

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-524282  
(P2018-524282A)

(43) 公表日 平成30年8月30日 (2018. 8. 30)

|                                     |                 |             |
|-------------------------------------|-----------------|-------------|
| (51) Int. Cl.                       | F I             | テーマコード (参考) |
| <b>C07K 14/705 (2006.01)</b>        | C07K 14/705 ZNA | 4B065       |
| <b>C07K 16/28 (2006.01)</b>         | C07K 16/28      | 4C084       |
| <b>A61K 38/00 (2006.01)</b>         | A61K 38/00      | 4C085       |
| <b>A61K 45/00 (2006.01)</b>         | A61K 45/00      | 4H045       |
| <b>A61P 43/00 (2006.01)</b>         | A61P 43/00 121  |             |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 74 頁) 最終頁に続く |                 |             |

(21) 出願番号 特願2017-560324 (P2017-560324)  
 (86) (22) 出願日 平成28年5月17日 (2016. 5. 17)  
 (85) 翻訳文提出日 平成29年11月29日 (2017. 11. 29)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/032921  
 (87) 国際公開番号 W02016/187226  
 (87) 国際公開日 平成28年11月24日 (2016. 11. 24)  
 (31) 優先権主張番号 62/163, 282  
 (32) 優先日 平成27年5月18日 (2015. 5. 18)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/266, 450  
 (32) 優先日 平成27年12月11日 (2015. 12. 11)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 517399206  
 エービー イニチオ バイオセラピューテ  
 イクス, インク.  
 アメリカ合衆国 94022 カリフォル  
 ニア州 ロスアルトス メリット・ロード  
 244  
 (74) 代理人 100082072  
 弁理士 清原 義博  
 (72) 発明者 リング, アーロン マイケル  
 アメリカ合衆国 94306 カリフォル  
 ニア州 パロ・アルト ウィリアムズ・ス  
 トリート 2253

最終頁に続く

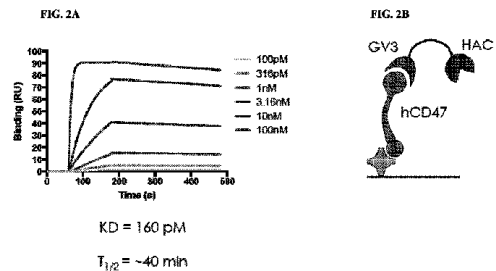
(54) 【発明の名称】 SIRPポリペプチド組成物および使用の方法

(57) 【要約】

本明細書には、癌、貧血、移植、喘息、アレルギー、自己免疫疾患、およびウイルス感染の免疫療法及び/又は処置のためのSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のデコイポリペプチドが提供される。

【選択図】 図2

FIG. 2  
 Surface plasmon resonance-based measurement of binding affinity and kinetics of HAC-GV3, a fusion of the SIRP-gamma variant GV3 with a PD-1 variant HAC, for human CD47.



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

SIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドを含む、デコイポリペプチドであって、該デコイポリペプチドが、対応する野生型のSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドのCD47に対する親和性と比較して、CD47に結合するデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドの親和性を増大させるために、少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む、デコイポリペプチド。

## 【請求項 2】

デコイポリペプチドが、配列E E E L Q M I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T V T S L L P V G P V L W F R G V G P G R E L I Y N Q K E G H F P R V T T V S D L T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E N V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 1 ) を有するSIRP - ガンマポリペプチドを含む、請求項1に記載のデコイポリペプチド。

10

## 【請求項 3】

SIRP - ガンマポリペプチドが、野生型SIRP - ガンマポリペプチドに90%同一である、請求項1または2に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 4】

SIRP - ガンマポリペプチドが、M6、V27、L30、L31、V33、V36、L37、V42、E47、Q52、K53、E54、H56、L66、T67、V92、S98またはN101でアミノ酸置換を有している、請求項1乃至3のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

20

## 【請求項 5】

SIRP - ガンマポリペプチドがM6で置換を有し、該置換が、I、LまたはFである、請求項1乃至4のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 6】

SIRP - ガンマポリペプチドがV27で置換を有し、該置換が、F、IまたはLである、請求項1乃至5のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 7】

SIRP - ガンマポリペプチドがL30で置換を有し、該置換が、I、V、H、NまたはDである、請求項1乃至6のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

30

## 【請求項 8】

SIRP - ガンマポリペプチドがL31で置換を有し、該置換が、F、IまたはVである、請求項1乃至7のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 9】

SIRP - ガンマポリペプチドがV33で置換を有し、該置換が、I、L、P、TまたはAである、請求項1乃至8のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 10】

SIRP - ガンマポリペプチドがV36で置換を有し、該置換がIである、請求項1乃至9のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

40

## 【請求項 11】

SIRP - ガンマポリペプチドがL37で置換を有し、該置換がQである、請求項1乃至10のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 12】

SIRP - ガンマポリペプチドがV42で置換を有し、該置換がAである、請求項1乃至11のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 13】

SIRP - ガンマポリペプチドがE47で置換を有し、該置換がVである、請求項1乃至12のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 14】

50

SIRP - ガンマポリペプチドが Q 5 2 で置換を有し、該置換が、P、L、V、AまたはEである、請求項 1 乃至 1 3 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 1 5】

SIRP - ガンマポリペプチドが K 5 3 で置換を有し、該置換が R である、請求項 1 乃至 1 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 1 6】

SIRP - ガンマポリペプチドが E 5 4 で置換を有し、該置換が、D、K、N、QまたはHである、請求項 1 乃至 1 5 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 1 7】

SIRP - ガンマポリペプチドが H 5 6 で置換を有し、該置換が、PまたはRである、請求項 1 乃至 1 6 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

10

【請求項 1 8】

SIRP - ガンマポリペプチドが L 6 6 で置換を有し、該置換が、I、V、P、T、A、R、SまたはGである、請求項 1 乃至 1 7 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 1 9】

SIRP - ガンマポリペプチドが T 6 7 で置換を有し、該置換が、I、N、F、S、Y、V、AまたはDである、請求項 1 乃至 1 8 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 2 0】

SIRP - ガンマポリペプチドが V 9 2 で置換を有し、該置換が I である、請求項 1 乃至 1 9 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

20

【請求項 2 1】

SIRP - ガンマポリペプチドが S 9 8 で置換を有し、該置換が、R、N、K、T、IまたはMである、請求項 1 乃至 2 0 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 2 2】

SIRP - ガンマポリペプチドが N 1 0 1 で置換され、該置換が、K、D、E、HまたはQである、請求項 1 乃至 2 1 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 2 3】

SIRP - ガンマポリペプチドが、配列 E E E L Q X<sub>1</sub> I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T X<sub>2</sub> T S X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> P X<sub>5</sub> G P X<sub>6</sub> X<sub>7</sub> W F R G X<sub>8</sub> G P G R X<sub>9</sub> L I Y N X<sub>10</sub> X<sub>11</sub> X<sub>12</sub> G X<sub>13</sub> F P R V T T V S D X<sub>14</sub> X<sub>15</sub> K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C X<sub>16</sub> K F R K G X<sub>17</sub> P E X<sub>18</sub> V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 2 ) を有し、ここで X<sub>1</sub> は、M、I、LまたはFであり；X<sub>2</sub> は、F、I、LまたはVであり；X<sub>3</sub> は、L、I、V、H、NまたはDであり；X<sub>4</sub> は、F、I、LまたはVであり；X<sub>5</sub> は、V、I、L、P、TまたはAであり；X<sub>6</sub> は、VまたはIであり；X<sub>7</sub> は、LまたはQであり；X<sub>8</sub> は、VまたはAであり；X<sub>9</sub> は、EまたはVであり；X<sub>10</sub> は、Q、P、L、V、AまたはEであり；X<sub>11</sub> は、KまたはRであり；X<sub>12</sub> は、E、D、K、N、QまたはHであり；X<sub>13</sub> は、H、PまたはRであり；X<sub>14</sub> は、L、I、V、P、T、A、R、SまたはGであり；X<sub>15</sub> は、T、I、N、F、S、Y、V、AまたはDであり；X<sub>16</sub> は、VまたはIであり；X<sub>17</sub> は、S、R、N、K、T、IまたはMであり；および X<sub>18</sub> は、N、K、D、E、HまたはQである、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

30

40

【請求項 2 4】

SIRP - ガンマポリペプチドが、配列 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P V L W F R G V G P G R V L I Y N Q R Q G P F P R V T T V S D T T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C I K F R K G S P E N V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 3 ) を有する、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 2 5】

50

SIRP - ガンマポリペプチドが、配列 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A  
T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G V G P G R V L I Y N Q R D G P F P R V T  
T V S D G T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G T P E D  
V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 4 ) を有する、請求項 1 乃  
至 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 26】

SIRP - ガンマポリペプチドが、配列 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A  
T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G V G P G R V L I Y N Q K D G P F P R V T  
T V S D G T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D  
V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 5 ) を有する、請求項 1 乃  
至 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

10

【請求項 27】

SIRP - ガンマポリペプチドが、配列 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A  
T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T  
T V S D G T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D  
V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 6 ) を有する、請求項 1 乃  
至 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 28】

SIRP - ガンマポリペプチドが、配列 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A  
T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G A G P G R V L I Y N Q R D G P F P R V T  
T V S D G T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C I K F R K G T P E D  
V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 7 ) を有する、請求項 1 乃  
至 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

20

【請求項 29】

デコイポリペプチドが、配列 E D E L Q V I Q P E K S V S V A A G E S A T L R C A  
M T S L I P V G P I M W F R G A G A G R E L I Y N Q K E G H F P R V T T V S E L  
T K R N N L D F S I S I S N I T P A D A G T Y Y C V K F R K G S P D D V E F K S  
G A G T E L S V R A K P S ( S E Q I D N O : 25 ) を有する SIRP - ベータポリ  
ペプチドを含む、請求項 1 に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 30】

SIRP - ベータポリペプチドが、野生型 SIRP - ベータポリペプチドに少なくとも  
90% 同一である、請求項 1 または 29 に記載のデコイポリペプチド。

30

【請求項 31】

SIRP - ベータポリペプチドが、I6、I27、F31、Q37、V47、R53、  
Q54、P56、T66 または I92 でアミノ酸置換を有している、請求項 1、29 また  
は 30 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 32】

SIRP - ベータポリペプチドが V6 で置換を有し、該置換が I である、請求項 1 また  
は 29 乃至 31 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 33】

SIRP - ベータポリペプチドが M27 で置換を有し、該置換が I である、請求項 1 ま  
たは 29 乃至 32 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

40

【請求項 34】

SIRP - ベータポリペプチドが I31 で置換を有し、該置換が F である、請求項 1 ま  
たは 29 乃至 33 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 35】

SIRP - ベータポリペプチドが M37 で置換を有し、該置換が Q である、請求項 1 ま  
たは 29 乃至 34 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 36】

SIRP - ベータポリペプチドが E47 で置換を有し、該置換が V である、請求項 1 ま

50

または 29 乃至 35 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 37】

SIRP - ベータポリペプチドが K53 で置換を有し、該置換が R である、請求項 1 または 29 乃至 36 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 38】

SIRP - ベータポリペプチドが E54 で置換を有し、該置換が Q である、請求項 1 または 29 乃至 37 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 39】

SIRP - ベータポリペプチドが H56 で置換を有し、該置換が P である、請求項 1 または 29 乃至 38 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 40】

SIRP - ベータポリペプチドが L66 で置換を有し、該置換が T である、請求項 1 または 29 乃至 39 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 41】

SIRP - ベータポリペプチドが V92 で置換を有し、該置換が I である、請求項 1 または 29 乃至 40 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 42】

SIRP - ベータポリペプチドが、配列 EDELQIIQPEKSVSVAAGESATLRCALITSLFPVGP IQWFRGAGAGRVLIYNQRQGPFPRTVSETTKRNNLDFSSISISNITPADAGTYICYKFRKGSPPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 26) を有する、請求項 1 または 29 乃至 41 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 43】

デコイポリペプチドが、配列 EEELQVIQPKSISVAAGESATLHCTVTS LIPVGP IQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYICYKFRKGSPPDHVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 27) を有する SIRP - ベータ 2 ポリペプチドを含む、請求項 1 に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 44】

SIRP - ベータ 2 ポリペプチドが、野生型 SIRP - ベータ 2 ポリペプチドに少なくとも 90% 同一である、請求項 1 または 43 に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 45】

SIRP - ベータ 2 ポリペプチドが、I6、I27、F31、V47、R53、Q54、P56、T66、I92 または D101 でアミノ酸置換を有している、請求項 1、43 または 45 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 46】

SIRP - ベータ 2 ポリペプチドが V6 で置換され、該置換が I である、請求項 1 または 43 乃至 45 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 47】

SIRP - ベータ 2 ポリペプチドが V27 で置換され、該置換が I である、請求項 1 または 43 乃至 46 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 48】

SIRP - ベータ 2 ポリペプチドが I31 で置換され、該置換が F である、請求項 1 または 43 乃至 47 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 49】

SIRP - ベータ 2 ポリペプチドが E4 で置換され、該置換が V である、請求項 1 または 43 乃至 48 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 50】

SIRP - ベータ 2 ポリペプチドが K53 で置換され、該置換が R である、請求項 1 または 43 乃至 49 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

10

20

30

40

50

## 【請求項 5 1】

S I R P - ベータ 2 ポリペプチドが E 5 4 で置換され、該置換が Q である、請求項 1 または 4 3 乃至 5 0 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 2】

S I R P - ベータ 2 ポリペプチドが H 5 6 で置換され、該置換が P である、請求項 1 または 4 3 乃至 5 1 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 3】

S I R P - ベータ 2 ポリペプチドが L 6 6 で置換され、該置換が T である、請求項 1 または 4 3 乃至 5 2 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 4】

S I R P - ベータ 2 ポリペプチドが V 9 2 で置換され、該置換が I である、請求項 1 または 4 3 乃至 5 3 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 5】

S I R P - ベータ 2 ポリペプチドが H 1 0 1 で置換され、該置換が D である、請求項 1 または 4 3 乃至 5 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 6】

S I R P - ベータ 2 ポリペプチドが、配列 E E E L Q I I Q P D K S I S V A A G E S A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G A G P G R V L I Y N Q R Q G P F P R V T T V S D T T K R N N M D F S I R I S N I T P A D A G T Y Y C I K F R K G S P D D V E F K S G A G T E L S V R A K P S ( S E Q I D N O : 2 8 ) を有する、請求項 1 または 4 3 乃至 5 5 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 7】

デコイポリペプチドが、リガンドへの C D 4 7 の結合を遮断する、請求項 1 乃至 5 6 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 8】

リガンドが、S I R P - アルファ、S I R P - ガンマ、またはトロンボスポンジン - 1 である、請求項 5 7 に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 5 9】

デコイポリペプチドが細胞に結合する、請求項 1 乃至 5 8 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 6 0】

細胞が、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、損傷した赤血球、動脈プラーク細胞、線維組織細胞、造血幹細胞などの健康な正常細胞、健康な骨髄系またはリンパ系の前駆細胞、または T 細胞、B 細胞、形質細胞、または N K 細胞などの健康な分化造血細胞タイプである、請求項 5 9 に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 6 1】

デコイポリペプチドが、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、損傷した赤血球、動脈プラーク細胞、線維組織細胞、造血幹細胞などの健康な正常細胞、健康な骨髄系またはリンパ系の前駆細胞、または T 細胞、B 細胞、形質細胞、あるいは N K 細胞などの、健康な分化造血細胞タイプの食作用または A D C C を可能にする、請求項 1 乃至 6 0 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 6 2】

デコイポリペプチドが、免疫グロブリン F c 配列に融合される、請求項 1 乃至 6 1 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 6 3】

S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2 のポリペプチドが、多量体である、請求項 1 乃至 6 2 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 6 4】

S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2 のポリペプチドが、単量体である、請求項 1 乃至 6 2 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

10

20

30

40

50

## 【請求項 65】

デコイポリペプチドがさらに、検出可能な標識を含む、請求項 1 乃至 64 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 66】

デコイポリペプチドが増加した占有率を有する、請求項 1 乃至 64 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 67】

デコイポリペプチドが増加した持続性を有する、請求項 1 乃至 66 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

## 【請求項 68】

請求項 1 乃至 67 のいずれか 1 項のデコイポリペプチドおよび薬学的に許容可能な担体または賦形剤を含む、組成物。

## 【請求項 69】

追加の薬物をさらに含む、請求項 68 に記載の組成物。

## 【請求項 70】

薬物が、化学療法薬、キナーゼ阻害剤、プロテアソーム阻害剤、またはウイルス DNA または RNA のポリメラーゼの阻害剤の 1 つ以上を含む、請求項 69 に記載の組成物。

## 【請求項 71】

モノクローナル抗体をさらに含む、請求項 68 乃至 70 のいずれか 1 項に記載の組成物。

## 【請求項 72】

モノクローナル抗体が、癌細胞、免疫細胞、病原体感染細胞、または造血幹細胞上の抗原に結合する、請求項 71 に記載の組成物。

## 【請求項 73】

癌細胞上の抗原が、EGFR、Her2/neu、CD19、CD20、CD22、CD25、CD30、CD33、CD38、CD45、CD47、CD56、CD70、CD117、またはEpCAMを含む、請求項 72 に記載の組成物。

## 【請求項 74】

免疫細胞上の抗原が、M1prime、CD2、CD3、CD4、CD5、CD8、CD19、CD20、CD22、CD25、CD38、CD56、PD-1、PD-L1、CTLA4、BTLA、TIM3、LAG3、OX40、GITRまたはCD137(4-1BB)を含む、請求項 72 に記載の組成物。

## 【請求項 75】

病原体感染細胞上の抗原が、UL18、UL11、pp65、gB、およびpp150を含むCMVタンパク質、Gp41、gp120、V1V2グリカン、およびV3グリカンを含むHIVエンベロープタンパク質、およびインフルエンザ血球凝集素を含む、請求項 72 に記載の組成物。

## 【請求項 76】

造血幹細胞上の抗原が、CD11、CD45、CD117またはScalを含む、請求項 72 に記載の組成物。

## 【請求項 77】

請求項 1 乃至 67 のいずれか 1 項のデコイポリペプチドをコードする、単離された核酸。

## 【請求項 78】

請求項 1 乃至 67 のいずれか 1 項のデコイポリペプチドを発現する、細胞。

## 【請求項 79】

CD47を発現する細胞の食作用またはADCCを調節する方法であって、該方法が、細胞を請求項 1 乃至 67 のデコイポリペプチドまたは請求項 68 乃至 76 の組成物と接触させる工程を含む、方法。

## 【請求項 80】

10

20

30

40

50

必要としている被験体を処置する方法であって、該方法が、有効な量の請求項 1 乃至 6 7 のいずれか 1 項のデコイ S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2 のポリペプチドまたは請求項 6 8 乃至 7 6 の組成物を投与する工程を含む、方法。

【請求項 8 1】

被験体が、癌、貧血、ウイルス感染、細菌感染、自己免疫疾患、喘息、アレルギー、移植拒絶反応、アテローム性動脈硬化症、または線維症を有する、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

癌、ウイルス感染、細菌感染、自己免疫疾患、喘息、アレルギー、移植拒絶反応、アテローム性動脈硬化症、または線維症の処置における使用のための請求項 1 乃至 6 7 のいずれか 1 項のデコイ S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2 のポリペプチドまたは請求項 6 8 乃至 7 6 のいずれか 1 項の組成物。

10

【請求項 8 3】

造血幹細胞の移植のためのプレコンディショニングにおける使用のための請求項 1 乃至 6 7 のいずれか 1 項のデコイ S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2 のポリペプチドまたは請求項 6 8 乃至 7 6 のいずれか 1 項の組成物。

【請求項 8 4】

C D 4 7 を発現する細胞を可視化する方法であって、該方法が、細胞の集団を請求項 1 乃至 6 7 のいずれか 1 項のデコイポリペプチドおよび検出可能な標識と接触させる工程を含む、方法。

20

【請求項 8 5】

細胞が、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、自己反応性 T または B 細胞、損傷した赤血球、動脈プラーク細胞、線維組織細胞、造血幹細胞などの健康な正常細胞、健康な骨髄系またはリンパ系の前駆細胞、または T 細胞、B 細胞、形質細胞、または N K 細胞などの健康な分化造血細胞タイプである、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 6】

接触がインピボで行われる、請求項 8 4 または 8 5 に記載の方法。

【請求項 8 7】

接触がインピトロで行われる、請求項 8 4 または 8 5 に記載の方法。

【請求項 8 8】

C D 4 7 を発現する細胞を精製する方法であって、該方法は、細胞の集団を請求項 1 乃至 6 7 のいずれか 1 項のデコイポリペプチドおよび検出可能な標識と接触させる工程および検出可能な標識に結合された細胞を精製する工程を含む、方法。

30

【請求項 8 9】

S I R P - ガンマポリペプチドが、配列 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G V G P G R V L I Y N Q R E G P F P R V T V S D G T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 1 3 ) を有する、請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項 9 0】

S I R P - ガンマポリペプチドが、以下の配列：  
 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S H F P V G P I Q W F R  
 G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
 I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 8 ) ;  
 E E E L Q I I Q P D K S V L V A A G E T A T L R C T I T S L F P V G P I Q W F R  
 G A G P G R V L I Y N Q R D G P F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
 I T P A D V G T Y Y C V K F R K G T P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 9 ) ;  
 E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P V L W F R

40

50

GVGPGRVL IYNQRQGPFP RVTTVSDTTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGTPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 10);

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRELIYNAREGRFP RVTTVSDLTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 11);

EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
 GAGPGRVL IYNQRQGPFP RVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGN  
 ITPADAGTY YCIKFRKGS PDDVEVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 12);

10

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP VLWFR  
 GVGPGRVL IYNQRQGPFP RVTTVSDTTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCIKFRKGS PENVEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 3);

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQREGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 13);

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVGP VLWFR  
 GVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGS PENVEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 42);

20

EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
 GAGPGRVL IYNQRDGPFP RVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 14);

EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
 GAGPGRVL IYNQRDGPFP RVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEVEFKSGPGTXWH (SEQ ID NO: 15)、ここでXは、A、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y、またはVである;

30

EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
 GAGPGRVL IYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCIKFRKGTPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 16);

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLLPVGP IQWFR  
 GVGPGRELIYNQRDGPFP RVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGTPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 17);

40

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTLTSLLPVGP ILWFR  
 GVGPGRVL IYNQRDGPFP RVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGNPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 18);

EEELQLIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGIPEDEVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 19);

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
 GAGPGRVL IYNQRDGPFP RVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS

50

ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 20);

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPPIGLWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 21);

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPPIQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 22);

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPPIQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 23); および

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPPIQWFR  
GAGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGTPEDEFKSGPGTEMALXAKPS (SEQ ID NO: 24)、の1つを有する、請求項1乃至4のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項91】

SIRP - ガンマポリペプチドが、融合またはキメラのポリペプチドであり、リンカー配列を介して、免疫チェックポイント阻害剤、共刺激分子、またはサイトカインを含むポリペプチド配列に融合される、請求項1乃至67のいずれか1項に記載のデコイポリペプチド。

【請求項92】

リンカー配列が、GlyおよびSerを含む、請求項91に記載のデコイポリペプチド。

【請求項93】

リンカー配列が、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 29)を含む、請求項91に記載のデコイポリペプチド。

【請求項94】

SIRP - ガンマポリペプチドが、免疫チェックポイント阻害剤、共刺激分子、サイトカイン、または弱められたサイトカインを含むポリペプチド配列のN末端またはC末端のいずれかに位置付けられる、請求項91に記載のデコイポリペプチド。

【請求項95】

免疫チェックポイント阻害剤のポリペプチドが、PD-1またはPD-L1のアンタゴニスト、BTLAまたはCD160のアンタゴニスト、またはホスファチジルセリンアンタゴニスト、例えば、MFG8、TIM1、TIM3またはTIM4の配列を有する、請求項91に記載のデコイポリペプチド。

【請求項96】

共刺激分子のポリペプチドが、CD40アゴニスト、41BBLまたはCD137アゴニストの配列を有する、請求項91に記載のデコイポリペプチド。

【請求項97】

サイトカインのポリペプチドが、IL2の配列を有する、請求項91に記載のデコイポリペプチド。

【請求項98】

サイトカインが弱められる、請求項91に記載のデコイポリペプチド。

【請求項99】

IL2ポリペプチド配列が、変異D20TおよびF42Aを含む、請求項98に記載のデコイポリペプチド。

10

20

30

40

50

【請求項100】

融合またはキメラのポリペプチドが、D S P D R P W N P P T F S P A L L V V T E G  
D N A T F T C S F S N T S E S F H V V W H R E S P S G Q T D T L A A F P E D R S  
Q P G Q D A R F R V T Q L P N G R D F H M S V V R A R R N D S G T Y V C G V I S  
L A P K I Q I K E S L R A E L R V T E R G G G G S G G G G S E E E L Q I I Q P E  
K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G V G P G R V L I Y  
N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y  
C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S の配列 ( S E Q I D N  
O : 3 0 ) を有する、請求項91乃至95に記載のデコイポリペプチド。

10

【請求項101】

融合またはキメラのポリペプチドが、E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T  
L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T  
V S D G T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V  
E F K S G P G T E M A L G A K P S G G G G S G G G G S W N I H G K E S C D V Q L  
Y I K R Q S E H S I L A G D P F E L E C P V K Y C A N R P H V T W C K L N G T T  
C V K L E D R Q T S W K E E K N I S F F I L H F E P V L P N D N G S Y R C S A N  
F Q S N L I E S H S T T L Y V T D V K の配列 ( S E Q I D N O : 3 1 ) を有する、  
請求項91乃至95に記載のデコイポリペプチド。

20

【請求項102】

融合またはキメラのポリペプチドが、以下の配列：

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R  
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G  
G G G S G G G G S E L N G C A N P L G L K N N S I P D K Q I T A S S S Y K T W G  
L H L F S W N P S Y A R L D K Q G N F N A W V A G S Y G N D Q W L Q V D L G S S  
K E V T G I I T Q G A R N F G S V Q F V A S Y K V A Y S N D S A N W T E Y Q D P  
R T G S S K I F P G N W D N H S H K K N L F E T P I L A R Y V R I L P V A W H N  
R I A L R L E L L G C ( S E Q I D N O : 3 2 ) ;

30

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R  
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G  
G G G S G G G G S V A G S V K V G G E A G P S V T L P C H Y S G A V T S M C W N  
R G S C S L F T C Q N G I V W T N G T H V T Y R K D T R Y K L L G D L S R R D V  
S L T I E N T A V S D S G V Y C C R V E H R G W F N D M K I T V S L E I V P P K  
V T T ( S E Q I D N O : 3 3 ) ;

40

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R  
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G  
G G G S G G G G S S E V E Y R A E V G Q N A Y L P C F Y T P A A P G N L V P V C  
W G K G A C P V F E C G N V V L R T D E R D V N Y W T S R Y W L N G D F R K G D  
V S L T I E N V T L A D S G I Y C C R I Q I P G I M N D E K F N L K L V I K P A  
K V T P A ( S E Q I D N O : 3 4 ) ; または

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R  
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G  
G G G S G G G G S T S E T V V T E V L G H R V T L P C L Y S S W S H N S N S M C  
W G K D Q C P Y S G C K E A L I R T D G M R V T S R K S A K Y R L Q G T I P R G  
D V S L T I L N P S E S D S G V Y C C R I E V P G W F N D V K I N V R L N L Q R  
A S T T T D E K F N L K L V I K P A K V T P A ( S E Q I D N O : 3 5 ) 、 の1つ  
を有する、請求項91乃至95に記載のデコイポリペプチド。

50

【請求項103】

融合またはキメラのポリペプチドが、以下の配列：

```

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G
G G G S G G G G S G D Q N P Q I A A H V I S E A S S K T T S V L Q W A E K G Y Y
T M S N N L V T L E N G K Q L T V K R Q G L Y Y I Y A Q V T F C S N R E A S S Q
A P F I A S L C L K S P G R F E R I L L R A A N T H S S A K P C G Q Q S I H L G
G V F E L Q P G A S V F V N V T D P S Q V S H G T G F T S F G L L K L ( S E Q
I D N O : 3 6 ) ; または

```

10

```

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G
G G G S G G G G S D P A G L L D L R Q G M F A Q L V A Q N V L L I D G P L S W Y
S D P G L A G V S L T G G L S Y K E D T K E L V V A K A G V Y Y V F F Q M E L R
R V V A G E G S G S V S L A L H L M P L R S A A G A A A L A L T V D L P P A S S
E A R N S A F G F Q G R L L H L S A G Q R L G V H L H T E A R A R H A W Q L T Q
G A T V L G L F R V T P E I P A ( S E Q I D N O : 3 7 ) 、 の 1 つ を 有 す る 、 請 求
項 9 1 乃 至 9 5 ま た は 9 6 に 記 載 の デ コ イ ポ リ ペ プ チ ド 。

```

20

【請求項104】

融合またはキメラのポリペプチドが、以下の配列：

```

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G
G G G S G G G G S A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L D L Q M I L N G I N N Y
K N P K L T R M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E E L K P L E E V L N
L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T
A T I V E F L N R W I T F C Q S I I S T L T ( S E Q I D N O : 3 8 ) ; または

```

30

```

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G
G G G S G G G G S A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L T L Q M I L N G I N N Y
K N P K L T R M L T A K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E E L K P L E E V L N
L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T
A T I V E F L N R W I T F C Q S I I S T L T ( S E Q I D N O : 3 9 ) 、 の 1 つ を
有 す る 、 請 求 項 9 1 乃 至 9 5 ま た は 9 7 乃 至 9 9 に 記 載 の デ コ イ ポ リ ペ プ チ ド 。

```

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

<相互参照>

40

本出願は、2015年12月11日出願の米国仮特許出願第62/266,450号、および2015年5月18日出願の米国仮特許出願第62/163,282号の利益を主張するものであり、これら両方の出願は引用によって本明細書に組み込まれる。

【0002】

<配列表>

本出願は、ASCIIフォーマットで電子的に提出された配列表を含み、その全体が引用によって本明細書に組み込まれる。2016年5月17日に作成されたASCIIのコピーは、47815\_701\_601\_SL.txtのファイル名であり、66,023バイトのサイズである。

【背景技術】

50

## 【 0 0 0 3 】

シグナル調節タンパク質（SIRP）は、骨髄性細胞（マクロファージ、顆粒球、骨髄樹状細胞、およびマスト細胞を含む）、リンパ球、および神経細胞上で発現され、それらの活性を調節する、細胞表面糖タンパク質のファミリーを構成する。

## 【 発明の概要 】

## 【 0 0 0 4 】

デコイポリペプチドとして言及され得る、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のデコイポリペプチドおよびそれらのデコイアナログが提供される。一実施形態では、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドを含む、デコイポリペプチドが提供され、ここでデコイポリペプチドは、対応する野生型のSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドのCD47に対する親和性と比較して、CD47に結合するデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドの親和性を増大させるために、少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。特定の態様では、デコイポリペプチドは、配列E E E L Q M I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T V T S L L P V G P V L W F R G V G P G R E L I Y N Q K E G H F P R V T T V S D L T K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E N V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 1 ) を有するSIRP - ガンマポリペプチドを含む。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、野生型SIRP - ガンマポリペプチドに90%同一である。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、M6、V27、L30、L31、V33、V36、L37、V42、E47、Q52、K53、E54、H56、L66、T67、V92、S98またはN101でアミノ酸置換を有している。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはM6で置換を有し、ここで置換は、I、LまたはFである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはV27で置換を有し、ここで置換は、F、IまたはLである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはL30で置換を有し、ここで置換は、I、V、H、NまたはDである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはL31で置換を有し、ここで置換は、F、IまたはVである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはV33で置換を有し、ここで置換は、I、L、P、TまたはAである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはV36で置換を有し、ここで置換はIである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはL37で置換を有し、ここで置換はQである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはV42で置換を有し、ここで置換はAである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはE47で置換を有し、ここで置換はVである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはQ52で置換を有し、ここで置換は、P、L、V、AまたはEである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはK53で置換を有し、ここで置換はRである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはE54で置換を有し、ここで置換は、D、K、N、QまたはHである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはH56で置換を有し、ここで置換は、PまたはRである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはL66で置換を有し、ここで置換は、I、V、P、T、A、R、SまたはGである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはT67で置換を有し、ここで置換は、I、N、F、S、Y、V、AまたはDである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはV92で置換を有し、ここで置換はIである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはS98で置換を有し、ここで置換は、R、N、K、T、IまたはMである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドはN101で置換され、ここで置換は、K、D、E、HまたはQである。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、配列E E E L Q X<sub>1</sub> I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T X<sub>2</sub> T S X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> P X<sub>5</sub> G P X<sub>6</sub> X<sub>7</sub> W F R G X<sub>8</sub> G P G R X<sub>9</sub> L I Y N X<sub>10</sub> X<sub>11</sub> X<sub>12</sub> G X<sub>13</sub> F P R V T T V S D X<sub>14</sub> X<sub>15</sub> K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C X<sub>16</sub> K F R K G X<sub>17</sub> P E X<sub>18</sub> V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 2 ) を有し、ここでX<sub>1</sub>は

10

20

30

40

50

、M、I、LまたはFであり；X<sub>2</sub>は、F、I、LまたはVであり；X<sub>3</sub>は、L、I、V、H、NまたはDであり；X<sub>4</sub>は、F、I、LまたはVであり；X<sub>5</sub>は、V、I、L、P、TまたはAであり；X<sub>6</sub>は、VまたはIであり；X<sub>7</sub>は、LまたはQであり；X<sub>8</sub>は、VまたはAであり；X<sub>9</sub>は、EまたはVであり；X<sub>10</sub>は、Q、P、L、V、AまたはEであり；X<sub>11</sub>は、KまたはRであり；X<sub>12</sub>は、E、D、K、N、QまたはHであり；X<sub>13</sub>は、H、PまたはRであり；X<sub>14</sub>は、L、I、V、P、T、A、R、SまたはGであり；X<sub>15</sub>は、T、I、N、F、S、Y、V、AまたはDであり；X<sub>16</sub>は、VまたはIであり；X<sub>17</sub>は、S、R、N、K、T、IまたはMであり；およびX<sub>18</sub>は、N、K、D、E、HまたはQである。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、配列EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVLFWRGVGPGRVL IYNQRQGFPRVTTVSDTTKRNNMDF SIRIS SITPADVGTYYC IKFRKGS PENVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 3) を有する。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、配列EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFRGVGPGRVL IYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDF SIR ISSITPADVGTYYCVKFRKGTPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 4) を有する。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、配列EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPV GPIQWFRGVGPGRVL IYNQKDGHPFRVTTVSDGTKRNNMDF SIRIRISSITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 5) を有する。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、配列EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPV GPIQWFRGAGPGRVL IYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISSITPADVGTYYC IKFRKGTPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 6) を有する。さらなる態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、配列EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPV GPIQWFRGAGPGRVL IYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISSITPADVGTYYC IKFRKGTPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 7) を有する。追加の態様では、SIRP - ガンマポリペプチドは、以下の配列の1つを有する：

HLib 1 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSHFPVGP IQWFRGVGPGRVL IYNQKDGHPFRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISSITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 8) ;

HLib 2 :

EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFRGAGPGRVL IYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISSITPADVGTYYCVKFRKGTPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 9) ;

HLib 3 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVLFWRGVGPGRVL IYNQRQGFPRVTTVSDTTKRNNMDF SIRISSITPADVGTYYCVKFRKGTPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 10) ;

HLib 4 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFRGVGPGRELIYNAREGRFPFRVTTVSDLT KRNNMDF SIRISSITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 11) ;

10

20

30

40

50

HMLib1:

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRQGGPFPRVTTVSDTTKRNNMDF SIRIGN  
ITPADAGTY YCIKFRKGS PDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 12);

HMLib2:

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVLWFR  
GVGPGRVLIYNQRQGGPFPRVTTVSDTTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGS PENVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 3);

10

HMLib3:

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQRREGPFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 13);

HMLib4:

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVGPVLWFR  
GVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PENVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 42);

20

HMLib5:

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGI PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 14);

HMLib6:

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGI PEDVEFKSGPGTXWH (SEQ ID NO: 15)、ここでXは、A、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y、またはVである;

30

HMLib7:

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGT PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 16);

MLib1:

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLLPVGP IQWFR  
GVGPGRELIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGT PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 17);

40

MLib2:

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTLTSLLPVGP ILWFR  
GVGPGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGN PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 18);

MLib3:

EEELQLIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGI PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 19);

50

SEQ ID NO : 19 ) ;

MLib 4 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGPFP RVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYC IKFRKGIPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (

SEQ ID NO : 20 ) ;

MLib 5 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPPIGP I LWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (

SEQ ID NO : 21 ) ;

MLib 6 :

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGPFP RVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYC IKFRKGIPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (

SEQ ID NO : 22 ) ;

MLib 7 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYC IKFRKGIPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (

SEQ ID NO : 23 ) ;

MLib 8 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYC IKFRKGTPE DVEFKSGPGTEMALXAKPS (

SEQ ID NO : 24 ) ;

あるいはGV1.2 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQREGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPE DVEFKSGPGTEMALGAKPS (

SEQ ID NO : 13 ) 。

【0005】

追加の実施形態では、デコイポリペプチドは、配列EDELQVIQPEKSVSVA  
AGESATLRCAMTSLIPVGPIMWFRGAGAGRELIYNQKEGH  
FPRVTTVSELTKRNNLDFSISISNITPADAGTY YCVKFRK  
GSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO : 25) を有する  
SIRP - ベータポリペプチドを含む。特定の態様では、SIRP - ベータポリペプチド  
は、野生型SIRP - ベータポリペプチドに少なくとも90%同一である。さらなる態様  
では、SIRP - ベータポリペプチドは、I6、I27、F31、Q37、V47、R5  
3、Q54、P56、T66またはI92でアミノ酸置換を有している。追加の態様では  
、SIRP - ベータポリペプチドはV6で置換を有し、ここで置換はIである。さらなる  
態様では、SIRP - ベータポリペプチドはM27で置換を有し、ここで置換はIである  
。さらなる態様では、SIRP - ベータポリペプチドはI31で置換を有し、ここで置換  
はFである。追加の態様では、SIRP - ベータポリペプチドはM37で置換を有し、こ  
こで置換はQである。さらなる態様では、SIRP - ベータポリペプチドはE47で置換  
を有し、ここで置換はVである。追加の態様では、SIRP - ベータポリペプチドはK5  
3で置換を有し、ここで置換はRである。さらなる態様では、SIRP - ベータポリペ  
プチドはE54で置換を有し、ここで置換はQである。追加の態様では、SIRP - ベータ  
ポリペプチドはH56で置換を有し、ここで置換はPである。さらなる態様では、SIR  
P - ベータポリペプチドはL66で置換を有し、ここで置換はTである。追加の態様では

10

20

30

40

50

、SIRP - ベータポリペプチドはV92で置換を有し、ここで置換はIである。さらなる態様では、SIRP - ベータポリペプチドは、配列EDELQIIQPEKSVSVAAGESATLRCAITSLFPVGP IQWFRGAGAGRVLIYNQRQGFPRVTTVSETTKRNNLDFSISISNITPADAGTY YCIKFRKGS PDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 26) を有する。さらなる態様では、SIRP - ベータポリペプチドは、配列EDELQX<sub>1</sub>IQPEKSVSVAAGESATLRCA X<sub>2</sub>TSLX<sub>3</sub>PVGP I X<sub>4</sub>WFRGAGAGRX<sub>5</sub>LIYNQX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>GX<sub>8</sub>FPRVTTVSEX<sub>9</sub>TKRNNLDFSISISNITPADAGTY YCX<sub>10</sub>KFRKGS PDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 45) を有し、ここでX<sub>1</sub>は、VまたはIであり；X<sub>2</sub>は、MまたはIであり；X<sub>3</sub>は、IまたはFであり；X<sub>4</sub>は、MまたはQであり；X<sub>5</sub>は、EまたはVであり；X<sub>6</sub>は、KまたはRであり；X<sub>7</sub>は、EまたはQであり；X<sub>8</sub>は、HまたはPであり；X<sub>9</sub>は、LまたはTであり；およびX<sub>10</sub>は、VまたはIである。

10

20

30

40

50

#### 【0006】

追加の実施形態では、デコイポリペプチドは、配列EEELQVIQPKSISVAAGESATLHCTVTS LIPVGP IQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLT KRNNMDFSIRISNITPADAGTY YCVKFRKGS PDHVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 27) を有するSIRP - ベータ2ポリペプチドを含む。特定の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドは、野生型SIRP - ベータ2ポリペプチドに少なくとも90%同一である。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドは、I6、I27、F31、V47、R53、Q54、P56、T66、I92またはD101でアミノ酸置換を有している。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはV6で置換され、ここで置換はIである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはV27で置換され、ここで置換はIである。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはI31で置換され、ここで置換はFである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはE4で置換され、ここで置換はVである。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはK53で置換され、ここで置換はRである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはE54で置換され、ここで置換はQである。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはH56で置換され、ここで置換はPである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはL66で置換され、ここで置換はTである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはV92で置換され、ここで置換はIである。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはH101で置換され、ここで置換はDである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドは、配列EEELQIIQPKSISVAAGESATLHCTITSLFPVGP IQWFRGAGPGRVLIYNQRQGFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRISNITPADAGTY YCIKFRKGS PDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 28) を有する。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドは、配列EEELQX<sub>1</sub>IQPKSISVAAGESATLHCTX<sub>2</sub>TSLX<sub>3</sub>PVGP IQWFRGAGPGRX<sub>4</sub>LIYNQX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>GX<sub>7</sub>FPRVTTVSDX<sub>8</sub>TKRNNMDFSIRISNITPADAGTY YCX<sub>9</sub>KFRKGS PDX<sub>10</sub>VEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 46) を有し、ここでX<sub>1</sub>は、VまたはIであり；X<sub>2</sub>は、VまたはIであり；X<sub>3</sub>は、IまたはFであり；X<sub>4</sub>は、EまたはVであり；X<sub>5</sub>は、KまたはRであり；X<sub>6</sub>は、EまたはQであり；X<sub>7</sub>は、HまたはPであり；X<sub>8</sub>は、LまたはTであり；X<sub>9</sub>は、VまたはIであり；およびX<sub>10</sub>は、HまたはDである。

#### 【0007】

追加の実施形態では、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、およびSIRP - ベータ2のポリペプチドから選択されるデコイポリペプチドが提供され、ここでSIRP - ガンマポリペプチドは、配列EEELQX<sub>1</sub>IQPEKLLLVTVGKTATLHCTX<sub>2</sub>TSX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>PX<sub>5</sub>GPX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>WFRGX<sub>8</sub>GPGRX<sub>9</sub>LIYNX<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>

G X<sub>13</sub> F P R V T T V S D X<sub>14</sub> X<sub>15</sub> K R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T  
 Y Y C X<sub>16</sub> K F R K G X<sub>17</sub> P E X<sub>18</sub> V E F K S G P G T E M A L G A K P S ( S E  
 Q I D N O : 2 ) を有し、ここで X<sub>1</sub> は、M、I、L または F であり；X<sub>2</sub> は、F、I  
 、L または V であり；X<sub>3</sub> は、L、I、V、H、N または D であり；X<sub>4</sub> は、F、I、L  
 または V であり；X<sub>5</sub> は、V、I、L、P、T または A であり；X<sub>6</sub> は、V または I であり；  
 X<sub>7</sub> は、L または Q であり；X<sub>8</sub> は、V または A であり；X<sub>9</sub> は、E または V であり  
 ；X<sub>10</sub> は、Q、P、L、V、A または E であり；X<sub>11</sub> は、K または R であり；X<sub>12</sub>  
 は、E、D、K、N、Q または H であり；X<sub>13</sub> は、H、P または R であり；X<sub>14</sub> は、  
 L、I、V、P、T、A、R、S または G であり；X<sub>15</sub> は、T、I、N、F、S、Y、  
 V、A または D であり；X<sub>16</sub> は、V または I であり；X<sub>17</sub> は、S、R、N、K、T、  
 I または M であり；および X<sub>18</sub> は、N、K、D、E、H または Q であり、S I R P - ベ  
 ータポリペプチドは、配列 E D E L Q X<sub>1</sub> I Q P E K S V S V A A G E S A T L R C A X  
 2 T S L X<sub>3</sub> P V G P I X<sub>4</sub> W F R G A G A G R X<sub>5</sub> L I Y N Q X<sub>6</sub> X<sub>7</sub> G X<sub>8</sub> F P R V  
 T T V S E X<sub>9</sub> T K R N N L D F S I S I S N I T P A D A G T Y Y C X<sub>10</sub> K F R K G  
 S P D D V E F K S G A G T E L S V R A K P S ( S E Q I D N O : 4 5 ) を有し、こ  
 こで X<sub>1</sub> は、V または I であり；X<sub>2</sub> は、M または I であり；X<sub>3</sub> は、I または F であり  
 ；X<sub>4</sub> は、M または Q であり；X<sub>5</sub> は、E または V であり；X<sub>6</sub> は、K または R であり；  
 X<sub>7</sub> は、E または Q であり；X<sub>8</sub> は、H または P であり；X<sub>9</sub> は、L または T であり；お  
 よび X<sub>10</sub> は、V または I であり；および S I R P - ベータ2ポリペプチドは、配列 E E  
 E L Q X<sub>1</sub> I Q P D K S I S V A A G E S A T L H C T X<sub>2</sub> T S L X<sub>3</sub> P V G P I Q W F  
 R G A G P G R X<sub>4</sub> L I Y N Q X<sub>5</sub> X<sub>6</sub> G X<sub>7</sub> F P R V T T V S D X<sub>8</sub> T K R N N M D F  
 S I R I S N I T P A D A G T Y Y C X<sub>9</sub> K F R K G S P D X<sub>10</sub> V E F K S G A G T E  
 L S V R A K P S ( S E Q I D N O : 4 6 ) を有し、ここで X<sub>1</sub> は、V または I であり  
 ；X<sub>2</sub> は、V または I であり；X<sub>3</sub> は、I または F であり；X<sub>4</sub> は、E または V であり；  
 X<sub>5</sub> は、K または R であり；X<sub>6</sub> は、E または Q であり；X<sub>7</sub> は、H または P であり；X  
 8 は、L または T であり；X<sub>9</sub> は、V または I であり；および X<sub>10</sub> は、H または D であ  
 る。

10

20

30

40

50

【0008】

追加の実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2  
 のデコイポリペプチドは、リガンドへの C D 4 7 の結合を遮断する。特定の態様では、リ  
 ガンドは、S I R P - アルファ、S I R P - ガンマ、またはトロンボスポンジン ( t h r  
 o m b o s p o i n d i n ) - 1 である。

【0009】

追加の実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2  
 のデコイポリペプチドは、細胞に結合する。特定の態様では、細胞は、腫瘍細胞、ウイル  
 ス感染細胞、細菌感染細胞、損傷した赤血球、動脈プラーク細胞、線維組織細胞、造血幹  
 細胞などの健康な正常細胞、健康な骨髄系またはリンパ系の前駆細胞、または T 細胞、B  
 細胞、形質細胞、または N K 細胞などの健康な分化造血細胞タイプである。

【0010】

追加の実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2  
 のデコイポリペプチドは、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、損傷した赤血球  
 、動脈プラーク細胞、線維組織細胞、造血幹細胞などの健康な正常細胞、健康な骨髄系ま  
 たはリンパ系の前駆細胞、または T 細胞、B 細胞、形質細胞、あるいは N K 細胞などの、  
 健康な分化造血細胞タイプの食作用または A D C C を可能にする。

【0011】

追加の実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2  
 のデコイポリペプチドは、免疫グロブリン F c 配列に融合される。追加の実施形態では、  
 S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P - ベータ 2 のポリペプチドは、多量  
 体である。追加の実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたは S I R P -  
 ベータ 2 のポリペプチドは、単量体である。追加の実施形態では、デコイポリペプチドは

さらに、検出可能な標識を含む。

【0012】

追加の実施形態では、上に記載されるようなデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドおよび薬学的に許容可能な担体または賦形剤を含む組成物が提供される。特定の態様では、組成物はさらに、追加の薬物を含む。特定の態様では、薬物は、化学療法薬、キナーゼ阻害剤、プロテアソーム阻害剤、またはウイルスDNAまたはRNAのポリメラーゼの阻害剤の1つ以上を含む。追加の実施形態では、組成物はさらに、モノクローナル抗体を含む。特定の態様では、モノクローナル抗体は、癌細胞（例えば骨髄腫）、免疫細胞、病原体感染細胞、または造血幹細胞上の抗原に結合する。追加の態様では、癌細胞上の抗原は、EGFR、Her2/neu、CD19、CD20、CD22、CD25、CD30、CD33、CD38、CD45、CD47、CD56、CD70、CD117、またはEpCAMを含む。さらなる態様では、免疫細胞上の抗原は、M1prime、CD2、CD3、CD4、CD5、CD8、CD19、CD20、CD22、CD25、CD38、CD56、PD-1、PD-L1、CTLA4、BTLA、TIM3、LAG3、OX40、GITRまたはCD137(4-1BB)を含む。追加の態様では、病原体感染細胞上の抗原は、UL-18、UL11、pp65、gB、およびpp150を含む、サイトメガロウイルス(CMV)タンパク質を含む。追加の態様では、病原体感染細胞上の抗原は、Gp41、gp120、V1V2グリカン、およびV3グリカンを含むHIVエンベロープタンパク質、およびインフルエンザ血球凝集素を含む。さらなる態様では、造血幹細胞上の抗原は、CD11、CD45、CD117またはSca1を含む。

【0013】

追加の実施形態では、持続性が増加した、上に記載されるようなデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2ポリペプチドが提供される。幾つかの態様では、デコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドの持続性の増加は、結果として、他のSIRPポリペプチドと比較した、細胞表面半減期の増加につながる。

【0014】

追加の実施形態では、占有率または受容体占有率が増加した、上に記載されるようなデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドが提供される。幾つかの態様では、デコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドの占有率の増加は、結果として、1つ以上の標的細胞への、デコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、またはSIRP - ベータ2のポリペプチドの結合の増加につながる。

【0015】

追加の実施形態では、上記のデコイポリペプチドのいずれか1つをコードする単離された核酸が提供される。追加の実施形態では、上記のデコイポリペプチドのいずれか1つを発現する細胞が提供される。

【0016】

追加の実施形態では、CD47を発現する細胞の食作用またはADCCを調節する方法が提供され、該方法は、細胞を上記のデコイポリペプチドのいずれか1つまたは組成物と接触させる工程を含む。追加の実施形態では、必要としている被験体を処置する方法が提供され、該方法は、有効な量の上記のデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドのいずれか1つまたは組成物を投与する工程を含む。特定の態様では、被験体は、癌、貧血、ウイルス感染、細菌感染、自己免疫疾患、喘息、アレルギー、移植拒絶反応、アテローム性動脈硬化症、または線維症を有する。

【0017】

追加の実施形態では、癌、ウイルス感染、細菌感染、自己免疫疾患、喘息、アレルギー、移植拒絶反応、アテローム性動脈硬化症、または線維症の処置における使用のための上記のデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチ

ドのいずれか1つまたは組成物が提供される。追加の実施形態では、造血幹細胞の移植のためのプレコンディショニング (preconditioning) における使用のための上記のデコイSIRP-ガンマ、SIRP-ベータまたはSIRP-ベータ2のポリペプチドのいずれか1つまたは組成物が提供される。

【0018】

追加の実施形態では、CD47を発現する細胞を可視化する方法が提供され、該方法は、細胞の集団を上記のデコイポリペプチドのいずれか1つおよび検出可能な標識と接触させる工程を含む。特定の態様では、細胞は、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、自己反応性TまたはB細胞、損傷した赤血球、動脈プラーク細胞、線維組織細胞、造血幹細胞などの健康な正常細胞、健康な骨髄系またはリンパ系の前駆細胞、またはT細胞、B細胞、形質細胞、またはNK細胞などの健康な分化造血細胞タイプである。追加の態様では、接触はインビボで行われる。さらなる態様では、接触はインビトロで行われる。

10

【0019】

追加の実施形態では、CD47を発現する細胞を精製する方法が提供され、該方法は、細胞の集団を上記のデコイポリペプチドのいずれか1つおよび検出可能な標識と接触させる工程および検出可能な標識に結合された細胞を精製する工程を含む。

【0020】

<引用による組み込み>

本明細書で言及されるすべての公報、特許、および特許出願は、個々の公報、特許、特許出願が引用によって組み込まれるように具体的且つ個別に示される程度まで、引用によって本明細書に組み込まれる。

20

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】図1のAおよびBは、ヒトCD47に対するSIRP-ガンマ変異体GV3の結合親和性および動態の表面プラズモン共鳴ベースの測定を示す。図1のAは、使用されるSIRP-ガンマ変異体GV3の濃度が、100 pM、316 pM、1 nM、3.16 nM、10 nM、および100 nMを含んだことを示す。1:1のラングミュア結合モデルを使用すると、計算された解離定数 $K_d$ は92 pMであった。計算された解離半減期 $T_{1/2}$ は約44分であった。図1のBは、SIRP-ガンマ変異体GV3に結合されたビオチン化ヒトCD47のグラフィック図を示す。

30

【図2】図2のAおよびBは、ヒトCD47に対する、SIRP-ガンマ変異体GV3とPD-1変異体HACとの融合タンパク質であるHAC-GV3の結合親和性および動態の表面プラズモン共鳴ベースの測定を示す。図2のAは、使用されるHAC-GV3融合タンパク質の濃度が、100 pM、316 pM、1 nM、3.16 nM、10 nM、および100 nMを含んだことを示す。1:1のラングミュア結合モデルを使用すると、計算された解離定数 $K_d$ は160 pMであった。計算された解離半減期 $T_{1/2}$ は約40分であった。図2のBは、SIRP-ガンマ変異体GV3およびHACを含む融合タンパク質に結合されたビオチン化ヒトCD47のグラフィック図を示す。

【図3】図3のAおよびBは、ヒトPD-L1に対する、SIRP-ガンマ変異体GV3とPD-1変異体HACとの融合タンパク質であるHAC-GV3結合親和性および動態の表面プラズモン共鳴ベースの測定を示す。図3のAは、使用されるHAC-GV3融合タンパク質の濃度が、100 pM、316 pM、1 nM、3.16 nM、10 nM、および100 nMを含んだことを示す。1:1のラングミュア結合モデルを使用すると、計算された解離定数 $K_d$ は134 pMであった。計算された解離半減期 $T_{1/2}$ は約38分であった。図3のBは、HAC-GV3に結合されたビオチン化ヒトPD-L1のグラフィック図を示す。

40

【図4】図4のAおよびBは、HAC-GV3によるヒトCD47およびヒトPD-L1両方の同時結合の結合親和性および動態の表面プラズモン共鳴ベースの測定を示す。図4のAは、ヒトGV3単独と比較して、融合タンパク質HAC-GV3に対する結合曲線が、ビオチン化CD47への結合に対する第1のピークおよびPD-L1への結合に対する

50

第2のピークを示したことを示している。図4のBは、HAC - GV3融合タンパク質のGV3部分に結合されたビオチン化ヒトCD47のグラフィック図を示し、ここでHAC部分はPD - L1に結合される。

【図5】図5は、GV3およびHAC - GV3によるCD47 + GFP - ルシフェラーゼ + DLD1 - Tg細胞の表面上のCD47 / SIRP - アルファ相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定を示す。50 nMのビオチン化SIRP - アルファ四量体は、CD47 + 細胞の存在下で滴定濃度のGV3またはHAC - GV3のいずれかと組み合わせられた。SIRP - アルファ結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度(%MFT)は、Mにおける対数(log)濃度に対してプロットされる。

【図6】図6は、GV3およびHAC - GV3によるCD47 + PD - L1 + GFP - ルシフェラーゼ + DLD1 - Tg細胞の表面上のCD47 / SIRP - アルファ相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定を示す。50 nMのビオチン化SIRP - アルファ四量体は、CD47 + PD - L1 + 細胞の存在下で滴定濃度のGV3またはHAC - GV3のいずれかと組み合わせられた。SIRP - アルファ結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度(%MFT)は、Mにおける対数濃度に対してプロットされる。

【図7】図7は、HACおよびHAC - GV3によるヒトPD - L1 + 酵母細胞の表面上のPD - 1 / PD - L1相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定を示す。100 nMのビオチン化PD - 1四量体は、hPD - L1 + 酵母細胞の存在下で滴定濃度のGV3またはHAC - GV3のいずれかと組み合わせられた。PD - 1結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度(%MFT)は、Mにおける対数濃度に対してプロットされる。

【図8】図8は、HACおよびHAC - GV3によるCD47 + PD - L1 + GFP - ルシフェラーゼ + DLD1 - Tg細胞の表面上のPD - 1 / PD - L1相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定を示す。100 nMのビオチン化PD - 1四量体は、CD47 + PD - L1 + 細胞の存在下で滴定濃度のGV3またはHAC - GV3のいずれかと組み合わせられた。PD - 1結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度(%MFT)は、Mにおける対数濃度に対してプロットされる。

【図9】図9は、ヒト結腸癌細胞株DLD1に対するドナー由来のヒトマクロファージによる食作用のFACSベースの測定を示し、GV3ミクロボディーおよびHAC - GV3が、広範囲のオプソニン化する抗体濃度にわたって食作用を強めることを示している。食作用の評価は、抗生物質または血清を加えることなく、IMDM + GlutaMax (Life Technologies)における超低接着用の96ウェルのU底プレート(Corning)において2時間、100,000の標的細胞と50,000のマクロファージの共培養によって実行された。マクロファージは、CD14 + Whole Blood isolation kit (Miltenyi)を使用して一次ヒト単球の磁気ビーズベースの精製によって、および続くヒト血清(Gemini)を用いる7日間の培養物によって生成され;7日目に、これらの細胞は、TrypLE Express (Life Technologies)を使用してプレートから採取された。マクロファージは、製造業者の指標に従ってカルセインAMの赤色/オレンジ色の細胞染色(Life Technologies)でマークされた。標的細胞は、緑色蛍光タンパク質を安定して発現するように操作された。HGV3 (GV3mb)またはHAC - GV3の融合タンパク質の二量体化ミクロボディー形態は、10 nMの飽和濃度で反応ウェルに加えられ、一方でオプソニン化する抗体セツキシマブは、濃度の3の対数にわたって滴定された。エラーバーは、重複実験の標準偏差を表わす。高スループットのオートサンプラー(BD Biosciences)を装備したLSRFortessa Analyzer上で、反応が実行された。食作用は、FlowJo v.9.4.10 (Tree Star)を使用して分析されるように、合計のマクロファージのパーセンテージとして表わされたGFP + マクロファージとして評価され、図の説明文で示されるように正規化された。

【図10】図10は、インピボでのヒトRO動態の近似(approximation)を可能にするヒト白血病細胞を生着されたNSGマウスのための実験の概要を示す。

10

20

30

40

50

【図11A】図11Aは、HAC - GV3が、GV3と比較して、組織における優れた受容体占有率および持続性を達成することを示す。図11Aは、合計の脾細胞における受容体占有率および持続性を示す。

【図11B】図11Bは、HAC - GV3が、GV3と比較して、組織における優れた受容体占有率および持続性を達成することを示す。図11Bは、脾細胞における受容体占有率および持続性を示す。

【図11C】図11Cは、HAC - GV3が、GV3と比較して、組織における優れた受容体占有率および持続性を達成することを示す。図11Cは、ヒトCD47 + PDL1 + 細胞における受容体占有率および持続性を示す。

【図11D】図11Dは、HAC - GV3が、GV3と比較して、組織における優れた受容体占有率および持続性を達成することを示す。図11Dは、B16 - F0メラノーマ細胞における受容体占有率および持続性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0022】

デコイポリペプチドとして言及され得る、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のデコイポリペプチドおよびそれらのアナログが提供される。デコイポリペプチドは、野生型のヒトSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2タンパク質の変異体である。一実施形態において、本明細書には、可溶性のSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドが提供され、ここでポリペプチドは、膜貫通ドメインを欠き、野生型のSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2の配列に対する少なくとも1つのアミノ酸変化を含み、アミノ酸変化は、例えば、オフレート (off-rate) を、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも500倍、またはそれ以上減少させることによって、CD47に結合するSIRP - ガンマ、SIRP - ベータまたはSIRP - ベータ2のポリペプチドの親和性を増大させる。

【0023】

シグナル調節タンパク質 (SIRP) は、骨髄系細胞 (マクロファージ、顆粒球、骨髄樹状細胞およびマスト細胞を含む) および神経細胞上で発現される細胞表面糖タンパク質のファミリーを構成する。SIRPは、阻害性メンバー、活性化メンバー、非シグナル伝達のメンバー、および可溶性メンバーを包含する免疫受容体の多様な多重遺伝子族を構成する。広く発現された膜貫通糖タンパク質である、CD47は、SIRP に対する細胞リガンドとして機能し、SIRP のNH2末端の細胞外末端に結合する。SIRP の役割は、マクロファージによる宿主細胞の食作用および好中球による抗体依存性細胞毒性 (antibody-directed cellular cytotoxicity) (ADCC) におけるその阻害的役割で最もよく報告された。特に、標的細胞上で発現されたCD47による骨髄系細胞上のSIRP の結合は、食作用およびADCCを負に調節する阻害シグナルを生成する。CD47またはSIRP のいずれかに結合し、CD47 : SIRP の相互作用を拮抗させる薬剤は、特に抗体がオブソニン化した細胞の方へと、活性なマクロファージによる食作用および好中球によるADCCに作用する (Majeti et al Cell 2009, Chao et al Cell 2010, Zhang et al, Weiskopf et al Science 2013)。薬剤は、モノクローナル抗体、および可溶性CD47およびSIRP 受容体「デコイ」を含む。CD47はまた、不明瞭な機能を有するリンパ球上で発現されるSIRP とは異なる遺伝子である、SIRP - ガンマに対するリガンドである。SIRP - ベータおよびSIRP - ベータ2はまた、SIRP とは異なる遺伝子であり、SIRP との配列および構造の類似性にもかかわらず、CD47に自然に結合しない。しかしながら、変異によってそれを行うことができる (Hatherly et al, Molecular Cell 2008)。原則として、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、またはSIRP - ベータ2のスキュフォールドに基づいたデコイ受容体はまた、骨髄系細胞の食作用またはADCCを増大するためにSIRP - CD47の相互作用を拮抗することができる。S

10

20

30

40

50

I R P 細胞外ドメインが個体間で高度に多形性であるため、これらのデコイは、C D 4 7 標的治療薬としてS I R P ベースのデコイ以上に大きな利点を享受し、それ故、S I R P が組み換えの治療薬として投与される場合、免疫原性の可能性が増加する。対照的に、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、およびS I R P - ベータ2の細胞外ドメインは、広く多形性ではなく、それ故、不必要な免疫原性配列を回避する。

【0024】

幾つかの実施形態では、本明細書に記載されるS I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたはS I R P - ベータ2のポリペプチドは、病原性細胞（例えば、腫瘍細胞、ウイルスまたは細菌感染した細胞、自己反応性T細胞など）を除去するために、骨髄系細胞（例えば、マクロファージ、単球、樹状細胞、好中球など）による食作用またはA D C Cを刺激する。そのような実施形態の幾つかでは、細胞は選択的に除去され、それによって、毒性の副作用の可能性が減少する。他の実施形態では、自己免疫疾患、喘息、およびアレルギーにおけるBリンパ球またはTリンパ球、または幹細胞移植に関する造血幹細胞（H S C）などの、治療効果のための内因性細胞の除去を増強するために、同じポリペプチドが使用され得る。

10

【0025】

幾つかの実施形態では、本明細書に記載されるS I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたはS I R P - ベータ2のポリペプチドは、当該技術分野において既知の他のS I R P ポリペプチドと比較して、占有率または受容体占有率が増加した。幾つかの実施形態では、本明細書に記載されるS I R P - ガンマ、S I R P - ベータまたはS I R P - ベータ2のポリペプチドは、当該技術分野において既知の他のS I R P ポリペプチドと比較して、持続性が増加した。本明細書で使用されたような、占有率または受容体占有率は、標的細胞、標的受容体、標的タンパク質、または標的組織への結合を指す。本明細書で使用されるような持続性は、個体、被験体、または患者に投与されたときのポリペプチドの血清半減期または細胞結合半減期の両方を指す。

20

【0026】

S I R P ポリペプチドとS I R P ポリペプチド変異体

【0027】

シグナル調節タンパク質（S I R P、C D 1 7 2）は白血球機能に関与する膜タンパク質のファミリーである。S I R Pタンパク質ファミリーは、シグナル調節タンパク質ガンマ（S I R P - ガンマ、C D 1 7 2 g）、シグナル調節タンパク質ベータ（S I R P - ベータ、シグナル調節タンパク質ベータ1、C D 1 7 2 b、S I R P - ベータ1）、およびシグナル調節タンパク質ベータ2（S I R P - ベータ2、P T P N 1 L）を含む。

30

【0028】

ヒトS I R P - のアミノ酸配列はQ 9 P 1 W 8としてS W I S S - P R O Tデータベースで利用可能である。S I R P - ガンマは3つのアイソフォームを含んでいる。ヒトS I R P - ベータのアミノ酸配列は、O 0 0 2 4 1とQ 5 T F Q 8としてS W I S S - P R O Tデータベースで利用可能である。S I R P - ベータは3つのアイソフォームを含んでいる。S I R P - ベータ2のアミノ酸配列は、Q 5 J X A 9としてS W I S S - P R O Tデータベースで利用可能である。S I R P - ベータ2は3つのアイソフォームを含んでいる。

40

【0029】

本明細書で提示される実施形態の範囲内で、C D 4 7のためのデコイとして作用し、食作用を活性化する、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、およびS I R P - ベータ2ポリペプチドの変異体が企図される。いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいはS I R P - ベータ2ポリペプチドを含み、ここで、ポリペプチドは、対応する野性型S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、およびS I R P - ベータ2ポリペプチドのC D 4 7への親和性と比較して、C D 4 7に対するデコイS I R P - 、S I R P - ベータ、およびS I R P - ベータ2ポリペプチド結合の親和性を増加させるために少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。

50

## 【0030】

本明細書で使用されるように、「野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と実質的に同一の配列」とは、1つの実施形態では、配列が野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と少なくとも80%同一であることを意味する。他の実施形態では、「野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と実質的に同一の配列」とは、配列が、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と少なくとも85%同一であることを意味する。他の実施形態では、「野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と実質的に同一の配列」とは、配列が、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と少なくとも90%同一であることを意味する。他の実施形態では、「野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と実質的に同一の配列」とは、配列が、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド配列と少なくとも95%同一であることを意味する。

10

## 【0031】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるデコイポリペプチドは、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド（例えば、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2の変異体）の高親和性ホモログあるいは変異体を組み込む。これに応じて、本明細書で提示される実施形態は、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドのアミノ酸配列に同一ではないが類似している配列を有する、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドの使用を包含する。したがって、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドの配列と比較して、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、あるいは80%の配列同一性を有し、CD47に高親和性で結合するSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドの使用も実施形態の範囲内で企図される。

20

## 【0032】

いくつかの実施形態では、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド変異体は、重大ではない残基あるいは重大ではない領域の残基を変えるために保存変異を含むように修飾される。重大な意味を持たないアミノ酸は、部位特異的突然変異誘発、結晶化、核磁気共鳴、光親和性標識、あるいはアラニンスキャニング突然変異誘発（Cunningham et al., Science, 244: 1081-1085 (1989); Smith et al., J. Mol. Biol., 224: 899-904 (1992); de Vos et al., Science, 255: 306-312 (1992)）などの既知の方法によって同定される。

30

修飾されたタンパク質は、インビトロ活性あるいはインビボ活性などの方法でCD47に結合する活性または能力について検査される。

40

## 【0033】

いくつかの実施形態では、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド変異体は、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド安定性を改善する、あるいは酸化に対するSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド安定性を改善する異なる疎水性アミノ酸を用いて、あるいはプロテアーゼに対するSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドを改善する異なるアミノ酸を用いて、1、2、3、4、あるいは5つ以上のアミノ酸置換を組み込む。したがって、「変異体」SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドは、1つ

50

以上の置換、欠失、挿入、反転、切断、修飾、あるいはその組み合わせによって、野性型 S I R P - 、 S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドで表される配列とはアミノ酸配列において異なる。そのような変異体は、任意のアミノ酸を同様の特性の別のアミノ酸と置換するアミノ酸置換を随意に含んでいる。保存的置換は、脂肪族アミノ酸の間で、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンの相互交換；ヒドロキシル残基セリンとトレオニンの相互交換、酸性の残基アスパラギン酸塩とグルタミン酸塩の相互交換、アミド残基アスパラギンとグルタミンとの間の置換、塩基性残基リジンとアルギニンの相互交換、および芳香族残基フェニルアラニンとチロシンの間の相互交換を含む。Bowie et al., Science, 247:1306-1310 (1990) を参照。

10

## 【0034】

以下に詳細に記載されているように、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドは、C D 4 7 結合の特性を保持するか改善する変異体である。

## 【0035】

いくつかの実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチド変異体は、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 タンパク質のフラグメントである。いくつかの実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチド変異体は、タンパク質切断抵抗性の S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドフラグメント、または、D - アミノ酸などの 1 つ以上の非天然アミノ酸を含む、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドを含む。こうした誘導体は循環する半減期の増大という利点を有する一方で、C D 4 7 結合の有益な特性を保持する。

20

## 【0036】

別の実施形態では、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチド変異体は、デコイポリペプチドを含む。ある実施形態では、デコイポリペプチドは、配列

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVG PVLWFR  
 GVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDF SIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGS PENVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 1) を備えた S I R P - ガンマポリペプチド、あるいは野性型 S I R P - ガンマ配列と実質的に同一のポリペプチドを含む。特定の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは、M 6、V 2 7、L 3 0、L 3 1、V 3 3、V 3 6、L 3 7、V 4 2、E 4 7、Q 5 2、K 5 3、E 5 4、H 5 6、L 6 6、T 6 7、V 9 2、S 9 8、あるいは N 1 0 1 において、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、あるいは 18 のアミノ酸置換を有する。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは M 6 で置換を有し、置換は I、L、あるいは F である。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは V 2 7 で置換を有し、置換は F、I、あるいは L である。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは L 3 0 で置換を有し、置換は I、V、H、N、あるいは D である。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは L 3 1 で置換を有し、置換は F、I、あるいは V である。さらなる態様において、S I R P - ガンマポリペプチドは V 3 3 で置換を有し、置換は I、L、P、T、あるいは A である。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは V 3 6 で置換を有し、置換は I である。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは L 3 7 で置換を有し、置換は Q である。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは V 4 2 で置換を有し、置換は A である。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは E 4 7 で置換を有し、置換は V である。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは Q 5 2 で置換を有し、置換は P、L、V、A あるいは E である。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは K 5 3 で置換を有し、置換は R である。さらなる態様では、S

30

40

50

I R P - ガンマポリペプチドはE 5 4で置換を有し、置換はD、K、N、Q、あるいはHである。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドはH 5 6で置換を有し、置換はPあるいはRである。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドはL 6 6で置換を有し、置換はI、V、P、T、A、R、S、あるいはGである。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドはT 6 7で置換を有し、置換はI、N、F、S、Y、V、A、あるいはDである。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドはV 9 2で置換を有し、置換はIである。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドはS 9 8で置換を有し、置換はR、N、K、T、I、あるいはMである。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドはN 1 0 1で置換を有し、置換はK、D、E、H、あるいはQである。

10

追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは、配列

EEELQX<sub>1</sub>IQPEKLLLVTVGKTATLHCTX<sub>2</sub>TSX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>PX<sub>5</sub>GP  
X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>WFRGX<sub>8</sub>GPGRX<sub>9</sub>LIYNX<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>GX<sub>13</sub>FPRVTTV  
SDX<sub>14</sub>X<sub>15</sub>KRNNMDFSI RISSITPADVGTYYCX<sub>16</sub>KFRKKG  
X<sub>17</sub>PEX<sub>18</sub>VEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 2)を  
有し、X<sub>1</sub>はM、I、L、あるいはFであり；X<sub>2</sub>はF、I、L、あるいはVであり；X<sub>3</sub>はL、I、V、H、N、あるいはDであり；X<sub>4</sub>はF、I、L、あるいはVであり；X<sub>5</sub>はV、I、L、P、T、あるいはAであり；X<sub>6</sub>はVあるいはIであり；X<sub>7</sub>はLある  
いはQであり；X<sub>8</sub>はVあるいはAであり；X<sub>9</sub>はEあるいはVであり；X<sub>10</sub>はQ、P  
、L、V、A、あるいはEであり；X<sub>11</sub>はKあるいはRであり；X<sub>12</sub>はE、D、K、  
N、Q、あるいはHであり；X<sub>13</sub>はH、P、あるいはRであり；X<sub>14</sub>はL、I、V、  
P、T、A、R、S、あるいはGであり；X<sub>15</sub>はT、I、N、F、S、Y、V、A、あ  
るいはDであり；X<sub>16</sub>はVあるいはIであり；X<sub>17</sub>はS、R、N、K、T、I、ある  
いはMであり；および、X<sub>18</sub>はN、K、D、E、H、あるいはQである。追加の態様で

20

は、デコイポリペプチドは、配列

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVWFR  
GVGPGRVLIYNQRQGPFPFRVTTVSDTTKRNNMDFSI RISS  
ITPADVGTYYC IKFRKGS PENVEFKSGPGTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 3)を有する。

さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペプチドは、配列

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQRDGPFPFRVTTVSDGT KRNNMDFSI RISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGT PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 4)を有する。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチ  
ドは、配列

30

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQRDGHFPRVTTVSDGT KRNNMDFSI RISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 5)を有する。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペプチ  
ドは、配列

40

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQRDGHFPRVTTVSDGT KRNNMDFSI RISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 6)を有する。さらなる態様では、S I R P - ガンマポリペ  
チドは、配列

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGPFPFRVTTVSDGT KRNNMDFSI RISS  
ITPADVGTYYC IKFRKGT PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 7)を有する。追加の態様では、S I R P - ガンマポリペ  
チドは以下配列の1つを有する：

50

H L i b 1 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSHFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHPFRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 8);

H L i b 2 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGT PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 9);

10

H L i b 3 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVLWFR  
GVGPGRVLIYNQRQGPFPFRVTTVSDTTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGT PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 10);

H L i b 4 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRELIYNAREGRFPFRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 11);

20

H M L i b 1 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRQGPFPFRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGN  
ITPADAGTYYCIKFRKGS PDDVEFKSGAGTELSVRAKPS  
(SEQ ID NO: 12);

H M L i b 2 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVLWFR  
GVGPGRVLIYNQRQGPFPFRVTTVSDTTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGS PENVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 3);

30

H M L i b 3 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQREGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 13);

H M L i b 4 :

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVGPVLWFR  
GVGPGRELIYNQKEGHFPFRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGS PENVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 42);

40

H M L i b 5 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGI PEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 14);

H M L i b 6 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGPFPFRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGI PEDVEFKSGPGTXWH (SEQ I  
D NO: 15)、ここで、XはA、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、

50

M、F、P、S、T、W、Y、あるいはVである；

HMLib7：

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGTPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 16)；

MLib1：

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLLPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQRDGFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGTPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 17)；

10

MLib2：

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTLTSLLPVGP I LWFR  
GVGPGRVLIYNQRDGFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGNPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 18)；

MLib3：

EEELQLIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPPGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGIPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 19)；

20

MLib4：

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 20)；

MLib5：

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFP I GP I LWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 21)；

30

MLib6：

EEELQMIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 22)；

MLib7：

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 23)；

40

MLib8：

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGTPEDEVFKSGPGTEMALXAKPS  
(SEQ ID NO: 24)；

あるいは、GV1.2：

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQREGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 25)；

50

(SEQ ID NO: 13)。

【0037】

追加の実施形態では、デコイポリペプチドは、配列

EDELQVIQPEKSVSVAAGESATLRCA M T S L I P V G P I M W F R  
GAGAGRELIYNQKEGHFPRVTTVSELTKRNNLDFSSISIN  
ITPADAGTY Y C V K F R K G S P D D V E F K S G A G T E L S V R A K P S

(SEQ ID NO: 25)を備えたSIRP-ベータポリペプチドを含む。特定の  
態様では、SIRP-ベータポリペプチドは、野性型SIRP-ベータポリペプチドと少  
なくとも90%同一である。追加の態様では、SIRP-ベータポリペプチドは、V6、  
M27、I31、M37、E47、K53、E54、H56、L66、あるいはV92に  
おいてアミノ酸置換を有する。さらなる態様では、SIRP-ベータポリペプチドはV6  
で置換を有し、置換はIである。追加の態様では、SIRP-ベータポリペプチドはM2  
7で置換を有し、置換はIである。さらなる態様では、SIRP-ベータポリペプチドは  
I31で置換を有し、置換はFである。追加の態様では、SIRP-ベータポリペプチド  
はM37で置換を有し、置換はQである。さらなる態様では、SIRP-ベータポリペ  
プチドはE47で置換を有し、置換はVである。追加の態様では、SIRP-ベータポリ  
ペプチドはK53で置換を有し、置換はRである。さらなる態様では、SIRP-ベータ  
ポリペプチドはE54で置換を有し、置換はQである。追加の態様では、SIRP-ベータ  
ポリペプチドはH56で置換を有し、置換はPである。さらなる態様では、SIRP-ベ  
ータポリペプチドはL66で置換を有し、置換はTである。追加の態様では、SIRP-  
ベータポリペプチドはV92で置換を有し、置換はIである。さらなる態様では、SIR  
P-ベータポリペプチドは、配列

EDELQIIQPEKSVSVAAGESATLRCAITSLFPVGP IQWFR  
GAGAGRVL IYNQRQGPFRVTTVSETTKRNNLDFSSISIN  
ITPADAGTY Y C I K F R K G S P D D V E F K S G A G T E L S V R A K P S

(SEQ ID NO: 26)を有する。さらなる態様では、SIRP-ベータポリ  
ペプチドは、配列

EDELQX<sub>1</sub>IQPEKSVSVAAGESATLRCA X<sub>2</sub>TSLX<sub>3</sub>PVGP I X  
<sub>4</sub>WFRGAGAGR X<sub>5</sub>LIYNQX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>G X<sub>8</sub>FPRVTTVSEX<sub>9</sub>TKRNN  
LDFSSISINITPADAGTY Y C X<sub>10</sub>KFRKGS PDDVEFKSGAG  
TELSVRAKPS (SEQ ID NO: 45)を有し、X<sub>1</sub>はVあるいはIで  
あり；X<sub>2</sub>はMあるいはIであり；X<sub>3</sub>はIあるいはFであり；X<sub>4</sub>はMあるいはQであ  
り；X<sub>5</sub>はEあるいはVであり；X<sub>6</sub>はKあるいはRであり；X<sub>7</sub>はEあるいはQであり  
；X<sub>8</sub>はHあるいはPであり；X<sub>9</sub>はLあるいはTであり；および、X<sub>10</sub>はVあるいは  
Iである。

【0038】

さらなる実施形態では、デコイポリペプチドは、配列EEELQVIQPDK S I S V  
AAGESATLHCTVTS L I P V G P I Q W F R G A G P G R E L I Y N Q K E G  
H F P R V T T V S D L T K R N N M D F S I R I S N I T P A D A G T Y Y C V K F R  
K G S P D H V E F K S G A G T E L S V R A K P S (SEQ ID NO: 27)を備  
えたSIRP-ベータ2ポリペプチドを含む。特定の態様では、SIRP-ベータ2ポリ  
ペプチドは野性型SIRP-ベータ2ポリペプチドと少なくとも90%同一である。追加  
の態様では、SIRP-ベータ2ポリペプチドは、V6、V27、I31、E47、K5  
3、E54、H56、L66、V92、あるいはH101でアミノ酸置換を有する。さら  
なる態様では、SIRP-ベータ2ポリペプチドはV6で置換を有し、置換はIである。  
追加の態様では、SIRP-ベータ2ポリペプチドはV27で置換を有し、置換はIであ  
る。さらなる態様では、SIRP-ベータ2ポリペプチドはI31で置換を有し、置換は  
Fである。追加の態様では、SIRP-ベータ2ポリペプチドはE47で置換を有し、置  
換はVである。さらなる態様では、SIRP-ベータ2ポリペプチドはK53で置換を有  
し、置換はRである。追加の態様では、SIRP-ベータ2ポリペプチドはE54で置換

を有し、置換はQである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはH56で置換を有し、置換はPである。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはL66で置換を有し、置換はTである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはV92で置換を有し、置換はIである。追加の態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドはH101で置換を有し、置換はDである。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドは、配列E E E L Q I I Q P D K S I S V A A G E S A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R G A G P G R V L I Y N Q R Q G P F P R V T T V S D T T K R N N M D F S I R I S N I T P A D A G T Y Y C I K F R K G S P D D V E F K S G A G T E L S V R A K P S (SEQ ID NO: 28)を有する。さらなる態様では、SIRP - ベータ2ポリペプチドは、配列

E E E L Q X<sub>1</sub> I Q P D K S I S V A A G E S A T L H C T X<sub>2</sub> T S L X<sub>3</sub> P V G P I Q W F R G A G P G R X<sub>4</sub> L I Y N Q X<sub>5</sub> X<sub>6</sub> G X<sub>7</sub> F P R V T T V S D X<sub>8</sub> T K R N N M D F S I R I S N I T P A D A G T Y Y C X<sub>9</sub> K F R K G S P D X<sub>10</sub> V E F K S G A G T E L S V R A K P S (SEQ ID NO: 46)を有し、X<sub>1</sub>がVあるいはIであり；X<sub>2</sub>はVあるいはIであり；X<sub>3</sub>はIあるいはFであり；X<sub>4</sub>はEあるいはVであり；X<sub>5</sub>はKあるいはRであり；X<sub>6</sub>はEあるいはQであり；X<sub>7</sub>はHあるいはPであり；X<sub>8</sub>はLあるいはTであり；X<sub>9</sub>はVあるいはIであり；および、X<sub>10</sub>はHあるいはDである。

#### 【0039】

いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは、結合パートナーあるいはリガンドに対するCD47の結合を妨害する。特定の態様では、結合パートナーあるいはリガンドは、SIRP alpha (SIRPA)、SIRP gamma (SIRPG)、あるいは thrombospondin-1 (TSP-1、THBS1)の1つ以上を含む。

#### 【0040】

いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは細胞に結合する。特定の態様において、細胞に対するデコイポリペプチドの結合は、専門の食細胞（例えば単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、あるいはマスト細胞）、非専門の食細胞（例えば上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、あるいは間葉細胞）、あるいはその両方などの食細胞による細胞の食作用を活性化し、可能にし、誘発し、あるいは引き起こす。追加の態様では、細胞は、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、自己反応T細胞またはB細胞などの自己反応細胞、あるいは損傷を受けた赤血球、動脈プラーク、または繊維症組織などの身体中の他の望ましくないか病原性の細胞または組織である。追加の態様では、細胞は、造血幹細胞、健康な骨髄性かリンパ性の前駆細胞、あるいはT、B、形質、またはNK細胞などの健康な分化造血細胞タイプなどの健康な正常細胞である。

#### 【0041】

いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドはキメラまたは融合タンパク質である。特定の態様では、デコイポリペプチドは、免疫グロブリンFc配列、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、ビオチン、HISタグ、MYCタグ、FLAG、あるいは他のポリペプチド配列に融合される。いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは、PD-1 (PDCD1)、PD-L1 (CD274)、PD-L2 (PDCD1LG2)、CTLA4、TIM3 (HAVCR2)、CEACAM1、LAG3、BTLA、TNFRSF14、TIGIT、PVR、LIGHT、IL2、IL12A、IL15、IL10、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LILRA1、LILRA2、LILRA3、LILRA4、LILRA5、LILRA6、CD40、CD40L、OX40、OX40L、CD137 (4-1BB、TNFRSF9)、TNFSF9 (4-1BBL)、B7-H4 (VCTN1)、SIRPA、CD47、CD33、CD44、C5、C3、あるいは他のタンパク質の野性型サブユニットに融合される。いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは、PD-1 (PDCD1)、PD-L1 (CD274)、PD-L2 (PDCD1LG2)、CTLA4、TIM3 (HAVCR2)、CEACAM1、LAG3、BTLA、TNFRSF14、TIGIT、P

10

20

30

40

50

VR、LIGHT、IL2、IL12A、IL15、IL10、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LILRA1、LILRA2、LILRA3、LILRA4、LILRA5、LILRA6、CD40、CD40L、OX40、OX40L、CD137(4-1BB、TNFRSF9)、TNFSF9(4-1BBL)、B7-H4(VCTN1)、SIRPA、CD47、CD33、CD44、C5、C3、あるいはそれぞれのリガンドとの高親和性結合のために操作された他の免疫制御タンパク質の変異体であるサブユニットに融合される。いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは、PD-1(PDCD1)、PD-L1(CD274)、PD-L2(PDCD1LG2)、CTLA4、TIM3(HAVCR2)、CEACAM1、LAG3、BTLA、TNFRSF14、TIGIT、PVR、LIGHT、IL2、IL12A、IL15、IL10、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LILRA1、LILRA2、LILRA3、LILRA4、LILRA5、LILRA6、CD40、CD40L、OX40、OX40L、CD137(4-1BB、TNFRSF9)、TNFSF9(4-1BBL)、B7-H4(VCTN1)、SIRPA、CD47、CD33、CD44、C5、C3、あるいはそれぞれのリガンドとの親和性結合を減少させるために操作された他のタンパク質の変異体であるサブユニットに融合される。いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは、PD-1(PDCD1)、PD-L1(CD274)、PD-L2(PDCD1LG2)、CTLA4、TIM3(HAVCR2)、CEACAM1、LAG3、BTLA、TNFRSF14、TIGIT、PVR、LIGHT、IL2、IL12A、IL15、IL10、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LILRA1、LILRA2、LILRA3、LILRA4、LILRA5、LILRA6、CD40、CD40L、OX40、OX40L、CD137(4-1BB、TNFRSF9)、TNFSF9(4-1BBL)、B7-H4(VCTN1)、SIRPA、CD47、CD33、CD44、C5、C3、あるいはその天然のリガンドに加えて追加のリガンドとの結合親和性を変化させるために操作された他のタンパク質の変異体であるサブユニットに融合される。追加の態様では、デコイポリペプチドは、抗CD20抗体、抗EGFR抗体、抗Her2/Neu(ERBB2)抗体、抗EPCAM抗体、抗GL2抗体、抗GD2、抗GD3、抗CD2、抗CD3、抗CD4、抗CD8、抗CD19、抗CD22、抗CD30、抗CD33、抗CD45、抗CD47、抗CD52、抗CD56、抗CD70、抗CD117、抗SIRPA抗体、抗CD47抗体、抗LILRB1抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、あるいは腫瘍細胞、ウイルス感染細胞あるいは細菌感染細胞、免疫細胞、あるいは健康な正常細胞、またはサイトカイン、ケモカイン、あるいは任意の種類ホルモンへ結合するように設計された任意の抗体などのモノクローナル抗体に融合されるか、あるいは該モノクローナル抗体と組み合わせて投与される。

#### 【0042】

いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは、多量体形態のSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドを含む。特定の態様では、デコイポリペプチドは二量体、三量体、四量体、五量体、あるいは他の多量体を含む。他の実施形態では、デコイポリペプチドは単量体形態のSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドを含む。

#### 【0043】

いくつかの実施形態では、デコイポリペプチドは検出可能な標識を含む。特定の態様では、検出可能な標識は、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)、アルカリフォスファターゼ(AP)、あるいはグルコースオキシダーゼなどの酵素標識を含む。追加の態様では、検出可能な標識は、Alexa Fluor(登録商標)350、Alexa Fluor(登録商標)405、Alexa Fluor(登録商標)488、Alexa Fluor(登録商標)532、Alexa Fluor(登録商標)546、Alexa Fluor(登録商標)555、Alexa Fluor(登録商標)568、Alexa Fluor(登録商標)594、Alexa Fluor(登録商標)647、A

l e x a F l u o r ( 登 録 商 標 ) 6 8 0 、 A l e x a F l u o r ( 登 録 商 標 ) 7 5 0  
 、 B O D I P Y ( 登 録 商 標 ) F L 、 ク マ リ ン 、 C y ( 登 録 商 標 ) 3 、 C y ( 登 録 商 標 ) 5  
 、 フ ル オ レ セ イ ン ( F I T C ) 、 O r e g o n G r e e n ( 登 録 商 標 ) 、 P a c i f i c  
 B l u e ( 商 標 ) 、 P a c i f i c G r e e n ( 商 標 ) 、 P a c i f i c O r a  
 n g e ( 商 標 ) 、 テ ト ラ メ チ ル ロ ー ダ ミ ン ( T R I T C ) 、 T e x a s R e d ( 登 録 商  
 標 ) 、 あ る い は 他 の 蛍 光 標 識 な の 蛍 光 標 識 を 含 む 。 さ ら な る 態 様 で は 、 検 出 可 能 な 標 識  
 は 、 C y c l e n 、 C y c l a m 、 D O 2 A 、 D O T P 、 D O T M A 、 T E T A 、 D O T  
 A M 、 C B - T 2 A 、 D O T A 、 あ る い は N O T A な の キ レ ー ト 化 群 を 含 む 。 さ ら な る  
 態 様 で は 、 検 出 可 能 な 標 識 は 、 <sup>3</sup> <sup>2</sup> P 、 <sup>3</sup> <sup>3</sup> P 、 <sup>3</sup> H 、 <sup>1</sup> <sup>4</sup> C 、 <sup>1</sup> <sup>2</sup> <sup>5</sup> I 、 <sup>1</sup> <sup>8</sup> F 、 <sup>6</sup> <sup>8</sup>  
 G a 、 <sup>6</sup> <sup>4</sup> C u 、 <sup>8</sup> <sup>9</sup> Z r 、 <sup>1</sup> <sup>1</sup> C 、 <sup>1</sup> <sup>3</sup> N 、 <sup>1</sup> <sup>5</sup> O 、 <sup>6</sup> <sup>2</sup> C u 、 <sup>1</sup> <sup>2</sup> <sup>4</sup> I 、 <sup>7</sup> <sup>6</sup> B r 、  
<sup>8</sup> <sup>2</sup> R b 、 あ る い は 他 の 放 射 性 同 位 体 な の 放 射 性 同 位 体 を 含 む 。

10

## 【 0 0 4 4 】

追 加 の 実 施 形 態 で は 、 デ コ イ ポ リ ペ プ チ ド は 融 合 ま た は キ メ ラ ポ リ ペ プ チ ド で あ る 。 追  
 加 の 実 施 形 態 で は 、 デ コ イ ポ リ ペ プ チ ド は 、 免 疫 チ ェ ッ ク ポ イ ン ト 阻 害 剤 、 共 刺 激 的 分 子  
 、 あ る い は サ イ ト カ イ ン ま た は 減 衰 サ イ ト カ イ ン を 含 む ポ リ ペ プ チ ド 配 列 に 融 合 さ れ た S  
 I R P - ガ ン マ ポ リ ペ プ チ ド 配 列 を 含 む 、 こ こ で 、 配 列 は 可 変 長 さ の G l y - S e r リ ン  
 カ ー と 組 成 物 に よ っ て 接 続 さ れ る 。 例 え ば 、 リ ン カ ー 配 列 は 配 列 G G G G S G G G G S  
 ( S E Q I D N O : 2 9 ) を 含 む 。 N ま た は C 末 端 の 2 つ の ポ リ ペ プ チ ド 配 列 の 順  
 序 は 変 え る こ と が で き る 。 追 加 の 実 施 形 態 で は 、 デ コ イ ポ リ ペ プ チ ド は 多 特 異 性 の 高 親 和  
 性 の S I R P - 薬 剤 で あ る 。 さ ら な る 実 施 形 態 で は 、 デ コ イ ポ リ ペ プ チ ド は 以 下 の 配 列  
 の 1 つ を 含 む :

20

## 1 ) 免 疫 の チ ェ ッ ク ポ イ ン ト 阻 害 剤 と の 融 合

## a . P D - 1 / P D - L 1 ア ン タ ゴ ニ ス ト

例 : H A C - G V 3 ( G V 3 に 融 合 し た 高 親 和 性 P D - 1 デ コ イ )

D S P D R P W N P P T F S P A L L V V T E G D N A T F T C S F S N T S E S F H V  
 V W H R E S P S G Q T D T L A A F P E D R S Q P G Q D A R F R V T Q L P N G R D  
 F H M S V V R A R R N D S G T Y V C G V I S L A P K I Q I K E S L R A E L R V T  
 E R G G G G S G G G G S E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T  
 S L F P V G P I Q W F R G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K  
 R N N M D F S I R I S S I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P  
 G T E M A L G A K P S ( S E Q I D N O : 3 0 ) ;

30

## b . B T L A / C D 1 6 0 ア ン タ ゴ ニ ス ト

例 : G V 3 - B T L A デ コ イ

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R  
 G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
 I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G  
 G G G S G G G G S W N I H G K E S C D V Q L Y I K R Q S E H S I L A G D P F E L  
 E C P V K Y C A N R P H V T W C K L N G T T C V K L E D R Q T S W K E E K N I S  
 F F I L H F E P V L P N D N G S Y R C S A N F Q S N L I E S H S T T L Y V T D V  
 K ( S E Q I D N O : 3 1 ) ;

40

## c . ホ ス ファ チ ジ ル セ リ ン ア ン タ ゴ ニ ス ト

例 : G V 3 - M F G E 8 デ コ イ

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R  
 G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
 I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G  
 G G G S G G G G S E L N G C A N P L G L K N N S I P D K Q I T A S S S Y K T W G  
 L H L F S W N P S Y A R L D K Q G N F N A W V A G S Y G N D Q W L Q V D L G S S  
 K E V T G I I T Q G A R N F G S V Q F V A S Y K V A Y S N D S A N W T E Y Q D P  
 R T G S S K I F P G N W D N H S H K K N L F E T P I L A R Y V R I L P V A W H N  
 R I A L R L E L L G C ( S E Q I D N O : 3 2 ) ;

50

例：GV3 - Tim1デコイ

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEFEKSGPGTEMALGAKPSG  
GGGSGGGGSSVAGSVKVGGEAGPSVTLPC HYSGAVTSMCWN  
RGSCSLFTCQNGI VWTNGTHVTYRKDTRYKLLGDL SRRDV  
SLTIENTAVSDSGVYCCRVEHRGWFN DMKITVSL EIVPPK  
VTT (SEQ ID NO: 33);

例：GV3 - Tim3デコイ

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEFEKSGPGTEMALGAKPSG  
GGGSGGGGSSSEVEYRAEVGQNA YLPCFYTPAAPGNLVPVC  
WGKGACPVFE CGNVVLR TDERDVNYWTSRYWLN GDFRKG D  
VSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFN LKLV IKPA  
KVTPA (SEQ ID NO: 34);

10

例：GV3 - Tim4デコイ

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEFEKSGPGTEMALGAKPSG  
GGGSGGGGSGTSETVVTEVLGHRVTLPC LYS SWSHNSNSMC  
WGKDQCPYSGCKEALIRTDGMRVTSRKS AKYRLQGTIPRG  
DVS LTI LN PSESDSGVYCCRIEVP GWFNDVKINVR LNLQR  
ASTTTDEKFN LKLV IKPAKVTPA (SEQ ID NO: 35);

20

2) 共刺激分子との融合

a. CD40アゴニスト

例：GV3 - CD40L

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEFEKSGPGTEMALGAKPSG  
GGGSGGGGSGDQNPQIAAHVISEASSKTTSVLQWAEKGY Y  
TMSNNLV TLENGKQLTVKRQGLYYIYAQVTFCSNREASSQ  
APFIASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQS IHLG  
GVFELQPGASVFNVTDP SQVSHGTGFTSFGLLKL (SEQ  
ID NO: 36);

30

b. 41BB (CD137)アゴニスト

例：GV3 - 41BBL

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEFEKSGPGTEMALGAKPSG  
GGGSGGGGSDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY  
SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQME LR  
RVVAGEGSGSVSLALHLMPLRSAAGAAALALTVDLPPASS  
EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ  
GATV LGLFRVTPEIPA (SEQ ID NO: 37);

40

3) サイトカインと減衰サイトカインとの融合：

例：GV3 - IL2

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEFEKSGPGTEMALGAKPSG

50

GGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY  
 KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEEELKPLEEVLN  
 LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSSETTFMCEYADET  
 ATIVEFLNRWITFCQSIISTLT (SEQ ID NO: 38);  
 例: GV3 - IL2 (突然変異F42A/D20Tを備えた「弱められた」サイトカイン)

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVFKSGPGTEMALGAKPSG  
 GGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLTLMILNGINNY  
 KNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLCLEEEELKPLEEVLN  
 LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEELKGSSETTFMCEYADET  
 ATIVEFLNRWITFCQSIISTLT (SEQ ID NO: 39)

SIRPポリペプチド修飾

【0045】

SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチド変異体は誘導体あるいはアナログを包含し、ここで、(i)アミノ酸は、遺伝子コードによってコード化されたものではないアミノ酸残基で置換され、(ii)成熟ポリペプチドはポリエチレングリコールなどの別の化合物と融合され、あるいは、(iii)追加のアミノ酸は、リーダーまたは分泌配列、あるいはポリペプチドの精製のための配列などのSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドに融合される。

【0046】

典型的な修飾としては、限定されないが、アセチル化、アシル化、ADPリボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドあるいはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、システインの形成、ピログルタミン酸の形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化(selenoylation)、硫酸化、アルギニル化などのアミノ酸のタンパク質への転移RNA媒介性の添加、およびユビキチン化が挙げられる。

【0047】

修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖、およびアミノまたはカルボキシル末端を含む、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドのいかなる場所でも行われる。

SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドの修飾に役立つ特定の共通したペプチド修飾は、共有結合修飾とADPリボシル化による、グリコシル化、脂質結合、硫酸化、グルタミン酸残基のガンマ - カルボキシル化、ポリペプチド中のヒドロキシル化、アミノあるいはカルボキシル基の封鎖 あるいはその両方を含む。

【0048】

さらに、コア配列の1つ以上のアミノ酸は、必要なCD47結合が維持されるか増やされるような保存的な手法で変えられる。典型的な置換はアミノ酸の以下の群の中でなされる: (a) G、A、V、L、およびI; (b) GおよびP; (c) S、C、T、M; (d) F、Y、およびW; (e) H、K、およびR; および、(f) D、E、N、およびQ。他の置換は以下の群を含む: (i) SおよびT; (ii) PおよびG; (iii) A、V、L、およびI。

【0049】

10

20

30

40

50

さらに、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドの修飾が本明細書で提供される実施形態の範囲内で企図される、ここで、ポリペプチドは別のポリペプチドに結合され、ポリペプチドは別のポリペプチドとは正常結合していない（例えば、グルタチオンSトランスフェラーゼ（GST） - 融合タンパク質、ベータ - ガラクトシダーゼ融合、酵母2 - ハイブリッドGAL融合、ポリ - His融合、Ig融合など）。したがって、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドは、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドと実質的に同族でないアミノ酸配列を有する異種ポリペプチドに、そのN末端またはC末端のいずれかで、随意に動作可能に結合される。「動作可能に結合される」とは、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドと異種ポリペプチドが両方ともインフレームであることを示す。こうした融合タンパク質は、CD47と結合するというSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチド、またはその機能的な変異体の能力を変える（例えば、増強し、弱める）ことがある。こうした融合タンパク質はさらに、ヒト患者または実験動物において、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドの薬物動態学的半減期を変える（増強し、弱める）ことがある。融合タンパク質はさらに、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドが食作用とADCCを含む骨髄性細胞活性に対して与える活性を変えることがある。

10

#### 【0050】

親和性

20

対象として、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2デコイポリペプチドは、野性型SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドのCD47への親和性と比較して、および/または、野性型SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチド（上に定義されるような野性型SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチド）の対応する配列に対するアミノ酸変化を持たないSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2ポリペプチドのCD47への親和性と比較して、CD47への親和性がより高い。

#### 【0051】

いくつかの実施形態では、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2デコイポリペプチドは、CD47への $1 \times 10^{-7}$  M以下（例えば、 $10^{-8}$  M以下、 $10^{-9}$  M以下、 $10^{-10}$  M以下、 $10^{-11}$  M以下、 $10^{-12}$  M以下、 $10^{-13}$  M以下、 $10^{-14}$  M以下、 $10^{-15}$  M以下、あるいは $10^{-16}$  M以下）親和性Kdを有する。場合によっては、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2デコイポリペプチドは、1 fMから1  $\mu$ M（例えば、1 fMから800 nMまで、10 fMから500 nMまで、100 fMから100 nMまで、500 fMから50 nMまで、800 fMから50 nMまで、1 pMから50 nMまで、10 pMから50 nMまで、50 pMから50 nMまで、100 pMから50 nMまで、500 fMから100 nMまで、800 fMから100 nMまで、1 pMから100 nMまで、10 pMから100 nMまで、50 pMから100 nMまで、あるいは100 pMから100 nMまで）の範囲でCD47への親和性を有する。場合によっては、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2デコイポリペプチドは、1  $\mu$ M以上（例えば800 nM以上、500 nM以上、200 nM以上、100 nM以上、50 nM以上、10 nM以上、1 nM以上、900 pM以上、750 pM以上、500 pM以上、200 pM以上、100 pM以上、10 pM以上、1 pM以上など。親和性は値が減少すると増加する）の親和性でCD47に結合する。

30

40

#### 【0052】

いくつかの実施形態では、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2デコイポリペプチドは、野性型SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、あるいはSIRP - ベータ2タンパク質のCD47への親和性よりも、2倍以上（例えば5倍以上

50

、10倍以上、100倍以上、500倍以上、1000倍以上、5000倍以上、 $10^4$ 倍以上、 $10^5$ 倍以上、 $10^6$ 倍以上、 $10^7$ 倍以上、 $10^8$ 倍以上) ; および/または、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド(例えば、上に定義されるような野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド)の対応する配列に対するアミノ酸変化を有していないSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドのCD47への親和性よりも、2倍以上(例えば、5倍以上、10倍以上、100倍以上、500倍以上、1000倍以上、5000倍以上、 $10^4$ 倍以上、 $10^5$ 倍以上、 $10^6$ 倍以上、 $10^7$ 倍以上、 $10^8$ 倍以上など)大きなCD47への親和性を有する。

#### 【0053】

いくつかの実施形態では、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドは、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2タンパク質のCD47の解離半減期よりも2倍以上(例えば、5倍以上、10倍以上、100倍以上、500倍以上、1000倍以上、5000倍以上、 $10^4$ 倍以上、 $10^5$ 倍以上、 $10^6$ 倍以上、 $10^7$ 倍以上、 $10^8$ 倍以上など) ; および/または、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド(例えば、上に定義されるような野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチド)の対応する配列に対するアミノ酸変化を有していないSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドのCD47の解離半減期よりも2倍以上(例えば、5倍以上、10倍以上、100倍以上、500倍以上、1000倍以上、5000倍以上、 $10^4$ 倍以上、 $10^5$ 倍以上、 $10^6$ 倍以上、 $10^7$ 倍以上、 $10^8$ 倍以上など)大きなCD47の解離半減期を有する。例えば、場合によっては、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド(上に定義されるような)は、1秒未満のCD47の解離半減期を有するが、その一方で、対象のSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドは、5秒以上(例えば、30秒以上、1分以上、5分以上、10分以上、20分以上、30分以上、40分以上など)の解離半減期を有し得る。例えば、被験体SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドのアミノ酸置換は、オフ率を少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも500倍、またはそれ以上減少させることにより、親和性を増加させることができる。

#### 【0054】

CD47と結合する親和性は、アッセイプレート上で覆われた ; 微生物細胞表面上で表示される ; 溶液中 ; など、CD47に結合するというSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2 decoyポリペプチドの能力によって決定され得る。本開示のSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドのCD47に対する結合活性は、ビーズ、基質、細胞などに、リガンド(例えばCD47)またはSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドを固定することにより分析可能である。薬剤は、所定の温度で一定の期間インキュベートされた適切な緩衝液と結合パートナーに加えることができる。未結合材料を取り除くために洗浄した後、結合タンパク質は、例えば、SDS、高いpHの緩衝液などで放出可能であり、例えば、表面プラズモン共鳴(SPR)によって分析可能である。

#### 【0055】

結合は、例えば、CD47に結合するために、標識されたSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド(例えば上に定義されるような標識された野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド)と競争するという標識されていないSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドの能力を測定することによって、決定され得る。これに応じて、相対的な結合は、候補標識されていないSIRP-ガンマ、SIRP

10

20

30

40

50

- ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドを使用した結果と、標識されていない野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド(上で定義されるように、野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2の対応する配列に対するアミノ酸変化を有していない野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチド)を使用した結果を比較することにより評価され得る。

#### 【0056】

対象のSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドを生成するために、任意の便利な方法を使用することができる。1つの非限定的な例として、突然変異誘発は、突然変異したSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドの収集物を生成するために(野性型SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチドから始めて、または、さらに大きな親和性を備えたポリペプチドを生成する目的で、SIRP-、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドから始めて)行うことが可能である。突然変異誘発は特定のアミノ酸で変化をもたらすために標的とされ得るか、あるいは、突然変異誘発は無作為であり得る。その後、突然変異したSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドは、CD47タンパク質と結合する能力について調べられる。例えば、CD47タンパク質(あるいはCD47タンパク質、例えば、膜貫通ドメインを欠くバージョン)は(例えば放射性同位元素、蛍光性部分などの直接標識で;あるいは、抗原、親和性タグ、ビオチンなどの間接標識で)標識可能であり、その後、候補SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチド(例えば、候補SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドは固体表面に結合可能であるか、あるいは細胞(例えば酵母菌)の細胞膜に表示可能である)に接触させるために使用可能である。使用されるCD47の濃度を変えることによって、当業者は、候補の中から(つまり、突然変異したSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドの収集物の中から)高親和性のSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2デコイポリペプチドを同定することができる。

#### 【0057】

##### 治療法

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるデコイポリペプチド(例えば、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、あるいはSIRP-ベータ2ポリペプチド変異体)の投与を含む、個体の免疫系を刺激するための方法と使用が本明細書で提供される。いくつかの例において、本明細書に記載されるデコイポリペプチドの投与は、CD47を発現する細胞の食作用を誘発し、および/または保持する。他の例において、本明細書に記載されるデコイポリペプチドの投与は、CD47を発現しない細胞の食作用を誘発し、および/または保持する。いくつかの例では、細胞は癌細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、自己反応性のTまたはB細胞、損傷を受けた赤血球、動脈プラーク、あるいは繊維症の組織である。さらなる例では、細胞は、細胞は、造血幹細胞、健康な骨髄性かリンパ性の前駆細胞、あるいはT、B、形質、またはNK細胞などの健康な分化造血細胞タイプなどの健康な正常細胞である。

#### 【0058】

さらに、本明細書に記載されるデコイポリペプチドの投与を含む、個体における癌の処置のための方法と使用も本明細書で提供される。そのような実施形態のいくつかでは、個体は癌に苦しんでいる。他の実施形態では、個体は癌に苦しんでいる疑いがある。さらに他の実施形態では、個体は、癌の素因がある(例えば乳癌の素因がある個体)。ある実施形態では、癌は、乳癌、肺癌、肺の腺癌、扁平上皮細胞肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、頭頸部癌、脳癌、腹部の癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、副咽頭癌、消化器癌、神経膠腫、肝臓癌、口腔癌、舌癌、神経芽腫、骨肉腫、卵巣癌、腎癌、膀胱癌、尿路癌、膵癌、網膜芽細胞腫、子宮頸部癌、子宮癌、ウィルムス腫瘍、多発性骨髄腫、皮膚癌、リンパ

10

20

30

40

50

腫、白血病、血液癌、甲状腺癌、骨癌、腺様嚢胞腫瘍、軟骨肉腫、膵島細胞腫瘍、神経内分泌腫瘍、前立腺癌、卵巣癌、神経膠芽腫、子宮内膜癌、子宮内膜癌、平滑筋肉腫、胆嚢癌、肝細胞癌、血液の癌、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、急性の/慢性のリンパ芽球性白血病、ヘアリーセル白血病、濾胞性リンパ腫、多発性骨髄腫、形質細胞腫、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、癌は血液の癌である。特定の態様では、癌は多発性骨髄腫、急性/慢性骨髄性白血病、急性の/慢性のリンパ芽球性白血病、ヘアリーセル白血病、濾胞性リンパ腫、多発性骨髄腫、形質細胞腫、あるいはびまん性大細胞型B細胞性リンパ腫である。

【0059】

いくつかの実施形態では、限定されないが、急性骨髄性白血病（AML）、急性の白血球性白血病（ALL）、ホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンBリンパ腫細胞（NHBC）、慢性の白血球性白血病（B-CLL）、多発性骨髄腫（MM）、膵臓腺癌、膵神経内分泌腫瘍（PanNET）、神経膠腫、髄芽腫、星細胞腫、前立腺癌、骨肉腫、小細胞肺癌（SCLC）、非小細胞肺癌（NSCLC）、黒色腫、扁平上皮細胞頭頸部癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、結腸癌、腎癌、および膀胱癌を含む癌が、CD47の発現に関連している。いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍に関連している。ある例では、固形腫瘍は進行性であり、例えばステージ3あるいは4である。ある例では、固形腫瘍はCD47の発現に組織学的に関連している。

10

【0060】

本明細書で使用されるように、いくつかの実施形態では、「処置」あるいは「処置すること」あるいは「処置された」とは、望ましくない生理的な疾患、障害、または疾患を遅らせること、あるいは、有益なまたは望ましい臨床結果を得ることを目的とする治療的処置を指す。本明細書に記載される目的のために、有益な、または望ましい臨床結果としては、限定されないが、症状の緩和；疾病、障害、あるいは疾患の程度の減少；疾病、障害、あるいは疾患の状態の安定化（つまり、悪化しないこと）；疾病、障害、あるいは疾患の発症を遅らせること、または進行を遅らせること；疾病、障害、あるいは疾患状態の改善；および、検出可能であれ検出不可能であれ、または疾病、障害、あるいは疾患の亢進であれ改善であれ、緩解（部分的でも全体でも）。処置は過剰なレベルの副作用のない臨床的に有意な反応を誘発することを含む。処置はさらに、処置を受けない場合の予想される生存時間と比較して、生存時間を延ばすことを含む。他の実施形態では、「処置」あるいは「処置すること」あるいは「処置された」とは、予防的な処置を指し、その目的は、例えば、疾患の素因のある人（例えば、乳癌などの疾患のための遺伝子マーカーをつけた個体）など、望ましくない生理的な疾患、障害、あるいは疾患の発症を遅らせるか、あるいはその重症度を低下させることである。

20

30

【0061】

本明細書に記載される治療方法は、局所的に進行した、転移性の、および/または再発性のステージを含む、癌の様々なステージを処置する。癌のステージ分類において、局所的に進行性とは、一般に局部から近くの組織および/またはリンパ節まで広がった癌として定義される。ローマ数字のステージ分類システムにおいて、局所的に進行性とは、通常、ステージIIまたはIIIで分類される。転移性の癌は、身体中から離れた組織と臓器にわたって癌が広がるステージである（ステージIV）。再発性として指定される癌は一般に、癌が通常、一定期間の後に、寛解の後に、あるいは腫瘍が摘出された後に再発したものである。再発は局所的なこともある。つまり、元の癌と同じ位置に現われることもあれば、離れた場所、すなわち、身体の異なる部分に現われることもある。ある例では、本明細書に記載される併用療法によって治療可能な癌は、切除不可能であるか、外科手術によって除去不可能なものである。。

40

【0062】

そのような実施形態のいくつかにおいて、本明細書に記載される治療法は、個体に処方される他の癌治療に対する補助治療を提供する。いくつかの実施形態では、これに応じて、本明細書に記載されるデコイポリペプチドは、限定されないが、以下を含む抗癌剤を用

50

いる処置と組み合わせて投与される：メトトレキサート（RHEUMATREX（登録商標）、アメトプテリン）シクロホスファミド（CYTOXAN（登録商標））、サリドマイド（THALIDOMID（登録商標））、アクリジンカルボキサミド、actimid（登録商標）、アクチノマイシン、17-N-アリルアミノ-17-デメトキシゲルダマイシン、アミノプテリン、アムサクリン、アントラサイクリン、抗悪性腫瘍薬、抗腫瘍薬、5-アザシチジン、アザチオプリン、BL22、ベンダムスチン、ピリコダール、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、プリオスタチン、プスルファン、カリクリン、カンプトテシン、カペシタビン、カルボプラチン、セツキシマブ、クロラムブチル、シスプラチン、クラドリビン、クロファラビン、シタラビン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルビシン、デシタビン、ジクロロ酢酸、ディスコデルモリド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、エピルピシン、エポチロン、エリブリン、エストラムスチン、エトポシド、エキサテカン、エクシスリンド、フェルギノール、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、ホスフェストロール、ホテムスチン、ガンシクロビル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、IT-101、イダルピシン、イホスファミド、イミキモド、イリノテカン、イロフルベン、イクサベピロン、ラニキダル（laniquidar）、ラパチニブ、レナリドミド、ロムスチン、ルートテカン（lurtotecan）、マホスファミド、マソプロコール、メクロレタミン、メルファラン、メルカプトプリン、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、ネララビン、ニロチニブ、オブリメルセン、オキサリプラチン、PAC-1、パクリタキ細胞、ペメトレキセド、ペントスタチン、ピボプロマン、ピクサントロン、プリカマイシン、プロカルバジン、プロテアソーム阻害剤（例えば）ボルテゾミブ、ラルチトレキセド、レベッカマイシン、レブラミド（登録商標）、ルピテカン、SN-38、サリノスポラミドA、サトラプラチン、ストレプトゾトチン、スウェインソニン、タリキダル（tariquidar）、タキサン、テガフル・ウラシル、テモゾロミド、テストラクトン、チオテパ（thioTEPA）、チオグアニン、トボテカン、トラベクテジン、トレチノイン、トリプラチン（triplatin）四硝酸塩、トリス（2-クロロエチル）アミン、トロキサシタビン、ウラシルマスタード、バルルピシン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ピノレルピン、ポリノスタット、ゾスキダルなど。

### 【0063】

追加の実施形態では、本明細書に記載される治療法、つまり、本明細書に記載されるデコイポリペプチド製剤は、3F8、8H9、アバゴボマブ、アブシキシマブ、アビツズマブ、アブリルマブ、アクトクスマブ、アダリムマブ、アデカツムマブ、アデユカヌマブ、アフエリモマブ、アフツズマブ、アラシズマブペゴル、ALD518、アレムツズマブ、アリロクマブ、アルツモマブペンテテート、アマツキシマブ、アナツモマブ・マフェナトックス、アネツマブ・ラブタンシン、アニフロルマブ、アンルキンズマブ（IMA-638）、アポリツモマブ、アルシツモマブ、アスクリンバクマブ、アゼリズマブ、アテゾリズマブ、アチヌマブ、アトリズマブ（トシリズマブ）、アトロリムマブ、バビネウズマブ、バシリキシマブ、バピツキシマブ、ベクツモマブ、ベゲロマブ、ベリムマブ、ベンラリズマブ、バベルチリムマブ、ベシレゾマブ、ベバシズマブ、ベズロトクスマブ、ビシロマブ、ピマグルマブ、ピメキズマブ、ピバツズマブメルタンシン、プリナツモマブ、プロゾズマブ、ボコシズマブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、プリアキヌマブ、プロルダルマブ、プロルシズマブ、ブロンチクツズマブ、カナキヌマブ、カンツズマブ・メルタンシン、カンツズマブラブタンシン、カブラシズマブ、カプロマブペンデチド、カルルマブ、カツマキソマブ、cBR96-ドキシソルピシン免疫複合体、CC49、カデリズマブ、セルトリズマブペゴル、セツキシマブ、Ch.14.18、シタツズマブボガトックス、シズツムマブ、クラザキズマブ、クレノリキシマブ、クリバツズマブテトラキセタン、コドリツズマブ、コルツキシマブラブタンシン、コナツムマブ、コンシズマブ、クレネズマブ、CR6261、ダセツズマブ、ダクリズマブ、ダロツズマブ、ダピロリズマブペゴル、ダラツムマブ、デクトレクマブ、デムシズマブ、デニンツズマブマホドチン、デノスマブ、デロツキシマブピオチン、デツモマブ、ジヌツキシマブ、ジリダブマブ、ドルリモマブアリトクス、ドロジツマブ、デュリゴツマブ、デュビルマブ、ドゥルバルマブ、ドゥシギツマ

10

20

30

40

50

ブ、エクロメキシマブ、エクリズマブ、エドバコマブ、エドレコロマブ、エファリズマブ、  
 エファングマブ、エルデルマブ、エルゲムツマブ、エロツズマブ、エルシリモマブ、エ  
 マクツズマブ、エミベツズマブ、エナバツズマブ、エンフォツマブ ベドチン、エンリモ  
 マブペゴル、エノピリツズマブ、エノキズマブ、エノチクマブ、エンシツキシマブ、エピ  
 ツモマブシツキセタン、エブラツズマブ、エルリズマブ、エルツマキシマブ、エタラシズ  
 マブ、エトロリツマブ、エピナクマブ、エボロクマブ、エクスピビルマブ、ファノレゾマ  
 ブ、ファラリモマブ、ファルレツズマブ、ファシヌマブ、F B T A 0 5、フェルビツマブ  
 、フェザキヌマブ、フィクラツズマブ、フィギツマブ、フィリブマブ、フランボツマブ、  
 フレチクマブ、フォントリズマブ、フォラルマブ、フォラビルマブ、フレゾリムマブ、フ  
 ルラヌマブ、フツキシマブ、ガリキシマブ、ガニトマブ、ガンテネルマブ、ガビリモマブ  
 、  
 ゲムツズマブオゾガマイシン、ゲボキズマブ、ギレンツキシマブ、グレムバツムマブベド  
 チン、ゴリムマブ、ゴミリキシマブ、グセルクマブ、イバリツマブ、イブリツモマブ・チ  
 ウキセタン、イクルクマブ、イダルシズマブ、イゴボマブ、I M A B 3 6 2、イマルマブ  
 、イムシロマブ、イムガツズマブ、インラクマブ、インダツキシマブ・ラブタンシン、イン  
 ツサツマブ・ベドツイン、インフリキシマブ、インテツムマブ、イノリモマブ、イノツ  
 ズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、イラツムマブ、イサツキシマブ、イトリズマブ、  
 イクセキズマブ、ケリキシマブ、ラベツズマブ、ランプロリズマブ、ランパリズマブ、レ  
 ブリキズマブ、レマレソマブ、レンジルマブ、レルデリムマブ、レクサツムマブ、リビビ  
 ルマブ、リファスツズマブベドチン、リゲリズマブ、リロトマブサテトラキセタン、リン  
 ツズマブ、リリルマブ、ロデルシズマブ、ロキベトマブ、ロルボツズマブメルタンシン、  
 ルカツムマブ、リュリツマブペゴル、ルミリキシマブ、ルムレツズマブ、マバツムマブ、  
 マージツキシマブ、マスリモマブ、マブリリムマブ、マツズマブ、メボロリズマブ、メテ  
 リムマブ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミツモマブ、モガムリズマブ、モロリムマブ  
 、モタビズマブ、モキセツモマブシュードトクス、ムロモナブ - C D 3、ナコロマブタフ  
 エナトクス、ナミルマブ、ナブツモマブエスタフェナトクス、ナルナツマブ、ナタリズマ  
 ブ、ネバクマブ、ネチツムマブ、ネモリツマブ、ネレリモマブ、ネスバクマブ、ニモツズ  
 マブ、ニボルマブ、ノフェツモマブメルペンタン、オビルトキサキシマブ、オカラツズマ  
 ブ、オクレリツマブ、オズリモマブ、オフアツムマブ、オララツマブ、オロキズマブ、オ  
 マリズマブ、オナルツズマブ、オンツキシズマブ、オピシヌマブ、オボルツズマブモナト  
 ックス、オレゴボマブ、オルティクマブ、オテリキシズマブ、オトレルツズマブ、オキシ  
 ルマブ、オザネズマブ、オゾラリズマブ、パギバキシマブ、パリビズマブ、パニツムマブ  
 、パンコマブ、パノバクマブ、バルサツズマブ、バスコリズマブ、バソツキシズマブ、パ  
 テクリズマブ、パトリツマブ、ペンプロリズマブ、ペムツモマブ、ペラキズマブ、ペルツ  
 ズマブ、ペクセリズマブ、ピディリズマブ、ピナツズマブベドチン、ペンツモマブ、ブラ  
 クルマブ、ボラツズマブベドチン、ボネズマブ、ブリリキシマブ、プリトキサキシマブ、  
 プリツムマブ、P R O、クイリズマブ、ラコツモマブ、ラドレツマブ、ラフィビルマブ 1  
 4 0、ラルパンシズマブ、ラムシルマブ、ラニビズマブ、ラキシバクマブ、レファネツマ  
 ブ、レガビルマブ、レスリズマブ、リロツムマブ、リヌクマブ、リツキシマブ、ロバツム  
 マブ、ロレデュマブ、ロモソズマブ、ロンタリズマブ、ロベリズマブ、ルブリズマブ、サ  
 マリズマブ、サリルマブ、サツモマブペンデチド、セクキヌマブ、セリバンツマブ、セト  
 キサキシマブ、セビルマブ、シプロツズマブ、S G N - C D 1 9 A、S G N - C D 3 3 A  
 、シファリムマブ、シルツキシマブ、シムツズマブ、シブリズマブ、シルクマブ、ソフィ  
 ツズマブベドチン、ソラネズマブ、ソリトマブ、ソネブシズマブ、ソソツズマブ、スタム  
 ルマブ、スレソマブ、スピズマブ、タバルマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズ  
 マブ、タリズマブ、タネズマブ、タブリツモマブバプトックス、タレクスツマブ、テフィ  
 バズマブ、テリモマブアリトクス、テナツモマブ、テネリキシマブ、テブリズマブ、テブ  
 ロツムマブ、テシドルマブ、T G N 1 4 1 2、チシリムマブ(トレメリムマブ)、チルド  
 ラキズマブ、ティガツズマブ、T N X - 6 5 0、トシリズマブ(アトリズマブ)、トラリ  
 ズマブ、トサトキヌマブ、トシツモマブ、トベツマブ、トラロキヌマブ、トラスツズマブ

10

20

30

40

50

、TRBS07、トレガリズマブ、トレメリムマブ、ツコツズマブ・セルモロイキン、ツビルマブ、ウブリツキシマブ、ウロクブルマブ、ウレルマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、バンドルツズマブベドチン、パンチクツマブ、バヌシズマブ、ババリキシマブ、バルリルマブ、パテリズマブ、ベドリズマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ、ベセンクマブ、ビシリズマブ、ボロシキシマブ、ボルセツズマブマホドチン、ボツムマブ、ザルツムマブ、ザノリムマブ、ザツキシマブ、ジリムマブ、あるいはゾリモマブアリトクスなどのモノクローナル抗体と組み合わせて投与される。

【0064】

追加の実施形態において、本明細書に記載される治療法、つまり、本明細書に記載されるデコイポリペプチド製剤は、VWF、ビメンチン、VEGFR2、VEGFR-1、VEGF-A、TYRP1(糖タンパク質75)、TWEAK受容体、MUC1の腫瘍特異的グリコシル化、腫瘍抗原CTAA16.88、TRAIL-R2、TRAIL-R1、TNF-、TGF-、TGFベータ2、TGFベータ1、TFPI、テネイシンC、TEM1、TAG-72 T細胞受容体、STEAP1、スフィンゴシン-1-リン酸塩、SOST、SLAMF7、セレクチンP、SDC1、スクレロスチン、RTN4、RON、Rh因子、RHD、呼吸系発疹ウイルス、RANKL、狂犬病ウイルス糖タンパク質、血小板由来増殖因子受容体ベータ、ホスファチジルセリン、リン酸塩ナトリウム共輸送体、PDGF-R、PDCD1、PD-1、PCSK9、oxLDL、OX-40、NRP1、Notch受容体4、Notch受容体3、Notch受容体2、Notch受容体1、NOGO-A、NGF、神経アポトーシス制御プロテイナーゼ1、NCA-90(顆粒球抗原)、NARP-1、N-グリコリルノイラミン酸、ミオスタチン、ミエリン関連糖タンパク質、ムチンCanAg、MUC1、MSLN、MS4A1、MIF、メソセリン、MCP-1、LTA、LOXL2、リポタイコ酸、LINGO-1、LFA-1(CD11a)、Lewis-Y抗原、L-セレクチン(CD62L)、KIR2D、ITGB2(CD18)、ITGA2、インターフェロン / 受容体、インターフェロン受容体、インターフェロンガンマによって引き起こされたタンパク質、インテグリン v 3、インテグリン IIb 3、インテグリン 7 7、インテグリン 5 1、インテグリン 4 7、インテグリン 4、インスリン様成長因子I受容体、インフルエンザA型赤血球凝集素、ILGF2、IL9、IL6、IL4、IL31RA、IL23、IL17A、IL-6受容体、IL-6、IL-5、IL-4、IL-23、IL-22、IL-1、IL-17A、IL-17、IL-13、IL-12、IL-1、IL20、IGHE、IgG4、IGF-I、IGF-1受容体、IgE Fc領域、IFN-、IFN-、ICAM-1(CD54)、ヒトTNF、ヒト散乱係数受容体キナーゼ、Hsp90、HNGF、HLA-DR、HIV-1、ヒストン複合体、HHGFR、HGF、HER3、HER2/neu、HER1、B型肝炎表面抗原、赤血球凝集素、GUCY2C、GPNMB、GMCSF受容体 - 鎖、グリピカン3、GD3ガングリオシド、GD2、ガングリオシドGD2、Frizzled受容体1、葉酸受容体1、葉酸ヒドロラーゼ、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、フィブリンII、鎖、FAP、呼吸系発疹ウイルスのFタンパク質、ERBB3、エピシアリン、EpCAM、エンドトキシン、EGFR、EGFL7、大腸菌志賀毒素タイプ-2、大腸菌志賀毒素タイプ-1、DR5、DPP4、DLL4、ダビガトラン、サイトメガロウイルス糖タンパク質B、CTLA-4、CSF2、CSF1R、クランピング因子A、CLDN18.2、ch4D5、CFD、CEA関連抗原、CEA、CD80、CD79B、CD74、CD70、CD6、CD56、CD52、CD51、CD5、CD44 v6、CD41、CD40リガンド、CD40、CD4、CD38、CD37、CD33、CD30(TNFRSF8)、CD3イプシロン、CD3、CD28、CD274、CD27、CD25(IL-2受容体の鎖)、CD23(IgE受容体)、CD221、CD22、CD200、CD20、CD2、CD19、CD154、CD152、CD15、CD147(ペイジジン)、CD140a、CD125、CD11、CD-18、CCR5、CCR4、CCL11(イオタキシン-1)、心筋ミオシン、炭酸脱水酵素9(CA-IX)、イヌI

10

20

30

40

50

L 3 1、C A 1 2 5、C 5、C 2 4 2 抗原、C - X - C ケモカイン受容体タイプ 4、ベータアミロイド、B A F F、B 7 - H 3、B リンパ腫細胞、A O C 3 ( V A P - 1 )、炭疽毒素、防御抗原、アンジオポエチン 3、アンジオポエチン 2、フェトプロテイン、A G S - 2 2 M 6、腺癌抗原、A C V R 2 B、アクチビン受容体様キナーゼ 1、5 T 4、5 A C、4 - 1 B B、あるいは 1 - 4 0 - - アミロイドの 1 つ以上を標的とするモノクローナル抗体と組み合わせて投与される。

【 0 0 6 5 】

追加の実施形態では、本明細書に記載される治療法、つまり、本明細書に記載されるデコイポリペプチド製剤は、放射線療法（例えば、 $\gamma$ -線、X線、および/または、腫瘍細胞への放射性同位元素の方向を指定された送達、マイクロ波、UV放射）と組み合わせて投与される。追加の実施形態では、本明細書に記載される治療法、つまり、本明細書に記載されるデコイポリペプチドは遺伝子治療と組み合わせて投与される。治療用遺伝子は、細胞増殖（癌遺伝子）の誘導物質、細胞増殖（腫瘍抑制遺伝子）の阻害剤、あるいはプログラム細胞死（アポトーシス促進性遺伝子）の誘導物質のアンチセンスのバージョンを含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される併用療法は、外科手術（例えば切除）とともに施される。

10

【 0 0 6 6 】

追加の実施形態では、本明細書に記載される治療法、つまり、本明細書に記載されるデコイポリペプチドは、止痢薬、制吐薬、鎮痛剤、オピオイド、および/または非ステロイド性抗炎症薬と組み合わせて投与される。

20

【 0 0 6 7 】

さらなる実施形態において、本明細書に記載されるデコイポリペプチド（例えば、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドを含む組成物）は、シクロホスファミド、イミタニブ、あるいはダクリズマブ、および/または他の抗癌剤であらかじめ処置された個体に投与される。他の実施形態では、本明細書に記載されるデコイポリペプチドは、シクロホスファミドおよび/または他の抗癌剤であらかじめ処置されていない個体に投与される。

【 0 0 6 8 】

上記の実施形態のいくつかでは、本明細書に記載されるデコイポリペプチド（例えば、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドを含む組成物）を用いる処置は、癌に苦しむ個体の寿命を延ばし、および/または、生存率を増加させる。上記の実施形態のいくつかでは、本明細書に記載されるデコイポリペプチド（例えば S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドを含む組成物）を用いる処置は、癌に苦しむ個体の生活の質を改善する（例えば、個体は、本明細書に記載されるデコイポリペプチドで処置されるときには、副作用を引き起こす抗癌剤はより少量しか必要としない）。

30

【 0 0 6 9 】

上記の実施形態のいくつかでは、本明細書に記載されるデコイポリペプチド（例えば S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドを含む組成物）を用いる処置は、個体において食作用を誘発し、および/または A D C C を保持する。食作用は、専門の食細胞（例えば単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、あるいはマスト細胞）、非専門の食細胞（例えば上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、あるいは間葉細胞）、あるいはその両方による食作用を含んでいる。A D C C は、好中球、単球、およびナチュラルキラー細胞を含む骨髄性細胞によって抗体依存細胞媒介性細胞傷害を含んでいる。食作用と A D C C の測定は、例えば、蛍光顕微鏡検査法またはフローサイトメトリーを含む任意の既知の方法によって遂行される。

40

【 0 0 7 0 】

さらなる実施形態において、本明細書に記載されるデコイポリペプチド（例えば S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、あるいは S I R P - ベータ 2 ポリペプチドを含む組成物）を用いる処置は、喘息あるいはアレルギーの個体において M 1 p r i m e あるいは C D

50

38に対する抗体と、SIRP-ベータあるいはSIRP- の薬剤を組み合わせることにより、抗体依存性の細胞を媒介とした食作用(ADCP)、あるいはB細胞と形質細胞を産生するIgEのADCCを誘発し、および/または増強する。

【0071】

本明細書にはまた、個体のウイルス感染、障害、又は疾病を処置する方法も提供され、該方法は、本明細書に記載されるデコイポリペプチドを、ウイルス感染、障害、又は疾病を患う個体に投与する工程を含む。特定の態様において、ウイルス感染、障害、又は疾病は慢性である。更なる態様において、ウイルス感染、障害、又は疾病は急性である。更なる態様において、ウイルス感染、障害、又は疾病は、アデノウイルスなどのアデノウイルス科；1型単純ヘルペスなど、2型単純ヘルペス、2をタイプする、水痘帯状疱疹ウイルス、エプスタイン-バーウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、8型ヒトヘルペスウイルスなどのヘルペスウイルス科；ヒトパピローマウイルスなどのパピローマウイルス科；BKウイルス又はJCウイルスなどポリオーマウイルス科；天然痘などのポックスウイルス科；B型肝炎ウイルスなどのヘパドナウイルス科；ヒトポカウイルス又はパルボウイルスなどのパルボウイルス科；ヒトアストロウイルスなどのアストロウイルス科；ノーウォークウイルスなどのカリシウイルス科；コクサッキーウイルス、A型肝炎ウイルス、ポリオウイルス、ライノウイルスなどのピコルナウイルス科；重症急性呼吸器症候群ウイルスなどのコロナウイルス科；C型肝炎ウイルス、黄熱ウイルス、デング熱ウイルス、西ナイルウイルスなどのフラビウイルス科；風疹ウイルスなどのトガウイルス科；E型肝炎ウイルスなどのヘペウイルス科；ヒト免疫不全ウイルス(HIV)などのレトロウイルス科；インフルエンザウイルスなどのオルトミクソウイルス科；グアナリトウイルス、フニンウイルス、ラッサウイルス、マチュポウイルス、サビアウイルスなどのアレナウイルス科；クリミア-コンゴ出血性熱ウイルスなどのブンヤウイルス科；エボラウイルス、マールブルグウイルスなどのフィロウイルス科；麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルス、呼吸系発疹ウイルス、ヒトメタニューモウイルス(metapneumovirus)、ヘンドラウイルス、ニバウイルスなどのパラミクソウイルス科；狂犬病ウイルスなどのラブドウイルス科；D型肝炎ウイルス；又は、ロタウイルス、オルビウイルス、コルチウイルス、パンナウイルスなどのレオウイルス科である。特定の態様において、ウイルス感染、障害、又は疾病は、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、ヒトサイトメガロウイルス、エプスタイン-バーウイルス、C型肝炎ウイルス、又はB型肝炎ウイルスである。

10

20

30

【0072】

本明細書にはまた、個体の細菌感染、障害、又は疾病を処置する方法も提供され、該方法は、本明細書に記載されるデコイポリペプチドを、細菌感染、障害、又は疾病を患う個体に投与する工程を含む。特定の態様において、細菌感染、障害、又は疾病は慢性である。態様において、細菌感染、障害、又は疾病は急性である。更なる態様において、細菌感染は、炭疽菌またはセレウス菌などパチルス菌である；バルトネラ・ヘンセラ又はバルトネラ・クインターナなどのバルトネラ族；百日咳菌などのボルデテラ属；ボレリア・ブルグドルフェリ、ボレリア・ガリニ、ボレリア・アフゼリ、回帰熱ボレリアなどのボレリア属；ウシ流産菌、イヌ流産菌、マルタ熱菌、又はブタ流産菌などのブルセラ属；カンピロバクター・ジェジュニなどのカンピロバクター属；クラミジア・ニューモニエ、トラコーマクラミジア、オウム病クラミジアなどのクラミジア属又はクラミドフィラ属；ポツリヌス菌、クロストリジウム・ディフィシル、ウエルシュ菌、破傷風菌などのクロストリジウム属；ジフテリア菌などのコリネバクテリア属；エンテロコッカス・フェカーリス又はエンテロコッカス・フェシウムなどのエンテロコッカス属；大腸菌などのエシェリヒア属；フランシセラ-ツラレンシスなどのフランシセラ属；インフルエンザ菌などのヘモフィルス属；ヘリコバクター・ピロリなどのヘリコバクター属；レジュネラ・ニューモフィラ菌などのレジオネラ属；レプトスピラ・インターロガンズ、レプトスピラ・サンタロサイ(santarosai)、レプトスピラ・ヴァイル(weilli)、又はレプトスピラ・ノグチ(noguchii)などのレプトスピラ属；リステリア・モノサイトゲネスな

40

50

どのリステリア属；癩菌、結核菌、又はミコバクテリア・ウルセランスなどのミコバクテリア属；肺炎マイコプラズマなどのマイコプラズマ属；淋菌又は髄膜炎菌などのナイセリア属；緑膿菌などのシュードモナス属；リケッチア・リケッチイなどのリケッチア属；サルモネラ・チフィ又はサルモネラ・チフィウムなどのサルモネラ属；ソネ赤痢菌などのシゲラ属；黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、腐性ブドウ球菌などのスタフィロコッカス属；ストレプトコッカス・アガラクチア、肺炎球菌、化膿連鎖球菌などのストレプトコッカス属；梅毒トレポネーマなどのトレポネーマ属；ビブリオ・コレラなどのビブリオ属；ペスト菌、腸炎エルシニア、又は仮性結核菌などのエルシニア属である。

【0073】

本明細書にはまた、個体の貧血を処置する方法が提供され、該方法は、本明細書に記載されるデコイポリペプチドを、貧血を患う個体に投与する工程を含む。特定の実施形態において、貧血は、地中海貧血、再性不良性貧血、溶血性貧血、鎌状赤血球貧血、悪性貧血、又はファンコニ貧血である。

10

【0074】

本明細書にはまた、移植を受ける人を処置する方法も提供され、該方法は、本明細書に記載されているデコイポリペプチドを、臓器移植を受ける個体に投与する工程を含む。特定の態様において、移植は、心臓、肺、心臓と肺、腎臓、肝臓、膵臓、腸、胃、精巣、手、角膜、皮膚、ランゲルハンス島、骨髄、幹細胞、血液、血管、心臓弁、又は骨である。

【0075】

本明細書にはまた、自己免疫疾患を患う人を処置する方法も提供され、該方法は、本明細書に記載されているデコイポリペプチドを、自己免疫疾患を患う個体に投与する工程を含む。特定の態様において、自己免疫疾患は、急性散在性脳脊髄膜炎（ADEM）、急性壊死性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBM/抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群（APS）、自己免疫性血管浮腫、自己免疫性再性不良性貧血、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性肝炎、自己免疫性高脂血症、自己免疫性免疫不全症、自己免疫性内耳疾患（AIED）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性血小板減少性紫斑病、自己免疫性甲状腺疾患、自己免疫性蕁麻疹、軸索及び神経細胞のニューロパシー、パロー病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、キャスルマン病、セリアック病、シャガス病、慢性疲労症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパシー（CIDP）、慢性再発性多病巣性骨髄炎（osteomyelitis）（CRMO）、チャージ・ストラウス症候群、瘢痕性類天疱瘡/良性粘膜類天疱瘡、クローン病、コーガン症候群、寒冷凝集素症（ATP）、先天性心伝導障害、コクサッキー心筋炎、CREST疾患、本態性混合型クリオグロブリン血症、脱髄性ニューロパシー、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、円板状狼瘡、ドレスラー症候群、子宮内膜症、エオシン好性、食道炎、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、実験的アレルギー性脳脊髄炎、エバンス症候群、線維筋痛、線維化性肺胞炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発性血管炎を伴う肉芽腫症（GPA）（以前はヴェゲナー肉芽腫症と称されていた）、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェンライン紫斑病、妊娠性疱疹、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、IgA腎症、IgG4関連性硬化症疾患、免疫調節性リポタンパク質、封入体筋炎、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年型糖尿病（1型糖尿病）、若年性筋炎、川崎症候群、ランバート・イートン症候群、白血球破碎性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、リニアIgA病（LAD）、狼瘡（SLE）、ライム病、慢性、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、混合性結合組織病（MCTD）、モーレン潰瘍、ムーシャ・ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎（デビック）、好中球減少症、眼の瘢痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS（連鎖球菌に関連した小児性自己免疫性神経精神障害）、腫瘍随伴性小脳変性症、発作性夜間血色素尿症（PNH）、パリー・ロンベルグ症候群、パーソネイジ・ターナー症候群、扁平部炎（周辺性ブドウ膜炎）、天疱瘡、末

20

30

40

50

梢性ニューロパシー、静脈周囲の脳脊髄炎、悪性貧血、P O E M S 症候群、結節性多発動脈炎、I、I I、及びI I I型自己免疫性多発内分泌腺症候群、リウマチ性多発性筋痛、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、プロゲステロン皮膚炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、乾癬、乾癬性関節炎、特発性肺線維症、壊疽性膿皮症、赤芽球ろう、レイノー現象 (Raynauds phenomenon)、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、下肢静止不能症候群、後腹膜線維症、リウマチ熱、リウマチ性関節炎、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子及び睾丸の自己免疫病、全身硬直症候群、亜急性細菌性心内膜炎 (S B E)、スザック症候群、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎 / 巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病 (T T P)、トローザ・ハント症候群、横断性脊髄炎、1型糖尿病、潰瘍性大腸炎、未分化結合組織疾患 (U C T D)、ブドウ膜炎、脈管炎、水疱性皮膚病、白斑、又はヴェゲナー肉芽腫症 (現在、多発性血管炎を伴う肉芽腫症 (G P A) と称される) である。上述の疾患は、このカテゴリーに入る ; 自己反応性 T 細胞又は B 細胞の枯渇は共に、列挙された自己免疫疾患を処置するレジメンの一部であり得る。

10

#### 【0076】

##### < 可視化の方法 >

本明細書にはまた、C D 4 7 を発現する細胞を可視化する方法も提供され、該方法は、細胞の集団を、本明細書に記載されるデコイポリペプチド及び検出可能なラベルと接触させる工程を含む。本明細書に記載される方法の幾つかの実施形態において、方法は、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、細菌感染細胞、自己反応性 T 細胞、損傷した赤血球細胞、動脈プラーク、又は繊維症組織の可視化を含む。付加的な実施形態において、細胞は、造血幹細胞、健康な脊髄性又はリンパ性前駆細胞、或いは T、B、血漿、又は N K 細胞などの健康な分化造血細胞の型などの、健康な正常細胞である。本明細書に記載される方法の付加的な実施形態において、方法は、インピボでの細胞の可視化、エキソピボでの細胞の可視化、又はインピトロでの細胞の可視化を含む。特定の態様において、方法は、顕微鏡検査、蛍光顕微鏡、蛍光活性化細胞分類、又は陽電子射出断層撮影 (P E T) 画像化である。特定の態様において、検出可能なラベルは、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (H R P)、アルカリフォスファターゼ (A P)、又はグルコースオキシダーゼなどの酵素のラベルを含む。付加的な態様において、検出可能なラベルは、A l e x a F l u o r (登録商標) 3 5 0、A l e x a F l u o r (登録商標) 4 0 5、A l e x a F l u o r (登録商標) 4 8 8、A l e x a F l u o r (登録商標) 5 3 2、A l e x a F l u o r (登録商標) 5 4 6、A l e x a F l u o r (登録商標) 5 5 5、A l e x a F l u o r (登録商標) 5 6 8、A l e x a F l u o r (登録商標) 5 9 4、A l e x a F l u o r (登録商標) 6 4 7、A l e x a F l u o r (登録商標) 6 8 0、A l e x a F l u o r (登録商標) 7 5 0、B O D I P Y (登録商標) F L、クマリン、C y (登録商標) 3、C y (登録商標) 5、フルオレセイン (F I T C)、O r e g o n G r e e n (登録商標)、P a c i f i c B l u e (商標)、P a c i f i c G r e e n (商標)、P a c i f i c O r a n g e (商標)、テトラメチルローダミン (T R I T C)、T e x a s R e d (登録商標)、又は他の蛍光ラベルなどの蛍光ラベルを含む。更なる態様において、検出可能なラベルは、3 2 P、3 3 P、3 H、1 4 C、1 2 5 I、又は他の放射性同位体などの放射性同位体を含む。更なる態様において、方法は診断である。

20

30

40

#### 【0077】

##### < 投与量 >

本明細書に記載される、S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、又は S I R P - ベータ 2 のデコイポリペプチド (例えば、異なる S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ、又は S I R P - ベータ 2 のポリペプチド) が個体に提供されており、当業者は、限定されないが個体の体重及び病状を含む様々な要因に投与量が依存することを理解している。通常、本明細書で使用されるように、本明細書に記載される S I R P - ガンマ、S I R P - ベータ

50

、又はSIRP - ベータ2のデコイポリペプチド（例えば、異なるSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のポリペプチドを含む組成物）を受ける個体は、単一の生体である。特定の実施形態において、個体は哺乳動物である。具体的に、個体は、男性又は女性を含むヒトである。多くの実施形態において、個体は、患者、或いは、医療と処置を待つ又は受けている個体である。

【0078】

幾つかの実施形態において、個体は、個体の体重へと標準化された用量を投与される。幾つかの実施形態において、個体は、単一又は累積的な適用で、本明細書に記載されるSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のポリペプチド（例えば、異なるSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のポリペプチドを含む組成物）の、約10 $\mu$ g/kg、約50 $\mu$ g/kg、約100 $\mu$ g/kg、約200 $\mu$ g/kg、約300 $\mu$ g/kg、約400 $\mu$ g/kg、約500 $\mu$ g/kg、約600 $\mu$ g/kg、約700 $\mu$ g/kg、約800 $\mu$ g/kg、約900 $\mu$ g/kg、約1000 $\mu$ g/kg、約1100 $\mu$ g/kg、約1200 $\mu$ g/kg、約1300 $\mu$ g/kg、約1400 $\mu$ g/kg、約1500 $\mu$ g/kg、約1600 $\mu$ g/kg、約1700 $\mu$ g/kg、約1800 $\mu$ g/kg、約1900 $\mu$ g/kg、約2000 $\mu$ g/kg、約3000 $\mu$ g/kg、約4000 $\mu$ g/kg、約5000 $\mu$ g/kg、約6000 $\mu$ g/kg、約7000 $\mu$ g/kg、約8000 $\mu$ g/kg、約9000 $\mu$ g/kg、約10mg/kg、約20mg/kg、約30mg/kg、約40mg/kg、約50mg/kg、約60mg/kg、約70mg/kg、約80mg/kg、約90mg/kg、約100mg/kg、約200mg/kg、約300mg/kg、約400mg/kg、約500mg/kg、約600mg/kg、約700mg/kg、約800mg/kg、約900mg/kg、又は約1000mg/kgの用量を投与される。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり約7000mg/kgのデコイポリペプチドである。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり約70mg/kgのデコイポリペプチドである。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり約7mg/kgのデコイポリペプチドである。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり約1000 $\mu$ gのデコイポリペプチドである。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり500 $\mu$ gのデコイポリペプチドである。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり250 $\mu$ gのデコイポリペプチドである。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり100 $\mu$ gのデコイポリペプチドである。特異的な実施形態において、個体に投与される用量は、1週当たり50 $\mu$ gのデコイポリペプチドである。

【0079】

幾つかの実施形態において、個体は、本明細書に記載されるデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のポリペプチド（例えば、異なるSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のポリペプチドを含む組成物）の用量を、例えば1日複数回、毎日、隔日、週に1回、隔週で1回、3週ごとに1回、月に1回、又は他の任意の適切な投薬レジメンで受ける。1つの実施形態において、個体は、持続注入としてデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のポリペプチドの用量を受ける。1つの実施形態において、慣例的な投与は、一定期間にわたり週に1回、本明細書に記載されるデコイポリペプチドの用量を投与することを包含する。もちろん、投薬レジメンは随意に、デコイポリペプチド送達のための入れ換えを含む。即ち、デコイポリペプチドは医師の判断により、週に1回、2回、3回、4回、5回、6回、又はそれより多く投与される。幾つかの実施形態において、個体には、一定期間にわたり少なくとも5回の用量が投与される。他の実施形態において、個体には、5回以上又は5回以下の容量が投与される。故に、1つの実施形態において、個体は、毎週約10mg/kgのデコイSIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のポリペプチドの用量を受ける。代替的に、個体は、週に2回の5mg/kgの2回の用量、又は5日間にわたり毎日2mg/kgの用量を受ける。

## 【0080】

このような投与量の例は限定されず、約10mg/kgのデコイSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドを投与するための特定の投与レジメンを例示するためにのみ使用される。例えば、与えられた状況に適切な用量が1週当たり10mg/kgである場合、用量は随意に、任意の入れ換え(permutation)の数(例えば、1週当たり2.5mg/kgの4回の注射)へと分割される。これは、特定の状況に適切な用量が10mg/kgを超える又はそれ未満である場合も当てはまる。

## 【0081】

幾つかの実施形態において、デコイSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチド(例えば、異なるSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドを含む組成物)が個体に投与される期間は、疾患の段階、患者の病歴、及び主治医の判断により決定されるような任意の適切な期間である。そのような適切な期間の例は、限定されないが、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、少なくとも約12か月、少なくとも約13か月、少なくとも約14か月、少なくとも約15か月、少なくとも約16か月、少なくとも約17か月、少なくとも約18か月、少なくとも約19か月、少なくとも約20か月、少なくとも約21か月、少なくとも約22か月、少なくとも約23か月、又は少なくとも約24か月以上を含む。特定の態様において、処置期間は、24か月よりも長い間、所望される場合、30か月、31か月、32か月、33か月、34か月、35か月、36か月、又は36か月より長い間、継続される。幾つかの実施形態において、期間は6か月、1年、又は2年である。

10

20

## 【0082】

別の実施形態において、本明細書に記載される方法の何れかのための投与の期間は、少なくとも約2週間、少なくとも約4週間、少なくとも約8週間、少なくとも約16週間、少なくとも約17週間、少なくとも約18週間、少なくとも約19週間、少なくとも約20週間、少なくとも約24週間、少なくとも約28週間、少なくとも約32週間、少なくとも約36週間、少なくとも約40週間、少なくとも約44週間、少なくとも約48週間、少なくとも約52週間、少なくとも約60週間、少なくとも約68週間、少なくとも約72週間、少なくとも約80週間、少なくとも約88週間、少なくとも約96週間、又は少なくとも約104週間である。

30

## 【0083】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載される任意のデコイポリペプチド(例えば、異なるSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドを含む組成物)は、処置の異なる段階で投与される。例えば、デコイSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドは、処置段階と維持段階の両方で投与される。幾つかの実施形態において、処置段階は、毎週の投与量でのデコイポリペプチド製剤の投与を含み、一方で維持段階は、長期間、例えば約6週ごと、約7週ごと、約8週ごと、約9週ごと、約10週ごと、約11週ごと、約12週ごと、又はそれよりも長い期間などである。場合によっては、処置段階で投与される投与量は、維持段階で投与される投与量よりも多くなる。しかし、処置段階と維持段階は、処置段階と維持段階の間の時間と投与量が上記の例とは異なるように、特定の個体に対し設計される。通常、維持段階は、適切であると考えられた時間に開始される。例えば、幾つかの実施形態において、処置段階は8週であり、維持段階は個体の生存期間中持続する。他の実施形態において、処置段階又は維持相のみが試みられる。

40

## 【0084】

また更なる実施形態において、本明細書に記載されるデコイポリペプチド(例えば、異なるSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドを含む組成物)は、予防的に投与される。このような実施形態において、デコイポリペプチド

50

の投与は個体の疾患の発症を予防する（例えば、遺伝的に乳癌などの癌を進行しやすい個体；細菌又はウイルス感染を進行しやすい個体；まもなく臓器移植を受ける個体；又は貧血或いは自己免疫疾患を進行しやすい個体）。

#### 【0085】

個体が本明細書に記載されるデコイポリペプチドを継続しなければ（remain on）ならない時間の量は、主治医により決定される。場合によっては、個体の生存期間の残りにわたってデコイポリペプチドを投与することが、都合が良い。そのような実施形態の幾つかにおいて、デコイポリペプチドは、身体の四分区分、例えば、（例えば各腋窩の）リンパ節付近、各臀部（例えば皮下）などに投与される。そのような実施形態の幾つかにおいて、デコイポリペプチドはポンプを介して投与される。幾つかの実施形態において、長期間投与を可能にするために個体にポンプ及び/又は送達装置が移植される。移植可能なポンプの例は、Alzet（登録商標）浸透圧ポンプを含むが、これに限定されない。

10

#### 【0086】

##### <キット>

本明細書には、本明細書に記載されるデコイポリペプチドを分配するためのキットが提供される。そのようなキットは、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドを含むデコイポリペプチドを含有する第1の製剤バイアル、及び、再構成のための本明細書に記載されるような適切な滅菌液体を含有する第2のバイアルを含む。

20

#### 【0087】

例えば、1つの実施形態において、そのようなキットは、第1のバイアル（即ち、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドを含む、300 $\mu$ gのデコイポリペプチドを含有する製剤バイアル）を含み、これは120%満たされていることを表わす。この過剰さは、特定された用量の引き抜きと投与を促進することを意図されている。キットは、注射用に最大1mLの0.9%の塩化ナトリウム溶液を含有する第2のバイアルを更に含む。注射（0.9% w/v）用の0.6mLの塩化ナトリウム溶液を含む製剤の再構成の後、製剤バイアルは、250 $\mu$ gのSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のポリペプチドを含むデコイポリペプチドに相当する、送達用の0.5mLをもたらす。一例として、用量が合計1mgの場合、1つの用量につき4つのバイアルが必要になる。

30

#### 【0088】

##### <特定の定義>

用語「デコイ」、「阻害剤」、及び「遮断薬」は、本明細書で使用されるように、CD47のその結合パートナーへの結合を防ぐ分子を指す。開発目的のために、結合は、実験条件下で、例えば、結合パートナーとして単離されたタンパク質を使用して、結合パートナーとしてのタンパク質の部分を使用して、結合パートナーとしてのタンパク質の酵母ディスプレイ又はタンパク質の部分を使用して、実行される場合もある。生理学的に関連する目的のために、CD47のその結合パートナーへの結合は大抵、2つの細胞間の事象であり、そこでは細胞はそれぞれ、結合パートナーのうち1つを発現させる。特に興味は、マクロファージなどの食菌作用細胞上でのSIRPポリペプチドの発現、及び、例えば腫瘍細胞や循環造血細胞といった、食作用の標的である細胞上でのCD47の発現に向けられる。阻害剤は、受容体又はリガンド結合或いはシグナル伝達に関するインビトロ及びインビボのアッセイを使用して識別される場合もある。

40

#### 【0089】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」は、アミノ酸残基のポリマーを指すよう、本明細書にて互換的に使用される。この用語はまた、1以上のアミノ酸残基が、自然発生のアミノ酸ポリマー及び非自然発生のアミノ酸ポリマーと同様に、対応する自然発生のアミノ酸の人工的な化学的模倣体である、アミノ酸ポリマーに適用される。

#### 【0090】

50

用語「アミノ酸」は、本明細書で使用されるように、自然発生のアミノ酸に類似する方法で機能するアミノ酸アナログ及びアミノ酸ミメティックと同様に、自然発生及び合成のアミノ酸も指す。自然発生のアミノ酸は、後に修飾されるアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、ガンマ-カルボキシグルタマート、及びO-フォスフォセリンと同様に、遺伝コードによってコードされたアミノ酸である。用語「アミノ酸アナログ」は、本明細書で使用されるように、自然発生のアミノ酸、即ち、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基（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）に結合する、アルファ炭素と同じ基礎的な化学構造を有する化合物を指す。そのようなアナログは、修飾されたR基（例えば、ノルロイシン）又は修飾されたペプチドバックボーンを有するが、自然発生のアミノ酸と同じ基礎的な化学構造を保持する。用語「アミノ酸ミメティック」は、本明細書で使用されるように、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、自然発生のアミノ酸に類似する方法で機能する化合物を指す。

10

**【0091】**

用語「レシピエント」、「個体」、「被験体」、「宿主」、及び「患者」は、本明細書で互換的に使用され、診断、処置、又は治療が所望される任意の哺乳動物被験体、特にヒトを指す。処置の目的のための「哺乳動物」は、ヒト、家庭動物と家畜、及び、研究室、動物園、スポーツ、又はペットの動物として分類される動物を指し、例えばイヌ、ウマ、ネコ、カウ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、サルなどである。幾つかの実施形態において、哺乳動物はヒトである。

20

**【0092】**

本明細書で使用されるように、「癌」は、固形腫瘍癌（例えば、肺、前立腺、乳房、膀胱、結腸、卵巣、膵臓、腎臓、肝臓、神経膠芽腫、髄芽細胞腫、平滑筋肉腫、頭部及び頸部の扁平上皮細胞癌腫、黒色腫、神経内分泌系など）及び液状の癌（例えば、血液の癌）；癌腫；軟組織腫瘍；肉腫；奇形腫；黒色腫；白血病；リンパ腫；及び、微小持続性病変、並びに原発性及び転移性腫瘍の両方を含む脳腫瘍を含む、癌の任意の形態を含む。任意の癌は、主題の方法と組成物により処置されるのに適切な癌である。

**【0093】**

用語「結合パートナー」は、本明細書で使用されるように、特異的結合対（即ち、2つの分子、通常は2つの異なる分子であり、分子の1つ（例えば、第1の結合パートナー）は、非共有結合手段を介して、他の分子（例えば第2の結合パートナー）と特異的に結合する）のメンバーを指す。

30

**【0094】**

本明細書で使用されるように、用語「処置」、「処置すること」などは、効果を得るための薬剤の投与又は手順の実行を指す。効果は、疾患又はその症状の完全又は部分的な予防に関して予防的な場合もあり、及び/又は、疾患及び/又はその症状の部分的又は完全な治療の達成に関して治療的な場合もある。「処置」は、本明細書で使用されるように、哺乳動物、特にヒトの腫瘍の処置を含み、次のものを含む：（a）（例えば、原発性疾患に関連する又はそれにより引き起こされ得る疾患を含む）疾患にかかりやすいが、まだ疾患にかかっていると診断されていない被験体に生じる疾患又はその症状を予防すること；（b）疾患を阻害、即ち疾患の進行を阻止すること；及び（c）疾患を軽減、即ち、疾患の退行を引き起こすこと。処置は、癌の処置又は改善における成功の徴候を指し、これは、減退；寛解；症状の減少する又は患者が疾患状態に更に耐えられるようにすること；変性又は衰退の速度の低下；又は、変性の最終点をあまり消耗しないものにするなど、任意の他覚的又は主観的なパラメータを含む。症状の処置又は改善は、医師による検査の結果を含む、他覚的又は主観的なパラメータに基づく。従って、用語「処置すること」は、癌又は他の疾患に関連する症状又は状態の進行を予防又は遅らせるための、緩和するための、或いは阻止又は阻害するための、本発明の化合物又は薬物の投与を含む。用語「治療効果」は、被験体の疾患、疾患の症状、又は疾患の副作用の低減、排除、又は予防を指す。

40

50

## 【 0 0 9 5 】

「～と組み合わせる」、「併用療法」、及び「組み合わせの生成物」は、特定の実施形態において、本明細書で使用されるような第1の治療剤及び化合物の、患者への同時投与を指す。組み合わせる投与された時、成分はそれぞれ、同時に、又は、異なる時点で任意の順番で連続して、投与され得る。故に、成分はそれぞれ、所望の治療効果を提供するように、別々にではあるが、十分に近寄った時間で投与され得る。

## 【 0 0 9 6 】

「投与単位」は、処置される特定の個体のための単一の投与量として適切な、別個の単位を指す。各単位は、必要とされた医薬担体に関連した所望の治療効果（複数可）を生み出すように計算された、活性化化合物の予め定められた量を含むし得る。投与単位形態に関する仕様は、（a）活性化化合物（複数可）の固有の特性並びに達成される特定の治療効果（複数可）、及び、（b）そのような活性化化合物（複数可）を調合する当該技術分野における固有の制限により、指示され得る。

10

## 【 0 0 9 7 】

「薬学的に許容可能な賦形剤」は、通常は安全で、無毒な、且つ望ましい医薬組成物の調製に有用な賦形剤を意味し、獣医学用途、同様にヒトへの薬学的用途に許容可能な賦形剤を含む。そのような賦形剤は、個体、液体、半固体、又はエアロゾル組成物の場合には気体であり得る。

## 【 0 0 9 8 】

用語「薬学的に許容可能な」、「生理学的に許容可能な」、及びそれらの文法上の変形は、それらが組成物、担体、賦形剤、及び試薬を指す場合、互換的に使用されるものであり、組成物の投与を禁止する程度にまで、望ましくない生理的効果を生じさせることなくヒトへ物質を投与することができることを表している。

20

## 【 0 0 9 9 】

「治療上有効な量」は、疾患を処置するために被験体に投与された時に、疾患の処置を達成するのに十分な量を意味する。

## 【 0 1 0 0 】

用語「抗体」は、最も広範囲の意味で使用されるものであり、具体的には、モノクローナル抗体（完全長のモノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多特異的抗体（例えば、二重特異性抗体）、ペプチボディ（*peptibodies*）、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ科抗体（ラクダ科単一ドメイン抗体を含む）、代替的なスカーホールド抗体（例えば、アフイボディ（*affibodies*）、アビマー（*avimers*）、Fn3ドメイン、DARPin、Kunitzドメイン、SMIP、ドメイン抗体、BiTE、アドネクチン（*Adnectin*）、ナノボディ（*Nanobodies*）、安定したscFvs、*Anticalins*）、及び、所望の生物活性を提示する限りは抗体フラグメントを含む。「抗体」（Ab）及び「免疫グロブリン」（Ig）は、同じ構造特性を有する糖タンパク質である。抗体は特異性抗原に結合特異性を示す一方で、免疫グロブリンは、抗原特異性を欠く抗体及び他の抗体様の分子の両方を含む。

30

## 【 実施例 】

## 【 0 1 0 1 】

40

## 実施例1：方法

タンパク質の発現及び精製。C15G突然変異とC末端8×ヒスチジンタグ（SEQ ID NO: 40）を持つヒトCD47 IgSFドメイン（残基1-117）を、バキキュロウイルスを使用して（Hi-5）細胞中の*Trichoplusia*から分泌させ、Ni-NTAにより精製した。モノマーのSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、及びSIRP-ベータ2の変異体を、MBPタグとC末端8×ヒスチジンタグ（SEQ ID NO: 40）の後にリノウイルス3Cプロテアーゼ切断部位を含んでいる、修飾されたpMal-p2X発現ベクター（New England Biolabs）を使用して、BL-21（DE3）大腸菌の周辺質においてMBP融合として発現させた。細胞を、1 mM IPTGで0.8のOD-600にて誘発させ、22℃で24時間振動させること

50

でインキュベートした。周辺質タンパク質を、浸透圧ショック、及び、ニッケル - ニトリロ三酢酸 (Ni - NTA) クロマトグラフィーを使用して精製されたMBP融合タンパク質により得た。溶出したタンパク質を、4 で12時間3Cプロテアーゼで消化し、MBPを除去して、付加的なNi - NTAクロマトグラフィー工程によって更に精製した。エンドトキシンを、前述のようなTriton X - 114を用いて除去し、エンドトキシンの除去を、Toxin Sensor Chromogenic LAL Endotoxin Assay Kit (Genscript) を使用して確認した。SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、及びSIRP - ベータ2 - Fc融合を、IL - 2シグナル配列及び操作されたSer228 Pro突然変異を伴う修飾されたpFUSE - hlgG4 - Fcベクター (Invivogen) へと、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、及びSIRP - ベータ2変異体をクローン化することにより、生成した。タンパク質を、Freestyle 293 - F細胞 (Invitrogen) 中での一時的な形質移入により発現させ、HiTrap Protein Aカラム (GE Healthcare) の上で精製した。

#### 【0102】

ビオチン化タンパク質を、カルボキシ末端のビオチンアクセプターペプチドタグ (GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 41)) での発現により得て、上述のように精製した。精製したタンパク質を、BirAリガーゼによりインビトロでビオチン化し、次いでNi - NTAクロマトグラフィーにより反応混合物から再精製させた。

#### 【0103】

SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2の変異体の酵母ディスプレイとライブラリ生成。SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のN末端のV - セットドメインを、上述のようにpYDS649HMベクター中のScerevisiae菌株BJ5465の表面上で表示された。ライブラリを、縮重コドンを持つプライマーセットを使用して、SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又はSIRP - ベータ2のCD47接触残基と疎水性の「コア」残基を無作為化したアセンブリPCR反応により生成した。PCRを、pYDS649HMベクターに対する同族性を含むプライマーで更に増幅し、直線化されたpYDS649HMベクターDNAと組み合わせ、BJ5465酵母菌へと共電気穿孔した。結果として生じるライブラリは $4.0 - 8.0 \times 10^8$ の形質転換体を含んでいた。

#### 【0104】

ライブラリの選択。形質転換酵母を、30 でSD - W液体培地中で拡張させ、20 でSG - W液体培地中で誘発させた。培地を全て100mMのマルトースで補い、凝集を防いだ。全ての選択工程を4で行なった。1回目の選択のために、ライブラリ形質転換体の数の10倍の被覆率を表わす、 $8 \times 10^9$ の誘発された酵母菌を、5mlのPBE (0.5%のウシ血清アルブミンと0.5mMのEDTAで補足したリン酸緩衝生理食塩水) 中で再懸濁した。酵母菌を、ビオチン化CD47で予め覆われた500 $\mu$ lの常磁性ストレプトアビジンのマイクロビーズ (Miltényi) と組み合わせ、混合物を1時間、回転によりインキュベートした。酵母菌を5分間、5000xgでの遠心分離によりペレット状にし、1mlのPBEで2回洗浄した。磁気標識化した酵母菌を5mlのPBE中で再懸濁し、製造業者の指示 (Miltényi) に従いLS MAGSカラムで分離した。溶出した酵母菌をペレット状にし、SD - W培地中で再懸濁し、次の回の選択のために拡張した。更なる回の選択を、以下の修飾で1回目と同様に実行した： $1 \times 10^8$ の酵母菌を、Alexa Fluor 488 - 標識化抗HA抗体 (Cell Signaling)、又は、100nMから1nMまで連続的に低減する濃度のビオチン化CD47タンパク質を含んでいる、500 $\mu$ lのPBE中で再懸濁した。1時間のインキュベーション後、酵母菌をPBEで洗浄し、CD47での選択のために、15分間にわたりストレプトアビジン - PE (Invitrogen) 又はストレプトアビジン - Alexa Fluor 647 (家で生成したもの) で標識化した。酵母菌をPBEで更に2回洗浄し、15分間、50 $\mu$ lの適切な抗蛍光マイクロビーズ (抗FITC、PE治療、又は抗 -

10

20

30

40

50

Alexa Fluor 647; Miltenyi) で磁氣的に標識化した。酵母菌を1回洗浄し、3mlのPBE中で再懸濁し、1回目のようにLSカラムで分離した。

【0105】

最終の選択のために、動力学的な選択を実行した。簡潔に、酵母菌を1時間、10nMのビオチン化CD47で染色し、PBEで洗浄し、次いで、1μMの非ビオチン化CD47を含む500μlのPBE中で再懸濁した。細胞を、25℃で300分間インキュベートし、その後、細胞を氷冷PBEで洗浄し、蛍光標識したストレプトアビジンで染色した。次いで酵母菌を、Alexa Fluor 488で標識化した抗HAとストレプトアビジン-Alexa Fluor 647で共標識化して、FACS細胞選別装置で選択した。

10

【0106】

表面プラズモン共鳴 (SPR)。実験を25℃で、Biacore T100により行なった。タンパク質濃度を、Nanodrop2000分光計 (Thermo Scientific) で280nmの吸光度により定量化した。Biacore SAのセンサチップ (GE Healthcare) を使用して、ビオチン化CD47 (R<sub>max</sub> ~ 150 RU) を捕らえた。無関係なビオチン化タンパク質を、参照表面のものと非特異的結合の対照に一致する、RU値で固定された。測定を、HBS-P+バッファー (GE Healthcare) において、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2の変異体の連続希釈により行った。CD47の表面を、2MのMgCl<sub>2</sub>の3回の60秒の注入により再生成した。全てのデータを、1:1のLangmuir結合モデルを伴うBiacore T100評価ソフトウェアのバージョン2.0で分析した。

20

【0107】

細胞株とGFP-ルシフェラーゼ+導入。DLD-1細胞 (ATCC)、HT-29細胞 (ATCC)、Raji細胞 (ATCC)、Jurkat細胞 (ATCC)、及び639-V細胞 (DSMZ) を、10%のウシ胎仔血清 (Omega Scientific)、100U/mlのペニシリン、及び100μg/mlのストレプトマイシン (Invitrogen) で補ったRPMI+GlutaMax (Invitrogen) において培養した。GFP-ルシフェラーゼ+株を、eGFP-ルシフェラーゼ2 (pg14) 融合タンパク質を発現させるように設計されたpCDH-CMV-MCS-EF1 puro HIVベースのレンチウイルスベクター (System Biosciences) を使用する導入により、生成した。安定した株を、FACS細胞選別装置上でのGFP発現のために分類することによって作成した。

30

【0108】

細胞ベースのCD47結合アッセイ。ビオチン化SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2のモノマーの濃度を変えて、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2-hlgG4融合タンパク質を癌細胞でインキュベートした。ビオチン化モノマーの結合を、二次染色試薬として100nMのAlexa Fluor 647で共役したストレプトアビジンを使用して検出し、Accuri C6フローサイトメーター (BD Biosciences) 上で分析する。SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2-hlgG4融合タンパク質又は抗CD47抗体の結合を、ヤギ抗ヒトlgG抗体 (Invitrogen) で検出し、Accuri C6フローサイトメーター上で分析する。データは、各クラスの試薬に関する最大結合へと標準化された平均蛍光強度を表わしており、点は、Prism 5 (Graphpad) を使用してS字状の用量-反応曲線に適合される。

40

【0109】

細胞ベースのCD47遮断アッセイ。ビオチン化SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2の変異体を、Alexa Fluor 647で共役したストレプトアビジンでインキュベートして、SIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2の変異四量体 (variant tetramer) を形成した。100nMのSIRP-ガンマ、SIRP-ベータ、又はSIRP-ベータ2の変異四量体を、

50

滴定濃度 (titrating concentration) の CD47 アンタゴニストと組み合わせ、50,000 GFPルシフェラーゼ + Raji 細胞に同時に加えた。細胞を4で30分間インキュベートし、洗浄して、未結合の四量体を除去した。サンプルを DAPI (Sigma) で染色して死細胞を除外し、Accuri C6 フローサイトメーターを使用して蛍光を分析した。データは、最大四量体結合へと標準化された幾何平均蛍光強度を表わしており、Prism 5 (Graphpad) を使用して S 字状の用量反応曲線に適合される。

#### 【0110】

マクロファージ誘導と食作用のアッセイ。白血球減少システム (LRS) のチャンバを匿名のドナーから得て、末梢血単核細胞を、Ficoll - Paque Premium (GE Healthcare) 上での密度勾配遠心分離により豊富化した (enriched)。単球を、抗 CD14 マイクロビーズ (Miltenyi) を使用して AutoMACS (Miltenyi) 上で精製し、10% の AB - ヒト血清 (Invitrogen)、100 U/ml のペニシリン、及び 100 µg/ml のストレプトマイシン (Invitrogen) を補った IMDM + GlutaMax (Invitrogen) とにおいて 7 - 10 日間にわたる培養によりマクロファージへと分化させた。食作用アッセイを、2 時間にわたる 50,000 のマクロファージと 100,000 の GFP + 腫瘍細胞との共培養により実行し、次いで、高スループットサンプラー (BD Biosciences) を伴う LSRFortessa 細胞分析装置を使用して分析した。処置に使用する抗体は、マウス IgG1 アイソタイプ対照 (eBioscience)、抗 CD47 クローン 203 (eBioscience)、抗 EpCam (Biolegend)、セツキシマブ (Bristol - Myers Squibb)、及びリツキシマブ (Genentech) を含む。マクロファージを、抗 CD14、抗 CD45、又は抗 CD206 の抗体 (Biolegend) を使用したフローサイトメトリーにより特定した。死細胞を、DAPI (Sigma) での染色により分析から除外した。食作用を、GFP + マクロファージのパーセンテージとして評価して、各細胞株に対する各独立したドナーによる最大反応へと標準化した。統計的有意性を、Bonferroni の後試験で 2 元配置分散分析により判定し、そして示された時に、Prism 5 (Graphpad) を使用して S 字状の用量応答曲線にデータを適合させた。

#### 【0111】

FACS ベースの食作用アッセイ。抗生物質又は血清が加えられない IMDM + GlutaMax (Life Technologies) 中の超低着の 96 ウェルの U 底プレート (Corning) における、2 時間の 100,000 の標的細胞と 50,000 のマクロファージとの共培養により、食作用の評価を実行した。マクロファージを、CD14 + Whole Blood 分離キット (Miltenyi) を使用した一次ヒト単球の磁気ビーズベースの精製、続いてヒト血清 (Gemini) の 7 日間の培養により生成して、7 日目に、これらの細胞を、TrypLE Express (Life Technologies) を使用してプレートから採取した。マクロファージに、製造業者の指標に従って Calcein AM の赤色 / オレンジ色の細胞染色 (Life Technologies) で印を付けた。標的細胞を操作して、緑色の蛍光タンパク質を安定的に発現させた。タンパク質処置を、標的細胞とマクロファージの共培養物に加えて、混合物を 37 で 2 時間インキュベートした。反応を、高スループットのオートサンプラー (BD Biosciences) を与えられた LSRFortessa 分析装置上で実行した。FlowJo v. 9.4.10 (Tree Star) を使用して分析されるように、食作用をマクロファージの合計のパーセンテージとして評価し、図の符号説明に示されるように標準化した。

#### 【0112】

マウス。Nod.Cg - Prkdc<sup>scid</sup> IL2rg<sup>tm1wj1</sup> / SzJ (NSG) のマウスを、全てのインビボ実験に使用した。マウスにおよそ 6 - 10 週齢で腫瘍を生着させ、8 - 15 匹のマウスの年齢と性別が一致したコホートで実験を行う。

## 【0113】

腫瘍モデル。ヒト結腸癌をモデル化するために、 $1 \times 10^5$  の GFP - ルシフェラーゼ + DLD - 1 細胞を、NSGマウスの腹膜腔に注入した。25%のマトリゲル (BD Biosciences) における、NSGマウスの背中の皮下組織への  $1.25 \times 10^5$  の GFP - ルシフェラーゼ + 639V の細胞の生着により、膀胱癌をモデル化する。 $1 \times 10^6$  の GFP - ルシフェラーゼ + Raji 細胞を、ヒトリンパ腫の局在化モデルについて下腹部に皮下生着させる。全てのモデルにおいて、処置を生着の確認後に開始し、示されるように持続する。全ての処置のために、 $200 \mu\text{g}$  の SIRP - ガンマ、SIRP - ベータ、又は SIRP - ベータ 2 の変異体又は抗体を、毎日のスケジュールに基づく腹腔内注射により投与する。腫瘍増殖を生物発光イメージングによりモニタリングし、腫瘍寸法を測定して、楕円面の式 ( $\pi / 6 \times \text{長さ} \times \text{幅}^2$ ) に従って量を計算する。統計的有意性を、適切なものとして Dunn の後試験を伴うマン・ホイットニー検定又はクラスカル・ワリスにより判定する。マンテル・コックス検定により生存を分析する。

10

## 【0114】

蛍光イメージング。麻酔をかけたマウスに、滅菌 PBS において  $16.67 \text{ mg/ml}$  で再構成された、 $200 \mu\text{l}$  の D ルシフェリン (ホタル) カリウム塩 (Biosynth) を注入する。生物発光イメージングを 20 分間、IVIS スペクトル (Caliper Life Science) を使用して実行し、最大発光を記録する。ピークの合計の流束値を、Living Image 4.0 (Caliper Life Sciences) 用いて対象の解剖学的領域から評価し、分析に使用する。

20

## 【0115】

タンパク質配列。本明細書に記載される実施例に使用されるタンパク質の中に、以下のものが含まれている：

野生型 SIRP - ガンマ：

## 【0116】

## 【数 1】

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVGPVWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPR  
VTVSDLTKRNNMDFSSIRISSITPADVGTYYCVKFRKGGSPENVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 1)

30

GV1 (高親和性 SIRP - ガンマ)：

## 【0117】

## 【数 2】

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVWFRGVGPGRVLIIYNQROGPFPRV  
TTVSDITKRNNMDFSSIRISSITPADVGTYYCIKFRKGGSPENVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 3)

40

GV1.2：

## 【0118】

## 【数 3】

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVWFRGVGPGRVLIIYNQREGPFPRVT  
TVSDGTKRNNMDFSSIRISSITPADVGTYYCVKFRKGGSPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 13)

HGV1：

## 【0119】

## 【数4】

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLEFPVGPIQWFRGVGPGRVLIYNQRDGPFPRV  
 TTVSDGTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYCVKFRKGTPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 4)

H G V 2 :

【0120】

## 【数5】

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLEFPVGPIQWFRGVGPGRVLIYNQKDGPFPRV  
 TTVSDGTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYCVKFRKGSPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 5)

10

H G V 3 :

【0121】

## 【数6】

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLEFPVGPIQWFRGVGPGRVLIYNQKDGHFPRV  
 TTVSDGTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYCVKFRKGSPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 6)

20

M G V 1 :

【0122】

## 【数7】

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLEFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRDGPFPRV  
 TTVSDGTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYCIKFRKGTPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 7)

S I R P - ガンマのライブラリ残基 :

【0123】

30

【表 1】

|      |           |
|------|-----------|
| M6   | MILF      |
| V27  | FILV      |
| L30  | LIVHND    |
| L31  | FILV      |
| V33  | VILPTA    |
| V36  | VI        |
| L37  | LQ        |
| V42  | VA        |
| E47  | EV        |
| Q52  | QPLVAE    |
| K53  | KR        |
| E54  | EDKNQH    |
| H56  | HPR       |
| L66  | LIVPTARSG |
| T67  | TINFSYVAD |
| V92  | VI        |
| S98  | SRNKTIM   |
| N101 | NKDEHQ    |

10

20

【 0 1 2 4 】

野生型 S I R P - ベータ :

30

【 0 1 2 5 】

【数 8】

EDELQVIQPEKSVSVAAGESATLRCA~~M~~TS~~L~~IPVGPIMWFRGAGAGRELIYNQKEGHFPR  
 VTTVSELTKRNNLDFSISISNITPADAGTY~~Y~~CVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS  
 (SEQ ID NO: 43)

B V 1 (高親和性 S I R P - ベータ) :

【 0 1 2 6 】

【数 9】

40

EDELQIIQPEKSVSVAAGESATLRCAITSLFPVGPIQWFRGAGAGRVLIYNQRQGPFPRV  
 TTVSETTKRNNLDFSISISNITPADAGTY~~Y~~CIKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS  
 (SEQ ID NO: 26)

野生型 S I R P - ベータ 2 :

【 0 1 2 7 】

【数 1 0】

EEELQVIQPKSISVAAGESATLHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVT  
 TVSDLTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYYCVKFRKGGSPDHVEFKSGAGTELSVRAKPS  
 (SEQ ID NO: 44)

B 2 V 1 (高親和性 S I R P - ベータ 2) :

【 0 1 2 8】

【数 1 1】

EEELQIIQPKSISVAAGESATLHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQROGPFPRVT  
 TVSDITTKRNNMDFSIRISNITPADAGTYYCIIKFRKGGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS  
 (SEQ ID NO: 28)

10

【 0 1 2 9】

S I R P - ガンマポリペプチドのための付加的なタンパク質配列は、以下を含む：

H L i b 1 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSHFPVGPIQWFR  
 GVGPGRVLIIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGGSPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 8) ;

20

H L i b 2 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFR  
 GAGPGRVLIIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGGTPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 9) ;

H L i b 3 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVLWFR  
 GVGPGRVLIIYNQRQGGPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGGTPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 10) ;

30

H L i b 4 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPIQWFR  
 GVGPGRELIYNAREGRFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGGSPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 11) ;

H M L i b 1 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFR  
 GAGPGRVLIIYNQRQGGPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGN  
 ITPADAGTYYCIIKFRKGGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS  
 (SEQ ID NO: 12) ;

40

H M L i b 2 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPVLWFR  
 GVGPGRVLIIYNQRQGGPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCIIKFRKGGSPENVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 3) ;

H M L i b 3 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPIQWFR  
 GVGPGRVLIIYNQREGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGGSPEDVEFKSGPGTEMALGAKPS  
 (SEQ ID NO: 13) ;

50

HMLib4 :

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLPVGPIQWFR  
GVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 42) ;

HMLib5 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 14) ;

10

HMLib6 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEVVEFKSGPGTXWH (SEQ I  
D NO: 15) 、ここで、XはA、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、M  
、F、P、S、T、W、Y、又はVであり ;

HMLib7 :

EEELQIIQPKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFR  
GAGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGTPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 16) ;

20

MLib1 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLLPVGPIQWFR  
GVGPGRELIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGTPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 17) ;

MLib2 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTLTSLLPVGPIQWFR  
GVGPGGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGNPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 18) ;

30

MLib3 :

EEELQLIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPPIGPIQWFR  
GVGPGGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGIPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 19) ;

MLib4 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLRCTITSLFPVGPIQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 20) ;

40

MLib5 :

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPIGPIQWFR  
GVGPGGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS  
(SEQ ID NO: 21) ;

MLib6 :

EEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGPIQWFR  
GAGPGRVLIYNQRDGGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEVVEFKSGPGTEMALGAKPS

50

(SEQ ID NO: 22);

MLib7:

EEELQIIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGIPEDEVFKSGPGTEMALGAKPS

(SEQ ID NO: 23); 及び

MLib8:

EEELQIIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGP IQWFR  
GAGPGRVLIYNQKDGPFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCIKFRKGTPEDEVFKSGPGTEMALXAKPS

10

(SEQ ID NO: 24).

【0130】

追加の実施形態において、デコイポリペプチドは、融合又はキメラのポリペプチドである。追加の実施形態において、デコイポリペプチドは、免疫チェックポイント阻害剤、共刺激分子、又はサイトカイン、或いは弱められたサイトカインを含むポリペプチド配列に融合されるSIRP-ガンマポリペプチド配列を含み、ここで、配列は、異なる長さ及び組成物のGly-Serリンカーにより結合される。更なる実施形態において、デコイポリペプチドは、以下配列の1つを含む:

1) 免疫のチェックポイント阻害剤への融合

a. PD-1/PD-L1アンタゴニスト:

20

例: HAC-GV3 (GV3に融合される高親和性PD-1デコイ)

DSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFHV  
VWHRESPSGQTDTLAAFPEDRSQPGQDARFRVTQLPNGRD  
FHMSVVRARRNDSGTYVCGVISLAPKIQIKESLRAELRVT  
ERGGGSGGGGSEEEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTIT  
SLFPVGP IQWFRGVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTK  
RNNMDFSIRISSITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVFKSGP  
GTEMALGAKPS (SEQ ID NO: 30);

b. BTLA/CD160アンタゴニスト

例: GV3-BTLAデコイ

30

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVFKSGPGTEMALGAKPSG  
GGGSGGGGGSWNIHGKESCDVQLYIKRQSEHSILAGDPFEL  
ECPVKYCANRPHVTWCKLNGTTCVKLEDRQTSWKEEKNIS  
FFILHFEPVLPNDNGSYRCSANFQSNLIESHSTTLVYVTDV  
K (SEQ ID NO: 31);

c. ホスファチジルセリンアンタゴニスト

例: GV3-MFGE8デコイ

40

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS  
ITPADVGTYYCVKFRKGSPEDEVFKSGPGTEMALGAKPSG  
GGGSGGGGSELNGCANPLGLKNNSIPDKQITASSSYKTWG  
LHLFSWNP SYARLDKQGNFNAWVAGSYGNDQWLQVDLGSS  
KEVTGIITQGARNFGSVQFVASYKVAYSND SANWTEYQDP  
RTGSSKIFPGNWDNHSHKKNLFETPI LARYVRILPVAWHN  
RIALRLELLGC (SEQ ID NO: 32);

例: GV3-Tim1デコイ

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
GVGPGRVLIYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDFSIRISS

50

ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPSG  
 GGGSGGGGSVAGSVKVGGEAGPSVTL PCHYS GAVTSMCWN  
 RGSCSLFTCQNGI VWTNGTHV TYRKDTRYKLLGDLSRRDV  
 SLTIENTAVSDSGVYCCRVEHRGW FNDMKITV SLEIVPPK  
 VTT (SEQ ID NO: 33);

例: GV3 - Tim3デコイ

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPSG  
 GGGSGGGGSSEVEYRAEVGQNA YLPCFYTPAAPGNLVPVC  
 WGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLN GDFRKG D  
 VSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFN LKLVIKPA  
 KVTPA (SEQ ID NO: 34);

10

例: GV3 - Tim4デコイ

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPSG  
 GGGSGGGGSTSETVVTEVLGHRVTL PCLYSSWSHNSNSMC  
 WGDQCPYSGCKEALIRTDGMRVTSRKS AKYRLQGTIPRG  
 DVSLTILNPSESDSGVYCCRIEVPGW FNDVKINVRLNLQR  
 ASTTTDEKFN LKLVIKPAKVTPA (SEQ ID NO: 35);

20

2) 共刺分子への融合

a. CD40アゴニスト

例: GV3 - CD40L

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPSG  
 GGGSGGGGSGDQNPQIAAHVISEASSKTTSVLQWAEKGY Y  
 TMSNNLV TLENGKQLTVKRQGLYYIYAQVTFCSNREASSQ  
 APFIASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQS IHLG  
 GVFE LQPGASVFNVTDP SQVSHGTGFTSFGL LKL (SEQ  
 ID NO: 36);

30

b. 41BB (CD137)アゴニスト

例: GV3 - 41BBL

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPSG  
 GGGSGGGGSDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWY  
 SDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQME LR  
 RVVAGEGSGSVSLALHLMPLRSAAGAAALALTVDLPPASS  
 EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ  
 GATV LGLFRVTP EIPA (SEQ ID NO: 37);

40

3) サイトカイン又は弱められたサイトカインへの融合

例: GV3 - IL2

EEELQIIQPEKLLLVTVGKTATLHCTITSLFPVGP IQWFR  
 GVGPGRVL IYNQKDGHFPRVTTVSDGTKRNNMDF SIRISS  
 ITPADVGTYYCVKFRKGS PEDVEFKSGPGTEMALGAKPSG  
 GGGSGGGGSAPTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI LINGINNY  
 KNPKLTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEEELKPLEEVLN  
 LAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET

50

A T I V E F L N R W I T F C Q S I I S T L T ( S E Q I D N O : 3 8 ) ;

例 : G V 3 - I L 2 ( 突然変異 F 4 2 A / D 2 0 T を備えた「弱められた」サイトカイン )

E E E L Q I I Q P E K L L L V T V G K T A T L H C T I T S L F P V G P I Q W F R  
G V G P G R V L I Y N Q K D G H F P R V T T V S D G T K R N N M D F S I R I S S  
I T P A D V G T Y Y C V K F R K G S P E D V E F K S G P G T E M A L G A K P S G  
G G G S G G G S A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L L T L Q M I L N G I N N Y  
K N P K L T R M L T A K F Y M P K K A T E L K H L Q C L E E E L K P L E E V L N  
L A Q S K N F H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G S E T T F M C E Y A D E T  
A T I V E F L N R W I T F C Q S I I S T L T ( S E Q I D N O : 3 9 ) .

10

【 0 1 3 1 】

実施例 2 : ヒト C D 4 7 に関する S I R P - ガンマ変異体 G V 3 の動態力学と結合親和性の表面プラズモン共鳴ベースの測定

上述の表面プラズモン共鳴方法を使用して、ヒト C D 4 7 に関する S I R P - ガンマ変異体 G V 3 の結合親和性と動態力学を測定することができる。例えば、図 1 A に示されるように、100 pM、316 pM、1 nM、3.16 nM、10 nM、及び 100 nM を含む、S I R P - ガンマ変異体 G V 3 の濃度の変更を、ビオチン化ヒト C D 4 7 の既知の濃度との結合反応において使用した。1 : 1 の L a n g m u i r 結合モデルを使用して計算された解離定数  $K_d$  は 92 pM であった。計算された解離半減期  $T_{1/2}$  は約 44 分であった。図 1 B は、S I R P - ガンマ変異体 G V 3 に結合されるビオチン化ヒト C D 4 7

20

【 0 1 3 2 】

実施例 3 : ヒト C D 4 7 に関する、H A C - G V 3、S I R P - ガンマ変異体 G V 3 の融合タンパク質、及び高親和性 P D - 1 変異体 H A C の結合親和性及び動態力学の表面プラズモン共鳴ベースの測定

上述の表面プラズモン共鳴方法を使用して、ヒト C D 4 7 に関する、H A C - G V 3、S I R P - ガンマ変異体 G V 3 の融合タンパク質、及び高親和性 P D 1 変異体 H A C の結合親和性及び動態力学を測定する。例えば、図 2 A に示されるように、100 pM、316 pM、1 nM、3.16 nM、10 nM、及び 100 nM を含む、H A C - G V 3 融合タンパク質の濃度の変更を、ビオチン化ヒト C D 4 7 の既知の濃度との結合反応において使用した。1 : 1 の L a n g m u i r 結合モデルを使用して計算された解離定数  $K_d$  は 160 pM であった。計算された解離半減期  $T_{1/2}$  は約 40 分であった。図 2 B は、S I R P - ガンマ変異体 G V 3 と H A C を含む融合タンパク質に結合される、ビオチン化ヒト C D 4 7 を表す図を示す。

30

【 0 1 3 3 】

実施例 4 : ヒト P D - L 1 に関する P D - 1 変異体 H A C の結合親和性と動態力学の表面プラズモン共鳴ベースの測定

別の例において、表面プラズモン共鳴を使用して、ヒト P D - L 1 に関する P D - 1 変異体 H A C の結合親和性と動態力学を測定した。100 pM、316 pM、1 nM、3.16 nM、10 nM、及び 100 nM を含む、H A C の濃度の変更を、ビオチン化ヒト P D - L 1 の既知の濃度との結合反応に使用した。1 : 1 の L a n g m u i r 結合モデルを使用して計算された解離定数  $K_d$  は 110 pM であった。計算された解離半減期  $T_{1/2}$  は約 42 分であった。

40

【 0 1 3 4 】

実施例 5 : ヒト P D - L 1 に関する、H A C - G V 3、即ち S I R P - ガンマ変異体 G V 3 と高親和性 P D - 1 変異体 H A C との融合の結合親和性及び動態力学の表面プラズモン共鳴ベースの測定

上述の表面プラズモン共鳴方法を使用して、ヒト P D - L 1 に関する、H A C - G V 3、即ち S I R P - ガンマ変異体 G V 3 と高親和性 P D - 1 変異体 H A C との融合の結合親和性及び動態力学を測定する。例えば、図 3 A に示されるように、100 pM、316 p

50

M、1 nM、3.16 nM、10 nM、及び100 nMを含む、HAC - GV3 融合タンパク質の濃度の変更を、ビオチン化ヒトPD - L1の既知の濃度との結合反応に加えた。1:1のLangmuir結合モデルを使用して計算された解離定数Kdは134 pMであった。計算された解離半減期T1/2は約38分であった。図3Bは、HAC - GV3に結合されるビオチン化ヒトPD - L1を表す図を示す。

【0135】

実施例6：HAC - GV3による、ヒトCD47とヒトPD - L1の両方の同時結合の表面プラズモン共鳴ベースの測定

表面プラズモン共鳴ベースの測定の別の例において、HAC - GV3によるヒトCD47とヒトPD - L1の両方の同時結合の結合親和性及び動態力学を、ビオチン化ヒトCD47の既知の濃度へ、異なる濃度のHG V3又はHAC - GV3の何れかを加えることにより測定した。図4Aに示されるように、ヒトGV3のみと比べて、融合タンパク質HAC - GV3に関する結合曲線は、2つの別個のピーク(ビオチン化CD47への結合に関する第1のピーク、及びPD - L1への結合に関する第2のピーク)を示した。図4Bは、HAC - GV3融合タンパク質のGV3部分に結合されるビオチン化ヒトCD47を表す図を示し、ここでHAC部分はPD - L1に結合される。

10

【0136】

実施例7：GV3及びHAC - GV3によるCD47 + 細胞の表面上でのCD47 / SIRP - アルファの相互作用の遮断の、フローサイトメトリーベースの測定

上述の細胞ベースのCD47遮断アッセイを使用して、50 nMのビオチン化SIRP - アルファ四量体を、CD47 + 細胞の存在下で滴定濃度のGV3又はHAC - GV3の何れかと組み合わせた。図5は、GV3及びHAC - GV3によるCD47 + GFP - ルシフェラーゼ + DLD1 - Tg細胞の表面上でのCD47 / SIRP - アルファの相互作用の遮断の、フローサイトメトリーベースの測定を示す。SIRP - アルファ結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度(% MFT)を、Mにおいて対数濃度に対してプロットする。

20

【0137】

実施例8：GV3及びHAC - GV3によるCD47 + PD - L1 + 細胞の表面上でのCD47 / SIRP - アルファの相互作用の遮断の、フローサイトメトリーベースの測定

上述の細胞ベースのCD47遮断アッセイの別の例において、フローサイトメトリーを使用して、GV3及びHAC - GV3によるCD47 + PD - L1 + GFP - ルシフェラーゼ + DLD1 - Tg細胞の表面上でのCD47 / SIRP - アルファの相互作用の遮断を測定した。図6に示されるように、50 nMのビオチン化SIRP - アルファ四量体を、CD47 + PD - L1 + 細胞の存在下で滴定濃度のGV3又はHAC - GV3の何れかと組み合わせた。SIRP - アルファ結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度(% MFT)を、Mにおいて対数濃度に対してプロットする。

30

【0138】

実施例9：HAC及びHAC - GV3によるPD - L1 + 細胞の表面上でのPD - 1 / PD - L1の相互作用の遮断の、フローサイトメトリーベースの測定

細胞ベースのCD47遮断アッセイの別の例において、フローサイトメトリーを使用して、HAC及びHAC - GV3によるヒトPD - L1 + 酵母菌の表面上でのPD - 1 / PD - L1の相互作用の遮断を測定した。図7に示されるように、100 nMのビオチン化PD - 1四量体を、hPD - L1 + 酵母菌の存在下で滴定濃度のHAC又はHAC - GV3の何れかと組み合わせた。PD - L1結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度(% MFT)を、Mにおいて対数濃度に対してプロットする。

40

【0139】

実施例10：HAC及びHAC - GV3によるCD47 + PD - L1 + 細胞の表面上でのPD - 1 / PD - L1の相互作用の遮断の、フローサイトメトリーベースの測定

細胞ベースのCD47遮断アッセイの別の例において、フローサイトメトリーを使用して、HAC及びHAC - GV3によるCD47 + PD - L1 + GFP - ルシフェラーゼ +

50

D L D 1 - T g 細胞の表面上での P D - 1 / P D - L 1 の相互作用の遮断を測定した。図 8 に示されるように、100 nM のビオチン化 P D - 1 四量体を、C D 4 7 + P D - L 1 + 細胞の存在下で滴定濃度の H A C 又は H A C - G V 3 の何れかと組み合わせた。P D - 1 結合の読み出し値としてのパーセント中間蛍光強度 (% M F T ) を、M において対数濃度に対してプロットする。

#### 【0140】

実施例 11 : 食作用の F A C S ベースの測定は G V 3 マイクロボディを示し、H A C - G V 3 は、広範囲のオプソニン化 ( o p s o n i z i n g ) 抗体濃度にわたり食作用を強める。

図 9 は、ヒト結腸癌細胞株 D L D 1 に対するドナー由来のヒトマクロファージによる食作用の、F A C S ベースの測定を示し、G V 3 マイクロボディと H A C - G V 3 が広範囲のオプソニン化抗体濃度にわたり食作用を強めることを示している。抗生物質又は血清が加えられない I M D M + G l u t a M a x ( L i f e T e c h n o l o g i e s ) 中の超低着の 96 ウェルの U 底プレート ( C o r n i n g ) における、2 時間の 100,000 の標的細胞と 50,000 のマクロファージとの共培養により、食作用の評価を実行した。マクロファージを、C D 1 4 + W h o l e B l o o d 分離キット ( M i l t e n y i ) を使用した一次ヒト単球の磁気ビーズベースの精製、続いてヒト血清 ( G e m i n i ) の 7 日間の培養により生成して、7 日目に、これらの細胞を、T r y p L E F x p r e s s ( L i f e T e c h n o l o g i e s ) を使用してプレートから採取した。マクロファージに、製造業者の指標に従って C a l c e i n A M の赤色 / オレンジ色の細胞染色 ( L i f e T e c h n o l o g i e s ) で印を付けた。標的細胞を操作して、緑色の蛍光タンパク質を安定的に発現させた。H G V 3 ( G V 3 m b ) 又は H A C - G V 3 融合タンパク質の二量体化マイクロボディ形態は 10 nM の飽和濃度で反応ウェルに加えられ、一方でオプソニン化抗体であるセツキシマブは濃度の 3 つの対数にわたって滴定される。エラーバーは、重複実験の標準偏差を表わす。反応を、高スループットのオートサンブラー ( B D B i o s c i e n c e s ) を与えられた L S R F o r t e s s a 分析装置上で実行した。F l o w J o v . 9 . 4 . 1 0 ( T r e e S t a r ) を使用して分析されるように、食作用をマクロファージの合計のパーセンテージとして評価し、図の符号説明に示されるように標準化した。

#### 【0141】

実施例 12 : H A C - G V 3 と G V 3 の占有率と持続性

H A C - G V 3 と G V 3 の占有率と持続性を判定する実験を、図 10 に要約する。H A C - G V 3 と G V 3 の占有率と持続性を試験するために、N S G マウスに、未修飾の H L 6 0 と H L 6 0 - T g ( h P D L 1 , G F P ) の混合物 ( 静脈内 ) と同様に、B 1 6 - F 0 ( 皮下 ) を 0 日目に注入した。11、12、及び 13 日目に、マウスに P B S 、 G V 3 、又は H A C - G V 3 を注入した。最後の注射の 1 時間又は 24 時間後に、脾臓又は腫瘍を、屠殺したマウスから採取し、細胞を、酵素の消化を用いることなく氷上で単個細胞浮遊液へと分離した。F A C S を使用して、マウス脾細胞、マウス固形腫瘍細胞 ( B 1 6 F 0 ) 、又はヒト腫瘍細胞 ( H L 6 0 - T g ( h P D L 1 , G F P ) ) への S I R P A 四量体の結合を分析した。

#### 【0142】

H A C - G V 3 及び G V 3 の占有率と持続性を、図 11 A - 11 D に示す。H A C - G V 3 は共に、1 時間及び 24 時間で合計の脾細胞における G V 3 及び P B S の対照と比較して、占有率と持続性を増大させたことが示された ( 図 11 A ) 。 H A C - G V 3 は共に、1 時間及び 24 時間でマウス脾細胞における G V 3 及び P B S の対照と比較して、占有率と持続性を増大させたことが実証された ( 図 11 B ) 。 H A C - G V 3 は共に、1 時間及び 24 時間で合計の脾臓から分離したヒト細胞における G V 3 及び P B S の対照と比較して、占有率と持続性を増大させたことが観察された ( 図 11 C ) 。 H A C - G V 3 は、1 時間及び 24 時間で、腫瘍から分離された B 1 6 - F 0 メラノーマ細胞における G V 3 及び P B S の対照と比較して、占有率を増大させたことが実証された ( 図 11 D ) 。

## 【0143】

実施例13：B細胞リンパ腫の処置のためのデコイポリペプチドの効果を試験する臨床試験

これは、第3B期又は第4期のB細胞リンパ腫の患者の処置に関するデコイポリペプチドの安全性と効果を試験するための、前向きな非盲検の、制御された無作為研究である。適格となるために、試験に入る患者は、第1線の処置（化学療法のみ、又は化学療法と放射線療法）の後に疾患の安定又は臨床反応の何れかを実証し、0、1、又は2のECOGパフォーマンスステータスを有することとなる。3週の休薬期間（washout period）の後、患者を疾患状況ごとに階層化し、抗CD20抗体（例えばリツキシマブ）のみ、又は抗CD20抗体とデコイポリペプチドの何れかへと無作為化する。

10

## 【0144】

10mg/kgのデコイポリペプチドによる、8回の毎週の皮下での処置を、0、1、2、3、4、5、6、及び7週目に施した。全ての患者を、0週目に375mg/m<sup>2</sup>の抗CD20で、1、2、3、4、5、6、及び7週目に500mg/m<sup>2</sup>の抗CD20で更に処置する。

## 【0145】

主要評価項目は、試験の2つのアームにおける、デコイポリペプチドの安全性プロファイルの文書化、及び患者の生存率の比較である。副次的評価項目は、免疫療法を受ける患者に関してデコイポリペプチドにより誘発された食作用の活性化を測定し、且つ生活の質を評価することである。

20

## 【0146】

実施例14：進行した固形腫瘍を患う患者におけるデコイポリペプチドの最大耐用量及び/又は推奨される投与量を試験するための臨床試験

これは、以前に処置された第3期又は第4期の固形腫瘍を患う患者におけるデコイポリペプチドでの反復用量のワクチン接種の安全性と免疫原性を評価するための、非盲検の、第I相の、用量漸増研究であり、前記固形腫瘍は下記を含むが、これらに限定されない：乳癌、非小細胞肺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、胃癌、前立腺癌、膵臓癌、及び腎細胞癌。

## 【0147】

部分1は、（合計4回の用量について）8週間にわたり隔週毎に1回、又は（合計8回の用量について）8週間にわたり週に1回（QW）、皮下投与されるデコイポリペプチドの用量レベルの増大を評価するものであり、3+3の用量増加設計を使用して、研究の部分2における更なる評価のために投薬スケジュールそれぞれに関する最大耐用量（MTD）及び/又は推奨された用量（RD）を識別する。部分2は、15人の患者各々のコホートにおけるQ2W及びQW MTD/RDにおいて、8週間にわたり投与される実施例1のデコイポリペプチドの、安全性、免疫原性、及び潜在的な抗腫瘍活性を評価する。8週の投与期間の後、患者を、20週目までの安全性、免疫応答、及び腫瘍反応について評価する。

30

## 【0148】

研究集団は、以前に処置された第3期又は第4期の固形腫瘍を患う患者を含む。

## 【0149】

40

包含基準：

- ・同意時の年齢が18 - 70歳
- ・調査者の意見に従い、少なくとも6か月の平均余命
- ・乳癌、非小細胞肺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、胃癌、前立腺癌、膵臓癌、又は腎細胞癌、或いは他の腫瘍のタイプの履歴があると確認されている
- ・化学療法、標的療法、又は免疫療法を含む、局所的に進行した又は転移性の疾患の全身治療の少なくとも1つの経過の後に、持続性、再発性、又は進行性の疾患の証拠を有している
- ・臨床的に第3期又は第4期の疾患
- ・ECOGが0又は1

50

・適切な血液パラメータ、腎臓パラメータ、及び肝臓機能パラメータ

【0150】

除外基準：

・試験薬投与の4週間以内に、何らかの全身化学療法、放射線、又は実験薬を受けたことがある

・慢性的なステロイド又は免疫抑制療法を必要とする、何らかの先在する病状を有している。

・HIV、B型肝炎、又はC型肝炎に陽性である

【0151】

投与の形態：デコイポリペプチドを皮下投与し、これをコホートの割当ごとに1日目に始める。患者は全員、4つの別個の注入部位（右上腕又は右上大腿、左上腕又は左上大腿、及び右と左の下腹部それぞれに1回の注入）での4回の別個の注入として投与されるデコイポリペプチドの用量を受ける。最初の用量は0.01mg/kgのデコイポリペプチドである。用量二倍（dose-doubling）の設計を使用して、用量レベルを選択する。中間の用量レベルである750mg/kgは、MTDが1000mg/kg未満である時に考慮される。

【0152】

部分2での8週間の投与の評価及び査定において、測定は、食作用の活性化の測定を含む。RECIST又はImmune RECIST 1.1により定められるように、腫瘍反応を評価する。

【0153】

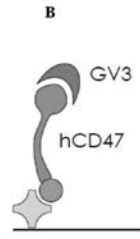
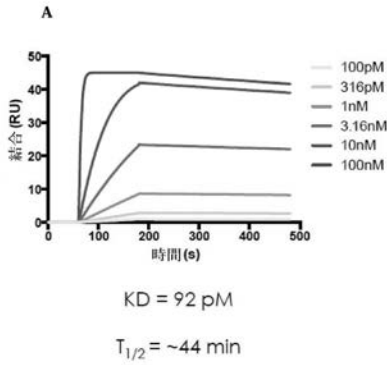
本発明の好ましい実施形態が、本明細書に示され且つ記載されてきた一方で、このような実施形態がほんの一例として提供されることは、当業者に明白であろう。多数の変形、変化、及び置換は、本発明から逸脱することなく、当業者によって現在想到されるものである。本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な代案が、本発明の実施において利用されるかもしれないことを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本発明の範囲を定義するものであり、この特許請求の範囲及びその同等物の範囲内の方法及び構造は、それにより包含されることが、意図されている。

10

20

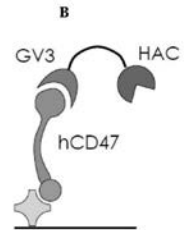
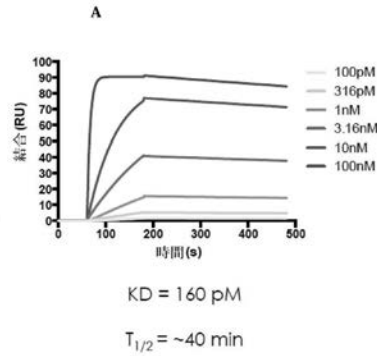
【 図 1 】

ヒトCD47に対するSIRP-ガンマ変異体GV3の結合親和性および動態の表面プラズモン共鳴ベースの測定



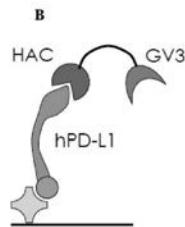
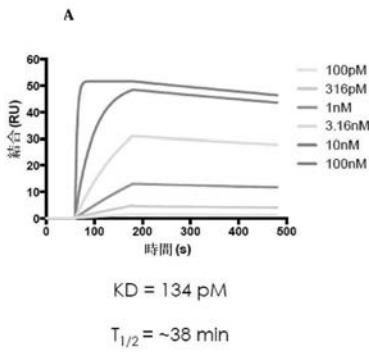
【 図 2 】

ヒトCD47に対する、SIRP-ガンマ変異体GV3とPD-1変異体HACとの融合であるHAC-GV3の結合親和性および動態の表面プラズモン共鳴ベースの測定



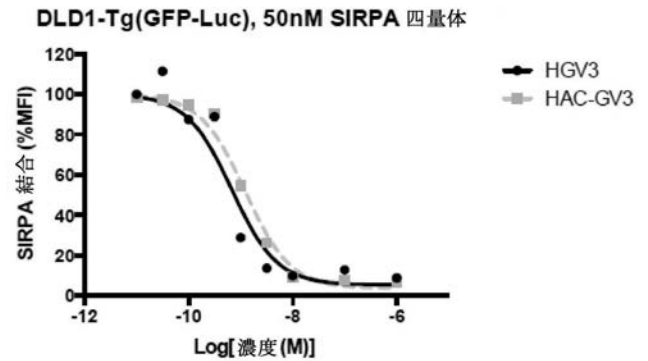
【 図 3 】

ヒトPD-L1に対する、SIRP-ガンマ変異体GV3とPD-1変異体HACとの融合であるHAC-GV3結合親和性および動態の表面プラズモン共鳴ベースの測定



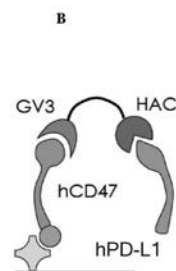
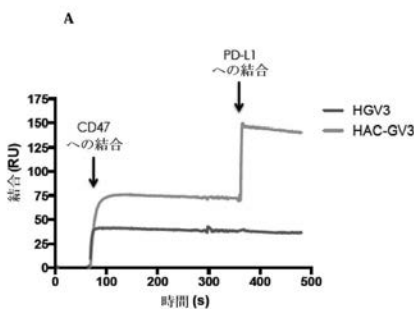
【 図 5 】

GV3およびHAC-GV3によるCD47+細胞の表面上のCD47/SIRP-アールフ相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定



【 図 4 】

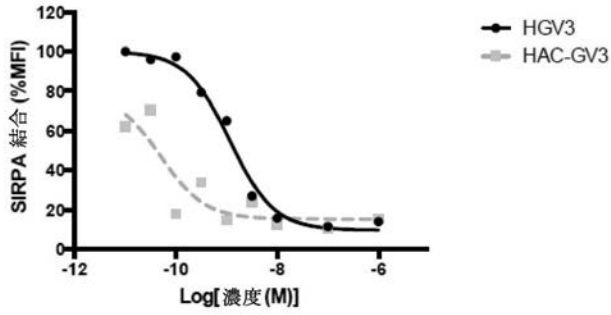
HAC-GV3によるヒトCD47およびヒトPD-L1両方の同時結合の表面プラズモン共鳴ベースの測定



【 図 6 】

GV3およびHAC-GV3によるCD47+PD-L1+細胞の表面上のCD47/SIRP-アルファ相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定

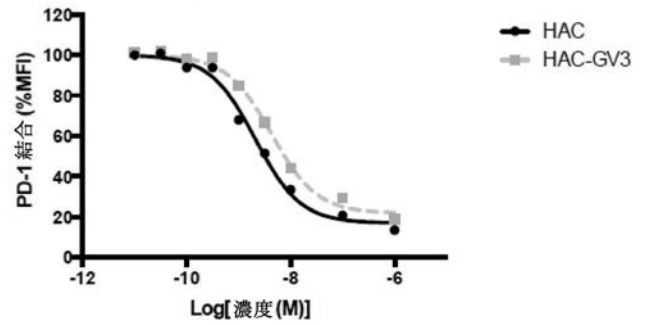
DLD1-Tg(hPDL1, GFP-Luc), 50nM SIRPA 四量体



【 図 7 】

HACおよびHAC-GV3によるPD-L1+細胞の表面上のPD-1/PD-L1相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定

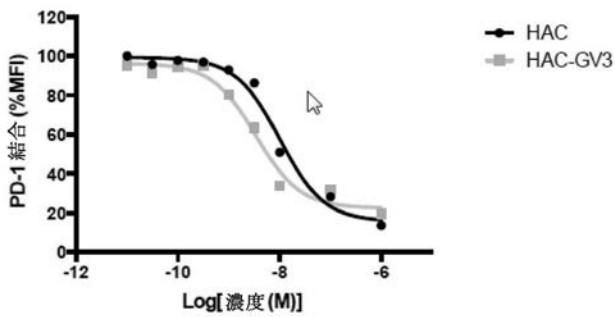
hPDL1 酵母, 100nM PD-1 四量体



【 図 8 】

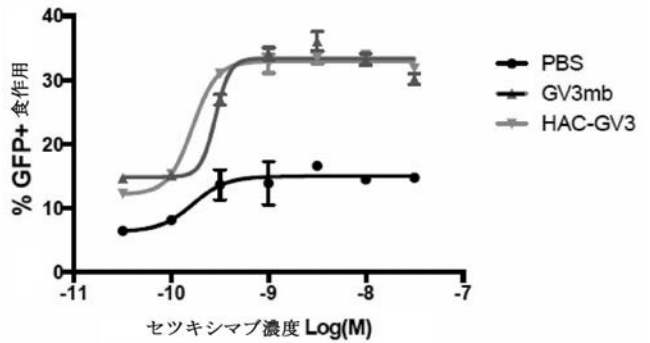
HACおよびHAC-GV3によるCD47+PD-L1+細胞の表面上のPD-1/PD-L1相互作用の遮断のフローサイトメトリーベースの測定

DLD1-Tg(hPDL1, GFP-Luc), 100nM PD-1 四量体

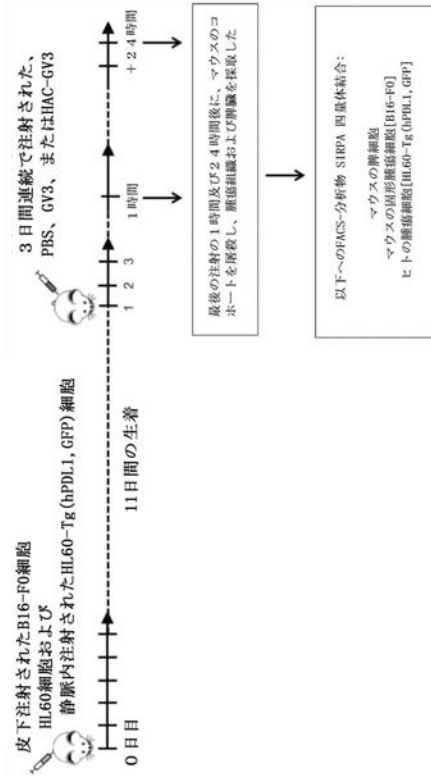


【 図 9 】

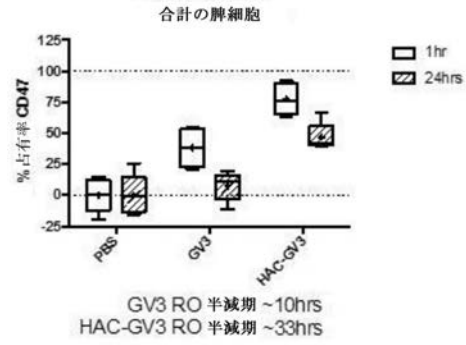
GV3マイクロボディーおよびHAC-GV3は、広範囲のオプソニン化する抗体濃度にわたる食作用を強める



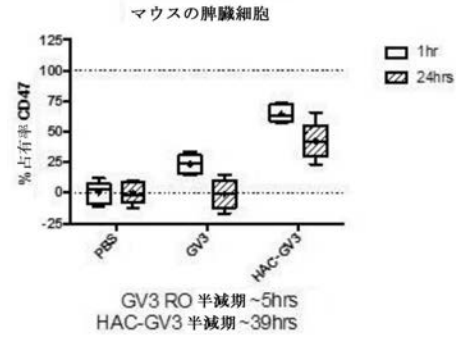
【 図 1 0 】



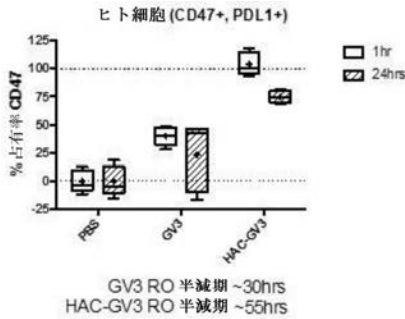
【 図 1 1 A 】



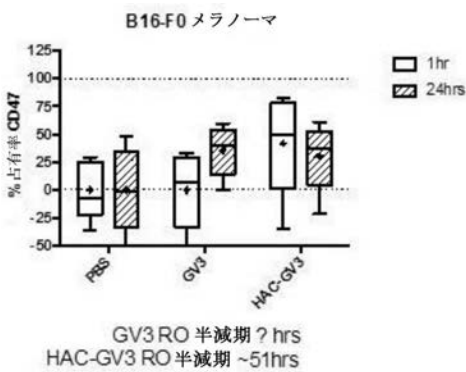
【 図 1 1 B 】



【 図 1 1 C 】



【 図 1 1 D 】



【配列表】

2018524282000001.app

## 【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT  |  | International application No.<br>PCT/US16/32921   |
|--|--|---|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>IPC(8) - C07K 16/28, 14/705, 14/435; A61K 47/42, 38/16 (2016.01)<br>CPC - C07K 16/2896, 14/70596, 14/435; A61K 47/42, 38/16, 38/1709<br>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC  |  |   |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>IPC(8): C07K 16/28, 14/705, 14/435, 14/43; A61K 47/42, 38/16, 39/00, 37/00; G01N 33/15, 33/53; C12N 15/63, 5/10; C07H 21/04<br>CPC: C07K 16/2896, 14/70596, 14/435, 2319/32, 2319/30; A61K 47/42, 38/16, 38/1709, 38/00, 38/177<br>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched<br>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); LENS sequence search database; NCBI database; Google Scholar; Pubmed; EBSCO; SIRP, signal, regulat*, protein, beta, gamma, CD, affinity, variant, modif*, amino acid, increas*   |  |   |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>  |  |   |
| Category*  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No.   |
| X  | (HATHERLEY, D et al.) Paired Receptor Specificity Explained by Structures of Signal Regulatory Proteins Alone and Complexed with CD47. <i>Molecular Cell</i> . 25 July, 2008; Vol. 31, No. 2; pages 266-277; page 272, column 2, paragraph 2 – page 273, column 1, paragraph 1; figures 5B-5D; Genbank Supplement pages. | 1-2, 3/1-2  |
| A  | US 2010/0239579 A1 (SMITH, CA et al.) 23 September, 2010; whole document   | 1-2, 3/1-2  |
| A  | (LEE, WY et al.) Novel Structural Determinants on SIRP alpha that Mediate Binding to CD47. <i>The Journal of Immunology</i> . 01 December, 2007; Vol. 179, No. 11; pages 7741-7750; whole document   | 1-2, 3/1-2  |
| A  | (STEFANIDAKIS, M et al.) Endothelial CD47 Interaction with SIRP gamma is Required for Human T-cell Transendothelial Migration Under Shear Flow Conditions In Vitro. <i>Blood</i> . 04 June, 2008; Vol. 112, No. 4; pages 1280-1289; whole document; DOI: 10.1182/blood-2008-01-134429                                    | 1-2, 3/1-2  |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.  |  |   |
| * Special categories of cited documents:<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date<br>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)<br>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention<br>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone<br>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art<br>"&" document member of the same patent family |  |   |
| Date of the actual completion of the international search<br>21 September 2016 (21.09.2016)  |  | Date of mailing of the international search report<br><b>14 OCT 2016</b>                  |
| Name and mailing address of the ISA/<br>Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents<br>P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450<br>Facsimile No. 571-273-8300  |  | Authorized officer<br>Shane Thomas<br>PCT Helpdesk: 571-272-4300<br>PCT OSP: 571-272-7774 |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US18/32921

## Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a.  forming part of the international application as filed:  
 in the form of an Annex C/ST.25 text file.  
 on paper or in the form of an image file.
- b.  furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:  
 in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).  
 on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/32921

|   |  |
|---|--|
| <b>Box No. II</b>   | <b>Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)</b> |
| <p>This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <p>1. <input type="checkbox"/> Claims Nos.:<br/>because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:</p> <p>2. <input type="checkbox"/> Claims Nos.:<br/>because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:</p> <p>3. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 4-28, 31-42, 45-104<br/>because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).</p>   |  |
| <b>Box No. III</b>  | <b>Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)</b>          |
| <p>This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:<br/>**Please See Supplemental Page***.</p> <p>1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.</p> <p>2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.</p> <p>3. <input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:</p> <p>4. <input checked="" type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:<br/>Group 1+: Claims 1-3 SEQ ID NO: 1</p> <p><b>Remark on Protest</b></p> <p><input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</p> <p><input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.</p> <p><input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.</p> |  |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/US16/32921

---Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking---

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+: Groups I+: Claims 1-3, 29, 30/1, 30/29, 43, 44/1 and 44/43 are directed toward a decoy polypeptide comprising a SIRP-gamma, a SIRP-beta or a SIRP-beta2 polypeptide.

The decoy polypeptide comprising a SIRP-gamma, a SIRP-beta or a SIRP-beta2 polypeptide will be searched to the extent that they encompass SEQ ID NO: 1 (SIRP-gamma wild-type polypeptide amino acid sequence). It is believed that Claims 1-3 encompass SEQ ID NO: 1 (SIRP-gamma wild-type polypeptide amino acid sequence). Applicant is invited to elect additional SIRP sequence(s), with specified SEQ ID NO(s); for each, to be searched. Additional SIRP sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected SIRP sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An Exemplary Election would be: SEQ ID NO: 29 (SIRP-beta polypeptide synthetic peptide amino acid sequence).

No technical features are shared between the sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Groups I+ share the technical features including a decoy polypeptide comprising a SIRP-gamma, a SIRP-beta or a SIRP-beta2 polypeptide, wherein the polypeptide comprises at least one amino acid modification to increase affinity of the decoy SIRP-gamma, SIRP-beta or SIRP-beta2 polypeptide binding to CD47 as compared to the affinity for CD47 of the corresponding wild type SIRP-gamma, SIRP-beta or SIRP-beta2 polypeptide.

However, these shared features are previously disclosed by the publication entitled 'Endothelial CD47 Interaction with SIRP-gamma Is Required for Human T-Cell Transendothelial Migration Under Shear Flow Conditions In Vitro' by Stefanidakis, et al. (hereinafter 'Stefanidakis') in view of the publication entitled 'Novel Structural Determinants on SIRP-alpha that Mediate Binding to CD47' by Lee, et al. (hereinafter 'Lee').

Stefanidakis discloses a decoy polypeptide comprising a SIRP-gamma (abstract), a SIRP-beta (page 1280, right column) or a SIRP-beta2 polypeptide (page 1280, right column), including modulation of the affinity of the decoy SIRP-gamma (page 1287, right column, first paragraph), SIRP-beta or SIRP-beta2 polypeptide binding to CD47 as compared to the affinity for CD47 of the corresponding wild type SIRP-gamma (page 1287, right column, first paragraph), SIRP-beta or SIRP-beta2 polypeptide (data suggests that CD47 engagement by SIRP-gamma activates CD47-induced unidirectional signaling pathways in the endothelial cell; page 1287, right column, first paragraph). Stefanidakis does not disclose wherein the polypeptide comprises at least one amino acid modification to increase affinity of the decoy SIRP-gamma, SIRP-beta or SIRP-beta2 polypeptide binding to CD47. Lee discloses at least one amino acid modification (page 7744, right column, second paragraph) to increase affinity of the SIRP-gamma, SIRP-beta (page 7744, right column, second paragraph) or SIRP-beta2 polypeptide binding to CD47 (in order for SIRP-Beta to gain the ability to bind to CD47, it would be necessary to replace cumulatively all residues that correspond to the critical residues in SIRP-alpha ... when these mutations were introduced singly and in combinations, no binding to CD47 was observed except for the recombinant protein carrying all the critical mutations; page 7744, right column, second paragraph). It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the decoy polypeptide comprising a SIRP-beta polypeptide, as previously disclosed by Stefanidakis, with the mutations in SIRP-beta polypeptide, as previously disclosed by Lee, as the Lee reference indicates that such mutations enhances the binding affinity of SIRP-beta with CD47 (page 7744, right column, second paragraph), for achieving enhanced applications in immunotherapy.

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by a combination of the Stefanidakis and Lee references, unity of invention is lacking.

## フロントページの続き

| (51)Int.Cl.              | F I            | テーマコード(参考) |
|--------------------------|----------------|------------|
| A 6 1 K 39/395 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | N          |
| A 6 1 P 35/00 (2006.01)  | A 6 1 P 35/00  |            |
| A 6 1 P 37/02 (2006.01)  | A 6 1 P 37/02  |            |
| A 6 1 P 11/06 (2006.01)  | A 6 1 P 11/06  |            |
| A 6 1 P 37/08 (2006.01)  | A 6 1 P 37/08  |            |
| A 6 1 P 9/10 (2006.01)   | A 6 1 P 9/10   |            |
| A 6 1 P 37/06 (2006.01)  | A 6 1 P 37/06  |            |
| A 6 1 P 31/12 (2006.01)  | A 6 1 P 31/12  |            |
| A 6 1 P 7/06 (2006.01)   | A 6 1 P 7/06   |            |
| G 0 1 N 33/53 (2006.01)  | A 6 1 P 43/00  | 1 0 5      |
| C 1 2 N 5/10 (2006.01)   | G 0 1 N 33/53  | Y          |
| C 1 2 N 1/15 (2006.01)   | C 1 2 N 5/10   |            |
| C 1 2 N 1/19 (2006.01)   | C 1 2 N 1/15   |            |
| C 1 2 N 1/21 (2006.01)   | C 1 2 N 1/19   |            |
| C 1 2 N 5/078 (2010.01)  | C 1 2 N 1/21   |            |
| C 1 2 N 5/09 (2010.01)   | C 1 2 N 5/078  |            |
| C 1 2 N 5/0789 (2010.01) | C 1 2 N 5/09   |            |
| C 1 2 N 15/12 (2006.01)  | C 1 2 N 5/0789 |            |
|                          | C 1 2 N 15/12  |            |

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, T J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, H N, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG , NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 モーテ, ロイ ルイス

アメリカ合衆国 9 4 1 0 3 カリフォルニア州 サンフランシスコ シェリダン・ストリート  
7 5 ナンバー 2 0 2

(72)発明者 クルーズ, アンドリュー カーチス

アメリカ合衆国 0 2 1 3 1 マサチューセッツ州 ロズリンデール ヒューレット・ストリート  
2 7 ユニット 3

(72)発明者 マングリック, アーシシュ

アメリカ合衆国 9 4 0 2 5 カリフォルニア州 メンローパーク クレーン・ストリート 9 4  
5

(72)発明者 リン, ケネス エス.

アメリカ合衆国 9 4 0 2 3 カリフォルニア州 ロスアルトス ピー.オー.ボックス 1 0 0  
5

Fターム(参考) 4B065 AA90X AA92X AC14 AC20 CA44 CA46

4C084 AA02 AA07 AA19 BA01 BA19 CA53 NA14 ZA45 ZA55 ZA59

ZA61 ZB07 ZB08 ZB13 ZB21 ZB33 ZB35 ZC75

4C085 AA14 BB11 DD62 EE01

4H045 AA10 AA30 BA10 BA19 CA40 DA50 EA20 EA50 FA74

|           |  |         |            |
|-----------|--|---------|------------|
| 专利名称(译)   | SIRP多肽组合物和使用方法   |         |            |
| 公开(公告)号   | <a href="#">JP2018524282A</a>  | 公开(公告)日 | 2018-08-30 |
| 申请号       | JP2017560324   | 申请日     | 2016-05-17 |
| [标]发明人    | リングアーロンマイケル<br>モーテロイルイス<br>クルーズアンドリューカーチス<br>マンガリックアーシシュ<br>リンケネスエス  |         |            |
| 发明人       | リング,アーロン マイケル<br>モーテ,ロイ ルイス<br>クルーズ,アンドリュウ カーチス<br>マンガリック,アーシシュ<br>リン,ケネス エス.  |         |            |
| IPC分类号    | C07K14/705 C07K16/28 A61K38/00 A61K45/00 A61P43/00 A61K39/395 A61P35/00 A61P37/02<br>A61P11/06 A61P37/08 A61P9/10 A61P37/06 A61P31/12 A61P7/06 G01N33/53 C12N5/10 C12N1/15<br>C12N1/19 C12N1/21 C12N5/078 C12N5/09 C12N5/0789 C12N15/12  |         |            |
| CPC分类号    | A61P11/06 C07K14/55 C07K14/70503 C07K14/70596 C07K2319/00 C07K2319/21 C07K2319/24<br>C07K2319/30 C07K2319/50   |         |            |
| FI分类号     | C07K14/705.ZNA C07K16/28 A61K38/00 A61K45/00 A61P43/00.121 A61K39/395.N A61P35/00<br>A61P37/02 A61P11/06 A61P37/08 A61P9/10 A61P37/06 A61P31/12 A61P7/06 A61P43/00.105<br>G01N33/53.Y C12N5/10 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/078 C12N5/09 C12N5/0789 C12N15<br>/12  |         |            |
| F-TERM分类号 | 4B065/AA90X 4B065/AA92X 4B065/AC14 4B065/AC20 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084<br>/AA07 4C084/AA19 4C084/BA01 4C084/BA19 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZA45 4C084/ZA55<br>4C084/ZA59 4C084/ZA61 4C084/ZB07 4C084/ZB08 4C084/ZB13 4C084/ZB21 4C084/ZB33 4C084<br>/ZB35 4C084/ZC75 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/DD62 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA30<br>4H045/BA10 4H045/BA19 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 |         |            |
| 优先权       | 62/163282 2015-05-18 US<br>62/266450 2015-12-11 US   |         |            |
| 其他公开文献    | JP2018524282A5   |         |            |
| 外部链接      | <a href="#">Espacenet</a>  |         |            |

摘要(译)

本文描述了用于免疫疗法和/或治疗癌症，贫血，移植，哮喘，过敏，自身免疫疾病和病毒感染的SIRP- $\gamma$ ，SIRP- $\beta$ 或SIRP- $\beta$ 2诱饵多肽。提供。  
[选择图]图2

