

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7106538号
(P7106538)

(45)発行日 令和4年7月26日(2022.7.26)

(24)登録日 令和4年7月15日(2022.7.15)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/04	

請求項の数 14 (全169頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-530429(P2019-530429)
 (86)(22)出願日 平成29年12月7日(2017.12.7)
 (65)公表番号 特表2019-536806(P2019-536806 A)
 (43)公表日 令和1年12月19日(2019.12.19)
 (86)国際出願番号 PCT/US2017/065014
 (87)国際公開番号 WO2018/106864
 (87)国際公開日 平成30年6月14日(2018.6.14)
 審査請求日 令和2年12月7日(2020.12.7)
 (31)優先権主張番号 62/431,279
 (32)優先日 平成28年12月7日(2016.12.7)
 (33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)
 (31)優先権主張番号 62/570,451
 (32)優先日 平成29年10月10日(2017.10.10)
 最終頁に続く

(73)特許権者 515124598
 アジェナス インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
 421, レキシントン, フォーブス
 ロード 3
 (73)特許権者 516029470
 ルドウィグ インスティテュート フォー
 キャンサー リサーチ エルティーディー
 スイス国 シーエイチ - 8001 チュー
 リッヒ スタデルホフェルストラッセ 22
 (73)特許権者 500213834
 メモリアル スローン ケタリング キヤ
 ンサー センター
 アメリカ合衆国 ニューヨーク 1006
 5, ニューヨーク, ヨーク アベニュー
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗体およびその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

癌を有する対象においてT細胞活性化を増加させる使用のための、治療薬の組み合わせ物であって、

前記治療薬の組み合わせ物が、ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒトPD-1に特異的に結合する第2の単離抗体とを含み、

(a) 前記第1の単離抗体が、配列番号1の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列の相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域(VH)と、配列番号14の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列の相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域(VL)とを含み、

(b) 前記第2の単離抗体が、配列番号66の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列の相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域(VH)と、配列番号74の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列の相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域(VL)とを含む、

治療薬の組み合わせ物。

【請求項2】

前記第1の単離抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3が、配列番号20、22、24、27、30、および36にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む、請求項1に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項3】

前記第 1 の単離抗体が、配列番号 1 および 14 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、請求項 1 または 2 に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 4】

第 1 の単離抗体が、配列番号 51 のアミノ酸配列を含む重鎖、および、配列番号 59 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 5】

前記第 1 の単離抗体が、

- (a) ヒト Ig G₁、Ig G₂、Ig G₃、Ig G₄、Ig A₁、および Ig A₂ からなる群から選択される重鎖定常領域、
 - (b) 配列番号 60 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域、
 - (c) EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、S239D / I332E 変異を含む Ig G₁ 重鎖定常領域、
 - (d) 配列番号 61 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域、
 - (e) EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、S239D / A330L / I332E 変異を含む Ig G₁ 重鎖定常領域、
 - (f) 配列番号 62 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域、
 - (g) EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、L235V / F243L / R292P / Y300L / P396L 変異を含む Ig G₁ 重鎖定常領域、
 - (h) 配列番号 63 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域、
 - (i) フコシル化されていない Ig G₁ 重鎖定常領域、
 - (j) ヒト Ig κ および Ig λ からなる群から選択される軽鎖定常領域、または
 - (k) 配列番号 64 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域、
- を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 6】

前記第 2 の単離抗体の CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3 が、75、76、81、83、84、および 85 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 7】

前記第 2 の単離抗体が、配列番号 66 および 74 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 8】

前記第 2 の単離抗体が、配列番号 91 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 9】

前記第 2 の単離抗体が、

- (a) ヒト Ig G₁、Ig G₂、Ig G₃、Ig G₄、Ig A₁、および Ig A₂ からなる群から選択される重鎖定常領域、
- (b) EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、N297A 変異を含む Ig G₁ 重鎖定常領域、
- (c) 配列番号 94 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域、
- (d) EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、S228P 変異を含む Ig G₄ 重鎖定常領域、
- (e) 配列番号 95 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域、
- (f) ヒト Ig κ および Ig λ からなる群から選択される軽鎖定常領域、または
- (g) 配列番号 64 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域、

を含む、

請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 1 0】

(a) 前記第 1 の単離抗体が、配列番号 1 および 1 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、並びに、

(b) 前記第 2 の単離抗体が、配列番号 6 6 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、

請求項 1 に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 1 1】

(a) 第 1 の単離抗体が、配列番号 5 1 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖、および、配列番号 5 9 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、

(b) 前記第 2 の単離抗体が、配列番号 9 1 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む、

請求項 1 に記載の治療薬の組み合わせ物。

【請求項 1 2】

(a) 前記第 1 の単離抗体が、0.3 mg/kg または 1 mg/kg で投与される、

(b) 前記第 2 の単離抗体が、1 mg/kg、3 mg/kg、または 6 mg/kg で投与される、

(c) 前記第 2 の単離抗体が、200 mg の用量で投与される、

(d) 前記第 1 の単離抗体が、0.3 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、1 mg/kg で投与される、

(e) 前記第 1 の単離抗体が、1 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、1 mg/kg で投与される、

(f) 前記第 1 の単離抗体が、1 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、3 mg/kg で投与される、

(g) 前記第 1 の単離抗体が、1 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、6 mg/kg で投与される、

(h) 前記第 1 の単離抗体が、6 週間毎に投与される、

(i) 前記第 2 の単離抗体が、2 週間毎または 3 週間毎に投与される、

(j) 前記第 1 の単離抗体が、6 週間毎に 0.3 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、2 週間毎に 1 mg/kg で投与される、

(k) 前記第 1 の単離抗体が、6 週間毎に 1 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、2 週間毎に 1 mg/kg で投与される、

(l) 前記第 1 の単離抗体が、6 週間毎に 1 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、2 週間毎に 3 mg/kg で投与される、または

(m) 前記第 1 の単離抗体が、6 週間毎に 1 mg/kg で投与され、前記第 2 の単離抗体が、3 週間毎に 6 mg/kg で投与される、

請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 1 3】

(a) 前記癌が、転移性または局所的に進行した固形腫瘍である、

(b) 前記癌が、転移性または局所的に進行した切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌である、

(c) どの標準療法も前記癌に使用可能でない、

(d) 前記癌が、標準療法に対して難治性である、

(e) 前記癌が、標準療法後に再発している、

(f) 前記癌が、HPV 陽性である、

(g) 前記癌が、非小細胞肺癌 (NSCLC) である、

(h) 前記癌が、ステージ IV、転移性、または局所的に進行した NSCLC である、

(i) 前記癌が、非小細胞肺癌 (NSCLC) であり、前記 NSCLC が、EGFR ゲノム腫瘍異常も ALK ゲノム腫瘍異常も有しない、

10

20

30

40

50

(j) 前記癌が、非小細胞肺癌 (NSCLC) であり、対象が、前記 NSCLC の全身化学療法治療を以前に受けていない、

(k) 前記癌が、皮膚扁平細胞癌 (cSCC) である、

(l) 前記癌が、皮膚扁平細胞癌 (cSCC) であり、放射線療法で治療可能ではない、または

(m) PD-L1 の検出可能な膜発現を呈する前記癌の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージが、少なくとも 1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または 90% である、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【請求項 14】

(a) 前記第 1 および第 2 の単離抗体が、前記癌の診断後に第 1 の癌療法として投与される、

(b) 前記第 1 および第 2 の単離抗体が、異なる癌療法による以前の前記癌の治療にもかかわらず起こった腫瘍進行の診断後に、第 1 の癌療法として投与される、または

(c) 前記第 1 および第 2 の単離抗体が、異なる癌療法の毒性の診断後に、第 1 の癌療法として投与される、

請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の使用のための治療薬の組み合わせ物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2016 年 12 月 7 日出願の米国仮出願第 62/431,279 号、2017 年 10 月 10 日出願の同第 62/570,451 号、2017 年 11 月 7 日出願の同第 62/582,814 号、および 2017 年 11 月 15 日出願の同第 62/586,605 号（その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）の利益を主張する。

【背景技術】

【0002】

本開示は、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）および／または PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する抗体、ならびにこれらの抗体を使用する方法に関する。

【0003】

CTLA-4 は、T 細胞上で上方調節された阻害受容体である (Alegre et al., 2001, Nat Rev Immunol 1:220-8)。CTLA-4 は、いくつかの方法で免疫応答を阻害する。そのリガンド、CD80、および CD86 について T 細胞同時刺激受容体 CD28 と競合し、したがって同時刺激を遮断する。負のシグナル伝達を行い、T 細胞活性化を阻害する。またトランスエンドサイトーシスによって対向する細胞から CD80 および CD86 を捕捉して、CD28 を介して T 細胞同時刺激の障害を生じ得る (Krummel and Allison, 1995, J Exp Med 182:459-465, Walunas et al., 1994, Immunity 1:405-413, Qureshi et al., 2011, Science 332:600-603)。

【0004】

PD-1 は、活性化 B 細胞、T 細胞、および骨髄細胞上で発現される別の阻害受容体である (Agata et al. (1996) Int Immunol 8:765-72, Okazaki et al. (2002) Curr Opin Immunol 14:391779-82, Bennett et al. (2003) J Immunol 170:711-8)。PD-1 に結合すると T 細胞活性化を下方調節することが示された PD-1 の 2 つのリガンド、PD-L1 および PD-L2 が同定された (Freeman et al. (2000) J Exp Med 192:1027-34, Latchman et al. (2001) Nat Immunol 2:261-8, Carter

10

20

30

40

50

et al. (2002) Eur J Immunol 32:634-43)。PD-1とPD-L1との間の相互作用は、腫瘍浸潤リンパ球の減少、T細胞受容体媒介性増殖の減少、および癌細胞による免疫回避をもたらす(Dong et al. (2003) J. Mol. Med. 81:281-7、Blank et al. (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314、Konishi et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100)。この免疫抑制は、PD-1とPD-L1との局所相互作用を阻害することによって逆転し得る(Iwai et al. (2002) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 99:12293-7、Brown et al. (2003) J. Immunol. 170:1257-66)。

10

【0005】

免疫応答を調節することにおけるCTLA-4およびPD-1の重要な役割を考慮して、CTLA-4およびPD-1両方のシグナル伝達を拮抗させるように設計された治療法は、CTLA-4および／またはPD-1媒介性免疫抑制を伴う疾患の治療にかなり有望である。

【発明の概要】

【0006】

本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）および／またはPD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、CTLA-4および／またはPD-1機能、例えば、CTLA-4および／またはPD-1によって媒介される免疫抑制を拮抗させる抗体を提供する。また、これらの抗体を含む薬学的組成物およびキット、これらの抗体をコードする核酸、これらの抗体を作製するための発現ベクターおよび宿主細胞、ならびにこれらの抗体を使用して対象を治療する方法が提供される。本明細書に記載の抗体は、抗原（例えば、腫瘍抗原または感染性疾患抗原）に応答してT細胞活性化を増加させるため、したがって対象における癌を治療する、または対象における感染性疾患を治療もしくは予防するために特に有用である。

20

【0007】

したがって、一態様では、本開示は、対象における免疫応答を強化または誘導する方法を提供し、該方法は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

30

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂（配列番号39）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはAであり、

X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG（配列番号22）のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

40

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはGであり、

X₂は、R、S、またはTであり、

X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはAであり、

X₂は、AまたはTであり、

X₃は、T、S、R、またはNであり、

50

(f) C D R L 3 は、Q Q Y G X ₁ S P X ₂ T (配列番号 4 5) のアミノ酸配列を含み、式中、

X ₁ は、S または T であり、

X ₂ は、W または F であり、

また第 2 の単離抗体は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域とを含み、

(g) C D R H 1 は、S Y G M H (配列番号 7 5) のアミノ酸配列を含み、

(h) C D R H 2 は、V I W X ₁ D G S N X ₂ Y Y A D S V X ₃ G (配列番号 8 6) のアミノ酸配列を含み、式中、

X ₁ は、Y または F であり、

X ₂ は、K または E であり、

X ₃ は、K または M であり、

(i) C D R H 3 は、N X ₁ D X ₂ (配列番号 8 7) のアミノ酸配列を含み、式中、

X ₁ は、G または V であり、

X ₂ は、H または Y であり、

(j) C D R L 1 は、R A S Q S V S S N L A (配列番号 8 3) のアミノ酸配列を含み、

(k) C D R L 2 は、G A S T R A T (配列番号 8 4) のアミノ酸配列を含み、

(l) C D R L 3 は、Q Q Y N N W P R T (配列番号 8 5) のアミノ酸配列を含む。

【0008】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、C T L A - 4 (例えば、ヒト C T L A - 4) に特異的に結合する第 1 の単離抗体と、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第 1 の単離抗体は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) C D R H 1 は、S Y X ₁ M X ₂ (配列番号 3 9) のアミノ酸配列を含み、式中、

X ₁ は、S または A であり、

X ₂ は、N または S であり、

(b) C D R H 2 は、S I S S S S S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 2 2) のアミノ酸配列を含み、

(c) C D R H 3 は、V G L M G P F X I (配列番号 1 1 5) のアミノ酸配列を含み、式中、X は、D または N であり、

(d) C D R L 1 は、R A S Q S V X ₁ X ₂ Y L X ₃ (配列番号 4 3) のアミノ酸配列を含み、式中、

X ₁ は、S または G であり、

X ₂ は、R、S、または T であり、

X ₃ は、G または A であり、

(e) C D R L 2 は、X ₁ X ₂ S X ₃ R A T (配列番号 4 4) のアミノ酸配列を含み、式中、

X ₁ は、G または A であり、

X ₂ は、A または T であり、

X ₃ は、T、S、R、または N であり、

(f) C D R L 3 は、Q Q Y G X ₁ S P X ₂ T (配列番号 4 5) のアミノ酸配列を含み、式中、

X ₁ は、S または T であり、

X ₂ は、W または F であり、

また第 2 の単離抗体は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域とを含み、

10

20

30

40

50

- (g) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、
 (h) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、
 X₁は、YまたはFであり、
 X₂は、KまたはEであり、
 X₃は、KまたはMであり、
 (i) CDRH3は、NX₁DX₂（配列番号87）のアミノ酸配列を含み、式中、
 X₁は、GまたはVであり、
 X₂は、HまたはYであり、
 (j) CDRL1は、RASQSVSSNLA（配列番号83）のアミノ酸配列を含み、
 (k) CDRL2は、GASTRAT（配列番号84）のアミノ酸配列を含み、
 (l) CDRL3は、QQYNNWPRT（配列番号85）のアミノ酸配列を含む。

【0009】

別の態様では、本開示は、対象における感染性疾患を治療する方法を提供し、該方法は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

- (a) CDRH1は、SYX₁MX₂（配列番号39）のアミノ酸配列を含み、式中、
 X₁は、SまたはAであり、
 X₂は、NまたはSであり、
 (b) CDRH2は、SISSSSYIYYADSVKG（配列番号22）のアミノ酸配列を含み、
 (c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、
 (d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、
 X₁は、SまたはGであり、
 X₂は、R、S、またはTであり、
 X₃は、GまたはAであり、
 (e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、
 X₁は、GまたはAであり、
 X₂は、AまたはTであり、
 X₃は、T、S、R、またはNであり、
 (f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T（配列番号45）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはTであり、
 X₂は、WまたはFであり、
 また第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

- (g) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、
 (h) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、
 X₁は、YまたはFであり、
 X₂は、KまたはEであり、
 X₃は、KまたはMであり、
 (i) CDRH3は、NX₁DX₂（配列番号87）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、G または V であり、

X₂ は、H または Y であり、

(j) CDR L 1 は、R A S Q S V S S N L A (配列番号 8 3) のアミノ酸配列を含み、

(k) CDR L 2 は、G A S T R A T (配列番号 8 4) のアミノ酸配列を含み、

(l) CDR L 3 は、Q Q Y N N W P R T (配列番号 8 5) のアミノ酸配列を含む。

【0010】

別の態様では、本開示は、対象における免疫応答を強化または誘導する方法を提供し、該方法は、ヒト C T L A - 4 に特異的に結合する第 1 の単離抗体と、ヒト P D - 1 に特異的に結合する第 2 の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第 1 の単離抗体は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域とを含み、

10

(a) CDR H 1 は、S Y X₁ M X₂ (配列番号 3 9) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、S または A であり、

X₂ は、N または S であり、

(b) CDR H 2 は、S I S S S S S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 2 2) のアミノ酸配列を含み、

(c) CDR H 3 は、V G L M G P F X I (配列番号 1 1 5) のアミノ酸配列を含み、式中、X は、D または N であり、

(d) CDR L 1 は、R A S Q S V X₁ X₂ Y L X₃ (配列番号 4 3) のアミノ酸配列を含み、式中、

20

X₁ は、S または G であり、

X₂ は、R、S、または T であり、

X₃ は、G または A であり、

(e) CDR L 2 は、X₁ X₂ S X₃ R A T (配列番号 4 4) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、G または A であり、

X₂ は、A または T であり、

X₃ は、T、S、R、または N であり、

(f) CDR L 3 は、Q Q Y G X₁ S P X₂ T (配列番号 4 5) のアミノ酸配列を含み、式中、

30

X₁ は、S または T であり、

X₂ は、W または F である。

【0011】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、ヒト C T L A - 4 に特異的に結合する第 1 の単離抗体と、ヒト P D - 1 に特異的に結合する第 2 の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第 1 の単離抗体は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域とを含み、

40

(a) CDR H 1 は、S Y X₁ M X₂ (配列番号 3 9) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、S または A であり、

X₂ は、N または S であり、

(b) CDR H 2 は、S I S S S S S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 2 2) のアミノ酸配列を含み、

(c) CDR H 3 は、V G L M G P F X I (配列番号 1 1 5) のアミノ酸配列を含み、式中、X は、D または N であり、

(d) CDR L 1 は、R A S Q S V X₁ X₂ Y L X₃ (配列番号 4 3) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、S または G であり、

50

X₂ は、R、S、またはTであり、

X₃ は、GまたはAであり、

(e) CDR L 2 は、X₁ X₂ S X₃ R A T (配列番号 4 4) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、GまたはAであり、

X₂ は、AまたはTであり、

X₃ は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDR L 3 は、Q Q Y G X₁ S P X₂ T (配列番号 4 5) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、SまたはTであり、

X₂ は、WまたはFである。

【0012】

別の態様では、本開示は、対象における感染性疾患を治療する方法を提供し、該方法は、ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒトPD-1に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1 は、S Y X₁ M X₂ (配列番号 3 9) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、SまたはAであり、

X₂ は、NまたはSであり、

(b) CDRH2 は、S I S S S S S Y I Y Y A D S V K G (配列番号 2 2) のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3 は、V G L M G P F X I (配列番号 1 1 5) のアミノ酸配列を含み、式中、X は、DまたはNであり、

(d) CDRL1 は、R A S Q S V X₁ X₂ Y L X₃ (配列番号 4 3) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、SまたはGであり、

X₂ は、R、S、またはTであり、

X₃ は、GまたはAであり、

(e) CDRL2 は、X₁ X₂ S X₃ R A T (配列番号 4 4) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、GまたはAであり、

X₂ は、AまたはTであり、

X₃ は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3 は、Q Q Y G X₁ S P X₂ T (配列番号 4 5) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、SまたはTであり、

X₂ は、WまたはFである。

【0013】

別の態様では、本開示は、対象における免疫応答を強化または誘導する方法を提供し、該方法は、ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒトPD-1に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1 は、S Y G M H (配列番号 7 5) のアミノ酸配列を含み、

(b) CDRH2 は、V I W X₁ D G S N X₂ Y Y A D S V X₃ G (配列番号 8 6) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、YまたはFであり、

10

20

30

40

50

X₂ は、K または E であり、

X₃ は、K または M であり、

(c) CDRH3 は、NX₁DX₂ (配列番号 87) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、G または V であり、

X₂ は、H または Y であり、

(d) CDRL1 は、RASQSVSSNLA (配列番号 83) のアミノ酸配列を含み、

(e) CDRL2 は、GASTRAT (配列番号 84) のアミノ酸配列を含み、

(f) CDRL3 は、QQYNNWPRT (配列番号 85) のアミノ酸配列を含む。

【0014】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、ヒトCTLA-4 に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒトPD-1 に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1 は、SYGMH (配列番号 75) のアミノ酸配列を含み、

(b) CDRH2 は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (配列番号 86) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、Y または F であり、

X₂ は、K または E であり、

X₃ は、K または M であり、

(c) CDRH3 は、NX₁DX₂ (配列番号 87) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、G または V であり、

X₂ は、H または Y であり、

(d) CDRL1 は、RASQSVSSNLA (配列番号 83) のアミノ酸配列を含み、

(e) CDRL2 は、GASTRAT (配列番号 84) のアミノ酸配列を含み、

(f) CDRL3 は、QQYNNWPRT (配列番号 85) のアミノ酸配列を含む。

【0015】

別の態様では、本開示は、対象における感染性疾患を治療する方法を提供し、該方法は、ヒトCTLA-4 に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒトPD-1 に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1 は、SYGMH (配列番号 75) のアミノ酸配列を含み、

(b) CDRH2 は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (配列番号 86) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、Y または F であり、

X₂ は、K または E であり、

X₃ は、K または M であり、

(c) CDRH3 は、NX₁DX₂ (配列番号 87) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、G または V であり、

X₂ は、H または Y であり、

(d) CDRL1 は、RASQSVSSNLA (配列番号 83) のアミノ酸配列を含み、

(e) CDRL2 は、GASTRAT (配列番号 84) のアミノ酸配列を含み、

(f) CDRL3 は、QQYNNWPRT (配列番号 85) のアミノ酸配列を含む。

【0016】

別の態様では、本開示は、対象における免疫応答を強化または誘導する方法を提供し、該方法は、有効量の、ヒトCTLA-4 に特異的に結合する第1の単離抗体を、任意に単剤療法として対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、

CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂ (配列番号39) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはAであり、

X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG (配列番号22) のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI (配列番号115) のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃ (配列番号43) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはGであり、

X₂は、R、S、またはTであり、

X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT (配列番号44) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはAであり、

X₂は、AまたはTであり、

X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T (配列番号45) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはTであり、

X₂は、WまたはFである。

【0017】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、有効量の、ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の単離抗体を、任意に単剤療法として対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂ (配列番号39) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはAであり、

X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG (配列番号22) のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI (配列番号115) のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃ (配列番号43) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはGであり、

X₂は、R、S、またはTであり、

X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT (配列番号44) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはAであり、

X₂は、AまたはTであり、

X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T (配列番号45) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはTであり、

X₂は、WまたはFである。

【0018】

別の態様では、本開示は、対象における感染性疾患を治療する方法を提供し、該方法は、有効量の、ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の単離抗体を、任意に単剤療法として対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂（配列番号39）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはAであり、

X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG（配列番号22）のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはGであり、

X₂は、R、S、またはTであり、

X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはAであり、

X₂は、AまたはTであり、

X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T（配列番号45）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはTであり、

X₂は、WまたはFである。

【0019】

別の態様では、本開示は、対象における免疫応答を強化または誘導する方法を提供し、該方法は、有効量の、ヒトPD-1に特異的に結合する第2の単離抗体を、任意に単剤療法として対象に投与することを含み、第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、

(b) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、YまたはFであり、

X₂は、KまたはEであり、

X₃は、KまたはMであり、

(c) CDRH3は、NX₁DX₂（配列番号87）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはVであり、

X₂は、HまたはYであり、

(d) CDRL1は、RASQSVSSNLA（配列番号83）のアミノ酸配列を含み、

(e) CDRL2は、GASTRAT（配列番号84）のアミノ酸配列を含み、

(f) CDRL3は、QQYNNWPRT（配列番号85）のアミノ酸配列を含む。

【0020】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、有効量の、ヒトPD-1に特異的に結合する第2の単離抗体を、任意に単剤療法として対象に投与することを含み、第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

10

20

30

40

50

L 3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、

(b) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、YまたはFであり、

X₂は、KまたはEであり、

X₃は、KまたはMであり、

(c) CDRH3は、NX₁DX₂（配列番号87）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはVであり、

X₂は、HまたはYであり、

(d) CDRL1は、RASQSVSSNLA（配列番号83）のアミノ酸配列を含み、

(e) CDRL2は、GASTRAT（配列番号84）のアミノ酸配列を含み、

(f) CDRL3は、QQYNNWPRT（配列番号85）のアミノ酸配列を含む。

【0021】

別の態様では、本開示は、対象における感染性疾患を治療する方法を提供し、該方法は、有効量の、ヒトPD-1に特異的に結合する第2の単離抗体を、任意に単剤療法として対象に投与することを含み、第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、

(b) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、YまたはFであり、

X₂は、KまたはEであり、

X₃は、KまたはMであり、

(c) CDRH3は、NX₁DX₂（配列番号87）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはVであり、

X₂は、HまたはYであり、

(d) CDRL1は、RASQSVSSNLA（配列番号83）のアミノ酸配列を含み、

(e) CDRL2は、GASTRAT（配列番号84）のアミノ酸配列を含み、

(f) CDRL3は、QQYNNWPRT（配列番号85）のアミノ酸配列を含む。

【0022】

ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRH1は、配列番号20または21のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRH3は、配列番号24または26のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRL1は、配列番号27、28、または29のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRL2は、配列番号30～35からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRL3は、配列番号36、37、または38のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3は、配列番号20、22、および24；21、22、および24；または21、22、および26にそれぞれ記載されるCDRH1、CDRH2、およびCDRH3アミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号27、30、および36；28、31、および36；29、32、および37；29、33、および38；29、34、および36；または29、35、および38にそれぞれ記載されるCDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列を含む。

【0023】

ある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号20、22、24、27、30、および36；20、22、24、29、32、および37；20、22、24、29、33

10

20

30

40

50

、および 38 ; 21、22、24、27、30、および 36 ; 21、22、24、29、33、および 38 ; 20、22、24、28、31、および 36 ; 20、22、24、29、34、および 36 ; 20、22、24、29、35、および 38 ; 21、22、26、27、30、および 36 ; 21、22、26、29、32、および 37 ; 21、22、26、29、33、および 38 ; または 21、22、26、29、35、および 38 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体の C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 は、配列番号 20、22、24、27、30、および 36 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0024】

ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 116 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 1 および 9 ~ 13 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、または 100 % 同一である、アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体の重鎖可変領域は、配列番号 1 および 9 ~ 13 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0025】

ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 14 ~ 19 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、または 100 % 同一である、アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体の軽鎖可変領域は、配列番号 14 ~ 19 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0026】

ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号 1 および 14、1 および 16、1 および 17、9 および 14、9 および 17、10 および 15、10 および 17、10 および 18、10 および 19、11 および 15、11 および 14、11 および 16、11 および 17、12 および 14、12 および 16、12 および 17、12 および 19、13 および 15、または 13 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号 1 および 14 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0027】

ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、ヒト I G H V 3 - 21 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、ヒト I G K V 3 - 20 または I G K V 3 - 11 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0028】

ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 51 ~ 54 および 117 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 59 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 51 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 59 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 117 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 59 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【0029】

ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2 からなる群から選択される重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、I g G 1 重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の単離抗体は、配列番号 60 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、I g G 1 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、S 239D / I 332E 変異を含む。ある特定の実施形態では、第 1

10

20

30

40

50

の単離抗体は、配列番号 61 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、IgG₁ 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、S239D/A330L/I332E 変異を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、配列番号 62 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、IgG₁ 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 変異を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、配列番号 63 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、IgG₁ 重鎖定常領域は、フコシル化されていない IgG₁ である。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、IgG₂ 重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、配列番号 118 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。

10

【0030】

ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、ヒト Igκ および Igλ からなる群から選択される軽鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、Igκ 軽鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、配列番号 64 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む。

【0031】

ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗体と同じヒト CTLA-4 のエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、配列番号 97～102 からなる群から選択されるアミノ酸配列からなるヒト CTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。

20

【0032】

ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、ヒト CTLA-4 に拮抗性である。

【0033】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の CDRH2 は、配列番号 76～79 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の CDRH3 は、配列番号 80、81、または 82 のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の CDRH1、CDRH2、および CDRH3 は、配列番号 75、76、および 80；75、76、および 81；75、76、および 82；75、77、および 81；75、78、および 81；または 75、79、および 81 にそれぞれ記載される CDRH1、CDRH2、および CDRH3 アミノ酸配列を含む。

30

【0034】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3 は、配列番号 75、76、80、83、84、および 85；75、76、81、83、84、および 85；75、76、82、83、84、および 85；75、77、81、83、84、および 85；75、78、81、83、84、および 85；または 75、79、81、83、84、および 85 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3 は、配列番号 75、76、81、83、84、および 85 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

40

【0035】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 88 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 66～73 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100% 同一である、アミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の重鎖可変領域は、配列番号 66～73 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 74 のアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100% 同一である、アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単

50

離抗体の軽鎖可変領域は、配列番号 74 のアミノ酸配列を含む。

【0036】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域が、配列番号 66 および 74、67 および 74、68 および 74、69 および 74、70 および 74、71 および 74、72 および 74、または 73 および 74 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号 66 および 74 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0037】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ヒトIGHV3-33 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ヒトIGKV3-15 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

10

【0038】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 91 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 92 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 120 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【0039】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2 からなる群から選択される重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、IgG1 重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、IgG1 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、N297A 変異を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 94 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、IgG4 重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、IgG4 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、EU 番号付けシステムに従って番号付けされた、S228P 変異を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 95 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。

20

【0040】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ヒトIgκ および Igλ からなる群から選択される軽鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、Igκ 軽鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 64 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む。

30

【0041】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 66 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 74 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗体と同じヒトPD-1 のエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、配列番号 103 ~ 107 からなる群から選択されるアミノ酸配列からなるヒトPD-1 の領域内に位置するエピトープに結合する。

40

【0042】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ヒトPD-1 に拮抗性である。

【0043】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、およびピジリズマブからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ペムブロリズマブである。

【0044】

ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、イピリムマブおよびトレメリムマブからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、イピリムマブである。

【0045】

50

ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、 0.3 mg/kg または 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、 1 mg/kg 、 3 mg/kg 、または 6 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、 200 mg の用量で投与され、任意に、第2の単離抗体は、ペムブロリズマブである。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、 0.3 mg/kg または 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、 1 mg/kg 、 3 mg/kg 、または 6 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、 0.3 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、 3 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、 6 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約 0.3 mg/kg または 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約 1 mg/kg または 3 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約 0.3 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約 3 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約 6 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、6週間毎に投与される。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、2週間毎または3週間毎に投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、6週間毎に投与され、第2の単離抗体は、2週間毎または3週間毎に投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約6週間毎に投与され、第2の単離抗体は、約2週間毎または約3週間毎に投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、6週間毎に 0.3 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、2週間毎に 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、6週間毎に 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、2週間毎に 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、6週間毎に 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、2週間毎に 3 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、6週間毎に 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、3週間毎に 6 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約6週間毎に約 0.3 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約2週間毎に約 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約6週間毎に約 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約2週間毎に約 1 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約6週間毎に約 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約2週間毎に約 3 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、約6週間毎に約 1 mg/kg で投与され、第2の単離抗体は、約3週間毎に約 6 mg/kg で投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体は、静脈内投与される。ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、静脈内投与される。ある特定の実施形態では、第1の単離抗体および第2の単離抗体の両方が、静脈内投与される。

【0046】

ある特定の実施形態では、対象は、癌を有する。ある特定の実施形態では、対象は、転移性または局所的に進行した固形腫瘍を有する。

【0047】

ある特定の実施形態では、癌は、子宮頸癌である。ある特定の実施形態では、癌は、転移性または局所的に進行した切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌である。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した固形腫瘍は、転移性または局所的に進行した切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌である。ある特定の実施形態では、どの標準治療も癌（例えば、子宮頸癌）または転移性もしくは局所的に進行した固形腫瘍に使用可能でない。ある特定の実施形態では、癌

(例えば、子宮頸癌) または転移性もしくは局所的に進行した固形腫瘍は、標準治療に不応性である。ある特定の実施形態では、癌(例えば、子宮頸癌) または転移性もしくは局所的に進行した固形腫瘍は、標準治療後に再発している。ある特定の実施形態では、標準治療は、白金含有化学療法を含む。ある特定の実施形態では、標準治療は、白金含有ダブレットである。ある特定の実施形態では、癌(例えば、子宮頸癌) は、進行した(再発、切除不能な、もしくは転移性) 疾患の治療のために投与された白金含有ダブレット後に再発した転移性または局所的に進行した、切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌である。ある特定の実施形態では、癌(例えば、子宮頸癌) または転移性もしくは局所的に進行した固形腫瘍は、HPV陽性である。ある特定の実施形態では、癌または転移性もしくは局所的に進行した固形腫瘍は、頭頸部癌、黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、または子宮内膜癌である。ある特定の実施形態では、癌(例えば、子宮頸癌) または転移性もしくは局所的に進行した固形腫瘍は、マイクロサテライト不安定性と関連している。

10

【0048】

ある特定の実施形態では、対象は、子宮頸癌(例えば、転移性または局所的に進行した切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌) を有し、方法は、有効量の、本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物を、子宮頸癌の診断後(例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日; 1、2、3、4、6、8、もしくは12週間; または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内) に第1の癌療法として対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P) またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一例に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、対象は、子宮頸癌(例えば、転移性または局所的に進行した切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌) を有し、方法は、(a) 本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、(b) 本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを、子宮頸癌の診断後(例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日; 1、2、3、4、6、8もしくは12週間; または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内) に対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物、および本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一例に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、対象は、子宮頸癌(例えば、転移性または局所的に進行した切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌) を有し、方法は、(a) 本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、(b) ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを、子宮頸癌の診断後(例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日; 1、2、3、4、6、8、もしくは12週間; または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内) に第1の癌療法として対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一例に示される投与量および頻度で投与され、ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む組成物は、3週間毎に200mgで投与される。

20

30

40

【0049】

ある特定の実施形態では、癌は、PD-L1を発現する。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現(例えば、部分または完全膜発現) を呈する癌の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%(例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%

50

、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも5%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも25%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも50%である。PD-L1の膜発現は、当該技術分野で既知の任意の方法、例えば、免疫組織化学によって検出され得る。腫瘍細胞中のPD-L1膜発現を検出するための例示的な免疫組織化学アッセイは、Hirsch et al. (2017, J. Thoracic Oncol. 12 (2) : 208-222)、Rimm et al. (2017, JAMA Oncol. 3 (8) : 1051-1058)、およびDiggs and Hsueh (2017, Biomarker Res. 5 : 12) に提供されており、これらは参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0050】

ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した腫瘍は、PD-L1を発現する。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した腫瘍の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した腫瘍の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した腫瘍の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも5%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した腫瘍の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも25%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した腫瘍の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも50%である。PD-L1の膜発現は、当該技術分野で既知の任意の方法、例えば、免疫組織化学によって検出され得る。腫瘍細胞中のPD-L1膜発現を検出するための例示的な免疫組織化学アッセイは、Hirsch et al. (2017, J. Thoracic Oncol. 12 (2) : 208-222)、Rimm et al. (2017, JAMA Oncol. 3 (8) : 1051-1058)、およびDiggs and Hsueh (2017, Biomarker Res. 5 : 12) に提供されており、これらは参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

20

30

【0051】

ある特定の実施形態では、癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）である。ある特定の実施形態では、NSCLCは、ステージIV NSCLCである。ある特定の実施形態では、NSCLCは、米国癌合同委員会ステージングマニュアルの第8版に従って組織学的または細胞学的に診断される。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、

40

50

少なくとも5%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも25%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも50%である。ある特定の実施形態では、NSCLCは、EGFRまたはALKゲノム腫瘍異常を有していない。ある特定の実施形態では、NSCLCは、EGFR増感変異（例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ、もしくはアファタニブを含むチロシンキナーゼ阻害剤での治療に耐えられる変異）またはALK転位を有していない。ある特定の実施形態では、対象は、NSCLCに対する以前の全身化学療法治療を受けていない。

10

【0052】

ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した固形腫瘍は、転移性または局所的に進行したNSCLCである。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した固形腫瘍は、転移性NSCLCである。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した固形腫瘍は、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLCである。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した固形腫瘍は、ステージIV NSCLCである。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行したNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行したNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行したNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも5%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行したNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも25%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行したNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも50%である。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行したNSCLCは、EGFRまたはALKゲノム腫瘍異常を有していない。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行したNSCLCは、EGFR増感変異（例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ、もしくはアファタニブを含むチロシンキナーゼ阻害剤での治療に耐えられる変異）またはALK転位を有していない。ある特定の実施形態では、対象は、転移性または局所的に進行したNSCLCに対する以前の全身化学療法治療を受けていない。

20

30

【0053】

ある特定の実施形態では、対象は、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）を有し、任意に、PD-L1の検出可能な発現（例えば、膜発現、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%であり、方法は、有効量の、本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034（IgG4 S228P）、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物を、子宮頸癌の診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に第1の癌療法として対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034（IgG4 S228P）、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一行に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、対象は、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に

40

50

進行したNSCLC)を有し、任意に、PD-L1の検出可能な発現(例えば、膜発現、部分または完全膜発現)を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%であり、方法は、(a)本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884(IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、(b)本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034(IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを、子宮頸癌の診断後(例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日;1、2、3、4、6、8もしくは12週間;または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内)に第1の癌療法として対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884(IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物、および本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034(IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一例に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、対象は、NSCLC(例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC)を有し、任意に、PD-L1の検出可能な発現(例えば、膜発現、部分または完全膜発現)を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%であり、方法は、(a)本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884(IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、(b)ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを、子宮頸癌の診断後(例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日;1、2、3、4、6、8、もしくは12週間;または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内)に第1の癌療法として対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884(IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一例に示される投与量および頻度で投与され、ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物は、3週間毎に200mgで投与される。

【0054】

ある特定の実施形態では、癌は、皮膚扁平上皮細胞癌(cSCC)(例えば、ステージIV cSCC)である。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した固形腫瘍は、ステージIV cSCCである。ある特定の実施形態では、cSCCは、米国癌合同委員会ステージングマニュアルの第8版に従って組織学的または細胞学的に診断される。ある特定の実施形態では、cSCCは、放射線療法で治療可能でない。ある特定の実施形態では、対象は、cSCC(例えば、ステージIV cSCC)を有し、方法は、有効量の、本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034(IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物を、cSCCの診断後(例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日;1、2、3、4、6、8、もしくは12週間;または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内)に第1の癌療法として対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034(IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一例に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、対象は、cSCC(例えば、ステージIV cSCC)を有し、方法は、(a)本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884(IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、(b)本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034(IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを、cSCCの診断後(例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日;1、2、3、4、6、8もしくは12週間;または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内)に対象に投与することを含み

、任意に、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物、および本明細書に記載の抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)、またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一行に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、対象は、cSCC (例えば、ステージIV cSCC) を有し、方法は、(a) 本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、(b) ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを、cSCCの診断後 (例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内) に第1の癌療法として対象に投与することを含み、任意に、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物は、本明細書の表13の一行に示される投与量および頻度で投与され、ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物は、3週間毎に200mgで投与される。

【0055】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体および治療薬の組み合わせのうちのいずれか (例えば、第1および／もしくは第2の単離抗体、または第1の抗体とペムブロリズマブとの組み合わせ) は、転移性または局所的に進行した固形腫瘍の診断後 (例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内) に第1の癌療法として投与され得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体および治療薬の組み合わせのうちのいずれか (例えば、第1および／もしくは第2の単離抗体、または第1の抗体とペムブロリズマブとの組み合わせ) は、異なる癌療法での腫瘍の以前の治療にもかかわらず発生した腫瘍進行の診断後 (例えば、腫瘍進行の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内) に第1の癌療法として投与することができ、任意に、単離抗体または治療薬の組み合わせは、投与される第2の癌療法である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体および治療薬の組み合わせのうちのいずれか (例えば、第1および／もしくは第2の単離抗体、または第1の抗体とペムブロリズマブとの組み合わせ) は、異なる癌療法の毒性の診断後 (例えば、異なる癌療法の毒性の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内) に第1の癌療法として投与することができ、任意に、単離抗体または治療薬の組み合わせは、投与される第2の癌療法である。ある特定の実施形態では、第1および第2の単離抗体は、転移性または局所的に進行した固形腫瘍の診断の約1、2、3、4、5、または6日後に第1の癌療法として投与される。ある特定の実施形態では、第1および第2の単離抗体は、転移性または局所的に進行した固形腫瘍の診断の約1または2週間後に第1の癌療法として投与される。

【0056】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗体と同じヒトCTLA-4のエピトープに結合する。

【0057】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第2の単離抗体は、配列番号66のアミノ酸配列

10

20

30

40

50

を含む重鎖可変領域と、配列番号 74 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗体と同じヒト PD-1 のエピトープに結合する。

【0058】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、第1の単離抗体は、配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗体と同じヒト CTLA-4 のエピトープに結合し、第2の単離抗体は、配列番号66のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号74のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗体と同じヒト PD-1 のエピトープに結合する。

10

【0059】

ある特定の実施形態では、第2の単離抗体は、ヒト PD-1 に拮抗性である。

【0060】

別の態様では、本開示は、対象における免疫応答を強化または誘導する方法を提供し、該方法は、ヒト CTLA-4 に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒト PD-1 に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、

a) 第1の単離抗体は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-20もしくはIGKV3-11生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含み、かつ／または

20

b) 第2の単離抗体は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

【0061】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、ヒト CTLA-4 に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒト PD-1 に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、

a) 第1の単離抗体は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-20もしくはIGKV3-11生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含み、かつ／または

30

b) 第2の単離抗体は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

【0062】

別の態様では、本開示は、対象における感染性疾患を治療する方法を提供し、該方法は、ヒト CTLA-4 に特異的に結合する第1の単離抗体と、ヒト PD-1 に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む、有効量の治療薬の組み合わせを対象に投与することを含み、

a) 第1の単離抗体は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-20もしくはIGKV3-11生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含み、かつ／または

40

b) 第2の単離抗体は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

【0063】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含む薬学的組成物を提供し、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

50

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂ (配列番号39) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはAであり、

X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSYIYYADSVKG (配列番号22) のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI (配列番号115) のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃ (配列番号43) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはGであり、

X₂は、R、S、またはTであり、

X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT (配列番号44) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはAであり、

X₂は、AまたはTであり、

X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T (配列番号45) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはTであり、

X₂は、WまたはFであり、

また第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(g) CDRH1は、SYGMH (配列番号75) のアミノ酸配列を含み、

(h) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (配列番号86) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、YまたはFであり、

X₂は、KまたはEであり、

X₃は、KまたはMであり、

(i) CDRH3は、NX₁DX₂ (配列番号87) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはVであり、

X₂は、HまたはYであり、

(j) CDRL1は、RASQSVSSNLA (配列番号83) のアミノ酸配列を含み、

(k) CDRL2は、GASTRAT (配列番号84) のアミノ酸配列を含み、

(l) CDRL3は、QQYNNWPRT (配列番号85) のアミノ酸配列を含む。

【0064】

薬学的組成物のある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号20、22、24、27、30、および36；20、22、24、29、32、および37；20、22、24、29、33、および38；21、22、24、27、30、および36；21、22、24、29、33、および38；20、22、24、28、31、および36；20、22、24、29、34、および36；20、22、24、29、35、および38；21、22、26、27、30、および36；21、22、26、29、32、および37；21、22、26、29、33、および38；または21、22、26、29、35、および38にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号75、76、80、83、84、および85；75、76、81、83、84、および85；75、76、82、83、84、および85；75、77、81、83、84、および85；75、78、81、83、84、および85；または75、79、81、83、84、

10

20

30

40

50

および 85 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0065】

薬学的組成物のある特定の実施形態では、第1の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号1および14、1および16、1および17、9および14、9および17、10および15、10および17、10および18、10および19、11および15、11および14、11および16、11および17、12および14、12および16、12および17、12および19、13および15、または13および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号66および74、67および74、68および74、69および74、70および74、71および74、72および74、または73および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

10

【0066】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含むキットを提供し、第1の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂（配列番号39）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはAであり、

X₂は、NまたはSであり、

20

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG（配列番号22）のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはGであり、

X₂は、R、S、またはTであり、

X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、

30

X₁は、GまたはAであり、

X₂は、AまたはTであり、

X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T（配列番号45）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはTであり、

X₂は、WまたはFであり、

また第2の単離抗体は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

40

(g) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、

(h) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、YまたはFであり、

X₂は、KまたはEであり、

X₃は、KまたはMであり、

(i) CDRH3は、NX₁DX₂（配列番号87）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはVであり、

X₂は、HまたはYであり、

50

- (j) CDRL1は、RASQSVSSNLA（配列番号83）のアミノ酸配列を含み、
(k) CDRL2は、GASTRAT（配列番号84）のアミノ酸配列を含み、
(l) CDRL3は、QQYNNWPRT（配列番号85）のアミノ酸配列を含む。

【0067】

キットのある特定の実施形態では、第1の単離抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号20、22、24、27、30、および36；20、22、24、29、32、および37；20、22、24、29、33、および38；21、22、24、27、30、および36；21、22、24、29、33、および38；20、22、24、28、31、および36；20、22、24、29、34、および36；20、22、24、29、35、および38；21、22、26、27、30、および36；21、22、26、29、32、および37；21、22、26、29、33、および38；または21、22、26、29、35、および38にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号75、76、80、83、84、および85；75、76、81、83、84、および85；75、76、82、83、84、および85；75、77、81、83、84、および85；75、78、81、83、84、および85；または75、79、81、83、84、および85にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

10

【0068】

キットのある特定の実施形態では、第1の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号1および14、1および16、1および17、9および14、9および17、10および15、10および17、10および18、10および19、11および15、11および14、11および16、11および17、12および14、12および16、12および17、12および19、13および15、または13および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号66および74、67および74、68および74、69および74、70および74、71および74、72および74、または73および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

20

【0069】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含むキットを提供し、第1の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号1および14にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号66および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

30

【0070】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含むキットを提供し、第1の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号1および14にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号67および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

40

【0071】

別の態様では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含むキットを提供し、第1の単離抗体の重鎖および軽鎖は、配列番号51および59または117および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号91および93、92および93、または120および93にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0072】

50

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含むキットを提供し、第1の単離抗体の重鎖および軽鎖は、配列番号51および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号91および93にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0073】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含むキットを提供し、第1の単離抗体の重鎖および軽鎖は、配列番号51および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号92および93にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

10

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の単離抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の単離抗体とを含むキットを提供し、第1の単離抗体の重鎖および軽鎖は、配列番号51および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の単離抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号120および93にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0074】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体を提供し、第1の抗原結合領域は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

20

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂（配列番号39）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、SまたはAであり、

X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG（配列番号22）のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、

30

X₁は、SまたはGであり、

X₂は、R、S、またはTであり、

X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、GまたはAであり、

X₂は、AまたはTであり、

X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T（配列番号45）のアミノ酸配列を含み、式中、

40

X₁は、SまたはTであり、

X₂は、WまたはFであり、

また第2の抗原結合領域は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含み、

(g) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、

(h) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁は、YまたはFであり、

50

X₂ は、K または E であり、

X₃ は、K または M であり、

(i) CDRH3 は、NX₁DX₂ (配列番号 87) のアミノ酸配列を含み、式中、

X₁ は、G または V であり、

X₂ は、H または Y であり、

(j) CDRL1 は、RASQSVSSNLA (配列番号 83) のアミノ酸配列を含み、

(k) CDRL2 は、GASTRAT (配列番号 84) のアミノ酸配列を含み、

(l) CDRL3 は、QQYNNWPRT (配列番号 85) のアミノ酸配列を含む。

【0075】

多重特異性抗体のある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号20、22、24、27、30、および36；20、22、24、29、32、および37；20、22、24、29、33、および38；21、22、24、27、30、および36；21、22、24、29、33、および38；20、22、24、28、31、および36；20、22、24、29、34、および36；20、22、24、29、35、および38；21、22、26、27、30、および36；21、22、26、29、32、および37；21、22、26、29、33、および38；または21、22、26、29、35、および38にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の抗原結合領域のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号75、76、80、83、84、および85；75、76、81、83、84、および85；75、76、82、83、84、および85；75、77、81、83、84、および85；75、78、81、83、84、および85；または75、79、81、83、84、および85にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0076】

多重特異性抗体のある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号1および14、1および16、1および17、9および14、9および17、10および15、10および17、10および18、10および19、11および15、11および14、11および16、11および17、12および14、12および16、12および17、12および19、13および15、または13および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含み、第2の抗原結合領域の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、配列番号66および74、67および74、68および74、69および74、70および74、71および74、72および74、または73および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

別の態様では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する第2の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体を提供し、第1の抗原結合領域は、配列番号1および14にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、第2の抗原結合領域は、配列番号66および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0077】

別の態様では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する第2の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体を提供し、第1の抗原結合領域は、配列番号1および14にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、第2の抗原結合領域は、配列番号67および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0078】

別の態様では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する第2の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体を提供し、第1の抗原結合領域は、配列番号51お

および 59、または 117 および 59 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含み、第 2 の抗原結合領域は、配列番号 91 および 93、92 および 93、または 120 および 93 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

【0079】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体を提供し、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 51 および 59 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含み、第 2 の抗原結合領域は、配列番号 91 および 93 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

【0080】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体を提供し、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 51 および 59 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含み、第 2 の抗原結合領域は、配列番号 92 および 93 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

【0081】

別の態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体を提供し、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 51 および 59 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含み、第 2 の抗原結合領域は、配列番号 120 および 93 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

【0082】

ヒト CTLA-4 に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域と、ヒト PD-1 に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体であって、

a) 第 1 の抗原結合領域は、ヒトIGHV3-21 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-20 もしくはIGKV3-11 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含み、かつ／または

b) 第 2 の抗原結合領域は、ヒトIGHV3-33 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、任意に、ヒトIGKV3-15 生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

【0083】

別の態様では、本開示は、対象における免疫応答を強化または誘導する方法を提供し、該方法は、本明細書に記載の多重特異性抗体を対象に投与することを含む。

【0084】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、本明細書に記載の多重特異性抗体を対象に投与することを含む。

【0085】

別の態様では、本開示は、対象における感染性疾患を治療する方法を提供し、該方法は、本明細書に記載の多重特異性抗体を対象に投与することを含む。

【0086】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する、感染性疾患を治療する、または免疫応答を強化もしくは誘導する際に使用するための、本明細書に記載の治療薬の組み合わせ、多重特異性抗体、キット、および／または薬学的組成物を提供する。

【0087】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する、感染性疾患を治療する、または免疫応答を強化もしくは誘導するための薬品の調製に使用するための、本明細書に記載の治療薬の組み合わせ、多重特異性抗体、キット、および／または薬学的組成物を提供する。

10

20

30

40

50

【0088】

別の態様では、本開示は、対象における癌を治療する、感染性疾患を治療する、または免疫応答を強化もしくは誘導するための薬品の調製における、本明細書に記載の治療薬の組み合わせ、多重特異性抗体、キット、および／または薬学的組成物の使用を提供する。本開示はまた、対象における癌を治療する、感染性疾患を治療する、または免疫応答を強化もしくは誘導するためのキットおよび／または薬学的組成物を調製するための、治療薬の組み合わせまたは多重特異性抗体の使用を提供する。

【0089】

本明細書に記載の方法、薬学的組成物、治療薬の組み合わせ、またはキットのうちのいずれか1つのある特定の実施形態では、第1の抗体の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている。本明細書に記載の方法、薬学的組成物、治療薬の組み合わせ、またはキットのうちのいずれか1つのある特定の実施形態では、第2の抗体の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている。本明細書に記載の方法、薬学的組成物、治療薬の組み合わせ、またはキットのうちのいずれか1つのある特定の実施形態では、第1の抗体の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている、ならびに第2の抗体の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている。

【0090】

本明細書に記載の多重特異性抗体のうちのいずれか1つのある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている。本明細書に記載の多重特異性抗体のうちのいずれか1つのある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている。本明細書に記載の多重特異性抗体のうちのいずれか1つのある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域の重鎖可変領域および／もしくは軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている、ならびに第2の抗原結合領域の重鎖可変領域および／もしくは軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている。

【図面の簡単な説明】

【0091】

【図1】10 μ g/mLの抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG4 S228P) またはアイソタイプ対照抗体 (IgG4 S228P) との組み合わせで、抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG1) またはアイソタイプ対照抗体 (IgG1) の用量滴定の存在下でのStaphylococcal Enterotoxin A (SEA) スーパー抗原によるインキュベーションに続く一次ヒトPBMCのIL-2産生を示すグラフである。異なる2ドナーからのPBMCを使用して生成されたデータを図1Aおよび1Bに示す。

【図2】20 μ g/mLの抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG4 S228P) またはアイソタイプ対照抗体 (IgG4 S228P) との組み合わせで、抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG1) の用量滴定の存在下でのSEAスーパー抗原を用いたインキュベーションに続く一次ヒトPBMCによるIL-2産生を示すグラフである。異なる2ドナーからのPBMCを使用して生成されたデータを図2Aおよび2Bに示す。

【図3】10 μ g/mLの抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG4 S228P) またはアイソタイプ対照抗体 (IgG4 S228P) との組み合わせで、10 μ g/mLの抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG1) またはアイソタイプ対照抗体 (IgG1) の存在下でのSEAスーパー抗原を用いたインキュベーションに続く一次ヒトPBMCによるIL-2産生を示す一連のグラフである。図3の各グラフは、示されるように、異なるドナーからのPBMCを使用して生成されたデータを示す。計算されたp値は、ns = 有意でない、* = $p < 0.05$ 、** = $p < 0.005$ として示す。

【図4】10 μ g/mLの抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG4 S228P) ま

たはアイソタイプ対照抗体 (I g G 4 S 2 2 8 P) との組み合わせで、1 0 μ g / m L の抗 C T L A - 4 抗体 A G E N 1 8 8 4 (I g G 1) またはアイソタイプ対照抗体 (I g G 1) の存在下での S E A スーパー抗原を用いたインキュベーションに続く一次ヒト P B M C による I L - 2 産生を示す一連のグラフである。図 4 の各グラフは、示されるように、異なるドナーからの P B M C を使用して生成されたデータを示す。計算された p 値は、n s = 有意でない、* = p < 0 . 0 5、** = p < 0 . 0 0 5 として示す。

【図 5】非ヒト霊長類における中央記憶 T 細胞活性化および増殖に対する抗 C T L A - 4 抗体 A G E N 1 8 8 4 (I g G 1) と抗 P D - 1 抗体 A G E N 2 0 3 4 (I g G 4 S 2 2 8 P) との組み合わせの効果を示す一連のグラフである。図 5 A は、カニクイザルから単離された一次 P B M C からの T 細胞集団についてのゲーティング戦略および代表的なフローサイトメトリープロットを示す。このゲーティング戦略において、リンパ球は、側方散乱 (S S C - A) 対前方散乱 (F S C - A)、続いてシングレット (F S C - A 対 F S C - H) に基づいてゲートされた。生細胞を選択し (S S C - A 対アミン染料 N e a r I R)、次いで C D 2 0 + B 細胞および C D 3 + T 細胞を選択した。次いで、T 細胞集団を以下のように定義した。C D 4 ナイーブ T 細胞 (C D 3 +、C D 4 +、C D 2 8 +、C D 9 5 -)、C D 8 ナイーブ T 細胞 (C D 3 +、C D 8 +、C D 2 8 +、C D 9 5 -)、C D 4 中央記憶 T 細胞 (C D 3 +、C D 4 +、C D 2 8 +、C D 9 5 +)、C D 8 中央記憶 T 細胞 (C D 3 +、C D 8 +、C D 2 8 +、C D 9 5 +)、C D 4 エフェクター記憶 T 細胞 (C D 3 +、C D 4 +、C D 2 8 -、C D 9 5 +)、および C D 8 エフェクター記憶 T 細胞 (C D 3 +、C D 8 +、C D 2 8 -、C D 9 5 +)。図 5 B および 5 C は、K i 6 7 + (増殖) もしくは I C O S + (活性化) C D 4 + 中央記憶 T 細胞、または K i 6 7 + (増殖) もしくは I C O S + (活性化) C D 8 + 中央記憶 T 細胞それぞれの頻度について、代表的なフローサイトメトリープロットを示す。

【図 6】投与前レベルに対して、A G E N 1 8 8 4 (I g G 1) および A G E N 2 0 3 4 (I g G 4 S 2 2 8 P) での治療の 3 日後のカニクイザル P B M C 中の上昇した中央記憶 T 細胞活性化および増殖を示す一連のグラフである (n = 4 動物、フローサイトメトリープロットが図 5 に示される動物を含む)。以下の T 細胞集団の各々の頻度を、フローサイトメトリーによって決定した。C D 4 + I C O S + 中央記憶 T 細胞 (図 6 A)、C D 4 + K i 6 7 + 中央記憶 T 細胞 (図 6 B)、C D 8 + I C O S + 中央記憶 T 細胞 (図 6 C)、および C D 8 + K i 6 7 + 中央記憶 T 細胞 (図 6 D)。

【図 7】一連の配列アラインメントである。図 7 A は、ヒト C T L A - 4 (配列番号 6 5)、カニクイザル C T L A - 4 (配列番号 1 0 8)、マウス C T L A - 4 (配列番号 1 0 9)、およびラット C T L A - 4 (配列番号 1 1 0) の配列アラインメントである。ドットは、対応するヒト残基と同一の残基を表す。「*」(アスタリスク) は、単一の完全保存残基を有する位置を示す。「:」(コロン) は、強く類似した特性の群間の保存を示す。「.」(ピリオド) は、弱く類似した特性の群間の保存を示す。図 7 B および 7 C は、ヒト C T L A - 4 (それぞれ配列番号 6 5 の残基 1 ~ 1 4 4 および 1 4 5 ~ 2 2 3)、カニクイザル C T L A - 4 (それぞれ配列番号 1 0 8 の残基 1 ~ 1 4 4 および 1 4 5 ~ 2 2 3)、ヒト C D 2 8 (それぞれ配列番号 1 1 1 の残基 1 ~ 1 2 7 および 1 2 8 ~ 2 2 0)、ヒト I C O S (それぞれ配列番号 1 1 2 の残基 1 ~ 1 2 4 および 1 2 5 ~ 1 9 9)、ヒト B T L A (それぞれ配列番号 1 1 3 の残基 1 ~ 1 2 5 および 1 2 6 ~ 2 8 9)、ならびにヒト P D - 1 (それぞれ配列番号 9 6 の残基 1 ~ 1 4 3 および 1 4 4 ~ 2 8 8) の配列アラインメントである。ヒト C T L A - 4 が A G E N 1 8 8 4 - F a b に結合したときに重水素取り込みの強い減少を示す 2 つの領域、配列番号 6 5 に従って番号付けされた、残基 8 0 ~ 8 2 (Q V T、配列番号 1 0 2) および残基 1 3 5 ~ 1 4 9 (Y P P P Y Y L G I G N G T Q I、配列番号 1 0 0) には、図 7 A ~ C において下線が引かれている。

【発明を実施するための形態】

【0 0 9 2】

本開示は、C T L A - 4 (例えば、ヒト C T L A - 4) および／または P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合し、C T L A - 4 および／または P D - 1 機能、例えば

、CTLA-4および／またはPD-1によって媒介される免疫抑制を拮抗させる抗体を提供する。また、これらの抗体を含む薬学的組成物およびキット、これらの抗体をコードする核酸、これらの抗体を作製するための発現ベクターおよび宿主細胞、ならびにこれらの抗体を使用して対象を治療する方法が提供される。本明細書に記載の抗体は、抗原（例えば、腫瘍抗原または感染性疾患抗原）に応答してT細胞活性化を増加させるため、したがって対象における癌を治療する、または対象における感染性疾患を治療もしくは予防するために特に有用である。

【0093】

熟練者であれば、本明細書に記載の抗体（例えば、抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体、または抗CTLA-4／PD-1抗体）のうちのいずれか1つの重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端におけるグルタミン酸塩（E）またはグルタミン（Q）アミノ酸残基が、ある特定の条件下で、遊離アミノ基の翻訳後環化によってピログルタミン酸塩に同時に転換して、ラクタムを形成し得ることを理解するであろう。したがって、本明細書に記載の方法、使用、薬学的組成物、多重特異性抗体、またはキットのうちの各々および全てのある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体、および／または抗CTLA-4／PD-1抗体の1つ以上の重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域のN末端アミノ酸残基は、ピログルタミン酸塩に転換されている（例えば、N末端EまたはQ残基の遊離アミノ基の翻訳後環化の結果として）。

6. 1 定義

【0094】

本明細書で使用される場合、「約」および「およそ」という用語は、数値または数値範囲を修飾するために使用されるとき、5%～10%上回り、かつ5%～10%下回るその値または範囲の偏差が、列挙される値または範囲の意図される意味に留まることを示す。

【0095】

本明細書で使用される場合、「CTLA-4」という用語は、細胞毒性Tリンパ球関連タンパク質4を指す。本明細書で使用される場合、「ヒトCTLA-4」という用語は、野生型ヒトCTLA-4遺伝子、例えば、GenBank（商標）受託番号NM_005214.4またはNM_001037631.2によってコードされたヒトCTLA-4タンパク質を指す。ヒトCTLA-4の例示的な未成熟アミノ酸配列は、配列番号65として提供される。

【0096】

本明細書で使用される場合、「PD-1」という用語は、プログラム細胞死タンパク質1を指す。本明細書で使用される場合、「ヒトPD-1」という用語は、野生型ヒトPD-1遺伝子、例えば、GenBank（商標）受託番号NM_005018.2、XM_006712573.2、またはXM_017004293.1によってコードされたヒトPD-1タンパク質を指す。ヒトPD-1の例示的な未成熟アミノ酸配列は、配列番号96として提供される。

【0097】

本明細書で使用される場合、「抗体」および「抗体（複数）」という用語は、完全長抗体、完全長抗体の抗原結合断片、および抗体CDR、VH領域、またはVL領域を含む分子を含む。抗体の例としては、モノクローナル抗体、組み換え産生された抗体、単一特異性抗体、多重特異性抗体（二重特異性抗体を含む）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、免疫グロブリン、合成抗体、2つの重鎖分子および2つの軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽鎖単量体、抗体重鎖単量体、抗体軽鎖二量体、抗体重鎖二量体、抗体軽鎖-抗体重鎖対、細胞内抗体、ヘテロ共役抗体、単ドメイン抗体、一価抗体、一本鎖抗体または一本鎖Fv（scFv）、ラクダ化抗体、アフィボディ、Fab断片、F(ab')₂断片、ジスルフィド結合Fv（sdFv）、抗イディオタイプ（抗Id）抗体（例えば、抗抗Id抗体を含む）、および上記のうちのいずれかの抗原結合断片が挙げられる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、ポリクローナル抗体集団を指す。抗体は、任意の種類（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、もしくはIgY）、任意のク

10

20

30

40

50

ラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、もしくはI g A 2）、または任意のサブクラス（例えば、I g G 2 aもしくはI g G 2 b）の免疫グロブリン分子のものであり得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、I g G抗体、あるいはそのクラス（例えば、ヒトI g G 1もしくはI g G 4）またはサブクラスである。特定の実施形態では、本抗体は、ヒト化モノクローナル抗体である。別の特定の実施形態では、抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。

【0098】

「多重特異性」抗体は、少なくとも2つの異なる抗原結合部位を有する抗体である。多重特異性抗体は、2つの異なる抗原結合部位を含有する（Fc領域を除いて）二重特異性抗体を含む。多重特異性抗体の例としては、組み換え産生された抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、免疫グロブリン、合成抗体、2つの重鎖分子および2つの軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽鎖単量体、抗体重鎖単量体、抗体軽鎖二量体、抗体重鎖二量体、抗体軽鎖-抗体重鎖対、細胞内抗体、ヘテロ共役抗体、抗体-薬物共役体、単ドメイン抗体、一価抗体、一本鎖抗体または一本鎖Fv（scFv）、ラクダ化抗体、アフィボディ、Fab断片、F（ab'）₂断片、ジスルフィド結合Fv（sdFv）、抗イデオタイプ（抗Id）抗体（例えば、抗抗Id抗体を含む）、および上記のうちのいずれかの抗原結合断片が挙げられる。多重特異性抗体は、任意の種類（例えば、I g G、I g E、I g M、I g D、I g A、もしくはI g Y）、任意のクラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、もしくはI g A 2）、または任意のサブクラス（例えば、I g G 2 aもしくはI g G 2 b）の免疫グロブリン分子のものであり得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の多重特異性抗体は、I g G抗体、あるいはそのクラス（例えば、ヒトI g G 1もしくはI g G 4）またはサブクラスである。

【0099】

本明細書で使用される場合、「抗CTLA-4/PD-1」抗体という用語は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗原結合領域とを含有する多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）を指す。

【0100】

本明細書で使用される場合、「CDR」または「相補性決定領域」という用語は、重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチド両方の可変領域内で見出される非隣接抗原結合部位を意味する。これらの特定の領域は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) およびKabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991)、Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)、ならびにMacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)（その全ては参照によりそれらの全体が組み込まれる）に記載されており、定義は、互いに比較したときに、アミノ酸残基のオーバーラップまたはサブセットを含む。CDRH1、CDRH2、およびCDRH3は、重鎖CDRを表し、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、軽鎖CDRを表す。

【0101】

本明細書で使用される場合、「フレームワーク（FR）アミノ酸残基」という用語は、免疫グロブリン鎖のフレームワーク領域内のアミノ酸を指す。本明細書で使用される場合、「フレームワーク領域」または「FR領域」という用語は、可変領域の一部であるが、CDRの一部ではない（例えば、CDRのKabatまたはMacCallum定義を使用する）アミノ酸残基を含む。

【0102】

本明細書で使用される場合、「可変領域」および「可変ドメイン」という用語は、交換可能に使用され、当該技術分野において共通のものである。可変領域は、典型的には、抗体の一部、一般的には、軽鎖または重鎖の一部、典型的には、抗体間の配列が広範に異なり、かつその特定の抗原に対する特定の抗体の結合および特異性において使用される、成熟

10

20

30

40

50

重鎖のアミノ末端から約110～120アミノ酸または110～125アミノ酸、および成熟軽鎖の約90～115アミノ酸を指す。配列の可変性が相補性決定領域（CDR）と呼ばれる領域において凝縮される一方で、可変領域におけるより高度に保存された領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。いかなる特定の機構または理論に束縛されることを望むものではないが、軽鎖および重鎖のCDRが、抗原に対する抗体の相互作用および特異性に主に関与すると考えられる。ある特定の実施形態では、可変領域は、ヒト可変領域である。ある特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類またはマウスCDRおよびヒトフレームワーク領域（FR）を含む。特定の実施形態では、可変領域は、霊長類（例えば、非ヒト霊長類）可変領域である。ある特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類またはマウスCDRおよび霊長類（例えば、非ヒト霊長類）フレームワーク領域（FR）を含む。

10

【0103】

「VL」および「VLドメイン」という用語は、抗体の軽鎖可変領域を指すために交換可能に使用される。

【0104】

「VH」および「VHドメイン」という用語は、抗体の重鎖可変領域を指すために交換可能に使用される。

【0105】

本明細書で使用される場合、「定常領域」および「定常ドメイン」という用語は、交換可能であり、当該技術分野において共通のものである。この定常領域は、抗体部分、例えば、抗原への抗体の結合に直接関与しないが、Fc受容体との相互作用などの様々なエフェクター機能を呈することができる軽鎖および／または重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は、一般に、免疫グロブリン可変領域に対して、より保存されたアミノ酸配列を有する。

20

【0106】

本明細書で使用される場合、「重鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の別個の種類、例えば、それぞれIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMクラスの抗体（IgGのサブクラス、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4を含む）をもたらず、アルファ（α）、デルタ（δ）、エプシロン（ε）、ガンマ（γ）、およびミュー（μ）を指し得る。

30

【0107】

本明細書で使用される場合、「軽鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の別個の種類、例えば、カッパ（κ）またはラムダ（λ）を指し得る。軽鎖アミノ酸配列は、当該技術分野で周知である。特定の実施形態では、この軽鎖は、ヒト軽鎖である。

【0108】

「Kabat番号付け」という用語および同様の用語は、当該技術分野で認識されており、抗体またはその抗原結合部分の重鎖および軽鎖可変領域におけるアミノ酸残基の番号付けシステムを指す。ある特定の態様では、抗体のCDRは、Kabat番号付けシステムに従って決定され得る（例えば、Kabat EA&Wu TT (1971) Ann NY Acad Sci 190:382-391およびKabat EA et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照。その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。Kabat番号付けシステムを使用して、抗体重鎖分子内のCDRは、典型的には、アミノ酸位置31～35（これらは1つまたは2つの追加のアミノ酸を任意に含み得る）、続いて35（Kabat番号付けスキームにおいて35Aおよび35Bと称される）（CDR1）、アミノ酸位置50～65（CDR2）、およびアミノ酸位置95～102（CDR3）に存在する。Kabat番号付けシステムを使用して、抗体軽鎖分子内

40

50

のCDRは、典型的には、アミノ酸位置24～34（CDR1）、アミノ酸位置50～56（CDR2）、およびアミノ酸位置89～97（CDR3）に存在する。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体のCDRは、Kabat番号付けスキームに従って決定されている。

【0109】

本明細書で使用される場合、「定常領域」または「定常ドメイン」という用語は、交換可能に使用され、当該技術分野においてその共通の意味を有する。この定常領域は、抗体部分、例えば、抗原への抗体の結合に直接関与しないが、Fc受容体との相互作用などの様々なエフェクター機能を呈することができる軽鎖および／または重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は、一般に、免疫グロブリン可変領域に対して、より保存されたアミノ酸配列を有する。

【0110】

本明細書で使用される場合、「重鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の別個の種類、例えば、それぞれIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMクラスの抗体（IgGのサブクラス、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4を含む）をもたらす、アルファ（ α ）、デルタ（ δ ）、エプシロン（ ϵ ）、ガンマ（ γ ）、およびミュー（ μ ）を指し得る。

【0111】

本明細書で使用される場合、「軽鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の別個の種類、例えば、カッパ（ κ ）またはラムダ（ λ ）を指し得る。軽鎖アミノ酸配列は、当該技術分野で周知である。特定の実施形態では、この軽鎖は、ヒト軽鎖である。

【0112】

本明細書で使用される場合、「EU番号付けシステム」という用語は、Edelman, G. M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) および Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U. S. Dept. Health and Human Services, 5th edition, 1991に記載される、抗体の定常領域のEU番号付け規約を指す。

【0113】

「結合親和性」とは、概して、分子の単一の結合部位（例えば、抗体）とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有相互作用の合計強度を指す。別途示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」とは、結合対（例えば、抗体および抗原）のメンバー間の1:1の相互作用を反映する内因性の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数（ K_D ）によって表すことができる。親和性は、平衡解離定数（ K_D ）および平衡会合定数（ K_A ）を含むが、これらに限定されない当該技術分野で既知のいくつかの方法で測定および／または表現することができる。 K_D は、 k_{off}/k_{on} の商から計算されるが、 K_A は、 k_{on}/k_{off} の商から計算される。 k_{on} は、例えば、抗原に対する抗体の会合速度定数を指し、 k_{off} は、例えば、抗原に対する抗体の解離を指す。 k_{on} および k_{off} は、BIAcore（登録商標）またはKinExAなどの当業者に既知の技法によって決定することができる。

【0114】

本明細書で使用される場合、「特異的に結合する」、「特異的に認識する」、「免疫特異的に結合する」、および「免疫特異的に認識する」という用語は、抗体の文脈において類似の用語であり、かかる結合が当業者に理解されるように、抗原（例えば、エピトープまたは免疫複合体）に結合する分子を指す。例えば、抗原に特異的に結合する分子は、例えば、免疫アッセイ、BIAcore（登録商標）、KinExA 3000機器（Sapidyne Instruments, Boise, ID）、または当該技術分野で既知の他のアッセイによって決定される、一般により低い親和性を有する他のペプチドまたはポリペプチドに結合することができる。特定の実施形態では、抗原に特異的に結合する分子

10

20

30

40

50

は、少なくとも2対数、2.5対数、3対数、4対数であるか、またはこの分子が別の抗原に非特異的に結合するときの K_A を超える K_A を有する抗原に結合する。

【0115】

別の実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、同様の結合条件下で他のタンパク質と交差反応しない。特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、および抗CTLA-4／抗PD-1抗体は、他の非CTLA-4タンパク質、非PD-1タンパク質、ならびに非CTLA-4および非PD-1タンパク質とそれぞれ反応しない。特定の実施形態では、別の非関連抗原に結合するよりも高い親和性でCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）および／またはPD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗体が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、例えば、放射免疫アッセイ、表面プラズモン共鳴、または動態排除アッセイによって測定して、別の非関連抗原に結合するよりも20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはそれ以上高い親和性でCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）および／またはPD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗体が本明細書に提供される。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体の、非関連非CTLA-4タンパク質への結合の程度は、例えば、放射免疫アッセイによって測定して、この抗体の、CTLA-4タンパク質への結合の10%、15%、または20%未満である。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗PD-1抗体の、非関連非PD-1タンパク質への結合の程度は、例えば、放射免疫アッセイによって測定して、この抗体の、PD-1タンパク質への結合の10%、15%、または20%未満である。別の特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CTLA-4／PD-1抗体の、非関連非CTLA-4および非PD-1タンパク質への結合の程度は、例えば、放射免疫アッセイによって測定して、この抗体の、CTLA-4および／またはPD-1タンパク質への結合の10%、15%、または20%未満である。

【0116】

本明細書で使用される場合、Fcの文脈における「アフコシル化」または「アフコシル化された」という用語は、EU指標に従って番号付けされた、ヒトIgG1 Fc領域の残基297（Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）、または非IgG1もしくは非ヒトIgG1免疫グロブリン中の対応する残基に直接的または間接的に共有結合されたフコースの実質的欠如を指す。したがって、複数のアフコシル化抗体を含む組成物中、抗体の少なくとも70%は、抗体のFc領域の残基297において直接的または間接的に（例えば、介在糖を介して）フコシル化されず、いくつかの実施形態では、少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%が、Fc領域の残基297において直接的または間接的にフコシル化されない。

【0117】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」とは、当該技術分野における用語であり、抗体が特異的に結合することができる抗原の局在化領域を指す。エピトープは、例えば、ポリペプチドの隣接アミノ酸（線形もしくは隣接エピトープ）であり得るか、またはエピトープは、例えば、1つのポリペプチドもしくは複数のポリペプチドの2つ以上の非隣接領域由来（立体構造、非線形、非連続、もしくは非隣接エピトープ）であり得る。ある特定の実施形態では、抗体が結合するエピトープは、例えば、NMR分光法、X線回折結晶学研究、ELISAアッセイ、質量分析を伴う水素／重水素交換（例えば、液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析）、アレイベースのオリゴペプチド走査アッセイ、および／または変異誘発マッピング（例えば、部位特異的変異誘発マッピング）によって決定することができる。X線結晶学の場合、結晶化は、当該技術分野で既知の方法のうちのいずれかを使用して達成され得る（例えば、Giege R et al., (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50 (

Pt 4): 339-350、McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23、Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274、McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303)。抗体：抗原結晶は、周知のX線回折技法を使用して研究することができ、X-PLOR (Yale University, 1992、販売元Molecular Simulations, Inc.、例えば、Meth Enzymol (1985) volumes 114&115, eds Wyckoff HW et al.,、US2004/0014194を参照)、およびBUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49 (Pt 1): 37-60、Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter CW、Roversi P et al., (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56 (Pt 10): 1316-1323)などのコンピュータソフトウェアを使用して精密化することができる。変異誘発マッピング研究は、当業者に既知の任意の方法を使用して達成することができる。例えば、アラニン走査変異誘発技法を含む、変異誘発技法の説明については、Champe M et al., (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394およびCunningham BC&Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085を参照されたい。特定の実施形態では、抗体のエピトープは、アラニン走査変異誘発研究を使用して決定される。

10

20

【0118】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療すること」、および「治療」という用語は、本明細書に記載の治療的または予防的措置を指す。「治療」という方法は、疾患もしくは障害または再発疾患もしくは障害の予防、治療、遅延、重症度の低減、または1つ以上の症状の軽減のために、あるいはかかる治療の不在下で予想されるものを超えて、対象の生存を延長するために、疾患もしくは障害を有する、またはかかる疾患もしくは障害を有する素因がある対象への抗体の投与を用いる。

【0119】

本明細書で使用される場合、「治療薬の組み合わせ」という用語は、対象に投与される第1の療法と第2の療法との組み合わせを指す。第1の療法および第2の療法は、同時に（同じ薬学的組成物中もしくは別個の薬学的組成物中で）または任意の順序で順次に投与され得る。

30

【0120】

本明細書で使用される場合、「有効量」という用語は、対象への療法の投与の文脈において、所望の予防または治療効果を達成する療法の量を指す。第1の療法および第2の療法の、有効量の治療薬の組み合わせは、第1の量の第1の療法と、第2の量の第2の療法とを含み、治療薬の組み合わせの投与は、所望の予防的または治療的效果を達成する。

【0121】

療法に対する癌の応答に関して本明細書で使用される場合、「不応性」および「耐性」という用語は、それらの当該技術分野で認識される意味を有し、交換可能に使用される。

40

【0122】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。

【0123】

本明細書で使用される場合、「宿主細胞」という用語は、任意の種類の細胞、例えば、一次細胞、培養細胞、または細胞株由来の細胞であり得る。特定の実施形態では、「宿主細胞」という用語は、核酸分子でトランスフェクトされた細胞およびかかる細胞の子孫または潜在的子孫を指す。かかる細胞の子孫は、例えば、核酸分子の生成またはその宿主細胞のゲノムへの組み込みが成功したときに生じ得る変異または環境の影響により、核酸分子でトランスフェクトされた親細胞と必ずしも同一とは限らない。

【0124】

50

2つの配列（例えば、アミノ酸配列または核酸配列）間の「パーセント同一性」の決定はまた、数学アルゴリズムを用いて達成され得る。2つの配列の比較に利用される数学アルゴリズムの特定の非限定例は、Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90:5873-5877にあるように修正されたKarlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87:2264-2268のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、Altschul SF et al., (1990) J Mol Biol 215:403のNBLASTプログラムおよびXBLASTプログラムに組み込まれる。BLASTヌクレオチド検索は、本明細書に記載の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得るために、例えば、スコア=100、文字長=12のNBLASTヌクレオチドプログラムパラメータセットで行うことができる。BLASTタンパク質検索は、本明細書に記載のタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得るために、例えば、スコア=50、文字長=3のXBLASTプログラムパラメータセットで行うことができる。比較目的のためにギャップありの(gapped)アラインメントを得るには、Gapped BLASTを、Altschul SF et al., (1997) Nuc Acids Res 25:3389-3402に記載されるように利用することができる。あるいは、PSI BLASTを使用して、分子間の距離関係(Id.)を検出する反復サーチを行うことができる。BLAST、Gapped BLAST、およびPSI Blastプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムの（例えば、XBLASTおよびNBLASTの）デフォルトパラメータを使用することができる（例えば、ワールドワイドウェブncbi.nlm.nih.govにあるNational Center for Biotechnology Information (NCBI)を参照）。配列比較のために利用される数学的アルゴリズムの別の特定の非限定例は、Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、GCG配列アライメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを利用する場合、PAM120重量残基表、12のギャップ長ペナルティ、および4のギャップペナルティを使用することができる。2つの配列間のパーセント同一性は、ギャップを許容して、または許容することなく、上述のものと同様の技法を使用して決定することができる。パーセント同一性の計算では、典型的には、正確な一致のみを計数する。

【0125】

本明細書で使用される場合、「内在化」または「内在化した」という用語は、細胞の表面で発現された抗原への抗体の結合時の、細胞の細胞内区画への抗体の取り込みを指す。

6.2 抗体

6.2.1 抗CTLA-4抗体

【0126】

一態様では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合し、CTLA-4機能を拮抗させる抗体を提供する。また、ヒトCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、任意に、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合しない第2の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体が本明細書に提供される。例示的な抗体のアミノ酸配列は、本明細書の表1～5に記載されている。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1. 例示的な抗CTLA-4抗体のアミノ酸配列*

配列番号	説明	アミノ酸配列
1	AGEN1884 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMVTVSS
9	BADD412-2356 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTTFSSYAMSWVRQAPG KGLVWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMVTVSS
10	BADD412-2357 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNAKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMVTVSS
11	BADD412-2358 VH	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMVTVSS
12	BADD412-2359 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTTFSSYAMSWVRQAPG KGLVWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF NIWGQGTMVTVSS

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
13	BADD412-2360 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLTSL CAASGFTTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMTVTVSS
14	AGEN1884 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATL SCRASQSVSRYLGWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTITRLEPEDFA VYYCQQYGSSPWTFGQGTKVE IK
15	BADD412-2367 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVGTYLAWYQHKVGQ APRLLIYGASRRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQYGSSPWTFGQGTKVE IK
16	BADD412-2382 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APSLLIYATSSSRATGIPDRFS GSVSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQYGTSPPWTFGQGTKVE IK
17	BADD412-2384 VL	EIVLTQSPATLSFSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTFTISRLEPEDFA VYYCQQYGSSPFTFGPGTKVD IK

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
18	BADD412-2390 VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYAASSTRATGIPDRFS GSASGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQYGSSPWTFGQGKVE IK
19	BADD412-2393 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQYGSSPFTFGPGTKVD IK
20	CDRH1	SYSMN
21	CDRH1	SYAMS
22	CDRH2	SISSSSSYIYYADSVKG
24	CDRH3	VGLMGPFDI
26	CDRH3	VGLMGPFNI
27	CDRL1	RASQSVSRYLG
28	CDRL1	RASQSVGTYLA
29	CDRL1	RASQSVSSYLA
30	CDRL2	GASTRAT
31	CDRL2	GASRRAT
32	CDRL2	ATSSRAT
33	CDRL2	GASSRAT
34	CDRL2	AASTRAT
35	CDRL2	GASNRAT
36	CDRL3	QQYGSSPWT
37	CDRL3	QQYGTSPWT
38	CDRL3	QQYGSSPFT
39	CDRH1 コンセンサス配列	SYX ₁ MX ₂ 、式中、 X ₁ は、SまたはAであり、 X ₂ は、NまたはSである

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
115	CDRH3 コンセンサス配列1	VGLMGPFXI、式中、 Xは、DまたはNである
43	CDRL1 コンセンサス配列	RASQSVX ₁ X ₂ YLX ₃ 、式中、 X ₁ は、SまたはGであり、 X ₂ は、R、S、またはTであり、 X ₃ は、GまたはAである
44	CDRL2 コンセンサス配列	X ₁ X ₂ SX ₃ RAT、式中、 X ₁ は、GまたはAであり、 X ₂ は、AまたはTであり、 X ₃ は、T、S、R、またはNである
45	CDRL3 コンセンサス配列	QQYGX ₁ SPX ₂ T、式中、 X ₁ は、SまたはTであり、 X ₂ は、WまたはFである
116	VH コンセンサス配列	EVQLX ₁ ESGGGLVX ₂ PGGSLX ₃ LSCAASGFTFSSYX ₄ MX ₅ WVRQ APGKGLX ₆ WVSSISSSSSYIY YADSVKGRFTISRDNKX ₇ L YLQMNSLR AEDTAVYYCARVG LMGPFIX ₈ IWGQGTMTVTVSS、式 中、 X ₁ は、VまたはLであり、 X ₂ は、KまたはQであり、 X ₃ は、RまたはTであり、 X ₄ は、SまたはAであり、 X ₅ は、NまたはSであり、 X ₆ は、EまたはVであり、 X ₇ は、SまたはTであり、 X ₈ は、DまたはNである

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
47	VL コンセンサス配列	EIVLTQSPX₁TL SX₂SPGERAT LSCRASQSVX₃X₄YLX₅WYQX₆ KX₇GQAPX₈LLIYX₉X₁₀SX₁₁RA TGIPX₁₂RFSGSX₁₃SGTDFTX₁₄ TIX₁₅X₁₆LEPEDFAVYYCQQY GX₁₇SPX₁₈TFGX₁₉GTKVX₂₀I K、式中、 X₁は、GまたはAであり、 X₂は、L、V、またはFであり、 X₃は、SまたはGであり、 X₄は、R、T、またはSであり、 X₅は、GまたはAであり、 X₆は、QまたはHであり、 X₇は、PまたはVであり、 X₈は、RまたはSであり、 X₉は、GまたはAであり、 X₁₀は、AまたはTであり、 X₁₁は、T、R、S、またはNであり、 X₁₂は、DまたはAであり、 X₁₃は、G、V、またはAであり、 X₁₄は、LまたはFであり、 X₁₅は、TまたはSであり、 X₁₆は、RまたはSであり、 X₁₇は、SまたはTであり、 X₁₈は、WまたはFであり、 X₁₉は、QまたはPであり、 X₂₀は、EまたはDである
48	生殖系列配列：IGHV3 -21*01	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
49	生殖系列配列: IGKV3-20*01	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYGSSP
50	生殖系列配列: IGKV3-11*01	EIVLTQSPATLSSLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQRSNWPP
51	AGEN1884 (IgG1) 重鎖	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLEGGPSVFLFPPKPKDTE MISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
52	AGEN1884 (IgG1 S239D/I332E) 重鎖	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPDVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPEEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
53	AGEN1884 (IgG1 S239D/A330L/I332E) 重鎖	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPDVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPLPEEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
54	AGEN1884 (IgG 1 L235V/F243 L/R292P/Y300 L/P396L) 重鎖	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELVGGPSVFLLPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPPE EQYNSTLRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPLV DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
117	AGEN2041 (IgG 2) 重鎖	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVGLMGPF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNT KVDKTVERKCCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSVELTVVHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPAPIEKTISK KGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESGGQPENNYKTTTPMLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG
59	AGEN1884 軽鎖	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATL SCRASQSVSRYLGWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTITRLEPEDFA VYYCQQYGSSPWTFGQGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSSTLTLSKADYEKH KVVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
60	I g G 1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
61	I g G 1 S 2 3 9 D / I 3 3 2 E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPDVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
62	I g G1 S 2 3 9 D / A 3 3 0 L / I 3 3 2 E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPDVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPLPEEKTIISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
63	I g G1 L 2 3 5 V / F 2 4 3 L / R 2 9 2 P / Y 3 0 0 L / P 3 9 6 L	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELVGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPPEEQYNSTLRVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPLVLDSGDSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
118	I g G 2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKTVERKCCVE CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVVS VLT VVH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTI SKTKGQPREPQVYTL P PSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPMLDS DGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
64	軽鎖定常領域	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

* CDRは、K a b a t 番号付けシステムに従って定義される。

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2. 例示的な抗CTLA-4抗体の重鎖CDRアミノ酸配列*

VH (配列番号)	CDRH 1 (配列番号)	CDRH 2 (配列番号)	CDRH 3 (配列番号)
AGEN1884 VH(1)	SYSMN(20)	SISSSSSYIYYADSVKG(22)	VGLMGPFDI(24)
BADD412-2356 VH(9)	SYAMS(21)	SISSSSSYIYYADSVKG(22)	VGLMGPFDI(24)
BADD412-2357 VH(10)	SYSMN(20)	SISSSSSYIYYADSVKG(22)	VGLMGPFDI(24)
BADD412-2358 VH(11)	SYSMN(20)	SISSSSSYIYYADSVKG(22)	VGLMGPFDI(24)
BADD412-2359 VH(12)	SYAMS(21)	SISSSSSYIYYADSVKG(22)	VGLMGPFNI(26)
BADD412-2360 VH(13)	SYSMN(20)	SISSSSSYIYYADSVKG(22)	VGLMGPFDI(24)

* K a b a t 番号付けシステムに従って定義される。

【表 3】

表 3. 例示的な抗CTLA-4抗体の軽鎖CDRアミノ酸配列*

VL (配列番号)	CDRL 1 (配列番号)	CDRL 2 (配列番号)	CDRL 3 (配列番号)
AGEN1884 VL(14)	RASQSVSRYL(27)	GASTRAT(30)	QQYGSSPWT(36)
BADD412-2367 VL(15)	RASQSVGYLA(28)	GASRRAT(31)	QQYGSSPWT(36)
BADD412-2382 VL(16)	RASQSVSSYLA(29)	ATSSRAT(32)	QQYGTSPWT(37)
BADD412-2384 VL(17)	RASQSVSSYLA(29)	GASSRAT(33)	QQYGSSPFT(38)
BADD412-2390 VL(18)	RASQSVSSYLA(29)	AASTRAT(34)	QQYGSSPWT(36)
BADD412-2393 VL(19)	RASQSVSSYLA(29)	GASNRAT(35)	QQYGSSPFT(38)

* K a b a t 番号付けシステムに従って定義される。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4. 例示的な抗CTLA-4抗体

抗体	重鎖可変領域	配列番号	軽鎖可変領域	配列番号
AGEN1884	AGEN1884 VH	1	AGEN1884 VL	14
AGEN1885	AGEN1884 VH	1	BADD412-2382 VL	16
AGEN1886	AGEN1884 VH	1	BADD412-2384 VL	17
AGEN1887	BADD412-2356 VH	9	AGEN1884 VL	14
AGEN1888	BADD412-2356 VH	9	BADD412-2384 VL	17
AGEN1889	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2367 VL	15
AGEN1890	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2384 VL	17
AGEN1891	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2390 VL	18
AGEN1892	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2393 VL	19
AGEN1893	BADD412-2358 VH	11	BADD412-2367 VL	15
AGEN1894	BADD412-2358 VH	11	AGEN1884 VL	14
AGEN1895	BADD412-2358 VH	11	BADD412-2382 VL	16
AGEN1896	BADD412-2358 VH	11	BADD412-2384 VL	17
AGEN1897	BADD412-2359 VH	12	AGEN1884 VL	14
AGEN1898	BADD412-2359 VH	12	BADD412-2382 VL	16
AGEN1899	BADD412-2359 VH	12	BADD412-2384 VL	17
AGEN1900	BADD412-2359 VH	12	BADD412-2393 VL	19
AGEN1901	BADD412-2360 VH	13	BADD412-2367 VL	15
AGEN1902	BADD412-2360 VH	13	BADD412-2384 VL	17

【表 5】

表 5. CTLA-4 の例示的な配列

配列番号	説明*	アミノ酸配列
65	ヒト CTLA-4 未成熟タンパク質 (P16410)	MACLGFRHKAQLNLATRTWPCTLLFFLLFIPVFCKAMHVAQPAVV LASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMG NELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPP YYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILAAVSSGLFFYSFLLTAV SLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPEPECEKQFQPYFIPIN
97	CTLA-4 エピトープ	YLGI
98	CTLA-4 エピトープ	YPPPYLGI
99	CTLA-4 エピトープ	YLGIGNGTQI
100	CTLA-4 エピトープ	YPPPYLIGIGNGTQI
101	CTLA-4 エピトープ	MYPPPY
102	CTLA-4 エピトープ	QVT
108	MACFA CTLA-4 (G7PL88)	MACLGFRHKAQLNLATRTRPYTLFSLFIPVFCKAMHVAQPAVV LANSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMG NELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPP YYMGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILAAVSSGLFFYSFLLTAV SLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPEPECEKQFQPYFIPIN
109	マウス CTLA-4 (P09793)	MACLGLRRYKAQLQLPSRTWPFVALLTLFIPVFSEAIQVTQPSV LASSHGVSFPCEYSPSHNTDEVVRVTVLRQTNDQVTEVCATTFTTEK NTVGFLDYFPCSGTFNESRVNLTIQGLRAVDGTGLYLCKVELMYPPP YFVGMGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILAVSLGLFFYSFLVSAV SLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPEPECEKQFQPYFIPIN
110	ラット CTLA-4 (Q62859)	MACLGLQRYKTHLQLPSRTWPFVLLSLLFIPVFSEAIQVTQPSV LASSHGVSFPCEYASSHNTDEVVRVTVLRQTNDQVTEVCATTFTVK NTLGFLDDPFCSGTFNESRVNLTIQGLRAADTGLYFCKVELMYPPP YFVGMGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILAAVSSGLFFYSFLVTA SLNRTLKKRSPLTTGVYVKMPPEPECEKQFQPYFIPIN
111	ヒト CD28 (P10747)	MLRLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNL FSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDGKLG ESVTFYLNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGK HLCPSPLFPGSPKPFVWLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRS RLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

10

20

30

40

50

配列番号	説明＊	アミノ酸配列
112	ヒト ICOS (Q9Y6W8)	MKSGLWYFFLFCLRIKVLTEINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPD IVQQFKMQLLKGGQILCDLTKTKGSGNTVSIKSLKFCHSGLSNNSV SFFLYNLDSHANYFYCNLSIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQ LKFWLPIGCAAFVVCILGCILICWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMR AVNTAKKSRLTDVTL
113	ヒト BTLA (Q7Z6A9)	MKTLPAMLGTGKLFVWFFLIPYLDIWNHKGESCDVQLYIKRQSEH SILAGDPFELECPVKYCANRPHVTWCKLNGTTCVKLEDRQTSWKKEE KNISFFILHFEPVLPNDNGSYRCSANFQSNLIESHSTTLVYTDVKS ASERPSKDEMASRPWLLYRLLPLGGLPLLITTCFLFCCLRRHQGK QNELSDTAGREINLVDAHLKSEQTEASTRQNSQVLLSETGIYDNDP DLCFRMQEGSEVYSNPCLEENKPGIVYASLNHSVIGPNSRLARNVK EAPTEYASICVRS

10

20

【0127】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に記載されるVHドメインのCDRのうちの1つ、2つ、または3つ全てを含むVHドメインを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、本明細書の表1に記載されるVHドメインのうちの1つのCDRH1を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、本明細書の表1に記載されるVHドメインのうちの1つのCDRH2を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、本明細書の表1に記載されるVHドメインのうちの1つのCDRH3を含む。

【0128】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に記載されるVLドメインのCDRのうちの1つ、2つ、または3つ全てを含むVLドメインを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、本明細書の表1に記載されるVLドメインのCDRL1を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、本明細書の表1に記載されるVLドメインのCDRL2を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、本明細書の表1に記載されるVLドメインのCDRL3を含む。

30

【0129】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) および Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest (1991) に従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

40

【0130】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、免疫グロブリン構造ループの位置を指す Chothia 番号付けスキームに従って決定することができる（例えば、Chothia C&Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196:901-917、Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273:927-948、Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227:799-817、Tramontano A et al., (1990) J Mo

50

l Biol 215 (1) : 175-82、および米国特許第7,709,226号を参照。その全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)。典型的には、Kabat番号付け規約を使用する場合、Chothia CDRH1ループは、重鎖アミノ酸26~32、33、または34に存在し、Chothia CDRH2ループは、重鎖アミノ酸52~56に存在し、Chothia CDRH3ループは、重鎖アミノ酸95~102に存在するが、Chothia CDRL1ループは、軽鎖アミノ酸24~34に存在し、Chothia CDRL2ループは、軽鎖アミノ酸50~56に存在し、Chothia CDRL3ループは、軽鎖アミノ酸89~97に存在する。Chothia CDRH1ループの末端は、Kabat番号付け規約を使用して番号付けされる場合、ループの長さに応じてH32とH34との間で異なる(これは、Kabat番号付けスキームがH35AおよびH35Bに挿入を置くためであり、35Aも35Bも存在しない場合、ループは32で終わり、35Aのみが存在する場合、ループは33で終わり、35Aおよび35Bの両方が存在する場合、ループは34で終わる)。

10

【0131】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に開示されるVHのChothia VH CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に開示されるVLのChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に開示される抗体のChothia VH CDRおよびChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合する抗体は、1つ以上のCDRを含み、ChothiaおよびKabat CDRは、同じアミノ酸配列を有する。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合し、Kabat CDRとChothia CDRとの組み合わせを含む単離抗体を提供する。

20

【0132】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7:132-136およびLefranc M-P et al., (1999) Nucleic Acids Res 27:209-212に記載される、IMGT番号付けシステムに従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合し、IMGT番号付けシステムによって決定される、例えば、上記Lefranc M-P (1999)および上記Lefranc M-P et al., (1999)に記載される、本明細書の表1に開示される抗体のCDRを含む抗体を提供する。

30

【0133】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に開示されるVHのIMGT VH CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に開示されるVLのIMGT VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表1に開示される抗体のIMGT VH CDRおよびIMGT VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4(例えば、ヒトCTLA-4)に特異的に結合し、Kabat CDRとIMGT CDRとの組み合わせを含む単離抗体を提供する。

40

【0134】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Kabat CDRとChothia構造ループとの間の妥協を表し、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Oxford

50

MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェア (Oxford Molecular Group, Inc.) によって使用されているAbM超可変領域を指す、AbM番号付けスキームに従って決定され得る。特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合し、AbM番号付けスキームによって決定される、本明細書の表1に開示される抗体のCDRを含む抗体を提供する。

【0135】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、MacCallum RM et al., (1996) J Mol Biol 262:732-745に従って決定され得、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。また例えば、Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)を参照されたい (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合し、MacCallum番号付けスキームによって決定される、本明細書の表1に開示される抗体のCDRを含む抗体を提供する。

【0136】

したがって、ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、配列番号1、9、10、11、12、または13に記載される重鎖可変領域のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号14、15、16、17、18、または19に記載される軽鎖可変領域のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含み、各CDRは、Kabat定義、Chothia定義、Kabat定義とChothia定義との組み合わせ、IMGT番号付けシステム、AbM定義、またはCDRの接触定義に従って定義される。

【0137】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂ (配列番号39) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SもしくはAであり、X₂は、NもしくはSであり、かつ/または

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG (配列番号22) のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DもしくはEであり、かつ/または

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI (配列番号115) のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DもしくはNであり、かつ/または

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃ (配列番号43) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SもしくはGであり、X₂は、R、S、もしくはTであり、X₃は、GもしくはAであり、かつ/または

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT (配列番号44) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、GもしくはAであり、X₂は、AもしくはTであり、X₃は、T、S、R、もしくはNであり、かつ/または

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T (配列番号45) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SもしくはTであり、X₂は、WもしくはFである。

【0138】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂ (配列番号39) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SまたはAであり、X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG (配列番号22) のアミノ酸配列を含み、

10

20

30

40

50

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SまたはGであり、X₂は、R、S、またはTであり、X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、GまたはAであり、X₂は、AまたはTであり、X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T（配列番号45）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SまたはTであり、X₂は、WまたはFである。

10

【0139】

ある特定の実施形態では、CDRH1は、配列番号20および21からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRH3は、配列番号24および26からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRL1は、配列番号27、28、および29からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRL2は、配列番号30～35からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRL3は、配列番号36、37、および38からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3は、表2の抗体のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3アミノ酸配列をそれぞれ含む。ある特定の実施形態では、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、表3の抗体のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

20

【0140】

ある特定の実施形態では、本開示は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域を含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供し、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3は、配列番号20、22、および24；20、22、および21、22、および24；または21、22、および26に記載されるCDRH1、CDRH2、およびCDRH3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0141】

ある特定の実施形態では、本開示は、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域を含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供し、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号27、30、および36；28、31、および36；29、32、および37；29、33、および38；29、34、および36；または29、35、および38に記載されるCDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

30

【0142】

ある特定の実施形態では、本開示は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含むCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供し、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号20、22、24、27、30、および36；20、22、24、29、32、および37；20、22、24、29、33、および38；21、22、24、27、30、および36；21、22、24、29、33、および38；20、22、24、28、31、および36；20、22、24、29、34、および36；20、22、24、29、35、および38；21、22、26、27、30、および36；21、22、26、29、32、および37；21、22、26、29、33、および38；または21、22、26、29、35、および38にそれぞれ記載されるCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

40

50

【0143】

ある特定の実施形態では、抗体は、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域を含む重鎖可変領域と、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域を含む軽鎖可変領域とを含み、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域は、配列番号20、22、24、27、30、および36にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0144】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号116のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供する。

10

【0145】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号1、9、10、11、12、または13からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号1、9、10、11、12、または13からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号1に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号9に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号10に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号11に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号12に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号13に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。

20

【0146】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号47のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供する。

【0147】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号14～19からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号14～19からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号14に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号15に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号16に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号17に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号18に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号19に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

30

40

【0148】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号1、9、10、11、12、または13に記載されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号14、15、16、17、18、または19に記載されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくと

50

も 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%) 同一である軽鎖可変領域とを含む、CTLA-4 (例えば、ヒト CTLA-4) に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 1、9、10、11、12、または 13 に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 14、15、16、17、18、または 19 に記載される軽鎖可変領域とを含む、CTLA-4 (例えば、ヒト CTLA-4) に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 1 および 14、1 および 16、1 および 17、9 および 14、9 および 17、10 および 15、10 および 17、10 および 18、10 および 19、11 および 15、11 および 14、11 および 16、11 および 17、12 および 14、12 および 16、12 および 17、12 および 19、13 および 15、または 13 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 1 および 14 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 1 および 16 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 1 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 9 および 14 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 9 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 10 および 15 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 10 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 10 および 18 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 10 および 19 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 11 および 15 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 11 および 14 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 11 および 16 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 11 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 12 および 14 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 12 および 16 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 12 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 12 および 19 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 13 および 15 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 13 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0149】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGHV3-21 生殖系列配列 (例えば、IGHV3-21*01、例えば、配列番号 48 のアミノ酸配列を有する) に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む、CTLA-4 (例えば、ヒト CTLA-4) に特異的に結合する単離抗体を提供する。フレームワーク 1、フレームワーク 2、フレームワーク 3、CDRH1、および CDRH2 から選択される 1 つ以上の領域 (例えば、これらの領域のうちの 2 つ、3 つ、4 つ、または 5 つ) は、ヒトIGHV3-21 生殖系列配列に

10

20

30

40

50

由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来する。

【0150】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGKV3-20生殖系列配列（例えば、IGKV3-20*01、例えば、配列番号49のアミノ酸配列を有する）またはヒトIGKV3-11生殖系列配列（例えば、IGKV3-11*01、例えば、配列番号50のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供する。フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、IGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来する。

10

【0151】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列（例えば、IGHV3-21*01、例えば、配列番号48のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、ヒトIGKV3-20生殖系列配列（例えば、IGKV3-20*01、例えば、配列番号49のアミノ酸配列を有する）またはヒトIGKV3-11生殖系列配列（例えば、IGKV3-11*01、例えば、配列番号50のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供する。重鎖可変領域のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来する。軽鎖可変領域のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、ヒトIGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来する。

20

30

【0152】

ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号51～54および117からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号51に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号52に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号53に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号54に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号117に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。

【0153】

ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号59のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

40

【0154】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号51～54および117からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号59のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号51および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号52および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号53および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号54および59

50

にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 117 および 59 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。

【0155】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に結合するために、配列番号 1 および 14、1 および 16、1 および 17、9 および 14、9 および 17、10 および 15、10 および 17、10 および 18、10 および 19、11 および 15、11 および 14、11 および 16、11 および 17、12 および 14、12 および 16、12 および 17、12 および 19、13 および 15、または 13 および 17 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に結合するために、配列番号 1 および 14 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する単離抗体を提供する。

10

【0156】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 1 および 14、1 および 16、1 および 17、9 および 14、9 および 17、10 および 15、10 および 17、10 および 18、10 および 19、11 および 15、11 および 14、11 および 16、11 および 17、12 および 14、12 および 16、12 および 17、12 および 19、13 および 15、または 13 および 17 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）上のエピトープに結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 1 および 14 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）上のエピトープに結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 100 のアミノ酸配列からなるヒトCTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 99 のアミノ酸配列からなるヒトCTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 98 のアミノ酸配列からなるヒトCTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 97 のアミノ酸配列からなるヒトCTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 101 のアミノ酸配列からなるヒトCTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 102 のアミノ酸配列からなるヒトCTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。

20

30

【0157】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4 に特異的に結合し、アンタゴニストとして機能する単離抗体を提供する。

【0158】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4 に特異的に結合し、本明細書に記載のおよび／または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4 に特異的に結合しない抗体）を用いたCTLA-4 活性に対して、CTLA-4 活性を少なくとも 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、98 %、または 99 % 減少させる単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4 に特異的に結合し、本明細書に記載のおよび／または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4 に特異的に結合しない抗体）を用いたCTLA-4 活性に対して、CTLA-4 活性を少なくとも約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍、または 100 倍減少させる単離抗体を提供する。CTLA-4 活性の非限定例と

40

50

しては、CTLA-4シグナル伝達、CTLA-4リガンド（例えば、CD80またはCD86）へのCTLA-4結合、サイトカイン産生（例えば、IL-2またはIFN γ ）の阻害、およびT細胞増殖の阻害を挙げることができる。ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、CTLA-4活性を不活性化、低減、または阻害する単離抗体を提供する。特定の実施形態では、CTLA-4活性の減少は、下記の実施例に記載されるように査定される。

【0159】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（例えば、CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合に対して、そのリガンド（例えば、CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%減少させる単離抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（例えば、CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合に対して、そのリガンド（例えば、CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍減少させる単離抗体を提供する。

【0160】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体）を用いたサイトカイン産生に対して、サイトカイン産生（例えば、IL-2もしくはIFN γ ）を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加させる単離抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体）を用いたサイトカイン産生に対して、サイトカイン産生（例えば、IL-2もしくはIFN γ ）を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

【0161】

特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合し、単独でまたは抗CTLA-4抗体（例えば、イピリムマブもしくはトレメリムマブ）、抗TIGIT抗体、抗CD137抗体（例えば、ウレルマブもしくはウトミルマブ）、または抗OX40抗体（例えば、ポガリズマブもしくはタボリキシズマブ）との組み合わせのいずれかで、Staphylococcus Enterotoxin A (SEA) 刺激に应答して、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体）を用いたIL-2産生に対して、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）中のIL-2産生を、少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、ま

たは100倍増加させる単離抗体を提供する。

【0162】

ある特定の実施形態では、ヒトCTLA-4に特異的に結合する本明細書に記載の抗体の存在下、Staphylococcus Enterotoxin A (SEA)で刺激されたヒト末梢血単核細胞(PBMC)は、単独でまたは抗PD-1抗体(例えば、ニボルマブもしくはペムブロリズマブ)、抗TIGIT抗体、抗CD137抗体(例えば、ウレルマブもしくはウトミルマブ)、または抗OX40抗体(例えば、ポガリズマブもしくはタボリキシズマブ)との組み合わせのいずれかで、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体)を用いた、SEAで刺激されただけのPBMCに対して、IL-2産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させた。

10

【0163】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体)を用いた、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養のIFN γ 産生に対して、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養のIFN γ 産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

20

【0164】

ある特定の実施形態では、ヒトCTLA-4に特異的に結合する本明細書に記載の抗体の存在下、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養は、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体)を用いた、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養に対して、IFN γ 産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させた。

30

【0165】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体)を用いたT細胞増殖に対して、T細胞増殖を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加させる単離抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体)を用いたT細胞増殖に対して、T細胞増殖を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

40

特定の実施形態では、本開示は、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体)を用いた、卵巣癌腹水液で共培養された抗CD3抗体刺激CD4+またはCD8+T細胞の増殖に

50

対して、卵巣癌腹水液で共培養された抗CD3抗体刺激CD4+またはCD8+T細胞の増殖を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

【0166】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、活性化状態でヒトCTLA-4タンパク質に結合する活性化可能な抗体である。ある特定の実施形態では、活性化可能な抗体は、非切断状態の抗体の、ヒトCTLA-4タンパク質への結合を阻害するマスキング部分と、抗体にカップリングされた少なくとも1つの切断可能な部分とを含み、例えば、切断可能な部分は、腫瘍微小環境で富化されるプロテアーゼの基質として機能するポリペプチドである。例示的な活性化可能な抗体は、例えば、米国特許第8,513,390号および同第8,518,404号、ならびに米国特許出願公開第US2014/0255313号、同第US2014/0010810号、同第US2014/0023664号に記載されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。ある特定の実施形態では、活性化可能な抗体は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域の変異形である、ヒトIgG重鎖定常領域を含み、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域がヒトFcγRIIIAに結合するよりも高い親和性でヒトFcγRIIIAに結合する。

6.2.2 抗PD-1抗体

【0167】

一態様では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、PD-1機能を拮抗させる抗体を提供する。また、ヒトPD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、任意に、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合しない第2の抗原結合領域とを含む多重特異性抗体が本明細書に提供される。例示的な抗体のアミノ酸配列は、本明細書の表6～10に記載されている。

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6. 例示的な抗 PD-1 抗体のアミノ酸配列 *

配列番号	説明	アミノ酸配列
66	AGEN2034 VH (BADD438-2744)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNGDHWGQGLTVTVSS
67	BADD438-2742 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNDYWGQGLTVTVSS
68	BADD426-2614 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCATNGDYWGQGLTVTVSS
69	BADD426-2615 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNDYWGQGLTVTVSS
70	BADD438-2743 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGSKNEYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNGDHWGQGLTVTVSS
71	BADD438-2745 VH	QVQLVESGGGMVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWFDSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNGDHWGQGLTVTVSS
72	BADD438-2746 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNGDHWGHGTLTVTVSS
73	BADD438-2747 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNGDHWGQGLTVTVSS
74	AGEN2034 VL/3738 VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QQYNNWPRTFGQGTKVEIK
75	CDRH1	SYGMH
76	CDRH2	VIWDGSKNYADSVKG
77	CDRH2	VIWDGSKNEYADSVKG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
78	CDRH2	VIWFDGSNKYYADSVKG
79	CDRH2	VIWYDGSNKYYADSVMG
80	CDRH3	NVDY
81	CDRH3	NGDH
82	CDRH3	NGDY
83	CDRL1	RASQSVSSNLA
84	CDRL2	GASTRAT
85	CDRL3	QQYNNWPRT
86	CDRH2 コンセンサス	VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G、式中、 X₁は、YまたはFであり、 X₂は、KまたはEであり、 X₃は、KまたはMである
87	CDRH3 コンセンサス	NX₁DX₂、式中、 X₁は、GまたはVであり、 X₂は、HまたはYである
88	VH コンセンサス配列	QVQLVESGGGX₁VQPGRSLRLSCAASGFTTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWX₂DGSNX₃YYADSVX₄GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAX₅NX₆DX₇WGX₈GT LVT VSS、式中、 X₁は、VまたはMであり、 X₂は、YまたはFであり、 X₃は、KまたはEであり、 X₄は、KまたはMであり、 X₅は、SまたはTであり、 X₆は、GまたはVであり、 X₇は、HまたはYであり、 X₈は、QまたはHである

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
89	生殖系列配列:IGH V3-33*01	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGGSNKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAR
90	生殖系列配列:IGK V3-15*01	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QQYNNWP
91	AGEN2034 (IgG4 S228P) 重鎖	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGGSNKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNGDHWGQGTLT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVE SKYGP PCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
92	AGEN2034 (IgG1 N297A) 重鎖	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTTFSSYGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGGSNKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNGDHWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTP E VTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWE SNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
120	AGEN2033 (IgG4 S228P) 重鎖	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMDHWVRQAPGKG LEWVAVIWDGGSNKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCASNVDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
93	AGEN2034 軽鎖	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QQYNNWPRTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS STLTLTKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
60	I g G 1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
94	I g G 1 N 2 9 7 A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	説明	アミノ酸配列
95	I g G 4 S 2 2 8 P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSLG
64	軽鎖定常領域	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

* CDRは、K a b a t 番号付けシステムに従って定義される。

【表 7】

表 7. 例示的な抗 PD-1 抗体の重鎖 CDR アミノ酸配列 *

VH (配列番号)	CDRH 1 (配列番号)	CDRH 2 (配列番号)	CDRH 3 (配列番号)
BADD438-2742 VH (67)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NVDY (80)
AGEN2034 VH (66)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDH (81)
BADD426-2614 VH (68)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDY (82)
BADD426-2615 VH (69)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDY (82)
BADD438-2743 VH (70)	SYGMH (75)	VIWYDGSNEYADSVKG (77)	NGDH (81)
BADD438-2745 VH (71)	SYGMH (75)	VIWFDGSNKYYADSVKG (78)	NGDH (81)
BADD438-2746 VH (72)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDH (81)
BADD438-2747 VH (73)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVMG (79)	NGDH (81)

* K a b a t 番号付けシステムに従って定義される。

【表 8】

表 8. 例示的な抗 PD-1 抗体の軽鎖 CDR アミノ酸配列

VL (配列番号)	CDRL 1 (配列番号)	CDRL 2 (配列番号)	CDRL 3 (配列番号)
AGEN2034 VL/3738 VL (74)	RASQSVSSNLA (83)	GASTRAT (84)	QQYNNWPRT (85)

* K a b a t 番号付けシステムに従って定義される。

【表 9】

表 9. 例示的な抗 PD-1 抗体

抗体	重鎖可変領域	配列番号	軽鎖可変領域	配列番号
AGEN2033	BADD438-2742 VH	67	3738 VL	74
AGEN2034	AGEN2034 VH	66	3738 VL	74
AGEN2001	BADD426-2614 VH	68	3738 VL	74
AGEN2002	BADD426-2615 VH	69	3738 VL	74
EP11_p11_B03	BADD438-2743 VH	70	3738 VL	74
EP11_p11_B05	BADD438-2745 VH	71	3738 VL	74
EP11_p11_C02	BADD438-2746 VH	72	3738 VL	74
EP11_p11_C03	BADD438-2747 VH	73	3738 VL	74

10

【表 10】

表 10. PD-1 の例示的な配列

配列番号	説明*	アミノ酸配列
96	ヒト PD-1 未成熟タンパク質 (Q15116)	MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVVT EGDNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPG QDCRFRTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGYLCAISLAPKAQIK ESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSRPAGQFQTLVVGTVGGLGS LVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGE LDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSADG PRSAQPLRPEDGHCSWPL
103	PD-1 エピトープ	SLAPKAQIKESLRAEL
104	PD-1 エピトープ	LDSPDRPWNPTFSPALL
105	PD-1 エピトープ	DSPDRPWNPP
106	PD-1 エピトープ	EVPTAHPSP
107	PD-1 エピトープ	ISLAPKAQ

30

【0168】

ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表 6 に記載される重鎖可変領域の CDR のうちの 1 つ、2 つ、または 3 つ全てを含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、表 6 に記載される重鎖可変領域のうちの 1 つの CDRH1 を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、表 6 に記載される重鎖可変領域のうちの 1 つの CDRH2 を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、表 6 に記載される重鎖可変領域のうちの 1 つの CDRH3 を含む。

【0169】

40

50

ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表6に記載される軽鎖可変領域のCDRのうちの1つ、2つ、または3つ全てを含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、表6に記載される軽鎖可変領域のうちの1つのCDRL1を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、表6に記載される軽鎖可変領域のうちの1つのCDRL2を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、表6に記載される軽鎖可変領域のうちの1つのCDRL3を含む。

【0170】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) および Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest (1991) に従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0171】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、免疫グロブリン構造ループの位置を指すChothia 番号付けスキームに従って決定することができる（例えば、Chothia C&Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196:901-917, Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273:927-948, Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227:799-817, Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215 (1):175-82、および米国特許第7,709,226号を参照。その全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。典型的には、Kabat 番号付け規約を使用する場合、Chothia CDRH1ループは、重鎖アミノ酸26~32、33、または34に存在し、Chothia CDRH2ループは、重鎖アミノ酸52~56に存在し、Chothia CDRH3ループは、重鎖アミノ酸95~102に存在するが、Chothia CDRL1ループは、軽鎖アミノ酸24~34に存在し、Chothia CDRL2ループは、軽鎖アミノ酸50~56に存在し、Chothia CDRL3ループは、軽鎖アミノ酸89~97に存在する。Chothia CDRH1ループの末端は、Kabat 番号付け規約を使用して番号付けされる場合、ループの長さに応じてH32とH34との間で異なる（これは、Kabat 番号付けスキームがH35AおよびH35Bに挿入を置くためであり、35Aも35Bも存在しない場合、ループは32で終わり、35Aのみが存在する場合、ループは33で終わり、35Aおよび35Bの両方が存在する場合、ループは34で終わる）。

20

30

【0172】

ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表6に開示されるVHのChothia VH CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表6に開示されるVLのChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表6に開示される抗体のChothia VH CDRおよびChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗体は、1つ以上のCDRを含み、Chothia および Kabat CDRは、同じアミノ酸配列を有する。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、Kabat CDRとChothia CDRとの組み合わせを含む単離抗体を提供する。

40

【0173】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、上記のLefranc M-P (1999) および Lefranc M-P et al., (1999)（その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されるIMGT 番号付けシステムに従って決定す

50

ることができる。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、IMGT番号付けシステムによって決定される、例えば、上記のLefranc M-P（1999）および上記のLefranc M-P et al.,（1999）に記載される、本明細書の表6に開示される抗体のCDRを含む抗体を提供する。

【0174】

ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表6に開示されるVHのIMGT VH CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表6に開示されるVLのIMGT VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、本明細書の表6に開示される抗体のIMGT VH CDRおよびIMGT VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、Kabat CDRとIMGT CDRとの組み合わせを含む単離抗体を提供する。

【0175】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Kabat CDRとChothia構造ループとの間の妥協を表し、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェア（Oxford Molecular Group, Inc.）によって使用されているAbM超可変領域を指す、AbM番号付けスキームに従って決定され得る。特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、AbM番号付けスキームによって決定される、本明細書の表6に開示される抗体のCDRを含む抗体を提供する。

【0176】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、MacCallum RM et al.,（1996）J Mol Biol 262:732-745に従って決定され得、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。また例えば、Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin（2001）を参照されたい（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、MacCallum番号付けスキームによって決定される、本明細書の表6に開示される抗体のCDRを含む抗体を提供する。

【0177】

したがって、ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、配列番号66、67、68、69、70、71、72、または73に記載される重鎖可変領域のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号74に記載される軽鎖可変領域のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含み、各CDRは、Kabat定義、Chothia定義、Kabat定義とChothia定義との組み合わせ、IMGT番号付けシステム、AbM定義、またはCDRの接触定義に従って定義される。

【0178】

ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、

（a）CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、かつ／または

（b）CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、YもしくはFであり、X₂は、KもしくはEであり、

X₃ は、KもしくはMであり、かつ／または

(c) CDRH3は、NX₁DX₂ (配列番号87) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁ は、GもしくはVであり、X₂ は、HもしくはYであり、かつ／または

(d) CDRL1は、RASQSVSSNLA (配列番号83) のアミノ酸配列を含み、かつ／または

(e) CDRL2は、GASTRAT (配列番号84) のアミノ酸配列を含み、かつ／または

(f) CDRL3は、QQYNNWPRT (配列番号85) のアミノ酸配列を含む。

【0179】

ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する単離抗体を提供し、該抗体は、

(a) CDRH1は、SYGMH (配列番号75) のアミノ酸配列を含み、

(b) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (配列番号86) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁ は、YまたはFであり、X₂ は、KまたはEであり、X₃ は、KまたはMであり、

(c) CDRH3は、NX₁DX₂ (配列番号87) のアミノ酸配列を含み、式中、X₁ は、GまたはVであり、X₂ は、HまたはYであり、

(d) CDRL1は、RASQSVSSNLA (配列番号83) のアミノ酸配列を含み、

(e) CDRL2は、GASTRAT (配列番号84) のアミノ酸配列を含み、

(f) CDRL3は、QQYNNWPRT (配列番号85) のアミノ酸配列を含む。

【0180】

ある特定の実施形態では、CDRH2は、配列番号76～79からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRH3は、配列番号80～82からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3は、表7の抗体のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3アミノ酸配列をそれぞれ含む。ある特定の実施形態では、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、表8の抗体のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0181】

ある特定の実施形態では、本開示は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域を含む、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する単離抗体を提供し、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3は、配列番号75、76、および80；75、76、および81；75、76、および82；75、77、および81；75、78、および81；または75、79、および81に記載されるCDRH1、CDRH2、およびCDRH3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0182】

ある特定の実施形態では、本開示は、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域を含む、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する単離抗体を提供し、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号83、84、および85に記載されるCDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0183】

ある特定の実施形態では、本開示は、相補性決定領域CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域とを含むPD-1 (例えば、ヒトPD-1) に特異的に結合する単離抗体を提供し、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、配列番号75、76、80、83、84、および85；75、76、81、83、84、および85；75、76、82、83、84、および85；75、77、81、83、84、および85；75、78、81、83、84、および85；または75、79、81、83、84、および85にそれぞれ記載されるCDRH1、CDR

10

20

30

40

50

H2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0184】

ある特定の実施形態では、抗体は、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域を含む重鎖可変領域と、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域を含む軽鎖可変領域とを含み、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域は、配列番号75、76、81、83、84、および85にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0185】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号88のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。

10

【0186】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号66～73からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号66～73からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号66に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号67に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号69に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号70に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号71に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号72に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号73に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。

20

【0187】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号74のアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号74のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

30

【0188】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号66、67、68、69、70、71、72、または73に記載されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号74に記載されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一である軽鎖可変領域とを含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号66、67、68、69、70、71、72、または73に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号74に記載される軽鎖可変領域とを含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号66および74、67および74、68および74、69および74、70および74、71および74、72および74、または73および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番

40

50

号 6 6 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 6 7 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 6 8 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 6 9 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 7 0 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 7 1 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 7 2 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 7 3 および 7 4 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

10

【0189】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列（例えば、IGHV3-33*01、例えば、配列番号89のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来する。

20

【0190】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGKV3-15生殖系列配列（例えば、IGKV3-15*01、例えば、配列番号90のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来する。

30

【0191】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列（例えば、IGHV3-33*01、例えば、配列番号89のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、ヒトIGKV3-15生殖系列配列（例えば、IGKV3-15*01、例えば、配列番号90のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。重鎖可変領域のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来する。軽鎖可変領域のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来する。

40

【0192】

ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号91および92からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号91に記載

50

されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 92 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。

【0193】

ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 93 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0194】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 91 または 92 のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 93 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 91 および 93 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 92 および 93 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。

10

【0195】

ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に結合するために、配列番号 66 および 74、67 および 74、68 および 74、69 および 74、70 および 74、71 および 74、72 および 74、または 73 および 74 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に結合するために、配列番号 66 および 74 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する単離抗体を提供する。

【0196】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 66 および 74、67 および 74、68 および 74、69 および 74、70 および 74、71 および 74、72 および 74、または 73 および 74 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じ CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）上のエピトープに結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 66 および 74 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じ CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）上のエピトープに結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 103 のアミノ酸配列からなるヒト CTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 104 のアミノ酸配列からなるヒト CTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 105 のアミノ酸配列からなるヒト CTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 106 のアミノ酸配列からなるヒト CTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 107 のアミノ酸配列からなるヒト CTLA-4 の領域内に位置するエピトープに結合する。

20

30

【0197】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒト PD-1 に特異的に結合し、アンタゴニストとして機能する単離抗体を提供する。

【0198】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒト PD-1 に特異的に結合し、本明細書に記載のおよび／または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）を用いた PD-1 活性に対して、PD-1 活性を少なくとも 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または 99% 減少させる単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、ヒト PD-1 に特異的に結合し、本明細書に記載のおよび／または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）を用いた PD-1 活性に対して、PD-1 活性を少なくとも約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、

40

50

30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍減少させる単離抗体を提供する。PD-1活性の非限定例としては、PD-1シグナル伝達、PD-1リガンド（例えば、PD-L1またはPD-L2）へのPD-1結合、サイトカイン産生（例えば、IL-2またはIFN γ ）の阻害、およびT細胞増殖の阻害を挙げることができる。ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、PD-1活性を不活性化、低減、または阻害する単離抗体を提供する。特定の実施形態では、PD-1活性の減少は、下記の実施例に記載されるように査定される。

【0199】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合に対して、そのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%減少させる単離抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合に対して、そのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍減少させる単離抗体を提供する。

【0200】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたサイトカイン産生に対して、サイトカイン産生（例えば、IL-2もしくはIFN γ ）を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加させる単離抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたサイトカイン産生に対して、サイトカイン産生（例えば、IL-2もしくはIFN γ ）を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

【0201】

特定の実施形態では、本開示は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、単独でまたは抗CTLA-4抗体（例えば、イピリマブもしくはトレメリマブ）、抗TIGIT抗体、抗CD137抗体（例えば、ウレルマブもしくはウトミルマブ）、または抗OX40抗体（例えば、ボガリズマブもしくはタボリキシズマブ）との組み合わせのいずれかで、Staphylococcus Enterotoxin A (SEA) 刺激に応答して、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたIL-2産生に対して、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）中のIL-2産生を、少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍

、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

【0202】

ある特定の実施形態では、ヒトPD-1に特異的に結合する本明細書に記載の抗体の存在下、Staphylococcus Enterotoxin A (SEA)で刺激されたヒト末梢血単核細胞(PBMC)は、単独でまたは抗CTLA-4抗体(例えば、イピリムマブもしくはトレメリムマブ)、抗TIGIT抗体、抗CD137抗体(例えば、ウレルマブもしくはウトミルマブ)、または抗OX40抗体(例えば、ポガリズマブもしくはタボリキシズマブ)との組み合わせのいずれかで、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)を用いた、SEAで刺激されただけのPBMCに対して、IL-2産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させた。

10

【0203】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)を用いた、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養のIFN γ 産生に対して、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養のIFN γ 産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

20

【0204】

ある特定の実施形態では、ヒトPD-1に特異的に結合する本明細書に記載の抗体の存在下、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養は、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)を用いた、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養に対して、IFN γ 産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させた。

30

【0205】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)を用いたT細胞増殖に対して、T細胞増殖を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加させる単離抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)を用いたT細胞増殖に対して、T細胞増殖を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

40

【0206】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の(下記の実施例を参照)または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いな

50

い、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、卵巢癌腹水液で共培養された抗CD3抗体刺激CD4+またはCD8+T細胞の増殖に対して、卵巢癌腹水液で共培養された抗CD3抗体刺激CD4+またはCD8+T細胞の増殖を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

【0207】

特定の実施形態では、本開示は、ヒトPD-1に特異的に結合し、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、PD-L1発現標的細胞で共培養されたPD-1発現NFATルシフェラーゼレポーター細胞中のNFATシグナル伝達に対して、PD-L1発現標的細胞で共培養されたPD-1発現NFATルシフェラーゼレポーター細胞中のNFATシグナル伝達を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる単離抗体を提供する。

6.2.3 CTLA-4および／またはPD-1に特異的に結合する多重特異性抗体

【0208】

一態様では、CTLA-4およびPD-1（例えば、ヒトCTLA-4およびヒトPD-1）に特異的に結合する多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）が本明細書に提供される。例えば、本明細書に提供される多重特異性（例えば、二重特異性）抗体は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域とを含み得る。かかる多重特異性抗体は、有利に、CTLA-4またはPD-1に結合するだけの単一特異性二価抗体よりも標的タンパク質の組み合わせを含有する免疫細胞のある特定のサブセットについて、より優れた特異性を示す。

【0209】

一実施形態では、CTLA-4およびPD-1に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、以下の表11の一列に示されるCDRの組み合わせを含有する。

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 1 1. 例示的な抗CTLA-4/PD-1抗体のCDR配列*

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1 の抗原結合ドメインのCDRの配列番号						ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗 原結合ドメインのCDRの配列番号					
VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
20	22	24	27	30	36	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	76	80	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	76	80	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	76	80	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	76	80	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	76	80	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	76	80	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	76	80	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	76	80	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	76	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	76	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	76	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	76	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	76	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	76	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	76	81	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	76	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	76	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	76	81	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	76	81	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	76	81	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	76	82	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	76	82	83	84	85

10

20

30

40

50

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインのCDRの配列番号						ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインのCDRの配列番号					
VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
21	22	24	29	33	38	75	76	82	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	76	82	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	76	82	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	76	82	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	76	82	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	76	82	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	77	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	77	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	77	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	77	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	77	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	77	81	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	77	81	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	77	81	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	78	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	78	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	78	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	78	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	78	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	78	81	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	78	81	83	84	85

10

20

30

40

50

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインのCDRの配列番号						ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインのCDRの配列番号					
VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
21	22	26	29	35	38	75	78	81	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	79	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	79	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	79	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	79	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	79	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	79	81	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	79	81	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	79	81	83	84	85

* K a b a t 番号付けシステムに従って定義される。

【0210】

一実施形態では、CTLA-4およびPD-1に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、以下の表12の一列に示される2つの重鎖可変領域と2つの軽鎖可変領域との組み合わせを含有する。

10

20

30

40

50

【表 12】

表 12. 例示的な抗CTLA-4/PD-1抗体の重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）配列

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号		ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号	
VH配列番号	VL配列番号	VH配列番号	VL配列番号
1	14	67	74
1	16	67	74
1	17	67	74
9	14	67	74
9	17	67	74
10	15	67	74
10	17	67	74
10	18	67	74
10	19	67	74
11	15	67	74
11	14	67	74
11	16	67	74
11	17	67	74
12	14	67	74
12	16	67	74
12	17	67	74
12	19	67	74
13	15	67	74
13	17	67	74
1	14	66	74
1	16	66	74
1	17	66	74
9	14	66	74
9	17	66	74
10	15	66	74
10	17	66	74
10	18	66	74
10	19	66	74

10

20

30

40

50

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号		ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号	
VH配列番号	VL配列番号	VH配列番号	VL配列番号
1 1	1 5	6 6	7 4
1 1	1 4	6 6	7 4
1 1	1 6	6 6	7 4
1 1	1 7	6 6	7 4
1 2	1 4	6 6	7 4
1 2	1 6	6 6	7 4
1 2	1 7	6 6	7 4
1 2	1 9	6 6	7 4
1 3	1 5	6 6	7 4
1 3	1 7	6 6	7 4
1	1 4	6 8	7 4
1	1 6	6 8	7 4
1	1 7	6 8	7 4
9	1 4	6 8	7 4
9	1 7	6 8	7 4
1 0	1 5	6 8	7 4
1 0	1 7	6 8	7 4
1 0	1 8	6 8	7 4
1 0	1 9	6 8	7 4
1 1	1 5	6 8	7 4
1 1	1 4	6 8	7 4
1 1	1 6	6 8	7 4
1 1	1 7	6 8	7 4
1 2	1 4	6 8	7 4
1 2	1 6	6 8	7 4
1 2	1 7	6 8	7 4
1 2	1 9	6 8	7 4
1 3	1 5	6 8	7 4
1 3	1 7	6 8	7 4
1	1 4	6 9	7 4
1	1 6	6 9	7 4
1	1 7	6 9	7 4

10

20

30

40

50

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号		ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号	
VH配列番号	VL配列番号	VH配列番号	VL配列番号
9	14	69	74
9	17	69	74
10	15	69	74
10	17	69	74
10	18	69	74
10	19	69	74
11	15	69	74
11	14	69	74
11	16	69	74
11	17	69	74
12	14	69	74
12	16	69	74
12	17	69	74
12	19	69	74
13	15	69	74
13	17	69	74
1	14	70	74
1	16	70	74
1	17	70	74
9	14	70	74
9	17	70	74
10	15	70	74
10	17	70	74
10	18	70	74
10	19	70	74
11	15	70	74
11	14	70	74
11	16	70	74
11	17	70	74
12	14	70	74
12	16	70	74
12	17	70	74

10

20

30

40

50

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号		ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号	
VH配列番号	VL配列番号	VH配列番号	VL配列番号
1 2	1 9	7 0	7 4
1 3	1 5	7 0	7 4
1 3	1 7	7 0	7 4
1	1 4	7 1	7 4
1	1 6	7 1	7 4
1	1 7	7 1	7 4
9	1 4	7 1	7 4
9	1 7	7 1	7 4
1 0	1 5	7 1	7 4
1 0	1 7	7 1	7 4
1 0	1 8	7 1	7 4
1 0	1 9	7 1	7 4
1 1	1 5	7 1	7 4
1 1	1 4	7 1	7 4
1 1	1 6	7 1	7 4
1 1	1 7	7 1	7 4
1 2	1 4	7 1	7 4
1 2	1 6	7 1	7 4
1 2	1 7	7 1	7 4
1 2	1 9	7 1	7 4
1 3	1 5	7 1	7 4
1 3	1 7	7 1	7 4
1	1 4	7 2	7 4
1	1 6	7 2	7 4
1	1 7	7 2	7 4
9	1 4	7 2	7 4
9	1 7	7 2	7 4
1 0	1 5	7 2	7 4
1 0	1 7	7 2	7 4
1 0	1 8	7 2	7 4
1 0	1 9	7 2	7 4
1 1	1 5	7 2	7 4

10

20

30

40

50

ヒトCTLA-4に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号		ヒトPD-1に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインの可変領域の配列番号	
VH配列番号	VL配列番号	VH配列番号	VL配列番号
1 1	1 4	7 2	7 4
1 1	1 6	7 2	7 4
1 1	1 7	7 2	7 4
1 2	1 4	7 2	7 4
1 2	1 6	7 2	7 4
1 2	1 7	7 2	7 4
1 2	1 9	7 2	7 4
1 3	1 5	7 2	7 4
1 3	1 7	7 2	7 4
1	1 4	7 3	7 4
1	1 6	7 3	7 4
1	1 7	7 3	7 4
9	1 4	7 3	7 4
9	1 7	7 3	7 4
1 0	1 5	7 3	7 4
1 0	1 7	7 3	7 4
1 0	1 8	7 3	7 4
1 0	1 9	7 3	7 4
1 1	1 5	7 3	7 4
1 1	1 4	7 3	7 4
1 1	1 6	7 3	7 4
1 1	1 7	7 3	7 4
1 2	1 4	7 3	7 4
1 2	1 6	7 3	7 4
1 2	1 7	7 3	7 4
1 2	1 9	7 3	7 4
1 3	1 5	7 3	7 4
1 3	1 7	7 3	7 4

【0211】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、本明細書の表1に記載される重鎖可変領域のCDRのうちの1つ、2つ、または3つ全てを含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、表1に記載される重鎖可変領域のうちの1つのCDRH1を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、表1に記載される重鎖可変領域のうちの1つのCDRH2を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、表1に記載される重鎖可変領域のうちの1つのCDRH3を含む。

【0212】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、本明細書の表1に記載される軽鎖可変領域のCDRのうちの1つ、2つ、または3つ全てを含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、表1に記載される軽鎖可変領域のうちの1つのCDRL1を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、表1に記載される軽鎖可変領域のうちの1つのCDRL2を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、表1に記載される軽鎖可変領域のうちの1つのCDRL3を含む。

【0213】

ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域のCDRは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) および Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest (1991) に従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0214】

ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域のCDRは、免疫グロブリン構造ループの位置を指すChothia 番号付けスキームに従って決定することができる（例えば、Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196:901-917、Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273:927-948、Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227:799-817、Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215 (1):175-82、および米国特許第7,709,226号を参照。その全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、本明細書の表1に開示されるVHのChothia VH CDRを含む。ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、表1に開示されるVLのChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、本明細書の表1に開示される抗体のChothia VH CDRおよびChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、1つ以上のCDRを含み、ChothiaおよびKabat CDRは、同じアミノ酸配列を有する。ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、Kabat CDRとChothia CDRとの組み合わせを含む。

【0215】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、IMGT 番号付けシステムによって決定される、例えば、上記のLefranc M-P (1999) および上記のLefranc M-P et al., (1999) に記載される、本明細書の表1に開示される抗体のCDRを含む。

【0216】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、AbM 番号付けスキームによって決定される、本明細書の表1に開示される抗体のCDRを含む。

【0217】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、MacCallum 番号付けスキームによって決定される、本明細書の表1に開示される抗体のCDRを含む。

【0218】

したがって、ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、配列番号1、9、10、11、12、または13

10

20

30

40

50

に記載される重鎖可変領域のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号14、15、16、17、18、または19に記載される軽鎖可変領域のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含み、各CDRは、Kabat定義、Chothia定義、Kabat定義とChothia定義との組み合わせ、IMGT番号付けシステム、AbM定義、またはCDRの接触定義に従って定義される。

【0219】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、以下を含む。

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂（配列番号39）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SもしくはAであり、X₂は、NもしくはSであり、かつ／または

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG（配列番号22）のアミノ酸配列を含み、かつ／または

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DもしくはNであり、かつ／または

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SもしくはGであり、X₂は、R、S、もしくはTであり、X₃は、GもしくはAであり、かつ／または

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、GもしくはAであり、X₂は、AもしくはTであり、X₃は、T、S、R、もしくはNであり、かつ／または

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T（配列番号45）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SもしくはTであり、X₂は、WもしくはFである。

【0220】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、以下を含む。

(a) CDRH1は、SYX₁MX₂（配列番号39）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SまたはAであり、X₂は、NまたはSであり、

(b) CDRH2は、SISSSSSYIYYADSVKG（配列番号22）のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3は、VGLMGPFXI（配列番号115）のアミノ酸配列を含み、式中、Xは、DまたはNであり、

(d) CDRL1は、RASQSVX₁X₂YLX₃（配列番号43）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SまたはGであり、X₂は、R、S、またはTであり、X₃は、GまたはAであり、

(e) CDRL2は、X₁X₂SX₃RAT（配列番号44）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、GまたはAであり、X₂は、AまたはTであり、X₃は、T、S、R、またはNであり、

(f) CDRL3は、QQYGX₁SPX₂T（配列番号45）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、SまたはTであり、X₂は、WまたはFである。

【0221】

ある特定の実施形態では、CDRH1は、配列番号20および21からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRH3は、配列番号24および26からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRL1は、配列番号27、28、および29からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRL2は、配列番号30～35からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRL3は、配列番号36、37、および38からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3は、表2の抗体のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3アミノ酸配列をそれぞれ含む。ある特定の実施形態では、CDRL1、CD

10

20

30

40

50

R L 2、および C D R L 3 は、表 3 の抗体の C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0222】

ある特定の実施形態では、C T L A - 4（例えば、ヒト C T L A - 4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域を含み、C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 は、配列番号 20、22、および 24；21、22、および 24；または 21、22、および 26 に記載される C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0223】

ある特定の実施形態では、C T L A - 4（例えば、ヒト C T L A - 4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域を含み、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 は、配列番号 27、30、および 36；28、31、および 36；29、32、および 37；29、33、および 38；29、34、および 36；または 29、35、および 38 に記載される C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0224】

ある特定の実施形態では、C T L A - 4（例えば、ヒト C T L A - 4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域とを含み、C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 は、配列番号 20、22、24、27、30、および 36；20、22、24、29、32、および 37；20、22、24、29、33、および 38；21、22、24、27、30、および 36；21、22、24、29、33、および 38；20、22、24、28、31、および 36；20、22、24、29、34、および 36；20、22、24、29、35、および 38；21、22、26、27、30、および 36；21、22、26、29、32、および 37；21、22、26、29、33、および 38；または 21、22、26、29、35、および 38 にそれぞれ記載される C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0225】

ある特定の実施形態では、C T L A - 4（例えば、ヒト C T L A - 4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 領域を含む重鎖可変領域と、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 領域を含む軽鎖可変領域とを含み、C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 領域は、配列番号 20、22、24、27、30、および 36 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0226】

ある特定の実施形態では、C T L A - 4（例えば、ヒト C T L A - 4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、配列番号 46 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。

【0227】

ある特定の実施形態では、C T L A - 4（例えば、ヒト C T L A - 4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1、9、10、11、12、または 13 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1、9、10、11、12、または 13 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 9 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は

10

20

30

40

50

、配列番号 10 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 11 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 12 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 13 に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。

【0228】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、配列番号 47 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【0229】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、配列番号 14、15、16、17、18、または 19 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 14、15、16、17、18、または 19 に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 14 に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 15 に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 16 に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 17 に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 18 に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 19 に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0230】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1、9、10、11、12、または 13 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 14、15、16、17、18、または 19 に記載されるアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一である軽鎖可変領域とを含む。ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1、9、10、11、12、または 13 に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 14、15、16、17、18、または 19 に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 および 14、1 および 16、1 および 17、9 および 14、9 および 17、10 および 15、10 および 17、10 および 18、10 および 19、11 および 15、11 および 14、11 および 16、11 および 17、12 および 14、12 および 16、12 および 17、12 および 19、13 および 15、または 13 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 および 14 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 および 16 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 および 17 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 9 および 14 にそれぞれ記載される

10

20

30

40

50

アミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号9および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号10および15にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号10および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号10および18にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号10および19にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号11および15にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号11および14にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号11および16にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号11および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号12および14にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号12および16にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号12および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号12および19にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号13および15にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号13および17にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0231】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列（例えば、IGHV3-21*01、例えば、配列番号48のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来する。

【0232】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、ヒトIGKV3-20生殖系列配列（例えば、IGKV3-20*01、例えば、配列番号49のアミノ酸配列を有する）またはヒトIGKV3-11生殖系列配列（例えば、IGKV3-11*01、例えば、配列番号50のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、IGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来する。

【0233】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列（例えば、IGHV3-21*01、例えば、配列番号48のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、ヒトIGKV3-20生殖系列配列（例えば、IGKV3-20*01、例えば、配列番号49のアミノ酸配列を有する）またはヒトIGKV3-11生殖系列配列（例えば、IGKV3-11*01、例えば、配列番号50のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。重鎖可変領域のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-21生殖系列配列に由来する。軽鎖のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、ヒトIGKV3-20またはIGKV3-11生殖系列配列に由来する。

【0234】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、配列番号51～54および117からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号51に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号52に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号53に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号54に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号117に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。

【0235】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、配列番号59のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0236】

ある特定の実施形態では、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域は、配列番号51～54および117からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号59のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号51および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号52および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号53および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号54および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、配列番号117および59にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。

【0237】

ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に結合するために、配列番号1および14、1および16、1および17、9および14、9および17、10および15、10および17、10および18、10および19、11および15、11および14、11および16、11および17、12および14、12および16、12および17、12および19、13および15、または13および17にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する。ある特定の実施形態では、第1の抗原結合領域は、CTLA-4（例えば、ヒ

ト C T L A - 4) に結合するために、配列番号 1 および 1 4 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する。

【 0 2 3 8 】

ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 および 1 4、1 および 1 6、1 および 1 7、9 および 1 4、9 および 1 7、1 0 および 1 5、1 0 および 1 7、1 0 および 1 8、1 0 および 1 9、1 1 および 1 5、1 1 および 1 4、1 1 および 1 6、1 1 および 1 7、1 2 および 1 4、1 2 および 1 6、1 2 および 1 7、1 2 および 1 9、1 3 および 1 5、または 1 3 および 1 7 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じ C T L A - 4 (例えば、ヒト C T L A - 4) 上のエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 および 1 4 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じ C T L A - 4 (例えば、ヒト C T L A - 4) 上のエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列からなるヒト C T L A - 4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 9 9 のアミノ酸配列からなるヒト C T L A - 4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 9 8 のアミノ酸配列からなるヒト C T L A - 4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 9 7 のアミノ酸配列からなるヒト C T L A - 4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列からなるヒト C T L A - 4 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第 1 の抗原結合領域は、配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列からなるヒト C T L A - 4 の領域内に位置するエピトープに結合する。

【 0 2 3 9 】

ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、本明細書の表 6 に記載される重鎖可変領域の C D R のうちの 1 つ、2 つ、または 3 つ全てを含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、表 6 に記載される重鎖可変領域のうちの 1 つの C D R H 1 を含む。ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、表 6 に記載される重鎖可変領域のうちの 1 つの C D R H 2 を含む。ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、表 6 に記載される重鎖可変領域のうちの 1 つの C D R H 3 を含む。

【 0 2 4 0 】

ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、本明細書の表 6 に記載される軽鎖可変領域の C D R のうちの 1 つ、2 つ、または 3 つ全てを含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、表 6 に記載される軽鎖可変領域のうちの 1 つの C D R L 1 を含む。ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、表 6 に記載される軽鎖可変領域のうちの 1 つの C D R L 2 を含む。ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、表 6 に記載される軽鎖可変領域のうちの 1 つの C D R L 3 を含む。

【 0 2 4 1 】

ある特定の実施形態では、第 2 の抗原結合領域の C D R は、K a b a t e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 5 2 , 6 6 0 9 - 6 6 1 6 (1 9 7 7) および K a b a t e t a l . , S e q u e n c e s o f p r o t e i n o f i m m u n o l o g i c a l i n t e r e s t (1 9 9 1) に従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【 0 2 4 2 】

ある特定の実施形態では、第 2 の抗原結合領域の C D R は、免疫グロブリン構造ループの

位置を指すChothia番号付けスキームに従って決定することができる（例えば、Chothia C&Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196:901-917、Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273:927-948、Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227:799-817、Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1):175-82、および米国特許第7,709,226号を参照。その全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、本明細書の表6に開示されるVHのChothia VH CDRを含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、本明細書の表6に開示されるVLのChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、本明細書の表6に開示される抗体のChothia VH CDRおよびChothia VL CDRを含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、1つ以上のCDRを含み、ChothiaおよびKabatt CDRは、同じアミノ酸配列を有する。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、Kabatt CDRとChothia CDRとの組み合わせを含む。

【0243】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域のCDRは、IMGT番号付けシステムによって決定される、例えば、上記のLefranc M-P (1999) および上記のLefranc M-P et al., (1999) に記載される、本明細書の表6に開示される抗体のCDRを含む。

【0244】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域のCDRは、AbM番号付けスキームによって決定される、本明細書の表6に開示される抗体のCDRを含む。

【0245】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域のCDRは、MacCallum番号付けスキームによって決定される、本明細書の表6に開示される抗体のCDRを含む。

【0246】

したがって、ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66、67、68、69、70、71、72、または73に記載される重鎖可変領域のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号74に記載される軽鎖可変領域のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含み、各CDRは、Kabatt定義、Chothia定義、Kabatt定義とChothia定義との組み合わせ、IMGT番号付けシステム、AbM定義、またはCDRの接触定義に従って定義される。

【0247】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、以下を含む。

(a) CDRH1は、SYGMH（配列番号75）のアミノ酸配列を含み、かつ／または

(b) CDRH2は、VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G（配列番号86）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、YもしくはFであり、X₂は、KもしくはEであり、X₃は、KもしくはMであり、かつ／または

(c) CDRH3は、NX₁DX₂（配列番号87）のアミノ酸配列を含み、式中、X₁は、GもしくはVであり、X₂は、HもしくはYであり、かつ／または

(d) CDRL1は、RASQSVSSNLA（配列番号83）のアミノ酸配列を含み、

かつ／または

(e) C D R L 2 は、G A S T R A T (配列番号 8 4) のアミノ酸配列を含み、かつ／または

(f) C D R L 3 は、Q Q Y N N W P R T (配列番号 8 5) のアミノ酸配列を含む。

【0248】

ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、以下を含む。

(a) C D R H 1 は、S Y G M H (配列番号 7 5) のアミノ酸配列を含み、

(b) C D R H 2 は、V I W X ₁ D G S N X ₂ Y Y A D S V X ₃ G (配列番号 8 6) のアミノ酸配列を含み、式中、X ₁ は、Y または F であり、X ₂ は、K または E であり、X ₃ は、K または M であり、

(c) C D R H 3 は、N X ₁ D X ₂ (配列番号 8 7) のアミノ酸配列を含み、式中、X ₁ は、G または V であり、X ₂ は、H または Y であり、

(d) C D R L 1 は、R A S Q S V S S N L A (配列番号 8 3) のアミノ酸配列を含み、

(e) C D R L 2 は、G A S T R A T (配列番号 8 4) のアミノ酸配列を含み、

(f) C D R L 3 は、Q Q Y N N W P R T (配列番号 8 5) のアミノ酸配列を含む。

【0249】

ある特定の実施形態では、C D R H 2 は、配列番号 7 6 ~ 7 9 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、C D R H 3 は、配列番号 8 0 ~ 8 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 は、表 7 の抗体の C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。ある特定の実施形態では、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 は、表 8 の抗体の C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0250】

ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域を含み、C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 は、配列番号 7 5、7 6、および 8 0 ; 7 5、7 6、および 8 1 ; 7 5、7 6、および 8 2 ; 7 5、7 7、および 8 1 ; 7 5、7 8、および 8 1 ; または 7 5、7 9、および 8 1 に記載される C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0251】

ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域を含み、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 は、配列番号 8 3、8 4、および 8 5 に記載される C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0252】

ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、相補性決定領域 C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 を含む重鎖可変領域と、相補性決定領域 C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む軽鎖可変領域とを含み、C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 は、配列番号 7 5、7 6、8 0、8 3、8 4、および 8 5 ; 7 5、7 6、8 1、8 3、8 4、および 8 5 ; 7 5、7 6、8 2、8 3、8 4、および 8 5 ; 7 5、7 7、8 1、8 3、8 4、および 8 5 ; 7 5、7 8、8 1、8 3、8 4、および 8 5 ; または 7 5、7 9、8 1、8 3、8 4、および 8 5 にそれぞれ記載される C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 アミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0253】

ある特定の実施形態では、P D - 1 (例えば、ヒト P D - 1) に特異的に結合する第 2 の抗原結合領域は、C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 領域を含む重鎖可変領域と

、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域を含む軽鎖可変領域とを含み、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域は、配列番号75、76、81、83、84、および85にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を含む。

【0254】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号88のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。

【0255】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66～73からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66～73からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号67に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号69に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号70に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号71に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号72に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号73に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。

【0256】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号74のアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号74のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0257】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66、67、68、69、70、71、72、または73に記載されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号74に記載されるアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、または100%（例えば、少なくとも86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%）同一である軽鎖可変領域とを含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66、67、68、69、70、71、72、または73に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号74に記載される軽鎖可変領域とを含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66および74、67および74、68および74、69および74、70および74、71および74、72および74、または7

3 および 74 にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号66および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号67および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号68および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号69および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号70および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号71および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号72および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号73および74にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0258】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列（例えば、IGHV3-33*01、例えば、配列番号89のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む。フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来する。

【0259】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、ヒトIGHV3-15生殖系列配列（例えば、IGHV3-15*01、例えば、配列番号90のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来する。

【0260】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列（例えば、IGHV3-33*01、例えば、配列番号89のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、ヒトIGKV3-15生殖系列配列（例えば、IGKV3-15*01、例えば、配列番号90のアミノ酸配列を有する）に由来するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。重鎖可変領域のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRH1、およびCDRH2は全て、ヒトIGHV3-33生殖系列配列に由来する。軽鎖のフレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL

2は全て、ヒトIGKV3-15生殖系列配列に由来する。

【0261】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号91および92からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号91に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号92に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖を含む。

【0262】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号93のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

10

【0263】

ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号91または92のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号93のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号91および93にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。ある特定の実施形態では、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域は、配列番号92および93にそれぞれ記載されるアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含む。

【0264】

ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に結合するために、配列番号66および74、67および74、68および74、69および74、70および74、71および74、72および74、または73および74にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に結合するために、配列番号66および74にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する。

20

【0265】

ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号66および74、67および74、68および74、69および74、70および74、71および74、72および74、または73および74にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じPD-1（例えば、ヒトPD-1）上のエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号66および74にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じPD-1（例えば、ヒトPD-1）上のエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号103のアミノ酸配列からなるヒトPD-1の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号104のアミノ酸配列からなるヒトPD-1の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号105のアミノ酸配列からなるヒトPD-1の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号106のアミノ酸配列からなるヒトPD-1の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、第2の抗原結合領域は、配列番号107のアミノ酸配列からなるヒトPD-1の領域内に位置するエピトープに結合する。

30

【0266】

ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域とを含む、単離された多重特異性抗体を提供し、第1の抗原結合領域のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3ならびに第2の抗原結合領域のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、表11の一行に列挙されるアミノ酸配列を含む。ある特

40

50

定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗原結合領域と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗原結合領域とを含む、単離された多重特異性抗体を提供し、第1の抗原結合領域のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、ならびに第2の抗原結合領域のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3はそれぞれ、配列番号20、22、24、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、32、37、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、24、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；21、22、24、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、28、31、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、34、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、35、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、29、32、37、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、29、35、38、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、27、30、36、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、29、32、37、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、29、33、38、75、76、81、83、84、および85；21、22、24、27、30、36、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、28、31、36、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、29、34、36、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、29、35、38、75、76、81、83、84、および85；21、22、26、27、30、36、75、76、81、83、84、および85；21、22、26、29、32、37、75、76、81、83、84、および85；21、22、26、29、33、38、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、27、30、36、75、76、82、83、84、および85；20、22、24、29、32、37、75、76、82、83、84、および85；20、22、24、29、33、38、75、76、82、83、84、および85；21、22、24、27、30、36、75、76、82、83、84、および85；21、22、24、29、33、38、75、76、82、83、84、および85；20、22、24、28、31、36、75、76、82、83、84、および85；20、22、24、29、34、36、75、76、82、83、84、および85；20、22、24、29、35、38、75、76、82、83、84、および85；21、22、26、27、30、36、75、76、82、83、84、および85；21、22、26、29、32、37、75、76、82、83、84、および85；21、22、26、29、33、38、75、76、82、83、84、および85；21、22、26、29、35、38、75、76、82、83、84、および85；20、22、24、27、30、36、75、77、81、83、84、および85；20、22、24、29、32、37、75、77、81、83、84、および85；20、22、24、29、33、38、75、77、81、83、84、および85；21、22、24、27、30、36、75、77、81、83、84、および85；21、22、24、29、33、38、75、77、81、83、84、および85；20、22、24、28、31、36、75、77、81、83、84、および85；20、22、24、29、34、36、75、77、81、83、84、および85；20、22、24、29、35、38、75、77、81、83、84、および85；21、22、26、27、30、36、75、77、81、83、84、および85；21、22、26、29、32、37、75、77、

10

20

30

40

50

20

30

50

び 7 4 ; 1 2、1 9、6 6、および 7 4 ; 1 3、1 5、6 6、および 7 4 ; 1 3、1 7、
6 6、および 7 4 ; 1、1 4、6 8、および 7 4 ; 1、1 6、6 8、および 7 4 ; 1、1
7、6 8、および 7 4 ; 9、1 4、6 8、および 7 4 ; 9、1 7、6 8、および 7 4 ; 1
0、1 5、6 8、および 7 4 ; 1 0、1 7、6 8、および 7 4 ; 1 0、1 8、6 8、およ
び 7 4 ; 1 0、1 9、6 8、および 7 4 ; 1 1、1 5、6 8、および 7 4 ; 1 1、1 4、
6 8、および 7 4 ; 1 1、1 6、6 8、および 7 4 ; 1 1、1 7、6 8、および 7 4 ; 1
2、1 4、6 8、および 7 4 ; 1 2、1 6、6 8、および 7 4 ; 1 2、1 7、6 8、およ
び 7 4 ; 1 2、1 9、6 8、および 7 4 ; 1 3、1 5、6 8、および 7 4 ; 1 3、1 7、
6 8、および 7 4 ; 1、1 4、6 9、および 7 4 ; 1、1 6、6 9、および 7 4 ; 1、1
7、6 9、および 7 4 ; 9、1 4、6 9、および 7 4 ; 9、1 7、6 9、および 7 4 ; 1
0、1 5、6 9、および 7 4 ; 1 0、1 7、6 9、および 7 4 ; 1 0、1 8、6 9、およ
び 7 4 ; 1 0、1 9、6 9、および 7 4 ; 1 1、1 5、6 9、および 7 4 ; 1 1、1 4、
6 9、および 7 4 ; 1 1、1 6、6 9、および 7 4 ; 1 1、1 7、6 9、および 7 4 ; 1
2、1 4、6 9、および 7 4 ; 1 2、1 6、6 9、および 7 4 ; 1 2、1 7、6 9、およ
び 7 4 ; 1 2、1 9、6 9、および 7 4 ; 1 3、1 5、6 9、および 7 4 ; 1 3、1 7、
6 9、および 7 4 ; 1、1 4、7 0、および 7 4 ; 1、1 6、7 0、および 7 4 ; 1、1
7、7 0、および 7 4 ; 9、1 4、7 0、および 7 4 ; 9、1 7、7 0、および 7 4 ; 1
0、1 5、7 0、および 7 4 ; 1 0、1 7、7 0、および 7 4 ; 1 0、1 8、7 0、およ
び 7 4 ; 1 0、1 9、7 0、および 7 4 ; 1 1、1 5、7 0、および 7 4 ; 1 1、1 4、
7 0、および 7 4 ; 1 1、1 6、7 0、および 7 4 ; 1 1、1 7、7 0、および 7 4 ; 1
2、1 4、7 0、および 7 4 ; 1 2、1 6、7 0、および 7 4 ; 1 2、1 7、7 0、およ
び 7 4 ; 1 2、1 9、7 0、および 7 4 ; 1 3、1 5、7 0、および 7 4 ; 1 3、1 7、
7 0、および 7 4 ; 1、1 4、7 1、および 7 4 ; 1、1 6、7 1、および 7 4 ; 1、1
7、7 1、および 7 4 ; 9、1 4、7 1、および 7 4 ; 9、1 7、7 1、および 7 4 ; 1
0、1 5、7 1、および 7 4 ; 1 0、1 7、7 1、および 7 4 ; 1 0、1 8、7 1、およ
び 7 4 ; 1 0、1 9、7 1、および 7 4 ; 1 1、1 5、7 1、および 7 4 ; 1 1、1 4、
7 1、および 7 4 ; 1 1、1 6、7 1、および 7 4 ; 1 1、1 7、7 1、および 7 4 ; 1
2、1 4、7 1、および 7 4 ; 1 2、1 6、7 1、および 7 4 ; 1 2、1 7、7 1、およ
び 7 4 ; 1 2、1 9、7 1、および 7 4 ; 1 3、1 5、7 1、および 7 4 ; 1 3、1 7、
7 1、および 7 4 ; 1、1 4、7 2、および 7 4 ; 1、1 6、7 2、および 7 4 ; 1、1
7、7 2、および 7 4 ; 9、1 4、7 2、および 7 4 ; 9、1 7、7 2、および 7 4 ; 1
0、1 5、7 2、および 7 4 ; 1 0、1 7、7 2、および 7 4 ; 1 0、1 8、7 2、およ
び 7 4 ; 1 0、1 9、7 2、および 7 4 ; 1 1、1 5、7 2、および 7 4 ; 1 1、1 4、
7 2、および 7 4 ; 1 1、1 6、7 2、および 7 4 ; 1 1、1 7、7 2、および 7 4 ; 1
2、1 4、7 2、および 7 4 ; 1 2、1 6、7 2、および 7 4 ; 1 2、1 7、7 2、およ
び 7 4 ; 1 2、1 9、7 2、および 7 4 ; 1 3、1 5、7 2、および 7 4 ; 1 3、1 7、
7 2、および 7 4 ; 1、1 4、7 3、および 7 4 ; 1、1 6、7 3、および 7 4 ; 1、1
7、7 3、および 7 4 ; 9、1 4、7 3、および 7 4 ; 9、1 7、7 3、および 7 4 ; 1
0、1 5、7 3、および 7 4 ; 1 0、1 7、7 3、および 7 4 ; 1 0、1 8、7 3、およ
び 7 4 ; 1 0、1 9、7 3、および 7 4 ; 1 1、1 5、7 3、および 7 4 ; 1 1、1 4、
7 3、および 7 4 ; 1 1、1 6、7 3、および 7 4 ; 1 1、1 7、7 3、および 7 4 ; 1
2、1 4、7 3、および 7 4 ; 1 2、1 6、7 3、および 7 4 ; 1 2、1 7、7 3、およ
び 7 4 ; 1 2、1 9、7 3、および 7 4 ; 1 3、1 5、7 3、および 7 4 ; または 1 3、
1 7、7 3、および 7 4 に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0268】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される単離された抗 C T L A - 4 / P D - 1 抗
体は、本明細書に記載のおよび／または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる
抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、C T L A - 4 もしくは P D - 1 に特異的に
結合しない抗体）を用いた C T L A - 4 および／または P D - 1 活性に対して、C T L A
- 4 および／または P D - 1 活性を少なくとも 5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、

10

20

30

40

50

30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%減少させることができる。ある特定の実施形態では、本明細書に提供されるCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）およびPD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する多重特異性抗体は、本明細書に記載のおよび／または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたCTLA-4および／またはPD-1活性に対して、CTLA-4および／またはPD-1活性を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍減少させる。CTLA-4活性の非限定例としては、CTLA-4シグナル伝達、CTLA-4リガンド（例えば、CD80またはCD86）へのCTLA-4結合、サイトカイン産生（例えば、IL-2またはIFN γ ）の阻害、およびT細胞増殖の阻害を挙げることができる。PD-1活性の非限定例としては、PD-1シグナル伝達、PD-1リガンド（例えば、PD-L1またはPD-L2）へのPD-1結合、サイトカイン産生（例えば、IL-2またはIFN γ ）の阻害、およびT細胞増殖の阻害を挙げることができる。ある特定の実施形態では、本開示は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）およびPD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合し、CTLA-4および／またはPD-1活性を不活性化、低減、または阻害する単離抗体を提供する。特定の実施形態では、CTLA-4および／またはPD-1活性の減少は、下記の実施例に記載されるように査定される。

【0269】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される単離された抗CTLA-4／PD-1抗体は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（例えば、CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合に対して、および／またはいかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合に対して、そのリガンド（例えば、CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合および／またはそのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合を、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%減少させることができる。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される単離された抗CTLA-4／PD-1抗体は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合に対して、そのリガンド（CD80もしくはCD86）へのCTLA-4結合を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍減少させることができ、かつ／あるいはいかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、そのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合に対して、そのリガンド（例えば、PD-L1もしくはPD-L2）へのPD-1結合を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍減少させることができる。

【0270】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される単離された抗CTLA-4／PD-1抗

体は、例えば、T細胞活性化を刺激することによって、CTLA-4および／またはPD-1機能を拮抗させることができる。例えば、本明細書に特定されるCDR配列の組み合わせ、本明細書に特定されるVHおよび／もしくはVL配列の組み合わせと少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、もしくは100%の配列同一性を有するVHおよび／もしくはVL配列の組み合わせ、または本明細書に特定される重鎖および／もしくは軽鎖の組み合わせを含む単離された抗CTLA-4／PD-1抗体は、T細胞活性化を刺激することができ、任意に、T細胞活性化は、抗体濃度の実質的に増加する機能である。

【0271】

特定の実施形態では、本明細書に提供される単離された抗CTLA-4／PD-1は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたサイトカイン産生に対して、サイトカイン産生（例えば、IL-2もしくはIFN γ ）を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加させることができる。特定の実施形態では、本明細書に提供される単離された抗CTLA-4／PD-1は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたサイトカイン産生に対して、サイトカイン産生（例えば、IL-2もしくはIFN γ ）を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させることができる。

【0272】

特定の実施形態では、本開示は、単独でまたは抗CTLA-4抗体（例えば、イピリムマブもしくはトレメリマブ）、抗PD-1抗体（例えば、ニボルマブもしくはペムブロリズマブ）、抗TIGIT抗体、抗CD137抗体（例えば、ウレルマブもしくはウトミルマブ）、または抗OX40抗体（例えば、ポガリズマブもしくはタボリキシズマブ）との組み合わせのいずれかで、Staphylococcus Enterotoxin A (SEA) 刺激に応答して、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたIL-2産生に対して、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）中のIL-2産生を、少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる、単離された抗CTLA-4／PD-1抗体を提供する。

【0273】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の単離された抗CTLA-4／PD-1抗体の存在下、Staphylococcus Enterotoxin A (SEA) で刺激されたヒト末梢血単核細胞（PBMC）は、単独でまたは抗CTLA-4抗体（例えば、イピリムマブもしくはトレメリマブ）、抗PD-1抗体（例えば、ニボルマブもしくはペムブロリズマブ）、抗TIGIT抗体、抗CD137抗体（例えば、ウレルマブもしくはウトミルマブ）、または抗OX40抗体（例えば、ポガリズマブもしくはタボリキシズマブ）との組み合わせのいずれかで、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、SEAで刺激されただけのPBMCに対して、IL-2産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4

10

20

30

40

50

倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させた。

【0274】

特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養のIFN γ 産生に対して、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養のIFN γ 産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる、単離された抗CTLA-4/PD-1抗体を提供する。

10

【0275】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される単離された抗CTLA-4/PD-1抗体の存在下、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、ヒトT細胞および同種樹状細胞の共培養に対して、IFN γ 産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させた。

20

【0276】

特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたT細胞増殖に対して、T細胞増殖を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加させる、単離された抗CTLA-4/PD-1抗体を提供する。特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いたT細胞増殖に対して、T細胞増殖を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる、単離された抗CTLA-4/PD-1抗体を提供する。

30

【0277】

特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の（下記の実施例を参照）または当業者に既知の方法によって査定して、いかなる抗体も用いない、または非関連抗体（例えば、CTLA-4もしくはPD-1に特異的に結合しない抗体）を用いた、卵巣癌腹水液で共培養された抗CD3抗体刺激CD4+またはCD8+T細胞の増殖に対して、卵巣癌腹水液で共培養された抗CD3抗体刺激CD4+またはCD8+T細胞の増殖を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる、単離された抗CTLA-4/PD-1抗体を提供する。

40

【0278】

多重特異性抗体、例えば、本明細書に提供されるCTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）および／またはPD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する二重特異性抗体は、2つの異なるモノクローナル抗体を化学的に結合することによって、または2つのハイブリドーマ細胞株を融合してハイブリッドハイブリドーマを産生することによって調

50

製することができる。使用され得る他の多価フォーマットとしては、例えば、K λ ボディ、dAbs、ダイアボディ、TandAbs、ナノボディ、SMIP、DNL、鎖交換操作されたドメインボディ (SEEDbodies)、アフィボディ (Affibodies)、フィノマー (Fynomers)、Kunitzドメイン、Albu-dabs、DART、DVD-Ig、Covx-ボディ、ペプチボディ、scFv-Igs、SVD-Igs、dAb-Igs、Knobs-in-Holes、およびtriomAbsが挙げられる。例示的な二重特異性フォーマットは、Garber et al., Nature Reviews Drug Discovery 13:799-801 (2014) において考察されており、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0279】

例示的な二重特異性抗体分子は、(i) 異なる抗原結合領域を含む2つのアーム、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) などの第1の抗原に対する特異性を有するものと、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) などの第2の抗原に対する特異性を有するものとを有する単一抗体、(ii) CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) などの第1の抗原およびPD-1 (例えば、ヒトPD-1) などの第2の抗原に特異的な1つの抗原結合領域またはアームを有する単一抗体、(iii) 例えば、余分のペプチドリンカーによって直列に結合された2つのscFvを介して、CTLA-4 (例えば、ヒトCTLA-4) などの第1の抗原に対する第1の特異性と、PD-1 (例えば、ヒトPD-1) などの第2の抗原に対する第2の特異性とを有する一本鎖抗体、(iv) 各軽鎖および重鎖が、短いペプチド結合を通して2つの可変領域を直列に含む、二重可変ドメイン抗体 (DVD-Ig) (Wu et al., Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig. TM.) Molecule, In: Antibody Engineering, Springer Berlin Heidelberg (2010))、(v) 化学的に結合された二重特異性 (Fab')₂ 断片、(vi) 標的抗原の各々について2つの結合部位を有する四価二重特異性抗体をもたらす、2つの一本鎖ダイアボディの融合である、Tandab、(vii) 多価分子をもたらす、scFvとダイアボディとの組み合わせである、フレキシボディ (viii) Fabに適用される場合、異なるFab断片に結合された2つの同一のFab断片からなる三価二重特異性結合タンパク質をもたらす得る、タンパク質キナーゼA中の「二量体化およびドッキングドメイン」に基づく、いわゆる「ドック・アンド・ロック」分子、(ix) 例えば、ヒトFabアームの両方の末端に融合された2つのscFvを含む、いわゆるスコピオン分子、ならびに(x) ダイアボディを含む。

【0280】

異なるクラスの二重特異性抗体の例としては、ヘテロ二量体化を強制する相補性CH3ドメインを有するIgG様分子；分子の2つの側の各々が、少なくとも2つの異なる抗体のFab断片またはFab断片の一部を含有する、IgG様二重標的分子；完全長IgG抗体が、余分のFab断片またはFab断片の一部に融合される、IgG融合分子；一本鎖Fv分子または安定化ダイアボディが、重鎖定常ドメイン、Fc領域、またはその一部に融合される、Fc融合分子；異なるFab断片が一緒に融合される、Fab融合分子；異なる一本鎖Fv分子または異なるダイアボディもしくは異なる重鎖抗体 (例えば、ドメイン抗体、ナノボディ) が互いに、または別のタンパク質もしくは担体分子に融合される、ScFv系およびダイアボディ系ならびに重鎖抗体 (例えば、ドメイン抗体、ナノボディ) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0281】

Fab融合二重特異性抗体の例としては、F(ab)₂ (Medarex/AMGEN)、Dual-ActionまたはBis-Fab (Genentech)、Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics)、Bivalent Bisppecific (Biotecnol)、およびFab-Fv (UCB-Celltech) が挙げられるが、これらに限定されない。ScFv系、ダイアボディ系、およびドメイ

10

20

30

40

50

ン抗体の例としては、二重特異性T細胞係合子（Bispecific T Cell Engager、BITE）（Micromet、タンデムダイアボディ（Tandab）（Affimed）、二重親和性再標的化技術（Dual Affinity Retargeting Technology、DART）（MacroGenics）、一本鎖ダイアボディ（Academic）、TCR様抗体（AIT、ReceptorLogics）、ヒト血清アルブミンScFv融合（Merrimack）およびCOMBODY（Epigen Biotech）、二重標的ナノボディ（Ablynx）、ならびに二重標的鎖のみのドメイン抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

6.2.4 定常領域

【0282】

任意の鎖または軽鎖定常領域を、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性または多重特異性抗体）において使用することができる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、ヒトIgG、IgE、IgM、IgD、IgA、もしくはIgY免疫グロブリン分子、免疫グロブリン分子の任意のクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2）、または任意のサブクラス（例えば、IgG2aおよびIgG2b）であるIg領域を含む。

【0283】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性または多重特異性抗体）は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域の変異形である、ヒトIgG重鎖定常領域を含み、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域がヒトFcγ受容体に結合するよりも高い親和性でヒトFcγ受容体に結合する。

【0284】

ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異のうちの1つ以上を含む。S239D、A330L、およびI332E。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む。S239DおよびI332E。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む、変異形ヒトIgG1重鎖定常領域である。S239DおよびI332E。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む。S239D、A330L、およびI332E。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む、変異形ヒトIgG1重鎖定常領域である。S239D、A330L、およびI332E。

【0285】

ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異のうちの1つ以上を含む。L235V、F243L、R292P、Y300L、およびP396L。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む。L235V、F243L、R292P、Y300L、およびP396L。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む、変異形ヒトIgG1重鎖定常領域である。L235V、F243L、R292P、Y300L、およびP396L。

【0286】

ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異のうちの1つ以上を含む。G236A、S239D、F243L、T256A、K290A、R292P、S298A、Y300L、V305I、A330L、I332E、E333A、K334A、A339T、およびP396L。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシス

10

20

30

40

50

テムに従って番号付けされた、以下からなる群から選択されるアミノ酸変異のセットを含む。S 2 3 9 D ; T 2 5 6 A ; K 2 9 0 A ; S 2 9 8 A ; I 3 3 2 E ; E 3 3 3 A ; K 3 3 4 A ; A 3 3 9 T ; S 2 3 9 D および I 3 3 2 E ; S 2 3 9 D、A 3 3 0 L、および I 3 3 2 E ; S 2 9 8 A、E 3 3 3 A、および K 3 3 4 A ; G 2 3 6 A、S 2 3 9 D、および I 3 3 2 E ; ならびに F 2 4 3 L、R 2 9 2 P、Y 3 0 0 L、V 3 0 5 I、および P 3 9 6 L。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、S 2 6 7 E または L 3 2 8 F アミノ酸変異を含む。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む。S 2 6 7 E および L 3 2 8 F。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む、変異形ヒト I g G₁ 重鎖定常領域である。S 2 6 7 E および L 3 2 8 F。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、P 2 3 8 D アミノ酸変異を含む。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、P 2 3 8 D アミノ酸変異を含む、変異形ヒト I g G₁ 重鎖定常領域である。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異のうちの1つ以上を含む。P 2 3 8 D、E 2 3 3 D、G 2 3 7 D、H 2 6 8 D、P 2 7 1 G、および A 3 3 0 R。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む。P 2 3 8 D、E 2 3 3 D、G 2 3 7 D、H 2 6 8 D、P 2 7 1 G、および A 3 3 0 R。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、以下のアミノ酸変異を含む、変異形ヒト I g G₁ 重鎖定常領域である。P 2 3 8 D、E 2 3 3 D、G 2 3 7 D、H 2 6 8 D、P 2 7 1 G、および A 3 3 0 R。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、C 1 2 7 S アミノ酸変異を含む。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、C 1 2 7 S アミノ酸変異を含む、変異形ヒト I g G₂ 重鎖定常領域である。

【0287】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、単一特異性または多重特異性抗体）は、アフコシル化 F c 領域を含む。

【0288】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性または多重特異性抗体）は、野生型ヒト I g G 重鎖定常領域の変異形である、ヒト I g G 重鎖定常領域を含み、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、野生型ヒト I g G 重鎖定常領域がヒト F c γ 受容体に結合するよりも低い親和性でヒト F c γ 受容体に結合する。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、N 2 9 7 A、N 2 9 7 Q、D 2 6 5 A、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される変異を含む。ある特定の実施形態では、変異形ヒト I g G 重鎖定常領域は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、D 2 6 5 A、P 3 2 9 A、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される変異を含む。

【0289】

ある特定の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上の変異（例えば、アミノ酸置換）は、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の F c 領域（例えば、C H 2 ドメイン（ヒト I g G₁ の残基 2 3 1 ~ 3 4 0）および／もしくは C H 3 ドメイン（ヒト I g G₁ の残基 3 4 1 ~ 4 4 7）、ならびに E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、ヒンジ領域に導入され、抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の1つ以上の機能的特性、例えば血清半減期、補体結合、F c 受容体結合、および／または抗原依存性細胞毒性を変化させる。

【0290】

ある特定の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上の変異（例えば、アミノ酸置換）

10

20

30

40

50

は、例えば、米国特許第5,677,425号に記載されるように、ヒンジ領域内のシステイン残基の数を変化させる（例えば、増加もしくは減少させる）ように、Fc領域（CH1ドメイン）のヒンジ領域に導入される。CH1ドメインのヒンジ領域内のシステイン残基の数は、例えば、軽鎖および重鎖のアセンブリを促進する、または抗体の安定性を変化させる（例えば、増加もしくは減少させる）ために変化させてもよい。

【0291】

いくつかの実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上の変異（例えば、アミノ酸置換）は、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のFc領域（例えば、CH2ドメイン（ヒトIgG₁の残基231～340）および／もしくはCH3ドメイン（ヒトIgG₁の残基341～447）、ならびにEU番号付けシステムに従って番号付けされた、ヒンジ領域に導入され、エフェクター細胞の表面上のFc受容体（例えば、活性化Fc受容体）についての抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の親和性を増加または減少させる。Fc領域についての抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の親和性を減少または増加させる抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のFc領域内の変異、およびかかる変異をFc受容体またはその断片に導入するための技法は、当業者に既知である。Fc受容体についての抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の親和性を変化させるために作製され得る抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のFc受容体中の変異の例は、例えば、Smith P et al., (2012) PNAS 109:6181-6186、米国特許第6,737,056号、ならびに国際公開第WO02/060919号、同第WO98/23289号、および同第WO97/34631号に記載されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。

【0292】

特定の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上のアミノ酸変異（すなわち、置換、挿入、もしくは欠失）は、インビボで抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の半減期を変化させる（例えば、減少もしくは増加させる）ために、IgG定常ドメイン、またはそのFcRn-結合断片（例えば、FcまたはヒンジーFcドメイン断片）に導入される。例えば、インビボで抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の半減期を変化させる（例えば、減少または増加させる）変異の例については、国際公開第WO02/060919号、同第WO98/23289号、および同第WO97/34631号、ならびに米国特許第5,869,046号、同第6,121,022号、同第6,277,375号、および同第6,165,745号を参照されたい。いくつかの実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上のアミノ酸変異（すなわち、置換、挿入、もしくは欠失）は、インビボで抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の半減期を減少させるために、IgG定常ドメイン、またはそのFcRn-結合断片（例えば、FcまたはヒンジーFcドメイン断片）に導入される。他の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上のアミノ酸変異（すなわち、置換、挿入、もしくは欠失）は、インビボで抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の半減期を増加させるために、IgG定常ドメイン、またはそのFcRn-結合断片（例えば、FcまたはヒンジーFcドメイン断片）に導入される。特定の実施形態では、抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、第2の定常（CH2）ドメイン（ヒトIgG₁の残基231～340）および／または第3の定常（CH3）ドメイン（ヒトIgG₁の残基341～447）に1つ以上のアミノ酸変異（例えば、置換）を有し得る。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のIgG₁の定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、252位のメチオニン（M）からチロシン（Y）への置換、254位のセリン（S）からトレオニン（T）への置換、および256位のトレオニン（T）からグルタミン酸（E）への置換を含む。米国特許第7,658,921号（参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい。この種類の変異体IgGは、同じ抗体の野生型バージョンと比較して、4倍増加した半減期を示すことが知られている「YTE変異体」と称される（Dall' ,

10

20

30

40

50

Acqua WF et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-24を参照)。ある特定の実施形態では、抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、251～257、285～290、308～314、385～389、および428～436位のアミノ酸残基の1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のアミノ酸置換を含むIgG定常ドメインを含む。

【0293】

ある特定の実施形態では、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の定常領域におけるアミノ酸残基329、331、および322から選択される1つ以上のアミノ酸は、抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）がC1q結合を変化させる、および／または補体依存性細胞毒性（CDC）を低減もしくは停止させるように、異なるアミノ酸残基で置き換えることができる。このアプローチは、米国特許第6,194,551号（Idusogie et al.）にさらに詳細に記載されている。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のCH2ドメインのN末端領域におけるアミノ酸位置231～238内の1つ以上のアミノ酸残基を変化させ、それにより補体を固定する抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の能力を変化させる。このアプローチは、国際公開第WO94/29351号にさらに記載されている。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のFc領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下の位置に1つ以上のアミノ酸を変異させる（例えば、アミノ酸置換を導入する）ことによって、Fcγ受容体について、抗体依存性（ADCC）を増加させる、および／または抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の親和性を増加させる抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の能力を増加させるように修飾される。238、239、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、309、312、315、320、322、324、326、327、328、329、330、331、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438、または439。このアプローチは、国際公開第WO00/42072号にさらに記載されている。

【0294】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、IgG4抗体の定常領域を含み、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、重鎖のアミノ酸残基228におけるセリンは、プロリンに置換される。

【0295】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、IgG2抗体の定常領域を含み、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、重鎖のアミノ酸残基127におけるシステインは、セリンに置換される。

【0296】

低減したフコース含量を有する抗体は、例えば、FcγRIIIaなどのFc受容体に対して増加した親和性を有することが報告されている。したがって、ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、低減したフコース含量を有するか、またはフコース含量を有しない。かかる抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、当業者に既知の技法を使用して産生され得る。例えば、抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、フコシル化の能力が欠損または欠如している細胞において発現され得る。特定の例では、α1,6-フコシルトランスフェラーゼの両方の対立遺伝子のノックアウトを有する細胞株を使用して、低減したフコース含量を有する抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）を産生することができる。Potelligent（登録商標）システム（Lonza）は、低減したフコ

10

20

30

40

50

ース含量を有する抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）を産生するために使用することができるようなシステムの例である。あるいは、低減したフコース含量を有するか、またはフコース含量を有しない抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）は、例えば、以下によって産生され得る。（i）フコシル化を防ぐまたは低減させる条件下での細胞の培養、（ii）（例えば、フコシダーゼ酵素を用いた）フコースの翻訳後の除去、（iii）例えば、非グリコシル化糖タンパク質の組み換え発現後の所望の炭水化物の翻訳後の添加、あるいは（iv）フコシル化されていないその抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のために選択するための糖タンパク質の精製化。例えば、フコース含量を有しないか、または低減したフコース含量を有する抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）を産生するための方法については、Longmore GD & Schachter H (1982) Carbohydr Res 100:365-92 および Imai-Nishiyama H et al., (2007) BMC Biotechnol. 7:84 を参照されたい。

【0297】

操作された糖型は、エフェクター機能を強化または低減することを含むが、これに限定されない様々な目的のために有用であり得る。本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）中で操作された糖型を生成するための方法としては、例えば、Umana P et al., (1999) Nat Biotechnol 17:176-180、Davies J et al., (2001) Biotechnol Bioeng 74:288-294、Shields RL et al., (2002) J Biol Chem 277:26733-26740、Shinkawa T et al., (2003) J Biol Chem 278:3466-3473、Niwa R et al., (2004) Clin Cancer Res 1:6248-6255、Presta LG et al., (2002) Biochem Soc Trans 30:487-490、Kanda Y et al., (2007) Glycobiology 17:104-118、米国特許第6,602,684号、同第6,946,292号、および同第7,214,775号、米国特許公開第2007/0248600号、同第2007/0178551号、同第2008/0060092号、および同第2006/0253928号、国際公開第WO00/61739号、同第WO01/292246号、同第WO02/311140号、および同第WO02/30954号に記載されるもの；Potillegent（商標）技術（Biowa, Inc. Princeton, N. J.）；ならびにGlycoMab（登録商標）グリコシル化操作技術（Glycart biotechnology AG, Zurich, Switzerland）に開示されるものが挙げられるが、これらに限定されない。また、例えば、Ferrara C et al., (2006) Biotechnol Bioeng 93:851-861、国際公開第WO07/039818号、同第WO12/130831号、同第WO99/054342号、同第WO03/011878号、および同第WO04/065540号を参照されたい。

【0298】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）のFcドメインを操作するために使用される技術は、Xencor（Monrovia, CA）のXmab（登録商標）技術である。例えば、米国特許第8,367,805号、同第8,039,592号、同第8,124,731号、同第8,188,231号、米国特許公開第2006/0235208号、国際公開第WO05/077981号、同第WO11/097527号、およびRichards JO et al., (2008) Mol Cancer Ther 7:2517-2527を参照されたい。

【0299】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の定常領域変異または修飾のうちのいずれかは、2つの重鎖定常領域を有する本明細書に記載の抗体（例えば、単一特異性もしくは多重特異性抗体）の重鎖定常領域の一方または両方に導入され得る。

6.3 薬学的組成物

【0300】

生理学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤において所望の純度を有する本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、および／または抗CTLA-4／PD-1抗体を含む組成物が本明細書に提供される（Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA）。

【0301】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体および本明細書に記載の抗PD-1抗体を含む。薬学的組成物は、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と、本明細書に記載の抗PD-1抗体との任意の組み合わせを含み得る。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体とを含み、第1の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3ならびに第2の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、表11の一行に列挙されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体とを含み、第1の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域、ならびに第2の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、表12の一行に列挙されるアミノ酸配列を含む。

【0302】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、有効量の、本明細書に記載の抗体を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、有効量の、本明細書に記載の抗CTLA-4／PD-1抗体を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、有効量の、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体および本明細書に記載の抗PD-1抗体を含む治療薬の組み合わせを含む。かかる治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低いか、等しいか、または高い可能性がある。この治療薬の組み合わせ中の抗PD-1抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低いか、等しいか、または高い可能性がある。ある特定の実施形態では、この治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、この治療薬の組み合わせ中の抗PD-1抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、この治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低く、この治療薬の組み合わせ中の抗PD-1抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低い。

【0303】

許容される担体、賦形剤、または安定剤は、用いられる投与量および濃度で受容者に対して非毒性であり、これらには、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；保存剤（例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメチウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、もしくはベンジルアルコール；メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール）；低分子量（約10未満の残基）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む単糖類、二糖類、および他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトールなどの糖類；ナトリウム

などの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；ならびに／または TWEEN（商標）、PLURONICS（商標）、もしくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン界面活性剤が含まれる。

【0304】

薬学的組成物は、対象への任意の投与経路のために配合してもよい。投与経路の特定の例としては、鼻腔内、経口、肺、経皮、皮内、および非経口が挙げられる。皮下、筋肉内、または静脈内注射のいずれかを特徴とする非経口投与も本明細書で企図される。注射物質は、従来の形態、液体溶液または懸濁液のいずれか、注射前の液体中の溶液または懸濁液に適した固体形態、またはエマルジョンとして調製することができる。注射物質、溶液、およびエマルジョンはまた、1種以上の賦形剤を含有する。好適な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、またはエタノールである。さらに、所望であれば、投与すべき薬学的組成物はまた、少量の非毒性補助物質、例えば湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、安定化剤、溶解度増強剤、および他のかかる薬剤、例えば、酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレアート、およびシクロデキストリンなどを含有することができる。

【0305】

非経口調製物に使用される薬学的に許容される担体としては、水性ビヒクル、非水性ビヒクル、抗菌剤、等張剤、緩衝液、抗酸化剤、局所麻酔剤、懸濁化剤および分散剤、乳化剤、封鎖剤またはキレート化剤、ならびに他の薬学的に許容される物質が挙げられる。水性ビヒクルの例としては、塩化ナトリウム注射剤、リンガー注射剤、等張デキストロース注射剤、滅菌水注射剤、デキストロース、および乳酸化リンガー注射剤が挙げられる。非水性非経口ビヒクルとしては、植物由来の固定油、綿実油、トウモロコシ油、ゴマ油、およびピーナツ油が挙げられる。静菌性または静真菌性の濃度の抗菌剤は、フェノールまたはクレゾール、水銀剤、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチル、およびプロピル p-ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサル、ベンズアルコニウムクロリド、およびベンゼトニウムクロリドを含む、多回投与容器中にパッケージされた非経口調製物に添加され得る。等張剤としては、塩化ナトリウムおよびデキストロースが挙げられる。緩衝液としては、リン酸塩およびクエン酸塩が挙げられる。抗酸化剤としては、重硫酸ナトリウムが挙げられる。局所麻酔剤としては、塩酸プロカインが挙げられる。懸濁化剤および分散剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびポリビニルピロリドンが挙げられる。乳化剤としては、ポリソルベート 80（TWEEN（登録商標）80）が挙げられる。金属イオンの封鎖剤またはキレート化剤としては、EDTA が挙げられる。薬学的担体としてはまた、水混和性ビヒクルのためのエチルアルコール、ポリエチレングリコール、およびプロピレングリコール、ならびに pH 調節のための水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸、または乳酸が挙げられる。

【0306】

抗体の非経口投与の調製物としては、注射可能な滅菌溶液、使用直前に溶媒と混合することができる、皮下注射錠剤を含む凍結乾燥粉末等の滅菌乾燥溶解性生成物、注射可能な滅菌懸濁液、使用直前に溶媒と混合することができる滅菌乾燥不溶性生成物、および滅菌エマルジョンが挙げられる。溶液は、水性であっても、非水性であってもよい。

【0307】

静脈内に投与される場合、好適な担体としては、生理食塩水またはリン酸緩衝食塩水（PBS）、ならびに増粘剤および可溶化剤、例えば、グルコース、ポリエチレングリコール、およびポリプロピレングリコール、ならびにそれらの混合物を含む溶液が挙げられる。

【0308】

本明細書に記載の薬学的組成物は、例えば、吸入による局所適用のためのエアロゾルとして配合され得る（例えば、炎症性疾患、特に喘息の治療に有用なステロイドの送達のためのエアロゾルについて記載している、米国特許第 4,044,126 号、同第 4,414,209 号、および同第 4,364,923 号を参照）。気道への投与用のこれらの製剤は、噴霧器用のエアロゾルまたは溶液の形態で、または吸入のための超微粒粉末として、

単独で、またはラクトース等の不活性担体と組み合わせることができる。かかる場合、製剤の粒子は、一実施形態では、50ミクロン未満、一実施形態では、10ミクロン未満の直径を有するであろう。

【0309】

本明細書に記載の薬学的組成物は、局在または局所適用のために、例えば、皮膚および目の中などの粘膜への局所適用のために、ゲル、クリーム、およびローションの形態で、ならびに目への適用のために、または嚢内もしくは髄腔内への適用のために配合され得る。局所投与は、経皮送達のために、また、目もしくは粘膜への投与のために、または吸入治療のためにも企図される。単独でまたは他の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせたこの抗体の点鼻薬も投与することができる。

10

【0310】

抗体を含む局所混合物は、局所および全身投与について記載されるように調製される。結果として生じる混合物は、溶液、懸濁液、エマルジョン等であり得、クリーム、ゲル、軟膏、エマルジョン、溶液、エリキシル、ローション、懸濁液、チンキ剤、ペースト、泡沫、エアロゾル、灌注、スプレー、坐薬、包帯、皮膚パッチ、または局所投与用に適した任意の他の製剤として配合され得る。

【0311】

イオン泳動および電気泳動装置を含む、経皮パッチは、当業者に周知であり、抗体を投与するために使用することができる。例えば、かかるパッチは、米国特許第6,267,983号、同第6,261,595号、同第6,256,533号、同第6,167,301号、同第6,024,975号、同第6,010,715号、同第5,985,317号、同第5,983,134号、同第5,948,433号、および同第5,860,957号に開示されている。

20

【0312】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片を含む薬学的組成物は、凍結乾燥粉末であり、これは投与のために溶液、エマルジョン、および他の混合物として再構成させることができる。それはまた、固体またはゲルとして再構成および配合してもよい。凍結乾燥粉末は、好適な溶媒中に本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片、またはその薬学的に許容される誘導体を溶解することによって調製される。いくつかの実施形態では、凍結乾燥粉末は、滅菌である。溶媒は、粉末または粉末から調製した再構成溶液の安定性または他の薬理学的要素を改善する賦形剤を含有してもよい。使用してもよい賦形剤としては、デキストロース、ソルビタール、フルクトース、コーンシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、スクロース、または他の好適な薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。溶媒はまた、緩衝液、例えば、クエン酸塩、ナトリウム、もしくはリン酸カリウムまたは当業者に既知の他のかかる緩衝液、一実施形態では、約中性pHで含有してもよい。その後溶液を滅菌濾過し、続いて当業者に既知の標準の条件下で凍結乾燥させることにより、所望の製剤が得られる。一実施形態では、結果として生じる溶液は、凍結乾燥用バイアルに分配されるであろう。各バイアルは、単回用量または多回用量の化合物を含むであろう。凍結乾燥は、適切な条件下、例えば約4℃～室温で保存することができる。この凍結乾燥粉末の注射用水による再構成は、非経口投与で使用するための製剤を提供する。再構成のために、この凍結乾燥粉末を滅菌水または他の好適な担体に添加する。この正確な量は、選択された化合物に応じて異なる。かかる量は、実験的に決定され得る。

30

40

【0313】

本明細書に記載の薬学的組成物はまた、治療される対象の身体の特定組織、受容体、または他の領域に標的化されるように配合され得る。多くのかかる標的方法は、当業者に周知である。全てのかかる標的方法は、本組成物で使用するために本明細書で企図される。標的方法の非限定例については、例えば、米国特許第6,316,652号、同第6,274,552号、同第6,271,359号、同第6,253,872号、同第6,139,865号、同第6,131,570号、同第6,120,751号、同第6,071,

50

495号、同第6,060,082号、同第6,048,736号、同第6,039,975号、同第6,004,534号、同第5,985,307号、同第5,972,366号、同第5,900,252号、同第5,840,674号、同第5,759,542号、および同第5,709,874号を参照されたい。特定の実施形態では、本明細書に記載の薬学的組成物は、腫瘍に標的される。

【0314】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される担体中に、本明細書に記載の本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、および／または抗CTLA-4／PD-1抗体と、任意に1種以上の追加の予防剤または治療剤とを含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、薬学的組成物中に含まれる唯一の活性成分である。

10

【0315】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される担体中に、有効量の、1つ以上の本明細書に記載の抗体と、任意に1種以上の追加の予防剤または治療剤とを含む。

【0316】

インビボでの投与のために使用される組成物は、滅菌であり得る。これは、例えば、滅菌濾過膜を通した濾過によって容易に達成される。

6.4 使用方法および使用

【0317】

一態様では、本開示は、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、および／または多重特異性抗体（例えば、抗CTLA-4／PD-1抗体）を使用して対象を治療する方法を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の抗CTLA-4／PD-1抗体を使用して対象を治療する方法を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、任意に同じ疾患または障害を治療するための併用療法の不在下で、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と、本明細書に記載の抗PD-1抗体とを含む治療薬の組み合わせを使用して、対象を治療する方法を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の抗CTLA-4を単剤療法として使用して、対象を治療する方法を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の抗PD-1抗体を単剤療法として使用して、対象を治療する方法を提供する。

20

【0318】

治療薬の組み合わせは、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と、本明細書に記載の抗PD-1抗体との任意の組み合わせを含み得る。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体とを含み、第1の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3ならびに第2の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、表11の一行に列挙されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体とを含み、第1の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、ならびに第2の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3はそれぞれ、配列番号20、22、24、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、32、37、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、24、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；21、22、24、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、28、31、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、34、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、35、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、29、32、37、75、

30

40

50

50

、および 85 ; 20、22、24、29、32、37、75、79、81、83、84、
および 85 ; 20、22、24、29、33、38、75、79、81、83、84、お
よび 85 ; 21、22、24、27、30、36、75、79、81、83、84、およ
び 85 ; 21、22、24、29、33、38、75、79、81、83、84、および
85 ; 20、22、24、28、31、36、75、79、81、83、84、および 8
5 ; 20、22、24、29、34、36、75、79、81、83、84、および 85
; 20、22、24、29、35、38、75、79、81、83、84、および 85 ;
21、22、26、27、30、36、75、79、81、83、84、および 85 ; 2
1、22、26、29、32、37、75、79、81、83、84、および 85 ; 21
、22、26、29、33、38、75、79、81、83、84、および 85 ; または
21、22、26、29、35、38、75、79、81、83、84、および 85 に記
載されるアミノ酸配列を含む。

【0319】

ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体と、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する第2の抗体とを含み、第1の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域、ならびに第2の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、表12の一行に列挙されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、CTLA-4（例えば、ヒト CTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体と、PD-1（例えば、ヒト PD-1）に特異的に結合する第2の抗体とを含み、第1の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域、ならびに第2の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域はそれぞれ、配列番号1、14、67、および74 ; 1、16、67、および74 ; 1、17、67、および74 ; 9、14、67、および74 ; 9、17、67、および74 ; 10、15、67、および74 ; 10、17、67、および74 ; 10、18、67、および74 ; 10、19、67、および74 ; 11、15、67、および74 ; 11、14、67、および74 ; 11、16、67、および74 ; 11、17、67、および74 ; 12、14、67、および74 ; 12、16、67、および74 ; 12、17、67、および74 ; 12、19、67、および74 ; 13、15、67、および74 ; 13、17、67、および74 ; 1、14、66、および74 ; 1、16、66、および74 ; 1、17、66、および74 ; 9、14、66、および74 ; 9、17、66、および74 ; 10、15、66、および74 ; 10、17、66、および74 ; 10、18、66、および74 ; 10、19、66、および74 ; 11、15、66、および74 ; 11、14、66、および74 ; 11、16、66、および74 ; 11、17、66、および74 ; 12、14、66、および74 ; 12、16、66、および74 ; 12、17、66、および74 ; 12、19、66、および74 ; 13、15、66、および74 ; 13、17、66、および74 ; 1、14、68、および74 ; 1、16、68、および74 ; 1、17、68、および74 ; 9、14、68、および74 ; 9、17、68、および74 ; 10、15、68、および74 ; 10、17、68、および74 ; 10、18、68、および74 ; 10、19、68、および74 ; 11、15、68、および74 ; 11、14、68、および74 ; 11、16、68、および74 ; 11、17、68、および74 ; 12、14、68、および74 ; 12、16、68、および74 ; 12、17、68、および74 ; 12、19、68、および74 ; 13、15、68、および74 ; 13、17、68、および74 ; 1、14、69、および74 ; 1、16、69、および74 ; 1、17、69、および74 ; 9、14、69、および74 ; 9、17、69、および74 ; 10、15、69、および74 ; 10、17、69、および74 ; 10、18、69、および74 ; 10、19、69、および74 ; 11、15、69、および74 ; 11、14、69、および74 ; 11、16、69、および74 ; 11、17、69、および74 ; 12、14、69、および74 ; 12、16、69、および74 ; 12、17、69、および74 ; 12、19、69、および74 ; 13、15、69、および74 ; 13、17、69、および74 ; 1、14、70、および74 ; 1、16、70、および74 ; 1、17、70、および74 ; 9、

10

20

30

40

50

14、70、および74；9、17、70、および74；10、15、70、および74；10、17、70、および74；10、18、70、および74；10、19、70、および74；11、15、70、および74；11、14、70、および74；11、16、70、および74；11、17、70、および74；12、14、70、および74；12、16、70、および74；12、17、70、および74；12、19、70、および74；13、15、70、および74；13、17、70、および74；1、14、71、および74；1、16、71、および74；1、17、71、および74；9、14、71、および74；9、17、71、および74；10、15、71、および74；10、17、71、および74；10、18、71、および74；10、19、71、および74；11、15、71、および74；11、14、71、および74；11、16、71、および74；11、17、71、および74；12、14、71、および74；12、16、71、および74；12、17、71、および74；12、19、71、および74；13、15、71、および74；13、17、71、および74；1、14、72、および74；1、16、72、および74；1、17、72、および74；9、14、72、および74；9、17、72、および74；10、15、72、および74；10、17、72、および74；10、18、72、および74；10、19、72、および74；11、15、72、および74；11、14、72、および74；11、16、72、および74；11、17、72、および74；12、14、72、および74；12、16、72、および74；12、17、72、および74；12、19、72、および74；13、15、72、および74；13、17、72、および74；1、14、73、および74；1、16、73、および74；1、17、73、および74；9、14、73、および74；9、17、73、および74；10、15、73、および74；10、17、73、および74；10、18、73、および74；10、19、73、および74；11、15、73、および74；11、14、73、および74；11、16、73、および74；11、17、73、および74；12、14、73、および74；12、16、73、および74；12、17、73、および74；12、19、73、および74；13、15、73、および74；または13、17、73、および74に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0320】

ある特定の実施形態では、本開示は、任意に同じ疾患または障害を治療するための併用療法の不在下で、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884（IgG₁））と、抗PD-1抗体（例えば、拮抗性抗PD-1抗体）とを含む治療薬の組み合わせを使用して、対象を治療する方法を提供する。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Bristol-Myers Squibbによって開発されたBMS-936558またはMDX1106としても知られる、ニボルマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ラムプロリズマブまたはMerck & Co.によって開発されたMK3475としても知られる、ペムプロリズマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、CureTechによって開発されたCT-011としても知られる、ピジリズマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Medimmuneによって開発されたAMP-514としても知られる、MED10680である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Novartis Pharmaceuticalsによって開発されたPDR001である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Regeneron Pharmaceuticalsによって開発されたREGN2810である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Pfizerによって開発されたPF-06801591である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、BeiGeneによって開発されたBGB-A317である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、AnaptysBioおよびTesarcoによって開発されたTSR-042である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Hengruiによって開発されたSHR-1210である。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4は、AGEN1884（IgG₁）であり、抗PD-1抗体は、ペムプロリズマブである。

10

20

30

40

50

【0321】

本明細書に記載の治療方法に使用され得る抗PD-1抗体のさらなる非限定例は、あらゆる目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、以下の特許および特許出願に開示されている。米国特許第6,808,710号、米国特許第7,332,582号、米国特許第7,488,802号、米国特許第8,008,449号、米国特許第8,114,845号、米国特許第8,168,757号、米国特許第8,354,509号、米国特許第8,686,119号、米国特許第8,735,553号、米国特許第8,747,847号、米国特許第8,779,105号、米国特許第8,927,697号、米国特許第8,993,731号、米国特許第9,102,727号、米国特許第9,205,148号、米国公開第US2013/0202623A1号、米国公開第US2013/0291136A1号、米国公開第US2014/0044738A1号、米国公開第US2014/0356363A1号、米国公開第US2016/0075783A1号、およびPCT公開第WO2013/033091A1号、PCT公開第WO2015/036394A1号、PCT公開第WO2014/179664A2号、PCT公開第WO2014/209804A1号、PCT公開第WO2014/206107A1号、PCT公開第WO2015/058573A1号、PCT公開第WO2015/085847A1号、PCT公開第WO2015/200119A1号、PCT公開第WO2016/015685A1号、およびPCT公開第WO2016/020856A1号。

10

【0322】

ある特定の実施形態では、本開示は、任意に同じ疾患または障害を治療するための併用療法の不在下で、本明細書に記載の抗PD-1抗体（例えば、AGEN2034（IgG4S228P））と、抗CTLA-4抗体（例えば、拮抗性抗CTLA-4抗体）とを含む治療薬の組み合わせを使用して、対象を治療する方法を提供する。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、イピリムマブである。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、トレメリムマブである。

20

【0323】

CTLA-4および／またはPD-1機能の阻害から利益を享受する対象における任意の疾患または障害は、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物を使用して治療され得る。本明細書に記載の抗体または治療薬の組み合わせまたは薬学的組成物は、腫瘍に対する免疫系の耐性を阻害するために特に有用であり、したがって、癌を有する対象のための免疫療法として使用することができる。例えば、ある特定の実施形態では、本開示は、対象における抗原に応答してT細胞活性化を増加させる方法を提供し、該方法は、有効量の、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物を対象に投与することを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、対象における癌を治療する方法を提供し、該方法は、有効量の、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物を対象に投与することを含む。

30

【0324】

本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物で治療され得る癌としては、制限なしに、固形癌（例えば、再発性または不応性固形癌、および進行性または転移性固形癌）、癌腫、肉腫、黒色腫（例えば、ステージIIIまたはステージIV黒色腫）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、尿路上皮癌、卵巣癌、前立腺癌（例えば、転移性ホルモン不応性前立腺癌および進行性転移性前立腺癌）、膀胱癌、乳癌（例えば、HER2+乳癌（例えば、再発性／不応性HER2+乳癌））、頭頸部癌（例えば、再発性／不応性頭頸部扁平上皮細胞癌（HNSCC））、神経膠腫、悪性神経膠腫、多形性膠芽腫、脳転移、メルケル癌、胃癌、胃食道癌、腎細胞癌、ぶどう膜黒色腫、結腸癌、子宮頸癌、リンパ腫（例えば、再発性または不応性リンパ腫）、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、白血病、および多発性骨髄腫が挙げられる。ある特定の実施形態では、癌は、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物の腫瘍内投与で治療される。本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物の腫瘍内投与で治療され得

40

50

る癌としては、制限なしに、固形腫瘍（例えば、進行性または転移性固形腫瘍）、頭頸部癌（例えば、再発性／不応性頭頸部扁平上皮細胞癌（HNSCC））、および乳癌（例えば、HER2＋乳癌（例えば、再発性／不応性HER2＋乳癌））が挙げられる。

【0325】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）である。ある特定の実施形態では、癌は、転移性または局所的に進行した腫瘍の診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療される。ある特定の実施形態では、癌は、異なる癌療法による腫瘍の以前の治療にもかかわらず発生した腫瘍進行の診断後（例えば、腫瘍進行の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療され、任意に、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、癌は、異なる癌療法の毒性の診断後（例えば、異なる癌療法の毒性の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療され、任意に、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、どの標準治療も使用可能でない、転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）である。他の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、標準治療が失敗した（すなわち、標準治療後に癌が進行した）、転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）である。ある特定の実施形態では、治療法は、癌がその治療法に不応性である場合に失敗する。ある特定の実施形態では、治療法は、癌がその治療法に対して完全にまたは部分的に応答した後に再発する場合に失敗する。ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）は、組織学的または細胞学的に確認されている。

【0326】

ある特定の実施形態では、癌は、固形腫瘍である。ある特定の実施形態では、癌（例えば、固形腫瘍）は、PD-L1を発現する。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な発現（例えば、部分または完全発現）を呈する癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも5%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも25%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも50%である。PD-L1の発現（例えば、膜発現）は、免疫組織化学を含むがこれに限定されない、当該技術分野で周知の任意の方法によって検出され得る。腫瘍細胞中のPD-L1発現を測定するための例示的な免疫組織化学アッセイは、Hirsch et al. (2017, J. Thoracic Oncol. 12 (2) : 20

8-222)、Rimm et al. (2017, JAMA Oncol. 3 (8) : 1051-1058)、およびDiggs and Hsueh (2017, Biomarker Res. 5 : 12) に提供されており、これらは参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0327】

ある特定の実施形態では、転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）は、PD-L1を発現する。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な発現（例えば、部分または完全発現）を呈する転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも5%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも25%である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈する転移性または局所的に進行した癌（例えば、固形腫瘍）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも50%である。PD-L1の発現（例えば、膜発現）は、免疫組織化学を含むがこれに限定されない、当該技術分野で周知の任意の方法によって検出され得る。腫瘍細胞中のPD-L1発現を測定するための例示的な免疫組織化学アッセイは、Hirsch et al. (2017, J. Thoracic Oncol. 12 (2) : 208-222)、Rimm et al. (2017, JAMA Oncol. 3 (8) : 1051-1058)、およびDiggs and Hsueh (2017, Biomarker Res. 5 : 12) に提供されており、これらは参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0328】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、転移性または局所的に進行した非小細胞肺癌（NSCLC）である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLCである。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、ステージIV NSCLCである。ある特定の実施形態では、方法は、(a) 本明細書に記載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884 (IgG1)）またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、(b) 本明細書に記載の抗PD-1抗体（例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)）またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、対象を治療することを含む。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、AGEN1884 (IgG1) であり、抗PD-1抗体は、AGEN2034 (IgG4 S228P) である。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、AGEN1884 (IgG1) であり、抗PD-1抗体は、ペムブロリズマブである。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な発現（例えば、部分または完全発現）を呈するNSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）の試料中の腫瘍細胞のパーセ

10

20

30

40

50

ンテージは、少なくとも1%（例えば、少なくとも2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%）である。ある特定の実施形態では、PD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%である。ある特定の実施形態ではPD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%である。ある特定の実施形態ではPD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも5%である。ある特定の実施形態ではPD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも25%である。ある特定の実施形態ではPD-L1の検出可能な膜発現（例えば、部分または完全膜発現）を呈するNSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）の試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも50%である。ある特定の実施形態では、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）は、EGFRまたはALKゲノム腫瘍異常を有しない。ある特定の実施形態では、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）は、EGFR増感変異（例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ、もしくはアファタニブを含むチロシンキナーゼ阻害剤での治療に耐えられる変異）またはALK転位を有しない。ある特定の実施形態では、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）を有する対象は、NSCLCに対する以前の全身性化学療法治療を受けていない。ある特定の実施形態では、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）は、NSCLCの診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療される。ある特定の実施形態では、方法は、（a）本明細書に記載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884（IgG₁））またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、（b）本明細書に記載の抗PD-1抗体（例えば、AGEN2034（IgG₄ S228P））またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）を有する対象を治療することを含み、PD-L1の検出可能な発現（例えば、膜発現、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%であり、該方法は、NSCLCの診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、方法は、（a）本明細書に記載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884（IgG₁））またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、（b）ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、NSCLC（例えば、ステージIVの転移性または局所的に進行したNSCLC）を有する対象を治療することを含み、PD-L1の検出可能な発現（例えば、膜発現、部分または完全膜発現）を呈するNSCLCの試料中の腫瘍細胞のパーセンテージは、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、または90%であり、該方法は、NSCLCの診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは

10

20

30

40

50

は6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として提供される。

【0329】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、子宮頸癌である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、転移性または局所的に進行した切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、切除不能なまたは転移性の子宮頸癌である。ある特定の実施形態では、子宮頸癌は、標準治療後に進行した（例えば、標準治療後に再発した、または標準治療に不応性である）。ある特定の実施形態では、標準治療は、白金含有化学療法を含む。ある特定の実施形態では、白金含有化学療法は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、サトラプラチン、ピコプラチン、トリプラチン、フェナントリプラチン、イプロプラチン、ロバパチン、ヘプタプラチン、リポプラチン、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、標準治療は、第2の化学療法をさらに含む。ある特定の実施形態では、第2の化学療法は、ヌクレオチド類似体（例えば、ゲムシタビン）、葉酸抗代謝物（例えば、ペメトレキセド）、タキサン（例えば、パクリタキセル）からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、標準治療は、当該技術分野で既知の任意の白金系ダブルット化学療法（PT-DC）（白金含有ダブルットとしても知られる）である。ある特定の実施形態では、PT-DCは、シスプラチンおよびゲムシタビン、シスプラチンおよびペメトレキセド、シスプラチンおよびパクリタキセル、カルボプラチンおよびパクリタキセル、またはシスプラチンおよびトポテカンを含む。標準治療（例えば、PT-DCを含むもの）は、任意に、ベバシズマブなどの1つ以上の追加の治療法をさらに含む。ある特定の実施形態では、標準治療は、パクリタキセルおよびトポテカンを含む。ある特定の実施形態では、子宮頸癌は、HPV陽性である。ある特定の実施形態では、子宮頸癌は、マイクロサテライト不安定性と関連付けられる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、進行した（再発、切除不能な、もしくは転移性）疾患の治療のために投与された白金含有ダブルット後に再発した転移性または局所的に進行した、切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌である。ある特定の実施形態では、子宮頸癌は、子宮頸癌の診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療される。ある特定の実施形態では、子宮頸癌は、異なる癌療法による子宮頸癌の以前の治療にもかかわらず発生した腫瘍進行の診断後（例えば、腫瘍進行の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療され、任意に、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、子宮頸癌は、異なる癌療法の毒性の診断後（例えば、異なる癌療法の毒性の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療され、任意に、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、方法は、（a）本明細書に記載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884（IgG₁））またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、（b）本明細書に記載の抗PD-1抗体（例えば、AGEN2034（IgG₄ S228P））またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、子宮頸癌（例えば、転移性または局所的に進行した、切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌）を有する対象を治療することを含み、該方法は、子宮頸癌の診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、方法は、（a）本明細書に記

10

20

30

40

50

載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884（IgG1））またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、（b）本明細書に記載の抗PD-1抗体（例えば、AGEN2034（IgG4 S228P））またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、子宮頸癌（例えば、転移性または局所的に進行した、切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌）を有する対象を治療することを含み、該方法は、異なる癌療法での子宮頸癌の以前の治療にもかかわらず発生した腫瘍進行の診断後（例えば、腫瘍進行の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に提供されるか、または異なる癌療法の毒性の診断後（例えば、異なる癌療法の毒性の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に提供され、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、方法は、（a）本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884（IgG1）またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、（b）ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、子宮頸癌（例えば、転移性または局所的に進行した、切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌）を有する対象を治療することを含み、該方法は、子宮頸癌の診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、方法は、（a）本明細書に記載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884（IgG1））またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、（b）ペムブロリズマブまたはペムブロリズマブを含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、子宮頸癌（例えば、転移性または局所的に進行した、切除不能な扁平上皮細胞癌、腺扁平上皮癌、または子宮頸部の腺癌）を有する対象を治療することを含み、該方法は、異なる癌療法での子宮頸癌の以前の治療にもかかわらず発生した腫瘍進行の診断後腫瘍進行の診断後（例えば、腫瘍進行の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に提供されるか、または異なる癌療法の毒性の診断後（例えば、異なる癌療法の毒性の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に提供され、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。

【0330】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、皮膚扁平上皮細胞癌（cSCC）である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、ステージIVの皮膚扁平上皮細胞癌（cSCC）である。ある特定の実施形態では、cSCC（例えば、ステージIV cSCC）は、放射線療法で治療可能でない。ある特定の実施形態では、ステージIV cSCCは、米国癌合同委員会ステージングマニュアルの第8版（AJCC-8）に従って組織学的または細胞学的に診断される。ある特定の実施形態では、方法は、（a）本明細書に記載の抗CTLA-4抗体（例えば、AGEN1884（IgG1））またはかかる抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物と、（b）本明細書に記載の抗PD-1抗体（例えば、AGEN2034（IgG4 S228P））またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物とを含む治療薬の組み合わせを使用して、対象を治療することを含む。ある特定の実施形態では、方法は、本明細書に記載の抗PD-1抗体（例えば、AGEN2034（IgG4 S228P））またはかかる抗PD-1抗体を含む薬学的組成物を単剤療法として使用して、対象を治療することを含む。ある特定の実施形態では、cSCC（例えば、ステージIV cSCC）は、cSCC（例えば、ステージIV cSCC）の診断後（例えば、診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に

10

20

30

40

50

従って治療される。ある特定の実施形態では、c S C C（例えば、ステージ I V c S C C）は、異なる癌療法によるc S C C（例えば、ステージ I V c S C C）の以前の治療にもかかわらず発生した腫瘍進行の診断後（例えば、腫瘍進行の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療され、任意に、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、c S C C（例えば、ステージ I V c S C C）は、異なる癌療法の毒性の診断後（例えば、異なる癌療法の毒性の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に、第1の癌療法として、本明細書に記載の方法に従って治療され、任意に、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。ある特定の実施形態では、方法は、本明細書に記載の抗 P D - 1 抗体（例えば、A G E N 2 0 3 4（I g G 4 S 2 2 8 P））またはかかる抗 P D - 1 抗体を含む薬学的組成物を単剤療法として使用して、c S C C（例えば、ステージ I V c S C C）を有する対象を治療することを含み、該方法は、異なる癌療法での子宮頸癌の以前の治療にもかかわらず発生した腫瘍進行の診断後（例えば、腫瘍進行の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に提供されるか、または異なる癌療法の毒性の診断後（例えば、異なる癌療法の毒性の診断後1、2、3、4、5、もしくは6日；1、2、3、4、6、8、もしくは12週間；または1、2、3、4、6、8、もしくは12ヶ月以内）に提供され、本明細書に記載の方法は、投与される第2の癌療法として提供される。

【0331】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、B細胞リンパ腫（例えば、B細胞慢性リンパ球性白血病、B細胞非ホジキンリンパ腫、皮膚B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫）、基底細胞癌、膀胱癌、芽細胞腫、脳転移、乳癌、バーキットリンパ腫、癌腫（例えば、（例えば、胃食道接合部の）腺癌）、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌（結腸癌および直腸癌）、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング肉腫、濾胞性リンパ腫、胃癌、胃食道接合部の癌腫、消化管癌、膠芽腫（例えば、多形性膠芽腫、例えば、新たに診断されたか、または再発性のもの）、膠腫、頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮細胞癌）、肝転移、ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫、腎臓癌（例えば、腎細胞癌およびウィルムス腫瘍）、喉頭癌、白血病（例えば、慢性骨髄球性白血病、有毛細胞性白血病）、肝癌（例えば、肝癌および肝臓癌）、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および小細胞肺癌）、リンパ芽球性リンパ腫、リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、転移性脳腫瘍、転移性癌、骨髄腫（例えば、多発性骨髄腫）、神経芽細胞腫、眼黒色腫、口腔咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌（例えば、膵管腺癌）、前立腺癌（例えば、ホルモン抵抗性（例えば、去勢抵抗性）、転移性、転移性ホルモン抵抗性（例えば、去勢抵抗性、アンドロゲン非依存性））、腎細胞癌（例えば、転移性）、唾液腺癌、肉腫（例えば、横紋筋肉腫）、皮膚癌（例えば、黒色腫（例えば、転移性黒色腫））、軟部組織肉腫、固形腫瘍、扁平上皮細胞癌、滑膜肉腫、睾丸癌、甲状腺癌、移行細胞癌（尿路上皮細胞癌）、ブドウ膜黒色腫（例えば、転移性）、疣状癌、外陰癌、およびヴァルデンストレームマクログロブリン血症である。

【0332】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、ヒト肉腫もしくは癌腫、例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原生肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮細胞肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髓様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌（例えば、転移性）、肝細胞腫、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、多形性膠芽腫、星状細胞腫、膠芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、

聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、神経芽腫、または網膜芽腫である。

【0333】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、急性リンパ球性白血病または急性骨髄球性白血病（例えば、骨髄芽球性、前骨髄球性、骨髄単球性、単球性、および赤白血病）、慢性白血病（慢性骨髄球性（顆粒球性）白血病または慢性リンパ球性白血病）、ホジキン病、非ホジキン病、急性骨髄性白血病、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、眼内リンパ腫、濾胞性リンパ腫、小腸リンパ腫、または脾臓辺縁帯リンパ腫である。

【0334】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、重鎖病、消化管間質腫瘍、頭および／または頸部癌（例えば、下咽頭の扁平上皮細胞癌、喉頭の扁平上皮細胞癌、中喉頭の細胞癌、または喉頭の疣状癌）、子宮内膜間質肉腫、マスト細胞肉腫、成人軟部肉腫、子宮肉腫、メルケル細胞癌、尿路上皮癌、脳転移を伴う黒色腫、ブドウ膜黒色腫、肝臓転移を伴うブドウ膜黒色腫、非小細胞肺癌、直腸癌、または骨髄異形成症候群である。いくつかの実施形態では、本方法に従って治療される癌は、転移性である。

【0335】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、前立腺癌、乳癌、肺癌、結腸直腸癌、黒色腫、気管支癌、膀胱癌、脳もしくは中枢神経系癌、末梢神経系癌、子宮または子宮内膜癌、口腔もしくは咽頭の癌、非ホジキンリンパ腫、甲状腺癌、腎臓癌、胆道癌、小腸もしくは虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、扁平上皮細胞癌、中皮腫、骨癌、胸腺腫／胸腺癌、膠芽腫、膠芽腫、骨髄異形成症候群、軟部組織肉腫、DIPG、腺癌、骨肉腫、軟骨肉腫、白血病、または脾臓癌である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、癌腫（例えば、腺癌）、リンパ腫、芽細胞腫、黒色腫、肉腫、または白血病を含む。

【0336】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、消化管癌、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、膠芽腫、膠腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌（例えば、肝癌および肝臓癌）、膀胱癌、乳癌、炎症性乳癌、メルケル細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、膀胱癌、子宮内膜癌、骨髄腫（例えば、多発性骨髄腫）、唾液腺、癌腫、腎臓癌（例えば、腎細胞癌およびウィルムス腫瘍）、基底細胞癌、黒色腫、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、睾丸癌、食道癌、漿液性腺癌、または様々な種類の頭頸部癌である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、線維形成性黒色腫、炎症性乳癌、胸腺腫、直腸癌、肛門癌、または外科的に治療可能もしくは外科的に治療不可能な脳幹膠腫を含む。特定の実施形態では、癌は、固形腫瘍である。別の特定の実施形態では、癌は、多形性膠芽腫である。いくつかの実施形態では、多形性膠芽腫は、再発性である。いくつかの実施形態では、多形性膠芽腫は、新たに診断される。いくつかの実施形態では、多形性膠芽腫は、非メチル化MGMTプロモータを有する対象における多形性膠芽腫である。いくつかの実施形態では、多形性膠芽腫は、ベバシズマブ療法に不応性である。いくつかの実施形態では、多形性膠芽腫は、ベバシズマブ療法を受けていない対象における多形性膠芽腫である。

【0337】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、転移性黒色腫（例えば、耐性転移性黒色腫）、転移性卵巣癌、または転移性腎細胞癌である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、イピリムマブに耐性を示す黒色腫である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、ニボルマブまたはペムブロリズマブに耐性を示す黒色腫である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、イピリムマブおよびニボルマブまたはペムブロリズマブに耐性を示す黒色腫である。

【0338】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、乳癌（例えば、ハーセプチン耐性乳癌およびトラスツズマブ-DM1（T-DM1）耐性乳癌）、前立腺癌、多形性膠芽腫、結腸直腸癌、肉腫、前立腺癌、子宮頸癌、HPV関連癌、膣の癌、外陰の癌、陰茎の癌、肛門の癌、直腸の癌、中咽頭の癌、多発性骨髄腫、腎細胞癌、卵巣癌、肝細胞癌、子宮内膜癌、膵臓癌、リンパ腫、および白血病（例えば、老人性白血病、急性骨髄性白血病（AML）、および老人性AML）である。

【0339】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法に従って治療される癌は、転移性悪性黒色腫（例えば、皮膚もしくは眼内悪性黒色腫）、腎臓癌（例えば、明細胞癌）、前立腺癌（例えば、ホルモン抵抗性前立腺癌）、乳癌、結腸癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌）、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部の癌、子宮癌、卵巣癌、直腸癌、肛門領域の癌、胃癌、精巣癌、子宮癌、卵管の癌、子宮内膜の癌、子宮頸部の癌、膣の癌、外陰の癌、食道の癌、小腸の癌、内分泌系の癌、甲状腺の癌、副甲状腺の癌、副腎の癌、軟組織の肉腫、尿道の癌、陰茎の癌、急性骨髄性白血病を含む慢性または急性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ性白血病、小児の固形腫瘍、リンパ球性リンパ腫、膀胱の癌、腎臓または尿管の癌、腎盂の癌、中枢神経系（CNS）の新生物、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊椎軸腫瘍、脳幹グリオーマ、グリオーマ、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮細胞癌、T細胞リンパ腫、アスベストによって誘発されるものを含む、環境性誘発癌、食道癌、肝臓癌、不応性または再発性悪性腫瘍、転移性癌、PD-L1を発現する癌、ならびに前述の癌の組み合わせである。

【0340】

ある特定の実施形態では、対象は、以前に免疫療法を受けている。ある特定の実施形態では、対象は、以前にいかなる免疫療法も受けていない。ある特定の実施形態では、癌は、進行性または転移性癌である。

【0341】

ある特定の実施形態では、本開示は、対象における感染性疾患を予防または治療する方法を提供し、該方法は、有効量の、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物を対象に投与することを含む。一実施形態では、感染症（例えば、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、原虫感染症、または寄生虫感染症）を予防および／または治療するための方法が本明細書に提供される。本方法に従って予防および／または治療された感染症は、本明細書に特定された感染性因子によって引き起こされ得る。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、対象に投与される唯一の活性剤である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、感染性疾患の治療のための抗感染性介入（例えば、抗ウイルス薬、抗菌薬、抗真菌薬、または抗駆虫薬）と組み合わせて使用される。

【0342】

本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物によって治療および／または予防され得る感染症は、細菌、寄生虫、真菌、原虫、およびウイルスが挙げられるが、これらに限定されない、感染性因子によって引き起こされる。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物によって治療および／または予防される感染性疾患は、ウイルスによって引き起こされる。本明細書に記載の方法に従って予防および／または治療され得るウイルス疾患またはウイルス感染としては、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、インフルエンザ（例えば、A型インフルエンザまたはB型インフルエンザ）、水痘、アデノウイルス、単純ヘルペスI型（HSV-I）、単純ヘルペスII型（HSV-II）、牛痘、ライノウイルス、エコーウイルス、ロタウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、パピローマウイルス、パポバウイルス、サイトメガロウイルス、エキノウイルス（echinovirus）、アルボウイルス、ハンタウイルス、コクサッキーウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ポリオウイルス、痘瘡、エプスタイン・バーウイルス、ヒト免疫不全ウイルスI型（HIV-I）、ヒト免疫不全ウイルスII型（HIV-II）によって引き起こされるもの、およびウイルス性

髄膜炎、脳炎、デング熱、または痘瘡等のウイルス疾患の病原因子が挙げられるが、これらに限定されない。

【0343】

予防および／または治療され得る細菌感染症としては、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Staphylococcus aureus*、*Enterococcus faecalis*、*Proteus vulgaris*、*Staphylococcus viridans*、および*Pseudomonas aeruginosa*によって引き起こされる感染症が挙げられる。本明細書に記載の方法に従って予防および／または治療され得る細菌（例えば、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Staphylococcus aureus*、*Enterococcus faecalis*、*Proteus vulgaris*、*Staphylococcus viridans*、および*Pseudomonas aeruginosa*）によって引き起こされる細菌性疾患としては、マイコバクテリアリケッチア、マイコプラズマ、ナイセリア、肺炎連鎖球菌性肺炎、ボレリアーブルグドルフェリ（ライム病）、炭疽菌（炭疽病）、破傷風、連鎖球菌属、ブドウ球菌属、マイコバクテリウム属、百日咳、コレラ、疫病、ジフテリア、クラミジア属、黄色ブドウ球菌、およびレジオネラ菌が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0344】

本明細書に記載の方法に従って予防および／または治療され得る原虫によって引き起こされる原虫疾患または原虫感染症としては、リーシュマニア、コクシジウム症、トリパノソーマ住血吸虫属、またはマラリアが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載の方法に従って予防および／または治療され得る寄生虫によって引き起こされる寄生虫疾患または寄生虫感染症としては、クラミジア感染症およびリケッチアが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0345】

本明細書に記載の方法に従って予防および／または治療され得る真菌性疾患または真菌感染症としては、カンジダ感染症、接合菌症、カンジダ性髄膜炎、潜在性トリコスポロン血症を伴う進行性播種性トリコスポロン症、播種性カンジダ症、肺パラコクシジオイデス症、肺アスペルギルス症、ニューモシスチスカリニ肺炎、クリプトコッカス髄膜炎、コクシジオイデス髄膜脳炎、および脳脊髄脈管炎、アスペルギルスニガー感染症、フザリウム角膜炎、副鼻腔ミコース、アスペルギルス・フミガーツス心内膜炎、脛骨の軟骨發育不全症、カンジダグラブラタ膺炎、口腔咽頭カンジダ症、X連鎖慢性肉芽腫性疾患、足白癬、皮膚カンジダ症、真菌性胎盤炎、播種性トリコスポロン症、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、真菌性角膜炎、クリプトコックス・ネオフォルマンズ感染症、真菌性腹膜炎、クルブラリアゲニクラータ感染症、ブドウ球菌性眼内炎、スポロトリウム症、および皮膚糸状菌症が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0346】

ある特定の実施形態では、感染性疾患は、急性である。ある特定の実施形態では、感染性疾患は、慢性である。ある特定の実施形態では、感染性疾患は、フラビウイルス、例えば、西ナイルウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ポワッサンウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、デングウイルス、ジカウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、黄熱病ウイルス、およびチクングニアウイルスによって引き起こされる。ある特定の実施形態では、感染性疾患は、エボラウイルスによって引き起こされる。ある特定の実施形態では、感染性疾患は、インフルエンザウイルスによって引き起こされる。ある特定の実施形態では、感染性疾患は、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、B型肝炎ウイルス（HBV）、またはC型肝炎ウイルス（HCV）によって引き起こされる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、ウイルス制御を促進する。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、ウイルスリザーバを排除する。

40

【0347】

50

ある特定の実施形態では、これらの方法は、追加の治療剤を対象に投与することをさらに含む。ある特定の実施形態では、追加の治療剤は、化学療法剤、放射線療法剤、またはチェックポイント標的化剤である。ある特定の実施形態では、化学療法剤は、低メチル化剤（例えば、アザシチジン）である。ある特定の実施形態では、チェックポイント標的化剤は、アンタゴニスト抗CTLA-4抗体、アンタゴニスト抗PD-L1抗体、アンタゴニスト抗PD-L2抗体、アンタゴニスト抗PD-1抗体、アンタゴニスト抗TIM-3抗体、アンタゴニスト抗LAG-3抗体、アンタゴニスト抗CEACAM1、アゴニスト抗GITR抗体、およびアゴニスト抗OX40抗体からなる群から選択される。

【0348】

ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、本明細書に記載の方法で使用される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Bristol-Myers Squibbによって開発されたBMS-936558またはMDX1106としても知られる、ニボルマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ラムプロリズマブまたはMerck & Co.によって開発されたMK3475としても知られる、ペムプロリズマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、CureTechによって開発されたCT-011としても知られる、ピジリズマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Medimmuneによって開発されたAMP-514としても知られる、MED10680である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Novartis Pharmaceuticalsによって開発されたPDR001である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Regeneron Pharmaceuticalsによって開発されたREGN2810である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Pfizerによって開発されたPF-06801591である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、BeiGeneによって開発されたBGB-A317である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、AnaptysBioおよびTesarroによって開発されたTSR-042である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Hengruiによって開発されたSHR-1210である。

【0349】

本明細書に記載の治療方法に使用され得る抗PD-1抗体のさらなる非限定例は、あらゆる目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、以下の特許および特許出願に開示されている。米国特許第6,808,710号、米国特許第7,332,582号、米国特許第7,488,802号、米国特許第8,008,449号、米国特許第8,114,845号、米国特許第8,168,757号、米国特許第8,354,509号、米国特許第8,686,119号、米国特許第8,735,553号、米国特許第8,747,847号、米国特許第8,779,105号、米国特許第8,927,697号、米国特許第8,993,731号、米国特許第9,102,727号、米国特許第9,205,148号、米国公開第US2013/0202623A1号、米国公開第US2013/0291136A1号、米国公開第US2014/0044738A1号、米国公開第US2014/0356363A1号、米国公開第US2016/0075783A1号、およびPCT公開第WO2013/033091A1号、PCT公開第WO2015/036394A1号、PCT公開第WO2014/179664A2号、PCT公開第WO2014/209804A1号、PCT公開第WO2014/206107A1号、PCT公開第WO2015/058573A1号、PCT公開第WO2015/085847A1号、PCT公開第WO2015/200119A1号、PCT公開第WO2016/015685A1号、およびPCT公開第WO2016/020856A1号。

【0350】

ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、本明細書に記載の方法で使用される。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、Genentechによって開発されたアテゾリズマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、AstraZeneca、Celgene、およびMedimmuneによって開発されたデュルバルマブ

10

20

30

40

50

である。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、Merck SeronoおよびPfizerによって開発されたMSB0010718Cとしても知られるアベルマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、Bristol-Myers Squibbによって開発されたMDX-1105である。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、AmplimmuneおよびGSKによって開発されたAMP-224である。

【0351】

本明細書に記載の治療方法に使用され得る抗PD-L1抗体の非限定例は、あらゆる目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、以下の特許および特許出願に開示されている。米国特許第7,943,743号、米国特許第8,168,179号、米国特許第8,217,149号、米国特許第8,552,154号、米国特許第8,779,108号、米国特許第8,981,063号、米国特許第9,175,082号、米国公開第US2010/0203056A1号、米国公開第US2003/0232323A1号、米国公開第US2013/0323249A1号、米国公開第US2014/0341917A1号、米国公開第US2014/0044738A1号、米国公開第US2015/0203580A1号、米国公開第US2015/0225483A1号、米国公開第US2015/0346208A1号、米国公開第US2015/0355184A1号、ならびにPCT公開第WO2014/100079A1号、PCT公開第WO2014/022758A1号、PCT公開第WO2014/055897A2号、PCT公開第WO2015/061668A1号、PCT公開第WO2015/109124A1号、PCT公開第WO2015/195163A1号、PCT公開第WO2016/000619A1号、およびPCT公開第WO2016/030350A1号。

【0352】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、IDO（インドールアミン-（2,3）-ジオキシゲナーゼ）および／またはTDO（トリプトファン2,3-ジオキシゲナーゼ）などの免疫調節酵素（複数可）を標的とする化合物と組み合わせて対象に投与される。ある特定の実施形態では、かかる化合物は、epacadostat（Incyte Corp、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるWO2010/005958を参照）、F001287（Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb）、indoximod（NewLink Genetics）、およびNLG919（NewLink Genetics）からなる群から選択される。一実施形態では、この化合物は、epacadostatである。別の実施形態では、この化合物は、F001287である。別の実施形態では、この化合物は、indoximodである。別の実施形態では、この化合物は、NLG919である。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、癌を治療するためのIDO阻害剤と組み合わせて対象に投与される。癌治療における使用のための本明細書に記載のIDO阻害剤は、錠剤、丸剤、またはカプセル剤などの薬学的組成物の固体剤形で存在し、この薬学的組成物は、IDO阻害剤および薬学的に許容される賦形剤を含む。したがって、本明細書に記載の抗体および本明細書に記載のIDO阻害剤は、別個に、順次に、または別個の剤形として同時に投与され得る。一実施形態では、抗体は、非経口投与され、IDO阻害剤は、経口投与される。特定の実施形態では、阻害剤は、epacadostat（Incyte Corporation）、F001287（Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb）、indoximod（NewLink Genetics）、およびNLG919（NewLink Genetics）からなる群から選択される。Epacadostatは、全ての目的のために参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、PCT公開第WO2010/005958号に記載されている。一実施形態では、この阻害剤は、epacadostatである。別の実施形態では、この阻害剤は、F001287である。別の実施形態では、この阻害剤は、indoximodである。別の実施形態では、この阻害剤は、NLG919である。

【0353】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、ワクチンと組み合わせて対象に投与される。ある特定の実施形態では、ワクチンは、熱ショックタンパク質系腫瘍ワクチンまたは熱ショックタンパク質系病原体ワクチンである。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、熱ショックタンパク質系腫瘍ワクチンと組み合わせて対象に投与される。熱ショックタンパク質（HSP）は、全ての種にわたって遍在的に見出される高度に保存されたタンパク質のファミリーである。それらの発現は、熱ショック、または毒素への曝露、酸化的ストレス、もしくはグルコース除去を含む、他のストレス形態の結果としてさらにより高いレベルまで強力に誘導され得る。5つのファミリー：HSP-110、-90、-70、-60、および-28が、分子量に従って分類されている。HSPは、T細胞の活性化をもたらす、マクロファージおよび樹状細胞（DC）などの抗原提示細胞（APC）中の交差提示経路を通して、免疫原性ペプチドを送達する。HSPは、腫瘍特異的な免疫力を誘導することが可能な複合体を形成する腫瘍関連抗原ペプチドのシャペロン担体としての機能を果たす。瀕死の状態である腫瘍細胞からの放出時、HSP抗原複合体は、抗原が抗腫瘍CD8+およびCD4+T細胞の活性化をもたらすMHCクラスIおよびクラスII分子に結合するペプチドへと処理される、抗原提示細胞（APC）によって取り込まれる。腫瘍調製物に由来のHSP複合体によって誘発される免疫力は、各対象の癌によって発現される独自の抗原ペプチドレパートリーに対して特異的に誘導される。

【0354】

熱ショックタンパク質ペプチド複合体（HSPPC）は、抗原ペプチドと非共有結合的に複合体形成された熱ショックタンパク質からなるタンパク質ペプチド複合体である。HSPPCは、先天性免疫応答および適応性免疫応答の両方を誘発する。特定の実施形態では、抗原ペプチド（複数可）は、治療される癌に対して抗原性を示す。HSPPCは、膜受容体（主にCD91）を介するAPCによってまたはToll様受容体への結合によって効率よく獲得される。HSPPCの内在性は、ナチュラルキラー細胞（NK）、単球、ならびにTh1およびTh2媒介性免疫応答の活性化を引き起こすケモカインおよびサイトカイン産生によるAPCの機能的成熟をもたらす。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法で使用されるHSPPCは、抗原ペプチドと複合体形成されたストレスタンパク質のhsp60、hsp70、またはhsp90ファミリーからの1つ以上の熱ショックタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、HSPPCは、hsc70、hsp70、hsp90、hsp110、grp170、gp96、カルレティキュリン、またはその2つ以上の組み合わせを含む。

【0355】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、癌を治療するために、熱ショックタンパク質ペプチド複合体（HSPPC）、例えば、熱ショックタンパク質ペプチド複合体-96（HSPPC-96）と組み合わせて対象に投与される。HSPPC-96は、抗原ペプチドと複合体形成された96kDa熱ショックタンパク質（Hsp）、gp96を含む。HSPPC-96は、対象の腫瘍から製造された癌免疫療法であり、癌の抗原的「フィンガープリント」を含有する。ある特定の実施形態では、このフィンガープリントは、その特定の対象の特異的癌細胞にのみ存在する独自の抗原を含有し、ワクチンの注射は、特異的フィンガープリントを有するあらゆる細胞を認識し、攻撃するために、対象の免疫系を刺激するよう意図されている。

【0356】

ある特定の実施形態では、HSPPC、例えば、HSPPC-96は、対象の腫瘍組織から産生される。特定の実施形態では、HSPPC（例えば、HSPPC-96）は、治療される癌の種類の腫瘍またはその転移から産生される。別の特定の実施形態では、HSPPC（例えば、HSPPC-96）は、治療される対象に対して自家性である。ある特定の実施形態では、腫瘍組織は、非壊死腫瘍組織である。ある特定の実施形態では、少なくとも1グラム（例えば、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少

なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、または少なくとも10グラム)の非壊死腫瘍組織が、ワクチンレジメンを産生するために使用される。ある特定の実施形態では、外科的切除後、非壊死腫瘍組織は、ワクチン調製物で使用する前に冷凍される。いくつかの実施形態では、HSPPC、例えば、HSPPC-96は、精製技法によって腫瘍組織から単離され、濾過され、注射可能なワクチン用に調製される。ある特定の実施形態では、対象は、6~12用量のHSPPC、例えば、HSPPC-96を投与される。かかる実施形態では、HSPPC、例えば、HSPPC-96用量は、最初の4回の用量が週1回投与され得、次いで、2~8回の追加用量が週2回投与され得る。

【0357】

本明細書に記載の方法に従って使用され得るHSPPCのさらなる例は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、以下の特許および特許出願、米国特許第6,391,306号、同第6,383,492号、同第6,403,095号、同第6,410,026号、同第6,436,404号、同第6,447,780号、同第6,447,781号、および同第6,610,659号に開示されている。

【0358】

抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物、および追加の治療剤（例えば、化学療法剤、放射線療法剤、チェックポイント標的化剤、IDO阻害剤、および／またはワクチン）は、別個に、順次に、または別個の剤形として同時に投与され得る。一実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、非経口投与され、IDO阻害剤は、経口投与される。

【0359】

本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、様々な経路によって対象に送達され得る。これらには、非経口、鼻腔内、気管内、経口、皮内、局所、筋肉内、腹腔内、経皮、静脈内、腫瘍内、結膜、および皮下経路が含まれるが、これらに限定されない。肺内投与は、例えば、吸入器または噴霧器、およびスプレー用としてエアロゾル化剤を含む製剤の使用によっても用いられ得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、皮下または静脈内に送達される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、腫瘍内に送達される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、腫瘍排出リンパ節中に送達される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、局在投与（例えば、皮下投与）を介して送達される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、全身に送達される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物は、局所的に送達される。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、第1の抗体および第2の抗体を含み、第1の抗体および第2の抗体は、同じ経路を介して（例えば、静脈内、皮下的、または腫瘍内に）送達される。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、第1の抗体および第2の抗体を含み、第1の抗体および第2の抗体は、異なる経路を介して送達される。

【0360】

状態の治療および／または予防に有効であろう抗体、治療薬の組み合わせ、または薬学的組成物の量は、疾患の性質に依存するであろう、また標準の臨床技法によって決定され得る。

【0361】

組成物中で用いられるべき正確な用量は、投与経路、およびそれによって引き起こされる感染症または疾患の重症度にも依存し、臨床医の判断および各対象の状況に従って決定されるべきである。例えば、有効な用量はまた、投与手段、標的部位、患者の生理的状態（年齢、体重、および健康を含む）、患者がヒトであるかまたは動物であるかということ、投与される他の薬品、または治療が予防的であるかまたは治療的であるかということによ

10

20

30

40

50

って異なってもよい。通常、この患者は、ヒトであるが、トランスジェニック哺乳動物を含む非ヒト哺乳動物を治療することもできる。治療投与量は、安全性および有効性を最適化するために最適に滴定される。

【0362】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗CTLA-4/PD-1抗体、および/または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.01mg/kg、約0.03mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。

10

【0363】

一態様では、癌を治療するための方法に使用するため、免疫応答を強化もしくは誘導するため、または感染性疾患を治療するための、抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗CTLA-4/PD-1抗体、および/または薬学的組成物、ならびに任意に追加の治療剤が本明細書に提供され、抗体および/または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで対象に投与される。

20

【0364】

一態様では、癌を治療するため、免疫応答を強化もしくは誘導するため、または感染性疾患を治療するための薬品の調製における、本明細書に記載の治療薬の組み合わせ、多重特異性抗体、キット、および/または薬学的組成物の使用が本明細書に提供される。あるいは、薬品、薬学的組成物、またはキットを調製するための治療薬の組み合わせおよび/または多重特異性抗体の使用が提供される。例えば、癌を治療するため、免疫応答を強化もしくは誘導するため、または感染性疾患を治療するための薬学的組成物、薬品、またはキットを調製するための、抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗CTLA-4/PD-1抗体、および任意に追加の治療剤の使用が、本明細書に提供される。

【0365】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、0.01mg/kgまたは約0.01mg/kgで対象に（例えば、静脈内注射を介してまたは腫瘍内注射を介して）投与される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、0.03mg/kgまたは約0.03mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、0.1mg/kgまたは約0.1mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、0.3mg/kgまたは約0.3mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、1mg/kgまたは約1mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、3mg/kgまたは約3mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、6mg/kgまたは約6mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、任意に1、2、または3週間毎に、10mg/kgまたは約10mg/kgで対象に（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。

30

40

50

【0366】

第1の療法および第2の療法の、有効量の治療薬の組み合わせは、第1の量の第1の療法と、第2の量の第2の療法とを含み、治療薬の組み合わせの投与は、所望の予防的または治療的効果を達成する。第1の量は、単独で投与されるとき、第1の療法の有効量よりも低いか、等しいか、または高い可能性があり、第2の量は、単独で投与されるとき、第2の療法の有効量よりも低いか、等しいか、または高い可能性がある。ある特定の実施形態では、第1の量は、単独で投与されるとき、第1の療法の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、第2の量は、単独で投与されるとき、第2の療法の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、第1の量は、単独で投与されるとき、第1の療法の有効量よりも低く、第2の量は、単独で投与されるとき、第2の療法の有効量よりも低い。

10

【0367】

例えば、治療薬の組み合わせが、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体および本明細書に記載の抗PD-1抗体を含む場合、この治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低いか、等しいか、もしくは高い可能性があり、ならびに／またはこの治療薬の組み合わせ中の抗PD-1抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低いか、等しいか、または高い可能性がある。ある特定の実施形態では、この治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、この治療薬の組み合わせ中の抗PD-1抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、この治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低く、この治療薬の組み合わせ中の抗PD-1抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低い。

20

【0368】

ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、第1の頻度で投与される本明細書に記載の抗CTLA-4抗体、および第2の頻度で投与される本明細書に記載の抗PD-1抗体を含む。第1および第2の頻度は、独立して、1週間毎、2週間毎、3週間毎、4週間毎、6週間毎、8週間毎、12週間毎、1ヶ月毎、2ヶ月毎、3ヶ月毎、4ヶ月毎、5ヶ月毎、6ヶ月毎、8ヶ月毎、および1年毎から選択され得る。ある特定の実施形態では、第1の頻度と第2の頻度は同じである。ある特定の実施形態では、第1の頻度と第2の頻度は異なる。ある特定の実施形態では、記載される抗CTLA-4抗体は、3週間毎に投与され、抗PD-1抗体は、2週間毎に投与される。

30

【0369】

治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、同時にまたは順次に投与され得る。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、同時に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、同じ薬学的組成物中で投与される（例えば、1つの薬学的組成物として提供されるか、または別個の薬学的組成物として提供され、投与直前または投与中に完全にまたは部分的に混合される）。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、順次に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、別個の薬学的組成物中で投与され、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体の投与後（例えば、約1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、10日、または14日後）に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、別個の薬学的組成物中で投与され、抗PD-1抗体は、抗CTLA-4抗体の投与後（例えば、約1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、10日、または14日後）に投与される。

40

【0370】

ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、約6週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と、約2週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗PD-1抗体とを含む。ある特定の実施形態では、治療薬の

50

組み合わせは、6週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と、2週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗PD-1抗体とを含む。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、約6週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と、約3週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗PD-1抗体とを含む。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、6週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と、3週間毎に（例えば、静脈内に）投与される本明細書に記載の抗PD-1抗体とを含む。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体と同じ日に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体の各投与は、抗PD-1抗体と同じ日に行われる。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体の投与の完了後30分または1時間以内に投与される。

【0371】

ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、0.01mg/kgまたは約0.01mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、0.03mg/kgまたは約0.03mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、0.1mg/kgまたは約0.1mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、0.3mg/kgまたは約0.3mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、1mg/kgまたは約1mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、3mg/kgまたは約3mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、6mg/kgまたは約6mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4は、10mg/kgまたは約10mg/kgで投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg

、 6 mg/kg 、 10 mg/kg 、約 0.1 mg/kg 、約 0.3 mg/kg 、約 1 mg/kg 、約 3 mg/kg 、約 6 mg/kg 、または約 10 mg/kg で投与される。抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、同じまたは異なる投与経路（例えば、本明細書に記載される）によって同時にまたは順次に投与され得る。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体は、静脈内注射（例えば、静脈内注入）を介して同時に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体の両方が、静脈内注射（例えば、静脈内注入）を介して順次に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、 0.1 mg/kg で静脈内投与され、抗PD-1抗体は、 3 mg/kg で、任意に1、2、または3週間毎に静脈内投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、3週間毎に投与され、抗PD-1抗体は、2週間毎に投与される。

10

【0372】

ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約 0.3 mg/kg または 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約 1 mg/kg 、 3 mg/kg 、 6 mg/kg 、または 10 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約 0.3 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約 3 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約 6 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、 0.3 mg/kg または 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、 1 mg/kg または 3 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、 0.3 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、 3 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、 1 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、 6 mg/kg で（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体と同じ日に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体の各投与は、抗PD-1抗体と同じ日に行われる。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体の投与の完了後30分または1時間以内に投与される。

20

30

【0373】

ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、および抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)は各々、下記の表13の一行に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、および抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)は各々、下記の表13の一行に示されるおよその投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1)、および抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P)は各々、下記の表13の一行に示される投与量およびおよその頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎

40

50

に約0.3mg/kgまたは1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約2週間毎に約1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、または10mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎に約0.3mg/kgまたは1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約3週間毎に約1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、または10mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎に約0.3mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約2週間毎に約1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎に約1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約2週間毎に約1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎に約1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約2週間毎に約3mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎に約1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約3週間毎に約6mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、6週間毎に0.3mg/kgまたは1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、2週間毎に1mg/kgまたは3mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、6週間毎に0.3mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、2週間毎に1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、6週間毎に1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、2週間毎に1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、6週間毎に1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、2週間毎に3mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎に1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、約3週間毎に6mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体と同じ日に（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体の各投与は、抗PD-1抗体と同じ日に行われる。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体の投与の完了後30分または1時間以内に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体と同じ日に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体の各投与は、抗PD-1抗体と同じ日に行われる。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、抗PD-1抗体の投与の完了後30分または1時間以内に投与される。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、少なくとも3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。ある特定の実施形態では、治療薬の組み合わせは、最長3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。

10

20

30

40

50

【表 13】

表 13. 抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体の組み合わせの投与量および投与頻度

抗CTLA-4抗体		抗PD-1抗体	
投与量 (mg/kg)	頻度	投与量 (mg/kg)	頻度
0.3	4週間毎	1	2週間毎
0.3	4週間毎	1	3週間毎
0.3	4週間毎	3	2週間毎
0.3	4週間毎	3	3週間毎
0.3	4週間毎	6	2週間毎
0.3	4週間毎	6	3週間毎
0.3	4週間毎	10	2週間毎
0.3	4週間毎	10	3週間毎
0.3	6週間毎	1	2週間毎
0.3	6週間毎	1	3週間毎
0.3	6週間毎	3	2週間毎
0.3	6週間毎	3	3週間毎
0.3	6週間毎	6	2週間毎
0.3	6週間毎	6	3週間毎
0.3	6週間毎	10	2週間毎
0.3	6週間毎	10	3週間毎
0.3	12週間毎	1	2週間毎
0.3	12週間毎	1	3週間毎
0.3	12週間毎	3	2週間毎
0.3	12週間毎	3	3週間毎
0.3	12週間毎	6	2週間毎
0.3	12週間毎	6	3週間毎
0.3	12週間毎	10	2週間毎
0.3	12週間毎	10	3週間毎
1	4週間毎	1	2週間毎
1	4週間毎	1	3週間毎
1	4週間毎	3	2週間毎
1	4週間毎	3	3週間毎
1	4週間毎	6	2週間毎

10

20

30

40

50

抗CTLA-4抗体		抗PD-1抗体	
投与量 (mg/kg)	頻度	投与量 (mg/kg)	頻度
1	4週間毎	6	3週間毎
1	4週間毎	10	2週間毎
1	4週間毎	10	3週間毎
1	6週間毎	1	2週間毎
1	6週間毎	1	3週間毎
1	6週間毎	3	2週間毎
1	6週間毎	3	3週間毎
1	6週間毎	6	2週間毎
1	6週間毎	6	3週間毎
1	6週間毎	10	2週間毎
1	6週間毎	10	3週間毎
1	12週間毎	1	2週間毎
1	12週間毎	1	3週間毎
1	12週間毎	3	2週間毎
1	12週間毎	3	3週間毎
1	12週間毎	6	2週間毎
1	12週間毎	6	3週間毎
1	12週間毎	10	2週間毎
1	12週間毎	10	3週間毎
3	4週間毎	1	2週間毎
3	4週間毎	1	3週間毎
3	4週間毎	3	2週間毎
3	4週間毎	3	3週間毎
3	4週間毎	6	2週間毎
3	4週間毎	6	3週間毎
3	4週間毎	10	2週間毎
3	4週間毎	10	3週間毎
3	6週間毎	1	2週間毎
3	6週間毎	1	3週間毎
3	6週間毎	3	2週間毎
3	6週間毎	3	3週間毎
3	6週間毎	6	2週間毎
3	6週間毎	6	3週間毎

10

20

30

40

50

抗CTLA-4抗体		抗PD-1抗体	
投与量 (mg/kg)	頻度	投与量 (mg/kg)	頻度
3	6週間毎	10	2週間毎
3	6週間毎	10	3週間毎
3	12週間毎	1	2週間毎
3	12週間毎	1	3週間毎
3	12週間毎	3	2週間毎
3	12週間毎	3	3週間毎
3	12週間毎	6	2週間毎
3	12週間毎	6	3週間毎
3	12週間毎	10	2週間毎
3	12週間毎	10	3週間毎

【0374】

ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示されるおおよその投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示される投与量およびおおよその頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示されるおおよその投与量およびおおよその頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、任意に単剤療法として、約4週間毎に約0.3 mg/kg、1 mg/kg、または3 mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、任意に単剤療法として、約6週間毎に約0.3 mg/kg、1 mg/kg、または3 mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、任意に単剤療法として、約12週間毎に約0.3 mg/kg、1 mg/kg、または3 mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、任意に単剤療法として、4週間毎に0.3 mg/kg、1 mg/kg、または3 mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、任意に単剤療法として、6週間毎に0.3 mg/kg、1 mg/kg、または3 mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、任意に単剤療法として、12週間毎に0.3 mg/kg、1 mg/kg、または3 mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、少なくとも3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、最長3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。

【0375】

ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、表13の一行に示される投与量および頻度で、3週間毎に200 mgで投与されるペムブロリズマブと組み合わせて投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、表13の一行に示されるおおよその投与量および頻度で、3週間毎に約200 mgで投与されるペムブロリズマブと組み合わせて投

与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、表13の一行に示される投与量およびおよその頻度で、3週間毎に200mgで投与されるペムブロリズマブと組み合わせて投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体、例えば、AGEN1884 (IgG1) は、表13の一行に示されるおよその投与量およびおよその頻度で、約3週間毎に約200mgで投与されるペムブロリズマブと組み合わせて投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約4週間毎に約0.3mg/kg、1mg/kg、または3mg/kgで、約3週間毎に約200mgで（例えば、静脈内に）投与されるペムブロリズマブと組み合わせて（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約6週間毎に約0.3mg/kg、1mg/kg、または3mg/kgで、約3週間毎に約200mgで（例えば、静脈内に）投与されるペムブロリズマブと組み合わせて（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、約12週間毎に約0.3mg/kg、1mg/kg、または3mg/kgで、約3週間毎に約200mgで（例えば、静脈内に）投与されるペムブロリズマブと組み合わせて（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、4週間毎に0.3mg/kg、1mg/kg、または3mg/kgで、3週間毎に200mgで（例えば、静脈内に）投与されるペムブロリズマブと組み合わせて（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、6週間毎に0.3mg/kg、1mg/kg、または3mg/kgで、3週間毎に200mgで（例えば、静脈内に）投与されるペムブロリズマブと組み合わせて（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体は、12週間毎に0.3mg/kg、1mg/kg、または3mg/kgで、3週間毎に200mgで（例えば、静脈内に）投与されるペムブロリズマブと組み合わせて（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体およびペムブロリズマブは、少なくとも3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。ある特定の実施形態では、抗CTLA-4抗体およびペムブロリズマブは、最長3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。

【0376】

ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示される投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示されるおよその投与量および頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示されるおよその投与量およびおよその頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、例えば、AGEN2034 (IgG4 S228P) は、任意に単剤療法として、表13の一行に示されるおよその投与量およびおよその頻度で投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、任意に単剤療法として、約2週間毎に約1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、または10mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、任意に単剤療法として、約3週間毎に約1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、または10mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、任意に単剤療法として、2週間毎に1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、または10mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、任意に単剤療法として、3週間毎に1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、または10mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、少なくとも3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、最長3、6、9、12、18、または24ヶ月間にわたって対象に投与される。

【0377】

ある特定の実施形態では、本開示は、血管肉腫を有する対象を治療する方法を提供し、該方法は、有効量の、本明細書に記載の治療薬の組み合わせおよび／または多重特異性抗体を（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）対象に投与することを含む。ある特定の実施形態では、対象は、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体および本明細書に記載の抗PD-1抗体を含む治療薬の組み合わせを投与される。ある特定の実施形態では、この治療薬の組み合わせ中の抗CTLA-4抗体の有効量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4抗体は、0.1mg/kgで（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与され、抗PD-1抗体は、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、または約10mg/kgで（例えば、静脈内、腫瘍内、または皮下的に）投与される。ある特定の実施形態では、任意に1、2、または3週間毎に、抗CTLA-4抗体は、0.1mg/kgで（例えば、静脈内に）投与され、抗PD-1抗体は、3mg/kgで（例えば、静脈内に）投与される。

6.5 抗体産生

【0378】

CTLA-4および／またはPD-1（例えば、ヒトCTLA-4および／またはPD-1）に特異的に結合する単一特異性または多重特異性（例えば、二重特異性）抗体を含む抗体は、抗体の合成のための当該技術分野で既知の任意の方法によって、例えば、化学合成によって、または組み換え発現技法によって産生され得る。本明細書に記載の方法は、特に明記しない限り、分子生物学、微生物学、遺伝分析、組み換えDNA、有機化学、生化学、PCR、オリゴヌクレオチド合成および修飾、核酸ハイブリダイゼーション、ならびに当該技術分野の範囲内である関連分野における従来の技法を用いる。これらの技法は、本明細書で引用される参照内に記載され、その文献で詳細に説明されている。例えば、Maniatis T et al., (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Sambrook J et al., (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Sambrook J et al., (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, Ausubel FM et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987 and annual updates), Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (1987 and annual updates) Gait (ed.) (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press, Eckstein (ed.) (1991) Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press, Birren B et al., (eds.) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Pressを参照されたい。

【0379】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、例えば、合成を介した作成、DNA配列の遺伝子操作を含む任意の手段によって調製されるか、発現されるか、作成されるか、または単離された抗体（例えば、組み換え抗体）である。ある特定の実施形態では、かかる抗体は、インビボで動物または哺乳動物（例えば、ヒト）の抗体生殖系列レパートリー内で天然に存在しない配列（例えば、DNA配列またはアミノ酸配列）を含む。

【0380】

ある特定の態様では、CTLA-4ならびに／またはPD-1に特異的に結合する抗体（例えば、ヒトCTLA-4および／もしくはヒトPD-1に結合する単一特異性もしくは多重特異性抗体を含む）を作製する方法であって、本明細書に記載の細胞または宿主細胞を培養することを含む方法が、本明細書に提供される。ある特定の態様では、CTLA-4ならびに／またはPD-1に特異的に結合する抗体（例えば、ヒトCTLA-4および／もしくはヒトPD-1に結合する単一特異性もしくは多重特異性抗体を含む）を作製する方法であって、本明細書に記載の細胞または宿主細胞（例えば、本明細書に記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含む細胞もしくは宿主細胞）を使用して、抗体を発現させる（例えば、組み換えで発現させる）ことを含む方法が、本明細書に提供される。特定の

10

【0381】

ポリクローナル抗体を産生するための方法は、当該技術分野で既知である（例えば、Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM et al., eds., John Wiley and Sons, New Yorkの第11章を参照）。

【0382】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組み換え、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む当該技術分野で既知の多種多様の技法を使用して調製され得る。例えば、モノクローナル抗体は、当該技術分野で既知であり、例えば、Harlow E & Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)、Hammerling GJ et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)に教示されるものを含むハイブリドーマ技法を使用して産生され得る。本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術を通して産生される抗体に限定されない。例えば、モノクローナル抗体は、本明細書に記載の抗体を外因的に発現する宿主細胞から組み換えで産生され得る。

20

30

【0383】

特定の実施形態では、本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」は、単細胞（例えば、組み換え抗体を産生するハイブリドーマまたは宿主細胞）によって産生される抗体であり、例えば、ELISA、または当該技術分野で既知のまたは本明細書に提供される実施例における他の抗原結合もしくは競合的結合アッセイによって決定されるように、抗体が、CTLA-4および／またはPD-1（例えば、ヒトCTLA-4および／またはPD-1に結合する単一特異性もしくは多重特異性抗体を含む）に特異的に結合する。特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、キメラ抗体またはヒト化抗体であり得る。ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、一価抗体または多価（例えば、二価）抗体である。ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、Fab断片またはFab'断片であり得る。本明細書に記載のモノクローナル抗体は、例えば、Kohler G & Milstein C (1975) Nature 256:495に記載されるハイブリドーマ法によって作製され得るか、または例えば、本明細書に記載されるような技法を使用してファージライブラリから単離され得る。クローナル細胞株およびそれによって発現されるモノクローナル抗体の調製のための他の方法は、当該技術分野で周知である（例えば、Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM et al., 上記の第11章を参照）。

40

【0384】

ハイブリドーマ技術を使用した特異的抗体を産生およびスクリーニングするための方法は

50

、当該技術分野で慣用的かつ周知である。例えば、ハイブリドーマ法では、マウス、またはヒツジ、ヤギ、ウサギ、ラット、ハムスター、もしくはマカクザルなどの他の適切な宿主動物は、免疫化のために使用されるタンパク質（例えば、CTLA-4またはPD-1（例えば、ヒトCTLA-4またはPD-1））に特異的に結合するであろう抗体を産生するか、または産生することができるリンパ球を誘発するように免疫化される。あるいは、リンパ球は、インビトロで免疫化され得る。次いで、リンパ球は、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を用いて骨髓腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成する（Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)）。さらに、RIMMS（反復免疫化多重部位）技法を使用して、動物を免疫化することができる（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Kilpatrick KE et al., (1997) *Hybridoma* 16:381-9）。

【0385】

いくつかの実施形態では、マウス（またはラット、サル、ロバ、ブタ、ヒツジ、ハムスター、もしくはイヌなどの他の動物）を、抗原（例えば、CTLA-4またはPD-1（例えば、ヒトCTLA-4またはPD-1））で免疫化することができ、免疫応答が検出されると、例えば、マウス血清中に抗原に特異的な抗体が検出されると、マウス脾臓が採取され、脾細胞が単離される。次いで、脾細胞は、周知の技法によって、任意の好適な骨髓腫細胞、例えば、American Type Culture Collection (ATCC (登録商標)) (Manassas, VA) から入手可能な細胞株SP20由来の細胞と融合して、ハイブリドーマを形成する。ハイブリドーマは、限界希釈により選択およびクローニングされる。ある特定の実施形態では、免疫化されたマウスのリンパ節が採取され、NS0骨髓腫細胞と融合する。

【0386】

このようにして調製されたハイブリドーマ細胞は、任意に、非融合の親骨髓腫細胞の成長または生存を阻害する1つ以上の物質を含有する好適な培養培地中で播種し、成長させる。例えば、親骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPR TまたはHPRT）を欠いている場合、ハイブリドーマのための培養培地は、ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン（HAT培地）を含み、これらの物質は、HGPR T欠損細胞の成長を阻止するであろう。

【0387】

特定の実施形態は、効果的に融合し、選択された抗体を産生する細胞によって安定した高レベルの抗体の産生を支援し、HAT培地などの培地に対して感受性がある骨髓腫細胞を用いる。これらのうちで、骨髓腫細胞株は、NS0細胞株またはSalk Institute Cell Distribution Center (San Diego, CA, USA) から入手可能なMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍に由来するもの、ならびにAmerican Type Culture Collection (Rockville, MD, USA) から入手可能なSP-2またはX63-Ag8.653細胞などのマウス骨髓腫である。ヒト骨髓腫およびマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株はまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載されている（Kozbor D (1984) *J Immunol* 133:3001-5、Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)）。

【0388】

ハイブリドーマ細胞が成長している培養培地を、CTLA-4および／またはPD-1（例えば、ヒトCTLA-4および／またはPD-1）に対して誘導されたモノクローナル抗体の産生についてアッセイする。ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、当該技術分野で既知の方法によって、例えば、免疫沈降、または

10

20

30

40

50

放射免疫アッセイ（RIA）もしくは酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）などのインビトロ結合アッセイによって決定される。

【0389】

所望の特異性、親和性、および／または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞を特定した後、そのクローンを、限界希釈法によってサブクローニングし、標準の方法によって成長させることができる（Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*、上記）。この目的のために好適な培養培地は、例えば、D-MEMまたはRPMI 1640培地を含む。さらに、ハイブリドーマ細胞は、動物において腹水腫瘍としてインビボで成長させ得る。

【0390】

サブクローンにより分泌される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、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、または親和性クロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製方法によって培養培地、腹水、または血清から適切に分離される。

【0391】

本明細書に記載の抗体は、当業者に既知の任意の技法によって生成され得る。例えば、本明細書に記載のFabおよびF(ab')₂断片は、パパイン（Fab断片を産生するため）またはペプシン（F(ab')₂断片を産生するため）などの酵素を用いて、免疫グロブリン分子のタンパク質切断によって産生され得る。Fab断片は、四量体抗体分子の2つの同一のアームのうち的一方に対応し、重鎖のVHおよびCH1ドメインと対合した完全な軽鎖を含有する。F(ab')₂断片は、ヒンジ領域内のジスルフィド結合によって結合される四量体抗体分子の2つの抗原結合アームを含有する。

【0392】

さらに、本明細書に記載の抗体または抗原結合断片は、当該技術分野で既知の様々なファージディスプレイ法を使用して生成することもできる。ファージディスプレイ法では、タンパク質は、それらをコードするポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面上に露出される。具体的には、重鎖および軽鎖可変領域をコードするDNA配列は、動物cDNAライブラリ（例えば、罹患組織のヒトまたはマウスcDNAライブラリ）から増幅される。重鎖および軽鎖可変領域をコードするDNAは、PCRによりscFvリンカーと一緒に組み換えられ、ファージミドベクターにクローニングされる。ベクターは、E. coliに電気穿孔処理され、E. coliは、ヘルパーファージに感染する。これらの方法で用いられるファージは、典型的には、fdおよびM13を含む繊維状ファージであり、重鎖および軽鎖可変領域は、通常、ファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIのいずれかに組み換えて融合される。特定の抗原に結合する抗体を発現しているファージは、抗原で、例えば、標識化した抗原あるいは固体表面もしくはビーズに結合または捕捉された抗原を用いて、選択または特定することができる。本明細書に記載の抗体を作製するために使用され得るファージディスプレイ法の例としては、Brinkman U et al., (1995) *J Immunol Methods* 182:41-50、Ames RS et al., (1995) *J Immunol Methods* 184:177-186、Kettleborough CA et al., (1994) *Eur J Immunol* 24:952-958、Persic L et al., (1997) *Gene* 187:9-18、Burton DR&Barbas CF (1994) *Adv Immunol* 57:191-280、PCT出願第PCT/GB91/001134号、国際公開第WO90/02809号、同第WO91/10737号、同第WO92/01047号、同第WO92/18619号、同第WO93/11236号、同第WO95/15982号、同第WO95/20401号、および同第WO97/13844号、ならびに米国特許第5,698,426号、同第5,223,409号、同第5,403,484号、同第5,580,717号、同第5,427,908号、同第5,750,753号、同第5,821,047号、同第5,571,698号、同第5,427,908号、同第5,516,637号、同第5,780,225号、同第5,658

10

20

30

40

50

， 7 2 7 号、同第 5 ， 7 3 3 ， 7 4 3 号、および同第 5 ， 9 6 9 ， 1 0 8 号に記載されるものが挙げられる。

【 0 3 9 3 】

上記文献に記載されているように、ファージ選択後、このファージ由来の抗体コード領域は、単離され、ヒト抗体を含む抗体を生成するために使用され、例えば、以下に記載の、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌を含む任意の所望の宿主で発現され得る。F a b、F a b'、および F (a b')₂断片などの抗体を組み換えて産生する技法はまた、P C T 公開第 W O 9 2 / 2 2 3 2 4 号、M u l l i n a x R L e t a l . , (1 9 9 2) B i o T e c h n i q u e s 1 2 (6) : 8 6 4 - 9、S a w a i H e t a l . , (1 9 9 5) A m J R e p r o d I m m u n o l 3 4 : 2 6 - 3 4、および B e t t e r M e t a l . , (1 9 8 8) S c i e n c e 2 4 0 : 1 0 4 1 - 1 0 4 3 に開示されるものなどの当該技術分野で既知の方法を使用して用いることができる。

【 0 3 9 4 】

一態様では、抗体を生成するために、重鎖または軽鎖可変領域ヌクレオチド配列、制限部位、および制限部位を保護するための隣接する配列を含む P C R プライマーを使用して、テンプレート、例えば、s c F v クローン由来の重鎖または軽鎖可変領域配列を増幅させることができる。当業者に既知のクローニング技法を利用して、P C R 増幅した重鎖可変領域は、重鎖定常領域を発現するベクターにクローニングすることができ、P C R 増幅した軽鎖可変領域は、軽鎖定常領域、例えば、ヒトカッパまたはラムダ定常領域を発現するベクターにクローニングすることができる。重鎖および軽鎖可変領域はまた、必要な定常領域を発現する 1 つのベクターにクローニングすることができる。次いで、重鎖転換ベクターおよび軽鎖転換ベクターは、当業者に既知の技法を使用して、抗体、例えば、I g G を発現する安定したまたは一過性型の細胞株を生成するために細胞株に同時導入される。

【 0 3 9 5 】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が異なる免疫グロブリン分子に由来する分子である。例えば、キメラ抗体は、ヒト抗体の定常領域に融合したマウスまたはラットモノクローナル抗体の可変領域を含有することができる。キメラ抗体を産生するための方法は、当該技術分野で既知である。例えば、M o r r i s o n S L (1 9 8 5) S c i e n c e 2 2 9 : 1 2 0 2 - 7、O i V T & M o r r i s o n S L (1 9 8 6) B i o T e c h n i q u e s 4 : 2 1 4 - 2 2 1、G i l l i e s S D e t a l . , (1 9 8 9) J I m m u n o l M e t h o d s 1 2 5 : 1 9 1 - 2 0 2、ならびに米国特許第 5 , 8 0 7 , 7 1 5 号、同第 4 , 8 1 6 , 5 6 7 号、同第 4 , 8 1 6 , 3 9 7 号、および同第 6 , 3 3 1 , 4 1 5 号を参照されたい。

【 0 3 9 6 】

ヒト化抗体は、所定の抗原に結合することができ、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク領域および非ヒト免疫グロブリン（例えば、マウス免疫グロブリン）のアミノ酸配列を実質的に有する C D R を含む。特定の実施形態では、ヒト化抗体はまた、少なくとも免疫グロブリン定常領域（F c）の一部分、典型的には、ヒト免疫グロブリンの一部分を含む。この抗体はまた、重鎖の C H 1、ヒンジ、C H 2、C H 3、および C H 4 領域を含み得る。ヒト化抗体は、I g M、I g G、I g D、I g A、および I g E を含む免疫グロブリンの任意のクラス、ならびに I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4 を含む任意のアイソタイプから選択され得る。ヒト化抗体は、当該技術分野で既知の様々な技法を使用して産生することができ、C D R グラフト化（欧州特許第 E P 2 3 9 4 0 0 号、国際公開第 W O 9 1 / 0 9 9 6 7 号、および米国特許第 5 , 2 2 5 , 5 3 9 号、同第 5 , 5 3 0 , 1 0 1 号、および同第 5 , 5 8 5 , 0 8 9 号）、ペニアリリングまたはリサーフェシング（欧州特許第 E P 5 9 2 1 0 6 号および同第 E P 5 1 9 5 9 6 号、P a d l a n E A (1 9 9 1) M o l I m m u n o l 2 8 (4 / 5) : 4 8 9 - 4 9 8、S t u d n i c k a G M e t a l . , (1 9 9 4) P r o t E n g i n e e r i n g 7 (6) : 8 0 5 - 8 1 4、および R o g u s k a M A e t a l . ,

(1994) PNAS 91:969-973)、鎖シャッフリング(米国特許第5,565,332号)、ならびに例えば、米国特許第6,407,213号、米国特許第5,766,886号、国際公開第WO93/17105号、Tan P et al., (2002) J Immunol 169:1119-25、Caldas C et al., (2000) Protein Eng. 13(5):353-60、Morea V et al., (2000) Methods 20(3):267-79、Baca M et al., (1997) J Biol Chem 272(16):10678-84、Roguska MA et al., (1996) Protein Eng 9(10):895-904、Couto JR et al., (1995) Cancer Res. 55(23 Supp):5973s-5977s、Couto JR et al., (1995) Cancer Res 55(8):1717-22、Sandhu JS (1994) Gene 150(2):409-10、およびPedersen JT et al., (1994) J Mol Biol 235(3):959-73に開示される技法が挙げられるが、これらに限定されない。また、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国出願公開第US2005/0042664A1号(2005年2月24日)を参照されたい。

【0397】

単ドメイン抗体、例えば、軽鎖を欠いている抗体は、当該技術分野で周知の方法によって産生することができる。Riechmann L & Muyldermans S (1999) J Immunol 231:25-38、Nuttall SD et al., (2000) Curr Pharm Biotechnol 1(3):253-263、Muyldermans S, (2001) J Biotechnol 74(4):277-302、米国特許第6,005,079号、ならびに国際公開第WO94/04678号、同第WO94/25591号、および同第WO01/44301号を参照されたい。

【0398】

さらに、CTLA-4および／またはPD-1抗原に特異的に結合する抗体は、次いで、当業者に周知の技法を使用して、抗原を「模倣する」抗イディオタイプ抗体を生成するために利用することができる。(例えば、Greenspan NS & Bona CA (1989) FASEB J 7(5):437-444、およびNissinoff A (1991) J Immunol 147(8):2429-2438を参照)。

【0399】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CTLA-4もしくは抗PD-1抗体またはその抗原結合断片と同じCTLA-4および／またはPD-1(例えば、ヒトCTLA-4および／またはPD-1)のエピトープに結合する、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片は、ヒト抗体である。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体のうちのいずれか1つを、CTLA-4またはPD-1(例えば、ヒトCTLA-4またはPD-1)への結合から競合的に(例えば、用量依存的に)遮断する、本明細書に記載の抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で既知の任意の方法を用いて産生することができる。例えば、機能的な内在性免疫グロブリンを発現することができないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用することができる。具体的には、ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体は、ランダムに、または相位的組み換えによりマウス胚幹細胞内に導入することができる。あるいは、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域、および多様性領域をマウス胚幹細胞に導入することができる。マウス重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相位的組み換えによって、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入で別々にまたは同時に非機能性を与えられ得る。具体的に、JH領域のホモ接合型欠失は、内因性抗体産生を防止する。改変した胚幹細胞を拡張し、胚盤胞内に微量注入して、キメラマウスを産生する。次いで、キメラマウスを繁殖させて、ヒト抗体を発現するホモ接合性子孫を産生する。トランスジェニックマウスは、選択された抗原、例えば、抗原(例えば、CTLA-4もしくはPD-1)の全てまたは一部分を用いて、通常の様式で免疫化される。抗原に対して誘導されたモ

10

20

30

40

50

ノクローナル抗体は、従来のハイブリドーマ技術を使用して免疫化したトランスジェニックマウスから得ることができる。トランスジェニックマウスが有するヒト免疫グロブリントランス遺伝子は、B細胞分化の間に再編成し、引き続いてクラススイッチおよび体細胞変異を起こす。したがって、かかる技法を使用して、治療に有用なIgG、IgA、IgM、およびIgE抗体を産生することが可能である。ヒト抗体を産生するためのこの技術の概要については、Lonberg N&Huszar D (1995) Int Rev Immunol 13:65-93を参照されたい。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体産生するためのこの技術、ならびにかかる抗体を産生するためのプロトコルの詳細な考察については、例えば、国際公開第WO98/24893号、同第WO96/34096号、および同第WO96/33735号、ならびに米国特許第5,413,923号、同第5,625,126号、同第5,633,425号、同第5,569,825号、同第5,661,016号、同第5,545,806号、同第5,814,318号、および同第5,939,598号を参照されたい。ヒト抗体を産生することができるマウスの例としては、Xenomouse (商標) (Abgenix, Inc., 米国特許第6,075,181号および同第6,150,184号)、HuAb-マウス (商標) (Medarex, Inc./Gen Pharm, 米国特許第5,545,806号および同第5,569,825号)、Trans Chromo Mouse (商標) (Kirin)、ならびにKM Mouse (商標) (Medarex/Kirin) が挙げられる。

【0400】

CTLA-4および/またはPD-1に特異的に結合するヒト抗体または抗原結合断片 (例えば、ヒトCTLA-4および/またはPD-1に結合する単一特異性もしくは多重特異性抗体を含む) は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリを用いた上述のファージディスプレイ方法を含む、当該技術分野で既知の様々な方法によって作製することができる。また、米国特許第4,444,887号、同第4,716,111号、および同第5,885,793号、ならびに国際公開第WO98/46645号、同第WO98/50433号、同第WO98/24893号、同第WO98/16654号、同第WO96/34096号、同第WO96/33735号、および同第WO91/10741号を参照されたい。

【0401】

いくつかの実施形態では、ヒト抗体は、マウス-ヒトハイブリドーマを用いて産生することができる。例えば、エプスタイン・バーウイルス (EBV) で形質転換されたヒト末梢血リンパ球は、マウス骨髄腫細胞と融合して、ヒトモノクローナル抗体を分泌するマウス-ヒトハイブリドーマを産生することができ、これらのマウス-ヒトハイブリドーマをスクリーニングして、標的抗原 (例えば、CTLA-4またはPD-1、例えば、ヒトCTLA-4またはPD-1) に特異的に結合するヒトモノクローナル抗体を分泌するものを決定することができる。かかる方法は、当該技術分野で既知であり、記載されており、例えば、Shinmoto H et al., (2004) Cytotechnology 46:19-23、Naganawa Y et al., (2005) Human Antibodies 14:27-31を参照されたい。

【0402】

二重特異性の二価抗体、およびそれらを作製する方法は、例えば、米国特許第5,731,168号、同第5,807,706号、同第5,821,333号、ならびに米国特許出願公開第2003/020734号および同第2002/0155537号に記載されており、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。二重特異性の四価抗体、およびそれらを作製する方法は、例えば、国際特許出願公開第WO02/096948号および同第WO00/44788号に記載されており、その両方の開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。一般に、国際特許出願公開第WO93/17715号、同第WO92/08802号、同第WO91/00360号、同第WO92/05793号、Tutt et al., J. Immunol. 147:60-69 (1991)、米国特許第4,474,893号、同第4,714,681号、同第4,925,6

48号、同第5, 573, 920号、および同第5, 601, 819号、ならびにKostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992) (その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

【0403】

二重特異性抗体を生成するための1つの方法は、「ノブ・イントゥ・ホール (knobs-into-holes)」戦略と呼ばれている (例えば、国際特許公開第WO2006/028936号を参照)。Ig重鎖のミスペアリングは、この技術において、IgG中のCH3ドメインの界面を形成する選択されたアミノ酸を変異させることによって低減される。2つの重鎖が直接相互作用するCH3ドメイン内の位置において、小さい側鎖 (ホール) を有するアミノ酸は、1つの重鎖の配列に導入され、大きな側鎖 (ノブ) を有するアミノ酸は、他の重鎖上の対向する相互作用残基位置に導入される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物は、2つのポリペプチド間の界面で相互作用して二重特異性抗体を形成する選択されたアミノ酸を変異させることによって、CH3ドメインが修飾されている、免疫グロブリン鎖を有する。二重特異性抗体は、同じサブクラス (例えば、IgG1もしくはIgG3) または異なるサブクラス (例えば、IgG1およびIgG3もしくはIgG3およびIgG4) の免疫グロブリン鎖で構成され得る。

【0404】

一実施形態では、例えば、EU番号付けシステムに従って番号付けされる、Y349C変異を「ノブ鎖」に、E356C変異またはS354C変異を「ホール鎖」に導入することによって；R409D、K370E変異を「ノブ鎖」に、またD399K、E357K変異を「ホール鎖」に導入することによって；R409D、K370E変異を「ノブ鎖」に、またD399K、E357K変異を「ホール鎖」に導入することによって；T366W変異を「ノブ鎖」に、またT366S、L368A、Y407V変異を「ホール鎖」に導入することによって；R409D、K370E変異を「ノブ鎖」に、またD399K、E357K変異を「ホール鎖」に導入することによって；Y349C、T366W変異を鎖のうちの1つに、またE356C、T366S、L368A、Y407V変異を対応する鎖に導入することによって；Y349C、T366W変異を1つの鎖に、またS354C、T366S、L368A、Y407V変異を対応する鎖に導入することによって；Y349C、T366W変異を1つの鎖に、またS354C、T366S、L368A、Y407V変異を対応する鎖に導入することによって；Y349C、T366W変異を1つの鎖に、またS354C、T366S、L368A、Y407V変異を対応する鎖に導入することによって、CTLA-4および／またはPD-1に結合する二重特異性抗体は、「ノブ鎖」にT366W変異、および「ホール鎖」にT366S、L368A、Y407V変異、任意にCH3ドメイン間に追加の鎖間ジスルフィド架橋を含む。

【0405】

CTLA-4および／またはPD-1に結合する二重特異性抗体は、いくつかの場合において、IgG4およびIgG1、IgG4およびIgG2、IgG4およびIgG2、IgG4およびIgG3、またはIgG1およびIgG3鎖ヘテロ二量体を含むし得る。かかるヘテロ二量体重鎖抗体は、例えば、ヘテロ二量体重鎖形成を選好するように、ヒトIgG4およびIgG1またはIgG3においてCH3ドメインの界面を形成する選択されたアミノ酸を修飾することによって慣用的に操作され得る。

特定の実施形態では、多重特異性 (例えば、二重特異性) 抗体は、キメラ抗体またはヒト化抗体であり得る。ある特定の実施形態では、多重特異性 (例えば、二重特異性) 抗体は、F(ab')₂断片であり得る。F(ab')₂断片は、ヒンジ領域内のジスルフィド結合によって結合される四量体抗体分子の2つの抗原結合アームを含む。

【0406】

本明細書に記載の多重特異性 (例えば、二重特異性) 抗体は、当業者に既知の任意の技法によって生成され得る。例えば、本明細書に記載のF(ab')₂断片は、ペプシンなどの酵素を用いて、免疫グロブリン分子のタンパク質切断によって産生され得る。

6.6 キット

【0407】

1つ以上の本明細書に記載の抗体、治療薬の組み合わせ、薬学的組成物、またはそれらの共役体を含むキットもまた提供される。特定の実施形態では、本明細書に提供される1つ以上の抗体などの本明細書に記載の薬学的組成物の成分のうちの1つ以上で充填された1つ以上の容器を含む薬学的パックまたはキットが本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、これらのキットは、本明細書に記載の1つ以上の薬学的組成物および本明細書に記載のものなどの任意の予防剤または治療剤を含有する。ある特定の実施形態では、これらのキットは、例えば、フィトヘムアグルチニン（PHA）および／もしくはホルボールミリステートアセテート（PMA）、または抗CD3抗体および抗CD28抗体などのTCR複合体刺激抗体などのT細胞マイトジェンを含有し得る。任意に、かかる容器（複数可）とともに、調合薬または生物学的製剤の製造、使用、または販売を規制する行政機関によって規定された様式の注意書きを含むことができ、この注意書きは、ヒトへの投与のための製造、使用、または販売の機関による承認を反映する。

10

【0408】

ある特定の実施形態では、キットは、本明細書に記載の抗CTLA-4／PD-1抗体を含む薬学的組成物で充填された容器を含む。ある特定の実施形態では、キットは、有効量の、本明細書に記載の抗CTLA-4またはPD-1抗体を含む薬学的組成物で充填された容器を含む。

【0409】

ある特定の実施形態では、キットは、抗CTLA-4抗体を含む薬学的組成物で充填された第1の容器と、抗PD-1抗体を含む薬学的組成物で充填された第2の容器とを含む。抗CTLA-4抗体と抗PD-1抗体の組み合わせは、本明細書に記載の抗CTLA-4抗体と本明細書に記載の抗PD-1抗体の任意の組み合わせであり得る。ある特定の実施形態では、キットは、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体を含む薬学的組成物で充填された第1の容器と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体を含む薬学的組成物で充填された第2の容器とを含み、第1の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3ならびに第2の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、表11の一行に列挙されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、キットは、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体を含む薬学的組成物で充填された第1の容器と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体を含む薬学的組成物で充填された第2の容器とを含み、第1の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3ならびに第2の抗体のCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3は、それぞれ配列番号20、22、24、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、32、37、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、24、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；21、22、24、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、28、31、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、34、36、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、29、35、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、27、30、36、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、29、32、37、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、29、33、38、75、76、80、83、84、および85；21、22、26、29、35、38、75、76、80、83、84、および85；20、22、24、27、30、36、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、29、32、37、75、76、81、83、84、および85；20、22、24、29、33、38、75、76、81、83、84、および85；21、22、24、27、30、36、75、76、81、8

20

30

40

50

50

20、22、24、29、35、38、75、79、81、83、84、および85；21、22、26、27、30、36、75、79、81、83、84、および85；21、22、26、29、32、37、75、79、81、83、84、および85；21、22、26、29、33、38、75、79、81、83、84、および85；または21、22、26、29、35、38、75、79、81、83、84、および85に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0410】

ある特定の実施形態では、キットは、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体を含む薬学的組成物で充填された第1の容器と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体を含む薬学的組成物で充填された第2の容器とを含み、第1の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域、ならびに第2の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、表12の一行に列挙されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、キットは、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体を含む薬学的組成物で充填された第1の容器と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体とを含み、第1の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域ならびに第2の抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号1、14、67、および74；1、16、67、および74；1、17、67、および74；9、14、67、および74；9、17、67、および74；10、15、67、および74；10、17、67、および74；10、18、67、および74；10、19、67、および74；11、15、67、および74；11、14、67、および74；11、16、67、および74；11、17、67、および74；12、14、67、および74；12、16、67、および74；12、17、67、および74；12、19、67、および74；13、15、67、および74；13、17、67、および74；1、14、66、および74；1、16、66、および74；1、17、66、および74；9、14、66、および74；9、17、66、および74；10、15、66、および74；10、17、66、および74；10、18、66、および74；10、19、66、および74；11、15、66、および74；11、14、66、および74；11、16、66、および74；11、17、66、および74；12、14、66、および74；12、16、66、および74；12、17、66、および74；12、19、66、および74；13、15、66、および74；13、17、66、および74；1、14、68、および74；1、16、68、および74；1、17、68、および74；9、14、68、および74；9、17、68、および74；10、15、68、および74；10、17、68、および74；10、18、68、および74；10、19、68、および74；11、15、68、および74；11、14、68、および74；11、16、68、および74；11、17、68、および74；12、14、68、および74；12、16、68、および74；12、17、68、および74；12、19、68、および74；13、15、68、および74；13、17、68、および74；1、14、69、および74；1、16、69、および74；1、17、69、および74；9、14、69、および74；9、17、69、および74；10、15、69、および74；10、17、69、および74；10、18、69、および74；10、19、69、および74；11、15、69、および74；11、14、69、および74；11、16、69、および74；11、17、69、および74；12、14、69、および74；12、16、69、および74；12、17、69、および74；12、19、69、および74；13、15、69、および74；13、17、69、および74；1、14、70、および74；1、16、70、および74；1、17、70、および74；9、14、70、および74；9、17、70、および74；10、15、70、および74；10、17、70、および74；10、18、70、および74；10、19、70、および74；11、15、70、および74；11、14、70、および74；11、16、70、および74；11、17、70、および74；12、14、70、および74；12、16、70、および74；12、17、70、および74；12

10

20

30

40

50

、 19、70、および74；13、15、70、および74；13、17、70、および74；1、14、71、および74；1、16、71、および74；1、17、71、および74；9、14、71、および74；9、17、71、および74；10、15、71、および74；10、17、71、および74；10、18、71、および74；10、19、71、および74；11、15、71、および74；11、14、71、および74；11、16、71、および74；11、17、71、および74；12、14、71、および74；12、16、71、および74；12、17、71、および74；12、19、71、および74；13、15、71、および74；13、17、71、および74；1、14、72、および74；1、16、72、および74；1、17、72、および74；9、14、72、および74；9、17、72、および74；10、15、72、および74；10、17、72、および74；10、18、72、および74；10、19、72、および74；11、15、72、および74；11、14、72、および74；11、16、72、および74；11、17、72、および74；12、14、72、および74；12、16、72、および74；12、17、72、および74；12、19、72、および74；13、15、72、および74；13、17、72、および74；1、14、73、および74；1、16、73、および74；1、17、73、および74；9、14、73、および74；9、17、73、および74；10、15、73、および74；10、17、73、および74；10、18、73、および74；10、19、73、および74；11、15、73、および74；11、14、73、および74；11、16、73、および74；11、17、73、および74；12、14、73、および74；12、16、73、および74；12、17、73、および74；12、19、73、および74；13、15、73、および74；または13、17、73、および74に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0411】

ある特定の実施形態では、キットは、CTLA-4（例えば、ヒトCTLA-4）に特異的に結合する第1の抗体を含む薬学的組成物で充填された第1の容器と、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する第2の抗体を含む薬学的組成物で充填された第2の容器とを含み、第1の抗体および第2の抗体の治療薬の組み合わせは、有効量内である。このキット中の抗CTLA-4抗体の量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低いか、等しいか、または高い可能性があり、このキット中の抗PD-1抗体の量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低いか、等しいか、または高い可能性がある。ある特定の実施形態では、このキット中の抗CTLA-4抗体の量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、このキット中の抗PD-1抗体の量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低い。ある特定の実施形態では、このキット中の抗CTLA-4抗体の量は、単独で投与されるとき、抗CTLA-4抗体の有効量よりも低く、このキット中の抗PD-1抗体の量は、単独で投与されるとき、抗PD-1抗体の有効量よりも低い。

7. 実施例

【0412】

この項（すなわち、項6）における実施例は、例証として提供されており、限定するものではない。

7.1 実施例1：抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体の組み合わせ

【0413】

この実施例は、抗CTLA-4アンタゴニスト抗体と抗PD-1アンタゴニスト抗体との組み合わせの機能的活性を特徴付ける。試験される抗体の完全長配列を表14に示す。

10

20

30

40

50

【表 14】

表 14. 抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体の完全長配列。

抗体	重鎖配列番号	軽鎖配列番号
AGEN1884 (IgG ₁)	51	59
AGEN2034 (IgG ₄ S228P)	91	93

10

7. 1. 1 抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体の組み合わせの投与量滴定

【0414】

一連の実験では、固定濃度の抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG₄ S228P) との組み合わせで、異なる濃度で投与される抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG₁) の機能的活性を、ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) 中で試験した。

【0415】

第1の実験では、ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を、10 µg/mL の抗PD-1抗体 AGEN2034 (IgG₄ S228P) またはアイソタイプ対照抗体 (IgG₄ S228P) との組み合わせで、抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG₁) またはアイソタイプ対照 (IgG₁) の用量滴定の存在下、最適以下濃度 (100 ng/mL) の Staphylococcal Enterotoxin A (SEA) スーパー抗原 (Toxin Technologies、カタログ番号at101red) で5日間、37 °Cおよび5% CO₂で刺激した。培養上清中のIL-2濃度を、AlphaLISA (Perkin Elmer、カタログ番号AL221F) によって分析した。異なる2ドナーからのPBMCを試験した。

20

【0416】

図1Aおよび1Bに示されるように、抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG₁) は、用量依存的にIL-2産生を刺激した。抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG₄ S228P) との組み合わせは、抗CTLA-4抗体単独によって誘発されるIL-2の分泌をさらに強化した。

30

【0417】

第2の実験では、凍結保存されたヒトPBMCを、培地 (Normocin (商標) (Invivogen #ant-nr) および10%の熱不活化FBS (Gibco, Invitrogen Corporation) で補充したRPMI1640) 中に10⁵細胞/ウェルでプレーティングした。固定抗体濃度の20 µg/mLの (i) 抗PD-1抗体 AGEN2034 (IgG₄ S228P) または (ii) アイソタイプ対照抗体 (IgG₄ S228P) のいずれかとの組み合わせで、用量範囲 (100~0.001 µg/mL) の抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG₁) の存在下、最適以下濃度 (100 ng/mL) のSEAスーパー抗原 (Toxin Technologies、カタログ番号at101red) で細胞を刺激した。次いで、細胞を5% CO₂中で5日間、37 °Cでインキュベートした。培養上清中のIL-2濃度を、AlphaLISA (Perkin Elmer、カタログ番号AL221F) によって分析した。異なる2ドナーからのPBMCを試験した。

40

【0418】

図2Aおよび2Bに示されるように、AGEN1884 (IgG₁) とAGEN2034 (IgG₄ S228P) の組み合わせは、AGEN1884 (IgG₁) およびアイソタイプ対照と比較して、刺激されたPBMCによってIL-2の分泌を強化した。この効果は、両方のドナーからのPBMCにおいて観察された。

7. 1. 2 固定濃度での抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体の機能的活性

50

【0419】

2つの実験の各々において、固定濃度の抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG1) および抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG4 S228P) の機能的活性を、6人の異なるヒトドナーからのPBMC中で試験した。6人のドナーのうちの5人は、2つの実験間で同じであった（ドナー5、7、8、9、および10）。残りのドナーは、2つの実験間で異なっていた（図3および4にそれぞれ示される、ドナー6および11）。

【0420】

各実験では、6人の健康なドナーからの凍結保存されたヒトPBMCを、培地（Normocin（商標）（Invivogen#ant-nr）および10%の熱不活化FBS（Gibco, Invitrogen Corporation）で補充したRPMI1640）中に10⁵細胞／ウェルでプレATINGした。10μg/mLの（i）抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG4 S228P) または（ii）アイソタイプ対照抗体（IgG4 S228P）のいずれかとの組み合わせで、10μg/mLの（i）抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG1) または（ii）アイソタイプ対照抗体（IgG1）のいずれかの存在下、最適以下濃度（100ng/mL）のSEAスーパー抗原（Toxin Technologies、カタログ番号at101red）でPBMCを刺激した。次いで、細胞を5% CO₂中で5日間、37℃でインキュベートした。澄清化した上清を回収し、分析まで-80℃で保存した。培養上清中のIL-2濃度を、AlphaLISA（Perkin Elmer、カタログ番号AL221F）によって分析した。

【0421】

図3および4に示されるように、抗PD-1 AGEN2034抗体 (IgG4 S228P) および抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG1) を一貫して組み合わせ、これらの抗体の各々について単独で観察されるレベルよりも活性化ヒトPBMCの培養物中のIL-2分泌を強化する。この強化は、7人の異なるヒトドナーから得られたPBMC中で観察された。

7.1.3 抗CTLA-4抗体および抗PD-1抗体を組み合わせ、非ヒト霊長類における中央記憶T細胞活性化および増殖を強化する

【0422】

この実施例では、抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG1) を抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG4 S228P) と組み合わせ、カニクイザルに投与し、治療の3日後に中央記憶T細胞活性化および増殖の変化について査定した。

【0423】

4匹のカニクイザルを、AGEN2034 (IgG4 S228P) と組み合わせ、AGEN1884 (IgG1) で治療した。各サルについて、10mg/kgのAGEN1884 (IgG1) を、初回刺激を受けていない栓で最初に静脈内（スローボラス）投与し、直後に3mg/kgのAGEN2034 (IgG4 S228P) を同様に投与した。抗体投与に続いて、3mLの塩水フラッシュをボラスに通し、栓をして、正しい量の試験材料を全量投与した。各動物の用量体積は、その最近の体重測定に基づいていた。動物は、一時的に用量投与に拘束され、鎮静されなかった。投与の初日を1日目と指定した。血液試料（2mL）を、14日目（3動物）または7日目（1動物）の投与前、ならびに投与の3日後に、PBMC単離およびフローサイトメトリー分析のために収集した。図5Aは、測定されたT細胞集団のうちの各々、すなわち、CD4ナイーブT細胞（CD3+、CD4+、CD28+、CD95-）、CD8ナイーブT細胞（CD3+、CD8+、CD28+、CD95-）、CD4中央記憶T細胞（CD3+、CD4+、CD28+、CD95+）、CD8中央記憶T細胞（CD3+、CD8+、CD28+、CD95+）、CD4エフェクター記憶T細胞（CD3+、CD4+、CD28-、CD95+）、およびCD8エフェクター記憶T細胞（CD3+、CD8+、CD28-、CD95+）を定義するためのゲート戦略を示す。研究の1動物について、投与前試料（14日目）中および抗体投与後3日目の、CD4+およびCD8+中央記憶T細胞中のKi67およ

びICOS発現についての代表的なフローサイトメトリーデータを図5Bおよび5Cに示す。T細胞活性および増殖は、投与前レベルと比較して、抗体治療の3日後に、CD4+およびCD8+中央記憶T細胞集団の療法において上昇したことが見出された。

【0424】

図6Aおよび6Dに示されるように、抗CTLA-4抗体AGEN1884 (IgG₁) および抗PD-1抗体AGEN2034 (IgG₄ S228P) を投与されたカニクイザルは、投与前試料と比較して、抗体投与の3日後に、ICOS+およびKi67中央記憶T細胞の実質的な増加を呈した。これらの結果は、研究における動物のうちの1匹について、図5に示されるデータを含む。活性化した増殖集団の統計的に有意な増加は、CD8+中央記憶T細胞について観察された(図6Cおよび6D)。これらのデータは、AGEN1884 (IgG₁) およびAGEN2034 (IgG₄ S228P) の組み合わせでの治療は、中央記憶T細胞活性化および増殖を増加させたことを示す。

7. 2 実施例2：抗CTLA-4抗体のエピトープマッピング

【0425】

AGEN1884 (AGEN1884-Fab) のFab断片と、ヒトCTLA-4の細胞外ドメインとの相互作用を、水素-重水素交換(HDX)質量分析によって研究した。CTLA-4細胞外ドメインは、単独で、またはAGEN1884-Fabとの組み合わせで、pH7.4のリン酸緩衝生理食塩液中、10倍量の酸化重水素標識緩衝液で希釈し、異なる期間(0、60、300、1800、および7200秒)にわたって室温でインキュベートした。重水素と水素の交換は、1体積の4M塩酸グアニジン、0.85MのTCEP(トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン)緩衝液を添加することによってクエンチし、最終pHは2.5であった。次いで、試料をオンカラムペプシン/プロテアーゼXIII型消化およびLC-MS分析に供した。質量スペクトルは、MSオンリーモードで記録した。重水素組み込みの計算のために、所与のペプチドについての質量分析を、抽出されたイオンクロマトグラムピークにわたって組み合わせ、加重平均m/zを計算した。天然のペプチドの質量(0分)から加重平均質量への質量増加は、重水素の組み込みレベルに対応する。全てのペプチドについての交換時間にわたる重水素蓄積曲線を、さらなる分析のためにプロットし、HDExaminerソフトウェアで比較した。

【0426】

CTLA-4ペプチドの大部分は、抗ヒトCTLA-4 Fabの存在下、および非存在下で、同一または同様の重水素レベルを示した。しかしながら、いくつかのペプチドセグメントは、Fab結合時に著しく減少した重水素の組み込みを有することが見出された。この段落での全ての残基は、配列番号96に従って番号付けされる。2つの領域、残基80~82(QVT、配列番号102)および残基135~149(YPPPYLYLGINGNTQI、配列番号100)は、ヒトCTLA-4がFabに結合したときに、強い重水素保護を経験した。重水素取り込みの最も強い減少は、残基140~141(YL)において観察され、したがってこれは、CTLA-4上のAGEN1884のエピトープの主な特徴であると思われた。ヒトおよびカニクイザルCTLA-4(両方のAGEN1884が強く結合する(データ図示せず))の配列の検査は、141位におけるロイシンのメチオニン置換を除いて、上述の2つの領域においてほとんど完全な配列同一性を明らかにする(図7A)。対照的に、AGEN1884は、マウスまたはラットCTLA-4のいずれかに有意な程度で結合せず(データ図示せず)、これは4つの位置のうちの3つにおける残基140~143(YLGI、配列番号97)のヒトCTLA-4とは異なる(図7A)。さらに、選択性データは、AGEN1884が、ヒトおよびカニクイザルCTLA-4に高い特異性で結合し、CD28、ICOS、BTLA、およびPD-1を含む他の関連CD28ファミリーメンバーには結合しないことを示す(データ図示せず)。これらの関連タンパク質間の配列比較は、非CTLA-4タンパク質の全てが、残基140~143(YLGI、配列番号97)において異なり(図7B)、AGEN1884の結合に対するこのエピトープの重要性をさらに支持する。

7. 3 実施例3：抗PD-1抗体のエピトープマッピング

【0427】

抗PD-1抗体AGEN2034のエピトープを、水素-重水素交換(HDX)質量分析およびPepsican分析を使用して特徴付けた。

7.3.1.1 水素-重水素交換(HDX)質量分析を使用する抗PD-1 Fabのエピトープマッピング

【0428】

AGEN2034 (AGEN2034-Fab)のFab断片と、ヒトPD-1の細胞外ドメインとの相互作用を、水素-重水素交換(HDX)質量分析によって研究した。

【0429】

組み換えHisタグ付きヒトPD-1は、Sino Biological Inc (カタログ番号10377-H08H) から入手した。使用するとき、脱グリコシル化PD-1を、6 µLのPNGase Fで4時間、37°Cでインキュベートされた300 µgの組み換えHisタグ付きヒトPD-1タンパク質から調製した。抗PD-1抗体のFab断片は、プロテアーゼ処理によってAGEN2034から調製した。

【0430】

ペプシン/プロテアーゼXVIIII消化の場合、125 µLの対照緩衝液(50 mMのリン酸塩、100 mMの塩化ナトリウム、pH 7.4)中4.0 µgの天然または脱グリコシル化ヒトPD-1を、135 µLの4 M塩酸グアニジン、0.85 M TCEP緩衝液(最終pHは2.5である)を添加し、混合物を11°Cで3分間インキュベートすることによって変性させた。次いで、混合物を、室内で充填されたペプシン/プロテアーゼXVIIIIカラムを使用して、オンカラムペプシン/プロテアーゼXVIIII消化に供し、得られたペプチドを、Q Exactive (商標) Hybrid Quadrupole-Orbitrap質量分析計(Thermo)に連結されたWaters Acquity UPLCで構成されたUPLC-MSシステムを使用して分析した。2~27%溶媒B(アセトニトリル中0.2%のギ酸)から19 min勾配を有する50 mm×1 mm C8カラム上でペプチドを分離した。ペプチドの同定は、Mascotを有するヒトPD-1配列に対するMS/MSデータを検索することを通じて行った。前駆体および産生物イオンの質量耐性は、それぞれ10 ppmおよび0.05 Daであった。

【0431】

10 µLのヒトPD-1(4.0 µg)または10 µLのヒトPD-1およびFab混合物(4.0 µg:4.0 µg)を、125 µLの酸化重水素標識緩衝液(50 mMのリン酸ナトリウム、100 mMの塩化ナトリウム、pH 7.4)で0秒、60秒、600秒、および3600秒間にわたって11°Cでインキュベートした。水素/重水素交換は、135 µLの4 M塩酸グアニジン、0.85 M TCEP緩衝液を添加することによってクエンチし、最終pHは2.5であった。続いて、クエンチした試料を、上述のオンカラムペプシン/プロテアーゼXVIIII消化およびLC-MS分析に供した。質量スペクトルは、MSオンリーモードで記録した。

【0432】

H/D交換MSデータの分析のために、原MSデータを、HDX WorkBenchソフトウェアを使用して処理した(J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2012, 23(9), 1512-1521、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。重水素化ペプチドとその天然形態(t₀)との平均質量差を使用して、重水素レベルを計算した。

【0433】

Hisタグのない脱グリコシル化ヒトPD-1について、85.4%の配列包括度が達成された。大部分のPD-1ペプチドは、抗ヒトPD-1 Fabの存在下、および非存在下で、同一または同様の重水素レベルを示した。しかしながら、いくつかのペプチドセグメントは、Fab結合時に著しく減少した重水素の組み込みを有することが見出された。この段落での全ての残基は、配列番号96に従って番号付けされる。脱グリコシル化ヒトPD-1は、残基127~142(SLAPKAQIKESLR AEL、配列番号103

10

20

30

40

50

）において抗ヒトPD-1 Fabに結合する際に、重水素取り込みの強い低減を示した。加えて、重水素取り込みの減少は、抗ヒトPD-1 Fabに結合する際に、残基25～42（LDSPDRPWNPPTFSPALL）（配列番号104）において観察された。

7.3.2 Pepscan分析を使用する抗PD-1抗体のエピトープマッピング 【0434】

抗PD-1抗体AGEN2034の結合は、チップ結合ペプチドアレイとして調製された合成PD-1ペプチド断片に対して測定した。分析は、Pepscan Presto BV（Lelystad, the Netherlands）によって行われた。要するに、ヒトPD-1のエピトープを再構成するために、ペプチドのライブラリを合成した。所有の親水性ポリマー製剤でグラフトし、続いてジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）をNヒドロキシベンゾトリアゾール（HOBt）とともに使用してt-ブチルオキシカルボニル-ヘキサメチレンジアミン（BocHMDA）と反応させ、その後にトリフルオロ酢酸（TFA）を使用してBoc基を切断することによって、アミノ官能化ポリプロピレン支持体を得られた。標準Fmoc-ペプチド合成を使用して、カスタム修飾されたJANUS液体ハンドリングステーション（Perkin Elmer）によってアミノ官能化固体支持体上にペプチドを合成した。構造模倣体の合成は、Pepscan所有の足場上の化学結合したペプチド（Chemically Linked Peptides on Scaffolds、CLIPS）技術を使用して行った。CLIPS技術は、ペプチドの構造を、単一ループ、二重ループ、三重ループ、シート様折り畳み、らせん様折り畳み、およびそれらの組み合わせにするのを可能にする。合成されたペプチドの各々への抗体の結合は、PEPSCANベースのELISAにおいて試験した。ペプチドアレイを、一次抗体溶液で一晩、4℃でインキュベートした。洗浄後、ペプチドアレイをヤギ抗ヒトHRP共役体（Southern Biotech、カタログ番号2010-05）で1時間、25℃でインキュベートした。洗浄後、ペルオキシダーゼ基質2,2'-アジノージ-3-エチルベンズチアゾリンスルホネート（ABTS）および20μL/mLの3% H₂O₂を添加した。1時間後、発色現象を測定し、電荷結合素子（CCD）-カメラおよび画像処理システムで定量化した。

【0435】

Pepscan研究は、抗PD-1抗体AGEN2034が、配列番号96に従って番号付けされた残基26～35（DSPDRPWNP、配列番号105）、残基150～158（EVPTAHPSP、配列番号106）、および残基126～133（ISLAPKAQ、配列番号107）を含む、ひと続きのヒトPD-1を認識したことを示した。

* * *

【0436】

本発明の範囲は、本明細書に記載の特定の実施形態に限定されるものではない。実際には、記載される修正に加えて本発明の様々な修正が、前述の説明および添付の図面から当業者に明らかになるであろう。かかる修正は、添付の特許請求の範囲内に収まるよう意図されている。

【0437】

本明細書に引用される全ての参考文献（例えば、出版物または特許または特許出願）は、各々の個別の参考文献（例えば、出版物または特許または特許出願）が全ての目的のために参照によりその全体が組み込まれると具体的かつ個別に示される場合と同じ程度に、全ての目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0438】

他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内である。

10

20

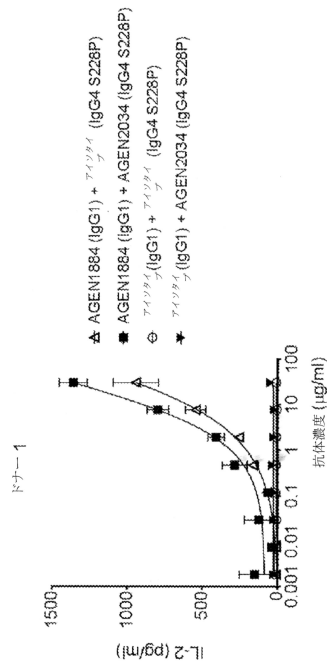
30

40

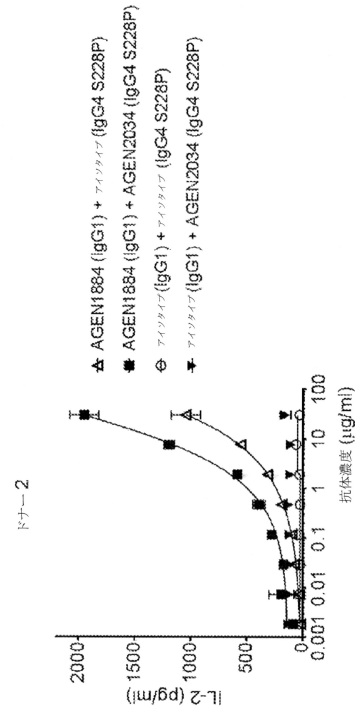
50

【図面】

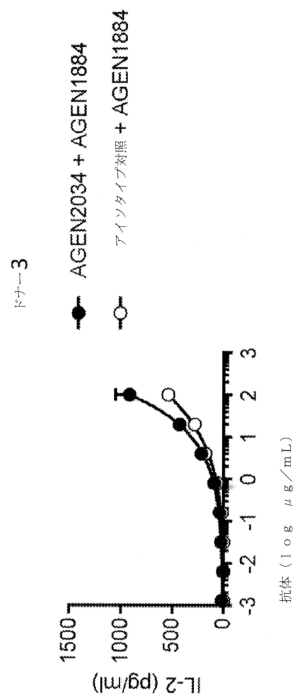
【図 1 A】



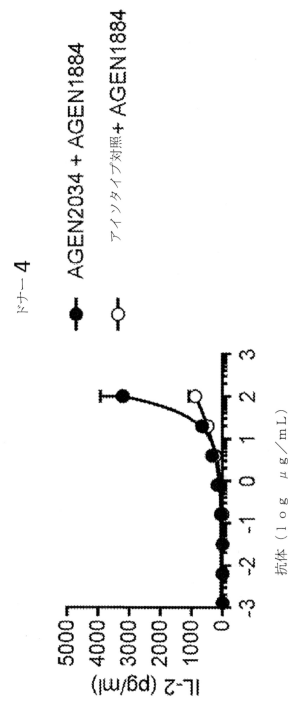
【図 1 B】



【図 2 A】



【図 2 B】



10

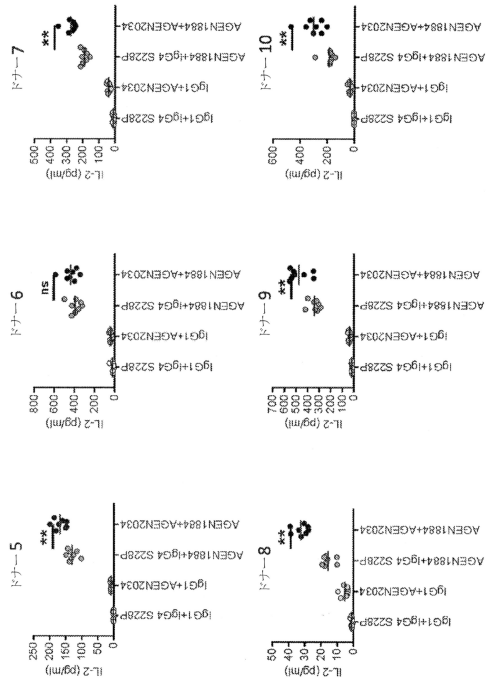
20

30

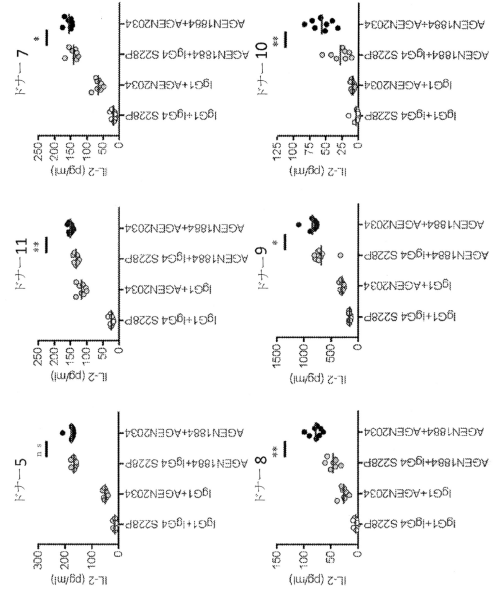
40

50

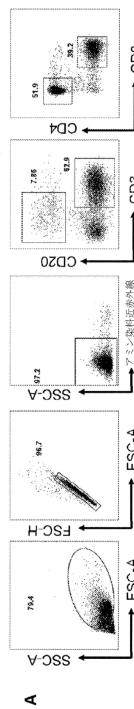
【図 3】



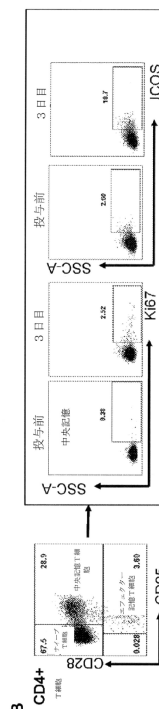
【図 4】



【図 5 A】



【図 5 B】



10

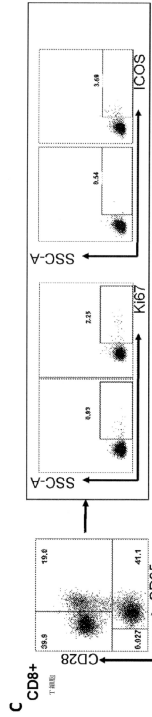
20

30

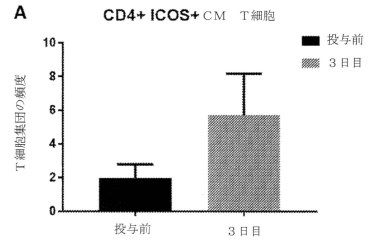
40

50

【図 5 C】



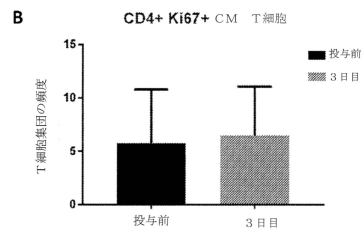
【図 6 A】



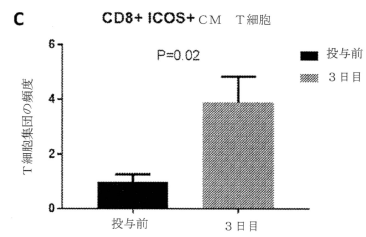
10

20

【図 6 B】



【図 6 C】



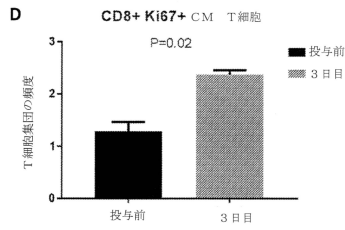
6

30

40

50

【図 6 D】



【図 7 A】

P16410	CTLA4_レト	1	MACLGQRHQALNATRIWETCILLFELFFVFCAMHVAQPAVLASRRGSIASFVCEY	60
G7EJ88	CTLA4_MACEA	1	R.....R.Y.....S.....N.....	60
P09793	CTLA4_793	1	L.R.Y.....Q.S.....F.V.A.L.L.....S.E.I.Q.T.S.....H.V.....P.....	60
Q62859	CTLA4_981	1	L.Y.T.H.Q.S.....F.C.V.L.S.....L.S.E.I.Q.T.S.....H.V.....P.....	60
			*****:*****:*****:*****:*****:*****	
P16410	CTLA4_レト	61	ASPGKATEVTVIAROADSQUTEVCAATVMGNELTFIDDSCTGSSGQNVNITQIGR	120
G7EJ88	CTLA4_MACEA	61	S.H.N.T.D.....T.N.D.M.....T.T.F.E.K.T.V.G.....Y.P.F.S.....F.N.E.S.R.....	120
P09793	CTLA4_793	61	S.H.N.T.D.....T.N.D.....T.T.F.V.K.T.G.....P.P.S.....F.N.E.S.R.....	120
Q62859	CTLA4_981	61	*****:*****:*****:*****:*****:*****	120
			*****:*****:*****:*****:*****:*****	
P16410	CTLA4_レト	121	AMDTGLYICKVLMPPVYVIGIGTGQIWDPPCPDSDFELNIAVSSGLFVSYFL	180
G7EJ88	CTLA4_MACEA	121	F.....M.....	180
P09793	CTLA4_793	121	V.....L.....F.V.M.....V.....L.....	180
Q62859	CTLA4_981	121	A.....F.....F.V.M.....V.....L.....	180
			*****:*****:*****:*****:*****:*****	
P16410	CTLA4_レト	181	LTAVSLSKMLKRSPLTTGVVVMKPEPECEKQFQVPFIPIN	223
G7EJ88	CTLA4_MACEA	181		223
P09793	CTLA4_793	181	VS.....	223
Q62859	CTLA4_981	181	V.....NRT.....	223
			*****:*****:*****:*****:*****:*****	

【図 7 B】

[illegible]

【圖 7 C】

```

SPI P16410 |CTLA4_4_1_1|
NGTQIWIIDP-----EPCPD-----DFLLMILAAVSSGLFFVFSLLTAVSI--S-KML 190
SPI P16410 |CTLA4_4_1_1|
NGTQIWIIDP-----EPCPD-----DFLLMILAAVSSGLFFVFSLLTAVSI--S-KML 190
SPI P10747 |CD28_1_1|
SNGTIHVAKG-----HLCSPFFGSPKFWIIVVGGVLACYSLLTVAFI--IFWR 180
SPI Q9Y6W8 |ICOS_1_1|
-----GGYILV-----QCLQC-----KFWLPIGCA--FWVILICGII--LCWLT 165
SPI Q9Y6W8 |ICOS_1_1|
SSTLTIVTDVKASRPSKDEMAS-PLLIVLILPGG-----LPIILTCFOLLCLR 180
SPI Q15116 |PDCD1_1_1|
VTRRAEVETA-----HSPSPRAPG-QPTIIVGVGGVGLGSLIVLWVLA--ICGR 190
. . . . .
SPI P16410 |CTLA4_4_1_1|
KRKSP-----LTIGVYVVMPEPE-----PEG-EKQFQYPIPIN-----223
KRKSP-----LTIGVYVVMPEPE-----PEG-EKQFQYPIPIN-----223
SRKSR-----LHSDYNNMTPR-----PGTKHYQYAPRD--FAAYS-----220
KKKYSASSVHDNDEYMEVRAN--TAKSKSLTDVTI-----199
HOGQNELSDTAGREINIVDAHLKSEQTASTRONSVILSETGIYDNDPLCFRMQEGS 240
ANG-----TIG-----ARR-----TGQP-LKDEDSAVPFT--SVDYGELDFQWREKT 234
. . . . .
SPI P16410 |CTLA4_4_1_1|
-----
SPI P10747 |CD28_1_1|
-----
SPI Q9Y6W8 |ICOS_1_1|
-----
SPI Q9Y6W8 |ICOS_1_1|
-----
SPI Q15116 |PDCD1_1_1|
-----
SPI Q15116 |PDCD1_1_1|
EYNSNPLCEENK--GIYASLNHVSIVGPNSLARNVKAETAYSI-----CVRS- 289
PEPFVCPVEQCTAYIIFV--SGMGTSFSAARSDGPRGAQEPDGHGCSWFL 288

```

【配列表】

0007106538000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C O 7 K 16/46 (2006.01)

C O 7 K 16/46

Z N A

C O 7 K 16/18 (2006.01)

C O 7 K 16/18

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/582,814

(32)優先日 平成29年11月7日(2017.11.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/586,605

(32)優先日 平成29年11月15日(2017.11.15)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

1 2 7 5

(74)代理人 100108453

弁理士 村山 靖彦

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(74)代理人 100133400

弁理士 阿部 達彦

(72)発明者 マルク・ファン・デイク

オランダ・3 7 3 5カーヘー・ボス・エン・ダイン・トルハイスラーン・8アー

(72)発明者 コルネリア・アンネ・ムント

ドイツ・7 9 5 3 9・レラハ・ハングシュトラッセ・3 4

(72)発明者 ゲルト・リッター

アメリカ合衆国・ニューヨーク・1 0 0 1 7・ニュー・ヨーク・サード・アヴェニュー・6 6 6・
ルドウイグ・インスティテュート・フォー・キャンサー・リサーチ内

(72)発明者 デイヴィッド・シェアー

アメリカ合衆国・ニューヨーク・1 0 5 4 3・ママロネック・ショア・エイカーズ・ドライブ・7
1 5

(72)発明者 ジェド・デイヴィッド・ウォルコク

アメリカ合衆国・ニューヨーク・1 0 0 1 6・ニュー・ヨーク・イースト・サティエス・ストリ
ート・3 3 3・アパートメント・1 7シー

(72)発明者 ターハ・メルクホーブ

アメリカ合衆国・ニュージャージー・0 7 3 0 6・ジャージー・シティ・ヒューロン・アヴェニュー
ー・1 0・アパートメント・1 4ケー

(72)発明者 ニコラス・スチュアート・ウィルソン

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 2 1 5 5・メドフォード・グローブ・ストリート・2 9 2

(72)発明者 デイヴィッド・アダム・サヴィツキー

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 1 9 2 1・ボックスフォード・サンライズ・ロード・2 8

(72)発明者 マーク・アーサー・ファインダイス

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 2 4 7 8・ベルモント・スクール・ストリート・4 3 1

(72)発明者 ロベルタ・ザッパソディ

アメリカ合衆国・ニューヨーク・1 0 0 4 4・ニュー・ヨーク・メイン・ストリート・4 7 5・ア
partment・2ユー

(72)発明者 リッケ・ベク・ホルムガールド

アメリカ合衆国・ニューヨーク・1 0 0 2 3・ニュー・ヨーク・ウェスト・シックスティース・ス
トリート・2 0 0・アパートメント・1 4エフ

(72)発明者 ジャンーマリー・キュイレロット

合衆国・マサチューセッツ・02143・サマービル・タワー・コート・5・アパートメント・#4

(72)発明者 イゴル・プロスクルシム

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・01741・カーライル・カーブ・ストリート・1193

(72)発明者 オルガ・シェバノワ

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02144・サマービル・モルバーン・アヴェニュー・13

・#1

審査官 大島 彰公

(56)参考文献 国際公開第2006/121168 (WO, A1)

国際公開第2008/083174 (WO, A2)

国際公開第2015/176033 (WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A61K、A61P、C07K

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)