

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-543942
(P2024-543942A)

(43)公表日 令和6年11月26日(2024.11.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	14/54 (2006.01)	C 0 7 K	14/54		4 B 0 6 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 8 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全159頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-532180(P2024-532180)			(71)出願人	513190449
(86)(22)出願日	令和4年11月29日(2022.11.29)				カドモン コーポレイション, リミティド
(85)翻訳文提出日	令和6年6月21日(2024.6.21)				ライアビリティ カンパニー
(86)国際出願番号	PCT/US2022/080542				アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8
(87)国際公開番号	WO2023/102367				8 0 7 . ブリッジウォーター . コーポレ
(87)国際公開日	令和5年6月8日(2023.6.8)				イトドライヴ 5 5
(31)優先権主張番号	63/284,937			(74)代理人	100127926
(32)優先日	令和3年12月1日(2021.12.1)				弁理士 結田 純次
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100216105
(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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く			(72)発明者	ダン・ルー
					アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 2
					1 4 1 . ケンブリッジ . ウォーター・ス
					トリート 4 5 0 . サノフィ . パテント・
					デパートメント 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 B 7 - H 4 抗体及び抗 B 7 - H 4 抗体／I L - 1 5 融合タンパク質

(57)【要約】

B 7 - H 4 への結合及びこの抑制にとって有用である組換え抗体、その抗原結合断片及びその融合タンパク質が本明細書で提供される。本明細書に開示される抗体、その抗原結合断片及びその融合タンパク質をコードする核酸分子、並びにその治療用組成物もまた提供される。疾患を治療するために、開示された抗体、その抗原結合断片及びその融合タンパク質を使用する更なる方法が開示される。

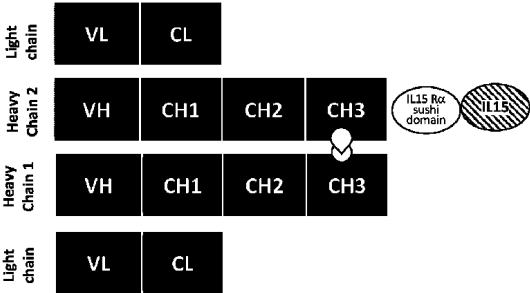


Fig. 1B

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗 B 7－H 4 抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片が、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域及び前記軽鎖可変領域のそれぞれが、CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 を含み、

a．CDR 1 H が配列番号 1 6 を含み、CDR 2 H が配列番号 1 7 を含み、CDR 3 H が配列番号 1 8 を含み、

i．CDR 1 L が配列番号 2 0 を含み、CDR 2 L が配列番号 2 1 を含み、CDR 3 L が配列番号 2 2 を含むか、若しくは

ii．CDR 1 L が配列番号 6 6 を含み、CDR 2 L が配列番号 6 7 を含み、CDR 3 L が配列番号 6 8 を含むか、若しくは

iii．CDR 1 L が配列番号 7 0 を含み、CDR 2 L が配列番号 7 1 を含み、CDR 3 L が配列番号 7 2 を含み、又は

b．CDR 1 H が配列番号 4 を含み、CDR 2 H が配列番号 5 を含み、CDR 3 H が配列番号 6 を含み、

i．CDR 1 L が配列番号 8 を含み、CDR 2 L が配列番号 9 を含み、CDR 3 L が配列番号 1 0 を含むか、

ii．CDR 1 L が配列番号 7 7 を含み、CDR 2 L が配列番号 7 8 を含み、CDR 3 L が配列番号 7 9 を含むか、若しくは

iii．CDR 1 L が配列番号 8 1 を含み、CDR 2 L が配列番号 8 2 を含み、CDR 3 L が配列番号 8 3 を含む、

抗 B 7－H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2】

前記 CDR 1 H が配列番号 1 6 を含み、前記 CDR 2 H が配列番号 1 7 を含み、前記 CDR 3 H が配列番号 1 8 を含み、前記 CDR 1 L が配列番号 7 0 を含み、前記 CDR 2 L が配列番号 7 1 を含み、前記 CDR 3 L が配列番号 7 2 を含む、請求項 1 に記載の抗 B 7－H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 3】

a．前記重鎖可変領域が、配列番号 1 5、若しくは配列番号 1 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、

i．前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 9、若しくは配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

ii．前記軽鎖可変領域が、配列番号 6 5、若しくは配列番号 6 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、若しくは

iii．前記軽鎖可変領域が、配列番号 6 9、若しくは配列番号 6 9 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、又は

b．前記重鎖可変領域が、配列番号 3、若しくは配列番号 3 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、

i．前記軽鎖可変領域が、配列番号 7、若しくは配列番号 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

ii．前記軽鎖可変領域が、配列番号 7 6、若しくは配列番号 7 6 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、若しくは

iii．前記軽鎖可変領域が、配列番号 8 0、若しくは配列番号 8 0 と少なくとも 9 0 %

10

20

30

40

50

、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む、

請求項 1 に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 4】

前記重鎖可変領域が、配列番号 15、又は配列番号 15 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含み、前記軽鎖可変領域が、配列番号 69、又は配列番号 69 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項 5】

a. 前記重鎖可変領域が、配列番号 15 を含み、
i. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 19 を含むか、
ii. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 65 を含むか、若しくは
iii. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 69 を含み、又は
b. 前記重鎖可変領域が、配列番号 3 を含み、
i. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 7 を含むか、
ii. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 76 を含むか、若しくは
iii. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 80 を含む、

請求項 3 に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

20

【請求項 6】

前記重鎖可変領域が、配列番号 15 を含み、前記軽鎖可変領域が、配列番号 69 を含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 7】

前記抗体又はその抗原結合断片が、ヒト h B 7 - H 4 の Ig V ドメインに結合する、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 8】

抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片が、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域及び前記軽鎖可変領域のそれぞれが、CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 を含み、CDR 1 H が配列番号 46 を含み、CDR 2 H が配列番号 47 を含み、CDR 3 H が配列番号 48 を含み、

30

a. CDR 1 L が配列番号 50 を含み、CDR 2 L が配列番号 51 を含み、CDR 3 L が配列番号 52 を含むか、

b. CDR 1 L が配列番号 88 を含み、CDR 2 L が配列番号 89 を含み、CDR 3 L が配列番号 90 を含むか、

c. CDR 1 L が配列番号 92 を含み、CDR 2 L が配列番号 93 を含み、CDR 3 L が配列番号 94 を含むか、

d. CDR 1 L が配列番号 96 を含み、CDR 2 L が配列番号 97 を含み、CDR 3 L が配列番号 98 を含むか、

e. CDR 1 L が配列番号 100 を含み、CDR 2 L が配列番号 101 を含み、CDR 3 L が配列番号 102 を含むか、

40

f. CDR 1 L が配列番号 104 を含み、CDR 2 L が配列番号 105 を含み、CDR 3 L が配列番号 106 を含むか、又は

g. CDR 1 L が配列番号 108 を含み、CDR 2 L が配列番号 109 を含み、CDR 3 L が配列番号 110 を含む、

抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 9】

前記 CDR 1 H が配列番号 46 を含み、前記 CDR 2 H が配列番号 47 を含み、前記 CDR 3 H が配列番号 48 を含み、前記 CDR 1 L が配列番号 108 を含み、前記 CDR 2 L が配列番号 109 を含み、前記 CDR 3 L が配列番号 110 を含む、請求項 8 に記載の

50

抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 0】

前記重鎖可変領域が、配列番号 4 5、又は配列番号 4 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、

a. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 4 9、若しくは配列番号 4 9 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

b. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 8 7、若しくは配列番号 8 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

c. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 9 1、若しくは配列番号 9 1 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

d. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 9 5、若しくは配列番号 9 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

e. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 9 9、若しくは配列番号 9 9 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

f. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 0 3、若しくは配列番号 1 0 3 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、又は

g. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 0 7、若しくは配列番号 1 0 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む、

請求項 8 に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 1】

前記重鎖可変領域が、配列番号 4 5、又は配列番号 4 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 0 7、又は配列番号 1 0 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む、請求項 8 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 2】

前記重鎖可変領域が、配列番号 4 5 を含み、

a. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 4 9 を含むか、

b. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 8 7 を含むか、

c. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 9 1 を含むか、

d. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 9 5 を含むか、

e. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 9 9 を含むか、

f. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 0 3 を含むか、又は

g. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 0 7 を含む、

請求項 1 0 に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 3】

前記重鎖可変領域が、配列番号 4 5 を含み、前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 0 7 を含む、請求項 8 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 1 4】

前記抗体又はその抗原結合断片が、ヒト及びマウス h B 7 - H 4 の I g C ドメインに結合する、請求項 8 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片

。

【請求項 15】

抗 B 7-H 4 抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片が、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域及び前記軽鎖可変領域のそれぞれが、CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 を含み、CDR 1 H が配列番号 58 を含み、CDR 2 H が配列番号 59 を含み、CDR 3 H が配列番号 60 を含み、

a. CDR 1 L が配列番号 62 を含み、CDR 2 L が配列番号 63 を含み、CDR 3 L が配列番号 64 を含むか、

b. CDR 1 L が配列番号 115 を含み、CDR 2 L が配列番号 116 を含み、CDR 3 L が配列番号 117 を含むか、

c. CDR 1 L が配列番号 119 を含み、CDR 2 L が配列番号 120 を含み、CDR 3 L が配列番号 121 を含むか、

d. CDR 1 L が配列番号 123 を含み、CDR 2 L が配列番号 124 を含み、CDR 3 L が配列番号 125 を含むか、

e. CDR 1 L が配列番号 127 を含み、CDR 2 L が配列番号 128 を含み、CDR 3 L が配列番号 129 を含むか、又は

f. CDR 1 L が配列番号 131 を含み、CDR 2 L が配列番号 132 を含み、CDR 3 L が配列番号 133 を含む、

抗 B 7-H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 16】

前記 CDR 1 H が配列番号 58 を含み、前記 CDR 2 H が配列番号 59 を含み、前記 CDR 3 H が配列番号 60 を含み、前記 CDR 1 L が配列番号 119 を含み、前記 CDR 2 L が配列番号 120 を含み、前記 CDR 3 L が配列番号 121 を含む、請求項 15 に記載の抗 B 7-H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 17】

前記重鎖可変領域が、配列番号 57、又は配列番号 57 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、

a. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 61、若しくは配列番号 61 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

b. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 114、若しくは配列番号 114 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

c. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 118、若しくは配列番号 118 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

d. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 122、若しくは配列番号 122 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

e. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 126、若しくは配列番号 126 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、又は

f. 前記軽鎖可変領域が、配列番号 130、若しくは配列番号 130 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む、

請求項 15 に記載の抗 B 7-H 4 抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 18】

前記重鎖可変領域が、配列番号 57、又は配列番号 57 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも

10

20

30

40

50

99%同一である配列を含み、前記軽鎖可変領域が、配列番号118、又は配列番号118と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む、請求項15～17のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項19】

前記重鎖可変領域が、配列番号57を含み、

- a. 前記軽鎖可変領域が、配列番号61を含むか、
- b. 前記軽鎖可変領域が、配列番号114を含むか、
- c. 前記軽鎖可変領域が、配列番号118を含むか、
- d. 前記軽鎖可変領域が、配列番号122を含むか、
- e. 前記軽鎖可変領域が、配列番号126を含むか、又は
- f. 前記軽鎖可変領域が、配列番号130を含む、

請求項17に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項20】

前記重鎖可変領域が、配列番号57を含み、前記軽鎖可変領域が、配列番号118を含む、請求項15～19のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項21】

前記抗体又はその抗原結合断片が、ヒト及びマウスhB7-H4のIgVドメインに結合する、請求項15～20のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項22】

抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片であって、請求項1～21のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片と同じ、B7-H4上のエピトープに結合する、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項23】

前記抗体又は前記抗原結合断片が、キメラ抗体、CDR移植抗体、若しくはヒト化抗体、又はそれらの抗原結合断片である、請求項1～22のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項24】

前記抗体又は前記抗原結合断片が、多重特異性若しくは二重特異性抗体、又はそれらの抗原結合断片である、請求項1～23のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項25】

前記抗体又は前記抗原結合断片が、scFv、Fv、Fab'、Fab、F(ab')₂、又はダイアボディである、請求項1～24のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項26】

前記抗体が、IgGクラスの免疫グロブリンである、請求項1～25のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項27】

前記抗体又は前記抗原結合断片が、アイソタイプIgG1を有する、請求項26に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項28】

前記抗体又は前記抗原結合断片が、脱グリコシル化されている、請求項1～27のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項29】

前記抗体又は前記抗原結合断片が、第1の重鎖定常領域及び第2の重鎖定常領域を含み、前記抗体又はその抗原結合断片が、前記第1の重鎖定常領域及び前記第2の重鎖定常領域のCH3ドメインに、ヘテロ二量体化を引き起こす少なくとも1つの修飾を含む、請求項1～28のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 30】

第1の重鎖定常領域の前記CH3ドメインでの前記修飾が、前記第2の重鎖定常領域の前記CH3ドメインでの前記修飾とは異なっている、請求項29に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 31】

前記第1の重鎖定常領域が、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabataによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、前記第2の重鎖定常領域が、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabataによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項29又は30に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

10

【請求項 32】

a. 前記第1の重鎖定常領域が、S354C及びT366W（KabataによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、前記第2の重鎖定常領域が、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabataによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含むか、又は

b. 前記第2の重鎖定常領域が、S354C及びT366W（KabataによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、前記第1の重鎖定常領域が、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabataによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む、

20

請求項31に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 33】

a. 前記第1の重鎖定常領域が、アミノ酸置換S354C及びT366W（KabataによるEUインデックスの番号づけ）を含み、前記第2の重鎖定常領域が、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabataによるEUインデックスの番号づけ）を含むか、又は

b. 前記第2の重鎖定常領域が、アミノ酸置換S354C及びT366W（KabataによるEUインデックスの番号づけ）を含み、前記第1の重鎖定常領域が、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabataによるEUインデックスの番号づけ）を含む、

30

請求項32に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 34】

前記第1の重鎖定常領域、前記第2の重鎖定常領域又はこれら両方が、アミノ酸置換M428L及びN434S（KabataによるEUインデックスの番号づけ）を含む、請求項1～33のいずれか一項に記載の抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 35】

融合タンパク質であって、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片と、

b. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushiドメインポリペプチドと、

40

c. 配列番号166、又は配列番号166と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチドと、を含む、融合タンパク質。

【請求項 36】

前記B7H4抗体が、重鎖CDR1（CDR1H）、CDR2（CDR2H）及びCDR3（CDR3H）並びに軽鎖CDR1（CDR1L）、CDR2（CDR2L）及びC

50

D R 3 (C D R 3 L) を含み、C D R 1 H が、配列番号 1 6 を含み、C D R 2 H が、配列番号 1 7 を含み、C D R 3 H が、配列番号 1 8 を含み、C D R 1 L が、配列番号 7 0 を含み、C D R 2 L が、配列番号 7 1 を含み、C D R 3 L が、配列番号 7 2 を含む、請求項 3 5 に記載の融合タンパク質。

【請求項 3 7】

前記 B 7 H 4 抗体が、重鎖 C D R 1 (C D R 1 H)、C D R 2 (C D R 2 H) 及び C D R 3 (C D R 3 H) 並びに軽鎖 C D R 1 (C D R 1 L)、C D R 2 (C D R 2 L) 及び C D R 3 (C D R 3 L) を含み、C D R 1 H が、配列番号 1 7 2 を含み、C D R 2 H が、配列番号 1 7 3 を含み、C D R 3 H が、配列番号 1 7 4 を含み、C D R 1 L が、配列番号 1 7 5 を含み、C D R 2 L が、配列番号 1 7 6 を含み、C D R 3 L が、配列番号 1 7 7 を含む、請求項 3 5 に記載の融合タンパク質。

10

【請求項 3 8】

前記 B 7 H 4 抗体が、重鎖 C D R 1 (C D R 1 H)、C D R 2 (C D R 2 H) 及び C D R 3 (C D R 3 H) 並びに軽鎖 C D R 1 (C D R 1 L)、C D R 2 (C D R 2 L) 及び C D R 3 (C D R 3 L) を含み、C D R 1 H が、配列番号 1 7 8 を含み、C D R 2 H が、配列番号 1 7 9 を含み、C D R 3 H が、配列番号 1 8 0 を含み、C D R 1 L が、配列番号 1 8 1 を含み、C D R 2 L が、配列番号 1 8 2 を含み、C D R 3 L が、配列番号 1 8 3 を含む、請求項 3 5 に記載の融合タンパク質。

【請求項 3 9】

前記 B 7 H 4 抗体が、重鎖 C D R 1 (C D R 1 H)、C D R 2 (C D R 2 H) 及び C D R 3 (C D R 3 H) 並びに軽鎖 C D R 1 (C D R 1 L)、C D R 2 (C D R 2 L) 及び C D R 3 (C D R 3 L) を含み、C D R 1 H が、配列番号 1 8 4 を含み、C D R 2 H が、配列番号 1 8 5 を含み、C D R 3 H が、配列番号 1 8 6 を含み、C D R 1 L が、配列番号 1 8 7 を含み、C D R 2 L が、配列番号 1 8 8 を含み、C D R 3 L が、配列番号 1 8 9 を含む、請求項 3 5 に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 4 0】

前記 I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドが、配列番号 1 6 7 を含む、請求項 3 5 ~ 3 9 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 1】

前記 I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドが、配列番号 1 6 7 のアミノ酸配列からなる、請求項 4 0 に記載の融合タンパク質。

30

【請求項 4 2】

前記 I L - 1 5 ポリペプチドが、配列番号 1 6 6 を含む、請求項 3 5 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 3】

前記 I L - 1 5 ポリペプチドが、配列番号 1 6 6 からなる、請求項 4 2 に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 4】

前記 I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドが、前記 I L - 1 5 ポリペプチドの N 末端に融合される、請求項 3 5 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

40

【請求項 4 5】

前記抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片が、第 1 の重鎖定常領域及び第 2 の重鎖定常領域を含み、前記 I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチド及び前記 I L - 1 5 ポリペプチドが、前記第 1 の重鎖定常領域の C 末端に融合される、請求項 3 5 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 6】

前記融合タンパク質が、(i) 前記 I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチド及び前記 I L - 1 5 ポリペプチドと、(i i) 前記定常領域の前記 C 末端とを結合するリンカーを含む、請求項 4 5 に記載の融合タンパク質。

【請求項 4 7】

50

前記リンカーが、25～35アミノ酸長である、請求項46に記載の融合タンパク質。

【請求項48】

前記リンカーが、主にGly (G)、Asn (N)、Ser (S)、Thr (T)、Ala (A)、Leu (L) 及びGln (Q) からなる、請求項47に記載の融合タンパク質。

【請求項49】

前記リンカーが、配列番号168を含む、請求項46～48のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項50】

配列番号169を含む、請求項35～49のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

10

【請求項51】

前記第1の重鎖定常領域及び前記第2の重鎖定常領域が、前記第1の重鎖定常領域及び前記第2の重鎖定常領域の前記CH3ドメインに、ヘテロ二量体化を引き起こす少なくとも1つの修飾を含む、請求項45～50のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項52】

前記第1の重鎖定常領域の前記CH3ドメインでの前記修飾が、前記第2の重鎖定常領域の前記CH3ドメインでの前記修飾とは異なっている、請求項51に記載の融合タンパク質。

【請求項53】

前記第1の重鎖定常領域が、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabataによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項52に記載の融合タンパク質。

20

【請求項54】

a. 前記第1の重鎖定常領域が、S354C及びT366W (KabataによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、前記第2の重鎖定常領域が、Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabataによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含むか、又は

b. 前記第2の重鎖定常領域が、S354C及びT366W (KabataによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、前記第1の重鎖定常領域が、Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabataによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む、

30

請求項53に記載の融合タンパク質。

【請求項55】

a. 前記第1の重鎖定常領域が、アミノ酸置換S354C及びT366W (KabataによるEUインデックスの番号づけ) を含み、前記第2の重鎖定常領域が、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabataによるEUインデックスの番号づけ) を含むか、又は

b. 前記第2の重鎖定常領域が、アミノ酸置換S354C及びT366W (KabataによるEUインデックスの番号づけ) を含み、前記第1の重鎖定常領域が、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabataによるEUインデックスの番号づけ) を含む、

40

請求項54に記載の融合タンパク質。

【請求項56】

前記第1の重鎖定常領域、前記第2の重鎖定常領域又はこれら両方が、アミノ酸置換M428L及びN434S (KabataによるEUインデックスの番号づけ) を含む、請求項35～51のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項57】

前記融合タンパク質が、1つ以下のIL-15R α sushiドメインポリペプチド

50

及び 1 つ以下の I L - 1 5 ポリペプチドを含む、請求項 3 5 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 5 8】

前記抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片が、請求項 1 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片である、請求項 3 5 ～ 5 7 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 5 9】

融合タンパク質であって、

- a . 配列番号 6 9 及び／又は配列番号 1 4 5 を含む軽鎖と、
- b . 配列番号 1 5 0 又は配列番号 1 5 1 を含む第 1 の重鎖と、
- c . 配列番号 1 5 7 又は配列番号 1 5 8 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質。

10

【請求項 6 0】

- a . 前記第 1 の重鎖が、配列番号 1 5 0 を含み、
- b . 前記第 2 の重鎖が、配列番号 1 5 7 を含む、請求項 5 9 に記載の融合タンパク質。

【請求項 6 1】

- a . 前記第 1 の重鎖が、配列番号 1 5 1 を含み、
- b . 前記第 2 の重鎖が、配列番号 1 5 8 を含む、請求項 5 9 に記載の融合タンパク質。

【請求項 6 2】

融合タンパク質であって、

- a . 配列番号 1 1 8 及び／又は配列番号 1 4 4 を含む軽鎖と、
- b . 配列番号 1 4 8 又は配列番号 1 4 9 を含む第 1 の重鎖と、
- c . 配列番号 1 5 5 又は配列番号 1 5 6 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質。

20

【請求項 6 3】

- a . 前記第 1 の重鎖が、配列番号 1 4 8 を含み、
- b . 前記第 2 の重鎖が、配列番号 1 5 5 を含む、請求項 6 2 に記載の融合タンパク質。

【請求項 6 4】

- a . 前記第 1 の重鎖が、配列番号 1 4 9 を含み、
- b . 前記第 2 の重鎖が、配列番号 1 5 6 を含む、請求項 6 2 に記載の融合タンパク質。

【請求項 6 5】

融合タンパク質であって、

- a . 配列番号 1 4 5 を含む軽鎖と、
- b . 配列番号 1 5 0 を含む第 1 の重鎖と、
- c . 配列番号 1 5 7 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質。

30

【請求項 6 6】

請求項 1 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質をコードする核酸配列。

【請求項 6 7】

請求項 6 6 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 6 8】

請求項 6 6 に記載の核酸又は請求項 6 7 に記載のベクターを含む、細胞。

40

【請求項 6 9】

請求項 1 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を発現する、細胞。

【請求項 7 0】

請求項 1 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片を含む、抗 B 7 - H 4 結合タンパク質を発現する T 細胞。

【請求項 7 1】

請求項 1 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、抗 B 7 - H 4 結合タンパク質を発現する T 細胞。

【請求項 7 2】

50

前記抗 B 7-H 4 抗体若しくは抗原結合断片、又は前記融合タンパク質が、細胞毒、蛍光標識及び造影剤のうちの 1 つ以上に結合される、請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 7 3】

(i) 請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質と、(i i) 薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。

【請求項 7 4】

抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質を産生する方法であって、前記抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質が産生されるような条件下で、請求項 5 9 に記載の細胞を培養することを含む、方法。

【請求項 7 5】

B 7-H 4 のリガンドへの B 7-H 4 の結合を抑制する必要がある対象で、B 7-H 4 のリガンドへの B 7-H 4 の結合を抑制する方法であって、有効量の請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 7 6】

T 細胞活性化を増強する必要がある対象で、T 細胞活性化を増強する方法であって、有効量の請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 7 7】

C D 8 + T 細胞増殖を増強する必要がある対象で、C D 8 + T 細胞増殖を増強する方法であって、有効量の請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 7 8】

B 7-H 4 発現細胞にて抗体依存性細胞媒介性傷害 (A D C C) を誘導する必要がある対象で、B 7-H 4 発現細胞にて抗体依存性細胞媒介性傷害 (A D C C) を誘導する方法であって、有効量の請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 7 9】

免疫系を刺激する必要がある対象で、免疫系を刺激する方法であって、有効量の請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 8 0】

がんを治療する必要がある対象で、がんを治療する方法であって、有効量の請求項 1～3 4 のいずれか一項に記載の抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 3 5～6 5 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 8 1】

前記がんが、卵巣がん、メラノーマ、膵がん、甲状腺がん、肺がん、大腸がん、扁平上皮がん、前立腺がん、乳がん、膀胱がん又は胃がんである、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記がんが、トリプルネガティブ乳がん又は卵巣がんである、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 3】

腫瘍増殖を減弱する必要がある対象で、腫瘍増殖を減弱する方法であって、有効量の請求項 1～34 のいずれか一項に記載の抗 B7-H4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 35～65 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 84】

腫瘍転移を減少する必要がある対象で、腫瘍転移を減少する方法であって、有効量の請求項 1～34 のいずれか一項に記載の抗 B7-H4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は請求項 35～65 のいずれか一項に記載の融合タンパク質を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 85】

前記対象が、チェックポイント阻害剤を用いた療法に応答しないか、チェックポイント阻害剤治療に最初に応答しないが後にチェックポイント阻害剤のブロッキングに耐性を有するようになる、請求項 75～84 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 86】

更なる治療薬又は更なる療法を施すことを更に含む、請求項 75～85 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 87】

前記更なる治療薬が、がんワクチン、チェックポイント阻害剤、腫瘍特異的抗原に対する抗体、Bacillus Calmette-Guérin ワクチン、細胞毒、インターロイキン 6 受容体 (IL-6R) 阻害剤、インターロイキン 4 受容体 (IL-4R) 阻害剤、IL-10 阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21、IL-15、抗体薬物複合体、抗炎症薬及び栄養補助食品からなる群から選択される、請求項 85 に記載の方法。

【請求項 88】

前記チェックポイント阻害剤が、CTLA-4、PD-1、PD-L1 又は PD-L2 阻害剤である、請求項 87 に記載の方法。

【請求項 89】

前記更なる治療薬が、LAG3、TIGIT、LAP、ポドプラニン、プロテイン C 受容体、ICOS、GITR、CD226 又は CD160 の阻害剤である、請求項 85 に記載の方法。

【請求項 90】

前記更なる療法が、化学療法、放射線療法又は外科手術である、請求項 85 に記載の方法。

【請求項 91】

前記更なる治療薬又は前記更なる療法が、抗 B7-H4 抗体、若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質を同時に、又は継続的に投与される、請求項 85～90 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 92】

前記更なる治療薬が、別々に、又は前記抗 B7-H4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は前記融合タンパク質との混合物として投与される、請求項 85～88 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 93】

前記対象が、B7-H4 の発現を上方制御するか、又は前記対象が、B7-H4 の発現にとって陽性であると認識されている、請求項 74～92 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 94】

前記対象がヒトである、請求項 74～93 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 95】

試料中の B7-H4 を検出する方法であって、前記試料と、請求項 1～34 のいずれか一項に記載の抗 B7-H4 抗体、若しくはその抗原結合断片、又は請求項 35～65 のいずれか一項に記載の融合タンパク質とを接触させることを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【技術分野】

【0001】

本開示は一般に、分子生物学及び医学の分野に関する。より詳細には、本開示は、IL-15ポリペプチドに結合される抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片を含み、IL-15受容体 α (IL-15R α) sushidメインを含む、IL-15R α ポリペプチドに結合される融合タンパク質を提供する。加えて、本開示は、B7-H4に特異的に結合する抗体及びその抗原結合断片と、かかる抗B7-H4抗体又はそのB7-H4結合断片を含む融合タンパク質とを提供する。疾患を治療するための抗体融合物又は抗体を含む治療用組成物もまた開示される。

【背景技術】

【0002】

B7-H4は、腫瘍細胞、抗原提示細胞 (antigen-presenting cell、APC) 及びTAM (tumor-associated macrophage、腫瘍関連マクロファージ) 上でのみ発現されるB7ファミリーの共抑制リガンドである。B7-H4は、T細胞の未同定同族受容体に結合する。PD-L1の発現が免疫学的に「熱い」腫瘍に関連する一方、B7-H4の発現は、「冷たい」環境を特徴とする。B7-H4の発現には、PD-L1の発現と負の相関がある。重要なこととしては、B7-H4の過剰発現は、がん患者での病期の進行及び予後不良と相関する。腫瘍及びTAMによって発現されたB7-H4は、抗腫瘍T細胞の活性を抑制し、T細胞の疲弊した機能不全状態を促進し、腫瘍関連好中球 (骨髄由来抑制細胞) を促進し、且つ制御性T細胞 (Tregs)、IL-6及びIL-10産生を誘導する。

【0003】

IL-15は、サイトカインの4つの α -ヘリックスバンドルファミリーに属する、114アミノ酸を有する12.5 kDaの糖タンパク質である。このファミリーとしては、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor、G-CSF) 及びGM-CSFも挙げられる。IL-15は、マクロファージ、樹状細胞及び単球によって分泌される。IL-15は、セントラルメモリーCD8細胞を刺激して、他のT細胞への影響を調節することなく免疫を発揮することができる。更には、IL-15はナチュラルキラー (natural killer、NK) 細胞並びにエフェクター及びメモリーCD8 T細胞を活性化することができ、且つTregsによって誘導されるアポトーシスからT細胞を救出することができる。IL-15の投与はまた、他のサイトカインと比較すると、高用量でも全身性毒性を誘発するリスクが少ないことにも関連している。ヒトIL-15は、可溶性又は膜結合性であり得る。膜結合性IL-15は、IL-15の主要な形態であり、IL-15を細胞膜に直接結合することで、又は膜結合性IL-15R受容体によるIL-15の提示でのいずれかで形成される。IL-15受容体は、IL-15R α 、IL-15R β 及びIL-15R γ といった3つのサブユニットから構成されている。IL-15は、典型的には、T細胞及びNK細胞上で機能的IL-15R β 及び γ ユニットに結合する前に、APC上で発現されるIL-15受容体 α と複合体を形成する。IL-15は、親和性がある (K_D 10 pM) IL-15R α 受容体と単独で結合することができる。これはまた、親和性が低い (K_D 1 nM) IL-15R $\beta\gamma$ cシグナル伝達複合体に結合する。IL-15R α のsushidメイン (29.5 kDa) は、IL-15及びIL-15R α の複合体の形成において重要な役割を果たす。IL-15による全身性治療の限界の1つは、生体内での半減期が非常に短いことである。したがって、免疫応答を調節する能力を保持しながらも生体内での半減期がより長いIL-15/IL-15R α の好適な免疫刺激形態を産生する必要がある。更には、望ましくない全身性毒性を回避し、より有効な治療的利益をもたらすための、疾患部位を選択的に標的とすることができる有効なIL-15アンタゴニストへの必要性が存在する。

【0004】

IL-2、IL-15、IL-21、腫瘍壊死因子 (tumor necrosis

10

20

30

40

50

factor、TNF)といった様々なサイトカイン及び顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor、GM-CSF)を有するB7-H4抗体が関わる併用療法は、がん及び感染症の治療にある程度の有効性を有し得る。ただし、これらの療法は、有効性を得るのに必要とされるサイトカインの血中濃度が高いことと、罹患した細胞及び組織への投与されたサイトカインの特異性の欠如との両方に関連する全身性毒性によって制限される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

10

したがって、非特異的免疫活性に関連する副作用を有せずに治療的利益をもたらす、様々なエフェクター分子が疾患部位を標的とする新規戦略を開発するための、未だ対処されていないが重要な必要性が存在する。

【課題を解決するための手段】

【0006】

IL-15ポリペプチドに結合される抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片を含み、IL-15受容体 α (IL-15R α) sushidメインを含む、IL-15R α ポリペプチドに結合される融合タンパク質が本明細書で提供される。本開示は、B7-H4に特異的に結合する抗体及びその抗原結合断片と、かかる抗B7-H4抗体又はそのB7-H4結合断片を含む融合タンパク質とを提供する。治療の必要がある対象を治療するための、開示された抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を使用する方法もまた開示される。

20

【0007】

一態様では、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、CDR1、CDR2及びCDR3を含み、

a. CDR1Hは配列番号16を含み、CDR2Hは配列番号17を含み、CDR3Hは配列番号18を含み、

i. CDR1Lは配列番号20を含み、CDR2Lは配列番号21を含み、CDR3Lは配列番号22を含むか、

30

ii. CDR1Lは配列番号66を含み、CDR2Lは配列番号67を含み、CDR3Lは配列番号68を含むか、若しくは

iii. CDR1Lは配列番号70を含み、CDR2Lは配列番号71を含み、CDR3Lは配列番号72を含み、又は

b. CDR1Hは配列番号4を含み、CDR2Hは配列番号5を含み、CDR3Hは配列番号6を含み、

i. CDR1Lは配列番号8を含み、CDR2Lは配列番号9を含み、CDR3Lは配列番号10を含むか、

ii. CDR1Lは配列番号77を含み、CDR2Lは配列番号78を含み、CDR3Lは配列番号79を含むか、若しくは

40

iii. CDR1Lは配列番号81を含み、CDR2Lは配列番号82を含み、CDR3Lは配列番号83を含む。

【0008】

一実施形態では、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片が提供され、CDR1Hは配列番号16を含み、CDR2Hは配列番号17を含み、CDR3Hは配列番号18を含み、CDR1Lは配列番号70を含み、CDR2Lは配列番号71を含み、CDR3Lは配列番号72を含む。

【0009】

一実施形態では、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片が提供され、

a. 重鎖可変領域は配列番号15、若しくは配列番号15と少なくとも90%、少なくとも

50

も 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、

i. 軽鎖可変領域は、配列番号 19、若しくは配列番号 19 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

ii. 軽鎖可変領域は配列番号 65、若しくは配列番号 65 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、若しくは

iii. 軽鎖可変領域は配列番号 69、若しくは配列番号 69 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、又は

b. 重鎖可変領域は配列番号 3、若しくは配列番号 3 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、

i. 軽鎖可変領域は配列番号 7、若しくは配列番号 7 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

ii. 軽鎖可変領域は配列番号 76、若しくは配列番号 76 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、若しくは

iii. 軽鎖可変領域は配列番号 80、若しくは配列番号 80 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

【0010】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 15、又は配列番号 15 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 69、又は配列番号 69 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

【0011】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片が提供され、

a. 重鎖可変領域は配列番号 15 を含み、

i. 軽鎖可変領域は配列番号 19 を含み、

ii. 軽鎖可変領域は配列番号 65 を含み、

iii. 軽鎖可変領域は配列番号 69 を含み、又は

b. 重鎖可変領域は配列番号 3 を含み、

i. 軽鎖可変領域は、配列番号 7 を含むか、

ii. 軽鎖可変領域は配列番号 76 を含むか、若しくは

iii. 軽鎖可変領域は配列番号 80 を含む。

【0012】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 15 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 69 を含む。

【0013】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又はその抗原結合断片は、ヒト hB7-H4 の IgV ドメインに結合する。

【0014】

一態様では、抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、CDR1、CDR2 及び CDR3 を含み、CDR1H は配列番号 46 を含み、C

10

20

30

40

50

D R 2 Hは配列番号 4 7を含み、C D R 3 Hは配列番号 4 8を含み、

a. C D R 1 Lは配列番号 5 0を含み、C D R 2 Lは配列番号 5 1を含み、C D R 3 Lは配列番号 5 2を含むか、

b. C D R 1 Lは配列番号 8 8を含み、C D R 2 Lは配列番号 8 9を含み、C D R 3 Lは配列番号 9 0を含むか、

c. C D R 1 Lは配列番号 9 2を含み、C D R 2 Lは配列番号 9 3を含み、C D R 3 Lは配列番号 9 4を含むか、

d. C D R 1 Lは配列番号 9 6を含み、C D R 2 Lは配列番号 9 7を含み、C D R 3 Lは配列番号 9 8を含むか、

e. C D R 1 Lは配列番号 1 0 0を含み、C D R 2 Lは配列番号 1 0 1を含み、C D R 3 Lは配列番号 1 0 2を含むか、

f. C D R 1 Lは配列番号 1 0 4を含み、C D R 2 Lは配列番号 1 0 5を含み、C D R 3 Lは配列番号 1 0 6を含むか、又は

g. C D R 1 Lは配列番号 1 0 8を含み、C D R 2 Lは配列番号 1 0 9を含み、C D R 3 Lは配列番号 1 1 0を含む。

10

【 0 0 1 5 】

一実施形態では、抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、C D R 1 Hは配列番号 4 6を含み、C D R 2 Hは配列番号 4 7を含み、C D R 3 Hは配列番号 4 8を含み、C D R 1 Lは配列番号 1 0 8を含み、C D R 2 Lは配列番号 1 0 9を含み、C D R 3 Lは配列番号 1 1 0を含む。

20

【 0 0 1 6 】

一実施形態では、抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5、又は配列番号 4 5と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む、

a. 軽鎖可変領域は、配列番号 4 9、若しくは配列番号 4 9と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

b. 軽鎖可変領域は、配列番号 8 7、若しくは配列番号 8 7と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

30

c. 軽鎖可変領域は、配列番号 9 1、若しくは配列番号 9 1と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

d. 軽鎖可変領域は、配列番号 9 5、若しくは配列番号 9 5と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

e. 軽鎖可変領域は配列番号 9 9、若しくは配列番号 9 9と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、

40

f. 軽鎖可変領域は配列番号 1 0 3、若しくは配列番号 1 0 3と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含むか、又は

g. 軽鎖可変領域は配列番号 1 0 7、若しくは配列番号 1 0 7と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

【 0 0 1 7 】

一実施形態では、抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5、又は配列番号 4 5と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列

50

を含み、軽鎖可変領域は配列番号 107、又は配列番号 107 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

【0018】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、

- a. 軽鎖可変領域は、配列番号 49 を含むか、
- b. 軽鎖可変領域は、配列番号 87 を含むか、
- c. 軽鎖可変領域は、配列番号 91 を含むか、
- d. 軽鎖可変領域は、配列番号 95 を含むか、
- e. 軽鎖可変領域は、配列番号 99 を含むか、
- f. 軽鎖可変領域は、配列番号 103 を含むか、又は
- g. 軽鎖可変領域は、配列番号 107 を含む。

10

【0019】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 107 を含む。

【0020】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又はその抗原結合断片は、ヒト及びマウス hB7-H4 の IgC ドメインに結合する。

【0021】

一態様では、抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、CDR1、CDR2 及び CDR3 を含み、CDR1H は配列番号 58 を含み、CDR2H は配列番号 59 を含み、CDR3H は配列番号 60 を含み、

- a. CDR1L は配列番号 62 を含み、CDR2L は配列番号 63 を含み、CDR3L は配列番号 64 を含むか、
- b. CDR1L は配列番号 115 を含み、CDR2L は配列番号 116 を含み、CDR3L は配列番号 117 を含むか、
- c. CDR1L は配列番号 119 を含み、CDR2L は配列番号 120 を含み、CDR3L は配列番号 121 を含むか、
- d. CDR1L は配列番号 123 を含み、CDR2L は配列番号 124 を含み、CDR3L は配列番号 125 を含むか、
- e. CDR1L は配列番号 127 を含み、CDR2L は配列番号 128 を含み、CDR3L は配列番号 129 を含むか、又は
- f. CDR1L は配列番号 131 を含み、CDR2L は配列番号 132 を含み、CDR3L は配列番号 133 を含む。

20

30

【0022】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、CDR1H は配列番号 58 を含み、CDR2H は配列番号 59 を含み、CDR3H は配列番号 60 を含み、CDR1L は配列番号 119 を含み、CDR2L は配列番号 120 を含み、CDR3L は配列番号 121 を含む。

40

【0023】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 57、又は配列番号 57 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、

- a. 軽鎖可変領域は配列番号 61、若しくは配列番号 61 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、
- b. 軽鎖可変領域は配列番号 114、若しくは配列番号 114 と少なくとも 90%、少な

50

くとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

c. 軽鎖可変領域は配列番号 118、若しくは配列番号 118 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

d. 軽鎖可変領域は配列番号 122、若しくは配列番号 122 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、

e. 軽鎖可変領域は配列番号 126、若しくは配列番号 126 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含むか、又は

f. 軽鎖可変領域は配列番号 130、若しくは配列番号 130 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

【0024】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 57、又は配列番号 57 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 118、又は配列番号 118 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

【0025】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 57 を含み、

a. 軽鎖可変領域は、配列番号 61 を含むか、

b. 軽鎖可変領域は、配列番号 114 を含むか、

c. 軽鎖可変領域は、配列番号 118 を含むか、

d. 軽鎖可変領域は、配列番号 122 を含むか、

e. 軽鎖可変領域は、配列番号 126 を含むか、又は

f. 軽鎖可変領域は、配列番号 130 を含む。

【0026】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は配列番号 57 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 118 を含む。

【0027】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又はその抗原結合断片は、ヒト及びマウス hB7-H4 の IgV ドメインに結合する。

【0028】

一実施形態では、本明細書に開示される抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片と同じ、B7-H4 上のエピトープに結合する抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供される。

【0029】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又は抗原結合断片は、キメラ抗体、CDR 移植抗体、若しくはヒト化抗体、又はそれらの抗原結合断片である。

【0030】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又は抗原結合断片は、多重特異性若しくは二重特異性抗体、又はそれらの抗原結合断片である。

【0031】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又は抗原結合断片は、scFv、Fv、Fab'、F(ab')₂、又はダイアボディである。

10

20

30

40

50

【0032】

一実施形態では、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体は、IgGクラスの免疫グロブリンである。

【0033】

一実施形態では、抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又は抗原結合断片は、アイソタイプIgG1を有する。

【0034】

一実施形態では、抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又は抗原結合断片は、脱グリコシル化されている。

【0035】

一実施形態では、抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が提供され、抗体、又は抗原結合断片は、第1の重鎖定常領域及び第2の重鎖定常領域を含み、抗体、又はその抗原結合断片は、第1の重鎖定常領域及び第2の重鎖定常領域のCH3ドメインに、ヘテロ二量体化を引き起こす少なくとも1つの修飾を含む。一実施形態では、第1の重鎖定常領域のCH3ドメインでの修飾は、第2の重鎖定常領域のCH3ドメインでの修飾とは異なっている。一実施形態では、第1の重鎖定常領域は、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、第2の重鎖定常領域は、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、(i) 第1の重鎖定常領域は、S354C及びT366W（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、第2の重鎖定常領域は、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、又は(ii) 第2の重鎖定常領域は、S354C及びT366W（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、第1の重鎖定常領域は、Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、(i) 第1の重鎖定常領域は、アミノ酸置換S354C及びT366W（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）を含み、第2の重鎖定常領域は、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）を含み、又は(ii) 第2の重鎖定常領域は、アミノ酸置換S354C及びT366W（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）を含み、第1の重鎖定常領域は、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407Vを含む。一実施形態では、第1の重鎖定常領域、第2の重鎖定常領域又はこれら両方は、アミノ酸置換M428L及びN434S（KabatatによるEUインデックスの番号づけ）を含む。

【0036】

一態様では、

- a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片と、
- b. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushidメインポリペプチドと、
- c. 配列番号166、又は配列番号166と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチドと、を含む融合タンパク質が提供される。

【0037】

いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、重鎖CDR1（CDR1H）、CDR2（CDR2H）及びCDR3（CDR3H）並びに軽鎖CDR1（CDR1L）、CDR

10

20

30

40

50

2 (CDR2L) 及び CDR3 (CDR3L) を含み、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 70 を含み、CDR2L は配列番号 71 を含み、CDR3L は配列番号 72 を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、重鎖 CDR1 (CDR1H)、CDR2 (CDR2H) 及び CDR3 (CDR3H) 並びに軽鎖 CDR1 (CDR1L)、CDR2 (CDR2L) 及び CDR3 (CDR3L) を含み、CDR1H は配列番号 172 を含み、CDR2H は配列番号 173 を含み、CDR3H は配列番号 174 を含み、CDR1L は配列番号 175 を含み、CDR2L は配列番号 176 を含み、CDR3L は配列番号 177 を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、重鎖 CDR1 (CDR1H)、CDR2 (CDR2H) 及び CDR3 (CDR3H) 並びに軽鎖 CDR1 (CDR1L)、CDR2 (CDR2L) 及び CDR3 (CDR3L) を含み、CDR1H は配列番号 178 を含み、CDR2H は配列番号 179 を含み、CDR3H は配列番号 180 を含み、CDR1L は配列番号 181 を含み、CDR2L は配列番号 182 を含み、CDR3L は配列番号 183 を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、重鎖 CDR1 (CDR1H)、CDR2 (CDR2H) 及び CDR3 (CDR3H) 並びに軽鎖 CDR1 (CDR1L)、CDR2 (CDR2L) 及び CDR3 (CDR3L) を含み、CDR1H は配列番号 184 を含み、CDR2H は配列番号 185 を含み、CDR3H は配列番号 186 を含み、CDR1L は配列番号 187 を含み、CDR2L は配列番号 188 を含み、CDR3L は配列番号 189 を含む。

10

20

【0038】

一実施形態では、IL-15R α sushi ドメインポリペプチドは、配列番号 167 を含む。一実施形態では、IL-15R α sushi ドメインポリペプチドは、配列番号 167 のアミノ酸配列からなる。一実施形態では、IL-15 ポリペプチドは配列番号 166 を含む。一実施形態では、IL-15 ポリペプチドは配列番号 166 からなる。一実施形態では、IL-15R α sushi ドメインポリペプチドは、IL-15 ポリペプチドの N 末端に融合される。

【0039】

一実施形態では、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片は、第 1 の重鎖定常領域及び第 2 の重鎖定常領域を含み、IL-15R α sushi ドメインポリペプチド及び IL-15 ポリペプチドは、第 1 の重鎖定常領域の C 末端に融合される。一実施形態では、融合タンパク質は、(i) IL-15R α sushi ドメインポリペプチド及び IL-15 ポリペプチドと、(ii) 定常領域の C 末端とを結合するリンカーを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、25~35 アミノ酸長である。いくつかの実施形態では、リンカーは、主に Gly (G)、Asn (N)、Ser (S)、Thr (T)、Ala (A)、Leu (L) 及び Gln (Q) からなる。一実施形態では、リンカーは配列番号 168 を含む。一実施形態では、融合タンパク質は配列番号 169 を含む。一実施形態では、第 1 の重鎖定常領域及び第 2 の重鎖定常領域は、第 1 の重鎖定常領域及び第 2 の重鎖定常領域の CH3 ドメインに、ヘテロ二量体化を引き起こす少なくとも 1 つの修飾を含む。一実施形態では、第 1 の重鎖定常領域の CH3 ドメインでの修飾は、第 2 の重鎖定常領域の CH3 ドメインでの修飾とは異なっている。一実施形態では、第 1 の重鎖定常領域は、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A 及び Y407V (Kabata による EU インデックスの番号づけ) からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、(i) 第 1 の重鎖定常領域は、S354C 及び T366W (Kabata による EU インデックスの番号づけ) からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を含み、第 2 の重鎖定常領域は、Y349C、T366S、L368A 及び Y407V (Kabata による EU インデックスの番号づけ) からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を含み、又は (ii) 第 2 の重鎖定常領域は、S354C 及び T366W (Kabata による EU インデックスの番号づけ) からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸置換を含み、第 1 の重鎖定常領域は、Y349C、T366S、L368A 及び Y407V (Kabata による EU インデックスの番号づけ) からなる

30

40

50

群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、(i)第1の重鎖定常領域は、アミノ酸置換S354C及びT366W(KabatによるEUインデックスの番号づけ)を含み、第2の重鎖定常領域は、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V(KabatによるEUインデックスの番号づけ)を含み、又は(ii)第2の重鎖定常領域は、アミノ酸置換S354C及びT366W(KabatによるEUインデックスの番号づけ)を含み、第1の重鎖定常領域は、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407Vを含む。一実施形態では、第1の重鎖定常領域、第2の重鎖定常領域又はこれら両方は、アミノ酸置換M428L及びN434S(KabatによるEUインデックスの番号づけ)を含む。一実施形態では、融合タンパク質は、1つ以下のIL-15R α sushidメインポリペプチド及び1つ以下のIL-15ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む。

10

【0040】

一態様では、

- a. 配列番号69及び／又は配列番号145を含む軽鎖と、
- b. 配列番号150又は配列番号151を含む第1の重鎖と、
- c. 配列番号157又は配列番号158を含む第2の重鎖と、を含む融合タンパク質が提供される。

【0041】

一実施形態では、第1の重鎖は配列番号150を含み、第2の重鎖は配列番号157を含む。一実施形態では、第1の重鎖は配列番号151を含み、第2の重鎖は配列番号158を含む。

20

【0042】

一態様では、

- a. 配列番号118及び／又は配列番号144を含む軽鎖と、
- b. 配列番号148又は配列番号149を含む第1の重鎖と、
- c. 配列番号155又は配列番号156を含む第2の重鎖と、を含む融合タンパク質が提供される。

【0043】

一実施形態では、第1の重鎖は、配列番号148を含み、第2の重鎖は、配列番号155を含む。

30

【0044】

一実施形態では、第1の重鎖は、配列番号149を含み、第2の重鎖は、配列番号156を含む。

【0045】

一態様では、配列番号145を含む軽鎖と、配列番号150を含む第1の重鎖と、配列番号157を含む第2の重鎖と、を含む融合タンパク質が提供される。

【0046】

一態様では、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質をコードする核酸配列が提供される。

40

【0047】

本明細書に開示される核酸を含むベクターが、本明細書に開示される。本明細書に開示される2つ以上の核酸分子を含むベクターのセットが、本明細書に開示される。

【0048】

本明細書に開示される核酸又はベクターを含む細胞が、本明細書に開示される。本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を発現する細胞が、本明細書に開示される。本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を発現するT細胞が、本明細書に開示される。本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片の可変重鎖及び可変軽鎖を含む抗B7-H4結合タンパク質を発現するT細胞が、本明細書に開示される。いくつかの実施

50

形態では、細胞は単離されている。

【0049】

いくつかの実施形態では、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質は、細胞毒、蛍光標識及び造影剤のうちの 1 つ以上に結合される。

【0050】

(i) 本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質と、(ii) 薬学的に許容される担体と、を含む医薬組成物が、本明細書で提供される。

【0051】

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を産生する方法が本明細書で提供され、方法は、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質が産生されるような条件下で、本明細書に開示される細胞を培養することを含む。

10

【0052】

B 7-H 4 のリガンドへの B 7-H 4 の結合を抑制する必要がある対象で、B 7-H 4 のリガンドへの B 7-H 4 の結合を抑制する方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。

【0053】

T 細胞活性化を増強する必要がある対象で、T 細胞活性化を増強する方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。

20

【0054】

CD 8+T 細胞増殖を増強する必要がある対象で、CD 8+T 細胞増殖を増強する方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。

【0055】

B 7-H 4 発現細胞にて抗体依存性細胞媒介性傷害 (antibody dependent cell mediated cytotoxicity、ADCC) を誘導する必要がある対象で、B 7-H 4 発現細胞にて抗体依存性細胞媒介性傷害 (ADCC) を誘導する方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。

30

【0056】

免疫系を刺激する必要がある対象で、免疫系を刺激する方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。

【0057】

がんを治療する必要がある対象で、がんを治療する方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、がんは、卵巣がん、メラノーマ、膵がん、甲状腺がん、肺がん、大腸がん、扁平上皮がん、前立腺がん、乳がん、膀胱がん又は胃がんである。いくつかの実施形態では、がんは、トリプルネガティブ乳がん又は卵巣がんである。

40

【0058】

腫瘍増殖を減退させる必要がある対象で、腫瘍増殖を減退させる方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。

【0059】

腫瘍転移を減少させる必要がある対象で、腫瘍転移を減少させる方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片

50

、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。

【0060】

一実施形態では、方法は、更なる治療薬又は更なる療法を施すことを更に含む。いくつかの実施形態では、更なる治療薬は、がんワクチン、チェックポイント阻害剤、腫瘍特異的抗原に対する抗体、Bacillus Calmette-Guérinワクチン、細胞毒、インターロイキン6受容体（IL-6R）阻害剤、インターロイキン4受容体（IL-4R）阻害剤、IL-10阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21、IL-15、抗体薬物複合体、抗炎症薬及び栄養補助食品からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、PD-L1又はPD-L2阻害剤である。いくつかの実施形態では、更なる治療薬は、LAG3、TIGIT、LAP、ボドブラニン、プロテインC受容体、ICOS、GITR、CD226又はCD160の阻害剤である。いくつかの実施形態では、更なる療法は、化学療法、放射線療法又は外科手術である。いくつかの実施形態では、更なる治療薬又は更なる療法は、抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を同時に、又は継続的に投与される。いくつかの実施形態では、更なる治療薬は、抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質と別々に、又はこれらの混合物として投与される。

10

【0061】

一実施形態では、対象は、B7-H4の発現を上方制御するか、又は対象は、B7-H4の発現にとって陽性であると認識されている。一実施形態では、対象は、チェックポイント阻害剤を用いた療法に応答しないか、チェックポイント阻害剤治療に最初に応答しないが後にチェックポイント阻害剤のブロッキングに耐性を有するようになる。一実施形態では、対象はヒトである。

20

【0062】

一態様では、試料中のB7-H4を検出する方法が提供され、方法は、試料と、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質とを接触させることを含む。

【図面の簡単な説明】

【0063】

【図1A】高グリコシル化IgC及び非常に短い細胞質側末端を含む、B7-H4'特有の構造を示す。

30

【図1B】本明細書に開示される例示的な融合タンパク質を示す。

【図2】B7-H4上で完全ヒトscFvファージディスプレイライブラリー（Distributed Bio製Superman2.0）のパニングと、それに続くアフニティマチュレーション（軽鎖シャッフリング）とによって高親和性B7-H4抗体を得るプロセスを示す。

【図3A-3B】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体1D3、3F2、1A12、1F11及び6C3の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図3A）、hB7-H4-his（図3B）、mB7-H4-Fc（図3C）及びhB7-H4 IgVドメイン（図3D）への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4（図3E）又はmB7-H4（図3F）を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体1D3、3F2、1A12、1F11及び6C3は、可溶性hB7-H4と細胞hB7-H4との両方、特異的にはhB7-H4のIgVドメインに結合した。

40

【図3C-3D】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体1D3、3F2、1A12、1F11及び6C3の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図3A）、hB7-H4-his（図3B）、mB7-H4-Fc（図3C）及びhB7-H4 IgVドメイン（図3D）への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4（図3E）又はmB7-H4（図3F）を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体1D3、3F2、1A12、1F11及び6C3は、可溶性hB7-H4と細胞hB7-H4との両方、特異的にはhB7-H4のIgVドメインに結

50

合した。

【図 3 E - 3 F】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 1 D 3、3 F 2、1 A 1 2、1 F 1 1 及び 6 C 3 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 3 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 3 B)、m B 7 - H 4 - F c (図 3 C) 及び h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 3 D) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 3 E) 又は m B 7 - H 4 (図 3 F) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 1 D 3、3 F 2、1 A 1 2、1 F 1 1 及び 6 C 3 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。

【図 4 A - 4 B】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 6 C 3、1 D 3、3 D 1 及び 4 H 6 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 4 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 4 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 4 C) 及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 4 D) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 4 E) 又は m B 7 - H 4 (図 4 F) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 6 C 3、1 D 3、3 D 1 及び 4 H 6 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 4 C - 4 D】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 6 C 3、1 D 3、3 D 1 及び 4 H 6 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 4 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 4 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 4 C) 及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 4 D) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 4 E) 又は m B 7 - H 4 (図 4 F) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 6 C 3、1 D 3、3 D 1 及び 4 H 6 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 4 E - 4 F】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 6 C 3、1 D 3、3 D 1 及び 4 H 6 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 4 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 4 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 4 C) 及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 4 D) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 4 E) 又は m B 7 - H 4 (図 4 F) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 6 C 3、1 D 3、3 D 1 及び 4 H 6 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 5 A - 5 B】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 9 H 2 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 5 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 5 B)、m B 7 - H 4 - F c ドメイン (図 5 C)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 5 D) 及び h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 5 E) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 5 F) 又は m B 7 - H 4 (図 5 G) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 9 H 2 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体及び I g C 結合抗体を使用した。

【図 5 C - 5 D】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 9 H 2 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 5 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 5 B)、m B 7 - H 4 - F c ドメイン (図 5 C)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 5 D) 及び h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 5 E) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 5 F) 又は m B 7 - H 4 (図 5 G) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 9 H 2 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体及び I g C 結合抗体を使用した。

【図 5 E - 5 F】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 9 H 2 の結合を示

す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 5 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 5 B)、m B 7 - H 4 - F c ドメイン (図 5 C)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 5 D) 及び h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 5 E) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 5 F) 又は m B 7 - H 4 (図 5 G) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 9 H 2 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体及び I g C 結合抗体を使用した。

【図 5 G】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 9 H 2 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 5 A)、h B 7 - H 4 - h i s (図 5 B)、m B 7 - H 4 - F c ドメイン (図 5 C)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 5 D) 及び h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 5 E) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 5 F) 又は m B 7 - H 4 (図 5 G) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 9 H 2 は、可溶性 h B 7 - H 4 と細胞 h B 7 - H 4 との両方、特異的には h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体及び I g C 結合抗体を使用した。

【図 6 A - 6 B】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 5 G 6、9 E 1、5 F 4、5 E 4 及び 4 B 9 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 6 A)、m B 7 - H 4 - h F c (図 6 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 6 C) 及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 6 D) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 6 E) 又は m B 7 - H 4 (図 6 F) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 5 E 4、5 F 4、5 G 6 及び 9 E 1 は、ヒト B 7 - H 4 とマウス B 7 - H 4 との両方の I g C ドメインに結合した。抗体 4 B 9 は、h B 7 - H 4 - F c に強固に結合したが、m B 7 - H 4 には結合しなかった。抗体 4 B 9 の結合には、I g V と I g C の両方が必要であった。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 6 C - 6 D】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 5 G 6、9 E 1、5 F 4、5 E 4 及び 4 B 9 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 6 A)、m B 7 - H 4 - h F c (図 6 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 6 C) 及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 6 D) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 6 E) 又は m B 7 - H 4 (図 6 F) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 5 E 4、5 F 4、5 G 6 及び 9 E 1 は、ヒト B 7 - H 4 とマウス B 7 - H 4 との両方の I g C ドメインに結合した。抗体 4 B 9 は、h B 7 - H 4 - F c に強固に結合したが、m B 7 - H 4 には結合しなかった。抗体 4 B 9 の結合には、I g V と I g C の両方が必要であった。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 6 E - 6 F】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 5 G 6、9 E 1、5 F 4、5 E 4 及び 4 B 9 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 6 A)、m B 7 - H 4 - h F c (図 6 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 6 C) 及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 6 D) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 6 E) 又は m B 7 - H 4 (図 6 F) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 5 E 4、5 F 4、5 G 6 及び 9 E 1 は、ヒト B 7 - H 4 とマウス B 7 - H 4 との両方の I g C ドメインに結合した。抗体 4 B 9 は、h B 7 - H 4 - F c に強固に結合したが、m B 7 - H 4 には結合しなかった。抗体 4 B 9 の結合には、I g V と I g C の両方が必要であった。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 7 A - 7 B】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 9 D 1 1、2 4 B 6、1 5 B 1 1、3 0 G 4 及び 2 4 F 4 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 7 A)、h B 7 - H 4 - H i s (図 7 B)、m B 7 - H 4 - h F c (図 7 C)、m B 7 - H 4 - H i s (図 7 D)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 7 E) 及び m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 7 F) への結合を決定した。フローサイトメトリー

実験を実施し、hB7-H4 (図7G) 又はmB7-H4 (図7H) を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体9D11、24B6、15B11、30G4及び24F4は、ヒトB7-H4とマウスB7-H4との両方のIgCドメインに結合した。対照として、交差反応性IgC結合抗体を使用した。

【図7C-7D】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体9D11、24B6、15B11、30G4及び24F4の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc (図7A)、hB7-H4-His (図7B)、mB7-H4-hFc (図7C)、mB7-H4-His (図7D)、hB7-H4 IgCドメイン (図7E) 及びmB7-H4 IgCドメイン (図7F) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4 (図7G) 又はmB7-H4 (図7H) を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体9D11、24B6、15B11、30G4及び24F4は、ヒトB7-H4とマウスB7-H4との両方のIgCドメインに結合した。対照として、交差反応性IgC結合抗体を使用した。

【図7E-7F】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体9D11、24B6、15B11、30G4及び24F4の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc (図7A)、hB7-H4-His (図7B)、mB7-H4-hFc (図7C)、mB7-H4-His (図7D)、hB7-H4 IgCドメイン (図7E) 及びmB7-H4 IgCドメイン (図7F) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4 (図7G) 又はmB7-H4 (図7H) を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体9D11、24B6、15B11、30G4及び24F4は、ヒトB7-H4とマウスB7-H4との両方のIgCドメインに結合した。対照として、交差反応性IgC結合抗体を使用した。

【図7G-7H】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体9D11、24B6、15B11、30G4及び24F4の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc (図7A)、hB7-H4-His (図7B)、mB7-H4-hFc (図7C)、mB7-H4-His (図7D)、hB7-H4 IgCドメイン (図7E) 及びmB7-H4 IgCドメイン (図7F) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4 (図7G) 又はmB7-H4 (図7H) を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体9D11、24B6、15B11、30G4及び24F4は、ヒトB7-H4とマウスB7-H4との両方のIgCドメインに結合した。対照として、交差反応性IgC結合抗体を使用した。

【図8A-8B】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体39A11及び31D7の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc (図8A)、hB7-H4-His (図8B)、mB7-H4-hFc (図8C)、mB7-H4-His (図8D)、hB7-H4 IgVドメイン (図8E)、hB7-H4 IgCドメイン (図8F)、mB7-H4 IgVドメイン (図8G) 及びmB7-H4 IgCドメイン (図8H) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4 (図8I) 又はmB7-H4 (図8J) を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体39A11及び31D7は、ヒトB7-H4とマウスB7-H4との両方のIgVドメインに結合した。対照として、交差反応性IgV結合抗体を使用した。

【図8C-8D】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体39A11及び31D7の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc (図8A)、hB7-H4-His (図8B)、mB7-H4-hFc (図8C)、mB7-H4-His (図8D)、hB7-H4 IgVドメイン (図8E)、hB7-H4 IgCドメイン (図8F)、mB7-H4 IgVドメイン (図8G) 及びmB7-H4 IgCドメイン (図8H) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4 (図8I) 又はmB7-H4 (図8J) を発現するCHO細胞への結合を決定した。抗体39A11及び31D7は、ヒトB7-H4とマウスB7-H4との両方のIgVドメインに結合した。対照として、交差反応性IgV結合抗体を使用した。

【図8E-8F】可溶性B7-H4と細胞B7-H4との両方への抗体39A11及び3

1 D 7 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 8 A)、h B 7 - H 4 - H i s (図 8 B)、m B 7 - H 4 - h F c (図 8 C)、m B 7 - H 4 - H i s (図 8 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 8 E)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 8 F)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 8 G) 及び m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 8 H) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 8 I) 又は m B 7 - H 4 (図 8 J) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 3 9 A 1 1 及び 3 1 D 7 は、ヒト B 7 - H 4 とマウス B 7 - H 4 との両方の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 8 G - 8 H】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 3 9 A 1 1 及び 3 1 D 7 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 8 A)、h B 7 - H 4 - H i s (図 8 B)、m B 7 - H 4 - h F c (図 8 C)、m B 7 - H 4 - H i s (図 8 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 8 E)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 8 F)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 8 G) 及び m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 8 H) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 8 I) 又は m B 7 - H 4 (図 8 J) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 3 9 A 1 1 及び 3 1 D 7 は、ヒト B 7 - H 4 とマウス B 7 - H 4 との両方の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 8 I - 8 J】可溶性 B 7 - H 4 と細胞 B 7 - H 4 との両方への抗体 3 9 A 1 1 及び 3 1 D 7 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 8 A)、h B 7 - H 4 - H i s (図 8 B)、m B 7 - H 4 - h F c (図 8 C)、m B 7 - H 4 - H i s (図 8 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 8 E)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 8 F)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 8 G) 及び m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 8 H) への結合を決定した。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 (図 8 I) 又は m B 7 - H 4 (図 8 J) を発現する C H O 細胞への結合を決定した。抗体 3 9 A 1 1 及び 3 1 D 7 は、ヒト B 7 - H 4 とマウス B 7 - H 4 との両方の I g V ドメインに結合した。対照として、交差反応性 I g V 結合抗体を使用した。

【図 9 A - 9 B】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 1 D 3 / 1 D 3、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 5 A 2、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2、3 F 2 / 3 F 2、3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 4 9 A 2 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 9 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 9 B)、h B 7 - H 4 - h i s (図 9 C)、m B 7 - H 4 - h i s (図 9 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 E)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 F)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 G)、m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 H) への結合を決定した。3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 4 9 A 2 は、3 F 2 と同じ重鎖配列を有するが、3 F 2 とは異なる軽鎖配列を有する。1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2 及び 1 D 3 / 4 5 A 2 は、1 D 3 と同じ重鎖配列を有するが、1 D 3 とは異なる軽鎖配列を有する。抗体 C 3 及び 4 9 A 2 は、同じ V H 及び V L 配列を有する。

【図 9 C - 9 D】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 1 D 3 / 1 D 3、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 5 A 2、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2、3 F 2 / 3 F 2、3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 4 9 A 2 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 9 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 9 B)、h B 7 - H 4 - h i s (図 9 C)、m B 7 - H 4 - h i s (図 9 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 E)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 F)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 G)、m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 H) への結合を決定した。3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 4 9 A 2 は、3 F 2 と同じ重鎖配列を有するが、3 F 2 とは異なる軽鎖配列を有する。1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2 及び 1 D 3 / 4 5 A 2 は、1 D 3 と同じ重鎖配列を有するが、1 D 3 とは異なる軽鎖配列を有する。抗体 C 3 及び 4 9 A 2 は、同じ V H 及び V L 配列を有する。

【図 9 E - 9 F】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 1 D 3 / 1 D 3、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 5 A 2、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2、3 F 2 / 3 F 2、3 F 2 / 3 F

10

20

30

40

50

2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 4 9 A 2 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 9 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 9 B)、h B 7 - H 4 - h i s (図 9 C)、m B 7 - H 4 - h i s (図 9 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 E)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 F)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 G)、m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 H) への結合を決定した。3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 4 9 A 2 は、3 F 2 と同じ重鎖配列を有するが、3 F 2 とは異なる軽鎖配列を有する。1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2 及び 1 D 3 / 4 5 A 2 は、1 D 3 と同じ重鎖配列を有するが、1 D 3 とは異なる軽鎖配列を有する。抗体 C 3 及び 4 9 A 2 は、同じ V H 及び V L 配列を有する。

【図 9 G - 9 H】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 1 D 3 / 1 D 3、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 5 A 2、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2、3 F 2 / 3 F 2、3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 4 9 A 2 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 9 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 9 B)、h B 7 - H 4 - h i s (図 9 C)、m B 7 - H 4 - h i s (図 9 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 E)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 9 F)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 G)、m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 9 H) への結合を決定した。3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 4 9 A 2 は、3 F 2 と同じ重鎖配列を有するが、3 F 2 とは異なる軽鎖配列を有する。1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2 及び 1 D 3 / 4 5 A 2 は、1 D 3 と同じ重鎖配列を有するが、1 D 3 とは異なる軽鎖配列を有する。抗体 C 3 及び 4 9 A 2 は、同じ V H 及び V L 配列を有する。

【図 1 0 A - 1 0 B】細胞結合 B 7 - H 4 への抗体 1 D 3 / 1 D 3、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 5 A 2、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2、3 F 2 / 3 F 2、3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 4 9 A 2 の結合を示す。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 を発現する C H O 細胞 (図 1 0 A)、m B 7 - H 4 を発現する C H O 細胞 (図 1 0 B)、h B 7 - H 4 を発現するトリプルネガティブ乳がん細胞株 M D A - M B - 4 6 8 細胞 (図 1 0 C) 及び h B 7 - H 4 を発現する卵巣がん細胞株 S K - B R - 3 細胞 (図 1 0 D) への結合を決定した。

【図 1 0 C - 1 0 D】細胞結合 B 7 - H 4 への抗体 1 D 3 / 1 D 3、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 5 A 2、1 D 3 / 1 D 3 誘導体 1 D 3 / 4 7 B 2、3 F 2 / 3 F 2、3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び 3 F 2 / 3 F 2 誘導体 3 F 2 / 4 9 A 2 の結合を示す。フローサイトメトリー実験を実施し、h B 7 - H 4 を発現する C H O 細胞 (図 1 0 A)、m B 7 - H 4 を発現する C H O 細胞 (図 1 0 B)、h B 7 - H 4 を発現するトリプルネガティブ乳がん細胞株 M D A - M B - 4 6 8 細胞 (図 1 0 C) 及び h B 7 - H 4 を発現する卵巣がん細胞株 S K - B R - 3 細胞 (図 1 0 D) への結合を決定した。

【図 1 1 A - 1 1 B】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 9 D 1 1 / 9 D 1 1 及び 9 D 1 1 / 9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 H 9、9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2 及び 9 D 1 1 / 6 7 G 3 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 1 1 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 1 1 B)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 1 C)、m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 1 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 1 E)、及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 1 F) への結合を決定した。9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 E 1 2、9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、9 D 1 1 / 6 7 H 9、9 D 1 1 / 6 7 G 3 及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 は、9 D 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、9 D 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

【図 1 1 C - 1 1 D】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 9 D 1 1 / 9 D 1 1 及び 9 D 1 1 / 9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 H 9、9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2 及び 9 D 1 1 / 6 7 G 3 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 1 1 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 1 1 B)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 1 C)、m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 1 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 1 E)、及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 1 F) への結合を決定した。9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 E 1 2、9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、

9 D 1 1 / 6 7 H 9、9 D 1 1 / 6 7 G 3 及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 は、9 D 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、9 D 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

【図 1 1 E - 1 1 F】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 9 D 1 1 / 9 D 1 1 及び 9 D 1 1 / 9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 H 9、9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2 及び 9 D 1 1 / 6 7 G 3 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 1 1 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 1 1 B)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 1 C)、m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 1 D)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 1 E)、及び m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 1 F) への結合を決定した。9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 E 1 2、9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、9 D 1 1 / 6 7 H 9、9 D 1 1 / 6 7 G 3 及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 は、9 D 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、9 D 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

10

【図 1 2 A - 1 2 B】可溶性 B 7 - H 4 への 9 D 1 1 / 9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2 及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 1 2 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 1 2 B)、h B 7 - H 4 - h i s (図 1 2 C) 及び h B 7 - H 4 - h i s (図 1 2 D) への結合を決定した。9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2 及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 は、9 D 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、9 D 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

【図 1 2 C - 1 2 D】可溶性 B 7 - H 4 への 9 D 1 1 / 9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2 及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 1 2 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 1 2 B)、h B 7 - H 4 - h i s (図 1 2 C) 及び h B 7 - H 4 - h i s (図 1 2 D) への結合を決定した。9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2 及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 は、9 D 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、9 D 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

20

【図 1 3 A - 1 3 B】細胞結合 B 7 - H 4 への抗体 9 D 1 1 / 9 D 1 1 及び 9 D 1 1 / 9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2、9 D 1 1 / 6 7 G 3、9 D 1 1 / 6 7 H 9、及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 の結合を示す。フローサイトメトリー実験を実施し、m B 7 - H 4 を発現する C T 2 6 細胞 (図 1 3 A) 又は h B 7 - H 4 を発現する S K - B R - 3 細胞 (図 1 3 B) への結合を決定した。9 D 1 1 誘導体 9 D 1 1 / 6 7 C 3、9 D 1 1 / 6 7 C 6、9 D 1 1 / 6 7 E 1 2、9 D 1 1 / 6 7 G 3、9 D 1 1 / 6 7 H 9、及び 9 D 1 1 / 6 8 F 5 は、9 D 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、9 D 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

30

【図 1 4 A - 1 4 B】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 3 9 A 1 1 / 3 9 A 1 1 及び 3 9 A 1 1 / 3 9 A 1 1 誘導体 3 9 A 1 1 / 6 2 F 9、3 9 A 1 1 / 5 6 H 7、3 9 A 1 1 / 5 7 G 8、3 9 A 1 1 / 5 7 H 3 及び 3 9 A 1 1 / 5 6 A 9 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 1 4 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 1 4 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 4 C)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 4 D)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 4 E) 及び m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 4 F) への結合を決定した。3 9 A 1 1 誘導体 3 9 A 1 1 / 6 2 F 9、3 9 A 1 1 / 5 6 H 7、3 9 A 1 1 / 5 7 G 8、3 9 A 1 1 / 5 7 H 3、及び 3 9 A 1 1 / 5 6 A 9 は、3 9 A 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、3 9 A 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

40

【図 1 4 C - 1 4 D】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 3 9 A 1 1 / 3 9 A 1 1 及び 3 9 A 1 1 / 3 9 A 1 1 誘導体 3 9 A 1 1 / 6 2 F 9、3 9 A 1 1 / 5 6 H 7、3 9 A 1 1 / 5 7 G 8、3 9 A 1 1 / 5 7 H 3 及び 3 9 A 1 1 / 5 6 A 9 の結合を示す。E L I S A 実験を実施し、h B 7 - H 4 - F c (図 1 4 A)、m B 7 - H 4 - F c (図 1 4 B)、h B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 4 C)、m B 7 - H 4 I g V ドメイン (図 1 4 D)、h B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 4 E) 及び m B 7 - H 4 I g C ドメイン (図 1 4 F) への結合を決定した。3 9 A 1 1 誘導体 3 9 A 1 1 / 6 2 F 9、3 9 A 1 1 / 5 6 H 7、3 9 A 1 1 / 5 7 G 8、3 9 A 1 1 / 5 7 H 3、及び 3 9 A 1 1 / 5 6 A 9 は、3 9 A 1 1 と同じ重鎖配列を有するが、3 9 A 1 1 とは異なる軽鎖配列を有する。

【図 1 4 E - 1 4 F】可溶性 B 7 - H 4 への抗体 3 9 A 1 1 / 3 9 A 1 1 及び 3 9 A 1 1

50

／39A11誘導体39A11／62F9、39A11／56H7、39A11／57G8、39A11／57H3及び39A11／56A9の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図14A）、mB7-H4-Fc（図14B）、hB7-H4 IgVドメイン（図14C）、mB7-H4 IgVドメイン（図14D）、hB7-H4 IgCドメイン（図14E）及びmB7-H4 IgCドメイン（図14F）への結合を決定した。39A11誘導体39A11／62F9、39A11／56H7、39A11／57G8、39A11／57H3、及び39A11／56A9は、39A11と同じ重鎖配列を有するが、39A11とは異なる軽鎖配列を有する。

【図15A-15B】細胞結合B7-H4への抗体39A11／39A11及び39A11／39A11誘導体39A11／62F9、39A11／56H7、39A11／57G8、39A11／57H3及び39A11／56A9の結合を示す。フローサイトメトリ実験を実施し、mB7-H4を発現するCT26細胞（図15A）又はhB7-H4を発現するSK-BR-3細胞（図15B）への結合を決定した。39A11誘導体39A11／62F9、39A11／56H7、39A11／57G8、39A11／57H3、及び39A11／56A9は、39A11と同じ重鎖配列を有するが、39A11とは異なる軽鎖配列を有する。

【図16A-16B】可溶性B7-H4への抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図16A）、mB7-H4-Fc（図16B）、hB7-H4 IgVドメイン（図16C）、mB7-H4 IgVドメイン（図16D）、hB7-H4 IgCドメイン（図16E）及びmB7-H4 IgCドメイン（図16F）への結合を決定した。対照として、それぞれIgV又はIgCに結合する抗体を使用した。

【図16C-16D】可溶性B7-H4への抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図16A）、mB7-H4-Fc（図16B）、hB7-H4 IgVドメイン（図16C）、mB7-H4 IgVドメイン（図16D）、hB7-H4 IgCドメイン（図16E）及びmB7-H4 IgCドメイン（図16F）への結合を決定した。対照として、それぞれIgV又はIgCに結合する抗体を使用した。

【図16E-16F】可溶性B7-H4への抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図16A）、mB7-H4-Fc（図16B）、hB7-H4 IgVドメイン（図16C）、mB7-H4 IgVドメイン（図16D）、hB7-H4 IgCドメイン（図16E）及びmB7-H4 IgCドメイン（図16F）への結合を決定した。対照として、それぞれIgV又はIgCに結合する抗体を使用した。

【図17A-17B】細胞結合B7-H4への抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）の結合を示す。フローサイトメトリ実験を実施し、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞（図17A）、mB7-H4を発現するCT26細胞（図17B）、hB7-H4を発現するMDA-MB-468細胞（図17C）への結合を決定した。

【図17C】細胞結合B7-H4への抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）の結合を示す。フローサイトメトリ実験を実施し、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞（図

10

20

30

40

50

17A)、mB7-H4を発現するCT26細胞(図17B)、hB7-H4を発現するMDA-MB-468細胞(図17C)への結合を決定した。

【図18A】hB7-H4への結合後、抗B7-H4抗体、抗体3F2/50A10(hB7-H4 IgVドメイン結合抗体)、39A11/57G8(h/mB7-H4 IgVドメイン結合抗体)及び9D11/68F5(h/mB7-H4 IgCドメイン結合抗体)の内在化を示す。抗体を、抗体標識試薬(すなわち、pH感受性蛍光プローブに結合したFc領域標的Fab断片)と混合した。Fab-Ab複合体は内在化され、酸性(pH4.5~5.5)リソソーム及びエンドソームを介して加工されると、蛍光発生シグナルが観察される。内在化を、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞(図18A)及びhB7-H4を発現するMDA-MB-468細胞(図18B)について示す。対照として、それぞれIgV又はIgC結合抗体を使用した。

【図18B】hB7-H4への結合後、抗B7-H4抗体、抗体3F2/50A10(hB7-H4 IgVドメイン結合抗体)、39A11/57G8(h/mB7-H4 IgVドメイン結合抗体)及び9D11/68F5(h/mB7-H4 IgCドメイン結合抗体)の内在化を示す。抗体を、抗体標識試薬(すなわち、pH感受性蛍光プローブに結合したFc領域標的Fab断片)と混合した。Fab-Ab複合体は内在化され、酸性(pH4.5~5.5)リソソーム及びエンドソームを介して加工されると、蛍光発生シグナルが観察される。内在化を、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞(図18A)及びhB7-H4を発現するMDA-MB-468細胞(図18B)について示す。対照として、それぞれIgV又はIgC結合抗体を使用した。

【図19A】抗体3F2/50A10(hB7-H4 IgVドメイン結合抗体)、39A11/57G8(h/mB7-H4 IgVドメイン結合抗体)(図19A)、及び抗体9D11/68F5(h/mB7-H4 IgCドメイン結合抗体)(図19B)による修復T細胞サイトカイン分泌機能(ここではIFN γ 分泌)を示す。対照として、それぞれIgV又はIgC結合抗体を使用した。無関係な対照抗体もまた含んでいた。

【図19B】抗体3F2/50A10(hB7-H4 IgVドメイン結合抗体)、39A11/57G8(h/mB7-H4 IgVドメイン結合抗体)(図19A)、及び抗体9D11/68F5(h/mB7-H4 IgCドメイン結合抗体)(図19B)による修復T細胞サイトカイン分泌機能(ここではIFN γ 分泌)を示す。対照として、それぞれIgV又はIgC結合抗体を使用した。無関係な対照抗体もまた含んでいた。

【図20A-20B】抗体3F2/50A10(hB7-H4-IgVドメイン結合抗体)、39A11/57G8(h/mB7-H4 IgVドメイン結合抗体)及び9D11/68F5(h/mB7-H4 IgCドメイン結合抗体)が、腫瘍細胞で抗体依存性細胞媒介性傷害(ADCC)を誘導することを示す。腫瘍細胞の死滅を、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞(図20A)及びhB7-H4を発現するMDA-MB-468細胞(図20B)について示す。

【図21A-21B】IgVドメイン結合抗体3F2/50A10及び39A11/57G8が、Incucyte(登録商標)免疫細胞キリングアッセイで腫瘍細胞を死滅させることを示す。ADCCを分析するためにSKBR3/hPBMC共培養モデルを準備し、SK-BR-3がん細胞を、それぞれ1:5の比率(図21A)又は1:10の比率(図21B)でhPBMCと混合した。DP47を対照抗体として機能させた。

【図22A-22B】それぞれB7-H4への、抗体39A11/57G8及び陽性対照抗体(IgV結合抗体)の結合、並びに抗体39A11/57G8を含む融合タンパク質(すなわち、融合タンパク質57G8/IL15)又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質(すなわち、融合タンパク質(+)Ab1/IL15)の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc(図22A)、hB7-H4-his(図22B)、hB7-H4 IgVドメイン(図22C)、mB7-H4-Fc(図22D)、mB7-H4-his(図22E)、mB7-H4 IgVドメイン(図22F)への結合を決定した。

【図22C-22D】それぞれB7-H4への、抗体39A11/57G8及び陽性対照

抗体（IgV結合抗体）の結合、並びに抗体39A11／57G8を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質57G8／IL15）又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質（+）Ab1／IL15）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図22A）、hB7-H4-his（図22B）、hB7-H4 IgVドメイン（図22C）、mB7-H4-Fc（図22D）、mB7-H4-his（図22E）、mB7-H4 IgVドメイン（図22F）への結合を決定した。

【図22E-22F】それぞれB7-H4への、抗体39A11／57G8及び陽性対照抗体（IgV結合抗体）の結合、並びに抗体39A11／57G8を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質57G8／IL15）又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質（+）Ab1／IL15）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図22A）、hB7-H4-his（図22B）、hB7-H4 IgVドメイン（図22C）、mB7-H4-Fc（図22D）、mB7-H4-his（図22E）、mB7-H4 IgVドメイン（図22F）への結合を決定した。

10

【図23A-23B】それぞれB7-H4への、抗体3F2／50A10及び陽性対照抗体（IgV結合抗体）の結合、並びに抗体3F2／50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10／IL15）又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質（+）Ab1／IL15）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図23A）、hB7-H4-his（図23B）、hB7-H4 IgVドメイン（図23C）、mB7-H4-Fc（図23D）、mB7-H4-his（図23E）、mB7-H4 IgVドメイン（図23F）への結合を決定した。

20

【図23C-23D】それぞれB7-H4への、抗体3F2／50A10及び陽性対照抗体（IgV結合抗体）の結合、並びに抗体3F2／50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10／IL15）又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質（+）Ab1／IL15）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図23A）、hB7-H4-his（図23B）、hB7-H4 IgVドメイン（図23C）、mB7-H4-Fc（図23D）、mB7-H4-his（図23E）、mB7-H4 IgVドメイン（図23F）への結合を決定した。

【図23E-23F】それぞれB7-H4への、抗体3F2／50A10及び陽性対照抗体（IgV結合抗体）の結合、並びに抗体3F2／50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10／IL15）又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質（+）Ab1／IL15）の結合を示す。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc（図23A）、hB7-H4-his（図23B）、hB7-H4 IgVドメイン（図23C）、mB7-H4-Fc（図23D）、mB7-H4-his（図23E）、mB7-H4 IgVドメイン（図23F）への結合を決定した。

30

【図24A-24B】細胞B7-H4への、抗体3F2／50A10、39A11／57G8及び陽性対照抗体の結合（B7-H5 IgVドメインへの結合）、並びに抗体3F2／50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10／IL15）、抗体39A11／57G8を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質57G8／IL15）又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質（+）Ab1／IL15）の結合を示す。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞（図24A及び図24B）又はmB7-H4を発現するCT26細胞（図24C及び図24D）への結合を決定した。

40

【図24C-24D】細胞B7-H4への、抗体3F2／50A10、39A11／57G8及び陽性対照抗体の結合（B7-H5 IgVドメインへの結合）、並びに抗体3F2／50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10／IL15）、抗体39A11／57G8を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質57G8／IL15）又は陽性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質（+）Ab1／IL15）の結合を示す。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4

50

を発現するSK-BR-3細胞（図24A及び図24B）又はmB7-H4を発現するCT26細胞（図24C及び図24D）への結合を決定した。

【図25A-25B】フローサイトメトリーによって決定されるようなMDA-MB-468細胞（図25A及び25B）又はMX-1細胞（図25C及び25D）上で発現される細胞B7-H4への、抗体3F2/50A10、39A11/57G8及び陰性対照抗体DP47の結合、並びに抗体3F2/50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10/IL15）、抗体39A11/57G8を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質57G8/IL15）、又は陰性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質DP47/IL15）の結合を示す。

【図25C-25D】フローサイトメトリーによって決定されるようなMDA-MB-468細胞（図25A及び25B）又はMX-1細胞（図25C及び25D）上で発現される細胞B7-H4への、抗体3F2/50A10、39A11/57G8及び陰性対照抗体DP47の結合、並びに抗体3F2/50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10/IL15）、抗体39A11/57G8を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質57G8/IL15）、又は陰性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質DP47/IL15）の結合を示す。

【図26A-26B】Incucyte（登録商標）免疫細胞キリングアッセイを使用した、抗体3F2/50A10、39A11/57G8及び陰性対照抗体DP47による腫瘍細胞の死滅、並びに抗体3F2/50A10を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質50A10/IL15）、抗体39A11/57G8を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質57G8/IL15）又は陰性対照抗体を含む融合タンパク質（すなわち、融合タンパク質DP47/IL15）による腫瘍細胞の死滅を示す。SD-BR-3細胞の死滅を、3F2/50A10及び融合タンパク質50A10/IL15について（図26A）、並びに39A11/57G8及び融合タンパク質57G8/IL15について（図26B）示す。

【図26C】MDA-MB-468細胞の死滅を、3F2/50A10及び融合タンパク質50A10/IL15について示す。

【図26D】図26Cに示された曲線の終点値を示す。

【図26E】50A10/IL-15、57G8/IL-15、57G8及び50A1を用いた治療後のMDA-MB-468細胞のアポトーシスを示す。

【図27A-27B】hPBMC（図27A）及び特異的CD8+T細胞（図27B）及びCD4+T細胞（図27C）の増殖に関する抗体39A11/57G8及び3F2/50A10並びに融合タンパク質57G8/IL15及び50A10/IL15の影響を示す。対照として、抗体DP47及びDP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。

【図27C】hPBMC（図27A）及び特異的CD8+T細胞（図27B）及びCD4+T細胞（図27C）の増殖に関する抗体39A11/57G8及び3F2/50A10並びに融合タンパク質57G8/IL15及び50A10/IL15の影響を示す。対照として、抗体DP47及びDP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。

【図28A-28B】IL-2受容体を介してp-STAT5シグナル伝達経路を活性化するための、抗体39A11/57G8及び3F2/50A10、並びに融合タンパク質57G8/IL15及び50A10/IL15の能力を示す。図28Aは、STAT5シグナル伝達経路を示す。図28Bは、示された抗体及び融合タンパク質による経路の活性化を示す。対照として、抗体DP47及びDP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。

【図29A-29B】抗体39A11/57G8及び3F2/50A10並びに融合タンパク質57G8/IL15及び50A10/IL15が、腫瘍細胞で抗体依存性細胞媒介性傷害（ADCC）を誘導することを示す。腫瘍細胞の死滅を、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞（図29A）及びhB7-H4を発現するMDA-MB-468細胞（図29B）について示す。

【図30A-30B】可溶性B7-H4への融合タンパク質57G8/IL-15、57G8/IL-15__LS、50A10/IL-15及び50A10/IL-15__LSの結合を示す。抗体の定常領域における「LS」突然変異(M428L/N434S)は、FcRnへの親和性を増強させ、且つpH6ではK_{off}速度を低下させる。そのため、血清半減期の延長が生じる。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc(図30A)、mB7-H4-Fc(図30B)、hB7-H4-His(図30C)及びmB7-H4-his(図30D)への結合を決定した。対照として、DP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。

【図30C-30D】可溶性B7-H4への融合タンパク質57G8/IL-15、57G8/IL-15__LS、50A10/IL-15及び50A10/IL-15__LSの結合を示す。抗体の定常領域における「LS」突然変異(M428L/N434S)は、FcRnへの親和性を増強させ、且つpH6ではK_{off}速度を低下させる。そのため、血清半減期の延長が生じる。ELISA実験を実施し、hB7-H4-Fc(図30A)、mB7-H4-Fc(図30B)、hB7-H4-His(図30C)及びmB7-H4-his(図30D)への結合を決定した。対照として、DP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。

10

【図31A-31B】細胞結合B7-H4への融合タンパク質57G8/IL-15、57G8/IL-15__LS、50A10/IL-15及び50A10/IL-15__LSの結合を示す。フローサイトメトリー実験を実施し、hB7-H4を発現するSK-BR-3細胞(図31A)又はmB7-H4を発現するCT26細胞(図31B)への結合を決定した。対照として、DP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。

20

【図32】IL-2依存性M07e細胞の増殖を誘導するための、融合タンパク質57G8/IL-15、57G8/IL-15__LS、50A10/IL-15及び50A10/IL-15__LSの能力を示す。対照として、DP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。

【発明を実施するための形態】

【0064】

融合タンパク質

B7-H4(Vセットドメイン含有T細胞活性化阻害剤1としても知られており、B7ホモログ4、B7h.5、免疫共刺激タンパク質B7-H4、タンパク質B7S1又はT細胞共刺激分子B7xとしても知られている)は、PD-L1を含むその他のB7ファミリーと相同性を共有する免疫調節分子である。B7-H4は、IgV外部ドメインとIgC外部ドメインとの両方から構成されるI型膜貫通タンパク質である。健常な組織でのB7-H4発現は、タンパク質レベルでは比較的限られているものの、B7-H4はいくつかの充実性腫瘍で発現される。腫瘍におけるB7-H4の発現は、予後不良と相関する傾向がある。B7-H4は、高グリコシル化IgCドメイン及び非常に短い細胞質側末端を含む固有の構造を有する(図1A)。

30

【0065】

一態様では、本開示は、B7-H4に結合する抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質を提供する。こうした融合タンパク質の部分は、対応する重鎖可変領域及び軽鎖可変領域、若しくは表1、表5、表7、表9及び表16~20に提供される抗体のCDRを含むもの、又は本明細書に記載されるものを含む、B7-H4に特異的に結合する、任意の抗体、又はその抗体断片であり得る。

40

【0066】

刺激ドメインを含む融合タンパク質が本明細書に開示される。本明細書で使用される場合、「刺激ドメイン」は、免疫応答を促進させるドメインである。刺激ドメインは、例えば、T細胞又はNK細胞の活性及び/又は増殖を誘導することによって媒介される免疫応答を刺激し得る。実施形態では、刺激ドメインは、IL-2、IL-7、IL-15及びIL-21などであるがこれらに限定されない、インターロイキン又はインターフェロンに応答する細胞を刺激する。一実施形態では、刺激ドメインは、IL-2、IL-7、I

50

IL-13、IL-15及びIL-21などであるがこれらに限定されない、インターロイキン又はインターフェロンに応答性がある受容体に結合し、これを刺激する。刺激ドメインはまた、互いに共有結合した2つ以上のリガンドのヘテロ複合体であるハイブリッドドメインであり得る。

【0067】

実施形態では、刺激ドメインは、IL-15受容体(IL-15R)のIL-15刺激を促進する配列又はドメインを含む。

【0068】

一実施形態では、IL-15R刺激を促進する刺激ドメインは、IL-15又はIL-15誘導体を含む。

【0069】

一実施形態では、IL-15R刺激を促進する刺激ドメインは、IL-15Rα sushidメイン又はその誘導体を含むIL-15Rα ポリペプチドを含む。一実施形態では、刺激ドメインは、IL-15Rα鎖のsushidメインを含む。

【0070】

一実施形態では、刺激ドメインは、IL-15又はその誘導体を含むが、この結合は、IL-15Rα sushidメイン又はその誘導体を含むIL-15Rα ポリペプチドの存在によって増強され得る。一実施形態では、刺激ドメインは、IL-15又はその誘導体と、IL-15Rα sushidメイン又はその誘導体を含むIL-15Rα ポリペプチドとの複合体を含む。刺激ドメインいくつかの実施形態では、刺激ドメインは、IL-15又はその誘導体及びIL-15Rα sushidメイン又はその誘導体を含むIL-15Rα ポリペプチドを含み、2つのポリペプチドはリンカーによって共有結合されている。

【0071】

一実施形態では、IL-15又はその誘導体は、IL-15Rα sushidメイン又はその誘導体を含むIL-15Rα ポリペプチドのN末端に位置する。一実施形態では、IL-15又はその誘導体は、IL-15Rα sushidメイン又はその誘導体を含むIL-15Rα ポリペプチドのC末端に位置する。一実施形態では、刺激ドメインは、配列番号169の配列を含む。

【0072】

(1) そのリガンドへのB7-H4の結合をブロックし、免疫抑制を阻害する抗B7-H4結合ドメインと、(2) 免疫応答を促進する刺激ドメインと、を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、融合タンパク質は、前述の機能を別個でもたす2つの異なる分子と比較すると、免疫細胞活性を増強させることができる。具体的には、本明細書に開示される実験によって、そのリガンドへのB7-H4の結合をブロックするB7-H4結合ドメインと、刺激ドメインIL-15又はその誘導体と、IL-15Rα sushidメイン又はその誘導体を含むIL-15Rα ポリペプチドとのすべてを含有する融合タンパク質が、腫瘍細胞を死滅させ、T細胞増殖を誘導し、IL-2RβγのSTAT5経路下流を活性化させることが実証されている。

【0073】

本明細書で提供される融合タンパク質は、(a) B7-H4への結合及び下流シグナル伝達事象のブロック；(b) その同族リガンドへのB7-H4の結合のブロック；(c) T細胞増殖の増強；(d) T細胞媒介性免疫応答の上方制御；(e) サイトカイン分泌の刺激；(f) B7-H4を介した抑制シグナルの減少；及び／又は(g) 腫瘍細胞の死滅、を呈し得る。本明細書に開示される融合タンパク質は、強力な結合及び阻害活性を呈し、治療用途及び診断用途に有用である。

【0074】

ある特定の実施形態では、融合タンパク質は、可撓性リンカーを介し、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片に共有結合されている、本明細書に開示される刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質が本明細書で提供

10

20

30

40

50

され、本明細書に開示される刺激ドメインは、本明細書に開示される抗 B 7 - H 4 抗体、その抗原結合断片に直接融合される。

【0075】

本明細書で使用される場合、「共有結合した」又は「融合した」は、共有結合を介した2つ以上のポリペプチドの会合を指す。いくつかの実施形態では、共有結合されている2つのポリペプチドは、互いに直接融合されている。これはすなわち、第1のペプチドと第2のペプチドとの間に何らかの更なるポリペプチド配列がないということである。したがって、いくつかの実施形態では、第1のポリペプチドのN末端は、第2のポリペプチドのC末端に直接融合されているか、その逆の状態である。他の実施形態では、共有結合されている2つのポリペプチドは、連続ポリペプチド鎖の一部であるが、互いに直接融合していない（すなわち、2つのポリペプチドは、1つ以上のアミノ酸、リンカー又は別のポリペプチドで分離され得る）。「共有結合されている」といった用語は、互いに融合されている2つ以上のポリペプチドの特定の配向を意味しない。

10

【0076】

IL-15は、IL-2と構造的類似性を有する14~15 kDaのサイトカインである。IL-15は、MGC9721としても知られている。様々な種類の細胞型がIL-15 mRNAを構造的に産生するが、これらとしては、単球、マクロファージ、DC、ケラチノサイト、表皮皮膚細胞、線維芽細胞、様々なエピセリウム細胞、骨髄間質細胞及び神経細胞が挙げられる。加えて、IL-15 mRNAは、腎臓、胎盤、肺、心臓、骨格筋及び脳組織でも産生される。ただし、単球、DC、エピセリウム細胞、骨髄間質細胞、線維芽細胞並びに非常にわずかな他の細胞及び組織のみが、検出可能なレベルのIL-15を分泌する。IL-15及びIL-2は、同じヘマトポエチンサブユニットに結合し、多くの生物学的活性を共有することが見出されている。IL-15は、T細胞及びNK細胞の活性化及び増殖を調節し、CD8+メモリー細胞の数は、IL-15とIL-2とのバランスによって影響を受ける。実施形態では、本明細書に開示されるIL-15又はIL-15誘導体が、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%又は少なくとも90%のヒトIL-15の活性を有する。IL-15は、哺乳動物IL-15、好ましくは霊長類IL-15、より好ましくはヒトIL-15であり得る。ヒトIL-15アミノ酸配列は、配列番号164（完全長タンパク質）及び配列番号165（成熟タンパク質）として提供されている。

20

30

【0077】

「IL-15誘導体」といった用語は、配列番号164（ヒトIL-15の成熟形成）又は配列番号165（N65S変異を有するヒトIL-15の成熟形態）と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%配列同一性を有するポリペプチドを指す。かかる誘導体を作製するための技術は、当技術分野で公知である。いくつかの実施形態では、IL-15又はIL-15誘導体配列は、1つ以上のアミノ酸置換を含み得る。実施形態では、本明細書に開示される融合タンパク質は、N65Sを含むIL-15ポリペプチドを含む。実施形態では、本明細書に開示される融合タンパク質は、配列番号165を含むIL-15ポリペプチドを含む。

40

【0078】

IL-15受容体、すなわち、IL-15受容体複合体は、高親和性でIL-15に特異的に結合し、固有のインターロイキン15受容体αサブユニット、IL-2/IL-15Rβ及び共通するγ鎖/IL-2Rγサブユニットからなる。IL-15Rαは、マイトジェン活性化マクロファージ、NK細胞並びにCD4+及びCD8+T細胞によって発現される。ヒトIL-15Rαは、7つのエクソンからなり、代替的なmRNAスプライシングによって、異なる余分なドメイン又は細胞内ドメインを有する8つの分子IL-15Rαアイソフォームをもたらし得る。全長アイソフォームは、保存されたタンパク質結合モチーフ（sushiドメイン）を含有する細胞外部分、膜貫通ドメイン及び細胞内

50

末端からなる。本明細書で使用される場合、IL-15R α の「sushiドメイン」といった用語は、IL-15R α のシグナルペプチド後方の第1のシステイン残基（C1）で開始し、当該シグナルペプチド後方の第4のシステイン残基（C4）で終端するドメインを指す。IL-15R α の細胞外領域の一部に対応するsushiドメインは、IL-15への結合に関与している。本開示のsushiドメインは、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%又は少なくとも90%のヒトIL-15R α 鎖のsushiドメインの活性を有する。ヒトIL-15R α のsushiドメインアミノ酸配列は、配列番号167に提供される。

【0079】

「IL-15R α sushiドメイン誘導体」又は「IL-15R α sushiドメインバリエーション」といった用語は、ヒトIL-15R α sushiドメインの配列（配列番号167）と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%配列同一性を有するポリペプチドを指す。かかる誘導体又はバリエーションを作製するための技術は、当技術分野で公知である。かかる誘導体はすべて、IL-15R α のsushiドメインの4つのシステイン残基を含む。かかる誘導体のいくつかでは、天然に存在するアミノ酸は、ポリペプチドの半減期を変更するために化学修飾されたアミノ酸で置換され得る。いくつかの実施形態では、IL-15R α sushiドメイン又はIL-15R α sushiドメイン誘導体配列は、1つ以上のアミノ酸置換を含み得る。

【0080】

IL-15は、IL-15R α に高親和性で結合し、その後同じ標的細胞によって発現されるIL-15R β 複合体と会合する（シス提示）。IL-15R α は、IL-15R β / γ （c）複合体を発現する異なる標的細胞に高親和性を有するIL-15をトランス提示することでも知られている（トランス提示）。IL-15シス提示及びトランス提示機構によって、異なるダイナミクスの受容体活性化及びシグナル伝達をもたらされ、シス提示は、迅速且つ一時的な応答を誘導し、トランス提示は、緩慢且つより持続的な応答を誘導する。

【0081】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される融合タンパク質は、リンカーによってIL-15に付着するIL-15R α 鎖のsushiドメインを含むハイブリッドドメインを含む、刺激ドメインを含む。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される刺激ドメインは、第2のリンカーを介し、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片に共有結合される。他の実施形態では、本明細書で例示される刺激ドメインは、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片に直接融合される。

【0082】

一実施形態では、「C末端融合タンパク質」が提供され、刺激ドメインは、直接、又はリンカーを介して（例えば、1つ以上のペプチドを介して）融合タンパク質の抗B7-H4結合部分のC末端（例えば、本明細書に開示される抗B7-H4抗体の重鎖のC末端）に結合される。

【0083】

C末端融合タンパク質としては、以下の（例示的な）融合タンパク質（成分はN末端からC末端にかけて記載され、「-」は、直接的共有結合又はリンカーを介した結合（例えば、1つ以上のペプチド））：

（a）（抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の重鎖）-（IL-15又はその誘導体）

（b）（抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の重鎖）-（IL-15R α sushiドメイン又はその誘導体を含む、IL-15R α ポリペプチド）及び

（c）（抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の重鎖）-（IL-15R α sushiドメイン又はその誘導体を含むIL-15R α ポリペプチド）-（IL-15又はそ

10

20

30

40

50

の誘導体)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0084】

C末端融合タンパク質は、2つ以上の刺激ドメインを含み得る。

【0085】

一実施形態では、融合タンパク質が提供され、刺激ドメインは、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の重鎖のC末端(及び1つのみ)に共有結合している。

【0086】

(1)刺激ドメイン、(2)抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片の第1の重鎖であって、刺激ドメインは第1の重鎖のC末端に共有結合されている、第1の重鎖及び(3)抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片の第2の重鎖であって、第2の重鎖は、刺激ドメインに結合されていない、第2の重鎖、を含む融合タンパク質が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、刺激ドメインは、(i)IL-15若しくはその誘導体、又は(ii)IL-15R α sushidメイン若しくはその誘導体を含むIL-15R α ポリペプチド、又は(iii)これらの両方を含む。

【0087】

図1Bは、本明細書に記載の融合タンパク質の非限定的な例の概略図を示す。

【0088】

一態様では、

(a)抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片、

(b)IL-15R α sushidメインポリペプチド、及び

(c)IL-15ポリペプチド、を含む融合タンパク質が提供される。

【0089】

一態様では、

(a)抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片、

(b)IL-15R α sushidメインポリペプチド、

(c)IL-15ポリペプチド、及び

(d)IL-15R α sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、を含む融合タンパク質が提供される。

【0090】

一態様では、

(a)抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片、

(b)抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片と、IL-15R α sushidメインポリペプチドとを結合するリンカー、

(c)IL-15R α sushidメインポリペプチド、

(d)IL-15R α sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

(e)IL-15ポリペプチド、を含む融合タンパク質が提供される。

【0091】

一態様では、

(a)抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片、

(b)配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushidメインポリペプチド；及び

(c)配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む、融合タンパク質が提供される。

【0092】

一態様では、

- (a) 抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片、
- (b) 配列番号 1 6 7、又は配列番号 1 6 7 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチド；
- (c) 配列番号 1 6 6、又は配列番号 1 6 6 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、I L - 1 5 ポリペプチド、及び
- (d) I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドと I L - 1 5 ポリペプチドとを結合するリンカー、を含む融合タンパク質が提供される。 10
- 【0 0 9 3】
- 一実施形態では、N 末端から C 末端にかけて、
- (a) 抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、
- (b) 定常重鎖、
- (c) 配列番号 1 6 7、又は配列番号 1 6 7 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチド、
- (d) I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドと I L - 1 5 ポリペプチドとを結合するリンカー、及び 20
- (e) I L - 1 5 ポリペプチドであって、I L - 1 5 ポリペプチドが、配列番号 1 6 6、又は配列番号 1 6 6 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、I L - 1 5 ポリペプチド、を含む融合タンパク質が提供される。
- 【0 0 9 4】
- 一実施形態では、N 末端から C 末端にかけて、
- (a) 抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、
- (b) 定常重鎖、 30
- (c) 定常重鎖と、I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドとを結合するリンカー、
- (d) I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドであって、I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドが、配列番号 1 6 7、又は配列番号 1 6 7 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチド、
- (e) I L - 1 5 R α s u s h i ドメインポリペプチドと I L - 1 5 ポリペプチドとを結合するリンカー、及び
- (f) I L - 1 5 ポリペプチドであって、I L - 1 5 ポリペプチドが、配列番号 1 6 6、又は配列番号 1 6 6 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、I L - 1 5 R ポリペプチド、を含む融合タンパク質が提供される。 40
- 【0 0 9 5】
- 一実施形態では、
- (a) N 末端から C 末端にかけて、
- a. 抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、
- b. 定常重鎖、
- c. 配列番号 1 6 7、又は配列番号 1 6 7 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少な 50

くとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushidメインポリペプチド、

d. IL-15R α sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖、及び

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0096】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15R α sushidメインポリペプチドとを結合するリンカー、

d. IL-15R α sushidメインポリペプチドであって、IL-15R α sushidメインポリペプチドが、配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushidメインポリペプチド、

e. IL-15R α sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

f. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖、及び

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0097】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の第1の可変重鎖、

b. 第1の定常重鎖、

c. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushidメインポリペプチド、

d. IL-15R α sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくと

10

20

30

40

50

も 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、若しくは少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む、第 1 の重鎖と、

(b) N 末端から C 末端にかけて、

a. 抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片の第 2 の可変重鎖、及び

b. 第 2 の定常重鎖、を含む第 2 の重鎖と、

(c) N 末端から C 末端にかけて、

a. 抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖、及び

b. 定常軽鎖、を含む軽鎖と、を含み、

任意選択的に、第 1 の定常重鎖及び第 2 の定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす 1 つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

10

【0098】

一実施形態では、

(a) N 末端から C 末端にかけて、

a. 抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片の第 1 の可変重鎖、

b. 第 1 の定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15R α sushidメインポリペプチドとを結合するリンカー、

d. IL-15R α sushidメインポリペプチドであって、IL-15R α sushidメインポリペプチドが、配列番号 167、又は配列番号 167 と少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、若しくは少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushidメインポリペプチド、

20

e. IL-15R α sushidメインポリペプチドと IL-15 ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

f. IL-15 ポリペプチドであって、IL-15 ポリペプチドが、配列番号 166、又は配列番号 166 と少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、若しくは少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15 ポリペプチド、を含む、第 1 の重鎖と、

30

(b) N 末端から C 末端にかけて、

a. 抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片の第 2 の可変重鎖、及び

b. 第 2 の定常重鎖、を含む第 2 の重鎖と、

(c) N 末端から C 末端にかけて、

a. 抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖、及び

b. 定常軽鎖、を含む軽鎖と、を含み、

任意選択的に、第 1 の定常重鎖及び第 2 の定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす 1 つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0099】

一実施形態では、IL-15R α sushidメインポリペプチドは、配列番号 167 を含む。一実施形態では、IL-15R α sushidメインポリペプチドは、配列番号 167 からなる。

40

【0100】

一実施形態では、IL-15 ポリペプチドは配列番号 166 を含む。一実施形態では、IL-15 ポリペプチドは配列番号 166 からなる。

【0101】

一実施形態では、IL-15R α sushidメインポリペプチドと IL-15 ポリペプチドとを結合するリンカーは、配列番号 168 を含む。一実施形態では、IL-15R α sushidメインポリペプチドと IL-15 ポリペプチドとを結合するリンカーは、配列番号 168 からなる。

【0102】

50

一実施形態では、融合タンパク質は配列番号 169 を含む。

【0103】

一態様では、抗 B7-H4 抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、CDR1、CDR2 及び CDR3 を含む融合タンパク質が提供される。

【0104】

一実施形態では、融合タンパク質は、抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含み、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 73 を含み、CDR2L は配列番号 74 を含み、CDR3L は配列番号 75 を含む。

10

【0105】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 20 を含み、CDR2L は配列番号 21 を含み、CDR3L は配列番号 22 を含む。

【0106】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 66 を含み、CDR2L は配列番号 67 を含み、CDR3L は配列番号 68 を含む。

20

【0107】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 70 を含み、CDR2L は配列番号 71 を含み、CDR3L は配列番号 72 を含む。

【0108】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 84 を含み、CDR2L は配列番号 85 を含み、CDR3L は配列番号 86 を含む。

30

【0109】

B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 8 を含み、CDR2L は配列番号 9 を含み、CDR3L は配列番号 10 を含む。

【0110】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 77 を含み、CDR2L は配列番号 78 を含み、CDR3L は配列番号 79 を含む。

40

【0111】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1H は配列番号 16 を含み、CDR2H は配列番号 17 を含み、CDR3H は配列番号 18 を含み、CDR1L は配列番号 81 を含み、CDR2L は配列番号 82 を含み、CDR3L は配列番号 83 を含む。

【0112】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号 15、又は配列番号 15 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 19、若しくは配列番号 19 と少

50

なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む。

【0113】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号 15、又は配列番号 15 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 65、又は配列番号 65 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む。

【0114】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号 15、又は配列番号 15 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 69、又は配列番号 69 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む。

【0115】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号 3、又は配列番号 3 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 7、又は配列番号 7 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む。

【0116】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号 3、又は配列番号 3 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 76、又は配列番号 76 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む。

【0117】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号 3、又は配列番号 3 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 80、又は配列番号 80 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 若しくは少なくとも 99 % 同一である配列を含む。

【0118】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 15 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 19 を含む。

【0119】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 15 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 65 を含む。

【0120】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 15 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 69 を含む。

【0121】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 3 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 7 を含む。

【0122】

10

20

30

40

50

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 3 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 7 6 を含む。

【 0 1 2 3 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 3 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 8 0 を含む。

【 0 1 2 4 】

一態様では、抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 を含む。

【 0 1 2 5 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 1 1 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 1 2 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 1 3 を含む。

【 0 1 2 6 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 5 0 を含み、C D R 2 L は配列番号 5 1 を含み、C D R 3 L は配列番号 5 2 を含む。

【 0 1 2 7 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 8 8 を含み、C D R 2 L は配列番号 8 9 を含み、C D R 3 L は配列番号 9 0 を含む。

【 0 1 2 8 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 9 2 を含み、C D R 2 L は配列番号 9 3 を含み、C D R 3 L は配列番号 9 4 を含む。

【 0 1 2 9 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 9 6 を含み、C D R 2 L は配列番号 9 7 を含み、C D R 3 L は配列番号 9 8 を含む。

【 0 1 3 0 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 0 0 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 0 1 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 0 2 を含む。

【 0 1 3 1 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 0 4 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 0 5 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 0 6 を含む。

【 0 1 3 2 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 0 8 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 0 9 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 1 0 を含む。

【 0 1 3 3 】

10

20

30

40

50

、重鎖可変領域は配列番号 4 5 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 4 9 を含む。

【0141】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 8 7 を含む。

【0142】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 9 1 を含む。

【0143】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 9 5 を含む。

10

【0144】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 9 9 を含む。

【0145】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 0 3 を含む。

【0146】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 0 7 を含む。

【0147】

一態様では、抗 B 7 - H 4 抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 を含む。

20

【0148】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 5 8 を含み、C D R 2 H は配列番号 5 9 を含み、C D R 3 H は配列番号 6 0 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 3 4 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 3 5 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 3 6 を含む。

【0149】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 5 8 を含み、C D R 2 H は配列番号 5 9 を含み、C D R 3 H は配列番号 6 0 を含み、C D R 1 L は配列番号 6 2 を含み、C D R 2 L は配列番号 6 3 を含み、C D R 3 L は配列番号 6 4 を含む。

30

【0150】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 5 8 を含み、C D R 2 H は配列番号 5 9 を含み、C D R 3 H は配列番号 6 0 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 1 5 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 1 6 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 1 7 を含む。

【0151】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 5 8 を含み、C D R 2 H は配列番号 5 9 を含み、C D R 3 H は配列番号 6 0 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 1 9 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 2 0 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 2 1 を含む。

40

【0152】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 5 8 を含み、C D R 2 H は配列番号 5 9 を含み、C D R 3 H は配列番号 6 0 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 2 3 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 2 4 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 2 5 を含む。

【0153】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され

50

、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号127を含み、CDR2Lは配列番号128を含み、CDR3Lは配列番号129を含む。

【0154】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号131を含み、CDR2Lは配列番号132を含み、CDR3Lは配列番号133を含む。

【0155】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号57、又は配列番号57と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号61、又は配列番号61と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

【0156】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号57、又は配列番号57と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号114、又は配列番号114と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

【0157】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号57、又は配列番号57と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号118、又は配列番号118と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

【0158】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号57、又は配列番号57と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号122、又は配列番号122と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

【0159】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号57、又は配列番号57と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号126、又は配列番号126と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。又は

【0160】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は、配列番号57、又は配列番号57と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号130、又は配列番号130と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

【0161】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号57を含み、軽鎖可変領域は配列番号61を含む。

【0162】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号57を含み、軽鎖可変領域は配列番号114を含む。

【0163】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号57を含み、軽鎖可変領域は配列番号118を含む。

【0164】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号57を含み、軽鎖可変領域は配列番号122を含む。

【0165】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号57を含み、軽鎖可変領域は配列番号126を含む。

【0166】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号57を含み、軽鎖可変領域は配列番号130を含む。

【0167】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖であって、CDR1H、CDR2H及びCDR3Hを含み、CDR1Hは配列番号16を含み、CDR2Hは配列番号17を含み、CDR3Hは配列番号18を含む、可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushidメインポリペプチド、

d. IL-15R α sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖であって、CDR1L、CDR2L及びCDR3Lを含み、CDR1Lは配列番号70を含み、CDR2Lは配列番号71を含み、CDR3Lは配列番号72を含む、可変重鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含む、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0168】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖であって、CDR1H、CDR2H及びCDR3Hを含み、CDR1Hは配列番号16を含み、CDR2Hは配列番号17を含み、CDR3Hは配列番号18を含む、可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15R α sushidメインポリペプチドとを結合するリンカ

10

20

30

40

50

一、

d. IL-15R α sushiドメインポリペプチドであって、IL-15R α sushiドメインポリペプチドが、配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushiドメインポリペプチド、

e. IL-15R α sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

f. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖であって、CDR1H、CDR2H及びCDR3Hを含み、CDR1Hは配列番号16を含み、CDR2Hは配列番号17を含み、CDR3Hは配列番号18を含む、可変重鎖、及び

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0169】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖であって、CDR1H、CDR2H及びCDR3Hを含み、CDR1Hは配列番号46を含み、CDR2Hは配列番号47を含み、CDR3Hは配列番号48を含む、可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushiドメインポリペプチド、

d. IL-15R α sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖であって、CDR1L、CDR2L及びCDR3Lを含み、CDR1Lは配列番号108を含み、CDR2Lは配列番号109を含み、CDR3Lは配列番号110を含む、可変重鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0170】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖であって、CDR1H、CDR2H及びCDR3Hを含み、CDR1Hは配列番号46を含み、CDR2Hは配列番号47を含み、CDR3Hは配列番号48を含む、可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15Rα sushiドメインポリペプチドとを結合するリンカー、

d. IL-15Rα sushiドメインポリペプチドであって、IL-15Rα sushiドメインポリペプチドが、配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushiドメインポリペプチド、

e. IL-15Rα sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

f. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖であって、CDR1L、CDR2L及びCDR3Lを含み、CDR1Lは配列番号108を含み、CDR2Lは配列番号109を含み、CDR3Lは配列番号110を含む、可変重鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0171】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖であって、CDR1H、CDR2H及びCDR3Hを含み、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含む、可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushiドメインポリペプチド、

d. IL-15Rα sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushiドメインポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖であって、CDR1L、CDR2L及びCDR3Lを含み、CDR1Lは配列番号119を含み、CDR2Lは配列番号120を含み、CDR3Lは配列番号121を含む、可変重鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0172】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖であって、CDR1H、CDR2H及びCDR3Hを含み、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59

10

20

30

40

50

を含み、CDR3Hは配列番号60を含む、可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15Rα sushiドメインポリペプチドとを結合するリンカー、

d. IL-15Rα sushiドメインポリペプチドであって、IL-15Rα sushiドメインポリペプチドが、配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushiドメインポリペプチド、

e. IL-15Rα sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、

f. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖であって、CDR1L、CDR2L及びCDR3Lを含み、CDR1Lは配列番号119を含み、CDR2Lは配列番号120を含み、CDR3Lは配列番号121を含む、可変重鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0173】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号15、又は配列番号15に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushiドメインポリペプチド、

d. IL-15Rα sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号69、又は配列番号69に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0174】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号15、又は配列番号15に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15Rα sushidメインポリペプチドとを結合するリンカー、

d. IL-15Rα sushidメインポリペプチドであって、IL-15Rα sushidメインポリペプチドが、配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushidメインポリペプチド、

e. IL-15Rα sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

f. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号69、又は配列番号69に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変軽鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0175】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号45、又は配列番号45に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushidメインポリペプチド、

d. IL-15Rα sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号107、又は配列番号107に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、
任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0176】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号45、又は配列番号45に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

10

b. 定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15R α sushiドメインポリペプチドとを結合するリンカー、

d. IL-15R α sushiドメインポリペプチドであって、IL-15R α sushiドメインポリペプチドが、配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushiドメインポリペプチド、

e. IL-15R α sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

20

f. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号107、又は配列番号107に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

30

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0177】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号57、又は配列番号57に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

b. 定常重鎖、

40

c. 配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15R α sushiドメインポリペプチド、

d. IL-15R α sushiドメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

e. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

50

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号118、又は配列番号118に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、及び

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0178】

一実施形態では、

(a) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号57、又は配列番号57に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、

b. 定常重鎖、

c. 定常重鎖と、IL-15Rα sushidメインポリペプチドとを結合するリンカー、

d. IL-15Rα sushidメインポリペプチドであって、IL-15Rα sushidメインポリペプチドが、配列番号167、又は配列番号167と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15Rα sushidメインポリペプチド、

e. IL-15Rα sushidメインポリペプチドとIL-15ポリペプチドとを結合するリンカー、及び

f. IL-15ポリペプチドであって、IL-15ポリペプチドが、配列番号166、又は配列番号166と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、IL-15ポリペプチド、を含む第1の鎖と、

(b) N末端からC末端にかけて、

a. 配列番号118、又は配列番号118に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖、及び

b. 定常軽鎖、を含む第2の鎖と、を含み、

任意選択的に、定常重鎖はヘテロ二量体化を引き起こす1つ以上の修飾を含む、融合タンパク質が提供される。

【0179】

一実施形態では、

(a) 配列番号69、若しくは配列番号69に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列、及び／又は配列番号145、若しくは配列番号145に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、軽鎖、

(b) 配列番号150、又は配列番号150と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第1の重鎖、及び

(c) 配列番号157、又は配列番号157と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも

10

20

30

40

50

98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第2の重鎖、を含む融合タンパク質が提供される。

【0180】

一実施形態では、

(a) 配列番号69、若しくは配列番号69に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列、及び／又は配列番号145、若しくは配列番号145に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、軽鎖、

10

(b) 配列番号151、又は配列番号151と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第1の重鎖、及び

(c) 配列番号158、又は配列番号158と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第2の重鎖、を含む融合タンパク質が提供される。

【0181】

一実施形態では、

(a) 配列番号118、若しくは配列番号118に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列、及び／又は配列番号144、若しくは配列番号144に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、軽鎖、

20

(b) 配列番号148、又は配列番号148と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第1の重鎖、及び

(c) 配列番号155、又は配列番号155と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第2の重鎖、を含む融合タンパク質が提供される。

30

【0182】

一実施形態では、

(a) 配列番号118、若しくは配列番号118に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列、及び／又は配列番号144、若しくは配列番号144に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、軽鎖、

40

(b) 配列番号149、又は配列番号149と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第1の重鎖、及び

(c) 配列番号156、又は配列番号156と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、第2の重鎖、を含む融合タンパク質が提供される。

【0183】

一実施形態では、

(a) 配列番号69及び／又は配列番号145を含む軽鎖と、

50

- (b) 配列番号 150 を含む第 1 の重鎖と、
- (c) 配列番号 157 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質が提供される。

【0184】

一実施形態では、

- (a) 配列番号 69 及び／又は配列番号 145 を含む軽鎖と、
- (b) 配列番号 151 を含む第 1 の重鎖と、
- (c) 配列番号 158 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質が提供される。

【0185】

一実施形態では、

- (a) 配列番号 118 及び／又は配列番号 144 を含む軽鎖と、
- (b) 配列番号 148 を含む第 1 の重鎖と、
- (c) 配列番号 155 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質が提供される。

【0186】

一実施形態では、

- (a) 配列番号 118 及び／又は配列番号 144 を含む軽鎖と、
- (b) 配列番号 149 を含む第 1 の重鎖と、
- (c) 配列番号 156 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質が提供される。

【0187】

一実施形態では、

- (a) 配列番号 145 を含む軽鎖と、
- (b) 配列番号 150 を含む第 1 の重鎖と、
- (c) 配列番号 157 を含む第 2 の重鎖と、を含む、融合タンパク質が提供される。

【0188】

表 13、表 21 又は表 22 に開示される 1 つ以上の配列を含む融合タンパク質が本明細書で提供される。

【0189】

抗体及びその抗原結合断片

抗体という用語は、ここでは最も広範な意味で使用されており、モノクローナル抗体（完全長又はインタクトモノクローナル抗体）、ポリクローナル抗体、二重特異性抗体、ヒト化抗体、単鎖抗体、キメラ抗体、合成抗体、組換え抗体、ハイブリッド抗体、突然変異化抗体及び移植抗体（移植抗体）、二重特異性抗体、特異性抗体部分（例えば、ドメイン抗体）、及び特異性結合のためのインタクト抗体と競合する任意のその抗原結合部分、その抗原結合部分（例えば、パラトープ、CDR）、並びに所望の生物学的活性及び特異性を呈するという条件での、抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意のその他の修飾された立体構造が挙げられる。したがって、抗体は、免疫グロブリン分子の可変領域に位置する少なくとも 1 つの抗原認識部位を介して標的に特異的に結合可能である抗原結合部位を含む、任意のポリペプチドを含む免疫グロブリン分子又はその断片若しくは誘導体である。開示される抗体は、マウス、ラット、ヒト又は任意のその他の起源の抗体であり得る（キメラ又はヒト化抗体を含む）。

【0190】

ある特定の実施形態では、抗体のフレームワーク領域（又はその抗原結合断片）は、ヒト生殖細胞系配列と同一であるか、天然若しくは人工的に改変されたものであり得る。

【0191】

好ましい一実施形態では、開示された抗体構造は、免疫グロブリン分子の IgG クラスに属する。標準的な IgG 免疫グロブリン分子は、2 つの同一である軽鎖ポリペプチドと、2 つの同一である重鎖ポリペプチドとを含む。軽鎖ポリペプチドの分子量は、約 23,000 ダルトンであり、重鎖ポリペプチドの分子量は、53,000～70,000 ダルトンの間で変動する。4 本の鎖は、「Y」構成のジスルフィド結合によって典型的には結合されている。

【0192】

免疫グロブリン分子の2つの重鎖（HC）及び2つの軽鎖（LC）は、互いに共有結合されており、2つの重鎖の末端部分は、免疫グロブリンが、ハイブリドーマ、B細胞又は遺伝子改変した宿主細胞のうちのいずれかによって生成されるときには、共有ジスルフィド結合又は非共有結合によって互いに結合されている。軽鎖と重鎖との両方は、構造的及び機能的に相同である領域を含有する。「可変」及び「定常」といった用語が機能的に使用される。各重鎖は、重鎖可変領域（「HCV R」又は「VH」）と、重鎖定常領域（ドメインCH1、CH2及びCH3から構成されている）とから構成されている。各軽鎖は、軽鎖可変領域（「LCV R」又は「VL」）と軽鎖定常領域（CL）とから構成されている。VH及びVL領域は、相補的決定領域（complementarity determining region、CDR）と名付けられている、超可変性の領域に更に細分され、フレームワーク領域（FR）と名付けられている、更に保存されている領域に散在され得る。各VH及びVLは、以下の順：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で、アミノ末端からカルボキシ末端まで配列された3つのCDRと4つのFRから構成されている。

10

20

30

40

50

【0193】

可変領域によって、抗体は抗原に位置するエピトープを認識し、特異的にこれに結合することが可能となる。可変軽鎖（VL）ドメイン部分と可変重鎖（VH）ドメイン部分との両方によって、抗原認識及び特異性が決定される。抗体の抗原結合部位は、VLドメイン及びVHドメイン、又はCDRのサブセットから構成されている。より詳細には、抗原結合部位は、VH鎖及びVL鎖のそれぞれにて1つ、2つ又は3つのCDRによって定義される（すなわち、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3）。逆に、定常軽鎖ドメイン（CL）及び定常重鎖ドメイン（CH1、CH2又はCH3）は、分泌、経胎盤移動性、Fc受容体結合、相補的結合などといった生物学的特性をもたらす。慣習的には、定常領域ドメインの番号づけは、これらのドメインが抗原結合部位又は抗体のアミノ末端からより遠位となるため、増える。

【0194】

本明細書で使用される場合、「相補的決定領域」（CDR）は、抗原結合に（典型的には）関与する抗体可変ドメインの一部を指す。各可変領域は、CDR1、CDR2及びCDR3として知られている、3つの非連続CDRを有する。CDRは、可変ドメインの表面上にループを示す「コア」β-シート構造を形成する、フレームワーク領域（FR1、FR2、FR3及びFR4）と呼ばれる構造的に保存されている領域によって分離されている。抗体が水性環境中でのその三次元構成を想定するときには、各抗原結合ドメイン中に存在する6つのCDRは短く、抗原結合ドメインを形成するために特異的に配置されているアミノ酸の非連続配列である。CDR配列の長さ及び組成は、特にCDR3では非常に可変的である。抗原結合ドメイン又は「フレームワーク」領域に位置するアミノ酸の残り部分は、少ない分子間変動を示す。配置されたCDRによって形成された抗原結合ドメインは、免疫反応性抗原上のエピトープに相補的な表面を画定する。この相補的な表面は、抗体のその同族エピトープへの非共有結合を促進させる。各CDRは、例えば、Kabattによって定義されるようなCDRのアミノ酸残基を含む（すなわち、軽鎖可変ドメインでは残基24～34（L1）、50～56（L2）及び89～97（L3）について、重鎖可変ドメインでは残基31～35（H1）、50～65（H2）及び95～102（H3）について（Kabatt et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987, 1991)）。各CDRはまた、「超可変ループ」のアミノ酸残基を含むことができる（すなわち、軽鎖可変ドメインでは残基26～32（L1）、50～52（L2）及び91～96（L3）について、重鎖可変ドメインでは残基26～32（H1）、53～55（H2）及び96～101（H3）について（Chothia & Lesk 1996 J. Mol. Biol. 901 (1987)）。いくつかの例では、CDRは、Kabattにより定義されるCDR

領域と超可変ループとの両方のアミノ酸を含むことができる。K a b a tの番号づけは、基本的な可変ドメイン構造のフレームワーク又はC D Rのいずれかの構造成分の短縮又は挿入を理由として、アミノ酸残基上での線形番号づけに常に対応するとは限らない場合がある。残基の正確なK a b a tの番号づけは、「標準的な」K a b a tの番号づけを行った配列を用いた抗体又はその抗原結合断片の配列の相同性がある残基のアラインメントによって、所与の抗体又はその抗原結合断片について決定されるか、ImMunoGeneTics (IMGT) system (L e f r a n c , M . - P . e t a l . , D e v . C o m p . I m m u n o l . , 2 7 , 5 5 - 7 7 (2 0 0 3)) に従って定義され得る。

【0195】

本明細書で使用される場合、「抗原結合部分」又は「抗原結合断片」といった用語は、F a b、F a b'、F (a b')₂、F d、F v、ドメイン抗体（サメ抗体及びラクダ抗体などのd A b）、S c F v、マキシボディ、ミニボディ、ナノボディ、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及びビス-s c F vを含む断片、又はポリペプチドへの特異的な抗原結合を付与するのに十分な免疫グロブリンの少なくともある特定の部分を含有するポリペプチドであり得る。

【0196】

抗体は、I g G、I g A又はI g M（又はそれらのサブクラス）のうちの任意のクラスであり得、抗体は、任意の特定のクラスのものである必要はなく、必要とされる特異性、その他の修飾した構成（抗体のグリコシル化バリエーション、抗体のアミノ酸配列バリエーション及び共有結合的に修飾された抗体を含む）の抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子が包含され得る。これらのクラス及びアイソタイプのそれぞれの修飾したバージョンは、当業者に公知であり、したがって、本開示の範囲内である。

【0197】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B 7-H 4抗体断片は、F a b断片であり、これは、軽鎖の可変ドメイン（V L）及び定常ドメイン（C L）と、重鎖の可変ドメイン（V H）及び第1の定常ドメイン（C H 1）とを含むか、これらから本質的になる。

【0198】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B 7-H 4抗体断片は、F a b'断片であり、これは、C H 1ドメインのC末端に1つ以上のシステイン残基を有するF a b断片を指す。

【0199】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B 7-H 4抗体断片は、V Hドメイン及びC H 1ドメインを含むか、これらから本質的になるF d断片である。

【0200】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B 7-H 4抗体断片は、V H及びC H 1ドメイン、並びにC H 1ドメインのC末端に1つ以上のシステイン残基を含むF d'断片である。

【0201】

単鎖F v又はs c F v抗体断片は、抗体のV Hドメイン及びV Lドメインを含むか、これらから本質的になり、ドメインは単一のポリペプチド鎖中に存在する。一般には、F vポリペプチドは、V HドメインとV Lドメインとの間にポリペプチドリンカーを更に含み、これによって、s c F vが抗原結合のための所望の構造を形成することが可能となる。したがって、本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B 7-H 4抗体断片は、抗体の単一アームのV Lドメイン及びV Hドメインを含むか、これらから本質的になるF v断片である。

【0202】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B 7-H 4抗体断片は、同一のポリペプチド鎖にて軽鎖可変ドメイン（V L）に結合される重鎖可変ドメイン（V H）を含

10

20

30

40

50

む、2つの抗原結合部位を含むダイアボディである。

【0203】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B7-H4抗体断片は、VHドメインを含むか、これらから本質的になるdAb断片である。

【0204】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B7-H4抗体断片は、F(ab')₂断片であり、これは、ヒンジ領域のジスルフィド架橋によって結合された2つのFab'断片を含む二価断片を含む。

【0205】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、抗B7-H4抗体断片は、相補的軽鎖ポリペプチドとともに、一対の抗原結合領域を形成する、一対のタンデムFdセグメント(VH-CH1-VH-CH1)を含む線状抗体である。

【0206】

当業者は、開発され、抗体断片の産生に利用可能である様々な技術を使用することができる。従来、これらの断片は、インタクト抗体のタンパク質消化によって誘導されていた。しかしながら、F(ab')₂断片は、組換え宿主細胞培養物から直接単離され得る。抗体断片を産生するためのその他の技術は、当業者には明らかであろう。他の実施形態では、選択される抗体断片は、単鎖Fv断片(scFv)である。例えば、国際公開第93/16185号パンフレットを参照されたい。代替的には、これらの断片はまた、組換え宿主細胞によって直接産生され得る。例えば、抗体断片は、本明細書に記述される抗体ファージライブラリーから単離され得る。別のアプローチでは、Fab'-SH断片は、大腸菌(E. coli)から直接回収され、化学結合されてF(ab')₂断片を形成することができる(Carter et al., 1992)。

【0207】

一実施形態では、抗体は、B7-H4に結合する相補的領域を含む二重特異性抗体である。

【0208】

企図された抗体又は抗原結合断片は、IgM、IgG、IgD及びIgEを含む、すべての種類の定常領域と、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む任意のアイソタイプを有し得る。一実施形態では、アイソタイプはヒトIgG1である。別の実施形態では、ヒトアイソタイプIgG4が使用される。軽鎖定常領域は、λ又はκであり得る。抗体、又はその抗原結合断片は、2種類以上のクラス又はアイソタイプを由来とする配列を含み得る。

【0209】

本開示は、B7-H4に結合する抗体及びB7-H4に結合するその抗原結合断片と、かかる抗B7-H4抗体又はそのB7-H4結合断片を含む融合タンパク質とを説明する。「B7-H4」といった用語は、B7ホモログ4、B7h.5、免疫共刺激タンパク質B7-H4、タンパク質B7S1又はT細胞共刺激分子B7xとしても知られている、Vセットドメイン含有T細胞活性化阻害剤1(T-cell activation inhibitor 1、VTCN1)を指す。ヒトB7-H4の配列は、配列番号161にて提供される。マウスB7-H4の配列は、配列番号162にて提供される。B7-H4といった用語は、組換えB7-H4及び／又はその断片を包含する。この用語はまた、例えばマウス若しくはヒトFc、ヒスチジンタグ、及び／又はシグナル配列に結合するB7-H4、又はその断片を含む。この用語は、B7-H4を含む融合タンパク質を更に包含し得る。

【0210】

実施形態では、抗B7-H4抗体若しくはその抗原結合断片、又は抗B7-H4抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質は、B7-H4に特異的に結合し、B7-H4媒介性免疫抑制を相殺する。本明細書に開示される抗B7-H4抗体及びその抗原結合断片(並びにかかる抗B7-H4抗体及びその抗原結合断片を含む融合タンパク質)は

、B 7－H 4によって媒介される下流事象を含むB 7－H 4生物学的活性に干渉するか、これを阻害するか、これを減弱し得る。本明細書に開示される抗B 7－H 4抗体、及びその抗原結合断片（並びにかかる抗B 7－H 4抗体、及びその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、以下の特徴：（a）B 7－H 4への結合及び下流シグナル伝達事象のブロック；（b）その同族リガンドへのB 7－H 4の結合のブロック；（c）T細胞増殖の増強；（d）T細胞媒介性免疫応答の上方制御；（e）サイトカイン分泌の刺激；（f）B 7－H 4を介した抑制シグナルの減少；及び／又は（g）腫瘍細胞の死滅、のうちのいずれか1つ以上を呈し得る。本明細書に開示される抗B 7－H 4抗体及びその抗原結合断片（並びにかかる抗B 7－H 4抗体及びその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、強力な結合及び抑制活性を呈し、治療用途及び診断用途に有用である。

10

【0211】

一態様では、本開示は、B 7－H 4に結合する抗体及びその抗原結合断片（並びにかかる抗B 7－H 4抗体及びその抗原結合断片を含む融合タンパク質）を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、B 7－H 4及び少なくとも1つのその他の分子に特異的に結合する、二重特異性抗体及び結合タンパク質を提供する。

【0212】

一態様では、抗B 7－H 4抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、CDR 1、CDR 2及びCDR 3を含む。

【0213】

抗B 7－H 4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR 1 Hは配列番号16を含み、CDR 2 Hは配列番号17を含み、CDR 3 Hは配列番号18を含み、CDR 1 Lは配列番号73を含み、CDR 2 Lは配列番号74を含み、CDR 3 Lは配列番号75を含む。

20

【0214】

抗B 7－H 4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR 1 Hは配列番号16を含み、CDR 2 Hは配列番号17を含み、CDR 3 Hは配列番号18を含み、CDR 1 Lは配列番号20を含み、CDR 2 Lは配列番号21を含み、CDR 3 Lは配列番号22を含む。

【0215】

抗B 7－H 4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR 1 Hは配列番号16を含み、CDR 2 Hは配列番号17を含み、CDR 3 Hは配列番号18を含み、CDR 1 Lは配列番号66を含み、CDR 2 Lは配列番号67を含み、CDR 3 Lは配列番号68を含む。

30

【0216】

抗B 7－H 4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR 1 Hは配列番号16を含み、CDR 2 Hは配列番号17を含み、CDR 3 Hは配列番号18を含み、CDR 1 Lは配列番号70を含み、CDR 2 Lは配列番号71を含み、CDR 3 Lは配列番号72を含む。

【0217】

抗B 7－H 4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR 1 Hは配列番号16を含み、CDR 2 Hは配列番号17を含み、CDR 3 Hは配列番号18を含み、CDR 1 Lは配列番号84を含み、CDR 2 Lは配列番号85を含み、CDR 3 Lは配列番号86を含む。

40

【0218】

抗B 7－H 4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR 1 Hは配列番号16を含み、CDR 2 Hは配列番号17を含み、CDR 3 Hは配列番号18を含み、CDR 1 Lは配列番号8を含み、CDR 2 Lは配列番号9を含み、CDR 3 Lは配列番号10を含む。

【0219】

50

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 1 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 1 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 1 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 7 7 を含み、C D R 2 L は配列番号 7 8 を含み、C D R 3 L は配列番号 7 9 を含む。

【 0 2 2 0 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 1 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 1 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 1 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 8 1 を含み、C D R 2 L は配列番号 8 2 を含み、C D R 3 L は配列番号 8 3 を含む。

【 0 2 2 1 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 1 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 1 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 1 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 7 0 を含み、C D R 2 L は配列番号 7 1 を含み、C D R 3 L は配列番号 7 2 を含む。

【 0 2 2 2 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 1 7 2 を含み、C D R 2 H は配列番号 1 7 3 を含み、C D R 3 H は配列番号 1 7 4 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 7 5 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 7 6 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 7 7 を含む。

【 0 2 2 3 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 1 7 8 を含み、C D R 2 H は配列番号 1 7 9 を含み、C D R 3 H は配列番号 1 8 0 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 8 1 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 8 2 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 8 3 を含む。

【 0 2 2 4 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 1 8 4 を含み、C D R 2 H は配列番号 1 8 5 を含み、C D R 3 H は配列番号 1 8 6 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 8 7 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 8 8 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 8 9 を含む。

【 0 2 2 5 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が提供され、重鎖可変領域は、配列番号 1 5、又は配列番号 1 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号 1 9、若しくは配列番号 1 9 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

【 0 2 2 6 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 1 5、又は配列番号 1 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 6 5、又は配列番号 6 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

【 0 2 2 7 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 1 5、又は配列番号 1 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 6 9、又は配列番号 6 9 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

10

20

30

40

50

【0228】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号3、又は配列番号3と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号7、又は配列番号7と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

【0229】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号3、又は配列番号3と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号76、又は配列番号76と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

10

【0230】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号3、又は配列番号3と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号80、又は配列番号80と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

20

【0231】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号15を含み、軽鎖可変領域は配列番号19を含む。

【0232】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号15を含み、軽鎖可変領域は配列番号65を含む。

【0233】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号15を含み、軽鎖可変領域は配列番号69を含む。

30

【0234】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号3を含み、軽鎖可変領域は配列番号7を含む。

【0235】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号3を含み、軽鎖可変領域は配列番号76を含む。

【0236】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号3を含み、軽鎖可変領域は配列番号80を含む。

【0237】

一態様では、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、CDR1、CDR2及びCDR3を含む。

40

【0238】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号46を含み、CDR2Hは配列番号47を含み、CDR3Hは配列番号48を含み、CDR1Lは配列番号111を含み、CDR2Lは配列番号112を含み、CDR3Lは配列番号113を含む。

【0239】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番

50

号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 5 0 を含み、C D R 2 L は配列番号 5 1 を含み、C D R 3 L は配列番号 5 2 を含む。

【 0 2 4 0 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 8 8 を含み、C D R 2 L は配列番号 8 9 を含み、C D R 3 L は配列番号 9 0 を含む。

【 0 2 4 1 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 9 2 を含み、C D R 2 L は配列番号 9 3 を含み、C D R 3 L は配列番号 9 4 を含む。

10

【 0 2 4 2 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 9 6 を含み、C D R 2 L は配列番号 9 7 を含み、C D R 3 L は配列番号 9 8 を含む。

【 0 2 4 3 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 0 0 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 0 1 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 0 2 を含む。

20

【 0 2 4 4 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 0 4 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 0 5 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 0 6 を含む。

【 0 2 4 5 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、C D R 1 H は配列番号 4 6 を含み、C D R 2 H は配列番号 4 7 を含み、C D R 3 H は配列番号 4 8 を含み、C D R 1 L は配列番号 1 0 8 を含み、C D R 2 L は配列番号 1 0 9 を含み、C D R 3 L は配列番号 1 1 0 を含む。

30

【 0 2 4 6 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5、又は配列番号 4 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 4 9、又は配列番号 4 9 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

40

【 0 2 4 7 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5、又は配列番号 4 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 8 7、又は配列番号 8 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

【 0 2 4 8 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 4 5、又は配列番号 4 5 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %

50

、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 91、又は配列番号 91 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

【0249】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45、又は配列番号 45 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 95、又は配列番号 95 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

10

【0250】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45、又は配列番号 45 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 99、又は配列番号 99 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

【0251】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45、又は配列番号 45 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 103、又は配列番号 103 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

20

【0252】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45、又は配列番号 45 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 107、又は配列番号 107 と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% 若しくは少なくとも 99% 同一である配列を含む。

30

【0253】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 49 を含む。

【0254】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 87 を含む。

【0255】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 91 を含む。

40

【0256】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 95 を含む。

【0257】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 99 を含む。

【0258】

抗 B7-H4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 45 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 103 を含む。

50

【0259】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号45を含み、軽鎖可変領域は配列番号107を含む。

【0260】

一態様では、抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のそれぞれは、CDR1、CDR2及びCDR3を含む。

【0261】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号134を含み、CDR2Lは配列番号135を含み、CDR3Lは配列番号136を含む。

10

【0262】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号62を含み、CDR2Lは配列番号63を含み、CDR3Lは配列番号64を含む。

【0263】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号115を含み、CDR2Lは配列番号116を含み、CDR3Lは配列番号117を含む。

20

【0264】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号119を含み、CDR2Lは配列番号120を含み、CDR3Lは配列番号121を含む。

【0265】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号123を含み、CDR2Lは配列番号124を含み、CDR3Lは配列番号125を含む。

30

【0266】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号127を含み、CDR2Lは配列番号128を含み、CDR3Lは配列番号129を含む。

【0267】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、CDR1Hは配列番号58を含み、CDR2Hは配列番号59を含み、CDR3Hは配列番号60を含み、CDR1Lは配列番号131を含み、CDR2Lは配列番号132を含み、CDR3Lは配列番号133を含む。

40

【0268】

抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号57、又は配列番号57と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号61、又は配列番号61と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%若しくは少なくとも99%同一である配列を含む。

【0269】

50

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7、又は配列番号 5 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 1 4、又は配列番号 1 1 4 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

【 0 2 7 0 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7、又は配列番号 5 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 1 8、又は配列番号 1 1 8 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

10

【 0 2 7 1 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7、又は配列番号 5 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 2 2、又は配列番号 1 2 2 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

20

【 0 2 7 2 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7、又は配列番号 5 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 2 6、又は配列番号 1 2 6 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、又は

【 0 2 7 3 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7、又は配列番号 5 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 3 0、又は配列番号 1 3 0 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % 若しくは少なくとも 9 9 % 同一である配列を含む。

30

【 0 2 7 4 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 6 1 を含む。

【 0 2 7 5 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 1 4 を含む。

40

【 0 2 7 6 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 1 8 を含む。

【 0 2 7 7 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 2 2 を含む。

【 0 2 7 8 】

抗 B 7 - H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 5 7 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 2 6 を含む。

【 0 2 7 9 】

50

抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片が本明細書で提供され、重鎖可変領域は配列番号 57 を含み、軽鎖可変領域は配列番号 130 を含む。

【0280】

表 5、表 7、表 9、表 16～表 20 及び表 24 は、本明細書の一部としてその全体が援用される、添付の配列表に記載されるような、本明細書に開示される重鎖可変領域及び軽鎖可変領域、並びに抗体の関連する CDR を示す。以下の実施例に示されるように、抗 B 7-H 4 抗体の軽鎖シャッフリングによって、B 7-H 4 結合親和性において実質的な改善をもたらした抗体バリエーションの同定がもたらされた。バリエーションの解析によって、軽鎖シャッフリングされた抗体の中でもアミノ酸が比較的に変わらない状態である特定の CDR 位置と、B 7-H 4 結合を停止することなく変異を導入することが可能であったその他の CDR 位置とが明らかになった。

10

【0281】

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、並びに本明細書に開示される融合タンパク質は、1 つ以上のアミノ酸置換、欠失、挿入及び／又は付加を有することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、若しくは抗原結合断片（若しくは抗 B 7-H 4 抗体若しくは抗原結合断片を含む融合タンパク質）の 1 つ以上の CDR 残基、又は 1 つ以上のフレームワーク残基は、アミノ酸置換、欠失、挿入及び／又は付加で変更されている。アミノ酸置換は、保存的置換又は非保存的置換であり得る。本開示はまた、本明細書に開示されるアミノ酸配列から誘導される、抗 B 7-H 4 抗体及びその抗原結合断片（並びに抗 B 7-H 4 抗体又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質）を含み、1 つ以上のフレームワーク領域及び／又は CDR 領域内の 1 つ以上のアミノ酸が、抗体が由来する生殖系列配列の対応する残基に変異するか、別のヒト生殖系列配列の対応する残基に変異するか、又は対応する生殖系列残基の保存されたアミノ酸置換に変異する（かかる配列の変化は、本明細書ではまとめて「生殖系列変異」と称される）。ある特定の実施形態では、抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその結合断片（又は抗 B 7-H 4 抗体若しくは抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、表 5、表 7、表 9、表 16～表 20 又は表 24 に記載の CDR 及び／又は可変ドメイン配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % 又は少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を有する 1 つ以上の CDR、又は 1 つ以上の可変ドメインを含む。

20

30

【0282】

表 16～表 20 に開示される可変重鎖及び可変軽鎖（並びにそれらの対）に類似しているが、同一ではない可変重鎖及び可変軽鎖配列（並びにそれらの対）もまた、本明細書にて提供される。本明細書に記載のフレームワークのいずれかは、本明細書に記載の CDR 及び CDR モチーフのいずれかと組み合わせて利用され得ることが明らかであろう。いくつかの実施形態では、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片は、表 16～表 20 に記載のフレームワークを利用する。

【0283】

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体及び抗原結合断片の 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ又は 6 つの CDR を含むキメラ抗原受容体（chimeric antigen receptor、CAR）もまた、本明細書にて提供される。本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、及び抗原結合断片のうちのいずれか 1 つの 6 つの CDR を含む CAR もまた、本明細書にて提供される。

40

【0284】

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体及び抗原結合断片の 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ又は 6 つの CDR を含む CAR を発現する免疫細胞が開示される。本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体及び抗原結合断片のいずれか 1 つの 6 つの CDR を含む CAR を発現する免疫細胞が開示される。いくつかの実施形態では、免疫細胞は T 細胞である。

【0285】

「同一性」は、最適なアラインメントに必要な各ギャップの数及び長さを考慮した後、

50

最適にアラインメントされた配列中の2つのアミノ酸又は核酸配列によって共有されている同一の位置の数又は割合を指す。「実質的に同一」は、タンパク質の機能を破壊しない、保存的アミノ酸置換のみによって元の配列と異なっているアミノ酸配列を意味する。

【0286】

本明細書に開示されるアミノ酸配列と少なくとも80%、又は少なくとも85%、又は少なくとも90%、又は少なくとも95%、又は少なくとも98%、又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質もまた本明細書に開示される。GCGプログラムパッケージ(Deveraux et al., Nucleic Acids Research 12:387, 1984)、BLASTP、BLASTN、FASTA(Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403 (1990))及びALIGNプログラム(バージョン2.0)を含むがこれらに限定されない、配列類似性を決定するための方法及びコンピュータプログラムが公的に利用可能である。Smith Watermanアルゴリズムは、類似性を決定するためにも使用され得る。BLASTプログラムは、NCBI及びその他の情報源から好適に利用可能である(BLAST Manual, Altschul, et al., NCBI NLM NIH, Bethesda, Md. 20894; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/> (BLAST 2.0))。配列の比較では、これらの方法は、様々な置換、欠失及びその他の修飾について説明する。

【0287】

本明細書に記載の態様のいくつかの実施形態では、B7-H4に結合する抗体、若しくはその抗原結合断片、又は本明細書に記載のB7-H4に結合する融合タンパク質のアミノ酸配列修飾が企図される。抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質のアミノ酸配列バリエーションは、抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片、若しくは融合タンパク質をコードする核酸へと適切なヌクレオチド変化を導入することで、又はペプチド合成で調製される。かかる修飾としては例えば、抗体、又はその抗原結合断片のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／又は残基への挿入、及び／又は残基の置換が挙げられる。最終構築物が、例えば結合特異性、生物学的活性の抑制といった所望の特性を保持する場合、最終構築物への到達のために欠失、挿入及び置換の任意の組合せが行われる。

【0288】

アミノ酸置換は、いくつかの場合、(a)置換領域のペプチド骨格の構造、(b)標的部位の分子の電荷又は疎水性、又は(c)側鎖(保存的アミノ酸置換バリエーション)のバルク、の維持に関する効果については大幅に異なっていない置換を選択することで行われ得る。これらのバリエーションは、同様の側鎖特性を有する異なる残基で置換された、抗体、若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質の少なくとも1つのアミノ酸残基を有する。アミノ酸は、それらの側鎖の特性における類似性に従って分類され得る(Lehninger, BIOCHEMISTRY (2nd ed., Worth Publishers, New York, 1975))を参照されたい:

- (1) 非極性: Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M);
- (2) 電荷は持たないが極性がある: Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q);
- (3) 酸性: Asp (D)、Glu (E);
- (4) 塩基性: Lys (K)、Arg (R)、His (H)。

【0289】

したがって、保存的アミノ酸置換の非限定的な例は、非極性アミノ酸を別の非極性アミノ酸で置換するものである。

【0290】

代替的には、天然に存在する残基は、一般的な側鎖特性に基づいて、

- (1) 疎水性：A l a (A)、V a l (V)、L e u (L)、I l e (I)、M e t (M) ;
(2) 親水性中性：S e r (S)、T h r (T)、C y s (C)、A s n (N)、G l n (Q) ;
(3) 酸性：A s p (D)、G l u (E) ;
(4) 塩基性：L y s (K)、A r g (R)、H i s (H) ;
(5) 鎖の配向に影響を及ぼす残基：G l y (G)、P r o (P) ;
(6) 芳香族：P h e (F)、T r p (W)、T y r (Y) 。

【0291】

これらの群の中で行われた置換は、保存性置換であると考えられ得る。非限定的な置換の例としては、バリンのアラニンへの置換、リジンのアルギニンへの置換、グルタミンのアスパラギンへの置換、グルタミン酸のアスパラギン酸への置換、セリンのシステインへの置換、アスパラギンのグルタミンへの置換、アスパラギン酸のグルタミン酸への置換、プロリンのグリシンへの置換、アルギニンのヒスチジンへの置換、ロイシンのイソロイシンへの置換、イソロイシンのロイシンへの置換、アルギニンのリジンへの置換、ロイシンのメチオニンへの置換、ロイシンのフェニルアラニンへの置換、グリシンのプロリンへの置換、スレオニンのセリンへの置換、セリンのスレオニンへの置換、チロシンのトリプトファンへの置換、フェニルアラニンのチロシンへの置換、及び／又はロイシンのバリンへの置換が挙げられる。

【0292】

長さにして1塩基から100個以上の残基を含有するポリペプチドまでの範囲のアミノ末端融合物及び／又はカルボキシル末端融合物を含み得るアミノ酸配列の挿入、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入が更に企図される。

【0293】

末端融合物の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体、若しくはその抗原結合断片、又は細胞傷害性ポリペプチドに融合した抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）が挙げられる。抗体、又はその抗原結合断片の末端融合物のその他の例としては、抗体、若しくはその抗原結合断片のN末端若しくはC末端への融合物、抗体、若しくはその抗原結合断片の血清半減期を増大させる酵素若しくはポリペプチド（例えば、ビオチン）への融合物（又はかかる抗体、若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）が挙げられる。

【0294】

いくつかの実施形態では、抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）のFcRnへの親和性を増強させる修飾（アミノ酸修飾又は置換を含むが、これらに限定されない）を含む。いくつかの実施形態では、抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、M428Lアミノ酸置換（KabatによるEUインデックスの番号づけ）を含む。いくつかの実施形態では、抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、N434Sアミノ酸置換（KabatによるEUインデックスの番号づけ）を含む。いくつかの実施形態では、抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、M428L及びN434Sアミノ酸置換（KabatによるEUインデックスの番号づけ）を含む。

【0295】

B7-H4に結合する抗体、又はその抗原結合断片の適切な立体配座を維持するのに関与しない任意のシステイン残基はまた、分子の酸化安定性を改善し、且つ異常な架橋を妨害するために、例えばセリン又はアラニンで置換され得る。

【0296】

逆に、システイン結合は、その安定性（特に、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片が、F v 断片などの抗体断片である場合）を改善させるために、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片に付加され得る。

【0297】

いくつかの実施形態では、抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片（又は本明細書に記載の抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片の元のグリコシル化パターンを変性させるアミノ酸変化を有する。「元のグリコシル化パターンを変性すること」は、抗体若しくはその抗原結合断片に見られる 1 つ以上の炭水化物部分を欠失させること、及び／又は抗体若しくはその抗原結合断片に存在しない 1 つ以上のグリコシル化部位を付加すること、を意味する。抗体のグリコシル化は、典型的には、N 結合又は O 結合のいずれかである。N 結合は、炭水化物部分のアスパラギン残基の側鎖への付着を指す。トリペプチド配列アスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-スレオニン（この場合、X はプロリンを除く任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分のアスパラギン側鎖への酵素的付着のための認識配列である。そのため、ポリペプチド中にこれらのトリペプチド配列のいずれかが存在することで、潜在的なグリコシル化部位が作成される。O 結合グリコシル化は、糖である N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース又はキシロースのうちの 1 つによる、ヒドロキシアミノ酸（最も一般的にはセリン又はスレオニン）への付着を指すが、5-ヒドロキシプロリン又は 5-ヒドロキシリジンもまた使用され得る。この変性はまた、（O 結合グリコシル化部位については）1 つ以上のセリン又はスレオニン残基の元の抗体又はその抗原結合断片の配列への付加、又はこれらによる置換によって行われ得る。

10

20

【0298】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片（又は本明細書に記載の抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、リン酸化、アミド化、公知の保護基／ブロック基による誘導体化、タンパク質切断、細胞リガンド又はその他のタンパク質への結合などを含むが、これらに限定されない修飾を含み得る。化学修飾を行うプロセスは当技術分野で公知であり、特異的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などが挙げられ得るが、これらに限定されない。更には、分子は 1 つ以上の非古典的アミノ酸を含有し得る。

30

【0299】

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片は、その結合特性が直接変異、アフィニティマチュレーション、ファージディスプレイ、又は鎖シャッフリングによって変性された、抗 B 7-H 4 抗体及びその抗原結合断片を含み得る。親和性及び特異性は、CDR の成熟及び所望の特性を有する CDR の監視によって変性され得る。変異誘発方法は、当業者に公知である。

【0300】

抗体及び融合タンパク質の結合

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片のうちの 1 つと同じ B 7-H 4 上のエピトープに結合する、(i) 抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、並びに (i i) 抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質もまた、本明細書にて提供される。

40

【0301】

いくつかの実施形態では、(i) 抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、又は (i i) 抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質は、B 7-H 4 の Ig V ドメインに結合する。Ig V ドメインは、免疫グロブリンの可変ドメインに関連する。ヒト及びマウス B 7-H 4 の Ig C ドメインを表 23 に示す（配列番号 161 及び 162 を参照されたい）。

【0302】

いくつかの実施形態では、(i) 抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、又は (i

50

i) 抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質は、B 7-H 4 の I g C ドメインに結合する。I g C ドメインは、免疫グロブリンの定常ドメインに関連する。ヒト及びマウス B 7-H 4 の I g C ドメインを表 2 3 に示す（配列番号 1 6 1 及び 1 6 2 を参照されたい）。

【0303】

いくつかの実施形態では、(i) 抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、又は (i i) 抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質は、B 7-H 4 の I g V ドメイン及び I g C ドメインに結合する。

【0304】

いくつかの実施形態では、(i) 抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、又は (i i) 抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質は、マウス B 7-H 4 又はそのドメインに結合する。いくつかの実施形態では、(i) 抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、又は (i i) 抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質は、ヒト B 7-H 4 又はそのドメインに結合する。いくつかの実施形態では、(i) 抗 B 7-H 4 抗体、及びその抗原結合断片、又は (i i) 抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質は、マウス及びヒト B 7-H 4 又はそのドメインに結合する。

【0305】

本明細書で使用される場合、抗体若しくはその抗原結合断片、又は抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質による、B 7-H 4、B 7-H 4 上のエピトープ、又は以下に記載のある特定の実施形態では B 7-H 4 上の特性の残基への「結合」は、抗体、又はその抗原結合断片と B 7-H 4 との選択的相互作用を含む。したがって結合としては、例えば、水素結合、イオン相互作用、塩橋並びに親水性及び疎水性相互作用を含む、一次的及び二次的相互作用が挙げられる。

【0306】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、 $10^{-2} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-3} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-8} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-9} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-10} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-12} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ の解離平衡定数 (K_D) で B 7-H 4 に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、 $10^{-2} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-3} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-4} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-5} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-6} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-7} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-8} \sim 10^{-9} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-10} \sim 10^{-11} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-11} \sim 10^{-12} \text{ mol/L}$ 、 $10^{-12} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 又は $10^{-12} \sim 10^{-14} \text{ mol/L}$ の K_D で B 7-H 4 に結合する。一実施形態では、本明細書に記載の抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗 B 7-H 4 抗体、若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質）は、 $10^{-9} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ の K_D で B 7-H 4 に結合する。

【0307】

本明細書で使用される場合、抗原と抗原結合タンパク質との K_D によって表される「親和性」は、抗原決定基と、抗体又はその抗体断片などの抗原結合タンパク質上の抗原結合部位との間の結合強度の尺度である。 K_D 値は、抗原決定基と抗原結合分子との間の結合強度に反比例する。代替的には、親和性はまた、結合定数 (K_A 、 $1/K_D$) として表され得る。親和性は、当業者によって対象とする特定の抗原に応じて、それ自体公知である様式で決定され得る。

【0308】

本明細書では、「特異性」といった用語は、B 7-H 4 内のエピトープは認識するが、

B 7－H 4のその他の部分については非常に弱い、又は検出可能ではない反応性のみを有する、抗 B 7－H 4 抗体又はその抗原結合断片といった、抗体又はその抗原結合断片の能力を指す。特異性は、競合アッセイによって、又は本明細書に記載のエピトープ同定／性質特定技術、又は当技術分野で公知であるそれらの等価物によって、相対的に決定される。

【0309】

本明細書では、「エピトープ」は、抗体が結合する特異的標的を指す。エピトープは、アミノ酸の連続した区間（連続エピトープ）と、標的タンパク質が特定の立体配置で折り畳まれているときにのみ存在するアミノ酸残基の三次元配置（不連続エピトープ）との両方によって形成され得る。一般に、エピトープは、少なくとも3個のアミノ酸、少なくとも4個のアミノ酸、少なくとも5個のアミノ酸、又は約7～10個のアミノ酸を含む。

10

【0310】

抗 B 7－H 4 抗体 3 8 B 2 と同じエピトープに特異的に結合する、抗 B 7－H 4 抗体、及びその抗原結合断片、並びに抗 B 7－H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質が本明細書に開示される。抗 B 7－H 4 抗体 3 1 B 1 と同じエピトープに結合する、抗 B 7－H 4 抗体、及びその抗原結合断片、並びに抗 B 7－H 4 抗体、又はその抗原結合断片を含む融合タンパク質もまた、本明細書に開示される。

【0311】

本明細書で使用される場合、「ブロッキング」抗体又は抗体「アンタゴニスト」は、結合する抗原の生物学的活性を抑制又は減弱させるものである。例えば、いくつかの実施形態では、抗 B 7－H 4 アンタゴニスト抗体、又はその抗原結合断片は、B 7－H 4 に結合し、その結合パートナーへの B 7－H 4 の活性及び／又は B 7－H 4 の結合を抑制する。活性の抑制及び結合の抑制は、部分的抑制を含む。B 7－H 4 相互作用をブロッキングする B 7－H 4 抗体を同定する方法は本明細書で説明されており、当業者に公知である。例えば、競合抗体、交差ブロッキング抗体、交差ブロッキングした抗体は、ヒト B 7－H 4 への競合抗体又は交差ブロッキング抗体の結合が、本明細書に開示される抗体の結合を妨害するか、その逆の場合にもこれらを妨害する競合 E L I S A 又は B I A C O R E（登録商標）アッセイを含む、当技術分野で公知である任意の好適な方法を使用して同定される。

20

【0312】

ある特定の実施形態では、すべての C D R が抗原の結合に直接関与するわけではない。一実施形態では、抗 B 7－H 4 抗体、又はその抗原結合断片の6つの C D R のうちの4つが抗原と接触する。一実施形態では、抗 B 7－H 4 抗体、又はその抗原結合断片の6つの C D R のうちの5つが抗原と接触する。一実施形態では、抗 B 7－H 4 抗体、又はその抗原結合断片の6つの C D R のうちの6つが抗原と接触する。

30

【0313】

本明細書では、「選択的」及び「選択性」といった用語は、他の B 7－H 4 ファミリーメンバーを含む、1つ以上のその他の生物学的分子とは対照的に、特定の領域、標的又はペプチド、典型的には B 7－H 4 中の領域又はエピトープについての抗体、又はその抗原結合断片（すなわち、B 7－H 4 抗体又はその抗原結合断片）の優先的な結合を指す。

40

【0314】

一態様では、B 7－H 4 上の結合部位の少なくとも一部に特異的に結合し、それによって1つ以上の B 7－H 4 リガンドとの B 7－H 4 相互作用をブロッキングする、抗 B 7－H 4 抗体及びその抗原結合断片が提供される。

【0315】

ある特定の実施形態では、本開示に記載の抗 B 7－H 4 抗体、又はその抗原結合断片は、第1のサブユニットと第2のサブユニットから構成される F c ドメインを含む。抗体の F c ドメインは、免疫グロブリン分子の重鎖ドメインを含む一対のポリペプチド鎖からなる。F c ドメインの2つのサブユニットは、安定した会合を形成する。実施形態では、F c ドメインの2つのサブユニットは、同一である。代替的な実施形態では、F c ドメイン

50

の2つのサブユニットは、同一ではない。実施形態では、Fcドメインのサブユニットの1つは、免疫複合体分子と融合され得る。実施形態では、抗体のFcドメインは、IgGFcドメイン、IgG₁Fcドメイン、IgG₂Fcドメイン、IgG₃Fcドメイン及びIgG₄Fcドメインであり得る。更なる特定の実施形態では、Fcドメインは、ヒトFcドメインである。

【0316】

ヘテロ二量体化を促進させるFcドメイン修飾

二量体化を促進させる、開示される抗B7-H4抗体又はその抗原結合断片のFcドメインにおける修飾が更に企図される。修飾は、アミノ酸置換、挿入、欠失又はその他の化学的若しくは物理的修飾であり得る。実施形態では、抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片のFcドメインは、Fcドメインの第1のサブユニット及び第2のサブユニットの会合を促進させる修飾を含む。一実施形態では、当該修飾は、FcドメインのCH3ドメイン中に存在する。特定の実施形態では、Fcドメインの第1のサブユニット及び第2のサブユニットの会合を促進させる当該修飾は、いわゆる「Knob-into-hole」変異であり、これは、Fcドメインの2つのサブユニットのうち1つに「Knob」変異、Fcドメインの2つのサブユニットのうちもう1つに「hole」変異を含む。

【0317】

Knob-into-hole変異は、「空洞への突起物」戦略である。これは、ヘテロオリゴマー化のために第1のポリペプチドと第2のポリペプチドとの間の界面を遺伝子改変させるために機能する。「突起物」（すなわち、Knob）は、第1のポリペプチドの海面からの小さなアミノ酸側鎖を、より大きな側鎖に置換することで構築される。突起物と同一又は同様のサイズの代償的な「空洞」（すなわち、hole）は、任意選択的には、大きなアミノ酸側鎖を小さなものに置換することによって、第2のポリペプチドの界面上に作成される。特定の実施形態では、第1のFcサブユニットのCH3ドメイン中のアミノ酸残基は、より大きな側鎖体積を有するアミノ酸残基に置換され、これによって、1つのアミノ酸残基を第2のFcサブユニットのCH3ドメイン中のより小さな側鎖を有するアミノ酸残基に置換することで生成された第2のFcサブユニットのCH3ドメイン内に存在するhole中に配置可能である、第1のFcサブユニットのCH3ドメイン内にknobを生成する。好ましくは、より大きな側鎖体積を有する当該アミノ酸残基は、システイン（C）、バリン（V）、アラニン（A）、フェニルアラニン（F）、チロシン（Y）、ロイシン（L）、リジン（K）、プロリン（P）、グルタミン酸（E）及びトリプトファン（W）からなる群から選択される。好ましくは、より小さな側鎖体積を有する当該アミノ酸残基は、アラニン（A）、セリン（S）、スレオニン（T）、アルギニン（R）、トリプトファン（W）、システイン（C）、リジン（L）、グルタミン酸（E）、アスパラギン酸（D）及びバリン（V）からなる群から選択される。

【0318】

knob及びholeに対応する変異は、例えば部位特異的変異誘発又はペプチド合成によって、ポリペプチドをコードする核酸を変性させることで作製され得る。

【0319】

1つの重鎖のみがIL-15/IL-15Rα sushiに結合される融合タンパク質の実施形態では、抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片のFcドメインは、ヘテロ二量体形成（すなわち、重鎖融合物と融合物を欠損している重鎖との会合）を促進させる1つ以上のアミノ酸置換を含み得る。実施形態では、1つの重鎖のCH3ドメイン（CH3-1）中のアミノ酸残基は、アミノ酸とより大きな側鎖体積を有するアミノ酸残基とを置換し、それによって、アミノ酸残基をより小さな側鎖体積を有するアミノ酸残基に置換することで生成された、他の重鎖のCH3ドメイン（CH3-2）内に存在する「hole」中に配置可能である、CH3ドメイン内に「knob」を生成するアミノ酸置換を含む。

【0320】

抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片（又はかかる抗体、若しくはその抗原結

合断片を含む融合タンパク質)が本明細書では提供され、

(a) 第1の重鎖定常領域は、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、第2の重鎖定常領域は、S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、

(b) 第2の重鎖定常領域は、S354C及びT366W (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、第1の重鎖定常領域は、Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、

10

(c) 第2の重鎖定常領域は、S354C及びT366W (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、第1の重鎖定常領域は、Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸置換を含み、

(d) 第1の重鎖定常領域は、アミノ酸置換S354C及びT366W (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) を含み、第2の重鎖定常領域は、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) を含み、又は

20

(e) 第2の重鎖定常領域は、アミノ酸置換S354C及びT366W (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) を含み、第1の重鎖定常領域は、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368A及びY407V (KabatatによるEUインデックスの番号づけ) を含む。

【0321】

抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片(又はかかる抗体若しくはその抗原結合断片を含む融合タンパク質)が本明細書では提供され、抗体、又はその抗原結合断片は、配列番号147~160からなる群から選択される配列を含む重鎖、及び/又は配列番号147~160からなる群から選択される配列を含む一部分を含む。

【0322】

30

リンカー

実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質は、本明細書に開示される融合タンパク質の成分を結合する1つ以上のリンカーを含み得る。リンカーは、(i) IL-15ポリペプチドとsushidメインを含むIL15R α ポリペプチドとの間に、(ii) 抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片の重鎖と、IL-15ポリペプチド、若しくはsushidメインを含むIL15R α ポリペプチドとの間に、又は(iii) その両方について、位置し得る。本開示の実施形態では、IL-15ポリペプチド及びsushidメインを含むIL15R α ポリペプチドは、第1のリンカーアミノ酸配列で結合(joined or linked)される。実施形態では、IL15R α ポリペプチドは、第2のリンカーアミノ酸配列によって、本明細書に記載の抗体又はその抗原結合断片に結合される。第1のリンカー及び第2のリンカーは、同じ又は異なるアミノ酸配列を有し得る。

40

【0323】

本明細書に記載のリンカーアミノ酸配列は、融合タンパク質が適切な二次構造及び三次構造を形成することを確実にするのに十分な長さのものであり得る。リンカーアミノの長さは、5~40アミノ酸、好ましくは10~40アミノ酸、より好ましくは15~40アミノ酸、更により好ましくは20~40アミノ酸、最も好ましくは25~35アミノ酸であり得る。

【0324】

好ましくは、リンカー配列は、Gly (G)、Asn (N)、Ser (S)、Thr (

50

T)、Ala (A)、Leu (L) 及びGln (Q) を含む群、最も好ましくはGly (G)、Asn (N) 及びSer (S) を含む群から選択されるアミノ酸から選択されたほぼ中性のアミノ酸を含む。好ましくは、リンカー配列はグリシンリッチ及びセリンリッチであり、いくつかの実施形態では、リンカーは、セリン残基及びグリシン残基のみを含む。

【0325】

いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号171 (IRDPALVHQRPAPP) の配列を含むがこれに限定されない、sushiドメインの外側のIL15R α ポリペプチドの一部を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号168 (SGSGSGSGSGSGSGSGSLQ) を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号171 及び配列番号168 を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号170 を含む。

10

【0326】

実施形態では、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片の重鎖及び軽鎖は、VRドメイン及びVLドメインに会合させて抗原結合部位を形成する第3のリンカーを使用し、単鎖ポリペプチド (「単鎖Fv」又は「scFv」) へと結合される。リンカーのアミノ酸配列は、同一又は異なるものであり得る。

【0327】

一実施形態では、IL-15ポリペプチド又はIL-15誘導体は、リンカーによってIL-15R α sushiポリペプチド又はIL-15R α sushi誘導体に共有結合される。

20

【0328】

いくつかの実施形態では、IL-15ポリペプチド又はIL-15誘導体は、第1のリンカーによってIL-15R α sushiポリペプチド又はIL-15R α sushi誘導体に共有結合され、IL-15ポリペプチド又はIL-15有様台又はIL-15R α sushiポリペプチド又はIL-15R α sushi誘導体のいずれかは、第2のリンカーによって抗B7-H4抗体、又はその抗原結合断片に共有結合される。いくつかの実施形態では、第1のリンカー及び第2のリンカーのアミノ酸配列は同一である。他の実施形態では、第1のリンカー及び第2のリンカーのアミノ酸配列は異なっている。

【0329】

結合体

本明細書に開示される抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質は、1つ以上の機能的部分を更に含み得る。有用な機能的部分の例としては、ブロッキング部分、検出可能部分、診断部分、標的部分及び治療部分が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0330】

例えば、ブロッキング部分は、抗体又はその抗原結合断片をグリコシル化するグリコシダーゼの能力をブロッキングすることでグリコシル化の減弱が生じるように、十分な立体構造バルク及び／又は電荷の部分を含み得る。好ましいブロッキング部分は、システインなどのシステイン付加物、混合ジスルフィド付加物、又はジスルフィド結合及びポリエチレングリコール (「PEG」) などのPEG部分、ポリプロピレングリコール (「PPG」)、ポリオキシエチレン化グリセロール (「POG」) 及びその他のポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコール (「PVA」) 及びその他のポリアルキレンオキシド、ポリオキシエチル化ソルビトール又はポリオキシエチル化グルコースが挙げられる。PEGは、いくつかの理由から生物学的用途では好ましい部分である。PEG化は、分子の見かけ上の分子量を増大させることで分子の薬物動態能を改善することができる。見かけ上の分子量が増大することで、皮下投与又は全身投与後の身体からのクリアランス速度が低下する。多くの場合、PEG化は、抗原性及び免疫原性を低下させることができる。PEG化はまた、生物学的に活性である分子の溶解度を改善することができる。更には、PEGは、典型的には透明、無色、無臭、水溶性、熱に安定、多くの化学薬剤に対して不活

40

50

性である、加水分解しない、及び非毒性であり、生物学的用途にとって好ましい選択となる。

【0331】

本明細書に開示される抗B7-H4抗体、若しくは抗原結合断片、又は融合物と結合することができる検出可能部分の例は、例えば、ビオチン、フルオロフォア、発色団、スピン共鳴プローブ又は放射性標識などの検出可能な標識といった、蛍光部分又は標識、造影剤、放射性同位体部分、放射線不透過性部分などを含み得る。フルオロフォアの例としては、蛍光色素（例えば、フルオレセイン、ローダミンなど）及びその他の発光分子（例えば、発光体）が挙げられる。フルオロフォアは、基質結合時に構造的変化を受ける修飾タンパク質の1つ以上の残基近くに位置する場合には、その蛍光が変化するように、環境的に感度があり得る。例示的な放射性標識は、1つ以上の感度が低い核（ ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^2H 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{99}Tc 、 ^{43}K 、 ^{52}Fe 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In など）を有する原子を含有する小分子を含む。

10

【0332】

診断部分は、疾患又は障害の存在を明らかにするのに好適な検出可能部分を含む。典型的には、診断部分によって、例えば、標的ペプチド、疾患又は障害に関連するタンパク質といった、分子の存在、分子の不在又は分子のレベルを決定することが可能となる。かかる診断は、疾患又は障害及びその進行の予後診断及び／又は診断にも好適である。

【0333】

治療部分の例としては、抗炎症薬、抗がん剤、抗神経変性薬、抗感染症薬、又は一般には治療薬が挙げられる。機能的部分はまた、上述の機能のうちの1つ以上を有し得る。例示的な治療部分としては、抗生物質、第2の抗B7-H4抗体、又はかかる腫瘍特異的抗原といった別の抗原への抗体、自己免疫組織抗原、ウイルス感染性細胞抗原、Fc受容体、T細胞受容体、若しくはT細胞共阻害剤、若しくは免疫毒素、又はがん、自己免疫疾患若しくは慢性ウイルス感染症を含む疾患若しくは状態を治療するのに有用である任意のその他の治療部分が挙げられ得る。例示的な治療部分はまた、標的に結合可能である限り、分子とともに任意の位置での細胞毒、放射性物質、サイトカイン、インターフェロン、標的若しくはレポータ部分、酵素、毒素、ペプチド又は治療薬であり得る。免疫複合体の例としては、抗体薬物複合体及び抗体毒素融合タンパク質が挙げられる。ある特定の実施形態では、抗体は、腫瘍細胞又はウイルス感染細胞に特異的な薬剤に結合され得る。

20

30

【0334】

例えば、米国特許第5,739,277号明細書に記載のサルベージ受容体結合エピトープはまた、抗体又は本明細書に記載の抗原結合断片の半減期を増強させるために、抗体、その抗原結合断片（特に抗体断片）に付着し得る。「サルベージ受容体結合エピトープ」といった用語は、IgG分子の生体内血清半減期の増大を担うIgG分子（例えば、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4）のFc領域のエピトープを指し得る（例えば、Ghetie et al., 18 Ann. Rev. Immunol. 739 (2000)）。

【0335】

核酸

40

本明細書に開示される抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質をコードする核酸、並びにベクター、宿主細胞及び発現系もまた、本明細書にて提供される。本明細書で使用される「核酸」といった用語は、任意の長さのヌクレオチド、リボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドの重合体形態を指し、一本鎖、二本鎖若しくは多鎖DNA若しくはRNA、ゲノムDNA、cDNA、DNA-RNAハイブリッド、又はプリン塩基及びピリミジン塩基、又はその他の天然、化学的修飾若しくは生化学的修飾、非天然若しくは誘導ヌクレオチド塩基を含む重合体を含むが、これらに限定されない。本明細書に開示される抗B7-H4抗体をコードする核酸、及びその抗原結合断片、並びに融合タンパク質は、例えば、DNA、cDNA、RNA、合成して産生したDNA若しくはRNA、又は単独で、若しくは組み合わせてのいずれかで、これらのポリペプチドのうち

50

のいずれかを含む、組換えで産生したキメラ核酸分子である。

【0336】

「ベクター」といった用語は、核酸分子を細胞に輸送可能である核酸分子を含む媒体を指す。「ベクター」としては、ウイルスベクター、プラスミド、RNAベクター又は直鎖若しくは環状DNA若しくはRNA分子が挙げられるがこれらに限定されず、染色体、非染色体、半合成又は合成核酸からなり得る。いくつかの実施形態では、利用されるベクターは、自律増殖（エピソードベクター）及び／又は結合される核酸の発現（発現ベクター）を可能とするものである。多くの好適なベクターが当業者に公知であり、市販されている。

【0337】

表1、表5、表7、表9、表16～表20又は表24に開示されている抗体、又はその抗原結合断片をコードする核酸、又は核酸のセットが本明細書で提供される。表13、表21又は表22に開示される融合タンパク質をコードする核酸、又は核酸のセットが本明細書で提供される。

【0338】

表16～表21に開示されるVH配列をコードする核酸が本明細書で提供される。表16～表21に開示されるVL配列をコードする核酸が本明細書で提供される。表21～表22に開示されるHC配列をコードする核酸が本明細書で提供される。表21～表22に開示されるLC配列をコードする核酸が本明細書で提供される。

【0339】

本明細書に開示される1つ以上の核酸配列を含むベクター、又はベクターのセットが、本明細書に開示される。

【0340】

本明細書に開示されるベクター、又はベクターのセットを含む細胞が、本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、細胞は免疫細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は哺乳動物細胞である。いくつかの実施形態では、細胞はヒト細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は単離された細胞である。

【0341】

抗体及び融合タンパク質の調製及び発現系

本明細書に開示される抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質は、典型的には組換え発現によって産生される。任意選択的に定常領域に結合される、軽鎖可変領域及び重鎖可変領域をコードする核酸は、同じ発現ベクターに導入され得る。代替的には、任意選択的に定常領域に結合される、軽鎖可変領域及び重鎖可変領域をコードする核酸は、異なる発現ベクターに導入され得る。発現ベクターは、プロモータ（例えば、同種又は異種プロモータ）、シグナル配列、エンハンサエレメント及び転写終結配列を含むがこれらに限定されない、1つ以上の発現制御配列を更に含み得る。好ましくは、発現制御配列は、真核生物の宿主細胞を形質転換又はトランスフェクト可能であるベクター中の真核細胞プロモータ系である。典型的には、宿主は、ベクターが適切な宿主へと導入された後に、ヌクレオチド配列の高レベル発現、交差反応性抗体の回収及び精製に好適である条件下で維持される。

【0342】

一般に、発現ベクターは、所望のDNA配列で形質転換された細胞の検出が可能である選択マーカー（例えば、アンピシリン耐性、ハイグロマイシン耐性、テトラサイクリン耐性又はネオマイシン耐性）を含有する。

【0343】

本明細書に開示される抗B7-H4抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質を発現するのに使用される宿主は、原核細胞又は真核細胞宿主であり得る。好適な宿主の例としては、生体内で、若しくは元来の位置でのいずれかでの酵母、昆虫、真菌、鳥類及び哺乳動物細胞を含む細菌若しくは真核細胞宿主、又は昆虫、鳥類若しくは酵母起源の哺乳動物の宿主細胞が挙げられる。哺乳動物細胞又は組織は、ヒト、霊長類、ハムスター、ウサギ

10

20

30

40

50

、げっ歯類、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、ヤギ、イヌ又はネコ起源のものであり得るが、任意の他の哺乳細胞が使用されてもよい。

【0344】

本明細書に開示される抗体、抗原結合断片又は融合タンパク質を発現するのに使用され得る細菌宿主の例は、大腸菌 (*E. coli*)、枯草菌 (*Bacillus subtilus*) などの桿菌、及びサルモネラ (*Salmonella*)、セラチア (*Serratia*) などのその他の腸内細菌科、並びに様々なシュードモナス (*Pseudomonas*) 種であり得る。

【0345】

酵母はまた、本明細書に開示される抗体、抗原結合断片又は融合タンパク質を発現するための宿主として使用され得る。サッカロマイセス (*Saccharomyces*) 及びピキア (*Pichia*) は、例示的な酵母宿主であり、好適なベクターは、所望に応じ、発現制御配列 (例えば、プロモータ)、複製起点、終結配列などを有する。典型的なプロモータとしては、3-ホスホグリセリン酸キナーゼ及びその他の糖分解酵素が挙げられる。誘導性酵母プロモータとしては、とりわけ、アルコールデヒドロゲナーゼ、イソサイトクロム C 並びにメタノール、マルトース及びガラクトースの利用を担っている酵素が挙げられる。

【0346】

培養物中の哺乳動物細胞はまた、本明細書に開示される抗体、抗原結合断片又は融合タンパク質を発現するための宿主細胞として使用され得る。当技術分野で周知である、異種タンパク質 (例えば、インタクト免疫グロブリン) を分泌可能である好適な宿主細胞株の例としては、CHO細胞株、様々なCOS細胞株、HeLa細胞、293細胞、骨髓腫細胞株、形質転換B細胞及びハイブリドーマが挙げられる。これらの細胞の発現ベクターは、複製起源、プロモータ、エンハンサなどの発現制御配列、並びにリボソーム結合部位、RNAスプライス部位及び／又は転写ターミネータ配列などの必要なプロセッシング情報部位を含み得る。発現制御配列の例としては、SV40、アデノウイルス、ウシパピローマウイルス、サイトメガロウイルスなどが挙げられる。

【0347】

本明細書に開示される抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質は、単一発現構築物若しくはベクター、又は複数の発現構築物若しくはベクター (例えば、2つ又は3つの発現構築物) を使用して発現され得る。抗体重鎖及び軽鎖が別個の発現ベクター上でクローニングされるときには、ベクターは同時トランスフェクトされ、発現及びインタクト免疫グロブリンの集合体を得る。発現すると、本明細書に開示される抗体全体、それらの二量体、個々の軽鎖及び重鎖、又はその他の免疫グロブリン形態は、硫酸アンモニウム沈殿法、アフィニティーカラム、カラムクロマトグラフィー、HPLC精製、ゲル電気泳動などを含む、当技術分野で標準的である手順に従って精製され得る (一般には、Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982)) を参照されたい)。医薬用途では、少なくとも約90~95%均一である、実質的に純粋な免疫グロブリンが好ましく、98~99%以上均一であるものが最も好ましい。

【0348】

開示される抗B7-H4抗体、抗原結合断片及び融合タンパク質は、当技術分野で公知である任意の方法で作製され得る。ヒト若しくはマウス抗体又は融合分子を生成するための一般的な技術が当技術分野で公知である。

【0349】

B7-H4活性を調節する方法

一態様では、B7-H4とその同族リガンドとの間の相互作用を減少させるために、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。かかる減少としては、抗体の結合後の受容体の内在化、又は標的細胞上での受容体の発現の減弱が挙げられ得る。

【0350】

一態様では、B7-H4-同族受容体の結合の結果として生じるシグナル伝達を減少させるために、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。かかる減少は、部分的なものであり得る（すなわち、B7-H4の活性の減衰ではあるが、停止ではない）、又はかかる活性の完全な停止であり得る（例えば、シグナル伝達を媒介するB7-H4の能力の無効化）。かかる減少としては、抗体の結合後の受容体の内在化、又は標的細胞上での受容体の発現の減弱が挙げられ得る。

【0351】

一態様では、免疫抑制（例えば、T細胞）を減弱させるための、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。免疫抑制は、免疫細胞表面上で発現される免疫抑制受容体、及びそれらのリガンドとの相互作用によって媒介され得る。T細胞活性を測定する方法が、当技術分野で知られている。非限定的な例により、T細胞トレランスは、共刺激及び／又はイオノマイシンが存在しない状態で、T細胞と取り消し抗原である抗CD3とを接触させることで誘導され得る。（T細胞トレランスと相関するIL-2、インターフェロン- γ 及びTNFのレベルを有する）T細胞の免疫寛容性生成の程度を決定するために、例えば、IL-27、LDH-A、RAB10及び／又はZAP70（細胞内又は分泌されたものの両方）のレベルが監視され得る。

【0352】

一態様では、T細胞発現、活性化及び／又は増殖を増強するための、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。CD8⁺T細胞増殖を増強させるために、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。CD4⁺T細胞増殖を増強させるために、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。

【0353】

一態様では、レシピエントであるヒトで、又はヒト組織で（元来の位置で、又は生体外で）B7-H4発現腫瘍細胞又は腫瘍関連マクロファージ（TAM）を枯渇させるための、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。B7-H4陽性腫瘍細胞又はTAMの枯渇は、開示された抗B7-H4抗体（若しくは別の腫瘍特異的若しくはTAM特異的マーカ）を使用する腫瘍細胞の免疫組織化学（IHC）、又はPCR、*in situ*ハイブリダイゼーション若しくは当業者に公知である別のその他の方法によるB7-H4 mRNAレベルの低下によって監視され得る。

【0354】

一態様では、治療の必要がある対象にてB7-H4発現細胞で抗体依存性細胞媒介性傷害（ADCC）を誘導するための、本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を使用する方法が提供される。

【0355】

「減弱」（又は「減少」）は、投与されていない対照と比較すると、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約45%以上、約50%以上、約55%以上、約60%以上、約65%以上、約70%以上、又は約75%以上、約80%以上、約85%以上、約90%以上、又は約95%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。

【0356】

本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質により標的とされた細胞は、例えば、形質転換時には典型的にはB7-H4を発現しない形質転換細胞といったB7-H4を発現する細胞、又は対照細胞と比較すると発現が増大していることを特徴とする細胞を含むが、これらに限定されない。好ましい標的細胞としては、がん細胞及び腫瘍関連マクロファージが挙げられる。

【0357】

治療方法

一態様では、本開示は、治療の必要がある対象での治療に有用である抗 B 7-H 4 抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を提供する。

【0358】

本明細書に記載の方法では、治療有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質は、必要がある哺乳動物に投与される。本明細書で使用する「哺乳動物」といった用語は、ヒト、実験動物、家庭用ペット及び家畜を含むが、これらに限定されない。哺乳動物はヒトであることが好ましい。本明細書に記載の「治療有効量」は、哺乳動物への投与時に、所望の治療効果をもたらすのに有効である抗 B 7-H 4 抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質の量を指す。

10

【0359】

実施形態では、「対象」は哺乳動物である。実施形態では、対象は、非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウスなど）又は霊長類（例えば、サル及びヒト）である。本明細書では、個体及び患者もまた対象に該当する。

【0360】

本明細書で使用する「治療する (treat)」、「治療した (treated)」、「治療すること (treating)」又は「治療 (treatment)」といった用語は、治療的療法をさすが、これは、対象物が、望ましくない生理学的状態、障害、若しくは疾患を遅延（和らげる）すること、又は有益な、若しくは所望の臨床結果を得ることである。本開示の目的のために、有益な、又は所望の臨床結果としては、症状の軽減；状態、障害又は疾患の程度の減弱；状態、障害又は疾患の状況の安定化（すなわち、悪化しないこと）；状態、障害又は疾患の発症の遅延又は進行の遅延；状態、障害又は疾患状態の 1 つ以上の症状の回復；及び寛解（部分的又は全体的にかかわらず）が挙げられるが、これらに限定されない。治療としては、過剰なレベルの副作用なしに臨床的に効果のある応答を誘発することが挙げられる。治療としては、治療を受けていない場合に予想される生存期間と比較すると、生存期間が延長することもまた挙げられる。

20

【0361】

「予防する」、「予防」などの用語は、疾患又は障害の明らかな発症前に作用し、疾患若しくは障害が発症するのを予防する、又は疾患若しくは障害の程度を最小に留めるか、その発症の過程を遅延させることを指す。

30

【0362】

抗 B 7-H 4 抗体を用いた治療によって利益を受ける可能性がある対象は、腫瘍又は T AM 上のいずれかで標的 B 7-H 4 タンパク質を発現する。これは、腫瘍試料の IHC、FAC、in situ ハイブリダイゼーション又は当業者に公知であるその他の別の方法で評価され得る。実施形態では、対象は B 7-H 4 の発現を上方制御する。

【0363】

がんを治療する必要がある対象で、がんを治療する方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。がんの治療の必要がある対象を治療するのに使用するための、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質が提供される。がんの治療の必要がある対象を治療するのに使用するための、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質の使用が提供される。がんの治療の必要がある対象を治療するための医薬製造における、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質が提供される。

40

【0364】

必要がある対象において腫瘍増殖を減弱させる方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。必要がある対象において腫瘍増殖を減弱させるのに使用するための、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質が提供さ

50

れる。必要がある対象において腫瘍増殖を減弱させるのに使用するための、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質の使用が提供される。必要がある対象において腫瘍増殖を減弱させるための医薬製造における、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質が提供される。

【0365】

必要がある対象において腫瘍転移を減少させる方法が本明細書で提供され、方法は、有効量の本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質を対象に投与することを含む。必要がある対象において腫瘍転移を減少させるのに使用するための、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質が提供される。必要がある対象において腫瘍転移を減少させるのに使用するための、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質の使用が提供される。必要がある対象において腫瘍転移を減少させるための医薬製造における、抗 B 7-H 4 抗体、又はその抗原結合断片、又は融合タンパク質が提供される。

10

【0366】

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質を用いて治療又は予防され得るがん及び関連障害としては、以下：急性白血病、急性リンパ性白血病、骨髄芽球性白血病、前骨髄球性白血病、骨髄単球性白血病、単球性白血病、赤血白血病などの急性骨髄球性白血病及び骨髄異形成症候群、慢性骨髄球性（顆粒球）白血病、慢性リンパ性白血病、ヘアリーセル白血病などであるがこれらに限定されない慢性白血病を含むがこれらに限定されない白血病；真性多血症；ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫などであるがこれらに限定されないリンパ腫；くすぶり型多発性骨髄腫、非分泌型骨髄腫、骨硬化性骨髄腫、形質細胞性白血病、孤立性形質細胞腫及び髄外性形質細胞腫などであるがこれらに限定されない多発性骨髄腫；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症；良性単クローン性 γ グロブリン異常症；重鎖病；骨肉腫（bone sarcoma）、骨肉腫（osteosarcoma）、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、悪性巨細胞腫、骨の線維肉腫、脊索腫、骨膜性骨肉腫、軟部肉腫、血管肉腫、線維肉腫、カボジ肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、リンパ管肉腫、神経鞘腫、横紋筋肉腫、滑膜肉腫などであるがこれらに限定されない骨及び結合組織の肉腫；神経膠腫、星状細胞腫、脳幹神経膠腫、上衣腫、乏突起神経膠腫、非グリア腫瘍、聴神経鞘腫、頭蓋咽頭腫、髄芽腫、髄膜腫、松果体細胞腫、松果体芽腫、原発性脳リンパ腫を含むがこれらに限定されない脳腫瘍；腺がん、小葉（小細胞）がん、乳管がん、髄様乳がん、粘液性乳がん、管状乳がん、乳頭状乳がん、ページェット病、炎症性乳がんを含むがこれらに限定されない乳がん；褐色細胞腫及び副腎皮質がんを含むがこれらに限定されない副腎がん；甲状腺乳頭がん又は濾胞性甲状腺がん、甲状腺髄様がん及び甲状腺未分化がんなどであるがこれらに限定されない甲状腺がん；インスリノーマ、ガストリノーマ、グルカゴノーマ、ビポーマ、ソマトスタチン分泌腫瘍、カルチノイド又は膵島腫瘍を含むがこれらに限定されない膵がん；クッシング病、プロラクチン分泌腫瘍、先端巨大症、尿崩症を含むがこれらに限定されない下垂体がん；眼のメラノーマ、虹彩メラノーマ及び毛様体メラノーマ、並びに網膜芽細胞腫を含むがこれらに限定されない眼のがん；扁平上皮がん、腺がん、メラノーマを含むがこれらに限定されない腫瘍；扁平上皮がん、メラノーマ、腺がん、基底細胞がん、肉腫及びページェット病を含むがこれらに限定されない外陰がん；扁平上皮がん及び腺がんを含むがこれらに限定されない子宮頸がん；子宮内膜がん、子宮肉腫を含むがこれらに限定されない子宮がん；卵巣上皮がん、境界悪性腫瘍、生殖細胞腫瘍、間質性腫瘍を含むがこれらに限定されない卵巣がん；扁平上皮がん、腺がん、腺様嚢胞がん、粘表皮がん、腺扁平上皮がん、肉腫、メラノーマ、形質細胞腫、疣状がん、燕麦細胞がん（小細胞がん）を含むがこれらに限定されない食道がん；腺がん、菌状（ポリポイド）、潰瘍化、表在拡大、びまん性拡散、悪性リンパ腫、脂肪肉腫、線維肉腫、がん肉腫を含むがこれらに限定されない胃がん；結腸がん；直腸がん；肝細胞がん及び肝芽腫を含むがこれらに限定されない肝臓がん；腺がんを含むがこれに限定されない胆嚢がん；乳頭型、結節状、びまん性を含むがこれらに限定されない胆管細胞がん；非小細胞肺が

20

30

40

50

ん、扁平上皮がん（類表皮がん）、腺がん、大細胞がん、小細胞肺がんを含むがこれらに限定されない肺がん；胚腫瘍、セミノーマ、未分化型、古典的（典型的）、精母細胞性、非セミノーマ、胚性がん腫、奇形腫、絨毛がん（卵黄嚢腫瘍）を含むがこれらに限定されない精巣がん；腺がん、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫を含むがこれらに限定されない前立腺がん；陰茎がん；扁平上皮がんを含むがこれに限定されない口腔がん；基底がん；腺がん、粘表皮がん、腺様嚢胞がんを含むがこれらに限定されない唾液腺がん；扁平上皮がん及びいぼ状がんを含むがこれらに限定されない咽頭がん；基底細胞がん、扁平上皮がん及びメラノーマ、表在拡大型メラノーマ、結節状メラノーマ、悪性黒子由来メラノーマ、末端黒子型メラノーマを含むがこれらに限定されない皮膚がん；腎細胞がん、腺がん、グラヴィッツ腫瘍、線維肉腫、移行細胞がん（腎盂及び／又は尿管）を含むがこれらに限定されない腎がん；ウィルムス腫瘍；移行細胞がん、扁平上皮がん、腺がん、がん肉腫を含むがこれらに限定されない膀胱がん、が挙げられるが、これらに限定されない。加えて、がんは、粘液肉腫、骨肉腫、内皮肉腫、リンパ管内皮肉腫、中皮腫、滑膜腫、血管芽腫、上皮がん、嚢胞腺がん、気管支原性肺がん、唾液腺がん、皮脂腺、乳頭がん及び乳頭型腺がんが挙げられる。

10

【0367】

したがって、本明細書に開示される抗B7-H4抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質は、以下：膀胱、乳房、結腸、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、胃、頸部、甲状腺及び皮膚のがん腫を含むがん腫；扁平上皮がんを含むがん腫；白血病、急性リンパ性白血病、急性リンパ芽球性白血病、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫（*Berkeitts lymphoma*）を含むリンパ系の造血器腫瘍；急性及び慢性骨髄性及び前骨髄球性白血病を含む、骨髄細胞系列の造血器腫瘍；線維肉腫及び横紋筋肉腫を含む、間葉起源の腫瘍；メラノーマ、セミノーマ、奇形腫（*tetratocarcinoma*）、神経芽腫及び神経膠腫を含むその他の腫瘍；星状細胞腫、神経芽腫、神経膠腫及びシュワン細胞腫を含む、中枢及び末梢神経系の腫瘍；線維肉腫、横紋筋肉腫及び骨肉腫を含む、間葉起源の腫瘍；並びにメラノーマ、色素性乾皮症（*xenoderma pigmentosum*）、ケラトアkantoma、セミノーマ、濾胞性甲状腺がん及び奇形腫を含むその他の腫瘍を含む（がこれらに限定されない）様々ながん（特に、卵巣がん、乳がん、前立腺がん、胃がん、腎がん、甲状腺がん及び子宮がん）又は異常増殖性疾患の治療又は予防にも有用である。アポトーシスの異常によって引き起こされるがんはまた、本明細書に開示される方法及び組成物で治療される。かかるがんとしては、濾胞性リンパ腫、p53変異を有するがん腫、乳房、前立腺及び卵巣のホルモン依存性腫瘍、並びに家族性大腸腺腫症などの前がん性病変、並びに骨髄異形成症候群が挙げられ得るが、これらに限定されない。特定の実施形態では、悪性転化又は異常増殖転化（異形成及び形成異常など）、又は過剰増殖障害は、卵巣、膀胱、乳房、結腸、肺、皮膚、脾臓又は子宮において、開示された方法及び組成物により治療又は予防される。その他の特定の実施形態では、肉腫、メラノーマ又は白血病は、提供される方法及び組成物で治療又は予防される。

20

30

【0368】

がん細胞は、様々な機構を通してではあるが、それらの発達中に一連の特徴的な機能的能力を必要とする。かかる能力としては、アポトーシス回避、増殖シグナルでの自給自足、抗増殖シグナルへの不感受性、組織浸潤／転移、際限なき複製可能性及び持続的な血管形成が挙げられる。「がん細胞」といった用語は、前悪性及び悪性がん細胞の両方を包含することを意味する。いくつかの実施形態では、がんは、限局性で維持されている良性腫瘍を指す。その他の実施形態では、がんは、隣接する身体構造に浸潤して破壊し、遠隔部位に広がっている悪性腫瘍を指す。更にその他の実施形態では、がんは、特異的ながん抗原（例えば、半がん腫抗原（*KS 1/4*）、卵巣がん腫抗原（*CA125*）、前立腺特異的抗原（*prostate specific antigen*、*PSA*）、がん胎児性抗原（*carcinoembryonic antigen*、*CEA*）、*CD19*、*CD20*、*HER2/neu*など）に関連する。

40

【0369】

50

併用療法

本明細書に開示される抗 B 7-H 4 抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質は、有利には、更なる治療薬と組み合わせられ得る。かかる更なる薬剤としては、細胞傷害性薬物、化学療法薬、増殖抑制薬、抗炎症薬、抗がん剤、抗神経変性薬、免疫抑制剤及び抗感染症薬が挙げられるが、これらに限定されない。抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質並びに更なる治療薬（又は更なる療法）の投与は、同時に、継続的に、又は断続的であり得る。抗 B 7-H 4 抗体若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質並びに更なる治療薬（又は更なる療法）の投与は、別々に、又は混合物としての投与であり得る。更に、本明細書で提供される治療方法は、抗体療法、化学療法、サイトカイン療法、樹状細胞療法、遺伝子療法、ホルモン療法、レーザー光療法及び放射線療法の群を含むが、これらに限定されない 1 つ以上の療法と組み合わせた治療に関連し得る。

10

【0370】

本開示の抗 B 7-H 4 抗体、その抗原結合断片及び融合タンパク質は、腎細胞がん、大腸がん、多形神経膠芽腫、頭頸部の扁平上皮がん、非小細胞肺がん、結腸がん、卵巣がん、腺がん、前立腺がん、神経膠腫及びメラノーマを含むがこれらに限定されないがんを治療するために使用される 1 つ以上の抗がん薬物又は療法と相乗的に組み合わせられ得る。かかる薬剤の例としては、PD-L1 への抗体（例えば、ニボルマブ）、LAG-3 阻害剤、CTLA-4 阻害剤（例えば、イピリムマブ）、TIM3 阻害剤、BTLA 阻害剤、TIGIT 阻害剤、CD47 阻害剤、別の T 細胞共阻害剤又はリガンドのアンタゴニスト（例えば、CD-28、2B4、LY108、LAI R 1、ICOS、CD160 又は VISTA）、インドールアミン-2, 3-ジオキシゲナーゼ（IDO）阻害剤、血管内皮細胞増殖因子（vascular endothelial growth factor、VEGF）アンタゴニスト（例えば、アフリベルセプトなどの「VEGF-Trap」又は米国特許第 7,087,411 号明細書に記載のその他の VEGF 阻害性融合タンパク質、又は抗 VEGF 抗体、若しくはその抗原結合断片（例えば、ベバシズマブ若しくはラニズマブ）、又は VEGF 受容体の小分子キナーゼ阻害剤（例えば、スニチニブ、ソラフェニブ若しくはパゾパニブ）、Ang2 阻害剤（例えば、ネスバクマブ）、トランスフォーミング増殖因子 β （transforming growth factor β 、TGF β ）阻害剤、上皮増殖因子受容体（epidermal growth factor receptor、EGFR）阻害剤（例えば、エルロチニブ、セツキシマブ）、共刺激受容体へのアゴニスト（例えば、糖質コルチコイド誘導体 TNFR 関連タンパク質）、腫瘍特異的抗原（例えば、CA9、CA125、メラノーマ関連抗原 3（MAGE3）、がん胎児性抗原（CEA）、抗ウイルス薬（例えば、ジドブジン、ラミブジン、アバカビル、リバビリン、ロピナビル、エファビレンツ、コビススタット、テノホビル、リルピビリン及び副腎皮質ホルモン）、ビメンチン、腫瘍-M2-PK、前立腺特異抗原（prostate-specific antigen、PSA）、ムチン-1、MART-1 及び CA19-9 への抗体、ワクチン（例えば、カルメット・ゲラン菌（Bacillus Calmette-Guerin）、がんワクチン）、抗原提示を増強するアジュバント（例えば、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子）、二重特異性抗体（例えば、CD3 $\times$ CD20 二重特異性抗体、PSMA $\times$ CD3 二重特異性抗体）、がんワクチン（例えば、MAGE3、MUC1、EGFRv3、ALVAC-CEA）、細胞毒、化学療法薬（例えば、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタビン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル及びビンクリスチン）、放射線療法、IL-6R 阻害剤（例えば、サリルマブ）、IL-4R 阻害剤（例えば、デュビルマブ）、IL-10 阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21 及び IL-15 などのサイトカイン、抗体薬物複合体（ADC）（例えば、抗 CD19-DM4 ADC 及び抗-DS6-DM4 ADC）、抗炎症薬（例えば、副腎皮質ホルモン及び非ステロイド抗炎症薬）、抗酸化剤などの栄養補助食品、又はがんを治療するための任意の緩和療法、放射線療法、及び／又は自己免疫疾患の治療のための免疫細胞上

20

30

40

50

のFc受容体に対する抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0371】

投与方法

本明細書に記載の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質のうちのいずれかを含む治療用組成物は、注射、輸血、埋め込み又は移植を含むがこれらに限定されない、好都合な様式で必要がある対象に投与され得る。本明細書に記載の組成物は、皮下、皮内、腫瘍内、経鼻、髄内、筋肉内、頭蓋内、静脈内若しくはリンパ内注射、又は腹腔内で、必要がある対象に投与され得る。一実施形態では、本開示の細胞組成物は、静脈内注射で投与されることが好ましい。

【0372】

ある特定の実施形態では、抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質は、哺乳動物への静脈内注入、すなわち、ある特定の期間にわたる抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質の哺乳動物の静脈への導入によって投入される。ある特定の実施形態では、期間は、約5分間、約10分間、約30分間、約1時間、約2時間、約4時間又は約8時間である。

【0373】

いくつかの実施形態では、組成物は、腫瘍又は腫瘍微小環境に直接投与され、腫瘍部位に対する組成物の局在化を増強し、B7-H4を発現する非標的細胞への毒性を減弱する。

【0374】

投与レジメン

本開示のこの態様に記載の方法は、対象に、本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質の複数回用量を順次投与することを含む。本明細書で使用される場合、「順次投与」は、本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質の各用量が、時間にして異なる時点（例えば、所定の間隔（例えば、時間、日数、週間又は月間）で分けられた様々な日数）で対象に投与されることを意味する。本開示は、患者に、本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質の単回初期用量、続いて本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質の1回以上の二次用量、任意選択的には続いて本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質の1回以上の三次用量を順次投与することを含む、方法を含む。本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質は、0.01mg/kg～100mg/kgの用量で投与され得る。

【0375】

ある特定の実施形態では、化合物又は組成物の用量は、対象に、毎日、1日おきに、2日おきに、3日おきに、1週間に1回、1週間に2回、1週間に3回、2週間に1回、又は1ヶ月に1回投与される。その他の実施形態では、化合物又は組成物の2回、3回又は4回の用量は、対象に、毎日、2日おきに、3日おきに、1週間に1回、2週間に1回又は1ヶ月に1回投与される。いくつかの実施形態では、化合物又は組成物の用量は、2日間、3日間、5日間、7日間、14日間、21日間又は28日間にわたって投与される。ある特定の実施形態では、化合物又は組成物の用量は、1ヶ月間、1.5ヶ月間、2ヶ月間、2.5ヶ月間、3ヶ月間、4ヶ月間、5ヶ月間、6ヶ月間以上にわたって投与される。

【0376】

医薬組成物

別の態様では、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤とともに製剤化される、本開示の治療有効量の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質を含む薬学的に許容される組成物が提供される。

【0377】

活性剤の投与量は、使用理由、個々の対象及び投与様式に応じて変わり得る。投与量は、対象の体重、対象の年齢及び健康状態、並びに化合物又は組成物の忍容性に基づいて調

10

20

30

40

50

整され得る。

【0378】

活性剤及び賦形剤は、当技術分野で公知の方法に記載されている組成物及び剤形に製剤化され得る。本明細書で提供される医薬組成物は、例えば、滅菌溶液又は懸濁液として、例えば皮下、腫瘍内、筋肉内又は静脈内注射による非経口投与に適合したものを含む、固体又は液体形態で特に製剤化され得る。

【0379】

抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片、又はその融合タンパク質を含む治療用組成物は、液体又は固体の充填剤、希釈剤、担体、製造補助剤（例えば、潤滑剤、含水珪酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム若しくは亜鉛、若しくはステアリン酸）、対象に投与するために治療用化合物の運搬又は輸送に關与する溶媒又は封入材料、増量剤、塩、界面活性剤及び／又は保存料などの薬学的に許容される物質、組成物又はビヒクルであり得る、1種以上の薬学的に許容される賦形剤とともに製剤化され得る。薬学的に許容される賦形剤として機能し得る材料のいくつかの例としては、ラクトース、グルコース及びスクロースなどの糖類；トウモロコシデンプン及びジャガイモデンプンなどのデンプン；カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース及び酢酸セルロースなどのセルロース及びその誘導体；ゼラチン；タルク；ワックス；ピーナッツ油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油及び大豆油などの油；エチレングリコール及びプロピレングリコールなどのグリコール；グリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコールなどのポリオール；オレイン酸エチル及びラウリン酸エチルなどのエステル；アガー；緩衝剤；水；等張食塩水；pH緩衝液；並びに医薬製剤に利用されるその他の非毒性の適合する物質が挙げられる。

【0380】

本明細書で言及される増量剤は、医薬組成物の質量を増大させ、且つ凍結保存形態の製剤の物理的構造に寄与するために加えられる化合物として説明され得る。増量剤の例としては、好適なマンニトール、グリシン、ポリエチレングリコール及びソルビトールが挙げられ得るが、これらに限定されない。

【0381】

治療用組成物は、任意選択的には界面活性剤を含み得る。界面活性剤の使用によって、再構成されたタンパク質の凝集を低下させ、且つ／又は再構成された製剤中での微粒子の形成を低下させることができる。本開示に記載される、使用される可能性のある好適な界面活性剤の例としては、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート20又は80）；ポロキサマー（例えば、ポロキサマー188）；Triton；ドデシル硫酸ナトリウム（sodium dodecyl sulfate、SDS）；ラウリル硫酸ナトリウム（sodium laurel sulfate）；オクチルグリコシドナトリウム；ラウリルスルホベタイン、ミリスチルスルホベタイン、リノレイルスルホベタイン又はステアリルスルホベタイン；ラウリルサルコシン、ミリスチルサルコシン、リノレイルサルコシン又はステアリルサルコシン；リノレイルベタイン、ミリスチルベタイン又はセチルベタイン；ラウロアミドプロピルベタイン、コカミドプロピルベタイン、リノレアミドプロピルベタイン、ミリスタミドプロピルベタイン、パルミドプロピルベタイン又はイソステアラミドプロピルベタイン（例えば、ラウロアミドプロピル）；ミリスタミドプロピルジメチルアミン、パルミドプロピルジメチルアミン又はイソステアラミドプロピルジメチルアミン；ココイルメチルタウリンナトリウム又はオレオイルメチルタウリンナトリウム；並びにポリエチルグリコール、ポリプロピルグリコール、及びエチレンとプロピレングリコールとのコポリマー（例えば、Pluronic, PF68など）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0382】

保存料は、任意選択的には、本明細書に記載の治療用組成物に使用され得る。本明細書で提供される製剤に使用するのに好適な保存料としては、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ヘキサメトニウムクロリド、ベンゾアルコニウムクロリド（アル

10

20

30

40

50

キル基は長鎖化合物であるアルキルベンジルージメチルアンモニウムクロリドの混合物)及びベンゼトニウムクロリドが挙げられる。その他の種類の保存料としては、フェノール、ブチル及びベンジルアルコール、メチル又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、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール及びm-クレゾールが挙げられる。

【0383】

本明細書に記載の治療用組成物は、様々な濃度の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、融合タンパク質を有し得る。例えば、組成物は、10mg/mL~200mg/mL、25mg/mL~130mg/mL、50mg/mL~125mg/mL、75mg/mL~110mg/mL又は80mg/mL~100mg/mLで、抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質を含み得る。組成物はまた、10mg/mL、20mg/mL、30mg/mL、40mg/mL、50mg/mL、60mg/mL、70mg/mL、80mg/mL、90mg/mL、100mg/mL、110mg/mL、120mg/mL、130mg/mL、140mg/mL又は150mg/mLで、抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質を含み得る。いくつかの実施形態では、治療用組成物は凍結保存され、投与前に再構成するための組成物で提供され得る。

10

【0384】

診断用途

本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質は、例えば診断目的のために試料中のB7-H4を検出且つ／又は測定するために使用され得る。本明細書に開示される抗B7-H4抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質は、がんなどの疾患又は障害を検出するためにアッセイで使用され得る。B7-H4向けの例示的な診断アッセイは、例えば、患者から得られる試料と、本開示の抗B7-H4抗体、その抗原結合断片又は融合タンパク質とを接触させることを含み得る。抗B7-H4抗体、その抗原結合断片、又は融合タンパク質は、検出可能な標識若しくはレポータ分子で標識される、又は患者試料からB7-H4を選択的に単離するために捕捉リガンドとして使用されるか、代替的には検出可能に標識される二次抗体と組み合わせて使用される。検出可能な標識又はレポータ分子は、放射性同位体、フルオレセインイソチオシアネート若しくはローダミンなどの蛍光若しくは化学発光部分、又はアルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ若しくはルシフェラーゼなどの酵素であり得る。試料中のB7-H4を検出又は測定するために使用され得る特定の例示的なアッセイとしては、酵素結合免疫吸着測定法(enzyme linked immunosorbent assay、ELISA)、放射免疫測定法(radioimmunoassay、RIA)及び蛍光標識細胞分取(fluorescence-activated cell sorting、FACS)が挙げられる。

20

30

【0385】

本開示のキットとしては、薬剤、組成物、成分、試薬、投与装置、若しくは機構、又は本明細書で提供されるその他の実態の任意の組合せが挙げられ得る。例えば、本開示のキットは、本明細書に開示される1つ以上の抗B7-H4抗体、若しくはその抗原結合断片、又は融合タンパク質と、担体組成物、投与装置及び併用療法薬のうちの1つ以上とを含み得る。キットは、注射のための注射器など、送達を促進させる装置、又は必要がある対象への治療用組成物の送達を促進させるツールを更に含み得る。本明細書で提供されるキットのいずれもが、投与の説明書とともに、容器、パック又はデispensサ中に含まれ得る。

40

【0386】

その他の参照特許及び特許出願すべては、その全体が本明細書の一部として本明細書に援用される。更に、本明細書の一部として援用される参考文献中の用語の定義又は使用が本明細書で提供される用語の定義と矛盾又はこれに反する場合、本明細書で提供される用語の定義が適用され、参考文献中の用語の定義は適用されない。

【0387】

50

記載される特定の分子、組成物、方法又はプロトコールが変わり得るため、本開示がこれらに限定されないことが理解されよう。本明細書に記載の方法及び物質と類似又は同等の任意の方法及び物質は、本開示の実施形態の実施又は試験に使用され得る。本明細書の本開示は、かかる特定の特徴の考えられるすべての組合せを含むことが更に理解されよう。例えば、特定の特徴が本明細書での本開示の特定の態様若しくは実施形態、又は特定の請求項の文脈で開示されている場合、この特徴もまた、可能である限り、本開示のその他の特定の態様及び実施形態と組み合わせて、並びに／又は本開示のその他の特定の態様及び実施形態の文脈で、及び本開示にて一般的に、使用され得る。

【0388】

本明細書にて2つ以上の規定のステップを含む方法に言及する場合、規定のステップは、列挙された順番で、又は任意の順番で、若しくは同時に実行されることができ（文脈がその可能性を除外する場合を除く）、方法は、規定のステップのうちの任意のステップの前、規定のステップのうちの2つのステップ間で、又は規定のステップすべての後に実行される、1つ又は複数の他のステップを含むことができる（文脈がその可能性を除外する場合を除く）。

【0389】

本開示の理解をより良好なものへと促進させるために、特定の実施形態の以下の実施例がもたらされる。以下の実施例は、本開示の全範囲を限定又は定義するために読まれてはならない。

【実施例】

【0390】

実施例1：実施例1～21の材料及び方法

ヒト／マウスB7-H4-Fc、ヒト／マウスB7-H4のIgVドメイン及びヒト及びマウスB7-H4のIgCドメインの生成。

ヒトB7-H4（NCBIAクセセッション番号：NP_078902、Phe29-Ala258）及びマウスB7-H4（NCBIAクセセッション番号：Q7TSP5、Phe29-Pro258）の遺伝子を合成し、ヒトIgG1 FcのN末端をコードする遺伝子（NCBIAクセセッション番号：P01587、Pro100-Lys330）に融合した。B7-H4-Fc融合タンパク質をコードする遺伝子を、pcDNA3.1（ThermoFisher）などの哺乳動物発現ベクターに挿入し、Exp293F細胞（ThermoFisher）にトランスフェクトした。細胞を、大容量リーチインCO2インキュベータ（Thermo Scientific）にて30℃、4～5日間インキュベートした後、透明な上清をMabSelect SuReプロテインAカラムに充填した。精製したタンパク質を、pH3のグリシン緩衝液で溶出した。pH7.5のトリス緩衝液で中和した後、タンパク質をSDS-PAGE及び／又はSE-HPLCで解析した。同じ方法を使用し、ヒトB7-H4-FcとマウスB7-H4-Fc（Phe29-Val157）の両方のIgVドメイン及びヒトB7-H4-Fc（Asp158-Ala258）又はマウスB7-H4-Fc（Asp158-Pro258）のIgCドメインを生成した。

【0391】

Superman 2.0ファージディスプレイライブラリーによる抗体同定

EZ-Link（商標）NHS-PEG4-ビオチン（ThermoFisher）を使用することで、ヒトB7-H4-his及びマウスB7-H4-hisをビオチン化した。Superman 2.0ファージディスプレイライブラリー（Distributed Bio）からの精製ファージを、100µg～0.5µgのヒト／マウスB7-H4-Fc又はビオチン化ヒト／マウスB7-H4-hisと混合した。RTで0.5～1時間インキュベートした後、B7-H4／ファージの混合物をプロテインG（Fc融合B7-H4用）又はstrept（ビオチン化B7-H4用）磁気ビーズで捕捉した。非結合ファージをPBS-T及びPBSで洗浄し、トリエチルアミン（Triethylamine、TEA）100mMで溶出した。溶出ファージをpH7.5のトリス緩衝液で中

10

20

30

40

50

和し、対数増殖期に増殖する感染エレクトロコンピテント E R 2 7 3 8 大腸菌 (E . c o l i) セルに使用した。30℃で一晩インキュベートした後、細菌を回収し、グルコース、テトラサイクリン及びカルベニシリンを含む 2 Y T への播種に使用した。M 1 3 ヘルパーファージを使用して対数増殖期の細菌に感染させ、培地を、カナマイシン及びカルベニシリンを含む 2 Y T に変えてファージの増殖を一晩継続した。翌日、P E G でファージを精製し、P B S 中に再懸濁させた。次のラウンドパニング用に精製ファージを準備していた。パニングを監視するため、個々の細菌コロニーを選び、対数増殖期までこれを増殖させた。上記のように、M 1 3 ヘルパーファージを加えてファージを増幅させた。B 7 - H 4 コーティングプレートに、粗ファージ混合物を加えた。H R P - 抗 - M 1 3 抗体を使用して結合を検出した。一般には、陽性率が 5 0 % 超に達するまで 3 ~ 4 回のパニングを実施した。

10

【0392】

軽鎖シャッフリング法を使用し、リードの親和性を向上した。簡潔には、S u p e r m a n 2 . 0 ライブラリーからの軽鎖のプールとリード重鎖を対にすることで、新規ファージライブラリーを構築した。より高い温度、より低い又は高い pH 及び洗浄緩衝液中の更なる B 7 - H 4 抗原の存在など、過酷な条件でより高い親和性を有する抗体を同定した。

【0393】

s c F v からの I g G 変換、発現及び精製

可変軽鎖ドメイン及び可変重鎖をコードする遺伝子を、ヒト I g G 1 軽鎖又は重鎖の定常ドメインのそれぞれをコードする遺伝子に融合した。タンパク質コード配列 (可変ドメインと定常ドメインの両方をコードする) 全体を、p c D N A 3 . 1 (T h e r m o F i s h e r) などの哺乳動物発現ベクターへと導入した。ベクターを、H E K 2 9 3 、チャイニーズハムスター卵巣 (C h i n e s e H a m s t e r O v a r y 、 C H O) 細胞又は $\alpha 1$, 6 - フコシルトランスフェラーゼ (F U T 8) トランスフェクト C H O (A D C C 活性を増強) などの発現細胞株にトランスフェクトした。抗体を、プロテイン A カラム及び S E C - H P L C を使用して精製し、95% 超のモノマーを含む純粋な抗体を産生した。

20

【0394】

融合タンパク質の生成

I L - 1 5 受容体 s u s h i ドメイン (N C B I アクセッション番号 : E A W 8 6 4 1 8 . 1 の残基 3 3 ~ 9 3) 及び成熟 I L - 1 5 (N C B I アクセッション番号 : P 4 0 9 3 3 の残基 4 9 ~ 1 6 2) を合成し、抗 B 7 - H 4 抗体の重鎖をコードした配列の 3 ' 末端に融合した (C 末端融合タンパク質をコードする遺伝子が得られた) 。重鎖の変異 (ある重鎖では S 3 5 4 C 及び T 3 6 6 W 、その他の重鎖では Y 3 4 9 C 、 T 3 6 6 S 、 L 3 6 8 A 及び Y 4 0 7 V) を導入し、2つの重鎖のヘテロ二量体を安定化させた。抗体の F c 領域の更なる変異 (M 4 2 8 L 及び N 4 3 4 S) を導入し、p H 6 で F c R n に結合する抗体を増加させ、それによってタンパク質の血清半減期を延長した。融合抗体の発現及び精製を、上記のように実施した。

30

【0395】

用量反応 E L I S A

ヒト又はマウス B 7 - H 4 - F c (又は h i s タグ化) 約 1 ~ 2 μ g を、E L I S A プレート (I m m u n o 2 H B 、 T h e r m o s c i e n t i f i c 、カタログ番号 3 4 5 5) にて、4℃で一晩固定した。プレートを 3 % P B S + ミルクでブロッキングした後、段階希釈した抗体をブロッキングしたプレートに加え、R T で 1 ~ 1 . 5 時間インキュベートした。プレートを P B S - T (0 . 0 5 %) で洗浄した後、h F a b を標的とする西洋ワサビペルオキシダーゼ (h o r s e r a d i s h p e r o x i d a s e 、 H R P) 結合抗体をプレートに加えた。3 , 3 ' , 5 , 5 ' - テトラメチルベンジジン (T e t r a m e t h y l b e n z i d i n e 、 T M B) を加えることでシグナルを発生させた (続いて、1 N H ₂ S O ₄) を加え、反応を停止させた) 。450 nm での O D を、E L I S A プレートリーダー (T E C A N 製 I n f i n i t e M 1 0 0 0) で読み取った。

40

50

PrismのGraphPadを使用し、抗体に対するOD450濃度曲線をプロットし、EC50値を算出した。

【0396】

Biacoreキネティクス

CM5センサチップを搭載したBiacore T200装置を使用し、表面プラズモン共鳴実験を実施した。この系を、pH7.4の泳動用緩衝液HBS-EPで平衡化した。リガンドを、アミンカップリング化学を使用して固定化した。アミンカップリングキットを使用し、フローセル1~4の表面を5分間、流量10μL/分で活性化した。リガンド（ヒトB7-H4-Fc、ヒトB7-H4-hism及びマウスB7-H4-Fc、10mM 酢酸ナトリウム中5μg/mLの濃度、pH5.0）を、それぞれフローセル2、3、4にて50~100RUの密度で固定化した。フローセル1はブランク状態のままとし、基準面として機能させた。1M エタノールアミン（pH8.0）を5分間注入することですべてのフローセル面をブロッキングした。キネティクス結合データを収集するため、それぞれの分析物（1XHBS-EP緩衝液、pH7.4）を、濃度100nM~0.1nM、流量30μL/分、温度25℃で4つのフローセルに注入した。タンパク質複合体を、180秒間及び1000又は1200秒間にわたり、それぞれ会合及び解離させた。1.5M NaCl/0.05M NaOHを30秒間注入することで、表面を再生した。Biaevaluationソフトウェア内で利用可能なLangmuirフィットオプションを使用し、データを単純な1:1相互作用モデルに適合させた。

【0397】

mB7-H4発現するCT26細胞株の生成

マウスがん腫CT26細胞株（CT26、CL25、カタログ番号CRL-2639）をATCCから得た。pReceiver-M68ベクター（カタログ番号EX-32401-M68）中のマウスB7-H4（Vtcn1）ORF cDNA及びその空の対照ベクターであるpReceiver-M68ベクター（カタログ番号EX-NEG-M68）を、GeneCopoeiaから購入した。CT26細胞を、Lipofectamine（登録商標）2000 DNAトランスフェクション試薬を使用し、精製プラスミドでトランスフェクトした。48~72時間のトランスフェクション後、トランスフェクトしたCT26細胞コロニーを選択してプロマイシン含有培地で培養し、Guava（登録商標）フローサイトメトリーeasyCyte（商標）システムを使用してPE抗マウスB7-H4抗体（カタログ番号139406、Biolegend）を染色することで、選択したクローンのmB7-H4発現レベルを検出した。

【0398】

FACSによる、細胞発現B7-H4に結合する抗体/融合タンパク質の評価

細胞を回収し、1回洗浄した後、氷冷FACS緩衝液中、濃度 1×10^6 細胞/mLに再懸濁させた。細胞懸濁液25μLを、96ウェル丸底マイクロリットルプレートの各ウェルに加えた。融合タンパク質の段階希釈抗体を各ウェルに加え、4℃で1時間インキュベートした。1500rpmで5分間、遠心分離にかけることで細胞を3回洗浄した後、二次抗体（1:200希釈）を用いて、暗所にて4℃、30分間染色した。細胞を1回洗浄し、PBS緩衝液100μLに再懸濁した後、GuavaフローサイトメトリーEasyCyteシステムを使用して解析した。

【0399】

M-07e細胞培養及び増殖アッセイ

15%熱不活化FBSを補充したIMDM培地及び細胞株5637の20%条件培地中で、ヒト急性巨核芽球性白血病M-07e細胞株を培養した。抗体又は融合タンパク質の連続希釈を96ウェルプレートに加えた後、細胞を、完全IMDM培地のウェルあたり 2.5×10^4 個で播種した。細胞を37℃で3日間インキュベートし、CellTiter-Glo（登録商標）発光細胞生存率アッセイキットを使用して細胞増殖を検出した。

【0400】

ヒトPBMC及びT細胞サブタイプ解析の増殖

実験日にヒト凍結PBM Cを融解し、増殖アッセイのために10%熱不活化FBSを補充した完全IMDM培地で直ちに調製した。抗体の連続希釈を96ウェルプレートに加えた後、細胞をウェルあたり 1×10^5 細胞で播種した。細胞を37℃で6日間培養し、Cell Titer-Glo（登録商標）発光細胞生存率アッセイキットを使用して細胞増殖を検出した。

【0401】

T細胞集団解析のため、細胞を1回洗浄し、4℃で10分間、固定可能な生存色素であるeFluor780で染色した。洗浄後細胞を固定し、Foxp3転写因子染色緩衝液セットで透過性にした後、4℃で1時間、抗-CD3-PE、抗-CD4-APC、抗-CD8 α -PECy7及び抗-Ki67-FITCで染色した。増殖CD4（CD4+Ki67+）又はCD8（CD8+Ki67+）T細胞集団を解析し、GuavaフローサイトメトリーEasyCyt eシステムを使用して定義した。

10

【0402】

T細胞によるIFN γ サイトカインの分泌

ヒトB7-H4トランスフェクト細胞株hB7-H4-CHOを、96ウェルU底プレートにウェルあたり 4×10^4 細胞で播種した。段階希釈抗体を各ウェルに加えた。エフェクター細胞及びヒトT細胞（EasySepヒトT細胞単離キットを使用し、Leupakから単離）の細胞懸濁液を調製し、標的細胞に対して所望のエフェクター細胞の比率（例えば、5:1）で各ウェルに播種した。共培養物を37℃で96時間インキュベートし、IFN γ サイトカインELISA（R&D）のためにこれを回収した。

20

【0403】

抗体内在化アッセイ

標的細胞（SK-BR-3 MDA-MB-468細胞など）を、96ウェル平底プレートへとウェルあたり6,000細胞で播種し、3時間インキュベートして細胞を水平面に沈降させた。抗体/Incucyte FabFlour試薬混合物（Incucyte（登録商標）ヒトFabFlour-pH赤色抗体標識色素）を各ウェルに加え、最終濃度2 μ g/mLで試験した。アッセイプレートを、Incucyte（登録商標）生存細胞解析システムを使用し、毎時繰り返し走査した。画像を、Incucyte（登録商標）ソフトウェアで解析した。

【0404】

Promega製ADCCレポータバイオアッセイを使用した腫瘍細胞死滅の評価
ADCCレポータバイオアッセイは、遺伝子改変エフェクター細胞を使用する。ADCCレポータバイオアッセイキット（hIgG1にはADCCレポータバイオアッセイG7010）を使用して解析を実施した。簡潔には、標的がん細胞を96ウェル平底プレートに各ウェルあたり 1.5×10^4 細胞で播種した。翌日、増殖培地を吸引し、ADCCアッセイ緩衝液及び抗体の連続希釈を各ウェルに加えた。ADCCバイオアッセイエフェクター細胞の細胞懸濁液を調製し、標的細胞に対する所望のエフェクター細胞の比率（例えば、5:1）で播種した。37℃で6時間インキュベートした後、Bio-Glo（商標）ルシフェラーゼアッセイ試薬を各ウェルに加え、15分間インキュベートした。プレートリーダを使用し、発光シグナルを測定した。

30

40

【0405】

hPBM Cによる腫瘍細胞の死滅（免疫細胞キリングアッセイ）

抗体又は融合タンパク質の存在下での免疫細胞による腫瘍細胞死滅を測定するため、抗体依存性細胞媒介性傷害（ADCC）の解析（短期間の解析）又は細胞傷害性T細胞死滅の解析（長期間の解析）用に、SK-BR3/hPBM C共培養モデルを準備した。標的がん細胞であるSK-BR3細胞を、Incucyte（登録商標）Cyt oLight赤色迅速試薬で標識し、96ウェル平底プレートにウェルあたり5,000細胞で播種した。翌日、増殖培地を吸引し、Incucyte（登録商標）アネキシンV緑色色素及び抗体希釈物を各ウェルに加えた。エフェクター細胞、hPBM Cの細胞懸濁液を調製し、標的細胞に対する所望のエフェクター細胞の比率（10:1又は5:1）で播種した。アッ

50

セイプレートを繰り返し走査し、Incucyte（登録商標）生存細胞解析システム及びIncucyte（登録商標）ソフトウェアを使用し、説明書に基づいて画像を解析した。

【0406】

HEK-Blue IL-2レポータ細胞を使用したpSTAT5測定

ヒトJAK3及びSTAT5遺伝子とともにヒトIL-2R α 、IL-2R β 及びIL-2R γ 遺伝子を用いたヒト胎児腎細胞HEK293細胞株の安定したトランスフェクションによって、ヒトHEK-Blue（商標）IL-2細胞を生成し、完全に機能的なIL-2シグナル伝達経路を得た。加えて、STAT5誘導性SEAPレポータ遺伝子もまた導入した。IL-2刺激時に、HEK-Blue（商標）IL-2細胞は、STAT5の活性化及びその後のSEAPの分泌をトリガする。STAT5誘導性SEAPのレベルは、QUANTIE-Blue（商標）溶液を使用して容易に監視することができる。

10

【0407】

プロマイシン1 μ g/mL及び1XHEK-Blue CLR Selectionを含む完全DMEM培地（10%熱不活化FBSを補充）でHEK-Blue IL-2細胞を維持し、継代培養した。レポータアッセイ用に、完全DMEM培地中で細胞を 2.8×10^5 /mLで懸濁した。段階希釈した抗体又は融合抗体20 μ Lを、最初に平底96ウェルプレートの各ウェルに加えた後、細胞懸濁液180 μ Lを加えた。細胞を37°Cで20～24時間、CO₂インキュベータにてインキュベートした。QUANTIE-Blue（商標）溶液の説明書に従い、SEAPレベルを630nmで検出した。

20

【0408】

抗体命名法

単純に「X」と呼ばれる抗体は、「X」と呼ばれる可変重鎖と、「X」と呼ばれる可変軽鎖の両方を含む抗体を指す。例えば、抗体3F2は、3F2可変重鎖及び3F2可変軽鎖を含む。

【0409】

「X/Y」と呼ばれる抗体は、「X」と呼ばれる可変重鎖と、「Y」と呼ばれる可変軽鎖とを含む。例えば、抗体3F2/50A10は、3F2可変重鎖及び50A10可変軽鎖を含む。

【0410】

対照抗体

以下の抗体：（1）B7-H4 IgVドメイン結合抗体FPA150（Five Prime）、米国特許出願公開第2019/0085080A1号明細書の抗体「20502」を参照されたい（「対照抗体1」、B7-H4のIgCドメインに結合し、FPA150とも称される）、（2）B7-H4 IgCドメイン結合抗体6H3（Medimmune）、米国特許第9,574,000号明細書（「対照抗体2」の抗体「6H3」、B7-H4のIgCドメインに結合する）を参照されたい、及び（3）DP47、を対照として使用した。

30

【0411】

実施例2：高親和性抗B7-H4抗体の生成

40

ファージディスプレイを上記のように行った。最初に、streptビーズで捕捉された固定化hB7-H4-Fc又はビオチン-hB7-H4-his上でパニングを実施した。図1（ステップ1）を参照されたい。このステップでは、以下の抗体を同定した：

（1）hB7-H4に結合する抗体：1A12、1D3、1F11、3D1、3F2、4H6、6C3、9H2及び4B9（図2（バッチA-1））。抗体1A12、1D3、1F11、3D1、3F2、4H6、6C3及び9H2は、可溶性hB7-H4と細胞hB7-H4との両方、特異的にはhB7-H4のIgVドメインに結合した（図2～図5）。4B9は、hB7-H4-Fcに強固に結合したが、mB7-H4には結合しなかった。hB7-H4への4B9の結合は、IgV及びIgCの両方を必要とした（図6）。

（2）ヒト及びマウスhB7-H4のIgCドメインに結合する抗体：5E4、5F4、

50

5 G 6、9 D 1 1、9 E 1、1 5 B 1 1、2 4 B 6、2 4 F 4 及び 3 0 G 4（図 2（バッチ A - 2）及び図 6～図 7）。

（3）ヒト及びマウス h B 7 - H 4 の I g V ドメインに結合する抗体：3 1 D 7 及び 3 9 A 1 1。図 1（バッチ A - 3）及び図 8 を参照されたい。

【0 4 1 2】

単離した抗体の特異性及び特異的結合部位を表 1 にまとめる。

【0 4 1 3】

【表 1】

表1.単離した抗B7-H4抗体の特異性及び特異的結合部位。

抗体[VH/VL]	特異性	結合部位
1A12/1A12	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
1D3/1D3	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
1F11/1F11	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
3D1/3D1	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
3F2/3F2	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
4H6/4H6	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
6C3/6C3	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
9H2/9H2	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメイン
4B9/4B9	ヒトhB7-H4のみ	ヒトB7-H4のIgVドメインとIgCドメインの両方
5E4/5E4	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
5F4/5F4	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
5G6/5G6	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
9D11/9D11	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
9E1/9E1	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
15B11/15B11	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
24B6/24B6	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
24F4/24F4	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
30G4/30G4	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgCドメイン
39A11/39A11	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgVドメイン
31D7/31D7	ヒト及びマウスB7-H4	h/mB7-H4のIgVドメイン

10

20

30

【0 4 1 4】

実施例 3：可溶性 B 7 - H 4 への単離した抗 B 7 - H 4 抗体の結合のキネティクス

B i a c o r e 解析を使用し、標的への様々な抗体の結合のキネティクスを試験した。結果を表 2～表 4 にまとめる。

【0 4 1 5】

抗体 1 D 3 及び 3 F 2 は h B 7 - H 4 に強固に結合し、アフィニティマチュレーション（軽鎖シャッフリング）のためにこれを選択した（図 1（ステップ B））。h / m B 7 H 4 - 交差反応性抗体 9 D 1 1（I g C ドメイン結合抗体）及び 3 9 A 1 1（I g V ドメイン結合抗体）は、これらの標的に強固に結合し、アフィニティマチュレーション（軽鎖シャッフリング）にこれらもまた選択した（図 1（ステップ B））。

40

【0 4 1 6】

50

【表 2】

表2.hB7-H4-Fc及びhB7-H4-hisへの示されたhB7-H4 IgVドメイン結合抗体の結合。
mB7-H4-Fc又はmB7-H4-hisについては、結合は観察されなかった。n/a=未確定。*アフィニティ・マチュレーション(軽鎖シャッフリング)には抗体1D3及び3F2を選択した。

抗体	hB7-H4-Fcの結合キネティクス			hB7-H4-hisの結合キネティクス		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
1A12	1.41E+05	5.04E-04	3.57E-09	2.36E+05	5.83E-04	2.47E-09
1D3*	9.02E+05	7.26E-04	8.05E-10	1.01E+06	5.58E-04	5.51E-10
1F11	1.75E+06	2.91E-03	1.66E-09	4.38E+06	4.88E-03	1.11E-09
3D1	1.12E+06	2.49E-03	2.23E-09	1.36E+05	3.88E-03	2.85E-08
3F2*	1.12E+07	1.06E-03	9.51E-11	1.19E+08	1.01E-02	8.49E-11
4B9	4.10E+05	1.18E-03	2.89E-09	4.90E+04	2.02E-04	4.13E-09
4H6	5.51E+05	1.57E-03	2.86E-09	9.03E+05	3.61E-03	4.00E-09
6C3	1.29E+05	1.40E-03	1.09E-08	3.15E+05	1.99E-03	6.30E-09
9H2	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d

10

【 0 4 1 7 】

【表 3】

表3.hB7-H4-Fc及びhB7-H4-hisへの抗h/mB7-H4抗体の結合。n/a=利用不可。アフィニティ・マチュレーション(軽鎖シャッフリング)には抗体39A11を選択した。

抗体	hB7-H4-Fcの結合キネティクス			hB7-H4-hisの結合キネティクス		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
5E4	3.87E+05	4.52E-03	1.17E-08	4.53E+05	4.55E-03	1.00E-08
5F4	1.92E+05	2.88E-03	1.50E-08	1.99E+05	3.29E-03	1.66E-08
5G6	1.87E+05	2.26E-03	1.21E-08	3.77E+05	1.96E-03	5.19E-09
9D11	3.74E+05	6.74E-04	1.80E-09	6.47E+05	5.49E-04	8.50E-10
9E1	2.72E+05	3.72E-03	1.37E-08	7.11E+05	5.62E-03	7.91E-09
15B11	1.84E+05	7.84E-04	4.26E-09	1.11E+05	5.73E-04	5.17E-09
24B6	n/d			1.49E+05	7.89E-04	5.30E-09
24F4				2.68E+04	5.20E-03	1.94E-07
30G4				1.15E+05	6.94E-04	6.05E-09
39A11*	7.27E+05	6.74E-04	9.26E-10	n/d		
31D7	8.97E+05	7.66E-04	8.54E-10			

30

【 0 4 1 8 】

40

50

【表 4】

表4.mB7-H4-Fc及びmB7-H4-hisへの抗h/mB7-H4抗体の結合。n/a=未確定。アフィニティ・マチュレーション(軽鎖シャッフリング)には抗体39A11を選択した。

抗体	mB7-H4-Fcの結合キネティクス			mB7-H4-hisの結合キネティクス		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
5E4	1.97E+05	2.79E-03	1.41E-08	1.17E+06	1.06E-02	9.09E-09
5F4	2.40E+05	2.86E-03	1.19E-08	2.56E+05	3.84E-03	1.50E-08
5G6	2.00E+05	2.61E-03	1.31E-08	2.86E+05	2.24E-03	7.83E-09
9D11	6.99E+05	4.49E-04	6.42E-10	1.85E+05	2.81E-04	1.52E-09
9E1	3.09E+05	3.28E-03	1.06E-08	2.81E+05	3.49E-03	1.24E-08
15B11	2.76E+05	9.80E-04	3.55E-09	1.18E+05	7.29E-04	6.17E-09
24B6	n/d			1.62E+05	5.52E-04	3.40E-09
24F4				1.07E+05	3.14E-03	2.92E-08
30G4				9.54E+04	6.09E-04	6.38E-09
39A11	7.30E+05	1.11E-03	1.53E-09	n/d		
31D7	8.88E+05	1.43E-03	1.61E-09			

10

【0419】

20

実施例4：軽鎖シャッフリングによる抗B7-H4抗体3F2及び1D3(hB7-H4 IgVドメイン結合抗体)のアフィニティマチュレーション

3F2及び1D3のアフィニティマチュレーションを、軽鎖シャッフリングで実施した。このために、3F2又は1D3のそれぞれの重鎖を、 1.0×10^8 超の軽鎖を含むライブラリーと対にした(図1(ステップB-1及びB-2))を参照されたい)。得られたライブラリーを、実施例1に記載の困難な条件で、streptビーズで捕捉された固定化hB7-H4-Fc又はビオチン-hB7-H4-his上でパニングした。単離した3F2誘導体及び1D3誘導体の配列を表5に示す。

【0420】

単離された3F2誘導体3F2/50A10及び3F2/49A2は、3F2と同じ重鎖配列を有していたが、3F2とは異なる軽鎖配列を有していた(図1(バッチB-1))。これらの親抗体と同様に、誘導体3F2/50A10及び3F2/49A2のみがhB7-H4のIgVドメインに結合した。3F2誘導体3F2/50A10及び3F2/49A2は、親抗体3F2よりも細胞ヒトB7-H4により強固に結合することを示した(表6)。

30

【0421】

単離された1D3誘導体1D3/47B2及び1D3/45A2は、1D3と同じ重鎖配列を有するが、1D3とは異なる軽鎖配列を有する(図1(バッチB-2))。これらの親抗体と同様に、誘導体1D3/47B2及び1D3/45A2のみがhB7-H4のIgVドメインに結合した。1D3誘導体1D3/47B2及び1D3/45A2は、親抗体1D3よりも細胞ヒトB7-H4により強固に結合することを示した(表6)。

40

【0422】

可溶性及び細胞B7-H4へのこれらの抗体の結合を、図9～図10に示す。

【0423】

50

【表 5】

表5.抗体3F2及び1D3並びにそれらのそれぞれの誘導体の軽鎖CDR配列。

抗体VL	配列 番号	LCDR1	配列 番号	LCDR2	配列 番号	LCDR3
3F2	20	RASQSISSYLN	21	SSLQS	22	QQSYSTPLT
50A10	70	QASQDISNYIN	71	SRLQS	72	QQSYRSPFT
49A2	66	RASQNIDTYVN	67	SRLHT	68	QQSYTSPFT
3F2 CDR モチーフ	73	X ₁ ASQX ₂ IX ₃ X ₄ YX ₅ N (式中: X ₁ はR又はQであり、 X ₂ はD、N又はSであり 、 X ₃ はD又はSであり、 X ₄ はN、S又はTであり 、 X ₅ はI、L又はVである)	74	SX ₆ LX ₇ X ₈ (式中: X ₆ はR又はS であり、 X ₇ はH又はQ であり、 X ₈ はS又はTで ある)	75	QQSYX ₉ X ₁₀ PX ₁₁ T (式中: X ₉ はR、S又はTで あり、 X ₁₀ はS又はTであ り、 X ₁₁ はF又はLであ る)
1D3	8	RASRSIYTWLA	9	STLQS	10	QQSYSTPYT
47B2	81	RASQTVYTWLA	82	TNLAT	83	QQSYSTSWT
45A2	77	RASQNIYTWLA	78	TNLPT	79	QQSYSTRWT
1D3 CDR モチーフ	84	RASX ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ YTW LA (式中: X ₁₂ はQ又はRであり、 X ₁₃ はN、S又はTであ り、 X ₁₄ はI又はVである)	85	X ₁₅ X ₁₆ LX ₁₇ X ₁₈ (式中: X ₁₅ はS又はT であり、 X ₁₆ はN又はT であり、 X ₁₇ はA、P又 はQであり、 X ₁₈ はS又はT である)	86	QQSYSTX ₁₉ X ₂₀ T 式中、 X ₁₉ はP、R又はSで あり、 X ₂₀ はW又はYであ る)

【 0 4 2 4 】

10

20

30

40

50

【表 6】

表6.抗体3F2(hB7-H4 IgVDメイン結合抗体)及びその誘導体、並びに抗体1D3(hB7-H4のIgVDメインに特異的である)及びその誘導体の結合特性。

抗体 (VH/VL)	EC50、nM		hB7-H4の結合キネティクス			EC50、nM		mB7-H4の 結合 キネティクス		
	SK- BR- 3	hB7- H4	K _a	K _d	K _D	mB7- H4/ CT26	mB7- H4	K _a	K _d	K _D
3F2/3F2	0.84	0.048	1.59E+07	1.30E-03	8.19E-11	結合なし				
3F2/50A10	0.41	0.046	1.07E+07	4.13E-04	3.85E-11					
3F2/49A2	0.79	0.056	8.12E+06	1.22E-04	1.50E-11					
1D3/1D3	18.6	0.044	6.37E+05	4.94E-04	7.75E-10					
1D3/47B2	36.0	0.078	5.85E+05	1.22E-04	2.09E-10					
1D3/45A2	52.1	0.041	2.32E+05	7.36E-05	3.17E-10					

10

20

【0425】

実施例5：軽鎖シャッフリングによる抗B7-H4抗体9D11(h/mB7-H4 IgCドメイン結合抗体)のアフィニティマチュレーション

9D11のアフィニティマチュレーションを、軽鎖シャッフリングで実施した。このために、9D11の重鎖を、 1.0×10^8 超の軽鎖を含むライブラリーと対にした。図1(ステップB-3)を参照されたい。得られたライブラリーを、実施例1に記載の困難な条件で、streptビーズで捕捉された固定化hB7-H4-Fc又はビオチン-hB7-H4-his上でパニングした。図1(ステップB)を参照されたい。単離した9D11誘導体の配列を表7に示す。

30

【0426】

単離された9D11誘導体9D11/67E12、9D11/67C3、9D11/67C6、9D11/67H9、9D11/67G3及び9D11/68F5は、9D11と同じ重鎖配列を有するが、9D11とは異なる軽鎖配列を有する(図1(バッチB-3))。これらの抗体の結合親和性を表8に示し、可溶性及び細胞B7-H4へのこれらの抗体の結合を図11～図13に示す。

【0427】

40

50

【表 7】

表7.抗体9D11及びその誘導体の軽鎖CDR配列。

抗体VL	配 列 番 号	LCDR1	配 列 番 号	LCDR2	配 列 番 号	LCDR3
9D11	50	KSSQSVLYSSNNKNYLA	51	STRES	2	QQYFSTPS
67E12	88	KSSQSVLYSSNNKNYLA	89	SKRVS	90	QQYFDSPT
67C6	92	KSSQSVLSSSNKNYLA	93	STRQS	94	QQYYSDPT
67C3	96	KSSQSVLYSSNNKNYLA	97	STRAS	98	QQYYDTPT
68F5	108	KSSRSVLSRSNNKNYLA	109	STRQF	110	QQYYDTPT
67G3	100	KSSQSVLSSSNKNYLA	101	STRQS	102	QQYYTSPT
67H9	104	RSSQSVLYSSNNKNYLA	105	SNRKS	106	QQYYSAPT
9D11 CDRモ チーフ	111	X ₂₁ SSX ₂₂ SVLX ₂₃ X ₂₄ SNKNYLA (式中、 X ₂₁ はK又はRであり、 X ₂₂ はQ又はRであり、 X ₂₃ はS又はYであり、 X ₂₄ はR又はSである)	112	SX ₂₅ RX ₂₆ X ₂₇ (式中: X ₂₅ はK、N、T であり、 X ₂₆ はA、E、K 、Q又はVであ り、 X ₂₇ はF又はS である)	113	QQYX ₂₈ X ₂₉ X ₃₀ PX ₃₁ (式中、 X ₂₈ はF又はYであり 、 X ₂₉ はD、S又はTで あり、 X ₃₀ はA、D、S又はT であり、 X ₃₁ はS又はTである)

【 0 4 2 8 】

【表 8】

表8.抗体9D11(h/mB7-H4 IgCDメイン結合抗体)及びその誘導体の結合特性。

抗体 (VH/VL)	EC50、nM		hB7-H4の結合キネティクス		
	SK-BR-3	hB7-H4	K _a	K _d	K _D
9D11/9D11	125.9	0.180	3.72E+05	2.22E-03	5.97E-09
9D11/67E12	8.08	0.203	1.04E+05	6.54E-04	6.30E-09
9D11/67C6	9.20	0.115	4.25E+04	6.36E-04	1.50E-08
9D11/67C3	4.06	0.112	3.45E+04	3.94E-04	1.14E-08
9D11/67G3	22.5	0.261	1.44E+05	1.53E-03	1.06E-08
9D11/68F5	9.53	0.778*	1.18E+05	8.42E-04	7.15E-09
9D11/68H9	24.0	0.100	1.52E+05	1.08E-03	7.09E-09
抗体 (VH/VL)	EC50, nM		mB7-H4の結合キネティクス		
	mB7- H4/CT26	mB7- H4	K _a	K _d	K _D
9D11/9D11	122.4	0.104	4.28E+05	2.05E-03	4.78E-09
9D11/67E12	16.7	0.110	1.65E+05	7.67E-04	4.66E-09
9D11/67C6	45.7	0.082	3.36E+04	9.41E-05	2.80E-09
9D11/67C3	28.2	0.086	3.11E+04	3.23E-04	1.04E-08
9D11/67G3	45.3	0.162	1.91E+05	1.61E-03	8.46E-09
9D11/68F5	31.8	0.145*	1.52E+05	9.03E-04	5.96E-09
9D11/68H9	54.3	0.105	1.75E+05	1.06E-03	6.08E-09

10

20

30

40

50

【0429】

実施例6：軽鎖シャッフリングによる抗B7-H4抗体39A11（h/mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）のアフィニティマチュレーション

39A11のアフィニティマチュレーションを、軽鎖シャッフリングで実施した。このために、39A11の重鎖を、 1.0×10^8 超の軽鎖を含むライブラリーと対にした。図1（ステップB-4）を参照されたい。得られたライブラリーを、実施例1に記載の困難な条件で、streptビーズで捕捉された固定化hB7-H4-Fc又はビオチン-hB7-H4-his上でパニングした（図1（ステップB））。単離された39A11誘導体の配列を、表9に示す。

【0430】

単離された39A11誘導体39A11/57H3、39A11/57G8、39A11/56A9、39A11/56H7及び39A11/62F9は、39A11と同じ重鎖配列を有するが、39A11とは異なる軽鎖配列を有する（図1（バッチB-4））。親39A11と同様に、すべての誘導体は、ヒト及びマウスB7-H4のIgVドメインのみに結合した。39A11誘導体は、一般には、親抗体39A11よりも細胞ヒトB7-H4により強固に結合することを示した。可溶性及び細胞B7-H4へのこれらの抗体の結合を、表10及び図14～図15に示す。

【0431】

【表9】

表9.抗体39A11及びその誘導体の軽鎖CDR配列。

抗体 VL	配列番 号	LCDR1	配 列 番 号	LCDR2	配 列 番 号	LCDR3
39A11	62	RASQTIRSYLN	63	SHLQS	64	QQSYTTPYT
57H3	115	QASQDIRKYLN	116	STRES	117	QQYYSLPLT
57G8	119	RASQSIRSYLN	120	SSLQS	121	QQYYSTPLT
56A9	123	RASQSISSYLN	124	SIRES	125	QQYYTTPLT
56H7	127	RASQSISSYLN	128	SNLQS	129	QQYYTTPLT
62F9	131	RASQSVSSAVA	132	SIRES	133	QQYYSTPLT
CDRモ チーフ	134	X ₃₂ ASQX ₃₃ X ₃₄ X ₃₅ X ₃₆ X ₃₇ X ₃₈ X ₃₉ (式中: X ₃₂ はQ又はRであり、 X ₃₃ はD、S又はTであり、 X ₃₄ はI又はVであり、 X ₃₅ はR又はSであり、 X ₃₆ はK又はSであり、 X ₃₇ はA又はYであり、 X ₃₈ はL又はVであり、 X ₃₉ はA又はNである)	135	SX ₄₀ X ₄₁ X ₄₂ S (式中: X ₄₀ はH、I、N 、S又はTであ り、 X ₄₁ はL又はR であり、 X ₄₂ はE又はQ である)	136	QQX ₄₃ YX ₄₄ X ₄₅ PX ₄₆ T (式中: X ₄₃ はS又はYであり、 X ₄₄ はS又はTであり、 X ₄₅ はL又はTであり、 X ₄₆ はL又はYである)

【0432】

10

20

30

40

50

【表 10】

表10.抗体39A11(h/mB7-H4 IgVドメイン結合抗体)及びその誘導体の結合特性。

抗体(VH/VL)	EC50, nM		hB7-H4の結合キネティクス		
	SK-BR-3	hB7-H4	K _a	K _d	K _D
39A11/39A11	4.17	0.080	1.73E+06	1.81E-03	1.05E-09
39A11/57H3	2.07	0.086	6.16E+05	2.95E-04	4.78E-10
39A11/57G8	1.90	0.068	8.63E+05	2.61E-04	3.03E-10
39A11/56A9	2.53	0.081	5.73E+05	6.91E-04	1.21E-09
39A11/56H7	2.85	0.061	5.14E+05	4.00E-04	7.79E-10
39A11/62F9	1.31	0.079	7.33E+05	6.25E-04	8.53E-10
抗体(VH/VL)	EC50, nM		mB7-H4の結合キネティクス		
	mB7-H4/CT26	mB7-H4	K _a	K _d	K _D
39A11/39A11	6.73	0.136	5.21E+06	6.80E-02	1.30E-08
39A11/57H3	1.63	0.128	5.00E+05	6.22E-07	1.25E-12
39A11/57G8	1.22	0.096	9.69E+05	9.66E-05	9.98E-11
39A11/56A9	1.85	0.130	7.37E+05	1.02E-06	1.38E-12
39A11/56H7	1.67	0.107	6.30E+05	1.38E-07	2.19E-13
39A11/62F9	1.32	0.124	4.55E+05	8.41E-04	1.85E-09

10

20

【0433】

実施例3～6の上位3つの抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）を、更なる特徴付けのために選択した。

【0434】

実施例7：可溶性及び細胞発現B7-H4への抗B7-H4抗体の結合

可溶性B7-H4、又は細胞発現B7-H4への抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）の結合を、ELISA又はフローサイトメトリーでそれぞれ決定した。

30

【0435】

ELISA実験によって、抗体3F2／50A10と39A11／57G8との両方が、hB7-H4のIgVドメインに強固に結合したことが実証された。抗体39A11は、mB7-H4と交差反応した。抗体9D11／68F5は、ヒト及びマウスB7-H4のIgCドメインに結合した（図16）。

【0436】

フローサイトメトリー実験によって、抗体3F2／50A10と39A11／57G8との両方が、トリプルネガティブ乳がん細胞株MDA-MB-468及び卵巣がん細胞株SK-BR-3上で発現された細胞hB7-H4に強固に結合したことが実証された。抗体39A11／57G8及び9D11／68F5のまた、mB7-H4トランスフェクトマウス結腸がん細胞株CT26上で発現された細胞mB7-H4に結合した（図17）。

40

【0437】

実施例8：抗B7-H4抗体がB7-H4内在化を引き起こす

細胞表面抗原に特異的である抗体は、抗体／抗原複合体の抗原媒介性エンドサイトーシスを誘導することができる。標的への抗B7-H4抗体3F2／50A10（hB7-H4 IgVドメイン結合抗体）、39A11／57G8（h／mB7-H4 IgVドメイン結合抗体）及び9D11／68F5（h／mB7-H4 IgCドメイン結合抗体）の結合が抗体／抗原複合体の内在化をもたらすかどうかを決定するため、Incucyte

50

e（登録商標）F a b F l u o r 抗体標識試薬を使用した。F a b F l u o r は、pH感受性蛍光プローブに結合したF c領域標的F a b断片である。F a b - A b複合体は内在化され、酸性（pH 4.5～5.5）リソソーム及びエンドソームを介して加工されると、蛍光発生シグナルが観察される。

【0438】

I g Cドメイン抗体9 D 1 1 / 6 8 F 5 及びI g Vドメイン抗体3 9 A 1 1 / 5 7 G 8 は、B 7 - H 4 への結合によって内在化をトリガした（図18）。

【0439】

実施例9：抗B 7 - H 4 抗体がT細胞機能を回復させる

T細胞上のその（未知の）同族受容体への細胞発現B 7 - H 4 の結合は、T細胞のサイトカイン分泌機能を抑制する。したがって、抗B 7 - H 4 抗体3 F 2 / 5 0 A 1 0（h B 7 - H 4 I g Vドメイン結合抗体）、3 9 A 1 1 / 5 7 G 8（h / m B 7 - H 4 I g Vドメイン結合抗体）及び9 D 1 1 / 6 8 F 5（h / m B 7 - H 4 I g Cドメイン結合抗体）は、T細胞上のその同族受容体とB 7 - H 4 との相互作用を阻害することでT細胞のサイトカイン分泌機能（例えば、I F N γ 分泌）を回復させることができるかどうかを試験した。

【0440】

I g V結合抗体3 9 A 1 1 / 5 7 G 8 及び3 F 2 / 5 0 A 1 0 は、I F N γ 分泌で測定されるように、T細胞機能の回復において高い効力を示した（図19）。

【0441】

実施例10：抗-B 7 - H 4 抗体が腫瘍細胞を死滅させる

腫瘍細胞を死滅させる抗B 7 - H 4 抗体3 F 2 / 5 0 A 1 0（h B 7 - H 4 I g Vドメイン結合抗体）、3 9 A 1 1 / 5 7 G 8（h / m B 7 - H 4 I g Vドメイン結合抗体）及び9 D 1 1 / 6 8 F 5（h / m B 7 - H 4 I g Cドメイン結合抗体）の能力を決定するため、抗体依存性細胞媒介性傷害（ADCC）バイオアッセイを使用した（P r o m e g a G 7 0 1 0 / G 7 0 1 8）。アッセイは、以下のように機能する：エフェクター細胞（例えば、ナチュラルキラー細胞）の細胞表面上のF c γ R I I I a受容体が、例えばがん細胞上のその標的に結合した抗体のF cエフェクター部分に結合するとき、エフェクター細胞及びがん細胞の架橋が生じる。このことは、ADCCの活性化につながる。この実験で利用されたADCCレポーターアッセイは、ADCC経路の活性化の初期段階：エフェクター細胞のN F A T（活性化T細胞の核因子）経路を介した遺伝子転写の活性化、を検出する。加えて、アッセイは、F c γ R I I I a受容体のV 1 5 8（高親和性）バリアントを安定して発現する遺伝子改変J u r k a t細胞、及びエフェクター細胞としてホタルルシフェラーゼの発現を駆動するN F A T応答エレメントを使用する。

【0442】

試験した3つの抗体すべては、S K - B R - 3とM D A - M B - 4 6 8細胞との両方を死滅させるのに有効であった（図20）。

【0443】

I n c u C y t e（登録商標）免疫細胞キリングアッセイを使用し、腫瘍細胞の死滅も評価した。このために、ADCCを解析するためのS K B R 3 / h P B M C共培養モデルを準備した。

【0444】

I g Vドメイン結合抗体3 F 2 / 5 0 A 1 0 及び3 9 A 1 1 / 5 7 G 8（ただし、陰性対照抗体D P 4 7ではない）は、h P B M Cとの混合時にS K - B R - 3がん細胞を死滅させるのに有効であった（図21）。

【0445】

実施例11：選択された抗B 7 - H 4 抗体についての結合特性

抗原結合に対するキネティクスを、抗B 7 - H 4 抗体3 F 2 / 5 0 A 1 0（h B 7 - H 4 I g Vドメイン結合抗体）、3 9 A 1 1 / 5 7 G 8（h / m B 7 - H 4 I g Vドメイン結合抗体）及び9 D 1 1 / 6 8 F 5（h / m B 7 - H 4 I g Cドメイン結合抗体）

について決定した（表 1 1 及び表 1 2）。上記 B i a c o r e 解析とは別の実験として、これらの実験を行った。

【 0 4 4 6 】

【表 1 1】

表11.抗体39A11及びその誘導体の結合特性。Ab1は、B7-H4 IgVDメイン結合抗体 FPA150(Five Prime)であった。Ab2は、B7-H4 IgCDメイン結合抗体6H3(Medimmune)であった。

抗体(VH/VL)	EC50, nM		hB7-H4への結合のキネティクス		
	SK-BR-3	hB7-H4	K _a	K _d	K _D
3F2/50A10	1.18	0.082	8.67E+06	3.93E-04	4.54E-11
9D11/68F5	3.53	0.105	7.20E+04	2.13E-04	2.96E-09
39A11/57G8	2.82	0.060	9.18E+05	1.40E-04	1.52E-10
(+)対照Ab1	2.64	0.106	5.33E+05	2.66E-04	4.99E-10
(+)対照Ab2	3.37	0.222	2.04E+05	1.28E-04	6.26E-10

10

20

【 0 4 4 7 】

【表 1 2】

表12.抗体39A11及びその誘導体の結合特性。Ab1は、B7-H4 IgVDメイン結合抗体 FPA150(Five Prime)であった。Ab2は、B7-H4 IgCDメイン結合抗体6H3(Medimmune)であった。

抗体(VH/VL)	EC50, nM		mB7-H4への結合のキネティクス		
	mB7-H4/CT26	mB7-H4	K _a	K _d	K _D
3F2/50A10	ND	ND	8.67E+06	3.93E-04	4.54E-11
9D11/68F5	9.41	0.144	7.20E+04	2.13E-04	2.96E-09
39A11/57G8	7.82	0.051	9.18E+05	1.40E-04	1.52E-10
(+)対照Ab1	2.06	0.139	5.33E+05	2.66E-04	4.99E-10
(+)対照Ab2	18.36	0.289	2.04E+05	1.28E-04	6.26E-10

30

40

【 0 4 4 8 】

実施例 1 2：抗 B 7－H 4 抗体を含む融合タンパク質の構築

抗 B 7－H 4 抗体を含む、いくつかのヘテロ二量体 C 末端融合タンパク質を生成した（表 1 3）。図 1 B に示されるように、融合タンパク質は、第 1 の重鎖（N 末端から C 末端にかけて可変領域及び定常領域を含む）、第 2 の重鎖（N 末端から C 末端にかけて可変領域、定常領域、I L－1 5 R α s u s h i ドメイン及び I L－1 5）並びに 2 本の軽鎖を含んでいた。抗体の F c 領域に、いわゆる K n o b－i n t o－h o l e（C W－C S A V）変異を導入することで、ヘテロ二量体化を達成したが、これはヘテロ二量体を更に安定化させた。「L S」突然変異（M 4 2 8 L／N 4 3 4 S）は、F c R n への親和性を増強させ、且つ p H 6 では K o f f 速度を低下させる。そのため、血清半減期の延長が生

50

じる。最終的に、IL-15のN65S変異は、リンパ球増殖を刺激するIL-15の能力を減弱させる。

【0449】

【表13】

表13.融合タンパク質の構造。HC1=重鎖1。HC2=重鎖2。WT=野生型。Ab1は、B7-H4 IgVドメイン結合抗体FPA150(Five Prime)であった。

融合タンパク質 抗体 (VH/VL)	抗原	融合タンパク質		HC1		HC2		定常領域変異		LC	
		名称	配列 番号	名称	配列 番号	名称	配列 番号	IL-15 配列 番号	名称	配列 番号	配列 番号
(+)対照抗体 I(20502)	h/m B7-H4のIgV ドメイン	20502 HC1	147	20502 HC1	147	20502 HC-2	154	N65S	HC1: S354C, T366W; HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	20502 LC	143
39A11/ 57G8	h/m B7-H4のIgV ドメイン	39A11 HC1	148	39A11-HC2	155	39A11-HC2	155	N65S	HC1: S354C, T366W; HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	57G8 LC	144
39A11/ 57G8	h/m B7-H4のIgV ドメイン	39A11 HC1-LS	149	39A11-HC2- LS	156	39A11-HC2- LS	156	N65S	HC1: S354C, T366W; M428L, N434S HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V, M428L, N434S	57G8 LC	144
3F2/ 50A10	hB7-H4のIgVドメ イン	3F2 HC1	150	3F2 HC1	157	3F2 HC1	157	N65S	HC1: S354C, T366W; HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	50A10 LC	145
3F2/ 50A10	hB7-H4のIgVドメ イン	3F2 HC1- LS	151	3F2 HC2-LS	158	3F2 HC2-LS	158	N65S	HC1: S354C, T366W; M428L, N434S HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V, M428L, N434S	50A10 LC	145
DP47	無関係な対照抗 原	DP47 HC1	152	DP47 HC2	159	DP47 HC2	159	N65S	HC1: S354C, T366W; HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V	DP47 LC	146
DP47	無関係な対照抗 原	DP47 HC1-LS	153	DP47 HC2-LS	160	DP47 HC2-LS	160	N65S	HC1: S354C, T366W; M428L, N434S HC2: Y349C, T366S, L368A, Y407V, M428L, N434S	DP47 LC	146

【0450】

実施例13：可溶性B7-H4に対する抗B7-H4抗体を含む融合タンパク質の結合
可溶性B7-H4への融合タンパク質57G8／IL15及び50A10／IL15の
結合を、Biacore及びELISAで決定した。Biacoreの結果を表14に示
す。

【0451】

10

20

13

30

40

50

これらの親抗体と同様に、融合タンパク質 50A10/IL15 は、hB7-H4 (IgVドメイン) にのみ結合し、57G8/IL15 は、h/mB7-H4 (IgVドメイン) に結合した (表 14 並びに図 22 及び図 23 を参照されたい)。ELISA と Biacore の両方では、可溶性 B7-H4 への結合については、抗体と融合抗体との間には有意差は観察されなかった。

【0452】

【表 14】

表14.可溶性B7-H4へと結合するための抗B7-H4抗体を含む融合タンパク質の結合親和性 (K_D [M])。 (+)Ab1=B7-H4 IgVドメイン結合抗体FPA150(Five Prime)。

	(+) Ab1	(+) Ab/IL15	39A11/57G8	57G8/IL15	3F2/50A10	50A10/IL15
抗体	✓		✓		✓	
融合タンパク質		✓		✓		✓
hB7-H4 Fc	4.50E-10	6.47E-10	1.07E-10	2.19E-10	4.33E-11	1.01E-10
hB7-H4 his	1.10E-10	1.80E-10	3.55E-11	4.54E-11	1.55E-11	2.59E-11
mB7-H4 Fc	5.09E-10	7.61E-10	5.18E-11	1.07E-10	結合なし	

10

20

【0453】

実施例 14：細胞発現 B7-H4 に対する抗 B7-H4 抗体を含む融合タンパク質の結合 FACS を使用し、細胞発現 B7-H4 への融合タンパク質の結合を評価した。抗体 3F2/50A10 及び融合タンパク質 3F2/50A10 は、SK-BR-3 上に発現したヒト B7-H4 に結合した (図 24A 及び図 24C)。抗体 39A11/57G8 及び融合タンパク質 57G8/IL15 は、SK-BR-3 及び mB7-H4-CT26 のそれぞれの上で発現したヒト B7-H4 とマウス B7-H4 との両方に結合した (図 24B 及び図 24D)。

【0454】

抗体 39A11/57G8 と 3F2/50A10 との両方は、トリプルネガティブ乳がん細胞株 MDA-MB-468 及びトリプルネガティブ乳がん細胞株 MX-1 上で発現した B7-H4 に結合した (図 25 及び表 15)。それぞれ 39A11/57G8 又は 3F2/50A10 を含む IL-15 融合タンパク質もまた、それぞれの単一特異性親抗体と同様の親和性を有する MDA-MB-468 及び MX-1 上で発現した B7-H4 に結合した (図 25 及び表 15)。

30

【0455】

【表 15】

表15.MDA-MB-468及びMX-1細胞上で発現されるB7-H4への示された抗体及び融合タンパク質の結合のためのEC50値。

	39A11/57G8	3F2/50A10	57G8/IL-15	50A10/IL-15
抗体	✓	✓		
融合タンパク質			✓	✓
MDA-MB-468 EC50 [nM]	13.07	0.416	29.63	0.398
MX-1細胞 EC50 [nM]	8.87	0.120	24.79	0.162

40

50

【0456】

実施例15：抗B7-H4抗体を含む融合タンパク質は、腫瘍細胞／hPBMC共培養モデルの腫瘍細胞を死滅させる

Incucyte（登録商標）免疫細胞キリングアッセイを使用し、腫瘍細胞を死滅させる、抗B7-H4抗体を含む融合タンパク質の能力を評価した。このために、ADCCを解析するためのSKBR3／hPBMC共培養モデル又はMDA-MB-468／hPBMC共培養モデルを準備した。エフェクター細胞と標的細胞の比率が低い（5：1）状態で腫瘍細胞死滅を試験し、Incucyteで最大96時間監視した。

【0457】

融合タンパク質57G8／IL15及び50A10／IL15融合は、それぞれ親抗体39A11／57G8及び3F2／50A10よりも強い死滅を示した。融合タンパク質50A10／IL15及び57G8／IL15融合は、非標的融合DP47／IL15よりも強い死滅を示した（図26）。

【0458】

融合タンパク質57G8／IL15又は50A10／IL15をそれぞれ使用した7日間の治療の後、MDA-MB-468細胞の大部分を死滅させた（図26E）。

【0459】

実施例16：hPBMC増殖での抗B7-H4抗体を含む融合タンパク質の影響

hPBMC増殖での抗体39A11／57G8及び3F2／50A10並びに融合タンパク質57G8／IL15及び50A10／IL15の影響を決定した。対照として、抗体DP47及びDP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。すべての融合物は、B7-H4を発現しない、ヒトPBMCでのリンパ球の増殖を誘導する同様の能力を示した（図27A）。CD4⁺T細胞よりも多くのCD8⁺T細胞が拡大した（図27B及び図27C）。

【0460】

実施例17：抗B7-H4抗体を含む融合タンパク質は、STAT5シグナル伝達経路を活性化する

IL-2受容体を介したp-STAT5シグナル伝達経路を活性化させる、融合タンパク質57G8／IL15及び50A10／IL15の能力を試験した。対照として、DP47を含むIL-15融合タンパク質を使用した。すべての融合物は、IL-2RβγのSTAT5経路下流を活性化させる同様の効力を呈した（図28）。

【0461】

実施例18：抗B7-H4抗体を含む融合タンパク質は、Promegaバイオアッセイの腫瘍細胞を死滅させる

抗体依存性細胞媒介性傷害（ADCC）バイオアッセイ（Promega）を使用し、腫瘍細胞を死滅させる融合タンパク質57G8／IL15及び50A10／IL15の能力を評価した。

【0462】

抗体39A11／57G8及び3F2／50A10並びに融合タンパク質57G8／IL15及び50A10／IL15は、SK-Br-3及びMDA-MB-468細胞のB7-H4媒介性ADCCをトリガした（図29）。MDA-MB-468細胞では、3F2／50A10及び50A10／IL-15は、MDA-MB-468細胞上で発現したB7-H4への抗体の結合が増加したことにより、39A11／57G8及び57G8／IL-15よりも強いADCC機能を示した。

【0463】

実施例19：可溶性B7-H4に対する融合タンパク質（抗B7-H4抗体及びLS変異）の結合

抗体の定常領域における「LS」突然変異（M428L／N434S）は、FcRnへの親和性を増強させ、且つpH6ではK_{off}速度を低下させる。そのため、血清半減期の延長が生じる。

10

20

30

40

50

【0464】

融合タンパク質57G8／IL-15、57G8／IL-15__LS、50A10／IL-15及び50A10／IL-15__LSは、可溶性ヒトB7-H4Fc及びヒトB7-H4hisに結合した。これら4つの融合タンパク質について、結合については差異がないことが観察された（図30A及び図30C）。融合タンパク質57G8／IL-15及び57G8／IL-15__LSは、可溶性マウスB7-H4Fc及びマウスB7-H4hisに結合した。57G8／IL-15__LS及び57G8／IL-15については結合に差異がないことが観察された（図30B及び図30D）。

【0465】

実施例20：細胞発現B7-H4に対する融合タンパク質（抗B7-H4抗体及びLS変異）の結合

FACSを使用し、細胞発現B7-H4への融合タンパク質の結合を評価した。

【0466】

融合タンパク質57G8／IL-15、57G8／IL-15__LS、50A10／IL-15及び50A10／IL-15__LSはすべて、ヒト腫瘍細胞発現B7-H4に結合した。融合タンパク質50A10／IL-15及び50A10／IL-15__LSは、SK-BR-3細胞への融合タンパク質57G8／IL-15又は57G8／IL-15__LSよりも強い結合を示す（図31A）。融合タンパク質57G8／IL-15及び57G8／IL-15__LSは、マウス腫瘍細胞株CT-26にトランスフェクトされたマウスB7-H4に結合した（図31B）。57G8／IL-15と比較して57G8／IL-15__LSについては、結合に差異がないことが観察された（図31）。

【0467】

実施例21：IL-2依存性M07e細胞の増殖を誘導する融合タンパク質（抗B7-H4抗体及びLS変異を含む）の能力

IL-2依存性M07e細胞の増殖を誘導するための、融合タンパク質57G8／IL-15、57G8／IL-15__LS、50A10／IL-15及び50A10／IL-15__LSの能力を決定した。すべての融合物は、M07e細胞の増殖を誘導することができた（図32）。

【0468】

配列

【0469】

【表16】

表16.ヒトB7H4のIgVDメインに結合する抗体(3F2及び誘導体)

種類	3F2	種類	3F2	49A2	50A10	3F2 CDRモチーフ
	配列番号		配列番号			
VH	15	VL	19	65	69	
CDR1H	16	CDR1L	20	66	70	73
CDR2H	17	CDR2L	21	67	71	74
CDR3H	18	CDR3L	22	68	72	75

【0470】

10

20

30

40

50

【表 1 7】

表17.ヒトB7H4(1D3及び誘導体)のIgVドメインに結合する抗体

種類	1D3	種類	1D3	45A2	47B2	1D3 CDR モチーフ
	配列番号		配列番号	配列番号	配列番号	配列番号
VH	3	VL	7	76	80	
CDR1H	4	CDR1L	8	77	81	84
CDR2H	5	CDR2L	9	78	82	85
CDR3H	6	CDR3L	10	79	83	86

10

【 0 4 7 1】

【表 1 8】

表18.ヒト及びマウスhB7-H4(9D11及び誘導体)のIgCドメインに結合する抗体

種類	9D11	種類	9D11	67E12	67C6	67C3	67G3	67H9	68F5	9D11 CDRモチ ーフ
	配列番号		配列 番号	配列 番号	配列 番号	配列 番号	配列 番号	配列 番号	配列 番号	配列番号
VH	45	VL	49	87	91	95	99	103	107	
CDR1H	46	CDR1L	50	88	92	96	100	104	108	111
CDR2H	47	CDR2L	51	89	93	97	101	105	109	112
CDR3H	48	CDR3L	52	90	94	98	102	106	110	113

20

【 0 4 7 2】

【表 1 9】

表19.ヒト及びマウスhB7-H4(39A11及び誘導体)のIgVドメインに結合する抗体

種類	39A11	種類	39A11	57H3	57G8	56A9	56H7	62F9	39A11 CDRモチ ーフ
	配列番号		配列番 号	配列番 号	配列番 号	配列番 号	配列番 号	配列番 号	配列番号
VH	57	VL	61	114	118	122	126	130	
CDR1H	58	CDR1L	62	115	119	123	127	131	134
CDR2H	59	CDR2L	63	116	120	124	128	132	135
CDR3H	60	CDR3L	64	117	121	125	129	133	136

30

40

【 0 4 7 3】

50

表20.抗体配列

抗体	説明	配列 番号	配列
ヒトB7H4のIgVドメインに結合する抗体			
1A12	VH	1	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFESSYAMHWVRQAPGKGLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDD SKNTLYIQMNSLKTEDTAVYCARHGWDAFDIWGGTTLVTVSS
1A12	VL	2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNRLNHWYQQKPGKAPKLLIYLASSLQGGVPSRFSGSGSGTDFTLIT ISSLQPEDFATYYCQQAISFPLTFGGGTKVEIK
ID3	VH	3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTHAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDI SKNTLYIQMNSLRAEDTAVYCARLLGRFGEYGMVWGQTTVTVSS
ID3	CDR1H	4	GFTFNTHAMH
ID3	CDR2H	5	AISGSGGSTYYADSVKG
ID3	CDR3H	6	LLGRFGEYGMV
ID3	VL	7	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASRSIYTWLAHWYQQKPGKAPKLLIYDASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLIT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGGGTKVEIK
ID3	CDR1L	8	RASRSIYTWLA
ID3	CDR2L	9	STLQS
ID3	CDR3L	10	QQSYSTPYT
1F11	VH	11	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKYSCKASGDTFTTYQIHWVRQAPGQGLEWMGGIMPIFGTTKYAQNFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYCARRNYGMDVWGQTTVTVSS
1F11	VL	12	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQLYRPVNKNFLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRSGGVDPDRFSGSGSG TDFTLTISSLQAEADVATYFCQQYYSTPTTFGGTKVEIK
3D1	VH	13	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKYSCKASGSFISYAITWVRQAPGQGLEWIGGINPIFGTAKYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYCAKQALIQHWGQTTVTVSS
3D1	VL	14	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSVLSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSG TDFTLTISSLQAEADVAVYCCQQYYSTPLAFGQGTKEIK
3F2	VH	15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKYSCKASGYTFTAQYMYWVRQAPGQGLEWMGCRINPTSGNTVYAQKLQGGRVTMTDRT STSTVYMELSSLRSEDTAVYCARGINWFDPPWGQTLVTVSS
3F2	CDR1H(EU インデックスの 番号づけ)	16	GYTFTAQYMY

【表 2 1】

抗体	説明	配列 番号	配列
3F2	CDR2H (EUインデックス の番号づけ)	17	RINPTSGNTVYAQKLQG
3F2	CDR3H(EU インデックスの 番号づけ)	18	GINWFDP
3F2	CDRIH (Kabatによる EUインデックス の番号づけ)	172	AQYMY
3F2	CDR2H (Kabatによる EUインデックス の番号づけ)	173	RINPTSGNTVYAQKLQG
3F2	CDR3H (Kabatによる EUインデックス の番号づけ)	174	GINWFDP
3F2	CDRIH (IGMT)	178	GYTFTAQY
3F2	CDR2H (IGMT)	179	INPTSGNT
3F2	CDR3H (IGMT)	180	ARGINWFDP
3F2	CDRIH (Chothia)	184	GYTFTAQ
3F2	CDR2H (Chothia)	185	PTSG

【 0 4 7 5 】

10

20

30

40

50

【表 2 2】

抗体	説明	配列 番号	配列
3F2	CDR3H (Chothia)	186	INWFD
3F2	VL	19	DIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQSISSYLNNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLIT ISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK
3F2		20	RASQSISSYLN
3F2	CDR1L	21	SSLQS
3F2	CDR2L	22	QQSYSTPLT
3F2	CDR3L	23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYGMHWVRQAPGKGLWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYIQMNSLRAEDTAVYICARTQWRASLDPWGQGTIVNVSS
4H6	VH	24	DIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDISYWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLIT ISLQPEDFATYYCQQTTMSPTTFGGTKVEIK
4H6	VL	25	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYGMHWVRQAPGKGLWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYIQMNSLRAEDTAVYICARGGFRDTPVDYWGQGTIVTVSS
6C3	VH	26	DIQMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNILDWILQKPGQSPQLLIYGASSLRSGVDPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGVYICMQASHWPTFGQGTGLEIK
6C3	VL	27	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKSCASGTFSTYAINWVRQAPGQGLEWMGGINPMFGTARYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYICARGRLHRHWGQGTIVTVSS
9H2	VH	28	DIQMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSG TDFTLTITSSLQAEDVAVYYCQYYTTPITFGQGTGLEIK
9H2	VL	29	QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGMNPNNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYICARGQGRYLNYYMDVWGKGTITVTVSS
4B9	VL	30	DIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRVSOGISNLYAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLIT ISLQPEDFATYYCQQSYSTPTTFGPGTKVDIK
ヒトB7H4のIgVドメインとIgCDメインとの両方に結合する抗体			
ヒト及びマウス ^h B7-H4のIgCDメインに結合する抗体			
15B11	VH	31	QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCASGYTFTGYITHVVRQAPGQGLEWMGMNPNHSGHTGYAQNLQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYICARVKVTGFDYWGQGTIVTVSS
15B11	VL	32	DIQMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNILDWILQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYICMQGTHWPTFGQGTGLEIK
24B6	VH	33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCASGYTFTGYIMHWVRQAPGQGLEWIGWMNPNNSGDTGYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYICAKVGAIGGMDVWGQGTIVTVSS

【 0 4 7 6 】

10

20

30

40

50

【表 2 3】

抗体	説明	配列 番号	配列
24B6	VL	34	DIVMTQSP ¹ LSLPVTPGEPASISCRSSQSL ² LHSGNY ³ LDWLQKPGQSP ⁴ QLLIYGGSNRASGVDPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGY ⁵ YCMQGTHWPTFGPGTKVDIK
24F4	VH	35	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK ¹ SKASGYRFTGDIHWVRQAPGQGLEWMGMNPN ² SGNTGLAQKFQGRVTITADE STAYMELSSL ³ RS ⁴ EDTAVYCARVLGFGSGMDVWGQGT ⁵ TVTVSS
24F4	VL	36	DIVMTQSP ¹ LSLPVTPGEPASISCRSSQSL ² LHSGNY ³ LDWLQKPGQSP ⁴ QLLIYAASSLRSGVDPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGY ⁵ YCMQGTHWPTFGQGTKLEIK
30G4	VH	37	QVQLVQSGAEVKKPGASVK ¹ SKASGYTFSSY ² YMHWVRQAPGQGLEWMGMNPN ³ SGDTGYAQKFQGRVTMTRDT STSTVY ⁴ MELSSL ⁵ RS ⁶ EDTAVYCARVPETGGMDVWGQGT ⁷ TVTVSS
30G4	VL	38	DIVMTQSP ¹ LSLPVTPGEPASISCRSSQSL ² LHSGNY ³ LDWLQKPGQSP ⁴ QLLIYGASSLHSGVDPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGY ⁵ YCMQGTHWPTFGQGTKVEIK
5E4	VH	39	QVQLVQSGAEVKKPGASVK ¹ SKASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEWMGMNPN ² SGNTGYAQKFQGRVTMTRDT STSTVY ³ MELSSL ⁴ RS ⁵ EDTAVYCAR ⁶ GELWFGEDFY ⁷ YYGMDVWGQGT ⁸ TVTVSS
5E4	VL	40	DIQMTQSP ¹ SSLASVGRVTITCRASQSISSY ² LNWYQQKPGKAPK ³ LLIYGASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLT ISSLPEDFATY ⁴ CQQADRI ⁵ PTFGRTKVEIK
5F4	VH	41	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLS ¹ CAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKLEWVS ² AI ³ GGSGRTTY ⁴ YADSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSL ⁵ KTEDTAVYCAR ⁶ E ⁷ GY ⁸ SYGQIDYWGQGT ⁹ LVTVSS
5F4	VL	42	DIVMTQSP ¹ LSLPVTPGEPASISCRSSQSL ² LHSGNY ³ LDWLQKPGQSP ⁴ QLLIYAASSLQSGVDPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGY ⁵ YCMQGAHWPLTFGQGTKVEIK
5G6	VH	43	QVQLVQSGAEVKKPGASVK ¹ SKASGYTFTSY ² YMHWVRQAPGQGLEWLVGNPN ³ TGTTRFAQKFQGRVTMTRDT STSTVY ⁴ MELSSL ⁵ RS ⁶ EDTAVYCARDANY ⁷ YGMDVWGQGT ⁸ MTVTVSS
5G6	VL	44	DIVMTQSP ¹ SDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNY ² LAWYQQKPGQPPK ³ LLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSG TDFLTITIS ⁴ SLQAE ⁵ DVATY ⁶ CQKINSALPITFGQGT ⁷ RL ⁸ EIK
9D11	VH	45	QVQLVQSGAEVKKPGASVK ¹ SKASGYTFTSY ² YGISWVRQAPGQGLEWVGN ³ PN ⁴ NGGTT ⁵ Y ⁶ AQTFQGRVTMTRDT STSTVY ⁷ MELSSL ⁸ RS ⁹ EDTAVYCAR ¹⁰ TGYSSGWA ¹¹ FDYWGRTLVTVSS
9D11	CDR1H	46	GYTFTSYGIS
9D11	CDR2H	47	VINP ¹ NGGTT ² Y ³ AQTFQ ⁴ G
9D11	CDR3H	48	TGYSSGWA ¹ FDY
9D11	VL	49	DIVMTQSP ¹ SDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNY ² LAWYQQKPGQPPK ³ LLIYWAS ⁴ TRESGVDPDRFSGSGSG TDFLTITIS ⁵ SLQAE ⁶ DVAVY ⁷ CQQYF ⁸ STPS ⁹ FGQGT ¹⁰ KVEIK
9D11	CDR1L	50	KSSQSVLYSSNNKNY ¹ LA
9D11	CDR2L	51	STRES

【 0 4 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 2 4】

抗体	説明	配列 番号	配列
9D11	CDR3L	52	QQYFSTPS
9E1	VH	53	QVQLVQSGAEVKPKGASVKYCKASGYTFTGYLHWVRQAPQGQLEWGWINPNSGGTNSAQRFGGRVTMTRDT STSTVYMELSRLRSEDATVYCARVGYEGGMDVWGQGTITVSS
9E1	VL	54	DIVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLILHSNGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRASGVDPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGYVCMQGSHPPTFGQGRLEIK
ヒト及びマウス hB7-H4 の Igα ドメインに結合する抗体			
31D7	VH	55	EVQLLESGGGLVQPGGSXRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCARIGSGSLDIYWGQGTITVSS
31D7	VL	56	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSFGSGSGTDFTLIT ISLQPEDFATYYCQQSYTIPITFGQGRLEIK
39A11	VH	57	EVQLLESGGGLVQPGGSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAISISSSSGYIYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCARASSGMDVWGQGTITVSS
39A11	CDR1H	58	GFTFSSYGMH
39A11	CDR2H	59	SISSSGYIYYADSVKG
39A11	CDR3H	60	ASSGMDV
39A11	VL	61	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQTIRSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAASHLQSGVPSRFSFGSGSGTDFTLIT ISLQPEDFATYYCQQSYTTPYTFGQGTKLEIK
39A11	CDR1L	62	RASQTIRSYLN
39A11	CDR2L	63	SHLQS
39A11	CDR3L	64	QQSYTTPYT
hB7-H4に結合する抗体:3F2誘導体			
49A2	VL	65	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQIDITYVNWYQQKPGKAPKLLIYAAASRLHTVPSRFSFGSGSGTDFTLIT SSLQPEDFATYYCQQSYTSPTTFGGGTKVEIK
49A2	CDR1L	66	RASQNIITYVN
49A2	CDR2L	67	SRLHT
49A2	CDR3L	68	QQSYTSPT
50A10	VL	69	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQDI SNYINWYQQKPGKAPKLLIYAAASRLQSGVPSRFSFGSGSGTDFTLIT ISLQPEDFATYYCQQSYRSPTTFGQGTKLEIK

【 0 4 7 8 】

【表 2 5】

抗体	説明	配列 番号	配列
50A10	CDR1L(EU インデックスの 番号づけ)	70	QASQDISNYIN
50A10	CDR2L (EUインデックス の番号づけ)	71	SRLQS
50A10	CDR3L(EU インデックスの 番号づけ)	72	QQSYRSPFT
50A10	CDR1L (Kabatiによる EUインデックス の番号づけ)	175	SQDISNY
50A10	CDR2L (Kabatiによる EUインデックス の番号づけ)	176	AAS
50A10	CDR3L (Kabatiによる EUインデックス の番号づけ)	177	SYRSPF
50A10	CDR1L (IGMT)	181	SQDISNY
50A10	CDR2L (IGMT)	182	AAS
50A10	CDR3L (IGMT)	183	SYRSPF
50A10	CDR1L (Chothia)	187	QASQDISNYIN

【 0 4 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 2 6】

抗体	説明	配列 番号	配列
50A10	CDR2L (Chothia)	188	AASRLQS
50A10	CDR3L (Chothia)	189	QQSYRSPFT
3F2 CDRモチーフ	CDR1L	73	X ₁ ASQX ₂ IX ₃ X ₄ YX ₅ N (式中: X ₁ はR又はQであり, X ₂ はD、N又はSであり, X ₃ はD又はSであり, X ₄ はN、S又はTであり, X ₅ はI、L又はVである)
3F2 CDRモチーフ	CDR2L	74	SX ₆ LX ₇ X ₈ (式中: X ₆ はR又はSであり, X ₇ はH又はQであり, X ₈ はS又はTである)
3F2 CDRモチーフ	CDR3L	75	QQSYX ₉ X ₁₀ PX ₁₁ T (式中: X ₉ はR、S又はTであり, X ₁₀ はS又はTであり, X ₁₁ はF又はLである)
hB7-H4に結合する抗体:ID3誘導体			
45A2	VL	76	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIYTWLA ^{WYQQKPGKAPKLLIYDA} TNLP ^{TGVPSR} FGSGSGTDFLT ISSLPQEDFATYVCQQSYSTRWTFGGGTKVEIK
45A2	CDR1L	77	RASQNIYTWLA
45A2	CDR2L	78	TNLP
45A2	CDR3L	79	QQSYSTRWT
47B2	VL	80	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTYTWLA ^{WYQQKPGKAPKLLIYDA} TNLP ^{TGVPSR} FGSGSGTDFLT ISSLPQEDFATYVCQQSYSTRWTFGGGTKVEIK

【 0 4 8 0 】

10

20

30

40

50

【表 2 7】

抗体	説明	配列 番号	配列
47B2	CDR1L	81	RASQTVYTWLA
47B2	CDR2L	82	TNLA ^T
47B2	CDR3L	83	QQSYSTSWT
1D3 CDRモチーフ	CDR1L	84	RASX ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ YTWLA (式中: X ₁₂ はQ又はRであり、 X ₁₃ はN、S又はTであり、 X ₁₄ はI又はVである)
1D3 CDRモチーフ	CDR2L	85	X ₁₅ X ₁₆ LX ₁₇ X ₁₈ (式中: X ₁₅ はS又はTであり、 X ₁₆ はN又はIであり、 X ₁₇ はA、P又はQであり、 X ₁₈ はS又はTである)
1D3 CDRモチーフ	CDR3L	86	QQSYSTX ₁₉ X ₂₀ 式中、 X ₁₉ はP、R又はSであり、 X ₂₀ はW又はYである)
ヒト及びマウス hB7-H4のIgCドメインに結合する抗体:9D11誘導体			
67E12	VL	87	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINC KSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWAS KRVSGV PDFRFSGSGSG TDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQYFDSP TFGGQTKVEIK
67E12	CDR1L	88	KSSQSVLYSSNNKNYLA
67E12	CDR2L	89	SKRVS
67E12	CDR3L	90	QQYFDSP ^T
67C6	VL	91	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINC KSSQSVLSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWAS TRQSGV PDFRFSGSGSG TDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQYYSDP TFGGQTKVEIK
67C6	CDR1L	92	KSSQSVLSSNNKNYLA
67C6	CDR2L	93	STRQS
67C6	CDR3L	94	QQYYSDP ^T
67C3	VL	95	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINC KSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWAS TRASG VPDFRFSGSGSG TDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQYYDTP TFGGQTKVEIK

【 0 4 8 1 】

10

20

30

40

50

【表 2 8】

抗体	説明	配列 番号	配列
67C3	CDR1L	96	KSSQSVLYSSNNKNYLA
67C3	CDR2L	97	STRAS
67C3	CDR3L	98	QQYYDTPT
67G3	VL	99	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA ^{WY} QQKPGQPPKLLIYWASTRQSGVDPDRFSGSGG TDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYTSTPTFGQGTKVEIK
67G3	CDR1L	100	KSSQSVLYSSNNKNYLA
67G3	CDR2L	101	STRQS
67G3	CDR3L	102	QQYYTSTPT
67H9	VL	103	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSNNKNYLA ^{WY} QQKPGQPPKLLIYWASNRKSGVDPDRFSGSGG TDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSAPTFGQGTKVEIK
67H9	CDR1L	104	RSSQSVLYSSNNKNYLA
67H9	CDR2L	105	SNRKS
67H9	CDR3L	106	QQYYSAPT
68F5	VL	107	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSRSVLSRSNNKNYLA ^{WY} QQKPGQPPKLLIYWASTRQFGVDPDRFSGSGG TDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYDTPTFGQGTKVEIK
68F5	CDR1L	108	KSSRSVLSRSNNKNYLA
68F5	CDR2L	109	STRQF
68F5	CDR3L	110	QQYYDTPT
9D11 CDRモチーフ	CDR1L	111	X ₂₁ SSX ₂₂ SVLX ₂₃ X ₂₄ SNNKNYLA (式中、 X ₂₁ はK又はRであり、 X ₂₂ はQ又はRであり、 X ₂₃ はS又はYであり、 X ₂₄ はR又はSである)
9D11 CDRモチーフ	CDR2L	112	SX ₂₅ RY ₂₆ X ₂₇ (式中、 X ₂₅ はK、N、Tであり、 X ₂₆ はA、E、K、Q又はVであり、 X ₂₇ はF又はSである)
9D11 CDRモチーフ	CDR3L	113	QQYX ₂₈ X ₂₉ PX ₃₀

【 0 4 8 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 9】

抗体	説明	配列 番号	配列
			(式中、 X ₂₈ はF又はYであり、 X ₂₉ はD、S又はTであり、 X ₃₀ はA、D、S又はTであり、 X ₃₁ はS又はTである)
ヒト及びマウス _{hB7-H4} のIgVドメインに結合する抗体 39A11誘導体			
57H3	VL	114	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDIRKYL NWYQQKPGKAPKLLIYAA STRES GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYC QQYYSLPLT FGQGTKLEIK
57H3	CDR1L	115	QASQDIRKYLN
57H3	CDR2L	116	STRES
57H3	CDR3L	117	QQYYSLPLT
57G8	VL	118	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSI RSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYC QQYYSTPLT FGQGTKVEIK
57G8	CDR1L	119	RASQSI RSYLN
57G8	CDR2L	120	SSLQS
57G8	CDR3L	121	QQYYSTPLT
56A9	VL	122	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SIRE SGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYC QQYYTTPLT FGQGTKLEIK
56A9	CDR1L	123	RASQSISSYLN
56A9	CDR2L	124	SIRE S
56A9	CDR3L	125	QQYYTTPLT
56H7	VL	126	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SNLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYC QQYYTTPLT FGQGTKLEIK
56H7	CDR1L	127	RASQSISSYLN
56H7	CDR2L	128	SNLQS
56H7	CDR3L	129	QQYYTTPLT
62F9	VL	130	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSV SSAVAWYQQKPGKAPKLLIYAA SIRE SGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYC QQYYSTPLT FGQGTKLEIK
62F9	CDR1L	131	RASQSVSSAVA
62F9	CDR2L	132	SIRE S

【 0 4 8 3 】

10

20

30

40

50

【表 3 0】

抗体	説明	配列 番号	配列
62F9	CDR3L	133	QQYYSTPLT
39A11 CDR モチーフ	CDR1L	134	X ₃₂ ² X ₃₃ ² X ₃₄ ² X ₃₅ ² X ₃₆ ² X ₃₇ ² X ₃₈ ² X ₃₉ ² (式中: X ₃₂ はQ又はRであり、 X ₃₃ はD、S又はTであり、 X ₃₄ はI又はVであり、 X ₃₅ はR又はSであり、 X ₃₆ はK又はSであり、 X ₃₇ はA又はYであり、 X ₃₈ はL又はVであり、 X ₃₉ はA又はNである)
		135	SX ₄₀ ² X ₄₁ ² X ₄₂ ² S (式中: X ₄₀ はH、I、N、S又はTであり、 X ₄₁ はL又はRであり、 X ₄₂ はE又はQである)
		136	QQX ₄₃ ² YX ₄₄ ² X ₄₅ ² PX ₄₆ ² T (式中: X ₄₃ はS又はYであり、 X ₄₄ はS又はTであり、 X ₄₅ はL又はTであり、 X ₄₆ はL又はYである)
対照抗体			
対照抗体1 (米国特許出願 公開第2019008 5080A1号明細書 に記載の 抗体20502)	VH	137	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIKSGSYWGWIQQPPGKGLEWIGNIYSGSTYYNPSLRSRVTISVD TSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCAREGSYPNQDFDPWGQGLTVTVSS

【 0 4 8 4 】

10

20

30

40

【表 3 1】

抗体	説明	配列 番号	配列
対照抗体1 (米国特許出願公開 第20190085080A1 号明細書に記載の 抗体20502)	VL	138	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAVYYCQQYHSPFTFGGGTKVEIK
対照抗体2 (米国特許第 9,574,000号明細書 に記載の抗体6H3)	VH	139	EVQLQQSGPVLVKPGTSVKMSCKASGYTFTDYMNWVKQSHGKSLEWIGVINPYNGDFTTYNQKFKGKATLTVDK SSSTAYMEVNSLTFEEDSAVYICARYPESTYWGQGLVTVSA
対照抗体2 (米国特許第 9,574,000号明細書 に記載の抗体6H3)	VL	140	DVVMQTPTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHINGNTYILHWYLQKPGQSPKVLIIYKVSNRFSGVDRFRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDLGVYFCQSQSTHVPLTFGAGTKLELK
DP47	VH	141	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYAMSWVRQAPKGLEWVSAISGSGSGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYICAKGSGFDYWGQGLVTVSS
DP47	VL	142	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGQTKVEIK

【 0 4 8 5 】

表21.融合タンパク質配列

融合タンパク質	VH		VL		HC1		HC2		LC	
	名称	配列番号	名称	配列番号	名称	配列番号	名称	配列番号	名称	配列番号
(+) Ab1/IL15	20502 VH	137	20502 VL	138	20502 HC1	147	20502 HC-2	154	20502 LC	143
39A11/57G8-IL15 (57G8/IL15とも呼ばれる)	39A11 VH	57	57G8 VL	118	39A11 HC1	148	39A11-HC2	155	57G8 LC	144
39A11/57G8-IL15-LS (57G8/IL15-LSとも呼ばれる)	39A11 VH	57	57G8 VL	118	39A11 HC1-LS	149	39A11-HC2-LS	156	57G8 LC	144
3F2/50A10-IL15 (50A10/IL15とも呼ばれる)	3F2 VH	15	50A10 VL	69	3F2 HC1	150	3F2 HC1	157	50A10 LC	145
3F2/50A10-IL15-LS (50A10/IL15-LSとも呼ばれる)	3F2 VH	15	50A10 VL	69	3F2 HC1-LS	151	3F2 HC2-LS	158	50A10 LC	145
DP47/IL15	DP47 VH	141	DP47 VL	142	DP47 HC1	152	DP47 HC2	159	DP47 LC	146
DP47/IL15-LS	DP47 VH	141	DP47 VL	142	DP47 HC1-LS	153	DP47 HC2-LS	160	DP47 LC	146

表22. 融合タンパク質配列

説明	どの融合タンパク質で 使用されるか	種類	注釈	配列 番号	配列
20502 LC (対照抗体1)	(+) Ab1/IL15	LC	<u>20502 VL</u>	143	<u>EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPKGQAPRLLIYGA</u> <u>STRATGIPARFSGSGGTFTLTISSLQSEDFAVYYCQYHSFFFTFGGT</u> <u>KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNA</u> <u>LQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSP</u> VTKSFNRGEC
57G8 LC	39A11/57G8- IL15 及び	LC	<u>57G8 VL</u>	144	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIIRSYLNWYQQKPKGAPKLLIYYA</u> <u>SSLQSGVPSRFRSGSGGTFTLTISSLQPEDEFAITYCQQYYSTPLTIFGQGT</u> <u>KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNA</u> <u>LQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSP</u> VTKSFNRGEC

【表 3 4】

説明	どの融合タンパク質で 使用されるか	種類	注釈	配列 番号	配列
50A10 LC	39A11/57G8- IL15-LS 3F2/50A10-IL15 及び 3F2/50A10- IL15-LS	LC	<u>50A10 VL</u>	145	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCOASQDISINYNWYQOKPGKAPKLLIYAA SRLQSGVPSRFSFGSGGTDTFTLTSSSQPEDFATYYCOQSYRSPFTFGQGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNREGC
DP47 LC	DP47/IL15 及び DP47/IL15-LS	LC	<u>DP47 VL</u>	146	ELVLTQSFGTSLSPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYG ASSRATGIDRFSGSGGTDTFTLTSSLEPEDFAVYQYQYGGSSPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNREGC
20502 HC1	(+) Ab1/IL15	HC1	<u>20502 VH</u>	147	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIKSGSYWGWIRQPPGKGLEWIG NIYYSGSTYINPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGS YFNQFDPMGGTTLVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICN VNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPVFLFPPPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPC RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
39A11 HC1	39A11/57G8- IL15	HC1	<u>39A11 VH</u>	148	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAPGKGLEWVASI SSSSGYIYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYIQMNSLR AEDTAVYYCARASSG MDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVN HK PSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPVFLFPPPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【 0 4 8 8 】

【表 3 5】

説明	どの融合タンパク質で 使用されるか	種類	注釈	配列 番号	配列
39A11 HC1- LS	39A11/57G8- IL15-LS	HC1	39A11 <i>VH</i> LS変異	149	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSYGMHWVRQAPGKGLVWVASI SSSSGYIYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRAEDTAVYYCARASSG MDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQOQGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK
3F2 HC1	3F2/50A10-IL15	HC1	3F2 <i>VH</i>	150	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAQIMYWVRQAPGQGLEWMGRI NPTSGNTVYAQKLQGRVTMTTRDTSTVYMELSLRSRSED TAVYYCARGINW FDFWGGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQOQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
3F2 HC1-LS	3F2/50A10- IL15-LS	HC1	3F2 <i>VH</i> LS変異	151	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAQIMYWVRQAPGQGLEWMGRI NPTSGNTVYAQKLQGRVTMTTRDTSTVYMELSLRSRSED TAVYYCARGINW FDFWGGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFFLYSK LTVDKSRWQOQGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK
DP47 HC1	DP47/IL15	HC1		152	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSYAMSWVRQAPGKGLVWVASI SGSGGSTYIYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRAEDTAVYYCAKSGGF DYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKE

【 0 4 8 9】

10

20

30

40

50

【表 3 6】

説明	どの融合タンパク質で 使用されるか	種類	注釈	配列 番号	配列
DP47 HC1- LS	DP47/IL15-LS	HC1	LS変異	153	SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFSYAMSWVRQAPGKGLIEWVSAISGSGGSIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYIQMNSLRAEDTAVYYCAKSGGF DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
20502 HC-2	(+) Ab1/IL15	HC2	20502 VH IL-15Ra sushi ドメイン リンカー IL-15	154	QLQLQESGPEGLVLPSETLSLTCTVSGGSIKSGSYIYWGWIROPPEGKLEWIGNIYYSGSTYYNPSSLRSRVTVISVDTSKNQFSLKLSSTVAADTAVYYCAREGSSYPNQFDPPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFNFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSCPPPMSEVHADIWKSYSLYSRERYICNSGGGSGGSGGSLQNWVNVISDLKIEDLI CIRDPALVHQRPA PPSGGSGGSGGSGGSLQNWVNVISDLKIEDLI QSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLEIQLQVISLESGDASIHDTVESLI ILANSLSSNGNVTSGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
39A11-HC2	39A11/57G8- IL15 融合	HC2	39A11 VH IL-15Ra sushi ドメイン リンカー	155	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFSYGMHWVQAPGKGLIEWVASISSSSGYIYADSVKGRFTISRDN SKNTLYIQMNSLRAEDTAVYYCARASSGMDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHNK

【 0 4 9 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 7】

説明	どの融合タンパク質で 使用されるか	種類	注釈	配列 番号	配列
			IL-15		PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLPPPKPDKTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDEL TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGSCPPPMSEVHADIW VKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTTSLKCIIRD PALVHQRPAPPSGGGGGGGGGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMH IDATLYTESDVHPSCKVAMKCFLELQVTSLESGDASIHDTVESLIILAN NSLSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFTLQSFVHIVQMFINTS
39A11-HC2- LS	39A11/57G8- IL15-LS 融合	HC2	<u>39A11 VH</u> <u>LS変異</u> <u>IL-15Ra sushi</u> <u>ドメイン</u> <u>リンカー</u> <u>IL-15</u>	156	EVQLLESGGGLVQPQGSIRLSCAASGFTTFSYGMHWVRQAPGKGLIEWVASI SSSSGGYIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRARDTAVVYCARASSG MDVWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLPPPKPDKTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDEL TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQOGNVFSCSVLHEALHSHYTKSLSLSLSPGSCPPPMSEVHADIW VKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTTSLKCIIRD PALVHQRPAPPSGGGGGGGGGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMH IDATLYTESDVHPSCKVAMKCFLELQVTSLESGDASIHDTVESLIILAN NSLSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFTLQSFVHIVQMFINTS
3F2 HC1	3F2/50A10-IL15 融合	HC2	<u>3F2 VH</u> <u>IL-15Ra sushi</u> <u>ドメイン</u> <u>リンカー</u> <u>IL-15</u>	157	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAQIMYWVRQAPGQGGLFWMGERI NPTSGNTVYAQKLQGRVTMTDRTSTSTVYMELSLSRSEDTA VYVYCARGINW FDEWCGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLPPPKPDKTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPSRDEL TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGSCPPPMSEVHADIW

【 0 4 9 1 】

10

20

30

40

50

【表 3 8】

説明	どの融合タンパク質で 使用されるか	種類	注釈	配列 番号	配列
3F2 HC2-LS	39A11/57G8- IL15-LS	HC2	<u>3F2 V/H</u> <u>LS変異</u> <u>IL-15Ra sushi</u> <u>ドメイン</u> <u>リンカー</u> <u>IL-15</u>	158	VKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTTECVLNKATNVAHWTTT ~~PSLK~~ CIRD PALVHQRPAPPSSGGGGGGGGGGGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMH IDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVTSLESGDASIHDTVESLIILAN NSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS <u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSSTTAQYMYWVRQAPGCGGLEWMGRI</u> <u>NPTSGNTVYAQLQGRTMTDRDTSTVTVMELSSLSRSEDTAVYYCARGINW</u> <u>FDPWGQGTLVTVSS</u> ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVCTITLPPSRDEL TKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFCSSV ~~L~~ HEALTHY ~~TQ~~ KSLSLSPGSCPPPMSEVHADIIW VKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTTECVLNKATNVAHWTTT ~~PSLK~~ CIRD PALVHQRPAPPSSGGGGGGGGGGGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMH IDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVTSLESGDASIHDTVESLIILAN NSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
DP47 HC2	DP47/IL15	HC2	<u>DP47 VH</u> <u>IL-15Ra sushi</u> <u>ドメイン</u> <u>リンカー</u> <u>IL-15</u>	159	<u>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYAMSWVRQAPGKGLIEWVSAI</u> <u>SGSGGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSLRRAEDTAVYYCAKGGGF</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVCTITLPPSRDEL TKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSCPPPMSEVHADIIW VKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTTECVLNKATNVAHWTTT ~~PSLK~~ CIRD PALVHQRPAPPSSGGGGGGGGGGGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMH IDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVTSLESGDASIHDTVESLIILAN NSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

【 0 4 9 2 】

10

20

30

40

50

【表 3 9】

説明	どの融合タンパク質で 使用されるか	種類	注釈	配列 番号	配列
DP47 HC2- LS	DP47/IL15-LS	HC2	LS変異 <u>IL-15Ra sushi</u> ドメイン リンカー <u>IL-15</u>	160	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSY YAMS WVRQAPGKGL EWVSAI SGSGG STYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYIQMNSLRAEDTAVYYCAKGS GF DYWGQGTILVTVSSASTKGP SVFL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTTFAVLQSSGLYSLSSVTV VPSS SLGTQTYICNVNHK P SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE LLGGPSVFL PPKPKDTLMISRT P EVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINSTYRVY SVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQ PREPQVCTLP PSRDELT KNQVLSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKL TVDKSRWQOGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSL SLSPGSCPPFMSV EHADIMV KSYSLYSERYICNSGFKRKAGTSSLT ECVLN KATNYAHWTT PSLKCIRDP ALVHQRPAPPFSGGGGGGGGGGG SLQNWNVISDLK KIEDLIQSMHI DATLYTESDVHP SCVTAMKCF LLELQVTSLESGDASIHDT VESLIILANN SLSSNGNV TESGCKECEELEEK NIKEFLQSFVHIVQMFINTS

【 0 4 9 3 】

10

20

30

40

50

表23.他のタンパク質配列。

タンパク質	配列番号	配列
ヒトB7-H4 (NCBIアクセッション番号:NP_078902)	161	<u>MASLGQILFWSIISIIIIILAGAIALIIIGFGISGRHSITVTTT</u> <u>VASAGNIGEDGILSCTFEPDIKLSDI</u> <u>VIQWLKEGVLGLVHEFKEGKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASLRKKNVQLTDA</u> <u>GTYKCYIIT</u> <u>SKGKNANLEYKTGAFSMPEYVNDYNASSETLRCEAPRWFPQPTVVWASQVDQG</u> <u>ANFSEVSN</u> <u>TSFEL</u> <u>NSENVTMKVVSVLNVVTINN</u> <u>TYSCMIENDIAKATGDIKVTSEIKRRSHLQLLNSKASL</u> <u>CVSSFFAI</u> <u>SWALLPLSPYLM</u> <u>LK</u>
シグナルペプチド <u>IgVDメイン</u> <u>IgCDメイン</u> 膜貫通領域		
マウスB7-H4 (NCBIアクセッション番号:Q7TSP5、 Phe29-Pro258)	162	<u>MASLGQILFWSIINIIIIILAGAIALIIIGFGISGRHFI</u> <u>TVTTT</u> <u>SAGNIGEDGTL</u> <u>SCTFEPDIKNGI</u> <u>VIQWLKEGILGLVHEFKEGKDDLSQQHEMFRGRTAVFADQVVVGNASLRKKNVQLTDA</u> <u>GTYTCYIRT</u> <u>SKGKNANLEYKTGAFSMPEINVDYNASSELRC</u> <u>APRWFPQPTVAWASQVDQGANFSEVSN</u> <u>TSFEL</u> <u>NSENVTMKVVSVLNVVTINN</u> <u>TYSCMIENDIAKATGDIKVTSEVKKRSQLQLLNSGFS</u> <u>PCVFSSAFV</u> <u>AGWALLSLSCCLMLR</u>
シグナルペプチド <u>IgVDメイン</u>		

【表 4 1】

タンパク質	配列番号	配列
IgCDメイン 膜貫通領域		
IgG1 Fc (NCBIアクセッション番号:P01857) 下線を引いたPro100-Lys330	163	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVVKDYFPPPTVTSWNSGALTSGVHTTFFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPSTNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELIGGPSVFELFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDDEVKFNWYVDGVEVHNNAKTPREEQYNSTYRVSVLTFLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPPVLDSDGSEFELYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
全長ヒトIL-15(NCBIアクセッション番号: P40933)	164	MRIKPHLRSTIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWNVISDLKKIEDLLIQSM HIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCK ECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
成熟タンパク質		
ヒトIL-15(成熟タンパク質、 残基N65は太字である)	165	NWNVISDLKKIEDLLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLLLELQVISLESGDASIHDTVENLI ILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
ヒトIL-15 N65S(成熟タンパク質、 残基N65Sは太字である)	166	NWNVISDLKKIEDLLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVKVTAMKCFLLLELQVISLESGDASIHDTVE SLI ILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
IL-15Ra sushiドメイン(NCBI アクセッション番号の残基33~93: EAW86418.1)	167	CPPPMSEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTTPSLKC
人工配列	168	SGSGSGSGSGSGSGGSLQ
IL-15 Ra sushiドメイン+Jンカー + IL-15 N65S	169	CPPPMSEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTTPSLKCIRDPAL VHQRPAAPPSSGSGSGSGSGSGGSLQNWNVISDLKKIEDLLIQSMHIDATLYTESDVHPSCVK TA MKCFLLLELQVISLESGDASIHDTVE SLI ILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHI VQMFINTS
IL-15Ra sushiドメイン Jンカー IL-15		
人工配列	170	IRDPALVHQRPAAPPSSGSGSGSGSGSGGSLQ
人工配列	171	IRDPALVHQRPAAPP

【 0 4 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 4 2】

表24.ヒトB7H4のIgVDメインに結合する抗体CDR(3F2及び50A10)の例

		EUインデックスの番号づけ	KabatによるEUインデックスの番号づけの選択肢	IMGT	Chothia
3F2	CDR1H	GYTFTAQYMY (配列番号16)	AQYMY (配列番号172)	GYTFTAQY (配列番号178)	GYTFTAQ (配列番号184)
3F2	CDR2H	RINPTSGNTVYAAQKLQG(配 列番号17)	RINPTSGNTVYAAQKLQG (配列番号173)	INPTSGNT (配列番号179)	PTSG (配列番号185)
3F2	CDR3H	GINWFDP (配列番号18)	GINWFDP (配列番号174)	ARGINWFDP (配列番号180)	INWFD (配列番号186)
50A10	CDR1L	QASQDISNYIN (配列番号70)	SQDISNY (配列番号175)	SQDISNY (配列番号181)	QASQDISNYIN (配列番号187)
50A10	CDR2L	SRLQS (配列番号71)	AAS (配列番号176)	AAS (配列番号182)	AASRLQS (配列番号188)
50A10	CDR3L	QQSYRSPFT (配列番号72)	SYRSPF (配列番号177)	SYRSPF (配列番号183)	QQSYRSPFT (配列番号189)

10

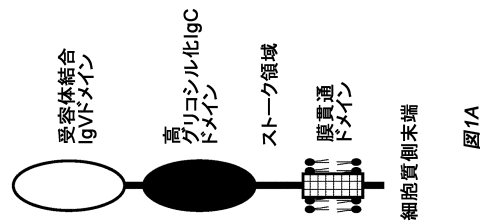
20

30

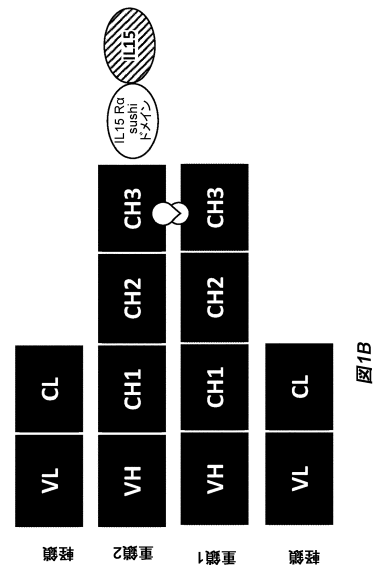
40

50

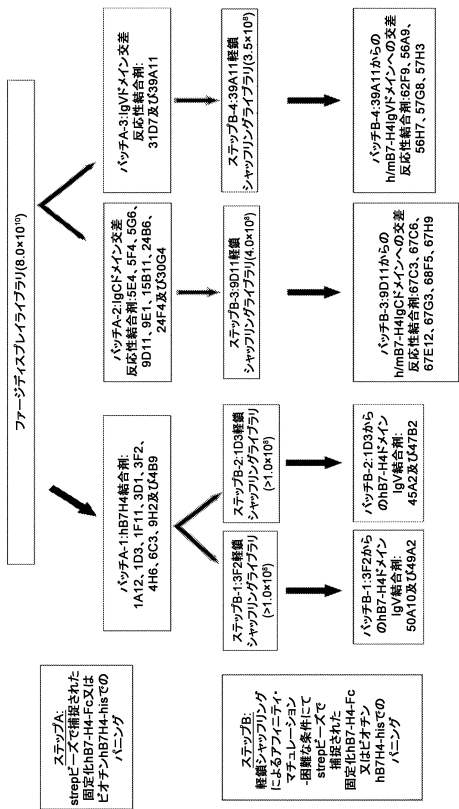
【図面】
【図 1 A】



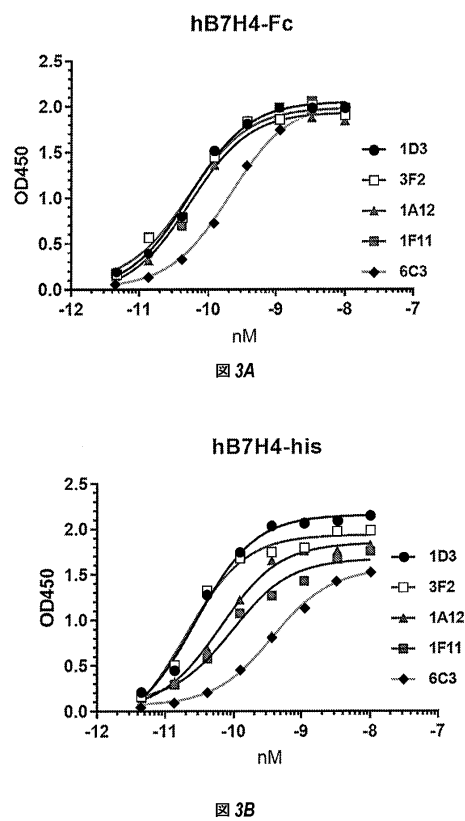
【図 1 B】



【図 2】



【図 3 A - 3 B】



10

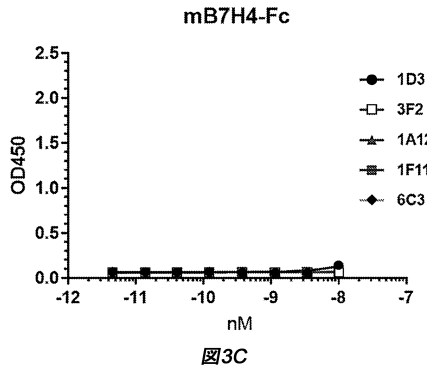
20

30

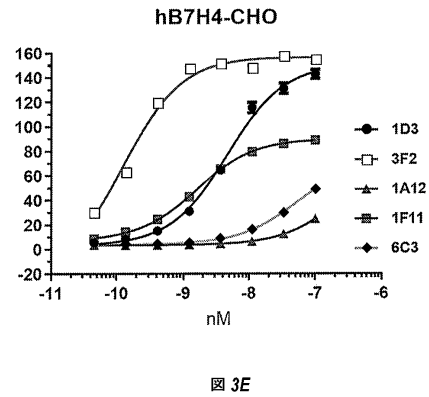
40

50

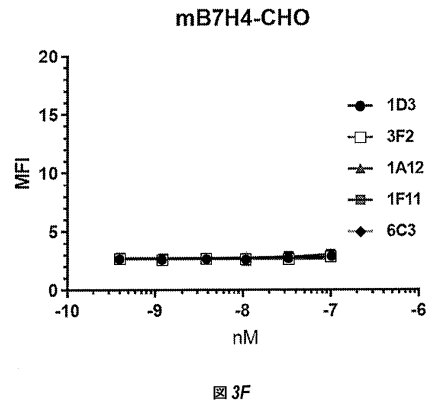
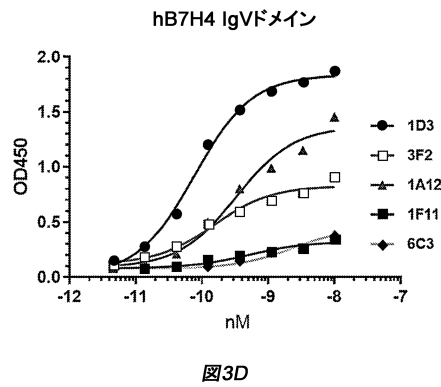
【図 3 C - 3 D】



【図 3 E - 3 F】

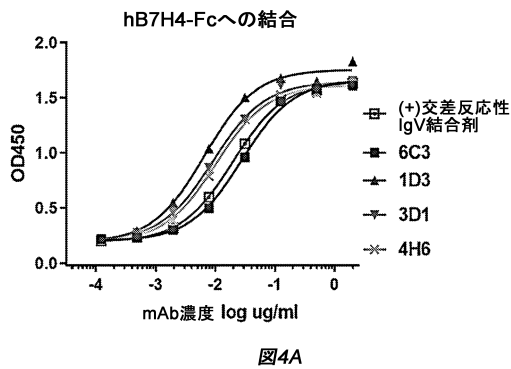


10

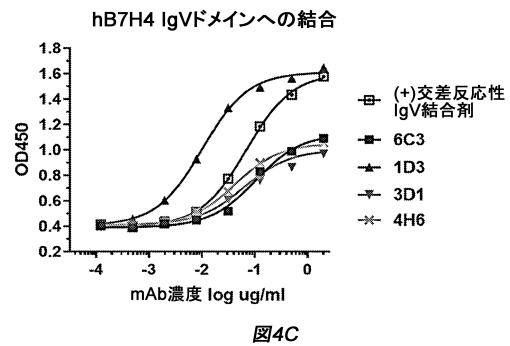


20

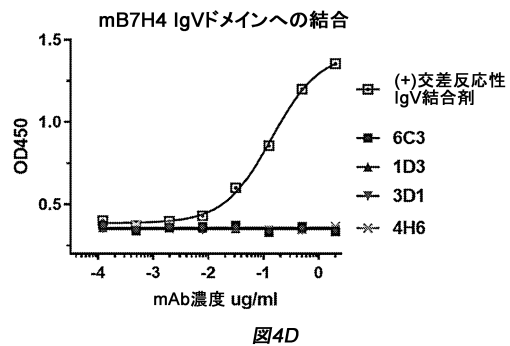
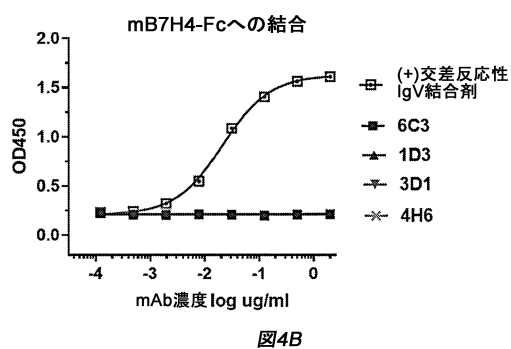
【図 4 A - 4 B】



【図 4 C - 4 D】



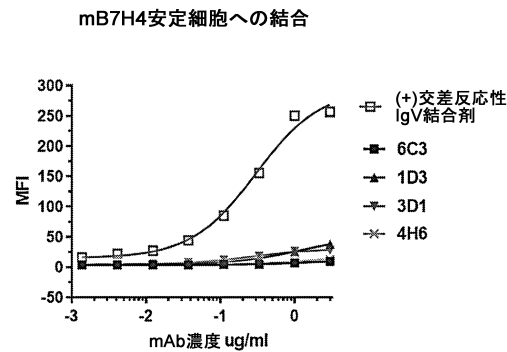
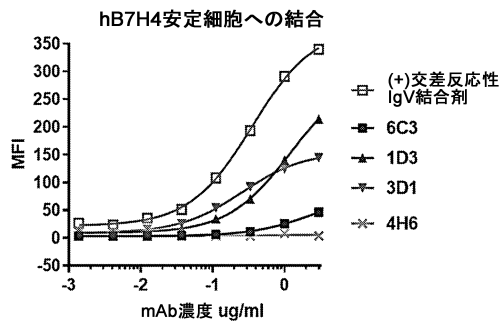
30



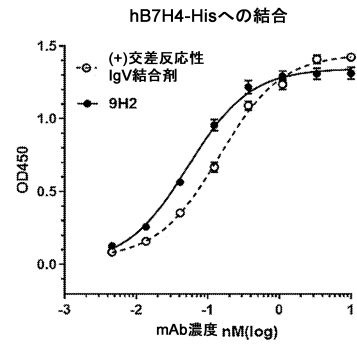
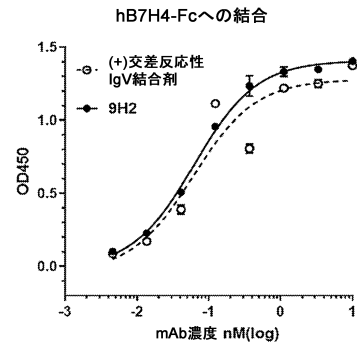
40

50

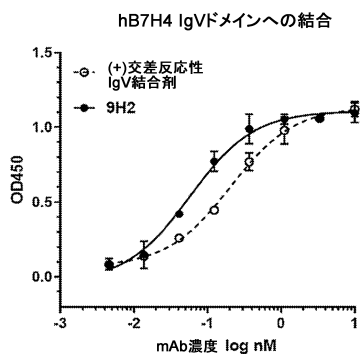
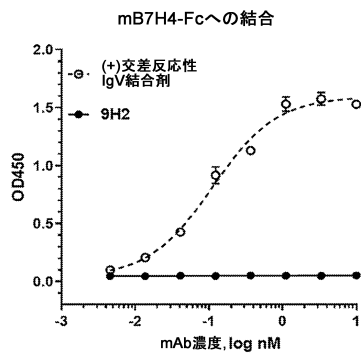
【図 4 E - 4 F】



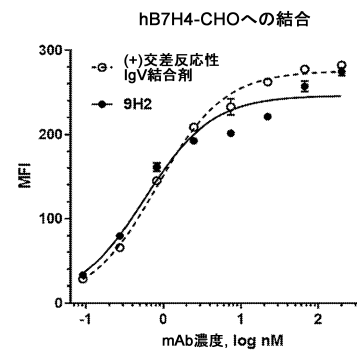
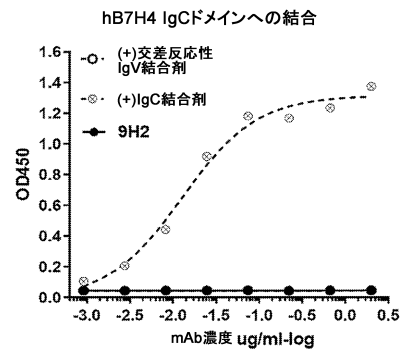
【図 5 A - 5 B】



【図 5 C - 5 D】



【図 5 E - 5 F】



10

20

30

40

50

【図 5 G】

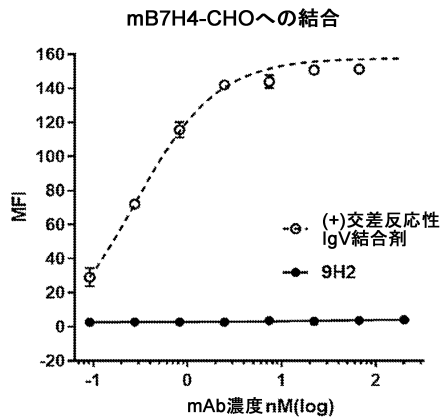


図5G

【図 6 A - 6 B】

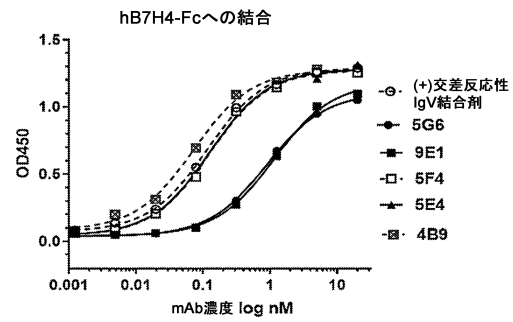


図6A

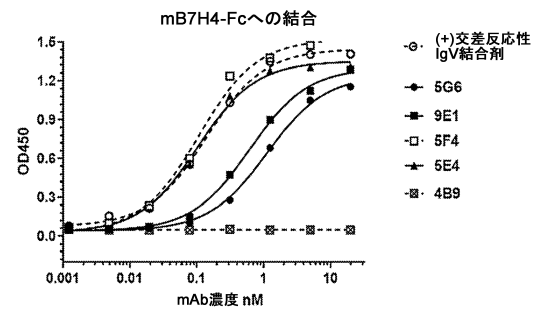


図6B

【図 6 C - 6 D】

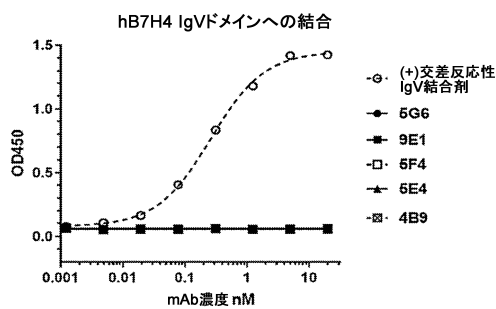


図6C

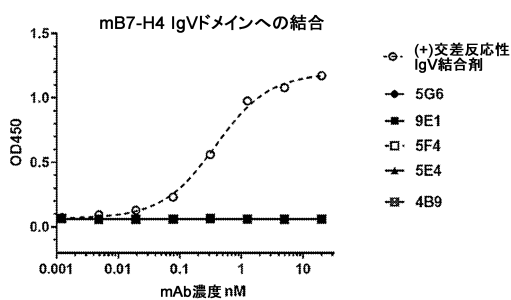


図6D

【図 6 E - 6 F】

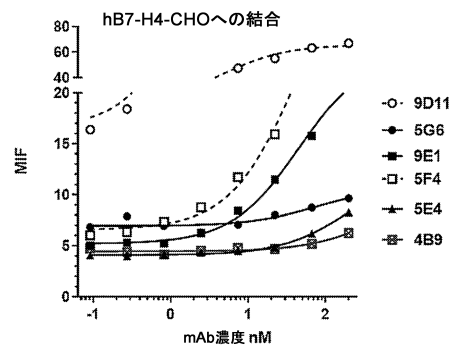


図6E

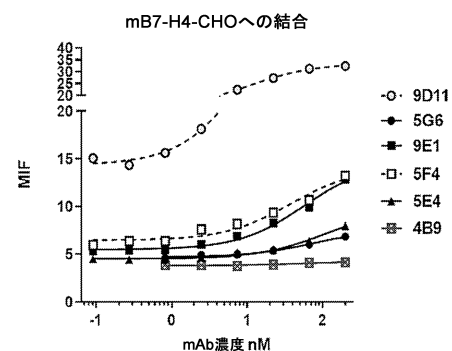


図6F

10

20

30

40

50

【図 7 A - 7 B】

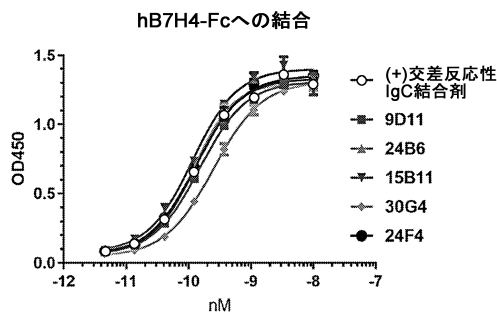


図7A

【図 7 C - 7 D】

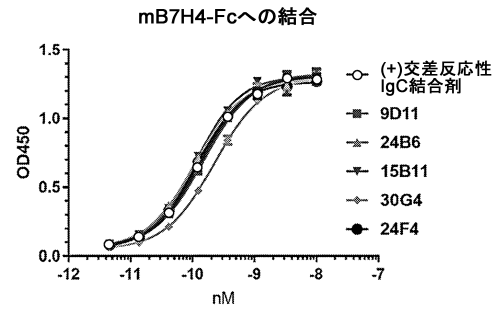


図7C

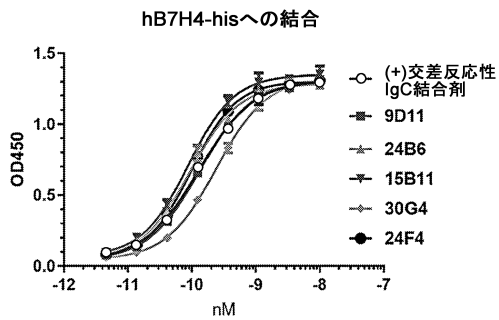


図7B

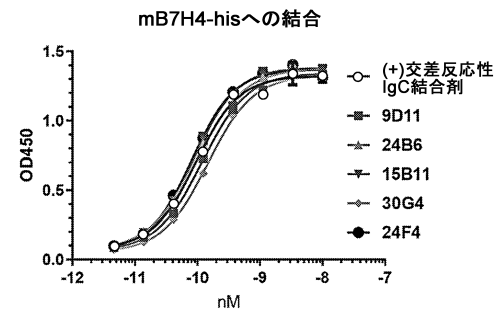


図7D

【図 7 E - 7 F】

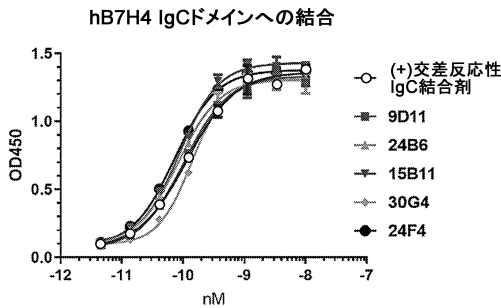


図7E

【図 7 G - 7 H】

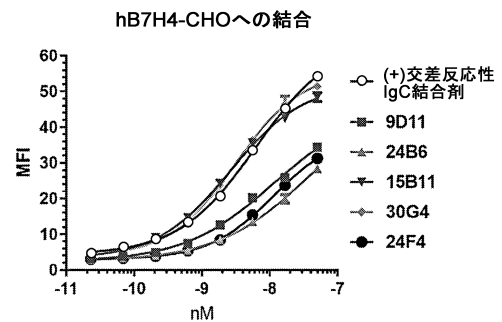


図7G

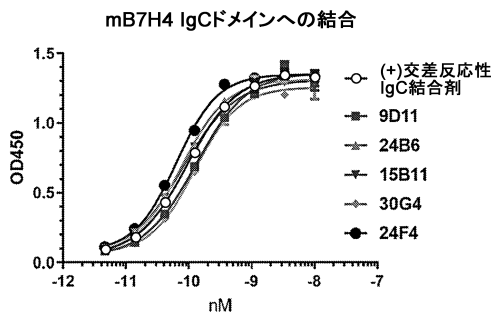


図7F

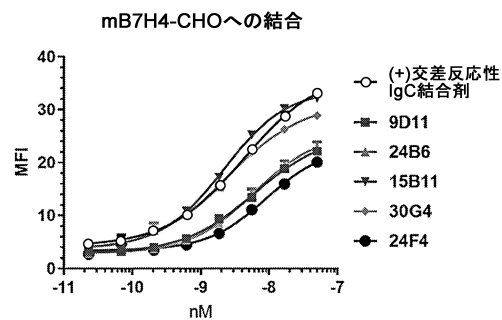


図7H

10

20

30

40

50

【図 8 A - 8 B】

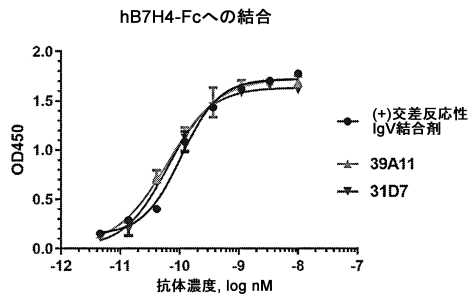


図8A

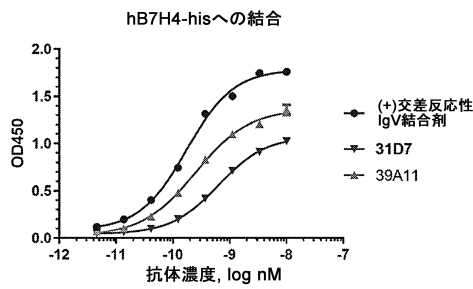


図8B

【図 8 C - 8 D】

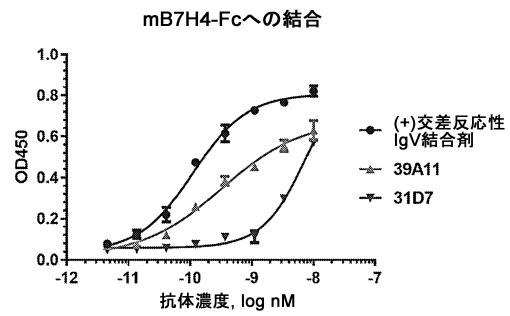


図8C

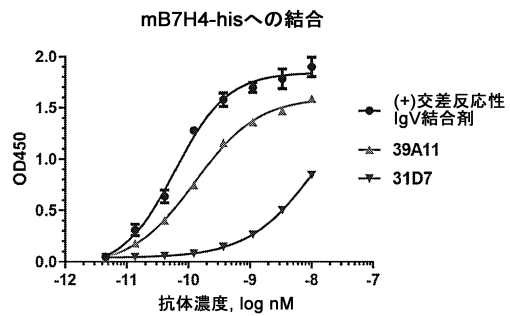


図8D

10

20

【図 8 E - 8 F】

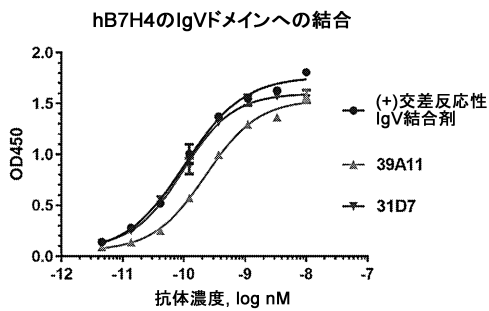


図8E

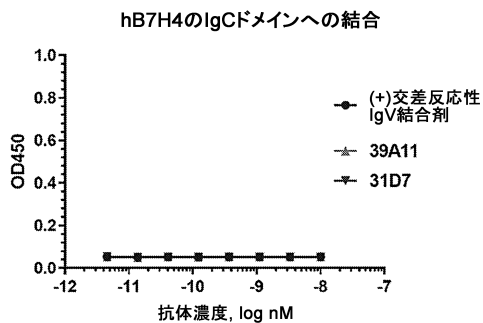


図8F

【図 8 G - 8 H】

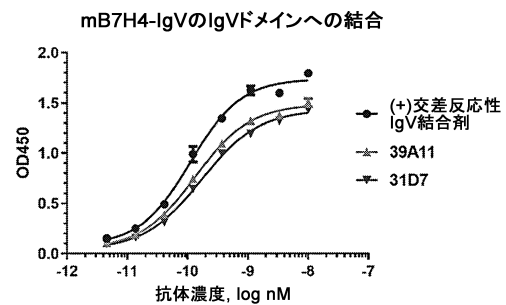


図8G

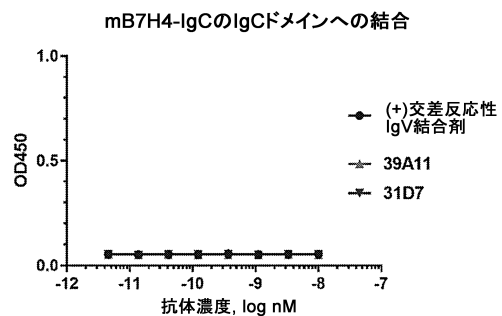


図8H

30

40

50

【図 8 I - 8 J】

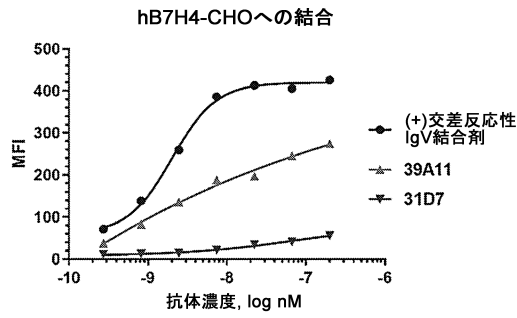


図8I

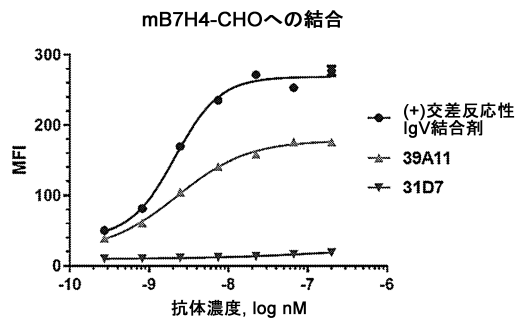


図8J

【図 9 A - 9 B】

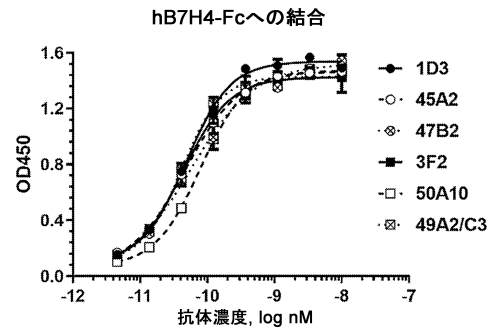


図9A

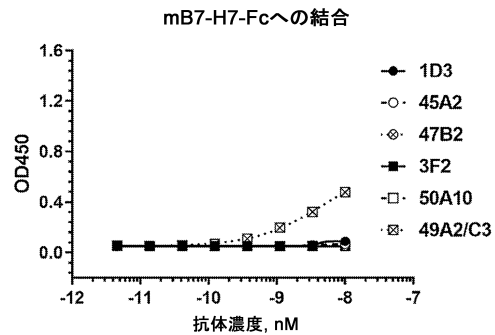


図9B

【図 9 C - 9 D】

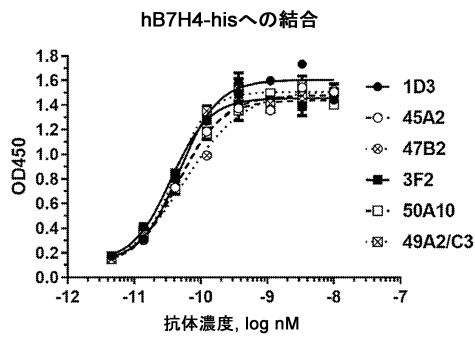


図9C

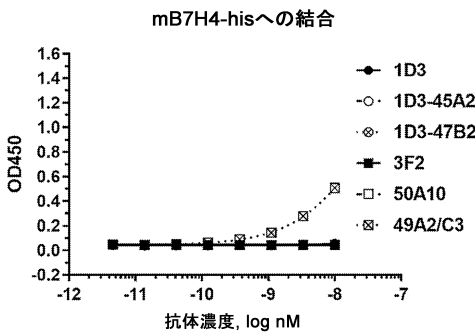


図9D

【図 9 E - 9 F】

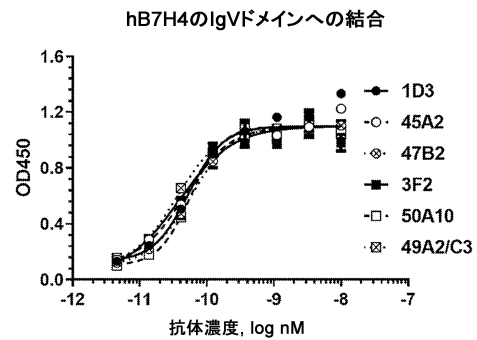


図9E

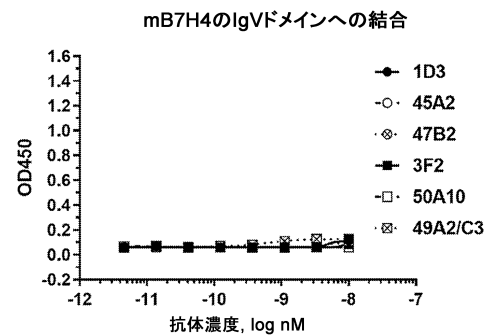


図9F

10

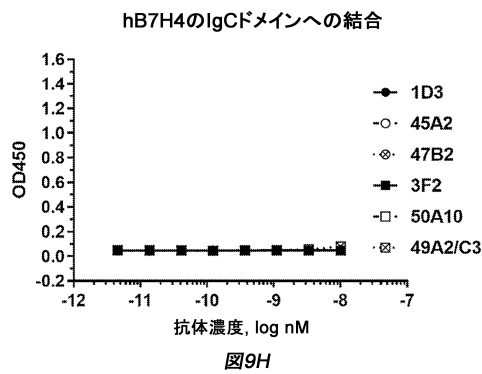
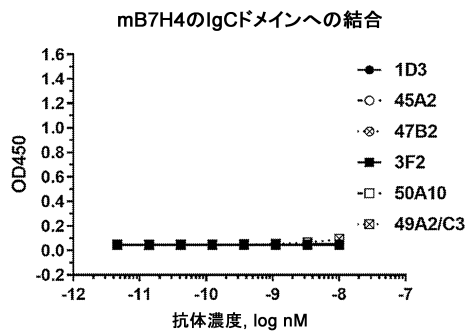
20

30

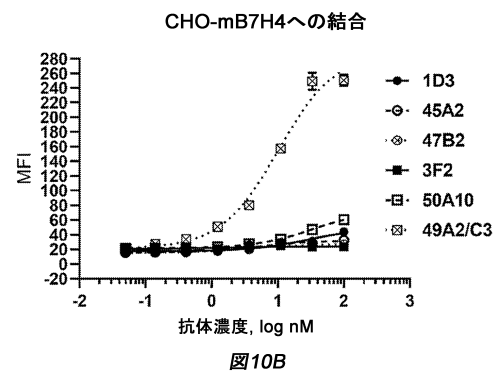
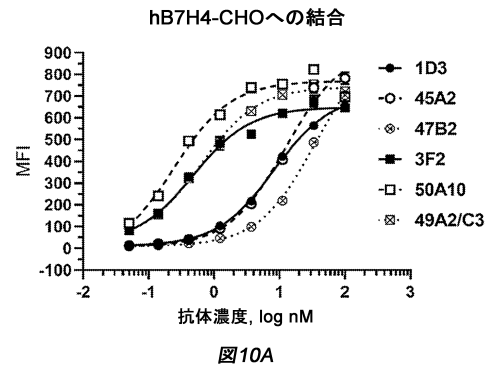
40

50

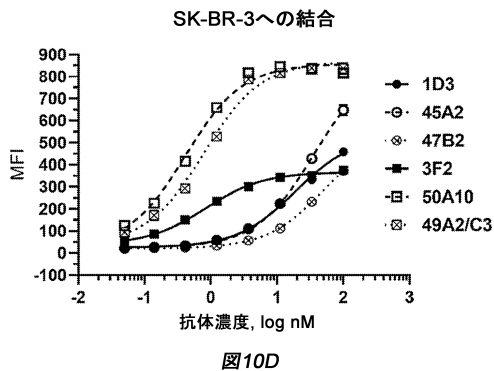
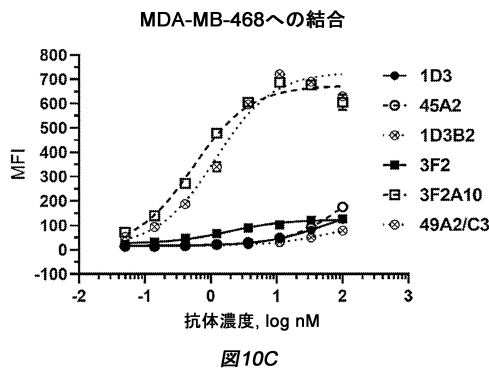
【図 9 G - 9 H】



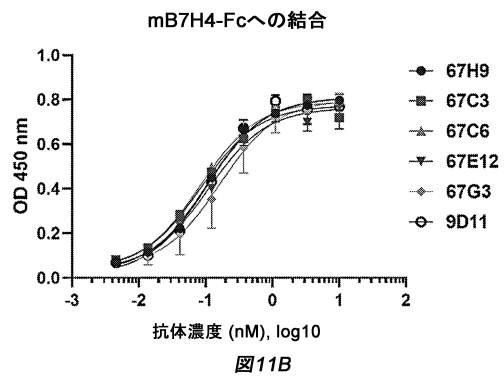
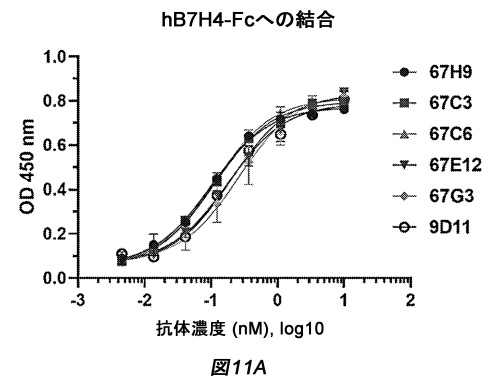
【図 10 A - 10 B】



【図 10 C - 10 D】



【図 11 A - 11 B】



10

20

30

40

50

【図 1 1 C - 1 1 D】

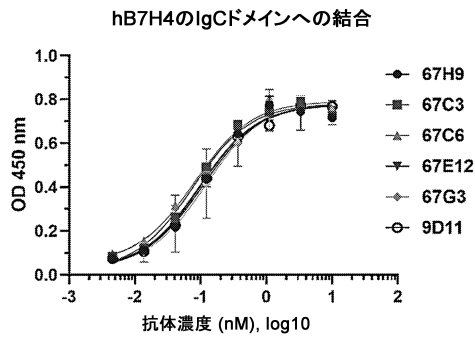


図11C

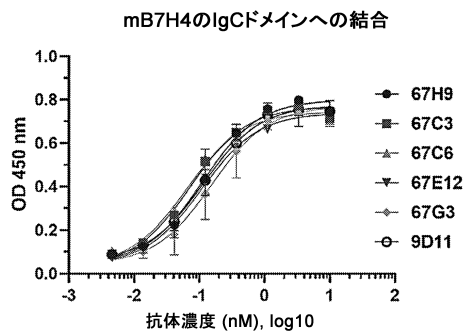


図11D

【図 1 1 E - 1 1 F】

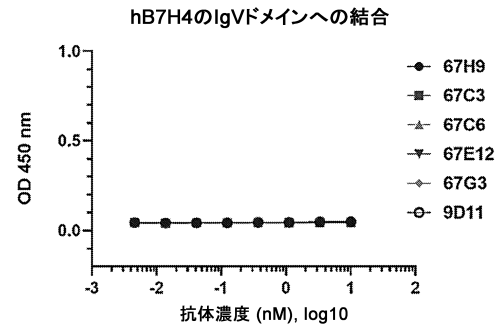


図11E

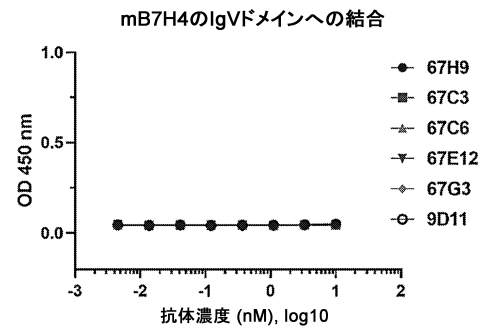


図11F

10

20

【図 1 2 A - 1 2 B】

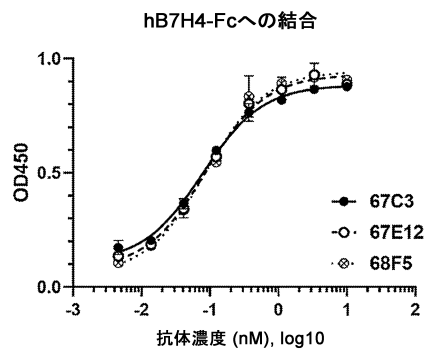


図12A

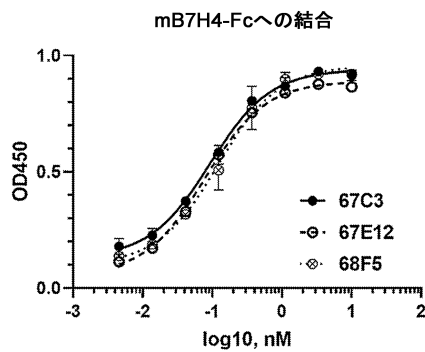


図12B

【図 1 2 C - 1 2 D】

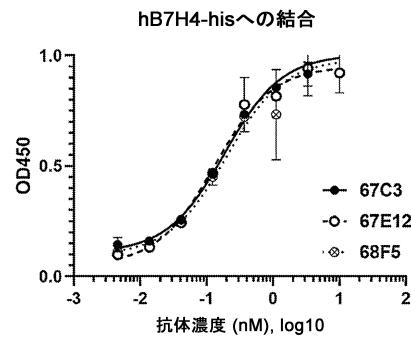


図12C

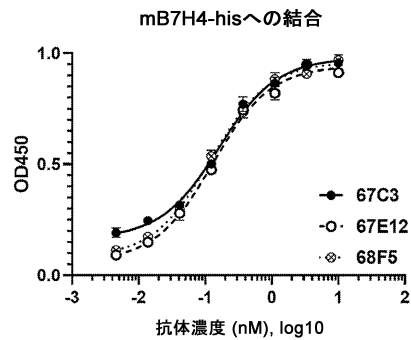


図12D

30

40

50

【図 13 A - 13 B】

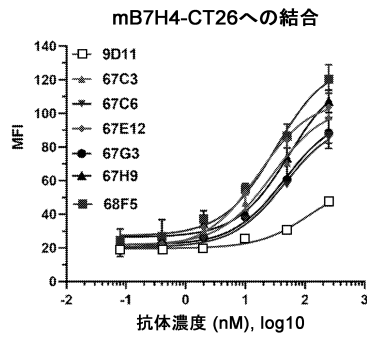


図13A

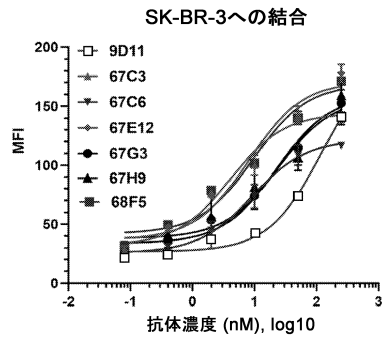


図13B

【図 14 A - 14 B】

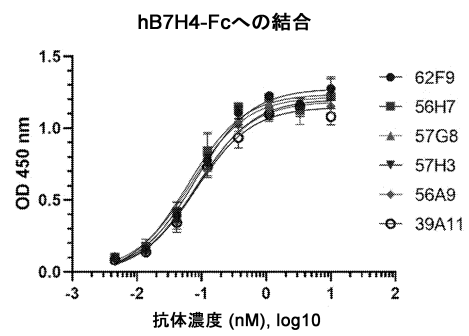


図14A

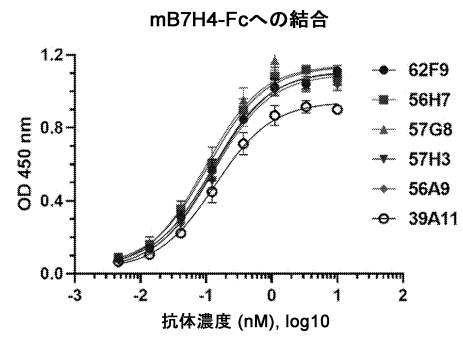


図14B

10

20

【図 14 C - 14 D】

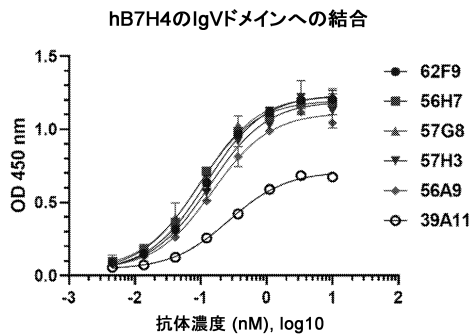


図14C

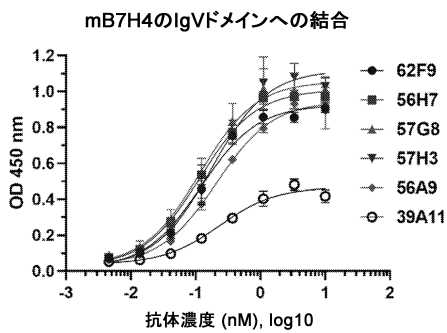


図14D

【図 14 E - 14 F】

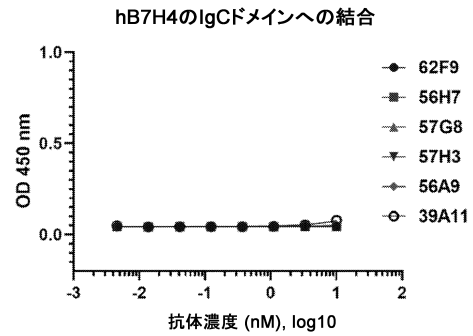


図14E

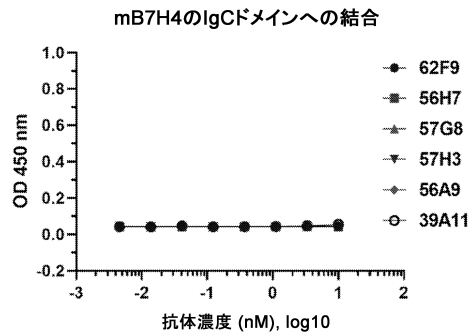


図14F

30

40

50

【図 15 A - 15 B】

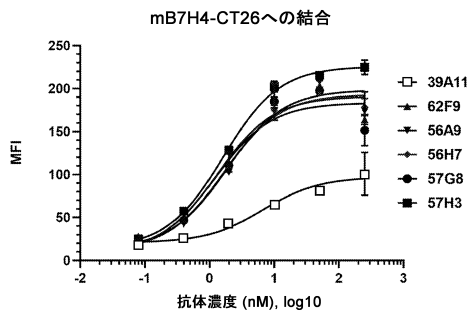


図15A

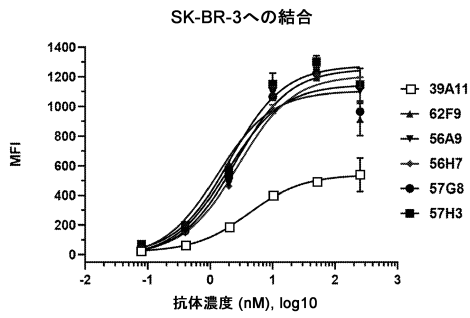


図15B

【図 16 A - 16 B】

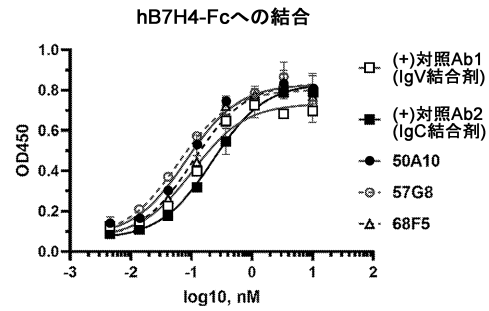


図16A

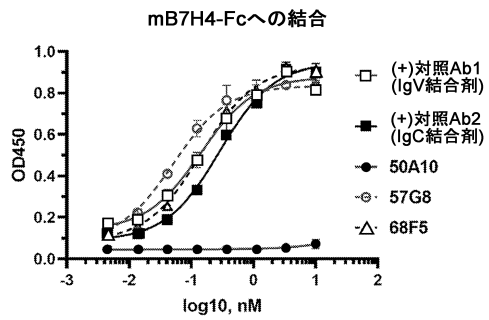


図16B

【図 16 C - 16 D】

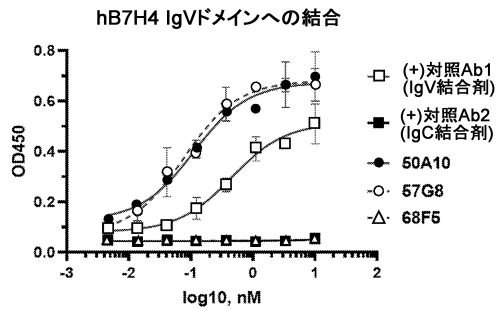


図16C

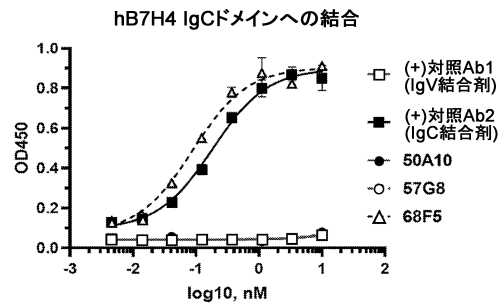


図16E

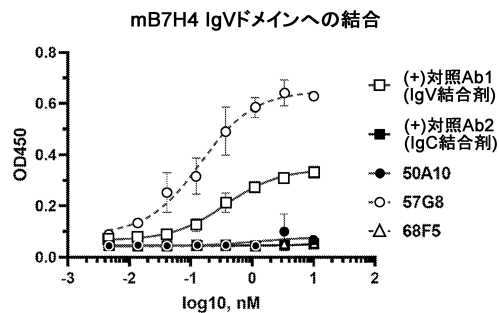


図16D

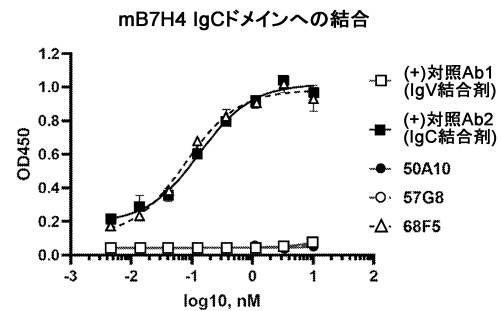


図16F

10

20

30

40

50

【図 17 A - 17 B】

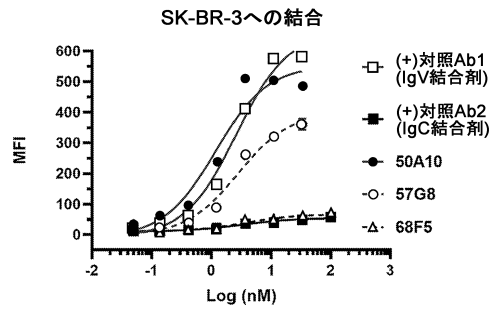


図17A

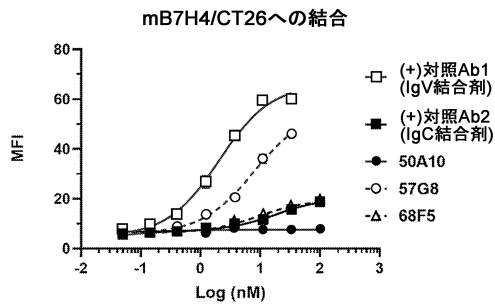


図17B

【図 17 C】

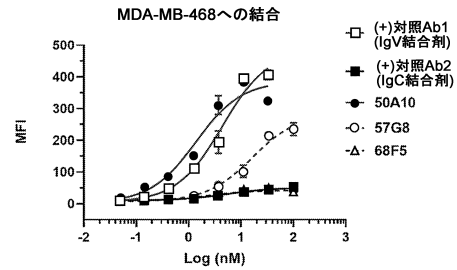


図17C

【図 18 A】

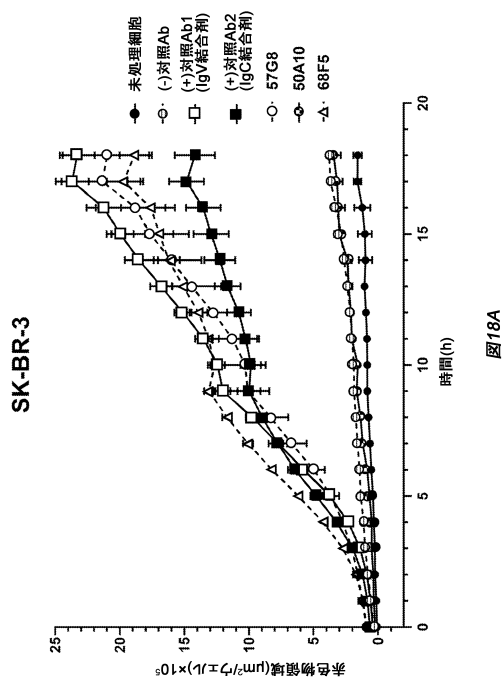


図18A

【図 18 B】

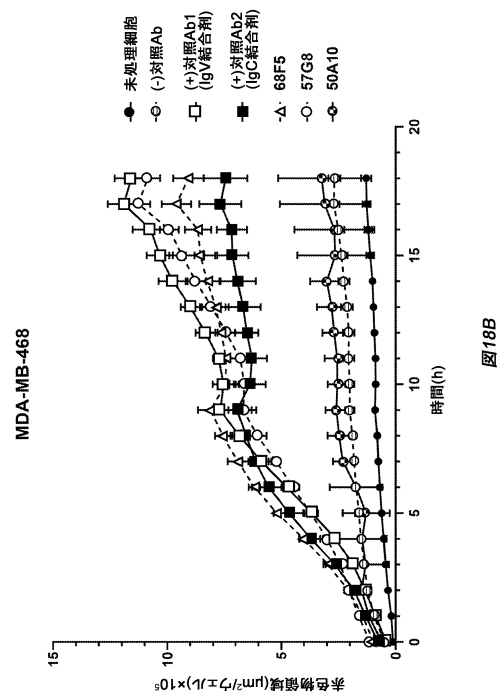


図18B

10

20

30

40

50

【図19A】

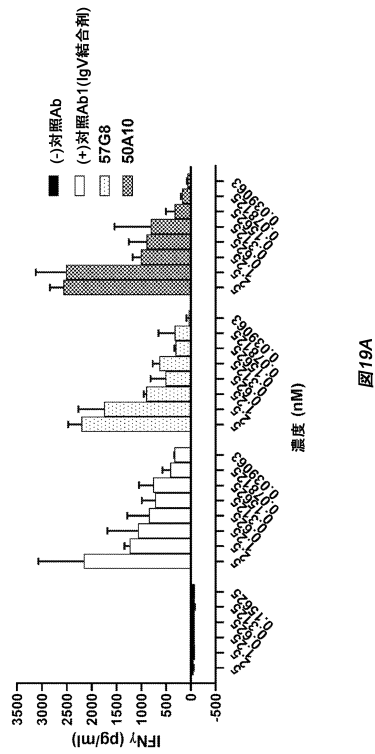


図19A

【図19B】

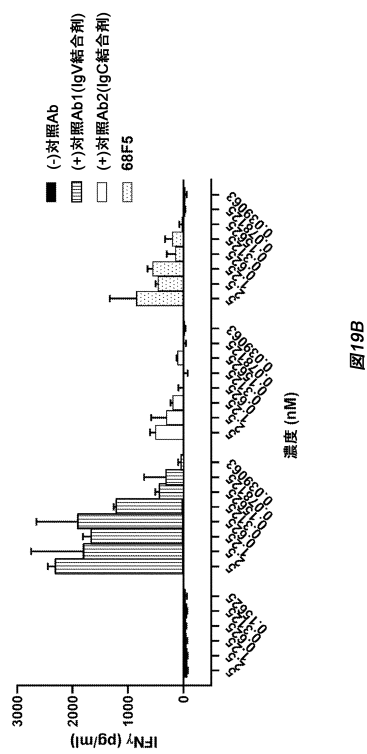


図19B

【図20A - 20B】

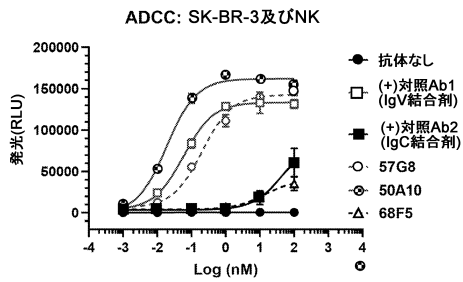


図20A

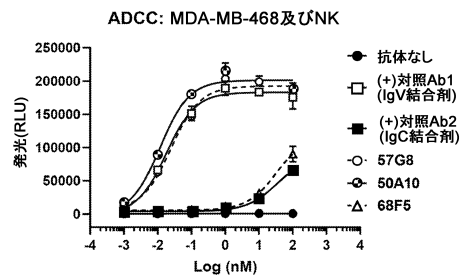


図20B

【図21A - 21B】

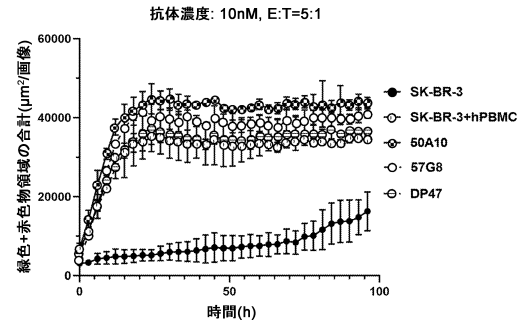


図21A

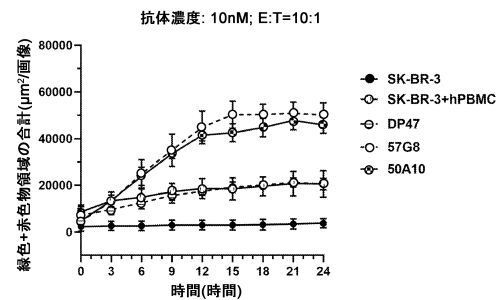


図21B

10

20

30

40

50

【図 2 2 A - 2 2 B】

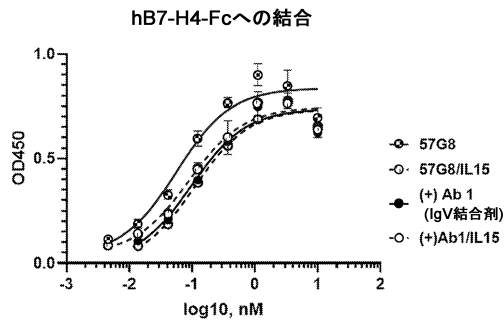


図22A

【図 2 2 C - 2 2 D】

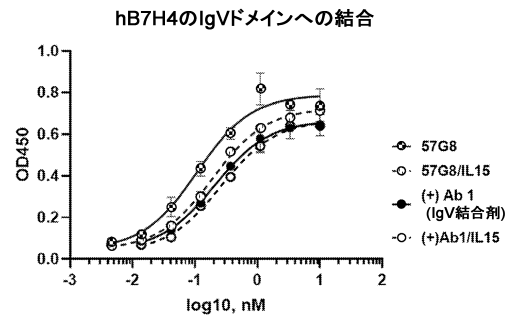


図22C

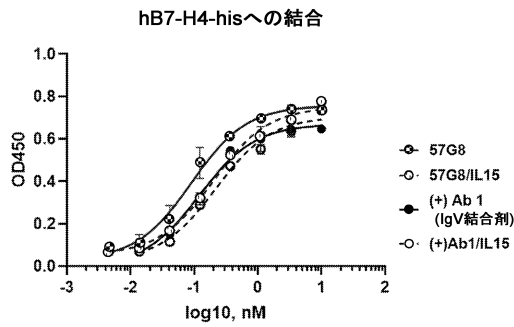


図22B

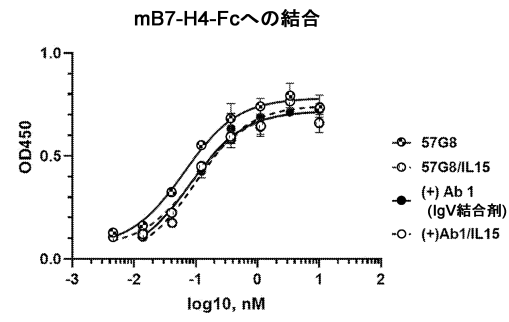


図22D

【図 2 2 E - 2 2 F】

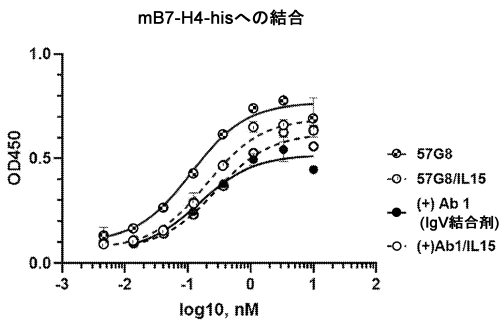


図22E

【図 2 3 A - 2 3 B】

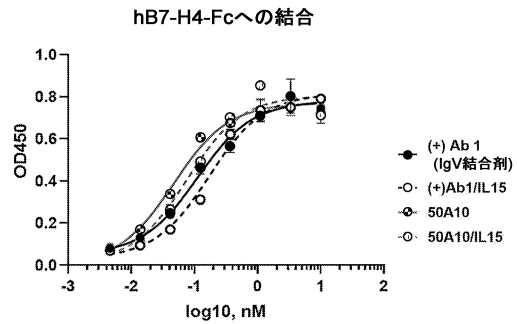


図23A

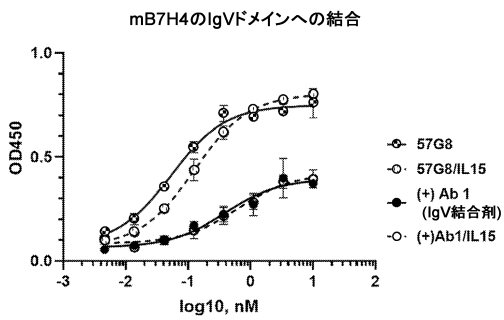


図22F

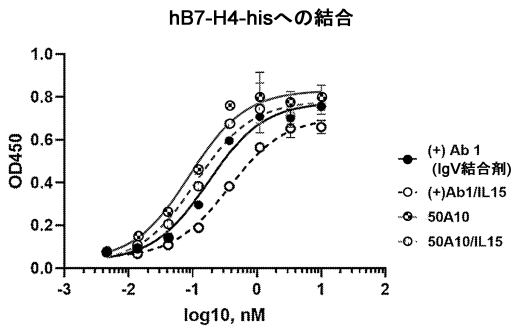


図23B

10

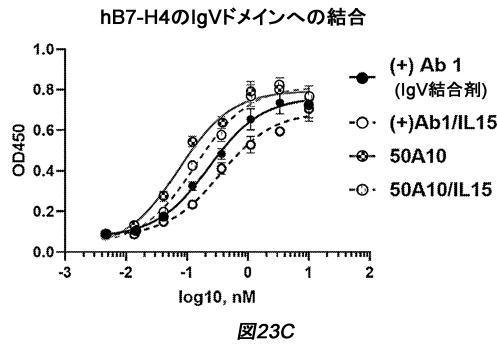
20

30

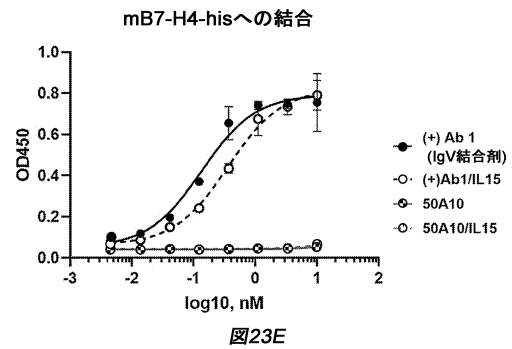
40

50

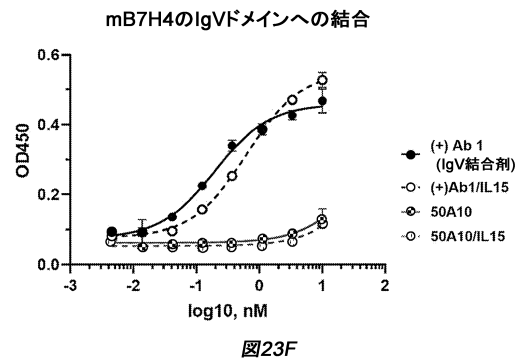
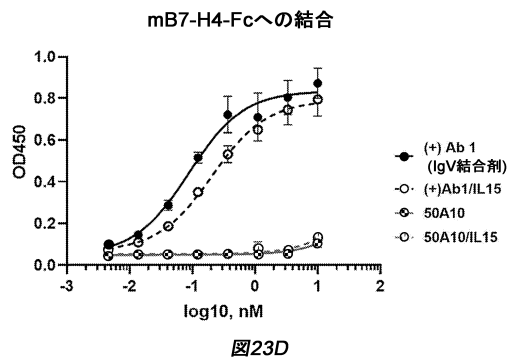
【図 2 3 C - 2 3 D】



【図 2 3 E - 2 3 F】

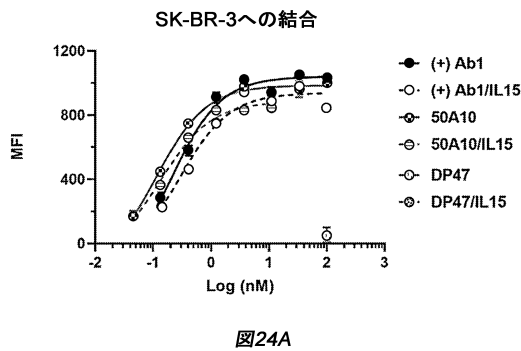


10

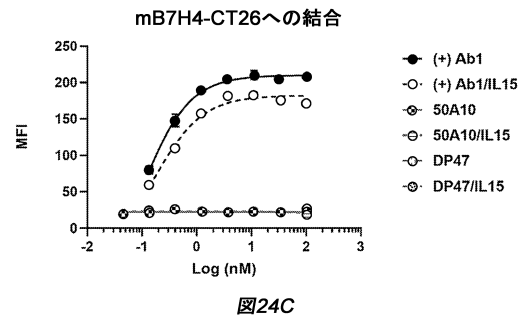


20

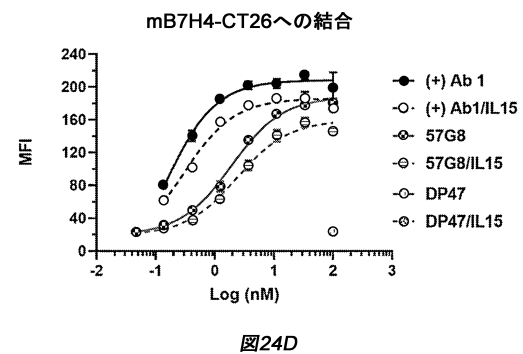
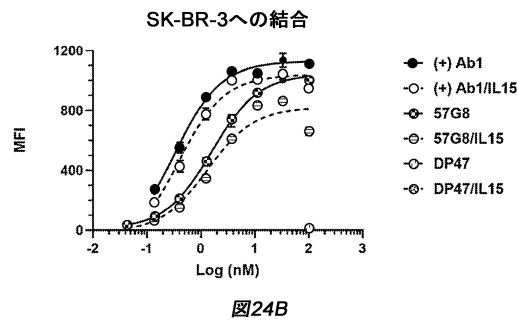
【図 2 4 A - 2 4 B】



【図 2 4 C - 2 4 D】



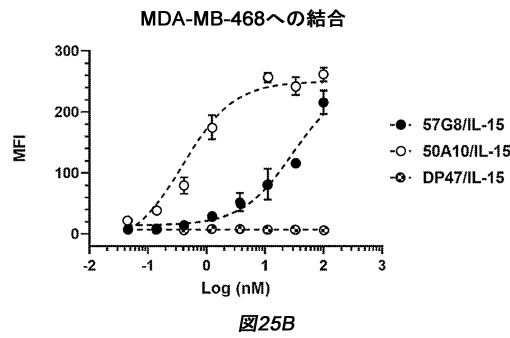
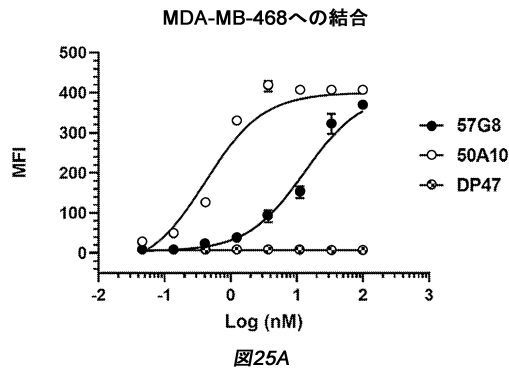
30



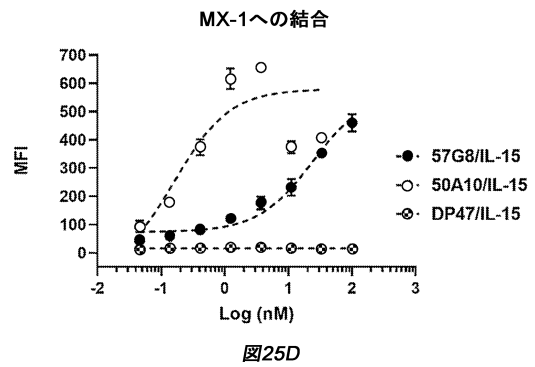
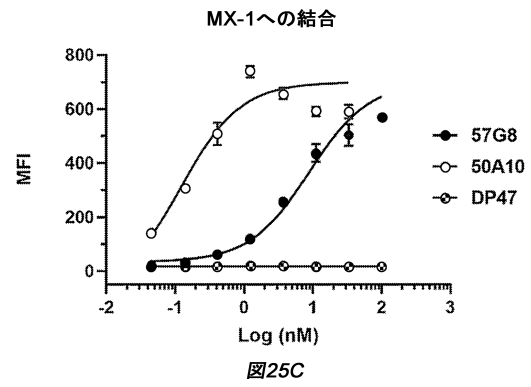
40

50

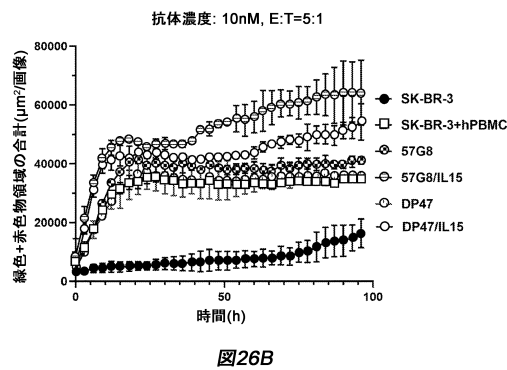
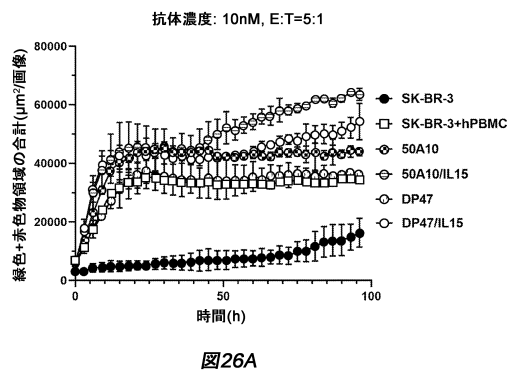
【図 2 5 A - 2 5 B】



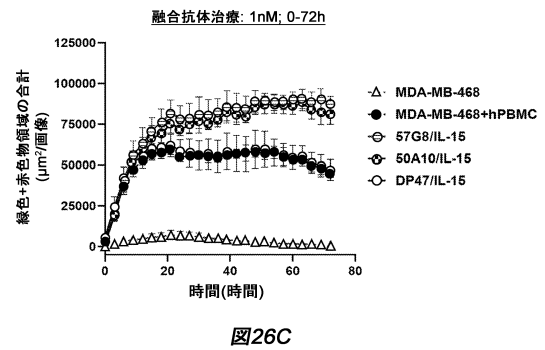
【図 2 5 C - 2 5 D】



【図 2 6 A - 2 6 B】



【図 2 6 C】



10

20

30

40

50

【図 26 D】

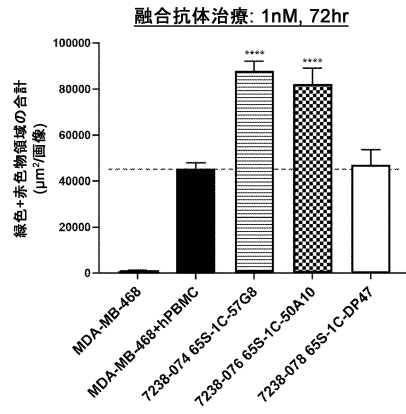


図26D

【図 26 E】

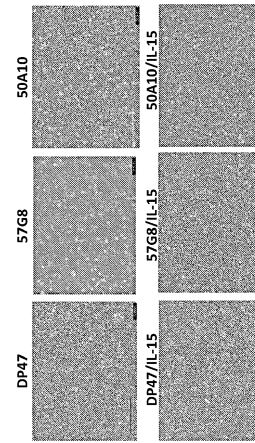


図26E

10

20

【図 27 A - 27 B】

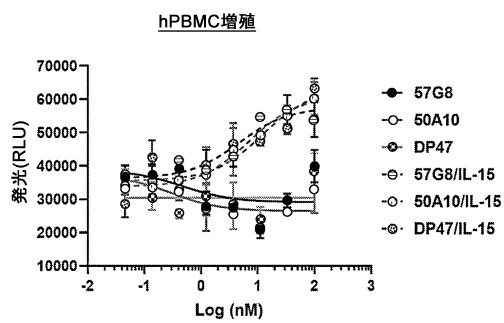


図27A

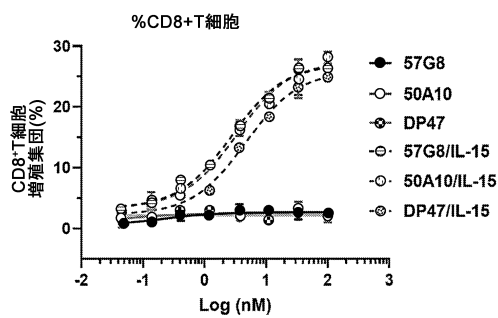


図27B

【図 27 C】

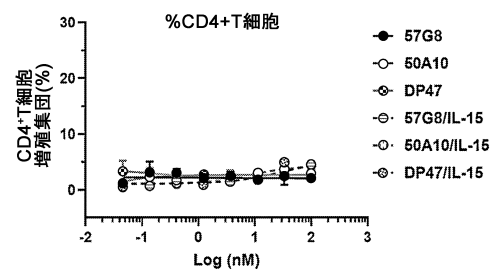


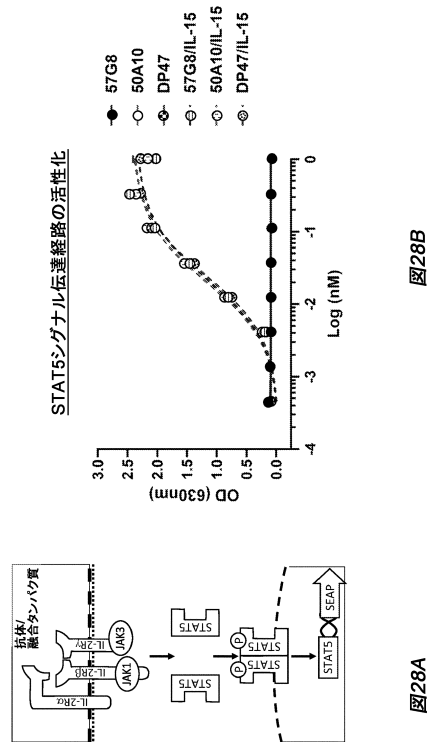
図27C

30

40

50

【図28A-28B】



【図29A-29B】

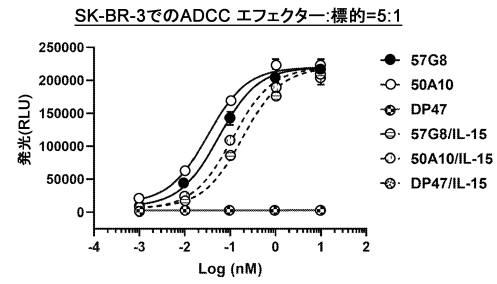


図29A

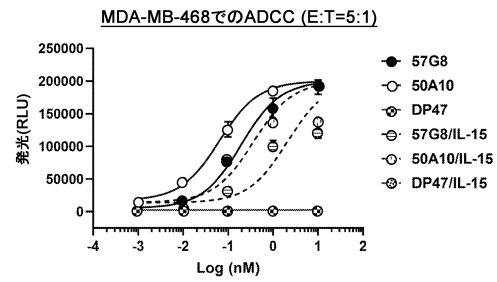


図29B

【図30A-30B】

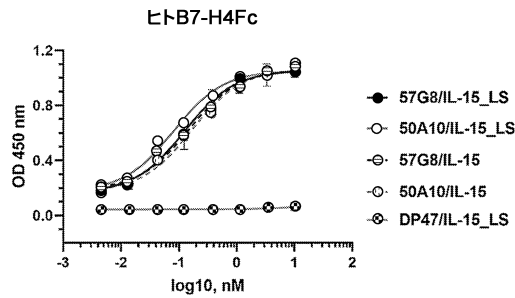


図30A

【図30C-30D】

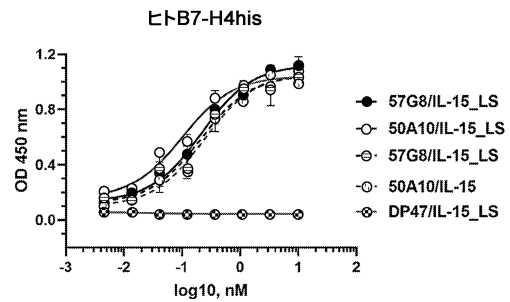


図30C

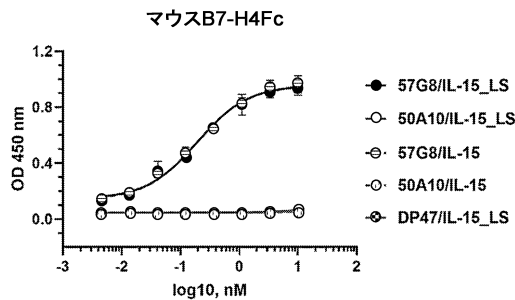


図30B

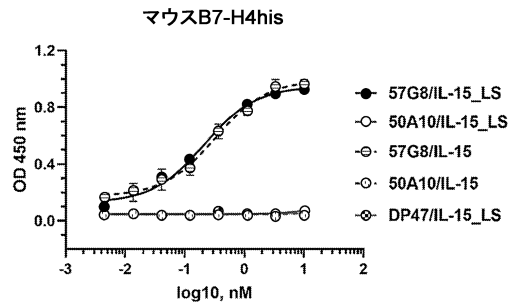


図30D

10

20

30

40

50

【図 3 1 A - 3 1 B】

【図 3 2】

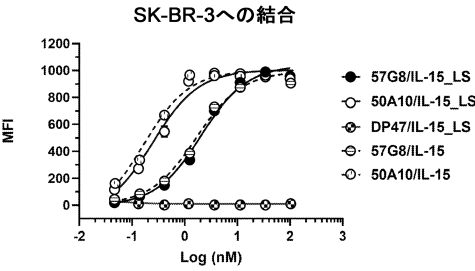


図31A

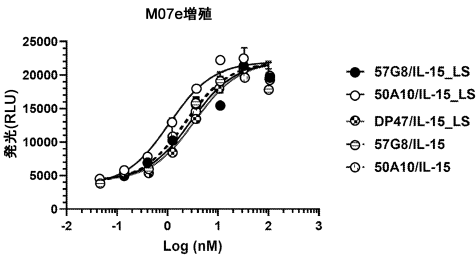


図32

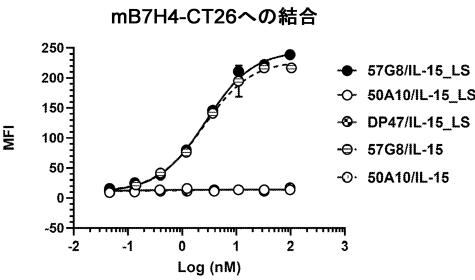


図31B

【配列表】

2024543942000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/080542

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/080542

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
**2, 4, 6, 8-21, 36-39, 59-65 (completely); 1, 3, 5, 7, 23-35, 40-58
66-95 (partially)**
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/080542

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. **C07K16/28 A61P35/00 C07K14/54 C07K14/715 A61K39/395**
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61P 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, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 3 753 951 A1 (JIANGSU HANSON PHARMACEUTICAL GROUP CO LTD [CN] ET AL.) 23 December 2020 (2020-12-23)	1-21, 23-28, 66-95
Y	examples, in particular examples 5, 6, 9, 10; figures, in particular figures 3, 4 -----	29-65
X	WO 2016/040724 A1 (GENENTECH INC [US]) 17 March 2016 (2016-03-17)	1-7, 15-21, 23-28, 66-95
Y	examples, in particular section E, pages 155-159 figures, in particular figures 4a, 11, 12, 13 ----- -/--	29-65

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 March 2023

Date of mailing of the international search report

12/04/2023

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bernhardt, Wiebke

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/080542

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
X	WO 2013/067492 A1 (UNIV PENNSYLVANIA [US]; SCHOLLER NATHALIE [US] ET AL.) 10 May 2013 (2013-05-10)	1-21, 23-28, 66-95	
Y	examples, in particular example 2, 3 -----	29-65	
X	MIAO GUOJUAN ET AL: "Development of a novel anti-B7-H4 antibody enhances anti-tumor immune response of human T cells", BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY, ELSEVIER, FR, vol. 141, 13 July 2021 (2021-07-13), XP086761416, ISSN: 0753-3322, DOI: 10.1016/J.BIOPHA.2021.111913 [retrieved on 2021-07-13]	1-21, 23-28, 66-95	
Y	abstract, figures, in particular figure 5 -----	29-65	
Y	FUTA MIMOTO ET AL: "Fc Engineering to Improve the Function of Therapeutic Antibodies", CURRENT PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY, vol. 17, no. 15, 13 December 2016 (2016-12-13), pages 1298-1314, XP055672150, NL ISSN: 1389-2010, DOI: 10.2174/1389201017666160824161854 abstract, table 1 -----	29-34, 51-56	
Y	MARTOMO STELLA A. ET AL: "Single-Dose Anti-PD-L1/IL-15 Fusion Protein KD033 Generates Synergistic Antitumor Immunity with Robust Tumor-Immune Gene Signatures and Memory Responses", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 20, no. 2, 5 February 2021 (2021-02-05), pages 347-356, XP055861023, US ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-20-0457 abstract, figure 1A -----	35-65	
1	Y	WO 2015/109124 A2 (KADMON CORP LLC [US]) 23 July 2015 (2015-07-23) paragraphs [0096], [0106]; figure 14, Seq ID No. 314 -----	35-65
		----- -/--	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/080542

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2019/263877 A1 (YEUNG YIK ANDY [US] ET AL) 29 August 2019 (2019-08-29) example 2, table 2 on page 41	42-65
A	MATHIEU DONDELINGER ET AL: "Understanding the Significance and Implications of Antibody Numbering and Antigen-Binding Surface/Residue Definition", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 9, 16 October 2018 (2018-10-16), pages 1-15, XP055572450, DOI: 10.3389/fimmu.2018.02278 page 9, paragraph bridging left- and right-hand column)	1-21, 23-95
A	RUDIKOFF S ET AL: "Single amino acid substitution altering antigen-binding specificity", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 79, no. 6, 1 March 1982 (1982-03-01), pages 1979-1983, XP002683593, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.79.6.1979 abstract	1-21, 23-95
A	WINKLER K ET AL: "Changing the antigen binding specificity by single point mutations of an anti-p24 (HIV-1) antibody", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, WILLIAMS & WILKINS CO, US, vol. 165, no. 8, 15 October 2000 (2000-10-15), pages 4505-4514, XP002579393, ISSN: 0022-1767 abstract	1-21, 23-95
A	WO 2019/126227 A1 (DISTRIBUTED BIO INC [US]; GLANVILLE JACOB [US]; MAURER DAVID [US]) 27 June 2019 (2019-06-27) abstract, figure 22	1-21, 23-95

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/080542

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	CHANG T-P. ET AL: "45P A novel bi-functional IL15 cytokine fusion antibody selected to kill B7-H4 positive tumor cells", ANNALS OF ONCOLOGY, vol. 32, Suppl. 7, 1 December 2021 (2021-12-01), page S1391, XP093019773, NL ISSN: 0923-7534, DOI: 10.1016/j.annonc.2021.10.061 abstract -----	1-21, 23-95
X	WO 2014/100483 A1 (AMPLIMUNE INC [US]; UNIV JOHNS HOPKINS [US]) 26 June 2014 (2014-06-26)	8-14, 23-28, 66-95
Y	examples, table 11, claims -----	29-35, 40-58

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/080542

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 3753951 A1	23-12-2020	AU 2019218319 A1	13-08-2020
		BR 112020015736 A2	08-12-2020
		CA 3089246 A1	15-08-2019
		CN 110366560 A	22-10-2019
		EP 3753951 A1	23-12-2020
		JP 2021513331 A	27-05-2021
		KR 20200119846 A	20-10-2020
		RU 2020124155 A	11-03-2022
		TW 201934581 A	01-09-2019
		US 2021032347 A1	04-02-2021
		WO 2019154315 A1	15-08-2019
WO 2016040724 A1	17-03-2016	AR 101848 A1	18-01-2017
		CN 106804108 A	06-06-2017
		CN 113698485 A	26-11-2021
		CN 113698488 A	26-11-2021
		EP 3191518 A1	19-07-2017
		JP 6943760 B2	06-10-2021
		JP 2017530700 A	19-10-2017
		JP 2022002515 A	11-01-2022
		TW 201625689 A	16-07-2016
		US 2016159910 A1	09-06-2016
		US 2019062432 A1	28-02-2019
		US 2022251213 A1	11-08-2022
		WO 2016040724 A1	17-03-2016
WO 2013067492 A1	10-05-2013	EP 2773651 A1	10-09-2014
		ES 2861435 T3	06-10-2021
		US 2014294861 A1	02-10-2014
		US 2014308259 A1	16-10-2014
		US 2016222119 A1	04-08-2016
		US 2020024314 A1	23-01-2020
		WO 2013067492 A1	10-05-2013
WO 2015109124 A2	23-07-2015	CA 2936543 A1	23-07-2015
		CN 105263521 A	20-01-2016
		CN 113603788 A	05-11-2021
		CN 113637692 A	12-11-2021
		DK 3094351 T3	21-02-2022
		EP 3094351 A2	23-11-2016
		EP 4079321 A1	26-10-2022
		ES 2908264 T3	28-04-2022
		HR P20220214 T1	29-04-2022
		HU E057917 T2	28-06-2022
		JP 6983918 B2	17-12-2021
		JP 2017509319 A	06-04-2017
		JP 2020058389 A	16-04-2020
		JP 2022019807 A	27-01-2022
		LT 3094351 T	11-04-2022
		PL 3094351 T3	27-06-2022
		PT 3094351 T	22-02-2022
		RS 62989 B1	31-03-2022
		SI 3094351 T1	31-05-2022
		US 2016340429 A1	24-11-2016
		US 2021022773 A1	28-01-2021
		WO 2015109124 A2	23-07-2015
US 2019263877 A1	29-08-2019	AU 2019228381 A1	03-09-2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/080542

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		AU 2022201762 A1	07-04-2022
		BR 112020016859 A2	29-12-2020
		CA 3034912 A1	28-08-2019
		CN 112513070 A	16-03-2021
		EP 3759129 A1	06-01-2021
		IL 276982 A	29-10-2020
		JP 2021516045 A	01-07-2021
		KR 20200128116 A	11-11-2020
		PE 20201342 A1	25-11-2020
		PH 12020500648 A1	07-06-2021
		RU 2020128440 A	28-03-2022
		SG 11202007518R A	29-09-2020
		TW 201941785 A	01-11-2019
		US 2019263877 A1	29-08-2019
		US 2021324028 A1	21-10-2021
		WO 2019166946 A1	06-09-2019
		ZA 202005934 B	30-03-2022

WO 2019126227 A1	27-06-2019	CN 112513350 A	16-03-2021
		EP 3728705 A1	28-10-2020
		JP 2021506976 A	22-02-2021
		US 2021079066 A1	18-03-2021
		WO 2019126227 A1	27-06-2019

WO 2014100483 A1	26-06-2014	AU 2013361231 A1	04-06-2015
		AU 2013361275 A1	11-06-2015
		BR 112015014063 A2	30-10-2018
		CA 2894689 A1	26-06-2014
		CA 2894879 A1	26-06-2014
		CN 104955475 A	30-09-2015
		EP 2934575 A2	28-10-2015
		EP 2934576 A1	28-10-2015
		HK 1210027 A1	15-04-2016
		JP 2016505843 A	25-02-2016
		JP 2016509582 A	31-03-2016
		KR 20150100716 A	02-09-2015
		RU 2015129551 A	25-01-2017
		SG 112015047648 A	30-07-2015
		US 2015315275 A1	05-11-2015
		WO 2014100439 A2	26-06-2014
		WO 2014100483 A1	26-06-2014

International Application No. PCT/US2022 /080542

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 2, 4, 6, 36-39, 59-61, 65(completely); 1, 3, 5, 7, 23-35, 40-58, 66-95(partially)

An anti-B7-H4 antibody, or antigen-binding fragment thereof, wherein the antibody, or antigen-binding fragment thereof, comprises a heavy chain variable region and a light chain variable region, wherein each of the heavy chain and light chain comprises the CDRs according to claim 1a; products and methods related thereto

2. claims: 1, 3, 5, 7, 23-35, 40-58, 66-95(all partially)

An anti-B7-H4 antibody, or antigen-binding fragment thereof, wherein the antibody, or antigen-binding fragment thereof, comprises a heavy chain variable region and a light chain variable region, wherein each of the heavy chain and light chain comprises the CDRs according to claim 1b; products and methods related thereto

3. claims: 8-14(completely); 23-35, 40-58, 66-95(partially)

An anti-B7-H4 antibody, or antigen-binding fragment thereof, wherein the antibody, or antigen-binding fragment thereof, comprises a heavy chain variable region and a light chain variable region, wherein each of the heavy chain and light chain comprises the CDRs according to claim 8; products and methods related thereto

4. claims: 15-21, 62-64(completely); 23-35, 40-58, 66-95(partially)

An anti-B7-H4 antibody, or antigen-binding fragment thereof, wherein the antibody, or antigen-binding fragment thereof, comprises a heavy chain variable region and a light chain variable region, wherein each of the heavy chain and light chain comprises the CDRs according to claim 15; products and methods related thereto

5. claims: 22(completely); 23-35, 40-58, 66-95(partially)

An anti-B7-H4 antibody, or antigen-binding fragment thereof, that binds to the same epitope on B7-H4 as the anti-B7-H4 antibody, or an antigen-binding fragment thereof of any one of the preceding claims; products and methods related thereto

6. claims: 35, 40-57, 66-95(all partially)

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022/080542

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

A fusion protein comprising an anti-B7-H4 antibody, or antigen-binding fragment thereof which is not covered by any one of inventions 1-5, an IL-15Ra sushi domain polypeptide and an IL-15 polypeptide; products and methods related thereto

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/24 (2006.01)	C 1 2 N 15/24	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 N 5/0783(2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
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 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
G 0 1 N 33/577 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/577	B

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,N
E,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,
CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,I
T,JM,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,ST,SV,
SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. TRITON

2. PLURONIC

- (72)発明者 ジーガー・ピー・パテル
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02141. ケンブリッジ. ウォーター・ストリート450.
サノフィ. パテント・デパートメント
- (72)発明者 ズーペイ・チャン
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02141. ケンブリッジ. ウォーター・ストリート450.
サノフィ. パテント・デパートメント
- (72)発明者 ジャンナ・ポロンスカヤ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02141. ケンブリッジ. ウォーター・ストリート450.
サノフィ. パテント・デパートメント
- (72)発明者 ファイカル・ミヤラ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02141. ケンブリッジ. ウォーター・ストリート450.
サノフィ. パテント・デパートメント

F ターム (参考) 4B064 AG03 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA90X AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44 CA46
4C084 AA19 MA02 NA05 ZB26 ZC75
4C085 AA14 BB11 CC23
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA02 DA76 EA20 EA50
FA74