

(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2021-515544  
(P2021-515544A)

(43) 公表日 令和3年6月24日(2021.6.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 4
C 0 7 K 16/40 (2006.01)	C 0 7 K 16/40 Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	4 C 0 8 5
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62 Z	4 H 0 4 5
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 73 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-543213 (P2020-543213)  
 (86) (22) 出願日 平成31年3月14日 (2019.3.14)  
 (85) 翻訳文提出日 令和2年9月14日 (2020.9.14)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2019/056506  
 (87) 国際公開番号 W02019/175359  
 (87) 国際公開日 令和1年9月19日 (2019.9.19)  
 (31) 優先権主張番号 1804094.9  
 (32) 優先日 平成30年3月14日 (2018.3.14)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 英国 (GB)

(71) 出願人 520296613  
 ウルトラヒューマン サーティーン リミテッド  
 イギリス国, ケント シーティー13 9  
 エフエフ サンドウィッチ, ラムスゲイト  
 ロード, イノベーション ハウス, クレストン  
 リーブス エルエルビー内  
 (74) 代理人 100079108  
 弁理士 稲葉 良幸  
 (74) 代理人 100109346  
 弁理士 大貫 敏史  
 (74) 代理人 100117189  
 弁理士 江口 昭彦  
 (74) 代理人 100134120  
 弁理士 内藤 和彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 E R B B 3 結合剤

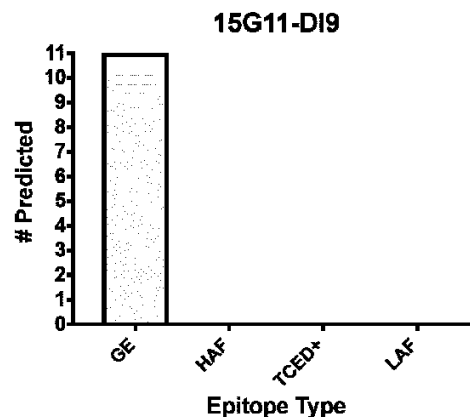
(57) 【要約】

【課題】 C D R の生殖細胞系列化および開発クオリティの最適化は複雑で多因子的な課題である。

【解決手段】 本明細書において、E R B B 3 に特異的に結合する抗体分子、ならびにその関連する核酸分子、ベクターおよび宿主細胞が提供される。さらに本明細書において、当該抗体分子の医療用途が提供される。

【選択図】 図 1 4 E

FIG. 14E



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体は、重鎖可変 ( V H ) 領域および軽鎖可変 ( V L ) 領域を含有し、

( a ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y S M S ( 配列番号 2 4 ) の H C D R 1、 V S T I S D S G T Y T Y Y P D S V K G ( 配列番号 2 5 ) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F ( 配列番号 1 5 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q E I S T Y L S ( 配列番号 2 6 1 ) の L C D R 1、 A A S T L Q S ( 配列番号 2 6 ) の L C D R 2、および L Q Y D S S P L T ( 配列番号 2 6 2 ) の L C D R 3 を含有し、

10

( b ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y S M S ( 配列番号 2 4 ) の H C D R 1、 V S T I S D S G T Y T Y Y P D S V K G ( 配列番号 2 5 ) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F ( 配列番号 1 5 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q E I S S Y L S ( 配列番号 2 1 ) の L C D R 1、 A A S S L D T ( 配列番号 2 6 3 ) の L C D R 2、および L Q Y D S T P Y T ( 配列番号 2 3 ) の L C D R 3 を含有し、

( c ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ) の H C D R 1、 V S T I S D S G S Y T Y Y P D S V K G ( 配列番号 1 9 ) の H C D R 2、および E L G D Y D G F D Y ( 配列番号 2 0 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q E I S S Y L S ( 配列番号 2 1 ) の L C D R 1、 A A S S L D S ( 配列番号 2 2 ) の L C D R 2、および L Q Y D S T P Y T ( 配列番号 2 3 ) の L C D R 3 を含有し [ クローン 1 5 G 1 1 ]、または

20

( d ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y S M S ( 配列番号 2 4 ) の H C D R 1、 V S T I S D S G T Y T Y Y P D S V K G ( 配列番号 2 5 ) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F ( 配列番号 1 5 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q E I S S Y L S ( 配列番号 2 1 ) の L C D R 1、 A A S T L Q S ( 配列番号 2 6 ) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ) の L C D R 3 を含有し [ クローン 1 6 B 0 9 ]、

( e ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ) の H C D R 1、 V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G ( 配列番号 1 4 ) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F ( 配列番号 1 5 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q S I S S Y L S ( 配列番号 1 6 ) の L C D R 1、 A A S S L Q S ( 配列番号 1 7 ) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ) の L C D R 3 を含有し、

30

( f ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ) の H C D R 1、 V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G ( 配列番号 1 4 ) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D H ( 配列番号 2 7 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q E I S S Y L S ( 配列番号 2 1 ) の L C D R 1、 A A S S L Q S ( 配列番号 1 7 ) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ) の L C D R 3 を含有し、

40

( g ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ) の H C D R 1、 V S T I S D G G S Y T Y Y A D S V K G ( 配列番号 2 8 ) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D E ( 配列番号 2 9 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q S I S G Y L S ( 配列番号 3 0 ) の L C D R 1、 A A S T L Q S ( 配列番号 2 6 ) の L C D R 2、および L Q Y D S T P Y T ( 配列番号 2 3 ) の L C D R 3 を含有し、

( h ) V H 領域のアミノ酸配列は、 G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ) の H C D R 1、 V S T I S D G G S Y T Y Y A D N V K G ( 配列番号 3 1 ) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F ( 配列番号 1 5 ) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、 R A S Q S I S S Y L S ( 配列番号 1 6 ) の L C D R 1、 A A S T L Q S ( 配

50

列番号 26) の LC DR 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の LC DR 3 を含有し、または

(i) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 14) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D E (配列番号 29) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q S I S S Y L S (配列番号 16) の LC DR 1、A A S S L Q S (配列番号 17) の LC DR 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の LC DR 3 を含有する、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 2】

(a) 前記 V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 236 を含み、かつ、前記 V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 225 を含み、

(b) 前記 V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 232 を含み、かつ、前記 V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 221 を含み、

(c) 前記 V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 253 を含み、かつ、前記 V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 254 を含有し、または

(d) 前記 V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 255 を含み、かつ、前記 V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 256 を含む、請求項 1 記載の抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 3】

抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体は、重鎖可変 (V H) 領域および軽鎖可変 (V L) 領域を含有し、

(a) H C D R 1 は、アミノ酸配列 G - F - T - F - S - D - Y - X<sub>1</sub> - M - S を含み、式中、X<sub>1</sub> は G または任意の他のアミノ酸であり (配列番号 1)、

(b) H C D R 2 は、V - S - T - I - S - D - X<sub>1</sub> - G - X<sub>2</sub> - X<sub>3</sub> - X<sub>4</sub> - Y - Y - X<sub>5</sub> - D - X<sub>6</sub> - V - K - G を含み、式中、X<sub>1</sub> は G または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub> は T または T の保存的置換であり、X<sub>3</sub> は Y または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>4</sub> は T または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>5</sub> は P または任意の他のアミノ酸であり、また X<sub>6</sub> は N または N の保存的置換であり (配列番号 2)、

(c) H C D R 3 は、X<sub>1</sub> - X<sub>2</sub> - G - D - X<sub>3</sub> - D - G - X<sub>4</sub> - D - X<sub>5</sub> を含有し、式中、X<sub>1</sub> は E または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub> は W または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>3</sub> は Y または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>4</sub> は F または任意の他のアミノ酸であり、また X<sub>5</sub> は Y または任意の他のアミノ酸であり (配列番号 3)、

(d) L C D R 1 は、R - A - S - Q - X<sub>1</sub> - I - S - X<sub>2</sub> - Y - L - X<sub>3</sub> を含み、式中、X<sub>1</sub> は E または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub> は G または G の保存的置換であり、また X<sub>3</sub> は S または S の保存的置換であり (配列番号 7)、

(e) L C D R 2 は、X<sub>1</sub> - A - S - X<sub>2</sub> - L - X<sub>3</sub> - S を含み、式中、X<sub>1</sub> は A または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub> は T または N の保存的置換であり、また X<sub>3</sub> は D または任意の他のアミノ酸であり (配列番号 8)、

(f) L C D R 3 は、X<sub>1</sub> - Q - X<sub>2</sub> - X<sub>3</sub> - S - X<sub>4</sub> - X<sub>5</sub> - X<sub>6</sub> - T を含み、式中、X<sub>1</sub> は L または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub> は Y または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>3</sub> は D または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>4</sub> は Y または任意の他のアミノ酸であり、X<sub>5</sub> は P または任意の他のアミノ酸であり、また X<sub>6</sub> は Y または任意の他のアミノ酸である (配列番号 9)、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 4】

抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体または抗原結合部分は、E R B B 3 への結合を、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分と交差競合し、ならびに

(a) 完全生殖細胞系ヒトフレームワークアミノ酸配列を含有し、および / または

(b) L C D R 2 中に異性化部位を含有せず、および / または

(c) H C D R 2 中に「D G」の異性化部位を含有せず、および / または

(d) H C D R 3 中に 2 位に酸化部位を含有せず、および / または

10

20

30

40

50

( e ) その v - ドメイン中の予測される外来性ヒト T 細胞受容体結合ペプチドの数が、h 2 4 C 0 5 と比較して少なく、および / または

( f ) その v - ドメイン中に予測される外来性ヒト T 細胞受容体結合ペプチドを含まない、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 5】

前記抗体が、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 6】

前記 V H 領域、前記 V L 領域、または前記 V H 領域と前記 V L 領域との両方は、1 つまたは複数のヒトフレームワーク領域のアミノ酸配列を含有する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

10

【請求項 7】

前記 V H 領域、前記 V L 領域、または前記 V H 領域と前記 V L 領域との両方は、前記 C D R が挿入されたヒト可変領域フレームワークスキャホールドのアミノ酸配列を含有する、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 8】

前記 V H 領域は、前記 H C D R 1、H C D R 2、および H C D R 3 のアミノ酸配列が挿入された I G H V 3 - 1 1 ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有する、請求項 1 または 3 に記載の抗体または抗原結合部分

【請求項 9】

前記 V L 領域は、前記 L C D R 1、L C D R 2、および L C D R 3 のアミノ酸配列が挿入された I G K V 1 - 3 9 ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有する、請求項 1、3 および 8 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

20

【請求項 10】

前記抗体は、免疫グロブリン定常領域を含有する、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 11】

前記免疫グロブリン定常領域は、I g G、I g E、I g M、I g D、I g A または I g Y である、請求項 10 記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 12】

前記免疫グロブリン定常領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 または I g A 2 である、請求項 11 記載の抗体または抗原結合部分。

30

【請求項 13】

前記免疫グロブリン定常領域は、免疫学的に不活性である、請求項 10 記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 14】

前記免疫グロブリン定常領域は、野生型ヒト I g G 4 定常領域、S 2 2 8 P のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 4 定常領域、野生型ヒト I g G 1 定常領域、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A および G 2 3 7 A のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 1 定常領域である、または野生型ヒト I g G 2 定常領域である、請求項 10 記載の抗体または抗原結合部分。

40

【請求項 15】

前記免疫グロブリン定常領域は、配列番号 2 3 9 ~ 2 4 5 のいずれか 1 つを含有する、請求項 10 記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 16】

前記抗体または抗原結合部分は、F a b、F a b'、F ( a b' )<sub>2</sub>、F d、F v、s c F v、単ドメイン抗体 ( d A b )、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、v - N A R、または b i s - s c F v である、請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 17】

前記抗体は、モノクローナルである、請求項 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の抗体ま

50

たは抗原結合部分。

【請求項 18】

前記抗体は、四量体抗体、四価抗体、または多特異性抗体である、請求項 1 から 17 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 19】

前記抗体は、第一の抗原および第二の抗原に特異的に結合する二特異性抗体であり、前記第一の抗原は E R B B 3 であり、前記第二の抗原は E R B B 3 ではない、請求項 1 から 18 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項 20】

前記抗体または抗原結合部分は、(a) ヒト E R B B 3 に特異的に結合する、または (b) ヒト E R B B 3 およびアカゲザル E R B B 3 に特異的に結合する、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

10

【請求項 21】

治療剤に結合された請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分を含有する免疫結合体。

【請求項 22】

前記治療剤が、細胞毒素、放射性同位体、化学療法剤、免疫調節剤、抗血管新生剤、抗増殖剤、アポトーシス促進剤、細胞増殖抑制酵素、細胞溶解性酵素、治療用核酸、抗血管新生剤、抗増殖剤、またはアポトーシス促進剤である、請求項 21 に記載の免疫結合体。

【請求項 23】

請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分、または請求項 21 もしくは 22 に記載の免疫結合体、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤を含有する医薬組成物。

20

【請求項 24】

核酸分子であって、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分の

- (a) V H 領域のアミノ酸配列、
- (b) V L 領域のアミノ酸配列、または
- (c) V H 領域および V L 領域の両方のアミノ酸配列、をコードする核酸分子。

【請求項 25】

請求項 24 に記載の核酸分子を含有する発現ベクター。

30

【請求項 26】

請求項 24 に記載の核酸分子、または請求項 25 に記載の発現ベクターを含有する組換え宿主細胞。

【請求項 27】

抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を作製する方法であって、核酸分子が発現される条件下で、請求項 25 に記載の発現ベクターを含有する組換え宿主細胞を培養し、それにより抗体または抗原結合部分を作製すること、および

当該前記宿主細胞または培養物から、前記抗体または抗原結合部分を単離すること、を含む、方法。

40

【請求項 28】

対象において、免疫反応を強化する方法であって、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分の、請求項 21 もしくは 22 に記載の免疫結合体の、または請求項 23 に記載の医薬組成物の治療有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 29】

対象において、癌、自己免疫性疾患、炎症性疾患、心血管疾患、または線維症を治療する方法であって、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分の、請求項 21 もしくは 22 に記載の免疫結合体の、または請求項 23 に記載の医薬組成物の治療有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

50

## 【請求項 30】

前記癌が、消化管間質癌（GIST）、膵臓癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結腸直腸癌、前立腺癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳腫瘍または中枢神経系の癌、末梢神経系の癌、食道癌、子宮頸癌、子宮癌または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝癌、腎癌、精巣癌、胆管癌、小腸癌または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、または血液組織の癌である、請求項 29 記載の方法。

## 【請求項 31】

前記自己免疫性疾患または前記炎症性疾患は、関節炎、喘息、多発性硬化症、乾癬、クローン病、炎症性腸疾患、ループス（Lupus）、グレーブス病、橋本甲状腺炎、または強直性脊椎炎である、請求項 29 記載の方法。

10

## 【請求項 32】

前記心血管疾患が、冠動脈心疾患またはアテローム性動脈硬化症である、請求項 29 記載の方法。

## 【請求項 33】

前記線維症が、心筋梗塞、狭心症、変形性関節症、肺線維症、嚢胞性線維症、気管支炎または喘息である、請求項 29 記載の方法。

## 【請求項 34】

癌、自己免疫性疾患、炎症性疾患、心血管疾患、または線維症の治療における使用のための請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分、請求項 21 もしくは 22 に記載の免疫結合体、または請求項 23 に記載の医薬組成物。

20

## 【請求項 35】

前記癌が、消化管間質癌（GIST）、膵臓癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結腸直腸癌、前立腺癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳腫瘍または中枢神経系の癌、末梢神経系の癌、食道癌、子宮頸癌、子宮癌または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝癌、腎癌、精巣癌、胆管癌、小腸癌または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、または血液組織の癌である、請求項 24 に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合部分、免疫結合体、または医薬組成物。

## 【請求項 36】

前記自己免疫性疾患または前記炎症性疾患は、関節炎、喘息、多発性硬化症、乾癬、クローン病、炎症性腸疾患、ループス（Lupus）、グレーブス病、橋本甲状腺炎、または強直性脊椎炎である、請求項 34 に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合部分、免疫結合体、または医薬組成物。

30

## 【請求項 37】

前記心血管疾患が、冠動脈心疾患またはアテローム性動脈硬化症である、請求項 34 に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合部分、免疫結合体、または医薬組成物。

## 【請求項 38】

前記線維症が、心筋梗塞、狭心症、変形性関節症、肺線維症、嚢胞性線維症、気管支炎または喘息である、請求項 34 に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合部分、免疫結合体、または医薬組成物。

## 【請求項 39】

医薬品としての使用のための、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分、請求項 21 もしくは 22 に記載の免疫結合体、または請求項 23 に記載の医薬組成物。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本出願は、2018年3月14日に提出された英国特許出願第1804094.9号明細書の利益を主張するものであり、この開示内容は、その全体で参照により本明細書に援

50

用される。

【0002】

電子的に提出されるテキストファイルに関する説明

本明細書とともに電子的に提出される以下のテキストファイルの内容は、その全体で参照により本明細書に援用される：コンピューター読み取り可能な形式の配列表のコピー（ファイルの名称：ULTH\_001\_01WO\_SeqList\_ST25.txt、データ記録日：2019年3月13日、ファイルサイズは141,221バイト）。

【0003】

本発明は、ERBB3 (ErbB-3、HER3、LCCS2、MDA-BF-1、c-erbB-3、c-erbB3、erbB3-S、p180-ErbB3、p45-sErbB3、p85-sErbB3、erb-b2受容体型チロシンキナーゼ3としても知られる) に特異的に結合する抗体分子およびその医療用途に関する。

10

【背景技術】

【0004】

ERBB3 (ErbB-3、HER3、LCCS2、MDA-BF-1、c-erbB-3、c-erbB3、erbB3-S、p180-ErbB3、p45-sErbB3、p85-sErbB3およびerb-b2受容体型チロシンキナーゼ3としても知られる) は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜貫通受容体型チロシンキナーゼ (RTK) タンパク質である。ERBB3は、それ独自の重要なチロシンキナーゼ活性を欠いており、例えばHER2、EGFRおよびMET等の他の関連のRTKとのヘテロ二量体形成によって活性化される。このヘテロ二量体形成は、主にERBB3に対する有力なリガンドによって駆動され、これはニューレグリン1 (NRG1) としても知られるヘレグリン (HRG) である。ERBB3-HRG間の相互作用は、ヘテロ二量体のパートナーと、種々の細胞内シグナル伝達ネットワークの活性化とによる、ERBB3のチロシンリン酸化の契機となる。重要なことに、ERBB3は、EGFRファミリーにおける、PI3K/AKTシグナル伝達経路の最も有力な活性化因子である。

20

【0005】

ERBB3受容体はしばしば、頭頸部、肺、胸部、卵巣、前立腺、結腸、膵臓、および消化管の腫瘍で、過剰発現する。ERBB3の過剰発現は、予後不良と強く関連し、またERBB3は、放射線療法ならびに種々の化学療法剤および生物学的薬剤に対する耐性機序において影響を及ぼすとされている。HER2の好ましい二量体形成パートナーとしては、HER2+の乳癌における増幅したERBB3シグナル伝達が、トラスツズマブ療法に対する耐性の一部原因であるとされている。他の重要な受容体が二量体化する能力を遮断することでERBB3シグナル伝達を拮抗する治療用抗体は、以下の2つのメカニズムを介して抗腫瘍効果を介在する可能性がある：1. 受容体を、単量体型へと固定させることにより、ERBB3シグナル伝達経路を強力に阻害する。2. 抗体エフェクター機能介在性の免疫細胞の会合。

30

【0006】

現在承認されている抗体治療剤の大部分は、免疫化されたげっ歯類に由来する。そうした抗体の多くが、マウスの相補性決定領域 (CDR) のヒトv-遺伝子フレームワーク配列への「移植」を介した、「ヒト化」として知られるプロセスを経ている (Nelson et al., 2010, Nat Rev Drug Discov 9:767-774を参照のこと)。このプロセスは多くの場合、不正確であり、得られた抗体の標的結合アフィニティの低下が生じる。元の抗体の結合アフィニティに戻すために、通常、移植されたv-ドメインの可変ドメインフレームワーク中の重要な位置にマウス残基が導入される（「復帰突然変異 (back-mutation)」としても知られる）。

40

【0007】

CDR移植および復帰突然変異によりヒト化された抗体は臨床において、完全マウスv-ドメインによるものと比較して低い免疫反応率を誘導することが示されているが、この基礎的な移植法を使用してヒト化された抗体は、物理的に不安定である可能性があり、移

50

植CDRループ内に免疫原性モチーフがまだ保存されていることから、いまだ重大な臨床開発リスクを負っている。例えば抗ERBB3等である抗体は、それらの作用機序の一部として免疫エフェクター機能を潜在的にもつものであって、ERBB3+標的細胞の食作用を促進し得るために免疫原性のリスクが特に高く、これは標的細胞に加えて抗体の抗原プロセッシングを生じる。タンパク質の免疫原性に関する動物実験は、ヒトでの免疫反応の予測とはならないことが多く、治療用途の抗体操作は、予測されるヒトT細胞エピトープ含量、非ヒト生殖細胞系列アミノ酸含量、および精製タンパク質が凝集してしまう可能性を最小化することに焦点が置かれている。

#### 【0008】

ゆえに理想的なヒト化アンタゴニスト性抗ERBB3抗体は、v-ドメイン中に、詳細に特徴解析されたヒト生殖細胞系列配列のフレームワークとCDRの両方に存在する残基と同一の残基を可能な限り多く有している抗体である。潜在的患者の最大数において高度に発現される、高い安定性の生殖細胞系列との同一性を高レベルにすることで、臨床で望ましくない免疫原性を有する治療用抗体のリスクが最小化され、または異常に高い製造「原価」が最小化される。

#### 【0009】

Townsendら(2015;PNAS 112:15354-15359)は、抗体の作製方法を記載しており、当該方法においてラット抗体、ウサギ抗体およびマウス抗体に由来するCDRは、好ましいヒトフレームワーク内に移植され、次いで「拡張バイナリー置換(augmented binary substitution)」と呼ばれるヒト生殖細胞系列化(human germ-lining)方法が行われる。この方法は、元の抗体のパラトープにおいては基礎的な柔軟性を示したが、正確性の高い抗体-抗原の共結晶構造データが無い場合には、任意の所与の抗体のCDRループ中のどの個々の残基がどの組み合わせでヒト生殖細胞系列に転換され得るかを確実に予測することは不可能なままである。さらにTownsendらの研究では、ヒト生殖細胞系列中に存在する残基を超えた、開発リスクモチーフの除去が有益となる可能性がある位置に突然変異誘導を加えることには対処していない。これは技術の限界であり、この限界によってプロセスが本質的に非効率的となり、開始抗体配列を改変する余剰な段階が必要となる。さらに現時点では、個々のv-ドメインのタンパク質配列で離れた位置にある改変のいずれが、リスクモチーフを排除しながら、抗原結合のアフィニティと特異性の維持を促進し得るのかは、たとえパートナーv-ドメイン上であったとしても正確に予測することはできない。

#### 【0010】

このようにCDRの生殖細胞系列化および開発クオリティの最適化は複雑で多因子的な課題であるため、本例においては以下をはじめとする複合的な分子の機能特性が維持されることが好ましい：標的結合特異性、ヒトおよび実験動物種(例えばアカゲザルとして知られるリーサスサル、すなわちMacaca mulatta)の両方に由来するERBB3に対するアフィニティ、v-ドメインの生物物理的安定性、ならびに/または研究、臨床および商業で使用されるタンパク質発現プラットフォームからのIgG収率。抗体操作実験から、重要なCDR中のたった1つの残基位置での突然変異であっても、これら望ましい分子特性のすべてに対し劇的な影響を与え得ることが示されている。

#### 【0011】

国際公開第2011136911A2号は、「24C05」と名づけられたアンタゴニスト性マウス抗ERBB3 IgG分子、ならびにヒト化型(h24C05)の調製を記載している。その24C05のヒト化型は、古典的なヒト化技術、すなわちKabatt規定のマウスCDRをヒトの重鎖および軽鎖のフレームワーク配列に移植することにより作製されており、ヒトフレームワーク残基の一部は、対応する位置の24C05マウス残基に復帰突然変異されている可能性がある。上述の理由によって、国際公開第2011136911A2号に記載される24C05のヒト化型は理想的ではない。

#### 【発明の概要】

10

20

30

40

50

## 【0012】

本発明は、多くの抗ERBB3抗体、およびその医療用途を提供する。

## 【0013】

本発明の1つの態様によると、ヒトERBB3に、および任意でアカゲザルERBB3にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分が提供され、当該抗体分子または抗原結合部分は、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するHCDR1：G - F - T - F - S - D - Y - Gまたは任意のアミノ酸（例えば、S等） - M - S（配列番号1）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するHCDR2：V - S - T - I - S - D - Gまたは任意のアミノ酸（例えば、S, D等） - G - TまたはT（例えば、S等） - Yの保存的置換または任意のアミノ酸（例えば、T等） - Tまたは任意のアミノ酸（例えば、I等） - Y - Y - Pまたは任意のアミノ酸（例えば、A等） - D - NまたはN（例えば、S等） - V - K - Gの保存的置換（配列番号2）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するHCDR3：Eまたは任意のアミノ酸（例えば、M等） - Wまたは任意のアミノ酸（例えば、F、L、M、QまたはY等） - G - D - Yまたは任意のアミノ酸（例えば、A、D、E、H、L、M、N、Q、S、TまたはW等） - D - G - Fまたは任意のアミノ酸（例えば、I、L、W、Y等） - D - Yまたは任意のアミノ酸（例えば、A、D、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、V、W等）（配列番号3）と、を伴う重鎖可変領域を含む。

## 【0014】

本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のHCDR1は、配列GF T F S D Y A M S（配列番号4、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のHCDR1）を除外してもよく、抗体分子もしくは抗原結合部分のHCDR2は、配列V S T I S D G G T Y T Y Y P D N V K G（配列番号5、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のHCDR2）を除外してもよく、および/または抗体分子もしくは抗原結合部分のHCDR3は、配列E W G D Y D G F D Y（配列番号6、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のHCDR3）を除外してもよい。

## 【0015】

抗体分子または抗原結合部分は、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するLCDR1：R - A - S - Q - Eまたは任意のアミノ酸（例えばS、I、N等） - I - S - GまたはG（例えば、S, T等） - Y - L - Sの保存的置換またはS（例えば、N等）の保存的置換（配列番号7）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するLCDR2：Aまたは任意のアミノ酸（例えば、E等） - A - S - TまたはT（例えばS、N等） - L - Dの保存的置換または任意のアミノ酸（例えば、H、K、Q等） - SまたはT（配列番号8）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するLCDR3：Lまたは任意のアミノ酸（例えば、Q等） - Q - Yまたは任意のアミノ酸（例えば、S等） - Dまたは任意のアミノ酸（例えば、Y等） - S - Yまたは任意のアミノ酸（例えば、T、S等） - Pまたは任意のアミノ酸（例えば、H等） - Yまたは任意のアミノ酸（例えば、L等） - T（配列番号9）と、を伴う軽鎖可変領域をさらに含み得る。

## 【0016】

本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のLCDR1は、配列R A S Q E I S G Y L S（配列番号10、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のLCDR1）を除外してもよく、および/または、抗体分子もしくは抗原結合部分のLCDR2は、配列A A S T L D S（配列番号11、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化

10

20

30

40

50

抗体のLCDR2)を除外してもよく、および/または抗体分子もしくは抗原結合部分のLCDR3は、配列LQYDSYPYT(配列番号12、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のLCDR3)を除外してもよい。

【0017】

一部の態様において、本明細書は、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変(VH)領域および軽鎖可変(VL)領域を含有し、この場合において、

(a)HC DR1は、アミノ酸配列G-F-T-F-S-D-Y-X<sub>1</sub>-M-Sを含み、式中、X<sub>1</sub>はGまたは任意の他のアミノ酸であり(配列番号1)、

(b)HC DR2は、V-S-T-I-S-D-X<sub>1</sub>-G-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Y-Y-X<sub>5</sub>-D-X<sub>6</sub>-V-K-Gを含み、式中、X<sub>1</sub>はGまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub>はTまたはTの保存的置換であり、X<sub>3</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>4</sub>はTまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>5</sub>はPまたは任意の他のアミノ酸であり、またX<sub>6</sub>はNまたはNの保存的置換であり(配列番号2)、

(c)HC DR3は、X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-G-D-X<sub>3</sub>-D-G-X<sub>4</sub>-D-X<sub>5</sub>を含有し、式中、X<sub>1</sub>はEまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub>はWまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>3</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>4</sub>はFまたは任意の他のアミノ酸であり、またX<sub>5</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸であり(配列番号3)、

(d)LC DR1は、R-A-S-Q-X<sub>1</sub>-I-S-X<sub>2</sub>-Y-L-X<sub>3</sub>を含み、式中、X<sub>1</sub>はEまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub>はGまたはGの保存的置換であり、またX<sub>3</sub>はSまたはSの保存的置換であり(配列番号7)、

(e)LC DR2は、X<sub>1</sub>-A-S-X<sub>2</sub>-L-X<sub>3</sub>-Sを含み、式中、X<sub>1</sub>はAまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub>はTまたはTの保存的置換であり、またX<sub>3</sub>はDまたは任意の他のアミノ酸であり(配列番号8)、

(f)LC DR3は、X<sub>1</sub>-Q-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-S-X<sub>4</sub>-X<sub>5</sub>-X<sub>6</sub>-Tを含み、式中、X<sub>1</sub>はLまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>2</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>3</sub>はDまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>4</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸であり、X<sub>5</sub>はPまたは任意の他のアミノ酸であり、またX<sub>6</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸である(配列番号9)。一部の態様において、LC DR2は、X<sub>1</sub>-A-S-X<sub>2</sub>-L-X<sub>3</sub>-S(配列番号8)を含み、式中、配列中の第7の残基は、Sの保存的置換(例えば、T)である。

【0018】

一部の態様において、本発明は、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体は、重鎖可変(VH)領域および軽鎖可変(VL)領域を含有し、この場合において、

(a)VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS(配列番号24)のHC DR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG(配列番号25)のHC DR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHC DR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQEISTYLS(配列番号261)のLC DR1、AASTLQS(配列番号26)のLC DR2、およびLQYDSSPLT(配列番号262)のLC DR3を含有し、

(b)VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS(配列番号24)のHC DR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG(配列番号25)のHC DR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHC DR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLC DR1、AASSLDT(配列番号263)のLC DR2、およびLQYDSTPYT(配列番号23)のLC DR3を含有し、

(c)VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGM(配列番号13)のHC DR1、VSTISDSGSYTYYPDSVKG(配列番号19)のHC DR2、およびE

10

20

30

40

50

L G D Y D G F D Y (配列番号 20) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q E I S S Y L S (配列番号 21) の L C D R 1、A A S S L D S (配列番号 22) の L C D R 2、および L Q Y D S T P Y T (配列番号 23) の L C D R 3 を含有し、

(d) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y S M S (配列番号 24) の H C D R 1、V S T I S D S G T Y T Y Y P D S V K G (配列番号 25) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F (配列番号 15) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q E I S S Y L S (配列番号 21) の L C D R 1、A A S T L Q S (配列番号 26) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の L C D R 3 を含有し、

(e) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 14) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F (配列番号 15) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q S I S S Y L S (配列番号 16) の L C D R 1、A A S S L Q S (配列番号 17) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の L C D R 3 を含有し、

(f) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 14) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D H (配列番号 27) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q E I S S Y L S (配列番号 21) の L C D R 1、A A S S L Q S (配列番号 17) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の L C D R 3 を含有し、

(g) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D G G S Y T Y Y A D S V K G (配列番号 28) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D E (配列番号 29) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q S I S G Y L S (配列番号 30) の L C D R 1、A A S T L Q S (配列番号 26) の L C D R 2、および L Q Y D S T P Y T (配列番号 23) の L C D R 3 を含有し、

(h) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D G G S Y T Y Y A D N V K G (配列番号 31) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F (配列番号 15) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q S I S S Y L S (配列番号 16) の L C D R 1、A A S T L Q S (配列番号 26) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の L C D R 3 を含有し、

(i) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 14) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D E (配列番号 29) の H C D R 3 を含有し、ならびに V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q S I S S Y L S (配列番号 16) の L C D R 1、A A S S L Q S (配列番号 17) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の L C D R 3 を含有する。

#### 【0019】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変 (V H) 領域および軽鎖可変 (V L) 領域を含有し、この場合において、

当該 V H 領域のアミノ酸配列は、

(a) 配列番号 13 または 24 の H C D R 1 と、

(b) 配列番号 14、19、25、28 または 31 の H C D R 2 と、

(c) 配列番号 15、20、27 または 29 の H C D R 3 とを含有し、および

当該 V L 領域のアミノ酸配列は、

(a') 配列番号 16、21、30 または 26 の L C D R 1 と、

10

20

30

40

50

- (b') 配列番号 17、22、26 または 263 の L C D R 2 と、  
(c') 配列番号 18、23 または 262 の L C D R 3 とを含有する。

【0020】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変 (V H) 領域および軽鎖可変 (V L) 領域を含有し、この場合において、

(a) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 236 を含み、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 225 を含み、

(b) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 232 を含み、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 221 を含み、

(c) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 253 を含み、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 254 を含有し、または

(d) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 255 を含み、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 256 を含む。

【0021】

さらに本発明により、治療剤に連結された、融合された、または結合された、本明細書に規定される抗体分子またはその抗原結合部分を含有する免疫結合体が提供される。

【0022】

別の態様において、本発明は、本明細書に規定される抗体分子またはその抗原結合部分をコードする核酸分子を提供する。

【0023】

さらに、本発明の核酸分子を含有するベクターが提供される。

【0024】

また、本明細書に規定される本発明の核酸分子またはベクターを含有する宿主細胞も提供される。

【0025】

さらなる態様において、抗 E R B B 3 抗体および / またはその抗原結合部分を作製する方法も提供され、当該方法は、当該抗体および / もしくはその抗原結合部分の発現ならびに / または産生が生じる条件下で、本発明の宿主細胞を培養することと、当該宿主細胞または培養物から、当該抗体および / またはその抗原結合部分を単離することと、を含む。

【0026】

本発明の別の態様において、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクターを含有する医薬組成物が提供される。

【0027】

さらに、対象において免疫反応を強化する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【0028】

さらなる態様において、対象において癌を治療または予防する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【0029】

さらに、医薬品としての使用のための、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される免疫結合体、または本明細書に規定される核酸分子、または本明細書に規定されるベクター、または本明細書に規定される医薬組成物が

10

20

30

40

50

提供される。本発明はさらに、癌の治療における使用のための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクター、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物を提供する。

【0030】

別の態様において、本発明は、例えば抗癌剤などの第二の治療剤との併用において、別個に使用する、連続して使用する、または同時に使用するための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または免疫結合体、または核酸分子、または使用のためのベクター、または治療方法を提供する。

【0031】

さらなる態様において、癌の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の使用、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の使用、または本明細書に規定される本発明のベクターの使用、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の使用が提供される。

【0032】

本発明はさらに、対象において自己免疫性疾患もしくは炎症性疾患を治療または予防する方法を提供するものであり、当該方法は、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される核酸分子の有効量、または本明細書に規定されるベクターの有効量、または本明細書に規定される医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【0033】

自己免疫性疾患または炎症性疾患は、関節炎、喘息、多発性硬化症、乾癬、クローン病、炎症性腸疾患、ループス ( l u p u s )、グレーブス病、および橋本甲状腺炎、ならびに強直性脊椎炎からなる群からすべての態様において選択されてもよい。

【0034】

また、自己免疫性疾患または炎症性疾患の治療における使用のための、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される免疫結合体、または本明細書に規定される核酸分子、または本明細書に規定されるベクター、または本明細書に規定される医薬組成物が提供される。

【0035】

さらに、自己免疫性疾患または炎症性疾患の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される免疫結合体の使用、または本明細書に規定される核酸分子の使用、または本明細書に規定されるベクターの使用、または本明細書に規定される医薬組成物の使用が提供される。

【0036】

本発明はさらに、対象において心血管疾患もしくは線維症を治療または予防する方法を提供するものであり、当該方法は、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される核酸分子の有効量、または本明細書に規定されるベクターの有効量、または本明細書に規定される医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【0037】

また、心血管疾患または線維症の治療における使用のための、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される免疫結合体、または本明細書に規定される核酸分子、または本明細書に規定されるベクター、または本明細書に規定される医薬組成物が提供される。

【0038】

さらに、自己免疫性疾患、炎症性疾患、または線維症の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される免疫結合体の使用、または本明細書に規定される核酸分子の使用、または本

10

20

30

40

50

明細書に規定されるベクターの使用、または本明細書に規定される医薬組成物の使用が提供される。

【0039】

本発明の任意の態様における心血管疾患は、例えば冠動脈心疾患またはアテローム性動脈硬化症であってもよい。

【0040】

本発明の任意の態様における線維症は、心筋梗塞、狭心症、変形性関節症、肺線維症、嚢胞性線維症、気管支炎および喘息からなる群から選択されてもよい。

【0041】

本発明はさらに、ヒト E R B B 3 に特異的に結合し、および任意でアカゲザル E R B B 3 にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を作製する方法を提供するものであり、当該方法は、

(1) 非ヒト源由来の抗 E R B B 3 C D R をヒト V - ドメインフレームワーク内に移植し、ヒト化抗 E R B B 3 抗体分子またはその抗原結合部分を作製する工程、

(2) C D R 中に1つまたは複数の変異を含有する当該ヒト化抗 E R B B 3 抗体分子またはその抗原結合部分のクローンのファージライブラリーを作製する工程、

(3) ヒト E R B B 3 への結合、および任意でアカゲザル E R B B 3 への結合についても当該ファージライブラリーをスクリーニングする工程、

(4) スクリーニングする工程(3)から、ヒト E R B B 3 に特異的に結合する、および任意でアカゲザル E R B B 3 にも特異的に結合するクローンを選択する工程、ならびに

(5) 工程(4)から選択された、ヒト E R B B 3 に特異的に結合し、および任意でアカゲザル E R B B 3 にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を作製する工程、を含む。

【0042】

当該方法は、工程(4)で選択されたクローンに基づき、例えば工程(4)で選択されたクローンの C D R 中の特定の位置でのさらなる探索的な突然変異誘導に基づき、追加のクローンを作製して、ヒト化を強化し、および/またはヒト T 細胞エピトープ含量を最小化し、および/または工程(5)で作製された抗体分子もしくはその抗原結合部分の製造特性を改善するさらなる工程を含んでもよい。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】図1A～図1B。ヒトおよびアカゲザルの E R B B 3 - F c タンパク質に対する、ライブラリー由来の抗 E R B B 3 F a b の直接結合 E L I S A および A l p h a s c r e e n 競合スクリーニング。複数のファージ選択ブランチからクローンが誘導された。選択ブランチにおいて、ファージ群は、ピオチン化されたヒトまたはアカゲザルの E R B B 3 タンパク質に対し各ラウンド I I ~ I V で選択された。「ハンマー - ハグ」ラウンドもまた、別個のラウンド I I および I I I で実施した。各選択ラウンドの後に、ライブラリー由来クローンは、E L I S A (図1A)において、および A l p h a s c r e e n (図1B)による h u E R B B 3 に結合する際の 2 4 C 0 5 I g G の結合の遮断において、ヒト (h u E R B B 3) およびアカゲザル (r h E R B B 3) の両方に対して、ペリプラズム発現した F a b タンパク質としてスクリーニングされた。各ラウンドの平均 ± S D 値は、灰色の棒で表されている。

【図2】図2A～図2B。生殖細胞系列への変異に関する、C D R 残基の寛容の分析。ヒトおよびアカゲザル E R B B 3 の交差反応性を示す、E L I S A 陽性の 6 5 8 個の固有 F a b クローン群の C D R におけるマウスアミノ酸保持頻度の図を、それぞれ V<sub>L</sub> (配列番号 3 2 ~ 3 4) ドメイン (図2A) および V<sub>H</sub> (配列番号 3 5 ~ 3 7) (図2B) ドメインについて示す。H C D R 3 以外では、ヒト/マウス残基の突然変異誘導の標的とされた残基のみプロットされている。X 軸上のカッコ内に記載される C D R 残基は、移植に使用されたヒト生殖細胞系列 (I G K V 1 - 3 9 および I G H V 3 - 1 1) 中に存在する残基と同一である。カッコ内には無いがその値が 0 に設定されている C D R 中の残基は、移植

10

20

30

40

50

プロセスの間にヒト生殖細胞系列へと変異された。両方の図において、75%での灰色の破線は、ヒト生殖細胞系列によるマウス残基の置換の寛容性に対するカットオフを表している。

【図3】図3A～図3B。ヒトおよびアカゲザルのERBB3タンパク質へのIgG結合に関する、直接的力価測定ELISA。キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1ヌル形式のライブラリー由来クローンおよびデザインクローンが、ヒト(図3A)およびアカゲザル(図3B)のERBB3-Fcタンパク質に対する直接結合ELISAにおいて力価測定(単位nM)された。アイソタイプIgG1ヌルコントロール以外の全てのクローンは、ERBB3のオルソログ両方に対する結合活性を示した。

【図4】図4。Alpha screenにおけるIgG1ヌルタンパク質のエピトープ競合解析。抗ERBB3 IgG1ヌルクローンに、Alpha screen技術を使用したエピトープ競合解析を行った。このアッセイにおいて、ライブラリー由来IgGおよびデザインIgGは、溶液中のヒトERBB3タンパク質へのh24C05 IgG1ヌル結合を競合することにより、h24C05エピトープの保持に関して解析された。解析されたすべてのクローンは、ERBB3に対するh24C05結合の、強力で濃度依存性の中和を示した。

【図5】図5A～図5B。ライブラリー由来リードおよび初代デザインリードのヒトおよびアカゲザルのERBB3+HEK-293細胞に対するフローサイトメトリー結合。ヒト(図5A)およびアカゲザル(図5B)のERBB3トランスフェクトHEK-293細胞に対する特異的結合に関して、キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1ヌル形式のライブラリー由来クローンおよびデザインクローンを検証した。IgGは、0.008～500nMの範囲の濃度で試験した。すべてのERBB3特異的抗体で、ヒトおよびアカゲザルの細胞株の両方に対し、濃度依存性の結合が観察された。一方でアイソタイプコントロールでは観察されなかった。野生型HEK-293細胞に対し、バックグラウンドを超える結合シグナルは観察されなかった。

【図6】図6A～図6B。リード抗体v-ドメインにおける、T細胞エピトープペプチド含量。h24C05(図6A)および15G11(図6B)の抗体のv-ドメインを、生殖細胞系列(GE)、高アフィニティ外来物(HAF)、低アフィニティ外来物(LAF)およびTCED+ T細胞受容体エピトープの存在について検証した。各抗体のVHドメインおよびVLドメインの両方とも、複数の高リスクなヒトT細胞エピトープを含有することが判明した。15G11では、CDRにおいて、生殖細胞系列フレームワークおよび複数のヒト生殖細胞系列残基の変化があるにもかかわらず、高リスクなエピトープ含量が、予測通りの減少ではなく、h24C05と比較して有意に増加した。

【図7A】図7A～図7D。リード抗体v-ドメインにおける、T細胞エピトープペプチド含量のインシリコでの崩壊。15G11に存在するv-ドメインの高アフィニティ外来物(HAF)、低アフィニティ外来物(LAF)、およびTCED+ T細胞受容体エピトープを、除去の標的とした。インシリコ突然変異誘発解析を実施してえ、抗体結合機能を維持する可能性があるが、1または複数の9-merペプチドエピトープを除去する可能性がある非生殖細胞系列アミノ酸の変化を特定した。これら解析を、HCDR-1(図7A)、LCDR-1(図7B)、LCDR-2(図7C)およびLCDR-3(図7D)に存在するペプチドに対して実施した。残基は、Kabatのナンバリングスキームに従って番号付けされ、9-merペプチド配列を強調してp1およびp9位を示した。好ましいエピトープ崩壊変異は灰色矢印で示し、好ましくないものは黒色矢印で示した。1文字で略記したアミノ酸の隣にあるデルタ記号は、新規ペプチドを生殖系列(GE)ペプチドにさせることとなることを意味する。1文字で略記したアミノ酸の隣にあるアスタリスクは、その残基の使用により新規の異性化開発リスクモチーフ(DG)を生じることとなるという理由から、好ましくない変異を示す。図7Aは、配列番号257を示す。図7Bは、配列番号258を示す。図7Cは、配列番号259を示す。図7Dは、配列番号260を示す。

【図7B】同上。

10

20

30

40

50

【図7C】同上。

【図7D】同上。

【図8】図8A～図8B。ヒトおよびアカゲザルのERBB3タンパク質への15G11-DI IgG結合に関する、直接的力価測定ELISA。キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1形式のアイソタイプコントロールIgG1および15G11-DI1からDI11のクローンが、ヒト(図8A)およびアカゲザル(図8B)のERBB3-Fcタンパク質に対する直接結合ELISAにおいて力価測定(単位nM)された。アイソタイプIgG1コントロール以外の全てのクローンは、ERBB3のオルソログ両方に対する結合活性を示した。

【図9】図9。Alpha screenにおけるIgG1タンパク質のエピトープ競合解析。キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1形式のアイソタイプコントロールIgG1および15G11-DI1からDI11のクローンに対して、Alpha screen技術を用いたエピトープ競合アッセイを行った。このアッセイにおいて、IgGは、溶液中のヒトERBB3タンパク質へのh24C05 IgG1結合を競合することにより、h24C05と同じ機能のエピトープの保持に関して解析された。解析されたすべてのクローンは、15G11-DI1を除いては、ERBB3に対するh24C05結合の、強力で濃度依存性の中和を示した。

【図10】図10A～図10B：ライブラリー由来リードおよび初代デザインリードのヒトおよびアカゲザルのERBB3+HEK-293細胞に対するフローサイトメトリー結合。ヒト(図10A)およびアカゲザル(図10B)のERBB3トランスフェクトHEK-293細胞に対する特異的結合に関して、キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1形式のアイソタイプコントロールIgG1および15G11-DI1からDI11のクローンを検証した。IgGは、0.008～500nMの範囲の濃度で試験した。すべてのERBB3特異的抗体で、ヒトおよびアカゲザルトランスフェクト細胞の両方に対し、濃度依存性の結合が観察された。一方でアイソタイプコントロールでは観察されなかった。

【図11】図11。開発リスクELISA。キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1形式のアイソタイプコントロールIgG1、臨床段階コントロール抗体および15G11-DI1からDI11のクローンが、負の電荷をもつ生体分子インスリンと二本鎖DNA(dsDNA)に対する非特異的結合に関して検証した。すべてのリードクローンは、10未満の結合スコアを示し(15G11-DI10は例外とする)、陰性対照IgG1のウステキヌマブ(Ustekinumab)およびベバシズマブ(Bevacizumab)アナログのいずれかよりも有意に低かった。ボコシズマブ(Bococizumab)およびブリアキヌマブ(Briakinumab)のアナログに観察されるような、インスリンまたはdsDNAに対する強力な非特異的(off-target)結合は、治療用抗体の貧弱な薬物動態に関する高リスク指標であることがわかっている。

【図12-1】図12A～図12G。細胞系ErbB2-ErbB3アンタゴニズムアッセイ。キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1形式のアイソタイプコントロールIgG1およびクローン15G11(図12A)、16B09(図12B)、15G11-DI5(図12C)、15G11-DI6(図12D)、15G11-DI7(図12E)、15G11-DI8(図12F)および15G11-DI9(図12G)を、ヒトErbB3シグナル伝達レポーターアッセイ(DiscoverX PathHunter eXpress ErbB2-ErbB3アッセイ、製造元の指示に従って実施)において力価測定した。アイソタイプコントロール以外の全てのクローンが、強い、濃度依存性ErbB3アンタゴニズムを誘導し、h24C05に対して高度に類似した有効性を伴っていた。

【図12-2】同上。

【図12-3】同上。

【図12-4】同上。

【図13】図13。15G11-DI9に関する細胞系ErbB2-ErbB3アンタゴ

10

20

30

40

50

ニズムアッセイ。キメラおよびヒト化24C05、ヒトIgG1形式のアイソタイプコントロールIgG1およびクローン15G11-DI9を、ヒトErbB3シグナル伝達レポーターアッセイ(DiscoverX PathHunter express ErbB2-ErbB3アッセイ、製造元の指示に従って実施)において力価測定した。アイソタイプコントロール以外の全てのクローンが、シグナルの阻害倍率(fold inhibition)で明示されたとおり、強い、濃度依存性ErbB3アンタゴニズムを誘導した。

【図14-1】図14A~図14E。リード抗体v-ドメインにおける、T細胞エピトープペプチド含量。15G11-DI5(図14A)、15G11-DI6(図14B)、15G11-DI7(図14C)、15G11-DI8(図14D)および15G11-DI9(図14E)の抗体のv-ドメインを、生殖細胞系列(GE)、高アフィニティ外来物(HAF)、低アフィニティ外来物(LAF)およびTCED+ T細胞受容体エピトープの存在について検証した。全てのリードクローンにおいて、高リスクエピトープ含量が、連続的に減少し、また生殖細胞系列エピトープ含量は、15G11-DI5から15G11-DI9では維持され、15G11-DI9では予測された外来性エピトープを全く含まず、高GE含量と結びついた状態であり、これによりこのクローンがヒトにおいて完全に非免疫原性であり得ることが示唆された。

【図14-2】同上。

【発明を実施するための形態】

【0044】

本発明の第一の態様によると、ヒトERBB3に、および任意でアカゲザルERBB3にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分が提供され、当該抗体分子または抗原結合部分は、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するHC DR1: G-F-T-F-S-D-Y-Gまたは任意のアミノ酸(例えば、S等)-M-S(配列番号1)と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するHC DR2: V-S-T-I-S-D-Gまたは任意のアミノ酸(例えば、S, D等)-G-TまたはT(例えば、S等)-Yの保存的置換または任意のアミノ酸(例えば、T等)-Tまたは任意のアミノ酸(例えば、I等)-Y-Y-Pまたは任意のアミノ酸(例えば、A等)-D-NまたはN(例えば、S等)-V-K-Gの保存的置換(配列番号2)と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するHC DR3: Eまたは任意のアミノ酸(例えば、M等)-Wまたは任意のアミノ酸(例えば、F、L、M、QまたはY等)-G-D-Yまたは任意のアミノ酸(例えば、A、D、E、H、L、M、N、Q、S、TまたはW等)-D-G-Fまたは任意のアミノ酸(例えば、I、L、W、Y等)-D-Yまたは任意のアミノ酸(例えば、A、D、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、V、W等)(配列番号3)と、を伴う重鎖可変領域を含む。

【0045】

一部の態様では、本明細書に提供される抗ERBB3抗体または抗原結合部分は、配列番号246もしくは配列番号247を含有する、または配列番号246もしくは配列番号247からなる、ERBB3タンパク質に特異的に結合する。一部の態様では、本明細書に提供される抗ERBB3抗体または抗原結合部分は、配列番号246または配列番号247に対して、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%同一であるアミノ酸配列を有するERBB3タンパク質に特異的に結合する。

【0046】

本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のHC DR1は、配列GF T F S D Y A M S(配列番号4、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のHC DR1)を除外してもよく、抗体分子もしくは抗原結合部分のHC DR2は、配列V S T I S

10

20

30

40

50

D G G T Y T Y Y P D N V K G (配列番号5、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のHC DR2)を除外してもよく、および/または抗体分子もしくは抗原結合部分のHC DR3は、配列E W G D Y D G F D Y (配列番号6、国際公開第2011136911A号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のHC DR3)を除外してもよい。

【0047】

抗体分子または抗原結合部分は、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するLC DR1: R - A - S - Q - Eまたは任意のアミノ酸(例えばS、I、N等) - I - S - GまたはG(例えば、S、T等) - Y - L - Sの保存的置換またはS(例えば、N等)の保存的置換(配列番号7)と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するLC DR2: Aまたは任意のアミノ酸(例えば、E等) - A - S - TまたはT(例えばS、N等) - L - Dの保存的置換または任意のアミノ酸(例えば、H、K、Q等) - SまたはT(配列番号8)と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するLC DR3: Lまたは任意のアミノ酸(例えば、Q等) - Q - Yまたは任意のアミノ酸(例えば、S等) - Dまたは任意のアミノ酸(例えば、Y等) - S - Yまたは任意のアミノ酸(例えば、T、S等) - Pまたは任意のアミノ酸(例えば、H等) - Yまたは任意のアミノ酸(例えば、L等) - T(配列番号9)と、を伴う軽鎖可変領域をさらに含み得る。

【0048】

本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のLC DR1は、配列R A S Q E I S G Y L S (配列番号10、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のLC DR1)を除外してもよく、および/または、抗体分子もしくは抗原結合部分のLC DR2は、配列A A S T L D S (配列番号11、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のLC DR2)を除外してもよく、および/または抗体分子もしくは抗原結合部分のLC DR3は、配列L Q Y D S Y P Y T (配列番号12、国際公開第2011136911A2号、米国特許出願公開第20110256154A1号に開示される24C05マウス/ヒト化抗体のLC DR3)を除外してもよい。

【0049】

一部の態様において、本明細書は、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変(VH)領域および軽鎖可変(VL)領域を含有し、この場合において、

(a) HC DR1は、アミノ酸配列G - F - T - F - S - D - Y - X<sub>1</sub> - M - Sを含み、式中、X<sub>1</sub>はGまたは任意の他のアミノ酸(例えば、S)であり(配列番号1)、

(b) HC DR2は、V - S - T - I - S - D - X<sub>1</sub> - G - X<sub>2</sub> - X<sub>3</sub> - X<sub>4</sub> - Y - Y - X<sub>5</sub> - D - X<sub>6</sub> - V - K - Gを含み、式中、X<sub>1</sub>はGまたは任意の他のアミノ酸(例えば、SまたはD)であり、X<sub>2</sub>はTまたはTの保存的置換(例えば、S)であり、X<sub>3</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸(例えば、T)であり、X<sub>4</sub>はTまたは任意の他のアミノ酸(例えば、I)であり、X<sub>5</sub>はPまたは任意の他のアミノ酸(例えば、A)であり、またX<sub>6</sub>はNまたはNの保存的置換(例えば、S)であり(配列番号2)、

(c) HC DR3は、X<sub>1</sub> - X<sub>2</sub> - G - D - X<sub>3</sub> - D - G - X<sub>4</sub> - D - X<sub>5</sub>を含み、式中、X<sub>1</sub>はEまたは任意の他のアミノ酸(例えば、M)であり、X<sub>2</sub>はWまたは任意の他のアミノ酸(例えば、F、L、M、QまたはY)であり、X<sub>3</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸(例えば、A、D、E、H、L、M、N、Q、S、TまたはW)であり、X<sub>4</sub>はFまたは任意の他のアミノ酸(例えば、I、L、WまたはY)であり、またX<sub>5</sub>はYまたは任意の他のアミノ酸(例えば、A、D、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、VまたはW)であり(配列番号3)、

(d) LC DR1は、R - A - S - Q - X<sub>1</sub> - I - S - X<sub>2</sub> - Y - L - X<sub>3</sub>を含み、式

10

20

30

40

50

中、 $X_1$  は E または任意の他のアミノ酸（例えば、S、I または N）であり、 $X_2$  は G または G の保存的置換（例えば、S または T）であり、また  $X_3$  は S または S の保存的置換（例えば、N）であり（配列番号 7）、

(e) L C D R 2 は、 $X_1 - A - S - X_2 - L - X_3 - S$  を含み、式中、 $X_1$  は A または任意の他のアミノ酸（例えば E）であり、 $X_2$  は T または T の保存的置換（例えば S または N）であり、また  $X_3$  は D または任意の他のアミノ酸（例えば H、K または Q）であり（配列番号 8）、

(f) L C D R 3 は、 $X_1 - Q - X_2 - X_3 - S - X_4 - X_5 - X_6 - T$  を含み、式中、 $X_1$  は L または任意の他のアミノ酸（例えば、Q）であり、 $X_2$  は Y または任意の他のアミノ酸（例えば、S）であり、 $X_3$  は D または任意の他のアミノ酸（例えば、Y）であり、 $X_4$  は Y または任意の他のアミノ酸（例えば、T または S）であり、 $X_5$  は P または任意の他のアミノ酸（例えば、H）であり、また  $X_6$  は Y または任意の他のアミノ酸（例えば、L）である（配列番号 9）。一部の態様において、L C D R 2 は、 $X_1 - A - S - X_2 - L - X_3 - S$ （配列番号 8）を含み、式中、配列中の第 7 の残基は、S の保存的置換（例えば、T）である。

#### 【0050】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、この場合において当該抗体は、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、F R 1 - H C D R 1 - F R 2 - H C D R 2 - F R 3 - H C D R 3 - F R 4 を含有する重鎖可変（VH）領域、およびアミノ末端からカルボキシ末端に向かって、F R 1 - L C D R 1 - F R 2 - L C D R 2 - F R 3 - L C D R 3 - F R 4 を含有する軽鎖可変（VL）領域を含有し、この場合において、H C D R 1 は、配列番号 1 であり、H C D R 2 は、配列番号 2 であり、H C D R 3 は、配列番号 3 であり、L C D R 1 は、配列番号 7 であり、L C D R 2 は、配列番号 8 であり、そして L C D R 3 は、配列番号 9 であり、この場合において当該重鎖の F R 1、F R 2、F R 3 および F R 4 のアミノ酸配列は、配列番号 86（表 2 を参照のこと）内の重鎖の F R 1、F R 2、F R 3 および F R 4 のアミノ酸配列であり、この場合において当該軽鎖の F R 1、F R 2、F R 3 および F R 4 のアミノ酸配列は、配列番号 88（表 2 を参照のこと）内の軽鎖の F R 1、F R 2、F R 3 および F R 4 のアミノ酸配列である。

#### 【0051】

本明細書に詳述されるように、本発明者らは、国際公開第 2011136911A2 号、米国特許出願公開第 20110256154A1 号に開示されるマウス抗 E R B B 3 抗体 24C05 から誘導された C D R 配列を使用し、多数の最適化抗 E R B B 3 抗体分子を作製することに初めて成功した。本発明の実施形態において、これら抗体分子は、（適切な動物実験種でのインビボ試験が容易になるように）ヒト E R B B 3 ならびにアカゲザル E R B B 3 の両方に特異的に結合するよう選択された。本明細書に記載される最適化された抗体分子のさらなる改良によって、可変ドメインの安定性の改善、より高い発現収率、および / または免疫原性の低下が提供された。

#### 【0052】

本発明の好ましい最適化抗 E R B B 3 抗体分子は、対応するマウス C D R またはその他（例えばフレームワーク）のアミノ酸の位置で、必ずしも最大数のヒト生殖細胞系列の置換を有するとは限らない。以下の実施例の項に詳述されるように、本発明者らは、「最大限にヒト化された」抗体分子は、抗 E R B B 3 結合特性および / または他の望ましい性質に関して、必ずしも「最大限に最適化」されているとは限らないことを見出した。

#### 【0053】

本発明は、本明細書に記載される抗体分子またはその抗原結合部分のアミノ酸配列に対する改変を包含する。例えば本発明は、その性質に大きな影響を与えない、機能的に同等の可変領域および C D R を含有する抗体分子およびその対応する抗原結合部分、ならびに活性および / もしくはアフィニティが強化された、または低下したバリエーションを包含する。例えばアミノ酸配列は、E R B B 3 に対し所望の結合アフィニティを有する抗体が得ら

10

20

30

40

50

れるように変異されてもよい。1残基から数百以上の残基を含有するポリペプチドの長さの範囲のアミノ末端融合および/またはカルボキシル末端融合を含み、ならびに単一アミノ酸残基または複数のアミノ酸残基の配列間挿入を含む挿入が予期される。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体分子、またはエピトープタグに融合された抗体分子が挙げられる。抗体分子のその他の挿入バリエーションとしては、酵素またはポリペプチドの、抗体N末端または抗体C末端への融合が挙げられ、それにより血液循環中の抗体の半減期が延長される。

【0054】

本発明の抗体分子または抗原結合部分は、グリコシル化ポリペプチドおよび非グリコシル化ポリペプチド、ならびに他の翻訳後修飾を有するポリペプチド、例えば異なる糖類でのグリコシル化、アセチル化およびリン酸化を有するポリペプチドを含んでもよい。例えば1つまたは複数のアミノ酸残基を付加、除去または置換させ、グリコシル化部位を形成または除去させることにより、本発明の抗体分子または抗原結合部分を変異させて、当該翻訳後修飾を変化させてもよい。

10

【0055】

本発明の抗体分子または抗原結合部分は、例えば抗体中の潜在的なタンパク質分解部位を除去するアミノ酸置換により改変されてもよい。

【0056】

抗体分子またはその抗原結合部分において、HCDR1は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：G - F - T - F - S - D - Y - E / G / H / N / R / S / T / Q / V - M - S (配列番号38)；HCDR2は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：V - S - T - I - S - D - G / S / D - G - T / S - Y / T - T / I - Y - Y - P / A - D - N / S - V - K - G (配列番号39)；そしてHCDR3は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：E / M - W / F / L / M / Q / Y - G - D - Y / A / D / E / H / L / M / N / Q / S / T / W - D - G - F / I / L / W / Y - D - Y / A / D / E / F / H / I / K / L / M / N / Q / R / S / V / W (配列番号40)。

20

【0057】

例えば、HCDR1は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：G - F - T - F - S - D - Y - G / S - M - S (配列番号41)；HCDR2は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：V - S - T - I - S - D - G / S - G - S - Y / T - T / I - Y - Y - P / A - D - S - V - K - G (配列番号42)；そしてHCDR3は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：E - W / L / Y - G - D - Y - D - G - F - D - Y / E / F / H / N (配列番号43)。

30

【0058】

抗体分子またはその抗原結合部分において、LCDR1は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：R - A - S - Q - E / S / I / N - I - S - G / S - Y - L - S / N (配列番号44)；LCDR2は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：A / E - A - S - T / S / N - L - D / H / K / Q - S (配列番号45)；そしてLCDR3は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：L / Q - Q - Y / S - D / Y - S - Y / T - P / H - Y / L - T (配列番号46)。抗体分子またはその抗原結合部分において、LCDR1は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：R - A - S - Q - E / S / I / N - I - S - G / S / T - Y - L - S / N；LCDR2は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：A / E - A - S - T / S / N - L - D / H / K / Q - S / T；そしてLCDR3は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：L / Q - Q - Y / S - D / Y - S - Y / T / S - P / H - Y / L - T。

40

【0059】

例えば、LCDR1は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：R - A - S - Q - E / S - I - S - G / S - Y - L - S / N (配列番号47)；LCDR2は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：A - A - S - T / S - L - D / Q - S (配列番号48)；そしてLCDR3は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：L - Q - Y - D / Y - S - T - P - Y / L - T (配列番号49)。例えば、LCDR1は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：

50

R - A - S - Q - E / S - I - S - G / S / T - Y - L - S / N ; L C D R 2 は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：A - A - S - T / S - L - D / Q - S / T ; そして L C D R 3 は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：L - Q - Y - D / Y - S - T / S - P - Y / L - T 。

【 0 0 6 0 】

本発明の特定の実施形態において、抗体分子または抗原結合部分は、以下を含有してもよい：

( a ) アミノ酸配列 R A S Q S I S S Y L S ( 配列番号 1 6 ; L C D R 1 )、A A S T L Q S ( 配列番号 2 6 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ; H C D R 1 )、V S T I S D G G S Y T Y Y A D N V K G ( 配列番号 3 1 ; H C D R 2 )、E W G D Y D G F D F ( 配列番号 1 5 ; H C D R 3 )、[ クローン 1 5 D 1 0 ]、または

10

( b ) アミノ酸配列 R A S Q S I S G Y L S ( 配列番号 3 0 ; L C D R 1 )、A A S T L Q S ( 配列番号 2 6 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P Y T ( 配列番号 2 3 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ; H C D R 1 )、V S T I S D G G S Y T Y Y A D S V K G ( 配列番号 2 8 ; H C D R 2 )、E W G D Y D G F D E ( 配列番号 2 9 ; H C D R 3 )、[ クローン 1 7 H 1 0 ]、または

( c ) アミノ酸配列 R A S Q S I S S Y L N ( 配列番号 5 0 ; L C D R 1 )、A A S S L D S ( 配列番号 2 2 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ; H C D R 1 )、V S T I S D G G S Y T Y Y A D S V K G ( 配列番号 2 8 ; H C D R 2 )、E Y G D Y D G F D Y ( 配列番号 5 1 ; H C D R 3 )、[ クローン 0 9 D 1 2 ]、または

20

( d ) アミノ酸配列 R A S Q E I S S Y L S ( 配列番号 2 1 ; L C D R 1 )、A A S S L Q S ( 配列番号 1 7 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ; H C D R 1 )、V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G ( 配列番号 1 4 ; H C D R 2 )、E W G D Y D G F D H ( 配列番号 2 7 ; H C D R 3 )、[ クローン 1 5 D 0 3 ]、または

( e ) アミノ酸配列 R A S Q I I S S Y L S ( 配列番号 5 2 ; L C D R 1 )、A A S S L D S ( 配列番号 2 2 ; L C D R 2 )、L Q Y Y S T P L T ( 配列番号 5 3 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ; H C D R 1 )、V S T I S D S G S Y T Y Y A D S V K G ( 配列番号 5 4 ; H C D R 2 )、E W G D Y D G F D N ( 配列番号 5 5 ; H C D R 3 )、[ クローン 1 1 H 0 2 ]、または

30

( f ) アミノ酸配列 R A S Q E I S S Y L S ( 配列番号 2 1 ; L C D R 1 )、A A S S L D S ( 配列番号 2 2 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P Y T ( 配列番号 2 3 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ; H C D R 1 )、V S T I S D S G S Y T Y Y P D S V K G ( 配列番号 1 9 ; H C D R 2 )、E L G D Y D G F D Y ( 配列番号 2 0 ; H C D R 3 )、[ クローン 1 5 G 1 1 ]、または

( g ) アミノ酸配列 R A S Q S I S S Y L S ( 配列番号 1 6 ; L C D R 1 )、A A S S L Q S ( 配列番号 1 7 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y G M S ( 配列番号 1 3 ; H C D R 1 )、V S T I S D S G T T I Y Y A D N V K G ( 配列番号 5 6 ; H C D R 2 )、E Y G D Y D G F D Y ( 配列番号 5 1 ; H C D R 3 )、[ クローン 1 5 E 0 2 ]、または

40

( h ) アミノ酸配列 R A S Q S I S S Y L S ( 配列番号 1 6 ; L C D R 1 )、A A S S L Q S ( 配列番号 1 7 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y S M S ( 配列番号 2 4 ; H C D R 1 )、V S T I S D G G S Y T Y Y P D S V K G ( 配列番号 5 7 ; H C D R 2 )、E L G D Y D G F D Y ( 配列番号 2 0 ; H C D R 3 )、[ クローン 0 9 H 0 2 ]、または

( i ) アミノ酸配列 R A S Q E I S S Y L S ( 配列番号 2 1 ; L C D R 1 )、A A S T L Q S ( 配列番号 2 6 ; L C D R 2 )、L Q Y D S T P L T ( 配列番号 1 8 ; L C D R 3 )、G F T F S D Y S M S ( 配列番号 2 4 ; H C D R 1 )、V S T I S D S G T Y T Y Y

50

PDSVKG (配列番号25; HCDR2)、EWGDYDGFDF (配列番号15; HCDR3)、[クローン16B09]、または

(j) アミノ酸配列RASQSISSYLS (配列番号16; LCDR1)、AASSLQS (配列番号17; LCDR2)、LQYDSTPLT (配列番号18; LCDR3)、GFTFSDYGMS (配列番号13; HCDR1)、VSTISDSGSYIYY ADSVKG (配列番号14; HCDR2)、ELGDYDGFDF (配列番号20; HCDR3)、[クローンMH1]、または

(k) アミノ酸配列RASQSISSYLS (配列番号16; LCDR1)、AASSLQS (配列番号17; LCDR2)、LQYDSTPLT (配列番号18; LCDR3)、GFTFSDYGMS (配列番号13; HCDR1)、VSTISDSGSYIYY ADSVKG (配列番号14; HCDR2)、EWGDYDGFDF (配列番号15; HCDR3)、[クローンMH2]、または

(l) アミノ酸配列RASQSISSYLS (配列番号16; LCDR1)、AASSLQS (配列番号17; LCDR2)、LQYDSTPLT (配列番号18; LCDR3)、GFTFSDYSMS (配列番号24; HCDR1)、VSTISDSGSTIYY ADSVKG (配列番号58; HCDR2)、EWGDYDGFDF (配列番号15; HCDR3)、[クローンMH3]、または

(m) アミノ酸配列RASQSISSYLS (配列番号16; LCDR1)、AASSLQS (配列番号17; LCDR2)、LQYDSTPLT (配列番号18; LCDR3)、GFTFSDYGMS (配列番号13; HCDR1)、VSTISDSGSYIYY ADSVKG (配列番号14; HCDR2)、EWGDYDGFDE (配列番号29; HCDR3)、[クローンMH4]、または

(n) アミノ酸配列RASQSISSYLS (配列番号16; LCDR1)、AASSLQS (配列番号17; LCDR2)、LQYDSTPLT (配列番号18; LCDR3)、GFTFSDYGMS (配列番号13; HCDR1)、VSTISDSGSTIYY ADSVKG (配列番号58; HCDR2)、EYGDYDGFDF (配列番号51; HCDR3)、[クローンMH5]、または

(o) アミノ酸配列RASQSISSYLN (配列番号50; LCDR1)、AASSLQS (配列番号17; LCDR2)、LQYDSTPLT (配列番号18; LCDR3)、GFTFSDYGMS (配列番号13; HCDR1)、VSTISDSGSTIYY ADSVKG (配列番号58; HCDR2)、EYGDYDGFDF (配列番号51; HCDR3)、[クローンTTP]、または

(p) アミノ酸配列RASQEISTYLS (配列番号261; LCDR1)、AASTLQS (配列番号26; LCDR2)、LQYDSSPLT (配列番号262; LCDR3)、GFTFSDYSMS (配列番号24; HCDR1)、VSTISDSGTYTYYPDSVKG (配列番号25; HCDR2)、EWGDYDGFDF (配列番号15; HCDR3)、[クローン15G11-DI9]、または

(q) アミノ酸配列RASQEISSYLS (配列番号21; LCDR1)、AASSLDT (配列番号263; LCDR2)、LQYDSTPYT (配列番号23; LCDR3)、GFTFSDYSMS (配列番号24; HCDR1)、VSTISDSGTYTYYPDSVKG (配列番号25; HCDR2)、EWGDYDGFDF (配列番号15; HCDR3)、[クローン15G11-DI5]。

#### 【0061】

一部の態様において、本明細書は、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変(VH)領域および軽鎖可変(VL)領域を含有し、この場合において、

(a) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS (配列番号24)のHCDR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG (配列番号25)のHCDR2、およびEWGDYDGFDF (配列番号15)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQEISTYLS (配列番号261)のLCDR1、AASTLQS (

10

20

30

40

50

配列番号26)のLCDR2、およびLQYDSSPLT(配列番号262)のLCDR3を含有し、

(b) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS(配列番号24)のHCDR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG(配列番号25)のHCDR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLCDR1、AASSLDT(配列番号263)のLCDR2、およびLQYDSTPYT(配列番号23)のLCDR3を含有し、

(c) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMS(配列番号13)のHCDR1、VSTISDSGSYTYYPDSVKG(配列番号19)のHCDR2、およびELGDYDGFDF(配列番号20)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLCDR1、AASSLDS(配列番号22)のLCDR2、およびLQYDSTPYT(配列番号23)のLCDR3を含有し、

(d) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS(配列番号24)のHCDR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG(配列番号25)のHCDR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLCDR1、AASTLQS(配列番号26)のLCDR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLCDR3を含有し、

(e) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMS(配列番号13)のHCDR1、VSTISDSGSYIYYADSVKG(配列番号14)のHCDR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQSISYLS(配列番号16)のLCDR1、AASSLQS(配列番号17)のLCDR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLCDR3を含有し、

(f) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMS(配列番号13)のHCDR1、VSTISDSGSYIYYADSVKG(配列番号14)のHCDR2、およびEWGDYDGFDFH(配列番号27)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLCDR1、AASSLQS(配列番号17)のLCDR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLCDR3を含有し、

(g) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMS(配列番号13)のHCDR1、VSTISDGGSYTYYYADSVKG(配列番号28)のHCDR2、およびEWGDYDGFDE(配列番号29)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQSISGYLS(配列番号30)のLCDR1、AASTLQS(配列番号26)のLCDR2、およびLQYDSTPYT(配列番号23)のLCDR3を含有し、

(h) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMS(配列番号13)のHCDR1、VSTISDGGSYTYYYADNVKG(配列番号31)のHCDR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQSISYLS(配列番号16)のLCDR1、AASTLQS(配列番号26)のLCDR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLCDR3を含有し、または

(i) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMS(配列番号13)のHCDR1、VSTISDSGSYIYYADSVKG(配列番号14)のHCDR2、およびEWGDYDGFDE(配列番号29)のHCDR3を含有し、ならびにVL領域のアミノ酸配列は、RASQSISYLS(配列番号16)のLCDR1、AASSLQS(配列番号17)のLCDR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLCDR3を含有する。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 6 2 】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、この場合において当該抗体は、重鎖可変 ( V H ) 領域および軽鎖可変 ( V L ) 領域を含有し、この場合において当該 V H 領域は、表 7 または 8 の V H 領域アミノ酸配列のうちのいずれか 1 つを含有し、当該 V L 領域は、表 6 または 8 の V L 領域アミノ酸配列のいずれか 1 つを含有する。

## 【 0 0 6 3 】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変 ( V H ) 領域および軽鎖可変 ( V L ) 領域を含有し、この場合において、

( a ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 6 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 5 を含有し、

( b ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 2 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 1 を含有し、

( c ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 5 3 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 5 4 を含有し、

( d ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 5 5 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 5 6 を含有し、

( e ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 8 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 1 7 を含有し、

( f ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 9 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 1 8 を含有し、

( g ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 0 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 1 9 を含有し、

( h ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 1 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 0 を含有し、

( i ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 3 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 2 を含有し、

( j ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 4 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 3 を含有し、

( k ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 5 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 4 を含有し、

( l ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 7 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 6 を含有し、または

( m ) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 3 8 を含有し、かつ、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 2 2 7 を含有する。

## 【 0 0 6 4 】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変 ( V H ) 領域および軽鎖可変 ( V L ) 領域を含有し、この場合において、

( a ) V H 領域アミノ酸配列は、配列番号 2 3 6 に対し、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % 同一であり、V L 領域アミノ酸配列は、配列番号 2 2 5 に対し、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % 同一である；

( b ) V H 領域アミノ酸配列は、配列番号 2 3 2 に対し、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または

10

20

30

40

50

少なくとも約 99% 同一であり、V L 領域アミノ酸配列は、配列番号 221 に対し、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% 同一である；

(c) V H 領域アミノ酸配列は、配列番号 253 に対し、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% 同一であり、V L 領域アミノ酸配列は、配列番号 254 に対し、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% 同一である；または

(d) V H 領域アミノ酸配列は、配列番号 255 に対し、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% 同一であり、V L 領域アミノ酸配列は、配列番号 256 に対し、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% 同一である。

#### 【0065】

一部の態様において、本明細書に規定される抗体または抗原結合部分は、単離されてもよい。

#### 【0066】

本明細書に規定される抗体分子または抗原結合部分は、E R B B 3 への結合を、本明細書に開示される C D R セットを含有する抗体またはその抗原結合部分と交差競合できる。一部の実施形態では、本発明は、単離された抗 E R B B 3 抗体又はその抗原結合部分を提供するものであって、当該抗体または抗原結合部分は、本明細書に開示される C D R セットを含む抗体または抗原結合部分と、E R B B 3 への結合に関して交差競合して、また (a) 完全生殖細胞系列ヒトフレームワークアミノ酸配列を含み、および/または (b) L C D R 2 中に異性化部位を含有せず、および/または (c) H C D R 2 中に「D G」異性化部位を含有せず、および/または (d) H C D R 3 中の 2 位に酸化部位を含有せず、および/または (e) その v - ドメイン中の予測される外来性ヒト T 細胞受容体結合ペプチドの数が、h 2 4 C 0 5 と比較して少なく、および/または (f) その v - ドメイン中に予測される外来性ヒト T 細胞受容体結合ペプチドを含まない。一部の実施形態では、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分は、H C D R 3 中の 2 位 (例えば、W) に酸化部位を含有しない。

#### 【0067】

「交差競合する」、「交差競合」、「交差遮断する」、「交差遮断される」、および「交差遮断すること」という用語は本明細書において相互交換可能に使用され、抗体またはその部分がつ、標的 E R B B 3 (例えば、ヒト E R B B 3) に対する直接結合または本発明の抗 E R B B 3 抗体のアロステリック調節を介した間接的結合を干渉する能力を意味する。抗体またはその部分が、別物質による標的結合に干渉することができる度合、つまり本発明により交差遮断する、または交差競合すると言えるかどうかは、競合結合アッセイを使用して決定され得る。結合競合アッセイの一例は、H T R F 法 (H o m o g e n e o u s T i m e R e s o l v e d F l u o r e s c e n c e) である。1つの特に適した定量的交差競合アッセイは、F A C S 系または A l p h a S c r e e n 系の方法を使用して、標識 (例えば H i s タグ化、ビオチン化、または放射性標識) された抗体またはその部分と、他の抗体またはその部分との間の、標的への結合に関する競合を測定する。概して、交差競合抗体またはその部分は、例えば、アッセイの間に、および第二の抗体またはその部分の存在下で、本発明の免疫グロブリン単一可変ドメインまたはポリペプチドの記録される変位が、所与の量で存在する潜在的に交差遮断する抗体またはその断片に

10

20

30

40

50

よる、(例えばFACS系競合アッセイにおける)理論上の最大変位(例えばコールド(例えば非標識)抗体または交差遮断されるために必要なその断片による変位)の100%以下となるように、交差競合アッセイにおいて標的に結合することとなるものである。交差競合抗体またはその部分は、10%~100%、または50%~100%の記録される変位を有することが好ましい。

**【0068】**

本明細書に規定される抗体分子または抗原結合部分は、1つまたは複数の置換、欠失および/または挿入を含んでもよく、それらにより例えばグリコシル化部位(N結合型またはO結合型)、脱アミノ化部位、リン酸化部位または異性化/断片化部位などの翻訳後修飾(P<sub>TM</sub>: post-translational modification)部位が除去される。

10

**【0069】**

350を超えるタイプのP<sub>TM</sub>が公知である。重要なP<sub>TM</sub>の型としては、リン酸化、グリコシル化(N結合型およびO結合型)、SUMO化、パルミトイル化、アセチル化、硫酸化、ミリストイル化、プレニル化、および(K残基およびR残基の)メチル化が挙げられる。特定のP<sub>TM</sub>の原因となる推定アミノ酸部位を特定するための統計的手法は、当分野に周知である(Zhou et al., 2016, Nature Protocols 1:6588-1321を参照のこと)。例えば置換、欠失および/または挿入によりそうした部位を除去し、次いで任意で(a)結合活性、および/または(b)P<sub>TM</sub>の消失を検証(実験的に、および/または理論的に)することが予期される。

20

**【0070】**

例えば、24C05マウスLCDR2(本明細書に規定される、すなわちアミノ酸配列AASTLDS(配列番号11))は、6位の残基に推定異性化部位を有すると特定されている。本発明のLCDR2中の同等の位置にあるこの部位を、例えばDの置換(例えば、Qへの)により除去することが予期される(例えばクローンMH2、ならびに表3および4の他のクローンと同様に)。

**【0071】**

さらなる例では、24C05マウスHC DR2(本明細書に規定される、すなわちアミノ酸配列VSTISDGGTYTYYPDNVKG(配列番号5))は、6位の残基(D)に推定異性化部位を有すると特定されている。本発明のHC DR2中の同等の位置にあるこの部位の、例えばGの置換(例えば、SまたはDへの)による、化学修飾リスクにおける還元が予期される(例えばクローン15G11、および表3および表4に見られる他のクローンと同様に)。

30

**【0072】**

さらなる例では、24C05マウスHC DR3(本明細書に規定される、すなわちアミノ酸配列EWGDYDGF DY(配列番号6))は、2位の残基(W)に推定酸化部位を有すると特定されている。本発明のLCDR1中の同等の位置にあるこの部位を、Wの置換(例えば、LまたはYへの)により除去することが予期される(例えばクローン15G11、および表3および表4に見られる他のクローンと同様に)。

**【0073】**

抗体分子またはその抗原結合部分は、ヒト、ヒト化またはキメラであってもよい。

40

**【0074】**

抗体分子またはその抗原結合部分は、1つまたは複数のヒト可変ドメインフレームワークスキャホールドを含有してもよく、その中にはCDRが挿入されている。例えば、VH領域、VL領域、またはVH領域およびVL領域の両方が、1つまたは複数のヒトフレームワーク領域のアミノ酸配列を含有してもよい。

**【0075】**

抗体分子またはその抗原結合部分は、IGHV3-11ヒト生殖細胞系列スキャホールドを含有してもよく、その中には対応するHC DR配列が挿入されている。抗体分子またはその抗原結合部分は、IGHV3-11ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配

50

列を含有するVH領域を含有してもよく、その中には対応するHCDR1、HCDR2、およびHCDR3のアミノ酸配列のセットが挿入されている。

【0076】

抗体分子またはその抗原結合部分は、IGKV1-39ヒト生殖細胞系列スキャホールドを含有してもよく、その中には対応するLCDR配列が挿入されている。抗体分子またはその抗原結合部分は、IGKV1-39ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有するVL領域を含有してもよく、その中には対応するLCDR1、LCDR2、およびLCDR3のアミノ酸配列のセットが挿入されている。

【0077】

抗体分子またはその抗原結合部分は、中に対応するHCDR配列が挿入されているIGHV3-11ヒト生殖細胞系列スキャホールドと、中に対応するLCDR配列が挿入されているIGKV1-39ヒト生殖細胞系列スキャホールドとを含有してもよい。抗体分子またはその抗原結合部分は、中に対応するHCDR1、HCDR2、およびHCDR3のアミノ酸配列のセットが挿入されているIGHV3-11ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有するVH領域と、中に対応するLCDR1、LCDR2、およびLCDR3のアミノ酸配列のセットが挿入されているIGKV1-39ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有するVL領域とを含有してもよい。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3のアミノ酸配列は、表4のクローンのいずれか1つのHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3のアミノ酸配列であってもよい(6つすべてのCDR配列が、同じクローン由来である)。

10

20

【0078】

一部の態様では、抗体分子またはその抗原結合部分は、免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1またはIgA2である。追加的な実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG1ヌル、IgG4(S228P)、IgA1またはIgA2である。抗体分子またはその抗原結合部分は、免疫学的に不活性な定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分は、野生型ヒトIgG1定常領域か、L234A、L235A、およびG237Aのアミノ酸置換を含有するヒトIgG1定常領域か、またはL234A、L235A、G237AおよびP331Sのアミノ酸置換を含有するヒトIgG1定常領域かを含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分は、野生型ヒトIgG2定常領域または野生型ヒトIgG4定常領域を含有する、免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ERBB3抗体は、表9のアミノ酸配列のうちのいずれか1つを含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。表9のFc領域配列は、CH1ドメインから始まる。一部の態様では、抗ERBB3抗体は、ヒトIgG4、ヒトIgG4(S228P)、ヒトIgG2、ヒトIgG1、ヒトIgG1-3MまたはヒトIgG1-4MのFc領域のアミノ酸配列を含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。例えば、ヒトIgG4(S228P)のFc領域は、野生型のヒトIgG4のFc領域と比較して以下の置換を含有する：S228P。例えば、ヒトIgG1-3MのFc領域は、野生型のヒトIgG1のFc領域と比較して以下の置換を含有する：L234A、L235AおよびG237A。一方で、ヒトIgG1-4MのFc領域は、野生型のヒトIgG1のFc領域と比較して以下の置換を含有する：L234A、L235A、G237AおよびP331S。一部の態様では、免疫グロブリン分子の定常領域中のアミノ酸残基の位置は、EUの命名法(Ward et al., 1995 Therap. Immunol. 2: 77-94)に従って番号付けされる。一部の態様では、免疫グロブリン定常領域は、RDEL T(配列番号248)モチーフ、またはREEM(配列番号249)モチーフ(表9の下線部分)を含有してもよい。REEM(配列番号249)アロタイプは、RDEL T(配列番号248)アロタイプよりも少ないヒト集団に存在する。一部の態様では、抗ERBB3抗体は、配列番号2

30

40

50

39～245のいずれか1つを含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ERBB3抗体は、表4のクローンのいずれか1つの6つのCDRアミノ酸配列、および表9のFc領域アミノ酸配列のいずれか1つを含有してもよい。一部の態様では、抗ERBB3抗体は、表9のFc領域アミノ酸配列のいずれか1つを含有する免疫グロブリン重鎖定常領域、およびカップ軽鎖定常領域またはラムダ軽鎖定常領域である免疫グロブリン軽鎖定常領域を含有してもよい。

【0079】

一部の態様において、本明細書は、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変(VH)領域、軽鎖可変(VL)領域、および重鎖定常領域を含有し、この場合において、

(a) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS(配列番号24)のHC DR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG(配列番号25)のHC DR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHC DR3を含有し、VL領域のアミノ酸配列は、RASQEISTYLS(配列番号261)のLC DR1、AASTLQS(配列番号26)のLC DR2、およびLQYDSSPLT(配列番号262)のLC DR3を含有し、ならびに重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有し、

(b) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS(配列番号24)のHC DR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG(配列番号25)のHC DR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHC DR3を含有し、VL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLC DR1、AASSLDT(配列番号263)のLC DR2、およびLQYDSTPYT(配列番号23)のLC DR3を含有し、ならびに重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有し、

(c) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMMS(配列番号13)のHC DR1、VSTISDSGSYTYYPDSVKG(配列番号19)のHC DR2、およびELGDYDGFDF(配列番号20)のHC DR3を含有し、VL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLC DR1、AASSLDS(配列番号22)のLC DR2、およびLQYDSTPYT(配列番号23)のLC DR3を含有し、ならびに重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有し、

(d) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYSMS(配列番号24)のHC DR1、VSTISDSGTYTYYPDSVKG(配列番号25)のHC DR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHC DR3を含有し、VL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLC DR1、AASTLQS(配列番号26)のLC DR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLC DR3を含有し、ならびに重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有し、

(e) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMMS(配列番号13)のHC DR1、VSTISDSGSYIYYADSVKG(配列番号14)のHC DR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号15)のHC DR3を含有し、VL領域のアミノ酸配列は、RASQSISYLS(配列番号16)のLC DR1、AASSLQS(配列番号17)のLC DR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLC DR3を含有し、ならびに重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有し、

(f) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMMS(配列番号13)のHC DR1、VSTISDSGSYIYYADSVKG(配列番号14)のHC DR2、およびEWGDYDGFDF(配列番号27)のHC DR3を含有し、VL領域のアミノ酸配列は、RASQEISSYLS(配列番号21)のLC DR1、AASSLQS(配列番号17)のLC DR2、およびLQYDSTPLT(配列番号18)のLC DR3を含有し、ならびに重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有し、

(g) VH領域のアミノ酸配列は、GFTFSDYGMMS(配列番号13)のHC DR1、VSTISDGGSYTYYYADSVKG(配列番号28)のHC DR2、およびEWGDYDGFDE(配列番号29)のHC DR3を含有し、VL領域のアミノ酸配列は、RASQSISGYLS(配列番号30)のLC DR1、AASTLQS(配列番号2

10

20

30

40

50

6) の LC DR 2、および L Q Y D S T P Y T (配列番号 23) の LC DR 3 を含有し、  
 ならびに重鎖定常領域は、配列番号 239 ~ 245 のいずれか 1 つを含有し、

(h) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D G G S Y T Y Y A D N V K G (配列番号 31) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D F (配列番号 15) の H C D R 3 を含有し、V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q S I S S Y L S (配列番号 16) の L C D R 1、A A S T L Q S (配列番号 26) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の L C D R 3 を含有し、  
 ならびに重鎖定常領域は、配列番号 239 ~ 245 のいずれか 1 つを含有し、または

(i) V H 領域のアミノ酸配列は、G F T F S D Y G M S (配列番号 13) の H C D R 1、V S T I S D S G S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 14) の H C D R 2、および E W G D Y D G F D E (配列番号 29) の H C D R 3 を含有し、V L 領域のアミノ酸配列は、R A S Q S I S S Y L S (配列番号 16) の L C D R 1、A A S S L Q S (配列番号 17) の L C D R 2、および L Q Y D S T P L T (配列番号 18) の L C D R 3 を含有し、  
 ならびに重鎖定常領域は、配列番号 239 ~ 245 のいずれか 1 つを含有する。

#### 【0080】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変 (V H) 領域、軽鎖可変 (V L) 領域、および重鎖定常領域を含有し、この場合において、

(a) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 236 を含有し、または配列番号 236 からなり、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 225 を含有し、または配列番号 225 からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒト I g G 4 定常領域、S 2 2 8 P のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 4 定常領域、野生型ヒト I g G 2 定常領域、野生型ヒト I g G 1 定常領域、または L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および G 2 3 7 A のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 1 定常領域を含有し、

(b) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 232 を含有し、または配列番号 232 からなり、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 221 を含有し、または配列番号 221 からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒト I g G 4 定常領域、S 2 2 8 P のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 4 定常領域、野生型ヒト I g G 2 定常領域、野生型ヒト I g G 1 定常領域、または L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および G 2 3 7 A のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 1 定常領域を含有し、

(c) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 253 を含有し、または配列番号 253 からなり、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 254 を含有し、または配列番号 254 からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒト I g G 4 定常領域、S 2 2 8 P のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 4 定常領域、野生型ヒト I g G 2 定常領域、野生型ヒト I g G 1 定常領域、または L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および G 2 3 7 A のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 1 定常領域を含有し、または

(d) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 255 を含有し、または配列番号 255 からなり、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 256 を含有し、または配列番号 256 からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒト I g G 4 定常領域、S 2 2 8 P のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 4 定常領域、野生型ヒト I g G 2 定常領域、野生型ヒト I g G 1 定常領域、または L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、および G 2 3 7 A のアミノ酸置換を含有するヒト I g G 1 定常領域を含有する。

#### 【0081】

一部の態様において、本明細書は、抗 E R B B 3 抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変 (V H) 領域、軽鎖可変 (V L) 領域、および重鎖定常領域を含有し、この場合において、

(a) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 236 を含有し、または配列番号 236 からなり、V L 領域のアミノ酸配列は、配列番号 225 を含有し、または配列番号 225 からなり、および重鎖定常領域は、配列番号 239 ~ 245 のいずれか 1 つを含有する；

(b) V H 領域のアミノ酸配列は、配列番号 232 を含有し、または配列番号 232 か

10

20

30

40

50

らなり、V L領域のアミノ酸配列は、配列番号221を含有し、または配列番号221からなり、および重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有する；

(c) V H領域のアミノ酸配列は、配列番号253を含有し、または配列番号253からなり、V L領域のアミノ酸配列は、配列番号254を含有し、または配列番号254からなり、および重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有する；または

(d) V H領域のアミノ酸配列は、配列番号255を含有し、または配列番号255からなり、V L領域のアミノ酸配列は、配列番号256を含有し、または配列番号256からなり、および重鎖定常領域は、配列番号239～245のいずれか1つを含有する。

#### 【0082】

一部の態様では、抗ERBB3抗体は、免疫エフェクターが無効であってもよい。一部の態様では、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分は、免疫エフェクター機能を誘導せず、任意で免疫エフェクター機能を抑制する。一部の態様では、抗ERBB3抗体は、ヒトFcRI受容体、FcRIIa受容体、FcRIIIa受容体、およびFcRIIIb受容体への測定可能な結合を欠いてもよいが、ヒトFcRIIb受容体への結合は維持し、任意で、ヒトFcRn受容体への結合も維持する。FcRI、FcRIIa、FcRIIIa、およびFcRIIIbは、活性化受容体の例示である。FcRIIbは、阻害性受容体の例示である。FcRnは、リサイクル受容体の例示である。一部の態様では、抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分のヒトFc受容体への結合アフィニティは、ピアコア(BIACORE(登録商標))解析により測定されてもよい。一部の態様では、HTRF法(Homogeneous Time Resolved Fluorescence)を使用して、ヒトFc受容体への抗ERBB3抗体の結合を試験することができる。HTRF法の1つの例において、ヒトIgG1(野生型)が標識され、一揃いのFcガンマ受容体も同様にされ、次いで組換えFc断片を含む抗体が、力価測定競合に使用される。一部の態様では、ERBB3陽性細胞と、ヒト白血球および抗ERBB3抗体とが混合されてもよく、そしてCDC、ADCCおよび/またはADCPによる細胞殺傷が測定されてもよい。一部の態様では、ヒトIgG1-3M(表9を参照)のFc領域のアミノ酸配列を含有する抗ERBB3抗体は、エフェクターが無効である。一部の態様では、ヒトIgG1-3M(表9を参照)のFc領域のアミノ酸配列を含有する抗ERBB3抗体は、エフェクターが無効でない。

#### 【0083】

抗体分子またはその抗原結合部分は、Fab断片、F(ab)<sub>2</sub>断片、Fv断片、四量体抗体、四価抗体、多特異性抗体(例えば二価抗体)、ドメイン特異的抗体、単一ドメイン抗体、モノクローナル抗体、または融合タンパク質であってもよい。1つの実施形態では、抗体は、第一の抗原と第二の抗原とに特異的に結合する二特異性抗体であってもよく、この場合において第一の抗原はERBB3であり、第二の抗原はERBB3ではない。抗体分子、ならびにその構築方法および使用方法は、例えばHolliger & Hudson(2005, Nature Biotechnol. 23(9): 1126-1136)に記載されている。

#### 【0084】

本発明の別の態様では、治療剤に結合された、本明細書に規定される本発明の抗体分子またはその抗原結合部分を含有する免疫結合体が提供される。

#### 【0085】

適切な治療剤の例示としては、細胞毒素、放射性同位体、化学療法剤、免疫調節剤、抗血管新生剤、抗増殖剤、アポトーシス促進剤、ならびに細胞増殖抑制酵素および細胞溶解性酵素(例えば、RNase)が挙げられる。さらなる治療剤としては、例えば免疫調節剤、抗血管新生剤、抗増殖剤またはアポトーシス促進剤をコードする遺伝子などの治療用核酸が挙げられる。これら薬剤の記述子は、相互排他的ではなく、ゆえに治療剤は、上述の用語の1つまたは複数を使用して記載されてもよい。

#### 【0086】

10

20

30

40

50

免疫結合体における使用に適した治療剤の例としては、タキサン、メイタンシン、CC-1065、およびデュオカルマイシン、カリケアミシンおよび他のエンジン、ならびにオーリスタチン (auristatin) が挙げられる。他の例としては、抗葉酸剤、ピンカルカロイド、およびアントラサイクリンが挙げられる。植物毒素、他の生物活性タンパク質、酵素 (すなわち ADEPT)、放射性同位体、光増感剤が、免疫結合体において使用されてもよい。さらに結合体は、細胞毒性剤として二次的な担体、例えばリポソームまたはポリマーなどを使用して作製され得る。適切な細胞毒素としては、細胞の機能を阻害または妨害し、および/または細胞の破壊をもたらす薬剤が挙げられる。代表的な細胞毒素としては、抗生物質、チューブリン重合の阻害剤、DNAに結合し、破壊するアルキル化剤、そしてタンパク質合成を破壊する、または例えばタンパク質キナーゼ、ホスファターゼ、トポイソメラーゼ、酵素およびサイクリンなどの必須の細胞タンパク質の機能を破壊する薬剤が挙げられる。

10

20

30

40

50

**【0087】**

代表的な細胞毒素としては、以下に限定されないが、ドキシルピシン、ダウノルピシン、イダルピシン、アクラルピシン、ゾルピシン、ミトキサントロン、エピルピシン、カルピシン、ノガラマイシン、メノガリル、ピタルピシン (pitarrubicin)、バルルピシン、シタラピン、ゲムシタピン、トリフルリジン、アンシタピン、エノシタピン、アザシチジン、ドキシフルジン (doxifludine)、ペントスタチン、ブロクスジン (broxudine)、カベシタピン、クラドピン (cladribine)、デシタピン、フロクスジン (flouxudine)、フルダラピン、ゲーゲロチン、ピューロマイシン、テガフル、チアゾフン (thiazofurin)、アダマイシン (adhamycin)、シスプラチン、カルボプラチン、シクロフォスファミド、ダカルバジン、ピンラスチン、ピンクリスチン、ミトキサントロン、プレオマイシン、メクロレタミン、プレドニゾン、プロカルバジン、メトトレキサート、フルロウラシル (flurouracil)、エトポシド、タキソール、タキソールアナログ、例えばシスプラチンおよびカルボプラチンなどのプラチン類、マイトマイシン、チオテバ、タキサン、ピンクリスチン、ダウノルピシン、エピルピシン、アクチノマイシン、オースラマイシン (aurhamycin)、アザセリン、プレオマイシン、タモキシフェン、イダルピシン、ドラスタチン/オーリスタチン (auristatin)、ヘミアステリン (hemiassterlin)、エスペラミシン、ならびにマイタンシノイドが挙げられる。

**【0088】**

適切な免疫調節剤としては、腫瘍に対するホルモンの作用を遮断する抗ホルモン剤、およびサイトカイン産生を抑制する、自己抗原発現を下方制御する、またはMHC抗原をマスクする免疫抑制剤が挙げられる。

**【0089】**

さらに、本明細書に規定される本発明の抗体分子またはその抗原結合部分をコードする核酸分子も提供される。核酸分子は、本明細書に記載される抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分の、(a) VH領域のアミノ酸配列、(b) VL領域のアミノ酸配列、または(c) VH領域とVL領域の両方のアミノ酸配列をコードしてもよい。一部の態様では、本明細書に規定される核酸分子が単離されてもよい。

**【0090】**

さらに、本明細書に規定される本発明の核酸分子を含有するベクターが提供される。ベクターは、発現ベクターであってもよい。

**【0091】**

また、本明細書に規定される本発明の核酸分子またはベクターを含有する宿主細胞も提供される。宿主細胞は、組換え宿主細胞であってもよい。

**【0092】**

さらなる態様において、抗ERBB3抗体および/またはその抗原結合部分を作製する方法も提供され、当該方法は、当該抗体および/もしくはその抗原結合部分の発現ならびに/または産生が生じる条件下で、本発明の宿主細胞を培養することと、当該宿主細胞ま

たは培養物から、当該抗体および/またはその抗原結合部分を単離することと、を含む。

【0093】

本発明の別の態様において、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクターを含有する医薬組成物が提供される。

【0094】

本発明はまた、細胞においてERBB3シグナル伝達を阻害する方法を提供し、当該方法は、本明細書に記載の抗ERBB3抗体分子またはその抗原結合部分に細胞を接触させることを含む。一部の実施形態では、本発明の抗ERBB3抗体分子または抗原結合部分が、ERBB3を単量体型に固定する。

10

【0095】

さらに、対象において免疫反応を強化する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。一部の実施形態では、本発明の抗ERBB3抗体分子または抗原結合部分は、抗体エフェクター機能が介在する結合を介して対象の免疫細胞を結合する。

【0096】

さらなる態様において、対象において癌を治療または予防する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。

20

【0097】

例えば、癌は、胃腸間質性癌(GIST)、膵臓癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結腸直腸癌、前立腺癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳腫瘍または中枢神経系の癌、末梢神経系の癌、食道癌、子宮頸癌、子宮癌または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝癌、腎癌、精巣癌、胆管癌、小腸癌または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、または血液組織の癌であり得る。

30

【0098】

本発明はさらに、癌の治療における使用のための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクター、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物を提供する。

【0099】

別の態様において、本発明は、例えば抗癌剤などの第二の治療剤と組み合わせられる併用において、別個に使用する、連続して使用する、または同時に使用するための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または免疫結合体、または核酸分子、または使用のためのベクター、または治療方法を提供する。

40

【0100】

さらなる態様において、癌の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の使用、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の使用、または本明細書に規定される本発明のベクターの使用、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の使用が提供される。

【0101】

本発明はさらに、対象において自己免疫性疾患もしくは炎症性疾患を治療または予防する方法を提供するものであり、当該方法は、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される免疫結合体の有効量、または本明細

50

書に規定される核酸分子の有効量、または本明細書に規定されるベクターの有効量、または本明細書に規定される医薬組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。

【0102】

例えば、自己免疫性疾患または炎症性疾患は、関節炎、喘息、多発性硬化症、乾癬、クローン病、炎症性腸疾患、ループス、グレーブス病および橋本甲状腺炎、または強直性脊椎炎であり得る。

【0103】

また、自己免疫性疾患または炎症性疾患の治療における使用のための、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される免疫結合体、または本明細書に規定される核酸分子、または本明細書に規定されるベクター、または本明細書に規定される医薬組成物が提供される。

10

【0104】

さらに、自己免疫性疾患または炎症性疾患の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される免疫結合体の使用、または本明細書に規定される核酸分子の使用、または本明細書に規定されるベクターの使用、または本明細書に規定される医薬組成物の使用が提供される。

【0105】

本発明はさらに、対象において心血管疾患もしくは線維症を治療または予防する方法を提供するものであり、当該方法は、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される核酸分子の有効量、または本明細書に規定されるベクターの有効量、または本明細書に規定される医薬組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。

20

【0106】

また、心血管疾患または線維症の治療における使用のための、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される免疫結合体、または本明細書に規定される核酸分子、または本明細書に規定されるベクター、または本明細書に規定される医薬組成物が提供される。

【0107】

さらに、心血管疾患または線維症の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される免疫結合体の使用、または本明細書に規定される核酸分子の使用、または本明細書に規定されるベクターの使用、または本明細書に規定される医薬組成物の使用が提供される。

30

【0108】

本発明の任意の態様における心血管疾患は、例えば冠動脈心疾患またはアテローム性動脈硬化症であってもよい。

【0109】

本発明の任意の態様における線維症は、例えば、心筋梗塞、狭心症、変形性関節症、肺線維症、喘息、嚢胞性線維症、または気管支炎であってもよい。

【0110】

一実施形態において、本発明は、治療における使用のための本明細書に開示されるアミノ酸配列を含有する抗ERBB3抗体またはその抗原結合部分を提供する。

40

【0111】

本発明の医薬組成物は、薬学的に許容可能な賦形剤、担体または希釈剤を含有してもよい。薬学的に許容可能な賦形剤は、二次的な反応を引き起こさない医薬組成物に入れられる化合物または化合物の組み合わせであってもよく、例えば、抗ERBB3抗体分子の投与の促進、その持続期間の延長、および/もしくは体内におけるその有効性の増加、または溶液中の可溶性の上昇を可能にする。これら薬学的に許容可能なビヒクルは周知であり、抗ERBB3抗体分子の投与形態の効果に応じて当業者により適合される。

【0112】

一部の実施形態では、抗ERBB3抗体分子は、凍結乾燥されて提供され、投与前に再

50

構成されてもよい。例えば凍結乾燥された抗体分子は、滅菌水で再構成され、個体への投与前に生理食塩水と混合される。

【0113】

抗ERBB3抗体分子は通常、医薬組成物の形態で投与され、当該医薬組成物は、抗体分子に加えて少なくとも1つの構成要素を含有してもよい。したがって医薬組成物は、抗ERBB3抗体分子に加えて、薬学的に許容可能な賦形剤、担体、緩衝剤、安定剤、または当業者に周知の他の物質を含有してもよい。そうした物質は、非毒性でなければならず、そして抗ERBB3抗体分子の効能に干渉してはならない。担体または他の物質の正確な性質は、投与経路に依存することとなり、これは、以下に検討されるように、ポラス、点滴、注射または任意の他の適切な経路であってもよい。

10

【0114】

例えば注射などによる皮下投与または静脈内投与などの非経口投与に関しては、抗ERBB3抗体分子を含有する医薬組成物は、発熱物質を含まず、そして適切なpH、等張性および安定性の非経口に受容可能な水溶液の形態であってもよい。当業者であれば、例えば塩化ナトリウム注射溶液、リンゲル注射溶液、乳酸リンゲル注射溶液などの等張ビヒクルを使用して適切な溶液を調製することができる。保存剤、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤、および/または他の添加剤を必要に応じて採用してもよく、例えばリン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニンなどの抗酸化剤；保存剤（例えばオクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルアルコールまたはベンジルアルコール；例えばメチルパラベンまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レソルシノール；シクロヘキサノール；3'-ペンタノール；およびm-クレゾール）；低分子量ポリペプチド；例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；例えばポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノースまたはデキストリンなどの単糖、二糖および他の炭水化物；例えばEDTAなどのキレート剤；例えばショ糖、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖類；例えばナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えばZn-タンパク質錯体）；および/または例えばTWEEN（商標）、PLURONICS（商標）、またはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。

20

30

【0115】

抗ERBB3抗体分子を含有する医薬組成物は、治療される状態に応じて、単独で投与されてもよく、または他の治療と併用されて、同時に、または連続のいずれかで投与されてもよい。

【0116】

本明細書に記載の抗ERBB3抗体分子は、ヒトまたは動物の身体の治療方法に使用されてもよく、治療には、予防的または防止的な治療が含まれる（例えば、個体において症状が発生する前に、当該個体において当該症状が発生するリスクを低下させるため、その発生を遅延させるため、または発生後の重症度を低下させるための治療）。治療方法は、抗ERBB3抗体分子を、その必要のある個体に投与することを含んでもよい。

40

【0117】

投与は通常、「治療有効量」でされ、これは、患者に対し有益性を示すのに十分な量である。そうした有益性は、少なくとも1つの症状の少なくとも改善であってもよい。投与される実際の量、投与速度、および投与の経時変化は、治療されるものの、特に治療される哺乳動物の、性質および重症度、個々の患者の臨床状態、障害の原因、組成物の送達部位、投与方法、投与スケジュール、および医療従事者がわかっている他の因子に依存することとなる。例えば用量の決定などの治療の指示は、一般開業医および他の医師の責の範囲内にあり、治療される疾患の症状の重症度、および/または治療される疾患の進行に依存し得る。抗体分子の適切な投与量は、当分野に周知である（L e d e r m a n n J .

50

A . e t a l . , 1 9 9 1 , I n t . J . C a n c e r 4 7 : 6 5 9 - 6 6 4 ; B a g s h a w e K . D . e t a l . , 1 9 9 1 , A n t i b o d y , I m m u n o c o n j u g a t e s a n d R a d i o p h a r m a c e u t i c a l s 4 : 9 1 5 - 9 2 2 ) 。 具 体 的 な 用 量 は 、 本 明 細 書 に お い て 、 ま た は P h y s i c i a n ' s D e s k R e f e r e n c e ( 2 0 0 3 ) に お い て 示 さ れ 、 投 与 さ れ る 薬 剤 の タ イ プ に 応 じ た 用 量 が 、 使 用 さ れ 得 る 。 抗 体 分 子 の 治 療 有 効 量 ま た は 適 切 な 用 量 は 、 そ の イ ン ビ ト ロ 活 性 と 、 動 物 モ デ ル に お け る イ ン ビ ボ 活 性 と を 比 較 す る こ と に よ り 決 定 さ れ 得 る 。 マ ウ ス お よ び 他 の 被 験 動 物 に お け る 有 効 用 量 を 、 ヒ ト に 外 挿 す る 方 法 は 公 知 で あ る 。 正 確 な 投 与 量 は 、 抗 体 が 予 防 用 で あ る か ま た は 治 療 用 で あ る か 、 治 療 さ れ る 領 域 の 大 き さ お よ び 位 置 、 抗 体 の 正 確 な 性 質 ( 例 え ば 全 抗 体 、 断 片 ) お よ び 抗 体 に 付 加 さ れ た 任 意 の 検 出 可 能 な 標 識 ま た は 他 の 分 子 の 性 質 を は じ め と す る 多 く の 因 子 に 依 存 す る こ と と な る 。

10

**【0118】**

典型的な抗体投与量は、全身投与に対しては100 $\mu$ g~1g、また局所投与に対しては1 $\mu$ g~1mgの範囲である。初回に高い負荷投与量で、その後は1回または複数回の低投与量が投与されてもよい。典型的には、抗体は、例えばIgG1アイソタイプ、IgG1ヌルアイソタイプまたはIgG4アイソタイプなどの全抗体である。これは成人患者の単回治療用の投与量であり、小児および幼児に対しては相対的に調整され得、そして分子量に比例して他の抗体形式にも調整され得る。治療は、医師の裁量で毎日、週2回、毎週、または毎月の間隔で繰り返され得る。個々の治療スケジュールは、抗体組成物の薬物動態および薬力学的性質、投与経路、ならびに治療される症状の性質に依存し得る。

20

**【0119】**

治療は定期的であってもよく、投与の間の期間は、約2週間またはそれ以上であってもよく、例えば約3週間以上、約4週間以上、約1カ月に1回以上、約5週間以上、または約6週間以上であってもよい。例えば、治療は、2週~4週ごと、または4週~8週ごとであってもよい。治療は、外科手術の前、および/もしくは後に行われてもよく、ならびに/または外科的治療もしくは浸潤的手順の解剖学的位置に直接投与または適用されてもよい。適切な製剤および投与経路は、上記に記載される。

**【0120】**

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗ERBB3抗体分子は、皮下注射として投与されてもよい。皮下注射は、例えば長期間または短期間の予防/治療用の自己注射器を使用して投与されてもよい。

30

**【0121】**

一部の実施形態では、抗ERBB3抗体分子の治療効果は、血清抗体半減期の数倍の間、持続し得、投与量に依存する。例えば抗ERBB3抗体分子の単回投与の治療効果は、個体において、1カ月以上、2カ月以上、3カ月以上、4カ月以上、5カ月以上、または6カ月以上、持続し得る。

**【0122】**

本発明はさらに、ヒトERBB3に特異的に結合し、および任意でアカゲザルのERBB3にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を作製する方法を提供するものであり、当該方法は、

40

(1) 非ヒト源由来の抗ERBB3 CDRをヒトv-ドメインフレームワーク内に移植し、ヒト化抗ERBB3抗体分子またはその抗原結合部分を作製する工程、

(2) CDR中に1つまたは複数の変異を含有する当該ヒト化抗ERBB3抗体分子またはその抗原結合部分のクローンのファージライブラリーを作製する工程、

(3) ヒトERBB3への結合について、および任意でアカゲザルERBB3への結合についても当該ファージライブラリーを選択する工程、

(4) 選択する工程(3)から、ヒトERBB3に特異的に結合する、および任意でアカゲザルERBB3にも特異的に結合するクローンをスクリーニングする工程、ならびに

(5) ヒトERBB3に特異的に結合し、および任意でアカゲザルERBB3にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を、工程(4)から選択されたクローン

50

から作製する工程、を含む。

【0123】

当該方法は、工程(4)で選択されたクローンに基づき、例えば工程(4)で選択されたクローンのCDR中の特定の位置でのさらなる探索的な突然変異誘導に基づき、追加のクローンを作製して、ヒト化を強化し、および/またはヒトT細胞エピトープ含量を最小化し、および/または工程(5)で作製された抗体分子もしくはその抗原結合部分の製造特性を改善するさらなる工程を含んでもよい。

【0124】

上述の方法に適用可能な改善は、以下の実施例1に記載されるとおりである。

【0125】

本明細書で用いる場合、“ERBB3”の語は、ERBB3の生物学的活性の少なくとも一部を保持する、ERBB3タンパク質およびそのバリエーションを指す。本明細書において使用される場合、ERBB3は、ヒト、ラット、マウスおよびニワトリを含むすべての哺乳動物種のネイティブ配列ERBB3を含む。“ERBB3”の語は、ヒトERBB3のバリエーション、アイソフォームおよび種のホモログを含むために使用される。本発明の抗体は、ヒト以外の種に由来するERBB3、特にアカゲザル(Macaca mulatta)由来のERBB3と交差反応し得る。ヒトおよびアカゲザルのERBB3アミノ酸配列の例を、表10に提供する。ある実施形態では、抗体は、完全にヒトERBB3に特異的であってもよく、非ヒトとの交差反応性を呈さなくてもよい。

【0126】

本明細書において使用される場合、本発明の抗体の文脈において使用される場合の「アンタゴニスト」、または「抗ERBB3アンタゴニスト抗体」(「抗ERBB3抗体」と相互交換可能に称される)とは、ERBB3に結合することができる、ならびにERBB3の生物学的活性を阻害することができる、および/またはERBB3シグナル伝達により介在される下流経路を阻害することができる抗体を指す。抗ERBB3アンタゴニスト抗体には、例えばERBB3に対する受容体結合および/または細胞反応の惹起など、ERBB3シグナル伝達により介在される下流経路を含めた、(有意に)ERBB3の生物学的活性(を含めた)を遮断する、拮抗する、抑制する、または低下させることができる抗体を包含する。本発明の目的に対し、「抗ERBB3アンタゴニスト抗体」という用語は、ERBB3それ自体、およびERBB3の生物学的活性、または活性もしくは生物学的活性の結果が、任意の意義のある程度に実質的に無効化される、減少される、または中和されるすべての用語、タイトル、ならびに機能的状態および機能的特性を包含することが明示的に理解されるであろう。

【0127】

他の受容体よりも高いアフィニティ、高いアビディティ、より容易に、および/またはより長い期間、ERBB3と結合する場合、当該抗体は、ERBB3に「特異的に結合する」、「特異的に相互作用する」、「優先的に結合する」、「結合する」または「相互作用する」。

【0128】

「抗体分子」は、例えば炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチドなどの標的に、免疫グロブリン分子の可変領域中に位置する少なくとも1つの抗原認識部位を介して特異的に結合することができる免疫グロブリン分子である。本明細書において使用される場合、「抗体分子」という用語は、インタクトなポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のみならず、任意の抗原結合断片(例えば「抗原結合部分」)またはその一本鎖、抗体を含む融合タンパク質、ならびに例えば限定されないが、scFv、単ドメイン抗体(例えばサメ抗体およびラクダ科抗体)、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、v-NAR、およびbis-scFvを含む抗原認識部位を含有する免疫グロブリン分子の任意の他の改変構造体も包含する。

【0129】

「抗体分子」は、例えばIgG、IgA、またはIgM(またはそのサブクラス)など

10

20

30

40

50

の任意のクラスの抗体を包含するが、抗体はいずれか特定のクラスのものである必要はない。その重鎖の定常領域の抗体アミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは、様々なクラスに割り当てられ得る。免疫グロブリンには I g A、I g D、I g E、I g G および I g M の 5 種類の主要なクラスがある。これらのうちのいくつかは、さらにサブクラス（アイソタイプ）に分けられる場合があり、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 および I g A 2 がある。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常領域はそれぞれアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、およびミューと呼ばれる。このサブユニットの構造、および様々なクラスの免疫グロブリンの三次元構造は周知である。

#### 【 0 1 3 0 】

抗体分子の「抗原結合部分」という用語は、本明細書において使用される場合、E R B B 3 に特異的に結合する能力を保持する、インタクトな抗体の 1 つまたは複数の断片を指す。抗体分子の抗原結合機能は、インタクトな抗体の断片により実現され得る。抗体分子の「抗原結合部分」という用語に包含される結合断片の例示としては、F a b ; F a b ' ; F ( a b ' ) 2 ; V H ドメインと C H 1 ドメインとからなる F d 断片；抗体の 1 つのアームの V L ドメインおよび V H ドメインからなる F v 断片；単ドメイン抗体 ( d A b ) 断片、および単離された相補性決定領域 ( C D R ) が挙げられる。

10

#### 【 0 1 3 1 】

「F c 領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖の C 末端領域を規定するために使用される。「F c 領域」は、天然配列の F c 領域またはバリエーションの F c 領域であってもよい。免疫グロブリン重鎖の F c 領域の境界は変化し得るが、ヒト I g G 重鎖の F c 領域は通常、C y s 2 2 6 の位置のアミノ酸残基、または P r o 2 3 0 の位置のアミノ酸残基から、そのカルボキシル末端に及ぶと規定される。F c 領域中の残基の番号付けは、K a b a t にある E U インデックスの番号である。免疫グロブリンの F c 領域は通常、C H 2 と C H 3 の 2 つの定常ドメインを含有する。当分野に知られているように、F c 領域は、二量体型または単量体型で存在し得る。

20

#### 【 0 1 3 2 】

抗体の「可変領域」とは、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域の、いずれか単独または組み合わせを指す。当分野に知られているように、重鎖および軽鎖の可変領域は各々、超可変領域としても知られている 3 つの相補性決定領域 ( C D R ) に繋がる 4 つのフレームワーク領域 ( F R ) からなり、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。C D R に隣接する F R を選択するとき、例えば抗体のヒト化または最適化を行うとき、同じ基準クラスの C D R 配列を含有する抗体由来の F R が好ましい。

30

#### 【 0 1 3 3 】

本出願において使用される C D R の定義は、当分野で創出された多くの異質的な、しばしば矛盾するスキームにおいて使用されるドメインを組み合わせしており、免疫グロブリンレパートリー分析と、遊離状態および抗原との共結晶状態の抗体の構造分析との組み合わせに基づいている ( S w i n d e l l s e t a l . , 2 0 1 6 , a b Y s i s : I n t e g r a t e d A n t i b o d y S e q u e n c e a n d S t r u c t u r e - M a n a g e m e n t , A n a l y s i s , a n d P r e d i c t i o n . J M o l B i o l . [ P M I D : 2 7 5 6 1 7 0 7 ; E p u b 2 2 A u g u s t 2 0 1 6 ] によるレビューを参照のこと)。本明細書において使用される C D R の定義 (「統合」定義) は、そうしたすべての過去の洞察の教示を組み込んでおり、潜在的に標的 - 結合の相補性を介在する完全な残基の状況を抽出するために必要なすべての適切なループ位置を含む。

40

#### 【 0 1 3 4 】

表 1 は、本明細書に規定される 2 4 C 0 5 マウス抗 E R B B 3 抗体の C D R のアミノ酸配列 (「統合」スキーム) を、同じ C D R を規定する周知の代替的な系と比較して示している。

#### 【 0 1 3 5 】

本明細書において使用される場合、「保存的置換」という用語は、アミノ酸を、機能活

50

性を大きく有害には変化させない別のアミノ酸で置換することを指す。「保存的置換」の好ましい例は、1つのアミノ酸を、以下のB L O S U M 62置換マトリクス(Henikoff & Henikoff, 1992, PNAS 89:10915-10919を参照のこと)において0以上の値(0)を有する別のアミノ酸で置換することである。

【0136】

【化1】

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-2	-1	1	0	-3	-2	0	
R	-1	5	0	-2	-3	1	0	-2	0	-3	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
N	-2	0	6	1	-3	0	0	0	1	-3	-3	0	-2	-3	-2	1	0	-4	-2	-3
D	-2	-2	1	6	-3	0	2	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
C	0	-3	-3	-3	9	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
Q	-1	1	0	0	-3	5	2	-2	0	-3	-2	1	0	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
E	-1	0	0	2	-4	2	5	-2	0	-3	-3	1	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
G	0	-2	0	-1	-3	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3	
H	-2	0	1	-1	-3	0	0	-2	8	-3	-3	-1	-2	-1	-2	-1	-2	-2	2	-3
I	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4	2	-3	1	0	-3	-2	-1	-3	-1	3
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4	-2	2	0	-3	-2	-1	-2	-1	1
K	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	1	2	-1	5	0	-2	-1	-1	-1	-1	1
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	6	-4	-2	-2	1	3	-1
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
S	1	-1	1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	1	-3	-2	-2
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-1	1	5	-2	-2	0	
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	1	-4	-3	-2	11	2	-3
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	2	-1	-1	-2	-1	3	-3	-2	-2	2	7	-1
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	3	1	-2	1	-1	-2	-2	0	-3	-1	4

10

20

【0137】

「モノクローナル抗体」(M a b)という用語は、例えば任意の真核細胞クローン、原核細胞クローンもしくはファージクローンなどの1つのコピーまたはクローンから誘導された抗体またはその抗原結合部分を指し、それが作製された方法ではない。本発明のモノクローナル抗体は、均質、または実質的に均質な集団で存在することが好ましい。

30

【0138】

「ヒト化」抗体分子とは、非ヒト免疫グロブリンに由来する配列を最小限に含有するキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、またはその断片(例えば、F v、F a b、F a b'、F(a b')<sub>2</sub>、または他の抗原結合性の抗体下位配列)である、非ヒト(例えばマウス)抗体分子またはその抗原結合部分の形態を指す。ヒト化抗体は、レシピエントのC D R由来の残基が、所望の特異性、アフィニティおよび能力を有する例えばマウス、ラットまたはウサギなどの非ヒト種(ドナー抗体)のC D R由来の残基で置き換えられているヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)であってもよい。

40

【0139】

「ヒト抗体または完全ヒト抗体」とは、ヒト抗体遺伝子を担持するトランスジェニックマウスから誘導された、またはヒト細胞から誘導された抗体分子またはその抗原結合部分を指す。

【0140】

「キメラ抗体」という用語は、可変領域配列が1つの種に由来し、定常領域配列は別の種に由来する抗体分子またはその抗原結合部分を指すことが意図され、例えば、可変領域配列はマウス抗体に由来し、定常領域配列はヒト抗体に由来する抗体分子などである。

【0141】

50

「抗体 - 薬剤結合体」および「免疫結合体」とは、E R B B 3 に結合する、抗体誘導体を含めた抗体分子またはその抗原結合部分であって、細胞傷害剤、細胞増殖抑制剤、および/または治療剤と結合された抗体分子またはその抗原結合部分を指す。

【0142】

本発明の抗体分子、またはその抗原結合部分は、例えば組換え技術、ファージディスプレイ技術、合成技術、またはそうした技術もしくは当分野に既に公知である他の技術との組み合わせなどの当分野に周知の技術を使用して作製され得る。

【0143】

「単離された分子」（分子が、例えばポリペプチド、ポリヌクレオチドまたは抗体である場合）という用語は、その起源または誘導の源によって、（1）自然状態では付随する天然の関連構成要素と関連していない分子、（2）同じ種由来の他の分子を実質的に含まない分子、（3）異なる種由来の細胞により発現された分子、または（4）自然に発生しない分子である。したがって、化学的に合成された分子、または天然での起源である細胞とは異なる細胞系で発現された分子は、その天然の関連構成要素から「単離される」。さらに分子は、当分野に周知の精製技術を使用した単離によって、天然の関連構成要素を実質的に含まない状態にされ得る。分子純度または均質性は、当分野に周知の多くの手段により解析され得る。例えばポリペプチドサンプルの純度は、当分野に周知の技術を使用してポリアクリルアミドゲル電気泳動を使用し、ゲルを染色してポリペプチドを可視化して解析されてもよい。ある目的に対し、H P L C、または精製分野で周知の他の手段を使用することにより、さらに高い分解能が提供される場合がある。

【0144】

「エピトープ」という用語は、抗体分子の抗原結合領域のうちの1つまたは複数で抗体分子に認識され、結合されることができ分子の部分、またはその抗原結合部分を指す。エピトープは、一次、二次または三次のタンパク質構造の規定領域からなる場合があり、抗体またはその抗原結合部分の抗原結合領域に認識される標的の二次構造単位または二次構造ドメインの組み合わせを含む。同じくエピトープは、例えばアミノ酸または糖側鎖などの規定の化学的に活性な分子の表面群からなる場合があり、特定の三次元構造特性ならびに特定の電荷特性を有する場合がある。本明細書において使用される場合、「抗原性エピトープ」という用語は、当分野に周知の任意の方法、例えば従来的な免疫アッセイ法、抗体競合結合アッセイ、またはx線結晶法もしくは関連する構造決定法（例えばNMR）により決定されたときに、抗体分子が特異的に結合することができるポリペプチドの部分として規定される。

【0145】

「結合アフィニティ」または「K<sub>D</sub>」という用語は、特定の抗原 - 抗体の相互作用の解離速度を指す。K<sub>D</sub>は、「off-rate (k<sub>off</sub>)」とも呼ばれる解離速度の、「on-rate (k<sub>on</sub>)」、すなわち会合速度に対する比率である。ゆえにK<sub>D</sub>は、k<sub>off</sub> / k<sub>on</sub> に等しく、モル濃度 (M) として表される。従って、K<sub>D</sub> が小さくなると、結合アフィニティは強くなる。ゆえにK<sub>D</sub> が1 μMであれば、K<sub>D</sub> が1 nMの場合と比較して結合アフィニティが弱いことを示す。抗体のK<sub>D</sub>値は、当分野に確立された方法を使用して決定され得る。抗体のK<sub>D</sub>の決定方法の1つは、表面プラズモン共鳴 (SPR) を使用するものであり、典型的には、例えばピアコア (Biacore (登録商標)) システムなどのバイオセンサーシステムを使用する。

【0146】

「有効性」という用語は、生物活性の測定値であり、本明細書に記載のE R B B 3 活性アッセイにおいて測定される活性の50%を阻害する、抗原E R B B 3 に対する抗体または抗体薬剤結合体のI C<sub>50</sub> すなわち有効濃度として表す場合もある。

【0147】

本明細書において使用される場合、「有効量」または「治療有効量」という文言は、所望の治療結果を実現するために必要な（用量での、および期間に対する、および投与手段に対する）量を指す。有効量は、活性剤の、対象に治療上有益な影響を与えるために必要

10

20

30

40

50

な少なくとも最小量であるが、対象に毒性のある量よりは少ない量である。

【0148】

本発明の抗体分子の生物活性に関して本明細書において使用される場合、「阻害する」または「中和する」という用語は、限定されないが、ERBB3に対する抗体分子の生物活性、または抗体分子とERBB3の結合相互作用を含む、阻害されるものの例えば進行または重症度を実質的に拮抗する、妨げる、予防する、抑える、減速させる、破壊する、除去する、停止させる、低下させる、または反転させる抗体の能力を意味する。

【0149】

「宿主細胞」には、ポリヌクレオチド挿入物の組み込みのためのベクターに対するレシピエントであってもよく、またはレシピエントである個々の細胞または細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一宿主細胞の子孫物を含み、当該子孫物は、自然の、偶発的な、または意図的な変異により、元の親細胞と完全に同一（形態において、またはゲノムDNAの相補体において）であるとは限らない場合がある。宿主細胞には、本発明のポリヌクレオチドをインピボでトランスフェクトされた細胞が含まれる。

10

【0150】

本明細書において使用される場合、「ベクター」とは、宿主細胞において、関心の1つまたは複数の遺伝子または配列を送達することができる、そして好ましくは発現することができる構築物を意味する。ベクターの例としては限定されないが、ウイルスベクター、ネイキッドDNAまたはRNAの発現ベクター、プラスミド、コスミドまたはファージベクター、カチオン縮合剤と会合したDNAまたはRNAの発現ベクター、リボソーム中に封入されたDNAまたはRNAの発現ベクター、および例えば産生細胞などの特定の真核細胞が挙げられる。

20

【0151】

本明細書において使用される場合、別段が示唆されない限り、「治療すること」という用語は、そうした用語が適用される障害もしくは症状、またはそうした障害もしくは症状の1つまたは複数症状を反転させる、改善させる、その進行を阻害する、その進行を遅延させる、発症を遅延させる、または予防することを意味する。本明細書において使用される場合、別段の示唆が無い限り、「治療」という用語は、上述に規定される治療の行為を指す。「治療すること」という用語は、対象のアジュバント療法およびネオアジュバント療法も含む。誤解を避けるために、本明細書において「治療」という言及は、治癒的、緩和的、および予防的な治療に対する言及を含む。誤解を避けるために、本明細書において「治療」という言及は、治癒的、緩和的、および予防的な治療に対する言及もさらに含む。

30

【0152】

本明細書において、実施形態は、「含む、含有する」という文言で記載されているか、さもなければ「～からなる」および/または「本質的に～からなる」として記載される類似した実施形態も提供されることを理解されたい。

【0153】

本発明の態様または実施形態が、マーカッシュ群または他の択一的な群で記載されている場合、本発明は、概して列挙される群全体のみならず、当該群の各メンバーを個々に、および当該主要群のうちの可能性のあるすべての亜群、そして当該群メンバーの1つまたは複数に欠いた主要群も包含する。本発明はさらに、請求される本発明の群メンバーのいずれかの1つまたは複数の明白な除外を予期するものである。

40

【0154】

別段の規定がない限り、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の当業者によって普遍的に理解される意味と同じ意味を有する。矛盾が生じる場合、本明細書が定義を含めて主導をとるものとする。本明細書および特許請求の範囲の全体を通じて、「含む、含有する」という文言、または例えば「含む、含有する」または「含むこと、含有すること」といった変化形は、記述される整数値の含有、または整数値の群の含有を示唆するが、任意の他の整数値または整数値の群の除外は示唆し

50

ないと理解される。文脈により別段であることを要しない限り、単数形の用語は複数を含むものとし、複数形は単数を含むものとする。「例えば」という用語の後に続くあらゆる例示は、包括的または限定であることは意味しない。

【0155】

本発明の実施は、別段の示唆が無い限り、分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学、および免疫学の従来的な技術を採用し、それら技術は当分野の技術範囲内にある。

【0156】

本発明の特定の非限定的な実施形態を、添付の図面を参照しながら記載することとする。

10

【実施例】

【0157】

実施例1．最適化抗ERBB3治療用抗体の作製  
イントロダクション

本実施例において、本発明者らは、アンタゴニスト性の最適化抗ERBB3抗体パネルの作製に成功した。これら抗ERBB3抗体は良好に発現され、生物物理的に安定であり、溶解度が高く、そして好ましいヒト生殖細胞系列に対し最大のアミノ酸配列同一性を有している。

【0158】

材料及び方法

20

ERBB3ライブラリーの作製および選択

ERBB3 Fab変異誘発レパートリーは、大量オリゴ合成およびPCRにより組み立てられた。このライブラリーは、配列が異なる全ての位置における生殖細胞系列ヒトCDR残基またはマウスCDR残基をサンプリングするために設計されただけでなく、例えばHCDR1およびHCDR3内の重要な選択されたCDR位置におけるシステイン以外の全てのアミノ酸をサンプリングした。次いで増幅されたFabレパートリーを制限酵素-ライゲーションを介してファージミドベクター内にクローニングし、大腸菌TG-1細胞内に形質転換した。ファージレパートリーは、原則として過去に詳述されるようにレスキューされた(Finlay et al., 2011, Methods Mol Biol 681:383-401)。

30

【0159】

ファージ選択は、ストレプトアビジン磁気マイクロビーズをビオチン化ERBB3標的タンパク質（ヒトまたはアカゲザルのいずれか）でコーティングし、ビーズをPBSで3回洗浄して、5%スキムミルクタンパク質を加えたPBS pH7.4中に再懸濁させることにより実施された。これらビーズは、選択のラウンド1では100nMの標的タンパク質でコーティングされており、その後の3回の連続ラウンドでは抗原濃度は減少した。各ラウンドにおいて、ファージはトリプシンを使用して溶出され、その後、TG1細胞内に再感染された。

【0160】

ペリプラズム抽出物の作製（小スケール）

40

個々の大腸菌クローンにおいて、可溶性Fabの産生が行われた。対数増殖期の大腸菌TG1細胞は、1-チオ-D-ガラクトピラノシドイソプロピルを用いて誘導された。可溶性Fabを含有するペリプラズム抽出物は、以下の凍結/融解サイクルにより作製された：細菌細胞沈殿物を一晚、-20で凍結させ、その後室温で融解させ、PBS pH7.4中に再懸濁させた。室温で振とうし、遠心分離を行った後に、可溶性Fabを含有する上清を収集した。

【0161】

IgGの発現および精製

m24C05およびh24C05を合わせたリードパネルの抗ERBB3抗体の重鎖ならびに軽鎖の可変ドメインをコードする哺乳動物コドン最適化合成遺伝子を、IgG1又

50

ル(「I g G 1ヌル(I g G 1 n u l l)」; 正常免疫グロブリンF cエフェクター機能を無効にする、下方ヒンジ内にL 2 3 4 A、L 2 3 5 A、G 2 3 7 A変異を含有するヒトI g G 1)またはI g G 1およびヒトC ドメインをそれぞれ含有する、哺乳動物発現ベクターにクローン化した。哺乳動物発現系において、重鎖および軽鎖を含有するベクターの共トランスフェクションを実施し、次いでプロテインA系のI g G精製、定量、ならびに変性S D S - P A G Eおよび非変性S D S - P A G E上でQ Cを行った。

#### 【0162】

F a bおよびI g Gに対する直接結合E L I S A

組換えタンパク質に対するリードパネルの結合および交差反応性は、最初に結合E L I S Aにより評価された。ヒトE R B B 3のヒトF cタグ化組換えタンパク質、およびアカゲザルE R B B 3のヒトF cタグ化組換えタンパク質で、M a x i S o r p (商標)平底96ウェルプレートの表面上を1  $\mu$  g / m lでコーティングした。精製されたI g Gサンプルは、500 n Mから始まり0.008 n Mまでの2倍連続希釈で漸増して、コーティングされた抗原に結合できるようにした。F a bは、マウス抗c - m y c抗体、次いで西洋ワサビペルオキシダーゼに結合したロバ抗マウスI g Gを使用して検出した。I g Gは、西洋ワサビペルオキシダーゼに結合したマウス抗ヒトI g Gを使用して検出した。結合シグナルは、3, 3', 5, 5' - テトラメチルベンジジン基質溶液(T M B)を用いて可視化され、吸光度は450 n mで測定した。

10

#### 【0163】

I g G 1 n u l lヌル抗体に対する、A l p h a s c r e e nエピトープ競合アッセイ

A l p h a S c r e e nアッセイ(パーキンエルマー社)は、384ウェルの白色マイクロタイタープレート(グライナー社)において25  $\mu$  lの最終量で実施した。反応緩衝液は、1 x P B S p H 7.3 (O x o i d社、カタログ番号B R 0 0 1 4 G)および0.05% (v / v)のT w e e n (登録商標) 20 (シグマ社、カタログ番号P 9 4 1 6)を含有した。精製したI g Gサンプルは、100 n Mの最終濃度で始まる3倍連続希釈で漸増され、室温で20分間、1 n Mの最終濃度でビオチン化ヒトE R B B 3 - H i s (A c r o b i o s y s t e m s社)とともにインキュベートした。親I g Gおよび抗ヒトI g G 1アクセプターピースを添加し、混合物を室温で1時間インキュベートした。次いで、ストレプトアビジンDナーピースを添加し、室温で30分間インキュベートした。発光は、E n V i s i o nマルチラベルプレートリーダー(パーキンエルマー社)において測定され、E n V i s i o nマネージャーソフトウェアを使用して解析した。値は、1秒当たりのカウント数(C P S : C o u n t s P e r S e c o n d)として報告され、クロストークに対して補正した。

20

30

#### 【0164】

単量体型のヒトおよびアカゲザルのE R B B 3溶液に対する、I g Gアフィニティのピアコア(B i a c o r e (登録商標))解析

精製したI g Gのアフィニティ(K D)は、B i a c o r e (登録商標) 3000 (G E社)上で、抗原溶液を用いてS P Rを介して決定した。マウス抗ヒト抗体(C H 1特異的)を、2チャンネル用のウィザード指示に従い、p H 4.5の酢酸緩衝液中、アミンカップリングを使用してC M 5センサーチップ上に2000 R Uレベルにまで固定した。1つのチャンネルは、バックグラウンドシグナルの補正用に使用した。標準的なランニング緩衝液であるH B S - E P p H 7.4を使用した。10  $\mu$  lの10 m Mグリシンをp H 1.5で、20  $\mu$  l / 分で単回注入することにより、再生を行った。I g Gサンプルは、30  $\mu$  l / 分、50 n Mで2分間注入され、その後、60秒間の解離速度(o f f - r a t e)が続いた。単量体抗原(ヒトE R B B 3 H i sタグしたまたはアカゲザルE R B B 3 H i sタグ)は、3 n Mから0.2 n Mへと希釈する2倍連続希釈で、2分間、30  $\mu$  l / 分で注入され、次いで300秒の解離速度が続いた。得られたセンサーグラム(s e n s o r g r a m)は、B i a c o r e (登録商標) 3000エバリュエーション(B I A e v a l u a t i o n社)ソフトウェアを使用して解析した。K Dは、1 : 1のラングミュア結合モデルに対し、会合相および解離相の同時フィッティングを行うことに

40

50

より算出した。

【0165】

I g G のフローサイトメトリー

精製した I g G を、一過性トランスフェクト H E K - 2 9 3 細胞および H E K - 2 9 3 野生型細胞上で発現したヒトならびにアカゲザルの E R B B 3 に対する結合に関して、F A C において試験した。I g G サンプルは、5 0 0 n M に始まり 0 . 0 0 8 n M までの 3 倍連続希釈で漸増した。I g G の結合は、F I T C に結合したマウス抗ヒト I g G を用いて検出した。結果は、フローサイトメーターの B L - 1 チャンネル検出器 ( A t t u n e ( 商標 ) N x T A c o u s t i c F o c u s i n g C y t o m e t e r 、 I n v i t r o g e n / T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c 社 ) において、1 サンプル当たり 1 0 0 0 0 個の細胞の平均蛍光強度 ( M F I ) を検証することにより解析した。E C 5 0 値は、G r a p h P a d P r i s m ソフトウェア ( G r a p h P a d S o f t w a r e 社、カリフォルニア州ラホヤ ) において M F I 値と、4 つのパラメータとを使用して算出した。

10

【0166】

抗体 v - ドメイン T 細胞エピートープ含量 : インシリコ分析

インシリコ技術 ( A b z e n a 社 ( A b z e n a , L t d . ) ) は、治療用抗体および治療用タンパク質中の T 細胞エピートープの位置の特定に基づいており、抗体 v - ドメイン中の潜在的な免疫原性を評価するために使用した。i T o p e ( 商標 ) を使用して、ヒト M H C クラス I I に対して無差別的な高いアフィニティ結合を有するペプチドに関し、重要なリードの V L 配列および V H 配列を解析した。無差別的な高いアフィニティの M H C クラス I I 結合ペプチドは、薬剤タンパク質の臨床免疫原性に関する高いリスク指標である T 細胞エピートープの存在と相関すると考えられている。i T o p e ( 商標 ) ソフトウェアは、ペプチドのアミノ酸側鎖と、3 4 種のヒト M H C クラス I I アレルの開放末端結合溝 ( g r o o v e ) 内の特定の結合ポケット ( 特にポケット位置 ; p 1 、 p 4 、 p 6 、 p 7 および p 9 ) との間の有益な相互作用を予測する。これらアレルは、広く存在する最も普遍的な H L A - D R アレルであり、任意の特定の民族集団で最も多く存在するものによって起こる重み付けはない。当該アレルのうち 2 0 種が、「開いた」p 1 構造を含有している。そして 1 4 種が「閉じた」構造を含有しており、8 3 位のグリシンがバリンで置換されている。重要な結合残基の位置は、被験タンパク質配列にわたり 8 アミノ酸が重複している 9 m e r ペプチドのインシリコ生成により取得される。このプロセスによって、M H C クラス I I 分子に結合する、または結合しないペプチド同士を高い正確性で識別することに成功した。

20

30

【0167】

さらに、T C E D ( 商標 ) ( T 細胞エピートープデータベース ( T C e l l E p i t o p e D a t a b a s e ( 商標 ) ) ) を使用して配列を解析し、過去にインビトロでの他のタンパク質配列のヒト T 細胞エピートープマッピング解析により特定された T 細胞エピートープとの合致を検索した。T C E D ( 商標 ) を使用して、非関連タンパク質に由来するペプチドの大きな ( 1 0 , 0 0 0 個を超えるペプチド ) データベースに対する任意の被験配列と、抗体配列とを検索する。

40

【0168】

結果および考察

好ましいヒト生殖細胞系列 v - 遺伝子への C D R 移植

アンタゴニストマウス抗 E R B B 3 I g G 2 4 C 0 5 ( 2 4 C 0 5 ; 国際公開第 2 0 1 1 1 3 6 9 1 1 A 2 号および表 2 を参照のこと ) の C D R を、C D R 移植法を使用して、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリンの v - ドメインフレームワーク配列スキャホールドに最初に導入した。最適な薬剤様性能を有する最終リード治療用 I g G 化合物に向けて、遺伝子操作の努力を傾けるために、親抗体の C D R を、「好ましい」生殖細胞系列スキャホールドの I G H V 3 - 1 1 および I G K V 1 - 3 9 に移植することを選択した。それらスキャホールドは、良好な溶解性、高い物理的安定性を有することが知られており、発現

50

されたヒト抗体レパートリーにおいて高頻度で使用されている。

【0169】

これらスキャホールドおよび移植されたCDRの定義は、表2に概要を掲載した。このCDR移植のプロセスは周知であるが、ヒトv-ドメイン配列の所与のセットが非ヒトCDR移植にとって適切なアクセプターフレームワークとして機能するかどうかを予測するのは未だ困難である。不適切なフレームワークの使用は、標的結合機能の減少、タンパク質安定性の問題、さらには最終IgGの発現の低下につながり得る。そこでCDR突然変異誘導の鋳型としてIGHV3-11/IgKV1-39移植が採用され、改善クローンの選択が行われた。

【0170】

ライブラリー作製およびスクリーニング

CDRが移植されたIgKV1-39/IgHV3-11のv-ドメイン配列を、Fabファージディスプレイ形式に組み込み、突然変異誘導ライブラリーカセットを、オリゴ合成およびアセンブリにより作製した。最終Fabライブラリーをファージディスプレイベクター内にライゲートし、エレクトロポレーション法を介して大腸菌内に形質転換して、 $1.2 \times 10^9$ 個の独立したクローンを生成した。ライブラリーの構造品質は、96個のクローンを配列解析することにより、両v-ドメインにわたって検証された。この配列解析データにより、マウスまたはヒトいずれかの生殖細胞系列の各相違位置の残基をコードする位置は、効率的におよそ50%の頻度でサンプリングされること、および全てのアミノ酸をコードすることを目的としたその位置が、完全なカバレッジを示すことが示された。ライブラリーは、ヘルパーファージM13を使用してレスキューされ、選択はビオチン化されたヒトおよびアカゲザルのERBB3-Fcタンパク質に対し、複数の別個のブランチにおいて実施された。

【0171】

選択後スクリーニングおよびDNAシーケンシングにより、ELISA(図1A)においてヒトおよびアカゲザルERBB3に強い結合と、AlphaScreenアッセイ(図1B)においてヒトERBB3への24C05 IgG1ヌルの結合の>50%の阻害とを示した、658個のヒトならびにアカゲザルERBB3結合Fabクローンの存在が明らかになった。これら658個のクローンの中で、フレームワーク配列は完全に生殖細胞系列を維持していた一方で、すべてのCDR中におけるヒト化変異も観察された(表3)。リードクローンは、ヒトおよびアカゲザルのERBB3-Fcの両方への結合に対するELISAシグナルおよびAlphaScreenシグナルと比較したCDR生殖細胞系列化のレベルに基づき格付けされた。次いでこの格付けの上位9個のクローンのv-ドメインをIgG発現ベクターにサブクローニングし、以下のさらなる検証を行った(表4)。

【0172】

生殖細胞系列化変異は、ライブラリー選択から直接誘導されたリードクローンのすべてのCDRにおいて観察されたが、配列解析を行うことで、ヒト化が最大となるようクローンをさらに設計することが可能となる可能性がある。したがって、ヒトおよびアカゲザルのタンパク質に対する結合シグナルを有する658個の配列-固有ヒットを使用して、この機能的に特徴解析された集団のCDRにおけるマウスアミノ酸の保持頻度を解析した。位置的なアミノ酸保持頻度は、V<sub>L</sub>ドメインおよびV<sub>H</sub>ドメインでの百分率として表されている(それぞれ図2Aおよび2B)。RF<75%を有するマウス残基は、一連のコンピナトリアルデザインにおいて、標的-結合パラトープに必須ではない可能性がある位置とみなされ、生殖細胞系列化に対し開かれている可能性がある(表4)。こうした高アフィニティの開始クローンの驚くべき知見では、マウス残基の少数のみが、高度に積極的に選択されるということがわかった。実際には、HC DR1およびHC DR2における9個のマウス残基のうち3個のみで、75%より高い保持頻度を呈した(図2A)。この解析は、HC DR3外側のVH配列が、IGHV3-11に対して極めて近い生殖系列同一性で与えられる可能性があることを強く示唆した。V<sub>L</sub>ドメインにおいて、h24C05配

10

20

30

40

50

列由来の10個のマウスCDR残基のうち4個のみが、>75%の頻度で保持されていた(図3A)。

#### 【0173】

RF>75%のそれらマウス残基の、リードクローン集団において多く選択された残基との組合せを含有するデザインには、「MH」という接頭辞(MH=最大限にヒト化(Maximally Humanized))をつけた。合計で、5種のMHクローンが生成された。さらに、「TTP」(TTP=完全に理論的に可能(Totally Theoretically Possible))クローンが生成され、高機能化した、エピトープ競合Fabスクリーンに存在する、最もヒト化された6個のCDR配列を組み合わせた。MH、TTPおよびライブラリー由来のクローンのv-ドメイン(表4)は、遺伝子合成により生成され、(コントロール抗体に加えて)ヒト発現ベクターにクローニングされ、IgG1ヌル形式で作製された。すべてのIgGが、哺乳動物細胞の一過性トランスフェクションから容易に発現され、精製された。

10

#### 【0174】

リードIgGの特異性および有効性の特徴解析

次いで上述の精製IgGを、直接力価測定ELISA形式において、ヒトおよびアカゲザルのERBB3への結合に関して試験した(図3Aおよび3B)。この解析により、ライブラリー由来クローンおよびデザイン(MH)クローンの大半が、h24C05 IgG1ヌルと同等またはh24C05 IgG1ヌルよりも改善した、ヒトおよびアカゲザルのERBB3に対する結合活性を保持することを示した。

20

#### 【0175】

ビオチン化単量体型ヒトERBB3に対するh24C05 IgG結合とのエピトープ競合に関するIgGの試験が可能であるAlphascreenアッセイを確立した。このアッセイにおいて、上位の性能を有するライブラリー由来IgGおよびデザインIgGは、より効率的に識別された。全てのクローンは完全に濃度依存性の中和を示し、また多くのクローンはh24C05に対して同等または改善されたh24C05エピトープに関する競合を示したが(図4)、いくつかは、MH1を含む弱い作用のエピトープ競合を示した。

#### 【0176】

結合アフィニティのピアコア(Biacore(登録商標))解析は、すべてのIgGに関して、液相の単量体型ヒトおよびアカゲザルのERBB3タンパク質に対して実施された。全ての場合において、低いChi<sup>2</sup>値を伴う正確な1:1結合アフィニティが得られた(表5)。これらの解析から、FabおよびIgGのELISAならびにAlphascreenアッセイにおいて最も高いEC50値およびIC50値を一貫して与えるライブラリー由来クローンは、ヒトおよびアカゲザルのERBB3に対し最も高いアフィニティ結合も示したことが示された(表5)。重要なことは、これらアフィニティにおける改善は、アカゲザルでの結合でも反復され、これらクローンの大多数はヒトERBB3アフィニティの3倍以内のアフィニティを呈した。ヒトおよびアカゲザルの標的オルソログの間で4倍未満のアフィニティ差であることは、前臨床薬剤開発解析において非常に有益であり、これによって例えばサル安全性試験、PKおよびPDのモデリング試験などの有意に良好なデザインおよび解釈が可能となる。

30

40

#### 【0177】

さらに、MHおよびTTPクローンのアフィニティの比較で、結合アフィニティの維持におけるLCDR1の影響が確認されたが、これはそのCDR内の11位における残基の「SからN」への変異が、ヒトERBB3に対して、クローンMH5と比較してクローンTTPに関するKDが約2倍欠如することをもたらすからである(表5)。クローンMH2とMH3との比較でもまた、MH3におけるHCDR1の8位の残基の変異(AからS)と、HCDR2の10位の残基の変異(YからT)がまた、クローンMH2と比較して、ヒトおよびアカゲザルのERBB3への結合アフィニティが約3倍欠如することをもたらすことが確認された(表5)。

50

## 【0178】

上記に概要を示した知見により、複数のクローンは、VHドメインおよびVLドメインにおける最小限の非生殖細胞系列のアミノ酸（HC DR 3を除くものであり、それには対応する生殖細胞系列がない）のみを保持しながら、h24C05の高い結合アフィニティ（pM範囲における）、エピトープ特異性および種の交差反応性を保持することができることが確認された。VHドメインのほぼ完全な生殖細胞系列化により、ヒトにおける免疫原性が有意に減少した。さらに、複数のクローンで観察された生殖細胞系列化変異は、抗体分子における製造および臨床開発品質でのわかっているリスクである、以下のh24C05のマウスCDRに存在するいくつかのアミノ酸分解モチーフの除去または改善につながる：LC DR 2の6位（D）における推定異性化リスクは、Qへの変異を介して除去され、HC DR 2の6位および7位にある「DG」のアスパラギン酸異性化モチーフは、より低リスクのモチーフ「DS」に変換され、またHC DR 3の2位（W）にある推定酸化リスクは、YまたはLへの変異によって除去される。一次配列におけるこれら改善は、経験的に予測することが困難であり、抗体療法の製造および臨床開発の両方における直接の結果であるが、これはそれらがすべて可能性のある安定性リスクモチーフであり、内在性の製品不均一性を導くことによる。こうしたリスクモチーフは、開発予算の問題につながり得、そこでインタクトな抗体の収率を最大化し、製品不均一性を最小限にするために、複数のプロセス改変がなされなくてはならない。分解モチーフはまた、臨床開発リスクでもあるが、これは体内で抗体分解が加速すると、分子の半減期と有効性との両方が低下する可能性があるからである。

10

20

## 【0179】

細胞膜でのリードIgG結合特異性のフローサイトメトリー解析

ERBB3に対する抗体を、フローサイトメトリーを介して、細胞表面での濃度依存性結合に関して分析した。HEK-293細胞を、ヒトまたはアカゲザルのERBB3完全長cDNAのいずれかで一過性トランスフェクトした。次いで抗ERBB3 IgGおよびアイソタイプコントロールを全て、ヒトトランスフェクト細胞（図5A）およびアカゲザルトランスフェクト細胞（図5B）への結合に関して、500~0.008nMの濃度範囲にわたってIgG1ヌル形式で試験した。アイソタイプコントロール以外のすべてのIgGが、ヒトおよびアカゲザルのERBB3+細胞に対して強い濃度依存性の結合を示した。各ケースにおいて、最大MFIは、IgG1アイソタイプコントロールに関して観察されたバックグラウンドシグナルよりも20倍超高かった。

30

## 【0180】

抗体v-ドメインT細胞エピトープ解析

インシリコ技術（Abzena, Ltd.社）は、治療用抗体および治療用タンパク質中のT細胞エピトープの位置の特定に基づいており、h24C05およびリード抗体の15G11 v-ドメイン両方の免疫原性の評価に使用した。v-ドメイン配列の解析は、重複する9merペプチド（各々が最後のペプチドと8残基重複する）を用いて実施され、34種のMHCクラスIIアロタイプの各々に対して試験した。各9merを、MHCクラスII分子との潜在的な「適合」および相互作用に基づいてスコア化した。ソフトウェアにより算出されるペプチドスコアは、0~1の間である。高い平均結合スコアを出したペプチド（iTope（商標）スコアリング機能において>0.55）が強調された。MHCクラスII結合ペプチドの>50%（すなわち34種のアレルのうちの17種）が高い結合アフィニティ（スコア>0.6）を有する場合、そうしたペプチドは、「高アフィニティ」MHCクラスII結合ペプチドとして規定され、CD4+T細胞エピトープを含有するリスクが高いとみなされる。低アフィニティMHCクラスII結合ペプチドは、多くのアレル（>50%）に、>0.55の結合スコア（しかし大部分は>0.6ではない）で結合する。配列のさらなる解析は、TCED（商標）を使用して実施された。この配列を使用して、BLASTサーチによりTCED（商標）をデータ検索し、過去にAbzena Ltd.社で実施されたインビトロT細胞エピトープマッピング研究でT細胞反応を刺激した非関連タンパク質/抗体由来のペプチド（T細胞エピトープ）間で任意の

40

50

高い配列相同性を特定した。

#### 【0181】

ペプチドを、以下の4つのクラスに分類した：高アフィニティ外来物（「HAF」 - 高免疫原性リスク）、低アフィニティ外来物（「LAF」 - 低免疫原性リスク）、TCED+（過去にTCEDデータベースにおいて特定されたエピトープ）、および生殖細胞系列エピトープ（「GE」 - 高いMHCクラスII結合アフィニティを有するヒト生殖細胞系列ペプチド配列）。生殖細胞系列エピトープの9merペプチドは、広範な生殖細胞系列ペプチドを用いた過去の研究により立証されたように、T細胞寛容によって免疫原性である可能性は低い。重要なことは、そうした生殖細胞系列のv-ドメインエピトープ（ヒト抗体定常領域中の類似配列によりさらに補助される）は、抗原提示細胞の細胞膜でのMHCクラスII占有に関しても競合するため、T細胞刺激に必要とされる「活性化閾値」を達成するのに十分な外来性ペプチド提示のリスクを低下させることである。ゆえにGE含量が高いことは、抗体治療剤の臨床開発において有益な性質である。

10

#### 【0182】

この解析は、重要なリード15G11のCDRにおけるヒト生殖細胞系列の同等物を伴ういくつかのマウス残基との置換にもかかわらず、Townsendらの方法では、h24C05と比較して、ペプチドエピトープ含量において有意で有益な変化はもたらさなかった（図6A、図6B）ことを示した。これに反して、15G11は、h24C05（10）に対してGE含量（11）を改善した一方で、15G11は、予期せずに、免疫原性が減少するのではなく増加したが、それが、新規LAFエピトープを2個含有していただ

20

#### 【0183】

Townsendらの方法は、h24C05に対してリードクローン15G11の有効性または免疫原性リスクのいずれも改善できていなかったため、CDRにおけるさらなる非ヒト生殖細胞系列の変異誘発の可能性を検証した。特定のアミノ酸変化の選択は、利用可能な生物物理データおよび生化学データにより影響を受けるが、例えば、二次および三次のタンパク質構造のみならず、アミノ酸側鎖のタンパク質のコアとの可能性のある相互作用を踏まえた親15G11配列の改変に対する拘束である。さらに、アミノ酸変化の選択は、ヒトレパートリーにおける任意の所与の位置において任意の特定のアミノ酸の出現の頻度により影響を受けた。そのため、所与の位置で出現することがなく、かつ構造に不利に影響を及ぼす傾向が高いであろうアミノ酸の導入は回避することを目指した。アミノ酸システインは、いつでも、凝集の問題を引き起こす可能性がある非対システイン残基の導入を回避することは考えられていなかった。各エピトープを、別個に解析して、無差別なMHCクラスII結合を除去または減少する残基を特定し、次いで、提案されたエピトープバリエーションを、15G11配列全体の文脈で解析して、可能性のある新規のエピトープが、隣接領域に導入されないことを確実にした。機能的に選択されたCDR配列群において、忍容されることが観察された変異の使用で、値が増加した（表3）。このプロセスは、予測された4つの重要なエピトープに行った。

30

40

#### 【0184】

エピトープ1は、特定された最も高いリスクの（TCED+）エピトープであり、部分的にVH CDR1と重複した（図7A）。このように、この領域の範囲内での何らかの置換は、抗原への結合に影響を及ぼす可能性を有していた。iTope（商標）解析によれば、この領域は、Y32（Kababの番号付け）においてp1アンカーをもつ1つのT細胞エピトープからなる。限定された数の変化のみが、フレームワーク2に関して評価されたが、これはこの領域が、抗体間で高度に保存されており、幾つかの残基は、VH：VL界面を形成する役割を果たしているからである。フレームワーク領域と対照的に、CDRは、より大きな配列多様性を示すが、この多様性は、VHのCDR3と比較して、V

50

HのCDR1および2では実質的にほとんど顕著でなかった。VHのCDR1領域内では、いくつかの所与の位置に関して、いくつかのアミノ酸置換が、可能性のあるT細胞エピトープ結合を完全に無効にすることができるということが観察された。しかしながら、多くの場合では、これらアミノ酸は、その所与の位置でほとんど観察されないため、これらアミノ酸は除外された。提案される配列変化を、図7Aに示す。このペプチドにおいて、以下の2つのエピトープ除去バリエーションが優先された：Y S M S W I R Q A（配列番号250）およびY G M S W V R Q A（配列番号251）（両ケースにおいて下線を施した変異）。GからSへの第一の変異が、T C E D + エピトープを無効にした可能性があり、一方で、IからVへの第二の変異が、ペプチド配列G Eを与えた可能性がある。

**【0185】**

エピトープ2は主にVL CDR1内に存在するため、この領域の範囲内での何らかの置換を行うことは、抗原への結合に影響を及ぼす可能性を有していた。i T o p e（商標）解析によれば、この領域は、I 29においてp1アンカーをもつ1つの可能性のあるT細胞エピトープからなる。フレームワーク2において、変化は最小限に保たれたが、これはこの領域が、抗体間で高度に保存されており、幾つかの残基は、VH：VL界面を形成する役割を果たしているからである。フレームワーク領域と対照的に、CDRは、より大きな配列多様性を示すが、この多様性は、VHと比較したVLでは実質的にほとんど顕著でなく、またVLのCDR3と比較したVLのCDR1および2では実質的にほとんど顕著でない。VLのCDR1領域内では、いくつかの所与の位置に関して、いくつかのアミノ酸置換が、可能性のあるT細胞エピトープ結合を完全に無効にすることができるということが観察された。しかしながら、多くの場合では、これらアミノ酸は、その所与の位置でほとんど観察されず、またそのため、これらアミノ酸は除外された。提案される配列変化を、図7Bに示す。

**【0186】**

エピトープ3は部分的にVL CDR2と重複するため、この領域の範囲内での何らかの変異を行うことは、抗原への結合に影響を及ぼす可能性を有していた。i T o p e（商標）解析によれば、この領域は、I 48においてp1アンカーをもつ1つの可能性のあるT細胞エピトープからなる。フレームワーク2に対する変化は最小限に維持されたが、これはこの領域が、抗体間で高度に保存されるからである。フレームワーク領域と対照的に、CDRは、より大きな配列多様性を示すが、この多様性は、VHのCDRと比較して、VLのCDRではほとんど顕著でなかった。i T o p e（商標）解析より、コア9-mer内のほぼ全ての位置における大部分のアミノ酸置換が有害であり、ほぼ全ての置換に関して結合の増加が観察されることが観察された。可能性のあるT細胞エピトープ結合を無効にする、限定された数のアミノ酸置換が特定されたが、これらアミノ酸は、その所与の位置ではほぼ観察されないため、これらアミノ酸は除外された。提案される配列変化を、図7Cに示す。重要なことには、解析において、この領域におけるそうした多数の変化が、有害である可能性があったため、LCDR-2における選択された完全CDRバリエーション（表3および4）を、それらのTCREピトープリスクについて検証した。驚くべきことに、LCDR-2配列A A S T L Q S（配列番号26）は、このエピトープのH A F ペプチドリスク、およびh 2 4 C 0 5における同様の高リスクH A F エピトープ（I Y A A S T L D S（配列番号252））を完全に無効にすることが判明した。結果として、このCDR配列は、新規バリエーションのサブセットにおいて優先して含有された。

**【0187】**

エピトープ4はVL CDR3内に完全に存在するため、この領域の範囲内での何らかの置換を行うことは、抗原への結合に影響を及ぼす可能性を有していた。i T o p e（商標）解析によれば、この領域は、L 89においてp1アンカーをもつ1つの可能性のあるT細胞エピトープからなる。考慮されるフレームワーク変化はなかった。フレームワーク領域と対照的に、CDRは、特にCDR3に関して、より高い配列多様性を示したため、発生に基づいて、そのアミノ酸置換は、この領域において除外されなかった。可能性のあるT細胞エピトープ両方の結合を部分的に無効にするいくつかの単一アミノ酸置換が、観

10

20

30

40

50

察された。エピトープ4に影響をもつ提案する単一アミノ酸置換の変化を、図7Dに示す。

【0188】

各エピトープにおいてサンプリング対象の可能性のあるバリエーションがいくつか存在していたため、有効性を保持するが、完全な脱免疫化クローンをもたらす可能性はある理想的な組み合わせを見出す試みで、15G11の11個の新規バリエーションを設計した。これら15個のIgGについてVLのv-ドメイン配列を表6に、VHドメインを表7に示す。これらIgGは、以下の機能的試験の前に、クローン化されてIgG1形式で発現された。

【0189】

15G11-DIバリエーション-IgGの特異性および有効性の特徴解析

はじめに、「DI」バリエーションIgGの15G11-DI1-11を、ヒトErbb3 (図8A) およびアカゲザルErbb3 (図8B) についてのそれらの結合特性についてELISAで検証した。ヒトおよびアカゲザルのErbb3両方に対して、15G11-DI11以外の全てのクローンが、強い標的結合を示し、曲線がm24C05およびh24C05両方と重複していた。

【0190】

ELISA結合が、アビディティ効果により強い影響を受けていたため、次いで、高感度の液相AlphaScreen競合アッセイを実施し、同時にh24C05との標的結合アフィニティおよびエピトープ競合保持について検証した(図9)。このアッセイにおいて、15G11-DI11以外の全てのIgGが、ヒトErbb3に対するh24C05の完全な濃度依存性阻害を示し、概して、h24C05と同等またはh24C05より改善された有効性を伴っていた(図9)。m24C05およびh24C05のIgGが、それぞれ0.16nMおよび1.25nMのIC50値を示したが、これは、表5に示すこれら2つのIgG間のピアコア(Biacore(登録商標))アフィニティ値の相違と相関する。15G11-DI3、15G11-DI4、15G11-DI10および15G11-DI11は例外であり、これらの有効性は、h24C05よりも低いようであった。

【0191】

ヒトおよびアカゲザルのErbb3 (図10A、B) に対する結合のフローサイトメトリ解析において、全てのクローンが、完全飽和の、重複する結合曲線を示した。クローン15G11-DI5、15G11-DI6、15G11-DI7、15G11-DI8および15G11-DI9が、ヒトおよびアカゲザル両方のErbb3に対して最も高い結合を示し、m24C05およびh24C05の両方とほぼ同等であった。

【0192】

治療用途のCDR組換え抗体における重要な開発可能性因子(developability factor)には、「多反応性(polyreactivity)」が含まれない。多反応性は、任意の抗体の薬物動態学的および安全性の品質にとって重要なリスクである。脱免疫化リード抗体を確実にすることは危険性ではなく、それらを、確立された多反応性結合ELISAアッセイで、dsDNAおよびヒトインスリンに対して検証した(Avery et al. mAbs, 2018)。このアッセイで試験されたIgGの大部分が(15G11-DI10は例外である)、多反応性の結合の徴候を示さなかったが、これは、それらが、リスクのカットオフである10未満で、かつ、陰性対照である臨床的に成功している抗体ベパシズマブおよびウステキヌマブのシグナルと同じまたは当該シグナル未満であるような、シグナルを示したからである(図11)。陽性対照抗体のボコシズマブおよびブリアキヌマブは、これらのアッセイにおいて、予期された強いシグナルを示した。

【0193】

重要な脱免疫化リードにおいてErbb3阻害の完全な生物学的効果が保持されるか否かを確認するために、クローン15G11、16B09、15G11-DI5、15G1

10

20

30

40

50

1 - D I 6、1 5 G 1 1 - D I 7、1 5 G 1 1 - D I 8 および 1 5 G 1 1 - D I 9 の全てを、幅広い濃度範囲にわたって、Discover X PathHunter eXpress ErbB2 - ErbB3 機能性アッセイにおいて解析した(図12A~G)。これら解析では、クローン15G11(図12A)、16B09(図12B)、15G11 - D I 5 (図12C) および 1 5 G 1 1 - D I 6 (図12D) の全てが、m24C05 および h24C05 両方に対してほぼ同一の有効性を維持することを示した。クローン15G11 - D I 7 (図12E) および 1 5 G 1 1 - D I 8 (図12F) は、有効性がわずかに低かった。15G11 - D I 9 に関しては、そのデータの曲線あてはめが信頼できなかったため(図12C)、実験を繰り返し、当てはめが改善されて、15G11 - D I 9 でもまたh24C05 および m24C05 に対してほぼ同一の有効性を示していたが、これは重複する反応曲線で証明された(図13)。

10

**【0194】**

これら重要な脱免疫化リードに関して、TCRエピトープ含量を再度検証したが(図14A~14E)、これにより、クローン15G11 - D I 8 および 1 5 G 1 1 - D I 9 が、h24C05 および 1 5 G 1 1 と比較して有意に低下した免疫原性リスクを示したが、ここで最初の生殖細胞系列化プロセスでは、予期せずに、実際にh24C05 よりも高いリスクを有していた(図6A、図6B)。実際に、クローン15G11 - D I 9 は、完全に不活性であることがわかり、予測された外来性TCRエピトープを全く含有せず、多数のGEペプチドのみを含有していた(11)。

20

**【0195】**

本明細書に概要される解析を組み合わせると、驚くべきことに、これら抗体のCDRにおいて、生殖細胞系列と非生殖細胞系列のアミノ酸の両方を深くサンプリングすることで、複数の最終分子において標的結合特異性、免疫原性リスク、有効性、生物物理的安定性および化学的安定性のリスクを同時に最適化することが可能となったことが示された。これら知見はまた、本明細書に記載された有益な脱免疫化の結果が、Townsendらの方法を用いて達成されることとならないことを実証した(2015; PNAS 112: 15354 - 15359)。

**【0196】**

本発明は好ましい実施形態または例示的实施形態を参照して記載されているが、当業者であれば、本発明の主旨および範囲を逸脱することなくそれらに対する様々な改変および変動を行うことが可能であること、およびそうした改変は本明細書において予期されることが明白であると認識するであろう。本明細書に開示される、および添付の請求の範囲に記載される特定の实施形態に関し、限定は意図されておらず、何らの示唆もないものとする。

30

**【0197】**

本明細書に開示される、および添付の請求の範囲に記載される特定の实施形態に関し、限定は意図されておらず、何らの示唆もないものとする。限定されないが特許、特許出願、記事、書誌、および論文を含む本明細書に引用されるすべての書面、または書面の一部は、その全体ですべての目的に対し、参照により明示的に本明細書に組み込まれる。組み込まれた書面、または書面の一部の1つまたは複数、本出願の用語定義と矛盾する用語を定義する場合、本出願にある定義が優先される。しかしながら、本明細書に引用されるすべての参照文献、記事、公表文献、特許、公表特許、および特許出願に関する言及は、それらが正当な先行技術を構成する、または世界の任意の国における普遍的で一般的な知識の一部を形成するという承認、または任意の形態の示唆として見なされず、または見なされるべきではない。

40

【表 1】

表 1. 本明細書に規定される 24C05 抗 ERBB3 CDR のアミノ酸配列（「統合」スキーム）の代替的定義との比較。

スキーム	<u>HCDR1</u>	<u>HCDR2</u>	<u>HCDR3</u>	<u>LCDR1</u>	<u>LCDR2</u>	<u>LCDR3</u>
<b>統合</b>	GFTFSDYAMS (配列番号 59)	VTSIDGGTTYYPDN VKG (配列番号 65)	EWGDYDGFY (配列番号 72)	RASQEISGYLS (配列番号 76)	AASTLDS (配列番号 80)	LQYDSYPY (配列番号 82)
<b>Kabat</b>	DYAMS (配列番号 60)	TISDGGTTYYPDN VKG (配列番号 66)	EWGDYDGFY (配列番号 72)	RASQEISGYLS (配列番号 76)	AASTLDS (配列番号 80)	LQYDSYPY (配列番号)
<b>Chotia</b>	GFTFSDY (配列番号 61)	SDGGTY (配列番号 67)	EWGDYDGFY (配列番号 72)	RASQEISGYLS (配列番号 76)	AASTLDS (配列番号 80)	LQYDSYPY (配列番号 82)
<b>IMGT</b>	GFTFSDYA (配列番号 62)	ISDGGTY (配列番号 68)	AREWGDYDGFY (配列番号 73)	QEISGY (配列番号 77)	AAS	LQYDSYPY (配列番号 82)
<b>AHo</b>	ASGFTFSDYAMS (配列番号 63)	ISDGGTTYYPDN VKG (配列番号 69)	EWGDYDGFY (配列番号 74)	ASQEISGY (配列番号 78)	AASTLDS (配列番号 80)	YDSYPY (配列番号 83)
<b>AbM</b>	GFTFSDYAMS (配列番号 59)	TISDGGTTY (配列番号 70)	EWGDYDGFY (配列番号 72)	RASQEISGYLS (配列番号 76)	AASTLDS (配列番号 80)	LQYDSYPY (配列番号 82)
<b>Contact</b>	SDYAMS (配列番号 64)	VTSIDGGTTY (配列番号 71)	AREWGDYDGFY (配列番号 75)	ISGYLSWY (配列番号 79)	LLIYAASLTD (配列番号 81)	LQYDSYPY (配列番号 84)

10

20

30

40

表 2. h24C05抗ERBB3 v-ドメインおよびヒト生殖細胞系列CDR移植のアミノ酸配列

Vドメイン	ヒト生殖細胞系列 <sup>1</sup>	アミノ酸配列 <sup>2</sup>
h24C05-VH	IGHV3-11	<u>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMSWIRQAPGKGLIEWVSTISDGGTYTYPDVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREWGDYDG</u> <u>FDYWGQGTLLVTVSS</u> (配列番号85)
VH移植	IGHV3-11 <sup>3</sup>	<u>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMSWIRQAPGKGLIEWVSTISDGGTYTYPDVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREWGDYDG</u> <u>FDYWGQGTLLVTVSS</u> (配列番号86)
h24C05-VL	IGKV1-16	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQEIFSGYLSWYFQQKPKGKAPKSLIYAASTLDSGVPSRFSGGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCLQYDSYPTTFGGGTKVE</u> IK (配列番号87)
VL移植	IGKV1-39 <sup>3</sup>	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQEIFSGYLSWYFQQKPKGKAPKLLIYAASTLDSGVPSRFSGGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCLQYDSYPTTFGGGTKVE</u> IK (配列番号 88)

<sup>1</sup>IMGTシステムに基づき、移植に使用されたヒト生殖細胞系列の定義。<sup>2</sup>CDR残基は、太字および下線を施して示されている。上述のように、本明細書で使用される「統合」CDR定義は、古典的なKabat定義と比較すると拡張された定義である。上述の各配列は、以下の順序でフレームワーク領域 (FR) およびCDRを示している：FR1-CDRI-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。<sup>3</sup>フレームワーク領域において移植は完全に生殖細胞系列であり、CDR変異体ライブラリー構築の鋳型として使用された。

【表 3 - 1】

表 3. 6 5 8 個の固有の抗ERBB3 v-ドメイン由来の固有のCDRのアミノ酸配列。

LCDRI	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR2	HCDR2	HCDR3
RASQSISSYLS (配列番号 16)	AASSLDS (配列番号 22)	LQVDSYPT (配列番号 23)	GTFSDVMS (配列番号 109)	VGTISDGGTTIYYADNVK (配列番号 117)	VGTISDGGTTIYYADNVK (配列番号 14)	VGTISDGGTTIYYADNVK (配列番号 14)	EFGDYDGFDF (配列番号 181)
RASQEISSYLS (配列番号 21)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSYPT (配列番号 98)	GTFSDVMS (配列番号 110)	VSTISDDGSTIYYADNVK (配列番号 118)	VSTISDDGSTIYYADNVK (配列番号 155)	VSTISDDGSTIYYADNVK (配列番号 155)	EFGDYDGFDF (配列番号 182)
RASQIISYLS (配列番号 52)	AASLQS (配列番号 26)	LQVDSYPT (配列番号 18)	GTFSDVMS (配列番号 13)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 119)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 156)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 156)	ELGDYDGFDF (配列番号 20)
RASQSISSYLN (配列番号 50)	AASNLQS (配列番号 93)	QQVDSYPT (配列番号 99)	GTFSDVMS (配列番号 111)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 120)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 157)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 157)	ELGDYDGFDF (配列番号 183)
RASQSISSYLN (配列番号 89)	AASSLHS (配列番号 94)	LQVDSYPT (配列番号 53)	GTFSDVMS (配列番号 112)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 121)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 158)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 158)	EMGDYDGFDF (配列番号 184)
RASQEISSYLN (配列番号 90)	EASSLDS (配列番号 95)	LQVDSYPT (配列番号 100)	GTFSDVMS (配列番号 113)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 122)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 159)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 159)	EQGDYDGFDF (配列番号 185)
RASQSISSYLS (配列番号 30)	AASSLKS (配列番号 96)	QQVDSYPT (配列番号 101)	GTFSDVMS (配列番号 114)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 123)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 160)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 160)	EWGDADGFDF (配列番号 186)
RASQEISSYLN (配列番号 91)	EASSLQS (配列番号 97)	LQVDSYPT (配列番号 102)	GTFSDVMS (配列番号 24)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 124)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 161)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 161)	EWGDDDGFDY (配列番号 187)
RASQNISSYLS (配列番号 92)		LQVDSYPT (配列番号 103)	GTFSDVMS (配列番号 115)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 125)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 162)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 162)	EWGDEDFDF (配列番号 188)
		QQVDSYPT (配列番号 104)	GTFSDVMS (配列番号 116)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 126)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 163)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 163)	EWGDHDFDF (配列番号 189)
		LQVDSYPT (配列番号 105)		VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 127)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 164)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 164)	EWGDLDFDF (配列番号 190)
		LQVDSYPT (配列番号 106)		VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 128)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 165)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 165)	EWGDMDFDR (配列番号 191)
		QQVDSYPT (配列番号 107)		VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 129)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 166)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 166)	EWGDMDFDF (配列番号 192)
		LQVDSYPT (配列番号 108)		VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 130)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 167)	VSTISDGGSTIYYADNVK (配列番号 167)	EWGDMDFDF (配列番号 193)

10

20

30

40

【表 3 - 2】

	VSTISDGGSTYYADNVKG (配列番号 31)	VSTISDSGTYYADSVKG (配列番号 165)	EWGQDQDFDY (配列番号 194)
	VSTISDGGSTYYADSVKG (配列番号 28)	VSTISDSGTYYADNVKG (配列番号 166)	EWGDSDFDY (配列番号 195)
	VSTISDGGSTYYADNVKG (配列番号 131)	VSTISDSGTYYADSVKG (配列番号 167)	EWGDTDFDY (配列番号 196)
	VSTISDGGSTYYADSVKG (配列番号 57)	VSTISDSGTYYADNVKG (配列番号 168)	EWGWDGDFDY (配列番号 197)
	VSTISDGGTTIYYADNVKG (配列番号 132)	VSTISDSGTYYADSVKG (配列番号 169)	EWGDDGCDY (配列番号 198)
	VSTISDGGTTIYYADSVKG (配列番号 133)	VSTISDSGTYYADNVKG (配列番号 170)	EWGDDGFDY (配列番号 199)
	VSTISDGGTTIYYADSVKG (配列番号 134)	VSTISDSGTYYADNVKG (配列番号 25)	EWGDDGFDI (配列番号 200)
	VSTISDGGTTIYYADNVKG (配列番号 135)	VSTISNSGTYYADSVKG (配列番号 171)	EWGDDGFDE (配列番号 29)
	VSTISDGGTTIYYADSVKG (配列番号 136)	VSTISSGGSTYYADSVKG (配列番号 172)	EWGDDGDFD (配列番号 15)
	VSTISDGGTTIYYADNVKG (配列番号 137)	VSTISSGGSTYYADSVKG (配列番号 173)	EWGDDGFDH (配列番号 27)
	VSTISDGGTTIYYADSVKG (配列番号 138)	VSTISSSGSTYYADNVKG (配列番号 174)	EWGDDGFDI (配列番号 201)
	VSTISDGGTTIYYADNVKG (配列番号 139)	VSTISSSGTTIYYADSVKG (配列番号 175)	EWGDDGFDK (配列番号 202)
	VSTISDGGTTIYYADSVKG (配列番号 140)	VSTISSSGTTIYYADNVKG (配列番号 176)	EWGDDGFDL (配列番号 203)
	VSTISDGGTTIYYADNVKG (配列番号 141)	VSYISDGGSTYYADSVKG (配列番号 177)	EWGDDGFDI (配列番号 204)
	VSTISDGGTTIYYADSVKG (配列番号 142)	VSYISDGGSTYYADNVKG (配列番号 178)	EWGDDGFDN (配列番号 55)
	VSTISDGGTTIYYADNVKG (配列番号 143)	VSYISDGGTTIYYADSVKG (配列番号 179)	EWGDDGFDQ (配列番号 205)

10

20

30

40

【表 3 - 3】

				VSTISDGGTTYVADSVKVG (配列番号 144)	VSYISDSGTTYVPPDSVKG (配列番号 180)	EWGDYDGFDR (配列番号 206)
				VSTISDGGTTYVPPDNVKG (配列番号 145)		EWGDYDGFDS (配列番号 207)
				VSTISDGGTTYVPPDSVKG (配列番号 146)		EWGDYDGFV (配列番号 208)
				VSTISDSGSTIYYADNVKVG (配列番号 147)		EWGDYDGFVW (配列番号 209)
				VSTISDSGSTIYYADSVKVG (配列番号 58)		EWGDYDGFVY (配列番号 210)
				VSTISDSGSTIYYPPDNVKG (配列番号 148)		EWGDYDGFHY (配列番号 211)
				VSTISDSGSTIYYPPDSVKG (配列番号 149)		EWGDYDGLDY (配列番号 212)
				VSTISDSGSTIYYADNVKVG (配列番号 150)		EWGDYDGLDY (配列番号 213)
				VSTISDSGSTIYYADSVKVG (配列番号 151)		EWGDYDGDY (配列番号 214)
				VSTISDSGSTIYYPPDNVKG (配列番号 152)		EWGDYDGYDY (配列番号 215)
				VSTISDSGSTIYYPPDSVKG (配列番号 153)		EYGDYDGFVY (配列番号 51)
				VSTISDSGSVIYYADNVKVG (配列番号 154)		MWGDYDGFVY (配列番号 216)

10

20

30

40

【表 4】

表 4. 固有のライブラリー由来、およびデザインのヒト/アカゲザル交差反応性抗ERBB3 IgGのCDRのアミノ酸配列。

クローン	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
15D10	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASTLQS (配列番号 26)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 31)	EWG DYDGFDF (配列番号 15)
17H10	RASQISGYLS (配列番号 30)	AASTLQS (配列番号 26)	LQVSTPYT (配列番号 23)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 28)	EWG DYDGFDE (配列番号 29)
09D12	RASQISSYLN (配列番号 50)	AASSLDS (配列番号 22)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 28)	EYGDYDGFY (配列番号 51)
15D03	RASQISSYLS (配列番号 21)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 14)	EWG DYDGFDE (配列番号 27)
11H02	RASQISSYLS (配列番号 52)	AASSLDS (配列番号 22)	LQVSTPLT (配列番号 53)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 54)	EWG DYDGFN (配列番号 55)
15G11	RASQISSYLS (配列番号 21)	AASSLDS (配列番号 22)	LQVSTPYT (配列番号 23)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 19)	ELGDYDGFY (配列番号 20)
15E02	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 56)	EYGDYDGFY (配列番号 51)
09H02	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 24)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 57)	ELGDYDGFY (配列番号 20)
16B09	RASQISSYLS (配列番号 21)	AASTLQS (配列番号 26)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 24)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 25)	EWG DYDGFDF (配列番号 15)
TTP	RASQISSYLN (配列番号 50)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 58)	EYGDYDGFY (配列番号 51)
MH1	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 14)	ELGDYDGFY (配列番号 20)
MH2	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 14)	EWG DYDGFDF (配列番号 15)
MH3	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 24)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 58)	EWG DYDGFDF (配列番号 15)
MH4	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 14)	EWG DYDGFDE (配列番号 29)
MH5	RASQISSYLS (配列番号 16)	AASSLQS (配列番号 17)	LQVSTPLT (配列番号 18)	GTFSDYMS (配列番号 13)	VSTISDGSYTYADNVKG (配列番号 58)	EYGDYDGFY (配列番号 51)

10

20

30

40

## 【表 5】

表 5. ヒトおよびアカゲザルの単量体型 ERBB3 に対する IgG 結合のピアコア (Biacore (登録商標)) アフィニティ値。

クローン の名称	Human(ヒト) ERBB3				Rhesus(アカゲザル) ERBB3			
	<u>ka (1/Ms)</u>	<u>kd (1/s)</u>	<u>Chi2</u>	<u>KD (nM)</u>	<u>ka (1/Ms)</u>	<u>kd (1/s)</u>	<u>Chi2</u>	<u>KD (nM)</u>
24C05	4.60E+07	6.70E-04	0.117	<b>0.014</b>	1.80E+07	4.40E-04	0.02	<b>0.024</b>
h24C05	2.50E+07	9.60E-04	0.164	<b>0.039</b>	4.10E+06	7.40E-04	0.037	<b>0.18</b>
15G11	1.60E+07	1.20E-03	0.141	<b>0.078</b>	3.30E+06	1.10E-03	0.041	<b>0.33</b>
16B09	1.60E+07	1.40E-03	0.223	<b>0.089</b>	1.30E+07	2.70E-03	0.044	<b>0.21</b>
15D10	1.40E+07	1.90E-03	0.195	<b>0.14</b>	3.30E+06	1.80E-03	0.057	<b>0.54</b>
17H10	9.30E+06	1.70E-03	0.165	<b>0.19</b>	2.70E+06	1.80E-03	0.035	<b>0.65</b>
15D03	1.10E+07	3.00E-03	0.204	<b>0.26</b>	1.80E+07	4.70E-03	0.117	<b>0.26</b>
MH4	1.10E+07	2.90E-03	0.158	<b>0.26</b>	2.20E+07	4.70E-03	0.099	<b>0.21</b>
MH2	1.10E+07	2.90E-03	0.177	<b>0.27</b>	2.00E+07	4.80E-03	0.099	<b>0.23</b>
09D12	1.30E+07	3.50E-03	0.149	<b>0.27</b>	1.10E+07	7.40E-03	0.049	<b>0.69</b>
09H02	3.10E+06	1.30E-03	0.272	<b>0.43</b>	1.10E+07	2.70E-03	0.027	<b>0.25</b>
MH1	6.80E+06	3.50E-03	0.124	<b>0.51</b>	1.30E+07	5.60E-03	0.081	<b>0.45</b>
15E02	6.30E+06	3.90E-03	0.229	<b>0.61</b>	3.70E+06	9.50E-03	0.034	<b>2.5</b>
MH5	5.80E+06	4.10E-03	0.166	<b>0.71</b>	1.20E+07	6.00E-03	0.076	<b>0.51</b>
MH3	7.60E+06	6.50E-03	0.143	<b>0.85</b>	1.80E+07	1.10E-02	0.057	<b>0.63</b>
TTP	6.20E+07	7.30E-02	1.21	<b>1.2</b>	ND	ND	ND	ND
11H02	6.10E+06	8.10E-03	1.04	<b>1.3</b>	1.70E+07	3.70E-02	0.332	<b>2.1</b>

【表 6】

表 6. 固有の脱免疫化抗ERBB3 IgGのVLドメインのアミノ酸配列。

クローン	VL
15G11-DI1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSTPYTFGGGKVEIK (配列番号-217)
15G11-DI2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSTPYTFGGGKVEIK (配列番号-218)
15G11-DI3	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSSPYTFGGGKVEIK (配列番号-219)
15G11-DI4	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSSPYTFGGGKVEIK (配列番号-220)
15G11-DI5	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSTPYTFGGGKVEIK (配列番号-221)
15G11-DI6	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSTPYTFGGGKVEIK (配列番号-222)
15G11-DI7	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSSPYTFGGGKVEIK (配列番号-223)
15G11-DI8	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSSPYTFGGGKVEIK (配列番号-224)
15G11-DI9	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSTLQSGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSSPLTFGGGKVEIK (配列番号-225)
15G11-DI10	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEISSLSSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSTPYTFGGGKVEIK (配列番号-226)
15G11-DI11	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQEAASSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCLQYDSSPYTFGGGKVEIK (配列番号-227)

10

20

30

40

【表 7】

表 7. 固有の脱免疫化抗ERBB3 IgGのVHドメインのアミノ酸配列。

クローン	VH
15G11-D11	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCARELGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 228)
15G11-D12	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCARELGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 229)
15G11-D13	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCARELGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 230)
15G11-D14	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCARELGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 231)
15G11-D15	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 232)
15G11-D16	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 233)
15G11-D17	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 234)
15G11-D18	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 235)
15G11-D19	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 236)
15G11-D110	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCARELGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 237)
15G11-D111	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWVRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNRAEDTAVYYCARELGDYDGFDFWQGGLVTVSS (配列番号 238)

10

20

30

40

## 【表 8】

表 8. 抗体可変領域アミノ酸配列の例。

抗体 15G11-DI9 重鎖可変 (VH) 領域

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYSMSWIRQAPGKGLEWVSTISDSGTYYTYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ  
MNSLRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWGQGLVTVSS (配列番号 236)

抗体 15G11-DI9 軽鎖可変 (VL) 領域

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQEISTYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED  
FATYYCLQYDSSPLTFGGGTKVEIK (配列番号 225)

抗体 15G11-DI5 重鎖可変 (VH) 領域

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYSMSWIRQAPGKGLEWVSTISDSGTYYTYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ  
MNSLRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWGQGLVTVSS (配列番号 232)

抗体 15G11-DI5 軽鎖可変 (VL) 領域

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQEISSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED  
FATYYCLQYDSTPYTFGGGTKVEIK (配列番号 221)

抗体 15G11 重鎖可変 (VH) 領域

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMWIRQAPGKGLEWVSTISDSGSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ  
MNSLRAEDTAVYYCARELGDYDGFYWGQGLVTVSS (配列番号 253)

抗体 15G11 軽鎖可変 (VL) 領域

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQEISSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED  
FATYYCLQYDSTPYTFGGGTKVEIK (配列番号 254)

抗体 16B09 重鎖可変 (VH) 領域

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYSMSWIRQAPGKGLEWVSTISDSGTYYTYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ  
MNSLRAEDTAVYYCAREWGDYDGFDFWGQGLVTVSS (配列番号 255)

抗体 16B09 軽鎖可変 (VL) 領域

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQEISSYLSWYQQKPKGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED  
FATYYCLQYDSTPLTFGGGTKVEIK (配列番号 256)

10

20

## 【表 9】

表 9. 抗体 Fc 領域アミノ酸配列の例。

ヒト IgG4 野生型

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT  
 CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVE  
 VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL  
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK

(配列番号 239)

ヒト IgG4 (S228P)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT  
 CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVE  
 VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL  
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK

(配列番号 240)

ヒト IgG1 野生型

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI  
 CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

GK (配列番号 241)

ヒト IgG1-3M

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI  
 CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

GK (配列番号 242)

ヒト IgG2 野生型

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYT  
 CNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH  
 NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC  
 LVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(配列番号 243)

ヒト IgG1 野生型「REEM」アロタイプ

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI  
 CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV  
 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

GK (配列番号 244)

ヒト IgG1-3M「REEM」アロタイプ

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI  
 CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMKNQVS  
 LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

K (配列番号 245)

10

20

30

40

## 【表 10】

表 10. ERBB3 タンパク質アミノ酸配列の例。

ヒト ERBB3 配列

MRANDALQVLGLLFLARGSEVGNQAVCPGTLNGLSVTGAENQYQTLTKLYKLYERCEVVM  
 GNLEIVLTGHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDYGKFAIFVM  
 LNYNTNSSHALRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCMDTIDWRDIVRDRDAEIVVKDNG  
 RSCPPCHEVCKGRCWGPSEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQCCHDECAGGCSGPQD  
 TDCFACRHFNDGACVPRCPQPLVYNKLTQLEPNPHTKYQYGGVVCVASCNHFVVDQTS  
 CVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSSNIDGFVNCTKILGN  
 LDFLITGLNGDPWHKIPALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMHNFVFSNLTTIGG  
 RSLYNRGFSLLIMKNLNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSNLNWKVLRGPTEE  
 RLDIKHNRPRRDCVAEGKVCPLCSSGGCWGPGGQCLSCRNYRSGGVCVTHCNFLNGEP  
 REFAHEAECFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGPCHVSSCPHGVLGAKGPI  
 YKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLI GKTHLTMALTVIAGLVVIFMMLG  
 GTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLERGESIEPLDPSEKANKVLARIFKETELRKLKVLGSGVF  
 GTVHKGVWIPAGESIKIPVCIKVIEDKSGRQSFQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPG  
 SSLQLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNV  
 LLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALSIHFGKYTHQSDVWSYGV  
 VWELMTFGAEPYAGRLAEVLDLLEKGERLAQPQICTIDVYVMVVKCWMIDENIRPTFKE  
 LANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPIAPGPEPHGLTNKKLEVELEPELDDLDDLEAEED  
 NLATTTLSALSLPVGTLNRPRGSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGEACQESAVSGSSERCPR  
 PVSLHPMPRGCLASESEGHVTGSEAELQEKVSMCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSL  
 TPVTPLSPGLEEEDVNGYVMPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEDEEYEM  
 NRRRRHSPPHPPRPSLEELGYEYMDVGSLSASLGSTQSCPLHPVPMPTAGTTPDEDY  
 EYMNRQRDGGGPGDYAAMGACPAEQGYEEMRAFQGGPHQAPHVHYARLKTLSLEATD  
 SAFDNPDYWHSRLFPKANAQRT (配列番号 246)

10

20

アカゲザル ERBB3 配列

MRANGALQVLGLLFLNARGSEVGNQAVCPGTLNGLSVTGAENQYQTLTKLYKLYERCEVVM  
 GNLEIVLTGHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDYGKFAIFVM  
 LNYNTNSSHALRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCMDTIDWKDIVRDQDAEIVVKDNG  
 RSCPLCHEVCKGRCWGPEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQCCHDECAGGCSGPQD  
 TDCFACRHFNDGACVPRCPQPLVYNKLTQLEPNPHTKYQYGGVVCVASCNHFVVDQTS  
 CVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSSNIDGFVNCTKILGN  
 LDFLITGLNGDPWHKIPALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMYNFSVFSNLTTIGG  
 RSLYNRGFSLLIMKNLNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSNLNWKVLRGPTEE  
 RLDIKHNRPRRDCVAEGKVCPLCSSGGCWGPGGQCLSCRNYRSGGVCVTHCNFLNGEP  
 REFAHEAECFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGPCHVSSCPHGVLGAKGPI  
 YKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLI GKTHLTMALTVIAGLVVIFMMLG  
 GTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLERGESIEPLDPSEKANKVLARIFKETELRKLKVLGSGVF  
 GTVHKGVWIPAGESIKIPVCIKI IEDKSGRQSFQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPG  
 SSLQLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNV  
 LLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALSIHFGKYTHQSDVWSYGV  
 VWELMTFGAEPYAGRLAEVLDLLEKGERLAQPQICTIDVYVMVVKCWMIDENIRPTFKE  
 LANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPIAPGPEPHGLTNKKLEVELEPELDDLDDLEAEED  
 NLATTTLSALSLPVGTLNRPRGSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGEACQESAVSGSSEWCPR  
 PVSLHPMPRGCLASESEGHVTGSEAELQEKVSTCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSL  
 TPVTPLSPGLEEEDVNGYVMPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEDEEYEM  
 NRRRRHSPPRPPRPSLEELGYEYMDVGSLSASLGSTQSCPLHPVPMPTAGTTPDEDY  
 EYMNRQRDGGGPGDYAAMGACPAEQGYEEMRAFQGGPHQAPHVHYAHLKTLSLEATD  
 SAFDNPDYWHSRLFPKANAQRT (配列番号 247)

30

40

【 図 1 】

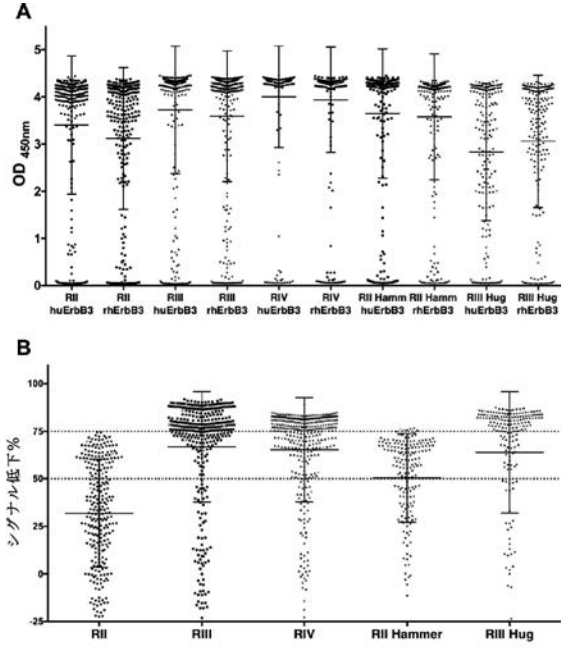


図 1

【 図 2 】

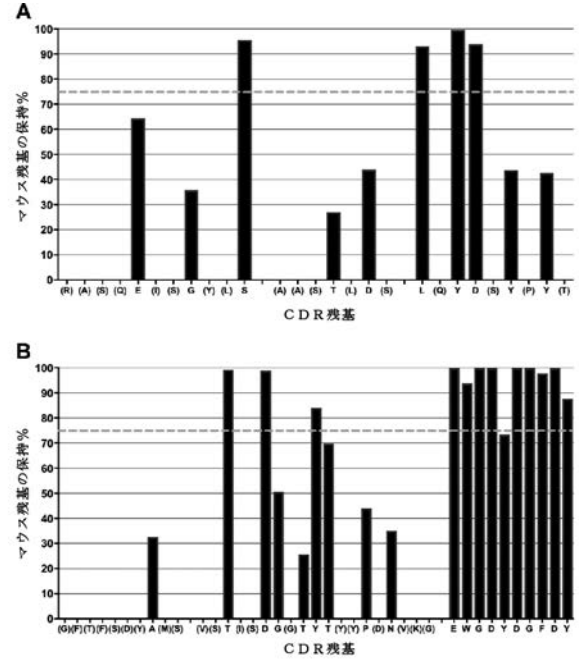


図 2

【 図 3 】

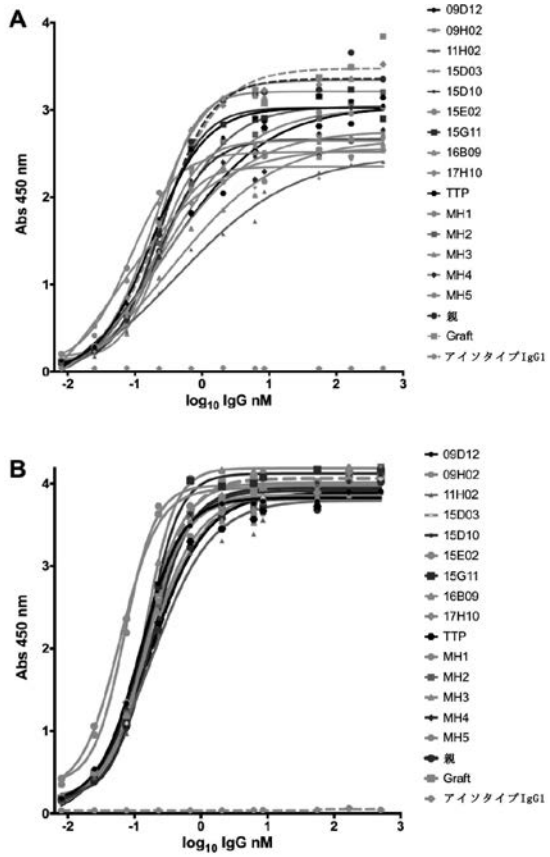


図 3

【 図 4 】

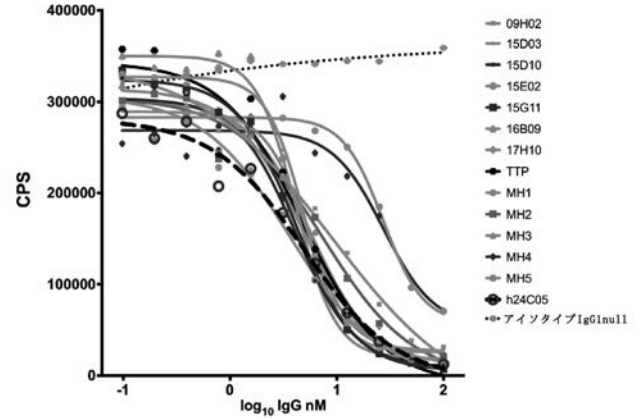


図 4

【 図 5 】

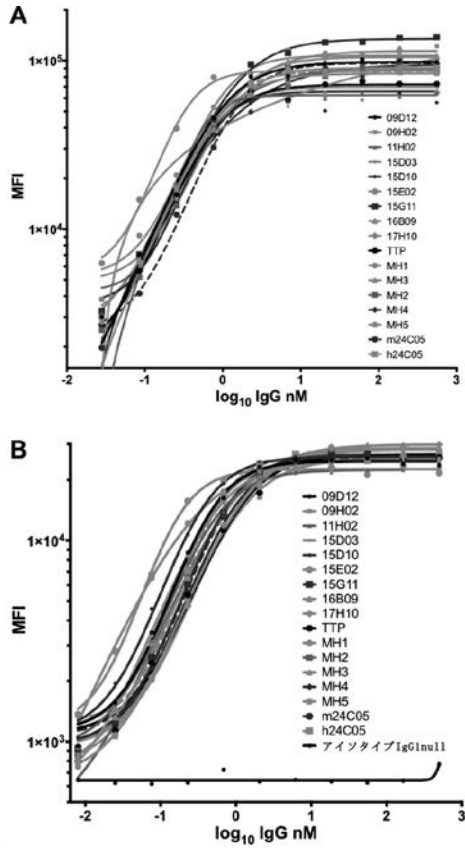


図 5

【 図 6 】

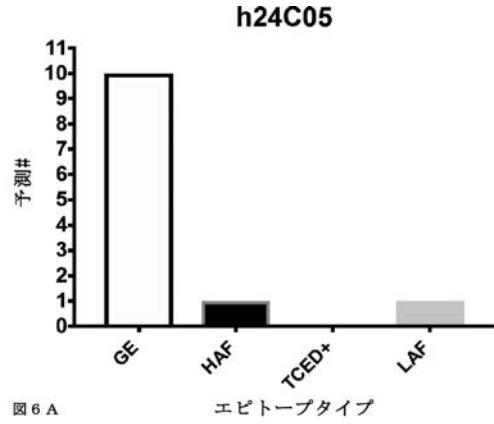


図 6 A

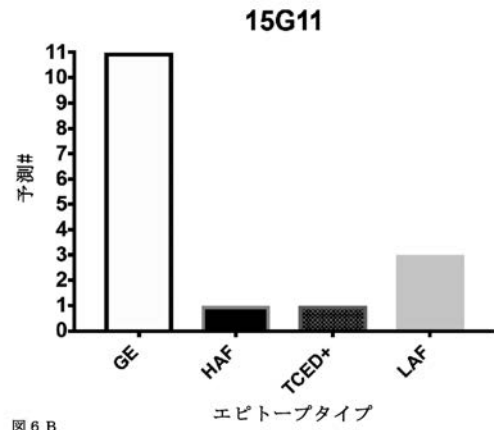


図 6 B

【 図 7 A 】

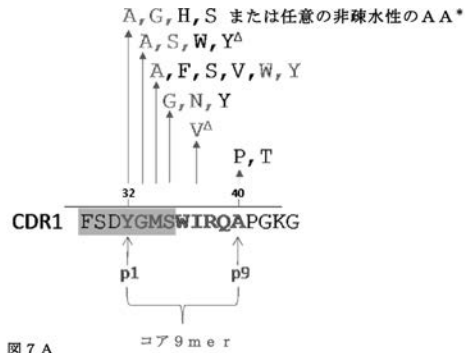


図 7 A

【 図 7 B 】

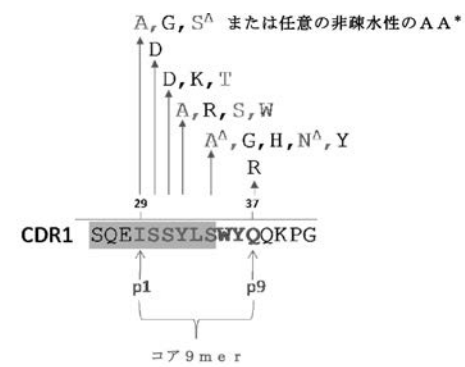


図 7 B

【 図 7 C 】

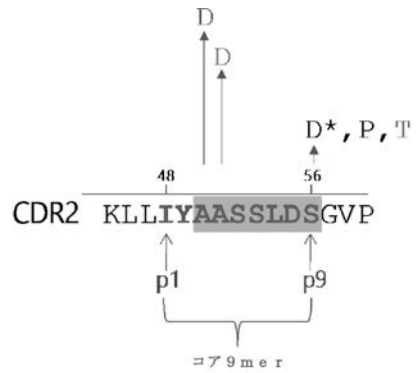


図 7 C

【 図 7 D 】



図 7 D

【 図 8 】

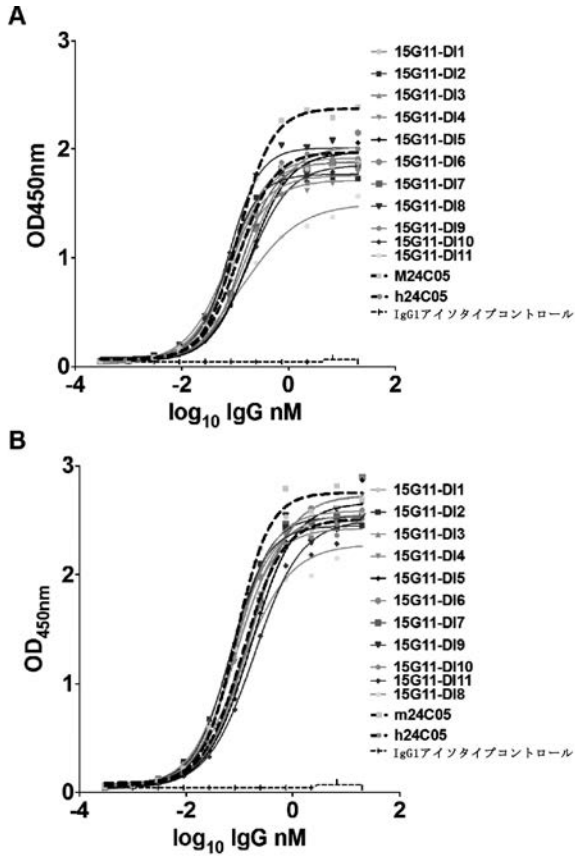


図 8

【 図 9 】

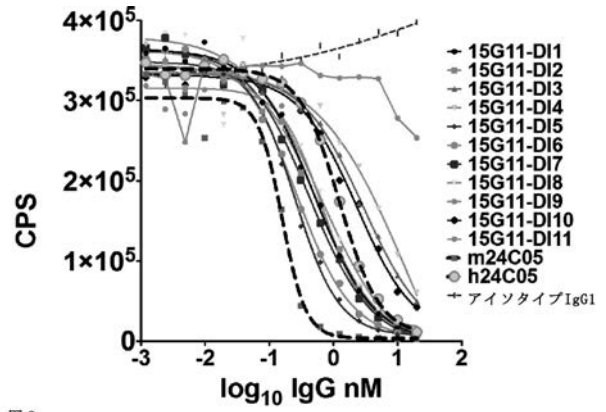


図 9

【 図 1 0 】

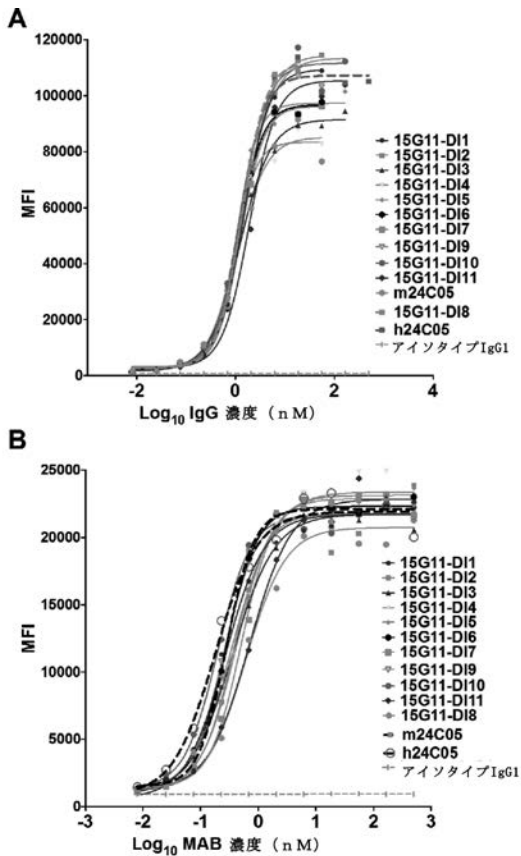


図 1 0

【 図 1 1 】

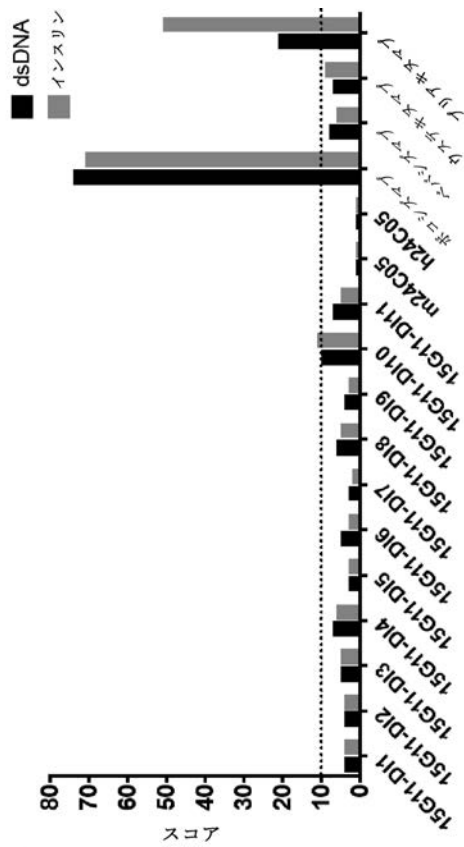
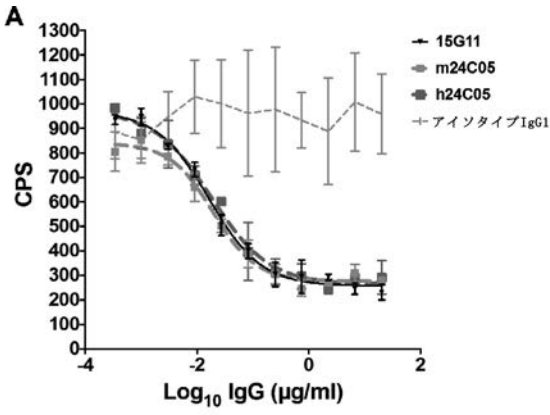


図 1 1

【 図 1 2 - 1 】



【 図 1 2 - 2 】

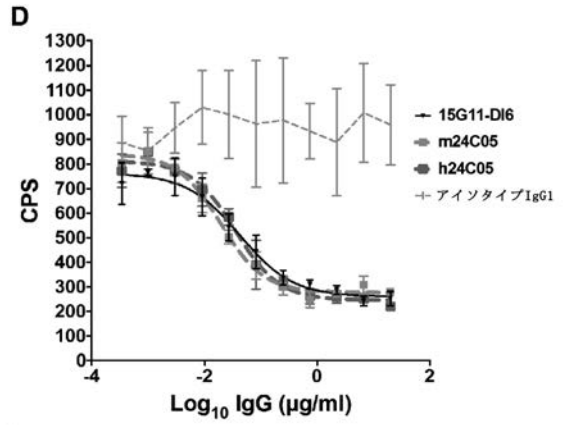
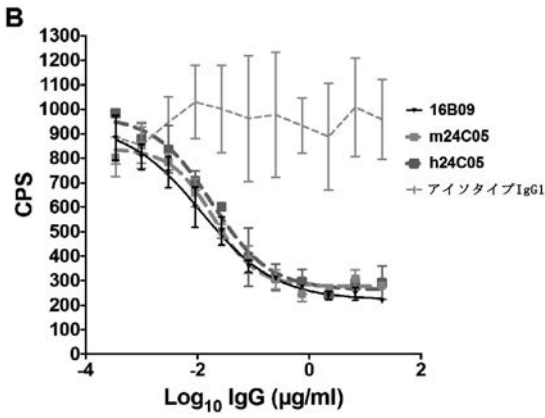
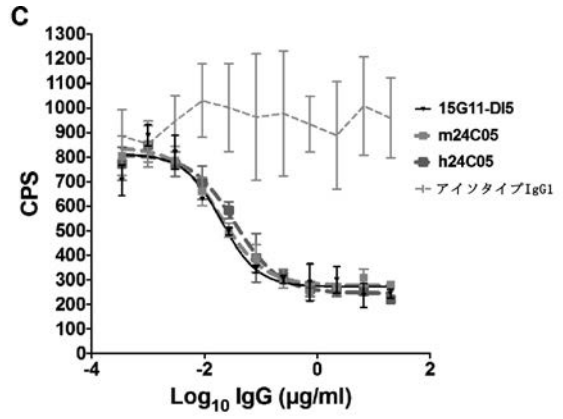
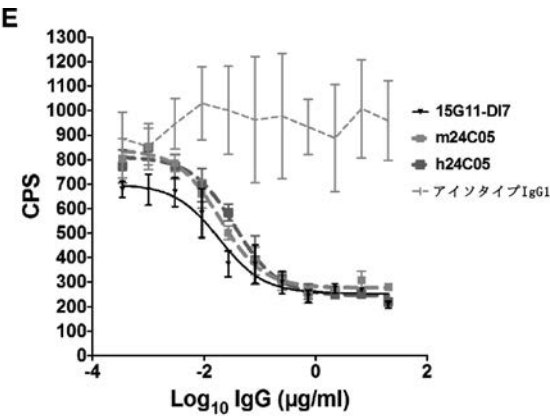


図 1 2

図 1 2

【 図 1 2 - 3 】



【 図 1 2 - 4 】

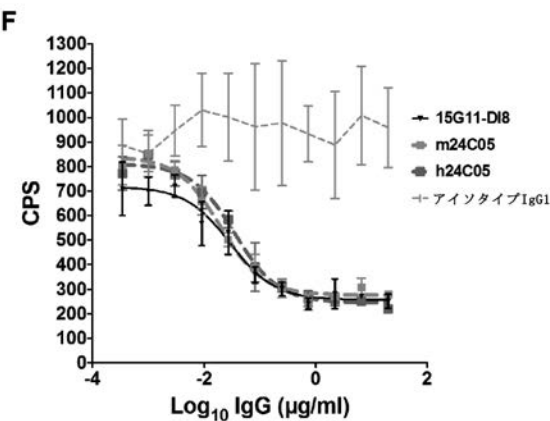
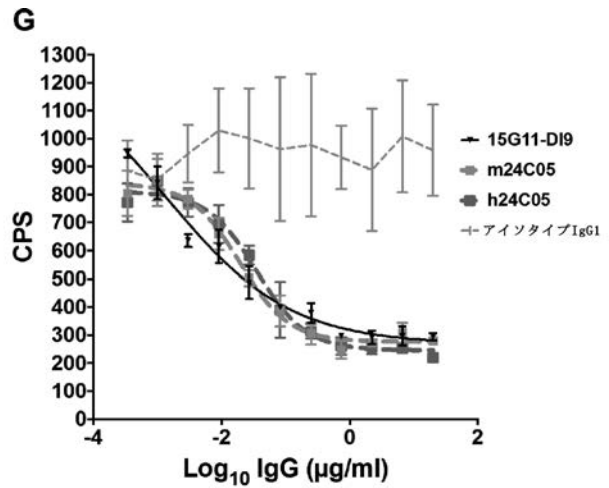


図 1 2

図 1 2

【 図 1 3 】

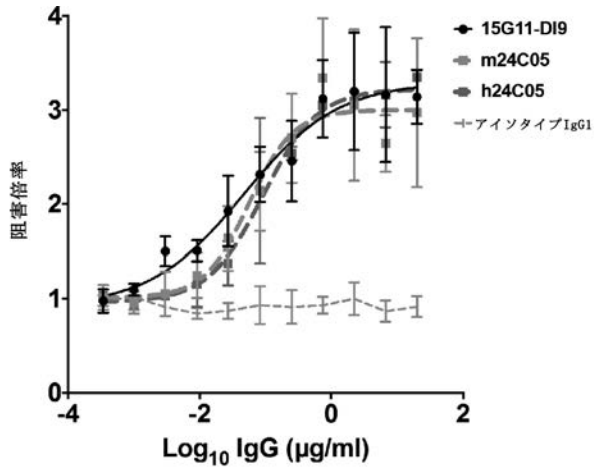
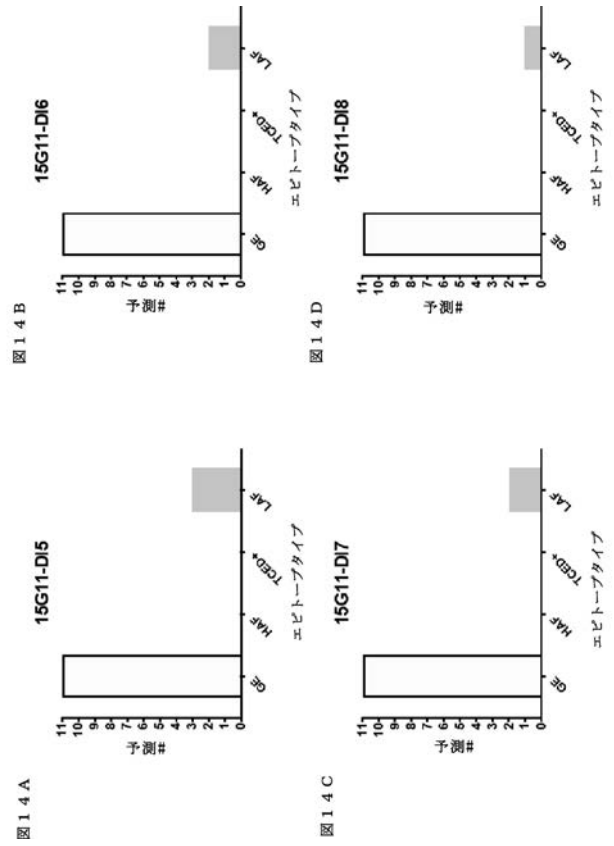


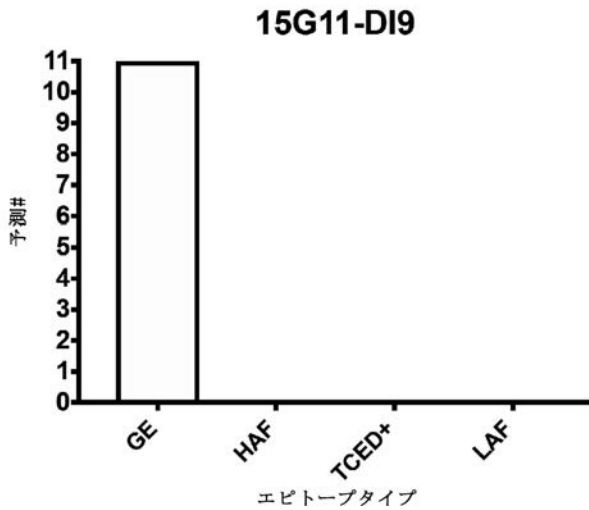
図 1 3

【 図 1 4 - 1 】



【 図 1 4 - 2 】

図 1 4 E



【配列表】

2021515544000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2019/056506
---------------------------------------------------

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61P35/00 C07K16/32 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K		
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, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/136911 A2 (AVEO PHARMACEUTICALS INC [US]; VINCENT SYLVIE [US] ET AL.) 3 November 2011 (2011-11-03) cited in the application examples 12-18 paragraph [0101]	1-39
X	WO 2014/159915 A1 (UNIV TEXAS [US]) 2 October 2014 (2014-10-02) example 9 paragraphs [0007], [0016] claim 33	1-39
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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		Date of mailing of the international search report
3 June 2019		12/06/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Covone-van Hees, M

3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/056506

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2017/073395 A1 (FINLAY WILLIAM JAMES JONATHAN [IE] ET AL) 16 March 2017 (2017-03-16) examples 4,5 figure 9 paragraphs [0004], [0068], [0188] -----	1-39
A	GRISWOLD KARL E ET AL: "Design and engineering of deimmunized biotherapeutics", CURRENT OPINION IN STRUCTURAL BIOLOGY, ELSEVIER LTD, GB, vol. 39, 17 June 2016 (2016-06-17), pages 79-88, XP029764641, ISSN: 0959-440X, DOI: 10.1016/J.SBI.2016.06.003 the whole document -----	1-39
A	SUE TOWNSEND ET AL: "Augmented Binary Substitution: Single-pass CDR germ-lining and stabilization of therapeutic antibodies", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 112, no. 50, 30 November 2015 (2015-11-30), pages 15354-15359, XP55513906, US ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1510944112 cited in the application the whole document -----	1-39

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2019/056506

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011136911 A2	03-11-2011	AR 080873 A1	16-05-2012
		AU 2011245636 B2	22-12-2016
		BR 112012025730 A2	10-01-2017
		CA 2795799 A1	03-11-2011
		CN 102884085 A	16-01-2013
		CN 105968206 A	28-09-2016
		EP 2566895 A2	13-03-2013
		ES 2566602 T3	14-04-2016
		HK 1178184 A1	28-10-2016
		IL 222272 A	30-04-2018
		JP 5906233 B2	20-04-2016
		JP 2013523166 A	17-06-2013
		KR 20130043106 A	29-04-2013
		MX 343227 B	28-10-2016
		NZ 603271 A	30-05-2014
		RU 2012147591 A	20-05-2014
		SG 184452 A1	29-11-2012
		US 2011256154 A1	20-10-2011
		US 2013330772 A1	12-12-2013
		US 2016264679 A1	15-09-2016
		US 2018030149 A1	01-02-2018
		WO 2011136911 A2	03-11-2011
		ZA 201208290 B	31-07-2013
WO 2014159915 A1	02-10-2014	CN 105209493 A	30-12-2015
		EP 2970494 A1	20-01-2016
		US 2016032011 A1	04-02-2016
		US 2018066066 A1	08-03-2018
		WO 2014159915 A1	02-10-2014
US 2017073395 A1	16-03-2017	NONE	

## 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	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15		
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19		
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21		
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08		
C 1 2 P	21/02	(2006.01)	C 1 2 P	21/02		C
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395		N
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 K	39/395		D
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 K	39/395		L
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 K	39/395		C
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	37/06		
A 6 1 P	1/18	(2006.01)	A 6 1 P	29/00		
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00		
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00		
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/18		
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	17/00		
A 6 1 P	13/08	(2006.01)	A 6 1 P	15/00		
A 6 1 P	13/10	(2006.01)	A 6 1 P	11/00		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/04		
A 6 1 P	25/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/08		
A 6 1 P	1/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/10		
A 6 1 P	11/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/02		
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	1/02		
A 6 1 P	5/14	(2006.01)	A 6 1 P	11/02		
A 6 1 P	5/38	(2006.01)	A 6 1 P	1/16		
A 6 1 P	19/08	(2006.01)	A 6 1 P	13/12		
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	5/14		
A 6 1 P	7/00	(2006.01)	A 6 1 P	5/38		
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/08		
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	21/00		
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/00		
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	35/02		
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	19/02		
			A 6 1 P	17/06		
			A 6 1 P	9/10		
			A 6 1 P	9/10	1 0 1	
			A 6 1 P	11/06		

(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 フィンレー, ウィリアム ジェームズ ジョナサン  
イギリス国, ケント シーティー13 9エフエフ サンドウィッチ, ラムスゲイト ロード, イ  
ノベーション ハウス, クレストン リーズ エルエルピー内

F ターム(参考) 4B064 AG27 CA19 DA01

4B065 AA90X AA90Y AB01 BA02 CA25 CA44

4C085 AA13 AA14 AA16 AA25 AA26 AA27 BB31 BB33 BB34 BB35

BB36 BB37 BB41 BB43 BB50 CC02 CC23 DD62 EE01 GG01

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 FA74