

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7581225号
(P7581225)

(45)発行日 令和6年11月12日(2024.11.12)

(24)登録日 令和6年11月1日(2024.11.1)

(51)国際特許分類

A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)

F I

A 6 1 K 39/395
A 6 1 P 35/00
A 6 1 K 39/395
A 6 1 K 39/395
C 0 7 K 16/28

N
T
D
Z N A

請求項の数 6 (全114頁)

(21)出願番号 特願2021-553837(P2021-553837)
(86)(22)出願日 令和2年3月10日(2020.3.10)
(65)公表番号 特表2022-525071(P2022-525071
A)
(43)公表日 令和4年5月11日(2022.5.11)
(86)国際出願番号 PCT/US2020/021783
(87)国際公開番号 WO2020/185722
(87)国際公開日 令和2年9月17日(2020.9.17)
審査請求日 令和5年3月2日(2023.3.2)
(31)優先権主張番号 62/817,749
(32)優先日 平成31年3月13日(2019.3.13)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 522242018
メルク・シャープ・アンド・ドーム・エ
ルエルシー
アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・
0 7 0 6 5 - 0 9 0 7、ローウェイ、イ
ースト・リンカーン・アベニュー・1 2
6
(74)代理人 100114188
弁理士 小野 誠
(74)代理人 100119253
弁理士 金山 賢教
(74)代理人 100124855
弁理士 坪倉 道明
(74)代理人 100129713
弁理士 重森 一輝

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 CTLA - 4 遮断剤と PD - 1 遮断剤とを含む抗癌併用療法

(57)【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

エフェクター機能を有する抗PD - 1抗体または抗PD - L1抗体と組み合わせて使用す
るための、そして、中度から重度の皮膚または腸炎性免疫関連毒性を引き起こさず個体
の癌を治療するための、エフェクター - サイレント抗CTLA - 4抗体を含む組成物であ
つて、

ここで、該エフェクター - サイレント抗CTLA - 4抗体は、

(i) Biacore (ピアコア) アッセイによる測定で、1以上のFc受容体 (FcR)
への測定可能な結合を示さない、もしくは、当該抗体と同じアイソタイプの野生型 IgG
と比較して低減した1以上のFcRへの結合を示すエフェクター - サイレント抗CTLA - 4
抗体、あるいは、

(ii) Fcドメインを欠くまたは1以上のFc受容体に結合するFcドメインの領域を
欠くエフェクター - サイレント抗CTLA - 4抗体フラグメントである、
組成物。

【請求項 2】

エフェクター - サイレント抗CTLA - 4抗体が、

アミノ酸297位から開始するN - グリコシル化部位Asn - Xaa - Ser / Thr
における突然変異であって、該N - グリコシル化部位におけるN - グリコシル化を阻止
する突然変異を含むIgG1、IgG2もしくはIgG4 Fcドメイン、または、1、
2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/

もしくは欠失を更に含む該突然変異 F c ドメイン；

N 2 9 7 A、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / D 2 6 5 A、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / P 3
2 9 G、L 2 3 5 E、D 2 6 5 A、E 2 3 3 A / L 2 3 5 A、N 2 9 7 A / D 3 5 6 E /
L 3 5 8 M、L 2 3 4 F / L 2 3 5 E / P 3 3 1 S / D 3 6 5 E / L 3 5 8 M、もしくは
D 2 6 5 A / N 2 9 7 G アミノ酸置換を含む I g G 1 F c ドメイン、または、1、2、
3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは
欠失を更に含む該突然変異 F c ドメイン；

N 2 9 7 A / D 2 6 5 S、D 2 6 5 A、P 3 2 9 G / D 2 6 5 A / N 2 9 7 G、もしくは
V 2 3 4 A / G 2 3 7 A / P 2 3 8 S / H 2 6 8 A / V 3 0 9 L / A 3 3 0 S / P 3
3 1 S アミノ酸置換を含む I g G 2 F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、
7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む
該突然変異 F c ドメイン；あるいは

S 2 2 8 P アミノ酸置換と N 2 6 7 A、P 3 2 9 G、D 2 6 5 A / N 2 9 7 A アミノ
酸置換とを含む I g G 4 F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9
もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然
変異 F c ドメイン、

を含み、

ここで、アミノ酸位置は E u 番号付けに従い特定される、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 3】

(a) 抗 P D 1 抗体が、(i) ペンブロリズマブの 3 つの重鎖 (H C) 相補性決定領域
(C D R) および 3 つの軽鎖 (L C) C D R、(ii) ニボルマブの 3 つの H C C D R
および 3 つの L C C D R、または (iii) セミプリマブ - r w l c の 3 つの H C C D
R および 3 つの L C C D R を含む、ならびに

(b) 抗 P D - L 1 抗体が、(i) デュルバルマブの 3 つの H C C D R および 3 つの
L C C D R、(ii) アベルマブの 3 つの H C C D R A および 3 つの L C C D R、また
は (iii) アテゾリズマブの 3 つの H C C D R A および 3 つの L C C D R を含む、
請求項 1 記載の組成物。

【請求項 4】

抗 C T L A - 4 抗体または抗 C T L A - 4 抗体フラグメントが、(i) イビリムマブの
3 つの重鎖 (H C) 相補性決定領域 (C D R) および 3 つの軽鎖 (L C) C D R、(ii)
トレメリムマブの 3 つの H C C D R および 3 つの L C C D R、(iii) R E G N 4
6 5 9 の 3 つの H C C D R および 3 つの L C C D R、(iv) A G E N 1 8 8 4 w の 3
つの H C C D R および 3 つの L C C D R、(v) 8 D 2 / 8 D 2 (R E) の 3 つの H C
C D R および 3 つの L C C D R、(vi) 8 D 2 / 8 D 2 (R E) - 変異体 1 の 3 つの
H C C D R および 3 つの L C C D R、(vii) 8 D 2 H 1 L 1 の 3 つの H C C D R
および 3 つの L C C D R、(viii) 8 D 2 H 1 L 1 - 変異体 1 の 3 つの H C C D R
および 3 つの L C C D R、(ix) 8 D 2 H 2 L 2 の 3 つの H C C D R および 3 つの L
C C D R、(x) 8 D 2 H 2 L 2 - 変異体 1 の 3 つの H C C D R および 3 つの L C C
D R、(xi) 8 D 3 H 3 L 3 の 3 つの H C C D R および 3 つの L C C D R、(xii)
8 D 2 H 2 L 1 5 の 3 つの H C C D R および 3 つの L C C D R、(xiii) 8 D 2
H 2 L 1 5 - 変異体 1 の 3 つの H C C D R および 3 つの L C C D R、(xiv)
8 D 2 H 2 L 1 7 の 3 つの H C C D R および 3 つの L C C D R、または (xv)
8 D 2 H 2 L 1 7 - 変異体 1 の 3 つの H C C D R および 3 つの L C C D R を含む、
請求項 1 記載の組成物。

【請求項 5】

癌が、黒色腫、非小細胞肺癌、頭頸部癌、尿路上皮癌、乳癌、胃腸癌、多発性骨髄腫、
肝細胞癌、非ホジキンリンパ腫、腎癌、ホジキンリンパ腫、中皮腫、卵巣癌、小細胞肺癌
、食道癌、肛門癌、胆道癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、甲状腺癌または唾液腺癌である、
請求項 1 記載の組成物。

【請求項 6】

10

20

30

40

50

癌が、膵臓癌、気管支癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳もしくは中枢神経系癌、末梢神経系癌、子宮もしくは子宮内膜癌、口腔もしくは咽頭癌、肝癌、腎臓癌、精巣癌、胆道癌、小腸もしくは虫垂癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫または血液組織の癌である、請求項 1 記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(1) 発明の分野

本発明は、CTLA-4 遮断剤と PD-1 遮断剤とを含む抗がん（以下、癌と表記される）併用（組合せ）療法に関する。特に、本発明は、CTLA-4 遮断剤が、低減したエフェクター機能を有する若しくは測定可能なエフェクター機能を全く有さない抗 CTLA-4 抗体、または Fc ドメインを欠く抗 CTLA-4 抗体フラグメントであり、そして、PD-1 遮断剤が、抗 PD-1 抗体、抗 PD-1 抗体フラグメント、抗 PD-L1 抗体もしくは抗 PD-L1 抗体フラグメントである、併用療法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

(2) 関連技術の記載

腫瘍免疫療法は、種々の癌適応症の治療においてより重要な役割を担ってきている。細胞傷害性 T リンパ球抗原 4 (CTLA-4) およびプログラム死受容体 1 (PD-1) のような T 細胞上で発現される免疫チェックポイント阻害受容体の抗体遮断を利用した臨床的成功は、癌に対する免疫療法の顕著な進歩を促している。モノクローナル抗体 (mAb) による CTLA-4 または PD-1 の単独療法遮断は、対照ランダム化臨床試験において抗腫瘍応答の増強および有益な臨床結果をもたらしている。

20

【0003】

種々の癌を治療するための免疫チェックポイント遮断（免疫チェックポイント阻害）の顕著な特徴は、抗 PD-1 抗体と抗 CTLA-4 抗体とを含む併用療法の臨床的に検証された利点である。益々多くの臨床データが発表されるにつれて、抗 PD-1 / CTLA-4 併用療法は、いずれか一方のチェックポイント経路のみを標的化する場合と比較して優れた臨床効果をもたらしうることが明らかになりつつある。しかし、抗 CTLA-4 抗体に関連する免疫関連毒性 (irAE) は、単独療法の場合および抗 PD-1 抗体との併用療法の両方において重要である。例えば、商品名 YERVOY としてブリストルマイヤーズスクイブ (Bristol-Myers Squibb) により販売されており、米国食品医薬品局 (United States Food and Drug Administration) (US FDA) により承認されている唯一の抗 CTLA-4 抗体である抗 CTLA-4 抗体イピリムマブ (ipilimumab) は、腸、肝臓、皮膚、ホルモン産生腺および / または眼の炎症のような重篤で致命的な免疫媒介性副作用を誘発する可能性があるため、黒枠警告 (Black Box warning) の対象となっている。イピリムマブは、進行性腎細胞癌および特定の結腸直腸癌に対する、抗 PD-1 抗体ニボルマブ (nivolumab) (商品名 OPDIVO として Bristol-Myers Squibb により販売されている) との併用療法としても承認されているが、重大な irAE のリスクゆえに、イピリムマブは 1 mg / kg の低用量または治療量以下の用量で投与される。併用療法のための治療量以下の用量は、切除不能もしくは転移性黑色腫の場合の 3 mg / kg の単独療法用量または黑色腫補助療法の場合の 10 mg / kg の単独療法用量よりも有意に低い (YERVOY の添付文書およびラベル (2018 年 7 月) を参照されたい)。

30

【0004】

FDA により承認されている抗 PD-1 mAb であるニボルマブおよびペンブロリズマブは、共にヒト化抗 PD-1 IgG4 カッパ抗体であり、それぞれ、米国特許第 8,008,449 号および米国特許第 8,354,509 号に開示されている。IgG4 アイソタイプ Fc ドメインは、検出可能なエフェクター機能をほとんど有さないものとして一般

40

50

に認識されている。

【0005】

イピリムマブはヒト抗CTLA-4 IgG₁カッパ抗体であり、米国特許第6,984,720号に開示されている。IgG₁アイソタイプの重鎖(HC)定常ドメインは、Fc受容体(FcR)に対する高いアフィニティを有すると一般に認識されているFcドメインを有し、これは重要なエフェクター機能[例えば、抗体依存性細胞傷害(ADCC)、抗体依存性細胞食作用(ADCP)および/または補体依存性細胞傷害(CDCC)]を抗体にもたらす。研究は、Fcエフェクター機能が抗CTLA-4抗体の有効性に必要であることを示している。例えば、Ingramら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 115: 3912-3917 (2018)は、重鎖Fcドメインとそれに伴うエフェクター機能とを欠く、抗CTLA-4アルバカ重鎖のみの抗体フラグメント(VHH)が、抗腫瘍効果を有さないことをマウスモデルにおいて示した。しかし、抗腫瘍効果を分子に回復させることができ、エフェクター機能を示すマウスIgG₂重鎖Fcドメインをそれに融合させることにより可能であった。また、Selbyら, Cancer Immunol. Res. 1: 32-42 (2013)は、エフェクター機能を排除するよう突然変異したFcドメインに融合または結合した抗CTLA-4抗体が、抗腫瘍活性を示さないことをマウスモデルにおいて示した。Simpsonら, J. Exp. Med. 210: 1695-710 (2013)および国際特許出願番号WO2014089113も参照されたい。10

【0006】

トレメリズマブはヒト抗CTLA-4ヒトIgG₂抗体であり、米国特許第8,491,895号に開示されている。ヒトIgG₂アイソタイプは、潜在的なエフェクター機能活性を最小化することによりirAEを潜在的に低減するために選択された。しかし、Vargasら, Cancer Cell 33: 649-663 (2018)に示されており、トレメリズマブはエフェクター機能を保有しており、Bertrandら, BMC Med. 13: 211-214 (2015)は、トレメリズマブはイピリムマブより高い用量で投与可能であるが、それはirAE、特に腸および皮膚炎症性免疫媒介性毒性を専門誘発しうることを示した。Ribasら, The Oncologist 12: 873-993 (2007)、Schneider-Merckら, J. Immunol. 184: 512-520 (2010)およびKonitzerら, PLoS One. 10: e0145633 (2015)(これは、IgG₁アイソフォームに類似した同様性のADCCおよびADCPをインビトロで誘導する他のヒトIgG₂抗体を示した)も参照されたい。20

【0007】

イピリムマブのirAEを低減する他の試みは、プロテアーゼ切断可能リンカーを介して、抗体の活性抗原結合部位を含む独自のマスキングペプチドに連結されたイピリムマブで構成されるプロボディ(probody)であるBMS-986249を含む。マスキングペプチドは、正常組織においてCTLA-4に結合するイピリムマブの能力を最小化することによりirAEを低減しうる[国際特許出願WO2009025846、WO2010081173、WO2018222949、WO2018085555、Paiら, J. Clin. Invest. 129: 349-363 (2019)、およびKormanら, Abstract SY09-01, AACR Annual Meeting Vol. 77, issue 13 (2017)を参照されたい]。40

【0008】

イピリムマブのような抗CTLA-4抗体の治療効果が制御性T細胞(Treg)の減少を伴うことを示唆する研究を考慮して、増強したADCC活性を有するイピリムマブのような抗CTLA-4抗体が現在の抗体より有効な抗腫瘍活性をもたらすと、提示されている。米国特許第10,196,445号は、増強したADCC活性を有する幾つかのイピリムマブ変異体を開示している。

【0009】

10

20

30

40

50

幾つかの抗癌療法の標準治療は、化学療法と組み合わされた抗PD-1抗体を供与することを含む。抗CTLA-4抗体の抗腫瘍活性は、これらの療法の有効性を更に増強しうる；しかし、胃腸毒性は化学療法中に見られる最も一般的に遭遇する副作用の1つであるため、抗CTLA-4抗体を療法に加えることは胃腸毒性を悪化させる可能性がある。

【0010】

明らかに、関連irAE、特に、現在の抗CTLA-4抗体に関連した皮膚および腸炎症性免疫媒介性毒性を伴うことなく、より高い、より最適なレベルでの投与を可能にした抗CTLA-4抗体は、抗PD-1アンタゴニスト、および、所望により化学療法と組み合わされたより有効な治療を可能にする可能性が高いであろう。

【発明の概要】

【0011】

発明の簡潔な概要

本発明者らは、CTLA-4に結合する特定のCTLA-4遮断剤が、単独療法として投与された場合には低減した抗腫瘍活性を有するか又は測定可能な抗腫瘍活性を全く有さないが、PD-1遮断剤との併用療法で使用された場合には臨床的に適切な抗腫瘍活性を示しうることを見出した。本発明者らはまた、これらの特定のCTLA-4遮断剤が、現在承認されているCTLA-4/PD-1遮断併用療法に関連づけられている免疫媒介性副作用(irAE)(皮膚および腸におけるirAEを含む)を誘発することなく、CTLA-4/PD-1遮断併用療法において抗腫瘍活性をもたらしうることを見出した。本明細書に開示されているCTLA-4/PD-1遮断の組合せは、化学療法を含む併用療法を含んでいる現在のCTLA-4/PD-1遮断併用療法より高い治療指数の療法を可能にし、これは、患者の臨床結果の改善を伴う、より有効な癌治療をもたらしうる。

【0012】

本発明のCTLA-4/PD-1遮断併用療法の一部として使用される特定のCTLA-4遮断剤は、(i)エフェクター-サイレント(effector-silent)(エフェクター無効化)抗CTLA-4抗体、および(ii)結晶化可能フラグメント(fragment crystallizable)(Fc)ドメインを欠くエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメント、またはFc受容体(FcR)に結合するFcドメインにおけるその領域の欠失を含むFcドメインを有するエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントからなる群から選択されうる。エフェクター-サイレント抗体または抗体フラグメントは、(i)Biacore(ビアコア)アッセイで測定可能である、1以上のFcRへの測定可能な結合を示さない(ここで、マイクロモル範囲の会合定数は、測定可能な結合を示さない)、または(ii)同じアイソタイプの抗体に典型的である結合と比較して低減したBiacoreアッセイで測定可能な1以上のFcRへの測定可能な結合を示す。これらの特定のCTLA-4遮断剤は、エフェクター-サイレントCTLA-4遮断剤である。

【0013】

特定の実施形態において、これらのエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体およびエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、抗癌単独療法においては測定可能な抗腫瘍活性を示さないかもしれないが、PD-1またはPD-L1遮断剤との併用抗癌療法においては、CTLA-4/PD-1遮断併用療法に典型的に関連するirAE、特に、皮膚または腸炎症性免疫関連毒性を示すことなく、測定可能な抗腫瘍活性を示すであろう。

【0014】

本明細書に開示されているエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、PD-1またはPD-L1遮断剤と組み合わされて、CTLA-4/PD-1遮断併用療法に典型的に関連するirAE、特に、皮膚または腸炎症性免疫関連毒性を示すことなく、より高い用量で、かつ、より長期にわたって使用されうる。現在、抗CTLA-4/PD-1遮断併用療法における使用に関して承認されている抗CTLA-4抗体イピリムマブの用量は1mg/kgであり

10

20

30

40

50

、一方、単独療法における使用に関して承認されているのは 3 mg / kg または 10 mg / kg 用量であり [Package Insert and Label for YER VOY (July 2018) を参照されたい] 、あるいは、国際特許出願 WO 2018 183408 における CTLA - 4 / PD - 1 遮断併用療法に想定されているのは 100 mg 以下の一定用量である。したがって、本発明の CTLA - 4 / PD - 1 遮断併用療法は、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体またはエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体フラグメントを、単独療法において抗 CTLA - 4 抗体に関して現在承認されている用量と同じ又はそれより高い用量で使用することが可能である。本明細書に開示されているエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体または抗 CTLA - 4 抗体フラグメントはまた、 CTLA - 4 / PD - 1 遮断併用療法において現在使用または想定されているものと同様の用量で、しかも、抗 CTLA - 4 抗体で現在達成可能な時間より長い持続期間にわたって、そして、 CTLA - 4 / PD - 1 遮断併用療法に典型的に関連する irAE 、特に、皮膚または腸炎症性免疫関連毒性を示すことなく、抗 PD - 1 または抗 PD - L1 抗体と組み合わせて使用される。

【 0015 】

したがって、本発明は、癌治療を要する個体における癌を治療するための併用療法を提供し、該方法は、(i) PD - 1 または PD - L1 遮断剤の治療量、および(ii) エフェクター - サイレント CTLA - 4 遮断剤の治療量を、癌を有する個体に投与して癌を治療することを含み、ここで、エフェクター - サイレント CTLA - 4 遮断剤は、 PD - 1 または PD - L1 遮断剤を伴わない単独療法において個体に投与された場合にはそれが示さない抗腫瘍活性を、併用療法においては示す。他の実施形態において、併用療法は、エフェクター機能を示す抗 CTLA - 4 抗体を含む併用療法と比較して、有害事象共通用語規準 (Common Terminology Criteria for Adverse events) (CTCAE) バージョン 5.0 における定義でグレード (Grade) 2 より大きな、併用療法の経過中の腸または皮膚における免疫媒介性副作用 (irAE) を誘発せず、またはそれを誘発するリスクを低減する。特定の実施形態において、併用療法の一部として使用されるエフェクター - サイレント CTLA - 4 遮断剤は、併用療法の少なくとも最初の 10 週間にわたり、グレード 2 より大きな皮膚または腸における irAE を誘発しない。特定の実施形態において、併用療法は、併用療法の少なくとも最初の 4 週間にわたり検出可能な irAE をもたらさず、あるいは、併用療法の少なくとも最初の 4 週間にわたりグレード 1 より大きな irAE をもたらさない。

【 0016 】

1 つの実施形態において、本明細書に記載されている併用療法の一部として使用されるエフェクター - サイレント CTLA - 4 遮断剤は、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体またはエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体フラグメントである。

【 0017 】

もう 1 つの実施形態において、本明細書に記載されている併用療法の一部として使用される PD - 1 遮断剤は、抗 PD - 1 もしくは抗 PD - L1 抗体または抗 PD - 1 もしくは抗 PD - L1 抗体フラグメントである。特定の実施形態において、抗 PD - 1 または抗 PD - L1 抗体は、抗体をエフェクター - サイレントにする、 Fc ドメイン内の 1 以上の突然変異を含む HC ドメインを含む。 PD - 1 遮断剤は、抗 PD - 1 または抗 PD - L1 抗体フラグメントであってもよく、それらのそれぞれは、 Fc ドメインをまたは 1 以上の FcR に結合する Fc ドメインの領域を欠いており、このことは抗体フラグメントをエフェクター - サイレントにする。

【 0018 】

本発明は更に、(i) IgG4 または IgG2 Fc ドメインを有する抗 PD - 1 抗体、エフェクター - サイレント抗 PD - 1 抗体およびエフェクター - サイレント抗 PD - 1 抗体フラグメントからなる群から選択される PD - 1 遮断剤を含む第 1 製剤、ならびに、(ii) エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体およびエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体フラグメントからなる群から選択されるエフェクター - サイレント CT

L A - 4 遮断剤を含む第2製剤を、癌治療を要する個体に投与することを含む、抗癌併用療法を提供する。

【0019】

本発明は更に、(i) IgG₄またはIgG₂ Fcドメインを有する抗PD-1抗体、エフェクター-サイレント抗PD-1抗体およびエフェクター-サイレント抗PD-1抗体フラグメントからなる群から選択されるPD-1遮断剤と、(ii) エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体およびエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントからなる群から選択されるエフェクター-サイレントCTLA-4遮断剤と、を含む製剤を、癌治療を要する個体に投与することを含む、抗癌併用療法を提供する。

【0020】

本発明は更に、(i) IgG₄またはIgG₂ Fcドメインを有する抗PD-L1抗体、エフェクター-サイレント抗PD-L1抗体およびエフェクター-サイレント抗PD-L1抗体フラグメントからなる群から選択されるPD-L1遮断剤を含む第1製剤、ならびに、(ii) エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体およびエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントからなる群から選択されるエフェクター-サイレントCTLA-4遮断剤を含む第2製剤を、癌治療を要する個体に投与することを含む、抗癌併用療法を提供する。

10

【0021】

本発明は更に、(i) IgG₄またはIgG₂ Fcドメインを有する抗PD-L1抗体、エフェクター-サイレント抗PD-L1抗体およびエフェクター-サイレント抗PD-L1抗体フラグメントからなる群から選択されるPD-L1遮断剤と、(ii) エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体およびエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントからなる群から選択されるエフェクター-サイレントCTLA-4遮断剤と、を含む製剤を、癌治療を要する個体に投与することを含む、抗癌併用療法を提供する。

20

【0022】

併用療法のより詳細な実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体は、(i) アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位Asn-Xaa-Ser/Thrにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異を有するIgG₁ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、(ii) N297A、L234A/L235A/D265A、L234A/L235A/P329G、L235E、D265A、E233A/L235A、S267E/L328F、S2339D/A330L/I332E、L235G/G236R、N297A/D356E/L358M、L234F/L235E/P331S/D365E/L358M、およびD265A/N297Gからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異を有するIgG₁ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、あるいは(iii) アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位Asn-Xaa-Ser/Thrにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異と、L234A/L235A/D265A、L234A/L235A/P329G、L235E、D265A、E233A/L235A、S267E/L328F、S2339D/A330L/I332E、L235G/G236R、D356E/L358M、L234F/L235E/P331S/D365E/L358M、およびD265Aからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を有するIgG₁ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメインを含み、ここで、(i)、(ii)および(iii)におけるアミノ酸位置は、Eu番号付けに従い特定される。

30

【0023】

併用療法の特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体は

40

50

、(i) アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異を有するI g G₂ F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F c ドメイン、(ii) N297A / D265S、D265A、P329G / D265A / N297G、もしくはV234A / G237A / P238S / H268A / V309L / A330S / P331Sからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異を有するI g G₂ F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F c ドメイン、あるいは(iii) アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異と、N297A / D265S、D265A、P329G / D265A / N297G、もしくはV234A / G237A / P238S / H268A / V309L / A330S / P331Sからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を有するI g G₂ F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F c ドメインを含み、ここで、(i)、(ii)および(iii)におけるアミノ酸位置は、E u 番号付けに従い特定される。10

【0024】

併用療法の特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗C T L A - 4 抗体は、(i) S228Pアミノ酸置換を有し、更に、アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異を含むI g G₄ F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F c ドメイン、(ii) S228Pアミノ酸置換を有し、更に、N267A、P329G、およびD265A / N297Aからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異を含むI g G₄ F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F c ドメイン、あるいは(iii) S228Pアミノ酸置換を有し、更に、アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異と、N267A、P329G、およびD265A / N297Aからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を含むI g G₄ F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F c ドメインを含み、ここで、(i)、(ii)および(iii)におけるアミノ酸位置は、E u 番号付けに従い特定される。30

【0025】

併用療法のもう1つの実施形態において、F c ドメインを欠くエフェクター-サイレント抗C T L A - 4 抗体フラグメントは、一本鎖可変フラグメント(s c F v)、抗原結合性フラグメント(F a b)または抗原結合性フラグメント二量体F(a b')₂であり、あるいは一本鎖可変フラグメント(s c F v)、抗原結合性フラグメント(F a b)または抗原結合性フラグメント二量体F(a b')₂を含む。40

【0026】

併用療法の特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗C T L A - 4 抗体またはエフェクター-サイレント抗C T L A - 4 抗体フラグメントは、イピリムマブ、トレメリムマブ、REGN4659、AGEN1884w、8D2 / 8D2(R E)、8D2 / 8D2(R E)-変異体1、8D2H1L1、8D2H1L1-変異体1、8D2H2L2、8D2H2L2-変異体1、8D3H3L3、8D2H2L15、8D2H2L15-変異体1、8D2H2L17および8D2H2L17-変異体1からなる群から選択される抗C T L A - 4 抗体の、3つの重鎖(H C)相補性決定領域(C D R)および3つ50

の軽鎖（L C）CDRを含む。

【0027】

併用療法の特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、イピリムマブのV_HおよびV_L、トレメリムマブのV_HおよびV_L、REGN4659のV_HおよびV_L、AGEN1884wのV_HおよびV_L、8D2/8D2(REF)のV_HおよびV_L、8D2/8D2(REF)-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H1L1のV_HおよびV_L、8D2H1L1-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H2L2のV_HおよびV_L、8D2H2L2-変異体1のV_HおよびV_L、8D3H3L3のV_HおよびV_L、8D2H2L15のV_HおよびV_L、8D2H2L15のV_HおよびV_L-変異体1、8D2H2L17のV_HおよびV_L、または、8D2H2L17-変異体1のV_HおよびV_Lを含む。
10

【0028】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、(i)配列番号7に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hおよび配列番号8に記載されているアミノ酸配列を含むV_L、(ii)配列番号15に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hおよび配列番号16に記載されているアミノ酸配列を含むV_L、(iii)配列番号95に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hおよび配列番号96に記載されているアミノ酸配列を含むV_L、または、(iv)配列番号97に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号98に記載されているアミノ酸配列を有するV_Lを含む。
20

【0029】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、(i)配列番号73に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号74に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(ii)配列番号75に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号76に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(iii)配列番号77に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号78に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(iv)配列番号79に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号80に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(v)配列番号81に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号82に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(vi)配列番号83に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号84に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(vii)配列番号85に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号86に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(viii)配列番号87に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号88に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(ix)配列番号89に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号90に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(x)配列番号91に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号92に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、または、(xi)配列番号93に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号94に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメインを含む。
30

【0030】

併用療法の他の実施形態において、エフェクター-サイレントCTLA-4遮断剤は、表4～18に開示されているエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体から選択されるエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体である。

【0031】

併用療法の他の実施形態において、エフェクター-サイレントCTLA-4結合剤は、1以上の免疫グロブリン单一可変ドメイン(IgVH)を含み各IgVHがラクダ重鎖のみの抗体の可変ドメイン(V_H)を含むエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントであり；但し、IgVHはいずれも、アミノ配列FYGMG(配列番号69
40

10

20

30

40

50

)を含むCDR1、アミノ酸配列DIRTSAGRTTYADSVKG(配列番号70)を含むCDR2およびアミノ酸EMSGISGWDY(配列番号71)またはEPSGISGWDY(配列番号72)を含むCDR3を有するV_{HH}を含まず(それらのISVDは国際特許出願WO2008071447、WO2017087587およびWO2017087588に開示されている)、また、WO2008071447に開示されているCDR3における1、2または3個の突然変異を含むV_{HH}を含まず；例外的に、前記の1以上のISVDがエフェクター-サイレント異種HCドメインまたはFcドメイン(例えば、本明細書に開示されているエフェクター-サイレント抗体HCドメインまたはFcドメインのいずれかを含む)に融合または連結されている実施形態におけるCDRを含むISVDは、この但し書きによっては除外されない。

10

【0032】

併用療法の特定の実施形態において、抗PD-1抗体または抗PD-1抗体フラグメントは、ペンプロリズマブ、ニボルマブまたはセミプリマブ-rwlcの3つの重鎖相補性決定領域(CDR)および3つの軽鎖CDRを含む。併用療法の特定の実施形態において、抗PD-1抗体は、(i)ペンプロリズマブのV_HおよびV_L、(ii)ニボルマブのV_HおよびV_L、または(iii)セミプリマブ-rwlcのV_HおよびV_Lを含む。

【0033】

他の実施形態において、抗PD-1抗体または抗PD-1抗体フラグメントは、(i)配列番号29に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号30に記載されているアミノ酸配列を有するV_L、(ii)配列番号23に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号24に記載されているアミノ酸配列を有するV_L、または(iii)配列番号99に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号100に記載されているアミノ酸配列を有するV_Lを含む。もう1つの実施形態において、抗PD1抗体は、(i)配列番号27に記載されているアミノ酸配列を有するHCおよび配列番号28に記載されているアミノ酸配列を有するLC、(ii)配列番号25に記載されているアミノ酸配列を有するHCおよび配列番号26に記載されているアミノ酸配列を有するLC、または(iii)配列番号101に記載されているアミノ酸配列を有するHCおよび配列番号102に記載されているアミノ酸配列を有するLCを含む。

20

【0034】

併用療法の特定の実施形態において、抗PD-L1抗体または抗PD-L1抗体フラグメントは、(i)アテゾリズマブのV_HおよびV_Lドメイン、(ii)アベルマブのV_HおよびV_Lドメイン、または(iii)デュルバルマブのV_HおよびV_Lドメインを含む。

30

【0035】

他の実施形態において、抗PD-L1抗体または抗PD-L1抗体フラグメントは、(i)配列番号103に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号104に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(ii)配列番号105に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号106に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、または(iii)配列番号107に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号108に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメインを含む。

40

【0036】

併用療法の特定の実施形態において、抗PD-1または抗PD-L1抗体は、本明細書に開示されているIgG₁、IgG₂またはIgG₄ Fcドメインを含むことが可能であり、これらはC末端リジンを含むことが可能であり、あるいは、C-末端リジンまたはC末端グリシン-リジンジペプチドを欠いていることが可能である。

【0037】

併用療法の特定の実施形態において、抗PD-1または抗PD-L1抗体は、(i)IgG₂またはIgG₄ Fcドメイン、(ii)アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位Asn-Xaa-Ser/Thrにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異を含むIgG₁、IgG₂もしく

50

は Ig G₄ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、(i i i)N297A、L234A/L235A/D265A、L234A/L235A/P329G、L235E、D265A、E233A/L235A、L235G/G236R、S267E/L328F、S2339D/A330L/I332E、もしくはD265A/N297Gアミノ酸置換突然変異を含むIg G₁ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、(i v)N297A/D265S、D265A、P329G/D265A/N297G、もしくはV234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331Sアミノ酸置換を含むIg G₂ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、あるいは、(v)S228Pアミノ酸置換とN267A、P329GもしくはD265A/N297Aアミノ酸置換とを含むIg G₄ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメインを含み、ここで、アミノ酸位置は、Eu番号付けに従い特定される。

【0038】

併用療法の特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、表19～27に開示されている抗PD-1抗体から選択される抗PD-1抗体、または表28～36に開示されているPD-L1抗体から選択される抗PD-L1抗体である。

【0039】

併用療法のもう1つの実施形態において、Fcドメインをそれぞれが欠いている抗PD-1抗体フラグメントまたは抗PD-L1抗体フラグメントは、一本鎖可変フラグメント(scfv)、抗原結合性フラグメント(Fab)または抗原結合性フラグメント二量体F(ab')₂である。

【0040】

併用療法のもう1つの実施形態において、抗PD-1または抗PD-L1抗体フラグメントは、1以上のISVDを含み、各ISVDはラクダ重鎖のみの抗体のVHHを含む。

【0041】

併用療法の特定の実施形態において、CTLA-4遮断剤は、約1mg/kg～約3mg/kgのCTLA-4遮断剤を含む用量または個体の体重に左右されず約100mgを超えるCTL A-4遮断剤の一定用量で投与される。

【0042】

併用療法の特定の実施形態において、CTLA-4遮断剤は、1mg/kg～3mg/kgのCTLA-4遮断剤を含む用量で投与される。

【0043】

併用療法の特定の実施形態において、CTLA-4遮断剤は、3mg/kg～10mg/kgのCTLA-4遮断剤を含む用量で投与される。

【0044】

併用療法の特定の実施形態において、CTLA-4遮断剤は、約10mg/kgを超えるCTLA-4遮断剤を含む用量で投与される。

【0045】

併用療法の特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、約2もしくは3mg/kgまたはそれ以上を含む用量または個体の体重に左右されず約200mg以上である一定用量で投与される。

【0046】

併用療法の特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、個体の体重に左右されない200mg～400mgの用量で投与される。

【0047】

10

20

30

40

50

併用療法の特定の実施形態において、P D - 1 遮断剤は、個体の体重に左右されない 4 0 0 m g の用量で投与される。

【 0 0 4 8 】

併用療法の特定の実施形態において、最初に P D - 1 遮断剤が個体に投与され、そして、二番目に C T L A - 4 遮断剤が個体に投与され、あるいは、最初に C T L A - 4 遮断剤が個体に投与され、そして、二番目に P D - 1 遮断剤が個体に投与される。特定の実施形態において、P D - 1 遮断剤および C T L A - 4 遮断剤が同時に投与される。

【 0 0 4 9 】

併用療法の特定の実施形態において、個体は、併用療法の前、それと同時またはその後に化学療法剤を投与される。特定の実施形態において、化学療法剤は、アクチノマイシン、全トランス - レチノイン酸、アリトレチノイン、アザシチジン、アザチオプリン、ベキサロテン、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、カルモフル、カルボプラチニン、カペシタビン、シスプラチニン、クロランプシル、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、エピルビシン、エポチロン、エトポシド、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イマチニブ、イクサベピロン、イリノテカン、メクロレタミン、メルファラン、メルカブトプリン、メトトレキサート、ミトキサンtron、ニトロソウレア、オキサリプラチニン、パクリタキセル、ペメトレキセド、ロミデプシン、テガフル、テモゾロミド（経口ダカルバジン）、テニポシド、チオグアニン、トポテカン、ウチデロン、バルビシン、ベムラフェニブ、ビンプラスチニン、ビンクリスチニン、ビンデシン、ビノレルビンおよびボリノスタットからなる群から選択される。

10

20

30

【 0 0 5 0 】

併用療法の特定の実施形態において、癌は、黒色腫、非小細胞肺癌、頭頸部癌、尿路上皮癌、乳癌、胃腸癌、多発性骨髓腫、肝細胞癌、非ホジキンリンパ腫、腎癌、ホジキンリンパ腫、中皮腫、卵巣癌、小細胞肺癌、食道癌、肛門癌、胆道癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、甲状腺癌または唾液腺癌である。

【 0 0 5 1 】

併用療法の特定の実施形態において、癌は、膵臓癌、気管支癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳もしくは中枢神経系癌、末梢神経系癌、子宮もしくは子宮内膜癌、口腔もしくは咽頭癌、肝癌、腎臓癌、精巣癌、胆道癌、小腸もしくは虫垂癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫または血液組織の癌である。

30

【 0 0 5 2 】

併用療法の特定の実施形態において、個体はヒトであり、C T L A - 4 遮断剤はヒト C T L A - 4 に結合し、P D - 1 遮断剤はヒト P D - 1 に結合し、そして、P D - L 1 遮断剤はヒト P D - L 1 に結合する。

【 0 0 5 3 】

抗体および組成物

本発明は更に、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体またはエフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントを提供し、それぞれが V H および V L を含み、ここで、V H は 3 つの重鎖 C D R を含み、V L は 3 つの軽鎖 C D R を含み、それらは一緒にになって C T L A - 4 に結合する。特定の実施形態において、C T L A - 4 はヒト C T L A - 4 である。

40

【 0 0 5 4 】

より詳細な実施形態において、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体は、(i) アミノ酸 2 9 7 位から開始する N - グリコシル化部位 A s n - X a a - S e r / T h r における突然変異であって、該 N - グリコシル化部位における N - グリコシル化を阻止する突然変異を有する I g G 1 F c ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / もしくは欠失を更に含む該突然変異 F c ドメイン（ただし、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体は、N 2 9 7 A 置換のみからなるイピリムマブを含まない）、(i i) N 2 9 7 A 、L 2 3 4 A / L

50

2 3 5 A / D 2 6 5 A、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / P 3 2 9 G、L 2 3 5 E、D 2 6 5 A
 、E 2 3 3 A / L 2 3 5 A、S 2 6 7 E / L 3 2 8 F、S 2 3 3 9 D / A 3 3 0 L / I 3
 3 2 E、L 2 3 5 G / G 2 3 6 R、N 2 9 7 A / D 3 5 6 E / L 3 5 8 M、L 2 3 4 F /
 L 2 3 5 E / P 3 3 1 S / D 3 6 5 E / L 3 5 8 M、およびD 2 6 5 A / N 2 9 7 G から
 なる群から選択されるアミノ酸置換突然変異を有するI g G₁ Fcドメイン、または、
 1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、あるいは、(i i i)アミノ酸2
 9 7位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然
 変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異と
 、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / D 2 6 5 A、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / P 3 2 9 G、L 2 3
 5 E、D 2 6 5 A、E 2 3 3 A / L 2 3 5 A、S 2 6 7 E / L 3 2 8 F、S 2 3 3 9 D /
 A 3 3 0 L / I 3 3 2 E、L 2 3 5 G / G 2 3 6 R、D 3 5 6 E / L 3 5 8 M、L 2 3 4
 F / L 2 3 5 E / P 3 3 1 S / D 3 6 5 E / L 3 5 8 M、およびD 2 6 5 A からなる群か
 ら選択されるアミノ酸置換突然変異と、を有するI g G₁ Fcドメイン、または、1、
 2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメインを含み、ここで、(i)、(i i)およ
 び(i i i)におけるアミノ酸位置は、Eu番号付けに従い特定される。
 10

【0055】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体は、(i)ア
 ミノ酸2 9 7位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然
 変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然
 変異を有するI g G₂ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9
 もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然
 変異Fcドメイン、(i i)N 2 9 7 A / D 2 6 5 S、D 2 6 5 A、P 3 2 9 G / D 2 6 5
 A / N 2 9 7 G、もしくはV 2 3 4 A / G 2 3 7 A / P 2 3 8 S / H 2 6 8 A / V 3 0 9
 L / A 3 3 0 S / P 3 3 1 S からなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異を有するI
 g G₂ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、
 挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、あるいは(i i i)アミノ酸2 9 7位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a
 - S e r / T h rにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリ
 コシル化を阻止する突然変異と、N 2 9 7 A / D 2 6 5 S、D 2 6 5 A、P 3 2 9 G / D
 2 6 5 A / N 2 9 7 G、もしくはV 2 3 4 A / G 2 3 7 A / P 2 3 8 S / H 2 6 8 A / V
 3 0 9 L / A 3 3 0 S / P 3 3 1 S からなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、
 を有するI g G₂ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異Fc
 ドメインを含み、ここで、(i)、(i i)および(i i i)におけるアミノ酸位置は、
 Eu番号付けに従い特定される。
 20

【0056】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体は、(i)S
 2 2 8 Pアミノ酸置換を有し、更に、アミノ酸2 9 7位から開始するN-グリコシル化部
 位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位
 におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異を含むI g G₄ Fcドメイン、または、
 1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠
 失を更に含む該突然変異Fcドメイン、(i i)S 2 2 8 Pアミノ酸置換を有し、更に、N 2 6 7 A、P 3 2 9 G およびD 2 6 5 A / N 2 9 7 A からなる群から選
 択されるアミノ酸置換突然変異を含むI g G₄ Fcドメイン、または、1、2、3、4
 、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠
 失を更に含む該突然変異Fcドメイン、あるいは、(i i i)S 2 2 8 Pアミノ酸置換を
 有し、更に、アミノ酸2 9 7位から開始するN-グリコシル化部位A s n - X a a - S e
 r / T h rにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル
 50

化を阻止する突然変異と、N 2 6 7 A、P 3 2 9 G、およびD 2 6 5 A / N 2 9 7 A からなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を含むI g G₄ Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメインを含み、ここで、(i)、(ii)および(iii)におけるアミノ酸位置は、Eu番号付けに従い特定される。

【0057】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、イピリムマブ、トレメリムマブ、REGN4659、AGEN1884w、8D2/8D2(RE)、8D2H1L1、8D2H2L2、8D3H3L3、8D2H2L15および8D2H2L17からなる群から選択される抗CTLA-4抗体の、3つの重鎖(HC)相補性決定領域(CDR)および3つの軽鎖(LC)CDRを含む。
10

【0058】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、イピリムマブのV_HおよびV_L、トレメリムマブのV_HおよびV_L、REGN4659のV_HおよびV_L、AGEN1884wのV_HおよびV_L、8D2/8D2(RE)のV_HおよびV_L、8D2H1L1のV_HおよびV_L、8D2H2L2のV_HおよびV_L、8D3H3L3のV_HおよびV_L、8D2H2L15のV_HおよびV_L、または、8D2H2L17のV_HおよびV_Lを含む。
20

【0059】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、8D2/8D2(RE)-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H1L1-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H2L2-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H2L15-変異体1のV_HおよびV_L、または8D2H2L17-変異体1のV_HおよびV_Lを含む。これらの変異体は、V_Hアミノ酸配列における18位のメチオニンの、イソロイシンによる置換を含む。
20

【0060】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体または抗エフェクター-サイレントCTLA-4抗体フラグメントは、(i)配列番号7に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号8に記載されているアミノ酸配列を有するV_L、(ii)配列番号15に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号16に記載されているアミノ酸配列を有するV_L、(iii)配列番号95に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号96に記載されているアミノ酸配列を有するV_L、または(iv)配列番号97に記載されているアミノ酸配列を有するV_Hおよび配列番号98に記載されているアミノ酸配列を有するV_Lを含む。
30

【0061】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA4抗体またはエフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、(i)配列番号73に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号74に記載されているアミノ酸配列、(ii)配列番号75に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号76に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(iii)配列番号77に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号78に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(iv)配列番号79に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号80に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(v)配列番号81に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号82に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(vi)配列番号83に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号84に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(vii)配列番号85に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号86に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(viii)配列番号87に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号8
40

10

20

30

40

50

8に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(i x)配列番号89に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号90に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(x)配列番号91に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号92に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、または、(x i)配列番号93に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号94に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメインを含む。

【0062】

特定の実施形態において、エフェクター・サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、F(ab)、F(ab')₂、FvおよびscFvからなる群から選択される。

【0063】

もう1つの実施形態において、エフェクター・サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、1以上の免疫グロブリン単一可変ドメイン(IgVD)を含み、各IgVDはラクダ重鎖のみの抗体の可変ドメイン(VHH)を含み；但し、IgVDは、いずれもアミノ配列FYGMG(配列番号69)を含むCDR1、アミノ酸配列DIRTSAGRTTYADSVKG(配列番号70)を含むCDR2およびアミノ酸EMSGISGWDY(配列番号71)またはEPSGISGWDY(配列番号72)を含むCDR3を含むVHHを含まず(それらのIgVDは国際特許出願WO2008071447、WO2017087587およびWO2017087588に開示されている)、または、WO2008071447に開示されているCDR3における1、2または3個の突然変異を含むVHHを含まず；例外的に、前記の1以上のIgVDがエフェクター・サイレント異種HCドメインまたはFcドメイン(例えば、本明細書に開示されているエフェクター・サイレント抗体HCドメインまたはFcドメインのいずれかを含む)に融合または連結されている実施形態におけるCDRを含むIgVDは、この但し書きによっては除外されない。

【0064】

本発明は更に、表4～18に開示されているエフェクター・サイレント抗CTLA-4抗体のそれぞれを提供し；但し、該エフェクター・サイレント抗CTLA-4抗体は、N297A置換のみからなるイピリムマブを含まない。

【0065】

本発明は更に、本明細書に開示されているエフェクター・サイレント抗CTLA-4抗体またはエフェクター・サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントと薬学的に許容される担体とを含む組成物を提供する。

【0066】

本発明は更に、

(a)重鎖(HC)可変ドメイン(VH)を有する重鎖(HC)および軽鎖(LC)可変ドメイン(VL)を有する軽鎖(LC)[ここで、(i)VHはペンプロリズマブの少なくとも3つのHC相補性決定領域(CDR)を含み、VLはペンプロリズマブの少なくとも3つのLC-CDRを含み、(ii)VHはニボルマブの少なくとも3つのHC-CDRを含み、VLはニボルマブの少なくとも3つのLC-CDRを含み、または、(iii)VHはセミプリマブ-rw1cの少なくとも3つのHC-CDRを含み、VLはセミプリマブ-rw1cの少なくとも3つのLC-CDRを含む]、ならびに

(b)(i)アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位Asn-Xaa-Ser/Thrにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異を含むIgG₁、IgG₂もしくはIgG₄-Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、(ii)N297A、L234A/L235A/D265A、L234A/L235A/P329G、L235E、D265A、E233A/L235A、N297A/D356E/L358M、L234F/L235E/P331S/D365E/L358M、もしくはD265A/N297Gアミノ酸置換を含むIgG₁-Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該

10

20

30

40

50

突然変異 Fc ドメイン、(i i i) N 2 9 7 A / D 2 6 5 S、D 2 6 5 A、P 3 2 9 G / D 2 6 5 A / N 2 9 7 G、もしくは V 2 3 4 A / G 2 3 7 A / P 2 3 8 S / H 2 6 8 A / V 3 0 9 L / A 3 3 0 S / P 3 3 1 S アミノ酸置換を含む IgG₂ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメイン、あるいは、(i v) S 2 2 8 P アミノ酸置換と、N 2 6 7 A、P 3 2 9 G、D 2 6 5 A / N 2 9 7 A アミノ酸置換と、を含む IgG₄ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメイン、

を含む抗 PD - 1 抗体を提供し、ここで、アミノ酸位置は Eu 番号付けに従い特定される。 10

【0067】

前記の抗 PD - 1 抗体の更に他の実施形態において、抗 PD - 1 抗体は、(i) 配列番号 29 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 30 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L、(i i) 配列番号 23 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 24 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L、または、(i i i) 配列番号 99 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 100 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L を含む。

【0068】

抗 PD - 1 抗体の特定の実施形態において、本明細書に開示されている IgG₁、IgG₂ または IgG₄ Fc ドメインは更に、C 末端リジンを含むか、または C 末端リジンもしくは C 末端グリシン - リジンジペプチドのいずれかを欠くことが可能である。 20

【0069】

本発明は更に、重鎖 (HC) 可変ドメイン (V_H) を有する重鎖 (HC) と軽鎖 (LC) 可変ドメイン (V_L) を有する軽鎖 (LC) とを含む抗 PD - 1 抗体フラグメントを提供し、ここで、(i) V_H はペンプロリズマブの少なくとも 3 つの HC 相補性決定領域 (CDR) を含み、そして、V_L はペンプロリズマブの少なくとも 3 つの LC - CDR を含み、(i i) V_H はニボルマブの少なくとも 3 つの HC - CDR を含み、そして、V_L はニボルマブの少なくとも 3 つの LC - CDR を含み、または (i i i) V_H はセミプリマブ - rw1c の少なくとも 3 つの HC - CDR を含み、そして、V_L はセミプリマブ - rw1c の少なくとも 3 つの LC - CDR を含む。 30

【0070】

抗 PD - 1 抗体フラグメントの更に他の実施形態において、抗 PD - 1 抗体フラグメントは、(i) 配列番号 29 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 30 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L、(i i) 配列番号 23 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 24 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L、または、(i i i) 配列番号 99 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 100 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L を含む。

【0071】

前記の抗 PD - 1 抗体フラグメントの特定の実施形態において、抗 PD - 1 抗体フラグメントは、F(ab)、F(ab')₂、Fv および scFv からなる群から選択される。 40

【0072】

本発明は更に、表 19 ~ 27 に開示されている抗 PD - 1 抗体のそれぞれを提供する。

【0073】

本発明は更に、本明細書に開示されている抗 PD - 1 抗体または抗 PD - 1 抗体フラグメントと薬学的に許容される担体とを含む組成物を提供する。

【0074】

本発明は更に、

(a) 重鎖 (HC) 可変ドメイン (V_H) を有する重鎖 (HC) および軽鎖 (LC) 可変ドメイン (V_L) を有する軽鎖 (LC) [ここで、(i) V_H はデュルバルマブの少なくとも 3 つの HC 相補性決定領域 (CDR) を含み、そして、V_L はデュルバルマブの 50

少なくとも3つのL C - C D Rを含み、(i i) V Hはアベルマブの少なくとも3つのH C - C D Rを含み、そして、V Lはアベルマブの少なくとも3つのL C - C D Rを含み、または、(i i i) V Hはアテゾリズマブの少なくとも3つのH C - C D Rを含み、そして、V Lはアテゾリズマブの少なくとも3つのL C - C D Rを含む]、ならびに

(b) (i) アミノ酸297位から開始するN - グリコシル化部位A s n - X a a - S e r / T h rにおける突然変異であって、該N - グリコシル化部位におけるN - グリコシル化を阻止する突然変異を含むI g G₁、I g G₂もしくはI g G₄ F cドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F cドメイン、(i i) N 2 9 7 A、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / D 2 6 5 A、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / P 3 2 9 G、L 2 3 5 E、D 2 6 5 A、E 2 3 3 A / L 2 3 5 A、N 2 9 7 A / D 3 5 6 E / L 3 5 8 M、L 2 3 4 F / L 2 3 5 E / P 3 3 1 S / D 3 6 5 E / L 3 5 8 M、もしくはD 2 6 5 A / N 2 9 7 Gアミノ酸置換を含むI g G₁ F cドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F cドメイン、(i i i) N 2 9 7 A / D 2 6 5 S、D 2 6 5 A、P 3 2 9 G / D 2 6 5 A / N 2 9 7 G、もしくはV 2 3 4 A / G 2 3 7 A / P 2 3 8 S / H 2 6 8 A / V 3 0 9 L / A 3 3 0 S / P 3 3 1 Sアミノ酸置換を含むI g G₂ F cドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F cドメイン、あるいは(i v) S 2 2 8 Pアミノ酸置換と、N 2 6 7 A、P 3 2 9 G、D 2 6 5 A / N 2 9 7 Aアミノ酸置換と、を含むI g G₄ F cドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／もしくは欠失を更に含む該突然変異F cドメイン。

を含む抗P D - 1抗体を提供し、ここで、アミノ酸位置は、E u番号付けに従い特定され、ただし、V HおよびV Lがそれぞれ配列番号107および配列番号108のアミノ酸配列を有する場合には、重鎖(H C)定常ドメインは、N 2 9 7 A / D 3 5 6 E / L 3 5 8 Mの置換組合せを有するI g G₁アイソタイプではなく、あるいは、V HおよびV Lがそれぞれ配列番号103および配列番号104のアミノ酸配列を有する場合には、H C定常ドメインは、L 2 3 4 F / L 2 3 5 E / P 3 3 1 S / D 3 5 6 E / L 3 5 8 Mの置換組合せを有するI g G₁アイソタイプではない。

【0075】

前記の抗P D - L 1抗体の更に他の実施形態において、抗P D - L 1抗体は、(i)配列番号103に記載されているアミノ酸配列を有するV Hおよび配列番号104に記載されているアミノ酸配列を有するV L、(i i)配列番号105に記載されているアミノ酸配列を有するV Hおよび配列番号106に記載されているアミノ酸配列を有するV L、または、(i i i)配列番号107に記載されているアミノ酸配列を有するV Hおよび配列番号108に記載されているアミノ酸配列を有するV Lを含む。

【0076】

抗P D - L 1抗体の特定の実施形態において、本明細書に開示されているI g G₁、I g G₂またはI g G₄ F cドメインは更に、C末端リジンを含むか、または、C末端リジンもしくはC末端グリシン-リジンジペプチドのいずれかを欠くことが可能である。

【0077】

本発明は更に、重鎖(H C)可変ドメイン(V H)を有する重鎖(H C)と軽鎖(L C)可変ドメイン(V L)を有する軽鎖(L C)とを含む抗P D - L 1抗体フラグメントを提供し、ここで、(i) V Hはデュルバルマブの少なくとも3つのH C相補性決定領域(C D R)を含み、そして、V Lはデュルバルマブの少なくとも3つのL C - C D Rを含み、(i i) V Hはアベルマブの少なくとも3つのH C - C D Rを含み、そして、V Lはアベルマブの少なくとも3つのL C - C D Rを含み、または、(i i i) V Hはアテゾリズマブの少なくとも3つのH C - C D Rを含み、そして、V Lはアテゾリズマブの少なくとも3つのL C - C D Rを含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 7 8 】

更に他の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、(i) 配列番号 103 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 104 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L、(i i) 配列番号 105 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 106 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L、または、(i i i) 配列番号 107 に記載されているアミノ酸配列を有する V_H および配列番号 108 に記載されているアミノ酸配列を有する V_L を含む。

【 0 0 7 9 】

前記の抗 P D - L 1 抗体フラグメントの特定の実施形態において、抗 P D - 1 抗体フラグメントは、F (a b)、F (a b')₂、F_v および s c F_v からなる群から選択される。
10

【 0 0 8 0 】

本発明は更に、表 28 ~ 36 に開示されている抗 P D - L 1 抗体のそれぞれを提供し、ただし、V_H および V_L がそれぞれ配列番号 107 および配列番号 108 のアミノ酸配列を有する場合には、重鎖 (H C) 定常ドメインは、N 297 A / D 356 E / L 358 M の置換組合せを有する I g G₁ アイソタイプではなく、あるいは、V_H および V_L がそれぞれ配列番号 103 および配列番号 104 のアミノ酸配列を有する場合には、H C 定常ドメインは、L 234 F / L 235 E / P 331 S / D 356 E / L 358 M の置換組合せを有する I g G₁ アイソタイプではない。

【 0 0 8 1 】

本発明は更に、本明細書に開示されている抗 P D - L 1 抗体または抗 P D - L 1 抗体フラグメントと薬学的に許容される担体とを含む組成物を提供する。
20

【 0 0 8 2 】

本発明は更に、(i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体および本明細書に開示されている抗 P D - 1 抗体および薬学的に許容される担体を含む、または、(i i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体および本明細書に開示されている抗 P D - L 1 抗体および薬学的に許容される担体を含む、組成物を提供する。

【 0 0 8 3 】

本発明は更に、(i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体フラグメントおよび本明細書に開示されている抗 P D - 1 抗体および薬学的に許容される担体を含む、または、(i i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体フラグメントおよび本明細書に開示されている抗 P D - L 1 抗体および薬学的に許容される担体を含む、組成物を提供する。
30

【 0 0 8 4 】

本発明は更に、(i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体フラグメントおよび本明細書に開示されている抗 P D - 1 抗体フラグメントおよび薬学的に許容される担体を含む、または、(i i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体フラグメントおよび本明細書に開示されている抗 P D - L 1 抗体フラグメントおよび薬学的に許容される担体を含む、組成物を提供する。

【 0 0 8 5 】

本発明は更に、(i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体および本明細書に開示されている抗 P D - 1 抗体フラグメントおよび薬学的に許容される担体を含む、または、(i i) 本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体および本明細書に開示されている抗 P D - L 1 抗体フラグメントおよび薬学的に許容される担体を含む、組成物を提供する。
40

【 0 0 8 6 】

本発明は更に、個体における癌の治療のためのまたは個体における癌の治療用医薬の製造のための、本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 、抗 P D - 1 もしくは抗 P D - L 1 抗体または組成物のいずれかを提供する。

【 0 0 8 7 】

10

20

30

40

50

本発明は更に、個体における癌の治療のためのまたは個体における癌の治療用医薬の製造のための、本明細書に開示されている抗 CTLA-4、抗 PD-1もしくは抗 PD-L1抗体フラグメントまたは組成物のいずれかを提供する。

【0088】

特定の実施形態において、癌は、黒色腫、非小細胞肺癌、頭頸部癌、尿路上皮癌、乳癌、胃腸癌、多発性骨髄腫、肝細胞癌、非ホジキンリンパ腫、腎癌、ホジキンリンパ腫、中皮腫、卵巣癌、小細胞肺癌、食道癌、肛門癌、胆道癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、甲状腺癌または唾液腺癌である。

【0089】

特定の実施形態において、癌は、膵臓癌、気管支癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳もしくは中枢神経系癌、末梢神経系癌、子宮もしくは子宮内膜癌、口腔もしくは咽頭癌、肝癌、腎臓癌、精巣癌、胆道癌、小腸もしくは虫垂癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫または血液組織の癌である。

【図面の簡単な説明】

【0090】

【図1】図1A～1E：CTL A - 4遮断媒介性大腸炎はFc依存性である。Balb/cマウスを、示されているとおりに、抗体で週2回、55日間処置した。図1A：Fcコンピテント(competent)抗CTL A - 4抗体(-CTL A 4)またはエフェクター-サイレント抗CTL A - 4抗体の投与の後の腸炎症遺伝子発現プロファイリングは、D265A置換(-CTL A 4(D265S))を有する。7週間にわたる週2回の処置の後、逆転写定量的ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による腸炎症マーカーの評価のために、近位小腸を収集した。アイソタイプ対照処置と比較した場合のそれらの2つの抗体に関する腸炎症遺伝子の発現の変化倍数のヒートマップが示されている。複数のパネルにおいて発現を分析し、各パネル内でサイクル閾値データをユビキチンに対して正規化した。複数のパネルの一部として分析された遺伝子からの正規化データを平均化した後、アイソタイプ対照に対する変化倍数を決定した。図1B：実験期間中の体重減少。図1C：第49日および第50日に血清中のFITC-デキストラン蛍光を測定することにより、腸透過性を評価した。図1D：相対的腸炎症および大腸炎重症度に関する組織学的所見が認定病理医によって検査され、スコア化された。図1E：第55日からの結腸のヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)染色組織切片の代表的な顕微鏡写真。

【図2】図2A～2E：CTL A - 4 ISVD(nAb)の特徴づけ。図2A：エフェクター-サイレントCTL A 4 ISVD(CTL A 4 nAb)とエフェクターコンピテント-CTL A 4との比較。図2B：脾臓活性化T細胞を、示されているとおりに、CTL A 4 nAbまたは-CTL A 4の存在下、3日間培養した。増殖(図2C)、IFNの産生(図2D)およびIL-2の産生(図2E)を測定し、アイソタイプ対照(マウスIgG2a)に対する変化倍数としてプロットした。データは2～3回の独立した実験の代表例である。

【図3】図3A～3D：抗PD-1抗体(-PD1)と組合されたCTL A 4 nAbは強力な抗腫瘍効果を有する。図3A：腫瘍が 100 mm^3 (範囲78～125 mm^3)の平均サイズに達したら、示されている抗体(-CTL A 4、-PD1-CTL A 4(D265A))を20mpkで、および/またはCTL A 4 nAbを30mpkで、CT26腫瘍担持マウスに4日ごとに5用量投与した。データは32日間にわたる平均腫瘍体積を示す。結果は2つの独立した実験の代表例である(n=マウス10匹/群)。図3B：示されているとおりの処置後第1日の腫瘍におけるCD8 T細胞/Foxp3+Treg比。結果は2つの独立した実験の代表例である(n=マウス7匹/群)。図3Cおよび図3D：処置後第8日の全腫瘍からの遺伝子発現プロファイル。結果は1つまたは2つの独立した実験の代表例である(n=マウス5匹/群)。 $* p < 0.05$ 、 $** p < 0.01$ 、 $*** p < 0.001$ (独立t検定)。エラーバー±SEM。図3E：アイソタイプ対照と比較した場合の各処置群に関する個々の動物腫瘍体積を示す。第39日までの完全奏効(CR)が応答性処置群に関して示されている。データは、n=マウス10匹/群の

10

20

30

40

50

場合の 2 つの独立した実験の代表例である。

【図 4】図 4 A ~ 4 D : 抗 CTLA - 4 抗体媒介性大腸炎は Fc 依存性である。Balb/c マウスを、示されているとおりに、抗体 (- CTLA4, - PD1, - CTLA4 (D265A)) のみで、または CTLA4 nAb と組み合わせて、週 2 回、55 日間処置した。図 4 A : 実験期間中の体重減少。図 4 B : 第 55 日における近位空腸における腸炎の組織学的評価。図 4 C : 結腸の H & E 染色組織切片の顕微鏡写真。図 4 D : アイソタイプ対照処置と比較した場合の、示されているサンプルに関する腸炎症遺伝子の発現の変化倍数のヒートマップを示す。複数のパネルにおいて発現を分析し、各パネル内でサイクル閾値データをユビキチンに対して正規化した。複数のパネルの一部として分析された遺伝子からの正規化データを平均化した後、アイソタイプ対照に対する変化倍数を決定した。

【図 5】図 5 A ~ 5 C : Fc エフェクター機能性抗 CTLA - 4 は皮膚炎症を誘発するが、系炎症を誘発しない。Balb/c マウスを、示されているとおりに、- CTLA4 または - CTLA4 (D265A) で、週 2 回、55 日間処置した。図 5 A : 耳皮膚の H & E 染色組織切片の顕微鏡写真。図 5 B : 耳皮膚 IL-17 産生 T 細胞、Foxp3 + Trreg 細胞および好中球の絶対数をフローサイトメトリーにより測定した。図 5 C : 腎臓（上パネル）、肝臓（中央パネル）および肺（下パネル）の H & E 染色組織切片の顕微鏡写真。結果は、2 つの独立した実験のうちの 1 つを表している（n = マウス 4 ~ 8 匹 / 群）。スケールバーは 100 μm を表す。エラーバー ± SEM。

【図 6】図 6 A ~ 6 D : Fc 充足抗 CTLA - 4 抗体は結腸 Foxp3 + Trreg を枯渇させない。図 6 A : 示されている器官における CT26 腫瘍担持マウスにおける細胞内 CTLA - 4 染色。図 6 B : Foxp3 + Trreg 細胞における CTLA - 4 の平均蛍光強度 (MFI)。** p < 0.01, *** p < 0.001 (対応 t 検定)。図 6 C および図 6 D : 示されているとおりに処置された 24 時間後の結腸粘膜固有層および CT26 腫瘍浸潤性 Foxp3 + Trreg の代表的なドットプロットおよび統計。データは 2 ~ 4 つの独立した実験の代表例である（n = マウス 4 ~ 12 匹 / 群）。** p < 0.01, ** * p < 0.001 (独立 t 検定)。エラーバー ± SEM。

【図 7】図 7 A ~ 7 D : Fc 機能は、抗 CTLA - 4 阻害 Trreg 媒介性大腸炎抑制において、腸に関与した。脾臓 CD45Rbhigh ナイープ T 細胞を CB17-SCID レシピエントマウスに導入し、示されているとおりに - CTLA4 または CTLA4 nAb で処置した。図 7 A : 実験期間中の体重減少。図 7 B : 結腸の H & E 染色組織切片の顕微鏡写真。図 7 C : 第 47 日の病理学的スコア（n = マウス 14 ~ 18 匹 / 群）。図 7 D : ナイープ T 細胞移植後第 47 日における結腸全体の遺伝子発現プロファイル（n = マウス 6 匹 / 群）。データは 2 つの独立した実験のうちの 1 つを表す。Ns = 非有意。*** * p < 0.0001 (独立 t 検定)。エラーバー ± SEM。

【図 8】図 8 A ~ 8 E : Fc R 結合および CTLA - 4 遮断は結腸マクロファージを活性化する。図 8 A および図 8 B : CT26 担持マウスの脾臓、結腸粘膜固有層および腫瘍から単離されたマクロファージ上の CD16 / CD32 表面発現をフローサイトメトリーにより評価した。図 8 C : CT26 担持マウスの脾臓、結腸粘膜固有層および腫瘍におけるマクロファージ (CD45+ CD11b+ F4/80+) の割合をフローサイトメトリーにより評価した。図 8 D : - CTLA4, - CTLA4 (D265A) または CTLA4 nAb で処置されたマウスの結腸からの IL11b, TNF, INF および Stat1 mRNA 発現を処置後第 0 日、第 10 日および第 18 日に評価した。データは 2 つの独立した実験の代表例である（n = マウス 8 ~ 10 匹 / 群）。ns = 非有意、** p < 0.01, *** p < 0.001 (対応 t 検定)。エラーバー ± SEM。図 8 E : 結腸粘膜固有層 IL-17 産生 CD4+ T 細胞 (CD45+ TCRb+ CD4+ CD8a- IL-17A+) の割合、IFN 産生 CD8a+ T 細胞 (CD45+ TCRb+ CD4- CD8a+ IFN+) の絶対数および好中球 (CD45+ CD11b+ Ly6Ghigh) をフローサイトメトリーにより測定した。結果は 2 つの独立した実験のうちの 1 つを表す（n = マウス 4 ~ 8 匹 / 群）。** p < 0.01 (独立 t 検定)。

10

20

30

40

50

スケールバーは 100 μm エラーバー ± SEM を表す。

【図 9】図 9 A ~ 9 B : マウス同系 MB49 膀胱腫瘍モデル研究における抗腫瘍効果。図 9 A : 腫瘍が 102 mm³ (87 ~ 117 mm³ の範囲) の平均サイズに達したら、示されている抗体の用量 (30 mg / kg CTLA-4 nAb, 10 mg / kg - CTLA4, 5 mg / kg - PD1、または CTLA4 nAb と - PD-1との組合せ) を MB49 腫瘍担持マウスに 4 日ごとに 4 用量投与した。データは 21 日間にわたる平均腫瘍体積を示す。結果は 2 つの独立した実験の代表例である (n = マウス 10 匹 / 群)。図 9 B : 各処置群に関する個々の動物の腫瘍体積を示す。第 21 日までの完全奏効 (CR) が応答性処置群に関して示されている。データは n = マウス 10 匹 / 群の実験の結果を示す。

【図 10】図 10 A ~ 10 B : マウス同系 MC38 結腸腫瘍モデル研究における抗腫瘍効果。図 10 A : 腫瘍が 220 mm³ (範囲 179 ~ 261 mm³) の平均サイズに達したら、示されている抗体の用量 (30 mg / kg CTLA-4 nAb, 10 mg / kg - CTLA4, 5 mg / kg - PD1、または CTLA4 nAb と - PD-1との組合せ) を MC38 腫瘍担持マウスに 4 日ごとに 4 用量投与した。データは 23 日間にわたる平均腫瘍体積を示す。結果は 2 つの独立した実験の代表例である (n = マウス 10 匹 / 群)。図 10 B : 各処置群に関する個々の動物の腫瘍体積を示す。第 23 日までの完全奏効 (CR) が応答性処置群に関して示されている。データは n = マウス 10 匹 / 群の実験の結果を示す。

【図 11】図 11 : エフェクター細胞による腸炎症の誘発。腸炎症の Fc 媒介性誘発が T_{reg} 枯渇には無関係にエフェクター T 細胞により誘導されうることを例示するカートーン。

【0091】

発明の詳細な説明

定義

本明細書中で用いる「有害事象」または「AE」は、ヒト個体における医学的治療または行為の実施による医学的治療の実施に一時的に関連しているいざれかの好ましくなく意図しない兆候（異常な検査所見を含む）、症状または疾患（これらは医学的治療または行為に関連しているとみなされてもみなされなくてもよい）として、米国保健福祉省（U.S. Department of Health and Human Services）により 2017 年 11 月 27 日付で公開された有害事象共通用語規準（Common Terminology Criteria for Adverse events）（CTCAE）バージョン 5.0 に記載されている。AE は、医学的考証および科学的分析に使用される特定の事象を一意的に表す用語である。医学的治療は 1 以上の関連 AE を有する可能性があり、各 AE は、同じまたは異なる重症度を有しうる。AE の重症度にはグレード（Grade）が割り当てられる。CTCAE は、この一般的な指針に基づいて、各 AE に関する重症度の特有の臨床的説明と共に、グレード 1 ~ 5 を示している。グレード 1 : 軽度、または無症候性または軽度の症状、臨床的または診断的観察のみ、あるいは介入が適応とならない。グレード 2 : 中等度または最小限の、局所的または非侵襲的介入が適応となる、あるいは、年齢に適した手段的日常生活動作（ADL）が制限される。グレード 3 : 重度、または医学的に重大であるが、直ちに生命を脅かすわけではない、あるいは入院または入院延長が適応となる、身体障害となる、セルフケア（ADL）が制限される。グレード 4 : 生命を脅かす結果、または緊急の介入が適応となる。グレード 5 : AE に関連した死亡。

【0092】

本明細書中で用いる「抗体」は、(a) ジスルフィド結合により相互連結された少なくとも 2 つの重鎖（HC）および 2 つの軽鎖（LC）、または (b) ラクダ抗体の種の場合には、ジスルフィド結合により相互連結された少なくとも 2 つの重鎖（HC）を含む糖タンパク質を意味する。各 HC は、重鎖可変領域またはドメイン（V_H）と重鎖定常領域またはドメインとから構成される。天然に存在する特定の IgG、IgD および IgA 抗体

10

20

30

40

50

においては、重鎖定常領域は3つのドメイン、すなわち、C_H1、C_H2およびC_H3から構成される。一般に、抗体の基本的な抗体構造単位は、2つのH_C/L_Cペアを含む四量体であり、ただし、ラクダ抗体の種は2つのH_Cのみを含み、この場合、構造単位はホモ二量体である。各四量体は、ポリペプチド鎖の、2つの同一ペアを含み、各ペアは1つのL_C(約25kDa)およびH_C鎖(約50~70kDa)を有する。

【0093】

天然に存在する特定の抗体においては、各軽鎖は、L_C可変領域またはドメイン(V_L)とL_C定常ドメインとから構成される。L_C定常ドメインは1つのドメインC_Lから構成される。ヒトV_Hは6個のファミリーメンバー、すなわち、V_H1、V_H2、V_H3、V_H4、V_H5およびV_H6を含み、ヒトV_Lは16個のファミリーメンバー、すなわち、V₁、V₂、V₃、V₄、V₅、V₆、V₇、V₈、V₉およびV₁₀を含む。これらのファミリーメンバーのそれぞれは、特定のサブタイプに更に分けられる。V_HおよびV_Lドメインは、相補性決定領域(CDR)と称される超可変性の領域に更に細分可能であり、それらのなかに、フレームワーク領域(FR)と称される、より保存された領域が散在している。各V_HおよびV_Lは、3つのCDR領域と4つのFR領域とから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端へと以下の順序で配置されている：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0094】

重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用するCDRを含む結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の種々の細胞(例えば、エフェクター細胞)および古典的補体系の第1成分(C1q)を含む宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合をもたらしうる。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、一般に、Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabatら; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32: 1-75; Kabatら, (1977) J. Biol. Chem. 252: 6609-6616; Chothiaら, (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917またはChothiaら, (1989) Nature 342: 878-883の定義に従う。

【0095】

典型的には、重鎖定常ドメインにおけるアミノ酸の番号付けは番号118から開始し、これはEu番号付けスキームに従うものである。Eu番号付けスキームはヒトIgG₁(Eu)のアミノ酸配列に基づいており、これは、Edelmanら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 63: 78-85 (1969)に記載されているIgG₁のアミノ酸配列の118位から開始する定常ドメインを有し、Berangerら編, Ginetoux, Correspondence between the IMGT unique numbering for C-DOMAIN, the IMGT exon numbering, the Eu and Kabat numberings: HumanIGHG, 作成日17/05/2001, バージョン: 08/06/2016(これはwww.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/HuIGHGnumber.html#rにおいてアクセス可能である)に、IgG₁、IgG₂、IgG₃およびIgG₄定常ドメインに関して示されている。

【0096】

一般に、抗体のV_H/V_Lペアは6つのCDR(V_H上の3つのCDRおよびV_L上の3つのCDR)を含むが、最先端技術は、ほとんどの場合、重鎖のCDR3領域が抗体特異性の主要決定因子であると認識しており、重鎖のCDR3のみに基づく特異的抗体生成の例が当技術分野で公知である(例えば、Beiboerら, J. Mol. Biol. 296: 833-849 (2000); Klimkaら, British J. Cancer 83: 252-260 (2000); Raderら, Proc. Natl. Acad. S

10

20

30

40

50

c i . U S A 95 : 8910 - 8915 (1998) ; Xuら , Immunity 13 : 37 - 45 (2000) 。 Kabatら , Sequences of Proteins of Immunological Interest , 5th Ed . Public Health Service , National Institutes of Health , Bethesda , Md . (1991) (抗体の CDR 領域を配列により定めている) を参照されたい。また、 Chothia & Lesk J . Mol . Biol . 196 : 901 - 917 (1987) (抗体の CDR 領域を構造により定めている) を参照されたい。

【 0097 】

抗体が結合する抗原におけるエピトープを含むアミノ酸と特異的に相互作用するアミノ酸を含む抗体配列における CDR を特定するためには、 www . bioinf . org . uk (Andrew C . R . Martin 教授のグループ) に開示され、以下の表に再掲されている以下の一般則が用いられる。これらの一般的に不变の特徴が見出されない稀な例が存在するが、 Cys 残基は最も保存された特徴である。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1	
軽鎖 CDR1	
開始	ほぼアミノ酸残基 24
前の残基	通常は Cys
後の残基	通常は Trp、典型的には Trp-Tyr-Gln であるが、以下の場合もある： Trp-Leu-Gln、Trp-Phe-Gln 又は Trp-Tyr-Leu
長さ	10～17 アミノ酸残基
軽鎖 CDR2	
開始	通常は CDR1 の終わりの後の 16 アミノ酸残基
前の残基	一般には Ile-Tyr であるが、以下の場合もある： Val-Tyr、Ile-Lys 又は Ile-Phe
長さ	通常は 7 アミノ酸残基
軽鎖 CDR3	
開始	通常は CDR2 の終わりの後の 33 アミノ酸残基
前の残基	通常は Cys
後の残基	通常は Phe-Gly-Xaa-Gly (配列番号 65)
長さ	7～11 アミノ酸残基
重鎖 CDR1	
開始	ほぼアミノ酸残基 26 (通常は Cys の後の 4 アミノ酸残基) [Chothia / AbM の定義]; Kabat 定義では 5 アミノ酸残基後から開始する
前の残基	通常は Cys-Xaa-Xaa-Xaa (配列番号 66)
後の残基	通常は Trp、典型的には Trp-Val であるが、以下の場合もある： Trp-Ile 又は Trp-Ala
長さ	10～12 アミノ酸残基 [AbM の定義]; Chothia の定義は最後の 4 アミノ酸残基を除く
重鎖 CDR2	
開始	通常は Kabat / AbM の定義の重鎖 CDR1 の終わりの後の 15 アミノ酸残基
前の残基	典型的には Leu-Glu-Trp-Ile-Gly (配列番号 67) であるが、幾つかの変化がある
後の残基	Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala
長さ	Kabat の定義では 16～19 アミノ酸残基; AbM (及び最近の Chothia) の定義は 7 アミノ酸残基前に終わる

10

20

30

40

【0098】

重鎖 CDR3	
開始	通常は重鎖 CDR2 の終わりの後の 33 アミノ酸残基 (通常は Cys の後の 2 アミノ酸残基)
前の残基	通常は Cys-Xaa-Xaa (典型的には Cys-Ala-Arg)
後の残基	通常は Trp-Gly-Xaa-Gly (配列番号 68)
長さ	3~25 アミノ酸残基

10

【 0 0 9 9 】

一般に、基本的な抗体構造単位は、四量体を含む。各四量体は、ポリペプチド鎖の 2 つの同一ペアを含み、各ペアは、1 つの L C (約 25 kDa) および H C (約 50 ~ 70 kDa) を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識をもたらす約 100 ~ 110 個またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。H C のカルボキシ末端部分は、抗体のエフェクター機能を主にもたらす定常領域を定めうる。典型的には、ヒト L C は、カッパおよびラムダ L C として分類される。更に、ヒト H C は、典型的には、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファまたはイプシロンとして分類され、それぞれ IgM、IgD、IgG、IgA および IgE として抗体のアイソタイプを定める。L C および H C においては、可変領域および定常領域は約 12 個以上のアミノ酸の「 J 」領域により連結されており、H C は約 10 個以上のアミノ酸の「 D 」領域をも含む。全般的には、Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W. 編, 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) を参照されたい。

20

【 0 1 0 0 】

抗体の重鎖は、末端リジン (K) 残基、または、末端グリシンおよびリジン (GK) 残基を有する、または有さない可能性がある。したがって、特定の実施形態において、本発明における抗体は、本明細書中に示されている重鎖定常領域アミノ酸配列を含み、更に、末端リジンを欠き、グリシン残基で終結し、あるいは他の実施形態においては末端グリシン残基も欠く。これは、末端リジン、時にはグリシンとリジンとが一緒に、抗体の発現中に切断されうるか、または、人体に導入されると切断除去されるからであり、この場合、抗体の有効性、安定性または免疫原性に対する明らかな悪影響は伴わない。幾つかの場合には、重鎖をコードする核酸分子は、末端リジンをコードするコドンまたは末端リジンおよびグリシンのコドンが意図的に省略されうる。

30

【 0 1 0 1 】

本明細書中で用いる「抗体フラグメント」または「抗原結合性フラグメント」は、完全長抗体のフラグメント、すなわち、完全長抗体が結合する抗原に特異的に結合する能力を保有するが完全長より短い抗体フラグメントを意味し、これは、Fc ドメイン全体を欠いているか、または Fc R への抗体の結合をもたらす Fc ドメインの部分を欠いている。抗体結合性フラグメントの例には、Fab、Fab'、F(ab')₂ および Fv フラグメント；ダイアボディ；sc Fv 分子；ナノボディ (NANO BODY) 、および抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体が含まれるが、これらに限定されるものではない。

40

【 0 1 0 2 】

本明細書中で用いる「キメラ抗体」は、一次抗体からの可変ドメインと二次抗体からの定常ドメインとを有する抗体であり、ここで、(i) 一次抗体および二次抗体は、異なる種に由来し (米国特許第 4,816,567 号および Morrisonら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 : 6851 - 6855 (1984)) 、または、(ii) 一次抗体および二次抗体は、異なるアイソタイプに由来し、例えば、可変ドメインは IgG₁ 抗体に由来し、定常ドメインは IgG₄ に由来する。1 つの態様においては、可変ドメインは、非ヒト抗体、例えばマウス抗体 (「親抗体」) から得られ、定常ドメイン配列は、ヒト抗体から得られる。もう 1 つの態様においては、可変ドメインは、マ

50

ウス抗体由来のヒト化可変ドメインであり、定常ドメインはヒト抗体のものである。

【0103】

本明細書中で用いる「併用療法」は、第1治療用物質および第2治療用物質を連続的または同時に個体に投与することを含む、ヒトまたは動物個体の治療を意味する。一般に、第1治療用物質および第2治療用物質は混合物としてではなく別々に個体に投与され；しかし、投与前に第1治療用物質と第2治療用物質とを混合する実施形態がありうる。

【0104】

本明細書中で用いる「保存的置換」は、タンパク質の生物活性を改変することなく変化が頻繁に施されうるような、類似した特性（例えば、電荷、側鎖サイズ、疎水性／親水性、骨格コンホメーションおよび剛性など）を有する他のアミノ酸によるアミノ酸の置換を意味する。一般に、ポリペプチドの非必須領域における単一アミノ酸置換は、生物活性を実質的に変化させないと当業者は認識している（例えば、Watsonら Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.) (1987) を参照されたい）。また、構造的または機能的に類似したアミノ酸の置換は、生物活性を破壊する可能性が低い。例示的な保存的置換を表2に示す。

【表2】

表2			
元の残基	保存的置換	元の残基	保存的置換
Ala (A)	Gly; Ser	Leu (L)	Ile; Val
Arg (R)	Lys; His	Lys (K)	Arg; His
Asn (N)	Gln; His	Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Asp (D)	Glu; Asn	Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Cys (C)	Ser; Ala	Pro (P)	Ala
Gln (Q)	Asn	Ser (S)	Thr
Glu (E)	Asp; Gln	Thr (T)	Ser
Gly (G)	Ala	Trp (W)	Tyr; Phe
His (H)	Asn; Gln	Tyr (Y)	Trp; Phe
Ile (I)	Leu; Val	Val (V)	Ile; Leu

【0105】

「細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4」、「CTL A4」、「CTL A4」、「CTL A4抗原」および「CD152」（例えば、Murata, Am. J. Pathol. 155: 453-460 (1999) を参照されたい）は互換的に用いられ、変異体、アイソフォーム、ヒトCTL A-4の種ホモログ、およびCTL A-4と少なくとも1つの共通のエピトープを有する類似体を含む（例えば、Balzano, Int. J. Cancer Suppl. 7: 28-32 (1992) を参照されたい）。完全なCTL A-4核酸配列は、GenBankアセッション番号L15006として見出される。

【0106】

本明細書中で用いる「エフェクター機能」は、抗体のFc領域に起因し抗体アイソタイプによって異なる生物活性を意味する。抗体エフェクター機能の例には、C1q結合および補体依存性細胞傷害(CDC)、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）のダウンレギュレーション、およびB細胞活性化が含まれる。抗体は幾つかのメカニズムにより作用し、そのほとんどは免疫系の他の武器に関わる。抗体は分子の相互作用を単に遮断することが可能であり、あるいは、C1複合体上のC1qとクラスター化抗体との相互作用により古典的補体経路（補体依存性細胞傷害またはCDCとして公知である）を活性化することが可能である

10

20

30

40

50

。重要なことに、抗体は、Fc受容体の関与により、抗体媒介性免疫応答と細胞性免疫応答とを結びつけるものとしても作用する。

【0107】

本明細書中で用いる「エフェクター-サイレント」は、(i) Biacore(ビアコア)アッセイで測定可能である、1以上のFc受容体(FcR)への測定可能な結合を示さない(ここで、マイクロモル範囲の会合定数は、測定可能な結合を示さない)、または(ii)同じアイソタイプの抗体に典型的である結合と比較して、低減したBiacoreアッセイで測定可能な1以上のFcRへの測定可能な結合を示す抗体または抗体フラグメントに関するものである。特定の実施形態において、抗体は、HC定常ドメインおよびFcドメインに1以上の突然変異を含むことが可能であり、特に、それにより、突然変異抗体は、突然変異抗体と同じアイソタイプの野生型抗体と比較して、Fc RIIIa、Fc RIIIaおよびFc RIへの測定可能な結合が低減しており、または該結合を有さない。特定の実施形態において、Fc RIIIa、Fc RIIIaおよびFc RIの1以上に対するエフェクター-サイレント抗体のアフィニティまたは結合定数は、野生型アイソタイプのアフィニティと比較して少なくとも1000倍減少しており、野生型アイソタイプのアフィニティと比較して少なくとも50倍~1000倍減少しており、または野生型アイソタイプのアフィニティと比較して少なくとも10倍~50倍減少している。特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗体は、野生型アイソタイプによる結合と比較して、Fc RIIIa、Fc RIIIaおよびFc RIの1以上への検出可能または測定可能な結合を示さない。一般に、エフェクター-サイレント抗体は、測定可能な抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)活性を欠いている。エフェクター-サイレント抗体フラグメントは、Fcドメイン、またはFcRへの結合をもたらすFcドメインの部分を欠いており、したがって、Fc RIIIa、Fc RIIIaまたはFc RIの1以上への検出可能または測定可能な結合を示さない。エフェクター-サイレント抗体または抗体フラグメントの場合、結合はヒトFcRに対して測定される。

10

20

30

【0108】

本明細書中で用いる「Fabフラグメント」は、1つのLCと、1つのHCのV_HおよびC_H1とを含み、そして、HC定常ドメインの残部を含有しない。Fab分子のC_H1は、別のFabフラグメントまたはHC含有分子とジスルフィド結合を形成できない。「Fabフラグメント」は、抗体のパパイン切断の産物でありうる。

30

【0109】

本明細書中で用いる「Fab'フラグメント」は、1つのLCと、G_H1ドメインとC_H2ドメインとの間の領域までのHC定常ドメインおよびV_Hドメインを含有する1つのHCのフラグメントとを含み、そして、HC定常ドメインの残部を含有せず、その結果、2つのFab'フラグメントの2つのHC間で鎖間ジスルフィド結合が形成されて、F(ab')₂分子が形成されうる。

【0110】

本明細書中で用いる「F(ab')₂フラグメント」は、2つのLCおよび2つのHCフラグメントを含み、各HCフラグメントは、C_H1ドメインとC_H2ドメインとの間の領域までのHC定常ドメインおよびV_Hドメインを含み、そして、HC定常ドメインの残部を含有せず、その結果、2つのHC間で鎖間ジスルフィド結合が形成される。したがって、F(ab')₂フラグメントは、2つの重鎖間のジスルフィド結合により互いに結合した2つのFab'フラグメントから構成される。F(ab')₂フラグメントは、C_H1ドメインとC_H2ドメインとの間の部位で抗体を切断するペプシンで抗体を消化することにより得られうる。

40

【0111】

本明細書中で用いる「Fcドメイン」または「Fc」は、抗体のC_H2ドメインおよびC_H3ドメインを含む抗体から得られる結晶化可能なフラグメントドメインまたは領域である。抗体において、2つのFcドメインは、2以上のジスルフィドにより、およびC_H

50

3 ドメインの疎水性相互作用により互いに結合する。Fcドメインは、抗体をプロテアーゼパパインで消化することにより得られる。

【0112】

本明細書中で用いる「Fc受容体」または「FcR」は、抗体媒介性(体液性)免疫応答を細胞エフェクター機能と結び付ける重要な免疫調節性受容体である。FcR(IgG)、FcRI(IgE)、FcRII(IgA)、FcμR(IgM)およびFcRII(IgD)を含む、全てのクラスの免疫グロブリンの受容体が特定されている。白血球上で見出されるヒトIgGに対する受容体の、以下の3つのクラスが存在する: CD64(FcRI)、CD32(FcRIIa、FcRIIbおよびFcRIIIc)およびCD16(FcRIIaおよびFcRIIb)。FcRIは高アフィニティ受容体(ナノモル範囲KD)として分類され、一方、FcRIIおよびFcRIIIは、低から中程度のアフィニティ(マイクロモル範囲KD)である。抗体依存性細胞傷害(ADCC)においては、エフェクター細胞(ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、単球および好酸球)の表面上のFcRが、標的細胞に結合しているIgGのFc領域に結合する。結合に際して、シグナル伝達経路が始動し、これは溶解酵素、パーフォリン、グランザイムおよび腫瘍壊死因子のような種々の物質の分泌を引き起こし、これらは標的細胞の破壊をもたらす。ADCCエフェクター機能のレベルはヒトIgGサブタイプによって異なる。これはアロタイプおよび特定のFcRに左右されるが、簡単に言うと、ADCCエフェクター機能はヒトIgG₁およびIgG₃においては高く、IgG₂およびIgG₄においては低い。

10

【0113】

本明細書中で用いる「Fv領域」は単一のV_HおよびV_Lペアを含み、ここで、V_HポリペプチドおよびV_Lポリペプチドは、ジスルフィド結合により互いに結合している。

20

【0114】

本明細書中で用いる「ヒト化」[リシェーピング(Reshaping)またはCDRグラフティングとも称される]は、異種(一般には、げっ歯類)由来のモノクローナル抗体(mAb)の免疫原性を低下させるための、およびエフェクター機能(ADCC、補体活性化、C1q結合)を改善するための十分に確立された技術である。操作されるmAbは、分子生物学の技術を用いて操作されるが、ヒトフレームワークへのげっ歯類相補性決定領域(CDR)の単なるCDRグラフティングは、しばしば、元のmAbの結合アフィニティおよび/または特異性の喪失をもたらす。抗体をヒト化するために、ヒト化抗体の設計は、CDRの残基における保存的アミノ酸置換、およびげっ歯類mAbからヒトフレームワーク領域への残基の逆置換(逆突然変異)のような変異を含む。位置は、構造分析のための配列比較によりまたは可変領域の三次元構造の相同性モデルの分析により、識別または特定されうる。親和性(アフィニティ)成熟のプロセスは、ごく最近では、選択された位置におけるアミノ酸を変化させるためにファージライブラリーを使用している。同様に、げっ歯類CDRをグラフティングするための最も適切なヒトフレームワークを選択するために、多数のアプローチが用いられている。抗体構造に関する既知パラメーターのデータセットが増加するにつれて、これらの技術の高度化および洗練も促進される。単一抗体からのコンセンサスもしくは生殖細胞系列配列、または幾つかの異なるヒトmAbからの各軽鎖もしくは重鎖可変領域内のフレームワーク配列の断片が使用されうる。ヒト化のためのもう1つのアプローチは、げっ歯類配列の表面残基のみをヒトmAbにおいて見出される最も一般的な残基で修飾することであり、「リサーフェシング(resurfacing)」または「ベニアリング(veneering)」と呼ばれている。しばしば、ヒト抗体またはヒト化抗体はヒトにおいて実質的に非免疫原性である。

30

【0115】

本明細書中で用いる「ヒト化抗体」は、ヒト抗体および非ヒト(例えば、マウス、ラット)抗体の両方からの配列を含有する抗体または抗体フラグメントの形態を意味する。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの全てを含み、ここで、超可変ループは、非ヒト免疫グロブリンのループに対応し、フレームワーク(FR

40

50

) 領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は、所望により、ヒト免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部（例えば、Fcドメイン）を含みうる。

【0116】

本明細書中で用いる「過剰増殖性疾患」は、細胞増殖が正常レベルを超えて増加する症状を意味する。例えば、過剰増殖性疾患または障害には、悪性疾患（例えば、食道癌、結腸癌、胆管癌）および非悪性疾患（例えば、アテローム性動脈硬化症、良性過形成、良性前立腺肥大）が含まれる。

【0117】

本明細書中で用いる「免疫関連有害事象」または「irAE」は、抗PD-1、抗PD-L1および抗CTLA-4抗体のような1以上の免疫チェックポイントインヒビターの使用に起因しうる免疫系の不均衡による自己免疫症状であるAEを意味する。

10

【0118】

本明細書中で用いる「免疫応答」は、侵入病原体、病原体感染細胞もしくは組織、癌性細胞、または自己免疫もしくは病的炎症の場合には正常ヒト細胞もしくは組織の選択的損傷、破壊、人体からの排除をもたらす、例えばリンパ球、抗原提示細胞、食細胞、顆粒球、および前記細胞または肝臓により產生される可溶性高分子（抗体、サイトカインおよび補体を含む）の作用を意味する。

【0119】

本明細書中で用いる「免疫グロブリン単一可変ドメイン」（「ISV」またはISVDとも称される）は、一般に、別の可変ドメインとの相互作用を伴わずに（例えば、通常の4本鎖モノクローナル抗体のV_HドメインとV_Lドメインとの間で要求されるV_H/V_L相互作用を伴わずに）機能的抗原結合部位を形成しうる免疫グロブリン可変ドメイン（これは、V_H、V_{HH}またはV_Lドメインを含む重鎖または軽鎖ドメインでありうる）を意味するものとして用いられる。ISVDの例には、ナノボディ（NANOBODY）（V_{HH}、ヒト化V_{HH}および/またはラクダ化V_H、例えばラクダ化ヒトV_Hを含む）、IgNAR、ドメイン、V_Hドメインである又はV_Hドメイン由来である（單一ドメイン）抗体（例えば、dAb（商標））、およびV_Lドメインである又はV_Lドメイン由来である（單一ドメイン）抗体（例えば、dAb（商標））が含まれる。重鎖可変ドメイン（例えば、V_HまたはV_{HH}ドメイン）に基づくおよび/または由来するISVDが一般に好ましい。

20

【0120】

本明細書中で用いる「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団を意味し、すなわち、集団を含む抗体分子は、少量で存在しうる考えられうる天然で生じる突然変異の場合を除き、アミノ酸配列において同一である。対照的に、通常の（ポリクローナル）抗体調製物は、典型的には、異なるエピトープにしばしば特異的である可変ドメインにおける異なるアミノ酸配列を有する多数の異なる抗体を含む。修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体集団から得られるという抗体の特性を示しており、いずれかの特定の方法による抗体の製造を要すると解釈されなければならない。例えば、本発明に従い使用されるモノクローナル抗体は、Kohlerら, Nature 256: 495 (1975) に最初に記載されたハイブリドーマ法により製造可能であり、あるいは組換えDNA法（例えば、米国特許第4,816,567号を参照されたい）により製造可能である。また、「モノクローナル抗体」は、例えば、Clacksonら, Nature 352: 624-628 (1991) およびMarksら, J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1991) に記載されている技術を用いて、ファージ抗体ライブラリーから単離されうる。Presta J. Allergy Clin. Immunol. 116: 731 (2005) も参照されたい。

30

【0121】

本明細書中で用いる「NANOBODY」および「ナノボディ」は、Ablynx NVの登録商標である。

【0122】

40

50

抗体または免疫グロブリンに関して本明細書中で用いる「非ヒトアミノ酸配列」は、非ヒト哺乳動物のアミノ酸配列に特徴的であるアミノ酸配列を意味する。この用語は、ライブラリーの多様性がインシリコで生成される完全ヒト抗体ライブラリーから得られる抗体または免疫グロブリンのアミノ酸配列を含まない（例えば、米国特許第8,877,688号または第8,691,730号を参照されたい）。

【0123】

「PD-1」は、T細胞調節因子の拡張CD28 / CTLA-4ファミリーの抑制性メンバーであるプログラム死1（PD-1）タンパク質を意味する（Okazakiら, Curr. Opin. Immunol. 14:391779-82 (2002)；Bennettら, J. Immunol. 170:711-8 (2003)）。CD28ファミリーの他のメンバーには、CD28、CTLA-4、ICOSおよびBTLAが含まれる。PD-1遺伝子は、55kDaのI型膜貫通タンパク質をコードしている（Agatsumaら, Int'l. Immunol. 8:765-72 (1996)）。PD-1の2つのリガンド、すなわち、PD-L1 (B7-H1) およびPD-L2 (B7-DC) が特定されており、これらは、PD-1に結合すると、T細胞活性化をダウントレギュレートすることが示されている（Freemanら (2000) J. Exp. Med. 192:1027-34；Carterら (2002) Eur. J. Immunol. 32:634-43）。PD-1は、TCRシグナルを負に調節する免疫抑制性タンパク質として公知である（Ishida, Y.ら, EMBO J. 11:3887-3895 (1992)；Blank, C.ら, Immunol. Immunother. 56 (5):739-745 (Epub 2006 Dec. 29)）。PD-1とPD-L1との間の相互作用は免疫チェックポイントとして機能し、これは、例えば、腫瘍浸潤リンパ球の減少、T細胞受容体媒介性増殖の低減および/または癌細胞による免疫回避につながりうる（Dongら, J. Mol. Med. 81:281-7 (2003)；Blankら, Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314 (2005)；Konishiら, Clin. Cancer Res. 10:5094-100 (2004)）。免疫抑制は、PD-1とPD-L1またはPD-L2との局所相互作用を阻害することにより逆転可能であり、また、PD-1とPD-L2との相互作用が遮断された場合、効果は相加的である（Iwaiら, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 99:12293-12297 (2002)；Brownら, J. Immunol. 170:1257-66 (2003)）。

【0124】

「プログラム死1」、「プログラム細胞死1」、「タンパク質PD-1」、「PD-1」、「PD1」、「PDCD1」、「hPD-1」および「hPD-1」は互換的に用いられ、変異体、アイソフォーム、ヒトPD-1の種ホモログ、およびPD-1と少なくとも1つの共通のエピトープを有する類似体を含む。完全なPD-1配列はGenBankアクセスション番号U64863において見出されうる。

【0125】

本明細書中で用いる「ScFv」または「一本鎖可変フラグメント」は、10～約25アミノ酸の短いリンカーペプチドにより互いに融合または連結されたV_HおよびV_Lを含む融合タンパク質である。リンカーは、通常、柔軟性のためにグリシンが豊富であり、また、溶解性のためにセリンまたはスレオニンが豊富であり、V_HのN末端をV_LのC末端に連結することが可能であり、またはその逆も可能である。このタンパク質は、定常領域の除去およびリンカーの導入にもかかわらず、元の免疫グロブリンの特異性を保有する。

【0126】

本明細書中で用いる「治療量以下の用量」は、過剰増殖性疾患（例えば、癌）の治療のために単独で投与される場合の治療用化合物の通常のまたは典型的な用量より低い、治療用化合物（例えば、抗体）の用量を意味する。治療用化合物の用量は、標的とされる疾患に応じて変動しうる。例えば、CTLA-4抗体の治療量以下の用量は、切除不能または転移性黒色腫の治療のための抗CTLA-4抗体YERVOY（ヤーボイ）の既知単独療

10

20

30

40

50

法用量である約 3 mg / kg より少ない抗体の単一用量、あるいは、黒色腫補助療法の既知単独療法用量である約 10 mg / kg より少ない Y E R V O Y の単一用量である。

【 0 1 2 7 】

本明細書中で用いる「治療」または「治療する」は、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントのいずれかを含有する組成物のような治療用物質を、該物質が治療活性または予防活性を示す疾患症状の 1 以上を有する又は疾患有する疑いのある対象または患者に内的または外的に投与することを意味する。典型的には、治療用物質は、任意の臨床的に測定可能な度合によるそのような症状の退縮の誘導またはそのような症状の進行の抑制により、治療対象または集団における 1 以上の疾患症状を軽減するのに有効な量で投与される。いずれかの特定の疾患症状を軽減するのに有効な治療用物質の量は、患者の病態、年齢および体重、ならびに対象において所望の応答を惹起する薬物の能力のような要因によって変動しうる。疾患症状が軽減したかどうかは、その症状の重症度または進行状態を評価するために医師または他の熟練した医療提供者によって典型的に用いられる任意の臨床的尺度により評価されうる。この用語は更に、障害に関連した症状の発生の遅延および/またはそのような障害の症状の重症度の軽減を含む。この用語は更に、既存の無制御の又は望ましくない症状の改善、追加的な症状の予防、およびそのような症状の根本原因の改善または予防を含む。したがって、この用語は、障害、疾患有しくは症状を有するヒトまたは動物対象、またはそのような障害、疾患有しくは症状を発生する可能性を有するヒトまたは動物対象に、有益な結果がもたらされていることを示す。

10

【 0 1 2 8 】

本明細書中で用いる「治療的有効量」は、治療されている対象において所望の効果を達成するのに十分な特定の物質の量を意味する。例えば、これは、 C T L A - 4 の活性化を抑制し、そして抗腫瘍応答を誘導するのに必要な C T L A - 4 遮断剤の量、またはそれぞれ抗 P D - 1 または抗 P D - L 1 遮断剤と共に投与された場合に抗 P D - 1 または抗 P D - L 1 の応答性を増強するのに必要な量でありうる。

20

【 0 1 2 9 】

本明細書中で用いる「治療指数」は「治療域」、「安全域」または「治療比」としても公知であり、治療効果をもたらす治療用物質の量と毒性を引き起こす治療用物質の量との比較である。

【 0 1 3 0 】

30

本明細書中で用いる「治療」は、それがヒトまたは獣医個体に適用される場合には、抗体または抗原結合性フラグメントを、抗体または抗体フラグメントでの治療を要するヒトまたは動物個体と接触させることを含む治療的処置を意味する。

【 0 1 3 1 】

本明細書中で用いる「V H H」は、V H ドメインが、H C 抗体から得られるまたはH C 抗体に由来する、またはH C 抗体から誘導されることを示す。重鎖抗体は、2つのH C を有しL C を有さない機能的抗体である。重鎖抗体は、生物学的な科であるラクダ科のメンバーであるラクダ類に存在し、ラクダ類から入手可能である。

【 0 1 3 2 】

序論

40

市販されている抗 P D - 1 抗体 K E Y T R U D A および O P D I V O のような P D - 1 アンタゴニストは、低減した F c R 機能を有するヒト Ig G 4 バックボーンを含み、というのも、F c R 結合機能を有する抗 P D - 1 抗体を使用した前臨床試験は、腫瘍免疫療法に不可欠な C D 8 + 細胞傷害性 T 細胞 (C T L) の枯渇ゆえに不十分な抗腫瘍効果を示したからである（例えば、国際特許出願 WO 2014 / 089113 を参照されたい）。対照的に、高い F c R 結合アフィニティを有するマウス Ig G 2a - 抗 C T L A - 4 抗体を、測定可能な F c R 結合アフィニティを欠く突然変異マウス Ig G 1 - 抗 C T L A - 4 抗体と比較した前臨床実験において、抗 C T L A - 4 抗体を使用した単独療法は、強力な抗腫瘍応答を引き起こすためには F c R 機能を要することが示された (S e l b y r , C a n c e r I m m u n o l R e s . 1 : 3 2 - 4 2 (2 0 1 3)) 。 C T L

50

A - 4 発現は、T I L 上では脾臓またはリンパ節における T reg 集団と比較して高かったため (Simpsonら, J. Exp. Med. 210: 1695 - 710 (2013))、抗 CTLA - 4 アンタゴニスト単独療法における Fc R 機能の必要性はマウス腫瘍モデルにおいて、T 調節性細胞 (T reg) 枯渇と相關した。

【0133】

本発明者らは、抗 CTLA - 4 抗体の有効性のために Fc R 機能が必要であることは、抗 CTLA - 4 抗体を抗 PD - 1 抗体と組み合わせることにより回避されると仮定した。この仮定は、枯渇 CD 8⁺ 細胞傷害性 T 細胞の抗 PD - 1 媒介性活性化における CD 28 媒介性共刺激のための重要な役割を示す新たなデータにより支持されている。抗 CTLA - 4 および抗 PD - 1 抗体は、異なるメカニズムによりそれらの抗腫瘍活性をもたらす。重要なことに、抗 CTLA - 4 抗体と抗 PD - 1 抗体との組合せ効果は、それらの 2 つの抗体によってもたらされる組合せ遮断は、いずれか一方の抗体のみによっては活性化されない多数の遺伝子（増殖関連遺伝子およびケモカイン遺伝子を含む）の活性化をもたらすので、単に相加的であるだけではない（例えば、図 3 C および 4 D を参照されたい）。これらのデータは、単独療法における CTLA - 4 遮断の作用メカニズムが PD - 1 遮断と組み合わせて実施された場合のその作用メカニズムとは異なることを示唆している。

10

【0134】

新たなデータは、PD - 1 遮断後のエフェクター T (T eff) 細胞の活性化における CD 28 媒介性共刺激の重要性を示している。PD - 1 シグナル伝達は、以前推定されていた TCR ではなく、CD 28 を脱リン酸化し、そして、CD 28 シグナル伝達は、PD - 1 遮断後に観察される抗腫瘍応答の増強に必要である。したがって、単独療法の CTLA - 4 遮断は主に T 細胞プライミング事象を標的としうるが、CTLA - 4 遮断と PD - 1 遮断との組合せは、PD - 1 遮断のみから予想されるもの以上に枯渇 T 細胞の活性化を促進させると予想される。本発明者らが仮定したところによると、このメカニズムは CTLA - 4 アンタゴニストにより増強され、これは、irAE 媒介性毒性の重要な要因となる T reg 細胞の枯渇、および Fc 受容体の機能には無関係に、CD 28 媒介性活性化の増強を可能にする。

20

【0135】

Fc R に結合する抗 CTLA - 4 抗体 (Fc 機能性抗体) に対するその場合の潜在的な警告は、T reg 枯渇または骨髄細胞と T 細胞との細胞架橋が、望ましくない免疫関連炎症を誘発しうることである。本発明者らは、CTLA - 4 遮断癌免疫療法に関連する観察された irAE に寄与している可能性があるのは Fc 機能であると仮定した。irAE の誘発のための Fc 機能の潜在的な役割に反論するために用いられてきた 1 つの批評は、イピリムマブ（ヒト Ig G₁ バックボーン上のもの）治療およびトレメリムマブ（ヒト Ig G₂ バックボーン上のもの）治療が共に腸炎症に関連していることである。ヒト Ig G₂ Fc ドメインは、ヒト Ig G₁ と比較して、ヒト Fc R に対する有意に低いアフィニティを有するが、ヒト Ig G₂ バックボーンを有する抗体と Ig G₁ バックボーンを有する抗体との直接比較は、インビトロ ADC C および ADC P バイオアッセイを用いた場合、両方が類似レベルの Fc 機能を誘発することを示している (Vargasら, Cancer Cell. 33: 649 - 663 (2018))。更に、ヒト Ig G₁ アイソタイプバックボーンまたはヒト Ig G₂ アイソタイプバックボーンのいずれかを有するキメラ抗マウス CTLA - 4 抗体のインビボ T reg 枯渇および抗腫瘍活性は、ヒト Fc R ノックインマウスにおいて同等であった (Vargasら, 同誌))。

30

【0136】

同系腫瘍モデルにおいて腸炎症を誘発するための Fc 機能の潜在的な役割を評価するための重要な障害は、マウス抗 CTLA - 4 代用抗体を使用した場合の測定可能な炎症および大腸炎の欠如であった。この障害を回避するために、本発明者らは、Cayatteら, Clin. Transl. Gastroenterol. 3: e10 (2012) において既に開発されている、PCRに基づくパネルを採用して、マウス IBD モデルにおける炎症性腸疾患 (IBD) に関する腸炎症遺伝子のアップレギュレーションを測定した

40

50

。本明細書中の実施例に示されているとおり、この P C R に基づくパネルは、明白な大腸炎または組織損傷の組織学的証拠の非存在下でさえも、 F c 機能性抗マウス C T L A - 4 抗体 (- C T L A 4) で処置されたマウスにおける腸炎症を示すバイオマークー遺伝子の発現の増加を本発明者らが検出することを可能にした (図 1 A 、 3 C および 4 D を参照されたい) 。腸炎症遺伝子発現経路の無症候性刺激のこの観察は本発明者らを鼓舞して、根本的な炎症が臨床的大腸炎の発生へと進行するのかどうかを決定するための治療スケジュールを拡張させた。この i r A E 大腸炎マウスモデルは、免疫腫瘍学の前臨床開発で利用される同系腫瘍モデルにおいて、付随抗腫瘍応答の状況または非存在下、腸炎症の誘導のための F c 機能の必要性を評価するための実証的実験を本発明者らが実施することを可能にした。

10

【 0 1 3 7 】

実施例に記載されている結果は、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体もエフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントも、測定可能な抗腫瘍活性を単独療法の場合に誘発しないことを明らかに示している。しかし、エフェクター - サイレント抗体またはエフェクター - サイレント抗体フラグメントを抗 P D 1 抗体と組み合わせて投与すると、エフェクター機能性抗 C T L A - 4 抗体の単独で又はそれと抗 P D - 1 抗体との組合せで誘発される抗腫瘍活性に匹敵する抗腫瘍活性がもたらされ (図 3 A を参照されたい) 、そしてこの場合、エフェクター機能性抗 C T L A - 4 抗体の単独で又はそれと抗 P D - 1 抗体との組合せで観察される腸または皮膚 i r A E は生じず (図 4 B および 5 A) 、体重減少も生じない (図 4 A) 。これらの結果、ならびに F c 媒介性抗腫瘍活性および腸炎症に関連する潜在的な T r e g 非依存性メカニズムの本発明者らの発見を考慮すると、本発明は、改善された治療指数およびより広範な有用性を有する C T L A - 4 / P D - 1 遮断組合せ抗癌免疫療法を可能にする。

20

【 0 1 3 8 】

併用療法

本発明は、 (i) 抗 P D - 1 抗体、抗 P D - L 1 抗体、エフェクター - サイレント抗 P D - 1 抗体、エフェクター - サイレント抗 P D - L 1 抗体、エフェクター - サイレント抗 P D - 1 抗体フラグメントおよびエフェクター - サイレント抗 P D - L 1 抗体フラグメントからなる群から選択される P D - 1 遮断剤と、 (i i) エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体およびエフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントからなる群から選択されるエフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤とを、癌治療を要する個体に投与することを含む、抗癌併用療法を提供する。

30

【 0 1 3 9 】

エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、 P D - 1 遮断剤との併用療法において、進行性腎細胞癌またはマイクロサテライト不安定性 - 高またはミスマッチ修復欠損転移性結腸直腸癌を標的とするイピリムマブ / ニボルマブ併用療法として米国 F D A により承認されているイピリムマブの治療量以下の 1 m g / k g 用量より多い用量で投与可能であり、この場合、併用療法の期間中または個体が併用療法を受けている期間の少なくとも一部にわたって、有害事象共通用語規準 (Common Terminology Criteria for Adverse events) (C T C A E) バージョン 5 . 0 に記載されている基準によるグレード (Grade) 1 ~ 2 を超える皮膚または腸 i r A E の誘発リスクがイピリムマブ / ニボルマブ併用療法で観察されるものより低い。特定の実施形態において、用量は、併用療法の期間中または個体が併用療法を受けている期間の少なくとも一部にわたって、グレード 1 を超える i r A E を誘発しない。

40

【 0 1 4 0 】

したがって、特定の実施形態において、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、 1 m g / k g を超える用量で個体に投与されうる。特定の実施形態において、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、少なくとも 3 m g / k g の用量で個体に投与されうる。特定の実施形態において、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は少なくとも 1 0 m g / k g の用量で個体に投与されうる。特定の実施形態において、エフェ

50

クター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、少なくとも 15 mg / kg の用量で個体に投与されうる。特定の実施形態において、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、少なくとも 20 mg / kg の用量で個体に投与されうる。特定の実施形態において、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、3 mg / kg ~ 20 mg / kg の用量で個体に投与されうる。特定の実施形態において、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、個体の体重に左右されない一定用量、例えば、100 mg を超える用量で個体に投与されうる。

【 0 1 4 1 】

併用療法の特定の実施形態において、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤は、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体または（b）エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントである。抗 C T L A - 4 抗体にはエフェクター機能活性が不要であるため、抗 C T L A - 4 抗体は、「エフェクター - サイレント」となるよう操作された H C ドメインを有し、すなわち、その F c ドメインは修飾されていて、該抗体は、B i a c o r e (ビアコア) アッセイによる測定で、エフェクター - サイレント抗体と同じアイソタイプの野生型抗体の F c ドメイン（例えば、突然変異していない I g G₁、I g G₂、I g G₃ または I g G₄ F c ドメインの F c ドメイン）と比較して、低減した F c R 結合を有するか、または測定可能な F c R 結合を全く有さない。エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントは、F c ドメインを欠いているか、または 1 以上の F c R に結合する F c ドメインの領域を欠いている。

【 0 1 4 2 】

特定の実施形態において、本発明の併用療法は、腫瘍を除去するための手術の前または後に個体に投与され、そして、放射線療法の前、途中または後に使用されうる。

【 0 1 4 3 】

特定の実施形態において、本発明の併用療法は、生物療法剤または化学療法剤で以前に治療されていない個体に投与（適用）され、すなわち、個体は未治療である。他の実施形態において、併用療法は、生物療法剤または化学療法剤による以前の療法の後で持続的応答が得られなかった個体に投与され、すなわち、個体は治療経験を有する。

【 0 1 4 4 】

特定の実施形態において、本発明の併用療法は、触診によりまたは当技術分野で周知のイメージング技術、例えば M R I 、超音波もしくは C A T スキャンにより見出されるのに十分な大きさの腫瘍を治療するために使用される。幾つかの実施形態において、本発明の併用療法は、少なくとも約 200 mm³ 、 300 mm³ 、 400 mm³ 、 500 mm³ 、 750 mm³ または最大 1000 mm³ の寸法を有する進行期腫瘍を治療するために使用される。

【 0 1 4 5 】

特定の実施形態において、本発明の併用療法は、P D - L 1 発現に関して陽性試験結果を示す癌を有する個体に投与される。幾つかの実施形態において、P D - L 1 発現は、個体から摘出された腫瘍サンプルの固定ホルマリンパラフィン包埋（F F P E ）または凍結組織切片における免疫組織化学的（I H C ）アッセイにおいて、診断用抗ヒト P D - L 1 抗体またはその抗原結合性フラグメントを使用して検出される。個体の担当医は、本発明の併用療法による治療の開始前に個体から摘出された腫瘍組織サンプルにおける P D - L 1 発現を決定するための診断試験を指示することが可能であるが、医師は、治療の開始後の任意の時点、例えば治療サイクルの完了後に、最初または後続の診断試験を指示しうると想定される。

【 0 1 4 6 】

併用療法は、本明細書に開示されている例示的な抗 P D - 1 抗体もしくは抗 P D - 1 抗体フラグメントのいずれか 1 つ、または本明細書に開示されている例示的な抗 P D - L 1 抗体もしくは抗 P D - L 1 抗体フラグメントのいずれか 1 つと組合された、本明細書に開示されている例示的なエフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体またはエフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントのいずれか 1 つを含みうる。

10

20

30

40

50

【0147】

(a) エフェクター - サイレント抗体

本発明のエフェクター - サイレント抗体は、抗体が 1 以上の FcR への測定可能な結合を示さないようにまたは同じ IgG アイソタイプの未修飾抗体のものと比較して低減した 1 以上の FcR への結合を示すように修飾された HC 定常ドメインまたはその Fc ドメインを含む。他の実施形態において、エフェクター - サイレント抗体は、Fc_R_I_I_Ia、Fc_R_I_Ia および Fc_R_I のそれぞれへの測定可能な結合を示さない、または同じ IgG アイソタイプの未修飾抗体のものと比較して低減した、Fc_R_I_I_Ia、Fc_R_I_Ia および Fc_R_I のそれぞれへの結合を示しうる。特定の実施形態において、HC 定常ドメインまたは Fc ドメインは、ヒト HC 定常ドメインまたは Fc ドメインである。

【0148】

特定の実施形態において、エフェクター - サイレント抗体は、HC 定常ドメインの 297 位 (Eu 番号付け系) のアスパラギン (Asn) 残基の N - グリコシル化を欠くように修飾されている IgG₁ または IgG₂、IgG₃ または IgG₄ アイソタイプの Fc ドメインを含む。N - グリコシル化のコンセンサス配列は Asn - Xaa - Ser / Thr (ここで、298 位の Xaa は Pro 以外の任意のアミノ酸である) であり、4つ全てのアイソタイプにおいて、N - グリコシル化コンセンサス配列は Asn - Ser - Thr である。修飾は、HC 定常ドメインをコードする核酸分子における 297 位の Asn をコードするコドンを、別のアミノ酸、例えば Ala、Asp、Gln、Gly または Glu、例えば、N297A、N297Q、N297G、N297E または N297D をコードするコドンで置換することにより達成されうる。あるいは、298 位の Ser のコドンは Pro のコドンで置換可能であり、299 位の Thr のコドンは Ser のコドン以外の任意のコドンで置換可能である。もう 1 つの実施形態において、N - グリコシル化コンセンサス配列を含むアミノ酸のそれぞれが別のアミノ酸で置換される。そのような修飾 IgG 分子は、測定可能なエフェクター機能を有さない。特定の実施形態において、これらの突然変異 HC 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含むことが可能であり、ここで、置換は保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。他の実施形態において、297 位の N - グリコシル化を欠くように修飾されたそのような IgG は、測定可能なエフェクター機能を排除するための本明細書に開示されている 1 以上の追加的な突然変異を更に含みうる。

【0149】

HC 定常ドメインの N - グリコシル化を阻止にする、297 位で突然変異した例示的な IgG₁ HC 定常ドメインは、配列番号 44 に記載されており、HC 定常ドメインの N - グリコシル化を阻止にする 297 位で突然変異した例示的な IgG₂ HC 定常ドメインは、配列番号 50 に記載されており、HC 定常ドメインの N - グリコシル化を阻止する 297 位で突然変異した例示的な IgG₄ HC 定常ドメインは、配列番号 56 に記載されている。特定の実施形態において、これらの突然変異 HC 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含むことが可能であり、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0150】

特定の実施形態において、エフェクター - サイレント抗体を含む IgG₁、IgG₂、IgG₃ または IgG₄ HC 定常ドメインの Fc ドメインは、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D、D265S および P331S (ここで、位置は Eu 番号付けに従い特定される) から選択される 1 以上のアミノ酸置換を含むように修飾され、ここで、該 HC 定常ドメインはエフェクター - サイレントである。特定の実施形態において、修飾 IgG₁ は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

10

20

30

40

50

【0151】

特定の実施形態において、H C 定常ドメインは、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A および D 2 6 5 S 置換（ここで、位置は E u 番号付けに従い特定される）を含む。特定の実施形態において、H C 定常ドメインは、P r o 3 2 9 位のアミノ酸置換と、E 2 3 3 P、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、L 2 3 5 E、N 2 9 7 A、N 2 9 7 D、D 2 6 5 S および P 3 3 1 S（ここで、位置は E u 番号付けに従い特定される）から選択される少なくとも1つの更なるアミノ酸置換を含む。これらおよび他の置換は、W O 9 4 2 8 0 2 7；W O 2 0 0 4 0 9 9 2 4 9；W O 2 0 1 2 1 3 0 0 8 3 1；米国特許第9,708,406号、第8,969,526号、第9,296,815号；S o n d e r m a n n ら、N a t u r e 4 0 6, 2 6 7 - 2 7 3 (20 Jul 2000) に開示されている。

10

【0152】

前記の特定の実施形態において、H C 定常ドメインは L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / D 2 6 5 A、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / P 3 2 9 G、L 2 3 5 E、D 2 6 5 A、D 2 6 5 A / N 2 9 7 G、または V 2 3 4 A / G 2 3 7 A / P 2 3 8 S / H 2 6 8 A / V 3 0 9 L / A 3 3 0 S / P 3 3 1 S 置換を含み、ここで、位置は E u 番号付けに従い特定される。特定の実施形態において、H C 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0153】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗体は、I g G₁ アイソタイプを含み、ここで、H C 定常ドメインの F c ドメインは、I g G₁ の 2 3 3 位～2 3 6 位のアミノ酸をヒト I g G₂ H C の対応アミノ酸で置換すること、ならびに 3 2 7、3 3 0 および 3 3 1 位のアミノ酸をヒト I g G₄ H C の対応アミノ酸で置換することにより、エフェクター-サイレントになるように修飾されており、ここで、位置は、E u 番号付けに従い特定される (A r m o u r ら、E u r . J . I mm u n o l . 2 9 (8) : 2 6 1 3 - 2 4 (1 9 9 9)；S h i e l d s ら、J . B i o l . C h e m . 2 7 6 (9) : 6 5 9 1 - 6 0 4 (2 0 0 1))。特定の実施形態において、修飾 I g G₁ は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

20

【0154】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗体は、N 末端から C 末端への方向にヒンジ領域、C H₂ ドメインおよび C H₃ ドメインを含むハイブリッドヒト免疫グロブリン H C 定常ドメインに融合または連結された V H ドメインを含み、ここで、ヒンジ領域は、ヒト I g G₁ ヒンジ領域またはヒト I g D ヒンジ領域の少なくとも一部のアミノ酸配列を含み、C H₂ ドメインはヒト I g G₄ C H₂ ドメインのものであり、その一部は、その N 末端領域においてヒト I g G₂ C H₂ またはヒト I g D C H₂ ドメインの N 末端領域の 4～3 7 アミノ酸残基により置換されている。そのようなハイブリッドヒト H C 定常ドメインは、米国特許第7,867,491号（その全体を参照により本明細書に組み入れることとする）に開示されている。

30

【0155】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗体は I g G₄ H C 定常ドメインを含み、ここで、E u 系による 2 2 8 位のセリンはプロリンで置換されている。例えば、配列番号 5 2 を参照されたい。この修飾は E U 系における C y s 2 2 6 位のシステインと C y s 2 2 9 位のシステインとの間の潜在的な鎖間ジスルフィド結合の形成を妨げ、適切な鎖内ジスルフィド結合の形成を妨げうる。A n g a l ら、M o l . I m u n o l . 3 0 : 1 0 5 (1 9 9 3) を参照されたい。また、S c h u u r m a n n ら、M o l . I m u n o l . 3 8 : 1 - 8, (2 0 0 1)；配列番号 1 4 および 4 1 も参照されたい。他の実施形態において、I g G₄ 定常ドメインは、S 2 2 8 P 置換に加えて、P 2 3 9 G、D 2 6 5 A または D 2 6 5 A / N 2 9 7 G アミノ酸置換を含み、ここで、位置は E u 番号付けに従い特定される。前記の特定の実施形態において、I g G₄ H C 定常ドメインはヒ

40

50

ト H C 定常ドメインである。特定の実施形態において、H C 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および／または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0156】

例示的な I g G₁ H C 定常ドメインは、配列番号38、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43および配列番号44に記載されているアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むH C 定常ドメインを含む。例示的な I g G₂ H C 定常ドメインは、配列番号46、配列番号47、配列番号48および配列番号49に記載されているアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。例示的な I g G₄ H C 定常ドメインは、配列番号53、配列番号54、配列番号55および配列番号56に記載されているアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。

10

【0157】

エフェクター - サイレント抗体のより具体的な例は、特定の例示的なエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体、抗 PD - 1 抗体および抗 PD - 1 抗体と組み合わせて、後記に記載されている。

【0158】

(b) 例示的なエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体

本発明の併用療法および抗体含有組成物において使用されうる例示的なエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体には、CTLA - 4 に結合し B₇への CTLA - 4 の結合を阻害する任意のエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体が含まれる。特定のエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体には、以下のエフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体、およびこれらの抗体のいずれか1つと薬学的に許容される担体とを含む組成物が含まれる。

20

【0159】

特定の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体は、(i) Biacore アッセイによる測定で、Fc RIIIA、Fc RI IA および Fc RI への測定可能な結合を示さない、または野生型 I g G 定常ドメイン領域を含むポリペプチドと比較して低減した結合を示す H C 定常ドメインに融合または連結されたイピリムマブの3つの H C - CDR を含む V_H と、(ii) LC カップまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されたイピリムマブの3つの LC - CDR を含む V_L と、を含む。3つの H C - CDR は、それぞれ、配列番号4、配列番号5および配列番号6を含み、そして、3つの LC - CDR は、それぞれ、配列番号1、配列番号2および配列番号3を含む。

30

【0160】

他の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体は、(i) Biacore アッセイによる測定で、Fc RIIIA、Fc RI IA および Fc RI への測定可能な結合を示さない、または野生型 I g G 定常ドメイン領域を含むポリペプチドと比較して低減した結合を示す H C 定常ドメインに融合または連結されたトレメリムマブの3つの H C - CDR を含む V_H と、(ii) LC カップまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されたトレメリムマブの3つの LC - CDR を含む V_L と、を含む。3つの H C - CDR は、それぞれ、配列番号12、配列番号13および配列番号14を含み、そして、3つの LC - CDR は、それぞれ、配列番号9、配列番号10および配列番号11を含む。

40

【0161】

他の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体は、(i) イピリムマブの V_H および V_L ドメイン、(ii) トレメリムマブの V_H および V_L ドメイン、(iii) REGN4659 の V_H および V_L ドメイン、(iv) AGEN1884W の V_H および V_L ドメイン、または(v) 国際特許出願 WO 2017194265 に開示されている抗 CTLA - 4 抗体クローニング C8 の V_H および V_L ドメインを含む。イピリムマブの V_H ドメインは、配列番号7に記載されているアミノ酸配列を含み、V_L ドメインは

50

、配列番号 8 に記載されているアミノ酸配列を含む。トレメリムマブの V_H ドメインは、配列番号 15 に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号 16 に記載されているアミノ酸配列を含む。REGN4659 の V_H ドメインは、配列番号 95 に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号 96 に記載されているアミノ酸配列を含む。AGEN1884w の V_H ドメインは、配列番号 97 に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号 98 に記載されているアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、 V_H および V_L ドメインは、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含み、ここで、置換は保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0162】

10

他の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体は、8D2 / 8D2 (RE) (米国公開特許出願第 20170216433 号および国際出願 WO 2018183480 を参照されたい)、8D2H1L1、8D2H2L2、8D3H3L3、8D2H2L15 または 8D2H2L17 の V_H および V_L ドメインを含み、ここで、 V_H ドメインは、Biacore アッセイによる測定で、Fc RIIIA、Fc RIJA および Fc RI への測定可能な結合を示さない、または野生型 IgG 定常ドメイン領域を含むポリペプチドと比較して低減した結合を示す HC 定常ドメインに融合または連結されており、 V_L ドメインは LC カッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されている。

【0163】

20

特定の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体は、8D2 / 8D2 (RE)、8D2H1L1、8D2H2L2、8D2H2L15 または 8D2H2L17 の変異体を含み、ここで、変異体の V_H アミノ酸配列の 18 位のメチオニンはイソロイシンで置換されている。したがって、エフェクター - サイレント抗 CTLA - 4 抗体は、8D2 / 8D2 (RE) - 変異体 1 の V_H および V_L 、8D2H1L1 - 変異体 1 の V_H および V_L 、8D2H2L2 - 変異体 1 の V_H および V_L 、8D2H2L15 - 変異体 1 の V_H および V_L 、または 8D2H2L17 - 変異体 1 の V_H および V_L を含みうる。

【0164】

他の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 CTLA4 抗体は、(i) 配列番号 73 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 74 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(ii) 配列番号 75 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 76 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(iii) 配列番号 77 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 78 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(iv) 配列番号 79 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 80 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(v) 配列番号 81 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 82 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(vi) 配列番号 83 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 84 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(vii) 配列番号 85 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 86 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(viii) 配列番号 87 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 88 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(ix) 配列番号 89 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 90 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、(x) 配列番号 91 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 92 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメイン、または、(xi) 配列番号 93 に記載されているアミノ酸配列を含む V_H ドメインおよび配列番号 94 に記載されているアミノ酸配列を含む V_L ドメインを有する。特定の実施形態において、 V_H および V_L ドメインは、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

30

40

50

【0165】

エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体の他の実施形態において、V_Hドメインは Ig G₄ HC 定常ドメインに融合または連結されており、あるいは、生じる抗 C T L A 4 抗体をエフェクター - サイレントにする 1 以上の突然変異を含むように修飾されている Ig G₁、Ig G₂ または Ig G₄ HC 定常ドメインに融合または連結されている。

【0166】

1 つの実施形態において、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体は、(i) アミノ酸 297 位から開始する N - グリコシル化部位 Asn - Xaa - Ser / Thr における突然変異であって、該 N - グリコシル化部位における N - グリコシル化を阻止する突然変異を有する Ig G₁ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメイン、(i i) N297A、L234A / L235A / D265A、L234A / L235A / P329G、L235E、D265A、E233A / L235A、S267E / L328F、S2339D / A330L / I332E、L235G / G236R、N297A / D356E / L358M、L234F / L235E / P331S / D365E / L358M、および D265A / N297G からなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異を有する Ig G₁ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメイン、あるいは(i i i) アミノ酸 297 位から開始する N - グリコシル化部位 Asn - Xaa - Ser / Thr における突然変異であって、該 N - グリコシル化部位における N - グリコシル化を阻止する突然変異と、L234A / L235A / D265A、L234A / L235A / P329G、L235E、D265A、E233A / L235A、S267E / L328F、S2339D / A330L / I332E、L235G / G236R、D356E / L358M、L234F / L235E / P331S / D365E / L358M、および D265A からなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を有する Ig G₁ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメインを含み、ここで、(i)、(i i) および(i i i) におけるアミノ酸位置は、Eu 番号付けに従い特定される。

【0167】

もう 1 つの実施形態において、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体は、(i) アミノ酸 297 位から開始する N - グリコシル化部位 Asn - Xaa - Ser / Thr における突然変異であって、該 N - グリコシル化部位における N - グリコシル化を阻止する突然変異を有する Ig G₂ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメイン、(i i) N297A / D265S、D265A、P329G / D265A / N297G、もしくは V234A / G237A / P238S / H268A / V309L / A330S / P331S からなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異を有する Ig G₂ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメイン、あるいは、(i i i) アミノ酸 297 位から開始する N - グリコシル化部位 Asn - Xaa - Ser / Thr における突然変異であって、該 N - グリコシル化部位における N - グリコシル化を阻止する突然変異と、N297A / D265S、D265A、P329G / D265A / N297G、もしくは V234A / G237A / P238S / H268A / V309L / A330S / P331S からなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を有する Ig G₂ Fc ドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9 もしくは 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異 Fc ドメインを含み、ここで、(i)、(i i) および(i i i) におけるアミノ酸位置は、Eu 番号付けに従い特定される。

【0168】

10

20

30

40

50

もう1つの実施形態において、エフェクター・サイレント抗CTLA-4抗体は、(i) S228Pアミノ酸置換と、更に、アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位Asn-Xaa-Ser/Thrにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異とを有するIgG4 Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、(ii) S228Pアミノ酸置換と、更に、N267A、P329G、およびD265A/N297Aからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を有するIgG4 Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメイン、あるいは、(iii) S228Pアミノ酸置換と、更に、アミノ酸297位から開始するN-グリコシル化部位Asn-Xaa-Ser/Thrにおける突然変異であって、該N-グリコシル化部位におけるN-グリコシル化を阻止する突然変異と、N267A、P329G、およびD265A/N297Aからなる群から選択されるアミノ酸置換突然変異と、を有するIgG4 Fcドメイン、または、1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/もしくは欠失を更に含む該突然変異Fcドメインを含み、ここで、(i)、(ii)および(iii)におけるアミノ酸位置は、Eu番号付けに従い特定される。

【0169】

表4～18は、癌を有する個体を治療するための療法において抗PD-1または抗PD-L1抗体と組み合わせて使用されうる特定の例示的な抗CTL A-4抗体を示す。本発明はまた、N297A置換のみからなるイピリムマブ以外の表に示されている抗体を提供し、また、N297A置換のみからなるイピリムマブを含む組成物以外の、表に示されている抗体と薬学的に許容される担体とを各組成物が含む組成物を提供する。表4～18における全てのHCアミノ酸置換位置は、Eu番号付けスキームに従っている。

10

20

30

40

50

【表 3】

表 4					
	イピリムマブ IgG ₁ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
1-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	7	8	57 又は 117
1-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	7	8	57 又は 117
1-3	IgG ₁ (L235E)	40	7	8	57 又は 117
1-4	IgG ₁ (D265A)	41	7	8	57 又は 117
1-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	7	8	57 又は 117
1-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	7	8	57 又は 117
1-7	IgG ₁ (N297X)	44	7	8	57 又は 117
1-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	7	8	57 又は 117
1-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	7	8	57 又は 117

【 0 1 7 0 】

10

20

30

40

50

表 5

Ab 番号	イピリムマブ IgG ₂ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
2-1	IgG ₂ (D265S)	46	7	8	57 又は 117
2-2	IgG ₂ (P329G)	47	7	8	57 又は 117
2-3	IgG ₂ (D265A)	48	7	8	57 又は 117
2-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	7	8	57 又は 117
2-5	IgG ₂ (N297X)	50	7	8	57 又は 117
2-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	7	8	57 又は 117

10

20

【 0 1 7 1 】

表 6

Ab 番号	イピリムマブ IgG ₄ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
3-1	IgG ₄ (S228P)	52	7	8	57 又は 117
3-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	7	8	57 又は 117
3-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	7	8	57 又は 117
3-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	7	8	57 又は 117
3-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	7	8	57 又は 117

30

40

【 0 1 7 2 】

50

表 7

Ab 番号	トレメリムマブ IgG ₁ 誘導体 アイソタイプ及び HC 置換	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
4-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	15	16	57 又は 117
4-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	15	16	57 又は 117
4-3	IgG ₁ (L235E)	40	15	16	57 又は 117
4-4	IgG ₁ (D265A)	41	15	16	57 又は 117
4-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	15	16	57 又は 117
4-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	15	16	57 又は 117
4-7	IgG ₁ (N297X)	44	15	16	57 又は 117
4-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	15	16	57 又は 117
4-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	15	16	57 又は 117

【 0 1 7 3 】

10

20

30

40

50

表 8

Ab 番号	トレメリムマブ IgG ₂ 誘導体 アイソタイプ及び HC 置換	配列番号			10
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	
5-1	IgG ₂ (D265S)	46	15	16	57 又は 117
5-2	IgG ₂ (P329G)	47	15	16	57 又は 117
5-3	IgG ₂ (D265A)	48	15	16	57 又は 117
5-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	15	16	57 又は 117
5-5	IgG ₂ (N297X)	50	15	16	57 又は 117
5-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	15	16	57 又は 117

【 0 1 7 4 】

表 9

Ab 番号	トレメリムマブ IgG ₄ 誘導体 アイソタイプ及び HC 置換	配列番号			30
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	
6-1	IgG ₄ (S228P)	52	15	16	57 又は 117
6-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	15	16	57 又は 117
6-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	15	16	57 又は 117
6-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	15	16	57 又は 117
6-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	15	16	57 又は 117

【 0 1 7 5 】

表 10

	REGN4659 IgG ₁ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
7-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	95	96	57 又は 117
7-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	95	96	57 又は 117
7-3	IgG ₁ (L235E)	40	95	96	57 又は 117
7-4	IgG ₁ (D265A)	41	95	96	57 又は 117
7-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	95	96	57 又は 117
7-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	95	96	57 又は 117
7-7	IgG ₁ (N297X)	44	95	96	57 又は 117
7-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	95	96	57 又は 117
7-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	95	96	57 又は 117

10

20

30

表 11

	REGN4659 IgG ₂ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
8-1	IgG ₂ (D265S)	46	95	96	57 又は 117
8-2	IgG ₂ (P329G)	47	95	96	57 又は 117
8-3	IgG ₂ (D265A)	48	95	96	57 又は 117
8-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	95	96	57 又は 117
8-5	IgG ₂ (N297X)	50	95	96	57 又は 117
8-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	95	96	57 又は 117

40

50

【 0 1 7 7 】

表 12

Ab 番号	REGN4659 IgG ₄ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
9-1	IgG ₄ (S228P)	52	95	96	57 又は 117
9-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	95	96	57 又は 117
9-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	95	96	57 又は 117
9-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	95	96	57 又は 117
9-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	95	96	57 又は 117

10

20

【 0 1 7 8 】

表 13

Ab 番号	AGEN1884w IgG ₁ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
10-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	97	98	57 又は 117
10-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	97	98	57 又は 117
10-3	IgG ₁ (L235E)	40	97	98	57 又は 117
10-4	IgG ₁ (D265A)	41	97	98	57 又は 117
10-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	97	98	57 又は 117
10-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	97	98	57 又は 117
10-7	IgG ₁ (N297X)	44	97	98	57 又は 117
10-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	97	98	57 又は 117
10-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	97	98	57 又は 117

30

40

50

【 0 1 7 9 】

表 14

Ab 番号	AGEN1884w IgG ₂ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
11-1	IgG ₂ (D265S)	46	97	98	57 又は 117
11-2	IgG ₂ (P329G)	47	97	98	57 又は 117
11-3	IgG ₂ (D265A)	48	97	98	57 又は 117
11-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	97	98	57 又は 117
11-5	IgG ₂ (N297X)	50	97	98	57 又は 117
11-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	97	98	57 又は 117

10

20

【 0 1 8 0 】

表 15

Ab 番号	AGEN1884w IgG ₄ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
12-1	IgG ₄ (S228P)	52	97	98	57 又は 117
12-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	97	98	57 又は 117
12-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	97	98	57 又は 117
12-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	97	98	57 又は 117
12-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	97	98	57 又は 117

30

40

【 0 1 8 1 】

50

表 16

	8D2/8D2 (RE), 8D2/8D2 (RE)-Variant 1, 8D2H1L1, 8D2H1L1-変異体 1, 8D2H2L2, 8D2H2L2-変異体 1, 8D3H3L3, 8D2H2L15, 8D2H2L15-変異体 1, 8D2H2L17 及び 8D2H2L17-変異体 1 IgG ₁ 誘導体	配列番号		
Ab 番号*	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H + V _L ペア	LC 定常 ドメイン
13-1n	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	a=73+74, b=75+76, c=77+78, d=79+80, e=81+82, f=83+84, g=85+86, h=87+88, i=89+90, j=91+92 又は k=93+94	57 又は 117
13-2n	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39		57 又は 117
13-3n	IgG ₁ (L235E)	40		57 又は 117
13-4n	IgG ₁ (D265A)	41		57 又は 117
13-5n	IgG ₁ (D265A/N297G)	42		57 又は 117
13-6n	IgG ₁ (E233A/L235A)	43		57 又は 117
13-7n	IgG ₁ (N297X)	44		57 又は 117
13-8n	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116		57 又は 117
13-9n	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117		57 又は 117

*n=a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, 又は k

【 0 1 8 2 】

10

20

30

40

50

表 17

	8D2/8D2 (RE), 8D2/8D2 (RE)-変異体 1, 8D2H1L1, 8D2H1L1-変異体 1, 8D2H2L2, 8D2H2L2-変異体 1, 8D3H3L3, 8D2H2L15, 8D2H2L15-変異体 1, 8D2H2L17 及び 8D2H2L17-変異体 1 IgG ₂ 誘導体	配列番号		
Ab 番号*	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H + V _L ペア	LC 定常 ドメイン
14-1n	IgG ₂ (D265S)	46	a=73+74, b=75+76,	57 又は 117
14-2n	IgG ₂ (P329G)	47	c=77+78, d=79+80,	57 又は 117
14-3n	IgG ₂ (D265A)	48	e=81+82, f=83+84,	57 又は 117
14-4n	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	g=85+86, h=87+88,	57 又は 117
14-5n	IgG ₂ (N297X)	50	i=89+90, j=91+92 又は	57 又は 117
14-6n	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	k=93+94	57 又は 117

*n=a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, 又は k

【 0 1 8 3 】

10

20

30

40

50

表 18

	8D2/8D2 (RE), 8D2/8D2 (RE)-変異体 1, 8D2H1L1, 8D2H1L1-変異体 1, 8D2H2L2, 8D2H2L2-変異体 1, 8D3H3L3, 8D2H2L15, 8D2H2L15-変異体 1, 8D2H2L17 及 び 8D2H2L17-変異体 1 IgG ₄ 誘導体	配列番号		
Ab 番号*	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H + V _L ペア	LC 定常 ドメイン
15-1n	IgG ₄ (S228P)	52	a=73+74, b=75+76,	57 又は 117
15-2n	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	c=77+78, d=79+80,	57 又は 117
15-3n	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	e=81+82, f=83+84,	57 又は 117
15-4n	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	g=85+86, h=87+88,	57 又は 117
15-5n	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	i=89+90, j=91+92 又は k=93+94	57 又は 117

*n=a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, または k

【 0 1 8 4 】

(c) 例示的なエフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメント

本発明の併用療法および抗体含有組成物において使用される例示的なエフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントには、C T L A - 4 に結合し B 7 への C T L A - 4 の結合を阻害する任意の抗体フラグメントが含まれる。これらの抗 C T L A - 4 抗体フラグメントの特定の例には、以下の抗 C T L A - 4 抗体フラグメントおよび組成物が含まれ、各組成物は、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントと薬学的に許容される担体とを含む。

【 0 1 8 5 】

特定の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントは、(i) イピリムマブの 3 つの H C - C D R を含む V_H と、(i i) イピリムマブの 3 つの L C - C D R を含む V_L と、を含む F_v、s c F_v、F (a b) または F (a b')₂ である。3 つの H C - C D R は、それぞれ、配列番号 1、配列番号 2 および配列番号 3 を含み、そして、3 つの L C - C D R は、それぞれ、配列番号 4、配列番号 5 および配列番号 7 を含む。

【 0 1 8 6 】

特定の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントは、(i) トレメリムマブの 3 つの H C - C D R を含む V_H と、(i i) トレメリムマブの 3 つの L C - C D R を含む V_L と、を含む。3 つの H C - C D R は、それぞれ、配列番号 9、配列番号 10 および配列番号 11 を含み、そして、3 つの L C - C D R は、それぞれ、配列番号 12、配列番号 13 および配列番号 14 を含む。

【 0 1 8 7 】

特定の実施形態において、エフェクター - サイレント抗 C T L A - 4 抗体フラグメントは、(i) イピリムマブの V_H および V_L ドメイン、(i i) トレメリムマブの V_H および V_L ドメイン、(i i i) R E G N 4 6 5 9 の V_H および V_L ドメイン、(i v) A G E N

10

20

30

40

50

1884wのV_HおよびV_Lドメイン、または(v)国際特許出願WO2017194265に開示されている抗CTLA-4抗体クローニングC8のV_HおよびV_Lドメインを含む。イピリムマブのV_Hドメインは、配列番号7に記載されているアミノ酸配列を含み、V_Lドメインは、配列番号8に記載されているアミノ酸配列を含む。トレメリムマブのV_Hドメインは、配列番号15に記載されているアミノ酸配列を含み、V_Lドメインは、配列番号16に記載されているアミノ酸配列を含む。REGN4659のV_Hドメインは、配列番号95に記載されているアミノ酸配列を含み、V_Lドメインは、配列番号96に記載されているアミノ酸配列を含む。AGEN1884wのV_Hドメインは、配列番号97に記載されているアミノ酸配列を含み、V_Lドメインは、配列番号98に記載されているアミノ酸配列を含む。

10

【0188】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、イピリムマブのV_HおよびV_L、トレメリムマブのV_HおよびV_L、REGN4659のV_HおよびV_L、AGEN1884wのV_HおよびV_L、8D2/8D2(RE)のV_HおよびV_L、8D2H1L1のV_HおよびV_L、8D2H2L2のV_HおよびV_L、8D3H3L3のV_HおよびV_L、8D2H2L15のV_HおよびV_L、または8D2H2L17のV_HおよびV_Lを含む。

【0189】

特定の実施形態において、抗CTLA-4抗体または抗CTLA-4抗体フラグメントは、8D2/8D2(RE)-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H1L1-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H2L2-変異体1のV_HおよびV_L、8D2H2L15-変異体1のV_HおよびV_L、または、8D2H2L17-変異体1のV_HおよびV_Lを含む。

20

【0190】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは、(i)配列番号73に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号74に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(i i)配列番号75に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号76に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(i i i)配列番号77に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号78に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(i v)配列番号79に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号80に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(v)配列番号81に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号82に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(v i)配列番号83に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号84に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(v i i)配列番号85に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号86に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(v i i i)配列番号87に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号88に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(i x)配列番号89に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号90に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、(x)配列番号91に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号92に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメイン、または(x i)配列番号93に記載されているアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび配列番号94に記載されているアミノ酸配列を含むV_Lドメインを含む。

30

【0191】

特定の実施形態において、エフェクター-サイレント抗CTLA-4抗体フラグメントは1以上の免疫グロブリン単一可変ドメイン(IgV)を含み、各IgVは、ラクダ重鎖のみの抗体の可変ドメイン(VHH)を含み、但し、IgVは、アミノ酸配列FYGMG(配列番号69)を含むCDR1、アミノ酸配列DIRTSAGRTTYADSVKG(配列番号70)を含むCDR2、およびアミノ酸EMSGISGWGY(配列番号71)またはEPMSGISGWGY(配列番号72)を含むCDR3を含まず(それらのI

40

50

S V D は国際特許出願 WO 2008071447、WO 2017087587 および WO 2017087588 に開示されている）、また、WO 2008071447 に開示されている C D R 3 における 1、2 または 3 個の突然変異を含む I S V D 变異体を含まず、例外的に、前記の 1 以上の I S V D がエフェクター - サイレント抗体定常ドメインまたは F c ドメイン（例えば、本明細書に開示されているエフェクター - サイレント抗体定常ドメインまたは F c ドメインのいずれか）に融合または連結されている実施形態における C D R を含む I S V D は、この但し書きによっては除外されない。

【0192】

(d) 例示的な抗 P D - 1 抗体

本発明の併用療法において使用されうる例示的な抗 P D - 1 抗体には、P D - 1 に結合し P D - L 1 への P D - 1 の結合を阻害する任意の抗体が含まれる。もう 1 つの実施形態において、例示的な抗 P D - 1 抗体は、ニボルマブ、ペンプロリズマブおよびセミプリマブ - r w l c からなる群から選択される。例示的な抗体には、以下の抗 P D - 1 抗体、および抗 P D 1 抗体と薬学的に許容される塩とを含む組成物が含まれる。

10

【0193】

ペンプロリズマブは、KEYTRUDA、ランプロリズマブ、MK - 3475 または SCH - 900475 としても公知であり、米国特許第 8,354,509 号および WO 2009/114335 に記載されているヒト化抗 P D - 1 抗体であり、Hamidら、New England J. Med. 369(2) : 134 - 144 (2013) に開示されている。ペンプロリズマブの重鎖および軽鎖は、それぞれ配列番号 27 および 28 に記載されているアミノ酸配列により示されている。

20

【0194】

ニボルマブは、OPDIVO、MDX - 1106 - 04、ONO - 4538 または BMS - 936558 としても公知であり、WO 2006/121168 および米国特許第 8,008,449 号に記載されている完全ヒト IgG4 抗 P D - 1 抗体である。ニボルマブの重鎖および軽鎖は、それぞれ配列番号 25 および 26 に記載されているアミノ酸配列により示されている。

【0195】

セミプリマブ - r w l c は、セミプリマブ、LIBTAYO または REGN2810 としても公知であり、WO 2015112800 および米国特許第 9,987,500 号に記載されている組換えヒト IgG4 モノクローナル抗体である。セミプリマブ - r w l c の重鎖および軽鎖は、それぞれ配列番号 101 および 102 に記載されているアミノ酸配列により示されている。

30

【0196】

特定の実施形態において、抗 P D - 1 抗体は、(i) エフェクター - サイレント H C 定常ドメインに融合または連結されたペンプロリズマブの 3 つの H C - C D R を含む V_H と、(ii) L C カッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されたペンプロリズマブの 3 つの L C - C D R を含む V_L と、を含む。3 つの H C - C D R は、それぞれ配列番号 31、配列番号 32 および配列番号 33 を含み、そして、3 つの L C - C D R は、それぞれ配列番号 34、配列番号 35 および配列番号 36 を含む。

40

【0197】

特定の実施形態において、抗 P D - 1 抗体は、(i) エフェクター - サイレント H C 定常ドメインに融合または連結されたニボルマブの 3 つの H C - C D R を含む V_H と、(ii) L C カッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されたニボルマブの 3 つの L C - C D R を含む V_L と、を含む。3 つの H C - C D R は、それぞれ配列番号 17、配列番号 18 および配列番号 19 を含み、そして、3 つの L C - C D R は、それぞれ配列番号 20、配列番号 21 および配列番号 22 を含む。

【0198】

特定の実施形態において、抗 P D - 1 抗体は、(i) エフェクター - サイレント H C 定常ドメインに融合または連結されたセミプリマブ - r w l c の 3 つの H C - C D R を含む

50

V_H と、(i i) L C カッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されたニボルマブの 3 つの L C - C D R を含む V_L と、を含む。

【0199】

特定の実施形態において、抗 P D - 1 抗体は、(i) ペンブロリズマブの V_H および V_L ドメイン(ここで、 V_H ドメインはエフェクター - サイレント H C 定常ドメインに融合または連結されており、 V_L ドメインは L C カッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されている)、(i i) ニボルマブの V_H および V_L ドメイン(ここで、 V_H ドメインはエフェクター - サイレント H C 定常ドメインに融合または連結されており、 V_L ドメインは L C カッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されている)、または、(i i i) セミブリマブ - r w l c の V_H および V_L ドメイン(ここで、 V_H ドメインはエフェクター - サイレント H C 定常ドメインに融合または連結されており、 V_L ドメインは L C カッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されている)を含む。ペンブロリズマブの V_H ドメインは、配列番号 2 9 に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号 3 0 に記載されているアミノ酸配列を含む。ニボルマブの V_H ドメインは、配列番号 2 3 に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号 2 4 に記載されているアミノ酸配列を含む。セミブリマブ - r w l c の V_H ドメインは、配列番号 9 9 に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号 1 0 0 に記載されているアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、 V_H および V_L ドメインは、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含むことが可能であり、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。10 20

【0200】

特定の実施形態において、抗 P D - 1 抗体 V_H ドメインは、特定の V_H に現在連結されていない I g G₁、I g G₂、I g G₃ または I g G₄ H C 定常ドメインに融合または連結されることが可能であり、あるいは、生じる抗 P D - 1 抗体をエフェクターサイレントにする F c ドメイン内の 1 以上の突然変異を含むように修飾されている I g G₁、I g G₂、I g G₃ または I g G₄ H C 定常ドメインに融合または連結される。30

【0201】

特定の実施形態において、H C 定常ドメインは、I g G₁、I g G₂、I g G₃ または I g G₄ アイソタイプのものであり、これは、H C 定常ドメインをコードする核酸分子における 2 9 7 位の A s n のコドンを別のアミノ酸、例えば G 1 n のコドンで置換することにより、H C 定常ドメインの 2 9 7 位のアスパラギン(A s n) 残基の N - グリコシル化を欠くように修飾される。他の実施形態において、2 9 7 位の N - グリコシル化を欠くように修飾されたそのような I g G は更に、検出可能なエフェクター機能を排除するための本明細書に開示されている 1 以上の追加的な突然変異を含む。特定の実施形態において、H C 定常ドメインは、ヒト H C 定常ドメインである。特定の実施形態において、該分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。30

【0202】

特定の実施形態において、本発明は、S 2 2 8 P 置換を有するように、そして更に、S 2 2 8 P 置換に加えて、P 2 3 9 G、D 2 6 5 A、または D 2 6 5 A / N 2 9 7 G アミノ酸置換を含むように修飾されている I g G₄ H C 定常ドメインを含む抗 P D - 1 抗体を提供し、ここで、位置は、E u 番号付けに従い特定される。前記の特定の実施形態において、I g G₄ H C 定常ドメインはヒト H C 定常ドメインである。特定の実施形態において、該分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。40

【0203】

もう 1 つの実施形態において、抗 P D - 1 抗体はヒト I g G₁ アイソタイプを含むこと50

が可能であり、ここで、H C 定常ドメインの F c ドメインは、I g G₁ の 233 位～236 位のアミノ酸をヒト I g G₂ H C の対応アミノ酸で置換すること、ならびに 327、330 および 331 位のアミノ酸をヒト I g G₄ H C の対応アミノ酸で置換することにより、エフェクター - サイレントとなるように修飾されており、ここで、位置は、E u 番号付けに従い特定される。特定の実施形態において、H C 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0204】

もう 1 つの実施形態において、I g G₁、I g G₂、I g G₃ または I g G₄ H C 定常ドメインの F c ドメインは、E 233 P、L 234 A、L 235 A、L 235 E、N 297 A、N 297 D、D 265 S および P 331 S から選択される 1 以上のアミノ酸置換を含むように修飾され、ここで、該ポリペプチドは、B i a c o r e アッセイによる測定で、F c R I I I A、F c R I I A および F c R I への測定可能な結合を示さないか、または野生型 I g G 定常ドメイン領域を含むポリペプチドと比較して低減した結合を示す。これらの及び他の置換は、WO 94 28027、WO 2004 099249、WO 2012 1300831；米国特許第 9,708,406 号、第 8,969,526 号、第 9,296,815 号；S o n d e r m a n n ら、Nature 406, 267-273 (2000 年 7 月 20 日) に開示されている。特定の実施形態において、H C 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の追加的なアミノ酸置換、挿入および / または欠失を更に含み、ここで、置換は保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0205】

表 19～27 は、癌を有する個体を治療するための療法において、本明細書に開示されている抗 C T L A - 4 抗体と組み合わせて使用されうる特定の例示的な抗 P D - 1 抗体を示す。本発明はまた、表に示されている抗体および組成物を提供し、各組成物は、表に示されている抗体と薬学的に許容される担体とを含む。表 19～27 における全ての H C アミノ酸置換位置は、E u 番号付けスキームに従っている。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 19

Ab 番号	ベンプロリズマブ IgG ₁ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
16-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	29	30	57 又は 117
16-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	29	30	57 又は 117
16-3	IgG ₁ (L235E)	40	29	30	57 又は 117
16-4	IgG ₁ (D265A)	41	29	30	57 又は 117
16-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	29	30	57 又は 117
16-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	29	30	57 又は 117
16-7	IgG ₁ (N297X)	44	29	30	57 又は 117
16-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	29	30	57 又は 117
16-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	29	30	57 又は 117

10

20

30

【0206】

表 20

Ab 番号	ベンプロリズマブ IgG ₂ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
17-1	IgG ₂ (D265S)	46	29	30	57 又は 117
17-2	IgG ₂ (P329G)	47	29	30	57 又は 117
17-3	IgG ₂ (D265A)	48	29	30	57 又は 117
17-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	29	30	57 又は 117
17-5	IgG ₂ (N297X)	50	29	30	57 又は 117
17-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	29	30	57 又は 117

40

50

【 0 2 0 7 】

表 21					
	ペンプロリズマブ IgG ₄ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
18-1	IgG ₄ (S228P)	52	29	30	57 又は 117
18-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	29	30	57 又は 117
18-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	29	30	57 又は 117
18-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	29	30	57 又は 117
18-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	29	30	57 又は 117

10

20

【 0 2 0 8 】

30

40

50

表 22

Ab 番号	ニボルマブ IgG ₁ 誘導体 アイソタイプ及び HC 置換	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
19-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	23	24	57 又は 117
19-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	23	24	57 又は 117
19-3	IgG ₁ (L235E)	40	23	24	57 又は 117
19-4	IgG ₁ (D265A)	41	23	24	57 又は 117
19-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	23	24	57 又は 117
19-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	23	24	57 又は 117
19-7	IgG ₁ (N297X)	44	23	24	57 又は 117
19-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	23	24	57 又は 117
19-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	23	24	57 又は 117

【 0 2 0 9 】

10

20

30

40

50

表 23

Ab 番号	ニボルマブ IgG ₂ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
20-1	IgG ₂ (D265S)	46	23	24	57 又は 117
20-2	IgG ₂ (P329G)	47	23	24	57 又は 117
20-3	IgG ₂ (D265A)	48	23	24	57 又は 117
20-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	23	24	57 又は 117
20-5	IgG ₂ (N297X)	50	23	24	57 又は 117
20-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	23	24	57 又は 117

10

20

【 0 2 1 0 】

表 24

Ab 番号	ニボルマブ IgG ₄ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
21-1	IgG ₄ (S228P)	52	23	24	57 又は 117
21-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	23	24	57 又は 117
21-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	23	24	57 又は 117
21-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	23	24	57 又は 117
21-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	23	24	57 又は 117

30

40

【 0 2 1 1 】

50

表 25

Ab 番号	セミプリマブ-rwlc IgG ₁ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
22-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	99	100	57 又は 117
22-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	99	100	57 又は 117
22-3	IgG ₁ (L235E)	40	99	100	57 又は 117
22-4	IgG ₁ (D265A)	41	99	100	57 又は 117
22-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	99	100	57 又は 117
22-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	99	100	57 又は 117
22-7	IgG ₁ (N297X)	44	99	100	57 又は 117
22-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	99	100	57 又は 117
22-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	99	100	57 又は 117

【 0 2 1 2 】

10

20

30

40

50

表 26

Ab 番号	セミプリマブ-rwlc IgG ₂ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
23-1	IgG ₂ (D265S)	46	99	100	57 又は 117
23-2	IgG ₂ (P329G)	47	99	100	57 又は 117
23-3	IgG ₂ (D265A)	48	99	100	57 又は 117
23-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	99	100	57 又は 117
23-5	IgG ₂ (N297X)	50	99	100	57 又は 117
23-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	99	100	57 又は 117

10

20

【 0 2 1 3 】

表 27

Ab 番号	セミプリマブ-rwlc IgG ₄ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
24-1	IgG ₄ (S228P)	52	99	100	57 又は 117
24-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	99	100	57 又は 117
24-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	99	100	57 又は 117
24-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	99	100	57 又は 117
24-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	99	100	57 又は 117

30

40

【 0 2 1 4 】

(e) 例示的な抗 P D - 1 抗体フラグメント

本発明の併用療法において使用されうる例示的な抗 P D - 1 抗体フラグメントには、 P D - 1 に結合し P D - L 1 への P D - 1 の結合を阻害する任意の抗 P D - 1 抗体フラグメントが含まれ、更に、 P D - 1 に結合する以下の抗 P D - 1 抗体フラグメント、および以下の抗 P D - 1 抗体フラグメントと薬学的に許容される担体とを含む組成物が含まれる。

【 0 2 1 5 】

50

特定の実施形態において、抗体フラグメントは、配列番号29に記載されているアミノ酸配列を有するペンプロリズマブV_Hと、配列番号30に記載されているアミノ酸配列を有するペンプロリズマブV_Lとを含むF_vまたはs_cF_vである。

【0216】

特定の実施形態において、抗P D - 1抗体フラグメントは、配列番号29に記載されているアミノ酸配列を有するペンプロリズマブV_Hと、配列番号30に記載されているアミノ酸配列を有するペンプロリズマブV_Hとを含むF(a b)である。

【0217】

特定の実施形態において、抗P D - 1抗体フラグメントは、配列番号29に記載されているアミノ酸配列を有するペンプロリズマブV_Hと、配列番号30に記載されているアミノ酸配列を有するペンプロリズマブV_Hとを含むF(a b')₂である。

10

【0218】

特定の実施形態において、抗P D - 1抗体フラグメントは、配列番号23に記載されているアミノ酸配列を有するニボルマブV_Hと、配列番号24に記載されているアミノ酸配列を有するニボルマブV_Hとを含むF_vまたはs_cF_vである。

【0219】

特定の実施形態において、抗P D - 1抗体フラグメントは、配列番号23に記載されているアミノ酸配列を有するニボルマブV_Hと、配列番号24に記載されているアミノ酸配列を有するニボルマブV_Hとを含むF(a b)である。

20

【0220】

特定の実施形態において、抗P D - 1抗体フラグメントは、配列番号23に記載されているアミノ酸配列を有するニボルマブV_Hと、配列番号24に記載されているアミノ酸配列を有するニボルマブV_Hとを含むF(a b')₂である。

【0221】

特定の実施形態において、抗P D - 1抗体フラグメントは、1以上の免疫グロブリン单一可変ドメイン(I S V D)を含み、各I S V Dは、ラクダ重鎖のみの抗体の可変ドメイン(V_HH)を含み、但し、I S V Dは、アミノ酸配列T H A M G(配列番号73)を含むC D R 1、アミノ酸配列V I T W S G G I T T Y A D S V K G(配列番号74)またはV I T V S G G I T Y Y A D S V K G(配列番号75)を含むC D R 2、およびアミノ酸D K H Q S S W Y D Y(配列番号76)またはD K H Q S S F Y D Y(配列番号77)を含むC D R 3を含まず(それらのI S V Dは、国際特許出願WO 2 0 0 8 0 7 1 4 4 7、WO 2 0 1 7 0 8 7 5 8 7およびWO 2 0 1 7 0 8 7 5 8 9に開示されている)、また、WO 2 0 0 8 0 7 1 4 4 7に開示されているC D R 3における1、2または3個の突然変異を含むI S V D変異体を含まず、例外的に、前記の1以上のI S V Dがエフェクター-サイレント抗体定常ドメインまたはF cドメイン(例えば、本明細書に開示されているエフェクター-サイレント抗体定常ドメインまたはF cドメインのいずれか)に融合または連結されている実施形態におけるC D Rを含むI S V Dは、この但し書きによっては除外されない。

30

【0222】

(f) 例示的な抗P D - L 1抗体

40

本発明の併用療法において使用されうる例示的な抗P D - L 1抗体には、P D - L 1へのP D - 1の結合を阻害する任意の抗P D - L 1抗体が含まれ、更に、以下の抗P D - L 1抗体、および以下の抗P D - L 1抗体と薬学的に許容される担体とを含む組成物が含まれる。特定の実施形態において、抗P D - L 1抗体は、アテゾリズマブ、アベルマブおよびデュルバルマブからなる群から選択される。

【0223】

特定の実施形態において、抗P D - L 1抗体は、(i)アテゾリズマブのV_HおよびV_Lドメイン(ここで、V_HドメインはH C定常ドメインまたはエフェクター-サイレントH C定常ドメインに融合または連結されており、V_LドメインはL Cカッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されている)、(ii)アベルマブのV_HおよびV_Lドメイ

50

ン（ここで、 V_H ドメインはHC定常ドメインまたはエフェクター-サイレントHC定常ドメインに融合または連結されており、 V_L ドメインはLCカッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されている）、または（iii）デュルバルマブの V_H および V_L ドメイン（ここで、 V_H ドメインはHC定常ドメインまたはエフェクター-サイレントHC定常ドメインに融合または連結されており、 V_L ドメインはLCカッパまたはラムダ定常ドメインに融合または連結されている）を含む。デュルバルマブの V_H ドメインは、配列番号103に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号104に記載されているアミノ酸配列を含む。アベルマブの V_H ドメインは、配列番号105に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号106に記載されているアミノ酸配列を含む。アテゾリズマブの V_H ドメインは、配列番号107に記載されているアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインは、配列番号108に記載されているアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、 V_H および V_L ドメインは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0224】

特定の実施形態において、抗PD-1抗体 V_H ドメインは、特定の V_H に現在連結されていないIgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄ HC定常ドメインに融合または連結されることが可能であり、あるいは、生じる抗PD-1抗体をエフェクターサイレントにするFcドメイン内の1以上の突然変異を含むように修飾されているIgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄ HC定常ドメインに融合または連結される。

【0225】

特定の実施形態において、HC定常ドメインはIgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄アイソタイプのものであり、これは、HC定常ドメインをコードする核酸分子における297位のAsnのコドンを別のアミノ酸、例えばGlnのコドンで置換することにより、HC定常ドメインの297位のアスパラギン（Asn）残基のN-グリコシル化を欠くように修飾される。あるいは、Serのコドンは、Proのコドンで置換することが可能であり、またはThrのコドンはSerのコドン以外の任意のコドン（例えば、N297A、N297GまたはN297D）で置換されることが可能である。あるいは、3つ全てのコドンが修飾される。他の実施形態において、297位のN-グリコシル化を欠くように修飾されたそのようなIgGは更に、検出可能なエフェクター機能を排除するための本明細書に開示されている1以上の追加的な突然変異を含む。特定の実施形態において、HC定常ドメインは、ヒトHC定常ドメインである。特定の実施形態において、分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0226】

特定の実施形態において、本発明は、S228P置換を有するように、そして更に、S228P置換に加えて、P239G、D265A、またはD265A/N297Gアミノ酸置換を含むように修飾されているIgG₄ HC定常ドメインを含む抗PD-L1抗体を提供し、ここで、位置は、Eu番号付けに従い特定される。前記の特定の実施形態において、IgG₄ HC定常ドメインはヒトHC定常ドメインである。特定の実施形態において、分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0227】

もう1つの実施形態において、抗PD-L1抗体は、ヒトイgG₁アイソタイプを含むことが可能であり、ここで、HC定常ドメインのFcドメインは、IgG₁の233位～236位のアミノ酸をヒトイgG₂ HCの対応アミノ酸で置換すること、ならびに327、330および331位のアミノ酸をヒトイgG₄ HCの対応アミノ酸で置換することにより、エフェクター-サイレントとなるように修飾されており、ここで、位置は、E

10

20

30

40

50

u 番号付けに従い特定される。特定の実施形態において、H C 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

【0228】

もう1つの実施形態において、I g G₁、I g G₂、I g G₃またはI g G₄ H C 定常ドメインのF c ドメインは、E 2 3 3 P、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、L 2 3 5 E、N 2 9 7 A、N 2 9 7 D、D 2 6 5 S およびP 3 3 1 S から選択される1以上のアミノ酸置換を含むように修飾され、ここで、該ポリペプチドは、B i a c o r e アッセイによる測定で、F c R I I I A、F c R I I A およびF c R I への測定可能な結合を示さず、または野生型I g G 定常ドメイン領域を含むポリペプチドと比較して低減した結合を示す。これらの及び他の置換は、WO 9 4 2 8 0 2 7、WO 2 0 0 4 0 9 9 2 4 9、WO 2 0 1 2 1 3 0 0 8 3 1；米国特許第9,708,406号、第8,969,526号、第9,296,815号；Sondermannら、Nature 406, 267-273(2000年7月20日)に開示されている。特定の実施形態において、H C 分子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の追加的なアミノ酸置換、挿入および/または欠失を更に含み、ここで、置換は、保存的突然変異または非保存的突然変異でありうる。

10

【0229】

表28～36は、癌を有する個体を治療するための療法において、本明細書に開示されている抗C T L A - 4 抗体と組み合わせて使用されうる例示的な抗P D - L 1 抗体を示す。本発明はまた、抗体25-9および31-8以外の表に示されている抗体を提供し、また、抗体25-9および31-8以外の表に示されている抗体と薬学的に許容される担体とを各組成物が含む組成物を提供する。表28～36における全てのH C アミノ酸置換位置は、E u 番号付けスキームに従っている。

20

30

40

50

【表 5】

表 28

Ab 番号	デュルバルマブ IgG ₁ 誘導体 アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
25-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	103	104	57 又は 117
25-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	103	104	57 又は 117
25-3	IgG ₁ (L235E)	40	103	104	57 又は 117
25-4	IgG ₁ (D265A)	41	103	104	57 又は 117
25-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	103	104	57 又は 117
25-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	103	104	57 又は 117
25-7	IgG ₁ (N297X)	44	103	104	57 又は 117
22-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	103	104	57 又は 117
25-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	103	104	57 又は 117

【0 2 3 0】

10

20

30

表 29

Ab 番号	デュルバルマブ IgG ₂ 誘導体 アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
26-1	IgG ₂ (D265S)	46	103	104	57 又は 117
26-2	IgG ₂ (P329G)	47	103	104	57 又は 117
26-3	IgG ₂ (D265A)	48	103	104	57 又は 117
26-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	103	104	57 又は 117
26-5	IgG ₂ (N297X)	50	103	104	57 又は 117
26-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	103	104	57 又は 117

40

50

【 0 2 3 1 】

表 30					
	デュルバルマブ IgG ₄ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
27-1	IgG ₄ (S228P)	52	103	104	57 又は 117
27-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	103	104	57 又は 117
27-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	103	104	57 又は 117
27-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	103	104	57 又は 117
27-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	103	104	57 又は 117

10

20

【 0 2 3 2 】

表 31					
	アベルマブ IgG ₁ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
28-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	105	106	57 又は 117
28-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	105	106	57 又は 117
28-3	IgG ₁ (L235E)	40	105	106	57 又は 117
28-4	IgG ₁ (D265A)	41	105	106	57 又は 117
28-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	105	106	57 又は 117
28-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	105	106	57 又は 117
28-7	IgG ₁ (N297X)	44	105	106	57 又は 117
28-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	105	106	57 又は 117
28-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	105	106	57 又は 117

30

40

50

【 0 2 3 3 】

表 32

Ab 番号	アベルマブ IgG ₂ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
29-1	IgG ₂ (D265S)	46	105	106	57 又は 117
29-2	IgG ₂ (P329G)	47	105	106	57 又は 117
29-3	IgG ₂ (D265A)	48	105	106	57 又は 117
29-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	105	106	57 又は 117
29-5	IgG ₂ (N297X)	50	105	106	57 又は 117
29-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	105	106	57 又は 117

10

20

【 0 2 3 4 】

表 33

Ab 番号	アベルマブ IgG ₄ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
30-1	IgG ₄ (S228P)	52	105	106	57 又は 117
30-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	105	106	57 又は 117
30-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	105	106	57 又は 117
30-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	105	106	57 又は 117
30-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	105	106	57 又は 117

30

40

【 0 2 3 5 】

50

表 34

Ab 番号	アテゾリズマブ IgG ₁ 誘導体	配列番号			
		HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
31-1	IgG ₁ (L234A/L235A/D265S)	38	107	108	57 又は 117
31-2	IgG ₁ (L234A/L235A/P329G)	39	107	108	57 又は 117
31-3	IgG ₁ (L235E)	40	107	108	57 又は 117
31-4	IgG ₁ (D265A)	41	107	108	57 又は 117
31-5	IgG ₁ (D265A/N297G)	42	107	108	57 又は 117
31-6	IgG ₁ (E233A/L235A)	43	107	108	57 又は 117
31-7	IgG ₁ (N297X)	44	107	108	57 又は 117
31-8	IgG ₁ (N297A/D356E/L358M)	116	107	108	57 又は 117
31-9	IgG ₁ (L234F/L235E/P331S/D356E/L358M)	117	107	108	57 又は 117

【 0 2 3 6 】

10

20

30

40

50

表 35					
	アテゾリズマブ IgG ₂ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常ドメ イン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
32-1	IgG ₂ (D265S)	46	107	108	57 又は 117
32-2	IgG ₂ (P329G)	47	107	108	57 又は 117
32-3	IgG ₂ (D265A)	48	107	108	57 又は 117
32-4	IgG ₂ (D265A/N297G)	49	107	108	57 又は 117
32-5	IgG ₂ (N297X)	50	107	108	57 又は 117
32-6	IgG ₂ (V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S)	51	107	108	57 又は 117

【 0 2 3 7 】

表 36					
	アテゾリズマブ IgG ₄ 誘導体	配列番号			
Ab 番号	アイソタイプ及び HC 置換	HC 定常 ドメイン	V _H	V _L	LC 定常 ドメイン
33-1	IgG ₄ (S228P)	52	107	108	57 又は 117
33-2	IgG ₄ (S228P/P329G)	53	107	108	57 又は 117
33-3	IgG ₄ (S228P/D265A)	54	107	108	57 又は 117
33-4	IgG ₄ (S228P/D265A/N297G)	55	107	108	57 又は 117
33-5	IgG ₄ (S228P/N297X)	56	107	108	57 又は 117

【 0 2 3 8 】

(g) 例示的な抗 P D - L 1 抗体フラグメント

本発明の併用療法において使用されうる例示的な抗 P D - L 1 抗体フラグメントには、P D - L 1 に結合し P D - 1 への P D - L 1 の結合を阻害する任意の抗 P D - L 1 抗体フラグメントが含まれ、更に、以下の抗 P D - L 1 抗体フラグメント、および以下の抗 P D - L 1 抗体フラグメントと薬学的に許容される担体とを含む組成物が含まれる。

10

20

30

40

50

【 0 2 3 9 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 3 に記載されているアミノ酸配列を有するデュルバルマブ V_H と、配列番号 1 0 4 に記載されているアミノ酸配列を有するデュルバルマブ V_L とを含む F_v または s c F_v である。

【 0 2 4 0 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 3 に記載されているアミノ酸配列を有するデュルバルマブ V_H と、配列番号 1 0 4 に記載されているアミノ酸配列を有するデュルバルマブ V_H とを含む F (a b) である。

【 0 2 4 1 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 3 に記載されているアミノ酸配列を有するデュルバルマブ V_H と、配列番号 1 0 4 に記載されているアミノ酸配列を有するデュルバルマブ V_H とを含む F (a b ')₂ である。

10

【 0 2 4 2 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 5 に記載されているアミノ酸配列を有するアベルマブ V_H と、配列番号 1 0 6 に記載されているアミノ酸配列を有するアベルマブ V_H とを含む F_v または s c F_v である。

【 0 2 4 3 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 5 に記載されているアミノ酸配列を有するアベルマブ V_H と、配列番号 1 0 6 に記載されているアミノ酸配列を有するアベルマブ V_H とを含む F (a b) である。

20

【 0 2 4 4 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 5 に記載されているアミノ酸配列を有するアベルマブ V_H と、配列番号 1 0 6 に記載されているアミノ酸配列を有するアベルマブ V_H とを含む F (a b ')₂ である。

【 0 2 4 5 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 7 に記載されているアミノ酸配列を有するアテゾリズマブ V_H と、配列番号 1 0 8 に記載されているアミノ酸配列を有するアテゾリズマブ V_H とを含む F_v または s c F_v である。

【 0 2 4 6 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 7 に記載されているアミノ酸配列を有するアテゾリズマブ V_H と、配列番号 1 0 8 に記載されているアミノ酸配列を有するアテゾリズマブ V_H とを含む F (a b) である。

30

【 0 2 4 7 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、配列番号 1 0 7 に記載されているアミノ酸配列を有するアテゾリズマブ V_H と、配列番号 1 0 8 に記載されているアミノ酸配列を有するアテゾリズマブ V_H とを含む F (a b ')₂ である。

【 0 2 4 8 】

特定の実施形態において、抗 P D - L 1 抗体フラグメントは、1 以上の免疫グロブリン単一可変ドメイン (I S V D) を含み、各 I S V D はラクダ重鎖のみの抗体の可変ドメイン (V_{HH}) を含み、但し、I S V D は、国際特許出願 WO 2 0 0 8 0 7 1 4 4 7 の開示における配列番号 3 9 4 ~ 3 9 9 を有する抗 P D - L 1 I S V D を含まず、また、WO 2 0 0 9 0 3 0 2 8 5 に開示されている抗 P D - L 1 I S V D を含まず（それらの国際特許出願の両方を参照により本明細書に組み入れることとする）、例外的に、前記の1以上の I S V D がエフェクター - サイレント抗体定常ドメインまたは F c ドメイン（例えば、本明細書に開示されているエフェクター - サイレント抗体定常ドメインまたは F c ドメインのいずれか）に融合または連結されている I S V D は、この但し書きによっては除外されない。

40

【 0 2 4 9 】

(h) 例示的な併用療法の投与レジメン

本発明は、P D - 1 遮断剤の免疫刺激効果と C T L A - 4 遮断剤の抗腫瘍効果とを兼ね

50

備えた抗癌療法であって、P D - 1 遮断剤と組み合わせて投与された C T L A - 4 遮断剤で典型的に観察される皮膚または腸 i r A E を示さない抗癌療法を提供する。本発明の特徴は、C T L A - 4 遮断剤が、B i a c o r e アッセイによる測定で 1 以上の F c R への測定可能な結合を示さず、または B i a c o r e アッセイによる測定で、同じアイソタイプの野生型抗体の場合と比較して低減した 1 以上の F c R への結合を示すことである。したがって、C T L A - 4 遮断剤は、測定可能なエフェクター機能を示さず、またはエフェクター機能の低減を示し、このことは、エフェクター - サイレント C T L A - 4 遮断剤が、エフェクター機能を示す C T L A - 4 遮断剤では利用できない用量および投与期間で P D - 1 遮断剤との併用療法において使用されることを可能にする。この特徴は、本発明の C T L A - 4 遮断剤を、現在利用可能な C T L A - 4 遮断剤から際立たせるものである。

10

【 0 2 5 0 】

本発明の典型的な投与レジメンにおいては、C T L A - 4 遮断剤および P D - 1 遮断剤は、別々の用量および異なる方法で同時に個体に投与されうる。一般に、本発明の C T L A - 4 遮断剤は、P D - 1 遮断剤との併用療法において、米国 F D A によって特定の適応症に対するイピリムマブ / ニボルマブ併用療法に関して現在承認されているのと少なくとも同じ用量、投与頻度および治療期間で投与されうる。しかし、併用療法は、米国 F D A によって承認されている特定の適応症には限定されず、本発明の併用療法から利益が得られうる任意の適応症を含みうる。現在承認されている用量は、3 m g / k g の用量で投与されるニボルマブの投与の後のイピリムマブ 1 m g / k g である。ついで、この用量の組合せが 3 週間ごとに 4 用量にわたって繰り返されることが可能であり、ついで、必要に応じて、ニボルマブの用量が 2 週間ごとに継続されうる。しかし、他の実施形態において、本発明の C T L A - 4 遮断剤は、1 m g / k g を超える用量、例えば、少なくとも 3 m g / k g の用量で併用療法において投与されうる。更にもう 1 つの実施形態において、用量は少なくとも 1 0 m g / k g であることが可能であり、更に他の実施形態において、用量は約 1 m g / k g ~ 1 0 m g / k g でありうる。特定の実施形態において、本発明の C T L A - 4 遮断剤は、承認されているイピリムマブ / ニボルマブ併用療法におけるものと同じ投与頻度および治療期間で投与されうる。特定の実施形態において、本発明の C T L A - 4 遮断剤は、承認されているイピリムマブ / ニボルマブ併用療法におけるニボルマブのものと同じ投与頻度および治療期間で投与されうる。

20

【 0 2 5 1 】

併用療法の特定の実施形態において、C T L A - 4 遮断剤は、個体の体重に基づかない用量で投与される。したがって、特定の実施形態において、C T L A - 4 結合剤は、約 1 0 m g ~ 3 0 0 m g の間の用量で投与されうる。もう 1 つの実施形態において、用量は、1 0 m g 、 2 5 m g 、 5 0 m g 、 7 5 m g 、 1 0 0 m g 、 1 5 0 m g 、 2 0 0 m g 、 2 5 0 m g および 3 0 0 m g からなる群から選択される。

30

【 0 2 5 2 】

本発明の併用療法において、P D - 1 遮断剤は、特定の適応症に対する単独療法における P D - 1 遮断剤に関して承認されているものと同じ用量、投与頻度および治療期間で投与されうる。C T L A - 4 遮断剤の用量は、前記のとおりであることが可能であり、C T L A - 4 遮断剤は、前記と同じ投与頻度および治療期間でまたは C T L A - 4 遮断剤と組合される特定の P D - 1 遮断剤の場合と同じ投与頻度および治療期間で、投与されうる。

40

【 0 2 5 3 】

現在市販されている P D - 1 遮断剤の特定の用量は P D - 1 遮断剤によって異なり、したがって、本発明の併用療法の特定の実施形態において、用量、投与頻度および / または治療期間は、特定の適応症に対する特定の P D - 1 遮断剤に関して米国 F D A により承認されているものと少なくとも同じでありうる。例えば、ペンプロリズマブは、必要に応じて [小児個体 (2 歳から 1 8 歳まで) では、必要に応じて、3 週間ごとに 2 m g / k g から 2 0 0 m g まで] 3 週間ごとに投与される 2 0 0 m g の用量として承認されており、ニボルマブは 2 週間ごとの 3 m g / k g の用量として承認されており、セミプリマブ - r w l c は、必要に応じて 3 週間ごとに投与される 3 5 0 m g の用量として承認されており、

50

アテゾリズマブは、必要に応じて3週間ごとに投与される1200mgの用量として承認されており、アベルマブは、必要に応じて2週間ごとに投与される10mg/kgまたは800mgの用量として承認されており、デュルバルマブは、必要に応じて2週間ごとに投与される10mg/kgの用量として承認されている。

【0254】

併用療法の特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、抗PD-1抗体または抗PD-1抗体フラグメントであり、これは約150mg～約250mg、約175mg～約250mg、約200mg～約250mg、約150mg～約240mg、約175mg～約240mg、または約200mg～約240mgの用量で投与されうる。幾つかの実施形態において、抗PD-1抗体またはその抗原結合性フラグメントの用量は、150mg、175mg、200mg、225mg、240mgまたは250mgである。他の実施形態において、抗PD-1抗体または抗PD-1抗体フラグメントは、必要に応じて、3週間ごとの頻度で投与されうる。本発明の併用療法のもう1つの実施形態において、抗PD-1抗体または抗PD-1抗体フラグメントは、250mgを超える用量で投与可能であり、例えば、必要に応じて6週間ごとの頻度で約400mgの用量で投与されうる。

【0255】

併用療法の特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、抗PD-1抗体または抗PD-1抗体フラグメントであり、これは約10mg/kg～約1200mgの用量で投与されうる。他の実施形態において、抗PD-1抗体または抗PD-1抗体フラグメントは、必要に応じて、2～3週間ごとの頻度で投与されうる。

【0256】

PD-1遮断剤は、単独療法における現在市販されているPD-1遮断剤に関して承認されているのと少なくとも同じ用量、投与頻度および治療期間で投与されうるが、本発明の任意の特定の組合せに関する実際の用量、投与頻度および治療期間は、PD-1遮断剤単独療法に関して承認されているものとは異なりうる。したがって、本発明の併用療法の特定の実施形態において、併用療法における任意の特定のPD-1遮断剤の用量、投与頻度および治療期間は、併用療法に関して実施される臨床試験から決定される。

【0257】

併用療法の特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、ニボルマブまたはニボルマブのエフェクター-サイレント変異体であり、これは、必要に応じて、2～3週間ごとに30～60分にわたって3mg/kgの用量で個体に静脈内投与され、この場合、CTLA-4遮断剤の各用量は、PD-1遮断剤の投与の後、PD-1遮断剤と同じ治療期間またはPD-1遮断剤の期間より短い若しくは長い期間にわたって静脈内投与される。特定の実施形態において、ニボルマブまたはニボルマブのエフェクター-サイレント変異体は、3mg/kgの初期用量で30分にわたって個体に静脈内投与され、ついで、CTLA-4遮断剤が、同じ日に30分にわたって3週間ごとに4用量にわたって静脈内投与され、ついで、ニボルマブが、30分にわたる2週間ごとの240mgまたは30分にわたる4週間ごとの480mgの一定用量で静脈内投与される。

【0258】

特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、ペンプロリズマブまたはペンプロリズマブのエフェクター-サイレント変異体であり、これは、必要に応じて、3週間ごとに30分にわたって200mgの用量で成体個体に静脈内投与され、または3週間ごとに30分間にわたって2mg/kg～最大約200mgの用量で小児個体に静脈内投与され、この場合、各治療の後、CTLA-4遮断剤の用量が投与され、ここで、CTLA-4遮断剤の各用量は、PD-1遮断剤の投与の後、PD-1遮断剤と同じ治療期間またはPD-1遮断剤の期間より短い若しくは長い期間にわたって静脈内投与される。

【0259】

特定の実施形態において、PD-1遮断剤は、ペンプロリズマブまたはペンプロリズマブのエフェクター-サイレント変異体であり、これは、必要に応じて6週間ごとに30分にわたって400mgの用量で成体個体に静脈内投与され、この場合、各治療の後、CT

10

20

30

40

50

L A - 4 遮断剤の用量が投与され、ここで、C T L A - 4 遮断剤の各用量は、P D - 1 遮断剤の投与の後、P D - 1 遮断剤と同じ治療期間またはP D - 1 遮断剤の期間より短い若しくは長い期間にわたって静脈内投与される。

【0260】

特定の実施形態において、P D - 1 遮断剤は、セミプリマブ - r w l c またはセミプリマブ - r w l c のエフェクター - サイレント変異体であり、これは、必要に応じて3週間ごとに30分にわたって350mgの用量で個体に静脈内投与され、この場合、P D - 1 遮断剤の投与の後、P D - 1 遮断剤と同じ治療期間またはP D - 1 遮断剤の期間より短い若しくは長い期間にわたって、C T L A - 4 遮断剤の各用量が静脈内投与される。特定の実施形態において、セミプリマブ - r w l c またはセミプリマブ - r w l c のエフェクター - サイレント変異体は、350mgの初期用量で30分にわたって個体に静脈内投与され、ついで、C T L A - 4 遮断剤が同じ日に30分にわたって3週間ごとに必要に応じて投与される。10

【0261】

特定の実施形態において、P D - 1 遮断剤は、アテゾリズマブまたはアテゾリズマブのエフェクター - サイレント変異体であり、これは、必要に応じて3週間ごとに60分にわたって1200mgの用量で個体に静脈内投与され、この場合、P D - 1 遮断剤の投与の後、P D - 1 遮断剤と同じ治療期間またはP D - 1 遮断剤の期間より短い若しくは長い期間にわたってC T L A - 4 遮断剤の各用量が静脈内投与される。特定の実施形態において、アテゾリズマブまたはアテゾリズマブのエフェクター - サイレント変異体は、1200mgの初期用量で60分にわたって個体に静脈内投与され、ついで、C T L A - 4 遮断剤が同じ日に30分にわたって、3週間ごとに必要に応じて投与される。20

【0262】

特定の実施形態において、P D - 1 遮断剤は、アベルマブまたはアベルマブのエフェクター - サイレント変異体であり、これは、必要に応じて2週間ごとに60分にわたって10mg / kg または800mgの用量で個体に静脈内投与され、この場合、P D - 1 遮断剤の投与の後、P D - 1 遮断剤と同じ治療期間またはP D - 1 遮断剤の期間より短い若しくは長い期間にわたってC T L A - 4 遮断剤の各用量が静脈内投与される。特定の実施形態において、アベルマブまたはアベルマブのエフェクター - サイレント変異体は、10mg / kg または800mgの初期用量で60分にわたって個体に静脈内投与され、ついで、C T L A - 4 遮断剤が同じ日に30分にわたって、2週間ごとに必要に応じて投与される。30

【0263】

特定の実施形態において、P D - 1 遮断剤は、デュルバルマブまたはデュルバルマブのエフェクター - サイレント変異体であり、これは、必要に応じて2週間ごとに60分にわたって10mg / kg の用量で個体に静脈内投与され、この場合、P D - 1 遮断剤の投与の後、P D - 1 遮断剤と同じ治療期間またはP D - 1 遮断剤の期間より短い若しくは長い期間にわたってC T L A - 4 遮断剤の各用量が静脈内投与される。特定の実施形態において、デュルバルマブまたはデュルバルマブのエフェクター - サイレント変異体は、10mg / kg の初期用量で60分にわたって個体に静脈内投与され、ついで、C T L A - 4 遮断剤が同じ日に30分にわたって、2週間ごとに必要に応じて投与される。40

【0264】

現在承認されているC T L A - 4 遮断剤およびP D - 1 遮断剤は、30 ~ 60分の時間枠にわたって個体への静脈内投与を可能にする濃度の製剤中で提供されるが、本発明の併用療法は、C T L A - 4 遮断剤および / またはP D - 1 遮断剤のそれぞれが1回の注射でそれぞれが別々に個体に投与されることを可能にする製剤中で提供される実施形態を想定している。それらの2つの遮断剤の少なくとも1つを1回の注射で投与しうることは、両方の遮断剤を個体に投与するための時間を有意に短縮するであろう。

【0265】

もう1つの実施形態において、本発明は、C T L - 4 遮断剤およびP D - 1 遮断剤が同50

時に共投与される併用療法を提供する。共投与は、C T L A - 4 遮断剤およびP D - 1 遮断剤を別々の製剤中で提供し、各製剤を、別々のI Vによって同時に個体に提供することにより、または混合後に混合物をI Vによって個体に投与することにより、または各製剤を個体に別々に注射することにより、達成されうる。共投与は、C T L - 4 遮断剤およびP D - 1 遮断剤を単一製剤中で提供し、ついでそれを1回のI Vまたは1回の注射で個体に投与することによっても達成されうる。

【0266】

(i) 併用療法処置

本発明の併用療法は、任意の増殖性疾患の治療、特に癌の治療に使用されうる。特定の実施形態において、本発明の併用療法は、黒色腫、非小細胞肺癌、頭頸部癌、尿路上皮癌、乳癌、胃腸癌、多発性骨髄腫、肝細胞癌、非ホジキンリンパ腫、腎癌、ホジキンリンパ腫、中皮腫、卵巣癌、小細胞肺癌、食道癌、肛門癌、胆道癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、甲状腺癌または唾液腺癌を治療するために使用されうる。10

【0267】

もう1つの実施形態において、本発明の併用療法は、膵臓癌、気管支癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳もしくは中枢神経系癌、末梢神経系癌、子宮もしくは子宮内膜癌、口腔もしくは咽頭癌、肝癌、腎臓癌、精巣癌、胆道癌、小腸もしくは虫垂癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫または血液組織の癌を治療するために使用されうる。

【0268】

現在市販されているP D - 1 遮断剤は、黒色腫（転移性または切除不能）、原発性縦隔大細胞型B細胞リンパ腫（P M B C L）、尿路上皮癌、M S I H C、胃癌、子宮頸癌、肝細胞癌（H C C）、メルケル細胞癌（M C C）、腎細胞癌（進行性を含む）および皮膚扁平上皮癌から選択される少なくとも1以上の癌を治療するために米国F D Aにより承認されている。したがって、本発明の併用療法は、黒色腫（転移性または切除不能）、原発性縦隔大細胞型B細胞リンパ腫（P M B C L）、尿路上皮癌、M S I H C、胃癌、子宮頸癌、肝細胞癌（H C C）、メルケル細胞癌（M C C）、腎細胞癌（進行性を含む）および皮膚扁平上皮癌から選択される少なくとも1以上の癌を治療するために使用されうる。20

【0269】

(j) 化学療法と組合された併用療法

本発明の併用療法は、化学療法と組み合わせて癌を有する個体に投与されうる。個体は、本発明の併用療法を個体が受けているのと同時に化学療法を受けることが可能である。個体は、化学療法を完了した後、本発明の併用療法を受けることが可能である。個体は併用療法の完了後に化学療法が投与されうる。本発明の併用療法は、化学療法を受けている又は化学療法を完了してあり疾患進行または再発癌を伴う再発性または転移性癌を有する個体にも投与されうる。30

【0270】

化学療法は、以下のものからなる群から選択される化学療法剤を含みうる。

【0271】

(i) アルキル化剤、例えば二官能性アルキル化剤、シクロホスファミド、メクロレタミン、クロラムブシリおよびメルファラン（これらに限定されるものではない）；40

(i i) 単官能性アルキル化剤、例えばダカルバジン、ニトロソウレアおよびテモゾロミド（経口ダカルバジン）（これらに限定されるものではない）；

(i i i) アントラサイクリン、例えばダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロンおよびバルビシン（これらに限定されるものではない）；

(i v) 細胞骨格破壊因子（タキサン）、例えばパクリタキセル、ドセタキセル、アブラキサンおよびタキソテール（これらに限定されるものではない）；

(v) エポチロン、例えばイキサベピロンおよびウチデロン（これらに限定されるものではない）；

(v i) ヒストンデアセチラーゼインヒビター、例えばボリノスタットおよびロミデ50

プシン（これらに限定されるものではない）；

(v i i) トポイソメラーゼ i のインヒビター、例えばイリノテカンおよびトポテカン（これらに限定されるものではない）；

(v i i i) トポイソメラーゼ i i のインヒビター、例えばエトポシド、テニポシドおよびタフルポシド（これらに限定されるものではない）；

(i x) キナーゼインヒビター、例えばボルテゾミブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ベムラフェニブおよびビスモデギブ（これらに限定されるものではない）；

(x) スクレオチド類似体および前駆体類似体、例えばアザシチジン、アザチオブリン、フルオロピリミジン（例えば、カペシタбин、カルモフル、ドキシフルリジン、フルオロウラシルおよびテガフル）、シタラбин、ゲムシタбин、ヒドロキシ尿素、メルカブトプリン、メトレキサートおよびチオグアニン（tioguanine）（旧称：thioguanine）（これらに限定されるものではない）；

(x i) ペプチド抗生物質、例えばブレオマイシンおよびアクチノマイシン（これらに限定されるものではない）；白金に基づく物質、例えばカルボプラチニン、シスプラチニンおよびオキサリプラチニン（これらに限定されるものではない）；

(x i i) レチノイド、例えばトレチノイン、アリトレチノインおよびベキサロテン（これらに限定されるものではない）；ならびに

(x i i i) ピンカルアルカロイドおよびその誘導体、例えばビンプラスチン、ピンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルビン（これらに限定されるものではない）。

【0272】

化学療法用の化学療法剤の用量の選択は、物質の血清または組織代謝回転速度、症状の程度、物質の免疫原性、および治療される個体における標的細胞、組織または器官の接近可能性を含む幾つかの要因に左右される。追加的な治療用物質の用量は、許容レベルの副作用をもたらす量であるべきである。したがって、各追加的治療用物質の用量および投与頻度は、部分的には、個々の治療用物質、治療される癌の重症度、および患者の特性に左右される。抗体、サイトカインおよび小分子の適切な用量を選択する際の指針が利用可能である。例えば、以下のものを参照されたい：Wawrzynczak (1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina(編) (1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY; Bach(編) (1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY; Baertら(2003) New Engl. J. Med. 348: 601-608; Milgromら(1999) New Engl. J. Med. 341: 1966-1973; Slamonら(2001) New Engl. J. Med. 344: 783-792; Beniaminovitzら(2000) New Engl. J. Med. 342: 613-619; Ghoshら(2003) New Engl. J. Med. 348: 24-32; Lipskyら(2000) New Engl. J. Med. 343: 1594-1602; Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57th Ed); Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 第57版(2002年11月)。適切な投与レジメンの決定は、例えば、治療に影響を及ぼすことが当技術分野で知られている若しくは疑われている又は治療に影響を及ぼすと予想されるパラメータまたは因子を用いて、臨床家によりなされることが可能であり、例えば、個体の臨床履歴（例えば、過去の治療）、治療される癌の型および病期、ならびに併用療法における治療用物質の1以上に対する応答のバイオマーカーに左右される。

【0273】

例えば、ペンプロリズマブは、(i) ペメトレキセドおよび白金化学療法またはカルボプラチニンならびにパクリタキセルまたはnab - パクリタキセルのいずれかとペンプロリ

10

20

30

40

50

ズマブとを含む非小細胞肺癌（N S C L C）の治療のための、および、（i i）ペンプロリズマブおよび白金含有化学療法を含む頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）の治療のための併用療法に関して米国F D Aにより現在承認されており、そして、アテゾリズマブは、ベバシズマブ（商品名A V A S T I Nで販売されている抗V E G F - A抗体）、パクリタキセルおよびカルボプラチニンを含むN S C L Cの治療のための併用療法に関して現在承認されている。

【0274】

したがって、本発明は、白金含有化学療法、ペメトレキセドおよび白金化学療法、または、カルボプラチニンならびにパクリタキセルまたはn a b - パクリタキセルのいずれかを含む化学療法の工程を更に含む、本発明の併用療法の実施形態を含む。特定の実施形態において、化学療法工程を伴う併用療法は、少なくともN S C L CおよびH N S C Cを治療するために使用されうる。

10

【0275】

化学療法工程と更に組合された併用療法は、任意の増殖性疾患の治療、特に癌の治療に使用されうる。特定の実施形態において、本発明の併用療法は、黒色腫、非小細胞肺癌、頭頸部癌、尿路上皮癌、乳癌、胃腸癌、多発性骨髄腫、肝細胞癌、非ホジキンリンパ腫、腎癌、ホジキンリンパ腫、中皮腫、卵巣癌、小細胞肺癌、食道癌、肛門癌、胆道癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、甲状腺癌または唾液腺癌を治療するために使用されうる。

【0276】

もう1つの実施形態において、化学療法工程と更に組合された併用療法は、膵臓癌、気管支癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳もしくは中枢神経系癌、末梢神経系癌、子宮もしくは子宮内膜癌、口腔もしくは咽頭癌、肝癌、腎臓癌、精巣癌、胆道癌、小腸もしくは虫垂癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫または血液組織の癌を治療するために使用されうる。

20

【0277】

特定の実施形態において、化学療法工程を伴う併用療法は、黒色腫（転移性または切除不能）、原発性縦隔大細胞型B細胞リンパ腫（P M B C L）、尿路上皮癌、M S I H C、胃癌、子宮頸癌、肝細胞癌（H C C）、メルケル細胞癌（M C C）、腎細胞癌（進行性を含む）および皮膚扁平上皮癌から選択される少なくとも1以上の癌を治療するために使用されうる。

30

【実施例】

【0278】

以下の実施例は、本発明の更に詳細な理解を促すことを意図したものである。

【0279】

実施例1

F c 機能は腸炎症i r A Eの誘発に必要である

腸炎症性i r A Eは、抗C T L A - 4抗体単独療法またはそれと抗P D - 1抗体との併用による免疫療法中の癌患者において観察されている。構成的および条件付きノックアウトモデルにおけるC T L A - 4欠損マウスの前臨床試験は、複数の器官における重度の免疫性炎症疾患の発生を示している。しかし、代理抗C T L A - 4抗体による同系腫瘍モデルの治療は、癌患者で観察される毒性を予測する明白なi r A Eを誘発することが報告されていない。同様に、腸炎症の組織病理学的評価を、C T 2 6同系モデルまたは異種移植モデル（C T 2 6結腸癌細胞株を接種したマウス）において評価した。F cコンピテント抗マウスC T L A - 4 m A b 9 D 9 - m I g G 2 a（- C T L A - 4または- C T L A 4）（q 4 × 4）で処置されたC T 2 6腫瘍担持マウスは、腸組織粘膜固有層において観察された最小限度の顆粒球浸潤（グレード1 / 5）を引き起こした。F c - 突然変異抗m C T L A - 4 m A b 9 D 9 - m I g G 1 - D 2 6 5 A（- C T L A - 4（D 2 6 5 A））、無F c抗m C T L A - 4 I S V D F 8 9 4（C T L A - 4 N a b）またはアイソタイプで処置されたコホートにおいては、顆粒球浸潤は観察されなかった。一方、付随する潰瘍形成も他の組織損傷も観察されなかった。

40

50

【0280】

- C T L A - 4 (D 2 6 5 A) F c 突然変異体は、F c 受容体に対する測定可能なアフィニティを欠いており (Nimmerjahnら, Immunity, 23: 41-51 (2005))、したがって、F c エフェクター機能を欠いている。マウスにおいては、抗マウス C T L A 4 m A b 単独療法の抗腫瘍効果は、F c エフェクター機能を介して腫瘍内制御性 T 細胞枯渇をもたらす抗体の能力に依存する (Selbyら, 前掲)。したがって、C T L A - 4 N a b および - C T L A - 4 (D 2 6 5 A) は共に、単独療法の抗腫瘍効果を有するとは予想されていなかった。

【0281】

前記の最小限度の組織病理学的所見は、腸における炎症性細胞活性化のマーカーを検出するための、潜在的により高感度の手段として、遺伝子発現プロファイルを評価するよう 10 に促した。本発明者らは、炎症性腸疾患 (IBD) 前臨床モデルおよび患者の糞便サンプルおよび生検における腸炎症に関連する遺伝子のプロテオミクスおよび発現プロファイルリングのために、本発明者らが既に開発していた P C R 遺伝子発現パネルを利用した (Cayatte, Cら, Clinical and Translational Gastroenterology, 3: e10 (2012))。

【0282】

- C T L A - 4 での処置の開始後の種々の時点で小腸および結腸組織サンプルにおいて遺伝子発現プロファイルを測定し、- C T L A - 4 (D 2 6 5 A) と比較して、腸炎症誘発のための F c 機能の役割を詳細に評価した。図 1 A に示されているとおり、- C T L A - 4 で処置されたマウスの近位小腸サンプルにおいては多数の腸炎症遺伝子の発現がアップレギュレーションされたが、- C T L A - 4 (D 2 6 5 A) で処置されたマウスの場合にはアップレギュレーションされなかつた。その結果は、無症状の状況での小腸および結腸組織における遺伝子発現により腸炎症経路の発現が検出されうることを示した。 20

【0283】

腸炎症に関連する遺伝子のアップレギュレーションは、6 ~ 7 週間以上の処置の後のイピリムマブ処置患者において観察されたとおり、臨床的腸炎への進行に対する持続的処置の効果を評価することを可能にした (Samaanら, Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol., 15: 222-234 (2018))。腸炎症と腸炎への進行とに対する C T L A - 4 遮断および F c 機能の相対的效果を評価するために、BALB/c マウスに - C T L A - 4 、- C T L A - 4 (D 2 6 5 A) を週 2 回投与した。2つの群のマウス (1つの群は C T 2 6 腫瘍を有し、ナイーブ BALB/c マウスの1群は腫瘍を有さない) を F c コンピテント - C T L A - 4 で処置して、腸炎症の誘導に対する腫瘍免疫の誘導および腫瘍増殖からの潜在的寄与を評価した。腸炎への進行をモニターするために、体重および体調スコアを持続的処置の全期間にわたって週 2 回評価した。 30

【0284】

アイソタイプ抗体および - C T L A - 4 (D 2 6 5 A) が投与されたマウスにおいては、体重は第 50 日まで増加し続けた。対照的に、- C T L A - 4 が投与されたマウスは、約 35 ~ 40 日後に平均体重の減少を示した (図 1 B)。第 49 日および第 50 日の F I T C - デキストラン強制飼養マウスにおける評価では、腸透過性は - C T L A - 4 処置群の両方で増加したが、- C T L A - 4 (D 2 6 5 A) 処置マウスにおいては増加しなかつた (図 1 C)。病理学者 (L. A.) により評価された近位小腸および結腸の炎症の組織学的証拠は、- C T L A - 4 処置群における中等度および重度の腸炎への進行を示し (図 1 D および図 1 E)、広範な免疫浸潤、粘膜の肥厚および杯細胞の喪失を伴っていた。対照的に、- C T L A - 4 (D 2 6 5 A) 処置マウスにおいては腸炎は観察されず、これは、C T L A - 4 遮断誘発性腸炎には F c 機能が必要であるという証拠を示している。注目すべきことに、腫瘍増殖および抗腫瘍応答は、- C T L A - 4 誘発性腸炎に必要でなかつた。 40

【0285】

高い F c R アフィニティを有するマウス Ig G 2a キメラ抗体を、検出可能な F c

10

20

30

40

50

R 結合を有さない突然変異 IgG₁キメラと比較した実験において、強力な単独療法抗腫瘍応答には、強力なFc-R機能を有する抗CTLA-4抗体が必要であることが既に報告されている(Se1byら, Cancer Immunol. Res. 1: 32-42 (2013))。マウスIgG_{2a}(mIgG_{2a})バックボーン上の抗CTLA-4抗体で観察される強力な単独療法において、腫瘍におけるT_{reg}の特異的枯渇が表面上重要な役割を果たしている(Simpsonら, J. Exp. Med. 210: 1695-710 (2013))。抗PD-1の効果に対するCD28の重要性を示す最近の報告(参考文献を参照されたい)は、リガンドCD80およびCD86に対するCTLA-4の、より強力な相互作用をCTLA-4アンタゴニストで遮断することによる、CD28機能の増強が、T_{reg} TILの枯渇を要することなく強力な併用抗腫瘍効果をもたらしうることを、本発明者らに示唆した。CD80およびCD86への結合を阻害しうる、マウスCTLA-4(mCTLA-4)に特異的なISVDを、重鎖のみのラクダ抗体から誘導された單一ドメインVHH抗体フラグメントを使用して開発した。これらの小さな15kDaのタンパク質はFc領域を欠いているため、Fc-Rに結合しない。完全なFc機能を有する抗体と比較するために、強力な単独療法抗腫瘍効果を有することが既に示されている-CTLA-4(参考文献を参照されたい)を使用した。異なるCTLA-4エピトープに結合する潜在的影響に関する対照実験を行うために、Fc-Rに対する検出可能なアフィニティを欠く-CTLA-4(D265A)を使用して、抗腫瘍効果および忍容性のための強力なFc-R機能の必要性に関する対照実験を行った。

【0286】

CTLA-4 nAbは、半減期延長(HLE)サブユニットとしての抗ヒトアルブミンVHHドメインおよび35GSリンクカーより連結された2つの抗CTLA-4 VHHドメインから構成される(配列番号61を参照されたい)。参考アンタゴニスト(100%)として使用した-CTLA-4と比較して、抗CTLA-4 VHHはCD80およびCD86の両方に対して96%の阻害を示した(図2Aおよび図2B)。増殖(図2C)、IFN(図2D)およびIL-2応答(図2E)を増強する能力に関して、インビトロMLRベースのバイオアッセイにおいて、CTLA-4 nAbを-CTLA-4およびエフェクター-サイレント-CTLA-4(D265A)と更に比較した。

【0287】

CTLA-4遮断のためのFc機能はPD-1併用免疫療法に必要でない
3つのCTLA-4アンタゴニストでの単独療法および抗マウスPD-1抗体mDX400(-PD-1)との併用療法により誘発される相対的な抗腫瘍効果を、抗PD-1単独療法に対して中等度の応答しか示さない同系CT26結腸癌腫瘍モデルにおける腫瘍体積の経時的变化を測定することにより評価した(図3A~3E)。CTLA-4 nAbまたは-CTLA-4(D265A)のいずれかで処置された単独療法コホートにおいては抗腫瘍活性は観察されず、アイソタイプ対照(図3Aの群1)と同等であった。

-CTLA-4で処置されたマウスにおいて強力な抗腫瘍単独療法活性が観察され、これは、マウス同系腫瘍モデルにおける抗腫瘍単独療法の有効性のためには抗CTLA-4抗体におけるFc機能が必要であることを示した以前の報告と一致している(Simpsonら, J. Exp. Med. 210: 1695-710 (2013))(図3Aの群2)。
-PD-1単独での処置は、-CTLA-4と比較して低ないし中程度の抗腫瘍増殖阻害を示した。しかし、CTLA-4 nAbまたは-CTLA-4(D265A)と-PD-1との併用療法は、-CTLA-4単独または-CTLA-4と-PD-1との併用で観察されたものに匹敵する強力な抗腫瘍効果をもたらした(図3Aの群2)。CTLA-4 nAbおよび-CTLA-4(D265A)はCTLA-4上の別々のエピトープに結合するため、その効果はエピトープに特異的ではない。CTLA-4 nAb、-CTLA-4(D265A)および-CTLA-4の間の-PD-1併用処置において同様の抗腫瘍応答が観察されたため、Fc機能とは無関係に強力な併用効果の更なる証拠が明らかであった。図3Dは、図3Aに要約されている10匹のマウス処置のそれぞれに関する個々の結果を示す。-CTLA-4処置マウスにおいて、お

10

20

30

40

50

および - C T L A - 4 (D 2 6 5 S) と - P D - 1 との組合せで処置されたマウスにおいて、 - C T L A - 4 (D 2 6 5 S) のみが投与されたマウスと比較して、 C D 8 T 細胞の増殖および C D 8 / T r e g 比の増加が観察された（図 3 B）。これらの結果が示すところによると、 F c 機能を欠く抗 C T L A - 4 アンタゴニストを抗 P D - 1 アンタゴニストと組み合わせることにより、抗 P D - 1 アンタゴニスト単独療法で達成可能なものより優れた抗腫瘍効果が得られ、単独療法における F c 機能を有する抗 C T L A - 4 抗体の抗腫瘍効果と同様の抗腫瘍効果が組合せにおいて得られた。

【 0 2 8 8 】

強力な組合せ活性に関連する潜在的な相補的メカニズムを解明するために、処置開始の 9 日後の腫瘍における有効な癌免疫療法に関連する免疫応答遺伝子の調節を調べた。 - C T L A - 4 処置マウスからの腫瘍の P C R 発現プロファイリングは、 I F N 、 I F N 応答遺伝子、ケモカイン、炎症性サイトカインおよび M H C を含む、有効な免疫療法に関連する多数の遺伝子の強力なアップレギュレーションを示した（図 3 C）。 - C T L A - 4 (D 2 6 5 A) 処置マウスからの腫瘍においては中程度のアップレギュレーションしか観察されず、このことは、 - C T L A - 4 処置腫瘍において観察された強力なアップレギュレーションが少なくとも部分的に F c 機能に依存していたことを示している。 C T L A - 4 n A b および - P D - 1 処置マウスからの腫瘍においても中程度の応答が観察された。対照的に、 C T L A - 4 n A b または - C T L A - 4 (D 2 6 5 A) と - P D - 1 とで処置された併用療法コホートにおいては、腫瘍免疫応答遺伝子の強力なアップレギュレーションが観察された。図 3 D は、 P D - 1 遮断の非存在下では、 C T L A - 4 n A b も - C T L A - 4 (D 2 6 5 A) も抗腫瘍活性を有さないことを示している。これらのデータは、純粋な C T L A - 4 遮断および P D - 1 遮断の相補的メカニズムが F c に非依存的に強力な組合せ利益をもたらしうるという仮説を支持している。

【 0 2 8 9 】

抗 P D - 1 と組合された、 F c 機能非含有 C T L A - 4 遮断は優れた治療指標をもたらす免疫チェックポイント遮断の顕著な特徴は、いずれかのチェックポイントのみを標的化する場合と比較して優れた臨床効果をもたらす、抗 P D - 1 抗体および抗 C T L A - 4 抗体の臨床的に検証された併用（組合せ）の利点である。しかし、抗 P D - 1 との C T L A - 4 遮断併用療法に関連する免疫関連毒性（ i r A E ）は患者の腸炎症の誘発の増加に関連づけられている（ R i b a s & W o l c h o k , S c i e n c e 3 5 9 : 1 3 5 0 - 1 3 5 5 (2 0 1 8) ）。また、 - C T L A (D 2 6 5 A) および無 F c C T L A - 4 n A b は共に、強力な抗腫瘍免疫を誘導するためには - P D - 1 との組合せが必要であった。腸炎症の誘発に対する強力な腫瘍免疫の潜在的影響に関する対照実験を行うために、処置開始後第 1 8 日に、 5 回の処置の後で - P D - 1 と - C T L A 、 - C T L A (D 2 6 5 A) または C T L A - 4 n A b のいずれかとの併用療法を受けたマウスにおいて腸炎症発現プロファイルを調べた（図 4 D ）。

【 0 2 9 0 】

腸炎症に対する C T L A - 4 遮断および F c 機能の相対的效果を評価するために、 - C T L A 、 - C T L A (D 2 6 5 A) 、無 F c C T L A 4 n A b 、 - P D - 1 を、または - P D - 1 と種々の抗 m C T L A 4 アンタゴニストとの組合せをナイープ B A L B / c マウスに週 2 回投与した。体重および体調スコアを研究の全期間にわたって週 2 回評価した。全ての群におけるマウスの体重は約第 2 0 日まで増加した（図 4 A ）。アイソタイプ、 - C T L A (D 2 6 5 A) 、 C T L A 4 n A b もしくは - P D - 1 またはそれらの組合せが投与されたマウスにおいては、体重は第 5 0 日まで増加し続けた。 - C T L A が投与されたマウスは約第 3 0 日の後から平均体重の減少を示し、第 5 0 日までに処置前のレベル付近までの減少を示した。 - P D - 1 と組合された - C T L A の投与は平均体重のより急速な減少を招き、第 2 0 日から第 5 0 日にかけて処置前レベル未満までの減少を示した。注目すべきことに、 - P D - 1 と組合された - C T L A で処置されたマウスにおいては第 2 8 日から、そして - C T L A が投与されたマウスにおいては第 4 2 日から、 8 匹中 2 匹のマウスの体調スコアが 2 （体調不良）に低下した。これら

10

20

30

40

50

のコホートは光沢のあるモジヤモジヤな毛皮を示し、これらのコホートにおいては腹部腫脹が観察された。

【0291】

炎症の分析は7週間の投与の後に予定され、このとき、 - C T L A が投与されたマウスはその期間にわたって体重の減少を示し、それは、 - P D - 1 と組合せて投与された場合に悪化した（図4Aの群B）。対照的に、エフェクター - サイレントC T L A - 4 遮断剤または - P D - 1 はいずれも、その期間中にアイソタイプ対照と比較して有意な体重減少を示さなかった（図4Bの群A）。

【0292】

併用処置群の全てのマウスならびにアイソタイプ対照および - P D - 1 処置群の4匹のマウスを、組織収集のために第50日に安樂死させた。アイソタイプ対照群および - P D - 1 処置群の残りの4匹のマウスならびに単剤処置群の全てのマウスを、組織収集のために第54日に安樂死させた。剖検時に、炎症遺伝子の発現を決定するためのR T - q P C R のために、および組織病理学的検査による炎症の評価のために、近位小腸および結腸を摘出した。

10

【0293】

アイソタイプ対照と比較した、各処置群からの近位小腸における遺伝子発現のヒートマップを（図4D）に示す。 - C T L A の投与は、空腸（図4D）および結腸（図4E）の炎症遺伝子のアップレギュレーションを誘導するのに十分であった。 - C T L A と - P D - 1 との組合せは、 - C T L A 単独療法より一層強力な、炎症遺伝子のアップレギュレーションを誘導した。対照的に、C T L A - 4 n A b の投与は腸炎症遺伝子発現をほとんど又は全く誘導せず、 - P D - 1 と組合された場合にわずかなアップレギュレーションを誘発したに過ぎなかった。同様に、 - C T L A (D 2 6 5 A) の単独または - P D - 1 との組合せの投与は、炎症遺伝子の最小限度ないし低度の誘発をもたらした。F I T C - デキストラン強制経口投与後の血清において評価された腸透過性は、 - C T L A 処置マウスおよび - C T L A と - P D - 1 との併用処置を受けたマウスにおいて有意に増加した。

20

【0294】

近位小腸における炎症の重症度を第50日の近位空腸における腸炎の組織学的評価によりスコア化した。組織病理学的評価により、 - C T L A の投与はほとんどのマウスにおいて軽度ないし重度の炎症をもたらした。 - C T L A と - P D - 1 との組合せで処置されたコホートにおいては、持続的処置は全てのマウスにおいて中等度ないし非常に重度の炎症を誘発した（図4B）。非常に重度の腸炎を有するマウスは、空腸炎、中程度の数の肥満細胞を伴うびまん性好中球病変およびマイスナー神経叢のニューロンの変性を示した。対照的に、C T L A - 4 n A b または - C T L A (D 2 6 5 A) のいずれかの投与は、組織病理学的評価において炎症を誘発しなかった。 - P D - 1 と組合されたC T L A - 4 n A b の投与は、炎症を引き起こさずまたは数匹のマウスにおいて最小限度ないし軽度の炎症を引き起こした。 - P D - 1 と組合された - C T L A (D 2 6 5 A) の投与は、8匹中僅か1匹のマウスにおいて軽度の炎症を引き起こした。代表的な顕微鏡写真は各処置群における炎症の相対レベルを示している（図4C）。

30

【0295】

図5A～5Cに示されているとおり、 - C T L A - 4 F c エフェクター機能は皮膚炎症を誘発するが（図5A）、全身炎症を引き起こさず、この場合、腎臓、肝臓または肺においては検出可能な炎症が認められなかった（図5C）。耳の皮膚のI L - 1 7 産生T細胞、F o x p 3 + T r e g 細胞および好中球の絶対数をフローサイトメトリーで測定した。図5Bに示されているとおり、 - C T L A - 4 処置マウスの耳の皮膚には高レベルのI L - 1 7 産生T細胞、F o x p 3 + T r e g 細胞および好中球が存在したが、 - C T L A - 4 (D 2 6 5 A) 処置マウスのものには存在しなかった。総合すると、これらのデータは、エフェクター機能を有する抗マウスC T L A - 4 抗体による腸炎症の誘発におけるF c エフェクター機能の重要な役割を裏付けている。F c エフェクター機能は腸

40

50

炎のBALB/cマウスモデルにおいて抗マウス-CTLA誘発性腸炎症に寄与したが、CTLA-4^{nAb}処置マウスまたは-CTLA(D265A)処置マウスにおいては腸炎症は軽度であり、または存在しなかった。

【0296】

要約すると、2つの特性が-CTLA-4によるCT26腫瘍モデルの腸炎症の誘発に関連していた。第1に、Fc機能性アイソタイプ対照は、炎症に関連する遺伝子発現を誘導しなかったので、CTLA-4の特異性が必要であった。しかし、CD80/CD86リガンドへのCTLA-4結合の遮断は、CTLA-4^{nAb}および-CTLA-4(D265A)処置マウスの腸における炎症遺伝子のアップレギュレーションを誘導するには不十分であった。したがって、-CTLA-4におけるIgG_{2a}アイソフォームに存在する強力なFc機能の能力が腸炎症の誘発に必要であった。

10

【0297】

腸炎症の活性化はT_{reg}の枯渇とは無関係にT_{eff}細胞の活性化により開始される抗CTLA-4媒介性抗腫瘍免疫の作用メカニズム(MOA)は、理論的には、T制御性(T_{reg})細胞およびTエフェクター(T_{eff})細胞集団(CTL、TH1細胞など)に対する薬力学(PD)効果により媒介される。腫瘍微小環境(TIL)内のT_{reg}細胞の枯渇は、マウス同系腫瘍モデルにおける抗CTLA-4抗体の顕著なMOAである(Simpsonら, 前掲)。また、抗CTLA-4 mAbによるFc-FcRの同時結合は、T細胞受容体(TCR)およびCD28シグナル伝達を調節して、T_{reg}の枯渇に無関係にT細胞活性化の増強をもたらす(Waightrala, Cancer Cell, 33:1033-1047(2018))。

20

【0298】

T_{reg}およびTエフェクター細胞に対するCTLA-4^{nAb}からの-CTLA-4の効果の差次的效果を特徴づけるために、腫瘍(TIL)、結腸粘膜固有層、血液および脾臓からのT細胞集団に対するフローサイトメトリーを皮下投与の20時間後に行った。交差遮断せずに薬物結合CTLA-4の染色を可能にする抗CTLA-4 mAbクローニングUC10-4B9(Thermostisher)を使用して、-CTLA-4または-CTLA-4(D265A)で処置されたマウスからのT_{reg}におけるCTLA-4発現レベルを測定することが可能であった。文献に既に文献で報告されているとおり(Selbyら, 前掲, Simpsonら, 前掲)、本発明者らは、CT26腫瘍担持マウスの脾臓(CTLA-4^{low})および腫瘍微小環境(T_{reg}^{hi})内のT_{reg}におけるCTLA-4の差次的発現を観察した。PBMC内のT_{reg}は、二峰性レベルのCTL_{A-4}^{low-mid}を発現した。興味深いことに、結腸粘膜固有層からのT_{reg}は二峰性レベルのCTL_{A-4}^{mid-hi}を発現した。結腸におけるCTL_{A-4}^{hi} T_{reg}は同様のレベルのT_{reg} TIL集団を発現した。種々のT細胞集団上のCTLA-4の差次的発現レベルは、受容体密度に依存する殺傷メカニズムにより、ADCC媒介性枯渇の能力に影響を及ぼす。T_{reg}集団は、通常より高いレベルのCTLA-4を発現するが、腫瘍環境中のT_{reg}は、脾臓で見出されるもの(MFI=2,400)より遥かに高いレベル(3.3倍高い; T_{reg} TILのアイソタイプ対照においてはMFI=8,100)を発現する。より高いCTLA-4レベル(CTL_{A-4}^{hi} モードMFI=10,000)を発現した結腸からの粘膜固有層T_{reg}は、フローサイトメトリーを使用した相対的発現レベルに関してT_{reg} TILに類似していた(図6A)。図6B~6Dに示されているとおり、T_{reg}の有意な枯渇は、最も高いCTLA-4発現密度を示す-CTLA-4処置マウスの腫瘍微小環境からのTILに限定されていた。Fc機能を欠くFc突然変異-CTLA-4(D265A)での処置は、T_{reg}の枯渇を引き起こさなかった。

30

【0299】

より高いCTLA-4レベルを発現する細胞は-CTLAによる枯渇を受けやすいという仮定に基づいて、本発明者らは、T_{reg} TIL集団と同様に、粘膜固有層におけるCTL_{A-4}^{hi} T_{reg}が枯渇すると予想した。驚いたことに、-CTLA-4処置

40

50

マウスの腫瘍から単離された T_{reg} TILだけが枯渇しているようであった。 - CTLA-4 処置マウスの結腸からの粘膜固有層由来 T_{reg} は枯渇していないようであった。

- CTLA-4 処置マウスの結腸からの粘膜固有層由来 T_{reg} の検出可能な枯渇は観察されなかった。このことは、腸炎症の誘発が腸粘膜における T_{reg} の喪失によって開始されなかつたことを示唆している。

【0300】

本発明者らは、 - CTLA-4 誘発性腸炎症に寄与した可能性のあるサブレッサー機能をもたらす T_{reg} における可能な表現型の変化を調べた。MC38 腫瘍が移植された FOXP3 GLD レポーターマウスからの結腸粘膜固有層 (LP) T_{reg} を、 T_{reg} 機能に関連する遺伝子の PCR 発現プロファイリングのために選別した (図 7A)。しかし、 - CTLA-4 (D265A) 処置マウスと比較して、 - CTLA の LP T_{reg} 細胞においては有意な遺伝子発現の差異は観察されなかつた。大腸炎の CD45RB^{hi} T 細胞移入モデルを使用して、 T_{reg} に対する Fc 機能の潜在的効果を更に詳細に調べた。CD45RB^{hi} T 細胞の存在下の T_{reg} 細胞の受動的移入は大腸炎の発生からマウスを防御した (図 7B ~ 7C)。 T_{reg} 細胞と CD45RB^{hi} T 細胞とが共投与されたマウスを - CTLA-4 で処置すると、 T_{reg} 防御の喪失および大腸炎の発生がもたらされた。対照的に、 CTLA-4 nAb 処置マウスにおいては防御の喪失は観察されなかつた (図 7B ~ 7C)。処置の 24 時間後のマウスからのフローサイトメトリー選別結腸 FOXP3 + T_{reg} 細胞の遺伝子発現プロファイルは、 CTLA-4 nAb またはアイソタイプ対照で処置されたマウスから得られた細胞で観察された遺伝子発現と比較して、 - CTLA-4 処置マウスの遺伝子発現の有意なアップレギュレーションを示し、これは、 CD45RB^{high} で観察されたものに類似している。全体として、これらの結果が示唆しているところによると、 Fc 媒介性 T_{reg} 枯渇は - CTLA-4 による腸炎症の誘発に必須ではないが、腸炎症に応答した T_{reg} の調節機能はモジュレーションされうる。

【0301】

抗原提示細胞上の CD80、CD86 および FcR ならびに T 細胞上の CTLA-4 および CD28 の限定的発現は、 T_{reg} 枯渇には無関係に T 細胞の Fc 機能的 - CTLA-4 nAb 活性化に重要な役割を果たしている可能性がある (Waightral, Cancr Cell, 33 : 1033 - 1047, 2018)。腫瘍における Fc 増強活性化は有利であるが、腸組織における意図しない irAE をもたらしうる。本発明者らは、腸組織の免疫エフェクター細胞活性化における Fc 機能の寄与の可能性を調べた。腫瘍と結腸との両方からのマクロファージにおける CD16 / 32 発現のフローサイトメトリー分析は、脾臓マクロファージと比較して、抗原提示細胞上の有意に高いレベルの FcR を示した (図 8A および 8B)。また、腫瘍および結腸粘膜固有層における CD45⁺ CD11b⁺ F4/80⁺ マクロファージの割合は、脾臓におけるものよりも実質的に高かった (図 8C)。Fc 機能は腸組織における IL1 、 TNF および IFN サイトカイン応答の活性化に必要であり、処置開始の 10 日後という早い時期に明らかであり、これは腸炎症の明白な証拠が見られるかなり前であり、このことは irAE 誘導における重要な役割を示唆している (図 8C)。

【0302】

1ヶ月間の処置の後に - CTLA-4 処置マウスの結腸粘膜固有層から単離された CD4 T 細胞におけるサイトカイン応答は、 Fc 媒介性腸炎症に関連する IL-17 、 TNF および IFN 産生細胞の、より高い割合を示した (図 8E)。また、 - CTLA-4 処置マウスにおいては好中球の Fc 依存的増加もで誘導された (図 8E)。全体的に、これらの結果は、 CTLA-4 遮断関連腸炎症がエフェクター細胞の Fc 媒介性活性化により誘発されたことを示しており、これは、図 11 に示されているとおり、炎症性サイトカイン応答の刺激をもたらす T 細胞との APC の細胞架橋の FcR 抗体増強により増強される。腸炎症の Fc 媒介性誘発は、 T_{reg} 枯渇には無関係にエフェクター T 細胞により誘発されうる。

10

20

30

40

50

【0303】

考察

幾つかの最近の報告は同系マウス癌免疫療法腫瘍モデルにおける C T L A - 4 遮断単独療法のための F c 機能の重要な役割を支持している（国際特許出願 WO 2014 / 089113 ; Selby ら, Cancer Immunol. Res. 32 : 42 (2013) ; Vargas ら, Cancer Cell, 33 : 649 - 663 (2018) ）。Ingram らは Proc. Natl. Acad. Sci. USA 115 : 3912 - 3917, (2018) において、抗 C T L A - 4 I S V D に抗腫瘍効力を付与するには、F c ドメインを該 I S V D に融合させる必要があることを報告している。実際、本発明者らは、単独療法として腫瘍を C T L A - 4 n A b または - C T L A - 4 (D 265 A) で処置したところ、効力の欠如を観察した。より高い細胞表面 C T L A - 4 レベルを発現する腫瘍浸潤 T reg の特異的枯渇は腫瘍モデルにおける腫瘍効力に寄与することが示されている（Simpson ら, J. Exp. Med., 210 : 1695 - 1710 (2013) ; Selby ら, Cancer Immunol. Res. 1 : 32 - 42 (2013) ）。

【0304】

- C T L A - 4 による腸炎の誘発は、粘膜固有層に存在する T reg の検出可能な枯渇には関連していなかった。本発明者らの研究は、抗 P D - 1 抗体と組合された場合に、強力な腸炎症を誘発することなく強力な抗腫瘍活性を示すことにより抗癌治療における C T L A - 4 遮断の可能性を拡大するものである。C T L A - 4 遮断と P D - 1 遮断との組合せの利益を得るために、F c 機能は必要なかった。C T L A - 4 n A b または - C T L A - 4 (D 265 A) と - P D - 1 を含む併用治療は、強力な F c 機能を有する - C T L A - 4 により誘導されるものと同様の、腫瘍における I F N 関連免疫応答遺伝子の活性化を誘導した。対照的に、腸炎へと進行する強い腸炎症は、主に - C T L A - 4 処置マウスにおいて観察され、抗 P D - 1 抗体 m D X 4 0 0 と組合された場合に増強した。これらの結果は、C D 2 8 の活性化を促進する C T L A - 4 の単純な遮断が、P D - 1 遮断と組合された場合、枯渇 T 細胞の抗腫瘍応答を増強するのに十分であることを示している。

【0305】

Kamphorst ら, Science 355 : 1423 - 1427 (2017) における以前の報告は、枯渇 C D 8 T 細胞の P D - 1 遮断レスキューが T C R 活性化の C D 2 8 共刺激を要することを示した。更に、Hui ら, Science 355 : 1428 - 1433 (2017) における随伴報告は、補助受容体 C D 2 8 が P D - 1 リクルート S h p 2 ホスファターゼによる脱リン酸化の標的として T C R よりも非常に好ましいこと、および C D 2 8 が優先的に脱リン酸化されることを示した。本発明者らの結果は、F c 機能を有さない抗 C T L A - 4 抗体による C T L A - 4 の単純な遮断と C D 2 8 の P D - 1 媒介性脱リン酸化の遮断とによりもたらされる T C R 補助受容体 C D 2 8 の相補的活性化が、癌免疫療法のための組合せの利益を得るのに十分でありうることを示している。F c - F c R 架橋による F c 媒介性増強活性化を伴わない単純な組合せ遮断の利点は、それが、より高い用量範囲およびより長い治療時間を可能にする、より大きな治療指數を可能にすることでありうる。この利点はまた、より低い腸炎症 i r A E リスクプロファイルゆえに、化学療法標準治療との更なる組合せを促進しうる。

【0306】

実験手順

マウス

野生型 C 5 7 B L / 6 J マウスをジャクソン研究所（Jackson Laboratories）から入手した。野生型 B a l b / c および C B 1 7 - S C I D マウスを T a c o n i c から入手した。B 6 . F o x p 3 G D L (G F P - D T R - ルシフェラーゼ) マウスを特定病原体除去条件下で誕生させ、維持し、Merck Research Laboratories (MRL) 動物施設 (Palo Alto, California)

10

20

30

40

50

)において濾過空気の存在下のマイクロアイソレーター内で飼育した。全ての動物の取り扱いは、実験動物管理の評価認定協会(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)のガイドラインに従い、MRLの施設内動物管理使用委員会(International Animal Care and Use Committee)により承認された。

【0307】

腫瘍チャレンジおよび処置

同系腫瘍実験のために、CT26、MC38およびMB49腫瘍モデルを使用した。8~12週齢のBalb/cまたはC57BL/6Jマウスの脇腹に 3×10^5 個のCT26細胞を皮下(s.c.)注射した。腫瘍直径を電子ノギスで測定し、長さ×幅×幅×1/2により腫瘍体積を算出した。腫瘍が約100mm³に達したら、処置を開始した。

- CTLA-4、-CTLA-4(D265A)、マウス抗IgG₁-D265A抗体アイソタイプ対照、マウス抗IgG_{2a}抗体アイソタイプ対照、-PD-1抗体の10mg/kgで、週2回、マウスを皮下(s.c.)処置した。CTLA-4 nAbまたはISVD対照の30mg/kgで、週2回、マウスを皮下処置した。

【0308】

- CTLA-4は、配列番号58に記載されているアミノ酸配列を有するHCと配列番号59のアミノ酸配列を有するLCとを含む。

【0309】

- CTLA-4(D265A)は、配列番号60に記載されているアミノ酸配列を有するHCと配列番号60のアミノ酸配列を有するLCとを含む。

【0310】

- PD-1は、配列番号63に記載されているアミノ酸配列を有するHCと配列番号64のアミノ酸配列を有するLCとを含む。

【0311】

CTLA-4 nAbは、配列番号61に記載されているアミノ酸配列を含む。

【0312】

抗PD-1 ISVD F037(PD-1 nAb)は、配列番号62に記載されているアミノ酸配列を含む。

【0313】

大腸炎および皮膚炎症の誘発

8~12週齢のナイーブBalb/cマウスを-CTLA-4(D265A)、マウス抗IgG₁-D265Aアイソタイプ対照、マウス抗IgG_{2a}アイソタイプ対照の抗体の20mg/kgで8週間にわたって週2回、皮下処置した。マウスをCTLA-4 nAbまたはISVD対照の30mg/kgで週2回、皮下処置した。第55日に、ELISAおよびルミネックスアッセイのために血漿を採集した。器官を採集し、以下のとおりに処置した：1) 10% 中性緩衝化ホルマリン中で固定し、組織病理学評価のためにパラフィン包埋組織切片をH&Eで染色した；2) 更なるRNA抽出のために液体窒素中で急速凍結した；または3) 細胞単離のためにHBS S中に配置した。

【0314】

T細胞誘発性大腸炎

Balb/cマウスの脾臓細胞を処理し、磁気ビーズ分離(STEM CELL Technologies)を用いてCD4に関して精製した。TCR_{b+} CD4+ CD25- CD45RB^{high} T細胞(CD45RB^{high} T細胞)およびTCR_{b+} CD4+ CD25+ CD45RB^{low}(T_{reg}細胞)をFACS Aria(BD)で選別した。 3×10^5 個のCD45RB^{high} T細胞および 1×10^5 個のT_{reg}細胞を静脈内注射した。350μgの-CTLA-4もしくはアイソタイプ対照または600μgのCTLA-4 nAbもしくはISVD対照をマウスに週2回投与(i.p.)した。注射後7週間にわたってマウスをモニターし、体重を測定した。

10

20

30

40

50

【0315】

腸透過性

血清中のFITCの蛍光測定の4時間前に、マウスにFITC-デキストラン(4kDa、Sigma-Aldrich)で強制飼養した。

【0316】

結腸粘膜固有層、皮膚および腫瘍細胞単離

結腸粘膜固有層細胞を単離した。これは、まず、5mM EDTAおよび10mM HEPESを含有するハンクス緩衝塩類溶液中で0.5cmの腸組織片を37度で20分間インキュベートすることにより上皮細胞を取り出し、ついで、このインキュベーションをもう一度繰り返すことにより行った。残りの組織を小さな断片へと切断し、ついで、0.250mg/mL LIBERASE(Roche)、30U/mL DNアーゼI(Sigma-Aldrich)およびDISPASE(Corning)を含有するHBSS1×培地で同一条件で消化した。得られた細胞懸濁液を40%/80%PERCOLL勾配上に重層し、600gで10分間遠心分離した。境界部においてLP細胞を回収した。10

【0317】

耳の皮膚を細断し、0.250mg/ml LIBERASE(Roche)、30U/ml DNアーゼI(Sigma-Aldrich)およびDISPASE(Corning)を含有するHBSS1×培地で37度で90分間消化した。細胞懸濁液を濾過し、HBSS1×バッファーで2回洗浄した。腫瘍を細断し、0.250mg/ml LIBERASE(Roche)、30U/ml DNアーゼI(Sigma-Aldrich)およびDISPASE(Corning)を含有するHBSS1×培地で37度で30分間消化した。細胞懸濁液を濾過し、HBSS1×バッファーで2回洗浄した。20

【0318】

結腸、耳皮膚、肝臓、肺、腎臓片からの組織学的試料を10%中性緩衝化ホルマリン中で一晩固定し、70%エタノールに移し、常法により処理し、パラフィン内に包埋し、4~5μmに切断し、ついでヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)で染色した。結腸は、疾患の重症度に関して、以下の3つの基準に従い、病理学者により盲検様式でスコア化された：炎症：存在する場合には、多数(60~70%)の単核細胞(マクロファージおよびリンパ球)ならびに30~40%の好中球および帯状核細胞の浸潤により特徴づけられた。炎症のスコア化は浸潤の重症度、腺の喪失、びらん(浸食)、腺腔の拡張、陰窩膿瘍および上皮細胞の変性の存在を含む。炎症は0~4のスケールでスコア化された：0=陰性；1=最小；2=軽度；3=中等度；4=重度。アポトーシス：アポトーシス小体の保有度を0~3のスケールでスコアした：0=陰性；1=低；2=中等度；3=高。再生：評価された再生変化は粘膜の上部1/3における有糸分裂像の保有度、個々の腺構造内の核密度(核密集度)、表面上皮の規則性のスコア化を含む。アポトーシスは0~3のスケールでスコア化された：0=陰性；1=低；2=中等度；3=高。30

【0319】

フローサイトメトリーおよび抗体

細胞をPBSに再懸濁させ、固定可能生存率解析用染料(fixable viability stain)(BD Bioscience)で暗所の氷上で30分間染色した。ついで、細胞を染色バッファー(FBS, BD bioscience)に再懸濁させ、蛍光色素直接結合体(directly fluorochrome-conjugated)の種々の組合せで氷上で30分間染色した。細胞内抗原に関しては、表面染色細胞を透過処理し、Foxp3染色バッファーセット(eBiosciences)で氷上で30分間固定し、ついで、特異的抗体で染色した。マウス抗体：CD45(30-F11)、CD8a(53-6.7)、CTLA-4(UC10-4B9)、CD11c(HL3)、CD11b(M1/70)、TCR(H57-597)、TCR(GL3)、CD4(RM4-5またはGK1.5)、CD25(PC61)、CD45RB(16A)、Ly6G(1A8)、F4/80(T45-2342)、CD16/32(2.4G2)、IFN(XMG1.2)、IL-17A(TC11-18H10)、TNF40

10

20

30

40

50

(MP6-XT22)、Foxp3 (FKJ-16s)。抗体の全てはBD biosciences、BiologendまたはeBioscienceから購入した。全てのサンプルについて、LSR IIフローサイトメーター (BD) でデータ取得を行った。FLOWJOソフトウェア (Tree Star) を使用して、データを解析した。

【0320】

サイトカイン産生をフローサイトメトリーで測定する際に、細胞を 500 ng / mL イオノマイシン、50 ng / mL PMA (Sigma - Aldrich) で刺激した。1 時間後、プレフェルジン A (BD Bioscience) を染色前に更に 2 時間添加した。

【0321】

マウス同種混合リンパ球反応 (MLR) アッセイ
2.105 のマウス C57BL / J (8 ~ 12 週齢、雌) 脾臓 T 細胞を、EASYSE P マウス T 細胞単離キット (STEMCELL) を使用して単離し、示されている濃度の -CTLA-4、-CTLA-4 (D265A)、CTLA-4 nAb またはアイソタイプ対照の存在下、 1×10^5 個の照射 (2000 ラド) Balb / c マウス脾細胞と共に培養した。第 3 日に上清を回収し、IL-2 および IFN- γ 産生を製造業者のプロトコール (Meso Scale Discovery) に従う ELISA により測定した。ついで細胞を [3 H] - チミジン (1μ Ci / ウエル) で 6 時間または 16 ~ 18 時間パルスした。細胞ハーベスターを使用して、細胞をガラス纖維フィルター上に回収した。製造業者の説明に従い MicroBeta プレートカウンター (PerkinElmer Microbeta 2450) を使用して、フィルターをカウントした。

【0322】

組織および細胞からの全 RNA の単離ならびにそれに続く Fluidigm BIOMARK プラットフォームを使用する遺伝子発現解析

リアルタイム PCR 分析のために、2つの方法のいずれかにより全 RNA を単離した。器官を RNA STAT-60 (Tel-Test Inc., Friendswood, TX) においてポリトロンホモジナイザーでホモジナイズし、ついで、MagMAX-96 for Microarrays Kit (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) を製造業者の説明に従い使用して、RNA 抽出を行った。細胞サンプルに関しては、ARCTURUS PICOPURE RNA 単離キットを製造業者の説明に従い使用して、RNA を単離した。

【0323】

DNアーゼで処理された全 RNA を、QUANTTECT 逆転写 (Qiagen, Valencia, CA) を製造業者の説明に従い使用して逆転写した。プライマーを ThermoFisher Scientific (Foster City, CA) から商業的に入手した。遺伝子特異的前増幅を、Fluidigm BIOMARK の製造業者の説明 (Fluidigm, Foster City) に従い、少なくとも 2 ng の cDNA に対して行った。ついで、それぞれ 900 nM の 2 つの未標識プライマーおよび 250 nM の FAM 標識プローブ (ThermoFisher Scientific, Foster City, CA) を UNG 含有 TAQMAN Universal PCR Master Mix と共に使用して、Fluidigm BIOMARK においてリアルタイム定量 PCR を行った。48 × 48 アレイまたは 96 × 96 アレイにおいて、製造業者の説明 (Fluidigm, Foster City) に従い、サンプルおよびプライマーを実施に付した。ユビキチレベルを別個の反応において測定し、Ct 法によりデータを正規化するために使用した [各サンプルに関する関心遺伝子およびユビキチンに関する平均サイクル閾値を使用し、式 $1.87(Ct_{ユビキチン} - Ct_{関心遺伝子}) \times 10^{-4}$ を使用して、正規化値を得た]。プライマー参照配列は要求に応じて入手可能である。

【0324】

統計

この研究の残りにおいて統計的有意性を計算するために両側対応 t 検定および独立 t 検

10

20

30

40

50

定を用いた。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ 。GraphPad Prism 7 ソフトウェアを使用して、統計処理を行った。

【0325】

実施例 2

CTLA-4 nAb の抗腫瘍効果をマウス同系 MB49 腫瘍モデルにおいて評価した。MB49 細胞は尿路上皮癌株であり、これは、初代膀胱上皮細胞外植片を 7,12-ジメチルベンズ [a] アントラセン (DMBA) に 24 時間曝露させ、ついで長期培養することにより、成体 C57BL/6 マウスから誘導された。膀胱癌の同系マウスモデルは 3 年以上にわたって広範に使用されている。

【0326】

MB49 マウス膀胱癌細胞を 80 匹のマウスに皮下 (s.c.) 移植し、各群 10 匹のマウスからなる 5 つの処置群に動物を割り当てた。開始腫瘍体積の中央値が 103 mm³ に達したら、マウスに 4 日に 1 回、合計 4 用量の皮下注射を行った。無関係な対照 ISVD (30 mg / kg、ロット番号 01AQL) および 5 mg / kg mIgG1 アイソタイプ対照 mAb (ロット番号 64AIS) を処置対照として投与した。処置は 30 mg / kg CTLA-4 nAb、10 mg / kg Fc コンピлемент - CTLA-4 (D265A)、5 mg / kg - PD-1、または CTLA4 標的化剤と - PD-1 の組合せを含むものであった。処置開始後 21 日間にわたって腫瘍成長をモニターした。

【0327】

図 9A は各処置群の個々の動物の腫瘍体積を示す。第 21 日までの完全奏効 (CR) が応答性処置群に関して示されている。図 9B は各処置群 (開始時の数 n = 10 / 群) の平均腫瘍体積および平均の標準誤差を示す。腫瘍体積が大きいために研究から除外された動物の腫瘍体積は、その処置群について最後の測定が行われるまで平均において繰り越された。図 9A ~ 9B は、CT26 結腸腫瘍モデル (図 3A を参照されたい)、MB49 膀胱腫瘍モデルおよび MC38 結腸腫瘍モデルの場合と同様に、無 Fc - CTLA-4 nAb と - PD-1 の併用療法が、Fc 機能に無関係に、強力な抗腫瘍効果をもたらしたことを見出している。

【0328】

実施例 3

CTLA-4 nAb の抗腫瘍効果をマウス同系 MC38 腫瘍モデルにおいて評価した。MC38 マウス結腸癌細胞を 80 匹のマウスに皮下移植し、各群 10 匹のマウスからなる 5 つの処置群に動物を割り当てた。開始腫瘍体積の中央値が 246 mm³ に達したら、マウスに 4 日に 1 回、合計 4 用量の皮下注射を行った。無関係な対照 ISVD (30 mg / kg) および 5 mg / kg mIgG1 アイソタイプ対照 mAb を処置対照として投与した。処置は 30 mg / kg CTLA-4 nAb、10 mg / kg Fc コンピлемент - CTLA-4 (D265A)、5 mg / kg - PD-1、または CTLA4 標的化剤と - PD-1 の組合せを含むものであった。処置開始後 23 日間にわたって腫瘍成長をモニターした。

【0329】

図 10A は各処置群の個々の動物の腫瘍体積を示す。第 23 日までの完全奏効 (CR) が応答性処置群に関して示されている。図 10B は各処置群 (開始時の数 n = 10 / 群) の平均腫瘍体積および平均の標準誤差を示す。腫瘍体積が大きいために研究から除外された動物の腫瘍体積は、その処置群について最後の測定が行われるまで平均において繰り越された。図 10A ~ 10B は、CT26 結腸腫瘍モデル (図 3A を参照されたい)、MB49 膀胱腫瘍モデルおよび MC38 結腸腫瘍モデルの場合と同様に、無 Fc - CTLA-4 nAb と - PD-1 の併用療法が、Fc 機能に無関係に強力な抗腫瘍効果をもたらしたことを見出している。

【0330】

配列

10

20

30

40

50

【表6】

配列表 (全てのアミノ酸位置は Eu 番号付けを用いて特定される)		
配列番号	説明	配列
1	イピリムマブ LC-CDR1	RASQSVGSSYLA
2	イピリムマブ LC-CDR2	GAFSRAT
3	イピリムマブ LC-CDR3	QQYGSSPWT
4	イピリムマブ HC-CDR1	SYTMH
5	イピリムマブ HC-CDR2	FISYDGNNKYYADSVKG
6	イピリムマブ HC-CDR3	TGWLGPFDY
7	イピリムマブ V _H	QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGK GLEWVTFISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLR AEDTAIYYCARTGWLGPFDYWQGQGTLTVSS
8	イピリムマブ V _L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGAFSRATGIPDRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ YGSSPWTFGQGTKVEIK
9	トレメリムマブ LC-CDR1	RASQSVGSSYLA
10	トレメリムマブ LC-CDR2	GAFSRAT
11	トレメリムマブ LC-CDR3	QQYGSSPWT
12	トレメリムマブ HC-CDR1	SYGMH
13	トレメリムマブ HC-CDR2	ISYDGNNKYYADSVKG
14	トレメリムマブ HC-CDR3	YGSSP
15	トレメリムマブ V _H	GVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW YDGSNKYYADSVKGRFTISRDNNSKNTLLQMNSLRAETAVYYCA RDPRGATYYYYYGMVDVGQGTTVTVSS
16	トレメリムマブ V _L	PSSLSASVGDRVTITCRASQSINSYLDWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPFTF GPGTKVEIK
17	ニボルマブ HC-CDR1	NSGMH
18	ニボルマブ HC-CDR2	VIWYDGSKRY YADSVKG
19	ニボルマブ HC-CDR3	NDDY
20	ニボルマブ LC-CDR1	RASQSVSSYLA
21	ニボルマブ LC-CDR2	DASNRAT
22	ニボルマブ LC-CDR3	QQSSNWPR
23	ニボルマブ VH	QVQLVESGGVVQPGRSRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGK

【 0 3 3 1 】

		GLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSL RAEDTAVYYCATNDDYWQGQTLTVSS
24	ニポルマブ VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSTDFLTISSL EPEDFAVYYCQQS SNWPRTFGQGT KVEIK
25	ニポルマブ HC (IgG S228P)	QVQLVESGGVVQPGRLRLDKASGITFSNSGMHW VRQAPGK GLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSL RAEDTAVYYCATNDDYWQGQTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSL SVVTVPSSSLGTKT YTCNVDHKPNSNTKVDKR VESKYGPPCP PCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV DVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGK
26	ニポルマブ LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSTDFLTISSL EPEDFAVYYCQQS SNWPRTFGQGT KVEIKRTVAAPS VIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	ベンプロリズマブ HC (IgG S228P)	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPG QGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTAYMELKSL QFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVL QSSGLYSLSSVTV PSSSLGTKT YTCNVDHKPNSNTKVDKR VESKYGPP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV DVSQEDPE VQFNWYV DGEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDI AVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGK
28	ベンプロリズマブ LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKG VSTGYSYLHWYQQKPG QAPRLLIYLASYLES GGPVPARFSGSGSGTDFLTISSL EPEDFAVYY CQHSRDLPLTFGGGT KVEIKRTVAAPS VIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSL SSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
29	ベンプロリズマブ VH	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPG QGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTAYMELKSL QFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVSS

10

20

30

40

【 0 3 3 2 】

30	ペンプロリズマブ VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTGYSYLHWYQQKPG QAPRLLIYLASYLESQVPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYY CQHSRDLPLTFGGGTKEIK	
31	ペンプロリズマブ HC-CDR1	GYTFTNYYMY	10
32	ペンプロリズマブ HC-CDR2	NPSNGGTNFNEKFKN	
33	ペンプロリズマブ HC-CDR3	RDYRFDMGFDY	
34	ペンプロリズマブ LC-CDR1	RASKGVSTGYSYLH	
35	ペンプロリズマブ LC-CDR2	LASYLES	
36	ペンプロリズマブ LC-CDR3	CQHSRDLPLT	
37	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン	ASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK	
38	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (L234A L235A D265S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	20
39	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (L234A L235A P329G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTI AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	30
40	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (L235E)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELEGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA	40

【 0 3 3 3 】

		KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
41	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (D265A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTiska KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
42	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (D265A N297G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YGSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTiska KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
43	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (E233A/L235A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPALAGGPVFLFPPKPKDTLM MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
44	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (N297X, ここで、X は N 以外 の任意のアミノ酸である)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YXSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTiska KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	ヒト IgG2 HC 定常ドメイン	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT

10

20

30

40

【 0 3 3 4 】

		PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVHQLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQE NNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
46	ヒト IgG2 HC 定常ドメイン (D265S)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSNFTQTTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVSVSCHEDPEVQFNWYVGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVHQLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQE NNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
47	ヒト IgG2 HC 定常ドメイン (P329G)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSNFTQTTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVHQLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQE NNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
48	ヒト IgG2 HC 定常ドメイン (D265A)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSNFTQTTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVAVSHEDPEVQFNWYVGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVHQLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQE NNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
49	ヒト IgG2 HC 定常ドメイン (D265A N297G)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA LTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSNFTQTTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVAVSHEDPEVQFNWYVGVEVHNAKTKPREEQGST FRVVSVLTVHQLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQE NNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
50	ヒト IgG2 HC 定常ドメイン	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVWSNSGA

10

20

30

40

【 0 3 3 5 】

	(N297X, ここで、X は N 以外の任意のアミノ酸である)	LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFTQTTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFXST FRVSVLTVHLDWLNKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQE NNYKTPPMQLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	
51	ヒト IgG2 HC 定常ドメイン (V234A G237A P238S H268A V309L A330S P331S X378S/A)(WO2017079112 の IgG シグマ配列番号 78 参照)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFTQTTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVSVLTVHLDWLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISXVEWESNGQP ENNYKTPPMQLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	10
52	ヒト IgG4 HC 定常ドメイン (S228P)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVSVLTVHLDWLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPMVLSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSGK	20
53	ヒト IgG4 HC 定常ドメイン (S228P P329G)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVSVLTVHLDWLNKEYKCKVSNKGLGSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPMVLSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSGK	30
54	ヒト IgG4 HC 定常ドメイン (S228P D265A)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT TPEVTCVVVAVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVSVLTVHLDWLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPMVLSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSGK	40

【 0 3 3 6 】

		ALHNHYTQKSLSLSLGK
55	ヒト IgG4 HC 定常ドメイン (S228P D265A N297G)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSQLGTKTTCNVNDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISR TPEVTCVVAVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFGS TYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
56	ヒト IgG4 HC 定常ドメイン (S228P N297X, ここで、X は N 以外の任意のアミノ酸であ る)	ASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSQLGTKTTCNVNDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFXS TYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
57	ヒト LC カッパ定常ドメイン	RTVAAPSVFIFPP\$DEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
58	マウス抗 CTLA-4 IgG2 HC (マウス修飾 x [CTLA-4_M] mAb (9D9 Balb/c (Igh-1a) ハ プロタイプ- 主要 a 対立遺伝 子) IgG2a / カッパ—重鎖))	EAKLQESGPVLPKGASVKMSCKASGYTFTDYYMNWVKQSHG KSLEWIGVINPYNGDTSYNQFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSL TSEDSAVYYCARYYGSWFAYWGQGTLITVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSVTVSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPC KCPAPNLGGPSVIFPPKIKDVLMLISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNEVHTAQTHREDYNSTLRVVSALPIQH\$QDWMSGKEFKC KVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEMTKKQVLT CMVTDFMPEDIYVEWTNNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLR VEKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTKSFRTPGK
59	マウス抗 CTLA-4 カッパ LC (12AIL_9D9_LC)	DIVMTQTTLSPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKP GQSPKLIIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIKRTVAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASV VCFLNNFYPKDINVWKWIDGSERQNGVLSWTDQDSKDSTYSMSST TLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFRNEC
60	マウス抗 CTLA-4 (D265A) HC (マウス x [CTLA-4_M] mAb (9D9 突然変異 D265A)	EAKLQESGPVLPKGASVKMSCKASGYTFTDYYMNWVKQSHG KSLEWIGVINPYNGDTSYNQFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSL TSEDSAVYYCARYYGSWFAYWGQGTLITVSSAKTTPPSVYPLAPG

【 0 3 3 7 】

10

20

30

40

50

	IgG1 / カップ—重鎖)	<i>SAAQTNMVTLGCLVKGYFPEPVTVWNNSGLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSSVTPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCIC TVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFVD DVEVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVSA AFPAPIEKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFP EDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMTDGSYFVYSKLNVQKSNWEA GNTFTCSVHLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK</i>	
61	マウス抗 CTLA-4 ISVD (54BBI_Llama x [CTLA4_M] [ALB_H] VHH (F023700894) (PI))	<i>EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTPSINYMGWYRQAPGKQRE FVATIRSGGATNYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLQMNSLKPEDTAVY DCYTGGGGYEYWQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTPSINY MGWYRQAPGKQREFVATIRSGGATNYADSVKGRFTISRDNTKNTVYL QMNSLKPEDTAVYDCYTGGGYEYWQGTLTVSSGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS</i>	10
62	マウス抗 PD-1 ISVD PF023700037	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSTHTMGWFRQPGKERE FVATINRLDYTYYANSVRGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPDATVYY CAADSERLGVIPGLYDYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG RTFSRLAMGWFRQAPGKEREVASISWSGGSTYYADSVKGRFTISRD NAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASREYSGSYYGLTLEYDYWGQ GTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG VQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYC TIGGSLSRSSQGTLTVSS</i>	20
63	マウス抗 PD-1 抗体クローン DX400 HC	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNSGLAWVRQAPEKG LEWVATITYNGTSTYYRDSVKGRTFISRDNAKNTLYLQMSSLRS EDTATYYCARWVPGSGNFDYWGQGTLTVSSAKTTPPSVYPLAP GSAAQTNMVTLGCLVKGYFPEPVTVWNNSGLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCIC CTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFV DDVEVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNS AAFPAPIEKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMTDGSYFVYSKLNVQKSNWEA GNTFTCSVHLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK</i>	30
64	マウス抗 PD-1 抗体クローン DX400 LC	<i>DIVLTQSPASLAVALGQRATISCRCASQSVTISRYTLMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNLASGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEDDAATYY</i>	40

【 0 3 3 8 】

		CQQSRESPWTGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVC FLNNFYPKDIINVWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTL TKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNREC
65	LC-CDR3 の後の残基 X は任意のアミノ酸である	FGXG
66	HC-CDR1 の前の残基 X は任意のアミノ酸である	CXXX
67	HC-CDR2 の前の残基	LEWIG
68	HC-CDR3 の後の残基 X は任意のアミノ酸である	WGXG
69	抗 CTLA-4 ISVD の CDR-1	FYGMG
70	抗 CTLA-4 ISVD の CDR-2	DIRTSAGRRTTYADSVKG
71	抗 CTLA-4 ISVD の CDR-3	EMSGISGWDY
72	抗 CTLA-4 ISVD 変異体の CDR-3	EPSGISGWDY
73	8D2/8D2 (RE) VH	EVKLDETGGGLVQPGRPMKLSCVASGFTFSNDWMNWVRQSP EKGLEWLAQIRNKPYNYETYYSDSVKGRFTISRDDSKSSVYL QMNNLRGEDMGIYYCTAQFAYWGQGTLVTVSA
74	8D2/8D2 (RE) VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGTSENIYGLNWYQRKQGK SPQLLIFGATNLADGMSSRFSGSGSGRQYSLKISSLHPDDVAT YYCQNVLRSPFTFGSGTKLEI
75	8D2/8D2 RE VH 変異体 1 M18I	EVKLDETGGGLVQPGRPIKLSCLASGFTFSNDWMNWVRQSP EKGLEWLAQIRNKPYNYETYYSDSVKGRFTISRDDSKSSVYL QMNNLRGEDMGIYYCTAQFAYWGQGTLVTVSA
76	8D2/8D2 RE VL 変異体 1 M18I	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGTSENIYGLNWYQRKQGK SPQLLIFGATNLADGMSSRFSGSGSGRQYSLKISSLHPDDVAT YYCQNVLRSPFTFGSGTKLEI
77	8D2H1L1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFSNDWMNWVRQAP GKGLEWLAQIRNKPYNYETYYSDSVKGRFTISRDDSKNSVYL QMNSLKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLVTVSS
78	8D2H1L1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRTSENIYGLNWYQRKQGKSPK LLIYGATNLASGMSSRFSGSGSGTDTYTLKISSLHPDDVATYYCQN VLRSPFTFGSGTKLEIK
79	8D2H1L1 VH 変異体 1 M18I	EVQLVESGGGLVQPGGSIQLSCAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK GLEWLAQIRNKPYNYETYYSDSVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNS LKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLVTVSS
80	8D2H1L1 VL 変異体 1 M18I	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRTSENIYGLNWYQRKQGKSPK LLIYGATNLASGMSSRFSGSGSGTDTYTLKISSLHPDDVATYYCQN

【 0 3 3 9 】

10

20

30

40

50

		VLRSPFTFGSGTKLEIK
81	8D2H2L2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK GLEWLAQIRNKPYNYETYYSSAVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNLKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLTVSS
82	8D2H2L2 VL	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRTSENIYGLNWYQRKPGKSPK LLIYGATNLASGVSSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQN VLRSPFTFGSGTKLEIK
83	8D2H2L2 VH 変異体 1 M18I	EVQLVESGGGLVQPGGSIRLSCHAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK GLEWLAQIRNKPYNYETYYSSAVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNS LKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLTVSS
84	8D2H2L2 VL 変異体 1 M18I	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRTSENIYGLNWYQRKPGKSPK LLIYGATNLASGVSSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQN VLRSPFTFGSGTKLEIK
85	8D3H3L3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK GLEWVAQIRNKPYNYETEYAASVKGRFTISRDDSKNSAYLQMNS LKTEDTAVYYCTAQFAYWGQGTLTVSS
86	8D3H3L3 VL	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASENIYGLNWYQQKPGKAP LLIYGATSLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQN VLRSPFTFGSGTKLEIK
87	8D2H2L15 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK GLEWLAQIRNKPYNYETYYSSAVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNLKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLTVSS
88	8D2H2L15 VL	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRTSENIYGLNWYQRKPGKSPK LLIYGATNLASGVSSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQN VLSRHPFGSGTKLEIK
89	8D2H2L15 VH 変異体 1 M18I	EVQLVESGGGLVQPGGSIRLSCHAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK GLEWLAQIRNKPYNYETYYSSAVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNS LKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLTVSS
90	8D2H2L15 VL 変異体 1 M18I	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRTSENIYGLNWYQRKPGKSPK LLIYGATNLASGVSSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQN VLSRHPFGSGTKLEIK
91	8D2H2L17 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK GLEWLAQIRNKPYNYETYYSSAVKGRFTISRDDSKNSVYLQMNLKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLTVSS
92	8D2H2L17 VL	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRTSENIYGLNWYQRKPGKSPK LLIYGATNLASGVSSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQN VLSSRPGFGSGTKLEIK
93	8D2H2L17 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSIRLSCHAASGFTFSNDWMNWVRQAPGK

10

20

30

40

【 0 3 4 0 】

	変異体 1 M18I	GLEWLQIRNKPNYETYYASAVKGRFTISRDDSNSVYLOMNS LKTEDTGVYYCTAQFAYWGQGTLTVSS
94	8D2H2L17 VL 変異体 1 M18I	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSENIYGGLNWYQRKPGKSPK LLIYGATNLASGVSSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQN VLSSRPGFGSGTKLEIK
95	REGN4659 VH W02019023482	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYEMSWVRQAPGK GLEWVSSIRSGTTKYYADSMKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCAGGGTFLHYWGQGTLTVSS
96	REGN4659 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIASYLAWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQTGVPSRFSFGSGYGTDFLTISLQPEDFATYYCQQ AKSFPMYTFGQGTTKLEIK
97	AGEN1884w VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGK GLEWVSSISSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR EDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMVTVSS
98	AGEN1884w VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSRYLGWYQQKPGQAPR LLIYGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIRLEPEDFAVYYCQQY GSSPWTFGQGTTKVEIK
99	セミブリマブ-rwlvc VH	EVQLLESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMTWVRQAPGKG LEWVSGISGGGRDTYFADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLKG EDTAVYYCVKWGNIYFDYWGQGTLTVSS
100	セミブリマブ-rwlvc VL	DIQMTQSPSSLSASVGDSITITCRASLSINTFLNWYQQKPGKAPNL LIYAASSLHGGVPSRFSFGSGSGTDFTLTIRTLQPEDFATYYCQQSS NTPFTFGPGTVVDFR
101	セミブリマブ-rwlvc HC (S228P)	EVQLLESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMTWVRQAPGKG LEWVSGISGGGRDTYFADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLKG EDTAVYYCVKWGNIYFDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSEESTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGKTTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPVCPA PEFLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAWESENQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
102	セミブリマブ-rwlvc LC	DIQMTQSPSSLSASVGDSITITCRASLSINTFLNWYQQKPGKAPNL LIYAASSLHGGVPSRFSFGSGSGTDFTLTIRTLQPEDFATYYCQQSS NTPFTFGPGTVVDFRRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCNN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTL

【 0 3 4 1 】

10

20

30

40

50

		SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	デュルバルマブ VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGK GLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLTVSS
104	デュルバルマブ VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ YGSLPWTFGQGTKVEIK
105	アベルマブ VH	QAPGKGLEWVSSIYPGGITFYADKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLTVSS
106	アベルマブ VL	QSALTQPASVGSPGQSITISCTGSSDVGGYNVWSYQQHPGK APKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYY CSSYTSSSTRVFGTGTKVTL
107	アテゾリズマブ VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKG LEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLTVSS
108	アテゾリズマブ VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YLYHPATFGQGTLTVSS
109	デュルバルマブ HC (IgG1 L234F/L235E/P331S/D356E/L 358M)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGK GLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLTVSSASTKGPSV <i>FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLVLHQDW LNG KEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQOGNVFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPKG</i>
110	デュルバルマブ LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ YGSLPWTFGQGTLTVSSASTKGPSV <i>FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLVLHQDW LNG KEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQOGNVFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPKG</i>
111	アベルマブ HC (IgG1)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKG LEWVSSIYPGGITFYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLTVSSASTKGPSV <i>FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLVLHQDW LNG KEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQOGNVFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPKG</i>

【 0 3 4 2 】

10

20

30

40

50

		<i>LYSLSSVTVPSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELGGPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSCHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</i>
112	アペルマブ LC	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDeadYY CSSYTSSSTRVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLS LTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</i>
113	アテゾリズマブ HC (IgG1 N297A/D235E/L358M)	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKG LEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPNAVQSSG LYSLSSVTVPSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELGGPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSCHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</i>
114	アテゾリズマブ LC	<i>DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQ YLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>
115	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (N297A/D356E/L358M)	<i>ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELGGPSVFLFPPPKDLM ISRTPEVTCVVVDVSCHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQ YASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</i>
116	ヒト IgG1 HC 定常ドメイン (L234F/L235E/P331S/D356E/L 358M)	<i>ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNST</i>

【 0 3 4 3 】

10

20

30

40

50

		YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL LSLGK
117	ヒト LC ラムダ定常ドメイン	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS

置換アミノ酸は太字で示されている。
HC 及び LC 定常ドメインはイタリック体で示されている。

【0344】

参考文献

Azumaら, B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature*. 1993 Nov 4; 366(6450): 76-9.

Collinsら, The interaction properties of costimulatory molecules revisited. *Immunity*. 2002 Aug; 17(2): 201-10.

Huiら, T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition. *Science*. 2017 Mar 31; 355(6332): 1428-1433.

Ingramら, Anti-CTLA-4 therapy requires an Fc domain for efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Apr 10; 115(15): 3912-3917.

Kamphorstら, Rescue of exhausted CD8 T cells by PD-1-targeted therapies is CD28-dependent. *Science*. 2017 Mar 31; 355(6332): 1423-1427.

Konitzerら, Reformatting Rituximab into Human IgG2 and IgG4 Isotypes Dramatically Improves Apoptosis Induction In Vitro. *PLoS One*. 2015 Dec 29; 10(12): e0145633.

Lanierら, CD80(B7) and CD86(B70) provide similar costimulatory signals for T cell proliferation, cytokine production, and generation of CTL. *J Immunol*. 1995 Jan 1; 154(1): 97-105.

Leachら, Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*. 1996 Mar 22; 271(5256): 1734-6.

Paiら, Tumor-conditional anti-CTLA4 uncouples antitumor efficacy from immunotherapy-related toxicity. *J Clin Invest*. 2019 Jan 2; 129(1): 349-363.

Ribas & Wolchok, Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*. 2018 Mar 2

3 ; 359(6382) : 1350 - 1355 .

Schneider-Merckら, Human IgG2 antibodies against epidermal growth factor receptor effectively trigger antibody-dependent cellular cytotoxicity but, in contrast to IgG1, only by cells of myeloid lineage. *J Immunol.* 2010 Jan 1; 184(1): 512 - 20.

Selbyら, Anti-CTLA-4 antibodies of IgG2a isotype enhance antitumor activity through reduction of intratumoral regulatory T cells. *Cancer Immunol Res.* 2013 Jul; 1(1): 32 - 42.

Sharmaら, Anti-CTLA-4 Immunotherapy Does Not Deplete FOXP3+ Regulatory T Cells (Tregs) in Human Cancers. *Clin Cancer Res.* 2018 Jul 27.

Simpsonら, Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma. *J Exp Med.* 2013 Aug 26; 210(9): 1695 - 710.

Ullman-Cullere & Foltz, Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. *Lab Anim Sci.* 1999 Jun; 49(3): 319 - 23.

Vargasら, Fc Effector Function Contributes to the Activity of Human Anti-CTLA-4 Antibodies. *Cancer Cell.* 2018 Apr 9; 33(4): 649 - 663. e4.

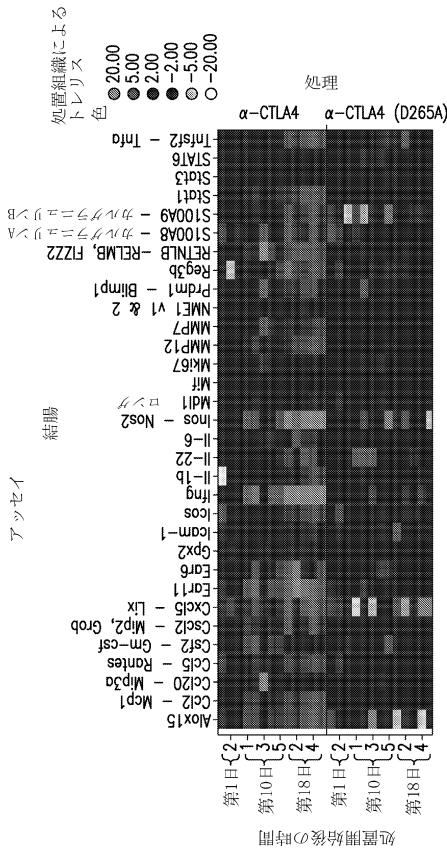
Waightら, Selective Fc R Co-engagement on APCs Modulates the Activity of Therapeutic Antibodies Targeting T Cell Antigens. *Cancer Cell.* 2018 Jun 11; 33(6): 1033 - 1047. e5.

【0345】

本発明は例示実施形態に関して本明細書に記載されているが、本発明はこれらに限定されないと理解されるべきである。当業者および本明細書の教示の読者はその範囲内の追加的な修飾および実施形態を認識するであろう。したがって、本発明は特許請求の範囲のみにより限定される。

【义面】

【図1A】



【図1B】

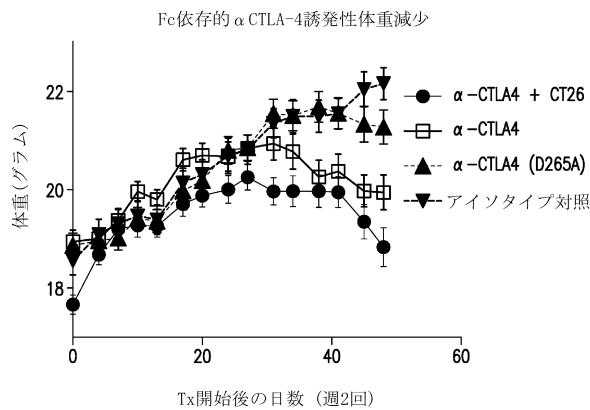
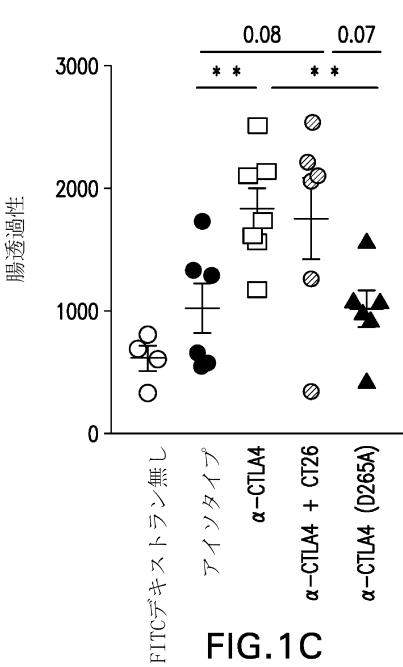


FIG. 1A

【図1C】



【図1D】

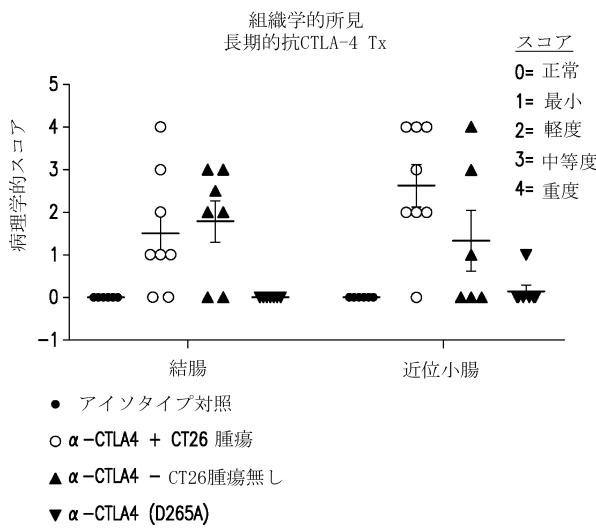


FIG. 1D

【図 1 E】

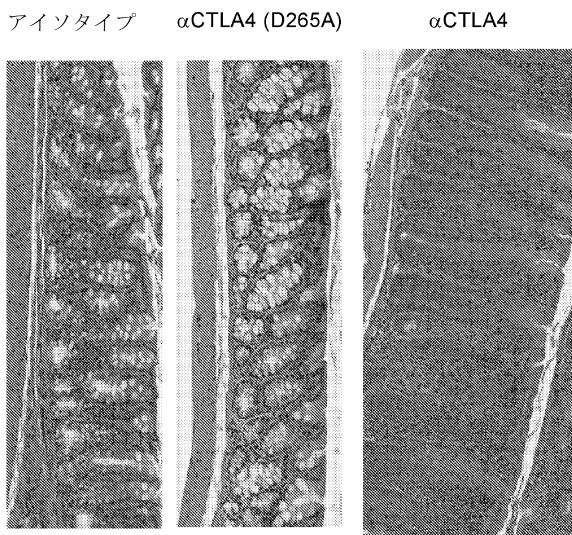


FIG.1E

【図 2 A】

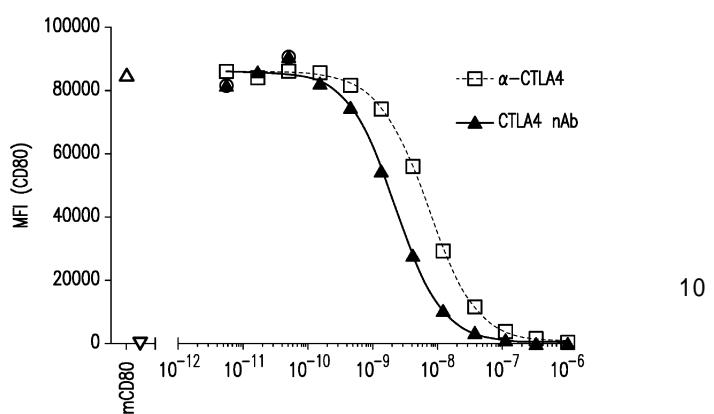


FIG.2A

【図 2 B】

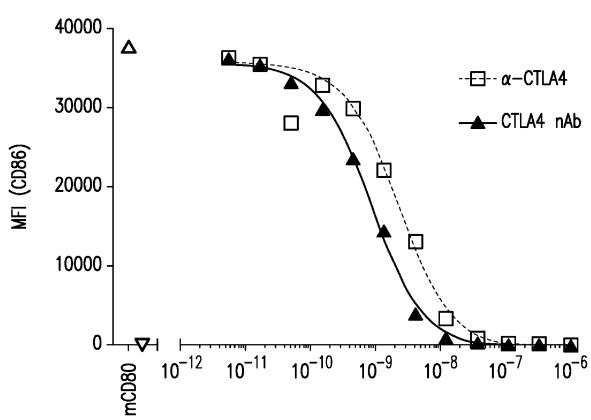


FIG.2B

【図 2 C】

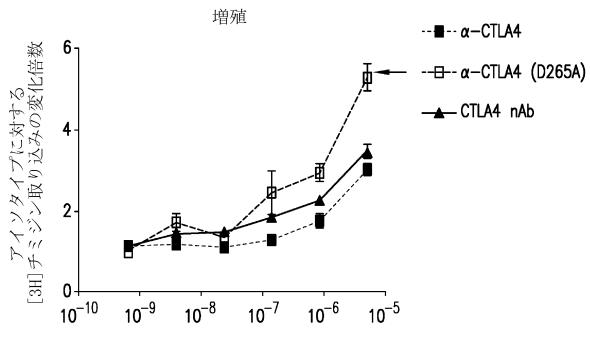


FIG.2C

20

30

40

50

【図 2 D】

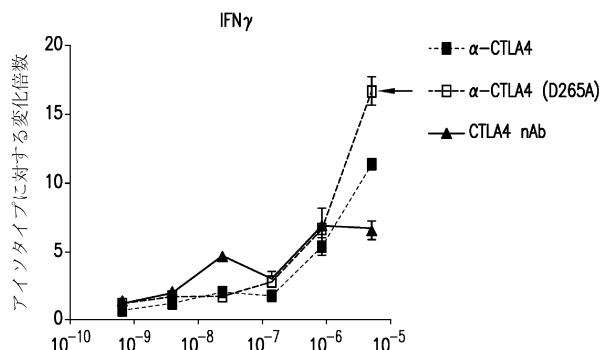


FIG.2D

【図 2 E】

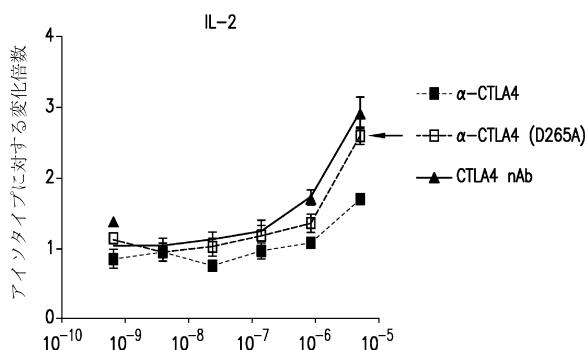


FIG.2E

【図 3 A】

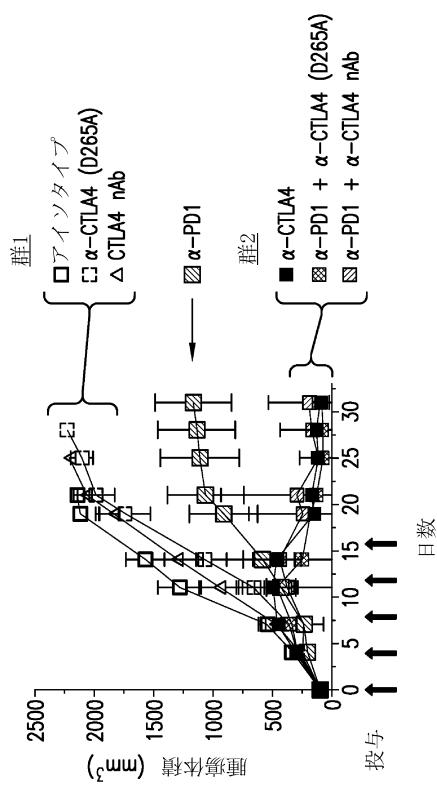


FIG.3A

【図 3 B】

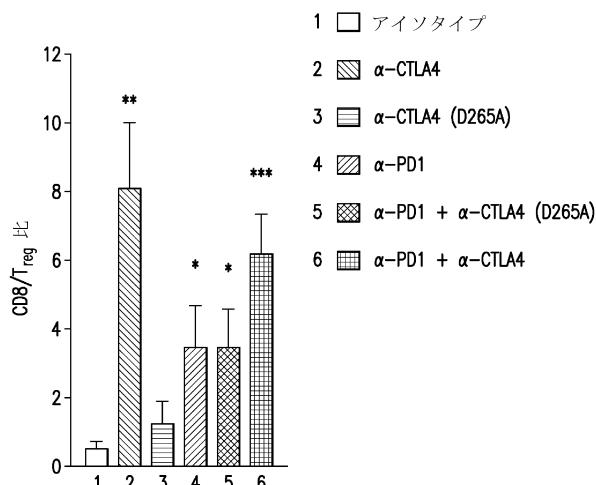


FIG.3B

20

30

40

50

【図 3 C】

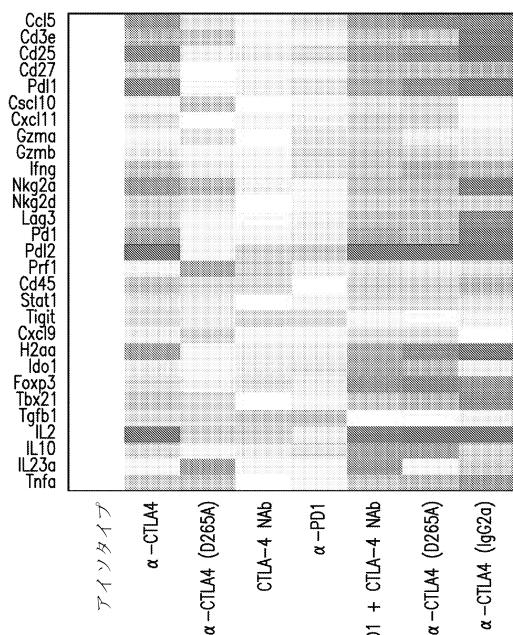


FIG.3C

【図 3 D】

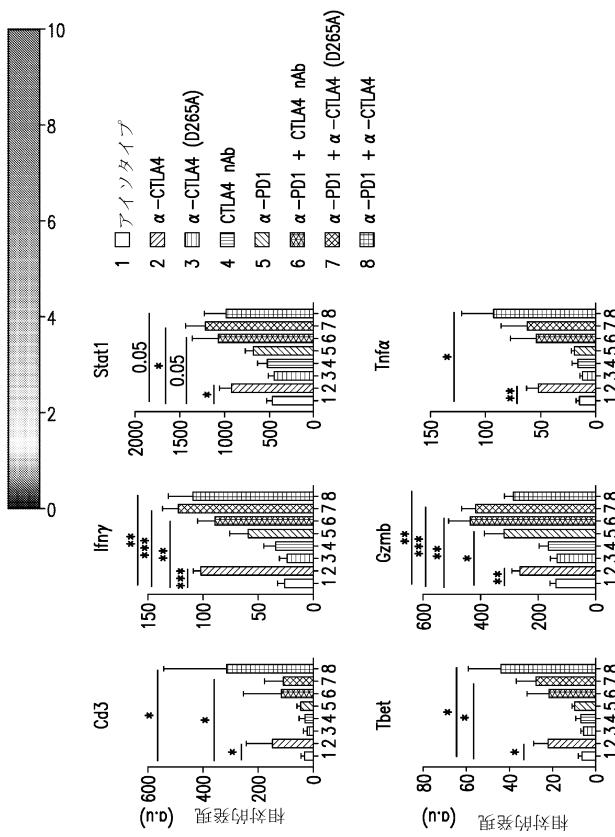


FIG.3D

10

20

30

40

【図 3 E】

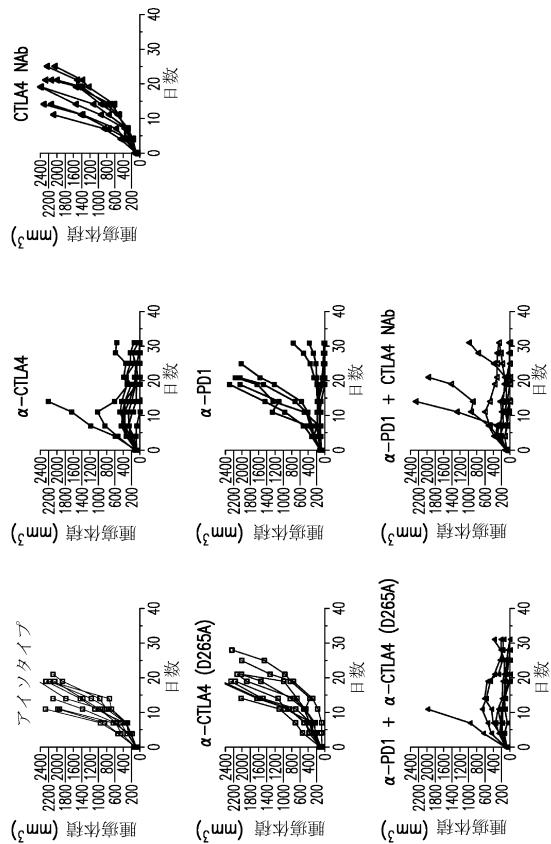


FIG.3E

【図 4 A】

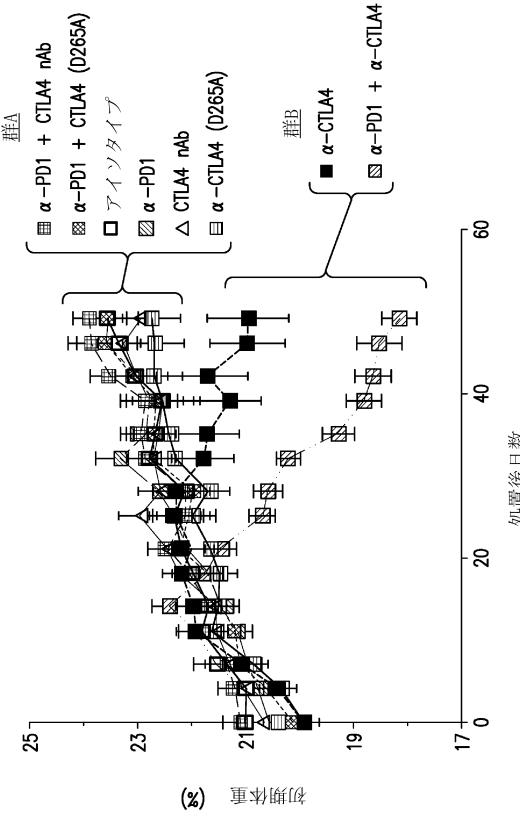


FIG.4A

50

【図 4 B】

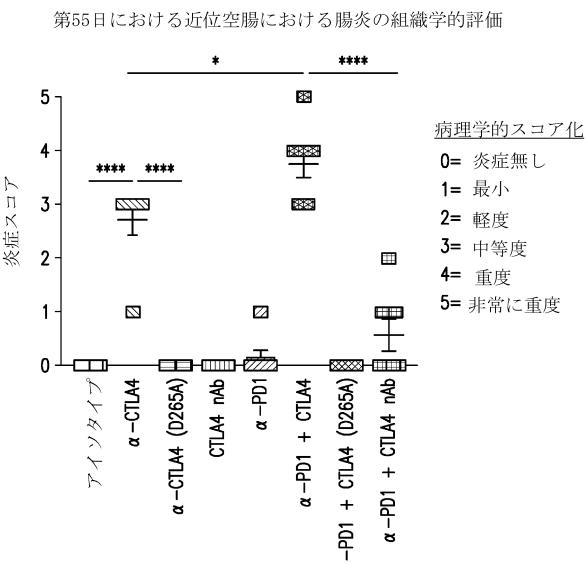


FIG.4B

【図 4 C】

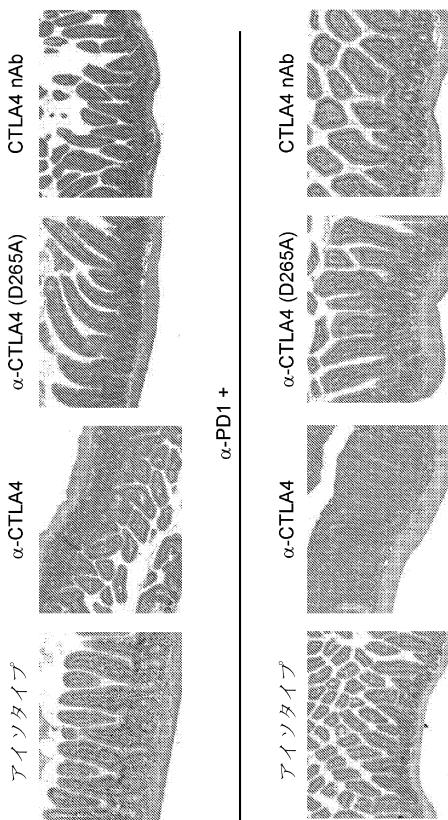


FIG.4C

10

20

【図 4 D】

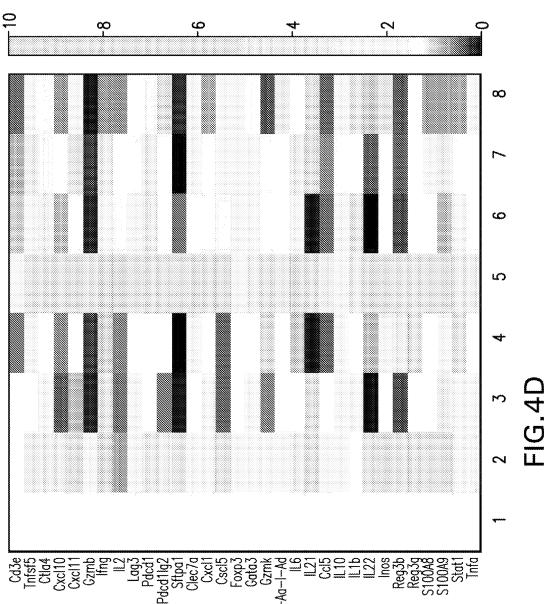


FIG.4D

【図 5 A】

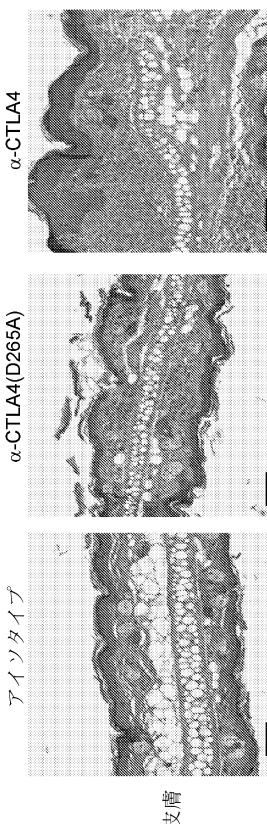


FIG.5A

30

40

50

【図 5 B】

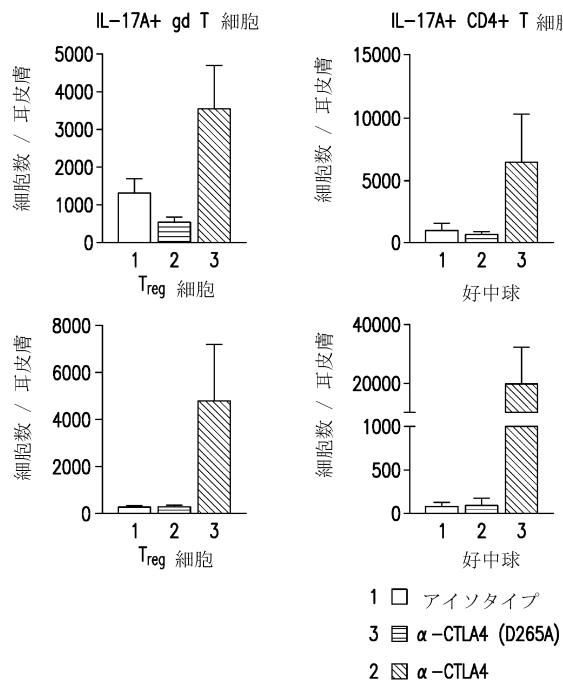


FIG.5B

【図 5 C】

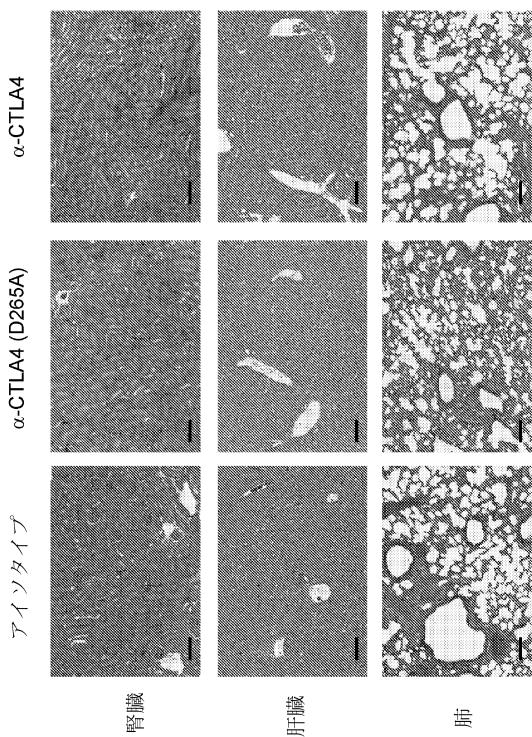


FIG.5C

10

20

30

40

【図 6 A】

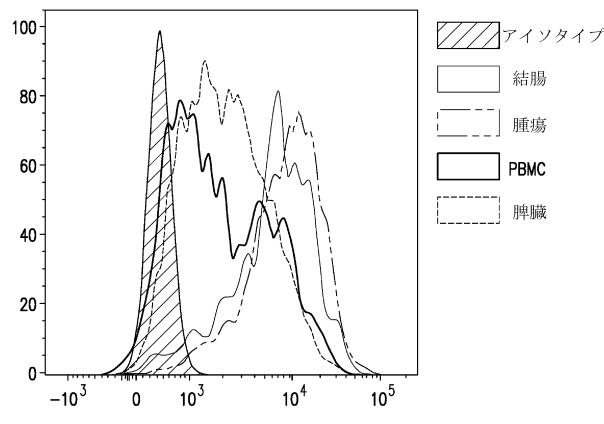


FIG.6A

【図 6 B】

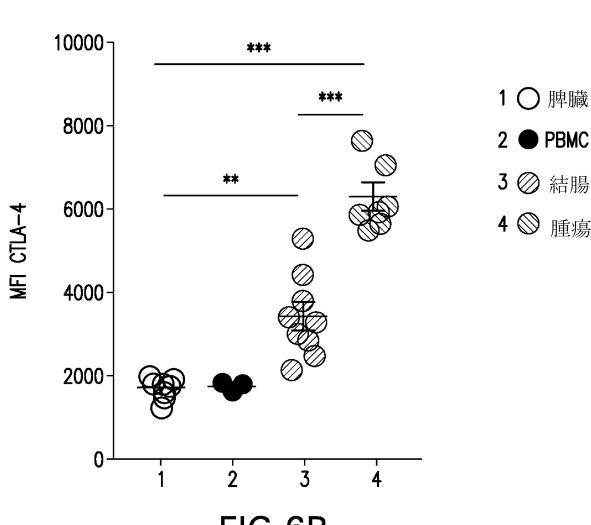


FIG.6B

50

【図 6 C】

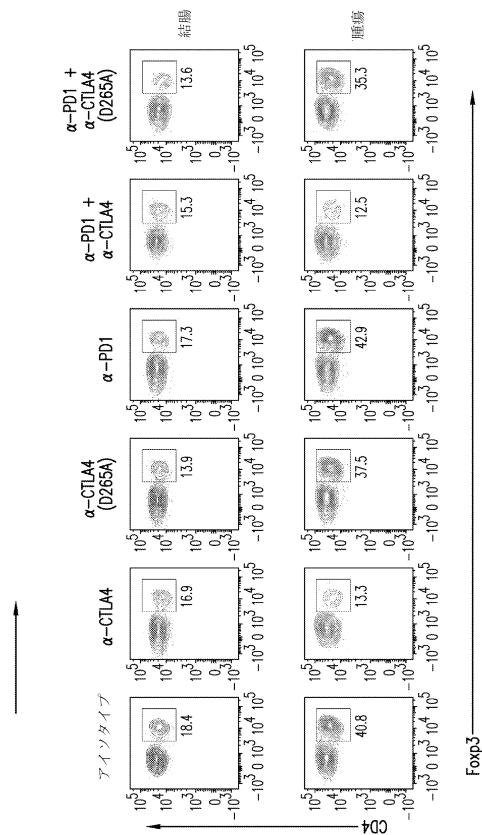


FIG.6C

【図 6 D】

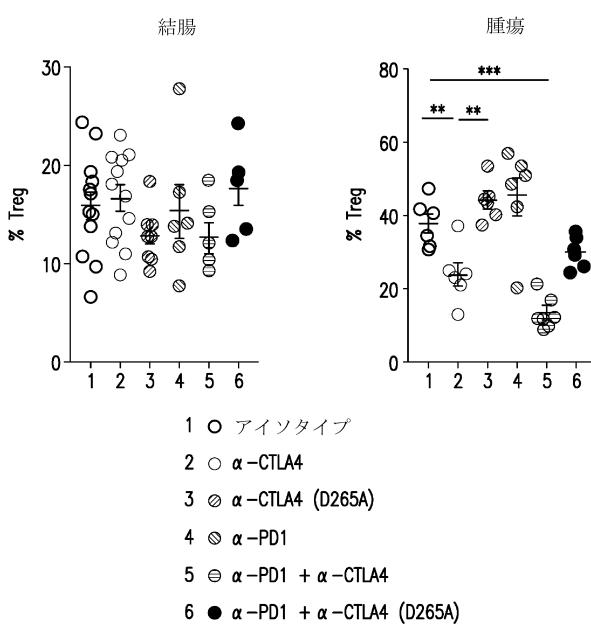


FIG.6D

【図 7 A】

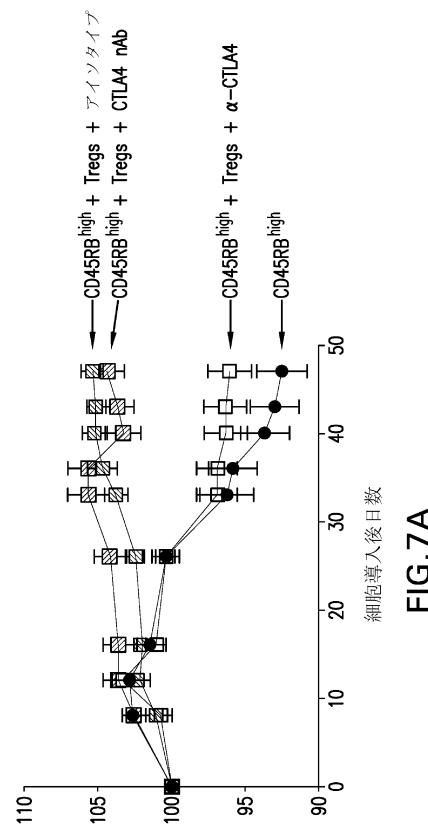


FIG.7A

【図 7 B】

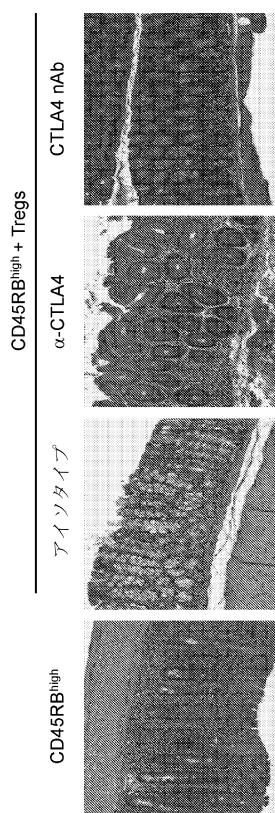


FIG.7B

【図7C】

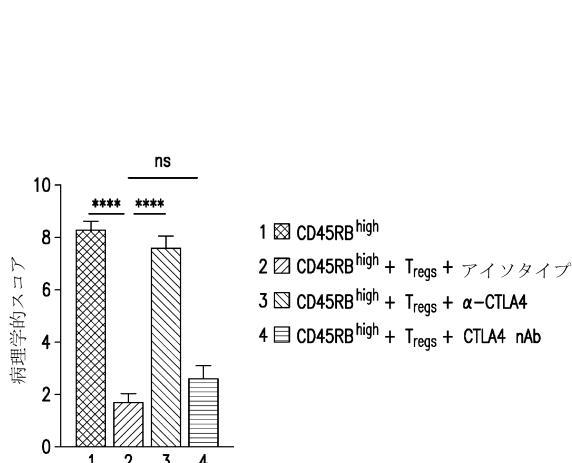


FIG. 7C

【図7D】

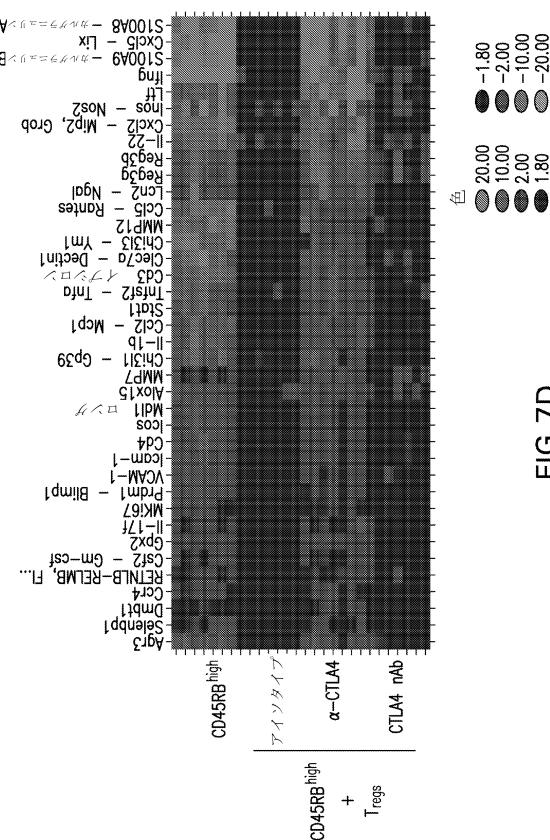


FIG. 7D

10

20

【図 8 A】

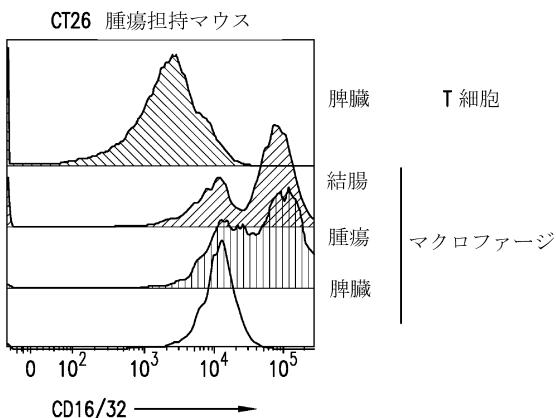


FIG.8A

【図8B】

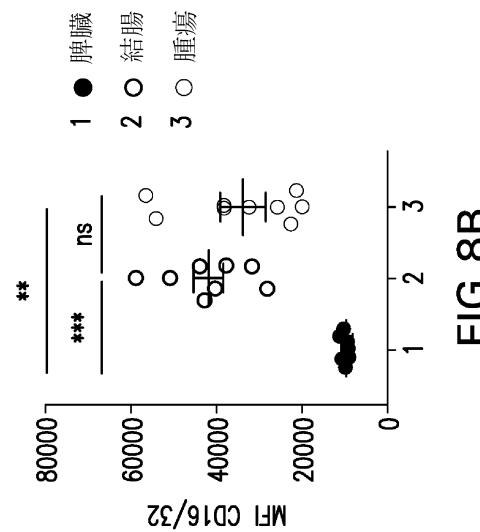


FIG. 8B

30

40

【図 8 C】

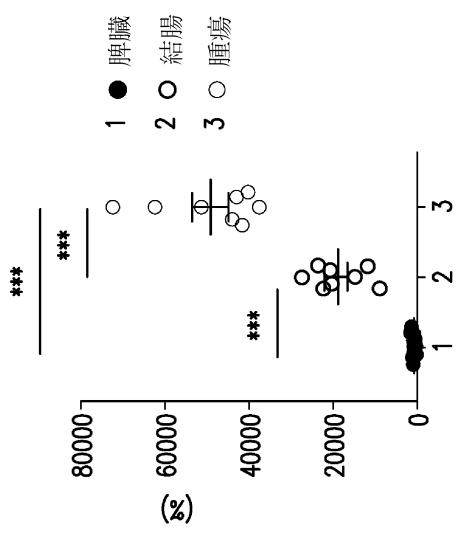


FIG.8C

【図 8 D】

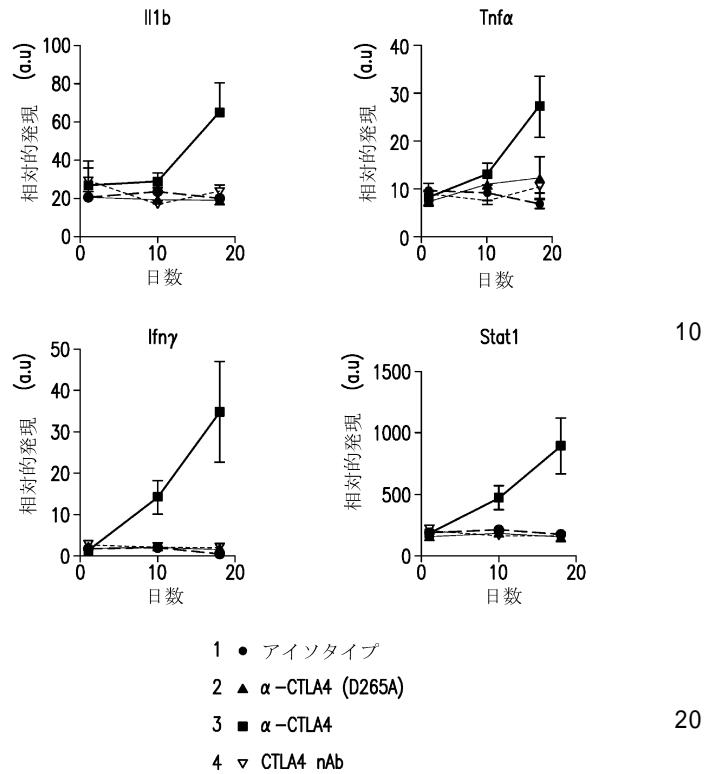


FIG.8D

【図 8 E】

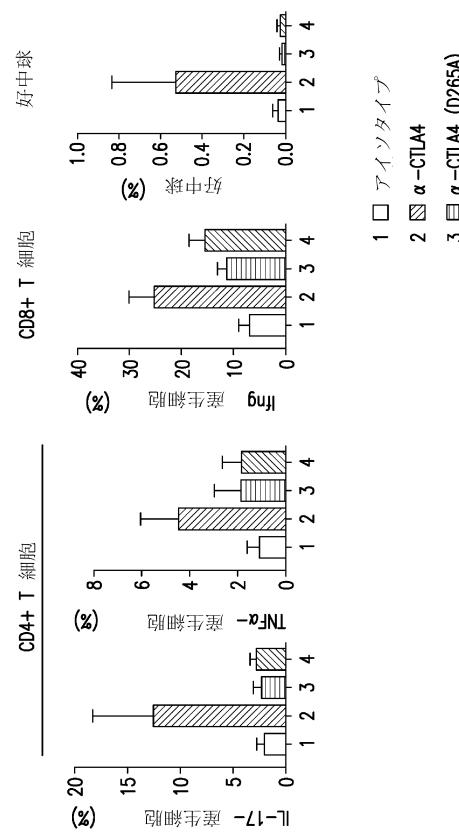


FIG.8E

【図 9 A】

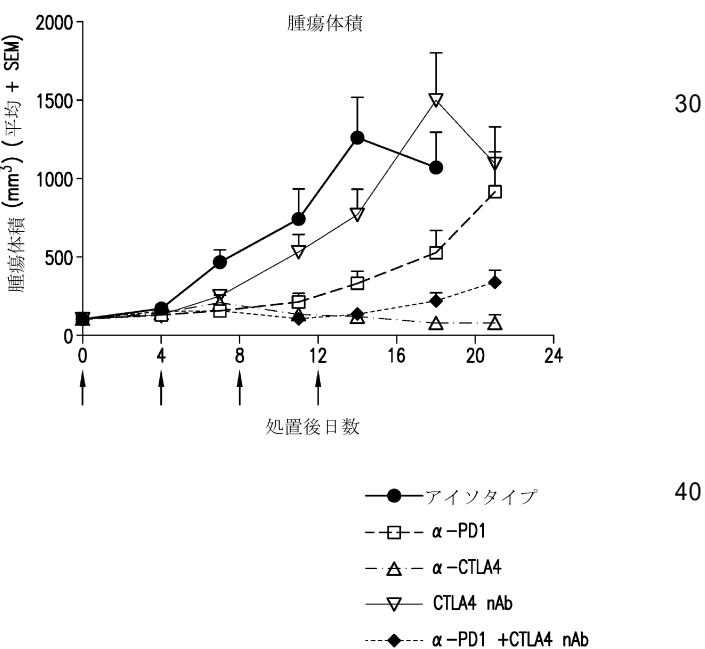


FIG.9A

【図 9 B】

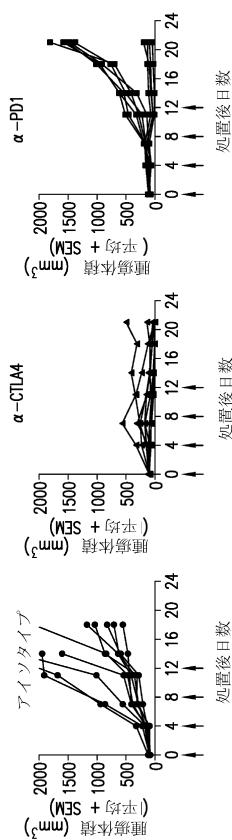


FIG.9B

【図 10 A】

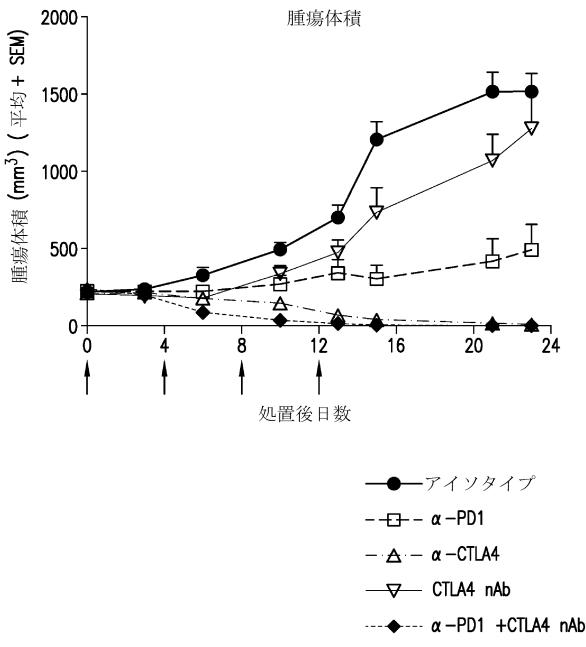


FIG.10A

10

20

【図 10 B】

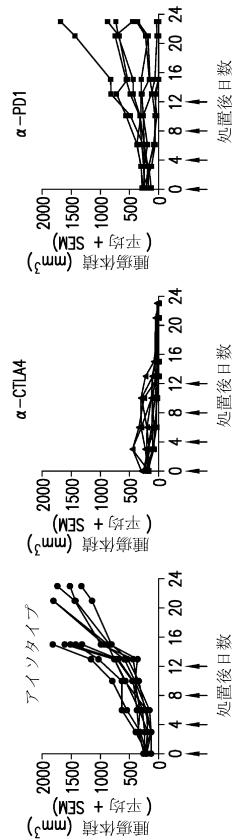


FIG.10B

【図 11】

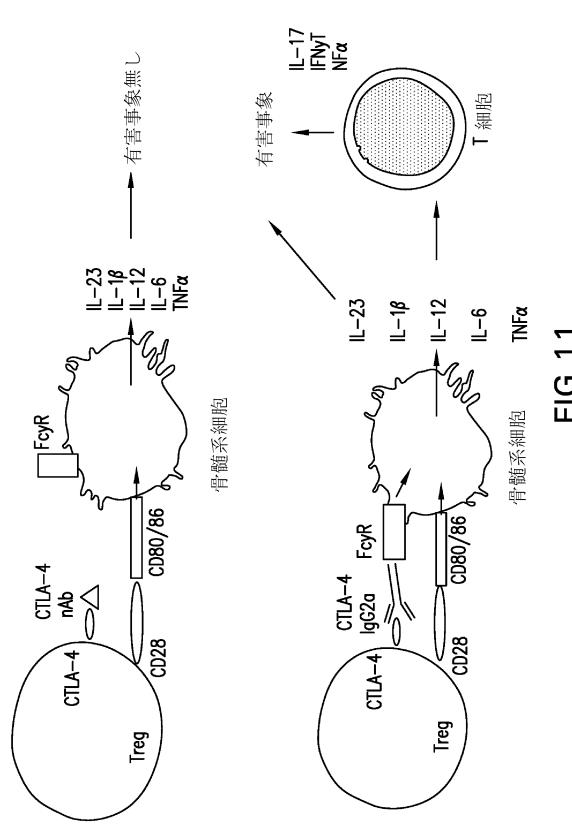


FIG.11

30

40

50

【配列表】

0007581225000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (74)代理人 100137213
弁理士 安藤 健司
- (74)代理人 100143823
弁理士 市川 英彦
- (74)代理人 100183519
弁理士 櫻田 芳恵
- (74)代理人 100196483
弁理士 川崎 洋祐
- (74)代理人 100160749
弁理士 飯野 陽一
- (74)代理人 100160255
弁理士 市川 祐輔
- (74)代理人 100182132
弁理士 河野 隆
- (74)代理人 100172683
弁理士 綾 聰平
- (74)代理人 100219265
弁理士 鈴木 崇大
- (74)代理人 100146318
弁理士 岩瀬 吉和
- (74)代理人 100127812
弁理士 城山 康文
- (74)代理人 100202267
弁理士 森山 正浩
- (72)発明者 ラフェイス, ドレイク
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94019、ハーフ・ムーン・ベイ、テラス・アベニュー・6
48
- (72)発明者 プノネン, ユハ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94002、ベルモント、パイン・ノール・ドライブ・150
6
- (72)発明者 ボーマン, エドワード
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94080、サウス・サン・フランシスコ、イースト・グランド・アベニュー・213
- (72)発明者 パウシュ, デイビッド
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94080、サウス・サン・フランシスコ、イースト・グランド・アベニュー・213
- (72)発明者 チャッカリアン, アリッサ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94080、サウス・サン・フランシスコ、イースト・グランド・アベニュー・213
- (72)発明者 グライン, ジェフリー
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94080、サウス・サン・フランシスコ、イースト・グランド・アベニュー・213
- (72)発明者 モーゼ, スミタ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94002、ベルモント、ウエスト・ニッカボッカ・ドライブ
・1114
- (72)発明者 サワント, アナンディ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・94080、サウス・サン・フランシスコ、イースト・グランド・アベニュー・213
- (72)発明者 アンナマライ, ラクシュマナン

アメリカ合衆国、カリフォルニア・94080、サウス・サン・フランシスコ、イースト・グランド・アベニュー・213

審査官 大島 彰公

(56)参考文献 特表2017-515859(JP,A)
特表2006-512407(JP,A)

Rong DENG et al., "Preclinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, tissue distribution, and tumor penetration of anti-PD-L1 monoclonal antibody, an immune checkpoint inhibitor", mAbs, 2016年02月26日, Vol. 8, No. 3, p.593-603, DOI: 10.1080/19420862.2015.1136043

Joaquin MADRENAS et al., "Conversion of CTLA-4 from Inhibitor to Activator of T Cells with a Bispecific Tandem Single-Chain Fv Ligand", The Journal of Immunology, 2004年05月15日, Vol. 172, No. 10, p.5948-5956, DOI: 10.4049/jimmunol.172.10.5948

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 61K、A 61P、C 07K
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)