

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7041519号

(P7041519)

(45)発行日 令和4年3月24日(2022.3.24)

(24)登録日 令和4年3月15日(2022.3.15)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

N Z N A

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

D

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 35/04 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 0 5

請求項の数 58 (全85頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2017-566768(P2017-566768)

(86)(22)出願日 平成28年6月24日(2016.6.24)

(65)公表番号 特表2018-527299(P2018-527299

A)

(43)公表日 平成30年9月20日(2018.9.20)

(86)国際出願番号 PCT/US2016/039165

(87)国際公開番号 WO2016/210223

(87)国際公開日 平成28年12月29日(2016.12.29)

審査請求日 令和1年6月20日(2019.6.20)

(31)優先権主張番号 62/184,018

(32)優先日 平成27年6月24日(2015.6.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/249,546

(32)優先日 平成27年11月2日(2015.11.2)

最終頁に続く

(73)特許権者 509087759

ヤンセン バイオテック, インコーポレ  
ーテッド

アメリカ合衆国ペンシルベニア州190

44 ホーシャム・リτζジビユードライブ

800 / 850

(74)代理人 100092783

弁理士 小林 浩

(74)代理人 100095360

弁理士 片山 英二

(74)代理人 100120134

弁理士 大森 規雄

(74)代理人 100093676

弁理士 小林 純子

(74)代理人 100149010

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 C D 3 8 を特異的に結合する抗体による免疫調節及び固形腫瘍の治療

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

患者における固形腫瘍を治療するための医薬組成物であって、C D 3 8 を特異的に結合する抗体を含み、

前記固形腫瘍は、検出可能なC D 3 8 発現を欠いており、

前記抗体は、配列番号4の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列及び配列番号5の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を含み、

前記抗体は、I g G 1 アイソタイプのものである、医薬組成物。

## 【請求項2】

前記C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、前記患者における免疫応答を誘発する、請求項1に記載の医薬組成物。

## 【請求項3】

前記免疫応答がエフェクターT細胞(T e f f)応答である、請求項2に記載の医薬組成物。

## 【請求項4】

前記T e f f 応答が、C D 4 + T細胞又はC D 8 + T細胞によって媒介される、請求項3に記載の医薬組成物。

## 【請求項5】

前記T e f f 応答が、前記C D 8 + T細胞によって媒介される、請求項4に記載の医薬組成物。

## 【請求項 6】

前記 T e f f 応答が、前記 C D 8 + T 細胞数の増加、C D 8 + T 細胞増殖の増加、T 細胞クローン増殖の増加、C D 8 + メモリー細胞形成の増加、抗原依存性抗体産生の増加、サイトカイン産生の増加、ケモカイン産生の増加、又はインターロイキン産生の増加である、請求項 3 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 7】

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、免疫サプレッサー細胞の機能を阻害する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 8】

前記免疫サプレッサー細胞が制御性 T 細胞 ( T r e g ) である、請求項 7 に記載の医薬組成物。 10

## 【請求項 9】

前記 T r e g が、C D 3 + C D 4 + C D 2 5 + C D 1 2 7 d i m T 細胞である、請求項 8 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 10】

前記 T r e g が C D 3 8 を発現する、請求項 9 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 11】

前記 T r e g の機能が前記 T r e g を殺傷することによって阻害される、請求項 10 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 12】

前記 T r e g を殺傷することが、抗体依存性細胞傷害 ( A D C C ) によって媒介される、請求項 11 に記載の医薬組成物。 20

## 【請求項 13】

前記免疫サプレッサー細胞が骨髄由来サプレッサー細胞 ( M D S C ) である、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 14】

前記 M D S C が、C D 1 1 b + H L A D R - C D 1 4 - C D 3 3 + C D 1 5 + 細胞である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 15】

前記 C D 1 1 b + H L A D R - C D 1 4 - C D 3 3 + C D 1 5 + 細胞が C D 3 8 を発現する、請求項 14 に記載の医薬組成物。 30

## 【請求項 16】

前記 M D S C の機能が前記 M D S C を殺傷することによって阻害される、請求項 15 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 17】

M D S C の殺傷が、A D C C によって媒介される、請求項 16 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 18】

前記免疫サプレッサー細胞が制御性 B 細胞 ( B r e g ) である、請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 19】

前記 B r e g が、C D 1 9 + C D 2 4 + C D 3 8 + 細胞である、請求項 18 に記載の医薬組成物。 40

## 【請求項 20】

前記 B r e g の機能が前記 B r e g を殺傷することによって阻害される、請求項 19 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 21】

前記 B r e g を殺傷することが、A D C C によって媒介される、請求項 20 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 22】

前記免疫サプレッサー細胞が、骨髄又は末梢血中に存在する、請求項 7 に記載の医薬組成 50

物。

【請求項 23】

前記固形腫瘍が、黒色腫、肺癌、扁平上皮非小細胞肺癌（NSCLC）、非扁平上皮 NSCLC、結腸直腸癌、前立腺癌、去勢抵抗性前立腺癌、胃癌（stomach cancer）、卵巣癌、胃癌（gastric cancer）、肝癌、膵臓癌、甲状腺癌、頭頸部の扁平上皮癌、食道又は胃腸管の癌腫、乳癌、卵管癌、脳癌、尿道癌、尿生殖器癌、子宮内膜症、子宮頸癌、又は前記癌の転移巣である、請求項 1～22 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 24】

前記 CD38 を特異的に結合する抗体が非アゴニスト抗体である、請求項 1～23 のいずれかに記載の医薬組成物。

10

【請求項 25】

前記 CD38 を特異的に結合する抗体が、ヒト CD38（配列番号 1）の少なくとも領域 SKRN IQFSCKNIYR（配列番号 2）、及び領域 EKVQTLEAWV IHGG（配列番号 3）に結合する、請求項 1～24 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前記 CD38 を特異的に結合する抗体が、配列番号 12 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 13 の軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項 1～24 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 27】

前記 CD38 を特異的に結合する抗体が、第 2 の治療薬と併用して投与される、請求項 1～26 のいずれかに記載の医薬組成物。

20

【請求項 28】

前記第 2 の治療薬が、化学療法薬、癌標的療法、固形腫瘍の治療用の標準治療薬、又は免疫チェックポイント阻害薬である、請求項 27 に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

前記免疫チェックポイント阻害薬が、抗 PD-1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 PD-L2 抗体、抗 LAG3 抗体、抗 TIM3 抗体、又は抗 CTLA-4 抗体である、請求項 28 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 PD-1 抗体である、請求項 29 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 31】

前記抗 PD-1 抗体が、

- a) 配列番号 22 の VH 及び配列番号 23 の VL、
- b) 配列番号 24 の VH 及び配列番号 25 の VL、
- c) 配列番号 32 の VH 及び配列番号 33 の VL、又は
- d) 配列番号 34 の VH 及び配列番号 35 の VL を含む、請求項 30 に記載の医薬組成物。

【請求項 32】

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 PD-L1 抗体である、請求項 29 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

前記抗 PD-L1 抗体が、

- a) 配列番号 26 の VH 及び配列番号 27 の VL、
- b) 配列番号 28 の VH 及び配列番号 29 の VL、又は
- c) 配列番号 30 の VH 及び配列番号 31 の VL を含む、請求項 32 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 34】

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 PD-L2 抗体である、請求項 29 に記載の医薬組成物。

【請求項 35】

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 LAG3 抗体である、請求項 29 に記載の医薬組成物。

50

## 【請求項 36】

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 T I M - 3 抗体である、請求項 29 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 37】

前記抗 T I M - 3 抗体が、

a) 配列番号 36 の V H 及び配列番号 37 の V L、又は

b) 配列番号 38 の V H 及び配列番号 39 の V L を含む、請求項 36 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 38】

前記第 2 の治療薬が、同時に投与される、請求項 27 ~ 37 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 39】

前記第 2 の治療薬が、順次、又は別々に投与される、請求項 27 ~ 37 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 40】

前記 C D 38 を特異的に結合する抗体が静脈内に投与される、請求項 1 ~ 39 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 41】

前記 C D 38 を特異的に結合する抗体が、前記 C D 38 を特異的に結合する抗体と、ヒアルロニダーゼと、を含む、医薬組成物中で、皮下に投与される、請求項 1 ~ 39 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 42】

前記患者が放射線療法で治療されるか、又は既に治療されている、請求項 1 ~ 41 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 43】

前記患者が手術を受けたか、又は後に受ける、請求項 1 ~ 41 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 44】

免疫サプレッサー細胞の活性を抑制するための医薬組成物であって、C D 38 を特異的に結合する抗体を含み、

前記抗体は、配列番号 4 の重鎖可変領域 ( V H ) アミノ酸配列及び配列番号 5 の軽鎖可変領域 ( V L ) アミノ酸配列を含み、

前記抗体は、I g G 1 アイソタイプのものである、医薬組成物。

## 【請求項 45】

前記免疫サプレッサー細胞が T r e g である、請求項 44 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 46】

前記 T r e g が、C D 3 + C D 4 + C D 2 5 + C D 1 2 7 d i m T 細胞である、請求項 45 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 47】

前記免疫サプレッサー細胞が M D S C である、請求項 44 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 48】

前記 M D S C が、C D 1 1 b + H L A D R - C D 1 4 - C D 3 3 + C D 1 5 + 細胞である、請求項 47 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 49】

前記免疫サプレッサー細胞が B r e g である、請求項 44 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 50】

前記 B r e g が、C D 1 9 + C D 2 4 + C D 3 8 + 細胞である、請求項 49 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 51】

前記 C D 38 を特異的に結合する抗体が非アゴニスト抗体である、請求項 44 ~ 50 のいずれかに記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 5 2】

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、ヒト C D 3 8 (配列番号 1) の少なくとも領域 S K R N I Q F S C K N I Y R (配列番号 2)、及び領域 E K V Q T L E A W V I H G G (配列番号 3) に結合する、請求項 4 4 ~ 5 1 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 5 3】

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、配列番号 1 2 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 1 3 の軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項 4 4 ~ 5 1 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 5 4】

患者における免疫応答を増強するための医薬組成物であって、C D 3 8 を特異的に結合する抗体を含み、

前記抗体は、配列番号 4 の重鎖可変領域 (V H) アミノ酸配列及び配列番号 5 の軽鎖可変領域 (V L) アミノ酸配列を含み、

前記抗体は、I g G 1 アイソタイプのものである、医薬組成物。

## 【請求項 5 5】

前記患者が癌又はウイルス感染を有する、請求項 5 4 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 5 6】

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が非アゴニスト抗体である、請求項 5 4 又は 5 5 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 5 7】

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、ヒト C D 3 8 (配列番号 1) の少なくとも領域 S K R N I Q F S C I Y R (配列番号 2)、及び領域 E K V Q T L E A W V I H G G (配列番号 3) に結合する、請求項 5 4 ~ 5 6 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【請求項 5 8】

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、配列番号 1 2 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 1 3 の軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項 5 4 ~ 5 6 のいずれかに記載の医薬組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、C D 3 8 を特異的に結合する抗体による免疫調節及び固形腫瘍の治療方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

免疫系は、共刺激性かつ共抑制性のリガンド及び受容体のネットワークによって厳重に管理されている。これらの分子は、T 細胞活性化に対する二次シグナルを出し、正及び負のシグナルのバランスが取れているネットワークをもたらし、感染及び腫瘍に対する免疫応答を最大化する一方で、自己に対する免疫性を制限する (Wang et al., (Epub Mar. 7, 2011) J Exp Med 208(3): 577~92、Lepenie et al., (2008) Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 8: 279~288)。

## 【0003】

固形腫瘍を治療するための免疫チェックポイント療法は、抗腫瘍性免疫応答を促進する T 細胞中の共抑制経路を標的としており、抗 C T L A - 4 及び抗 P D - 1 抗体である、Y E R V O Y (登録商標) (イピリムマブ)、K E Y T R U D A (登録商標) (ペンブロリズマブ) 及び O P D I V O (登録商標) (ニボルマブ) の承認によって、癌患者の臨床ケアの進歩につながっている。抗 P D - 1 / P D - L 1 抗体は、複数の固形腫瘍を有する患者における良好な臨床反応が明らかになっているが、その奏効率は依然として相当低く、予め治療を受けた患者において約 15% ~ 20% である (Swai ka et al., (2015) Mol Immunol doi: 10.1016/j.molimm.2015.02.009)。

## 【0004】

ナチュラルキラー細胞（NK）、樹状細胞（DC）及びエフェクターT細胞は、強い抗腫瘍応答を引き起こすことができるが、腫瘍細胞は免疫抑制性微小環境を備えることが多く、骨髓由来サプレッサー細胞（MDSC）、制御性T細胞（Treg）又は制御性B細胞（Breg）などの免疫細胞の免疫抑制性集団の発生に都合がよいため、腫瘍免疫寛容と、癌患者及び実験的腫瘍モデルにおける免疫療法レジメンの失敗の一因となる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

したがって、腫瘍に対する適応免疫応答を誘発する、又は、免疫抑制性免疫細胞を標的とする、新たな癌免疫療法を開発する必要性が残っている。

10

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法を提供する。

【0007】

本発明はまた、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、それを必要とする患者に投与することを含む、制御性T細胞（Treg）介在性疾患を有する患者を治療する方法も提供する。

【0008】

本発明はまた、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、それを必要とする患者に投与することを含む、骨髓由来サプレッサー細胞（MDSC）介在性疾患を有する患者を治療する方法も提供する。

20

【0009】

本発明はまた、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、それを必要とする患者に投与することを含む、制御性B細胞（Breg）介在性疾患を有する患者を治療する方法も提供する。

【0010】

本発明はまた、制御性T細胞（Treg）をCD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、Tregの活性を抑制する方法も提供する。

【0011】

30

本発明はまた、骨髓由来サプレッサー細胞（MDSC）をCD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、MDSCの活性を抑制する方法も提供する。

【0012】

本発明はまた、制御性B細胞（Breg）をCD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、Bregの活性を抑制する方法も提供する。

【0013】

本発明はまた、CD38を特異的に結合する抗体を患者に投与することを含む、患者における免疫応答を増強する方法も提供する。

【0014】

本発明はまた、CD38を特異的に結合する抗体を患者に投与することによって、患者におけるTreg細胞数を低下させることを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

40

【0015】

本発明はまた、CD38を特異的に結合する抗体を患者に投与することによって、患者における骨髓由来サプレッサー細胞（MDSC）数を低下させることを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【0016】

本発明はまた、免疫抑制細胞（immune suppressing cell）をCD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、免疫サプレッサー細胞の活性を抑制する方法も提供する。

50

## 【 0 0 1 7 】

本発明はまた、CD38を特異的に結合する抗体を、それを必要とする患者に投与することを含む、ウイルス感染を有する患者を治療する方法も提供する。

## 【図面の簡単な説明】

## 【 0 0 1 8 】

【図1】リンパ球の中央値が、8mg/kg（上側線）又は16mg/kg（下側線）の用量でのDARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療を受けた患者において経時的に増加しており、リンパ球数が治療終了後に基準値に戻ったことを示す。試験名：SIRIUS。X軸は、治療サイクルと各治療サイクル内の投与日で表した（C1D1：1サイクル目、1日目、C1D4：1サイクル目、4日目など）時間を示す。SCR：基準値、EOT：治療終了、WK：週、POST-WK：治療後の示した週、post-PDFU：悪化後の経過観察。灰色の陰でハイライトした領域は、レスポンダーのそれぞれの通院時のデータ点に対する、25～27%四分位範囲（IQR）を示す。

10

【図2】個々の患者（明灰色線）について、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）で治療した患者の末梢血中の、CD3+T細胞の絶対数の基準値に対する変化パーセント（%）を示す。試験名：SIRIUS（MMY2002）。X軸は、治療サイクルと各治療サイクル内の投与日で表した（C1D1：1サイクル目、1日目、C1D4：1サイクル目、4日目など）時間を示す。WK：週、POST-WK：治療後の示した週、POST-PDFU：悪化後の経過観察。黒色線は、全患者の変化%の中央値を示す。

20

【図3】個々の患者（明灰色線）について、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）で治療した患者の末梢血中の、CD4+T細胞の絶対数の基準値に対する変化パーセント（%）を示す。試験名：SIRIUS。X軸は、治療サイクルと各治療サイクル内の投与日で表した（C1D1：1サイクル目、1日目、C1D4：1サイクル目、4日目など）時間を示す。WK：週、POST-TMT：治療後。黒色線は、全患者の変化%の中央値を示す。

【図4】個々の患者（明灰色線）について、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）で治療した患者の末梢血中の、CD8+T細胞の絶対数の基準値に対する変化パーセント（%）を示す。試験名：SIRIUS。X軸は、治療サイクルと各治療サイクル内の投与日で表した（C1D1：1サイクル目、1日目、C1D4：1サイクル目、4日目など）時間を示す。WK：週、Pre-PDFU：悪化前の経過観察、Post-PDFU：悪化後の経過観察。黒色線は、全患者の変化%の中央値を示す。

30

【図5】骨髓穿刺液中のCD45+CD3+細胞数（リンパ球の割合として測定）が、8mg/kg又は16mg/kgの用量でのDARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療中に経時的に増加したことを示す。示されるように、このグラフはレスポンダーとノンレスポンダーの両方を含む。試験名：SIRIUS。X軸は、治療サイクルと各治療サイクル内の投与日で表した（C2D22：2サイクル目、22日目など）時間を示す。SCR：基準値、Post-PDFU1：悪化後の経過観察。灰色の陰でハイライトした領域は、それぞれ8mg/kg用量のノンレスポンダー、16mg/kg用量のレスポンダー、又は16mg/kg用量のノンレスポンダーのそれぞれの通院時のデータ点に対する、25～27%四分位範囲（IQR）を示す。NR：ノンレスポンダー、R：レスポンダー。

40

【図6】骨髓穿刺液中のCD45+CD3+CD8+細胞数（リンパ球の割合として測定）が、8mg/kg又は16mg/kgの用量でのDARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療中に経時的に増加したことを示す。示されるように、このグラフはレスポンダーとノンレスポンダーの両方を含む。試験名：SIRIUS。X軸は、治療サイクルと各治療サイクル内の投与日で表した（C2D22：2サイクル目、22日目など）時間を示す。SCR：基準値、Post-PDFU1：悪化後の経過観察。灰色の陰でハイライトした領域は、それぞれ8mg/kg用量のノンレスポンダー、16mg/kg用量のレスポンダー、又は16mg/kg用量のノンレスポンダーのそれぞれの通院時のデータ点に対する、25～27%四分位範囲（IQR）を示す。NR：ノンレスポンダー、R：レ

50

スポンダー。

【図 7 A】全治療患者の中央値として表した、末梢血中の  $CD8^+ / Treg$  及び  $CD8^+ / CD4^+$  細胞比が、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中に経時的に増加したことを示す。時点: C1D1: 1 サイクル目、日目 (cycle 1 day); C3D1: 3 サイクル目、1 日目; C4D1: 4 サイクル目、1 日目。試験名: SIRIUS。SCR: 基準値。

【図 7 B】全治療患者の中央値として表した、骨髓穿刺液中の  $CD8^+ / Treg$  細胞比が、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中に経時的に増加したことを示す。時点: C1D1: 1 サイクル目、日目; C3D1: 3 サイクル目、1 日目; C4D1: 4 サイクル目、1 日目。試験名: SIRIUS。

10

【図 8 A】特定のクローン細胞の存在量変化 (CIA) % を用いて測定するとき、ノンレスポンドーと比較すると、レスポンドーの  $CD8^+$  T 細胞クローン性が増加していたことを示す。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

【図 8 B】DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療前と治療後と比較した、個々の患者の  $CD8^+$  T 細胞クローン性の倍率変化を示す。レスポンドーは星印で示す。クローン性は、特定のクローン細胞の存在量倍率変化 (CIA) で測定した。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

【図 8 C】ノンレスポンドー (B 群) と比較すると、レスポンドー (A 群) では、CIA (存在量変化) を用いて測定した、TCR レポートリーの総増殖量が大きかったことを示す。P = 0.037。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

20

【図 8 D】それぞれの増殖した T 細胞クローンについて、レスポンドー及びノンレスポンドーでの存在量変化 (CIA) の絶対値の合計を示す。レスポンドー (A 群) とノンレスポンドー (B 群) との間の P = 0.035。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

【図 8 E】レスポンドー (A 群) 及びノンレスポンドー (B 群) における、単一 T 細胞クローンの最大 CIA を示す。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

【図 8 F】ノンレスポンドー (B 群) と比較すると、レスポンドー (A 群) では、最大 CIA % を用いて測定した、単一クローンの最大増殖量が大きかったことを示す。P = 0.0477。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

【図 9 A】基準値、又は治療 2 週目、4 週目若しくは 8 週目、又は再発後における、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) に対してノンレスポンドー (NR、黒色四角) 及び少なくとも最小奏功を示す患者 (MR、白色四角) の末梢血中の、 $CD8^+$  ナイーブ細胞の割合 (%) を示す。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。\* \* p = 1.82 × 10<sup>-4</sup>。

30

【図 9 B】基準値、又は治療 2 週目、4 週目若しくは 8 週目、又は再発後における、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) に対してノンレスポンドー (NR、黒色四角) 及び少なくとも最小奏功を示す患者 (MR、白色四角) の末梢血中の、 $CD8^+$  セントラルメモリー細胞 (Tem) の割合を示す。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。\* p = 4.88 × 10<sup>-2</sup>。

【図 9 C】基準値、又は治療 1、4 若しくは 8 週目、又は再発後における、末梢血中の HLA クラス I に拘束された  $CD8^+$  T 細胞の増加割合を示す。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

40

【図 9 D】基準値 (baseline) 又は治療中では、末梢血中の  $CD8^+$  ナイーブ T 細胞及び  $CD8^+$  セントラルメモリー細胞 (Tem) において、 $CD38$  が低レベルで発現していることを示す。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。MFI: 平均蛍光強度。

【図 10 A】基準値の多発性骨髄腫患者における、Treg ( $CD3^+ CD3^+ CD4^+ CD25^+ CD127^{dim}$ ) の頻度 (上のヒストグラム、P4 細胞集団) と、Treg 集団内の  $CD38^+ Treg$  の頻度 (下のヒストグラム、P5 細胞集団) を示している、FACS 解析のヒストグラムを示す。試験名: GEN501、17 例の患者のサブセット。

50



【図10B】DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療後の多発性骨髄腫患者における、Treg（CD3+CD3+CD4+CD25+CD127dimの頻度（上のヒストグラム、P4細胞集団）と、Treg集団内のCD38+Tregの頻度（下のヒストグラム、P5細胞集団）を示している、FACS解析のヒストグラムを示す。DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療により、CD38+Tregが枯渇した。試験名：GEN501、17例の患者のサブセット。

【図10C】は、基準値、又は1週目、4週目、8週目、再発後、又は6ヶ月目の治療終了時（EOT）における、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）で治療した患者のCD38highCD3+CD4+CD25+CD127dim Tregの頻度を示す。CD38highTregの頻度は、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療によって低下し、EOT時点で基準値まで戻った。Y軸：CD38highCD3+CD4+CD25+CD127dim Treg（CD3+T細胞由来）の%。試験名：GEN501、17例の患者のサブセット。

10

【図10D】基準値、治療1週目、4週目及び8週目における、レスポンダー及びノンレスポンダーのCD8+/Treg細胞比を示す。CD8+/Treg細胞比は、治療8週目において、レスポンダーではノンレスポンダーに対して有意に高かった（ $p=0.00955$ ）。試験名：GEN501、17例の患者のサブセット。

【図10E】エフェクター細胞の増殖が、CD38+Tregの存在下において、CD38-Treg又は陰性対照と比較して、より効果的に阻害されることを示す。エラーバーは、標準誤差を表す。アスタリスクは、有意な変化を示す。サンプルは、複数の健康なドナーから入手した。細胞増殖は、カルボキシフルオセインサクシニミジルエステル（CFSE）の希釈によって評価した。

20

【図11】骨髄由来サプレッサー細胞（MDSC）が、多発性骨髄腫患者において存在し（上のグラフ、四角で囲んだ細胞）、その細胞のうち約半分がCD38を発現していた（中央のグラフ、四角で囲んだ細胞）ことを示す。CD38high MDSC集団は、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）を1回点滴治療した患者では枯渇した（下のグラフ、四角で囲んだ細胞）。試験名：GEN501、17例の患者のサブセット。

【図12】CD38high MDSC（CD11b+HLADR-CD14-CD33+CD15+）の数が、基準値と比較して、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）による治療1週目、4週目又は8週目の患者では低下しており、治療終了後（EOT）に基準値付近まで戻ったことを示す。再発した患者は、依然としてCD38high MDSCの低下を示していた。黒色四角：ノンレスポンダー；白色四角：DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療に対し少なくとも最小奏功を示した患者。縦線は、各群における中央値を示す。患者2、4、15、16及び17は、CD38high MDSC集団の初期高値を示した。試験名：GEN501、17例の患者のサブセット。

30

【図13】最も高いCD38high MDSCを有する患者（患者2、4、15、16及び17）では、無増悪生存期間（PFS）が最も長かったことを示す。これらの患者は、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療に対して、部分奏功（PR）又は最小奏功（MR）のいずれかであった。SD：安定；PD：進行。X軸は、個々の番号の患者に対するPFSを示す。

40

【図14】MDSCが、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）誘発性ADCCに対して感受性があることを示す。Dauidi細胞を、アッセイにおける標的細胞の陽性対照として使用した。細胞溶解%を測定した。

【図15A】CD38+Bregが、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）によって治療された患者において、治療1週目、4週目及び8週目に枯渇したことを示す。

【図15B】CD38+Bregが、刺激によってIL-10を分泌することを示す。

【図16A】治療中、基準値及び示した時点においてVGPRであった、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）で治療した患者由来のPBMC中の、CMV、EBV及びインフルエンザウイルス特異的（CEF）IFN- $\gamma$ 産生によって測定される、抗ウイルス応答を示す。OD：光学密度。白色バー：陰性対照；黒色バー：CEF添加；網掛けバー

50

：同種 P B M C のみ。アスタリスク ( Asterix ) は、統計的に有意な変化を示す。 P r e 4、8、10 = 治療 4 週目、8 週目、又は 10 週目。

【図 16 B】治療中、基準値及び示した時点において C R であった、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) で治療した患者由来の P B M C 中の、C M V、E B V 及びインフルエンザウイルス特異的 ( C E F ) I F N - 産生によって測定される、抗ウイルス応答を示す。O D : 光学密度。白色バー : 陰性対照 ; 黒色バー : C E F 添加 ; 網掛けバー : 同種 P B M C のみ。アスタリスクは、統計的に有意な変化を示す。P r e 4、8、10 = 治療 4 週目、8 週目、又は 10 週目。

【図 16 C】治療中、基準値及び示した時点において P D であった、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) で治療した患者由来の P B M C 中の、C M V、E B V 及びインフルエンザウイルス特異的 ( C E F ) I F N - 産生によって測定される、抗ウイルス応答を示す。O D : 光学密度。白色バー : 陰性対照 ; 黒色バー : C E F 添加 ; 網掛けバー : 同種 P B M C のみ。N s : 有意差なし。P r e 4、8 = 治療 4 週目、又は 8 週目。

10

【図 16 D】治療中、基準値及び示した時点において M R であった、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) で治療した患者由来の P B M C 中の、C M V、E B V 及びインフルエンザウイルス特異的 ( C E F ) I F N - 産生によって測定される、抗ウイルス応答を示す。O D : 光学密度。白色バー : 陰性対照 ; 黒色バー : C E F 添加 ; 網掛けバー : 同種 P B M C のみ。N s : 有意差なし。P r e 4、8 = 治療 4 週目、又は 8 週目。

【図 16 E】治療中、基準値及び示した時点において V G P R であった、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) で治療した患者由来の P B M C 中の、増殖性ウイルス反応性 T 細胞の割合 ( % ) を示す。白色バー : 陰性対照 ; 黒色バー : C E F 添加。アスタリスクは、統計的に有意な変化を示す。P r e 4、8、10 = 治療 4 週目、8 週目、又は 10 週目。

20

【図 16 F】治療中、基準値及び示した時点において C R であった、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) で治療した患者由来の P B M C 中の、増殖性ウイルス反応性 T 細胞の割合 ( % ) を示す。白色バー : 陰性対照 ; 黒色バー : C E F 添加。アスタリスクは、統計的に有意な変化を示す。P r e 4、8、10 = 治療 4 週目、8 週目、又は 10 週目。

【図 17 A】健康なドナー由来のナチュラルキラー細胞 ( N K )、単球、B 細胞及び T 細胞における、C D 38 の発現レベルを示す F A C S 解析のヒストグラムを示す。

【図 17 B】多発性骨髄腫患者由来の形質細胞、ナチュラルキラー細胞 ( N K )、単球、B 細胞及び T 細胞における、C D 38 の発現レベルを示す F A C S 解析のヒストグラムを示す。

30

【図 17 C】再発及び治療抵抗性多発性骨髄腫患者由来の C D 38 + T r e g、B r e g、N K、B 細胞及び T 細胞における、C D 38 の平均蛍光強度 ( M F I ) の比較を示す。C D 38 は、C D 38 + T r e g、B r e g 及び N K 細胞と比較すると、B 細胞及び T 細胞において低レベルで発現した。

【図 18】経時的に、P D - L 1 タンパク質がレスポンダー ( R ) 由来の P B M C サンプルにおいて下方制御され、ノンレスポンダー ( N R ) において上方制御されることを示す。S D : 安定。C 1 D 1 : 1 サイクル目、1 日目 ; C 3 D 1、3 サイクル目、1 日目。Y 軸は、log 2 タンパク質濃度値を示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0019】

本明細書及び添付の「特許請求の範囲」において使用されるとき、単数形「a」、「an」及び「the」は、その内容について別段の明確な指示がない限り、複数の指示対象を包含する。したがって、例えば、「細胞 ( a cell ) 」という言及には、2 つ以上の細胞の組み合わせ、及びこれに類するものなどを含む。

【0020】

「C D 38」は、ヒト C D 38 タンパク質 ( 同義語 : A D P リボシルシクラーゼ 1、c A D P r ヒドロラーゼ 1、環状 A D P リボースヒドロラーゼ 1 ) を指す。ヒト C D 38 は、G e n B a n k 受入れ番号 N P 001766 に、及び配列番号 1 に示されているアミノ

50

酸配列を有する。C D 3 8 が、細胞質ドメインを表すアミノ酸配列 1 ~ 2 1 と、膜貫通ドメインを表すアミノ酸配列 2 2 ~ 4 2 と、C D 3 8 の細胞外ドメインを表す残基 4 3 ~ 3 0 0 と、を有する単一パスタイプ I I 膜タンパク質であることは周知である。

#### 【 0 0 2 1 】

配列番号 1

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

10

#### 【 0 0 2 2 】

本明細書で使用されるとき、「抗体」は、広義が意図され、マウス、ヒト、ヒト化、及びキメラ単クローン性抗体を含む単クローン性抗体、抗体断片、二重特異性抗体又は多重特異性抗体、二量体、四量体、若しくは多量体の抗体、一本鎖抗体、ドメイン抗体、及び必要とされる特異性の抗原結合部位を含む免疫グロブリン分子のいずれの他の修飾された構成も含む、免疫グロブリン分子を含む。

#### 【 0 0 2 3 】

免疫グロブリンは、重鎖定常ドメインアミノ酸配列に応じて、5つの主要なクラス、すなわち I g A、I g D、I g E、I g G、及び I g M に割り当てられ得る。I g A 及び I g G は、アイソタイプ I g A 1、I g A 2、I g G 1、I g G 2、I g G 3、及び I g G 4 に更に下位分類される。いずれの脊椎動物種の抗体軽鎖も、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて2つの明確に異なるタイプ、すなわちカップ( )及びラムダ( )のうちの一方に分類することができる。

20

#### 【 0 0 2 4 】

「抗体断片」とは、重鎖及び/又は軽鎖抗原結合部位、例えば、重鎖相補性決定領域( H C D R ) 1、2、及び3、軽鎖相補性決定領域( L C D R ) 1、2、及び3、重鎖可変領域( V H )、又は軽鎖可変領域( V L ) を保持する免疫グロブリン分子の一部を指す。抗体断片は、V L、V H、C L、及びC H 1 ドメインからなる一価の断片であるF a b 断片と、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結される2つのF a b 断片を含む二価の断片であるF ( a b )<sub>2</sub>断片と、V H 及びC H 1 ドメインからなるF d 断片と、抗体の一本のアームのV L 及びV H ドメインからなるF v 断片と、V H ドメインからなる、ドメイン抗体( d A b )断片( W a r d e t a l . , N a t u r e 3 4 1 : 5 4 4 ~ 6 , 1 9 8 9 ) と、を含む。V H ドメイン及びV L ドメインは、操作され、合成リンカーを介して一緒に連結して様々な種類の一本鎖抗体設計を形成することができ、ここでV H / V L ドメインは、分子内で対合するか、又はV H ドメイン及びV L ドメインが別々の一本鎖抗体構築物によって発現される場合には分子間で対合して、一本鎖F v ( s c F v ) 又はダイアボディなどの一価の抗原結合部位を形成する。これらは、例えば、国際公開第1 9 9 8 / 4 4 0 0 1 号、同第1 9 8 8 / 0 1 6 4 9 号、同第1 9 9 4 / 1 3 8 0 4 号、及び同第1 9 9 2 / 0 1 0 4 7 号に記載されている。これらの抗体断片は、当業者に周知の技術を使用して得られ、これらの断片は全長抗体の場合と同一の方法で、有用性に関してスクリーニングされる。

30

40

#### 【 0 0 2 5 】

「単離抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体又は抗体断片を指す(例えば、C D 3 8 に特異的に結合する単離された抗体は、ヒトC D 3 8 以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない)。しかし、ヒトC D 3 8 を特異的に結合する単離抗体は、M a c a c a f a s c i c u l a r i s ( カニクイザル ) C D 3 8 など、ヒトC D 3 8 のオルソログなどの他の抗原に対して交差反応性を有する可能性があ

50

る。二重特異性抗体の場合、二重特異性抗体は、2種類の目的の抗原に特異的に結合し、この2種類の目的の抗原以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない。更に、単離抗体は、他の細胞物質及び/又は化学物質を実質的に含まない場合もある。「単離抗体」は、高純度で単離された抗体、例えば純度80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%である抗体を包含する。

#### 【0026】

「特異的結合」又は「特異的に結合する」又は「結合する」とは、他の抗原よりも高い親和性で抗原又は抗原内のエピトープに結合する抗体を指す。典型的には、抗体は、平衡解離定数( $K_D$ )が約 $1 \times 10^{-8}$  M以下、例えば約 $1 \times 10^{-9}$  M以下、約 $1 \times 10^{-10}$  M以下、約 $1 \times 10^{-11}$  M以下、又は約 $1 \times 10^{-12}$  M以下で抗原又は抗原内のエピトープに結合し、典型的にはこの $K_D$ は、非特異性抗原(例えば、BSA、カゼイン)への結合に対する $K_D$ よりも少なくとも100倍小さい。解離定数は標準的手法を用いて測定することができる。しかし、抗原又は抗原内のエピトープに特異的に結合する抗体は、例えばヒト又はサル、例えば*Macaca fascicularis*(カニクイザル、cyno)、*Pan troglodytes*(チンパンジー、chimp)又は*Callithrix jacchus*(コモンマーモセット、marmoset)などの他種由来の同じ抗原(ホモログ)に対して交差反応性を有する場合がある。単特異性抗体は、1種類の抗原又は1種類のエピトープに特異的に結合するが、二重特異性抗体は、2種類の異なる抗原又は2種類の異なるエピトープに特異的に結合する。

#### 【0027】

抗体可変領域は、3つの「抗原結合部位」で隔てられた「フレームワーク」領域からなる。抗原結合部位は、様々な用語を用いて定義される： $VH$ 内に3つ( $HCDR1$ 、 $HCDR2$ 、 $HCDR3$ )及び $VL$ 内に3つ( $LCDR1$ 、 $LCDR2$ 、 $LCDR3$ )ある相補性決定領域(CDR)は、配列可変性に基づく(Wu and Kabat(1970) *J Exp Med* 132:211~50; Kabat et al *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)、 $VH$ 内に3つ( $H1$ 、 $H2$ 、 $H3$ )及び $VL$ 内に3つ( $L1$ 、 $L2$ 、 $L3$ )ある、「超可変領域」、「HVR」、又は「HV」は、Chothia and Lesk(Chothia and Lesk(1987) *Mol Biol* 196:901~17)によって定義されたような構造的に超可変である抗体可変ドメインの領域を指す。他の用語として、「IMGT-CDR」(Lefranc et al., (2003) *Dev Comparat Immunol* 27:55~77)及び「特異性決定残基使用」(SDRU)(Almagro(2004) *Mol Recognit* 17:132~43)が挙げられる。International Immunogenetics(IMGT)データベース(<http://www.imgt.org>)は、抗原結合部位の標準化番号付け及び定義を提供する。CDR、HV、及びIMGTの表記間の対応関係については、Lefranc et al., (2003) *Dev Comparat Immunol* 27:55~77に記載されている。

#### 【0028】

本明細書で使用されるとき、「Chotia残基」は、Al-Lazikani(Al-Lazikani et al., (1997) *J Mol Biol* 273:927~48)に準じて番号付けされた抗体 $VL$ 残基及び $VH$ 残基である。

#### 【0029】

「フレームワーク」又は「フレームワーク配列」は、抗原結合部位として定義されたものを除く、可変領域の残りの配列である。抗原結合部位は上記のような様々な用語によって定義され得るため、フレームワークの正確なアミノ酸配列は抗原結合部位がどのように定義されるかによって決まる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 3 0 】

「ヒト化抗体」とは、抗原結合部位がヒト以外の種に由来し、可変領域フレームワークがヒト免疫グロブリン配列に由来する、抗体を指す。ヒト化抗体はフレームワーク領域内に置換を含む可能性があることから、当該フレームワークは、発現したヒト免疫グロブリン又は生殖細胞系列遺伝子配列の完全な複製物でなくてもよい。

## 【 0 0 3 1 】

「ヒト抗体」とは、フレームワーク及び抗原結合部位の両方がヒト起源の配列に由来する重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を有する抗体を指す。抗体が定常領域を含む場合、定常領域もヒト起源の配列に由来する。

## 【 0 0 3 2 】

ヒト抗体は、抗体の可変領域がヒト生殖系免疫グロブリン又は再編成された免疫グロブリン遺伝子を使用する系から得られた場合のヒト起源の配列に「由来する」重鎖可変領域又は軽鎖可変領域を含む。そのような系は、ファージ上に提示されたヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリ、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座を保有するマウスなどのトランスジェニック非ヒト動物を含む。「ヒト抗体」は、例えば天然に存在する体細胞突然変異、又はフレームワーク若しくは抗原結合部位における意図した置換の導入、又はその両方により、ヒト生殖系免疫グロブリン又は再編成された免疫グロブリン遺伝子と比較したとき、アミノ酸の相違を含み得る。典型的には、「ヒト抗体」は、ヒト生殖系免疫グロブリン又は再編成された免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列と、アミノ酸配列において少なくとも約 80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % 又は 100 % 同一である。一部の場では、「ヒト抗体」は、例えば Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57~86 に記載されるヒトフレームワーク配列分析から得られたコンセンサスフレームワーク配列、又は例えば Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385~96 及び国際公開第 2009/085462 号に記載される、ファージ上に提示されたヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリに組み込まれた合成 HCDR3 を含有し得る。

## 【 0 0 3 3 】

ヒト免疫グロブリン配列に由来するヒト抗体は、ファージ提示組み込み合成 CDR 及び / 若しくは合成フレームワークなどの系を用いて生成され得るか、又は抗体特性を改善するために *in vitro* 突然変異誘発を受けることができ、*in vivo* のヒト抗体生殖系レパートリー内に天然に存在しない抗体をもたらす。

## 【 0 0 3 4 】

抗原結合部位がヒト以外の種に由来する抗体は、ヒト抗体の定義には含まれない。

## 【 0 0 3 5 】

「組換え抗体」は、ヒト免疫グロブリン遺伝子のトランスジェニック若しくは染色体導入動物（例えば、マウス若しくはラット）又はそれから調製されたハイブリドーマ（以下に詳述）から単離された抗体、抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から単離された抗体、組換えコンビナトリアル抗体ライブラリから単離された抗体、並びにヒト免疫グロブリン遺伝子配列を他の DNA 配列にスプライスすることを伴う任意の他の手段により調製、発現、作製、又は単離された抗体、あるいは Fab アーム交換を用いて *in vitro* で生成される抗体、例えば二重特性抗体などの組換え手段により調製、発現、作製、又は単離される全ての抗体を含む。

## 【 0 0 3 6 】

「単クローン性抗体」という用語は、単一分子組成の抗体分子の調製物を指す。単クローン性抗体組成物は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性及び親和性を示し、又は二重特異性単クローン性抗体の場合には、2つの別個のエピトープに対する二重結合特異性を示す。したがって、「単クローン性抗体」は、抗体重鎖からの C 末端リシンの除去など、潜在的な周知の代替物を除き、それぞれの重鎖及びそれぞれの軽鎖において単一のアミノ酸組成物を伴う抗体集団を指す。単クローン性抗体は、抗体集団内に異種グリコシル

10

20

30

40

50

化を有し得る。単クローン性抗体は、単特異性若しくは多重特異性、又は一価、二価、若しくは多価であり得る。二価抗体は、単クローン性抗体という用語に含まれる。

【 0 0 3 7 】

「エピトープ」は、抗体が特異的に結合する抗原の一部を意味する。エピトープは通常、アミノ酸又は多糖類側鎖のような部位の化学的に活性な（極性、非極性又は疎水性など）表面基からなり、特定の三次元構造特性及び特定の電荷特性を有し得る。エピトープは、立体配座空間単位を形成する隣接した及び／又は隣接していないアミノ酸からなり得る。隣接していないエピトープについて、抗原の直鎖配列の異なる部分からのアミノ酸は、タンパク質分子の折り畳みを通じて、三次元空間において近接する。

【 0 0 3 8 】

「変種」は、1つ又は2つ以上の修飾、例えば、置換、挿入、又は欠失によって、基準ポリペプチド又は基準ポリヌクレオチドとは異なる、ポリペプチド又はポリヌクレオチドを指す。

【 0 0 3 9 】

「～と併用して」は、2つ又は3つ以上の治療薬が、対象に混合物の状態と一緒に、それぞれ単独の薬剤として同時に、又はそれぞれ単独の薬剤として任意の順番で順次に投与することを意味する。一般に、各薬剤は、その薬剤に対して定められた用量及び／又は予定で投与される。

【 0 0 4 0 】

「治療する」又は「治療」は、その目的が、望ましくない生理学的変化又は疾患の進行を遅らせる（減らす）、例えば、腫瘍又は腫瘍細胞が発生し、又は伝播するのを遅らせることであつたり、あるいは、治療の間に有益な又は望ましい臨床的結果を提供することであつたりする、治療的処置を指す。有益な若しくは所望の臨床結果としては、検出可能であろうと又は検出不可能であろうと、症状の緩和、疾患の程度の軽減、安定した（すなわち、悪化しない）疾患状態、疾患の進行の遅延又は鈍化、転移の欠落、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解（部分的であろうと又は全体的であろうと）が挙げられる。「治療」はまた、対象が治療を受けていない場合に予想される生存期間と比較して、生存期間を延長させることを意味し得る。治療を必要とする対象としては、望まれない生理的变化又は疾患を既に有している対象、並びに生理的变化又は疾患を有しやすい傾向がある対象が含まれる。

【 0 0 4 1 】

「治療的に有効な量」は、所望の治療結果を達成するために、必要な用量及び期間で、有効な量を指す。治療的に有効な量は、個体の病態、年齢、性別、及び体重などの要因、並びに個体において所望の応答を引き出す治療薬又は治療薬の組み合わせの能力によって種々であつてよい。有効な治療薬又は治療薬の組み合わせを示す指標の例としては、例えば、患者の健康状態の改善、腫瘍量の減少、腫瘍の増殖の停止若しくは鈍化、及び／又は体内の他の場所への癌細胞の転移の不在が挙げられる。

【 0 0 4 2 】

「増殖を阻害する」（例えば、腫瘍細胞に関して）は、治療又は治療薬の組み合わせがない場合の同じ腫瘍細胞又は腫瘍組織の増殖の低下又は遅延と比較して、治療又は治療若しくは治療薬の組み合わせと接触されるときに *in vitro* 又は *in vivo* での腫瘍細胞又は腫瘍組織の増殖の測定可能な低下又は遅延を指す。*in vitro* 又は *in vivo* での腫瘍細胞又は腫瘍組織の増殖の阻害は、少なくとも約 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、99 %、又は 100 % であり得る。

【 0 0 4 3 】

「制御性 T 細胞」又は「Treg」は、他の T 細胞及び／又は他の免疫細胞の活性を、通常はその活性を抑制することによって制御する T リンパ球を指す。Treg は、CD3 + CD4 + CD25 + CD127 dim T 細胞であり得る。Treg はこの表現型に完全に限定されなくてもよく、Foxp3 を発現し得ると認識されている。

【 0 0 4 4 】

10

20

30

40

50

「エフェクターＴ細胞」又は「Ｔ e f f」は、腫瘍細胞の殺傷（killing）及び／又は腫瘍細胞の体内からの排除につながり得る抗腫瘍免疫応答の活性化など、免疫応答の機能を果たすＴリンパ球を指す。Ｔ e f fは、ＣＤ３＋にＣＤ４＋又はＣＤ８＋を伴い得る。Ｔ e f fは、ＩＦＮ－、グランザイムＢ及びＩＣＯＳなどのマーカーを分泌、含有、又は発現し得る。Ｔ e f fはこれらの表現型に完全に限定されなくてもよいと認識されている。

【００４５】

「Ｔ r e gの機能」又は「Ｔ r e g機能」は、宿主免疫応答の調節及び／又は自己免疫の予防に関するＴ r e gの抑制機能を指す。Ｔ r e gの機能は、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、

【００４６】

【数１】

MO細胞、

B細胞、若しくは樹状細胞（DC）によって誘発される抗腫瘍応答の抑制、又は、エフェクターＴ細胞の増殖の抑制であり得る。

【００４７】

「Ｔ r e gの機能の阻害」又は「Ｔ r e g機能の阻害」は、動物又はヒト対象のin vitro又はin vivoにおいて、当該技術分野において既知の従来手法で測定され得るＴ r e gの機能のレベルが減少していることを指す。Ｔ r e gの機能のレベルは、例えば、少なくとも約１％、５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％又は１００％減少し得る。「Ｔ r e gの機能の阻害」には、例えば抗体依存性細胞傷害（ADCC）などの抗体エフェクター機能を介してＴ r e gを殺傷することによって、Ｔ r e g数を減らすことが含まれる。

【００４８】

「骨髓由来サブレッサー細胞」又は「M D S C」は、造血系であり、マクロファージ／単球のマーカーであるＣＤ１１b、及び顆粒球のマーカーであるGr - 1 / Ly - 6 Gを発現する、特殊化した細胞集団を指す。M D S Cの表現型は、例えばＣＤ１１b＋H L A - D R - C D 1 4 - C D 3 3 + C D 1 5 +であり得る。M D S Cは、成熟抗原提示細胞のマーカーである、M H CクラスII及びF 4 8 0の発現が低い、検出不可能である。M D S Cは、骨髓系の未熟細胞であり、マクロファージ、好中球、樹状細胞、単球又は顆粒球などのいくつかの細胞型に更に分化できる。M D S Cは、成人及び成獣の正常な骨髓、又は脾臓などの正常な造血部位に自然に見られ得る。

【００４９】

「M D S Cの機能の阻害」又は「M D S C機能の阻害」は、動物又はヒト対象のin vitro又はin vivoにおいて、当該技術分野において既知の従来手法で測定され得るM D S Cの機能のレベルが減少していることを指す。M D S Cの機能のレベルは、例えば、少なくとも約１％、５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％又は１００％減少し得る。「M D S Cの機能の阻害」には、例えばADCCなどの抗体エフェクター機能を介してM D S Cを殺傷することによって、M D S C数を減らすことが含まれる。M D S Cは、活性酸素種、ペルオキシナイトライトの発生、高レベルのアルギナーゼによるアルギナーゼ代謝の向上、及び、一酸化窒素合成酵素の増加などの様々なメカニズムによって、増殖、クローン増殖又はサイトカイン産生などのＴ細胞応答を抑制し得る。M D S Cは、ＩＦＮ－、並びにＩＬ - 4及びＩＬ - 1 3といったいくつかのサイトカインに応答し得る。ＩＦＮ－は、一酸化窒素合成酵素2（N O S 2）の活性を誘導するM D S Cを活性化し得る。交互に、インターロイキン - 4（ＩＬ - 4）及びＩＬ - 1 3などのTh 2サイトカインは、アルギナーゼ - 1（A R G 1）活性の誘導を引き起こし得るM D S Cを活性化し得る。N O S 2又はA R G 1のいずれかによるL - アルギニンの代謝は、Ｔ細胞増殖の阻害を引き起こす場合があり、これら両酵素の活性は共に、反応性窒素酸化物種の産生によるＴ細胞のアポトーシスを引き起こし得る。

10

20

30

40

50

## 【0050】

「Treg関連疾患」は、T制御性細胞（Treg）と関連する疾患又は障害を指す。Treg関連疾患は、Treg機能、例えば、抗腫瘍応答の抑制、又は、エフェクターT細胞増殖の抑制に起因し得る。Treg介在性疾患は癌であり得る。「Treg関連疾患」及び「Treg介在性疾患」は、本明細書では互換的に使用される。

## 【0051】

「エフェクターT細胞の応答の増強」又は「T細胞応答の増強」は、動物又はヒト対象の *in vitro* 又は *in vivo* において、生体機能を維持若しくは増幅させる、又は、消耗した若しくは不活性のT細胞を再生若しくは再活性化させるためのエフェクターT細胞の増強又は刺激を指す。代表的なT細胞応答は、増殖、 $\gamma$ -インターフェロンのCD8<sup>+</sup>T細胞からの分泌、抗原応答性、又はクローン増殖である。この増強を測定する方法は、当業者には既知である。

10

## 【0052】

「MDSC関連疾患」は、骨髄由来サプレッサー細胞（MDSC）と関連する疾患又は障害を指す。MDSC関連疾患は、MDSC機能、例えば、抗腫瘍応答又はエフェクターT細胞増殖の抑制に起因し得る。MDSC介在性疾患は癌であり得る。「MDSC関連疾患」及び「MDSC介在性疾患」は、本明細書では互換的に使用される。

## 【0053】

「制御性B細胞」又は「Breg」は、免疫応答を抑制するBリンパ球を指す。Bregは、CD19<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>細胞であり得、Bregによって分泌されるIL-10が介在するT細胞増殖を阻害することによって、免疫応答を抑制し得る。別のBregサブセットが存在し、例えばDing et al., (2015) Human Immunology 76: 615~621に記載されていると認識されている。

20

## 【0054】

「Breg関連疾患」は、制御性B細胞と関連する疾患又は障害を指す。Breg関連疾患は、例えば、抗腫瘍応答又はエフェクターT細胞増殖のBreg介在性抑制に起因し得る。Breg介在性疾患は癌であり得る。「Breg関連疾患」及び「Breg介在性疾患」は、本明細書では互換的に使用される。

## 【0055】

「患者」は、あらゆるヒト又は非ヒト動物を含む。「非ヒト動物」は、全ての脊椎動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などの哺乳類及び非哺乳類を含む。「患者」及び「対象」は、本明細書では互換的に使用される。

30

## 【0056】

本発明は、腫瘍細胞によるCD38発現の有無にかかわらず、CD38を特異的に結合する抗体を用いて、固形腫瘍を有する患者を治療する方法を提供する。本発明は更に、制御性T細胞（Treg）、骨髄由来サプレッサー細胞（MDSC）又は制御性B細胞（Breg）介在性疾患を有する患者を治療する方法を提供する。本発明は更に、Treg、MDSC又はBreg活性を調節し、CD38陽性及び/又は高レベルのこれら免疫抑制性細胞と関連する固形腫瘍の治療する方法を提供する。

40

## 【0057】

本発明は、少なくとも一部は、抗CD38抗体であるDARZALEX（商標）（ダラツムマブ）が患者において免疫調節性活性を有しており、免疫抑制性Treg、MDSC及びBreg数を減らし、CD8<sup>+</sup>T細胞数とCD8<sup>+</sup>のTregに対する割合を増加させ、CD8<sup>+</sup>セントラルメモリー細胞形成を促進して、T細胞クローン性を増加するという発見に基づいている。

## 【0058】

DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）及び他の抗CD38抗体は、ADCC、CDC、ACDP及びアポトーシスなどの抗体エフェクター機能による抗体のCD38陽性細胞排除能によって、多発性骨髄腫などの血液悪性疾患及び形質細胞障害の治療に対する有

50



効性が臨床で評価されているが、適応免疫応答の促進における免疫調節性活性については認められていない。他の免疫調節性抗体（抗PD1、抗CTLA4）は、抗腫瘍応答を抑制する免疫系の構成要素を標的とすることによって機能する。例えば、抗PD1抗体は、T細胞増殖を増加し、抗原特異的メモリー応答を刺激し、*in vitro*において、エフェクターT細胞のTreg介在性抑制を部分的に開放することが証明されている（例えば、米国特許第8,779,105号参照）。黒色腫の治療に対して、2種類の抗PD-1抗体、OPDIVO（登録商標）（ニボルマブ）及びKEYTRUDA（登録商標）（ペンブロリズマブ）が現在承認されており、これらの抗体は、様々な固形腫瘍、例えば肺非小細胞癌、前立腺、頭頸部、胃腸、胃、前立腺、卵管、卵巣、膵臓、乳房及び脳癌、腎臓、膀胱、尿道、食道及び結腸直腸癌に対して臨床開発中である。抗CTLA-4抗体であるYERVOY（登録商標）（イピリムマブ）は、黒色腫の治療に対して承認されている。YERVOY（登録商標）（イピリムマブ）及び別の抗CTLA-4抗体であるトレメリムマブも、前立腺、非小細胞肺癌、卵巣、胃腸、胃、結腸直腸、腎臓、食道、及び尿生殖器癌に対して開発中である。

10

#### 【0059】

いかなる特定の理論にも束縛されるものではないが、本明細書で記載されるDARZALEX（商標）（ダラツムマブ）によって観察される免疫調節性効果に基づいて、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）及び他の抗CD38抗体は、固形腫瘍の治療に効果がある可能性がある。DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）で治療された患者で見られる免疫応答の一般的な活性化によって、CD38陰性固形腫瘍を有する患者は、抗CD38抗体療法にも同様に応答できる。

20

#### 【0060】

本発明は、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法を提供する。

#### 【0061】

本発明はまた、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、制御性T細胞（Treg）介在性疾患の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、Treg介在性疾患を有する患者を治療する方法も提供する。

#### 【0062】

本発明はまた、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、骨髄由来サプレッサー細胞（MDS C）介在性疾患の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、MDS C介在性疾患を有する患者を治療する方法も提供する。

30

#### 【0063】

本発明はまた、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、制御性B細胞（Breg）介在性疾患の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、Breg介在性疾患を有する患者を治療する方法も提供する。

#### 【0064】

本発明はまた、制御性T細胞（Treg）をCD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、制御性T細胞の活性を抑制する方法も提供する。

40

#### 【0065】

本発明はまた、骨髄由来サプレッサー細胞（MDS C）をCD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、MDS Cの活性を抑制する方法も提供する。

#### 【0066】

本発明はまた、制御性B細胞（Breg）をCD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、Bregの活性を抑制する方法も提供する。

#### 【0067】

本発明はまた、CD38を特異的に結合する抗体を患者に投与することによって、患者における制御性T細胞（Treg）数を低下させることを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

50

## 【 0 0 6 8 】

本発明はまた、C D 3 8 を特異的に結合する抗体を患者に投与することによって、患者における骨髓由来サプレッサー細胞 ( M D S C ) 数を低下させることを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

## 【 0 0 6 9 】

本発明はまた、C D 3 8 を特異的に結合する抗体を患者に投与することによって、患者における制御性B細胞 ( B r e g ) 数を低下させることを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

## 【 0 0 7 0 】

本発明はまた、C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、免疫応答の増強に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、患者の免疫応答を増強する方法も提供する。

10

## 【 0 0 7 1 】

いくつかの実施形態では、患者はウイルス感染を有する。

## 【 0 0 7 2 】

本発明はまた、C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、ウイルス感染の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、患者のウイルス感染を治療する方法も提供する。

## 【 0 0 7 3 】

いくつかの実施形態では、免疫応答は、エフェクターT細胞 ( T e f f ) 応答である。

## 【 0 0 7 4 】

いくつかの実施形態では、T e f f 応答は、C D 4 + T細胞又はC D 8 + T細胞によって媒介される。

20

## 【 0 0 7 5 】

いくつかの実施形態では、T e f f 応答は、C D 4 + T細胞によって媒介される。

## 【 0 0 7 6 】

いくつかの実施形態では、T e f f 応答は、C D 8 + T細胞によって媒介される。

## 【 0 0 7 7 】

いくつかの実施形態では、T e f f 応答は、C D 8 + T細胞数の増加、C D 8 + T細胞増殖の増加、T細胞クローン増殖の増加、C D 8 + メモリー細胞形成の増加、抗原依存性抗体産生の増加、又は、サイトカイン、ケモカイン若しくはインターロイキン産生の増加である。

30

## 【 0 0 7 8 】

T細胞の増殖は、例えば、トリチウム標識したチミジンをを用いるDNA合成速度の測定、又は、インターフェロン - ( I F N - ) の *i n v i t r o* 産生の測定、又は、既知の方法を用いる患者サンプル由来細胞集団中のT細胞の絶対数若しくは割合の測定によって評価できる。

## 【 0 0 7 9 】

クローン増殖は、例えば、既知の方法を用いるT細胞プール由来T C Rの配列決定によって評価できる。

## 【 0 0 8 0 】

メモリー細胞形成は、例えばF A C Sを用いる、ナイーブT細胞 ( C D 4 5 R O - / C D 6 2 L + ) のメモリーT細胞 ( C D 4 5 R O + / C D 6 2 L h i g h ) に対する割合を測定することによって評価できる。

40

## 【 0 0 8 1 】

サイトカイン、ケモカイン又はインターロイキン産生、例えば、インターフェロン - ( I F N - )、腫瘍壊死因子 - ( T N F - )、I L - 1、I L - 2、I L - 3、I L - 4、I L - 6、I L - 8、I L - 10、I L - 12、I L - 13、I L - 16、I L - 18及びI L - 23、M I P - 1、M I P - 1、ランテス、C C L 4の産生は、E L I S A又はE L L I S P O Tアッセイなどの標準法を用いて評価できる。

## 【 0 0 8 2 】

50

抗原特異的抗体産生は、患者由来のサンプルから、E L I S A 又はラジオイムノアッセイ ( R I A ) などの標準法を用いて評価できる。

【 0 0 8 3 】

様々な T e f f 応答が「増加」又は「増加する」の意味は、容易に理解される。増加は、試験サンプル又は対象において、対照と比較したとき、例えば、抗 C D 3 8 抗体で治療した患者において、治療前の同一患者と比較したとき、又は、抗 C D 3 8 抗体治療反応性の患者若しくは患者群において、同一治療に非反応性の患者若しくは患者群と比較したときに、少なくとも約 5 %、少なくとも約 1 0 %、2 5 %、5 0 %、5 1 %、5 2 %、5 3 %、5 4 %、5 5 %、5 6 %、5 7 %、5 8 %、5 9 %、6 0 %、6 1 %、6 2 %、6 3 %、6 4 %、6 5 %、6 6 %、6 7 %、6 8 %、6 9 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、1 0 0 %、1 1 0 %、1 2 0 %、1 3 0 %、1 4 0 %、1 5 0 %、2 0 0 %、2 5 0 %、3 0 0 %、3 5 0 %、4 0 0 % 又はそれ以上の増加であってよい。典型的には、この増加は統計的に有意である。

10

【 0 0 8 4 】

同様に、T r e g、M D S C 及び / 又は B r e g の数が「減少」若しくは「減少する」又は「低下」若しくは「低下する」の意味は、容易に理解される。低下は、試験サンプル又は対象において、対照と比較したとき、例えば、抗 C D 3 8 抗体で治療した患者において、治療前の同一患者と比較したとき、又は、抗 C D 3 8 抗体治療反応性の患者若しくは患者群において、同一治療に非反応性の患者若しくは患者群と比較したときに、少なくとも約 1 0 %、2 5 %、5 0 %、5 1 %、5 2 %、5 3 %、5 4 %、5 5 %、5 6 %、5 7 %、5 8 %、5 9 %、6 0 %、6 1 %、6 2 %、6 3 %、6 4 %、6 5 %、6 6 %、6 7 %、6 8 %、6 9 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、1 0 0 %、1 1 0 %、1 2 0 %、1 3 0 %、1 4 0 %、1 5 0 %、2 0 0 %、2 5 0 %、3 0 0 %、3 5 0 %、4 0 0 % 又はそれ以上の低下であってよい。典型的には、この低下は統計的に有意である。

20

【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、免疫サプレッサー細胞の機能を阻害する。

30

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態では、免疫サプレッサー細胞は、制御性 T 細胞 ( T r e g )、骨髓由来サプレッサー細胞 ( M D S C ) 又は制御性 B 細胞 ( B r e g ) である。

【 0 0 8 7 】

いくつかの実施形態では、T r e g は、C D 3 + C D 4 + C D 2 5 + C D 1 2 7 d i m T 細胞である。

【 0 0 8 8 】

いくつかの実施形態では、C D 3 + C D 4 + C D 2 5 + C D 1 2 7 d i m 細胞は、F o x p 3 を発現する。

40

【 0 0 8 9 】

いくつかの実施形態では、C D 3 + C D 4 + C D 2 5 + C D 1 2 7 d i m T 細胞は、C D 3 8 を発現する。

【 0 0 9 0 】

T r e g 機能、例えば T e f f 細胞の抑制能は、例えば、T r e g の、混合リンパ球反応 ( M L R ) における T e f f 増殖抑制能を評価する既知の方法を用いて評価できる。

【 0 0 9 1 】

T r e g 機能は、例えば、T e f f と比較した T r e g の相対数 ( 例えば、C D 8 + / T r e g 細胞比の増加 ) を、T r e g 又は T r e g の亜集団、例えば C D 3 8 + T r e g の

50

直接殺傷により減少させることによって、阻害できる。

【0092】

いくつかの実施形態では、T r e g 機能は、T r e g 細胞の殺傷によって阻害される。

【0093】

いくつかの実施形態では、T r e g の殺傷は、C D 3 8 を特異的に結合している抗体により誘導される、抗体誘導性の抗体依存性細胞傷害 ( A D C C )、抗体依存性細胞貪食作用 ( A D C P )、補体依存性細胞傷害 ( C D C ) 又はアポトーシスによって媒介される。

【0094】

いくつかの実施形態では、T r e g の殺傷は、A D C C によって媒介される。

【0095】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 + T r e g が殺傷される。

【0096】

いくつかの実施形態では、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、31 %、32 %、33 %、34 %、35 %、36 %、37 %、38 %、39 %、40 %、41 %、42 %、43 %、44 %、45 %、46 %、47 %、48 %、49 %、50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 % 又は 60 % の T r e g が殺傷される。

【0097】

C D 3 8 は、T r e g 及び M D S C の一部においてのみ発現されるため、固形腫瘍患者の治療によって T r e g 及び M D S C の全身的枯渇をもたらさず、安全性の向上可能性が期待される。

【0098】

いくつかの実施形態では、M D S C は、C D 1 1 b + H L A - D R - C D 1 4 - C D 3 3 + C D 1 5 + 細胞である。

【0099】

いくつかの実施形態では、C D 1 1 b + H L A - D R - C D 1 4 - C D 3 3 + C D 1 5 + M D S C は、C D 3 8 を発現する。

【0100】

M D S C 機能は、例えば、細胞の直接殺傷によって M D S C 数を低下させることによって、阻害され得る。

【0101】

いくつかの実施形態では、M D S C 機能は、C D 3 8 + M D S C の殺傷によって阻害される。

【0102】

いくつかの実施形態では、M D S C の殺傷は、C D 3 8 を特異的に結合する抗体により誘導される、抗体誘導性の抗体依存性細胞傷害 ( A D C C )、抗体依存性細胞貪食作用 ( A D C P )、補体依存性細胞傷害 ( C D C ) 又はアポトーシスによって媒介される。

【0103】

いくつかの実施形態では、M D S C の殺傷は、A D C C によって媒介される。

【0104】

いくつかの実施形態では、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、31 %、32 %、33 %、34 %、35 %、36 %、37 %、38 %、39 %、40 %、41 %、42 %、43 %、44 %、45 %、46 %、47 %、48 %、49 %、50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 % 又は 60 % の M D S C が殺傷される。

【0105】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、B r e g は、C D 1 9 + C D 2 4 + C D 3 8 + 細胞である。

【 0 1 0 6 】

B r e g 機能は、例えば、B r e g の直接殺傷によってB r e g 数を低下させることによって、阻害され得る。

【 0 1 0 7 】

いくつかの実施形態では、B r e g 機能は、C D 3 8 + B r e g の殺傷によって阻害される。

【 0 1 0 8 】

いくつかの実施形態では、B r e g の殺傷は、C D 3 8 を特異的に結合する抗体により誘導される、抗体誘導性の抗体依存性細胞傷害 ( A D C C )、抗体依存性細胞貪食作用 ( A D C P )、補体依存性細胞傷害 ( C D C ) 又はアポトーシスによって媒介される。

10

【 0 1 0 9 】

いくつかの実施形態では、B r e g の殺傷は、A D C C によって媒介される。

【 0 1 1 0 】

いくつかの実施形態では、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、31 %、32 %、33 %、34 %、35 %、36 %、37 %、38 %、39 %、40 %、41 %、42 %、43 %、44 %、45 %、46 %、47 %、48 %、49 %、50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 % 又は 60 % の B r e g が殺傷される。

20

【 0 1 1 1 】

T r e g は、末梢性自己寛容の維持において重要な役割を果たす。自然に存在する C D 4 + C D 2 5 h i T r e g は、胸腺で産生され、T r e g 系の同一性と抑制性機能の確立及び維持に必要な転写因子である、F o x p 3 を発現する。T r e g は、疾患部位 (例えば、腫瘍内) に蓄積でき、そこで腫瘍抗原特異的T細胞のエフェクター機能を抑制することによって、抗腫瘍応答を不十分にする。腫瘍に浸潤している F o x p 3 + T r e g の密度増加は、脾臓、卵巣、及び肝細胞癌などの様々な固形腫瘍における予後不良と関連している。マウスモデルにおいて、T r e g の枯渇により抗腫瘍免疫及び腫瘍拒絶の向上が得られるが、自己免疫疾患の進行にもつながり得る。

30

【 0 1 1 2 】

骨髄由来サプレッサー細胞 ( M D S C ) は、分化の様々な段階にある、初期骨髄系前駆細胞、未熟顆粒球、マクロファージ、及び樹状細胞の不均一集団である。これらは、癌患者で多く蓄積され、強い免疫抑制性機能を有して、ナチュラルキラー細胞 ( N K ) 及びナチュラルキラーT細胞 ( N K T ) の細胞傷害活性、並びに、C D 8 + T細胞によって媒介される適応免疫応答の両方を阻害する。N K細胞の阻害メカニズムは現在よくわかっていないが、アルギナーゼ1 / A R G 1 の産生、及び一酸化窒素合成酵素2 ( N O S 2 ) の上方制御などの複数の経路が、M D S C 介在性T細胞抑制の原因となっている。A R G 1 及び N O S 2 は、L - アルギニンを代謝し、共に又は別々に、T細胞C D 3 鎖の翻訳を阻止し、T細胞増殖を阻害し、T細胞のアポトーシスを促進する。加えて、M D S C は、免疫抑制性サイトカインを分泌し、制御性T細胞の成長を誘導する。

40

【 0 1 1 3 】

M D S C は、炎症性サイトカインによって誘導され、感染性及び炎症性病態において数が増えて発見される。これらは、担癌マウスの血液、骨髄、及び二次リンパ器官内に蓄積し、腫瘍微小環境中にこれらが存在すると、腫瘍関連免疫抑制の促進の原因となる役割を果たすと言われている。

【 0 1 1 4 】

M D S C は、結腸癌、黒色腫、肝細胞癌、頭頸部扁平上皮癌、非小細胞肺癌、腎細胞癌、脾臓腺癌及び乳癌の患者において説明されている ( M a n d r u z z a t o e t a l . , ( 2 0 0 9 ) J I m m u n o l 1 8 2 : 6 5 6 2 ~ 6 5 6 8 ; L i u e t a l .

50

, (2009) J Cancer Res Clin Oncol 136:35~45; Ko et al., (2009) Clin Cancer Res 15:2148~2157; Morse et al., (2009) Expert Opin Biol Ther 9:331~339; Diaz-Montero et al., (2009) Cancer Immunol Immunother 58:49~59; Corzo et al., (2009) J Immunol 182:5693~5701)。癌患者において、Diazら(Diaz-Montero et al., (2009) Cancer Immunol Immunother 58:49~59)は、MDS Cの蓄積が、疾患の更なる進行と予後不良と相関すると提唱している。

#### 【0115】

腫瘍浸潤性 Breg は、固形腫瘍中に確認されており、Breg は、様々なメカニズム、例えば、CD8+ T細胞及びNK細胞の抗腫瘍活性を抑制することによって、腫瘍の増殖及び転移を促進し得る(例えば、Ding et al., (2015) Human Immunology 76:615~62に記載)。

#### 【0116】

「抗体依存性細胞傷害」、「抗体依存性細胞媒介細胞傷害」、又は「ADCC」は、エフェクター細胞で発現されるFcガンマ受容体(FcγR)を介しての、抗体被覆標的細胞の、ナチュラルキラー細胞、単球、マクロファージ、及び好中球などの溶解活性を有するエフェクター細胞との相互作用に依存する、細胞死を誘発するための機構である。例えば、NK細胞はFcγRIIIaを発現し、一方単球はFcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIaを発現する。CD38発現細胞などの抗体被覆標的細胞の死滅は、膜孔形成タンパク質及びプロテアーゼの分泌を通してのエフェクター細胞活性の結果として生じる。CD38を特異的に結合する抗体のADCC活性を評価するために、抗体は、免疫エフェクター細胞と組み合わせて、CD38発現細胞に添加され得るが、これらが抗原抗体複合体によって活性化されると、標的細胞の細胞溶解をもたらす。細胞溶解は、通常、溶解した細胞からの標識(例えば、放射性基質、蛍光染料、又は天然細胞内タンパク質)の放出によって検出される。そのようなアッセイ用のエフェクター細胞としては、末梢血単核球(PBMC)及びNK細胞が挙げられる。代表的な標的細胞として、CD38を発現するTreg又はMDS Cが挙げられる。例示的なアッセイにおいて、標的細胞は、20μキュリーの<sup>51</sup>Crによって2時間にわたり標識化され、広範囲で洗浄される。標的細胞の細胞濃度は、1×10<sup>6</sup>細胞/mLに調整され得るが、抗CD38抗体は様々な濃度で添加される。アッセイは、40:1のエフェクター:標的細胞で標的細胞を添加することにより開始される。37℃で3時間インキュベーションした後、アッセイを遠心分離によって停止し、溶解した細胞からの<sup>51</sup>Crの放出を、シンチレーション計数管内で測定する。細胞傷害性のパーセンテージは、3%の過塩素酸を標的細胞に添加することにより誘発され得る最大溶解パーセントとして計算され得る。

#### 【0117】

「抗体依存性細胞貪食作用」(「ADCP」)とは、例えばマクロファージ又は樹状細胞のような貪食細胞による細胞内移行を通じた抗体被覆標的細胞の殺滅のメカニズムを指す。ADCPは、GFP又はその他標識された分子を発現するように遺伝子操作を受けた標的細胞として、CD38を発現するTreg又はMDS Cを用いることによって評価できる。エフェクター対標的細胞の比は、例えば4:1であり得る。エフェクター細胞は、標的細胞とともに4時間にわたり、抗CD38抗体とともに又はそれなしでインキュベートされ得る。インキュベーション後、細胞は、Accutaseを用いて剥離され得る。マクロファージは、蛍光標識に結合した抗CD11b抗体及び抗CD14抗体により識別され得るが、パーセント貪食作用は、標準的な方法を用いて、CD11+及びCD14+マクロファージ中のパーセントGFP蛍光に基づいて決定され得る。

#### 【0118】

「補体依存性細胞傷害」又は「CDC」は、標的結合抗体のFcエフェクタードメインが補体成分C1qに結合してこれを活性化し、補体成分C1qが次に補体カスケードを活性

10

20

30

40

50

化して、標的細胞の死滅をもたらす、細胞死を誘発するためのメカニズムを指す。補体の活性化はまた、標的細胞表面上の補体成分の沈着をもたらすことができ、これが白血球への補体受容体（例えば、C R 3）の結合によって、A D C Cを容易にする。

#### 【 0 1 1 9 】

A D C Cを誘発するために単クローン性抗体が有する能力は、それらのオリゴ糖成分を遺伝子操作することによって増強させることができる。ヒトI g G 1又はI g G 3は、A s n 2 9 7において、N - グリコシル化される。ここで、グリカンの大部分は、周知の二分岐G 0、G 0 F、G 1、G 1 F、G 2、又はG 2 Fの形態にある。遺伝子操作されていないC H O細胞により生成される抗体は、典型的には、少なくとも約8 5 %のグリカンフコース含量を有する。F c領域に結合した二分岐の複合体型オリゴ糖からのコアフコースの除去は、抗原結合又はC D C活性を変更することなく、改善されたF c R I I I a結合を介して抗体のA D C Cを増強する。このようなm A bは、培地のオスモル濃度の制御（K o n n o e t a l . , ( 2 0 1 2 ) C y t o t e c h n o l o g y 6 4 : 2 4 9 ~ 6 5）、変異体C H O系L e c 1 3の宿主細胞系としての適用（S h i e l d s e t a l . , ( 2 0 0 2 ) J B i o l C h e m 2 7 7 : 2 6 7 3 3 ~ 2 6 7 4 0）、変異体C H O系E B 6 6の宿主細胞系としての適用（O l i v i e r e t a l . , ( 2 0 1 0 ) M A b s 2 ( 4 ) , E p u b a h e a d o f p r i n t ; P M I D : 2 0 5 6 2 5 8 2）、ラットハイブリドーマ細胞系Y B 2 / 0の宿主細胞系としての適用（S h i n k a w a e t a l . , ( 2 0 0 3 ) J B i o l C h e m 2 7 8 : 3 4 6 6 ~ 3 4 7 3）、1, 6 - フコシルトランスフェラーゼ（F U T 8）遺伝子に対して特異的な低分子干渉RNAの導入（M o r i e t a l . , ( 2 0 0 4 ) B i o t e c h n o l B i o e n g 8 8 : 9 0 1 ~ 9 0 8）、又は、1, 4 - N - アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼI I I及びゴルジ - マンノシダーゼI I若しくは強力な - マンノシダーゼI阻害物質であるキフネンシンの共発現（F e r r a r a e t a l . , ( 2 0 0 6 ) J B i o l C h e m 2 8 1 : 5 0 3 2 ~ 5 0 3 6 ; F e r r a r a e t a l . , ( 2 0 0 6 ) B i o t e c h n o l B i o e n g 9 3 : 8 5 1 ~ 8 6 1 ; X h o u e t a l . , ( 2 0 0 8 ) B i o t e c h n o l B i o e n g 9 9 : 6 5 2 ~ 6 5）などのF cオリゴ糖の二分岐の複合型を保有する脱フコシル化抗体の比較的高い発現をもたらすことが報告されている、様々な方法を用いて達成されてもよい。本発明の方法において、及び以下に列挙される番号付きの実施形態のうちの1つ1つのいくつかの実施形態において用いられる抗C D 3 8抗体によって誘発されるA D C Cはまた、抗体F cにおけるある特定の置換によって増強されてもよい。例示的な置換は、例えば、米国特許第6, 7 3 7, 0 5 6号に記載されたように、アミノ酸位置2 5 6、2 9 0、2 9 8、3 1 2、3 5 6、3 3 0、3 3 3、3 3 4、3 6 0、3 7 8、又は4 3 0（E Uインデックスに従った残基ナンバリング）における置換である。

#### 【 0 1 2 0 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8を特異的に結合する抗体は、抗体F cにおける置換を含む。

#### 【 0 1 2 1 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8を特異的に結合する抗体は、抗体F c中の2 5 6、2 9 0、2 9 8、3 1 2、3 5 6、3 3 0、3 3 3、3 3 4、3 6 0、3 7 8又は4 3 0番目のアミノ酸における置換を含む（残基の番号付けは、E Uインデックスに準じる）。

#### 【 0 1 2 2 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8を特異的に結合する抗体は、フコース含量が約0 % ~ 約1 5 %、例えば1 5 %、1 4 %、1 3 %、1 2 %、1 1 %、1 0 %、9 %、8 %、7 %、6 %、5 %、4 %、3 %、2 %、1 %又は0 %である、二分岐グリカン構造を有する。

#### 【 0 1 2 3 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8を特異的に結合する抗体は、フコース含量が約5 0 %、4 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、2 0 %、1 5 %、1 4 %、1 3 %、1 2 %、1 1 %、1 0 %、9 %、8 %、7 %、6 %、5 %、4 %、3 %、2 %、1 %又

10

20

30

40

50

は 0 % である、二分枝グリカン構造を有する。

【 0 1 2 4 】

F c 中の置換及び減少したフコース含量は、C D 3 8 を特異的に結合する抗体の A D C C 活性を増強することができる。

【 0 1 2 5 】

「フコース含量」とは、A s n 2 9 7 における糖鎖内のフコース単糖類の量を意味する。フコースの相対量は、全糖構造に対するフコース含有構造の割合である。これらの糖構造は、複数の方法、例えば、1) 国際公開第 2 0 0 8 / 0 7 7 5 4 6 号に記載されるように、N - グリコシダーゼ F 処理試料の M A L D I - T O F (例えば、複合体、ハイブリッド、及びオリゴ - 並びに高マンノース構造)の使用、2) A s n 2 9 7 グリカンの酵素放出、その後の誘導体化及び蛍光検出を備えた H P L C (U P L C) 及び / 又は H P L C - M S (U P L C - M S) による検出 / 定量、3) 第 1 及び第 2 の G l c N A c 単糖類間を切断し、フコースを第 1 の G l c N A c に結合させる、E n d o S 又は他の酵素による A s n 2 9 7 のグリカンの処理を伴うか又はこの処理なしでの、天然又は還元 m A b のインタクトプロテイン分析、4) 酵素を用いた消化 (例えば、トリプシン又はエンドペプチダーゼ L y s - C) による、m A b の成分ペプチドへの消化後、H P L C - M S (U P L C - M C) による分離、検出、及び定量化、又は 5) A s n 2 9 7 で、P N G a s e F を用いた酵素による特異的脱グリコシル化を通じた、m A b オリゴ糖の m A b タンパク質からの分離、により特徴付けられ、定量化され得る。放出されるオリゴ糖は、フルオロフォアで標識化され、グリカン構造の細かな特性評価を可能にする様々な補足的技術によって分離かつ特定することが可能であり、これらは、実験的質量の理論的質量との比較によるマトリックス支援レーザ脱離イオン化 (M A L D I) 質量分析、イオン交換 H P L C (G l y c o S e p C) によるシアル化の程度の決定、順相 H P L C (G l y c o S e p N) による親水性の基準に準拠するオリゴ糖型の分離及び定量、並びに高性能キャピラリー電気泳動 - レーザ誘起蛍光 (H P C E - L I F) によるオリゴ糖の分離及び定量による。

【 0 1 2 6 】

本明細書で使用されるとき、「低フコース」又は「低フコース含量」は、抗体が約 0 % ~ 1 5 % のフコース含量を有することを指す。

【 0 1 2 7 】

本明細書で使用されるとき、「正常なフコース」又は「正常なフコース含有量」とは、抗体が約 5 0 % を超える、通常約 6 0 %、7 0 %、8 0 % を超える、又は 8 5 % を超えるフコース含有量を有することを指す。

【 0 1 2 8 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、アポトーシスによって、T r e g、M D S C 及び / 又は B r e g の殺傷を誘導できる。アポトーシスを評価するための方法は周知であり、例えば、標準的な方法を用いたアネキシン I V による染色が挙げられる。本発明の方法で使用される抗 C D 3 8 抗体は、細胞の約 2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % にアポトーシスを誘導できる。

【 0 1 2 9 】

いくつかの実施形態では、T e f f 又は免疫サプレッサー細胞は、骨髄又は末梢血中に存在する。

【 0 1 3 0 】

いくつかの実施形態では、T e f f 又は免疫サプレッサー細胞は、骨髄中に存在する。

【 0 1 3 1 】

いくつかの実施形態では、T e f f 又は免疫サプレッサー細胞は、末梢血中に存在する。

【 0 1 3 2 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、C D 8 + T 細胞の T r e g に対する比を増加する。

【 0 1 3 3 】



いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する抗体は、CD8+セントラルメモリー細胞のCD8+ナイーブ細胞に対する比を増加する。CD8+セントラルメモリー細胞は、CD45RO+/CD62L+high細胞として同定できる。CD8+ナイーブ細胞は、CD45RO-/CD62L+細胞として同定できる。

#### 【0134】

いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する抗体は、非アゴニスト抗体である。

#### 【0135】

CD38を特異的に結合する非アゴニスト抗体は、CD38に結合するとき、*in vitro*での末梢血単核球のサンプルの増殖が、アイソタイプ対照抗体又は培地のみによって誘導される増殖と比較して顕著に誘導されない抗体を指す。

10

#### 【0136】

いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する非アゴニスト抗体は、統計的に有意でない様式で、末梢血単核球(PBMC)の増殖を誘導する。PBMC増殖は、健康なドナーからPBMCを単離し、200µLのRPMI中、試験抗体の存在下又は非存在下において、平底96ウェルプレート中1×10<sup>5</sup>細胞/ウェルで培養することによって評価できる。37℃で4日間インキュベートした後、30µLの<sup>3</sup>H-チミジン(16.7µCi/mL)を加え、培養を一晩継続してよい。<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みは、Packard Cobraガンマカウンター(Packard Instruments (Meriden, DT, USA))を取扱説明書に沿って用いて評価できる。データは、数人のドナーから得られたPBMCの平均cpm(±SEM)として計算できる。試験抗体の存在下又は比存在下で培養されたサンプル間の統計的有意性又は非有意性は、標準的方法を用いて計算する。

20

#### 【0137】

本発明の方法で使用できる代表的な抗CD38抗体は、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)である。DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)は、それぞれ配列番号4及び5に示される重鎖可変領域(VH)及び軽鎖可変領域(VL)のアミノ酸配列、それぞれ配列番号6、7及び8の重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、HCDR2及びHCDR3、並びにそれぞれ配列番号9、10及び11の軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、LCDR2及びLCDR3を含み、ダラツムマブはIgG1/サブタイプのものであり、米国特許第7,829,693号に記載されている。DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)重鎖のアミノ酸配列は、配列番号12に示され、軽鎖のアミノ酸最列は、配列番号13に示されている。

30

#### 【0138】

いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する抗体は、配列番号4の重鎖可変領域(VH)及び配列番号5の軽鎖可変領域(VL)を含む抗体と、CD38への結合に関して競合する。

#### 【0139】

いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する抗体は、ヒトCD38(配列番号1)の領域SKRNIQFSCKNIR(配列番号2)、及び領域EKVQTL EAWVIHGG(配列番号3)に少なくとも結合する。

40

#### 【0140】

配列番号1

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

50

【 0 1 4 1 】

配列番号 2

S K R N I Q F S C K N I Y R

【 0 1 4 2 】

配列番号 3

E K V Q T L E A W V I H G G

【 0 1 4 3 】

配列番号 4

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

10

【 0 1 4 4 】

配列番号 5

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

【 0 1 4 5 】

配列番号 6

S F A M S

20

【 0 1 4 6 】

配列番号 7

A I S G S G G G T Y Y A D S V K G

【 0 1 4 7 】

配列番号 8

D K I L W F G E P V F D Y

【 0 1 4 8 】

配列番号 9

R A S Q S V S S Y L A

【 0 1 4 9 】

30

配列番号 10

D A S N R A T

【 0 1 5 0 】

配列番号 11

Q Q R S N W P P T F

【 0 1 5 1 】

配列番号 12

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

40

【 0 1 5 2 】

50

## 配列番号 13

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

## 【0153】

抗体は、周知の *in vitro* 法を用いて、CD38 への結合に関して、配列番号4のVH及び配列番号5のVLを有するDARZALEX（商標）（グラツムマブ）などの参照抗体との競合について評価され得る。代表的な方法では、CD38を組換え的に発現するCHO細胞を、非標識参照抗体と4で15分間インキュベートし、その後、過剰の蛍光標識された試験抗体と、4で45分間インキュベートしてよい。PBS/BSSA中での洗浄後に、標準的な方法を用いて、フローサイトメトリーによって、蛍光を測定し得る。別の代表的な方法では、ヒトCD38の細胞外部分が、ELISAプレートの表面に被覆され得る。過剰の非標識参照抗体を、約15分間添加することができ、その後ビオチン化試験抗体を添加することができる。PBS/Tween中で洗浄後、試験ビオチン化抗体の結合を、西洋わさびペルオキシダーゼ（HRP）結合ストレプトアビジンと、標準的な方法を用いて検出されたシグナルとを用いて検出し得る。競合アッセイにおいて、参照抗体が標識され、試験抗体が標識されない場合があるということは、容易に明らかである。参照抗体が試験抗体の結合を阻害する、又は試験抗体が、CD38への参照抗体の結合を少なくとも80%、例えば、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%、阻害するときに、試験抗体は参照抗体と競合する。試験抗体のエピトープは、例えば、ペプチドマッピングにより、又は既知の方法を用いる水素/重水素保護アッセイにより、又は結晶構造判定により、更に定義され得る。

## 【0154】

ヒトCD38（配列番号1）の領域SKRN IQFSCKNIYR（配列番号2）及び領域EKVQTLEAWVIHGG（配列番号3）に結合する抗体は、例えば、標準法及び本明細書に記載されるものを用いて、マウスを、配列番号2及び3に示したアミノ酸配列を有するペプチドで免疫化し、例えば、ELISA又は突然変異誘発研究を用いてペプチドに結合するために得た抗体を特徴付けることによって、生成することができる。

## 【0155】

本発明はまた、ヒトCD38（配列番号1）の領域SKRN IQFSCKNIYR（配列番号2）及び領域EKVQTLEAWVIHGG（配列番号3）に結合する抗CD38抗体を、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。本発明の方法で使用される抗体のエピトープは、配列番号2又は配列番号3に示される配列を有する残基の一部又は全部を含む。いくつかの実施形態では、抗体エピトープは、ヒトCD38（配列番号1）の領域SKRN IQFSCKNIYR（配列番号2）における少なくとも1つのアミノ酸と、領域EKVQTLEAWVIHGG（配列番号3）における少なくとも1つのアミノ酸とを含む。いくつかの実施形態では、抗体エピトープは、ヒトCD38（配列番号1）の領域SKRN IQFSCKNIYR（配列番号2）における少なくとも2つのアミノ酸と、領域EKVQTLEAWVIHGG（配列番号3）における少なくとも2つのアミノ酸とを含む。いくつかの実施形態では、抗体エピトープは、ヒトCD38（配列番号1）の領域SKRN IQFSCKNIYR（配列番号2）における少なくとも3つのアミノ酸と、領域EKVQTLEAWVIHGG（配列番号3）における少なくとも3つのアミノ酸とを含む。

## 【0156】

いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する抗体は、それぞれ配列番号6、7及び8のHCDR1、HCDR2及びHCDR3のアミノ酸配列を含む。

## 【 0 1 5 7 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、それぞれ配列番号 9、10 及び 11 の L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 のアミノ酸配列を含む。

## 【 0 1 5 8 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、それぞれ配列番号 6、7、8、9、10 及び 11 の H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 のアミノ酸配列を含む。

## 【 0 1 5 9 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、配列番号 4 と 95%、96%、97%、98%、99% 又は 100% 同一である V H、及び、配列番号 5 と 95%、96%、97%、98%、99% 又は 100% 同一である V L を含む。

10

## 【 0 1 6 0 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む。

## 【 0 1 6 1 】

いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、配列番号 12 の重鎖及び配列番号 13 の軽鎖を含む。

## 【 0 1 6 2 】

本発明の任意の実施形態で利用できるその他例示的な抗 C D 3 8 抗体は次のものである。

## 【 0 1 6 3 】

20

米国特許第 7, 829, 693 号に記載される、それぞれ配列番号 14 及び 15 の V H 配列及び V L 配列を含む m A b 0 0 3。m A b 0 0 3 の V H 及び V L は、I g G 1 / として表現され得る。

## 【 0 1 6 4 】

配列番号 14

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

## 【 0 1 6 5 】

30

配列番号 15

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

## 【 0 1 6 6 】

米国特許第 7, 829, 693 号に記載される、それぞれ配列番号 16 及び 17 の V H 配列及び V L 配列を含む m A b 0 2 4。m A b 0 2 4 の V H 及び V L は、I g G 1 / として表現され得る。

## 【 0 1 6 7 】

配列番号 16

40

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

## 【 0 1 6 8 】

配列番号 17

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

## 【 0 1 6 9 】

50

米国特許第 8, 088, 896 号に記載される、それぞれ配列番号 18 及び 19 の V H 配列及び V L 配列を含む MOR - 202 (MOR - 03087)。MOR - 202 の V H 及び V L は、I g G 1 / として表現され得る。

【0170】

配列番号 18

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

【0171】

配列番号 19

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

【0172】

米国特許第 8, 153, 765 号に記載される、それぞれ配列番号 20 及び 21 の V H 配列及び V L 配列を含む イサツキシマブ。イサツキシマブの V H 及び V L は、I g G 1 / として表現され得る。

【0173】

配列番号 20 :

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

【0174】

配列番号 21

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

【0175】

本発明の方法において使用することができる他の例示的な抗 C D 38 抗体例としては、国際公開第 05 / 103083 号、同第 06 / 125640 号、同第 07 / 042309 号、同第 08 / 047242 号、又は同第 14 / 178820 号に記載されているものが挙げられる。

【0176】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体を、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【0177】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 14 の V H 及び配列番号 15 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体を、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【0178】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 16 の V H 及び配列番号 17 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体を、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【0179】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 18 の V H 及び配列番号 19 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体を、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【0180】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 20 の V H 及び配列番号 21 の V L を含む C

10

20

30

40

50

D 3 8 を特異的に結合する抗体を、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 1 8 1 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は黒色腫である。

【 0 1 8 2 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は肺癌である。

【 0 1 8 3 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は非小細胞肺癌 ( N S C L C ) である。

【 0 1 8 4 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は非扁平上皮 N S C L C である。

10

【 0 1 8 5 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は肺腺癌である。

【 0 1 8 6 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は、腎細胞癌 ( R C C ) ( 例えば、腎明細胞癌又は腎乳頭状細胞癌 ) 、又はその転移巣である。

【 0 1 8 7 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は中皮腫である。

【 0 1 8 8 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は上咽頭癌 ( N P C ) である。

【 0 1 8 9 】

20

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は結腸直腸癌である。

【 0 1 9 0 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は、前立腺癌又は去勢抵抗性前立腺癌である。

【 0 1 9 1 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は胃癌 ( stomach cancer ) である。

【 0 1 9 2 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は卵巣癌である。

【 0 1 9 3 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は胃癌 ( gastric cancer ) である。

【 0 1 9 4 】

30

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は肝癌である。

【 0 1 9 5 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は膵臓癌である。

【 0 1 9 6 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は甲状腺癌である。

【 0 1 9 7 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は頭頸部の扁平上皮癌である。

【 0 1 9 8 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は食道又は胃腸管の癌腫である。

【 0 1 9 9 】

40

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は乳癌である。

【 0 2 0 0 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は卵管癌である。

【 0 2 0 1 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は脳癌である。

【 0 2 0 2 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は尿道癌である。

【 0 2 0 3 】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は尿生殖器癌である。

【 0 2 0 4 】

50

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は子宮内膜症である。

【0205】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は子宮頸癌である。

【0206】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は癌の転移巣である。

【0207】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍は、検出可能なCD38発現を欠いている。

【0208】

周知の方法を用いる、対照と比較、例えば、抗CD38抗体で検出される発現対アイソタイプの対照抗体で検出される発現を比較して、固形腫瘍組織中又は固形腫瘍から単離された細胞上でのCD38発現が統計的に有意でないとき、固形腫瘍は、検出可能なCD38発現を欠いている。

10

【0209】

本発明の方法で使用される抗CD38抗体は、例えば、ファージ提示ライブラリから新たに選択されてもよく、このファージは、ヒト免疫グロブリン又はその一部（例えば、Fab、一本鎖抗体（scFv）、又は対をなさない若しくは対をなす抗体可変領域）を発現するよう遺伝子操作を受けている（Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57~86; Krebs et al., (2001) J Immunol Meth 254:67~84; Vaughan et al., (1996) Nature Biotechnology 14:309~314; Sheets et al., (1998) PITAS (USA) 95:6157~6162; Hoogenboom and Winter, (1991) J Mol Biol 227:381; Marks et al., (1991) J Mol Biol 222:581）。CD38結合可変ドメインは、例えば、Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385~96及び国際公開第09/085462号に記載される、バクテリオファージpIX被覆タンパク質との融合タンパク質として抗体の重鎖及び軽鎖可変領域を発現するファージ提示ライブラリから単離され得る。抗体ライブラリをヒトCD38細胞外ドメインへの結合についてスクリーニングして、得られた陽性クローンの特徴付けを更に行い、Fabはクローンライセートから単離され、その後全長抗体としてクローンされる。ヒト抗体を単離するためのそのようなファージ提示法は、当技術分野にて確立されている。例えば、米国特許第5,223,409号、同第5,403,484号、同第5,571,698号、同第5,427,908号、同第5,580,717号、同第5,969,108号、同第6,172,197号、同第5,885,793号、同第6,521,404号、同第6,544,731号、同第6,555,313号、同第6,582,915号、及び同第6,593,081号を参照されたい。

20

【0210】

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4アイソタイプである。

30

【0211】

抗体のFc部分は、抗体依存性細胞媒介細胞傷害（ADCC）、抗体依存性細胞貪食作用（ADCP）、又は補体依存性細胞傷害（CDC）などの抗体のエフェクター機能を媒介することができる。このような機能は、Fcエフェクタードメイン（複数可）の貪食活性若しくは溶解活性を有する免疫細胞上のFc受容体への結合によって又はFcエフェクタードメイン（複数可）の補体系の成分への結合によって、媒介され得る。通常、Fc結合細胞又は補体成分によって媒介される作用（複数可）は、標的細胞、例えばCD38発現細胞の阻害及び/又は枯渇をもたらす。ヒトIgGアイソタイプである、IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4は、エフェクター機能に関して特異的な能力を呈する。ADCCは、IgG1及びIgG3によって媒介され、ADCPは、IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4によって媒介され、CDCは、IgG1及びIgG3によって媒介され得る。

40

50

## 【0212】

配列番号4のVH及び配列番号5のVLを含む抗体と実質的に同一である抗体は、本発明の方法において用いられ得る。本明細書で使用されるとき、用語「実質的に同一」は、比較される2つの抗体VH又はVLのアミノ酸配列が同一であるか又は「ごくわずかな相違」を有することを意味する。ごくわずかな相違とは、抗体の特性に悪影響を及ぼさない抗体重鎖又は軽鎖における1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15個のアミノ酸の置換である。同一性パーセントは、例えば、Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA)のAlignXモジュールの初期設定を使用するペアワイズアライメントによって決定することができる。本発明のタンパク質配列を問い合わせ配列として用いて、公共又は特許データベースに対する検索を実行して、例えば、関連配列を特定してもよい。そのような検索を実行するために使用される例示的なプログラムは、初期設定を使用する、XBLAST若しくはBLASTPプログラム(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、又はGenomeQuest(商標)(GenomeQuest, Westborough, MA)スイートである。CD38を特異的に結合する抗体に対して行われ得る例示的な置換は、例えば、同様の電荷、疎水性、立体化学特性を有するアミノ酸を用いる保存的置換である。保存的置換はまた、例えば安定性又は親和性といった抗体の特性を向上させるために、又は抗体エフェクターの機能を改善するためにも行われ得る。1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15個のアミノ酸置換が、例えば、抗CD38抗体の重鎖又は軽鎖に対して行われ得る。更に、アラニン・スキニング変異導入法についてこれまでに述べられているように(MacLennan et al., Acta Physiol. Scand. Suppl. 643:55~67, 1998; Sasaki et al., Adv. Biophys. 35:1~24, 1998)、VH又はVL内の任意の天然残基をアラニンで置換することもできる。所望のアミノ酸置換は、そのような置換が望まれる時点で当業者が決定し得る。アミノ酸置換は、例えば、PCR突然変異誘発(米国特許第4,683,195号)によって行うことができる。変異体のライブラリは、周知の方法を用いて、例えば、ランダムコドン(NNK)又は非ランダムコドン、例えば11個のアミノ酸(Ala、Cys、Asp、Glu、Gly、Lys、Asn、Arg、Ser、Tyr、Trp)をコードするDVKコドンを用い、そして所望の特性を有する変異体を求めてのライブラリをスクリーニングすることで生成されてもよい。生成された変異体は、インビトロでのCD38へのそれらの結合、ADCC、ADCP、若しくはアポトーシスを誘発する又はCD38酵素活性を調節するそれらの能力に関して、本明細書に記載される方法を用いて試験することができる。

## 【0213】

いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する抗体は、幅広い親和性(K<sub>D</sub>)でヒトCD38を結合できる。本発明による一実施形態、及び以下に列挙される番号付けされたありとあらゆる実施形態のうちのいくつかの実施形態において、当業者により実施される表面プラズモン共鳴又はKinexa法によって決定されるように、CD38を特異的に結合する抗体は、高い親和性で、例えば、K<sub>D</sub>が約10<sup>-7</sup>M以下、例えばこれらに限定されないが、1~9.9(つまり、1、2、3、4、5、6、7、8、又は9などの任意の範囲又はその範囲内の値)×10<sup>-8</sup>M、10<sup>-9</sup>M、10<sup>-10</sup>M、10<sup>-11</sup>M、10<sup>-12</sup>M、10<sup>-13</sup>M、10<sup>-14</sup>M、10<sup>-15</sup>M、又は任意の範囲若しくはその範囲内の値でCD38に結合する。親和性の1つの例は、1×10<sup>-8</sup>M以下である。親和性の別の1つの例は、1×10<sup>-9</sup>M以下である。

## 【0214】

いくつかの実施形態では、CD38を特異的に結合する抗体は二重特異性抗体である。既存の抗CD38抗体のVL及び/若しくはVH領域、又は、本明細書に記載されるように新たに特定されたVL及びVH領域は、遺伝子操作を受けて二重特異性の全長抗体にされてもよい。このような二重特異性抗体は、米国特許第7,695,936号、国際公開第04/111233号、米国特許出願公開第2010/0015133号、米国特許出願

10

20

30

40

50



公開第 2007/0287170 号、国際公開第 2008/119353 号、米国特許出願公開第 2009/0182127 号、米国特許出願公開第 2010/0286374 号、米国特許出願公開第 2011/0123532 号、国際公開第 2011/131746 号、国際公開第 2011/143545 号、又は、米国特許出願公開第 2012/0149876 号に記載されるような技術を用いて、二重特異性抗体を形成するように、単特異性抗体重鎖間の C H 3 相互作用を調節することによって製造され得る。本発明の抗体の V L 及び / 又は V H 領域が組み込まれ得る付加的な二重特異性構造は、例えば、二重可変ドメイン免疫グロブリン（国際公開第 2009/134776 号）であるか、又はロイシンジッパー若しくはコラーゲン二量化ドメインなど、特異性を有する 2 つの抗体アームを結合するために様々な二量化ドメインを含む構造（国際公開第 2012/022811 号、米国特許第 5,932,448 号、米国特許第 6,833,441 号）である。

10

#### 【0215】

例えば、二重特異性抗体は、国際公開第 2011/131746 号に記載の方法に従って、セルフリー環境での *in vitro* において、2 つの単特異性ホモ二量体抗体の C H 3 領域中に非対称な変異を導入し、ジスルフィド結合を異性化させる還元条件下において、2 つの親単特異性ホモ二量体抗体から二重特異性ヘテロ二量体抗体を形成することにより生成されてもよい。この方法においては、第 1 の単特異性二価抗体（例えば、抗 C D 3 8 抗体）及び第 2 の単特異性二価抗体は、ヘテロ二量体の安定性を促進する C H 3 ドメインにおける特定の置換を有するように遺伝子操作されるが、これらの抗体は、ヒンジ領域におけるシステインがジスルフィド結合異性化を受けるのに十分な還元条件下において共にインキュベートされ、これにより、F a b アーム交換による二重特異性抗体が生成される。インキュベーション条件は、最適には、非還元条件に戻されてもよい。使用され得る例示的な還元剤は、2 - メルカプトエチルアミン（2 - M E A）、ジチオスレイトール（D T T）、ジチオエリスリトール（D T E）、グルタチオン、トリス（2 - カルボキシエチル）ホスフィン（T C E P）、L - システイン、及びベータ - メルカプトエタノール、好ましくは、2 - メルカプトエチルアミン、ジチオスレイトール、及びトリス（2 - カルボキシエチル）ホスフィンからなる群から選択される還元剤である。例えば、少なくとも 20 の温度において、少なくとも 25 m M の 2 - M E A の存在下又は少なくとも 0 . 5 m M のジチオスレイトールの存在下で、p H 5 ~ 8、例えば、p H 7 . 0 又は p H 7 . 4 において、少なくとも 90 分のインキュベーションが使用されてもよい。

20

30

#### 【0216】

二重特異性抗体の第 1 の重鎖及び第 2 の重鎖に使用され得る例示的な C H 3 の変異は、K 409 R 及び / 又は F 405 L である。

#### 【0217】

本発明の方法を用いて、任意の分類に属する動物被験体を治療することができる。このような動物の例としては、ヒト、齧歯類、イヌ、ネコ、及び家畜などの哺乳動物が挙げられる。

#### 【0218】

投与 / 医薬組成物

本発明の方法において、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、C D 3 8 を特異的に結合する抗体と、医薬的に許容される担体と、を含む、好適な医薬組成物中で提供されてよい。担体は、C D 3 8 を特異的に結合する抗体と一緒に投与される希釈剤、補助剤、賦形剤、又はビヒクルであってよい。そのようなビヒクルは、落花生油、大豆油、鉱物油、ゴマ油などの、石油、動物、植物、又は合成物起源のものを含む、水及び油などの液体であってよい。例えば、0 . 4 % 生理食塩水及び 0 . 3 % グリシンを用いてもよい。これらの溶液は滅菌され、一般には粒子状物質を含まない。これらは、通常の周知の滅菌技術（例えば、濾過）によって滅菌することができる。この組成物は、生理学的条件に近づけるために必要とされる医薬的に許容される補助物質、例えば p H 調整剤及び緩衝剤、安定化剤、増粘剤、潤滑剤及び着色剤などを含有することができる。そのような製剤処方中の C D 3 8 を特異的に結合する抗体の濃度は、幅広く異なってもよく、すなわち、約 0 . 5 重量 % 未

40

50

満から、通常は少なくとも約1重量%まで、最大で15又は20重量%、25重量%、30重量%、35重量%、40重量%、45重量%、又は50重量%までであってよく、また、選択される特定の投与方法に従って、必要とされる用量、流体体積、粘度などに主に基づいて選択される。好適なビヒクル及び製剤（他のヒトタンパク質、例えばヒト血清アルブミンを含む）は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Edition, Troy, D. B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691~1092に記載され、特にpp. 958~989を参照されたい。

10

**【0219】**

本発明の方法におけるCD38を特異的に結合する抗体の投与方法は、当該技術分野において周知であるように、非経口投与、例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内又は皮下、肺内、経粘膜（経口、鼻腔内、膣内、直腸）若しくは当業者に理解される他の手段などの任意の好適な経路であり得る。CD38を特異的に結合する抗体は、既知の方法を用いて、腫瘍内に局所送達するためリンパ節ドレーン部位に対して腫瘍内投与してもよい。

**【0220】**

CD38を特異的に結合する抗体は、例えば、静脈内（i.v.）注入又はボラス注射によって非経口的に、筋肉内又は皮下又は腹腔内など任意の好適な経路によって患者に投与することができる。静脈内注入は、例えば、15、30、60、90、120、180、若しくは240分にわたって、又は1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、若しくは12時間にわたって実施されてもよい。

20

**【0221】**

患者に投与される用量は、治療される疾患を緩和するか又は少なくとも部分的に停止するのに十分（「治療的に有効な量」）であり、時には、0.005mg~約100mg/kg、例えば、約0.05mg~約30mg/kg、又は約5mg~約25mg/kg、又は約4mg/kg、約8mg/kg、約16mg/kg若しくは約24mg/kg、又は例えば約1、2、3、4、5、6、7、8、9若しくは10mg/kgであってもよいが、更により高い量、例えば約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40、50、60、70、80、90若しくは100mg/kgであ

30

**【0222】**

例えば、50、100、200、500、又は1000mgの固定単位用量が与えられるか、又は患者の表面積に基づいて例えば、500、400、300、250、200、若しくは100mg/m<sup>2</sup>の用量で与えられてもよい。通常、1~8の用量（例えば、1、2、3、4、5、6、7、又は8）が投与され得るが、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれよりも高い用量を投与することが可能である。

**【0223】**

本発明の方法におけるCD38を特異的に結合する抗体の投与は、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、1ヶ月、5週間、6週間、7週間、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月以上後に繰り返すことができる。治療過程を繰り返すことも可能であり、長期にわたる投与も同様に可能である。繰り返し投与は、同一用量であるか、又は異なる用量であってよい。例えば、本発明の方法におけるCD38を特異的に結合する抗体は、静脈内注入によって、8mg/kg又は16mg/kgで1週間間隔で8週間にわたり投与され、8mg/kg又は16mg/kgで2週間毎に更に16週間の投与が続く、その後、8mg/kg又は16mg/kgで4週間毎による投与を続けることができる。

40

**【0224】**

本発明の方法において、CD38を特異的に結合する抗体は、例えば、週1回を6ヶ月以

50

上など、維持療法によって投与してもよい。

【 0 2 2 5 】

例えば、本発明の方法における C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、24、12、8、6、4、又は2時間毎の単回投与又は分割投与を用いて、若しくはこれらの併用を用いて、約0.1～100mg/kgの量の1日用量として、例えば、1日当たり0.5、0.9、1.0、1.1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、45、50、60、70、80、90又は100mg/kgで、治療開始後、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、又は40日目のうちの少なくとも1日に、あるいは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、又は20週目のうちの少なくとも1週に、あるいはこれらの組み合わせで提供されてもよい。

10

【 0 2 2 6 】

本発明の方法における C D 3 8 を特異的に結合する抗体はまた、癌の進行リスクを低下させ、癌の進行におけるイベントの発生の開始を遅延させ、かつ/又は癌が緩解した際の再発リスクを低下させるために、予防的に投与されてもよい。これは、他の生物学的要因のために、存在することが知られている腫瘍の位置を特定することが難しい患者において特に有用であり得る。

20

【 0 2 2 7 】

本発明の方法における C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、保存用に凍結乾燥し、使用前に好適な担体中で再溶解することができる。この技術は、通常のタンパク調製物に関して有効であることが示されており、周知の凍結乾燥法及び再構成技術を用いることができる。

【 0 2 2 8 】

本発明の方法における C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、第2の治療薬と併用して投与されてよい。

【 0 2 2 9 】

本発明の方法では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、当業者には既知の化学療法薬又は他の抗癌治療法のうち、任意の1つ以上とともに投与されてよい。化学療法薬は、癌の治療に有用な化合物で、増殖阻害薬又は他の細胞傷害性薬が含まれ、アルキル化薬、代謝拮抗薬、抗微小管阻害薬、トポイソメラーゼ阻害薬、受容体型チロシンキナーゼ阻害薬、血管新生抑制薬などが挙げられる。化学療法薬の例として、チオテパ及びシクロホスファミド(cyclophosphamide)(CYTOXAN(登録商標))などのアルキル化薬；ブスルファン、インブrosulfan及びピボスulfanなどのスルホン酸アルキル；ベンゾデパ(benzodopa)、カルボコン、メツレデパ(meturedopa)、及びウレデパ(uredopa)などのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド(triethylenephosphoramidate)、トリエチレンチオホスホラミド(triethylenethiophosphoramidate)及びトリメチロールメラミン(trimethylolomelamine)を含むエチレンイミン及びメチロールメラミン(methylamelamines)；クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド(chlorophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノブエンピキン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア；アクラシノマイシン(aclacinomysins)、アクチノマイシン、アントラマイシン(authramycin)、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カリチアマイシン、カルピシン(carabycin)、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルピシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ミコフェノール

30

40

50

酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン (potfiromycin)、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシンなどの抗生物質；メトトレキサート及び5-FUなどの代謝拮抗薬；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサートなどの葉酸アナログ；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリンアナログ；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジンアナログ；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎系；フォリン酸 (frolinic acid) などの葉酸補充薬；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ピスアントレン；エダトレキサート (edatraxate)；デフォファミン (defofamine)；デメコルチン；ジアジクオン；エフロルニチン (elfornithine)；酢酸エリプチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK (登録商標)；ラゾキサン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニートール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン (gacytosine)；アラビノシド (「Ar a - C」)；シクロホスファミド；チオテパ；パクリタキセル (TAXOL (登録商標))、ドセタキセル (TAXOTERE (登録商標)) 及びこれらのアナログなどのタキソイド又はタキサンファミリーのもの；クロラムブシル；ゲムシタビン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチンなどの白金アナログ；ピンブラスチン；白金；エトボシド (VP-16)；イホスファミド；マイトマイシンC；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ピノレルピン；ナベルピン；ノバントロン；テニボシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロン酸；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害薬RFS 2000；ジフルオロメチルオルニチン (DMFO)；レチノイン酸；エスベラミシン；カベシタビン；NEXAVAR (登録商標) (ソラフェニブ)、SUTENT (登録商標) (スニチニブ)、VOTRIENT (商標) (パゾパニブ)、PALLADIA (商標) (トセラニブ)、ZACTIMA (商標) (バンデタニブ)、RECENTIN (登録商標) (セジラニブ)、レゴラフェニブ (BAY 73-4506)、アキシチニブ (AG013736)、レスタウルチニブ (CEP-701)、TARCEVA (登録商標) (エルロチニブ)、IRESSA (商標) (ゲフィチニブ)、Gilotrif (登録商標) (アフアチニブ)、TYKERB (登録商標) (ラパチニブ)、ネラチニブを含む受容体型チロシンキナーゼ及び/又は血管新生の阻害薬など、並びに医薬的に許容される塩、酸、又は上記のうち任意のものの誘導体が挙げられる。この定義に更に含まれるものは、腫瘍においてホルモンの作用を調節又は阻害するように働く抗ホルモン薬、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、アロマトーゼを阻害する4(5)-イミダゾール、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY 117018、オナプリストン、及びFARESTON (登録商標) (トレミフェン) などの抗エストロゲン薬；並びに、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、リユープロリド、及びゴセレリンなどの抗アンドロゲン薬；並びに、医薬的に許容される塩、酸、又は上記のうち任意のものの誘導体である。Wiemann et al., 1985, Medical Oncology (Calabresi et al., eds.), Chapter 10, McMillan Publishingに開示されるものなどのその他従来の細胞傷害性化合物も、本発明の方法に応用可能である。

#### 【0230】

本発明の方法においてCD38を特異的に結合する抗体と併用して使用できる代表的な薬剤として、チロシンキナーゼ阻害薬、並びにIRESSA (商標) (ゲフィチニブ) 及び

10

20

30

40

50

Tarceva (登録商標) (エルロチニブ) などの癌標的療法、並びにその他HER2、HER3、HER4又はVEGFのアンタゴニストが挙げられる。代表的なHER2アンタゴニストとして、CP-724-714、HERCEPTIN (商標) (トラスツズマブ)、OMNITARG (商標) (ペルツズマブ)、TAK-165、TYKERB (登録商標) (ラパチニブ) (EGFR及びHER2阻害薬)、並びにGW-282974が挙げられる。代表的なHER3アンタゴニストとして、抗Her3抗体 (例えば、米国特許出願公開第2004/0197332号参照) が挙げられる。代表的なHER4アンタゴニストとして、抗HER4 siRNA (例えば、Maatta et al., Mol Biol Cell 17:67~79, 2006参照) が挙げられる。代表的なVEGFアンタゴニストは(Avastin (商標) (ベバシズマブ) である。

10

【0231】

本発明の方法においてCD38を特異的に結合する抗体と併用して使用できる代表的な薬剤として、固形腫瘍の標準治療薬、又は免疫チェックポイント阻害薬が挙げられる。

【0232】

本発明の方法における第2の治療薬は、免疫チェックポイント阻害薬であってよい。

【0233】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、抗LAG3抗体、抗TIM3抗体、又は抗CTLA-4抗体である。

【0234】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は、アンタゴニスト抗PD-1抗体、アンタゴニスト抗PD-L1抗体、アンタゴニスト抗PD-L2抗体、アンタゴニスト抗LAG3抗体、又はアンタゴニスト抗TIM3抗体である。

20

【0235】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は抗PD-1抗体である。

【0236】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は抗PD-L1抗体である。

【0237】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は抗PD-L2抗体である。

【0238】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は抗LAG3抗体である。

30

【0239】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は抗TIM3抗体である。

【0240】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害薬は抗CTLA-4抗体である。

【0241】

任意のアンタゴニスト抗PD-1抗体を、本発明の方法で使用してよい。使用できる代表的な抗PD-1抗体は、OPVIDO (登録商標) (ニボルマブ) 及びKEYTRUDA (登録商標) (ペンブロリズマブ) である。OPVIDO (登録商標) (ニボルマブ) は、例えば米国特許第8,008,449号 (抗体5C4) に記載されており、配列番号24のVH及び配列番号25のVLを含む。KEYTRUDA (登録商標) (ペンブロリズマブ) は、例えば米国特許第8,354,509号に記載されており、配列番号22のVH及び配列番号23のVLを含む。ニボルマブ及びペンブロリズマブのアミノ酸配列も、CAS登録によって入手可能である。使用できる追加のPD-1抗体は、米国特許第7,332,582号、米国特許出願公開第2014/0044738号、国際公開第2014/17966号及び米国特許出願公開第2014/0356363号に記載されている。

40

【0242】

「アンタゴニスト」は、細胞タンパク質に結合すると、そのタンパク質の天然リガンドによって誘導される少なくとも1つの反応又は活性を抑制する分子を指す。少なくとも1つの反応若しくは活性が、アンタゴニスト非存在下 (例えば、陰性対照) で抑制される少な

50

くとも1つの反応若しくは活性よりも、少なくとも約30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、若しくは100%阻害されるとき、又は、アンタゴニスト非存在下での抑制と比較してその抑制が統計的に有意であるとき、分子はアンタゴニストである。アンタゴニストは、抗体、可溶性リガンド、低分子、DNA又は、siRNAなどのRNAであってよい。例えばPD-1によって誘導される典型的な反応又は活性は、その受容体であるPD-L1又はPD-L2への結合により、抗原特異的CD4<sup>+</sup>若しくはCD8<sup>+</sup>細胞増殖が減少し得る、又は、T細胞によるインターフェロン- $\gamma$ （IFN- $\gamma$ ）産生が減少し得ることであり、例えば腫瘍に対する免疫応答の抑制をもたらす。TIM-3によって誘導される典型的な反応又は活性は、その受容体、例えばガレクチン-9への結合により、抗原特異的CD4<sup>+</sup>若しくはCD8<sup>+</sup>細胞増殖が減少し得る、T細胞によるIFN- $\gamma$ 産生が減少し得る、又は、CD137の表面発現（CD4<sup>+</sup>若しくはCD8<sup>+</sup>細胞上の）が減少し得ることであり、例えば腫瘍に対する免疫応答の抑制をもたらす。したがって、PD-1に特異的に結合するアンタゴニストPD-1抗体、アンタゴニストPD-L2、TIM-3に特異的に結合するアンタゴニスト抗体は、抑制経路を阻害することによって免疫応答を誘導する。

10

【0243】

配列番号22

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQA  
PGQGLEWMGGINPSNGGTNFKNEKFKNRVTLTSTDSTTTAY  
MELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFQYWGQGTTVTVSS

20

【0244】

配列番号23

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWY  
QQKPGQAPRLLIYLAASYLESQVPAARFSGSGSGTDFTLTIS  
SLEPEDFAVYYCQHSRDLP LTFGGGTKEIK

【0245】

配列番号24

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQA  
PGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLF  
LQMNSLRAEDTAVYYCATNDQYWGQGT LVT VSS

30

【0246】

配列番号25

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP  
GQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEP  
EDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKEIK

【0247】

免疫応答を増強する抗PD-L1抗体を、本発明の方法で使用してよい（例えば、アンタゴニスト抗PD-L1抗体）。使用できる代表的な抗PD-L1抗体は、デュルバルマブ、アテゾリズマブ及びアベルマブ、並びに、例えば、米国特許出願公開第2009/0055944号、米国特許第8,552,154号、同第8,217,149号、及び同第8,779,108号に記載されるものである。

40

【0248】

デュルバルマブは、配列番号26のVH及び配列番号27のVLを含む。

【0249】

アテゾリズマブは、配列番号28のVH及び配列番号29のVLを含む。

【0250】

アベルマブは、配列番号30のVH及び配列番号31のVLを含む。

【0251】

配列番号26

EVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQ

50

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

【 0 2 5 2 】

配列番号 2 7

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

【 0 2 5 3 】

配列番号 2 8

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

【 0 2 5 4 】

配列番号 2 9

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

【 0 2 5 5 】

配列番号 3 0

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

【 0 2 5 6 】

配列番号 3 1

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

【 0 2 5 7 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 2 4 の V H 及び配列番号 2 5 の V L を含む抗 P D  
- 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与するこ  
とを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 5 8 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 2 2 の V H 及び配列番号 2 3 の V L を含む抗 P D  
- 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与するこ  
とを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 5 9 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 2 6 の V H 及び配列番号 2 7 の V L を含む抗 P D  
- L 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与する  
ことを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 6 0 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 2 8 の V H 及び配列番号 2 9 の V L を含む抗 P D  
- L 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与する  
ことを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 6 1 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3

10

20

30

40

50

8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 30 の V H 及び配列番号 31 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【0262】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 24 の V H 及び配列番号 25 の V L を含む抗 P D - 1 抗体と併用して、免疫応答の増強に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、患者の免疫応答を増強する方法も提供する。

【0263】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 22 の V H 及び配列番号 23 の V L を含む抗 P D - 1 抗体と併用して、免疫応答の増強に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、患者の免疫応答を増強する方法も提供する。

10

【0264】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 26 の V H 及び配列番号 27 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して、免疫応答の増強に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、患者の免疫応答を増強する方法も提供する。

【0265】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 28 の V H 及び配列番号 29 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して、免疫応答の増強に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、患者の免疫応答を増強する方法も提供する。

20

【0266】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 30 の V H 及び配列番号 31 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して、免疫応答の増強に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、患者の免疫応答を増強する方法も提供する。

【0267】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - 1 抗体と併用して、結腸直腸癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、結腸直腸癌を有する患者を治療する方法も提供する。

30

【0268】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - L 1 抗体と併用して、結腸直腸癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、結腸直腸癌を有する患者を治療する方法も提供する。

【0269】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - L 2 抗体と併用して、結腸直腸癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、結腸直腸癌を有する患者を治療する方法も提供する。

40

【0270】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - 1 抗体と併用して、肺癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、肺癌を有する患者を治療する方法も提供する。

【0271】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - L 1 抗体と併用して、肺癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、肺癌を有する患者を治療する方法も提供する。

【0272】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト

50



抗 P D - L 2 抗体と併用して、肺癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、肺癌を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 7 3 】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - 1 抗体と併用して、前立腺癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、前立腺癌を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 7 4 】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - L 1 抗体と併用して、前立腺癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、前立腺癌を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 7 5 】

本発明はまた、治療的に有効な量の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、アンタゴニスト抗 P D - L 2 抗体と併用して、前立腺癌の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、前立腺癌を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 7 6 】

免疫応答を増強する抗 L A G - 3 抗体を、本発明の方法で使用してよい。使用できる代表的な抗 L A G - 3 抗体は、例えば、国際公開第 2 0 1 0 / 0 1 9 5 7 0 号に記載されるものである。

【 0 2 7 7 】

免疫応答を増強する抗 C T L A - 4 抗体を、本発明の方法で使用してよい。使用できる代表的な抗 C T L A - 4 抗体は、イピリムマブである。

【 0 2 7 8 】

本発明の方法で使用できる抗 P D - 1、抗 P D - L 1、抗 P D - L 2、抗 L A G 3、抗 T I M 3 及び抗 C T L A - 4 抗体は、本明細書に記載される方法を用いて新たに生成されてもよい。

【 0 2 7 9 】

いくつかの実施形態では、配列番号 3 2 の V H 及び配列番号 3 3 の V L を含む抗 P D 1 抗体を使用してよい。

【 0 2 8 0 】

いくつかの実施形態では、配列番号 3 4 の V H 及び配列番号 3 5 の V L を含む抗 P D 1 抗体を使用してよい。

【 0 2 8 1 】

いくつかの実施形態では、配列番号 3 6 の V H 及び配列番号 3 7 の V L を含む抗 T I M - 3 抗体を使用してよい。

【 0 2 8 2 】

いくつかの実施形態では、配列番号 3 8 の V H 及び配列番号 3 9 の V L を含む抗 T I M - 3 抗体を使用してよい。

【 0 2 8 3 】

配列番号 3 2

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

【 0 2 8 4 】

配列番号 3 3

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

【 0 2 8 5 】

配列番号 3 4

10

20

30

40

50

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

【 0 2 8 6 】

配列番号 3 5

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

【 0 2 8 7 】

配列番号 3 6

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

【 0 2 8 8 】

配列番号 3 7

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

【 0 2 8 9 】

配列番号 3 8

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

【 0 2 9 0 】

配列番号 3 9

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

【 0 2 9 1 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 3 2 の V H 及び配列番号 3 3 の V L を含む抗 P D  
- 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与するこ  
とを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 9 2 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 3 4 の V H 及び配列番号 3 5 の V L を含む抗 P D  
- 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与するこ  
とを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 9 3 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 3 6 の V H 及び配列番号 3 7 の V L を含む抗 T I  
M - 3 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与す  
ることを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 9 4 】

本発明はまた、治療的に有効な量の配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 3  
8 を特異的に結合する抗体を、配列番号 3 8 の V H 及び配列番号 3 9 の V L を含む抗 T I  
M - 3 1 抗体と併用して、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与す  
ることを含む、固形腫瘍を有する患者を治療する方法も提供する。

【 0 2 9 5 】

10

20

30

40

50

本発明の方法では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体及び第 2 の治療薬の併用は、任意の都合のよい時間枠で投与されてよい。例えば、C D 3 8 を特異的に結合する抗体及び第 2 の治療薬は、同日に、更に同じ静脈内注入で患者に投与されてよい。ただし、C D 3 8 を特異的に結合する抗体及び第 2 の治療薬はまた、隔日又は隔週又は隔月などで投与されてもよい。いくつかの実施形態では、C D 3 8 を特異的に結合する抗体及び第 2 の治療薬は、それらが、治療される患者内に検出可能な濃度で同時に（例えば、血清中に）存在する時間内に十分近接して投与されてよい。いくつかの方法では、ある期間にわたる多数の投与回数からなる C D 3 8 を特異的に結合する抗体による一連の治療全体は、多数の投与回数からなる第 2 の治療薬による一連の治療がその後に続くか、又はそれに先立って行われる。1 日、2 日、若しくは数日、又は数週間の回復期間が、C D 3 8 を特異的に結合する抗体の投与と第 2 の治療薬の投与との間に用いられてよい。

10

**【 0 2 9 6 】**

C D 3 8 を特異的に結合する抗体又は C D 3 8 を特異的に結合する抗体と第 2 の治療薬との併用は、任意の形態の放射線療法（体外照射療法、強度変調放射線療法（I M R T）、集束放射療法など）、及び任意の形態の放射線手術（ガンマナイフ、サイバーナイフ、L i n a c、及び組織内放射線照射（例えば、放射性シードの埋め込み、G l i a S i t e バルーン）など）、及び / 又は外科手術とともに投与され得る。

**【 0 2 9 7 】**

用いられ得る合焦放射線照射法には、定位放射線手術、分割定位放射線手術、及び強度変調放射線療法（I M R T）が挙げられる。定位放射線手術が、例えば、脳腫瘍のような場合、周囲の腫瘍のない正常な組織を避けつつ腫瘍のある組織に放射線を精密に送達することを伴うことは明らかである。定位放射線手術により適用される放射線の線量は異なり得るが、典型的には、1 G y ~ 約 3 0 G y であり、例えば 1 ~ 5、1 0、1 5、2 0、2 5、最大 3 0 G y を含む、線量における中間的な範囲を含み得る。非侵襲的な固定デバイスのおかげで、定位放射線は、1 回の治療で送達される必要はない。治療計画は、日々、確実に複製され得、それにより、複数回用に分割した放射線量を送達するのを可能にする。放射線手術が、腫瘍を時間をかけて治療するために用いられた場合、そのような放射線治療法は、「分割定位放射線手術」又は F S R と呼ばれる。対照的に、定位放射線手術とは、1 回のセッションでの処置を指す。分割定位放射線手術は、高い治療率、すなわち、腫瘍細胞を高い比率で殺傷すること、及び正常な組織への低い影響を結果としてもたらし得る。腫瘍及び正常な組織は、高い放射線量を一度に照射するのと、低い放射線量を複数回照射するのに対して、それぞれ異なる反応を見せる。一度に高い放射線量を照射すると、低い放射線量を複数回照射した場合よりも、多くの正常な組織を殺傷する可能性がある。したがって、低い放射線量を複数回照射することで、正常な組織を温存しつつ、より多くの腫瘍細胞を殺傷することができる。分割定位放射線手術により適用される放射線の線量は、1 G y ~ 約 5 0 G y の範囲で変化し得、例えば、1 ~ 5、1 0、1 5、2 0、2 5、3 0、4 0、及び最大 5 0 G y を含む、少分割の線量における中間的な範囲を含み得る。強度変調放射線療法（I M R T）もまた使用され得る。I M R T は、高精度三次元原体照射療法（3 D C R T）のアドバンスモードであり、コンピュータ制御直線加速器を用いて、正確な放射線量を、悪性腫瘍、又は腫瘍内の特定のエリアに送達するものである。3 D C R T においては、それぞれの放射線ビームのプロファイルは、マルチリーフコリメータ（M L C）を用いてビーム方向像（B E V）から標的のプロファイルにフィットするように成形され、それにより、多くのビームを生成する。I M R T は、放射線ビームの強度を、複数の小さな量に変調することにより、放射線量が腫瘍の三次元（3 D）形状により精密に沿うものとなるのを可能にする。したがって I M R T は、周辺の正常で重要な構造への線量を最小化しつつ、より高い放射線量を腫瘍内の領域に集中させることを可能にする。I M R T は、例えば、腫瘍が、例えば、脊髄、主要臓器、又は血管のような脆弱な構造体を包み込んでいる場合、治療容積を、窪んだ腫瘍形状に合わせる能力を改善する。

20

30

40

**【 0 2 9 8 】**

C D 3 8 を特異的に結合する抗体及びヒアルロニダーゼを含む医薬組成物の皮下投与

50

C D 3 8 を特異的に結合する抗体は、C D 3 8 を特異的に結合する抗体と、ヒアルロニダーゼと、を含む医薬組成物として皮下に投与され得る。

【 0 2 9 9 】

皮下投与される医薬組成物中の C D 3 8 を特異的に結合する抗体の濃度は、約 2 0 m g / m L であってよい。

【 0 3 0 0 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 2 0 0 m g ~ 1 , 8 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を含んでよい。

【 0 3 0 1 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 2 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を含んでよい。

10

【 0 3 0 2 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 6 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を含んでよい。

【 0 3 0 3 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 8 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体を含んでよい。

【 0 3 0 4 】

皮下に投与される医薬組成物は、約 3 0 , 0 0 0 U ~ 4 5 , 0 0 0 U のヒアルロニダーゼを含んでよい。

20

【 0 3 0 5 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 2 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体と、約 3 0 , 0 0 0 U のヒアルロニダーゼと、を含んでよい。

【 0 3 0 6 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 8 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体と、約 4 5 , 0 0 0 U のヒアルロニダーゼと、を含んでよい。

【 0 3 0 7 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 6 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体と、約 3 0 , 0 0 0 U のヒアルロニダーゼと、を含んでよい。

【 0 3 0 8 】

皮下投与される医薬組成物は、約 1 , 6 0 0 m g の C D 3 8 を特異的に結合する抗体と、約 4 5 , 0 0 0 U のヒアルロニダーゼと、を含んでよい。

30

【 0 3 0 9 】

皮下に投与される医薬組成物は、配列番号 4 0 のアミノ酸配列を有するヒアルロニダーゼ r H u P H 2 0 を含んでよい。

【 0 3 1 0 】

r H u P H 2 0 は、組換えヒアルロニダーゼ ( H Y L E N E X ( 登録商標 ) 組換え ) であり、国際特許公開第 2 0 0 4 / 0 7 8 1 4 0 号に記載されている。

【 0 3 1 1 】

ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸 ( E C 3 . 2 . 1 . 3 5 ) を分解し、細胞外基質内のヒアルロナンの粘度を低下させ、それによって組織の透過性を高める。

40

【 0 3 1 2 】

配列番号 4 0

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

50

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

【0313】

CD38を特異的に結合する抗体及びヒアルロニダーゼを含む医薬組成物の投与は、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月以上後に繰り返すことができる。治療過程を繰り返すことも可能であり、長期にわたる投与も同様に可能である。繰り返し投与は、同一用量であるか、又は異なる用量であってよい。例えば、CD38を特異的に結合する抗体及びヒアルロニダーゼを含む医薬組成物を、週1回を8週間、続けて2週間に1回を16週間、続けて4週間に1回投与してよい。投与される医薬組成物は、約1,200mgのCD38を特異的に結合する抗体と、約30,000Uのヒアルロニダーゼと、を含んでよく、医薬組成物中のCD38を特異的に結合する抗体の濃度は、約20mg/mLである。投与される医薬組成物は、約1,800mgのCD38を特異的に結合する抗体と、約45,000Uのヒアルロニダーゼと、を含んでよい。投与される医薬組成物は、約1,600mgのCD38を特異的に結合する抗体と、約30,000Uのヒアルロニダーゼと、を含んでよい。投与される医薬組成物は、約1,600mgのCD38を特異的に結合する抗体と、約45,000Uのヒアルロニダーゼと、を含んでよい。

【0314】

CD38を特異的に結合する抗体及びヒアルロニダーゼを含む医薬組成物は、腹部に皮下投与されてよい。

【0315】

CD38を特異的に結合する抗体及びヒアルロニダーゼを含む医薬組成物は、合計量約80mL、90mL、100mL、110mL、又は120mLで投与されてよい。

【0316】

投与には、対象への混合物の投与に先立って、25mM酢酸ナトリウム、60mM塩化ナトリウム、140mM D-マンニトール、0.04%ポリソルベート20、pH5.5中、20mg/mLのCD38を特異的に結合する抗体を、10mM L-ヒスチジン、130mM NaCl、10mM L-メチオニン、0.02%ポリソルベート80、pH6.5中、1.0mg/mL(75~150kU/mL)のrHuPH20と混合してよい。

【0317】

本発明は一般論として記述されてきているが、本発明の実施形態は、特許請求の範囲を限定するように解釈されるべきではない以下の実施例で更に開示される。

【0318】

本発明の更なる実施形態

以下に、本明細書の他の箇所の開示に従う、本発明の更なる実施形態を列举する。本明細書に開示される本発明に関連するものとして上述された本発明の実施形態の特徴は、これらの番号付けされた更なる実施形態のうちの1つ1つにもまた関係する。

1. 固形腫瘍を有する患者の治療に用いるためのCD38を特異的に結合する抗体。
2. 制御性T細胞(Treg)介在性疾患を有する患者の治療に用いるためのCD38を特異的に結合する抗体。
3. 治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を対象に投与することを含む、骨髓由来サプレッサー細胞(MDSC)介在性疾患を有する患者の治療に用いるためのCD38を特異的に結合する抗体。
4. 制御性T細胞(Treg)を、CD38を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、制御性T細胞の活性の抑制に用いるためのCD38を特異的に結合する抗体。

５．骨髄由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）を、ＣＤ３８を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、ＭＤＳＣの活性の抑制に用いるためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

６．ＣＤ３８を特異的に結合する抗体を患者に投与することによって、患者における制御性Ｔ細胞数を低下させることを含む、固形腫瘍を有する患者の治療に用いるためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

７．ＣＤ３８を特異的に結合する抗体を患者に投与することによって、患者における骨髄由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）細胞を低下させることを含む、固形腫瘍を有する患者の治療に用いるためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

８．抗体が患者における免疫応答を誘発する、実施形態１～７のいずれかに従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

10

９．免疫応答がエフェクターＴ細胞（Ｔeff）応答である、実施形態１～８のいずれかに従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１０．Ｔeff応答がＣＤ４＋Ｔ細胞又はＣＤ８＋Ｔ細胞によって媒介される、実施形態１～９のいずれかに従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１１．Ｔeff応答がＣＤ８＋Ｔ細胞によって媒介される、実施形態９又は１０に従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１２．Ｔeff応答が、ＣＤ８＋Ｔ細胞数の増加、ＣＤ８＋Ｔ細胞増殖の増加、Ｔ細胞クローン増殖の増加、ＣＤ８＋メモリー細胞形成の増加、抗原依存性抗体産生の増加、又は、サイトカイン、ケモカイン若しくはインターロイキン産生の増加である、実施形態１～

20

１１のいずれかに従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１３．抗体が免疫サプレッサー細胞の機能を阻害する、実施形態１～１３のいずれかに従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１４．免疫サプレッサー細胞が、制御性Ｔ細胞（Treg）又は骨髄由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）である、実施形態１～１４のいずれかに従って使用するためのＣＤ３８を

特異的に結合する抗体。

１５．Tregが、ＣＤ３＋ＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＣＤ１２７dimＴ細胞である、実施形態１５に従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１６．TregがＣＤ３８を発現する、実施形態１４又は１５に従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

30

１７．Tregの機能がTregの殺傷によって阻害される、実施形態１３～１６のいずれかに従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１８．Tregの殺傷が、ＣＤ３８を特異的に結合している抗体により誘導される、抗体依存性細胞傷害（ADCC）、抗体依存性細胞貪食作用（ADCP）、細胞依存性細胞傷害（CDC）又はアポトーシスによって媒介される、実施形態１７に従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

１９．Tregの殺傷がADCCによって媒介される、実施形態１７又は１８に従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

２０．約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２１％、２２％、２３％、２４％、２５％、２６％、２７％、２８％、２９％、３０％、３１％、３２％、３３％、３４％、３５％、３６％、３７％、３８％、３９％、４０％、４１％、４２％、４３％、４４％、４５％、４６％、４７％、４８％、４９％、５０％、５１％、５２％、５３％、５４％、５５％、５６％、５７％、５８％又は６０％のTregが殺傷される、請求項１７～１９に記載の方法。

40

２１．ＭＤＳＣが、ＣＤ１１b＋HLA-DR-ＣＤ１４-ＣＤ３３＋ＣＤ１５＋細胞である、実施形態１４に従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

２２．ＣＤ１１b＋HLA-DR-ＣＤ１４-ＣＤ３３＋ＣＤ１５＋細胞がＣＤ３８を発現する、実施形態２１に従って使用するためのＣＤ３８を特異的に結合する抗体。

２３．ＭＤＳＣの機能がＭＤＳＣの殺傷によって阻害される、実施形態２１又は２２に従

50

って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

24. M D S C の殺傷が、C D 3 8 を特異的に結合している抗体により誘導される、抗体依存性細胞傷害 ( A D C C )、抗体依存性細胞貪食作用 ( A D C P )、補体依存性細胞傷害 ( C D C ) 又はアポトーシスによって媒介される、実施形態 23 に従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

25. M D S C の殺傷が A D C C によって媒介される、実施形態 23 又は 24 に従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

26. 約 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、21 %、22 %、23 %、24 %、25 %、26 %、27 %、28 %、29 %、30 %、31 %、32 %、33 %、34 %、35 %、36 %、37 %、38 %、39 %、40 %、41 %、42 %、43 %、44 %、45 %、46 %、47 %、48 %、49 %、50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 % 又は 60 % の M D S C が殺傷される、実施形態 23 ~ 25 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

10

27. T e f f 又は免疫サプレッサー細胞が骨髓又は末梢血中に存在する、実施形態 14 ~ 26 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

28. 固形腫瘍が、黒色腫、肺癌、扁平上皮非小細胞肺癌 ( N S C L C )、非扁平上皮 N S C L C、結腸直腸癌、前立腺癌、去勢抵抗性前立腺癌、胃癌 ( stomach cancer )、卵巣癌、胃癌 ( gastric cancer )、肝癌、膵臓癌、甲状腺癌、頭頸部の扁平上皮癌、食道又は胃腸管の癌腫、乳癌、卵管癌、脳癌、尿道癌、尿生殖器癌、子宮内膜症、子宮頸癌、又は癌の転移巣である、実施形態 14 ~ 27 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

20

29. 固形腫瘍が C D 3 8 発現を欠いている、実施形態 1 ~ 28 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

30. 抗体が、配列番号 4 の重鎖可変領域 ( V H ) 及び配列番号 5 の軽鎖可変領域 ( V L ) を含む抗体と、C D 3 8 への結合に関して競合する、実施形態 1 ~ 29 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

31. 抗体が、少なくとも、ヒト C D 3 8 ( 配列番号 1 ) の領域 S K R N I Q F S C K N I Y R ( 配列番号 2 ) 及び領域 E K V Q T L E A W V I H G G ( 配列番号 3 ) に結合する、実施形態 1 ~ 30 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

30

32. 抗体が、それぞれ配列番号 6、7、及び 8 の重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) 1 ( H C D R 1 )、2 ( H C D R 2 ) 及び 3 ( H C D R 3 ) 配列を含む、実施形態 1 ~ 31 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

33. 抗体が、それぞれ配列番号 9、10 及び 11 の軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) 1 ( L C D R 1 )、2 ( L C D R 2 ) 及び 3 ( L C D R 3 ) 配列を含む、実施形態 1 ~ 32 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

34. 抗体が、それぞれ配列番号 6、7、8、9、10 及び 11 の H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2、及び L C D R 3 配列を含む、実施形態 1 ~ 33 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

40

35. 抗体が、配列番号 4 と 95 %、96 %、97 %、98 %、99 % 又は 100 % 同一である V H、及び、配列番号 5 と 95 %、96 %、97 %、98 %、99 % 又は 100 % 同一である V L を含む、実施形態 1 ~ 34 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

36. 抗体が、配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む、実施形態 1 ~ 31 のいずれかに従って使用するための C D 3 8 を特異的に結合する抗体。

37. 抗体が、

- a. 配列番号 14 の V H 及び配列番号 15 の V L、
- b. 配列番号 16 の V H 及び配列番号 17 の V L、
- c. 配列番号 18 の V H 及び配列番号 19 の V L、又は

50

d . 配列番号 20 の V H 及び配列番号 21 の V L の、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む、実施形態 1 ~ 29 のいずれかに従って使用するための C D 38 を特異的に結合する抗体。

38 . 抗 C D 38 抗体が、

a . 配列番号 14 の V H 及び配列番号 15 の V L、

b . 配列番号 16 の V H 及び配列番号 17 の V L、

c . 配列番号 18 の V H 及び配列番号 19 の V L、又は

d . 配列番号 20 の V H 及び配列番号 21 の V L を含む、実施形態 37 に従って使用するための C D 38 を特異的に結合する抗体。

39 . 抗体が、第 2 の治療薬と併用して投与される、実施形態 1 ~ 38 のいずれかに従って使用するための C D 38 を特異的に結合する抗体。

10

40 . 第 2 の治療薬が、化学療法薬、癌標的療法 (targeted anti-cancer therapy)、固形腫瘍の治療用の標準治療薬、又は免疫チェックポイント阻害薬である、実施形態 39 に従って使用するための C D 38 を特異的に結合する抗体。

41 . 免疫チェックポイント阻害薬が、抗 P D - 1 抗体、抗 P D - L 1 抗体、抗 P D - L 2 抗体、抗 L A G 3 抗体、抗 T I M 3 抗体、又は抗 C T L A - 4 抗体である、実施形態 40 に従って使用するための C D 38 を特異的に結合する抗体。

42 . 第 2 の治療薬が、同時に、順次、又は別々に投与される、実施形態 39 に従って使用するための C D 38 を特異的に結合する抗体。

43 . 患者が放射線療法によって治療される、実施形態 39 ~ 42 のいずれかに従って使用するための C D 38 を特異的に結合する抗体。

20

44 . 固形腫瘍を有する患者の治療に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

45 . 抗体が、配列番号 22 の V H 及び配列番号 23 の V L を含む抗 P D - 1 抗体と併用して投与される、固形腫瘍を有する患者の治療に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

46 . 抗体が、配列番号 24 の V H 及び配列番号 25 の V L を含む抗 P D - 1 抗体と併用して投与される、固形腫瘍を有する患者の治療に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

47 . 患者の免疫応答の増強に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

30

48 . 抗体が、配列番号 22 の V H 及び配列番号 23 の V L を含む抗 P D - 1 抗体と併用して投与される、患者の免疫応答の増強に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

49 . 抗体が、配列番号 24 の V H 及び配列番号 25 の V L を含む抗 P D - 1 抗体と併用して投与される、患者の免疫応答の増強に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

50 . 抗体が、配列番号 26 の V H 及び配列番号 27 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して投与される、固形腫瘍を有する患者の治療に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

40

51 . 抗体が、配列番号 28 の V H 及び配列番号 29 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して投与される、固形腫瘍を有する患者の治療に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

52 . 抗体が、配列番号 30 の V H 及び配列番号 31 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して投与される、固形腫瘍を有する患者の治療に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

53 . 抗体が、配列番号 26 の V H 及び配列番号 27 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併用して投与される、患者の免疫応答の増強に使用するための配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む C D 38 を特異的に結合する抗体。

54 . 抗体が、配列番号 28 の V H 及び配列番号 29 の V L を含む抗 P D - L 1 抗体と併

50



用して投与される、患者の免疫応答の増強に使用するための配列番号4のVH及び配列番号5のVLを含むCD38を特異的に結合する抗体。

55. 抗体が、配列番号30のVH及び配列番号31のVLを含む抗PD-L1抗体と併用して投与される、患者の免疫応答の増強に使用するための配列番号4のVH及び配列番号5のVLを含むCD38を特異的に結合する抗体。

#### 【実施例】

#### 【0319】

実施例1. 全般的な材料及び方法

サンプルの採取及び処理

末梢血及び骨髓穿刺液を、初回注入直前の基準値において、及び治療中の特定の時点でヘパリン添加管に採取した。採取24～48時間後に中央検査室に到着すると、サンプルの大部分をリアルタイムフローサイトメトリーを用いて評価した。末梢血単核球(PBMC)を全血から得て、密度勾配遠心分離によって単離し、分析まで凍結して保存した。T細胞活性化、クローン性、及びCD38+Treg抑制アッセイには、凍結PBMCサンプルを用いて、治療前及び後のサンプルを同時に分析した。

#### 【0320】

NK、T、B、骨髓腫細胞(CD138+)及びCD38発現の評価について、予め検証された免疫表現型アッセイを用いて、BARC global central laboratoryにてサンプルのフローサイトメトリー解析を行った。簡潔に言うと、血液サンプル及び骨髓サンプルを次の多蛍光色素抗体パネル、すなわち、細胞系パネル: PerCPCy5.5 - CD19(cloneH1B19; Becton Dickinson[BD])、APC - CD24(SN3; eBioscience)、PC7 - CD3(UCHT-1; Beckman Coulter)、V500 - CD16(3G8; BD)、及びPE - CD56(MY; BD); 制御性T細胞(Treg)パネル: APC - CD25(2A3; BD)、PE - CD127(HIL-7R-M21; BD)、APC-H7 - HLA-DR(G46-6; BD)、及びPerCP - CD4(L200; BD); ナイブ/メモリーT細胞パネル: APC-H7 - CD4(RPA-T4; BD)、PerCP - Cy5.5 - CD8(RPA-T4BD)、PE - CD62L(SK11; BD)、及びAPC - CD45RA(HI100; BD)で染色した。CD38発現は、配列番号14及び配列番号15のVH及びVL配列を有する、米国特許第7,829,693号に記載のAlexa 647標識抗体mAb 003を用いて評価した。血液サンプルを、様々なLyse-wash法を用いて調製した。骨髓穿刺液サンプルについて、膜又は細胞内染色のいずれかを様々な抗体を用いて実施した。末梢血サンプル中の赤血球の溶解にはBecton Dickinson FACSLysing溶液を用い、骨髓穿刺液サンプルの細胞内染色にはInvitrogenのFix and Perm cell permeabilization試薬を用いた。FACS Canto IIフローサイトメーターで染色したサンプルを得て、FacsDiv softwareを用いてデータを解析した。血液サンプル中の免疫細胞集団の絶対数と骨髓サンプル中のリンパ球の割合を、検査した全ての時点で判定した。

#### 【0321】

T細胞受容体(TCR)の配列決定

T細胞の多様性を、TCR再編成のディープシーケンシングによって解析し、PBMCサンプル由来のゲノムDNAを用いてCD8+T細胞のクローン性について評価した。TCRの配列決定は、Adaptive Biotechnologiesが市販しているImmunoSeq(商標)アッセイを用いて実施し、解析を、予め合格したマルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応(PCR)アッセイ(TR2015CRO-V-019)(可変(V)遺伝子(フォワードプライマー)及び結合(J)遺伝子(リバースプライマー)のファミリーを直接的に標的化する、フォワード及びリバースプライマーからなる)を用いて実施した。各V及びJ遺伝子プライマーは、体細胞性に組換えられたTCRを増幅するためのプライミング対として作用し、各プライマーは、特異的な普遍的DNA配列を

10

20

30

40

50

含んでいた。初回PCR増幅後、各増幅産物について、IlluminaによるDNA配列決定に必要な普遍的配列及びアダプター配列を含む、フォワード及びリバースプライマーを用いて2回目の増幅を行った。

#### 【0322】

ウイルス抗原及び同種抗原に対するT細胞応答

患者のPBMCを96ウェルプレートに播き( $2 \times 10^5$ 細胞/ウェル)、ヒトサイトメガロウイルス(CMV)、エプスタイン・バーウイルス(EBV)、及びインフルエンザウイルス由来の23種類の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)クラスIに拘束されたウイルスペプチドカクテル( $2 \mu\text{g/mL}$ ; CEFペプチドプール; PANATECS (登録商標))、又は、同じ数の25 Gyで照射した健康なドナー由来の同種PBMCで5日間刺激した。未刺激のPBMC、及び、抗CD3/CD28をコーティングしたビーズで刺激したPBMCを、それぞれ陰性及び陽性対照として使用した。5日目、細胞を含まない上清のインターフェロン(IFN-)を、サンドイッチ酵素結合免疫吸着測定法(ELISA; ヒトIFN ELISA Ready-SET-Go; eBioscience)によって測定し、T細胞活性化の代替マーカーとして使用した。

10

#### 【0323】

エフェクター細胞機能の制御性T細胞(Treg)抑制: カルボキシフルオレセインサクシニミジル(CFSE)希釈アッセイ

健康なドナー由来のPBMCを、PerCP-Cy5.5-CD3(SK7; BD)、KO-CD45(J33; Beckman Coulter)、V450-CD4(SK3; BD)、PE-CD25(M-A251; BD)、PECy7-CD127(HIL-7R-M21; BD)、及びAPC-CD38(HB-7; BD)で標識し、FACS Aria(BD)でソーティングした。ソーティングしたエフェクター細胞をカルボキシフルオレセインサクシニミジルスズエステル(CFSE; eBioscience)で標識し、RPMI+10%ウシ胎児血清中、CD38<sup>+</sup>Treg又はCD38<sup>-</sup>Treg(Treg対エフェクター細胞比1:1)の存在下又は非存在下で、抗CD3/CD28をコーティングしたビーズを用いて刺激した。72時間後、フローサイトメトリーを行い、CFSEの希釈割合をT細胞増殖の代替として使用した。

20

#### 【0324】

骨髄由来サプレッサー細胞(MDSC)の表現型決定及びDARZALEX(商標)(ダラツムマブ)介在性ADCC

3人の正常で健康なドナー由来のPBMCを、骨髄腫腫瘍細胞系(RPMI8226、U266、H929)と6日間共培養し、顆粒球性MDSC(G-MDSC)(CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD15<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>)の産生について評価した(Gorgun et al., Blood 121:2975~87, 2013に記載)。G-MDSCは、正常で健康なPBMC中に存在しなかったが、3種類の骨髄腫細胞系全てとの共培養後、G-MDSCは、総PBMC集団の5~25%として存在した(データ示さず)。G-MDSCのフローサイトメトリーによる評価に対するゲーティング戦略は、第1ゲートとしてCD11b<sup>+</sup>を含み、続いて、CD14<sup>-</sup>及びHLA-DR<sup>-</sup>のゲーティング、その後、CD15<sup>+</sup>及びCD33<sup>+</sup>のゲーティングが続くものであった。G-MDSCは、CD38発現レベルとDARZALEX(商標)(ダラツムマブ)介在性ADCCに対する感受性について、ソーティングされ、評価された細胞とした。MDSCのADCC/CDCCに対するDARZALEX(商標)(ダラツムマブ)の影響を評価するため、補体又はアイソタイプ対照を含む血清を、ADCCアッセイに加えた。

30

40

#### 【0325】

ナイーブ及びメモリーT細胞分析

DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)の各注入前に、ヘパリン添加末梢血サンプルを患者から得た。末梢血単核球(PBMC)を、フィコール・ハイパック密度勾配遠心分離によって単離し、液体窒素内の冷凍保存用培地(10%ヒト血清及び10%ジメチルスルホキシドを添加したRPMI)中で保存した。FACS分析では、PBMCを解凍し、

50

2 × 10<sup>6</sup> 細胞 / パネルを、0.05% アジド及び0.1% H A S を含むリン酸緩衝生理食塩水 ( P B S ) 中に再懸濁した。

#### 【0326】

##### データ解析

全てのデータ分析及び関連グラフの作成は、Rソフトウェア ( R : A L a n g u a g e a n d E n v i r o n m e n t f o r S t a t i s t i c a l C o m p u t i n g , R D e v e l o p m e n t C o r e T e a m , R F o u n d a t i o n f o r S t a t i s t i c a l C o m p u t i n g , V i e n n a , A u s t r i a , 2 0 1 1 , I S B N 3 - 9 0 0 0 5 1 - 0 7 - 0 <http://www.R-project.org/> ) を独占的に使用して実行した。評価可能な応答を有する全ての治療された対象を、データ分析に含めた。一貫して、レスポンドーは、I R C による最良効果が、s C R、V G P R 及び P R である対象として定義され、ノンレスポンドーは、I R C による最良効果が、M R、S D 及び P D である対象として定義される。

10

#### 【0327】

様々な統計比較として、( i ) レスポンドーとノンレスポンドーとの間の基準値レベル、( i i ) レスポンドー及びノンレスポンドーについて、基準値対治療中、( i i i ) レスポンドーとノンレスポンドーとの間の変化割合、( i v ) 基準値対治療中の変化率を含めた。各比較として、まずは、S h a p i r o - W i l k 検定 ( R o y s t o n ( 1 9 9 5 ) R e m a r k A S R 9 4 : A r e m a r k o n A l g o r i t h m A S 1 8 1 : T h e W t e s t f o r n o r m a l i t y . A p p l i e d S t a t i s t i c s , 4 4 , 5 4 7 ~ 5 5 1 ) を用いる正規性検定が挙げられた。ほぼ例外なく、データが正規分布を有していないことがわかった。差のレベルの検定として、ノンパラメトリックなウィルコクソンの順位和検定 ( H o l l a n d e r a n d W o l f e ( 1 9 7 3 ) , N o n p a r a m e t r i c S t a t i s t i c a l M e t h o d s . N e w Y o r k : J o h n W i l e y & S o n s . P a g e s 2 7 ~ 3 3 ( o n e - s a m p l e ) , 6 8 ~ 7 5 ( t w o - s a m p l e ) 及び B o x - C o x 変換後の t 検定 ( W e i s b e r g , S . ( 2 0 1 4 ) A p p l i e d L i n e a r R e g r e s s i o n , F o u r t h E d i t i o n , W i l e y W i l e y , C h a p t e r 7 ) の両方を実施することが挙げられた。B o x - C o x 変換では、ゼロに等しい値に少数 ( 1 e - 0 7 ) を加えた。全ての場合において、2 回の検定が一致した。ウィルコクソンの順位和検定の p 値は、別途記載のない限り、明細書全体にわたって表中に示される。レスポンドー及びノンレスポンドーについて、基準値対治療中の差について検定するとき、対象について2 群の対応のある検定が行われ、他の全ての場合では、2 群の独立検定が実施された。

20

30

#### 【0328】

様々なリンパ球集団を分析するためのサンプルが、異なる投与スケジュールのために同一時点で採取されなかったため、集団モデリングを実施した。通院の順位について、モデル当てはめを実施した。総及び活性化NK細胞に対する集団モデリングには、折れ棒モデルへの当てはめも含めた ( L u t z e t a l . , 「 S t a t i s t i c a l m o d e l t o e s t i m a t e a t h r e s h o l d d o s e a n d i t s c o n f i d e n c e l i m i t s f o r t h e a n a l y s i s o f s u b l i n e a r d o s e - r e s p o n s e r e l a t i o n s h i p s , e x e m p l i f i e d f o r m u t a g e n i c i t y d a t a . 」 M u t a t i o n R e s e a r c h / G e n e t i c T o x i c o l o g y a n d E n v i r o n m e n t a l M u t a g e n e s i s 6 7 8 . 2 ( 2 0 0 9 ) : 1 1 8 ~ 1 2 2 ) 。変量切片及び傾きを用いる線形混合効果モデルを、B 細胞、T 細胞亜集団、並びに、白血球、単球、好中球、及びリンパ球患者集団データに対して当てはめた ( B a t e s e t a l . , ( 2 0 1 4 ) . 「 l m e 4 : L i n e a r m i x e d - e f f e c t s m o d e l s u s i n g E i g e n a n d S 4 . 」 A r X i v e - p r i n t ; J o u r n a l o f S t a t i s t i c a l S o f t w a r e に投稿、<http://arxiv.org/a>

40

50

b s / \_ 1 4 0 6 . 5 8 2 3 )。治療開始後相対日数 ( A D Y ) において、この線形混合モデリングを行った。対数変換した応答変数に対して、線形混合モデルの当てはめを行った。応答変数値がゼロと等しい場合は、対数尺度でのモデリングが可能になるように、全ての応答変数値に 0 . 1 を加えた。

#### 【 0 3 2 9 】

実施例 2 . 試験 5 4 7 6 7 4 1 4 M M Y 2 0 0 2 のデザイン ( S I R I U S )

試験 5 4 7 6 7 4 1 4 M M Y 2 0 0 2 ( S I R I U S ) での標的集団は、プロテアソーム阻害薬 ( P I ) 及び免疫調節薬 ( I M i D ) を含む少なくとも 3 種類の治療歴を有する、又は P I 及び I M i D に対して二重治療抵抗性を有する進行多発性骨髄腫患者である。主要評価項目 / 最終解析の治療効果判定は、2011 年版 I M W G ガイドラインを用いた、独立審査委員会 ( I R C ) の評価及びコンピュータ化アルゴリズムに基づくものとした ( 治験総括報告書 : 少なくとも 3 種類の治療歴 ( プロテアソーム阻害薬及び I M i D を含む ) がある、又はプロテアソーム阻害薬及び I M i D に対して二重治療抵抗性である多発性骨髄腫を有する対象における、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) の有効性及び安全性を調べる非盲検多施設第 2 相試験 ( E D M S - E R I - 9 2 3 9 9 9 2 2 ; d e W e e r s e t a l . , ( 2 0 1 1 ) J I m m u n o l 1 8 6 ( 3 ) : 1 8 4 0 ~ 1 8 4 8 ) )。

#### 【 0 3 3 0 】

これらの評価には、全奏成功率 ( O R R )、奏功期間、奏功及び最良効果までの期間、臨床的有用性、無増悪期間 ( T T P )、無増悪生存期間 ( P F S )、及び全生存期間 ( O S ) を含めた。

#### 【 0 3 3 1 】

この試験では、合計 1 2 4 例の対象を、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) で治療した ( d e W e e r s e t a l . , ( 2 0 1 1 ) J I m m u n o l 1 8 6 ( 3 ) : 1 8 4 0 ~ 1 8 4 8 )。1 8 例の対象を 8 m g / k g で治療し、1 0 6 例の対象を 1 6 m g / k g で治療した。投与スケジュールは次の通りとした。

#### 【 0 3 3 2 】

A 群 : D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) 1 6 m g / k g : 1 及び 2 サイクル目、1、8、15、及び 22 日目 ( 毎週 )、3 ~ 6 サイクル目、1 及び 15 日目 ( 隔週 )、7 サイクル目以降、1 日目 ( 4 週毎 )。それぞれのサイクルは 4 週間とした。

#### 【 0 3 3 3 】

B 群 : D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) 8 m g / k g : 1 サイクル目以降、1 日目 ( 4 週毎 )。

#### 【 0 3 3 4 】

この試験の主目的は、P I 及び I M i D を含む少なくとも 3 種類の治療歴がある、又はその疾患が P I 及び I M i D の両方に対して二重治療抵抗性である多発性骨髄腫を有する対象において、O R R ( C R + P R ) で測定するときの D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) の 2 種類の治療レジメンの有効性を判定することであった ( 治験総括報告書 : 少なくとも 3 種類の治療歴 ( プロテアソーム阻害薬及び I M i D を含む ) がある、又はプロテアソーム阻害薬及び I M i D に対して二重治療抵抗性である多発性骨髄腫を有する対象における、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) の有効性及び安全性を調べる非盲検多施設第 2 相試験。E D M S - E R I - 9 2 3 9 9 9 2 2 )。

#### 【 0 3 3 5 】

この試験の副次的目的は、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) の安全性及び忍容性の評価、薬物動態、免疫原性、薬力学の評価を伴う、追加の有効性評価 ( 例えば、臨床的有用性、T T P、P F S、及び O S ) の実証、並びに、D A R Z A L E X ( 商標 ) ( ダラツムマブ ) に対する応答を予測するバイオマーカーを探索することが挙げられた。試験に関連する更なる情報は、治験実施計画書 ( 治験総括報告書 : 少なくとも 3 種類の治療歴 ( プロテアソーム阻害薬及び I M i D を含む ) がある、又はプロテアソーム阻害薬及び I M i D に対して二重治療抵抗性である多発性骨髄腫を有する対象における、D A R Z A L

10

20

30

40

50

E X ( 商 標 ) ( ダ ラ ツ ム マ ブ ) の 有 効 性 及 び 安 全 性 を 調 べ る 非 盲 検 多 施 設 第 2 相 試 験 。 E D M S - E R I - 9 2 3 9 9 9 2 2 ) から 確 認 で き る 。

【 0 3 3 6 】

パ ー ト 1 の ス テ ー ジ 1 で は 、 8 m g / k g 群 で 1 例 の 対 象 ( 6 % ) が 応 答 し 、 1 6 m g / k g 群 で 5 例 の 対 象 ( 3 1 % ) が 応 答 し た 。 し た が っ て 、 1 6 m g / k g 群 の み を パ ー ト 1 の ス テ ー ジ 2 、 及 び パ ー ト 2 に 展 開 し た 。

【 0 3 3 7 】

1 6 m g / k g 群 で は 、 3 1 例 の 対 象 で I R C 評 価 に 基 づ く P R 以 上 の 応 答 を 達 成 し 、 O R R は 2 9 % で あ っ た ( 9 5 % C I : 2 1 % 、 3 9 % ) 。 3 例 の 対 象 ( 3 % ) が s C R を 達 成 し 、 1 3 例 の 対 象 ( 1 2 % ) が V G P R 以 上 を 達 成 し た 。

10

【 0 3 3 8 】

実 施 例 3 . 5 4 7 6 7 4 1 4 M M Y 2 0 0 2 試 験 ( S I R I U S ) に 組 み 入 れ ら れ た 患 者 に お け る 、 T 細 胞 の 増 殖 及 び 活 性 に 対 す る D A R Z A L E X ( 商 標 ) ( ダ ラ ツ ム マ ブ ) の 効 果

C D 3 8 は 、 様 々 な 免 疫 細 胞 及 び 造 血 細 胞 で 発 現 し て い る 。 フ ロ ー サ イ ト メ ト リ ー に よ っ て 幅 広 い 免 疫 プ ロ フ ァ イ リ ン グ を 行 い 、 免 疫 細 胞 サ ブ セ ッ ト に 対 す る D A R Z A L E X ( 商 標 ) ( ダ ラ ツ ム マ ブ ) の 効 果 と 、 こ れ ら の 細 胞 の 基 準 値 レ ベ ル の 臨 床 反 応 と の 関 連 性 を 調 べ た 。 T 細 胞 ( C D 3 + 、 C D 4 + 、 C D 8 + 及 び 制 御 性 T 細 胞 ( T r e g ) ) 、 B 細 胞 ( C D 1 9 + ) 、 N K 細 胞 、 単 球 ( C D 1 4 + ) 、 白 血 球 、 及 び 好 中 球 な ど の 様 々 な 細 胞 集 団 を 、 基 準 値 及 び D A R Z A L E X ( 商 標 ) ( ダ ラ ツ ム マ ブ ) 治 療 後 に お け る 末 梢 血 及 び 骨 髄 穿 刺 液 の フ ロ ー サ イ ト メ ト リ ー に よ っ て 評 価 し 、 レ ス ポ ン ダ ー 及 び ノ ン レ ス ポ ン ダ ー に お け る こ れ ら の 細 胞 集 団 の 変 化 に つ い て モ ニ タ リ ン グ し た 。

20

【 0 3 3 9 】

リンパ球、白血球、単球及び好中球

白 血 球 、 リ ン パ 球 、 単 球 、 及 び 好 中 球 数 を 、 レ ス ポ ン ダ ー 及 び ノ ン レ ス ポ ン ダ ー の 末 梢 血 中 で 調 べ た 。 レ ス ポ ン ダ ー に お い て 、 8 m g / k g 及 び 1 6 m g / k g 用 量 の 両 方 の D A R Z A L E X ( 商 標 ) ( ダ ラ ツ ム マ ブ ) 治 療 に よ っ て 総 リ ン パ 球 が 上 昇 し た こ と が わ か っ た ( 図 1 ) 。 線 形 混 合 効 果 モ デ リ ン グ に よ り 、 1 0 0 日 間 当 たり 対 数 尺 度 に お い て  $0.8 \times 10^6$  細 胞 /  $\mu$  L の 増 加 が 明 ら か と な っ た ( C I = 0.06 、 0.11 ) 。 単 球 及 び 白 血 球 で は 、 そ れ ぞ れ 各 1 0 0 日 間 に つ き 、 対 数 尺 度 に お い て  $0.03 \times 10^6$  細 胞 /  $\mu$  L ( C I = 0.01 、 0.04 ) 、 及 び 、  $0.03 \times 10^6$  細 胞 /  $\mu$  L ( C I = 0.01 、 0.05 ) の 有 意 な 増 加 を 伴 っ て 、 わ ず か な 増 加 が 確 認 さ れ た 。 好 中 球 数 の 中 央 値 は 基 準 値 と 一 致 し て お り 、 顕 著 に 変 動 し な っ た が 、 一 部 の 患 者 で 好 中 球 減 少 症 が 確 認 さ れ た 。

30

【 0 3 4 0 】

こ れ ら の 細 胞 集 団 の そ れ ぞ れ の 基 準 値 レ ベ ル を 、 応 答 群 間 で 比 較 し た 。 ウ ィ ル コ ク ソ ン の 符 号 順 位 検 定 を 用 い 、 基 準 値 レ ベ ル で は 、 応 答 群 間 に お け る 任 意 の 細 胞 種 の 違 い は 見 ら れ な っ た ( 表 1 ) 。

【 0 3 4 1 】

40

## 【表 1】

表 1.

基準値におけるレスポonder対ノンレスポonderの末梢血細胞数					
	N	中央値	平均(SD)	範囲	P値*
白血球:R	33	4.3	4.32(1.65)	(1.6;8.8)	
白血球:NR	82	4.19	4.77(2.26)	(2.13;13.8)	0.60987
リンパ球:R	33	0.9	1.09(0.59)	(0.27;2.67)	
リンパ球:NR	82	1	1.05(0.55)	(0.3;2.8)	0.85028
単球:R	33	0.43	0.5(0.25)	(0.2;0.97)	
単球:NR	82	0.5	0.51(0.25)	(0.04;1.3)	0.72803
好中球:R	33	2.47	2.54(1.23)	(1.06;5.94)	
好中球:NR	82	2.44	3.05(2.08)	(1;11.7)	0.40373
N:1群当たりのサンプル数					
R:レスポonder					
NR:ノンレスポonder					
*ノンレスポonder対レスポonder					
SD:標準偏差					

## 【0342】

## NK細胞

総NK細胞(CD16+CD56+)及び活性化NK細胞(CD16+CD56dim)は、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療によって経時的に減少した(データ示さず)。

## 【0343】

## B細胞

末梢血又は骨髓穿刺液中のB細胞(CD45+CD3-CD19+)の絶対数を、レスポonder及びノンレスポonderにおいて、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療中、経時的に測定した。B細胞は全血中で若干増加し、骨髓穿刺液中で維持されていた。末梢血中B細胞の線形混合モデリングによって、各100日間につき、対数尺度において最低限の上昇である $0.1 \times 10^6$ 細胞/ $\mu$ Lの増加が明らかとなった[CI=0.04、0.16](DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療の間)。レスポonder又はノンレスポonderのいずれも、ダラツムマブ治療中、骨髓穿刺液中のB細胞(CD45+CD3-CD19+/リンパ球)の割合は変化しなかった(それぞれ、 $p=0.1$ 及び $0.4$ )。更に、レスポonderとノンレスポonder間で、基準値におけるB細胞数の違いは見られなかった( $p=0.5$ )。

## 【0344】

## T細胞

B細胞は最低限の増加を示しただけであるものの(上記参照)、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療(図1)によってリンパ球の増加が確認された。更に調査するため、末梢血及び骨髓の両方において、様々なT細胞集団を調べた(CD3+、CD4+、CD8+T細胞、制御性T細胞)。

## 【0345】

CD3+、CD4+及びCD8+T細胞は、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療後、末梢血(絶対数/ $\mu$ L及びリンパ球の割合の両方)において増加した。図2は、全ての患者における、末梢血中CD3+T細胞(CD45+CD3+)の絶対数の、基準値からの経時変化割合を示す。図中の黒色線は、全患者における絶対数 $\times 10^6$ 細胞/ $\mu$ Lの中央値を示す。3回以上の観察結果を有する通院のみを図に含めた。図3は、全ての患者における、末梢血中CD4+T細胞(CD45+CD3+CD4+)の絶対数の、

基準値からの経時的変化%を示す。図中の黒色線は、全患者における中央値を示す。3回以上の観察結果を有する通院のみを図に含めた。図4は、全ての患者における、末梢血中CD8<sup>+</sup>T細胞(CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>)の絶対数の、基準値からの経時的変化%を示す。図中の黒色線は、全患者における中央値を示す。3回以上の観察結果を有する通院のみを図に含めた。末梢血中絶対数に対する線形混合モデリングにより、平均総T細胞(CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>)の、各100日間につき、対数尺度において $0.13 \times 10^6$ 細胞/ $\mu\text{L}$ の増加(CI = 0.1、0.15)が明らかとなった(DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療後)。CD8<sup>+</sup>T細胞は、各100日間につき、対数尺度において $0.16 \times 10^6$ 細胞/ $\mu\text{L}$ の有意な増加が確認された(CI = 0.13、0.19)。CD4<sup>+</sup>細胞は、各100日間につき、対数尺度において $0.11 \times 10^6$ 細胞/ $\mu\text{L}$ の中程度の増加が確認された(CI = 0.09、0.13)。

10

#### 【0346】

T細胞亜集団それぞれについて、レスポンドーはノンレスポンドーよりも、高い基準値に対する絶対数の最大変化割合を示した(CD3<sup>+</sup>p =  $3.2993 \times 10^{-5}$ ; CD4<sup>+</sup>p =  $3.486 \times 10^{-5}$ ; CD8<sup>+</sup>p =  $2.7172 \times 10^{-5}$ ; 制御性T細胞p = 0.002)。表2は、基準値に対する絶対数の変化割合について、レスポンドーとノンレスポンドーとの間の末梢血中各T細胞亜集団の比較のウィルコクソンの符号順位検定の結果を示す。

#### 【0347】

#### 【表2】

20

表2.

絶対細胞数の変化割合;末梢血					
サンプル	N	中央値	平均(SD)	範囲	P値*
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> :R	33	86.76	118.91 (104.07)	(-16.1; 398.71)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> :NR	80	28.08	43.02 (69.55)	(-67.11; 286.67)	3.30E-05
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> :R	33	72.08	77.74 (60.99)	(-21.05; 233.21)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> :NR	80	19.48	29.36 (59.58)	(-68; 298.89)	3.49E-05
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> :R	33	106.6	180.81 (192.37)	(-7.07; 760.51)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> :NR	80	32.24	63.96 (112.44)	(-66.22; 588.89)	2.72E-05
N:1群当たりのサンプル数					
R:レスポンドー					
NR:ノンレスポンドー					
*レスポンドー対ノンレスポンドー					
SD:標準偏差					

30

40

#### 【0348】

骨髄中でも同様に、総T細胞(CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>、リンパ球の割合として)及びCD8<sup>+</sup>T細胞(CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、リンパ球の割合として)は、レスポンドー及びノンレスポンドーの両方において、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療中に有意に増加したことがわかった(CD3<sup>+</sup>レスポンドーp =  $3.8147 \times 10^{-6}$ 、ノンレスポンドーp =  $9.8225 \times 10^{-5}$ ; CD8<sup>+</sup>レスポンドーp =  $3.8147 \times 10^{-6}$ 、ノンレスポンドーp =  $9.8225 \times 10^{-5}$ )。

50

6、ノンレスポンドー  $p = 0.0003$  )。骨髓中いずれの臨床反応群において、 $CD4^+$  T細胞の中央値は変化しなかった。表3は、骨髓中%リンパ球としての様々なT細胞に対する、ウィルコクソンの符号順位検定の結果を示す。図5は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中の経時的な $CD45^+CD3^+$ 細胞の割合 (%) を示す (レスポンドー及びノンレスポンドーの両方をグラフに含めた)。図6は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中の経時的な $CD45^+CD3^+CD8^+$ 細胞の%を示す (レスポンドー及びノンレスポンドーの両方をグラフに含めた)。

【0349】

【表3】

表3.

骨髓中のT細胞集団 (%リンパ球)					
サンプル		NR: 基準値	NR: 治療中	R: 基準値	R: 治療中
$CD45^+CD3^+$ / リンパ球	N	29	29	19	19
	中央値	72.2	83.6	77.9	91.4
	平均 (SD)	68.57 (13.64)	80.93 (11.57)	71.82 (14.92)	87.67 (9.49)
	範囲	(36.3; 94.5)	(50.9;97.4)	(42.2; 94.8)	(63.3;97.2)
	P値*		$9.8225e-05$		$3.8147e-06$
$CD45^+CD3^+CD4^+$ / リンパ球	N	29	29	19	19
	中央値	33.7	29.2	22.7	22.8
	平均 (SD)	31.24 (12.14)	32.96 (12.57)	24.18 (7.37)	24.29 (9.58)
	範囲	(6.3;54.2)	(9.6;60.9)	(8.1;36.6)	(12.5;45.4)
	P値*		0.18351		0.98432
$CD45^+CD3^+CD8^+$ / リンパ球	N	29	29	19	19
	中央値	36.3	43.3	49.4	66.9
	平均 (SD)	37.39 (13.64)	47.74 (18.14)	46.91 (14.89)	62.82 (12.79)
	範囲	(15.9; 67.2)	(18.5;81)	(24.5; 79.6)	(33.1;83.3)
	P値*		0.00026883		$3.8147e-06$
N: 1群当たりのサンプル数					
R: レスポンドー					
NR: ノンレスポンドー					
*レスポンドー又はノンレスポンドー群について、基準値対治療中					
SD: 標準偏差					

【0350】

レスポンドー及びノンレスポンドーの両群は、末梢血及び骨髓中のT細胞増加を示したが、レスポンドーは、基準値からの変化割合が最も大きかった。レスポンドー又はノンレスポンドーにおいて、 $CD3^+$ 、 $CD4^+$  及び  $CD8^+$  T細胞レベルに差があるかを識別するため、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療に先立ち、各亜群の末梢血中基準測定値を比較した。

【0351】

末梢血中基準値における絶対T細胞数 (表4) 又は骨髓中総リンパ球からのT細胞割合 (表5) において、レスポンドーとノンレスポンドーとの間に統計的に有意な差はなかった (ウィルコクソンの符号順位検定)。



## 【 0 3 5 2 】

## 【表 4】

表 4.

治療前基準値における、末梢血中の絶対細胞数					
サンプル	N	中央値	平均 (SD)	範囲	P 値 *
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> :R	33	574	715.91 (472.54)	(186;2096)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> :NR	80	638	672.5 (426.36)	(85;2407)	0.81527
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> :R	33	190	276.91 (207.39)	(77;1085)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> :NR	80	214	251.61 (146.13)	(21;766)	0.94965
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> :R	33	332	424.55 (324.49)	(93;1238)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> :NR	80	318	398.14 (354.52)	(43;2221)	0.56555
N:1群当たりのサンプル数					
R:レスポnder					
NR:ノンレスポnder					
*細胞種につき、レスポnder対ノンレスポnder					
SD:標準偏差					

10

## 【 0 3 5 3 】

## 【表 5】

表 5.

治療前における、骨髓中T細胞 (%リンパ球)					
サンプル	N	中央値	平均 (SD)	範囲	P 値
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> :R	23	78.4	73.66 (14.43)	(42.2;94.8)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> :NR	65	76.5	73.5 (13.93)	(36.3;94.5)	0.81232
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> :R	23	25	25.57 (8.32)	(8.1;41.4)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> :NR	65	25.3	27.53 (12.76)	(6.3;55.2)	0.76482
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> :R	23	50	47.7 (13.73)	(24.5;79.6)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> :NR	65	44.3	44.73 (15.49)	(15.9;76.1)	0.41678
N:1群当たりのサンプル数					
R:レスポnder					
NR:ノンレスポnder					
*細胞種につき、レスポnder対ノンレスポnder					
SD:標準偏差					

30

## 【 0 3 5 4 】

## T 制御性細胞

Treg 細胞は、サンプル中の CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup>細胞集団として同定された。CD8<sup>+</sup>T 細胞の Treg に対する比率は、DARZALEX (商標) (グラツムマブ) で経時的に治療された患者の末梢血及び骨髓中で評価した。比率は、末梢及び骨髓の両方において増加した。図 7A は、末梢血中、その時点での全ての患者の CD8<sup>+</sup>/Treg 及び CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>細胞比の中央値を示す。図 7B は、骨髓中、その時点での全ての患者の CD8<sup>+</sup>/Treg 及び CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>T 細胞比の中央値を示す。CD8<sup>+</sup>Treg 及び CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>の絶対数比の変化は、治療中経時的に末梢血 (表 6) 及び骨髓 (表 7) において有意であった (ウィルコクソンの符号順位検定)。

40

## 【 0 3 5 5 】

SIRIUS 及び GEN501 試験 (実施例 6) の総合的データ解析では、末梢血中、CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> 及び CD8<sup>+</sup>/Treg 細胞の比率の中央値は、8 週目 (p = 5.1 ×

50

$1.0 \times 10^{-5}$  ( $CD8^{+}/CD4^{+}$ ) 及び  $p = 1.8 \times 10^{-7}$  ( $CD8^{+}/Treg$ )、並びに、16週目 ( $p = 0.00017$  ( $CD8^{+}/CD4^{+}$ ) 及び  $p = 4.1 \times 10^{-7}$  ( $CD8^{+}/Treg$ )) で増加した。同様に、骨髄中では、 $CD8^{+}/CD4^{+}$  及び  $CD8^{+}/Treg$  細胞の比率の中央値は、基準値と比較して、治療中 (12週目  $\pm$  1 サイクル) に増加した ( $p = 0.00016$  ( $CD8^{+}/CD4^{+}$ ) 及び  $p = 2.8 \times 10^{-7}$  ( $CD8^{+}/Treg$ ))。レスポナーとノンレスポナーとの間に有意差は見られなかった。

【0356】

【表6】

表6.

10

末梢血中T細胞比					
サンプル	N	中央値	平均 (SD)	範囲	P値*
$CD8^{+}/CD4^{+}$ : 基準値	66	119.75	191.78 (231.09)	(24.17; 1461.18)	
$CD8^{+}/CD4^{+}$ : C3D1	66	204.86	222.96 (167.44)	(25.53; 867.58)	0.00046409
$CD8^{+}/CD4^{+}$ : C4D1	66	210.05	215.15 (151.31)	(25.86; 798.83)	0.00042154
$CD8^{+}/Treg$ : 基準値	66	1258.33	2338.46 (3465.12)	(206.82; 18550)	
$CD8^{+}/Treg$ : C3D1	66	2326.74	3361.87 (3661.61)	(155; 23066.67)	5.25E-06
$CD8^{+}/Treg$ : C4D1	66	2763.16	3382.86 (3629.69)	(316.67; 22087.5)	9.95E-08
* 基準値との比較; N: 1群当たりのサンプル数; SD: 標準偏差					

20

【0357】

【表7】

表7.

30

骨髄中T細胞比					
サンプル	N	中央値	平均 (SD)	範囲	P値*
$CD8^{+}/CD4^{+}$ (リンパ球): 基準値	31	163.18	184.4 (129.5)	(32.58; 674.58)	
$CD8^{+}/CD4^{+}$ (リンパ球): 治療中	31	221.89	240.85 (155.57)	(30.38; 666.4)	0.0038599
$CD8^{+}/Treg$ (リンパ球): 基準値	30	1219.58	1802.73 (1582.7)	(306.41; 7960)	
$CD8^{+}/Treg$ (リンパ球): 治療中	30	2273.56	3905.72 (4232.73)	(451.22; 20825)	3.15E-07
* 基準値との比較; N: 1群当たりのサンプル数; SD: 標準偏差					

40

【0358】

実施例4. 試験デザイン (GEN501)

試験 GEN501 (NCT00572488) は、二重治療抵抗性MM患者において、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) を単剤療法として評価した。サンプル単離、処理及び統計解析は、実施例1及び実施例2に記載されるものとした。この試験は、Lok

50

horst et al., N Eng J Med 373:1207~19, 2005に記載されている。

【0359】

簡潔に言うと、試験GEN501は、MMを有する対象における、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）のファーストインヒューマン臨床試験であった。これは、2つのパートに分かれた第1/2相用量漸増安全性試験である。パート1は、非盲検用量漸増試験であり、パート2は、パート1で確立した用量レベルを基準とする、複数のコホートを含む非盲検単一群試験である。

【0360】

パート1では、0.005、0.05、0.10、0.50、1、2、4、8、16、及び24mg/kgの10の用量レベルのDARZALEX（商標）（ダラツムマブ）評価した。一番低い2用量のコホートには、それぞれ1(+3)例の対象を割り当て、標準的な3(+3)例の対象の割り当てを、残りの8用量のコホートに適用した。パート2は、2用量レベル、8mg/kg及び16mg/kgを含む、非盲検単一群試験であった。パート1は32例の対象を含め、パート2は72例の対象を含めた。

【0361】

実施例5．DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療は、患者においてT細胞クローン性を誘導する

MY2002試験において、末梢及び骨髄の両方でCD8+T細胞の増殖が確認されたことを考慮し、ImmunoSeq（商標）アッセイを用いてT細胞受容体（TCR）のハイスループット次世代配列決定を行い、CD8+T細胞の増加が、適応免疫応答を示す事実上クローン性であるか否かを判定した。GEN501試験に組み入れられた対象のうち、合計17例の患者サンプルを評価した（n=6がレスポンド、すなわち、PR；n=11がノンレスポンド、すなわち、MR、SD、PD）。

【0362】

TCRの配列決定により、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療により、患者全体にわたってクローン性を有意に増加させることが明らかとなった。図8Aは、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療前対後のT細胞クローン性間の相関関係を示す（ $p=0.0056$ ）。図8Bは、個々の患者におけるクローン性の倍率変化を示す。レスポンドは星印を付けている。このデータは、DARZALEX（商標）（ダラツムマブ）治療によって確認されたT細胞増殖が事実上クローン性であり得ることを示唆している。

【0363】

ノンレスポンドと比較すると、レスポンドでは、TCRレパートリー（存在量変化；CIAとして測定）の総増殖量が大きかった。図8Cは、個々の患者のCIA%を示す。A群：レスポンド、B群：ノンレスポンド。レスポンドとノンレスポンドとの間に統計的有意差が見られた（ $p=0.037$ ）。図8Dは、それぞれの増殖したT細胞クローンについて、レスポンド及びノンレスポンドでの存在量変化（CIA）の絶対値の合計を示す。図8Eは、個々の患者の最大CIA%を示す。A群：レスポンド、B群：ノンレスポンド。レスポンドとノンレスポンドとの間に統計的有意差が見られた（ $p=0.048$ ）。図8Fは、レスポンド（A群）及びノンレスポンド（B群）における、単一T細胞クローンの最大CIAを示す。

【0364】

フィッシャーの正確確率検定（DeWitt et al., J. Virol., 2015）を用い、それぞれの増殖したクローンについて存在量変化の絶対値を合計して、2つのサンプル間のクローン存在量における有意差を同定することによってCIAを得た。

【0365】

実施例6．GEN501試験に組み入れられた患者におけるDARZALEX（商標）（ダラツムマブ）の免疫調節性効果

GEN501に組み入れられたレスポンド及びノンレスポンドにおいて、様々なT及

10

20

30

40

50

びB細胞集団を評価した。

#### 【0366】

リンパ球

SIRIUS (MMY2002) 試験と同様に、リンパ球は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中、末梢血及び骨髄の両方において増加した。この増加は、CD4<sup>+</sup> 及びCD8<sup>+</sup> 細胞の両方の数が増加したことに起因していた。

#### 【0367】

CD8<sup>+</sup> セントラルメモリー細胞

GEN501 試験に組み入れられた17例の患者サブセットにおいて、CD8<sup>+</sup> T細胞表現型を、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) で治療された患者で経時的に検討した。標準的手法を用いて、患者由来のCD8<sup>+</sup> 細胞を、ナイーブ (CD45RO<sup>-</sup> / CD62L<sup>+</sup>) (T<sub>N</sub>) 又はセントラルメモリー (T<sub>CM</sub>) (CD45RO<sup>+</sup> / CD62L<sup>+</sup> high) 細胞として同定した。

10

#### 【0368】

図9Aは、CD8<sup>+</sup> ナイーブ細胞% (CD8<sup>+</sup> 細胞%) を示し、図9Bは、CD8<sup>+</sup> セントラルメモリー細胞%を示す。DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療により、ナイーブCD8<sup>+</sup> T細胞の量が有意に減少し ( $p = 1.82 \times 10^{-4}$ 、8週目時点)、CD8<sup>+</sup> メモリーT細胞の量が有意に増加した ( $p = 4.88 \times 10^{-2}$ 、8週目時点)。これは、ナイーブな細胞傷害性T細胞から、特異的抗原に対して活性化され得るメモリーT細胞への変換を示唆している。白色四角は、少なくとも最小奏功 (MR) を達成した患者を示し、黒色四角は、安定又は進行であった患者を示す。CD8<sup>+</sup> ナイーブT細胞の有意に大幅な減少は、治療に応答した患者において明らかであった (データ示さず)。図9Cは、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療により、ウイルス特異的かつアロ反応性T細胞応答を部分的に促進する、HLAクラスIに拘束されたT細胞の割合が増加したことを示す。図9Dは、低レベルのCD38を発現していたエフェクターメモリーT細胞が増殖していることを示す。これらのT細胞が、ウイルスペプチド及び同種抗原に対し、通常及び更には増加した機能活性を呈することへの留意が重要である (実施例8参照)。これらの機能的結果から、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中に、ウイルス及び同種抗原に対して抗原を経験したT細胞の増加、又は活性の増強があると結論付けた。これらのデータは、制御性細胞サブセットとは異なり、エフェクターT細胞は、適切に機能し、増殖するためにCD38の発現を必要としないことを示唆している。

20

30

#### 【0369】

CD38 陽性制御性T細胞

いくつかの免疫抑制性細胞サブセットがCD38を発現していることを示す最近の文献と合わせて、細胞傷害性T細胞の安定した増殖と活性増強が見られたことによって、制御性細胞集団である制御性T細胞 (T<sub>reg</sub>)、骨髄由来サプレッサー細胞 (MDSC) 及び制御性B細胞 (B<sub>reg</sub>) に対するDARZALEX (商標) (ダラツムマブ) の効果の検討が促された。

#### 【0370】

制御性T細胞 (T<sub>reg</sub>) (CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD127dim) を、標準的手法を用いて単離した。T<sub>reg</sub> の頻度を、フローサイトメトリーを用いて解析した。

40

#### 【0371】

末梢性T<sub>reg</sub>の亜集団 (10% ± 10%) は、T<sub>reg</sub> 活性化前に高レベルのCD38を発現していた。図10Aの上部パネルは、基準値における、CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> 細胞集団 (P4細胞集団) 中のT<sub>reg</sub> の頻度を示す。図10Aの下部パネルは、高CD38を発現しているT<sub>reg</sub> のサブセットを示す (P5細胞集団)。これらのCD38<sup>+</sup> T<sub>reg</sub> は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療に対する反応性が高く、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) の初回用量後、有意かつほぼ速やかな減少を示した ( $n = 17$  例の患者;  $P = 8.88 \times 10^{-16}$ 、基準値に対する1週目時点)。DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療後のT<sub>reg</sub> の頻度を、図10Bの上部パネルに示

50

す (P4 細胞集団)。図 10B の下部パネルは、CD38<sup>high</sup> Treg (P5 細胞) が、初回の DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 注入後、最も有意に枯渇した Treg 集団であったことを示す。これらの CD38<sup>+</sup> Treg は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中枯渇したままであった ( $p = 8.88 \times 10^{-16}$ 、 $1.11 \times 10^{-15}$ 、及び  $1.50 \times 10^{-11}$ 、基準値に対するそれぞれ 1、4、及び 8 週目時点)。図 10C は、基準値、1 週目、4 週目、8 週目、再発、及び治療終了 (EOT) 後の 6 ヶ月目における、CD38<sup>high</sup> Treg % (総 CD3<sup>+</sup> 細胞より) を示す。CD38<sup>high</sup> Treg は、その時点では基準値まで回復していた。CD38<sup>+</sup> Treg の変化は、治療に応答した患者と応答しなかった患者との間で類似していたが、CD38<sup>+</sup> T 細胞 : Treg の比率は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) への応答を示した患者の 8 週目において、有意に高かった ( $P = 0.00955$ ; 図 10D)。

10

#### 【0372】

CD38<sup>+</sup> Treg の枯渇と DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療との考えられる生物学的関連性を評価するため、CD38<sup>+</sup> Treg 対 CD38<sup>-</sup> Treg で、自家 CD3<sup>+</sup> T 細胞に対する抑制能を評価した。複数の健康ドナー由来のサンプルを用いて行った一連の実験において、CD38<sup>+</sup> Treg は、CD38<sup>-</sup> Treg (観察された細胞増殖の 53.2%) 又は陰性対照 (観察された細胞増殖の 74.9%) よりも強く T 細胞増殖を抑制した (観察された細胞増殖の 9.9%) (図 10E)。

#### 【0373】

MDSC は、凍結 PBMC サンプル中で容易に検出可能ではなかったため、CD38<sup>+</sup> 顆粒球性 MDSC (CD11b<sup>+</sup> CD14<sup>-</sup> HLA-DR<sup>-</sup> CD15<sup>+</sup> CD33<sup>+</sup>) を、基準値での患者、及び DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 注入を 1 回受けた患者から単離した PBMC より、*in vitro* で産生させた。図 11 は、同定された MDSC のフローサイトメトリーヒストグラムを示す (図 11、上のヒストグラム、四角で囲んだ細胞集団)。MDSC の約半分が CD38 を発現していた (図 11、中央のグラフ; 円で囲んだ P7 細胞集団)。CD38<sup>high</sup> MDSC は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) で治療された患者ではほぼ枯渇した (図 11、下のグラフ; 円で囲んだ P7 細胞集団)。

20

#### 【0374】

CD38<sup>high</sup> 系非特異的 MDSC は、ノンレスポンダー及び治療に対して少なくとも最小奏功 (Minimal Response) であった患者の両方において、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療により経時的に枯渇した。図 12 は、CD38<sup>high</sup> MDSC の割合が、治療 1 週目、4 週目又は 8 週目の患者において、ほぼ 0% まで減少したことを示す。CD38<sup>high</sup> 系非特異的 MDSC は、治療終了後に基準値まで回復した。

30

#### 【0375】

系非特異的 MDSC 内で最も多く CD38<sup>+</sup> 集団を有する患者は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療に対して最も良好で、最も持続した応答を示した。図 13 は、最も高い CD38<sup>high</sup> MDSC の割合 (図 11 に示す) を有しており、PR 又は MR 患者として分類された患者 2、4、15、16 及び 17 が、少なくとも 8 ヶ月の無増悪生存期間 (PFS) を有していたことを示す。

40

#### 【0376】

また、CD38<sup>high</sup> 系非特異的 MDSC は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 誘発性 ADCC に対しても *in vitro* で感受性があった。ADCC アッセイは、2 人のドナー由来の CD38<sup>high</sup> MDSC、及び対照標的細胞としての Daudi 細胞を、エフェクター : 標的細胞比を 50 : 1 で用いて実施した。図 14 は、1 人のドナーの実験結果を示す。DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) は、MDSC 細胞の溶解を誘発した。

#### 【0377】

CD38<sup>+</sup> Breg を、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) で治療した患者 ( $n = 16$ ) において測定したところ、CD38<sup>+</sup> Treg と同様に、DARZALEX (商

50

標) (ダラツムマブ) の初回用量後に枯渇し ( $p = 0.0018$ 、基準値と比較した1週目時点; 対応のあるウィルコクソンの順位検定)、患者が治療されている間低いままであった (図15A)。FACSでソーティングしたBregは、刺激すると、IL-10を産生した (図15B)。

#### 【0378】

総じて、これらの観察結果は、免疫抑制性CD38<sup>+</sup>MDSC、Breg、及びTregの枯渇は、T細胞集団及びクローン性におけるDARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 誘発性変化を顕著に引き起こすメカニズムであることを示唆している。

#### 【0379】

実施例7. CD38<sup>+</sup>MDSC細胞は癌患者に存在する

10

MDSC (Lin<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>HLA DR<sup>low</sup> / -) の割合及びそれらのCD38発現について、NSCLC又は前立腺癌患者の末梢血を、フローサイトメトリーを用いて検討した。

#### 【0380】

MDSCの割合は、NSCLC及び前立腺癌患者の分析サンプルにおいて、それぞれPBM Cの約10%~37%、約10%~27%であった。CD38発現は、NSCLC患者のPBM C由来のLin<sup>-</sup>CD14<sup>+</sup>HLA DR<sup>-</sup> / low MDSCの80~100%、及び、前立腺癌患者のPBM C由来のMDSCの70~100%で同定された。

#### 【0381】

実施例8. DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) は、抗ウイルスT細胞応答を増強する

20

T細胞活性化及び機能性に対するDARZALEX (商標) (ダラツムマブ) の効果を更に評価するため、ウイルス及び同種抗原に応答した末梢性T細胞からのIFN- $\gamma$ 産生を、様々な臨床成績を有するDARZALEX (商標) (ダラツムマブ) で治療した患者 ( $n = 7$ ) において測定した。PR以上の患者は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療後、基準値と比較して治療中の少なくとも1つの時点において、ウイルス及び同種抗原に応答したIFN- $\gamma$ 分泌の有意な増加を示し、T細胞機能が、CD38の低発現によって損なわれなかったことを示唆している (実施例6、図9C参照)。TCRクローン性データと同様に、この増加は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) に応答した患者において、応答しなかった患者よりも顕著であった。図16Aは、1人の代表的なVGPR患者の抗ウイルス応答を示す。図16Bは、1人の代表的なCR患者の抗ウイルス応答を示す。図16Cは、1人の代表的なPD患者の抗ウイルス応答を示す。図16Dは、1人の代表的なMR患者の抗ウイルス応答を示す。図において、エラーバーは2回繰り返した培養の平均値の標準誤差を示す。アスタリスクは、示された比較間の統計的に有意な変化を意味する。独立審査委員会による最良効果を示す。これらの結果と一致して、VGPR (図16E) 又はCR (図16F) の患者におけるウイルス反応性T細胞は、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 治療中の増殖能の増加を示した。

30

#### 【0382】

実施例9. CD38発現免疫細胞サブタイプのDARZALEX (商標) (ダラツムマブ) に対する感受性メカニズム

40

GEN501及びSIRIUS両試験のデータから、DARZALEX (商標) (ダラツムマブ) 療法により、CD38を発現する一部の免疫細胞が枯渇し (NK細胞、制御性T細胞 (Treg)、制御性B細胞 (Breg)、及び骨髓由来サプレッサー細胞 (MDSC))、一方で、CD38を発現する別の細胞数が増加する (細胞傷害性及びヘルパーT細胞) ことが示された。

#### 【0383】

感受性メカニズムに取り組むため、健康なドナー及びGEN501又はSIRIUS試験に組み入れられた多発性骨髄腫患者において、様々な免疫細胞亜集団のCD38の発現レベルを評価した。図17Aは、健康なドナー由来の免疫細胞における、CD38発現のヒストグラムを示し、図17Bは、多発性骨髄腫患者由来の免疫細胞における、CD38発

50

現のヒストグラムを示す。健康なドナーでは、CD38発現はNK細胞で最も高く、続いて単球、B及びT細胞であった。多発性骨髄腫患者では、CD38発現は形質細胞で最も高く、続いてB細胞、NK細胞、単球、B細胞及びT細胞のサブセットであった。図17Cは、再発及び治療抵抗性骨髄腫患者由来のNK細胞、Treg、Breg、B及びT細胞でのCD38の平均蛍光強度(MFI)の比較を示し、形質細胞の後、NK細胞が最も高いレベルでCD38を発現し、続いて制御性T細胞(Treg)及び制御性B細胞(Breg)であったことを示している。

#### 【0384】

CD38発現に加え、補体阻害性タンパク質(CIP; CD46、CD55、CD59)などの他の細胞表面タンパク質が、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)に対する感受性又は耐性に寄与している場合がある。免疫細胞亜集団に対するCIPの*in vitro*評価により、NK細胞が非常に低レベルのCD59及びCD55を発現している一方で、他のT及びB細胞集団ははるかに高レベルで発現していることがわかった。このことも、免疫細胞サブタイプに対する多様なDARZALEX(商標)(ダラツムマブ)感受性に寄与している可能性がある(データ示さず)。

#### 【0385】

##### 考察

この試験は、これまで知られていなかった、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)の、CD38+免疫抑制性細胞集団の減少と、それに付随するウイルスペプチドに应答するヘルパー及び細胞傷害性T細胞増殖、IFN- $\gamma$ 産生の誘導、及び、改善された適応免疫応答を示すTCRクローン性増加による免疫調節性効果を説明している。

#### 【0386】

この試験は、MDSC及びBregがCD38を発現しており、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療に感受性であったことを示した。これらの細胞は、腫瘍微小環境に存在し、腫瘍増殖、免疫回避、血管新生、転移、及び抑制性サイトカインの産生に寄与していることが知られている。これらのCD38+抑制性細胞サブセットに加えて、こちらにも高レベルのCD38を発現し、優れた自家T細胞抑制能を呈していた、新規亜集団である制御性T細胞(CD4+CD25+CD127<sup>dim</sup>)が同定された。これらの細胞も、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)感受性であり、治療を受けた患者で有意に減少した。これらのCD38+免疫抑制性細胞のDARZALEX(商標)(ダラツムマブ)介在性殺滅は、骨髄腫微小環境内の局所的免疫抑制を低下させ、陽性免疫エフェクター細胞の増殖と、抗腫瘍応答への寄与を可能にできる。

#### 【0387】

実際には、末梢血及び骨髄(すなわち、腫瘍)の両方において、CD4+及びCD8+の両方を含む幅広いT細胞集団の有意な増加が観察された。特異的CD8+亜集団は、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)療法によって変化し、これにはナイーブT細胞の有意な減少と、それに付随するエフェクターメモリーCD8+T細胞の有意な増加が含まれており、抗原を経験した表現型(免疫記憶を保持し、腫瘍抗原に対して反応し得る)へのエフェクターT細胞の移行を示している。CD8+:CD4+及びCD8+:Tregの比率も、治療によって有意に増加し、陰性免疫調節因子に対する陽性への移行を示している。

#### 【0388】

増殖したCD4+及びCD8+T細胞が事実上クローン性であったかどうかを評価するため、T細胞レパトリーを患者サブセットにおいて調べた。T細胞クローン性は、最良効果がSD、又は進行した患者であっても、DARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療で有意に増加した。したがって、T細胞クローン性の増加は、単純に腫瘍量の減少に起因し得ない。しかしながら、T細胞クローン性の歪みは良好な臨床反応の患者で大きく、CD8+T細胞の増加と相関していたことから、観察されたDARZALEX(商標)(ダラツムマブ)治療によるT細胞増殖が抗原によるものであったことが示唆される。このことは、たくさんの予備治療(治療歴の中央値、5回)を受けた患者集団で顕著であり、

10

20

30

40

50

強い抗腫瘍免疫応答を開始できることは期待できない。T C R クローン性の増加に加え、D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) に応答した患者が、予め存在しているウイルス及び同種抗原に対する T 細胞応答の増加を示したことから、免疫系が免疫抑制状態から回復したことが示唆された。

【 0 3 8 9 】

D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) による治療は、免疫抑制性 M D S C、並びに制御性 T 及び B 細胞の減少を引き起こした。これらの減少は、C D 4 + T - ヘルパー細胞及び C D 8 + 細胞傷害性 T 細胞の増殖を伴った。I F N - 産生によって測定される T 細胞クローン性及び機能性抗ウイルス応答も、D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) 治療によって増加した。これらの観察結果は、T 細胞が、低 C D 3 8 発現にも関わらず正しく機能し続けていたことを示し、T 細胞応答の増加が、制御性細胞の枯渇に起因し得ることを示唆している。更に、これら T 細胞増殖、活性、及びクローン性の変化は、D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) に応答しなかった患者と比較して、応答した患者においてより顕著であった。D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) 療法からの再発は、これらの変化の多くの回復と関連していた。このことは、臨床反応及びその有効性に寄与し得る免疫調節を介する、D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) の更なる、これまでに特徴がわかっていない作用機序を示唆している。

10

【 0 3 9 0 】

最近、癌を直接標的化することよりも、抗腫瘍免疫応答を促進する抗体の有効性が様々な分野で明らかとなっている。C T L A - 4 及び P D - 1 を阻害する抗体は、T 細胞増殖を促進し、T 細胞活性化を増強することによって、進行固形腫瘍及びホジキンリンパ腫などの血液悪性疾患患者において、生存期間の延長と、疾患の再発の遅延をもたらす。抗癌免疫性を増強することによって、これらの免疫調節性抗体は、臨床反応を誘発できるだけでなく、疾患再発の予防もできる。

20

【 0 3 9 1 】

実施例 1 0 . 5 4 7 6 7 4 1 4 M M Y 2 0 0 2 ( S I R I U S ) パート 2 臨床試験において、D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) の単剤治療を受けた (traded with) 多発性骨髄腫対象の血清プロテオミクス解析

バイオマーカーサンプルの採取及び処理

末梢血サンプルを標準的な血清分離用管に採取し ( 2 . 5 m L ~ 5 m L )、血清の一部を、多重分析物血清タンパク質プロファイリングのために凍結した状態で S o m a L o g i c , I n c ( B o u l d e r , C O ) に送付した。

30

【 0 3 9 2 】

血清タンパク質プロファイリングは、S O M A m e r という親和性ベースの分子を利用して 1 1 2 9 種類のタンパク質分析物を測定する予め検証された S O M A s c a n アッセイを用いて、S o m a L o g i c にて実施した。S O M A m e r 試薬は、一本鎖 DNA 系タンパク質親和性試薬である。このアッセイは、少量の注入サンプル ( 1 5 0 μ L の血漿 ) を用いて、タンパク質シグナルを、カスタム DNA マイクロアレイによって定量される S O M A m e r シグナルに変換する。

【 0 3 9 3 】

各 S O M A m e r は、次の 4 つの機能性部分を含んでいる。

- 1 . 固有のタンパク質認識配列
- 2 . 捕捉用ビオチン
- 3 . 光切断可能なリンカー
- 4 . 検出用蛍光分子

40

【 0 3 9 4 】

固有のタンパク質認識配列は DNA を使用し、アミノ酸側鎖を模倣する化学修飾したヌクレオチドを組み込んで、標準的なアプタマーの多様性を拡大し、タンパク質 - 核酸相互作用の特異性及び親和性を高めている ( G o l d e t a l . , P L o S O n e 5 : e 1 5 0 0 4 , 2 0 1 0 ) 。アプタマーは、S E L E X によって選択される。S O M A m e

50



r 試薬は、天然高次構造の状態のタンパク質を用いて選択される。このように、SOMAm er 試薬は、未変性のタンパク質三次構造を結合に必要とする。折り畳まれていない又は変性された恐らく不活性のタンパク質は、SOMAm er 試薬によって検出されない。

#### 【0395】

SOMAm er 試薬のマスター混合物は、サンプルタイプ及び希釈によってグルーブ化される。サンプルのインキュベーションに先立ち、試薬をストレプトアビジンビーズに予め結合する。サンプル中のタンパク質を、平衡化中に同種のSOMAm er に結合させ、洗浄し、NHS - ビオチンとインキュベートし、洗浄してから、ビーズをUV光に曝露して光切断可能なリンカーを切断する。溶出液は、ビオチン標識したタンパク質に結合したSOMAm er 試薬を含んでいる。ストレプトアビジン捕捉とその後の洗浄により、未結合のSOMAm er 試薬を除去する。最終溶出液中に、変性条件によって同種タンパク質からSOMAm er 分子が放出される。最終溶出液を、カスタムのAgilent DNA マイクロアレイと、SOMAm er 分子由来のフルオロフォア（相対蛍光単位（RFU）で定量化）にハイブリダイズさせる。RFUは、サンプル中のタンパク質量に比例する。

#### 【0396】

MMY2002試験のサンプルは、2つの主要なバッチにおいて検査した。第1バッチである180のサンプルには、対応する1サイクル目1日目（C1D1、基準値）及びC3D1（3サイクル目1日目）の90例の対象由来の血清サンプルを含めた。この180のサンプルを、3枚の別々のSomaScanプレートで一緒に分析した。第2バッチのサンプルには、バッチ1との35例の重複サンプルを含む、50例C1D1サンプルが含まれる。

#### 【0397】

##### データ解析

##### 入力データセット及び定義

評価可能な応答を有する治療された対象を、データ分析に含めた。この報告全体で一貫して、レスポnderは、全最良効果（MMY2002のIRCによる）がsCR、VGPR、及びPR、安定（SD）である対象、最小奏功（MR）又はSDである対象として定義され、ノンレスポnderは、全最良効果（MMY2002のIRCによる）が進行（PD）である対象として定義される。

#### 【0398】

##### SomaLog ic データの前処理

##### バッチの整列

MMY2002サンプルのバッチ1及び2を、2種類のバージョンのSOMAscanプラットフォームで検査した。2つのバージョン間の違いはわずかであり、バージョン間で変更されている3つのSOMAm er 配列を含んでいた（CTSE：3594 - 6\_\_1 3594 - 6\_\_5、FCN1：3613 - 62\_\_1 3613 - 62\_\_5、BMPER：3654 - 27\_\_1 3654 - 27\_\_4）。これらを解析から除外した。

#### 【0399】

3枚のバッチ1のプレートの測定は、SomaLog icの標準的なプレート間校正の流れに従って、マスター混合物特異的包括基準値の7ヶ所のプレート内対照標準物質測定値の中央値に対する比率を計算することによって、各SOMAm erの全プレート校正倍率を定めることにより整列させた。各SOMAm er 試薬のプレート特異的倍率を、プレート上の各サンプルに同等に適用した。

#### 【0400】

バッチ1及び2の異なるSOMAscanプラットフォームバージョンを考慮して、バッチ間の35のサンプルの繰り返し測定を利用することによって、SomaLog icの標準的なプレート間校正の流れを改変して実行し、系統的なバッチ間変動性補正を行った。各SOMAm erについて、バッチ1校正後測定値をバッチ2校正前測定値で割った比を、35の繰り返しサンプルそれぞれについて計算した（ $r_{i,j}$ ）。これら35の比の中央値を用いて、バッチ2のサンプルに対する改変SOMAm er 特異的校正倍率を定めた

【 0 4 0 1 】

【 数 2 】

 $(\tilde{r}_i)$ 。

次に、これらの校正倍率を、標準的な S O M A s c a n の手順と同じように実行した。

【 0 4 0 2 】

【 数 3 】

$$r_{i,j} = \left( \frac{\text{校正後}_{\text{濃度バッチ1, i, j}}}{\text{校正前}_{\text{濃度バッチ2, i, j}}} \right), \quad \vec{r}_i = (r_{i,1}, r_{i,2}, \dots, r_{i,j}) \quad \text{全ての繰り返しサンプルjについて}$$

10

$$\text{校正倍率}_i = \text{中央値}(\vec{r}_i) = \tilde{r}_i$$

【 0 4 0 3 】

改変校正倍率を計算した後、各分析バッチにつき全ての倍率の分布をプロットし、外れ値の有無を評価した。極めて大きい又は小さい標準物質 ( $> 0.25$  及び  $< 3$ ) を伴う 9 つの S O M A m e r は、再現性が乏しいため、解析から除外した。

【 0 4 0 4 】

MMY 2 0 0 2 についてバッチ整列及び S O M A m e r の選別の完了後、MMY 2 0 0 2 の全てのタンパク質濃度値に  $\log 2$  変換を適用し、データがより正規分布と一致するようにし、パラメトリックな統計検定の実施を改善した。

20

【 0 4 0 5 】

交絡変数補正

メタ変数 (人口統計学的因子、応答クラス、及びサンプリング時点など) によって説明されるデータセット変動部分の予測、及び考えられる交絡因子の同定は、センタリング及びスケーリングしたデータセットの主成分分析によって実施した。単純な線形モデルを当てはめ、対象とする変数それぞれと有意に関連していた、最も高順位の P C を同定した。これらの関連性の有意性は、ワルド検定を用いて判定し、このモデルによって説明される P C 変動性の割合を当てはめの R<sup>2</sup> によって推定した。MMY 2 0 0 2 データでは、施設 I D が P C 1 と相関することがわかり、データセット変動性の最大部分を説明した ( $7.37\%$ 、 $p$  値 =  $3.71 \times 10^{-9}$ )。データ内の、サンプル取得した施設関連効果の影響を減じるため、C o m B a t 2 8 を利用して施設 I D 効果を補正した。

30

【 0 4 0 6 】

繰り返しサンプルの統合

MMY 2 0 0 2 のバッチ 1 と 2 との間で繰り返した 3 5 のサンプルのデータを、各タンパク質の平均値を計算することによって統合した。

【 0 4 0 7 】

タンパク質濃度差解析

レスポonder対ノンレスポonder

D A R Z A L E X (商標) (ダラツムマブ) レスポonder対ノンレスポonderにおけるタンパク質濃度分布の統計比較を、次の 2 種類の補足法、つまり、( i ) 個々の S O M A m e r に対するウィルコクソンの順位和検定 (H o l l a n d e r a n d W o l f e , N i n p a r a m e t i r c S t a t i s t i c a l M e t h o d s . N e w Y o r k : J o h n W i l e y & S o n s . 1 9 7 3 . 2 7 ~ 3 3 ( o n e - s a m p l e ) , 6 8 ~ 7 5 ( t w o - s a m p l e ) 、及び、( i i ) 全ての S O M A m e r に対する L i m m a 解析 (R i t c h i e , M . E . , e t a l . , N u c l e i c A c i d s R e s . 2 0 1 5 ; 2 0 : 4 3 ( 7 ) : e 4 7 ) を同時に使用して、基準値及び治療中の両方において実施した。全ての  $p$  値は、複数の仮説補正に対する B e n j a m i n i - H o c h b e r g ( B H ) 法を用いて補正した (B e n j a m i n i a n d H o c h b e r g , ( 1 9 9 5 ) J . R . S t a t i s t . S o c . B . 5 7 : 2 8 9 ~ 3 0 0 ; R :

40

50

A Language and Environment for Statistical Computing, R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2011; ISBN 3-900051-07-0)。差次的発現がないという帰無仮説は、補正 p 値が  $< 0.05$  のときに棄却した。

#### 【0408】

##### 治療中対基準値

基準値対治療中のタンパク質濃度は、3種類の別の統計手法である、(i) 二元配置反復測定分散分析6、(ii) ウィルコクソンの符号順位検定、及び(iii) フリードマン検定 (Johnson et al., (2007) Biostatistics 8(1): 118~127) を用いて比較した。全ての p 値は、複数の仮説補正に対する BH 法を用いて、対照の FDR に補正した (Benjamini and Hochberg, J. R. Statist. Soc. B. 57: 289~300, 1995)。治療の有意性に加え、二元配置反復測定分散分析 (Chambers et al., Analysis of variance; designed experiments: Chapter 5. Statistical Models in S, Editors J. M. Chambers and T. J. Hastie. Wadsworth & Brookes/Cole, 1992) を、有意な時点：応答クラスの相互関係が各 SOMAmer について生じたかどうかを判定するためにも適用した。レスポnder及びノンレスポnderが異なる治療効果を示したかどうかを特異的に判定するため、全ての対象の治療中及び基準値のタンパク質濃度値間の差を計算し、ウィルコクソンの順位和検定を行うことによる、改変したウィルコクソンの順位和検定を事後的検定として適用した。有意値を BH 法を用いて補正し、補正 p 値が  $< 0.05$  のとき、帰無仮説を棄却した。

#### 【0409】

##### 分類器訓練

MMY 2002 の基準値タンパク質濃度データを用いて、応答を予測する分類器を作り上げた。4種類の機械学習器であるサポートベクターマシン (SVM)、ランダムフォレスト (RF)、単純ベイズ (NB)、及び j 48 決定木を用いて、入れ子のループ層別化 10 分割交差検証法を 30 回繰り返した。各学習器において、訓練手順は、10 にバランスよく分割したデータセットを作ることから始めた (外側ループ)。これらの分割のうち1つをテストコホートとして保持し、一方、残りの9つを訓練コホートとして内側ループに通した。内側ループ内で、訓練コホートを再度バランスよく10分割し、内側訓練及び内側テストセットを作成した。学習器を、これら内側訓練セットそれぞれについて学習させ、このプロセスを外側ループ内の各コホートについて30回繰り返した。内側テストセットの予測における各内側ループ学習器の精度を用いて、特徴を選択し、モデルパラメータを最適化した。各訓練コホートについて30回の内側ループが完了した後、各対応するテストコホートについて、外側ループの性能 (最適化パラメータ及び特徴を用いて) を評価した。続いて、外側ループ全体を30回繰り返して、データセット内の全サンプルに対する30種類の応答予測が生じさせた。このループ手法によって得られた AUC、感受性、及び特異性の統計値は、完全なオリジナルデータセットで訓練した最終モデルが、新規試験例についてどの程度うまく実行するかについて近似していた。

#### 【0410】

##### MMY 2002 試験からの結果

タンパク質発現の治療誘発性応答依存性変化などの様々な比較を実施した。レスポnderにおいて経時的な発現減少を示したタンパク質の1つは、PD-L1であり、一方PD-L1タンパク質の発現は、ノンレスポnderにおいて経時的に増加した。PD-L1のT細胞上への結合により、T細胞機能の低下と、Treg発生の増加につながる。図18は、レスポnder、ノンレスポnder、及び安定である患者における、1サイクル目及び3サイクル目のPD-L1のタンパク質発現プロファイルを示す。

#### 【0411】

10

20

30

40

50

受容体であるPD-1とのPD-L1の結合により、抗腫瘍応答が抑制され、T細胞アネルギーと枯渇が引き起こされる。任意の特定の理論に束縛されるものではないが、CD38治療によるPD-L1の下方制御によっても、固形腫瘍における抗腫瘍免疫応答の改善された増強をもたらし得る。

本発明は、以下の態様を包含し得る。

[ 1 ]

固形腫瘍を有する患者を治療する方法であって、治療的に有効な量のCD38を特異的に結合する抗体を、固形腫瘍の治療に十分な期間、それを必要とする患者に投与することを含む、方法。

[ 2 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、前記患者における免疫応答を誘発する、上記[ 1 ]に記載の方法。

[ 3 ]

前記免疫応答がエフェクターT細胞(Teff)応答である、上記[ 2 ]に記載の方法。

[ 4 ]

前記Teff応答が、CD4<sup>+</sup>T細胞又はCD8<sup>+</sup>T細胞によって媒介される、上記[ 3 ]に記載の方法。

[ 5 ]

前記Teff応答が、前記CD8<sup>+</sup>T細胞によって媒介される、上記[ 4 ]に記載の方法。

[ 6 ]

前記Teff応答が、前記CD8<sup>+</sup>T細胞数の増加、CD8<sup>+</sup>T細胞増殖の増加、T細胞クローン増殖の増加、CD8<sup>+</sup>メモリー細胞形成の増加、抗原依存性抗体産生の増加、サイトカイン産生の増加、ケモカイン産生の増加、又はインターロイキン産生の増加(細胞による)である、上記[ 3 ]に記載の方法。

[ 7 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、免疫サプレッサー細胞の機能を阻害する、上記[ 1 ]に記載の方法。

[ 8 ]

前記免疫サプレッサー細胞が制御性T細胞(Treg)である、上記[ 7 ]に記載の方法。

[ 9 ]

前記Tregが、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup>T細胞である、上記[ 8 ]に記載の方法。

[ 10 ]

前記TregがCD38を発現する、上記[ 9 ]に記載の方法。

[ 11 ]

前記Tregの機能が前記Tregを殺傷することによって阻害される、上記[ 10 ]に記載の方法。

[ 12 ]

前記Tregを殺傷することが、抗体依存性細胞傷害(ADCC)によって媒介される、上記[ 11 ]に記載の方法。

[ 13 ]

前記免疫サプレッサー細胞が骨髄由来サプレッサー細胞(MDSC)である、上記[ 7 ]に記載の方法。

[ 14 ]

前記MDSCが、CD11b<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>細胞である、上記[ 13 ]に記載の方法。

[ 15 ]

前記CD11b<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>細胞がCD38を発現

10

20

30

40

50

する、上記 [ 1 4 ] に記載の方法。

[ 1 6 ]

前記 M D S C の機能が前記 M D S C を殺傷することによって阻害される、上記 [ 1 5 ] に記載の方法。

[ 1 7 ]

M D S C の殺傷が、A D C C によって媒介される、上記 [ 1 6 ] に記載の方法。

[ 1 8 ]

前記免疫サプレッサー細胞が制御性 B 細胞 ( B r e g ) である、上記 [ 7 ] に記載の方法。

[ 1 9 ]

前記 B r e g が、C D 1 9 + C D 2 4 + C D 3 8 + 細胞である、上記 [ 1 8 ] に記載の方法。

[ 2 0 ]

前記 B r e g の機能が前記 B r e g を殺傷することによって阻害される、上記 [ 1 9 ] に記載の方法。

[ 2 1 ]

前記 B r e g を殺傷することが、A D C C によって媒介される、上記 [ 2 0 ] に記載の方法。

[ 2 2 ]

前記免疫サプレッサー細胞が、骨髄又は末梢血中に存在する、上記 [ 7 ] に記載の方法。

[ 2 3 ]

前記固形腫瘍が、黒色腫、肺癌、扁平上皮非小細胞肺癌 ( N S C L C )、非扁平上皮 N S C L C、結腸直腸癌、前立腺癌、去勢抵抗性前立腺癌、胃癌 ( stomach cancer )、卵巣癌、胃癌 ( gastric cancer )、肝癌、膵臓癌、甲状腺癌、頭頸部の扁平上皮癌、食道又は胃腸管の癌腫、乳癌、卵管癌、脳癌、尿道癌、尿生殖器癌、子宮内膜症、子宮頸癌、又は前記癌の転移巣である、上記 [ 1 ] ~ [ 2 2 ] のいずれかに記載の方法。

[ 2 4 ]

前記固形腫瘍が、検出可能な C D 3 8 発現を欠いている、上記 [ 1 ] ~ [ 2 3 ] のいずれかに記載の方法。

[ 2 5 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が非アゴニスト抗体である、上記 [ 1 ] ~ [ 2 4 ] のいずれかに記載の方法。

[ 2 6 ]

前記非アゴニスト抗体が、統計的に有意でない様式で、i n v i t r o での末梢血単核球サンプルの増殖を誘導する、上記 [ 2 5 ] に記載の方法。

[ 2 7 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、配列番号 4 の重鎖可変領域 ( V H ) 及び配列番号 5 の軽鎖可変領域 ( V L ) を含む抗体と、C D 3 8 への結合に関して競合する、上記 [ 1 ] ~ [ 2 6 ] のいずれかに記載の方法。

[ 2 8 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、ヒト C D 3 8 ( 配列番号 1 ) の少なくとも領域 S K R N I Q F S C K N I Y R ( 配列番号 2 )、及び領域 E K V Q T L E A W V I H G G ( 配列番号 3 ) に結合する、上記 [ 2 7 ] に記載の方法。

[ 2 9 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、それぞれ配列番号 6、7、8、9、10 及び 11 の重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) 1、H C D R 2、H C D R 3、軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) 1、L C D R 2 及び L C D R 3 のアミノ酸配列を含む、上記 [ 1 ] ~ [ 2 8 ] のいずれかに記載の方法。

[ 3 0 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含

10

20

30

40

50

む、上記 [ 1 ] ~ [ 2 9 ] のいずれかに記載の方法。

[ 3 1 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、

a ) 配列番号 1 4 の V H 及び配列番号 1 5 の V L、

b ) 配列番号 1 6 の V H 及び配列番号 1 7 の V L、

c ) 配列番号 1 8 の V H 及び配列番号 1 9 の V L、又は

d ) 配列番号 2 0 の V H 及び配列番号 2 1 の V L の、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む、上記 [ 1 ] ~ [ 2 6 ] のいずれかに記載の方法。

[ 3 2 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、

a ) 配列番号 1 4 の V H 及び配列番号 1 5 の V L、

b ) 配列番号 1 6 の V H 及び配列番号 1 7 の V L、

c ) 配列番号 1 8 の V H 及び配列番号 1 9 の V L、又は

d ) 配列番号 2 0 の V H 及び配列番号 2 1 の V L を含む、上記 [ 3 1 ] に記載の方法。

[ 3 3 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、第 2 の治療薬と併用して投与される、上記 [ 1 ] ~ [ 3 2 ] のいずれかに記載の方法。

[ 3 4 ]

前記第 2 の治療薬が、化学療法薬、癌標的療法、固形腫瘍の治療用の標準治療薬、又は免疫チェックポイント阻害薬である、上記 [ 3 3 ] に記載の方法。

[ 3 5 ]

前記免疫チェックポイント阻害薬が、抗 P D - 1 抗体、抗 P D - L 1 抗体、抗 P D - L 2 抗体、抗 L A G 3 抗体、抗 T I M 3 抗体、又は抗 C T L A - 4 抗体である、上記 [ 3 4 ] に記載の方法。

[ 3 6 ]

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 P D - 1 抗体である、上記 [ 3 5 ] に記載の方法。

[ 3 7 ]

前記抗 P D - 1 抗体が、

a ) 配列番号 2 2 の V H 及び配列番号 2 3 の V L、

b ) 配列番号 2 4 の V H 及び配列番号 2 5 の V L、

c ) 配列番号 3 2 の V H 及び配列番号 3 3 の V L、又は

d ) 配列番号 3 4 の V H 及び配列番号 3 5 の V L を含む、上記 [ 3 6 ] に記載の方法。

[ 3 8 ]

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 P D - L 1 抗体である、上記 [ 3 5 ] に記載の方法。

[ 3 9 ]

前記抗 P D - L 1 抗体が、

a ) 配列番号 2 6 の V H 及び配列番号 2 7 の V L、

b ) 配列番号 2 8 の V H 及び配列番号 2 9 の V L、又は

c ) 配列番号 3 0 の V H 及び配列番号 3 1 の V L を含む、上記 [ 3 8 ] に記載の方法。

[ 4 0 ]

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 P D - L 2 抗体である、上記 [ 3 5 ] に記載の方法。

[ 4 1 ]

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 L A G 3 抗体である、上記 [ 3 5 ] に記載の方法。

[ 4 2 ]

前記免疫チェックポイント阻害薬が抗 T I M - 3 抗体である、上記 [ 3 5 ] に記載の方法。

[ 4 3 ]

10

20

30

40

50

前記抗 T I M - 3 抗体が、  
a ) 配列番号 3 6 の V H 及び配列番号 3 7 の V L、又は  
b ) 配列番号 3 8 の V H 及び配列番号 3 9 の V L を含む、上記 [ 4 2 ] に記載の方法。  
[ 4 4 ]  
前記第 2 の治療薬が、同時に、順次、又は別々に投与される、上記 [ 3 3 ] ~ [ 4 3 ]  
のいずれかに記載の方法。  
[ 4 5 ]  
前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が静脈内に投与される、上記 [ 1 ] ~ [ 4 4 ] の  
いずれかに記載の方法。  
[ 4 6 ]  
前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体と、ヒ  
アルロニダーゼと、を含む、医薬組成物中で、皮下に投与される、上記 [ 1 ] ~ [ 4 4 ]  
のいずれかに記載の方法。  
[ 4 7 ]  
前記ヒアルロニダーゼが配列番号 4 0 の r H u P H 2 0 である、上記 [ 4 6 ] に記載の  
方法。  
[ 4 8 ]  
前記患者が放射線療法で治療されるか、又は既に治療されている、上記 [ 1 ] ~ [ 4 7 ]  
のいずれかに記載の方法。  
[ 4 9 ]  
前記患者が手術を受けたか、又は後に受ける、上記 [ 1 ] ~ [ 4 7 ] のいずれかに記載  
の方法。  
[ 5 0 ]  
免疫サプレッサー細胞の活性を抑制する方法であって、前記免疫抑制細胞を、C D 3 8  
を特異的に結合する抗体と接触させることを含む、方法。  
[ 5 1 ]  
前記免疫サプレッサー細胞が T r e g である、上記 [ 5 0 ] に記載の方法。  
[ 5 2 ]  
前記 T r e g が、C D 3 <sup>+</sup> C D 4 <sup>+</sup> C D 2 5 <sup>+</sup> C D 1 2 7 <sup>dim</sup> T 細胞である、上記 [ 5 1 ] に記載の方法。  
[ 5 3 ]  
前記免疫サプレッサー細胞が M D S C である、上記 [ 5 0 ] に記載の方法。  
[ 5 4 ]  
前記 M D S C が、C D 1 1 b <sup>+</sup> H L A D R <sup>-</sup> C D 1 4 <sup>-</sup> C D 3 3 <sup>+</sup> C D 1 5 <sup>+</sup> 細胞であ  
る、上記 [ 5 3 ] に記載の方法。  
[ 5 5 ]  
前記免疫サプレッサー細胞が B r e g である、上記 [ 5 0 ] に記載の方法。  
[ 5 6 ]  
前記 B r e g が、C D 1 9 <sup>+</sup> C D 2 4 <sup>+</sup> C D 3 8 <sup>+</sup> 細胞である、上記 [ 5 5 ] に記載の  
方法。  
[ 5 7 ]  
前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が非アゴニスト抗体である、上記 [ 5 0 ] ~ [ 5 6 ]  
のいずれかに記載の方法。  
[ 5 8 ]  
前記非アゴニスト抗体が、統計的に有意でない様式で、i n v i t r o での末梢血単核  
球サンプルの増殖を誘導する、上記 [ 5 7 ] に記載の方法。  
[ 5 9 ]  
前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含  
む抗体と、C D 3 8 への結合に関して競合する、上記 [ 5 0 ] ~ [ 5 8 ] のいずれかに記  
載の方法。

10

20

30

40

50

[ 6 0 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、ヒトCD38（配列番号1）の少なくとも領域SKRN IQFSCKNIYR（配列番号2）、及び領域EKVQTLEAWVIHGG（配列番号3）に結合する、上記[ 5 9 ]に記載の方法。

[ 6 1 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、それぞれ配列番号6、7、8、9、10及び11のHC DR1、HC DR2、HC DR3、LC DR1、LC DR2及びLC DR3のアミノ酸配列を含む、上記[ 5 0 ]～[ 6 0 ]のいずれかに記載の方法。

[ 6 2 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、配列番号4のVH及び配列番号5のVLを含む、上記[ 6 1 ]に記載の方法。

10

[ 6 3 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、  
a) 配列番号14のVH及び配列番号15のVL、  
b) 配列番号16のVH及び配列番号17のVL、  
c) 配列番号18のVH及び配列番号19のVL、又は  
d) 配列番号20のVH及び配列番号21のVLの、HC DR1、HC DR2、HC DR3、LC DR1、LC DR2及びLC DR3を含む、上記[ 5 0 ]～[ 5 8 ]のいずれかに記載の方法。

[ 6 4 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、  
a) 配列番号14のVH及び配列番号15のVL、  
b) 配列番号16のVH及び配列番号17のVL、  
c) 配列番号18のVH及び配列番号19のVL、又は  
d) 配列番号20のVH及び配列番号21のVLを含む、上記[ 6 3 ]に記載の方法。

20

[ 6 5 ]

患者における免疫応答を増強する方法であって、CD38を特異的に結合する抗体を前記患者に投与することを含む、方法。

[ 6 6 ]

前記患者が癌又はウイルス感染を有する、上記[ 6 5 ]に記載の方法。

30

[ 6 7 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が非アゴニスト抗体である、上記[ 6 5 ]又は[ 6 6 ]に記載の方法。

[ 6 8 ]

前記非アゴニスト抗体が、統計的に有意でない様式で、*in vitro*での末梢血単核球サンプルの増殖を誘導する、上記[ 6 7 ]に記載の方法。

[ 6 9 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、配列番号4のVH及び配列番号5のVLを含む抗体と、CD38への結合に関して競合する、上記[ 6 5 ]～[ 6 8 ]のいずれかに記載の方法。

40

[ 7 0 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、ヒトCD38（配列番号1）の少なくとも領域SKRN IQFSCKNIYR（配列番号2）、及び領域EKVQTLEAWVIHGG（配列番号3）に結合する、上記[ 6 5 ]～[ 6 9 ]のいずれかに記載の方法。

[ 7 1 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、それぞれ配列番号6、7、8、9、10及び11のHC DR1、HC DR2、HC DR3、LC DR1、LC DR2及びLC DR3のアミノ酸配列を含む、上記[ 6 5 ]～[ 7 0 ]のいずれかに記載の方法。

[ 7 2 ]

前記CD38を特異的に結合する抗体が、配列番号4のVH及び配列番号5のVLを含

50



む、上記 [ 6 5 ] ~ [ 7 0 ] のいずれかに記載の方法。

[ 7 3 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、

a ) 配列番号 1 4 の V H 及び配列番号 1 5 の V L、

b ) 配列番号 1 6 の V H 及び配列番号 1 7 の V L、

c ) 配列番号 1 8 の V H 及び配列番号 1 9 の V L、又は

d ) 配列番号 2 0 の V H 及び配列番号 2 1 の V L の、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む、上記 [ 6 5 ] ~ [ 6 8 ] のいずれかに記載の方法。

[ 7 4 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、

a ) 配列番号 1 4 の V H 及び配列番号 1 5 の V L、

b ) 配列番号 1 6 の V H 及び配列番号 1 7 の V L、

c ) 配列番号 1 8 の V H 及び配列番号 1 9 の V L、又は

d ) 配列番号 2 0 の V H 及び配列番号 2 1 の V L を含む、上記 [ 7 3 ] に記載の方法。

[ 7 5 ]

ウイルス感染を有する患者を治療する方法であって、C D 3 8 を特異的に結合する抗体を、前記ウイルス感染の治療に十分な期間、前記患者に投与することを含む、方法。

[ 7 6 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が非アゴニスト抗体である、上記 [ 7 5 ] に記載の方法。

[ 7 7 ]

前記非アゴニスト抗体が、統計的に有意でない様式で、*i n v i t r o*での末梢血単核球サンプルの増殖を誘導する、上記 [ 7 5 ] 又は [ 7 6 ] に記載の方法。

[ 7 8 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む抗体と、C D 3 8 への結合に関して競合する、上記 [ 7 5 ] ~ [ 7 7 ] のいずれかに記載の方法。

[ 7 9 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、ヒト C D 3 8 (配列番号 1) の少なくとも領域 S K R N I Q F S C I Y R (配列番号 2)、及び領域 E K V Q T L E A W V I H G G (配列番号 3) に結合する、上記 [ 7 5 ] ~ [ 7 8 ] のいずれかに記載の方法。

[ 8 0 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、それぞれ配列番号 6、7、8、9、10 及び 11 の H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 のアミノ酸配列を含む、上記 [ 7 5 ] ~ [ 7 9 ] のいずれかに記載の方法。

[ 8 1 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、配列番号 4 の V H 及び配列番号 5 の V L を含む、上記 [ 7 5 ] ~ [ 8 0 ] のいずれかに記載の方法。

[ 8 2 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、

a ) 配列番号 1 4 の V H 及び配列番号 1 5 の V L、

b ) 配列番号 1 6 の V H 及び配列番号 1 7 の V L、

c ) 配列番号 1 8 の V H 及び配列番号 1 9 の V L、又は

d ) 配列番号 2 0 の V H 及び配列番号 2 1 の V L の、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む、上記 [ 7 5 ] ~ [ 7 7 ] のいずれかに記載の方法。

[ 8 3 ]

前記 C D 3 8 を特異的に結合する抗体が、

a ) 配列番号 1 4 の V H 及び配列番号 1 5 の V L、

10

20

30

40

50

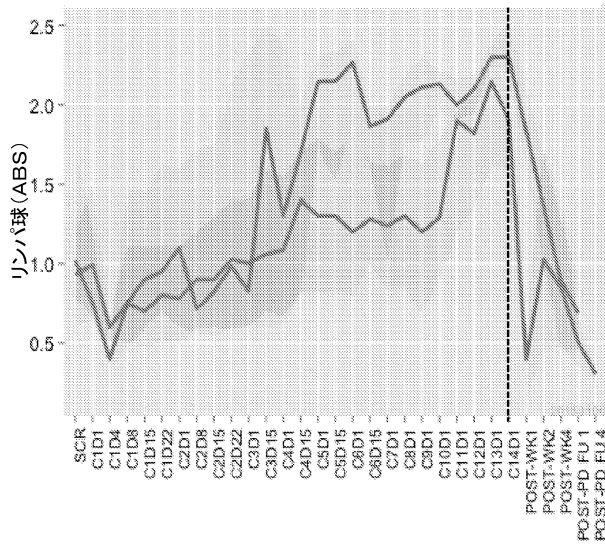
b) 配列番号 16 の V H 及び配列番号 17 の V L、

c) 配列番号 18 の V H 及び配列番号 19 の V L、又は

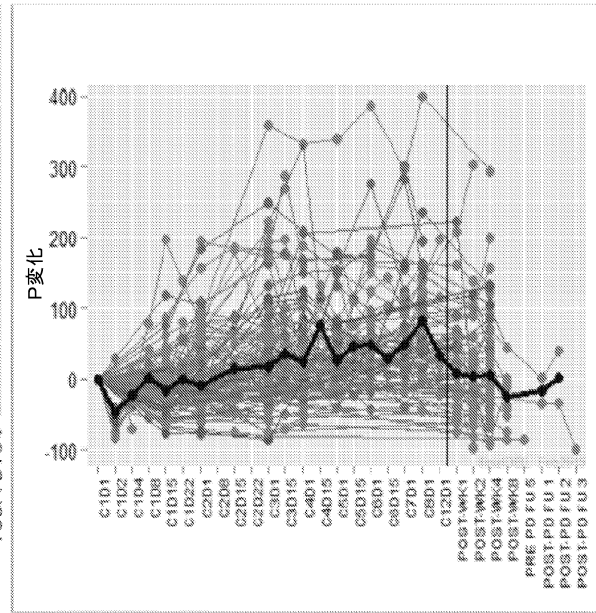
d) 配列番号 20 の V H 及び配列番号 21 の V L を含む、上記 [ 82 ] に記載の方法。

【図面】

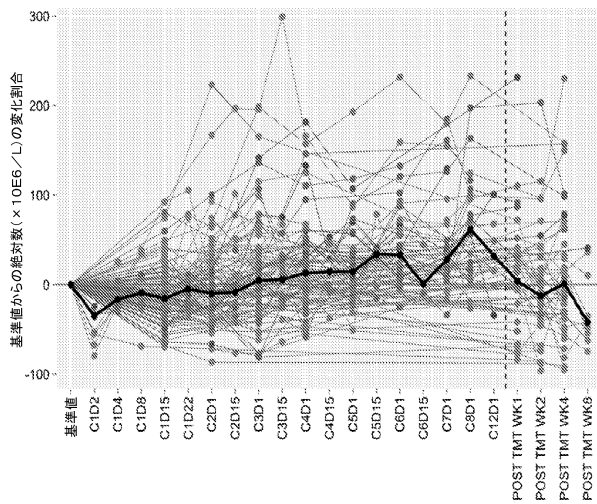
【図 1】



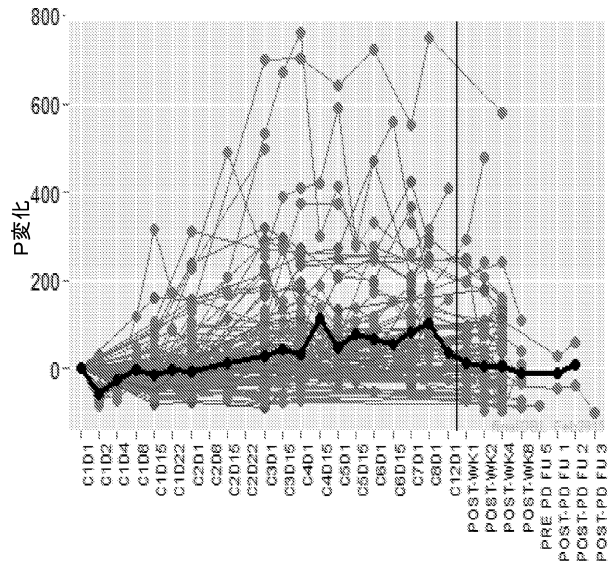
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

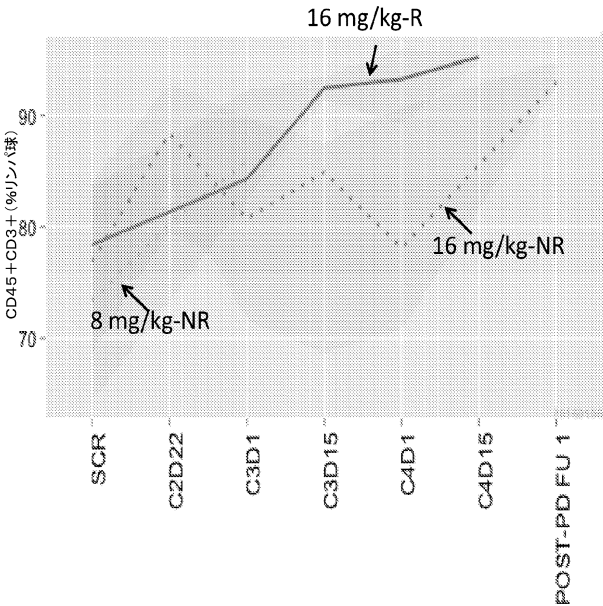
20

30

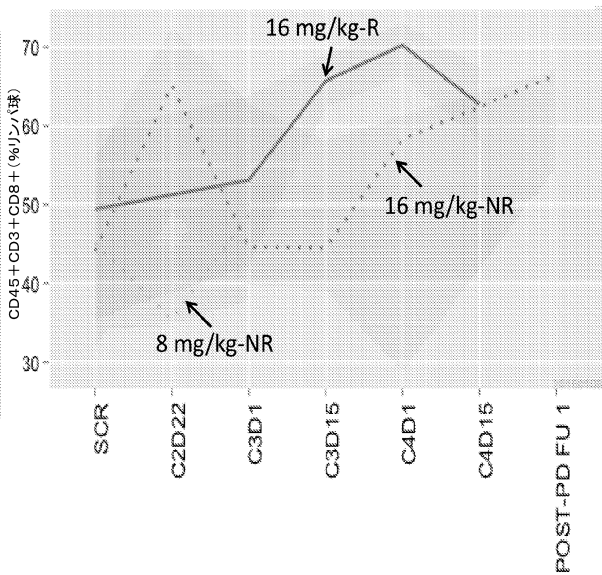
40

50

【 図 5 】

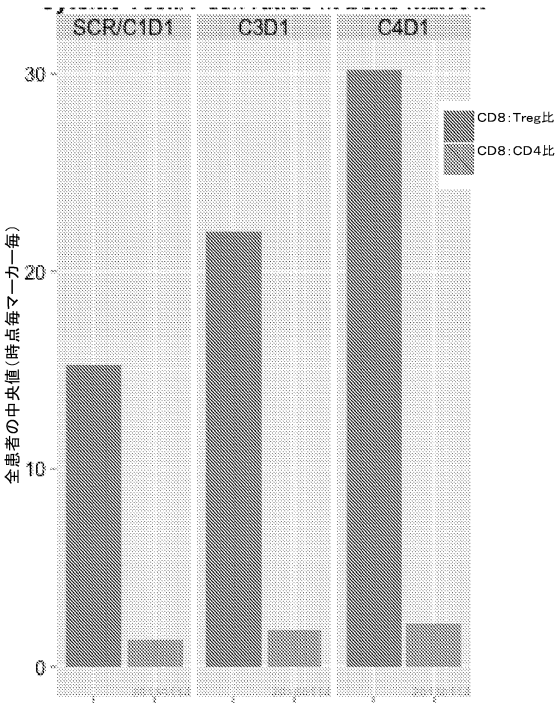


【 図 6 】

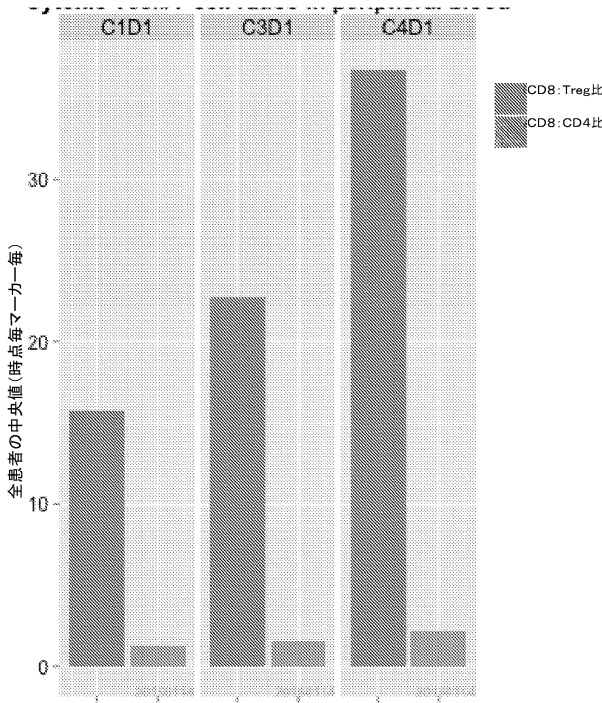


10

【 図 7 A 】



【 図 7 B 】



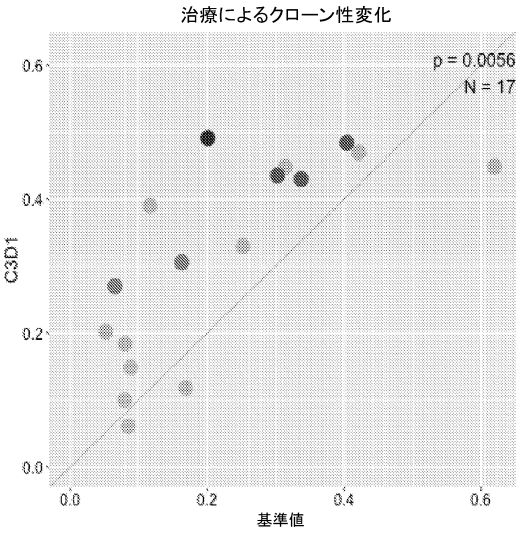
20

30

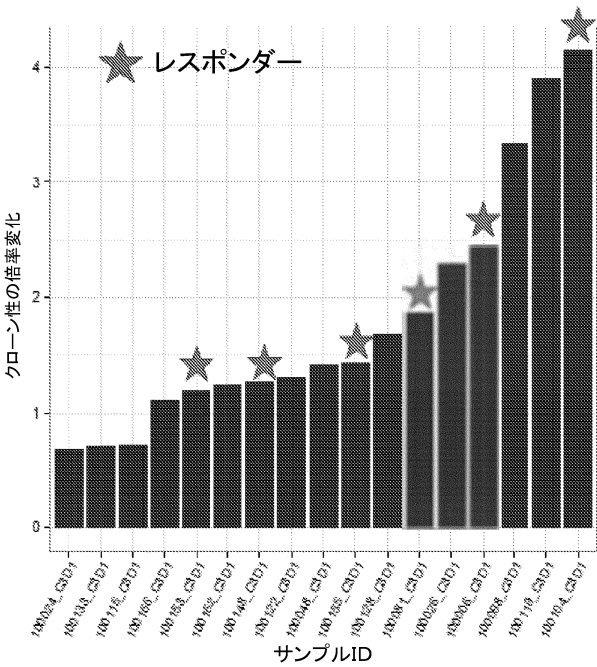
40

50

【図 8 A】



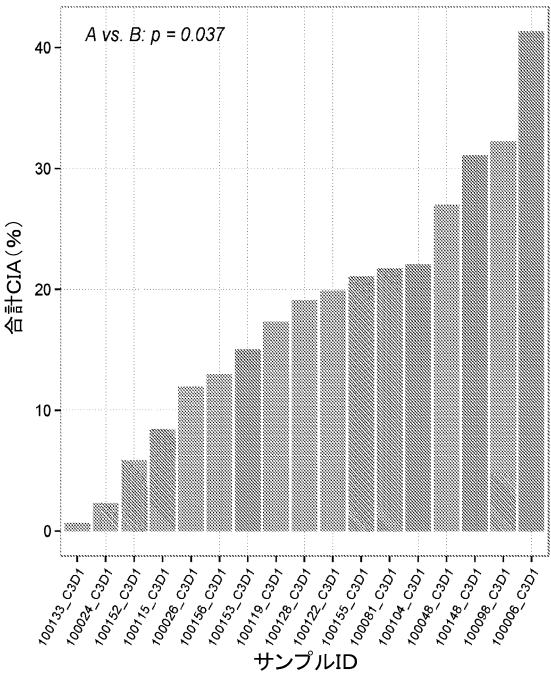
【図 8 B】



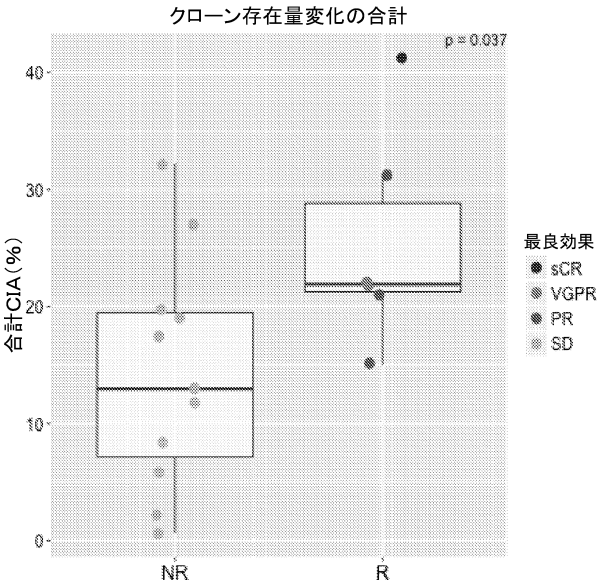
10

20

【図 8 C】



【図 8 D】

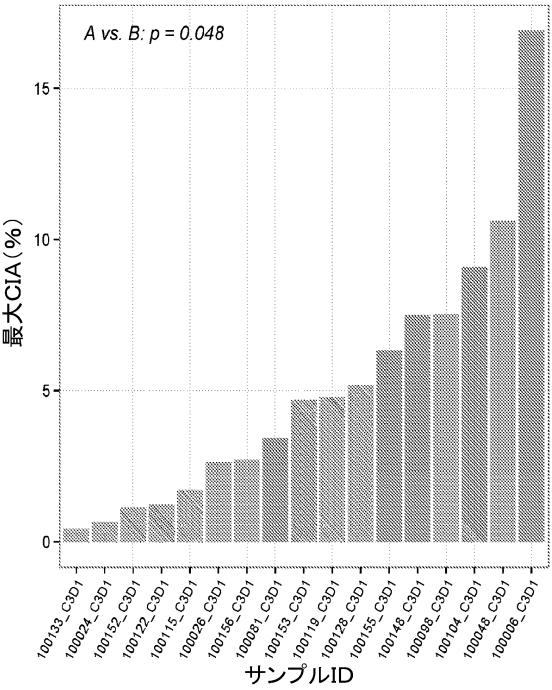


30

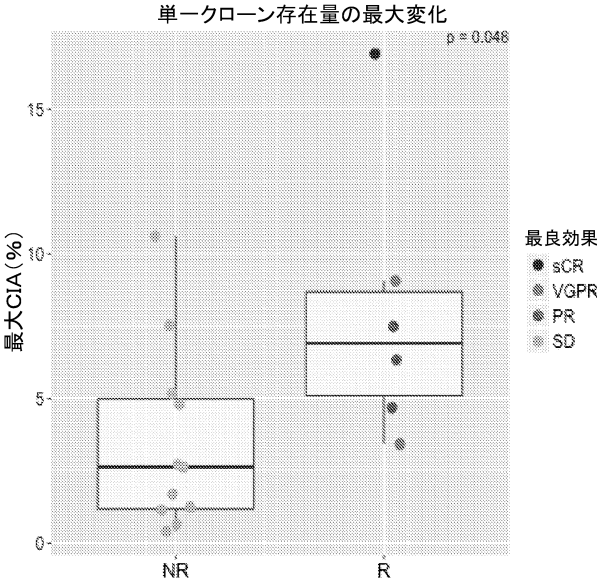
40

50

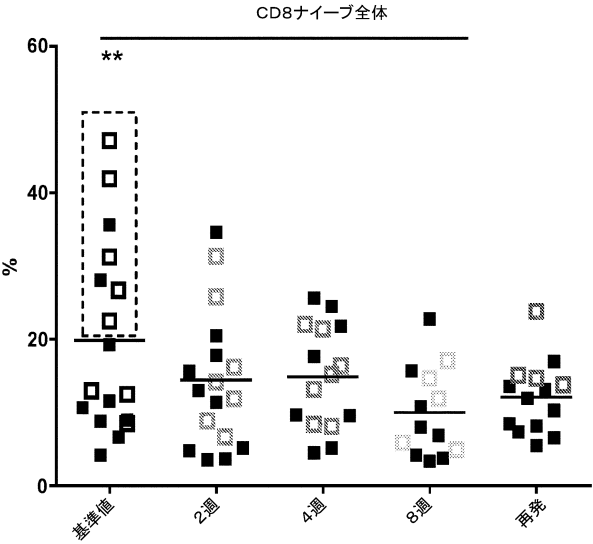
【図 8 E】



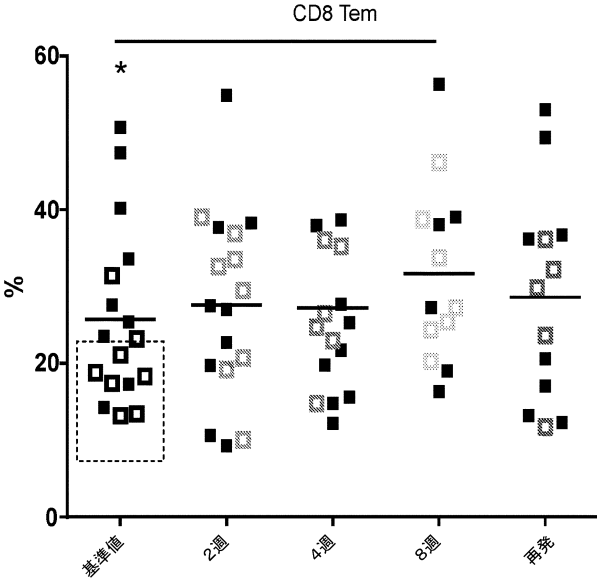
【図 8 F】



【図 9 A】



【図 9 B】



10

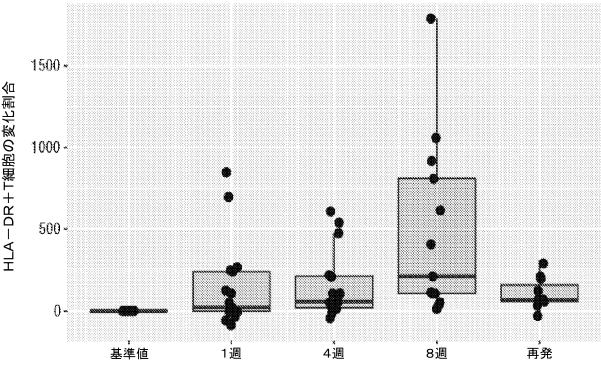
20

30

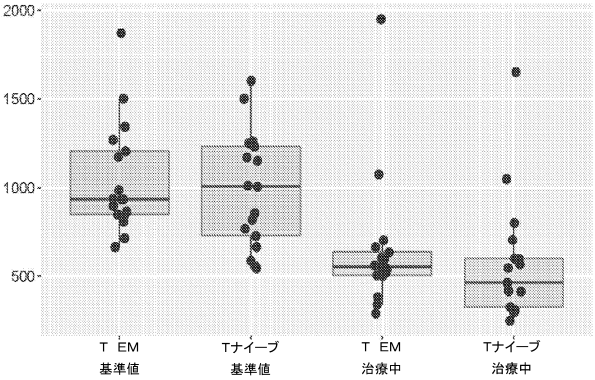
40

50

【図 9 C】

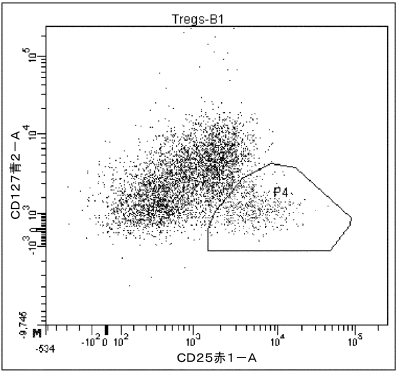


【図 9 D】

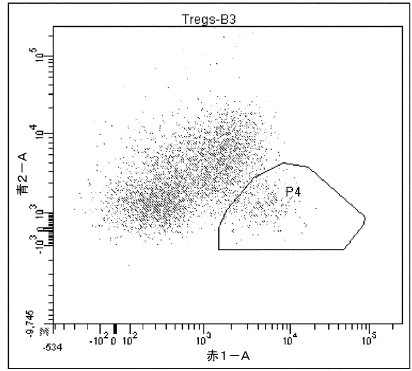


10

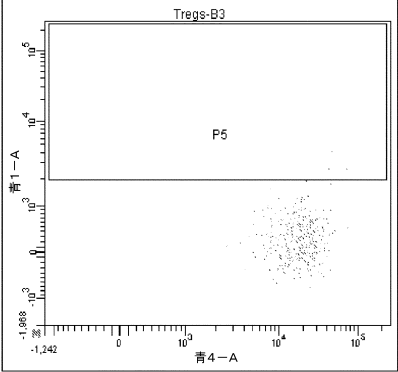
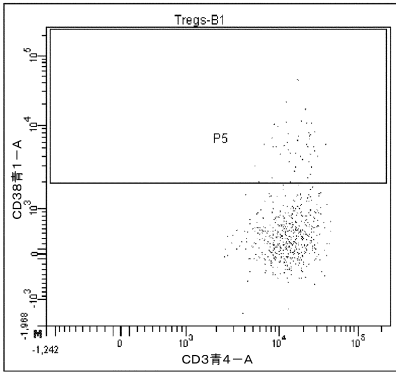
【図 10 A】



【図 10 B】



20

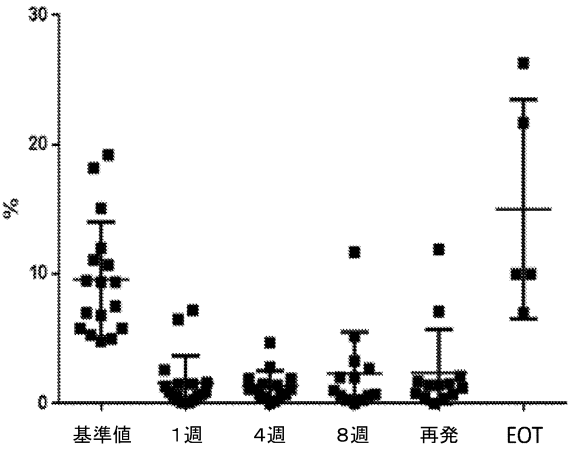


30

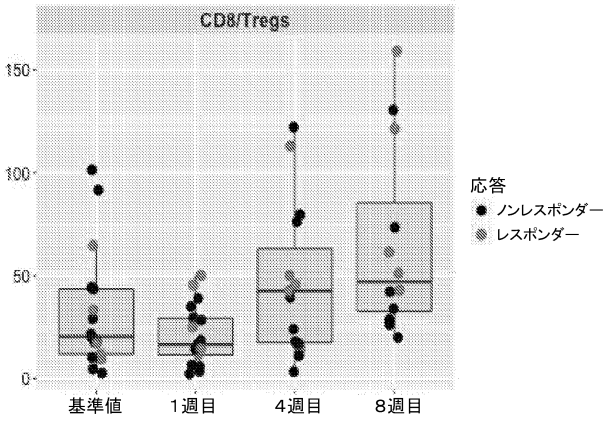
40

50

【図 10 C】

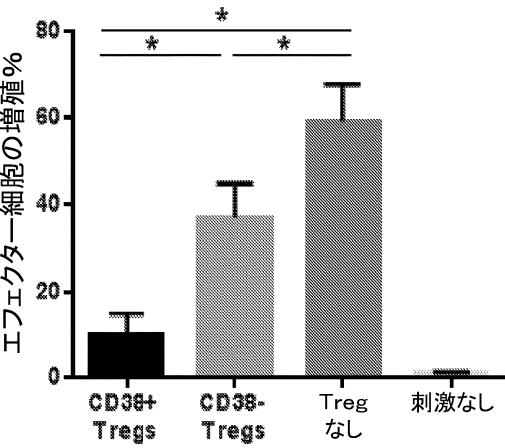


【図 10 D】

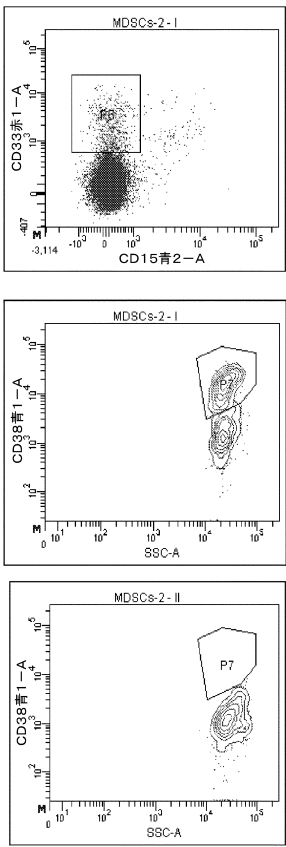


10

【図 10 E】



【図 11】



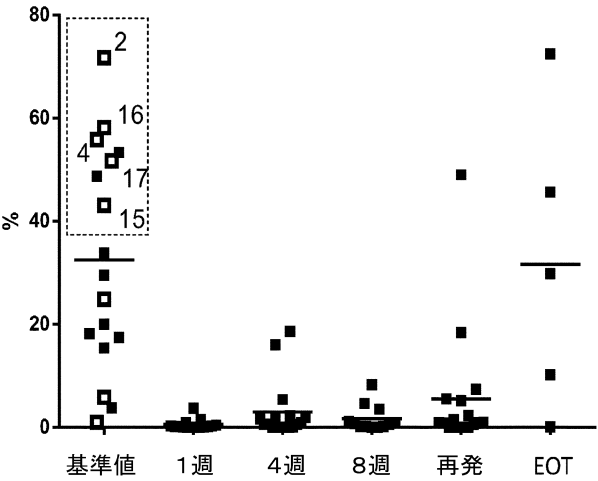
20

30

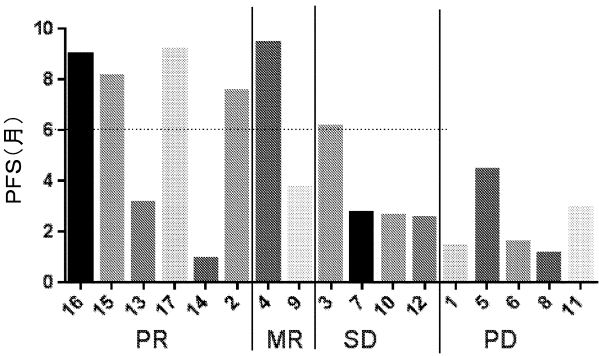
40

50

【図 1 2】

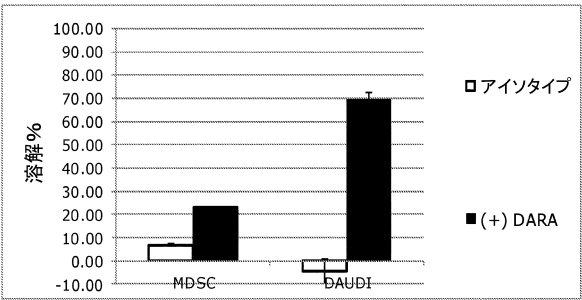


【図 1 3】

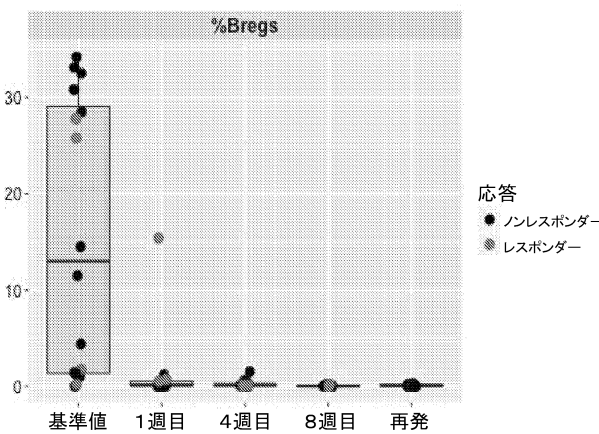


10

【図 1 4】



【図 1 5 A】



20

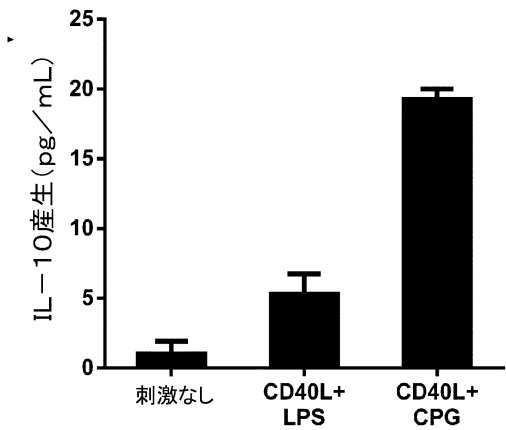
30

40

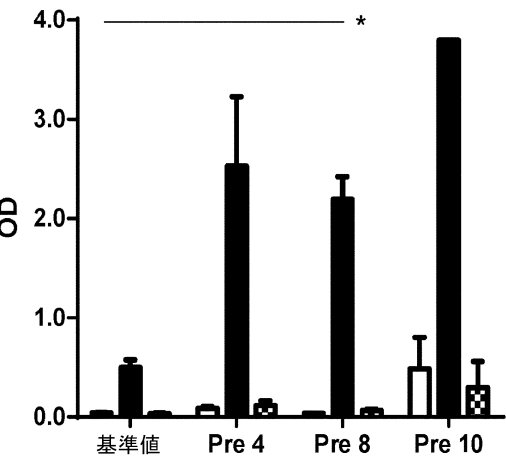
50



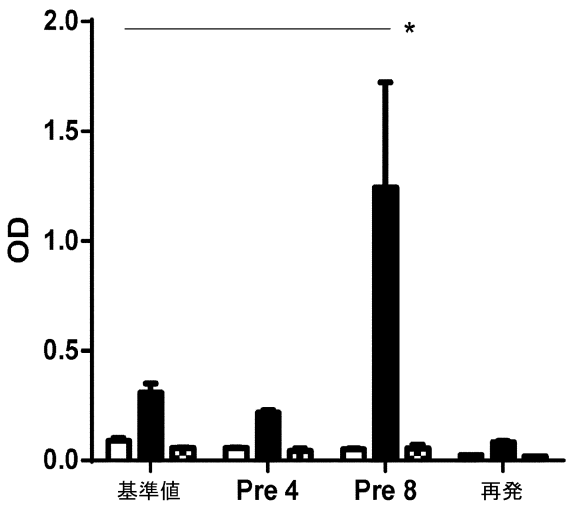
【図 15 B】



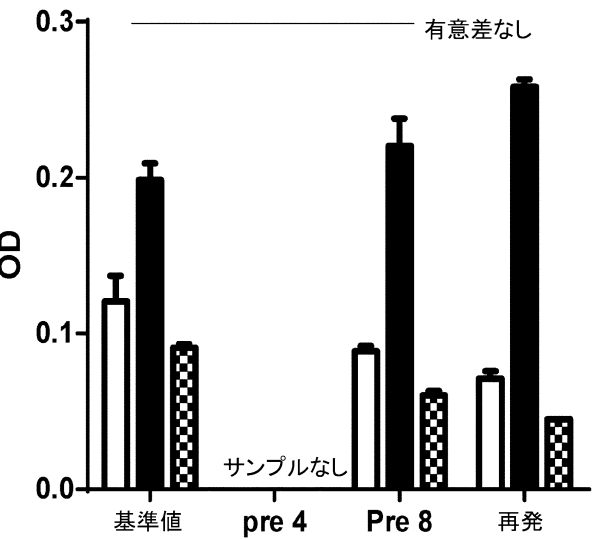
【図 16 A】



【図 16 B】



【図 16 C】



10

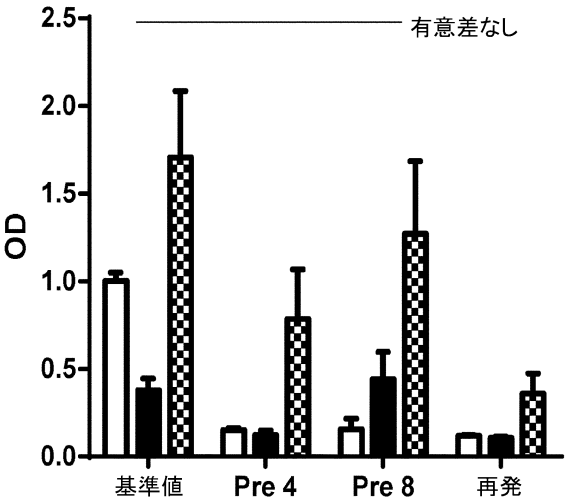
20

30

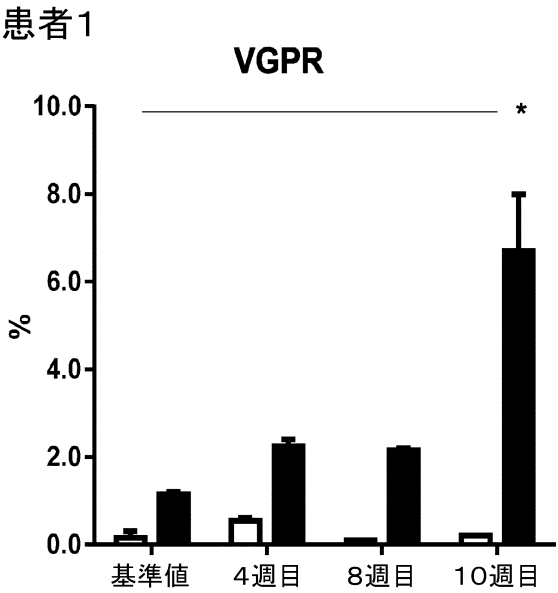
40

50

【図 1 6 D】

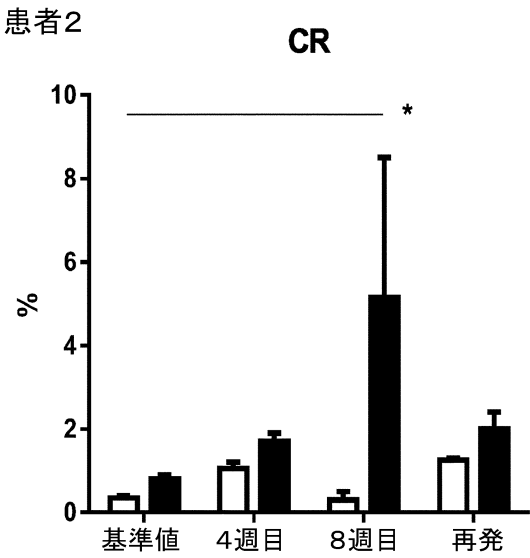


【図 1 6 E】

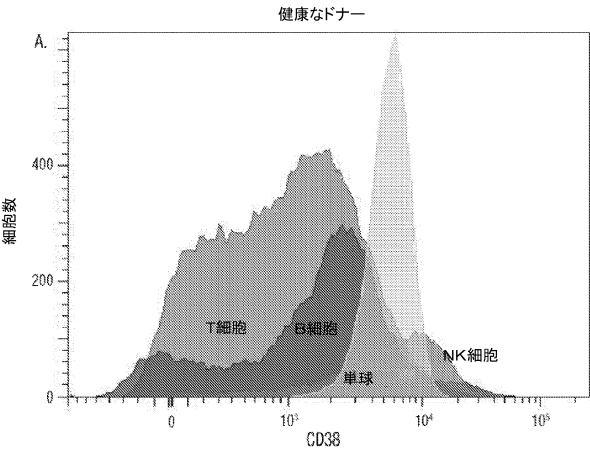


10

【図 1 6 F】



【図 1 7 A】



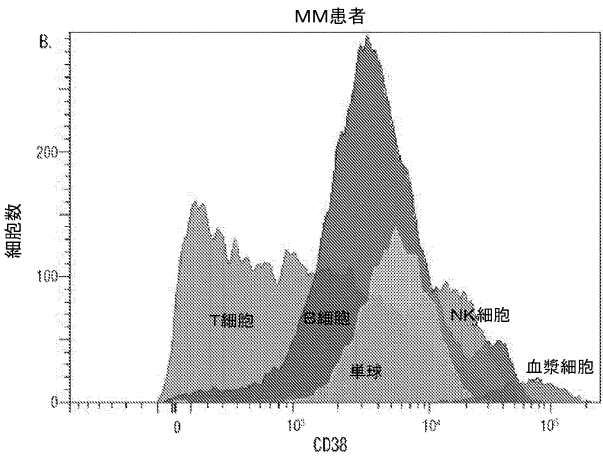
20

30

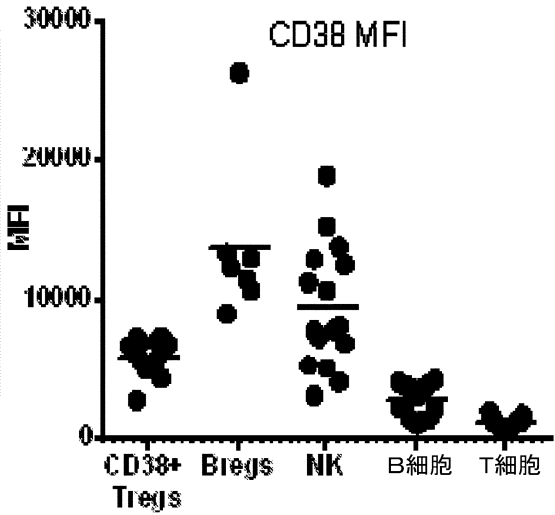
40

50

【図 17 B】

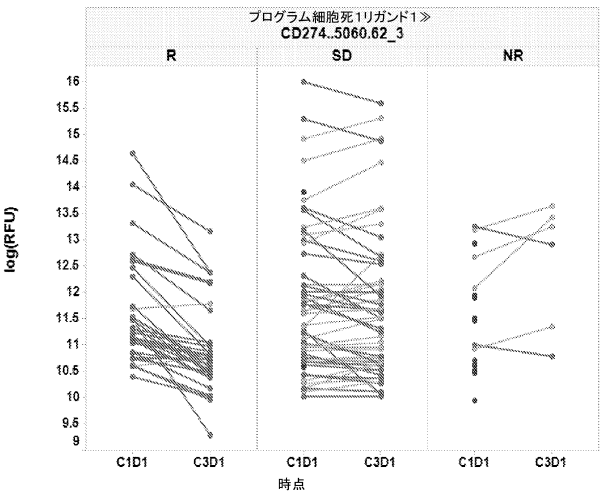


【図 17 C】



10

【図 18】



20

30

【配列表】

[0007041519000001.app](#)

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/04	
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	A 6 1 P	31/12	
C 1 2 N	5/09 (2010.01)	C 0 7 K	16/28	
		C 1 2 N	5/0783	
		C 1 2 N	5/09	

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/250,566

## (32)優先日 平成27年11月4日(2015.11.4)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/263,307

## (32)優先日 平成27年12月4日(2015.12.4)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/331,489

## (32)優先日 平成28年5月4日(2016.5.4)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 星川 亮

## (74)代理人 100104282

弁理士 鈴木 康仁

## (72)発明者 アフマディ, タハムタン

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 7 7, スプリング ハウス, マッキーン ロード 1 4 0 0

## (72)発明者 カズナフ, タイネク

オランダ国 エイチヴィ アムステルダム 1 0 8 1, デ ボールラン 1 1 1 7, ルーム ピーケー  
ー・イクス・0 7 6, デパートメント・オブ ヘマトロジー, ヴュー ユニヴァーシティ メディ  
カル センター

## (72)発明者 ロクホースト, ヘンク エム.

オランダ国 エイチヴィ アムステルダム 1 0 8 1, デ ボールラン 1 1 1 7, ルーム ピーケー  
ー・イクス・0 7 6, デパートメント・オブ ヘマトロジー, ヴュー ユニヴァーシティ メディ  
カル センター

## (72)発明者 マティス, ツナ

オランダ国 エイチヴィ アムステルダム 1 0 8 1, デ ボールラン 1 1 1 7, ルーム ピーケー  
ー・イクス・0 7 6, デパートメント・オブ ヘマトロジー, ヴュー ユニヴァーシティ メディ  
カル センター

## (72)発明者 サセール, エイミー

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 8 9 0 1, ユニオン ストリート ドイルスタウン 1 1 9

審査官 渡邊 潤也

## (56)参考文献 特表 2 0 1 3 - 5 3 9 3 5 2 ( J P , A )

特表 2 0 0 8 - 5 3 3 9 7 7 ( J P , A )

Data show daratumumab achieved a pronounced overall response rate as a single-agent with tolerable safety profile in heavily pre-treated multiple myeloma patients, Johnson & Johnson Press release[online](retrived on 2020 Jul 27), 2015年05月30日, retrieved from the Internet URL:https://www.jnj.com/media-center/press-releases/Data-show-daratumumab-achieved-a-pronounced-overall-response-rate-as-a-single-agent-with-tolerable-safety-profile-in-heavily-pre-treated-multiple-myeloma-patients

DMC recommends termination of study into daratumumab with atezolizumab to treat NSCLC, European Pharmaceutical Manufacturer[online](retrieved on 2020 Jul 26), 2018年05月30日, retrieved from the Internet URL: <https://www.epmmagazine.com/news/dmc-recommends-termination-of-study-into-daratumumab/>

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 9 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )

U n i P r o t / G e n e S e q