

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7402521号
(P7402521)

(45)発行日 令和5年12月21日(2023.12.21)

(24)登録日 令和5年12月13日(2023.12.13)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13 Z N A
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63 Z
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
請求項の数 10 (全167頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2020-501322(P2020-501322)	(73)特許権者	517247332
(86)(22)出願日	平成30年7月11日(2018.7.11)		コンパス セラピューティクス リミテッ
(65)公表番号	特表2020-526211(P2020-526211 A)		ド ライアピリティ カンパニー
(43)公表日	令和2年8月31日(2020.8.31)		アメリカ合衆国 0 2 1 3 5 マサチュー
(86)国際出願番号	PCT/US2018/041612		セッツ州 ブライトン ゲスト ストリート
(87)国際公開番号	WO2019/014328	(74)代理人	8 0 スイート 6 0 1
(87)国際公開日	平成31年1月17日(2019.1.17)		100078282
審査請求日	令和3年7月8日(2021.7.8)	(74)代理人	弁理士 山本 秀策
(31)優先権主張番号	62/531,259	(74)代理人	100113413
(32)優先日	平成29年7月11日(2017.7.11)		弁理士 森下 夏樹
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100181674
(31)優先権主張番号	62/568,231		弁理士 飯田 貴敏
(32)優先日	平成29年10月4日(2017.10.4)	(74)代理人	100181641
	最終頁に続く	(74)代理人	弁理士 石川 大輔
		(74)代理人	230113332
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ヒトCD137に結合するアゴニスト性抗体およびその使用

(57)【特許請求の範囲】
【請求項1】

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体または抗原結合部分は、ヒトCD137上のエピトープに結合し、前記エピトープが、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132またはP135から選択される一つまたは複数の残基を含み、

前記抗体またはその抗原結合部分が、配列番号6に示される軽鎖可変領域の3つのCDR (CDR1、CDR2およびCDR3)、および配列番号4に示される重鎖可変領域の3つのCDR (CDR1、CDR2およびCDR3)を含み、前記軽鎖可変領域が、配列番号69のCDR1、配列番号78のCDR2、および配列番号89のCDR3を含み、前記重鎖可変領域が、配列番号48のCDR1、配列番号56のCDR2、および配列番号68のCDR3を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【請求項2】

前記エピトープが、(i)配列番号3のK114残基；(ii)配列番号3のE111、T113およびK114残基；(iii)配列番号3のE111、T113、N126およびI132残基；(iv)配列番号3のE111、T113、K114およびP135残基；または(v)配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を含む、請求項1に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

【請求項3】

前記抗体または抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する二

つ以上のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに結合する、請求項1～2のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

【請求項4】

前記抗体または抗原結合部分が、ヒトCD137の細胞外ドメインのCD137:CD137L非リガンド結合領域に結合するか、または前記抗体または抗原結合部分が、ヒトCD137とヒトCD137リガンドの間の相互作用を阻害しない、請求項1～3のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

【請求項5】

前記抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、またはIgE抗体から選択される、請求項1～4のいずれか1項に記載の抗体または抗原結合部分。

10

【請求項6】

請求項1～5のいずれか1項に記載の抗体または抗原結合部分、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

【請求項7】

請求項1～5のいずれか1項に記載の抗体または抗原結合部分の軽鎖および重鎖の両方をコードするヌクレオチド配列を含む核酸。

【請求項8】

ヒトCD137に特異的に結合するモノクローナル抗体またはその抗原結合部分を作製する方法における使用のための、請求項7に記載の核酸を含む組成物であって、前記方法が、(i)前記核酸を含む発現ベクターで形質転換された細胞を提供すること、(ii)前記モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の発現が可能となる条件下で、前記細胞を維持することを含む、組成物。

20

【請求項9】

対象の腫瘍微小環境において、T細胞増殖を誘導または強化する、T細胞活性化を誘導または強化する、サイトカイン産生を誘導または強化する、あるいは腫瘍増殖を低下または阻害する方法における使用のための、請求項6に記載の医薬組成物であって、前記方法が、前記対象に、前記医薬組成物の有効量を投与することを含む、医薬組成物。

【請求項10】

対象において、ヒトCD137により介在される癌またはその他の障害を治療する方法における使用のための、請求項6に記載の医薬組成物であって、前記方法が、前記対象に、前記医薬組成物の有効量を投与することを含む、医薬組成物。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2017年7月11日に提出された米国仮特許出願第62/531,259号；2017年7月11日に提出された米国仮特許出願第62/531,190号；2017年10月4日に提出された米国仮特許出願第62/568,231号；2017年10月26日に提出された米国仮特許出願第62/577,257号；および2017年10月26日に提出された米国仮特許出願第62/577,259号の利益を主張するものである。これら参照出願の全内容が、本参照により本明細書に組み込まれる。

40

【背景技術】

【0002】

近年、免疫システムが腫瘍の形成と進行に対する重要な障壁としての効果を有することを示唆する証拠が増加している。抗腫瘍の能力がある、または抗腫瘍の活性がある自然発生型のT細胞が癌患者中に存在するという主旨は、腫瘍分野において免疫療法的アプローチの開発に合理性を与えるものである。例えばT細胞、マクロファージおよびナチュラルキラー細胞などの免疫細胞は抗腫瘍活性を呈することができ、悪性腫瘍の発生と増殖を効率的に制御することができる。腫瘍特異的抗原または腫瘍関連抗原は、悪性腫瘍を認識し、排除する免疫細胞を誘導することができる(Chen & Mellman, (2013) Immunity

50

39(1):1-10)。腫瘍特異的な免疫応答が存在するにもかかわらず、悪性腫瘍は様々な免疫調節機構を介して免疫攻撃を逃れ、または回避することが多く、その結果として腫瘍の発生と進行の制御に失敗する(Motz & Coukos, (2013) *Immunity* 39(1):61-730)。実際に癌出現の顕著な特徴はこれら免疫調節機構の利己的利用と、抗腫瘍免疫応答の無効化であり、これによって腫瘍は免疫による殺傷を回避し、逃避する(Hanahan and Weinberg (2011) *Cell* 144(5):646-674)。

【 0 0 0 3 】

癌免疫療法の新たなアプローチにはこれら免疫の回避および逃避の機構を妨げ、内因性免疫系を誘導して腫瘍を拒絶させることが含まれる。CD137 (あるいは「tumor necrosis factor receptor superfamily member 9」(TNFRSF9)、4-1BBおよび「induced by lymphocyte activation」(ILA)としても知られている)は、腫瘍壊死因子スーパーファミリーに属する膜貫通型共刺激性受容体タンパク質である。CD137は、T CR活性化で誘導されるT細胞共刺激性受容体である(Nam et al., (2005) *Curr Cancer Drug Targets* 5:357-363; Watts et al., (2005) *Annu Rev Immunol* 23:23-68)。活性化CD4+T細胞およびCD8+T細胞上での発現に加えて、CD137はCD4+CD25+制御性T細胞、活性化ナチュラルキラー(NK)T細胞およびNK-T細胞、単球、好中球ならびに樹状細胞上にも発現される。

【 0 0 0 4 】

生理学的条件下では、CD137は、B細胞、単球、マクロファージおよび樹状細胞を含む抗原提示細胞上に存在するアゴニスト性膜分子であるCD137リガンド(CD137L)にライゲーションされる(Watts et al., (2005) *Annu Rev Immunol* 23:23-68)。リガンドとの相互作用によって、CD137はTCR誘導型T細胞増殖の増加、サイトカイン産生、機能的成熟およびCD8+T細胞生存の長期化をもたらす。免疫系に腫瘍を攻撃させることにおける、様々なアゴニスト(例えばアゴニスト性抗体、組み換えCD137Lタンパク質およびCD137特異的アプタマー)を使用したCD137共刺激の潜在的能力は、多くのモデルにおいて報告されている(Dharmadhikari et al., (2016) *Oncoimmunology* 5(4):e1113367および当該文献中の参考文献)。アゴニスト性CD137抗体の臨床評価に関する最近の報告(ウレルマブ(Urelumab)、BMS-663513; Bristol-Myers Squibb社)では、ヒト対象において、抗体投与量と相関する重度の肝毒性(高トランスアミナーゼ血症)の兆候を含む治療関連有害事象が観察されたことが報告されている(Segal et al., (2016) *Clin Cancer Res* 23(8):1929-1936)。対照的に、別のアゴニスト性CD137抗体(ウトミルマブ(Utomilumab)、PF-05082566; Pfizer社)が、抗PD-1抗体(ペムブロリズマブ(pembrolizumab))との併用で検証されたところ、いずれの用量規定毒性も生じさせなかったが、抗PD-1抗体の単独療法と同等の結果を示した(Tolcher, A. et al., (2017) *Clin Cancer Res* 23(18): 5349-5357)。これらの結果から、CD137アゴニストを用いた治療に適した癌を含む様々な疾患および状態を有する患者に関し、ヒトCD137に結合し、安全で有効な治療剤の開発に十分な特徴を呈する新規アゴニスト性抗体に対するアンメットニーズが継続して存在しているということが強調される。

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 0 5 】

【文献】Chen & Mellman, (2013) *Immunity* 39(1):1-10

【文献】Motz & Coukos, (2013) *Immunity* 39(1):61-730

【文献】Hanahan and Weinberg (2011) *Cell* 144(5):646-674

【文献】Nam et al., (2005) *Curr Cancer Drug Targets* 5:357-363

【文献】Watts et al., (2005) *Annu Rev Immunol* 23:23-68

【文献】Dharmadhikari et al., (2016) *Oncoimmunology* 5(4):e1113367

【文献】Segal et al., (2016) *Clin Cancer Res* 23(8):1929-1936

【文献】Tolcher, A. et al., (2017) *Clin Cancer Res* 23(18): 5349-5357

【 発明の概要 】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は少なくとも部分的に、動物において防御的抗腫瘍免疫を呈する新規アゴニスト性抗CD137抗体の開発に基づくものである。特に本明細書に記載される抗体は、多様な腫瘍型に有効であり、幅広い用量範囲にわたり有効である。さらに実施例に例示されるように、本明細書に記載される抗体は、非常に大きな腫瘍対し、治療的に有効である。例えば本明細書に記載されるアゴニスト性抗CD137抗体を用いて腫瘍担持マウスを治療することにより、 $1,800\text{mm}^3$ もの大きさの腫瘍の完全退縮がもたらされた。図15に記載されるように、こうしたマウスの治療によって、防御的免疫も生じていた。観察された有効性と一致して、腫瘍微小環境において例えば制御性T細胞および消耗T細胞群の減少を伴う免疫細胞浸潤の増加などのポジティブな免疫表現型の変化があった（例えば図22A～22Dを参照のこと）。

10

【0007】

上述のように、CD137のアゴニズムは、ヒトにおいて、肝毒性関連死を含む特定の有害事象と関連している（例えばSegal et al. (2017) Clin Cancer Res 23(8): 1929-1935を参照のこと）。動物モデルにおいても、アゴニスト性抗CD137抗体（例えば3H3抗体）を用いた治療から生じた同様の毒性が観察されている（例えば、Bartkowiak et al. (2018) Clin Cancer Res 24(5):1138-1151を参照のこと）。しかし本明細書に記載されるアゴニスト性抗CD137抗体は、例えば肝酵素（例えばアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT））の血漿レベルおよび免疫細胞浸潤などにより決定した場合には、肝臓に対する作用は最小限である。例えば当該抗体で治療されたマウスにおいて、肝臓内または脾臓内で免疫細胞浸潤が増加した証拠はない。ゆえに本明細書に記載される抗体は、有効性が高いだけでなく、CD137アゴニズムと関連する特定の毒性も削減させる。

20

【0008】

本開示はいずれの特定の学説または作用機序に限定されるものではないが、本明細書に記載される抗体の優れた治療特性および毒性削減特性は、当該抗体のアフィニティおよび結合する新規エピトープのうちの一つまたは両方から部分的には誘導されたものであると考えられる。すなわち本明細書に記載される複数の抗体は、他のアゴニスト性抗CD137抗体とは明白に異なる共通の新規エピトープを共有している。そして実施例に例示されるように、本明細書に記載される抗体とエピトープが会合することで、異なるCD137エピトープに結合するアゴニスト性抗体と比較し、例えば制御性T細胞増殖、 CD8^+ T細胞およびマクロファージによるサイトカイン産生ならびに細胞内シグナル伝達に対する効果などの異なるインビトロ活性が生じる。さらに抗体のアフィニティ範囲（スイートスポット）が、抗腫瘍活性に対して特に最適なものとなることが示されている。例えば中間のアフィニティを有する抗体は、より高い、またはより低いアフィニティを有する抗体と比較して、大きな腫瘍に対する有効性が高いことが示されている。

30

【0009】

前述のことを考慮すると、一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、約 40nM ～約 100nM のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、約 30nM ～ 100nM （例えば約 30nM ～約 110nM ）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の態様では、ヒトCD137に対する抗CD137抗体のアフィニティは、マウスCD137に対するmAb10のアフィニティよりも少なくとも2倍（例えば少なくとも3、4、5、6、7、8、9または10倍）高い。一部の態様では、抗CD137抗体のアフィニティは、500、450、400、350、300、250、200、250、200、175、150、125、110または 100nM 以下である。一部の態様では、ヒトCD137に対する抗CD137抗体のアフィニティは、マウスCD137に対するmAb10のアフィニティよりも少なくとも2倍（例えば少なくとも3、4、5、6、7、8、9または10倍）高いが、500、450、400、350、300、250

40

50

0、200、250、200、175、150、125、110または100nM以下である。

【0010】

一部の態様では、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、配列番号3のアミノ酸111～132の一つまたは複数（例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25個すべて）を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、配列番号3のアミノ酸111～132内のエピトープに結合する。一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、配列番号3のアミノ酸111～132のすべてまたは一部に結合する。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のK114に結合する。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113およびK114残基を含む。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113、K114、N126およびI132残基を含む。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113、K114およびP135残基を含む。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を含む。一部の態様において、抗体またはその抗原結合部分は、約30nM～約100nM（例えば約30nM～約110nM）のアフィニティでヒトCD137に結合する。

【0011】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、約40nM～100nM（例えば約40nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、そして配列番号3のK114を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、約30nM～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、そして配列番号3のK114を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113およびK114残基を含む。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113、K114、N126およびI132残基を含む。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113、K114およびP135残基を含む。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を含む。

【0012】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、約30nM～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、そして配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。一部の態様において、エピトープは、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25個のアミノ酸残基を含む。

【0013】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、約30nM～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、そして配列番号3の111位～135位のアミノ酸残基内に位置するヒトCD137上のエピトープに結合する。一部の態様において、エピトープは、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14または15個のアミノ酸である。一部の態様において、エピトープは、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、

10、9、8、7、6または5アミノ酸よりも少ない。

【0014】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、約30 nM ~ 100 nM (例えば約30 nM ~ 約100 nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合し、そしてELTK (配列番号3の111位 ~ 114位のアミノ酸残基に相当する) を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のN126、I132およびP135残基の一つまたは複数をさらに含む。

【0015】

前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、非直線状エピトープである。前述の態様のいずれかにおいて、配列番号3のK114残基の変異は、ヒトCD137に対する抗体またはその抗原結合部分の結合を無効化する。

【0016】

前述の態様のいずれかにおいて、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分は、約30 ~ 100 nM、30 ~ 95 nM、45 ~ 95 nM、50 ~ 90 nM、55 ~ 85 nM、60 ~ 80 nM、65 ~ 75 nM、55 ~ 75 nM、40 ~ 70 nM、50 ~ 80 nMまたは60 ~ 90 nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の態様において、抗体またはその抗原結合部分は、ヒトCD137の細胞外ドメインの非リガンド結合領域に結合する。一部の態様において、抗体またはその抗原結合部分は、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の態様において、非リガンド結合領域は、システインリッチドメイン (CRD) IIIおよびCRD IVに

【0017】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は：

(i) 約30 ~ 100 nM (例えば約30 nM ~ 約100 nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する；

(ii) ヒトCD137の細胞外ドメインの非リガンド結合領域に結合する；および

(iii) 配列番号3のK114を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は：

(i) 約30 ~ 100 nM (例えば約30 nM ~ 約100 nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する；

(ii) ヒトCD137とヒトCD137リガンドの間の相互作用を阻害しない；および

(iii) 配列番号3のK114を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を特徴とするものであり、当該抗体または抗原結合部分は、(i) 約30 nM ~ 100 nM (例えば約30 nM ~ 約100 nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する、そして(ii) CD137 : CD137L単量体の三量体 (すなわちCD137 : CD137Lの三量体 : 三量体の複合体) の形成を阻害しない。一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を特徴とするものであり、当該抗体または抗原結合部分は、(i) 約30 nM ~ 100 nM (例えば約30 nM ~ 約100 nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する、そして(ii) ヒトCD137の細胞外ドメインの非リガンド結合領域に結合する。一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を特徴とするものであり、当該抗体または抗原結合部分は、(i) 約30 nM ~ 100 nM (例えば約30 nM ~ 約100 nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する、そして(ii) ヒトCD137とCD137リガンドの間の相互作用を阻害しない。

【0018】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXX

XLXXXXXYXXYX (配列番号126)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様において、抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXPFXLDDXYYYYYX (配列番号127)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。前述の態様のいずれかにおいて、重鎖CDR3のD95、L100、Y100E、Y100G、Y100H残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異は、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる。前述の態様のいずれかにおいて、P97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異は、ヒトCD137に対する結合の低下を生じさせる。前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、当該重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0019】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30~100nM (例えば約30nM~約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する；そして

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXXYXXYX (配列番号126)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0020】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30~100nM (例えば約30nM~約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する；そして

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀ (配列番号128)を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。一部の態様において、X₂はプロリンであり、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₈はチロシンであり、そしてX₉はチロシンである。

【0021】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30~100nM (例えば約30nM~約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する；そして

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに特異的に結合する。

【0022】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30~100nM (例えば約30nM~約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに特異的に結合する。

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXXYXXYX (配列番号126)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である；または

(iv) それらの組み合わせである。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0023】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体

10

20

30

40

50

またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

- (i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；
- (ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに特異的に結合する。
- (iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀（配列番号128）を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である；または
- (iv) それらの組み合わせである。一部の態様において、X₂はプロリンであり、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₈はチロシンであり、そしてX₉はチロシンである。

【0024】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

- (i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；
- (ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに特異的に結合する；

そして

- (iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0025】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

- (i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；
- (ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに特異的に結合する；

そして

- (iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀（配列番号128）を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。一部の態様において、X₂はプロリンであり、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₈はチロシンであり、そしてX₉はチロシンである。

【0026】

前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、K114を含む。前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、E111、T113およびK114を含む。前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、E111、T113、K114、N126およびI132を含む。前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を含む。

【0027】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；そして

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに特異的に結合する。

【0028】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに特異的に結合する。

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である；または

(iv) それらの組み合わせである。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0029】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに特異的に結合する。

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀（配列番号128）を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である；または

(iv) それらの組み合わせである。一部の態様において、X₂はプロリンであり、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₈はチロシンであり、そしてX₉はチロシンである。

【0030】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに特異的に結合する；そして

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0031】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに特異的に結合する；そして

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀（配列番号128）を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、

X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。一部の態様において、X₂はプロリンであり、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₈はチロシンであり、そしてX₉はチロシンである。

【0032】

前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25個のアミノ酸残基を含む。

10

【0033】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティでヒトCD137に結合する；そして

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに特異的に結合する。

【0034】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

20

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（K_D）でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに特異的に結合する；

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である；または

(iv) それらの組み合わせである。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0035】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

30

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（K_D）でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに特異的に結合する；

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YXX₁₀（配列番号128）を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である；または

40

(iv) それらの組み合わせである。一部の態様において、X₂はプロリンであり、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₈はチロシンであり、そしてX₉はチロシンである。

【0036】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（K_D）でヒトCD137に結合する；

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残

50

基に相当する)を含むエピトープに特異的に結合する;そして

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX(配列番号126)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0037】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、この場合において、

(i) 抗体またはその抗原結合部分は、約30~100nM(例えば約30nM~約100nM)のアフィニティ(K_D)でヒトCD137に結合する;

(ii) 抗体またはその抗原結合部分は、ELTK(配列番号3の111位~114位のアミノ酸残基に相当する)を含むエピトープに特異的に結合する;そして

(iii) 抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀(配列番号128)を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。一部の態様において、X₂はプロリンであり、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₈はチロシンであり、そしてX₉はチロシンである。

【0038】

前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、配列番号3のELTK残基(配列番号3の111位~114位のアミノ酸残基に相当する)を含む。一部の態様において、エピトープは、配列番号3のELTK(配列番号3の111位~114位のアミノ酸残基に相当する)ならびに配列番号3のN126、I132およびP135残基を含む。

【0039】

前述の態様のいずれかにおいて、エピトープは、非直線状エピトープである。一部の態様において、ヒトCD137(配列番号3)のK114残基の変異は、ヒトCD137に対する抗体またはその抗原結合部分の結合を無効化する。

【0040】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXPFXLDDXXYYYYX(配列番号128)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様では、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分の重鎖CDR3のD95、L100、Y100E、Y100G、Y100H残基またはそれらの組み合わせの変異は、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる。一部の態様では、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分の重鎖CDR3のP97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異は、ヒトCD137に対する結合の低下を生じさせる。他の態様では、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分の重鎖CDR3のP97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニン以外の任意の残基への変異は、ヒトCD137に対する結合の上昇を生じさせる。

【0041】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、約45~95nM、50~90nM、55~85nM、60~80nM、65~75nM、55~75nM、40~70nM、50~80nMまたは60~90nMの(K_D)でヒトCD137に結合する。前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、約45nM~約95nM、約50~約90nM、約55~約85nM、約60~約80nM、約65~約75nM、約55~約75nM、約40~約70nM、約50~約80nMまたは約60~約90nMの(K_D)でヒトCD137に結合する。

【0042】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、当該重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0043】

10

20

30

40

50

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択される重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む：

(a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；ならびに

(b) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3。

【0044】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、この場合において当該重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、およびこの場合において当該軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列を含む。

【0045】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む：

(a) それぞれ配列番号4および6；ならびに

(b) それぞれ配列番号101および6。

【0046】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、この場合において当該重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、およびこの場合において当該軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0047】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む：

(a) それぞれ配列番号4および6；ならびに

(b) それぞれ配列番号101および6。

【0048】

前述の態様のいずれかにおいて、請求項1～27のいずれか1項に記載の抗体または抗原結合部分であって、当該抗体または抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、重鎖および軽鎖を含む：

(a) それぞれ配列番号129および133；ならびに

(b) それぞれ配列番号131および133。

【0049】

前述の態様のいずれかにおいて、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、ヒトCD137活性のアゴニストである。

【0050】

前述の態様のいずれかにおいて、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、ヒトCD137のエピトープに対する結合に関し、mAb1またはmAb1の抗原結合断片と競合する。

【0051】

一部の態様において、本開示は、CD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、以下からなる群から選択される重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む：

(a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

10

20

30

40

50

- [illegible]

DR3 ;

(s) それぞれ配列番号52、63および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(t) それぞれ配列番号50、64および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(u) それぞれ配列番号50、65および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(v) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(w) それぞれ配列番号107、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ; ならびに

(x) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号109、110および92に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3。

【 0 0 5 2 】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 5 3 】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む：

(a) それぞれ配列番号5および7 ; ならびに

(b) それぞれ配列番号102および7。

【 0 0 5 4 】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む：

(a) それぞれ配列番号5および7 ;

(b) それぞれ配列番号5および29 ;

(c) それぞれ配列番号5および31 ;

(d) それぞれ配列番号5および33 ;

(e) それぞれ配列番号5および35 ;

(f) それぞれ配列番号5および37 ;

(g) それぞれ配列番号5および39 ;

(h) それぞれ配列番号5および41 ;

(i) それぞれ配列番号5および43 ;

(j) それぞれ配列番号5および45 ;

(k) それぞれ配列番号5および47 ;

(l) それぞれ配列番号9および7 ;

10

20

30

40

50

- (m) それぞれ配列番号11および7;
- (n) それぞれ配列番号13および7;
- (o) それぞれ配列番号15および7;
- (p) それぞれ配列番号17および7;
- (q) それぞれ配列番号19および7;
- (r) それぞれ配列番号21および7;
- (s) それぞれ配列番号23および7;
- (t) それぞれ配列番号25および7;
- (u) それぞれ配列番号27および7;
- (v) それぞれ配列番号102および7;
- (w) それぞれ配列番号104および7; ならびに
- (x) それぞれ配列番号5および106。

10

【0055】

さらに他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0056】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX(配列番号126)を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

20

【0057】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYYX(配列番号127)を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の態様において、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。

【0058】

さらに他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX(配列番号126)を含み、式中、Xは任意のアミノ酸であり、そしてD95、L100、Y100E、Y100G、Y100H残基またはそれらの組み合わせの変異は、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる。

30

【0059】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYYX(配列番号127)を含み、式中、Xは任意のアミノ酸であり、そしてP97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異は、ヒトCD137に対する結合の低下を生じさせる。

40

【0060】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYYX(配列番号127)を含み、式中、Xは任意のアミノ酸であり、そしてP97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニン以外の任意の残基への変異は、ヒトCD137に対する結合の上昇を生じさせる。

50

【 0 0 6 1 】

さらに他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DX1X2X3X4LX5X6X7X8YX9YYX10（配列番号128）を含み、式中、X1は任意のアミノ酸であり、式中、X2は非極性アミノ酸であり、式中、X3は非極性アミノ酸であり、式中、X4は任意のアミノ酸であり、式中、X5は極性アミノ酸であり、式中、X6は任意のアミノ酸であり、式中、X7は任意のアミノ酸であり、式中、X8は極性アミノ酸であり、式中、X9は極性アミノ酸であり、そして式中、X10は任意のアミノ酸である。一部の態様において、式中、X2はプロリンであり、式中、X3はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、式中、X5はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、式中、X8はチロシンであり、そして式中、X9はチロシンである。

10

【 0 0 6 2 】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号4および6；
- (b) それぞれ配列番号4および28；
- (c) それぞれ配列番号4および30；
- (d) それぞれ配列番号4および32；
- (e) それぞれ配列番号4および34；
- (f) それぞれ配列番号4および36；
- (g) それぞれ配列番号4および38；
- (h) それぞれ配列番号4および40；
- (i) それぞれ配列番号4および42；
- (j) それぞれ配列番号4および44；
- (k) それぞれ配列番号4および46；
- (l) それぞれ配列番号8および6；
- (m) それぞれ配列番号10および6；
- (n) それぞれ配列番号12および6；
- (o) それぞれ配列番号14および6；
- (p) それぞれ配列番号16および6；
- (q) それぞれ配列番号18および6；
- (r) それぞれ配列番号20および6；
- (s) それぞれ配列番号22および6；
- (t) それぞれ配列番号24および6；
- (u) それぞれ配列番号26および6；
- (v) それぞれ配列番号101および6；
- (w) それぞれ配列番号103および6；ならびに
- (x) それぞれ配列番号4および105。

20

30

40

【 0 0 6 3 】

他の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 4 】

50

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号4および6；
- (b) それぞれ配列番号4および28；
- (c) それぞれ配列番号4および30；
- (d) それぞれ配列番号4および32；
- (e) それぞれ配列番号4および34；
- (f) それぞれ配列番号4および36；
- (g) それぞれ配列番号4および38；
- (h) それぞれ配列番号4および40；
- (i) それぞれ配列番号4および42；
- (j) それぞれ配列番号4および44；
- (k) それぞれ配列番号4および46；
- (l) それぞれ配列番号8および6；
- (m) それぞれ配列番号10および6；
- (n) それぞれ配列番号12および6；
- (o) それぞれ配列番号14および6；
- (p) それぞれ配列番号16および6；
- (q) それぞれ配列番号18および6；
- (r) それぞれ配列番号20および6；
- (s) それぞれ配列番号22および6；
- (t) それぞれ配列番号24および6；
- (u) それぞれ配列番号26および6；
- (v) それぞれ配列番号101および6；
- (w) それぞれ配列番号103および6；ならびに
- (x) それぞれ配列番号4および105。

【0065】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖配列および軽鎖配列を含む：

- (a) それぞれ配列番号129および133；ならびに
- (b) それぞれ配列番号131および133。

【0066】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分はそれぞれ、配列番号129および133に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖配列および軽鎖配列を含む。

【0067】

一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分はそれぞれ、配列番号131および133に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖配列および軽鎖配列を含む。

【0068】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体またはその抗原結合部分は、ヒトCD137に特異的に結合し、そしてアゴナイズする。

【0069】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択される以下の特性の内の少なくとも一つまたは複数を呈する：

10

20

30

40

50

- (a) CD137三量体の二量体化の誘導または強化；
- (b) CD137三量体の多量体化の誘導または強化；
- (c) T細胞活性化の誘導または強化；
- (d) 細胞障害性T細胞応答の誘導または強化；
- (e) T細胞増殖の誘導または強化；
- (f) サイトカイン産生の誘導または強化；および
- (g) 特性(a)～(f)の任意の組み合わせ。

【0070】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、ヒトCD137に結合する参照抗体と比較して、以下からなる群から選択される、以下の特性の内の少なくとも一つまたは複数を呈する；

10

- (a) 肝臓内T細胞活性化の誘導または強化をしない；
- (b) 肝臓内T細胞増殖の誘導または強化をしない；
- (c) 脾臓内T細胞活性化の誘導または強化をしない；
- (d) 脾臓内T細胞増殖の誘導または強化をしない；
- (e) マクロファージ活性化の誘導または強化をしない；
- (f) マクロファージ分化の誘導または強化をしない；
- (g) アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性の誘導または強化をしない；および
- (h) 特性(a)～(g)の任意の組み合わせ。一部の態様において、参照抗体は、ウレルマブ(urelumab)である。

20

【0071】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のT細胞活性化を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のT細胞活性化をそれほど誘導または強化しない。

【0072】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてT細胞活性化を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではT細胞活性化をそれほど誘導または強化しない。

【0073】

30

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性の細胞障害性T細胞応答を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性の細胞障害性T細胞応答をそれほど誘導または強化しない。

【0074】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境において細胞障害性T細胞応答を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中では細胞障害性T細胞応答をそれほど誘導または強化しない。

【0075】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のT細胞増殖を誘導するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のT細胞増殖をそれほど誘導しない。

40

【0076】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてT細胞増殖を誘導するが、脾臓および/または肝臓中ではT細胞増殖をそれほど誘導しない。

【0077】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のT細胞浸潤を誘導するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のT細胞浸潤をそれほど誘導しない。

50

【 0 0 7 8 】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてT細胞浸潤を誘導するが、脾臓および/または肝臓中ではT細胞浸潤をそれほど誘導しない。

【 0 0 7 9 】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のサイトカイン産生を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のサイトカイン産生をそれほど誘導または強化しない。

【 0 0 8 0 】

前述の態様のいずれかにおいて、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分の特性は、Fcガンマ受容体結合に依存性ではない。一部の態様において、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分の特性は、Fcガンマ受容体結合により強化される。

【 0 0 8 1 】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と交差競合する。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の配列の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）またはmAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と交差競合する。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と交差競合する。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と交差競合する。

【 0 0 8 2 】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）の少なくとも機能的特性を含む。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の配列の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）またはmAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）の少なくとも機能的特性を含む。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）の少なくとも機能的特性を含む。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）の少なくとも機能的特性を含む。

【 0 0 8 3 】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と少なくとも同等の K_D 値を有する。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の配列の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）またはmAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と少なくとも同等の K_D 値を有する。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と少なくとも同等の K_D 値を有する。一部の態様において、単離モノクローナル

10

20

30

40

50

抗体またはその抗原結合部分は、mAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と少なくとも同等の K_D 値を有する。

【0084】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、カニクイザルCD137および/またはマウスCD137と交差反応する。

【0085】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、およびIgE抗体からなる群から選択される。一部の態様において、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、IgG1抗体またはIgG4抗体である。

10

【0086】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体は、野生型IgG1または野生型IgG4の重鎖定常領域を含む。一部の態様において、単離モノクローナル抗体は、変異型IgG1の重鎖定常領域を含む。一部の態様において、単離モノクローナル抗体は、変異型IgG4の重鎖定常領域を含む。一部の態様において、変異型IgG4の重鎖定常領域は、Ser228で置換を含む。一部の態様において、変異型IgG4の重鎖定常領域は、S228P置換を含む。

【0087】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、CD137のエピトープに結合し、当該抗体に結合されるエピトープを含むアミノ酸残基は、本明細書に記載されるmAb1抗体のパラトープを含むアミノ酸残基の4オングストローム以内に位置する。

20

【0088】

前述の態様のいずれかにおいて、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、CD137のエピトープに結合し、当該抗体により結合されるエピトープの変異は、当該抗体およびmAb1抗体の両方に対する結合を阻害、低下または妨げる。

【0089】

前述の態様のいずれかにおいて、単離抗体またはその抗原結合部分は、完全にヒトであるか、またはヒト化されている（すなわち完全ヒト抗体もしくは完全ヒト化抗体またはそれらの抗原結合部分である）。

【0090】

一部の態様において、本開示は、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物を提供する。

30

【0091】

他の態様において、本開示は、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の、軽鎖、重鎖、または軽鎖および重鎖の両方をコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供するものである。一部の態様において、核酸は、配列番号5および7を含む。一部の態様において、核酸は、配列番号102および7を含む。一部の態様において、本開示は、本明細書に記載される核酸を含む発現ベクターを提供する。他の態様において、本開示は、本明細書に記載される発現ベクターで形質転換された細胞を提供するものである。

40

【0092】

別の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を作製する方法を提供するものであり、当該方法は、当該モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の発現が可能となる条件下で、本明細書に記載される細胞を維持する工程を含む。一部の態様において、ヒトCD137に特異的に結合するモノクローナル抗体またはその抗原結合部分を作製する方法は、当該モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を取得する工程をさらに含む。

【0093】

さらに別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137三量体の二量体化を誘導または強化する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明

50

細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。

【0094】

別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137三量体の多量体化を誘導または強化する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。

【0095】

他の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在されるT細胞活性化を誘導または強化する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。一部の態様において、T細胞活性化は、腫瘍微小環境中で発生する。他の態様において、T細胞活性化は、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない。

10

【0096】

別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在される細胞障害性T細胞応答を誘導または強化する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。一部の態様において、細胞障害性T細胞応答は、腫瘍微小環境中で発生する。他の態様において、細胞障害性T細胞応答は、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない。

20

【0097】

一部の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在されるサイトカイン産生を誘導または強化する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2、TNF、IL-13、IFN、またはそれらの組み合わせである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびTNFである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFおよびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFおよびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-13およびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2、TNFおよびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2、TNFおよびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IFN、TNFおよびIL-13である。他の態様において、サイトカイン産生は、腫瘍微小環境中で発生する。さらに他の態様において、サイトカイン産生は、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない。

30

40

【0098】

別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在されるT細胞増殖を誘導または強化する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。一部の態様において、T細胞増殖は、腫瘍微小環境中で発生する。他の態様において、T細胞増殖は、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない。

【0099】

別の態様において、本開示は、腫瘍増殖を低下または阻害する方法を提供するものであ

50

り、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。

【0100】

さらに別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在される障害を治療する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。

【0101】

一部の態様において、本開示は、対象において、癌を治療する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。一部の態様において、癌は、メラノーマ、グリオーマ、腎癌、乳癌、血液癌および頭頸部癌からなる群から選択される。一部の態様において、血液癌は、B細胞リンパ腫である。

10

【0102】

一部の態様において、本開示は、抗腫瘍メモリー免疫応答を誘導する方法を提供するものであり、当該方法は、その必要のある対象に、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または本明細書に記載される医薬組成物の有効量を投与する工程を含む。

20

【0103】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体または抗原結合部分の投与後に、腫瘍微小環境内への免疫細胞の浸潤は、増加する。一部の態様において、免疫細胞は、CD45を発現する。

【0104】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体または抗原結合部分の投与後に、腫瘍微小環境中で、T制御性(Treg)細胞の量が低下する。一部の態様において、Treg細胞は、CD4、FOXP-3およびCD24を発現する。

【0105】

前述の態様のいずれかにおいて、モノクローナル抗体または抗原結合部分の投与後に、腫瘍微小環境中で、マクロファージ細胞の量が低下する。一部の態様において、マクロファージは、CD45およびCD11bを発現する。

30

【0106】

前述の態様のいずれかにおいて、抗体または抗原結合部分の投与後に、T細胞消耗は低下する。一部の態様において、T細胞消耗の低下は、TIGIT、PD-1、LAG-3またはそれらの組み合わせの発現の減少を含む。一部の態様において、T細胞消耗の低下は、TIGITおよびPD-1の発現の減少を含む。

【0107】

前述の態様のいずれかにおいて、CD4+T細胞、CD8+T細胞、ナチュラルキラー細胞またはそれらの組み合わせの枯渇は、抗体またはその抗原結合部分の有効性を低下させる。

【0108】

40

別の態様において、本開示は、生物サンプル中のヒトCD137の存在または非存在を検出する方法を提供するものであり、当該方法は、

(a) 本明細書に記載される抗体または抗原結合部分と生物サンプルを接触させる工程であって、当該抗体または抗原結合部分は、検出可能物質で標識されている工程；および

(b) ヒトCD137に結合した抗体または抗原結合部分を検出し、それにより当該生物サンプル中のヒトCD137の存在または非存在を検出する工程、を含む。

【0109】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載される抗体もしくは抗原結合部分および任意で薬学的に許容可能な担体、または本明細書に記載される医薬組成物を含む容器、ならびにその必要のある対象における癌の治療もしくは進行遅延を目的とした、または腫瘍

50

増殖の低下もしくは阻害を目的とした抗体または医薬組成物の投与に関する説明書を含む添付文書を備えたキットを提供するものである。

【0110】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載される抗体もしくは抗原結合部分および任意で薬学的に許容可能な担体、または本明細書に記載される医薬組成物を含む容器、ならびにその必要のある対象における癌の治療もしくは進行遅延を目的とした、または腫瘍増殖の低下もしくは阻害を目的とした抗体または医薬組成物の単独投与、または別の剤との併用投与に関する説明書を含む添付文書を備えたキットを提供するものである。

【0111】

別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在されるT細胞活性化を誘導または強化するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。他の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137三量体の多量体化を誘導または強化するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在される細胞障害性T細胞応答を誘導または強化するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。他の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在されるサイトカイン産生を誘導または強化するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。別の態様において、本開示は、対象において、ヒトCD137により介在されるT細胞増殖を誘導または強化するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。

【0112】

別の態様において、本開示は、その必要のある対象において、腫瘍増殖を低下または阻害するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。他の態様において、本開示は、その必要のある対象において、ヒトCD137により介在される障害を治療するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。別の態様において、本開示は、その必要のある対象において、癌を治療するための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。

【0113】

別の態様において、本開示は、その必要のある対象において、癌を治療もしくは進行遅延させるための、または腫瘍増殖を低下もしくは阻害するための医薬の製造のための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の使用を提供するものである。他の態様において、本開示は、その必要のある対象において、癌を治療もしくは進行遅延させるための、または腫瘍増殖を低下もしくは阻害するための医薬の製造における、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供することである。別の態様において、本開示は、医薬としての使用のための、本明細書に記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供することである。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体または抗原結合部分は、約30nM～100nMのアフィニティ(K_D)でヒトCD137に結合する、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目2)

前記抗体または抗原結合部分が、配列番号3のK114を含むヒトCD137上のエピトープに結合する、項目1に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目3)

前記エピトープが、配列番号3のE111、T113およびK114残基を含む、項目2に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

10

20

30

40

50

(項目 4)

前記エピトープが、配列番号3のE111、T113、K114、N126およびI132残基を含む、請求

項2～3のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 5)

前記エピトープが、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を含む

、項目2～4のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 6)

前記エピトープが、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つ

または複数含む、項目1に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 7)

前記抗体または抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに結合する、項目1に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 8)

前記エピトープは、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する2、3、4、5、6、7

、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25個のアミノ酸残基を含む、項目7に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 9)

前記抗体または抗原結合部分は、ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに結合する、項目1に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目 10)

前記エピトープが、配列番号3のN126、I132およびP135残基を一つまたは複数さらに含む、項目9に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 11)

前記エピトープが非直線状エピトープである、項目2～10のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 12)

配列番号3のK114残基の変異が、前記抗体またはその抗原結合部分の結合を無効化する、項目2～11のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 13)

前記抗体または抗原結合部分が、約45～95nM、50～90nM、55～85nM、60～80nM、65～75nM、55～75nM、40～70nM、50～80nMまたは60～90nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する、項目1～12のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 14)

前記抗体または抗原結合部分が、ヒトCD137の細胞外ドメインの非リガンド結合領域に結合する、項目1～13のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 15)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体または抗原結合部分は：

(i) 約30～100nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する；

(ii) ヒトCD137の細胞外ドメインの非リガンド結合領域に結合する；および

(iii) 配列番号3のK114を含むヒトCD137上のエピトープに結合する、単離モノクロー

10

20

30

40

50

ナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目16)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体または抗原結合部分は：

(i) 約30～100nMのアフィニティ(K_D)でヒトCD137に結合する；

(ii) ヒトCD137とヒトCD137リガンドの間の相互作用を阻害しない；および

(iii) 配列番号3のK114を含むヒトCD137上のエピトープに結合する、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目17)

前記抗体または抗原結合部分が、CD137とCD137Lの間の相互作用を阻害しない、項目1～15のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

10

(項目18)

前記非リガンド結合領域が、システインリッチドメイン(CRD)IIIおよびCRD IVにおよぶ、項目14～15のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目19)

前記抗体または抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX(配列番号126)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、項目1～18のいずれか1項に記載の

単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

20

(項目20)

前記エピトープが、配列番号3のE111、T113、K114およびP135を含む、項目1、2、3および11～19のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目21)

前記抗体または抗原結合部分は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYYX(配列番号127)を含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、項目1～19のいずれか1項に記載の

単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目22)

前記重鎖CDR3のD95、L100、Y100E、Y100G、Y100H残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異が、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる、項目19～21のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

30

(項目23)

P97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異が

、ヒトCD137に対する結合の低下を生じさせる、項目19～22のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目24)

前記抗体または抗原結合部分が、CD137：CD137L単量体の三量体の形成を阻害しない、項目1～23のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

40

(項目25)

前記抗体または抗原結合部分は、配列番号3の111位～135位のアミノ酸残基内に位置するエピトープに結合する、項目1、13、14、17～19および21～24のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目26)

前記エピトープが非直線状エピトープである、項目25に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目27)

前記抗体または抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む、項目1～26のいずれか1項に記載の単離モノク

50

ローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 28)

前記抗体または抗原結合部分は、

(a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；ならびに

(b) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、からなる群から選択される重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、項目1～27のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

10

(項目 29)

前記抗体または抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、および前記軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列を含む、項目1～27のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 30)

前記抗体または抗原結合部分は、

(a) それぞれ配列番号4および6；ならびに

(b) それぞれ配列番号101および6、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、項目1～27のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

20

(項目 31)

前記抗体または抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、および前記軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、項目1～27のいずれか1項

に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 32)

前記抗体または抗原結合部分は、

(a) それぞれ配列番号4および6；ならびに

(b) それぞれ配列番号101および6、からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、項目1～27のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

30

(項目 33)

前記抗体または抗原結合部分は、

(a) それぞれ配列番号129および133；ならびに

(b) それぞれ配列番号131および133、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、重鎖および軽鎖を含む、項目1～27のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

40

(項目 34)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分は、

(a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(b) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

50

ならびにそれぞれ配列番号70、79および90に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（c）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号71、80および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（d）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号72、81および92に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（e）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号73、82および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（f）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号74、83および93に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（g）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号75、84および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（h）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号74、85および94に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（i）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号76、86および95に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（j）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号77、87および93に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（k）それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号69、88および90に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（l）それぞれ配列番号49、57および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（m）それぞれ配列番号49、58および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

（n）それぞれ配列番号49、59および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、

ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

10

20

30

40

50

(o) それぞれ配列番号49、60および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(p) それぞれ配列番号50、61および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(q) それぞれ配列番号50、58および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(r) それぞれ配列番号51、62および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(s) それぞれ配列番号52、63および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(t) それぞれ配列番号50、64および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(u) それぞれ配列番号50、65および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(v) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；

(w) それぞれ配列番号107、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列；
ならびに

(x) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、
ならびにそれぞれ配列番号109、110および92に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3、
からなる群から選択される重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、単離モノクローナル抗体
またはその抗原結合部分。

(項目35)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、
前記抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域は、
配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、
ならびに前記軽鎖可変領域は、配列番号6
、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、
単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目36)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって

10

20

30

40

50

て、前記抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目37)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX(配列番号126)を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、

単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目38)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDDXXYYYYYX(配列番号128)を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、

単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目39)

前記抗体または抗原結合部分は、

(a)それぞれ配列番号5および7；ならびに

(b)それぞれ配列番号102および7、からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、項目1～27のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目40)

D95、L100、Y100E、Y100G、Y100H残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異が、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる、項目37～39のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目41)

P97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異が

、ヒトCD137に対する結合の低下を生じさせる、項目37～40のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目42)

前記抗体または抗原結合部分は、

(a)それぞれ配列番号5および7；ならびに

(b)それぞれ配列番号102および7、からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し、少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列によりコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、項目1～27のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目43)

前記抗体または抗原結合部分が、それぞれ配列番号5および7に対し少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列によりコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、項目42に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目44)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分は、

(a)それぞれ配列番号5および7；

(b)それぞれ配列番号5および29；

(c)それぞれ配列番号5および31；

(d)それぞれ配列番号5および33；

(e)それぞれ配列番号5および35；

(f)それぞれ配列番号5および37；

10

20

30

40

50

(g) それぞれ配列番号5および39；
(h) それぞれ配列番号5および41；
(i) それぞれ配列番号5および43；
(j) それぞれ配列番号5および45；
(k) それぞれ配列番号5および47；
(l) それぞれ配列番号9および7；
(m) それぞれ配列番号11および7；
(n) それぞれ配列番号13および7；
(o) それぞれ配列番号15および7；
(p) それぞれ配列番号17および7；
(q) それぞれ配列番号19および7；
(r) それぞれ配列番号21および7；
(s) それぞれ配列番号23および7；
(t) それぞれ配列番号25および7；
(u) それぞれ配列番号27および7；
(v) それぞれ配列番号102および7；
(w) それぞれ配列番号104および7；ならびに
(x) それぞれ配列番号5および106、からなる群から選択されるヌクレオチド配列により
コードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体またはそ
の抗原結合部分。

10

20

(項目45)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であっ
て、前記抗体またはその抗原結合部分は、

(a) それぞれ配列番号4および6；
(b) それぞれ配列番号4および28；
(c) それぞれ配列番号4および30；
(d) それぞれ配列番号4および32；
(e) それぞれ配列番号4および34；
(f) それぞれ配列番号4および36；
(g) それぞれ配列番号4および38；
(h) それぞれ配列番号4および40；
(i) それぞれ配列番号4および42；
(j) それぞれ配列番号4および44；
(k) それぞれ配列番号4および46；
(l) それぞれ配列番号8および6；
(m) それぞれ配列番号10および6；
(n) それぞれ配列番号12および6；
(o) それぞれ配列番号14および6；
(p) それぞれ配列番号16および6；
(q) それぞれ配列番号18および6；
(r) それぞれ配列番号20および6；
(s) それぞれ配列番号22および6；
(t) それぞれ配列番号24および6；
(u) それぞれ配列番号26および6；
(v) それぞれ配列番号101および6；
(w) それぞれ配列番号103および6；ならびに

30

40

(x) それぞれ配列番号4および105、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重
鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目46)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であっ

50

て、前記抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域は、配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を

含み、ならびに前記軽鎖可変領域は、配列番号6、28、30、32、34、36、38、40、42、44

、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目47)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分は、

- (a) それぞれ配列番号4および6；
- (b) それぞれ配列番号4および28；
- (c) それぞれ配列番号4および30；
- (d) それぞれ配列番号4および32；
- (e) それぞれ配列番号4および34；
- (f) それぞれ配列番号4および36；
- (g) それぞれ配列番号4および38；
- (h) それぞれ配列番号4および40；
- (i) それぞれ配列番号4および42；
- (j) それぞれ配列番号4および44；
- (k) それぞれ配列番号4および46；
- (l) それぞれ配列番号8および6；
- (m) それぞれ配列番号10および6；
- (n) それぞれ配列番号12および6；
- (o) それぞれ配列番号14および6；
- (p) それぞれ配列番号16および6；
- (q) それぞれ配列番号18および6；
- (r) それぞれ配列番号20および6；
- (s) それぞれ配列番号22および6；
- (t) それぞれ配列番号24および6；
- (u) それぞれ配列番号26および6；
- (v) それぞれ配列番号101および6；
- (w) それぞれ配列番号103および6；ならびに

(x) それぞれ配列番号4および105、からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目48)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分は、

- (a) それぞれ配列番号129および133；ならびに
- (b) それぞれ配列番号131および133、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖配列および軽鎖配列を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目49)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分はそれぞれ、配列番号129および133に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖配列および軽鎖配列を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目50)

ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって

10

20

30

40

50

て、前記抗体またはその抗原結合部分はそれぞれ、配列番号131および133に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖配列および軽鎖配列を含む、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目51)

前記抗体または抗原結合部分が、ヒトCD137に特異的に結合し、アゴナイズする、請求項1～50のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目52)

前記抗体または抗原結合部分は、

(a) CD137三量体の二量体化の誘導または強化；

(b) CD137三量体の多量体化の誘導または強化；

(c) T細胞活性化の誘導または強化；

(d) 細胞障害性T細胞応答の誘導または強化；

(e) T細胞増殖の誘導または強化；

(f) 免疫細胞のサイトカイン産生の誘導または強化；および

(g) 特性(a)～(f)の任意の組み合わせ、からなる群から選択される特性の内の少なくとも一つまたは複数を呈する、項目1～51のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目53)

前記抗体または抗原結合部分は、ヒトCD137に結合する参照抗体と比較して、

(a) 肝臓内T細胞活性化の誘導または強化をしない；

(b) 肝臓内T細胞増殖の誘導または強化をしない；

(c) 脾臓内T細胞活性化の誘導または強化をしない；

(d) 脾臓内T細胞増殖の誘導または強化をしない；

(e) マクロファージ活性化の誘導または強化をしない；

(f) マクロファージ分化の誘導または強化をしない；

(g) アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性の誘導または強化をしない；および

(h) 特性(a)～(g)の任意の組み合わせ、からなる群から選択される特性の内の少なくとも一つまたは複数を呈する、項目1～52のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目54)

前記参照抗体が、ウレルマブである、項目53に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目55)

前記抗体または抗原結合部分の特性が、Fc受容体結合に依存性ではない、項目52～54のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目56)

前記抗体または抗原結合部分の特性が、Fc受容体結合により強化される、項目52～54のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目57)

前記抗体または抗原結合部分が、カニクイザルのCD137、マウスのCD137、またはその両方と交差反応する、項目1～56のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目58)

前記抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、およびIgE抗体からなる群から選択される、項目1～47および51～57のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目59)

前記抗体は、IgG1抗体またはIgG4抗体である、項目58に記載の単離モノクローナル抗

10

20

30

40

50

体または抗原結合部分。

(項目60)

前記抗体は、野生型ヒトIgG1または野生型ヒトIgG4の重鎖定常領域を含む、項目1～47および51～57のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目61)

前記抗体は、変異型IgG1重鎖定常領域を含む、項目1～47および51～57のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目62)

前記抗体は、変異型IgG4重鎖定常領域を含む、項目1～47および51～57のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目63)

前記変異型IgG4重鎖定常領域は、Ser228で置換を含む、項目62に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目64)

前記変異型IgG4重鎖定常領域は、S228P置換を含む、項目63に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

(項目65)

項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

(項目66)

項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分の、軽鎖、重鎖、または軽鎖および重鎖の両方をコードするヌクレオチド配列を含む核酸。

(項目67)

項目66に記載の核酸を含む発現ベクター。

(項目68)

項目67に記載の発現ベクターで形質転換された細胞。

(項目69)

ヒトCD137に特異的に結合するモノクローナル抗体またはその抗原結合部分を作製する方法であって、前記モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の発現が可能となる条件下で、項目68に記載の細胞を維持することを含む、方法。

(項目70)

前記モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を取得することをさらに含む、項目69に記載の方法。

(項目71)

対象において、ヒトCD137三量体の二量体化を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目72)

対象において、ヒトCD137三量体の多量体化を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目73)

対象において、T細胞活性化を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目74)

前記T細胞活性化が、腫瘍微小環境において発生する、項目73に記載の方法。

(項目75)

対象において、細胞障害性T細胞応答を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結

10

20

30

40

50

合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目76)

前記細胞障害性T細胞応答が、腫瘍微小環境において発生する、項目75に記載の方法。

(項目77)

対象において、免疫細胞のサイトカイン産生を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目78)

産生されるサイトカインが、IL-2、TNF、IL-13、IFN、またはそれらの組み合わせである、項目77に記載の方法。

(項目79)

前記サイトカイン産生が、腫瘍微小環境において発生する、項目77または項目78に記載の方法。

(項目80)

対象において、T細胞増殖を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目81)

前記T細胞増殖が、腫瘍微小環境において発生する、項目80に記載の方法。

(項目82)

腫瘍増殖を低下または阻害する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目83)

対象において、ヒトCD137により介在される障害を治療する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目84)

対象において、癌を治療する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

(項目85)

前記単離モノクローナル抗体または抗原結合部分の投与後に、腫瘍微小環境内への免疫細胞の浸潤が増加する、項目82～84のいずれか1項に記載の方法。

(項目86)

前記免疫細胞が、CD45を発現する、項目85に記載の方法。

(項目87)

前記単離モノクローナル抗体または抗原結合部分の投与後に、腫瘍微小環境中のT制御性(Treg)細胞の量が減少する、項目82～86のいずれか1項に記載の方法。

(項目88)

前記Treg細胞が、CD4、FOXP-3、およびCD25を発現する、項目87に記載の方法。

(項目89)

前記単離モノクローナル抗体または抗原結合部分の投与後に、腫瘍微小環境中のマクロファージの量が減少する、項目82～88のいずれか1項に記載の方法。

(項目90)

前記マクロファージが、CD45およびCD11bを発現する、項目89に記載の方法。

(項目91)

前記単離モノクローナル抗体または抗原結合部分の投与後に、腫瘍微小環境中のT細胞消耗が低下する、項目82～90のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 9 2)

T細胞消耗の低下は、TIGIT、PD-1、LAG-3またはそれらの組み合わせの発現の減少を含む、項目91に記載の方法。

(項目 9 3)

前記癌は、メラノーマ、グリオーマ、腎癌、乳癌、血液癌および頭頸部癌からなる群から選択される、項目84～92のいずれか1項に記載の方法。

(項目 9 4)

前記血液癌が、B細胞リンパ腫である、項目83に記載の方法。

(項目 9 5)

抗腫瘍メモリー免疫応答を誘導する方法であって、その必要のある対象に、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、または項目65に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含む、方法。

10

(項目 9 6)

前記抗体または抗原結合部分が、Fcガンマ受容体に結合する、項目71～95のいずれか1項に記載の方法。

(項目 9 7)

CD4+T細胞、CD8+T細胞、ナチュラルキラー細胞またはそれらの組み合わせの枯渇が、前記抗体またはその抗原結合部分の有効性を低下させる、項目82～95のいずれか1項に記載の方法。

(項目 9 8)

生物サンプル中のヒトCD137の存在または非存在を検出する方法であって、

20

(i) 項目1～64のいずれか1項に記載の抗体または抗原結合部分と生物サンプルを接触させることであって、前記抗体または抗原結合部分は、検出可能物質で標識されている、接触させること；および

(ii) ヒトCD137に結合した前記抗体または抗原結合部分を検出し、それにより前記生物サンプル中のヒトCD137の存在または非存在を検出すること、を含む、方法。

(項目 9 9)

項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、および任意で薬学的に許容可能な担体、または項目65に記載の医薬組成物、を含む容器、ならびにその必要のある対象における癌の治療もしくは進行遅延を目的とした、または腫瘍増殖の低下もしくは阻害を目的とした前記抗体または医薬組成物の投与に関する説明書を含む添付文書を備えたキット。

30

(項目 1 0 0)

項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体もしくは抗原結合部分、および任意で薬学的に許容可能な担体、または項目65に記載の医薬組成物、を含む容器、ならびにその必要のある対象における癌の治療もしくは進行遅延を目的とした、または腫瘍増殖の低下もしくは阻害を目的とした前記抗体または医薬組成物の単独投与、または別の剤との併用投与に関する説明書を含む添付文書を備えたキット。

(項目 1 0 1)

その必要のある対象において、癌を治療もしくは進行遅延させるための、または腫瘍増殖を低下もしくは阻害するための医薬の製造のための、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分の使用。

40

(項目 1 0 2)

その必要のある対象において、癌を治療もしくは進行遅延させるための、または腫瘍増殖を低下もしくは阻害するための医薬の製造における、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

(項目 1 0 3)

医薬としての使用のための、項目1～64のいずれか1項に記載の単離モノクローナル抗体または抗原結合部分。

【図面の簡単な説明】

50

【 0 1 1 4 】

【図 1】図 1 親抗CD137抗体のmAb1のアフィニティ成熟クローンに関する、結合アフィニティ分布を示すグラフを提示する。

【図 2】図 2 ヒトまたはマウスのCD137に対する結合アフィニティ (K_D) により測定される、mAb1 CDRH3アラニンスキャニングの結果を示す概略図を提示する。

【図 3 A】図 3A ヒトCD137のアミノ酸配列を示すものであり、mAb1、mAb4またはmAb5に結合されるエピトープを含む残基は太字で示されている。

【図 3 B】図 3B 表面プラズモン共鳴により決定される、マウスおよびラットのCD137の細胞外ドメインに対する、mAb1の動的結合データを示すグラフである。

【図 3 C】図 3C CD137L (灰色で示される) に結合されるヒトCD137のX線結晶構造解析画像。E111、T113、K114およびP135残基は丸で示されている。

10

【図 3 D】図 3D 三量体を形成したCD137L (灰色で示される) に結合されるヒトCD137のX線結晶構造解析画像。E111、T113、K114およびP135残基は丸で示されている。

【図 4 - 1】図 4A 抗CD137抗体に応答したCD44+T細胞上のTIGIT (上) またはPD-1 (下) の発現における増加を示すフローサイトメトリーデータの散乱プロットを提示する。

【図 4 - 2】図 4B 抗CD137抗体で治療した後のマウス脾臓中のTIGIT (上) またはPD-1 (下) を発現するCD8+CD44+T細胞の定量を示すグラフを提示する。図 4C 抗CD137抗体で治療した後のマウス脾臓中のCD8+T細胞の、CD45+細胞の割合 (左) または脾臓当たりの細胞数 (右) としての定量を示すグラフを提示する。

【図 5 - 1】図 5A 指定用量の抗CD137抗体で治療された後のマウスにおける、個々のCT26腫瘍体積を示すグラフを提示する。

20

【図 5 - 2】図 5B 図 5A で提示される平均腫瘍体積を示すグラフである。図 5C 抗CD137抗体で治療した後の、腫瘍を有するマウスの全生存を示す Kaplan-Meier グラフである。図 5D 腫瘍形成性CT26細胞で再チャレンジされたマウスにおける腫瘍体積を示すグラフである。

【図 6 A】図 6A 親およびアフィニティ成熟された抗CD137抗体で治療された後のマウスにおける、個々のCT26腫瘍体積を示すグラフを提示する。

【図 6 B】図 6B 図 6A で提示される平均腫瘍体積を示すグラフである。

【図 7】図 7 指定用量で抗CD137抗体を用いて治療した後の、脾臓T細胞 (上) および腫瘍浸潤性白血球 (下) からのCD8+T細胞またはCD4+T細胞の百分率を示すグラフを提示する。

30

【図 8】図 8 リンパ球枯渇抗体を用いて、または用いずに、mAb1でマウスを治療したときの個々の腫瘍体積を示すグラフを提示する。CD4+T細胞は、GK1.5 (真ん中のグラフ) で枯渇された。CD8+T細胞は、YTS169.4 (右から二番目のグラフ) で枯渇された。NK細胞は、抗アシアロ-GM1抗体 (一番右のグラフ) で枯渇された。

【図 9】図 9 CT26腫瘍 (結腸癌)、EMT-6腫瘍 (乳癌)、A20腫瘍 (B細胞リンパ腫)、またはMC38腫瘍 (結腸癌) のいずれかを有し、mAb8またはアイソタイプ対照抗体で治療されたマウスの個々の腫瘍体積を示すグラフを提示する。

【図 10】図 10A ~ 10C 150 μ g / マウスで投与された抗CD137抗体のインビボ抗腫瘍有効性を示す。個々の腫瘍体積は10Aに示される。平均腫瘍体積は10Bに示される。生存割合は10Cに示される。

40

【図 11】図 11A ~ 11C 20 μ g / マウスで投与された抗CD137抗体のインビボ抗腫瘍有効性を示す。個々の腫瘍体積は11Aに示される。平均腫瘍体積は11Bに示される。生存割合は11Cに示される。

【図 12】図 12 CT26腫瘍を有し、様々な投与量のmAb1 (すなわち、12.5、25、50、100または200 μ g) またはアイソタイプ対照で治療されたマウスにおける、個々の腫瘍体積を示すグラフを提示する。

【図 13 A】図 13A および 13B mAb1の抗腫瘍有効性における、Fc結合の寄与を示す。

図 13A IgG4アイソタイプまたはIgG4非グリコシル化アイソタイプとしてのmAb1を示す。平均腫瘍体積は上に示し、個々の腫瘍体積は下に示す。図 13B IgG4アイソタイプまた

50

はIgG1非グリコシル化アイソタイプとしてのmAb1を示す。平均腫瘍体積は上に示し、個々の腫瘍体積は下に示す。

【図13B】同上。

【図14-1】図14A~14D 治療を受ける前に大型で確立された腫瘍（すなわち500mm³）を有するマウスにおける、抗CD137抗体のインビボ抗腫瘍有効性を示す。個々の腫瘍体積は14Aおよび14Dに示される。平均腫瘍体積は14Bに示される。生存割合は14Cに示される。

【図14-2】同上。

【図15】図15 図14A~14CからのmAb1、mAb8またはアイソタイプ対照で過去に治療および治癒したとみなされ、反対側の脇腹にCT26細胞で再チャレンジされたマウスにおける、防御的抗腫瘍免疫を示す Kaplan-Meier 生存グラフを提示する。

10

【図16A】図16A 指定用量での抗CD137抗体を用いた治療後のCD45+肝内T細胞拡張を示すフローサイトメトリーデータの散乱プロットを提示する。

【図16B】図16B 指定用量での抗CD137抗体を用いた治療後の、肝内CD8+T細胞（左）およびCD4+T細胞（右）の定量を示すグラフを提示する。

【図17A】図17A アフィニティ成熟させた抗CD137抗体を用いたマウス治療後の、脾臓T細胞からのCD3+、CD4+またはCD8+T細胞の百分率を示すグラフを提示する。

【図17B】図17B アフィニティ成熟させた抗CD137抗体を用いたマウス治療後の、肝臓T細胞からのCD3+、CD4+またはCD8+T細胞の百分率を示すグラフを提示する。

【図18A】図18A アフィニティ成熟させた抗CD137抗体を用いたマウス治療後の、TIGIT、PD-1またはLAG3を発現する脾臓CD8+CD44+T細胞の百分率を示すグラフを提示する。

20

【図18B】図18B アフィニティ成熟させた抗CD137抗体を用いたマウス治療後の、TIGIT、PD-1またはLAG3を発現する肝臓CD8+CD44+T細胞の百分率を示すグラフを提示する。

【図19A】図19A アフィニティ成熟させた抗CD137抗体を用いたマウス治療後の、TIGIT、PD-1またはLAG3を発現する脾臓CD4+CD44+T細胞の百分率を示すグラフを提示する。

【図19B】図19B アフィニティ成熟させた抗CD137抗体を用いたマウス治療後の、TIGIT、PD-1またはLAG3を発現する肝臓CD4+CD44+T細胞の百分率を示すグラフを提示する。

30

【図20-1】図20A~20C 様々な投与量での抗CD137抗体のmAb1、mAb8または3H3の複数回投与から生じるインビボ毒性指標のグラフを示す。図20A 抗CD137抗体の投与後の肝臓中のCD8+T細胞の百分率を示すグラフである。図20B 抗CD137抗体を投与されたマウスの血漿中のアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）活性を示すグラフである。図20C 抗CD137抗体を投与されたマウスの血漿中のTNF レベルを示すグラフである。

【図20-2】同上。

【図21】図21 図20A~20Cに記載されるmAb1、mAb8、3H3またはアイソタイプ対照で治療されたマウスのヘマトキシリンおよびエオジン（H&E）で染色された肝臓切片の代表的画像を提示する。矢印は免疫細胞の浸潤を示す。

40

【図22-1】図22A~22D 腫瘍微小環境中の免疫細胞の再プログラミングを示す代表的なFACSプロットを提示する。CT26腫瘍を有するマウスに、mAb8またはアイソタイプ対照の複数投与量を投与した（0、3、6および9日目）。図22A CD45発現に基づく全体的な免疫細胞浸潤を示す。図22B FOXP-3およびCD25の発現により測定された、Treg細胞の低下を示す。図22C PD-1およびTIGIT発現により測定された、T細胞消耗の低下を示す。図22D F4/80およびCD11bの発現により測定された、腫瘍関連マクロファージの低下を示す。

【図22-2】同上。

【図23】図23 CT26腫瘍を有し、抗CD137抗体のmAb1および3H3またはアイソタイ

50

ブ対照のいずれかで治療されたマウスの脾臓の免疫表現型分析を示す。

【図24】図24 OVA刺激アッセイにおいて、指定される抗CD137抗体で刺激されたときのマウスT細胞により産生されたIL-2 (pg/ml) の濃度を示すグラフである。アテゾリズマブ (Atezolizumab) (抗PD-L1抗体) とともにマウス抗PD-1 (RMP1-14) を比較物質として使用した。

【図25】図25Aおよび25B OVA刺激アッセイにおいて、指定される抗CD137抗体で刺激されたときのCD25 (25A) またはTIGIT (25B) のいずれかを発現するマウスCD8+T細胞の百分率を示すグラフである。アテゾリズマブ (Atezolizumab) (抗PD-L1抗体) とともにマウス抗PD-1 (RMP1-14) およびマウス抗CD137 (3H3) を比較物質として使用した。

10

【図26】図26 プレートに結合した抗CD137抗体とのインキュベーション後の、CD3+T細胞によって産生されたサイトカイン (IL-2、TNF、IL-13およびIFN) の定量を示す棒グラフを提示する。サイトカインレベルは、抗CD3抗体による基準活性化を越える倍数増加として示されている。

【図27-1】図27A~27C 抗CD137抗体を用いた治療後の、混合リンパ球応答におけるIFN産生の用量応答性を示すグラフを提示する。抗PD1抗体 (キイトルーダ (Keytruda) ; Merck社) を対照として使用した。

【図27-2】同上。

【図28】図28 抗CD137抗体のmAb1、mAb8、mAb4もしくはmAb5、またはアイソタイプ対照の存在下における、CD32を発現するよう操作されたCHO細胞 (CHO-CD32細胞) と共培養されたヒトT細胞からのIFN産生を示すグラフである。

20

【図29】図29 抗CD137抗体のmAb1、mAb8、mAb4もしくはmAb5、アイソタイプ対照の存在下、または非存在下における、CD32を発現するよう操作されたCHO細胞 (CHO-CD32細胞) と共培養されたTreg細胞の増殖を示すグラフである。

【図30】図30 様々な濃度のmAb1、mAb8、mAb4またはmAb5の存在下における、NFまたはSRFに対するルシフェラーゼレポーターを用いて形質導入されたCCL-119細胞のNFおよびSRFシグナル伝達を示すグラフを提示する。

【図31】図31 抗CD137抗体のmAb1、3H3もしくはLOB12.3またはアイソタイプ対照の存在下における、TLR9アゴニストのCpGを用いて刺激された骨髄由来マウスマクロファージによるIL-6、TNFまたはIL-27の誘導を示すグラフを提示する。

30

【図32】図32 抗CD137抗体のmAb1、mAb4もしくはmAb5またはアイソタイプ対照の存在下における、LPSを用いて刺激されたヒト単球由来マウスマクロファージによるTNFの誘導を示すグラフを提示する。

【図33】図33 抗CD137抗体のmAb1、mAb4もしくはmAb5またはアイソタイプ対照の存在下における、PMAとともに培養されたTHP1単球のCD64発現により決定される、マクロファージ分化に対する抗CD137抗体の効果を提示する。

【図34】図34A~34C ヒトPBMCと、抗CD137抗体のmAb1、mAb4もしくはmAb5またはアイソタイプ対照を投与された免疫能力のあるマウスのhCD45+、hCD8+またはhCD4+の百分率を示すグラフを提示する。

【発明を実施するための形態】

40

【0115】

アゴニスト性の抗CD137抗体を用いた癌治療は、マウスにおいて免疫介在性の腫瘍拒絶を誘導することが示されており、現在、このタイプのアナログ剤が癌患者において検証されている。過去の報告において、抗CD137抗体の投与により、肝臓においてポリクローナルなTリンパ球浸潤の著しい蓄積が誘導され得ることが示されており (Dubrot et al., (2010) Cancer Immunology, Immunotherapy 59(8):1223-1233)、このことから肝臓の炎症と薬剤誘導性の肝毒性の可能性が示唆されている。アゴニスト性抗CD137抗体の臨床評価に関する最近の報告 (ウレルマブ (Urelumab)、BMS-663513; Bristol-Myers Squibb社) では、ヒト対象において、抗体投与量と相関する重度の肝毒性 (高トランスアミナーゼ血症) の兆候を含む治療関連有害事象が観察されたことが報告されてい

50

る(Segal et al., (2016) Clin Cancer Res 23(8):1929-1936)。

【0116】

本開示は、ヒトCD137のエピトープに特異的に結合し、ヒトCD137にアゴナイズする単離モノクローナル抗体、またはその抗原結合部分を提供する。一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合部分は、ヒトCD137のエピトープへの結合に関し、mAb1と競合する。一部の態様において、本開示の抗CD137アゴニスト性抗体は、抗マウスCD137 3H3抗体 (Melero et al. (1997) Nature Medicine 3(6):682-685; Uno et al. (2006) Nature Medicine 12(6):693-696) および臨床開発中の少なくとも2種の抗ヒトCD137抗体 (BMS-663513/Urelumab、Bristol-Meyers Squibb社およびPF-05082566/Utomilumab、Pfizer社) と比較して、腫瘍微小環境中でのサイトカイン産生とCD8+T細胞の拡張、ならびにインビボでの防御的抗腫瘍免疫を誘導すると同時に毒性関連事象の可能性を低下させる。

10

【0117】

定義

請求の範囲および明細書において使用される用語は、別段の特定が無い限り、以下に記載されるように定義される。

【0118】

明細書および添付の請求の範囲において使用される場合、文脈から別段であることが明白でない限り、単数形 (a、anおよびthe) は複数の指示対象も含むことに注意されたい。さらに文脈により別段であることを要しない限り、単数形の実語は複数を含み、複数形は単数を含むものとする。

20

【0119】

本明細書で使用される場合、「約」は当業者によって理解され、使用される文脈に応じた程度まで変化する。使用される文脈を与えられた当業者に明白ではない用語が使用される場合、「約」は特定の値の最大プラスマイナス10%を意味する。

【0120】

本明細書において使用される場合、「アゴニスト」という用語は、本明細書に開示される天然ポリペプチド (例えばCD137) の生物活性を部分的に、もしくは完全に促進する、誘導する、上昇させる、および/または活性化する任意の分子を指す。適切なアゴニスト性分子としては特に、アゴニスト性抗体または抗体断片、天然ポリペプチド、ペプチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、低分子などの断片またはアミノ酸配列バリエーションが挙げられる。一部の実施形態において、アゴニストの存在下での活性化は、用量依存性の様式で観察される。一部の実施形態において、測定されるシグナル (例えば生物活性) は、同等条件下で陰性対照を用いて測定されるシグナルよりも少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約100%高い。さらに本明細書において、本開示方法における使用に適したアゴニストを特定する方法も開示される。例えばこれらの方法には、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA)、Forte Bio (c) システムおよび放射性免疫アッセイ (RIA) などの結合アッセイが挙げられるが、これらに限定されない。これらのアッセイは、対象のポリペプチド (例えば受容体またはリガンド、例えばCD137) に結合するアゴニストの能力を決定する。したがって、ポリペプチドの活性を促進、上昇または活性化するアゴニストの能力を示すものである。アゴニストの有効性、例えばポリペプチドの機能を活性化または促進するアゴニストの能力なども、機能的アッセイを使用して決定することができる。例えば機能的アッセイは、ポリペプチドと候補アゴニスト分子を接触させ、ポリペプチドと通常に関連する一つまたは複数の生物活性における検出可能な変化を測定することを含んでもよい。アゴニストの効能は通常、そのEC₅₀値 (アゴニスト応答の50%を活性化するために必要とされる濃度) により規定される。EC₅₀値が低くなれば、そのアゴニストの効能は高く

30

40

50

なり、そして最大生物応答を活性化するために必要とされる濃度も低くなる。

【0121】

本明細書において使用される場合、「アラニンスキヤニング」という用語は、特定の野生型残基の、所与のタンパク質もしくはポリペプチドの安定性または機能（例えば結合アフィニティなど）への寄与を決定するために使用される技術を指す。この技術には、ポリペプチド中の野生型残基とアラニン残基の置換、次いでアラニン置換された誘導体もしくは変異体ポリペプチドの安定性または機能（例えば結合アフィニティなど）の評価、そしてその野生型ポリペプチドとの比較が含まれる。ポリペプチド中の野生型残基とアラニンを置換するための技術は当分野に公知である。

【0122】

「改善する」という用語は、例えば癌をはじめとする疾患状態の治療における、予防、重大性もしくは進行の減弱、寛解または治癒を含む、任意の治療的に有益な結果を指す。

【0123】

本明細書において使用される場合、「アミノ酸」という用語は、天然アミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然アミノ酸と類似した様式で機能するアミノ酸アナログおよびアミノ酸模倣体を指す。天然アミノ酸は、遺伝子コードによりコードされるアミノ酸、ならびに例えばヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタミン酸塩、およびO-ホスホセリンなどの後に修飾されるアミノ酸である。アミノ酸アナログとは、天然アミノ酸と同じ基礎化学構造、すなわち水素、カルボキシル基、アミノ基およびR基に結合される炭素、を有する化合物を指し、例えばホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムが挙げられる。そのようなアナログは、修飾R基を有し（例えばノルロイシン）、または修飾ペプチド主鎖を有しているが、天然アミノ酸と同じ基礎化学構造を保持している。アミノ酸模倣体は、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然のアミノ酸と類似した様式で機能する化合物を指す。

【0124】

アミノ酸は、それらの一般的に知られている3文字の記号、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかによって、本明細書において呼称され得る。同様にヌクレオチドも、それらの一般的に受け入れられている1文字コードにより呼称され得る。本明細書において使用される場合、「極性アミノ酸」とは、水性環境に優先的に存在する側鎖を含むアミノ酸を指す。一部の実施形態において、極性アミノ酸は、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、リシン、セリン、スレオニンおよびチロシンからなる群から選択される。極性アミノ酸は、正電荷、負電荷または中性電荷であり得る。本明細書において使用される場合、「非極性アミノ酸」とは、アラニン、システイン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファンおよびバリンからなる群から選択されるアミノ酸を指す。

【0125】

本明細書において使用される場合、「アミノ酸置換」とは、規定のアミノ酸配列（開始ポリペプチドのアミノ酸配列）中の少なくとも一つの既存のアミノ酸残基と、第二の異なる「置換」アミノ酸残基の置換を指す。「アミノ酸挿入」とは、少なくとも一つの追加アミノ酸を規定のアミノ酸配列に組み込むことを指す。挿入は通常、1個または2個のアミノ酸残基の挿入からなるが、より大きな「ペプチド挿入」も行うことができる。例えば約3～約5個、またはさらには最大で約10、15、または20個のアミノ酸残基の挿入を行うこともできる。挿入された残基は、上述の天然または非天然の残基であってもよい。「アミノ酸の欠失」とは、規定のアミノ酸配列から少なくとも一つのアミノ酸残基を除去することを指す。

【0126】

本明細書において使用される場合、「量」または「レベル」という用語は、物質の検出可能な数量、レベル、または存在量を指す。本明細書に記載されるものなどのポリペプチドに対する言及の場合、「発現のレベル」または「発現レベル」という用語は概して相互

10

20

30

40

50

交換可能に使用され、そして概して生物サンプル中の（例えば細胞表面上の）ポリペプチドの検出可能な量を指す。

【0127】

本明細書において使用される場合、「抗CD137アゴニスト性抗体」という用語（「抗CD137抗体」という用語と相互交換可能に使用される）は、CD137に特異的に結合する抗体を指し、そしてCD137の生物活性、応答および／もしくはCD137のシグナル伝達により介在される下流経路、または他のCD137介在性の機能を部分的に、または完全に促進、誘導、上昇および／または活性化する抗体を指す。一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137に結合し、CD137Lの結合を可能にする。一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137に結合し、CD137の多量体化を誘導する。一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137に結合し、CD137三量体の二量体化を誘導する。一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137に結合し、CD137三量体の多量体化を誘導する。抗CD137アゴニスト性抗体の例は、本明細書に提示される。三量体：三量体の複合体の形成を検出する方法は、当業者に公知である。例えば電子顕微鏡はそのような複合体を検出することが示されている。例えば、Won, E. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 285 (12): 9202-9210 (2010)を参照のこと。

10

【0128】

本明細書において使用される場合、「抗CD137mAb1」という用語（「mAb1」と相互交換可能に使用される）は、以下の可変重鎖（V_H）アミノ酸配列：

20

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY
ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYYMDVWGKG
TTVTVSS(配列番号4)、

および以下の可変軽鎖（V_L）アミノ酸配列：

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIK(配列番号6)を含む例示的な抗CD137アゴニスト性抗体を指す。

【0129】

本明細書において使用される場合、「抗CD137mAb8」という用語（「mAb8」と相互交換可能に使用される）は、以下の可変重鎖（V_H）アミノ酸配列：

30

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTTY
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYYMDVWGKG
GTTVTVSS(配列番号101)、

および以下の可変軽鎖（V_L）アミノ酸配列：

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIK(配列番号6)を含む例示的な抗CD137アゴニスト性抗体を指す。

【0130】

本明細書において使用される場合、「抗CD137mAb10」という用語（「mAb10」と相互交換可能に使用される）は、以下の可変重鎖（V_H）アミノ酸配列：

40

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDSTY
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYYMDVWGKG
GTTVTVSS(配列番号26)、

および以下の可変軽鎖（V_L）アミノ酸配列：

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIK(配列番号6)を含む例示的な抗CD137アゴニスト性抗体を指す。

【0131】

本明細書において使用される場合、「抗体」という用語は、二つの軽鎖ポリペプチドおよび二つの重鎖ポリペプチドを含む全抗体を指す。全抗体は、IgM、IgG、IgA、IgDおよ

50

びIgE抗体を含む様々な抗体アイソタイプを含む。「抗体」という用語は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ化またはキメラ抗体、ヒト化抗体、霊長類化抗体、脱免疫化 (deimmunized) 抗体、および完全ヒト抗体を含む。抗体は、様々な種のいずれか、例えばヒト、非ヒト霊長類 (例えばオランウータン、ヒヒまたはチンパンジー)、ウマ、ネコ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、スナネズミ、ハムスター、ラットおよびマウスなどの哺乳動物において作製されてもよく、またはそれらから誘導されてもよい。抗体は、精製抗体または組み換え抗体であってもよい。

【0132】

本明細書において使用される場合、「抗体断片」、「抗原結合断片」、「抗原結合部分」という用語、またはこれに類似の用語は、標的抗原 (例えば、CD137) に結合する能力を保持し、標的抗原の活性を阻害する抗体の断片を指す。そのような断片には、例えば、一本鎖抗体、一本鎖Fv断片 (scFv)、Fd断片、Fab断片、Fab'断片、またはF(ab')₂断片が含まれる。scFv断片は、当該scFvが由来する抗体の重鎖可変領域と軽鎖可変領域の両方を含む単一のポリペプチド鎖である。さらにイントラボディ、ミニボディ、トリアボディおよびダイアボディも抗体の定義に含まれ、本明細書に記載される方法における使用に適している。例えば、Todorovska et al., (2001) J. Immunol. Methods 248(1): 47-66; Hudson and Kortt, (1999) J. Immunol. Methods 231(1):177-189; Poljak, (1994) Structure 2(12):1121-1123; Rondon and Marasco, (1997) Annu. Rev. Microbiol. 51:257-283を参照のこと。それら各開示文献は、参照によりその全体で本明細書に組み込まれる。

【0133】

本明細書において使用される場合、「抗体断片」という用語は、例えばラクダ化単ドメイン抗体などの単ドメイン抗体も含む。例えば、Muyldermans et al., (2001) Trends Biochem. Sci. 26:230-235; Nuttall et al., (2000) Curr. Pharm. Biotech. 1:253-263; Reichmann et al., (1999) J. Immunol. Meth. 231:25-38; PCT国際特許出願公開 WO 94/04678およびWO 94/25591、ならびに米国特許第6,005,079号を参照のこと。これらすべて、参照によりその全体で本明細書に組み込まれる。一部の実施形態において、本開示は、単ドメイン抗体が形成される修飾を伴う二つのVHドメインを含む単ドメイン抗体を提供する。

【0134】

一部の実施形態において、抗原結合断片は、重鎖ポリペプチドの可変領域と、軽鎖ポリペプチドの可変領域を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗原結合断片は、抗体の軽鎖ポリペプチドおよび重鎖ポリペプチドのCDRを含む。

【0135】

「抗原提示細胞」または「APC」という用語は、その表面上でMHCと複合体化された外来性抗原を提示する細胞である。T細胞は、T細胞受容体 (TCR) を使用してこの複合体を認識する。APCの例としては、樹状細胞 (DC)、末梢血単核細胞 (PBMC)、単球 (例えばTHP-1)、Bリンパ芽球様細胞 (例えばC1R.A2、1518 B-LCL) および単球由来樹状細胞 (DC) が挙げられるがこれらに限定されない。一部のAPCは、ファゴサイトーシスまたは受容体介在性のエンドサイトーシスのいずれかにより抗原を内部移行させる。

【0136】

「抗原提示」という用語は、APCが抗原を捕捉し、例えばMHC-Iおよび/またはMHC-II結合体の構成要素として、T細胞に抗原を認識させるプロセスを指す。

【0137】

本明細書において使用される場合、「アポトーシス」という用語は、多細胞生物 (例えばヒト) において発生するプログラム化細胞死のプロセスを指す。高度に制御された生化学的および分子的な事象がアポトーシスを生じさせ、膜ブレブ形成、細胞体積縮小、染色体DNAの圧縮および断片化、ならびにmRNA崩壊をはじめとする、観察可能で特徴的な形態変化を細胞にもたらし得る。アポトーシスを経ているT細胞をはじめとする細胞を特定するための一般的な方法は、細胞をフルオロフォア結合タンパク質 (AnnexinV) に暴露

することである。AnnexinVは、細胞膜の外葉上のホスファチジルセリンに結合するその能力によって、アポトーシス細胞を検出するために普遍的に使用されており、細胞がアポトーシスのプロセスを経ていることの早期の指標となる。

【0138】

本明細書において使用される場合、「固定されたCD137に結合する」という用語は、本開示のヒト抗体が、例えば細胞表面上に発現されているCD137、または固形支持体に付加されているCD137に結合する能力を指す。

【0139】

本明細書において使用される場合、「二重特異性」または「二重機能性抗体」という用語は、二つの異なる重鎖／軽鎖のペアを有し、そして二つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体を指す。二重特異性抗体は、ハイブリドーマ融合またはFab'断片の連結をはじめとする様々な方法により作製することができる。例えば、Songsivilai & Lachmann, (1990) Clin. Exp. Immunol. 79:315-321; Kostelny et al., (1992) J. Immunol. 148:1547-1553を参照のこと。

【0140】

従来、二重特異性抗体の組み換え型作製は、二つのイムノグロブリン重鎖／軽鎖のペアの共発現に基づき行われており、二つの重鎖／軽鎖のペアは異なる特異性を有していた(Milstein and Cuello, (1983) Nature 305:537-539)。望ましい結合特異性(抗体-抗原の結合部位)を有する抗体可変ドメインを、イムノグロブリン定常ドメイン配列に融合させてもよい。重鎖可変領域と、ヒンジ、CH2およびCH3領域の少なくとも一部を含むイムノグロブリン重鎖定常ドメインの融合が好ましい。二重特異性抗体作製に関し、現在知られている実例的方法に関するさらなる詳細は、例えばSuresh et al., (1986) Methods Enzymol. 121:210;PCT国際特許出願公開WO 96/27011; Brennan et al., (1985) Science 229:81; Shalaby et al., J. Exp. Med. (1992) 175:217-225; Kostelny et al., (1992) J. Immunol. 148(5):1547-1553; Hollinger et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Gruber et al., (1994) J. Immunol. 152:5368;およびTutt et al., (1991) J. Immunol. 147:60を参照のこと。二重特異性抗体には、架橋抗体(cross-linked antibody)またはヘテロ結合抗体(heteroconjugate antibody)も含まれる。ヘテロ結合抗体は、任意の簡便な架橋方法を使用して作製され得る。適切な架橋剤は当分野に公知であり、米国特許第 4,676,980号において、多くの架橋方法とともに開示されている。

【0141】

組み換え細胞培養から直接二重特異性抗体断片を作製および単離する様々な方法も報告されている。例えば二重特異性抗体は、ロイシンジッパーを使用して作製されている。例えば、Kostelny et al. (1992) J Immunol 148(5):1547-1553を参照のこと。FosおよびJunタンパク質に由来するロイシンジッパーペプチドは遺伝子融合により二つの異なる抗体のFab'部分を連結させ得る。抗体のホモ二量体をヒンジ領域で還元し、単量体を形成させ、そして再酸化させてヘテロ二量体抗体を形成させ得る。この方法は、ホモ二量体抗体の作製にも利用することができる。Hollinger et al. (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:6444-6448に記載される「ダイアボディ」法は、二重特異性抗体断片の作製に関する別のメカニズムを提示している。この断片は、リンカーにより軽鎖可変ドメイン(VL)に連結された重鎖可変ドメイン(VH)を含む。当該リンカーは、同じ鎖の上で二つのドメイン間でペア形成を行うには短すぎる。したがってある断片のVHドメインとVLドメインは強制的に別の断片の相補的なVLドメインおよびVHドメインとペア形成され、それによって二つの抗原結合部位が形成される。一本鎖Fv(scFv)二量体を使用して二重特異性抗体を作製する別の方法も報告されている。例えば、Gruber et al. (1994) J Immunol 152:5368を参照のこと。あるいは抗体は、例えばZapata et al. (1995) Protein Eng. 8(10):1057-1062に記載される「直線状抗体」であってもよい。簡潔に述べるとこれらの抗体は、タンデムなFdセグメントのペアを含んでおり(VH-CH1-VH-CH1)、これが抗原結合領域のペアを形成する。直線状抗体は、二重特異性であっても、

または一重特異性であってもよい。

【0142】

3以上の価を有する抗体（例えば三重特異性抗体）も予期され、例えば、Tutt et al. (1991) J Immunol 147:60に記載されている。

【0143】

本開示は、例えばWu et al. (2007) Nat Biotechnol 25(11): 1290-1297に記載される二重可変ドメインイムノグロブリン（DVD-Ig）分子などの多重特異性抗体のバリエーション型も包含する。DVD-Ig分子は、二つの異なる親抗体に由来する二つの異なる軽鎖可変ドメイン（VL）が、組み換えDNA技術により直接、または短いリンカーを介してタンデムに連結され、次いで軽鎖定常ドメインに連結されるように設計される。同様に、重鎖は、タンデムに連結された二つの異なる重鎖可変ドメイン（VH）、次いで定常ドメインCH1およびFc領域を含む。二つの親抗体からのDVD-Ig分子を作製する方法は、例えば、PCT国際特許出願公開WO08/024188およびWO07/024715に詳細に記載されている。一部の実施形態において、二重特異性抗体は、Fab-in-Tandemイムノグロブリンであり、これは第二の特異性を有する軽鎖可変領域が、全抗体の重鎖可変領域に融合されているイムノグロブリンである。そのような抗体は例えば、国際特許出願公開WO2015/103072に記載されている。

【0144】

本明細書で使用される場合、「癌抗原」とは、(i)腫瘍特異的抗原、(ii)腫瘍関連抗原、(iii)腫瘍特異的抗原を発現する細胞、(iv)腫瘍関連抗原を発現する細胞、(v)腫瘍上の胚性抗原、(vi)自己腫瘍細胞、(vii)腫瘍特異的膜抗原、(viii)腫瘍関連膜抗原、(ix)成長因子受容体、(x)成長因子リガンド、および(xi)癌と関連する任意の他のタイプの抗原または抗原提示細胞または物質を指す。

【0145】

「癌」という用語は、当分野で認識されており、呼吸器系の癌、消化管系の癌、泌尿生殖器系の癌、精巣癌、乳癌、前立腺癌、内分泌系の癌およびメラノーマをはじめとする上皮組織および内分泌組織の悪性腫瘍を指す。本明細書に記載される抗CD137抗体を使用して、腎癌またはメラノーマをはじめとする任意のタイプの癌を有する、または有すると疑われる、または発症するリスクが高い可能性がある患者を治療することができる。例示的な癌としては、子宮頸、肺、前立腺、乳、頭頸部、結腸および卵巣の組織から形成される癌が挙げられる。この用語は、癌肉腫も含み、癌肉腫としては癌性および肉腫性の組織から構成される悪性腫瘍が挙げられる。「腺癌」とは、腺組織に由来する癌、または腫瘍細胞が認識可能な腺構造を形成する癌を指す。

【0146】

本明細書において使用される場合、「競合する」という用語は、同じエピトープへの結合に関し競合する抗原結合タンパク質（例えばイムノグロブリン、抗体またはその抗原結合断片）の文脈において使用される場合、アッセイ（例えば競合結合アッセイ、交差阻害アッセイなど）により決定される抗原結合タンパク質の間の相互作用を指し、この場合において被験抗原結合タンパク質（例えば被験抗体）は、参照抗原結合タンパク質（例えば参照抗体、例えばmAb1）の、共通抗原（例えばCD137またはその断片）への特異的結合を阻害（例えば低下または妨害）する。

【0147】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の配列の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）またはmAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と交差競合する。

【0148】

指定されるポリペプチドまたはタンパク質「に由来する」ポリペプチドまたはアミノ酸配列とは、ポリペプチドの起源を指す。好ましくは、特定の配列に由来するポリペプチド

10

20

30

40

50

またはアミノ酸配列は、当該配列またはその一部と本質的に同一であるアミノ酸配列を有し、この場合において当該部分は、少なくとも10～20アミノ酸、好ましくは少なくとも20～30アミノ酸、より好ましくは少なくとも30～50アミノ酸からなり、または配列中にその起源を有するとして当業者に識別可能なアミノ酸配列を有する。別のペプチドに由来するポリペプチドは、開始ポリペプチドと比較して一つまたは複数の変異を有していてもよく、例えば一つまたは複数のアミノ酸残基が、別のアミノ酸残基と置換されているか、または一つまたは複数のアミノ酸残基の挿入または欠失を有している。

【0149】

ポリペプチドは、天然ではないアミノ酸配列を含んでもよい。そのようなバリエーションは必ず開始分子と100%未満の配列同一性または配列類似性を有する。特定の実施形態において、バリエーションは、開始ポリペプチドのアミノ酸配列と約75%～100%未満、より好ましくは約80%～100%未満、より好ましくは約85%～100%未満、より好ましくは約90%～100%未満、（例えば91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%）、そして最も好ましくは約95%～100%未満のアミノ酸配列の同一性または類似性をバリエーション分子の全長にわたり有する。

【0150】

特定の実施形態において、開始ポリペプチド配列と、それに由来する配列の間には1アミノ酸の差異が存在する。この配列に関する同一性または類似性は、本明細書において、配列を並置し、必要に応じてギャップを挿入して最大配列同一性百分率を実現した後の、開始アミノ酸残基と同一（すなわち同じ残基）である候補配列中のアミノ酸残基の百分率として規定される。特定の実施形態において、ポリペプチドは、表3または表4に記載される配列から選択されるアミノ酸配列からなり、本質的にそれらからなり、またはそれらを含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、表3または表4に記載される配列から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、表3または表4に記載される配列から選択される連続アミノ酸配列に対し、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である連続アミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、表3または表4に記載される配列から選択されるアミノ酸配列の少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、300、400または500（またはこれらの数値内の任意の整数）個の連続アミノ酸を有するアミノ酸配列を含む。

【0151】

特定の実施形態において、本開示の抗体は、ヌクレオチド配列にコードされる。本発明のヌクレオチド配列は、クローニング、遺伝子治療、タンパク質の発現および精製、変異導入、その必要のある宿主のDNAワクチネーション、例えば受動免疫化用の抗体作製、PCR、プライマーおよびプローブの作製などをはじめとする多くのアプリケーションに有用であり得る。特定の実施形態において、本発明のヌクレオチド配列は、表3または表4に記載される配列から選択されるヌクレオチド配列からなり、本質的にそれらからなり、またはそれらを含む。特定の実施形態において、ヌクレオチド配列は、表3または表4に記載される配列から選択されるヌクレオチド配列に対し、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、ヌクレオチド配列は、表3または表4に記載される配列から選択される連続ヌクレオチド配列に対し、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一である連続ヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、表3または表4に記載される配列から選択されるヌクレオチド配列の少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、300、400ま

たは500（またはこれらの数値内の任意の整数）個の連続ヌクレオチドを有するヌクレオチド配列を含む。

【0152】

また当業者であれば、本明細書に開示される方法における使用に適した抗体を改変して、それらが由来した天然配列または自然配列とは配列において異なりつつも、その自然配列の望ましい活性を維持し得ることを理解するであろう。例えば、「非必須」アミノ酸残基の保存的置換または保存的变化につながるヌクレオチドまたはアミノ酸の置換が行われてもよい。変異は、例えば部位指向性突然変異誘導およびPCR介在突然変異誘導などの標準的な方法により導入され得る。

【0153】

本明細書に開示される方法における使用に適した抗体は、例えば、必須アミノ酸残基または非必須アミノ酸残基など、一つまたは複数のアミノ酸残基で保存的アミノ酸置換を含み得る。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基と置換される置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当分野において規定されており、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えばアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分岐側鎖（例えばスレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（例えばチロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が挙げられる。したがって、結合ポリペプチド中の非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基と置換されることが好ましい。特定の実施形態において、アミノ酸の連続配列は、側鎖ファミリーのメンバーの順序および/または組成において異なる構造的に類似した連続配列と置換されてもよい。あるいは特定の実施形態において、例えば飽和突然変異誘導などにより、コード配列のすべてまたは一部に沿ってランダムに変異が導入されてもよく、得られた変異は本発明の結合ポリペプチド内に組み込まれ、所望の標的に対する結合能力に関しスクリーニングされてもよい。

【0154】

本明細書において使用される場合、抗原「交差提示」という用語は、APC上のMHCクラスIおよびクラスII分子を介してT細胞に外来性タンパク質抗原を提示することを指す。

【0155】

本明細書において使用される場合、「交差反応」という用語は、本開示抗体が、異なる種由来のCD137に結合する能力を指す。例えば、ヒトCD137に結合する本開示の抗体は、別種のCD137にも結合し得る。本明細書において使用される場合、交差反応性は、結合アッセイ（例えばSPR、ELISA）において精製抗原との特異的反応性を検出することにより測定され、または生理学的にCD137を発現する細胞に結合する、または別手段により機能的に相互作用することを検出することにより測定される。交差反応性を決定する方法としては、例えばBiacore（商標）2000 SPR装置（Biacore AB社、スウェーデン、ウプサラ）を使用したBiacore（商標）表面プラズモン共鳴（SPR）分析またはフローサイトメトリー法など、本明細書に記載される標準的な結合アッセイが挙げられる。

【0156】

本明細書において使用される場合、「細胞障害性Tリンパ球（CTL）応答」という用語は、細胞障害性T細胞により誘導される免疫応答を指す。CTL応答は主にCD8⁺T細胞により介在される。

【0157】

本明細書において使用される場合、「二量体化」という用語は、2個の通常は非共有結合性に結合した高分子、例えばタンパク質またはタンパク質の多量体による高分子複合体の形成を指す。ホモ二量体化とは、高分子（例えば、タンパク質）の性質が同一である場合の二量体化のプロセスを指す。ヘテロ二量体化とは、高分子（例えば、タンパク質）の性質が同一ではない場合の二量体化のプロセスを指す。二量体化を測定する方法は、当業

10

20

30

40

50

者に公知である。例えばそのような方法としては限定されないが、酵母2ハイブリッドアッセイ、蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET)、生物発光共鳴エネルギー転移 (BRET)、タンパク質質量分析法、エバネセント波法、サイズ排除クロマトグラフィー、分析的超遠心分離法、散乱法、NMR分光法、等温滴定熱量計、蛍光異方性法、蛍光相関分光法 (FCS)、光褪色後蛍光回復法 (FRAP)、近接画像法 (PRIM: proximity imaging)、および蛍光タンパク質再構成法 (BiFC) (例えばGell D.A., Grant R.P., Mackay J.P. (2012) The Detection and Quantitation of Protein Oligomerization. In: Matthews J.M. (eds) Protein Dimerization and Oligomerization in Biology. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 747. Springer, New York, NY;およびXie, Q. et al. Methods Mol Biol, 2011; 680: 3-28を参照のこと) が挙げられる。

10

【0158】

本明細書において使用される場合、「CD137の二量体化」とは、2個のCD137三量体の二量体化を指す。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137の二量体化を誘導または強化する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗CD137アゴニスト性抗体の非存在下の二量体化の量と比較して、CD137の二量体化を誘導または強化する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、参照抗CD137アゴニスト性抗体の存在下の二量体化量と比較して、CD137の二量体化を誘導または強化する。一部の実施形態において、二量体化は、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%まで上昇する。

20

【0159】

本明細書において使用される場合、「EC₅₀」という用語は、最大応答の50%、すなわち最大応答と基準の間の中間である応答を、インビトロアッセイまたはインビボアッセイのいずれかにおいて誘導する、抗体またはその抗原結合部分の濃度を指す。

【0160】

本明細書において使用される場合、「有効投与量」または「有効用量」という用語は、所望される効果を実現する、または少なくとも部分的に実現するのに十分な量として規定される。「治療有効投与量」という用語は、疾患、およびすでにその疾患に罹患する患者における合併症を治癒する、または少なくとも部分的に停止させるのに十分な量として規定される。この用途に有効な量は、治療される障害の重大度、および患者自身の免疫系の一般的状態に依存する。

30

【0161】

本明細書において使用される場合、「エピトープ」または「抗原性決定基」という用語は、抗原結合タンパク質 (例えばイムノグロブリン、抗体または抗原結合断片) が特異的に結合する抗原 (例えばCD137) 上の決定基または部位を指す。タンパク質抗原のエピトープは、「直線状エピトープ」と「構造的エピトープ」へと分けられ得る。本明細書において使用される場合、「直線状エピトープ」という用語は、連結されたアミノ酸の連続的な直線配列から形成されるエピトープを指す。タンパク質抗原の直線状エピトープは、典型的には化学変性剤 (例えば酸、塩基、溶媒、架橋試薬、カオトロピック剤、ジスルフィド結合還元剤) または物理的変性 (例えば熱、放射線または機械的せん断もしくははストレス) に暴露されても維持される。一部の実施形態において、エピトープは非直線状であり、断続エピトープとも呼称される。本明細書において使用される場合、「構造的エピトープ」または「非直線状エピトープ」という用語は、ポリペプチドの三次元フォールディングにより並置された非連続的なアミノ酸から形成されるエピトープを指す。構造的エピトープは、典型的には、変性剤を用いた処理で失われる。典型的にはエピトープは、固有の空間構造にある少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14または15個のアミノ酸を含む。一部の実施形態において、エピトープは、固有の空間構造にある25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、

40

50

6または5個未満のアミノ酸を含む。一般的に、特定の標的分子に特異的な抗体またはその抗原結合断片は、タンパク質および/または高分子の複雑な混合体内の標的分子上の特異的エピトープを優先的に認識し、結合する。一部の実施形態において、エピトープは、ヒトCD137の細胞外ドメインのすべてのアミノ酸を含まない。

【0162】

また本明細書に記載される特定の抗体により認識されるエピトープのすべてまたは一部（例えば同じもしくは重複する領域、または領域間もしくは領域にまたがる領域）を含む、CD137上のエピトープに結合する抗体も本開示に包含される。

【0163】

本明細書において使用される場合、「エピトープマッピング」という用語は、抗体またはその抗原結合断片の結合部位またはエピトープ、またはその標的タンパク質抗原を特定するプロセスまたは方法を指す。エピトープマッピングの方法および技術は本明細書に提示される。

10

【0164】

本明細書において使用される場合、「CD137」という用語は、膜貫通型タンパク質の腫瘍壊死因子受容体（TNFR）ファミリーの特定メンバーを指す。当分野においてCD137に対する別名および頭字語としては、「tumor necrosis factor receptor superfamily member 9」（TNFRSF9）、4-1BB、および「induced by lymphocyte activation」（ILA）が挙げられる（Alderson et al., (1994) Eur J Immunol 24(9):2219-2227; Schwarz et al., (1993) Gene 134(2):295-298）。リーダードメイン、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを含む全長ヒトCD137のアミノ酸配列例は、表4（配列番号3）および以下に記載する：

20

MGNSCYNIVATLLLVLNFERTSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQR
TCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGGELTKKGCKDC
CFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTTPAPARE
PGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS
CRFPEEEEGGCEL。

【0165】

本明細書において使用される場合、「CD137L」または「CD137リガンド」という用語は、膜貫通型タンパク質の腫瘍壊死因子（TNF）ファミリーのメンバーを指す。当分野においてCD137Lに対する別名および頭字語としては、「tumor necrosis factor superfamily member 9」（TNFSF9）および4-1BBリガンド（4-1BBL）（Alderson et al., (1994) Eur J Immunol 24(9):2219-2227）が挙げられる。全長CD137Lのアミノ酸配列例は、表4（配列番号97）に記載する。

30

【0166】

本明細書において使用される場合、「Fc介在エフェクター機能」または「Fcエフェクター機能」という用語は、抗体の主要な機能および目的以外の抗体の生物活性を指す。例えば治療用アゴニスト性抗体のエフェクター機能は、標的のタンパク質または経路の活性化以外の生物活性である。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合および補体依存性細胞障害、Fc受容体結合、抗体依存性細胞介在性細胞障害（ADCC）、貪食作用、細胞表面受容体（例えばB細胞受容体）の下方制御、Fc受容体を発現する血小板の活性化の欠落、およびB細胞活性化が挙げられる。多くのエフェクター機能が、Fc受容体へのFcの結合から開始される。

40

【0167】

本明細書において使用される場合、「Fc受容体」という用語は、抗体のFc領域に結合される、免疫エフェクター細胞の表面上に存在するポリペプチドを指す。一部の実施形態において、Fc受容体は、Fc受容体である。Fc受容体には、FcRI（CD64）、FcRII（CD32）およびFcRIII（CD16）の3種のサブクラスが存在する。IgGアイソタイプの4種すべて（IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4）が、Fc受容体のFcRI、FcRIIAおよびFcRIIIAに結合し、活性化する。FcRIIBは阻害性受容体であり、ゆえにこの受容体に抗体

50

が結合しても、補体応答および細胞性応答は活性化されない。Fc RIは、単量体型のIgGに結合する高アフィニティ受容体である。一方で、Fc RIIAおよびFc RIIBは、多量体型のIgGにのみ結合し、わずかにアフィニティが低い低アフィニティ受容体である。Fc受容体および/またはC1qへの抗体の結合は、Fc領域内の特定の残基またはドメインに支配される。さらに結合は抗体のヒンジ領域内およびCH2部分内にある残基にも依存する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗体のアゴニスト活性および/または治療活性は、Fc受容体（例えばFc R）へのFc領域の結合に依存する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗体のアゴニスト活性および/または治療活性は、Fc受容体（例えばFc R）へのFc領域の結合により強化される。

【0168】

本明細書において使用される場合、「グリコシル化パターン」という用語は、タンパク質、より具体的にはイムノグロブリンタンパク質に共有結合的に付加される糖単位のパターンとして規定される。異種抗体のグリコシル化パターンは、当業者が、当該異種抗体のグリコシル化パターンが、導入遺伝子のCH遺伝子が由来する種よりも非ヒトトランスジェニック動物種におけるグリコシル化パターンのほうが似ていると認識する場合、当該非ヒトトランスジェニック動物種により産生された抗体上に自然に存在するグリコシル化パターンと実質的に類似していると特徴付けることができる。

【0169】

本明細書において使用される場合、「血液の癌」という用語には、リンパ腫、白血病、ミエローマまたはリンパ性悪性腫瘍、ならびに脾臓およびリンパ節の癌が含まれる。リンパ腫の例としては、B細胞リンパ腫（B細胞の血液癌）およびT細胞リンパ腫の両方が挙げられる。B細胞リンパ腫としては、ホジキンリンパ腫およびほとんどの非ホジキンリンパ腫の両方が挙げられる。B細胞リンパ腫の非限定的な例としては、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞型リンパ球性リンパ腫（慢性リンパ球性白血病と重複する）、マントル細胞リンパ腫（MCL）、バーキットリンパ腫、縦隔大細胞型B細胞リンパ腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、節性辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁体リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症が挙げられる。T細胞リンパ腫の非限定的な例としては、節外性T細胞リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、および血管免疫芽球性T細胞リンパ腫が挙げられる。血液悪性腫瘍としては、例えば限定されないが、二次性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、および急性リンパ芽球性白血病が挙げられる。血液の悪性腫瘍としてはさらに、例えば多発性骨髄腫およびくすぶり型多発性骨髄腫が挙げられるがこれらに限定されない。他の血液の癌および/またはB細胞関連癌もしくはT細胞関連癌も、血液の悪性腫瘍という用語に包含される。

【0170】

本明細書において使用される場合、「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖細胞系列のイムノグロブリン配列の可変領域と（もしあれば）定常領域を有する抗体を含む。本開示のヒト抗体は、ヒト生殖細胞系列のイムノグロブリン配列にはコードされないアミノ酸残基を含み得る（例えばインビトロのランダムもしくは部位特異的な突然変異誘導、またはインビボの体細胞突然変異により導入された突然変異）（例えば、Lonberg et al., (1994) Nature 368(6474): 856-859; Lonberg, (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg & Huszar, (1995) Intern. Rev. Immunol. 13:65-93, and Harding & Lonberg, (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546を参照のこと）。しかしながら「ヒト抗体」という用語は、例えばマウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系列に由来するCDR配列が、ヒトフレームワーク配列上に移植された抗体（すなわちヒト化抗体）は含まない。

【0171】

本明細書において使用される場合、「異種抗体」という用語は、当該抗体を産生するトランスジェニック非ヒト生物と関連づけて規定される。この用語は、トランスジェニック非ヒト動物を構成せず、一般的に当該トランスジェニック非ヒト動物ではない種由来の生

10

20

30

40

50

物体中に存在する配列と対応するアミノ酸配列またはコード核酸配列を有する抗体を指す。

【0172】

「免疫応答を誘導すること」および「免疫応答を強化すること」という用語は、相互交換可能に使用され、特定抗原に対する免疫応答の刺激（すなわち受動または能動）を指す。CDCまたはADCCの誘導に関して使用される「誘導する」という用語は、特定の直接的な細胞殺傷機構の刺激を指す。

【0173】

本明細書において使用される場合、「予防の必要のある」、「治療の必要のある」、または「その必要のある」対象とは、適切な医療従事者（例えばヒトの場合においては医師、看護師、看護実習性、非ヒト哺乳動物の場合においては獣医師）の判断により、所与の治療（例えば抗CD137抗体を含む組成物を用いた治療）から合理的な利益を得るであろうものを指す。

10

【0174】

「インビボ」という用語は、生きている生物体中で発生するプロセスを指す。

【0175】

本明細書において使用される場合、「単離抗体」という用語は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指すことが意図される（例えば、ヒトCD137に特異的に結合する単離抗体は、CD137以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。エピトープに特異的に結合する単離抗体はしかし、異なる種由来の他のCD137タンパク質に対し交差反応性を有する場合がある。しかしながら当該抗体は、本明細書に記載される特異的結合アッセイにおいて、ヒトCD137に対する特異的結合を継続して呈する。さらに単離抗体は典型的には他の細胞性物質および/または化学物質を実質的に含まない。一部の実施形態において、異なるCD137特異性を有する「単離された」抗体の組み合わせは、明確に定義された組成物中で組み合わせられる。

20

【0176】

本明細書において使用される場合、「単離された核酸分子」という用語は、CD137に結合する抗または抗体部分（例えば V_H 、 V_L 、CDR3）をコードする核酸を指し、抗体または抗体部分をコードする当該ヌクレオチド配列が、CD137以外の抗原に結合する抗体または抗体部分をコードする他のヌクレオチド配列を含まない核酸分子を指すことが意図され、当該他の配列は、ヒトゲノムDNAにおいて当該核酸に本来隣接している場合があり得る。例えば表3または表4に記載される配列から選択される配列は、本明細書に記載される抗CD137抗体モノクローナル抗体の重鎖可変領域（ V_H ）および軽鎖可変領域（ V_L ）を含むヌクレオチド配列に対応する。

30

【0177】

本明細書において使用される場合、「アイソタイプ」とは、重鎖定常領域遺伝子によりコードされる抗体のクラス（例えばIgMまたはIgG1）を指す。一部の実施形態において、本開示のヒトモノクローナル抗体は、IgG1アイソタイプの抗体である。一部の実施形態において、本開示のヒトモノクローナル抗体は、IgG1アイソタイプの抗体であり、変異を含む。一部の実施形態において、本開示のヒトモノクローナル抗体は、IgG2アイソタイプの抗体である。一部の実施形態において、本開示のヒトモノクローナル抗体は、IgG3アイソタイプの抗体である。一部の実施形態において、本開示のヒトモノクローナル抗体は、IgG4アイソタイプの抗体である。一部の実施形態において、本開示のヒトモノクローナル抗体は、IgG4アイソタイプの抗体であり、変異を含む。一部の実施形態において、変異は、Ser228の置換である。一部の実施形態において、Ser228の置換は、S228Pである。

40

【0178】

本明細書において使用される場合、「アイソタイプスイッチング」という用語は、抗体のクラスまたはアイソタイプが、あるIgクラスから他のIgクラスのアイソタイプへと変化する現象を指す。

【0179】

本明細書において使用される場合、「KD」または「 K_D 」という用語は、抗体と抗原の

50

間の結合反応の平衡解離定数を指す。 K_D 値は、抗体解離速度定数 (k_d) と抗体会合速度定数 (k_a) の比率を数値で表現したものである。 K_D 値は、抗原に対する抗体の結合アフィニティと逆相関する。 K_D 値が小さくなると、その抗原に対する抗体のアフィニティは高くなる。アフィニティは、単一分子のそのリガンドに対する結合の強度であり、典型的には平衡解離定数 (K_D) により測定および報告され、これを使用して二分子の相互作用の強度を評価し、順序付けられる。

【0180】

本明細書において使用される場合、「 K_d 」または「 k_d 」(あるいは「 k_{off} 」または「 k_{off} 」) という用語は、抗体が、抗体/抗原複合体から解離する解離速度定数を指すことが意図される。 k_d 値は、1秒当たりの崩壊または解離する複合体分画を数値で表したものであり、 sec^{-1} という単位で表される。

10

【0181】

本明細書において使用される場合、「 k_a 」または「 k_a 」という用語(あるいは「 k_{on} 」または「 k_{on} 」)という用語は、抗体と抗原が会合する会合速度定数を指すことが意図される。 k_a 値は、抗体および抗原の1モル(1M)溶液中、1秒当たりで形成される抗体/抗原の複合体の数を数値で表したものであり、 $\text{M}^{-1}\text{sec}^{-1}$ の単位で表される。

【0182】

本明細書において使用される場合、「連結された」、「融合された」または「融合」という用語は、相互交換可能に使用される。これらの用語は、2個以上のエレメントまたは構成要素またはドメインを、化学結合または組み換え手段をはじめとするあらゆる手段により結合させることを指す。化学結合の方法(例えばヘテロ二官能性の架橋剤の使用など)は当分野に公知である。

20

【0183】

本明細書において使用される場合、「局所投与」または「局所送達」とは、血管系を介した目的の標的組織または標的部位への組成物または剤の輸送に頼らない送達を指す。例えば組成物は、組成物もしくは剤の注射または移植により送達されてもよく、または組成物もしくは剤を含むデバイスの注射または移植により送達されてもよい。標的組織または標的部位の周辺で局所投与を行った後、組成物もしくは剤、またはその一つもしくは複数の成分が目的の標的組織または標的部位へと拡散し得る。

【0184】

本明細書において使用される場合、「MHC分子」とは、MHCクラスIとMHCクラスIIの2タイプの分子を指す。MHCクラスI分子は、特異的CD8+T細胞に抗原を提示し、MHCクラスII分子は特異的CD4+T細胞に抗原を提示する。外因的にAPCに送達された抗原は、主にMHCクラスIIとの会合に処理される。対照的に、内因的にAPCに送達された抗原は、主にMHCクラスIとの会合に処理される。

30

【0185】

本明細書において使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性およびアフィニティを呈する抗体を指す。したがって「ヒトモノクローナル抗体」という用語は、単一結合特異性を呈し、ヒトの生殖細胞系列のイムノグロブリン配列に由来する可変領域と任意で定常領域を有する抗体を指す。一部の実施形態において、ヒトモノクローナル抗体は、ヒトの重鎖導入遺伝子と軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有する例えばトランスジェニックマウスなどトランスジェニック非ヒト動物から取得され、不死化細胞と融合されたB細胞を含むハイブリドーマにより産生される。

40

【0186】

本明細書において使用される場合、「多量体化」という用語は、典型的には非共有結合的相互作用を介して結合される、3個以上の例えばタンパク質などの高分子を含む抗分子複合体の形成を指す。多量体化を測定する方法は、当業者に公知であり、二量体化に関しては上記に記載される。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137の多量体化を誘導または強化する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗CD137アゴニスト性抗体の非存在下

50

の多量体化の量と比較して、CD137の多量体化を誘導または強化する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、参照抗CD137アゴニスト性抗体の存在下の多量体化の量と比較して、CD137の多量体化を誘導または強化する。一部の実施形態において、多量体化は、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%まで上昇する。

【0187】

本明細書において使用される場合、物体に対して適用される場合の「天然」という用語は、物体が自然界に存在し得るという事実を指す。例えば自然界で源から単離され得る生物体（ウイルスを含む）中に存在し、実験室においてヒトにより意図的に改変されていないポリペプチドまたはポリヌクレオチドの配列は、天然である。

10

【0188】

本明細書において使用される場合、「非スイッチ化（nonswitched）アイソタイプ」という用語は、アイソタイプスイッチが発生していないときに産生される重鎖のアイソタイプのクラスを指す。非スイッチ化アイソタイプをコードするCH遺伝子は通常、機能的再構成がなされたVDJ遺伝子のすぐ下流の第一のCH遺伝子である。アイソタイプスイッチは、古典的アイソタイプスイッチまたは非古典的アイソタイプスイッチに分類される。古典的アイソタイプスイッチは、導入遺伝子中に少なくとも一つのスイッチ配列領域を含む、組み換え現象により発生する。非古典的アイソタイプスイッチは例えば、ヒト μ およびヒト δ の間の相同組換え（ δ -関連欠失）により発生し得る。代替的な非古典的スイッチのメカニズム、例えば導入遺伝子間および/または染色体間の組み換えは特にアイソタイプスイッチを発生させ、有効化させる。

20

【0189】

本明細書において使用される場合、「核酸」という用語は、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド、および一本鎖型または二本鎖型のいずれかのそのポリマーを指す。特に限定されない限り、当該用語は、参照核酸と類似した結合特性を有し、天然ヌクレオチドと類似した様式で代謝される、天然ヌクレオチドの公知のアナログを含有する核酸を包含する。別段の示唆が無い限り、特定の核酸配列は非明示的に保存的改変されたそのバリエーション（例えば縮重コドン置換）および相補配列ならびに明白に示された配列をさらに包含する。具体的には、縮重コドン置換は、一つまたは複数の選択（またはすべての）コドンの3番目の位置を、混合塩基および/またはデオキシイノシン残基と置換した配列を作製することにより実施することができる（Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991; Ohtsuka et al., Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985;およびCassol et al, 1992; Rossolini et al, Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994）。アルギニンとロイシンに関しては、2番目の塩基での改変も保存的であり得る。核酸という用語は、遺伝子、cDNAおよび遺伝子によりコードされるmRNAと相互交換可能に使用される。

30

【0190】

本明細書において使用されるポリヌクレオチドは、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドから構成されてもよく、それらは非修飾RNAもしくは非修飾DNAであってもよく、または修飾RNAもしくは修飾DNAであってもよい。例えばポリヌクレオチドは、一本鎖DNAおよび二本鎖DNA、一本鎖領域と二本鎖領域の混合物であるDNA、一本鎖RNAおよび二本鎖RNA、一本鎖領域と二本鎖領域の混合物であるRNA、一本鎖またはより典型的には二本鎖であり得るか、または一本鎖領域と二本鎖領域の混合物であるDNAおよびRNAを含むハイブリッド分子、から構成され得る。さらにポリヌクレオチドは、RNA、またはDNA、またはRNAとDNAの両方を含む三本鎖領域から構成され得る。ポリヌクレオチドは、安定性または他の理由を目的として修飾された一つもしくは複数の修飾塩基、またはDNAもしくはRNAの主鎖も含有し得る。「修飾された」塩基としては例えば、トリチル化塩基、および例えばイノシンなどの独特な塩基が挙げられる。DNAおよびRNAに対し様々な修飾を施してもよい。ゆえに「ポリヌクレオチド」は、化学的、酵素

40

50

的または代謝的に修飾された形態を包含する。

【0191】

核酸は、別の核酸配列と機能的な関係性におかれたときに、「操作可能に連結される」。例えばプロモーターまたはエンハンサーは、それらが配列の転写に影響を与える場合、コード配列に操作可能に連結されている。転写調節配列に関し、操作可能に連結されるとは、連結されたDNA配列が連続的であり、そして二つのタンパク質コード領域を結合させる必要がある場合には、連続的でありリーディングフレーム中にあることを意味する。スイッチ配列に関しては、操作可能に連結されるとは、配列が、スイッチ組み換えを生じさせることができることを示す。

【0192】

本明細書において使用される場合、「パラトープ」または「抗原結合部位」という用語は、抗体またはその抗原結合断片を指し、それらは可変重鎖および可変軽鎖内に位置する相補性決定領域(CDR)のセットを含む、抗原上のエピトープを認識し、結合する。

【0193】

本明細書において使用される場合、「非経口投与」、「非経口で投与される」および他の文法的に同等の文言は、腸内投与および局所投与以外の投与様式を指し、通常、注射により行われ、限定されないが、静脈内、鼻腔内、眼内、筋肉内、動脈内、髄腔内、関節包内、眼窩内、心腔内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、髄腔内、硬膜外、大脳内、頭蓋内、頸動脈内および胸骨下の注射ならびに点滴が挙げられる。

【0194】

本明細書において使用される場合、「患者」という用語は、予防的処置または治療的処置のいずれかを受けるヒトおよび他の哺乳動物対象を含む。

【0195】

二つ以上の核酸またはポリペプチド配列の文脈において、「同一性百分率」という用語は、以下に記載される配列比較アルゴリズム(例えばBLASTPおよびBLASTNまたは当業者に利用可能な他のアルゴリズム)のうちの一つを使用して測定され、または目視検査により測定され、最大一致に対して比較およびアライメントされたときに、同一であるヌクレオチドまたはアミノ酸残基の特定の百分率を有する二つ以上の配列またはサブ配列を指す。アプリケーションに応じて、「同一性百分率」は、比較される配列のある領域、例えば機能性ドメインにわたり存続してもよく、または代替的に、比較される二つの配列の全長にわたり存続してもよい。配列比較に関し、典型的には、一つの配列は、検証配列が比較される参照配列としての役割を果たす。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験配列および参照配列がコンピュータに入力され、必要に応じてサブ配列座標が指定され、配列アルゴリズムプログラムのパラメータが指定される。次に配列比較アルゴリズムは、指定されたプログラムパラメータに基づいて、参照配列と比較した、試験配列の配列同一性百分率を算出する。

【0196】

比較のための最適な配列アライメントは、例えば、Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)の局所的ホモロジーアルゴリズムにより、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)のホモロジーアライメントアルゴリズムにより、Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)による類似性に関する探索方法により、これらのコンピュータ実装アルゴリズム(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr.、ウィスコンシン州マジソンのGAP、BESTFIT、FASTA、およびTFASTA)により、または目視検査(概略は上記のAusubel et al.を参照のこと)により、実施されてもよい。

【0197】

配列同一性百分率および配列類似性の決定に適したアルゴリズムの一例は、BLASTアルゴリズムであり、Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)に記載されている。BLAST解析を実施するためのソフトウェアは、National Center for Biote

10

20

30

40

50

chnology Informationウェブサイトを通じて公的に利用することができる。

【0198】

本明細書で通常使用される場合、「薬学的に許容可能」とは、適切な医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を伴わずにヒトおよび動物の組織、器官および/または体液と接触して使用することに適し、合理的な利益/リスク比に見合った、それら化合物、物質、組成物および/または剤型を指す。

【0199】

本明細書において使用される場合、「薬学的に許容可能な担体」とは、生理学的に適合性のあるすべての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを指し、およびこれらを含む。組成物は、薬学的に許容可能な塩、例えば、酸付加塩または塩基付加塩（例えば、Berge et al. (1977) J Pharm Sci 66:1-19を参照のこと）を含んでもよい。

10

【0200】

本明細書において使用される場合、「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために相互交換可能に使用される。当該用語は、一つまたは複数のアミノ酸残基が対応する天然アミノ酸の人工化学模倣体であるアミノ酸ポリマーに適用され、ならびに天然アミノ酸ポリマーおよび非天然アミノ酸ポリマーにも適用される。

【0201】

本明細書において使用される場合、「予防すること」という用語は、状態に関連して使用される場合、組成物を投与されない対象と比較して、対象における医学的状态の頻度を低下させる、または発現を遅延させる組成物の投与を指す。

20

【0202】

本明細書において使用される場合、本明細書に記載されるタンパク質（抗体または断片）のいずれかに適用されるとき「精製される」または「単離される」という用語は、タンパク質を発現する原核生物において、自然に付随する例えば他のタンパク質、脂質および核酸などの構成要素（例えば、タンパク質または他の天然の生物分子または有機分子）から分離または精製されたポリペプチドを指す。典型的には、ポリペプチドは、サンプル中の総タンパク質の少なくとも60重量%（例えば少なくとも65、70、75、80、85、90、92、95、97または99重量%）を構成するとき、精製されている。

30

【0203】

本明細書において使用される場合、「再構成された」という用語は、重鎖または軽鎖のイムノグロブリン座位の構成を指し、この場合においてVセグメントは、本質的に完全なV_HまたはV_Lドメインをコードする構造でそれぞれD-JまたはJセグメントに隣接して位置している。再構成されたイムノグロブリン遺伝子座位は、生殖細胞系列のDNAとの比較により特定することができる。再構成された座位は、少なくとも一つの組み換え七量体/九量体のホモロジーエレメントを有する。

【0204】

本明細書において使用される場合、「受容体クラスタリング」という用語は、特定の細胞場所での受容体セットのグループ化または局所的蓄積をもたらす、多くの場合シグナル伝達の応答を誘導または増幅させる細胞プロセスを指す。多くのタンパク質受容体は、同族リガンドに結合し、クラスター化する。すなわち、それら同族リガンドと結合することで、二量体、三量体、オリゴマーまたは多量体を形成させる。例えばPDGF受容体およびTNF受容体スーパーファミリーのメンバーはそれぞれリガンドと結合することで二量体および三量体を形成する。同族リガンド誘導性クラスター化（例えば二量体化、多量体化）は、受容体を通してシグナル伝達を誘導する。したがって、本開示の抗体またはその抗原結合断片は、二つ以上の受容体に結合することで受容体を活性化し、同族リガンド結合を伴う、または伴わない二量体化、三量体化および/もしくは多量体化を誘導または安定化させ得る。

40

【0205】

50

受容体クラスター化および多量体化は、TNFRシグナル伝達 (Wajant (2015) Cell Death Differ 22(11):1727-1741)、特にTNFRSF活性化に必要である。4-1BB (CD 137)、CD40、GITR、CD27、DR3、DR5およびFasは、下流シグナル伝達を誘発するためにクラスター化を必要とすることが知られているTNFRSF受容体の一部である。4-1BB受容体がシグナル伝達するためには架橋されなければならないという実験の証拠は、Raburaが報告している。これらの著者らは、ヒトの4-1BBLの1-三量体型が、ヒトT細胞に対する活性化効果を有しなかったこと、一方で、このタンパク質を二つ以上の三量体に架橋することで、タンパク質の強い活性化がもたらされたことを報告している (Rabura et al., (2005) J Biol Chem 280:41472-41481)。したがって一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137の二つ以上の三量体の多量体化を誘導する。

10

【0206】

本明細書において使用される場合、「組み換え宿主細胞」(またはシンプルに「宿主細胞」という用語は、組み換え発現ベクターが導入された細胞を指すことが意図される。当然のことながら、当該用語は、特定の対象細胞だけでなく、当該細胞の子孫細胞を指すことも意図されていることを理解されたい。突然変異または環境的影響のいずれかに起因して特定の修飾がその後の世代に発生する場合があるため、このような子孫は実際には親細胞と同一ではない場合があるが、本明細書において使用される場合には、それでも「宿主細胞」という用語の範囲内に含まれる。

【0207】

本明細書において使用される場合、「組み換えヒト抗体」という用語は、組み換え手段により調製され、発現され、生成され、もしくは単離されたすべてのヒト抗体、例えば、(a) ヒトイムノグロブリン遺伝子に関してトランスジェニックまたはトランスクロモソーマル (transchromosomal) な動物 (例えばマウス)、または当該動物から調製されたハイブリドーマから単離された抗体、(b) 抗体を発現するよう形質転換された宿主細胞、例えばトランスフェクトマ (transfectoma) から単離された抗体、(c) 組み換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリから単離された抗体、および (d) ヒトイムノグロブリン遺伝子配列を他のDNA配列にスプライシングすることを含む任意の他の手段により調製、発現、生成または単離された抗体、を含む。こうした組換えヒト抗体は、生殖細胞系列遺伝子によってコードされる、特定のヒト生殖細胞系列のイムノグロブリン配列を利用する可変領域および定常領域を含むが、例えば、抗体成熟中に生じるその後の再構成および変異も含む。当技術分野で公知のように (例えば、Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9):1117-1125を参照のこと)、可変領域は抗原結合ドメインを含み、当該ドメインは、外来性抗原に特異的な抗体を形成するために再構成する様々な遺伝子によりコードされる。再構成に加えて、可変領域は、外来性抗原に対する抗体のアフィニティを増加させるために、複数の単一アミノ酸変化 (体細胞突然変異または超変異と呼称される) によってさらに修飾され得る。定常領域は抗原に対するさらなる応答において、変化する (すなわちアイソタイプスイッチ)。したがって、軽鎖イムノグロブリンポリペプチドおよび重鎖イムノグロブリンポリペプチドをコードする、抗原に应答して再構成された、および体細胞変異した核酸分子は、元の核酸分子と配列同一性を有していない場合があるが、その代わりに実質的に同一であるか、または類似である (すなわち少なくとも80%の同一性を有する)。

20

30

40

【0208】

本明細書において使用される場合、「参照抗体」という用語 (「参照mAb」と相互交換可能に使用される)、または「参照抗原結合タンパク質」という用語は、ヒトCD137上の特異的エピトープに結合し、自身と、一つまたは複数の別個の抗体の関係性の確立に使用される抗体またはその抗原結合断片を指す。一部の実施形態において、関係性は、参照抗体と、CD137上の同じエピトープに対する一つまたは複数の別個の抗体の結合である。本明細書において使用される場合、当該用語は、本明細書に記載される試験またはアッセイ (例えば競合的結合アッセイ) などの試験またはアッセイにおいて、競合物質として有用な抗CD137抗体を暗示する。この場合において当該アッセイは、同じエピトープに結

50

合する一つまたは複数の別個の抗体の発見、特定または開発に有用である。例示的参照抗体 (mAb1) の可変重鎖 (V_H) および可変軽鎖 (V_L) のアミノ酸配列を、表4に提示する (V_{H1} 、配列番号4; V_{H2} 、配列番号6)。一部の実施形態において、当該用語は、比較物質として試験またはアッセイにおいて有用な抗CD137抗体を暗示するものであり、この場合において当該アッセイは、抗体の特徴 (例えば肝毒性、抗腫瘍有効性) の識別に有用である。一部の実施形態において、参照抗体は、ウレルマブ (urelumab) である。一部の実施形態において、参照抗体は、ウトミルマブ (utomilumab) である。

【0209】

本明細書において使用される場合、「特異的結合」、「選択的結合」、「選択的に結合する」および「特異的に結合する」という用語は、規定抗原上のエピトープに結合する抗体を指す。典型的には、抗体は、分析物として組み換えヒトCD137、およびリガンドとして抗体を使用し、BIAcore2000装置において表面プラズモン共鳴 (SPR) 技術により決定されたときに、およそ 10^{-6} M 未満、例えばおよそ 10^{-7} M 未満、 10^{-8} M 未満、 10^{-9} M 未満もしくは 10^{-10} M 未満またはさらに低い平衡解離定数 (K_D) で結合し、および所定の抗原または近縁の抗原以外の非特異的抗原 (例えばBSA、カゼインなど) への結合のアフィニティよりも少なくとも2倍高いアフィニティで所定の抗原に結合する。「抗原を認識する抗体」および「抗原に特異的な抗体」という文言は、本明細書において「抗原に特異的に結合する抗体」という用語と相互交換可能に使用される。

【0210】

本明細書において使用される場合、「スイッチ配列」という用語は、スイッチ組み換えに關与するDNA配列を指す。「スイッチドナー」配列、典型的には μ スwitch領域は、スイッチ組み換えの間に削除される構築体領域の5' (すなわち上流) である。「スイッチアクセプター」領域は、削除される構築体領域と、置換定常領域 (例えば、 μ など) の間にある。組み換えが常に起こる特定の部位は存在しないため、最終的な遺伝子配列は通常、構築体から予測できない。

【0211】

本明細書において使用される場合、「対象」という用語は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。例えば本発明の方法および組成物は、免疫障害を有する対象を治療するために使用され得る。「非ヒト動物」という用語は全ての脊椎動物、例えば哺乳動物および非哺乳動物、例えば非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などを含む。

【0212】

核酸に関し、「実質的相同性」という用語は、二つの核酸または指定配列が最適にアライメントされ、比較されたときに、適切なヌクレオチドの挿入または欠失を伴い、少なくとも約80%のヌクレオチド、通常少なくとも約90%~95%のヌクレオチド、より好ましくは少なくとも約98%~99.5%のヌクレオチドにおいて同一であることを示す。あるいは実質的相同性は、セグメントが選択的ハイブリダイゼーション条件下で当該鎖の相補鎖にハイブリダイズするときに存在する。

【0213】

二つの配列間の同一性百分率は、配列によって共有される同一な位置の数の関数であり (すなわち相同性% = 同一な位置の数 / 位置の総数 $\times 100$)、当該2配列の最適アライメントのために導入が必要なギャップ数、各ギャップの長さを考慮する。配列の比較、および2配列間の同一性百分率の決定は、以下の非限定的な例に記載されるような数学的アルゴリズムを使用して実施されてもよい。

【0214】

2ヌクレオチド配列間の同一性百分率は、GCGソフトウェアパッケージ (<http://www.gcg.com>で利用可能) のGAPプログラムを使用して、NWSgapdna.CMPマトリクス、および40、50、60、70、または80のギャップ重量、および1、2、3、4、5、または6の長さ重量を使用して決定されてもよい。二つのヌクレオチド配列間またはアミノ酸配列間の同一性百分率はまた、ALIGNプログラム (バージョン2.0) に組み込まれた、E. Meyers

10

20

30

40

50

およびW. Miller(CABIOS, 4:11-17 (1989))のアルゴリズムを使用して、PAM120重量残基表、12のギャップ長ペナルティおよび4のギャップペナルティを使用して決定されてもよい。さらに二つのアミノ酸配列間の同一性百分率は、GCGソフトウェアパッケージ (<http://www.gcg.com>で利用可能) のGAPプログラムに組み込まれたNeedlemanおよびWunsch (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970))のアルゴリズムを使用して、Blossum 62マトリクスまたはPAM250マトリクスのいずれか、および16、14、12、10、8、6または4のギャップ重量、および1、2、3、4、5、または6の長さ重量を使用して決定されてもよい。

【0215】

本開示の核酸配列およびタンパク質配列はさらに、例えば、関連配列の特定を目的として、公共データベースに対する検索を実施するための「クエリ配列」として使用されてもよい。こうした検索は、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10のNBLASTおよびXBLASTプログラム(バージョン2.0)を使用して実施されてもよい。BLASTヌクレオチド検索を、NBLASTプログラム、スコア=100、ワード長=12で実施して、本発明核酸分子に相同なヌクレオチド配列を取得してもよい。BLASTタンパク質検索を、XBLASTプログラム、スコア=50、ワード長=3で実施して、本発明タンパク質分子に相同なアミノ酸配列を取得してもよい。比較目的でのギャップ済みアライメントを取得するために、Gapped BLASTをAltschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402に記載されるように利用してもよい。BLASTおよびGapped BLASTプログラムを利用する場合、各プログラム(例えばXBLASTおよびNBLAST)のデフォルトパラメータを使用してもよい。<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>を参照のこと。

【0216】

核酸は、全細胞、細胞溶解物中に存在してもよく、または部分精製された、もしくは実質的に純粋な形態で存在してもよい。他の細胞構成要素または他の混入物、例えば他の細胞核酸またはタンパク質から、アルカリ/SDS処置、CsClバンディング、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動および当分野に公知の他の方法を含む標準的な技術により精製された場合、核酸は「単離された」または「実質的に純粋となる」。F. Ausubel, et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)を参照のこと。

【0217】

本開示の核酸組成物は多くの場合、cDNA、ゲノムまたはその混合物からの天然配列(改変制限酵素部位などは除く)であるが、標準的な技術に従い変異させて遺伝子配列を得てもよい。コード配列に関し、これらの変異はアミノ酸配列に望ましい影響を及ぼし得る。特に、天然のV配列、D配列、J配列、定常配列、スイッチ配列、および本明細書に記載される他のかかる配列に対し実質的に相同であるか、またはそれらから誘導されるDNA配列が予期される(この場合、「誘導される」とは、配列が別の配列と同一であるか、別の配列から改変されていることを示す)。

【0218】

本明細書において使用される場合、「腫瘍微小環境」(あるいは「癌微小環境」、TMEと略される)という用語は、周辺血管、ならびに限定されないが免疫細胞、線維芽細胞、骨髓由来炎症性細胞およびリンパ球を含む非癌性細胞を含む、腫瘍または新生物が存在する細胞環境または境遇を指す。シグナル伝達分子および細胞外マトリクスもTMEを構成する。腫瘍および周囲の微小環境は密接に関連し、常に相互作用する。腫瘍は、細胞外シグナルを放出し、腫瘍血管新生を促進し、そして末梢組織の免疫寛容を誘導することで微小環境に影響を与えることができる。一方で微小環境中の免疫細胞は、腫瘍細胞の増殖と進化に影響を与えることができる。

【0219】

「T細胞」という用語は、細胞表面上のT細胞受容体の存在により、他の白血球から識別され得るタイプの白血球を指す。T細胞にはいくつかのサブセットがあり、限定されないが、Tヘルパー細胞(T_H 細胞または $CD4^+$ T細胞としても知られる)ならびに T_H1 、 T_H2 、

10

20

30

40

50

T_H3、T_H17、T_H9およびT_{FH}細胞を含むそのサブタイプ、細胞障害性T細胞（すなわちT_C細胞、CD8⁺T細胞、細胞障害性Tリンパ球、T-キラー細胞、キラーT細胞）、メモリーT細胞ならびに中心メモリーT細胞（T_{CM}細胞）、エフェクターメモリーT細胞（T_{EM}およびT_{EMRA}細胞）および常在性メモリーT細胞（T_{RM}細胞）を含むそのサブタイプ、制御性T細胞（T_{reg}細胞またはサプレッサーT細胞）ならびにCD4⁺FOXP3⁺T_{reg}細胞、CD4⁺FOXP3⁻T_{reg}細胞、Tr1細胞、Th3細胞およびT_{reg}17細胞を含むそのサブタイプ、天然キラーT細胞（NKT細胞としても知られる）、粘膜関連インバリアントT細胞（MAITs）、ならびにV_{9/V}2 T細胞を含むガンマデルタT細胞（ $\gamma\delta$ T細胞）が挙げられる。前述または言及されていないT細胞のうちの任意の一つまたは複数が、本発明の使用方法に対する標的細胞型であり得る。

10

【0220】

本明細書において使用される場合、「T細胞活性化」または「T細胞の活性化」という用語は、抗原特異的T細胞受容体をその表面上に発現する成熟T細胞が、自身の同族抗原を認識して、細胞サイクルに入り、サイトカインまたは溶解性酵素を分泌して細胞系エフェクター機能を発揮する能力を開始させる、または能力を有するようになることで応答する細胞プロセスを指す。T細胞の活性化には、少なくとも二つのシグナルで完全に活性化されるようになることが必要である。最初のシグナルは抗原-主要組織適合性遺伝子複合体（MHC）によるT細胞抗原特異的受容体（TCR）の会合後に発生し、2番目のシグナルは、その後の共刺激分子（例えばCD28）との会合により発生する。これらのシグナルは核に伝達され、T細胞のクローナルな拡張、細胞表面上への活性化マーカーのアップレギュレーション、エフェクター細胞への分化、細胞障害活性もしくはサイトカイン分泌の誘導、アポトーシスの誘導、またはそれらの組み合わせを生じさせる。

20

【0221】

本明細書で使用される場合、「T細胞介在応答」という用語は、限定されないがエフェクターT細胞（例えばCD8⁺細胞）およびヘルパーT細胞（例えばCD4⁺細胞）を含むT細胞により介在される任意の応答を指す。T細胞介在応答としては例えばT細胞の細胞障害活性および増幅が挙げられる。

【0222】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」または「治療有効投与量」という用語または本明細書で使用される類似用語は、望ましい生物学的または医学的な応答（例えば癌の一つまたは複数の症状の改善）を惹起させる剤（例えば抗CD137抗体またはその抗原結合断片）の量を意味することが意図される。

30

【0223】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療すること」、および「治療」という用語は、本明細書に記載される治療的手段または予防的手段を指す。「治療」方法は、本開示のヒト抗体を、当該治療の必要のある対象、例えば特定抗原に対する免疫応答の強化を必要とする対象、または最終的にはかかる障害に対する免疫を獲得して、当該障害の一つもしくは複数の症状を予防、治癒、遅延、重症度を低下または改善させ得る対象、または当該治療を行わない場合に予測される生存率を越えて対象の生存率が延長され得る対象、に投与することを採用する。

40

【0224】

本明細書で使用される場合、「再構成されていない」または「生殖細胞系列の構成」という用語は、Vセグメントが、DセグメントまたはJセグメントにすぐ隣接するための組み換えを受けていない構成を指す。

【0225】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、連結された別の核酸を輸送することができる核酸分子を指すことが意図される。ある種のベクターは、「プラスミド」であり、これは追加のDNAセグメントがその中にライゲーションされ得る環状二本鎖のDNAループを指す。別のタイプのベクターはウイルスベクターであり、このベクターでは追加のDNAセグメントはウイルスゲノム内にライゲーションされ得る。特定のベクターは、

50

自身が導入される宿主細胞内で自律複製することができる（例えば細菌複製起源を有する細菌ベクターおよびエピソードな哺乳動物ベクターなど）。他のベクター（例えば非エピソードな哺乳動物ベクター）は、宿主細胞内に導入されると、宿主細胞のゲノム内に組み込まれることができ、それによって宿主ゲノムと共に複製される。さらに特定のベクターは、自身が操作可能に連結される遺伝子の発現を誘導する能力を有する。そのようなベクターは、本明細書において「組み換え発現ベクター」（またはシンプルに「発現ベクター」と呼称される。概して組み換えDNA技術における発現ベクターの実用型は多くの場合、プラスミドの形態である。本明細書では、「プラスミド」と「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に使用されるベクターの形態であるために相互交換可能に使用される場合がある。しかしながら本発明は、例えばウイルスベクター（例えば複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス）などの同等の機能を果たす他の形態の発現ベクターを含むことが意図される。

10

【0226】

別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本出願が属する分野の当業者によって普遍的に理解される意味と同じ意味を有する。好ましい方法および材料は以下に記載されるが、本明細書に記載されるものと類似した、または同等の方法および材料を、本開示方法および組成物の実施または検証に使用することもできる。本明細書において言及されるすべての公表文献、特許出願、特許、および他の参考文献は、参照によりその全体で組み込まれる。

【0227】

20

抗CD137抗体およびその抗原結合断片

本開示はCD137に特異的に結合し、アゴナイズする抗体を提供する。一部の態様において、本開示は、癌の治療に有用な抗CD137アゴニスト性抗体を提供する。一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、サイトカイン産生を誘導する。一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、腫瘍微小環境中のCD8+T細胞の数を増加させる。一部の実施形態において、抗CD137アゴニスト性抗体は、防御性抗腫瘍免疫を誘導する。本開示はさらに、インビボでの投与時に、脾臓内または肝臓内のCD4+T細胞群および/またはCD8+T細胞群を実質的に増加させない抗CD137アゴニスト性抗体を提供する。

【0228】

ヒトCD137は、255アミノ酸の膜貫通型ポリペプチド（配列番号3；アクセッション番号NM_001561；NP_001552）であり、系統発生的に保存された腫瘍壊死因子受容体（TNFR）スーパーファミリーのメンバーである。CD137（あるいは4-1BB、TNFR super family 9）およびそのリガンド（CD137L）は、広範な免疫活性の調節に関与している。CD137リガンドは、活性化T細胞上で発現されるその受容体であるCD137に架橋し、T細胞活性を共刺激する。CD137は、活性化誘導型の共刺激性分子である。近年の研究により、CD137介在抗癌効果が、T細胞を活性化する能力、特に細胞障害性Tリンパ球（CTL）応答を誘導する能力、サイトカイン産生、特に多量のIFN γ の産生を誘導する能力に大きく依存していることが明らかとなった（Ye et al., (2014) Clin Cancer Res 20 (1):44-55）。CD137リガンドは細胞表面上の膜貫通型タンパク質であり、シグナルを自身が発現している細胞内に伝達する（この現象は「リバースシグナル伝達」または「バックシグナル伝達」と呼称される）。CD137リガンドの発現は、ほとんどのタイプの白血球および一部の非免疫細胞上で見られる。単球細胞（単球、マクロファージ、およびDC）では、CD137リガンドのシグナル伝達は、活性化、遊走、生存、および分化を誘導する。

30

40

【0229】

したがって一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、CD137に結合し、CD137をアゴナイズさせ、CD137Lの結合を可能にし、または促進する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、CD137に結合し、CD137をアゴナイズする。一部の実施形態では、本開示により提供される抗CD137抗体は、CD137に結合し、CD137をアゴナイズして、T細胞の活性化を共刺激する。

50

【0230】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、以下の特性または特徴のうちの一つまたは複数を有する：

- a) ヒトCD137に特異的に結合する；
- b) ヒトおよびカニクイザルのCD137に結合する；および
- c) ヒトおよびマウスのCD137に結合する。

【0231】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、CD137に結合し、T細胞活性を共刺激する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、CD137に結合し、T細胞活性化、細胞障害性Tリンパ球（CTL）応答、T細胞増殖、サイトカイン産生もしくはそれらの組み合わせを誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、CD137に結合し、腫瘍微小環境においてT細胞活性化、細胞障害性Tリンパ球（CTL）応答、T細胞増殖、サイトカイン産生もしくはそれらの組み合わせを誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体、またはその抗原結合性断片は、肝臓内および／もしくは脾臓内のT細胞活性化ならびに／またはT細胞増殖をそれほど誘導または強化しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、CD137に結合し、IFN

の産生を誘導する。一部の実施形態では、本開示により提供される抗体は、CD137に結合し、IL-2、TNF- α 、IL-13またはそれらの組み合わせの産生を誘導する。

【0232】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、CD137に特異的に結合し、CD137をアゴナイズする。一部の実施形態では、CD137のアゴニズムは、免疫細胞により産生されるサイトカインの濃度を決定することにより測定される。サイトカイン産生を分析する方法は当分野で公知であり、実施例で利用されている。一部の実施形態では、免疫細胞によるサイトカイン産生の増加は、CD137のアゴニズムを示唆する。一部の実施形態では、CD137のアゴニズムは、T細胞増殖を分析することにより測定される。一部の実施形態では、T細胞増殖の増加は、CD137のアゴニズムを示唆する。一部の実施形態では、CD137のアゴニズムは、関連分子のリン酸化の定量、または関連プロモーター後の遺伝子レポーターの発現の定量のいずれかを介して細胞シグナル伝達のレベルを測定することにより測定される。一部の実施形態では、細胞シグナル伝達の増加は、CD137のアゴニズムを示唆する。一部の実施形態では、CD137のアゴニズムは、腫瘍体積を測定することにより測定される。一部の実施形態では、腫瘍体積の減少は、CD137のアゴニズムを示唆する。

【0233】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、CD137のオリゴマー化、多量体化または他の高次のクラスター化を誘導、増加または安定化させる。一部の実施形態では、細胞表面上でのCD137のクラスター化は、蛍光顕微鏡を介して観察される。

【0234】

本明細書において、CD137に結合し、アゴナイズする単離モノクローナル抗体またはその抗原結合断片が提供される。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(i) 約30～100nM（例えば、約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する、(ii) 本明細書に記載されるヒトCD137のエピトープに結合する、および／または (iii) アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含む。

【0235】

CD137に対するアフィニティ

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体またはその抗原結合断片は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nMまたは約40nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、ヒトCD137

に対する抗CD137抗体のアフィニティは、マウスCD137に対するmAb10のアフィニティよりも少なくとも2倍（例えば少なくとも3、4、5、6、7、8、9または10倍）高い。一部の実施形態では、抗CD137抗体のアフィニティは、500、450、400、350、300、250、200、250、200、175、150、125、110または100nM以下である。一部の実施形態では、ヒトCD137に対する抗CD137抗体のアフィニティは、マウスCD137に対するmAb10のアフィニティよりも少なくとも2倍（例えば少なくとも3、4、5、6、7、8、9または10倍）高いが、500、450、400、350、300、250、200、250、200、175、150、125、110または100nM以下である。抗体のアフィニティは、単一CD137ポリペプチドに対する結合の強度である。一部の実施形態では、アフィニティは、平衡解離定数（ K_D ）により示される。 K_D 値は、抗原に対する抗体の結合アフィニティと逆相関する。したがって、 K_D 値が小さくなると、その抗原に対する抗体のアフィニティは高くなる。

10

【0236】

抗体のその抗原に対するアフィニティを決定する方法は、当分野に公知である。結合アフィニティ決定に関する例示的方法では、表面プラズモン共鳴を採用している。表面プラズモン共鳴は、例えばBIAcoreシステム(Pharmacia Biosensor AB社、スウェーデン、ウプサラ、およびニュージャージー州ピスカタウェイ)を使用してバイオセンサーマトリクス内のタンパク質濃度の変化を検出することにより、リアルタイムでの生体特異的相互作用の解析が可能な光学現象である。詳細については、Jonsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51: 19-26; Jonsson, U., et al. (1991) Biotechniques 11: 620-627; Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8: 125-131;およびJohnsson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277を参照のこと。

20

【0237】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30~100nM（例えば約30nM~約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約40~100nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30~40nM、40~50nM、50~60nM、60~70nM、70~80nM、80~90nM、90~100nM、45~55nM、55~65nM、75~85nM、85~95nM、45~95nM、50~90nM、55~85nM、60~80nM、65~75nM、55~75nM、40~70nM、50~80nM、または60~90nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約60~80nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約60~75nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。

30

【0238】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約60~90nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約50~80nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約40~70nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約55~75nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約65~75nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約60~80nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約55~85nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約50~90nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約45~95nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約85~95nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約75~85nMのアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では

40

50

、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約75～85nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約55～65nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約45～55nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約80～90nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約70～80nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約60～70nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約50～60nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約40～50nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30～40nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30nM、約31nM、約32nM、約33nM、約34nM、約35nM、約36nM、約37nM、約38nM、約39nM、約40nM、約41nM、約42nM、約43nM、約44nM、約45nM、約46nM、約47nM、約48nM、約49nM、約50nM、約51nM、約52nM、約53nM、約54nM、約55nM、約56nM、約57nM、約58nM、約59nM、約60nM、約61nM、約62nM、約63nM、約64nM、約65nM、約66nM、約67nM、約68nM、約69nM、約70nM、約71nM、約72nM、約73nM、約74nM、約75nM、約76nM、約77nM、約78nM、約79nM、約80nM、約81nM、約82nM、約83nM、約84nM、約85nM、約86nM、約87nM、約88nM、約89nM、約90nM、約91nM、約92nM、約93nM、約94nM、約95nM、約96nM、約97nM、約98nM、約99nM、約100nM、約101nM、約102nM、約103nM、約104nM、約105nM、約106nM、約107nM、約108nM、約109nMまたは約110nMのアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。

【0239】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、少なくとも30nMであるが、約110nM未満、少なくとも31nMであるが、約109nM未満、少なくとも32nMであるが、約108nM未満、少なくとも33nMであるが、約107nM未満、少なくとも34nMであるが、約106nM未満、少なくとも35nMであるが、約105nM未満、少なくとも36nMであるが、約104nM未満、少なくとも37nMであるが、約103nM at least 38nMであるが、約102nM未満、少なくとも39nMであるが、約101nM未満、少なくとも40nMであるが、約100nM未満、少なくとも41nMであるが、約99nM、少なくとも42nMであるが、約98nM未満、少なくとも43nMであるが、約97nM未満、少なくとも44nMであるが、約96nM未満、少なくとも45nMであるが、約95nM未満、少なくとも46nMであるが、約94nM未満、少なくとも47nMであるが、約93nM未満、少なくとも48nMであるが、約92nM未満、少なくとも49nMであるが、約91nM未満、少なくとも50nMであるが、約90nM未満、少なくとも51nMであるが、約89nM未満、少なくとも52nMであるが、約88nM未満、少なくとも53nMであるが、約87nM未満、少なくとも54nMであるが、約86nM未満、少なくとも55nMであるが、約85nM未満、少なくとも56nMであるが、約84nM未満、少なくとも57nMであるが、約83nM未満、少なくとも58nMであるが、約82nM未満、少なくとも59nMであるが、約81nM未満、少なくとも60nMであるが、約80nM未満、少なくとも61nMであるが、約79nM未満、少なくとも62nMであるが、約78nM未満、少なくとも63nMであるが、約77nM未満、少なくとも64nMであるが、約76nM未満、または少なくとも65nMであるが、約75nM未満のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、少なくとも40nMであるが、約100nM未満のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する。

【0240】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、2種以上の種由来のCD137ポリペプチドと交差反応する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、カニクイザルのCD137とヒトのCD137に結合する。一部の実施形態では、本明

10

20

30

40

50

細書に記載される抗CD137抗体は、マウスのCD137とヒトのCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、ヒトのCD137、マウスのCD137、およびカニクイザルのCD137に結合する。

【0241】

CD137 エピトープ結合

一部の実施形態では、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のアミノ酸111～132の一つまたは複数（例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25個すべて）を含むヒトCD137上のエピトープに結合する。一部の実施形態では、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のアミノ酸111～132内のエピトープに結合する。一部の態様において、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体または抗原結合部分は、配列番号3のアミノ酸111～132のすべてまたは一部に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、配列番号3のK114残基を含むヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、配列番号3のE111、T113およびK114残基を含むヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、配列番号3のE111、T113、K114、N126およびI132残基を含むヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135を含むヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135の一つまたは複数の残基を含むヒトCD137のエピトープに結合する。

【0242】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体またはその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸位置100～135、101～135、102～135、103～135、104～135、105～135、106～135、107～135、108～135、109～135、110～135または111～135に対応する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むヒトCD137のエピトープに結合する。

【0243】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体またはその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸位置111～135に対応する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、エピトープは、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25個のアミノ酸残基を含む。

【0244】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体またはその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸位置100～135、101～135、102～135、103～135、104～135、105～135、106～135、107～135、108～135、109～135、110～135または111～135内のヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、配列番号3のアミノ酸位置111～135内のヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、エピトープは、配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25個のアミノ酸残基を含む。

【0245】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、ELTK（配列番号3のアミノ酸残基111～114に対応する）を含むヒトCD137のエピトープに結合する。一部の実施形態では、アミノ酸残基L112は、別のアミノ酸残基であってもよい。

【0246】

一部の実施形態では、エピトープは、非直線状エピトープである。一部の実施形態では、アミノ酸残基K114の変異は、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片のヒトCD137への結合を無効化させる。

【0247】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体またはその抗原結合断片は、配列番号3のアミノ酸位置111～135に対応する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むヒトCD137のエピトープに結合し、この場合において当該エピトープは、少なくともアミノ酸K114を含み、そして当該抗体またはその抗原結合部分は、マウスCD137に結合するが、ラットCD137には結合しない。一部の実施形態では、エピトープは、非直線状エピトープである。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合部分は、マウスCD137およびカニクイザルCD137に結合するが、ラットCD137には結合しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体またはその抗原結合断片のヒト、マウス、ラットおよびカニクイザルのCD137への結合は、表面プラズモン共鳴（SPR）により決定される。

【0248】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合部分は、ラットCD137に対する抗体のアフィニティよりも少なくとも10、20、30、40、50、100、200、500または1000倍高いアフィニティでマウス、カニクイザルまたはヒトのCD137に結合する。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のヒトCD137と比較して114位のリシンを含まないラットCD137に対する抗体のアフィニティよりも少なくとも10、20、30、40、50、100、200、500または1000倍高いアフィニティでマウス、カニクイザルまたはヒトのCD137に結合する。

【0249】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、ヒトCD137のエピトープに結合し、ヒトCD137のエピトープに対する結合に関し、mAb1と競合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137アゴニスト性抗体、またはその抗原結合性断片は、CD137に結合し、CD137をアゴナイズする。一部の実施形態では、本開示により提供される抗CD137抗体は、CD137に結合し、CD137をアゴナイズして、T細胞の活性化を共刺激する。

【0250】

本開示は、本明細書に記載される一つまたは複数の特定の参照抗体（例えばmAb1）により認識されるエピトープのすべてまたは一部を含む、CD137上のエピトープへの結合に関し、競合する抗体を提供する。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、ヒトCD137のエピトープに結合し、およびヒトCD137のエピトープに対する結合に関し、参照抗体（例えばmAb1）と競合し、この場合において当該抗体またはその抗原結合断片は、 1×10^{-6} 以下の平衡解離定数 K_D でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、CD137上のエピトープに結合し、この場合において当該エピトープの一つまたは複数の変異は、抗体および参照抗体（例えばmAb1）の両方に対する結合を阻害、低下または妨害する。一部の実施形態では、参照抗体は、本明細書に記載されるmAb1抗体である。一部の実施形態では、参照抗体は、表3または表4に提示されるいずれか一つの抗体である。

【0251】

したがって本開示により提供される抗CD137抗体は、CD137に結合した抗体またはその断片もしくは部分を含む結晶構造のx線結晶構造解析法を介して評価されてもよい。一部の態様では、本開示により提供される抗体により結合されるエピトープは、例えばmAb1などの抗体のパラトープ残基の4オングストローム（ ）以内に存在する、または位置す

10

20

30

40

50

【 0 2 5 2 】

20

【 0 2 5 3 】

50

【 0 2 5 4 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6または5アミノ酸よりも少ないエピートープに結合し、配列番号3のアミノ酸残基K114を含む。

【 0 2 5 5 】

可変領域

一部の実施形態では、本明細書において、表3および表4に記載される重鎖および軽鎖の可変配列を含む単離モノクローナル抗体またはその抗原結合断片が提供される。

【 0 2 5 6 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、以下からなる群から選択される重鎖および軽鎖のCDRを含む：

(a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(b) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号70、79および90に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(c) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号71、80および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(d) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号72、81および92に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(e) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号73、82および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(f) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号74、83および93に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(g) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号75、84および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(h) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号74、85および94に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(i) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号76、86および95に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(j) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号77、87および93に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(k) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、88および90に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(l) それぞれ配列番号49、57および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(m) それぞれ配列番号49、58および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

10

20

30

40

50

(n) それぞれ配列番号49、59および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(o) それぞれ配列番号49、60および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(p) それぞれ配列番号50、61および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(q) それぞれ配列番号50、58および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

10

(r) それぞれ配列番号51、62および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(s) それぞれ配列番号52、63および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(t) それぞれ配列番号50、64および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

20

(u) それぞれ配列番号50、65および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(v) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(w) それぞれ配列番号107、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；ならびに

30

(x) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号109、110および92に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3。

【0257】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0258】

40

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、重鎖および軽鎖のCDRを含み、当該重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む。

【0259】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

(a) それぞれ配列番号4および6；

(b) それぞれ配列番号4および28；

(c) それぞれ配列番号4および30；

(d) それぞれ配列番号4および32；

(e) それぞれ配列番号4および34；

50

- (f) それぞれ配列番号4および36 ;
- (g) それぞれ配列番号4および38 ;
- (h) それぞれ配列番号4および40 ;
- (i) それぞれ配列番号4および42 ;
- (j) それぞれ配列番号4および44 ;
- (k) それぞれ配列番号4および46 ;
- (l) それぞれ配列番号8および6 ;
- (m) それぞれ配列番号10および6 ;
- (n) それぞれ配列番号12および6 ;
- (o) それぞれ配列番号14および6 ;
- (p) それぞれ配列番号16および6 ;
- (q) それぞれ配列番号18および6 ;
- (r) それぞれ配列番号20および6 ;
- (s) それぞれ配列番号22および6 ;
- (t) それぞれ配列番号24および6 ;
- (u) それぞれ配列番号26および6 ;
- (v) それぞれ配列番号101および6 ;
- (w) 配列番号103および6それぞれ、および
- (x) それぞれ配列番号4および105。

10

【0260】

20

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0261】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

30

- (a) それぞれ配列番号4および6 ;
- (b) それぞれ配列番号4および28 ;
- (c) それぞれ配列番号4および30 ;
- (d) それぞれ配列番号4および32 ;
- (e) それぞれ配列番号4および34 ;
- (f) それぞれ配列番号4および36 ;
- (g) それぞれ配列番号4および38 ;
- (h) それぞれ配列番号4および40 ;
- (i) それぞれ配列番号4および42 ;
- (j) それぞれ配列番号4および44 ;
- (k) それぞれ配列番号4および46 ;
- (l) それぞれ配列番号8および6 ;
- (m) それぞれ配列番号10および6 ;
- (n) それぞれ配列番号12および6 ;
- (o) それぞれ配列番号14および6 ;
- (p) それぞれ配列番号16および6 ;
- (q) それぞれ配列番号18および6 ;
- (r) それぞれ配列番号20および6 ;
- (s) それぞれ配列番号22および6 ;
- (t) それぞれ配列番号24および6 ;

40

50

- (u) それぞれ配列番号26および6；
- (v) それぞれ配列番号101および6；
- (w) それぞれ配列番号103および6；ならびに
- (x) それぞれ配列番号4および105。

【0262】

一部の実施形態では、本明細書において、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖および軽鎖の可変領域を含む、ヒトCD137に特異的に結合する抗体が提供される：

- (a) それぞれ配列番号5および7；
- (b) それぞれ配列番号5および29；
- (c) それぞれ配列番号5および31；
- (d) それぞれ配列番号5および33；
- (e) それぞれ配列番号5および35；
- (f) それぞれ配列番号5および37；
- (g) それぞれ配列番号5および39；
- (h) それぞれ配列番号5および41；
- (i) それぞれ配列番号5および43；
- (j) それぞれ配列番号5および45；
- (k) それぞれ配列番号5および47；
- (l) それぞれ配列番号9および7；
- (m) それぞれ配列番号11および7；
- (n) それぞれ配列番号13および7；
- (o) それぞれ配列番号15および7；
- (p) それぞれ配列番号17および7；
- (q) それぞれ配列番号19および7；
- (r) それぞれ配列番号21および7；
- (s) それぞれ配列番号23および7；
- (t) それぞれ配列番号25および7；
- (u) それぞれ配列番号27および7；
- (v) それぞれ配列番号102および7；
- (w) それぞれ配列番号104および7；ならびに
- (x) それぞれ配列番号5および106。

【0263】

一部の実施形態では、本明細書において、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列によりコードされる重鎖および軽鎖の可変領域を含む、ヒトCD137に特異的に結合する抗体が提供される：

- (a) それぞれ配列番号5および7；
- (b) それぞれ配列番号5および29；
- (c) それぞれ配列番号5および31；
- (d) それぞれ配列番号5および33；
- (e) それぞれ配列番号5および35；
- (f) それぞれ配列番号5および37；
- (g) それぞれ配列番号5および39；
- (h) それぞれ配列番号5および41；
- (i) それぞれ配列番号5および43；
- (j) それぞれ配列番号5および45；
- (k) それぞれ配列番号5および47；
- (l) それぞれ配列番号9および7；
- (m) それぞれ配列番号11および7；
- (n) それぞれ配列番号13および7；

- (o) それぞれ配列番号15および7；
- (p) それぞれ配列番号17および7；
- (q) それぞれ配列番号19および7；
- (r) それぞれ配列番号21および7；
- (s) それぞれ配列番号23および7；
- (t) それぞれ配列番号25および7；
- (u) それぞれ配列番号27および7；
- (v) それぞれ配列番号102および7；
- (w) それぞれ配列番号104および7；ならびに
- (x) それぞれ配列番号5および106。

10

【0264】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号5、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、102および104からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされ、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号7、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47および106からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされる。

【0265】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号5、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、102および104からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列によりコードされ、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号7、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47および106からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列によりコードされる。

20

【0266】

一部の実施形態では、本明細書において、ヒトCD137に特異的に結合し、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXXYYX（配列番号126）を有する重鎖CDR3を含む抗CD137抗体が提供され、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、Xは、アラニンを除く任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、配列番号126のD95、L100、Y100E、Y100Gおよび/またはY100H残基の変異は、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる。

30

【0267】

一部の実施形態では、本明細書において、ヒトCD137に特異的に結合し、アミノ酸配列DXPFXLXXXXYXXYYX（配列番号127）を有する重鎖CDR3を含む抗CD137抗体が提供され、式中、Xは任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、配列番号126のF98、D100A、Y100Dおよび/またはY100Fおよび/またはY100H残基のアラニンへの変異は、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる。一部の実施形態では、配列番号126のF98、D100A、Y100Dおよび/またはY100Fおよび/またはY100H残基のアラニン以外の任意の残基への変異は、ヒトCD137に対する結合の上昇を生じさせる。

【0268】

40

一部の実施形態では、本明細書においてヒトCD137に特異的に結合し、アミノ酸配列D_{X1}X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀（配列番号128）を有する重鎖CDR3を含む抗CD137抗体が提供され、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、式中、X₂はプロリンであり、式中、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、式中、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、式中、X₈はチロシンであり、そして式中、X₉はチロシンである。

【0269】

50

特定の標的（例えばCD137）に対する結合における、抗体またはその抗原結合部分の重鎖CDR3内のアミノ酸残基の役割は、当業者に公知の方法により決定することができる。一部の実施形態では、アラニンスキャニングを使用した最初の解析を完了させて、抗原結合に重要な残基が決定される。本明細書に記載されるように、アラニンスキャニングは、特定の野生型残基の、所与のタンパク質もしくはポリペプチドの安定性または機能（例えば結合アフィニティなど）への寄与を決定するために使用される技術である。この技術には、ポリペプチド中の野生型残基とアラニン残基の置換、次いでアラニン置換された誘導体もしくは変異体ポリペプチドの安定性または機能（例えば結合アフィニティなど）の評価、そしてその野生型ポリペプチドとの比較が含まれる。一部の実施形態では、重要ではないと特定された残基は、抗原に対する抗体の結合を調節すること（例えば結合を上昇または低下させる）に関してさらに評価される。こうした解析の非限定的な例は、ディープ突然変異スキャニング（deep mutational scanning）である。この方法は、多数の変異の評価を可能にする。一部の実施形態では、重鎖CDR3内の各アミノ酸残基は、各アミノ酸残基（アラニンを除く）に変異され、結合が評価される。アミノ酸残基の変異の効果を解析するための他の方法も当分野に公知である。一部の実施形態では、これらの方法を利用して、ヒトCD137への結合における、重鎖および軽鎖のCDRのすべての残基の役割が評価される。

【0270】

例示的なCD137結合抗体

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約40～100nM（例えば約40nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、上述のヒトCD137上のエピトープに結合する（例えばK114を含む）。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、上述のヒトCD137上のエピトープに結合する（例えばK114を含む）。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、上述のヒトCD137上のエピトープに結合し（例えばK114を含む）、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含む。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、上述のヒトCD137上のエピトープに結合し（例えばK114を含む）、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYX（配列番号126）を含む重鎖CDR3を含む。

【0271】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、
 (i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；および
 (ii) アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。

【0272】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM (例えば約30nM～約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する; および

(ii) 配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに結合する。

【0273】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM (例えば約30nM～約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する;

(ii) 配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに結合する。

(iii) アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である; または

(iv) それらの組み合わせである。

【0274】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM (例えば約30nM～約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する;

(ii) 配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに結合する。

(iii) アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である; または

(iv) それらの組み合わせである。

【0275】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM (例えば約30nM～約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する;

(ii) 配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに特異的に結合する; および

(iii) アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。

【0276】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM (例えば約30nM～約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する;

(ii) 配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135残基を一つまたは複数含むヒトCD137上のエピトープに結合する; および

(iii) アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。

【0277】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM (例えば約30nM～約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合する; および

(ii) 配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに結合する。

【0278】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに結合する。

(iii) アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である；または

(iv) それらの組み合わせである。

【0279】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに結合する。

(iii) アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である；または

(iv) それらの組み合わせである。

【0280】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに結合する；および

(iii) アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。

【0281】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；

(ii) 配列番号3の111位～135位のアミノ酸に相当する一つまたは複数のアミノ酸残基の配列を含むエピトープに結合する；および

(iii) アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。

【0282】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

(i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティでヒトCD137に結合する；および

(ii) ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに結合する。

10

20

30

40

50

【 0 2 8 3 】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

- (i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；
- (ii) ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに結合する；
- (iii) アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である；または
- (iv) それらの組み合わせである。

【 0 2 8 4 】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

- (i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；
- (ii) ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに結合する；
- (iii) アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である；または
- (iv) それらの組み合わせである。

【 0 2 8 5 】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

- (i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；
- (ii) ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに結合する；および
- (iii) アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である。

【 0 2 8 6 】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、

- (i) 約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合する；
- (ii) ELTK（配列番号3の111位～114位のアミノ酸残基に相当する）を含むエピトープに結合する；および
- (iii) アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である。

【 0 2 8 7 】

一部の実施形態では、上述の抗CD137抗体は、以下からなる群から選択される重鎖および軽鎖のCDRを含む：

- (a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；ならびに
- (b) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびC

10

20

30

40

50

DR3。

【0288】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、この場合において当該重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、およびこの場合において当該軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列を含む。

【0289】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号4および6；ならびに
- (b) それぞれ配列番号101および6。

10

【0290】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号4および6；
- (b) それぞれ配列番号101および6；ならびに
- (c) それぞれ配列番号26および6。

【0291】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号5および7；ならびに
- (b) それぞれ配列番号102および7。

20

【0292】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号5および7；
- (b) それぞれ配列番号102および7；ならびに
- (c) それぞれ配列番号27および7。

【0293】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、この場合において当該重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、およびこの場合において当該軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

30

【0294】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、この場合において当該重鎖可変領域は、配列番号4、26および101からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、およびこの場合において当該軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む。

40

【0295】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、この場合において当該重鎖可変領域は、配列番号5および102からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し、少なくとも90%同一であるヌクレオチド配列によりコードされ、およびこの場合において当該軽鎖可変領域は、配列番号7のヌクレオチド配列に対し、少なくとも90%同一であるヌクレオチド配列によりコードされる。

【0296】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、この場合において当該重鎖可変領域は、配列番号5、27および102からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し、少なくとも90%同一であるヌクレオチド配列によりコードされ

50

、およびこの場合において当該軽鎖可変領域は、配列番号7のヌクレオチド配列に対し、少なくとも90%同一であるヌクレオチド配列によりコードされる。

【0297】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号4および6；ならびに
- (b) それぞれ配列番号101および6。

【0298】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号4および6；
- (b) それぞれ配列番号101および6；ならびに
- (c) それぞれ配列番号26および6。

【0299】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し少なくとも90%同一であるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号5および7；ならびに
- (b) それぞれ配列番号102および7。

【0300】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列に対し少なくとも90%同一であるヌクレオチド配列によりコードされる重鎖および軽鎖の可変領域を含む：

- (a) それぞれ配列番号5および7；
- (b) それぞれ配列番号102および7；ならびに
- (c) それぞれ配列番号27および7。

【0301】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の配列の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）またはmAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）の少なくとも機能的特性を有する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体の機能的特性としては、限定されないが以下が挙げられる：CD137の二量体化の誘導または強化；CD137の多量体化の誘導または強化；CD137介在性T細胞活性化の誘導または強化；CD137介在性細胞障害性T細胞応答の誘導または強化；CD137介在性T細胞増殖の誘導または強化；CD137介在性サイトカイン産生の誘導または強化；肝臓内および/もしくは脾臓内のT細胞活性化ならびに/またはT細胞増殖の誘導または強化の欠落；ならびに腫瘍増殖の低下または阻害。

【0302】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗CD137抗体は、mAb1（すなわちそれぞれ配列番号4および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）、mab8（すなわちそれぞれ配列番号101および6の配列の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）またはmAb10（すなわちそれぞれ配列番号26および6の重鎖可変配列ならびに軽鎖可変配列を含む抗体）と少なくとも同等の平衡解離定数 K_D でヒトCD137に結合する。

【0303】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、ヒトIgG1重鎖定常領域またはヒトIgG4重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、ヒト野生型IgG1重鎖定常領域またはヒト野生型IgG4重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、配列番号1に記載されるヒト野生型IgG1重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137

10

20

30

40

50

抗体は、変異型IgG1重鎖定常領域または変異型IgG4重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、変異型IgG4重鎖定常領域を含み、この場合において当該変異型IgG4重鎖定常領域は、Ser228残基でアミノ酸置換を含む。一部の実施形態において、Ser228でのアミノ酸置換は、S228Pである。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、IgG4重鎖定常領域を含み、この場合においてC末端リシン残基は除去されている。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、C末端リシン残基は除去されたIgG4重鎖定常領域を含み、S228Pアミノ酸置換を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、配列番号2に記載されるIgG4重鎖定常領域を含む。

【0304】

10

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号129および133に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

【0305】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号130および133に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

【0306】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号131および133に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

【0307】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号132および133に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

20

【0308】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号129および133に対し、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の同一性を持つアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号130および133に対し、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の同一性を持つアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号131および133に対し、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の同一性を持つアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、それぞれ配列番号132および133に対し、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の同一性を持つアミノ酸配列を含む重鎖および軽鎖を含む。

30

【0309】

CD137結合抗体の特徴解析および機能

I. アフィニティ

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、抗原結合アッセイにより決定された場合、約40~100nM（例えば約40nM~約100nM）のアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、抗原結合アッセイにより決定された場合、約30~100nM（例えば約30nM~約100nM）のアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、抗原結合アッセイにより決定され場合、約45~95nM、50~90nM、55~85nM、60~80nM、65~75nM、55~75nM、40~70nM、50~80nMまたは60~90nMのアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。

40

【0310】

一部の実施形態では、抗原結合アッセイは、CD137ポリペプチドに対する抗CD137抗体の結合アフィニティを決定する。一部の実施形態では、抗原結合アッセイは、表面プラ

50

ズモン共鳴である。したがって一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、表面プラズモン共鳴を使用して決定された場合、約40～100nM（例えば約40nM～約100nM）のアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、表面プラズモン共鳴を使用して決定された場合、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、表面プラズモン共鳴を使用して決定され場合、約45～95nM、50～90nM、55～85nM、60～80nM、65～75nM、55～75nM、40～70nM、50～80nMまたは60～90nMのアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。

【0311】

「表面プラズモン共鳴」という文言は、例えばBIAcoreシステム(Pharmacia Biosensor AB社、スウェーデン、ウプサラ、およびニュージャージー州ピスカタウェイ)を使用してバイオセンサーマトリクス内のタンパク質濃度の変化を検出することにより、リアルタイムでの生体特異的相互作用の解析が可能な光学現象を含む。詳しくは、Jonsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26; Jonsson, U., et al. (1991) Biotechniques 11:620-627; Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131;およびJohnnson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277を参照のこと。一部の実施形態では、抗原結合アッセイは、バイオレイヤー干渉法（BLI: biolayer interferometry）である。したがって一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、バイオレイヤー干渉法を使用して決定された場合、約40～100nM（例えば約40nM～約100nM）のアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、バイオレイヤー干渉法を使用して決定された場合、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、バイオレイヤー干渉法を使用して決定され場合、約45～95nM、50～90nM、55～85nM、60～80nM、65～75nM、55～75nM、40～70nM、50～80nMまたは60～90nMのアフィニティ（KD）でヒトCD137に結合する。

【0312】

「バイオレイヤー干渉法」または「BLI」という文言には、その光学層の検出表面の厚さにおけるナノメートル未満の変化の測定を可能にする光学現象が含まれる。一部の実施形態では、生体分子はセンサー表面で結合し、光学層の厚さを変化させる。光学層の厚さの変化の大きさは、結合分子の質量または分子量に比例する。一部の実施形態では、CD137はセンサー表面に固定され、抗体による結合が測定される。この場合において結合は、分子量に変化をもたらし、光学層の厚さに対応する変化を生み出す。一部の実施形態では、BLIは、OCTETシステム（ForteBio社）で実施される。

【0313】

II. 免疫細胞効果

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、サイトカインアッセイにより決定された場合、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化する。一部の実施形態では、サイトカインアッセイは、抗CD137抗体と接触した免疫細胞から分泌された少なくとも一つのサイトカインの量を決定し、この場合において当該少なくとも一つのサイトカインの量における増加は、抗CD137抗体によるサイトカイン産生の誘導または強化を示唆する。一部の実施形態では、サイトカイン産生の増加は、対照抗体（例えばCD137に結合せず、サイトカイン産生を誘導しない抗体）と比較して少なくとも1倍、2倍、3倍、4倍または5倍高い。

【0314】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、サイトカインアッセイにより決定された場合、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、この場合において当該サイトカインアッセイは、以下の工程を含む：

(i) 免疫細胞と抗CD137抗体と接触させる工程；および

(ii) 当該免疫細胞により産生される少なくとも一つのサイトカインの量を決定する工程、この場合において当該少なくとも一つのサイトカインの量の増加は、当該抗CD137抗体が、当該免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化したことを示唆する。

【0315】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、サイトカインアッセイにより決定された場合、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、この場合において当該サイトカインアッセイは、以下の工程を含む：

(i) 免疫細胞と抗CD137抗体と接触させる工程；および

(ii) 当該免疫細胞により産生される少なくとも一つのサイトカインの量を決定する工程、および

(iii) 当該免疫細胞により産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量を、参照免疫細胞から分泌された量と比較する工程、

この場合において当該参照免疫細胞は、対照抗体と接触され、そしてこの場合において当該参照免疫細胞と比較した、当該免疫細胞から産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量の増加は、ヒトCD137介在性のサイトカイン産生の誘導または強化を示唆する。

【0316】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、サイトカインアッセイにより決定された場合、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、この場合において当該サイトカインアッセイは、以下の工程を含む：

(i) 免疫細胞と抗CD137抗体と接触させる工程；

(ii) 当該免疫細胞により産生される少なくとも一つのサイトカインの量を決定する工程、および

(iii) 当該免疫細胞により産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量を、参照免疫細胞から分泌された量またはレベルと比較する工程、

この場合において当該参照免疫細胞は、抗CD137抗体と接触しておらず、そしてこの場合において当該参照免疫細胞と比較した、当該免疫細胞から産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量の増加は、ヒトCD137介在性の当該免疫細胞によるサイトカイン産生の誘導または強化を示唆する。

【0317】

一部の実施形態では、少なくとも一つのサイトカインは、IL-2、IFN、TNF、IL-13およびそれらの組み合わせからなる群から選択される。一部の実施形態では、サイトカインは、IL-2である。一部の実施形態では、サイトカインは、IFNである。一部の実施形態では、サイトカインは、TNFである。一部の実施形態では、サイトカインは、IL-13である。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、IL-2の産生を誘導または強化する。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、TNFの産生を誘導または強化する。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、IL-13の産生を誘導または強化する。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびTNFである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFおよびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFおよびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-13およびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2、TNFおよびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2、TNFおよびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IFN、TNFおよびIL-13である。

【0318】

一部の実施形態では、免疫細胞は、T細胞である。一部の実施形態では、参照免疫細胞は、T細胞である。一部の実施形態では、T細胞は、CD8+T細胞である。

10

20

30

40

50

【0319】

一部の実施形態では、サイトカインアッセイは、サイトカインビーズアレイアッセイである。サイトカインビーズアレイアッセイは、サンプル中の複数のサイトカインの複数分析体のフローサイトメトリーの決定を可能にするビーズベースのイムノアッセイである。異なるサイズまたは色のマイクロスフェアの使用は、サイトカインビーズアレイアッセイの基礎であり、各マイクロスフェア（または「ビーズ」）は、抗原（例えばサイトカイン）に特異的に結合する抗体でコーティングされる。次いで、抗体でコーティングされたビーズを、検出用抗体と組み合わせてサンプルに導入する。次いで、ビーズ:抗原:検出用抗体の複合体をフローサイトメトリーにより分析する。市販のサイトカインビーズアレイアッセイとしては、限定されないが、BD（商標）Cytometric Bead Array Systems（BD Biosciences社）およびLuminex（登録商標）Assays（R&D Systems社）が挙げられる。一部の実施形態では、ヒトCD137介在性のサイトカイン産生の誘導または強化は、サイトカインビーズアレイアッセイにより決定される。一部の実施形態では、ヒトCD137介在性のサイトカイン産生の誘導または強化は、Luminex（登録商標）Assayにより決定される。

10

【0320】

一部の実施形態では、サイトカインアッセイは、Meso Scale Discovery（MSD）アッセイ（Meso Scale Diagnostics社；メリーランド州ロックビル）である。MSDアッセイは、対象の抗原（例えば、サイトカイン）に特異的に結合する電気化学発光標識抗体の検出に基づく市販のアッセイである。MSDアッセイは、生物試薬（例えば、サイトカインに特異的な捕捉抗体）の結合が可能なマイクロプレートウェルの底部に高結合炭素電極を含む。MSDアッセイは、検出用抗体と複合体化された電気化学発光標識を使用する。サンプルがマイクロプレートウェルに添加され、MSD装置によりプレート電極に電気が流されることで、電気化学発光標識による光の放射が生じる。光の強度が測定されて、サンプル中の分析物（例えば、サイトカイン）が定量される。一部の実施形態では、ヒトCD137介在性のサイトカイン産生の誘導または強化は、Meso Scale Discovery（MSD）アッセイにより決定される。

20

【0321】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化する。一部の実施形態では、T細胞活性化アッセイは、本明細書に記載される抗CD137抗体と接触したT細胞から分泌された少なくとも一つのサイトカインの量を決定し、この場合において当該少なくとも一つのサイトカインの量における増加は、T細胞活性化の誘導または強化を示唆する。一部の実施形態では、サイトカイン産生の増加は、対照抗体（例えばCD137に結合せず、サイトカイン産生を誘導しない抗体）と比較して少なくとも1倍、2倍、3倍、4倍または5倍高い。

30

【0322】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

（i）対象からT細胞を単離する工程；

40

（ii）当該T細胞と抗CD137抗体を接触させる工程；および

（iii）（ii）の後、当該T細胞により分泌された少なくとも一つのサイトカインの量を決定する工程、

この場合において当該少なくとも一つのサイトカインのレベルの増加は、当該抗CD137抗体が、T細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

【0323】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

（i）対象からT細胞を単離する工程；

50

- (ii) 当該T細胞と抗CD137抗体を接触させる工程；
 - (iii) 当該T細胞により分泌された少なくとも一つのサイトカインの量を決定する工程；
および
 - (iv) 当該T細胞により産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量を、参照T細胞から分泌された量またはレベルと比較する工程、
- この場合において当該参照T細胞は、抗CD137抗体と接触しておらず、そしてこの場合において当該参照T細胞と比較した、当該T細胞から産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量の増加は、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

【0324】

10

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

- (i) 対象からT細胞を単離する工程；
- (ii) 当該T細胞と抗CD137抗体を接触させる工程；
- (iii) 当該T細胞により分泌された少なくとも一つのサイトカインの量を決定する工程；
および
- (iv) 当該T細胞により産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量を、参照T細胞から分泌された量と比較する工程、

この場合において当該参照T細胞は、対照抗体と接触し、そしてこの場合において当該参照T細胞と比較した、当該T細胞から産生された当該少なくとも一つのサイトカインの量の増加は、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

20

【0325】

一部の実施形態では、T細胞活性化アッセイは、本明細書に記載される抗CD137抗体と接触した後にT細胞により分泌される少なくとも一つのサイトカインのレベルを決定する工程を含み、この場合において当該少なくとも一つのサイトカインは、IL-2、IFN、TNF およびIL-13からなる群から選択される。一部の実施形態では、サイトカインは、IL-2である。一部の実施形態では、サイトカインは、IFNである。一部の実施形態では、サイトカインは、TNFである。一部の実施形態では、サイトカインは、IL-13である。一部の実施形態では、T細胞活性化アッセイは、例えば本明細書に記載される少なくとも一つのサイトカインの量を決定するためのアッセイなどのサイトカインアッセイを含む。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびTNFである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2およびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFおよびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、TNFおよびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-13およびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2、TNFおよびIL-13である。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IL-2、TNFおよびIFNである。一部の態様において、産生されるサイトカインは、IFN、TNFおよびIL-13である。

30

40

【0326】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合にT細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を検出する工程を含み、およびこの場合において当該少なくとも一つの活性化マーカーの発現レベルの上昇は、T細胞活性化の誘導または強化を示唆する。一部の実施形態では、「表面発現の増加」とは、対照抗体の存在下または抗体の非存在下での表面発現と比較して、表面発現にお

50

ける少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%の増加を指す。

【0327】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、インビトロでのT細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 対象からT細胞を単離する工程；

(ii) 当該T細胞と抗CD137抗体を接触させる工程；および

(iii) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を検出する工程、

この場合において当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加は、当該抗CD137抗体が、T細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

10

【0328】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 対象からT細胞を単離する工程；

(ii) 当該T細胞と抗CD137抗体を接触させる工程；

(iii) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を決定する工程；および

(iv) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を、参照T細胞上の当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較する工程、

20

この場合において当該参照T細胞は、抗CD137抗体と接触しておらず、そしてこの場合において当該参照T細胞と比較した、当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加は、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

【0329】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 対象からT細胞を単離する工程；

(ii) 当該T細胞と抗CD137抗体を接触させる工程；

(iii) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を決定する工程；

(iv) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を、参照T細胞上の当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較する工程、

30

この場合において当該参照T細胞は、対照抗体と接触し、そしてこの場合において当該参照T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較した、当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加は、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

【0330】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、インビボでのT細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 抗CD137抗体を対象に投与する工程；

(ii) 当該対象からT細胞を単離する工程；および

(iii) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を検出する工程、

この場合において当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加は、当該抗CD137抗体が、CD137介在性のT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

40

【0331】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

50

(i) 抗CD137抗体を対象に投与する工程；
(ii) 当該対象からT細胞を単離する工程；
(iii) その後、当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を決定する工程；および
(iv) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を、参照T細胞上の当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較する工程、
この場合において当該参照T細胞は、抗CD137抗体を投与されていない対象から単離されており、そしてこの場合において当該参照T細胞と比較した、当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加は、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

10

【0332】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞活性化アッセイにより決定された場合、T細胞活性化を誘導または強化し、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 抗CD137抗体を対象に投与する工程；
(ii) 当該対象からT細胞を単離する工程；
(iii) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を決定する工程；および
(iv) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を、参照T細胞上の当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較する工程、
この場合において当該参照T細胞は、対照抗体と接触した対象から単離されており、そしてこの場合において当該参照T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較した、当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加は、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

20

【0333】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、インビボでのT細胞活性化アッセイにより決定された場合、肝臓内T細胞活性化を誘導または強化せず、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 抗CD137を対象に投与する工程；
(ii) 当該対象の肝臓からT細胞を単離する工程；
(iii) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を検出する工程；および
(iv) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を、参照T細胞上の当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較する工程、
この場合において当該参照T細胞は、抗CD137抗体を投与されていない対象から単離されており、任意で、当該参照T細胞は、対照抗体を投与された対象から単離されており、そしてこの場合において当該参照T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較した、当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加が無いことは、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

30

【0334】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、インビボでのT細胞活性化アッセイにより決定された場合、脾臓内T細胞活性化を誘導または強化せず、この場合において当該T細胞活性化アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 抗CD137を対象に投与する工程；
(ii) 当該対象の脾臓からT細胞を単離する工程；
(iii) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を検出する工程；および
(iv) 当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現を、参照T細胞上の当該少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較する工程、
この場合において当該参照T細胞は、抗CD137抗体を投与されていない対象から単離されており、任意で、当該参照T細胞は、対照抗体を投与された対象から単離されており、そしてこの場合において当該参照T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現と比較した、当該T細胞上の少なくとも一つの活性化マーカーの表面発現における増加が無

40

50

いことは、抗CD137抗体がT細胞活性化を誘導または強化したことを示唆する。

【0335】

一部の実施形態では、「誘導または強化しない」とは、参照抗体による増加と比較して、活性（例えばT細胞活性化）が無いこと、または活性の増加が欠落していることを指すことが意図される。

【0336】

一部の実施形態では、T細胞活性化マーカーの表面発現は、抗体非存在下での表面発現と同等である。一部の実施形態では、T細胞活性化マーカーの表面発現は、参照抗体の存在下での表面発現よりも低く、当該参照抗体は、抗体の非存在下での表面発現と比較して、少なくとも1倍、5倍、10倍、50倍または100倍高く表面発現を誘導または強化する。

10

【0337】

一部の実施形態では、少なくとも一つの活性化マーカーは、CD25、CD69およびCD40Lからなる群から選択される。一部の実施形態では、一つまたは複数の活性化マーカーは、CD25である。

【0338】

一部の実施形態では、T細胞は、腫瘍を有する対象から単離される。一部の実施形態では、T細胞は、腫瘍から単離される。一部の実施形態では、対照抗体は、アイソタイプ対照抗体である。

【0339】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、腫瘍微小環境内への一つまたは複数の免疫細胞の浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、腫瘍微小環境内への一つまたは複数の免疫細胞の浸潤を減少させる。

20

【0340】

一部の実施形態では、免疫細胞浸潤アッセイは、腫瘍中の一つまたは複数の免疫細胞マーカーを発現する免疫細胞の量を決定する。一部の実施形態では、一つまたは複数の免疫細胞マーカーは、抗体で標識される。一部の実施形態では、一つまたは複数の免疫細胞マーカーは、CD45、CD25、FOXP3、CD4、CD8、F4/80、CD11b、TIGITおよびPD-1からなる群から選択される。一部の実施形態では、一つまたは複数の免疫細胞マーカーを発現する免疫細胞の腫瘍中の量は、フローサイトメトリーにより決定される。フローサイトメトリーにより一つまたは複数の免疫細胞マーカーを発現する免疫細胞を定量する方法は、当該技術分野で公知である。

30

【0341】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、参照抗体と比較して、腫瘍微小環境内への一つまたは複数の免疫細胞の浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体と同じアイソタイプを含むが、CD137に特異的に結合しない抗体である。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体と同じアイソタイプを含み、CD137に特異的に結合する抗体である。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体とは異なるアイソタイプを含み、CD137に特異的に結合しない抗体である。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体とは異なるアイソタイプを含むが、CD137に特異的に結合する抗体である。

40

【0342】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、対象の腫瘍微小環境内へのCD45発現免疫細胞の浸潤を増加させ、この場合において当該アッセイは以下の工程を含む：

(i) 抗CD137抗体を腫瘍を有する対象に投与する工程；

(ii) 当該腫瘍のサンプルを取得する工程；

(iii) CD45に特異的に結合する蛍光標識された検出抗体と当該サンプルを接触させる工程であって、当該検出抗体がCD45を発現する免疫細胞を蛍光標識する工程；および

50

(iv) フローサイトメトリーによりCD45を発現する蛍光標識された免疫細胞の量を決定する工程、

この場合において腫瘍中のCD45を発現する蛍光標識された細胞の量の増加は、抗CD137抗体が、腫瘍微小環境内への免疫細胞の浸潤を誘導または強化したことを示唆する。一部の実施形態では、CD45を発現する免疫細胞の量における増加は、腫瘍微小環境中の総細胞の少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%または80%である。

【0343】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、腫瘍微小環境内への一つまたは複数の免疫細胞の浸潤を減少または阻害させる。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、参照抗体と比較して、腫瘍微小環境内への一つまたは複数の免疫細胞の浸潤を減少させる。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体と同じアイソタイプを含むが、CD137に特異的に結合しない抗体である。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体と同じアイソタイプを含み、CD137に特異的に結合する抗体である。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体とは異なるアイソタイプを含み、CD137に特異的に結合しない抗体である。一部の実施形態では、参照抗体は、抗CD137抗体とは異なるアイソタイプを含むが、CD137に特異的に結合する抗体である。一部の実施形態では、免疫細胞の減少は、腫瘍微小環境中の総細胞の40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%または5%未満である。

【0344】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、対象の腫瘍微小環境内への腫瘍関連マクロファージの浸潤を減少させ、この場合において当該アッセイは以下の工程を含む：

(i) 当該腫瘍のサンプルを取得する工程；

(ii) 当該腫瘍関連マクロファージを標識する一つまたは複数の抗体と当該サンプルを接触させる工程であって、当該一つまたは複数の抗体が、F4/80、CD11b、CD45およびそれらの組み合わせからなる群から選択される免疫細胞マーカーに特異的に結合する工程；および

(iii) 当該標識された腫瘍関連マクロファージの量をフローサイトメトリーにより決定する工程。一部の実施形態では、腫瘍関連マクロファージは、腫瘍微小環境中の免疫細胞の40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%または5%未満である。一部の実施形態では、腫瘍関連マクロファージは、F4/80、CD11bおよびCD45を発現する。

【0345】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、免疫細胞浸潤アッセイにより決定された場合、対象の腫瘍微小環境内へのT制御性細胞(Treg)の浸潤を減少させ、この場合において当該アッセイは以下の工程を含む：

(i) 当該腫瘍のサンプルを取得する工程；

(ii) 当該腫瘍関連マクロファージを標識する一つまたは複数の抗体と当該サンプルを接触させる工程であって、当該一つまたは複数の抗体が、CD25、FOXP-3、CD4およびそれらの組み合わせからなる群から選択される免疫細胞マーカーに特異的に結合する工程；および

(iii) 標識されたTreg細胞の量をフローサイトメトリーにより決定する工程。一部の実施形態では、Treg細胞は、腫瘍微小環境中のCD4+T細胞の35%、30%、25%、20%、15%、10%または5%未満である。一部の実施形態では、Treg細胞は、CD4、FOXP-3およびCD25を発現する。

【0346】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞消耗アッセイにより決定された場合、T細胞を、T細胞消耗から防御し、および/またはT細胞消耗を逆転させる。消耗したT細胞は、基盤分子メカニズムに基づき例えばアネルギーおよび老化など

他のT細胞機能不全から識別することができる(Crespo et al., (2013) Curr Opin Immunol 25(2):241-221)。アネルギーは共刺激シグナルの不在が原因でプライミングの間に発生するものであり、老化は広範な増殖後の成長停止である。一方で消耗したT細胞は、当初はT細胞エフェクター機能を獲得し、提供していたが、徐々にT細胞エフェクター機能の劣化を呈するようになったT細胞から生じたものであり、その原因は持続的な抗原および炎症性メディエーターからの継続的なT細胞受容体(TCR)刺激であり、それら両方ともが腫瘍中には普遍的に存在している(Wherry & Kurachi (2015) Nat Rev Immunol 15(8):486-99)。T細胞消耗の特徴としては限定されないが、インビボおよび/またはエキスピボでのT細胞機能の継続的な劣化、複合阻害性受容体(IR:inhibitory receptors)(例えばPD-1、CTLA-4、LAG-3、TIM-3、CD244、CD160、TIGIT)の発現上昇、エフェクターサイトカイン(例えばIL-2、インターフェロンガンマ(IFN)、腫瘍壊死因子(TNF)分泌の進行性の消失または低下、CCケモカイン(ケモカイン)産生の消失または低下、IL-7およびIL-15に対する貧弱な応答性、増殖能力の消失または低下、インビボおよび/またはエキスピボでの細胞溶解活性の消失または低下、細胞代謝の変化、ならびに非消耗T細胞と比較し異なる転写プロファイルが挙げられる。激しく消耗したT細胞は、除去され得る(Yi et al., (2010) Immunology 129(4):474-481)。

【0347】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞消耗アッセイにより決定された場合、T細胞を、T細胞消耗から防御し、および/またはT細胞消耗を逆転させる。この場合において当該T細胞消耗アッセイは、本明細書に記載される抗CD137抗体で処置されたT細胞から分泌される一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルを決定し、当該一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルは、T細胞消耗からの防御または逆転を示唆する。一部の実施形態では、T細胞消耗アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 対象(例えばヒト対象)からT細胞を単離する工程；

(ii) 当該T細胞を、T細胞消耗を誘導する抗原と接触させる工程；

(ii) 当該T細胞を、抗CD137抗体と接触させる工程；

(iv) 当該T細胞から分泌される一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量を決定する工程；および

(v) 当該T細胞により分泌された一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルと、参照T細胞から分泌された量またはレベルを比較する工程、

この場合において当該参照T細胞は、T細胞消耗を誘導する抗原と接触しておらず、そしてこの場合においてT細胞と参照T細胞から分泌された一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルにおける差異は、T細胞消耗からの防御または逆転を示唆する。

【0348】

一部の実施形態では、一つまたは複数のエフェクターサイトカインは、IL-2、IFN およびTNF から選択される。一部の実施形態では、一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルは、ELISAにより決定される。一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルの決定に適したELISAは当分野に公知である。一部の実施形態では、一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルは、Meso Scale Discoveryにより決定される。一部の実施形態では、一つまたは複数のエフェクターサイトカインの量またはレベルは、本明細書に記載されるサイトカイン産生アッセイのいずれか一つにより決定される。

【0349】

消耗したT細胞の緩やかな機能不全には、IRの発現が付随する。IRは標的細胞上のリガンドとの相互作用で核に阻害性シグナルを伝達する。したがって一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、T細胞消耗アッセイにより決定された場合、T細胞を、T細胞消耗から防御し、および/またはT細胞消耗を逆転させる。この場合において当該T細胞消耗アッセイは、本明細書に記載される抗CD137抗体で処置されたT細胞上の一

つまたは複数の阻害性受容体の発現レベルを決定し、当該一つまたは複数の阻害性受容体の発現レベルは、T細胞消耗からの防御または逆転を示唆する。一部の実施形態では、T細胞消耗アッセイは、以下の工程を含む：

- (i) 対象（例えばヒト対象）からT細胞を単離する工程；
- (ii) 当該T細胞を、T細胞消耗を誘導する抗原と接触させる工程；
- (ii) 当該T細胞を、抗CD137抗体と接触させる工程；
- (iv) T細胞上の一つまたは複数の阻害性受容体の発現レベルを決定する工程；および
- (v) T細胞上の一つまたは複数の阻害性受容体の発現レベルと、参照T細胞から分泌された量またはレベルを比較する工程であって、当該参照T細胞は、T細胞消耗を誘導する抗原と接触しておらず、そしてこの場合においてT細胞と参照T細胞の一つまたは複数の阻害性受容体の発現レベルにおける差異は、T細胞消耗からの防御または逆転を示唆する。

10

【0350】

一部の実施形態では、一つまたは複数の阻害性受容体は、TIGITおよびPD-1から選択される。一部の実施形態では、一つまたは複数の阻害性受容体の発現レベルは、フローサイトメトリーにより決定される。フローサイトメトリーにより免疫細胞（例えばT細胞）上の阻害性受容体の発現レベルを決定する方法は当分野に公知である。

【0351】

一部の実施形態では、消耗T細胞の量は、腫瘍微小環境中の総CD8+T細胞またはCD4+T細胞の20%、15%、10%または5%未満である。

【0352】

本明細書に記載されるアッセイが、「対象からT細胞を単離する工程」に言及する場合、当該アッセイは、対象から従前に単離されたT細胞上での実施に適し得ることを理解されたい。

20

【0353】

本明細書に記載されるアッセイが、(i) 対象に抗CD137抗体を投与する工程、(ii) 当該対象からT細胞を単離する工程、に言及する場合、当該アッセイは、抗CD137抗体が投与された対象から従前に単離されたT細胞上での実施に適し得ることを理解されたい。

【0354】

本明細書に記載されるアッセイが、「腫瘍サンプルを取得する工程」に言及する場合、当該アッセイは、対象から従前に単離された腫瘍サンプル上での実施に適し得ることを理解されたい。

30

【0355】

本明細書に記載されるアッセイが、(i) 腫瘍を有する対象に抗CD137抗体を投与する工程、(ii) 腫瘍サンプルを取得する工程、に言及する場合、当該アッセイは、抗CD137抗体が投与された対象から従前に単離された腫瘍サンプル上での実施に適し得ることを理解されたい。

【0356】

III. 非リガンド結合

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、リガンド結合アッセイにより決定された場合、CD137の非リガンド結合領域に結合する。リガンド結合アッセイ（LBA）は、2つの反応性分子（例えば、受容体とリガンドポリペプチド）の間に生じる相互作用の測定値を提供するアッセイまたは解析の手順である。好適なことに、LBAは、二つの反応性分子（例えば受容体とリガンドポリペプチド）の間のアフィニティの程度の測定値を提供する。例えば一部の実施形態では、リガンド結合アッセイを使用して、リガンド分子（例えばCD137L）が受容体（例えばCD137）に結合すること、結合速度、結合の程度、またはそれらの組み合わせが決定される。一部の実施形態では、受容体へのリガンド結合の存在、速度および/または程度を決定するために、リガンド結合アッセイは、リガンド：受容体の複合体の形成を検出する工程を含む。一部の実施形態では、受容体へのリガンド結合の存在、速度および/または程度を決定するために、リガンド結合アッセイは、リガンド：受容体の複合体の解離を決定する工程を含む。

40

50

【0357】

一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、受容体との複合体中の蛍光標識されたりガンドの検出により決定される。一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、リガンドとの複合体中の蛍光標識された受容体の量の検出および／または定量により決定される。一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、リガンド：受容体の複合体に特異的に結合する蛍光標識抗体の量の検出および／または定量により決定される。蛍光を検出および定量する方法は当分野で公知であり、限定されないが、蛍光偏光法（FP）および蛍光異方性法（FA）が挙げられる。

【0358】

一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、受容体との複合体中の放射性標識されたりガンドの量の検出および／または定量により決定される。一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、リガンドとの複合体中の放射性標識された受容体の量の検出および／または定量により決定される。一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、リガンド：受容体の複合体に特異的に結合する放射性標識抗体の量の検出および／または定量により決定される。放射活性を検出および定量する方法は当分野で公知であり、限定されないが、定量的オートラジオグラフィおよびシンチレーション計数が挙げられる。

【0359】

一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、受容体との複合体中の生物発光標識されたりガンドの量の検出および／または定量により決定される。一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、リガンドとの複合体中の生物発光標識された受容体の量の検出および／または定量により決定される。一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、リガンド：受容体の複合体に特異的に結合する生物発光標識抗体の量の検出および／または定量により決定される。生物発光を検出および定量する方法は当分野で公知であり、限定されないが、ルミノメトリー（luminometry）が挙げられる。

【0360】

一部の実施形態では、リガンド：受容体の複合体の形成および／または解離は、上述の表面プラズモン共鳴（SPR）により決定される。

【0361】

一部の実施形態では、リガンド結合アッセイは、受容体に特異的に結合する抗体（例えば抗CD137抗体）が、リガンド：受容体の複合体の形成に影響を与えるか否かを、当該抗体の存在下での受容体へのリガンド結合の存在、速度および／または程度を決定することにより、決定する。一部の実施形態では、受容体（例えばCD137）に特異的に結合し、リガンド：受容体の複合体（例えばCD137：CD137L複合体）の形成を減少、中断または妨害する抗体（例えば抗CD137抗体）は、「リガンドブロッキング抗体」として知られている。一部の実施形態では、「リガンドブロッキング抗体」は、当該リガンドブロッキング抗体の非存在下で発生するリガンド：受容体複合体（例えば、CD137：CD137L複合体）の形成と比較して、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%または少なくとも50%まで、リガンド：受容体の複合体（例えば、CD137：CD137L複合体）の形成を減少させ得る。一部の実施形態では、受容体（例えばCD137）に特異的に結合し、リガンド：受容体の複合体（例えばCD137：CD137L複合体）の形成を減少、中断または妨害しない抗体（例えば抗CD137抗体）は、「非リガンドブロッキング抗体」と呼称される。一部の実施形態では、「非リガンドブロッキング抗体」は、当該非リガンドブロッキング抗体の非存在下で発生するリガンド：受容体複合体（例えば、CD137：CD137L複合体）の形成と比較して、10%未満、5%未満、2%未満または1%未満まで、リガンド：受容体の複合体（例えば、CD137：CD137L複合体）の形成を減少させ得る。したがって一部の実施形態では、リガンド結合アッセイは、「リガンドブロッキング抗体」または「非リガンドブロッキング抗体」として、受容体に結合する抗体を特徴解析する。

10

20

30

40

50

【 0 3 6 2 】

一部の実施形態では、リガンド結合アッセイは、受容体に特異的に結合し、リガンド:受容体の複合体の形成を促進する抗体を特徴解析する。一部の実施形態では、リガンド結合アッセイは、受容体に特異的に結合し、リガンド:受容体の複合体の形成を安定化させる抗体を特徴解析する。一部の実施形態では、リガンド:受容体の複合体の抗体による誘導および/または安定化は、抗体のアゴニスト性効果に寄与する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、リガンド結合アッセイにより決定された場合、CD137をアゴナイズする。

【 0 3 6 3 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、リガンド結合アッセイ (LBA) により決定された場合、CD137に結合し、CD137L結合を誘導する。

10

【 0 3 6 4 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、リガンド結合アッセイにより決定された場合、CD137に結合して、CD137L結合を誘導し、この場合において当該リガンド結合アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 様々な濃度でCD137およびCD137Lと、抗CD137抗体を混合する工程であって、この場合においてCD137とCD137Lは、CD137:CD137Lの複合体を形成する工程、および (ii) 経時的に、抗CD137抗体の存在下で、CD137:CD137Lの複合体を検出する工程、この場合において、抗CD137抗体の存在下でのCD137:CD137Lの複合体の増加は、当該抗CD137抗体が、CD137へのCD137Lの結合を誘導したことを示唆する。抗CD137抗体の存在下でのCD137:CD137L複合体の増加は、抗CD137抗体の非存在下でのCD137:CD137L複合体の量よりも、少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、または少なくとも20倍高くてもよい。

20

【 0 3 6 5 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される単離抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、リガンド結合アッセイにより決定された場合、CD137の非リガンド結合領域に結合し、この場合において当該リガンド結合アッセイは、以下の工程を含む：

(i) 様々な濃度でCD137およびCD137Lと、抗CD137抗体を混合する工程であって、この場合においてCD137とCD137Lは、CD137:CD137Lの複合体を形成する工程、および (ii) 経時的に、抗CD137抗体の存在下で、CD137:CD137Lの複合体を検出する工程、この場合において、抗CD137抗体の存在下でCD137:CD137L複合体の変化がないことは、当該抗CD137抗体が、CD137の非リガンド結合領域に結合したことを示唆する。一部の実施形態では、CD137:CD137L複合体の2%未満の変化は、抗CD137抗体が、CD137の非リガンド結合領域に結合したことを示唆する。一部の実施形態では、CD137:CD137L複合体の5%未満の変化は、抗CD137抗体が、CD137の非リガンド結合領域に結合したことを示唆する。一部の実施形態では、CD137:CD137L複合体の10%未満の変化は、抗CD137抗体が、CD137の非リガンド結合領域に結合したことを示唆する。

30

【 0 3 6 6 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、バイオレイヤー干渉法により決定された場合、CD137の非リガンド結合領域に結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、表面プラズモン共鳴撮像法 (SPRi) により決定された場合、CD137の非リガンド結合領域に結合する。一部の実施形態では、CD137およびCD137Lは、抗CD137抗体が前もってロードされたセンサー (すなわち抗体がセンサー上に捕捉されている) に連続して適用される。一部の実施形態では、非リガンド結合領域への抗CD137抗体の結合は、CD137Lへの暴露時の応答における増加により示唆される。

40

【 0 3 6 7 】

IV. CD137結合抗体の機能

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30~100nM (例えば約30nM~約100nM) のアフィニティ (K_D) でヒトCD137に結合し、T細胞

50

胞消耗を阻害または低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、T細胞活性化を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、抗腫瘍有効性を呈する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、マクロファージ分化および/もしくは活性化を阻害または低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、腫瘍微小環境中内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、約30～100nM（例えば約30nM～約100nM）のアフィニティ（ K_D ）でヒトCD137に結合し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

【0368】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、T細胞活性化を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、T細胞増殖を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、抗腫瘍有効性を呈する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞消耗を阻害または低下させ、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

【0369】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、T細胞増殖を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、抗腫瘍有効性を呈する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞活性化を誘導または強化し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

10

【0370】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、T細胞増殖を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、抗腫瘍有効性を呈する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、免疫細胞によるサイトカイン産生を誘導または強化し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

20

30

【0371】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、抗腫瘍有効性を呈する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、CD137とCD137Lの相互

40

50

作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、T細胞増殖を誘導または強化し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

【0372】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗腫瘍有効性を呈し、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗腫瘍有効性を呈し、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗腫瘍有効性を呈し、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗腫瘍有効性を呈し、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗腫瘍有効性を呈し、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗腫瘍有効性を呈し、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、抗腫瘍有効性を呈し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

10

【0373】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させ、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させ、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させ、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させ、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させ、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、マクロファージの分化および/もしくは活性化を阻害または低下させ、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

20

【0374】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化し、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化し、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化し、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化し、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、NF- κ Bシグナル伝達を誘導または強化し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

30

40

【0375】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化し、肝毒性を誘導しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化し、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化し、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、腫瘍微小環境内への免疫細胞浸潤を誘導または強化し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

【0376】

50

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、肝毒性を誘導せず、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、肝毒性を誘導せず、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、肝毒性を誘導せず、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

【0377】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合し、CD137とCD137Lの相互作用を阻害しない。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、細胞外CD137上の非リガンド結合ドメインに結合し、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137アゴニスト性抗体は、CD137とCD137Lの相互作用を阻害せず、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。

【0378】

エピトープマッピング

本開示は、ヒトCD137のエピトープに特異的に結合し、ヒトCD137のエピトープへの結合に関して参照mAb（例えばmAb1）と競合する抗CD137抗体、またはその抗原結合断片を提供する。抗CD137抗体のエピトープを特徴解析する、マッピングする、または解明するための方法は、構造的な方法、機能的な方法またはコンピュータ上の方法へとグループ分けすることができる。抗体と、抗体が結合する対応抗原の間の相互作用の正確な分子構造を決定するための構造的な方法で特に適したものは、X線結晶構造解析法（あるいは「X線共結晶構造解析法」）である。結合した抗体抗原ペアの結晶構造によって、抗原のエピトープと抗体のパラトープの両方において、側鎖と主鎖の両方の個々のアミノ酸の間の主要な相互作用に関する非常に正確な決定を行うことができる。互いに4オングストローム（ \AA ）以内にあるアミノ酸は一般的に、接触している残基であるとみなされる。この技術には多くの場合、抗体と抗原の精製、複合体の形成と精製、次いで結晶化スクリーニングの連続ラウンド、および回析クオリティの結晶を得るための最適化が含まれる。しばしばシンクロトロン放射源でのX線結晶構造解析が行われた後に、構造解が得られる。エピトープマッピングの他の構造的な方法としては、質量分析法と組み合わされた水素-重水素交換法、架橋結合質量分析法、および核磁気共鳴(NMR)法が挙げられるが、これに限定されない（例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996); Abbott et al., (2014) Immunology 142(4):526-535を参照のこと）。

【0379】

エピトープマッピングの機能的な方法は当分野で公知であり、典型的には全タンパク質、タンパク質断片またはペプチドへの抗体結合の評価または定量を含む。エピトープマッピングの機能的な方法を使用して、例えば、直線状エピトープまたは立体構造エピトープを特定することができ、および/または2つ以上の異なる抗体が同じまたは類似したエピトープに結合する場合の推察を行うことができる。エピトープマッピングの機能的な方法としては、例えばイムノプロットイングおよび免疫沈降アッセイが挙げられ、CD137由来の重複ペプチドまたは連続ペプチドが、例えばmAb1などの抗CD137抗体との反応性に関して検証される。他のエピトープマッピングの機能的な方法としては、アレイ系のオリゴペプチドスキャンニング（あるいは「重複ペプチドスキャンニング」または「ペプスキャン (pepscan) 分析」としても知られる）、部位特異的突然変異誘導（例えばアラニンスキャンニング突然変異誘導）、およびハイスループット突然変異誘導マッピング（例えばショットガン突然変異誘導マッピング）が挙げられる。

【0380】

多くのタイプの競合結合アッセイが公知であり、例えば固相直接または間接放射免疫アッセイ (RIA)、固相直接または間接酵素免疫アッセイ (EIA)、サンドイッチ競合アッセイ (Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242 (1983)を参照)、固相直接ビオチン-アビジンEIA (Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614 (1986)を参照)

、固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ (Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)を参照)、I-125標識を使用した固相直接標識RIA (Morel et al., *Mol. Immunol.* 25(1): 7 (1988)を参照)、固相直接ビオチン-アビジンEIA (Cheung et al., *Virology* 176:546 (1990))、および直接標識RIA (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990))がある。典型的にはこうしたアッセイには、固体表面または細胞に結合された精製抗原の使用と、1) 非標識被験抗原結合タンパク質と、標識参照抗原結合タンパク質、または2) 標識被験抗原結合タンパク質および標識参照抗原結合タンパク質、のいずれかの使用を含む。競合阻害は、被験抗原結合タンパク質の存在下で、固体表面または細胞に結合した標識の量を決定することによって測定される。通常、被験抗原結合タンパク質は余剰に存在する。競合アッセイ (抗原結合タンパク質を競合させる) により特定される抗原結合タンパク質には、参照抗原結合タンパク質 (例えばmAb1) と同じエピトープに結合する抗原結合タンパク質、および参照抗原結合タンパク質 (例えばmAb1) に結合されるエピトープに十分に近接した隣接エピトープに結合する抗原結合タンパク質が含まれ、立体障害が発生する。競合結合を決定する方法に関するさらなる詳細は、本明細書の実施例に提示される。通常、競合抗原結合タンパク質が余剰に存在すれば (例えば、約1倍、約5倍、約10倍、約20倍、約50倍、または約100倍余剰)、参照抗原結合タンパク質が共通抗原に特異的に結合するのを少なくとも約40~45%、約45~50%、約50~55%、約55~60%、約60~65%、約65~70%、約70~75%または約75%以上まで阻害 (例えば低下または妨害) するであろう。一部の事例では、結合は、少なくとも約80~85%、約85~90%、約90~95%、約95~97%、または約97%以上まで阻害される。

10

20

【0381】

部位特異的突然変異誘導法は、標的化された部位特異的な突然変異の誘導が含まれ、この方法ではタンパク質配列に沿って置換を体系的に導入し、その後に抗体結合に関する各置換の効果を決定することによって、重要なアミノ酸が特定される。これは、「アラニンスキャニング突然変異誘導」(Cunningham and Wells (1989) *Science* 244:1081-1085)によって行われてもよく、またはCD137中のアミノ酸残基の点変異誘導を行う他の形態により行われてもよい。理論に拘束されるものではないが、第一の抗体の結合を低下させる、または除外させる抗原中の本質的にすべてのアミノ酸変異が、第二以降の抗体の結合も低下または除外させる場合、二つ以上の抗体 (例えば被験抗体と例えばmAb1などの参照抗体) は、同じエピトープを有している。

30

【0382】

ショットガン突然変異誘導マッピングは、標的遺伝子に関して包括的なプラスミド突然変異ライブラリを利用している。ライブラリ中の各クローンは固有のアミノ酸突然変異を担持し、そしてライブラリ全体で標的タンパク質内のすべてのアミノ酸をカバーする。突然変異ライブラリを構成するクローンは、マイクロプレート中で個別に配置され、生きた哺乳動物細胞内で発現され、対象抗体との免疫反応性に関して検証される。抗体エピトープに重要なアミノ酸は反応性の消失により特定され、その後、タンパク質構造上にマッピングされ、エピトープが可視化される。哺乳動物細胞内での標的タンパク質抗原の発現は多くの場合、標的タンパク質抗原の本来の構造をもたらし、これにより直線状エピトープおよび立体構造エピトープの両方が複雑なタンパク質上にマッピングされる。(Paes et al., *J. Am. Chem. Soc.* 131 (20): 6952-6954 (2009); Banik and Doranz, *Genetic Engineering and Biotechnology News* 3(2): 25-28 (2010))。

40

【0383】

抗CD137抗体に結合されるエピトープも、ペプチドスキャニング法を使用して決定される。ペプチドスキャニングにおいて、標的タンパク質のCD137の重複セグメントに由来する短いペプチド配列のライブラリを、対象抗体に結合する能力に関して検証する。ペプチドが合成され、例えばELISAまたはBIACOREを使用して、または「ペプスキャン」法 (WO 84/03564; WO 93/09872)にあるように、固相スクリーニング用の複数の方法 (Reineke et al, *Curr. Opin. Biotechnol.* 12: 59-64, 2001)のいずれかにより

50

チップ上で、結合に関してスクリーニングされる。

【0384】

近年開発されたCLIPS (chemical linkage of peptides onto scaffolds) と呼ばれる技術を使用して、立体構造エピトープをマッピングしてもよい。ペプチドの緩い端部を合成スキャホールド上に貼り付け、それによりスキャホールドされたペプチドは、本来のタンパク質中の対応する配列と同じ空間的構造をとることができるようになり得る。CLIPS技術を使用して環状構造内に直線状ペプチドを固定し(「シングル・ループ」形式)、そしてタンパク質結合部位の別々の部分を引き合わせる(「ダブル・ループ」、「トリプル・ループ」などの形式)。それにより抗体結合に関しアッセイ可能な立体構造エピトープが生成される。(米国特許第7,972,993号)。

10

【0385】

本開示によって提供される抗体に結合されるエピトープはコンピュータ上の方法を使用してマッピングされてもよい。これらの方法において、例えばペプチド断片ライブラリは、ファージまたは細胞の表面上に提示される。次いで選択的結合アッセイを使用してこれら断片に対する抗体をスクリーニングすることによりエピトープがマッピングされる。ファージディスプレイを使用して取得された直線状アフィニティ選択ペプチドを基にした立体構造エピトープの予想を可能とする、多くのコンピュータツールが開発されている(May rose et al., (2007) Bioinformatics 23:3244-3246)。ファージディスプレイによる立体構造エピトープの検出用の方法も利用可能である。微生物ディスプレイシステムを使用して、細胞表面上に適切にフォールディングされた抗原性断片を発現させ、立体構造エピトープを特定してもよい(Cochran et al., J. Immunol. Meth. 287: 147-158, 2004; Rockberg et al., Nature Methods 5: 1039-1045, 2008)。

20

【0386】

タンパク質分解法および質量分析法を含む方法を使用して抗体エピトープを決定してもよい(Baerga-Ortiz et al., Protein Sci. 2002 June; 11 (6): 1300-1308)。制限タンパク質分解法において、抗原は抗体の存在下および非存在下で異なるプロテアーゼにより分解され、その断片が質量分析法により特定される。エピトープは、抗体が結合したときにタンパク質分解から防御されるようになる抗原の領域である(Suckau et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 9848-9852, 1990)。さらなるタンパク質分解系の方法としては例えば、選択的化学修飾(Fiedler et al., Bioconjugate Chemistry 1998, 9(2): 236-234, 1998)、エピトープ切除(Van de Water et al., Clin. Immunol. Immunopathol. 1997, 85(3): 229-235, 1997)が挙げられ、さらに近年開発された水素 - 重水素 (H/D) 交換法(Flanagan, N., Genetic Engineering and Biotechnology News 3(2): 25-28, 2010)が挙げられる。

30

【0387】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、突然変異誘導法および哺乳動物ディスプレイにより決定された場合、配列番号3のアミノ酸残基111~135内に位置するエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、突然変異誘導法および哺乳動物ディスプレイにより決定された場合、配列番号3のK114を含むエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、突然変異誘導法および哺乳動物ディスプレイにより決定された場合、配列番号3のE111、T113およびK114を含むエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、突然変異誘導法および哺乳動物ディスプレイにより決定された場合、配列番号3のE111、T113、K114およびP135を含むエピトープに結合する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、突然変異誘導法および哺乳動物ディスプレイにより決定された場合、配列番号3のE111、T113、K114、N126、I132およびP135を含むエピトープに結合する。

40

【0388】

抗CD137抗体およびその抗原結合断片の作製方法

本開示は、本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片のいずれかを作

50

製するための方法も特徴とする。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体の作製方法は、適切な免疫原で対象（たとえば非ヒト哺乳動物）を免疫化する工程を含んでもよい。本明細書に記載される抗体のいずれかを作製するための適切な免疫原は、本明細書に記載される。例えば、CD137に結合する抗体を作製するために、当業者は、例えば配列番号3に示されるアミノ酸配列を含む全長ヒトCD137ポリペプチドなどの全長CD137ポリペプチドを用いて適切な対象（例えばラット、マウス、スナネズミ、ハムスター、イヌ、ネコ、ブタ、ヤギ、ウマまたは非ヒト霊長類などの非ヒト哺乳動物）を免疫化してもよい。

【0389】

適切な対象（例えば非ヒト動物）は、適切な抗原で免疫化されることができ、それとともに当該哺乳動物による抗体産生が惹起されるのに十分な回数のブースター免疫化が行われることができる。免疫原は、アジュバントとともに対象（例えば非ヒト哺乳動物）に投与されてもよい。対象に抗体を産生させるのに有用なアジュバントとしては限定されないが、タンパク質アジュバント；細菌性アジュバント、例えば全細菌（BCG、コリネバクテリウム・パルヴム（*Corynebacterium parvum*）またはサルモネラ・ミネソタ（*Salmonella minnesota*））、および細胞壁骨格、トレハロースジミコール酸、モノホスホリリピドA、結核菌のメタノール抽出残留物（MER：methanol extractable residue）、完全または不完全フロイントアジュバントをはじめとする細菌成分；ウイルスアジュバント；化学アジュバント、例えば水酸化アルミニウム、およびインド酢酸塩（iodoacetate）、およびコレステリルヘミスクシナートが挙げられる。免疫応答を誘導する方法で使用され得る他のアジュバントとしては、例えば、コレラ毒素およびパラボックスウイルスタンパク質が挙げられる。また、Bieg et al. (1999) *Autoimmunity* 31(1):15-24を参照のこと。また例えば、Lodmell et al. (2000) *Vaccine* 18:1059-1066; Johnson et al. (1999) *J Med Chem* 42:4640-4649; Baldridge et al. (1999) *Methods* 19:103-107;およびGupta et al. (1995) *Vaccine* 13(14): 1263-1276を参照のこと。

【0390】

一部の実施形態では、方法は、免疫原に結合するモノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマ細胞株を作製する工程を含む。例えば実験用マウスなどの適切な哺乳動物を、本明細書に記載されるCD137ポリペプチドで免疫化する。免疫化哺乳動物の抗体産生細胞（例えば脾臓B細胞）を、少なくとも1回の免疫原のブースター免疫化後の2～4日後に単離し、その後、適切なミエローマ細胞株の細胞との融合前に培養液中で短期間培養してもよい。細胞は例えばワクシニアウイルスまたはポリエチレングリコールなどの融合プロモーターの存在下で融合されてもよい。融合で得られたハイブリッド細胞をクローニングし、所望の抗体を分泌する細胞クローンを選択する。例えば適切な免疫原で免疫化されたBalb/cマウスの脾臓細胞を、ミエローマ細胞株のPA1またはミエローマ細胞株のSp2/0-Ag 14の細胞と融合させてもよい。融合後、細胞を、例えばHAT培地などの選択培地を補充した適切な培養培地中で一定間隔で増殖させ、正常ミエローマ細胞が所望のハイブリドーマ細胞を超えて過剰増殖するのを防ぐ。次いで得られたハイブリドーマ細胞を例えばCD137に結合する抗体などの所望抗体の分泌に関してスクリーニングする。

【0391】

一部の実施形態では、当業者は、例えば米国特許第6,300,064号（Knappikら; Morphosys AG）および（2005）*Nucleic Acids Res* 33(9):e81に記載されるように非免疫偏向ライブラリから抗CD137抗体を特定してもよい。

【0392】

一部の実施形態では、本明細書に記載される方法は、例えばファージディスプレイ技術、バクテリアディスプレイ、酵母表面ディスプレイ、真核細胞ウイルスディスプレイ、哺乳動物細胞ディスプレイ、およびセルフリー（例えばリボソームディスプレイ）抗体スクリーニング技術を含んでもよく、またはこれらと併せて使用されてもよい（例えば、Etz et al. (2001) *J Bacteriol* 183:6924-6935; Cornelis (2000) *Curr Opin Biotechnol* 11:450-454; Klemm et al. (2000) *Microbiology* 146:3025-303

2; Kieke et al. (1997) *Protein Eng* 10:1303-1310; Yeung et al. (2002) *Biotechnol Prog* 18:212-220; Boder et al. (2000) *Methods Enzymology* 328:430-444; Grabherr et al. (2001) *Comb Chem High Throughput Screen* 4:185-192; Michael et al. (1995) *Gene Ther* 2:660-668; Pereboev et al. (2001) *J Virol* 75:7107-7113; Schaffitzel et al. (1999) *J Immunol Methods* 231:119-135;およびHanes et al. (2000) *Nat Biotechnol* 18:1287-1292を参照のこと)。

【 0 3 9 3 】

様々なファージディスプレイ法を使用して抗体を特定する方法は当分野に公知である。ファージディスプレイ法において、機能性抗体ドメインは、それをコードするポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面上に提示される。そのようなファージを利用して、例えばFab、Fvまたはジスルフィド結合安定化Fv抗体断片などの抗体の抗原結合ドメインを提示させてもよく、それらファージはレパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリ（例えばヒトまたはマウス）から発現されてもよい。これらの方法で使用されるファージは、典型的には例えばfdおよびM13などのフィラメント状ファージである。抗原結合ドメインは、ファージコートタンパク質のpIII、pVIIIまたはpIXのいずれかに組み換え融合されたタンパク質として発現される。例えば、Shi et al. (2010) *JMB* 397:385-396を参照のこと。本明細書に記載されるイムノグロブリンまたはその断片の作製に使用され得るファージディスプレイ法の例としては、Brinkman et al. (1995) *J Immunol Methods* 182:41-50; Ames et al. (1995) *J Immunol Methods* 184:177-186; Kettleborough et al. (1994) *Eur J Immunol* 24:952-958; Persic et al. (1997) *Gene* 187:9-18; Burton et al. (1994) *Advances in Immunology* 57:191-280;およびPCT特許出願公開 WO 90/02809、WO 91/10737、WO 92/01047、WO 92/18619、WO 93/11236、WO 95/15982およびWO 95/20401に開示される方法が挙げられる。適切な方法は、例えば米国特許第5,698,426号、第5,223,409号、第5,403,484号、第5,580,717号、第5,427,908号、第5,750,753号、第5,821,047号、第5,571,698号、第5,427,908号、第5,516,637号、第5,780,225号、第5,658,727号、第5,733,743号および第5,969,108号にも報告されている。

【 0 3 9 4 】

一部の実施形態では、ファージディスプレイ抗体ライブラリは、免疫化哺乳動物からのB細胞から採取されたmRNAを使用して作製されてもよい。例えばB細胞を含む脾臓細胞サンプルを、上述のCD137ポリペプチドで免疫化されたマウスから単離してもよい。mRNAは、標準的な分子生物学的方法を使用して細胞から単離され、cDNAへと転換させることができる。例えば、Sambrook et al. (1989) “*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition,” Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Harlow and Lane (1988)、上記; Benny K. C. Lo (2004)、上記;およびBorrebaek (1995)、上記を参照のこと。イムノグロブリンの重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドの可変領域をコードするcDNAを使用して、ファージディスプレイライブラリを構築する。そのようなライブラリを作製する方法は、例えばMerz et al. (1995) *J Neurosci Methods* 62(1-2):213-9; Di Niro et al. (2005) *Biochem J* 388(Pt 3):889-894;およびEngberg et al. (1995) *Methods Mol Biol* 51:355-376に記載されている。

【 0 3 9 5 】

一部の実施形態では、選択とスクリーニングの組み合わせを採用して、例えばハイブリドーマ由来抗体群またはファージディスプレイ抗体ライブラリなどから対象抗体を特定してもよい。適切な方法は当分野に公知であり、例えばHoogenboom (1997) *Trends in Biotechnology* 15:62-70; Brinkman et al. (1995)、上記; Ames et al. (1995)、上記; Kettleborough et al. (1994)、上記; Persic et al. (1997)、上記;およびBurton et al. (1994)、上記に記載されている。例えば複数のファージミド

ベクターは各々、バクテリオファージコートタンパク質（例えばM13ファージのpIII、pVIIまたはpIX）と様々な抗原混合領域の融合タンパク質をコードしており、これを標準的な分子生物学的技術を使用して作製し、次いで細菌群（例えば大腸菌）内に導入する。細菌中でのバクテリオファージの発現は、一部の実施形態ではヘルパーファージの使用を必要とする。一部の実施形態では、ヘルパーファージは必要ではない（例えば、Chasteen et al., (2006) *Nucleic Acids Res* 34(21):e145を参照のこと）。細菌から産生されたファージを回収し、次いで例えば固形支持体に結合した（固定化された）標的抗原に接触させる。またファージは、溶液中の抗原に接触させてもよく、その後その複合体を固形支持体へと結合させる。

【0396】

上述の方法を使用してスクリーニングされた抗体亜群を、当分野に公知の任意の免疫学および生化学的方法を使用して特定抗原（例えばヒトCD137）に対する特異性および結合アフィニティに関して特徴解析してもよい。例えばCD137への抗体の特異的結合は、例えば限定されないが上述のELISAアッセイ、SPRアッセイ、免疫沈降アッセイ、アフィニティクロマトグラフィ、および平衡透析法などの免疫学的または生化学的方法を使用して決定されてもよい。抗体の免疫特異的結合および交差反応性を分析するために使用される免疫アッセイとしては限定されないが、例えばウェスタンブロット法、RIA、ELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ法）、「サンドイッチ」免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、免疫拡散法、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、免疫放射定量測定法、蛍光免疫アッセイ、およびプロテインA免疫アッセイなどの技術を使用した競合アッセイおよび非競合アッセイが挙げられる。こうしたアッセイは当分野において日常的であり、公知である。

【0397】

上述の方法を使用して、例えば抗CD137抗体が、全長のヒトCD137および/またはCD137タンパク質に結合しないかを決定してもよいことを理解されたい。

【0398】

選択されたCDRアミノ酸配列が短い配列である実施形態の場合（長さが10～15アミノ酸よりも短い）、当該CDRをコードする核酸は、例えばShiraishi et al. (2007) *Nucleic Acids Symposium Series* 51(1):129-130、および米国特許第6,995,259号に記載されるように化学的に合成されてもよい。アクセプター抗体をコードする所与の核酸配列に対しては、CDRをコードする核酸配列の領域を、標準的な分子生物学的技術を使用して化学合成された核酸と置き換えてもよい。化学合成された核酸の5'末端と3'末端は、ドナー抗体の可変領域をコードする核酸内への当該核酸のクローニングにおける使用のための付着末端制限酵素部位を含むように合成されてもよい。あるいは化学合成された核酸の断片は、抗体をコードすることができる断片とともに、当分野に公知のDNAアセンブリ技術を使用して結合されてもよい（例えばGibsonアセンブリ法）。

【0399】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、対応する非改変の定常領域と比較して低下したエフェクター機能を有する（またはエフェクター機能を有さない）改変重鎖定常領域を含む。抗CD137抗体の定常領域が関わるエフェクター機能は、定常領域またはFc領域の特性を変えることで調節され得る。改変されたエフェクター機能としては例えば、以下の活性のうちの一つまたは複数の調節が挙げられる：抗体依存性細胞障害活性（ADCC）、補体依存性細胞障害活性（CDC）、アポトーシス、一つまたは複数のFc受容体への結合、および炎症促進性応答。調節とは、非改変の定常領域の活性と比較して、改変された定常領域を含む対象抗体により呈されるエフェクター機能活性の増加、減少または消失を指す。特定の実施形態では、調節は、活性が無効化された、または完全に無い状況を含む。

【0400】

改変されたFcR結合アフィニティおよび/または改変されたADCC活性および/または改変されたCDC活性を伴う改変定常領域は、FcR結合活性および/またはADCC活性および/またはCDC活性が、非改変の定常領域と比較して強化または減弱されたポリペプチドで

10

20

30

40

50

ある。FcRに対する結合の増加を呈する改変定常領域は、非改変ポリペプチドよりも高いアフィニティで少なくとも一つのFcRに結合する。FcRに対する結合の減少を呈する改変定常領域は、非改変定常領域よりも低いアフィニティで少なくとも一つのFcRに結合する。FcRに対する結合の減少を呈するバリエーションは、FcRに対する天然の配列イムノグロブリン定常領域またはFc領域の結合レベルと比較して、例えば0～50%（例えば50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%未満）など、FcRに対する感知可能な結合をほとんど、または全く保有しなくてもよい。同様に、調節されたADCCおよび/またはCDC活性を呈する改変定常領域は、非改変定常領域と比較して、ADCC活性および/もしくはCDC活性の増加または低下を呈してもよい。例えば一部の実施形態では、改変定常領域を含む抗CD137抗体は、非改変型の定常領域のおよそ0～50%（例えば50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1%）のADCC活性および/またはCDC活性を呈し得る。ADCC活性および/またはCDC活性の低下を呈する改変定常領域を含む本明細書に記載の抗CD137抗体は、ADCC活性および/もしくはCDC活性の低下を呈してもよく、またはADCC活性および/もしくはCDC活性を呈さなくてもよい。

10

【0401】

20

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、エフェクター機能の低下を呈するか、またはエフェクター機能を呈さない。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、ハイブリッド定常領域またはその一部、例えばG2/G4ハイブリッド定常領域（例えば、Burton et al. (1992) Adv Immun 51:1-18; Canfield et al. (1991) J Exp Med 173:1483-1491; and Mueller et al. (1997) Mol Immunol 34(6):441-452を参照のこと）を含む。上記を参照のこと。

【0402】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、補体依存性細胞障害活性（CDC）の強化または低下を呈する改変定常領域を含んでもよい。調節されたCDC活性は、抗体のFc領域中に一つまたは複数のアミノ酸の置換、挿入または置換を導入することで実現されてもよい。例えば、米国特許第 6,194,551号を参照のこと。あるいは、またはさらに、システイン残基をFc領域に導入してもよく、それによってこの領域に鎖間ジスルフィド結合が形成される。このようにしてホモ二量体抗体の内部移行能力が改善され、もしくは低下してもよく、および/または補体介在性細胞殺傷が増加もしくは減少してもよい。例えば、Caron et al. (1992) J Exp Med 176:1191-1195、およびShopes (1992) Immunol 148:2918-2922; PCT国際特許出願公開 WO 99/51642およびWO 94/29351; Duncan and Winter (1988) Nature 322:738-40;ならびに米国特許第5,648,260号および第5,624,821号を参照のこと。

30

【0403】

組換え抗体の発現と精製

40

本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、分子生物学分野およびタンパク質化学分野に公知の様々な技術を使用して作製され得る。例えば、抗体の重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドのうち的一方または両方をコードする核酸は、例えばプロモーター配列、リボソーム結合部位、転写開始配列および転写停止配列、翻訳開始配列および翻訳停止配列、転写終結シグナル、ポリアデニル化シグナル、ならびにエンハンサー配列または活性化因子配列を含む、転写および翻訳の制御配列を含有する発現ベクター内に挿入され得る。制御配列は、プロモーターならびに転写開始配列および転写停止配列を含む。さらに発現ベクターは、二つ以上の複製システムを含むことができ、それにより二つの別の生物体、例えば発現用の哺乳動物細胞または昆虫細胞、およびクローニングと増幅用の原核細胞宿主などにおいて維持され得る。

50

【0404】

数種のベクター系が、哺乳動物細胞における核酸からのクローン化重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドの発現に利用可能である。ある種のベクターは、所望の遺伝子配列の宿主細胞ゲノム内への統合に依存する。DNAが安定的に統合された細胞は、例えば大腸菌のgpt (Mulligan and Berg (1981) Proc Natl Acad Sci USA 78:2072) またはTn5 neo (Southern and Berg (1982) Mol Appl Genet 1:327) などの薬剤抵抗性遺伝子を同時に導入することで選択することができる。選択マーカー遺伝子は、発現されるDNA遺伝子配列に結合されるか、または共トランスフェクションにより同じ細胞内に導入され得る(Wigler et al. (1979) Cell 16:77)。第二の種のベクターは、染色体外プラスミドに自律的複製能力を与えるDNAエレメントを利用する。これらベクターは、例えばウシパピローマウイルス(Sarver et al. (1982) Proc Natl Acad Sci USA, 79:7147)、サイトメガロウイルス、ポリオーマウイルス(Deans et al. (1984) Proc Natl Acad Sci USA 81:1292)、またはSV40ウイルス(Lusky and Botchan (1981) Nature 293:79)などの動物ウイルスに由来し得る。

10

【0405】

発現ベクターは、その後の核酸の発現に適した方法で細胞内に導入され得る。導入方法は、以下に検討される標的細胞型により大きく影響を受ける：例示的な方法として、CaPO₄沈殿、リボソーム融合、カチオン性リボソーム、エレクトロポレーション法、デキストリン介在トランスフェクション、ポリブレン介在トランスフェクション、プロトプラスト融合および直接マイクロインジェクション法が挙げられる。

20

【0406】

抗体またはその抗原結合断片の発現に適した宿主細胞としては、酵母、細菌、昆虫、植物、および哺乳動物の細胞が挙げられる。特に例えば大腸菌などの細菌、例えば出芽酵母およびピキア酵母などの酵母、例えばSF9などの昆虫細胞、哺乳動物細胞株（例えばヒト細胞株）、ならびに初代細胞株が対象である。

【0407】

一部の実施形態では、抗体またはその断片は、トランスジェニック動物（例えばトランスジェニック哺乳動物）で発現され、そしてトランスジェニック動物から精製され得る。例えば、抗体は、トランスジェニック非ヒト哺乳動物（例えば、齧歯類）で産生され、例えば、Houdebine (2002) Curr Opin Biotechnol 13(6):625-629; van Kuik-Romeijn et al. (2000) Transgenic Res 9(2):155-159;およびPollock et al. (1999) J Immunol Methods 231(1-2):147-157に記載されるようにミルクから単離され得る。

30

【0408】

抗体または断片をコードする核酸を含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞を、タンパク質発現が十分に可能となる条件および期間で培養することにより、当該細胞から当該抗体およびその断片が作製され得る。タンパク質発現のための条件は、発現ベクターと宿主細胞の選択で変化し、日常的な実験を通じて当業者により容易に確認されるであろう。例えば大腸菌で発現された抗体は、封入体から再フォールディングされ得る（例えばHu et al. (1998) Cytokine 10:319-30を参照のこと）。細菌発現系およびその使用方法は当分野に公知である（Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons, and Molecular Cloning--A Laboratory Manual --3rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001)を参照のこと）。コドン、適切な発現ベクターそして適切な宿主細胞の選択は、多くの因子により変化し、必要に応じて容易に最適化され得る。本明細書に記載される抗体（またはその断片）は、哺乳動物細胞中で発現されてもよく、または限定されないが酵母、バキュロウイルスおよびインビトロ発現系をはじめとする他の発現系で発現されてもよい（例えばKaszubska et al. (2000) Protein Expression and Purification 18:213-220を参照のこと）。

40

【0409】

発現後に、抗体およびその断片が単離されてもよい。サンプル中に存在する他の構成要

50

素に応じて、抗体またはその断片は、当業者に公知の様々な方法で単離または精製されてもよい。標準的な精製法としては、電気泳動技術、分子的技術、免疫学的技術、ならびにイオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィーおよび逆相HPLCクロマトグラフィーを含むクロマトグラフィー技術が挙げられる。例えば抗体は、標準的な抗抗体カラム（例えばプロテインAカラムまたはプロテインGカラム）を使用して精製されてもよい。タンパク質濃縮と併せた、超遠心分離法および透析る過法も有用である。例えば、Scopes (1994) "Protein Purification, 3^d edition," Springer-Verlag, New York City, New Yorkを参照のこと。精製の必要性の度合いは、所望される用途に応じて変化する。一部の例において、発現された抗体またはその断片の精製が必要ではないことがある。

10

【0410】

精製された抗体またはその断片の収率または純度を決定する方法は当分野に公知であり、例えばBradfordアッセイ、UV分光法、Biuretタンパク質アッセイ、Lowryタンパク質アッセイ、アミドブラックタンパク質アッセイ、高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）、質量分析法（MS）およびゲル電気泳動法（例えばクマシンプルーまたはコロイド銀染色などのタンパク質染色を使用）が挙げられる。

【0411】

抗体またはその抗原結合断片の改変

抗体またはその抗原結合断片は、その発現および精製の後に改変されてもよい。改変は、共有結合的または非共有結合的な改変であってもよい。こうした改変は、例えばポリペプチドの標的アミノ酸残基と、選択された側鎖または末端残基と反応することができる有機誘導体化剤を反応させることにより、抗体または断片に導入されてもよい。改変に適した部位は、抗体もしくは断片の構造解析またはアミノ酸配列解析などのさまざまな基準のいずれかを使用して選択されてもよい。

20

【0412】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、異種部分と複合体化されてもよい。異種部分は、例えば異種ポリペプチド、治療剤（例えば、毒素または薬剤）、または例えば限定されないが放射性標識、酵素標識、蛍光標識、重金属標識、発光性標識、またはビオチンもしくはストレプトアビジンなどのアフィニティタグなどの検出可能な標識であってもよい。適切な異種ポリペプチドとしては、抗体または断片の精製における使用のための、例えば、抗原性タグ（例えば、FLAG（DYKDDDDK；配列番号98）、ポリヒスチジン（6-His；HHHHHH；配列番号99）、ヘマグルチニン（HA；YPYDVPDYA；配列番号100）、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST））またはマルトース結合タンパク質（MBP））が挙げられる。異種ポリペプチドとしてはまた、例えば、ルシフェラーゼ、蛍光タンパク質（例えば、緑色蛍光タンパク質（GFP））、またはクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（CAT）などの診断用または検出用のマーカーとして有用なポリペプチド（例えば酵素）も挙げられる。適切な放射性標識としては例えば、³²P、³³P、¹⁴C、¹²⁵I、¹³¹I、³⁵Sおよび³Hが挙げられる。適切な蛍光標識としては限定されないが、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）、緑色蛍光タンパク質（GFP）、DyLight（商標）488、フィコエリトリン（PE）、ヨウ化プロピジウム（PI）、PerCP、PE-Alexa Fluor（登録商標）700、Cy5、アロフィコシアニン、およびCy7が挙げられる。発光性標識としては例えば、さまざまな発光性ランタニド（例えばユーロピウムまたはテルビウム）キレートの一つが挙げられる。例えば、適切なユーロピウムキレートとしては、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）またはテトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸（DOTA）のユーロピウムキレートが挙げられる。酵素標識としては例えば、アルカリホスファターゼ、CAT、ルシフェラーゼおよび西洋ワサビペルオキシダーゼが挙げられる。

30

40

【0413】

二つのタンパク質（例えば、抗体と異種部分）は、多くの公知の化学架橋剤の一つを使用して架橋されてもよい。そうした架橋剤の例は、「遮蔽された」ジスルフィド結合

50

を含む結合を介して二つのアミノ酸残基を結合させる架橋剤である。これらの結合において、架橋単位内のジスルフィド結合は、例えば還元グルタチオンまたは酵素のジスルフィドリダクターゼの作用による還元から保護されている（ジスルフィド結合のいずれか側の基が遮蔽されている）。一つの適切な試薬である4-スクシンイミジルオキシカルボニル-メチル-（2-ピリジルジチオ）トルエン（SMPT）は、タンパク質のうちの一つの末端リジンと、他方のタンパク質の末端システインを利用して、二つのタンパク質の間に結合を形成する。各タンパク質上の異なるカップリング部分により架橋させるヘテロ二官能性試薬も使用することができる。その他の有用な架橋剤としては限定されないが、二つのアミノ基（例えば、N-5-アジド-2-ニトロベンゾイルオキシスクシンイミド）、二つのスルフヒドリル基（例えば、1,4-ビス-マレイミドブタン）、アミノ基とスルフヒドリル基（例えば、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル）、アミノ基とカルボキシル基（例えば、4-[p-アジドサリチルアミド]ブチルアミン）、およびアミノ基とアルギニンの側鎖中に存在するグアニジニウム基（例えばp-アジドフェニルグリオキサール水和物）を結合させる試薬が挙げられる。

【0414】

一部の実施形態では、放射性標識は、抗体のアミノ酸主鎖に直接結合されてもよい。あるいは放射性標識は、大きな分子の一部として含まれてもよく（例えば、メタ-[^{125}I]ヨードフェニル-N-ヒドロキシスクシンイミド中の ^{125}I （[^{125}I]mIPNHS）であり、これは遊離アミノ基に結合して関連タンパク質のメタ-ヨードフェニル(mIP)誘導体を形成させる（例えば、Rogers et al. (1997) J Nucl Med 38:1221-1229を参照のこと）、またはキレート（例えばDOTAまたはDTPA）の一部として含まれてもよく、これらが次にタンパク質主鎖に結合される。本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片に、放射性標識または放射性標識を含む巨大分子/キレートを結合させる方法は、当分野に公知である。そうした方法には、タンパク質と放射性標識を、当該タンパク質と放射性標識またはキレートの結合を促進させる条件下（例えばpH、塩濃度および/または温度）でインキュベートする工程を含む。（例えば米国特許第6,001,329号を参照のこと）。

【0415】

蛍光標識（「フルオロフォア」と呼称される場合もある）をタンパク質（例えば、抗体）に結合させる方法は、タンパク質化学分野において公知である。例えばフルオロフォアは、当該フルオロフォアに付加されたスクシンイミジル（NHS）エステル部分またはテトラフルオロフェニル（TFP）エステル部分を使用して、タンパク質の遊離アミノ基（例えばリシン）またはスルフヒドリル基（例えばシステイン）に結合されてもよい。一部の実施形態では、フルオロフォアは、例えばスルホ-SMCCなどのヘテロ二官能性架橋部分に結合されてもよい。適切な結合方法には、抗体タンパク質またはその断片を、当該タンパク質へのフルオロフォアの結合が促進される条件下で、フルオロフォアとインキュベートする工程を含む。例えば、Welch and Redvanly (2003) "Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications," John Wiley and Sons (ISBN 0471495603)を参照のこと。

【0416】

一部の実施形態では、抗体または断片は、例えば血液、血清または他の組織など、循環中の抗体の安定化および/または残留性を改善する部分を用いて改変されてもよい。例えば、抗体または断片は、例えば、Lee et al. (1999) Bioconjug Chem 10(6): 973-8; Kinstler et al. (2002) Advanced Drug Deliveries Reviews 54:477-485;およびRoberts et al. (2002) Advanced Drug Delivery Reviews 54:459-476 or HESylated (Fresenius Kabi, Germanyに記載されるようにPEG化されてもよい。例えば、Pavasic et al. (2010) Int J Pharm 387(1-2):110-119)を参照のこと。安定化部分は、少なくとも1.5倍（例えば少なくとも2、5、10、15、20、25、30、40または50倍以上）まで抗体（または断片）の安定性または残留性を改善し得る。

【0417】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、グリコシ

ル化されてもよい。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、酵素処理または化学処理されてもよく、または細胞から産生されてもよく、それにより当該抗体または断片は、グリコシル化が低下し、またはグリコシル化が無くなる。グリコシル化が低減された抗体を作製するための方法は、当分野で公知であり、例えば、米国特許第 6,933,368号；Wright et al. (1991) EMBO J 10(10):2717-2723; および Co et al. (1993) Mol Immunol 30:1361に記載されている。

【0418】

医薬組成物および製剤

特定の実施形態では、本発明は、薬学的に許容可能な希釈剤、担体、可溶化剤、乳化剤、保存剤および/またはアジュバントと抗CD137抗体を含む医薬組成物を提供する。

10

【0419】

特定の実施形態では、許容可能な製剤材料は、採用される用量および濃度で、レシピエントに対し非毒性であることが好ましい。特定の実施形態では、製剤材料は、皮下投与用および/または静脈内投与用である。特定の実施形態では、医薬組成物は、例えば、組成物のpH、浸透圧、粘性、透明性、色、等張性、臭気、滅菌性、安定性、溶解速度もしくは放出速度、吸収または浸透の改変、維持、または保持のための製剤材料を含んでもよい。特定の実施形態では、適切な製剤材料としては限定されないが、アミノ酸（例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリシン）；抗菌物質；抗酸化物質（例えばアスコルビン酸、亜硫酸ナトリウムまたは亜硫酸水素ナトリウム）；緩衝物質（例えばホウ酸塩、重炭酸塩、Tris-HCl、クエン酸塩、リン酸塩または他の有機酸）；増量剤（例えばマンニトールまたはグリシン）；キレート剤（たとえばエチレンジアミン四酢酸（EDTA））；錯化剤（例えばカフェイン、ポリビニルピロリドン、ベータ-シクロデキストリンまたはヒドロキシプロピル-ベータ-シクロデキストリン）；充填剤；単糖類；二糖類；および他の糖類（例えばグルコース、マンノースまたはデキストリン）；タンパク質（例えば血清アルブミン、ゼラチンまたはイムノグロブリン）；着色剤、香味剤および希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（例えばポリビニルピロリドン）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（例えばナトリウム）；保存剤（例えば塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサル、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸または過酸化水素）；溶媒（例えばグリセリン、プロピレングリコールまたはポリエチレングリコール）；糖アルコール（例えばマンニトールまたはソルビトール）；懸濁化剤；界面活性剤または湿潤剤（例えばプルロニック、PEG、ソルビタンエステル、例えばポリソルベート20、ポリソルベート80などのポリソルベート、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサパール（tyloxapal））；安定性強化剤（例えばスクロースまたはソルビトール）；等張性強化剤（例えばアルカリ金属ハライド、好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム、マンニトールソルビトール）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤および/または薬学的アジュバントが挙げられる。(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995)。特定の実施形態では、製剤は、PBS；20 mM NaOAc、pH 5.2、50mM NaCl;および/または10mM NaOAc、pH 5.2、9%スクロース、を含有する。特定の実施形態では、最適な医薬組成物は、例えば、目的の投与経路、送達形式、および所望の用量に応じて、当業者によって決定される。例えば、上記のRemington's Pharmaceutical Sciencesを参照のこと。特定の実施形態では、かかる組成物は、抗CD137抗体の物理的状態、安定性、インビボ放出速度、および/またはインビボクリアランス速度に影響を与え得る。

20

30

40

【0420】

特定の実施形態では、医薬組成物中の主要なビヒクルまたは担体は、水性または非水性のいずれかの性質であってもよい。例えば、特定の実施形態では、適切なビヒクルまたは担体は、注射用水、生理食塩水溶液または人工脳脊髄液であってもよく、場合により非経口投与用組成物中に普遍的な他の材料が補充される。特定の実施形態では、生理食塩水は等張性リン酸緩衝生理食塩水を含む。特定の実施形態では、中性緩衝生理食塩水または血

50

清アルブミンと混合された生理食塩水がさらなる例示的ビヒクルである。特定の実施形態では、医薬組成物は、pHが約7.0～8.5のTris緩衝液を含み、またはpHが約4.0～5.5の酢酸緩衝液を含む。これらはさらにソルビトールまたは適切な代用品を含んでもよい。特定の実施形態では、抗CD137抗体を含む組成物は、所望の純度を有する選択組成物と、最適な製剤化剤（上記のRemington's Pharmaceutical Sciences）を混合することにより、凍結乾燥ケーキまたは水溶液の形態での保存用に調製されてもよい。さらに特定の実施形態では、抗CD137抗体を含む組成物は、例えばスクロースなどの適切な賦形剤を使用して凍結乾燥剤として製剤化されてもよい。

【0421】

一部の実施形態では、医薬組成物は、非経口送達用に選択されてもよい。特定の実施形態では、組成物は、吸入用に選択されてもよく、または例えば経口などの消化管を介した送達用に選択されてもよい。このような薬学的に許容可能な組成物の調製は、当業者の能力内にある。

【0422】

特定の実施形態では、製剤成分は、投与部位に許容される濃度で存在する。特定の実施形態では、緩衝物質を使用して、生理学的なpH、またはわずかに低いpHで、典型的には約5～約8の範囲のpH内で組成物が維持される。

【0423】

特定の実施形態では、非経口投与が予定されている場合、治療用組成物は、薬学的に許容可能なビヒクル中に抗CD137抗体を含む発熱物質フリーな、非経口的に許容可能な水溶液の形態であってもよい。特定の実施形態では、非経口注射用ビヒクルは滅菌蒸留水であり、その滅菌蒸留水中で抗CD137抗体が滅菌された等張溶液として製剤化され、適切に保存される。特定の実施形態では、調製物は、所望の分子と、例えば注射用マイクロスフィア、生体浸食性粒子、高分子化合物（例えばポリ乳酸またはポリグリコール酸）、ビーズまたはリポソームなどの剤との製剤を含んでもよく、それら剤が、製品の制御放出または持続性放出を提供し、製品はその後、蓄積注射を介して送達されてもよい。特定の実施形態では、ヒアルロン酸も使用することができ、ヒアルロン酸は、循環中の持続期間の促進効果を有し得る。特定の実施形態では、移植可能な薬剤送達装置を使用して、所望分子を導入してもよい。

【0424】

特定の実施形態では、医薬組成物は吸入用に製剤化されてもよい。特定の実施形態では、抗CD137抗体は、吸入用の乾燥粉末として製剤化されてもよい。特定の実施形態では、抗CD137抗体を含む吸入溶液は、エアロゾル送達用の推進剤とともに製剤化されてもよい。特定の実施形態では、溶液は、霧状にされてもよい。肺投与は、PCT出願のPCT/US94/001875にさらに記載されており、当該文献は、化学改変タンパク質の肺送達に関して記載している。

【0425】

特定の実施形態では、製剤は経口投与され得ることが予期される。特定の実施形態では、この方法で投与される抗CD137抗体は、例えば錠剤およびカプセルなどの固形剤型の作製で習慣的に使用される担体を用いて、または用いずに、製剤化されてもよい。特定の実施形態では、生体利用効率が最大化され、前浸透性分解が最小化される消化管の時点で、製剤の活性部分が放出されるよう設計されてもよい。特定の実施形態では、抗CD137抗体の吸収を促進するために、少なくとも一つの添加剤を含有してもよい。特定の実施形態では、希釈剤、香味料、低融点ワックス、植物油、潤滑剤、懸濁化剤、錠剤崩壊剤、および結合剤が用いられてもよい。

【0426】

特定の実施形態では、医薬組成物は、錠剤の製造に適した非毒性賦形剤との混合物中で、抗CD137抗体の有効量を含んでもよい。特定の実施形態では、滅菌水、または別の適切なビヒクル中に錠剤を溶解することによって、溶液が単位用量で調製されてもよい。特定の実施形態では、適切な賦形剤としては限定されないが、例えば炭酸カルシウム、炭酸ナ

10

20

30

40

50

トリウムまたは重炭酸塩、ラクトース、またはリン酸カルシウムなどの不活性希釈剤；または例えばデンプン、ゼラチン、またはアカシアなどの結合剤；または例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸または滑石などの潤滑剤が挙げられる。

【0427】

追加の医薬組成物は当業者には明白であり、持続的送達製剤または制御送達製剤において抗CD137抗体を含む製剤が挙げられる。特定の実施形態では、他の様々な持続送達手段または制御送達手段を製剤化する技術、例えばリポソーム担体、生体浸食性微粒子または多孔性ビーズおよび蓄積注射なども当業者には公知である。例えば、PCT出願のPCT/US93/00829を参照にされたい。当該文献は、医薬組成物送達用の多孔性ポリマー微粒子の制御放出について記載している。特定の実施形態では、持続性放出調製物は、造形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルなどの形態の半透過性ポリマーマトリクスを含んでもよい。持続性放出マトリクスとしては、ポリエステル、ハイドロゲル、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号および欧州特許第058,481号）、L-グルタミン酸とガンマエチル-L-グルタミン酸塩のコポリマー(Sidman et al., Biopolymers, 22:547-556 (1983))、ポリ（2-ヒドロキシエチル-メタクリル酸塩）(Langer et al., J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981)およびLanger, Chem. Tech., 12:98- 105 (1982))、エチレンビニル酢酸塩(Langer et al., 上記)またはポリ-D(-)-3-ヒドロキシ酪酸(欧州特許第133,988号)が挙げられる。特定の実施形態では、持続性放出組成物はリポソームを含んでもよく、リポソームは当分野に公知のいくつかの方法のいずれかにより作製することができる。例えば、Eppstein et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688-3692 (1985);欧州特許第036,676号;第088,046号および第143,949号を参照のこと。

【0428】

インピボ投与用で使用される医薬組成物は多くの場合、滅菌されている。特定の実施形態では、滅菌濾過膜を通して濾過することにより、滅菌が実現され得る。組成物が凍結乾燥されている特定の実施形態では、この方法を使用した滅菌は、凍結乾燥および再構成の前または後のいずれかで実施することができる。特定の実施形態では、非経口投与用組成物は、凍結乾燥の形態で、または溶液中に保存してもよい。特定の実施形態では、非経口組成物は一般的に、滅菌アクセスポートを有する容器、例えば静脈内溶液バッグ内に入れられ、または皮下注射針により穿刺可能なストッパーを有するバイアル内に入れられる。

【0429】

特定の実施形態では、医薬組成物が製剤化された時点で、当該組成物は、溶液、懸濁液、ゲル、エマルション、固体として、または脱水粉末もしくは凍結乾燥粉末として、滅菌バイアル中に保存され得る。特定の実施形態では、かかる製剤は、調整済みの形態で、または投与前に再構成される（例えば凍結乾燥の）形態のいずれかで保存されてもよい。

【0430】

特定の実施形態では、単回投与の投与ユニットを作製するためのキットが提供される。特定の実施形態では、キットは、乾燥タンパク質を有する第一の容器と、水性製剤を有する第二の容器の両方を含んでもよい。特定の実施形態では、シングルチャンバーまたはマルチチャンバーの前充填シリンジ（例えば液体シリンジおよび凍結乾燥シリンジ（lyosyringe））を含有するキットが含まれる。

【0431】

特定の実施形態では、治療用に採用された抗CD137抗体を含む医薬組成物の有効量は、例えば治療内容と目的に依存する。当業者であれば、特定の実施形態による治療のための適切な用量レベルは、送達される分子、抗CD137抗体が使用される適用症、投与経路、および患者の大きさ（体重、体表面積または器官の大きさ）および/または状態（年齢および一般健康状態）に応じて部分的に変化する。特定の実施形態では、臨床医は、最適な治療効果を得るために用量の力価調整し、投与経路を改変してもよい。

【0432】

特定の実施形態では、投与頻度は、使用される製剤中の抗CD137抗体の薬物動態パラメ

ータを考慮する。特定の実施形態では、臨床医は、望ましい効果を達成する用量に達するまで組成物を投与する。したがって特定の実施形態では、組成物は、単回投与として、または経時的に、または移植装置もしくはカテーテルを介した連続点滴として、2回以上の投与（同量の所望分子を含有しても、していなくてもよい）として投与されてもよい。適切な用量に関するさらなる改良は当業者により通常に行われており、当業者により実施される日常的なタスクの範囲内にある。特定の実施形態では、適切な用量は、適切な用量-反応のデータを使用して確認できる。

【0433】

特定の実施形態では、医薬組成物の投与経路は、例えば経口的に、静脈内、腹腔内、脳内（実質内）、脳室内、筋肉内、皮下、眼内、動脈内、門脈内または病変内経路の注射を介した、または持続性放出システムによる、または移植装置によるなど、公知の方法に従うものである。特定の実施形態では、組成物は、ボーラス注射により投与され、または点滴により連続的に投与され、または移植装置により投与されてもよい。特定の実施形態では、併用療法の個々の要素は、異なる経路によって投与される場合がある。

10

【0434】

特定の実施形態では、組成物は、所望の分子が吸収または封入された膜、スポンジまたは別の適切な材質の移植を介して局所投与されてもよい。移植装置が使用される特定の実施形態では、装置を任意の適切な組織または器官に移植してもよく、そして所望分子の送達は、拡散、指定時刻放出ボーラス、または連続投与を介したものであってもよい。特定の実施形態では、生体外の様式で抗CD137抗体を含む医薬組成物を使用することが望ましい。そのような例では、患者から採取された細胞、組織および/または器官が、抗CD137抗体を含む医薬組成物に暴露され、その後当該細胞、組織および/または器官が患者内に戻し移植される。

20

【0435】

特定の実施形態では、抗CD137抗体は、遺伝子操作された特定の細胞を、例えば本明細書に記載される方法などを使用して移植し、ポリペプチドを発現および分泌させることにより送達されてもよい。特定の実施形態では、そのような細胞は、動物細胞またはヒト細胞であってもよく、そして自己、非自己、または異種であってもよい。特定の実施形態では、細胞は不死化されてもよい。特定の実施形態では、免疫応答の機会を減少させるために、細胞を封入して、周囲組織への浸潤を回避してもよい。特定の実施形態では、封入材料は典型的には生体適合性で反透過性のポリマー封入物または膜であり、それらによって、タンパク質産物の放出が可能となるが、患者の免疫系による、または周囲組織からの他の有害因子による細胞破壊が防がれる。

30

【0436】

用途

本明細書に記載の組成物は、診断用途および治療用途において使用されてもよい。例えば、サンプル（例えば、生物サンプル）中の標的抗原の存在または量を検出するアッセイにおいて検出可能に標識された抗原結合分子を使用してもよい。組成物は、標的抗原機能（例えばCD137介在性の細胞シグナル伝達または応答）の阻害を研究する目的で、インビトロアッセイで使用されてもよい。一部の実施形態、例えば組成物が標的抗原（例えばタンパク質またはポリペプチド）に結合して活性化する実施形態では、組成物は、当該標的タンパク質またはポリペプチドの活性を誘導する追加の新規化合物、および/または別手段により標的タンパク質またはポリペプチドに関連した障害の治療に有用である追加の新規化合物を特定するために設計されたアッセイにおいて陽性対照として使用されてもよい。例えばCD137活性化組成物は、CD137の機能を誘導、上昇または刺激する追加化合物（例えば低分子、アプタマーまたは抗体）を特定するためのアッセイにおいて陽性対照として使用されてもよい。組成物はまた、以下に詳述される治療方法において使用されてもよい。

40

【0437】

キット

50

一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載される抗CD137抗体を含むキットを提供する。一部の実施形態では、キットには、本明細書に記載される抗CD137抗体と、その使用説明書が含まれる。キットは、適切な容器中で、抗CD137抗体、一つまたは複数の対照物、ならびに様々な緩衝物質、試薬、酵素、および当分野に公知の他の標準的な成分を含んでもよい。

【0438】

容器には少なくとも一つのバイアル、ウェル、試験管、フラスコ、瓶、シリンジまたは他の入れ物を含んでもよく、それらの中に抗CD137抗体が入れられ、一部の例においては、適切に分注される。追加の構成要素が提供される場合、キットは、追加の容器を含んでもよく、その中にこの追加構成要素が入れられてもよい。またキットは、市販を目的とした厳重な管理下で抗CD137抗体および任意の他の試薬容器を含有するための手段を含んでもよい。そうした容器は、注入成形または吹き込み成形されたプラスチック容器を含んでもよく、その中に所望のバイアルが保持される。容器および/またはキットには、使用および/または警告に関する指示を伴うラベルを含んでもよい。

10

【0439】

一部の実施形態では、キットは、抗CD137抗体と薬学的に許容可能な担体、または抗CD137抗体を含む医薬組成物を含む容器、およびその必要のある対象において、癌を治療もしくは進行を遅延させることを目的とした指示書、または腫瘍増殖を低減もしくは阻害することを目的とした指示書を含む。一部の実施形態では、キットは、抗CD137抗体と薬学的に許容可能な担体、または抗CD137抗体を含む医薬組成物を含む容器、および癌を治療もしくは進行を遅延させることを目的として、または腫瘍増殖を低減もしくは阻害することを目的として、その必要のある対象に抗CD137抗体を単独で、または別の剤と併用して投与することに関する指示書を含む。

20

【0440】

使用方法

本発明の組成物は、CD137の検出および/もしくは定量、ならびに/またはCD137の機能のアゴニズムを含む、多くのインビトロおよびインビボの有用性を有する。

【0441】

上述の組成物は特に対象において様々な癌を治療または予防する方法に有用である。組成物は、例えばヒト対象などの対象に、部分的には投与経路に応じた様々な方法を使用して投与されてもよい。経路は、例えば静脈内注射または点滴（IV）、皮下注射（SC）、腹腔内注射（IP）、筋肉内注射（IM）、または髄腔内注射（IT）などであってもよい。注射は、ボラスまたは連続的な点滴であってもよい。

30

【0442】

投与は、例えば局所点滴、注射、または移植手段により実施されてもよい。移植物は、例えばシリコンゴム膜などの膜またはファイバーを含む、多孔質、非多孔質またはゼラチン質の物質のものであってもよい。移植物は、対象への持続的または周期的な組成物の放出用に構成されることができる。例えば米国特許出願公開20080241223、米国特許第5,501,856号、第4,863,457号および第3,710,795号、EP488401およびEP 430539を参照のこと。これら各公開文献は、参照によりその全体で本明細書に組み込まれる。組成物は、例えば拡散性、浸食性、または対流性のシステム、例えば浸透圧ポンプ、生分解性移植体、電気拡散システム、電気浸透システム、蒸気圧ポンプ、電解ポンプ、発泡ポンプ、圧電ポンプ、浸食系システムまたは電気機械システムなどを基にした移植可能なデバイスを経て対象に送達されてもよい。

40

【0443】

一部の実施形態では、抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、局所投与を経て対象に治療的に送達される。

【0444】

本明細書に記載される抗体またはその断片の適切な投与は、対象において癌を治療または予防できるものであり、例えば治療される対象の年齢、性別および体重、ならびに使用

50

される特定の阻害性化合物などをはじめとする様々な因子に依存し得る。例えば、癌を有する対象を治療するために必要とされるCD137結合Fab'抗体断片の投与量と比較して、同じ対象を治療するために抗CD137全抗体は異なる量を必要とされる場合がある。対象に投与される投与量に影響を与える他の因子としては例えば癌のタイプまたは重症度が挙げられる。例えば転移性メラノーマを有する対象は、グリア芽腫患者とは異なる用量の抗CD137抗体の投与を必要とする場合がある。他の因子としては例えば、対象が同時に、または過去に罹患した他の医学的障害、対象の一般健康状態、対象の遺伝的素質、食事、投与時間、排出速度、薬剤の組み合わせ、および対象に投与される任意の他の追加治療が挙げられる。さらに任意の特定の対象に対する、特定の用量および治療レジメンもまた、治療を行う医療従事者（例えば医師または看護師）の判断に依存することを理解されたい。適切な用量は、本明細書に記載される。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、高用量および低用量の両方で有効である。

10

【0445】

医薬組成物は、本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片の治療有効量を含んでもよい。そのような有効量は、投与される抗体の効果、またはもし複数の剤が使用される場合には抗体と一つまたは複数の追加の活性剤の併用効果に部分的に基づき、当業者により容易に決定され得る。本明細書に記載される抗体またはその断片の治療有効量も、例えば個体の疾患状態、年齢、性別および体重、ならびに抗体（および一つまたは複数の追加の活性剤）が個体において所望される応答、例えば腫瘍増殖の低減などを惹起させる能力などの因子に従って変化し得る。例えば抗CD137抗体の治療有効量は、特定の障害、および/または当分野に公知の、もしくは本明細書に記載される特定の障害の症状のうちのいずれか一つを阻害（特定の障害の重症度を低減または存在を排除）および/または予防することができる。治療有効量はまた、組成物による任意の毒性または有害な作用を、治療上の有益な作用が上回る量でもある。

20

【0446】

本明細書に記載される抗体またはその断片のいずれかの適切なヒト投与量は、例えば第I相の投与量漸増試験などにおいてさらに評価され得る。例えば、van Gurp et al. (2008) Am J Transplantation 8(8):1711-1718; Hanouska et al. (2007) Clin Cancer Res 13(2, part 1):523-531;およびHetherington et al. (2006) Anti microbial Agents and Chemotherapy 50(10): 3499-3500を参照のこと。

30

【0447】

一部の実施形態では、組成物は、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片のいずれか、および一つまたは複数（例えば2、3、4、5、6、7、8、9、10または11以上）の追加的治療剤を含有し、それにより当該組成物は全体として治療的に有効となる。例えば組成物は、本明細書に記載される抗CD137抗体と、アルキル化剤を含んでもよく、この場合において、当該抗体と剤は、組み合わせたときに対象において癌（例えばメラノーマ）を治療または予防するのに治療的に有効である濃度である。

【0448】

そのような組成物の毒性および治療有効性は、細胞培養または実験動物（例えば本明細書に記載される癌のいずれかの動物モデル）における公知の薬学的手順により決定され得る。こうした手順は、例えばLD₅₀（集団の50%に対し致命的な投与量）およびED₅₀（集団の50%において治療有効性のある投与量）の決定に使用され得る。毒性作用と治療効果の間の投与量比が、治療指数であり、LD₅₀/ED₅₀比として表され得る。高い治療指数を呈する抗体またはその抗原結合断片が望ましい。毒性のある副作用を呈する組成物が使用され得る場合、当該化合物を罹患組織部位へと標的化させる送達システムを設計し、正常細胞がダメージを負う可能性を最小化させ、副作用を低減させる配慮が必要である。

40

【0449】

細胞培養アッセイおよび動物実験から得られたデータは、ヒトにおける使用のための用量範囲の考案に使用され得る。そうした抗体またはその抗原結合断片の用量は概して抗体またはその断片のED₅₀を含む循環濃度範囲内にあり、毒性は少ない、またはほとんどない

50

。用量は、採用される剤型および利用される投与経路に応じて、この範囲内で変化し得る。本明細書に記載される抗CD137抗体に関し、治療有効量は、細胞培養アッセイから初期に算出され得る。投与量は、細胞培養で決定されたEC₅₀を含む循環血漿濃度（すなわち症状の半数阻害を実現する抗体濃度）の範囲を実現するよう動物も出るにおいて策定され得る。そうした情報を使用して、ヒトにおいて有用な投与量がより正確に決定され得る。血漿レベルは、例えば高速液体クロマトグラフィーにより決定されてもよい。一部の実施形態では、例えば局所投与（例えば目または関節への投与）が望ましい場合、細胞培養または動物モデルを使用して、局所部位内で治療有効濃度を達成するために必要とされる投与量が決定され得る。

【0450】

一部の実施形態では、癌に対する他の治療と併用して、当該方法を実施してもよい。例えば組成物は、放射線療法、外科手術、標的化化学療法もしくは細胞毒性化学療法、化学放射線療法、ホルモン療法、免疫療法、遺伝子両方、細胞移植両方、個別化医療、ゲノム編集両方、または他の薬物療法と同時に、前に、または後に対象に投与され得る。

【0451】

上述のように、本明細書に記載される組成物（例えば抗CD137組成物）を使用して、限定されないが例えば以下の様々な癌を治療し得る：カポジ肉腫、白血病、急性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病、骨髄芽球前骨髄球骨髄単核細胞単球赤白血病、慢性白血病、慢性骨髄性（顆粒球性）白血病、慢性リンパ球性白血病、マントル細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、パーキットリンパ腫および辺縁帯B細胞リンパ腫、真性赤血球增多症リンパ腫、ホジキン病、非ホジキン病、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、重鎖病、固形腫瘍、肉腫および癌腫、繊維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫（osteogenic sarcoma）、骨肉腫（osteosarcoma）、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑液腫瘍、中皮種、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸肉腫、結腸直腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支癌、腎細胞癌、肝癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、子宮癌、精巣癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮性癌、グリオーマ、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、メラノーマ、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、鼻咽癌、食道癌、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳および中枢神経系（CNS）の癌、子宮頸癌、絨毛腫、大腸癌、結合組織癌、消化管系の癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌、上皮内新生物、腎癌、咽頭癌、肝臓癌、肺癌（小細胞、大細胞）、メラノーマ、神経芽腫、口腔の癌（例えば唇、舌、口および咽頭）、卵巣癌、膵臓癌、網膜芽腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系の癌、肉腫、皮膚癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌および泌尿器系の癌。

【0452】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、単剤療法として対象に投与されてもよい。あるいは上述のように抗体またはその断片は、例えば別の癌のための治療などの別の治療とともに併用療法として対象に投与されてもよい。例えば併用療法は、癌を有する、または癌を発症するリスクがある対象に治療利益をもたらす一つまたは複数の追加の剤を対象（例えばヒト患者）に投与する工程を含んでもよい。本発明の組成物との共投与に適した化学療法剤としては例えば、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、エチジウムブロミド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ピンクリスチン、ピンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン（dihydroxyanthrancindione）、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピユーロマイシン、ならびにそれらのアナログまたはホモログが挙げられる。さらなる剤としては例えば、抗代謝剤（例えばメトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニ

10

20

30

40

50

ン、シタラピン、5-フルオロウラシルデカルバジン)、アルキル化剤(例えばメクロレタミン、チオTEPA、クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン(BSNU)、ロムスチン(CCNU)、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、シス-ジクロルジアミン(dichlorodiamine)プラチナ(II)(DDP)、プロカルバジン、アルトレタミン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、サトラプラチン、またはトリプラチン四硝酸塩)、アントラサイクリン(例えばダウノルピシン(以前のダウノマイシン)およびドキソルピシン)、抗生物質(例えばダクチノマイシン(以前のアクチノマイシン)、ブレオマイシン、ミトラマイシンおよびアントラマイシン(AMC))および抗有糸分裂剤(例えばビンクリスチンおよびビンブラスチン)およびテモゾロミドが挙げられる。一部の実施形態では、抗CD137抗体および一つまたは複数の追加の活性剤は、同時に投与される。他の実施形態では、抗CD137抗体が最初に投与され、一つまたは複数の追加の活性剤は、2番目に投与される。一部の実施形態では、一つまたは複数の追加の活性剤が最初に投与され、抗CD137抗体は2番目に投与される。

【0453】

本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、過去または現在行われている治療を置き換えてもよく、または増補してもよい。例えば抗CD137抗体またはその抗原結合断片を用いた治療を行うことで、一つまたは複数の追加の活性剤の投与を中止してもよく、または例えば低レベルもしくは低用量で投与するなど、減少させてもよい。一部の実施形態では、過去の治療の投与は、維持されてもよい。一部の実施形態では、過去の治療は、抗CD137抗体のレベルが、治療効果をもたらすのに十分なレベルに達するまで維持される。二つの治療法を組み合わせ投与してもよい。

【0454】

本明細書に規定される癌の改善に関する対象(例えばヒト患者)のモニタリングとは、疾患パラメータ、例えば腫瘍増殖の低下などにおける変化に関し、対象を評価することを意味する。一部の実施形態では、評価は、投与後、少なくとも1時間で、例えば、少なくとも2、4、6、8、12、24または48時間で、または少なくとも1日、2日、4日、10日、13日、20日以上で、または少なくとも1週、2週、4週、10週、13週、20週以上で、実施される。対象は、以下の期間のうちの一つまたは複数で評価されてもよい:治療開始前、治療中、または治療の一つもしくは複数の要素が投与された後。評価には、さらなる治療の必要性を評価すること、例えば用量、投与頻度または治療期間を変えるべきかを評価することが含まれてもよい。選択された治療法を追加または低下させる必要性を評価すること、例えば本明細書に記載される癌のための治療のいずれかを追加または低下させる必要性を評価することを含んでもよい。

【0455】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、T細胞活性化および/またはT細胞増殖を増加させることにより、患者におけるT細胞応答を調節するために投与される。CD137の架橋は、T細胞増殖、IFN γ の産生および分泌、ならびにT細胞の細胞溶解活性を非常に強化する。したがって一部の実施形態では、本開示の抗CD137アゴニスト性抗体またはその抗原結合断片は、その必要のある患者に投与され、T細胞活性化を誘導もしくは増加させ、T細胞増殖を強化し、IFN γ の産生および/もしくは分泌を誘導し、ならびに/または細胞溶解性T細胞応答を誘導する。

【0456】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、患者においてT細胞群を、T_H2/T_{reg}T細胞群から、T_H1/T_H17 T細胞群へとT細胞群を調節または偏移させて、患者の抗腫瘍応答を改善または強化するのに有用である。CD137はT細胞の亜群であるT_H1 T細胞とT_H2 T細胞の両方に発現されているが、CD137は、CD4+T細胞よりもCD8+T細胞でより高く発現されていることが実験で示されている。したがってCD137は主にCD8+T細胞を共刺激する。したがって、本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は患者に投与され、例えば患者のT細胞応答および/または

T細胞群を、 T_H2/T_{reg} のT細胞応答および/もしくはT細胞群から、 T_H1/T_H17 のT細胞応答および/もしくはT細胞群へと調節または偏移させることにより、抗腫瘍応答を強化させる。

【0457】

一部の癌（例えばメラノーマおよび卵巣癌）において、天然型の腫瘍浸潤リンパ球（TIL）は細胞培養法の最適化を通じて富化させることができ、および養子免疫療法に有用な腫瘍反応性リンパ球の供給源を提供することができる。養子TIL療法は、あるタイプの癌の長期的な腫瘍退縮をもたらすことができ、癌に対するTILをベースとした方法の開発および最適化を保証するものである。現在、天然型の腫瘍反応性TILの特定と拡張は、抗原特異的CD8+T細胞が低レベルであること、および/または希少であることから困難な課題となっている。T細胞によるCD137の発現は活性化依存性であり、これを利用して循環系から、または腫瘍サンプルからCD137を発現する活性化T細胞を補足する機会が提供される。したがって本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、活性化された抗原特異的T細胞の選択的富化に採用され得る。

10

【0458】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体の有効性は、免疫能力を有する系に依存している。具体的には、一部の実施形態では、CD4+T細胞、CD8+T細胞および/またはナチュラルキラー細胞の枯渇は、抗CD137抗体の有効性を低下させる。一部の実施形態では、CD4+T細胞、CD8+T細胞および/またはナチュラルキラー細胞の枯渇は、本明細書に記載される抗CD137抗体による腫瘍増殖の阻害または減少を低下させる。一部の実施形態では、CD4+T細胞、CD8+T細胞および/またはナチュラルキラー細胞の枯渇は、本明細書に記載される抗CD137抗体による腫瘍増殖の阻害または減少を低下させる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体の有効性は、腫瘍微小環境内への免疫細胞の浸潤に依存している。一部の実施形態では、腫瘍微小環境内への免疫細胞の浸潤は、脾臓および/または肝臓内への浸潤の欠落と組み合わせられる。

20

【0459】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、防御的抗腫瘍メモリー免疫応答を誘導する。メモリーT細胞は、自身の同族抗原に遭遇し、応答した後、長期にわたり持続する抗原特異的なT細胞の亜群である。そうした細胞は、自身の同族抗原に再暴露されることで多数のエフェクター細胞へと素早く拡張する。したがって一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、癌抗原に対するメモリーT細胞の産生を刺激する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体を投与され、癌を治療または治癒される対象は、当該癌に特異的なメモリーT細胞を発現する。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体を投与され、癌を治療または治癒される対象は、当該癌に再暴露されることで抗腫瘍メモリー免疫応答を発現する。一部の実施形態では、抗腫瘍メモリー免疫応答は、エフェクター細胞となるメモリーT細胞を刺激することを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体を投与され、癌を治療または治癒される対象は、癌抗原に対する抗腫瘍メモリー免疫応答を発現する。

30

【0460】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体は、腫瘍微小環境で、免疫再プログラミングを誘導する。具体的には、一部の実施形態では、抗CD137抗体は、免疫浸潤を誘導し、Treg増殖を低下、阻害または予防し、腫瘍関連マクロファージの増殖を低下、阻害または予防し、そしてT細胞消耗を防御または逆転させる。

40

【0461】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、腫瘍微小環境関連内への免疫細胞の浸潤を誘導する。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも105%、少なくとも110%、少

50

なくとも115%、少なくとも120%、少なくとも125%、少なくとも130%、少なくとも135%、少なくとも140%、少なくとも145%、または少なくとも150%まで免疫細胞浸潤を増加させる。一部の実施形態では、免疫細胞浸潤は、腫瘍微小環境から単離された細胞上でのCD45の発現レベルを測定することにより決定される。タンパク質発現を測定する方法は当分野に公知であり、本明細書に記載される。

【0462】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、腫瘍微小環境においてTreg細胞の増加を予防または阻害する。一部の実施形態では、予防または阻害は、抗CD137抗体が存在しない腫瘍微小環境中のTreg細胞の量と比較される。一部の実施形態では、Treg細胞増加の予防または阻害は、参照抗体と比較される。一部の実施形態では、Treg細胞は、腫瘍微小環境から単離されたCD4+T細胞上のCD25およびFOX-3Pの発現により検出される。タンパク質発現を測定する方法は当分野に公知であり、本明細書に記載される。

10

【0463】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、腫瘍微小環境において腫瘍関連マクロファージの増加を予防または阻害する。一部の実施形態では、予防または阻害は、抗CD137抗体が存在しない腫瘍微小環境中の腫瘍関連マクロファージの量と比較される。一部の実施形態では、腫瘍関連マクロファージ増加の予防または阻害は、参照抗体と比較される。一部の実施形態では、腫瘍関連マクロファージは、腫瘍微小環境から単離されたCD45+免疫細胞上のCD11bおよびF4/80の発現により検出される。タンパク質発現を測定する方法は当分野に公知であり、本明細書に記載される。

20

【0464】

一部の実施形態では、抗CD137抗体は、腫瘍微小環境においてT細胞をT細胞消耗から防御する。一部の実施形態では、抗CD137抗体は、腫瘍微小環境においてT細胞消耗を逆転させる。一部の実施形態では、腫瘍微小環境中のT細胞消耗は、抗CD137抗体が存在しない腫瘍微小環境と比較して、本明細書に記載される抗CD137抗体の存在下で低下する。一部の実施形態では、T細胞消耗は、共阻害性受容体（例えばPD-1、TIGITまたはLAG-3）の発現に関し、CD8+T細胞またはCD4+T細胞を分析することにより決定される。一部の実施形態では、T細胞消耗は、腫瘍微小環境から単離されたCD4+T細胞またはCD8+T細胞上のPD-1およびTIGITの発現により検出される。

【0465】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、生物サンプル中のヒトCD137の検出および/または定量的方法に採用されてもよい。したがって本明細書に記載される抗CD137抗体またはその抗原結合断片は、患者の疾患（例えば癌）の診断、予後判断および/または進行の決定に使用される。

30

【0466】

その他の実施形態

E1. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体または抗原結合部分は、以下からなる群から選択される重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、当該単離モノクローナル抗体：

- (a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；
- (b) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号70、79および90に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；
- (c) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号71、80および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；
- (d) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号72、81および92に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

40

50

3 ;

(e) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号73、82および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(f) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号74、83および93に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(g) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号75、84および91に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

10

(h) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号74、85および94に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(i) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号76、86および95に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(j) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号77、87および93に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(k) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、88および90に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

20

(l) それぞれ配列番号49、57および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(m) それぞれ配列番号49、58および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(n) それぞれ配列番号49、59および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

30

(o) それぞれ配列番号49、60および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(p) それぞれ配列番号50、61および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(q) それぞれ配列番号50、58および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

40

(r) それぞれ配列番号51、62および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(s) それぞれ配列番号52、63および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(t) それぞれ配列番号50、64および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3 ;

(u) それぞれ配列番号50、65および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列

50

、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(v) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；

(w) それぞれ配列番号107、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；ならびに

(x) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号109、110および92に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3。

10

【0467】

E2. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0468】

20

E3. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0469】

E4. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分：

- (a) それぞれ配列番号4および6；
- (b) それぞれ配列番号4および28；
- (c) それぞれ配列番号4および30；
- (d) それぞれ配列番号4および32；
- (e) それぞれ配列番号4および34；
- (f) それぞれ配列番号4および36；
- (g) それぞれ配列番号4および38；
- (h) それぞれ配列番号4および40；
- (i) それぞれ配列番号4および42；
- (j) それぞれ配列番号4および44；
- (k) それぞれ配列番号4および46；
- (l) それぞれ配列番号8および6；
- (m) それぞれ配列番号10および6；
- (n) それぞれ配列番号12および6；
- (o) それぞれ配列番号14および6；
- (p) それぞれ配列番号16および6；
- (q) それぞれ配列番号18および6；
- (r) それぞれ配列番号20および6；
- (s) それぞれ配列番号22および6；
- (t) それぞれ配列番号24および6；
- (u) それぞれ配列番号26および6；

30

40

50

- (v) それぞれ配列番号101および6；
- (w) それぞれ配列番号103および6；ならびに
- (x) それぞれ配列番号4および105。

【0470】

E5. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101および103からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、ならびに当該軽鎖可変領域は、配列番号6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46および105からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

10

【0471】

E6. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分：

- (a) それぞれ配列番号4および6；
- (b) それぞれ配列番号4および28；
- (c) それぞれ配列番号4および30；
- (d) それぞれ配列番号4および32；
- (e) それぞれ配列番号4および34；
- (f) それぞれ配列番号4および36；
- (g) それぞれ配列番号4および38；
- (h) それぞれ配列番号4および40；
- (i) それぞれ配列番号4および42；
- (j) それぞれ配列番号4および44；
- (k) それぞれ配列番号4および46；
- (l) それぞれ配列番号8および6；
- (m) それぞれ配列番号10および6；
- (n) それぞれ配列番号12および6；
- (o) それぞれ配列番号14および6；
- (p) それぞれ配列番号16および6；
- (q) それぞれ配列番号18および6；
- (r) それぞれ配列番号20および6；
- (s) それぞれ配列番号22および6；
- (t) それぞれ配列番号24および6；
- (u) それぞれ配列番号26および6；
- (v) それぞれ配列番号101および6；
- (w) それぞれ配列番号103および6；ならびに
- (x) それぞれ配列番号4および105。

20

30

40

【0472】

E7. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0473】

E8. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXXを含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、

50

当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0474】

E9. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYXXを含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0475】

E10. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXXを含み、式中、Xはアラニンを除く任意のアミノ酸である、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

10

【0476】

E11. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYXXを含み、式中、Xはアラニンを除く任意のアミノ酸である、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0477】

E12. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXYXXを含み、式中、Xは任意のアミノ酸であり、D95、L100、Y100E、Y100G、Y100H残基またはそれらの組み合わせの変異は、ヒトCD137への結合の消失を生じさせる、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

20

【0478】

E13. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYXXを含み、式中、Xは任意のアミノ酸であり、そしてP97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異は、ヒトCD137に対する結合の低下を生じさせる、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

30

【0479】

E14. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DXPFXLDXXYYYYXXを含み、式中、Xは任意のアミノ酸であり、そしてP97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニン以外の任意の残基への変異は、ヒトCD137に対する結合の増加を生じさせる、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0480】

E15. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YYX₁₀を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

40

【0481】

E16. 式中、X₂はプロリンであり、式中、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、式中、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、式中、X₈はチロシンであり、そして式中、X₉はチロシンである、実施形態15に記載の単離モノクローナル抗

50

体。

【0482】

E17. 当該抗体またはその抗原結合部分が、mAb1と交差競合する、実施形態8～16のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0483】

E18. 当該抗体またはその抗原結合部分が、mAb1、mAb8またはmAb10と交差競合する、実施形態8～16のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0484】

E19. 当該抗体またはその抗原結合部分が、mAb1の少なくとも機能特性を含む、実施形態8～18のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

10

【0485】

E20. 当該抗体またはその抗原結合部分が、mAb1、mAb8またはmAb10の少なくとも機能特性を含む、実施形態8～18のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0486】

E21. 当該抗体またはその抗原結合部分が、少なくともmAb1と同等の K_D 値を有する、実施形態8～20のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0487】

20

E22. 当該抗体またはその抗原結合部分が、少なくともmAb1、mAb8またはmAb10と同等の K_D 値を有する、実施形態8～20のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0488】

E23. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、ヒトCD137に結合したときに、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分が、mAb1またはmAb1の抗原結合断片に結合されるアミノ酸残基のうちの少なくとも一つに結合する、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0489】

E24. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、ヒトCD137に結合したときに、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分が、(i) mAb1またはmAb1の抗原結合断片に結合されるアミノ酸残基のうちの少なくとも一つに結合し、および(ii) ヒトCD137をアゴナイズする、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

30

【0490】

E25. 当該抗体により結合されるエピトープを含む当該アミノ酸残基は、mAb1抗体のパラトープを含むアミノ酸残基の4オングストローム以内に位置する、実施形態23～24のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0491】

E26. 当該抗体により結合されるエピトープの変異は、当該抗体およびmAb1抗体の両方に対する結合を阻害、低下または妨げる、実施形態23～25のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

40

【0492】

E27. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体または抗原結合部分は、約40nM～100nMのアフィニティ(K_D)でヒトCD137に結合する、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0493】

E28. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、

(i) 当該抗体またはその抗原結合部分は、約40～100nMのアフィニティ(K_D)でヒトC

50

D137に結合し；および

(ii) 当該抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXXXXLXXXXYXXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0494】

E29. ヒトCD137に特異的に結合する単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であって、

(i) 当該抗体またはその抗原結合部分は、約40～100nMのアフィニティ(K_D)でヒトCD137に結合し；および

(ii) 当該抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DX₁X₂X₃X₄LX₅X₆X₇X₈YX₉YX₁₀を含む重鎖CDR3を含み、式中、X₁は任意のアミノ酸であり、式中、X₂は非極性アミノ酸であり、式中、X₃は非極性アミノ酸であり、式中、X₄は任意のアミノ酸であり、式中、X₅は極性アミノ酸であり、式中、X₆は任意のアミノ酸であり、式中、X₇は任意のアミノ酸であり、式中、X₈は極性アミノ酸であり、式中、X₉は極性アミノ酸であり、そして式中、X₁₀は任意のアミノ酸である、当該単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0495】

E30. 当該抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列DXPFXLXXXXYXXを含む重鎖CDR3を含み、式中、Xは任意のアミノ酸である、実施形態27に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0496】

E31. 当該重鎖CDR3のD95、L100、Y100E、Y100G、Y100H残基またはそれらの組み合わせの変異が、ヒトCD137に対する結合の消失を生じさせる、実施形態28～30のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0497】

E32. P97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニンへの変異が、ヒトCD137に対する結合の低下を生じさせる、実施形態28～31のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0498】

E33. P97、F98、D100A、Y100D、Y100F残基またはそれらの組み合わせのアラニン以外の任意の残基への変異が、ヒトCD137に対する結合の増加を生じさせる、実施形態28～31のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0499】

E34. Xがアラニン以外の任意のアミノ酸である、実施形態28および29～33のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0500】

E35. 式中、X₂はプロリンであり、式中、X₃はフェニルアラニンまたはトリプトファンであり、式中、X₅はアスパラギン酸またはグルタミン酸であり、式中、X₈はチロシンであり、そして式中、X₉はチロシンである、実施形態29および31～33のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0501】

E36. 当該抗体または抗原結合部分が、約45～95nM、50～90nM、55～85nM、60～80nM、65～75nM、55～75nM、40～70nM、50～80nMまたは60～90nMのアフィニティ(K_D)でヒトCD137に結合する、実施形態1～35のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0502】

E37. 当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含み、重鎖CDR3は、配列番号68に記載されるアミノ酸配列を含む、実施形態27～36のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0503】

10

20

30

40

50

E38. 当該抗体または抗原結合部分は、以下からなる群から選択される重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、実施形態27～37のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分：

- (a) それぞれ配列番号48、56および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3；ならびに
- (b) それぞれ配列番号51、108および68に記載される重鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列、ならびにそれぞれ配列番号69、78および89に記載される軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3。

【0504】

10

E39. 当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、および当該軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列を含む、実施形態27～37のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0505】

E40. 当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、実施形態27～37のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分：

- (a) それぞれ配列番号4および6；ならびに
- (b) それぞれ配列番号101および6。

20

【0506】

E41. 当該抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、当該重鎖可変領域は、配列番号4および101からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、および当該軽鎖可変領域は、配列番号6のアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態27～37のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0507】

E42. 当該抗体またはその抗原結合部分は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列に対し、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、実施形態27～37のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分：

30

- (a) それぞれ配列番号4および6；ならびに
- (b) それぞれ配列番号101および6。

【0508】

E43. 当該抗体またはその抗原結合部分が、ヒトCD137に特異的に結合し、アゴナイズする、実施形態1～42のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0509】

E44. 当該抗体またはその抗原結合部分が、以下の特性のうちの少なくとも一つまたは複数を呈する、実施形態1～43のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分：

40

- (a) CD137三量体の二量体化の誘導または強化；
- (b) CD137三量体の多量体化の誘導または強化；
- (c) ヒトCD137介在性のT細胞活性化の誘導または強化；
- (d) ヒトCD137介在性の細胞障害性T細胞応答の誘導または強化；
- (e) ヒトCD137介在性のT細胞増殖の誘導または強化；
- (f) ヒトCD137介在性のサイトカイン産生の誘導または強化；
- (g) 肝臓内および/もしくは脾臓内のT細胞活性化ならびに/またはT細胞増殖をそれほど誘導または強化しない；
- (h) 1×10^{-6} 以下の平衡解離定数 K_D でヒトCD137に結合する；または

50

(i) 特性 (a) ~ (h) の任意の組み合わせ。

【 0 5 1 0 】

E45. 当該抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のT細胞活性化を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のT細胞活性化をそれほど誘導または強化しない、実施形態44に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【 0 5 1 1 】

E46. 当該抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性の細胞障害性T細胞応答を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性の細胞障害性T細胞応答をそれほど誘導または強化しない、実施形態44に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

10

【 0 5 1 2 】

E47. 当該抗体またはその抗原結合部分は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のT細胞増殖を誘導するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のT細胞増殖をそれほど誘導しない、実施形態44に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【 0 5 1 3 】

E48. 当該抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のサイトカイン産生を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のサイトカイン産生をそれほど誘導または強化しない、実施形態44に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

20

【 0 5 1 4 】

E49. 当該抗体またはその抗原結合部分の特性が、Fc受容体結合依存性ではない、実施形態44~48のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【 0 5 1 5 】

E50. 当該抗体またはその抗原結合部分の特性が、Fc受容体結合により強化される、実施形態44~49のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【 0 5 1 6 】

E51. 当該抗体またはその抗原結合部分が、カニクイザルのCD137および/またはマウスのCD137と交差反応する、実施形態1~50のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

30

【 0 5 1 7 】

E52. ヒトCD137に結合し、以下の特性のうちの少なくとも一つを呈する、アゴニスト性単離モノクローナル抗体：

- (a) ヒトCD137三量体の二量体化を誘導または強化する；
- (b) ヒトCD137三量体の多量体化を誘導または強化する；
- (c) 腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のT細胞活性化を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のT細胞活性化をそれほど誘導または強化しない；
- (d) 腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性の細胞障害性T細胞応答を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性の細胞障害性T細胞応答をそれほど誘導または強化しない；
- (e) 腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のサイトカイン産生を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のサイトカイン産生をそれほど誘導または強化しない；
- (f) 腫瘍微小環境においてヒトCD137介在性のT細胞増殖を誘導または強化するが、脾臓および/または肝臓中ではヒトCD137介在性のT細胞増殖をそれほど誘導または強化しない；
- (g) 1×10^{-6} 以下の平衡解離定数 K_D でヒトCD137に結合する；または

40

50

(h) 特性(a)～(g)の任意の組み合わせ。

【0518】

E53. 当該抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、およびIgE抗体からなる群から選択される、実施形態1～52のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0519】

E54. 当該抗体は、IgG1抗体またはIgG4抗体である、実施形態53に記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分。

【0520】

E55. 実施形態1～54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

10

【0521】

E56. 実施形態1～54のいずれか一つに記載される単離モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の、軽鎖、重鎖、または軽鎖および重鎖の両方をコードするヌクレオチド配列を含む核酸。

【0522】

E57. 実施形態56に記載の核酸を含む発現ベクター。

【0523】

E58. 実施形態57に記載の発現ベクターで形質転換された細胞。

【0524】

E59. ヒトCD137に特異的に結合するモノクローナル抗体またはその抗原結合部分を製する方法であって、当該モノクローナル抗体またはその抗原結合部分の発現が可能となる条件下で、実施形態58に記載される細胞を維持する工程を含む、方法。

20

【0525】

E60. 当該モノクローナル抗体またはその抗原結合部分を取得する工程をさらに含む、実施形態59に記載の方法。

【0526】

E61. 対象において、ヒトCD137三量体の二量体化を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1～54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

30

【0527】

E62. 対象において、ヒトCD137三量体の多量体化を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1～54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

【0528】

E63. 対象において、ヒトCD137により介在されるT細胞活性化を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1～54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

40

【0529】

E64. 当該T細胞活性化が、腫瘍微小環境において発生する、実施形態63に記載の方法。

【0530】

E65. 当該T細胞活性化が、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない、実施形態63に記載の方法。

【0531】

E66. 対象において、ヒトCD137により介在される細胞障害性T細胞応答を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1～54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成

50

物の有効量を投与する工程を含む、方法。

【0532】

E67. 当該細胞障害性T細胞応答が、腫瘍微小環境において発生する、実施形態66に記載の方法。

【0533】

E68. 当該細胞障害性T細胞応答が、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない、実施形態66に記載の方法。

【0534】

E69. 対象において、ヒトCD137により介在されるサイトカイン産生を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1~54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

10

【0535】

E70. 産生されるサイトカインが、IL-2、TNF、IL-13、IFN またはそれらの組み合わせである、実施形態69に記載の方法。

【0536】

E71. 当該サイトカイン産生が、腫瘍微小環境において発生する、実施形態69または実施形態70に記載の方法。

【0537】

E72. 当該サイトカイン産生が、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない、実施形態69または実施形態70に記載の方法。

20

【0538】

E73. 対象において、ヒトCD137により介在されるT細胞増殖を誘導または強化する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1~54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

【0539】

E74. 当該T細胞増殖が、腫瘍微小環境において発生する、実施形態73に記載の方法。

【0540】

E75. 当該T細胞増殖が、対象の脾臓および/または肝臓ではそれほど発生しない、実施形態73に記載の方法。

30

【0541】

E76. 腫瘍増殖を低下または阻害する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1~54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

【0542】

E77. 対象において、ヒトCD137により介在される障害を治療する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1~54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

40

【0543】

E78. 対象において癌を治療する方法であって、その必要のある対象に、実施形態1~54のいずれか一つに記載の単離モノクローナル抗体もしくはその抗原結合部分、または実施形態55に記載の医薬組成物の有効量を投与する工程を含む、方法。

【0544】

E79. 当該癌が、メラノーマ、グリオーマ、腎癌および頭頸部癌からなる群から選択される、実施形態78に記載の方法。

【0545】

E80. 当該抗体またはその抗原結合部分が、Fcガンマ受容体に結合する、実施形態76~79のいずれか一つに記載の方法。

50

【0546】

E81. CD4+T細胞、CD8+T細胞、ナチュラルキラー細胞またはそれらの組み合わせの枯渇は、当該抗体またはその抗原結合部分の有効性を低下させる、実施形態76～80のいずれか一つに記載の方法。

【0547】

E82. 生物サンプル中のヒトCD137の存在または非存在を検出する方法であって、
(i) 実施形態1～54のいずれか一つに記載の抗体と、生物サンプルを接触させる工程であって、当該抗体は、検出可能な物質で標識されている工程；および
(ii) ヒトCD137に結合した当該抗体を検出し、それにより当該生物サンプル中のヒトCD137の存在または非存在を検出する工程、を含む、方法。

10

【実施例】

【0548】

本開示は、その具体的な実施形態に関連して記載されているが、当業者には様々な変更が為され得ること、および本開示の趣旨および範囲から逸脱することなく均等と置き換えられ得ることを理解するであろう。さらに多くの改変を行い本開示の目的、趣旨および範囲に対して特定の状況、物質、内容の組成、プロセス、プロセスの工程を適合させ得る。そうした改変はすべて本開示の範囲内にあることが意図される。

【0549】

実施例1：組み換え型ヒトCD137に対する結合を呈する酵母において産生されるヒトモノクローナル抗体の合成

20

精製CD137タンパク質抗原は、EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit (Thermo Scientific社)を使用してビオチニル化された。CD137抗原を約1mg/mLまで濃縮し、PBSへと緩衝液交換を行い、1:7.5のモル比のビオチニル化試薬(EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit, Thermo Scientific社、カタログ番号21425)を添加した。混合液を一晩、4℃に保ち、さらに緩衝液交換を行って、溶液中の遊離ビオチンを除去した。ForteBio上の標識タンパク質のストレプトアビジンのセンサー結合を介してビオチニル化が確認された。CD137タンパク質抗原のビオチニル化の成功は、メーカーのガイドラインに従いForteBio Octet (商標) Red384 Interferometer (Pall ForteBio社、カリフォルニア州メンロパーク)にインストールされたストレプトアビジン結合バイオセンサーへの検出可能な結合を介して確認された(データは示さず)。

30

【0550】

8個のナイーブなヒト合成酵母系抗体ライブラリは、各々約 10^9 の多様性であり、過去に報告されたように設計、作製および増幅された(例えば、WO2009036379; WO2010105256; WO2012009568; Xu et al., Protein Eng Des Sel. 2013 Oct;26(10):663-70を参照のこと)。ビオチニル化ヒトCD137-Fc融合体に対する8個のナイーブなライブラリを使用して、8回の並行選択を実施した。

【0551】

選択の最初の2ラウンドに関しては、Miltenyi MACSシステムを利用する磁気ビーズソーティング技術を、原則的に(Siegel et al., J Immunol Methods. 2004 Mar;286(1-2):141-53)に記載されるように実施した。簡潔に述べると、酵母細胞(約 10^{10} 細胞/ライブラリ)を10mLの10nMビオチニル化ヒトCD137-Fc融合抗原とともに15分間、室温で、0.1%BSAを含むFACS洗浄緩衝液のPBS中でインキュベートした。50mLの氷冷洗浄緩衝液で1回洗浄した後、細胞沈殿物を40mLの洗浄緩衝液中に再懸濁し、500μLのStreptavidin MicroBeads (Miltenyi Biotec社、ドイツ、ベルギッシュグラッドバッハ、カタログ番号130-048-101)を酵母に添加し、4℃で15分間インキュベートした。次に酵母を沈殿させ、5mLの洗浄緩衝液に再懸濁し、MACS LSカラム上にロードした(Miltenyi Biotec社、ドイツ、ベルギッシュグラッドバッハ、カタログ番号130-042-401)。5mLをロードした後、カラムを3mLのFACS洗浄緩衝液を用いて3回洗浄した。次いでカラムを磁場から取り出し、酵母を5mLの増殖培地で溶出させ、次いで一晩増殖させた。

40

【0552】

50

2ラウンドのMACSを行った後で、3ラウンドのソーティングをフローサイトメトリー (FACS) を使用して実施した。これを以下の3段落に記載する。

【0553】

Fc抗原を用いた8回の並行選択を採用する選択戦略

MACS選択から得た8ライブラリに3ラウンドのFACS選択を行った。1ライブラリ当たりおよそ 1×10^8 の酵母が沈殿された。洗浄緩衝液で3回洗浄し、そして別個に10nMのビオチニル化ヒトCD137-Fc融合体および10nMのビオチニル化マウスCD137-Fc融合抗原を用いて10分間、室温でインキュベートした。次いで酵母を2回洗浄し、1:100に希釈されたヤギ抗ヒトF(ab')₂カップ-FITC(Southern Biotech社、アラバマ州バーミングハム、カタログ番号 2062-02)と、1:500に希釈されたストレプトアビジン-Alexa Fluor 633 (Life Technologies社、ニューヨーク州グランドアイランド、カタログ番号 S21375)または1:50に希釈されたエキストラアビジン-フィコエリトリン(Sigma-Aldrich社、セントルイス、カタログ番号 E4011)のいずれかを第二試薬と15分間、4℃で染色した。氷冷洗浄緩衝液で2回洗浄した後、細胞沈殿物を0.4mLの洗浄緩衝液中に再懸濁し、ストレイナーで蓋をしたソートチューブに移した。FACS ARIA ソーター (BD Biosciences社)を使用してソーティングを行い、ソーティングゲートを決定してCD137結合物質のみを選択した。第一ラウンドのFACSから選択されたマウスおよびヒトの選択群を、次のラウンドに進めた。

【0554】

上記の選択群に対するFACSの第二および第三のラウンドには、ヒトおよび/またはマウスのCD137試薬の結合物質に対する陽性ソート、または多特異性試薬の結合物質を低下させるための陰性ソートが含まれた(Xu et al., PEDS. 2013 Oct;26(10):663-70)。具体的な選択アウトプットの多特異性結合または標的結合の量に応じて、陰性ソートの後に陽性ソート、またはその逆も行い、わずかな量の多特異性結合物質を含む完全結合群を富化させた。文献からの対照mAbを用いて競合選択も実施した。競合選択のために、mAb4 (ウレルマブ (urelumab); Bristol-Myers Squibb社; CAS番号: 934823-49-1) およびmAb5 (ウトミルマブ (utomilumab); Pfizer社; CAS番号: 1417318-27-4)を、ビオチニル化ヒトCD137-Fc融合体と前もって複合体化させた。対照mAbの存在下で結合する、そして結合しない抗体をFACS上で選択した。これらのラウンドのアウトプットを播種し、単離体を配列解析および特徴解析のためにピックアップした。

【0555】

ナイーブ選択で特定されたクローンのアフィニティ成熟

ビオチニル化ヒトCD137融合体アウトプットに対する最初のFACSソーティングラウンドからの重鎖を使用して、4回の追加選択ラウンドに使用される軽鎖多様性ライブラリを調製した。これらの選択ラウンドの最初のラウンドに、抗原として10nMのビオチニル化ヒトCD137-Fc融合体と複合体化されたMiltenyi MACsビーズを利用した。

【0556】

MACsビーズ選択の後に、3ラウンドのFACSソーティングを実施した。これらラウンドの最初のラウンドに、10nMのビオチニル化ヒトCD137-Fc融合体を使用した。上述のFACSの第二ラウンドには、マウスCD137試薬への結合物質に対する陽性ソート、過去に報告されている対照mAbを用いた競合ソート、または上述の多特異性試薬結合物質に対する陰性ソートが含まれた。第三および最終ラウンドのFACS選択は、10nMのビオチニル化マウスCD137-Fc融合体、または50nMのビオチニル化ヒト単量体CD137のいずれかを使用して実施された。上述の各FACS選択ラウンドから得られた個々のコロニーを、配列解析および特徴解析のためにピックアップした。

【0557】

IgGおよびFabの作製と精製

酵母クローンを飽和状態まで増殖させ、次いで30℃で48時間、振とうしながら誘導させた。誘導後、酵母細胞を沈殿させ、上清を精製用に採取した。IgGは、プロテインAカラムを使用して精製して、pH2.0の酢酸で溶出させた。Fab断片をパパイン消化により生

成し、CaptureSelect IgG-CH1 affinity matrix (LifeTechnologies社、カタログ番号1943200250)上で精製した。

【0558】

実施例2：エピトープマッピングおよび組み換え型CD137に対するヒト抗CD137抗体のアフィニティの決定

実施例1で単離された抗体のエピトープマッピングは、標準的なサンドイッチ形式のマッピングアッセイを使用して、Forte Bio Octet Red384 system (Pall Forte Bio Corporation社、カリフォルニア州メンロパーク)上で実施された。CD137対照抗体IgGをAHQセンサー上にロードし、センサー上の空いているFc結合部位を無関係のヒトIgG1抗体でブロッキングした。次いでセンサーを100nMの標的抗原に暴露し、次いで実施例1
10
で記載される、特定された単離抗体に暴露した。ForteBio's Data Analysis Software 7.0を使用してデータを処理した。抗原会合後に第二の抗体が追加的に結合した場合、空いているエピトープ(非競合)を示している。一方で結合が無かった場合には、エピトープブロッキングを示している(競合)(データは示さず)。

【0559】

CD137抗体のアフィニティは、ForteBio Octet上で動的定数(k_a 、 k_d 、 K_D)を測定することにより決定された。ForteBioアフィニティ測定は概して過去に報告されている通りに実施された(Estep et al., MAbs, 2013 5(2):270-8)。簡潔に述べると、Forte Bioアフィニティ測定は、抗体(IgG)をAHQセンサー上にオンラインでロードすることにより実施された。センサーはアッセイ緩衝液中、オフラインで30分間平衡化され、その後、
20
基準値確立のために60秒間オンラインでモニタリングされた。アビディティ結合測定に関しては、IgGがロードされたセンサーに100nMの抗原(ヒト、カニクイザルまたはマウスのCD137)を3分間暴露し、その後、それらをアッセイ緩衝液に3分間移し、解離速度測定を行った。一価の結合測定値は、AHQセンサー上にヒトCD137-Fc融合体をロードし、次いで溶液中で200nMの抗体に暴露することにより取得された。動的データは、Forte Bioから提供されたデータ解析ソフトウェアにおいて、1:1の結合モデルを使用して適合させた(データは示さず)。

【0560】

抗体がリガンドブロッキングであるかの決定も評価された。具体的には、リガンドブロッキング実験を、Octet HTX (ForteBio社)および標識の無いMX96 SPRI (Carterra社)の両方で実施した。mAb1は、OctetセンサーまたはMX96チップセンサー上で捕捉された。CD137およびCD137Lを、予めmAb1がロードされたセンサーに連続して適用した。CD137Lへの暴露時の応答における増加は、CD137への結合に関し、mAb1とCD137Lの間の非競合を示唆する。他方で、シグナル変化の欠落は、競合を示唆する。競合は対照抗体のmAb5の場合に存在した。mAb1はCD137へのCD137Lの結合を阻害しなかった(データは示さず)。ゆえに非リガンドブロッキング抗体とみなされた。
30

【0561】

実施例3：アフィニティ成熟した抗CD137抗体の結合アフィニティの分布

二つの変異体ライブラリを使用して、アフィニティ成熟された抗CD137抗体を作製した。第一のライブラリは、重鎖中に変異を含み、第二のライブラリは軽鎖中に変異を含み、
40
ここで軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3中にドナー多様性が創出された。変異体ライブラリに、アフィニティ増幅と、マウスCD137との交差反応性の維持を目的とした3ラウンドのファージパンニングを実施した。各ラウンドにおいて、ピオチニル化抗原への最初の結合後に、解離速度の競合工程を採用した(すなわち余剰の非標識抗原または親IgGとともに37℃で1時間のインキュベーション)。

【0562】

異なる選択ラウンドから得られた抗CD137抗体を、 k_d/k_a 二重対数プロット上にプロットした。見掛けの会合および解離の動的速度定数(k_a 値および k_d 値)は、PBS-T 0.01%のランニング緩衝液中、SPRI reader (MX96、Carterra社)上で決定された。抗ヒトCD137抗体は、CFM (Carterra社)上のCarboxymethyl dextran hydrogel 50L chi
50

p (Xantec bioanalytics社)の上に共有結合的にプリントされた。新たに混合された活性化試薬(150mlの0.4M EDC、および150mlの0.1M sulfo-NHSの水溶液)を使用して、SPR基質の表面を7分間活性化した。酢酸緩衝液pH4.5中、10mg/mlの抗体を15分間、プリントに使用した。次いでプリントされたチップを、15分間、1M エタノールアミンを用いてSPR reader (MX96、Carterra社)上でクエンチした。動的解析のために、精製された組み換えhisタグ化ヒトCD137(0、2.05、5.12、12.8、32、80、200、500nM)を連続して注入した。各濃度に対し、5分間の会合と、次いで10分間の解離を行った。SPR Inspection ToolおよびScrubberソフトウェアにおいてデータを処理し、分析した。動的データは、隙間(interstitial)参照スポットを用いて参照され、そして緩衝サイクルに対して二重参照された。次いで1:1の結合モデルに包括的に適合させ、見掛けの会合および解離の動的速度定数(k_a 値および k_d 値)が決定された。 k_d/k_a の比率を使用して、各抗原/mAb相互作用の K_D 値、すなわち $K_D=k_d/k_a$ が導かれた。

【0563】

10~20nMの K_D (k_d/k_a)を有する抗体は直立の三角形で示され、10nM未満の K_D を有する抗体は逆さまの三角形で示されている(図1)。重鎖のみ(上のパネル)または軽鎖のみ(下のパネル)のアフィニティ成熟は両方とも、親抗体(mAb1)よりも高い結合アフィニティを有する抗CD137抗体の単離をもたらした(図1)。mAb1の重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号4と6に記載されている。

【0564】

実施例4: 抗CD137抗体の重鎖CDR3(CDRH3)を含有する重要な結合残基の特定

CDRH3内のどのアミノ酸残基が、mAb1のマウスおよびヒトのCD137ポリペプチドへの結合に重要かを決定するために、アラニンスキャニングを実施した。mAb1のオープンリーディングフレームの誘導物をコードするポリヌクレオチドセットを作製した。各誘導物は、CDRH3を含む野生型アミノ酸残基の位置に一つのアラニン残基置換を含んだ。配列番号4のD95位からM100I位がそれぞれ、アラニンコドンのGCCと野生型コドンを置き換えることでアラニンへと変異された。アラニン置換された各mAb1誘導物の各CDRH3のアミノ酸配列を配列番号111~125に記載する。15個のアラニン置換mAb1誘導物のそれぞれをコードするポリヌクレオチドを、Gibson Assemblyを使用して個々に発現ベクター(非グリコシル化(aglyco)-IgG1、DID-2600)へとクローニングした。アラニン置換された各mAb1誘導物を発現させ、当分野に公知の標準的な技術を使用して精製した。ヒトおよびマウスのCD137に対するアラニン置換mAb1各誘導物の結合アフィニティは、ヒトCD137(huCD137)に関してはWasatch SPR動的測定を介して、またはマウスCD137(mCD137)に関しては平衡細胞結合アッセイを介して、決定された。

【0565】

表1 各変異体に対して算出された解離定数(K_D)を示す。表に「弱い」と記載されている場合、バックグラウンドを超える結合が測定されているが、正確な K_D 値を割り当てるための十分な信頼で曲線に適合させる結合がないことを意味する。表1において、「NB」とは、結合アフィニティを決定する間に結合が観察されなかったことを示す。つまりCDRH3中のアラニン置換によってCD137に結合しない抗体が生じたことを示唆する。

【0566】

表1: アラニンスキャニングクローンのヒトおよびマウスのCD137に対する結合アフィニティ(K_D)

10

20

30

40

50

【表 1】

置換	huCD137	mCD137	置換	huCD137	mCD137
D95A	NB	NB	Y(100C)A	1nM	25nM
S96A	1.8nM	40nM	Y(100D)A	弱い	170nM
P97A	弱い	弱い	Y(100E)A	NB	NB
F98A	弱い	弱い	Y(100F)A	弱い	弱い
L99A	2.7nM	33nM	Y(100G)A	NB	NB
L100A	NB	NB	Y(100H)A	NB	NB
D(100A)A	弱い	弱い	M(100I)A	1.8nM	21nM
D(100B)A	1.3nM	54nM	野生型 K _D	1nM	11nM

10

【0567】

アラニンへの変異から生じた結合アフィニティの維持、減弱化または消失は、どの残基がCD137結合に必要なか、そしてどの残基が変異を忍容するかの決定に関する情報を提示する。図2 各位置で示される野生型アミノ酸の同一性と、CDRH3のアラニンスキャニングに関する結合データを要約する。示されるように、CDRH3の位置は、その位置でのアラニンへの変異の効果に基づき色付けされている。この解析により、以下のコンセンサス配列が得られた：DXPF_XLDXXYY_YYYX。コンセンサス配列中の太字の残基は、アラニンへ変異され、結合が完全に消失したものである。ゆえにこれらの残基は、mAb1がCD137に結合するのに必須であった。コンセンサス配列中の斜体の残基は、アラニンへ変異されても抗体はCD137に結合することができたが、アフィニティは弱くなったものである。このことからこれらの残基は結合に何らかの役割を果たしているが、絶対に必要というわけではなかったことが示唆される。コンセンサス配列中、Xで示されている位置の残基は、アラニンへ変異しても結合アフィニティに変化はほとんどないが、まったくなかった。したがってこれらの残基は変異に忍容であり、結合相互作用に重要ではなかった。

20

30

【0568】

実施例5：飽和突然変異誘導のスクヤニングおよびホモログ比較によるエピトープマッピング

飽和突然変異誘導ライブラリのスクヤニングおよびホモログ比較によるCD137エピトープの機能的マッピングを実施して、CD137への抗体結合に重要な残基を特定する。すべての残基位置で、システインを除くすべての可能性のあるアミノ酸への単一点変異置換を含むCD137変異体のコンビナトリアルライブラリを作製し、mAb1、mAb4およびmAb5に対する結合能力を検証した。各CD137点変異体をコードする遺伝子からなるライブラリは、業者で合成され、哺乳動物ディスプレイ発現ベクターへとクローニングされた。哺乳動物ディスプレイ法を使用して、バリエーションヒトCD137細胞外ドメインのライブラリを提示させた。各バリエーションは野生型ヒトCD137と比較して少なくとも一つの点変異を有している。

40

【0569】

CD137バリエーションを提示する細胞ライブラリを、非重複抗体の(i) mAb4およびmAb1、または(ii) mAb4およびmAb5で染色した。一つの抗体への結合が低下したが、もう一つの抗体への結合は低下しなかった細胞群をFACSにより富化させた。各群はイルミナシークエンスにより配列解析され、各抗体の結合を特異的に妨害するが、CD137の正しいフォールディングには影響を与えない、または非重複抗体への結合には影響を与えない位置の変異を特定した。

【0570】

mAb1に関しては、K114がCD137への結合に重要な最重要残基として特定された。観

50

察されたすべての変異体のうち34%がその位置に存在し、およびすべてのアミノ酸置換が観察された。E111、T113およびP135も結合に重要であり、それらの位置のそれぞれで、10%の変異が観察された。さらに、mAb1への部分的な結合低下があった群においてN126およびI132が観察された。図3A mAb1、mAb4およびmAb5のエピトープを含む残基を示す。mAb4とmAb5は、mAb1とは異なる結合エピトープを有していた。mAb4に関しては、N42が最も重要な残基であり、観察されたすべての変異のうち50%がその位置であり、次いでR41とD38が続く。mAb5に関しては、I132が最も重要であり、観察されたすべての変異のうち32%がその位置に存在し、次いでN126、G96、K114およびL95が続く。

【0571】

ライブラリのスクリーニングから単離された点変異体は、可用性タンパク質として発現され、mAb1に対する結合を検証された。K114(R、E、N、T)で検証された四つの全ての変異が、mAb1への結合を阻害した。T113およびP135の変異も結合を妨害した。1/2のE111点変異体、1/3のN126変異体、そして1/4のI132変異体が、結合を示さなかった。同様に、N42の3/3の変異体がmAb4に結合しなかった。I132の3/4の変異体がmAb5に結合しなかった。

【0572】

さらに、CD137のホモログを、mAb1への結合に関して検証した。mAb1はマウスCD137に結合することができるが、ラットCD137には結合できない。図3Bに示す。マウスCD137とラットCD137の間に、mAb1に対するエピトープを含む残基に違いがあるかを決定するために、ヒト、カニクイザル、ラット、そしてマウスのCD137ホモログのアミノ酸配列を並べて比較した。mAb1エピトープを含むアミノ酸残基のすべてが、ヒト、カニクイザル、そしてマウスには存在していたが、ラットには存在していなかった。ヒトCD137配列のリシン114(K114)ならびにカニクイザルおよびマウスのCD137配列中の対応するリシンは、ラットCD137配列ではグルタミン酸(E)であった。このことから、ヒトCD137配列のK114が、mAb1に対する重要結合残基のうちの少なくとも一つであることがさらに示唆される。

【0573】

図3Cおよび3D CD137Lに結合したヒトCD137の結晶構造を示す(Bitra A et al., J Biol Chem 2018, 293(26):9958-9969)。図中、E111、T113、K114およびP135残基は、丸として示されている。図示されるように、これらの残基は、グレーで示されるCD137リガンド(CD137L)結合ドメインから離れて位置している。

【0574】

実施例6：マウスにおける免疫レギュレーターおよびCD8+T細胞に対する抗CD137抗体の効果

実施例1で作製されたmAb1、mAb2およびmAb3の三つの抗CD137抗体をその有効性についてさらに分析した。これらの抗体はマウス交差反応性であり、Fabシャッフリングを阻害するS228P変異を含有するヒトIgG4アイソタイプの定常領域を含んだ。インビボでマウスCD137シグナル伝達を刺激し、抗腫瘍免疫を惹起させることが知られている3H3モノクローナル抗体(Melero et al. (1997) Nature Medicine 3(6):682-685; Uno et al. (2006) Nature Medicine 12(6):693-696)を、比較物質として使用した(BioXcell社、カタログ番号BE0239;ロット番号5926/1115)。特に3H3抗体は、ウレルマブ(Bristol-Myers Squibb社; CAS番号: 934823-49-1)と類似した特性を有している。ウレルマブはCD137の細胞外ドメインを標的とする完全ヒトIgG4-S228Pアゴニスト性抗体であるが、リガンド結合は阻害しない。さらに抗ラットIgG4をアイソタイプ対照として使用した(BioXcell社、カタログ番号 BE0089;ロット番号5533/5679-316J1)。PBS中で希釈して、1匹あたりの所望の投与量を得た。示されるように、100 µLの注射体積とした。

【0575】

抗体(100 µg)は、0、3、6日目に非腫瘍担持メスBalb/cマウスに腹腔内投与され、

10

20

30

40

50

脾臓は9日目に採取された。CD8+CD44+T細胞上のPD-1およびTIGITの発現レベルは、フローサイトメトリーにより測定された。具体的には、脾臓からの単一細胞懸濁液を、機械的破碎と40 μ mのセルストレーナーを通すことにより取得した。赤血球をACK緩衝液を使用して溶解させた。細胞懸濁液を以下の抗体で染色した：CD45（クローン 30-F11、eBioscience社）、CD8（クローン 53-6.7、BD Biosciences社）、CD4（クローンRM-45、BD Biosciences社）、CD44（クローンIM7、eBioscience社）、PD-1（RMP1-30、eBioscience社）、およびTIGIT（GIGD7、eBioscience社）。データ収集は、MACSQuant Analyzer flow cytometer（Milenyi社）上で実施し、FlowJoソフトウェア、バージョン10を使用してデータを分析した。

【0576】

10

3H3抗体は、PD-1およびTIGITの両方の発現の著しい増加を生じさせた。一方で、mAb1抗体のみが、mAb2およびmAb3と比較して発現が上昇した（図4Aおよび図4B）。さらにCD8+T細胞の拡張を、脾臓CD45+細胞の百分率と、脾臓当たりのCD8+T細胞数を分析することにより評価した。同様に、3H3抗体は、CD8+T細胞の最も高い拡張を生じさせた。mAb1は、mAb2およびmAb3と比較して、最も高いレベルのCD8+T細胞の拡張を生じさせた（図4C）。これらにより、mAb1をさらなる検証に選択した。

【0577】

実施例7：腫瘍担持マウスにおける抗CD137抗体の有効性

実施例6に示される、CD8+T細胞拡張を強化するmAb1の能力を考慮して、mAb1を、同系結腸癌の皮下モデルを使用して、抗腫瘍活性に関してさらに検証した。具体的には、CT26腫瘍細胞（3継代）を、10%の56 熱非働化FBS（Gibco社 10438-034）、1mMピルビン酸ナトリウム（Gibco社、カタログ番号11360-070）、1X NEAA（Gibco社、カタログ番号11140-050）および1X MEM Vitamin溶液（Gibco社、カタログ番号11120-052）を含むDMEM培地（Gibco社、カタログ番号11965-092）中、無菌状態で維持した。細胞は37 °Cおよび5%CO₂で維持された。50~70%のコンフルエンスに達した時点で、細胞を1:10の比率で継代し、総数で2回の継代を行い、インビボ移植を行った。細胞を採取し、Hemocytometer（Hausser Scientific社 Bright-Line #1492）を使用して計数した。

20

【0578】

Balb/cのメスマウスをCharles River Laboratoriesから購入した。試験開始時、9週齢であった。CT26腫瘍細胞（0.1mLのPBS中、マウス1匹あたり 1×10^5 細胞）を各マウスの右わき腹に皮下注射し、腫瘍体積をダイヤルカリパスを使用して週に2回算出した（長さ*（幅²）/2）。腫瘍接種後7日目に、動物を8匹ずつの群に分け、治療を開始した。試験期間中、体重は週に3回記録された。

30

【0579】

mAb1は三つの異なる用量（100、50または25 μ g/マウス）、3H3はで二つの異なる用量（50または10 μ g/マウス）およびアイソタイプ対照抗体は50 μ g/マウスの用量で投与された。すべてのマウスに、0、3、6および9日目に腹腔内投与を行った。

【0580】

腫瘍中のCD8+T細胞の拡張は、mAb1抗体および3H3抗体の両方に対し、インビボで確認された（データは示さず）。個々の腫瘍体積は図5Aに、平均腫瘍体積は図5Bに示す。mAb1治療により、対照群と比較して三つすべての用量で腫瘍増殖の阻害が生じた。さらにmAb1を用いた治療により、25 μ g用量レベルの8匹のマウス中6匹で、50 μ g用量レベルの8匹のマウス中5匹で、そして100 μ gの用量レベルの8匹のマウス中3匹で、完全退縮が生じた。

40

【0581】

各治療群における全生存は、図5Cに示す。CT26腫瘍に対するmAb1の強力な抗腫瘍活性は、全生存の延長として反映された。長期生存（60日）が、25 μ g用量レベルのマウスの80%、50 μ g用量レベルのマウスの62%、100 μ g用量レベルでマウスの38%で観察された。

50

【 0 5 8 2 】

70日目に腫瘍が触知できないマウスは治癒したとみなされ、反対側の脇腹にCT26細胞を皮下注射して再チャレンジが行われた。具体的には、腫瘍排除されたマウスに、 1×10^5 個のCT26細胞を左わき腹に再度注射し、腫瘍体積をダイヤルカリパスを使用して週に2回算出した（長さ \times （幅 2 ）/2）。5匹の非免疫化（ナイーブ）マウスに、対照としてそれぞれ同じ方法で注射した。再チャレンジ実験の結果は、図5Dに示す。CT26細胞の皮下注射の22日後、再チャレンジされたマウスは腫瘍を形成しなかった。対照的に、同じ細胞を注射されたナイーブマウスはすべて腫瘍を形成した。したがって、治癒したとみなされたマウスはすべてCT26腫瘍を拒絶した。このことから、mAb1は長期の防御的メモリーを誘導し得ることが示唆される。

10

【 0 5 8 3 】

実施例8：腫瘍担持マウスにおけるアフィニティ成熟した抗CD137抗体の有効性

実施例4で作製されたアフィニティ成熟モノクローナル抗体を、実施例7に記載される同系結腸癌（CT26）と本質的に同一の皮下モデルを使用して抗腫瘍活性を分析した。具体的には、IgG4定常領域を有する6つのアフィニティ成熟クローン（mAb7-mAb12）が作製され、順次検証された。重鎖可変領域および軽鎖可変領域の配列は以下のチャートにおいて、マウスCD137に対する（実施例2に記載されるForteBio Octetにより決定）およびヒトCD137に対する（実施例4に記載されるCarterraにより決定） K_D 値とともに提示する。

【 0 5 8 4 】

20

【表 2】

抗体	V _H 鎖	V _L 鎖	マウス CD137 への結合 K_D (nM)	ヒト CD137 への結合 K_D (nM)
mAb7	配列番号 8	配列番号 6	1.2	6.8
mAb8	配列番号 101	配列番号 6	72	3.2
mAb9	配列番号 103	配列番号 6	6.9	41.4
mAb10	配列番号 26	配列番号 6	8.4	20
mAb11	配列番号 4	配列番号 28	4.8	4.1
mAb12	配列番号 4	配列番号 105	25.8	12.1

30

【 0 5 8 5 】

親mAb1、3H3抗体（データは示さず）、およびIgG4アイソタイプ抗体を対照として使用した。すべてのマウスに、0、3、7および10日目に50 μ g mAb/マウスで腹腔内投与を行った。治療開始後13日目に脾臓と肝臓を採取した。

【 0 5 8 6 】

個々の腫瘍体積は図6Aに、平均腫瘍体積は図6Bに示す。実施例7の結果と一致して、親mAb1を用いた治療で腫瘍体積の減少が生じた。さらに、アイソタイプ対照抗体を用いて治療されたマウスと比較して、すべてのmAb1由来アフィニティ成熟クローン（mAb7～mAb12）の投与で、腫瘍担持マウスに腫瘍増殖の障害が生じた。

40

【 0 5 8 7 】

実施例9：腫瘍担持マウスにおける、T細胞に対する抗CD137抗体の効果

腫瘍担持マウスにおける、T細胞レベルに対する抗CD137抗体（すなわち3H3とmAb1）の効果を決するため、実施例7に記載されるCT26腫瘍を有するBalb/cマウスに、0および3日目で抗体を腹腔内注射し、7日目に組織を採取した。mAb1は三つの異なる用量（100、50または25 μ g/マウス）で投与され、3H3は二つの異なる用量（50または10 μ g/マウス）で投与され、アイソタイプ対照抗体は50 μ g/マウスで投与された。

【 0 5 8 8 】

50

実施例6に記載されるように脾臓からの単一細胞懸濁液を取得して、腫瘍細胞懸濁液は、腫瘍分離キット(Miltenyi社、カタログ番号 130-096-730)を使用して酵素消化および機械消化により取得された。細胞懸濁液を完全培地で処置して酵素を不活化させ、その後40 μ mのセルストレーナーを通した。赤血球をACK緩衝液を使用して溶解させた。CD45、CD8およびCD4に対する抗体を用いて細胞を染色し、実施例6に記載されるように分析した。

【0589】

図7 脾臓および腫瘍で見いだされたCD45+細胞の百分率としての、CD4+T細胞およびCD8+T細胞の数を示す。これらの結果から、mAb1が、脾臓CD8+T細胞と比較して腫瘍浸潤性CD8+T細胞を選択的に拡張させたことが示唆された。

10

【0590】

実施例10：抗CD137抗体のインビボ抗腫瘍有効性に対する、CD4+リンパ球、CD8+リンパ球、またはNKリンパ球の枯渇の影響

抗CD137抗体の作用機序を評価するために、実施例7に記載されるようにCT26腫瘍を有するBalb/cマウスに、mAb1を単独で腹腔内注射し、または抗CD4 (GK1.5)、抗CD8 (YTS169.4) もしくは抗アシアロGM1 (NK細胞を標的とする) と組み合わせて腹腔内注射して、これら特定のリンパ球サブセットを動物から枯渇させた。mAb1抗体のみで治療されたマウスは、6、9、12、19および26日目に150 μ gの抗体を投与された。-1、0、5、10、15、および20日目に投与された500 μ gの抗CD4、抗CD8、または50 μ Lの抗アシアロ-GM1抗体と組み合わされたマウスは、150 μ gのmAb1で治療された。枯渇の効果は、FACS分析により確認された(データは示さず)。

20

【0591】

個々の腫瘍体積は図8に示す。実施例7の結果と一致して、親mAb1を用いた治療で腫瘍体積の減少が生じた。さらに、リンパ球を枯渇させる抗CD4抗体、抗CD8抗体または抗アシアロ-GM1抗体と組み合わされたmAb1の投与は、mAb1抗体の抗腫瘍活性を低下させた。これらの結果から、本明細書に記載される抗CD137抗体の抗腫瘍有効性に対する、自然免疫と適応免疫の間の協働が示唆される。

【0592】

実施例11：様々な腫瘍モデルにおける抗CD137抗体の抗腫瘍有効性

抗CD137抗体が異なる腫瘍モデルで抗腫瘍有効性を有するかを決定するために、CT26腫瘍(上述のとおり、結腸癌)、EMT-6腫瘍(乳癌)、A20腫瘍(B細胞リンパ腫)またはMC38腫瘍(結腸癌)のいずれかを有するマウスにmAb8を投与した。

30

【0593】

すべての腫瘍モデルに対し、メスマウスをCharles River Laboratoriesから購入した。試験開始時、7~9週齢であった。各腫瘍タイプに対し、適切な同系マウス株を使用した(CT26、EMT-6およびA20に対してはBalb/c、MC38に対してはC57BL/6)。0.05 mLのPBS中、マウス1匹あたりEMT6腫瘍細胞(5×10^4)を、各マウスの右側乳腺脂肪体に注射した。CT26腫瘍細胞(マウス1匹あたり 1×10^5 細胞)、A20腫瘍細胞(マウス1匹あたり 5×10^6 細胞)およびMC38腫瘍細胞(マウス1匹あたり 5×10^5 細胞)を各マウスの右わき腹に皮下注射し、腫瘍体積をダイヤルカリパスを使用して週に2回算出した(長さ*(幅²)/2)。50~100 mm³の大きさに腫瘍が達した時点で、マウスを無作為化し、mAb8またはアイソタイプ対照を投与した(0日目)。視認できる(orthoptic) EMT6腫瘍を有するマウスは、0、3、6および9日目に12.5 μ gが投与された。A20(200 μ g/マウス)およびMC38(12.5 μ g/マウス)の腫瘍を有するマウスは、週に1回、5投与を行った。すべてのマウスに腹腔内投与が行われた。

40

【0594】

図9に示されるように、mAb8は検証された4種すべての腫瘍モデルにおいて有効であり、このことから様々な癌のタイプに対する広範な有効性が示唆される。mAb8を用いた治療で、8/8のCT26、3/8のEMT6、5/8のA20の腫瘍担持マウスで腫瘍退縮が生じ、EMT6、A20およびMC38を担持する残りのマウスの大部分に増殖遅延が生じた。

50

【 0 5 9 5 】

実施例12：抗CD137抗体の用量効果

抗CD137抗体の抗腫瘍有効性をさらに解析するために、実施例7に記載される同系結腸癌（CT26）と本質的に同一の皮下モデルを使用して用量試験を実施した。具体的には、親mAb1およびアフィニティ成熟したmAb8抗体とmAb10抗体を、0、3、6および9日目に、マウス1匹あたり150 μ g（高用量）または20 μ g（低用量）のいずれか投与量で腹腔内投与した。1治療群当たり8匹のマウスを用いた。1群のマウス（n=8）に、150 μ gの投与量でIgG4アイソタイプ対照を投与した。

【 0 5 9 6 】

150 μ gで治療されたマウスの個々の腫瘍体積、平均腫瘍体積、および生存割合を、図10A、図10B、および図10Cにそれぞれ示す。20 μ gで治療されたマウスの個々の腫瘍体積、平均腫瘍体積、および生存割合を、図11A、図11B、および図11Cにそれぞれ示す。これらの結果から、親mAb1抗体、ならびにアフィニティ成熟mAb8抗体およびmAb10抗体を用いた治療は、高用量および低用量の両方で、腫瘍体積の低下と、マウス生存率の増加をもたらしたことが示された。

【 0 5 9 7 】

CT26腫瘍モデルを利用した別の用量試験では、親mAb1の追加投与量が検証された。具体的には、mAb1は、以下の投与量で腹腔内投与された：12.5 μ g、25 μ g、50 μ g、100 μ gおよび200 μ g。図12 用量試験の結果を示す。この結果から、広範な投与量範囲にわたる有効性が示唆される。mAb1を用いた治療で、各投与量レベルにおいて少なくとも3/8のマウスに腫瘍退縮が生じ、最適投与量範囲（50～100 μ g / マウス）では、7/8のマウスに腫瘍排除がもたらされた。

【 0 5 9 8 】

実施例13：抗CD137抗体の抗腫瘍有効性に対するFc受容体結合の効果

抗CD137抗体の抗腫瘍活性に対するFc受容体結合の関与を決定するために、mAb1の非グリコシル化型IgG1とIgG4を作製した。実施例7に記載されるように、CT26腫瘍をマウスに確立させた。マウスは、（a）アイソタイプ対照、（b）IgG4のmAb1、（c）IgG4の非グリコシル化mAb1、または（d）IgG1の非グリコシル化mAb1のいずれか150 μ gを投与された。

【 0 5 9 9 】

図13Aおよび13Bに示されるように、親mAb1抗体の非グリコシル化型のIgG4アイソタイプおよびIgG1アイソタイプは、mAb1と比較して腫瘍体積に対する効果が低下した。しかし有効性は完全には消失しなかった。したがってこれらの結果から、mAb1の抗腫瘍有効性は完全にFc依存するものではないが、Fc受容体結合により強化されることが示唆される。

【 0 6 0 0 】

実施例14：抗CD137抗体の種交差アフィニティ

さらに複数の種由来のCD137に対する結合に関し、抗CD137抗体を検証した。具体的には、ヒト、マウス、カニクイザルおよびイヌ科のCD137に対する結合に関して、mAb1、mAb8およびmAb10を分析した。動的実験を、動的緩衝液（1xPBS、pH7.4、0.1mg/ml BSAおよび0.002% Tween 20）中、Octet HTX（ForteBio社）上で実施した。Fc-マウスIgG2a-、またはHis-タグ化CD137（ヒト、マウス、カニクイザルまたはイヌ科）をそれぞれ、前もって水和させたバイオセンサーのAHC、AMCまたはNTAに5分間ロードした。次いでセンサーを5分間の会合のためにFab（0、5.12、12.8、32、80、200および500nM）に漬け、次いで15分間の解離を行った。結果をForteBio Data Analysis 9.0で分析し、1：1結合モデルに包括的に適合させて、見掛け K_D を決定した。ヒトおよびマウスのCD137結合に対する K_D は、異なる供給源（ACRO Biosystems社、Sino Biological社および内部資料）からの抗原を使用することにより確認された。結果を以下の表2に示す。

【 0 6 0 1 】

10

20

30

40

50

表2：種交差アフィニティ

【表2 A】

CD137 の種	mAb1	mAb8	mAb10
ヒト	50～70nM	3～5nM	0.9nM
マウス	300～500nM	50～90nM	10～30nM
カニクイザル	30～100nM	3～7nM	1.8nM
イヌ	ほとんど適合しない	ほとんど適合しない	ほとんど適合しない

10

【0602】

実施例15：抗CD137抗体の抗腫瘍有効性に対する腫瘍サイズの影響

抗CD137抗体の抗腫瘍有効性をさらに解析するために、大きな腫瘍に対する抗腫瘍有効性を評価した。CT26腫瘍をおよそ500mm³にまで成長させて、治療を開始した。親mAb1抗体、ならびにアフィニティ成熟させたmAb8抗体およびmAb10抗体を、腫瘍確立後0、3、6および9日目に150μg/マウスで投与した（n=6匹のマウス/治療群）。IgG4アイソタイプ対照抗体を、比較物質として使用した。

【0603】

図14A～14Cに示されるように、親mAb1ならびにアフィニティ成熟mAb8およびmAb10は、アイソタイプ対照と比較して腫瘍体積を低下させ（図14A～図14B）、マウス生存を増加させた（図14C）。mAb8は、mAb1およびmAb10と比較して、著しく高い抗腫瘍有効性を生じさせた。0、7、および14日目に25μgの抗体を投与した点を除き、同じ実験デザインを使用して別の実験を実施し、大きな腫瘍に対するmAb8と3H3の有効性を比較した。図14D 3H3は大きな腫瘍に対して効果がなかった一方で、mAb8は腫瘍退縮を誘導したことを示す結果を提示する。

20

【0604】

実施例14に記載されるように、mAb8は、ヒトCD137に対するmAb1のアフィニティと同等の、マウスCD137に対するアフィニティを有している。本開示は特定の学説または作用機序に拘束されないが、中程度のアフィニティを有するアゴニスト性抗CD137抗体は、癌の治療に対して、より有用であり得ると考えられる。

30

【0605】

70日目に腫瘍が触知できないマウスは治癒したとみなされ、反対側の脇腹にCT26細胞を皮下注射して再チャレンジが行われた。具体的には、腫瘍排除されたマウスに、 1×10^5 個のCT26細胞を左わき腹に再度注射し、腫瘍体積をダイヤルカリパスを使用して週に2回算出した（長さ \times （幅²）/2）。5匹の非免疫化（ナイーブ）マウスに、対照としてそれぞれ同じ方法で注射した。再チャレンジ実験の結果は、図15に示す。CT26細胞の皮下注射の80日後、再チャレンジされたマウスは腫瘍を形成しなかった。対照的に、同じ細胞を注射されたナイーブマウスはすべて腫瘍を形成した。したがって、治癒したとみなされたマウスはすべてCT26腫瘍を拒絶した。このことから、mAb1は長期の防御的メモリー免疫を誘導し得ることが示唆される。

40

【0606】

実施例16：腫瘍担持マウスにおける抗CD137抗体の毒性

腫瘍担持マウスにおける、肝臓内T細胞レベルに対する抗CD137抗体（すなわち3H3およびmAb1）の作用を決定するために、実施例7のマウスを分析した。肝臓リンパ球を集め、フローサイトメトリーで分析した。具体的には、肝臓からの単一細胞懸濁液は、肝臓分離キット（Miltenyi社、カタログ番号130-105-807）およびgentle MACS Dissociator（Miltenyi社）を使用して取得された。細胞懸濁液を完全培地で処置して酵素を不活化させ、その後40μmのセルストレーナーを通した。赤血球をACK緩衝液を使用して溶解させた。CD45、CD8およびCD4に対する抗体を用いて細胞を染色し、実施例3に記載される

50

ように分析した。

【0607】

図16Aおよび16B 治療されたマウスの肝臓で見いだされたCD45+細胞の百分率としての、CD4+T細胞およびCD8+T細胞の数を示す。結果から、mAb1は肝臓内T細胞の浸潤は誘導しなかったことが示唆された。このことから、3H3抗体と比較して毒性が低いことが示される。

【0608】

実施例17：腫瘍担持マウスにおけるアフィニティ成熟した抗CD137抗体の毒性

抗CD137抗体（すなわち3H3、mAb1およびmAb7～mAb12）により介在される毒性関連作用を評価するために、実施例8の腫瘍担持マウスの抗体投与後の脾臓と肝臓の細胞組成を分析した。

10

【0609】

実施例8の腫瘍担持マウスの肝臓内（肝）T細胞および脾臓内（脾）T細胞を集め、フローサイトメトリーで分析した。示されるように、抗CD137抗体またはアイソタイプ対照抗体の投与後の肝臓および脾臓からのCD45+細胞を、CD3+、CD4+またはCD8+の発現に関して評価した。結果を図17A（脾臓）および17B（肝臓）に示す。結果から、親mAb1ならびにアフィニティ成熟抗体（mAb7～mAb12）の投与は、アイソタイプ対照抗体の投与と比較して、肝臓内T細胞または脾臓内T細胞の百分率に対し、作用は低いか、ほとんどなかったことが示唆された。対照的に、3H3抗体の投与により、アイソタイプ対照抗体と比較して、脾臓および肝臓の両方のT細胞、特にCD3+T細胞およびCD8+T細胞の上昇がもたらされた。

20

【0610】

さらに抗CD137抗体またはアイソタイプ対照抗体の投与後の、治療マウスの肝臓および脾臓からのCD45+CD8+T細胞、およびCD45+CD4+T細胞を、T細胞活性化またはT細胞消耗の指標としてのTIGIT、PD-1またはLAG-3の共阻害性受容体の発現に関して評価した。CD8+T細胞およびCD4+T細胞上のTIGIT、PD-1およびLAG-3の発現レベルは、上述の実施例に記載されるようにフローサイトメトリーで測定された。図18A～18Bおよび19A～19B 3H3抗体の投与により、CD8+T細胞およびCD4+T細胞の両方において、これら共阻害性受容体の発現の著しい増加が生じた。一方で、親mAb1またはアフィニティ成熟mAb7～mAb12の投与では、アイソタイプ対照抗体の投与後に見られたものと同程度のTIGIT、PD-1またはLAG-3の発現が生じた。これらの結果から、アフィニティ成熟抗体は、全身的なCD8+T細胞またはCD4+T細胞の活性化は誘導しなかったことが示唆された。

30

【0611】

まとめると、これらの結果から親mAb1抗体と、アフィニティ成熟mAb7～mAb12抗体は、3H3比較抗体と比較してインビボ毒性は低い可能性が示唆される。mAb1抗体およびアフィニティ成熟mAb7～mAb12抗体を用いた治療後の、全身性、特に肝臓でのT細胞活性化と拡張が無いことは、患者の肝臓毒性（高トランスアミナーゼ血症）の可能性が低いと解釈され得る。

【0612】

実施例18：腫瘍担持マウスにおける抗CD137抗体の複数回投与の毒性

40

mAb1により誘導される毒性がないことを確認するために、反復投与毒性試験を実施した。具体的には、抗CD137抗体であるmAb1、mAb8または3H3をマウスに4週間、毎週投与した。mAb1とmAb8は、10、20、40または80mg/kgのいずれかで投与され、3H3は10または80mg/kgのいずれかで投与された。35日目に、血漿中のアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）レベルを蛍光活性アッセイ（Sigma社、カタログ番号 MAK052）を使用して決定し、肝臓中のCD8+T細胞を、フローサイトメトリー（上述）を使用して決定し、血漿中のTNF 濃度を、電気化学発光アッセイ（Meso Scale Discovery社、カラムキット）をメーカーの指示に従い使用して決定した。

【0613】

図20A mAb1およびmAb8を投与されたマウスの肝臓中のCD8+T細胞のレベルは4投与

50

量すべてで低く、一方で3H3は低投与量（10mg/kg）および高投与量（80mg/kg）の両方で高レベルのCD8+T細胞を誘導したことを示す。図20BはmAb1およびmAb8を投与されたマウスの血漿中のALT活性は四つすべての投与量で低く、一方で3H3は80mg/kgの投与量で高レベルのALTを誘導したことを示す。図20C mAb1、mAb8を投与されたマウスの血漿中のTNF のレベルは低投与量（10mg/kg）および高投与量（80mg/kg）の両方で低く、一方で3H3は、低投与量（10mg/kg）および高投与量（80mg/kg）の両方で高レベルのTNF を誘導したことを示す。

【0614】

さらに、80mg/kgの抗CD137アゴニスト性抗体を投与された治療マウスの肝臓を切片化し、H&Eで染色した。各動物から、肝臓の半分をOCTに包埋し、液体窒素中で新鮮凍結させた。標準的な手順に従い、病理組織検査室（Mass Histology Service, Inc）により切片化とH&E染色が実施された。図21 3H3を投与されたマウスの炎症性の小葉中心巣（矢印を参照）を示す結果を提示する。mAb1またはアフィニティ成熟mAb1では無い。

【0615】

実施例19：抗CD137抗体を用いた免疫再プログラミング

腫瘍微小環境中の免疫細胞に対する抗CD137抗体の役割を決定するために、CT26腫瘍モデルを利用した。具体的には、実施例7に記載されるようにCT26腫瘍を確立させた。mAb8を25μgの投与量で0、3、6、および9日目にマウスに投与した。実施例16に記載されるように11日目に腫瘍を分析した。

【0616】

腫瘍微小環境内への全体的な免疫細胞の浸潤は、CD45+肝臓細胞の量を測定することにより決定された。図22Aに示されるように、mAb8は腫瘍微小環境内への免疫細胞の浸潤を著しく増加させた。

【0617】

腫瘍微小環境中のTreg細胞のレベルは、CD25+ FOXP-3+ CD4+腫瘍浸潤リンパ球の量を測定することにより決定された。図22Bに示されるように、mAb8は腫瘍微小環境中のTregのレベルを著しく低下させた。

【0618】

T細胞消耗に対するmAb8の効果は、CD8+またはCD4+の腫瘍浸潤リンパ球（TIL）上のPD-1+TIGIT+発現のレベルを測定することにより決定された。図22C CD8+TILの結果を示す。図中、mAb8が投与されたときに腫瘍微小環境中のPD-1+TIGIT+細胞が減少した。同様の結果がCD4+TILにも観察された（データは示さず）。これらの結果から、mAb8がT細胞消耗を妨げるおよび/または逆転させることを示す。

【0619】

さらに腫瘍関連マクロファージに対するmAb8の効果も分析された。具体的には、F4/80+CD11b+CD45+細胞を測定し、mAb8治療で腫瘍関連マクロファージの低下が観察された。

【0620】

別個の実験において、末梢免疫細胞に対する抗CD137抗体（すなわちmAb1および3H3）の効果が評価された。具体的には、150ugの投与量で、0および3日目にmAb1または3H3で治療されたCT26腫瘍担持マウスの脾臓を7日目に分析した。図23に示されるように、抗CD137抗体の3H3はCD8+T細胞およびCD4+T細胞上のTIGITならびにPD-1の発現を誘導し、ならびにCD8+CD25+細胞およびCD4+Foxp3+細胞を増加させた。さらに3H3は、CD8+およびCD4+の両方のエフェクターメモリー細胞を誘導した。対照的に、抗CD137抗体のmAb1は、CD8+TIGIT+PD-1+T細胞、CD8+CD25+T細胞およびCD4+Foxp3+T細胞をそれほど誘導しなかった。さらにmAb1は、CD8+エフェクターメモリー細胞もCD4+エフェクターメモリー細胞も誘導しなかった。

【0621】

全体として、これらの結果から、抗CD137抗体のmAb1とmAb8は、腫瘍微小環境内で劇的な免疫再プログラミングを誘導すること、および末梢免疫細胞に対する効果はあった

10

20

30

40

50

としても少ないことが示唆される。

【0622】

実施例20：抗CD137抗体によるマウスT細胞活性化の強化

抗CD137抗体のアゴニスト性を、マウスオボアルブミン刺激アッセイにおけるIL-2産生刺激を評価することによりさらに分析した。96ウェルプレートにおいて、JAWS-II樹状細胞様細胞を 10^4 細胞/ウェルで播種し、マウスIFN (10 ng/mL)の存在下で一晩インキュベートした。細胞を $2\text{ }\mu\text{g/mL}$ のOVA/A2ペプチドとともに37℃で2時間インキュベートし、次いでOVAを発現するOT-Iマウスの脾臓から単離された 10^5 個のCD8+T細胞とともにインキュベートした。抗体は同時に添加された。アテゾリズマブ(抗PD-L1抗体)とマウス抗PD-1抗体(RMP1-14)を、IgG4アイソタイプ対照とともに比較物質として使用した。IL-2の濃度は、Meso Scale Discovery (MSD社)により決定された。

10

【0623】

図24に示されるように、mAb8とmAb10は、IL-2の産生を著しく強化した。

【0624】

IL-2産生の測定に加えて、CD25+CD8+ T細胞とTIGIT+CD8+ T細胞の百分率も、同じマウスオボアルブミン刺激アッセイを使用して分析した。3H3抗体は比較物質として含めた。図25Aおよび25B mAb8とmAb10は、活性化マーカーであるCD25の発現を強化したこと、および消耗マーカーであるTIGITの誘導を削減した。対照的に、3H3はTIGITの発現を強化した。

20

【0625】

実施例21：サイトカイン誘導に対する抗CD137抗体の効果

T細胞によるサイトカイン誘導に対する抗CD137抗体の効果を決定するために、プレート結合抗体を利用した。以下の3種の抗体を比較物質として使用した：mAb4。ウレルマブ(Bristol-Myers Squibb社；CAS番号：934823-49-1)に相当。完全ヒトIgG4-S228Pアゴニスト性抗体であり、CD137の細胞外ドメインを標的とするが、リガンド結合は妨げない；mAb5。ウトミルマブ(Pfizer社；CAS番号：1417318-27-4)に相当。完全ヒトIgG2-S228Pアゴニスト性抗体であり、CD137の細胞外ドメインを標的とし、リガンド結合を妨げる；およびmAb6。完全ヒトIgG4-S228Pアゴニスト性抗体であり、mAb1と同じライブラリから選択されたもの。CD137の細胞外ドメインを標的とする。mAb6抗体は、リガンド結合を妨げない。

30

【0626】

ヒトCD3+T細胞を陰性選択により単離して、抗CD137抗体と $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ の抗CD3が結合したプレートに添加した。抗CD137抗体は、 1 nM 、 10 nM 、 50 nM または 100 nM のいずれかで添加された。抗体は、4℃で一晩コーティングされた。

【0627】

T細胞添加の72時間後、IL-2、IFN、TNF およびIL-13のレベルを、メーカーの指示に従いLuminex kits (Luminex Corporation、テキサス州オースチン)により評価した。可溶性抗CD28($2\text{ }\mu\text{g/mL}$)をT細胞活性化対照として使用した。活性化基準は、抗CD3結合プレートを使用して設定された。図26 活性化基準と関連付けた、各サイトカインレベルにおける倍数変化を示す。mAb4(ウレルマブ)は、各サイトカイン誘導で最も高いレベルを示した。mAb1は低いレベルであるが、mAb5(ウトミルマブ)およびmAb6と比較すれば高い誘導を示した。これらの結果から、mAb1は、同濃度のmAb4(ウレルマブ)よりも低くCD137をアゴナイズしたことが示唆される。

40

【0628】

実施例22：抗CD137抗体によるインターフェロンガンマ(IFN γ)の誘導

抗CD137抗体のアゴニスト活性をさらに評価するために、IFN γ 産生を、混合リンパ球反応(MLR)で分析した。mAb2、mAb4(ウレルマブ)、mAb5(ウトミルマブ)およびキイトルーダ(Merck社)を比較物質として使用した。キイトルーダはPD-1を阻害し、IFN γ 産生を誘導することが知られているヒト化抗体である。

【0629】

50

末梢血単核細胞 (PBMC) を3名の独立したヒトドナー(D985、D7603およびD5004)に由来するleukopak (HemaCare社、カリフォルニア州バンナイズ) から単離した。免疫磁気細胞分離法 (EasySep (商標); Stemcell Technologies社、ブリティッシュコロンビア州バンクーバー) を使用した陰性選択によりPBMCから総T細胞を富化させた。免疫磁気細胞分離法 (EasySep (商標); Stemcell Technologies社、ブリティッシュコロンビア州バンクーバー) を使用してPBMCから単球を分離した。1x10⁶細胞/mlの濃度で完全RPMI中にT細胞を再懸濁させ、単球をそれぞれ5x10⁵細胞/mlに調整した。96ウェルプレートにおいて、T細胞を含有する100 µlの培地を1x10⁵細胞/ウェルの密度で播種し、その後、100 µlの単球細胞懸濁液を添加した (E:T比率は2:1)。次に様々な希釈のCD137抗体を含有する50 µlの培地を添加した。CO₂インキュベーター中、37 °Cで5日間、プレートをインキュベートした。インキュベーション期間の最後に、培養上清を集め、IFN-γ レベルをMSDアッセイ (Mesoscale Diagnostics社、メリーランド州ロックビル) により分析した。図27A~27C 示されるように検証された抗体の最終濃度でのIFN-γ 濃度をpg/mLとして示す。これらの結果から、mAb1は、同濃度のmAb4 (ウレルマブ) よりも低い、mAb5 (ウトミルマブ) と同程度までCD137をアゴナイズしたことが示唆される。

【0630】

別つの実験において、CD32 (FCγRIIb) を発現するよう操作されたCHO細胞 (CHO-CD32細胞) を利用してIFN-γ の誘導を測定した。具体的には、CHO-CD32細胞を、可溶性抗CD3抗体と、抗CD137抗体のmAb1、mAb8、mAb4およびmAb5の存在下でヒトT細胞とともに共培養した。

【0631】

凍結PBMCを溶解し、37 °Cの加湿5% CO₂インキュベーターにおいてT細胞培地 (TCM) 中、一晩休ませた。翌日、CD3+T細胞は未利用のCD3 T細胞単離キット (stemcell社、#17951) を用いて単離され、ヒトCD32 (CHO-CD32) を発現するよう形質導入されたCHO細胞 (Gibco社、#A29127)、250ng/mlの抗CD3 (クローンOKT3) および抗CD137抗体または対照抗体と混合された。100,000個のT細胞と、50,000個のCHO-CD32細胞を混合した。3日間、37 °Cでインキュベーションした後、MesoScale Discovery (MSD社) を介した分泌インターフェロン-γ (IFN-γ) 分析のために上清を集めた。

【0632】

図28 mAb4が、低投与量で最も高いレベルにまでIFN-γ を誘導したことを示す結果を提示する。対照的にmAb5は、IFN-γ の産生はほとんど誘導しなかった。特にmAb1とmAb8は用量依存性応答を提供し、mAb4とmAb5により誘導されるレベルの間のIFN-γ 産生を誘導した。全体として、これらの結果から、mAb4はスーパーアゴニスト活性を有し、mAb5は弱い活性を有し、そしてmAb1とmAb8は、mAb4とmAb5と比較して、中程度の活性を有することが示される。

【0633】

実施例23: Treg細胞に対する抗CD137抗体の効果

抗CD137抗体の作用機序をさらに解析するために、Treg細胞に対する抗体の効果を決定した。ヒトTregは、EasySep (商標) Human CD4+CD127lowCD25+ Regulatory T Cell Isolation Kit (Stemcell Technologies社、カタログ番号#18063) を使用して単離され、10%FBSを含む完全T細胞培地中、Immunocult抗-CD3/28 (Stemcell社、#10971) により13日間拡張された。具体的には、実施例21に記載されるCHO-CD32細胞を、拡張されたヒトTreg細胞とともに共培養し、これを可溶性抗CD3抗体 (クローンOKT3)、ならびに抗CD137抗体のmAb1、mAb8、mAb4、mAb5およびアイソタイプ対照の存在下で、Cell-trace violet dye (Thermo Fisher社、カタログ番号C34557) で標識した。Treg細胞の増殖は、4日目に決定された。

【0634】

図29 たとえ低濃度であっても、mAb4はTreg増殖を強く誘導したことを示す結果を提示する。対照的にmAb5は、Treg増殖に対し非常に弱い効果であった。特にmAb1とmAb

10

20

30

40

50

8は、Treg増殖において中程度の増加を示した。全体として、これらの結果から、mAb4はスーパーアゴニスト活性を有し、mAb5は弱い活性を有し、そしてmAb1とmAb8は、中程度の活性を有することが確認される。

【0635】

実施例24：細胞内シグナル伝達に対する抗CD137抗体の効果

抗CD137アゴニスト性抗体の間の差異をさらに評価するために、細胞内シグナル伝達をインビトロで評価した。具体的には、CCL-119 T細胞(ATCC; カタログ番号 ATCC CCL-119)を、

NFκ (Qiagen社; カタログ番号CLS-013L-1)またはSRF (Qiagen社; カタログ番号CLS-010L-1)を用いてレンチフェクト(lentifect)させ、これを250ng/mLのプレート結合させた抗CD3(クローンOKT3)と、様々な濃度のプレート結合させたmAb1、mAb8、mAb4、mAb5およびアイソタイプ対照を組み合わせさせて刺激した。添加物を含まないRPMI培地中で16時間刺激した後、細胞をルシフェラーゼ緩衝液(Promega社; カタログ番号 E263B)で溶解させ、相対光単位(RLU)をBioTek Synergy H1 microplate reader (カタログ番号 11-120-533)で取得した。次いで、未処理のRLUデータをマイクロソフトエクセルにエクスポートし、刺激条件でのRLUを非刺激対照で割ることにより倍数誘導を算出した。

【0636】

図30 mAb1と、アフィニティ成熟バリエーションのmAb8と比較した、mAb4とmAb5の最小NFκ 活性およびSRF活性を示す結果を提示する。全体として、これらの結果から、mAb1は、mAb4およびmAb5とは異なる細胞内シグナル伝達を誘導することが示唆される。

【0637】

実施例25：マクロファージの活性化および分化に対する抗CD137抗体の効果

抗mCD137アゴニスト性抗体である3H3により誘導された肝毒性は、肝臓中のマクロファージとCD8+T細胞の拡張、および血清中のサイトカインレベルとALT活性の上昇と関連していることが過去に示されている。さらに3H3抗体は、ウレルマブと類似した特性を有すると解析されている。本明細書に記載されるように、mAb1は、肝毒性を誘導しない。そこで抗CD137アゴニスト性抗体を、マクロファージ活性化に対する効果に関してインビトロで分析した。

【0638】

具体的には、マウス骨髄由来のマウスマクロファージを、10週齢のメスのC57BL/6マウス(Charles River Laboratories社)から確立した。マウス筋組織から大腿骨および脛骨を取り出し、骨髄を氷上の15mLコニカルチューブ内にPBSでフラッシュした。細胞を5分間、1500rpmで遠心分離し、上清を破棄した。細胞沈殿物を破碎し、培養培地(RPMI、20% FBS、50 μg/mL M-CSF (Shenandoah Biotechnology, Inc.; カタログ番号200-08-100)を添加した。細胞を40ミクロンのメッシュフィルター上で過し、非組織培養処置されたペトリ皿に播種した。3日後、10mLの培地を各ペトリ皿に加えた。培養7日目に培地を除去し、細胞をPBS(10mL)で2回洗浄した。MACS緩衝液(PBS、2 μM EDTA、および0.5% FBS)を各皿に加え、37 °Cで10分間インキュベートした。細胞をペトリ皿から集め、5分間、1500rpmで遠心分離した。その後、これらの骨髄由来マクロファージを、50nMの抗CD137抗体のmAb1、3H3またはLOB12.3(マウス特異的CD137アゴニスト性抗体)の存在下で、TLR9アゴニストCpGを用いて刺激した。メーカーの指示に従い電気化学発光アッセイ(Meso Scale Discovery社、カスタムキット)を使用して、48時間後に培養上清からマウス骨髄由来マクロファージによるIL-6、TNF およびIL-27の産生を評価した。図31 mAb1はマクロファージによる炎症促進性サイトカインの分泌を誘導しなかったこと、一方で3H3抗体とLOB12.3抗体は誘導したことを示す結果を提示する。

【0639】

ヒト単球由来マクロファージは、抗CD14マイクロビーズ(Miltenyi Biotech社、カタログ番号130-050-201)を使用してCD14⁺細胞を磁気分離し、50ng/mLのm-CSFの

10

20

30

40

50

存在下で7日間成熟させることにより作製した。その後、ヒト単球由来マクロファージは、5nmの抗CD137抗体のmAb1、mAb4またはmAb5の存在下で、10ng/mLのLPSで刺激された。メーカーの指示に従い電気化学発光アッセイ (Meso Scale Discovery社、カスタムキット) を使用して、48時間後にTNF の産生を評価した。図32 mAb4とmAb5は、mAb1よりも有意にマクロファージ活性化を誘導したことを示す結果を提示する。

【0640】

さらにTHP1単球を、2 μ Mのホルボール 12-ミリスチン酸塩 13-酢酸塩 (PMA; Sigma社; P1585)を用いて一晩、マクロファージへと分化させた。次いでマクロファージを、50nmの抗CD137抗体のmAb1、mAb4またはmAb5の存在下で培養し、CD64の発現をフローサイトメトリーを使用して48時間後に測定した (APC抗ヒトCD64抗体クローン10.1 ; BioLegend社 ; カタログ番号305013)。図33 mAb4とmAb5は、mAb1よりも有意にマクロファージ分化を誘導したことを示す結果を提示する。

10

【0641】

本開示は任意の特定の学説または作用機序に拘束されないが、全体として、これらの結果は、mAb1は、マクロファージ活性化の可能性を低下させることで肝毒性を削減することを示唆する。

【0642】

実施例26：抗CD137アゴニスト性抗体による、インビボでのヒトCD8+T細胞の拡張
インビボでのヒト細胞に対するCD137アゴニスト性抗体の効果を検証するために、ヒトPBMC(7×10^6)を、免疫不全NSGマウス(NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ; Jackson Laboratory社; カタログ番号005557)に静脈内注入した。マウスを8群に無作為化し、CD137抗体 (200 μ g / マウス) またはビヒクル対照を0、7および14日目に投与した。各マウスの末梢血を10、20および29日目に採取し、ヒトCD45⁺ (FITC 抗ヒトCD45クローン HI30; BioLegend社; カタログ番号 304038)、CD8⁺ (Alexa Fluor (登録商標) 647 抗ヒト CD8a クローン HIT8a; BioLegend社; カタログ番号300918)、およびCD4⁺ (APC-Cy7 抗ヒト CD4 クローン RPA-T4; Bd; カタログ番号 557871)の生着をフローサイトメトリーを使用して決定した。

20

【0643】

図34A~34C 全体として、mAb4を投与されたマウスにおける、ヒトCD4+T細胞を消費したhCD45⁺細胞の数の増加とヒトCD8+T細胞の全身的な超拡張が示される。注目すべきは、mAb1は、ヒトT細胞の過度な活性化を誘導しなかったことである。mAb1は、末梢においてヒトT細胞を活性化する可能性が低いことから、毒性の可能性を低下させ得る。

30

【0644】

表3：抗体の組み合わせ表

40

50

【表 3 - 1】

V _H	V _L	V _H CDR			V _L CDR		
		CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
4	6	48	56	68	69	78	89
4	28	48	56	68	70	79	90
4	30	48	56	68	71	80	91
4	32	48	56	68	72	81	92
4	34	48	56	68	73	82	91
4	36	48	56	68	74	83	93
4	38	48	56	68	75	84	91
4	40	48	56	68	74	85	94
4	42	48	56	68	76	86	95
4	44	48	56	68	77	87	93
4	46	48	56	68	69	88	90
4	105	48	56	68	109	110	92
8	6	49	57	68	69	78	89
10	6	49	58	68	69	78	89
12	6	49	59	68	69	78	89
14	6	49	60	68	69	78	89
16	6	50	61	68	69	78	89
18	6	50	58	68	69	78	89
20	6	51	62	68	69	78	89
22	6	52	63	68	69	78	89
24	6	50	64	68	69	78	89
26	6	50	65	68	69	78	89
101	6	51	108	68	69	78	89
103	6	107	56	68	69	78	89
8	28	49	57	68	70	79	90
8	30	49	57	68	71	80	91
8	32	49	57	68	72	81	92
8	34	49	57	68	73	82	91
8	36	49	57	68	74	83	93
8	38	49	57	68	75	84	91
8	40	49	57	68	74	85	94
8	42	49	57	68	76	86	95
8	44	49	57	68	77	87	93
8	46	49	57	68	69	88	90
8	105	49	57	68	109	110	92
10	28	49	58	68	70	79	90
10	30	49	58	68	71	80	91
10	32	49	58	68	72	81	92
10	34	49	58	68	73	82	91
10	36	49	58	68	74	83	93
10	38	49	58	68	75	84	91
10	40	49	58	68	74	85	94
10	42	49	58	68	76	86	95
10	44	49	58	68	77	87	93

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

10	46	49	58	68	69	88	90
10	105	49	58	68	109	110	92
12	28	49	59	68	70	79	90
12	30	49	59	68	71	80	91
12	32	49	59	68	72	81	92
12	34	49	59	68	73	82	91
12	36	49	59	68	74	83	93
12	38	49	59	68	75	84	91
12	40	49	59	68	74	85	94
12	42	49	59	68	76	86	95
12	44	49	59	68	77	87	93
12	46	49	59	68	69	88	90
12	105	49	59	68	109	110	92
14	28	49	60	68	70	79	90
14	30	49	60	68	71	80	91
14	32	49	60	68	72	81	92
14	34	49	60	68	73	82	91
14	36	49	60	68	74	83	93
14	38	49	60	68	75	84	91
14	40	49	60	68	74	85	94
14	42	49	60	68	76	86	95
14	44	49	60	68	77	87	93
14	46	49	60	68	69	88	90
14	105	49	60	68	109	110	92
16	28	50	61	68	70	79	90
16	30	50	61	68	71	80	91
16	32	50	61	68	72	81	92
16	34	50	61	68	73	82	91
16	36	50	61	68	74	83	93
16	38	50	61	68	75	84	91
16	40	50	61	68	74	85	94
16	42	50	61	68	76	86	95
16	44	50	61	68	77	87	93
16	46	50	61	68	69	88	90
16	105	50	61	68	109	110	92
18	28	50	58	68	70	79	90
18	30	50	58	68	71	80	91
18	32	50	58	68	72	81	92
18	34	50	58	68	73	82	91
18	36	50	58	68	74	83	93
18	38	50	58	68	75	84	91
18	40	50	58	68	74	85	94
18	42	50	58	68	76	86	95
18	44	50	58	68	77	87	93
18	46	50	58	68	69	88	90
18	105	50	58	68	109	110	92
20	28	51	62	68	70	79	90

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

20	30	51	62	68	71	80	91
20	32	51	62	68	72	81	92
20	34	51	62	68	73	82	91
20	36	51	62	68	74	83	93
20	38	51	62	68	75	84	91
20	40	51	62	68	74	85	94
20	42	51	62	68	76	86	95
20	44	51	62	68	77	87	93
20	46	51	62	68	69	88	90
20	105	51	62	68	109	110	92
22	28	52	63	68	70	79	90
22	30	52	63	68	71	80	91
22	32	52	63	68	72	81	92
22	34	52	63	68	73	82	91
22	36	52	63	68	74	83	93
22	38	52	63	68	75	84	91
22	40	52	63	68	74	85	94
22	42	52	63	68	76	86	95
22	44	52	63	68	77	87	93
22	46	52	63	68	69	88	90
22	105	52	63	68	109	110	92
24	28	50	64	68	70	79	90
24	30	50	64	68	71	80	91
24	32	50	64	68	72	81	92
24	34	50	64	68	73	82	91
24	36	50	64	68	74	83	93
24	38	50	64	68	75	84	91
24	40	50	64	68	74	85	94
24	42	50	64	68	76	86	95
24	44	50	64	68	77	87	93
24	46	50	64	68	69	88	90
24	105	50	64	68	109	110	92
26	28	50	65	68	70	79	90
26	30	50	65	68	71	80	91
26	32	50	65	68	72	81	92
26	34	50	65	68	73	82	91
26	36	50	65	68	74	83	93
26	38	50	65	68	75	84	91
26	40	50	65	68	74	85	94
26	42	50	65	68	76	86	95
26	44	50	65	68	77	87	93
26	46	50	65	68	69	88	90
26	105	50	65	68	109	110	92
101	28	51	108	68	70	79	90
101	30	51	108	68	71	80	91
101	32	51	108	68	72	81	92
101	34	51	108	68	73	82	91

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

101	36	51	108	68	74	83	93
101	38	51	108	68	75	84	91
101	40	51	108	68	74	85	94
101	42	51	108	68	76	86	95
101	44	51	108	68	77	87	93
101	46	51	108	68	69	88	90
101	105	51	108	68	109	110	92
103	28	107	56	68	70	79	90
103	30	107	56	68	71	80	91
103	32	107	56	68	72	81	92
103	34	107	56	68	73	82	91
103	36	107	56	68	74	83	93
103	38	107	56	68	75	84	91
103	40	107	56	68	74	85	94
103	42	107	56	68	76	86	95
103	44	107	56	68	77	87	93
103	46	107	56	68	69	88	90
103	105	107	56	68	109	110	92

【 0 6 4 5】

表 4：配列表

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

配列番号	説明	配列
1	ヒト IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	ヒト IgG4 変異体 (S228P/C 末端 K 切断)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
3	ヒト CD137 (アクセション番号 NP_001552)	MGNSCYNIVATLLLVLFNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCNDRNRQICSPCPNPSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFTRKECSSTSAECDCTPGFHLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
4	V _H 1 アミノ酸配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMS WVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDS PFLLDD YYYYYYMDVWGK TTV TVSS
5	V _H 1 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACTTTTAGTTCGTATGCAATGCTGCGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGAGTGCTATTTCCGGCTCTGGCGGATCTACCTATTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCGCTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCTAGC
6	V _L 1 アミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQ QGH LFPITFGGGTKVEIK
7	V _L 1 核酸配列	GATATTAGATGACACAGAGCCGTCATCAGTAAGTGCAAGCGTCGAGATCGGGTTACAA TAACATGTCGTGCCTCGCAAGGAATTCCTCCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCTGGCAAAGCCCCAAATTA CTAATTTATGCCGCAAGCTCTCTGCAATCGGGTGTTCTCTCGCGGTTTTCTGGCTCTGGAAGTGGCACCAGCTTCACGCTTACTATCTAGCCTTCAGCCGGAGGATTTTGCTACCTACTACTGCCAACAAGGCCATTATTCCTATTACCTTTGGGGGCGGTACAAAAGTCGAGATCAAGCGTACG
8	V _H 2 アミノ酸配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMS WVRQ APGKGLEWVSAIDSGDNTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDS PFLLDD YYYYYYMDVWGK TTV TVSS
9	V _H 2 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACTTTAACTATTACGCAATGCTTGGGTTGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGCTGCAATCGATGGTTCTGGTGATAACACTACTTACGCCGACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCGCTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGTACAACCTGTCACCGTCTCCTCAGCTAGC

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

10	V _H 3 アミノ酸配列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMS _{WVRQAPGKGLEWVAAISGSGDGTYYA} DSVKGRFTISRDN _{SKNTLYLQMN} SLRAEDTAVYYCAK _{DSPLLD} DDYYYYYYMDVWGK _{TTV} TVSS
11	V _H 3 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTAACTATTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGATGGTACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAAC _{TGTC} ACCGTCTCCTCAGCTAGC
12	V _H 4 アミノ酸配列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMS _{WVRQAPGKGLEWVSAISGSGDSTYYA} DSVKGRFTISRDN _{SKNTLYLQMN} SLRAEDTAVYYCAK _{DSPLLD} DDYYYYYYMDVWGK _{TTV} TVSS
13	V _H 4 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTAACTATTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTCTGGTGATTTACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAAC _{TGTC} ACCGTCTCCTCAGCTAGC
14	V _H 5 アミノ酸配列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMS _{WVRQAPGKGLEWVAAISGGDATYYA} DSVKGRFTISRDN _{SKNTLYLQMN} SLRAEDTAVYYCAK _{DSPLLD} DDYYYYYYMDVWGK _{TTV} TVSS
15	V _H 5 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTAACTATTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGCAGCAATCTCTGGTGGTGATGCAACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAAC _{TGTC} ACCGTCTCCTCAGCTAGC
16	V _H 6 アミノ酸配列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMS _{WVRQAPGKGLEWVSSISGSGDVTYYA} DSVKGRFTISRDN _{SKNTLYLQMN} SLRAEDTAVYYCAK _{DSPLLD} DDYYYYYYMDVWGK _{TTV} TVSS
17	V _H 6 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTCTTCTATCTCTGGTTCTGGTGATGTTACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAAC _{TGTC} ACCGTCTCCTCAGCTAGC
18	V _H 7 アミノ酸配列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMS _{WVRQAPGKGLEWVAAISGSGDGTYYA} DSVKGRFTISRDN _{SKNTLYLQMN} SLRAEDTAVYYCAK _{DSPLLD} DDYYYYYYMDVWGK _{TTV} TVSS
19	V _H 7 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGATGGTACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

		TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGC
20	V _H 8 アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGFGESTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYMDVWGKTTV TVSS
21	V _H 8 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGAACTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTTGGTGAATCTACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGC
22	V _H 9 アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMNWSVRQAPGKGLEWVAISGSGGRTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYMDVWGKTTV TVSS
23	V _H 9 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTAACTATTACGCAATGAACTGGGTTCCGCCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTAGAATTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGC
24	V _H 10 アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGNTSYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYMDVWGKTTV TVSS
25	V _H 10 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTAACACTTCTTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGC
26	V _H 11 アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAISGSGDSTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYMDVWGKTTV TVSS
27	V _H 11 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTTATGGTTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGAATCTACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACCTGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGC
28	V _L 2 アミノ酸 配列	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIHNWLAWYQQKPKAPKLLIYKASGLESGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQGDRFPLTFGGGTKVEIK
29	V _L 2 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAATATTATACTGGTTGGCCTGGTATCAGCAAAAACCAGG GAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTGGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGA TTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAACCTGATG

10

20

30

40

【表 4 - 4】

		ATTTGCAACTTACTACTGTCAACAGGGTGACAGATTCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAGGTGGAGATCAAACGTACG
30	V _L 3 アミノ酸 配列	DIQMTQSPSILSASVGDVRTITCRASQISRWLAWYQQKPGKPPKLLIFKASALESGVPSR FSGSGYGTDFLTITISNLQPEDFATYFCQQGNSFPLTFGGGTKVDIK
31	V _L 3 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCATCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACTA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATCAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAAGCCAGG GAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTTTAAGGCGTCTGCTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCGAGG TTCAGCGGCAGTGGATATGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAACCTGCAGCCTGAAG ACTTTGCAACTTACTTCTGTCAACAGGGTAATAGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAAGTGGATATCAAACGTACG
32	V _L 4 アミノ酸 配列	DIQMTQSPSTLSASVGDVRTITCRASQNIDIWLAWYQWKPGKAPKLLIYKASGLETGVPSR FSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGNQFPLTFGGGTRLEIK
33	V _L 4 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAATATTGATATCTGGTTGGCCTGGTATCAGTGGAAACCAGG GAAGGCCCTAAACTCCTGATCTATAAGGCGTCTGGTTAGAAACTGGGGTCCCTTCAAGG TTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACTATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGG ATTTGCGCACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTCCCGCTCACCTTCGGCCAAGGGAC ACGACTGGAGATTAACGTACG
34	V _L 5 アミノ酸 配列	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQISRWLAWYQQKPGKAPKLLIFKASALEVGVPSR FSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGGGTKVDIK
35	V _L 5 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATCGGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTTTAAGGCGTCTGCTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGCGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG ATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTCCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAAGTGGATATCAAACGTACG
36	V _L 6 アミノ酸 配列	DIQLTQSPSTLSASVGDVRTITCRASQISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASALQSGVPSR FSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQGDSFPLTFGGGTKVEIK
37	V _L 6 核酸配列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCTTCCACCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTATGCTGCATCCGCTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGCGGCAGCGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATCAGCAGCCTGCAGCCGAAG ATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGACAGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAGGTGGAGATCAAACGTACG
38	V _L 7 アミノ酸 配列	DIQMTQSPSTLSASVGDVTVTFSCRASQSINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASALENGVPSR FSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGGGTKVEIK
39	V _L 7 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGTACCT TCAGTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAACACCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAAAAGCCAGG GAAAGCCCCTAAACTCCTTATCTATAAGGCGTCTGCTTTAGAAAATGGGGTCCCATCAAGG TTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG ATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGGAACAGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAGGTGGAGATCAAACGTACG
40	V _L 8 アミノ酸 配列	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASALESGVPSR FSGGGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGHSFPLTFGGGTKLEIK
41	V _L 8 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCTAAACTCCTCATCTATAAGGCGTCTGCTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGCGCGGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

		ATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTCACAGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAGCTGGAGATCAAACGTACG
42	V _L 9 アミノ酸 配列	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISDWLAWYQQKPGKAPKLLIFKASALEGGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPITFGQGTREIK
43	V _L 9 核酸配列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTGACTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAAGCCAGG TAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTTTAAGGCTTCTGCTTTAGAAGGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG ATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTTCCCGATCACCTTCGGCCAAGGGAC ACGACTGGAGATTAACGTACG
44	V _L 10 アミノ酸 配列	DIQMTQSPATLSASVGDRVTITCRASQSVDRWLAWYQQKPGKAPNLLIYEASALQGGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDSFPLTFGGGTKVEIK
45	V _L 10 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGGGTCACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTGATAGGTGGTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCTAACTCCTAATCTATGAGGCGTCTGCCTTACAAGGTGGGGTCCCGTCAAGG TTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG ATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGATAGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAGGTGGAGATCAAACGTACG
46	V _L 11 アミノ酸 配列	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASGLQNGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDRFPLTFGGGTKVEIK
47	V _L 11 核酸配列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCA TCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCGTTTGCAAAATGGGGTCCCATCAAGG TTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCTACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAG ATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGACAGGTTCCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAGGTGGAGATCAAACGTACG
48	V _H CDR1	FTFSSYAMS
49	V _H CDR1. 1	FTFNYYAMS
50	V _H CDR1. 2	FTFYGYAMS
51	V _H CDR1. 3	FTFRNYAMS
52	V _H CDR1. 4	FTFNYYAMN
53	V _H CDR1. 5	FTFNYYAMXaa ₁ 、式中、Xaa ₁ =S または N
54	V _H CDR1. 6	FTFXaa ₁ Xaa ₂ YAMS、式中、Xaa ₁ =S、N、Y、R; Xaa ₂ =S、N、Y、G
55	V _H CDR1. 7	FTFXaa ₁ Xaa ₂ YAMXaa ₃ 、式中、Xaa ₁ =S、N、Y、R; Xaa ₂ =S、N、Y、G; Xaa ₃ =S または N。
56	V _H CDR2	SAISGSGGSTYY
57	V _H CDR2. 1	SAIDGSGDNTTY
58	V _H CDR2. 2	AAISGSGDGTYY

10

20

30

40

50

【表 4 - 6】

59	V _H CDR2. 3	SAISGSGDSTYY
60	V _H CDR2. 4	AAISGGGDTYY
61	V _H CDR2. 5	SSISGSGDVTYY
62	V _H CDR2. 6	SAISGFGESTYY
63	V _H CDR2. 7	AAISGSGGRYY
64	V _H CDR2. 8	SAISGSGGNTSY
65	V _H CDR2. 9	AAISGSGDSTYY
66	V _H CDR2. 10	AAISGXaa1GXaa2Xaa3TYY、式中、Xaa1=S または G; Xaa2=D または G、 Xaa3=S、R、G、A
67	V _H CDR2. 11	Xaa ₁ Xaa ₂ IXaa ₃ GXaa ₄ GXaa ₅ Xaa ₆ TXaa ₇ Y
68	V _H CDR3	AKDSPFLDDYYYYYYMD
69	V _L CDR1	RASQGISSWLAW
70	V _L CDR1. 1	RASQNIHNWLAW
71	V _L CDR1. 2	RASQSISRWLAW
72	V _L CDR1. 3	RASQNIDIWLAW
73	V _L CDR1. 4	RASQSIGRWLAW
74	V _L CDR1. 5	RASQSISSWLAW
75	V _L CDR1. 6	RASQSINTWLAW
76	V _L CDR1. 7	RASQSIDWLAW
77	V _L CDR1. 8	RASQSVDRWLAW
78	V _L CDR2	YAASSLQS
79	V _L CDR2. 1	YKASGLES
80	V _L CDR2. 2	FKASALES
81	V _L CDR2. 3	YKASGLET
82	V _L CDR2. 4	FKASALEV

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

83	V _L CDR2. 5	YAASALQS
84	V _L CDR2. 6	YKSALEN
85	V _L CDR2. 7	YKSALES
86	V _L CDR2. 8	FKSALEG
87	V _L CDR2. 9	YEASALQG
88	V _L CDR2. 10	YAASGLQN
89	V _L CDR3	QQGHLFPITF
90	V _L CDR3. 1	QQGDRFPLTF
91	V _L CDR3. 2	QQGNSFPLTF
92	V _L CDR3. 3	QQGNQFPLTF
93	V _L CDR3. 4	QQGDSFPLTF
94	V _L CDR3. 5	QQGHSFPLTF
95	V _L CDR3. 6	QQGNSFPITF
96	V _L CDR3. 7	QQGXaa ₁ Xaa ₂ FPXaa ₃ TF
97	ヒト CD137L Uniprot ID - P41273	MEYASDASLDPEAPWPPAPRARACRVLPWALVAGLLLLLLLLAAACAVFLACPWAVSGARAS PGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTG GLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRRVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALT DLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLGFRVTPEI PAGLPSRSE
98	FLAG	DYKDDDDK
99	6-His	HHHHHH
100	HA	YPYDVPDYA
101	V _H 12 アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGDTTYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGT TVSS
102	V _H 12 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTAGTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGAACTACGCAATGTCTTGGGTTCCGCCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTCTGCAATCTCTGGTCTGGTGATACTACTTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGTACAACGTGTC ACCGTCTCCTCAGCTAGC
103	V _H 13 アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGT TVSS

10

20

30

40

50

【表 4 - 8】

		TVSS
104	V _H 13 核酸配列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTTCAGCCAGGTGGCTCTTTGAGGCTGA GTTGCGCAGCCTCTGGATTACCTTTGGTTCTTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCC CGGTAAGGGTCTGGAGTGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTTCTACTACTACGCC GACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAATACTTTATATCTTC AAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCCGTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTT TCTATTAGACGACTACTACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGTTACAACGTGC ACCGTCTCCTCAGCTAGC
105	V _L 12 アミノ酸配列	DIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDIGDWLAWYQQKPKAPKLLIYKASGLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISNLQPEDFATYYCQQGNQFPLTFGQGRLE
106	V _L 12 核酸配列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTAACCA TCACTTGCCGGGCAAGTCAGGATATTGGTGACTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGG GAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTGGTTTACAAAGTGGGGTCCCATCAAGA TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACTATCAGCAACCTGCAGCCAGAGG ATTTGCGACTTACTATTGTCAACAGGGTAACCAGTTCCCGCTCACCTTCGGCCAAGGGAC ACGACTGGAG
107	V _H CDR1. 8	FTFGWYAMS
108	V _H CDR2. 12	SAISGSGDTTY
109	V _L CDR1. 9	RASQDIGDWLAW
110	V _L CDR2. 11	YKASGLQS
111	V _H CDR3. 1	AKASPFLLDDYYYYYYMD
112	V _H CDR3. 2	AKDAPFLLDDYYYYYYMD
113	V _H CDR3. 3	AKDSAPFLLDDYYYYYYMD
114	V _H CDR3. 4	AKDSPALFLLDDYYYYYYMD
115	V _H CDR3. 5	AKDSPFALFLLDDYYYYYYMD
116	V _H CDR3. 6	AKDSPFLADFLLDDYYYYYYMD
117	V _H CDR3. 7	AKDSPFLFLLDDYYYYYYMD
118	V _H CDR3. 8	AKDSPFLFLFLLDDYYYYYYMD
119	V _H CDR3. 9	AKDSPFLFLDFLLDDYYYYYYMD
120	V _H CDR3. 10	AKDSPFLFLDYFLLDDYYYYYYMD
121	V _H CDR3. 11	AKDSPFLFLDYFYFLLDDYYYYYYMD
122	V _H CDR3. 12	AKDSPFLFLDDYFYFLLDDYYYYYYMD
123	V _H CDR3. 13	AKDSPFLFLDDYFYFYFLLDDYYYYYYMD
124	V _H CDR3. 14	AKDSPFLFLDDYFYFYFYFLLDDYYYYYYMD
125	V _H CDR3. 15	AKDSPFLFLDDYFYFYFYFYFLLDDYYYYYYMD
126	V _H CDR3. 16	DXXXLXXXXXX
127	V _H CDR3. 17	DXPFLLDXXXXXX
128	V _H CDR3. 18	DX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ LX ₅ X ₆ X ₇ X ₈ YX ₉ YX ₁₀
129	mAb1 重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLDDYYYYYYMDVWGKTTV TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGP SVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST

10

20

30

40

50

【表 4 - 9】

		YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG
130	mAb8 重鎖 V1	GTEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPLDDDDYYYYYMDVWGKGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG
131	mAb8 重鎖 V2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTTYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPLDDDDYYYYYMDVWGKGT TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG
132	mAb10 重鎖	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAISGSGDSTYYA DSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPLDDDDYYYYYMDVWGKGT TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG
133	mAb1、mAb8 および mAb10 軽鎖	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

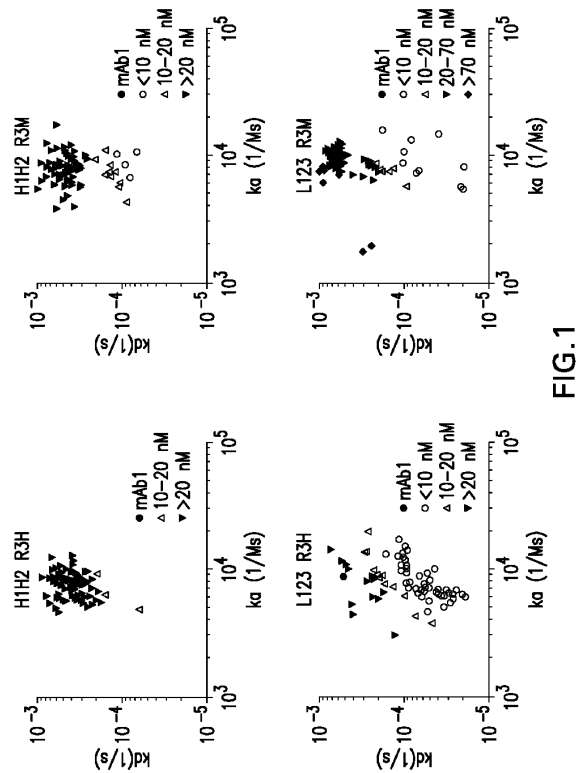
30

40

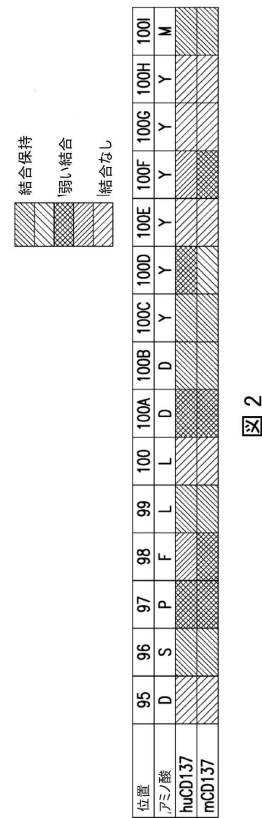
50

【図面】

【図 1】



【図 2】



【図 3 A】

LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC
SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFTRRKECSSTSNAEC
DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVC

mAb1

LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC
SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFTRRKECSSTSNAEC
DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVC

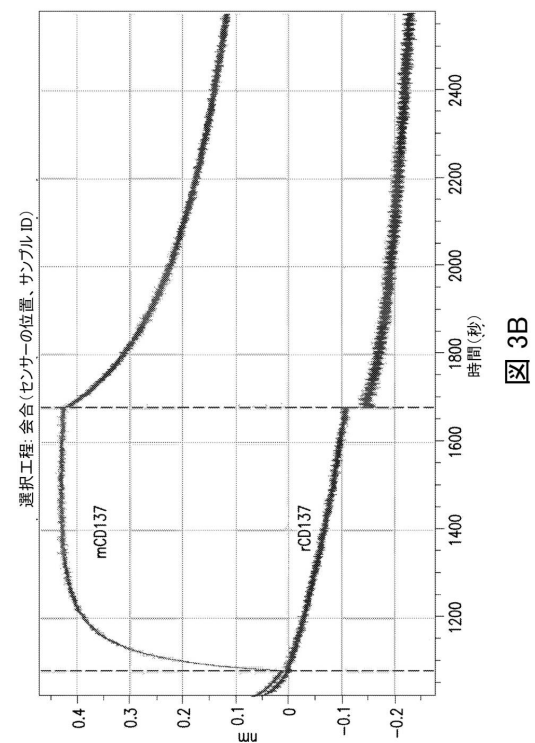
mAb4

LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC
SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFTRRKECSSTSNAEC
DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVC

mAb5

FIG.3A

【図 3 B】



10

20

30

40

50

【図 3 C】

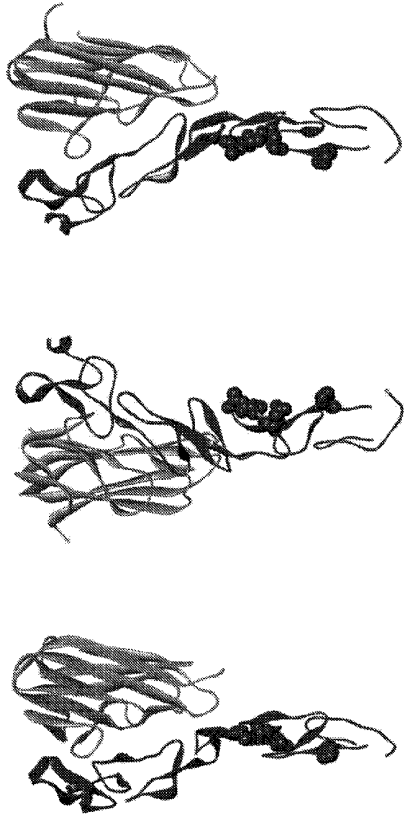


FIG.3C

【図 3 D】

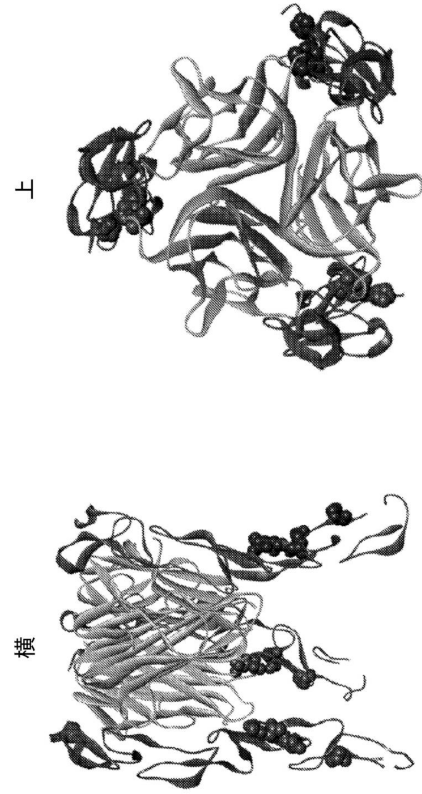


図 3D

【図 4 - 1】

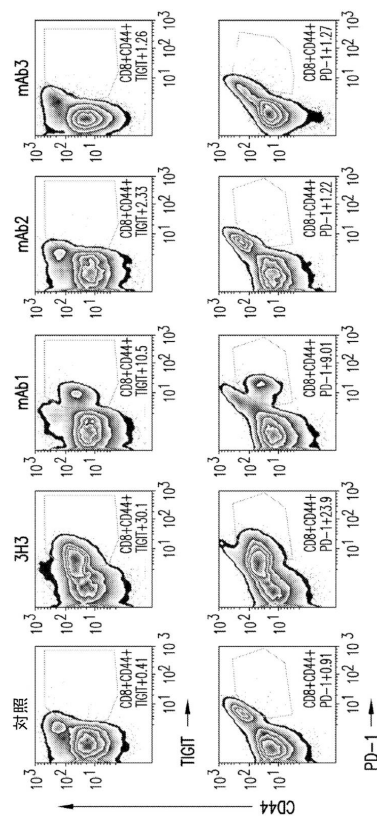


図 4A

【図 4 - 2】

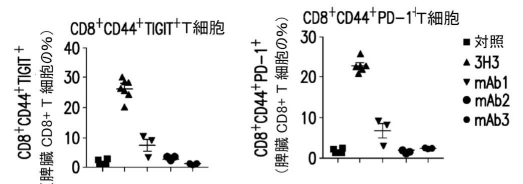


図 4B

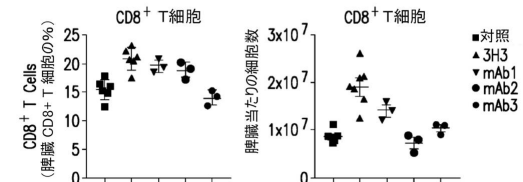


図 4C

10

20

30

40

50

【図 5 - 1】

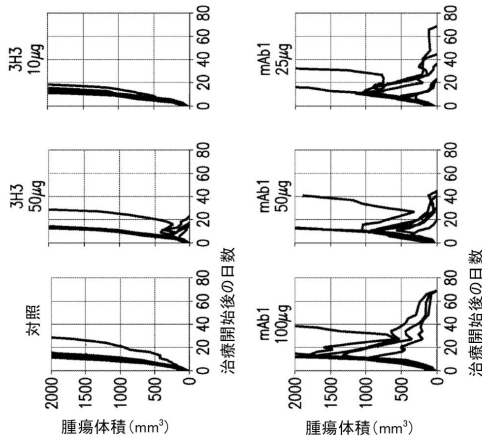


図 5A

【図 5 - 2】

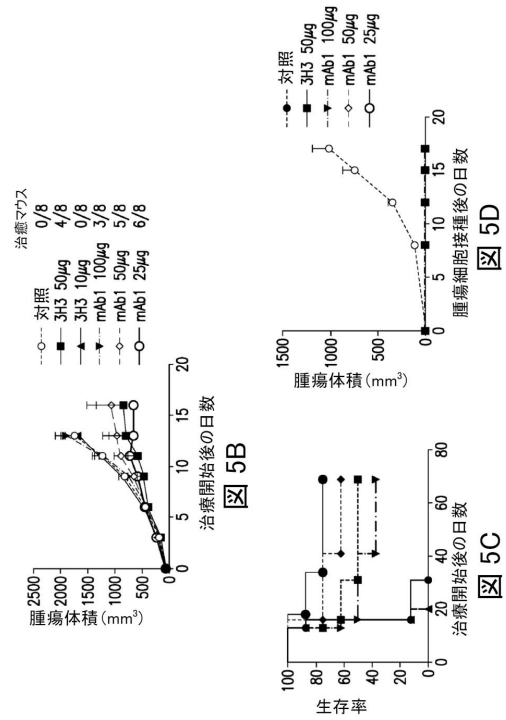


図 5D

図 5B

図 5C

【図 6 A】

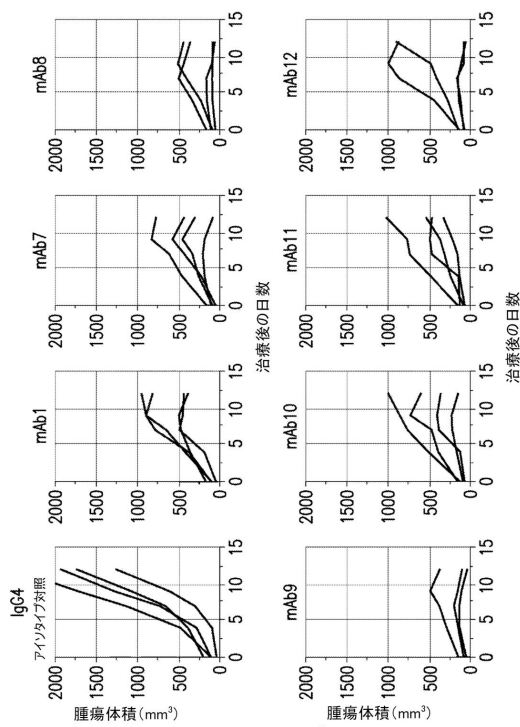


図 6A

【図 6 B】

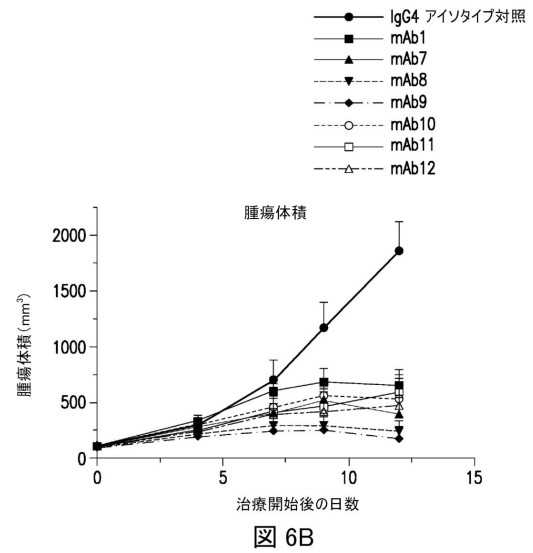


図 6B

10

20

30

40

50

【図 7】

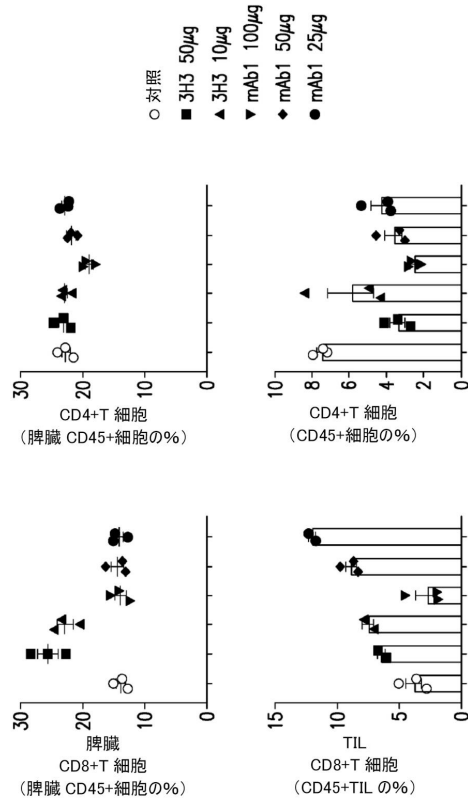


図 7

【図 8】

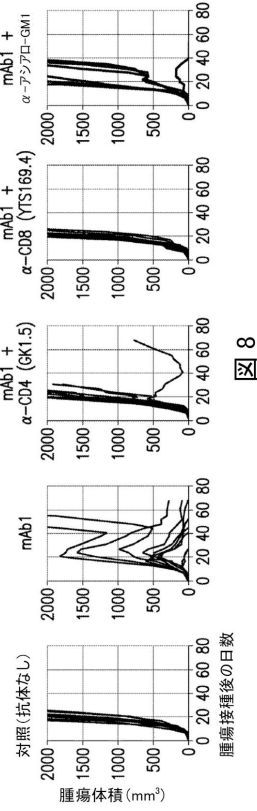


図 8

【図 9】

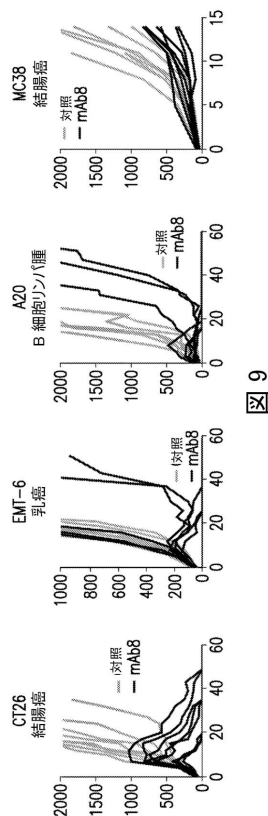


図 9

【図 10】

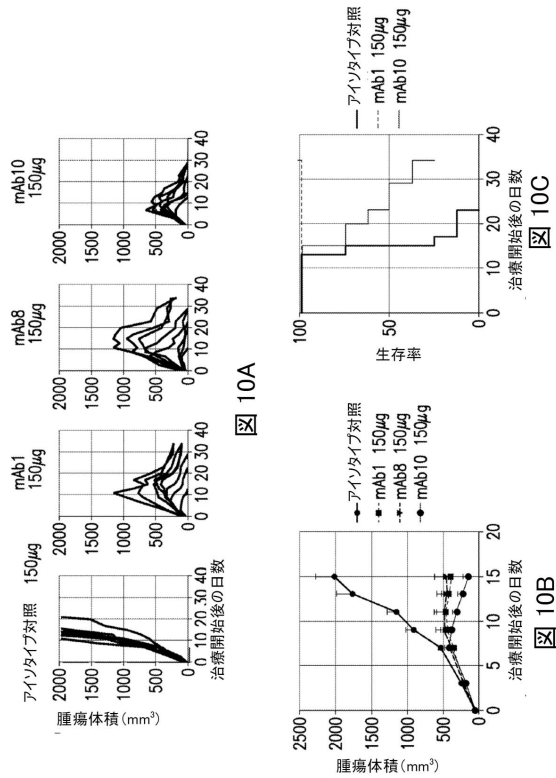


図 10A

図 10C

図 10B

10

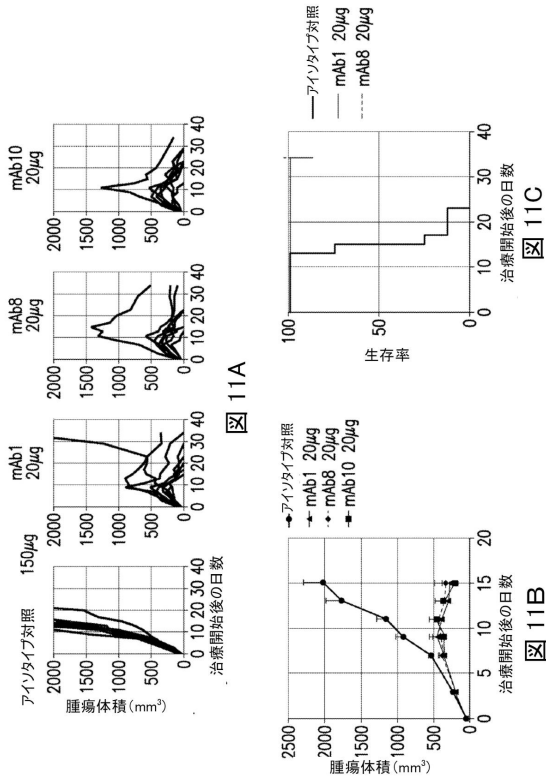
20

30

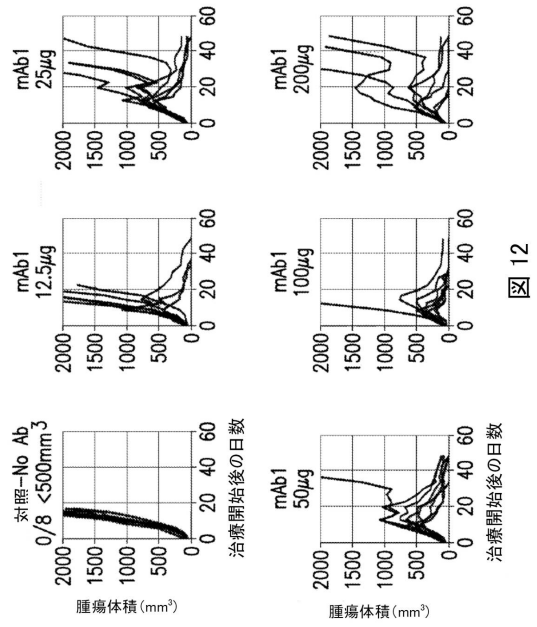
40

50

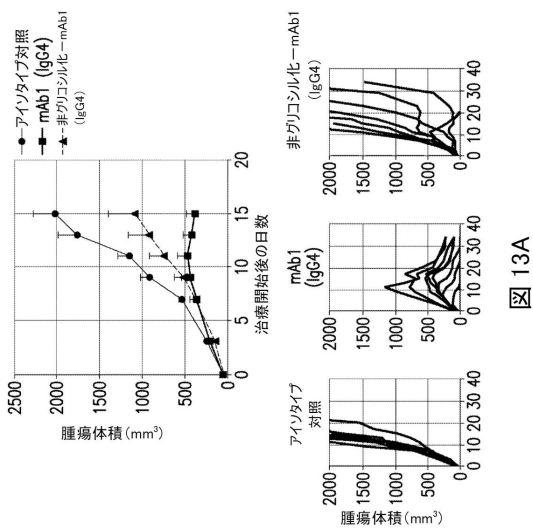
【図 1 1】



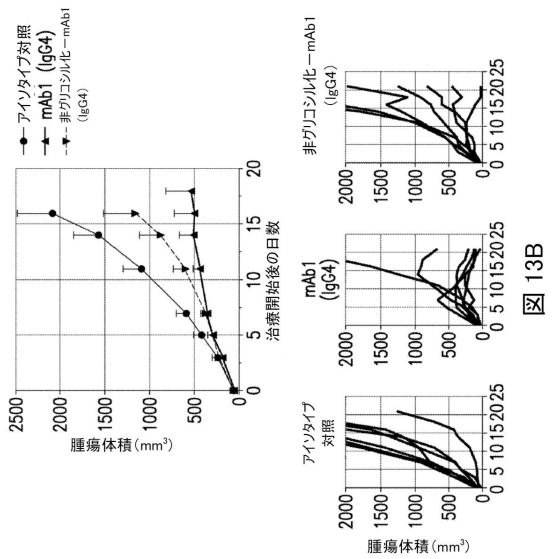
【図 1 2】



【図 1 3 A】



【図 1 3 B】



10

20

30

40

50

【図 14 - 1】

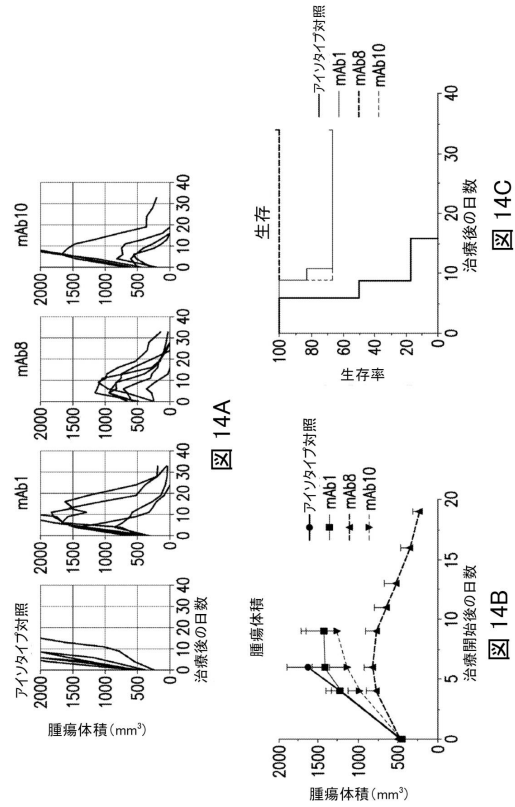


図 14A

図 14C

図 14B

【図 14 - 2】

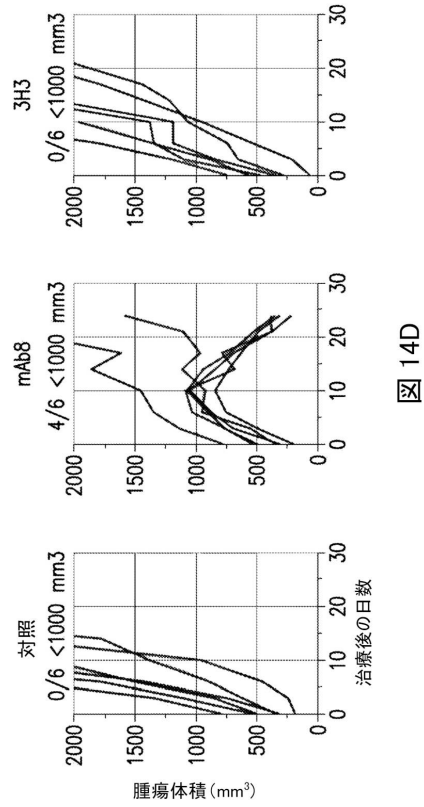


図 14D

【図 15】

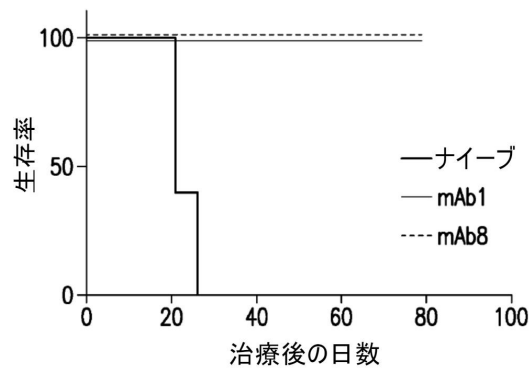


図 15

【図 16 A】

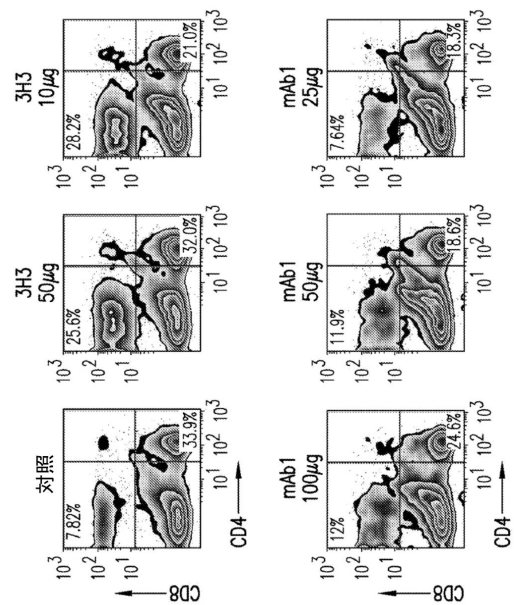


図 16A

10

20

30

40

50

【図 16 B】

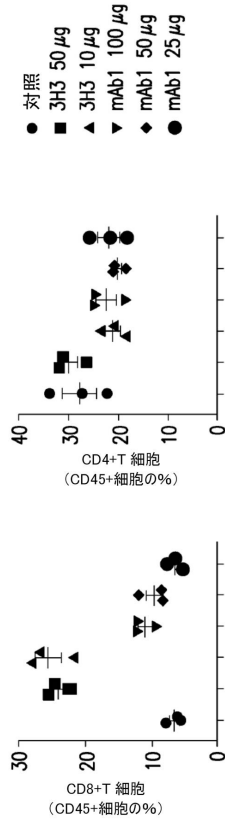


図 16B

【図 17 A】

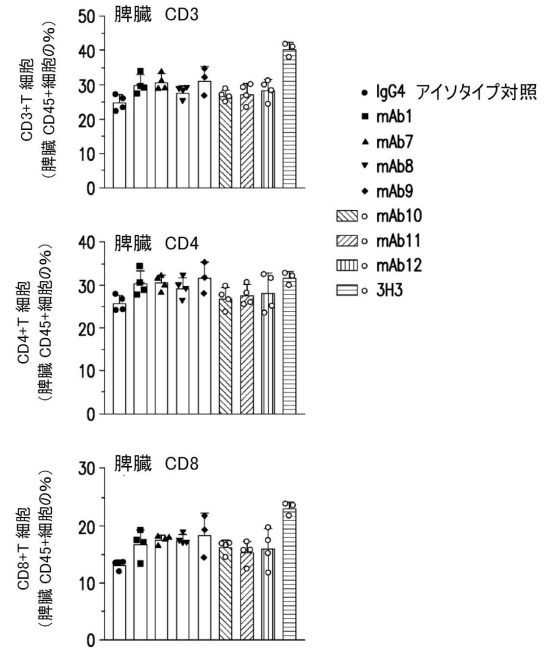


図 17A

【図 17 B】

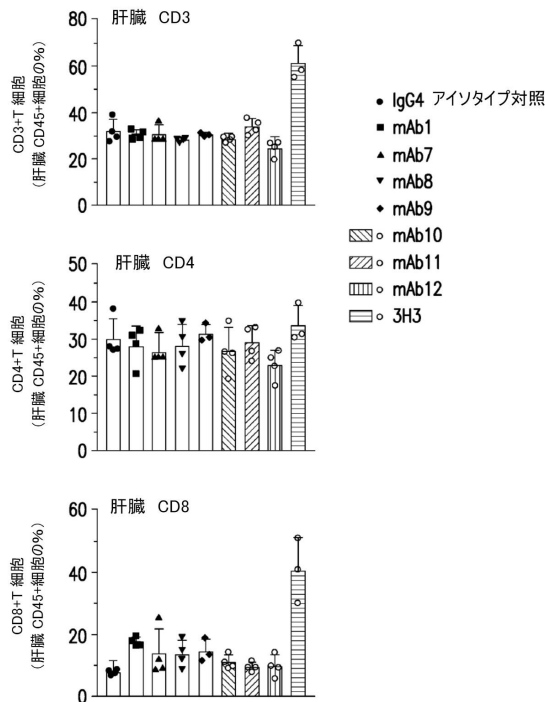


図 17B

【図 18 A】

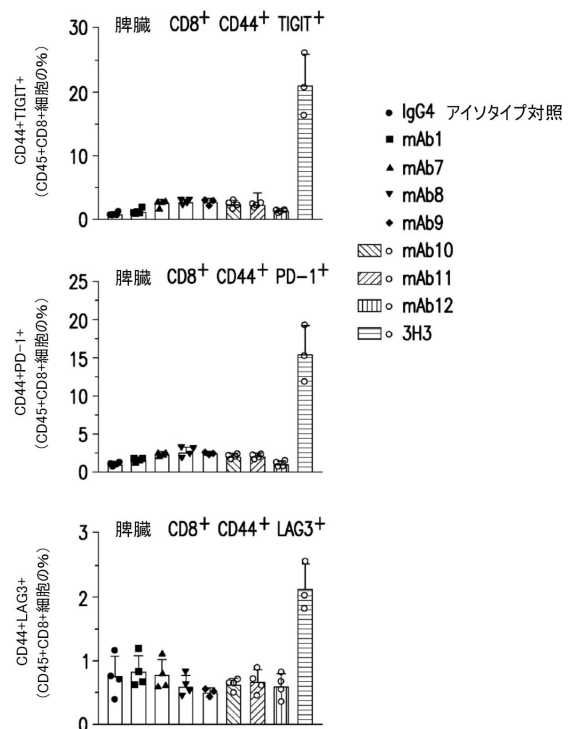


図 18A

10

20

30

40

50

【図 18 B】

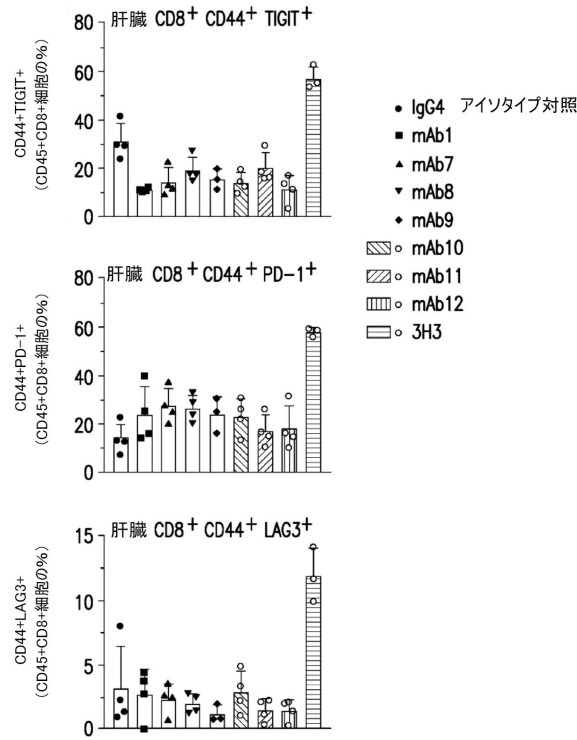


図 18B

【図 19 A】

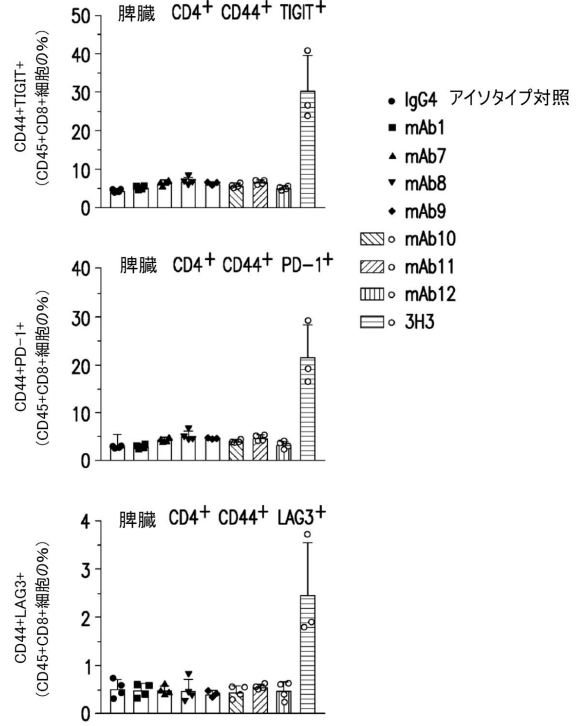


図 19A

【図 19 B】

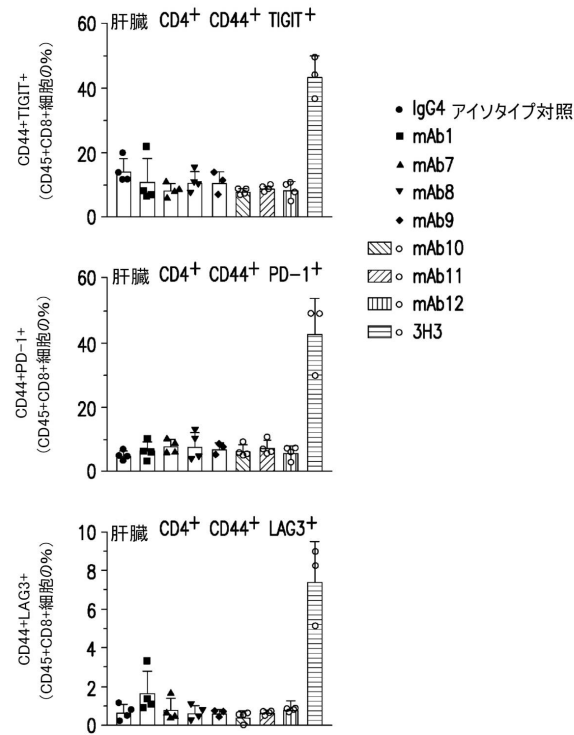
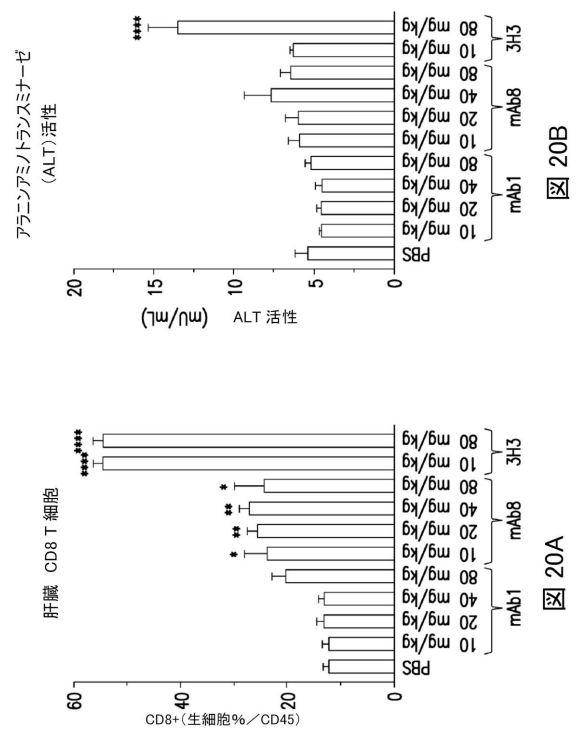


図 19B

【図 20 - 1】



10

20

30

40

50

【図 20 - 2】

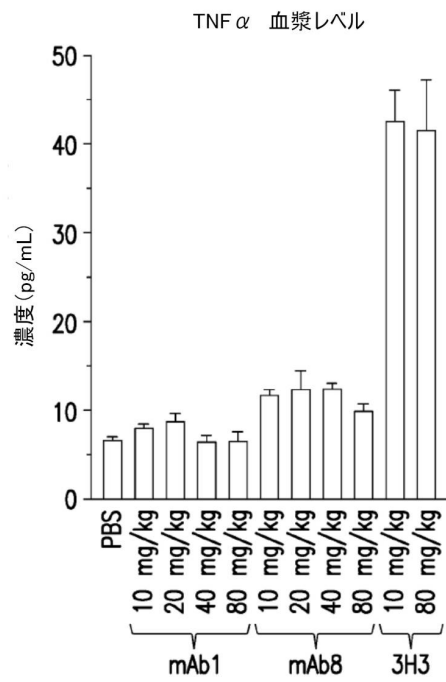


図 20C

【図 21】

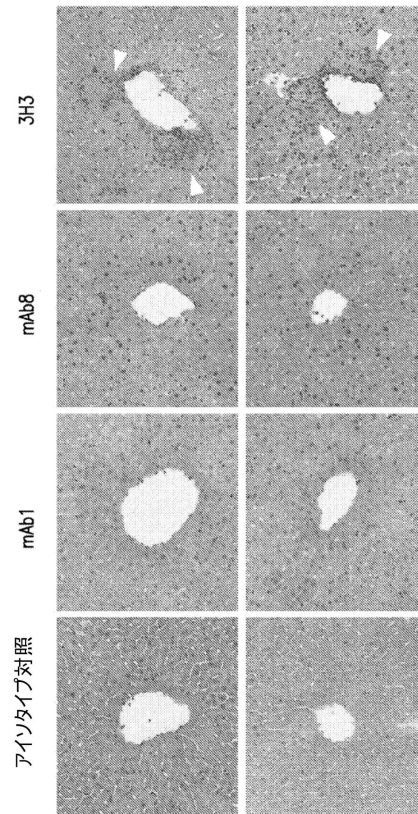


図 21

【図 22 - 1】

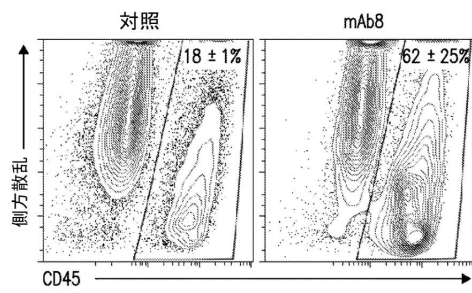


図 22A

【図 22 - 2】

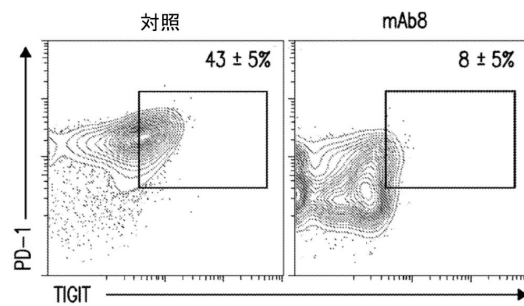


図 22C

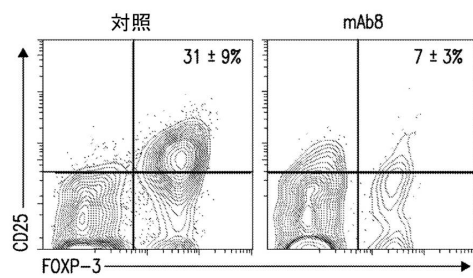


図 22B

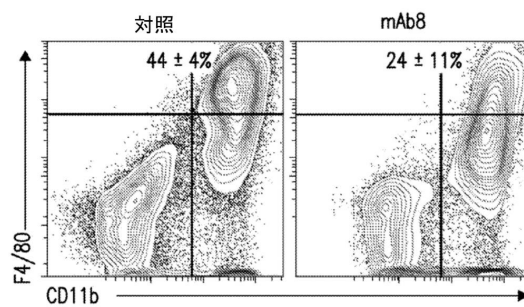


図 22D

【図 23】

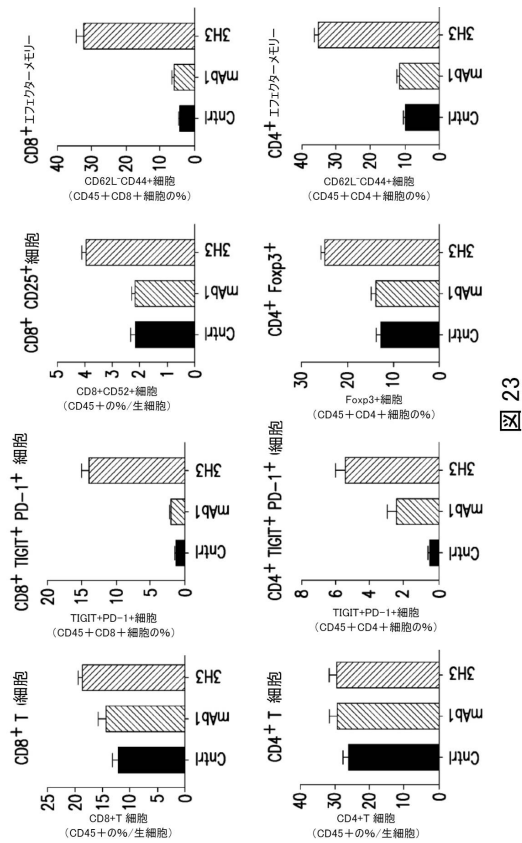


図 23

【図 24】

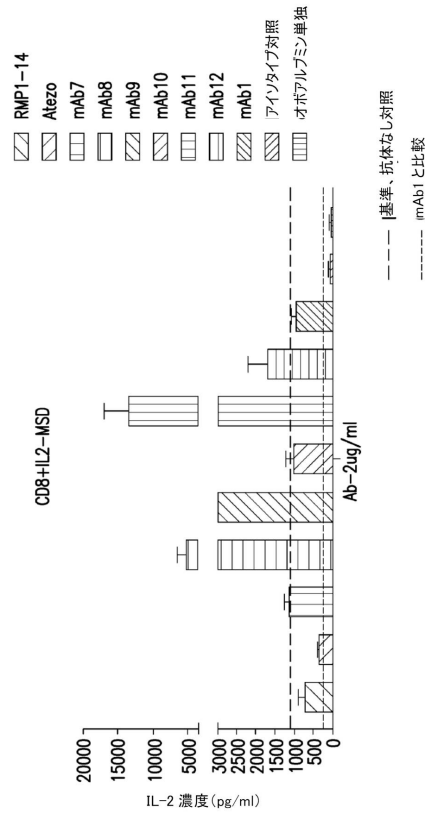


図 24

【図 25】

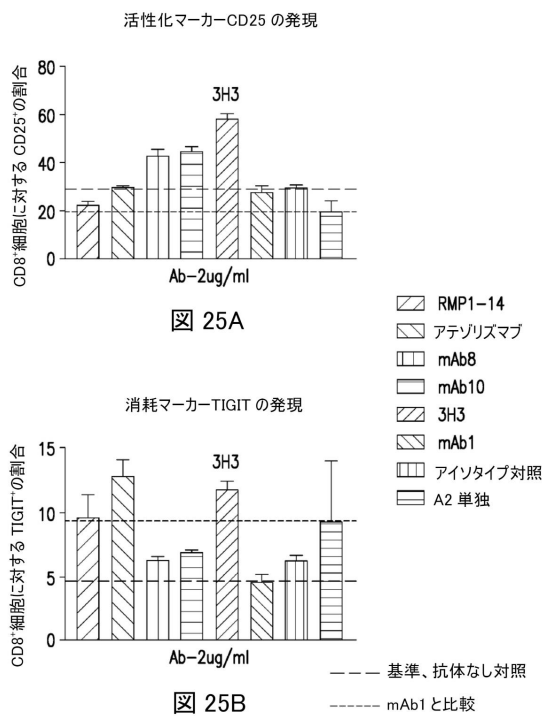


図 25A

図 25B

【図 26】

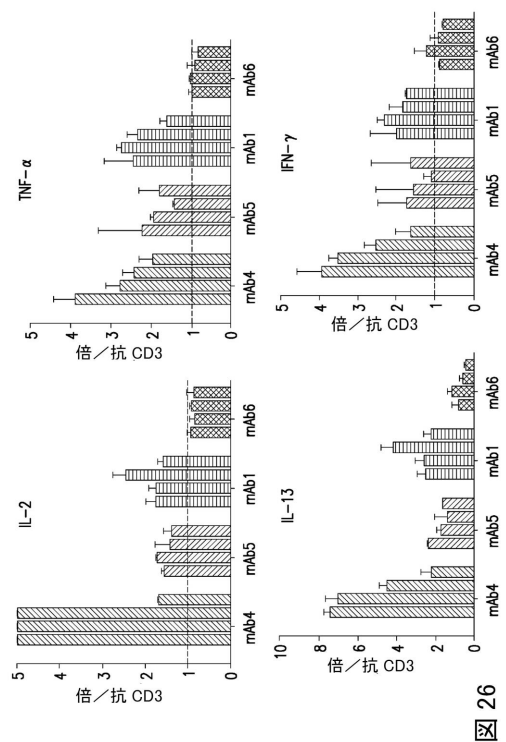


図 26

10

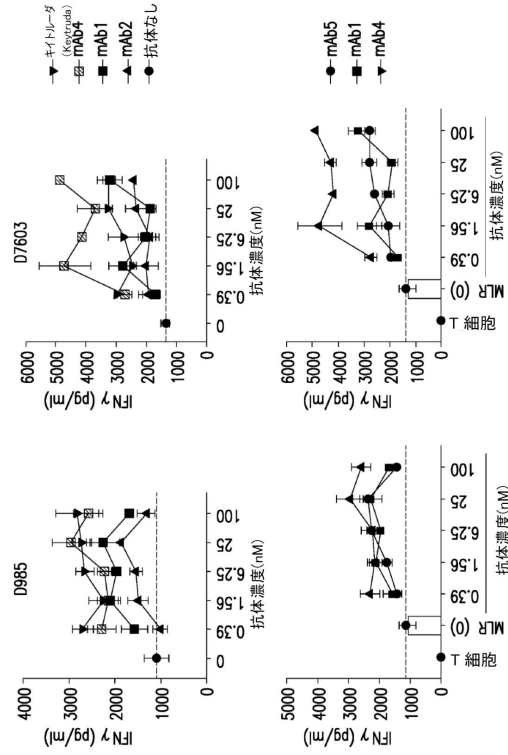
20

30

40

50

【図 27 - 1】



【図 27 - 2】

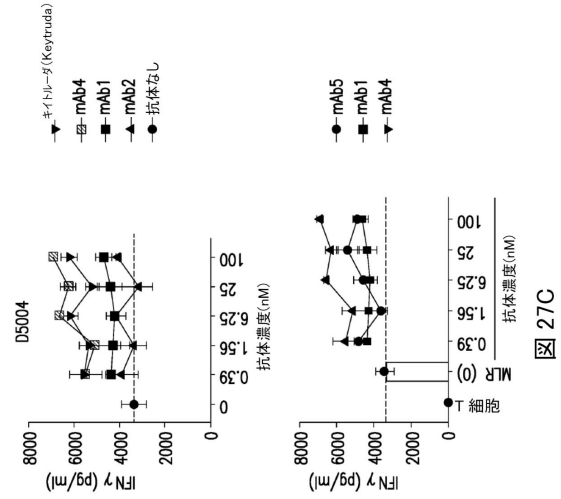


図 27B

図 27A

図 27C

10

20

【図 28】

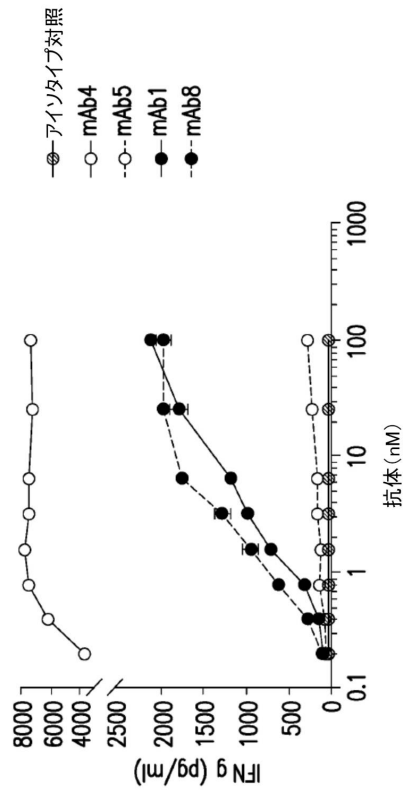


図 28

【図 29】

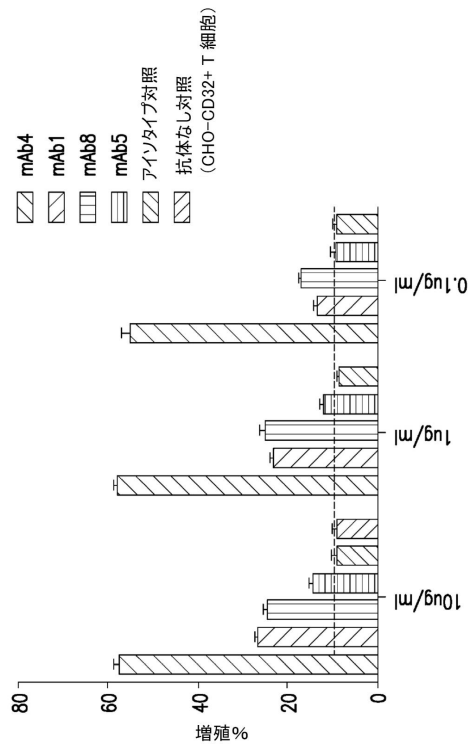


図 29

30

40

50

【図 30】

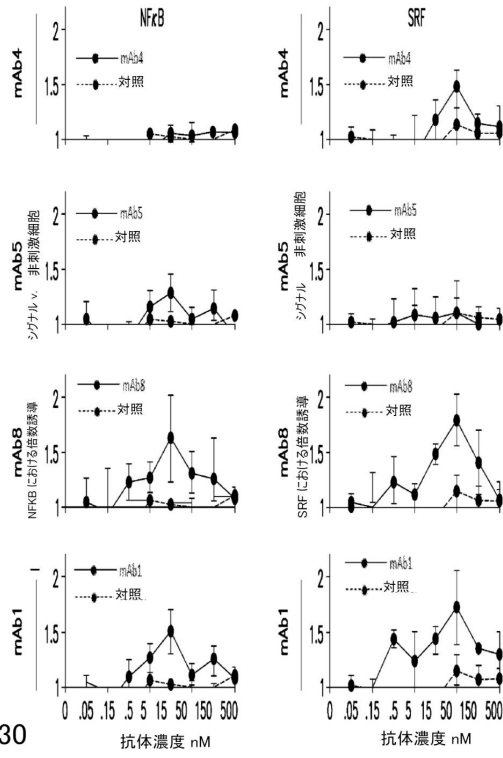


図 30

【図 31】

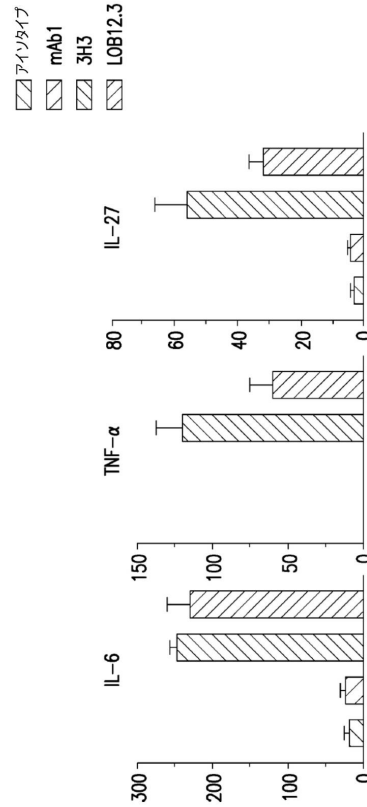


図 31

【図 32】

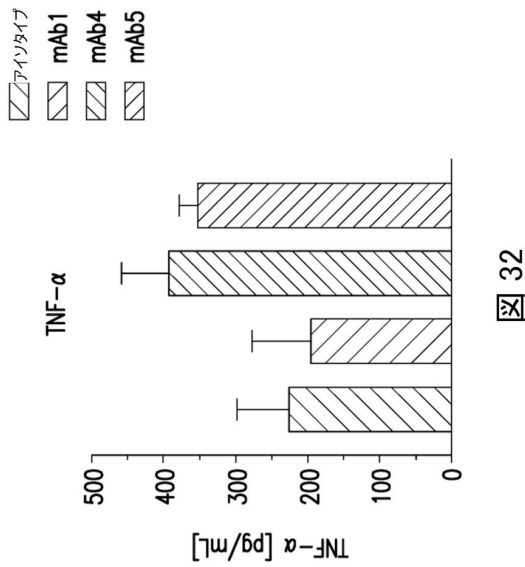


図 32

【図 33】

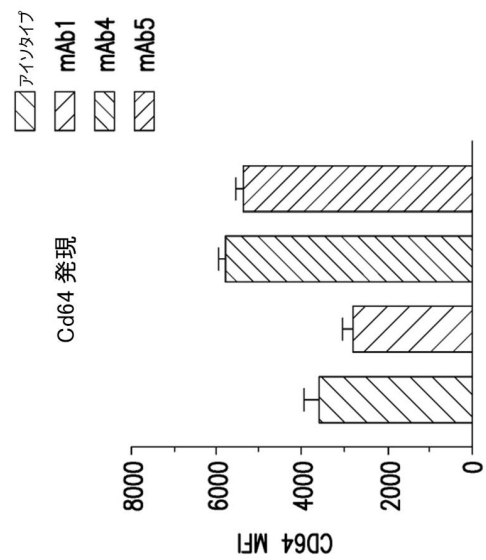


図 33

【図 3 4】

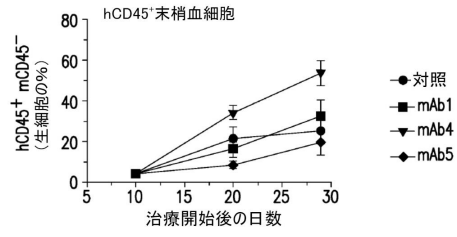


図 34A

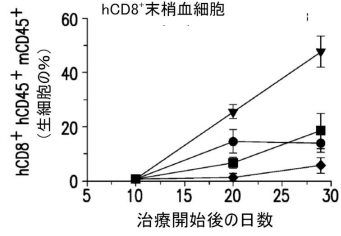


図 34B

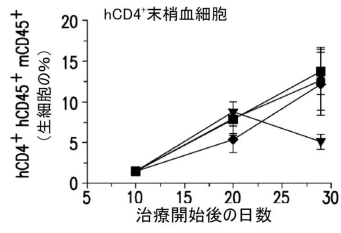


図 34C

【配列表】

0007402521000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21		
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08		
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
G 0 1 N	33/574 (2006.01)	G 0 1 N	33/574	A	

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/531,190

(32)優先日 平成29年7月11日(2017.7.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/577,257

(32)優先日 平成29年10月26日(2017.10.26)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/577,259

(32)優先日 平成29年10月26日(2017.10.26)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ボブロウィッツ, ピョートル

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2 , ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 4 5 , サード フロア

(72)発明者 ウィドブーム, ポール

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー 0 3 7 6 6 , レバノン, ルーセント ドライブ 7

(72)発明者 シュミット, マイケル マーチ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2 , ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 4 5 , サード フロア

(72)発明者 ラジョイ, ジェイソン エム.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2 , ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 4 5 , サード フロア

(72)発明者 タイ, ロバート ブイ. ザ サード

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2 , ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 4 5 , サード フロア

(72)発明者 リオン, チョク ルン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2 , ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 4 5 , サード フロア

(72)発明者 エスキオケック, ウグル

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2 , ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 4 5 , サード フロア

審査官 太田 雄三

(56)参考文献 特表 2 0 1 3 - 5 4 4 7 5 6 (J P , A)

TIMOTHY S FISHER , TARGETING OF 4-1BB BY MONOCLONAL ANTIBODY PF-05082566 ENHANCES T-CELL FUNCTION AND PROMOTES ANTI-TUMOR ACTIVITY , CANCER IMMUNOLOGY, IMMUNOTHERAPY , 2012年03月11日 , Vol. 61, No. 10 , p. 1721 - 1733 , <http://>

[//dx.doi.org/10.1007/s00262-012-1237-1](https://dx.doi.org/10.1007/s00262-012-1237-1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0

C 0 7 K 1 6 / 0 0