラゾリウム塩、例えば、MTTが、生存しており死滅していない細胞を検出することによる哺乳動物細胞の生存および増殖についての定量的比色アッセイに使用される(例えば、Mosmann, (1983), J. Immunol. Methods 65:55-63参照)。

20

【0227】

他の実施形態において、アポトーシス細胞が、培養物の付着および「浮遊」コンパートメントの両方で計測される。両方のコンパートメントは、上清を除去し、付着細胞をトリプシン処理し、遠心分離洗浄ステップ(10分間、2000rpm)の後に両方の調製物を組み合わせることにより回収される。スリダクおよび関連化合物により腫瘍細胞培養物を治療して有意な量のアポトーシスを得るためのプロトコルが文献に記載されている(例えば、Piazza et al., (1995) Cancer Research 55:3110-16参照)。この方法の特徴は、浮遊および付着細胞の両方を回収し、アポトーシスの観察に最適な治療時間および用量範囲を同定し、最適な細胞培養条件を同定することを含む。別の実施形態において、アポトーシスは、DNA断片化を計測することにより定量化される。DNA断片化の定量的インビトロ決定のための市販の光度測定方法が、利用可能である。このようなアッセイの例、例として、TUNEL(断片化DNA中の標識ヌクレオチドの取り込みを検出する)およびELISAベースアッセイは、Biochemica, (1999), no. 2, pp. 34-37(Roche Molecular Biochemicals)に記載されている。さらに別の実施形態において、アポトーシスを形態的に観察することができる。

30

【0228】

具体的な実施形態、引用および参考文献

40

本発明は、本明細書に記載の具体的な実施形態により範囲が限定されるべきでない。実際、本明細書に記載のものに加えて、本発明の種々の改変が、上記の詳細な説明および添付の図面から当業者に明らかとなる。このような改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内に収まるものとする。

【0229】

種々の参考文献、例として、特許出願、特許、および科学刊行物が本明細書において引用され；それぞれのそのような参考文献の開示は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【0230】

50

【表 1】

表1 - 配列表

| 配列番号 | 説明 | 配列 |
|-----------|-------------------------------|--|
| IL-15関連配列 | | |
| 1 | ヒトIL-15 (シグナルペプチドを有する) | MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDIASIHDVTENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS |
| 2 | ヒトIL-15 DNA (シグナルペプチドを有する) | atgagaatatt cgaaaccaca tttagagaagt atttccatcc agtgctactt gtgtttactt ctaaaccagtc atttttctaac tgaagctggc attcatgtct tcatttttggg ctgtttcagt gcagggcttc ctaaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtgaatt gaaaaaaatt gaagatctta ttcaatctat gcataattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttcactt gagtcgggag atgcaagtat tcatgatata gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacac agtttgtctt ctaatgggaa tgaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag gaaaaaaata ttaagaatt tttgcagagt ttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac acttcttga |
| 3 | GMCSF シグナルペプチドを有するヒトIL-15 | atgtggctcc agagcctgct actcctggg acggtggcct gcagcatctc gaactgggtg aacgtgatct cggacctgaa gaagatcgag gacatcatcc agtcgatgca catcgacgcg acgctgtaca cggagtcgga cgtccaccgc tcgtgcaagg tcacggcgat gaagtgttc ctctggagc tccaagtcat ctcgctcgag tcgggggacg cgtcgatcca cgacacggtg gagaacctga tcatcctggc gaacaactcg ctgtcgatga acgggaacgt cagcgatcg ggctgcaagg agtgcgagga gctggaggag aagaacatca aggagttcct gcagtcgttc gtgcacatcg tccagatgtt catcaacacg tcgtga |
| 4 | IL-15コドン 最適化DNA | cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgtc caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaatggcc cgctggctg accgccaac gaccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgcc aatagggaact ttccattgac gtcaatgggt ggagatttta cggtaaacgt cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gcccctatt gacgtcaatg atggtaaatg gcccgcctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttcctactt ggcagtagat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcggtt tggcagtaga tcaatgggag tgatagcg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgatttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtacaact ccgcccatt gacgcaaag ggcggtaggc gtgtacggtg ggaggtctat ataagcagag ctgcgttagt gaaccgtcag atcgctgga gacgcatcc acgctgtttt gacctccata gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg ggcgcgctc gacaagaaat gcggatctcg aagccgcacc tgcggtcgat atcgatccag tgctacctgt gcctgctcct gaactcgac ttcctcacgg aggccggtat acacgtctt atcctgggct gcttctcggc ggggctgccg aagacggagg cgaactgggt gaacgtgatc tcggacctga agaagatcga ggacctcatc cagtcgatgc acatcgacgc gacgtgtatc acggagtcgg acgtccacc gtcgtgcaag gtcacggcga tgaagtgtt cctcctggag ctccaagtca tctcgctcga gtcgggggac gctcgatcc acgacacgg ggagaacctg atcatcctgg cgaacaactc gctgtcgtcg aacgggaacg tcacggagtc gggctgcaag gactgagag agctggagga gaagaacatc aaggagttcc tgcagtcgtt cgtgcacatc gtccagatgt tcatcaacac gtcgtgaggg cccggcgcg cgaattcgcg gatatcggtt aacggatcca gatctgctgt gccttctagt tgccagccat ctgtgtttt cccctcccc gtgccttctt tgacctgga aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga agcaatagc aggcatgctg gggatgcggt gggctctatg ggtaccagag tgctgaagaa ttgacccggt tctcctctgg ccagaaagaa gcaggcacat ccccttctct gtgacacacc ctgtccacgc cctgggttct tagttccagc cccactcata ggacactcat agctcaggag ggctccgcct tcaatccac ccgctaaagt |

10

20

30

40

【表 2】

| | | |
|----|--|--|
| | | acttgagcgc gtctctccct ccctcatcag cccaccaaac caaacctagc ctccaagagt gggaagaaat taaagcaaga taggctatta agtgacagagg gagagaaaat gcctccaaca tgtgaggaag taatgagaga aatcata |
| 5 | IL-15コドン 最適化アミノ酸 | MRISKPHLRISISIQCYLCLLNHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVIS DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHVIVQMFINTS |
| 6 | シグナルペプチドを 有するヒトIL-15Ra | MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKLCIRD PALVHQRPAAPS TVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGT TEISSHESHGTPSQTTAKNWE LTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLC GLSAVSL LACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDELENC SHHL |
| 7 | シグナルペプチドを 有する ヒト可溶性IL-15Ra | MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLKLCIRD PALVHQRPAAPS TVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGT TEISSHESHGTPSQTTAKNWE LTASASHQPPGVYPQG |
| 8 | シグナルペプチドを 有する ヒトIL-15Ra DNA | atggccccgc ggccggcgccgc cggctgccgc accctcggtc tccccgcgct gctactgctg ctgctgctcc ggccggcgccgc gacgcggggc atcacgtgcc ctccccccat gtccgtggaa caccgagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactcca gggagcggta catttgtaac tctgggttca agcgtaaagc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcgtggt gaacaaggcc acgaatgtcg cccactggac aacccccagt ctcaaatgca ttagagaccc tgccctggtt caccaaaggc cagcgccacc ctccacagta acgacggcag gggtagcccc acagccagag agcctctccc cttctggaaa agagcccgca gcttcatctc ccagctcaaa caacacagcg gccacaacag cagctattgt cccgggctcc cagctgatgc cttcaaaatc accttccaca ggaaccacag agataagcag tcatgagtc tcccacggca cccctctca gacaacagcc aagaactggg aactcacagc atccgcctcc caccagccgc cagggtgtgta tccacagggc cacagcgaca ccactgtggc tatctccacg tccactgtcc tgctgtgtgg gctgagcgct gtgtctctcc tggcatgcta cctcaagtca aggcataactc ccccgctggc cagcgttgaa atggaagcca tggaggctct gccggtgact tgggggacca gcagcagaga tgaagacttg gaaaactgct ctcaccacct atga |
| 9 | シグナルペプチドを 有する ヒト可溶性 IL-15Ra DNA | atggccccgc ggccggcgccgc cggctgccgc accctcggtc tccccgcgct gctactgctg ctgctgctcc ggccggcgccgc gacgcggggc atcacgtgcc ctccccccat gtccgtggaa caccgagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactcca gggagcggta catttgtaac tctgggttca agcgtaaagc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcgtggt gaacaaggcc acgaatgtcg cccactggac aacccccagt ctcaaatgca ttagagaccc tgccctggtt caccaaaggc cagcgccacc ctccacagta acgacggcag gggtagcccc acagccagag agcctctccc cttctggaaa agagcccgca gcttcatctc ccagctcaaa caacacagcg gccacaacag cagctattgt cccgggctcc cagctgatgc cttcaaaatc accttccaca ggaaccacag agataagcag tcatgagtc tcccacggca cccctctca gacaacagcc aagaactggg aactcacagc atccgcctcc caccagccgc cagggtgtgta tccacagggc |
| 10 | ヒト可溶性 IL-15Ra(PQG末端化) | ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVA HWTPSLKLCIRD PALVHQRPAAPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNN TAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWE LTASASHQ PPGVYPQG |
| 11 | IL-15Ra コドン最適化DNA | cctggccatt gcatacgttg tatccatata ataatatgta catttatatt ggctcatgtc caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaatggcc cgcctggctg accgccaac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccctctatt gacgtcaatg atggtaaatg gccgccttg cattatgccc agtacatgac cttatgggac tttctactt gccagtacat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcggtt tggcagtaca tcaatggcg tgatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagctctccac ccaatggacg tcaatgggag tttggttttg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact ccgccccatt gacgcaaatg gccggtaggc gtgtacggtg ggaggtctat ataagcagag ctcgtttagt gaaccgtcag atcgctgga gacgccatcc acgctgtttt gacctccata gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg |

【表 3】

| | | | |
|----|----------------------|---|----------|
| | | ggcgcgcgctc gacgctagca agaaatggcc ccgagggcggg cgcgaggtcg ccggaccctc ggtctcccgg cgtgctact gtcctgctg ctccggccgc cggcgacgcg gggcatcacg tgcccgcccc ccatgtccgt ggagcacgca gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tcccgggagc ggtacatctg caactcgggt ttcaagcgga aggcgggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat gtcgcccact ggacgacccc ctcgctcaag tgcacccgcg acccggccct ggttcaccag cggcccgcg caccctccac cgtaacgacg gcgggggtga ccccgagcc ggagagcctc tccccgtcgg gaaaggagcc cgcgcgctcg tcgcccagct cgaacaacac ggcgccaca actgcagcga tcgtcccggg ctcccagctg atgcccgcga agtcgcccgc cacgggaacc acggagatca gcagtcatga gtcctcccac ggcaccccct cgcaaacgac ggccaagaac tgggaactca cggcgctcgc ctcccaccag ccgcccgggg tgtatccgca aggcacagc gacaccacgg tggcgatctc cacgtccacg gtcctgctgt gtgggctgag cgcggtgtcg ctctggcgt gctacctcaa gtcgaggcag actccccgc tggccagcgt tgagatggag gccatggagg ctctgcccgt gacgtgggg accagcagca tggatgagga cttggagaac tgctcgacc acctataatg agaattcgat ccagatctgc tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgcccctc cccgtgcctt ccttgacctt ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta ataaatgag gaaattgcat cgcatgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggtg ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctgggggatgc ggtgggctct atgggtaccc aggtgctgaa gaattgaccc ggttcctcct gggccagaaa gaagcaggca catcccctc tctgtgacac accctgtcca cgcccctgg tcttagttcc agcccactc ataggacact catagctcag gagggctccg ccttcaatcc caccgcgtaa agtacttga gcggtctctc cctccctcat cagcccacca aaccaaact agcctccaag agtgggaaga aattaaagca agataggcta ttaagtgcag agggagagaa aatgcctcca acatgtgagg aagtaatgag agaaatcata | 10 |
| 12 | IL-15Raコドン最適化アミノ酸 | MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPMSVEHADIWVKSYSLSR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCI RDPALVHQRPAPPS TVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATAAIVPGSQLMPSKSPSTGT TEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTVLLC GLSAVSL LACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLNCSHHL | 20 |
| 13 | CMV IL-15Raコドン最適化DNA | cctggccatt gcatacgttg tatccatatac ataatatgta catttatatt ggctcatgtc caacattacc gccatgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc cgcctggctg accgccaac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg ccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg atggtaaatg gccgcctgg cattatgccc agtcatgac cttatgggac ttctctactt ggcagtagat ctacgtatta gtcacgcta ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca tcaatggcg tggatagcgg tttgactcac ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacggtg ggaggtctat ataagcagag ctcgtttagt gaaccgtcag atcgccctgga gacgccatcc agcgtgtttt gacctccata gaagacaccg ggaccgctc agcctccgcg gcgcgcgctc gacgctagca agaaatggcc ccgagggcg cgcgagcctg ccggaccctc ggtctcccgg cgtgctact gtcctgctg ctccggccgc cggcgacgcg gggcatcacg tgcccgcccc ccatgtccgt ggagcacgca gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tcccgggagc ggtacatctg caactcgggt ttcaagcgga aggcgggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat gtcgcccact ggacgacccc ctcgctcaag tgcacccgcg acccggccct ggttcaccag cggcccgcg caccctccac cgtaacgacg gcgggggtga ccccgagcc ggagagcctc tccccgtcgg gaaaggagcc cgcgcgctcg tcgcccagct cgaacaacac agtcgcccgc actgcagcga tcgtcccggg ctcccagctg atgcccgcga agtcgcccgc cacgggaacc acggagatca gcagtcatga gtcctcccac ggcaccccct cgcaaacgac ggccaagaac tgggaactca cggcgctcgc ctcccaccag ccgcccgggg tgtatccgca aggcacagc gacaccacgt aatgagaatt cgcggatata ggttaacgga tccagatctg ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgccctc ccccggtgct tccttgaccc tgggaaggtgc | 30 40 |

【表 4】

| | | |
|----|-------------------------------|--|
| | | cactcccact gtccttttct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg ggggtggggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa tagcaggcat gctggggatg cggtgggctc tatgggtacc caggtgctga agaattgacc cggttcctcc tgggccagaa agaagcaggc acatcccctt ctctgtgaca caccctgtcc acgcccctgg ttcttagttc cagccccact cataggacac tcatagctca ggagggtcc gccttcaatc ccacccgcta aagtacttgg agcgggtctc ccctccctca tcagcccacc aaaccaaacc tagcctcaa gagggggaag aaattaaagc aagataggct attaagtgc gagggagaga aaatgcctcc aacatgtgag gaagtaatga gagaaatcat a |
| 14 | CMV IL-15Ra コドン最適化 アミノ酸 | MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAHVHQRFPAPS TVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSPSTGT TEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT |
| 15 | 可溶性 ヒトIL-15RaのC末端 | PQGHSDTT |
| 16 | 可溶性 ヒトIL-15RaのC末端 | PQGHSDT |
| 17 | 可溶性 ヒトIL-15RaのC末端 | PQGHSD |
| 18 | 可溶性 ヒトIL-15RaのC末端 | PQGH |
| 19 | 可溶性 ヒトIL-15RaのC末端 | PQGH |
| 20 | 可溶性 ヒトIL-15RaのC末端 | PQG |

10

20

【 0 2 3 4 】

【表 5】

| | | |
|------------------|---|---|
| 21 | ヒト可溶性IL-15Ra | ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATN VAHWTTPSLKCIRDPAHVHQRPAAPPSTVTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSP SSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELT ASASHQPPGVYPQGHSDTT |
| 22 | IL-15Ra O- グリコシル化 | NWELTASASHQPPGVYPQG |
| 23 | IL-15Ra N- グリコシル化 | ITCPPPMSVEHADIWVK |
| 24 | IL-15Ra N- グリコシル化 | ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNS |
| 25 | フーリンプロテアーゼ により認識される IL-15Ra 異種プロテアーゼ 開裂部位 Xaa = 任意のアミノ酸 | RXXR |
| 26 | IL-15Ra 異種プロテアーゼ 開裂部位 1,2 Xaa = 疎水性アミノ酸 5,6 Xaa = 非酸性アミノ酸 | XXPRXX |
| 27 | 合成sIL-15Rアルファ- Fc融合タンパク質 huIL15sRa205-Fc | MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLS RERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAHVHQRPA PSTVTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPS TGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK |
| 28 | 合成sIL-15Rアルファ- Fc融合タンパク質 huIL15sRa200-Fc | MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLS RERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAHVHQRPA PSTVTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPS TGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGPCKDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKS LSLSPGK |
| PD-1関連配列 | | |
| BAP049-クローン-B Hc | | |
| 29 | HCDR1 (Kabat) | TYWMH |
| 30 | HCDR2 (Kabat) | NIYPGTGGSNFDEKFKN |
| 31 | HCDR3 (Kabat) | WTTGTGAY |
| 32 | HCDR1 (Chothia) | GYTFTTY |
| 33 | HCDR2 (Chothia) | YPGTGG |
| 34 | HCDR3 (Chothia) | WTTGTGAY |
| 35 | VH | EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYP GTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAY WGQGTITVTVSS |
| 36 | DNA VH | GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACT GAGAATTAGCTGTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCC GGCACCGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCAC |

【表 6】

| | | |
|------------------|-----------------|--|
| | | CGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAG AGGACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC TGGGGTCAAGGCACCTACCGTGACCGTGTCTAGC |
| 37 | HC | EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYP GTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTGTGAY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTYTCNVDPKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVQS EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHDWLNKEYKC KVSNGKLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLGL |
| 38 | DNA HC | GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACT GAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCC GGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAAGAATAGAGTACTATCAC CGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAG AGGACACCGCCGTCTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC TGGGGTCAAGGCACCTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTC CGTGTTCCTCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCC TCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC AGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGAGCTC CGGGCTGTACTCGTGTCTCGTGGTGGTCAAGGTGCCTTCACTAGCCTGGGT CCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCAACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGAC AAGCGCGTCAAGTCAAGTACGGCCACCGTGCCCGCTTGTCCCGCGCCGGA GTTCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCACCGAAGCCCAAGGACACTT TGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGTACAG GAAGATCCGGAGGTGCAATTCAATTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAAACCAAGCCGAGGAGGAGCAGTCAACTCCACTTACCGCGTGTGT CCGTGCTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGC CAAGGGACAGCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGGAGGAAG AAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTCTACCCA TCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGAACAACTACAA GACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGACGGATCCTTCTCTCTACTCGCGGC TGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTAGCTGTTCTGTG ATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCT GGGA |
| BAP049-クローン-B LC | | |
| 39 | LCDR1 (Kabat) | KSSQSLLDSGNQKNFLT |
| 40 | LCDR2 (Kabat) | WASTRES |
| 41 | LCDR3 (Kabat) | QNDYSYPY |
| 42 | LCDR1 (Chothia) | SQSLLDSGNQKNF |
| 43 | LCDR2 (Chothia) | WAS |
| 44 | LCDR3 (Chothia) | DYSYPY |
| 45 | VL | EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKNFLTQYQQKPGKAPKLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIAITYYCQNDYSYPYTFGQGT KVEIK |
| 46 | DNA VL | GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGG GCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAG AACTTCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATC TACTGGGCCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTACCTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCGAGGATATCGCT ACCTACTACTGTGACAACGACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAG |
| 47 | LC | EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGNQKNFLTQYQQKPGKAPKLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIAITYYCQNDYSYPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGE |
| 48 | DNA LC | GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGG GCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAG AACTTCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGTAAAGCCCTAAGCTGCTGATC |

【表 7】

| | | |
|------------------|-----------------|--|
| | | TACTGGGCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCT ACCTACTACTGTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAACGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGC CTGAGCAGCACCTTGACCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTAC GCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC |
| BAP049-クローン-E HC | | |
| 49 | HCDR1 (Kabat) | TYWMH |
| 50 | HCDR2 (Kabat) | NIYPGTGGSNFDEKFKN |
| 51 | HCDR3 (Kabat) | WTTGTGAY |
| 52 | HCDR1 (Chothia) | GYTFTTY |
| 53 | HCDR2 (Chothia) | YPGTGG |
| 54 | HCDR3 (Chothia) | WTTGTGAY |
| 55 | VH | EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYP GTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAY WGQGTTVTVSS |
| 56 | DNA VH | GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGTCACT GAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCC GGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAAGAATAGAGTGACTATCAC CGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAG AGGACACCGCGTCTACTACTGCCTAGGTGGACTACCGGCACAGGCGCTAC TGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC |
| 57 | HC | EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYP GTGGSNFDEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTRKVD KRVESKYGPFPCCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG |
| 58 | DNA HC | GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGTCACT GAGAATTAGCTGTAAAGGTTCAAGGCTACACCTTCACTACCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCTACCGGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCTACCCC GGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAAGAATAGAGTGACTATCAC CGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAG AGGACACCGCGTCTACTACTGCCTAGGTGGACTACCGGCACAGGCGCTAC TGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGTACGACTAAGGGCCGCTC CGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAATCCACCGTGCCC TCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC AGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGAGCTC CGGGCTGTACTCGCTGTCGTGGTGGTACGGTGCCCTCATCTAGCCTGGGTA CCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGAC AAGCGCGTCAATCGAAGTACGGCCCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGGA GTTCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCACCGAAGCCCAAGGACACTT TGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTGGTGGAGCTGTACAG GAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAA CGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCGCGTCGTGT CCGTGCTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGC CAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGCCAGGAAG AAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGCCCTGTGAAGGGCTTCTACCCA TCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCGGAACCAACTACAA GACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGACGGATCCTTCTTCTACTCGCGGC TGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTTCACTGTTCTGTG ATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCT GGGA |
| BAP049-クローン-E LC | | |

10

20

30

40

【表 8】

| | | |
|------------------|-----------------|---|
| 59 | LCDR1 (Kabat) | KSSQSLDSDGNQKNFLT |
| 60 | LCDR2 (Kabat) | WASTRES |
| 61 | LCDR3 (Kabat) | QNDYSYPYT |
| 62 | LCDR1 (Chothia) | SQSLDSDGNQKNF |
| 63 | LCDR2 (Chothia) | WAS |
| 64 | LCDR3 (Chothia) | DYSYPY |
| 65 | VL | EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGT KVEIK |
| 66 | DNA VL | GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGG GCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCAGTCTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAG AACTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATC TACTGGGCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCAGCTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCGCT ACCTACTACTGTGAGAAGCACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAG |
| 67 | LC | EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGE |
| 68 | DNA LC | GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGG GCTACACTGAGCTGTAAATCTAGTCAGTCAGTCTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAG AACTTCCTGACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATC TACTGGGCTCTACTAGAGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCAGCTTCACCTTCACTATCTCTAGCCTGGAAGCCGAGGACGCCGCT ACCTACTACTGTGAGAAGCACTATAGCTACCCCTACACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCC AGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGCTGCTGCTGAACAAC TTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGC CTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTAC GCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC |
| BAP049-クローン-B HC | | |
| 69 | HCDR1 (Kabat) | ACCTACTGGATGCAC |
| 70 | HCDR2 (Kabat) | AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAAT |
| 71 | HCDR3 (Kabat) | TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC |
| 72 | HCDR1 (Chothia) | GGCTACACCTTCACTACCTAC |
| 73 | HCDR2 (Chothia) | TACCCCGGCACCGGCGGC |
| 74 | HCDR3 (Chothia) | TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC |
| BAP049-クローン-B LC | | |
| 75 | LCDR1 (Kabat) | AAATCTAGTCAGTCAGTCTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAAGTTTCCTGACC |
| 76 | LCDR2 (Kabat) | TGGGCTCTACTAGAGAATCA |
| 77 | LCDR3 (Kabat) | CAGAAGCACTATAGCTACCCCTACACC |
| 78 | LCDR1 (Chothia) | AGTCAGTCAGTCTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAAGTTTC |
| 79 | LCDR2 (Chothia) | TGGGCTCT |
| 80 | LCDR3 (Chothia) | GACTATAGCTACCCCTAC |
| BAP049-クローン-E HC | | |
| 81 | HCDR1 (Kabat) | ACCTACTGGATGCAC |
| 82 | HCDR2 (Kabat) | AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGAGAAGTTTAAGAAT |
| 83 | HCDR3 (Kabat) | TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC |
| 84 | HCDR1 (Chothia) | GGCTACACCTTCACTACCTAC |
| 85 | HCDR2 (Chothia) | TACCCCGGCACCGGCGGC |
| 86 | HCDR3 (Chothia) | TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC |
| BAP049-クローン-E LC | | |

【表 9】

| | | |
|--|---|--|
| 87 | LCDR1 (Kabat) | AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACC |
| 88 | LCDR2 (Kabat) | TGGGCCTCTACTAGAGAATCA |
| 89 | LCDR3 (Kabat) | CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC |
| 90 | LCDR1 (Chothia) | AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGAAGAACTTC |
| 91 | LCDR2 (Chothia) | TGGGCCTCT |
| 92 | LCDR3 (Chothia) | GACTATAGCTACCCCTAC |
| 93 | BAP049-クローン- B/E HC 組合せHCDR1 Kabat/Chothia | GYTFTTYWMH |
| ヒトmabについての重鎖および軽鎖リーダー配列のアミノ酸配列 | | |
| BAP049-クローン-B | | |
| 94 | HC | MAWVWTLPLFLMAAAQSVQA |
| 95 | LC | MSVLTQVLALLLLWLTGTRC |
| BAP049-クローン-E | | |
| 96 | HC | MAWVWTLPLFLMAAAQSVQA |
| 97 | LC | MSVLTQVLALLLLWLTGTRC |
| ヒトIgG重鎖およびヒトカッパ軽鎖の定常領域アミノ酸配列(EUナンバリング) | | |
| 98 | IgG4(S228P) 突然変異定常領域 アミノ酸配列 | ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGKTCTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGR |
| 99 | C末端リジン(K)を欠く IgG4(S228P) 突然変異定常領域 アミノ酸配列 | ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGKTCTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGR |
| 100 | IgG1野生型 | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTCTCNVNHKPSNTKVDKRVESKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPKQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 101 | IgG1(N297A) 突然変異定常領域 アミノ酸配列 | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTCTCNVNHKPSNTKVDKRVESKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPKQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 102 | IgG1(D265A, P329A) 突然変異定常領域 アミノ酸配列 | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTCTCNVNHKPSNTKVDKRVESKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPKQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 103 | IgG1(L234A, L235A) 突然変異定常領域 アミノ酸配列 | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTCTCNVNHKPSNTKVDKRVESKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPKQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

10

20

30

40

【表 10】

| | | |
|-----|-------------------------|--|
| | | HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSGDSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK |
| 104 | ヒトカッパ 定常領域 アミノ酸配列 | RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC |

【実施例】

10

【0240】

実施例1：ヒトPBM Cを使用するIL-15/IL-15Ra複合体および抗PD-1抗体分子の組合せの相加/相乗の効果の実証

本実施例は、タイトレート濃度の組換えヘテロ二量体IL-15/可溶性IL-15Ra複合体(hetIL-15)および固定濃度の抗PD-1抗体分子PDR001の存在下でエクスピボドウム球菌エンテロトキシンB(SEB)アッセイを利用してSEBにより活性化される全血上のIL-2の産生の増加を決定する。6つのパラメータを試験した：

(i) hetIL-15 単独

(ii) hetIL-15 + hIgG4 (アイソタイプ対照) 0.5 μg/ml

20

(iii) hetIL-15 + PDR001 0.5 μg/ml

(iv) PDR001 0.5 μg/ml 単独

(v) SEB 1 ng/ml 単独

(vi) SEB なし

【0241】

材料および方法

GibcoからのIMDM培地(12440-053)をベースとして新鮮なT細胞培養培地を以下の追加のサプリメントを用いて調製した：10%のウシ胎児血清(Life Technologiesカタログ番号26140-079)、1%のビルビン酸ナトリウム(Gibco、カタログ番号11360-070)、1%のL-グルタミン(Gibco、カタログ番号25030-081)、1%のHEPES(Gibco、カタログ番号15630-080)、1%のペニシリン-ストレプトマイシン(Gibco、カタログ番号15140-122)および1%のMEM NAA(Gibco、カタログ番号11140-050)。

30

【0242】

アッセイのため、Leucocep(Greiner Bio-one、カタログ番号227-290)を使用して4人のヒトドナー(E-012、E421、E444および1011)の全血からPBM Cを単離した。最後の洗浄後、細胞を5mlのT細胞培養培地中で再懸濁させた。細胞を株化することにより単一細胞懸濁液を生成し、1:20の希釈物を1mlのT細胞培養培地中で調製した。Vi-Cell XR(Cell Viability Analyzer)を使用して細胞計数を行った。細胞をT細胞培養培地中で 4×10^6 個の細胞/mlに希釈し、50 μlの細胞を96ウェル平底プレート(Costar、カタログ番号3596)のそれぞれのウェルに添加した。

40

【0243】

$4 \times 1 \mu\text{g/ml}$ のhetIL-15(濃度:1.627 mg/ml;臨床グレード)をT細胞培養培地中で調製し、プレート下方への6点用量応答により1:10用量タイトレーションを実施した。50 μlのタイトレートhetIL-15を適切なプレートウェルに添加した。 $4 \times 0.5 \mu\text{g/ml}$ のPDR001またはアイソタイプ対照hIgG4(S228P)をT細胞培地中で調製した。50 μlの培地単独または2 μg/mlのPDR001(濃度:10 mg/ml;臨床グレード)またはhIgG4(S228P)(

50

濃度：3.63 mg/ml) 調製原液を、適切な群/ウェルに添加した。プレートを組織培養インキュベーター中で1時間インキュベートした。「組合せ同時」群については、h e t I L - 15をP D R 0 0 1と同日に添加した。「組合せ連続」については、h e t I L - 15を新たに調製し、P D R 0 0 1添加の72時間後に培養物に添加した。

【0244】

新たなT細胞培養培地中で、最初に2.5 mg/mlのS E B原液を25 µg/ml (1:100)に希釈することにより4 × 1 ng/mlのS E Bを調製し、次いでそれを使用して4 ng/mlの原液を調製した。プレートを1時間インキュベートした後に50 µlの4 × S E Bを適切なウェルに1 ng/mlの最終濃度に添加した。

【0245】

S E Bなし(2つのウェル)、培地単独とS E B(2つのウェル)および0.5 µg/mlにおけるP D R 0 0 1とS E B(2つのウェル)を含む対照群を調製した。試験群は、h e t I L - 15単独、h e t I L - 15 + h I g G 4 (S 2 2 8 P)およびh e t I L - 15 + P D R 0 0 1を含む。試験群の全ての試料を3つ組でランした。

【0246】

プレートを37 °Cにおいて5%のCO₂中で4日間インキュベートした。4日目、プレートを2000 rpmにおいて2分間回転させた。およそ120 µlの細胞上清を96ウェルポリプロピレンV字底プレート(Greiner Bio-one、カタログ番号651261、ロットE150935P)中に回収した。プレートを密封し、アッセイするまで-80 °Cにおいて冷凍した。

【0247】

V - P L E X (M S D、カタログ番号K 1 5 1 Q Q D - 4)を製造業者のプロトコルに従って使用してI L - 2計測を実施した。試料をキットからの希釈剤2中で1:5に希釈し、4つ組でランした。M S D分析ソフトウェアを使用してデータを分析した。

【0248】

結果

1 µg/mlの濃度において、h e t I L - 15は、4人全員のドナーにおいてS E B誘導I L - 2産生を増強することが観察された。しかしながら、この効果は、P D R 0 0 1の存在により、特にその組合せを同時に投与した場合にさらに増強され、したがって、h e t I L - 15およびP D R 0 0 1の組合せは、h e t I L - 15単独について観察されたものよりもS E B誘導I L - 2産生をさらに向上させた。したがって、これらの結果は、ドナーP B M CからのI L - 2産生に対するh e t I L - 15とP D R 0 0 1との組合せについての相加または相乗的効果を実証する。

【0249】

実施例2：転移性癌を有する成人における単独または抗P D - 1抗体分子との組合せのI L - 15 / I L - 15 R a複合体の1 / 1 b相試験

本実施例は、転移性癌を有するヒト患者に単独または抗P D - 1抗体分子P D R 0 0 1との組合せで投与される皮下(S C)組換えヘテロ二量体I L - 15 / 可溶性I L - 15 R a複合体(h e t I L - 15)の安全性、忍容性、用量制限毒性(D L T)および最大忍容用量(M T D)を決定するための試験を記載する。患者は、目下、転移性であり、標準的医学治療では難治性であり、またはそれが不適切である癌の確定診断を有する。本試験はまた、(i)単独およびP D R 0 0 1との組合せのh e t I L - 15の予備抗腫瘍活性を評価し得；(i i)単独およびP D R 0 0 1との組合せのh e t I L - 15の薬物動態(P K)プロファイルを特徴づけ得；(i i i)単独およびP D R 0 0 1との組合せのh e t I L - 15の免疫原性を評価し得；(i v)単独およびP D R 0 0 1との組合せのh e t I L - 15の薬力学(P D)効果を評価し得る。

【0250】

試験における包含のために選択されるヒト患者は、以下の基準の全てを満たす：

a. 年齢 18歳。

b. 患者は、転移性または切除不能であり、少なくとも1回の先行治療に関して進行して

10

20

30

40

50

おり、標準的な治癒もしくは緩和尺度が存在せず、または最小の患者生存利益（患者および／または試験医により定義）を伴う、組織学的に確定された固形悪性腫瘍を有する。安全に生検することができる腫瘍を有する患者の包含が奨励される。

さらに、試験における包含のために選択されるヒト患者はまた、以下の基準の1つ以上、または全てを満たす：

c．患者は、生検に適した疾患の部位を有さなければならず、治療施設の指針に従う腫瘍生検についての候補でなければならない。患者は、ベースラインにおける新たな腫瘍生検を受け、本試験時の治療法の間に再度腫瘍生検を受ける意思を有さなければならない。

d．患者は、慣用の技術を用いて 20 mm として、または脊髄コンピュータ断層撮影（CT）スキャンを用いて 10 mm として少なくとも1つの寸法（非結節性病変については記録することができる最長直径および結節性病変については短軸）で正確に計測することができる少なくとも1つの病変として定義される評価可能または計測可能な疾患を有さなければならない。

e．患者は、4週間よりも前に施与された先行の化学療法または生物療法の毒性から、NCI有害事象共通用語基準（Common Terminology Criteria for Adverse Events）（CTCAE）バージョン4.0.3のグレード1に回復していなければならない。

f．任意の癌のためのビスホスホネートまたは前立腺癌のためのホルモン療法を受けている患者は、この治療法を継続し得る。しかしながら、前立腺癌を有する患者は、去勢レベルのテストステロンを産生するホルモン療法にかかわらず進行した確定された転移性疾患を有さなければならない。（去勢テストステロンレベルは、去勢の数時間以内、およびホルモン放出ホルモンアゴニストの黄体化の2～3週間以内に生じる。）

g．米国東海岸癌臨床試験グループ（Eastern Cooperative Oncology Group）（ECOG）性能状態 1。

h．患者は、以下に定義される正常臓器および骨髄機能を有さなければならない：

- 白血球 3,000 / μ L
- 好中球絶対数（ANC） 1,500 / μ L および血小板 100,000 / μ L
- ヘモグロビン > 8.0 g / dL および施設の正常限界内の総ビリルビン
- AST / ALT 2.5 × 施設の正常限界上限
- クレアチニン < 1.5 × 施設の正常限界上限または施設正常値よりも1.5倍高い血清クレアチニンレベルを有する患者についてはクレアチンクリアランス 60 mL / 分 / 1.73 m²。

i．DLCO / VA および FEV₁ 肺機能試験時の予測値の50%

j．二次（転移性）CNS腫瘍は、それらが試験エントリー前30日間の期間にわたり臨床的に安定であり、ステロイドも抗痙攣療法も要求されない場合、許容される。

【0251】

以下の基準の1つ以上、または全てを満たす患者は、試験のための患者として選択することができない：

a．任意の先行IL-15治療を受けた患者。登録前4週間以内に細胞毒性療法も、免疫療法も、放射線療法も、大手術も、抗腫瘍ワクチンもなし。しかしながら、患者は、第1サイクル1日目（C1D1）の6週間よりも前に先行する抗-CTLA-4または抗PD-1 / PD-L1またはニトロソウレアまたはマイトマイシンCを有したことを許容される。

b．本試験において治療されるもの以外の悪性疾患を有する患者。この除外の例外としては、以下のものが挙げられる：治療により治癒され、試験治療前の2年以内に再発しなかった悪性腫瘍；完全に切除された基底細胞および扁平上皮皮膚癌；ならびに完全に切除された任意のタイプのインサイチュー癌腫。

c．原発性脳腫瘍または活性CNS転移を有する患者。

d．hetIL-15と類似の化学または生物組成の化合物に起因するアレルギー反応の既往歴を有する患者。

e. 無制御な介入疾病、例として、限定されるものではないが、進行中もしくは活性感染、認知機能障害、活性物質乱用、または試験医の観点から安全な治療もしくはインフォームドコンセントを与える能力を妨げ、試験要件の順守を制限する精神疾病/社会的状況を有する患者。

f. 心臓機能障害または臨床的に有意な心疾患、例として、以下のいずれかを有する患者：(a) 臨床的に有意なおよび/または無制御な心疾患、例えば、治療を要求する鬱血性心不全 (NYHA グレード 2)、無制御な高血圧または臨床的に有意な不整脈；(b) スクリーニング ECG 時の QTcF > 470 msec または先天性 QT 延長症候群；(c) 試験エントリー前の < 3 カ月の急性心筋梗塞または不安定狭心症。

g. 治療法の間、患者の有効な避妊を実施する能力の不存在もしくは拒絶または妊娠もしくは活性授乳の存在。

h. 確認された HIV 感染もしくは血清学的陽性、活性細菌感染、活性または慢性 B 型肝炎または C 型肝炎についての血清学的もしくは PCR のエビデンスを有する患者。

i. 重度の喘息の既往歴または慢性吸入コルチコステロイド医薬についての絶対的要求を有する患者。

j. 自己免疫疾患の既往歴を有する患者

k. 副腎不全の状況における補充用量ステロイド以外の 10 mg / 日のプレドニゾンまたは類似薬の全身ステロイド療法による長期間治療を要求する患者。局所、吸入、鼻腔および眼内ステロイドは禁止されない。

l. 試験治療の開始の 4 週間以内の感染性疾患 (例えば、インフルエンザ、水痘、肺炎球菌) に対する任意のワクチンの使用は許容されない。

m. 試験薬物の開始前の 2 週間の血液コロニー刺激成長因子 (例えば、G-CSF、GM-CSF、M-CSF) の使用は許容されず；しかしながら、赤血球刺激剤は、それが試験治療の 1 回目の投与の少なくとも 2 週間前に開始され、安定用量において維持される限り許容される。

【0252】

単一薬剤 h e t I L - 15 の MTD および/または展開のための推奨用量 (RDE) は、このオープンラベル試験の第 I 相パートにおいて決定する。単一薬剤の MTD および/または RDE の同定後、用量展開パートをオープンして単剤療法の安全性、PK、PD、および予備活性をさらに特徴づけすることができる。

【0253】

h e t I L - 15 と P D R 0 0 1 との組合せの MTD および/または RDE は、この試験の第 I b 相パートにおいて決定する。MTD または RDE の同定時、展開パートをオープンして組合せの安全性、PK、PD、および予備活性をさらに特徴づけすることができる。展開パートは 2 つの群からなり、抗 PD - 1 療法に病歴的に耐性である癌を有する患者および抗 PD - 1 療法に病歴的に感受性である癌を有する患者である (病歴的に感受性の癌としては、限定されるものではないが、NSCLC、黒色腫、および膀胱が挙げられる)。

【0254】

患者は、疾患進行まで、または停止規則を満たすまで単一薬剤 h e t I L - 15 またはそれと P D R 0 0 1 との組合せを受け続ける。

【0255】

実施例 3：第 I 相についての用量漸増指針

3.1 h e t I L - 15 投与

患者は、それぞれの治療サイクル (28 日間) の間、合計 6 回の h e t I L - 15 の SC 注射 (2 週間にわたり週 3 回 [MWF]) とそれに続く 2 週間の中断を受ける。患者は、試験へのエントリーのそれらのオーダーに基づき連続的に用量レベルに割り当てる。表 2 は、評価される仮用量レベルを提供する。試験の過程の間、追加および/または間欠的用量レベルを添加することが可能である。さらに、h e t I L - 15 の代替投与スケジュール、例えば、サイクルの最初の 2 週間の間の週 1 または 2 回の h e t I L - 15 の投与

10

20

30

40

50

を評価することができる。コホートは、MTD未満で任意の用量レベルにおいて追加して安全性、PK、および/またはPDをより良好に理解することができる。

【0256】

3.2 単一薬剤hetIL-15についての合理的な開始用量

hetIL-15の0.25 µg/kg/SC注射の開始用量を選択した。それというのも、それはマカクにおいて試験された最低用量(1.27 µg/kg)よりも5倍低く、NOAEL用量(12.67 µg/kg)よりも50倍低いためである。この開始用量は、体表面積の差に基づく種間調整により少なくとも10倍の安全マージンを提供する。

【0257】

【表11】

10

表2: コホート番号およびhetIL-15用量レベル

| 患者コホート | hetIL-15のSC用量 (1サイクル当たりµg/kg/日×6) |
|--------|--------------------------------------|
| 1 | 0.25 |
| 2 | 0.5 |
| 3 | 1 |
| 4 | 2 |
| 5 | 4 |
| 6 | 8 |

20

【0258】

3.3 第I相の単一薬剤用量漸増およびMTD/RDEの決定についての指針

本試験の第I相部分は、MTDおよび/またはRDEを決定するための単一薬剤hetIL-15の漸増用量からなる。MTDは、3または6人の2人の患者がDLTを経験した用量未満の用量レベルと定義され、最初の治療サイクル(最初の28日間)の間に生じる事象に限定される。患者は、最小の安全性評価および薬物曝露で少なくとも1つの治療サイクルを完了し、または用量漸増決定について評価可能であるとみなすことができる最初の治療サイクル内でDLTを有さなければならない。患者がDLTを経験せず、最小の曝露基準を満たなかった場合、その患者はMTDの決定について評価可能でなく、交替させる。

30

【0259】

新たな患者は登録せず、前回の用量レベルにおいて治療された全ての患者が治療の28日目の第1サイクルに達し、試験責任医師および試験依頼者間の同意がなされるまで次の用量コホートにおいて治療を開始する。

40

【0260】

試験は、単一患者投与コホートで開始し、最初のグレード2以上のAEが観察される場合に標準的3+3設計に切り替える。3+3アルゴリズムに基づく用量漸増スキームを図2に提示する。単一患者コホートは、0.25 µg/kg/注射における投与を開始し、いかなる有意なグレード2の臨床または実験室治療発生AEまたはDLTも不存在下で、用量漸増は、患者が、投与コホートの拡大を要求するAEを有さず、またはDLTを有さない限り、表2に示される通り連続的に進行する。

【0261】

用量漸増の過程の間、3+3またはMTDにより決定される次の用量レベル未満の任意

50

の計画または中間用量レベルにおいて最大6人の患者の追加のコホートを登録して安全性、PK、および/またはPDをより良好に理解することが可能である。これらの追加コホートにおいて観察されるDLTデータは3+3アルゴリズム(表3参照)において考慮することができないが、試験依頼者および試験責任医師は、これらのデータのレビュー後に、両者が3+3アルゴリズムにより決定されたものよりも低い用量において次のコホートをオープンすることがより適切であることに同意する場合、3+3アルゴリズムの却下を決定することができる。

【0262】

【表12】

表3: 用量漸増

| シナリオ | 所与の用量レベルにおける DLTを有する患者数 | 漸増決定規則 |
|---------------------------|----------------------------|---|
| 新たな用量レベルにおける新たなコホートの3人の患者 | | |
| A | DLT = 0/3 | 次のより高用量レベルまたは最高用量レベルの場合、同一の用量レベルにおける新たなコホートの3人の患者。 |
| B | DLT = 1/3 | 同一の用量レベルにおける新たなコホートの3人の患者(以下のDまたはEに進行)。 |
| C | DLT > 1/3 | 次のより低用量レベルにおける新たなコホートの3人の患者または6人の患者が既に試験された場合、次のより低用量レベルにおけるMTDを申告する(再漸増しない)。 |
| 上記のシナリオBから | | |
| D | DLT = 1/6 | 次のより高用量レベルにおける新たなコホートの3人の患者またはそうでなければMTDを申告する。 |
| E | DLT > 1/6 | 次のより低用量レベルにおける新たなコホートの3人の患者または6人の患者が既に試験された場合、次のより低用量レベルにおけるMTDを申告する(再漸増しない)。 |

10

20

【0263】

MTD/RDEの同定後、展開パートをオープンして単剤療法の安全性をさらに特徴づけることができる。9人の患者を安全展開に含め、その患者らをそれぞれの治療サイクル(28日間)の間、同一スケジュール(2週間にわたり週3回[MWF])下でMTD/RDEにおいて治療し、次いで2週間中断する。毒性プロファイルに基づき、hetIL-15の代替投与スケジュール、例えば、サイクルの最初の2週間の間の週1または2回のhetIL-15の投与を探索することができる。

30

【0264】

実施例4: 第Ib相についての用量漸増指針

4.1 PDR001およびhetIL-15投与

本試験の第Ib相の用量漸増部分は、固定用量(400mg、IV注入、Q4W)のPDR001ならびに展開コホートにおいて使用することができる組合せの安全性、忍容性を評価し、MTDおよび/またはRDEを決定するための漸増用量のhetIL-15からなる。PDR001およびhetIL-15を同日に投与する日、PDR001を最初に投与し、PDR001注入を完了させた後にhetIL-15を投与する。

40

【0265】

4.2 hetIL-15とPDR001との組合せに合理的な開始用量

PDR001は、固定用量(400mg Q4W IV注入)において与える。組合せにおけるhetIL-15の開始用量は、1μg/kg/用量である。0.25、0.5および1μg/kg/用量の用量は評価されており、DLTは同定されていない。2μg/kg/用量が現在調査されている。hetIL-15の用量を漸増させて展開群において使用される組合せにおけるMTDおよび/またはRDEを決定する。hetIL-15の用量レベルの漸増は表2に概略される通り進行し、1μg/kg/用量レベルから開始

50

する。追加および／または中間用量レベルを試験の過程の間に添加することが可能である。さらに、h e t I L - 1 5 の代替投与スケジュール、例えば、サイクルの最初の 2 週間の間の週 1 または 2 回の h e t I L - 1 5 の投与を評価することができる。M T D 未満の任意の用量レベルにおいてコホートを追加して安全性、P K、および／または P D をより良好に理解することができる。P D R 0 0 1 との組合せで与える場合、M T D に対して h e t I L - 1 5 の用量もその頻度も単一薬剤を超過する場合はない。

【 0 2 6 6 】

P D R 0 0 1 は、進行中の多施設オープンラベル試験 C P D R 0 0 1 X 2 1 0 1 において、第 I 相用量漸増パートとそれに続く第 I I 相パートで試験されている。用量漸増から得られる薬物動態データ、曝露データのモデリング、および安全性データは、均一または m g / k g 投与のいずれかの使用を支持する。予測 P D R 0 0 1 トラフ濃度は、いくつかの癌タイプにおける実質的効力が承認されているベムプロリズマブについての観察された定常状態平均トラフ濃度と一致する。P D R 0 0 1 の推奨される第 2 相の用量は、4 0 0 m g Q 4 W と申告された。免疫関連毒性は用量関連であると考えられず、したがって、固定濃度の 4 0 0 m g Q 4 W における P D R 0 0 1 と、1 m g / k g 用量 (D L T を有さない安全用量であることが証明されている) の用量において開始する漸増用量の h e t I L - 1 5 が開始用量である。

10

【 0 2 6 7 】

4 . 3 第 I b 相の用量漸増および M T D / R D E の決定についての指針

上記のセクション 3 . 3 および表 3 に提示したものと同一の指針を二重組合せの漸増に使用し、但し D L T 観察の期間を 2 サイクル (最初の 5 6 日間) に拡大することを除く。したがって、M T D は、サイクル 1 または 2 (最初の 5 6 日間) において 6 人のうち 2 人未満 (< 3 3 %) の患者が D L T を経験する最大用量レベルと定義される。用量レベルにおいて登録された第 1 の患者は、少なくとも 2 週間の治療を完了してからコホートにおける次の患者の登録を考慮する。得られる M T D は、少なくとも 6 人の患者において実証されていなければならない、1 人の患者が最初の投与の 5 6 日以内に D L T を経験している。

20

【 0 2 6 8 】

実施例 5 : 第 I b 相についての用量展開指針

組合せについての R D E が第 I b 相の用量漸増パートにおいて申告されると、患者を試験の用量展開パートにおいて登録し、組合せ h e t I L - 1 5 + P D R 0 0 1 について同定された R D E を投与する。

30

【 0 2 6 9 】

用量展開パートは、以下に列記される 2 つの異なる群からなる。群への登録は、患者が P D - 1 または P D - L 1 の治療未経験であるか前治療されているかに無関係である :

第 1 群 : 病歴的に抗 P D - 1 耐性の癌を有する患者

第 2 群 : 病歴的に抗 P D - 1 感受性の癌を有する患者

それぞれの群は 2 0 人の患者を登録する。

【 0 2 7 0 】

実施例 6 : 用量制限毒性の定義

40

用量制限用量を表 4 に定義する。全ての毒性は、N C I C T C A E バージョン 4 . 0 3 に従って格付けする。用量制限毒性を、単剤療法 h e t I L - 1 5 治療の開始からの第 1 サイクル (最初の 2 8 日間) または組合せ治療の開始からの 5 6 日間の間に生じる h e t I L - 1 5 または P D R 0 0 1 またはその組合せに関して評価されるグレード 3 または 4 の A E と定義し、以下に例外を表 4 に概略する。さらに、表 4 は、D L T とみなされる一部の G 2 の A E も列記する :

【 0 2 7 1 】

【表 13】

表4: 用量制限毒性

| | |
|--|----|
| 用量漸増およびコホート拡大の目的のため、DLTを以下のとおり定義する: 任意のグレード4のAEはDLTであるが、以下は例外である: | |
| 発熱も他の臨床症状も伴わない ≤ 5 日間持続する好中球減少 | 10 |
| 7日間未満持続するリンパ球減少または白血球減少 | |
| 臨床後遺症を伴わず、臨床的に有意であるとも考えられず、発症の72時間以内に適切な管理または補給により補正された電解質異常 | |
| 任意のグレード3のAEはDLTであるが、以下は例外である: | |
| 6時間以内に \leq グレード1に消散する注入反応。 | 20 |
| 最適な制吐療法の開始後2日以内に消散する嘔気嘔吐。 | |
| 有意な出血を伴わない血小板減少。 | |
| 最適な抗下痢治療の開始後2日以内に消散する下痢。 | |
| 注射または注入の7日以内に消散する高血圧 | |
| < 5 日以内に消散する好中球減少の不存在下での感染または発熱。 | |
| 治療の開始後7日以内に消散する発疹または光過敏性。 | |
| 7日以内に消散する疲労。 | |
| コルチコステロイドによる治療の開始後7日以内に消散する免疫関連有害事象。 | |
| 注射または注入の3日以内に消散する拒食症 | |
| 輸血により補正することができる無症候性貧血または症候性貧血 | |
| ≤ 7 日間にわたるAST、ALT、アルカリホスファターゼ、または総もしくは間接ビリルビンのCTCAEグレード3 | |
| 以下のグレード2のAEはDLTとみなす: | |
| \geq CTCAEグレード2のAST/ALTを伴う、新たに発症するグレード2の総ビリルビン。 | 30 |
| コルチコステロイドによる治療の開始後7日以内に消散しない肺炎。 | |
| 局所療法にตอบสนองせず、局所療法の開始2週間以内にグレード1の重症度に改善せず、または全身治療を要求する眼痛。 | |
| 他の臨床的に有意な毒性、例として、単一事象または同一事象の複数発生をDLTをみなすことができる。 | |

【0272】

6.1 治療法の持続期間

DLTを経験せず、i r R Cによる疾患進行を示唆する臨床的悪化のエビデンスも有さない患者は、第2の治療サイクルに進行し、第3サイクル1日目（ ± 3 日間）の放射線学的疾患評価を受ける。

【0273】

免疫関連応答基準（i r R C）による疾患進行のエビデンスを有する患者は、プロトコル治療を中止する。安定的疾患（SD）を有し、または第2サイクル後応答評価における治療応答（マーカー病変の合計の $> 15\%$ の減少および/または一部の非計測不可能な病変の改善もしくは消失および/または腫瘍マーカーの $> 10\%$ の減少と定義）の一部のエビデンスを有する患者は、i r R Cによる疾患進行まで試験治療を継続し得る。

【0274】

6.2 フォローアップの持続期間

h e t I L - 15のみを受容する患者は、試験医薬の最後の投与後30日間追跡する。

組合せを受容した患者は、PDR001の最後の投与後150日間追跡する。許容不可能なAEまたはIL-15/IL-15R 抗体の発生について試験から除外された患者は、AEの消散または安定化まで追跡する。

【0275】

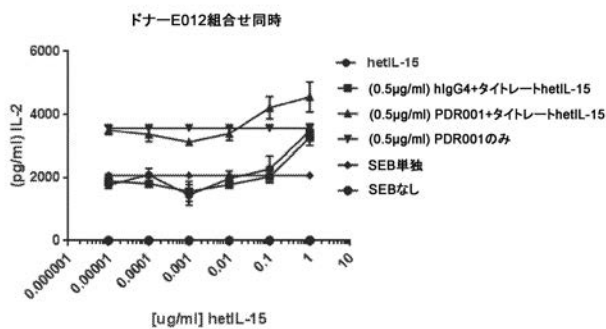
実施例7：hetIL-15による臨床経験

2016年6月23日現在、6人の患者がhetIL-15により本試験の単一薬剤用量漸増パートで治療されていた。患者は、 $0.25 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{用量}$ ($N=1$)、 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{用量}$ ($N=2$)、または $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{用量}$ ($N=3$)を、それぞれの28日間サイクルの最初の2週間の間、週3回受容した。DLTはこれまで同定されなかった。登録は、 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{用量}$ 漸増コホートまで継続している。

10

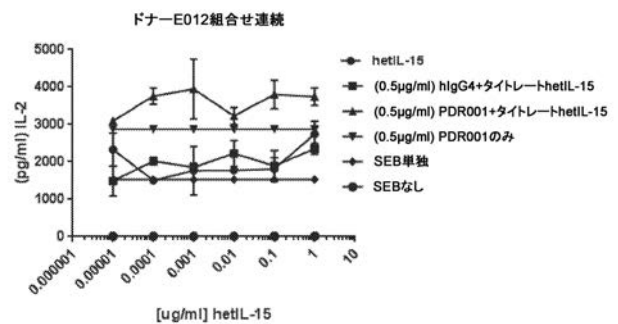
【図1-1】

図1A



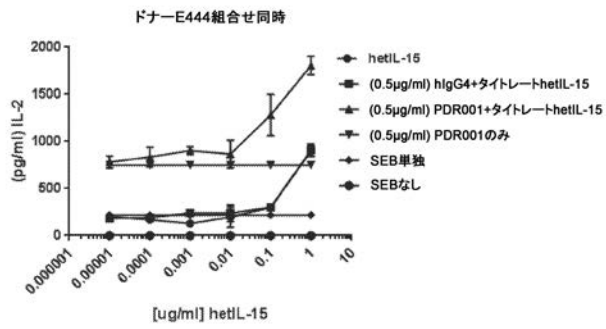
【図1-2】

図1B



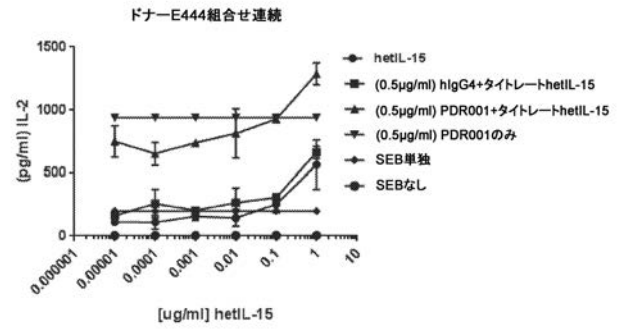
【図 1 - 3】

図 1C



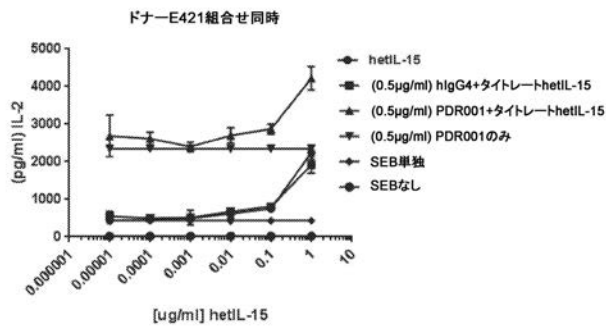
【図 1 - 4】

図 1D



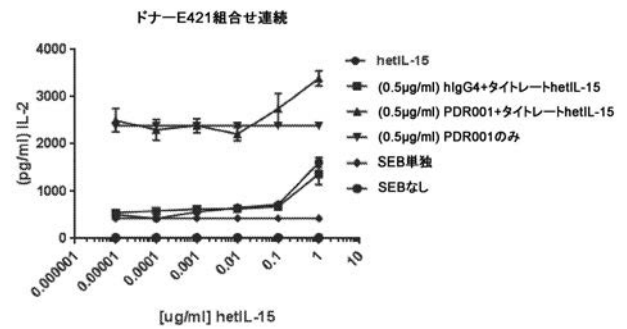
【図 1 - 5】

図 1E



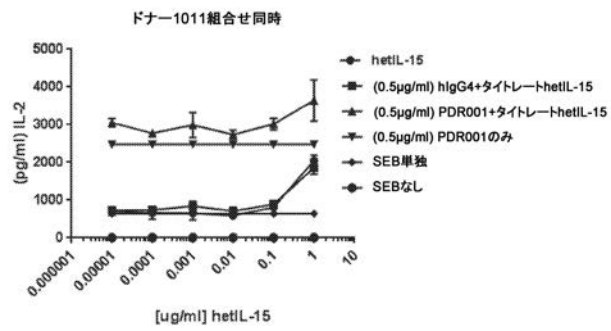
【図 1 - 6】

図 1F



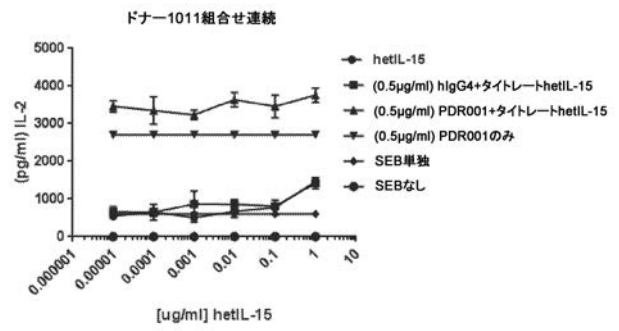
【図 1 - 7】

図 1G



【図 1 - 8】

図 1H



【配列表】

2020505350000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2018/050348

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K38/17 A61K38/20 A61K39/395 C07K14/54 C07K16/28
A61P35/00

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X | <p>Anonymous: "A Phase IB/II Study of Nivolumab In Combination With ALT-803 In Patients With Pretreated, Advanced, or Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer", clinical trials.gov, 17 November 2016 (2016-11-17), XP055457160,</p> <p>Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/archive/NCT02523469/2016_11_17 [retrieved on 2018-03-07] the whole document page 3, last paragraph - page 4, paragraph 1 page 4, paragraph 3 ----- -/--</p> | 1-18 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 March 2018

Date of mailing of the international search report

20/03/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlean 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Siaterli, Maria

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2018/050348

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | <p>DIMITRIOS MATHIOS ET AL: "Therapeutic administration of IL-15 superagonist complex ALT-803 leads to long-term survival and durable antitumor immune response in a murine glioblastoma model : IL-15 Superagonist Against Glioblastoma", INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, vol. 138, no. 1, 11 July 2015 (2015-07-11), pages 187-194, XP055442322, US</p> <p>ISSN: 0020-7136, DOI: 10.1002/ijc.29686</p> <p>abstract</p> <p>page 189, left-hand column, last paragraph - right-hand column, paragraph 1; figure 2</p> <p>page 189, left-hand column, paragraph 2</p> <p>page 190</p> <p>-----</p> | 1-18 |
| X | <p>WO 2016/004060 A2 (ALTOR BIOSCIENCE CORP [US]) 7 January 2016 (2016-01-07)</p> <p>page 75, last paragraph; figure 19b; examples 4,8,9</p> <p>-----</p> | 1-18 |
| X | <p>PETER S. KIM ET AL: "IL-15 superagonist/IL-15R[alpha]Sushi-Fc fusion complex (IL-15SA/IL-15R[alpha]Su-Fc; ALT-803) markedly enhances specific subpopulations of NK and memory CD8+ T cells, and mediates potent anti-tumor activity against murine breast and colon carcinomas", ONCOTARGET, vol. 7, no. 13, 29 March 2016 (2016-03-29), pages 16130-16145, XP055403855, United States</p> <p>ISSN: 1949-2553, DOI: 10.18632/oncotarget.7470</p> <p>page 1, left-hand column, line 23 - line 28</p> <p>-----</p> | 1-18 |
| A | <p>CHRISTOPHER B JOHNSON ET AL: "Combinatorial therapy with an IL-15 superagonist (ALT-803) and anti-PD-L1 mAb augment T cell mediated anti-tumor immunity in mice", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 2, no. Suppl 3, 6 November 2014 (2014-11-06), page P234, XP021202548, ISSN: 2051-1426, DOI: 10.1186/2051-1426-2-S3-P234</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p> | 1-18 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2018/050348

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| A | <p>Alto Biosciences: "Altor BioScience Corporation Announces a Phase 1b/2 Clinical Trial of IL-15 Superagonist ALT-803 in Combination with Anti-PD-1 Antibody Therapy for Advanced / Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer", ACCESSWIRE, 15 June 2016 (2016-06-15), XP055457118, Retrieved from the Internet: URL:file:///C:/Users/MS51025/AppData/Roaming/Mozilla/Firefox/Profiles/MS51025/CiteNP LTemp/CiteNPLWebPage.pdf [retrieved on 2018-03-07] -----</p> | 1-18 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2018/050348

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2018/050348

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 2016004060 A2 | 07-01-2016 | AU 2015284248 A1 | 12-01-2017 |
| | | CA 2953816 A1 | 07-01-2016 |
| | | CN 106659775 A | 10-05-2017 |
| | | EP 3160498 A2 | 03-05-2017 |
| | | JP 2017521410 A | 03-08-2017 |
| | | KR 20170047221 A | 04-05-2017 |
| | | US 2015374790 A1 | 31-12-2015 |
| | | WO 2016004060 A2 | 07-01-2016 |
| ----- | | | |

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|-------------------------|----------------|---------------|
| C 1 2 N 15/13 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | D |
| C 1 2 N 15/24 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | E |
| C 0 7 K 16/18 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | N |
| C 0 7 K 19/00 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | U |
| C 0 7 K 14/54 (2006.01) | C 1 2 N 15/13 | Z N A |
| C 0 7 K 16/24 (2006.01) | C 1 2 N 15/24 | |
| | C 0 7 K 16/18 | |
| | C 0 7 K 19/00 | |
| | C 0 7 K 14/54 | |
| | C 0 7 K 16/24 | |

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

(72)発明者 ルイス, ナンシー

アメリカ合衆国 0 7 9 3 6 - 1 0 8 0 ニュージャージー州, イースト ハノーバー, ワン ヘルズ プラザ ノバルティス ファーマシューティカルズ コーポレーション

F ターム(参考) 4C084 AA02 BA01 BA08 BA21 BA22 BA23 BA44 CA18 CA53 CA56
DA12 DA46 MA02 MA66 NA05 ZB072 ZB261 ZB262 ZC751
4C085 AA13 AA14 BB36 CC22 CC23 EE03 GG02
4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA02 DA50 DA75 DA76 EA20
FA10 FA74