

(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2019-531256

(P2019-531256A)

(43) 公表日 令和1年10月31日(2019.10.31)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/18 (2006.01)	C07K 16/18 ZNA	4B064
C07K 16/46 (2006.01)	C07K 16/46	4B065
C12N 5/10 (2006.01)	C12N 5/10	4C085
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/395 N	4H045
A61P 37/04 (2006.01)	A61K 39/395 T	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 75 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2018-569190 (P2018-569190)	(71) 出願人	518438896 アイーエムエービー
(86) (22) 出願日	平成29年6月13日 (2017.6.13)		イギリス領ケイマン諸島、ケーワイ1-1
(85) 翻訳文提出日	平成31年2月8日 (2019.2.8)		205 ケイマン、ピーオー ボックス
(86) 国際出願番号	PCT/CN2017/088033		31119、ウェスト ベイ ロード 8
(87) 国際公開番号	W02017/215590		02、ハイビスカス ウェイ、グランド
(87) 国際公開日	平成29年12月21日 (2017.12.21)		パピリオン
(31) 優先権主張番号	201610414226.5	(74) 代理人	110000877 龍華国際特許業務法人
(32) 優先日	平成28年6月13日 (2016.6.13)	(72) 発明者	ファン、レイ
(33) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)		イギリス領ケイマン諸島、ケーワイ1-1
(31) 優先権主張番号	PCT/CN2017/072566		205 ケイマン、ピーオー ボックス
(32) 優先日	平成29年1月25日 (2017.1.25)		31119、ウェスト ベイ ロード 8
(33) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)		02、ハイビスカス ウェイ、グランド
			パピリオン アイーエムエービー内 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗PD-L1抗体およびその使用

(57) 【要約】

抗PD-L1抗体または抗体断片を提供する。抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質の免疫グロブリンCDメインに特異的に結合する。様々な例において、抗体または抗体断片は、配列識別番号1のVH CDR1、配列識別番号2のVH CDR2、配列識別番号3のVH CDR3、配列識別番号4のVL CDR1、配列識別番号5のVL CDR2、および、配列識別番号6のVL CDR3、または、それらの各々の変異型を含む。癌および感染症などの疾病を治療および診断するために抗体または抗体断片を使用する方法も提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

単離された抗体または抗体断片であって、ヒトプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) タンパク質への特異性を有し、配列識別番号 1 の V H C D R 1、配列識別番号 2 の V H C D R 2、配列識別番号 3 の V H C D R 3、配列識別番号 4 の V L C D R 1、配列識別番号 5 の V L C D R 2、および、配列識別番号 6 の V L C D R 3 を含む抗体または抗体断片。

【請求項 2】

重鎖定常領域、軽鎖定常領域、F c 領域、または、それらの組み合わせを更に含む、請求項 1 に記載の抗体または抗体断片。

10

【請求項 3】

前記軽鎖定常領域はカッパまたはラムダ鎖定常領域である、請求項 2 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 4】

前記抗体または抗体断片は、I g G、I g M、I g A、I g E または I g D のアイソタイプである、請求項 1 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 5】

前記アイソタイプは、I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 である、請求項 4 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 6】

前記抗体または抗体断片は、キメラ抗体、ヒト化抗体、または、完全ヒト型抗体である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片。

20

【請求項 7】

前記抗体または抗体断片はヒト化抗体である、請求項 6 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 8】

K a b a t ナンバリングによる、

- (a) 位置 4 4 の S e r、
 - (b) 位置 4 9 の A l a、
 - (c) 位置 5 3 の A l a、
 - (d) 位置 9 1 の I l e、
 - (e) 位置 1 の G l u、
 - (f) 位置 3 7 の V a l、
 - (g) 位置 4 0 の T h r、
 - (h) 位置 5 3 の V a l、
 - (i) 位置 5 4 の G l u、
 - (j) 位置 7 7 の A s n、
 - (k) 位置 9 4 の A r g、および、
 - (l) 位置 1 0 8 の T h r、ならびに、
- それらの組み合わせ

30

から成る群から選択される 1 または複数のアミノ酸残基を含む重鎖可変領域を含む、請求項 6 に記載の抗体または抗体断片。

40

【請求項 9】

K a b a t ナンバリングによる、(a) 位置 4 4 の S e r、(b) 位置 4 9 の A l a、(c) 位置 5 3 の A l a、および/または、(d) 位置 9 1 の I l e、および、それらの組み合わせを含む重鎖可変領域を含む、請求項 7 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 10】

K a b a t ナンバリングによる、

- (a) 位置 2 2 の S e r、
- (b) 位置 4 2 の G l n、
- (c) 位置 4 3 の S e r、

50

(d) 位置 60 の Asp、および、
(e) 位置 63 の Thr、ならびに、
それらの組み合わせ

から成る群から選択される 1 または複数のアミノ酸残基を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 6 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 11】

配列識別番号 7 26 から成る群から選択されるアミノ酸配列、または、配列識別番号 7 26 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 90% の配列同一性を有するペプチドを含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片。

10

【請求項 12】

配列識別番号 27 33 から成る群から選択されるアミノ酸配列、または、配列識別番号 27 33 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 90% の配列同一性を有するペプチドを含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 13】

配列識別番号 20 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列識別番号 28 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項 1 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 14】

単離された抗体または抗体断片であって、前記抗体または抗体断片は、ヒトプログラム細胞死リガンド 1 タンパク質 (PD-L1 タンパク質) の免疫グロブリン C ドメイン (IgC ドメイン) に特異的に結合でき、前記 IgC ドメインは、アミノ酸残基 133 225 から成る、抗体または抗体断片。

20

【請求項 15】

前記 PD-L1 タンパク質のアミノ酸残基 Y134、K162 または N183 のうち少なくとも 1 つに結合できる、請求項 14 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 16】

前記 PD-L1 タンパク質のアミノ酸残基 Y134、K162 および N183 に結合できる、請求項 14 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 17】

前記 PD-L1 タンパク質の免疫グロブリン V ドメイン (IgV ドメイン) に結合しない前記抗体または抗体断片であって、前記 IgV ドメインはアミノ酸残基 19 127 から成る、請求項 14 に記載の抗体または抗体断片。

30

【請求項 18】

前記抗体または抗体断片は、キメラ抗体、ヒト化抗体、または、完全ヒト型抗体である、請求項 14 から 17 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 19】

前記抗体または抗体断片はヒト化抗体である、請求項 1 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 20】

請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片と、薬学的に許容可能な担体とを含む組成物。

40

【請求項 21】

請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片をコードする 1 または複数のポリヌクレオチドを含む単離細胞。

【請求項 22】

治療を必要とする患者の癌または感染を治療する方法であって、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片の有効量を前記患者に投与する段階を備える方法。

【請求項 23】

前記癌は固形腫瘍である、請求項 22 に記載の方法。

50

【請求項 2 4】

前記癌は、膀胱癌、肝臓癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、白血病、リンパ腫、膵臓癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、乳癌、尿道癌、頭頸部癌、胃腸癌、胃癌、食道癌、卵巣癌、腎癌、悪性黒色腫、前立腺癌、および、甲状腺癌から成る群から選択される、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記患者に第 2 の癌治療剤を投与する段階を更に備える、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記感染は、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、または、寄生虫感染である、請求項 2 2 に記載の方法。

10

【請求項 2 7】

治療を必要とする患者の癌または感染を治療する方法であって、

(a) 請求項 1 から 1 9 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片を用いて、インビトロで細胞を処理する段階と、

(b) 処理された前記細胞を前記患者に投与する段階とを備える方法。

【請求項 2 8】

段階 (a) の前に、前記細胞を個人から単離する段階を更に備える、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記細胞は前記患者から単離される、請求項 2 8 に記載の方法。

20

【請求項 3 0】

前記細胞は、前記患者とは異なるドナー個人から単離される、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記細胞は T 細胞である、請求項 2 7 から 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記 T 細胞は、腫瘍浸潤 T リンパ球、CD 4 + T 細胞、CD 8 + T 細胞、または、それらの組み合わせである、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

試料における PD - L 1 の発現を検出する方法であって、

前記抗体または抗体断片が前記 PD - L 1 に結合する条件下で、請求項 1 から 1 9 のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片に前記試料を接触させる段階と、

前記試料における PD - L 1 の発現を示す前記結合を検出する段階とを備える方法。

30

【請求項 3 4】

前記試料は、腫瘍細胞、腫瘍組織、感染組織または血液試料を含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

単離された抗体または抗体断片であって、ヒト PD - L 1 タンパク質への特異性を有し

40

(a) 配列識別番号 1 の VH CDR 1、または、配列識別番号 1 の位置 1、2 もしくは 5 において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号 1 の変異型、

(b) 配列識別番号 2 の VH CDR 2、または、配列識別番号 2 の位置 7、8、1 4 もしくは 1 5 において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号 2 の変異型、

(c) 配列識別番号 3 の VH CDR 3、または、配列識別番号 3 の位置 1、2、3、4、5 もしくは 6 において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号 3 の変異型、

(d) 配列識別番号 4 の VL CDR 1、または、配列識別番号 4 の位置 3 において、

50

単一置換、欠失もしくは挿入を有する配列識別番号4の変異型、

(e) 配列識別番号5のV L C D R 2、または、配列識別番号5の位置1、2、3、4、5もしくは6において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号5の変異型、および、

(f) 配列識別番号6のV L C D R 3、または、配列識別番号6の位置11もしくは2において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号6の変異型を含む抗体または抗体断片。

【請求項36】

前記配列識別番号1の変異型は、配列識別番号61 67から成る群から選択される、請求項35に記載の抗体または抗体断片。

10

【請求項37】

前記配列識別番号2の変異型は、配列識別番号68 77から成る群から選択される、請求項35に記載の抗体または抗体断片。

【請求項38】

前記配列識別番号3の変異型は、配列識別番号78 90から成る群から選択される、請求項35に記載の抗体または抗体断片。

【請求項39】

前記配列識別番号4の変異型は、配列識別番号91 92から成る群から選択される、請求項35に記載の抗体または抗体断片。

【請求項40】

前記配列識別番号5の変異型は、配列識別番号93 105から成る群から選択される、請求項35に記載の抗体または抗体断片。

20

【請求項41】

前記配列識別番号6の変異型は、配列識別番号106 111から成る群から選択される、請求項35に記載の抗体または抗体断片。

【請求項42】

重鎖定常領域、軽鎖定常領域、Fc領域、または、それらの組み合わせを更に備える、請求項35から41のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片。

【請求項43】

前記抗体または抗体断片はキメラ抗体、ヒト化抗体、または、完全ヒト型抗体である、請求項35から41のいずれか一項に記載の抗体または抗体断片。

30

【請求項44】

K a b a tナンバリングによる、

(a) 位置44のS e r、

(b) 位置49のA l a、

(c) 位置53のA l a、

(d) 位置91のI l e、

(e) 位置1のG l u、

(f) 位置37のV a l、

(g) 位置40のT h r、

(h) 位置53のV a l、

(i) 位置54のG l u、

(j) 位置77のA s n、

(k) 位置94のA r g、および、

(l) 位置108のT h r、ならびに、

それらの組み合わせ

から成る群から選択される1または複数のアミノ酸残基を含む重鎖可変領域を含む、請求項43に記載の抗体または抗体断片。

40

【請求項45】

K a b a tナンバリングによる、(a) 位置44のS e r、(b) 位置49のA l a、

50

(c) 位置 53 の A l a、および/または、(d) 位置 91 の I l e、ならびに、それらの組み合わせを含む重鎖可変領域を含む、請求項 43 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 46】

K a b a t ナンパリングによる、

- (a) 位置 22 の S e r、
- (b) 位置 42 の G l n、
- (c) 位置 43 の S e r、
- (d) 位置 60 の A s p、および、
- (e) 位置 63 の T h r、ならびに、

それらの組み合わせ

から成る群から選択される 1 または複数のアミノ酸残基を含む軽鎖可変領域を含む請求項 43 に記載の抗体または抗体断片。

【請求項 47】

請求項 1 から 19 または 35 から 46 のいずれか一項に記載の抗体断片と、免疫細胞上の分子への特異性を有する第 2 の抗原結合断片とを含む、単離された二重特異性抗体。

【請求項 48】

前記分子は、P D - 1、C T L A - 4、L A G - 3、C D 2 8、C D 1 2 2、4 1 B B、T I M 3、O X - 4 0、O X 4 0 L、C D 4 0、C D 4 0 L、L I G H T、I C O S、I C O S L、G I T R、G I T R L、T I G I T、C D 2 7、V I S T A、B 7 H 3、B 7 H 4、H E V M、B T L A、K I R および C D 4 7 から成る群から選択される、請求項 47 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 49】

前記抗体断片、および、前記第 2 の抗原結合断片は、F a b 断片、一本鎖可変断片 (s c F v) または単ドメイン抗体から各々独立に選択される、請求項 47 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 50】

F c 断片を更に含む、請求項 47 に記載の二重特異性抗体。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

分化抗原群 274 (C D 2 7 4) または B 7 ホモログ 1 (B 7 - H 1) とも知られているプログラム細胞死リガンド 1 (P D - L 1) は、妊娠、組織同種移植、自己免疫疾患、および、肝臓炎などの他の病状など、特定の事象中に免疫系の抑制において主な役割を果たすと考えられている 40 k D a の 1 型細胞膜貫通タンパク質である。P D - L 1 が P D - 1 または B 7 . 1 に結合すると、リンパ節における C D 8 + T 細胞の増殖を低減する阻害シグナルが伝達される。加えて、P D - 1 は、B c l - 2 遺伝子の下向き調節によって更に媒介されるアポトーシスを通して、リンパ節における外来抗原特異的 T 細胞の蓄積を制御することもできる。

【0002】

P D - L 1 の上向き調節は、癌が宿主の免疫系を回避することを可能にし得ることが示されている。腎細胞癌の患者からの腫瘍標本の解析から、P D - L 1 の高い腫瘍発現は、腫瘍の進行性の増加、および、死亡リスクの増加に関連することが分かった。癌免疫療法として多くの P D - L 1 阻害剤が開発中であり、それらは臨床試験において良い結果を示している。

【0003】

P D - L 1 の阻害は、癌の治療に加えて、感染症を治療する可能性を示している。細胞内感染のモデルマウスにおいて、L モノサイトゲネスは、T 細胞、NK 細胞、マクロファージにおける P D - L 1 タンパク質の発現を誘導した。P D - L 1 の遮断 (例えば、遮断抗体の使用) の結果、感染したマウスの死亡率が増加した。遮断により、マクロファージによる一酸化窒素および T N F の生成が減少し、NK 細胞によるグランザイム B の生成

10

20

30

40

50

が減少し、Lモノサイトゲネス抗原特異的CD8 T細胞の増殖が減少した(ただし、CD4 T細胞の増殖は減少しなかった)。この証拠は、PD-L1が細胞内感染において正の共刺激分子として機能することを示す。

【発明の概要】

【0004】

本開示は、ヒトPD-L1タンパク質への高い結合親和性を有する抗PD-L1抗体を提供し、PD-L1とその受容体PD-1との間の相互作用を効果的に遮断できる。例において、これらの抗PD-L1抗体がT細胞免疫反応を促進し、腫瘍増殖を阻害することが実証されたことも重要である。PD-L1タンパク質の細胞外部分の免疫グロブリンVドメインに結合する既知の抗PD-L1抗体との違いとして、これらの抗体は、免疫グロブリンCドメイン、特に、アミノ酸残基Y134、K162およびN183に結合する。これらの抗PD-L1抗体は、様々な種類の癌および感染症の治療などの、治療の目的に有用であり、診断および予後の目的に使用できる。

10

【0005】

本開示の一実施形態は、抗PD-L1抗体または抗体断片を提供し、抗体または抗体断片は、ヒトのプログラム細胞死リガンド1(PD-L1)タンパク質の免疫グロブリンC(IgC)ドメインに特異的に結合できる。いくつかの実施形態において、IgCドメインは、アミノ酸残基133~225から成る。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質のアミノ酸残基Y134、K162またはN183のうち少なくとも1つに結合できる。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質のアミノ酸残基Y134、K162およびN183のうち少なくとも1つに結合できる。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質の免疫グロブリンV(IgV)ドメインに結合せず、IgVドメインは、アミノ酸残基191~271から成る。

20

【0006】

本開示の一実施形態は、抗PD-L1抗体または抗体断片を提供し、抗体または抗体断片は、ヒトのプログラム細胞死リガンド1(PD-L1)タンパク質への特異性を有し、配列識別番号1のVH CDR1、配列識別番号2のVH CDR2、配列識別番号3のVH CDR3、配列識別番号4のVL CDR1、配列識別番号5のVL CDR2、および、配列識別番号6のVL CDR3を含む。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、重鎖定常領域、軽鎖定常領域、Fc領域、または、それらの組み合わせを更に含む。いくつかの実施形態において、軽鎖定常領域は、カップまたはラムダ鎖定常領域である。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、IgG、IgM、IgA、IgEまたはIgDのアイソタイプである。いくつかの実施形態において、アイソタイプはIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4である。抗体または抗体断片は、キメラ抗体、ヒト化抗体、または、完全ヒト型抗体であるが、これらに限定されない。一態様において、抗体または抗体断片はヒト化抗体である。

30

【0007】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、Kabatナンバリングによる、(a)位置44のSer、(b)位置49のAla、(c)位置53のAla、(d)位置91のIle、(e)位置1のGlu、(f)位置37のVal、(g)位置40のThr、(h)位置53のVal、(i)位置54のGlu、(j)位置77のAsn、(k)位置94のArg、および、(l)位置108のThr、ならびに、それらの組み合わせから成る群から選択される1または複数のアミノ酸残基を含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、Kabatナンバリングによる、(a)位置44のSer、(b)位置49のAla、(c)位置53のAla、および/または、(d)位置91のIle、および、それらの組み合わせを含む重鎖可変領域を含む。

40

【0008】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、Kabatナンバリングによる

50

、(a)位置22のSer、(b)位置42のGln、(c)位置43のSer、(d)位置60のAsp、および、(e)位置63のThr、ならびに、それらの組み合わせから成る群から選択される1または複数のアミノ酸残基を含む軽鎖可変領域を含む。

【0009】

抗体または抗体断片の非限定的な例には、配列識別番号7 26から成る群から選択されるアミノ酸配列、または、配列識別番号7~26から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するペプチドを含む重鎖可変領域を有するものが含まれる。抗体または抗体断片の非限定的な例には、配列識別番号27 33から成る群から選択されるアミノ酸配列、または、配列識別番号27 33から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有するペプチドを含む軽鎖可変領域を有するものが含まれる。抗体または抗体断片の非限定的な例には、配列識別番号20のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列識別番号28のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを有するものが含まれる。

10

【0010】

抗体および抗体断片の生物学的に同等な変異型についても説明する。いくつかの実施形態において、単離された抗体または抗体断片が提供され、当該抗体または抗体断片は、ヒトPD-L1タンパク質への特異性を有し、(a)配列識別番号1のVH CDR1、または、配列識別番号1の位置1、2もしくは5において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号1の変異型、(b)配列識別番号2のVH CDR2、または、配列識別番号2の位置7、8、14もしくは15において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号2の変異型、(c)配列識別番号3のVH CDR3、または、配列識別番号3の位置1、2、3、4、5もしくは6において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号3の変異型、(d)配列識別番号4のVL CDR1、または、配列識別番号4の位置3において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する配列識別番号4の変異型、(e)配列識別番号5のVL CDR2、または、配列識別番号5の位置1、2、3、4、5もしくは6において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号5の変異型、および、(f)配列識別番号6のVL CDR3、または、配列識別番号6の位置11もしくは2において、単一置換、欠失もしくは挿入を有する、配列識別番号6の変異型を含む。

20

【0011】

いくつかの実施形態において、配列識別番号1の変異型は、配列識別番号61 67から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、配列識別番号2の変異型は、配列識別番号68 77から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、配列識別番号3の変異型は、配列識別番号78 90から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、配列識別番号4の変異型は、配列識別番号91 92から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、配列識別番号5の変異型は、配列識別番号93 105から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、配列識別番号6の変異型は、配列識別番号106 111から成る群から選択される。

30

【0012】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、Kabatナンバリングによる、(a)位置44のSer、(b)位置49のAla、(c)位置53のAla、(d)位置91のIle、(e)位置1のGlu、(f)位置37のVal、(g)位置40のThr、(h)位置53のVal、(i)位置54のGlu、(j)位置77のAsn、(k)位置94のArg、および、(l)位置108のThr、ならびに、それらの組み合わせから成る群から選択される1または複数のアミノ酸残基を含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、Kabatナンバリングによる、(a)位置44のSer、(b)位置49のAla、(c)位置53のAla、および/または、(d)位置91のIle、ならびに、それらの組み合わせを含む重鎖可変領域を含む。

40

【0013】

50

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、K a b a tナンバリングによる、(a)位置22のS e r、(b)位置42のG l n、(c)位置43のS e r、(d)位置60のA s p、および、(e)位置63のT h r、ならびに、それらの組み合わせから成る群から選択される1または複数のアミノ酸残基を含む軽鎖可変領域を含む。

【0014】

いくつかの実施形態において、本開示の抗体または抗体断片と、薬学的に許容可能な担体とを含む組成物を提供する。更に、いくつかの実施形態において、本開示の抗体または抗体断片をコードする1または複数のポリヌクレオチドを含む単離細胞を提供する。

【0015】

治療方法および使用も提供される。一実施形態において、本開示の抗体または抗体断片の有効量を、それらを必要とする患者に投与する段階を備える、患者の癌または感染を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態において、癌は固形腫瘍である。いくつかの実施形態において、癌は、膀胱癌、肝臓癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、白血病、リンパ腫、膵臓癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、乳癌、尿道癌、頭頸部癌、胃腸癌、胃癌、食道癌、卵巣癌、腎癌、悪性黒色腫、前立腺癌、および、甲状腺癌から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、癌は、膀胱癌、肝臓癌、膵臓癌、非小細胞肺癌、乳癌、尿道癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、扁平上皮細胞癌、メルケル細胞癌、胃腸癌、胃癌、食道癌、卵巣癌、腎癌および小細胞肺癌から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、方法は更に、第2の癌治療剤を患者に投与する段階を備える。いくつかの実施形態において、感染は、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、または、寄生虫感染である。

10

20

【0016】

別の実施形態において、治療が必要な患者の癌または感染を治療する方法が提供され、当該方法は、(a)本開示の抗体または抗体断片を用いて、インビトロで細胞を処理する段階と、(b)処理された細胞を患者に投与する段階とを備える。いくつかの実施形態において、方法は更に、段階(a)の前に、個人から細胞を単離する段階を備える。いくつかの実施形態において、細胞は患者から単離される。いくつかの実施形態において、細胞は、患者とは異なるドナー個人から単離される。いくつかの実施形態において、細胞はT細胞であり、その非限定的な例には、腫瘍浸潤Tリンパ球、C D 4 + T細胞、C D 8 + T細胞、または、それらの組み合わせが含まれる。

30

【0017】

診断方法および使用も提供される。一実施形態において、抗体または抗体断片がP D - L 1に結合する条件下で、抗体または抗体断片に試料を接触させる段階と、試料におけるP D - L 1の発現を示す結合を検出する段階とを備える、試料におけるP D - L 1の発現を検出する方法を提供する。いくつかの実施形態において、試料は、腫瘍細胞、腫瘍組織、感染組織または血液試料を含む。

【0018】

本開示の抗体および断片は、二重特異性抗体を調製するために使用できる。一実施形態において、本開示の断片と、免疫細胞上の分子への特異性を有する第2抗原結合断片とを含む、単離された二重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、分子は、P D - 1、C T L A - 4、L A G - 3、C D 2 8、C D 1 2 2、4 1 B B、T I M 3、O X - 4 0、O X 4 0 L、C D 4 0、C D 4 0 L、L I G H T、I C O S、I C O S L、G I T R、G I T R L、T I G I T、C D 2 7、V I S T A、B 7 H 3、B 7 H 4、H E V MまたはB T L A、C D 4 7およびC D 7 3から成る群から選択される。いくつかの実施形態において、断片、および、第2の断片は、F a b断片、一本鎖可変断片(s c F v)または単一ドメイン抗体から各々独立に選択される。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体は、F c断片を更に含む。

40

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】H L 1 2 1 0 - 3が高い親和性でヒトP D - L 1に結合できることを示す。

【0020】

50

【図2】HL1210-3がヒトPD-L1のヒトPD1への結合を効率的に阻害できることを示す。

【0021】

【図3】HL1210-3抗体が、哺乳類細胞上で発現するPD-L1に対するPD-1の結合を非常に効率的に阻害できることを示す。

【0022】

【図4】試験対象の抗PD-L1抗体が、ヒトT細胞応答を促進できることを示す。

【0023】

【図5】組換えPD-L1に対するHL1210-3の結合速度を示す。

【0024】

【図6】すべての試験対象のヒト化抗体が、ヒトPD-L1に対して、キメラ抗体と同等の結合効力を有することを示す。

【0025】

【図7】すべての試験対象のヒト化抗体が、哺乳類細胞上で発現するPD-L1に対して、キメラ抗体と同等に非常に効率的に結合できることを示す。

【0026】

【図8】ヒト化抗体Hu1210-41が低い親和性でアカゲザルPD-L1に結合でき、ラットおよびマウスPD-L1に結合できないことを示す。

【0027】

【図9】Hu1210-41抗体が、B7-DC、B7-1、B7-2、B7-H2、PD-1、CD28、CTLA4、ICOSおよびBTLAではなく、B7-H1(PD-L1)のみに特異的に結合できることを示す。

【0028】

【図10】Hu1210-41が、ヒトPD1およびB7-1に対するヒトPD-L1の結合を効率的に阻害できることを示す。

【0029】

【図11】Hu1210-41が、ヒトPD1およびB7-1に対するヒトPD-L1の結合を効率的に阻害できることを示す。

【0030】

【図12】Hu1210-8、Hu1210-9、Hu1210-16、Hu1210-17、Hu1210-21およびHu1210-36ヒト化抗体が、混合リンパ球反応におけるIFN γ およびIL-2の生成を用量依存的に促進できることを示す。

【0031】

【図13】Hu1210-40、Hu1210-41およびHu1210-17ヒト化抗体が、CMVリコールアッセイにおけるIFN γ の生成を用量依存的に促進できることを示す。

【0032】

【図14】HCC827-NSG異種移植モデルにおいて、Hu1210-31が5mg/kgで、腫瘍増殖を30%阻害できることを示す。

【0033】

【図15】Hu1210-41抗体が、HCC827-NSG異種移植モデルにおいて、腫瘍増殖を用量依存的に阻害でき、一方、腫瘍重量はまた、Hu1210-41抗体によって用量依存的に抑制されることを示す。

【0034】

【図16】発現の関数として、各PD-L1変異型について、平均結合値をプロットする(対照:抗PD-L1 mAb反応性)。

【0035】

【図17】抗PD-L1Hu1210-41抗体への結合に關与する残基である、Y134、K162およびN183の位置を(球体で)示す。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

【0036】

〔定義〕

「1」または「一」という語句のエンティティは、1または複数のエンティティを指すことに留意されたい。例えば、「1つの抗体」は、1または複数の抗体を表すものと理解されるべきである。したがって、本明細書においては、「1」（または「一」）、「1または複数」、「少なくとも1つ」という語句は、交換可能に使用できる。

【0037】

本明細書において使用される「ポリペプチド」という語句は、単一の「ポリペプチド」、および、複数の「ポリペプチド」を包含することを意図し、アミド結合（ペプチド結合としても知られている）によって直線状に連結されるモノマー（アミノ酸）から構成される分子を指す。「ポリペプチド」という語句は、2つ以上のアミノ酸の任意の鎖または複数の鎖を指し、産物の特定の長さを指すものではない。したがって、2つ以上のアミノ酸の鎖または複数の鎖を指すために使用される、ペプチド、ジペプチド、トリペプチド、オリゴペプチド、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」、または、任意の他の語句は、「ポリペプチド」の定義に含まれ、「ポリペプチド」という語句は、これらの語句のいずれかの代わりに、または、それらと交換可能に使用され得る。「ポリペプチド」という語句はまた、これらに限定されないが、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、既知の保護/遮断基による誘導体化、タンパク質切断、または、非天然に発生するアミノ酸による改変を含む、ポリペプチドの発現後改変の産物を指すことを意図する。ポリペプチドは、天然の生物学的ソースに由来し得るか、または、組換え技術によって生成され得るが、必ずしも、指定された核酸配列から翻訳されるわけではない。ポリペプチドは、化学合成を含む任意の方式で生成され得る。

10

20

【0038】

本明細書において、細胞、DNAまたはRNAなどの核酸に関連して「単離」という語句が使用される場合、高分子の天然のソースに存在する、他のDNAまたはRNAからそれぞれ分離された分子を指す。「単離」という語句は、本明細書において使用される場合、組換えDNA技法によって生成されたときに細胞物質、ウイルス物質もしくは培地を、または、化学的に合成されたときは前駆的の化学物質もしくは他の化学物質を実質的に含まない核酸またはペプチドを指すこともある。更に、「単離された核酸」は、断片として自然に発生しない、天然の状態で見られないであろう核酸断片を含めることを意味している。「単離」という語句は、本明細書において、他の細胞タンパク質または組織から単離された細胞またはポリペプチドを指すためにも使用される。単離されたポリペプチドとは、精製されたポリペプチド、および、組換えのポリペプチドの両方を包含することを意味している。

30

【0039】

本明細書において使用される、「組換え」という語句は、ポリペプチド、または、ポリヌクレオチドに関連する場合、自然に存在しないポリペプチドまたはポリヌクレオチドの形態を意図し、それらの非限定的な例は、通常は共に発生しないであろうポリヌクレオチドまたはポリペプチドを組み合わせるによって形成できる。

【0040】

「相同性」または「同一性」または「類似性」は、2つのペプチドの間、または、2つの核酸分子の間の配列類似性を指す。相同性は、比較の目的で揃えられ得る各配列における位置を比較することによって決定できる。比較される配列内のある位置が、同一の塩基またはアミノ酸によって占められるとき、分子はその位置において相同である。配列間の相同性の程度は、配列によって共有される、一致する位置または相同的な位置の数の関数である。「関連のない」、または、「非相同的」配列は、本開示の配列の1つと40%未満の同一性（好ましくは25%未満の同一性）を共有する。

40

【0041】

ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチド領域（またはポリペプチドまたはポリペプチド領域）が別の配列と特定の割合（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、

50

85%、90%、95%、98%または99%)の配列同一性を有することは、揃えられたとき、2つの配列の比較において、その割合の塩基(またはアミノ酸)が同一であることを意味する。このアライメントおよび百分率相同性または配列同一性は、例えば、A u s u b e l e t a l . e d s . (2 0 0 7) C u r r e n t P r o t o c o l s i n M o l e c u l a r B i o l o g y において説明されているものなど、本技術分野において知られているソフトウェアプログラムを使用して決定できる。好ましくは、デフォルトパラメータがアライメントのために使用される。1つのアライメントプログラムは、デフォルトパラメータを使用するBLASTである。特に、プログラムは、以下のデフォルトパラメータを使用するBLASTNおよびBLASTPである。Gene
t i c c o d e = s t a n d a r d ; f i l t e r = n o n e ; s t r a n d = b o t h ; c u t o f f = 6 0 ; e x p e c t = 1 0 ; M a t r i x = B L O S U M 6 2 ; D e s c r i p t i o n s = 5 0 s e q u e n c e s ; s o r t b y = H I G H S C O R E ; D a t a b a s e s = n o n - r e d u n d a n t , G e n B a n k + E M B L + D D B J + P D B + G e n B a n k C D S t r a n s l a t i o n s + S w i s s P r o t e i n + S P u p d a t e + P I R。生物学的に同等のポリヌクレオチドとは、上で示された指定の百分率相同性を有し、かつ、同一または同様の生物学的活性を有するポリペプチドをコードするものである。

【0042】

「同等の核酸またはポリヌクレオチド」という語句は、核酸のヌクレオチド配列またはその相補的配列とある程度の相同性、または、配列同一性を有するヌクレオチド配列を有する核酸を指す。二本鎖核酸のホモログとは、ある程度の相同性を有するヌクレオチド配列を有する核酸、または、その相補的配列を含むことを意図している。一態様において、核酸のホモログは、核酸またはその相補的配列にハイブリダイズすることが可能である。同様に、「同等のポリペプチド」は、基準ポリペプチドのアミノ酸配列とある程度の相同性または配列同一性を有するポリペプチドを指す。いくつかの態様において、配列同一性は、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%である。いくつかの態様において、同等のポリペプチドまたはポリヌクレオチドは、基準のポリペプチドまたはポリヌクレオチドと比較したとき、1、2、3、4または5個の追加、欠失、置換および組み合わせを有する。いくつかの態様において、同等の配列は、基準配列の活性(例えば、エピトープ結合)または構造(例えば塩橋)を保持する。

【0043】

ハイブリダイゼーション反応は、異なる「厳密性」の条件下で実行できる。一般に、低厳密性ハイブリダイゼーション反応は、約10倍のSSC溶液、または、同等のイオン強度/温度の溶液において、約40 で実行される。中程度の厳密性のハイブリダイゼーションは、典型的には、約6倍のSSCにおいて、約50 で実行される。高厳密性ハイブリダイゼーション反応は、一般的に、約1倍のSSCにおいて、約60 で実行される。ハイブリダイゼーション反応は、当業者によく知られている「生理的条件」下で実行することもできる。生理的条件の非限定的な例は、細胞において通常見られる温度、イオン、強度、pH、および、Mg²⁺濃度である。

【0044】

ポリヌクレオチドは、4個のヌクレオチド塩基、すなわち、アデニン(A)、シトシン(C)、グアニン(G)、チミン(T)の特定配列(ポリヌクレオチドがRNAであるとき、チミンの代わりにウラシル(U))から構成される。したがって、「ポリヌクレオチド配列」という語句は、ポリヌクレオチド分子の文字表現である。この文字表現は、中央処理装置を有するコンピュータ内のデータベースに入力でき、機能ゲノミクスおよび相同性検索などのバイオインフォマティクスの用途に使用できる。「ポリモρφイズム」という語句は、1つより多くの形態の遺伝子またはその部分が共存することを指す。遺伝子のうち、少なくとも2つの異なる形態、すなわち、2つの異なるヌクレオチド配列がある部分は、「遺伝子の多型領域」と呼ばれる。多型領域は単一のヌクレオチドであってよく、

異なる対立遺伝子において同一性は異なる。

【0045】

「ポリヌクレオチド」および「オリゴヌクレオチド」という語句は、交換可能に使用され、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドまたはその類似体のいずれかである、任意の長さの高分子形態のヌクレオチドを指す。ポリヌクレオチドは、任意の3次元構造を有することができ、既知または未知の任意の機能を実行し得る。以下はポリヌクレオチドの非限定的な例である。遺伝子または遺伝子断片（例えば、プローブ、プライマー、ESTまたはSAGEタグ）、エクソン、イントロン、メッセンジャーRNA（mRNA）、トランスファーRNA、リボソームRNA、リボザイム、cDNA、dsRNA、siRNA、miRNA、組換えポリヌクレオチド、分岐型ポリヌクレオチド、プラスミド、ベクター、任意の配列の単離DNA、任意の配列の単離されたRNA、核酸プローブおよびプライマー。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチドおよびヌクレオチド類似体などの改変されたヌクレオチドを含み得る。ヌクレオチド構造への改変は、もしある場合、ポリヌクレオチドの構築の前または後に付与することができる。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって割り込まれ得る。ポリヌクレオチドは重合後、標識部分への連結などにより、更に改変され得る。また、この語句は、二本鎖および一本鎖の分子両方を指す。別段の記載がある場合、または、必要である場合を除き、本開示の任意の実施形態のポリヌクレオチドは、二本鎖形と、二本鎖形を形成することが知られている、または、予想される、2つの相補的な一本鎖形の各々を含む。

10

【0046】

ポリヌクレオチドに適用される「コード」という語句は、ポリヌクレオチドが天然型の状態において、または、当業者によく知られている方法によって操作されるとき、転写および/または翻訳されてポリペプチドおよび/またはその断片のためのmRNAを生成できる場合、ポリペプチドを「コード」とするといわれるポリヌクレオチドを指す。アンチセンス鎖は、そのような核酸の相補鎖であり、コード配列をそれから推測できる。

20

【0047】

本明細書において使用される「抗体」または「抗原結合ポリペプチド」は、抗原を特異的に認識してそれに結合するポリペプチドまたはポリペプチド複合体を指す。抗体は、全抗体および任意の抗原結合断片、または、それらの一本鎖であってよい。したがって、「抗体」という語句は、抗原に結合する生物学的活性を有する免疫グロブリン分子の少なくとも一部を含む分子を含む任意のタンパク質またはペプチドを含む。そのような例には、これらに限定されないが、重鎖もしくは軽鎖の相補性決定領域（CDR）またはそれらのリガンド結合部分、重鎖もしくは軽鎖可変領域、重鎖もしくは軽鎖定常領域、フレームワーク（FR）領域、または、それらの任意の部分、または、結合タンパク質の少なくとも1つ一部が含まれる。

30

【0048】

本明細書において使用される、「抗体断片」または「抗原結合断片」という語句は、 $F(a b')_2$ 、 $F(a b)_2$ 、 $F a b'$ 、 $F a b$ 、 $F v$ 、 $s c F v$ 、および同様のものなどの抗体の一部である。構造にかかわらず、抗体断片は、完全な抗体によって認識される抗原と同一のものに結合する。「抗体断片」という語句は、アダプター、スピゲルマー、2特異性抗体を含む。「抗体断片」という語句は、特異的抗原に結合して複合体を形成することによって抗体のように機能する、合成タンパク質、または、遺伝子組み換えタンパク質も含む。

40

【0049】

「一本鎖可変断片」または「 $s c F v$ 」は、免疫グロブリンの重鎖（ V_H ）および軽鎖（ V_L ）の可変領域の融合タンパク質を指す。いくつかの態様において、この領域は10～約25アミノ酸の短いリンカペプチドに結合する。リンカは、柔軟性のためのグリシン、および、溶解性のためのセリンまたはスレオニンが豊富であり得、 V_H のN末端、または、 V_L のC末端のいずれかに接続され得る（逆も成立する）。このタンパク質は、定常領域が除去されていてリンカが導入されているが、元の免疫グロブリンの特異性を保持す

50

る。本技術分野において、S c F v分子が知られており、例えば、米国特許第5,892,019号において説明されている。

【0050】

抗体という語句は、生化学的に区別できる様々な幅広いクラスのポリペプチドを包含する。当業者であれば、重鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、または、イプシロン(、μ、、)として、また、それらの中のいくつかのサブクラス(例えば、14)に分類されることを理解するであろう。この鎖の性質によって、抗体の「クラス」がそれぞれI g G、I g M、I g A、I g GまたはI g Eとして決定される。免疫グロブリンのサブクラス(アイソタイプ)、例えば、I g G₁、I g G₂、I g G₃、I g G₄、I g G₅などは、特徴がはっきりしており、機能的な特化を付与することが知られている。これらのクラスおよびアイソタイプの各々の改変版は、当業者が本開示を参照して容易に認識でき、従って、本開示の範囲内にある。すべての免疫グロブリンのクラスが本開示の範囲内にあることは明確であり、以下の説明は一般的に、免疫グロブリン分子のI g Gクラスに関連する。I g Gに関連して、標準の免疫グロブリン分子は、分子量約23,000ドルトンである2つの同一の軽鎖ポリペプチドと、分子量53,000 - 70,000である2つの同一の重鎖ポリペプチドとを含む。4本の鎖は、典型的には、「Y」の形状でジスルフィド結合によって連結され、軽鎖は「Y」の開いた部分から開始する重鎖と対を形成し、可変領域全体にわたって連続している。

10

【0051】

本開示の抗体、抗原結合ポリペプチド、それらの変異型または誘導体には、これらに限定されないが、ポリクローナル、モノクローナル、多特異性、ヒト型、ヒト化、霊長類化もしくはキメラ抗体、一本鎖抗体、エピトープ結合断片、例えば、F a b、F a b'およびF (a b')₂、F d、F v s、一本鎖F v (s c F v)、一本鎖抗体、ジスルフィド連結F v (s d F v)、V KまたはV Hドメインのいずれかを含む断片、F a b発現ライブラリによって生成される断片、抗イデオタイプ(抗I d)抗体(例えば、本明細書において開示されるL I G H T抗体への抗I d抗体を含む)が含まれる。本開示の免疫グロブリンまたは抗体分子は、任意の種類(例えば、I g G、I g E、I g M、I g D、I g A、I g Y)、クラス(例えば、I g G₁、I g G₂、I g G₃、I g G₄、I g A₁およびI g A₂)、または、免疫グロブリン分子のサブクラスであり得る。

20

【0052】

軽鎖はカッパまたはラムダ(、)のいずれかに分類される。各重鎖クラスは、カッパまたはラムダのいずれかの軽鎖に結合し得る。一般に、軽鎖および重鎖は、互いに共有結合し、免疫グロブリンがハイブリドーマ、B細胞、または、遺伝子組み換えの宿主細胞のいずれかによって生成されるとき、2つの重鎖の「テール」部分は、共有結合性ジスルフィド連結または非共有結合性連結によって互いに結合される。重鎖において、アミノ酸配列は、Y形状の分岐端におけるN末端から、各鎖の底部におけるC末端まで続いている。

30

【0053】

軽鎖および重鎖は両方、構造および機能的に相同の複数の領域に分割される。「定常」および「可変」という語句は、機能について使用される。これに関連して、軽鎖(V K)および重鎖(V H)部分両方の可変ドメインは、抗原認識および特異性を決定することを理解されたい。逆に、軽鎖(C K)および重鎖(C H₁、C H₂またはC H₃)の定常ドメインは、分泌、経胎盤移動性、F c受容体結合、相補的結合および同様のものなどの重要な生物学的特性を付与する。慣習的に、定常領域ドメインの番号は、抗体の抗原結合部位またはアミノ末端から遠ざかるにつれて増加する。可変領域におけるN末端部分およびC末端部分は定常領域であり、C H₃およびC Kドメインはそれぞれ、重鎖および軽鎖のカルボキシ末端を実際を含む。

40

【0054】

上で示されるように、可変領域は、抗体が抗原上のエピトープを選択的に認識して特異的に結合することを可能にする。つまり、抗体のV KドメインおよびV Hドメイン、また

50

は、相補性決定領域(CDR)のサブセットは結合して、3次元の抗原結合部位を画定する可変領域を形成する。この4要素抗体構造は、Yの各腕の末端に存在する抗原結合部位を形成する。より具体的には、抗原結合部位は、VHおよびVK鎖の各々における3個のCDR(すなわち、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)によって画定される。いくつかの例、例えば、ラクダ科に由来する、または、ラクダ科免疫グロブリンをベースにして操作された特定の免疫グロブリン分子において、完全な免疫グロブリン分子は、軽鎖が無く重鎖のみから成ることがあり得る。例えば、Hamers-Casterman et al., Nature 363: 446-448 (1993)を参照されたい。

【0055】

自然に発生する抗体において、各抗原結合ドメインに存在する6個の「相補性決定領域」またはCDRは、アミノ酸の短い不連続配列であり、これらは、抗体が水性環境において3次元構成をとるときに、抗原結合ドメインを形成するように特異的に配置される。抗原結合ドメインにおける残りのアミノ酸は、「フレームワーク」領域と呼ばれ、より小さい分子間の可変性を示す。フレームワーク領域は主に、シートの形態を取り、CDRは、シート構造を接続する、および、いくつかの場合には、シート構造の一部を形成するループを形成する。したがって、フレームワーク領域は、鎖間の非共有結合性相互作用によってCDRを正しい向きに位置決めするため足場を形成するように機能する。位置決めされたCDRによって形成される抗原結合ドメインは、免疫反応性抗原上のエピトープに相補的な表面を画定する。この相補的な表面は、同族エピトープに対する抗体の非共有結合を促進する。CDRおよびフレームワーク領域をそれぞれ構成するアミノ酸は、正確に定義されているので("Sequences of Proteins of Immunological Interest," Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1983)、および、Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196: 901-917 (1987)を参照)、当業者によって、任意の重鎖または軽鎖可変領域について、容易に同定されることができる。

【0056】

当分野において使用および/または受け入れられている語句に2つ以上の定義がある場合、本明細書において使用される語句の定義は、別段の明示的な記載が無い限り、そのような意味をすべて含むことが意図されている。具体的な例は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域において見られる不連続抗原結合部位を説明するために、「相補性決定領域」(「CDR」)という語句を使用することである。この特定の領域は、参照によって全体が本明細書に組み込まれる、Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983)およびChothia et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)において説明されている。KabatおよびChothiaによるCDRの定義は、互いに比較したときに、重複するアミノ酸残基のサブセットを含む。上記にかかわらず、抗体またはその変異型のCDRを指すために、いずれかの定義を適用することは、本明細書において定義および使用される語句の範囲内にあることが意図される。上で挙げられた参考文献の各々によって定義されるCDRを含む適切なアミノ酸残基を下の表において比較として説明する。特定のCDRを包含する厳密な残基番号は、CDRの配列およびサイズに応じて変動する。当業者であれば、抗体の可変領域アミノ酸配列を考慮することで、どの残基が特定のCDRを構成するかを定型的に決定できる。

10

20

30

40

【表 1】

	Kabat	Chothia
CDR-H1	31-35	26-32
CDR-H2	50-65	52-58
CDR-H3	95-102	95-102
CDR-L1	24-34	26-32
CDR-L2	50-56	50-52
CDR-L3	89-97	91-96

【0057】

また、Kabat et al は、任意の抗体に適用される可変ドメイン配列について、ナンバリングシステムを定義した。当業者であれば、配列自体以外のいかなる実験データにも頼ることなく、この「Kabatナンバリング」のシステムを任意の可変ドメイン配列に明確に割り当てることができる。本明細書において使用される「Kabatナンバリング」は、Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983) によって説明されるナンバリングシステムを指す。

10

【0058】

上の表に加えて、Kabatナンバリングシステムは、CDR領域を以下のように説明する。CDR-H1は、約31番目のアミノ酸（すなわち、最初のシステイン残基の後の約9残基）から開始し、約5～7のアミノ酸を含み、次のトリプトファン残基で終了する。CDR-H2は、CDR-H1の末端の後の第15の残基から開始し、約16～19アミノ酸を含み、次のアルギニンまたはリシン残基で終了する。CDR-H3は、CDR-H2の末端の後の約33番目のアミノ酸残基から開始し、3～25アミノ酸を含み、配列WGXGにおいて終了し、Xは任意のアミノ酸であり、CDR-L1は、約24番目の残基（すなわち、システイン残基の後）から開始し、約10～17残基を含み、次のトリプトファン残基で終了する。CDR-L2は、CDR-L1の末端の後の約16番目の残基から開始し、約7残基を含む。CDR-L3は、CDR-L2の末端の後の約33番目の残基（すなわち、システイン残基の後）から開始し、約7～11残基を含み、FまたはWGXGの配列で終了し、Xは任意のアミノ酸である。

20

【0059】

本明細書において開示される抗体は、鳥類および哺乳類を含む任意の動物起源であり得る。好ましくは、抗体は、ヒト、マウス、ロバ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ラマ、ウマ、または、ニワトリの抗体である。別の実施形態において、可変領域は、（例えばサメからの）コンドリクトイド（condricthoïd）が起源であり得る。

30

【0060】

本明細書において使用される「重鎖定常領域」という語句は、免疫グロブリン重鎖由来のアミノ酸配列を含む。重鎖定常領域を含むポリペプチドは、CH1ドメイン、ヒンジ（例えば、上、中央、および/または、下のヒンジ領域）ドメイン、CH2ドメイン、CH3ドメイン、もしくは、変異型、または、それらの断片のうち少なくとも一つを含む。例えば、本開示において使用するための抗原結合ポリペプチドは、（a）CH1ドメインを含むポリペプチド鎖、（b）CH1ドメインを含むポリペプチド鎖、（c）ヒンジドメインの少なくとも一部およびCH2ドメイン、（d）CH1ドメインおよびCH3ドメインを含むポリペプチド鎖、（e）CH1ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、および、CH3ドメインを含むポリペプチド鎖、または、（f）CH1ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、CH2ドメイン、および、CH3ドメインを含むポリペプチド鎖を備え得る。別の実施形態において、本開示のポリペプチドは、CH3ドメインを含むポリペプチド鎖を含む。更に、本開示に使用される抗体には、CH2ドメインの少なくとも一部（例えば、CH2ドメインのすべてまたは一部）が無いことがあり得る。上で説明したように、当業者であれば、自然に発生する免疫グロブリン分子とはアミノ酸配列が異なるように重鎖定常領域が改変され得ることを理解するであろう。

40

50

【0061】

本明細書において開示される抗体の重鎖定常領域は、異なる免疫グロブリン分子に由来し得る。例えば、ポリペプチドの重鎖定常領域は、IgG₁分子由来のCH1ドメイン、および、IgG₃分子由来のヒンジ領域を含み得る。別の例において、重鎖定常領域は、部分的にIgG₁分子に由来し、部分的にIgG₃分子に由来するヒンジ領域を含み得る。別の例において、重鎖部分は、部分的にIgG₁分子に由来し、部分的にIgG₄分子に由来するキメラヒンジを含み得る。

【0062】

本明細書において使用される、「軽鎖定常領域」という語句は、抗体軽鎖に由来するアミノ酸配列を含む。好ましくは、軽鎖定常領域は、定常カッパドメインまたは定常ラムダドメインのうち少なくとも1つを含む。

10

【0063】

「軽鎖 重鎖ペア」は、軽鎖のC1ドメインと重鎖のCH1ドメインとの間のジスルフィド結合を通して二量体を形成できる軽鎖および重鎖の組を指す。

【0064】

上述のように、様々な免疫グロブリンのクラスの定常領域のサブユニット構造および3次元構成はよく知られている。本明細書において使用される「VHドメイン」という語句は、免疫グロブリン重鎖のアミノ末端可変ドメインを含み、「CH1ドメイン」という語句は、免疫グロブリン重鎖の第1（最アミノ末端）定常領域ドメインを含む。CH1ドメインは、VHドメインに隣接し、免疫グロブリン重鎖分子のヒンジ領域へのアミノ末端である。

20

【0065】

本明細書において使用される「CH2ドメイン」という語句は、例えば、従来のナンバリング方式を使用すると、抗体の約244番目の残基から360番目の残基まで延在する重鎖分子の部分を含む（Kabatナンバリングシステムでは残基244～360、EUNanバリングシステムでは残基231～340、Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983)を参照)。CH2ドメインは、別のドメインと密に対になっていないという点で独自である。むしろ、2つのN結合型分岐炭水化物鎖は、完全な天然型のIgG分子の2つのCH2ドメインの間に挿入される。また、CH3ドメインがCH2ドメインからIgG分子のC末端へ延在し、約108残基を含むことが十分に立証されている。

30

【0066】

本明細書において使用される「ヒンジ領域」という語句は、CH1ドメインをCH2ドメインに連結させる重鎖分子の部分を含む。このヒンジ領域は、約25の残基を含み柔軟であり、したがって、2つのN末端抗原結合領域が独立に移動することを可能にする。ヒンジ領域は、3つの区別されるドメイン、すなわち、上、中央、下ヒンジドメインに細分化され得る（Roux et al., J. Immunol 161:4083 (1998)）。

40

【0067】

本明細書において使用される「ジスルフィド結合」という語句は、2つの硫黄原子の間に形成される共有結合を含む。アミノ酸システインは、第2のチオール基との間にジスルフィド結合またはブリッジを形成できるチオール基を含む。自然に発生する大部分のIgG分子において、CH1およびCK領域はジスルフィド結合によって連結され、2つの重鎖は、Kabatナンバリングシステムを使用したときの239および242（EUNanバリングシステムの場合、位置226または229）に対応する位置における2つのジスルフィド結合によって連結される。

【0068】

本明細書において使用される「キメラ抗体」という語句は、免疫反応性領域または部位

50

が第1の種から取得され、または、それに由来し、かつ、定常領域（本開示によれば、完全なもの、部分的なもの、または、改変されたものであり得る）が第2の種から取得される、任意の抗体を意味するものとする。特定の実施形態において、標的結合領域または部位は、非ヒトのソースに由来し（例えば、マウスまたは霊長類）、定常領域はヒト型である。

【0069】

本明細書において使用される「ヒト化率」は、ヒト化ドメインと生殖細胞系ドメインとの間のフレームワークアミノ酸の数の差（すなわち、非CDRの差）を決定し、その数を総アミノ酸数から減算し、それを総アミノ酸数で除算し、100で乗算することによって算出される。

10

【0070】

「特異的に結合」または「特異性を有する」は、一般的に、抗体が抗原結合ドメインを介してエピトープに結合すること、および、結合が抗原結合ドメインとエピトープとの間のいくつかの相補性を伴うことを意味する。この定義によれば、ランダムな関連のないエピトープに結合する場合より容易に、抗体が抗原結合ドメインを介してエピトープに結合するとき、そのエピトープに「特異的に結合」と言われる。「特異性」という語句は、本明細書において、特定の抗体が特定のエピトープに結合する相対的な親和性を認めるために使用される。例えば、抗体「A」は、任意のエピトープについて、抗体「B」より高い特異性を有すると見なされ得る、または、抗体「A」は、関連するエピトープ「D」について有する特異性より高い特異性でエピトープに結合するとされ得る。

20

【0071】

本明細書において使用される「治療」または「治療する」という語句は、治療処置および予防または防止手段の両方を指し、目的は、癌の進行などの、望ましくない生理的变化または疾患を防止または鈍化する（緩和する）。有利な、または、望ましい臨床結果には、これらに限定されないが、検出可能かどうかを問わず、症状の軽減、疾病の程度の減弱、病状の安定化（すなわち、悪化しない）、疾病の進行の遅延または鈍化、病状の改善または緩和、寛解（完全または部分を問わず）が含まれる。「治療」は、治療を受けない場合に予想される生存期間と比較して、生存期間を延ばすことも意味し得る。治療を必要とする者には、既に病態または障害を有する者、および、病態または障害を有する傾向がある者、または、病態または障害を予防されるべき者が含まれる。

30

【0072】

「対象」または「個人」または「動物」または「患者」または「哺乳類」は、任意の対象、特に、診断、予後または治療が望まれる哺乳類対象を意味する。哺乳類対象には、ヒト、家畜動物、農業用の動物、または、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、畜牛、乳牛など、動物園、スポーツ、もしくは、ペット用の動物などが含まれる。

【0073】

本明細書において使用される、「治療を必要とする患者に」または「治療を必要とする対象」などの語句は、例えば、検出、診断手順、および/または、治療に使用される、本開示の抗体または組成物の投与から恩恵を受けるであろう、哺乳類対象などの対象を含む。

40

【0074】

[抗PD-L1抗体]

本開示は、ヒトPD-L1タンパク質への高親和性を有する抗PD-L1抗体を提供する。試験対象の抗体は、強力な結合および阻害活性を示したので、治療および診断の用途に有用である。

【0075】

PD-L1タンパク質は、40kDaの1型細胞膜貫通タンパク質である。細胞外部分は、N末端免疫グロブリンV(IgV)ドメイン(アミノ酸19-127)およびC末端免疫グロブリンC(IgC)ドメイン(アミノ酸133-225)を含む。PD-1およ

50

びPD-L1は、抗体のIgVドメインおよびT細胞受容体のように、そのIgVドメインの保存された前方および側方を通して相互作用する。当然ながら、現在の抗PD-L1抗体はすべて、PD-1とPD-L1との間の結合を妨害できるIgVドメインに結合する。したがって、PD-L1タンパク質のIgCドメインに結合する、本明細書に開示される多くのものなどの抗体が依然として効果的に、おそらくはそれ以上にPD-L1を阻害でき、更に一層改善された治療効果をもたらすという本開示の発見は、驚くべき予想外のことである。

【0076】

したがって、本開示の一実施形態は、抗PD-L1抗体または抗体断片を提供し、抗体または抗体断片は、ヒトのプログラム細胞死リガンド1(PD-L1)タンパク質の免疫グロブリンC(IgC)ドメインに特異的に結合できる。いくつかの実施形態において、IgCドメインは、アミノ酸残基133-225から成る。

10

【0077】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質のアミノ酸残基Y134、K162またはN183のうち少なくとも1つに結合できる。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質のアミノ酸残基Y134、K162またはN183のうち少なくとも2つに結合できる。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質のアミノ酸残基Y134、K162およびN183のうち少なくとも1つに結合できる。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、PD-L1タンパク質の免疫グロブリンV(IgV)ドメインに結合せず、IgVドメインは、アミノ酸残基19から127から成る。

20

【0078】

本開示の一実施形態によれば、配列識別番号1-6において定義されるCDR領域を有する重鎖および軽鎖可変ドメインを含む抗体が提供される。

[表1 CDR領域の配列]

【表2】

名前	配列	配列識別番号
VH CDR1	<u>SYDMS</u>	1
VH CDR2	<u>TISDGGGYYIYSDSVRG</u>	2
VH CDR3	<u>EFGKRYALDY</u>	3
VL CDR1	<u>KASQDVTFAVA</u>	4
VL CDR2	<u>STSSRYT</u>	5
VL CDR3	<u>QQHYTTFILT</u>	6

30

【0079】

実験例において示されるように、これらのCDR領域を含む抗体は、マウス、ヒト化、または、キメラのいずれも、強力なPD-L1結合および阻害活性を有する。更なるコンピュータモデル化は、抗体の特性を保持または改善するように、CDRにおける特定の残基を改変できることを示した。そのような残基は、「ホットスポット」と呼ばれ、表1において下線で示される。いくつかの実施形態において、本開示の抗PD-L1抗体は、表1に列挙されるように、1、2、または、3個の更なる改変を有するVHおよびVL CDRを含む。そのような改変は、アミノ酸の追加、欠失、または、置換であり得る。

40

【0080】

いくつかの実施形態において、改変は、CDRの各々の1つだけのホットスポット位置での置換である。いくつかの実施形態において、改変は、1、2、または、3つのそのようなホットスポット位置での置換である。一実施形態において、改変は、ホットスポット位置のうち1つでの置換である。そのような置換は、いくつかの実施形態において、保存的置換である。

【0081】

「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、同様の側鎖を有するアミノ酸残基に置き換えられる置換のことである。本技術分野において定義された同様の側鎖を有するアミ

50

ノ酸残基のファミリーには、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベータ分岐型側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および、芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。したがって、免疫グロブリンポリペプチドにおける非本質的なアミノ酸残基は、好ましくは、同一の側鎖ファミリーの別のアミノ酸残基に置き換えられる。別の実施形態において、アミノ酸の鎖は、側鎖ファミリーメンバーの順序および/または組成が異なる、構造的に同様の鎖に置き換えることができる。

10

【 0 0 8 2 】

保存的アミノ酸置換の非限定的な例を以下の表に提供する。ここでは、0またはそれより高い類似性スコアは、2つのアミノ酸の間の保存的置換を示す。

[表 2 アミノ酸類似性マトリクス]

【 表 3 】

	C	G	P	S	A	T	D	E	N	Q	H	K	R	V	M	I	L	F	Y	W
W	8	-7	-6	-2	-6	-5	-7	-7	-4	-5	-3	-3	2	-6	-4	-5	-2	0	0	17
Y	0	-5	-5	-3	-3	-3	-4	-4	-2	-4	0	-4	-5	-2	-2	-1	-1	7	10	
F	-4	-5	-5	-3	-4	-3	-6	-5	-4	-5	-2	-5	-4	-1	0	1	2	9		
L	-6	-4	-3	-3	-2	-2	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-3	2	4	2	6			
I	-2	-3	-2	-1	-1	0	2	2	2	2	2	2	2	4	2	5				
M	-5	-3	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0	-1	-2	0	0	2	6					
V	-2	-1	-1	-1	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	4						
R	-4	-3	0	0	-2	-1	-1	-1	0	1	2	3	6							
K	-5	-2	-1	0	-1	0	0	0	1	1	0	5								
H	-3	-2	0	-1	-1	-1	1	1	2	3	6									
Q	-5	-1	0	-1	0	-1	2	2	1	4										
N	-4	0	-1	1	0	0	2	1	2											
E	-5	0	-1	0	0	0	3	4												
D	-5	1	-1	0	0	0	4													
T	-2	0	0	1	1	3														
A	-2	1	1	1	2															
S	0	1	1	1																
P	-3	-1	6																	
G	-3	5																		
C	12																			

20

[表 3 保存的アミノ酸置換]

30

【表 4】

アミノ酸	置換するもの
アラニン	D-Ala, Gly, Aib, β -Ala, L-Cys, D-Cys
アルギニン	D-Arg, Lys, D-Lys, Orn D-Orn
アスパラギン	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu Gln, D-Gln
アスパラギン酸	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
システイン	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr, L-Ser, D-Ser
グルタミン	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
グルタミン酸	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
グリシン	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, Aib, β -Ala
イソロイシン	D-Ile, Val, D-Val, Leu, D-Leu, Met, D-Met
ロイシン	Val, D-Val, Met, D-Met, D-Ile, D-Leu, Ile
リシン	D-Lys, Arg, D-Arg, Orn, D-Orn
メチオニン	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val
フェニルアラニン	D-Phe, Tyr, D-Tyr, His, D-His, Trp, D-Trp
プロリン	D-Pro
セリン	D-Ser, Thr, D-Thr, allo-Thr, L-Cys, D-Cys
スレオニン	D-Thr, Ser, D-Ser, allo-Thr, Met, D-Met, Val, D-Val
チロシン	D-Tyr, Phe, D-Phe, His, D-His, Trp, D-Trp
バリン	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met

10

20

【 0 0 8 3 】

好適な置換を有する C D R の具体的な例が、例 1 1 の配列識別番号 6 1 - 1 1 1 に提供される。したがって、いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、配列識別番号 1 または 6 1 6 7 のいずれか 1 つの V H C D R 1 を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、配列識別番号 2 または 6 8 7 7 のいずれか 1 つの V H C D R 2 を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、配列識別番号 1 または 7 8 9 0 のいずれか 1 つの V H C D R 3 を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、配列識別番号 4 または 9 1 9 2 のいずれか 1 つの V L C D R 1 を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、配列識別番号 5 または 9 3 1 0 5 のいずれか 1 つの V L C D R 2 を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、配列識別番号 6 または 1 0 6 1 1 0 のいずれか 1 つの V L C D R 3 を含む。

30

【 0 0 8 4 】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、上記の置換のうち 1 つだけ、2 つだけ、または、3 つだけを含む。いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、配列識別番号 1 または配列識別番号 6 1 - 6 7 のいずれか 1 つの V H C D R 1 と、配列識別番号 2 の V H C D R 2 と、配列識別番号 3 の V H C D R 3 と、配列識別番号 4 の V L C D R 1 と、配列識別番号 5 の V L C D R 2 と、配列識別番号 6 の V L C D R 3 とを含む。

40

【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、配列識別番号 1 の V H C D R 1 と、配列識別番号 2 または配列識別番号 6 8 - 7 7 のいずれか 1 つの V H C D R 2 と、配列識別番号 3 の V H C D R 3 と、配列識別番号 4 の V L C D R 1 と、配列識別番号 5 の V L C D R 2 と、配列識別番号 6 の V L C D R 3 とを含む。

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、配列識別番号 1 の V H C D R 1 と、配列識別番号 2 の V H C D R 2 と、配列識別番号 3 または配列識別番号 7 8 - 9 0 のいずれか 1 つの V H C D R 3 と、配列識別番号 4 の V L C D R 1 と、配列識別番号 5 の V L C D R 2 と、配列識別番号 6 の V L C D R 3 とを含む。

50

【 0 0 8 7 】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、配列識別番号 1 の V H C D R 1 と、配列識別番号 2 の V H C D R 2 と、配列識別番号 3 の V H C D R 3 と、配列識別番号 4 または配列識別番号 9 1 - 9 2 のいずれか 1 つの V L C D R 1 と、配列識別番号 5 の V L C D R 2 と、配列識別番号 6 の V L C D R 3 とを含む。

【 0 0 8 8 】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、配列識別番号 1 の V H C D R 1 と、配列識別番号 2 の V H C D R 2 と、配列識別番号 3 の V H C D R 3 と、配列識別番号 4 の V L C D R 1 と、配列識別番号 5 または配列識別番号 9 3 - 1 0 5 のいずれか 1 つの V L C D R 2 と、配列識別番号 6 の V L C D R 3 とを含む。

【 0 0 8 9 】

いくつかの実施形態において、抗体または抗体断片は、配列識別番号 1 の V H C D R 1 と、配列識別番号 2 の V H C D R 2 と、配列識別番号 3 の V H C D R 3 と、配列識別番号 4 の V L C D R 1 と、配列識別番号 5 の V L C D R 2 と、配列識別番号 6 または配列識別番号 1 0 6 - 1 1 1 のいずれか 1 つの V L C D R 3 とを含む。

【 0 0 9 0 】

V H の非限定的な例は配列識別番号 7 - 2 6 および 1 1 3 に提供され、そのうち、配列識別番号 1 1 3 がマウス V H であり、配列識別番号 7 - 2 6 がヒト化 V H である。更に、ヒト化 V H のうち、配列識別番号 9 - 1 5、1 7 - 2 1 および 2 3 - 2 6 は、1 または複数の、マウスバージョンへの復帰突然変異を含む。同様に、V L (V K) の非限定的な例は、配列識別番号 2 7 - 3 3 において提供される。配列識別番号 2 8 および 3 0 は、例に示されるように、当初得られた、C D R 移植されたヒト化配列である。配列識別番号 2 9 および 3 1 - 3 3 は、復帰突然変異を有するヒト化 V L である。

【 0 0 9 1 】

復帰突然変異は、抗 P D - L 1 抗体の特定の特徴を保持するために有用であることが示される。従って、いくつかの実施形態において、本開示の抗 P D - L 1 抗体、特に、ヒト型またはヒト化抗体は、復帰突然変異のうち 1 つまたは複数を含む。いくつかの実施形態において、V H 復帰突然変異（すなわち、指定された位置にアミノ酸を含む）は、K a b a t ナンバリングによる、(a) 位置 4 4 の S e r、(b) 位置 4 9 の A l a、(c) 位置 5 3 の A l a、(d) 位置 9 1 の I l e、(e) 位置 1 の G l u、(f) 位置 3 7 の V a l、(g) 位置 4 0 の T h r、(h) 位置 5 3 の V a l、(i) 位置 5 4 の G l u、(j) 位置 7 7 の A s n、(k) 位置 9 4 の A r g、および、(l) 位置 1 0 8 の T h r、および、それらの組み合わせから選択される 1 つまたは複数を含む。いくつかの実施形態において、復帰突然変異は、K a b a t ナンバリングによる、(a) 位置 4 4 の S e r、(b) 位置 4 9 の A l a、(c) 位置 5 3 の A l a、および / または、(d) 位置 9 1 の I l e、ならびに、それらの組み合わせから選択される。

【 0 0 9 2 】

いくつかの実施形態において、V L 復帰突然変異は、K a b a t ナンバリングによる、(a) 位置 2 2 の S e r、(b) 位置 4 2 の G l n、(c) 位置 4 3 の S e r、(d) 位置 6 0 の A s p、および、(e) 位置 6 3 の T h r、ならびに、それらの組み合わせから選択される 1 つまたは複数である。

【 0 0 9 3 】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 P D - L 1 抗体は、配列識別番号 7 - 2 6 の V H、配列識別番号 2 7 - 3 3 の V L、または、それぞれの生物学的同等物を含む。V H または V L の生物学的同等物は、全体的に 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % の配列同一性を有する、指定されたアミノ酸を含む配列である。配列識別番号 2 0 の生物学的同等物は、例えば、配列識別番号 2 0 と全体的に 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % の配列同一性を有するが、C D R (配列識別番号 1 - 6 またはそれらの変異型) を保持し、任意で、復帰突然変異のうち 1 つまたは複数、または、すべてを保持する V H であり得る。一実施形態において、V H は配列識別番号 2 0 のアミノ酸配列を有し、V L は配列識別番号 2 8 のアミノ酸配列を有する。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 4 】

また、当業者であれば、本明細書に開示される抗体は、それらの由来となる、自然に発生する結合ポリペプチドと比較して、アミノ酸配列が変動するように改変され得ることを理解するであろう。例えば、指定されたタンパク質に由来するポリペプチドまたはアミノ酸配列は同様であり得て、例えば、開始配列に対して、特定のパーセントの同一性を有し、例えば、開始配列に対して、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%同一であり得る。

【 0 0 9 5 】

特定の実施形態において、抗体は、通常は抗体に関連しない、アミノ酸配列、または、1または複数の部分を含む。例示的な改変は、以下でより詳細に説明される。例えば、本開示の抗体は、柔軟なリンカ配列を含み得る、または、官能基（例えば、PEG、薬剤、毒物、または、標識）を追加するように改変され得る。

10

【 0 0 9 6 】

本開示の抗体、変異型、または、それらの誘導体は、改変された誘導体、すなわち、エピトープへの抗体の結合が共有結合によって防止されないように任意の種類の子を抗体に共有結合させることによって改変された誘導体を含む。例えば、これらに限定されないが、抗体は例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、既知の保護/遮断基による誘導体化、タンパク質切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結などによって改変できる。多数の化学改変のいずれも、これらに限定されないが、特異的な化学的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などを含む、既知の技法によって実行され得る。加えて、抗体は、1または複数の非従来型アミノ酸を含み得る。

20

【 0 0 9 7 】

いくつかの実施形態において、抗体は、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物応答調節剤、医薬品、またはPEGと結合され得る。

【 0 0 9 8 】

抗体は、放射性標識などの検出可能な標識を含み得る治療剤、免疫調節剤、ホルモン、酵素、オリゴヌクレオチド、光活性治療剤、光活性診断剤、薬物または毒物であり得る細胞傷害性剤、超音波造影剤、非放射性標識、それらの組み合わせ、および、本技術分野において既知である他のそのような物質に結合または融合され得る。

30

【 0 0 9 9 】

抗体は、化学発光化合物と結合させることによって、検出可能に標識できる。その後、化学発光標識された抗原結合ポリペプチドの存在は、化学反応の過程において生じる発光の存在を検出することによって判定される。特に有用な化学発光標識化合物の例には、ルミノール、イソルミノール、セロマティックアクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩、およびシュウ酸エステルがある。

【 0 1 0 0 】

また、抗体は、¹⁵²Euまたはランタニド系列の他のものなどの蛍光放射金属を使用して検出可能に標識できる。これらの金属は、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)またはエチレンジアミン四酢酸(EDTA)などの金属キレート基を使用して、抗体に取り付けることができる。様々な部分を抗体に結合させる技法は既知である。例えば、Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. (1985)のArnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al., (eds.), Marcel Dekker, Inc., pp. 623-53 (1987)のHellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", Monoclonal Antibodies '8

40

50

4: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475 - 506 (1985)のThorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), Academic Press pp. 303 - 16 (1985)の"Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", および, Immunol. Rev. (52:119 - 58 (1982))のThorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody - Toxin Conjugates"を参照されたい。

10

【0101】

[二官能分子]

PD-L1は免疫チェックポイント分子であり、腫瘍抗原でもある。腫瘍抗原標的分子として、PD-L1に特異的な抗体または抗原結合断片を、免疫細胞に特異的な第2の抗原結合断片と組み合わせることで、二重特異性抗体を生成することができる。

【0102】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、T細胞、B細胞、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、食細胞、ナチュラルキラー細胞、好酸球、好塩基球およびマスト細胞から成る群から選択される。標的にできる免疫細胞上の分子には、例えば、CD3、CD16、CD19、CD28およびCD64が含まれる。他の例には、PD-1、CTLA-4、LAG-3 (CD223としても知られている)、CD28、CD122、4-1BB (CD137としても知られている)、TIM3、OX-40もしくはOX40L、CD40もしくはCD40L、LIGHT、ICOS/ICOSL、GITR/GITRL、TIGIT、CD27、VISTA、B7H3、B7H4、HEVMまたはBTLA (CD272としても知られている)、キラー細胞免疫グロブリン様受容体(KIR)、および、CD47が含まれる。二重特異性の具体的な例には、これらに限定されないが、PD-L1/PD-1、PD-L1/LAG3、PD-L1/TIGIT、および、PD-L1/CD47が含まれる。

20

30

【0103】

免疫チェックポイント阻害剤として、PD-L1に特異的な抗体または抗原結合断片を、腫瘍抗原に特異的な第2の抗原結合断片と組み合わせることで、二重特異性抗体を生成できる。「腫瘍抗原」は、腫瘍細胞において生成される抗原性物質であり、すなわち、宿主における免疫反応を引き起こす。腫瘍抗原は、腫瘍細胞の同定において有用であり、癌治療に用いられる潜在的候補である。体内の通常のタンパク質は、抗原性ではない。しかしながら、特定のタンパク質は、腫瘍形成中に生成または過剰発現され、したがって、体には「外来」のものに見える。これには、免疫系からよく隔離された通常のタンパク質、通常は非常に小さい量だけ生成されるタンパク質、通常は成長の特定の段階のみにおいて生成されるタンパク質、または、突然変異に起因して構造が改変されたタンパク質を含み得る。

40

【0104】

本技術分野において、大量の腫瘍抗原が知られており、スクリーニングによって新しい腫瘍抗原を容易に同定できる。腫瘍抗原の非限定的な例には、EGFR、Her2、EpCAM、CD20、CD30、CD33、CD47、CD52、CD133、CD73、CEA、gpA33、ムチン、TAG-72、CIX、PSMA、葉酸結合タンパク質、GD2、GD3、GM2、VEGF、VEGFR、インテグリン、V3、51、ERBB2、ERBB3、MET、IGF1R、EPHA3、TRAILR1、TRAILR2、RANKL、FAPおよびテネイシンが含まれる。

50

【0105】

いくつかの態様において、一価の単官能は、対応する非腫瘍細胞と比較して腫瘍細胞上で過剰発現するタンパク質に対する特異性を有する。ここで使用される「対応する非腫瘍細胞」は、腫瘍細胞の起源と同一の細胞の種類のものである非腫瘍細胞を指す。そのようなタンパク質は、必ずしも腫瘍抗原と異なることに留意されたい。非限定的な例には、(a)大部分の結腸、直腸、胸部、肺、膵臓、消化管の癌腫において過剰発現する癌胎児性抗原(CEA)、(b)胸部、卵巣、結腸、肺、前立腺および子宮頸部の癌において頻繁に過剰発現するヘレグリン受容体(HER-2、neuまたはc-erbB-2)、(c)胸部、頭頸部、非小細胞肺、および、前立腺など、様々な固形腫瘍において多く発現する上皮増殖因子受容体(EGFR)、(d)アシアロ糖タンパク質受容体、(e)トランスフェリン受容体、(f)肝細胞で発現するセルピン酵素複合体受容体、(g)膵管腺癌細胞で過剰発現する線維芽細胞増殖因子受容体(FGFR)、(h)抗血管新生遺伝子療法のための血管内皮増殖因子受容体(VEGFR)、(i)粘液非産生性卵巣癌腫の90%において選択的に過剰発現する葉酸受容体、(j)細胞表面グリコカリックス、(k)炭水化物受容体、(l)呼吸器上皮細胞への遺伝子輸送に有用で、嚢胞性線維症などの肺疾患の治療に対して魅力的な高分子免疫グロブリン受容体が含まれる。これに関して、二重特異性の非限定的な例には、PD-L1/EGFR、PD-L1/Her2、PD-L1/CD33、PD-L1/CD133、PD-L1/CEA、および、PD-L1/VEGFが含まれる。

10

【0106】

異なる形態の二重特異性抗体も提供される。いくつかの実施形態において、抗PD-L1断片および第2断片の各々は、Fab断片、一本鎖可変断片(ScFv)または単ドメイン抗体から独立に選択される。いくつかの実施形態において、二重特異性抗体は更に、Fc断片を含む。

20

【0107】

抗体または抗原結合断片だけを含むわけではない二機能性分子も提供される。腫瘍抗原標的分子として、ここで説明されるものなどの、PD-L1に特異的な抗体または抗原結合断片を、任意でペプチドリンクを通して、免疫サイトカインまたはリガンドと組み合わせることができる。連結される免疫サイトカインまたはリガンドには、これらに限定されないが、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、GM-CSF、TNF-(、CD40L、OX40L、CD27L、CD30L、4-1BBL、LIGHTおよびGITRLが含まれる。そのような二官能分子は、免疫チェックポイント遮断効果を、腫瘍部位局所的免疫調節と組み合わせることができる。

30

【0108】

[抗体をコードするポリヌクレオチドおよび抗体の調製方法]

また、本開示は、本開示の抗体、変異型、または、誘導体をコードする、単離ポリヌクレオチドまたは核酸分子(例えば、配列識別番号34-60、112および114)を提供する。本開示のポリヌクレオチドは、同一のポリヌクレオチド分子上で、または、別個のポリヌクレオチド分子上で、抗原結合ポリペプチド、その変異型または誘導体の重鎖および軽鎖可変領域の全体をコードし得る。加えて、本開示のポリヌクレオチドは、同一のポリヌクレオチド分子上で、または、別個のポリヌクレオチド分子上で、抗原結合ポリペプチド、その変異型または誘導体の重鎖および軽鎖可変領域の一部をコードし得る。

40

【0109】

抗体を作成する方法は、本技術分野において既知であり、本明細書において説明されている。特定の実施形態において、本開示の抗原結合ポリペプチドの可変領域および定常領域の両方は、完全にヒト型である。完全ヒト型抗体は、本技術分野において説明される技法を使用して、本明細書において説明されるように作成できる。例えば、特異的な抗原に対する完全ヒト型抗体は、抗原投与に反応してそのような抗体を生成するが内因性の遺伝子座を欠損するように改変されたトランスジェニック動物に抗原を投与することによって調

50

製できる。そのような抗体を作成するために使用できる例示的技法は、参照によって全体が組み込まれる米国特許第 6, 150, 584 号、第 6, 458, 592 号、第 6, 420, 140 号に説明されている。

【0110】

特定の実施形態において、調製された抗体は、例えばヒトなど、治療されるべき動物において、有害な免疫反応を誘発しない。一実施形態において、本開示の抗原結合ポリペプチド、その変異型または誘導体は、本分野において認識されている技法を使用することによって、免疫原性を低減するように改変される。例えば、抗体はヒト化、霊長類化、脱免疫化でき、または、キメラ抗体を作成できる。これらの種類の抗体は、親抗体の抗原結合特性を保持する、または、実質的に保持するが、ヒトにおいては免疫原性がより小さい、典型的にはマウスまたは霊長類抗体などの非ヒト抗体に由来する。これは、(a) 非ヒト可変ドメインの全体をヒト定常領域に移植してキメラ抗体を生成すること、(b) 非ヒト相補性決定領域 (CDR) の 1 または複数の少なくとも一部を、重大なフレームワーク残基を保持する、または保持しない、ヒトフレームワークおよび定常領域に移植すること、または、(c) 非ヒト可変ドメインの全体を移植するが、表面残基の置き換えによって、ヒト様領域でそれらを「クローキング (cloaking)」することを含む、様々な方法によって達成され得る。そのような方法は、Morrisson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 57: 6851-6855 (1984)、Morrisson et al., Adv. Immunol. 44: 65-92 (1988)、Verhoeyen et al., Science 239: 1534-1536 (1988)、Padlan, Molec. Immun. 25: 489-498 (1991)、Padlan, Molec. Immun. 31: 169-217 (1994)、ならびに、米国特許第 5, 585, 089 号、第 5, 693, 761 号、第 5, 693, 762 号および第 6, 190, 370 号において開示されており、これらはすべて、参照によって全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0111】

脱免疫は、抗体の免疫原性を低減するために使用することもできる。本明細書において使用される「脱免疫」という語句は、T細胞エピトープを改変するように抗体を変更することを含む (例えば、国際特許出願公報 WO/9852976 A1 および WO/0034317 A2 を参照)。例えば、開始抗体の可変重鎖および可変軽鎖の配列が解析され、相補性決定領域 (CDR) に関連するエピトープおよび配列内の他の重要な残基の位置を示す、各 V 領域のヒト T 細胞エピトープ「マップ」が作成される。最終的な抗体の活性を変更するリスクが低い、代替的なアミノ酸置換を同定するべく、T細胞エピトープマップの個々の T 細胞エピトープが解析される。アミノ酸置換の組み合わせを含む様々な代替的な可変重鎖および可変軽鎖の配列が設計され、これらの配列は後に、様々な結合ポリペプチドに組み込まれる。典型的には、12 から 24 の間の変異型抗体が生成され、結合および/または機能について試験される。完全な重鎖および軽鎖遺伝子は、改変された可変領域を含み、ヒト定常領域は、発現ベクターにクローニングされ、その後、全抗体を生成するための細胞株にプラスミドが導入される。次に、抗体は、適切な生化学および生物学的アッセイにおいて比較され、最適な変異型が同定される。

【0112】

本開示の抗原結合ポリペプチドの結合特異性は、免疫沈降、放射免疫測定 (RIA) または酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA) などのインビトロアッセイによって決定できる。

【0113】

代替的に、一本鎖ユニットの生成について説明される技法 (米国特許第 4, 694, 778 号、Bird, Science 242: 423-442 (1988)、Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 55: 5879-5883 (1988) および Ward et al., Nature 334: 544-554 (1989)) は、本開示の一本鎖ユニットを生成するよ

うに適合できる。一本鎖ユニットは、アミノ酸ブリッジを介してFv領域の重鎖および軽鎖断片を連結することによって形成され、一本鎖融合ペプチドが結果として得られる。大腸菌における機能的Fv断片の組立の技法も使用され得る(Skerra et al., Science 242: 1038-1041 (1988))。

【0114】

一本鎖Fv (ScFv) および抗体を生成するために使用できる技法の例には、米国特許第4,946,778 and 5,258,498; Huston et al., Methods in Enzymology 203:46-88 (1991); Shu et al., Proc. Natl. Sci. USA 90:1995-1999 (1993); およびSkerra et al., Science 240:1038-1040 (1988)において説明されるものが含まれる。ヒトにおける抗体のインビボ使用、および、インビトロ検出アッセイを含む、いくつかの使用について、キメラ抗体、ヒト化抗体、または、ヒト抗体を使用することが好ましいことがあり得る。キメラ抗体とは、マウスモノクローナル抗体に由来する可変領域とヒト免疫グロブリン定常領域とを有する抗体など、抗体の異なる部分が異なる動物種に由来する分子である。キメラ抗体を生成する方法は本技術分野において知られている。例えば、全体が参照によって本明細書に組み込まれる、Morrison, Science 229:1202 (1985)、Oiet al., BioTechniques 4:214 (1986)、Gillies et al., J. Immunol. Methods 125:191-202 (1989)、米国特許第5,807,715号、第4,816,567号および第4,816,397号を参照されたい。

10

20

【0115】

ヒト化抗体とは、非ヒト種およびフレームワーク領域ならびにヒト免疫グロブリン分子の1または複数の相補性決定領域(CDR)を有し、所望される抗原に結合する、非ヒト種抗体に由来する抗体分子である。ヒトフレームワーク領域におけるフレームワーク残基はしばしば、抗原結合を変更する、好ましくは改善するために、対応するCDRドナー抗体の残基に置換される。これらのフレームワーク置換は、本技術分野において既知の方法により同定され、例えば、CDRとフレームワーク残基との相互作用をモデル化することにより、抗原結合に重要なフレームワーク残基を同定する方法、および、配列比較により、特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定する方法が使用される。(例えば、全体が参照によって本明細書に組み込まれる、Queen et al., 米国特許第5,585,089号; Riechmann et al., Nature 332:323 (1988)を参照されたい。)抗体は、例えば、CDR移植(EP 239,400; PCT publication WO 91/09967、米国特許第5,225,539、5,530,101; および第5,585,089号)、ベニアリングまたはリサーフェイシング(EP 592,106; EP 519,596、Padlan, Molecular Immunology 28(4/5):489-498 (1991)、Studnicka et al., Protein Engineering 7(6):805-814 (1994)、Roguska et al., Proc. Natl. Sci. USA 91:969-973 (1994))、チェーンシャフリング(全体が参照によって本明細書に組み込まれる、米国特許第5,565,332号)を含む、本技術分野において知られている様々な技法を使用してヒト化できる。

30

40

【0116】

完全ヒト抗体は、ヒトの患者の治療処置に特に望ましい。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリを使用するファージディスプレイ法を含む、本技術分野において知られている様々な方法によって作成できる。米国特許第4,444,887号および第4,716,111号、ならびに、PCT公報WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735およびWO 91/10741も参照されたい。こ

50

れらは各々、全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0117】

また、機能的内因性免疫グロブリンを発現できないがヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを使用してヒト抗体を生成できる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体は、マウス胚性幹細胞内に、無作為に、または、相同組換えによって導入され得る。代替的に、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域、多様性領域がマウス胚性幹細胞内に導入され得る。マウス重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同組換えによるヒト免疫グロブリン座位の導入と別個に、または同時に、非機能性を付与され得る。特に、JH領域のホモ接合型欠失は、内因性抗体の生成を防止する。改変された胚性幹細胞を増殖させ、胚盤胞に微量注入することにより、キメラマウスを作る。次に、キメラマウスを繁殖させることにより、ヒト抗体を発現するホモ接合型の子孫を作る。例えば、所望の標的ポリペプチドの全部または一部など、選択された抗原を用いて、通常的方式でトランスジェニックマウスを免疫化する。抗原に対するモノクローナル抗体は、従来ハイブリドーマ技術を使用して、免疫化されたトランスジェニックマウスから取得できる。トランスジェニックマウスが有するヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B細胞の分化中に再編成し、その後、クラススイッチおよび体細胞突然変異が起きる。したがって、そのような技法を使用して、治療的に有用なIgG、IgA、IgMおよびIgE抗体を生成することが可能である。ヒト抗体を生成するためのこの技術の概要については、Lonberg and Huszar Int. Rev. Immunol. 73:65-93 (1995)を参照されたい。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を生成するためのこの技術、ならびに、そのような抗体を生成するためのプロトコルの詳細な説明については、例えば、参照によって全体が本明細書に組み込まれる、PCT公報WO 98/24893、WO 96/34096、WO 96/33735、米国特許第5,413,923号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,569,825号、第5,661,016号、第5,545,806号、第5,814,318号および第5,939,598号を参照されたい。加えて、Abgenix, Inc. (カリフォルニア州フリーモント)およびGenPharm (カリフォルニア州サンノゼ)などの企業は、上で説明されたものと同様の技術を使用して、選択された抗原に対するヒト抗体の提供に従事できる。

10

20

30

【0118】

選択されたエピトープを認識する完全ヒト抗体は、「誘導選択(guided selection)」と呼ばれる技法を使用して生成することもできる。この手法において、選択された非ヒトモノクローナル抗体、例えば、マウス抗体は、同一のエピトープを認識する完全ヒト抗体の選択を誘導するために使用される。(Jespersen et al., Bio/Technology 72:899-903 (1988)。また、参照によって全体が組み込まれる、米国特許第5,565,332号も参照されたい。)

【0119】

別の実施形態において、所望されるモノクローナル抗体をコードするDNAは、従来手順を使用して(例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって)容易に単離およびシーケンシングされ得る。単離およびサブクローニングされたハイブリドーマ細胞は、そのようなDNAの好ましい供給源として機能する。DNAは一旦単離されると、発現ベクター内に配置され得て、これが次に、本来は免疫グロブリンを生成しない、大腸菌細胞、類人猿COS細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)細胞、または、骨髄腫細胞など、原核性または真核性の宿主細胞内にトランスフェクトされる。より具体的には、単離されたDNA(本明細書に説明されるように合成され得る)は、本明細書において参照によって組み込まれる、1995年1月25日に出願された米国特許第5,658,570号(Newman et al.)に説明されるような製造抗体について、定常領域および可変領域の配列をクローニングするために使用され得る。基本的に、これは、選択された細胞からのRNAの抽出、cDNAへの変換、Igに特異的なプライマーを使用するPC

40

50

Rによる増幅を伴う。この目的のための好適なプライマーも米国特許第5,658,570号において説明される。以下でより詳細に説明されるように、所望される抗体を発現する形質転換細胞は、免疫グロブリンの臨床用および商用のサプライを提供するべく、比較的大量に増殖させられ得る。

【0120】

加えて、定型的な組換えDNA技法を使用することにより、本開示の抗原結合ポリペプチドのCDRのうち1または複数は、非ヒト抗体をヒト化するべく、フレームワーク領域内、例えば、ヒトフレームワーク領域内に挿入され得る。フレームワーク領域は、自然に発生する、または、コンセンサスフレームワーク領域であり得て、好ましくは、ヒトフレームワーク領域（ヒトフレームワーク領域の一覧は、例えば、Chothia et al., J. Mol. Biol. 278:457-479 (1998)を参照されたい）であり得る。好ましくは、フレームワーク領域およびCDRの組み合わせによって生成されるポリヌクレオチドは、例えばLIGHTなど、所望されるポリペプチドの少なくとも1つのエピトープに特異的に結合する抗体をコードする。好ましくは、フレームワーク領域内において、1または複数のアミノ酸置換が成され得て、好ましくは、アミノ酸置換は抗原に対する抗体の結合を改善する。加えて、そのような方法は、1または複数の鎖内ジスルフィド結合を欠く抗体分子を生成するべく、鎖内ジスルフィド結合に關与する1または複数の可変領域システイン残基のアミノ酸置換または欠失を行うために使用され得る。ポリヌクレオチドへの他の変更は本開示に包含され、本技術分野の範囲内にある。

10

20

【0121】

加えて、適切な生物学的活性のヒト抗体分子の遺伝子と共に、適切な抗原特異性を有する、マウス抗体分子の遺伝子をスプライシングすることによる、「キメラ抗体」を生成するために開発された技法を使用できる（Morrisson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA:851-855 (1984)、Neuberger et al., Nature 372:604-608 (1984)、Takeda et al., Nature 314:452-454 (1985)）。本明細書において使用されるキメラ抗体とは、マウスモノクローナル抗体に由来する可変領域とヒト免疫グロブリン定常領域とを有するものなど、異なる部分が異なる動物種に由来する分子である。

30

【0122】

組換え抗体を生成するための更に別の非常に効率的な手段がNewman, Biotechnology 10:1455-1460 (1992)において開示される。具体的には、この技法の結果、猿の可変ドメインおよびヒト定常配列を含む霊長類化抗体が生じる。この参考文献は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。更に、この技法はまた、参照によって各々が本明細書に組み込まれる、本発明の譲受人に譲渡された米国特許第5,658,570、5,693,780、および、5,756,096号にも説明されている。

【0123】

代替的に、当業者によく知られている技法を使用して、抗体生成細胞株が選択および培養され得る。そのような技法は、様々な実験室マニュアルおよび一次出版において説明されている。これに関して、後述する開示における使用に好適な技法が、Current Protocols in Immunology, Coligan et al., Eds., Green Publishing Associates and Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, New York (1991)において説明され、これは、参照によって付録を含む全体が本明細書に組み込まれる。

40

【0124】

加えて、本開示の抗体をコードするヌクレオチド配列に、これらに限定されないが、アミノ酸置換を引き起こす特定部位突然変異誘発およびPCR媒介突然変異誘発を含む突然

50

変異を導入するために、当業者に知られている標準的な技法を使用できる。好ましくは、変異型（誘導体を含む）は、基準となる可変重鎖領域、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、可変軽鎖領域、CDR-L1、CDR-L2、または、CDR-L3に対して、50未満のアミノ酸置換、40未満のアミノ酸置換、30未満のアミノ酸置換、25未満のアミノ酸置換、20未満のアミノ酸置換、15未満のアミノ酸置換、10未満のアミノ酸置換、5未満のアミノ酸置換、4未満のアミノ酸置換、3未満のアミノ酸置換、または、2未満のアミノ酸置換をコードする。代替的に、突然変異は、飽和突然変異誘発（saturation mutagenesis）など、コード配列の全部または一部に沿って、無作為に導入でき、結果として生じる変異型は生物学的活性についてスクリーニングされ、活性を保持する変異型を同定できる。

10

【0125】

〔癌治療〕

本明細書において説明されるように、本開示の抗体、変異型または誘導体は、特定の治療および診断方法において使用され得る。

【0126】

本開示は更に、本明細書において説明される疾患または病態の1または複数进行处理するために、動物、哺乳類およびヒトなどの患者に本開示の抗体を投与することを伴う抗体ベースの治療法に関連する。本開示の治療用化合物には、これらに限定されないが、本開示の抗体（本明細書において説明される変異型、および、変異型の誘導体を含む）、および、本開示の抗体（本明細書において説明される変異型、および、変異型の誘導体を含む）をコードする核酸またはポリヌクレオチドが含まれる。

20

【0127】

本開示の抗体は、癌を治療または阻害するために使用することもできる。PD-L1は腫瘍細胞において過剰発現させることができる。腫瘍由来のPD-L1は、免疫細胞上のPD-1に結合でき、それによって、抗腫瘍T細胞免疫を制限する。小型分子阻害剤、または、マウス腫瘍モデルにおけるPD-L1を標的にしたモノクローナル抗体を用いた結果は、PD-L1を標的にした治療法は、腫瘍増殖の効果的制御に対する重要な代替的かつ現実的手法であることを示す。実験例において示されるように、抗PD-L1抗体は、癌患者の生存率の改善をもたらすことができる適応型免疫反応の機構を活性化する。

30

【0128】

従って、いくつかの実施形態において、治療を必要とする患者の癌を治療するための方法を提供する。一実施形態において、当該方法は、本開示の抗体の有効量を患者に投与することを伴う。いくつかの実施形態において、患者における癌細胞（例えば、間質細胞）のうち少なくとも1つは、PD-L1を発現する、過剰発現する、または、それを発現するように誘導される。PD-L1発現の誘導は、例えば、腫瘍ワクチンの投与または放射線治療によって行うことができる。

【0129】

PD-L1タンパク質を発現する腫瘍には、膀胱癌、非小細胞肺癌、腎癌、乳癌、尿道癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、扁平上皮細胞癌、メルケル細胞癌、胃腸癌、胃癌、食道癌、卵巣癌、腎癌、小細胞肺癌が含まれる。従って、本開示の抗体は、任意の1または複数のそのような癌进行处理するために使用できる。

40

【0130】

キメラ抗原受容体（CAR）T細胞療法などの細胞療法も本開示において提供される。好適な細胞を使用でき、それは、本開示の抗PD-L1抗体に接触させられる（または、代替的に、本開示の抗PD-L1抗体を発現するように操作される）。そのような接触または操作の後に、治療を必要とする癌患者に細胞を導入することができる。癌患者は、本明細書に開示されるような任意の種類癌を有し得る。細胞（例えばT細胞）は、例えば、これらに限定されないが、腫瘍浸潤Tリンパ球、CD4+T細胞、CD8+T細胞、または、それらの組み合わせであり得る。

【0131】

50

いくつかの実施形態において、細胞は癌患者自身から単離されたものである。いくつかの実施形態において、細胞は、ドナーによって、または、細胞バンクから提供される。細胞を癌患者から単離するとき、望ましくない免疫反応を最小限に抑えることができる。

【0132】

本開示の抗体もしくは変異型、または、それらの誘導体を用いて治療、予防、診断、および/または、予後され得る、細胞生存の増加に関連する追加の疾病または病態には、これらに限定されないが、白血病（急性白血病、（例えば、急性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病（骨髄芽球性、前骨髄球性、骨髄単球性、単球性、赤白血病を含む）、慢性白血病（例えば、慢性骨髄性（顆粒球性）白血病および慢性リンパ球性白血病）を含む）、真性多血症、リンパ腫（例えば、ホジキン病および非ホジキン病）、多発性骨髄腫、原発性マクログロブリン血症、重鎖病、および、固形腫瘍（これらに限定されないが、繊維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮種、滑液腫瘍、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、甲状腺癌、子宮内膜癌、悪性黒色腫、前立腺癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、肺小細胞癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫などの肉腫および癌腫などを含む）などの悪性腫瘍および関連する疾患の進行および/または転移が含まれる。

10

20

【0133】

[併用療法]

更なる実施形態において、本開示の組成物は、抗腫瘍剤、抗ウイルス剤、抗菌剤もしくは抗生物質製剤、または、抗真菌剤と組み合わせて投与される。本技術分野において知られている、これらの製剤のいずれかは、本開示の組成物において投与され得る。

【0134】

別の実施形態において、本開示の組成物は、化学療法剤と組み合わせて投与される。本開示の組成物と共に投与され得る化学療法剤には、これらに限定されないが、抗生物質誘導体（例えば、ドキソルビシン、プレオマイシン、ダウノルビシン、ダクチノマイシン）、抗エストロゲン剤（例えば、タモキシフェン）、代謝拮抗物質（例えば、フルオロウラシル、5-FU、メトトレキサート、フロクスウリジン、インターフェロンアルファ 2b、グルタミン酸、プリカマイシン、メルカプトプリン、6-チオグアニン）、細胞傷害性剤（例えば、カルムスチン、BCNU、ロムスチン、CCNU、シトシンアラビノシド、シクロホスファミドエストラムスチン、ヒドロキシウレア、プロカルバジン、マイトマイシン、ブスルファン、シスプラチン、ピンクリスチン硫酸塩）、ホルモン（例えば、メドロキシプロゲステロン、リン酸エストラムスチンナトリウム、エチニルエストラジオール、エストラジオール、酢酸メゲストロール、メチルテストステロン、ニリン酸ジエチルスチルベストロール、クロロトリアニセン、テストラクトン）、ナイトロジェンマスタード誘導体（例えば、メルファラン、クロラムブシル、メクロレタミン（ナイトロジェンマスタード）、チオテパ）、ステロイドおよび組み合わせ（例えば、リン酸ベタメタゾンナトリウム）、その他（例えば、ダカルバジン、アスパラギナーゼ、ミトタン、ピンクリスチン硫酸塩、ピンプラスチン硫酸塩、エトポシド）などが含まれる。

30

40

【0135】

さらなる実施形態において、本開示の組成物は、サイトカインと組み合わせて投与される。本開示の組成物と共に投与され得るサイトカインには、これらに限定されないが、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、抗CD40、CD40L、および、TNF- α が含まれる。

【0136】

さらなる実施形態において、本開示の組成物は、例えば、放射線療法など、他の治療ま

50

たは予防方式と組み合わせて投与される。

【0137】

本開示の抗PD-L1抗体のうち1または複数と第2抗癌(化学療法)剤と共に使用することを含む併用療法も提供される。化学療法剤は、作用機序によって、例えば、ピリミジン類似体フロクスウリジン、カベシタピン、シタラピンなどの代謝拮抗剤/抗癌剤;プリン類似体、葉酸アンタゴニスト、および、関連する阻害剤;ピンカルカロイド(ピンブラスチン、ピンクリスチン)などの天然産物、および、タキサン(パクリタキセル、ドセタキセル)、ピンブラスチン、ノコダゾール、エポチロン、ビノレルピン(NAVELBINE(登録商標))、エピドフィロトキシシン(エトポシド、テニポシド)などの微小管を含む抗増殖/抗有糸分裂剤;アクチノマイシン、アムサクリン、ブスルファン、カルボプラチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド(CYTOXAN(登録商標))、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキシソルビシン、エピルビシン、イフォスファミド、メルファラン、メクロレタミン、マイトマイシン、ミトキサントロン、ニトロソウレア、プロカルバジン、タキソール、タキソテル、テニポシド、エトポシド、トリエチレンチオホスホラミドなどのDNA損傷剤;ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキシソルビシン、イダルビシン、アントラサイクリン、ミトキサントロン、プレオマイシン、プリカマイシン(ミトラマイシン)、マイトマイシンなどの抗生物質;全身的にL-アスパラギンを代謝し、自身のアスパラギンを合成する能力が無い細胞を取り除く、L-アスパラギナーゼなどの酵素;抗血小板剤;ナイトロジェンマスタードシクロホスファミドおよび類似体(メルファラン、クロラムブシル、ヘキサメチルメラミン、チオテバ)、アルキルニトロソウレア(カルムスチン)および類似体、ストレプトゾシン、トリアゼン(ダカルバジン)などの抗増殖/抗有糸分裂アルキル化剤;葉酸類似体(メトトレキサート)などの抗増殖/抗有糸分裂代謝拮抗物質;白金配位錯体(シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン)、プロカルバジン、ヒドロキシウレア、ミトタン、アミノグルテチミド;ホルモン、ホルモン類似体(エストロゲン、タモキシフェン、ゴセレリン、ピカルタミド、ニルタミド)、および、アロマターゼ阻害剤(レトロゾールおよびアナストロゾール);ヘパリン、合成ヘパリン塩、および、トロンビンの他の阻害剤などの抗凝固薬;組織プラスミノゲン活性化因子、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、アスピリン、ジピリダモール、チクロピジン、クロピドグレルなどの線維素溶解剤;抗遊走剤;抗分泌剤(プレフェルジン);免疫抑制剤タクロリムス、シロリムス、アザチオプリン、ミコフェノール酸;化合物(TNP-470、ゲニステイン)および成長因子阻害剤(血管内皮増殖因子阻害剤および線維芽細胞増殖因子阻害剤);アンギオテンシン受容体ブロッカー、一酸化窒素ドナー;アンチセンスオリゴヌクレオチド;トラスツズマブおよびリツキシマブなどの抗体;トレチノインなどの細胞周期阻害剤および分化誘導因子;阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤(ドキシソルビシン、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、エトポシド、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イリノテカン、ミトキサントロン、トポテカン、イリノテカン)、コルチコステロイド(コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、プレドニゾロン);成長因子シグナル伝達キナーゼ阻害剤;機能障害誘導因子;コレラ毒素、リシン、シュードモナス外毒素、ボルデテラ・ペルツシスのアデニル酸シクラーゼ毒素、ジフテリア毒素、カスパーゼ活性化因子;クロマチンの群に分類され得る。

【0138】

更に、化学療法剤の例には、チオテバおよびシクロホスファミド(CYTOXAN(登録商標))などのアルキル化剤;ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファンなどのスルホン酸アルキル;ベンゾドパ、カルボコン、メツレドパ、ウレドパなどのアジリジン;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、トリメチロールメラミンを含むエミレルミンならびにメミラメラミン;アセトゲニン(特にプラタシンおよびプラタシノン);カンプトテシン(合成類似体トポテカンを含む);プリオスタチン;カリスタチン;CC-1065(そのアドゼレシン、カルゼレシン、ピゼレ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

イシン 1 およびクリプトフィシン 8) ; ドラスタチン ; ズオカルマイシン (合成類似体
 ある K W - 2 1 8 9 および C B I - T M I を含む) ; エロイテロピン ; パンクラチスタチ
 ン ; サルコジクチン ; スポンギスタチン ; クロラムブシル、クローラナファジン、シクロ
 ホスファミド、エストラムスチン、イフォスファミド、メクロレタミン、メクロレタミン
 オキシド塩酸塩、メルファラン、ノブエンピキン、フェネステリン、ブレドニムスチン、
 トロホスファミド、ウラシルマスタードなど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、ニムスチンおよびラニムスチンなどの
 ニトロソウレア ; 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 2 およびカリケアマイシン 1) 、ジネマイシン A を含むジネマイシン、クロドロナ
 ートなどのビスホスホナート、エスペラマイシン、ネオカルジノスタチンクロモホアおよ
 び関連する色素タンパク質エンジン抗生物質クロモホア、アクラシノマイシン、アクチ
 ノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラ
 ビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダ
 ウノルピシン、デトルピシン、6 ジアゾ 5 オキソ L ノルロイシン、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
 ドキシソルピシンおよびデオキシドキシソルピシンを含む) 、エピルピシン、エソルピシン
 、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン C などのマイトマイシン、マイコフ
 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、クエラマイシン、ロドルピシン、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、ゾルピシンなどの抗生物質 ; メト
 トレキサートおよび 5 フルオロウラシル (5 F U) などの代謝拮抗剤 ; デモプテリン、
 メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸類似体 ; フルダラビ
 ン、6 メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体 ; アンシタ
 ビン、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、フロクスウリジンなど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、メピチオスタン、テスト
 ラクトンなどのアンドロゲン ; アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗
 副腎剤 ; フロリン酸 (f r o l i n i c a c i d) などの葉酸補充剤 ; トリコテセン (特
 に T - 2 トキシン、ベラクリン A 、ロリジン A 、アングイジン) ; バクリタキセル (T
 A X O L (登録商標)) およびドセタキセル (T A X O T E R E (登録商標)) などのタ
 キソイド ; シスプラチンおよびカルボプラチンなどの白金類似体 ; 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 ; ヘストラ
 ブシル ; ビスアントレン ; エダトラキサート ; デホファミン (d e f o f a m i n e) ;
 デメコルシン ; ジアジコン ; エルフォルムチン ; エリプチニウム酢酸塩 ; エポチロン、エ
 トグルシド ; 硝酸ガリウム ; ヒドロキシウレア ; レンチナン ; ロイコボリン ; ロニダミン
 ; メイタンシンおよびアンサミトシンなどのメイタンシノイド ; ミトグアゾン ; ミトキサ
 ントロン ; モピダンモール ; ニトラクリン ; 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 ; フルオロピリミジン ; フォリン酸 ; ポドフィリン酸 ; 2 エチル
 ヒドラジド ; プロカルバジン ; ポリサッカリド K (P S K) ; ラゾキサ ; リゾキシ
 ン ; シゾフィラン ; スピロゲルマニウム ; テヌアゾン酸 ; トリアジコン ; 2 , 2 ' , 2 ' '
 トリクオロトリエミルアミン ; 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 ; ピポプロマン ; ガシトシン ; アラビノシド (「 A r
 a C 」) ; シクロホスファミド ; チオペタ ; クロラムブシル ; ゲムシタピン (G E M
 Z A R (登録商標)) ; 6 - チオグアニン ; メルカプトプリン ; メトトレキサート ; ビン
 プラスチン ; 白金 ; エトボシド (V P - 1 6) ; イフォスファミド ; ミトキサントロン ;
 ピンクリスチン ; ビノレルピン (N A V E L B I N E (登録商標)) ; 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 ; ゼローダ ; イバンドロ
 ネット ; C P T - 1 1 ; トポイソメラーゼ阻害剤 R F S 2 0 0 0 ; ジフルオロメチルオル
 ニチン (D F M O) ; レチノイン酸などのレチノイド ; カペシタピン ; F O L F I R I (
 フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン) ; および、上記の任意の薬学的に許容

10

20

30

40

50

可能な塩、酸または誘導体などが含まれる。

【0139】

また、「化学療法剤」の定義には、抗エストロゲン剤、および、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）、酵素アロマトラーゼの阻害剤、抗アンドロゲン剤、ならびに、腫瘍に対するホルモン作用を調節もしくは阻害するように機能する、上記の任意の薬学的に許容可能な塩、酸または誘導体などの抗ホルモン剤が含まれる。

【0140】

抗エストロゲン剤およびSERMの例には、例えば、タモキシフェン（NOLVADEX（登録商標）を含む）、ラロキシフェン、ドロキシフェン、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、オナプリストンおよびトレミフェン（FARESTON（登録商標））が含まれる。

10

【0141】

酵素アロマトラーゼの阻害剤は、副腎におけるエストロゲン生成を調節する。例には、4-(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール（MEGACE（登録商標））、エキセメスタン、ホルメスタン、ファドロゾール、ボロゾール（RIVISOR（登録商標））、レトロゾール（FEMARA（登録商標））、アナストロゾール（ARIMIDEX（登録商標））が含まれる。

【0142】

抗アンドロゲン剤の例には、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、ゴセレリンが含まれる。

20

【0143】

また、化学療法剤の例には、これらに限定されないが、レチノイド酸およびその誘導体、2-メトキシエストラジオール、アンギオスタチン（登録商標）、エンドスタチン（登録商標）、スラミン、スクアラミン、メタロプロテイナーゼ 1の組織阻害剤、メタロプロテイナーゼ 2の組織阻害剤、プラスミノゲン活性化因子阻害剤 1、プラスミノゲン活性化因子阻害剤 2、軟骨由来阻害剤、バクリタキセル（nab-バクリタキセル）、血小板第4因子、硫酸プロタミン（クルペイン）、硫酸化キチン誘導体（ズワイガニの殻から調製）、硫酸化多糖ペプチドグリカン複合体（sp-pg）、スタウロスポリン、プロリン類似体（L-アゼチジン-2-カルボン酸（LACA））を含む基質代謝のモジュレーター、シスヒドロキシプロリン、d,L-3,4-デヒドロプロリン、チアプロリン、ジピリジル、アミノプロピオニトリルフマル酸塩、4-プロピル-5-(4-ピリジニル)-2-(3h)-オキサゾロン、メトトレキサート、ミトキサントロン、ヘパリン、インターフェロン、2マクログロブリン血清、ニワトリのメタロプロテイナーゼ 3阻害剤（ChIMP-3）、キモスタチン、シクロデキストリンテトラデカ硫酸塩、エポネマイシン、フマギリン、金チオリング酸ナトリウム、d-ペニシラミン、1-アンチコラゲナーゼ血清、2-抗プラスミン、ビスアントレン、ロベンザリット二ナトリウム、n-2-カルボキシフェニル-4-クロロアントラニル酸二ナトリウムまたは（「CCA」）、サリドマイド、抗血管新生ステロイド、カルボキシアミノイミダゾール、BB-94などのメタロプロテイナーゼ阻害剤を含む抗血管新生剤が含まれる。他の抗血管新生剤には、抗体、好ましくは、これらの血管新生成長因子に対するモノクローナル抗体（-FGF、-FGF、FGF-5、VEGFアイソフォーム、VEGF-C、HGF/SF、Ang-1/Ang-2）が含まれる。

30

40

【0144】

また、化学療法剤の例には、これらに限定されないが、アミノプロピオニトリル（BAPN）などの化合物、ならびに、参照によって本明細書に組み込まれる、コラーゲンの異常堆積に関連する疾病および病態の治療におけるリシルオキシダーゼの阻害剤およびその使用に関連する、米国特許第4,965,288号（Palfreyman, et al.）、および、様々な病的線維性状態の治療のためにLOXを阻害する化合物に関連する、米国特許第4,997,854号（Kagan et al.）に開示される化合物を含む抗線維化剤が含まれる。更に、例示的な阻害剤が、参照によって本明細書に組

50

み込まれる、2 イソブチル 3 フルオロ 、クロロ 、または、プロモ アリルアミンなどの化合物に関連する米国特許第 4, 943, 593 号 (Palfreyman et al)、2 (1 ナフチルオキシメチル) 3 フルオロアリルアミンに関連する米国特許第 5, 021, 456 号 (Palfreyman et al.)、第 5, 059, 714 号 (Palfreyman et al.)、第 5, 120, 764 号 (McCarthy et al.)、第 5, 182, 297 号 (Palfreyman et al.)、第 5, 252, 608 号 (Palfreyman et al.)、米国特許出願公開第 2004/0248871 (Farjanel et al.) 号に記載されている。

【0145】

また、例示的な抗線維化剤には、リシルオキシダーゼの活性部位のカルボニル基と反応する第一級アミン、より具体的には、カルボニルとの結合後に、共鳴によって安定化される産物を生成するもの、すなわち、エミレンマミン、ヒドラジン、フェニルヒドラジン、および、それらの誘導体；セミカルバジドおよび尿素誘導体；BAPN または 2 ニトロエチルアミンなどのアミノニトリル；2 プロモ エチルアミン、2 クロロエチルアミン、2 トリフルオロエチルアミン、3 プロモプロピルアミン、p ハロベンジルアミンなどの不飽和または飽和ハロアミン；セレノホモシステインラクトンなどの第一級アミンなどが含まれる。

【0146】

他の抗線維化剤は、細胞を貫通する、または、貫通しない銅キレート剤である。例示的な化合物には、リシルオキシダーゼによるリシル残基およびヒドロキシリシル残基の酸化的脱アミノ化で生じるアルデヒド誘導体を遮断する間接的阻害剤を含む。例には、チオールアミン、特に、d-ペニシラミン、および、2 アミノ 5 メルカプト 5 メチルヘキサ酸、D 2 アミノ 3 メチル 3 ((2 アセトアミドエチル)ジチオ)酪酸、p 2 アミノ 3 メチル 3 ((2 アミノエチル)ジチオ)酪酸、ナトリウム 4 ((p 1 ジメチル 2 アミノ 2 カルボキシエチル)ジチオ)硫化ブタン、2 アセトアミドエチル 2 アセトアミドエタンチオールスルファネート、ナトリウム 4 メルカプトブタンスルフィナート三水和物など、その類似体が含まれる。

【0147】

また、化学療法剤の例には、これらに限定されないが、患者の治療に好適な治療用抗体を含む、免疫療法剤も含まれる。治療用抗体の一部の例には、シムツズマブ、アバゴボマブ、アデカツムマブ、アフツズマブ、アレムツズマブ、アルツモマブ、アマツキシマブ、アナツモマブ、アルシツモマブ、バビツキシマブ、ベクトモマブ、ベバシズマブ、ピバツズマブ、プリナツモマブ、プレントキシマブ、カンツズマブ、カツマキシマブ、セツキシマブ、シタツズマブ、シクツムマブ、クリバツズマブ、コナツムマブ、ダラツズマブ、ドロジツズマブ、ドリゴツズマブ、デュシギツズマブ、デツモマブ、ダセツズマブ、ダロツズマブ、エクロメキシマブ、エロツズマブ、エンシツキシマブ、エルツマキシマブ、エタラシズマブ、ファレツズマブ、フィクラツズマブ、フィギツムマブ、フランボツズマブ、フツキシマブ、ガニツズマブ、ゲムツズマブ、ギレンツキシマブ、グレンバツムマブ、イブリツモマブ、イゴボマブ、イマツズマブ、インダツキシマブ、イノツズマブ、インテツムマブ、イピリムマブ、イラツズマブ、ラベツズマブ、レキサツムマブ、リンツズマブ、ロルボツズマブ、ルカツムマブ、マパツムマブ、マツズマブ、ミラツズマブ、ミンレツママブ、ミツモマブ、モキセツモマブ、ナルナツマブ、ナブツモマブ、ネチツムマブ、ニモツズマブ、ノフェツモマブ、オカラツズマブ、オフアツムマブ、オララツズマブ、オナツズマブ、オボルツズマブ、オレゴボマブ、パニツムマブ、パスツズマブ、パトリツマブ、ペムツモマブ、ベルツズマブ、ピンツモマブ、プリツムマブ、ラコツモマブ、ラドレツマブ、リロツムマブ、リツキシマブ、ロバツムマブ、サツモマブ、シブロツズマブ、シルツキシマブ、ソリトマブ、タカツズマブ、タブリツモマブ、テナツモマブ、テプロツムマブ、チガツズマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、ツコツズマブ、ウブリツキシマブ、ベルツズマブ、ボルセツズマブ、ボツムマブ、ザルツムマブ、CC49、3F8 が含まれる。辺縁帯リンパ腫

10

20

30

40

50

、WM、CLL、および、小リンパ球性リンパ腫を含む緩慢性B細胞癌を治療するためにリツキシマブを使用できる。リツキシマブおよび化学療法剤の組み合わせは、特に効果的である。

【0148】

例示的な治療用抗体は更に、インジウム 111、イットリウム 90、または、ヨウ素 131などの放射性同位体粒子で標識され得る、または、それと組み合わせられ得る。

【0149】

一実施形態において、追加の治療薬は、ナイトロジェンマスタードアルキル化剤である。ナイトロジェンマスタードアルキル化剤の非限定的な例には、クロラムブシルが含まれる。

10

【0150】

一実施形態において、本明細書において説明される化合物および組成物は、1または複数の追加の治療薬と共に使用され得る、または、それらと組み合わせられ得る。1または複数の治療剤には、これらに限定されないが、Ablの阻害剤、活性化CDCキナーゼ(ACK)、アデノシンA2B受容体(A2B)、アポトーシスシグナル調節キナーゼ(ASK)、オーロキナーゼ、ブルトンのチロシンキナーゼ(BTK)、BRD4などのBET-プロモドメイン(BRD)、c-Kit、c-Met、CDK活性化キナーゼ(CAK)、カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ(CaMK)、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)、カゼインキナーゼ(CK)、ジスコイジンドメイン受容体(DDR)、上皮増殖因子受容体(EGFR)、フォーカルアドヒージョンキナーゼ(FAK)、Flt-3、FYN、グリコゲンシンターゼキナーゼ(GSK)、HCK、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)、IKKなどのIKK、IDH1などのイソクエン酸デヒドロゲナーゼ(IDH)、ヤヌスキナーゼ(JAK)、KDR、リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ(LCK)、リシルオキシダーゼタンパク質、リシルオキシダーゼ様タンパク質(LOXL)、LYN、マトリクスメタロプロテアーゼ(MMP)、MEK、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ(MAPK)、NEK9、NPM-ALK、p38キナーゼ、血小板由来増殖因子(PDGF)、ホスホリラーゼキナーゼ(PK)、ポロ様キナーゼ(PLK)、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)、タンパク質キナーゼA、Bおよび/またはCなどのタンパク質キナーゼ(PK)、PYK、脾臓チロシンキナーゼ(SYK)、セリン/スレオニンキナーゼTPL2、セリン/スレオニンキナーゼSTK、シグナル伝達兼転写活性化因子(STAT)、SRC、TBK1などのセリン/スレオニンタンパク質キナーゼ(TBK)、TIE、チロシンキナーゼ(TK)、血管内皮増殖因子受容体(VEGFR)、YES、またはそれらの任意の組み合わせが含まれる。

20

30

【0151】

ASK阻害剤にはASK1阻害剤が含まれる。ASK1阻害剤の例には、これらに限定されないが、WO 2011/008709 (Gilead Sciences)およびWO 2013/112741 (Gilead Sciences)において説明されるものが含まれる。

【0152】

BTK阻害剤の例には、これに限定されないが、イブルチニブ、HM71224、ONO-4059およびCC-292が含まれる。

40

【0153】

DDR阻害剤には、DDR1および/またはDDR2の阻害剤が含まれる。DDR阻害剤の例には、これらに限定されないが、WO 2014/047624 (Gilead Sciences)、US 2009/0142345 (Takeda Pharmaceutical)、US 2011/0287011 (Oncomed Pharmaceuticals)、WO 2013/027802 (Chugai Pharmaceutical)およびWO 2013/034933 (Imperial Innovations)において開示されるものが含まれる。

50

【0154】

HDAC阻害剤の例には、これに限定されないが、ブラシノスタットおよびパノビノスタットが含まれる。

【0155】

JAK阻害剤は、JAK1、JAK2、および/または、JAK3を阻害する。JAK阻害剤の例には、これらに限定されないが、フィルゴチニブ、ルキシリチニブ、フェドラチニブ、トファシチニブ、バリシチニブ、レスタウルチニブ、バクリチニブ、XL019、AZD1480、INCB039110、LY2784544、BMS911543およびNS018が含まれる。

【0156】

LOXL阻害剤には、LOXL1、LOXL2、LOXL3、LOXL4、および/または、LOXL5の阻害剤が含まれる。LOXL阻害剤の例には、これに限定されないが、WO 2009/017833 (Arresto Biosciences)において説明される抗体が含まれる。

【0157】

LOXL2阻害剤の例には、これらに限定されないが、WO 2009/017833 (Arresto Biosciences)、WO 2009/035791 (Arresto Biosciences)およびWO 2011/097513 (Gilead Biologics)において説明される抗体が含まれる。

【0158】

MMP阻害剤には、MMP1~10の阻害剤が含まれる。MMP9阻害剤の例には、これらに限定されないが、マリマスタット(BB-2516)、シペマスタット(Ro 32-3555)、および、WO 2012/027721 (Gilead Biologics)において説明されるものが含まれる。

【0159】

PI3K阻害剤には、PI3K、PI3K、PI3K、PI3K、および/または、pan-PI3Kの阻害剤が含まれる。PI3K阻害剤の例には、これらに限定されないが、ウォルトマンニン、BKM120、CH5132799、XL756およびGDC-0980が含まれる。

【0160】

PI3K阻害剤の例には、これらに限定されないが、ZSTK474、AS252424、LY294002およびTG100115が含まれる。

【0161】

PI3K阻害剤の例には、これらに限定されないが、PI3K II、TGR-1202、AMG-319、GSK2269557、X-339、X-414、RP5090、KAR4141、XL499、OXY111A、IPI-145、IPI-443、および、WO 2005/113556 (ICOS)、WO 2013/052699 (Gilead Calistoga)、WO 2013/116562 (Gilead Calistoga)、WO 2014/100765 (Gilead Calistoga)、WO 2014/100767 (Gilead Calistoga)、WO 2014/201409 (Gilead Sciences)に記載される化合物が含まれる。

【0162】

PI3K阻害剤の例には、これらに限定されないが、GSK2636771、BAY 10824391およびTGX221が含まれる。

【0163】

PI3K阻害剤の例には、これらに限定されないが、ブバルリシブ、BAY 80-6946、BYL719、PX-866、RG7604、MLN1117、WX-037、AEZA-129およびPA799が含まれる。

【0164】

10

20

30

40

50

pan - P I 3 K 阻害剤の例には、これらに限定されなが、L Y 2 9 4 0 0 2、B E Z 2 3 5、X L 1 4 7 (S A R 2 4 5 4 0 8) および G D C - 0 9 4 1 が含まれる。

【 0 1 6 5 】

S Y K 阻害剤の例には、これらに限定されないが、タマチニブ (R 4 0 6)、フォスタマチニブ (R 7 8 8)、P R T 0 6 2 6 0 7、B A Y - 6 1 - 3 6 0 6、N V P - Q A B 2 0 5 A A、R 1 1 2、R 3 4 3、および、米国特許第 8, 4 5 0, 3 2 1 号 (G i l e a d C o n n e c t i c u t) に記載のものが含まれる。

【 0 1 6 6 】

T K I は、上皮増殖因子受容体 (E G F R) と、線維芽細胞増殖因子 (F G F)、血小板由来増殖因子 (P D G F) および血管内皮増殖因子 (V E G F) の受容体とを標的とし得る。E G F R を標的とする T K I の例には、これらに限定されないが、ゲフィチニブおよびエルロチニブが含まれる。スニチニブは、F G F、P D G F および V E G F の受容体を標的とする T K I の非限定的な例である。

10

【 0 1 6 7 】

本開示の抗 P D - L 1 抗体は、いくつかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤と共に使用できる。免疫チェックポイントは、シグナルを大きくする (共刺激分子)、または、シグナルを小さくする (共抑制分子)、免疫系における分子である。多くの癌は、共抑制分子に対してはアゴニスト、または、共刺激分子に対してはアンタゴニストを通して、T 細胞シグナルを阻害することによって、免疫系から自身を保護している。免疫チェックポイントのアゴニストまたはアンタゴニストは、細胞によるそのような保護機序を停止させることに役立つことができる。免疫チェックポイントのアゴニストまたはアンタゴニストは、P D - 1、C T L A - 4、L A G - 3 (C D 2 2 3 としても知られている)、C D 2 8、C D 1 2 2、4 - 1 B B (C D 1 3 7 としても知られている)、T I M 3、O X - 4 0 / O X 4 0 L、C D 4 0 / C D 4 0 L、L I G H T、I C O S / I C O S L、G I T R / G I T R L、T I G I T、C D 2 7、V I S T A、B 7 H 3、B 7 H 4、H E V M または B T L A (C D 2 7 2 としても知られている) などのチェックポイント分子のうちのいずれかの 1 または複数を標的とし得る。

20

【 0 1 6 8 】

プログラム T 細胞死 1 (P D - 1) は、T 細胞の表面に見られる膜貫通タンパク質であり、プログラム T 細胞死リガンド 1 (P D - L 1) または腫瘍細胞に結合したとき、T 細胞活性の抑制、または、T 細胞媒介細胞毒性の減少をもたらす。したがって、P D - 1 および P D - L 1 は、免疫ダウンレギュレータ、すなわち、免疫チェックポイントの「オフスイッチ」である。P D - 1 阻害剤の例には、これらに限定されないが、ニボルマブ、(O p d i v o) (B M S - 9 3 6 5 5 8)、ペムプロリズマブ (K e y t r u d a)、ピジリズマブ、A M P - 2 2 4、M E D I 0 6 8 0 (A M P - 5 1 4)、P D R 0 0 1、M P D L 3 2 8 0 A、M E D I 4 7 3 6、B M S - 9 3 6 5 5 9 および M S B 0 0 1 0 7 1 8 C が含まれる。

30

【 0 1 6 9 】

C T L A - 4 は、免疫系をダウンレギュレートするタンパク質受容体である。C T L A - 4 阻害剤の非限定的な例には、イピリムマブ (Y e r v o y (登録商標)) (B M S - 7 3 4 0 1 6、M D X - 0 1 0、M D X - 1 0 1 としても知られる)、および、トレメリムマブ (以前はチシリムマブ、C P - 6 7 5, 2 0 6) が含まれる。

40

【 0 1 7 0 】

リンパ球活性遺伝子 3 (L A G - 3) は、制御性 T 細胞への作用によって、および、C D 8 + T 細胞に対する直接作用によって、免疫反応を抑制するように機能する、細胞表面上の免疫チェックポイント受容体である。L A G - 3 阻害剤には、これらに限定されないが、L A G 5 2 5 および B M S - 9 8 6 0 1 6 が含まれる。

【 0 1 7 1 】

C D 2 8 は、ほぼすべてのヒト C D 4 + T 細胞、および、すべての C D 8 T 細胞のうち約半分で恒常的に発現される。C D 2 8 は T 細胞の増殖を促す。C D 2 8 阻害剤の非限

50

定的な例には、TGN1412が含まれる。

【0172】

CD122は、CD8+エフェクターT細胞の増殖を増加させる。非限定的な例には、NKTR-214が含まれる。

【0173】

4-1BB(CD137としても知られている)は、T細胞の増殖に関与する。また、CD137媒介シグナリングは、T細胞、特に、CD8+T細胞を、活性化誘導細胞死から保護することが知られている。PF-05082566、ウレルマブ(BMS-663513)およびリポカリンは、CD137阻害剤の例である。

【0174】

上記の併用療法のいずれかについて、抗PD-L1抗体を、その他の抗癌剤と同時に、または、別個に投与することができる。別個に投与するとき、抗PD-L1抗体を、その他の抗癌剤の前または後に投与することができる。

【0175】

[感染の治療]

実験例において示されるように、本開示の抗体は、感染の治療に有用となり得る免疫反応を活性化できる。

【0176】

感染とは、病原体による、生物の体組織への侵入、それらの増殖、ならびに、これらの病原体およびそれらが生成する毒素に対する、宿主組織の反応である。感染は、ウイルス、ウイロイド、プリオン、細菌、寄生性回虫や蟻虫などの線虫、マダニ、ダニ、ノミ、シラミなどの節足動物、白癬などの真菌、サナダムシや他の蠕虫などの他の大寄生虫、などの感染病原体によって引き起こされ得る。一態様において、感染病原体は、グラム陰性菌などの細菌である。一態様において、感染病原体は、DNAウイルス、RNAウイルス、および、逆転写ウイルスなどのウイルスである。ウイルスの非限定的な例には、アデノウイルス、コクサッキーウイルス、エプスタイン・パール・ウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型、単純ヘルペスウイルス2型、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス8型、HIV、インフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、ヒトパピローマウイルス、パラインフルエンザウイルス、ポリオウイルス、狂犬病ウイルス、RSウイルス、風疹ウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルスが含まれる。

【0177】

本開示の抗体はまた、微生物および免疫細胞を標的にして微生物の除去をもたらすことにより、微生物によって引き起こされる感染症を治療すること、または、微生物を殺菌することに使用できる。一態様において、微生物には、RNAウイルスおよびDNAウイルスを含むウイルス、グラム陽性細菌、グラム陰性菌、原生動物または真菌が含まれる。感染症および関連する微生物の非限定的な例は、以下の表4に提供されている。

[表4 感染症および関連する微生物感染源]

10

20

30

【表 5】

感染症	感染源の微生物
アシネトバクター感染症	アシネトバクター・バウマンシ
アクチノマイセス症	アクチノマイセス・イスラエリ、アクチノマイセス・ゲレンセリアエ、プロビオニバクテリウム・プロビオニクス
アフリカ睡眠病 (アフリカトリパノソーマ症)	トリパノソーマ・ブルセイ
エイズ (後天性免疫不全症候群)	HIV (ヒト免疫不全ウイルス)
アメーバ症	赤痢アメーバ
アナプラズマ症	アナプラズマ属
炭疽病	バシルス・アンシラシス
アルカノバクテリウム・ヘモライティカム症	アルカノバクテリウム・ヘモリチカム
アルゼンチン出血熱	フニンウイルス
アスカリアシス症	アスカリス・ランブリコイデス
アスペルギルス症	アスペルギルス属
アストロウイルス感染症	アストロウイルス科
バベシア症	バベシア属
バチルス・セレウス感染症	バチルス・セラス
細菌性肺炎	複数のバクテリア
細菌性膣炎 (BV)	複数のバクテリア
バクテロイデス感染症	バクテロイデス属
バルタンディアディシ症	バランティジウム・コリ
ベイリスアスカリス感染症	ベイリスアスカリス属
BKウイルス感染症	BKウイルス
ブラックピエドラ	ピエドライア・ホルタエ
胚盤胞ホミニス感染症	ブラストミセス・ホミニス
芽球菌症	ブラストミセス・デルマチチジス
ポリピア出血熱	マチュポウイルス
ボレリア感染症	ボレリア属
ポツリヌス中毒 (および幼児ポツリヌス中毒)	クロストリジウム・ポツリナム
ブラジル出血熱	サビア

次頁に続く

10

20

【表 6】

前頁からの続き

ブルセラ症	ブルセラ属
バークホルデリア感染	通常はバークホルデリア・セバシア、および、他のバークホルデリア種
ブルーリ潰瘍	マイコバクテリウム・ウルセランス
カリシウイルス感染症 (ノロウイルスおよびサポウイルス)	カリシウイルス科
カンピロバクター症	カンピロバクター属
カンジダ症 (モニリア症、スラッシュ症)	通常はカンジダ・アルビカンズ、および、他のカンジダ種
キャットスクラッチ病	バルトネラ・ヘンセラエ
蜂巣炎	通常はA群溶血レンサ球菌、および、ブドウ球菌
シャーガス病 (アメリカトリパノソーマ症)	クルーズトリパノソーマ
シャンロイド	ヘモフィルス・デユクレイ
水疱瘡	水痘帯状疱疹ウイルス (VZV)
クラミジア	クラミジア・トラコマチス
クラミドフィラ・ニューモニエ感染症	クラミドフィラ・ニューモニエ
コレラ	ビブリオ・コレラ
褐色菌症	通常はフォンセカエ・ベドロソイ
クロノルチア症	クロノキス・シネンシス
クロストリジウム・ディフィシル感染症	クロストリジウム・ディフィシル
コクシジオイデス症	コクシジオイデス・イミチスおよびコクシジオイデス・ボサダシ
コロラドダニ熱 (CTF)	コロラドダニ熱ウイルス (CTFV)
一般的な風邪 (急性ウイルス性鼻咽腔炎、急性コリーザ)	通常はライノウイルスおよびコロナウイルス。
クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD)	CJDプリオン
クリミア・コンゴ出血熱 (CCHF)	クリミア・コンゴ出血熱ウイルス
クリプトコッカス症	クリプトコッカス・ネオフォルマンズ
クリプトスポリジウム症	クリプトスポリジウム属

次頁に続く

30

40

50

【表 7】

前頁からの続き

皮膚幼虫遊走 (CLM)	通常はアンシロストマ・カニヌム、および、他の複数の寄生虫
シクロスボラ症	シクロスボラ・カイエタネンシス
嚢胞症	無鉤糸虫
サイトメガロウイルス感染症	サイトメガロウイルス
デング熱	デング熱ウイルス (DEN-1、DEN-2、DEN-3およびDEN-4) - フラビウイルス
二核アメーバ症	ジェントアメーバ・フラギリス
ジフテリア	コリネバクテリウム・ジフテリア
ジフィロポティリアシス症	ジプロピロポトリウム
甲状腺機能低下症	ドラクンクルス・メジネンシス
エボラ出血熱	エボラウイルス (EBOV)
エキノコックス症	エキノコックス属
エーリキア症	エーリキア属
エンテロウイルス症 (虫垂感染)	エンテロウイルス・ベルミクラリス
エンテロコッカス感染症	エンテロコッカス属
エンテロウイルス感染症	エンテロウイルス属
流行性チフス	リケッチア・プロワゼキイ
伝染性紅斑 (第5病)	バルボウイルスB19
伝染性紅斑 (第6病)	ヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) およびヒトヘルペスウイルス7 (HHV-7)
筋萎縮症	ファシオロブシス・ブスキ
ファシオラ症	ファスキオラ・ヘバチカとファスキオラ・ギガンティカ
致命性家族性不眠症 (FFI)	FFIプリオン
フィラリア症	フィラリア上科
クロストリジウム・パーフリンジェンによる食中毒	クロストリジウム・パーフリンジェン
自由生活性アメーバ感染症	複数
フソバクテリウム感染症	フソバクテリウム属
ガス壊疽 (クロストリジウム筋壊死)	通常はクロストリジウム・パーフリンジェン、および他のクロストリジウム種

次頁に続く

10

20

【表 8】

前頁からの続き

ジオトリカム症	ジオトリカム・カンディダム
ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー症候群 (GSS)	GSSプリオン
ジアルジア症	ジアルジア・インテスティナリス
鼻疽	バークホルデリア・マレイ
顎口虫症	グナトストマ・スピニゲルムおよびグナトストマ・ヒスピダム
淋病	ナイセリア・ゴノレア
鼠径部肉芽腫 (ドノバノシス)	クレブシエラ・グラスロマチス
A群連鎖球菌感染症	ストレプトコッカス・ピオゲネス
B群連鎖球菌感染症	ストレプトコッカス・アガラクティエ
ヘモフィルスインフルエンザ感染症	ヘモフィルス・インフルエンザ
手足口病 (HFMD)	エンテロウイルス、主にコクサッキーAウイルスとエンテロウイルス71 (EV71)
ハンタウイルス肺症候群 (HPS)	シン・ノンブル・ウイルス
ヘリコバクターピロリ感染症	ヘリコバクター・ピロリ
溶血性尿毒症症候群 (HUS)	エシェリキアコリO157:H7、O111およびO104:H4
出血性腎症候群 (HFRS)	ブニヤウイルス科
A型肝炎	A型肝炎ウイルス
B型肝炎	B型肝炎ウイルス
C型肝炎	C型肝炎ウイルス
D型肝炎	D型肝炎ウイルス
E型肝炎	E型肝炎ウイルス
単純ヘルペス	単純ヘルペスウイルス1型および2型 (HSV-1およびHSV-2)
ヒストプラズマ症	ヒストプラズマ・カプスラーツム
鉤虫感染症	アンシロストマ・ズオデナレおよびネクター・アメリカヌス
ヒトボカウイルス感染症	ヒトボカウイルス (HBov)
ヒトエーリキア・エウイング症	エールリッチア・エウイング
ヒト顆粒球アナプラズマ症 (HGA)	アナプラズマ・ファゴサイトフィルム
ヒトメタニューモウイルス感染症	ヒトメタニューモウイルス (hMPV)

次頁に続く

10

20

【表 9】

前頁からの続き

ヒト単球性エーリキア症	エーリキア・シャフェンシス
ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染症	ヒトパピローマウイルス (HPV)
ヒトパラインフルエンザウイルス感染症	ヒトパラインフルエンザウイルス (HP I V)
ヒメノレビス症	ヒメノレビス・ナナおよびヒメノレビス・デ イミヌータ
エプスタイン・バーウイルス感染性単 核球症 (モノ)	エプスタインバーウイルス (EBV)
インフルエンザ (フル)	オルソミクソウイルス科
イソスポラ症	イソスポラ・ペリ
川崎病	未知 (証拠は感染性であることを支持する)
角膜炎	複数
キングラ・キング感染症	キングラ・キング
クルー病	クルプリオン
ラッサ熱	ラッサウイルス
レジオネラ症 (レジオネラ症)	レジオネラ・ニューモフィラ
レジオネラ症 (ボンティアック熱)	レジオネラ・ニューモフィラ
リーシュマニア症	リーシュマニア属
ハンセン病	マイコバクテリウム・レブラエおよびマイコバ クテリウム・レプロマトシス
レプトスピラ症	レプトスピラ属
リステリア症	リステリア・モノサイトゲネス
ライム病 (ライムボレリア症)	通常はボレリア・ブルグドルフェリ、および、 他のボレリア種
リンパフィラリア症 (象皮病)	バンクロフト糸状虫とマレー糸状虫
リンパ球性脈絡髄膜炎	リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)
マラリア症	プラスモジウム属
マールブルグ出血熱 (MHF)	マールブルクウイルス
麻疹	麻疹ウイルス
メリディオド症 (ウィットモア病)	バークホルデリア・シュードマレイ
髄膜炎	複数
髄膜炎菌病	髄膜炎菌

次頁に続く

10

20

【表 10】

前頁からの続き

横川吸虫症	通常は横川吸虫
ミクロスボリジウム症	ミクロスボリジア・フィルム
伝染性軟属腫 (MC)	伝染性軟体動物ウイルス (MCV)
流行性耳下腺炎	ムンプスウイルス
マウス発疹チフス (発疹チフス)	リケッチアチフィ
マイコプラズマ肺炎	マイコプラズマ・ニューモニエ
マイコトーマ	多種の細菌 (アクチノミセトーマ) および真菌 (ユーセトミーマ)
蠅蛆症	寄生双翅類ハエ幼虫
新生児結膜炎 (新生児眼炎)	最も一般的にはクラミジア・トラコマチスとイセリア・ゴノレエ
(新) 変異クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD、nvCJD)	vCJDプリオン
ノカルジア症	通常はノカルジア・アステロイデス、および、他のノカルジア種
オンコセルカ症 (河川盲目症)	オンコセルカ・ボルブルス
パラコクシオイド菌症 (南アメリカの胚芽芽細胞腫)	パラコクシオイデス・ブラジリエンシス
バラゴラ症	通常パラゴニムス・ウエステルマニ、および、他のパラゴニムス種
バステラ症	バステラ属
ベディキュラス・カビティス症 (アタマジラミ)	ベディキュラス・ヒューマナス・カビティス
ベディキュラス・コルボリス症 (ヒトジラミ)	ベディキュラス・ヒューマナス・コルボリス
フチラス・ブビス症 (ケジラミ、カニジラミ)	フチラス・ブビス
骨盤内炎症性疾患 (PID)	複数
バータシス症 (百日咳)	ボルデテラ・ベルツシ
ペスト	エルシニア・ペステリス
肺炎球菌感染症	ストレプトコッカス・ニューモニエ
ニューモシスチス肺炎 (PCP)	ニューモシスティス・ジロベシ
肺炎	複数

次頁に続く

10

20

【表 1 1】

前頁からの続き

脊髄炎	ポリオウイルス
ブレボテラ感染症	ブレボテラ属
原発性アメーバ性髄膜脳炎 (PAM)	通常はフォーラーネグレリア
進行性多巣性白質脳症	J Cウイルス
オウム病	クラミドフィラ・シタッシ
Q熱	コクシエラ・ブルネティ
狂犬病	狂犬病ウイルス
ラット熱	ストレプトバシラス・モニリフォルミスおよび スピリルム・ミヌス
呼吸系発疹ウイルス感染症	R Sウイルス (R S V)
リノスポルジ症	リノスポリジウム・セーベリ
ライノウイルス感染症	ライノウイルス
リケッチア感染症	リケッチア属
リケッチアボックス症	リケッチア・アカリ
リフトバレー熱 (R V F)	リフトバレー熱ウイルス
ロッキー山紅斑熱 (R M S F)	リケッチア・リケッチイ
ロタウイルス感染症	ロタウイルス
風疹	風疹ウイルス
サルモネラ症	サルモネラ属
S A R S (重症急性呼吸器症候群)	S A R S コロナウイルス
疥癬	サルコプテス・スカビエイ
住血吸虫症	住血吸虫属
敗血症	複数
シゲラ症 (バチルス赤痢)	赤痢菌属
帯状疱疹 (ヘルペスゾスター)	水痘带状疱疹ウイルス (V Z V)
天然痘 (バリオラ)	大痘瘡または小痘瘡
スポロトリクサーシス症	スポロトリックス・シェンキイ
ブドウ球菌食中毒	スタフィロコッカス属
ブドウ球菌感染症	スタフィロコッカス属
糞線虫症	ストロンギロイデス・ステルコラリス
梅毒	梅毒トレポネーマ
テニア症	テニア属
破傷風 (ロックジョー)	クロストリジウム・テタニ

次頁に続く

10

20

【表 1 2】

前頁からの続き

ティネア・バーベー (白癬性毛瘡)	通常はトリコフィトン属
ティネア・カピチス症 (頭皮の白癬菌)	通常はトリコフィトン・トンズランス
ティネア・コルボリス症 (体の白癬菌)	通常はトリコフィトン属
ティネア・クラリス症 (頑癬)	通常はエビデルモフィトン・フロココサム、トリコフィトン・ルプラムおよびトリコフィトン・メンタグロフィテス
ティネア・マニユーム症 (手の白癬)	トリコフィトン・ルプラム
ティネア・ニグラ症	通常はホルタエア・ウェルネキイ
ティネア・ベディス症 (水虫)	通常はトリコフィトン属
ティネア・ウンガイウム症 (爪真菌症)	通常はトリコフィトン属
ティネア・パーシカラー症 (癩風)	マラセジヤ属
トキシソカリ症 (眼幼虫移行症 (OLM))	トキシソカラ・カニスまたはトキシソカラ・カティ
トキシソカリア症 (内臓幼虫移行症 (VLM))	トキシソカラ・カニスまたはトキシソカラ・カティ
トキソプラズマ症	トキソプラズマ・ゴンディ
旋毛虫症	トリヒナ・スピラリス
トリコモナス症	トリコモナス・バジナリス
トリクリア症 (鞭虫症)	トリチュリス・トリチウラ
結核	通常はマイコバクテリウム・ツベルクローシス
野兔病	フランシセラ・ツラレンシス
ウレアプラズマ・ウレアリチカム感染症	ウレアプラズマ・ウレアリチカム
ベネズエラウマ脳炎	ベネズエラウマ脳炎ウイルス
ベネズエラ出血熱	グアナリトウイルス
ウイルス性肺炎	複数のウイルス
西ナイル熱	西ナイルウイルス
白色砂毛症 (ティネア・ブランカ症)	トリコスボロン・ベイゲリー
エルシニア偽結核感染症	エルシニア・シュードツベルクローシス
エルシニア症	エルシニア・エンテロコリチカ
黄熱病	黄熱病ウイルス
接合菌症	ムコール目 (ムコール症) およびエントモフトラ目 (エントモフトラ症)

10

20

40

50

【 0 1 7 8 】

特定の患者に対する具体的な投与量および治療計画は、特定の抗体、使用される変異型または誘導体、患者の年齢、体重、一般的健康状態、性別、食生活、投与時刻、排泄率、併用薬剤、治療対象である特定の疾病の重症度を含む様々な要素に依存するであろう。医療従事者による、そのような要素の判断は、当分野における一般的な能力の範囲内である。また、その量は、治療される個々の患者、投与経路、製剤の種類、使用される化合物の特徴、疾病の重症度、および、所期の効果に依存するであろう。使用される量は、本技術分野において既知の薬学的および薬物動態学な原理によって決定できる。

30

【 0 1 7 9 】

抗体の投与方法には、これらに限定されないが、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および、経口の経路が含まれる。抗原結合ポリペプチドまたは組成物は、都合の良い経路によって、例えば、注入またはボラス注射によって、上皮または粘膜内壁 (例えば、口腔粘膜、直腸および腸の粘膜など) を通した吸収によって、投与され得て、他の生物学的活性剤と共に投与され得る。したがって、開示の抗原結合ポリペプチドを含む医薬組成物は、経口、経直腸、非経口、嚢内、腔内、腹腔内、局所的 (粉末、軟膏、注入薬または経皮パッチとして)、口腔内に、または、口腔もしくは鼻腔スプレーとして投与され得る。

40

【 0 1 8 0 】

本明細書において使用される「非経口」という語句は、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下、関節内の注射および注入を含む投与方式を指す。

【 0 1 8 1 】

投与は全身投与であっても、または、局所的投与であってもよい。加えて、脳室内および髄腔内注射を含む好適な経路によって中枢神経系に本開示の抗体を導入することが望ましいことがあり得る。脳室内注射は、例えば、オマヤリザーバーなどのリザーバーに取り付けられた脳室内カテーテルによって容易になり得る。また、例えば吸入器または噴霧器

、および、エアロゾル剤の製剤の使用によって、肺投与を利用できる。

【0182】

本開示の抗体ポリペプチドまたは組成物を、治療を必要とする領域に局所的に投与することが望ましいことがあり得る。これは、例えば、これらに限定されないが、手術中の局所注入、局所適用（例えば、手術後の創傷包帯と組み合わせる）、注射によって、カテーテルによって、座薬によって、または、インプラントによって達成され得て、上記インプラントは、シアラスティック (sialastic) 膜などの膜または繊維を含む、多孔性、非多孔性、または、ゲル状物質である。好ましくは、抗体を含む、本開示のタンパク質を投与するとき、タンパク質が吸収されない材料を使用するように注意する必要がある。

10

【0183】

別の実施形態において、抗体または組成物は、小胞、特に、リボソームにおいて輸送できる (Langer, 1990, Science 249:1527-1533; Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-327; see generally ibid. を参照されたい)。

20

【0184】

更に別の実施形態において、抗原結合ポリペプチドまたは組成物は、制御された放出システムにおいて輸送できる。一実施形態において、ポンプが使用され得る (Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574 を参照されたい)。別の実施形態において、高分子材料を使用できる (Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Press, Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J., 1983, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; see also Levy et al., 1985, Science 228:190; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105 を参照されたい)。更に別の実施形態において、制御された放出システムは、治療対象、すなわち、脳の付近に配置でき、したがって、全身投与の場合の数分の1のみが必要になる (例えば、Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984) を参照されたい)。他の制御された放出システムは、Langer (1990, Science 249:1527-1533) のレビューにおいて説明されている。

30

40

【0185】

本開示の組成物が、核酸、または、タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、具体的な実施形態において、核酸は、それを適切な核酸発現ベクターの一部として構築して、それが細胞内になるように投与することによって (例えば、レトロウイルスベクターの使用によって (米国特許第4,980,286号を参照))、または、直接注射によって、または、微粒子ボンバードメントの使用によって (例えば、遺伝子銃、Biolistic、Dupont)、または、脂質もしくは細胞表面受容体もしくはトランスフェクト剤でコ

50

ーディングすることによって、または、核に入ることが知られているホメオボックス様ペプチドに結合させて投与することなどによって（例えば、Joliot et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868を参照されたい）、コードされたタンパク質の発現を促進するように核酸をインビボで投与できる。代替的に、核酸は、細胞内に導入され得て、相同組換えによって、発現するように宿主細胞DNA内に組み込まれ得る。

【0186】

炎症性、免疫性もしくは悪性の疾病、障害または病態の、治療、抑制および予防に効果的となるであろう、本開示の抗体の量は、標準的な臨床的技法によって決定できる。加えて、最適な投与量範囲を同定することに役立つべく、インビトロアッセイが任意で利用され得る。製剤において利用される厳密な用量は、投与経路、ならびに、疾病、障害または病態の重症度に依存し、医療従事者の判断および各患者の状況に従って決定されるべきである。有効用量は、インビトロまたは動物モデル試験システムから得られる用量反応曲線から推定され得る。

10

【0187】

一般的な提案として、患者に投与される、本開示の抗原結合ポリペプチドの投与量は、典型的には、患者の体重に対して0.1mg/kgから100mg/kgの間、患者の体重に対して0.1mg/kgから20mg/kgの間、または、患者の体重に対して1mg/kgから10mg/kgの間である。一般的に、ヒト抗体は、他の種に由来する抗体と比べて、ヒトの身体内における半減期が長い。これは、外来ポリペプチドに対する免疫反応に起因する。したがって、ヒト抗体の投与量を少なくすること、および、投与の頻度を少なくすることが、しばしば可能である。更に、例えば脂質化などの改変によって、抗体の（例えば脳への）摂取および組織透過性を向上させることによって、本開示の抗体の投与の投与量および頻度が減少し得る。

20

【0188】

本開示の抗体、変異型または誘導体の投与を含む、感染性または悪性の疾病、病態または障害を治療するための方法は、典型的には、インビトロで試験され、次に、ヒトに使用される前に、所望される治療または予防活性について、許容される動物モデルにおいてインビボで試験される。トランスジェニック動物を含む好適な動物モデルは当業者にとって既知である。例えば、本明細書において説明される、抗原結合ポリペプチドの治療有用性を示すインビトロアッセイは、細胞株または患者の組織試料に対する、抗原結合ポリペプチドの作用を含む。細胞株および/または組織試料に対する抗原結合ポリペプチドの作用は、本明細書の別の箇所に開示されているアッセイなど、当業者に知られている技法を利用して決定できる。本開示によれば、特定の抗原結合ポリペプチドの投与が適応されるかどうかを決定するために使用できるインビトロアッセイは、インビトロ細胞培養アッセイを含み、このアッセイでは、患者の組織試料を培地において増殖させ、化合物に曝し、または、そうでない場合、化合物を投与し、組織試料に対する当該化合物の作用を観察する。

30

【0189】

例えば、リポソーム内におけるカプセル化、微粒子、マイクロカプセル、化合物を発現可能な組換え細胞、受容体媒介エンドサイトーシス（例えば、Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432を参照）、レトロウイルスもしくは他のベクターの一部としての核酸の構築など、様々な輸送システムが知られており、これらは、本開示の抗体、または、本開示の抗体をコードするポリヌクレオチドを投与するために使用できる。

40

【0190】

[診断方法]

PD-L1の過剰発現は、特定の腫瘍試料において観察され、PD-L1過剰発現細胞を有する患者は、本開示の抗PD-L1抗体を用いる治療に反応する可能性がある。従って、本開示の抗体は、診断および予後の目的のために使用することもできる。

50

【 0 1 9 1 】

好ましくは細胞を含む試料は、癌患者であり得る、または、診断を所望する患者であり得る患者から取得できる。細胞は、腫瘍組織もしくは腫瘍塊の細胞、血液試料、尿試料、または、患者からの任意の試料であり得る。試料の任意の前処理の後に、試料に潜在的に存在するPD-L1タンパク質と抗体が相互作用することを可能にする条件下で、本開示の抗体と共に試料を培養できる。抗PD-L1抗体を利用する、ELISAなどの方法を使用して、試料中のPD-L1タンパク質の存在を検出できる。

【 0 1 9 2 】

試料中のPD-L1タンパク質の存在（任意で、量または濃度）は、当該抗体を用いる治療に患者が適しているという指標として、または、患者が癌治療に反応した（または、反応しなかった）という指標として、癌の診断に使用できる。予後の方法については、治療の進捗を示すために、癌治療の開始後に、特定の段階において検出を1回、2回、または、それ以上実行できる。

10

【 0 1 9 3 】

〔 組成物 〕

また、本開示は、医薬組成物を提供する。そのような組成物は、有効量の抗体、および、許容可能な担体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は更に、第2の抗癌剤（例えば、免疫チェックポイント阻害剤）を含む。

【 0 1 9 4 】

具体的な実施形態において、「薬学的に許容される」という語句は、動物、より具体的には、ヒトへの使用について、連邦政府または州政府の規制機関によって承認されている、または、米国薬局方協会もしくは他の一般的に認識されている薬局方に記載されていることを意味する。更に、「薬学的に許容可能な担体」とは、一般的に、非毒性の固体、半固体、または、液体の増量剤、希釈剤、封入材、または、任意の種類の製剤補助物である。

20

【 0 1 9 5 】

「担体」という語句は、治療薬の投与に用いる、希釈剤、補助剤、賦形剤、または、媒体を指す。当該医薬担体は、ピーナッツオイル、大豆油、鉱油、ごま油、および、同様のものなど、石油、動物、植物、または、合成に由来するものを含む、水および油などの無菌液体であってよい。医薬組成物が静脈内投与されるとき、水は好ましい担体である。また、生理食塩水、ならびに、デキストロースおよびグリセロールの水溶液を、液体担体として、特に注射液に利用できる。適切な医薬品の賦形剤には、澱粉、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、滑石、塩化ナトリウム、乾燥脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが含まれる。また、組成物は、所望される場合、わずかな量の湿潤剤もしくは乳化剤、または、酢酸塩などのpH緩衝剤、クエン酸、または、リン酸塩を含み得る。ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤、アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムなどの抗酸化物質、エチレンジアミン四酢酸などのキレート剤、および、塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧調整剤も想定される。これらの組成物は、溶液、懸濁剤、エマルジョン、タブレット、錠剤、カプセル、粉末、徐放性製剤などの形態を取り得る。組成物は、トリグリセライドなど、従来の結合剤および担体と共に、座薬として製剤化され得る。経口製剤は、医薬品グレードのマニトール、ラクトース、澱粉、マグネシウム、ステアリン酸塩、サッカリンナトリウム、セルロース、マグネシウム炭酸塩などの標準的な担体を含み得る。適切な医薬品担体の例は、参照によって本明細書に組み込まれる、E. W. MartinによるRemington's Pharmaceutical Sciencesに記載されている。そのような組成物には、患者に対する適切な投与のための形態を提供するように、好適な量の担体と組み合わせられた、好ましくは精製された形態の、治療有効量の抗原結合ポリペプチドが含まれるであろう。製剤は、投与の方式に好適なものであるべきである。非経口製剤は、ガラスまたはプラスチックからできている、アンプル、使い捨てシ

30

40

50

リンジ、または、多回投与バイアルの中に封入され得る。

【0196】

一実施形態において、組成物は、ヒトへの静脈投与に適合された医薬組成物として、定型的な手順に従って製剤化される。典型的には、静脈投与のための組成物は、無菌水性等張緩衝液の溶液である。必要である場合、組成物はまた、可溶化剤と、注射の部位における疼痛を緩和するためのリグノカインなどの局所麻酔剤とを含み得る。一般的に、成分は、例えば、活性薬剤の量を示すアンプルまたは小袋などの密封容器における、凍結乾燥粉末または無水濃縮物などの単位投与量形態で、別個に供給されるか、または、共に混合されるかのいずれかである。組成物が注入によって投与される場合、組成物は、医薬品グレードの無菌水または生理食塩水を含む注入ボトルを用いて分注できる。組成物が注射によって投与される場合、投与前に成分が混合され得るように、注射用の無菌水または生理食塩水のアンプルが提供され得る。

10

【0197】

本開示の化合物は、中性または塩の形態として製剤化できる。薬学的に許容される塩には、塩酸塩、リン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、酒石酸塩などに由来するものなどの陰イオンと共に形成されるものと、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するものなど、陽イオンと共に形成されるものなどが含まれる。

【0198】

20

[例]

[例1：ヒトPD-L1に対するヒトモノクローナル抗体の生成]

抗ヒトPD-L1マウスモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術を使用して生成される。

【0199】

抗原：ヒトPD-L1-Fcタンパク質およびヒトPD-L1高発現CHOK1細胞株(PDL1-CHOK1細胞株)。

【0200】

免疫化：ヒトPD-L1に対するマウスモノクローナル抗体を生成するために、まず、 1.5×10^7 PDL1-CHOK1細胞を用いて、6~8週齢雌BALB/cマウスを免疫化した。最初の免疫化の14日後および33日後にそれぞれ、 1.5×10^7 PDL1-CHOK1細胞を用いて、免疫化マウスを再免疫化した。PD-L1タンパク質に結合する抗体を生成するマウスを選択するために、免疫化マウスからの血清をELISAによって試験した。簡単に説明すると、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のヒトPD-L1タンパク質のPBS溶液をウェルあたり $100 \mu\text{l}$ 加えてマイクロタイタープレートをコーティングし、室温(RT)で一晩放置した後に、ウェルあたり $100 \mu\text{l}$ の5%BSAでブロックした。免疫化マウスからの血漿の希釈物を各ウェルに加え、室温で1~2時間培養した。PBS/Tweenを用いてプレートを洗浄し、次に、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)と結合させた抗マウスIgG抗体と室温で1時間培養した。洗浄後、ABTS基質を用いてプレートを現像し、分光光度計によってOD_{405nm}で解析した。免疫化の54日後に、 $50 \mu\text{g}$ ヒトPD-L1-Fcタンパク質を用いて、抗PD-L1 IgGの十分な抗体価を有するマウスを追加免疫した。その結果として得られるマウスを融合物のために使用した。ELISAによって、抗PD-L1 IgGについて、ハイブリドーマの上清を試験した。

30

40

【0201】

更なる解析のために、ハイブリドーマクローンHL1210-3、HL1207-3、HL1207-9およびHL1120-3を選択した。HL1210-3可変領域のアミノ酸およびポリヌクレオチド配列は、下の表5に提供されている。

[表5 HL1210-3可変領域配列]

【表 1 3】

名前	配列	配列識別番号
HL1210-3 VH	GAAGTGAARCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGC CTGGAGGGTCCCTGAAARCTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT CACTTTCAGTAGCTATGACATGTCTGGGTGCGCCAGACT CCGGAGAAGAGTCTGGAGTGGGTGCAACCATTAGTGTG GTGGTGGTTACATCTACTATTTCAGACAGTGTGAAGGGGG ATTTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAAAATGAGCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCTTGT ATATTTGTGCAAGAGAATTTGGTAAGCGCTATGCTTTGGA CTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCAACCCTCTCCTCA	112
HL1210-3 VH	EVKLVESSGDLVKFPGGSLKLSCAASGFTFSSYDMSWVRQT PEKSLWVATISDGGGYIYSDSVKGRFTISRDNARNNLY LQMSLSRSEDALYICAREFGKRYALDYWGQSTSVT	113
HL1210-3 VL	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACAT CGGTAGSAGACAGGGTCAAGCATCTCCTGCAAGGCCAGTCA GGATGTGATCCTGCTGTGCGCCTGGTATCAACAGAAGCCA GGCAATCTCCTAACTACTGATTTACTCCACATCCTCC GGTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATC TGGGACGGATTTCACTTTCCACCATCAGCAGTGTGCAAGGCT GAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTGCAACATTATACTA CTCCGCTCACGTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAA A	114
HL1210-3 VL	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIKCKASQDVTFAVAVYQQKP GQSKLLIYSTSRVTGVPDRFTGSGSGTDFPTIISVQA EDLAVYYCQHYTTPLETFGAGTKLELK	115

10

【 0 2 0 2 】

【例 2 : ヒト PD - L 1 に対する HL 1 2 1 0 - 3 マウスモノクローナル抗体の結合活性】 20

ハイブリドマクローン HL 1 2 1 0 - 3 の結合活性を評価するために、このクローンから精製された m A b に対して E L I S A 試験を行った。簡単に説明すると、0 . 1 μ g / m l のヒト PD - L 1 - F c タンパク質の P B S 溶液をウェルあたり 1 0 0 μ l 加えてマイクロタイタープレートをコーティングし、4 で一晩放置した後に、ウェルあたり 1 0 0 μ l の 5 % B S A を用いてブロックした。0 . 2 μ g / m l から開始する HL 1 2 1 0 - 3 抗体の 3 倍希釈を各ウェルに加え、室温で 1 ~ 2 時間培養した。P B S / T w e e n を用いてプレートを洗浄し、次に、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (H R P) と結合させたヤギ抗マウス I g G 抗体と室温で 1 時間培養した。洗浄後、T M B 基質を用いてプレートを現像し、分光光度計によって O D 4 5 0 ~ 6 3 0 n m で解析した。図 1 に示されるように、HL 1 2 1 0 - 3 は、高い活性 (E C 5 0 = 5 . 5 3 9 n g / m l) で、ヒト PD - L 1 と結合できる。 30

【 0 2 0 3 】

【例 3 : HL 1 2 1 0 - 3 マウス m A b による、受容体 PD - 1 に対するヒト PD - L 1 結合の遮断】

【組換えヒト PD - L 1 の使用による受容体遮断アッセイ】

組換えヒト PD - L 1 の受容体 PD - 1 への結合に対する、HL 1 2 1 0 - 3 マウス m A b の遮断効果を評価するために、E L I S A ベースの受容体遮断アッセイを利用した。簡単に説明すると、1 μ g / m l のヒト PD - L 1 - F c タンパク質の P B S 溶液をウェルあたり 1 0 0 μ l 加えてマイクロタイタープレートをコーティングし、4 で一晩放置した後に、ウェルあたり 1 0 0 μ l の 5 % B S A を用いてブロックした。5 0 μ l のビオチン標識ヒト PD - 1 - F c タンパク質、および、5 0 μ l で 2 μ g / m l から開始する HL 1 2 1 0 - 3 抗体の 3 倍希釈物を各ウェルに加え、3 7 で 1 時間培養した。P B S / T w e e n を用いてプレートを洗浄し、次に、ストレプトアビジン - H R P を用いて 3 7 で 1 時間培養した。洗浄後、T M B 基質を用いてプレートを現像し、分光光度計によって O D 4 5 0 ~ 6 3 0 n m で解析した。図 2 に示されるように、HL 1 2 1 0 - 3 は、ヒト PD 1 に対するヒト PD - L 1 の結合を I C 5 0 = 0 . 7 8 3 5 n M で効率的に阻害できる。 40

【 0 2 0 4 】

【哺乳類細胞発現ヒト PD - L 1 を使用することによる受容体遮断アッセイ】

50

哺乳類細胞上で発現するヒトPD-L1の受容体PD-1への結合に対する、HL1210-3マウスmAbの遮断効果を評価するために、FACSベース受容体遮断アッセイを使用した。簡潔に説明すると、まず、20 µg/mlから開始する3倍段階希釈HL1210-3マウスmAbを用いて、PDL1-CHOK1細胞を室温で1時間培養した。FACSバッファ(PBS+2% FBS)による洗浄後、ビオチン標識huPD-1を各ウェルに加え、室温で1時間培養した。次に、ストレプトアビジン-PEを各ウェルに加え、FACSバッファを用いて、0.5時間の後洗浄を2回行った。PEの平均蛍光強度(MFI)をFACS Aria IIIによって評価した。図3に示されるように、HL1210-3抗体は、哺乳類細胞上で発現するPD-L1に対するPD-1の結合を非常に効率的に阻害できる(IC50は2.56 nM、92.6%の最高阻害率)。

10

阻害率(%) = (1 - 試験抗体のMFI / 対照担体のMFI) × 100%

【0205】

[例4: HL1210-3マウスmAbによって促進されるヒトT細胞免疫反応]

HL1210-3マウスmAbの作用を評価するために、混合リンパ球反応の環境において、ヒトT細胞の応答を調べた。ヒトDCを、GM-CSFおよびIL-4の存在下で、CD14+単球から7日間にわたって分化させた。次に、別のドナーから単離されたCD4+T細胞を、DCおよび抗PD-L1遮断抗体の希釈系列を用いて共培養した。接種後5日目に、IFN生成について、培養上清のアッセイを行った。その結果、HL1210-3抗体は、用量依存的に、IFNの生成を促進できることが示された。このことは、抗PD-L1抗体がヒトT細胞応答を促進できることを示唆している(図4)。

20

【0206】

[例5: HL1210-3マウスmAbの結合親和性]

捕捉方法を使用して、BIACORETM(登録商標)を用いて、組換えPD-L1タンパク質(ヒトPD-L1-histaq)に対するHL1210-3抗体結合を試験した。CM5チップ上にコーティングされた抗マウスFc抗体を使用して、HL1210-3マウスmAbを捕集された。捕集された抗体に対して、ヒトPD-L1-histaqタンパク質の希釈系列を25 µg/mlの流速で3分間注入した。抗原を900秒間にわたって解離させた。すべての実験は、Biacore T200(登録商標)上で実行した。データ分析は、Biacore T200(登録商標)評価ソフトウェアを使用して実行した。結果を図5および下の表6に示す。

30

[表6 組換えヒトPD-L1に対するHL1210-3の結合速度]

【表14】

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
HL1210-3	1.61E+05	4.69E-05	2.93E-10

【0207】

[例6: HL1210-3マウスmAbのヒト化]

mAb HL1210-3可変領域遺伝子を利用してヒト化mAbを作成した。このプロセスの第1段階において、mAb HL1210-3のVHおよびVKのアミノ酸配列をヒトIg遺伝子配列の利用可能なデータベースと比較して、全体の一致率が最高のヒト生殖細胞系Ig遺伝子配列を発見した。軽鎖については、最も近いヒトのマッチは、O18/Jk2およびKV1-39*01/KJ2*04遺伝子である。重鎖については、最も近いヒトのマッチは、VH3-21遺伝子である。一致率が高いことから、VH3-11、VH3-23、VH3-7*01およびVH3-48遺伝子も選択された。

40

【0208】

次に、HL1210-3軽鎖のCDR1(配列識別番号4)、2(配列識別番号5)および3(配列識別番号6)が、O18/Jk2およびKV1-39*01/KJ2*04遺伝子のフレームワーク配列に移植され、かつ、HL1210-3VHのCDR1(配列識別番号1)、2(配列識別番号2)および3(配列識別番号3)配列がVH3-21、VH3-11、VH3-23、VH3-48またはVH3-7*01遺伝子のフレームワーク配列に移植されるように、ヒト化可変ドメイン配列を設計した。次に、マウスのア

50

ミノ酸をヒトのアミノ酸に置き換えることによって結合および/またはCDRの形態に影響を生じさせ得る何らかのフレームワーク位置があるかどうかを決定するために、3次元モデルを生成した。軽鎖の場合、フレームワーク中の22S、43S、60D、63Tおよび42Q（Kabataナンバリング、表7を参照）を同定した。重鎖の場合、フレームワークにおける1E、37V、40T、44S、49A、77N、91I、94Rおよび108Tが復帰突然変異に参与した。

【0209】

[表7 ヒト化設計]

【表15】

VH Design I: VH3-21/JH6	
コンストラクト	変異
Hu1210 VH	キメラ
Hu1210 VH.1	CDR移植
Hu1210 VH.1a	S49A
Hu1210 VH.1b	S49A, G44S, Y91I
VH Design II: VH3-11/JH6	
Hu1210 VH.2	CDR移植, Q1E
Hu1210 VH.2a	Q1E, S49A
Hu1210 VH.2b	Q1E, B7V, S49A, G44S, Y91I
VH Design III: VH3-23/JH6	
Hu1210 VH.3	CDR移植, K94R
Hu1210 VH.3a	G44S, S49A, Y91I, K94R
VH Design IV: VH3-48/JH6	
Hu1210 VH.4	CDR移植
Hu1210 VH.4a	S49A
Hu1210 VH.4b	S49A, G44S, Y91I
Hu1210 VH.4c	D52E, S49A, G44S, Y91I
Hu1210 VH.4d	G53A, S49A, G44S, Y91I
Hu1210 VH.4e	G53V, S49A, G44S, Y91I
VH Design V: VH3-7*01/HJ1*01	
Hu1210 VH.5	CDR移植
Hu1210 VH.5a	H91I
Hu1210 VH.5b	H91I, H108T
Hu1210 VH.5c	H91I, H77N
Hu1210 VH.5d	H91I, H77N, H40T
VK Design I: 018/Jk2	
コンストラクト	変異
Hu1210 Vk	キメラ
Hu1210 Vk.1	CDR移植
Hu1210 Vk.1a	A43S
VK Design II: KV1-39*01/KJ2*04	
Hu1210 Vk.2	CDR移植
Hu1210 Vk.2a	L60D, L63T
Hu1210 Vk.2b	L60D, L63T, L42Q, L43S
Hu1210 Vk.2c	L60D, L63T, L42Q, L43S, T22S

10

20

一部のヒト化抗体のアミノ酸およびヌクレオチド配列を下の表8に列挙する。

[表8 ヒト化抗体配列(太字はCDRを示す)]

【表 16】

名前	配列	配列 識別 番号
Hu1210-VH	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQTPKSLSEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	7
Hu1210 VH.1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVST ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	8
Hu1210 VH.1a	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	9
Hu1210 VH.1b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	10
Hu1210 VH.2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVST ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	11
Hu1210 VH.2a	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	12
Hu1210 VH.2b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	13
Hu1210 VH.3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVST ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	14
Hu1210 VH.3a	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	15

次頁に続く

10

20

【表 17】

前頁からの続き

Hu1210 VH.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVST ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRDEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	16
Hu1210 VH.4a	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRDEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	17
Hu1210 VH.4b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRDEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	18
Hu1210 VH.4c	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISEGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRDEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	19
Hu1210 VH.4d	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDAGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRDEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	20
Hu1210 VH.4e	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDVGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRDEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	21
Hu1210 VH.5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	22
Hu1210 VH.5a	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	23
Hu1210 VH.5b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	24
Hu1210 VH.5c	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMSWVRQAPGKLEWVAT ISDGGGYIYYSDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGTITVTVSS	25

次頁に続く

30

40

【表 18】

前頁からの続き

Hu1210 VH.5d	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQTPFKSLEWVAT ISDGGGYYIYSDSVKGRFTISRDNKNNLNLQMNSLRAEDTAVYICAREF GKRYALDYWGQGLTVTVSS	26
HL1210-VK	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSI CKASQDVTE FAVAVYQQRKPGQSPKLLIYS TSSRYTGVFDRFTGSGSGTDFTFTISSLVQAEDLAVYYCQQHYTTEPLTFGA GTKLEIK	27
Hu1210 VK.1	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVTEFAVAVYQQRKPKAKPLLIYS TSSRYTGVPSRFSRFSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQHYTTEPLTFGQ GTKLEIK	28
Hu1210 VK.1a	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVTEFAVAVYQQRKPKSPKLLIYS TSSRYTGVPSRFSRFSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQHYTTEPLTFGQ GTKLEIK	29
Hu1210 VK.2	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVTEFAVAVYQQRKPKAKPLLIYS TSSRYTGVPSRFSRFSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQQHYTTEPLTFGQ GTKLEIKR	30
Hu1210 VK.2a	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVTEFAVAVYQQRKPKAKPLLIYS TSSRYTGVFDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTEPLTFGQ GTKLEIKR	31
Hu1210 VK.2b	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVTEFAVAVYQQRKPGQSPKLLIYS TSSRYTGVFDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTEPLTFGQ GTKLEIKR	32
Hu1210 VK.2c	DIQMTQSPSSLSASVGRVITISCKASQDVTEFAVAVYQQRKPGQSPKLLIYS TSSRYTGVFDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTEPLTFGQ GTKLEIKR	33
HL1210 VH	GAGGTGAAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGACTGGTGAAGCCCGGAGGCAGCCTGAAAGCTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGCAGGCC CCCGAAGAGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATCCAGCGATGGCGGCGCTACATCTATTAC AGCGACAGCTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTGTGCGCAGGGAGTTC GGCAAAGGTACGCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCAACAACCGTGACCGTGAGCAGC	34

次頁に続く

10

20

30

40

【表 19】

前頁からの続き

Hu1210 VH.1	GAGGTGACAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGACTGGTGAAGCCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGCAGGCC CCTGGCAAAGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATCCGATGGCGGCGCTACATCTATTAC TCCGACAGCTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTGTGCGCAGGGAGTTC GGCAAAGGTACGCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCAACAACCGTGACCGTGAGCAGC	35
Hu1210 VH.1a	GAGGTGACAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGACTGGTGAAGCCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGCAGGCC CCTGGCAAAGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATCCGATGGCGGCGCTACATCTATTAC TCCGACAGCTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTGTGCGCAGGGAGTTC GGCAAAGGTACGCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCAACAACCGTGACCGTGAGCAGC	36
Hu1210 VH.1b	GAGGTGACAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGACTGGTGAAGCCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGCAGGCC CCTGGCAAAGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATCCGATGGCGGCGCTACATCTATTAC TCCGACAGCTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTGTGCGCAGGGAGTTC GGCAAAGGTACGCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCAACAACCGTGACCGTGAGCAGC	37
Hu1210 VH.2	GAGGTGACAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGACTGGTGAAGCCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGCAGGCC CCTGGCAAAGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATCCGATGGCGGCGCTACATCTATTAC TCCGACAGCTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTGTGCGCAGGGAGTTC GGCAAAGGTACGCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCAACAACCGTGACCGTGAGCAGC	38
Hu1210 VH.2a	GAGGTGACAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGACTGGTGAAGCCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGCAGGCC CCTGGCAAAGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATCCGATGGCGGCGCTACATCTATTAC TCCGACAGCTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTGTGCGCAGGGAGTTC GGCAAAGGTACGCCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCAACAACCGTGACCGTGAGCAGC	39

次頁に続く

【表 2 0】

前頁からの続き

Hu1210_VH.2b	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	40
Hu1210_VH.3	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	41
Hu1210_VH.3a	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	42
Hu1210_VH.4	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGATGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	43
Hu1210_VH.4a	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGATGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	44

次頁に続く

10

20

【表 2 1】

前頁からの続き

Hu1210_VH.4b	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGATGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	45
Hu1210_VH.4c	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGATGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	46
Hu1210_VH.4d	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGATGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	47
Hu1210_VH.4e	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG AGCTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGAGACAGGCC CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGATGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAAAGGTACGCCCTGGACTACTG999CCAGGGCACAA00GTGAC00TGAGCAGC	48
Hu1210_VH.5	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGAGGAGGACTGGTGAACCCGGAGGCAGCCTGAGACTG TCCGTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCTCCATAGATATGAGCTGGGTGAGGAGGCT CCTGGCAAAAGCCTGGAGTGGSTGGCCACCATCTCCGATGGCGGGCTACATCTATTAC TCCGACTCCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCTCCGGGACAACGCCAAGAACAAGCCTGTAC CTGCAGATGAACCTCTCAGGGCTGAGGACACCGCGGTGTACTCTGGCCAGGGAGTTT GGCAAGAGGTACGCCCTGGATTACTG999CCAGGGCACACTGGTGACATGAGCTCC	49

次頁に続く

30

40

【表 2 2】

前頁からの続き

Hu1210_VH.5a	GAGGTGCAGCTGGTGGASTCCGGAGGAGGCTGGTGCACCTGGAGGCTCCCTGAGGCTG TCCTGTGCCGCTTCGGGCTTCACCTTCAGCTCCTACGATATGAGCTGGGTGAGGCAGGCT CCTGGAAGGGGCTGGAGTGGTGGCCACCATCTCCGACGGAGGCGGCTACATCTACTAC TCCGACTCCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCTCCGGGCAACGCCAAGAATCCCTGTAC CTGCAGATGAATCTCTCAGGGCTGAGGACACCGCCGTGTATATCTGCGCCAGGGAGTTT GGCAAGAGGTACGCCCTGGATTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACAGTGAGCTCC	50
Hu1210_VH.5b	GAGGTGCAGCTGGTGGASTCCGGAGGAGGCTGGTGCACCTGGAGGCTCCCTGAGGCTG TCCTGTGCCGCTTCGGGCTTCACCTTCAGCTCCTACGATATGAGCTGGGTGAGGCAGGCT CCTGGAAGGGGCTGGAGTGGTGGCCACCATCTCCGACGGAGGCGGCTACATCTACTAC TCCGACTCCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCTCCGGGCAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAATCTCTCAGGGCTGAGGACACCGCCGTGTATATCTGCGCCAGGGAGTTT GGCAAGAGGTACGCCCTGGATTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACAGTGAGCTCC	51
Hu1210_VH.5c	GAGGTGCAGCTGGTGGASTCCGGAGGAGGCTGGTGCACCTGGAGGCTCCCTGAGGCTG TCCTGTGCCGCTTCGGGCTTCACCTTCAGCTCCTACGATATGAGCTGGGTGAGGCAGGCT CCTGGAAGGGGCTGGAGTGGTGGCCACCATCTCCGACGGAGGCGGCTACATCTACTAC TCCGACTCCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCTCCGGGCAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAATCTCTCAGGGCTGAGGACACCGCCGTGTATATCTGCGCCAGGGAGTTT GGCAAGAGGTACGCCCTGGATTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACAGTGAGCTCC	52
Hu1210_VH.5d	GAGGTGCAGCTGGTGGASTCCGGAGGAGGCTGGTGCACCTGGAGGCTCCCTGAGGCTG TCCTGTGCCGCTTCGGGCTTCACCTTCAGCTCCTACGATATGAGCTGGGTGAGGCAGGCT CCTGGAAGGGGCTGGAGTGGTGGCCACCATCTCCGACGGAGGCGGCTACATCTACTAC TCCGACTCCGTGAAGGGCAGGTTCAACATCTCCGGGCAACGCCAAGAACAACCTGTAC CTGCAGATGAATCTCTCAGGGCTGAGGACACCGCCGTGTATATCTGCGCCAGGGAGTTT GGCAAGAGGTACGCCCTGGATTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACAGTGAGCTCC	53
HL1210_VK	GACATCGTGTGATGACCCAGAGCCCAAGTTTCATGAGCAACAGCGTGGGGGATAGGGTGAGC ATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGGATGTGACCCCTGCGGTGGCTGGTACCGACGAGAGCC GGCCAGAGCCCAAGCTGTGATCTACAGCAACAGCAGGATACACCGGCGTGGCCGAC AGGTTTACAGGAAAGCGGCGAGCCAGGACTTCACTTCACTTACAGCAGGCTGACAGCC GAGGACTTGGCCACTACTACTGCGCAGCAGCACTACACCCCTCTGACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGTCAAG	54

次頁に続く

10

20

【表 2 3】

前頁からの続き

Hu1210_VK.1	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGGACAGGTTGACC ATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGGATGTGACCCCTGCGGTGGCTGGTACCGACGAGAGCC GGCAAGGCCCAAGCTGTGATCTACAGCAACAGCAGGATACACCGGCGTGGCCGAC AGGTTTACAGGAAAGCGGCGAGCCAGGACTTCACTTCACTTACAGCAGGCTGACAGCC GAGGACTTGGCCACTACTACTGCGCAGCAGCACTACACCCCTCTGACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGTCAAG	55
Hu1210_VK.1a	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCTAGCGTGGGGACAGGTTGACC ATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGGATGTGACCCCTGCGGTGGCTGGTACCGACGAGAGCC GGCAAGTCCCAAGCTGTGATCTACAGCAACAGCAGGATACACCGGCGTGGCCGAC AGGTTTACAGGAAAGCGGCGAGCCAGGACTTCACTTCACTTACAGCAGGCTGACAGCC GAGGACTTGGCCACTACTACTGCGCAGCAGCACTACACCCCTCTGACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGTCAAG	56
Hu1210_VK.2	GACATTCAGATGACCCAGTCCCTAGCAGCCTGTCGGCTTCGGTGGGGACAGGTTGACC ATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGGATGTGACCCCTGCGGTGGCTGGTACCAAGAGCCCT GGCAAGGCTCCTAAGCTCCTGATCTACAGCACATCTCCGGTACACCGGAGTGGCCCTC AGGTTTACGGGCGAGCGGCTCCGGCACCGATTTCACTTCACTTACAGCAGGCTGACAGCC GAGGACTTGGCCACTACTACTGCGCAGCAGCACTACACCCCTCTGACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGTCAAGCGG	57
Hu1210_VK.2a	GACATTCAGATGACCCAGTCCCTAGCAGCCTGTCGGCTTCGGTGGGGACAGGTTGACC ATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGGATGTGACCCCTGCGGTGGCTGGTACCAAGAGCCCT GGCAAGGCTCCTAAGCTCCTGATCTACAGCACATCTCCGGTACACCGGAGTGGCCGAC AGGTTTACGGGCGAGCGGCTCCGGCACCGATTTCACTTCACTTACAGCAGGCTGACAGCC GAGGACTTGGCCACTACTACTGCGCAGCAGCACTACACCCCTCTGACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGTCAAGCGG	58
Hu1210_VK.2b	GACATTCAGATGACCCAGTCCCTAGCAGCCTGTCGGCTTCGGTGGGGACAGGTTGACC ATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGGATGTGACCCCTGCGGTGGCTGGTACCAAGAGCCCT GGCCAGAGCCCTAAGCTCCTGATCTACAGCACATCTCCGGTACACCGGAGTGGCCGAC AGGTTTACGGGCGAGCGGCTCCGGCACCGATTTCACTTCACTTACAGCAGGCTGACAGCC GAGGACTTGGCCACTACTACTGCGCAGCAGCACTACACCCCTCTGACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGTCAAGCGG	59

次頁に続く

30

40

【表 2 4】

前頁からの続き

Hu1210 V _K .2c	GACATTGAGATGACCCAGTCCCTAGCAGCCTGTCGCTTCCGTGGGCGACAGGGTGAAC ATCAGCTGCAAGGCCAGCCAGGACGTGACACCTGTGTGGCTGATCAACAGAGGCT GGCCAGAGCCCTAAGCTCCTGATCTACAGCACATCTCCCGGTACACCGGAGTCCCGGAC AGGTTTACCGGCGAGCGGCTCCGGCACCGATTTCACCCCTGAACATTTCTCCCTGACAGCC GAGGACTTGGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACACCACACCCCTGACCTTGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGG	60
---------------------------	--	----

【0210】

ヒト化VHおよびVK遺伝子を合成的に生成し、次に、ヒト 1 およびヒト 定常ドメインを含むベクターにそれぞれをクローニングした。ヒトVHおよびヒトVKの組み合わせにより、40のヒト化抗体を形成した(表9を参照)。

10

[表9 VHおよびVL領域を有するヒト化抗体]

【表 2 5】

VH	Hu1210	Hu1210	Hu1210	Hu1210	Hu1210	Hu1210	Hu1210
Vk	VH.1	VH.1a	VH.1b	VH.2	VH.2a	VH.2.b	VH
Hu1210 V _k .1	Hu1210-1	Hu1210-2	Hu1210-3	Hu1210-4	Hu1210-5		
Hu1210 V _k .1a	Hu1210-7	Hu1210-8	Hu1210-9	Hu1210-10	Hu1210-11		
Hu1210 V _k							H1210 キメラ

【表 2 6】

VH	Hu1210	Hu1210	Hu1210	Hu1210	Hu1210
Vk	VH.3	VH.3a	VH.4	VH.4a	VH.4b
Hu1210 V _k .1	Hu1210-1	Hu1210-14	Hu1210-1	Hu1210-1	Hu1210-1
Hu1210 V _k .1a	Hu1210-1	Hu1210-19	Hu1210-2	Hu1210-2	Hu1210-2

20

【表 2 7】

VH	Hu1210	HU1210	HU1210	HU1210	HU1210
VK	VH.5	VH.5a	VH.5b	VH.5c	VH.5d
Hu1210 V _k .2	Hu1210-23	Hu1210-27	Hu1210-31	Hu1210-32	Hu1210-36
Hu1210 V _k .2a	Hu1210-24	Hu1210-28		Hu1210-33	Hu1210-37
Hu1210 V _k .2b	Hu1210-25	Hu1210-29		Hu1210-34	Hu1210-38
Hu1210 V _k .2c	Hu1210-26	Hu1210-30		Hu1210-35	Hu1210-39

30

【表 2 8】

VH	Hu1210	Hu1210	Hu1210
Vk	VH.4c	VH.4d	VH.4e
Hu1210 V _k .1	Hu1210-4	Hu1210-41	Hu1210-4

【0211】

[例7:ヒト化PD-L1抗体の抗原結合特性]

[組換えヒトPD-L1の結合特性]

抗原結合活性を評価するために、ヒト化抗体に対してELISA試験を行った。簡単に説明すると、0.1 μg/mlのヒトPD-L1-Fcタンパク質のPBS溶液をウェルあたり100 μl加えてマイクロタイタープレートをコーティングし、4 で一晩放置した後に、100 μl/ウェルの5%BSAを用いてブロックした。10 μg/mlから開始するヒト化抗体の5倍希釈物を各ウェルに加え、室温で1~2時間培養した。PBS/Tweenを用いてプレートを洗浄し、次に、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)と結合させたヤギ抗マウスIgG抗体と室温で1時間培養した。洗浄後、TMB基質を用いてプレートを現像し、分光光度計によってOD 450~630nmで解析した。図6に示されるように、すべてのヒト化抗体は、キメラ抗体に接触するヒトPD-L1に対する同等の結合効力を示す。

40

【0212】

[哺乳動物細胞で発現させたヒトPD-L1の結合特性]

抗原結合特性を評価するために、哺乳動物細胞で発現させたPD-L1との結合につい

50

て、FACSによってヒト化抗体を解析した。簡単に説明すると、まず、 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ から開始するヒト化抗体の5段階希釈物を用いて、PDL1-CHO K1細胞を室温で1時間培養した。FACSバッファ(PBS+2%FBS)による洗浄後、Alexa488-抗ヒトIgG抗体を各ウェルに加え、室温で1時間培養した。FACS Aria IIIによって、Alexa488のMFIを評価した。図7に示されるように、すべてのヒト化抗体は、哺乳類細胞で発現されるPD-L1に対して、キメラ抗体と同等に非常に効率的に結合できる。

【0213】

ヒト化抗体の結合速度を調査するために、この例では、Octet Red 96を使用することによって親和性順位付けを実行した。表10に示されるように、Hu1210-3、Hu1210-8、Hu1210-9、Hu1210-14、Hu1210-17、Hu1210-1およびHu1210-22は、キメラ抗体と同等のより高い親和性を示す。

10

[表10 ヒト化抗体の親和性順位]

【表29】

抗体	KD (M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)	抗体	KD (M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
Hu1210 (mgG)	7.16E-09	3.94E+05	2.88E-03	Hu1210-11	4.18E-09	7.54E+04	3.15E-04
H1210 キメラ	1.07E-09	1.62E+05	1.73E-04	Hu1210-13	4.36E-09	8.38E+04	3.66E-04
Hu1210-1	4.25E-09	7.10E+04	3.02E-04	Hu1210-14	2.34E-09	8.41E+04	1.97E-04
Hu1210-2	3.23E-09	7.78E+04	2.51E-04	Hu1210-15	4.45E-09	7.87E+04	3.50E-04
Hu1210-3	2.64E-09	8.62E+04	2.28E-04	Hu1210-16	3.14E-09	8.41E+04	2.64E-04
Hu1210-4	7.68E-09	7.12E+04	5.46E-04	Hu1210-17	2.20E-09	8.17E+04	1.80E-04
Hu1210-5	4.83E-09	7.93E+04	3.83E-04	Hu1210-18	4.50E-09	7.92E+04	3.57E-04
Hu1210-7	4.78E-09	8.45E+04	4.04E-04	Hu1210-19	2.50E-09	9.03E+04	2.25E-04
Hu1210-8	1.64E-09	7.72E+04	1.27E-04	Hu1210-20	4.51E-09	8.87E+04	4.00E-04
Hu1210-9	2.33E-09	8.37E+04	1.95E-04	Hu1210-21	3.12E-09	9.39E+04	2.93E-04
Hu1210-10	7.03E-09	8.59E+04	6.04E-04	Hu1210-22	2.56E-09	9.00E+04	2.30E-04

20

【0214】

[Biacore (登録商標)によるヒト化抗体の全体的な反応速度的親和性]

捕捉方法を使用して、BIACORE TM (登録商標)を用いて、組換えPD-L1タンパク質(ヒトPD-L1-histaq)に対するヒト化抗体結合を試験した。CM5チップ上にコーティングされた抗マウスFc抗体を使用して、HL1210-3マウスmAbを捕集された。捕集された抗体に対して、ヒトPD-L1-histaqタンパク質の希釈系列を $25\mu\text{g}/\text{ml}$ の流速で3分間注入した。抗原を900秒間にわたって解離させた。すべての実験は、Biacore T200 (登録商標)上で実行した。データ分析は、Biacore T200 (登録商標)評価ソフトウェアを使用して実行し、下の表11に示されている。

30

[表11 Biacoreによる親和性]

【表 3 0】

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
Hu1210-8	9.346E+4	7.169E-5	7.671E-10
Hu1210-9	9.856E+4	4.528E-5	4.594E-10
Hu1210-14	1.216E+5	5.293E-5	4.352E-10
Hu1210-16	9.978E+4	6.704E-5	6.720E-10
Hu1210-17	1.101E+5	2.128E-5	1.933E-10
Hu1210-28	1.289E+5	1.080E-4	8.378E-10
Hu1210-31	1.486E+5	1.168E-4	7.862E-10
Hu1210-36	1.461E+5	7.852E-5	5.376E-10
Hu1210-40	8.77E+04	1.31E-04	1.49E-09
Hu1210-41	9.17E+04	3.46E-05	3.78E-10
Hu1210-42	8.68E+04	7.53E-05	8.67E-10
1210 Chimera	1.236E+5	3.265E-5	2.642E-10

10

【 0 2 1 5】

[種間活性]

h u P D - L 1、マウス P D - L 1、ラット P D - L 1、アカゲザル P D - L 1 に対するヒト化抗体の結合を評価するために、抗体に対して E L I S A 試験を実行した。簡単に説明すると、1 μ g / m l のヒト、マウス、ラットおよびアカゲザル P D - L 1 - F c タンパク質の P B S 溶液をウェルあたり 1 0 0 μ l 加えてマイクロタイタープレートをコーティングし、4 で一晩放置した後に、1 0 0 μ l / ウェルの 5 % B S A を用いてブロックした。1 μ g / m l から開始するヒト化抗体の 3 倍希釈を各ウェルに加え、室温で 1 ~ 2 時間培養した。P B S / T w e e n を用いてプレートを洗浄し、次に、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (H R P) と結合させたヤギ抗マウス I g G 抗体と室温で 1 時間培養した。洗浄後、T M B 基質を用いてプレートを現像し、分光光度計によって O D 4 5 0 ~ 6 3 0 n m で解析した。H u 1 2 1 0 - 4 1 抗体は、低い親和性でアカゲザル P D - L 1 に結合でき、ラットおよびマウス P D - L 1 には結合できない (図 8) 。

20

【表 3 1】

	ヒト	アカゲザル	ラット	マウス
EC50	0.215nM	0.628nM	結合なし	結合なし

30

【 0 2 1 6】

[ファミリーメンバー特異性]

ヒト B 7 ファミリーおよび他の免疫チェックポイントに対する、ヒト化抗 P D - L 1 抗体の結合を評価するために、E L I S A によって、B 7 - H 1 (P D - L 1)、B 7 - D C、B 7 - 1、B 7 - 2、B 7 - H 2、P D - 1、C D 2 8、C T L A 4、I C O S および B T L A への結合について抗体を評価した。図 9 に示されるように、H u 1 2 1 0 - 4 1 抗体は、B 7 - H 1 (P D - L 1) のみに特異的に結合できる。

【 0 2 1 7】

[例 8 : ヒト化抗体によって遮断される、P D - 1 に対するヒト P D - L 1 の活性]

40

[細胞ベースの受容体遮断アッセイ]

哺乳類細胞上で発現するヒト P D - L 1 の受容体 P D - 1 への結合に対する、ヒト化抗体の遮断効果を評価するために、F A C S ベース受容体遮断アッセイを利用した。簡潔に説明すると、まず、2 0 μ g / m l から開始する 3 倍段階希釈 H L 1 2 1 0 - 3 マウス m A b を用いて、P D L 1 - C H O K 1 細胞を室温で 1 時間培養した。F A C S バッファ (P B S + 2 % F B S) による洗浄後、ビオチン標識 h u P D - 1 を各ウェルに加え、室温で 1 時間培養した。次に、ストレプトアビジン - P E を各ウェルに加え、F A C S バッファを用いて、0 . 5 時間の 2 回後洗浄を行った。P E の平均蛍光強度 (M F I) を F A C S A r i a I I I によって評価した。

$$\text{阻害率 (\%)} = (1 - \text{試験抗体の M F I} / \text{対照担体の M F I}) \times 1 0 0 \%$$

50

【 0 2 1 8 】

下の表 1 2 に示されるように、Hu 1 2 1 0 - 3、Hu 1 2 1 0 - 9、Hu 1 2 1 0 - 8、Hu 1 2 1 0 - 1 4、Hu 1 2 1 0 - 1 7、Hu 1 2 1 0 - 1 9 および Hu 1 2 1 0 - 2 2 抗体は、PD - 1 に対する PD - L 1 の結合の遮断について、キメラ抗体と同等の有効性を示す。

[表 1 2 PD - 1 受容体遮断アッセイ]

【 表 3 2 】

	Bio-PD1(30µg/ml)	
	TOP	EC50
Hu1210 キメラ	87.16	3.961
Hu1210-8	86.35	4.194
Hu1210-9	85.7	4.038
Hu1210-16	88.02	5.436
Hu1210-17	80.88	4.424
Hu1210-3	84.28	3.693
Hu1210-14	79.56	3.572
Hu1210-19	87.45	4.52
Hu1210-22	85.83	4.505
Hu1210-27	103.9	11.48
Hu1210-31	92.91	6.179
Hu1210-36	91.75	8.175

10

【 0 2 1 9 】

[組換えヒト PD - L 1 の使用による受容体遮断アッセイ]

20

ヒト PD - L 1 について、2つの受容体、すなわち、PD - 1 および B 7 - 1 がある。これら 2 つのタンパク質に対するヒト化 PD - L 1 抗体の遮断特性を調査するために、ここでは、タンパク質ベースの受容体遮断アッセイを利用した。簡単に説明すると、1 µ g / m l のヒト PD - L 1 - F c タンパク質の P B S 溶液をウェルあたり 1 0 0 µ l 加えてマイクロタイタープレートをコーティングし、4 で一晩放置した後に、ウェルあたり 2 0 0 µ l の 5 % B S A を用いてブロックし、3 7 で 2 時間放置した。5 0 µ l のビオチン標識ヒト PD - 1 - F c または B 7 1 v タンパク質、および、1 0 0 n M、5 0 µ l から開始する PD - L 1 抗体の 5 倍希釈物を各ウェルに加え、3 7 で 1 時間培養した。P B S / T w e e n を用いてプレートを洗浄し、次に、ストレプトアビジン - H R P を用いて 3 7 で 1 時間培養した。洗浄後、T M B 基質を用いてプレートを現像し、分光光度計によって O D 4 5 0 n m で解析した。図 1 0 および 1 1 に示されるように、Hu 1 2 1 0 - 4 1 は、ヒト PD 1 および B 7 - 1 に対するヒト PD - L 1 n 結合を効率的に阻害できる。

30

【 0 2 2 0 】

[例 9 : ヒト化抗体によって促進されるヒト T 細胞免疫反応]

[混合リンパ球反応アッセイ]

ヒト化抗体のインビトロ機能を評価するために混合リンパ球反応の環境において、ヒト T 細胞の応答を調べた。ヒト DC を、GM - C S F および I L - 4 の存在下で、C D 1 4 + 単球から 7 日間にわたって分化させた。次に、別のドナーから単離された C D 4 + T 細胞を、DC および抗 PD - L 1 遮断抗体の希釈系列を用いて共培養した。接種後 5 日目に、I L - 2 および I F N 生成について、培養上清のアッセイを行った。この結果は、Hu 1 2 1 0 - 8、Hu 1 2 1 0 - 9、Hu 1 2 1 0 - 1 6 および Hu 1 2 1 0 - 1 7 抗体が用量依存的に、I L - 2 および I F N の生成を促進できることを示し、抗 PD - L 1 抗体がヒト T 細胞応答を促進できることを示唆する。

40

【 0 2 2 1 】

[C M V リコールアッセイ]

ヒト化抗体のインビトロ機能を評価するために、ヒト T 細胞の応答を C M V リコールアッセイにおいて調べた。段階希釈されたヒト化抗体の存在下で、1 µ g / m l の C M V 抗原を用いて、ヒト P B M C を刺激した。図 1 2 および 1 3 に示されるように、Hu 1 2 1 0 - 4 0、Hu 1 2 1 0 - 4 1 および Hu 1 2 1 0 - 1 7 は、用量依存的に、I F N の

50

生成を促進できる。

【 0 2 2 2 】

[例 1 0 : 抗 P D - L 1 m A b による腫瘍増殖阻害]

ヒト肺腺癌細胞株 H C C 8 2 7 に由来する細胞は、N O D s c i d g a m m a (N S G) マウスに移植される。N S G マウスは、N O D s c i d g a m m a が欠損した、かつ、もっとも免疫不全のマウスであるため、ヒト腫瘍細胞および P B M C 移植のレシピエントとして理想的である。移植後 1 0 日目に、腫瘍を有するマウスの中にヒト P B M C を移植する。移植後約 2 0 日目に、腫瘍体積が 1 0 0 ~ 1 5 0 m m ³ に到達すると、1 日おきに 5 m g / k g の P D - L 1 抗体がマウスに投与される。腫瘍体積は、抗体投与と併せて、1 日おきにモニタリングされる。図 1 4 に示されるように、H u 1 2 1 0 - 3 1 は、5 m g / k g で、腫瘍増殖を 3 0 % 阻害できる。H u 1 2 1 0 - 4 1 抗体は、用量依存的に腫瘍増殖を阻害でき、一方、腫瘍重量も、H u 1 2 1 0 - 4 1 抗体によって用量依存的に抑制される (図 1 5) 。

10

【 0 2 2 3 】

[例 1 1 ヒト化抗体の更なる変形および最適化のコンピュータシミュレーション]

C D R 領域またはフレームワーク領域における特定のアミノ酸残基を変更することにより、抗体の活性および/または安定性が更に改善される得る、または、保持され得ることが考えられた。計算ツール (V e c t o r N T I 、 w w w . e b i . a c . u k / t o o l s / m s a / c l u s t a l o / で入手可能) を用いて、構造、配座、機能の特性に関連して、変異型を試験した。可能性を示したもの (C D R 領域内) を下の表に列挙する。

20

[表 1 3 ヒト化抗体への組み入れに好適な V H および V L C D R および変異型]

【 表 3 3 】

名前	配列	配列識別番号
VH CDR1	<u>S</u> YDMS	1
	T <u>Y</u> DMS	61
	C <u>Y</u> DMS	62
	S <u>F</u> DMS	63
	S <u>H</u> DMS	64
	S <u>W</u> DMS	65
	SYD <u>M</u> T	66
	SYD <u>M</u> C	67

30

【 表 3 4 】

名前	配列	配列識別番号
VH CDR2	TISDGG <u>G</u> YIYYSD <u>S</u> VRG	2
	TISDGG <u>A</u> YIYYSDSVRG	68
	TISDGG <u>E</u> YIYYSDSVRG	69
	TISDGG <u>F</u> YIYYSDSVRG	70
	TISDGG <u>H</u> IYYSDSVRG	71
	TISDGG <u>W</u> IYYSDSVRG	72
	TISDGG <u>V</u> IYYSD <u>I</u> VRG	73
	TISDGG <u>V</u> IYYSD <u>C</u> VRG	74
	TISDGG <u>V</u> IYYSD <u>L</u> VRG	75
	TISDGG <u>V</u> IYYSD <u>S</u> VRG	76
	TISDGG <u>V</u> IYYSD <u>M</u> VRG	77

40

【表 3 5】

名前	配列	配列識別番号
VH CDR3	<u>E</u> FGKRYALDY	3
	Q <u>P</u> GKRYALDY	78
	D <u>F</u> GKRYALDY	79
	N <u>F</u> GKRYALDY	80
	E <u>Y</u> GKRYALDY	81
	E <u>H</u> GKRYALDY	82
	E <u>W</u> GKRYALDY	83
	E <u>F</u> AKRYALDY	84
	E <u>F</u> PKRYALDY	85
	E <u>F</u> GRRYALDY	86
	E <u>F</u> GKKYALDY	87
	E <u>F</u> GKR <u>F</u> ALDY	88
	E <u>F</u> GKR <u>H</u> ALDY	89
	E <u>F</u> GKR <u>W</u> ALDY	90

10

【表 3 6】

名前	配列	配列識別番号
VL CDR1	<u>K</u> A <u>S</u> QDVTPAVA	4
	K <u>A</u> TQDVTPAVA	91
	K <u>A</u> CQDVTPAVA	92

【表 3 7】

名前	配列	配列識別番号
VL CDR2	<u>S</u> TSSRYT	5
	T <u>T</u> SSRYT	93
	C <u>T</u> SSRYT	94
	S <u>S</u> SSRYT	95
	S <u>M</u> SSRYT	96
	S <u>V</u> SSRYT	97
	S <u>T</u> TSSRYT	98
	S <u>T</u> CSSRYT	99
	S <u>T</u> S <u>T</u> RYT	100
	S <u>T</u> S <u>C</u> RYT	101
	S <u>T</u> S <u>K</u> RYT	102
	S <u>T</u> S <u>R</u> RYT	103
	S <u>T</u> S <u>R</u> HRYT	104
	S <u>T</u> S <u>R</u> WRYT	105

20

30

【表 3 8】

名前	配列	配列識別番号
VL CDR3	<u>Q</u> QHYTTPLT	6
	E <u>Q</u> HYTTPLT	106
	D <u>Q</u> HYTTPLT	107
	N <u>Q</u> HYTTPLT	108
	Q <u>E</u> HYTTPLT	109
	Q <u>D</u> HYTTPLT	110
	Q <u>N</u> HYTTPLT	111

40

下線：ホットスポット突然変異残基、および、それらの置換

【0 2 2 4】

[例 1 2：PD-L1 エピトープの同定]

本試験は、本開示の抗体に対する PD-L1 の結合に關与するアミノ酸残基を同定するために実行された。

【0 2 2 5】

PD-L1 のアラニン走査ライブラリが構築された。簡単に説明すると、PD-L1 の 217 の変異型クローンが、Integral Molecular のタンパク質工学プラットフォーム上で生成された。PD-L1 突然変異ライブラリにおける各変異型に対す

50

る Hu1210-41 Fab の結合を、高スループットフローサイトメトリーによって、2連で決定した。各生データ点において、バックグラウンド蛍光を減算し、PD-L1 野生型 (WT) の反応性に正規化した。各 PD-L1 変異型について、発現の関数として、平均結合値をプロットした (対照: 抗 PD-L1 mAb 反応性)。予備的に重要なクローン (十字付きの円) を同定するために、対照の mAb に結合する WT が 70% 以上、かつ、Hu1210-41 Fab への反応性を有する WT が 30% 未満であるという閾値 (破線) を適用した (図 16)。PDL1 の Y134、K162 および N183 が、Hu1210-41 結合に必要な残基として同定された。Hu1210-41 Fab に対する N183A クローンの低い反応性は、それが Hu1210-41 結合について、エネルギー的に大きく寄与し、Y134 および K162 の寄与は小さいことを示唆している。

10

【0226】

図 17 に示されるように、重要な残基 (球体) が 3 次元の PD-L1 構造上で同定された (PDB ID# 5JDR, Zhang et al., 2017)。したがって、これらの残基、Y134、K162 および N183 は、本開示の様々な実施形態の抗体への結合を担う PD-L1 のエピトープを構成している。

【0227】

興味深いことに、Y134、K162 および N183 がすべて、PD-L1 タンパク質の IgC ドメイン中に配置されていることに留意されたい。PD-1 および PD-L1 両方の細胞外部分は、IgV ドメインおよび IgC ドメインを有する。PD-L1 は、IgV ドメイン間の結合を通して PD-1 に結合することが一般に知られている。しかしながら、そのような従来 of 抗体と異なり、Hu1210-41 は、IgC ドメインに結合する。これは、PD-1 / PD-L1 結合の阻害において有効ではないと予想されていた。驚くべきことに、Hu1210-41 のこの異なるエピトープは、Hu1210-41 の優れた活性に寄与している可能性が高い。

20

【0228】

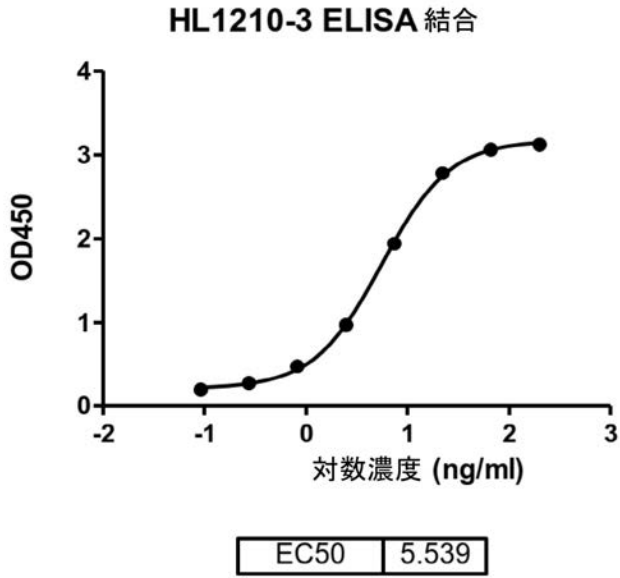
本開示は、本開示の個々の態様の 1 つの例示であることが意図される、記載された具体的な実施形態によって範囲が限定されることを意図するものではなく、機能的に同等の任意の組成物または方法は、本開示の範囲内にある。本開示の思想または範囲から逸脱することなく、様々な改変および変形を本開示の方法および組成物に成すことができることは、当業者にとって明らかであろう。したがって、本開示は、添付の特許請求の範囲およびその同等物の範囲に該当する限り、本開示の改変および変形を包含することを意図している。

30

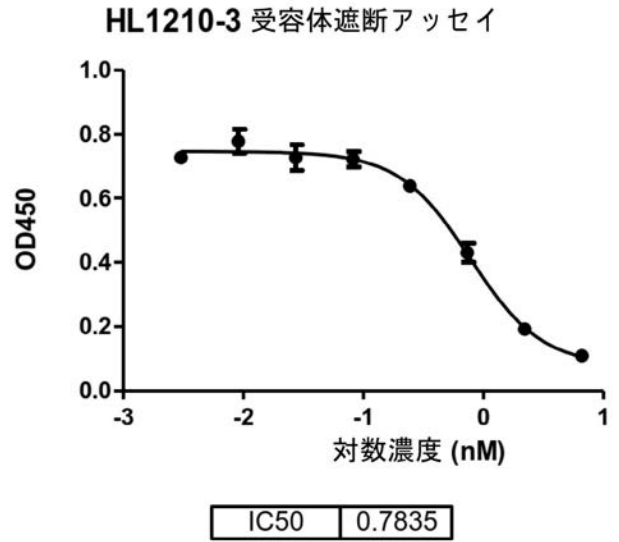
【0229】

本明細書において言及されるすべての公報および特許出願は、個々の公報または特許出願が各々、参照によって、具体的かつ別個に組み込まれることが示される場合と同一の程度で、参照によって本明細書に組み込まれる。

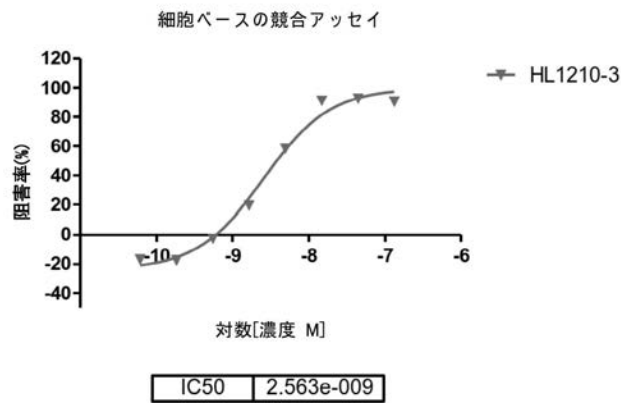
【 図 1 】



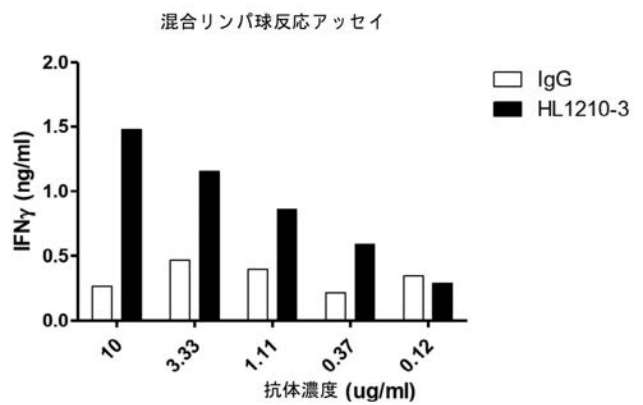
【 図 2 】



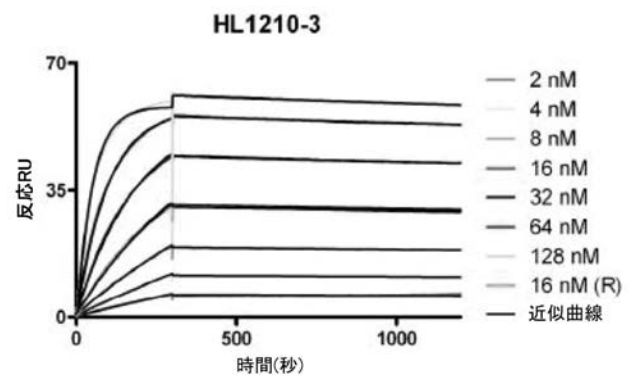
【 図 3 】



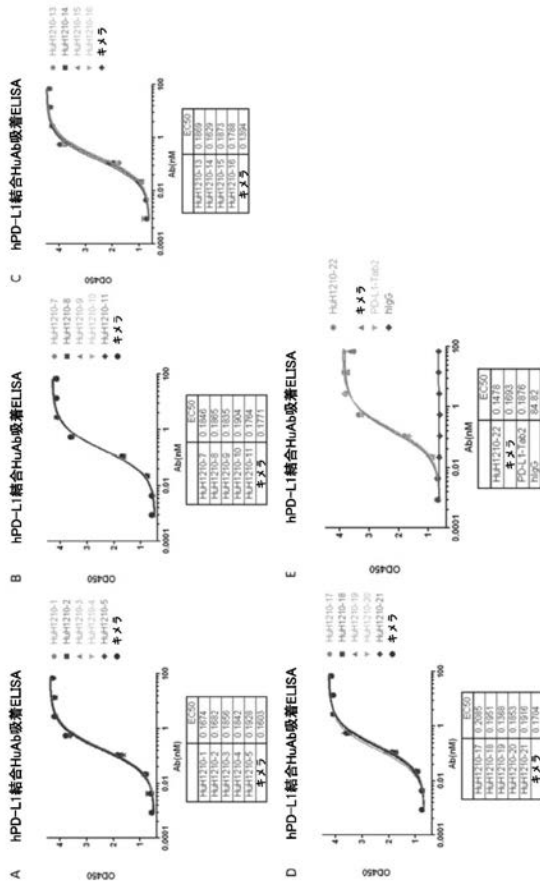
【 図 4 】



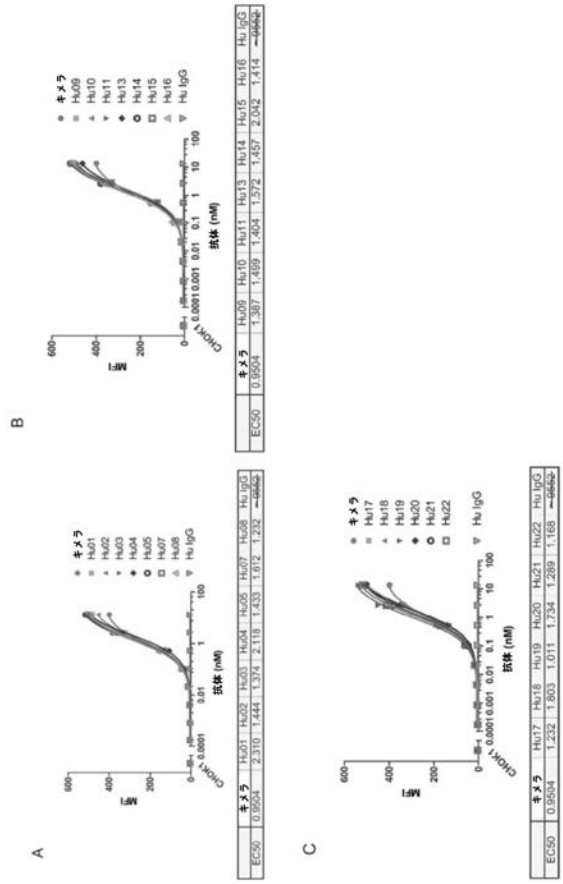
【 図 5 】



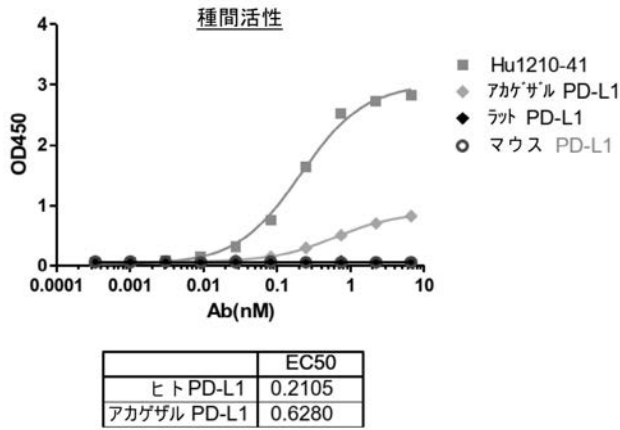
【 図 6 】



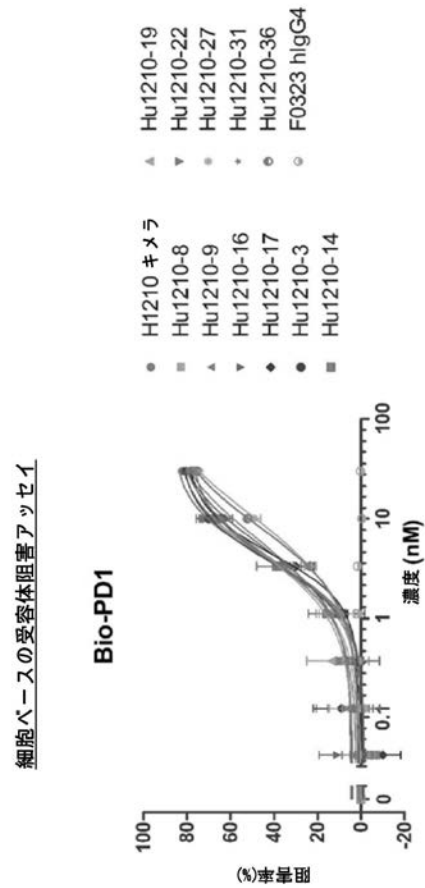
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 10 】



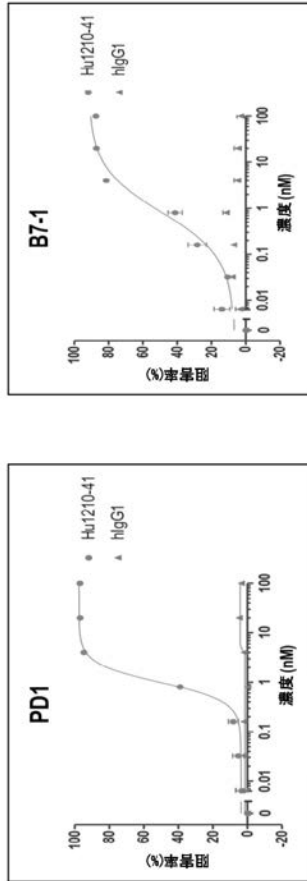
【 図 9 】



FIG. 9

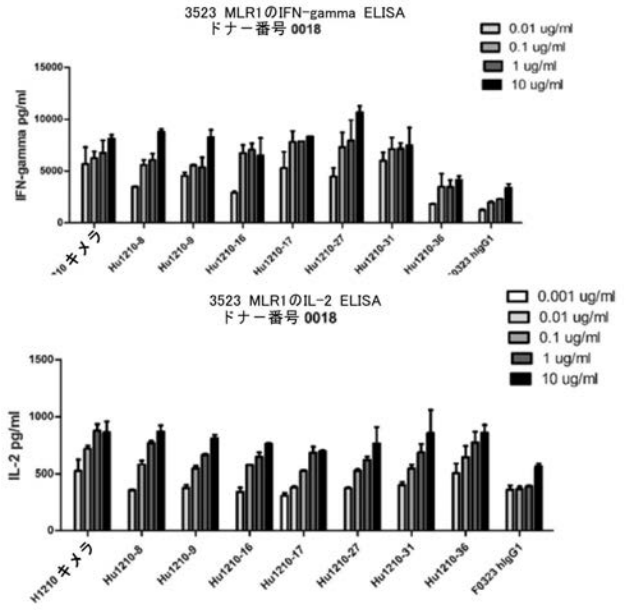
【 図 1 1 】

細胞ベースの受容体阻害アッセイ



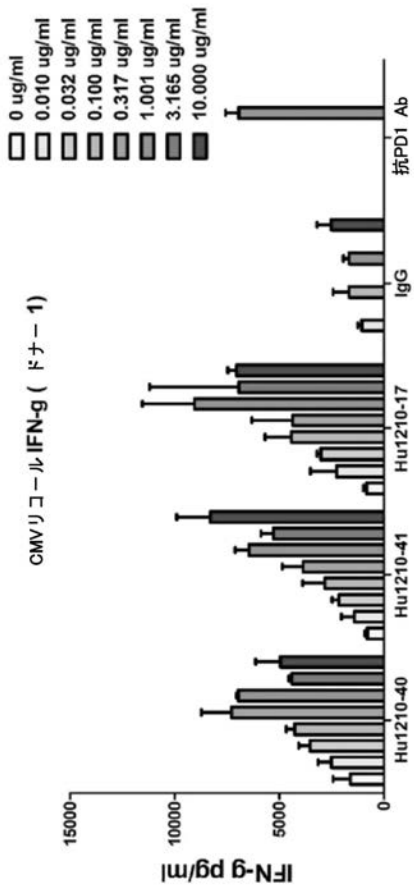
【 図 1 2 】

混合リンパ球反応アッセイ

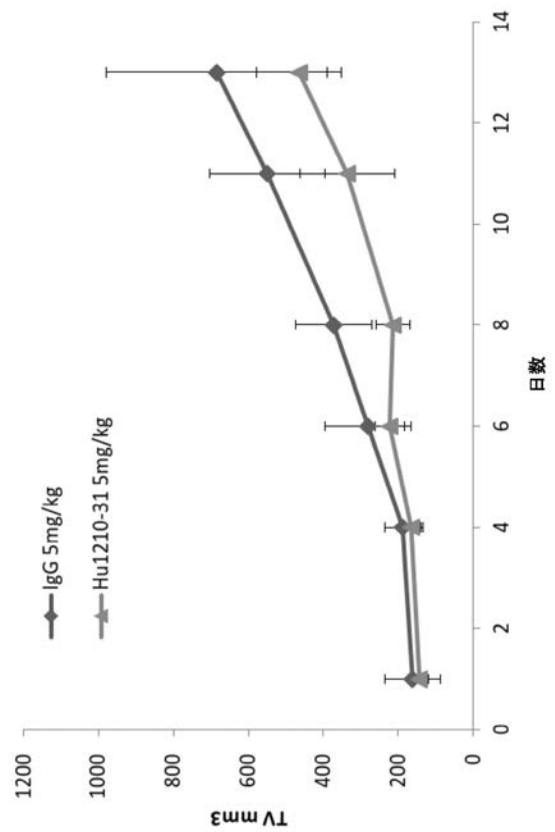


【 図 1 3 】

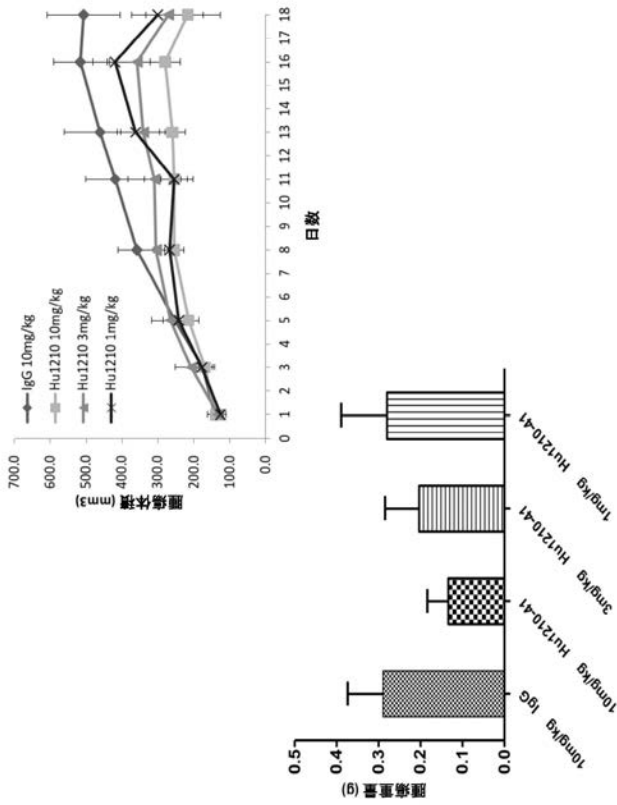
CMVリコールアッセイ



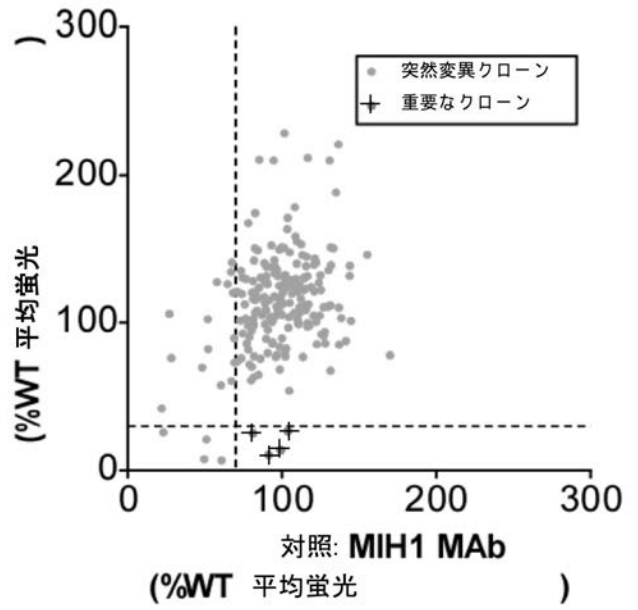
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



【 図 1 7 】

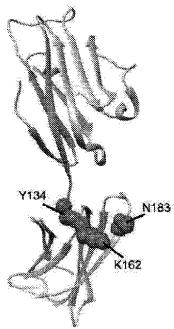


FIG. 17

【配列表】

2019531256000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2017/088033
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 16/28(2006.01)i; C07K 16/46(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i; A61P 31/18(2006.01)i; A61P 31/20(2006.01)i; G01N 33/577(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i 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) C07K16; C12N15; A61K39; A61P35; A61P31; G01N33 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) DWPI; VEN; CNABS; CNKI; PubMed; ISI web of knowledge; Genbank; EBI-EMBL; applicant/inventor, sequences, Anti-PD-L1, PD-L1, Programmed death-ligand 1, B7H1, CD274, antibody, mab, IgC, HL1210, Hu1210		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ZHOU, Y. "Preparation and characterization of three novel monoclonal antibodies against human PD-L1." <i>Chinese Master's Theses Full-text Database Medicine and Health Sciences.</i> , 15 June 2012 (2012-06-15), E059-189	1-50
A	SUN, J. "Preparation and characterization of three novel monoclonal antibodies against human PD-L1." <i>Chinese Doctoral Dissertations & Master's Theses Full-text Database (Master) Medicine and Health Sciences.</i> , 15 December 2006 (2006-12-15), E059-242	1-50
A	WO 2007005874 A2 (MEDAREX INC.) 11 January 2007 (2007-01-11) Claims 1-67	1-50
A	WO 2016024228 A1 (ACERTA PHARMA B. V.) 18 February 2016 (2016-02-18) Claims 1-59 and Description, Paragraph [00797]	1-50
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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		"I" 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 <p style="text-align: center;">28 August 2017</p>		Date of mailing of the international search report <p style="text-align: center;">13 September 2017</p>
Name and mailing address of the ISA/CN STATE INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE OF THE P.R.CHINA 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088 China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer <p style="text-align: center;">PAN,Hao</p> Telephone No. (86-10)52871050

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/088033

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105461808 A (CHANGCHUN GENESCENCE PHARM. CO., LTD.) 06 April 2016 (2016-04-06) Claims 1-12 and Description, Paragraphs [0216]-[0220]	1-50
A	BOYERINAS, B. et al. "Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Activity of a Novel Anti-PD-L1 Antibody Avelumab (MSB0010718C) on Human Tumor Cells." <i>Cancer Immunology Research</i> , Vol. 3, No. 10, 26 May 2015 (2015-05-26), Pages 1148-1157	1-50
A	LI, B. et al. "Cloning, prokaryotic expression of human PD-L1 and preparation of its antibody." <i>Med J Chin PLA</i> , Vol. 35, No. 8, 01 August 2010 (2010-08-01), Pages 997-999	1-50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/088033**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.: **22-32**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] The subject matter of claims 22-32 relates to a method of treatment of the human body by therapy method, and therefore does not warrant an international search according to the criteria set out in Rule 39.1(iv). However, the search has been carried out and based on the use of the antibody for the manufacturing of a medicament.
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).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2017/088033

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2007005874 A2	11 January 2007	US 8383796 B2	26 February 2013
		AU 2006265108 A1	11 January 2007
		JP 2016006123 A	14 January 2016
		US 2016075782 A1	17 March 2016
		EA 200800229 A1	30 June 2008
		ES 2546333 T3	22 September 2015
		IL 241092 D0	30 November 2015
		KR 101704734 B1	09 February 2017
		HR P20151102 T1	20 November 2015
		HR P20080053 A2	31 August 2009
		EP 1907424 A2	09 April 2008
		US 2009055944 A1	26 February 2009
		KR 20170018085 A	15 February 2017
		CN 105330741 A	17 February 2016
		BR PI0613361 A2	04 January 2011
		SG 163554 A1	30 August 2010
		EA 019344 B1	31 March 2014
		NO 20080590 A	31 March 2008
		RS 54271 B1	29 February 2016
		KR 101607288 B1	05 April 2016
		JP 2008544755 A	11 December 2008
		IL 188124 D0	20 March 2008
		ZA 200710919 A	29 October 2008
		JP 5252635 B2	31 July 2013
		ZA 200710919 B	29 October 2008
		AU 2006265108 B2	17 May 2012
		CA 2612241 A1	11 January 2007
		US 2011209230 A1	25 August 2011
		KR 20080045674 A	23 May 2008
		DK 1907424 T3	09 November 2015
		UA 99701 C2	25 September 2012
		US 7943743 B2	17 May 2011
		JP 2013150606 A	08 August 2013
		EP 2982379 A1	10 February 2016
		MX 2007015942 A	07 March 2008
		SI 1907424 T1	31 December 2015
		US 2015337038 A1	26 November 2015
		PT 1907424 E	09 October 2015
		KR 20140002041 A	07 January 2014
		NZ 564592 A	25 November 2011
		WO 2007005874 A3	19 July 2007
		EP 1907424 B1	29 July 2015
		HU E026039 T2	30 May 2016
		US 9273135 B2	01 March 2016
		US 2013122014 A1	16 May 2013
		IL 188124 A	29 September 2016
		US 9580505 B2	28 February 2017
		CN 101248089 A	20 August 2008
		KR 20150082674 A	15 July 2015
WO 2016024228 A1	18 February 2016	TW 201618775 A	01 June 2016

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/088033

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		EP 3179992 A1	21 June 2017
		WO 2016024231 A1	18 February 2016
CN 105461808 A	06 April 2016	None	

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 35/00	(2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P 31/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	A 6 1 P	31/00	
C 1 2 P 21/08	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 N 15/13	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
		C 1 2 N	15/13	

(81) 指定国・地域 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), 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

- (72) 発明者 ワン、ゼンイ
イギリス領ケイマン諸島、ケーワイ 1 - 1 2 0 5 ケイマン、ピーオー ボックス 3 1 1 1 9、
ウェスト ベイ ロード 8 0 2、ハイビスカス ウェイ、グランド パビリオン アイ - エムエ
ービー内
- (72) 発明者 グオ、ピンシ
イギリス領ケイマン諸島、ケーワイ 1 - 1 2 0 5 ケイマン、ピーオー ボックス 3 1 1 1 9、
ウェスト ベイ ロード 8 0 2、ハイビスカス ウェイ、グランド パビリオン アイ - エムエ
ービー内
- (72) 発明者 ザン、ジンウ
イギリス領ケイマン諸島、ケーワイ 1 - 1 2 0 5 ケイマン、ピーオー ボックス 3 1 1 1 9、
ウェスト ベイ ロード 8 0 2、ハイビスカス ウェイ、グランド パビリオン アイ - エムエ
ービー内

F ターム(参考) 4B064 AG26 AG27 CA19 CA20 CC24 DA01
4B065 AA90X AA90Y AB01 AB02 BA02 CA25 CA44
4C085 AA13 AA14 BB11 CC02 DD62 EE01 GG01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20 FA74

专利名称(译)	抗pd-1抗体及其用途		
公开(公告)号	JP2019531256A	公开(公告)日	2019-10-31
申请号	JP2018569190	申请日	2017-06-13
[标]发明人	ファンレイ		
发明人	ファン、レイ ワン、ゼンイ グオ、ビンシ ザン、ジンウ		
IPC分类号	C07K16/18 C07K16/46 C12N5/10 A61K39/395 A61P37/04 A61P35/00 A61P35/02 A61P31/00 G01N33/53 C12P21/08 C12N15/13		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P31/04 A61P31/06 A61P31/08 A61P31/14 A61P31/16 A61P31/18 A61P31/20 A61P31/22 A61P35/00 A61P35/02 C07K16/2827 C07K2317/21 C07K2317/24 C07K2317/565 C07K2317/567 C07K2317/76 C07K2317/92 C07K16/28 C07K2317/31 C07K2317/52 G01N33/574 G01N2333/70596 A61K35/17 A61K2039/5158 A61K2039/575 C07K2317/32 C07K2317/33		
FI分类号	C07K16/18.ZNA C07K16/46 C12N5/10 A61K39/395.N A61K39/395.T A61P37/04 A61P35/00 A61P35/02 A61P31/00 G01N33/53.D C12P21/08 C12N15/13		
F-TERM分类号	4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AB02 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC02 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA74		
優先権	201610414226.5 2016-06-13 CN PCT/CN2017/072566 2017-01-25 WO		
外部リンク	Espacenet		

摘要(译)
 提供了抗PD-L1抗体或抗体片段。抗体或抗体片段特异性结合PD-L1蛋白的免疫球蛋白C结构域。在各种实例中，抗体或抗体片段是SEQ ID NO : 1的VH CDR1，SEQ ID NO : 2的VH CDR2，SEQ ID NO : 3的VH CDR3，SEQ ID NO : 4的VL CDR1，SEQ ID NO : 5的VL CDR2，以及SEQ ID NO : 6的VL CDR3或其各自的变体。还提供了使用抗体或抗体片段来治疗和诊断疾病例如癌症和传染病的方法。

(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2019-531256 (P2019-531256A)
	(43) 公表日	令和1年10月31日 (2019. 10. 31)
(5) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/18 (2006.01)	C07K 16/18	ZNA 4B064
C07K 16/46 (2006.01)	C07K 16/46	4B065
C12N 5/10 (2006.01)	C12N 5/10	4C085
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/395	N 4H045
A61P 37/04 (2006.01)	A61K 39/395	T
	審査請求 有	予備審査請求 未請求 (全 75 頁) 最終頁に続く
(2) 出願番号	特願2018-569190 (P2018-569190)	(7) 出願人
(8) (2) 出願日	平成28年6月13日 (2017. 6. 13)	アイエムイービー
(8) 翻訳文提出日	平成31年2月8日 (2019. 2. 8)	イギリス領ケイマン諸島、ケイワイ1-1
(8) 国際出願番号	PCT/CN2017/088033	205 ケイマン、ビーオーボックス
(8) 国際公開番号	W02017/215590	31119、ウエスト・ベイ・ロード 8
(8) 国際公開日	平成29年12月21日 (2017. 12. 21)	02、ハイビスカス、ウェイ、グランド
(3) 優先権主張番号	201610414226.5	パビリオン
(3) 優先日	平成28年6月13日 (2016. 6. 13)	110000877
(3) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)	(7) 代理人
	龍華国際特許事務所	龍華国際特許事務所
(3) 優先権主張番号	PCT/CN2017/072566	(7) 発明者
(3) 優先日	平成29年1月25日 (2017. 1. 25)	ファン、レイ
(3) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)	イギリス領ケイマン諸島、ケイワイ1-1
		205 ケイマン、ビーオーボックス
		31119、ウエスト・ベイ・ロード 8
		02、ハイビスカス、ウェイ、グランド
		パビリオン アイエムイービー
		最終頁に続く
(5) 【発明の名称】	抗PD-L1抗体およびその使用	