

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-108341
(P2019-108341A)

(43) 公開日 令和1年7月4日(2019.7.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z N A N	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	4 C 0 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

審査請求 有 請求項の数 18 O L 外国語出願 (全 99 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-24360 (P2019-24360)	(71) 出願人	306021192 エフ・ホフマンーラ・ロシュ・アクチュエン ゲゼルシャフト スイス、ツェハーー 4 0 7 0 パーゼル、グ レンツァッハーシュトラーセ 1 2 4 番
(22) 出願日	平成31年2月14日 (2019.2.14)	(74) 代理人	110002077 園田・小林特許業務法人
(62) 分割の表示	特願2017-511708 (P2017-511708) の分割	(72) 発明者	ウマーニャ, パプロ スイス国 ツェハーー 8 8 3 2 ヴォル ララウ, フェルゼンラインシュトラーセ 2 8
原出願日	平成27年8月25日 (2015.8.25)	(72) 発明者	クライン, クリスティアン スイス国 ツェハーー 8 9 0 6 ボンシ ユテッテン, クリュツァッハーヴェーク 4 1
(31) 優先権主張番号	14182778.2		
(32) 優先日	平成26年8月29日 (2014.8.29)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】腫瘍を標的とした I L - 2 バリエント免疫サイトカインとヒト P D - L 1 に対する抗体との併用療法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】容認できない毒性を引き起こさずに生存を増加させるために、既存の治療法に加えることができる新しいがんの治療法の提供。

【解決手段】がんの、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた治療における使用のための医薬であって、I L - 2 バリエント免疫サイトカインを含み、ここで、I L - 2 バリエント免疫サイトカインが、特定の配列のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒト P D - L 1 に結合する抗体が、特定の配列の重鎖可変ドメイン V H に含まれる重鎖相補性決定領域 (C D R) 及び特定の配列の軽鎖可変ドメイン V L に含まれる軽鎖 C D R を含むことを特徴とする、医薬。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんの治療における併用療法としての使用のための、転移の予防又は治療における併用療法としての使用のための、炎症性疾患の治療における併用療法としての使用のための、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることにおける併用療法としての使用のための、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける併用療法としての使用のための、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインであって、

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号68の重鎖可変ドメインVH及び配列番号67の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列、又は

b) 配列番号84若しくは配列番号86若しくは配列番号88のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号84及び配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号108及び配列番号109及び配列番号110のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号42の重鎖可変ドメインVH及び配列番号41の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列、又は

f) 配列番号79若しくは配列番号80若しくは配列番号81のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号124及び配列番号125及び配列番号126のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は

b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は

c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は

d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は

e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は

f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は

g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は

h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は

i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は

j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は

k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は

l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL、又は

m) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVL、又は

10

20

30

40

50

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 2】

がんの治療における使用のための、請求項 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 3】

乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、メラノーマがん、膀胱がん、腎がん、腎臓がん、肝臓がん、頭頸部がん、結腸直腸がん、メラノーマ、膵臓がん、胃がん、食道がん、中皮腫、前立腺がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫の治療における使用のための、請求項 2 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 4】

転移の予防又は治療における使用のための、請求項 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 5】

炎症性疾患の治療における使用のための、請求項 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 6】

腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する又は進行を遅延させることにおける使用のための、請求項 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 7】

T 細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける使用のための、請求項 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 8】

i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は
i i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることにおける使用のための、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって、

ここで、標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示され、

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；

10

20

30

40

50

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

- a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は
- b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は
- c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は
- d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は
- e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は
- f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は
- g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は
- h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は
- i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は
- j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は
- k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は
- l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL、又は
- m) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVL、又は
- n) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号105の軽鎖可変ドメインVL、又は
- o) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号106の軽鎖可変ドメインVL、又は
- p) 配列番号91の重鎖可変ドメインVH及び配列番号107の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項9】

- i) CEA発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び/又は
- ii) CEA発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び/又は全生存期間を向上させることにおける使用のための、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせたCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインであって、
ここで、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせて投与され；
ここで、併用療法において使用されるCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、
- a) 配列番号68の重鎖可変ドメインVH及び配列番号67の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列、又は
- b) 配列番号84若しくは配列番号86若しくは配列番号88のポリペプチド配列、又は
- c) 配列番号84及び配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列、又は
- d) 配列番号108及び配列番号109及び配列番号110のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；
併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

- a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする、C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

10

20

30

40

50

【請求項 10】

- i) F A P 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は
- i i) F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることにおける使用のための、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって、ここで、併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、
 - a) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
 - b) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
 - c) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
 - d) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；
 併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、
 - a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
 - b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L

を含むことを特徴とする、F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項 11】

C E A 発現腫瘍又は C E A の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、F A P 発現腫瘍又は F A P の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいは C E A 又は F A P の発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の治療における使用のための、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって、ここで免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され、

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、

並びに配列番号 3 のポリペプチド配列、又は

b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、

並びに配列番号 3 のポリペプチド配列、又は

f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし；

10

20

30

40

50

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

- a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は
- b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は
- c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は
- d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は
- e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は
- f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は
- g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は
- h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は
- i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は
- j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は
- k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は
- l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL、又は
- m) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVL、又は
- n) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号105の軽鎖可変ドメインVL、又は
- o) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号106の軽鎖可変ドメインVL、又は
- p) 配列番号91の重鎖可変ドメインVH及び配列番号107の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項12】

併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインが、配列番号84、配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列；又は配列番号79、配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体が、

- a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする、請求項1から11の何れか一項に記載の、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項13】

免疫サイトカインの抗体成分及び抗体が、ヒトIgG1サブクラスのもの又はヒトIgG4サブクラスのものであることを特徴とする、請求項1から12の何れか一項に記載のヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン。

【請求項14】

前記抗体が、低下した又は最少のエフェクター機能を有することを特徴とする、請求項1から13の何れか一項に記載のヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的

10

20

30

40

50

化 I L - 2 バリエント免疫サイトカイン。

【請求項 15】

最少のエフェクター機能が、エフェクターを有さない (e f f e c t o r l e s s) F c 変異に起因することを特徴とする、請求項 1 から 14 の何れか一項に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエント免疫サイトカイン。

【請求項 16】

エフェクターを有さない (e f f e c t o r l e s s) F c 変異が、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A 又は L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / P 3 2 9 G 又は N 2 9 7 A 又は D 2 6 5 A / N 2 9 7 A である、請求項 1 から 15 の何れか一項に記載の、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエント免疫サイトカイン。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特定の腫瘍標的化 I L - 2 バリエント免疫サイトカインと、ヒト P D - L 1 に結合する特異的抗体との併用療法に関する。

【背景技術】

【0002】

がんは、経済的に先進国における主要な死因であり、発展途上国における死亡原因の第 2 位である。化学療法の近年の進歩及び癌細胞における増殖シグナルの形質導入及び調節を妨げる分子レベルを標的とする薬剤の開発にもかかわらず、進行がん患者の予後は一般的に劣っているままである。結果として、容認できない毒性を引き起こさずに生存を増加させるために既存の治療法に加えることができる新しい治療法を開発するための、持続的かつ緊急の医学的必要性が存在する。

20

【0003】

I L - 2 及び腫瘍標的化 I L - 2 ベースの免疫サイトカイン

インターロイキン 2 (I L - 2) は、リンパ球及びナチュラルキラー (N K) 細胞を活性化するサイトカインである。I L - 2 は、抗腫瘍活性を有することが示されている；しかし、高レベルの I L - 2 は肺毒性をもたらし、I L - 2 の抗腫瘍活性は、多数の抑制性フィードバックループによって制限される。

【0004】

その抗腫瘍効果に基づいて、高用量の I L - 2 (アルデスロイキン、P r o l e u k i n (登録商標)として市販されている)治療が、米国においては転移性腎細胞癌 (R C C) 及び悪性黒色腫患者での使用のために、及び欧州連合においては転移性 R C C 患者のために承認されている。しかしながら、I L - 2 の作用機序の結果として、I L - 2 の全身性及び非標的適用は、T r e g 細胞及び A I C D の誘導を介して抗腫瘍免疫をかなり損なう可能性がある。全身性 I L - 2 治療の更なる懸念は、重篤な心血管疾患、肺浮腫、肝臓、胃腸 (G I)、神経学的及び血液学的事象に関連する (P r o l e u k i n (a l d e s l e u k i n) 製品特性の概要 [S m P C] : [http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/19322/SPC/\(2013年5月27日にアクセス\)](http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/19322/SPC/(2013年5月27日にアクセス)))。低用量の I L - 2 レジメンは、患者において試験されているが、最適以下の治療結果を犠牲にしている。まとめると、I L - 2 を利用する治療的なアプローチは、その適用に関連する不利益を克服することができる場合、がん治療に有用であり得る。腫瘍標的抗原結合部分及び I L - 2 ベースのエフェクター部分を含む免疫複合体は、例えば、国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 6 6 2 8 号及び国際公開第 2 0 1 2 / 1 0 7 4 1 7 号に記載されている。

30

40

【0005】

P D - L 1 及び P D - L 1 抗体

T 細胞に対する二つの異なるシグナルの共刺激又は提供は、抗原提示細胞 (A P C) による静止 T リンパ球のリンパ球活性化の広く受け入れられたモデルである。Lafferty et al., Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 53: 27-42 (1975)。

50

【 0 0 0 6 】

このモデルは更に、非自己からの自己の区別と免疫寛容とを提供する。Bretscher et al., Science 169: 1042-1049 (1970); Bretscher, P.A., P.N.A.S. USA 96: 185-190 (1999); Jenkins et al., J. Exp. Med. 165: 302-319 (1987)。一次シグナル又は抗原特異的シグナルは、主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) に関して提示される外来抗原ペプチドの認識に続いてT細胞受容体 (TCR) により変換される。二次シグナル又は共刺激シグナルは、抗原提示細胞 (APC) 上に発現される共刺激分子によりT細胞に送達され、クローン増殖、サイトカイン分泌及びエフェクター機能を促進するようにT細胞を誘導する。Lenschow et al., Ann. Rev. Immunol. 14:233 (1996)。共刺激の非存在下では、T細胞は、抗原刺激に不応となることがあり、有効な免疫応答を有さず、更には外来抗原に対する枯渇又は耐性を招きうる。

10

【 0 0 0 7 】

TCRシグナルの強度は実際にT細胞の活性化及び分化に対して定量的な影響を有するため、単純な2シグナルモデルは過度の単純化となりうる。Viola et al., Science 273: 104-106 (1996); Sloan-Lancaster, Nature 363: 156-159 (1993)。更に、T細胞の活性化は、TCRシグナル強度が高い場合、共刺激シグナルの非存在下においても起こりうる。更に重要なことには、T細胞はポジティブ及びネガティブ両方の二次的な共刺激シグナルを受け取る。このようなポジティブ及びネガティブなシグナルの調節は、免疫寛容を維持し、自己免疫を防ぎながら、宿主の防御免疫応答を最大化するために極めて重要である。

20

【 0 0 0 8 】

ネガティブな二次シグナルは、T細胞トレランスの誘導に必要と考えられ、ポジティブなシグナルはT細胞活性化を促進する。単純な2シグナルモデルは依然としてナイーブリンパ球の妥当な説明となるが、宿主の免疫応答は動的な過程であり、やはり共刺激シグナルが抗原曝露T細胞に提供されうる。

【 0 0 0 9 】

共刺激シグナルの操作が、細胞に基づく免疫応答を亢進又は終了させる手段となることが示されているため、共刺激の機序は治療的関心事である。最近、T細胞の機能障害又はアネルギーが、抑制受容体、すなわちプログラム死1ポリペプチド (PD-1) 発現の誘導及び維持と同時に起こることが発見された。結果として、治療標的のPD-1と、PD-1との相互作用によりシグナル伝達する他の分子、例えばプログラム死リガンド1 (PD-L1) 及びプログラム死リガンド2 (PD-L2) は、非常に興味深い領域である。PD-L1シグナル伝達の阻害は、がんの治療のためのT細胞免疫 (例えば、腫瘍免疫)、並びに急性及び慢性 (例えば、持続性) 感染を含む感染を亢進する手段として提示された。しかしながら、この経路において標的に向けられた最適な治療は未だ商業化されておらず、未だ満たされていない極めて大きな医学的需要が存在している。PD-L1に対する抗体は、例えば国際公開第2010/077634号に記載されている。

30

【 発明の概要 】

【 0 0 1 0 】

本発明は、がん又は腫瘍の治療における使用のための、転移の予防又は治療における使用のための、炎症性疾患の治療における使用のための、免疫関連疾患 (例えば、腫瘍免疫) を治療する若しくは進行を遅延させることにおける使用のための、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける使用のための、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインと、ヒトPD-L1に結合する抗体との併用療法を含む。

40

【 0 0 1 1 】

本発明は、がん又は腫瘍の治療における使用のための、転移の予防又は治療における使用のための、炎症性疾患の治療における使用のための、免疫関連疾患 (例えば、腫瘍免疫) を治療する若しくは進行を遅延させることにおける使用のための、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける使用のための医薬の製造のための腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの使用を含み、ここで、腫瘍標的化IL-2バリア

50

ント免疫サイトカインは、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせて投与される。

【0012】

本発明は、がん又は腫瘍の治療における使用のための、転移の予防又は治療における使用のための、炎症性疾患の治療における使用のための、免疫関連疾患（例えば、腫瘍免疫）を治療する若しくは進行を遅延させることにおける使用のための、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける使用のための医薬の製造のためのヒトPD-L1に結合する抗体の使用を含み、ここで、ヒトPD-L1に結合する抗体は、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインと組み合わせて投与される。

【0013】

本発明は、がん又は腫瘍の治療方法、転移の予防又は治療の方法、炎症性疾患の治療の方法、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させる方法、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激する方法を含み、該方法は、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインとヒトPD-L1に結合する抗体との併用療法を投与することを含む。

10

【0014】

併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体、又はその抗原結合断片、及び

（野生型IL-2、例えば配列番号2として示されるヒトIL-2と比較して）IL-2受容体のサブユニットへの結合親和性が低下したIL-2変異体、特にヒトIL-2の変異体、例えば、

20

i) 配列番号2で示されるヒトIL-2の残基42, 45及び72に対応する位置から選択される1つ、2つ又は3つの位置で1つ、2つ又は3つのアミノ酸置換、例えば、3つの位置で3つの置換、例えば特定のアミノ酸置換F42A、Y45A及びL72G；又は

ii) i)に示された特徴に加えて、配列番号2として示されるヒトIL-2の残基3に対応する位置でのアミノ酸置換、例えば特異的アミノ酸置換T3A；又は

iii) 配列番号2として示されるヒトIL-2の残基3, 42, 45及び72に対応する位置に4つのアミノ酸置換、例えば特定のアミノ酸置換T3A、F42A、Y45A及びL72G

30

を含むIL-2など

を含むことを特徴とする。

【0015】

併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン並びに、2つのサブユニットからなり、2つの非同一ポリペプチド鎖のヘテロ二量化を促進する修飾を含むFcドメイン、及び

（野生型IL-2、例えば配列番号2として示されるヒトIL-2と比較して）IL-2受容体のサブユニットへの結合親和性が低下したIL-2変異体、特にヒトIL-2の変異体、例えば、

40

i) 配列番号2で示されるヒトIL-2の残基42, 45及び72に対応する位置から選択される1つ、2つ又は3つの位置で1つ、2つ又は3つのアミノ酸置換、例えば、3つの位置で3つの置換、例えば特定のアミノ酸置換F42A、Y45A及びL72G；又は

ii) i)に示された特徴に加えて、配列番号2として示されるヒトIL-2の残基3に対応する位置でのアミノ酸置換、例えば特異的アミノ酸置換T3A；又は

iii) 配列番号2として示されるヒトIL-2の残基3, 42, 45及び72に対応する位置に4つのアミノ酸置換、例えば特定のアミノ酸置換T3A、F42A、Y45A及びL72G

を含むIL-2など

50

を含むことを特徴とする。

【0016】

抗体は、腫瘍標的化 I L - 2 変異型免疫グロブリンが C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであるように、抗体の標的として癌胎児性抗原 (C E A) 又は線維芽細胞活性化タンパク質 (F A P) に結合することができ、従って、免疫サイトカインの抗 C E A 抗体又は抗 F A P 抗体成分を有する。

【0017】

F c ドメイン修飾促進ヘテロ二量体化は、F c ドメインのサブユニットの1つにノブ修飾を含み、F c ドメインの2つのサブユニットのうち他方にホール修飾を含むノブ・イントゥー・ホール修飾、2つのポリペプチド鎖の界面における1つ以上のアミノ酸残基の荷電アミノ酸残基による置換を含む静電気ステアリング効果を媒介する修飾、例えば1つのサブユニット上の D D 変異 (例えば、K 3 9 2 D、K 4 0 9 D ; E U 番号付け)、及び他のサブユニット上の K K 変異 (例えば、D 3 5 6 K、D 3 9 9 K ; E U 番号付け) であり得る。ヒト I g G 1 F c 領域の例示的な配列を配列番号 1 として示す。

【0018】

併用療法で使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであってもよく、これは、

a) 配列番号 6 8 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 6 7 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列 ; 又は

b) 配列番号 8 4 若しくは配列番号 8 6 若しくは配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 8 4 及び配列番号 8 6 及び配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 1 0 8 及び配列番号 1 0 9 及び配列番号 1 1 0 のポリペプチド配列を含み得、

又は F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであってもよく、これは

e) 配列番号 4 2 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 4 1 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列 ; 又は

f) 配列番号 7 9 若しくは配列番号 8 0 若しくは配列番号 8 1 のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号 7 9 及び配列番号 8 0 及び配列番号 8 1 のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号 1 2 4 及び配列番号 1 2 5 及び配列番号 1 2 6 のポリペプチド配列を含み得る。

【0019】

本併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 8 9 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 2 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

b) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 3 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

c) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 4 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

d) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 5 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

e) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 6 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

f) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 7 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

g) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 8 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

h) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 9 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L

を含むことを特徴とする。

【0020】

実施態様において、併用療法で使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、CE A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであり、これは、

a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、

又は F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであり、これは

a) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列、

を含むことを特徴とし、

かつ併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体が、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

10

20

30

40

50

- j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
- k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
- l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
- m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
- n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
- o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
- p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L
を含むことを特徴とする。

10

【0021】

実施態様において、併用療法において使用される C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

- a) 配列番号 84、配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；

かつ併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

- a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

20

【0022】

実施態様において、併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

- a) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；

かつ併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

- b) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

30

【0023】

実施態様において、上述のヒト P D - L 1 に結合する抗体と腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインとの併用療法は、がん又は腫瘍の治療に使用するためのものである。がん又は腫瘍は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に抗原を提示し得る。併用療法の標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示され得る。がん又は腫瘍は、C E A 又は F A P を発現又は過剰発現し得る。治療は固形腫瘍のためのものであり得る。固形腫瘍は、C E A 又は F A P を発現又は過剰発現し得る。治療は癌のためのものであり得る。癌は、C E A 又は F A P を発現又は過剰発現し得る。がんは、結腸直腸がん、頭頸部がん、非小細胞肺癌、乳がん、膵臓がん、肝臓がん及び胃がんからなる群から選択され得る。がんは、肺がん、結腸がん、胃がん、乳がん、頭頸部がん、皮膚がん、肝臓がん、腎臓がん、前立腺がん、膵臓がん、脳がん及び骨格筋のがんからなる群から選択され得る。

40

【0024】

実施態様において、上述のヒト P D - L 1 に結合する抗体と腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインとの併用療法は、転移の予防又は治療に使用するためのものである。

【0025】

実施態様において、上述のヒト P D - L 1 に結合する抗体と腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインとの併用療法は、炎症性疾患の治療に使用するためのものである。

【0026】

実施態様において、上述のヒト P D - L 1 に結合する抗体と腫瘍標的化 I L - 2 バリエ

50

ント免疫サイトカインとの併用療法は、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する又は進行を遅延させるためのものである。

【 0 0 2 7 】

実施態様において、上述のヒト P D - L 1 に結合する抗体と腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインとの併用療法は、T細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することに使用するためのものである。

【 0 0 2 8 】

本発明は、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含み、ここで、免疫サイトカインは、

i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍における腫瘍増殖の阻害；

10

i i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させること

に使用のために、上述のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され、ここで、標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示され得る。

【 0 0 2 9 】

本発明は、C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含み、ここで、免疫サイトカインは、

i) C E A 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；

i i) C E A 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させること

20

に使用のために、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され、

ここで、併用療法において使用される C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 6 8 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 6 7 の軽鎖可変ドメイン V L 、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 8 4 若しくは配列番号 8 6 若しくは配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 8 4 及び配列番号 8 6 及び配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 1 0 8 及び配列番号 1 0 9 及び配列番号 1 1 0 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし、

30

かつ併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 8 9 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 2 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

b) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 3 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

c) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 4 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

d) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 5 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

e) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 6 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

40

f) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 7 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

g) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 8 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

h) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 9 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

i) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 1 0 0 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

j) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 1 0 1 の軽鎖可変ドメイン V L

50

、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【0030】

本発明は、F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含み、ここで、免疫サイトカインは、

i) F A P 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；

i i) F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させること

に使用のために、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され、

ここで、併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし、

かつ併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

10

20

30

40

50

- k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L
、又は
p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L
を含むことを特徴とする。

10

【0031】

本発明は、C E A 発現腫瘍又は C E A の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、F A P 発現腫瘍又は F A P の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいは C E A 又は F A P の発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の治療における使用のための、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含み、ここで、免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され、ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

20

- a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は
c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は
d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は
e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、

30

かつ併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

- a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

40

50

- i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

10

【0032】

一実施態様では、免疫サイトカインの抗体成分又は抗体は、ヒト I g G 1 サブクラス又はヒト I g G 4 サブクラスのものである。

【0033】

20

本発明は、

- A) i) C E A 発現腫瘍又は F A P 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；
- ii) C E A 発現腫瘍又は F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上するための方法であって、ここで、C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与される方法、又は

B) C E A 発現腫瘍又は C E A の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、又は F A P 発現腫瘍又は F A P の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有する患者の治療の方法であって、ここで、C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインはヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与される方法であって、ここで、併用療法において使用される C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

30

- a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
- b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

40

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ここで、併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

- e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
- f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
- g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
- h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列

50

を含むことを特徴とし、

かつ併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は

b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は

c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は

d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は

e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は

f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は

g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は

h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は

i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は

j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は

k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は

l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL、又は

m) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVL、又は

n) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号105の軽鎖可変ドメインVL、又は

o) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号106の軽鎖可変ドメインVL、又は

p) 配列番号91の重鎖可変ドメインVH及び配列番号107の軽鎖可変ドメインVL

を含むことを特徴とする、

方法を含む。

【0034】

本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗体の併用療法は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原を標的とする治療を必要とする患者のための利益を示す。本明細書に記載されるCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗体の併用療法は、CEA標的療法を必要とする患者のための利益を示す。本明細書に記載されるFAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗体の併用療法は、FAP標的療法を必要とする患者のための利益を示す。本発明による腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、標的発現腫瘍に対する腫瘍増殖阻害活性において有効性を示し、とりわけ本明細書に記載される抗PD-L1抗体と組み合わせたがん及び転移の治療において特に有用である。本発明による腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、標的発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び/又は全生存期間を向上させることにおいて有効性を示し、とりわけ本明細書に記載される抗PD-L1抗体と組み合わせたがん及び転移の治療において特に有用である。本発明による特異的CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、CEA発現腫瘍に対する腫瘍増殖阻害活性において有効性を示し、とりわけ本明細書に記載される特異的抗PD-L1抗体と組

10

20

30

40

50

み合わせたがん及び転移の治療において特に有用である。本発明による特異的 C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、C E A 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることにおいて有効性を示し、とりわけ本明細書に記載される特異的抗 P D - L 1 抗体と組み合わせたがん及び転移の治療において特に有用である。本発明による特異的 F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、F A P 発現腫瘍に対する腫瘍増殖阻害活性において有効性を示し、とりわけ本明細書に記載される特異的抗 P D - L 1 抗体と組み合わせたがん及び転移の治療において特に有用である。本発明による特異的 F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることにおいて有効性を示し、とりわけ本明細書に記載される特異的抗 P D - L 1 抗体と組み合わせたがん及び転移の治療において特に有用である。本発明によるヒト P D - L 1 に結合する特異的抗体は、C E A 発現腫瘍又は F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上する有効性を示し、とりわけ本明細書に記載される特異的 C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせたがん及び転移の治療において特に有用である。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0035】

【図1】C E A - I L 2 v 及び P D - L 1 M a b を単独の薬剤として、及び組み合わせの設定で用いた有効性実験の結果を示す。M C 3 8 - C E A トランスフェクタント結腸直腸癌細胞株を、肝転移モデルにおける生存を研究するために B l a c k 6 - h u C E A - h u F c R I I I t g マウスの門脈に注射した。マウス1匹につき m g / k g 単位で注射される抗体の量が、図の説明文に示されている。

【図2】C E A - I L 2 v 及び P D - L 1 M a b を単独の薬剤として、及び組み合わせの設定で用いた有効性実験の結果を示す。M C 3 8 - C E A トランスフェクタント結腸直腸癌細胞株を、皮下モデルにおいて腫瘍増殖阻害を研究するために、B l a c k 6 - h u C E A - h u F c R I I I t g マウスに皮下注射し、腫瘍サイズをキャリパーを用いて測定した。マウス1匹につき m g / k g 単位で注射される抗体の量が、図の説明文に示されている。

【図3】C E A - I L 2 v 及び P D - L 1 M a b を単独の薬剤として、及び組み合わせの設定で用いた有効性実験の結果を示す。P a n c 0 2 - H 7 - C E A トランスフェクタント膵臓癌細胞株を、膵臓の同所性同系モデルにおける生存を研究するために、B l a c k 6 - h u C E A - h u F c R I I I t g マウスの膵臓に注射した。マウス1匹につき m g / k g 単位で注射される抗体の量が、図の説明文に示されている。

【図4】C E A 標的化 C E A - I L 2 v 及び P D - L 1 M a b 又は非標的化 D P 4 7 - I L 2 v 及び P D - L 1 M a b を、単独の薬剤として、及び組み合わせの設定で用いた有効性実験の結果 (A) を示す。P a n c 0 2 - H 7 - C E A トランスフェクタント膵臓癌細胞株を、膵臓の同所性同系モデルにおける生存を研究するために、B l a c k 6 - h u C E A - h u F c R I I I t g マウスの膵臓に注射した。マウス1匹につき m g / k g 単位で注射される抗体の量が、図の説明文に示されている。(B) 最初の投与後の I L 2 v の血清レベルが、異なる処置群について示されている。

【図5】ヒト P M B C とヒト A 5 4 9 肺がん細胞株との共培養において、C E A - I L 2 v による処置が濃度依存的に A 5 4 9 細胞上の P D - L 1 のアップレギュレーションを誘導することを示すインビトロ研究の結果を示す。A 5 4 9 腫瘍細胞上の P D - L 1 発現を、1 0 n M 又は 1 0 0 n M の C E A - I L 2 v 単独で (A)、又は E : T 比が 1 : 1 (B) 若しくは 1 0 : 1 (C) の P B M C の存在下で処置した後、フローサイトメトリーによって分析した。

【図6】F A P - I L 2 v 及び P D - L 1 M a b を単独の薬剤として、及び組み合わせの設定で用いた有効性実験の結果を示す。M C 3 8 - F A P トランスフェクタント結腸直腸癌細胞株を、皮下モデルにおいて腫瘍増殖阻害を研究するために、B l a c k 6 マウスに皮下注射した。(A) 腫瘍のサイズ (キャリパーを用いて測定) ; (B) 生存。n =

14。

【0036】

発明の詳細な説明

IL-2経路

インビトロ及びインビボの両方でリンパ球及びNK細胞集団を増やして活性化するIL-2の能力は、IL-2の抗腫瘍効果を説明する。しかし、過剰な免疫応答及び潜在的な自己免疫を防ぐための調節機構として、IL-2は活性化誘導細胞死(AICD)をもたらす、活性化T細胞をFas媒介アポトーシスに感受性にする。

【0037】

更に、IL-2は、末梢CD4⁺CD25⁺T_{reg}細胞の維持及び増殖に關与している (Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, et al. A function for interleukin 2 in Foxp3 expressing regulatory T cells. Nat Immunol. 2005; 6:1142-1151; D'Cruz LM, Klein L. Development and function of agonist-induced CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells in the absence of interleukin 2 signaling. Nat Immunol. 2005; 6:1152-1159; Maloy KJ, Powrie F. Fueling regulation: IL-2 keeps CD4⁺T_{reg} cells fit. Nat Immunol. 2005; 6:1071-1072)。これらの細胞は、細胞-細胞接触又はIL-10若しくはトランスフォーミング成長因子(TGF)- β などの免疫抑制性サイトカインの放出を介して、エフェクターT細胞が自己又は標的を破壊するのを抑制する。T_{reg}細胞の枯渇は、IL-2誘導性抗腫瘍免疫を増強することが示された (Imai H, Saio M, Nonaka K, et al. Depletion of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells enhances interleukin-2-induced antitumor immunity in a mouse model of colon adenocarcinoma. Cancer Sci. 2007; 98:416-423)。

10

20

【0038】

IL-2はまた、CD8⁺T細胞の一次及び二次増殖の間の記憶CD8⁺T細胞分化において重要な役割を果たす。IL-2は、一次抗原チャレンジ後のエフェクター機能の最適な拡大及び生成を担うようである。IL-2シグナルは、ほとんどの抗原特異的CD8⁺T細胞がアポトーシスによって消失する免疫応答の収縮期に、細胞死からCD8⁺T細胞を救うことができ、記憶CD8⁺T細胞の持続的な増加を与える。記憶段階では、外因性IL-2の投与によってCD8⁺T細胞頻度を高めることができる。更に、初期プライミングの間にIL-2シグナルを受け取ったCD8⁺T細胞のみが、新たな抗原チャレンジ後の効率的な二次的増殖を媒介することができる。従って、免疫応答の異なる段階の間のIL-2シグナルは、CD8⁺T細胞機能の最適化において重要であり、それによってこれらのT細胞の一次応答及び二次応答の両方に影響を及ぼす (Adv Exp Med Biol. 2010;684:28-41. The role of interleukin-2 in memory CD8 cell differentiation. Boyman OI, Cho JH, Sprent J)。

30

【0039】

その抗腫瘍効果に基づいて、高用量のIL-2(アルデスロイキン、Proleukin(登録商標)として市販されている)治療が、米国においては転移性腎細胞癌(RCC)及び悪性黒色腫患者での使用のために、及び欧州連合においては転移性RCC患者のために承認されている。しかしながら、IL-2の作用機序の結果として、IL-2の全身性及び非標的適用は、T_{reg}細胞及びAICDの誘導を介して抗腫瘍免疫をかなり損なう可能性がある。全身性IL-2治療の更なる懸念は、重篤な心血管疾患、肺浮腫、肝臓、胃腸(GI)、神経学的及び血液学的事象に關連する (Proleukin(aldesleukin)製品特性の概要 [SmPC]: <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/19322/SPC/> (2013年5月27日にアクセス))。低用量のIL-2レジメンは、患者において試験されているが、最適以下の治療結果を犠牲にしている。まとめると、IL-2を利用する治療的なアプローチは、その適用に關連する不利益を克服することができる場合、がん治療に有用であり得る。

40

【0040】

50

癌胎児性抗原（CEA）及び線維芽細胞活性化タンパク質（FAP）を含む、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に対する腫瘍標的抗原結合部分、及び例えば変異体IL-2を含むIL-2ベースのエフェクター部分を含んでなるイムノコンジュゲートは、例えば、国際公開第2012/146628号及び国際公開第2012/107417号に記載されている。

【0041】

特に、変異体IL-2（例えば、IL-2 qmとして知られている4重変異体）は、IL-2R サブユニット（CD25）への結合を排除することによって野生型IL-2（例えば、アルデスロイキン）又は第1世代のIL-2ベースの免疫サイトカインの限界を克服するように設計されている。この変異体IL-2 qmは、CEAに対するヒト化抗体及びFAPに対する抗体などの様々な腫瘍標的化抗体に結合されている。更に、抗体のFc領域は、Fc 受容体及びC1q複合体への結合を防止するように改変されている。得られた腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン（例えば、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及びFAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン）は、インビトロ及びインビボの非臨床実験において、腫瘍細胞を排除することができることが示されている。

10

【0042】

従って、得られた免疫サイトカインは、IL-2R サブユニット（CD25）への結合を排除することによってIL-2の責務に対処する一種の腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインである。

20

野生型 IL-2 及び IL-2 バリエーションの特性

	IL-2	CD25 結合が排除された IL2v
	<ul style="list-style-type: none"> エフェクター細胞上の IL-2Rβγヘテロ二量体及び IL-2Rαβγの活性化 	<ul style="list-style-type: none"> エフェクター細胞上の IL-2Rβγヘテロ二量体の活性化
利点		<ul style="list-style-type: none"> Fas 媒介性アポトーシス誘導（AICDとも呼ばれる）に対する感受性の低下 優先的な Treg 細胞刺激なし 肺血管内皮上の CD25 への結合なし 優れた薬物動態及び標的指向化（CD25 シンクの欠如）
不利益	<ul style="list-style-type: none"> 血管漏出（肺血管内皮の CD25 への結合） AICD Treg 細胞の優先的な刺激 	

30

40

【0043】

用語「IL-2」又は「ヒトIL-2」は、野生型及び野生型IL-2のアミノ酸配列において1つ又は複数の変異を含むバリエーション、例えば、ジスルフィド架橋されたIL-2二量体の形成を避けるためにC125A置換を有する配列番号2に示されるようなバリエーションを含むヒトIL-2タンパク質を指す。IL-2は、N及び/又はO-グリコシル化部位を除去するように変異されてもよい。

【0044】

用語「CEA」は、様々な腫瘍型の細胞表面上で高度に発現されるタンパク質であるその免疫原性エピトープCAP-1及びCAP-2を含む癌胎児性抗原を指す。

【0045】

50

用語「FAP」は、細胞表面上に発現され、種々な腫瘍型の腫瘍細胞上又は様々な腫瘍型の腫瘍細胞環境中に提示されるタンパク質である、線維芽細胞活性化タンパク質を指す。

【0046】

PD-1 / PD-L1 / PD-L2 経路

T細胞活性化を調節する重要なネガティブ共刺激シグナルは、プログラム死-1受容体(PD-1)(CD279)、そのリガンド結合パートナーPD-L1(B7-H1、CD274; 配列番号88)及びPD-L2(B7-DC、CD273)によって提供される。PD-1のネガティブな調節の役割は、自己免疫を生じさせる傾向のあるPD-1のノックアウト(Pdcd1-/-)によって明らかになった。Nishimura et al., *Immunity* 11: 141-51 (1999); Nishimura et al., *Science* 291: 319-22 (2001)。PD-1は、CD28及びCTLA-4に関連しているが、ホモ二量体化を可能にする、膜近位システインを欠いている。PD-1の細胞質ドメインは、免疫受容体チロシン-ベース阻害モチーフ(ITIM、V/IxYxxL/V)を含む。PD-1はPD-L1とPD-L2にのみ結合する。Freeman et al., *J. Exp. Med.* 192: 1-9 (2000); Dong et al., *Nature Med.* 5: 1365-1369 (1999); Latchman et al., *Nature Immunol.* 2: 261-268 (2001); Tseng et al., *J. Exp. Med.* 193: 839-846 (2001)。

10

【0047】

PD-1は、T細胞、B細胞、ナチュラルキラーT細胞、活性化された単球及び樹状細胞(DC)上に発現しうる。PD-1は、活性化されているが刺激されてはいないヒトCD4+及びCD8+T細胞、B細胞及び骨髄によって発現される。これは、CD28及びCTLA-4のより限定された発現とは対照的である。Nishimura et al., *Int. Immunol.* 8: 773-80 (1996); Boettler et al., *J. Virol.* 80: 3532-40 (2006)。活性化されたヒトT細胞からクローニングされた、少なくとも4つのPD-1のバリエーションが存在し、それには(i)エクソン2, (ii)エクソン3, (iii)エクソン2及び3又は(iv)エクソン2~4を欠く転写物が含まれる。Nielsen et al., *Cell. Immunol.* 235: 109-16 (2005)。PD-1 ex3を例外として、全ての変異体は、静止末梢血単核細胞(PBMC)中において完全長PD-1と同様のレベルで発現される。全ての変異体の発現は、抗CD3及び抗CD28によるヒトT細胞の活性化により有意に誘導される。PD-1 ex3変異体は、膜貫通ドメインを欠き、自己免疫において重要な役割を果たす可溶性CTLA-4に類似している。Ueda et al., *Nature* 423: 506-11 (2003)。この変異体は、関節リウマチ患者の骨液及び血清中において濃縮される。Wan et al., *J. Immunol.* 177: 8844-50 (2006)。

20

30

【0048】

2つのPD-1リガンドは、その発現パターンが異なる。PD-L1は、マウスT細胞及びB細胞、CD、マクロファージ、間葉系幹細胞及び骨髄由来肥満細胞で恒常的に発現される。Yamazaki et al., *J. Immunol.* 169: 5538-45 (2002)。PD-L1は、広い範囲の非造血細胞(例えば、角膜細胞、肺細胞、血管上皮細胞、肝臓非実質細胞、間葉系幹細胞、臍島、胎盤のシンシチウム栄養芽層、ケラチノサイトなど)に発現され [Keir et al., *Annu. Rev. Immunol.* 26: 677-704 (2008)]、活性化後複数の細胞型において上方制御される。I型及びII型両方のインターフェロンIFNがPD-L1を上方制御する。Epihimer et al., *Microcirculation* 9: 133-45 (2002); Schreiner et al., *J. Neuroimmunol.* 155: 172-82 (2004)。細胞株におけるPD-L1の発現は、MyD88、TRAF6及びMEKが抑制されると低下する。Liu et al., *Blood* 110: 296-304 (2007)。JAK2は、PD-L1誘発にも関係するとされている。Lee et al., *FEBS Lett.* 580: 755-62 (2006); Liu et al., *Blood* 110: 296-304 (2007)。ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)及びAktシグナル伝達を修飾する細胞ホスファターゼであるホスホターゼテンシンホモログ(PTEEN)の欠失又は抑制は、がんにおける転写後のPD-L1発現を増加させた。Parsa et al., *Nat. Med.* 13: 84-88 (2007)。

40

【0049】

50

PD-L2の発現は、PD-L1より制限されている。PD-L2は、DC、マクロファージ、及び骨髄由来のマスト細胞に誘導的に発現される。PD-L2は、休止腹膜B1細胞の約半分から三分の二にも発現されるが、一般的なB2 B細胞には発現されない。Zhong et al., Eur. J. Immunol. 37: 2405-10 (2007)。PD-L2+B1細胞は、ホスファチジルコリンに結合し、細菌抗原に対する自然免疫応答にとって重要であると思われる。IFN-ガンマによるPD-L2の誘発は、部分的にNF-Bに依存する。Liang et al., Eur. J. Immunol. 33: 2706-16 (2003)。PD-L2は、GM-CSF、IL-4及びIFN-ガンマにより単球及びマクロファージにも誘導されうる。Yamazaki et al., J. Immunol. 169: 5538-45 (2002); Loke et al., PNAS 100:5336-41 (2003)。

【0050】

PD-1シグナル伝達は、典型的には、細胞増殖よりサイトカイン生成に大きな影響を有し、IFN-ガンマ、TNF-アルファ及びIL-2生成に大きな影響を有する。PD-1が媒介する抑制性シグナル伝達も、TCRシグナル伝達の強度に依存しており、低レベルのTCR刺激においてより大きな障害が送達される。このような低減は、CD28による共刺激により[Freeman et al., J. Exp. Med. 192: 1027-34 (2000)]又はIL-2の存在により[Carter et al., Eur. J. Immunol. 32: 634-43 (2002)]克服されうる。

【0051】

PD-L1及びPD-L2によるシグナル伝達が二方向性であるという証拠が蓄積されている。すなわち、TCR又はBCRシグナル伝達を修飾することに加えて、シグナル伝達は、PD-L1及びPD-L2を発現する細胞に戻るようにも送達される。ワルデンシュトレーム型ガンマグロブリン血症患者から単離された、天然にヒトの抗PD-L2抗体による樹状細胞の処置は、MHC II又はB7共刺激分子を上方制御することを見出されなかったが、このような細胞は、より多量の炎症誘発性サイトカイン、特にTNF-アルファ及びIL-6を生成し、T細胞の増殖を刺激した。Nguyen et al., J. Exp. Med. 196: 1393-98 (2002)。また、この抗体によるマウスの治療は、(1)移植されたb16メラノーマに対する耐性を亢進させ、腫瘍特異的CTLを急速に誘導し(Radhakrishnan et al., J. Immunol. 170: 1830-38 (2003); Radhakrishnan et al., Cancer Res. 64: 965-72 (2004); Heckman et al., Eur. J. Immunol. 37: 1827-35 (2007)); (2)アレルギー性喘息のマウスモデルにおける気道炎症性疾患の発生をブロックした(Radhakrishnan et al., J. Immunol. 173: 1360-65 (2004); Radhakrishnan et al., J. Allergy Clin. Immunol. 116: 668-74 (2005))。

【0052】

樹状細胞(「DC」)への逆シグナル伝達の更なる証拠は、可溶性PD-1と共に培養された骨髄由来のDCの研究により得られたものである(Ig定常領域に融合したPD-1 ECドメイン-「s-PD-1」)。Kuipers et al., Eur. J. Immunol. 36: 2472-82 (2006)。このs-PD-1は、抗PD-1の投与により可逆的に、DC活性化を阻害し、IL-10の生成を増大させた。

【0053】

更に、幾つかの研究では、PD-1とは独立したPD-L1又はPD-L2に対する受容体が示されている。B7.1は、既にPD-L1の結合パートナーとして同定されている。Butte et al., Immunity 27: 111-22 (2007)。化学的架橋の研究は、PD-L1及びB7.1がそれらのIgV様ドメインを介して相互作用しうることを示唆している。B7.1:PD-L1相互作用は、阻害シグナルをT細胞中に誘導することができる。B7.1によるCD4+ T細胞上でのPD-L1のライゲーション又はPD-L1によるCD4+ T細胞上でのB7.1のライゲーションは、阻害シグナルを送達する。CD28及びCTLA-4を欠くT細胞は、抗CD3+B7.1でコーティングされたビーズにより刺激したとき、増殖及びサイトカイン生成の低減を示す。B7.1の受容体の全て(すなわち、CD28、CTLA-4及びPD-L1)を欠くT細胞では、T細胞の増殖とサイトカインの生成はもはや抗CD3+B7.1コーティングビーズによって阻害されない。これは、B7.1が、CD28及びCTLA-4の非存在下においてT細胞上のPD-L

10

20

30

40

50

1により特異的に作用することを示唆している。同様に、PD-1を欠くT細胞は、抗CD3+PD-L1コーティングビーズの存在下において刺激したとき、増殖とサイトカイン生成の低減を示した。これは、T細胞上でのB7.1に対するPD-L1ライゲーションの抑制効果を実証するものである。T細胞がPD-L1のすべての既知の受容体を欠いている場合(すなわち、PD-1及びB7.1なし)、T細胞増殖は、抗CD3+PD-L1コーティングビーズによってもはや損なわれなかった。従って、PD-L1は、B7.1又はPD-1により、T細胞に対し抑制効果を発揮することができる。

【0054】

B7.1とPD-L1の直接的相互作用は、共刺激に対する現行の理解は不十分であり、T細胞上におけるこれら分子の発現に対する重要性を過小評価していることを示唆する。PD-L1-/T細胞の研究は、T細胞上のPD-L1が、T細胞のサイトカイン生成を下方制御できることを示す。Latchman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 10691-96 (2004)。PD-L1とB7.1の両方がT細胞、B細胞、DC及びマクロファージに発現されることから、これら細胞型においてB7.1とPD-L1とが方向性相互作用を有している可能性がある。加えて、非造血細胞上のPD-L1は、T細胞上のB7.1並びにPD-1と相互作用することができ、それらの調節にPD-L1が関与しているかという疑問を投げかけている。B7.1:PD-L1相互作用の阻害効果の一つの可能な説明は、T細胞PD-L1が、CD28との相互作用に基づいてAPC B7.1を捕獲又は分離させようということである。

10

【0055】

結果として、PD-L1がPD-1、B7.1又はこれらの両方と相互作用することをブロックすることにより、PD-L1がネガティブな共刺激シグナルをT細胞及び他の抗原提示細胞に送ることを防ぐことを含むPD-L1によるシグナル伝達の拮抗作用は、感染症(例えば、急性及び慢性)に対する免疫性及び腫瘍免疫を亢進させると思われる。加えて、本発明の抗PD-L1は、PD-1:PD-L1シグナル伝達の他の成分のアンタゴニスト、例えば、アンタゴニスト抗PD-1抗体及び抗PD-L2抗体と組み合わせることができる。

20

【0056】

用語「ヒトPD-L1」は、ヒトタンパク質PD-L1(配列番号4、典型的にはPD-1シグナル伝達)を指す。本明細書で使用される「ヒトPD-L1への結合」又は「ヒトPD-L1に特異的に結合」又は「ヒトPD-L1に結合する」又は「抗PD-L1抗体」は、KD値 1.0×10^{-8} モル/l以下、一実施態様では、KD値 1.0×10^{-9} モル/l以下の結合親和性でヒトPD-L1抗原に特異的に結合する抗体に言及している。結合親和性は、表面プラズモン共鳴技術(BIACORE(登録商標)、GE-Healthcare Uppsala, Sweden)などの標準的な結合アッセイを用いて決定される。従って、本明細書で使用される「ヒトPD-L1に結合する抗体」は、KD値 1.0×10^{-8} モル/l以下(一実施態様では、 1.0×10^{-8} モル/l~ 1.0×10^{-13} モル/l)、一実施態様ではKD値 1.0×10^{-9} モル/l以下(一実施態様では、 1.0×10^{-9} モル/l~ 1.0×10^{-13} モル/l)の結合親和性でヒトPD-L1抗原に特異的に結合する抗体を指す。

30

40

【0057】

本明細書に詳細に記載するように、本発明者らは、PD-1/PD-L1経路アンタゴニストと組み合わせて使用すると、腫瘍標的化変異体IL-2がインビボで優れた治療効果を提供することを発見した。特に、本発明者らは、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン(CEA-IL2v又はCEA標的化IgG-IL-2qmと呼ばれる)又はFAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン(FAP-IL2v又はFAP-標的化IgG-IL-2qmと呼ばれる)は、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせて使用すると、インビボで優れた治療効果を提供することを発見した。

【0058】

リンパ球及びナチュラルキラー(NK)細胞を増殖及び活性化するIL-2の能力は、

50

IL-2の抗腫瘍活性の根底にある。IL-2サブユニット(CD25)へのIL-2の結合を排除するように設計されたIL-2変異体は、IL-2の限界を克服し、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン又はFAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインのような腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの一部として、腫瘍細胞を排除することができることが示されている。

【0059】

本発明者らは、本明細書に記載するように、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインを用いたインビトロの処置が、腫瘍細胞に対するPD-L1上方制御を誘導することを見出した。例えば、ヒトPBMCとヒトA549肺がん細胞株との共培養は、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインが、濃度依存的に、IFNの放出によって媒介される可能性が最も高い、A549細胞上のPD-L1の上方制御を誘導することを示した。「CEA-IL2v」(国際公開第2012/146628号、実施例1及び2に記載の配列番号84, 86及び88として示される配列を有する、抗CEA抗体CH1A1A98/992F1及びIL-2四重変異体(IL-2qm、配列番号3)に基づくCEA標的化IgG-IL-2qm融合タンパク質に対応する)と呼ばれるCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインを使用すると、CEA-IL2v単独では、A549腫瘍細胞においてPD-L1を誘導することができなかった(図4)。しかし、PBMCの存在下では、PD-L1はA549細胞で上方制御され、この効果はIFNの放出によって媒介される可能性が最も高い免疫細胞を介して媒介されることが示された。PD-L1の発現レベルは、CEA-IL2vの濃度の増加と共に、より高いE:T比で増加した。PD-L1上方制御はPD-1との相互作用を介してNK及びT細胞の活性にネガティブに影響を及ぼすことが知られている。従って、このネガティブフィードバックループは、PD-L1ブロッキング抗体の添加によって抑制され得る。

【0060】

本発明者らは更に、本明細書に記載されるように、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインによるインビボ処置及びPD-L1阻害が、特に同時に適用された場合に、i)マウス腫瘍細胞株の同系モデルにおいて、それぞれの単剤療法と比較して優れた腫瘍増殖阻害及びii)マウス腫瘍細胞株の同系モデルにおいて、生存期間中央値及び/又は全生存期間の優れた組み合わせをもたらすことを見いだした。腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫グロブリンのマウス化代用分子と抗マウスPD-L1代用抗体との組み合わせのインビボ抗腫瘍効果を評価するために、多数の前臨床試験が開始された。例えば、前臨床試験が開始され、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインCEA-IL2v(muCEA-muIL2vと称される)のマウス化代用分子、FAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインFAP-IL2v(muFAP-muIL2vと称される)のマウス化代用分子の、抗マウスPD-L1代用抗体(例えば、FcR相互作用を消失させるDAPG変異を含む図11に示される配列を有する国際公開第2010/077634号に記載のYW243.55.S70PD-L1muIgG1、又はヒト/マウス交差反応性抗PD-L1抗体)との組み合わせのインビボ抗腫瘍効果を評価した。

【0061】

免疫サイトカイン及び抗体

本明細書に記載される併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体、又はその抗原結合断片、及び

(野生型IL-2、例えば配列番号2として示されるヒトIL-2と比較して)IL-2受容体のサブユニットへの結合親和性が低下したIL-2変異体、特にヒトIL-2の変異体、例えば、

iv)配列番号2で示されるヒトIL-2の残基42, 45及び72に対応する位置から選択される1つ、2つ又は3つの位置で1つ、2つ又は3つのアミノ酸置換、例えば、3つの位置で3つの置換、例えば特定のアミノ酸置換F42A、Y45A及びL72G;

10

20

30

40

50

又は

v) i) に示された特徴に加えて、配列番号 2 として示されるヒト I L - 2 の残基 3 に対応する位置でのアミノ酸置換、例えば特異的アミノ酸置換 T 3 A ; 又は

v i) 配列番号 2 として示されるヒト I L - 2 の残基 3 , 4 2 , 4 5 及び 7 2 に対応する位置に 4 つのアミノ酸置換、例えば特定のアミノ酸置換 T 3 A 、 F 4 2 A 、 Y 4 5 A 及び L 7 2 G

を含む I L - 2 など

を含む。

【 0 0 6 2 】

本明細書に記載される併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン並びに、2つのサブユニットからなり、2つの非同ーポリペプチド鎖のヘテロ二量体を促進する修飾を含む F c ドメイン、

(野生型 I L - 2、例えば配列番号 2 として示されるヒト I L - 2 と比較して) I L - 2 受容体の - サブユニットへの結合親和性が低下した I L - 2 変異体、特にヒト I L - 2 の変異体、例えば、

i v) 配列番号 2 で示されるヒト I L - 2 の残基 4 2 , 4 5 及び 7 2 に対応する位置から選択される 1 つ、2 つ又は 3 つの位置で 1 つ、2 つ又は 3 つのアミノ酸置換、例えば、3 つの位置で 3 つの置換、例えば特定のアミノ酸置換 F 4 2 A 、 Y 4 5 A 及び L 7 2 G ;

又は

v) i) に示された特徴に加えて、配列番号 2 として示されるヒト I L - 2 の残基 3 に対応する位置でのアミノ酸置換、例えば特異的アミノ酸置換 T 3 A ; 又は

v i) 配列番号 2 として示されるヒト I L - 2 の残基 3 , 4 2 , 4 5 及び 7 2 に対応する位置に 4 つのアミノ酸置換、例えば特定のアミノ酸置換 T 3 A 、 F 4 2 A 、 Y 4 5 A 及び L 7 2 G

を含む I L - 2 など

を含み得る。

【 0 0 6 3 】

併用療法において使用される C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 6 8 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 6 7 の軽鎖可変ドメイン V L 、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列 ; 又は

b) 配列番号 8 4 若しくは配列番号 8 6 若しくは配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 8 4 及び配列番号 8 6 及び配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 1 0 8 及び配列番号 1 0 9 及び配列番号 1 1 0 のポリペプチド配列、

を含み得る。

【 0 0 6 4 】

幾つかの実施態様において、併用療法において使用される C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 8 4 、配列番号 8 6 及び配列番号 8 8 のポリペプチド配列を含む。

【 0 0 6 5 】

併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 4 2 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 4 1 の軽鎖可変ドメイン V L 、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列 ; 又は

b) 配列番号 7 9 若しくは配列番号 8 0 若しくは配列番号 8 1 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 7 9 及び配列番号 8 0 及び配列番号 8 1 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 1 2 4 及び配列番号 1 2 5 及び配列番号 1 2 6 のポリペプチド配列、

を含み得る。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 6 】

幾つかの実施態様において、併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 9、配列番号 8 0 及び配列番号 8 1 のポリペプチド配列を含む。

【 0 0 6 7 】

これらの腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、抗原結合部分、F c ドメイン及びエフェクター部分のそれらの構成部分と共に、国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 6 6 2 8 号及び国際公開第 2 0 1 2 / 1 0 7 4 1 7 号に記載されたイムノコンジュゲートの例として記載される。例えば、配列番号 8 4 及び 8 6 及び 8 8 として示される配列を有する、抗 C E A 抗体 C H 1 A 1 A 9 8 / 9 9 2 F 1 及び I L - 2 四重変異体 (q m) (配列番号 3) に基づく特定の免疫サイトカイン「 C E A 標的化 I g G - I L - 2 q m 融合タンパク質」は、例えば国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 6 6 2 8 号の実施例 1 及び 2 に記載されている。例えば、配列番号 7 9 及び 8 0 及び 8 1 として示される配列を有する、抗 F A P 抗体 4 B 9 と I L - 2 四重変異体 (q m) (I L - 2 q m、配列番号 3) とに基づく特定の免疫サイトカイン「 F A P 標的化 I g G - I L - 2 q m 融合タンパク質」は、例えば国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 6 6 2 8 号の実施例 1 及び 2 並びに国際公開第 2 0 1 2 / 1 0 7 4 1 7 号の実施例 1 に記載されている。

10

【 0 0 6 8 】

国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 6 6 2 8 号に記載されている特定の C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、本明細書に記載される以下のポリペプチド配列を含むことを特徴とする：

20

IL-2 変異体	アミノ酸配列、配列番号
IL-2 qm	3

30

抗 CEA 抗体	重鎖可変ドメイン VH のアミノ酸配列、 配列番号	軽鎖可変ドメイン VL のアミノ酸配列、 配列番号
CH1A1A 98/99 2F1	68	67

40

CEA 標的化 IL-2 バリエーション免疫サイトカイン	重鎖のアミノ酸配列、 配列番号	軽鎖のアミノ酸配列、 配列番号
CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 qm	84 及び 86	88

【 0 0 6 9 】

50

国際公開第2012/146628号及び国際公開第2012/107417号に記載されている特定のFAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、本明細書に記載される以下のポリペプチド配列を含むことを特徴とする：

IL-2 変異体	アミノ酸配列、配列番号
IL-2 qm	3

10

抗FAP抗体	重鎖可変ドメインVH のアミノ酸配列、 配列番号	軽鎖可変ドメインVL のアミノ酸配列、 配列番号
4B9	42	41
3F2	7	6
4G8	12	11
28H1	58	57

20

FAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン	重鎖のアミノ酸配列、 配列番号	軽鎖のアミノ酸配列、 配列番号
4B9 IgG-IL-2 qm	79 及び 80	81

30

【0070】

国際公開第2012/146628号に記載されているように、IL-2変異体はIL-2受容体の α -サブユニットへの結合親和性が低下している。 β -及び γ -サブユニット(それぞれCD122及びCD132としても知られている)と一緒に、 δ -サブユニット(CD25としても知られている)は、ヘテロ三量体高親和性IL-2受容体を形成し、一方 β -及び γ -サブユニットのみからなる二量体受容体は、中等度親和性IL-2受容体と呼ばれている。国際公開第2012/146628号に記載されるように、IL-2受容体の α -サブユニットへの結合が減少したIL-2変異体ポリペプチドは、野生型IL-2ポリペプチドと比較して、調節性T細胞におけるIL-2シグナル伝達を誘導する能力の低下を有し、T細胞においてより少ない活性化誘導細胞死(AICD)を誘導し、そしてインビボで減少した毒性プロファイルを有する。毒性が低下したそのようなIL-2変異体の使用は、Fcドメインの存在に起因して長い血清半減期を有する、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインにおいて特に有利である。IL-2変異体は、野生型IL-2と比較して、IL-2受容体の δ -サブユニット(CD25)に対するIL-2変異体の親和性を減少又は消滅させるが、IL-2変異体の中等度親和性IL-2受

40

50

容体（IL-2受容体のサブユニット及びサブユニットからなる）への親和性を保存する少なくとも1つのアミノ酸変異を含み得る。1つ又は複数のアミノ酸変異は、アミノ酸置換であり得る。IL-2変異体は、ヒトIL-2（配列番号2）の残基42、45及び72に対応する位置から選択される1つ、2つ又は3つの位置で、1つ、2つ又は3つのアミノ酸置換を含み得る。IL-2変異体は、ヒトIL-2の残基42、45及び72に対応する位置で、3つのアミノ酸置換を含み得る。IL-2変異体は、ヒトIL-2の変異体であり得る。IL-2変異体は、アミノ酸置換F42A、Y45A及びL72Gを含むヒトIL-2であり得る。IL-2変異体は、IL-2のO-グリコシル化部位を除去するヒトIL-2の3位に対応する位置にアミノ酸変異を付加的に含み得る。特に、前記の付加的アミノ酸変異は、アラニン残基によってトレオニン残基を置換するアミノ酸置換である。本発明において有用な特定のIL-2変異体は、ヒトIL-2（配列番号2として示される）の残基3、42、45及び72に対応する位置に4つのアミノ酸置換を含む。具体的なアミノ酸置換はT3A、F42A、Y45A及びL72Gである。国際公開第2012/146628号の実施例に示されるように、前記四重変異体IL-2ポリペプチド（IL-2qm）は、CD25に対する検出可能な結合を示さず、T細胞におけるアポトーシスを誘導する能力が低下し、Treg細胞においてIL-2シグナル伝達を誘導する能力が低下し、インビボでの毒性プロファイルの低下を示す。しかし、それはエフェクター細胞においてIL-2シグナル伝達を活性化する能力を保持しており、エフェクター細胞の増殖を誘導し、NK細胞による二次的サイトカインとしてIFN- γ を生成する。上記の記載の何れかによるIL-2変異体は、発現の増加又は安定性などの更なる利点を提供する更なる変異を含み得る。例えば、125位のシステインは、ジスルフィド架橋IL-2二量体の形成を回避するためにアラニンなどの中性アミノ酸で置換されてもよい。従って、IL-2変異体は、ヒトIL-2の残基125に対応する位置に更なるアミノ酸変異を含む。前記付加的アミノ酸変異はアミノ酸置換C125Aであり得る。IL-2変異体は、配列番号3のポリペプチド配列を含み得る。

【0071】

国際公開第2012/146628号及び国際公開第2012/107417号に記載されているように、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの腫瘍標的化は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原を標的化することによって達成され得る。従って、免疫サイトカインは抗原結合部分を有する。抗原結合部分は、一般に、特定の抗原決定基に結合するポリペプチド分子であり、それが付着している実体（例えばエフェクター部分及びFcドメイン）を標的部位、例えば抗原決定基を有する特定のタイプの腫瘍細胞又は腫瘍間質に導くことができる。免疫サイトカインは、例えば、腫瘍細胞の表面上、他の異常細胞の表面上、血清中に遊離して、及び/又は細胞外マトリックス（ECM）中に見いだされる抗原決定基に結合することができる。抗原結合部分は、病理学的状態に関連する抗原、例えば腫瘍細胞上に提示される抗原、又は腫瘍細胞環境中又は炎症部位に向けられ得る。

【0072】

腫瘍抗原の非限定的例には、MAGE、MART-1/メラニン-A、gp100、ジペプチジルペプチターゼIV（DPPiV）、アデノシンデアミナーゼ-結合タンパク質（ADAbp）、シクロフィリンb、結腸直腸関連抗原（CRC）-C017-1A/GA733、癌胎児抗原（CEA）及びその免疫原性エピトープCAP-1及びCAP-2、etv6、aml1、前立腺特異性抗原（PSA）及びその免疫原性エピトープPSA-1、PSA-2、及びPSA-3、前立腺特異性膜抗原（PSMA）、前立腺幹細胞抗原（PSCA）、腫瘍抗原のMAGEファミリー（例えば、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2（MAGE-B2）、MAGE-Xp3（MAGE-B3）、MAGE-Xp4（MAGE-B4）、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5）、GAGE-腫瘍抗原ファミリー（例えば、G

10

20

30

40

50

AGE - 1、GAGE - 2、GAGE - 3、GAGE - 4、GAGE - 5、GAGE - 6、GAGE - 7、GAGE - 8、GAGE - 9)、BAGE、RAGE、LAGE - 1、NAG、GnT - V、MUM - 1、CDK4、チロシナーゼ、p53、MUCファミリー、HER2/neu、p21ras、RCAS1、
-フェトプロテイン、E-カドヘリン、
-カテニン、
-カテニン及び
-カテニン、p120ctn、gp100 Pmel117、PRAME、NY-ESO-1、cdc27、大腸腺腫症タンパク質(APC)、フォドリン、コネキシン37、Ig-イディオタイプ、p15、gp75、GM2及びGD2ガングリオシド、ウイルス生成物、例えばヒト乳頭腫ウイルスタンパク質、腫瘍抗原のSmadファミリー、Imp-1、P1A、EBV-コード化核内抗原(EBNA) - 1、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、SSX - 1、SSX - 2 (HOM - MEL - 40)、SSX - 1、SSX - 4、SSX - 5、SCP - 1及びCT - 7、及びc-erbB - 2が含まれる。ECM抗原の非限定例は、シンデカン、ヘパラナーゼ、インテグリン、オステオポンチン、リンク、カドヘリン、ラミニン、ラミニンタイプEGF、レクチン、フィブロネクチン、ノッチ、テネイシン、及びマトリキシン(matrixin)を含む。細胞表面抗原の非限定的な例には、FAP、Her2、EGFR、IGF - 1R、CD22 (B - 細胞受容体)、CD23 (低親和性IGE受容体)、CD30 (サイトカイン受容体)、CD33 (骨髄系細胞表面抗原)、CD40 (腫瘍壊死因子受容体)、IL - 6R (IL6受容体)、CD20、MCSP、及びPDGFR (血小板由来増殖因子受容体)が含まれる。特定の実施態様では、抗原はヒト抗原である。

10

20

【0073】

特定の実施態様において、抗原結合部分は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境において提示される抗原に向けられる。特定の実施態様において、抗原結合部分は、線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)及び癌胎児性抗原(CEA)の群から選択される抗原に向けられる。免疫サイトカインは、2つ以上の抗原結合部分を含むことができ、これらの抗原結合部分のそれぞれは、同じ抗原決定基に特異的に結合する。

【0074】

抗原結合部分は、抗原決定基に特異的に結合することを保持する抗体又はその断片の任意のタイプとすることができる。抗体断片は、限定するものではないが、VH断片、VL断片、Fab断片、F(ab')₂断片、scFv断片、Fv断片、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、及びテトラボディ(例えばHudson and Souriau, Nature Med 9, 129-134 (2003)を参照)を含む。特定の実施態様において、抗原結合部分は、Fab分子である。一実施態様において、前記Fab分子はヒトである。別の実施態様において、前記Fab分子はヒト化されている。また別の実施態様では、Fab分子は、ヒト重鎖及び軽鎖定常領域を含む。

30

【0075】

好ましい実施態様において、腫瘍標的化IL - 2バリエーション免疫サイトカインの腫瘍標的化は、国際公開第2012/146628号に記載されるように、癌胎児性抗原(CEA)を標的化することによって達成され得る。CEA標的化は、抗CEA抗体又はその抗原結合断片により達成され得る。抗CEA抗体は、配列番号66又は配列番号68の配列に対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。抗CEA抗体は、配列番号65又は配列番号67の配列に対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。抗CEA抗体は、配列番号66の配列に対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーション、及び配列番号65の配列に対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。抗CEA抗体は、配列番号68の配列に対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、9

40

50

6%、97%、98%、99%、又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーション、及び配列番号67の配列に対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。抗CEA抗体は、配列番号66の重鎖可変領域配列、及び配列番号65の軽鎖可変領域配列を含み得る。抗CEA抗体は、配列番号68の重鎖可変領域配列、及び配列番号67の軽鎖可変領域配列を含み得る。

【0076】

国際公開第2012/146628号に記載されているように、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、CEAに特異的なFab重鎖が、ノブ修飾を含むFcドメインサブユニットとカルボキシ末端ペプチド結合を共有し、これが次にIL-2ポリペプチドとカルボキシ末端ペプチド結合を共有するポリペプチド配列を含み得る。CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、配列番号82、配列番号83及び配列番号84からなる群から選択されるポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、CEAに特異的なFab重鎖が、ホール修飾を含むFcドメインサブユニットとカルボキシ末端ペプチド結合を共有するポリペプチド配列を含み得る。CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、配列番号85又は配列番号86のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、CEAに特異的なFab軽鎖を含み得る。CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、配列番号87又は配列番号88のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、配列番号85、配列番号82及び配列番号87のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、配列番号84、配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。ポリペプチドは、例えばジスルフィド結合によって共有結合していてもよい。Fcドメインポリペプチド鎖は、アミノ酸置換L234A、L235A、及びP329G(LALA P329Gと呼ぶことができる)を含み得る。

【0077】

国際公開第2012/146628号に記載されているように、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、(例えば、国際公開第2012/146628号の実施例1及び2に記載の配列番号84、86及び88として示される配列を有する、抗CEA抗体CH1A1A 98/99 2F1及びIL-2四重変異体(IL-2qm、配列番号3)に基づくCEA標的化IgG-IL-2qm融合タンパク質であり得る。配列番号84、86及び88として示される配列を有するCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、本明細書では「CEA-IL2v」と呼ばれる。

【0078】

好ましい実施態様において、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの腫瘍標的化は、国際公開第2012/146628号及び国際公開第2012/107417号に記載されるように、線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)を標的化することによって達成され得る。FAP標的化は、抗FAP抗体又はその抗原結合断片により達成され得る。抗FAP抗体は、配列番号7、配列番号9、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号32、配列番号34、配列番号36、配列番号38、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号56、配列番号58、配列番号60、配列番号62及び配列番号64からなる群から選択される配列に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。抗FAP抗体は、配列番号5、配列番号6、配列番号8、配列番号11、配列番号13、配列

10

20

30

40

50

番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 23、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 33、配列番号 35、配列番号 37、配列番号 39、配列番号 41、配列番号 43、配列番号 45、配列番号 47、配列番号 49、配列番号 51、配列番号 53、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 59、配列番号 61 及び配列番号 63 からなる群から選択される配列に対して、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 又は 100% 同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 12、配列番号 14、配列番号 16、配列番号 18、配列番号 20、配列番号 22、配列番号 24、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 38、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 44、配列番号 46、配列番号 48、配列番号 50、配列番号 52、配列番号 54、配列番号 56、配列番号 58、配列番号 60、配列番号 62 及び配列番号 64 からなる群から選択される配列に対して、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 又は 100% 同一である重鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーション、及び配列番号 5、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 23、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 33、配列番号 35、配列番号 37、配列番号 39、配列番号 41、配列番号 43、配列番号 45、配列番号 47、配列番号 49、配列番号 51、配列番号 53、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 59、配列番号 61 及び配列番号 63 からなる群から選択される配列に対して、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 又は 100% 同一である軽鎖可変領域配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 42 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である重鎖可変領域配列、及び配列番号 41 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である軽鎖可変領域配列を含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 58 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である重鎖可変領域配列、及び配列番号 57 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である軽鎖可変領域配列を含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 12 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である重鎖可変領域配列、及び配列番号 11 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である軽鎖可変領域配列を含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 7 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である重鎖可変領域配列、及び配列番号 6 の配列に対して少なくとも約 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 同一である軽鎖可変領域配列を含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 42 の重鎖可変領域配列、及び配列番号 41 の軽鎖可変領域配列を含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 58 の重鎖可変領域配列、及び配列番号 57 の軽鎖可変領域配列を含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 12 の重鎖可変領域配列、及び配列番号 11 の軽鎖可変領域配列を含み得る。抗 F A P 抗体は、配列番号 7 の重鎖可変領域配列、及び配列番号 6 の軽鎖可変領域配列を含み得る。

【0079】

国際公開第 2012/146628 号及び国際公開第 2012/107417 号に記載されているように、F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、F A P に特異的な F a b 重鎖が、ノブ修飾を含む F c ドメインサブユニットとカルボキシ末端ペプチド結合を共有し、これが次に I L - 2 ポリペプチドとカルボキシ末端ペプチド結合を共有するポリペプチド配列を含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 69、配列番号 70、配列番号 71、配列番号 72 及び配列番号 73 からなる群

から選択されるポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、F A P に特異的な F a b 重鎖が、ホール修飾を含む F c ドメインサブユニットとカルボキシ末端ペプチド結合を共有するポリペプチド配列を含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 4、配列番号 7 5 及び配列番号 7 6 からなる群から選択されるポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、F A P に特異的な F a b 軽鎖を含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 7 又は配列番号 7 8 のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 7 のポリペプチド配列、配列番号 7 4 のポリペプチド配列、及び配列番号 6 9 及び配列番号 7 2 からなる群から選択されるポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 5、配列番号 7 0 及び配列番号 7 7 のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 6、配列番号 7 1 及び配列番号 7 8 のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 7、配列番号 7 4 及び配列番号 7 2 のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、配列番号 7 8、配列番号 7 6 及び配列番号 7 3 のポリペプチド配列、又は機能性を保持しているそのバリエーションを含み得る。ポリペプチドは、例えばジスルフィド結合によって共有結合される。F c ドメインサブユニットは、アミノ酸置換 L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、及び P 3 2 9 G (L A L A P 3 2 9 G と呼ぶことができる) をそれぞれ含み得る。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 0 】

国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 6 6 2 8 号及び国際公開第 2 0 1 2 / 1 0 7 4 1 7 号に記載されているように、F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、(例えば、国際公開第 2 0 1 2 / 1 4 6 6 2 8 号の実施例 1 及び 2 並びに国際公開第 2 0 1 2 / 1 0 7 4 1 7 号の実施例 1 に記載される配列番号 7 9、8 0 及び 8 1 として示される配列を有する、抗 F A P 抗体 4 B 9 及び I L - 2 四重変異体 (I L - 2 q m、配列番号 3) に基づく F A P 標的化 I g G - I L - 2 q m 融合タンパク質であり得る。配列番号 7 9、8 0 及び 8 1 として示される配列を有する F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、本明細書では「F A P - I L 2 v」と呼ばれる。

【 0 0 8 1 】

本明細書に記載される併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体、及び I L - 2 受容体のサブユニットに対する結合親和性が低下した I L - 2 変異体を含み得る。腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体、及び I L - 2 受容体のサブユニットに対する結合親和性が低下した I L - 2 変異体から本質的になり得る。抗体は、I g G 抗体、特に I g G 1 抗体であってもよい。腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、I L - 2 受容体のサブユニットへの結合親和性が低下した単一の I L - 2 変異体を含み得る (すなわち、せいぜい 1 つの I L - 2 変異体部分が存在する)。

【 0 0 8 2 】

本明細書に記載されるように、本明細書に記載される併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン並びに、2 つのサブユニットからなり、2 つの非同ポリペプチド鎖のヘテロ二量化を促進する修飾を含む F c ドメインを含み得る。本明細書に記載される併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体の重鎖可変ドメイン及びノブ変異を含む F c ドメインサブユニット、腫瘍細胞

胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体の重鎖可変ドメイン及びホール変異を含むFcドメインサブユニット、及び腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される抗原に結合する抗体の軽鎖可変ドメイン、及びIL-2受容体のサブユニットに対する結合親和性が低減されたIL-2変異体を含む。免疫サイトカインは、2つの非同ポリペプチド鎖のヘテロ二量体化を促進する修飾を含むFcドメインを含み得る。「ヘテロ二量体化促進修飾」は、ホモ二量体を形成する同一なポリペプチドとのポリペプチドの会合を低減するか防止する、ペプチド骨格の操作又はポリペプチドの翻訳後修飾である。本明細書中で使用されるヘテロ二量体化を促進する修飾は、特に、2つのポリペプチドの会合を促進するように相互に相補的である、二量体を形成することが望まれる2つのポリペプチドのそれぞれになされる別々の修飾を含む。例えば、ヘテロ二量体化促進修飾は、その会合をそれぞれ立体的又は静電的に好ましくするために、二量体を形成することが所望されるポリペプチドの一方又は双方の構造又は電荷を改変しうる。ヘテロ二量体化は、例えばFcドメインの2つのサブユニットなどの2つの同一ではないポリペプチド間で起こり、ここで各サブユニットに融合した更なるイムノコンジュゲート成分(例えば、抗原結合部分、エフェクター部分)は同じではない。本発明によるイムノコンジュゲートでは、ヘテロ二量体化促進修飾はFcドメインにある。幾つかの実施態様では、ヘテロ二量体化促進修飾は、アミノ酸変異、特にアミノ酸置換を含む。特定の実施態様では、ヘテロ二量体化促進修飾は、Fcドメインの2つのサブユニットの各々における別々のアミノ酸変異、特にアミノ酸置換を含む。ヒトIgGのFcドメインの2つのポリペプチド鎖間の最も広範なタンパク質-タンパク質相互作用の部位は、FcドメインのCH3ドメインにある。従って、一実施態様では、前記修飾はFcドメインのCH3ドメイン内で行われる。特定の実施態様において、前記修飾は、Fcドメインの2つのサブユニットの一つにおけるノブ修飾及びFcドメインの2つのサブユニットの他方におけるホール修飾を含む、ノブ・イントゥ・ホール(knob into hole)修飾である。

【0083】

ノブ・イントゥ・ホール技術は、例えば、米国特許第5731168号；同第7695936号；Ridgway et al., Prot Eng 9, 617-621 (1996)及びCarter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)に記載されている。一般に、本方法は、ヘテロ二量体形成を促進し、ホモ二量体形成を妨げるように、隆起が空洞内に配置することができるように、第一のポリペプチドの界面での突起(「ノブ」)及び第二ポリペプチドの界面における対応する空洞(「ホール」)を導入することを含む。隆起は、第1のポリペプチドの接触面由来の小さなアミノ酸側鎖を大きな側鎖(例えば、チロシン又はトリプトファン)で置き換えることにより構築される。隆起と同じか又は同様のサイズの相補的空洞は、大きなアミノ酸側鎖を小さいもの(例えばアラニン又はスレオニン)で置き換えることにより、第2のポリペプチドの接触面に作り出される。隆起と空洞は、ポリペプチドをコードする核酸を、例えば部位特異的突然変異誘発により、又はペプチド合成により、変えることにより作り出すことができる。特定の実施態様において、ノブ修飾は、Fcドメインの2つのサブユニットの片方でアミノ酸置換T366Wを含み、そしてホール修飾は、Fcドメインの2つのサブユニットの他方でアミノ酸置換T366S、L368A及びY407Vを含む。更なる特定の実施態様において、ノブ修飾を含むFcドメインのサブユニットは、アミノ酸置換S354Cを更に含み、ホール修飾を含むFcドメインのサブユニットは、アミノ酸置換Y349Cを更に含む。これらの2つのシステイン残基の導入は、Fc領域の2つのサブユニット間のジスルフィド架橋の形成をもたらし、更に二量体を安定化させる(Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001))。Fc領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるように、EUIンデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。本明細書において使用されるFcドメインの「サブユニット」は、二量体Fcドメインを形成する2つのポリペプチドの一方、すなわち、免疫グロブリン重鎖のC末端定常領域を含み、安定な自己会合能を有するポリペプチドを指す。例えば、IgG Fcドメインのサブユニットは、IgG

10

20

30

40

50

CH2及びIgG CH3定常ドメインを含む。

【0084】

別の実施態様において、2つの非同一ポリペプチド鎖のヘテロ二量体化を促進する修飾は、国際公開第2009/089004号に記載されるように、静電的ステアリング効果を媒介する修飾を含む。一般に、この方法は、ホモ二量体形成は静電的に不利になるが、ヘテロ二量体は静電的に有利になるように、2つのポリペプチド鎖の界面で、荷電したアミノ酸残基による一又は複数のアミノ酸残基の置換を含む。

【0085】

IL-2受容体のサブユニットへの結合親和性が低下したIL-2変異体は、ノブ修飾を含むFcドメインのサブユニットのカルボキシ末端アミノ酸に融合され得る。理論に束縛されることを望まないが、Fcドメインのノブ含有サブユニットへのIL-2変異体の融合は、2つのIL-2変異体ポリペプチドを含むホモ二量体免疫サイトカインの生成を更に最小限に抑えるであろう(2つのノブ含有ポリペプチドの立体的衝突)。

10

【0086】

国際公開第2012/146628号に記載されるように、免疫サイトカインのFcドメインは、Fc受容体に対する結合親和性が改変されるように、具体的には非操作型Fcドメインに比べて、Fc受容体に対する結合親和性を改変されるように操作され得る。補体成分、具体的にはC1qに対するFcドメインの結合は、国際公開第2002/146628号に記載されているように改変され得る。Fcドメインは、その標的組織における良好な蓄積及び好ましい組織-血液分配比率に寄与する長い血清半減期を含む好ましい薬物動態学的特性をイムノコンジュゲートに付与する。しかし、同時期に、好適な抗原保有細胞に対するよりもむしろFc受容体を発現する細胞に対するイムノコンジュゲートの所望されない標的化を導く。更に、Fc受容体シグナル伝達経路の同時活性化はサイトカイン放出につながる可能性があり、イムノコンジュゲートのエフェクター部分と長い半減期とが組み合わさって、サイトカイン受容体の過剰な活性化及び全身投与の際に重篤な副作用をもたらす。これに伴い、従来IgG-IL-2イムノコンジュゲートは注入反応と関連していると記載されている(例えばKing et al., J Clin Oncol 22, 4463-4473 (2004)を参照)。

20

【0087】

従って、免疫サイトカインのFcドメインは、Fc受容体に対する結合親和性が低下するように操作され得る。一つのそうした実施態様において、Fcドメインは、FcドメインのFc受容体への結合親和性を低下させる1つ又は複数のアミノ酸突然変異を含む。典型的には、同一の一以上のアミノ酸変異がFcドメインの2つのサブユニットの各々に存在する。一実施態様において、前記アミノ酸変異は、FcドメインのFc受容体に対する結合親和性を少なくとも2倍、少なくとも5倍、又は少なくとも10倍低下させる。Fc受容体に対するFcドメインの結合親和性を低下させる複数のアミノ酸変異が存在する実施態様において、これらのアミノ酸変異は、FcドメインのFc受容体に対する結合親和性を少なくとも10倍、少なくとも20倍、又は更に少なくとも50倍低下させ得る。一実施態様において、操作されたFcドメインを含むイムノコンジュゲートは、非操作型Fcドメインを含んでなるイムノコンジュゲートと比較した場合、Fc受容体に対する結合親和性の20%未満、具体的には10%未満、より具体的には5%未満を示す。一実施態様では、Fc受容体は活性化Fc受容体である。特定の実施態様において、Fc受容体は、Fc受容体であり、より具体的にはFcRIIIa、FcRI又はFcRIIIa受容体である。好ましくは、これら受容体の各々への結合は低減する。幾つかの実施態様では、補体成分への結合親和性、特にC1qへの結合親和性も低下する。一実施態様では、新生児Fc受容体(FcRn)に対する結合親和性は低下しない。FcRnへの実質的に類似な結合、すなわち、前記受容体への免疫グロブリンの結合親和性の保存は、Fcドメイン(又は前記Fcドメインを含んでなるイムノコンジュゲート)が、FcRnに対し、非操作型形態のFcドメイン(又は前記非操作型形態のFcドメインを含んでなるイムノコンジュゲート)の約70%より大きな結合親和性を呈する場合に達成される。Fc

30

40

50

ドメイン又は前記Fcドメインを含む本発明のイムノコンジュゲートは、その親和性の約80%を越える、又は更に約90%を越える親和性を示す場合がある。一実施態様では、アミノ酸変異はアミノ酸置換である。一実施態様では、FcドメインはP329の位置にアミノ酸置換を含む。より特異的な実施態様では、アミノ酸置換は、P329A又はP329G、特にP329Gである。一実施態様では、Fcドメインは、S228、E233、L234、L235、N297及びP331から選択される位置に更なるアミノ酸置換を含む。より特定の実施態様では、更なるアミノ酸置換は、S228P、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D又はP331Sである。特定の実施態様では、Fcドメインは、位置P329、L234及びL235にアミノ酸置換を含む。更に特定の実施態様では、Fcドメインはアミノ酸変異L234A、L235A及びP329G(LALA P329G)を含む。国際公開第2012/130831号に記載され、その全体が参照により本明細書に援用されるように、アミノ酸置換のこの組み合わせは、IgGのFcドメインのFc受容体結合をほとんど完全に消滅させる。国際公開第2012/130831号には、このような変異Fcドメインを調製する方法、及びFc受容体結合又はエフェクター機能などのその特性を決定する方法も記載されている。Fc領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるように、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。

10

【0088】

20

変異体Fcドメインは、当技術分野で良く知られており、国際公開第2012/146628号に記載されるように、遺伝子的又は化学的方法を用いて、アミノ酸の欠失、置換、挿入又は修飾によって調製することができる。遺伝学的方法は、コード化DNA配列の部位特異的突然変異、PCR、遺伝子合成などを含みうる。正確なヌクレオチドの変化は、例えば配列決定により検証することができる。

【0089】

一つの実施態様において、Fcドメインは、国際公開第2012/146628号に記載されるように、非操作型Fcドメインと比較して、減少したエフェクター機能を有するように操作される。

エフェクター機能の減少は、限定されないが、以下の一つ又は複数を含み得る：抗体依存性細胞傷害(ADCC)の減少、抗体依存性細胞貪食(ADCP)の減少、サイトカイン分泌の減少、抗原提示細胞による免疫複合体媒介性の抗原取り込みの減少、NK細胞への結合の減少、マクロファージへの結合の減少、単球への結合の減少、多形核細胞への結合の減少、直接的シグナル伝達誘導性アポトーシスの減少、標的結合抗体の架橋の減少、樹状細胞成熟の減少、又はT細胞プライミングの減少。

30

【0090】

IgG₄抗体は、IgG₁抗体と比較して、Fc受容体への結合親和性の低下及びエフェクター機能の減少を呈示する。従って、幾つかの実施態様において、本発明のT細胞活性化二重特異性抗原結合分子のFcドメインは、IgG₄のFcドメイン、特にヒトIgG₄ Fcドメインである。一実施態様では、IgG₄ Fcドメインは、S228の位置におけるアミノ酸置換、具体的にはアミノ酸置換S228Pを含む。Fc受容体に対する結合親和性及び/又はそのエフェクター機能を更に低下させるために、一実施態様において、IgG₄ Fcドメインは、位置L235でアミノ酸置換、具体的にはアミノ酸置換L235Eを含む。別の実施態様では、IgG₄ Fcドメインは、P329の位置におけるアミノ酸置換、具体的にはアミノ酸置換P329Gを含む。特定の実施態様において、IgG₄ Fcドメインは、位置S228、L235及びP329でのアミノ酸置換、具体的にはアミノ酸置換S228P、L235E及びP329Gを含む。このようなIgG₄ Fcドメイン変異体とそれらのFc受容体結合特性は国際公開第2012/130831号に記載され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0091】

50

本明細書に記載される併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、243.55.S70、243.55.H1、243.55.H12、243.55.H37、243.55.H70、243.55.H89、243.55.S1、243.55.5、243.55.8、243.55.30、243.55.34、243.55.S37、243.55.49、243.55.51、243.55.62、及び243.55.84からなる群より選択される。

【0092】

これら抗体は、国際公開第2010/77634号（配列は国際公開第2010/77634号の図11に示されている）に記載されており、本明細書に記載されるように以下のVH及びVL配列を含むことを特徴とする。

10

抗PD-L1抗体	重鎖可変ドメインVH のアミノ酸配列、 配列番号	軽鎖可変ドメインVL のアミノ酸配列、 配列番号
243.55.S70	89	92
243.55.H1	90	93
243.55.H12	90	94
243.55.H37	90	95
243.55.H70	90	96
243.55.H89	90	97
243.55.S1	90	98
243.55.5	90	99
243.55.8	90	100
243.55.30	90	101
243.55.34	90	102
243.55.S37	90	103
243.55.49	90	104
243.55.51	90	105
243.55.62	90	106
243.55.84	91	107

20

30

40

【0093】

本発明の実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用されるCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号68の重鎖可変ドメインVH及び配列番号67の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列；又は

50

b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、

及び

本併用療法において使用されるヒト PD-L1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン VL を含むことを特徴とする。

【0094】

本発明の実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用される FAP 標的化 IL-2 パリアント免疫サイトカインは、

a) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン VL、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、

及び

10

20

30

40

50

本併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

- a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は
- b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は
- c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は
- d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は
- e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は
- f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は
- g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は
- h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は
- i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は
- j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は
- k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は
- l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL、又は
- m) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVL、又は
- n) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号105の軽鎖可変ドメインVL、又は
- o) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号106の軽鎖可変ドメインVL、又は
- p) 配列番号91の重鎖可変ドメインVH及び配列番号107の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

【0095】

実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用されるCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

配列番号68の重鎖可変ドメインVH及び配列番号67の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列を含むことを特徴とする。

【0096】

実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用されるCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

配列番号84及び配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列を含むことを特徴とする。

【0097】

実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用されるCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

配列番号108及び配列番号109及び配列番号110のポリペプチド配列を含むことを特徴とする。

【0098】

10

20

30

40

50

実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

配列番号 4 2 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 4 1 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列を含むことを特徴とする。

【 0 0 9 9 】

実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

配列番号 7 9 及び配列番号 8 0 及び配列番号 8 1 のポリペプチド配列を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 0 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 8 9 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 2 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 1 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 3 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 2 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 4 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 3 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 5 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 4 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 6 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 5 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 7 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 6 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 8 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 7 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 9 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 8 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 1 0 0 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【 0 1 0 9 】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 1 0 1 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

10

20

30

40

50

【0110】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

【0111】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

【0112】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

10

【0113】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号105の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

【0114】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号106の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

20

【0115】

一実施態様において、併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号91の重鎖可変ドメインVH及び配列番号107の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

【0116】

本発明の好ましい実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用されるCEA標的化IL-2パリアント免疫サイトカインは、配列番号84及び配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、かつ

本併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

30

【0117】

本発明の好ましい実施態様において、本明細書に記載される併用療法において使用されるFAP標的化IL-2パリアント免疫サイトカインは、

配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、かつ

本併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

40

【0118】

用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、様々な抗体構造を包含し、限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、及び所望の抗原結合活性を示す限りにおいて抗体断片を含む。

【0119】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例には、限定されないが、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、ダイアボディ、直鎖状抗体、単鎖抗体分子(例えばscFv)、及び単ドメイン抗体が含まれる。所定の抗体断片の総説については、Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)を参照。scFv断片の総説については、例えば、The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg

50

and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)のPluckthuenを参照；また、国際公開第93/16185号；及び米国特許第5571894号及び第5587458号も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつインビボ半減期を増加させたFab及びF(ab')₂断片の議論については、米国特許第5869046号を参照のこと。ダイアボディは、二価又は二重特異性でありうる二つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第404,097号；国際公開第1993/01161号；Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)；及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)を参照。トリアボディ及びテトラボディもHudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)に記載されている。単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部、又は軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。ある実施態様において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である(Domantis, Inc., Waltham, MA；例えば、米国特許第6248516(B1)号を参照)。抗体断片は様々な技術で作製することができ、このような技術には、限定されないが、本明細書に記載するように、インタクトな抗体のタンパク質消化、並びに組換え宿主細胞(例えば、大腸菌又はファージ)による生産が含まれる。

10

【0120】

用語「抗原結合ドメイン」又は「抗体の抗原結合部分」は、本明細書中で使用される場合、抗原の一部又は全体に結合し、かつ抗原の一部又は全体に相補的な領域を含む抗体の部分指す。従って、この用語は、抗原結合に關与する抗体のアミノ酸残基を指す。抗原結合ドメインは、例えば、一又は複数の抗体可変ドメイン(抗体可変領域とも呼ばれる)により提供される。特に、抗原結合ドメインは、抗体軽鎖可変領域(VL)及び抗体重鎖可変領域(VH)を含む。抗体の抗原結合部分は、「相補性決定領域」又は「CDR」からのアミノ酸残基を含む。「フレームワーク」又は「FR」領域は、ここで定義する超可変領域の残基以外の可変ドメイン残基である。従って、抗体の軽鎖及び重鎖可変ドメインは、NからC末端に、ドメインFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及びFR4を含む。特に、重鎖のCDR3は、抗原結合に最も寄与する領域であり、抗体の特性を定める。CDR及びFRは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)の標準的定義に従って決定され、及び/又は「超可変ループ」からの残基である。

20

30

【0121】

用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は、抗体の抗原への結合に關与する抗体の重鎖又は軽鎖のドメインを指す。通常、天然型抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン(それぞれVH及びVL)は、各々が四つの保存されたフレームワーク領域(FR)と三つの超可変領域(HVR)とを含む類似構造を有する。例えば、Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co. 91頁、(2007)を参照。抗原結合特異性を付与するには、単一のVH又はVLドメインで十分である。

【0122】

「エピトープ」なる用語は、抗体に特異的に結合することが可能なCEA又はヒトPD-L1などの抗原のタンパク質決定基を意味する。エピトープは、通常、アミノ酸又は糖側鎖などの分子の、化学的に活性な表面のグルーピングからなり、通常エピトープは特異的な三次元構造の特徴並びに特異的な電荷特性を有する。立体構造及び非立体構造のエピトープは、変性溶媒の存在下で、後者ではなく前者への結合が失われることにおいて区別される。

40

【0123】

本明細書の用語「Fcドメイン」又は「Fc領域」は、定常領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。この用語は、天然配列Fc領域と変異体Fc領域を含む。IgG重鎖のFc領域の境界ははわずかに変化し得るが、ヒトIgG重鎖のFc領域は通常、Cys226から又はPro230から重鎖のカルボキシル末端へ伸展するように定義されている。しかし、Fc領域のC末端リジン(

50

Lys 447) は存在しているか、又は存在していない場合がある。本明細書に明記されていない限り、Fc領域又は定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるように、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991。抗体の「Fcドメイン」は、抗体の抗原への結合に直接的にかかわらないが、様々なエフェクター機能を示す。「抗体のFc部分」は、当業者に周知であり、抗体のパライン切断に基づいて定義される用語である。抗体又は免疫グロブリンは、その重鎖定常領域のアミノ酸配列に応じて、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMのクラスに分類され、これらのうち幾つかは、サブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4、IgA1及びIgA2に更に分類され得る。重鎖定常領域に応じて、免疫グロブリンの異なるクラスは、それぞれ、及び μ と呼ばれる。抗体のFcドメインは、補体活性化、C1q結合及びFc受容体結合に基づいて、ADCC(抗体依存性細胞媒介性細胞傷害)並びにCDC(補体依存性細胞傷害)に直接関与する。補体活性化(CDC)は、ほとんどのIgG抗体サブクラスのFcドメインへの補体因子C1qの結合により開始される。補体系に対する抗体の影響は特定の条件に依存し、C1qへの結合は、Fcドメインに画定された結合部位により引き起こされる。そのような結合部位は、当該技術分野において知られており、例えば、Boackle, R.J., et al., Nature 282 (1979) 742-743; Lukas, T.J., et al., J. Immunol. 127 (1981) 2555-2560; Brunhouse, R., and Cebra, J.J., Mol. Immunol. 16 (1979) 907-917; Burton, D.R., et al., Nature 288 (1980) 338-344; Thommesen, J. E., et al., Mol. Immunol. 37 (2000) 995-1004; Idusogie, E.E., et al., J. Immunol. 164 (2000) 4178-4184; Hezareh, M., et al., J. Virology 75 (2001) 12161-12168; Morgan, A., et al., Immunology 86 (1995) 319-324; EP 0 307 434により記載される。このような結合部位は、例えば、L234、L235、D270、N297、E318、K320、K322、P331、及びP329である(Kabat, E. AのEUインデックスに従った番号付け、上記参照)。通常、サブクラスIgG1、IgG2及びIgG3の抗体は、補体活性化及びC1q及びC3結合を示すが、IgG4は補体系を活性化させず、C1q及びC3に結合しない。

【0124】

一実施態様では、本明細書に記載される免疫サイトカインの抗体成分又は抗体は、ヒト起源に由来するFcドメイン及び好ましくはヒト定常領域の他の全ての部分を含む。本明細書で使用される場合、用語「ヒト起源由来のFcドメイン」とは、サブクラスIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のヒト抗体のFcドメインの何れか、好ましくはヒトIgG1サブクラスからのFcドメイン、ヒトIgG1サブクラスからの変異Fcドメイン(一実施態様において、L234A+L235Aにおける変異を含む)、ヒトIgG4サブクラスからのFcドメイン又はヒトIgG4サブクラスからの変異Fcドメイン(一実施態様において、S228Pにおける変異を含む)であるFcドメインを意味する。好ましい一実施態様では、ヒト重鎖定常領域は配列番号58(ヒトIgG1サブクラス)であり、別の好ましい実施態様ではヒト重鎖定常領域は配列番号59(変異L234A及びL235Aを有するヒトIgG1サブクラス)であり、別の好ましい実施態様ではヒト重鎖定常領域は配列番号60(ヒトIgG4サブクラス)であり、別の好ましい実施態様ではヒト重鎖定常領域は配列番号61(変異S228Pを有するヒトIgG4サブクラス)である。一実施態様では、前記抗体は、低下した又は最少のエフェクター機能を有する。一実施態様では、最少のエフェクター機能は、エフェクターを有さない(effectorless)Fc変異に起因する。一実施態様では、エフェクターを有さないFc変異は、L234A/L235A又はL234A/L235A/P329G又はN297A又はD265A/N297Aである。一実施態様では、エフェクターを有さないFc変異は、抗体の各々について、L234A/L235A、L234A/L235A/P329G、N297A及びD265A/N297A(EU番号付け)を含む(からなる)群から互い

10

20

30

40

50

に独立して選択される。

【0125】

一実施態様において、本明細書に記載される免疫サイトカインの抗体成分又は抗体は、ヒトIgGクラスのもの（すなわち、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4サブクラスのもの）である。

【0126】

好ましい実施態様において、本明細書に記載される免疫サイトカインの抗体成分又は抗体は、ヒトIgG1サブクラスのもの又はヒトIgG4サブクラスのものである。

【0127】

一実施態様において、本明細書に記載される免疫サイトカインの抗体成分又は抗体は、ヒトIgG1サブクラスのものである。一実施態様において、本明細書に記載される免疫サイトカインの抗体成分又は抗体は、ヒトIgG4サブクラスのものである。

10

【0128】

一実施態様において、本明細書に記載される免疫サイトカインの抗体成分又は抗体は、定常鎖がヒト起源のものであることを特徴とする。このような定常鎖は、先端技術において知られており、例えば、Kabata、E.A.により記載される（例えば、Johnson, G. and Wu, T.T., *Nucleic Acids Res.* 28 (2000) 214-218を参照）。例えば、有用なヒト重鎖定常領域は、配列番号114のアミノ酸配列を含む。例えば、有用なヒト軽鎖定常領域は、配列番号113のカッパ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。

【0129】

本発明で使用される「核酸」又は「核酸分子」なる用語は、DNA分子及びRNA分子を含むことを意図している。核酸分子は一本鎖又は二本鎖であってよいが、好ましくは二本鎖DNAである。

20

【0130】

この出願中において使用される「アミノ酸」なる用語は、アラニン（3文字コード：ala、1文字コード：A）、アルギニン（arg、R）、アスパラギン（asn、N）、アスパラギン酸（asp、D）、システイン（cys、C）、グルタミン（gln、Q）、グルタミン酸（glu、E）、グリシン（gly、G）、ヒスチジン（his、H）、イソロイシン（ile、I）、ロイシン（leu、L）、リジン（lys、K）、メチオニン（met、M）、フェニルアラニン（phe、F）、プロリン（pro、P）、セリン（ser、S）、スレオニン（thr、T）、トリプトファン（trp、W）、チロシン（tyr、Y）、及びバリン（val、V）を含む天然に生じるカルボキシ - アミノ酸の群を示す。

30

【0131】

参照ポリペプチド配列に対する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、最大の配列同一性パーセントを得るように配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後の、いかなる保存的置換も配列同一性の一部とみなさない、参照ポリペプチド配列のアミノ酸残基と同一である候補配列のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアラインメントは、当分野の技術の範囲内にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMegaalign（DNASTAR）ソフトウェアのような公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者であれば、比較する配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するのに必要な任意のアルゴリズムを含めた、配列を整列させるための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書において、アミノ酸配列同一性％の値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、ジェネンテック社によって著作され、ソースコードは米国著作権庁、ワシントンD.C.、20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087で登録されている。また、ALIGN-2は、ジェネンテック社（South San Francisco、California）から公的に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパ

40

50

イルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX（登録商標）のV4.0Dを含めたUNIX（登録商標）オペレーティングシステムでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定されて変動しない。アミノ酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、所与のアミノ酸配列Bとの又はそれに対する、所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性%（あるいは、所与のアミノ酸配列Bと若しくはそれに対して、ある程度のアミノ酸配列同一性%を有するか又は含む所与のアミノ酸配列Aと言うこともできる）は次のように計算される：

分率 X/Y の100倍

ここで、 X は配列アラインメントプログラムALIGN-2により、そのプログラムのA及びBのアラインメントにおいて完全に一致するとされたアミノ酸残基の数であり、 Y はBの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは異なる場合、AのBに対する%アミノ酸配列同一性は、BのAに対する%アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。特に断らない限り、本明細書で使用される全ての%アミノ酸配列同一性値は、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用して、直前の段落で説明したように得られる。少なくとも、例えば、本発明の参照ヌクレオチド配列と少なくとも例えば95%「同一」であるヌクレオチド配列を有する核酸又はポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が参照配列と、ポリヌクレオチド配列が参照ヌクレオチド配列のそれぞれ100のヌクレオチドにつき最大5ポイントの変異を含んでよいという点以外は同一であることが意図される。換言すれば、参照ヌクレオチド配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るために、参照配列中最大5%のヌクレオチドが削除又は別のヌクレオチドで置換されてよいが、又は参照配列に含まれる全てのヌクレオチドの最大5%まで複数のヌクレオチドが参照配列に挿入されてよい。参照配列のこのような変化は、参照ヌクレオチド配列の5'又は3'末端の位置で、又はこれら末端の間の何れかで、参照配列に含まれる残基中において個々に散在して、又は参照配列内部の一又は複数の連続する群において生じ得る。実際に、何れか特定のポリヌクレオチド配列が、本発明のヌクレオチド配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%同一であるかどうかは、ポリペプチドについて上述したもの（例えばALIGN-2）などの既知のコンピュータプログラムを用いて常套的に決定することができる。

【0132】

「発現カセット」という用語は、標的細胞中の特定の核酸の転写を可能にする一連の特定の核酸エレメントを用いて、組換え又は合成により生成されたポリヌクレオチドを指す。組換え発現カセットは、プラスミド、染色体、ミトコンドリアDNA、色素体DNA、ウイルス又は核酸断片に組み込むことができる。典型的には、発現ベクターの組換え発現カセット部分は、とりわけ、転写されるべき核酸配列及びプロモーターを含む。ある実施態様では、本発明の発現カセットは、本明細書に記載されるポリペプチド又はその断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【0133】

用語「ベクター」又は「発現ベクター」は、「発現構築物」と同義であり、標的細胞内においてそれが作動可能に結合する特定の遺伝子を導入しその発現を誘導するために使用されるDNA分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、並びにそれが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。発現ベクターは、発現カセットを含む。発現ベクターは、大量の安定なmRNAの転写を可能にする。発現ベクターが標的細胞内部に入ると、遺伝子によってコードされるリボ核酸分子又はタンパク質が、細胞転写及び/又は翻訳機構によって産生される。一実施態様では、発現ベクターは、本明細書に記載されるポリペプチド又はその断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む発現カセットを含む。

【0134】

「人工的」なる用語は、合成の又は非宿主細胞由来の組成物、例えば化学的に合成されたオリゴヌクレオチドを指す。

【 0 1 3 5 】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養」は、互換的に使用され、外因性の核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含む。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、それには、継代の数に関係なく、それに由来する初代形質転換細胞及び子孫が含まれる。子孫は親細胞と核酸含量が完全に同一ではないかもしれないが、突然変異が含まれる場合がある。本明細書には、最初に形質転換された細胞においてスクリーニング又は選択されたものと同じ機能又は生物活性を有する変異型子孫が含まれる。宿主細胞は、本明細書に記載されるポリペプチドを生成するために使用され得る任意のタイプの細胞系である。一実施態様において、宿主細胞は、そのFc領域に修飾されたオリゴ糖を有するポリペプチドの産生を可能にするように操作される。特定の10 実施態様において、宿主細胞は、(1,4)-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII(GnTIII)活性を有する一以上のポリペプチドの増加したレベルを発現するように操作されている。特定の10 実施態様において、宿主細胞は、マンノシダーゼIII(ManIII)活性を有する一以上のポリペプチドの増加したレベルを発現するように更に操作されている。宿主細胞は、培養細胞、例えば幾つか例を挙げると、CHO細胞、BHK細胞、NS0細胞、SP2/0細胞、YO骨髄腫細胞、P3X63マウス骨髄腫細胞、PER細胞、PER.C6細胞、又はハイブリドーマ細胞といった哺乳動物の培養細胞、酵母細胞、昆虫細胞、及び植物細胞を含み、更には、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物、又は培養された植物若しくは動物組織内部に含まれる細胞も含む。20

【 0 1 3 6 】

本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、例えば、固相ペプチド合成(例えばメリフィールド固相合成)又は組換え生成によって得ることができる。組換え生成のために、例えば上述したように、免疫サイトカイン(断片)をコードする一又は複数のポリヌクレオチドが単離され、宿主細胞内での更なるクローニング及び/又は発現のために一又は複数のベクターに挿入される。このようなポリヌクレオチドは、一般的な手順を使用して容易に単離され配列決定されうる。一実施態様において、ポリヌクレオチドの一又は複数を含むベクター、好ましくは発現ベクターが提供される。当業者によく知られている方法は、適切な転写/翻訳制御シグナルとともに、イムノコンジュゲート(断片)のコード配列を含む発現ベクターを構築するために使用することができる。30 これらの方法は、インピトロでの組換えDNA技術、合成技術及びインピボでの組換え/遺伝子組換えを含む。例えば、Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989); 及びAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989)に記載される技術を参照。発現ベクターはプラスミド、ウイルスの一部とすることができるか、又は核酸断片であり得る。発現ベクターは、免疫サイトカイン(断片)をコードするポリヌクレオチド(すなわちコーディング領域)がプロモーター及び/又は他の転写又は翻訳調節要素と作動可能に結合してクローン化される発現カセットを含む。本明細書で使用する「コード領域」は、アミノ酸に翻訳されるコドンからなる核酸の一部分である。「終止コドン」(TAG、TGA、又はTAA)はアミノ酸に翻訳されないが、存在する場合にはコード領域の一部であると考えられるが、任意の隣接配列、例えばプロモーター、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、イントロン、5'及び3'非翻訳領域などは、コード領域の一部ではない。2つ以上のコード領域が、単一のポリヌクレオチド構築物中に、例えば単一のベクター上に、又は別々のポリヌクレオチド構築物中に、例えば別の(異なる)ベクター上に存在することができる。更に、任意のベクターは、単一のコード領域を含んでいてもよいし、2つ以上のコード領域を含んでいてもよく、例えばベクターは、タンパク質切断を介して、翻訳後又は翻訳と同時に最終タンパク質中に分離された一又は複数のポリペプチドをコードしてもよい。加えて、ベクター、ポリヌクレオチド、又は核酸は、免疫サイトカイン(断片)、又はバリエーション又はその誘導体をコードするポリヌクレオチドに融合又は非融合された異種性コーディング領域をコード40 50

しうる。異種コード領域は、限定しないが、特殊化要素又はモチーフ、例えば分泌シグナルペプチド又は異種機能ドメインを含む。作動可能に結合とは、ポリペプチドなどの遺伝子産物のコード領域が、制御配列の影響下又は制御下において遺伝子産物の発現を配置するように、一又は複数の制御配列と結合するときである。(ポリペプチドコーディング領域及びそれに結合するプロモーターのような)二つのDNA断片は、プロモーター機能の誘導が所望の遺伝子産物をコードするmRNAの転写をもたらす場合、及び二つのDNA断片間の連結の性質が、遺伝子産物の発現を導く発現制御配列の能力を妨げないか又は転写されるべきDNA鋳型の能力を妨げない場合、「作動可能に結合している」。従って、プロモーター領域は、そのプロモーターがその核酸の転写を行うことができるならば、ポリペプチドをコードする核酸と作動可能に会合するであろう。プロモーターは所定の細胞においてのみDNAの実質的な転写を導く細胞特異的プロモーターであってもよい。プロモーター以外の他の転写制御エレメント、例えばエンハンサー、オペレーター、リプレッサー、及び転写終止シグナルは、ポリヌクレオチドと作動可能に会合して細胞特異的転写を導くことができる。好適なプロモーター及び他の転写制御領域は本明細書に開示されている。様々な転写制御領域が当業者に知られている。これらには、限定されないが、脊椎動物細胞において機能する転写制御領域、例えば、限定されないが、サイトメガロウイルス由来のプロモーター及びエンハンサーセグメント(例えばイントロン-Aと連結した最初期プロモーター)、サルウイルス40(例えば初期プロモーター)、及び(例えばラウス肉腫ウイルスなど)レトロウイルスを含む。他の転写制御領域は、脊椎動物の遺伝子、例えばアクチン、熱ショックタンパク質、ウシ成長ホルモン及びウサギ - グロビン、並びに、真核細胞における遺伝子発現を調節することができる他の配列に由来するものを含む。更なる好適な転写調節領域は、組織特異的プロモーター及びエンハンサー並びに誘導性プロモーター(例えばプロモーター誘導性テトラサイクリン)を含む。同様に、様々な転写制御エレメントが当業者に知られている。これらには、限定するものではないが、リボソーム結合部位、翻訳開始及び終結コドン、及びウイルス系由来の要素(特に、配列内リボソーム進入部位、又はCITE配列とも呼ばれるIRES)を含む。発現カセットはまた、例えば、複製起点、及び/又はレトロウイルスの長い末端反復配列(LTR)又はアデノ随伴ウイルス(AAV)の末端逆位配列(ITR)など染色体組み込み要素など他の特徴を含んでいてもよい。

10

20

30

40

50

【0137】

本明細書に記載されるポリヌクレオチド及び核酸コード領域は、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの分泌を指示する分泌ペプチド又はシグナルペプチドをコードする付加的コード領域と結合させることができる。例えば、免疫サイトカインの分泌が望まれる場合、シグナル配列をコードするDNAが免疫サイトカイン又はその断片をコードする核酸の上流に配置されうる。シグナル仮説によると、哺乳類細胞によって分泌されるタンパク質はシグナルペプチド又は分泌リーダー配列を有し、これは粗面小胞体上で成長するタンパク質鎖の排出が開始されると成熟タンパク質から切断される。当業者は、脊椎動物細胞によって分泌されるポリペプチドが通常、ポリペプチドの分泌型又は「成熟」型を生成するために翻訳されたポリペプチドから切断されるポリペプチドのN末端に融合されたシグナルペプチドを有することを認識している。特定の実施態様では、天然のシグナルペプチド、例えば免疫グロブリン重鎖又は軽鎖シグナルペプチド又は作動可能に結合しているポリペプチドの分泌を指示する能力を保持するその配列の機能的誘導体を使用される。或いは、異種哺乳動物シグナルペプチド、又はその機能的誘導体を使用することができる。例えば、野生型リーダー配列は、ヒト組織プラスミノゲン活性化因子(TPA)又はマウス - グルクロニダーゼのリーダー配列で置換されてもよい。分泌シグナルペプチドの例示的なアミノ酸及び対応するポリヌクレオチド配列を、配列番号115~123に示す。

【0138】

後の精製を容易にし(例えば、ヒスチジンタグ)又は免疫サイトカインの標識化における補助のために使用されうる短タンパク質配列をコードするDNAは、ポリヌクレオチド

をコードする免疫サイトカイン（断片）の中又は末端に含まれうる。

【0139】

更なる実施態様では、本明細書に記載される一又は複数のポリヌクレオチドを含む宿主細胞が提供される。ある実施態様では、本明細書に記載される一又は複数のベクターを含む宿主細胞が提供される。ポリヌクレオチド及びベクターは、ポリヌクレオチド及びベクターそれぞれに関連して本明細書に記載される特徴の何れかを単独で又は組み合わせて組み込むことができる。一つのそのような実施態様において、宿主細胞は、本明細書に記載される免疫サイトカイン（の一部）をコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む（例えば該ベクターで形質転換又はトランスフェクトされる）。本明細書で使用される場合、「宿主細胞」なる用語は、免疫サイトカイン又はその断片を生成するように操作することができる任意の種類細胞系を指す。免疫サイトカインの複製及び発現の補助に好適な宿主細胞は当技術分野で周知である。このような細胞は特定の発現ベクターで適切にトランスフェクト又は形質導入され得、大量のベクター含有細胞が、臨床利用のための十分な量の免疫サイトカインを得るために、大規模発酵槽での播種のために増殖されうる。適切な宿主細胞は、原核生物微生物、例えば大腸菌、又は様々な真核生物細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）、昆虫細胞などを含む。例えば、特に、グリコシル化が必要でない場合には、ポリペプチドは細菌中で生成することができる。発現の後、ポリペプチドは可溶性画分において細菌の細胞ペーストから単離され得、更に精製することができる。原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、菌類や酵母菌株を含むポリペプチドをコードするベクターのための適切なクローニング宿主又は発現宿主であり、そのグリコシル化経路は「ヒト化」されており、部分的又は完全なヒトのグリコシル化パターンを有するポリペプチドの生成をもたらす。Gerngross, Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004)、及びLi et al., Nat Biotech 24, 210-215 (2006)を参照。（グリコシル化）ポリペプチドの発現に適した宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物と脊椎動物）から派生している。無脊椎動物細胞の例は、植物細胞及び昆虫細胞を含む。多数のパキウウイルス株が同定され、これらは特に *Spodoptera frugiperda* 細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と組み合わせて使用することができる。植物細胞培養もまた宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5959177号、第6040498号、第6420548号、第7125978号及び第6417429号（トランスジェニック植物における抗体産生に関する PLANT BODIESTM 技術を記載）を参照。脊椎動物細胞もまた宿主として用いることができる。例えば、懸濁液中で増殖するように適合した哺乳動物細胞株は有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40（COS-7）で形質転換されたサル腎臓 CV1 株、ヒト胚腎臓株（Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)に記載された 293 細胞又は 293 T 細胞）、ベビーハムスター腎臓細胞（BHK）、マウスのセルトリ細胞（例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)に記載される TM4 細胞）、サル腎臓細胞（CV1）、アフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76）、ヒト子宮頸癌細胞（HELA）、イヌ腎臓細胞（MDCK）、パッファローラット肝臓細胞（BRL 3A）、ヒト肺細胞（W138）、ヒト肝臓細胞（HepG2）、マウス乳腺腫瘍細胞（MMT060562）（例えば、Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)に記載される）TRI細胞、MRC5細胞、及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株は、dhfr-CHO細胞（Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)）を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞；及びYO、NS0、P3X63及びSp2/0などの骨髄腫細胞株を含む。タンパク質生成に適した特定の哺乳動物宿主細胞系の総説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)を参照。宿主細胞は、培養細胞、例えば幾つか挙げると、哺乳動物の培養細胞、酵母細胞、昆虫細胞、細菌細胞及び植物細胞、並びにトランスジェニック動物、トランスジェニック植物又は培養植物又は動物組織内部に含まれる細胞を含む。一実施態様において、宿主細胞は、真核生物細胞、好ましくは哺乳動物細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、

10

20

30

40

50

ヒト胎児腎臓（HEK）細胞、又はリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。

【0140】

これらの系において外来遺伝子を発現する標準的な技術が当技術分野で知られている。抗体の重鎖又は軽鎖のどちらかを含むポリペプチドを発現する細胞は、発現された産物が重鎖及び軽鎖の両方を有する抗体であるように、抗体鎖の他方を発現するように操作される。

【0141】

一実施態様において、本明細書に記載される免疫サイトカインを生成する方法が提供され、その方法は、本明細書に与えられるように、免疫サイトカインの発現に適した条件下で、免疫サイトカインをコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞を培養すること、及び宿主細胞（又は宿主細胞培養培地）から免疫サイトカインを回収することを含む。

10

【0142】

免疫サイトカインの構成要素は、遺伝的に互いに融合されている。免疫サイトカインは、その成分が、お互いに直接的に又はリンカー配列を介して間接的に融合されるように設計することができる。リンカーの組成及び長さは、当該技術分野で周知の方法に従って決定することができ、有効性について試験することができる。エフェクター部分とFcドメインとの間のリンカー配列の例は、配列番号69、70、71、72、73、79、82、83及び84に示される配列に見出される。望ましい場合、融合の個々の成分を分離するための切断部位を組み込むために、付加的配列、例えばエンドペプチダーゼ認識配列を含めることもできる。

20

【0143】

免疫サイトカインは、抗原決定基に結合することができる少なくとも抗体可変領域を含む。可変領域は、天然に又は非天然に存在する抗体及びその断片の一部を形成することができ、且つそのような抗体及び断片から誘導することができる。ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体を生成する方法は、当該技術分野で周知である（例えば、Harlow and Lane, 「Antibodies, a laboratory manual」, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988）。天然に存在しない抗体は、固相-ペプチド合成を使用して構築されるか、組換えにより生成されるか（例えば、米国特許第4,186,567号に記載されているように）又は、例えば、可変重鎖及び可変軽鎖を含むコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって得ることができる（例えば、McCaffertyの米国特許第5,969,108号を参照）。抗原結合部分及びその生産方法がまたPCT公開番号WO2011/020783に詳細に記載されており、その全体を出典明記によって本明細書に援用する。

30

【0144】

何れかの動物種の抗体、抗体断片、抗原結合ドメイン又は可変領域が、本明細書に記載される免疫サイトカインにおいて用いることができる。本発明において有用な非限定的抗体、抗体断片、抗原結合ドメイン又は可変領域は、マウス、霊長類、又はヒト起源のものでありうる。免疫サイトカインがヒトでの使用を意図する場合、抗体の定常領域がヒトに由来するキメラ形態の抗体が使用され得る。抗体のヒト化形態又は完全ヒト形態もまた、当該分野で周知の方法に従って調製することができる（例えばWinterの米国特許第5565332号を参照）。ヒト化は、様々な方法によって達成することができ、それらの方法には、限定されないが、（a）非ヒト（例えば、ドナー抗体）のCDRを、重要なフレームワーク残基（例えば、良好な抗原結合親和性又は抗体機能を維持するために重要であるもの）の保持を伴う又は伴わないヒト（例えば、レシピエント抗体）のフレームワーク領域及び定常領域の上に移植すること、（b）非ヒト特異性決定領域（SDR又はa-CDR；抗体-抗原相互作用に重要な残基）のみをヒトフレームワーク領域及び定常領域上に移植すること、又は（c）非ヒト可変ドメイン全体を移植するが、表面残基の置換によってヒト様切片で「覆い隠す」ことが含まれる。ヒト化抗体及びそれらの製造方法は、例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)に総説され、更

40

50

に、例えば、Riechmann et al., *Nature* 332, 323-329 (1988); Queen et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 10029-10033 (1989); 米国特許第 5 8 2 1 3 3 7 号、同第 7 5 2 7 7 9 1 号、同第 6 9 8 2 3 2 1 号、及び同第 7 0 8 7 4 0 9 号; Jones et al., *Nature* 321, 522-525 (1986); Morrison et al., *Proc Natl Acad Sci* 81, 6851-6855 (1984); Morrison and Oi, *Adv Immunol* 44, 65-92 (1988); Verhoeyen et al., *Science* 239, 1534-1536 (1988); Padlan, *Molec Immun* 31(3), 169-217 (1994); Kashmiri et al., *Methods* 36, 25-34 (2005) (S D R (a - C D R) 移植を記述する); Padlan, *Mol Immunol* 28, 489-498 (1991) (「リサーフェシング」を記述する); Dall'Acqua et al., *Methods* 36, 43-60 (2005) (「F R シャッフリング」を記述する); 及び Osbourn et al., *Methods* 36, 61-68 (2005) 及び Klimka et al., *Br J Cancer* 83, 252-260 (2000) (F R シャッフリングへの「誘導選択」アプローチを記述する) に記載されている。ヒト抗体及びヒト可変領域は、当技術分野で周知の様々な技術を用いて生産することができる。ヒト抗体は一般的に、van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 及び Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008) に記載されている。ヒト可変領域は、ハイブリドーマ法によって作製されたヒトモノクローナル抗体の一部を形成することができる、且つそのような抗体から誘導することができる(例えば、*Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987) を参照)。ヒト抗体及びヒト可変領域は、抗原チャレンジに应答して、インタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を持つインタクトな抗体を生成するように改変されたトランスジェニック動物に、免疫原を投与することにより調製することもできる(例えば、Lonberg, *Nat Biotech* 23, 1117-1125 (2005) を参照)。ヒト抗体及びヒト可変領域はまた、ヒト由来ファージディスプレイライブラリーから選択される F v クローン可変領域配列を単離することによっても生成され得る(例えば、Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178, 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001); 及び McCafferty et al., *Nature* 348, 552-554; Clackson et al., *Nature* 352, 624-628 (1991))。ファージは、典型的には、一本鎖 F v (s c F v) 断片又は F a b 断片の何れかとして抗体断片を提示する。ファージディスプレイによるイムノコンジュゲートの抗原結合部分の調製の詳細な説明は、P C T 公開番号 W O 2 0 1 1 / 0 2 0 7 8 3 に添付される実施例に見出される。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 5 】

ある実施態様では、抗体は、例えば P C T 公開番号 W O 2 0 1 1 / 0 2 0 7 8 3 (親和性成熟に関する実施例を参照) 又は米国特許出願公開番号 2 0 0 4 / 0 1 3 2 0 6 6 (この全内容を出典明記によってここに援用する) に開示される方法に従い、増強された結合親和性を有するように操作される。特定の抗原決定基に結合する免疫サイトカインの能力は、酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A) 又は当業者によく知られている他の技術、例えば表面プラズモン共鳴技術 (B I A c o r e T 1 0 0 システムで解析される) (Liljeblad, et al., *Glyco J* 17, 323-329 (2000)) 及び伝統的な結合アッセイ (Heeley, *Endocr Res* 28, 217-229 (2002)) の何れかによって測定することができる。競合アッセイを、特定の抗原への結合について参照抗体と競合する抗体、抗体断片、抗原結合ドメイン又は可変ドメインを同定するため、例えば C E A への結合について C H 1 A 1 A 9 8 / 9 9 2 F 1 抗体と競合する抗体を同定するために使用することができる。特定の実施態様では、このような競合する抗体は、参照抗体によって結合される同じエピトープ (例えば直鎖状又は立体構造エピトープ) に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための典型的な方法の詳細が、Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) に提供されている。典型的な競合アッセイにおいて、固定化抗原 (例えば C E A) は、抗原 (例えば C H 1 A 1 A 9 8 / 9 9 2 F 1 抗体) に結合する第一の標識抗体と抗原へ結合について第一の抗体と競合するその能力について試験されている第二の非標識抗体とを含む溶液中でインキュベートされる。第二の抗体はハイブリドーマ上清に存在してもよい。対照として、固定化抗原が、第一の標識抗体を含むが第二の非標識抗体は含まない溶液中でインキュベートさ

れる。第一の抗体の抗原への結合を許容する条件下でインキュベートした後、過剰な非結合抗体が除去され、固定化された抗原に結合した標識の量が測定される。固定化抗原に結合した標識の量が、対照試料と比較して試験試料中で実質的に減少している場合、それは、第二抗体が、抗原への結合において第一の抗体と競合していることを示している。Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)を参照。

【0146】

本明細書中に記載されるように調製された免疫サイトカインは、高速液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、アフィニティークロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィーなどの当該技術分野の技術によって精製することができる。特定のタンパク質を精製するために使用される実際の条件は、一部には、正味荷電、疎水性、親水性などの要因に依存し、当業者には明瞭であろう。アフィニティークロマトグラフィー精製のために、免疫サイトカインが結合する抗体、リガンド、受容体又は抗原を使用することができる。例えば、免疫サイトカインのアフィニティークロマトグラフィー精製のために、プロテインA又はプロテインGを有するマトリックスを使用することができる。逐次的なプロテインA又はGアフィニティークロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーを、国際公開第2012/146628号の実施例に本質的に記載されるように、免疫サイトカインを単離するために使用することができる。免疫サイトカインの純度は、ゲル電気泳動、高圧液体クロマトグラフィーなどを含む様々な周知の分析方法の何れかによって決定することができる。例えば、免疫サイトカインは、還元性SDS-PAGEによって示されるようにインタクトであり、適切に組み立てられていることが示され得る。

10

20

【0147】

本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン、例えば、CEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及びFAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、国際公開第2012/146628号及び国際公開第2012/107417号の実施例に記載されるように調製することができる。

【0148】

本明細書に記載される抗体は、好ましくは、組換え手段によって産生される。そのような方法は先端技術において広く知られており、原核細胞及び真核細胞におけるタンパク質の発現を含み、その後の抗体ポリペプチドの単離、及び通常は薬学的に許容可能な純度までの精製を伴う。タンパク質発現のために、軽鎖及び重鎖又はその断片をコードする核酸は標準的な方法によって発現ベクターに挿入される。発現は、CHO細胞、NS0細胞、SP2/0細胞、HEK293細胞、COS細胞、酵母、又は大腸菌細胞などの適当な原核生物又は真核生物宿主細胞中で行われ、抗体は細胞(上清から又は細胞溶解後)回収される。

30

【0149】

組換えによる抗体の産生は先端技術において広く知られており、例えば、Makrides, S. C., *Protein Expr. Purif.* 17 (1999) 183-202; Geisse, S., et al., *Protein Expr. Purif.* 8 (1996) 271-282; Kaufman, R.J., *Mol. Biotechnol.* 16 (2000) 151-161; Werner, R.G., *Drug Res.* 48 (1998) 870-880の総説に記載されている。

40

【0150】

抗体は、細胞全体に、細胞溶解物中に、又は部分精製形態あるいは実質的に純粋な形態で存在してもよい。細胞成分又は他の汚染物、例えば他の細胞核酸又はタンパク質を除去するために、アルカリ/SDS処理、CsClバンド形成、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動、及び当該技術分野で周知の他のものを含む標準的な技術によって精製が行われる。Ausubel, F., et al., ed. *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)を参照。

【0151】

NS0細胞における発現は、例えば、Barnes, L.M., et al., *Cytotechnology* 32 (200

50

0) 109-123; Barnes, L.M., et al., Biotech. Bioeng. 73 (2001) 261-270に記載されている。一過性発現は、例えば、Durocher, Y., et al., Nucl. Acids. Res. 30 (2002) E9に記載されている。可変ドメインのクローニングは、Orlandi, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 (1989) 3833-3837; Carter, P., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 (1992) 4285-4289; Norderhaug, L., et al., J. Immunol. Methods 204 (1997) 77-87に記載されている。好ましい一過性発現系 (H E K 2 9 3) は、Schlaeger, E.-J. 及びChristensen, K., Cytotechnology 30 (1999) 71-83、及びSchlaeger, E.-J., in J. Immunol. Methods 194 (1996) 191-199に記載されている。

【0152】

本発明による重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、プロモーター、翻訳開始、定常領域、3'非翻訳領域、ポリアデニル化、及び転写終結の配列と組み合わせられて、発現ベクター構築物を形成する。重鎖及び軽鎖発現構築物は、単一のベクターに組み合わせられ、宿主細胞に同時トランスフェクトされ、連続的にトランスフェクトされ、又は別々にトランスフェクトされ、次いでそれらは融合されて両方の鎖を発現する単一の宿主細胞を形成し得る。

10

【0153】

原核生物に適切な制御配列は、例えば、プロモーター、任意選択的にオペレーター配列、及びリボソーム結合部位を含む。真核細胞は、プロモーター、エンハンサー及びポリアデニル化シグナルを利用することが知られている。

【0154】

核酸は、別の核酸配列と機能的関係に置かれた場合、「作動可能に連結される」。例えば、プレ配列又は分泌リーダーのDNAは、ポリペプチドの分泌に参画するプレタンパク質として発現されている場合、そのポリペプチドのDNAに作動可能に結合している；プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼす場合、コード配列に作動可能に結合している；又はリボソーム結合部位は、もしそれが翻訳を容易にするような位置にある場合、コード配列と作動可能に結合している。一般に、「作動可能に連結される」とは、連結されているDNA配列が連続しており、分泌リーダーの場合には隣接しており、リーディングフレームにあることを意味する。しかし、エンハンサーは連続している必要はない。連結は、好都合な制限部位でのライゲーションによって達成される。そのような部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプター又はリンカーが従来の方法に従って使用される。

20

30

【0155】

モノクローナル抗体は、例えば、プロテインA-セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、又はアフィニティークロマトグラフィーのような従来免疫グロブリン精製手順によって培養培地から適切に分離される。モノクローナル抗体をコードするDNA及びRNAは、一般的な手順を使用して容易に単離及び配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、そのようなDNA及びRNAの供給源として働くことができる。一度単離されると、DNAは、発現ベクターに挿入することができ、これらは次いで、本来ならば免疫グロブリンタンパク質を生成しないHEK293細胞、CHO細胞、又はミエローマ細胞などの宿主細胞中にトランスフェクトされ、宿主細胞中で組換えモノクローナル抗体の合成を得る。

40

【0156】

本明細書で使用される場合、「細胞」、「細胞株」及び「細胞培養物」という表現は互換的に用いられ、全てのこのような名称には子孫が含まれる。従って、「形質転換体」及び「形質転換細胞」という語は、初代の対象細胞と、導入回数に関係なく、これに由来する培養物とを含む。また、意図的又は偶発性突然変異のために、全ての子孫がDNA含量において正確に同一ではないことも理解される。元々の形質転換細胞についてスクリーニングしたのと同じ機能又は生物活性を有する変異体子孫が含まれる。

【0157】

治療方法及び組成物

50

本発明は、治療を必要とする患者の治療のための方法であって、患者に、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと、本発明によるヒト P D - L 1 に結合する抗体との併用療法の治療的有効量を投与することを特徴とする方法を含む。

【 0 1 5 8 】

本発明は、記載された併用療法のために、本発明によるヒト P D - L 1 に結合する抗体を用いた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインの使用を含む。

【 0 1 5 9 】

本発明の 1 つの好ましい実施態様は、がん又は腫瘍の治療における使用のための、本発明のヒト P D - L 1 に結合する抗体と腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインとの併用療法である。

【 0 1 6 0 】

従って、本発明の一実施態様は、本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせてがん又は腫瘍の治療における使用のための、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインである。

【 0 1 6 1 】

本発明の別の実施態様は、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせてがん又は腫瘍の治療における使用のための、本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体である。

【 0 1 6 2 】

腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、本明細書に記載されるように本発明による C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであってもよい。

【 0 1 6 3 】

がん又は腫瘍は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に抗原を提示し得る。併用療法の標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示され得る。がん又は腫瘍は、C E A 又は F A P を発現又は過剰発現し得る。治療は固形腫瘍のためのものであり得る。固形腫瘍は、C E A 又は F A P を発現又は過剰発現し得る。治療は癌のためのものであり得る。癌は、C E A 又は F A P を発現又は過剰発現し得る。がんは、結腸直腸がん、頭頸部がん、非小細胞肺癌、乳がん、膵臓がん、肝臓がん及び胃がんからなる群から選択され得る。がんは、肺がん、結腸がん、胃がん、乳がん、頭頸部がん、皮膚がん、肝臓がん、腎臓がん、前立腺がん、膵臓がん、脳がん及び骨格筋のがんからなる群から選択され得る。

【 0 1 6 4 】

本明細書で使用する用語「がん」は、例えば、肺がん、非小細胞肺 (N S C L) がん、細気管支肺胞性細胞肺癌、骨がん、膵臓がん、皮膚がん、頭部又は頸部のがん、皮膚又は眼内黒色腫、子宮がん、卵巣がん、直腸がん、肛門領域のがん、胃がん (s t o m a c h c a n c e r)、胃がん (g a s t r i c c a n c e r)、結腸がん、乳がん、子宮がん、卵管のがん、子宮内膜がん、子宮頸部がん、膣のがん、外陰部のがん、ホジキン病、食道がん、小腸がん、内分泌系のがん、甲状腺がん、副甲状腺がん、副腎がん、軟組織の肉腫、尿道がん、陰茎がん、前立腺がん、膀胱がん、腎臓又は尿管のがん、腎細胞がん、腎盂がん、中皮腫、肝細胞がん、胆管がん、中枢神経系 (C N S) の新生物、脊髄軸腫瘍、脳幹グリオーマ、多形性膠芽腫、星状細胞腫、シュワン腫、上衣腫、髄芽腫、髄膜腫、扁平上皮がん、下垂体腺腫、リンパ腫、リンパ性白血病であって良く、上記がんの何れかの難治性形態、又は上記がんのうちの一又は複数の組み合わせを含む。好ましい一実施態様では、このようながんは、乳がん、結腸直腸がん、メラノーマ、頭頸部がん、肺がん又は前立腺がんである。好ましい一実施態様では、このようながんは、乳がん、卵巣がん、子宮頸がん、頭頸部がん、肺がん又は前立腺がんである。別の好ましい実施態様では、このようながんは、乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、メラノーマがん、膀胱がん、腎がん、腎臓がん、肝臓がん、頭頸部がん、結腸直腸がん、膵臓がん、胃がん、食道がん、中皮腫、前立腺がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫である。好ましい一実施態様では、このようながんは、更に C E A 又は F A P 発現又は過剰発現によって特徴付けられる。

10

20

30

40

50

【 0 1 6 5 】

本発明の実施態様は、上記のがん又は腫瘍の何れかの治療における使用のための、本明細書に記載される抗PD-L1抗体と組み合わせた、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインである。

【 0 1 6 6 】

本発明の別の実施態様は、上記のがん又は腫瘍の何れかの治療における使用のための、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、本明細書に記載される抗PD-L1抗体である。

【 0 1 6 7 】

本発明は、がんの治療のための、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインと本明細書に記載される抗PD-L1抗体との併用療法を含む。 10

【 0 1 6 8 】

本発明は、転移の予防又は治療のための、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインと本明細書に記載される抗PD-L1抗体との併用療法を含む。

【 0 1 6 9 】

本発明は、炎症性疾患の治療のための本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの本明細書に記載される抗PD-L1抗体との併用療法を含む。

【 0 1 7 0 】

本発明は、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する又は進行を遅延させることに使用のための、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの本明細書に記載される抗PD-L1抗体との併用療法を含む。 20

【 0 1 7 1 】

本発明は、T細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することに使用のための、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの本明細書に記載される抗PD-L1抗体との併用療法を含む。

【 0 1 7 2 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される抗PD-L1抗体を患者に投与することを特徴とする、必要とする患者における癌の治療方法を含む。 30

【 0 1 7 3 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される抗PD-L1抗体を患者に投与することを特徴とする、必要とする患者における転移の予防又は治療のためのを含む。

【 0 1 7 4 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される抗PD-L1抗体を患者に投与することを特徴とする、必要とする患者における炎症性疾患の治療方法を含む。

【 0 1 7 5 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される抗PD-L1抗体を患者に投与することを特徴とする、必要とする患者において腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する又は進行を遅延させるための方法を含む。 40

【 0 1 7 6 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される抗PD-L1抗体を患者に投与することを特徴とする、必要とする患者においてT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激するための方法を含む。

【 0 1 7 7 】

本発明は、本明細書に記載される抗PD-L1抗体と組み合わせた、癌の治療における使用のための、又はあるいは本明細書に記載される抗PD-L1抗体と組み合わせた、癌 50

の治療のための医薬の製造のための、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含む。

【 0 1 7 8 】

本発明は、本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせた、転移の予防又は治療における使用のための、又はあるいは本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせた、転移の予防又は治療のための医薬の製造のための、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含む。

【 0 1 7 9 】

本発明は、本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせた、炎症性疾患の治療における使用のための、又はあるいは本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせた、炎症性疾患の治療のための医薬の製造のための、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含む。

10

【 0 1 8 0 】

本発明は、本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせた、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることに使用のための、又はあるいは本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせた、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることに使用のための医薬の製造のための、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含む。

【 0 1 8 1 】

本発明は、本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせて、T細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することに使用するための、又はあるいは本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体と組み合わせて、T細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することに使用するための医薬の製造のための、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインを含む。

20

【 0 1 8 2 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、癌の治療における使用のための、又はあるいは本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、癌の治療のための医薬の製造のための本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体を含む。

【 0 1 8 3 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、転移の予防又は治療における使用のための、又はあるいは本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、転移の予防又は治療のための医薬の製造のための本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体を含む。

30

【 0 1 8 4 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、炎症性疾患の治療における使用のための、又はあるいは本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、炎症性疾患の治療のための医薬の製造のための本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体を含む。

【 0 1 8 5 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることに使用のための、又はあるいは本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることに使用のための医薬の製造のための、本明細書に記載される抗 P D - L 1 抗体を含む。

40

【 0 1 8 6 】

本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合わせて、T細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することに使用するための、又はあるいは本明細書に記載される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインと組み合

50

わせて、T細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激するために使用するための医薬の製造のための、本明細書に記載される抗PD-L1抗体を含む。

【0187】

本発明の好ましい実施態様において、上記の併用療法及び異なる疾患の医学的使用において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

配列番号84、配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列を含むことを特徴とするCEA標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインであり；かつそのような併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

10

【0188】

本発明の好ましい実施態様において、上記の併用療法及び異なる疾患の医学的使用において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

配列番号79、配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とするFAP標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインであり；かつそのような併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする。

【0189】

別の態様では、本発明は、組成物、例えば、薬学的に許容可能な担体と一緒に処方される、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載されるヒトPD-L1に結合する抗体、又はその抗原結合部分を含有する薬学的組成物を提供する。

20

【0190】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容可能な担体」には、生理学的に適合する、任意及び全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤及び抗真菌剤、等張剤並びに吸収/再吸収遅延剤などが含まれる。好ましくは、担体は注射又は注入に適している。

【0191】

本発明の組成物は、当該分野で公知の様々な方法によって投与することができる。当業者により認識されているように、投与経路及び/又は投与様式は、所望の結果に応じて変化するものである。

30

【0192】

薬学的に許容可能な担体には、滅菌水溶液又は分散液、及び滅菌注射溶液若しくは分散液の調製用の滅菌粉末が含まれる。薬学的に活性な物質のためのそのような媒体及び薬剤の使用は、当技術分野で公知である。水に加えて、担体は、例えば、等張緩衝生理食塩水であっても良い。

【0193】

選択された投与経路に関わらず、適切な水和形態で使用されうる本発明の化合物、及び/又は本発明の薬学的組成物は、当業者に知られている一般的な方法により薬学的に許容可能な剤形に製剤化される。

40

【0194】

本発明の薬学的組成物中の有効成分の実際の用量レベルは、患者（の有効量）に対して毒性でなく、特定の患者、組成物、及び投与様式に関して所望の治療的応答を達成するために効果的な有効成分の量を得るために、多様であってよい。選択された用量レベルは、使用される本発明の特定の組成物、又はそのエステル、塩若しくはアミド、投与経路、投与時間、使用される特定の化合物の排泄速度、使用される特定の組成物と併用して用いられる他の薬物、化合物及び/又は物質、治療される患者の年齢、性別、体重、状態、全身健康状態、及び既往歴、並びに医学の技術分野において周知である同様の要因を含む多様な薬物動態因子に依存するであろう。

【0195】

50

一態様において、本発明は、(a)本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン、及び(b)本明細書に記載されるヒトPD-L1に結合する抗体を、同じ又は別々の容器に含み、及び任意で、(c)疾患を治療するための方法として、併用治療の使用を指示する印刷された説明書を含む添付文書を更に含む、疾患を治療することを意図したキットを提供する。更に、キットは、(a)本明細書に記載されるヒトPD-L1に結合する抗体を含有する組成物を収容する第1の容器；(b)本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインを含有する組成物を収容する第2の容器；及び任意で(c)更なる細胞傷害剤又は他の治療剤を含有する組成物を収容する第3の容器を含んでいてよい。本発明のこの実施態様のキットは、組成物が、特定の病状を治療するのに使用可能であることを示した添付文書を更に含んでいてよい。代替的に、又は付加的に、キットは、薬学的に許容可能な緩衝液、例えば注射用の静菌水(BWFI)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー液及びデキストロース溶液を収容する第3(又は第4)の容器を更に含んでいてもよい。これは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的に及びユーザーの立場から望まれる他の物質を更に含んでもよい。

10

【0196】

一態様において、本発明は、(a)本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインを含む容器、及び(b)疾患を治療するための方法として、本明細書に記載される抗PD-L1抗体との併用療法における腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの使用を指示する説明書を含む添付文書を含む疾患の治療を意図したキットを提供する。

20

【0197】

別の態様において、本発明は、疾患を治療するための方法として、(a)本明細書に記載される抗PD-L1抗体を含む容器、及び(b)本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインとの併用療法において、抗PD-L1抗体の使用を指示する説明書を含む添付文書を含む疾患の治療を意図したキットを提供する。

【0198】

更なる態様において、本発明は、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインを含む、疾患の治療を意図した医薬を提供し、ここで前記医薬は本明細書に記載されるヒトPD-L1に結合する抗体との併用療法における使用のためのものであり、任意で、疾患を治療するための方法として、併用治療の使用を指示する印刷された説明書を含む添付文書を含む。

30

【0199】

更に別の態様において、本発明は、本明細書に記載されるヒトPD-L1に結合する抗体を含む、疾患の治療を意図した医薬を提供し、ここで前記医薬は本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインとの併用療法における使用のためのものであり、任意で、疾患を治療するための方法として、併用治療の使用を指示する印刷された説明書を含む添付文書を含む。

【0200】

用語「治療方法」又はこの同義語は、例えばがんに適応される場合、患者におけるがん細胞の数を減少又は消滅させるように、又はがんの症状を緩和するように設計された手順又は行動方針を指す。がん又は他の増殖性疾患の「治療方法」は、がん細胞若しくは他の疾患が実際に消滅し、細胞の数若しくは障害が実際に低減し、又はがん若しくは他の疾患の症状が実際に緩和することを必ずしも意味しない。しばしば、成功の確率が低くても患者の既往歴や推定生存期間を前提として総合的に有益な行動方針を誘導するとみなされるがんの治療方法が実施される。

40

【0201】

用語「と組み合わせて投与」又は「共投与」、「共投与する」、「併用療法」又は「併用治療」は、例えば別個の製剤/用法としての(又は単一の製剤/用法としての)、本明細書に記載される腫瘍標的IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載され

50

るヒトPD-L1に結合する抗体の投与を指す。共投与は、同時もしくは何れかの順序で連続的であることができ、好ましくは両方（又は全て）の活性薬剤がその生物学的活性を同時に発揮する期間がある。前記活性薬剤は、連続的注入を介して（例えば、静脈内に（i.v.））同時に又は連続的に共投与される。両方の治療剤が連続的に共投与される場合、投与量は同日に別々の投与で投与され、又は薬剤の一つが第1日に、2番目のが第2日から第7日に、好ましくは第2日から第4日に共投与される。従って、一実施態様において、用語「連続的に（逐次的に）」は、第一成分の投与後7日以内に、好ましくは第一成分の投与後4日以内を意味し；用語「同時に」は同時刻を意味する。腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び/又は抗PD-L1抗体の維持用量に関する用語「共投与」は、治療周期（例えば毎週）が両方の薬物にとって適切である場合は、維持用量が同時に共投与されうることを意味する。又は、維持用量は連続的に投与される、例えば、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の用量を交互の週に与える。

10

20

30

40

50

【0202】

それぞれの化合物の量又は併用量が、研究者、獣医、医師若しくは他の臨床家が求める組織、系、動物若しくはヒトの生物学的又は医学的奏功を引き出す量である、「治療的有効量」（又は単に「有効量」）で抗体が患者に投与されることは自明である。

【0203】

共投与の量及び共投与のタイミングは、タイプ（種、性別、年齢、体重など）、及び治療される患者の状態、及び治療される疾患又は状態の重症度に依存するであろう。前記腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び/又は抗PD-L1抗体は、患者に対して、単回又は一連の治療にわたって、例えば同じ日に又は翌日に又は週間間隔で適切に共投与される。

【0204】

例えば、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び/又は抗PD-L1抗体は、第1週に同時に共投与されて良く、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の維持用量は、隔週交互に、例えば腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインで開始して、例えば3週間、共投与されて良い。例えば、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び/又は抗PD-L1抗体は、第1週に同時に共投与されて良く、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の維持用量は、例えば毎週、例えば2週間の総治療期間、同時に共投与されて良い。例えば、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び/又は抗PD-L1抗体は、第1週に同時に共投与されて良く、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の維持用量は、例えば毎週、例えば5週間の総治療期間、同時に共投与されて良い（これはまた、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の治療スケジュールとして、毎週1回、5週間、同時に共投与されると記載され得る）。一実施態様において、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、2週間に1回、3週間に1回又は4週間に1回投与される。一実施態様において、抗PD-L1抗体は、2週間に1回、又は3週間に1回投与される。一実施態様において、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインと抗PD-L1抗体の最初の投与は、治療サイクルの最初の日に連続的になされる。

【0205】

疾患のタイプ及び重症度に依存して、前記腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の約0.1mg/kgから50mg/kg（例えば、0.1-20mg/kg）が、患者への両方の薬剤の共投与のための初期候補投与量である。前記腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び/又は抗PD-L1抗体の投与量は、患者の体重にかかわらず、フラット固定用量であってもよい。例えば、1mg/kgの最大用量又は40mgフラット；10mgフラットの開始用量、週1回又は隔週又は0.05-0.5mg/kgを週1回又は隔週が腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫について選択され得る。一実施態様において、5-50mgのフラット固定用量、例えば、5mg

、6 mg、10 mg、15 mg、20 mg、25 mg、30 mg、35 mg、40 mg、45 mg又は50 mgの腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインが、2週間毎、3週間毎、又は4週間毎に投与される。例えば、抗PD-L1抗体について、最大投与量20 mg/kg、q3w；減らした場合には10 mg/kgが選択され得る。一実施態様において、800 mgの抗PD-L1抗体のフラット固定用量が2週間毎に投与される。別の実施態様において、1200 mgの抗PD-L1抗体のフラット固定用量が3週間毎に投与される。本発明は、がん、例えば結腸直腸癌、肝臓癌又は膵臓癌に罹患している患者の治療のための、本発明の腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の使用を含む。

【0206】

抗PD-L1抗体と併用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインに加えて、化学療法剤も投与可能である。

【0207】

一実施態様では、このような追加の化学療法剤は、本明細書に記載される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される抗PD-L1抗体と共に投与することができ、限定しないが、アルキル化剤を含む抗腫瘍性薬剤を含み、これには、ナイトロジェンマスタード、例えばメクロレタミン、シクロホスファミド、イホスファミド、メルファラン及びクロラムブシル；ニトロソウレア類、例えばカルムスチン（BCNU）、ロムスチン（CCNU）、及びセムスチン（メチル-CCNU）；テモダール（TM）（テモゾロマイド）、エチレンイミン/メチルメラミン、例えばトリエチレンメラミン（TEM）、トリエチレン、チオリンアミド（チオテパ）、ヘキサメチルメラミン（HMM、アルトレタミン）；スルホン酸アルキル、例えばブスルファン；トリアジン、例えばダカルバジン（DTIC）；葉酸アナログ、例えばメトトレキサート及びトリメトトレキサート、ピリミジンアナログ、例えば5-フルオロウラシル（5FU）、フルオロデオキシウリジン、ゲムシタピン、シトシンアラビノシド（AraC、シタラビン）、5-アザシチジン、2,2'-ジフルオロデオキシシチジン、プリンアナログ、例えば；6-メルカプトプリン、6-チオグアニン（thioguanine）、アザチオプリン、T-デオキシコホルマイシン（ペントスタチン）、エリトロヒドロキシニルアデニン（EHNA）、リン酸フルダラビン、及び2-クロロデオキシシアデノシン（クラドリビン、2-CD A）を含む代謝拮抗薬；抗有糸分裂薬、例えばパクリタキセル、ビンブラスチン（VLB）、ビンクリスチン、及びビノレルピンを含むピンカアルカロイド、タキソテール、エストラムスチン、及びリン酸エストラムスチンを含む天然物；ピポドフィロトキシン、例えばエトポシド及びテニポシド；抗生物質、例えばアクチノマイシンD、ダウノマイシン（ルビドマイシン）、ドキシソルピシン、ミトキサントロン、イダルビシン、プレオマイシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）、マイトマイシンC、及びアクチノマイシン；酵素、例えばL-アスパラギナーゼ；生物学的応答修飾剤、例えばインターフェロン-アルファ、IL-2、G-CSF及びGM-CSF；白金配位錯体、例えばオキサリプラチン、シスプラチン及びカルボプラチン、アントラセンジオン、例えばミトキサントロン、置換尿素、例えばヒドロキシウレア、N-メチルヒドラジン（MIH）及びプロカルバジンを含むメチルヒドラジン誘導体、副腎皮質抑制剤、例えばミトタン（o、p-DDD）及びアミノグルテチミドを含む様々な薬剤；副腎皮質ステロイドアンタゴニスト、例えばプレドニゾンとその等価物、デキサメタゾン及びアミノグルテチミドを含むホルモン及びアンタゴニスト；ジェムザール（TM）（ゲムシタピン）、プロゲスチン、例えばカプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、メドロキシプロゲステロンアセテート及び酢酸メゲストロール；エストロゲン、例えばジエチルstilbestrol及びエチニルエストラジオール等価物；抗エストロゲン、例えばタモキシフェン；テストステロンプロピオナート及びフルオキシメステロン/等価物を含むアンドロゲン；抗アンドロゲン、例えばフルタミド、ゴナドトロピン放出ホルモンアナログ及びロイプロリド；及び非ステロイド性抗アンドロゲン、例えばフルタミドが含まれる。ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、脱メチル化剤（例えばVidaza）及び転写抑制解放（ATRA）療法を含むがこれらに限定されない後成

10

20

30

40

50

的機序を標的とする療法も、抗原結合タンパク質と組み合わせることができる。一実施態様では、化学療法剤は、タキサン（例えばパクリタキセル（タキソール）のような）、ドセタキセル（タキソテール）、修飾されたパクリタキセル（例えば、アブラキサン及びオパキシオ）、ドキソルビシン、スニチニブ（スーテント）、ソラフェニブ（ネクサバール）、及び他の多種キナーゼ阻害剤、オキサリプラチン、シスプラチン及びカルボプラチン、エトポシド、ゲムシタピン、並びにピンブラスチンからなる群より選択される。一実施態様では、化学療法剤は、タキサン（例えばタキソール（パクリタキセル）のような）、ドセタキセル（タキソテール）、修飾されたパクリタキセル（例えばアブラキサン及びオパキシオ）からなる群より選択される。一実施態様では、追加的薬学療法剤は、5-フルオロウラシル（5-FU）、ロイコボリン、イリノテカン、又はオキサリプラチンから選択される。一実施態様では、化学療法剤は、5-フルオロウラシル、ロイコボリン及びイリノテカン（FOLFIRI）である。一実施態様では、化学療法剤は、5-フルオロウラシル、及びオキサリプラチン（FOLFOX）である。

10

20

30

40

50

【0208】

追加的薬学療法剤との併用療法の特定の例には、例えば、乳がんの治療のためのタキサン（例えば、ドセタキセル若しくはパクリタキセル）又は修飾されたパクリタキセル（例えば、アブラキサン又はオパキシオ）、ドキソルビシン、カペシタピン及び/又はベバシズマブ（アバスタ）を用いる療法；卵巣がんのためのカルボプラチン、オキサリプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ドキソルビシン（又は修飾されたドキソルビシン（Caelyx又はドキシル））、又はトポテカン（ハイカムチン）を用いる療法；腎臓がんの治療のための多種キナーゼ阻害剤、MKI，（スーテント、ネクサバール、又は706）及び/又はドキソルビシンを用いる療法；扁平上皮癌の治療のためのオキサリプラチン、シスプラチン及び/又は放射線を用いる療法；肺がんの治療のためのタキソール及び/又はカルボプラチンを用いる治療が含まれる。

【0209】

従って、一実施態様では、追加的薬学療法剤は、乳がんの治療のためのタキサン（ドセタキセル又はパクリタキセル又は修飾されたパクリタキセル（アブラキサン又はオパキシオ）、ドキソルビシン、カペシタピン及び/又はベバシズマブからなる群より選択される。

【0210】

一実施態様において、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン/PD-L1抗体併用療法は、化学療法剤が投与されないものである。

【0211】

本発明は、本明細書に記載されるこのような疾患に罹患した患者の治療のための方法も含む。

【0212】

本発明は更に、本明細書に記載される本発明による腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される本発明による抗PD-L1抗体の有効量を薬学的に許容可能な担体と一緒に含む薬学的組成物の製造方法、並びにそのような方法について本明細書に記載される本発明による腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び抗PD-L1抗体の使用を提供する。

【0213】

本発明は更に、がん罹患した患者の治療のための、好ましくは薬学的に許容可能な担体と併せた、医薬品の製造のための有効量での本明細書に記載される本発明による腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン及び本明細書に記載される本発明による抗PD-L1抗体の使用を提供する。

【0214】

以下の実施例、配列表及び図面は、本発明の理解を助けるために提供されるが、本発明の真の範囲は特許請求の範囲に記載されている。本発明の精神から逸脱することなく、記載された手順で変更がなされることが理解される。

【 0 2 1 5 】

配列の説明

配列番号 1	例示的なヒト I g G 1 F c 領域	
配列番号 2	ヒト I L - 2 (C 1 2 5 A)	
配列番号 3	四重変異体ヒト I L - 2 (I L - 2 q m)	
配列番号 4	ヒト P D - L 1 (シグナル配列を含む)	
配列番号 5	軽鎖可変ドメイン、 M a b 3 F 2	
配列番号 6	軽鎖可変ドメイン、 M a b 3 F 2 (Y S)	
配列番号 7	重鎖可変ドメイン、 M a b 3 F 2	
配列番号 8	軽鎖可変ドメイン、 M a b 3 D 9	10
配列番号 9	重鎖可変ドメイン、 M a b 3 D 9	
配列番号 10	重鎖可変ドメイン、 M a b 3 D 9 (T A)	
配列番号 11	軽鎖可変ドメイン、 M a b 4 G 8	
配列番号 12	重鎖可変ドメイン、 M a b 4 G 8	
配列番号 13	軽鎖可変ドメイン、 M a b 4 B 3	
配列番号 14	重鎖可変ドメイン、 M a b 4 B 3	
配列番号 15	軽鎖可変ドメイン、 M a b 4 D 6	
配列番号 16	重鎖可変ドメイン、 M a b 4 D 6	
配列番号 17	軽鎖可変ドメイン、 M a b 2 C 6	
配列番号 18	重鎖可変ドメイン、 M a b 2 C 6	20
配列番号 19	軽鎖可変ドメイン、 M a b 5 H 5	
配列番号 20	重鎖可変ドメイン、 M a b 5 H 5	
配列番号 21	軽鎖可変ドメイン、 M a b 2 C 4	
配列番号 22	重鎖可変ドメイン、 M a b 2 C 4	
配列番号 23	軽鎖可変ドメイン、 M a b 2 D 9	
配列番号 24	重鎖可変ドメイン、 M a b 2 D 9	
配列番号 25	軽鎖可変ドメイン、 M a b 4 B 8	
配列番号 26	重鎖可変ドメイン、 M a b 4 B 8	
配列番号 27	軽鎖可変ドメイン、 M a b 7 A 1	
配列番号 28	重鎖可変ドメイン、 M a b 7 A 1	30
配列番号 29	軽鎖可変ドメイン、 M a b 1 3 C 2	
配列番号 30	重鎖可変ドメイン、 M a b 1 3 C 2	
配列番号 31	軽鎖可変ドメイン、 M a b 1 3 E 8	
配列番号 32	重鎖可変ドメイン、 M a b 1 3 E 8	
配列番号 33	軽鎖可変ドメイン、 M a b 1 4 C 1 0	
配列番号 34	重鎖可変ドメイン、 M a b 1 4 C 1 0	
配列番号 35	軽鎖可変ドメイン、 M a b 1 7 A 1 1	
配列番号 36	重鎖可変ドメイン、 M a b 1 7 A 1 1	
配列番号 37	軽鎖可変ドメイン、 M a b 1 9 G 1	
配列番号 38	重鎖可変ドメイン、 M a b 1 9 G 1	40
配列番号 39	軽鎖可変ドメイン、 M a b 2 0 G 8	
配列番号 40	重鎖可変ドメイン、 M a b 2 0 G 8	
配列番号 41	軽鎖可変ドメイン、 M a b 4 B 9	
配列番号 42	重鎖可変ドメイン、 M a b 4 B 9	
配列番号 43	軽鎖可変ドメイン、 M a b 5 B 8	
配列番号 44	重鎖可変ドメイン、 M a b 5 B 8	
配列番号 45	軽鎖可変ドメイン、 M a b 5 F 1	
配列番号 46	重鎖可変ドメイン、 M a b 5 F 1	
配列番号 47	軽鎖可変ドメイン、 M a b 1 4 B 3	
配列番号 48	重鎖可変ドメイン、 M a b 1 4 B 3	50

配列番号 49	軽鎖可変ドメイン、M a b	1 6 F 1							
配列番号 50	重鎖可変ドメイン、M a b	1 6 F 1							
配列番号 51	軽鎖可変ドメイン、M a b	1 6 F 8							
配列番号 52	重鎖可変ドメイン、M a b	1 6 F 8							
配列番号 53	軽鎖可変ドメイン、M a b	O 3 C 9							
配列番号 54	重鎖可変ドメイン、M a b	O 3 C 9							
配列番号 55	軽鎖可変ドメイン、M a b	O 2 D 7							
配列番号 56	重鎖可変ドメイン、M a b	O 2 D 7							
配列番号 57	軽鎖可変ドメイン、M a b	2 8 H 1							
配列番号 58	重鎖可変ドメイン、M a b	2 8 H 1							10
配列番号 59	軽鎖可変ドメイン、M a b	2 2 A 3							
配列番号 60	重鎖可変ドメイン、M a b	2 2 A 3							
配列番号 61	軽鎖可変ドメイン、M a b	2 9 B 1 1							
配列番号 62	重鎖可変ドメイン、M a b	2 9 B 1 1							
配列番号 63	軽鎖可変ドメイン、M a b	2 3 C 1 0							
配列番号 64	重鎖可変ドメイン、M a b	2 3 C 1 0							
配列番号 65	軽鎖可変ドメイン、M a b	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1					
配列番号 66	重鎖可変ドメイン、M a b	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1					
配列番号 67	軽鎖可変ドメイン、M a b	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1					
配列番号 68	重鎖可変ドメイン、M a b	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1					20
配列番号 69	2 8 H 1 F a b	HC - F c	ノブ (L A L A	P 3 2 9 G)	- I L -				
	2 q m								
配列番号 70	4 G 8 F a b	HC - F c	ノブ (L A L A	P 3 2 9 G)	- I L -				
	q m								
配列番号 71	4 B 9 F a b	HC - F c	ノブ (L A L A	P 3 2 9 G)	- I L -				
	q m								
配列番号 72	2 8 H 1 F a b	HC - F c	ノブ (L A L A	P 3 2 9 G)	- I L -				
	2 q m (2)								
配列番号 73	4 B 9 F a b	HC - F c	ノブ (L A L A	P 3 2 9 G)	- I L -				30
	q m (2)								
配列番号 74	2 8 H 1 F a b	HC - F c	ホール (L A L A	P 3 2 9 G)					
配列番号 75	4 G 8 F a b	HC - F c	ホール (L A L A	P 3 2 9 G)					
配列番号 76	4 B 9 F a b	HC - F c	ホール (L A L A	P 3 2 9 G)					
配列番号 77	4 G 8 F a b	LC							
配列番号 78	3 F 2 F a b	LC							
配列番号 79	4 B 9 F a b	HC - F c	ノブ (L A L A	P 3 2 9 G)	- I L -				
	q m (2)								
配列番号 80	4 B 9 F a b	HC - F c	ホール (L A L A	P 3 2 9 G)					
配列番号 81	3 F 2 F a b	LC							
配列番号 82	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1	F a b	HC - F c	ノブ (w t)			40
	- I L -	2 q m							
配列番号 83	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1	F a b	HC - F c	ノブ (w t)			
	- I L -	2 q m							
配列番号 84	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1	F a b	HC - F c	ノブ (L A L			
	A P 3 2 9 G)	- I L -	2 q m						
配列番号 85	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1	F a b	HC - F c	ホール (w t)			
配列番号 86	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1	F a b	HC - F c	ホール (L A			
	L A P 3 2 9 G)								
配列番号 87	CH 1 A 1 A	9 8 / 9 9	2 F 1	F a b	LC				50

配列番号 88	CH1A1A 98/99 2F1 Fab LC	
配列番号 89	重鎖可変ドメインVHバリエント1、抗PD-L1	243.55
配列番号 90	重鎖可変ドメインVHバリエント2、抗PD-L1	243.55
配列番号 91	重鎖可変ドメインVHバリエント3、抗PD-L1	243.55
配列番号 92	軽鎖可変ドメインVLバリエント1、抗PD-L1	243.55
配列番号 93	軽鎖可変ドメインVLバリエント2、抗PD-L1	243.55
配列番号 94	軽鎖可変ドメインVLバリエント3、抗PD-L1	243.55
配列番号 95	軽鎖可変ドメインVLバリエント4、抗PD-L1	243.55
配列番号 96	軽鎖可変ドメインVLバリエント5、抗PD-L1	243.55
配列番号 97	軽鎖可変ドメインVLバリエント6、抗PD-L1	243.55
配列番号 98	軽鎖可変ドメインVLバリエント7、抗PD-L1	243.55
配列番号 99	軽鎖可変ドメインVLバリエント8、抗PD-L1	243.55
配列番号 100	軽鎖可変ドメインVLバリエント9、抗PD-L1	243.55
配列番号 101	軽鎖可変ドメインVLバリエント10、抗PD-L1	243.55
配列番号 102	軽鎖可変ドメインVLバリエント11、抗PD-L1	243.55
配列番号 103	軽鎖可変ドメインVLバリエント12、抗PD-L1	243.55
配列番号 104	軽鎖可変ドメインVLバリエント13、抗PD-L1	243.55
配列番号 105	軽鎖可変ドメインVLバリエント14、抗PD-L1	243.55
配列番号 106	軽鎖可変ドメインVLバリエント15、抗PD-L1	243.55
配列番号 107	軽鎖可変ドメインVLバリエント16、抗PD-L1	243.55
配列番号 108	muCEA HC-Fc(DD)-muIL2v	
配列番号 109	muCEA HC-Fc(KK)	
配列番号 110	muCEA LC	
配列番号 111	YW243.55.S70 PD-L1 muIgG1 DAPG HC	
配列番号 112	YW243.55.S70 PD-L1 muIgG1 DAPG LC	
配列番号 113	ヒトカップ軽鎖定常領域	
配列番号 114	IgG1由来のヒト重鎖定常領域	
配列番号 115	リーダー配列	
配列番号 116	リーダー配列	
配列番号 117	リーダー配列	
配列番号 118	リーダー配列	
配列番号 119	リーダー配列	
配列番号 120	リーダー配列	
配列番号 121	リーダー配列	
配列番号 122	リーダー配列	
配列番号 123	リーダー配列	
配列番号 124	muFAP HC-Fc(DD)-muIL2v	
配列番号 125	muFAP HC-Fc(KK)	
配列番号 126	muFAP LC	

【0216】

以下の記述において、本発明の実施態様を説明する。

1. A) がんの治療における併用療法としての使用のための、転移の予防又は治療における併用療法としての使用のための、炎症性疾患の治療における併用療法としての使用のための、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることにおける併用療法としての使用のための、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける併用療法としての使用のための、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化IL-2バリエント免疫サイトカイン；又は

B) がんの治療における使用のための、転移の予防又は治療における使用のための、炎症

10

20

30

40

50

性疾患の治療における使用のための、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることにおける使用のための、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける使用のための医薬の製造のための腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインの使用であって、ここで腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせて投与され；又は

C)がんと治療における使用のための、転移の予防又は治療における使用のための、炎症性疾患の治療における使用のための、腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させることにおける使用のための、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することにおける使用のための腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインであって、ここで腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインはヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせて投与され；

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号68の重鎖可変ドメインVH及び配列番号67の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号84若しくは配列番号86若しくは配列番号88のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号84及び配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号108及び配列番号109及び配列番号110のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号42の重鎖可変ドメインVH及び配列番号41の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列；又は

f) 配列番号79若しくは配列番号80若しくは配列番号81のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号124及び配列番号125及び配列番号126のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし、

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は

b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は

c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は

d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は

e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は

f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は

g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は

h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は

i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は

j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は

k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は

l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL

10

20

30

40

50

- 、又は
 - m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L
 - 、又は
 - n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L
 - 、又は
 - o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L
 - 、又は
 - p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L
- を含むことを特徴とする。

【0217】

2. がんの治療における使用のための、実施態様 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0218】

3. 乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、メラノーマがん、膀胱がん、腎がん、腎臓がん、肝臓がん、頭頸部がん、結腸直腸がん、メラノーマ、膵臓がん、胃がん、食道がん、中皮腫、前立腺がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫の治療における使用のための、実施態様 2 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0219】

4. 転移の予防又は治療における使用のための、実施態様 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0220】

5. 炎症性疾患の治療における使用のための、実施態様 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0221】

6. 腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する又は進行を遅延させることに使用のための、実施態様 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0222】

7. T 細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することに使用のための、実施態様 1 に記載のヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0223】

8. A)

- i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は
- ii) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって、

ここで、標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示される；

又は

B)

- i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は
- ii) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための医薬の製造のための腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインの使用であって、

ここで、標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示され、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与される；

又は

C)

- i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は

10

20

30

40

50

i i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び／又は全生存期間を向上させることに使用のための腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって、

ここで、標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示され、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され；

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L

10

20

30

40

50

、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

【0224】

9. A)

i) C E A 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は

ii) C E A 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン；

又は

B)

i) C E A 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は

ii) C E A 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための医薬の製造のための C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインの使用；

又は

C)

i) C E A 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は

ii) C E A 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって；

ここで C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され；

ここで、併用療法において使用される C E A 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

10

20

30

40

50

- j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

10

【0225】

10. A)

- i) F A P 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は
- ii) F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせた F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン；

20

又は

B)

- i) F A P 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は
- ii) F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための医薬の製造のための F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインの使用；

又は

C)

- i) F A P 発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び / 又は
- ii) F A P 発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び / 又は全生存期間を向上させることに使用のための F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって；ここで F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され；

30

ここで、併用療法において使用される F A P 標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

- a) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
- b) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

40

- c) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
- d) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

- a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、

50

又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L

を含むことを特徴とする。

【0226】

11. A) C E A 発現腫瘍又は C E A の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、F A P 発現腫瘍又は F A P の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいは C E A 又は F A P の発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の治療における使用のための、腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインであって、ここで

、免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され、

又は

B) C E A 発現腫瘍又は C E A の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、F A P 発現腫瘍又は F A P の発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいは C E A 又は F A P の発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の治療における使用のための医薬の製造のための腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインの使用であって、ここで、免疫サイトカインは、ヒト P D - L 1 に結合する抗体と組み合わせて投与され、

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

又は

10

20

30

40

50

g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
 h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列
 を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒト PD-L1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン VL、
 又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン VL
 、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン VL
 、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン VL
 、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン VL
 、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン VL
 、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン VL
 、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン VL
 、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン VL
 を含むことを特徴とする。

【0227】

12. 併用療法において使用される腫瘍標的化 IL-2 バリエント免疫サイトカインが
 、

配列番号 84、配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列；又は
 配列番号 79、配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒト PD-L1 に結合する抗体が、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン VL
 を含むことを特徴とする、実施態様 1 から 11 の何れかーに記載のヒト PD-L1 に結合
 する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 IL-2 バリエント免疫サイトカイン又は使用。

【0228】

13. 免疫サイトカインの抗体成分及び抗体が、ヒト IgG1 サブクラスのもの又はヒト
 IgG4 サブクラスのものであることを特徴とする、実施態様 1 から 12 の何れかーに
 記載のヒト PD-L1 に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化 IL-2 バリエント免疫

10

20

30

40

50

サイトカイン又は使用。

【0229】

14. 前記抗体が、低下した又は最少のエフェクター機能を有することを特徴とする、実施態様1から13の何れかーに記載のヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0230】

15. 最少のエフェクター機能が、エフェクターを有さない(effectorless)Fc変異に起因することを特徴とする、実施態様1から14の何れかーに記載のヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

10

【0231】

16. エフェクターを有さない(effectorless)Fc変異が、L234A/L235A又はL234A/L235A/P329G又はN297A又はD265A/N297A(EU番号付け)である、実施態様1から15の何れかーに記載のヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカイン又は使用。

【0232】

17. A)

i) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び/又は

ii) 免疫サイトカインの標的を発現する腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び/又は全生存期間を向上するための方法であって；

20

ここで、標的は、腫瘍細胞上又は腫瘍細胞環境中に提示され；

ここで腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせて投与され；

又は

B) CEA発現腫瘍又はCEAの発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、FAP発現腫瘍又はFAPの発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいはCEA又はFAPの発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の治療の方法であって、ここで、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインはヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせて投与され、

30

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号68の重鎖可変ドメインVH及び配列番号67の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号84若しくは配列番号86若しくは配列番号88のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号84及び配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号108及び配列番号109及び配列番号110のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号42の重鎖可変ドメインVH及び配列番号41の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列；又は

40

f) 配列番号79若しくは配列番号80若しくは配列番号81のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号124及び配列番号125及び配列番号126のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は

b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は

50

- c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする。

10

20

30

40

50

【 0 2 3 3 】

18. 必要とする患者におけるがんの治療のための、必要とする患者における転移の予防又は治療のための、必要とする患者における炎症性疾患の治療のための、又は必要とする患者における腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させるための、又は必要とする患者において T 細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激するための方法であって、

患者に腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカイン及び抗 P D - L 1 抗体を投与することを含み、

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 バリエーション免疫サイトカインは、

- a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
- b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は
- c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は
- d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は
- e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
- f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
- g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
- h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は

b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は

c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は

d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は

e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は

f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は

g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は

h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は

i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は

j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は

k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は

l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL、又は

m) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVL、又は

n) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号105の軽鎖可変ドメインVL、又は

o) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号106の軽鎖可変ドメインVL、又は

p) 配列番号91の重鎖可変ドメインVH及び配列番号107の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする、方法。

【0234】

19. がんの治療のための、実施態様18に記載の方法。

【0235】

20. 乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、メラノーマがん、膀胱がん、腎がん、腎臓がん、肝臓がん、頭頸部がん、結腸直腸がん、メラノーマ、膵臓がん、胃がん、食道がん、中皮腫、前立腺がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫の治療のための、実施態様19に記載の方法。

【0236】

21. 併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインが、

配列番号84、配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列；又は

配列番号79、配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体が、

配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする、実施態様17から20の何れかーに記載の方法。

10

20

30

40

50

【 0 2 3 7 】

2 2 . 免疫サイトカインの抗体成分及び抗体が、ヒト I g G 1 サブクラスのもの又はヒト I g G 4 サブクラスのものであることを特徴とする、実施態様 1 7 から 2 1 の何れかーに記載の方法。

【 0 2 3 8 】

2 3 . 前記抗体が、低下したエフェクター機能又は最少のエフェクター機能を有することを特徴とする、実施態様 1 7 から 2 2 の何れかーに記載の方法。

【 0 2 3 9 】

2 4 . 最少のエフェクター機能が、エフェクターを有さない (e f f e c t o r l e s s) F c 変異に起因する、請求項 1 7 から 2 3 の何れかーに記載の方法。

10

【 0 2 4 0 】

2 5 . エフェクターを有さない F c 変異が L 2 3 4 A / L 2 3 5 A 又は L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / P 3 2 9 G 又は N 2 9 7 A 又は D 2 6 5 A / N 2 9 7 A (E U 番号付け) である、実施態様 1 7 から 2 4 の何れかーに記載の方法。

【 0 2 4 1 】

2 6 . 前記腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカイン及びヒト P D - L 1 に結合する抗体が同時に又は連続的に投与される、実施態様 1 7 から 2 5 の何れかーに記載の方法。

【 0 2 4 2 】

2 7 . 患者に化学療法剤を投与することを更に含む、実施態様 1 7 から 2 6 の何れかーに記載の方法。

20

【 0 2 4 3 】

2 8 . 必要とする患者におけるがんの治療、必要とする患者における転移の予防又は治療、必要とする患者における炎症性疾患の治療、又は必要とする患者における腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させること、又は T 細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することを意図したキットであって、

(a) 腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカイン、 (b) ヒト P D - L 1 に結合する抗体を、同じ又は別々の容器に含み、及び (c) 任意で、腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカイン及びヒト P D - L 1 に結合する抗体の併用療法における使用を指示する印刷された説明書を含む添付文書を含み、

30

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカインは、

a) 配列番号 6 8 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 6 7 の軽鎖可変ドメイン V L 、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 8 4 若しくは配列番号 8 6 若しくは配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 8 4 及び配列番号 8 6 及び配列番号 8 8 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 1 0 8 及び配列番号 1 0 9 及び配列番号 1 1 0 のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号 4 2 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 4 1 の軽鎖可変ドメイン V L 、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

40

f) 配列番号 7 9 若しくは配列番号 8 0 若しくは配列番号 8 1 のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号 7 9 及び配列番号 8 0 及び配列番号 8 1 のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号 1 2 4 及び配列番号 1 2 5 及び配列番号 1 2 6 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし、

併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 8 9 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 2 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

b) 配列番号 9 0 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 9 3 の軽鎖可変ドメイン V L 、又は

50

- c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L、又は
- p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする、キット。

10

20

30

40

50

【0244】

29. 必要とする患者におけるがんの治療、必要とする患者における転移の予防又は治療、必要とする患者における炎症性疾患の治療、又は必要とする患者における腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させること、又は T 細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することを意図したキットであって、

(a) 腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカインを含む容器、及び (b) 疾患を治療するための方法として、ヒト P D - L 1 に結合する抗体との併用療法における腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカインの使用を指示する説明書を含む添付文書を含み、

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカインは、

- a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
- b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は
- c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は
- d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は
- e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は
- f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
- g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は
- h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし、

併用療法において使用されるヒトPD-L1に結合する抗体は、

a) 配列番号89の重鎖可変ドメインVH及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVL、又は

b) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号93の軽鎖可変ドメインVL、又は

c) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号94の軽鎖可変ドメインVL、又は

d) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号95の軽鎖可変ドメインVL、又は

e) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号96の軽鎖可変ドメインVL、又は

f) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号97の軽鎖可変ドメインVL、又は

g) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号98の軽鎖可変ドメインVL、又は

h) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号99の軽鎖可変ドメインVL、又は

i) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号100の軽鎖可変ドメインVL、又は

j) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号101の軽鎖可変ドメインVL、又は

k) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号102の軽鎖可変ドメインVL、又は

l) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号103の軽鎖可変ドメインVL、又は

m) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号104の軽鎖可変ドメインVL、又は

n) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号105の軽鎖可変ドメインVL、又は

o) 配列番号90の重鎖可変ドメインVH及び配列番号106の軽鎖可変ドメインVL、又は

p) 配列番号91の重鎖可変ドメインVH及び配列番号107の軽鎖可変ドメインVLを含むことを特徴とする、キット。

【0245】

30. 必要とする患者におけるがんの治療、必要とする患者における転移の予防又は治療、必要とする患者における炎症性疾患の治療、又は必要とする患者における腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させること、又はT細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することを意図したキットであって、

(a) ヒトPD-L1に結合する抗体を含む容器、及び(b) 疾患を治療するための方法として、腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインとの併用療法におけるヒトPD-L1に結合する抗体の使用を指示する説明書を含む添付文書を含み

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化IL-2バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号68の重鎖可変ドメインVH及び配列番号67の軽鎖可変ドメインVL、並びに配列番号3のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号84若しくは配列番号86若しくは配列番号88のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号84及び配列番号86及び配列番号88のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号108及び配列番号109及び配列番号110のポリペプチド配列、又は

10

20

30

40

50

e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン V L、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、

併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L を含むことを特徴とする、キット。

【0246】

31. がんの治療のための、実施態様 28 から 30 に記載のキット。

【0247】

32. 乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、メラノーマがん、膀胱がん、腎がん、腎臓がん、肝臓がん、頭頸部がん、結腸直腸がん、メラノーマ、膵臓がん、胃がん、食道がん、中皮腫、前立腺がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫の治療のための、実施態様 31 に記載のキット。

【0248】

33. 併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカインが、配列番号 84、配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列；又は

10

20

30

40

50

配列番号 79、配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、

併用療法において使用されるヒト PD-L1 に結合する抗体は、配列番号 89 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン VL を含むことを特徴とする、実施態様 28 から 32 の何れかーに記載のキット。

【0249】

34. 免疫サイトカインの抗体成分及び抗体が、ヒト IgG1 サブクラスのもの又はヒト IgG4 サブクラスのものであることを特徴とする、実施態様 28 から 33 の何れかーに記載のキット。

【0250】

35. 前記抗体が、低下したエフェクター機能又は最少のエフェクター機能を有することを特徴とする、実施態様 28 から 34 の何れかーに記載のキット。

【0251】

36. 最少のエフェクター機能が、エフェクターを有さない (effectorless) Fc 変異に起因する、請求項 28 から 35 の何れかーに記載のキット。

【0252】

37. エフェクターを有さない Fc 変異が L234A / L235A 又は L234A / L235A / P329G 又は N297A 又は D265A / N297A (EU 番号付け) である、実施態様 28 から 36 の何れかーに記載のキット。

【0253】

38. 必要とする患者におけるがんの治療、必要とする患者における転移の予防又は治療、必要とする患者における炎症性疾患の治療、又は必要とする患者における腫瘍免疫などの免疫関連疾患を治療する若しくは進行を遅延させること、又は T 細胞活性などの免疫応答又は機能を刺激することを意図した医薬であって、腫瘍標的化 IL-2 バリエーション免疫サイトカインを含み、ここで、前記医薬はヒト PD-L1 に結合する抗体との併用療法における使用のためのものであり、及び任意で、腫瘍標的化 IL-2 バリエーション免疫サイトカイン及びヒト PD-L1 に結合する抗体の併用療法における使用を指示する印刷された説明書を含む添付文書を含み、

ここで、併用療法において使用される腫瘍標的化 IL-2 バリエーション免疫サイトカインは、

a) 配列番号 68 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 67 の軽鎖可変ドメイン VL、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

b) 配列番号 84 若しくは配列番号 86 若しくは配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

c) 配列番号 84 及び配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列、又は

d) 配列番号 108 及び配列番号 109 及び配列番号 110 のポリペプチド配列、又は

e) 配列番号 42 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 41 の軽鎖可変ドメイン VL、並びに配列番号 3 のポリペプチド配列；又は

f) 配列番号 79 若しくは配列番号 80 若しくは配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

g) 配列番号 79 及び配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列、又は

h) 配列番号 124 及び配列番号 125 及び配列番号 126 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし、

併用療法において使用されるヒト PD-L1 に結合する抗体は、

a) 配列番号 89 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

b) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 93 の軽鎖可変ドメイン VL、又は

c) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン VH 及び配列番号 94 の軽鎖可変ドメイン VL、

10

20

30

40

50

又は

d) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 95 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

e) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 96 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

f) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 97 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

g) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 98 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

h) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 99 の軽鎖可変ドメイン V L、

又は

i) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 100 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

j) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

k) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 102 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

l) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 103 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

m) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 104 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

n) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 105 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

o) 配列番号 90 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 106 の軽鎖可変ドメイン V L

、又は

p) 配列番号 91 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 107 の軽鎖可変ドメイン V L

を含むことを特徴とする、医薬。

【0254】

39. がんの治療のための、実施態様 38 に記載の医薬。

【0255】

40. 乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、メラノーマがん、膀胱がん、腎がん、腎臓がん、肝臓がん、頭頸部がん、結腸直腸がん、メラノーマ、膵臓がん、胃がん、食道がん、中皮腫、前立腺がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫の治療のための、実施態様 39 に記載の医薬。

【0256】

41.

併用療法において使用される腫瘍標的化 I L - 2 パリアント免疫サイトカインは、

配列番号 84、配列番号 86 及び配列番号 88 のポリペプチド配列；又は

配列番号 79、配列番号 80 及び配列番号 81 のポリペプチド配列

を含むことを特徴とし；

併用療法において使用されるヒト P D - L 1 に結合する抗体は、

配列番号 89 の重鎖可変ドメイン V H 及び配列番号 92 の軽鎖可変ドメイン V L

を含むことを特徴とする、実施態様 38 から 40 の何れかーに記載の医薬。

【0257】

42. 免疫サイトカインの抗体成分及び抗体が、ヒト I g G 1 サブクラスのもの又はヒト I g G 4 サブクラスのものであることを特徴とする、実施態様 38 から 41 の何れかーに記載の医薬。

【0258】

43. 前記抗体が、低下したエフェクター機能又は最少のエフェクター機能を有することを特徴とする、実施態様 38 から 42 の何れかーに記載の医薬。

10

20

30

40

50

【0259】

44. 最少のエフェクター機能が、エフェクターを有さない (effectorless) Fc 変異に起因する、請求項38から43の何れかーに記載の医薬。

【0260】

45. エフェクターを有さない Fc 変異が L234A / L235A 又は L234A / L235A / P329G 又は N297A 又は D265A / N297A (EU 番号付け) である、実施態様38から44の何れかーに記載の医薬。

【実施例】

【0261】

マウス腫瘍細胞株の同系モデル単独及び抗 PD-L1 Mab との組み合わせにおける CE A に対する標的化 IL2v イムノコンジュゲートのインビボ有効性。

10

CE A に対する標的化 IL2v イムノコンジュゲートを、幾つかの同系モデルにおけるそれらの抗腫瘍効果に関して、単独で及び PD-L1 Mab と組み合わせて試験した。

【0262】

材料

研究に用いた分子は以下の通りである。抗薬物抗体 (ADA) の形成を減少させるために、完全免疫担当マウスにおけるインビボ腫瘍モデルにおいて使用のために、muCEA - muIL2v と呼ばれる CE A 標的化 IL-2 バリエーション免疫サイトカイン CE A - IL2v のマウス化代替分子が作製された。加えて、抗薬物抗体 (ADA) の形成を減少させるために、完全免疫担当マウスにおけるインビボ腫瘍モデルにおいて使用のために、muFAP - muIL2v と呼ばれる FAP 標的化 IL-2 バリエーション免疫サイトカイン FAP - IL2v のマウス化キメラバージョンが作製された。マウス化代替分子では、Fc ドメインのノブ・イントゥー・ホール変異は muIgG1 における DDKK 変異によって置換され、LALA P329G 変異は muIgG1 における DAPG 変異によって置換された。

20

【0263】

例えば、muCEA - muIL2v は以下の特徴により特徴づけられる。親抗体として、ヒト - マウスキメラ IgG1 抗体は、マウス定常領域でなく、ヒト (化) 可変領域により適用される。潜在的な免疫原性を回避するために、対応する Black 6 アロタイプを使用した (Mouse Genomes Project により公開された配列)。muIL2R への結合は、ヒト IL-2v で同定されたものに相同な3つの変異によって消失され、それぞれの O-グリコシル化部位は除去された: T23A (O-グリコ)、F76A、Y79A、L106G。加えて、アルデスロイキンのように、C160A 変異 (シグナルペプチドを含む UniProt ID P04351 に基づく番号付け) による凝集を回避するために、システイン残基を変異させた。muIgG1 は既に Fc R 結合が減少しているが、マウス Fc R への結合は、DAPG 変異 (D265A、P329G) の導入によって完全に消失し、一方 muFcRn 結合は保持されている。muIL-2v を、muIgG1 抗体の1つの重鎖の C 末端にのみ非免疫原性 (G₄S)₂ コネクタを介して融合させた。これを達成するために、免疫サイトカインを Fc ドメインの DDKK 変異による静電ステアリングを用いて操作し、マウスのバックグラウンドでのヘテロ二量体化を可能にした。

30

40

【0264】

muCEA - muIL2v のポリペプチド配列は以下の通りである:

DD 変異を有する重鎖及び融合した muIL2v (配列番号 108):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNVWRQA
 PGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFITDTSTSTAY
 MELRSLSRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVS
 SAKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTV
 TWSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQT
 VTCNV AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFI

50

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

10

【0265】

KK変異を有する重鎖（配列番号109）：

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

20

【0266】

軽鎖（配列番号：110）：

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

30

【0267】

muFAP - muIL2vのポリペプチド配列は以下の通りである：

DD変異を有する重鎖及び融合したmuIL2v（配列番号124）：

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

40

50

T S P Q

【0268】

KK変異を有する重鎖（配列番号125）：

EVQLLES GGLVQP GGS LRLSCAAS GFTTFSSYAMSWVRQA
 PGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
 LQMNSLR AEDTAVYYCAKGF GGFNYWGQGT LVTVSSAKT
 TPPSVYPLAPGSA AQTNSMVT LGCLVKGYFPEPVTVTWNS
 GSSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVPSSTWPSQTVTCN
 VAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPK
 PKDVLTLITLTPKVT CVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHT
 AQTKPREEQINSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSA
 AFGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKKQMAKDKVSLT
 CMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MKTDG SYFV
 YSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPG
 K

10

【0269】

軽鎖（配列番号：126）：

EIVLTQSPGTL SLS PGERATL SCRA S QSVTSSYLAWYQQK
 PGQAPRL LINVGSRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
 PEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIKRADAAPT VSIFFP
 PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGV
 LNSWTDQDSKDYSSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHK
 TSTSPIVKSFNRNEC

20

【0270】

ヒト/マウス交差反応性抗PD-L1抗体を研究に使用した。例えば、YW243.55.S70 PD-L1 muIgG1と呼ばれる国際公開第2010/077634号（図11に示される配列）に記載のYW243.55.S70 PD-L1抗体に基づく抗マウスPD-L1代替抗体が、インビボ腫瘍モデルにおいて使用のために作製された。この抗体は、Fc R相互作用を消失させるDAPG変異を含んでいた。YW243.55.S70の可変領域を、DAPG Fc変異を有するマウスIgG1定常ドメインに結合させた。

30

【0271】

YW243.55.S70 PD-L1 muIgG1のポリペプチド配列は以下の通りである：

YW243.55.S70 PD-L1 muIgG1 DAPG HC（配列番号111）：

EVQLLVES GGLVQP GGS LRLSCAAS GFTTFSDSWIHWVRQA
 PGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY
 LQMNSLR AEDTAVYYCARRHWP GGF D YWGQGT LVTVSAAK
 TTPPSVYPLAPGSA AQTNSMVT LGCLVKGYFPEPVTVTWNS
 SSSLSSGVHTFPAVLQSDLYT LSSSVTVPSSTWPSSETVTC
 NVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPP
 PKDVLTLITLTPKVT CVVDISKDAPEVQFSWFVDDVEVH
 TAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNS
 AAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKEQMAKDKVSL
 TCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDG SYF
 VYSKLVNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSP
 GK

40

【0272】

YW243.55.S70 PD-L1 muIgG1 LC（配列番号112）：

50

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

【0273】

実施例 1

MC38 - CEA 肝転移性同系モデル

CEA 標的化 IL2v イムノコンジュゲートのマウス代替物を、マウストランスフェク
 タント結腸直腸細胞株 MC38 - CEA において試験し、Black 6 - huCEA -
 huFc RIII 二重トランスジェニックマウスに門脈内に注射した。この研究では、
 ヒト/マウス交差反応性抗 PD - L1 抗体 YW243 . 55 . S70 PD - L1 mu
 IgG1 を使用した。

【0274】

MC38 - CEA 結腸直腸癌細胞は、もともと City of Hope (カリフォル
 ニア州、米国) から得られたものであり、増殖後、Roche - Glycart 内部細胞
 バンクに寄託された。該腫瘍細胞株は、5% CO₂ の水飽和雰囲気下 37 °C で、10% の
 FCS (Gibco) 及び G418 (Genitocin; Gibco) を含有する DM
 EM 中で常套的に培養された。生存率 96.3% において、継代 9 を移植に使用した。0
 . 3 ml ツベルクリン注射器 (BD Biosciences, Germany) を用い
 て、マウス 1 匹当たり 5×10^5 個の細胞をマウスの門静脈に注射した。このために、麻
 酔した Black 6 - CEA - Fc RIII トランスジェニックマウスの腹部の中膜
 で小さな切開を行った。腹膜壁開けて、腸を慎重に圧迫した。100 マイクロリットル (RPMI 培地中 5×10^5 個の MC38 - CEA 細胞) の細胞懸濁液を門脈に注射した。
 腹膜壁及び皮膚創傷は、5/0 の溶解可能な縫合糸を用いて閉じた。

【0275】

実験開始時に 8 - 9 週齢の雌の Black 6 - CEA - Fc RIII マウス (Ro
 che - Glycart; Switzerland) (Charles Rivers,
 Lyon, France で飼育) が、認定ガイドライン (GV - Solas; Felas
 a; TierschG) に従い、特定の病原体がない条件下にて、12 時間明 / 12 時間
 暗の日周期にて維持された。実験的研究プロトコールは、地方政府によってレビューされ
 承認された (P2011 / 128)。動物は到着後 1 週間、新しい環境への馴致及び観察
 のために保持された。継続的な健康モニタリングが定期的実施された。

【0276】

研究 0 日目にマウスに 5×10^5 個の MC38 - huCEA 細胞を門静脈に注射し、無
 作為化して秤量した。腫瘍細胞注入の 1 週間後、マウスに CEA - IL - 2v、PD - L
 1 Mab 又は CEA - IL - 2v + PD - L1 Mab の組み合わせを 1 回静脈注射し
 た。組み合わせ群 PD - L1 + CEA - IL2v (第 1 週) の最初の投与の 1 日後に、1
 匹の動物が死亡したことが判明した。残りのマウスは、立毛、丸まった背中、移動運動の
 低下 (2 日以内に回復した) の臨床的兆候を示した。最初の治療投与から 24 時間後に死
 亡が判明したマウスを最終生存評価のために実験から取り出した。第 2 ~ 4 週目に、CE
 A - IL2v 及び PD - L1 を交互の週に投与し、マウスはこの新たな投与スケジュール
 で臨床徴候を示さなかった。全てのマウスに 200 μ l の適切な溶液を静脈注射した。ピ
 ヒクル群のマウスにヒスチジン緩衝液を注射し、治療群には CEA - IL - 2v 構築物若
 しくは PD - L1 Mab 又は CEA - IL - 2v + PD - L1 Mab の組み合わせを
 注射した。200 μ l あたりのイムノコンジュゲートの適切な量を得るために、ストック
 溶液を必要に応じてヒスチジン緩衝液で希釈した。

【0277】

図 1 及び表 1 A は、CEA - IL - 2v + PD - L1 Mab の組み合わせが、CEA

10

20

30

40

50

- I L - 2 v 及び P D - L 1 M a b 単独と比較して生存期間中央値及び全生存期間の向上の観点から優れた有効性を媒介したことを示している。

表 1 A

群	生存期間中央値 [日]	p 値対照	全生存
PBS	29	1	0/7
muPD-L1 Mab	42	0.2887	2/7
muCEA-IL2v	37	0.4725	1/7
muCEA-IL2v + muPD-L1 Mab	未到達	0.0138*	4/7

10

20

表 1 B

化合物	用量	製剤緩衝液	濃度 (mg/mL)
CEA-IL2v sf W(3a)	10 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH 6.0	0.29 (=ストック溶液)
muIgG1 aPD-L1 DAPG sf W(2a)	200 μ g	20mM ヒスチジン酢酸、240mM スクロース、 0.02% Tween20、pH5.5	2.29 (=ストック溶液)

30

40

【 0 2 7 8 】

実施例 2

M C 3 8 - C E A 皮下同系モデル

C E A 標的化 I L 2 v イムノコンジュゲートのマウス代替物を、マウストランスフェクタント結腸直腸細胞株 M C 3 8 - C E A において試験し、B l a c k 6 - C E A - F c R I I I トランスジェニックマウスに皮下注射した。ヒト/マウス交差反応性抗 P D - L 1 抗体をこの研究に使用した。

【 0 2 7 9 】

M C 3 8 - C E A 結腸直腸癌細胞は、もともと C i t y o f H o p e (カリフォルニア州、米国) から得られたものであり、増殖後、R o c h e - G l y c a r t 内部細胞

50

バンクに寄託された。該腫瘍細胞株は、5% CO₂の水飽和雰囲気下37℃で、10%のFCS (Gibco)及びG418 (Genitocin; Gibco)を含有するDMEM中で常套的に培養された。生存率97.9%において、継代6を移植に使用した。動物1匹につき5×10⁵個の細胞を、1mlのツベルクリン注射器 (BD Biosciences, Germany)を用いて100μlのRPMI細胞培養培地 (Gibco)に皮下注射した。

【0280】

実験開始時に8-9週齢の雌のBlack 6-CEA-Fc RIIIマウス (Roche-Glycart; Switzerland) (Charles Rivers, Lyon, Franceで飼育)が、認定ガイドライン (GV-Solas; Felasa; TierschG)に従い、特定の病原体がない条件下にて、12時間明/12時間暗の日周期にて維持された。実験的研究プロトコールは、地方政府によってレビューされ承認された (P2011/128)。動物は到着後1週間、新しい環境への馴致及び観察のために保持された。継続的な健康モニタリングが定期的実施された。

10

【0281】

研究0日目にマウスに5×10⁵個のMC38-CEA-huCEA細胞を皮下注射し、無作為化して秤量した。腫瘍細胞注入の2週間後 (腫瘍体積>200mm³)、マウスにCEA-IL-2v、PD-L1 Mab又はCEA-IL-2v+PD-L1 Mabの組み合わせを2週間毎週1回静脈注射した。全てのマウスに200μlの適切な溶液を静脈注射した。ピヒクル群のマウスにヒスチジン緩衝液を注射し、治療群にはCEA-IL-2v構築物若しくはPD-L1 Mab又はCEA-IL-2v+PD-L1 Mabの組み合わせを注射した。200μlあたりのイムノコンジュゲートの適切な量を得るために、ストック溶液を必要に応じてヒスチジン緩衝液で希釈した。

20

【0282】

図2及び表2Aは、CEA-IL-2v 0.5mg/kg+PD-L1 Mabの組み合わせが、CEA-IL-2v及びPD-L1 Mab単独並びにより低用量のCEA-IL2vとの組み合わせと比較して腫瘍増殖阻害の観点から優れた有効性を媒介したことを示している。

表 2A

30

群	腫瘍成長阻害 (25日目) (%)	p値 (ダネット法)
PD-L1 Mab	15	1
muCEA-IL2v 0.1 mg/kg	18	1
muCEA-IL2v 0.25 mg/kg	47	0.499
muCEA-IL2v 0.5 mg/kg	46	0.274
muCEA-IL2v 0.1 mg/kg + PD-L1 Mab	36	0.901
muCEA-IL2v 0.25 mg/kg + PD-L1 Mab	69	0.063
muCEA-IL2v 0.5 mg/kg + PD-L1 Mab	80	0.023*

40

50

表 2B

化合物	用量/マウス	製剤緩衝液	濃度 (mg/mL)
CEA-IL2v sfW(6a)	2, 5 及び 10 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH 6.0	1.57 (=ストック溶液)
PD-L1 muIgG1 W(1)	200 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH 6.0	27.1 (=ストック溶液)

10

【0283】

実施例 3

Panc02 - CEA 膵臓同系モデル

CEA 標的化 CEA - IL2v イムノコンジュゲートのマウス代替物を、Black 6 - CEA - Fc RIIITransジェニックマウスに膵臓内注射されたマウス膵臓 Panc02 - CEA トランスフェクタント細胞株において試験した。ヒト/マウス交差反応性抗 PD - L1 抗体をこの研究に使用した。

20

【0284】

Panc02 - H7 細胞 (マウス膵臓癌) は、もともと MD アンダーソンがんセンター (テキサス、米国) から得られたものであり、増殖後、Roche - Glycart 内部細胞バンクに寄託された。Panc02 - H7 - huCEA 細胞は、カルシウムトランスフェクション及びサブクロニング技術によって社内で生成された。Panc02 - H7 - huCEA を、10% FCS (Sigma)、4 μ g/ml のピューロマイシン及び 1% Glutamax を含む RPMI 培地で培養した。細胞を 37 $^{\circ}$ C、水飽和雰囲気中、5% CO₂ で培養した。継代 21 を移植のために使用した。細胞生存率は 93.1% であった。0.3 ml ツベルクリン注射器 (BD Biosciences, Germany) を用いて、マウス 1 匹当たり 1×10^5 個の細胞をマウスの膵臓に注射した。このために、麻酔した Black 6 - CEA - Fc RIIITransジェニックマウスの左腹部に小さな切開を行った。腹膜壁開けて、膵臓を鉗子で慎重に分離した。10 マイクロリットル (RPMI 培地中に 1×10^5 個の Panc02 - H7 - huCEA 細胞) の細胞懸濁液を膵臓の尾部に注射した。腹膜壁及び皮膚創傷は、5/0 の溶解可能な縫合糸を用いて閉じた。

30

【0285】

実験開始時に 8 - 9 週齢の雌の Black 6 - CEA - Fc RIIITrans マウス (Roche - Glycart; Switzerland) (Charles Rivers, Lyon, France で飼育) が、認定ガイドライン (GV - Solas; Felasa; TierschG) に従い、特定の病原体がない条件下にて、12 時間明/12 時間暗の日周期にて維持された。実験的研究プロトコールは、地方政府によってレビューされ承認された (P2011/128)。動物は到着後 1 週間、新しい環境への馴致及び観察のために保持された。継続的な健康モニタリングが定期的実施された。

40

【0286】

研究 0 日目にマウスに 1×10^5 個の Panc02 - CEA 細胞を膵臓内に注射し、無作為化して秤量した。腫瘍細胞注入の 1 週間後、マウスに CEA - IL - 2v、PD - L1 Mab 又は CEA - IL - 2v + PD - L1 Mab の組み合わせを 5 週間毎週 1 回

50

静脈注射した。

【 0 2 8 7 】

全てのマウスに 200 μ l の適切な溶液を静脈注射した。ビヒクル群のマウスにヒスチジン緩衝液を注射し、治療群には C E A - I L - 2 v 構築物若しくは P D - L 1 M a b 又は C E A - I L - 2 v + P D - L 1 M a b の組み合わせを注射した。200 μ l あたりのイムノコンジュゲートの適切な量を得るために、ストック溶液を必要に応じてヒスチジン緩衝液で希釈した。

【 0 2 8 8 】

図 3 及び表 3 A は、C E A - I L - 2 v + P D - L 1 M a b の組み合わせが、C E A - I L - 2 v 及び P D - L 1 M a b 単独と比較して生存期間中央値及び全生存期間の向上の観点から優れた有効性を媒介したことを示している。

10

表 3A

群	生存期間中央値 [日]	p 値対対照	全生存
ビヒクル	29	1	0/6
muPD-L1 Mab	36	0.057	0/6
muCEA-IL2v	43	0.0308*	0/6
muCEA-IL2v + muPD-L1 Mab	56	0.0043**	1/6

20

30

表 3B

化合物	用量	製剤緩衝液	濃度 (mg/mL)
CEA-IL2v sfW (6a)	5 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH 6.0	1.57 (=ストック溶液)
PD-L1 muIgG1 W(1)	200 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH 6.0	27.1 (=ストック溶液)

40

【 0 2 8 9 】

実施例 4

P a n c 0 2 - C E A 膵臓同系モデル

C E A 標的化 C E A - I L 2 v イムノコンジュゲートのマウス代替物を、B l a c k 6 - C E A - F c R I I I トランスジェニックマウスに膵臓内注射されたマウス膵臓 P

50

Panc02-CEAトランスフェクタント細胞株において非標的DP47-IL2vイムノコンジュゲートに対して試験した。ヒト/マウス交差反応性抗PD-L1抗体をこの研究に使用した。

【0290】

Panc02-H7細胞(マウス膵臓癌)は、もともとMDアンダーソンがんセンター(テキサス、米国)から得られたものであり、増殖後、Roche-Glycart内部細胞バンクに寄託された。Panc02-H7-huCEA細胞は、カルシウムトランスフェクション及びサブクローニング技術によって社内で生成された。Panc02-H7-huCEAを、10%FCS(Sigma)、4µg/mlのピューロマイシン及び1%Glutamaxを含むRPMI培地で培養した。細胞を37℃、水飽和雰囲気中、5%CO₂で培養した。継代12を移植のために使用した。細胞生存率は94%であった。0.3mlツベルクリン注射器(BD Biosciences, Germany)を用いて、マウス1匹当たり1×10⁵個の細胞をマウスの膵臓に注射した。このために、麻酔したBlack 6-CEA-Fc RIIITransジェニックマウスの左腹部に小さな切開を行った。腹膜壁開けて、膵臓を鉗子で慎重に分離した。10マイクロリットル(RPMI培地中に1×10⁵個のPanc02-H7-huCEA細胞)の細胞懸濁液を膵臓の尾部に注射した。腹膜壁及び皮膚創傷は、5/0の溶解可能な縫合糸を用いて閉じた。

10

【0291】

実験開始時に8-9週齢の雌のBlack 6-CEA-Fc RIIIMouse(Roche-Glycart; Switzerland)(Charles Rivers, Lyon, Franceで飼育)が、認定ガイドライン(GV-Solas; Felasa; TierschG)に従い、特定の病原体がない条件下にて、12時間明/12時間暗の日周期にて維持された。実験的研究プロトコールは、地方政府によってレビューされ承認された(PZH193/2014)。動物は到着後1週間、新しい環境への馴致及び観察のために保持された。継続的な健康モニタリングが定期的実施された。

20

【0292】

研究0日目にマウスに1×10⁵個のPanc02-CEA細胞を膵臓内に注射し、無作為化して秤量した。腫瘍細胞注入の1週間後、マウスにCEA-IL-2v、PD-L1 Mab又はCEA-IL-2v+PD-L1 Mabの組み合わせを4週間毎週1回静脈注射した。

30

【0293】

全てのマウスに200µlの適切な溶液を静脈注射した。ビヒクル群のマウスにヒスチジン緩衝液を注射し、治療群にはCEA-IL2v構築物若しくはDP47-IL2v若しくはPD-L1 Mab又はCEA-IL2v+PD-L1 Mab及びDP47-IL2v+PD-L1 Mabの組み合わせを注射した。200µlあたりのイムノコンジュゲートの適切な量を得るために、ストック溶液を必要に応じてヒスチジン緩衝液で希釈した。CEA-IL2v及びDP47-IL2vに使用される用量は、IL2受容体ELISAアッセイ(図4Bに示される)によって測定されるように、それらの投与の24時間後の同様のレベルの曝露と一致するように選択された。

40

【0294】

図1及び表4Aは、CEA-IL-2v+PD-L1 Mabの組み合わせが、CEA-IL-2v、DP47-IL2v、PD-L1 Mab単独、及びDP47-IL2v+PD-L1 Mabの組み合わせと比較して生存期間中央値及び全生存期間の向上の観点から優れた有効性を媒介したことを示している。

表 4A

群	生存期間中央値 [日]	p 値対対照	全生存
ビヒクル	31	1	0/6
PD-L1 Mab	45	0.0187*	0/6
CEA-IL2v	39	0.0777	0/6
CEA-IL2v + PD-L1 Mab	58	0.0012**	2/6
DP47-IL2v	29	0.4073	0/6
DP47-IL2v + PD-L1 Mab	46	0.0125*	0/6

10

20

表 4B ペアワイズログランク検定（多重検定レベル= 0.00333）。

群	ビヒクル	muCEA-IL2v	muCEA-IL2v + muPD-L1	muDP47-IL2v	muDP47-IL2v + muPD-L1	muPD-L1
ビヒクル	1.0000	0.0777	0.0012*	0.4073	0.0125*	0.0187*
muCEA-IL2v	0.0777	1.0000	0.0092*	0.0264*	0.1757	0.2203
muCEA-IL2v + muPD-L1	0.0012*	0.0092*	1.0000	0.0006*	0.0450*	0.0209*
muDP47-IL2v	0.4073	0.0264*	0.0006*	1.0000	0.0006*	0.0006*
muDP47-IL2v + muPD-L1	0.0125*	0.1757	0.0450*	0.0006*	1.0000	0.4744
muPD-L1	0.0187*	0.2203	0.0209*	0.0006*	0.4744	1.0000

30

40

表 4C

化合物	用量	製剤緩衝液	濃度 (mg/mL)
CEA-IL2v sfW(6a)	5 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH6.0	1.57 (=ストック溶液)
DP47-IL2v CHO sfW(6a)	4 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 0.01%の Tween20 pH6.0	4.14 (=ストック溶液)
PD-L1 muIgG1 W(1)	200 μ g	20mM ヒスチジン酢酸、 240mM スクロース、 0.02%の Tween20 pH5.5	27.1 (=ストック溶液)

10

20

30

40

50

【 0 2 9 5 】

実施例 5

CEA-IL2vによる処置時のPD-L1上方制御

新鮮な血液からPBMCを単離した。簡潔には、血液をPBSで3:1に希釈した。約30mlの血液/PBS混合物をHistopaque(Sigma)15mlに積み重ね、プレーキなしで450xgで30分間遠心分離した。5mlのピペットを用いて、PBSを含む50mlチューブにリンパ球を集めた。チューブをPBSで50mlまで満たし、350xgで10分間遠心分離した。上清を捨て、ペレットを50mlのPBSに再懸濁し、300xgで10分間遠心分離した。洗浄工程を1回繰り返した。細胞を10%FCS及び1%グルタミンを含むRPMIに再懸濁した。

A549(EGACC 86012804)は、ヒト白人肺癌(腺癌;原発腫瘍)細胞株である。細胞を10%FCS及び1%グルタミンを含むDMEM中で培養した。細胞をコンフルエントに達する前に2~4日ごとに分けた。

【 0 2 9 6 】

アッセイ開始前日にA549細胞を採取し、1mlの培地中にウェル当たり1mioの密度で6ウェルプレートに播種した。翌日、培地を除去し、PBMCを添加して、最終的なE:T比が10:1若しくは1:1又は培地のみをもたらすようにした。細胞をインキュベーター内で48時間、100nMのCEA-IL2v、10nMのCEA-IL2v又は培地のみで処置した。処置後、A549をCellDissociation緩衝液により回収し、PD-L1発現をフローサイトメトリーにより分析した。

【 0 2 9 7 】

A549を、細胞解離緩衝液で48時間後に回収し、FACS分析に使用した。細胞を400gで4分間遠心分離し、0.1%BSAを含有するPBS(FACS緩衝液)で1回洗浄した。次いで、40 μ l/ウェルの希釈抗PD-L1抗体(BioLegend、40 μ lのFACS緩衝液中5 μ l)又はそれぞれのアイソタイプ対照を細胞に添加した。細胞を冷蔵庫で30分間インキュベートした。その後、細胞をFACS緩衝液で2回洗浄し、ウェル当たり2%PFAを含有する200 μ lのFACS緩衝液に再懸濁した。分

析は、BD FACS Fortessaを用いて行った。

【0298】

図5は、A549腫瘍細胞をCEA-IL2v単独で処置してもA549細胞ではPD-L1発現が誘導されないことを示している。しかし、A549細胞をPBMCの存在下でCEA-IL2vで処置すると、A549細胞上のPD-L1の濃度依存性上方制御が検出された。PD-L1の上方制御は、共培養物中に存在するPBMCの量にも依存していた。

【0299】

実施例6

MC38-FAP同系皮下腫瘍モデル

FAP標的化FAP-IL2vイムノコンジュゲートのマウス代替物を、Black 6マウスに皮下注射されたマウス結腸腺癌MC38-FAPトランスフェクタント細胞株において試験した。この研究では、ヒト/マウス交差反応性抗PD-L1抗体YW243.55.S70 PD-L1 muIgG1を使用した。

【0300】

Roche-GlycartでMC38-FAP invipa(インビボで継代)細胞を生成し、増殖後、Glycart内部細胞バンクに寄託した。これらの細胞を、10%ウシ胎仔血清(Invitrogen、スイス)、1mMピルビン酸及び1%のNEAA+6µg/mlのピューロマイシンを補充したDMEM培地(GIBCO、Switzerland)中で、5%CO₂での水飽和雰囲気下、37℃で規定通りに培養した。培養継代は、トリプシン/EDTA 1x(GIBCO、スイス)を用いて1日おきに分裂させて行った。注射の日に、培養フラスコ(Greiner Bio-One)からトリプシン-EDTA(Gibco、スイス)を用いて腫瘍細胞を回収し、50mlの培地に移し、洗浄し、RPMI無血清培地(Gibco、スイス)に再懸濁した。RPMIを用いて更に洗浄した後、細胞計数器を用いて細胞濃度を測定した。注射のために、100µlのRPMI細胞培養培地中の2×10⁶個の細胞を用いて最終力価を20×10⁶細胞/mlに調整した。

【0301】

雌のBlack 6マウスをCharles Riversから購入し、関連するガイドライン(GV-Solas; Felasa; TierschG)に従い、毎日、12時間明所/12時間暗所のサイクルで、特定の病原体のいない条件下で保持した。実験的研究プロトコルは、地方政府によってレビューされ承認された(PZH193/2014)。動物は到着後1週間、新しい環境への馴致及び観察のために保持された。継続的な健康モニタリングが定期的実施された。

【0302】

研究0日目に、マウスにMC38-muFAP細胞(2×10⁶細胞/100µl/マウス);生存率94.4%の継代7を皮下注射した。ビヒクル及び抗体療法(muFAP-IL2v; 2mg/kgの用量で、及びmuPD-L1を10mg/kgの用量で、並びにその組み合わせ)をx日(腫瘍が100mm³を超える)、x+7日、+14日、+21日等にて静脈内注射した。マウスの最大の処置回数は5であった。

【0303】

全てのマウスに200µlの適切な溶液を静脈注射した。ビヒクル群のマウスに、ヒスチジン緩衝液を注射し、処置群には抗体を注射した。200µlあたりの抗体の適切な量を得るために、抗体溶液を必要に応じてヒスチジン緩衝液で希釈した。

【0304】

図6A、6B及び表5Aは、FAP-IL-2v+PD-L1 Mabの組み合わせが、FAP-IL-2v及びPD-L1 Mab単独と比較して、腫瘍増殖阻害並びに生存期間中央値及び全生存期間の向上の観点から優れた有効性を媒介したことを示している。

10

20

30

40

表 5A

群	生存期間中央値 [日]	p 値対対照
ビヒクル	30	1.0000
muFAP-IL-2v	40	0.2190
抗 PDL1	48	0.0351*
muFAP-IL-2v + 抗 PDL1	64	0.0066**

10

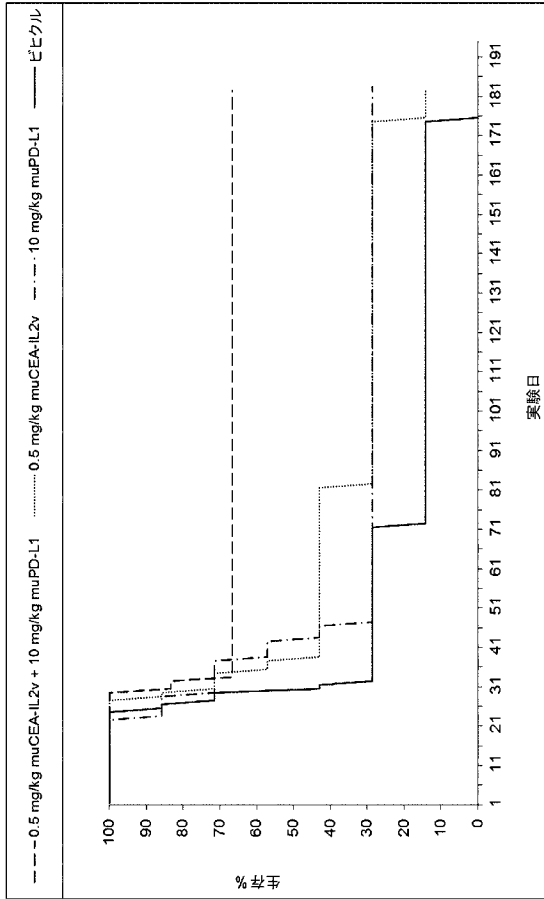
表 5B

化合物	用量	製剤緩衝液	濃度 (mg/mL)
FAP 4B9 muIgG1 DAPG DDKK BL6 muIL2v	40 μ g	20 mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH 6.0	5.94 (=ストック溶液)
muIgG1 抗 PD-L1	200 μ g	20mM ヒスチジン、 140mM の NaCl、 pH 6.0	2.54 (=ストック溶液)

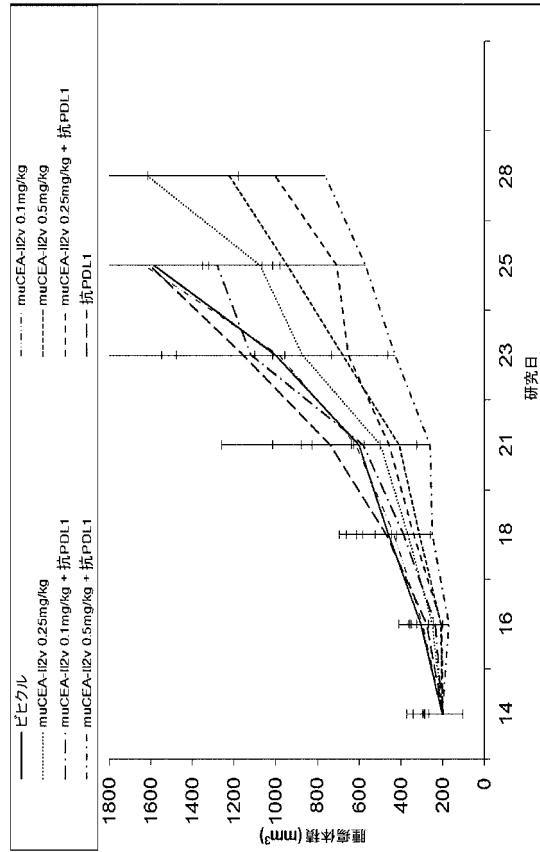
20

30

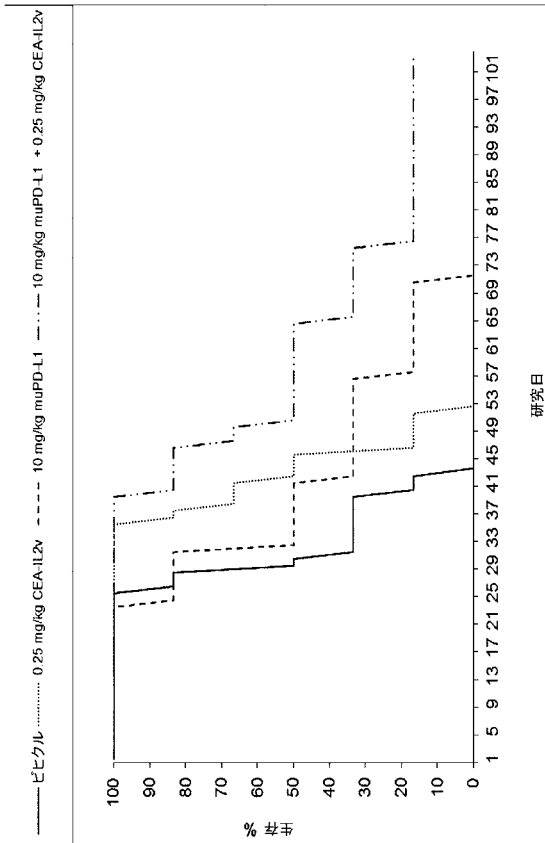
【 図 1 】



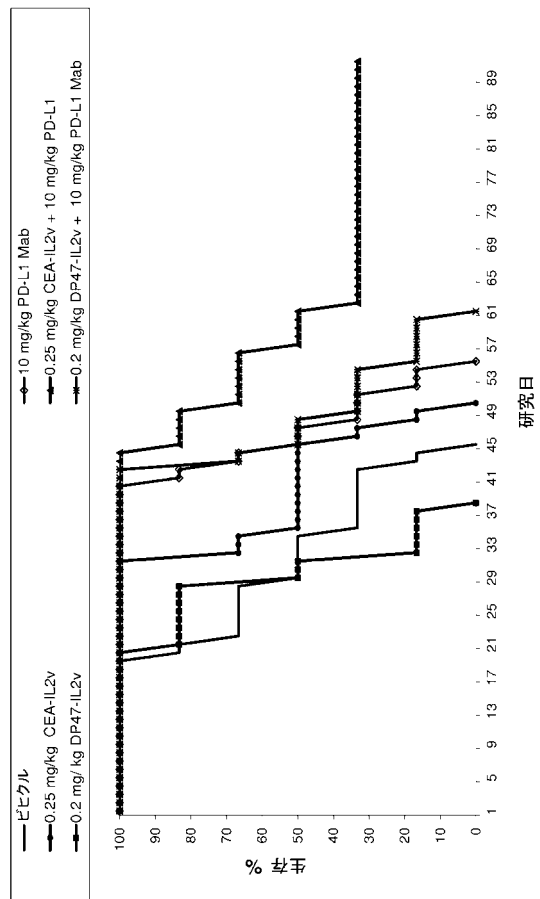
【 図 2 】



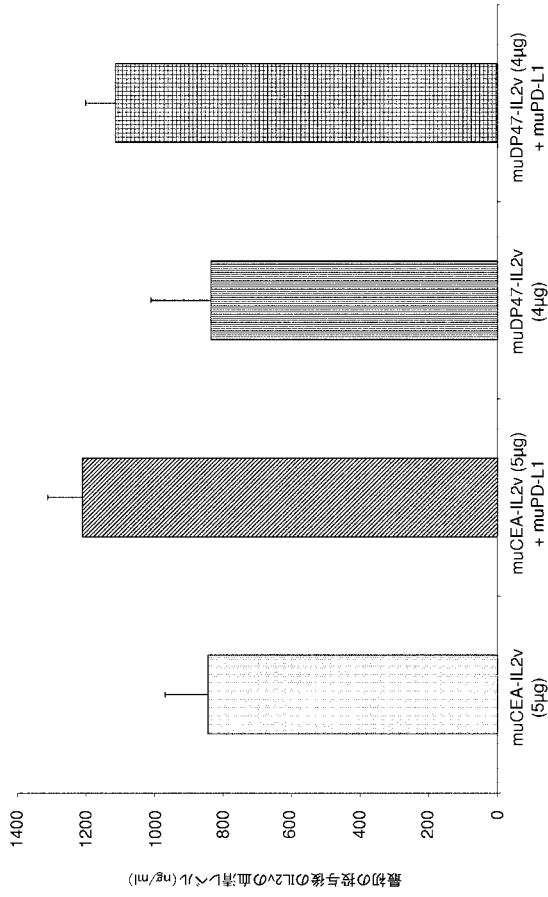
【 図 3 】



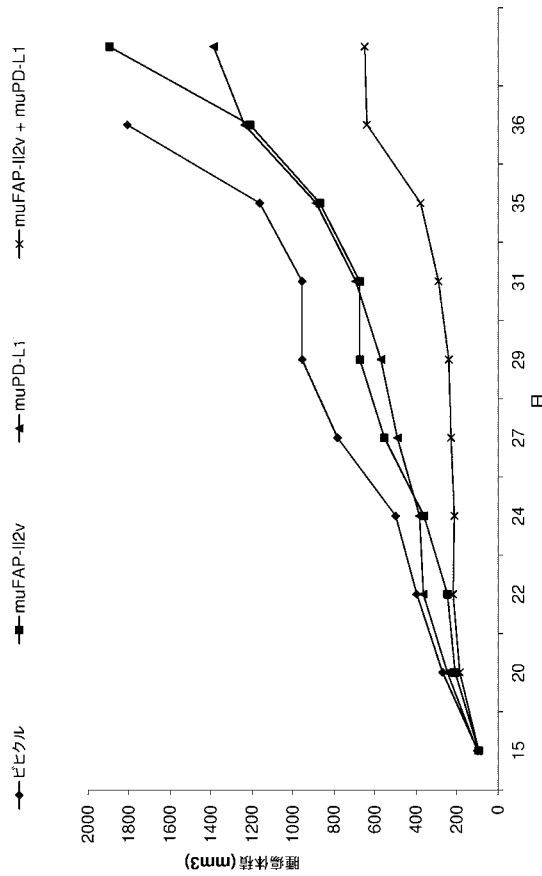
【 図 4 A 】



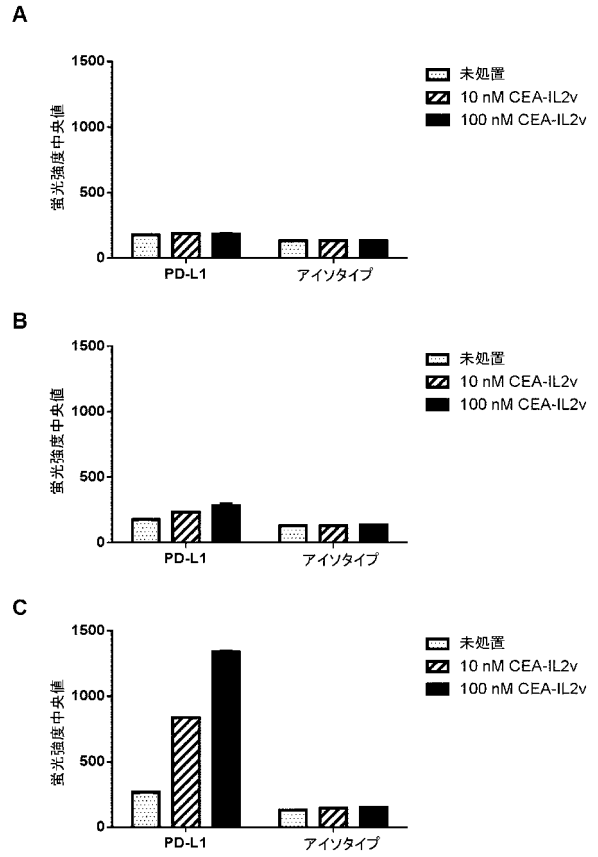
【 図 4 B 】



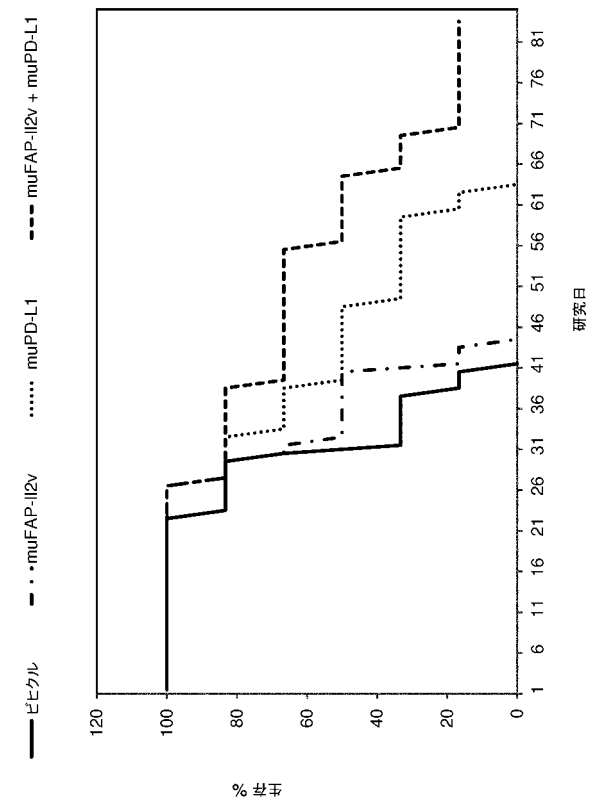
【 図 6 A 】



【 図 5 】



【 図 6 B 】



【配列表】

2019108341000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成31年3月14日(2019.3.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

がんの、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた治療における使用のための医薬であって、IL-2パリアント免疫サイトカインを含み、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項2】

がんの、IL-2パリアント免疫サイトカインと組み合わせた治療における使用のための医薬であって、ヒトPD-L1に結合する抗体を含み、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項3】

がんの治療における使用のための医薬であって、IL-2パリアント免疫サイトカインとヒトPD-L1に結合する抗体とを含み、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項4】

がんの治療における使用のための、IL-2パリアント免疫サイトカインとヒトPD-L1に結合する抗体が組み合わされた医薬であって、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項5】

がんが、乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、メラノーマがん、膀胱がん、腎がん、腎臓がん、肝臓がん、頭頸部がん、結腸直腸がん、メラノーマ、膵臓がん、胃がん、食道がん、中皮腫、前立腺がん、白血病、リンパ腫、及び骨髄腫からなる群から選択される、請求項1から4の何れか一項に記載の医薬。

【請求項6】

i) FAP発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び/又は

ii) FAP発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び/又は全生存期間を向上さ

せることにおける、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた使用のための医薬であって、IL-2バリエーション免疫サイトカインを含み、

ここで、IL-2バリエーション免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項7】

i) FAP発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び/又は

ii) FAP発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び/又は全生存期間を向上させることにおける、IL-2バリエーション免疫サイトカインと組み合わせた使用のための医薬であって、ヒトPD-L1に結合する抗体を含み、

ここで、IL-2バリエーション免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項8】

i) FAP発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び/又は

ii) FAP発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び/又は全生存期間を向上させることにおける使用のための医薬であって、IL-2バリエーション免疫サイトカインとヒトPD-L1に結合する抗体とを含み、

ここで、IL-2バリエーション免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項9】

i) FAP発現腫瘍における腫瘍増殖の阻害；及び/又は

ii) FAP発現腫瘍を有する被験体の生存期間中央値及び/又は全生存期間を向上させることにおける使用のための、IL-2バリエーション免疫サイトカインとヒトPD-L1に結合する抗体が組み合わされた医薬であって、

ここで、IL-2バリエーション免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項10】

FAP発現腫瘍又はFAPの発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいはFAPの発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の、ヒトPD-L1に結合する抗体と組み合わせた治療における使用のための医薬であって、IL-2バリエーション免疫サイトカインを含み、

ここで、IL-2バリエーション免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項11】

FAP発現腫瘍又はFAPの発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいはFAPの発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の、IL-2バリエーション

免疫サイトカインと組み合わせた治療における使用のための医薬であって、ヒトPD-L1に結合する抗体を含み、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項12】

FAP発現腫瘍又はFAPの発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいはFAPの発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の治療における使用のための医薬であって、IL-2パリアント免疫サイトカインとヒトPD-L1に結合する抗体とを含み、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項13】

FAP発現腫瘍又はFAPの発現若しくは過剰発現を特徴とする腫瘍を有するか、あるいはFAPの発現若しくは過剰発現に関連する腫瘍を有する患者の治療における使用のための、IL-2パリアント免疫サイトカインとヒトPD-L1に結合する抗体が組み合わされた医薬であって、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、医薬。

【請求項14】

免疫サイトカインの抗体成分及びヒトPD-L1に結合する抗体が、ヒトIgG1サブクラスのもの又はヒトIgG4サブクラスのものであることを特徴とする、請求項1から13の何れか一項に記載の医薬。

【請求項15】

免疫サイトカインの抗体成分及びヒトPD-L1に結合する抗体が、非操作天然型IgG1サブクラス又はIgG4サブクラスのものと比較して低下した又は最少のエフェクター機能を有することを特徴とする、請求項1から14の何れか一項に記載の医薬。

【請求項16】

最少のエフェクター機能が、エフェクターを有さない(effectorless)Fc変異に起因する、請求項15に記載の医薬。

【請求項17】

エフェクターを有さない(effectorless)Fc変異が、L234A/L235A又はL234A/L235A/P329G又はN297A又はD265A/N297Aである、請求項16に記載の医薬。

【請求項18】

請求項1から17の何れか一項に記載の医薬の製造のためのIL-2パリアント免疫サイトカインの使用であって、

ここで、IL-2パリアント免疫サイトカインが、配列番号79及び配列番号80及び配列番号81のポリペプチド配列を含むことを特徴とし、ヒトPD-L1に結合する抗体が、配列番号89の重鎖可変ドメインVHに含まれる重鎖相補性決定領域(CDR)及び配列番号92の軽鎖可変ドメインVLに含まれる軽鎖CDRを含むことを特徴とする、使用。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28
C 0 7 K	14/55	(2006.01)	C 0 7 K	14/55

(72)発明者 ニコリーニ, バレリア ヘ.
スイス国 ツェーハー - 8 7 0 3 エルレンバハ/チューリッヒ, ザントフェルゼンシュトラ
セ 4

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA22 BA23 DA14 NA05 NA14 ZB26
ZB27 ZC75
4C085 AA14 BB11 EE03
4H045 AA30 BA10 CA40 DA04 DA76 EA22 EA28 FA74

【外国語明細書】

2019108341000001.pdf