

(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2018-535649
(P2018-535649A)

(43) 公表日 平成30年12月6日(2018.12.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/13 (2006.01)	C12N 15/13 ZNA	2G045
C07K 16/28 (2006.01)	C07K 16/28	4B064
C12N 15/63 (2006.01)	C12N 15/63 Z	4B065
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4H045
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 37 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-514895 (P2018-514895)
 (86) (22) 出願日 平成28年9月20日 (2016.9.20)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年5月9日 (2018.5.9)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2016/072236
 (87) 国際公開番号 WO2017/050729
 (87) 国際公開日 平成29年3月30日 (2017.3.30)
 (31) 優先権主張番号 62/222,105
 (32) 優先日 平成27年9月22日 (2015.9.22)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 516357063
 スプリング バイオサイエンス コーポレーション
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 945
 88, プレザントン, ハシエンダ ド
 ライブ 4300
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人
 (72) 発明者 チュー, イーフエイ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 951
 31, サン ノゼ, マックスウェル
 ウェイ 1408

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗OX40抗体及びその診断用途

(57) 【要約】

本発明は、(OX40)抗体及びその使用方法を提供する。抗体は、アミノ酸266-277を含むヒトOX40タンパク質のC末端部分に反応性である。抗体は、免疫組織化学、免疫蛍光又はイムノプロットによるものを含め、ヒト組織試料におけるOX40タンパク質の発現を検出するのに有用である。

【選択図】 図2

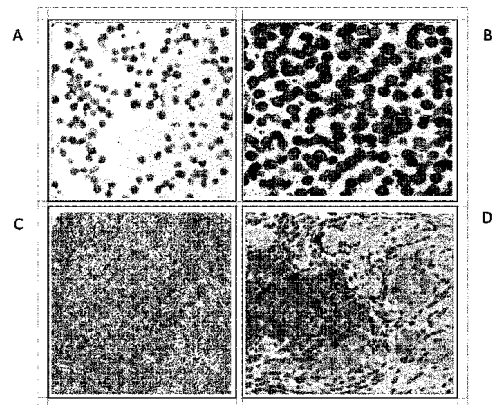


Fig. 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 のアミノ酸 266 - 277 を含む OX40 の C 末端部分に特異的に結合することができる、単離された抗体。

【請求項 2】

以下の超可変領域 (HVR) :

- (a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HVR - H1 ;
- (b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HVR - H2 ; 及び
- (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む HVR - H3

を含む、請求項 1 に記載の抗体。

10

【請求項 3】

以下の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 (FR) :

- (a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む FR - H1 ;
- (b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む FR - H2 ;
- (c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む FR - H3 ; 及び
- (d) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む FR - H4

をさらに含む、請求項 2 に記載の抗体。

【請求項 4】

以下の HVR :

- (a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む HVR - L1 ;
- (b) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む HVR - L2 ; 及び
- (c) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む HVR - L3

をさらに含む、請求項 2 又は 3 に記載の抗体。

20

【請求項 5】

以下の軽鎖可変ドメイン FR :

- (a) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む FR - L1 ;
- (b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む FR - L2 ;
- (c) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む FR - L3 ; 及び
- (d) 配列番号 15 のアミノ酸配列を含む FR - L4

をさらに含む、請求項 4 に記載の抗体。

30

【請求項 6】

以下の HVR :

- (a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む HVR - L1 ;
- (b) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む HVR - L2 ; 及び
- (c) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む HVR - L3

を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 7】

以下の軽鎖可変ドメイン FR :

- (a) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む FR - L1 ;
- (b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む FR - L2 ;
- (c) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む FR - L3 ; 及び
- (d) 配列番号 15 のアミノ酸配列を含む FR - L4

をさらに含む、請求項 6 に記載の抗体。

40

【請求項 8】

(a) 配列番号 16 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する VH 配列 ; (b) 配列番号 17 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有する VL 配列 ; 又は (c) (a) に記載の VH 配列及び (b) に記載の VL 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 9】

配列番号 16 の VH 配列を含む、請求項 8 に記載の抗体。

50

- 【請求項 10】
配列番号 17 の V L 配列を含む、請求項 8 に記載の抗体。
- 【請求項 11】
以下の H V R :
(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ;
(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ;
(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 ;
(d) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ;
(e) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び
(f) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3
を含み、O X 40 に特異的に結合する、単離された抗体。 10
- 【請求項 12】
以下の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン F R :
(a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ;
(b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ;
(c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ;
(d) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 ;
(e) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 ;
(f) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 ;
(g) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 ; 及び
(h) 配列番号 15 のアミノ酸配列を含む F R - L 4
をさらに含む、請求項 11 に記載の抗体。 20
- 【請求項 13】
配列番号 16 の V H 配列及び配列番号 17 の V L 配列を含む、請求項 11 又は 12 に記載の抗体。
- 【請求項 14】
請求項 1 から 13 のいずれか 1 項に記載の抗体と、O X 40 への結合について競合する、単離された抗体。
- 【請求項 15】
モノクローナル抗体である、請求項 1 から 14 のいずれか 1 項に記載の抗体。 30
- 【請求項 16】
モノクローナル抗体がウサギモノクローナル抗体である、請求項 15 に記載の抗体。
- 【請求項 17】
I g G 抗体である、請求項 1 から 16 のいずれか 1 項に記載の抗体。
- 【請求項 18】
O X 40 に特異的に結合する抗体断片である、請求項 1 から 16 のいずれか 1 項に記載の抗体。
- 【請求項 19】
抗体断片が、F a b、一本鎖可変断片 (s c F v)、F v、F a b'、F a b' - S H、F (a b') 2、及びダイアボディからなる群から選択される、請求項 18 に記載の抗体。 40
- 【請求項 20】
請求項 1 から 19 のいずれか 1 項に記載の単離された抗体をコードする、単離された核酸。
- 【請求項 21】
請求項 20 に記載の核酸を含むベクター。
- 【請求項 22】
請求項 21 に記載のベクターを含む宿主細胞。
- 【請求項 23】
請求項 1 から 19 のいずれか 1 項に記載の抗体を含むイムノコンジュゲート。 50

【請求項 24】

生体試料中の O X 40 の存在又は発現レベルの検出における使用のための、請求項 1 から 19 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 25】

検出が免疫組織化学 (I H C)、免疫蛍光 (I F) 又はイムノプロットによる、請求項 24 に記載の抗体。

【請求項 26】

検出が I H C による、請求項 25 に記載の抗体。

【請求項 27】

試料が固定された組織を含む、請求項 24 から 26 のいずれか 1 項に記載の抗体。 10

【請求項 28】

固定された組織がホルマリン固定パラフィン包埋 (F F P E) 組織である、請求項 27 に記載の抗体。

【請求項 29】

試料が、がん又は自己免疫疾患に罹患しているか、罹患しやすい対象由来である、請求項 24 から 28 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 30】

請求項 1 から 29 のいずれか 1 項に記載の抗体に生体試料を接触させること、及び結合した抗体の存在を検出することを含む、生体試料中の O X 40 の存在又は発現レベルを検出する方法。 20

【請求項 31】

検出が I H C、I F 又はイムノプロットによる、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

検出が I H C による、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

試料が固定された組織を含む、請求項 30 から 32 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 34】

固定された組織が F F P E 組織である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

試料が、がん又は自己免疫疾患に罹患しているか、罹患しやすい対象由来である、請求項 30 から 34 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

【請求項 36】

請求項 1 から 19 及び 24 から 29 のいずれか 1 項に記載の抗体を含む溶液を含む、自動スライド染色機用の分注器。

【請求項 37】

メモリー及びコンピュータープロセッサを含む自動スライド染色機であって、メモリーが、請求項 1 から 19 及び 24 から 29 のいずれか 1 項に記載の抗体を用いて組織試料を標識するための自動スライド染色機の運転を制御するためのプロセッサに指示するための指示書を含む、自動スライド染色機。

【請求項 38】 40

請求項 1 から 19 及び 24 から 29 のいずれか 1 項に記載の抗体を含むキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願では、2015年9月22日に出願された米国仮特許出願第62/222105号の利益が主張され、当該仮出願の内容の全体が参照により援用される。

【背景技術】

【0002】 50

発明の分野

本発明は、ヒトOX40と反応する（抗OX40）抗体及びその使用方法に関する。

【0003】

関連技術の記載

OX40は、腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー4リガンド（OX40L及びCD252とも呼ばれる）の受容体として機能する、277アミノ酸の1回通過I型膜タンパク質である。OX40の活性化は、細胞傷害性Tリンパ球の増殖、生存、及びエフェクター機能を上昇させることが示されている（Curti et al., Cancer Res., Vol. 73, Issue 24, pp. 7189-98（2013年10月31日））。抗OX40抗体が抗腫瘍免疫応答の増強に有用な標的かどうかを決定するため、進行がんの患者において抗OX40抗体を試験する臨床試験が、現在進行中である。

10

【発明の概要】

【0004】

本開示は、抗OX40抗体及びその使用方法に関する。

【0005】

ある態様において、OX40に特異的に結合することができる抗体、その抗原結合断片、又はその組換えタンパク質が開示される。

【0006】

ある態様において、配列番号1のアミノ酸266-277に特異的に結合することができる抗体、その抗原結合断片、又はその組換えタンパク質が開示される。

20

【0007】

ある態様において、OX40に特異的に結合することができ、ヒトOX40ポリペプチド（配列番号1）の266-277を含むエピトープに結合する抗体、その抗原結合断片、又はその組換えタンパク質が開示される。いくつかの実施態様において、抗体は以下の超可変領域（HVR）を含む：（a）SDNIQ（配列番号2）のアミノ酸配列のアミノ酸配列を含むHVR-H1；（b）AVDYNKPFYANWAKG（配列番号3）のアミノ酸配列を含むHBR-H2；及び（c）NTFSP（配列番号4）のアミノ酸配列を含むHBR-H3。いくつかの実施態様において、抗体は、以下の重鎖可変ドメインフレームワーク領域（FR）をさらに含む：（a）QSLEESGGRLVAPGGSLTLCTVSGIDLS（配列番号5）のアミノ酸配列を含むFR-H1；（b）WVRQAPGKLEWIG（配列番号6）のアミノ酸配列を含むFR-H2；（c）RFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCAK（配列番号7）のアミノ酸配列を含むFR-H3；及び（d）WGPGTLVTVSS（配列番号8）のアミノ酸配列を含むFR-H4。いくつかの実施態様において、抗体は、以下のHVRをさらに含む：（a）QSSQSVYANHL（配列番号9）のアミノ酸配列を含むHVR-L1；（b）YISTPDS（配列番号10）のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び（c）CAALNSDEVFT（配列番号11）のアミノ酸配列を含むHVR-L3。いくつかの実施態様において、抗体は、以下の軽鎖可変ドメインFRをさらに含む：（a）DPAMTQTSPSSTAAGGTVTINC（配列番号12）のアミノ酸配列を含むFR-L1；（b）WFQKPGQPPKRLIY（配列番号13）のアミノ酸配列を含むFR-L2；（c）GVPPRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYY（配列番号14）のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び（d）FGGGTEVVVK（配列番号15）のアミノ酸配列を含むFR-L4。いくつかの実施態様において、抗体は、（a）配列番号16のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、（b）配列番号17のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、又は（c）（a）に記載のVH配列及び（b）に記載のVL配列、を含む。いくつかの実施態様において、抗体は、配列番号16のVH配列を含む。いくつかの実施態様において、抗体は、配列番号17のVL配列を含む。

30

40

【0008】

他の実施態様において、抗体は、以下のHVRを含む：（a）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；（b）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び（c）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3。いくつかの実施態様において、抗体は以下の軽鎖可変ドメインFRをさらに含む：（a）配列番号12のアミノ酸配列を含

50

むFR-L1；(b)配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-L2；(c)配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び(d)配列番号15のアミノ酸配列を含むFR-L4。

【0009】

別の態様において、本発明は、以下のHVRを含み、OX40に特異的に結合する、単離された抗体を特徴とする：(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3；(d)配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(e)配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(f)配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3。いくつかの実施態様において、抗体は、以下の重鎖可変ドメインのFR及び可変ドメインのFRをさらに含む：(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むFR-H1；(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むFR-H2；(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-H3；(d)配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-H4；(e)配列番号12のアミノ酸配列を含むFR-L1；(f)配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-L2；(g)配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び(h)配列番号15のアミノ酸配列を含むFR-L4。いくつかの実施態様において、抗体は、配列番号16のVH配列及び配列番号17のVL配列を含む。

10

【0010】

別の態様において、本発明は、前記抗体のいずれか1つと、OX40への結合について競合する、単離された抗体を特徴とする。

20

【0011】

別の態様において、本発明は、前記抗体のいずれか1つと同一のエピトープに結合する、単離された抗体を特徴とする。

【0012】

いくつかの実施態様において、前記抗体のいずれか1つは、モノクローナル抗体であり得る。いくつかの実施態様において、モノクローナル抗体は、ウサギモノクローナル抗体であり得る。

【0013】

いくつかの実施態様において、前記抗体のいずれか1つは、IgG抗体(例えばIgG1抗体)であり得る。

30

【0014】

いくつかの実施態様において、前記抗体のいずれか1つは、OX40に特異的に結合する抗体断片であり得る。いくつかの実施態様において、抗体断片は、Fab、一本鎖可変断片(scFv)、Fv、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、及びダイアボディからなる群から選択される。

【0015】

別の態様において、本発明は、前記抗体のいずれか1つを含むイムノコンジュゲートを特徴とする。

【0016】

別の態様において、本発明は、本明細書に記載の抗体をコードする、単離された核酸を特徴とする。別の態様において、本発明は、抗体を発現するための核酸を含むベクター(例えば発現ベクター)を特徴とする。別の態様において、本発明は、前記核酸及び/又はベクターを含む宿主細胞を特徴とする。

40

【0017】

いくつかの態様において、前記抗体のいずれか1つは、生体試料におけるOX40の存在又は発現レベルの検出に用いることができる。いくつかの実施態様において、検出は、免疫組織化学(IHC)、免疫蛍光(IF)、又はイムノプロットによる。いくつかの実施態様において、検出は、IHCによる。いくつかの実施態様において、試料は、固定された組織を含む。いくつかの実施態様において、固定された組織は、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織である。いくつかの実施態様において、試料は、がん又は自

50

己免疫疾患に罹患している、又は罹患しやすい対象由来である。

【0018】

本発明のさらなる態様は、前述の抗体のいずれか1つと生体試料を接触させることと、結合した抗体の存在を検出することを含む、生体試料におけるOX40の存在又は発現レベルを検出する方法である。いくつかの実施態様において、検出は、IHC、IF、又はイムノプロットによる。いくつかの実施態様において、検出は、IHCによる。いくつかの実施態様において、試料は、固定された組織を含む。いくつかの実施態様において、固定された組織は、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織である。いくつかの実施態様において、試料は、がん又は自己免疫疾患に罹患している、又は罹患しやすい対象由来である。

10

【0019】

本出願書のファイルは、少なくとも1点のカラーで作成された図面を含む。カラー図面を伴う本特許又は特許出願のコピーは、請求及び必要な料金の支払いに応じて、庁により提供される。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】抗OX40抗体についての、一般的な抗体製造方法を示す模式図である。

【図2】以下のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)細胞における免疫組織化学(IHC)の結果を示す画像である：(A)モック細胞(ネガティブコントロール細胞)；(B)OX-40がトランスフェクトされた細胞(ポジティブコントロール細胞)；(C)反応性リンパ節；及び(D)前立腺がん。

20

【発明を実施するための形態】

【0021】

I. 定義

用語「抗OX40抗体」、「OX40に特異的に結合する抗体」及び「OX40に結合する抗体」は、十分な親和性を有してOX40に結合することができる抗体であり、従って診断薬及び/又は治療剤としてOX40の標的化に有用である抗体を指す。ある実施態様において、無関係の非OX40タンパク質に対する抗OX40抗体の結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)により測定される場合、当該抗体のOX40に対する結合の約10%未満である。ある実施態様において、OX40に結合する抗体は、1 μ M、100 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM、又は0.001 nM(例えば 10^{-8} M以下、例えば 10^{-8} Mから 10^{-13} M、例えば 10^{-9} Mから 10^{-13} M)の解離定数(Kd)を有する。ある実施態様において、抗OX40抗体は、異なる種由来のOX40の間で保存されている、OX40のエピトープに結合する。

30

【0022】

本明細書における用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体(例えば二重特異性抗体)、及び所望の抗原結合活性を示す限りにおいて抗体断片が含まれるが、これらに限定されない様々な抗体構造を包含する。

40

【0023】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部を含む、インタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；ダイアボディ；直鎖状抗体；単鎖抗体分子(例えばscFv)；及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が含まれるが、これらに限定されない。

【0024】

参照抗体と「同一のエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいて参照抗体のその抗原に対する結合を50%以上阻害する抗体を指し、逆に参照抗体は、競合アッセイにおいて抗体のその抗原に対する結合を50%以上阻害する。例示的な競合アッセイが

50

、本明細書において提供される。

【0025】

「自己免疫疾患」は、個体自身の組織又は臓器から生じる疾患又は障害、及び個体自身の組織又は臓器に対する疾患又は障害、又はそれらの同時分離若しくは症状発現、又はそれらから結果として生じる状態である。「自己免疫疾患」は、臓器特異的な疾患（すなわち免疫応答が、内分泌系、造血系、皮膚、心肺系、胃腸系及び肝系、腎系、甲状腺、耳、神経筋系、中枢神経系などのような臓器系に対して特異的に向けられるもの）、又は多臓器系に影響し得る全身性疾患（例えば全身性エリテマトーデス（SLE）、関節リウマチ（RA）、多発性筋炎など）であり得る。非限定的な、代表的な自己免疫疾患には、自己免疫性リウマチ疾患（例えばRA、シェーグレン症候群、強皮症、SLE及びループス腎炎などの狼瘡、多発性筋炎・皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、抗リン脂質抗体症候群、及び乾癬性関節炎など）、自己免疫性胃腸及び肝障害（例えば炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎及びクローン病）、自己免疫性胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、及びセリアック病など）、血管炎（例えばチャグ・シュトラウス血管炎を含むANCA陰性血管炎及びANCA関連血管炎、ウェグナー肉芽腫症、及び顕微鏡的多発血管炎など）、自己免疫性神経障害（例えば多発性硬化症、オプソクローヌス・ミオクローヌス症候群、重症筋無力症、視神経脊髄炎、パーキンソン病、アルツハイマー病、及び自己免疫性多発ニューロパチーなど）、腎障害（例えば糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、及びバージャー病など）、自己免疫性皮膚疾患（例えば乾癬、じんましん（urticaria、hives）、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、及び皮膚エリテマトーデスなど）、血液障害（例えば血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後紫斑病、及び自己免疫性溶血性貧血など）、アテローム性動脈硬化症、ブドウ膜炎、自己免疫性聴覚疾患（例えば内耳疾患及び難聴など）、ベーチェット病、レイノー症候群、臓器移植、及び自己免疫性内分泌障害（例えば糖尿病関連自己免疫疾患、例えばインスリン依存性糖尿病（IDDM）、アジソン病、及び自己免疫性甲状腺疾患（例えばグレーブス病及び甲状腺炎）など）が含まれる。さらに好ましいこのような疾患には、例えばRA、潰瘍性大腸炎、ANCA関連血管炎、狼瘡、多発性硬化症、シェーグレン症候群、グレーブス病、IDDM、悪性貧血、甲状腺炎、及び糸球体腎炎が含まれる。

10

20

【0026】

「生体試料」とは、対象又は患者から得られた類似の細胞の集合を意味する。生体試料は、組織試料又は細胞試料であり得る。組織試料又は細胞試料の供給源は、新鮮な、凍結及び/若しくは保存された臓器又は組織試料又は生検又は吸引物由来の固形組織；血液又は任意の血液成分；脳脊髄液、羊水、腹水又は間質液などの体液；対象の妊娠期又は発生の任意の時点からの細胞であり得る。生体試料は、in vitroの組織培養物又は細胞培養物から入手することもできる。組織試料は、本来その組織と自然に混合しない、防腐剤、抗凝血剤、緩衝剤、定着剤、栄養剤、抗生物質などの化合物を含んでもよい。本明細書における生体試料の例には、腫瘍生検、循環性腫瘍細胞、血清又は血漿、循環性血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来する又は腫瘍様の性質を示す初代細胞培養又は細胞株、並びにホルマリン固定パラフィン包埋の腫瘍の細胞又は凍結された腫瘍の試料などの保存された腫瘍の試料が含まれるが、これらに限定されない。

30

40

【0027】

用語「がん」及び「がん性」は、制御されない細胞成長/増殖を典型的な特徴とする、哺乳動物における生理状態を指す又は説明する。がんの例には、がん腫、リンパ腫（例えばホジキン及び非ホジキンリンパ腫）、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれるが、これらに限定されない。このようながんのより具体的な例には、扁平上皮細胞がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺の腺がん、肺の扁平上皮がん、腹膜がん、肝細胞がん、胃腸がん、膵臓がん、神経膠腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、肝がん、乳がん、結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん又は子宮がん腫、唾液腺がん、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん腫、白血病及び他のリンパ増殖性障害、並びに様々な種類の頭頸部がんが含まれる。

50

【0028】

用語「キメラ」抗体は、重鎖及び／又は軽鎖の一部があるきげん供給源又は種に由来し、重鎖及び／又は軽鎖の残りの部分が異なる供給源又は種に由来する抗体を指す。

【0029】

抗体の「クラス」は、その重鎖に所有される定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体には5つの主要なクラス：I g A、I g D、I g E、I g G及びI g Mがあり、これらのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えばI g G₁、I g G₂、I g G₃、I g G₄、I g A₁、及びI g A₂に、さらに分類され得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、
、
、
、及びμと呼ばれる。

【0030】

本明細書で用いられる用語「細胞傷害性剤」は、細胞の機能を阻害又は阻止し、かつ／又は細胞死又は破壊を引き起こす物質を指す。細胞傷害性剤には、放射性同位体（例えばA t²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、R e¹⁸⁶、R e¹⁸⁸、S m¹⁵³、B i²¹²、P³²、P b²¹²及びL uの放射性同位体）；化学療法剤又は薬物（例えばメトトレキサート、アドリアマイシン、ピンカルカロイド（ピンクリスチン、ピンプラスチン、エトポシド）、ドキシソルピシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルピシン又は他のインターカレーター剤）；増殖阻害剤；核酸分解酵素などの酵素及びその断片；抗生物質；小分子毒素又は細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素などの毒素（それらの断片及び／又はその変異体を含める）；及び以下に開示される様々な抗腫瘍剤又は抗がん剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0031】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより変化する、抗体のF c領域に起因する生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例には以下が含まれる：C 1 q結合及び補体依存性細胞傷害（C D C）；F c受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（A D C C）；食作用；細胞表面受容体（例えばB細胞受容体）の下方制御；及びB細胞活性化。

【0032】

本明細書において用語「F c領域」は、定常領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために用いられる。この用語には、天然配列F c領域及び変異体F c領域が含まれる。ある実施態様において、ヒトI g G重鎖F c領域は、C y s 2 2 6から、又はP r o 2 3 0から重鎖のカルボキシル末端にまで及ぶ。しかしながら、F c領域のC末端リジン（L y s 4 4 7）は、存在してもしなくてもよい。本明細書に別記されない限り、F c領域又は定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載の、E Uインデックスとも呼ばれるE U番号付けシステムに従う。

【0033】

「フレームワーク」又は「F R」は、超可変領域（H V R）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのF Rは、一般に4つのF Rドメイン：F R 1、F R 2、F R 3、及びF R 4からなる。従って、H V R及びF R配列は、一般に、V H（又はV L）において以下の順序で現れる：F R 1 - H 1（L 1） - F R 2 - H 2（L 2） - F R 3 - H 3（L 3） - F R 4。

【0034】

用語「全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」は、本明細書中で互換的に使用され、天然型抗体構造と実質的に類似の構造を有する抗体、又は本明細書で定義されるF c領域を含む重鎖を有する抗体を指す。

【0035】

一般の用語「発現のレベル」又は「発現レベル」は、互換的に使用され、生体試料中のポリヌクレオチド、m R N A、又はアミノ酸産物若しくはタンパク質の量を一般に指す。「発現」は、遺伝子コード情報が細胞中に存在し作動する構造に変換されるプロセスを一

10

20

30

40

50

般に指す。従って、本発明によれば、遺伝子（例えばOX40遺伝子）の「発現」は、ポリヌクレオチドへの転写、タンパク質への翻訳、又はタンパク質の翻訳後修飾を意味し得る。転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたタンパク質、又は翻訳後修飾されたタンパク質の断片もまた、それらが選択的スプライシングにより生成された転写物又は分解された転写物に由来したものであろうと、例えばタンパク質分解によるタンパク質の翻訳後プロセッシングに由来したものであろうと、発現したとみなされる。いくつかの実施態様において、「発現レベル」は、免疫組織化学（IHC）、イムノプロットティング（例えばウェスタンプロットティング）、免疫蛍光（IF）、酵素結合免疫吸着法（ELISA）、又はフローサイトメトリーを用いて決定された、生体試料中のタンパク質（例えばOX40）の量を指す。

10

【0036】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養物」は互換的に使用され、外因性の核酸が導入されている細胞を指し、そのような細胞の子孫を含める。宿主細胞には、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」が含まれ、それらには、初代形質転換細胞、及び継代の数にかかわらずそれらに由来する子孫が含まれる。子孫は親細胞と核酸含量が完全に同一でなくてもよく、突然変異を含んでいてもよい。本明細書には、最初に形質転換された細胞においてスクリーニング又は選択されたものと同一の機能又は生物活性を有する変異型子孫が含まれる。

【0037】

「ヒト抗体」は、ヒト又はヒト細胞により産生される抗体のアミノ酸配列、又はヒト抗体のレパートリー若しくは他のヒト抗体をコードする配列を利用する非ヒト供給源に由来する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有する抗体である。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に除外する。

20

【0038】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンV_L又はV_Hフレームワーク配列の選択において、最も一般的に発生するアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンV_L又はV_H配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからなされる。一般に、配列のサブグループは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD, Vols. 1-3, 1991にあるサブグループである。ある実施態様において、V_Lにつ

30

【0039】

「ヒト化」抗体は、非ヒトHVR由来のアミノ酸残基及びヒトFR由来のアミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。ある実施態様において、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、HVR（例えばCDR）の全て又は実質的に全てが、非ヒト抗体のものに対応し、FRの全て又は実質的に全てが、ヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。例えば非ヒト抗体などの抗体の「ヒト化型」とは、ヒト化を受けた抗体を指す。

40

【0040】

本明細書で用いられる用語「超可変領域」又は「HVR」は、配列が超可変であり（「相補性決定領域」又は「CDR」）、かつ/又は構造的に規定されたループを形成し（「超可変ループ」）、かつ/又は抗原に接触する残基を含む（「抗原コンタクト」）抗体可変ドメインの領域のそれぞれを指す。一般に、抗体は6つのHVR：V_Hに3つ（H₁、H₂、H₃）及びV_Lに3つ（L₁、L₂、L₃）を含む。本明細書における例示的なHVRには、以下が含まれる：

(a) アミノ酸残基26-32（L₁）、50-52（L₂）、91-96（L₃）、26-32（H₁）、53-55（H₂）、及び96-101（H₃）に生じる超可変ループ（Chothia et al. J. Mol. Biol. 196: 901-917, 1987）；

50

(b) アミノ酸残基 24 - 34 (L1)、50 - 56 (L2)、89 - 97 (L3)、31 - 35b (H1)、50 - 65 (H2)、及び 95 - 102 (H3) に生じる CDR (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991) ;

(c) アミノ酸残基 27c - 36 (L1)、46 - 55 (L2)、89 - 96 (L3)、30 - 35b (H1)、47 - 58 (H2)、及び 93 - 101 (H3) に生じる抗原コンタクト (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745, 1996) ; 及び

(d) HVR アミノ酸残基 46 - 56 (L2)、47 - 56 (L2)、48 - 56 (L2)、49 - 56 (L2)、26 - 35 (H1)、26 - 35b (H1)、49 - 65 (H2)、93 - 102 (H3)、及び 94 - 102 (H3) を含めた、(a)、(b)、及び/又は (c) の組み合わせ。特に指示しない限り、本明細書では、可変ドメイン内の HVR 残基及び他の残基 (例えば FR 残基) は、上掲の Kabat et al. に従って番号付けされる。

10

【0041】

「イムノコンジュゲート」は、細胞傷害性剤が含まれるがこれに限定されない、1つ又は複数の異種分子にコンジュゲートされた抗体である。

【0042】

「単離された」抗体は、その自然環境の成分から分離されたものである。いくつかの実施態様において、抗体は、例えば電気泳動 (例えば SDS - PAGE、等電点電気泳動 (IEF)、キャピラリー電気泳動) 又はクロマトグラフィー (例えばイオン交換又は逆相 HPLC) により決定される場合、95% 又は 99% を上回る純度にまで精製される。抗体純度の評価のための方法の総説としては、例えば Flatman et al. J. Chromatogr. B. 848: 79-87, 2007 を参照されたい。

20

【0043】

「単離された」核酸とは、その自然の環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸には、その核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子が含まれるが、その核酸分子は、染色体外又はその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。

【0044】

「抗 OX40 抗体をコードする単離された核酸」は、抗体の重鎖及び軽鎖 (又はそれらの断片) をコードする 1つ又は複数の核酸分子を指し、これには、単一のベクター又は別々のベクター中のこのような核酸分子、及び宿主細胞の 1つ又は複数の位置に存在するこのような核酸分子が含まれる。

30

【0045】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、例えば天然に発生する突然変異を含む又はモノクローナル抗体調製物の製造時に生じる、一般に少量存在する、当然存在し得る変異体抗体を除き、集団を構成する個々の抗体は同一であり、かつ/又は同一のエピトープに結合する。異なる決定基 (エピトープ) に対する異なる抗体を通常含めるポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。従って、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、何らかの特定の方法による抗体の製造を必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組換え DNA 法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部若しくは一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法、又はこれらの組み合わせを含むがこれらに限定されない、様々な技術によって作製され得る。

40

【0046】

参照ポリペプチド配列に対する「パーセント (%) アミノ酸配列同一性」は、最大のパーセント配列同一性を得るように配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後の、参照ポリペプチドの配列のアミノ酸残基と同一である候補配列のアミノ酸残基の百分率と定義され、いかなる保存的置換も配列同一性の一部とみなさない。パーセントアミノ酸

50

配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMegalign(DNASTAR)ソフトウェアなどの、一般に入手可能なコンピューターソフトウェアを使用するなどの、当業者の技能範囲内にある様々な方法で得ることができる。当業者であれば、比較する配列の全長にわたって最大のアラインメントを得るのに必要な任意のアルゴリズムを含め、配列を整列させるための適切なパラメーターを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的のためには、%アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータープログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータープログラムはジェネンテック社によって著作され、そのソースコードは、使用者用書類とともに、米国著作権庁(ワシントンD.C.、20559)に提出され、米国著作権登録番号第TXU510087号の下で登録されている。ALIGN-2は、ジェネンテック社(サウスサンフランシスコ、カリフォルニア)から一般に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIXのV4.0Dを含めたUNIXオペレーティングシステム上での使用のために、コンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメーターは、ALIGN-2プログラムによって設定され、変化しない。

10

【0047】

ALIGN-2がアミノ酸配列比較に用いられる状況においては、所与のアミノ酸配列Bとの(to、with)又はそれに対する(against)所与のアミノ酸配列A(あるいは、所与のアミノ酸配列Bと又はそれに対しある程度の%アミノ酸配列同一性を有する又は含む、所与のアミノ酸配列Aと表現することもできる)の%アミノ酸配列同一性は、次のように計算される：

20

分率 X/Y の100倍

ここで、Xは、AとBのそのプログラムのアラインメントにおいて、配列アラインメントプログラムALIGN-2により、完全な一致としてスコア付けされたアミノ酸残基数であり、Yは、Bの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さと同じでない場合、AのBに対する%アミノ酸配列同一性は、BのAに対する%アミノ酸配列同一性と同じでないことが理解されよう。特に指示しない限り、本明細書で使用される全ての%アミノ酸配列同一性の値は、ALIGN-2コンピュータープログラムを使用して、直前の段落に記載されるようにして得られる。

30

【0048】

特に指示しない限り、本明細書で使用される用語「OX40」は、霊長類(例えばヒト)及びげっ歯類(例えばマウス及びラット)などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物供給源由来の任意の天然OX40を指す。この用語は、「全長」の未加工のOX40、並びに細胞内においてプロセッシングによって生じる任意の形態のOX40を包含する。この用語は、OX40の天然に発生する変異体、例えばスプライス変異体又は対立遺伝子変異体をも包含する。例示的な全長ヒトOX40タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号1に示される。例示的な全長ヒトOX40タンパク質のアミノ酸配列は、例えばUniProtアクセス番号P43489の下で見出すことができる。

【0049】

本明細書において、用語「に特異的に結合する」又は「に特異的な」は、生体分子を含む不均一な組成の分子の存在下で標的の存在の決定する、標的と抗体間の結合などの、測定可能かつ再現可能な相互作用を指す。例えば、ある標的(例えば配列番号1のアミノ酸残基266-277のようなエピトープであり得る)に特異的に結合する抗体は、この標的に、他の標的に結合するよりもより強い親和性(affinity、avidity)をもって、より迅速に、かつ/又はより長い期間、結合する抗体である。ある実施態様において、無関係な標的に対する抗体の結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)によって測定される場合、当該標的に対する抗体の結合の約10%未満である。ある実施態様において、標的に特異的に結合する抗体は、 $1\mu\text{M}$ 、 100nM 、 10nM 、 1nM 、又は 0.1nM の解離定数(Kd)を有する。ある実施態様において、抗体は、異なる種由来の当該タンパク質の間で保存されている、タンパク質上のエピトープに特異的に結

40

50

合する。別の実施態様において、特異的な結合には排他的な結合を含まれ得るが、これは必須ではない。

【0050】

「対象」又は「個体」は、哺乳動物である。哺乳動物には、家畜動物（例えばウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えばヒト及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、及びげっ歯類（例えばマウス及びラット）が含まれるが、これらに限定されない。ある実施態様において、個体又は対象はヒトである。

【0051】

用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は、抗原に対する抗体の結合に關与する、抗体の重鎖又は軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれVH及びVL）は一般に類似の構造を有し、それぞれのドメインは4つの保存されたフレームワーク領域（FR）及び3つの超可変領域（HVR）を含む。例えばKindt et al. *Kuby Immunology*. 6th ed., page 91, W.H. Freeman and Co., 2007を参照されたい。単独のVH又はVLドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。さらに、ある特定の抗原に結合する複数の抗体は、その抗原に特異的に結合する1つの抗体に由来するVH又はVLドメインを用いて、相補的なVL又はVHドメインそれぞれのライブラリーをスクリーニングすることで、単離され得る。例えばPortolano et al. *J. Immunol.* 150: 880-887, 1993及びClarkson et al. *Nature*. 352: 624-628, 1991を参照されたい。

10

【0052】

本明細書で使用される用語「ベクター」は、それが連結されている別の核酸を伝播することができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター並びに導入されている宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含有する。ある種のベクターは、それらが動作可能なように連結されている核酸の発現を指示することができる。このようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と呼ばれる。

20

【0053】

II. 組成及び方法

本発明は、OX40に結合する新規の抗体を提供する。本発明の抗体は、例えばOX40の存在又はOX40の発現レベル（例えば生体試料中の）を検出するのに有用である。

【0054】

A. 例示的な抗OX40抗体

本発明は、例えば診断用途（例えば免疫組織化学（IHC）、免疫蛍光（IF）、及びイムノプロット（例えばウェスタンプロット））に有用な抗OX40抗体を提供する。ある例において、本発明は、OX40のC末端エピトープ（例えば配列番号1のアミノ酸残基266-277）に結合する抗OX40抗体を提供する。OX40のエピトープは、立体構造依存又は立体構造非依存である様式で認識され得る。

30

【0055】

いくつかの事例において、OX40のアミノ酸残基266-277に結合する抗OX40抗体には、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3；(d)配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(e)配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(f)配列番号11から選択されたアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択された少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、又は6つのHVRが含まれる。例えば、いくつかの事例において、抗OX40抗体には、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3が含まれる。いくつかの事例において、抗OX40抗体には、(a)配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；(b)配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(c)配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3が含まれる。

40

50

【 0 0 5 6 】

抗 O X 4 0 抗体が O X 4 0 のアミノ酸残基 2 6 6 - 2 7 7 に結合し、かつ抗 O X 4 0 抗体に (a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ; (b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ; 及び (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 が含まれるいくつかの事例において、抗 O X 4 0 抗体には、以下の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 (F R) がさらに含まれる : (a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ; (b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ; (c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ; 又は (d) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 。抗 O X 4 0 抗体が O X 4 0 のアミノ酸残基 2 6 6 - 2 7 7 に結合し、かつ抗 O X 4 0 抗体に (a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ; (b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ; 及び (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 が含まれるいくつかの事例において、抗 O X 4 0 抗体は、以下の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 (F R) がさらに含まれる : (a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ; (b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ; (c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ; 及び (c) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 。

10

【 0 0 5 7 】

抗 O X 4 0 抗体が O X 4 0 のアミノ酸残基 2 6 6 - 2 7 7 に結合するいくつかの事例において、抗体には、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ; (b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ; (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 ; (d) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ; (e) 配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 及び (f) 配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 が含まれる。いくつかの事例において、これらの抗 O X 4 0 抗体には、以下の F R : (a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 ; (b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 ; (c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 ; (d) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 が含まれており、かつ、追加的又は代替的に、(e) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 ; (f) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 ; (g) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 ; 及び (h) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 が含まれ得る。

20

【 0 0 5 8 】

いくつかの事例において、O X 4 0 のアミノ酸残基 2 6 6 - 2 7 7 に結合する抗 O X 4 0 抗体には、配列番号 1 6 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % (例えば少なくとも 8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、又は 8 9 %)、少なくとも 9 0 % (例えば少なくとも 9 1 %、9 2 %、9 3 %、又は 9 4 %)、若しくは少なくとも 9 5 % (例えば少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 %) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン (V H) 配列、又は配列番号 1 6 のアミノ酸配列の V H 配列が含まれ得る。ある実施態様において、少なくとも 8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % の同一性を有する V H 配列は、参照配列 (配列番号 1 6) に対する置換 (例えば保存置換)、挿入、又は欠損を有するが、その配列を含む抗 O X 4 0 抗体は、O X 4 0 に結合する能力を保持する。ある実施態様において、合計 1 から 1 0 のアミノ酸 (例えば 1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 1 0 アミノ酸) が、配列番号 1 6 中で、置換、挿入、及び / 又は欠損されている。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠損は、H V R の外側の領域内 (すなわち F R 内) で生じる。抗 O X 4 0 抗体には、配列番号 1 6 の V H 配列が、その配列の翻訳後修飾を含め、含まれ得る。ある特定の実施態様において、V H は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択された 1 つ、2 つ、又は 3 つの H V R を含む。

30

40

【 0 0 5 9 】

いくつかの事例において、O X 4 0 のアミノ酸残基 2 6 6 - 2 7 7 に結合する抗 O X 4

50

0抗体には、配列番号17のアミノ酸配列に対し少なくとも80%（例えば少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、又は89%）、少なくとも90%（例えば少なくとも91%、92%、93%、又は94%）、若しくは少なくとも95%（例えば少なくとも96%、97%、98%、又は99%）の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）、又は配列番号17のアミノ酸配列を有するVLが含まれ得る。ある実施態様において、参照配列（配列番号17）に対し少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、置換（例えば保存置換）、挿入、又は欠損を有するが、その配列が含まれる抗OX40抗体は、OX40に結合する能力を保持している。ある実施態様において、合計1から10のアミノ酸（例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸）が、配列番号17中で、置換、挿入、及び/又は欠損されている。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠損は、HVRの外側の領域内（すなわちFR内）で生じる。抗OX40抗体には、配列番号17のVL配列が、この配列の翻訳後修飾を含め、含まれ得る。ある特定の実施態様において、VLは、（a）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択された1つ、2つ、又は3つのHVRを含む。

10

【0060】

いくつかの事例において、OX40のアミノ酸残基266-277に結合する抗OX40抗体は、配列番号16及び17のアミノ酸配列に対し少なくとも80%（例えば少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、又は89%）、少なくとも90%（例えば少なくとも91%、92%、93%、又は94%）、若しくは少なくとも95%（例えば少なくとも96%、97%、98%、又は99%）の配列同一性をそれぞれ有するVH及びVL配列の両方、又は配列番号16及び17のアミノ酸配列の配列をそれぞれ有するVH及びVL配列の両方を含み、かつ、それらの配列の翻訳後修飾を含んでも含まなくてもよい。

20

【0061】

他の事例において、本発明は、（a）配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1；（b）配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2；（c）配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3；（d）配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-L1；（e）配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び（f）配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、OX40に特異的に結合する抗体を提供する。いくつかの事例において、これらの抗OX40抗体は、以下のFRを含む：（a）配列番号5のアミノ酸配列を含むFR-H1；（b）配列番号6のアミノ酸配列を含むFR-H2；（c）配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-H3；（d）配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-H4；（e）配列番号12のアミノ酸配列を含むFR-L1；（f）配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-L2；（g）配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-L3；及び（h）配列番号15から選択されたアミノ酸配列を含むFR-L4。例えばいくつかの実施態様において、抗OX40抗体は、配列番号16及び17のアミノ酸配列の配列をそれぞれ含むVH及びVL配列の両方を含み、かつ、翻訳後修飾を含んでも含まなくてもよい。

30

40

【0062】

本発明は、例えば以下の重鎖及び軽鎖可変領域配列を有する、抗OX40抗体SP197などの抗OX40抗体を特徴とする。

【0063】

重鎖可変領域のアミノ酸配列は、以下の通りである（HVR配列に下線）：

QSLEESGGRLVAPGGSLTLTCTVSGIDLSSDNIQWVRQAPGKGLEWIGAVDYNKPFYANWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCAKNTFSPWGPGLTLTVSS（配列番号16）

【0064】

50

軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、以下の通りである（HVR配列に下線）：

DPAMTQTPTSSTSAAVGGT¹VTINCQSSQSVYNANHL²SWFQQKPGQPPKRLIYYI³STPDSGVP⁴PRFSGSGSGTQFTLTI⁵SGV
QCDDAATYYCAALNSDEVFTFGGGTEVVVK（配列番号17）

【0065】

いくつかの事例において、本発明の抗OX40抗体は、上述の抗OX40抗体のいずれか1つ又は複数と、OX40への結合について、競合する抗体である。いくつかの事例において、本発明の抗OX40抗体は、上述の抗OX40抗体のいずれか1つ又は複数と、同一又は実質的に同一のエピトープへの結合について、競合する抗体である。

【0066】

いくつかの事例において、上記実施態様のいずれかに記載の抗OX40抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体又はヒト抗体を含む、モノクローナル抗体であり得る。ある実施態様において、抗OX40抗体は、抗体断片、例えばFv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、又はF(ab')₂断片である。他の実施態様において、抗体は、全長抗体、例えばインタクテナIgG抗体（例えばインタクテナIgG₁抗体）又は本明細書において定義される他の抗体クラス若しくはアイソタイプである。

10

【0067】

本発明の抗OX40抗体は、下記の「実施例」により例示されるように生体試料におけるOX40の存在又は発現レベルの検出に有用であるが、治療用途のために使用又は適合され得ることも、理解されるべきである。

【0068】

さらなる態様において、上記のいずれかの実施態様に記載の抗OX40抗体は、以下のセクション1から5に記載されるように、任意の機能を単独又は組み合わせで組み込むことができる。

20

【0069】

1. 抗体親和性

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、1 μM、100 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM又は0.001 nM（例えば10⁻⁸ M以下、例えば10⁻⁸ Mから10⁻¹³ M、例えば10⁻⁹ Mから10⁻¹³ M）の解離定数（K_d）を有する。

【0070】

ある実施態様において、K_dは、以下のアッセイにより記述されるように、目的の抗体のFab型及びその抗原を用いて実施される放射標識抗原結合アッセイ（RIA）により、測定される。抗原に対するFabの溶液結合親和性は、一連の滴定用の非標識抗原の存在下で最小濃度の（¹²⁵I）標識抗原によりFabを平衡化し、次いで抗Fab抗体コートプレートに結合される抗原を捕獲することによって、測定される（例えばChen et al. J. Mol. Biol. 293: 865-881, 1999を参照）。アッセイの条件を確立するため、MICROTITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）が、50 mM炭酸ナトリウム（pH 9.6）中5 μg/mlの捕捉用抗Fab抗体（Cappel Labs）で一晩コートされ、その後、PBS中2%（w/v）のウシ血清アルブミンで2時間から5時間室温（およそ23℃）でブロックされる。非吸着プレート（Nunc #269620）中で、100 pM又は26 pMの[¹²⁵I]抗原が、目的のFabの段階希釈液と混合される（例えばPresta et al. Cancer Res. 57: 4593-4599, 1997における抗VEGF抗体、Fab-12の評価と一致する）。次いで、目的のFabが一晩インキュベートされる。ただし、インキュベーションは、平衡状態に達したことを確実にするため、より長時間（例えば約65時間）継続してもよい。その後混合物は、室温でのインキュベーション（例えば1時間）のために、捕獲プレートに移される。次いで溶液が除去され、プレートがPBS中0.1%のポリソルベート20（TWEEN-20TM）で8回洗浄される。プレートが乾燥したら、150 μl/ウェルの閃光物質（MICROSCINT-20TM; Packard）が添加され、プレートがTOPCOUNTTM 計数器（Packard）で10分間計数される。最大結合の20%以

30

40

50

下を与える各 Fab の濃度が、競合結合アッセイで使用するために選択される。

【0071】

別の実施態様によれば、Kd は、BIACORE (登録商標) - 2000 又は BIACORE (登録商標) - 3000 (BIACORE 社、ピスカタウェイ、ニュージャージー州) を、25 において、~10 反応単位 (RU) に固定された抗原 CM5 チップと共に用いる、表面プラズモン共鳴アッセイを用いて測定される。簡潔には、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ (CM5、BIACORE 社) が、供給業者の指示書に従い、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩 (EDC) 及び N-ヒドロキシスクシニミド (NHS) で活性化される。抗原は、連結されたタンパク質が約 10 反応単位 (RU) に達する流速 5 μ l / 分における注入に先立って、10 mM の酢酸ナトリウム (pH 4.8) で 5 μ g / ml (-0.2 μ M) に希釈される。抗原の注入に続いて、1 M のエタノールアミンが、未反応基をブロックするために注入される。速度論的測定のために、Fab の 2 倍段階希釈液 (0.78 nM から 500 nM) が、25、約 25 μ l / 分の流速で、0.05% のポリソルベート 20 (TWEEN-20TM) 界面活性剤を含む PBS (PBST) 中に注入される。会合速度 (k_{on}) 及び解離速度 (k_{off}) は、単純 1 対 1 ラングミュア結合モデル (BIACORE (登録商標) 評価ソフトウェアバージョン 3.2) を用いて、会合及び解離のセンサーグラムを同時にフィットさせることにより、算出される。平衡解離定数 (Kd) は、 k_{off} / k_{on} 比として算出される。例えば Chen et al. J. Mol. Biol. 293: 865-881, 1999 を参照されたい。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによる会合速度が $10^6 M^{-1} s^{-1}$ を上回る場合、会合速度は、流動停止を備えた分光光度計 (Aviv Instruments) 又は攪拌キュベットを備えた 8000 シリーズ SLM-AMINCOTM 分光光度計 (Thermo Spectronic) などの分光計で測定される、PBS (pH 7.2) 中 20 nM の抗抗原抗体 (Fab 型) の 25 における蛍光放出強度 (励起 = 295 nm; 放出 = 340 nm、帯域通過 = 16 nm) の増加又は減少を漸増濃度の抗原の存在下で測定する、蛍光消光技術を用いることにより、決定することができる。

【0072】

2. 抗体断片

ある実施態様において、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、及び scFv 断片、並びに下記の他の断片が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの抗体断片の総説については、Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134, 2003 を参照されたい。scFv 断片の総説については、例えば Pluckthun. The Pharmacology of Monoclonal Antibodies. Vol. 13, pp. 269-315, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, 1994 を参照; 国際公開第 93/16185 号; 及び米国特許第 5571894 号及び第 5587458 号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつ *in vivo* 半減期を増加した Fab 及び F(ab')₂ 断片の議論については、米国特許第 5869046 号を参照されたい。

【0073】

ダイアボディは、二価又は二重特異性であり得る、2 つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば欧州特許第 404097 号; 国際公開第 1993/01161 号; Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134, 2003; 及び Hollinger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90: 6444-6448, 1993 を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディも、Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134, 2003 に記載されている。

【0074】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て若しくは一部、又は軽鎖可変ドメインの全て若しくは一部を含む抗体断片である。ある実施態様において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis 社、ウォルサム、マサチューセッツ州; 例えば米国特許第 6248516 号を参照)。

【0075】

抗体断片は、本明細書に記載するように、インタクトな抗体のタンパク質分解並びに組換え宿主細胞（例えば大腸菌又はファージ）による生産が含まれるがこれらに限定されない様々な技術により、作製することができる。

【0076】

3. キメラ及びヒト化抗体

ある実施態様において、本明細書に記載の抗体は、キメラ抗体である。ある種のキメラ抗体は、例えば米国特許第4816567号；及びMorrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 6851-6855, 1984に記載されている。ある例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えばマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサルなどの非ヒト霊長類由来の可変領域）とヒト定常領域とを含む。さらなる例において、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のものから改変されている「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体には、その抗原結合断片が含まれる。

10

【0077】

ある実施態様において、キメラ抗体はヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化されているが、親の非ヒト抗体の特異性と親和性を保持している。一般に、ヒト化抗体は、HVR例えばCDR（又はその部分）が非ヒト抗体に由来し、FR（又は部分）がヒト抗体配列に由来する、1つ又は複数の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、ヒト定常領域の少なくとも一部を含み得るであろう。いくつかの実施態様において、ヒト化抗体のいくつかのFR残基は、例えば抗体特異性又は親和性を回復又は改善するために、非ヒト抗体（例えばHVR残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換される。

20

【0078】

ヒト化抗体及びそれらを作成する方法は、例えばAlmagro et al. Front. Biosci. 13: 1619-1633, 2008で総説されており、例えばRiechmann et al. Nature. 332: 323-329, 1988; Queen et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86: 10029-10033, 1989；米国特許第5821337号、第7527791号、第6982321号及び第7087409号；Kashmiri et al. Methods. 36: 25-34, 2005（SDR（ α -CDR）グラフィティングを記載）；Padlan. Mol. Immunol. 28: 489-498, 1991（「再表面化」を記載）；DaU'Acqua et al. Methods. 36: 43-60, 2005（「FRシャッフリング」を記載）；並びにOsborn et al. Methods 36: 61-68, 2005及びKlimka et al. Br. J. Cancer. 83: 252-260, 2000（FRシャッフリングへの「誘導選択（guided selection）」アプローチを記載）で、さらに記載されている。

30

【0079】

ヒト化のために用いられ得るヒトフレームワーク領域には、「ベストフィット」法を用いて選択されたフレームワーク領域（例えばSims et al. J. Immunol. 151: 2296, 1993を参照）；軽鎖又は重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えばCarter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89: 4285, 1992；及びPresta et al. J. Immunol. 151: 2623, 1993を参照）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域又はヒトの生殖細胞系フレームワーク領域（例えばAlmagro et al. Front. Biosci. 13: 1619-1633, 2008を参照）；及びFRライブラリースクリーニング由来のフレームワーク領域（例えばBaca et al. J. Biol. Chem. 272: 10678-10684, 1997及びRosok et al. J. Biol. Chem. 271: 22611-22618, 1996を参照）が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0080】

4. 多重特異性抗体

ある実施態様において、本明細書に提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある実施態様において、結合特異性の1つはOX40に対してであり、その他は他の抗原に対してである。ある実施態様において、二重特異性抗体は、OX40の2つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体は、OX40

50

を発現する細胞に細胞傷害性剤を局在化させるために用いられることもあり得る。二重特異性抗体は、全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

【0081】

多重特異性抗体を作製する技術には、異なる特異性を有する2組のイムノグロブリン重鎖の組換え共発現 (Milstein et al. Nature. 305: 537, 1983; 国際公開第93/08829号、及びTraunecker et al. EMBO J. 10: 3655, 1991を参照)、及び「ノブ-イン-ホール」エンジニアリング (例えば米国特許第5731168号を参照) が含まれるが、これらに限定されない。多重特異性抗体は、抗体Fc二量体分子を作製するための静電ステアリング効果を操作すること (国際公開第2009/089004号); 1つ又は複数の抗体又は断片を架橋すること (例えば米国特許第4676980号、及びBrennan et al. Science. 229: 81, 1985を参照); 二重特異性抗体を生産するためにロイシンジッパーを用いること (例えばKostelny et al. J. Immunol. 148(5): 1547-1553, 1992を参照); 二重特異性抗体断片を作製するために「ダイアボディ」技術を用いること (例えばHollinger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 90: 6444-6448, 1993を参照); 及び1本鎖Fv (sFv) の二量体を用いること (例えばGruber et al. J. Immunol. 152: 5368, 1994を参照); 及び例えばTutt et al. J. Immunol. 147: 60, 1991に記載されるように三重特異性抗体を調製することによっても作製され得る。

10

【0082】

「オクトパス抗体」を含める3つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作抗体も、本明細書に含まれる (例えば米国特許出願公開第2006/0025576号を参照)。

20

【0083】

本明細書中の抗体又は断片には、OX40及び別の異なる抗原 (例えば米国特許出願公開第2008/0069820号を参照) に結合する抗原結合部位を含む、「二重作用 (Dual Acting) Fab」又は「DAF」も含まれる。

【0084】

5. 抗体変異体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体のアミノ酸配列変異体が、企図される。例えば、抗体の結合親和性及び/又は他の生物学的特性を改善することが、望まれ得る。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な修飾を導入することにより、又はペプチド合成により調製され得る。このような変化には、例えば抗体のアミノ酸配列中の残基からの欠損、及び/又は残基への挿入、及び/又は残基の置換が含まれる。最終コンストラクトが所望の特性、例えば抗原結合を有していることを条件として、最終コンストラクトに到達するために、欠損、挿入、及び置換の任意の組み合わせがなされ得る。

30

【0085】

a) 置換、挿入、及び欠損変異体

ある実施態様において、1つ又は複数のアミノ酸置換を伴う抗体変異体が提供される。置換的変異の目的の部位には、HVR及びFRが含まれる。保存的置換は、「好ましい置換」の見出しで表1に示す。より実質的な変化は、「例示的置換」の見出しで表1に示し、アミノ酸側鎖のクラスに関してその下でさらに説明する。アミノ酸置換は、目的の抗体、及び所望の活性、例えば抗原結合の保持/改善、免疫原性の低下、又はADCC又はCDCの改善についてスクリーニングされたその産物に導入することができる。

40

【0086】

表1. 例示的な好ましいアミノ酸置換

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp、Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

10

20

30

40

アミノ酸は、以下の共通の側鎖特性に従ってグループ化することができる。

50

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性の親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg；
- (5) 鎖配向に影響する残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1クラスのメンバーを、別のクラスのものに交換することを必然的に伴う。

【0087】

ある種の置換的変異体は、親抗体（例えばヒト化又はヒト抗体）の1つ又は複数の超可変領域残基の置換を伴う。一般に、さらなる研究のために選択された結果として生じる変異体は、親抗体と比較して、ある種の生物学的特性における改変（例えば改善）を有し（例えば向上した親和性、低下した免疫原性）、かつ/又は親抗体のある種の生物学的特性を実質的に保持するであろう。例示的な置換変異体は、例えば本明細書に記載されるようなファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を用いて、簡便に生成され得る親和性成熟抗体である。簡潔に言えば、1つ又は複数のHVR残基が変異させられ、変異体抗体がファージ上に表示され特定の生物学的活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングされる。

10

【0088】

改変（例えば置換）は、HVRにおいて、例えば、抗体の親和性を向上させるために行われ得る。このような改変は、HVRの「ホットスポット」、すなわち体細胞成熟過程中に高頻度で変異を受けるコドンにコードされた残基（例えばChowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207: 179-196, 2008を参照）、及び/又はSDR（a-CDR）において行われることがあり、結果として得られる変異体VH又はVLが、結合親和性について試験される。二次ライブラリーから構築し再選択することによる親和性成熟が、例えばHoogenboom et al. *Methods in Molecular Biology*. 178: 1-37、O'Brien et al. eds., Human Press, Totowa, NJ, 2001に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施態様において、多様性が、様々な方法（例えばエラープロードPCR、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチドを標的とした突然変異誘発）のいずれかにより、成熟のために選択された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリーが作製される。次いで、ライブラリーは、所望の親和性を持つ任意の抗体変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば一度に4-6残基）がランダム化されたHVR指向のアプローチを伴う。抗原結合に關与するHVR残基は、例えばアラニンスキャンニング突然変異誘発又はモデリングを用いて、特異的に同定されることがあり得る。特にHVR-H3及びHVR-L3は、しばしば標的化される。

20

30

【0089】

ある実施態様において、置換、挿入又は欠損は、これらの改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、1つ又は複数のHVR内で生じ得る。例えば、結合親和性を実質的に低下させない保存的改変（例えば本明細書において提供される保存的置換）は、HVR内で行われることがあり得る。このような改変は、HVR「ホットスポット」又はSDRの外側であってもよい。上記で提供された変異体VH又はVL配列のある実施態様において、各HVRは不変であるか、又はわずか1つ、2つ又は3つのアミノ酸置換を含む。

40

【0090】

変異誘発のために標的化してもよい抗体の残基又は領域を同定するためのある有用な方法は、Cunningham et al. *Science*. 244: 1081-1085, 1989に記載の「アラニンスキャンニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基の残基又はグループ（例えばArg、Asp、His、Lys及びGluなどの荷電残基）が同定され、抗原と抗体との相互作用が影響を受けるかどうかを決定するために、中性又は負に帯電したアミノ酸（例えばアラニン又はポリアラニン）により置換される。さらなる置換が、最初の置換に対する機

50

能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入され得る。代替的に又は追加的に、抗体と抗原の接点を同定するための抗原抗体複合体の結晶構造。そのような接触残基及び隣接残基は、置換の候補として標的化されてもよいし、又は排除されてもよい。変異体は、所望の特性を含むかどうかを決定するために、スクリーニングされ得る。

【0091】

アミノ酸配列挿入物は、1残基から100以上の残基を有するポリペプチドの長さ及びアミノ末端及び/又はカルボキシル末端融合体、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入物を含む。末端挿入物の例には、N末端メチオニン残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体の血清半減期を延長させる酵素(例えばADEPTのための)又はポリペプチドに対する抗体のN末端又はC末端への融合物が含まれる。

10

【0092】

b) グリコシル化変異体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加又は減少させるために改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加又は欠損は、1つ又は複数のグリコシル化部位が創出又は削除されるようにアミノ酸配列を改変することにより、簡便に達成することができる。

【0093】

抗体がFc領域を含む場合、そこに付着する炭水化物が改変され得る。哺乳動物細胞によって産生された天然抗体は、典型的には、Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN結合により一般に付着した分枝状の二分枝オリゴ糖を含む。例えばWright et al. TIBTECH. 15: 26-32, 1997を参照されたい。オリゴ糖には、様々な炭水化物、例えばマンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトース、及びシアル酸、並びに二分枝オリゴ糖構造の「幹」におけるGlcNAcに結合したフコースが含まれ得る。いくつかの実施態様において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、ある種の改善された特性を有する抗体変異体を作製するためになされ得る。

20

【0094】

ある実施態様において、抗体変異体は、Fc領域に(直接的に又は間接的に)付着するフコースを欠損する炭水化物構造を有して提供される。例えばそのような抗体におけるフコースの量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、又は20%から40%であり得る。フコースの量は、例えば国際公開第2008/077546号に記載のように、MALDI-TOF質量分析法によって測定されるAsn297に付着する全ての糖構造(例えば複合体、ハイブリッド及び高マンノース構造)の合計に対し、Asn297の糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297はFc領域内のおよそ297位(Fc領域残基のEU番号付け)に位置するアスパラギン残基を指すが、しかしながら、Asn297は、抗体の軽微な配列変異に起因して、297位のおよそ±3アミノ酸上流又は下流に、すなわち294位から300位に位置する場合もあり得る。このようなフコシル化変異体は、改善されたADCC機能を有し得る。例えば米国特許公報第2003/0157108号及び第2004/0093621号を参照されたい。「脱フコシル化」又は「フコース欠損」抗体変異体に関連する出版物の例には、米国特許出願公開第2003/0157108号;国際公開第2000/61739号;国際公開第2001/29246号;米国特許出願公開第2003/0115614号;米国特許出願公開第2002/0164328号;米国特許出願公開第2004/0093621号;米国特許出願公開第2004/0132140号;米国特許出願公開第2004/0110704号;米国特許出願公開第2004/0110282号;米国特許出願公開第2004/0109865号;国際公開第2003/085119号;国際公開第2003/084570号;国際公開第2005/035586号;国際公開第2005/035778号;国際公開第2005/053742号;国際公開第2002/031140号;Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249, 2004;及びYamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614, 2004が含まれる。脱フコシル化抗体を産生する能力を

30

40

50

有する細胞株の例には、タンパク質フコシル化を欠損している *Lecl3 CHO* 細胞 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545, 1986; 米国特許出願公開第 2003/0157108 号; 及び国際公開第 2004/056312 号、特に実施例 11)、及びアルファ-1、6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、*FUT8*、ノックアウト *CHO* 細胞 (例えば Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614, 2004; Kanda et al. Biotechnol. Bioeng. 94(4): 680-688, 2006; 及び国際公開第 2003/085107 号を参照) などの、ノックアウト細胞株が含まれる。

【0095】

抗体変異体は、例えば抗体の *Fc* 領域に結合した二分枝オリゴ糖が *GlcNAc* によって二分される二分オリゴ糖を伴って、さらに提供される。そのような抗体変異体は、低下したフコシル化及び/又は改善された *ADCC* 機能を有し得る。そのような抗体変異体の例は、例えば国際公開第 2003/011878 号; 米国特許第 6602684 号; 及び米国特許出願公開第 2005/0123546 号に記載されている。*Fc* 領域に付着したオリゴ糖中に、少なくとも 1 のガラクトース残基を持つ抗体変異体も、提供される。そのような抗体変異体は、改善された *CD* 機能を有し得る。このような抗体変異体は、例えば国際公開第 1997/30087 号; 国際公開第 1998/58964 号; 及び国際公開第 1999/22764 号に記載されている。

【0096】

c) *Fc* 部位変異体

ある実施態様において、1つ又は複数のアミノ酸修飾を、本明細書で提供される発明 (例えば *SP197*) の抗 *OX40* 抗体の *Fc* 領域に導入し、それにより *Fc* 領域変異体を生成することができる。*Fc* 領域変異体は、1つ又は複数のアミノ酸位置におけるアミノ酸修飾 (例えば置換) を含むヒト *Fc* 領域 (例えばヒト *IgG1*、*IgG2*、*IgG3* 又は *IgG4* の *Fc* 領域) の配列を含み得る。

【0097】

ある実施態様において、本発明は、*in vivo* における抗体の半減期が重要であるが、ある種のエフェクター機能 (補体及び *ADCC* など) が不要又は有害である用途のための望ましい候補に、抗体変異体をならしめる、全てではないがいくつかのエフェクター機能を有する抗体変異体を企図している。*CD* 活性及び/又は *ADCC* 活性の低下/喪失を確認するために、*in vitro* 及び/又は *in vivo* 細胞傷害性アッセイが実施され得る。例えば、*Fc* 受容体 (*FcR*) 結合アッセイが、抗体が、*FcyR* 結合を欠く (それ故おそらく *ADCC* 活性を欠く) が、*FcRn* 結合能力を保持することを確実にするために実施され得る。*ADCC* を媒介する主要な細胞である *NK* 細胞が *FcRII* のみを発現するのに対し、単球は、*FcyRI*、*FcyRII* 及び *FcyRIII* を発現する。造血細胞での *FcR* の発現は、Ravetch et al. Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492, 1991 の 464 頁の表 3 に総説されている。目的の分子の *ADCC* 活性を評価するための *in vitro* アッセイの非限定的な例が、米国特許第 5500362 号; Hellstrom et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83: 7059-7063, 1986; Hellstrom et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 82: 1499-1502, 1985; 及び Bruggemann et al. J. Exp. Med. 166: 1351-1361, 1987 に記載されている。代替的に、非放射性アッセイ法が用いられ得る (例えばフローサイトメトリー用の *ACT1TM* 非放射性細胞傷害性アッセイ (Cell Technology 社、マウンテンビュー、カリフォルニア州); 及び *CytoTox 96* (登録商標) 非放射性細胞傷害性アッセイ (Promega、マジソン、ウィスコンシン州)。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞 (*PBMC*) 及びナチュラルキラー (*NK*) 細胞が含まれる。代替的に又は追加的に、目的の分子の *ADCC* 活性は、Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95:652-656, 1998 に開示されるように、例えば動物モデルにおいて、*in vivo* で評価されることがあり得る。抗体が *C1q* に結合できないこと、従って *CD* 活性を欠くことを確認するために、*C1q* 結合アッセイが実行されることがあり得る。例えば国際公開第 2006/02987 号及び国際公開第 2005/100402 号における、*C1q* 及び *C3c* 結合 *ELIS*

10

20

30

40

50

Aを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイが実施され得る（例えばGazzano-Santoro et al. J. Immunol. Methods. 202: 163, 1996; Cragg et al. Blood . 101: 1045-1052, 2003; 及びCragg et al. Blood 103: 2738-2743, 2004を参照）。FcRn結合及びin vivoでのクリアランス/半減期の測定も、当分野で周知の方法を用いて行うことができる（例えばPetkova et al. Intl. Immunol. 18(12): 1759-1769, 2006を参照）。

【0098】

エフェクター機能が低下した抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、及び329のうちの1つ又は複数の置換を有するものが含まれる（米国特許第6737056号）。そのようなFc変異体には、残基265及び297のアラニンへの置換を有するいわゆる「DANA」Fc突然変異体（米国特許第7332581号）を含めた、アミノ酸265、269、270、297、及び327位のうちの2つ以上において置換を有する、Fc突然変異体が含まれる。

10

【0099】

FcRへの結合を改善又は減少させたある種の抗体変異体が記載されている。例えば米国特許第6737056号；国際公開第2004/056312号；及びShields et al. J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604, 2001を参照されたい。

【0100】

ある実施態様において、抗体変異体は、ADCCを改善する1つ又は複数のアミノ酸置換、例えばFc領域の298位、333位、及び/又は334位（残基のEU番号付け）における置換を有するFc領域を含む。

20

【0101】

いくつかの実施態様において、例えば米国特許第6194551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al. J. Immunol.164: 4178-4184, 2000に記載されるように、C1q結合及び/又は補体依存性細胞傷害（CDC）改変される（すなわち改善又は低減される）結果となる、Fc領域における改変がなされる。

【0102】

半減期が延長され、胎児への母性IgGの移送を担う（Guyer et al. J. Immunol. 117: 587,1976及びKim et al, J. Immunol. 24: 249, 1994）新生児Fc受容体（FcRn）への結合性が改善された抗体は、米国特許出願番号第2005/0014934号に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を改善する1つ又は複数の置換を有するFc領域を含む。このようなFc変異体には、Fc領域残基：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424又は434のうちの1つ又は複数における置換、例えばFc領域残基434の置換（米国特許第7371826号）を有するものが含まれる。Fc領域変異体の他の例に関する、Duncan et al. Nature.322:738-740, 1988；米国特許第5648260号及び第5624821号；及び国際公開第94/29351号も参照されたい。

30

【0103】

d) システイン改変抗体変異体

40

ある実施態様において、システイン改変抗体、例えば抗体の1つ又は複数の残基がシステイン残基で置換された「チオMab」を作製することが望ましいことがある。特定の実施態様において、置換される残基は、抗体の接近可能な部位で生じる。これらの残基をシステインで置換することによって、反応性チオール基が抗体の接近可能部位に配置され、抗体を薬物部分又はリンカー-薬剤部分などの他の部分にコンジュゲートさせ、本明細書中でさらに記載されるように免疫コンジュゲートを作製するために使用することができる。ある実施態様において、次の残基のいずれか1つ又はそれ以上がシステインと置換され得る：軽鎖のV205（Kabab番号付け）、重鎖のA118（EU番号付け）；及び重鎖Fc領域のS400（EU番号付け）。システイン改変抗体は、例えば米国特許第7521541号に記載のように生成され得る。

50

【0104】

e) 抗体誘導体

ある実施態様において、本発明の抗OX40抗体（例えばSP197）は、当技術分野で周知であり容易に入手可能である、追加の非タンパク質部分を含むように、さらに修飾されることがあり得る。抗体の誘導体化に適した部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例には、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール/プロピレングリコールの共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキソラン、エチレン/無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸（単独重合体又はランダム共重合体）及びデキストラン又はポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコール単独重合体、プロピレンオキシド/エチレンオキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール、及びこれらの混合物が含まれるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、その水中における安定性故に、製造上の利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量であってよく、かつ分枝状又は非分枝状でもよい。抗体に付着するポリマーの数は変化してもよく、1を超えるポリマーが付着する場合、それらは同一か又は異なる分子であってよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び/又はタイプは、改善されるべき抗体の特定の特性又は機能、その抗体誘導体が定義された条件下の治療に使用されるかどうかなどが含まれるが、これらに限定されない考慮事項に基づいて決定することができる。

10

20

【0105】

他の実施態様において、抗体と、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る非タンパク質部分との、コンジュゲートが提供される。ある実施態様において、非タンパク質部分は、カーボンナノチューブである（Kam et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 102: 11600-11605, 2005）。放射線は、任意の波長であってよく、通常の細胞に害を与えないが、抗体-非タンパク質部分の近傍の細胞を死滅させる温度に非タンパク質部分を加熱する波長を含むが、これに限定されない。

【0106】

B. 組換え方法及び組成物

抗体は、例えば米国特許第4816567号に記載されるような組換え方法及び組成物を用いて製造され得る。ある実施態様において、本明細書に記載される抗OX40抗体（例えばSP197）をコードする、単離された核酸が提供される。このような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び/又は抗体のVHを含むアミノ酸配列（例えば抗体の軽鎖及び/又は重鎖）をコードし得る。さらなる実施態様において、そのような核酸を含む1つ又は複数のベクター（例えば発現ベクター）が提供される。さらなる実施態様において、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。ある実施態様において、宿主細胞は以下を含む（例えば、以下で形質転換されている）：（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第一のベクター及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第二のベクター。ある実施態様において、宿主細胞は、真核生物細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞又はリンパ系細胞（例えばY0、NS0、Sp20細胞）である。ある実施態様において、抗OX40抗体を作製する方法が提供され、この方法は、抗体の発現に適した条件において上述のような抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養すること、及び必要に応じて宿主細胞（又は宿主細胞培地）から抗体を回収することを含む。

30

40

【0107】

抗OX40抗体（例えばSP197）の組換え生産のために、例えば上述のように、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内におけるさらなるクローニング及び/又は発現のために1つ又は複数のベクターに挿入される。このような核酸は、容易に単離することができ、一般的な手順を用いて（例えば抗体の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子に特異的

50

に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって)配列決定することができる。

【0108】

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現に適した宿主細胞には、本明細書に記載される原核生物細胞又は真核細胞が含まれる。例えば、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない場合、抗体は細菌内で作製され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば米国特許第5648237号、同第5789199号及び同第5840523号を参照されたい。大腸菌における抗体断片の発現について記載している、Charlton. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 248, pp. 245-254, B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003も参照されたい。発現の後、抗体は、可溶性画分における細菌の細胞ペーストから単離され、さらに精製され得る。

10

【0109】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母などの真核微生物は、抗体をコードするベクターのための適切なクローニング宿主又は発現宿主であり、これらには、部分的又は完全なヒトのグリコシル化パターンを有する抗体が産生されることになる、グリコシル化経路が「ヒト化」されている真菌株及び酵母株が含まれる。Nat. Biotech. 22: 1409-1414, 2004及びLi et al. Nat. Biotech. 24: 210-215, 2006を参照されたい。

【0110】

グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞は、多細胞生物(無脊椎動物及び脊椎動物)にも由来する。無脊椎動物細胞の例には、植物細胞及び昆虫細胞が含まれる。特にS p o d o p t e r a f r u g i p e r d a細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と併せて使用することができる、多数のパキウウイルス株が同定されている。

20

【0111】

植物細胞培養物は、宿主として利用され得る。例えば米国特許第5959177号、第6040498号、第6420548号、第7125978号、及び第6417429号(トランスジェニック植物における抗体産生に関するP L A N T I B O D I E S ^{T M} 技術を記載)を参照されたい。

【0112】

脊椎動物細胞もまた、宿主として用いられ得る。例えば、懸濁液中で増殖するように適合されている哺乳動物細胞株は、有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例としては、SV40(COS-7)で形質転換されたサル腎臓CV1株;ヒト胚腎臓株(例えばGraham et al. J. Gen Virol. 36:59、1977に記載の293細胞又は293細胞);ベビーハムスター腎臓細胞(BHK);マウスのセルトリ細胞(例えばMather. Biol. Reprod. 23:243-251、1980に記載のTM4細胞);サル腎臓細胞(CV1);アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76);ヒト子宮頸がん細胞(HEL4);イヌ腎臓細胞(MDCK);パッファローラット肝臓細胞(BRL 3A);ヒト肺細胞(W138);ヒト肝臓細胞(HePG2);マウス乳腺腫瘍細胞(MMT060562);例えばMather et al. Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68、1982に記載のTRI細胞;MRC5細胞;及びFS4細胞が挙げられる。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFRCCHO細胞を含めるチャニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(Urlaub et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77: 4216、1980);並びにY0、NS0及びSp2/0などの骨髄腫細胞株が含まれる。抗体作製に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の総説については、例えばYazaki et al. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 248, pp. 255-268, B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003を参照されたい。

30

40

【0113】

C. アッセイ

本明細書で提供される抗OX40抗体は、当分野で周知の様々なアッセイによって同定することができ、その物理的/化学的性質及び/又は生物学的活性についてスクリーニング又は特徴づけすることができる。

【0114】

50

1. 結合アッセイ及びその他のアッセイ

ある態様において、本発明の抗体は、例えばE L I S A、ウエスタンブロットなどの周知の方法により、その抗原結合活性について、試験される。

【0115】

別の態様において、O X 4 0への結合について、本明細書に記載される抗体のいずれか1つ(例えば抗O X 4 0抗体S P 1 9 7)と競合する抗体を同定するために、競合アッセイが使用され得る。ある実施態様において、このような競合する抗体は、本発明の抗体のいずれか1つ(例えば抗O X 4 0抗体S P 1 9 7)に結合される同一のエピトープ(例えば直鎖状又は立体構造エピトープ)に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的方法が、Morris "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* Vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ, 1996)において提供されている。

10

【0116】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化されたO X 4 0は、O X 4 0に結合する第一の標識された抗体(例えば抗O X 4 0抗体S P 1 9 7)、及びO X 4 0への結合について第一の抗体と競合する能力について試験される第二の標識されていない抗体を含む溶液中で、インキュベートされる。第二の抗体はハイブリドーマ上清に存在してもよい。コントロールとして、固定化されたO X 4 0は、第一の標識された抗体を含むが、第二の標識されていない抗体を含まない溶液中で、インキュベートされる。第一の抗体がO X 4 0に結合することを許容する条件下でインキュベートした後、過剰な未結合の抗体が除去され、固定化されたO X 4 0に結合した標識の量が測定される。固定化O X 4 0に結合した標識の量が、コントロール試料と比較して試験試料中で実質的に減少している場合、それは、第二の抗体が、O X 4 0への結合において第一の抗体と競合していることを示している。例えばHarlow et al. *Antibodies: A Laboratory Manual*. Ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1988)を参照されたい。

20

【0117】

2. 検出アッセイ

ある態様では、アッセイは、例えば免疫組織化学(I H C)又は免疫蛍光(I F)において、O X 4 0の存在を検出するのに有用な抗O X 4 0抗体を同定するために提供される。ある実施態様において、本発明の抗体は、そのような活性について試験される。

30

【0118】

D. イムノコンジュゲート

本発明は、放射性同位体などの、1つ又は複数の標識及び/又は薬剤に結合される、本明細書に記載の抗O X 4 0抗体を含むイムノコンジュゲートも提供する。

【0119】

ある実施態様において、イムノコンジュゲートは、放射性原子にコンジュゲートされて放射性コンジュゲートを形成する、本明細書に記載の抗体を含む。様々な放射性同位体が、放射性コンジュゲートの製造のために入手可能である。例には、A t ²¹¹、I ¹³¹、I ¹²⁵、Y ⁹⁰、R e ¹⁸⁶、R e ¹⁸⁸、S m ¹⁵³、B i ²¹²、P ³²、P b ²¹²、及びL uの放射性同位体が含まれる。放射性コンジュゲートが検出のために用いられる場合、放射性コンジュゲートは、シンチグラフ研究用の放射性原子、例えばt c 9 9 m又はI 1 2 3、又は核磁気共鳴(N M R)イメージング(磁気共鳴イメージング、M R Iとしても知られている)のためのスピン標識、例えば再びヨウ素1 2 3、ヨウ素1 3 1、インジウム1 1 1、フッ素1 9、炭素1 3、窒素1 5、酸素1 7、ガドリニウム、マンガン又は鉄などを含み得る。

40

【0120】

抗O X 4 0抗体と標識若しくは薬剤とのコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えばN - スクシンイミジル - 3 - (2 - ピリジルジチオ)プロピオナート(S P D P)、スクシンイミジル - 4 - (N - マレイミドメチル)シクロヘキサ - 1 - カルボキシレート(S M C C)、イミノチオラン(I T)、イミドエステルの二官能

50

性誘導体（例えばジメチルアジピミダート塩酸）、活性エステル（例えばジスクシンイミジルスベレート）、アルデヒド（例えばグルタルアルデヒド）、ビスアジド化合物（例えばビス（*p*-アジドベンゾイル）ヘキサジアミン）、ビス-ジアゾニウム誘導体（例えばビス-（*p*-ジアゾニウムベンゾイル）-エチレンジアミン）、ジイソシアネート（例えばトルエン2,6-ジイソシアネート）、及び二活性フッ素化合物（例えば1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン）を用いて作製することができる。例えば、リシンイムノトキシンは、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載のように調製することができる。炭素14で標識した1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸（MX-DTPA）は、放射性ヌクレオチドの抗体へのコンジュゲーションのためのキレート剤の例である。国際公開第94/11026号を参照されたい。リンカーは標識又は薬剤の放出を容易にする「切断可能なリンカー」でもよい。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光不安定性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカー（Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); 米国特許第5208020号）が使用され得る。

10

【0121】

本明細書に記載のイムノコンジュゲートは、市販（例えばPierce Biotechnology社、ロックフォード、イリノイ州、米国より）の、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、スルホ-SMPB、及びSVSB（スクシンイミジル-（4-ビニルスルホン）ベンゾエート）等が含まれるがこれらに限定されない架橋試薬を用いて調製されたコンジュゲートを明示的に企図しているが、これらに限定されない。

20

【0122】

E. 診断及び検出のための方法、キット及び組成物

【0123】

ある実施態様において、本明細書において提供される抗OX40抗体は、生体試料中のOX40の存在を検出するのに有用である。本明細書で使用する「検出（する）」という用語は、定量的又は定性的検出を包含する。

【0124】

ある事例において、診断又は検出の方法に使用するための抗OX40抗体（例えばSP197）が提供される。例えばある事例において、生体試料におけるOX40の存在を検出する、下記のような方法が提供される。ある実施態様において、方法は、抗OX40抗体がOX40に結合することを許容する条件下で、本明細書に記載される抗OX40抗体を生体試料に接触させること、及び抗OX40抗体とOX40との間で複合体が形成されたかどうかを検出することを含む。そのような方法は、*in vitro*法又は*in vivo*法であってよい。本発明の抗OX40抗体（例えばSP197）は、例えば免疫アッセイにおいて用いることができ、これには、例えば免疫組織化学（IHC）免疫組織化学（IF）、免疫プロットティング（例えばウェスタンプロットティング）、フローサイトメトリー、及び酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）が含まれる。ある実施態様において、抗OX40抗体は、例えばOX40が患者の選択のためのバイオマーカーであるところのがん免疫療法を伴う、療法に適した対象を選択するために用いられる。

30

40

【0125】

ある事例において、標識された抗OX40抗体が提供される。標識には、直接検出される標識又は部分（蛍光標識、発色団標識、高電子密度標識、化学発光標識及び放射性標識など）、並びに例えば酵素反応又は分子間相互作用を介して間接的に検出される、酵素又はリガンドなどの部分が含まれるが、これらに限定されない。代表的な標識には、ラジオアイソトープ³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H、及び¹³¹I、希土類キレート又はフルオレセイン若しくはその誘導体などの蛍光体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、例えばホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ（米国特許第

50

4737456号)などのルシェフェラーゼ、ルシェフェリン、2,3-ジヒドロフタルジネジオン、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、ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、例えばグルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼなどの糖オキシダーゼ、例えばウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼなどのヘテロサイクリックオキシダーゼ、過酸化水素を利用して色素前駆体を酸化する酵素(HRP、ラクトペルオキシダーゼ、又はマイクロペルオキシダーゼなど)と結合したもの、ビオチン/アビジン、スピンラベル、バクテリオファージラベル、安定な遊離ラジカルなどが含まれるが、これらに限定されない。

【0126】

ある事例において、本明細書に記載の抗OX40抗体は、ヒト組織試料におけるヒトOX40の発現を免疫組織化学的に検出するためのキットの一部である。ある実施態様において、キットには、本明細書に記載の抗体及び検出試薬のセットが含まれている。検出試薬には、抗OX40抗体に結合することができる抗体(「二次抗体」と呼ばれる)、二次抗体に連結されるか又は連結されるよう適合された酵素を含める検出可能な実体、及び試料上に色素原又は蛍光体を沈着させる酵素に反応性がある試薬が含まれる。ある実施態様において、二次抗体は、一次抗体が由来する特異的な動物種由来のイムノグロブリンに親和性を有する(「種特異的二次抗体」と呼ぶ)。別の実施態様において、二次抗体は、一次抗体の一次アミノ酸配列中に位置するエピトープタグ、又は一次抗体の反応性側鎖に連結するハプテンなどの、一次抗体に組み入れられたタグに反応性である。別の実施態様において、酵素は、シグナル増幅器を経て、二次抗体に連結される。IHCのためのシグナル増幅法は、当分野における通常の技能の1つとして知られている。いくつかの実施例において、シグナル増幅には、チラミドシグナル増幅(TSATM)としても知られる触媒レポーター沈着法(CARD)が含まれる。この方法の変法においては、酵素が結合した二次抗体(HRPコンジュゲート二次抗体など)が、一次抗体に結合する。次に、HRP酵素と相互作用する際におそらくフリーラジカルになる、ビオチン化チラミドの基質(チラミンは4-(2-アミノエチル)フェノールである)が用いられる。フェノール系ラジカルは、次いで周囲の物質と素早く反応し、近傍にビオチンを沈着又は固定させる。このプロセスは、さらなる基質(ビオチン化チラミド)を与え、さらに局在化されたビオチンを増大させることにより、繰り返される。最後に、「増幅された」ビオチン沈着物が、蛍光分子に付着したストレプトアビジンで検出される。代替的に、増幅されたビオチン沈着物は、アビジン-ペルオキシダーゼ複合体で検出することができ、これは次いでDABと接触されて、褐色の色を生成する。他の例において、シグナル増幅には、試料に結合される一次抗体の部位又はその近傍においてHQを沈着するために十分な条件下で、試料をHRPコンジュゲート三次抗体と接触させた後に、試料を過酸化水素及びチラミドHQコンジュゲートに接触させることが含まれる。試料は、次いで、HQに特異的に結合する酵素コンジュゲート抗体(HRPコンジュゲート抗体又はAPコンジュゲート抗体)に接触させられる。いくつかの例において、この酵素コンジュゲート抗体は、HRPコンジュゲート三次抗体と同一である。他の例において、酵素コンジュゲート抗体は、HRPコンジュゲート三次抗体と異なる抗体である。試料は、次いで、酵素の存在下、検出可能な反応生成物を生産する1つ又は複数の試薬に接触させられる。いくつかの例において、試料は、HRPの存在下で視覚的に検出可能な産物を生産する、HRP基質(過酸化水素など)及び発色原(DABなど)に接触させられる。いくつかの例において、シグナル増幅は、VENTANA OptiView Amplification Kit(Ventana Medical Systems社、カタログ番号760-099)を用いて、実行される。

【0127】

診断及び/又は検出のための上述の方法のいずれかが、非コンジュゲート抗OX40抗体に代わって、又は加えて、本発明の免疫コンジュゲートを用いて実行されてよいこともまた、理解されるべきである。

10

20

30

40

50

【0128】

F. 生体試料

ある事例において、本発明の抗OX40抗体（例えばSP197）は、当領域で周知の方法又は本明細書に記載の方法を用いて、生体試料におけるOX40の存在を検出するために用いることができる。

【0129】

いくつかの事例において、生体試料には、組織試料又は細胞試料が含まれる。例えば生体試料には、正常患者又はがんの患者由来の細胞又は組織、例えば乳の正常組織及びがんの組織、大腸、結腸、腎臓、骨、脳、筋肉、胃、膵臓、膀胱、卵巣、子宮、並びに心臓、胚、及び胎盤組織などが含まれ得る。

10

【0130】

ある事例において、組織試料又は細胞試料の供給源は、新鮮な、凍結された、かつ/又は保存された臓器又は組織試料又は生検又は吸引液由来の固形組織；血液又はあらゆる血液成分；脳脊髄液、羊水、腹膜液などの体液、又は間質液；対象の妊娠期又は発生の任意の時点からの細胞であってよい。いくつかの実施態様において、生体試料は、*in vitro*の組織培養物又は細胞培養物から得られる。本明細書における生体試料の例には、腫瘍生検、循環性腫瘍細胞、血清又は血漿、循環性血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来するか又は腫瘍様の性質を示す初代細胞培養又は細胞株、及びホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）の腫瘍の試料又は凍結された腫瘍の試料などの保存された腫瘍の試料が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0131】

いくつかの実施態様において、生体試料は、本質的に組織と自然に混在しない化合物、例えば防腐剤、抗凝血剤、緩衝剤、栄養剤、抗生物質などを含む。ある実施態様において、生体試料は、1つ又は複数の定着剤に露出されている、かつ/又は1つ又は複数の定着剤を含有する。本発明の方法及び組成に用いることができる定着剤には、ホルマリン、グルタルアルデヒド、四酸化オスミウム、酢酸、エタノール、アセトン、ピクリン酸、クロロホルム、二クロム酸カリウム及び塩化水銀、及び/又はマイクロ波加熱又は凍結による安定化が含まれる。

【0132】

いくつかの実施態様において、生体試料は、自己免疫疾患に罹患しているか、自己免疫疾患に罹患しやすいか、又は自己免疫疾患について検査中である対象由来である。ある実施態様において、自己免疫疾患は、自己免疫性リウマチ疾患（例えばRA、シェーグレン症候群、強皮症、SLE及びループス腎炎などの狼瘡、多発性筋炎・皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、抗リン脂質抗体症候群、及び乾癬性関節炎など）、自己免疫性胃腸及び肝障害（例えば炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎及びクローン病）、自己免疫性胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、及びセリアック病など）、血管炎（例えばチャグ・シュトラウス血管炎を含むANCA陰性血管炎及びANCA関連血管炎、ウェグナー肉芽腫症、及び顕微鏡的多発血管炎など）、自己免疫性神経障害（例えば多発性硬化症、オプソクローヌス・ミオクローヌス症候群、重症筋無力症、視神経脊髄炎、パーキンソン病、アルツハイマー病、及び自己免疫性多発ニューロパチーなど）、腎障害（例えば糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、及びバージャー病など）、自己免疫性皮膚疾患（例えば乾癬、じんましん（*urticaria*、*hives*）、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、及び皮膚エリテマト-デスなど）、血液障害（例えば血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後紫斑病、及び自己免疫性溶血性貧血など）、アテローム性動脈硬化症、ブドウ膜炎、自己免疫性聴覚疾患（例えば内耳疾患及び難聴など）、ベーチェット病、レイノー症候群、臓器移植、及び自己免疫性内分泌障害（例えば糖尿病関連自己免疫疾患、例えばインスリン依存性糖尿病（IDDM）、アジソン病、及び自己免疫性甲状腺疾患（例えばグレーブス病及び甲状腺炎）など）である。

30

40

【0133】

50

他の実施態様において、試料は、がん罹患しているか、がん罹患しやすいか、又はがんについて検査中である対象由来である。ある実施態様において、がんとは、がん腫、リンパ腫（ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫を含める）、芽細胞腫、肉腫、白血病、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺がん、肺の扁平上皮がん、腹膜のがん、肝細胞がん、消火器がん、膵がん、神経膠腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝がん、膀胱がん、ヘパトーマ、乳がん、大腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜又は子宮がん腫、唾液腺がん腫、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん、白血病、リンパ増殖性疾患、又は様々なタイプの頭頸部がんである。特定の実施態様において、がんは、非小細胞肺癌（NSCLC）、膀胱がん、腎細胞がん（RCC）、卵巣がん、結腸直腸がん、トリプルネガティブ乳がん（TNBC）、及び悪性黒色腫から選択される。

10

【0134】

III. 実施例

以下は本発明の方法及び組成物の実施例である。上に提供された一般的な説明を前提として、他の様々な実施態様が実施され得ることが理解されるべきである。

【0135】

実施例1. 抗OX40抗体の生成

抗OX40ウサギモノクローナル抗体は、図1で模式的に示すようにして生成した。簡潔には、アミノ酸残基266-2のペプチド断片が合成された。免疫化を意図した12アミノ酸断片が、抗体産生を介する実質的な免疫応答を刺激するためのキャリアタンパク質として広く用いられる、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）にコンジュゲートされた。ニュージーランド白ウサギが、完全フロイントアジュバントで乳化されたKLHコンジュゲートOX40抗原、続いて不完全フロイントアジュバントで乳化された一連のOX40抗原ブースターにより免疫化された。抗体を発現する細胞は、OX40を用いる酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）によりスクリーニングされた。全てのELISA陽性クローンは、免疫組織化学（IHC）により、さらにスクリーニングされ、最も高い特異性を有する抗体を生産するクローンが選択された。抗OX40抗体の組換え生産のため、抗体の重鎖配列と軽鎖配列をコードするcDNAがクローンされ、共トランスフェクションにより発現され、そして、IHCによりOX40への結合について、スクリーニングされた。抗OX40モノクローナル抗体SP197は、これらの方法により生産され、次いでプロテインAアフィニティークロマトグラフィーにより精製された。SP197抗体の重鎖及び軽鎖可変領域の配列は、以下の通りである。

20

30

【0136】

重鎖可変領域のアミノ酸配列は以下の通りである（HV R配列に下線）：

QSLEESGGRVLVAPGGSLTLTCTVSGIDLSSDNIQWVRQAPGKGLEWIGAVDYNKPFYANWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCAKNTFSPWGPGLVTVSS（配列番号16）

【0137】

軽鎖可変領域のアミノ酸配列は以下の通りである（HV R配列に下線）：

DPAMTQTPTSSTSAAVGGTVTINCQSSQSVYANHL~~SWFQQKPGQPPKRLIYYI~~STPDSGVPPRFSGSGSGTQFTLISGVQCDDAATYYCAALNSDEVFTFGGGTEVVK（配列番号17）

40

【0138】

実施例2. 抗OX40抗体の診断用途

コントロール細胞及びFFPE組織における、ウサギ抗ヒトOX-40モノクローナル抗体（SP197）の特異的な免疫組織化学（IHC）染色が、示されている。IHCは、StdCC1細胞をultraViewユニバーサルDAB検出キット（Ventana Medical Systems社、ツーソン、アリゾナ州）で調整して用いることで、実施された。一次抗体は、Benchmark ULTRA自動スライド染色機（Ventana Medical Systems社、ツーソン、アリゾナ州）において、16分、37°Cでインキュベートされた。結果は図に示されている。（A）モック細胞（ネガティブコントロール細胞）；（B）OX-40をトランスフェクトされた細胞（ポジティブコントロール細胞）；（C）反応性リンパ節；及び（D）前立腺がん。強い膜の染

50

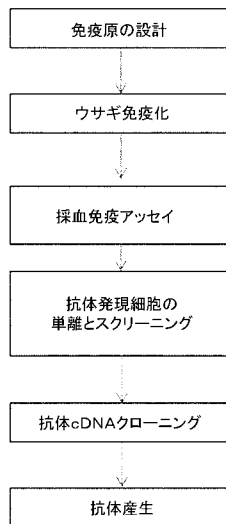
色が、ポジティブコントロール細胞（B）、並びに反応性リンパ節及び前立腺がんにおいて活性化されたT細胞で見られた。

【0139】

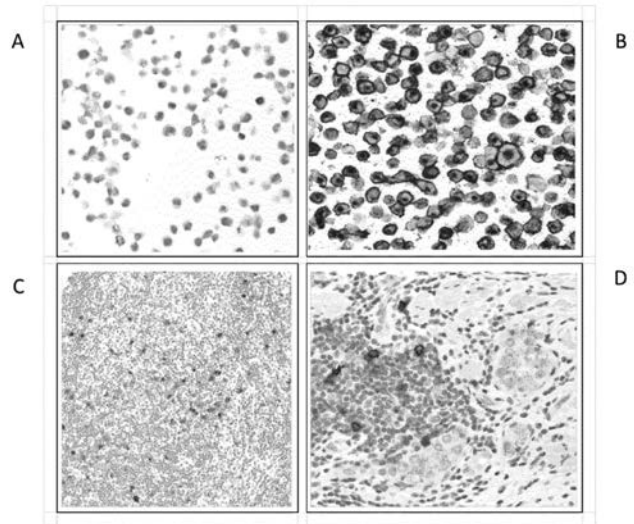
その他の実施態様

前述の発明は、理解を明確にする目的のために、図及び例を通してある程度詳細に説明されているが、これらの説明及び例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書に引用される全ての特許及び科学文献の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に援用される。

【図1】



【図2】



【配列表】

2018535649000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/072236

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	
INV. C07K16/28 A61K39/00 ADD.	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC	
B. FIELDS SEARCHED	
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, Sequence Search	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
	Relevant to claim No.
X	TRYGG RAMSTAD ET AL: "Immunohistochemical analysis of primary breast tumors and tumor-draining lymph nodes by means of the T-cell costimulatory molecule OX-40", AMERICAN JOURNAL OF SURGERY, vol. 179, no. 5, 1 May 2000 (2000-05-01), pages 400-406, XP055319576, US ISSN: 0002-9610, DOI: 10.1016/S0002-9610(00)00361-5 "Material and methods"; figures 1-3 -/--
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.
<input type="checkbox"/>	See patent family annex.
* Special categories of cited documents :	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 November 2016	01/12/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Turri, Matteo

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2016/072236

Box No. I 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/EP2016/072236

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>-& Anonymous: "Technical Data Sheet: Purified Mouse Anti-Human CD134", ³ 1 January 2006 (2006-01-01), XP055319589, Retrieved from the Internet: URL:http://www.bdbiosciences.com/ds/pm/tds/555836.pdf [retrieved on 2016-11-15] -----</p> <p>T. ILVES ET AL: "OX40 ligand and OX40 are increased in atopic dermatitis lesions but do not correlate with clinical severity", J EADV. JOURNAL OF THE EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY., vol. 27, no. 2, 1 February 2013 (2013-02-01), pages e197-e205, XP055319135, NL ISSN: 0926-9959, DOI: 10.1111/j.1468-3083.2012.04587.x "Immunohistochemical staining and analyses of skin biopsies"; figure 3 & Anonymous: "Ox40 (BER-Act35): sc-20073", ³ 1 January 2016 (2016-01-01), XP055319596, Retrieved from the Internet: URL:https://datasheets.scbt.com/sc-20073.pdf df [retrieved on 2016-11-15] -----</p>	1-38

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/48 (2006.01)	G 0 1 N 33/48	P
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y
	C 1 2 P 21/08	

(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, TJ, 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, RO, 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, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . U N I X

(72)発明者 チーミン, リャオ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 5 0, リバモア, メディナ ストリート 1 7 5

(72)発明者 ビテラ, ロバート
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 0, サンフランシスコ, トリート ストリート
9 2 4

Fターム(参考) 2G045 AA24 AA25 AA26 BA13 BB25 CB01 FB03
4B064 AG27 CA10 CE12 DA13
4B065 AA90Y AB01 BA01 CA25 CA46
4H045 AA10 AA11 BA10 DA76 EA50 FA71 GA26

专利名称(译)	抗OX40抗体及其诊断用途		
公开(公告)号	JP2018535649A	公开(公告)日	2018-12-06
申请号	JP2018514895	申请日	2016-09-20
[标]发明人	チューイーフェイ チーミンリャオ ピテラロバート		
发明人	チュー, イーフエイ チーミン, リャオ ピテラ, ロバート		
IPC分类号	C12N15/13 C07K16/28 C12N15/63 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 G01N33/53 G01N33/48 C12P21/08		
CPC分类号	C07K16/2878 A61K2039/505 C07K2317/34 C07K2317/54 C07K2317/55 C07K2317/56 C07K2317/567 C07K2317/622 C07K2317/626 G01N33/574 G01N2333/70578		
FI分类号	C12N15/13.ZNA C07K16/28 C12N15/63.Z C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 G01N33/53.D G01N33/48.P G01N33/53.Y C12P21/08		
F-TERM分类号	2G045/AA24 2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/BA13 2G045/BB25 2G045/CB01 2G045/FB03 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CE12 4B064/DA13 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/BA01 4B065/CA25 4B065/CA46 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/GA26		
优先权	62/222105 2015-09-22 US		
其他公开文献	JP2018535649A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供 (OX40) 抗体及其使用方法。该抗体对含有氨基酸266-277 的人OX40蛋白的C末端部分具有反应性。抗体可用于检测人组织样品中 OX40蛋白的表达，包括通过免疫组织化学，免疫荧光或免疫印迹的那些。 .The

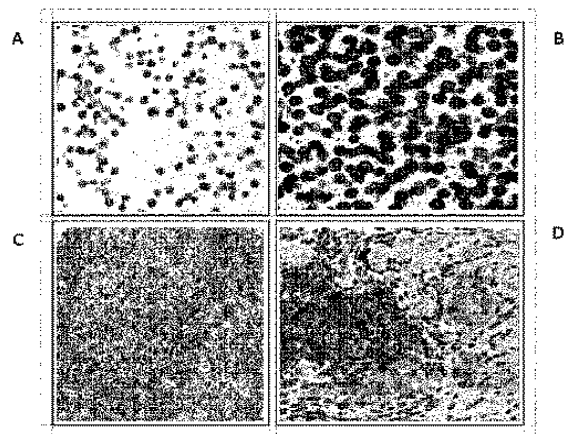


Fig. 2