

(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2018-504610

(P2018-504610A)

(43) 公表日 平成30年2月15日(2018.2.15)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 K	4 B 0 6 3
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 Z N A D	4 C 0 8 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Y	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 148 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-542821 (P2017-542821)
 (86) (22) 出願日 平成27年11月2日 (2015.11.2)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年6月27日 (2017.6.27)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/058674
 (87) 国際公開番号 WO2016/073378
 (87) 国際公開日 平成28年5月12日 (2016.5.12)
 (31) 優先権主張番号 62/074,594
 (32) 優先日 平成26年11月3日 (2014.11.3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人
 (72) 発明者 チュー, フェリックス
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
 80-4990, サウス サン フラン
 シスコ, ディーエヌエー ウェイ 1,
 シー/オー ジェネンテック, インコ
 ーポレイテッド

最終頁に続く

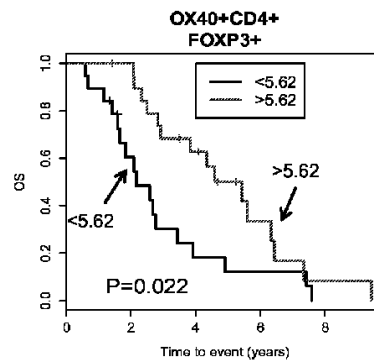
(54) 【発明の名称】 T細胞免疫サブセットを検出するためのアッセイ及びその使用の方法

(57) 【要約】

本開示は、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数を、該試料中のCD4の発現を示すリンパ球を標識し、次いで、該試料中のOX40の発現を示すリンパ球を標識し、次いで、該試料中のFoxp3の発現を示すリンパ球を標識し、次いで、該試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数を測定することにより、測定する方法を提供する。対象の予後を判定し、がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法、及び試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数に基づいて、がんを治療する、またはその進行を遅延させる方法がさらに提供される。

【選択図】 図8C

FIG. 8C



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんを有する対象の予後を判定する方法であって、

(a) 前記対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定することと、

(b) 参照と比較して、前記試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数に基づいて前記対象の前記予後を判定することと、を含み、前記試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加は、前記対象が予後の改善を有し得ることを示す、前記方法。

【請求項 2】

前記予後の改善が、全生存期間の増加を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記予後の改善が、無憎悪生存期間の増加を含む、請求項 1 または請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、

(a) 前記対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定することと、

(b) 参照と比較して、前記試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を判定することと、

(c) 前記試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数が前記参照よりも多い場合、前記対象に有効量の OX40 アゴニストを投与することと、を含み、前記方法。

【請求項 5】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、前記対象に有効量の OX40 アゴニストを投与することを含み、前記対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料は、参照と比較して、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加を有する、前記方法。

【請求項 6】

がんを有する対象の OX40 アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって

(a) 前記対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定することと、

(b) 参照と比較して、前記試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数に基づいて、前記対象を応答性である対象または非応答性である対象に分類することと、を含み、前記試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加は、前記対象が前記 OX40 アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、前記方法。

【請求項 7】

CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数が、前記対象からの前記試料の目的の異なる領域内の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の中央値、平均値、または平均数である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数が、前記試料の目的の前記領域内の全細胞に対して正規化される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記参照が、前記対象の前記がんと同じ種類及び / または病期を有するがんから得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数に基づく、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

10

20

30

40

50

前記参照が、前記対象の前記がんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた試料中のCD4+OX40+Foxp3+リンパ球の中央値、平均値、または平均数である、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記OX40アゴニストが、アゴニスト抗ヒトOX40抗体である、請求項4～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記抗体が、ヒト化抗体またはヒト抗体である、請求項11に記載の方法。

10

【請求項14】

前記抗体が、IgG1Fc領域を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項15】

前記抗体が、IgG4Fc領域を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項16】

前記抗体が、Fc受容体との結合を減少させる変異を含むFc領域を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項17】

前記抗体が、(a)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項11に記載の方法。

20

【請求項18】

前記抗体が、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号7から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項11に記載の方法。

30

【請求項19】

前記抗体が、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号26から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項20】

前記抗体が、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号27から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項11に記載の方法。

40

【請求項21】

前記抗体が、MEDI6469またはMEDI0562である、請求項11に記載の方法。

【請求項22】

前記OX40アゴニストが、OX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含む、請求項4～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

50

前記 O X 4 0 アゴニストが、M E D I 6 3 8 3 である、請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数の測定が、

(a) 前記試料中の C D 4 の発現を示すリンパ球を標識することと、

(b) ステップ (a) の後に、前記試料中の O X 4 0 の発現を示すリンパ球を標識することと、

(c) ステップ (b) の後に、前記試料中の F o x p 3 の発現を示すリンパ球を標識することと、

(d) ステップ (c) の後に、前記試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数を測定することと、を含む、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項 2 5】

対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数を測定する方法であって、

(a) 前記試料中の C D 4 の発現を示すリンパ球を標識するステップと、

(b) ステップ (a) の後に、前記試料中の O X 4 0 の発現を示すリンパ球を標識するステップと、

(c) ステップ (b) の後に、前記試料中の F o x p 3 の発現を示すリンパ球を標識するステップと、

(d) ステップ (c) の後に、前記試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数を測定するステップと、を含む、前記方法。 20

【請求項 2 6】

ステップ (a) とステップ (b) との間、及び / またはステップ (b) とステップ (c) との間に、E D T A 緩衝液またはクエン酸緩衝液を含む溶液で前記試料を処理することをさらに含む、請求項 2 4 または 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

C D 4 の発現、O X 4 0 の発現、及び F o x p 3 の発現を示すリンパ球が、免疫蛍光染色によって標識される、請求項 2 4 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

O X 4 0 の発現を示すリンパ球が、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 7、2 6、または 2 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む抗体を使用して標識される、請求項 2 7 に記載の方法。 30

【請求項 2 9】

前記試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数を定量化することが、前記免疫蛍光染色を撮像することを含む、請求項 2 7 または 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記がんが、結腸直腸がんである、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項 3 1】

前記がんが、非小細胞肺癌、腎細胞がん腫、膀胱がん、卵巣がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんからなる群から選択される、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記乳がんが、トリプルネガティブ乳がんである、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記試料が、がん細胞及びリンパ球を含み、前記がん細胞が、原発性腫瘍からのものである、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記試料が、がん細胞及びリンパ球を含み、前記がん細胞が、転移した癌腫からのものである、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記 CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球が、腫瘍浸潤性リンパ球である、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

がんを有する対象の予後を判定する方法であって、

(a) 前記対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数を測定することと、

(b) 参照と比較して、前記試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数に基づいて前記対象の前記予後を判定することと、を含み、前記試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数の増加は、前記対象が予後の改善を有し得ることを示す、前記方法。

【請求項 3 7】

前記予後の改善が、全生存期間の増加を含む、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記予後の改善が、無憎悪生存期間の増加を含む、請求項 3 6 または請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、

(a) 前記対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数を測定することと、

(b) 参照と比較して、前記試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数を判定することと、

(c) 前記試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数が前記参照よりも多い場合、前記対象に有効量の OX40 アゴニストを投与することと、を含み、前記方法。

【請求項 4 0】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、前記対象に有効量の OX40 アゴニストを投与することを含み、前記対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料は、参照と比較して、OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数の増加を有する、前記方法。

【請求項 4 1】

がんを有する対象の OX40 アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって、

(a) 前記対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数を測定することと、

(b) 参照と比較して、前記試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数に基づいて、前記対象を応答性である対象または非応答性である対象に分類することと、を含み、前記試料中の OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、または CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数の増加は、前記対象が前記 OX40 アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、前記方法。

【請求項 4 2】

10

20

30

40

50

OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数が、前記対象からの前記試料の目的の異なる領域内のOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の中央値、平均値、または平均数である、請求項36 ~ 41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項43】

OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数が、前記試料中の前記領域内の全細胞に対して正規化される、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記参照が、前記対象の前記がんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中のOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数に基づく、請求項36 ~ 43のいずれか一項に記載の方法。

【請求項45】

前記参照が、前記対象の前記がんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の中央値、平均値、または平均数である、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

前記OX40アゴニストが、アゴニスト抗ヒトOX40抗体である、請求項39 ~ 41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項47】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項46に記載の方法。

【請求項48】

前記抗体が、ヒト化抗体またはヒト抗体である、請求項46に記載の方法。

【請求項49】

前記抗体が、IgG1 Fc領域を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項50】

前記抗体が、IgG4 Fc領域を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項51】

前記抗体が、Fc受容体との結合を減少させる変異を含むFc領域を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項52】

前記抗体が、(a) 配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f) 配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項53】

前記抗体が、(a) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f) 配列番号7から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項54】

前記抗体が、(a) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号6の

10

20

30

40

50

アミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号26から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項55】

前記抗体が、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号27から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、請求項46に記載の方法。

【請求項56】

前記抗体が、MEDI6469またはMEDI0562である、請求項46に記載の方法。

10

【請求項57】

前記OX40アゴニストが、OX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含む、請求項39~41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項58】

前記OX40アゴニストが、MEDI6383である、請求項39~41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項59】

前記がんが、結腸直腸がんである、請求項36~58のいずれか一項に記載の方法。

【請求項60】

前記がんが、非小細胞肺癌、腎細胞がん腫、膀胱がん、卵巣がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんからなる群から選択される、請求項36~58のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項61】

前記乳がんが、トリプルネガティブ乳がんである、請求項60に記載の方法。

【請求項62】

前記OX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球が、腫瘍浸潤性リンパ球である、請求項36~61のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2014年11月3日出願の米国仮特許出願第62/074,594号に基づく優先権を主張する。

【0002】

ASCIITeキストファイルでの配列表の提出

ASCIITeキストファイルでの以下の提出物の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。コンピュータ可読形態(CRF)の配列表(ファイル名:146392029040SEQUENLIST.TXT、記録日:2015年10月28日、サイズ:185KB)。

40

【0003】

本開示は、T細胞免疫サブセットを検出するためのアッセイ、ならびに予後を判定し、治療に対する応答性を予測する方法、及びそれに関連する治療の方法に関する。

【背景技術】

【0004】

OX40(CD134、TNFRSF4、及びACT35としても知られる)は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーのメンバーである。OX40は、ナイーブT細胞上に構造的に発現されないが、T細胞受容体(TCR)の結合後に誘発されるOX40のリガンドであるOX40Lは、主に、抗原提示細胞上に発現される。OX40は、活性化CD

50

4 + T細胞、活性化CD8 + T細胞、メモリーT細胞、及び制御性T細胞によって高度に発現される。OX40シグナルは、CD4及びCD8T細胞に共刺激性シグナルを提供することができ、増強した細胞の増殖、生存、エフェクター機能、及び遊走をもたらす。OX40シグナルはまた、メモリーT細胞の発達及び機能も増強する。

【0005】

制御性T細胞(Treg)細胞は、黒色腫、NSCLC、腎がん、卵巣がん、結腸がん、膵臓がん、肝細胞、及び乳がんを含む複数のがん指標に由来する腫瘍内及び腫瘍流入領域リンパ節内で高度に濃縮される。これらの指標のサブセットにおいて、増加した腫瘍組織内Treg細胞密度は、患者の予後不良に関連し、これらの細胞が抗腫瘍免疫の抑制に重要な役割を担うことを示唆する。OX40陽性腫瘍浸潤性リンパ球が説明されてきた。

10

【0006】

OX40活性を調節する抗腫瘍治療からの便益をより得やすいであろう患者を特定するための診断、予後、及び予測方法の必要性が引き続き存在することは明確である。本明細書に記載される本発明は、その必要性を満たし、また他の便益を提供する。

【0007】

特許出願、特許公報、及びUniProtKB/Swiss-Prot受入番号を含め、本明細書に引用される全ての参考文献は、各個別の参考文献が参照により組み込まれることが具体的かつ個別に示されているかのように、それらの全体において参照により本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

20

【0008】

本開示は、T細胞免疫サブセットを検出するためのアッセイ、ならびにこれらのアッセイを使用して予後を判定し、応答性予測し、かつ/またはがんを治療する、若しくはその進行を遅延させる方法を記載する。

【0009】

特定の態様において、本開示は、がんを有する対象の予後を判定する方法であって、(a)対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定することと、(b)参照と比較して、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数に基づいて対象の予後を判定することとを、含み、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加は、対象が予後の改善を有し得ることを示す、方法を提供する。いくつかの実施形態では、予後の改善は、全生存期間の増加を含む。いくつかの実施形態では、予後の改善は、無憎悪生存期間の増加を含む。

30

【0010】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、(a)対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球を測定することと、(b)参照と比較して、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を判定することと、(c)試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数が参照よりも多い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、を含む、方法を提供する。

40

【0011】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料は、参照と比較して、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加を有する、方法を提供する。いくつかの実施形態では、対象は、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料が、治療の前に参照と比較してCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加を有するかどうかを判定するために試験されるか、または該対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料が、参照と比較して、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加を有することに基づいて、治療のために選択される。

50

【 0 0 1 2 】

特定の態様において、本開示は、がんを有する対象の O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって、(a) 対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数を測定することと、(b) 参照と比較して、試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数に基づいて、該対象を応答性である対象または非応答性である対象に分類することと、を含み、試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数の増加は、該対象が O X 4 0 アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、方法を提供する。

【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態では、対象の試料中の目的の 1 つ以上の領域内の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数が測定される。いくつかの実施形態では、目的の領域は、腫瘍細胞及び間質を含む。いくつかの実施形態では、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数が、対象からの試料の目的の異なる領域内の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の中央値、平均値、または平均数である。いくつかの実施形態では、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数が、試料の目的の領域内の全細胞に対して正規化される。いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数に基づく。いくつかの実施形態では、参照が、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の中央値、平均値、または平均数である。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニストは、アゴニスト抗ヒト O X 4 0 抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体またはヒト抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、I g G 1 F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、I g G 4 F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、F c 受容体との結合を減少させる変異を含む F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、a) 配列番号 2、8、または 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3、10、11、12、13、または 14 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4、15、または 19 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 7、22、23、24、25、26、27、または 28 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 26 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、M E D I 6 4 6 9 または M E D I 0 5 6 2 である。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニストは、O X 4 0 L の 1 つ以上の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニストは、M E D I 6 3 8 3 である。いくつかの実施形態では、試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の数の測定は、(a) 試料中の C D 4 の発現を示すリンパ球を標識することと、(b) ステップ (a) の後に、試料中の O X 4 0 の発現を示

すリンパ球を標識することと、(c)ステップ(b)の後に、試料中のFoxp3の発現を示すリンパ球を標識することと、(d)ステップ(c)の後に、試料中のCD4+OX40+Foxp3+リンパ球の数を測定することと、を含む。

【0014】

特定の態様において、本開示は、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中のCD4+OX40+Foxp3+リンパ球の数を測定する方法であって、(a)試料中のCD4の発現を示すリンパ球を標識するステップと、(b)ステップ(a)の後に、試料中のOX40の発現を示すリンパ球を標識するステップと、(c)ステップ(b)の後に、試料中のFoxp3の発現を示すリンパ球を標識するステップと、(d)ステップ(c)の後に、試料中のCD4+OX40+Foxp3+リンパ球の数を測定するステップと、を含む、方法を提供する。いくつかの実施形態では、試料は、ステップ(a)とステップ(b)との間、及び/またはステップ(b)とステップ(c)との間に、EDTA緩衝液またはクエン酸緩衝液を含む溶液で処理される。いくつかの実施形態では、CD4の発現、OX40の発現、及びFoxp3の発現を示すリンパ球が、免疫蛍光染色によって標識される。いくつかの実施形態では、OX40の発現を示すリンパ球は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号7、26、または27から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を使用して標識される。いくつかの実施形態では、試料中のCD4+OX40+Foxp3+リンパ球の数を定量化することが、免疫蛍光染色を撮像することを含む。

10

20

【0015】

いくつかの実施形態では、がんは、結腸直腸がんである。いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺癌、腎細胞がん腫、膀胱がん、卵巣がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである。いくつかの実施形態では、試料が、がん細胞及びリンパ球を含み、がん細胞が、原発性腫瘍からのものである。いくつかの実施形態では、試料が、がん細胞及びリンパ球を含み、がん細胞が、転移した癌腫からのものである。いくつかの実施形態では、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球は、腫瘍浸潤性リンパ球である。

30

【0016】

特定の態様において、本開示は、がんを有する対象の予後を判定する方法であって、(a)対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数を測定することと、(b)参照と比較して、試料中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数に基づいて、対象の予後を判定することと、を含み、試料中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数の増加は、対象が予後の改善を有し得ることを示す、方法を提供する。いくつかの実施形態では、予後の改善は、全生存期間の増加を含む。いくつかの実施形態では、予後の改善は、無憎悪生存期間の増加を含む。

40

【0017】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、(a)対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数を測定することと、(b)参照と比較して、試料中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数を判定することと、(c)試料中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+

50

F o x p 3 - リンパ球の数が参照よりも多い場合、対象に有効量の O X 4 0 アゴニストを投与することと、を含む、方法を提供する。

【 0 0 1 8 】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、対象に有効量の O X 4 0 アゴニストを投与することを含み、対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料は、参照と比較して、O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数の増加を有する、方法を提供する。

【 0 0 1 9 】

特定の態様において、本開示は、がんを有する対象の O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって、(a) 対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中の O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数を測定することと、(b) 参照と比較して、試料中の O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数に基づいて、該対象を応答性である対象または非応答性である対象に分類することと、を含み、試料中の O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数の増加は、該対象が O X 4 0 アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、方法を提供する。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態では、対象の試料中の目的の 1 つ以上の領域内の O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数が測定される。いくつかの実施形態では、目的の領域は、転移性がん細胞及び間質を含む。いくつかの実施形態では、O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数が、対象からの試料中の目的の異なる領域内の O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の中央値、平均値、または平均数である。いくつかの実施形態では、O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数が、試料中の目的の領域内の全細胞に対して正規化される。いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び / または病期を有するがんから得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中の O X 4 0 + リンパ球、C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球、または C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 - リンパ球の数に基づく。いくつかの実施形態では、参照が、対象のがんと同じ種類及び / または病期を有するがんから得られた試料中の C D 4 + O X 4 0 + F o x p 3 + リンパ球の中央値、平均値、または平均数である。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニストは、アゴニスト抗ヒト O X 4 0 抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体またはヒト抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、I g G 1 F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、I g G 4 F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、F c 受容体との結合を減少させる変異を含む F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 2、8、または 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3、10、11、12、13、または 14 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4、15、または 19 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 7、22、23、24、25、26、27、または 28 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L

10

20

30

40

50

2と、(f)配列番号7から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号26から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号27から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、MED I 6 4 6 9またはMED I 0 5 6 2である。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、OX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、MED I 6 3 8 3である。いくつかの実施形態では、がんは、結腸直腸がんである。いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺癌、腎細胞がん腫、膀胱がん、卵巣がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである。いくつかの実施形態では、OX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球は、腫瘍浸潤性リンパ球である。

10

20

【0021】

上記及び本明細書に記載される様々な実施形態の特性のうちの1つ、一部、または全てを組み合わせ、本発明の他の実施形態を形成してもよいことを理解されたい。本発明のこれら及び他の態様は、当業者には明らかとなるであろう。本発明のこれら及び他の実施形態は、以下に続く「発明を実施するための形態」によってさらに説明される。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1A】第I病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。例示的なTreg及びTeff細胞を標識する。

【図1B】第I病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。例示的なTreg及びTeff細胞を標識する。

【図1C】第I病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。例示的なTreg及びTeff細胞を標識する。

【図2A】第II病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。

【図2B】第II病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。

【図2C】第II病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。

【図3A】第III病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。

【図3B】第III病期結腸直腸がんの試料におけるCD4(緑)、OX40(白)、及びFoxp3(赤)の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI(青)を使用して、細胞核を対比染色する。

30

40

50

【図3C】第III病期結腸直腸がんの試料におけるCD4（緑）、OX40（白）、及びFoxp3（赤）の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI（青）を使用して、細胞核を対比染色する。

【図4A】第IV病期結腸直腸がんの試料におけるCD4（緑）、OX40（白）、及びFoxp3（赤）の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI（青）を使用して、細胞核を対比染色する。

【図4B】第IV病期結腸直腸がんの試料におけるCD4（緑）、OX40（白）、及びFoxp3（赤）の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI（青）を使用して、細胞核を対比染色する。

【図4C】第IV病期結腸直腸がんの試料におけるCD4（緑）、OX40（白）、及びFoxp3（赤）の発現に対する三重免疫蛍光染色の代表的な画像を示す。DAPI（青）を使用して、細胞核を対比染色する。

【図5A】特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数と、診断時のがんの病期との間の相関を示す。特定のマーカーの発現に対して陽性である細胞の平均数は、以下に提示する。CD4+（図5A）、Foxp3+（図5B）、及びOX40+（図5C）。

【図5B】特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数と、診断時のがんの病期との間の相関を示す。特定のマーカーの発現に対して陽性である細胞の平均数は、以下に提示する。CD4+（図5A）、Foxp3+（図5B）、及びOX40+（図5C）。

【図5C】特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数と、診断時のがんの病期との間の相関を示す。特定のマーカーの発現に対して陽性である細胞の平均数は、以下に提示する。CD4+（図5A）、Foxp3+（図5B）、及びOX40+（図5C）。

【図6A】特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数と、診断時のがんの病期との間の相関を示す。特定のマーカーに対して陽性である細胞の平均数は、以下に提示する。OX40+ CD4+（図6A）、OX40+ CD4-（図6B）、OX40+ CD4+ Foxp3+（図6C）、及びOX40+ CD4+ Foxp3-（図6D）。

【図6B】特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数と、診断時のがんの病期との間の相関を示す。特定のマーカーに対して陽性である細胞の平均数は、以下に提示する。OX40+ CD4+（図6A）、OX40+ CD4-（図6B）、OX40+ CD4+ Foxp3+（図6C）、及びOX40+ CD4+ Foxp3-（図6D）。

【図6C】特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数と、診断時のがんの病期との間の相関を示す。特定のマーカーに対して陽性である細胞の平均数は、以下に提示する。OX40+ CD4+（図6A）、OX40+ CD4-（図6B）、OX40+ CD4+ Foxp3+（図6C）、及びOX40+ CD4+ Foxp3-（図6D）。

【図6D】特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数と、診断時のがんの病期との間の相関を示す。特定のマーカーに対して陽性である細胞の平均数は、以下に提示する。OX40+ CD4+（図6A）、OX40+ CD4-（図6B）、OX40+ CD4+ Foxp3+（図6C）、及びOX40+ CD4+ Foxp3-（図6D）。

【図7A】全生存期間と、特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数との相関を示す。全生存期間は、試料が以下の細胞型の（標識された）中央値数よりも大きいかまたはそれよりも小さいものを含有した患者に関して示される。CD4+（図7A）、Foxp3+（図7B）、及びOX40+（図7C）。試料が中央値を越える細胞数を示した患者の全生存期間と、試料が中央値を下回る細胞数を示した患者の全生存期間との間の差異を反映したP値が、各細胞型に関して示される。

10

20

30

40

50

【図7B】全生存期間と、特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数との相関を示す。全生存期間は、試料が以下の細胞型の（標識された）中央値数よりも大きいかまたはそれよりも小さいものを含有した患者に関して示される。CD4+（図7A）、Foxp3+（図7B）、及びOX40+（図7C）。試料が中央値を越える細胞数を示した患者の全生存期間と、試料が中央値を下回る細胞数を示した患者の全生存期間との間の差異を反映したP値が、各細胞型に関して示される。

【図7C】全生存期間と、特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数との相関を示す。全生存期間は、試料が以下の細胞型の（標識された）中央値数よりも大きいかまたはそれよりも小さいものを含有した患者に関して示される。CD4+（図7A）、Foxp3+（図7B）、及びOX40+（図7C）。試料が中央値を越える細胞数を示した患者の全生存期間と、試料が中央値を下回る細胞数を示した患者の全生存期間との間の差異を反映したP値が、各細胞型に関して示される。

【図8】全生存期間と、特定のマーカー（複数可）の発現を示す試料中の細胞の数との相関を示す。全生存期間は、試料が以下の細胞型の（標識された）中央値数よりも大きいかまたはそれよりも小さいものを含有した患者に関して示される。OX40+ CD4+（図8A）、OX40+ CD4-（図8B）、OX40+ CD4+ Foxp3+（図8C）、及びOX40+ CD4+ Foxp3-（図8D）。試料が中央値を越える細胞数を示した患者の全生存期間と、試料が中央値を下回る細胞数を示した患者の全生存期間との間の差異を反映したP値が、各細胞型に関して示される。

【図9】原発性試料と転移性試料とのペア（n=19）における、特定のマーカー（複数可）の発現を示す細胞の数間の相関を示す。細胞の総数に対して正規化される特定のマーカーの発現に対して陽性である細胞の平均数を、以下に示す。CD4+（図9A）、Foxp3+（図9B）、及びOX40+（図9C）。組織型を、以下のようにラベル付けする。脳（BN）、骨（BO-Rib）、リンパ節（LN）、肺（LU）、肝臓（LV）、大網（OM）、卵巣（OV）、及び軟組織/後腹膜（SOT-Ret）。

【図10】原発性試料と転移性試料とのペア（n=19）における、特定のマーカー（複数可）の発現を示す細胞の数間の相関を示す。細胞の総数に対して正規化される特定のマーカーの発現に対して陽性である細胞の平均数を、以下に示す。OX40+ CD4+（図10A）、OX40+ CD4-（図10B）、OX40+ CD4+ Foxp3+（図10C）、及びOX40+ CD4+ Foxp3-（図10D）が含まれる。組織型を、以下のようにラベル付けする。脳（BN）、骨（BO-Rib）、リンパ節（LN）、肺（LU）、肝臓（LV）、大網（OM）、卵巣（OV）、及び軟組織/後腹膜（SOT-Ret）。

【図11A】年齢、性別、及び病期に関して調整した（n=32/39）CD4の発現（図11A）、OX40の発現（図11B）、Foxp3の発現（図11C）の多変量Coxモデル解析の結果、ならびにOX40+ Tef f細胞対OX40+ Treg細胞（OX40 Tef f/Treg）の比率（図11D）を提供する。

【図11B】年齢、性別、及び病期に関して調整した（n=32/39）CD4の発現（図11A）、OX40の発現（図11B）、Foxp3の発現（図11C）の多変量Coxモデル解析の結果、ならびにOX40+ Tef f細胞対OX40+ Treg細胞（OX40 Tef f/Treg）の比率（図11D）を提供する。

【図11C】年齢、性別、及び病期に関して調整した（n=32/39）CD4の発現（図11A）、OX40の発現（図11B）、Foxp3の発現（図11C）の多変量Coxモデル解析の結果、ならびにOX40+ Tef f細胞対OX40+ Treg細胞（OX40 Tef f/Treg）の比率（図11D）を提供する。

【図11D】年齢、性別、及び病期に関して調整した（n=32/39）CD4の発現（図11A）、OX40の発現（図11B）、Foxp3の発現（図11C）の多変量Coxモデル解析の結果、ならびにOX40+ Tef f細胞対OX40+ Treg細胞（OX40 Tef f/Treg）の比率（図11D）を提供する。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

【0023】

I. 一般的技法

本明細書において記載されるか、または参照される技法及び手順は、当業者によって一般に十分に理解され、従来の方法論、例えば、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)), the series *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.): PCR2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, and *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1987)), *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, ed., 1984), *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press, *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney), ed., 1987), *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press, *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons, *Handbook of Experimental Immunology* (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987), *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., eds., 1994), *Current Protocols in Immunology* (J.E. Coligan et al., eds., 1991), *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999), *Immunobiology* (C.A. Janeway and P. Travers, 1997), *Antibodies* (P. Finch, 1997), *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989), *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000), *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999), *The Antibodies* (M. Zanetti and J.D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995), 及び *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993) に記載される、広く利用されている方法論等を使用して、一般的に用いられる。

【0024】

II. 定義

本発明を詳細に説明する前に、本発明は特定の組成物または生物系に限定されず、組成

物及び生物系は当然ながら様々であり得ることを理解されたい。本明細書に使用される用語は特定の実施形態を説明することのみを目的とするものであり、限定的であるよう意図されるものではないことも理解されたい。

【0025】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、「a」、「or」、及び「the」という単数形は、文脈に別段の明確な定めがない限り、複数の参照対象を含む。

【0026】

本明細書における「約」の値またはパラメータは、その値またはパラメータ自体に関する変形形態を含む（そして説明する）。例えば、「約X」を指す説明は、「X」の説明を含む。

10

【0027】

本明細書に記載される本発明の態様及び変形形態が、態様及び変形形態「からなる（consisting）」及び/または「から本質的になる（consisting essentially of）」を含むことは理解される。

【0028】

免疫機能障害の文脈における「機能障害」という用語は、抗原刺激に対する免疫応答性が低減した状態を指す。

【0029】

本明細書で使用される場合、「機能障害性」という用語には、抗原認識に対する不応性または無応答性、具体的には、抗原認識を、増殖、サイトカイン産生（例えば、ガンマイインターフェロン）、及び/または標的細胞殺滅等の下流T細胞エフェクター機能に翻訳する能力の障害も含まれる。

20

【0030】

「T細胞機能を増強すること」とは、エフェクターT細胞またはメモリーT細胞が、再生、持続または増幅した生物学的機能を有することを誘発するか、その原因となるか、またはそれを刺激することを意味する。T細胞機能を増強することの例としては、介入前のレベルと比べて、CD8⁺エフェクターT細胞からの - インターフェロンの増加した分泌、CD4⁺メモリー及び/またはエフェクターT細胞からの - インターフェロンの増加した分泌、CD4⁺エフェクター及び/またはメモリーT細胞の増加した増殖、CD8⁺エフェクターT細胞の増加した増殖、増加した抗原応答性（例えば、クリアランス）が挙げられる。一実施形態では、増強のレベルは、少なくとも50%、代替的には60%、70%、80%、90%、100%、120%、150%、200%である。この増強を測定する様式は、当業者に既知である。

30

【0031】

「腫瘍免疫」は、腫瘍が免疫認識及びクリアランスを回避するプロセスを指す。したがって、治療的概念としては、腫瘍免疫は、かかる回避が軽減され、腫瘍が免疫系により認識され攻撃されるときに「治療される」。腫瘍認識の例としては、腫瘍結合、腫瘍収縮、及び腫瘍クリアランスが挙げられる。

【0032】

「免疫原性」は、免疫応答を引き起こす特定の物質の能力を指す。腫瘍は免疫原性であり、腫瘍免疫原性の増強は、免疫応答による腫瘍細胞のクリアランスを助ける。

40

【0033】

本明細書の目的における「アクセプターヒトフレームワーク」は、以下に定義される、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン（VL）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（VH）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、またはそれは、アミノ酸配列変化を含有し得る。いくつかの実施形態では、アミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6

50

以下、5以下、4以下、3以下、または2以下である。いくつかの実施形態では、V Lアクセプターヒトフレームワークの配列は、V Lヒト免役グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

【0034】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、非共有性相互作用の総計の強度を指す。別途指定されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体及び抗原）のメンバー間の1:1の相互作用を反映する、本来の結合親和性を指す。分子Xの、そのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数（ K_d ）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例証的及び例示的な実施形態が、以下に説明される。

10

【0035】

本明細書で使用される場合、「アゴニスト抗体」は、それが結合する抗原の生物活性を活性化させる抗体である。

【0036】

「抗血管新生剤」は、血管の発達を遮断する、またはそれにある程度干渉する化合物を指す。抗血管新生剤は、例えば、血管新生の促進に關与する成長因子または成長因子受容体と結合する小分子または抗体であってもよい。一実施形態では、抗血管新生剤は、ペバシズマブ（AVASTIN）等の、血管内皮成長因子（VEGF）に結合する抗体である。

20

【0037】

「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」または「ADCC」は、特定の細胞傷害性細胞（例えば、NK細胞、好中球、及びマクローファージ）上に存在するFc受容体（FcRs）上に結合する分泌された免役グロブリンが、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原保有標的細胞に特異的に結合することを可能にし、続いて、細胞毒を用いて標的細胞を死滅させる細胞傷害の一形態を指す。ADCCを媒介するための主要な細胞であるNK細胞はFcRIIのみを発現するが、一方で単球はFcRI、FcRII、及びFcRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9: 457-92 (1991)の464頁の表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するために、米国特許第5,500,362号、または同第5,821,337号、または米国特許第6,737,056号（Presta）に記載されるもの等のインビトロADCCアッセイを行ってもよい。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、PBMC細胞及びNK細胞が含まれる。代替的に、または追加的に、目的の分子のADCC活性は、インビボで、例えば、ClynesらPNAS (USA) 95: 652-656 (1998)に開示されるもの等の動物モデルにおいて、評価されてもよい。ADCC活性を評価するための例示的なアッセイが、本明細書の実施例に提供される。

30

【0038】

「抗OX40抗体」及び「OX40に結合する抗体」という用語は、抗体が診断剤及び/または治療剤としてOX40を標的とすることに有用となるような十分な親和性でOX40と結合することができる抗体を指す。一実施形態では、無関係の非OX40タンパク質への抗OX40抗体の結合の程度は、例えば、放射免疫測定法（RIA）によって測定した場合に、この抗体のOX40への結合の約10%未満である。ある特定の実施形態では、OX40と結合する抗体は、 $1\mu\text{M}$ 、 100nM 、 10nM 、 1nM 、 0.1nM 、 0.01nM 、または 0.001nM （例えば 10^{-8}M 以下、例えば $10^{-8}\text{M} \sim 10^{-13}\text{M}$ 、例えば $10^{-9}\text{M} \sim 10^{-13}\text{M}$ ）の解離定数（ K_d ）を有する。ある特定の実施形態では、抗OX40抗体は、異なる種に由来するOX40間で保存されているOX40のエピトープに結合する。

40

【0039】

50

本明細書で使用される場合、「結合する」、「～に特異的に結合する」、または「～に対して特異的な」という用語は、標的と抗体との間の結合等の測定可能及び再生可能な相互作用を指し、それは、生体分子を含む分子の不均一な集団の存在下で標的の存在を確定させる。例えば、標的（これはエピトープであり得る）に結合する、または特異的に結合する抗体は、他の標的に結合するよりも高い親和性、結合力で、より容易に、及び/またはより長い持続時間でこの標的に結合する、抗体である。一実施形態では、抗体が無関係の標的に結合する程度は、例えば、放射免疫測定法（RIA）によって測定した場合、標的に対する抗体の結合の約10%未満である。ある特定の実施形態では、標的に特異的に結合する抗体は、1 μ M、100 nM、10 nM、1 nM、または0.1 nMの解離定数（Kd）を有する。ある特定の実施形態では、抗体は、異なる種に由来するタンパク質間で保存されるタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。別の実施形態では、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、それを必要とはしない。

10

【0040】

本明細書における「抗体」という用語は、最も広範な意味で使用され、様々な抗体構造を包含し、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）、及び抗体断片を、それらが所望の抗原結合活性を示す限り含むが、これらに限定されない。

【0041】

「抗体断片」は、インタクト抗体が結合する抗原に結合する、インタクト抗体の一部を含むインタクト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、線状抗体、単鎖抗体分子（例えばscFv）、及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0042】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて、参照抗体がその抗原に結合するのを50%以上遮断する抗体、及び逆に、競合アッセイにおいて、抗体がその抗原に結合するのを50%以上遮断する参照抗体を指す。例示的な競合アッセイが本明細書に提供される。

【0043】

「結合ドメイン」という用語は、別の分子に結合するポリペプチドの領域を指す。FcRの場合において、結合ドメインは、Fc領域の結合を担う、そのポリペプチド鎖の一部（例えば、そのアルファ鎖）を含んでもよい。1つの有用な結合ドメインは、FcRアルファ鎖の細胞外ドメインである。

30

【0044】

「改変された」FcR、ADCC、または食作用活性を有する変異型IgG Fcを含むポリペプチドは、親ポリペプチド若しくは天然型配列Fc領域を含むポリペプチドと比較して、増強したまたは減少したFcR結合活性（例えば、FcR）、及び/若しくはADCC活性、及び/若しくは食作用活性を有するものである。

【0045】

本明細書で使用される場合、「OX40」という用語は、別途指定されない限り、霊長類（例えば、ヒト）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源に由来する任意の天然型OX40を指す。この用語は、「完全長」未処理のOX40、ならびに細胞内の処理から生じるOX40の任意の形態を包含する。この用語は、OX40の天然に存在する変異型、例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型も包含する。例示のヒトOX40のアミノ酸配列は、配列番号1に示される。

40

【0046】

「OX40活性化」は、OX40受容体の活性化を指す。一般に、OX40活性化は、シグナル伝達をもたらす。

【0047】

「がん」及び「がん性」という用語は、典型的には制御されない細胞成長を特徴とする

50

、哺乳動物における生理学的状態を指すか、または説明する。がんの例としては、がん腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病またはリンパ系の悪性病変が挙げられるが、これらに限定されない。そのようながんのより具体的な例としては、扁平上皮細胞がん（例えば、上皮系扁平上皮細胞がん）、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺の腺がん、及び肺の扁平上皮がんを含む肺がん、腹膜のがん、肝細胞がん、消化管がん、及び消化管間質がんを含む胃がん（gastric cancer）または胃がん（stomach cancer）、膵臓がん、膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、泌尿器系のがん、肝臓がん、乳がん、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がんまたは子宮がん、唾液腺がん、腎臓がん（kidney cancer）または腎臓がん（renal cancer）、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん、肛門がん、陰茎がん、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端黒子型黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞性白血病、慢性骨髄芽球性白血病、移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、ならびに、母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの等）、メイグス症候群、脳に関連する異常血管増殖、ならびに頭頸部がん、及び関連する転移が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本発明の抗体による治療を受けることのできるがんには、乳がん、結腸直腸がん、直腸がん、非小細胞肺がん、膠芽腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、腎細胞がん、前立腺がん、肝臓がん、膵臓がん、軟部組織肉腫、カボジ肉腫、カルチノイドがん腫、頭頸部がん、卵巣がん、中皮腫、及び多発性骨髄腫が含まれる。いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん（例えば、トリプルネガティブ乳がん）、胃がん、結腸直腸がん（CRC）、及び肝細胞がんから選択される。さらに、いくつかの実施形態では、がんは、それらの転移形態を含む、非小細胞肺がん、結腸直腸がん、膠芽腫、及び乳がん（例えば、トリプルネガティブ乳がん）から選択される。

【0048】

「腫瘍」という用語は、悪性か良性かを問わず、全ての腫瘍性細胞の成長及び増殖、ならびに全ての前がん性及びがん性細胞ならびに組織を指す。本明細書において称される場合、「がん」、「がん性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、及び「腫瘍」という用語は、相互排他的ではない。

【0049】

「細胞増殖性障害」及び「増殖性障害」という用語は、ある程度の異常な細胞増殖に関連する障害を指す。一実施形態では、細胞増殖性障害は、がんである。

【0050】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び/または軽鎖の一部が特定の源または種に由来し、重鎖及び/または軽鎖の残りの部分が異なる源または種に由来する抗体を指す。

【0051】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメインまたは定常領域の型を指す。抗体には、5つの主要なクラス、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMが存在し、これらのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁、及びIgA₂にさらに分割され得る。免役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、 γ 、 δ 、 ϵ 、 μ 、及び μ と呼ばれる。

【0052】

「補体依存性細胞傷害」または「CDC」は、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。古典的補体経路の活性化は、補体系（C1q）の第1の構成要素の、それらのコグネイト抗原に結合された（適切なサブクラスの）抗体への結合によって起こされる。補体活性化を評価するために、例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996)に記載されるもの等のCDCアッセイを行ってもよい。改変されたFc領域アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異型（変異型Fc領域を有するポリペプチド）、及び増加したまたは減少したC1q結合能

力が、例えば、米国特許第 6, 194, 551 B 1 号及び WO 1999 / 51642 に記載されており、また例えば、Idusogie et al. J. Immunol. 164 : 4178 - 4184 (2000) も参照されたい。

【0053】

「細胞増殖抑制剤」という用語は、インビトロまたはインビボのいずれかにおける細胞の成長を停止する化合物または組成物を指す。したがって、細胞増殖抑制剤は、S 期における細胞の割合を著しく低減するものであってもよい。細胞増殖抑制剤のさらなる例には、G0 / G1 停止または M 期停止を誘発することで細胞周期進行を遮断する薬剤が含まれる。ヒト化抗 Her2 抗体トラスツズマブ (HERCEPTIN (登録商標)) は、G0 / G1 停止を誘発する細胞増殖抑制剤の例である。古典的 M 期遮断剤としては、ビンカ (10
ピンクリスチン及びピンブラスチン)、タキサン、及びトポイソメラーゼ II 阻害剤、例えば、ドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンが挙げられる。G1 を停止する特定の薬剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5 - フルオロウラシル、及び ara - C 等の DNA アルキル化剤はまた、S 期停止へと波及する。さらなる情報は、Mendelsohn and Israel, eds., The Molecular Basis of Cancer の「Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs」と題される Murakami らによる第一章 (W. B. Saunders, Philadelphia, 1995)、例えば、13 頁において見出され得る。タキサン (パクリタキセル及びドセタキセル) は、いずれもイチイの木に由来する抗がん薬である。ヨーロッパイ
チイに由来するドセタキセル (TAXOTERE (登録商標)、Rhone - Poulenc Rorer) は、パクリタキセル (TAXOL (登録商標)、Bristol - Myers Squibb) の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体からの微小管のアセンブリを促進し、脱重合を防止することによって
20
微小管を安定させ、細胞内の有糸分裂の阻害をもたらす。

【0054】

本明細書で使用される場合、「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害若しくは防止する、かつ/または細胞死若しくは破壊を引き起こす、物質を指す。細胞傷害性薬剤としては、放射性同位体 (例えば、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²、及び Lu の放射性同位体) ; 化学療法剤または化学療法薬 (例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド (ピンクリスチン、ピンブラスチン、エトポシド)、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシン C、クロラムブシル、ダウノルビシン、または他のインターカレート剤) ; 成長阻害剤; 核酸分解酵素等の酵素及びそれらの断片; 抗生物質; 細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素 (それらの断片及び/または変異型を含む) 等の毒素; ならびに以下に開示される様々な抗腫瘍または抗がん薬剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0055】

「枯渇性抗 OX40 抗体」は、OX40 発現細胞を死滅させるまたは枯渇させる抗 OX40 抗体である。OX40 発現細胞の枯渇は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害及び/または食作用等の様々な機構により達成することができる。OX40 発現細胞の枯渇は、インビトロでアッセイされ得、インビトロ ADC C 及び食作用アッセイの例示的な方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、OX40 発現細胞は、ヒト CD4 + エフェクター T 細胞である。いくつかの実施形態では、OX40 発現細胞は、ヒト OX40 を発現するトランスジェニック BT474 細胞である。

【0056】

「エフェクター機能」は、抗体アイソタイプにより異なる抗体の Fc 領域に起因し得る生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q 結合及び補体依存性細胞傷害 (CDC)、Fc 受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (ADCC)、食作用、

10

20

30

40

50

細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方制御、ならびにB細胞活性化が挙げられる。

【0057】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」は、所望の治療的または予防的結果を達成するために、必要な期間に亘って投与する投薬量の有効な量を指す。

【0058】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を説明する。いくつかの実施形態では、FcRは、天然ヒトFcRである。いくつかの実施形態では、FcRは、IgG抗体（ガンマ受容体）を結合し、FcRI、FcRII、及びFcRIIIサブクラスを受容体を含むものであり、これには、これらの受容体の対立遺伝子変異型及び代替的にスプライス形態も含まれる。FcRII受容体には、FcRIIA（「活性化受容体」）及びFcRIIB（「阻害性受容体」）が含まれ、これらは、それらの細胞質側ドメインが主に異なる、同様のアミノ酸配列を有する。活性化受容体FcRIIAは、その細胞質側ドメイン内に免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（ITAM）を含有する。阻害性受容体FcRIIBは、その細胞質側ドメイン内に免疫受容体チロシン系阻害モチーフ（ITIM）を含有する（例えば、Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)を参照）。FcRは、例えば、Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991)、Capel et al., *Immunomethods* 4:25-34 (1994)、及びde Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)において概説される。他のFcRは、将来特定されるものを含め、「FcR」という用語によって本明細書に包含される。「Fc受容体」または「FcR」という用語にはまた、胎児への母体IgGの移入を担う、新生児型受容体であるFcRn (Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976)及びKim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994))、及び免疫グロブリンのホメオスタシスの制御も含まれる。FcRnへの結合の測定方法は既知である（例えば、Ghetie and Ward, *Immunol. Today* 18(12):592-598 (1997)、Ghetie et al., *Nature Biotechnology*, 15(7):637-640 (1997)、Hinton et al., *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216 (2004)、WO2004/92219 (Hinton et al.)を参照されたい。ヒトFcRn高親和性結合ポリペプチドのインビボでのヒトFcRnへの結合及び血清中半減期は、例えば、ヒトFcRnを発現するトランスジェニックマウス若しくはトランスフェクトヒト細胞株において、または変異型Fc領域を有するポリペプチドが投与される霊長類においてアッセイすることができる。WO2000/42072 (Presta)は、向上または減少したFcRへの結合を有する抗体変異型を記載している。また例えば、Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001)を参照されたい。

【0059】

本明細書における「Fc領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含有する、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するように使用される。この用語は、天然配列Fc領域及び変異型Fc領域を含む。一実施形態では、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226から、またはPro230から、重鎖のカルボキシル末端までに及ぶ。しかしながら、Fc領域のC末端リジン(Lys447)は、存在する場合もあれば、しない場合もある。本明細書で別途指定がない限り、Fc領域または定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabata et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載される、EUインデックスとも呼ばれる、EU付番方式に従う。

10

20

30

40

50

【0060】

「機能性Fc領域」は、天然配列Fc領域の「エフェクター機能」を保有する。例示的な「エフェクター機能」としては、C1q結合、CDC、Fc受容体結合、ADCC、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体、BCR）の下方制御等が挙げられる。かかるエフェクター機能は、一般に、Fc領域が結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）に結合していることを必要とし、例えば、本明細書の定義において開示される様々なアッセイを使用して評価することができる。

【0061】

「ヒトエフェクター細胞」は、1つ以上のFcRを発現し、エフェクター機能を実行する白血球を指す。ある特定の実施形態では、細胞は、少なくともFcRIIIを発現し、ADCCエフェクター機能（複数可）を実行する。ADCCを媒介するヒト白血球の例としては、末梢血単核細胞（PBMC）、ナチュラルキラー（NK）細胞、単球、細胞傷害性T細胞、及び好中球が挙げられる。エフェクター細胞は、天然源、例えば血液から単離されてもよい。

10

【0062】

「フレームワーク」または「FR」は、超可変領域（HVR）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般に、4つのFRドメイン、FR1、FR2、FR3、及びFR4からなる。したがって、HVR及びFR配列は、一般に、VH（またはVL）において次の配列、FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4で出現する。

20

【0063】

「完全長抗体」、「インタクト抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書で、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有するか、または本明細書に定義されるFc領域を含有する重鎖を有する抗体を指すように互換的に使用される。

【0064】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は、互換的に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、これには、かかる細胞の子孫も含まれる。宿主細胞には、初代形質転換細胞、及び継代の数に関わらずそれに由来する子孫を含む、「形質転換体」及び「形質転換細胞」が含まれる。子孫の核酸含量は親細胞と完全に同一でない場合があるが、変異を含有し得る。元々形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物活性を有する変異体子孫が、本明細書に含まれる。

30

【0065】

「ヒト抗体」は、ヒト若しくはヒト細胞によって産生された、またはヒト抗体レパトリーを利用する非ヒト源に由来する、抗体のアミノ酸配列、または他のヒト抗体コード配列に対応する、アミノ酸配列を保有するものである。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具体的に除外する。

【0066】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じ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VLまたはVH配列の選択は、可変ドメイン配列の下位群からのものである。一般に、配列の下位群は、Kabateal., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3にあるような下位群である。一実施形態では、VLについて、下位群は、上記のKabateal.にあるような下位群Iである。一実施形態では、VHについて、下位群は、上記のKabateal.にあるような下位群IIIである。

40

【0067】

「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

50

を含む、キメラ抗体を指す。ある特定の実施形態では、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むことになり、そのHVR（例えば、CDR）の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、そのFRの全てまたは実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は任意で、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。抗体、例えば非ヒト抗体の、「ヒト化形態」は、ヒト化を経た抗体を指す。

【0068】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」または「HVR」という用語は、配列中で超可変（「相補性決定領域」または「CDR」）であり、かつ/または構造的に画定されたループ（「超可変ループ」）を形成し、かつ/または抗原接触残基（「抗原接触体」）を含有する、抗体可変ドメインの領域の各々を指す。一般に、抗体は、VH内に3つ（H1、H2、H3）及びVL内に3つ（L1、L2、L3）の、6つのHVRを含む。本明細書における例示的なHVRには、

(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）で発生する超可変ループ（Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)）、

(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）で発生するCDR（Kabata 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）で発生する抗原接触体（MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)）、ならびに

(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）を含む、(a)、(b)、及び/または(c)の組み合わせを含む。

【0069】

別途指定されない限り、可変ドメインにおけるHVR残基及び他の残基（例えば、FR残基）は、本明細書において上記のKabata et al.に従って付番される。

【0070】

「免疫複合体」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これに限定されない1つ以上の異種性分子（複数可）に複合される抗体である。

【0071】

「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサル等の非ヒト霊長類）、ウサギ、ならびに齧歯類（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。ある特定の実施形態では、個体または対象は、ヒトである。

【0072】

「細胞成長または増殖を促進すること」とは、細胞の成長または増殖を、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または100%増加させることを意味する。

【0073】

「単離」抗体は、その天然環境の構成成分から分離された抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、例えば、電気泳動法（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフ法（例えば、イオン交換または

10

20

30

40

50

逆相 HPLC) によって決定される、95% 超または 99% の純度まで精製される。抗体純度の評価のための方法の概説に関して、例えば Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007) を参照されたい。

【0074】

「単離」核酸は、その天然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸には、核酸分子を通常含有する細胞内に含有される核酸分子が含まれるが、その核酸分子は、染色体外に、また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。

【0075】

「抗 OX40 抗体をコードする単離核酸」は、抗体の重鎖及び軽鎖（またはそれらの断片）をコードする 1 つ以上の核酸分子を指し、これには、単一のベクターまたは別個のベクターにおけるかかる核酸分子（複数可）が含まれ、かかる核酸分子（複数可）は、宿主細胞内の 1 つ以上の位置に存在する。

10

【0076】

本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、同一であり、かつ/または同じエピトープに結合するが、例えば、自然発生突然変異を含有する、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に発生する、想定される変異型抗体は例外であり、かかる変異型は一般に少量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含む、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を対象とする。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体の集団から得られるという抗体の特徴を示しており、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるものではない。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、組み換え 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てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むが、これらに限定されない、多様な技法によって作製されてもよく、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載されている。

20

【0077】

「裸の抗体」は、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射標識に複合されていない抗体を指す。裸の抗体は、薬学的製剤中に存在してもよい。

30

【0078】

「天然抗体」は、様々な構造を有する、自然発生免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然 IgG 抗体は、ジスルフィド結合されている 2 つの同一の軽鎖及び 2 つの同一の重鎖から構成される、約 150,000 ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N 末端から C 末端まで、各重鎖は、可変重ドメイン (variable heavy domain) または重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域 (VH)、続いて 3 つの定常ドメイン (CH1、CH2、及び CH3) を有する。同様に、N 末端から C 末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメイン (variable light domain) または軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域 (VL)、続いて定常軽 (CL) ドメインを有する。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ () 及びラムダ () と呼ばれる 2 つの型うちの 1 つに割り付けられ得る。「天然配列 Fc 領域」は、天然で見出される Fc 領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列ヒト Fc 領域には、天然配列ヒト IgG1 Fc 領域 (非 A 及び A アロタイプ)、天然配列ヒト IgG2 Fc 領域、天然配列ヒト IgG3 Fc 領域、及び天然配列ヒト IgG4 Fc 領域、ならびに天然に発生するそれらの変異型が含まれる。

40

【0079】

「添付文書」という用語は、かかる治療薬の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症についての情報、及び/またはかかる治療剤製品の使用に関する警告を含有する、治療剤製品の市販パッケージに通例含まれる指示書を指すように使用される。

【0080】

50

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、いかなる保存的置換も配列同一性の部分として考慮せずに、配列同一性最大パーセントを得るために配列をアライメントし、必要な場合にはギャップを導入した後に、参照ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の割合として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアライメントは、当該技術分野における技術の範囲内の様々な方式で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegalign(DNASTAR)ソフトウェア等の、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較されている配列の完全長に亘る最大のアライメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアライメントするために適切なパラメータを判定することができる。しかしながら、本明細書の目的において、アミノ酸配列同一性%値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、Genentech, Inc.によって著され、ソースコードは、ユーザ文書と共に、Washington D.C., 20559の米国著作権局に出願され、米国著作権登録第TXU510087号として登録されている。ALIGN-2プログラムは、Genentech, Inc., South San Francisco, Californiaから公的に利用可能であるか、またはソースコードから編集されてもよい。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX V4.0Dを含むUNIXオペレーティングシステムで使用するために編集すべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され、変更されない。

【0081】

アミノ酸配列比較のためにALIGN-2が用いられる場合、所与のアミノ酸配列Bに対する、それとの、またはそれと対比した、所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性% (代替的に、所与のアミノ酸配列Bに対する、それとの、またはそれと対比したある特定のアミノ酸配列同一性%を有する、またはそれを含む、所与のアミノ酸配列Aと表現され得る)は、次のように算出され、

$$100 \times \text{分数 } X / Y$$

式中、Xは、配列アライメントプログラムALIGN-2によって、そのプログラムのA及びBのアライメントにおいて完全な一致としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Yは、B中のアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは等しくない場合、Bに対するAのアミノ酸配列同一性%は、Aに対するBのアミノ酸配列同一性%と等しくはならないことが理解されよう。特に別途定めのない限り、本明細書で使用される全てのアミノ酸配列同一性%値は、直前の段落に記載されるように、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用して得られる。

【0082】

「薬学的製剤」という用語は、調製物の中に含有される活性成分の生物活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象にとって許容できないほど有毒である追加の構成成分を何ら含有しない調製物を指す。

【0083】

「薬学的に許容される担体」は、対象にとって無毒である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体には、緩衝液、賦形剤、安定剤、または防腐剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0084】

本明細書で使用される場合、「治療」(及び「治療する」または「治療すること」等のその文法上の変形形態)は、治療されている個体の自然経過を変えることを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程に行うことができる。治療の望ましい効果には、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移の予防、疾患進行速度の低減、病状の寛解または緩和、及び緩解または予後の改善が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本発明の抗体を使用して、疾患の発達を遅延させるか、または疾患の進行を減速させる

。

【0085】

「腫瘍」という用語は、悪性か良性かを問わず、全ての腫瘍性細胞の成長及び増殖、ならびに全ての前がん性及びがん性細胞ならびに組織を指す。本明細書において称される場合、「がん」、「がん性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、及び「腫瘍」という用語は、相互排他的ではない。

【0086】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体を抗原に結合することに関する、抗体の重鎖また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、同様の構造を有し、各ドメインは、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. Kubly Immunology, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい）。抗原結合特異性を付与するためには、単一のVHまたはVLドメインで十分であり得る。さらに、抗原に結合する抗体のVHまたはVLドメインを使用して、それぞれ、相補的VLまたはVHドメインのライブラリをスクリーニングして、特定の抗原に結合する抗体を単離してもよい。例えば、Portolano et al., J. Immunol. 150: 880 - 887 (1993)、Clarkson et al., Nature 352: 624 - 628 (1991)を参照されたい。

10

【0087】

「変異型Fc領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾、好ましくは1つ以上のアミノ酸置換（複数可）の天然配列Fc領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、変異型Fc領域は、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域と比較して、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域内に少なくとも1つのアミノ酸置換、例えば約1～約10個のアミノ酸置換、及び好ましくは、約1～約5個のアミノ酸置換を有する。本明細書における変異型Fc領域は、好ましくは、天然配列Fc領域及び/または親ポリペプチドのFc領域と少なくとも約80%の相同性、最も好ましくは、それらと少なくとも約90%の相同性、より好ましくは、それらと少なくとも95%の相同性を保有する。

20

【0088】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、連結している別の核酸を増殖することが可能な核酸分子を指す。この用語には、自己複製核酸構造としてのベクター及び導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターが含まれる。ある特定のベクターは、作動的に連結された核酸の発現を導くことが可能である。かかるベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称される。

30

【0089】

「VH下位群IIIコンセンサスフレームワーク」は、Kabata et al.の可変重鎖下位群IIIにおけるアミノ酸配列から得られるコンセンサス配列を含む。一実施形態では、VH下位群IIIコンセンサスフレームワークアミノ酸配列は、以下の配列、EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS（配列番号214）-H1-WV
RQAPGKGLEWV（配列番号215）-H2-RFTISRDN SKNTLYLQ
MNSLR AEDTAVYYC（配列番号216）-H3-WGQGT LVT VSS（配列番号217）の各々の少なくとも一部または全てを含む。

40

【0090】

「VL下位群Iコンセンサスフレームワーク」は、Kabata et al.の可変軽鎖カッパ下位群Iにおけるアミノ酸配列から得られるコンセンサス配列を含む。一実施形態では、VH下位群Iコンセンサスフレームワークアミノ酸配列は、以下の配列、

【0091】

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC（配列番号218）-L1-WYQ
QKPGKAPKLLIY（配列番号219）-L2-GVPSRFSGSGSGTDF

50

T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C (配列番号 2 2 0) - L 3 - F G Q G T K V E I K
(配列番号 2 2 1) の各々の少なくとも一部または全てを含む。

【 0 0 9 2 】

本明細書で使用される場合、「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害若しくは防止する、かつ/または細胞死若しくは破壊を引き起こす、物質を指す。細胞傷害性薬剤としては、放射性同位体（例えば、A t 2 1 1、I 1 3 1、I 1 2 5、Y 9 0、R e 1 8 6、R e 1 8 8、S m 1 5 3、B i 2 1 2、P 3 2、P b 2 1 2、及びL uの放射性同位体）；化学療法剤；成長阻害剤；核酸分解酵素等の酵素及びそれらの断片；ならびに細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片及び/または変異型を含む）等の毒素が含まれるが、これらに限定されない。例示的な細胞傷害性薬剤は、抗微小管剤、白金配位錯体、アルキル化剤、抗生物質、トポイソメラーゼI阻害剤、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼI阻害剤、ホルモン及びホルモン類似体、シグナル伝達経路阻害剤、非受容体チロシンキナーゼ血管新生阻害剤、免疫療法薬、アポトーシス促進薬、LDH-A阻害剤、脂肪酸生合成阻害剤、細胞周期シグナル阻害剤、HDAC阻害剤、プロテアソーム阻害剤、及びがん代謝阻害剤から選択され得る。

10

【 0 0 9 3 】

一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、抗微小管剤、白金配位錯体、アルキル化剤、抗生物質、トポイソメラーゼI阻害剤、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼI阻害剤、ホルモン及びホルモン類似体、シグナル伝達経路阻害剤、非受容体チロシンキナーゼ血管新生阻害剤、免疫療法薬、アポトーシス促進薬、LDH-A阻害剤、脂肪酸生合成阻害剤、細胞周期シグナル阻害剤、HDAC阻害剤、プロテアソーム阻害剤、及びがん代謝阻害剤から選択される。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、タキサンである。一実施形態では、タキサンは、パクリタキセルまたはドセタキセルである。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、白金製剤である。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、EGFRのアンタゴニストである。一実施形態では、EGFRのアンタゴニストは、N-(3-エチニルフェニル)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)キナゾリン-4-アミン（例えば、エルロチニブ）である。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、RAF阻害剤である。一実施形態では、RAF阻害剤は、BRAf及び/またはCRAF阻害剤である。一実施形態では、RAF阻害剤は、ベムラフェニブである。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、PI3K阻害剤である。

20

30

【 0 0 9 4 】

「化学療法剤」には、がんの治療に有用な化学化合物が含まれる。化学療法剤の例としては、エルロチニブ(TARCEVA(登録商標)、Genentech/OSI Pharm.)、ボルテゾミブ(VELCADE(登録商標)、Millennium Pharm.)、ジスルフィラム、没食子酸エピガロカテキン、サリノスポラミドA、カーフィルゾミブ、17-AAG(ゲルダナマイシン)、ラディシコール、乳酸デヒドロゲナーゼA(LDH-A)、フルベストラント(FASLODEX(登録商標)、AstraZeneca)、スニチブ(sunitib)(SUTENT(登録商標)、Pfizer/Sugen)、レトロゾール(FEMARA(登録商標)、Novartis)、メシル酸イマチニブ(GLEEVEC(登録商標)、Novartis)、フィナスネート(finansunate)(VATALANIB(登録商標)、Novartis)、オキサリプラチン(ELOXATIN(登録商標)、Sanofi)、5-FU(5-フルオロウラシル)、ロイコボリン、ラパマイシン(Sirolimus、RAPAMUNE(登録商標)、Wyeth)、ラパチニブ(TYKERB(登録商標)、GSK572016、Glaxo Smith Kline)、ロナファミブ(Lonafamib)(SCH66336)、ソラフェニブ(NEXAVAR(登録商標)、Bayer Labs)、ゲフィチニブ(IRESSA(登録商標)、AstraZeneca)、AG1478、チオテパ及びCYTOXAN(登録商標)シクロスホスファミド(cyclosporamide)等のアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピボスルファン等のスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ(benzodopa)、カルボコン

40

50

、メツレドーパ (meturedopa)、及びウレドーパ (uredopa) 等のアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド、及びトリメチロメラミンを含むエチレンイミン (ethylenimines) 及びメチラメルアミン (methyramelamines)；アセトゲニン (特に、プラタシン及びプラタシノン)；カンプトテシン (トポテカン及びイリノテカンを含む)；プリオスタチン；カリスタチン (callystatin)；CC-1065 (そのアドゼレシン、カルゼルシン、及びビゼルシン合成類似体を含む)；クリプトフィシン (特に、クリプトフィシン1及びクリプトフィシン8)；副腎皮質ステロイド (プレドニゾン及びプレドニゾロンを含む)；酢酸シプロテロン；5-レダクターゼフィナスチド及びデュタステリドを含む)；ボリノスタット、ロミデブシン、パノビノスタット、バルプロ酸、モセチノスタットドラスタチン；アルデスロイキン、タルクデュオカルマイシン (合成類似体KW-2189及びCB1-TM1を含む)；エリュテロピン；パンクラチスタチン (pancratistatin)；サルコジクチン；スポンジスタチン (spongistatin)；クロラムブシル、クロマファジン (chlomaphazine)、クロロホスファミド (chlorophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベンピチン (novembichin)、フェネステリン (phenesterine)、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード等のナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムヌスチン (ranimnustine) 等のニトロソ尿素；エンジン抗生物質 (例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシン 1I 及びカリケアマイシン 1I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 1994 33:183-186) 等の抗生物質；ダイネミシンAを含むダイネミシン；クロドロネート等のビスホスホネート；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団及び関連する色素タンパク質エンジン抗生物質発色団)、アクラノマイシン、アクチノマイシン、オースマイシン (authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラピシン (carabycin)、カミノマイシン (caminomycin)、カルジノフィリン、クロモマイシン (chromomycinis)、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン (detorubicin)、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRIAMYCIN (登録商標) (ドキシソルピシン)、モルホリノ-ドキシソルピシン、シアノモルホリノ-ドキシソルピシン、2-ピロリノ-ドキシソルピシン及びデオキシドキシソルピシン)、エピルピシン、エソルピシン (esorubicin)、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC等のマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン (quelamycin)、ロドルピシン (rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン、メトトレキサート及び5-フルオロウラシル (5-FU) 等の代謝拮抗薬；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート等の葉酸類似体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン (thiamiprine)、チオグアニン等のプリン類似体；アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン等のピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタノール、テストラクトン等のアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン等の抗副腎剤；フロリン酸 (frolinic acid) 等の葉酸補液；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレプリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル (bestrabucil)；ピスアントレン；エダトラキサート (edatraxate)；デフォファミン (defofamine)；デメコルチン；ジアジクオン；エルフォミチン (elfomithine)；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン (lonidainine)；マイタンシン及びアン

10

20

30

40

50

サマイトシン等のマイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダムノール（mopidamnorol）；ニトラエリン（nitraerine）；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド（ethylhydrazide）；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖複合体（JHS Natural Products, Eugene, Oreg.）；ラゾキサシン；リゾキシシン；シゾフラン（sizofuran）；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特に、T-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA、及びアングエイジン）；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン（gacytosine）；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテパ（thiotepa）；タキソイド、例えば、TAXOL（パクリタキセル；Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.）、ABRAXANE（登録商標）（クレモフォア不含有）、パクリタキセルのアルブミン操作されたナノ粒子製剤（American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.）、及びTAXOTERE（登録商標）（ドセタキセル、ドキシタキセル；Sanofi-Aventis）；クロランブシル；GEMZAR（登録商標）（ゲムシタピン）；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチン等の白金類似体；ピンブラスチン；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；NAVELBINE（登録商標）（ビノレルピン）；ノバントロン；テニボシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カペシタピン（XELODA（登録商標））；イバンドロナート；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸等のレチノイド；ならびに上記のうちいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0095】

化学療法剤にはまた、(i) 例えば、タモキシフェン（NOLVADEX（登録商標）；クエン酸タモキシフェンを含む）、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、ヨードキシフェン（iodoxyfene）、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びFARESTON（登録商標）（クエン酸トレミフィン（toremifine citrate）を含む、抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体調節因子（SERM）等の腫瘍上のホルモン作用を制御または阻害するように働く抗ホルモン剤、(ii) 例えば、4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE（登録商標）（酢酸メゲストール）、AROMASIN（登録商標）（エキセメスタン；Pfizer）、フォルメスタニー（formestanie）、ファドロゾール、RIVISOR（登録商標）（ポロゾール）、FEMARA（登録商標）（レトロゾール；Novartis）、及びARIMIDEX（登録商標）（アナストロゾール；AstraZeneca）等の、副腎内でのエストロゲン産生を制御する、酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤；(iii) フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン；プセレリン、トリプテレリン（tripterelin）、酢酸メドロキシプロゲステロン、ジエチルスチルベストール、プレマリン、フルオキシメステロン、全てのトランスレチノイン酸、フェンレチニド、ならびにトロキサシタピン（1, 3-ジオキサランヌクレオシドシトシン類似体）等の抗アンドロゲン薬；(iv) タンパク質キナーゼ阻害剤；(v) 脂質キナーゼ阻害剤；(vi) 例えば、PKC-アルファ、Ralif、及びH-Ras等のアンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常細胞増殖に関するシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの；(vii) VEGF発現阻害剤（例えば、ANGIOZYME（登録商標））及びHER2発現阻害剤等のリボザイム；(viii) 遺伝子療法ワクチン等のワクチン、例えば、ALLOVECTIN（登録商標）、LEUVECTIN（登録商標）、及びVAXID（登録商標）；PROLEUKIN（登録商標）、rIL-2；LURTOTECAN（登録商標）等のトポイソメラーゼ1阻害剤；ABARELIX（登録商標

) r m R H ; ならびに (i x) 上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体も含まれる。

【 0 0 9 6 】

化学療法剤にはまた、アレムツズマブ (C a m p a t h)、ベバシズマブ (A V A S T I N (登録商標)、G e n e n t e c h)、セツキシマブ (E R B I T U X (登録商標)、I m c l o n e)、パニツムマブ (V E C T I B I X (登録商標)、A m g e n)、リツキシマブ (R I T U X A N (登録商標)、G e n e n t e c h / B i o g e n I d e c)、ペルツズマブ (O M N I T A R G (登録商標)、2 C 4、G e n e n t e c h)、トラスツズマブ (H E R C E P T I N (登録商標)、G e n e n t e c h)、トシツモマブ (B e x x a r , C o r i x i a) 等の抗体、及び抗体薬物複合体であるゲムツズマブ オゾガマイシン (M Y L O T A R G (登録商標)、W y e t h) も含まれる。本発明の化合物と組み合わせた薬剤として、治療能力を有する追加のヒトモノクローナル抗体としては、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネウズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン (c a n t u z u m a b m e r t a n s i n e)、セデリズマブ (c e d e l i z u m a b)、セルトリズマブペゴール (c e r t o l i z u m a b p e g o l)、シドフシツズマブ (c i d f u s i t u z u m a b)、シドツズマブ (c i d t u z u m a b)、ダクリズマブ (d a c l i z u m a b)、エクリズマブ、エファリズマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イビリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メボリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ (p e c f u s i t u z u m a b)、ペクツズマブ (p e c t u z u m a b)、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ (r e s l i v i z u m a b)、レスリズマブ、レシビズマブ (r e s y v i z u m a b)、ロベリズマブ (r o v e l i z u m a b)、ルブリズマブ、シブロットズマブ (s i b r o t u z u m a b)、シブリズマブ、ソントズマブ (s o n t u z u m a b)、タカツズマブ (t a c a t u z u m a b) テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブセルモロイキン (t u c o t u z u m a b c e l m o l e u k i n)、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビシリズマブ、及びインターロイキン - 1 2 p 4 0 タンパク質を認識するように遺伝子改変された組み換え排他的ヒト配列完全長 I g G 1 抗体である抗インターロイキン - 1 2 (A B T - 8 7 4 / J 6 9 5 , W y e t h R e s e a r c h a n d A b b o t t L a b o r a t o r i e s) が挙げられる。

10

20

30

【 0 0 9 7 】

化学療法剤にはまた、E G F R に結合するか、または他の方法で直接相互作用し、そのシグナル伝達活性を防止または低減する化合物を指し、代替的に「E G F R アンタゴニスト」とも称される「E G F R 阻害剤」も含まれる。かかる薬剤の例としては、E G F R に結合する抗体及び小分子が挙げられる。E G F R に結合する抗体の例としては、M A b 5 7 9 (A T C C C R L H B 8 5 0 6)、M A b 4 5 5 (A T C C C R L H B 8 5 0 7)、M A b 2 2 5 (A T C C C R L 8 5 0 8)、M A b 5 2 8 (A T C C C R L 8 5 0 9) (米国特許第 4 , 9 4 3 , 5 3 3 号、M e n d e l s o h n e t a l . を参照されたい)、ならびにそれらの変異型、例えばキメラ化 2 2 5 (C 2 2 5 またはセツキシマブ ; E R B U T I X (登録商標)) 及び再形状化されたヒト 2 2 5 (H 2 2 5) (W O 9 6 / 4 0 2 1 0、I m c l o n e S y s t e m s I n c . を参照されたい) ; 完全ヒト E G F R 標的抗体 (I m c l o n e) である I M C - 1 1 F 8 ; I I 型変異体 E G F R に結合する抗体 (米国特許第 5 , 2 1 2 , 2 9 0 号) ; 米国特許第 5 , 8 9 1 , 9 9 6 号に記載される、E G F R に結合するヒト化及びキメラ抗体 ; ならびに A B X - E G F またはパニツムマブ等の E G F R に結合するヒト抗体 (W O 9 8 / 5 0 4 3 3、A b g e n i x / A m g e n を参照されたい) ; E M D 5 5 9 0 0 (S t r a

40

50

gliotto et al. Eur. J. Cancer 32 A: 636 - 640 (1996)); EGFR 結合のために EGFR 及び TGF-アルファの両方と競合する EGFR に対して向けられたヒト化 EGFR 抗体 (EMD/Merck) である EMD7200 (マツズマブ); ヒト EGFR 抗体、HuMax-EGFR (GenMab); E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3、及び E7.6.3 として知られ、US 6,235,883 に記載される完全ヒト抗体; MDX-447 (Medarex Inc); ならびに mAb806 または ヒト化 mAb806 (Johns et al., J. Biol. Chem. 279 (29): 30375 - 30384 (2004)) が挙げられる。抗 EGFR 抗体は、細胞傷害性薬剤と複合され得、したがって免疫複合体を生成する (例えば、EP 659,439 A2、Merck Patent GmbH を参照されたい)。EGFR アンタゴニストは、米国特許第 5,616,582 号、同第 5,457,105 号、同第 5,475,001 号、同第 5,654,307 号、同第 5,679,683 号、同第 6,084,095 号、同第 6,265,410 号、同第 6,455,534 号、同第 6,521,620 号、同第 6,596,726 号、同第 6,713,484 号、同第 5,770,599 号、同第 6,140,332 号、同第 5,866,572 号、同第 6,399,602 号、同第 6,344,459 号、同第 6,602,863 号、同第 6,391,874 号、同第 6,344,455 号、同第 5,760,041 号、同第 6,002,008 号、及び同第 5,747,498 号、ならびに以下の PCT 公報、WO 98/14451、WO 98/50038、WO 99/09016、及び WO 99/24037 号に記載される化合物等の小分子を含む。特定の小分子 EGFR アンタゴニストとしては、OSI-774 (CP-358774、エルロチニブ、TARCEVA (登録商標) Genentech/OSI Pharmaceuticals); PD183805 (CI1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロボキシ]-6-キナゾリニル]-、二塩酸塩、Pfizer Inc.); ZD1839、ゲフィチニブ (IRESSA (登録商標)) 4-(3'-クロロ-4'-フルオロアニリノ)-7-メトキシ-6-(3-モルホリノプロボキシ)キナゾリン、AstraZeneca); ZM105180 ((6-アミノ-4-(3-メチルフェニル-アミノ)-キナゾリン、Zeneca); BIBX-1382 (N8-(3-クロロ-4-フルオロ-フェニル)-N2-(1-メチル-ピペリジン-4-イル)-ピリミド [5,4-d]ピリミジン-2,8-ジアミン、Boehringer Ingelheim); PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-1H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-6-イル]-フェノール); (R)-6-(4-ヒドロキシフェニル)-4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン); CL-387785 (N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミド); EKB-569 (N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテンアミド) (Wyeth); AG1478 (Pfizer); AG1571 (SU5271; Pfizer); ラパチニブ (TYKERB (登録商標)、GSK572016、または N-[3-クロロ-4-[(3-フルオロフェニル)メトキシ]フェニル]-6[[5[[[2-メチルスルホニル)エチル]アミノ]メチル]-2-フラニル]-4-キナゾリンアミン) 等の二重 EGFR/HER2 チロシンキナーゼ阻害剤が挙げられる。

【0098】

化学療法剤にはまた、前の段落に記載される EGFR 標的薬を含む「チロシンキナーゼ阻害剤」; Takeda から入手可能な TAK165 等の小分子 HER2 チロシンキナーゼ阻害剤; ErbB2 受容体 シロシンキナーゼの経口選択的阻害剤である CP-724,714 (Pfizer 及び OSI); EGFR に選好的に結合するが、HER2 及び EGFR 両方の過剰発現細胞を阻害する、EKB-569 等の二重 HER 阻害剤 (Wyeth から入手可能); 経口 HER2 及び EGFR チロシンキナーゼ阻害剤である ラパチニブ (

GSK572016; Glaxo-SmithKlineから入手可能); PKI-166 (Novartisから入手可能); カネルチニブ (CI-1033、Pharmacia) 等の pan-HER 阻害剤; Raf-1 シグナル伝達を阻害する、ISIS Pharmaceuticals から入手可能なアンチセンス剤 ISIS-5132 等の Raf-1 阻害剤; イマチニブメシラート (GLEEVEC (登録商標)、Glaxo SmithKline から入手可能) 等の非HER 標的 TK 阻害剤; スニチニブ (SUTENT (登録商標)、Pfizer から入手可能) 等の多標的チロシンキナーゼ阻害剤; バタラニブ (PTK787/ZK222584、Novartis/Schering AG から入手可能) 等の VEGF 受容体チロシンキナーゼ阻害剤; MAPK 細胞外調節キナーゼ I 阻害剤 CI-1040 (Pharmacia から入手可能); PD153035, 4 - (3-クロロアニリノ) キナゾリン等のキナゾリン; ピリドピリミジン; ピリミドピリミジン; CGP59326、CGP60261、及びCGP62706等のピロロピリミジン; ピラゾロピリミジン、4-(フェニルアミノ)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン; クルクミン (ジフェルロイルメタン、4,5-ビス(4-フルオロアニリノ)フタルイミド); ニトロチオフエン部分を含むチルホスチン; PD-0183805 (Warner-Lambert); アンチセンス分子 (例えば、HER コード核酸に結合するもの); キノキサリン (米国特許第5,804,396号); トリホスチン (米国特許第5,804,396号); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); CI-1033 (Pfizer) 等の pan-HER 阻害剤; アフィニタック (ISIS 3521、ISIS/Lilly) ; イマチニブメシラート (GLEEVEC (登録商標)); PKI 166 (Novartis); GW2016 (Glaxo SmithKline); CI-1033 (Pfizer); EKB-569 (Wyeth); セマキシニブ (Pfizer); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); INC-1C11 (Imclone)、ラパマイシン (シロリムス、RAPAMUNE (登録商標)); または以下の特許公報、米国特許第5,804,396号; WO1999/09016 (American Cyanamid); WO1998/43960 (American Cyanamid); WO1997/38983 (Warner Lambert); WO1999/06378 (Warner Lambert); WO1999/06396 (Warner Lambert); WO1996/30347 (Pfizer, Inc); WO1996/33978 (Zeneca); WO1996/3397 (Zeneca)、及びWO1996/33980 (Zeneca) のいずれかに記載されるものも含まれる。

【0099】

化学療法剤にはまた、デキサメタゾン、インターフェロン、コルヒチン、メトプリン (metoprine)、シクロスポリン、アンホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、BCG 生菌、ベバクジマブ (bevacuzimab)、ベキサロテン、クラドリピン、クロファラビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキン (denileukin)、デクスラゾキサソ、エボエチンアルファ、エロチニブ (elotininib)、フィルグラスチム、酢酸ヒストレリン、イブリツモマブ、インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2b、レナリドマイド、レバミゾール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン (nandrolone)、ネララビン、ノフェツモマブ (nofetumomab)、オブレルベキン、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマラーゼ、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセドニナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスプリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、VM-26、6-TG、トレミフェン、トレチノイン、ATRA、バルルピシン、ゾレドロン酸、及びゾレドロン酸、ならびにこれらの薬学的に許容される塩も含まれる。

【0100】

10

20

30

40

50

化学療法剤にはまた、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾン、ピバリン酸チキソコルトール、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ベタメタゾン、リン酸ベタメタゾンナトリウム、デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン - 17 - ブチレート、ヒドロコルチゾン - 17 - パレレート、ニプロピオン酸アクロメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、ニプロピオン酸ベタメタゾン、プレドニカルベート、クロベタゾン - 17 - ブチレート、クロベタゾール - 17 - プロピオネート、カブロン酸フルオコルトロン、ピバリン酸フルオコルトロン、及び酢酸フルプレドニデン；免疫選択的抗炎症性ペプチド（ImSAID）、例えばフェニルアラニン - グルタミン - グリシン（FEG）及びそのD - 異性体型（feG）（IMULAN BioTherapeutics、LLC）；抗リウマチ薬、例えばアザチオプリン、シクロスポリン（シクロスポリンA）、D - ペニシラミン、金塩、ヒドロキシクロロキン、レフルノミデミノシクリン、スルファサラジン、腫瘍壊死因子アルファ（TNF）遮断剤、例えばエタネルセプト（Enbrel）、インフリキシマブ（Remicade）、アダリムマブ（Humira）、セルトリズマブペゴール（Cimzia）、ゴリムマブ（Simpsoni）、インターロイキン1（IL - 1）遮断剤、例えばアナキンラ（Kineret）、T細胞共刺激遮断剤、例えばアバタセプト（Orencia）、インターロイキン6（IL 6）遮断剤、例えばトシリズマブ（ACTEMERA（登録商標））；レプリキズマブ等のインターロイキン13（IL - 13）遮断剤；ロントリズマブ等のインターフェロン（IFN）遮断剤；rhUMAβベータ7等のベータ7インテグリン遮断剤；抗M1プリム等のIGE経路遮断剤；抗リンパ毒アルファ（LTa）等の、分泌されたホモ三量体LTa3及び膜結合されたヘテロ二量体LTa1 / 2遮断剤；放射性同位体（例えば、At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212、及びLuの放射性同位体）；チオプラチン、PS - 341、フェニル酪酸塩、ET - 18 - OCH3、またはファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（L - 739749、L - 744832）等の種々の調査剤；ケルセチン、レスベラトロール、ピセアタンノール、没食子酸エピガロカテキン、テアフラビン、フラバノール、プロシアニジン、ベツリン酸及びその誘導体等のポリフェノール；クロロキン等のオートファジー阻害剤；デルタ - 9 - テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標））；ベータ - ラパコン；ラパコール；コルチシン；ベツリン酸；アセチルカンプトテシン、スコボレクチン、及び9 - アミノカンプトテシン）；ポドフィロトキシシン；テガフル（UFTORAL（登録商標））；ベキサロテン（TARGRETIN（登録商標））；クロドロナート（例えば、BONEFOS（登録商標）またはOSTAC（登録商標））、エチドロナート（DIDROCAL（登録商標））、NE - 58095、ゾレドロ酸 / ゾレドロネート（ZOMETA（登録商標））、アレンドロネート（FOSAMAX（登録商標））、パミドロネート（AREDIA（登録商標））、チルドロネート（SKELID（登録商標））、またはリセドロネート（ACTONEL（登録商標））等のビスホスホネート；ならびに上皮成長因子受容体（EGF - R）；THERATOPE（登録商標）ワクチン等のワクチン；ペリフォシン、COX - 2阻害剤（例えば、セレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えば、PS341）；CCI - 779；チピファルニブ（R11577）；オラフェニブ、ABT510；オプリメルセンナトリウム（GENA SENSE（登録商標））等のBcl - 2阻害剤；ピキサントロン；ロナファルニブ（SCH 6636、SARASAR（商標））等のファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤；ならびに上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体；ならびに上記のうちの2つ以上の組み合わせ、例えばCHOP（シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ビンクリスチン、及びプレドニゾロンの複合療法の省略形）；及びFOLFOX（5 - FU及びロイコボリンと複合されたオキサリプラチン（ELOXATIN（商標））を用いる治療レジメンの省略形）も含まれる。

【0101】

10

20

30

40

50

化学療法剤にはまた、鎮静効果、解熱効果、及び抗炎症効果を有する非ステロイド抗炎症薬も含まれる。NSAIDには、酵素シクロオキシゲナーゼの非選択的阻害剤が含まれる。NSAIDの具体例としては、アスピリン、プロピオン酸誘導体（例えば、イブプロフェン、フェンプロフェン、ケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン、及びナプロキセン）、酢酸誘導体（例えば、インドメタシン、スリダク、エトドラク、ジクロフェナク）、エノール酸誘導体（例えば、ピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ドロキシカム、ロルノキシカム、及びイソキシカム）、フェナム酸誘導体（例えば、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、トルフェナム酸）、ならびにCOX-2阻害剤（例えば、セレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、パレコキシブ、ロフェコキシブ、ロフェコキシブ、及びバルデコキシブ）が挙げられる。NSAIDは、関節リウマチ、変形性関節炎、炎症性関節症、強直性脊椎症、乾癬性関節炎、ライター症候群、急性痛風、月経困難症、転移性骨痛、頭痛及び偏頭痛、術後痛、炎症及び組織傷害に起因する軽度から中度の疼痛、発熱、腸閉塞、及び腎臓痛等の病態の症状緩和のために示され得る。

10

【0102】

「サイトカイン」という用語は、別の細胞上で細胞間媒介物として作用する、1つの細胞集団によって放出されるタンパク質の総称である。かかるサイトカインの例としては、リンフォカイン、モノカイン；IL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-15等のインターロイキン（IL）；TNF- またはTNF- 等の腫瘍壊死因子；ならびにLIF及びキットリガンド（KL）及びガンマインターフェロンを含む他のポリペプチド因子が挙げられる。本明細書で使用される場合、サイトカインという用語には、天然源、または組み換え細胞培養物からのタンパク質、ならびに合成によって産生された小分子物質及びその薬学的に許容される誘導体及び塩を含む、生物学的に活性のある天然配列サイトカインの等価物が含まれる。

20

【0103】

「PD-1軸結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1シグナル伝達軸におけるシグナル伝達から生じるT細胞機能障害を除去するために、PD-1軸結合パートナーとその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用を阻害し、結果として、T細胞機能を復元するか、または高める（例えば、増殖、サイトカイン産生、標的細胞殺滅）分子である。本明細書で使用される場合、PD-1軸結合アンタゴニストには、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト、及びPD-L2結合アンタゴニストが含まれる。

30

【0104】

「PD-1結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1の、PD-L1、PD-L2等のその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する分子である。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1の、PD-L1及び/またはPD-L2への結合を阻害する。例えば、PD-1結合アンタゴニストには、PD-L1及び/またはPD-L2とのPD-1の相互作用から生じるシグナル伝達を、減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する、抗PD-1抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子が含まれる。一実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、機能障害性T細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、PD-1を介してTリンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体である。具体的な態様において、PD-1結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるMDX-1106である。別の具体的な態様において、PD-1結合アンタゴ

40

50

ニストは、本明細書に記載される M e r c k 3 7 4 5 である。別の具体的な態様において、P D - 1 結合アンタゴニストは、本明細書に記載される C T - 0 1 1 である。

【 0 1 0 5 】

「 P D - L 1 結合アンタゴニスト」という用語は、P D - L 1 の、P D - 1、B 7 - 1 等のその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する分子である。いくつかの実施形態では、P D - L 1 結合アンタゴニストは、P D - L 1 の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、P D - L 1 結合アンタゴニストは、P D - L 1 の、P D - 1 及び/または B 7 - 1 への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、P D - L 1 結合アンタゴニストには、P D - L 1 と、P D - 1、B 7 - 1 等のその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を、減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、またはそれに干渉する、抗 P D - L 1 抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子が含まれる。一実施形態では、P D - L 1 結合アンタゴニストは、機能障害性 T 細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、P D - L 1 を介して T リンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態では、P D - L 1 結合アンタゴニストは、抗 P D - L 1 抗体である。具体的な態様において、抗 P D - L 1 抗体は、本明細書に記載される Y W 2 4 3 . 5 5 . S 7 0 である。別の具体的な態様において、抗 P D - L 1 抗体は、本明細書に記載される M D X - 1 1 0 5 である。さらに別の具体的な態様において、抗 P D - L 1 抗体は、本明細書に記載される M P D L 3 2 8 0 A である。

10

20

【 0 1 0 6 】

「 P D - L 2 結合アンタゴニスト」という用語は、P D - L 2 の、P D - 1 等のその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する分子である。いくつかの実施形態では、P D - L 2 結合アンタゴニストは、P D - L 2 の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、P D - L 2 結合アンタゴニストは、P D - L 2 の、P D - 1 への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、P D - L 2 結合アンタゴニストには、P D - L 2 の、P D - 1 等のその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を、減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、またはそれに干渉する、抗 P D - L 2 抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子が含まれる。一実施形態では、P D - L 2 結合アンタゴニストは、機能障害性 T 細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、P D - L 2 を介して T リンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態では、P D - L 2 結合アンタゴニストは、イムノアドヘシンである。

30

【 0 1 0 7 】

「食作用」という用語は、細胞による、細胞または粒子状物質の内部移行を意味する。いくつかの実施形態では、食細胞または貪食細胞は、マクロファージまたは好中球である。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒト O X 4 0 を発現する細胞である。食作用をアッセイする方法は、当該技術分野で既知であり、別の細胞内に内部移行した細胞の存在を検出するための顕微鏡検査の使用を含む。他の実施形態では、食作用は、F A C S を使用して、例えば、検出可能に標識された細胞の存在を別の細胞（例えば、第1の細胞とは異なる標識を用いて検出可能に標識されていてもよい）内で検出することによって検出される。

40

【 0 1 0 8 】

本明細書で使用される場合、抗体に関して「実質的な活性を保有しない」または「実質的に活性なし」という表現は、抗体が、正常レベル以上（いくつかの実施形態では、それ

50

は統計学的に有意な正常レベル以上である)の活性を示さないことを意味する。本明細書で使用される場合、抗体に関して「活性がほとんどまたは全くない」という表現は、抗体が、生物学的に有意な量の機能を示さないことを意味する。機能は、例えば本明細書に記載されるものを含む、当該技術分野で既知の任意のアッセイまたは技法に従って、測定または検出することができる。いくつかの実施形態では、抗体機能は、エフェクターT細胞増殖及び/またはサイトカイン分泌の刺激である。

【0109】

本明細書で使用される場合、「バイオマーカー」または「マーカー」という用語は、一般に、遺伝子、mRNA、タンパク質、炭水化物構造、または糖脂質を含む分子を指し、組織若しくは細胞内若しくはその上におけるこれらの発現、または分泌は、既知の方法(または本明細書に開示される方法)によって検出ことができ、予測可能であるか、または治療レジームに対する細胞、組織、若しくは患者の応答性の予測する(若しくは予測を助ける)ことに使用することができる。いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、遺伝子またはタンパク質、例えば、1つ以上の細胞で検出された遺伝子またはタンパク質の発現レベルを指してもよい。いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、目的の細胞型、例えば、1つ以上の試料中に検出された目的の細胞型の数を指してもよい。

10

【0110】

「患者試料」とは、がん患者から得られた細胞または流体の集合を意味する。組織または細胞試料の供給源は、新鮮、凍結、及び/若しくは保存臓器若しくは組織試料、または生検、または吸引から等の固形組織；血液または任意の血液組成成分；脳脊髄液、羊膜液、腹水、または間質液等の体液；対象の妊娠期間または発育における任意の時期の細胞であってもよい。組織試料は、例えば防腐剤、抗凝固剤、緩衝液、固定剤、栄養素、抗生物質等の、本来、組織とは自然に混ざり合わない化合物を含有してもよい。本明細書の腫瘍試料の例には、腫瘍生検、穿刺吸引、細気管支洗浄、胸水、唾液、尿、摘出標本、循環腫瘍細胞、血清、血漿、循環血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来するかまたは腫瘍様特性を示す初代細胞培養物または細胞株、ならびにホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍試料または凍結腫瘍試料等の保存腫瘍試料が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0111】

本明細書で使用される場合、「～の発現に基づいて」という表現は、発現レベル、または発現の存在若しくは不在(例えば、本明細書における1つ以上のバイオマーカーの存在または不在または発生率(例えば、提示される細胞の割合)(例えば、FcR発現細胞の存在若しくは不在、またはその量若しくは発生率、あるいは、例えば、ヒトエフェクター細胞の存在若しくは不在、またはその量若しくは発生率))に関する情報が、治療決定、添付文書上で提供される情報、またはマーケティング/宣伝指針等を伝えるために使用されることを意味する。

30

【0112】

「ヒトエフェクター細胞を有する」がんまたは生体試料は、診断試験において、試料中に存在するヒトエフェクター細胞(例えば、浸潤性ヒトエフェクター細胞)を有するものである。

【0113】

「FcR発現細胞を有する」がんまたは生体試料は、診断試験において、試料中に存在するFcR発現(例えば、浸潤性FcR発現細胞)を有するものである。いくつかの実施形態では、FcRは、FcRである。いくつかの実施形態では、FcRは、活性化FcRである。

40

【0114】

本明細書で使用される場合、「治療を推奨する」という表現は、患者の試料中のc-metのレベルまたは存在に関して生成された情報またはデータを使用して、患者が、療法により好適に治療されていること、または好適に治療されていないことを特定することを指す。いくつかの実施形態では、療法は、c-met抗体(例えば、オナルツズマブ(onartuzumab))を含んでもよい。いくつかの実施形態では、療法は、VEGF

50

アンタゴニスト（例えば、ペパシズマブ）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、療法は、抗ヒトOX40アゴニスト抗体を含んでもよい。情報またはデータは、文書、音声、または電子のいかなる形態であってもよい。いくつかの実施形態では、生成された情報またはデータの使用には、伝達すること、提示すること、報告すること、保管すること、送信すること、転送すること、供給すること、送達すること、配布すること、分配すること、またはこれらの組み合わせが含まれる。いくつかの実施形態では、伝達すること、提示すること、報告すること、保管すること、送信すること、転送すること、供給すること、送達すること、配布すること、分配すること、またはこれらの組み合わせは、計算装置、分析ユニット、またはこれらの組み合わせによって行われる。いくつかのさらなる実施形態では、伝達すること、提示すること、報告すること、保管すること、送信すること、転送すること、供給すること、送達すること、配布すること、分配すること、またはこれらの組み合わせは、個人（例えば、研究または医療従事者）によって行われる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、FcR発現細胞の量または発生率の、参照レベルとの比較が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、ヒトエフェクター細胞の量または発生率の、参照レベルとの比較が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、ヒトエフェクター細胞またはFcR発現細胞が、試料中に存在するかまたは不在であるかの指標が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、FcR発現細胞及び/またはヒトエフェクター細胞が、特定の割合の細胞に存在すること（例えば、高い発生率）の指標が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、患者が、抗ヒトOX40アゴニスト抗体を含む療法により好適に治療されていること、または好適に治療されていないことの指標が含まれる。

10

20

【0115】

「検出」という用語は、直接的及び間接的検出を含む、任意の検出方法を含む。

【0116】

個体への臨床的利益の増加に関連するバイオマーカーの「量」または「レベル」は、生体試料中で検出可能なレベルである。これらは、当業者に既知であり、本明細書にも開示される方法によって測定することができる。評価されるバイオマーカーの発現レベルまたは量は、治療への応答を判定するために使用することができる。

【0117】

「上昇した発現」、「上昇した発現レベル」、または「上昇したレベル」は、例えば、疾患若しくは障害（例えば、がん）を患っていない個体（単数または複数）、治療（例えば、OX40アゴニストを用いて）に対する既知の応答性を有する腫瘍、内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）、または参照数値（例えば、臨床転帰データに基づく閾値等の設定された閾値）等の対照と比べた、ある個体におけるバイオマーカーの増加した発現または増加したレベルを指す。

30

【0118】

「低減した発現」、「低減した発現レベル」、または「低減したレベル」は、例えば、疾患若しくは障害（例えば、がん）を患っていない個体（単数または複数）、治療（例えば、OX40アゴニストを用いて）に対する既知の応答性を有する腫瘍、内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）、または参照数値（例えば、臨床転帰データに基づく閾値等の設定された閾値）等の対照と比べた、ある個体におけるバイオマーカーの減少した発現または減少したレベルを指す。いくつかの実施形態では、低減した発現は、発現がほとんどまたは全くないことである。

40

【0119】

「診断」という用語は、分子的または病理学的状態、疾患、または病態（例えば、がん）の特定または分類を指すために本明細書で使用される。例えば、「診断」は、特定の種類のがんの特定を指す場合がある。「診断」はまた、例えば、病理組織学的基準による、または分子的特徴による特定のサブタイプのがんの分類（例えば、バイオマーカー（例えば、特定の遺伝子または該遺伝子によってコードされるタンパク質）のうちの1つまたはその組み合わせの発現によって特徴付けられるサブタイプ）を指す場合もある。

50

【0120】

「診断を助けること」という用語は、本明細書において、疾患若しくは障害（例えば、がん）の特定の種類の症状または病態の存在あるいはその性質に関する、臨床的判定を行うことを補助する方法を指すように使用される。例えば、疾患または病態（例えば、がん）の診断を助ける方法は、個体からの生体試料中のある特定のバイオマーカーを測定することを含み得る。

【0121】

本明細書で使用される場合、「試料」という用語は、例えば、物理的、生化学的、化学的、及び／若しくは生理的特徴に基づいて特徴付けられ、ならびに／または特定されることになる、細胞的要素及び／または他の分子的要素を含有する、目的の対象及び／または個体から得られる、すなわちそれに由来する、組成物を指す。例えば、「疾患試料」という用語、及びその変形形態は、特徴付けられることになる細胞的要素及び／若しくは分子的要素を含有することが予想されるか、または含有することが知られている、目的の対象から得られた任意の試料を指す。試料としては、初代細胞若しくは培養細胞または細胞株、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、卵胞液、精液、羊膜液、乳、全血、血液由来細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶解物、及び組織培養培地、組織抽出物、例えば均質化組織、腫瘍組織、細胞抽出物、ならびにこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0122】

「組織試料」または「細胞試料」とは、対象または個体の組織から得られる同様の細胞の集合を意味する。組織または細胞試料の供給源は、新鮮な、凍結した、かつ／若しくは保存された器官、組織試料、生検、ならびに／または吸引液からの固形組織；血液または血漿等の任意の血液成分；脳脊髄液、羊膜液、腹水、または間質液等の体液；対象の妊娠期間または発育中のいかなる時間における細胞であってもよい。組織試料はまた、初代細胞若しくは培養細胞、または細胞株であってもよい。任意で、組織または細胞試料は、疾患組織／器官から得られる。組織試料は、例えば防腐剤、抗凝固剤、緩衝液、固定剤、栄養素、抗生物質等の、本来、組織とは自然に混ざり合わない化合物を含有してもよい。

【0123】

本明細書で使用される場合、組織試料の「切片」とは、組織試料の単一部分すなわち一片、例えば、組織試料から切り取られた組織または細胞の薄切片を意味する。組織試料の複数の切片を、本発明に従って採取し、分析に供してもよいことが理解されるが、但し、本発明は、組織試料の同一切片を、形態学的レベル及び分子レベルの両方で分析するか、またはタンパク質若しくは核酸に関して分析する方法を含むことが理解されることを条件とする。

【0124】

「関連する」または「関連すること」とは、任意の方式で、第1の分析若しくはプロトコルの性能及び／または結果を、第2の分析若しくはプロトコルの性能及び／または結果と比較することを意味する。例えば、第1の分析若しくはプロトコルの結果を、第2のプロトコルを行う際に使用してもよいし、及び／または、第1の分析若しくはプロトコルの結果を使用して、第2の分析若しくはプロトコルを行うべきかどうかを決定してもよい。ポリペプチド分析またはプロトコルの実施形態については、ポリペプチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンを行うべきかどうかを決定してもよい。ポリヌクレオチド分析またはプロトコルの実施形態については、ポリヌクレオチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンを行うべきかどうかを決定してもよい。

【0125】

「個体応答」または「応答」は、（1）減速及び完全停止を含む疾患進行（例えば、がん進行）のある程度の阻害、（2）腫瘍サイズの低減、（3）隣接する末梢臓器及び／若しくは組織へのがん細胞浸潤の阻害（すなわち、低減、減速、または完全停止）、（4）転移の阻害（すなわち、低減、減速、または完全停止）、（5）疾患若しくは障害（例え

10

20

30

40

50

ば、がん)に関連する1つ以上の症状のある程度の軽減、(6)全生存期間及び無増悪生存期間を含む生存期間の長さの増加若しくは延長、ならびに/または(9)治療後の所定の時点における低下した死亡率を限定することなく含む、個体への有益性を示す任意のエンドポイントを使用して評価され得る。

【0126】

薬品を用いた治療に対する患者の「有効な応答」または患者の「応答性」及び類似の単語は、がん等の疾患若しくは障害の危険性があるか、またはそれを患う患者に付与される臨床的または治療的有益性を指す。一実施形態では、かかる有益性には、生存期間(全生存期間及び無増悪生存期間を含む)が延長すること、客観的応答(完全奏効または部分奏効を含む)が生じること、または、がんの徴候若しくは症状が改善することのうちの任意の1つ以上が含まれる。

10

【0127】

「生存期間が延長すること」とは、未処置の患者と比べて(すなわち、薬品を用いて治療されていない患者と比べて)、または指定されたレベルでバイオマーカーを発現しない患者と比べて、及び/または承認されている抗腫瘍剤で治療された患者と比べて、治療される患者において全生存期間または無増悪生存期間が増加することを意味する。客観的応答は、完全奏効(CR)または部分奏効(PR)を含む、測定可能な応答を指す。

【0128】

III. OX40アゴニスト

がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法が、本明細書に提供される。これらの方法は、がんを有する対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含有する試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数が、対象をOX40アゴニスト治療薬に対して応答性であるかまたは非応答性であるかで分類するために使用され得るといふ本明細書に記載される発見に部分的に基づく。がんを有する対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含有する試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数を使用して、対象の予後を判定し得る、かつ/または本開示のOX40アゴニストで治療する対象を選択し得ることも、本開示のさらなる発見である。がんを有する対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含有する試料中のCD4+リンパ球、OX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の数を使用して、対象の予後を判定し得る、かつ/または本開示のOX40アゴニストで治療する対象を選択し得ることも、本開示のさらなる発見である。さらに、本明細書に記載されるように、OX40アゴニスト抗体は、対象から得られたがん細胞(原発性がん細胞及び転移性がん細胞を含む)ならびにリンパ球を含む試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球を定量化する方法において、用途をさらに見出し得る。

20

30

【0129】

本発明の方法での使用に好適な抗体には、ヒトOX40に結合する抗体が含まれる。いくつかの実施形態では、抗OX40抗体は、アゴニスト抗体である。抗OX40抗体(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)の説明は、米国PG公開第US2015/0307617号、及び国際公開第WO/2015/153513号に見出すことができ、これらはそれぞれ参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

40

【0130】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、約0.45nM以下の親和性でヒトOX40に結合する。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40抗体は、約0.4nM以下の親和性でヒトOX40に結合する。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40抗体は、約0.5nM以下の親和性でヒトOX40に結合する。いくつかの実施形態では、結合親和性は、放射免疫測定法を使用して決定される。

【0131】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、ヒトOX40及びカニク

50

イザルOX40に結合する。いくつかの実施形態では、結合は、FACSアッセイを使用して決定される。いくつかの実施形態では、ヒトOX40への結合は、約0.2ug/mlのEC50を有する。いくつかの実施形態では、ヒトOX40への結合は、約0.3ug/ml以下のEC50を有する。いくつかの実施形態では、カニクイザルOX40への結合は、約1.5ug/mlのEC50を有する。いくつかの実施形態では、カニクイザルOX40への結合は、約1.4ug/mlのEC50を有する。

【0132】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、ラットOX40またはマウスOX40には結合しない。

【0133】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、枯渇性抗ヒトOX40抗体（例えば、ヒトOX40を発現する細胞を枯渇させる）である。いくつかの実施形態では、ヒトOX40発現細胞は、CD4+エフェクターT細胞である。いくつかの実施形態では、ヒトOX40発現細胞は、Treg細胞である。いくつかの実施形態では、枯渇は、ADCC及び/または食作用によるものである。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたFcRに結合し、ヒトエフェクター細胞機能を活性化させることで、ADCCを媒介する。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたFcRに結合し、ヒトエフェクター細胞機能を活性化させることで、食作用を媒介する。例示的なヒトエフェクター細胞には、例えば、マクロファージ、ナチュラルキラー（NK）細胞、単球、好中球が含まれる。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、マクロファージである。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、NK細胞である。いくつかの実施形態では、枯渇は、アポトーシスによるものではない。

【0134】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、機能性Fc領域を有する。いくつかの実施形態では、機能性Fc領域のエフェクター機能は、ADCCである。いくつかの実施形態では、機能性Fc領域のエフェクター機能は、食作用である。いくつかの実施形態では、機能性Fc領域のエフェクター機能は、ADCC及び食作用である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、ヒトIgG1である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、ヒトIgG4である。

【0135】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40発現細胞（例えば、Treg）におけるアポトーシスを誘発しない。いくつかの実施形態では、アポトーシスは、30ug/mlの抗体濃度を使用して、例えば、アネキシンV及びプロプロジウム（propidium）ヨウ素染色Tregを使用してアポトーシスが生じたかどうかを判定することにより、アッセイされる。

【0136】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、CD4+エフェクターT細胞増殖を増加させる、及び/またはCD4+エフェクターT細胞によるガンマインターフェロン産生を増加させる（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前の、増殖及び/またはサイトカイン産生と比較して）ことで、CD4+エフェクターT細胞機能を増強する。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ガンマインターフェロンである。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前の腫瘍組織内（浸潤性）CD4+T細胞の数と比較して、腫瘍組織内（浸潤性）CD4+エフェクターT細胞の数（例えば、CD4+エフェクターT細胞の総数、または、例えば、CD45+細胞中のCD4+細胞の割合）を増加させる。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前のガンマインターフェロンを発現する腫瘍組織内（浸潤性）CD4+T細胞の数と比較して、ガンマインターフェロンを発現する腫瘍組織内（浸潤性）CD4+エフェクターT細胞の数（例えば、ガンマインターフェロンを発現するC

10

20

30

40

50

D 4 + 細胞の総数、または、例えば、総 C D 4 + 細胞中のガンマイインターフェロンを発現する C D 4 + 細胞の割合)を増加させる。

【 0 1 3 7 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体での治療前の腫瘍組織内(浸潤性) C D 8 + Tエフェクター細胞の数と比較して、腫瘍組織内(浸潤性) C D 8 + エフェクター T細胞の数(例えば、C D 8 + エフェクター T細胞の総数、または、例えば、C D 4 5 + 細胞中の C D 8 + の割合)を増加させる。いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体での治療前のガンマイインターフェロンを発現する腫瘍組織内(浸潤性) C D 8 + T細胞の数と比較して、ガンマイインターフェロンを発現する腫瘍組織内(浸潤性) C D 8 + エフェクター T細胞の数(例えば、例えば、総 C D 8 + 細胞中のガンマイインターフェロンを発現する C D 8 + 細胞の割合)を増加させる。

10

【 0 1 3 8 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、例えば、メモリー T細胞増殖を増加させる、及び/またはメモリー細胞によるサイトカイン産生を増加させることで、メモリー T細胞機能を増強する。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ガンマイインターフェロンである。

【 0 1 3 9 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、例えば、エフェクター T細胞機能(例えば、エフェクター T細胞増殖、及び/またはエフェクター T細胞サイトカイン分泌)の T r e g 抑制を減少させることで、T r e g 機能を阻害する。いくつかの実施形態では、エフェクター T細胞は、C D 4 + エフェクター T細胞である。いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、腫瘍組織内(浸潤性) T r e g の数(例えば、T r e g の総数、または、例えば、C D 4 + 細胞中の F o x 3 p + 細胞の割合)を低減させる。

20

【 0 1 4 0 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、エフェクター機能を増加(例えば、野生型 I g G 1 におけるエフェクター機能と比較して)させるように操作されている。いくつかの実施形態では、抗体は、F c 受容体への増加した結合を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、F c 領域に(直接的にまたは間接的に)結合されるフコースを欠く。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、1% ~ 80%、1% ~ 65%、5% ~ 65%、または20% ~ 40%であってもよい。いくつかの実施形態では、F c 領域は、例えば、抗体の F c 領域に結合した二分岐オリゴ糖類が G l c N A c によって二分される、二分されたオリゴ糖類を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、A D C C を改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えば、F c 領域の 2 9 8、3 3 3、及び/または 3 3 4 位(残基の E U 付番)における置換を有する F c 領域を含む。

30

【 0 1 4 1 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、O X 4 0 を発現する標的細胞における O X 4 0 シグナル伝達を増加させる。いくつかの実施形態では、O X 4 0 シグナル伝達は、N F k B 下流シグナル伝達を監視することで検出される。

40

【 0 1 4 2 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、二週間の 4 0 での治療後に安定する。

【 0 1 4 3 】

いくつかの実施形態では、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体は、ヒトエフェクター細胞に結合する、例えば、ヒトエフェクター細胞によって発現される F c R (例えば、活性化 F c R)に結合する。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、A D C C エフェクター機能を実行する(実行することが可能である)。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、食作用エフェクター機能を実行する(実行することが可能である)。

50

【 0 1 4 4 】

いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異（例えば、DANA変異）を含む変異型IgG1Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、天然配列IgG1Fc部分を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体と比べて、減少した活性（例えば、CD4+エフェクターT細胞機能、例えば、増殖）を有する。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異（例えば、DANA変異）を含む変異型IgG1Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、実質的な活性（例えば、CD4+エフェクターT細胞機能、例えば、増殖）を保有しない。

【 0 1 4 5 】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体機能において、抗体架橋が必要とされる。いくつかの実施形態では、機能は、CD4+エフェクターT細胞増殖の刺激である。いくつかの実施形態では、抗体架橋は、個体面（例えば、細胞培養プレート）に付着した抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供することにより決定される。いくつかの実施形態では、抗体架橋は、抗体のIgG1Fc部分内に変異（例えば、DANA変異）を導入し、変異抗体の機能を試験することにより決定される。

【 0 1 4 6 】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、ヒトOX40への結合に対して、OX40Lと競合する。いくつかの実施形態では、インビトロアッセイにおいて、OX40Lの付加は、抗ヒトOX40抗体機能を増強しない。

【 0 1 4 7 】

別の実施形態によれば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体には、以下の特性のうちの任意の1つ、任意の組み合わせ、または全てが含まれる：（1）約0.45nM以下の親和性でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約0.4nM以下の親和性でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約0.5nM以下の親和性でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、結合親和性は、放射免疫測定法を使用して決定される、（2）ヒトOX40及びカニクイザルOX40に結合し、いくつかの実施形態では、結合は、FACSアッセイを使用して決定される、（3）約0.2ug/mlのEC50でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約0.3ug/ml以下のEC50でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約1.5ug/mlのEC50でカニクイザルOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約1.4ug/mlのEC50でカニクイザルOX40に結合する、（4）ラットOX40またはマウスOX40には実質的に結合しない、（6）枯渇性抗ヒトOX40抗体（例えば、ヒトOX40を発現する細胞を枯渇させる）であり、いくつかの実施形態では、これらの細胞は、CD4+エフェクターT細胞及び/またはTreg細胞である、（7）例えば、CD4+エフェクターT細胞増殖を増加させる、及び/またはCD4+エフェクターT細胞によるガンインターフェロン産生を増加させる（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前の増殖及び/またはサイトカイン産生と比較して）ことで、CD4+エフェクターT細胞機能を増強する、（8）例えば、メモリーT細胞増殖を増加させる、及び/またはメモリーT細胞によるガンインターフェロン産生を増加させることで、メモリーT細胞機能を増強する、（9）例えば、エフェクターT細胞機能（例えば、エフェクターT細胞増殖、及び/またはエフェクターT細胞サイトカイン分泌）のTreg抑制を減少させることで、Treg機能を阻害する。いくつかの実施形態では、エフェクターT細胞は、CD4+エフェクターT細胞である、（10）OX40を発現する標的細胞におけるOX40シグナル伝達を増加させる（いくつかの実施形態では、OX40シグナル伝達は、NFkB下流シグナル伝達を監視することで検出される）、（11）二週間の40での治療後に安定する、（12）ヒトエフェクター細胞に結合する、例えば、ヒトエフェクター細胞によって発現されたFcRに結合する、（13）ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異（例えば、N297G）含む変異型IgG1Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、天然配列IgG1Fc部分を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体と比べて、

10

20

30

40

50

減少した活性（例えば、CD4 + エフェクターT細胞機能、例えば、増殖）を有し、いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異（例えば、N297G）含む変異型IgG1 Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、実質的な活性（例えば、CD4 + エフェクターT細胞機能、例えば、増殖）を保有しない、(14)抗ヒトOX40抗体機能において、抗体架橋（例えば、Fc受容体結合により）が必要とされる。

【0148】

一態様において、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5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

10

【0149】

一態様において、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、及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

20

【0150】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

30

【0151】

別の態様において、本発明の抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、(a)(i)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号4から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

40

【0152】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号7から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3とを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

【0153】

一態様において、本発明は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(

50

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5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

【0154】

別の実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。

10

【0155】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号4から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0156】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号26から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

20

【0157】

一態様において、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5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

30

【0158】

別の実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。

【0159】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号4から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

40

【0160】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(

50

e) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号27から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

【0161】

一態様において、本発明は、(a)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

10

【0162】

一態様において、本発明は、(a)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号4、15、または19のアミノ酸配列と、を含むHVR-H3を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

20

【0163】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

30

【0164】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号4、15、または19から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

40

【0165】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むH

50

V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 7、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6、2 7、または 2 8 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む抗体を提供する。

【 0 1 6 6 】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 1 7 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 1 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(f) 配列番号 1 7 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体を提供する。いくつかの実施形態では、H V R - H 2 は、D M Y P D A A A A S Y N Q K F R E (配列番号 2 2 2) ではない。いくつかの実施形態では、H V R - H 3 は、A P R W A A A A (配列番号 2 2 3) ではない。いくつかの実施形態では、H V R - L 3 は、Q A A A A A A A T (配列番号 2 2 4) ではない。

10

【 0 1 6 7 】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 1 7 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 1 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(c) 配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V H H V R 配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 1 7 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 1 7 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、配列番号 1 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 1 7 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 1 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、を含む。いくつかの実施形態では、H V R - H 2 は、D M Y P D A A A A S Y N Q K F R E (配列番号 2 2 2) ではない。いくつかの実施形態では、H V R - H 3 は、A P R W A A A A (配列番号 2 2 3) ではない。いくつかの実施形態では、H V R - L 3 は、Q A A A A A A A T (配列番号 2 2 4) ではない。

20

30

【 0 1 6 8 】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(b) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(c) 配列番号 1 7 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む抗体を提供する。いくつかの実施形態では、H V R - L 3 は、Q A A A A A A A T (配列番号 2 2 4) ではない。

【 0 1 6 9 】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号 1 7 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(i i) 配列番号 1 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び(i i i) 配列番号 1 7 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V H H V R 配列を含む V H ドメインと、(b) (i) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(i i) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び(c) 配列番号 1 7 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V L H V R 配列を含む V L ドメインと、を含む。

40

【 0 1 7 0 】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 1 7 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 1 7 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 1 7

50

5 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む抗体を提供する。いくつかの実施形態では、H V R - H 2 は、D M Y P D A A A A S Y N Q K F R E (配列番号 2 2 2) ではない。いくつかの実施形態では、H V R - H 3 は、A P R W A A A A A (配列番号 2 2 3) ではない。いくつかの実施形態では、H V R - L 3 は、Q A A A A A A A T (配列番号 2 2 4) ではない。

【0171】

上記の置換の全ての想定される組み合わせは、配列番号 1 7 2、1 7 3、1 7 4、及び 1 7 5 のコンセンサス配列に包含される。

【0172】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体を提供する。

10

【0173】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び (c) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V H H V R 配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、を含む。

20

【0174】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(b) 配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (c) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V L H V R 配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(b) 配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(c) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。

30

【0175】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(i i) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び (i i i) 配列番号 3 3 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V H H V R 配列を含む V H ドメインと、(b) (i) 配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(i i) 配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (c) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V L H V R 配列を含む V L ドメインと、を含む。

40

【0176】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 4 2 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む抗体を提供する。

50

【0177】

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

【0178】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

10

【0179】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号33から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

20

【0180】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号42から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

30

【0181】

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30、31、または32のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号39、40、または41のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号42、43、または44のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

【0182】

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30、31、または32のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗体を提供する。別の実施形態では、抗体は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号42、43、または44のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号42、43、または44のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号39、40、または41のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号30、31、または32のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と

40

50

、を含む。

【0183】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号39、40、または41のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42、43、または44のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号39、40、または41のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号42、43、または44のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

【0184】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号30、31、または32のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号33から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号39、40、または41のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42、43、または44のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0185】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号30、31、または32のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号39、40、または41のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号42、43、または44から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

【0186】

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号175のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号178のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

【0187】

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号175のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗体を提供する。別の実施形態では、抗体は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号178のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号176のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号176のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

【0188】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(

10

20

30

40

50

a) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR - L1 と、(b) 配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HVR - L2 と、(c) 配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 と、を含む。

【0189】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、(ii) 配列番号 176 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、及び (iii) 配列番号 33 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VH HVR 配列を含む VH ドメインと、(b) (i) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(ii) 配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (c) 配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VL HVR 配列を含む VL ドメインと、を含む。

10

【0190】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR - H1 と、(b) 配列番号 176 のアミノ酸配列を含む HVR - H2 と、(c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR - H3 と、(d) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR - L1 と、(e) 配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HVR - L2 と、(f) 配列番号 178 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - L3 と、を含む抗体を提供する。

【0191】

上記の実施形態のいずれにおいても、抗 OX40 アゴニスト抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗 OX40 抗体は、上記の実施形態のいずれか、または図 11 の実施形態のいずれかにあるような HVR を含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。別の実施形態では、抗 OX40 抗体は、上記の実施形態のいずれかにあるような HVR を含み、図 11 に示される FR 配列を含む VH 及び / または VL をさらに含む。

20

【0192】

別の態様において、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、または 116 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン (VH) 配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する VH 配列は、参照配列と比べて、置換 (例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、OX40 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計 1 ~ 10 個のアミノ酸が、配列番号 56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、または 116 において置換、挿入、及び / または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域で (すなわち、FR において) 生じる。任意で、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号配列番号 56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、または 116 の VH 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VH 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、及び (c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む HVR - H3 から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。

30

40

【0193】

別の態様において、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号 57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115、また

50

は117のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115、若しくは117において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115、または117のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

10

【0194】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号56のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号56において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号56のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VH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、及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

20

30

【0195】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号57のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号57において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号57のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

40

【0196】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号94のアミノ酸配列に

50

対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号94において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号94のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VH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、及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

10

【0197】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号95のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号95において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号95のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

20

【0198】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号96のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号96において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号96のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VH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、及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

30

40

【0199】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号97のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有す

50

るが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1～10個のアミノ酸が、配列番号97において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号97のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0200】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1～10個のアミノ酸が、配列番号118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号配列番号118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VHは、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0201】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1～10個のアミノ酸が、配列番号119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0202】

一実施形態では、抗体は、配列番号56及び配列番号57それぞれのVH配列及びVL

配列番号 1 3 1 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 2 及び配列番号 1 3 3 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 4 及び配列番号 1 3 5 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 6 及び配列番号 1 3 7 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 8 及び配列番号 1 3 9 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 0 及び配列番号 1 4 1 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 2 及び配列番号 1 4 3 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 4 及び配列番号 1 4 5 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 6 及び配列番号 1 4 7 それぞれの V H 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。

10

【 0 2 0 4 】

別の態様において、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、上述の実施形態のいずれかにあるような V H、及び上述の実施形態のいずれかにあるような V L を含む。

【 0 2 0 5 】

いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト抗体は、M E D I 6 4 6 9 である。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト抗体は、M E D I 0 5 6 2 である。

20

【 0 2 0 6 】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に提供される抗ヒト O X 4 0 抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体である。

【 0 2 0 7 】

本発明のさらなる態様において、上記の実施形態のいずれかに従う抗 O X 4 0 抗体は、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態では、抗 O X 4 0 抗体は、抗体断片、例えば、F v、F a b、F a b'、s c F v、ダイアボディ、または F (a b') 2 断片である。別の実施形態では、抗体は、完全長の抗体、例えば、インタクト I g G 1 抗体または本明細書に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。いくつかの実施形態では、抗体は、完全長インタクト I g G 4 抗体である。

30

【 0 2 0 8 】

O X 4 0 ポリペプチド及び O X 4 0 抗体に対応する例示的なアミノ酸配列が、以下に提供される。

表 2. アミノ酸配列

名称	配列	配列番号
ヒトOX40 (シグナルペプチドを欠く)	LHCVGDTYPSNDRCCHECRPG NGMVSRC SRSQNTVCRPCGPG FYNDVVSSKPKPCTWCNLR S GSERKQLCTATQDTVCRCRAG TQPLDSYKPGVDCAPCPPGHF SPGDNQACKPWTNCTLAGKHT LQPASNSSDAICEDRDPPATQ PQETQGPPARPITVQPTEAWP RTSQGPSTRPVEVPGGRAVAA ILGLGLVVLGLLGPLAILLALY LLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSF RTPIQEEQADAHSTLAKI	1
HVR-H1- 1A7. gr. 1 1A7. gr. 2 1A7. gr. 3 1A7. gr. 4 1A7. gr. 5 1A7. gr. 6 1A7. gr. 7 1A7. gr. NAD S 1A7. gr. NAD A 1A7. gr. NGD A 1A7. gr. SGD S 1A7. gr. NGS S 1A7. Ala. 1 1A7. Ala. 2 1A7. Ala. 3 1A7. Ala. 4 1A7. Ala. 5 1A7. Ala. 6 1A7. Ala. 7	DSYMS	2

10

20

30

40

1 A 7. A l a. 8 1 A 7. A l a. 9 1 A 7. A l a. 1 0 1 A 7. A l a. 1 1 1 A 7. A l a. 1 2 1 A 7. A l a. 1 3 1 A 7. A l a. 1 4 1 A 7. A l a. 1 5 1 A 7. A l a. 1 6			10
HVR-H2- 1 A 7. g r. 1 1 A 7. g r. 2 1 A 7. g r. 3 1 A 7. g r. 4 1 A 7. g r. 5 1 A 7. g r. 6 1 A 7. g r. 7 1 A 7. g r. DA 1 A 7. g r. ES 1 A 7. A l a. 1 1 A 7. A l a. 2 1 A 7. A l a. 3 1 A 7. A l a. 4 1 A 7. A l a. 5 1 A 7. A l a. 6 1 A 7. A l a. 7 1 A 7. A l a. 8 1 A 7. A l a. 9 1 A 7. A l a. 1 0 1 A 7. A l a. 1 1 1 A 7. A l a. 1 2 1 A 7. A l a. 1 3 1 A 7. A l a. 1 4 1 A 7. A l a. 1 5 1 A 7. A l a. 1 6	DMYPDNGDSSYNQKFRE	3	20 30 40
HVR-H3- 1 A 7. g r. 1 1 A 7. g r. 2 1 A 7. g r. 3 1 A 7. g r. 4 1 A 7. g r. 5 1 A 7. g r. 6	APRWYFSV	4	

1 A 7 . g r . 7 1 A 7 . g r . D A 1 A 7 . g r . E S 1 A 7 . g r . N A D S 1 A 7 . g r . N A D A 1 A 7 . g r . N G D A 1 A 7 . g r . S G D S 1 A 7 . g r . N G S S 1 A 7 . g r . D A N A D A 1 A 7 . A l a . 1 1 A 7 . A l a . 2 1 A 7 . A l a . 3 1 A 7 . A l a . 4 1 A 7 . A l a . 5 1 A 7 . A l a . 6 1 A 7 . A l a . 7 1 A 7 - A l a . 1 5 1 A 7 . A l a . 1 6			10
H V R - L 1 - 1 A 7 . g r . 1 1 A 7 . g r . 2 1 A 7 . g r . 3 1 A 7 . g r . 4 1 A 7 . g r . 5 1 A 7 . g r . 6 1 A 7 . g r . 7 1 A 7 . g r . D A 1 A 7 . g r . E S 1 A 7 . g r . N A D S 1 A 7 . g r . N A D A 1 A 7 . g r . N G D A 1 A 7 . g r . S G D S	R A S Q D I S N Y L N	5	30
			40

1 A 7 . g r . N G S S 1 A 7 . g r . D A N A D A 1 A 7 . A l a . 1 1 A 7 . A l a . 2 1 A 7 . A l a . 3 1 A 7 . A l a . 4 1 A 7 . A l a . 5 1 A 7 . A l a . 6 1 A 7 . A l a . 7 1 A 7 . A l a . 8 1 A 7 . A l a . 9 1 A 7 . A l a . 1 0 1 A 7 . A l a . 1 1 1 A 7 . A l a . 1 2 1 A 7 . A l a . 1 3 1 A 7 . A l a . 1 4 1 A 7 . A l a . 1 5 1 A 7 . A l a . 1 6			10
H V R - L 2 - 1 A 7 . g r . 1 1 A 7 . g r . 2 1 A 7 . g r . 3 1 A 7 . g r . 4 1 A 7 . g r . 5 1 A 7 . g r . 6 1 A 7 . g r . 7 1 A 7 . g r . D A 1 A 7 . g r . E S 1 A 7 . g r . N A D S 1 A 7 . g r . N A D A 1 A 7 . g r . N G D A 1 A 7 . g r . S G D S 1 A 7 . g r . N G S S 1 A 7 . g r . D A N A D A	Y T S R L R S	6	30
			40

1 A 7. A l a. 1 1 A 7. A l a. 2 1 A 7. A l a. 3 1 A 7. A l a. 4 1 A 7. A l a. 5 1 A 7. A l a. 6 1 A 7. A l a. 7 1 A 7. A l a. 8 1 A 7. A l a. 9 1 A 7. A l a. 1 0 1 A 7. A l a. 1 1 1 A 7. A l a. 1 2 1 A 7. A l a. 1 3 1 A 7. A l a. 1 4 1 A 7. A l a. 1 5 1 A 7. A l a. 1 6			10
HVR-L 3 - 1 A 7. g r. 1 1 A 7. g r. 2 1 A 7. g r. 3 1 A 7. g r. 4 1 A 7. g r. 5 1 A 7. g r. 6 1 A 7. g r. 7 1 A 7. g r. DA 1 A 7. g r. ES 1 A 7. g r. NAD S 1 A 7. g r. NAD A 1 A 7. g r. NGD A 1 A 7. g r. SGD S 1 A 7. g r. NGS S 1 A 7. g r. DAN ADA 1 A 7. A l a. 8 1 A 7. A l a. 9 1 A 7. A l a. 1 0 1 A 7. A l a. 1 1		7	20
	QQGHTLPPT		30
			40

1 A 7 . A l a . 1 2 1 A 7 . A l a . 1 3 1 A 7 . A l a . 1 4 1 A 7 . A l a . 1 5 1 A 7 . A l a . 1 6		
HVR-H1- 1 A 7 . g r . D A	DAYMS	8
HVR-H1- 1 A 7 . g r . E S 1 A 7 . g r . D A N A D A	ESYMS	9
HVR-H2- 1 A 7 . g r . N A D S	DMYPDNADSSYNQKFRE	1 0
HVR-H2- 1 A 7 . g r . N A D A 1 A 7 . g r . D A N A D A	DMYPDNADASYNQKFRE	1 1
HVR-H2- 1 A 7 . g r . N G D A	DMYPDNGDASYNQKFRE	1 2
HVR-H2- 1 A 7 . g r . S G D S	DMYPDSGDSSYNQKFRE	1 3
HVR-H2- 1 A 7 . g r . N G S S	DMYPDNGSSSYNQKFRE	1 4
HVR-H3- 1 A 7 . A l a . 8	APRWYFSA	1 5
HVR-H3- 1 A 7 . A l a . 9	APRWYASV	1 6
HVR-H3- 1 A 7 . A l a . 1 0	APRWAFSV	1 7

10

20

30

40

HVR-H3- 1A7. Ala. 11	APAWYFSV	1 8	
HVR-H3- 1A7. Ala. 12	APRWYFAV	1 9	
HVR-H3- 1A7. Ala. 13	APRAYFSV	2 0	10
HVR-H3- 1A7. Ala. 14	AARWYFSV	2 1	
HVR-L3- 1A7. Ala. 1	QQGHTLPAT	2 2	
HVR-L3- 1A7. Ala. 2	QQGHTAPPT	2 3	20
HVR-L3-1A 7. Ala. 3	QQGATLPPT	2 4	
HVR-L3-1A 7. Ala. 4	QQGHALPPT	2 5	
HVR-L3-1A 7. Ala. 5	QQAHTLPPT	2 6	30
HVR-L3-1A 7. Ala. 6	QQGHTLAPT	2 7	
HVR-L3-1A 7. Ala. 7	QAGHTLPPT	2 8	
HVR-H1- 3C8. gr. 1 3C8. gr. 2 3C8. gr. 3 3C8. gr. 4 3C8. gr. 5 3C8. gr. 5. S G 3C8. gr. 5. E	NYLIE	2 9	40

<p>G 3 C 8 . g r . 5 . Q G 3 C 9 . g r . 5 . D Q 3 C 8 . g r . 5 . DA 3 C 8 . g r . 6 3 C 8 . g r . 7 3 C 8 . g r . 8 3 C 8 . g r . 9 3 C 8 . g r . 1 0 3 C 8 . g r . 1 1 3 C 8 . A . 1 3 C 8 . A . 2 3 C 8 . A . 3 3 C 8 . A . 4 3 C 8 . A . 5 3 C 8 . A . 6 3 C 8 . A . 7 3 C 8 . A . 8 3 C 8 . A . 9 3 C 8 . A . 1 0</p>			10
<p>HVR-H2- 3 C 8 . g r . 1 3 C 8 . g r . 2 3 C 8 . g r . 3 3 C 8 . g r . 4 3 C 8 . g r . 5 3 C 8 . g r . 5 . S G 3 C 8 . g r . 5 . E G 3 C 8 . g r . 5 . Q G 3 C 8 . g r . 6 3 C 8 . g r . 7 3 C 8 . g r . 8 3 C 8 . g r . 9 3 C 8 . g r . 1 0 3 C 8 . g r . 1 1 3 C 8 . A . 1</p>	<p>V I N P G S G D T Y Y S E K F K G</p>	<p>3 0</p>	30
			40

3 C 8 . A . 2 3 C 8 . A . 3 3 C 8 . A . 4 3 C 8 . A . 5 3 C 8 . A . 6 3 C 8 . A . 7 3 C 8 . A . 8 3 C 8 . A . 9 3 C 8 . A . 1 0			
HVR-H2- 3 C 8 . g r . 5 . D A	V I N P G S G D A Y Y S E K F K G	3 1	
HVR-H2- 3 C 8 . g r . 5 . D Q	V I N P G S G D Q Y Y S E K F K G	3 2	
HVR-H3- 3 C 8 . g r . 1 3 C 8 . g r . 2 3 C 8 . g r . 3 3 C 8 . g r . 4 3 C 8 . g r . 5 3 C 8 . g r . 5 . S G 3 C 8 . g r . 5 . E G 3 C 8 . g r . 5 . Q G 3 C 8 . g r . 5 . D A 3 C 8 . g r . 5 . D Q 3 C 8 . g r . 6 3 C 8 . g r . 7 3 C 8 . g r . 8 3 C 8 . g r . 9 3 C 8 . g r . 1 0 3 C 8 . g r . 1 1 3 C 8 . A . 1 3 C 8 . A . 2 3 C 8 . A . 3 3 C 8 . A . 4		3 3	
	D R L D Y		

10

20

30

40

3 C 8 . A . 9 3 C 8 . A . 1 0		
H V R - L 2 - 3 C 8 . g r . 1 3 C 8 . g r . 2 3 C 8 . g r . 3 3 C 8 . g r . 4 3 C 8 . g r . 5 3 C 8 . g r . 5 . D A 3 C 8 . g r . 5 . D Q 3 C 8 . g r . 6 3 C 8 . g r . 7 3 C 8 . g r . 8 3 C 8 . g r . 9 3 C 8 . g r . 1 0 3 C 8 . g r . 1 1 3 C 8 . A . 1 3 C 8 . A . 2 3 C 8 . A . 3 3 C 8 . A . 4 3 C 8 . A . 5 3 C 8 . A . 6 3 C 8 . A . 7 3 C 8 . A . 8 3 C 8 . A . 9 3 C 8 . A . 1 0	H G T N L E D	3 8
H V R - L 2 - 3 C 8 . g r 5 . S G	H G T N L E S	3 9
H V R - L 2 - 3 C 8 . g r . 5 . E G	H G T N L E E	4 0
H V R - L 2 - 3 C 8 . g r . 5 . Q G	H G T N L E Q	4 1
H V R - L 3 3 C 8 . g r . 1 3 C 8 . g r . 2	V H Y A Q F P Y T	4 2

10

20

30

40

3 C 8 . g r . 3 3 C 8 . g r . 4 3 C 8 . g r . 5 3 C 8 . g r . 5 . S G 3 C 8 . g r . 5 . E G 3 C 8 . g r . 5 . Q G 3 C 8 . g r . 5 . D A 3 C 8 . g r . 5 . D Q 3 C 8 . g r . 6 3 C 8 . g r . 7 3 C 8 . g r . 8 3 C 8 . g r . 9 3 C 8 . g r . 1 0 3 C 8 . g r . 1 1 3 C 8 . A . 8 3 C 8 . A . 9 3 C 8 . A . 1 0			
HVR-L 3 - 3 C 8 . A . 1	AHYAQFPYT	4 3	
HVR-L 3 - 3 C 8 . A . 2	VAYAQFPYT	4 4	
HVR-L 3 - 3 C 8 . A . 3	VHAAQFPYT	4 5	
HVR-L 3 - 3 C 8 . A . 4	VHYAAF P Y T	4 6	
HVR-L 3 - 3 C 8 . A . 5	VHYAQAPYT	4 7	
HVR-L 3 - 3 C 8 . A . 6	VHYAQFAYT	4 8	
HVR-L 3 -	VHYAQFPAT	4	

10

20

30

40

3 C 8 . A . 7		9	
HVR-H1- 1 D 2 . g r . 1 1 D 2 . g r . 2 1 D 2 . g r . 3	DYGV L	5 0	
HVR-H2-1 D 2 . g r . 1 1 D 2 . g r . 2 1 D 2 . g r . 3	MIWSGGTTDYNAAFIS	5 1	10
HVR-H3-1 D 2 . g r . 1 1 D 2 . g r . 2 1 D 2 . g r . 3	EEMDY	5 2	
HVR-L1- 1 D 2 . g r . 1 1 D 2 . g r . 2 1 D 2 . g r . 3	RASQDISNFLN	5 3	20
HVR-L2- 1 D 2 . g r . 1 1 D 2 . g r . 2 1 D 2 . g r . 3	YTSRLHS	5 4	
HVR-L3- 1 D 2 . g r . 1 1 D 2 . g r . 2 1 D 2 . g r . 3	QQGNTLPWT	5 5	30
1 A 7 . g r . 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLVTVSS	5 6	
1 A 7 . g r . 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	5 7	40
1 A 7 . g r . 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITVDTSTSTAYLELS	5 8	

	SLRSED TAVYYCVLAPRWYFS VWGQGT LVTVSS	
1 A 7. g r. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	5 9
1 A 7. g r. 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTLTVDTSTSTAYLELS SLRSED TAVYYCVLAPRWYFS VWGQGT LVTVSS	6 0
1 A 7. g r. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	6 1
1 A 7. g r. 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERV TITVDTSTSTAYLELS SLRSED TAVYYCVLAPRWYFS VWGQGT LVTVSS	6 2
1 A 7. g r. 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK TVKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	6 3
1 A 7. g r. 5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERV TITVDTSTSTAYLELS SLRSED TAVYYCVLAPRWYFS VWGQGT LVTVSS	6 4
1 A 7. g r. 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK TVKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA	6 5

10

20

30

40

	TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK		
1 A 7. g r. 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITVDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	6 6	
1 A 7. g r. 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK TVKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGKDYTLTISSLQPEDFA TYFCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	6 7	10
1 A 7. g r. 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITVDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	6 8	20
1 A 7. g r. 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK TVKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGKDYTLTISSLQPEDFA TYFCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	6 9	30
1 A 7. g r. DA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDAYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	7 0	
1 A 7. g r. DA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	7 1	40
1 A 7. g r. ES V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTESYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS	7 2	

	SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	
1 A 7. g r. ES V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	7 3
1 A 7. g r. NAD S V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNADSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	7 4
1 A 7. g r. NAD S V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	7 5
1 A 7. g r. NAD A V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNADASYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	7 6
1 A 7. g r. NAD A V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	7 7
1 A 7. g r. NGD A V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDASYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	7 8
1 A 7. g r. NGD A V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA	7 9

10

20

30

40

	TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK		
1A7. gr. SGD S V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDSGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	8 0	10
1A7. gr. SGD S V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	8 1	
1A7. gr. NGS S V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGSSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	8 2	20
1A7. gr. NGS S V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	8 3	30
1A7. gr. DAN ADA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDAYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNADASYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	8 4	
1A7. gr. DAN ADA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	8 5	40
1A7. Ala. 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS	8 6	

	SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS		
1A7. Ala. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPATFGQGTKVE IK	8 7	
1A7. Ala. 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	8 8	10
1A7. Ala. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTAPPTFGQGTKVE IK	8 9	20
1A7. Ala. 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	9 0	30
1A7. Ala. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGATLPPTFGQGTKVE IK	9 1	
1A7. Ala. 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	9 2	40
1A7. Ala. 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA	9 3	

	TYYCQQGHALPPTFGQGTKVE IK		
1A7. Ala. 5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	9 4	
1A7. Ala. 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQAHTLPPTFGQGTKVE IK	9 5	10
1A7. Ala. 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	9 6	20
1A7. Ala. 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLAPPTFGQGTKVE IK	9 7	30
1A7. Ala. 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	9 8	
1A7. Ala. 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQAGHTLPPTFGQGTKVE IK	9 9	40
1A7. Ala. 8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS	1 0 0	

	SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS AWGQGT LVTVSS		
1A7. Ala. 8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	1 0 1	
1A7. Ala. 9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYAS VWGQGT LVTVSS	1 0 2	10
1A7. Ala. 9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	1 0 3	20
1A7. Ala. 10 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWAFS VWGQGT LVTVSS	1 0 4	30
1A7. Ala. 10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	1 0 5	
1A7. Ala. 11 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPAWYFS VWGQGT LVTVSS	1 0 6	40
1A7. Ala. 11 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA	1 0 7	

	TYYCQQGHTLPPTFGQGGTKVE IK		
1A7. A1a. 12 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFA VWGQGTLLVTVSS	1 0 8	
1A7. A1a. 12 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGGTKVE IK	1 0 9	10
1A7. A1a. 13 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRAYFS VWGQGTLLVTVSS	1 1 0	20
1A7. A1a. 13 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGGTKVE IK	1 1 1	30
1A7. A1a. 14 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAARWYFS VWGQGTLLVTVSS	1 1 2	
1A7. A1a. 14 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGGTKVE IK	1 1 3	40
1A7. A1a. 15 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTITRDTSTSTAYLELS	1 1 4	

	SLRSEDTAVYYCALAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS		
1A7. Ala. 15 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	1 1 5	
1A7. Ala. 16 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVITITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVAAPRWYFS VWGQGTLLVTVSS	1 1 6	10
1A7. Ala. 16 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGHTLPPTFGQGTKVE IK	1 1 7	20
3C8. gr. 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVITITRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 1 8	30
3C8. gr. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK APKLLIYHGTNLEDGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCVHYAQFPYTFGQGTKVE IK	1 1 9	
3C8. gr. 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVITITADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 2 0	40
3C8. gr. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK APKLLIYHGTNLEDGVPSRFS	1 2 1	

	G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C V H Y A Q F P Y T F G Q G T K V E I K		
3 C 8 . g r . 3 V _H	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y A F T N Y L I E W V R Q A P G Q G L E W I G V I N P G S G D T Y Y S E K F K G R V T L T A D T S T S T A Y L E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D R L D Y W G Q G T L V T V S S	1 2 2	10
3 C 8 . g r . 3 V _L	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C H A S Q D I S S Y I V W Y Q Q K P G K A P K L L I Y H G T N L E D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C V H Y A Q F P Y T F G Q G T K V E I K	1 2 3	
3 C 8 . g r . 4 V _H	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y A F T N Y L I E W V R Q A P G Q G L E W I G V I N P G S G D T Y Y S E K F K G R V T I T A D T S T S T A Y L E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D R L D Y W G Q G T L V T V S S	1 2 4	20
3 C 8 . g r . 4 V _L	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C H A S Q D I S S Y I V W Y Q Q K P G K S F K G L I Y H G T N L E D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C V H Y A Q F P Y T F G Q G T K V E I K	1 2 5	30
3 C 8 . g r . 5 V _H	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y A F T N Y L I E W V R Q A P G Q G L E W I G V I N P G S G D T Y Y S E K F K G R V T L T A D T S T S T A Y L E L S S L R S E D T A V Y Y C A R D R L D Y W G Q G T L V T V S S	1 2 6	
3 C 8 . g r . 5 V _L	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C H A S Q D I S S Y I V W Y Q Q K P G K S F K G L I Y H G T N L E D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C V H Y A Q F P Y T F G Q G T K V E I K	1 2 7	40
3 C 8 . g r . 5 . S G V _H	E V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y A F T N Y L I E W V R Q A P G Q G L E W I G V I N P G S G D T Y Y S E K	1 2 8	

	FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSED TAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS		
3C8. gr. 5. S G V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHG TNLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCVHYAQFPYTFGQG TKVE IK	1 2 9	10
3C8. gr. 5. E G V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSED TAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 3 0	
3C8. gr. 5. E G V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHG TNLEEGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCVHYAQFPYTFGQG TKVE IK	1 3 1	20
3C8. gr. 5. Q G V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSED TAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 3 2	30
3C8. gr. 5. Q G V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHG TNLEQGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCVHYAQFPYTFGQG TKVE IK	1 3 3	
3C8. gr. 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTITADTSTSTAYLELS SLRSED TAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 3 4	40
3C8. gr. 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHG TNLEDGVPSRFS	1 3 5	

	GSGSGADYTLTISSSLQPEDFA TYYCVHYAQQFPYTFGQGTKVE IK		
3C8. gr. 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 3 6	
3C8. gr. 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGADYTLTISSSLQPEDFA TYYCVHYAQQFPYTFGQGTKVE IK	1 3 7	10
3C8. gr. 8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 3 8	20
3C8. gr. 8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDFA TYYCVHYAQQFPYTFGQGTKVE IK	1 3 9	30
3C8. gr. 9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 4 0	
3C8. gr. 9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SPKLLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDFA TYYCVHYAQQFPYTFGQGTKVE IK	1 4 1	40
3C8. gr. 10 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK	1 4 2	

	FKGRVTLTRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS		
3C8. gr. 10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK AFKLLIYHG TNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TY YCVHYA QFPYTFGQG TKVE IK	1 4 3	10
3C8. gr. 11 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTRDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 4 4	
3C8. gr. 11 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK APKGLIYHG TNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TY YCVHYA QFPYTFGQG TKVE IK	1 4 5	20
3C8. A. 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 4 6	30
3C8. A. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHG TNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TY YCAHYA QFPYTFGQG TKVE IK	1 4 7	
3C8. A. 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 4 8	40
3C8. A. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK	1 4	

	SFKGLIYHGTNLEDGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDFA TY YCVAYA QFPYTFGQGTKVE IK	9	
3C8. A. 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 5 0	10
3C8. A. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTNLEDGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDFA TY YCVHAA QFPYTFGQGTKVE IK	1 5 1	
3C8. A. 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 5 2	20
3C8. A. 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTNLEDGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDFA TY YCVHYAAFPYTFGQGTKVE IK	1 5 3	30
3C8. A. 5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 5 4	40
3C8. A. 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTNLEDGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDFA TY YCVHYAQA PYTFGQGTKVE IK	1 5 5	
3C8. A. 6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS	1	

V _H	CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	5 6
3C8. A. 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TY YCVHYA QFAYTFGQGTKVE IK	1 5 7
3C8. A. 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRLDYWG QGTLVTVSS	1 5 8
3C8. A. 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TY YCVHYA QFPATFGQGTKVE IK	1 5 9
3C8. A. 8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARARLDYWG QGTLVTVSS	1 6 0
3C8. A. 8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TY YCVHYA QFPYTFGQGTKVE IK	1 6 1
3C8. A. 9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDALDYWG QGTLVTVSS	1 6 2
3C8. A. 9	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI	1

10

20

30

40

V _L	TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFA TY YCVHYA QFPYTFGQGTKVE IK	6 3
3C8. A. 10 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYAFTNYLIEWVRQAPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGRVTLTADTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCARDRADYWG QGTLLVTVSS	1 6 4
3C8. A. 10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TI TCHASQDISSYIVWYQQKPGK SFKGLIYHGTLNLEDGVP SRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFA TY YCVHYA QFPYTFGQGTKVE IK	1 6 5
1D2. g r. 1 V _H	EVQLVESGPGGLVKPSETLSLT CTVSGFSLTDYGV LWIRQPPG KGLEWIGMIWSSGGTTDYNAAF ISRVTISVDTSKNQFSLKLS VTAADTAVYYCVREEMDYWGQ GTLVTVSS	1 6 6
1D2. g r. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TI TCRASQDISNFLN WYQQKPGK APKLLIYYTSRLHSGVP SRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFA TY YCQQGNTLPWTFGQGTKVE IK	1 6 7
1D2. g r. 2 V _H	EVQLVESGPGGLVKPSETLSLT CTVSGFSLTDYGV LWIRQPPG KGLEWIGMIWSSGGTTDYNAAF ISRVTISKDTSKNQVSLKLS VTAADTAVYYCVREEMDYWGQ GTLVTVSS	1 6 8
1D2. g r. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TI TCRASQDISNFLN WYQQKPGK APKLLIYYTSRLHSGVP SRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFA TY YCQQGNTLPWTFGQGTKVE IK	1 6 9

10

20

30

40

1 D 2. g r. 3 V _H	EVQLVESGPGGLVKPSETLSLT CTVSGFSLTDYGVLRQPPG KGLEWLGMIWSGGTTDYNAAF ISRLTISKDTSKNQVSLKLS VTAADTAVYYCVREEMDYWGQ GTLVTVSS	1 7 0
1 D 2. g r. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDISNFLNWFYQQKPKGK APKLLIYYTSRLHSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQGNTLPWTFGGGTKVE IK	1 7 1
CON1 (1 A 7) H VR-H1	X ₁ X ₂ YMS、式中、X ₁ は、DまたはEであり、X ₂ は、SまたはAである。	1 7 2
CON1 (1 A 7) H VR-H2	DMYPDX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ SYNQKFRE、式中、X ₁ は、NまたはSであり、X ₂ は、AまたはGであり、X ₃ は、DまたはSであり、X ₄ は、AまたはSである。	1 7 3
CON1 (1 A 7) H VR-H3	APRWX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ 、式中、X ₁ は、YまたはAであり、X ₂ は、AまたはFであり、X ₃ は、SまたはAであり、X ₄ は、AまたはVである。	1 7 4
CON1 (1 A 7) H VR-L3	QX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ T、式中、X ₁ は、AまたはQであり、X ₂ は、AまたはGであり、X ₃ は、AまたはHであり、X ₄ は、AまたはTであり、X ₅ は、AまたはLであり、X ₆ は、AまたはPであり、X ₇ は、AまたはPである。	1 7 5
CON2 (3 C 8) H VR-H2	VINPGSGDX ₁ YYSEKFKG、式中、X ₁ は、T、A、またはQである。	1 7 6
CON2 (3 C 8) HVR-L2	HGTNLEX ₁ 、式中、X ₁ は、S、E、またはQである。	1 7 7
CON2 (3 C 8) H VR-L3	X ₁ X ₂ YAQFPYX ₃ 、式中、X ₁ は、VまたはAであり、X ₂ は、HまたはAであり、X ₃ は、YまたはAである。	1 7 8
1 A 7 V _L	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTI SCRASQDISNYLNWFYQQKPDG TVKLLIYYTSRLRSGVPSRFS GSGSGKDYFLTISNLEQEDVA AYFCQQGHTLPPTFGGGTKLE IK	1 7 9

10

20

30

40

1A7 V _H	EVQLQQSGPELVKPGASVKIS CKASGYTFTDSYMSWVKQSHG KTLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FREKVTLTVDKSSSTAYMEFR SLTSEDSAVYYCVLAPRWYFS VWGTGTTVTVSS	1 8 0
3C8 V _L	DILMTQSPSSMSVSLGDTVSI TCHASQDISSYIVWLQQKPGK SFRGLIYHGNTLEDGIPSRFS GSGSGADYSLTISSELESEDF DYVCVHYAQPYPYTFGGGTKLE IK	1 8 1
3C8 V _H	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVS CKASGYAFTNYLIEWVKQRPG QGLEWIGVINPGSGDTYYSEK FKGKVTLTADKSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYFCARDRLDYWG QGTTTLTVSS	1 8 2
1A7. gr. 5' V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTLTVDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLVTVSS	2 2 5
1A7. gr. 7' V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDSYMSWVRQAPG QGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK FRERVTLTVDTSTSTAYLELS SLRSEDTAVYYCVLAPRWYFS VWGQGTLVTVSS	2 2 6

10

20

30

【0209】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、US7550140に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYTMNWV
RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRYSQVHYALDYWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

40

50

T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H
N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 1 8 3) の配列を含む重鎖

及び / または D I V M T Q S P D S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G
Y N Y L D W Y L Q K A G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T
D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C Q Q Y N H P T T F G Q G T K L E I K R T
V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K
V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H
K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (配列番号 1 8 4) の配列を含む
軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5
つ、または6つのUS7550140に記載されるような抗体008の超可変領域(HV
R)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、US7550140に記載されるよ
うな抗体008の重鎖可変領域配列及び / または軽鎖可変領域配列を含む。

10

【0210】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、US7550140に記
載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗
体は、M A E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S N Y T M N
W V R Q A P G K G L E W V S A I S G S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S
K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A K D R Y S Q V H Y A L D Y W G Q G T
L V T V L E G T G G S G G T G S G T G T S E L D I Q M T Q S P D S L P V T P G E
P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K A G Q S P Q L L I Y L G S
N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C Q Q Y Y
N H P T T F G Q G T K L E I K R A A (配列番号 1 8 5) の配列を含む。いくつかの実
施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのUS75
50140に記載されるような抗体SC02008の超可変領域(HVR)配列を含む。
いくつかの実施形態では、抗体は、US7550140に記載されるような抗体SC02
008の重鎖可変領域配列及び / または軽鎖可変領域配列を含む。

20

【0211】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、US7550140に記
載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗
体は、E V Q L V E S G G G L V H P G G S L R L S C A G S G F T F S S Y A M H W V
R Q A P G K G L E W V S A I G T G G G T Y Y A D S V M G R F T I S R D N S K N T
L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R Y D N V M G L Y W F D Y W G Q G T L V T
V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V
T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G
T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L
L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K
F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L
N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S
R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T
P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N
H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号 1 8 6) の配列を含む重鎖、及び / または E I V
L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P G Q A
P R L L I Y D A S N R A T G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F
A V Y Y C Q Q R S N W P P A F G G G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E
Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V
T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S
P V T K S F N R G E C (配列番号 1 8 7) の配列を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形
態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのUS7550
140に記載されるような抗体023の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実
施形態では、抗体は、US7550140に記載されるような抗体023の重鎖可変領域

30

40

50

配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

【0212】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、US7960515に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIDYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARESGWYLFDYWGQGTLLVTVSS(配列番号188)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGGGTKVEIK(配列番号189)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのUS7960515に記載されるような抗体11D4の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、US7960515に記載されるような抗体11D4の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

10

【0213】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、US7960515に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDKSTADYYFY YGM DVW G Q G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S N F G T Q T Y T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C C V E C P P C P A P P V A G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P A P I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号190)の配列を含む重鎖、及び/またはEIVVTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVC LLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(配列番号191)の配列を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのUS7960515に記載されるような抗体18D8の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、US7960515に記載されるような抗体18D8の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

20

30

40

【0214】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2012/027328に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGSE LKKPGASVKVSCKASGYTF TDYS MHWVRQAPGQGLKWMGWINTETGETPT YADDFKGRFV FSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCANPYDYVSY YAMDYWGQGT T V T V S S (配列番号192)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYLYTGVP SRFSGSGSGTDFTF T I S S L Q P E D I A T Y Y C Q Q H Y S T P R T F G Q G T K L E I K (配列番号193)の配列を含む軽

50

鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2012/027328に記載されるような抗体hu106-222の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2012/027328に記載されるような抗体hu106-222の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

【0215】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2012/027328に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEYEFP SHDMSWVRQAPGKGLELVAAINSDGGSTYYPD TMERRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHYDDYYAWFA YWGQGTMTVTVSS(配列番号194)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQAPRLLIYLASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQHSRELPLTFGGGTKVEIK(配列番号195)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2012/027328に記載されるような抗体Hu119-122の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2012/027328に記載されるような抗体Hu119-122の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

【0216】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2013/028231に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、MYLGLNYVFIVFL LNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTG IYYCTWGEVFFYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS G VHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSSLG TQTYITCNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP E VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTT P PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(配列番号196)の配列を含む重鎖、及び/またはMRPSIQFLGLLLFWLHGAQC DIQMTQSPSSLSASLG GKVTITCKSSQDINKYIAWYQH K P G K G P R L L I H Y T S T L Q P G I P S R F S G S G S G R D Y S F S I S N L E P E D I A T Y Y C L Q Y D N L L T F G A G T K L E L K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C(配列番号197)の配列を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、MYLGLNYVFIVFL LNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTG IYYCTWGEVFFYFDYWGQGTTLTVSS(配列番号198)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはMRPSIQFLGLLLFWLHGAQC DIQMTQSPSSLSASLG GKVTITCKSSQDINKYIAWYQH K P G K G P R L L I H Y T S T L Q P G I P S R F S G S G S G R D Y S F S I S N L E P E D I A T Y Y C L Q Y D N L L T F G A G T K L E L K(配列番号1

10

20

30

40

50

99) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2013/028231に記載されるような抗体Mab CH 119-43-1の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2013/028231に記載されるような抗体Mab CH 119-43-1の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

【0217】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2013038191に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTS DKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCANYYGSSLSMDYWGGTSVTVSS(配列番号200)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKR(配列番号201)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2013038191に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2013038191に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

10

20

【0218】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2013038191に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFKDYTMHWVKQSHGKSLWIGGIYPNNGGSTYNQNFKDKATLTVDKSSSTAYMEFRSLTSEDSAVYYCARMGYHGPLDFDVGAGTTVTVSP(配列番号202)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIVMTQSHKFMSTSLGDRVSI TCKASQDVGA AVaWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGGSGTDFTLTISNVQSEDLTDYFCQQYINYP LTFGGGTKLEIKR(配列番号203)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2013038191に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2013038191に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

30

【0219】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWMGYINPYNDGTYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGGTTLVTVSS(配列番号204)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTVKVEIKR(配列番号205)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

40

50

【0220】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITSYVMHWVRQAPGQRLIEWMGYINPYNDGTYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTTLVTVSS（配列番号204）の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRSLHSGVPSRFSGSGSGTDTYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR（配列番号206）の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

10

【0221】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITSYVMHWVRQAPGQRLIEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTTLVTVSS（配列番号207）の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRSLHSGVPSRFSGSGSGTDTYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR（配列番号205）の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

20

30

【0222】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITSYVMHWVRQAPGQRLIEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTTLVTVSS（配列番号207）の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRSLHSGVPSRFSGSGSGTDTYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR（配列番号206）の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

40

【0223】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFITSYVMHWVRQAPGQRLIEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRATLTS

50

DKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQG
 TLVTVSS (配列番号208)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMT
 QSPSSLSASVGDVRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPK
 LLIIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGSDTYTLTISSLQPEDFAT
 YYCQQGNTLPWTFGQGTKEIKR (配列番号205)の配列を含む軽鎖
 可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ
 、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン2
 0E5の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO20
 14148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び
 /または軽鎖可変領域配列を含む。

10

【0224】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO201414889
 5A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト
 OX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFFTSY
 VMHWVRQAPGQRLIEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRATLTS
 DKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQG
 TLVTVSS (配列番号208)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMT
 QSPSSLSASVGDVRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVK
 LLIIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGSDTYTLTISSLQPEDFAT
 YFCQQGNTLPWTFGQGTKEIKR (配列番号206)の配列を含む軽鎖
 可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ
 、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン2
 0E5の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO20
 14148895A1に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び
 /または軽鎖可変領域配列を含む。

20

【0225】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO201414889
 5A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト
 OX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFKDY
 TMHWVRQAPGQGLEWMGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTITA
 DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVG
 QGTTVTVSS (配列番号209)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQ
 MTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDVGA AVaWYQQKPGKA
 PKLLIYWASTRHTGVPSPRFSGSGSGSDTFTLTISSLQPEDF
 ATYYCQQYINYP LTFGGGTKEIKR (配列番号210)の配列を含む
 軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、
 4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クロー
 ンクローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体
 は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変
 領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

30

40

【0226】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO201414889
 5A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト
 OX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFKDY
 TMHWVRQAPGQGLEWMGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTITA
 DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVG
 QGTTVTVSS (配列番号209)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQ
 MTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDVGA AVaWYQQKPGKA
 PKLLIYWASTRHTGVPDRFSGGGSGSDTFTLTISSLQPEDF
 ATYYCQQYINYP LTFGGGTKEIKR (配列番号211)の配列を含む

50

軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

【0227】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPLDFDVGWQGTDTVTVSS(配列番号212)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGAAVAWYQQKPKGKAPKLLIYWASTRHTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQYINYPPLTFGGGTKEIKR(配列番号210)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

10

20

【0228】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPLDFDVGWQGTDTVTVSS(配列番号212)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGAAVAWYQQKPKGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFSGGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQYINYPPLTFGGGTKEIKR(配列番号211)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

30

【0229】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPLDFDVGWQGTDTVTVSS(配列番号213)の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGAAVAWYQQKPKGKAPKLLIYWASTRHTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQYINYPPLTFGGGTKEIKR(配列番号210)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

40

50

【0230】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、WO2014148895A1に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPLDFDVGWQGTTVTVSS（配列番号213）の配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGAAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPDRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYINYPPLTFGGGTKVEIKR（配列番号211）の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのWO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、WO2014148895A1に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

10

【0231】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、L106BD（Pharmingen製品番号340420）である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体L106（BD Pharmingen製品番号340420）の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体L106（BD Pharmingen製品番号340420）の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

20

【0232】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、ACT35（Santa Cruz Biotechnology、カタログ番号20073）である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体ACT35（Santa Cruz Biotechnology、カタログ番号20073）の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体ACT35（Santa Cruz Biotechnology、カタログ番号20073）の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

30

【0233】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、MEDI6469である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体MEDI6469の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体MEDI6469の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

【0234】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、MEDI0562である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体MEDI0562の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体MEDI0562の重鎖可変領域配列及び/または軽鎖可変領域配列を含む。

40

【0235】

他のOX40アゴニスト

本明細書に記載の方法のために有用なOX40アゴニストは、抗体に限定するものではなくは決して企図されていない。非抗体OX40アゴニストが企図され、当該技術分野では既知である。

【0236】

上述のように、OX40L（CD134Lとしても知られる）、OX40のリガンドとして働く。かくして、OX40Lの一部または全てを発現するアゴニストは、OX40ア

50

ゴニストとして働き得る。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、OX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。OX40Lの細胞外ドメインの例としては、OX40結合ドメインが挙げられる。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、OX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含むが、タンパク質の他の不溶性ドメイン、例えば膜貫通ドメインを欠く、OX40Lの可溶性であってもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、OX40Lに結合可能なOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含む可溶性タンパク質である。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、例えば、効率、半減期、または他の望ましい特徴を増加させるために、他のタンパク質ドメインに結合してもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、免疫グロブリンFcドメインに結合されたOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。

10

【0237】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、米国特許第7,696,175号に記載されるOX40アゴニストのうちのいずれか1つであってもよい。

【0238】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、オリゴマー分子または多量体分子であってもよい。例えば、OX40アゴニストは、タンパク質がオリゴマー形成することを可能にする1つ以上のドメイン（例えば、ロイシンジッパードメイン）を含有してもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、1つ以上のロイシンジッパードメインと結合されたOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。

20

【0239】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、欧州特許第EP0672141B1号に記載されるOX40アゴニストのうちのいずれか1つであってもよい。

【0240】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、三量体OX40L融合タンパク質であってもよい。例えば、OX40アゴニストは、免疫グロブリンFcドメイン及び三量体形成ドメイン（イソロイシンジッパードメインを含むが、これに限定されない）に結合したOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。

【0241】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、国際公開第WO2006/121810号に記載されるOX40アゴニストのうちのいずれか1つであってもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、MED16383である。

30

【0242】

さらなる態様において、上記の実施形態のいずれかに従う抗OX40アゴニスト及び/または抗体は、以下に記載される特徴のいずれかを、単独でまたは組み合わせで組み込んでもよい。

【0243】

1. 抗体親和性

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、 $1\mu\text{M}$ 、 100nM 、 10nM 、 1nM 、 0.1nM 、 0.01nM 、または 0.001nM （例えば 10^{-8}M 以下、例えば $10^{-8}\text{M} \sim 10^{-13}\text{M}$ 、例えば $10^{-9}\text{M} \sim 10^{-13}\text{M}$ ）の解離定数（ K_d ）を有する。

40

【0244】

一実施形態では、 K_d は、放射標識抗原結合アッセイ（RIA）によって測定される。一実施形態では、RIAは、目的の抗体のFabバージョン及びその抗原を用いて行われる。例えば、抗原に対するFabの溶液結合親和性は、非標識抗原の滴定シリーズの存在下で、（125I）標識抗原の最小濃度でFabを平衡化することにより測定され、次いで、抗Fab抗体被覆プレートと結合した抗原を捕捉する（例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999)を参照されたい）。アッセイのための条件を確立するために、MICROTITER（登録商標）マルチウェ

50

ルプレート (Thermo Scientific) が、50 mM の炭酸ナトリウム (pH 9.6) 中の $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の捕捉抗 Fab 抗体 (Cappel Labs) で一晚コーティングされ、その後、室温 (およそ 23) で 2 ~ 5 時間、PBS 中 2% (w/v) のウシ血清アルブミンで遮断される。非吸着性のプレート (Nunc 番号 269620) 中で、100 pM または 26 pM の [125I] 抗原を、目的の Fab の段階希釈液と混合する (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)。目的の Fab を次いで一晚インキュベートするが、インキュベーションは、平衡に到達することを確実にするために、より長い期間 (例えば、約 65 時間) 継続してもよい。その後、混合物を、室温での (例えば、1 時間に亘る) インキュベーションのために、捕捉プレートに移す。溶液を次いで除去し、プレートを、PBS 中 0.1% のポリソルベート 20 (TWEEN-20 (登録商標)) で 8 回洗浄する。プレートが乾燥したら、 $150 \mu\text{L}/\text{ウェル}$ のシンチラント (scintillant) (MICROSCINT-20 (商標); Packard) を付加し、プレートを TOPCOUNT (商標) ガンマ計数器 (Packard) 上で 10 分間、計数する。最大結合の 20% 以下をもたらす各 Fab の濃度を、競合結合アッセイにおいて使用するために選定する。

【0245】

別の実施形態によれば、 K_d は、BIACORE (登録商標) 表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。例えば、BIACORE (登録商標) - 2000 または BIACORE (登録商標) - 3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) を使用したアッセイは、25 で、約 10 の応答単位 (RU) で固定化抗原 CM5 チップを用いて行われる。一実施形態では、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ (CM5、BIACORE, Inc.) を、供給業者の指示に従って、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-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) を用いて活性化させる。抗原を 10 mM の酢酸ナトリウム (pH 4.8) で $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ (約 $0.2 \mu\text{M}$) まで希釈した後、カップリングされたタンパク質のおよそ 10 応答単位 (RU) を達成するように、 $5 \mu\text{L}/\text{分}$ の流量で注入する。抗原の注射後、1 M のエタノールアミンを注入して、未反応基を遮断する。動態測定のために、2 倍に連続希釈した Fab ($0.78 \text{ nM} \sim 500 \text{ nM}$) を、25 でおおよそ $25 \mu\text{L}/\text{分}$ の流量で 0.05% のポリソルベート 20 (TWEEN-20 (商標)) 界面活性剤 (PBST) を有する PBS 中に注入する。会合速度 (k_{on}) 及び解離速度 (k_{off}) は、単純な 1 対 1 の Langmuir 結合モデル (BIACORE (登録商標) Evaluation Software バージョン 3.2) を使用して、会合センサグラムと解離センサグラムとを同時に当てはめることによって計算される。平衡解離定数 (K_d) は、比率 k_{off}/k_{on} として計算する。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865 - 881 (1999) を参照されたい。オン速度が、上記の表面プラズモン共鳴アッセイによって、 $106 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を超える場合、オン速度は、攪拌されたキュベットを備えるストップフロー装着分光光度計 (Aviv Instruments) または 8000 シリーズ SLM-AMINCO (商標) 分光光度計 (Thermo Spectronic) 等の分光計において測定される、漸増濃度の抗原の存在下で、25 での PBS (pH 7.2) 中の 20 nM 抗-抗原抗体 (Fab 型) の蛍光発光強度 (励起 = 295 nm 、発光 = 340 nm 、 16 nm 帯域通過) の増加または減少を測定する、蛍光消光技法を使用することによって、判定することができる。

【0246】

2. 抗体断片

ある特定の実施形態では、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、ならびに以下に記載される他の断片が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の抗体断片の概説については、Hudson et al. Nat. Med. 9: 129 - 13

4 (2003) を参照されたい。s c F v 断片の概説に関して、例えば Pluckhuth, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994) を参照されたく、WO93/16185 ならびに米国特許第 5,571,894 号及び同第 5,587,458 号もまた参照されたい。エピトープ残基を結合し、増加したインビボ半減期を有するサルベージ受容体を含む Fab 及び F(ab')₂ 断片の考察に関しては、米国特許第 5,869,046 号を参照されたい。

【0247】

ダイアボディは、二価性または二重特異性であってもよい、2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、EP404,097、WO1993/01161、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また、Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003) に記載されている。

10

【0248】

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または軽鎖可変ドメインの全て若しくは一部分を含む抗体断片である。ある特定の実施形態では、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis, Inc., Waltham, MA、例えば、米国特許第 6,248,516 B1 号を参照されたい)。

20

【0249】

抗体断片は、本明細書に記載されるように、インタクト抗体のタンパク質分解消化、ならびに組み換え宿主細胞 (例えば、大腸菌 (*E. coli*) またはファージ) による産生を含むがこれらに限定されない、様々な技法によって作製することができる。

【0250】

3. キメラ抗体及びヒト化抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4,816,567 号、及び Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984) に記載されている。一例において、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、またはサル等の非ヒト霊長類に由来する可変領域) 及びヒト定常領域を含む。さらなる例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のそれから変更された、「クラススイッチされた」抗体である。キメラ抗体には、それらの抗原結合断片が含まれる。

30

【0251】

ある特定の実施形態では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的に、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減させるために、ヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば CDR (またはその一部) が非ヒト抗体に由来し、FR (またはその一部) がヒト抗体配列に由来する、1つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、任意で、ヒト定常領域の少なくとも一部も含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体におけるいくつかの FR 残基は、例えば、抗体特異性または親和性を復元若しくは向上させるために、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。

40

【0252】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro and Franssion, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) に概説され、また、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 5,821,33

50

7号、同第7, 527, 791号、同第6, 982, 321号、及び同第7, 087, 409号、Kashmiri et al., Methods 36:25-34(2005)(特異性決定領域(SDR)グラフティングを記載する)、Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498(1991)(「リサーフェイシング」を記載する)、Dall'Acqua et al., 36:43-60,(2005)(「FRシャフリング」を記載する)、ならびにOsbourn et al., Methods 36:61-68(2005)、及びKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260(2000)(FRシャフリングへの「誘導選択」アプローチを記載する)にさらに記載されている。

【0253】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域には、「ベストフィット」法を使用して選択されるフレームワーク領域(例えば、Sims et al. J. Immunol. 151:2296(1993)を参照されたい)、軽鎖または重鎖可変領域の特定の下部群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)を参照されたい)、ヒト成熟(体細胞的に変異した)フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系フレームワーク領域(例えば、Almagro and Franssón, Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)を参照されたい)、及びFRライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域(例えば、Bacca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997)及びRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996)を参照されたい)が含まれるが、これらに限定されない。

【0254】

4. ヒト抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で既知の様々な技法を使用して産生することができる。ヒト抗体は、概して、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74(2001)及びLonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459(2008)に記載されている。

【0255】

ヒト抗体は、抗原曝露に応答してインタクトヒト抗体またはヒト可変領域を含むインタクト抗体を産生するように改変されているトランスジェニック動物に、免疫原を投与することによって、調製されてもよい。かかる動物は典型的に、内在性免疫グロブリン遺伝子座を置き換える、または染色体外に存在するか、若しくは動物の染色体中にランダムに組み込まれる、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有する。かかるトランスジェニックマウスにおいて、内在性免疫グロブリン遺伝子座は、概して、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125(2005)を参照されたい。また例えば、XENOMOUSE(商標)技術を記載している米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号、HuMab(登録商標)技術を記載している米国特許第5,770,429号、K-M Mouse(登録商標)技術を記載している米国特許第7,041,870号、ならびにVelociMouse(登録商標)技術を記載している米国特許出願公開第US2007/0061900号を参照されたい。かかる動物によって生成されるインタクト抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、さらに改変されてもよい。

【0256】

ヒト抗体はまた、ハイブリドーマベースの方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髄腫細胞株及びマウス-ヒト異種骨髄腫(heteromyeloma)細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Imm

10

20

30

40

50

unol., 133:3001 (1984)、Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)、及びBoerner et al., J. Immunol., 147:86 (1991)を参照されたい。)ヒトB細胞ハイブリドーマ技術により生成されるヒト抗体もまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)に記載されている。追加の方法としては、例えば、米国特許第7,189,826号(ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)(ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している)に記載されるものが挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術(Trioma technology)は、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005)、及びVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)にも記載されている。

10

【0257】

ヒト抗体はまた、ヒト由来ファージディスプレイライブラリから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成されてもよい。かかる可変ドメイン配列は、次いで、所望のヒト定常ドメインと組み合わせられてもよい。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技法が、以下に記載される。

20

【0258】

5. ライブラリ由来抗体

本発明の抗体は、コンビナトリアルライブラリを、所望の活性(単数または複数)を有する抗体についてスクリーニングすることによって、単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、かかるライブラリを、所望の結合特性を保有する抗体についてスクリーニングするための、多様な方法が当該技術分野で知られている。かかる方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)に概説され、例えば、McCafferty et al., Nature 348:552-554、Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)、Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992)、Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)、Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004)、Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004)、Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004)、及びLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004)にさらに記載されている。

30

40

【0259】

ある特定のファージディスプレイ法では、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12:433-455 (1994)に記載されるように、VH及びVL遺伝子のレポトリを、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローニングし、ファージライブラリ内でランダムに組み換え、次いでそれらを、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは典型的に、一本鎖Fv(scFv)断片として、またはFab断片として抗体断片を提示する。免疫された源からのライブラリは、ハイブリドーマの構築を必要とすることなく、免疫原に対する高親和性抗体

50

を提供する。代替的に、Griffiths et al., EMBO J, 12:725-734 (1993)に記載されるように、ナイーブレパートリーを(例えば、ヒトから)クローニングして、いかなる免疫も伴わずに、広範な非自己抗原及びまた自己抗原に対する単一抗体源を提供することができる。最後に、ナイーブライブラリは、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388 (1992)に記載されるように、再配列されていないV遺伝子セグメントを幹細胞からクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して高度可変CDR3領域をコードし、インビトロで再配列を遂行することによって、合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリを記載する特許公報には、例えば、米国特許第5,750,373号、ならびに米国特許公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号、及び同第2009/0002360号が含まれる。

【0260】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体断片は、本明細書においてヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【0261】

6. 多重特異性抗体

ある特定の実施形態では、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。ある特定の実施形態では、結合特異性の一方は、OX40に対するものであり、他方は、任意の他の抗原に対するものである。ある特定の実施形態では、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。二重特異性抗体をまた使用して、細胞傷害性薬剤を、OX40を発現する細胞に局限させてもよい。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製することができる。

【0262】

多重特異性抗体を作製するための技法には、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組み換え共発現(Milstein and Cuello, Nature 305:537 (1983)、WO93/08829、及びTraunecker et al., EMBO J. 10:3655 (1991)を参照されたい)、及び「ノブインホール(knob-in-hole)」操作(例えば、米国特許第5,731,168号を参照されたい)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ヘテロ二量体分子を作製するために静電式ステアリング効果を操作すること(WO2009/089004A1)、2つ以上の抗体または断片を架橋すること(例えば米国特許第4,676,980、及びBrennan et al., Science, 229:81 (1985)を参照されたい)、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること(例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)を参照されたい)、二重特異性抗体断片を作製するための「ダイアボディ」技術を使用すること(例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照されたい)、及び一本鎖Fv(sFv)二量体を使用すること(例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照されたい)、ならびに例えば、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。

【0263】

「オクトパス(Octopus)抗体」を含む、3つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体もまた、本明細書に含まれる(例えば、US2006/0025576A1を参照されたい)。

【0264】

10

20

30

40

50

本明細書における抗体または断片にはまた、OX40及び別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む、「二重作用(Dual Acting) Fab」または「DAF」も含まれる(例えば、US2008/0069820を参照されたい)。

【0265】

7. 抗体変異型

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列変異型が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び/または他の生物学的特性を向上させることが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列変異型は、抗体をコードするヌクレオチド配列中に適切な修飾を導入することによって、またはペプチド合成によって、調製されてもよい。かかる修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列からの残基の欠失、及び/またはそこへの残基の挿入、及び/またはその中での残基の置換が含まれる。最終構築物に到達するように、欠失、挿入、及び置換を任意で組み合わせることができるが、但し、その最終構築物が、所望の特性、例えば、抗原結合性を保有することを条件とする。

10

【0266】

a) 置換、挿入、及び欠失変異型

ある特定の実施形態では、1つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異型が提供される。置換型変異誘発に対する目的の部位には、HVR及びFRが含まれる。保存的置換は、表Aにおいて、「好ましい置換」の見出しの下に示される。より実質的な変化は、表Aにおいて、「例示的な置換」の見出しの下に提供され、またアミノ酸側鎖クラスを参照して以下にさらに記載される。アミノ酸置換が目的の抗体中に導入され、その産物が、所望の活性、例えば、保持された/向上した抗原結合、減少した免疫原性、または向上したADC C若しくはCDCについて、スクリーニングされてもよい。

20

表 A

原型残基	例示的な置換	好ましい置換
A l a (A)	V a l、L e u、I l e	V a l
A r g (R)	L y s、G l n、A s n	L y s
A s n (N)	G l n、H i s、A s p、L y s、A r g	G l n
A s p (D)	G l u、A s n	G l u
C y s (C)	S e r、A l a	S e r
G l n (Q)	A s n、G l u	A s n
G l u (E)	A s p、G l n	A s p
G l y (G)	A l a	A l a
H i s (H)	A s n、G l n、L y s、A r g	A r g
I l e (I)	L e u、V a l、M e t、A l a、P h e、ノルロイシン	L e u
L e u (L)	ノルロイシン、I l e、V a l、M e t、A l a、P h e	I l e
L y s (K)	A r g、G l n、A s n	A r g
M e t (M)	L e u、P h e、I l e	L e u
P h e (F)	T r p、L e u、V a l、I l e、A l a、T y r	T y r
P r o (P)	A l a	A l a
S e r (S)	T h r	T h r
T h r (T)	V a l、S e r	S e r
T r p (W)	T y r、P h e	T y r
T y r (Y)	T r p、P h e、T h r、S e r	P h e
V a l (V)	I l e、L e u、M e t、P h e、A l a、ノルロイシン	L e u

10

20

30

【0267】

アミノ酸は、次の一般的な側鎖特性に従って分類されてもよい。

40

- (1) 疎水性：ノルロイシン、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e；
- (2) 中性親水性：C y s、S e r、T h r、A s n、G l n；
- (3) 酸性：A s p、G l u；
- (4) 塩基性：H i s、L y s、A r g；
- (5) 鎖の配向に影響を及ぼす残基：G l y、P r o；
- (6) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

【0268】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

【0269】

50

置換型変異型の種類の1つは、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の1つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、さらなる研究のために選択される、結果として生じる変異型（複数可）は、親抗体と比べて、ある特定の生物学的特性における改変（例えば、向上）（例えば、増加した親和性、低減した免疫原性）を有することになり、及び/または親抗体の、実質的に保持されたある特定の生物学的特性を有することになる。例示的な置換型変異型は、例えば、本明細書に記載されるもの等のファージディスプレイベースの親和性成熟技法を使用して、簡便に生成され得る、親和性成熟抗体である。簡潔に述べると、1つ以上のHVR残基を変異させ、変異型抗体をファージ上で提示させ、特定の生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。

【0270】

改変（例えば、置換）をHVRにおいて行って、例えば、抗体親和性を向上させてもよい。かかる改変は、HVR「ホットスポット」、すなわち体細胞成熟プロセスの間、高頻度で変異を経験するコドンによりコードされる残基（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207: 179-196 (2008)を参照されたい）、及び/または、抗原に接触する残基において作製されてもよく、結果として生じる変異型VHまたはVLが、結合親和性について試験される。二次ライブラリを構築し、そこから再選択することによる親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., 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形態では、多様性が、多様な方法（例えば、エラープロードPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性変異誘発）のうちのいずれかによって、成熟のために選定された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリが作り出される。次いでこのライブラリは、所望の親和性を有する任意の抗体変異型を特定するために、スクリーニングされる。多様性を導入するための別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、1回につき4~6個の残基）がランダム化される、HVR指向性アプローチを伴う。抗原結合に關与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを使用して、具体的に特定され得る。特に、CDR-H3及びCDR-L3が標的とされることが多い。

【0271】

ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、かかる改変が、抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減させない限り、1つ以上のHVR内で生じてもよい。例えば、結合親和性を実質的に低減させない保存的改変（例えば、本明細書に提供される保存的置換）が、HVR内で行われてもよい。かかる改変は、例えば、HVR内の抗原接触残基の外側にあってもよい。上記に提供された変異型VH及びVL配列のある特定の実施形態では、各HVRは、未改変であるか、またはわずか1つ、2つ、若しくは3つのアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。

【0272】

変異誘発のための標的とされ得る抗体の残基または領域の特定の目的のための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244: 1081-1085に記載される、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれるものである。この方法では、標的残基（例えば、arg、asp、his、lys、及びglu等の荷電残基）のうちのある残基または基を特定し、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）に置き換えて、抗体の抗原との相互作用が影響を受けるかどうかを判定する。さらなる置換が、最初の置換に対する機能的感度を示すアミノ酸の場所に導入されてもよい。代替的に、または追加的に、抗体と抗原との間の接触点を特定するための抗原-抗体複合体の結晶構造。かかる接触残基及び隣接する残基は、置換の候補として標的とされるか、または排除されてもよい。変異型をスクリーニングして、それらが所望の特性を含有するかどうかを判定してもよい。

【0273】

アミノ酸配列挿入には、1個の残基から100個以上の残基を含有するポリペプチドの

10

20

30

40

50

範囲の長さである、アミノ末端融合及び/またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内 (i n t r a s e q u e n c e) 挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型変異型には、抗体の血清中半減期を増加させる酵素 (例えば、A D E P Tのための) またはポリペプチドに対する抗体のN末端若しくはC末端への融合が含まれる。

【0274】

b) グリコシル化変異体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が作り出されるか、または除去されるように、アミノ酸配列を改変することによって、簡便に遂行され得る。

10

【0275】

抗体がFc領域を含む場合、そこに結合した炭水化物が改変されてもよい。哺乳類細胞によって産生される天然抗体は、典型的に、概してN-結合によってFc領域のCH2ドメインのAsn297に結合される、分岐した二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照されたい。オリゴ糖類には、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、ならびに二分岐オリゴ糖類構造の「幹」においてGlcNAcに結合したフコースが含まれる。いくつかの実施形態では、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、ある特定の向上した特性を有する抗体変異型を作り出すために行われてもよい。

20

【0276】

一実施形態では、Fc領域に (直接的にまたは間接的に) 結合されるフコースを欠いた炭水化物構造を有する、抗体変異型が提供される。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、1%~80%、1%~65%、5%~65%、または20%~40%であってもよい。フコースの量は、例えば、WO2008/077546に記載されるように、MALDI-TOF質量分析法によって測定される、Asn297に結合した全ての糖鎖構造 (例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造) の合計と比較した、Asn297における糖鎖内のフコースの平均量を算出することによって決定される。Asn297は、Fc領域における約297位 (Fc領域残基のEu付番) に位置するアスパラギン残基を指すが、Asn297はまた、抗体における小規模な配列変異に起因して、297位から約±3アミノ酸上流または下流、すなわち、294位~300位の間に位置してもよい。かかるフコシル化変異型は、向上したADCC機能を有し得る。例えば、米国特許公開第US2003/0157108号 (Presta, L.)、同第US2004/0093621号 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異型に関連する刊行物の例としては、US2003/0157108、WO2000/61739、WO2001/29246、US2003/0115614、US2002/0164328、US2004/0093621、US2004/0132140、US2004/0110704、US2004/0110282、US2004/0109865、WO2003/085119、WO2003/084570、WO2005/035586、WO2005/035778、WO2005/053742、WO2002/031140、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損したLec13 CHO細胞 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986))、米国特許出願第US2003/0157108A1号 (Presta, L.)、及びWO2004/056312A1 (Adams et al.) (特に実施例11における)、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CH

30

40

50

O細胞等のノックアウト細胞株（例えば、Yamane - Ohnuki et al. *Biootech. Bioeng.* 87:614 (2004)、Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)、及びWO2003/085107を参照されたい）が挙げられる。

【0277】

例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖類がGlcNAcによって二分される、二分されたオリゴ糖類を有する抗体変異型がさらに提供される。かかる抗体変異型は、低減したフコシル化及び/または向上したADCC機能を有し得る。かかる抗体変異型の例は、例えば、WO2003/011878 (Jean - Mairet et al.)、米国特許第6,602,684 (Umana et al.)、及びUS2005/0123546 (Umana et al.)に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖類において少なくとも1つのガラクトース残基を有する、抗体変異型もまた提供される。かかる抗体変異型は、向上したCDC機能を有し得る。かかる抗体変異型は、例えば、WO1997/30087 (Patel et al.)、WO1998/58964 (Raju, S.)、及びWO1999/22764 (Raju, S.)に記載されている。

10

【0278】

c) Fc領域変異体

ある特定の実施形態では、1つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のFc領域に導入され、それによりFc領域変異型を生成することができる。Fc領域変異型は、1つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含む、ヒトFc領域配列（例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域）を含んでもよい。

20

【0279】

ある特定の実施形態では、本発明は、全部ではなくいくつかのエフェクター機能を保有し、それにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、ある特定のエフェクター機能（補体及びADCC等）が不必要または有害である用途に関して望ましい候補となる、抗体変異型を企図する。インビトロ及び/またはインビボ細胞傷害性アッセイを実施して、CDC及び/またはADCC活性の低減/枯渇を確認することができる。例えば、Fc受容体 (FcR) 結合アッセイを実施して、抗体がFcR結合を欠いている（よって、ADCC活性を欠いている可能性が高い）が、FcRn結合能力を保持していることを確実にすることができる。ADCCを媒介するための主要な細胞であるNK細胞はFc (RIII)のみを発現するが、一方で単球はFc (RI、Fc (RII)、及びFc (RIII)を発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)の464頁の表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362（例えば、Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)を参照されたい）及びHellstrom, I. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)、同第5,821,337号 (Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)を参照されたい）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てもよい（例えば、フローサイトメトリーのためのACTI (商標)非放射性細胞傷害性アッセイ (Cell Technology, Inc. Mountain View, CA、及びCytotox 96 (登録商標)非放射性細胞傷害性アッセイ (Promega, Madison, WI)を参照されたい。かかる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、または追加的に、目的の分子のADCC活性は、インビボで、例えば、Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)に開示されるもの等の動物モデルにおいて

30

40

50

、インビボで評価されてもよい。また、C1q結合アッセイを行って、抗体がC1qに結合不可能であり、よってCDC活性を欠いていることを確認してもよい。例えば、WO2006/029879及びWO2005/100402におけるC1q及びC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを実施してもよい（例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)、Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003)、及びCragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照されたい）。FcRn結合及びインビボクリアランス/半減期の判定も、当該技術分野で既知の方法を使用して行うことができる（例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照されたい）。

【0280】

いくつかの実施形態では、抗体は、Fc受容体への結合を減少させる変異を有するFc領域を含む。低減したエフェクター機能を有する抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、及び329のうちの一つ以上の置換を有するものが含まれるが、これらに限定されない（米国特許第6,737,056号）。かかる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変異体を含む、アミノ酸265位、269位、270位、297位、及び327位のうちの一つ以上における置換を有するFc変異体が含まれる（米国特許第7,332,581号）。

【0281】

FcRに対する向上または減少した結合性を有する、ある特定の抗体変異型が記載される。（例えば、米国特許第6,737,056号、WO2004/056312、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001)を参照されたい。）

【0282】

ある特定の実施形態では、抗体変異型は、ADCCを改善する一つ以上のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298位、333位、及び/または334位（残基のEU付番）における置換を有するFc領域を含む。

【0283】

いくつかの実施形態では、改変はFc領域内で行われ、例えば、米国特許第6,194,551号、WO99/51642、及びIdusogie et al., J. Immunol. 164:4178-4184 (2000)に記載されるように、改変された（すなわち、改善したかまたは減少したかのいずれか）C1q結合性及び/または補体依存性細胞傷害（CDC）をもたらす。

【0284】

胎児への母性IgGsの移動を引き起こす、増加した半減期及び新生児Fc受容体（FcRn）への改善された結合を有する抗体（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及びKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)）は、US2005/0014934A1（Hinton et al.）に記載されている。これらの抗体は、FcRnに対するFc領域の結合性を向上させる一つ以上の置換をその中に有するFc領域を含む。かかるFc変異形には、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、または434のうちの一つ以上における置換、例えば、Fc領域残基434の置換を有するものが含まれる（米国特許第7,371,826号）。

【0285】

Fc領域変異型の他の例に関しては、Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988)、米国特許第5,648,260号、米国特許第5,6

24, 821号、及びWO94/29351も参照されたい。

【0286】

d) システイン操作された抗体変異体

ある特定の実施形態では、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作された抗体、例えば、「チオマブ(thioMAb)」を作り出すことが望ましい場合がある。具体的な実施形態では、置換残基は、抗体の利用しやすい部位において生じる。これらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基がそれにより抗体の利用しやすい部位に位置付けられ、それを使用して、薬物部分またはリンカー-薬物部分等の他の部分に抗体を複合して、本明細書にさらに記載される免疫複合体を作り出してもよい。ある特定の実施形態では、以下の残基、軽鎖のV205(Kabat付番)、重鎖のA118(EU付番)、及び重鎖Fc領域のS400(EU付番)のうちの任意の1つ以上が、システインで置換されてもよい。システイン操作された抗体は、例えば、米国特許第7,521,541号に記載されるように生成され得る。

10

【0287】

e) 抗体誘導体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、当該技術分野で既知であり、かつ容易に入手可能な、追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾されてもよい。抗体の誘導体化に好適な部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、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コポリマー、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-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸(ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか)、及びデキストランまたはポリ(n-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、プロプロピレン(propylene)グリコールホモポリマー、プロリプロピレン(prolypropylene)オキシド/エチレンオキシドコポリマー、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、ならびにそれらの混合物が挙げられるが、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、水中でのその安定性により、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであってもよく、分岐していても非分岐であってもよい。抗体に結合したポリマーの数は様々であり得、1つを超えるポリマーが結合される場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び/または種類は、向上させるべき抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定の条件下で療法において使用されるかどうか等を含むがこれらに限定されない検討事項に基づいて決定することができる。

20

30

【0288】

別の実施形態では、放射線への曝露によって選択的に加熱されてもよい、抗体と非タンパク質性部分との複合体が提供される。一実施形態では、非タンパク質性部分は、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、任意の波長のものであってもよく、これには、一般の細胞を害さないが、抗体-非タンパク質性部分に近位の細胞が殺滅される温度まで非タンパク質性部分を加熱する波長が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0289】

組み換え方法及び組成物

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されるもの等の組み換え方法及び組成物を使用して産生され得る。一実施形態では、本明細書に記載される抗OX40抗体をコードする単離核酸が提供される。かかる核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び/またはVHを含むアミノ酸配列(例えば、抗体の軽鎖及び/または重鎖)をコードし得る。さらなる実施形態では、かかる核酸を含む1つ以上のベクター(例えば、発現ベクター)が提供される。さらなる実施形態では、かかる核酸を含む宿主細胞が提供される

50

。1つのかかる実施形態では、宿主細胞は、(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、または(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1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2のベクターを含む(例えば、それらで形質転換されている)。一実施形態では、宿主細胞は、真核性、例えば、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞またはリンパ系細胞(例えば、Y0、NS0、Sp20細胞)である。一実施形態では、抗OX40抗体を作製する方法が提供され、本方法は、上記抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意で、抗体を宿主細胞(または宿主細胞培養培地)から回収することを含む。

【0290】

抗OX40抗体の組み換え産生のために、例えば、上述のもの等の、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニング及び/または発現のために、1つ以上のベクター中に挿入される。かかる核酸は、従来の手順を使用して(例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能である、オリゴヌクレオチドプローブを使用することによって)、容易に単離され、配列決定され得る。

【0291】

抗体コードベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、本明細書に記載される原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、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に、細菌において産生されてもよい。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現に関して、例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号、及び同第5,840,523号を参照されたい。(また、大腸菌における抗体断片の発現を記載する、Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254も参照されたい。)発現後、抗体は、可溶性画分において細菌細胞ペーストから単離されてもよく、またさらに精製されてもよい。

【0292】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母等の真核微生物は、抗体コードベクターに好適なクローニングまたは発現宿主であり、それには、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌及び酵母株が含まれる。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414 (2004)、及びLi et al., *Nat. Biotech.* 24: 210-215 (2006)を参照されたい。

【0293】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、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としては、植物及び昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞と併せて、特にスポドプテラフルギペルダ(*Spodoptera frugiperda*)細胞のトランスフェクションのために使用され得る、多数のバキュロウイルス株が特定されている。

【0294】

植物細胞培養物もまた、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、及び同第6,417,429号(トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES(商標)技術を記載している)を参照されたい。

【0295】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用され得る。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳類細胞株が、有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40により形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7);ヒト胚性腎臓株(例えば、Graham et al., *J. Gen. Virol.* 36: 59 (1977)に記載

10

20

30

40

50

される293または293細胞)；ベビーハムスター腎臓細胞(BHK)；マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251(1980)に記載される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(HELA)；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(Hep G2)；マウス乳房腫瘍(MMT 060562)；例えば、Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68(1982)に記載されるTRI細胞；MRC 5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳類宿主細胞株には、DHFR-CHO細胞(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216(1980))を含むチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、ならびにY0、NS0、及びSp2/0等の骨髄腫細胞株が含まれる。抗体産生にとって好適なある特定の哺乳動物宿主細胞株の概説に関して、例えばYazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248(B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268(2003)を参照されたい。

【0296】

アッセイ

本明細書に提供される抗OX40抗体は、それらの物理的/化学的特性及び/または生物活性について、当該技術分野で既知の様々なアッセイによって、特定され、スクリーニングされ、または特徴付けられてもよい。

【0297】

1. 結合アッセイ及び他のアッセイ

一態様において、本発明の抗体は、例えば、ELISA、ウェスタンブロット等の既知の方法によって、その抗原結合活性について試験される。OX40結合性は、当該技術分野で既知の方法を使用して決定されてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。一実施形態では、結合性は、放射免疫測定法を使用して測定される。例示的な放射免疫測定法は、実施例において例証される。OX40抗体をヨウ素化し、一定濃度のヨウ素化抗体及び減少した濃度の連続希釈された非標識OX40抗体を含有する競合反応混合物を調製する。OX40を発現する細胞(例えば、ヒトOX40で安定的にトランスフェクトされたBT474細胞)を、反応混合物に付加する。インキュベーションに続いて、細胞を洗浄し、遊離ヨウ素化OX40抗体を、細胞に結合したOX40抗体から分離する。例えば、細胞に関連する放射能を計数することによって結合したヨウ素化OX40抗体のレベルが決定され、標準的な方法を使用して結合親和性が決定される。別の実施形態では、OX40抗体の表面発現OX40に結合する(例えば、T細胞サブセット上で)能力を、フローサイトメトリーを使用して評価する。末梢血白血球が得られ(例えば、ヒト、カニクイザル、ラット、またはマウスから)、細胞は血清で遮断される。標識OX40抗体を連続希釈物内に付加し、T細胞サブセットを特定する(当該技術分野で既知の方法を使用して)ためにT細胞もまた染色する。試料のインキュベーション及び洗浄に続いて、フローサイトメーターを使用して細胞を分類し、当該技術分野で周知の方法を使用してデータを分析する。別の実施形態では、表面プラズモン共鳴を使用してOX40結合性を分析してもよい。例示的な表面プラズモン共鳴方法は、実施例において例証される。

【0298】

別の態様において、競合アッセイを使用して、本明細書に開示されるOX40への結合のための抗OX40抗体のいずれかと競合する抗体を特定してもよい。ある特定の実施形態では、かかる競合抗体は、本明細書に開示される抗OX40抗体のいずれかによって結合される、同じエピトープ(例えば、直線状または立体配座エピトープ)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な方法は、Methods in Molecular Biology vol. 66(Humana Press, Totowa, NJ)におけるMorris(1996)「Epitope Mapping Protocols」に提供されている。競合アッセイは、実施例において例

10

20

30

40

50

証される。

【0299】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化されたOX40を、OX40に結合する第1の標識抗体（例えば、mab 1A7.gr.1、mab 3C8.gr5）、及びOX40への結合について第1の抗体と競合する能力について試験されている第2の非標識抗体を含む溶液中でインキュベートする。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたOX40を、第1の標識抗体を含むが第2の非標識抗体を含まない溶液中でインキュベートする。第1の抗体のOX40への結合を許容する条件下でのインキュベーションの後、過剰な非結合抗体を除去し、固定化されたOX40に関連する標識の量を測定する。固定化されたOX40に関連する標識の量が、対照試料と比較して試験試料中で実質的に低減される場合、それは、第2の抗体がOX40への結合について第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY) を参照されたい。

10

【0300】

2. 活性アッセイ

一態様において、生物活性を有する抗OX40抗体を特定するためのアッセイが提供される。生物活性には、例えば、OX40を結合すること（例えば、ヒト及び/またはカニクイザルOX40を結合する）、OX40媒介シグナル伝達（例えば、NFκB媒介性転写）を増加させること、ヒトOX40を発現する細胞（例えば、T細胞）を枯渇させること、ADCC及び/または食作用によってヒトOX40を発現する細胞を枯渇させること、例えばエフェクターT細胞増殖を増加させる及び/またはエフェクターT細胞によるサイトカイン産生（例えば、ガンマインターフェロン）を増加させることでTEフェクター細胞機能（例えば、CD4+エフェクターT細胞）を増強すること、例えばメモリーT細胞増殖を増加させる及び/またはメモリーT細胞によるサイトカイン産生（例えば、ガンマインターフェロン）を増加させることでメモリーT細胞機能（例えば、CD4+メモリーT細胞）を増強すること、制御性T細胞機能を阻害すること（例えば、エフェクターT細胞機能（例えば、CD4+エフェクターT細胞機能）のTreg抑制を減少させることによって）、ヒトエフェクター細胞を結合することが含まれる。インビボ及び/またはインビトロでかかる生物活性を有する抗体もまた提供される。

20

30

【0301】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、かかる生物活性に関して試験される。

【0302】

T細胞共刺激は、当該技術分野で既知の方法を使用してアッセイされてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。例えば、T細胞（例えば、メモリーまたはエフェクターT細胞）を、末梢白血球（例えば、フィコール比重遠心法を使用してヒト全血から単離された）から得てもよい。メモリーT細胞（例えば、CD4+メモリーT細胞）またはエフェクターT細胞（例えば、CD4+ Tef f細胞）は、当該技術分野で既知の方法を使用してPBM Cから単離され得る。例えば、Milt eny iのCD4+メモリーT細胞単離キットまたはMilt eny iのナイーブCD4+ T細胞単離キットを使用してもよい。単離したT細胞を、抗原提示細胞（例えば、CD32及びCD80を発現する照射L細胞）の存在下で培養し、OX40アゴニスト抗体の存在または不在下で抗CD3抗体の付加により活性化させる。T細胞増殖へのアゴニストOX40抗体の効果は、当該技術分野で既知の方法を使用して測定され得る。例えば、Cell Titer Gloキット（Promega）を使用してもよく、その結果をMultilabel Reader（Perkin Elmer）上に読み込む。T細胞機能へのアゴニストOX40抗体の効果もまた、T細胞によって産生されたサイトカインの分析によって決定され得る。一実施形態では、CD4+ T細胞によるインターフェロンガンマの産生は、例えば、細胞培養液上清中のインターフェロンガンマの測定によって決定される。インターフェロンガン

40

50

マを測定する方法は、当該技術分野において周知である。

【0303】

Treg細胞機能は、当該技術分野で既知の方法を使用してアッセイされてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。一例において、TregのエフェクターT細胞増殖を抑制する能力がアッセイされる。T細胞は、当該技術分野で既知の方法を使用してヒト全血から単離される（例えば、メモリーT細胞またはナイーブT細胞を単離する）。精製されたCD4+ナイーブT細胞は標識され（例えば、CFSEを用いて）、精製されたTreg細胞は異なる試薬を用いて標識される。照射抗原提示細胞（例えば、CD32及びCD80を発現するL細胞）は、標識された精製ナイーブCD4+T細胞及び精製Tregと共培養される。共培養物は、抗CD3抗体を使用して活性化され、アゴニストOX40抗体の存在及び不在下で試験される。好適な時間（例えば、6日間の共培養）の後、CD4+ナイーブT細胞増殖のレベルが、低減した標識染色（例えば、低減したCFSE標識染色）においてFACS分析を使用して色素希釈によって記録される。

10

【0304】

OX40シグナル伝達は、当該技術分野で周知の方法を使用してアッセイされてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。一実施形態では、ヒトOX40を発現するトランスジェニック細胞が生成され、レポーター遺伝子は、レポーター遺伝子に融合したNFkBプロモーターを含む（例えば、ベータルシフェラーゼ）。OX40アゴニスト抗体の細胞への付加は、増加したNFkB転写をもたらし、それはレポーター遺伝子のためのアッセイを使用して検出される。

20

【0305】

食作用は、例えば、単球由来マクロファージまたはU937細胞（成熟マクロファージの形態論及び特性を有するヒト組織球性リンパ腫細胞株）を使用してアッセイされてもよい。OX40発現細胞は、抗OX40アゴニスト抗体の存在または不在下で、単球由来マクロファージまたはU937細胞に付加される。好適な期間に亘る細胞の培養に続いて、1)マクロファージまたはU937細胞、及び2)OX40発現細胞のマーカーの染色が倍になった細胞の割合を考察し、これを、OX40発現細胞（例えば、GFP）のマーカーを示す細胞の総数で割ることで、食作用の割合が決定される。分析は、フローサイトメトリーによって行ってもよい。別の実施形態では、分析は、蛍光顕微鏡分析によって行ってもよい。

30

【0306】

ADCCは、例えば、当該技術分野で周知の方法を使用してアッセイしてもよい。例示的な方法は、定義の段落に記載され、例示的なアッセイは、実施例に開示されている。いくつかの実施形態では、OX40のレベルは、ADCCアッセイにおいて試験に使用されるOX40発現細胞上に特徴付けられる。細胞を、検出可能に標識された抗OX40抗体（例えば、PE標識）で染色してもよく、次いで、フローサイトメトリーを使用して蛍光レベルが決定され、その結果は、蛍光強度中央値(MFI)として提示される。別の実施形態では、ADCCをCellTiter Gloアッセイキットで分析してもよく、細胞生存率/細胞傷害性は、化学発光によって決定され得る。

【0307】

様々な抗体のFcRIIA、FcRIIA、FcRIIB、及びFcRIIIAの2つのアロタイプ(F158及びV158)への結合親和性は、それぞれの組み換えFc受容体を使用したELISAベースのリガンド結合アッセイによって測定され得る。精製されたヒトFc受容体は、C末端でGly/6xHis/グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)ポリペプチドタグと結合する受容体鎖の細胞外ドメインを含有する融合タンパク質として発現する。抗体のこれらのヒトFc受容体への結合親和性は、次のようにアッセイされる。低親和性受容体、すなわち、FcRIIA(CD32A)、FcRIIB(CD32B)、ならびにFcRIIIA(CD16)の2つのアロタイプであるF-158及びV-158について、抗体は、抗体対架橋F(ab')₂が1:3である適切なモル比でヤギ抗ヒトカッパ鎖のF(ab')₂断片(ICNBi

40

50

omedical; Irvine, CA)と架橋することにより、多量体として試験されてもよい。プレートは、抗GST抗体(Genentech)でコーティングされ、ウシ血清アルブミン(BSA)で遮断されている。ELx405(商標)プレートウォッシャー(Biotek Instruments; Winoski, VT)と共に、0.05%のTween-20を含有するリン酸緩衝食塩水(PBS)で洗浄した後、Fc受容体を25ng/ウェルでプレートに付加し、室温で1時間、インキュベートする。プレートを洗浄した後、試験抗体の連続希釈物を多量体複合体として付加し、プレートを室温で2時間、インキュベートする。非結合抗体を除去するためのプレート洗浄に続いて、Fc受容体に結合する抗体が、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)で複合されたヤギ抗ヒトF(ab')₂のF(ab')₂断片(Jackson ImmunoResearch Laboratories; West Grove, PA)によって検出され、続いて、基質であるテトラメチルベンジジン(TMB)(Kirkegaard & Perry Laboratories; Gaithersburg, MD)を付加した。発色を可能にするため、プレートを、試験されるFc受容体に応じて5~20分間、室温でインキュベートした。反応は1M H₃PO₄で停止し、450nmの吸光度がマイクロプレートリーダー(SpectraMax(登録商標)190, Molecular Devices; Sunnyvale, CA)で測定された。2連の抗体希釈物の吸光度の平均値を抗体濃度に対してプロットすることで用量反応結合曲線が生成される。Fc受容体への結合からの最大応答の50%が検出された抗体の有効濃度(EC₅₀)の値は、SoftMax Pro(Molecular Devices)を使用して結合曲線を4

【0308】

細胞死を誘発する抗体を選択するために、例えば、ヨウ化プロピジウム(PI)、トリパンブルー、または7AADの取り込みによって示される膜統合性の喪失が、参照と比べて評価されてもよい。PI取り込みアッセイは、補体及び免疫エフェクター細胞の不在下で行うことができる。OX40発現細胞を、培地のみ、または例えば約10µg/mlの適切なモノクローナル抗体を含有する培地でインキュベートする。細胞を、一定期間(例えば、1日または3日)に亘ってインキュベートする。各処置に続いて、細胞を洗浄し、分取する。いくつかの実施形態では、細胞集塊の除去のために、細胞を、35mmストレーナでキャッピングされた12×75チューブ(チューブ毎に1ml、処置グループ毎に3チューブ)に分取する。次いで、チューブはPI(10µg/ml)を受容する。試料を、FACSCAN(商標)フローサイトメーター及びFACSCONVERT(商標)CellQuestソフトウェア(Becton Dickinson)を使用して分析してもよい。

【0309】

上記のインビトロアッセイのいずれかにおける使用のための細胞には、OX40を天然に発現する、またはOX40を発現するように操作された細胞または細胞株が含まれる。かかる細胞には、OX40を天然に発現する活性化T細胞、Treg細胞、及び活性化メモリーT細胞が含まれる。かかる細胞にはまた、OX40を発現する細胞株、及びOX40を通常発現しないがOX40をコードする核酸をトランスフェクトされた細胞株も含まれる。本明細書に提供される、上記のインビトロアッセイのいずれかにおける使用のための例示的な細胞株には、ヒトOX40を発現するトランスジェニックBT474細胞(ヒト乳がん細胞株)が含まれる。

【0310】

上記のアッセイはいずれも、抗OX40抗体の代わりに、またはそれに加えて、本発明の免疫複合体を使用することができることが理解される。

【0311】

上記のアッセイはいずれも、抗OX40抗体及び追加の治療剤を使用することができることが理解される。

【0312】

10

20

30

40

50

免疫複合体

本発明はまた、化学療法剤または化学療法薬、成長阻害剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌真菌、植物、若しくは動物起源の酵素活性毒素、またはそれらの断片）、若しくは放射性同位体等の1つ以上の細胞傷害性薬剤と複合された本明細書における抗OX40抗体を含む、免疫複合体を提供する。

【0313】

一実施形態では、免疫複合体は、マイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号、及び欧州特許第EP0425235 B1号を参照されたい）；モノメチルオーリスタチン薬物部分DE及びDF（MMAE及びMMAF）等のオーリスタチン（米国特許第5,635,483号、及び同第5,780,588号、及び同第7,498,298号を参照されたい）；ドラスタチン；カリケアマイシンまたはその誘導体（米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,710号、同第5,773,001号、及び同第5,877,296、Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)、ならびにLode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)を参照されたい）；ダウノマイシンまたはドキソルピシン等のアントラサイクリン（Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006)、Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006)、Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005)、Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000)、Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002)、King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)、及び米国特許第6,630,579号を参照されたい）；メトレキサート；ビンデシン；ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル（larotaxel）、テセタキセル（tesetaxel）、及びオルタタキセル（ortataxel）等のタキサン；トリコテセン；ならびにCC1065を含むがこれらに限定されない、1つ以上の薬物に抗体が複合された抗体-薬物複合体（ADC）である。

【0314】

別の実施形態では、免疫複合体は、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖（緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）由来）、リシンA鎖、アプリンA鎖、モデシンA鎖、アルファ-サルシン、シナアブラギリ（*Aleurites fordii*）タンパク質、ジアンシンタンパク質、アメリカヤマゴボウ（*Phytolacca americana*）タンパク質（PAPI、PAPII、及びPAP-S）、ニガウリ（*Momordica charantia*）阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ（*Saponaaria officinalis*）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、及びトリコテセンを含むがこれらに限定されない酵素活性毒素またはその断片に複合された、本明細書に記載される抗体を含む。

【0315】

別の実施形態では、免疫複合体は、放射性原子に複合されて放射性複合体を形成する、本明細書に記載される抗体を含む。多様な放射性同位体が、放射性複合体の作製のために利用可能である。例としては、At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212、及びLuの放射性同位体が挙げられる。放射性複合体が検出のために使用されるとき、それは、シンチグラフィ-研究のための放射性原子、例えばtc99m若しくはI123、または核磁気共鳴（NMR）画像法（磁気共鳴画像法、mriとしても知られる）のためのスピン標識、例えば、再びヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、

10

20

30

40

50

窒素 - 15、酸素 - 17、ガドリニウム、マンガン、若しくは鉄を含んでもよい。

【0316】

抗体及び細胞傷害性薬剤の複合体は、N - スクシンイミジル - 3 - (2 - ピリジルジチオ)プロピオネート (SPDP)、スクシンイミジル - 4 - (N - マレイミドメチル)シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート (SMCC)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの二官能性誘導体 (アジプイミド酸ジメチルHCl等)、活性エステル (スベリン酸ジスクシンイミジル等)、アルデヒド (グルタルアルデヒド等)、ビス - アジド化合物 (ビス (p - アジドベンゾイル)ヘキサジアミン等)、ビス - ジアゾニウム誘導体 (ビス - (p - ジアゾニウムベンゾイル) - エチレンジアミン等)、ジイソシアネート (トルエン2,6 - ジイソシアネート等)、及びビス - 活性フッ素化合物 (1,5 - ジフルオロ - 2,4 - ジニトロベンゼン等)等の多様な二官能性タンパク質結合薬剤を使用して作製されてもよい。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されるように調製され得る。炭素 - 14 - 標識された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を抗体に複合させるための、例示的なキレート剤である。WO94/11026を参照されたい。リンカーは、細胞内の細胞傷害性薬物の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であってもよい。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、感光性リンカー、ジメチルリンカー、またはジスルフィド含有リンカー (Charl et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992)、米国特許第5,208,020号)を使用してよい。

10

20

【0317】

本明細書のイムヌオ複合体またはADCは、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIA B、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ - EMCS、スルホ - GMBS、スルホ - KMUS、スルホ - MBS、スルホ - SIA B、スルホ - SMCC、及びスルホ - SMPB、ならびに市販される (例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aから)SVSB (スクシンイミジル - (4 - ビニルスルホン)ベンゾエート)を含むがこれらに限定されない、架橋剤試薬で調製されたかかる複合体を明白に企図するが、これらに限定されない。

【0318】

IV. 予測及び予後の方法

対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含有する試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定し、参照と比較して、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数に基づいて、対象の予後を判定することによってがんを有する対象の予後を判定する方法が本明細書に提供され、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加は、対象が予後の改善を有し得ることを示す。これらの方法は、腫瘍試料におけるCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球 (すなわちOX40 + Treg細胞)の発生率の増加が、患者の予後の改善と相関するという、本明細書に記載される発見に部分的に基づく。対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含有する試料中のCD4 + リンパ球、OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数を測定し、参照と比較して、試料中のOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数に基づいて対象の予後を判定することによってがんを有する対象の予後を判定する方法が本明細書にさらに提供され、試料中のOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数の増加は、対象が予後の改善を有し得ることを示す。これらの方法は、腫瘍試料におけるCD4 + リンパ球、全OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球 (すなわちOX40 + Treg細胞)、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球 (すなわちOX40 + Tef細胞)の発生率の増加が、患者の予後の改善と相関し、かつこれらのリンパ球サブタイ

30

40

50

ブの各々の発生率が、対象からの一致した原発性腫瘍及び転移性試料において強く相関するという、本明細書に記載される発見に部分的に基づく。

【0319】

本開示の特定の態様は、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数の測定に関する。いくつかの実施形態では、試料は、がん細胞及びリンパ球を含んでもよい。例えば、試料は、腫瘍試料でもよい。腫瘍試料には、がん細胞、リンパ球、白血球、間質、血管、結合組織、基底膜、及び腫瘍に関連する任意の他の細胞型が含まれ得る。試料は、生検、内視鏡検査、または外科的処置を含むがこれらに限定されない、当該技術分野において既知の任意の方法によって対象から得られてもよい。いくつかの実施形態では、試料は、冷凍、固定（例えば、ホルマリンまたは同様の固定剤を使用することによる）、及び/またはパラフィンワックスで包埋等の方法によって調製され得る。いくつかの実施形態では、試料は、切開されてもよい。

10

【0320】

いくつかの実施形態では、腫瘍中のCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数が、測定される。いくつかの実施形態では、転移性腫瘍中のOX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球の数が、測定される。上記のケースのうちのいずれかまたは全てにおいて、リンパ球は、腫瘍浸潤性リンパ球でもよい。本明細書で使用される場合、腫瘍に関連するいかなるリンパ球も、腫瘍浸潤性リンパ球であり得る。いくつかの実施形態では、腫瘍浸潤性リンパ球は、腫瘍中のがん細胞と関連付けられ得る。いくつかの実施形態では、腫瘍浸潤性リンパ球は、腫瘍間質と関連付けられ得る。

20

【0321】

本明細書で使用される場合、CD4+OX40+Foxp3+細胞（例えば、リンパ球または白血球）は、参照と比較してCD4の発現の増加、参照と比較してOX40の発現の増加、及び参照と比較してFoxp3の発現の増加を有するあらゆる細胞を指してもよい。本明細書で使用される場合、CD4+OX40+Foxp3-細胞（例えば、リンパ球または白血球）は、参照と比較してCD4の発現の増加、参照と比較してOX40の発現の増加、及び参照と比較してFoxp3の発現の減少を有するあらゆる細胞を指してもよい。本明細書で使用される場合、OX40+細胞（例えば、リンパ球または白血球）は、参照と比較してOX40の発現の増加を有するあらゆる細胞を指し得る。「と比較して（compared with）」及び「と比較して（compared to）」という表現は、本明細書において互換的に使用され得る。いくつかの実施形態では、発現は、タンパク質発現を指してもよい。いくつかの実施形態では、発現は、mRNA発現を指してもよい。

30

【0322】

いくつかの実施形態では、腫瘍は、複数のがん細胞、例えば本明細書に記載されるがんのいずれかの特徴を示す細胞を含有する物理的な塊を指し得る。腫瘍の例としては、上記の種類のがんのいずれかの原発性腫瘍、または上記の種類のがんのいずれかに由来する第2の部位における転移性腫瘍を挙げてもよい。いくつかの実施形態では、腫瘍は、がん細胞及び腫瘍間質を含有してもよい。

40

【0323】

いくつかの実施形態では、腫瘍切片内に、目的の領域が特定され得る。目的の領域は、分析のために選択された腫瘍切片の任意サブセットを指してもよい。いくつかの実施形態では、目的の領域は、腫瘍切片の一部を含んでもよく、これは、がん細胞、リンパ球、及び、任意に、腫瘍間質を含んでもよい。リンパ球は、がん細胞及び/または腫瘍間質と関連付けられ得る。いくつかの実施形態では、（例えば、主要な腫瘍及び付随の腫瘍（satellite mass）が認められた場合）試料からの目的の2つ以上の領域が、分析されてもよい。

【0324】

50

CD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現レベルは、参照と比較されてもよい。目的の遺伝子またはタンパク質の発現レベルを、参照と比較する多くの方法が、当該技術分野で既知である。例えば、いくつかの実施形態では、参照は、(例えば、OX40アゴニストを用いた)治療に対する既知の応答性を有する腫瘍の発現レベル若しくは予後、対照(例えば、ハウスキーピングバイオマーカーの発現レベル)、または参照数値(例えば、臨床転帰データに基づく閾値等の発現の設定された閾値レベル)でもよい。いくつかの実施形態では、参照との比較は、参照数値(例えば、所定の発現レベル)との比較、または参照試料との比較を指してもよい。

【0325】

いくつかの実施形態では、細胞における目的の遺伝子またはタンパク質(例えば、CD4、OX40、及び/またはFoxp3)の発現レベルを、該試料中の他の細胞の目的の遺伝子の発現レベルと比較してもよい。例えば、試料は、目的の遺伝子またはタンパク質(例えば、CD4、OX40、及び/またはFoxp3)の発現レベルに関してアッセイされてもよく、該試料中の他の細胞と比較して、目的の遺伝子またはタンパク質の発現の増加を示す細胞が、目的の遺伝子またはタンパク質の発現に対して「陽性」であると見なされてもよい。いくつかの実施形態では、試料は、目的の遺伝子またはタンパク質(例えば、CD4、OX40、及び/またはFoxp3)の発現レベルに関してアッセイされてもよく、発現レベルのグローバルな閾値が適用されてもよい。グローバルな閾値で、またはそれを超える発現を示す細胞は、目的の遺伝子またはタンパク質の発現に対して「陽性」であると見なされてもよく、グローバルな閾値未満の発現を示す細胞は、目的の遺伝子またはタンパク質の発現に対して「陰性」であると見なされてもよい。いくつかの実施形態では、細胞における目的の遺伝子またはタンパク質(例えば、CD4、OX40、及び/またはFoxp3)の発現レベルを、目的の領域中の他の細胞の目的の遺伝子の発現レベルと比較してもよい。

【0326】

目的の遺伝子またはタンパク質の発現レベルをアッセイする多くの方法が、当該技術分野で既知である。例えば、いくつかの実施形態では、発現レベルは、免疫蛍光染色、免疫組織化学的検査、撮像(例えば、蛍光顕微鏡検査等の顕微鏡撮像)、フローサイトメトリー、インサイツハイブリダイゼーション、免疫沈降等によってアッセイされてもよい。いくつかの実施形態では、CD4の発現、OX40の発現、及びFoxp3の発現を示すリンパ球が、免疫蛍光染色によって標識される。免疫蛍光染色の例示的な方法は、本明細書中に記載される。

【0327】

いくつかの実施形態では、発現レベルは、試料中の細胞に対して検出された発現レベルの中央値または平均値を指してもよい。いくつかの実施形態では、発現レベルは、細胞に対して検出された最大発現レベルを指してもよい。例えば、免疫蛍光染色及び免疫蛍光撮像によってアッセイされた場合、細胞中の目的の遺伝子またはタンパク質の発現レベルは、該細胞に対応する領域内で検出された(例えば、形態論、膜染色、及び/または核染色によって定義される)蛍光強度の中央値に基づいてもよい。

【0328】

いくつかの実施形態では、目的の細胞(例えば、OX40+細胞、CD4+ OX40+ Foxp3+細胞、またはCD4+ OX40+ Foxp3-細胞)の絶対数が測定され、使用されてもよい。いくつかの実施形態では、目的の細胞(例えば、OX40+細胞、CD4+ OX40+ Foxp3+細胞、またはCD4+ OX40+ Foxp3-細胞)の相対数が、測定され、使用されてもよい。例えば、CD4+ OX40+ Foxp3+細胞の数は、試料中、または試料からの目的の領域内で検出された細胞の総量に対して正規化されてもよい。いくつかの実施形態では、目的の細胞の数は、試料の目的の異なる領域内、または該対象からの異なる試料中の目的の細胞の数の平均、平均値、または中央値でもよい。

【0329】

10

20

30

40

50

本開示の特定の態様は、本開示の参照と比較した、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数に基づく、対象の予後の判定に関する。いくつかの実施形態では、本開示の参照と比較した、目的の細胞（例えば、例えば、OX40 + 細胞、CD4 + OX40 + Foxp3 + 細胞、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - 細胞）の数（例えば、絶対数または正規化された数）の増加は、予後の改善を示し得る。本開示の特定の態様は、本開示の参照と比較した、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数に基づく、対象の予後の判定に関する。いくつかの実施形態では、本開示の参照と比較した、目的の細胞（例えば、CD4 + OX40 + Foxp3 - 細胞）の数（例えば、絶対数または正規化された数）の増加は、予後の改善を示し得る。本開示の特定の態様は、本開示の参照と比較した、試料中のOX40 + リンパ球の数に基づく、対象の予後の判定に関する。いくつかの実施形態では、本開示の参照と比較した、目的の細胞（例えば、OX40 + 細胞）の数（例えば、絶対数または正規化された数）の増加は、予後の改善を示し得る。

10

【0330】

いくつかの実施形態では、予後は、全生存期間及び/または無憎悪生存期間を指してもよい。いくつかの実施形態では、予後の改善は、全生存期間の増加を予測してもよい。いくつかの実施形態では、予後の改善は、無憎悪生存期間の増加を予測してもよい。いくつかの実施形態では、予後の改善は、全生存期間の増加及び無憎悪生存期間の増加を予測してもよい。いくつかの実施形態では、年齢、がんの種類及び/または位置、病期、がんの悪性度、全体的な健康、家族歴等を含むが、これらに限定されない他の要因が、予後を判定するために追加で考慮に入れられてもよい。

20

【0331】

いくつかの実施形態では、本開示の参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中の目的の細胞（例えば、OX40 + 細胞、CD4 + OX40 + Foxp3 + 細胞、またはCD4 + OX40 + Foxp3 - 細胞）の数を指してもよい。例えば、対象が第I病期結腸直腸がんを呈する場合、該患者からの試料は、別の患者または第I病期結腸直腸がんを有する患者からの参照試料と比較されてもよい。参照試料と比較した、患者の試料におけるCD4 + OX40 + Foxp3 + 細胞の数の増加は、予後の改善を示し得る。分析が年齢、性別、及びがんの病期等の要因に対して調整されたとき、OX40 + Treg及びOX40 + Tefの数が予後（例えば、全生存期間）と相関することは、本開示の発見である。

30

【0332】

いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数に基づく。いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数に基づく。いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料中のOX40 + リンパ球の数に基づく。例えば、共通の特徴を有するがんから得られた試料のセット（例えば、同じ種類及び/または病期のがん）を、例えば、臨床転帰研究に伴って集団から研究してもよい。このセットを、対象の試料が比較され得る参照、例えば参照数値を得るために使用してもよい。そのため、試料中のOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数は、臨床転帰と相関し得る。したがって、OX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、またはOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の参照数値が、OX40 アゴニスト治療薬に対する対象の応答性を予測するため、かつ/または対象の予後を判定するために、対象の試料と比較するために使用されてもよい。

40

【0333】

いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するが

50

んから得られた試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の平均値の数である。いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の中央値の数である。いくつかの実施形態では、参照は、対象のがんと同じ種類及び/または病期を有するがんから得られた試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の平均数である。

【0334】

対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含有する試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数を測定し、参照と比較して、試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数に基づいて、対象を応答性である対象または非応答性である対象に分類することによって、がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法が本明細書に提供され、試料がCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数の減少を有する対象と比較して、試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数の増加は、応答性である対象を示す。対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含有する試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の数を測定し、参照と比較して、試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の数に基づいて、対象を応答性である対象または非応答性である対象に分類することによって、がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法が本明細書にさらに提供され、試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の数の増加は、試料がOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の数の減少を有する対象と比較して、応答性である対象を示す。理論に束縛されるものではないが、OX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、及び/またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の数の増加を有する腫瘍を有する患者は、腫瘍がより少ないかかる細胞を有する患者と比較して、OX40アゴニスト治療薬に応答性である可能性が高くあり得ると考えられる。治療に対する患者の応答性を予測することは、効く可能性が高いと思われる治療選択肢を確実に選択することによって、または効く可能性が低いと思われる治療選択肢を排除することによってのいずれかにより、成功する臨床転帰をもたらす最も高い可能性で治療選択肢を選択するのに極めて有益であり得る。本開示のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球を測定するための本明細書の方法のうちいずれかは、これらの方法に見出し得る。

【0335】

いくつかの実施形態では、対象は、参照と比較して、試料中のOX40+リンパ球、CD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球、またはCD4+ OX40+ Foxp3-リンパ球の数に基づいて、応答性であるかまたは非応答性であるかに分類される。本明細書に記載される参照はいずれも、使用され得る。例えば、患者の試料中のCD4+ OX40+ Foxp3+リンパ球の数は、参照数値（例えば、臨床転帰研究に基づく数値）、または治療に対する既知の応答性を有する試料と比較されてもよい。

【0336】

いくつかの実施形態では、治療への応答性は、生存期間（全生存期間及び無増悪生存期間を含む）が延長すること、客観的応答（完全奏効または部分奏効を含む）が生じること、または、がんの徴候若しくは症状が改善することのうちの任意の1つ以上が含まれる。いくつかの実施形態では、応答性は、がん患者における腫瘍の状態、すなわち応答している、安定している、または進行しているかを判定するための公開されている一式のREC

10

20

30

40

50

ISTまたは免疫関連応答基準ガイドラインに従う、1つ以上の要因の改善を指し得る。これらのガイドラインのより詳細な考察については、Eisenhauer et al., Eur J Cancer 2009; 45: 228 - 47、Topalian et al., N Engl J Med 2012; 366: 2443 - 54、Wolchok et al., Clin Can Res 2009; 15: 7412 - 20、及びTherasse, P., et al. J. Natl. Cancer Inst. 92: 205 - 16 (2000)を参照されたい。応答性である対象は、その腫瘍(複数可)が、例えば、RECISTまたは免疫関連応答基準に基づく1つ以上の要因に従って改善を示す対象を指し得る。非応答性である対象は、その腫瘍(複数可)が、例えば、RECISTまたは免疫関連応答基準に基づく1つ以上の要因に従って改善を示さない対象を指し得る。いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性は、治療の有効性を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化及び治療の有効性を含んでもよい。

10

【0337】

従来の応答基準は、新しい病変の出現を含む、初期の明白な放射線医学的進行に先んじられ得る、遅延した応答を生み出すこともできる免疫療法薬の抗腫瘍活性を特徴付けるのに適切でない場合がある。したがって、想定される新しい病変の出現を説明でき、続く評価において放射線医学的進行を確認することを可能にする、修正された応答基準が開発されてきた。したがって、いくつかの実施形態では、応答性は、免疫関連応答基準2(irRC)に従う、1つ以上の要因の改善を指し得る。例えば、Wolchok et al., Clin Can Res 2009; 15: 7412 - 20を参照されたい。いくつかの実施形態では、新しい病変は、既定の腫瘍量に付加され、例えば続く評価における放射線医学的進行のためにフォローされる。いくつかの実施形態では、非標的病変の存在は、完全奏効評価に含まれ、放射線医学的進行の評価には含まれない。いくつかの実施形態では、放射線医学的進行は、測定可能な疾患にのみ基づいて決定され、及び/または最初に記録された日から4週間以上に亘る連続的評価によって確認され得る。

20

【0338】

本開示の特定の態様は、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定する方法に関する。いくつかの実施形態では、本方法は、(a)試料中のCD4の発現を示すリンパ球を標識することと、(b)ステップ(a)の後に、試料中のOX40の発現を示すリンパ球を標識することと、(c)ステップ(b)の後に、試料中のFoxp3の発現を示すリンパ球を標識することと、(d)ステップ(c)の後に、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定することと、を含む。これらの方法は、例えば、がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含有する試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定することにより、がんを有する対象の予後を判定する方法、ならびに/または対象のがんを治療する、若しくはがんの進行を遅延させる方法等の、本明細書に記載される他の方法のうちのいずれかに使用を見出し得る。

30

【0339】

いくつかの実施形態では、CD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現を示すリンパ球が、標識される。当該技術分野で既知、かつ/または本明細書に記載される、マーカーの発現を示す細胞を標識する任意の好適な方法を、使用してもよい。いくつかの実施形態では、CD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現を示すリンパ球が、CD4、OX40、またはFoxp3に特異的に結合する抗体を使用して標識される。例えば、かかる抗体が、限定されないが、免疫蛍光染色、フローサイトメトリー、免疫沈降等を含むアッセイのために使用されてもよい。いくつかの実施形態では、CD4の発現、OX40の発現、及びFoxp3の発現を示すリンパ球が、免疫蛍光染色によって標識される。いくつかの実施形態では、CD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現を示すリンパ球が、CD4、OX40、またはFoxp3転写物に特異的に結合するプローブを使用

40

50

して、インサイツハイブリダイゼーションのために標識される。いくつかの実施形態では、CD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現は、同じ技法を使用して標識されてもよい。いくつかの実施形態では、CD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現は、複数の技法を使用して標識されてもよい。

【0340】

いくつかの実施形態では、撮像法を使用して、標識されたリンパ球に対応するCD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現を定量化する。例えば、蛍光顕微鏡検査を使用して、試料中のCD4、OX40、及び/またはFoxp3の発現量を測定してもよい。上述の技法等の画像分析法を使用して、細胞毎に各マーカーの発現を定量化してもよく、目的の細胞（例えば、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球）の列挙を可能にする。

10

【0341】

いくつかの実施形態では、まずは試料中のCD4の発現を示すリンパ球を標識し、続いて試料中のOX40の発現を示すリンパ球を標識し、続いて試料中のFoxp3の発現を示すリンパ球を標識する。いくつかの実施形態では、CD4の発現の検出は、OX40の発現の検出の前に行われてもよく、かつ/またはOX40の発現の検出はFoxp3の発現の検出の前に行われてもよい。いくつかの実施形態では、各マーカーは、連続して標識されてもよいが、3つのマーカー全ての検出は、（例えば、マルチチャンネル蛍光顕微鏡検査（multichannel fluorescence microscopy）によって）同時に（at the same time）行われてもよい。3つの別個の蛍光団の検出は、同時に（simultaneously）行われなくてもよく、むしろ、「同時に（at the same time）」は、CD4、OX40、及びFoxp3の発現レベルを示す試料の3色画像である合成物を作製するために、第1のチャンネル、次いで第2のチャンネル、次いで第3のチャンネルを使用した、試料の連続的撮像を包含してもよいことが留意される。

20

【0342】

いくつかの実施形態では、抗原賦活化法が、標識ステップの間に使用される。抗原賦活化法は、抗体の抗原への特異的結合を改善するために、当該技術分野で広く知られ、使用される。理論に束縛されるものではないが、これらの技法は、架橋を破壊するか、またはさもなければタンパク質立体配座を変えることにより、抗原部位を露わにし、かつ/または再び覆うと考えられる。抗原賦活化法は、多くの場合、固定及び/またはパラフィン包埋試料等の、試料の熱処理、化学処理、及び/または酵素処理を含む。

30

【0343】

いくつかの実施形態では、試料を、試料中のCD4の発現を示すリンパ球の標識化と、試料中のOX40の発現を示すリンパ球の標識化との間、及び/または試料中のOX40の発現を示すリンパ球の標識化と、試料中のFoxp3の発現を示すリンパ球の標識化との間に、有効量の抗原賦活化剤を含有する溶液で処理してもよい。いくつかの実施形態では、試料は、抗原賦活化剤で処理されている間に加熱されてもよい。

【0344】

いくつかの実施形態では、抗原賦活化剤は、EDTAを含有する。いくつかの実施形態では、抗原賦活化剤は、EDTA緩衝剤を含む。有効量の様々な抗原賦活化剤は、例えば、特定の抗体での染色の有効性をアッセイすることにより、経験的に決定されてもよく、有効量の多くの抗原賦活化剤が、当該技術分野で既知である。例えば、試料を、1 mMのEDTA緩衝剤で処理してもよい。いくつかの実施形態では、EDTA緩衝剤は、pH 8.0、pH 8.5、またはpH 9.0でもよい。

40

【0345】

いくつかの実施形態では、抗原賦活化剤は、クエン酸緩衝液を含有する。例えば、DAKO（登録商標）Target Retrieval Solutionまたはクエン酸ナトリウム緩衝液が使用されてもよい。有効量の様々な抗原賦活化剤は、例えば、特定の抗体での染色の有効性をアッセイすることにより、経験的に決定されてもよく、有効量の

50

多くの抗原賦活化剤が、当該技術分野で既知である。例えば、試料を、10 mMのクエン酸ナトリウム緩衝液で処理してもよい。いくつかの実施形態では、クエン酸緩衝液は、pH 6.0でもよい。

【0346】

免疫蛍光染色に使用される異なる一次抗体が、異なる有効性の希釈物を有し得ることは、当該技術分野で既知である。いくつかの実施形態では、濃縮形態の抗CD4抗体は、使用のために、1:50~1:500で希釈されてもよい。いくつかの実施形態では、濃縮形態の抗CD4抗体は、使用のために、1:50で希釈されてもよい。いくつかの実施形態では、抗CD4抗体は、クローン4B12 (Fisher Scientific, Waltham, MA)でもよい。いくつかの実施形態では、濃縮形態の抗OX40抗体は、使用のために、1:200~1:600で希釈されてもよい。いくつかの実施形態では、濃縮形態の抗OX40抗体は、使用のために、1:400で希釈されてもよい。いくつかの実施形態では、抗OX40抗体は、1A7でもよい。いくつかの実施形態では、濃縮形態の抗Foxp3抗体は、使用のために、1:100~1:500で希釈されてもよい。いくつかの実施形態では、濃縮形態の抗Foxp3抗体は、使用のために、1:100で希釈されてもよい。いくつかの実施形態では、抗Foxp3抗体は、クローン236A/E7 (Abcam, Cambridge, UK)でもよい。

10

【0347】

OX40に特異的に結合する当該技術分野で既知の様々な抗体が、本明細書に記載される検出アッセイで使用されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40の発現を示すリンパ球は、本明細書に記載される抗体のうちの一つによって標識される。いくつかの実施形態では、OX40の発現を示すリンパ球は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号7から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体によって標識される。

20

【0348】

いくつかの実施形態では、OX40の発現を示すリンパ球は、抗体クローン1A7によって標識される。いくつかの実施形態では、OX40の発現を示すリンパ球は、EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTF TDSYMSWVKQSHGK TLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFR EKVT LTVDKSSTTAYMEFRSLTSEDSAVYYCVLAPRWYF SVWGTGTTVTVSS (配列番号)のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び/またはDIQMTQTTSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGKDYFLTISNLEQEDVAAYFCQQGHTLPPTFGGGTKLEIK (配列番号)のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体によって標識される。

30

【0349】

いくつかの実施形態では、診断または検出の方法で使用するための抗OX40抗体は、(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5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40抗体である。いくつかの実施形態では、抗OX40抗体は、(a)(i)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号4から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHV

40

50

R - L 3 から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのV L H V R 配列を含むV L ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、O X 4 0 抗体は、(a) 配列番号2のアミノ酸配列を含むH V R - H 1 と、(b) 配列番号3のアミノ酸配列を含むH V R - H 2 と、(c) 配列番号4のアミノ酸配列を含むH V R - H 3 と、(d) 配列番号5のアミノ酸配列を含むH V R - L 1 と、(e) 配列番号6のアミノ酸配列を含むH V R - L 2 と、(f) 配列番号7から選択されるアミノ酸配列を含むH V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号179のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(V H)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するV H 配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体は、O X 4 0 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号179において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、H V R の外側の領域で(すなわち、F R において)生じる。任意で、抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体は、配列番号179のV H 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、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 から選択される1つ、2つ、または3つのH V R を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号180のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(V L)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するV L 配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体は、O X 4 0 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号180において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、H V R の外側の領域で(すなわち、F R において)生じる。任意で、抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体は、配列番号180のV L 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、V L は、(a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(b) 配列番号6のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(c) 配列番号7のアミノ酸配列を含むH V R - L 3 から選択される、1つ、2つ、または3つのH V R を含む。

【0350】

いくつかの実施形態では、診断または検出の方法で使用される抗O X 4 0 抗体は、(a) 配列番号29のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(b) 配列番号30のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、(c) 配列番号31のアミノ酸配列を含むH V R - H 3、(d) 配列番号37のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(e) 配列番号39のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(f) 配列番号42のアミノ酸配列を含むH V R - L 3 から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのH V R を含む抗ヒトO X 4 0 抗体である。いくつかの実施形態では、抗O X 4 0 抗体は、(a) (i) 配列番号29のアミノ酸配列を含むH V R - H 1、(i i) 配列番号30のアミノ酸配列を含むH V R - H 2、及び(i i i) 配列番号31から選択されるアミノ酸配列を含むH V R - H 3 から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのV H H V R 配列を含むV H ドメインと、(b) (i) 配列番号37のアミノ酸配列を含むH V R - L 1、(i i) 配列番号39のアミノ酸配列を含むH V R - L 2、及び(c) 配列番号42のアミノ酸配列を含むH V R - L 3 から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのV L H V R 配列を含むV L ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、抗O X 4 0 抗体は、(a) 配列番号29のアミノ酸配列を含むH V R - H 1 と、(b)

配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR - H2 と、(c) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む HVR - H3 と、(d) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR - L1 と、(e) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR - L2 と、(f) 配列番号 42 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR - L3 と、を含む。いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 181 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン (VH) 配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する VH 配列は、参照配列と比べて、置換 (例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、OX40 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計 1 ~ 10 個のアミノ酸が、配列番号 181 において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域で (すなわち、FR において) 生じる。任意で、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 181 の VH 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VH は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、(b) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、及び (c) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む HVR - H3 から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 182 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン (VL) 配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する VL 配列は、参照配列と比べて、置換 (例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、OX40 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計 1 ~ 10 個のアミノ酸が、配列番号 182 において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域で (すなわち、FR において) 生じる。任意で、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 182 の VL 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VL は、(a) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、(b) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び (c) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 から選択される、1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。

10

20

30

【0351】

いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 179 の VH 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 180 の VL 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 179 の VH 配列、及び配列番号 180 の VL 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 181 の VH 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 182 の VL 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗 OX40 抗体は、配列番号 181 の VH 配列、及び配列番号 182 の VL 配列を含む。

40

【0352】

V. 治療方法

一態様において、個体のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、個体に有効量の OX40 アゴニストを投与することを含む方法が、本明細書に提供される。本開示の方法は、とりわけ、がんまたは T 細胞機能障害性疾患の治療のための腫瘍免疫原性の増加等、免疫原性の増強が所望される病態を治療する際に、用途を見出し得る。これらの方法によって、多様ながんが治療され得るか、または、それらの進行が遅延され得る。

【0353】

本開示の特定の態様は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法に関する。いくつかの実施形態では、本方法は、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含

50

有する試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を測定することと、参照と比較して、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数を判定することと、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数が参照よりも多い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、を含む。いくつかの実施形態では、本方法は、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られたがん細胞及びリンパ球を含む試料は、参照と比較して、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球の数の増加を有する。いくつかの実施形態では、本方法は、対象から得られたがん細胞（例えば、転移性がん細胞）及びリンパ球を含有する試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数を測定することと、参照と比較して、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数を判定することと、試料中のCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数が参照よりも多い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、を含む。いくつかの実施形態では、本方法は、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られた（例えば、転移性がん細胞等の）がん細胞及びリンパ球を含む試料は、参照と比較して、CD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数の増加を有する。いくつかの実施形態では、本方法は、対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含有する試料中のOX40 + リンパ球の数を測定することと、参照と比較して、試料中のOX40 + リンパ球の数を判定することと、試料中のOX40 + リンパ球の数が参照よりも多い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、を含む。いくつかの実施形態では、本方法は、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られた転移性がん細胞及びリンパ球を含む試料は、参照と比較して、OX40 + リンパ球の数の増加を有する。試料中のOX40 + リンパ球の数を測定するための、本明細書に記載される方法のいずれかが、使用されてもよい。

【0354】

いくつかの実施形態では、対象からのがん細胞（転移性がん細胞を含む）及びリンパ球を含有する試料が、参照と比較して、試料中のOX40 + リンパ球、CD4 + OX40 + Foxp3 + リンパ球、及び/またはCD4 + OX40 + Foxp3 - リンパ球の数の増加を有することが検出されたとき、OX40アゴニストが、対象に投与される。いくつかの実施形態では、この増加は、当業者にとって増加したと見なされるものであってもよい。例えば、かかる増加は、参照と比較して、少なくとも約0.5倍、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、または少なくとも約5倍であり得る。

【0355】

いくつかの実施形態では、本開示の方法によって治療されるがんには、扁平上皮細胞がん（例えば、上皮系扁平上皮細胞がん）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺がん、及び肺の扁平上皮がんを含む肺がん、腹膜のがん、肝細胞がん、消化管がん、及び消化管間質がんを含む胃がん（gastric cancer）または胃がん（stomach cancer）、膵臓がん、膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、泌尿器系のがん、肝臓がん、乳がん、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がんまたは子宮がん、唾液腺がん、腎臓がん（kidney cancer）または腎臓がん（renal cancer）、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん、肛門がん、陰茎がん、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端黒子型黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞性白血病、慢性骨髄芽球性白血病、移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、ならびに、母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの等）、メイグス症候群、脳に関連する異常血管増殖、ならびに頭頸部がん、及び関連する転移が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、がんは、結腸直腸がんである。いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺癌、膠芽腫、神経芽腫、腎細胞がん腫、膀胱がん、卵巣がん、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんから選択される。いくつかの実施形態では、がんは、トリプルネガティブ乳がんである。いくつかの実施形態では、がんは、早期がんであっても後期がんであってもよい。いくつかの実施形態では、が

んは、原発性腫瘍であってもよい。いくつかの実施形態では、がんは、上記の種類のがんのいずれかに由来する第2の部位における転移性腫瘍であってもよい。

【0356】

いくつかの実施形態では、がんの例としては、B細胞リンパ腫（低悪性度/濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球性（SL）NHL、中悪性度/濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽細胞性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非切れ込み核細胞性NHL、巨大腫瘍病変性NHL、マンテル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、及びヴァルデンストレームマクログロブリン血症を含む）；慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ芽球性白血病（ALL）；有毛細胞性白血病；慢性骨髄芽球性白血病；及び移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、ならびに母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの等）、B細胞増殖性障害、及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖がさらに含まれるが、これらに限定されない。より具体的な例としては、再発性または難治性NHL、フロントライン低悪性度NHL、第I I I / I V病期NHL、化学療法耐性NHL、前駆Bリンパ芽球性白血病及び/またはリンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病及び/または前リンパ球性白血病及び/または小リンパ球性リンパ腫、B細胞前リンパ球性リンパ腫、免疫細胞腫及び/またはリンパ形質細胞性リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、結節外辺縁帯 - MALTリンパ腫、結節性辺縁帯リンパ腫、有毛細胞白血病、形質細胞腫及び/または形質細胞骨髄腫、低悪性度/濾胞性リンパ腫、中悪性度/濾胞性NHL、マンテル細胞リンパ腫、濾胞中心リンパ腫（濾胞性）、中悪性度びまん性NHL、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、侵襲性NHL（侵襲性フロントラインNHL及び侵襲性再発性NHLを含む）、自家幹細胞移植後に再発するまたはそれに対して不応性のNHL、原発性縦隔大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非切れ込み核細胞性NHL、巨大腫瘍病変NHL、パーキットリンパ腫、前駆体（末梢）大顆粒リンパ球性白血病、菌状息肉腫及び/またはセザリー症候群、皮膚（skin）（皮膚（cutaneous））リンパ腫、未分化大細胞型リンパ腫、血管中心性リンパ腫が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

【0357】

いくつかの実施形態では、がんの例としては、B細胞増殖性障害がさらに挙げられるがこれに限定されず、それには、リンパ腫（例えば、B細胞非ホジキンリンパ腫（NHL））及び慢性リンパ性白血病がさらに含まれるがこれらに限定されない。かかるリンパ腫及びリンパ性白血病には、例えば、a) 濾胞性リンパ腫、b) 小型非切れ込み核細胞性リンパ腫/パーキットリンパ腫（地域性パーキットリンパ腫、散発性パーキットリンパ腫、及び非パーキットリンパ腫を含む）、c) 辺縁帯リンパ腫（結節外辺縁帯B細胞リンパ腫（粘膜関連リンパ組織リンパ腫、MALT）、結節性辺縁帯B細胞リンパ腫、及び脾臓辺縁帯リンパ腫を含む）、d) マンテル細胞リンパ腫（MCL）、e) 大細胞型リンパ腫（B細胞びまん性大細胞型リンパ腫（DLCL）、びまん性混合細胞型リンパ腫、免疫芽球性リンパ腫、原発性縦隔B細胞性リンパ腫、血管中心性リンパ腫、肺B細胞リンパ腫を含む）、f) 有毛細胞性リンパ腫、g) リンパ球性リンパ腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、h) 急性リンパ球性白血病（ALL）、慢性リンパ球性白血病（CLL）/小リンパ球性リンパ腫（SLL）、B細胞前リンパ球性白血病、i) 形質細胞腫瘍、形質細胞骨髄腫、多発性骨髄腫、形質細胞腫、及び/またはj) ホジキン病が含まれる。

30

40

【0358】

方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、がんは、B細胞増殖性障害である。いくつかの実施形態では、B細胞増殖性障害は、リンパ腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、侵襲性NHL、再発性侵襲性NHL、再発性緩慢性NHL、難治性NHL、難治性緩慢性NHL、慢性リンパ球性白血病（CLL）、小リンパ球性リンパ腫、白血病、有毛細胞白血病（HCL）、急性リンパ球性白血病（ALL）またはマンテル細胞リンパ腫である。いくつかの実施形態では、B細胞増殖性障害は、緩慢性NHL及び/または侵襲性NHL等のNHLである。いくつかの実施形態では、B細胞増殖性障害は、緩慢性濾胞性リ

50

ンパ腫またはびまん性大細胞型B細胞リンパ腫である。

【0359】

原発性腫瘍上に見出された免疫浸潤のOX40+の状態と、転移とが強く相関することは、本開示の発見である。すなわち、同じ患者からの原発性腫瘍及び転移性部位を表す一致した試料は、存在するOX40+細胞（例えば、CD4+ OX40+ Foxp3+ Treg細胞またはCD4+ OX40+ Foxp3- Teff細胞）の数に対して、強く相関する。有利に、これは、臨床医がOX40+の状態の転移性病変をサンプリングし、原発性腫瘍の予想されるOX40+の状態を判定することを許容するか、またはその逆も同様である。本開示の特定の態様は、がん細胞及びリンパ球を含む試料に関する。したがって、いくつかの実施形態では、がん細胞が、原発性腫瘍からであり得る一方で、別の実施形態では、がん細胞は、転移した癌腫からであり得る。

10

【0360】

いくつかの実施形態では、個体は、がんを有するか、またはがんを発症するリスクがある。いくつかの実施形態では、治療は、治療の休止後の個体における持続性応答をもたらす。いくつかの実施形態では、個体は、早期であっても後期であっても良いがんを有する。一部の実施形態では、該個体は、ヒトである。いくつかの実施形態では、個体は、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサル等の非ヒト霊長類）、ウサギ、及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物である。

【0361】

いくつかの実施形態では、個体のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、個体に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、追加の療法を施すことをさらに含む方法が提供される。追加の療法は、放射線療法、手術（例えば、乳腺腫瘍摘出術及び乳房切除術）、化学療法、遺伝子療法、DNA療法、ウイルス療法、RNA療法、免疫療法、骨髄移植、ナノ療法、モノクローナル抗体療法、または前述のものの組み合わせであってもよい。追加の療法は、アジュバントまたはネオアジュバント療法の形態であってもよい。いくつかの実施形態では、追加の療法は、小分子酵素阻害剤または抗転移剤の投与である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、副作用制限剤（例えば、治療の副作用の発生及び/または重症度を減少させることを目的とする薬剤、例えば抗悪心剤等）の投与である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、放射線療法である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、手術である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、放射線療法と手術との組み合わせである。いくつかの実施形態では、追加の療法は、ガンマ線照射である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、PI3K/AKT/mTOR経路を標的とする療法、HSP90阻害剤、チューブリン阻害剤、アポトーシス阻害剤、及び/または化学防御剤である。追加の療法は、上述の化学療法剤のうちの1つ以上であってもよい。

20

30

【0362】

上で述べたかかる併用療法には、組み合わせ投与（2つ以上の治療剤が同じまたは別個の配合物中に含まれる）及び別個の投与が含まれ、別個の投与の場合、本発明のOX40の投与は、追加の治療剤（単数または複数）の投与の前、それと同時、及び/またはその後に行うことができる。一実施形態では、OX40アゴニストの投与及び追加の治療剤の投与は、互いに約1か月以内、または約1、2、3週間以内、または約1、2、3、4、5、若しくは6日以内に発生する。本発明のOX40アゴニストはまた、放射線療法と組み合わせて使用してもよい。

40

【0363】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニストは、化学療法または化学療法剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニストは、放射線療法または放射線療法剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニストは、標的療法または標的療法薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニストは、免疫療法または免疫療法剤、例えばモノ

50

クローナル抗体と併せて投与されてもよい。

【0364】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、PD-1軸結合アンタゴニストと併せて投与されてもよい。PD-1軸結合アンタゴニストには、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト、及びPD-L2結合アンタゴニストが含まれるが、これらに限定されない。「PD-1」の代替名には、CD279及びSLEB2が含まれる。「PD-L1」の代替名には、B7-H1、B7-4、CD274、及びB7-Hが含まれる。「PD-L2」の代替名には、B7-DC、Btdc、及びCD273が含まれる。いくつかの実施形態では、PD-1、PD-L1、及びPD-L2は、ヒトPD-1、PD-L1、及びPD-L2である。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1の、そのリガンド結合パートナーに結合することを阻害する分子である。具体的な態様において、PD-1リガンド結合パートナーは、PD-L1及び/またはPD-L2である。別の実施形態では、PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L1結合パートナーは、PD-1及び/またはB7-1である。別の実施形態では、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L2結合パートナーは、PD-1である。アンタゴニストは、抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドであってもよい。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体（例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体）である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、MDX-1106、Merck3475、及びCT-011からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、イムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のFc領域）に融合するPD-L1またはPD-L2の細胞外またはPD-1結合部分を含むイムノアドヘシンである。いくつかの実施形態では、PD-1結合アンタゴニストは、AMP-224である。いくつかの実施形態では、PD-L1結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体である。いくつかの実施形態では、抗PD-L1結合アンタゴニストは、YW243.55.S70、MPDL3280A、（アテゾリズマブ）、MEDI4736（デュルバルマブ）、MDX-1105、及びMSB0010718C（アベルマブ（avelumab））からなる群から選択される。BMS-936559としても知られるMDX-1105は、WO2007/005874に記載される抗PD-L1抗体である。抗体YW243.55.S70（配列番号20及び21にそれぞれ示される重鎖及び軽鎖可変領域配列）は、WO2010/077634A1に記載される抗PD-L1である。MDX-1106-04、ONO-4538、またはBMS-936558としても知られるMDX-1106は、WO2006/121168に記載される抗PD-1抗体である。MK-3475、SCH-900475、ペンプロリズマブ、及びKEYTRUDA（登録商標）としても知られるMerck3745は、WO2009/114335に記載される抗PD-1抗体である。hBAT、hBAT-1、及びピディリズマブとしても知られるCT-011は、WO2009/101611に記載される抗PD-1抗体である。B7-DCIgとしても知られるAMP-224は、WO2010/027827及びWO2011/066342に記載されるPD-L2-Fc融合可溶性受容体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、MDX-1106である。「MDX-1106」の代替名には、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558、ニボルマブ、またはOPDIVO（登録商標）が含まれる。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ニボルマブ（CAS登録番号：946414-94-4）である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、MDX-1106（ニボルマブ、OPDIVO（登録商標））、Merck3475（MK-3475、ペンプロリズマブ、KEYTRUDA（登録商標））、CT-011（ピディリズマブ）、MEDI-0680（AMP-514）、PDR001、REGN2810、BGB-108、及びBGB-A317からなる群から選択される

10

20

30

40

50

。

【0365】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CTLA-4（CD152としても知られる）に対するアンタゴニスト、例えば、遮断抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、イピリムマブ（MDX-010、MDX-101、またはYervoy（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、トレメリムマブ（チシリムマブまたはCP-675,206としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、B7-H3（CD276としても知られる）に対するアンタゴニスト、例えば、遮断抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、MGA271と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、TGFベータに対するアンタゴニスト、例えば、メテリムマブ（metelimumab）（CAT-192としても知られる）、フレソリムマブ（fresolimumab）（GC1008としても知られる）、またはLY2157299と併せて投与されてもよい。

10

【0366】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、キメラ抗体受容体（CAR）を発現するT細胞（例えば、細胞傷害性T細胞またはCTL）の養子移入を含む治療と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ドミナントネガティブTGFベータ受容体、例えばドミナントネガティブTGFベータII型受容体を含むT細胞の養子移入を含む治療と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、HERCREEMプロトコル（例えば、ClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954を参照されたい）を含む治療と併せて投与されてもよい。

20

【0367】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CD137（TNFRSF9、4-1BB、またはILAとしても知られる）に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ウレルマブ（urelumab）（BMS-663513としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CD40に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CP-870893と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、OX40（CD134としても知られる）に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、異なる抗OX40抗体（例えば、AgonOX）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CD27に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CDX-1127と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO）に対するアンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、IDOアンタゴニストと共にあるのは、1-メチル-D-トリプトファン（1-D-MTとしても知られる）である。

30

40

50

【0368】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、抗体-薬物複合体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗体-薬物複合体は、メルタンシン（*mertransine*）またはモノメチルオーリスタチンE（*MMAE*）を含む。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）抗*NaPi2b*抗体-*MMAE*複合（*DNIB0600A*または*RG7599*としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、トラスツズマブエムタンシン（*T-DM1*、アドトラスツズマブエムタンシン、または*KADCYLA*（登録商標）、*Genentech*としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*DMUC5754A*と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、エンドセリンB受容体（*EDNBR*）に対する抗体-薬物複合体、例えば*MMAE*と複合された*EDNBR*を標的とする抗体と併せて投与されてもよい。

10

【0369】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、血管新生阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*VEGF*に対する抗体、例えば*VEGF-A*と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ベバシズマブ（*AVASTIN*（登録商標）、*Genentech*としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、アンジオポエチン2（*Ang2*としても知られる）に対する抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*MEDI3617*と併せて投与されてもよい。

20

【0370】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、抗腫瘍薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*CSF-1R*（*M-CSFR*または*CD115*としても知られる）を標的とする薬剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、抗*CSF-1R*（*IMC-CS4*としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、インターフェロン、例えばインターフェロンアルファまたはインターフェロンガンマと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ロフェロン-A（組み換えインターフェロンアルファ-2aとしても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*GM-CSF*（組み換えヒト顆粒球マクロファ-コロニー刺激因子、*rhu GM-CSF*、サルグラモスチム、または*Leukine*（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*IL-2*（アルデスロイキンまたは*Proleukin*（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*IL-12*と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*CD20*を標的とする抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、*CD20*を標的とする抗体は、オビヌツズマブ（*GA101*または*Gazyva*（登録商標）としても知られる）またはリツキシマブである。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、*GITR*を標的とする抗体と併せて投与されてもよ

30

40

50

い。いくつかの実施形態では、GITRを標的とする抗体は、TRX518である。

【0371】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、がんワクチンと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、がんワクチンは、ペプチドがんワクチンであり、いくつかの実施形態では、個別化ペプチドワクチンである。いくつかの実施形態では、ペプチドがんワクチンは、多価長ペプチド、マルチペプチド、ペプチドカクテル、ハイブリッドペプチド、またはペプチドパルス樹状細胞ワクチンである（例えば、Yamada et al., Cancer Sci, 104: 14-21, 2013を参照されたい）。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、アジュバントと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、TLRアゴニスト（例えば、Poly-ICLC（Hiltonol（登録商標）としても知られる）、LPS、MPL、またはCpG ODNを含む治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、腫瘍壊死因子（TNF）アルファと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-1と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、HMGB1と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-10アンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-4アンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-13アンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、HVEMアンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、例えばICOS-Lの投与によってICOSアゴニストと、またはICOSに向けられたアゴニスティックな抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CX3CL1を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CXCL9を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CXCL10を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CCL5を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、LFA-1またはICAM1アゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、セレクトインアンタゴニストと併せて投与されてもよい。

【0372】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、標的療法と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、B-Rafの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ベムラフェニブ（Zelboraf（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ダブラフェニブ（Tafinlar（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、エルロチニブ（Tarceva（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、MEK1（MAP2K1と

10

20

30

40

50

X 4 0 アゴニスト抗体)は、B E Z 2 3 5 (N V P - B E Z 2 3 5 としても知られる)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト(例えば、抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体)は、B G T 2 2 6 と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト(例えば、抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体)は、G S K 2 1 2 6 4 5 8 と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト(例えば、抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体)は、P F - 0 4 6 9 1 5 0 2 と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト(例えば、抗ヒトO X 4 0 アゴニスト抗体)は、P F - 0 5 2 1 2 3 8 4 (P K I - 5 8 7 としても知られる)と併せて投与されてもよい。

【0373】

本発明のO X 4 0 アゴニスト(及び任意の追加の治療剤)は、非経口投与、肺内投与、及び鼻腔内投与、ならびに局所治療で所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、投与が短時間であるか慢性的であるかに部分的に応じて、任意の好適な経路、例えば、静脈内または皮下注射等の注射によるものであってもよい。単回または様々な時点に亘る複数回投与、ポラス投与、及びパルス注入を含むがこれらに限定されない様々な投薬スケジュールが本明細書で企図される。

【0374】

本発明のO X 4 0 アゴニストは、良好な医療行為と一致した様式で、製剤化され、投薬され、かつ投与されることになる。この文脈における考慮の要因には、治療されている特定の障害、処置されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床的病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール管理、及び医療従事者に知られている他の要因が含まれる。必然的にではなく任意で、抗体は、問題の障害を予防または治療するために現在使用される1つ以上の薬剤と共に製剤化される。そのような他の薬剤の有効量は、配合物中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上記に考察された他の要因に依存する。これらは、一般に、本明細書に記載されるのと同じ投薬量で、本明細書に記載される投与経路により、または本明細書に記載される投薬量の約1~99%、または経験的/臨床的に適切であると決定される任意の投薬量及び任意の経路によって、使用される。

【0375】

疾患の予防または治療のために、本発明のO X 4 0 アゴニストの適切な投薬量は(単独でまたは1つ以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用されるとき)、治療対象の疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の治療法、患者の病歴、抗体への反応、ならびに主治医の裁量によって決定されることになる。抗体は、患者に、1回で、または一連の治療に亘って好適に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば、1回以上の別個の投与によるものであれ、連続注入によるものであれ、約1 μ g/kg~40mg/kgの抗体が、患者への投与のための初期候補投薬量であり得る。1つの典型的な1日用量は、上述の要因に応じて、約1 μ g/kg~100mg/kg以上の範囲に及び得る。数日間またはそれ以上に亘る反復投与については、病態に応じて、疾患症状の所望の抑制が生じるまで治療が継続されることが一般的であろう。そのような用量は、断続的に、例えば毎週または3週間毎(例えば、患者が約2~約20回、または例えば約6回の用量の抗体を受容するように)投与されてもよい。より高い初回負荷用量を投与し、続いてより低い用量を1回以上投与してもよい。しかしながら、他の投薬レジメンも有用な場合がある。この治療の経過は、従来の技法及びアッセイによって容易に監視される。

【0376】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、がんは、上昇したレベルのT細胞浸潤を有する。本明細書で使用される場合、がんのT細胞浸潤は、がん組織内にあるかまたは別様にそれに関連する、腫瘍浸潤性リンパ球(TIL)等のT細胞の存在を指す場合がある。T細胞浸潤が、ある特定のがんにおいて改善された臨床転帰と関連付けられ得ることは、当

10

20

30

40

50

該技術分野において既知である（例えば、Zhang et al., N. Engl. J. Med. 348(3):203-213(2003)を参照されたい）。いくつかの実施形態では、TILは、OX40+であってもよい。いくつかの実施形態では、TILは、CD4+ OX40+ Foxp3+ TregまたはCD4+ OX40+ Foxp3- Teff細胞であってもよい。

【0377】

本明細書は、当業者が本発明を実践することを可能にするのに十分であると考えられる。本明細書に示され説明されるものに加えて、本発明の様々な改変形態が、前述の説明から当業者には明らかであり、それらは、添付の「特許請求の範囲」の範囲に含まれるものとする。

【0378】

VI. キット及び製品

上述の方法、及び本明細書において説明される方法で用いるために、製造者のキットまたは物品も提供される。かかるキットは、対象からのがん細胞及びリンパ球を含む試料中の、CD4+リンパ球、OX40+リンパ球、CD4+OX40+Foxp3+リンパ球、またはCD4+OX40+Foxp3-リンパ球を検出するのに特異的な少なくとも一つの試薬を含んでもよい。いくつかの実施形態では、製造者のキットまたは物品は、ヒトCD4（例えば、NeoMarkersクローン4B12）に結合する抗体、ヒトOX40（例えば、抗体1A7）に結合する抗体、及び/またはFoxP3（例えば、Abcamクローン236A/E7）に結合する抗体を含む。いくつかの実施形態では、製造者のキットまたは物品は、本明細書に記載されるOX40アゴニスト（例えば、抗OX40アゴニスト抗体）をさらに含む。いくつかの実施形態では、製造者のキットまたは物品は、注入用静菌水（BWF I）、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液、及びデキストロース溶液等の他の試薬及び/または緩衝剤をさらに含む。製品は、他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、及びシリンジを含む、商業的立場及びユーザの立場から望ましい他の物質をさらに含んでもよい。試薬及び抗体は、容器内であってもよい。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグなどが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなど、様々な材料から形成されていてもよい。いくつかの実施形態では、製造者のキット及び物品は、本明細書に記載される方法で試薬及び/または抗体を使用するための指示を提供する、（容器上または容器と関連し得る）ラベルまたは添付文書をさらに含む。

【0379】

本明細書に引用される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、あらゆる目的のために、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【0380】

本発明は、以下の実施例を参照することによってさらに理解され得るが、実施例は、例示として提供されるものであり、限定的であることを意図するものではない。

【0381】

実施例1：T細胞サブセットとがんの病期との間の逆相関

結腸直腸がん（CRC）患者の腫瘍微小環境におけるOX40+T細胞の数の増加は、転帰の改善と関連付けられている（Petty, J. K., et al. (2002) Am. J. Surg. 183(5):512-8）。しかしながら、OX40+T細胞の集団は、不均一であり、数ある中でも、CD4+Foxp3+制御性T細胞（Treg）及びCD4+Foxp3-エフェクターT細胞（Teff）を含む。

【0382】

これらのT細胞サブセットの機能的な重要性を研究するために、マルチプレックス免疫蛍光アッセイ（multiplex immunofluorescence assay）が、ある特定のCD4+T細胞サブセットにおけるOX40の発現を評価するために開発された。このアッセイを利用して、OX40+細胞サブセット及び臨床転帰が、結腸直

10

20

30

40

50

腸がん (CRC) 患者において関連しているかどうかを判定した。

【0383】

材料及び方法

症例選択

原発部位 (n = 48) 及び一致した転移 (n = 19) を含むホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) CRC 標本を、治療歴及び生存転帰で注釈を付けられた集合から含めた。患者の年齢は、26 ~ 85 歳の範囲に亘り、第 I 病期 (4)、第 II 病期 (12)、第 III 病期 (17)、及び第 IV 病期 (8) の疾患が、示された。症例に、高分化腺がんまたは中分化腺がん (n = 36) を、低分化 (n = 4) または粘液特徴 (8) のいずれかを有する追加の症例と共に、含めた。

10

【0384】

免疫蛍光染色

逐次的アプローチを、二重及び三重の免疫蛍光染色を含む全ての免疫標識に関して追跡調査した。CD4 (NeoMarkers クローン 4B12)、Foxp3 (Abcam クローン 236A/E7)、及び OX40 (クローン 1A7) 抗体を、使用した。

【0385】

ホルマリン固定のパラフィン包埋ヒト組織切片を、4 µm で切断し、脱パラフィンし、段階的な一連のアルコールで再水和した。次いで、切片を、65 °C で EDTA Retrieval (Lab Vision, Fremont, CA) を使用して、PT Module (Thermo Scientific, Waltham, MA) でインキュベーションすることにより、抗原賦活化のために前処理した。次いで、切片を 20 分間 99 °C まで加熱し、続いて 20 分間冷ました。EDTA Retrieval での前処理の後、内在性ペルオキシダーゼ活性を、切片を室温の 3% の H₂O₂ 中で 4 分間インキュベートすることにより、クエンチした。

20

【0386】

次いで、切片を、抗原賦活化法を使用して染色した。そのため、切片を、まず (10% の正常ウマ血清、NHS 中で、1:50 で希釈した) 抗 CD4 一次抗体、次いで (10% の NHS 中で 10 µg/mL に希釈した) 抗 OX40 一次抗体、最後に (10% の NHS 中で 10 µg/mL に希釈した) 抗 Foxp3 一次抗体を使用して染色した。切片を、以下に記載されるように、抗 CD4 のインキュベーションと抗 OX40 のインキュベーションとの間、及び抗 OX40 のインキュベーションと抗 Foxp3 のインキュベーションとの間に、抗原賦活化剤で処理した。

30

【0387】

各一次抗体染色ステップに関して、切片を、Avidin/Biotin Blocking Kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA) を使用して、製造者の指示に従って、アビジン/ビオチンに対して遮断した。次いで、切片をすすぎ、その後、10% のウマ血清 / 3% の BSA / PBS で非特異的結合部位に対して遮断した。切片を室温の一次抗体溶液中で 60 分間インキュベートし、続いてビオチン化ウマ抗マウス (Vector Labs) と共にインキュベートした。その後、Vector Elite ABC-HRP 試薬 (Vector Labs) と一緒に切片をインキュベートした。すすいだ後、切片を、製造者の指示を通じて、二次抗体溶液で染色した。以下の二次抗体を使用した。Alexa 488-チラミド複合体 (CD4)、Alexa 555-チラミド複合体 (Foxp3)、または Alexa 647-チラミド複合体 (OX40) (Life Technologies, Grand Island, NY)。

40

【0388】

一次抗体染色ステップ間の、二次抗体溶液と共にインキュベートした後、切片を、20 分間 99 °C で製造者の指示を通じて、EDTA 緩衝剤 (Thermo Scientific, Waltham, MA) または DAKO 標的賦活化溶液 (Dako North America, Carpinteria, CA) 中でインキュベートし、続いて 20 分

50

間冷ました。最後の二次抗体インキュベーション後、スライドをDAPIで対比染色し、ProLong Gold Antifade Mountant (Life Technologies) でカバーガラスをした。陰性対照に関しては、切片を、一次抗体の代わりに、各マーカーに対して適切なナイーブアイソタイプ対照と共にインキュベートした。

【0389】

デジタル撮像及び分析

画像を、100倍の最終倍率で、標準蛍光フィルタを使用して、Ariol SL-50自動スライド走査プラットフォーム(Leica Microsystems, Buffalo Grove, IL.)によって得た。全体のタイル状の画像をエクスポートし、Matlabソフトウェアパッケージ(バージョンR2012b, Mathworks, Natick, MA)で分析した。

10

【0390】

各腫瘍切片に関して、目的の少なくとも1つの領域を手作業で特定し、分析に供した。いくつかの腫瘍に関しては、(例えば、主要な腫瘍及び付随の腫瘍の両方がスライド上に認められた場合)目的の複数の領域を選択した。目的の各領域内で、個々の細胞核を、DAPIチャンネル(Veta, M., et al. (2013) PLoS ONE 8(7): e70221)に適用される放射対称に基づく方法を使用してセグメント化し、次いで、核(FoxP3)内、または各核(CD4及びOX40)を直接取り巻く領域内の、グローバルな強度閾値を超えるシグナルの存在により、スコア付けした。各マーカーのグローバルな閾値を、一次標識抗体に曝露されているか、されていないかに関わらない試料中の明らかに陰性の細胞の偽陽性判定が、全ての特定された細胞の0.5%未満になるように、経験的に決定した。

20

【0391】

統計分析

診断日からあらゆる原因で死亡した日までの全生存期間を計算し、患者が依然として生存している日を、患者が最後に生存していたことが分かっている日で打ち切った。(中央値で二分した)腫瘍関連T細胞サブセットのレベルと全生存期間との間の関連性を、対数順位検定を使用して評価した。腫瘍関連T細胞サブセットと診断時のTNM病期との間の関連性を評価するために、クラスカル・ワリス検定を採用した。多重検定補正を適用しなかった。

30

【0392】

多変量Cox回帰モデルを、年齢(60歳以上対60歳未満)、性別(男性対女性)、及び病期(IV対III対I/II)に関して調整した、全生存期間とOX40の発現(中央値で二分した)との間の関連性の強度を評価するために採用した。

【0393】

結果

原発部位(n=48)及び一致した転移(n=19)を含む、48人のCRC患者からの腫瘍を染色し、デジタルで撮像した。

【0394】

図1A~1Cは、CD4、OX40、及びFoxp3の発現に対して染色した第I病期CRC試料の代表的な免疫蛍光画像を示す。これらの画像は、CD4+ OX40+ Foxp3+ Treg細胞及びCD4+ OX40+ Foxp3- Teff細胞の存在を示す。第II病期(図2A~2C)、第III病期(図3A-3C)、及び第IV病期(図4A-4C)CRC試料の代表的な免疫蛍光画像も、取り込んだ。これらのデータを要約するために、全OX40+細胞及びCD4+ OX40+ Foxp3+ Treg細胞の数の減少が、第I病期-IIIの試料と比較して、第IV病期の試料において認められた。

40

【0395】

これらの画像から、腫瘍関連T細胞サブセットを一覧表した。特定の腫瘍関連T細胞サ

50

ブセットに対応する細胞の数と、腫瘍病期との間の相関を、上述のように分析した。図 5 A ~ 6 D は、これらの相関分析の結果を示し、研究のために選択された T 細胞サブセットは、以下に提示する。CD 4 + (図 5 A)、Fox p 3 + (図 5 B)、OX 4 0 + (図 5 C)、OX 4 0 + CD 4 + (図 6 A)、OX 4 0 + CD 4 - (図 6 B)、OX 4 0 + CD 4 + Fox p 3 + (図 6 C)、及び OX 4 0 + CD 4 + Fox p 3 - (図 6 D)。

【0396】

これらの結果は、診断時の病期の増加に伴う、OX 4 0 + 細胞、OX 4 0 + T r e g 細胞、及び OX 4 0 + T e f f 細胞の統計的に有意な逆相関を示す。これらの関係性は、総数が全細胞に対して正規化されたとき、依然として統計的に有意であった。全 CD 4 + 細胞または Fox p 3 + 細胞は、病期との有意な関連性を示さなかった。

10

【0397】

実施例 2：増加した OX 4 0 + リンパ球の存在は、生存期間の改善と関連する

上述の OX 4 0 + T 細胞サブセットとがんの病期との間に認められた相関のために、次にこれらの T 細胞サブセットの存在を、予後に関して分析した。

【0398】

上述の腫瘍試料中における T 細胞サブセットの発生率を、患者の予後（例えば、全生存期間）との潜在的な関連を判定するために分析した。図 7 A ~ 8 D は、これらの相関分析の結果を示し、研究のために選択された T 細胞サブセットは、以下に提示する。CD 4 + (図 7 A)、Fox p 3 + (図 7 B)、OX 4 0 + (図 7 C)、OX 4 0 + CD 4 + (図 8 A)、OX 4 0 + CD 4 - (図 8 B)、OX 4 0 + CD 4 + Fox p 3 + (図 8 C)、及び OX 4 0 + CD 4 + Fox p 3 - (図 8 D)。各プロットに示されるように、試料が全ての試料の中央値を超えるか、またはそれ未満である標識されたマーカー（複数可）の発現を示した患者に関して、全生存期間をプロットした。

20

【0399】

これらの分析は、CD 4 + ($p = 0.019$) 細胞、全 OX 4 0 + ($p = 0.046$) 細胞、及び OX 4 0 + T r e g ($p = 0.022$) 細胞の発生率の増加が、全生存期間の改善と相関したことを示した。OX 4 0 + T e f f 細胞のより高い発生率も、全生存期間の改善の傾向を示したが、統計的有意性には達しなかった。細胞の総数に対して正規化されるとき、CD 4 + ($p = 0.02$) 細胞及び全 OX 4 0 + ($p = 0.041$) 細胞は、依然として有意であった。T r e g 数は、T e f f ($p = 0.265$) が示した生存期間との相関よりも近い相関を示したが、いずれも統計的有意性に達しなかった。

30

【0400】

重要なことには、CD 4、OX 4 0、及び Fox p 3 I H C 染色は、多変量 C o x P H モデルにおいて、年齢、性別、及び病期に関して調整して、依然として全生存期間と有意に関連した。図 1 1 A ~ 1 1 D は、CD 4 の発現 (図 1 1 A)、OX 4 0 の発現 (図 1 1 B)、Fox p 3 の発現 (図 1 1 C) のこれらの分析の結果、及び OX 4 0 + T e f f 細胞対 OX 4 0 + T r e g 細胞 (図 1 1 D) の比率を提示する。これらの結果は、ベースライン特性（例えば、年齢、性別、及び病期）を調整した後でさえ、これらのマーカーが依然として予後であることを示す。

40

【0401】

これらの結果は、全 OX 4 0 + 細胞及び OX 4 0 + T r e g 細胞のより高い数が、C R C における予後の改善と関連することを示す。

【0402】

実施例 3：原発性腫瘍の免疫浸潤の OX 4 0 + の状態と転移との間の相関

腫瘍試料中に認められた OX 4 0 + 細胞と腫瘍病期と患者生存との間に認められた相関を考えて、次に、OX 4 0 + T 細胞サブセットを、原発性腫瘍試料と転移性腫瘍試料とのペアにおいて分析した。

【0403】

図 9 A ~ 1 0 D は、これらの相関分析の結果を示し、研究のために選択された T 細胞サ

50

ブセットは、以下に提示する。CD4+ (図9A)、Foxp3+ (図9B)、OX40+ (図9C)、OX40+ CD4+ (図10A)、OX40+ CD4- (図10B)、OX40+ CD4+ Foxp3+ (図10C)、及び OX40+ CD4+ Foxp3- (図10D)。

【0404】

原発性試料と転移性試料とのペア (n = 19) の分析は、原発性試料及び転移性試料において、CD4 (r = 0.75)、全OX40+ (r = 0.84)、OX40+ Treg (0.52)、及びOX40+ Teff (r = 0.85) サブセットの陽性の細胞数間の強い相関を示した。これらの関連性は、総数が全細胞に対して正規化されたとき、依然として強かった。これらの結果は、原発性腫瘍の免疫浸潤のOX40+の状態と、転移とが強く相関することを示す。

10

【0405】

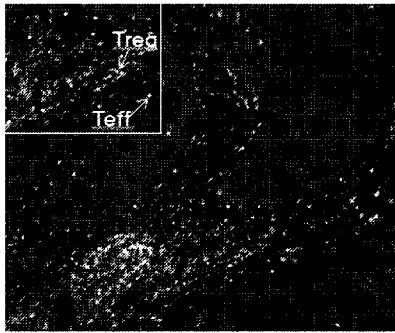
総合すると、これらの結果は、全OX40+細胞及びOX40+ Treg細胞のより高い数が、CRCにおける予後の改善に関連することを示す。本明細書に記載される三重免疫蛍光アッセイは、複数の固形腫瘍型における、OX40+ Treg細胞及びTeff細胞サブセットと臨床転帰との間の関連性を特徴付けるのに有用であり得る。さらに、このアッセイを臨床試験に組み込むことは、OX40を標的とする治療に対して応答することが予想される患者及び指標を特定するのに役立ち得る。

【0406】

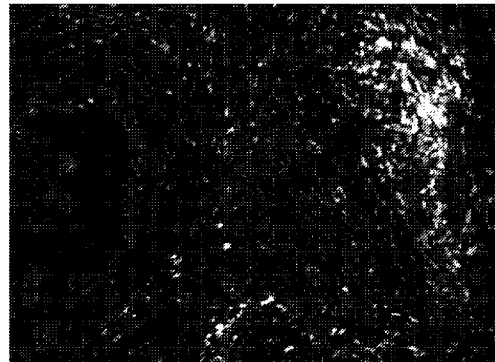
本明細書において引用される全ての特許、特許出願、文書、及び論文は、参照によりそれら全体が本明細書に組み込まれる。

20

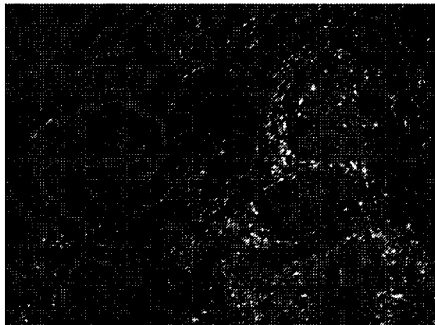
【図1A】



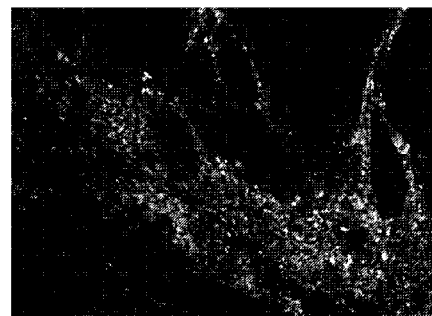
【図1C】



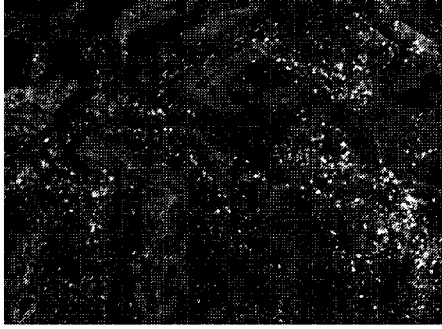
【図1B】



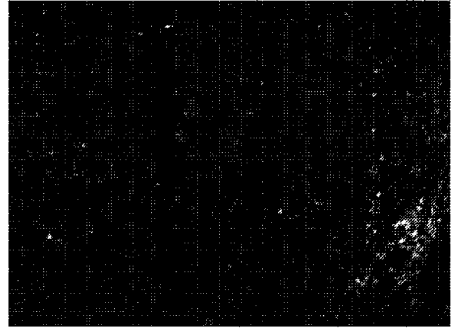
【図2A】



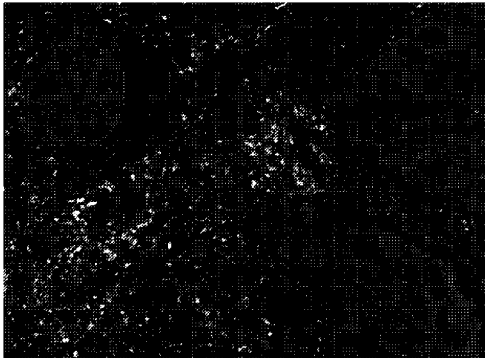
【 図 2 B 】



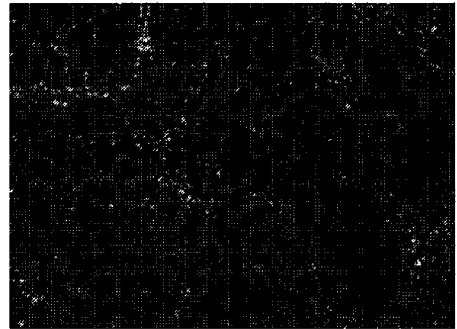
【 図 3 A 】



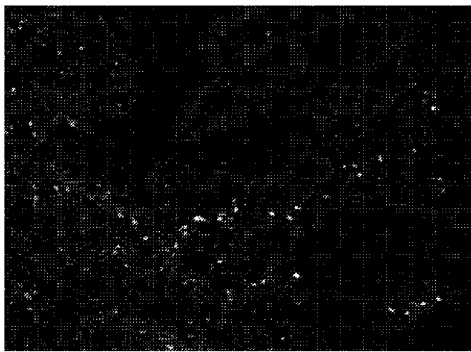
【 図 2 C 】



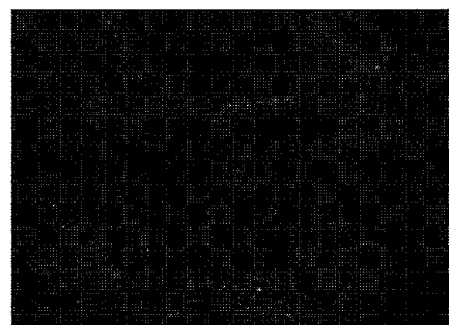
【 図 3 B 】



【 図 3 C 】



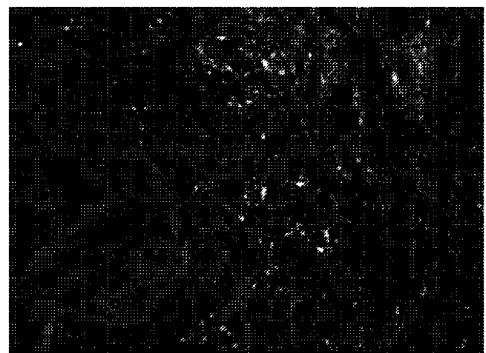
【 図 4 B 】



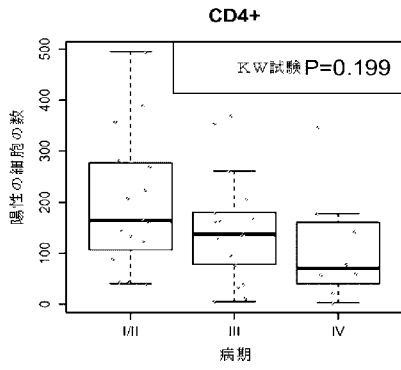
【 図 4 A 】



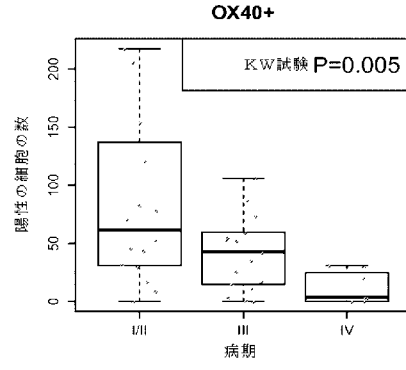
【 図 4 C 】



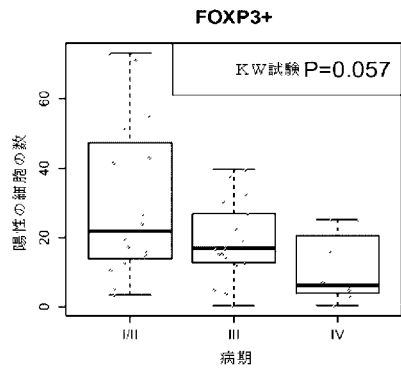
【図 5 A】



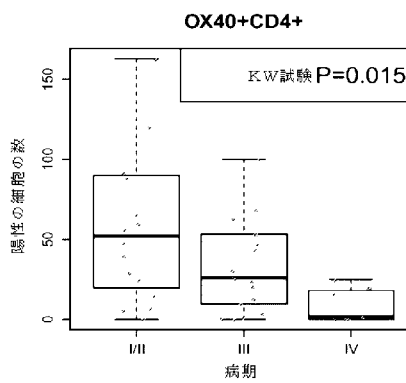
【図 5 C】



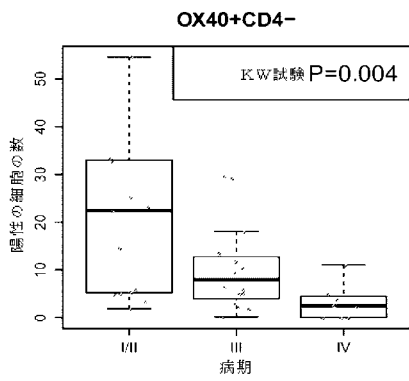
【図 5 B】



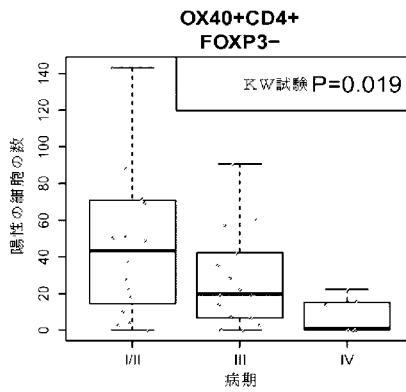
【図 6 A】



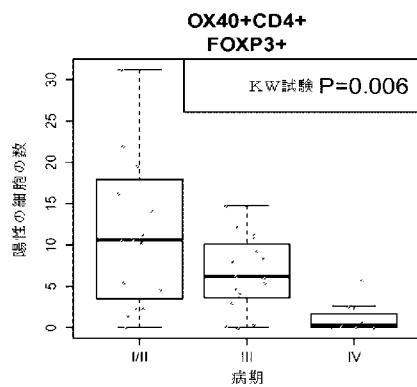
【図 6 B】



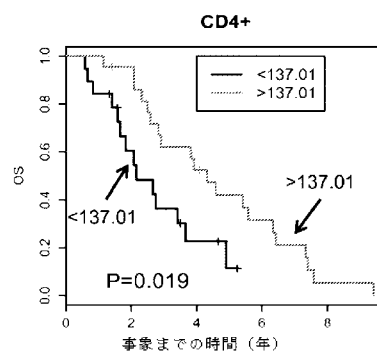
【図 6 D】



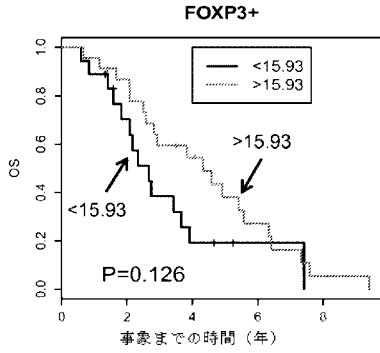
【図 6 C】



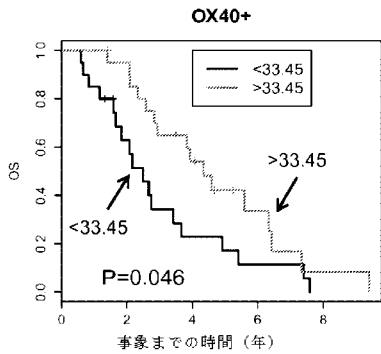
【図 7 A】



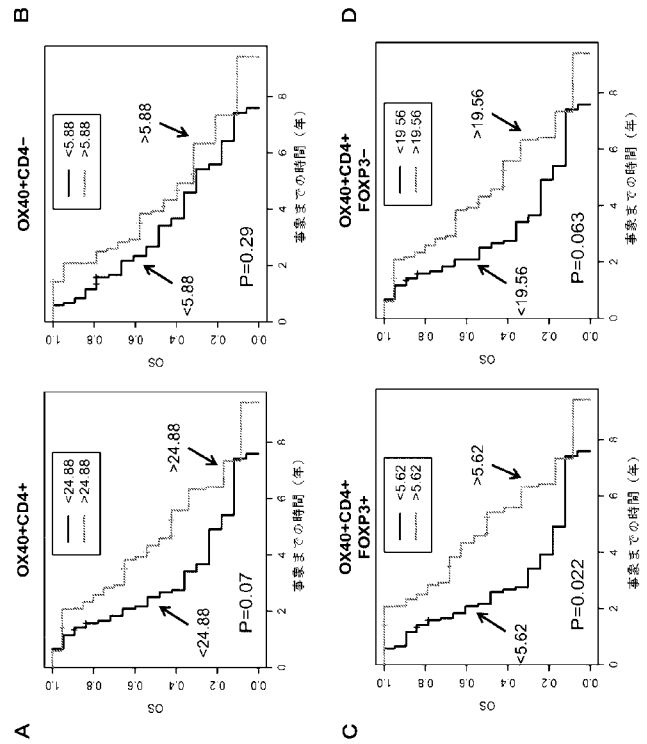
【 図 7 B 】



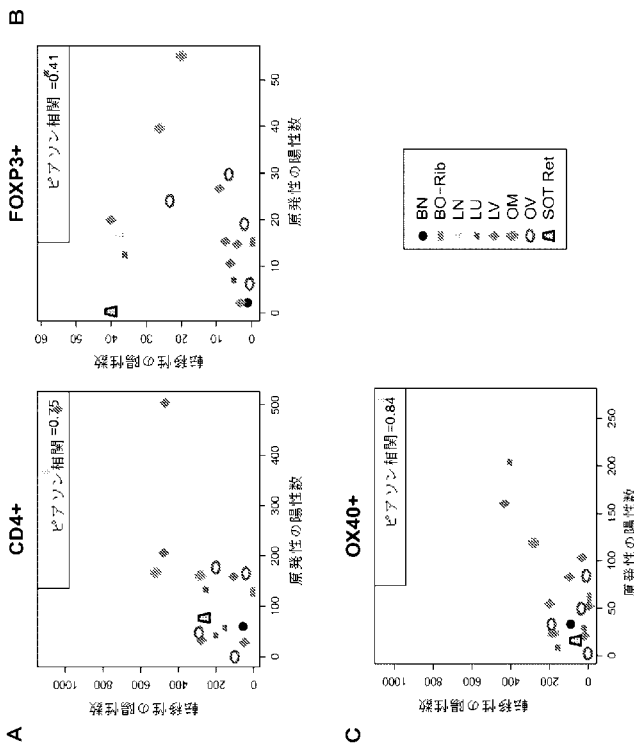
【 図 7 C 】



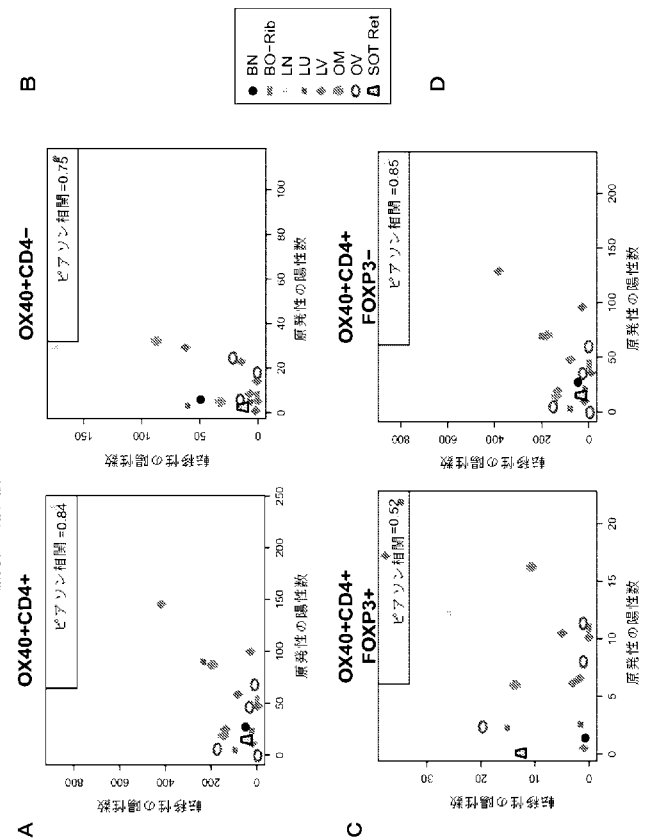
【 図 8 】



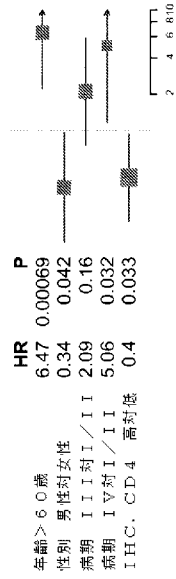
【 図 9 】



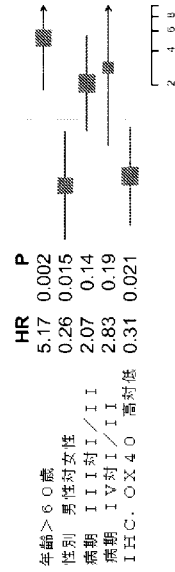
【 図 10 】



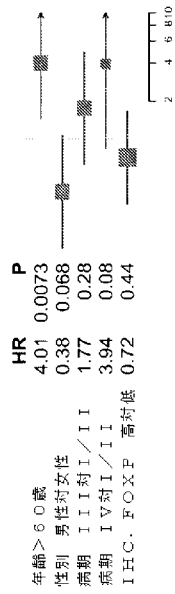
【 図 1 1 A 】



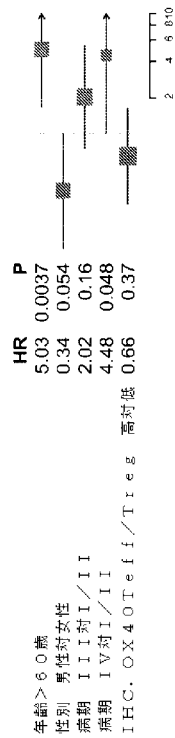
【 図 1 1 B 】



【 図 1 1 C 】



【 図 1 1 D 】



【配列表】

2018504610000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2015/058674

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/569 G01N33/574 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) G01N		
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, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SARFF M ET AL: "OX40 (CD134) expression in sentinel lymph nodes correlates with prognostic features of primary melanomas", AMERICAN JOURNAL OF SURGERY, PAUL HOEBER, NEW YORK, NY, US, vol. 195, no. 5, 1 May 2008 (2008-05-01), pages 621-625, XP022664634, ISSN: 0002-9610, DOI: 10.1016/J.AMJSURG.2007.12.036 [retrieved on 2008-04-02] the whole document abstract figure 1 ----- -/--	1-24, 30-62
<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 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 "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 "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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
7 January 2016		04/04/2016
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
		Jenkins, Gareth

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2015/058674**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
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:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. 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.:
4. 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.:

1-24 (completely); 30-62 (partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- 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.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/058674

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>YANNICK BULLIARD ET AL: "OX40 engagement depletes intratumoral Tregs via activating Fc[gamma]Rs, leading to antitumor efficacy", IMMUNOLOGY AND CELL BIOLOGY, vol. 92, no. 6, 1 July 2014 (2014-07-01), pages 475-480, XP055238946, AU ISSN: 0818-9641, DOI: 10.1038/icb.2014.26 the whole document abstract</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-24, 30-62
Y	<p>SILVIA PICONESI ET AL: "OX40 triggering blocks suppression by regulatory T cells and facilitates tumor rejection", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US vol. 205, no. 4 1 April 2008 (2008-04-01), pages 825-839, XP002719644, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.20071341 Retrieved from the Internet: URL: http://jem.rupress.org/content/205/4/825 [retrieved on 2008-03-24] the whole document abstract figures 2, 3a, 3b</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-24, 30-62
Y	<p>YONG HUANG ET AL: "Prognostic Value of Tumor-Infiltrating FoxP3+ T Cells in Gastrointestinal Cancers: A Meta Analysis", PLOS ONE, vol. 9, no. 5, 14 May 2014 (2014-05-14), page e94376, XP055239014, DOI: 10.1371/journal.pone.0094376 the whole document abstract</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-24, 30-62
A	<p>WALAYAT SHAH ET AL: "A reversed CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes and a high percentage of CD4+FOXP3+ regulatory T cells are significantly associated with clinical outcome in squamous cell carcinoma of the cervix", CELLULAR & MOLECULAR IMMUNOLOGY, vol. 8, no. 1, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 59-66, XP055238962, CH ISSN: 1672-7681, DOI: 10.1038/cmi.2010.56 the whole document abstract</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-24, 30-62
	-----	-/--

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/058674

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	JAMES ZIAI ET AL: "A CD4/Foxp3/OX40 triple immunofluorescence assay determines association between T cell immune subsets and outcome in colorectal cancer", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 2, no. Suppl 3, 6 November 2014 (2014-11-06), page P133, XP021202395, ISSN: 2051-1426, DOI: 10.1186/2051-1426-2-S3-P133 the whole document -----	1-24, 30-62

1

International Application No. PCT/ US2015/ 058674

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-24(completely); 30-62(partially)

Assaying the number of CD4+OX40+Foxp3+ lymphocytes for prognosing/treating/predicting response to therapy in cancer.

2. claims: 25-29(completely); 30-35(partially)

Method for measuring the number of CD4+OX40+Foxp3+ lymphocytes.

3. claims: 36-62(partially)

Assaying the number of OX40+ lymphocytes for prognosing/treating/predicting response to therapy in cancer.

4. claims: 36-62(partially)

Assaying the number of CD4+OX40+Foxp3- lymphocytes for prognosing/treating/predicting response to therapy in cancer.

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 P 35/04	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 K 16/28	(2006.01)	A 6 1 P 35/04	
C 0 7 K 14/47	(2006.01)	C 0 7 K 16/28	
		C 0 7 K 14/47	

(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, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . U N I X

(72)発明者 フォアマン , オーデッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 - 4 9 9 0 , サウス サン フランシスコ , デ
 ィーエヌエー ウェイ 1 , シーノオー ジェネンテック , インコーポレイテッド
 (72)発明者 ズィアーイー , ジェームズ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 - 4 9 9 0 , サウス サン フランシスコ , デ
 ィーエヌエー ウェイ 1 , シーノオー ジェネンテック , インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ61 QQ79 QQ96 QR66 QR77 QS33 QS36
 QS39 QX02
 4C085 AA14 BB11 BB36 BB42 DD62 EE01 GG01
 4H045 AA10 AA11 AA30 DA76 EA20 EA51 FA74

专利名称(译)	用于检测T细胞免疫亚群的测定法及其使用方法		
公开(公告)号	JP2018504610A	公开(公告)日	2018-02-15
申请号	JP2017542821	申请日	2015-11-02
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	チューフェリックス フォアマンオーデッド ズィアーイーージェームズ		
发明人	チュー, フェリックス フォアマン, オーデッド ズィアーイー, ジェームズ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/574 C12Q1/02 A61K39/395 A61P35/00 A61P35/04 C07K16/28 C07K14/47		
CPC分类号	A61K38/177 C07K2317/24 G01N33/56972 G01N33/57419 G01N2333/70514 G01N2800/52 G01N2800/7028 A61P35/00 A61P35/04 C07K16/2875 C07K2317/75 C12Q1/06 G01N33/582		
FI分类号	G01N33/53.K G01N33/574.ZNA.D G01N33/53.Y C12Q1/02 A61K39/395.N A61P35/00 A61P35/04 C07K16/28 C07K14/47		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ61 4B063/QQ79 4B063/QQ96 4B063/QR66 4B063/QR77 4B063/QS33 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/BB36 4C085/BB42 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA51 4H045/FA74		
优先权	62/074594 2014-11-03 US		
其他公开文献	JP6702991B2 JP2018504610A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明中，样品中的CD4 + OX40 + FOXP3 + 淋巴细胞含有癌细胞和从对象获得的淋巴细胞，标记的淋巴细胞表示CD4的表达的样品中，然后数，样品中标记的淋巴细胞显示OX40的表达，然后标记的淋巴细胞表示的Foxp3表达的样品中，然后在样品CD4 + OX40 + 提供一种通过测量Foxp3 + 淋巴细胞数量来测量的方法。确定对象，预测对OX40激动剂治疗患有癌症的受试者的应答性的方法的预后，和基于样品中CD4 + OX40 + FOXP3 + 淋巴细胞的数量，治疗癌症，或进展还提供了一种延迟方法。(图8C)

FIG. 8C

