(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2017-537090
(P2017-537090A)
(43)公表日　平成29年12月14日(2017.12.14)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 45/06	***(2006.01)***	A61K	45/06		4C084
A61P 35/00	***(2006.01)***	A61P	35/00		4C085
A61P 43/00	***(2006.01)***	A61P	43/00	111	
A61K 39/395	***(2006.01)***	A61P	43/00	121	
A61P 37/04	***(2006.01)***	A61K	39/395	N	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 147 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-526558 (P2017-526558)
(86)(22)出願日　平成27年11月16日 (2015.11.16)
(85)翻訳文提出日　平成29年7月13日 (2017.7.13)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/060941
(87)国際公開番号　WO2016/081384
(87)国際公開日　平成28年5月26日 (2016.5.26)
(31)優先権主張番号　62/093,400
(32)優先日　平成26年12月17日 (2014.12.17)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/080,991
(32)優先日　平成26年11月17日 (2014.11.17)
(33)優先権主張国　米国 (US)

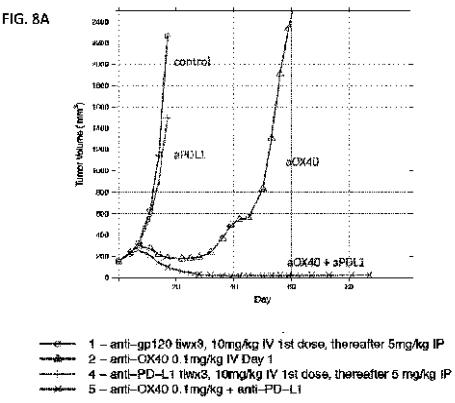
(71)出願人　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　1
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　チャン，　ジャンヌ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０－４９９０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　1，　シー／オー　ジェネンテック，　インコーポレイテッド

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＯＸ４０結合アゴニスト及びＰＤ－１軸結合アンタゴニストを含む併用療法

(57)【要約】
本発明は、癌を治療するための組成物及び方法を提供する。これは、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む。
【選択図】図８Ａ

FIG. 8A



【特許請求の範囲】
【請求項１】
個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法であって、前記方法が、前記個体に有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含み、前記個体が癌を有するか、または癌と診断されており、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の癌細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記方法。
【請求項２】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％に含まれる場合、前記試料中に存在しない、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、免疫組織化学（ＩＨＣ）方法によって測定されるタンパク質発現によって決定される、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法であって、前記方法が、前記個体に有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含み、前記個体が癌を有するか、または癌と診断されており、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の癌細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記方法。
【請求項５】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％超に含まれる場合、前記試料中に存在する、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％～１％で検出される、請求項４または請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％～５％で検出される、請求項４または請求項５に記載の方法。
【請求項８】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、免疫組織化学（ＩＨＣ）方法によって決定されるタンパク質発現によって前記試料中で検出される、請求項５～７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、抗ＰＤＬ１抗体を使用して検出され、前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、ＩＨＣによって弱い染色強度として、ＩＨＣによって中程度の染色強度として、またはＩＨＣによって強い染色強度として検出される、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、抗ＰＤＬ１抗体を使用して検出され、前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、ＩＨＣによって中程度の染色強度として、またはＩＨＣによって強い染色強度として検出される、請求項８に記載の方法。
【請求項１１】
前記試料が、ＩＨＣ０またはＩＨＣ１のＩＨＣスコアを有する、請求項８～１０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
前記個体が、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストに耐性を示す癌を有する、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
前記個体が、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストに不応性である、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤＬ１結合ア

ンタゴニスト、及びＰＤＬ２結合アンタゴニストからなる群から選択される、請求項１～１３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤ－１結合アンタゴニストである、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のＰＤＬ１への結合を阻害する、請求項１５に記載の方法。
【請求項１８】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のＰＤＬ２への結合を阻害する、請求項１５に記載の方法。
【請求項１９】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のＰＤＬ１及びＰＤＬ２の両方への結合を阻害する、請求項１５に記載の方法。
【請求項２０】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、抗体である、請求項１５～１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２１】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ニボルマブである、請求項１５に記載の方法。
【請求項２２】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ペムブロリズマブである、請求項１５に記載の方法。
【請求項２３】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＣＴ－０１１である、請求項１５に記載の方法。
【請求項２４】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＡＭＰ－２２４である、請求項１５に記載の方法。
【請求項２５】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１結合アンタゴニストである、請求項１４に記載の方法。
【請求項２６】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１のＰＤ－１への結合を阻害する、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１のＢ７－１への結合を阻害する、請求項２５に記載の方法。
【請求項２８】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１のＰＤ－１及びＢ７－１の両方への結合を阻害する、請求項２５に記載の方法。
【請求項２９】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、抗ＰＤＬ１抗体である、請求項２５～２８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３０】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、モノクローナル抗体である、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及び（Ｆａｂ’）$_2$断片からなる群から選択される抗体断片である、請求項２９に記載の方法。

【請求項３２】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、ヒト化抗体またはヒト抗体である、請求項２９に記載の方法。
【請求項３３】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５、及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される、請求項２５に記載の方法。
【請求項３４】
前記抗体が、ＨＶＲ－Ｈ１配列ＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨ（配列番号１）、ＨＶＲ－Ｈ２配列ＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２）、及びＨＶＲ－Ｈ３配列ＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号３）を含む重鎖と、ＨＶＲ－Ｌ１配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号４）、ＨＶＲ－Ｌ２配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５）、及びＨＶＲ－Ｌ３配列ＱＱＹＬＹＨＰＡＴ（配列番号６）を含む軽鎖と、を含む、請求項２５に記載の方法。
【請求項３５】
前記抗体が、アミノ酸配列ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号７）またはＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩ　ＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫ（配列番号８）を含む重鎖可変領域と、アミノ酸配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ　ＳＡＳＦ　ＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号９）を含む軽鎖可変領域と、を含む、請求項２９に記載の方法。
【請求項３６】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤＬ２結合アンタゴニストである、請求項１４に記載の方法。
【請求項３７】
前記ＰＤＬ２結合アンタゴニストが、抗体である、請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
前記ＰＤＬ２結合アンタゴニストが、イムノアドヘシンである、請求項３６に記載の方法。
【請求項３９】
前記抗体が、ＥＵ番号付けに従う２９７位でのＡｓｎからＡｌａへの置換を有するヒトＩｇＧ１である、請求項２０、２９～３５、及び３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４０】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、ＯＸ４０アゴニスト抗体、ＯＸ４０Ｌアゴニスト断片、ＯＸ４０オリゴマー受容体、及びＯＸ４０イムノアドヘシンからなる群から選択される、請求項１～３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４１】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、ヒトＯＸ４０に結合するＯＸ４０アゴニスト抗体である、請求項１～４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４２】
前記ＯＸ４０アゴニスト抗体が、ＭＥＤＩ６４６９、ＭＥＤＩ０５６２、またはＭＥＤＩ６３８３である、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
前記ＯＸ４０アゴニスト抗体が、全長ヒトＩｇＧ１抗体である、請求項４１に記載の方法。
【請求項４４】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、三量体ＯＸ４０Ｌ－Ｆｃタンパク質である、請求項１

～４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４５】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、ＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含むＯＸ４０Ｌアゴニスト断片である、請求項１～４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４６】
前記癌が、乳癌、肺癌、卵巣癌、胃癌、膀胱癌、膵臓癌、子宮内膜癌、結腸癌、腎臓癌、食道癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、または肝細胞癌である、請求項１～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４７】
前記治療が、前記治療の中止後に前記個体における持続的応答をもたらす、請求項１～４６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４８】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストの前に、前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストと同時に、または前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストの後に投与される、請求項１～４７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４９】
前記個体が、ヒトである、請求項１～４８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５０】
癌を有する個体における免疫機能の増強方法であって、前記方法が、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含み、前記個体が癌と診断されており、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の癌細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記方法。
【請求項５１】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％に含まれる場合、前記試料中に存在しない、請求項５０に記載の方法。
【請求項５２】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、免疫組織化学（ＩＨＣ）方法によって測定されるタンパク質発現によって決定される、請求項５１に記載の方法。
【請求項５３】
癌を有する個体における免疫機能の増強方法であって、前記方法が、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含み、前記個体が癌と診断されており、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の癌細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記方法。
【請求項５４】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％超に含まれる場合、前記試料中に存在する、請求項５３に記載の方法。
【請求項５５】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％～１％で検出される、請求項５３または請求項５４に記載の方法。
【請求項５６】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、前記試料の０％～５％で検出される、請求項５３または請求項５４に記載の方法。
【請求項５７】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、免疫組織化学（ＩＨＣ）方法によって決定されるタンパク質発現によって前記試料中で検出される、請求項５４に記載の方法。
【請求項５８】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、抗ＰＤＬ１抗体を使用して検出され、前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、ＩＨＣによって弱い染色強度として、ＩＨＣによって中程度の染色強度として、またはＩＨＣによって強い染色強度として検出される、請求項５７に記載の方法。

【請求項５９】
前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して検出され、前記ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーが、ＩＨＣによって中程度の染色強度として、またはＩＨＣによって強い染色強度として検出される、請求項５７に記載の方法。
【請求項６０】
前記試料が、ＩＨＣ０またはＩＨＣ１のＩＨＣスコアを有する、請求項５７～５９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６１】
前記個体が、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストに耐性を示す癌を有する、請求項５０～６０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６２】
前記個体が、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストに不応性である、請求項５０～６１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６３】
前記個体におけるＣＤ８　Ｔ細胞が、前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び前記ＯＸ４０結合アゴニストの前記投与前と比較して、増強されたプライミング、活性化、増殖、及び／または細胞溶解活性を有する、請求項５０～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６４】
前記ＣＤ８　Ｔ細胞の数が、前記組み合わせの投与前と比較して増加する、請求項５０～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６５】
前記ＣＤ８　Ｔ細胞が、抗原特異的ＣＤ８　Ｔ細胞である、請求項６４に記載の方法。
【請求項６６】
Ｔｒｅｇ機能が、前記組み合わせの前記投与前と比較して抑制される、請求項５０～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６７】
Ｔ細胞消耗が、前記組み合わせの前記投与前と比較して減少する、請求項５０～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６８】
Ｔｒｅｇの数が、前記組み合わせの前記投与前と比較して減少する、請求項５０～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６９】
血漿インターフェロンガンマが、前記組み合わせの前記投与前と比較して増加する、請求項５０～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７０】
メモリーエフェクターＴ細胞レベルが、前記組み合わせの前記投与前と比較して増加する、請求項５０～６２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７１】
前記メモリーエフェクターＴ細胞レベルの前記増加が、末梢血中で検出される、請求項７０に記載の方法。
【請求項７２】
前記メモリーエフェクターＴ細胞レベルの増加の検出が、ＣＸＣＲ３発現細胞の検出による、請求項７１に記載の方法。
【請求項７３】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤＬ１結合アンタゴニスト、及びＰＤＬ２結合アンタゴニストからなる群から選択される、請求項５０～７２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７４】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤ－１結合アンタゴニストである、請求項７３に記載の方法。

【請求項７５】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する、請求項７４に記載の方法。
【請求項７６】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のＰＤＬ１への結合を阻害する、請求項７４に記載の方法。
【請求項７７】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のＰＤＬ２への結合を阻害する、請求項７４に記載の方法。
【請求項７８】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＰＤ－１のＰＤＬ１及びＰＤＬ２の両方への結合を阻害する、請求項７４に記載の方法。
【請求項７９】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、抗体である、請求項７４～７８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８０】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ニボルマブである、請求項７４に記載の方法。
【請求項８１】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ペムブロリズマブである、請求項７４に記載の方法。
【請求項８２】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＣＴ－０１１である、請求項７４に記載の方法。
【請求項８３】
前記ＰＤ－１結合アンタゴニストが、ＡＭＰ－２２４である、請求項７４に記載の方法。
【請求項８４】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１結合アンタゴニストである、請求項７３に記載の方法。
【請求項８５】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１のＰＤ－１への結合を阻害する、請求項８４に記載の方法。
【請求項８６】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１のＢ７－１への結合を阻害する、請求項８４に記載の方法。
【請求項８７】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＰＤＬ１のＰＤ－１及びＢ７－１の両方への結合を阻害する、請求項８４に記載の方法。
【請求項８８】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、抗ＰＤＬ１抗体である、請求項８４～８７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８９】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、モノクローナル抗体である、請求項８８に記載の方法。
【請求項９０】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及び（Ｆａｂ’）$_2$断片からなる群から選択される抗体断片である、請求項８８に記載の方法。
【請求項９１】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、ヒト化抗体またはヒト抗体である、請求項８８に記載の方法。
【請求項９２】
前記ＰＤＬ１結合アンタゴニストが、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５、及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される、請求項８４に記

載の方法。
【請求項９３】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、ＨＶＲ－Ｈ１配列ＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨ（配列番号１）、ＨＶＲ－Ｈ２配列ＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２）、及びＨＶＲ－Ｈ３配列ＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号３）を含む重鎖と、ＨＶＲ－Ｌ１配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号４）、ＨＶＲ－Ｌ２配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５）、及びＨＶＲ－Ｌ３配列ＱＱＹＬＹＨＰＡＴ（配列番号６）を含む軽鎖と、を含む、請求項８８に記載の方法。
【請求項９４】
前記抗ＰＤＬ１抗体が、アミノ酸配列ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号７）またはＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩ　ＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫ（配列番号８）を含む重鎖可変領域と、アミノ酸配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ　ＳＡＳＦ　ＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号９）を含む軽鎖可変領域と、を含む、請求項８８に記載の方法。
【請求項９５】
前記抗体が、ＥＵ番号付けに従う２９７位でのＡｓｎからＡｌａへの置換を有するヒトＩｇＧ１である、請求項７９、８８～９１、９３、及び９４のいずれか一項に記載の請求項の方法。
【請求項９６】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストが、ＰＤＬ２結合アンタゴニストである、請求項７３に記載の方法。
【請求項９７】
前記ＰＤＬ２結合アンタゴニストが、抗体である、請求項９６に記載の方法。
【請求項９８】
前記ＰＤＬ２結合アンタゴニストが、イムノアドヘシンである、請求項９６に記載の方法。
【請求項９９】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、ＯＸ４０アゴニスト抗体、ＯＸ４０Ｌアゴニスト断片、ＯＸ４０オリゴマー受容体、及びＯＸ４０イムノアドヘシンからなる群から選択される、請求項５０～９８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１００】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、ヒトＯＸ４０に結合するＯＸ４０アゴニスト抗体である、請求項９９に記載の方法。
【請求項１０１】
前記ＯＸ４０アゴニスト抗体が、ＭＥＤＩ６４６９、ＭＥＤＩ０５６２、またはＭＥＤＩ６３８３である、請求項１００に記載の方法。
【請求項１０２】
前記ＯＸ４０アゴニスト抗体が、全長ＩｇＧ１抗体である、請求項１００に記載の方法。
【請求項１０３】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、三量体ＯＸ４０Ｌ－Ｆｃタンパク質である、請求項５０～９８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０４】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、ＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含むＯＸ４０

Ｌアゴニスト断片である、請求項５０～９８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０５】
前記癌が、乳癌、肺癌、卵巣癌、胃癌、膀胱癌、膵臓癌、子宮内膜癌、結腸癌、腎臓癌、食道癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、または肝細胞癌である、請求項５０～１０４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０６】
前記治療が、前記治療の中止後に前記個体における持続的応答をもたらす、請求項５０～１０５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０７】
前記ＯＸ４０結合アゴニストが、前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストの前に、前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストと同時に、または前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニストの後に投与される、請求項５０～１０６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０８】
前記個体が、ヒトである、請求項５０～１０７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０９】
前記ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／または前記ＯＸ４０結合アゴニストが、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、髄腔内、脳室内、または鼻腔内投与される、請求項１～１０８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１０】
癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための化学療法剤を投与することをさらに含む、請求項１～１０９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１１】
個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための医薬の製造におけるヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストの使用であって、前記医薬が、前記ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記治療が、前記医薬の、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記使用。
【請求項１１２】
個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための医薬の製造におけるヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストの使用であって、前記医薬が、前記ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記治療が、前記医薬の、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記使用。
【請求項１１３】
個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための医薬の製造におけるＯＸ４０結合アゴニストの使用であって、前記医薬が、前記ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記治療が、前記医薬の、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記使用。
【請求項１１４】
個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための医薬の製造におけるＯＸ４０結合アゴニストの使用であって、前記医薬が、前記ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記治療が、前記医薬の、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記使用。
【請求項１１５】
個体における癌の治療またはその進行の遅延に使用するためのヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物であって、前記治療が、前記

組成物の、第２の組成物と組み合わせた投与を含み、前記第２の組成物が、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記組成物。

【請求項１１６】

個体における癌の治療またはその進行の遅延に使用するためのヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物であって、前記治療が、前記組成物と、第２の組成物との併用投与を含み、前記第２の組成物が、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記組成物。

【請求項１１７】

個体における癌の治療またはその進行の遅延に使用するためのＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物であって、前記治療が、前記組成物の、第２の組成物と組み合わせた投与を含み、前記第２の組成物が、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記組成物。

【請求項１１８】

個体における癌の治療またはその進行の遅延に使用するためのＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物であって、前記治療が、前記組成物の、第２の組成物と組み合わせた投与を含み、前記第２の組成物が、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記組成物。

【請求項１１９】

ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む医薬と、添付文書であって、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための、前記医薬の、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与の指示を含む、前記添付文書と、を含むキットであって、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記キット。

【請求項１２０】

ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む医薬と、添付文書であって、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための、前記薬剤の、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与の指示を含む、前記添付文書と、を含むキットであって、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記キット。

【請求項１２１】

ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む第１の医薬と、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の医薬と、を含むキットであって、前記キットが、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための、前記第１の医薬及び前記第２の医薬投与の指示を含む添付文書をさらに含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記キット。

【請求項１２２】

ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む第１の医薬と、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の医薬と、を含むキットであって、前記キットが、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための、前記第１の医薬及び前記第２の医薬の投与の指示を含む添付文書をさらに含み、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記キット。

【請求項１２３】

ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む医薬と、添付文書であって、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための、前記医薬の、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与の指示を含む、前記添付文書と、を含むキットであって、前記個体由来の前

記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、前記キット。
【請求項１２４】
ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む医薬と、添付文書であって、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための、前記医薬の、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与の指示を含む、前記添付文書と、を含むキットであって、前記個体由来の前記癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、前記キット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１４年１１月１７日出願の米国仮出願第６２／０８０，９９１号及び２０１４年１２月１７日出願の同第６２／０９３，４００号の優先権の利益を主張するものであり、これらは各々、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表
ＡＳＣＩＩテキストファイルにおける以下の提出の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる：コンピュータ可読形態（ＣＲＦ）の配列表（ファイル名：１４６３９２６３０６４０ＳｅｑＬｉｓｔ．ｔｘｔ、記録日：２０１５年１１月１２日、サイズ：７３ＫＢ）。
【０００３】
本発明は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することによる癌の治療方法に関する。
【背景技術】
【０００４】
２つのはっきりと異なるシグナルのＴ細胞への供給は、抗原提示細胞（ＡＰＣ）による休止Ｔリンパ球のリンパ球活性化のための広く認められているモデルである。Ｌａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ，Ａｕｓｔ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｂｉｏｌ．Ｍｅｄ．Ｓｃｉ ５３：２７－４２（１９７５）。このモデルは、自己寛容と非自己寛容及び免疫寛容との区別をさらに提供する。Ｂｒｅｔｓｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ，Ｓｃｉｅｎｃｅ １６９：１０４２－１０４９（１９７０）、Ｂｒｅｔｓｃｈｅｒ，Ｐ．Ａ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９６：１８５－１９０（１９９９）、Ｊｅｎｋｉｎｓ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６５：３０２－３１９（１９８７）。一次シグナル、すなわち、抗原特異的シグナルは、主要組織適合性複合体（ＭＨＣ）との関連で提示される外来抗原ペプチドの認識後にＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を介して伝達される。第２のシグナル、すなわち、共刺激シグナルは、抗原提示細胞（ＡＰＣ）で発現される共刺激分子によってＴ細胞に送達され、Ｔ細胞に、クローン増殖、サイトカイン分泌、及びエフェクター機能を促進させる。Ｌｅｎｓｃｈｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４：２３３（１９９６）。共刺激の不在下では、Ｔ細胞は、抗原刺激に不応性になる場合があり、有効な免疫応答を開始せず、さらに外来抗原に対する消耗または寛容をもたらし得る。
【０００５】
この２シグナルモデルでは、Ｔ細胞は、正及び負の両方の二次共刺激シグナルを受け取る。かかる正及び負のシグナルの制御は、宿主の防御免疫応答を最大にしながら、免疫寛容を維持し、自己免疫を予防するのに極めて重要である。負の二次シグナルがＴ細胞寛容の誘導に必要であるように思われる一方で、正のシグナルは、Ｔ細胞活性化を促進する。この単純な２シグナルモデルが依然としてナイーブリンパ球についての正当な説明を提供するが、宿主の免疫応答は動的プロセスであり、共刺激シグナルが抗原曝露Ｔ細胞にも供給され得る。共刺激シグナルの操作が細胞ベースの免疫応答の増強または終了のいずれかを行う手段を提供することを示しているため、共刺激の機構は、治療上興味深いものである。近年、Ｔ細胞機能障害またはアネルギーが、阻害性受容体であるプログラム死１ポリ

ペプチド（ＰＤ－１）の誘導された持続性の発現と同時に生じることが発見された。結果として、ＰＤ－１、ならびにＰＤ－１との相互作用によりシグナル伝達する他の分子、例えば、プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌｌ）及びプログラム死リガンド２（ＰＤ－Ｌ２）の治療標的は、極めて興味深い分野である。

【０００６】

ＰＤ－Ｌ１は、多くの癌で過剰発現され、多くの場合、予後不良に関連している（Ｏｋａｚａｋｉ Ｔ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔｅｒｎ．Ｉｍｍｕｎ．２００７ １９（７）：８１３）（Ｔｈｏｍｐｓｏｎ ＲＨ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ２００６，６６（７）：３３８１）。興味深いことに、腫瘍浸潤Ｔリンパ球の大半は、正常組織中のＴリンパ球及び末梢血Ｔリンパ球とは対照的に、ＰＤ－１を主に発現し、腫瘍反応性Ｔ細胞でのＰＤ－１の上方制御が抗腫瘍免疫応答障害に寄与し得ることを示す（Ｂｌｏｏｄ ２００９ １１４（８）：１５３７）。これは、Ｔ細胞活性化の減衰及び免疫監視の回避をもたらす、ＰＤ－１発現Ｔ細胞と相互作用するＰＤ－Ｌ１発現腫瘍細胞によって媒介されるＰＤ－Ｌ１シグナル伝達の利用に起因し得る（Ｓｈａｒｐｅ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｒｅｖ ２００２）（Ｋｅｉｒ ＭＥ ｅｔ ａｌ．，２００８ Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２６：６７７）。したがって、ＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－１相互作用の阻害により、ＣＤ８＋Ｔ細胞媒介性の腫瘍死滅が増強され得る。

【０００７】

治療標的ＰＤ－１、ならびにＰＤ－１との相互作用によりシグナル伝達する他の分子、例えば、プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）及びプログラム死リガンド２（ＰＤ－Ｌ２）は、極めて興味深い分野である。ＰＤ－Ｌ１シグナル伝達の阻害は、癌（例えば、腫瘍免疫）、ならびに感染、例えば、急性及び慢性（例えば、持続性）の両方の感染の治療のためにＴ細胞免疫を増強する手段として提案されている。最適な治療的治療は、ＰＤ－１受容体／リガンド相互作用の遮断と腫瘍成長を直接阻害する薬剤とを組み合わせることができる。様々な癌を治療し、安定させ、予防し、かつ／またはその発症を遅延させるための最適な療法が依然として必要とされている。

【０００８】

共刺激シグナルの操作が細胞ベースの免疫応答の増強または終了のいずれかを行う手段を提供することを示しているため、共刺激の機構は、治療上興味深いものである。腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーのメンバーであるＯＸ４０（別名、ＣＤ３４、ＴＮＦＲＳＦ４、またはＡＣＴ３５抗原）は、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞に共刺激シグナルを供給し、細胞増殖、生存、エフェクター機能、及び遊走を増強し得る。ＯＸ４０シグナル伝達は、メモリーＴ細胞の発育及び機能も増強する。ＯＸ４０は、ナイーブＴ細胞で恒常的に発現されないが、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の関与後に誘導される。ＯＸ４０のリガンドであるＯＸ４０Ｌは、抗原提示細胞で主に発現される。ＯＸ４０は、活性化ＣＤ４＋Ｔ細胞、活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞、メモリーＴ細胞、及び制御性Ｔ（Ｔｒｅｇ）細胞によって高度に発現される。

【０００９】

ＯＸ４０シグナル伝達を腫瘍細胞中の制御解除された他のシグナル伝達経路と組み合わせることにより、治療効力がさらに増強され得る。したがって、様々な癌、免疫関連疾患、及びＴ細胞機能障害性障害を治療するか、またはそれらの発症を遅延させるための最適な療法が依然として必要とされている。

【００１０】

特許出願、特許公報、及びＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号を含む、本明細書に引用される全ての参考文献は、各個々の参考文献が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に示されているかのように、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【００１１】

一態様では、個体に有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴ

ニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）を投与することを含む、個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法が本明細書に提供される。

【００１２】

別の態様では、個体に有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法であって、個体が癌を有するか、または癌と診断されており、個体由来の癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、方法が本明細書に提供される。

【００１３】

別の態様では、個体に有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法であって、個体が癌を有するか、または癌と診断されており、個体由来の癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、方法が本明細書に提供される。

【００１４】

別の態様では、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）を投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能の増強方法が本明細書に提供される。

【００１５】

別の態様では、個体に有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能の増強方法であって、個体が癌と診断されており、個体由来の癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現しない、方法が本明細書に提供される。

【００１６】

別の態様では、個体に有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能の増強方法であって、個体が癌と診断されており、個体由来の癌の腫瘍試料中の細胞がＰＤ－Ｌ１を発現する、方法が本明細書に提供される。

【００１７】

さらなる態様では、感染（例えば、細菌感染またはウイルス感染または他の病原体感染）の治療方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、感染は、ウイルス感染及び／または細菌感染である。いくつかの実施形態では、感染は、病原体感染である。いくつかの実施形態では、感染は、急性感染である。いくつかの実施形態では、感染は、慢性感染である。

【００１８】

別の態様では、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させる（またはいくつかの実施形態では、感染を治療する）ための医薬の製造におけるヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニストの使用であって、医薬が、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、治療が、医薬の、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与を含む、使用が本明細書に提供される。

【００１９】

別の態様では、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させる（またはいくつかの実施形態では、感染を治療する）ための医薬の製造におけるＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）の使用であって、医薬が、ＯＸ４０結合アゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含み、治療が、医薬の、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物とと組み合わせた投与を含む、使用が本明細書に提供される。

【００２０】

別の態様では、個体における癌の治療またはその進行の遅延（またはいくつかの実施形態では、感染の治療）に使用するためのヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物であって、治療が、前記組成物の、第２の組成物と組

み合わせた投与を含み、第２の組成物が、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）及び任意の薬学的に許容される担体を含む、組成物が本明細書に提供される。

【００２１】

別の態様では、個体における癌の治療またはその進行の遅延（またはいくつかの実施形態では、感染の治療）に使用するためのＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物であって、治療が、前記組成物の第２の組成物と組み合わせた投与を含み、第２の組成物が、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む、組成物が本明細書に提供される。

【００２２】

別の態様では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む医薬と、添付文書であって、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させる（またはいくつかの実施形態では、感染を治療する）ための、前記薬剤の、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物と組み合わせた投与の指示を含む、添付文書と、を含むキットが本明細書に提供される。

【００２３】

別の態様では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む第１の医薬と、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）及び任意の薬学的に許容される担体を含む第２の医薬と、を含むキットが本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、キットは、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させる（またはいくつかの実施形態では、感染を治療する）ための、第１の医薬及び第２の医薬の投与の指示を含む添付文書をさらに含む。

【００２４】

別の態様では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）及び任意の薬学的に許容される担体を含む医薬と、添付文書であって、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させる（またはいくつかの実施形態では、感染を治療する）ための、前記医薬と、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び任意の薬学的に許容される担体を含む組成物との併用投与の指示を含む、添付文書と、を含むキットが本明細書に提供される。

【００２５】

いくつかの実施形態では、癌は、乳癌、肺癌、卵巣癌、胃癌、膀胱癌、膵臓癌、子宮内膜癌、結腸癌、腎臓癌、食道癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、または肝細胞癌である。

【００２６】

いくつかの実施形態では、個体は、癌を有するか、または癌と診断されている。

【００２７】

いくつかの実施形態では、癌細胞（個体由来の癌の試料中）は、ＰＤ－Ｌ１を発現しない。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、試料の０％に含まれる場合、試料中に存在しない。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカー発現は、タンパク質発現（例えば、免疫組織化学（ＩＨＣ）方法による）によって決定される。

【００２８】

いくつかの実施形態では、癌細胞（個体由来の癌の試料由来）は、ＰＤ－Ｌ１を発現する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、試料の０％超に含まれる場合、試料中に存在する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、タンパク質発現によって試料中で検出される。いくつかの実施形態では、タンパク質発現は、免疫組織化学（ＩＨＣ）によって決定される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって弱い染色強度として、ＩＨＣによって中程度の染

色強度として、またはＩＨＣによって強い染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して検出され、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって中程度の染色強度として、ＩＨＣによってまたは強い染色強度として検出される。

【００２９】

いくつかの実施形態では、個体は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストに耐性を示す癌を有する。いくつかの実施形態では、個体は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストに不応性である。いくつかの実施形態では、患者は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストに有効な応答を示さなかった。

【００３０】

いくつかの実施形態では、個体は、多量のＴ細胞浸潤物（例えば、診断試験を使用して決定される）を有する癌を有する。いくつかの実施形態では、個体は、少量のまたは本質的に検出不能なＴ細胞浸潤物（例えば、診断試験を使用して決定される）を有する癌を有する。

【００３１】

上述かつ本明細書に記載の方法、使用、組成物、及びキットのいくつかの実施形態では、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）での治療またはそれらの投与は、治療の中止後に個体における持続的応答をもたらす。

【００３２】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）とＰＤ－１軸結合アンタゴニスト（例えば、抗ＰＤ－１または抗ＰＤＬ１抗体）との併用治療は相乗的であり、それにより、併用でのＯＸ４０結合剤（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）の有効用量が、単剤としてのＯＸ４０結合剤（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）の有効用量と比較して減少する。

【００３３】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニストは、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストの前に、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストと同時に、またはＰＤ－１軸結合アンタゴニストの後に投与される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストは、同じ組成物中に存在する。

【００３４】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストは、別個の組成物中に存在する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤＬ１結合アンタゴニスト、及びＰＤＬ２結合アンタゴニストからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニストである。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のＰＤＬ１への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のＰＤＬ２への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のＰＤＬ１及びＰＤＬ２の両方への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、抗体である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ニボルマブである。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ペムブロリズマブである。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＣＴ－０１１である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＡＭＰ－２２４である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤＬ１結合アンタゴニストである。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、ＰＤＬ１のＰＤ－１への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、ＰＤＬ１のＢ７－１への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、ＰＤＬ１のＰＤ－１及びＢ７－１の両方への結合を阻害する

。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、抗ＰＤＬ１抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及び（Ｆａｂ’）２断片からなる群から選択される抗体断片である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、ヒト化抗体またはヒト抗体である。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＤＸ－１１０５、及びＭＥＤＩ４７３６からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＨＶＲ－Ｈ１配列ＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨ（配列番号１）、ＨＶＲ－Ｈ２配列ＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２）、及びＨＶＲ－Ｈ３配列ＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号３）を含む重鎖と、ＨＶＲ－Ｌ１配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号４）、ＨＶＲ－Ｌ２配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５）、及びＨＶＲ－Ｌ３配列ＱＱＹＬＹＨＰＡＴ（配列番号６）を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、アミノ酸配列ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号７）またはＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩ　ＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫ（配列番号８）を含む重鎖可変領域と、アミノ酸配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ　ＳＡＳＦ　ＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号９）を含む軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤＬ２結合アンタゴニストである。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ２結合アンタゴニストは、抗体である。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ２結合アンタゴニストは、イムノアドヘシンである。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、１つ以上のアグリコシル化部位変異（例えば、置換）を含む抗体（例えば、抗ＰＤ１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、または抗ＰＤＬ２抗体）である。いくつかの実施形態では、置換変異は、アミノ酸位置Ｎ２９７、Ｌ２３４、Ｌ２３５、及びＤ２６５（ＥＵ番号付け）に１つ以上の置換を含む。いくつかの実施形態では、置換変異は、Ｎ２９７Ｇ、Ｎ２９７Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及びＤ２６５Ａ（ＥＵ番号付け）からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本抗体は、ヒトＩｇＧ１である。

【００３５】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニストは、ＯＸ４０アゴニスト抗体、ＯＸ４０Ｌアゴニスト断片、ＯＸ４０オリゴマー受容体、及びＯＸ４０イムノアドヘシンからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ヒトＯＸ４０に結合する。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、本明細書（例えば、段落１９８～２２６）に開示される抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体のうちのいずれかである。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＭＥＤＩ６４６９、ＭＥＤＩ０５６２、またはＭＥＤＩ６３８３である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、全長ＩｇＧ１抗体である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニストは、三量体ＯＸ４０Ｌ－Ｆｃタンパク質である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニストは、米国特許第７，９５９，９２５号に記載の三量体ＯＸ４０Ｌ融合タンパク質である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニストは、ＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含む。任意の他の実施形態と組み合わせられ得るいくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体）は、ＭＥＤＩ６３８３ではない。任意の他の実施形態と組み合わせられ得るいくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体）は、ＭＥＤＩ０５６２ではない。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体）は、ヒト抗体及び／またはヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合

アゴニスト（例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体）は、枯渇抗ヒトＯＸ４０抗体である（例えば、ヒトＯＸ４０を発現する細胞を枯渇させる）。いくつかの実施形態では、ヒトＯＸ４０発現細胞は、ＣＤ４＋エフェクターＴ細胞である。いくつかの実施形態では、ヒトＯＸ４０発現細胞は、Ｔｒｅｇ細胞である。いくつかの実施形態では、枯渇は、ＡＤＣＣ及び／または食作用によるものである。いくつかの実施形態では、本抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたＦｃγＲを結合し、かつヒトエフェクター細胞機能を活性化することによってＡＤＣＣを媒介する。いくつかの実施形態では、本抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたＦｃγＲを結合し、かつヒトエフェクター細胞機能を活性化することによって食作用を媒介する。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、マクロファージ、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、単球、及び好中球から選択される。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、マクロファージである。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体）は、機能的Ｆｃ領域を有する。いくつかの実施形態では、機能的Ｆｃ領域のエフェクター機能は、ＡＤＣＣである。いくつかの実施形態では、機能的Ｆｃ領域のエフェクター機能は、食作用である。いくつかの実施形態では、機能的Ｆｃ領域のエフェクター機能は、ＡＤＣＣ及び食作用である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ１である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ４である。

【００３６】

上述かつ本明細書に記載の方法、使用、組成物、及びキットのいくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、髄腔内、脳室内、または鼻腔内投与される。上述かつ本明細書に記載の方法、使用、組成物、及びキットのいくつかの実施形態では、治療は、個体における癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための化学療法剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、個体は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニストとの併用治療前に化学療法剤で治療されている。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはＯＸ４０結合アゴニストの組み合わせで治療された個体は、化学療法剤治療に不応性である。本出願を通じて記載される方法、使用、組成物、及びキットのいくつかの実施形態は、癌を治療するか、またはその進行を遅延させるための化学療法剤を投与することをさらに含む。

【００３７】

上述かつ本明細書に記載の方法、使用、組成物、及びキットのいくつかの実施形態では、個体におけるＣＤ８　Ｔ細胞は、前記組み合わせの投与前と比較して、増強されたプライミング、活性化、増殖及び／または細胞溶解活性を有する。いくつかの実施形態では、ＣＤ８　Ｔ細胞の数は、前記組み合わせの投与前と比較して増加する。いくつかの実施形態では、ＣＤ８　Ｔ細胞は、抗原特異的ＣＤ８　Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇ機能は、前記組み合わせの投与前と比較して抑制される。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞消耗は、前記組み合わせの投与前と比較して減少する。いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇ細胞の数は、前記組み合わせの投与前と比較して減少する。いくつかの実施形態では、血漿インターフェロンガンマは、前記組み合わせの投与前と比較して増加する。いくつかの実施形態では、メモリーエフェクターＴ細胞の数は、前記組み合わせの投与前と比較して増加する。いくつかの実施形態では、メモリーエフェクターＴ細胞活性化及び／または増殖は、前記組み合わせの投与前と比較して増加する。いくつかの実施形態では、メモリーエフェクターＴ細胞は、末梢血中で検出される。いくつかの実施形態では、メモリーエフェクターＴ細胞の検出は、ＣＸＣＲ３の検出による。

【００３８】

対象から得られた白血球を含む試料（例えば、末梢血）中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）（例えば、サイトカイン、例えば、ガンマインターフェロン）、及び／または細胞組成物の発現レベル（例えば、Ｔｒｅｇの割合及び／またはＴｒｅｇの絶対数、例えば、ＣＤ８＋エフェクターＴ細胞の数）を測定すること（対象が、ＰＤ－１

軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）で治療されており、１つ以上のマーカー遺伝子が、Ｔ細胞マーカー遺伝子、またはメモリーＴ細胞マーカー遺伝子（例えば、エフェクターメモリーＴ細胞のマーカー）から選択される）と、この治療を、基準と比較して、対象から得られた試料中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）、及び／または細胞組成物の発現レベルに基づいて、薬力学的活性を示すものと決定すること（基準と比較した１つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルの増加が、ＯＸ４０アゴニスト治療に対する薬力学的活性を示す）とによる、ＯＸ４０アゴニスト治療の薬力学的活性の監視方法が本明細書に提供される。マーカー遺伝子、タンパク質、及び／または細胞組成物の発現レベルは、本明細書に記載の１つ以上の方法によって測定される。いくつかの実施形態では、個体由来の試料（例えば、末梢血試料）中の増殖ＣＤ８＋Ｔ細胞レベル（例えば、Ｋｉ６７＋／全ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合）を測定すること（基準（例えば、併用治療前のレベル）と比較した試料中の増殖ＣＤ８＋Ｔ細胞レベルの増加が、併用治療に対する薬力学的活性を示す）を含む、ＯＸ４０アゴニスト治療とＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療の薬力学的活性の監視方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、個体由来の試料（例えば、末梢血試料）中の活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞レベル（例えば、ＣＸＣＲ３＋／全ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合）を測定すること（基準（例えば、併用治療前のレベル）と比較した試料中の活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞レベルの増加が、併用治療に対する薬力学的活性を示す）を含む、ＯＸ４０アゴニスト治療とＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療の薬力学的活性の監視方法が本明細書に提供される。

【００３９】

対象から得られた白血球中の試料（例えば、末梢血）中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）（例えば、サイトカイン、例えば、ガンマインターフェロン）、及び／または細胞組成物の発現レベル（例えば、Ｔｒｅｇの割合及び／またはＴｒｅｇの絶対数、例えば、末梢血試料中のＣＤ８＋エフェクターＴ細胞の数）を測定すること（対象が、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）で治療されており、１つ以上のマーカー遺伝子が、Ｔ細胞マーカー遺伝子、またはメモリーＴ細胞マーカー遺伝子（例えば、エフェクターメモリーＴ細胞のマーカー）から選択される）と、対象を、基準と比較して、対象から得られた試料中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）、及び／または細胞組成物の発現レベルに基づいて、この治療に応答性または非応答性であると分類すること（基準と比較した１つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルの増加が、ＯＸ４０アゴニスト治療に対する応答性または応答性の欠如を示す）とによる、対象のＯＸ４０アゴニスト治療への応答性の監視方法が本明細書に提供される。マーカー遺伝子、タンパク質、及び／または細胞組成物の発現レベルは、本明細書に記載の１つ以上の方法によって測定される。いくつかの実施形態では、個体由来の試料（例えば、末梢血試料）中の増殖ＣＤ８＋Ｔ細胞レベル（例えば、Ｋｉ６７＋／全ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合）を測定すること（基準（例えば、併用治療前のレベル）と比較した試料中の増殖ＣＤ８＋Ｔ細胞レベルの増加が、併用治療への応答性を示す）を含む、ＯＸ４０アゴニスト治療とＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療の応答性の監視方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、個体由来の試料（例えば、末梢血試料）中の活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞レベル（例えば、ＣＸＣＲ３＋／全ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合）を測定すること（基準（例えば、併用治療前のレベル）と比較した試料中の活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞レベルの増加が、併用治療への応答性を示す）を含む、ＯＸ４０アゴニスト治療とＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療の応答性の監視方法が本明細書に提供される。

【００４０】

本明細書に記載の様々な実施形態の特性のうちの１つ、いくつか、または全てを組み合わせて、本発明の他の実施形態を形成することができることを理解されたい。本発明のこれら及び他の態様は、当業者に明らかであろう。本発明のこれら及び他の実施形態は、以下の発明を実施するための形態によってさらに説明される。

【図面の簡単な説明】
【００４１】
【図１】腫瘍浸潤ＣＤ８＋Ｔ細胞は、ＣＴ２６結腸直腸同系腫瘍モデル（対照処置マウス）における高レベルのＰＤ－１阻害性受容体を発現する。ＰＤ－１発現ＣＤ８＋ＴＩＬのおよそ半分もＯＸ４０を発現する。対照抗体での処置開始から２日後の５匹のマウスのうちの１匹の代表的なフローサイトメトリードットプロット。
【図２Ａ】（図２Ａ）抗ＯＸ４０アゴニスト抗体単独での処置及び抗ＯＸ４０アゴニスト抗体と抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体との併用処置により、（ＣＤ４５＋細胞の総数に対する）腫瘍内Ｆｏｘｐ３＋制御性Ｔ細胞の割合が著しく減少した。（図２Ａ）及び（図２Ｂ）の両方について、データは、処置開始から９日後のものであり、各記号は、個々のマウスを表す。マウスに、対照抗体または抗ＰＤＬ１抗体を１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）でＢＩＷ（週２回）投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷ（週３回）で投薬した。
【図２Ｂ】（図２Ｂ）抗ＯＸ４０アゴニスト抗体単独での処置及び抗ＯＸ４０アゴニスト抗体と抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体との併用処置により、ＣＴ２６結腸直腸腫瘍モデルにおける腫瘍内Ｆｏｘｐ３＋制御性Ｔ細胞の絶対数が著しく減少した。（図２Ａ）及び（図２Ｂ）の両方について、データは、処置開始から９日後のものであり、各記号は、個々のマウスを表す。マウスに、対照抗体または抗ＰＤＬ１抗体を１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）でＢＩＷ（週２回）投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷ（週３回）で投薬した。
【図３Ａ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体での処置により、ＣＴ２６結腸直腸同系腫瘍モデルにおける（図３Ａ）腫瘍内骨髄性（ＣＤ１１ｂ＋Ｇｒ－１低／中間）細胞及び（図３Ｂ）腫瘍細胞でのＰＤＬ１発現が増大した。データは、処置開始から９日後のものである。各ドット／四角形は、１匹の個々のマウスを表す。フローサイトメトリーによる幾何学的平均蛍光強度（幾何学的ＭＦＩ）によって測定されたＰＤＬ１発現。＊＊ｐ＜０．０１、＊ｐ＜０．０５（対応のないｔ－検定によって計算される）。この実験における対照抗体の投薬は、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＢＩＷであった。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで投薬した。
【図３Ｂ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体での処置により、ＣＴ２６結腸直腸同系腫瘍モデルにおける（図３Ａ）腫瘍内骨髄性（ＣＤ１１ｂ＋Ｇｒ－１低／中間）細胞及び（図３Ｂ）腫瘍細胞でのＰＤＬ１発現が増大した。データは、処置開始から９日後のものである。各ドット／四角形は、１匹の個々のマウスを表す。フローサイトメトリーによる幾何学的平均蛍光強度（幾何学的ＭＦＩ）によって測定されたＰＤＬ１発現。＊＊ｐ＜０．０１、＊ｐ＜０．０５（対応のないｔ－検定によって計算される）。この実験における対照抗体の投薬は、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＢＩＷであった。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで投薬した。
【図４Ａ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体及び抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体での処置により、Ｃ５７ＢＬ／６マウスにおけるＭＣ３８結腸直腸癌同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が実証された。（図４Ａ）処置群（ｎ＝１０／群）毎の経時的（経日的）な平均腫瘍体積（ｍｍ３）の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体、抗ＰＤＬ１抗体、または抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、１０ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。
【図４Ｂ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体及び抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体での処置により、Ｃ５７ＢＬ／６マウスにおけるＭＣ３８結腸直腸癌同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が

実証された。（図４Ｂ）処置群毎の経時的な個々の腫瘍体積の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体、抗ＰＤＬ１抗体、または抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、１０ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。

【図５Ａ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体及び抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体での処置により、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるｃＴ２６結腸直腸同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が実証された。（図５Ａ）処置群（ｎ＝１０／群）毎の経時的（経日的）な平均腫瘍体積（ｍｍ３）の測定結果。（図５Ｂ）処置群毎の経時的な個々の腫瘍体積の測定結果。対照抗体または抗ＰＤＬ１を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、単回投薬として１日目に１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で投与した。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。

【図５Ｂ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体及び抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体での処置により、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるｃＴ２６結腸直腸同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が実証された。（図５Ａ）処置群（ｎ＝１０／群）毎の経時的（経日的）な平均腫瘍体積（ｍｍ３）の測定結果。（図５Ｂ）処置群毎の経時的な個々の腫瘍体積の測定結果。対照抗体または抗ＰＤＬ１を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、単回投薬として１日目に１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で投与した。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。

【図６Ａ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体単剤処置は、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるｃＴ２６結腸直腸癌同系腫瘍モデルの用量応答性を示す。（図６Ａ）処置群（ｎ＝１０／群）毎の経時的（経日的）な平均腫瘍体積（ｍｍ３）の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体を、１日目に初回投薬１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．０１ｍｇ／ｋｇ、０．１ｍｇ／ｋｇ、または１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、ＴＩＷ（腹腔内）で３週間投薬した。

【図６Ｂ】抗ＯＸ４０アゴニスト抗体単剤処置は、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるｃＴ２６結腸直腸癌同系腫瘍モデルの用量応答性を示す。（図６Ｂ）処置群毎の経時的な個々の腫瘍体積の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体を、１日目に初回投薬１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．０１ｍｇ／ｋｇ、０．１ｍｇ／ｋｇ、または１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、ＴＩＷ（腹腔内）で３週間投薬した。

【図７Ａ】最大下用量の抗ＯＸ４０アゴニスト抗体に抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体を加えた併用処置により、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるｃＴ２６結腸直腸癌同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が実証された。（図７Ａ）処置群（ｎ＝１０／群）毎の経時的（経日的）な平均腫瘍体積（ｍｍ３）の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体または抗ＰＤＬ１を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、１０ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で投与し、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投与し

た。
【図７Ｂ】最大下用量の抗ＯＸ４０アゴニスト抗体に抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体を加えた併用処置により、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるＣＴ２６結腸直腸癌同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が実証された。（図７Ｂ）処置群毎の経時的な個々の腫瘍体積の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体または抗ＰＤＬ１を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、１０ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体を、１日目に初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で投与し、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投与した。
【図８Ａ】別個の実験にて、最大下有効用量の単回０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）注入での抗ＯＸ４０アゴニスト抗体に抗ＰＤＬ１を加えた投薬により、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるＣＴ２６結腸直腸同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が実証された。（図８Ａ）処置群（ｎ＝１０／群）毎の経時的（経日的）な平均腫瘍体積（ｍｍ３）の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体または抗ＰＤＬ１を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０抗体を、１日目に初回投薬または単回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で投与し、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投与した。
【図８Ｂ】別個の実験にて、最大下有効用量の単回０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）注入での抗ＯＸ４０アゴニスト抗体に抗ＰＤＬ１を加えた投薬により、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおけるＣＴ２６結腸直腸同系腫瘍モデルの相乗的併用効力が実証された。（図８Ｂ）処置群毎の経時的な個々の腫瘍体積の測定結果。黒色の線は、処置群の平均を示す。青色の破線は、対照群の平均を示す。灰色の線は、個々の動物である。赤色の線は、腫瘍の潰瘍化または過度の腫瘍サイズにより研究から外された個々の動物を示す。対照抗体または抗ＰＤＬ１を、１日目に初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投薬した。抗ＯＸ４０抗体を、１日目に初回投薬または単回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）で投与し、その後、０．１ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷで３週間投与した。
【図９Ａ】ＯＸ４０アゴニスト抗体とＰＤＬ１アンタゴニスト（抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体）との併用処置の、末梢血中の増殖Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ細胞、血漿インターフェロン－ガンマ、及び活性化Ｔ細胞レベルへの影響。併用処置したＣＴ２６マウスから採取された末梢血の分析により、エフェクター細胞増殖及び炎症性Ｔ細胞マーカーの増加が明らかになった。ＣＤ８＋Ｔ細胞（図９Ａ）、Ｔｒｅｇ細胞（図９Ｂ）、血漿インターフェロンガンマレベル（図９Ｃ）、及び活性化Ｔ細胞（図９Ｄ）の増殖レベルを試験した。（図９Ａ）増殖ＣＤ８＋Ｔ細胞レベル（ｋｉ６７＋／全ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合として表される）が、ＯＸ４０アゴニスト抗体またはＰＤＬ１アンタゴニスト抗体単独で処置した動物に対して、ＯＸ４０アゴニスト抗体とＰＤ－Ｌ１アンタゴニストで併用処置した動物において著しく増加した。
【図９Ｂ】ＯＸ４０アゴニスト抗体とＰＤＬ１アンタゴニスト（抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体）との併用処置の、末梢血中の増殖Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ細胞、血漿インターフェロン－ガンマ、及び活性化Ｔ細胞レベルへの影響。併用処置したＣＴ２６マウスから採取された末梢血の分析により、エフェクター細胞増殖及び炎症性Ｔ細胞マーカーの増加が明らかになった。ＣＤ８＋Ｔ細胞（図９Ａ）、Ｔｒｅｇ細胞（図９Ｂ）、血漿インターフェロンガンマレベル（図９Ｃ）、及び活性化Ｔ細胞（図９Ｄ）の増殖レベルを試験した。（図９Ｂ）ＯＸ４０アゴニスト抗体単剤での処置及びＯＸ４０アゴニスト抗体とＰＤＬ１アンタゴニストとの併用処置により、末梢血Ｔｒｅｇの低減が観察された。
【図９Ｃ】ＯＸ４０アゴニスト抗体とＰＤＬ１アンタゴニスト（抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体）との併用処置の、末梢血中の増殖Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ細胞、血漿インターフェロン

－ガンマ、及び活性化Ｔ細胞レベルへの影響。併用処置したＣＴ２６マウスから採取された末梢血の分析により、エフェクター細胞増殖及び炎症性Ｔ細胞マーカーの増加が明らかになった。ＣＤ８＋Ｔ細胞（図９Ａ）、Ｔｒｅｇ細胞（図９Ｂ）、血漿インターフェロンガンマレベル（図９Ｃ）、及び活性化Ｔ細胞（図９Ｄ）の増殖レベルを試験した。（図９Ｃ）ＯＸ４０アゴニストとＰＤＬ１アンタゴニストとの併用処置により、血漿ガンマインターフェロン（ＩＦＮｇ）の増加が観察された。

【図９Ｄ】ＯＸ４０アゴニスト抗体とＰＤＬ１アンタゴニスト（抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体）との併用処置の、末梢血中の増殖Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ細胞、血漿インターフェロン－ガンマ、及び活性化Ｔ細胞レベルへの影響。併用処置したＣＴ２６マウスから採取された末梢血の分析により、エフェクター細胞増殖及び炎症性Ｔ細胞マーカーの増加が明らかになった。ＣＤ８＋Ｔ細胞（図９Ａ）、Ｔｒｅｇ細胞（図９Ｂ）、血漿インターフェロンガンマレベル（図９Ｃ）、及び活性化Ｔ細胞（図９Ｄ）の増殖レベルを試験した。（図９Ｄ）活性化Ｔ細胞（具体的には、活性化メモリーＴｅｆｆ細胞）のレベルが、ＯＸ４０アゴニストまたはＰＤＬ１アンタゴニスト単独での処置に対して、ＯＸ４０アゴニスト抗体とＰＤ－Ｌ１アンタゴニストで併用処置した動物において著しく増加した。

【図１０Ａ】尿路上皮膀胱癌（ＵＢＣ、図１０Ａ）及び非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ、図１０Ｂ）を有するヒト患者由来の癌試料におけるＯＸ４０発現とＰＤＬ１診断状態との関連性を示す。組織試料は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＰＤＬ３２８０Ａを用いた第１相臨床試験に参加した患者由来のものであった。本明細書に開示されるＩＨＣを使用して腫瘍浸潤免疫細胞（ＩＣ）のＰＤ－Ｌ１バイオマーカー状態を決定した。ｒｔＰＣＲ分析（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ）を使用してＯＸ４０発現レベルを決定した。三角形は、患者が部分的または完全な臨床応答を示したことを意味し、円形は、患者が安定した疾患を示したことを意味し、四角形は、患者が進行性疾患を示したことを意味する。

【図１０Ｂ】尿路上皮膀胱癌（ＵＢＣ、図１０Ａ）及び非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ、図１０Ｂ）を有するヒト患者由来の癌試料におけるＯＸ４０発現とＰＤＬ１診断状態との関連性を示す。組織試料は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＰＤＬ３２８０Ａを用いた第１相臨床試験に参加した患者由来のものであった。本明細書に開示されるＩＨＣを使用して腫瘍浸潤免疫細胞（ＩＣ）のＰＤ－Ｌ１バイオマーカー状態を決定した。ｒｔＰＣＲ分析（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ）を使用してＯＸ４０発現レベルを決定した。三角形は、患者が部分的または完全な臨床応答を示したことを意味し、円形は、患者が安定した疾患を示したことを意味し、四角形は、患者が進行性疾患を示したことを意味する。

【図１１Ａ】対照細胞試料の例示のＩＨＣ分析を示す。（図１１Ａ）親ＨＥＫ－２９３細胞の陰性対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｂ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の弱い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｃ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の中程度の染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｄ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の強い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｅ）胎盤組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｆ）扁桃腺組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色。専売抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して全てのＩＨＣ染色を行った。

【図１１Ｂ】対照細胞試料の例示のＩＨＣ分析を示す。（図１１Ａ）親ＨＥＫ－２９３細胞の陰性対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｂ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の弱い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｃ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の中程度の染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｄ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の強い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｅ）胎盤組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｆ）扁桃腺組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色。専売抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して全てのＩＨＣ染色を行った。

【図１１Ｃ】対照細胞試料の例示のＩＨＣ分析を示す。（図１１Ａ）親ＨＥＫ－２９３細胞の陰性対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｂ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の弱い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｃ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１で

トランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の中程度の染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｄ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の強い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｅ）胎盤組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｆ）扁桃腺組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色。専売抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して全てのＩＨＣ染色を行った。

【図１１Ｄ】対照細胞試料の例示のＩＨＣ分析を示す。（図１１Ａ）親ＨＥＫ－２９３細胞の陰性対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｂ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の弱い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｃ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の中程度の染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｄ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の強い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｅ）胎盤組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｆ）扁桃腺組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色。専売抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して全てのＩＨＣ染色を行った。

【図１１Ｅ】対照細胞試料の例示のＩＨＣ分析を示す。（図１１Ａ）親ＨＥＫ－２９３細胞の陰性対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｂ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の弱い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｃ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の中程度の染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｄ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の強い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｅ）胎盤組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｆ）扁桃腺組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色。専売抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して全てのＩＨＣ染色を行った。

【図１１Ｆ】対照細胞試料の例示のＩＨＣ分析を示す。（図１１Ａ）親ＨＥＫ－２９３細胞の陰性対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｂ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の弱い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｃ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の中程度の染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｄ）組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞の強い染色強度でのＩＨＣ染色、（図１１Ｅ）胎盤組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色、（図１１Ｆ）扁桃腺組織試料の陽性組織対照ＩＨＣ染色。専売抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して全てのＩＨＣ染色を行った。

【図１２Ａ】（図１２Ａ）トリプルネガティブ乳癌、（図１２Ｂ）悪性黒色腫、（図１２Ｃ）ＮＳＣＬＣ、腺癌由来の腫瘍試料の例示のＰＤ－Ｌ１陽性ＩＨＣ染色を示す。

【図１２Ｂ】（図１２Ａ）トリプルネガティブ乳癌、（図１２Ｂ）悪性黒色腫、（図１２Ｃ）ＮＳＣＬＣ、腺癌由来の腫瘍試料の例示のＰＤ－Ｌ１陽性ＩＨＣ染色を示す。

【図１２Ｃ】（図１２Ａ）トリプルネガティブ乳癌、（図１２Ｂ）悪性黒色腫、（図１２Ｃ）ＮＳＣＬＣ、腺癌由来の腫瘍試料の例示のＰＤ－Ｌ１陽性ＩＨＣ染色を示す。

【発明を実施するための形態】

【００４２】

本出願の発明者らは、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体と抗ＰＤ－Ｌ１との併用免疫療法により、腫瘍成長の相乗的阻害及び応答率の増加がもたらされることを実証した。

【００４３】

一態様では、有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、個体における癌を治療するか、またはその進行の遅延させるための方法、組成物、及び使用が本明細書に提供される。

【００４４】

別の態様では、有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能を増強するための方法、組成物、及び使用が本明細書に提供される。

【００４５】

別の態様では、有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、癌を有する個体における感染（例えば、細菌感染またはウイル

ス感染または他の病原体感染）を治療するための方法、組成物、及び使用が本明細書に提供される。

【００４６】

Ｉ．定義

本発明を詳細に説明する前に、本発明が特定の組成物または生物学的系に限定されず、それらが言うまでもなく多種多様であることを理解されたい。本明細書で使用される専門用語が特定の実施形態を説明することのみを目的としており、限定するようには意図されていないことも理解されたい。

【００４７】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用されるとき、単数形「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は、別途内容が明確に指示しない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「分子」への言及は、２つ以上のかかる分子の組み合わせを任意に含むといった具合である。

【００４８】

本明細書で使用される「約」という用語は、当業者であれば容易に理解するそれぞれの値の通常の誤差範囲を指す。本明細書における「約」値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象とする実施形態を含む（かつ説明する）。

【００４９】

本明細書に記載の本発明の態様及び実施形態が、態様及び実施形態「を含む」、「からなる」、及び「から本質的になる」を含むことが理解される。

【００５０】

本明細書で使用される「ＯＸ４０」という用語は、別途示されない限り、霊長類（例えば、ヒト）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の脊椎動物源由来の任意の天然ＯＸ４０を指す。この用語は、「全長」非プロセシングＯＸ４０、ならびに細胞内でのプロセシングから得られるＯＸ４０の任意の形態を包含する。この用語は、ＯＸ４０の天然に存在する変異形、例えば、スプライス変異形または対立遺伝子変異形も包含する。シグナルペプチドを欠く例示のヒトＯＸ４０のアミノ酸配列は、配列番号６０に示される。

(LHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCSRSQNTVCRPCGPGFYNDVVSSKPCKPCTWCN
LRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPWTNCTL
AGKHTLQPASNSSDAICEDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGG
RAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLA
KI).

【００５１】

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

【００５２】

「抗ＯＸ４０抗体」及び「ＯＸ４０に結合する抗体」という用語は、抗体がＯＸ４０を標的とする際に診断薬及び／または治療薬として有用になるように十分な親和性でＯＸ４０に結合することができる抗体を指す。一実施形態では、抗ＯＸ４０抗体の非関連非ＯＸ４０タンパク質への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）によって測定される、抗体のＯＸ４０への結合の約１０％未満である。ある特定の実施形態では、ＯＸ４０に結合する抗体は、１μＭ以下、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、０．１ｎＭ以下、０．０１ｎＭ以下、または０．００１ｎＭ以下（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（Ｋｄ）を有する。ある特定の実施形態では、抗ＯＸ４０抗体は、異なる種由来のＯＸ４０間で保存されるＯＸ４０のエピトープに結合する。

【００５３】

「ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト」という用語は、ＰＤ－１シグナル伝達軸上のシグナル伝達に起因するＴ細胞機能障害を除去するようにＰＤ－１軸結合パートナーとその結合パートナーのうちのいずれか１つ以上との相互作用を阻害し、結果として、Ｔ細胞機能（例えば、増殖、サイトカイン産生、標的細胞死滅）復元または増強する分子を指す。本明細書で使用されるとき、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト、及びＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストを含む。

【００５４】

「ＰＤ－１結合アンタゴニスト」という用語は、ＰＤ－１とその結合パートナーのうちの１つ以上、例えば、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のその結合パートナーのうちの１つ以上への結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２への結合を阻害する。例えば、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－１抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及びＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１及び／またはＰＤ－Ｌ２との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、または妨害する他の分子を含む。一実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１を介するシグナル伝達を媒介したＴリンパ球で発現された細胞表面タンパク質によってまたはそれを介して媒介される負の共刺激シグナルを低減し、機能障害Ｔ細胞の機能障害性をより低くする（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－１抗体である。具体的な一態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、本明細書に記載のＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ）である。別の具体的な態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、本明細書に記載のＭＫ－３４７５（ペムブロリズマブ）である。別の具体的な態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、本明細書に記載のＣＴ－０１１（ピジリズマブ）である。別の具体的な態様では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、本明細書に記載のＡＭＰ－２２４である。

【００５５】

「ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニスト」という用語は、ＰＤ－Ｌ１とその結合パートナーのうちのいずれか１つ以上、例えば、ＰＤ－１、Ｂ７－１との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１のＰＤ－１及び／またはＢ７－１への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及びＰＤ－Ｌ１とその結合パートナーのうちの１つ以上、例えば、ＰＤ－１、Ｂ７－１との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、または妨害する他の分子を含む。一実施形態では、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１を介するシグナル伝達を媒介したＴリンパ球で発現された細胞表面タンパク質によってまたはそれを介して媒介される負の共刺激シグナルを低減し、機能障害Ｔ細胞の機能障害性をより低くする（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。具体的な一態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載のＹＷ２４３．５５．Ｓ７０である。別の具体的な態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載のＭＤＸ－１１０５である。さらに別の具体的な態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載のＭＰＤＬ３２８０Ａである。さらに別の具体的な態様では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載のＭＥＤＩ４７３６である。

【００５６】

「ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニスト」という用語は、ＰＤ－Ｌ２とその結合パートナーのうちのいずれか１つ以上、例えば、ＰＤ－１との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ２

結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２のその結合パートナーのうちの１つ以上への結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２のＰＤ－１への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ２アンタゴニストは、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及びＰＤ－Ｌ２とその結合パートナーのうちのいずれか１つ以上、例えば、ＰＤ－１との相互作用に起因するシグナル伝達を低減、遮断、阻害、抑止、または妨害する他の分子を含む。一実施形態では、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２を介するシグナル伝達を媒介したＴリンパ球で発現された細胞表面タンパク質によってまたはそれを介して媒介される負の共刺激シグナルを低減し、機能障害Ｔ細胞の機能障害性をより低くする（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ２結合アンタゴニストは、イムノアドヘシンである。

【００５７】

免疫機能障害との関連での「機能障害」という用語は、抗原刺激への免疫応答性が低減した状態を指す。この用語には、抗原認識が生じ得るが、その後の免疫応答が感染または腫瘍成長の制御に無効である消耗及び／またはアネルギーの両方の共通要素が含まれる。

【００５８】

本明細書で使用される「機能障害」という用語は、抗原認識への不応性または不応答性、具体的には、抗原認識を下流Ｔ細胞エフェクター機能、例えば、増殖、サイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２）、及び／または標的細胞死滅に翻訳する能力障害も含む。

【００５９】

「アネルギー」という用語は、Ｔ細胞受容体を介して送達される不完全または不十分なシグナルに起因する抗原刺激への不応答性の状態（例えば、Ｒａｓ活性化の不在下での細胞内Ca^{+2}の増加）を指す。Ｔ細胞アネルギーは、共刺激の不在下での抗原での刺激時にも生じ得、結果的に共刺激との関連でさえも抗原によるその後の活性化に不応性になる。不応答状態は、多くの場合、インターロイキン－２の存在によって無効化され得る。アネルギーＴ細胞は、クローン増殖を経ず、かつ／またはエフェクター機能を獲得しない。

【００６０】

「消耗」という用語は、多くの慢性感染及び癌発症中に生じる持続的ＴＣＲシグナル伝達に起因するＴ細胞機能障害の状態としてのＴ細胞消耗を指す。これは、不完全なまたは不十分なシグナル伝達ではく、持続的シグナル伝達に起因するという点で、アネルギーとは区別される。これは、機能的エフェクターまたはメモリーＴ細胞とははっきりと異なるエフェクター機能不良、阻害性受容体の持続的発現、及び転写状態によって定義される。消耗は、感染及び腫瘍の最適な制御を妨げる。消耗は、外因性の負の制御性経路（例えば、免疫制御性サイトカイン）及び細胞内因性の負の制御性（共刺激）経路（ＰＤ－１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４等）の両方に起因し得る。

【００６１】

「Ｔ細胞機能を増強する」とは、持続したもしくは増幅された生物学的機能を有するようにＴ細胞を誘導するか、引き起こすか、もしくは刺激すること、または消耗されたもしくは不活性のＴ細胞を更新もしくは再活性化することを意味する。Ｔ細胞機能の増強の例としては、ＣＤ８＋Ｔ細胞からのガンマ－インターフェロンの分泌の増加、増殖の増加、介入前のレベルと比較した抗原応答性の増加（例えば、ウイルス、病原体、または腫瘍クリアランス）が挙げられる。一実施形態では、増強のレベルは、少なくとも５０％、あるいは６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、１２０％、１５０％、２００％である。この増強を測定する様式は、当業者に既知である。

【００６２】

「Ｔ細胞機能障害性障害」とは、抗原刺激への応答性の低下を特徴とするＴ細胞の障害または状態である。具体的な一実施形態では、Ｔ細胞機能障害性障害は、ＰＤ－１を介した不適切なシグナル伝達の増加に特に関連する障害である。別の実施形態では、Ｔ細胞機能障害性障害は、Ｔ細胞がアネルギーであるか、またはサイトカインを分泌するか、増殖するか、もしくは細胞溶解活性を実行する能力が低下した障害である。具体的な一態様で

は、応答性の低下により、免疫原を発現する病原体または腫瘍の無効な制御がもたらされる。Ｔ細胞機能障害を特徴とするＴ細胞機能障害性障害の例としては、未解決の急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫が挙げられる。

【００６３】

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

【００６４】

「免疫原性」とは、免疫応答を誘発する特定の物質の能力を指す。腫瘍は、免疫原性であり、腫瘍免疫原性の増強により、免疫応答による腫瘍細胞のクリアランスが支援される。腫瘍免疫原性の増強の例として、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストでの治療が挙げられる。

【００６５】

「持続的応答」とは、治療の中止後の腫瘍成長の低減への持続的効果を指す。例えば、腫瘍サイズは、投与期の開始時のサイズと比較して同じままであるか、またはより小さくなり得る。いくつかの実施形態では、持続的応答は、治療期間と少なくとも同じ期間、治療期間の少なくとも１．５倍、２．０倍、２．５倍、または３．０倍の期間を有する。

【００６６】

「薬学的製剤」という用語は、活性成分の生物学的活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象に許容できないほどに有毒なさらなる成分を含有しない調製物を指す。かかる製剤は、滅菌である。「薬学的に許容される」賦形剤（ビヒクル、添加物）は、対象哺乳動物に適度に投与されて、用いられる有効用量の活性成分を提供することができるものである。

【００６７】

本明細書で使用されるとき、「治療」という用語は、臨床的病変の経過中に治療される個体または細胞の自然経過を変化させるように設計された臨床的介入を指す。治療の望ましい効果としては、疾患進行速度の低減、疾患状態の回復または緩和、及び予後の寛解または改善が挙げられる。例えば、個体は、癌性細胞の増殖の低減（もしくは破壊）、疾患に起因する症状の軽減、疾患に罹患している者の生活の質の向上、疾患の治療に必要な他の医薬の用量の低減、及び／または個体の生存期間の延長を含むが、これらに限定されない、癌に関連する１つ以上の症状が軽減または排除された場合、成功裏に「治療される」。

【００６８】

本明細書で使用されるとき、「疾患の進行を遅延させる」とは、疾患（癌等）の発症を延期し、妨害し、減速し、遅らせ、安定させ、かつ／または延ばすことを意味する。この遅延は、病歴及び／または治療される個体に応じて様々な期間のものであり得る。当業者に明らかであるように、十分または著しい遅延は、個体が疾患を発症しないという点で、予防を事実上包含し得る。例えば、転移の発症等の末期癌を遅延させることができる

【００６９】

「有効量」とは、特定の障害の測定可能な改善または予防の達成に必要な少なくとも最小の量である。本明細書における有効量は、患者の疾患状態、年齢、性別、及び体重、ならびに能力個体における所望の応答を誘発する抗体の能力等の要因に応じて異なり得る。有効量は、治療上有益な作用が治療の任意の毒性作用または有害作用を上回るものでもある。予防的使用の場合、有益なまたは所望の結果としては、疾患の生化学的、組織学的、及び／または挙動的症状、その合併症、及び疾患の発症中に現れる中間病理学的表現型を含む、疾患のリスクの排除または低減、疾患の重症度の軽減、または疾患の発生の遅延等の結果が挙げられる。治療的使用の場合、有益なまたは所望の結果としては、疾患に起因する１つ以上の症状の軽減、疾患に罹患している者の生活の質の向上、疾患の治療に必要な他の医薬の用量の低減、別の医薬の効果の増強（例えば、標的による）、疾患の進行の

遅延、及び／または生存期間の延長等の臨床結果が挙げられる。癌または腫瘍の場合、有効量の薬物は、癌細胞の数を減少させ、腫瘍サイズを低減させ、癌細胞の末梢器官への浸潤を阻害し（すなわち、ある程度遅らせるか、または望ましくは停止し）、腫瘍転移を阻害し（すなわち、ある程度遅らせるか、または望ましくは停止し）、腫瘍成長をある程度阻害し、かつ／または障害に関連する症状のうちの１つ以上をある程度軽減する効果を有し得る。有効量は、１回以上の投与で投与され得る。本発明の目的のために、有効量の薬物、化合物、または薬学的組成物は、予防的治療または治療的治療を直接または間接的にのいずれかで達成するのに十分な量である。臨床的文脈において理解されるように、有効量の薬物、化合物、または薬学的組成物は、別の薬物、化合物、または薬学的組成物と併せて達成されてもされなくてもよい。したがって、「有効量」は、１つ以上の治療薬の投与との関連で考慮され得、単剤は、１つ以上の他の薬剤と併せて、望ましい結果が達成され得るか、または達成される場合、有効量で与えられると見なされ得る。

【００７０】

本明細書で使用されるとき、「と併せて」とは、１つの治療法に加えた別の治療法の投与を指す。したがって、「と併せて」とは、個体への１つの治療法の施行前、施行中、または施行後の別の治療法の施行を指す。

【００７１】

「障害」とは、哺乳動物を問題の障害にかかりやすくする病理学的状態を含む慢性及び急性障害または疾患を含むが、これらに限定されない、治療から恩恵を受けるであろう任意の状態である。

【００７２】

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

【００７３】

本明細書で使用される「腫瘍」とは、悪性か良性かにかかわらず、全ての新生物細胞成長及び増殖、ならびに全ての前癌性及び癌性細胞及び組織を指す。「癌」、「癌性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、及び「腫瘍」という用語は、本明細書で言及されるとき、相互排他的ではない。

【００７４】

「癌」及び「癌性」という用語は、制御されていない細胞成長を典型的に特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか、または説明する。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病またはリンパ性悪性腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。かかる癌のより具体的な例としては、扁平上皮癌（例えば、上皮扁平上皮癌）、肺癌、例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及び肺扁平上皮癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ　ｃａｎｃｅｒ）または胃癌（ｓｔｏｍａｃｈ　ｃａｎｃｅｒ）、例えば、胃腸癌及び胃腸間質癌、膵臓癌、膠芽細胞腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、尿路癌、肝癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌または腎癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝癌、肛門癌、陰茎癌、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端性黒子性黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びＢ細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、中悪性度／濾胞性ＮＨＬ、中悪性度びまん性ＮＨＬ、高悪性度免疫芽細胞性ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非開裂細胞性ＮＨＬ、巨大病変ＮＨＬ、マントル細胞リンパ腫、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、及びワルデンストレームマクログロブリン血症等）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、ヘアリー細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、及び移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、ならびに母斑症に関連する異常な血管増殖、浮腫（脳腫瘍に関連するもの等）、メーグス症候群、脳癌、ならびに頭頸部癌、及び関連転移が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本発明の抗体での治療に従順な癌としては、乳癌、結腸直腸癌、直腸癌、非小細胞肺癌、膠芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ

）、腎細胞癌、前立腺癌、肝臓癌、膵臓癌、軟組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイド癌、頭頸部癌、卵巣癌、中皮腫、及び多発性骨髄腫が挙げられる。いくつかの実施形態では、癌は、小細胞肺癌、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌、胃癌、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、及び肝細胞癌から選択される。さらに、いくつかの実施形態では、癌は、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、膠芽細胞腫、及び乳癌（これらの転移型を含む）癌から選択される。

【００７５】

本明細書で使用される「細胞毒性薬」という用語は、（例えば、細胞死を引き起こすか、増殖を阻害するか、またはさもなければ細胞機能を妨害する）細胞に有害な任意の薬剤を指す。細胞毒性薬としては、放射性同位体（例えば、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、及び放射性同位体Ｌｕ）、化学療法剤、成長阻害剤、酵素及びその断片、例えば、核酸分解酵素、ならびに毒素、例えば、細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素的に活性な毒素（その断片及び／または変異形を含む）が挙げられるが、これらに限定されない。例示の細胞毒性薬は、抗微小管薬、白金配位錯体、アルキル化剤、抗生物質剤、トポイソメラーゼＩＩ阻害剤、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼＩ阻害剤、ホルモン及びホルモン類似体、シグナル伝達経路阻害剤、非受容体チロシンキナーゼ血管新生阻害剤、免疫療法薬、アポトーシス促進剤、ＬＤＨ－Ａ阻害剤、脂肪酸生合成阻害剤、細胞周期シグナル伝達阻害剤、ＨＤＡＣ阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ならびに癌代謝阻害剤から選択され得る。一実施形態では、細胞毒性薬は、タキサンである。一実施形態では、タキサンは、パクリタキセルまたはドセタキセルである。一実施形態では、細胞毒性薬は、白金剤である。一実施形態では、細胞毒性薬は、ＥＧＦＲのアンタゴニストである。一実施形態では、ＥＧＦＲのアンタゴニストは、Ｎ－（３－エチニルフェニル）－６，７－ビス（２－メトキシエトキシ）キナゾリン－４－アミン（例えば、エルロチニブ）である。一実施形態では、細胞毒性薬は、ＲＡＦ阻害剤である。一実施形態では、ＲＡＦ阻害剤は、ＢＲＡＦ及び／またはＣＲＡＦ阻害剤である。一実施形態では、ＲＡＦ阻害剤は、ベムラフェニブである。一実施形態では、細胞毒性薬は、ＰＩ３Ｋ阻害剤である。

【００７６】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化合物を含む。化学療法剤の例としては、エルロチニブ（ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／ＯＳＩ Ｐｈａｒｍ.）、ボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ（登録商標）、Ｍｉｌｌｅｎｎｉｕｍ Ｐｈａｒｍ.）、ジスルフィラム、没食子酸エピガロカテキン、サリノスポラミドＡ、カルフィルゾミブ、１７－ＡＡＧ（ゲルダナマイシン）、ラジシコール、乳酸デヒドロゲナーゼＡ（ＬＤＨ－Ａ）、フルベストラント（ＦＡＳＬＯＤＥＸ（登録商標）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、スニチブ（ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、Ｐｆｉｚｅｒ／Ｓｕｇｅｎ）、レトロゾール（ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、メシル酸イマチニブ（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、フィナスネート（ＶＡＴＡＬＡＮＩＢ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、オキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮ（登録商標）、Ｓａｎｏｆｉ）、５－ＦＵ（５－フルオロウラシル）、ロイコボリン、ラパマイシン（Ｓｉｒｏｌｉｍｕｓ、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）、ラパチニブ（ＴＹＫＥＲＢ（登録商標）、ＧＳＫ５７２０１６、Ｇｌａｘｏ Ｓｍｉｔｈ Ｋｌｉｎｅ）、ロナファルニブ（ＳＣＨ ６６３３６）、ソラフェニブ（ＮＥＸＡＶＡＲ（登録商標）、Ｂａｙｅｒ Ｌａｂｓ）、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＡＧ１４７８、アルキル化剤、例えば、チオテパ及びＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標）シクロホスファミド、スルホン酸アルキル、例えば、ブスルファン、インプロスルファン、及びピポスルファン、アジリジン、例えば、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパ、エチレンイミン及びメチラメラミン、例えば、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド、及びトリメチロメラミン、アセトゲニン（特に、ブラタシン及びブラタシノン）、カンプトセシン（トポテカン及びイリノテカン等）、ブリオスタチン、カリスタチン、ＣＣ－１０６５（そのアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシン合成類似体等）、クリプトフィシン（特に、ク

リプトフィシン１及びクリプトフィシン８）、副腎皮質ステロイド（プレドニゾン及びプレドニゾロン等）、酢酸シプロテロン、５α－レダクターゼ、例えば、フィナステライド及びデュタステリド）、ボリノスタット、ロミデプシン、パノビノスタット、バルプロ酸、モセチノスタットドラスタチン、アルデスロイキン、デュオカルマイシン（合成類似体ＫＷ－２１８９及びＣＢ１－ＴＭ１等）、エリュテロビン、パンクラチスタチン、サルコジクチイン、スポンギスタチン、ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロマファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベンビチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタード、ニトロソウレア、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチン、抗生物質、例えば、エンジイン抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシンγ１Ｉ及びカリケアマイシンω１Ｉ（Ａｎｇｅｗ Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．１９９４ ３３：１８３－１８６）、ダイネミシン、例えば、ダイネミシンＡ、ビスホスホネート、例えば、クロドロネート、エスペラミシン、ならびにネオカルチノスタチン発光団及び関連色素タンパク質エネジイン抗生物質発光団）、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、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮ（登録商標）（ドキソルビシン）、モルフォリノ－ドキソルビシン、シアノモルフォリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン、及びデオキシドキソルビシン）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、例えば、マイトマイシンＣ、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、ロドルビシン、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、ゾルビシン、代謝拮抗剤、例えば、メトトレキセート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、葉酸類似体、例えば、デノプテリン、メトトレキセート、プテロプテリン、トリメトレキセート、プリン類似体、例えば、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、ピリミジン類似体、例えば、アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロキシウリジン、アンドロゲン、例えば、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、抗副腎剤、例えば、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン、葉酸補給剤、例えば、フロリン酸、アセグラトン、アルドホスファミドグリコシド、アミノレブリン酸、エニルウラシル、アムサクリン、ベストラブシル、ビサントレン、エダトラキセート、デフォファミン、デメコルシン、ジアジコン、エルフォルニチン、酢酸エリプチニウム、エポチロン、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダミン、メイタンシノイド、例えば、メイタンシン及びアンサマイトシン、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モピダモール、ニトラクリン、ペントスタチン、フェナメット、ピラルビシン、ロソキサントロン、ポドフィリン酸、２－エチルヒドラジド、プロカルバジン、ＰＳＫ（登録商標）多糖複合体（ＪＨＳ Ｎａｔｕｒａｌ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ、Ｅｕｇｅｎｅ，Ｏｒｅｇ．）、ラゾキサン、リゾキシン、シゾフィラン；スピロゲルマニウム、テニュアゾン酸、トリアジコン、２，２′，２′′－トリクロロトリエチルアミン、トリコテセン（特に、Ｔ－２毒素、ベラキュリンＡ、ロリデンＡ、及びアングイデン）、ウレタン、ビンデシン、ダカルバジン、マンノムスチン、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピポブロマン、ガシトシン、アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）、シクロホスファミド、チオテパ、タキソイド、例えば、ＴＡＸＯＬ（パクリタキセル、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ、Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，Ｎ．Ｊ．）、ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）（クレモフォールを含まない）、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐａｒｔｎｅｒｓ、Ｓｃｈａｕｍｂｅｒｇ，Ｉｌｌ．）、及びＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）（ドセタキセル、ドキ

セタキセル、Ｓａｎｏｆｉ－Ａｖｅｎｔｉｓ）、クロランブシル、ＧＥＭＺＡＲ（登録商標）（ゲンシタビン）、６－チオグアニン、メルカプトプリン、メトトレキセート、白金類似体、例えば、シスプラチン及びカルボプラチン、ビンブラスチン、エトポシド（ＶＰ－１６）、イホスファミド、ミトキサントン、ビンクリスチン、ＮＡＶＥＬＢＩＮＥ（登録商標）（ビノレルビン）、ノバントロン、テニポシド、エダトレキセート、ダウノマイシン、アミノプテリン、カペシタビン（ＸＥＬＯＤＡ（登録商標））、イバンドロナート、ＣＰＴ－１１、トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ２０００、ジフルオロメチロールニチン（ＤＭＦＯ）、レチノイド、例えば、レチノイン酸、ならびに上述のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体が挙げられる。

【００７７】

化学療法剤としては、（ｉ）腫瘍へのホルモン作用を制御または阻害する役割を果たす抗ホルモン剤、例えば、抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体モジュレーター（ＳＥＲＭ）、例えば、タモキシフェン（ＮＯＬＶＡＤＥＸ（登録商標）、クエン酸タモキシフェン等）、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、ヨードキシフェン、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、オナプリストーン、及びＦＡＲＥＳＴＯＮ（登録商標）（クエン酸トレミフェン）等、（ｉｉ）副腎におけるエストロゲン産生を制御する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば、４（５）－イミダゾール、アミノグルテチミド、ＭＥＧＡＳＥ（登録商標）（酢酸メゲステロール）、ＡＲＯＭＡＳＩＮ（登録商標）（エグゼメスタン、Ｐｆｉｚｅｒ）、ホルメスタン、ファドロゾール、ＲＩＶＩＳＯＲ（登録商標）（ボロゾール）、ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）（レトロゾール、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、及びＡＲＩＭＩＤＥＸ（登録商標）アナストロゾール、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）等、（ｉｉｉ）抗アンドロゲン、例えば、フルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン、ブセレリン、トリプテレリン、酢酸メドロキシプロゲステロン、ジエチルスチルベストロール、プレマリン、フルオキシメステロン、全てのトランスレチノイン酸、フェンレチニド、ならびにトロキサシタビン（１，３－ジオキシランヌクレオシドシトシン類似体）、（ｉｖ）タンパク質キナーゼ阻害剤，（ｖ）脂質キナーゼ阻害剤，（ｖｉ）アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常な細胞増殖に関与するシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、ＰＫＣ－アルファ、Ｒａｌｆ、及びＨ－Ｒａｓ等、（ｖｉｉ）リボザイム、例えば、ＶＥＧＦ発現阻害剤（例えば、ＡＮＧＩＯＺＹＭＥ（登録商標））及びＨＥＲ２発現阻害剤等、（ｖｉｉｉ）ワクチン、例えば、遺伝子療法ワクチン、例えば、ＡＬＬＯＶＥＣＴＩＮ（登録商標）、ＬＥＵＶＥＣＴＩＮ（登録商標）、及びＶＡＸＩＤ（登録商標）、ＰＲＯＬＥＵＫＩＮ（登録商標）、ｒＩＬ－２、トポイソメラーゼ１阻害剤、例えば、ＬＵＲＴＯＴＥＣＡＮ（登録商標）、ＡＢＡＲＥＬＩＸ（登録商標）ｒｍＲＨ、ならびに（ｉｘ）上述のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体も挙げられる。

【００７８】

化学療法剤としては、抗体、例えば、アレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ）、ベバシズマブ（ＡＶＡＳＴＩＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、セツキシマブ（ＥＲＢＩＴＵＸ（登録商標）、Ｉｍｃｌｏｎｅ）、パニツムマブ（ＶＥＣＴＩＢＩＸ（登録商標）、Ａｍｇｅｎ）、リツキシマブ（ＲＩＴＵＸＡＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）、ペルツズマブ（ＯＭＮＩＴＡＲＧ（登録商標）、２Ｃ４、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、トラスツズマブ（ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、トシツモマブ（Ｂｅｘｘａｒ、Ｃｏｒｉｘｉａ）、及び抗体－薬物コンジュゲート、ゲムツズマブオゾガマイシン（ＭＹＬＯＴＡＲＧ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）も挙げられる。本発明の化合物との併用で薬剤として治療可能性を有するさらなるヒト化モノクローナル抗体としては、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネオズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴル、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エピラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾ

ガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマブ、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シブロツズマブ、シプリズマブ、ソンツズマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビシリズマブ、及び抗インターロイキン－１２（ＡＢＴ－８７４／Ｊ６９５、Ｗｙｅｔｈ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）（インターロイキン－１２ ｐ４０タンパク質を認識するように遺伝子修飾された組換えのヒト配列のみの全長ＩｇＧ$_1$λ抗体）が挙げられる。

【００７９】

化学療法剤としては、ＥＧＦＲに結合するか、またはさもなければそれと直接相互作用し、そのシグナル伝達活性を阻止または低減する化合物を指し、「ＥＧＦＲアンタゴニスト」とも称される「ＥＧＦＲ阻害剤」も挙げられる。かかる薬剤の例としては、ＥＧＦＲに結合する抗体及び小分子が挙げられる。ＥＧＦＲに結合する抗体の例としては、ＭＡｂ ５７９（ＡＴＣＣ ＣＲＬ ＨＢ ８５０６）、ＭＡｂ ４５５（ＡＴＣＣ ＣＲＬ ＨＢ８５０７）、ＭＡｂ ２２５（ＡＴＣＣ ＣＲＬ ８５０８）、ＭＡｂ ５２８（ＡＴＣＣ ＣＲＬ ８５０９）（米国特許第４，９４３，５３３号（Ｍｅｎｄｅｌｓｏｈｎ ｅｔ ａｌ．）を参照のこと）、及びそれらの変異形、例えば、キメラ化２２５（Ｃ２２５またはセツキシマブ、ＥＲＢＵＴＩＸ（登録商標））及び再成形ヒト２２５（Ｈ２２５）（ＷＯ９６／４０２１０（Ｉｍｃｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．）を参照のこと）、ＩＭＣ－１１Ｆ８、完全ヒトＥＧＦＲ標的抗体（Ｉｍｃｌｏｎｅ）、ＩＩ型変異ＥＧＦＲに結合する抗体（米国特許第５，２１２，２９０号）、米国特許第５，８９１，９９６号に記載のＥＧＦＲに結合するヒト化抗体及びキメラ抗体、ならびにＥＧＦＲに結合するヒト抗体、例えば、ＡＢＸ－ＥＧＦまたはパニツムマブ（ＷＯ９８／５０４３３を参照のこと、Ａｂｇｅｎｉｘ／Ａｍｇｅｎ）、ＥＭＤ５５９００（Ｓｔｒａｇｌｉｏｔｔｏ ｅｔ ａｌ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ３２Ａ：６３６－６４０（１９９６））、ＥＧＦＲ結合においてＥＧＦ及びＴＧＦ－アルファの両方と競合するＥＧＦＲに対して指向されたヒト化ＥＧＦＲ抗体ＥＭＤ７２００（マツズマブ）（ＥＭＤ／Ｍｅｒｃｋ）、ヒトＥＧＦＲ抗体ＨｕＭａｘ－ＥＧＦＲ（ＧｅｎＭａｂ）、Ｅ１．１、Ｅ２．４、Ｅ２．５、Ｅ６．２、Ｅ６．４、Ｅ２．１１、Ｅ６．３、及びＥ７．６．３として既知であり、かつＵＳ６，２３５，８８３に記載の完全ヒト抗体、ＭＤＸ－４４７（Ｍｅｄａｒｅｘ Ｉｎｃ）、ならびにｍＡｂ８０６またはヒト化ｍＡｂ８０６（Ｊｏｈｎｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７９（２９）：３０３７５－３０３８４（２００４））が挙げられる。抗ＥＧＦＲ抗体は、細胞毒性薬にコンジュゲートし、それ故にイムノコンジュゲートを生成することができる（例えば、ＥＰ６５９４３９Ａ２（Ｍｅｒｃｋ Ｐａｔｅｎｔ ＧｍｂＨ）を参照のこと）。ＥＧＦＲアンタゴニストは、米国特許第５，６１６，５８２号、同第５，４５７，１０５号、同第５，４７５，００１号、同第５，６５４，３０７号、同第５，６７９，６８３号、同第６，０８４，０９５号、同第６，２６５，４１０号、同第６，４５５，５３４号、同第６，５２１，６２０号、同第６，５９６，７２６号、同第６，７１３，４８４号、同第５，７７０，５９９号、同第６，１４０，３３２号、同第５，８６６，５７２号、同第６，３９９，６０２号、同第６，３４４，４５９号、同第６，６０２，８６３号、同第６，３９１，８７４号、同第６，３４４，４５５号、同第５，７６０，０４１号、同第６，００２，００８号、及び同第５，７４７，４９８号、ならびに以下のＰＣＴ公報ＷＯ９８／１４４５１、ＷＯ９８／５００３８、ＷＯ９９／０９０１６、及びＷＯ９９／２４０３７に記載の化合物等の小分子を含む。特定の小分子ＥＧＦＲアンタゴニストとしては、ＯＳＩ－７７４（ＣＰ－３５８７７４、エルロチニブ、ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標）Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／ＯＳＩ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ

ｓ））、ＰＤ１８３８０５（ＣＩ１０３３、２－プロペンアミド、Ｎ－［４－［（３－クロロ－４－フルオロフェニル）アミノ］－７－［３－（４－モルホリニル）プロポキシ］－６－キナゾリニル］－、二塩酸塩、Ｐｆｉｚｅｒ　Ｉｎｃ．）、ＺＤ１８３９、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標））４－（３’－クロロ－４’－フルオロアニリノ）－７－メトキシ－６－（３－モルホリノプロポキシ）キナゾリン、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＺＭ１０５１８０（（６－アミノ－４－（３－メチルフェニル－アミノ）－キナゾリン、Ｚｅｎｅｃａ）、ＢＩＢＸ－１３８２（Ｎ８－（３－クロロ－４－フルオロ－フェニル）－Ｎ２－（１－メチル－ピペリジン－４－イル）－ピリミド［５，４－ｄ］ピリミジン－２，８－ジアミン、Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ）、ＰＫＩ－１６６（（Ｒ）－４－［４－［（１－フェニルエチル）アミノ］－１Ｈ－ピロロ［２，３－ｄ］ピリミジン－６－イル］－フェノール）、（Ｒ）－６－（４－ヒドロキシフェニル）－４－［（１－フェニルエチル）アミノ］－７Ｈ－ピロロ［２，３－ｄ］ピリミジン）、ＣＬ－３８７７８５（Ｎ－［４－［（３－ブロモフェニル）アミノ］－６－キナゾリニル］－２－ブチンアミド）、ＥＫＢ－５６９（Ｎ－［４－［（３－クロロ－４－フルオロフェニル）アミノ］－３－シアノ－７－エトキシ－６－キナゾリニル］－４－（ジメチルアミノ）－２－ブチンアミド）（Ｗｙｅｔｈ）、ＡＧ１４７８（Ｐｆｉｚｅｒ）、ＡＧ１５７１（ＳＵ　５２７１、Ｐｆｉｚｅｒ）、二重ＥＧＦＲ／ＨＥＲ２チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、ラパチニブ（ＴＹＫＥＲＢ（登録商標）、ＧＳＫ５７２０１６またはＮ－［３－クロロ－４－［（３－フルオロフェニル）メトキシ］フェニル］－６［５［［［２－メチルスルホニル）エチル］アミノ］メチル］－２－フラニル］－４－キナゾリンアミン）が挙げられる。

【００８０】

化学療法剤としては、「チロシンキナーゼ阻害剤」、例えば、前段落に記載のＥＧＦＲ標的薬物、小分子ＨＥＲ２チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、Ｔａｋｅｄａから入手可能なＴＡＫ１６５、ＣＰ－７２４，７１４、ＥｒｂＢ２受容体チロシンキナーゼの経口選択的阻害剤（Ｐｆｉｚｅｒ及びＯＳＩ）、二重ＨＥＲ阻害剤、例えば、ＥＧＦＲに優先的に結合するが、ＨＥＲ２及びＥＧＦＲ過剰発現細胞の両方を阻害するＥＫＢ－５６９（Ｗｙｅｔｈから入手可能）、ラパチニブ（ＧＳＫ５７２０１６、Ｇｌａｘｏ－ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅから入手可能）、経口ＨＥＲ２及びＥＧＦＲチロシンキナーゼ阻害剤、ＰＫＩ－１６６（Ｎｏｖａｒｔｉｓから入手可能）、ｐａｎ－ＨＥＲ阻害剤、例えば、カネルチニブ（ＣＩ－１０３３、Ｐｈａｒｍａｃｉａ）、Ｒａｆ－１阻害剤、例えば、Ｒａｆ－１シグナル伝達を阻害するＩＳＩＳ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓから入手可能なアンチセンス薬剤ＩＳＩＳ－５１３２、非ＨＥＲ標的ＴＫ阻害剤、例えば、メシル酸イマチニブ（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標）、Ｇｌａｘｏ　ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅから入手可能）、多標的チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、スニチニブ（ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、Ｐｆｉｚｅｒから入手可能）、ＶＥＧＦ受容体チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、バタラニブ（ＰＴＫ７８７／ＺＫ２２２５８４、Ｎｏｖａｒｔｉｓ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ　ＡＧから入手可能）、ＭＡＰＫ細胞外制御キナーゼＩ阻害剤ＣＩ－１０４０（Ｐｈａｒｍａｃｉａから入手可能）、キナゾリン、例えば、ＰＤ　１５３０３５，４－（３－クロロアニリノ）キナゾリン、ピリドピリミジン、ピリミドピリミジン、ピロロピリミジン、例えば、ＣＧＰ　５９３２６、ＣＧＰ　６０２６１、及びＣＧＰ　６２７０６、ピラゾロピリミジン、４－（フェニルアミノ）－７Ｈ－ピロロ［２，３－ｄ］ピリミジン、クルクミン（ジフェルロイルメタン、４，５－ビス（４－フルオロアニリノ）フタルイミド）、ニトロチオフェン部分を含有するチルホスチ、ＰＤ－０１８３８０５（Ｗａｒｎｅｒ－Ｌａｍｂｅｒ）、アンチセンス分子（例えば、ＨＥＲコード核酸に結合するもの）、キノキサリン（米国特許第５，８０４，３９６号）、チルホスチン（米国特許第５，８０４，３９６号）、ＺＤ６４７４（Ａｓｔｒａ　Ｚｅｎｅｃａ）、ＰＴＫ－７８７（Ｎｏｖａｒｔｉｓ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ　ＡＧ）、ｐａｎ－ＨＥＲ阻害剤、例えば、ＣＩ－１０３３（Ｐｆｉｚｅｒ）、Ａｆｆｉｎｉｔａｃ（ＩＳＩＳ　３５２１、Ｉｓｉｓ／Ｌｉｌｌｙ）、メシル酸イマチニブ（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標））、ＰＫＩ１６６（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＧＷ２０１６（

Ｇｌａｘｏ　ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、ＣＩ－１０３３（Ｐｆｉｚｅｒ）、ＥＫＢ－５６９（Ｗｙｅｔｈ）、セマキシニブ（Ｐｆｉｚｅｒ）、ＺＤ６４７４（ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＰＴＫ－７８７（Ｎｏｖａｒｔｉｓ／Ｓｃｈｅｒｉｎｇ　ＡＧ）、ＩＮＣ－１Ｃ１１（Ｉｍｃｌｏｎｅ）、ラパマイシン（シロリムス、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標））、または以下の特許公報：米国特許第５，８０４，３９６号、ＷＯ１９９９／０９０１６（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｙａｎａｍｉｄ）、ＷＯ１９９８／４３９６０（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｙａｎａｍｉｄ）、ＷＯ１９９７／３８９８３（Ｗａｒｎｅｒ　Ｌａｍｂｅｒｔ）、ＷＯ１９９９／０６３７８（Ｗａｒｎｅｒ　Ｌａｍｂｅｒｔ）、ＷＯ１９９９／０６３９６（Ｗａｒｎｅｒ　Ｌａｍｂｅｒｔ）、ＷＯ１９９６／３０３４７（Ｐｆｉｚｅｒ，Ｉｎｃ）、ＷＯ１９９６／３３９７８（Ｚｅｎｅｃａ）、ＷＯ１９９６／３３９７（Ｚｅｎｅｃａ）、及びＷＯ１９９６／３３９８０（Ｚｅｎｅｃａ）のいずれかに記載のものも挙げられる。

【００８１】

化学療法剤としては、デキサメタゾン、インターフェロン、コルヒチン、メトプリン、シクロスポリン、アンホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、ＢＣＧ生、ベバシズマブ、ベキサロテン、クラドリビン、クロファラビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキン、デクスラゾキサン、エポエチンアルファ、エルロチニブ、フィルグラスチム、酢酸ヒストレリン、イブリツモマブ、インターフェロンアルファ－２ａ、インターフェロンアルファ－２ｂ、レナリドミド、レバミゾール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン、ネララビン、ノフェツモマブ、オプレルベキン、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマーゼ、ペグアスパラガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド二ナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスブリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、ＶＭ－２６、６－ＴＧ、トレミフェン、トレチノイン、ＡＴＲＡ、バルルビシン、ゾレドロネート、及びゾレドロン酸、ならびにそれらの薬学的に許容される塩も挙げられる。

【００８２】

化学療法剤としては、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾン、ピバル酸チキソコルトール、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ベタメタゾン、ベタメタゾンリン酸ナトリウム、デキサメタゾン、デキサメタゾンリン酸ナトリウム、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン－１７－ブチレート、ヒドロコルチゾン－１７－バレレート、ジプロピオン酸アルクロメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、ジプロピオン酸ベタメタゾン、プレドニカルベート、クロベタゾン－１７－ブチレート、クロベタゾール－１７－プロピオネート、フルオコルトロンカプロエート、ピバル酸フルオコルトロン、及び酢酸フルプレドニデン、免疫選択的抗炎症性ペプチド（ＩｍＳＡＩＤ）、例えば、フェニルアラニン－グルタミン－グリシン（ＦＥＧ）及びそのＤ－異性体形態（ｆｅＧ）（ＩＭＵＬＡＮ　ＢｉｏＴｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、ＬＬＣ）、抗リウマチ薬、例えば、アザチオプリン、シクロスポリン（シクロスポリンＡ）、Ｄ－ペニシラミン、金塩、ヒドロキシクロロキン、レフルノミドミノサイクリン、スルファサラジン、腫瘍壊死因子アファ（ＴＮＦα）遮断薬、例えば、エタネルセプト（Ｅｎｂｒｅｌ）、インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）、アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ）、セルトリズマブペゴル（Ｃｉｍｚｉａ）、ゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ）、インターロイキン１（ＩＬ－１）遮断薬、例えば、アナキンラ（Ｋｉｎｅｒｅｔ）、Ｔ細胞共刺激遮断薬、例えば、アバタセプト（Ｏｒｅｎｃｉａ）、インターロイキン６（ＩＬ－６）遮断薬、例えば、トシリズマブ（ＡＣＴＥＭＥＲＡ（登録商標））、インターロイキン１３（ＩＬ－１３）遮断薬、例えば、レブリキズマブ、インターフェロンアルファ（ＩＦＮ）遮断薬、例えば、ロンタリズマブ、ベータ７インテグリン遮断薬、例えば、ｒｈｕＭＡｂベータ７、ＩｇＥ経路遮断薬、例えば、抗Ｍ１プライム分泌型ホモ三量体ＬＴａ３及び膜結合型ヘテロ三量体ＬＴａ１／β２遮断薬、例えば、抗リンホトキシンアルファ（ＬＴａ）、放射性同位体

（例えば、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}、及び放射性同位体Ｌｕ）、種々の治験薬、例えば、チオプラチン、ＰＳ－３４１、フェニルブチレート、ＥＴ－１８－OCH_3、またはファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（Ｌ－７３９７４９、Ｌ－７４４８３２）、ポリフェノール、例えば、ケルセチン、レスベラトロール、ピセアタンノール、没食子酸エピガロカテキン、テアフラビン、フラバノール、プロシアニジン、ベツリン酸、及びそれらの誘導体、オートファジー阻害剤、例えば、クロロキン、デルタ－９－テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、ＭＡＲＩＮＯＬ（登録商標））、ベーターラパコン、ラパコール、コルヒチン、ベツリン酸、アセチルカンプトテシン、スコポレチン、及び９－アミノカンプトテシン）、ポドフィロトキシン、テガフール（ＵＦＴＯＲＡＬ（登録商標））、ベキサロテン（ＴＡＲＧＲＥＴＩＮ（登録商標））、ビスホスホネート、例えば、クロドロネート（例えば、ＢＯＮＥＦＯＳ（登録商標）またはＯＳＴＡＣ（登録商標））、エチドロネート（ＤＩＤＲＯＣＡＬ（登録商標））、ＮＥ－５８０９５、ゾレドロン酸／ゾレドロネート（ＺＯＭＥＴＡ（登録商標））、アレンドロネート（ＦＯＳＡＭＡＸ（登録商標））、パミドロネート（ＡＲＥＤＩＡ（登録商標））、チルドロネート（ＳＫＥＬＩＤ（登録商標））、またはリセドロネート（ＡＣＴＯＮＥＬ（登録商標））、ならびに表皮成長因子受容体（ＥＧＦ－Ｒ）、ワクチン、例えば、ＴＨＥＲＡＴＯＰＥ（登録商標）ワクチン、ペリホシン、ＣＯＸ－２阻害剤（例えば、セレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えば、ＰＳ３４１）、ＣＣＩ－７７９、チピファルニブ（Ｒ１１５７７）、オラフェニブ、ＡＢＴ５１０、Ｂｃｌ－２阻害剤、例えば、オブリメルセンナトリウム（ＧＥＮＡＳＥＮＳＥ（登録商標））、ピキサントロン、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、例えば、ロナファルニブ（ＳＣＨ６６３６、ＳＡＲＡＳＡＲ（商標））、ならびに上述のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体、ならびに上述の２つ以上の組み合わせ、例えば、ＣＨＯＰ（シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、及びプレドニゾロンの併用療法の略語）、及びＦＯＬＦＯＸ（オキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮ（商標））と５－ＦＵ及びロイコボリンとの併用での治療レジメンの略語）も挙げられる。

【００８３】

化学療法剤としては、鎮痛、解熱、及び抗炎症作用を有する非ステロイド性抗炎症性薬物も挙げられる。ＮＳＡＩＤとしては、酵素シクロオキシゲナーゼの非選択的阻害剤を含む。ＮＳＡＩＤの具体的な例としては、アスピリン、プロピオン酸誘導体、例えば、イブプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン、及びナプロキセン、酢酸誘導体、例えば、インドメタシン、スリンダク、エトドラク、ジクロフェナク、エノール酸誘導体、例えば、ピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ドロキシカム、ロルノキシカム、及びイソキシカム、フェナム酸誘導体、例えば、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、トルフェナム酸、ならびにＣＯＸ－２阻害剤、例えば、セレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、パレコキシブ、ロフェコキシブ、ロフェコキシブ、及びバルデコキシブが挙げられる。ＮＳＡＩＤは、リウマチ性関節炎、変形性関節炎、炎症性関節症、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、ライター症候群、急性痛風、月経困難症、転移性骨痛、頭痛及び片頭痛、術後疼痛、炎症及び組織損傷に起因する軽度～中程度の疼痛、発熱、腸閉塞症、ならびに腎疝痛等の状態の症状軽減のために必要とされ得る。

【００８４】

本明細書で使用されるとき、「成長阻害剤」とは、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞の成長を阻害する化合物または組成物を指す。一実施形態では、成長阻害剤は、抗体が結合する抗原を発現する細胞の増殖を予防または低減する成長阻害抗体である。別の実施形態では、成長阻害剤は、Ｓ期の細胞の割合を著しく減少させるものであり得る。成長阻害剤の例としては、細胞周期進行（Ｓ期以外の場所で）を遮断する薬剤、例えば、Ｇ１停止及びＭ期停止を誘導する薬剤が挙げられる。古典的なＭ期遮断薬としては、ビンカ（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン、及びトポイソメラーゼＩＩ阻害剤

、例えば、ドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンが挙げられる。Ｇ１を停止する薬剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、５－フルオロウラシル、及びａｒａ－Ｃ等のＤＮＡアルキル化剤は、Ｓ期停止にも波及する。さらなる情報は、ＭｕｒａｋａｍｉらのＭｅｎｄｅｌｓｏｈｎ ａｎｄ Ｉｓｒａｅｌ，ｅｄｓ．，Ｔｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ、第１章、表題「Ｃｅｌｌ ｃｙｃｌｅ ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ，ｏｎｃｏｇｅｎｅｓ，ａｎｄ ａｎｔｉｎｅｏｐｌａｓｔｉｃ ｄｒｕｇｓ」（Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，１９９５）、例えば、１３頁で見つけることができる。タキサン（パクリタキセル及びドセタキセル）は、いずれもイチイ由来の抗癌薬である。ヨーロッパイチイ由来のドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）、Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ Ｒｏｒｅｒ）は、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体由来の微小管の構築を促進し、脱重合を阻止することによって微小管を安定させ、細胞内での有糸分裂を阻害する。

【００８５】

「放射線療法」とは、正常に機能するか、または細胞を完全に破壊する能力を制限するように細胞に十分な損傷を誘導するための指向性ガンマ線またはベータ線の使用を意味する。多くの投薬量及び治療期間を決定するための当該技術分野で既知の方法が多く存在することが理解される。典型的な治療は、１回投与として与えられ、典型的な投薬量は、１日１０～２００単位（グレイ）の範囲である。

【００８６】

治療目的のための「対象」または「個体」とは、哺乳動物、例えば、ヒト、飼育動物及び家畜、ならびに動物園、競技用、または愛玩動物、例えば、イヌ、ウマ、ネコ、ウシ等に分類される任意の動物を指す。好ましくは、哺乳動物は、ヒトである。

【００８７】

本明細書における「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、具体的には、それらが所望の生物学的活性を呈する限り、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体等）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を包含する。

【００８８】

「単離された」抗体とは、その自然環境の成分から特定及び分離され、かつ／または回収された抗体である。その自然環境の汚染物質成分は、抗体の研究的、診断的、または治療的使用を妨害するであろう物質であり、それらとしては、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性または非タンパク質性溶質が挙げられる。いくつかの実施形態では、抗体は、（１）例えば、ローリー法によって決定される、９５重量％超、いくつかの実施形態では、９９重量％超の抗体になるまで、（２）例えば、スピニングカップシークエネーターを使用して、Ｎ末端または内部アミノ酸配列の少なくとも１５個の残基を得るのに十分な程度まで、または（３）例えば、クマシーブルーまたはシルバー染色を使用して、還元または非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥによって均質性が得られるまで精製される。単離された抗体は、抗体の自然環境の少なくとも１つの成分が存在しないため、組換え細胞内のインサイツ抗体を含む。しかしながら、通常、単離された抗体は、少なくとも１つの精製ステップによって調製される。

【００８９】

「天然抗体」は、通常、２つの同一の軽（Ｌ）鎖及び２つの同一の重（Ｈ）鎖から成る、約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。各軽鎖が１つのジスルフィド共有結合により重鎖に連結される一方で、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で異なる。各重鎖及び軽鎖は、規則的に離間した鎖間ジスルフィド架橋も有する。各重鎖は、一方の端に可変ドメイン（V_H）を有し、いくつかの定常ドメインが続く。各軽鎖は、一方の端に可変ドメイン（V_L）を有し、他方の端に定

常ドメインを有し、軽鎖の定常ドメインは重鎖の第１の定常ドメインと整列し、軽鎖可変ドメインは重鎖の可変ドメインと整列する。特定のアミノ酸残基は、軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの間に界面を形成すると考えられている。

【００９０】

「定常ドメイン」という用語は、抗原結合部位を含有する可変ドメインである免疫グロブリンの他の部分と比較してより保存されたアミノ酸配列を有する免疫グロブリン分子の部分を指す。定常ドメインは、重鎖C_H1、C_H2、及びC_H3ドメイン（集合的に、ＣＨ）、ならびに軽鎖ＣＨＬ（またはＣＬ）ドメインを含有する。

【００９１】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」とは、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを指す。重鎖可変ドメインは、「V_H」と称され得る。軽鎖可変ドメインは、「V_L」と称され得る。これらのドメインは、一般に、抗体の最も可変の部分であり、抗原結合部位を含有する。

【００９２】

「可変」という用語は、可変ドメインのある特定の部分の配列が抗体間で広く異なり、かつ各特定の抗体のその特定の抗原に対する結合及び特異性において使用されるという事実を指す。しかしながら、可変性は、抗体の可変ドメイン全体にわたって均等に分布していない。これは、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインの両方における超可変領域（ＨＶＲ）と呼ばれる３つのセグメントに集中している。可変ドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々、ベーターシート構造を接続し、かついくつかの場合では、ベーターシート構造の一部を形成するループを形成する３つのＨＶＲによって接続されたベータシート立体配置を大いに採用する４つのＦＲ領域を含む。各鎖内のＨＶＲは、ＦＲ領域によって近接近して一緒に保持され、他方の鎖由来のＨＶＲとともに、抗抗の抗原結合部位の抗原結合部位の形成に寄与する（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１）を参照のこと）。定常ドメインは、抗体の抗原への結合に直接関与していないが、抗体の抗体依存性細胞毒性への関与等の様々なエフェクター機能を呈する。

【００９３】

任意の哺乳類種由来の抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいてカッパ（「κ」）及びラムダ（「λ」）と呼ばれる２つの明らかに異なる型のうちの一方に割り当てられ得る。

【００９４】

本明細書で使用されるＩｇＧ「アイソタイプ」または「サブクラス」という用語は、それらの定常領域の化学的及び抗原的特性によって定義される免疫グロブリンのサブクラスのうちのいずれかを意味する。

【００９５】

それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、抗体（免疫グロブリン）は、異なるクラスに割り当てられ得る。免疫グロブリンには５つの主なクラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭが存在し、これらのうちのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2にさらに分類され得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、γ、ε、γ、及びμと呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造及び三次元立体配置は周知であり、概して、例えば、Ａｂｂａｓ ｅｔ ａｌ．Ｃｅｌｌｕｌａｒ ａｎｄ Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，４ｔｈ ｅｄ．（Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ，Ｃｏ．，２０００）に記載されている。抗体は、抗体と１つ以上の他のタンパク質またはペプチドとの共有または非共有会合によって形成されるより大きい融合分子の一部であり得る。

【００９６】
「全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」という用語は、以下に記載の抗体断片ではない、その実質的にインタクトな形態の抗体を指すために本明細書で同義に使用される。これらの用語は、具体的には、Ｆｃ領域を含有する重鎖を有する抗体を指す。
【００９７】
本明細書における目的のための「ネイキッド抗体」は、細胞毒性部分または放射標識にコンジュゲートしていない抗体である。
【００９８】
「抗体断片」は、好ましくはその抗原結合領域を含む、インタクトな抗体の一部を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体断片は、抗原結合断片である。抗体断片の例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ′、Ｆ（ａｂ′）$_2$、及びＦｖ断片、ダイアボディ、直鎖状抗体、一本鎖抗体分子、ならびに抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。
【００９９】
抗体のパパイン消化により、各々単一の抗原結合部位を有する「Ｆａｂ」断片と、容易に結晶化するその能力を反映して命名された残りの「Ｆｃ」断片と呼ばれる２つの同一の抗原結合断片が産生される。ペプシン処理により、２つの抗原結合部位を有し、かつ依然として抗原を架橋することができるＦ（ａｂ′）$_2$断片がもたらされる。
【０１００】
「Ｆｖ」とは、完全な抗原結合部位を含有する最小の抗体断片である。一実施形態では、二本鎖Ｆｖ種は、密接に非共有会合した１つの重鎖可変ドメイン及び１つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）種において、１つの重鎖可変ドメイン及び１つの軽鎖可変ドメインは、軽鎖及び重鎖が二本鎖Ｆｖ種における構造に類似の「二量体」構造で会合し得るように、可動性ペプチドリンカーによって共有結合し得る。各可変ドメインの３つのＨＶＲが相互作用してＶＨ－ＶＬ二量体の表面上の抗原結合部位を定義するのは、この立体配置においてである。集合的に、６つのＨＶＲが抗体に抗原結合特異性を与える。しかしながら、全結合部位よりも低い親和性であるが、単一の可変ドメイン（または抗原に特異的なＨＶＲを３つしか含まないＦｖの半分）でさえも、抗原を認識し、それに結合する能力を有する。
【０１０１】
Ｆａｂ断片は、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含有し、軽鎖定常ドメイン及び第１の重鎖定常ドメイン（ＣＨ１）も含有する。Ｆａｂ′断片は、抗体ヒンジ領域由来の１つ以上のシステインを含む重鎖ＣＨ１ドメインのカルボキシ末端に数個の残基が付加されているという点でＦａｂ断片とは異なる。Ｆａｂ′－ＳＨとは、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が遊離チオール基を持つＦａｂ′の本明細書における指名である。Ｆ（ａｂ′）$_2$抗体断片は、元来、間にヒンジシステインを有するＦａｂ′断片の対として産生された。抗体断片の他の化学的カップリングも既知である。
【０１０２】
「一本鎖Ｆｖ」または「ｓｃＦｖ」抗体断片は、抗体のＶＨ及びＶＬドメインを含み、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖内に存在する。一般に、ｓｃＦｖポリペプチドは、ＶＨドメインとＶＬドメインとの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、これにより、ｓｃＦｖが抗原結合に望ましい構造を形成することが可能になる。ｓｃＦｖの概説については、例えば、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ　ｅｄｓ．，（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，１９９４），ｐｐ．２６９－３１５を参照されたい。
【０１０３】
「ダイアボディ」という用語は、２つの抗原結合部位を有する抗体断片を指し、これらの断片は、同じポリペプチド鎖内の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）に接続した重鎖可変ドメイン（ＶＨ）（ＶＨ－ＶＬ）を含む。同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能にするには

短すぎるリンカーを使用することにより、これらのドメインは、別の鎖の相補的ドメインと対合させられ、２つの抗原結合部位を作製する。ダイアボディは、二価または二重特異性であり得る。ダイアボディについては、例えば、ＥＰ４０４，０９７、ＷＯ１９９３／０１１６１、Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）、及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８（１９９３）により完全に記載されている。トリアボディ及びテトラボディについても、Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）に記載されている。

【０１０４】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指し、例えば、その集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る可能な変異、例えば、天然に存在する変異を除いて同一である。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、別個の抗体の混合物ではないという抗体の特徴を示す。ある特定の実施形態では、かかるモノクローナル抗体は、典型的には、標的に結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列からの標的結合ポリペプチド配列の選択を含むプロセスによって得られたものである。例えば、この選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、または組換えＤＮＡクローンのプール等の複数のクローンからの特有のクローンの選択であり得る。選択された標的結合配列が、例えば、標的への親和性を改善し、標的結合配列をヒト化し、細胞培養におけるその産生を改善し、インビボでのその免疫原性を低減し、多重特異性抗体を作製するようにさらに改変されてもよく、かつ改変された標的結合配列を含む抗体が本発明のモノクローナル抗体でもあることを理解されたい。異なる決定基（エピトープ）に対して指向される異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向される。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体調製物は、それらが典型的には他の免疫グロブリンで汚染されていないという点で有利である。

【０１０５】

「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体集団から得られるという抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマ法（例えば、Ｋｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５－９７（１９７５）、Ｈｏｎｇｏ ｅｔ ａｌ．，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ，１４（３）：２５３－２６０（１９９５）、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）、Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３－６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１））、組換えＤＮＡ法（例えば、米国特許第４，８１６，５６７号を参照のこと）、ファージディスプレイ技術（例えば、Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４－６２８（１９９１）、Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９２）、Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０（２００４）、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３（２００４）、Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（３４）：１２４６７－１２４７２（２００４）、及びＬｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９－１３２（２００４）を参照のこと）、及びヒト免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子座または遺伝子の一部または全てを有する動物におけるヒト抗体またはヒト様抗体の産生技術（例えば、ＷＯ１９９８／２４８９３、ＷＯ１９９６／３４０９６、ＷＯ１９９６／３３７３５、ＷＯ１９９１／１０７４１、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：２

５５１（１９９３）、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３６２：２５５－２５８（１９９３）、Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．７：３３（１９９３）、米国特許第５，５４５，８０７号、同第５，５４５，８０６号、同第５，５６９，８２５号、同第５，６２５，１２６号、同第５，６３３，４２５号、及び同第５，６６１，０１６号、Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／技術 １０：７７９－７８３（１９９２）、Ｌｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８５６－８５９（１９９４）、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８１２－８１３（１９９４）、Ｆｉｓｈｗｉｌｄ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１４：８４５－８５１（１９９６）、Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１４：８２６（１９９６）、ならびにＬｏｎｂｅｒｇ ａｎｄ Ｈｕｓｚａｒ，Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５－９３（１９９５）を参照のこと）等の様々な技法によって作製され得る。

【０１０６】

本明細書におけるモノクローナル抗体は、具体的には、所望の生物学的活性を呈する限り、重鎖及び／または軽鎖の一部が特定の種由来の抗体または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または同種である一方で、鎖（複数可）の残りが別の種由来の抗体または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または同種である「キメラ」抗体、ならびにかかる抗体の断片を含む（例えば、米国特許第４，８１６，５６７号、及びＭｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８１：６８５１－６８５５（１９８４）を参照のこと）。キメラ抗体としては、ＰＲＩＭＡＴＴＺＥＤ（登録商標）抗体が挙げられ、この抗体の抗原結合領域は、例えば、マカクザルを目的とする抗原で免疫化することによって産生された抗体由来である。

【０１０７】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小限の配列を含有するキメラ抗体である。一実施形態では、ヒト化抗体は、レシピエントのＨＶＲ由来の残基が、所望の特異性、親和性、及び／または能力を有するマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類等の非ヒト種（ドナー抗体）のＨＶＲ由来の残基により置き換えられるヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンのＦＲ残基は、対応する非ヒト残基により置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見られない残基を含み得る。これらの修飾を加えて、抗体の性能をさらに洗練させることができる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも１つ、典型的には、２つの可変ドメインのうちの実質的に全てを含み、超可変ループのうちの全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンの超可変ループに対応し、ＦＲのうちの全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のＦＲである。ヒト化抗体は、任意に、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的には、ヒト免疫グロブリンのＦｃの少なくとも一部も含む。さらなる詳細については、例えば、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５（１９８６）、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）、及びＰｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．２：５９３－５９６（１９９２）を参照されたい。例えば、Ｖａｓｗａｎｉ ａｎｄ Ｈａｍｉｌｔｏｎ，Ａｎｎ．Ａｌｌｅｒｇｙ，Ａｓｔｈｍａ ＆ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１：１０５－１１５（１９９８）、Ｈａｒｒｉｓ，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ ２３：１０３５－１０３８（１９９５）、Ｈｕｒｌｅ ａｎｄ Ｇｒｏｓｓ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．５：４２８－４３３（１９９４）、ならびに米国特許第６，９８２，３２１号及び同第７，０８７，４０９号も参照されたい。

【０１０８】

「ヒト抗体」とは、ヒトによって産生され、かつ／または本明細書に開示されるヒト抗体を作製するための技法のうちのいずれかを使用して作製された抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有する抗体である。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を

含むヒト化抗体を明確に除外する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリ等の当該技術分野で既知の様々な技法を使用して産生され得る。Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１（１９９１）、Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１（１９９１）。Ｃｏｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，ｐ．７７（１９８５）、Ｂｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７（１）：８６－９５（１９９１）に記載の方法も、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能である。ｖａｎ Ｄｉｊｋ ａｎｄ ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，５：３６８－７４（２００１）も参照されたい。ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答してかかる抗体を産生するように修飾されているが、その内因性遺伝子座が無効化されているトランスジェニック動物、例えば、免疫化異種マウスに抗原を投与することによって調製することができる（例えば、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術については、米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号を参照のこと）。ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術によって生成されるヒト抗体については、例えば、Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７－３５６２（２００６）も参照されたい。

【０１０９】

「種依存性抗体」は、第２の哺乳類種由来の抗原の相同体に対する結合親和性よりも強い第１の哺乳類種由来の抗原に対する結合親和性を有する抗体である。通常、種依存性抗体は、ヒト抗原に「特異的に結合する」（例えば、約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、好ましくは約１×１０$^{-8}$Ｍ以下、好ましくは約１×１０$^{-9}$Ｍ以下の結合親和性（Ｋｄ）値を有する）が、ヒト抗原に対する結合親和性よりも少なくとも約５０倍、または少なくとも約５００倍、または少なくとも約１０００倍弱い第２の非ヒト哺乳類種由来の抗原の相同体に対する結合親和性を有する。種依存性抗体は、上で定義される様々な種類の抗体のうちのいずれかであり得るが、好ましくは、ヒト化抗体またはヒト抗体である。

【０１１０】

本明細書で使用されるとき、「超可変領域」、「ＨＶＲ」、または「ＨＶ」という用語は、配列が超可変性であり、かつ／または構造的に定義されたループを形成する抗体可変ドメインの領域を指す。一般に、抗体は、６つのＨＶＲを含み、３つがＶＨ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）にあり、３つがＶＬ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）にある。天然抗体において、Ｈ３及びＬ３が６つのＨＶＲの最も高い多様性を呈し、特にＨ３が抗体に優れた特異性を与える上で特有の役割を果たすと考えられる。例えば、Ｘｕ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｉｔｙ １３：３７－４５（２０００）、Ｊｏｈｎｓｏｎ ａｎｄ Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２４８：１－２５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００３）を参照されたい。実際には、重鎖のみからなる天然に存在するラクダ抗体は、軽鎖の不在下で機能的であり、安定している。例えば、Ｈａｍｅｒｓ－Ｃａｓｔｅｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３６３：４４６－４４８（１９９３）、Ｓｈｅｒｉｆｆ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．３：７３３－７３６（１９９６）を参照されたい。

【０１１１】

いくつかのＨＶＲ描写が本明細書で使用され、本明細書に包含される。Ｋａｂａｔ相補性決定領域（ＣＤＲ）は、配列可変性に基づき、最も一般に使用されている（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１））。Ｃｈｏｔｈｉａは、代わりに、構造的ループの位置について言及している（Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７））。ＡｂＭ ＨＶＲは、Ｋａｂａｔ ＨＶＲとＣｈｏｔｈｉａ構造的ループとの間の妥協案を示し、Ｏｘｆｏｒｄ ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モデリングソフトウェアによって使用される。「接触」ＨＶＲは、利用可能な複合体結

晶構造の分析に基づく。これらのＨＶＲの各々由来の残基が以下に記載される。

ループ	Ｋａｂａｔ	ＡｂＭ	Ｃｈｏｔｈｉａ	接触
Ｌ１	Ｌ２４－Ｌ３４	Ｌ２４－Ｌ３４	Ｌ２６－Ｌ３２	Ｌ３０－Ｌ３６
Ｌ２	Ｌ５０－Ｌ５６	Ｌ５０－Ｌ５６	Ｌ５０－Ｌ５２	Ｌ４６－Ｌ５５
Ｌ３	Ｌ８９－Ｌ９７	Ｌ８９－Ｌ９７	Ｌ９１－Ｌ９６	Ｌ８９－Ｌ９６
Ｈ１	Ｈ３１－Ｈ３５Ｂ	Ｈ２６－Ｈ３５Ｂ	Ｈ２６－Ｈ３２	Ｈ３０－Ｈ３５Ｂ（Ｋａｂａｔ番号付け）
Ｈ１	Ｈ３１－Ｈ３５	Ｈ２６－Ｈ３５	Ｈ２６－Ｈ３２	Ｈ３０－Ｈ３５（Ｃｈｏｔｈｉａ番号付け）
Ｈ２	Ｈ５０－Ｈ６５	Ｈ５０－Ｈ５８	Ｈ５３－Ｈ５５	Ｈ４７－Ｈ５８
Ｈ３	Ｈ９５－Ｈ１０２	Ｈ９５－Ｈ１０２	Ｈ９６－Ｈ１０１	Ｈ９３－Ｈ１０１

【０１１２】

ＨＶＲは、以下の「伸長ＨＶＲ」を含み得る：ＶＬにおいて、２４－３６または２４－３４（Ｌ１）、４６－５６または５０－５６（Ｌ２）、及び８９－９７または８９－９６（Ｌ３）、ならびにＶＨにおいて、２６－３５（Ｈ１）、５０－６５または４９－６５（Ｈ２）、及び９３－１０２、９４－１０２、または９５－１０２（Ｈ３）。可変ドメイン残基は、これらの定義の各々について、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．（上記参照）に従って番号付けされる。

【０１１３】

「フレームワーク」または「ＦＲ」残基は、本明細書で定義されるＨＶＲ残基以外の可変ドメイン残基である。

【０１１４】

「Ｋａｂａｔにあるような可変ドメイン残基番号付け」または「Ｋａｂａｔにあるようなアミノ酸位置番号付け」という用語、及びそれらの変形は、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．（上記参照）における抗体の編集物の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに使用される番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを使用して、実際の直鎖状アミノ酸配列は、可変ドメインのＦＲもしくはＨＶＲの短縮、またはそれへの挿入に対応するより少ないアミノ酸または追加のアミノ酸を含有し得る。例えば、重鎖可変ドメインは、Ｈ２の残基５２の後に単一のアミノ酸挿入（Ｋａｂａｔに従う残基５２ａ）を含み、重鎖ＦＲ残基８２の後に挿入された残基（例えば、Ｋａｂａｔに従う残基８２ａ、８２ｂ、及び８２ｃ等）を含み得る。残基のＫａｂａｔ番号付けは、所与の抗体に対して、抗体の配列と「標準の」Ｋａｂａｔによって番号付けされた配列との相同領域での整列によって決定され得る。

【０１１５】

Ｋａｂａｔ番号付けシステムは、一般に、可変ドメインにおける残基（大体、軽鎖の残基１～１０７及び重鎖の残基１～１１３）について言及する際に使用される（例えば、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ．５ｔｈ　Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１））。「ＥＵ番号付けシステム」または「ＥＵ指標」は、一般に、免疫グロブリン重鎖定常領域における残基について言及する際に使用される（例えば、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．（上記参照）で報告されるＥＵ指標）。「ＫａｂａｔにあるようなＥＵ指標」

とは、ヒトＩｇＧ１　ＥＵ抗体の残基番号付けを指す。

【０１１６】

「直鎖状抗体」という表現は、Ｚａｐａｔａ　ｅｔ　ａｌ．（１９９５　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ，８（１０）：１０５７－１０６２）に記載の抗体を指す。簡潔には、これらの抗体は、相補的軽鎖ポリペプチドと一緒になって一対の抗原結合領域を形成する一対のタンデムＦｄセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）を含む。直鎖状抗体は、二重特異性または単一特異性であり得る。

【０１１７】

本明細書で使用されるとき、「結合する」、「に特異的に結合する」、または「に特異的な」という用語は、生物学的分子等の異種分子集団の存在下で標的の存在を決定する標的と抗体との間の結合等の測定可能かつ再現可能な相互作用を指す。例えば、標的（エピトープであり得る）に結合するか、またはそれに特異的に結合する抗体は、この標的に、それが他の標的に結合するよりも高い親和性で、結合力で、より容易に、かつ／またはより長期間結合する抗体である。一実施形態では、抗体の無関係の標的への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）によって測定される、抗体の標的への結合の約１０％未満である。ある特定の実施形態では、標的に特異的に結合する抗体は、１μＭ以下、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、または０．１ｎＭ以下の解離定数（Ｋｄ）を有する。ある特定の実施形態では、抗体は、異なる種由来のタンパク質間で保存されるタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。別の実施形態では、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、それを必要としない。

【０１１８】

「検出」という用語は、直接及び間接的検出を含む、任意の検出手段を含む。

【０１１９】

本明細書で使用される「バイオマーカー」という用語は、試料中で検出され得る指標、例えば、予測指標、診断指標、及び／または予後指標を指す。バイオマーカーは、ある特定の分子的、病理学的、組織学的、及び／または臨床的特徴によって特徴付けられる疾患または障害（例えば、癌）の特定のサブタイプの指標としての機能を果たし得る。いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、遺伝子である。バイオマーカーとしては、ポリヌクレオチド（例えば、ＤＮＡ及び／もしくはＲＮＡ）、ポリヌクレオチドコピー数改変（例えば、ＤＮＡコピー数）、ポリペプチド、ポリペプチド及びポリヌクレオチド修飾（例えば、翻訳後修飾）、炭水化物、ならびに／または糖脂質ベースの分子マーカーが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２０】

「バイオマーカーシグネチャー」、「シグネチャー」、「バイオマーカー発現シグネチャー」、または「発現シグネチャー」という用語は、本明細書で同義に使用され、１つのバイオマーカーまたはバイオマーカーの組み合わせを指し、それらの発現が、指標、例えば、予測指標、診断指標、及び／または予後指標である。バイオマーカーシグネチャーは、ある特定の分子的、病理学的、組織学的、及び／または臨床的特徴によって特徴付けられる疾患または障害（例えば、癌）の特定のサブタイプの指標としての機能を果たし得る。いくつかの実施形態では、バイオマーカーシグネチャーは、「遺伝子シグネチャー」である。「遺伝子シグネチャー」という用語は、「遺伝子発現シグネチャー」と同義に使用され、１つのポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの組み合わせを指し、それらの発現が、指標、例えば、予測指標、診断指標、及び／または予後指標である。いくつかの実施形態では、バイオマーカーシグネチャーは、「タンパク質シグネチャー」である。「タンパク質シグネチャー」という用語は、「タンパク質発現シグネチャー」と同義に使用され、１つのポリペプチドまたはポリペプチドの組み合わせを指し、それらの発現が、指標、例えば、予測指標、診断指標、及び／または予後指標である。

【０１２１】

個体への臨床的利益の増加に関連するバイオマーカーの「量」または「レベル」は、生物学的試料中で検出可能なレベルである。これらは、当業者に既知であり、かつ本明細書

にも開示される方法によって測定され得る。評価されるバイオマーカーの発現レベルまたは量を使用して、治療への応答を決定することができる。

【０１２２】

「発現のレベル」または「発現レベル」という用語は、一般に、同義に使用され、一般に、生物学的試料中のバイオマーカーの量を指す。「発現」とは、一般に、情報（例えば、遺伝子コード情報及び／またはエピジェネティック情報）が細胞中に存在し、かつそこで作動する構造に変換されるプロセスを指す。したがって、本明細書で使用されるとき、「発現」とは、ポリヌクレオチドへの転写、ポリペプチドへの翻訳、またはさらにはポリヌクレオチド及び／もしくはポリペプチド修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）を指し得る。転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたポリペプチド、またはポリヌクレオチド及び／もしくはポリペプチド修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）の断片も、それらが選択的スプライシングによって生成された転写物もしくは分解された転写物に由来するか、または例えばタンパク質分解によるポリペプチドの翻訳後プロセシングに由来するかにかかわらず、発現されたものと見なされるべきである。「発現遺伝子」は、ｍＲＮＡとしてポリヌクレオチドに転写され、その後、ポリペプチドに翻訳される遺伝子を含み、ＲＮＡに転写されるが、ポリペプチドに翻訳されない遺伝子（例えば、トランスファーＲＮＡ及びリボソームＲＮＡ）も含む。

【０１２３】

「上昇した発現」、「上昇した発現レベル」、または「上昇したレベル」とは、疾患もしくは障害（例えば、癌）に罹患していない個体（複数可）または内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）等の対照と比較した個体におけるバイオマーカーの増加した発現または増加したレベルを指す。

【０１２４】

「低減した発現」、「低減した発現レベル」、または「低減したレベル」とは、疾患もしくは障害（例えば、癌）に罹患していない個体（複数可）または内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）等の対照と比較した個体におけるバイオマーカーの低減した発現または低減したレベルを指す。いくつかの実施形態では、低減した発現とは、発現がほとんどまたは全くないことである。

【０１２５】

「ハウスキーピングバイオマーカー」という用語は、全ての細胞型中に典型的に同様に存在するバイオマーカーまたはバイオマーカーの群（例えば、ポリヌクレオチド及び／またはポリペプチド）を指す。いくつかの実施形態では、ハウスキーピングバイオマーカーは、「ハウスキーピング遺伝子」である。「ハウスキーピング遺伝子」とは、本明細書において、活性が細胞機能の維持に必須であるタンパク質をコードし、かつ全ての細胞型中に典型的に同様に存在する遺伝子または遺伝子の群を指す。

【０１２６】

本明細書で使用される「増幅」とは、一般に、所望の配列の複数のコピーを生成するプロセスを指す。「複数のコピー」とは、少なくとも２つのコピーを意味する。「コピー」は、鋳型配列に対する完全な配列相補性または同一性を必ずしも意味しない。例えば、コピーは、デオキシイノシン等のヌクレオチド類似体、意図的な配列改変（鋳型にハイブリダイズ可能であるが、相補的ではない配列を含むプライマーによって導入される配列改変等）、及び／または増幅中に生じる配列エラーを含み得る。

【０１２７】

「多重ＰＣＲ」という用語は、単一の反応で２つ以上のＤＮＡ配列を増幅させる目的で、１つより多くのプライマーセットを使用して単一の源（例えば、個体）から得られた核酸上で行われる単一のＰＣＲ反応を指す。

【０１２８】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者によって容易に決定可能であり、一般に、プローブ長さ、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的計算である。一般に、より長いプローブは、適切なアニーリングのためにより高い温度を必要とし、

より短いプローブは、より低い温度を必要とする。ハイブリダイゼーションは、一般に、相補鎖がそれらの溶融温度未満の環境中に存在するときにリアニールする変性ＤＮＡの能力に依存する。プローブとハイブリダイズ可能な配列との間の所望の相同の程度が高いほど、使用され得る相対温度が高くなる。結果として、より高い相対温度が反応条件をよりストリンジェントなものにする傾向があり、より低い温度はその傾向が低いということになる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーのさらなる詳細及び説明については、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，（１９９５）を参照されたい。

【０１２９】

本明細書で定義される「ストリンジェントな条件」または「高ストリンジェンシー条件」は、（１）洗浄に低いイオン強度及び高い温度を用いるもの、例えば、０．０１５Ｍの塩化ナトリウム／０．００１５Ｍのクエン酸ナトリウム／０．１％ドデシル硫酸ナトリウム（５０℃）、（２）ハイブリダイゼーション中にホルムアミド等の変性剤を用いるもの、例えば、０．１％ウシ血清アルブミンを有する５０％（ｖ／ｖ）ホルムアミド／０．１％Ｆｉｃｏｌｌ／０．１％ポリビニルピロリドン／７５０ｍＭの塩化ナトリウム、７５ｍＭのクエン酸ナトリウムを有するｐＨ６．５の５０ｍＭのリン酸ナトリウム緩衝液（４２℃）、または（３）０．２×ＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）中での４２℃で１０分間の洗浄、その後、５５℃のＥＤＴＡを含有する０．１×ＳＳＣからなる１０分間の高ストリンジェンシー洗浄を伴う、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（０．７５ＭのＮａＣｌ、０．０７５Ｍのクエン酸ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ６．８）、０．１％ピロリン酸ナトリウム、５×デンハルト溶液、超音波処理サケ精子ＤＮＡ（５０μｇ／ｍＬ）、０．１％ＳＤＳ、及び１０％硫酸デキストラン（４２℃）を用いる溶液中での一晩のハイブリダイゼーションによって特定され得る。

【０１３０】

「中程度にストリンジェントな条件」は、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ：Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，１９８９によって説明されるように特定することができ、洗浄溶液の使用、ならびに上述の条件よりも低ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件（例えば、温度、イオン強度、及びＳＤＳ％）を含む。中程度にストリンジェントな条件の例は、２０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハート溶液、１０％硫酸デキストラン、及び２０ｍｇ／ｍＬ変性剪断サケ精子ＤＮＡを含む溶液中での３７℃で一晩のインキュベーション、その後、約３７～５０℃の１×ＳＳＣ中でのフィルターの洗浄である。当業者であれば、プローブ長さ等の要因に適応させるために必要に応じて温度、イオン強度等を調整する方法を認識するであろう。

【０１３１】

本明細書で使用される「ポリメラーゼ連鎖反応」または「ＰＣＲ」技法とは、一般に、核酸、ＲＮＡ、及び／またはＤＮＡの微量の特定の小片が、１９８７年７月２８日公開の米国特許第４，６８３，１９５号に記載されるように増幅される手技を指す。一般に、オリゴヌクレオチドプライマーが設計され得るように、目的とする領域の末端またはそれ以降からの配列情報が利用可能でなければならず、これらのプライマーの配列は、増幅される鋳型の反対側の鎖と同一また同様である。これらの２つのプライマーの５′末端ヌクレオチドは、増幅される材料の末端と一致し得る。ＰＣＲを使用して、特定のＲＮＡ配列、全ゲノムＤＮＡから特定のＤＮＡ配列、及び全細胞ＲＮＡから転写されたｃＤＮＡ、バクテリオファージ配列、またはプラスミド配列等を増幅することができる。概して、Ｍｕｌｌｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｓｙｍｐ．Ｑｕａｎｔ．Ｂｉｏｌ．，５１：２６３（１９８７）、Ｅｒｌｉｃｈ，ｅｄ．，ＰＣＲ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，（Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ，１９８９）を参照されたい。本明

細書で使用されるとき、ＰＣＲは、プライマーとしての既知の核酸（ＤＮＡまたはＲＮＡ）の使用を含む、核酸試験試料を増幅する核酸ポリメラーゼ反応法の一例であると見なされるが、唯一の例ではなく、核酸の特定の小片を増幅もしくは生成するために、または特定の核酸に相補的な核酸の特定の小片を増幅もしくは生成するために、核酸ポリメラーゼを利用する。

【０１３２】

「定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応」または「ｑＲＴ－ＰＣＲ」とは、ＰＣＲ産物の量がＰＣＲ反応の各ステップで測定されるＰＣＲの形態を指す。この技法は、Ｃｒｏｎｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ．Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．１６４（１）：３５－４２（２００４）、及びＭａ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ ５：６０７－６１６（２００４）等の様々な公報に記載されている。

【０１３３】

「マイクロアレイ」という用語は、基質上のハイブリダイズ可能なアレイ要素、好ましくはポリヌクレオチドプローブの規則配置を指す。

【０１３４】

「ポリヌクレオチド」という用語は、単数形または複数形で使用されるとき、一般に、修飾されていないＲＮＡもしくはＤＮＡまたは修飾されたＲＮＡもしくはＤＮＡであり得る、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドを指す。したがって、例えば、本明細書で定義されるポリヌクレオチドとしては、一本鎖及び二本鎖ＤＮＡ、一本鎖及び二本鎖領域を含むＤＮＡ、一本鎖及び二本鎖ＲＮＡ、ならびに一本鎖及び二本鎖領域を含むＲＮＡ、一本鎖もしくはより典型的には二本鎖であり得るか、または一本鎖及び二本鎖領域を含み得るＤＮＡ及びＲＮＡを含むハイブリッド分子が挙げられるが、これらに限定されない。加えて、本明細書で使用される「ポリヌクレオチド」という用語は、ＲＮＡもしくはＤＮＡまたはＲＮＡ及びＤＮＡの両方を含む三本鎖領域を指す。かかる領域内の鎖は、同じ分子由来であり得るか、または異なる分子由来であり得る。これらの領域は、これらの分子のうちの１つ以上の全てを含み得るが、より典型的には、これらの分子のうちのいくつかの領域のみを含む。三重らせん領域の分子のうちの１つは、多くの場合、オリゴヌクレオチドである。「ポリヌクレオチド」という用語は、具体的には、ｃＤＮＡを含む。この用語は、１つ以上の修飾塩基を含有するＤＮＡ（ｃＤＮＡを含む）及びＲＮＡを含む。したがって、骨格が安定性または他の理由のために修飾されたＤＮＡまたはＲＮＡは、その用語が本明細書で意図される「ポリヌクレオチド」である。さらに、イノシン等の珍しい塩基またはトリチウム化塩基等の修飾塩基を含むＤＮＡまたはＲＮＡが、本明細書で定義される「ポリヌクレオチド」という用語に含まれる。一般に、「ポリヌクレオチド」という用語は、修飾されていないポリヌクレオチドの全ての化学的、酵素的、及び／または代謝的に修飾された形態、ならびにウイルス及び細胞（単純細胞及び複雑細胞等）の特徴を示すＤＮＡ及びＲＮＡの化学形態を包含する。

【０１３５】

「オリゴヌクレオチド」という用語は、一本鎖デオキシリボヌクレオチド、一本鎖または二本鎖リボヌクレオチド、ＲＮＡ：ＤＮＡハイブリッド、及び二本鎖ＤＮＡを含むが、これらに限定されない、比較的短いポリヌクレオチドを指す。一本鎖ＤＮＡプローブオリゴヌクレオチド等のオリゴヌクレオチドは、多くの場合、化学的方法によって、例えば、市販の自動オリゴヌクレオチド合成機を使用して合成される。しかしながら、オリゴヌクレオチドは、インビトロ組換えＤＮＡ媒介技法を含む様々な他の方法によって、かつ細胞及び生物におけるＤＮＡの発現によって作製することができる。

【０１３６】

本明細書で使用される「診断」という用語は、分子的もしくは病理学的状態、疾患、または状態（例えば、癌）の特定または分類を指すために本明細書で使用される。例えば、「診断」とは、特定のタイプの癌の特定を指し得る。「診断」とは、例えば、組織病理学的判断基準による、または分子的特徴による特定のサブタイプ（例えば、１つのバイオマーカーまたはバイオマーカーの組み合わせ（例えば、特定の遺伝子または前記遺伝子によ

ってコードされたタンパク質）の発現を特徴とするサブタイプ）の癌の分類も指し得る。

【０１３７】

本明細書で使用される「診断を援助する」という用語は、疾患または障害（例えば、癌）の特定のタイプの症状または状態の存在または性質に関して臨床的判定を行う助けとなる方法を指すために本明細書で使用される。例えば、疾患または状態（例えば、癌）の診断を援助する方法は、個体由来の生物学的試料中のある特定のバイオマーカーを測定することを含み得る。

【０１３８】

本明細書で使用される「試料」という用語は、例えば、物理的、生化学的、化学的、及び／または生理学的特性に基づいて、特徴付け及び／または特定される細胞及び／または他の分子実体を含有する、目的とする対象及び／または個体から得られるか、またはそれ由来の組成物を指す。例えば、「疾患試料」という語句及びその変形は、特徴付けられる細胞及び／または分子実体を含有することが予想されるか、またはそれを含有することが知られている、目的とする対象から得られた任意の試料を指す。試料としては、初代または培養細胞または細胞株、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、卵胞液、精液、羊水、乳、全血、血液由来の細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶解物、及び組織培養培地、組織抽出物、例えば、均質化組織、腫瘍組織、細胞抽出物、ならびにそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３９】

「組織試料」または「細胞試料」とは、対象または個体の組織から得られる同様の細胞の集合を意味する。組織または細胞試料源は、新鮮な、凍結、及び／または保存された器官、組織試料、生検、及び／または吸引液由来の固形組織；血液または任意の血液成分、例えば、血漿；体液、例えば、脳脊髄液、羊水、腹水、または間質液；対象の妊娠または発育中の任意の時点の細胞であり得る。組織試料は、初代または培養細胞または細胞株でもあり得る。任意に、組織または細胞試料は、疾患組織／器官から得られる。組織試料は、自然界の組織とは自然には混ざり合わない化合物、例えば、防腐剤、抗凝固剤、緩衝液、固定剤、栄養素、抗生物質等を含有し得る。

【０１４０】

本明細書で使用される「基準試料」、「基準細胞」、「基準組織」、「対照試料」、「対照細胞」、または「対照組織」とは、比較目的のために使用される試料、細胞、組織、標準物、またはレベルを指す。一実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、同じ対象または個体の身体の健常な及び／または罹患していない部分（例えば、組織または細胞）から得られる。例えば、罹患細胞または組織に隣接する健常な及び／または罹患していない細胞または組織（例えば、腫瘍に隣接する細胞または組織）。別の実施形態では、基準試料は、同じ対象または個体の身体の治療されていない組織及び／または細胞から得られる。なお別の実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、前記対象または個体ではない個体の身体の健常な及び／または罹患していない部分（例えば、組織または細胞）から得られる。さらに別の実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、前記対象または個体ではない個体の身体の治療されていない組織及び／または細胞から得られる。

【０１４１】

本明細書における目的のために、組織試料の「切片」とは、組織試料の単一部分または一片、例えば、組織試料から切り取られた組織または細胞の薄切片を意味する。組織試料の複数の切片が採取されて分析に供されることが理解されるが、但し、組織試料の同じ切片が形態学的レベル及び分子レベルの両方で分析され得るか、またはポリペプチド及びポリヌクレオチドの両方に関して分析され得ることが理解されることを条件とする。

【０１４２】

「相関する」または「相関すること」とは、任意の方法で、第１の分析またはプロトコ

ルの性能及び／または結果を第２の分析またはプロトコルの性能及び／または結果と比較することを意味する。例えば、第２のプロトコルを行う際に第１の分析もしくはプロトコルの結果を使用することができ、かつ／または第１の分析もしくはプロトコルの結果を使用して、第２の分析もしくはプロトコルが行われるべきかを決定することができる。ポリペプチド分析またはプロトコルの実施形態に関して、ポリペプチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンが行われるべきかを決定することができる。ポリヌクレオチド分析またはプロトコルの実施形態に関して、ポリヌクレオチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンが行われるべきかを決定することができる。

【０１４３】

本明細書で使用されるとき、「標識」という語は、検出可能な化合物または組成物を指す。標識は、典型的には、ポリヌクレオチドプローブまたは抗体等の試薬に直接または間接的にコンジュゲートまたは融合し、それがコンジュゲートまたは融合する試薬の検出を容易にする。標識は、それ自体が検出可能であり得る（例えば、放射性同位体標識または蛍光標識）か、または酵素標識の場合、検出可能な生成物をもたらす基質化合物または組成物の化学的改変を触媒し得る。

【０１４４】

医薬での治療への患者または患者の「応答性」の「有効な応答」及び同様の言い回しは、癌等の疾患または障害の危険性があるか、またはそれに罹患している患者に与えられる臨床的または治療的利点を指す。一実施形態では、かかる利点は、生存期間の延長（全体的な生存期間及び無増悪生存期間を含む）、客観的応答（完全応答もしくは部分的応答を含む）をもたらすこと、または癌の兆候または症状の改善のうちのいずれか１つ以上を含む。

【０１４５】

治療に「有効な応答を示さない」患者とは、生存期間の延長（全体的な生存及び無増悪生存期間を含む）、客観的応答（完全応答もしくは部分的応答を含む）をもたらすこと、または癌の兆候または症状の改善のうちのいずれも有しない患者を指す。

【０１４６】

「抗体依存性細胞媒介細胞毒性」または「ＡＤＣＣ」とは、分泌免疫グロブリンがある特定の細胞毒性細胞（例えば、ＮＫ細胞、好中球、及びマクロファージ）上に存在するＦｃ受容体（ＦｃＲ）に結合することにより、これらの細胞毒性エフェクター細胞が抗原を持つ標的細胞に特異的に結合し、その後、細胞毒素を有する標的細胞を死滅させることが可能になる細胞毒性の形態を指す。ＡＤＣＣを媒介する初代細胞であるＮＫ細胞がＦｃγＲＩＩＩのみを発現する一方で、単球は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞でのＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ ９：４５７－９２（１９９１）の４６４頁の表３に要約されている。目的とする分子のＡＤＣＣ活性を評価するために、米国特許第５，５００，３６２号もしくは同第５，８２１，３３７号または米国特許第６，７３７，０５６号（Ｐｒｅｓｔａ）に記載のアッセイ等のインビトロＡＤＣＣアッセイが行われ得る。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞としては、ＰＢＭＣ及びＮＫ細胞が挙げられる。あるいは、または加えて、目的とする分子のＡＤＣＣ活性は、インビボで、例えば、動物モデル、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ ｅｔ ａｌ．ＰＮＡＳ（ＵＳＡ）９５：６５２－６５６（１９９８）に開示の動物モデルで評価され得る。ＡＤＣＣ活性を評価するための例示のアッセイは、本明細書の実施例に提供される。

【０１４７】

「補体依存性細胞毒性」または「ＣＤＣ」とは、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。古典的な補体経路の活性化は、補体系（Ｃ１ｑ）の第１の成分の（適切なサブクラスの）抗体への結合から始まり、これらの抗体は、それらの同族抗原に結合している。補体活性化を評価するために、例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０２：１６３（１９９６）に記載のＣＤＣアッセ

イが行われ得る。改変されたＦｃ領域アミノ酸配列を有するポリペプチド変異形（変異形Ｆｃ領域を有するポリペプチド）及びＣ１ｑ結合能力の増加または低減については、例えば、米国特許第６，１９４，５５１　Ｂ１号及びＷＯ１９９９／５１６４２に記載されている。例えば、Ｉｄｕｓｏｇｉｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４（２０００）も参照されたい。

【０１４８】

「枯渇抗ＯＸ４０抗体」とは、ＯＸ４０発現細胞を死滅または枯渇させる抗ＯＸ４０抗体である。ＯＸ４０発現細胞の枯渇は、抗体依存性細胞媒介細胞毒性及び／または食作用等の様々な機構によって達成され得る。ＯＸ４０発現細胞の枯渇をインビトロでアッセイすることができ、インビトロＡＤＣＣ及び食作用アッセイの例示の方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０発現細胞は、ヒトＣＤ４＋エフェクターＴ細胞である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０発現細胞は、ヒトＯＸ４０を発現するトランスジェニックＢＴ４７４細胞である。

【０１４９】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより異なる抗体のＦｃ領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞毒性（ＣＤＣ）、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞媒介細胞毒性（ＡＤＣＣ）、食作用、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方制御、及びＢ細胞活性化が挙げられる。

【０１５０】

「Ｆｃ受容体」または「ＦｃＲ」とは、抗体のＦｃ領域に結合する受容体を説明する。いくつかの実施形態では、ＦｃＲは、天然ヒトＦｃＲである。いくつかの実施形態では、ＦｃＲは、ＩｇＧ抗体（ガンマ受容体）に結合するものであり、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃγＲＩＩＩサブクラスの受容体を含み、それらの受容体の対立遺伝子変異形及びあるいはスプライス形態を含む。ＦｃγＲＩＩ受容体は、ＦｃγＲＩＩＡ（「活性化受容体」）及びＦｃγＲＩＩＢ（「阻害受容体」）を含み、これらは、それらの細胞質ドメインの点で主に異なる同様のアミノ酸配列を有する。活性化受容体ＦｃγＲＩＩＡは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含有する。阻害受容体ＦｃγＲＩＩＢは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの阻害モチーフ（ＩＴＩＭ）を含有する（例えば、Ｄａｅｒｏｎ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５：２０３－２３４（１９９７）を参照のこと）。ＦｃＲについては、例えば、Ｒａｖｅｔｃｈ　ａｎｄ　Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　９：４５７－９２（１９９１）、Ｃａｐｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ　４：２５－３４（１９９４）、及びｄｅ　Ｈａａｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｌａｂ．Ｃｌｉｎ．Ｍｅｄ．１２６：３３０－４１（１９９５）に概説されている。今後特定されるＦｃＲを含む他のＦｃＲは、本明細書において「ＦｃＲ」という用語に包含される。「Ｆｃ受容体」または「ＦｃＲ」という用語は、母体ＩｇＧの胎児への移送（Ｇｕｙｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９（１９９４））及び免疫グロブリンの恒常性の制御に関与する新生児受容体ＦｃＲｎも含む。ＦｃＲｎへの結合を測定する方法が既知である（例えば、Ｇｈｅｔｉｅ　ａｎｄ　Ｗａｒｄ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ　１８（１２）：５９２－５９８（１９９７）、Ｇｈｅｔｉｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１５（７）：６３７－６４０（１９９７）、Ｈｉｎｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７９（８）：６２１３－６２１６（２００４）、ＷＯ２００４／９２２１９（Ｈｉｎｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．）を参照のこと。インビボでのヒトＦｃＲｎへの結合及びヒトＦｃＲｎ高親和性結合ポリペプチドの血清半減期は、例えば、ヒトＦｃＲｎを発現するトランスジェニックマウスもしくはトランスフェクトヒト細胞株で、または変異形Ｆｃ領域を有するポリペプチドが投与される霊長類でアッセイされ得る。ＷＯ２０００／４２０７２（Ｐｒｅｓｔａ）は、ＦｃＲへの結合が改善または低減された抗体変異形について記載している。例えば、Ｓｈｉｅｌｄｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｂｉ

ｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１－６６０４（２００１）も参照されたい。

【０１５１】

「機能的Ｆｃ領域」は、天然配列Ｆｃ領域の「エフェクター機能」を有する。例示の「エフェクター機能」としては、Ｃ１ｑ結合、ＣＤＣ、Ｆｃ受容体結合、ＡＤＣＣ、食作用、細胞表面受容体の下方制御（例えば、Ｂ細胞受容体、ＢＣＲ）等が挙げられる。かかるエフェクター機能は、一般に、Ｆｃ領域と結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）との結合を必要とし、例えば、本明細書の定義に開示される様々なアッセイを使用して評価することができる。

【０１５２】

「ヒトエフェクター細胞」とは、１つ以上のＦｃＲを発現し、かつエフェクター機能を行う白血球を指す。ある特定の実施形態では、これらの細胞は、少なくともＦｃγＲＩＩＩを発現し、ＡＤＣＣエフェクター機能（複数可）を行う。ＡＤＣＣを媒介するヒト白血球の例としては、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、単球、細胞毒性Ｔ細胞、及び好中球が挙げられる。エフェクター細胞は、天然源、例えば、血液から単離され得る。

【０１５３】

「ヒトエフェクター細胞を有する」癌または生物学的試料とは、診断試験において、試料中に存在するヒトエフェクター細胞（例えば、浸潤ヒトエフェクター細胞）を有するものである。

【０１５４】

「ＦｃＲ発現細胞を有する」癌または生物学的試料とは、診断試験において、試料中に存在するＦｃＲ発現（例えば、浸潤ＦｃＲ発現細胞）を有するものである。いくつかの実施形態では、ＦｃＲは、ＦｃγＲである。いくつかの実施形態では、ＦｃＲは、活性化ＦｃγＲである。

【０１５５】

ＩＩ．ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト

個体に有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法が本明細書に提供される。個体に有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能の増強方法も本明細書に提供される。

【０１５６】

例えば、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストとしては、ＰＤ－１結合アンタゴニスト、ＰＤＬ１結合アンタゴニスト、及びＰＤＬ２結合アンタゴニストが挙げられる。「ＰＤ－１」の代替名としては、ＣＤ２７９及びＳＬＥＢ２が挙げられる。「ＰＤＬ１」の代替名としては、Ｂ７－Ｈ１、Ｂ７－４、ＣＤ２７４、及びＢ７－Ｈが挙げられる。「ＰＤＬ２」の代替名としては、Ｂ７－ＤＣ、Ｂｔｄｃ、及びＣＤ２７３が挙げられる。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１、ＰＤＬ１、及びＰＤＬ２は、ヒトＰＤ－１、ＰＤＬ１、及びＰＤＬ２である。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＰＤ－１のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、ＰＤ－１のリガンド結合パートナーは、ＰＤＬ１及び／またはＰＤＬ２である。別の実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、ＰＤＬ１のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、ＰＤＬ１の結合パートナーは、ＰＤ－１及び／またはＢ７－１である。別の実施形態では、ＰＤＬ２結合アンタゴニストは、ＰＤＬ２のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な一態様では、ＰＤＬ２の結合パートナーは、ＰＤ－１である。アンタゴニストは、抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドであり得る。

【０１５８】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、抗ＰＤ－１抗体（例えば、

ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体）である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤ－１抗体は、ＭＤＸ－１１０６（ニボルマブ、ＯＰＤＩＶＯ）、Ｍｅｒｃｋ　３４７５（ＭＫ－３４７５、ペムブロリズマブ、ＫＥＹＴＲＵＤＡ）、ＣＴ－０１１（ピジリズマブ）、ＭＥＤＩ－０６８０（ＡＭＰ－５１４）、ＰＤＲ００１、ＲＥＧＮ２８１０、ＢＧＢ－１０８、及びＢＧＢ－Ａ３１７からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、イムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のＦｃ領域に融合したＰＤＬ１またはＰＤＬ２の細胞外またはＰＤ－１結合部分を含むイムノアドヘシン）である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１結合アンタゴニストは、ＡＭＰ－２２４である。ニボルマブ、別名、ＭＤＸ－１１０６－０４、ＭＤＸ－１１０６、ＯＮＯ－４５３８、ＢＭＳ－９３６５５８、及びＯＰＤＩＶＯ（登録商標）は、ＷＯ２００６／１２１１６８に記載の抗ＰＤ－１抗体である。ペムブロリズマブ、別名、ＭＫ－３４７５、Ｍｅｒｃｋ　３４７５、ランブロリズマブ、ＫＥＹＴＲＵＤＡ（登録商標）、及びＳＣＨ－９００４７５は、ＷＯ２００９／１１４３３５に記載の抗ＰＤ－１抗体である。ＣＴ－０１１、別名、ｈＢＡＴ、ｈＢＡＴ－１、またはピジリズマブは、ＷＯ２００９／１０１６１１に記載の抗ＰＤ－１抗体である。ＡＭＰ－２２４、別名、Ｂ７－ＤＣＩｇは、ＷＯ２０１０／０２７８２７及びＷＯ２０１１／０６６３４２に記載のＰＤＬ２－Ｆｃ融合可溶性受容体である。

【０１５９】

いくつかの実施形態では、抗ＰＤ－１抗体は、ニボルマブ（ＣＡＳ登録番号９４６４１４－９４－４）である。なおさらなる一実施形態では、配列番号１０の重鎖可変領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び／または配列番号１１の軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む単離された抗ＰＤ－１抗体が提供される。なおさらなる一実施形態では、重鎖配列及び／または軽鎖配列を含む単離された抗ＰＤ－１抗体が提供され、

（ａ）重鎖配列は、以下の重鎖配列と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY

DGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSS

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY

SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP

KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV

LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK

GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL

HNHYTQKSLSLSLGK

（配列番号１０）、または

（ｂ）軽鎖配列は、以下の軽鎖配列と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT

GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS

DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK

ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号１１）。

【０１６０】
いくつかの実施形態では、抗ＰＤ－１抗体は、ペムブロリズマブ（ＣＡＳ登録番号１３７４８５３－９１－４）である。なおさらなる一実施形態では、配列番号１２の重鎖可変領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び／または配列番号１３の軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む単離された抗ＰＤ－１抗体が提供される。なおさらなる一実施形態では、重鎖配列及び／または軽鎖配列を含む単離された抗ＰＤ－１抗体が提供され、
（ａ）重鎖配列は、以下の重鎖配列と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する：

QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYYMYWVRQA PGQGLEWMGG

INPSNGGTNF NEKFKNRVTL TTDSSTTTAY MELKSLQFDD

TAVYYCARRDYRFDMGFDYW GQGTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE

STAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT

VPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV

FLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK

PREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK

GQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN

YKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK

（配列番号１２）、または
（ｂ）軽鎖配列は、以下の軽鎖配列と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する：

EIVLTQSPAT LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRL LIYLASYLES

GVPARFSGSG SGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEI KRTVAAPSVF

IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQ

DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC

（配列番号１３）。
【０１６１】
いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、抗ＰＤＬ１抗体である。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１結合アンタゴニストは、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（アテゾリズマブ）、ＭＤＸ－１１０５、ＭＥＤＩ４７３６（デュルバルマブ）、及びＭＳＢ００１０７１８Ｃ（アベルマブ）からなる群から選択される。ＭＤＸ－１１０５、別名、ＢＭＳ－９３６５５９は、ＷＯ２００７／００５８７４に記載の抗ＰＤＬ１抗体である。抗体ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０（それぞれ、配列番号２０及び２１に示される重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列）は、ＷＯ２０１０／０７７６３４Ａ１に記載の抗ＰＤＬ１である。ＭＥＤＩ４７３６は、ＷＯ２０１１／０６６３８９及びＵＳ２０１３／０３４５５９に記載の抗ＰＤＬ１抗体である。
【０１６２】
本発明の方法に有用な抗ＰＤＬ１抗体の例、及びその作製方法は、ＰＣＴ特許出願ＷＯ２０１０／０７７６３４　Ａ１及び米国特許第８，２１７，１４９号に記載されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。
【０１６３】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、抗ＰＤＬ１抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、ＰＤＬ１とＰＤ－１との間の結合及び／またはＰＤＬ１とＢ７－１との間の結合を阻害することができる。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及び$(Fab')_2$断片からなる群から選択される抗体断片である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、ヒト抗体である。

【０１６４】

ＷＯ２０１０／０７７６３４　Ａ１に記載の組成物等のかかる抗体を含有する組成物を含む本発明に有用な抗ＰＤＬ１抗体をＯＸ４０結合アゴニストと併用して、癌を治療することができる。いくつかの実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、配列番号７または８のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号９のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１６５】

一実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、及びＨＶＲ－Ｈ３配列を含む重鎖可変領域ポリペプチドを含有し、

（ａ）ＨＶＲ－Ｈ１配列は、ＧＦＴＦＳX_1ＳＷＩＨ（配列番号１４）であり、

（ｂ）ＨＶＲ－Ｈ２配列は、ＡＷＩX_2ＰＹＧＧＳX_3ＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号１５）であり、

（ｃ）ＨＶＲ－Ｈ３配列は、ＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号３）であり、

さらに、X_1は、ＤまたはＧであり、X_2は、ＳまたはＬであり、X_3は、ＴまたはＳである。

【０１６６】

具体的な一態様では、X_1は、Ｄであり、X_2は、Ｓであり、X_3は、Ｔである。別の態様では、ポリペプチドは、以下の式に従うＨＶＲ間に並置された可変領域重鎖フレームワーク配列をさらに含む：（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）。なお別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列由来である。さらなる一態様では、フレームワーク配列は、ＶＨ下位群ＩＩＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、フレームワーク配列のうちの少なくとも１つは、以下のものである。

ＨＣ－ＦＲ１　ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳ（配列番号１６）

ＨＣ－ＦＲ２　ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶ（配列番号１７）

ＨＣ－ＦＲ３　ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ（配列番号１８）

ＨＣ－ＦＲ４　ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＡ（配列番号１９）

【０１６７】

なおさらなる一態様では、重鎖ポリペプチドは、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２、及びＨＶＲ－Ｌ３を含む可変領域軽鎖とさらに組み合わせられ、

（ａ）ＨＶＲ－Ｌ１配列は、ＲＡＳＱＸ$_4$Ｘ$_5$Ｘ$_6$ＴＸ$_7$Ｘ$_8$Ａ（配列番号２０）であり、

（ｂ）ＨＶＲ－Ｌ２配列は、ＳＡＳＸ$_9$ＬＸ$_{10}$Ｓ（配列番号２１）であり、

（ｃ）ＨＶＲ－Ｌ３配列は、ＱＱＸ$_{11}$Ｘ$_{12}$Ｘ$_{13}$Ｘ$_{14}$ＰＸ$_{15}$Ｔ（配列番号２２）であり、

さらに、Ｘ$_4$は、ＤまたはＶであり、Ｘ$_5$は、ＶまたはＩであり、Ｘ$_6$は、ＳまたはＮであり、Ｘ$_7$は、ＡまたはＦであり、Ｘ$_8$は、ＶまたはＬであり、Ｘ$_9$は、ＦまたはＴであり、Ｘ$_{10}$は、ＹまたはＡであり、Ｘ$_{11}$は、Ｙ、Ｇ、Ｆ、またはＳであり、Ｘ$_{12}$は、Ｌ、Ｙ、Ｆ、またはＷであり、Ｘ$_{13}$は、Ｙ、Ｎ、Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｆ、またはＩであり、Ｘ$_{14}$は、Ｈ、Ｖ、Ｐ、Ｔ、またはＩであり、Ｘ$_{15}$は、Ａ、Ｗ、Ｒ、Ｐ、またはＴである。

【０１６８】

なおさらなる一態様では、Ｘ$_4$は、Ｄであり、Ｘ$_5$は、Ｖであり、Ｘ$_6$は、Ｓであり、Ｘ$_7$は、Ａであり、Ｘ$_8$は、Ｖであり、Ｘ$_9$は、Ｆであり、Ｘ$_{10}$は、Ｙであり、Ｘ$_{11}$は、Ｙであり、Ｘ$_{12}$は、Ｌであり、Ｘ$_{13}$は、Ｙであり、Ｘ$_{14}$は、Ｈであり、Ｘ$_{15}$は、Ａである。なおさらなる一態様では、軽鎖は、以下の式に従うＨＶＲ間に並置された可変領域軽鎖フレームワーク配列をさらに含む：（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）。なおさらなる一態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列由来である。なおさらなる一態様では、フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、フレームワーク配列のうちの少なくとも１つは、以下のものである。

ＬＣ－ＦＲ１　ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ（配列番号２３）

ＬＣ－ＦＲ２　ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ（配列番号２４）

ＬＣ－ＦＲ３　ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣ（配列番号２５）

ＬＣ－ＦＲ４　ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号２６）

【０１６９】

別の実施形態では、重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗ＰＤＬ１抗体または抗原結合断片が提供され、

（ａ）重鎖は、ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、及びＨＶＲ－Ｈ３を含み、さらに、

（ｉ）ＨＶＲ－Ｈ１配列は、ＧＦＴＦＳＸ$_1$ＳＷＩＨ（配列番号１４）であり、

（ｉｉ）ＨＶＲ－Ｈ２配列は、ＡＷＩＸ$_2$ＰＹＧＧＳＸ$_3$ＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号１５）であり、

（ｉｉｉ）ＨＶＲ－Ｈ３配列は、ＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号３）であり、

（ｂ）軽鎖は、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２、及びＨＶＲ－Ｌ３を含み、さらに、

（ｉ）ＨＶＲ－Ｌ１配列は、ＲＡＳＱＸ$_4$Ｘ$_5$Ｘ$_6$ＴＸ$_7$Ｘ$_8$Ａ（配列番号２０）であり、

（ｉｉ）ＨＶＲ－Ｌ２配列は、ＳＡＳＸ$_9$ＬＸ$_{10}$Ｓ（配列番号２１）であり、

（ｉｉｉ）ＨＶＲ－Ｌ３配列は、ＱＱＸ$_{11}$Ｘ$_{12}$Ｘ$_{13}$Ｘ$_{14}$ＰＸ$_{15}$Ｔ（配列番号２２）であり、

さらに、X_1は、ＤまたはＧであり、X_2は、ＳまたはＬであり、X_3は、ＴまたはＳであり、X_4は、ＤまたはＶであり、X_5は、ＶまたはＩであり、X_6は、ＳまたはＮであり、X_7は、ＡまたはＦであり、X_8は、ＶまたはＬであり、X_9は、ＦまたはＴであり、X_{10}は、ＹまたはＡであり、X_{11}は、Ｙ、Ｇ、Ｆ、またはＳであり、X_{12}は、Ｌ、Ｙ、Ｆ、またはＷであり、X_{13}は、Ｙ、Ｎ、Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｆ、またはＩであり、X_{14}は、Ｈ、Ｖ、Ｐ、Ｔ、またはＩであり、X_{15}は、Ａ、Ｗ、Ｒ、Ｐ、またはＴである。

【０１７０】

具体的な一態様では、X_1は、Ｄであり、X_2は、Ｓであり、X_3は、Ｔである。別の態様では、X_4は、Ｄであり、X_5は、Ｖであり、X_6は、Ｓであり、X_7は、Ａであり、X_8は、Ｖであり、X_9は、Ｆであり、X_{10}は、Ｙであり、X_{11}は、Ｙであり、X_{12}は、Ｌであり、X_{13}は、Ｙであり、X_{14}は、Ｈであり、X_{15}は、Ａである。なお別の態様では、X_1は、Ｄであり、X_2は、Ｓであり、X_3は、Ｔであり、X_4は、Ｄであり、X_5は、Ｖであり、X_6は、Ｓであり、X_7は、Ａであり、X_8は、Ｖであり、X_9は、Ｆであり、X_{10}は、Ｙであり、X_{11}は、Ｙであり、X_{12}は、Ｌであり、X_{13}は、Ｙであり、X_{14}は、Ｈであり、X_{15}は、Ａである。

【０１７１】

さらなる一態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。なおさらなる一態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列由来である。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔ下位群Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列由来である。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨ下位群ＩＩＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである：

ＨＣ－ＦＲ１	ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳ	（配列番号１６）
ＨＣ－ＦＲ２	ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶ	（配列番号１７）
ＨＣ－ＦＲ３	ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ	（配列番号１８）
ＨＣ－ＦＲ４	ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＡ	（配列番号１９）

【０１７２】

なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔカッパＩ、ＩＩ、ＩＩ、またはＩＶ下位群配列由来である。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである。

ＬＣ－ＦＲ１	ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ	（配列番号２３）
ＬＣ－ＦＲ２	ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ	（配列番号２４）
ＬＣ－ＦＲ３	ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣ	（配列番号２５）
ＬＣ－ＦＲ４	ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ	（配列番号２６）

【０１７３】

なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、ヒトまたはマウス定常領域をさらに含む。

なおさらなる一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。なおさらに具体的な一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１である。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ２Ａである。なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、低減されたまたは最小のエフェクター機能を有する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、「エフェクターなしのＦｃ変異」またはアグリコシル化に起因する。なおさらなる一実施形態では、エフェクターなしのＦｃ変異は、定常領域内のＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１７４】

なお別の実施形態では、重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む抗ＰＤＬ１抗体が提供され、

（ａ）重鎖は、それぞれ、ＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨ（配列番号１）、ＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２）、及びＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号３）と少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、及びＨＶＲ－Ｈ３配列をさらに含み、または

（ｂ）軽鎖は、それぞれ、ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号４）、ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５）、及びＱＱＹＬＹＨＰＡＴ（配列番号６）と少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２、及びＨＶＲ－Ｌ３配列をさらに含む。

【０１７５】

具体的な一態様では、配列同一性は、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％である。別の態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。なお別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列由来である。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔ下位群Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列由来である。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨ下位群ＩＩＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである：

ＨＣ－ＦＲ１	ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳ	（配列番号１６）
ＨＣ－ＦＲ２	ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶ	（配列番号１７）
ＨＣ－ＦＲ３	ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ	（配列番号１８）
ＨＣ－ＦＲ４	ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＡ	（配列番号１９）

【０１７６】

なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔカッパＩ、ＩＩ、ＩＩ、またはＩＶ下位群配列由来である。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである。

ＬＣ－ＦＲ１　ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ　（配列番号２３）
ＬＣ－ＦＲ２　ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ　（配列番号２４）
ＬＣ－ＦＲ３　ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣ　（配列番号２５）
ＬＣ－ＦＲ４　ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ　（配列番号２６）

【０１７７】

なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、ヒトまたはマウス定常領域をさらに含む。なおさらなる一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。なおさらに具体的な一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１である。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ２Ａである。なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、低減されたまたは最小のエフェクター機能を有する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、「エフェクターなしのＦｃ変異」またはアグリコシル化に起因する。なおさらなる一実施形態では、エフェクターなしのＦｃ変異は、定常領域内のＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１７８】

なおさらなる一実施形態では、重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗ＰＤＬ１抗体が提供され、

（ａ）重鎖配列は、重鎖配列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWIS

PYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGT

LVTVSA

（配列番号２８）と少なくとも８５％の配列同一性を有し、または

（ｂ）軽鎖配列は、軽鎖配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF

LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR

（配列番号９）と少なくとも８５％の配列同一性を有する。

【０１７９】

具体的な一態様では、配列同一性は、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％である。別の態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。なお別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列由来である。さらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔ下位群Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列由来である。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨ下位群ＩＩＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである：

ＨＣ－ＦＲ１　ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳ　（配列番号１６）
ＨＣ－ＦＲ２　ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶ　（配列番号１７）
ＨＣ－ＦＲ３　ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ　（配列番号１８）
ＨＣ－ＦＲ４　ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＡ　（配列番号１９）

【０１８０】

なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔカッパ Ｉ、ＩＩ、ＩＩ、またはＩＶ下位群配列由来である。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである。

ＬＣ－ＦＲ１　ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ　（配列番号２３）
ＬＣ－ＦＲ２　ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ　（配列番号２４）
ＬＣ－ＦＲ３　ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣ　（配列番号２５）
ＬＣ－ＦＲ４　ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ　（配列番号２６）

【０１８１】

なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、ヒトまたはマウス定常領域をさらに含む。なおさらなる一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。なおさらに具体的な一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１である。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ２Ａである。なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、低減されたまたは最小のエフェクター機能を有する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、原核細胞内での産生に起因する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、「エフェクターなしのＦｃ変異」またはアグリコシル化に起因する。なおさらなる一実施形態では、エフェクターなしのＦｃ変異は、定常領域内のＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１８２】

別のさらなる実施形態では、重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗ＰＤＬ１抗体が提供され、

（ａ）重鎖配列は、重鎖配列ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号７）と少なくとも８５％の配列同一性を有し、または

（ｂ）軽鎖配列は、軽鎖配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ　ＳＡＳＦ　ＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号９）と少なくとも８５％の配列同一性を有する。

【０１８３】

なおさらなる一実施形態では、重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗ＰＤＬ１抗体が提供され、

（ａ）重鎖配列は、重鎖配列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWI
SPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQG
TLVTVSSASTK

（配列番号８）と少なくとも８５％の配列同一性を有し、または
（ｂ）軽鎖配列は、軽鎖配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＦ　ＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号９）と少なくとも８５％の配列同一性を有する。

【０１８４】

具体的な一態様では、配列同一性は、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％である。別の態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。なお別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列由来である。さらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔ下位群Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列由来である。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨ下位群ＩＩＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである：

ＨＣ－ＦＲ１	ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳ	（配列番号１６）
ＨＣ－ＦＲ２	ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶ	（配列番号１７）
ＨＣ－ＦＲ３	ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ	（配列番号１８）
ＨＣ－ＦＲ４	ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ	（配列番号２７）

【０１８５】

なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔカッパＩ、ＩＩ、ＩＩ、またはＩＶ下位群配列由来である。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである。

ＬＣ－ＦＲ１	ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ	（配列番号２３）
ＬＣ－ＦＲ２	ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ	（配列番号２４）
ＬＣ－ＦＲ３	ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣ	（配列番号２５）
ＬＣ－ＦＲ４	ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ	（配列番号２６）

【０１８６】

なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、ヒトまたはマウス定常領域をさらに含む。なおさらなる一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。なおさらに具体的な一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１である。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。なおさらなる一態様では、マウス定常

領域は、ＩｇＧ２Ａである。なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、低減されたまたは最小のエフェクター機能を有する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、原核細胞内での産生に起因する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、「エフェクターなしのＦｃ変異」またはアグリコシル化に起因する。なおさらなる一実施形態では、エフェクターなしのＦｃ変異は、定常領域内のＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１８７】

なお別の実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（ＣＡＳ登録番号１４２２１８５－０６－５）である。なおさらなる一実施形態では、重鎖可変領域アミノ酸配列ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号７）またはＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＷＩ　ＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＨＷＰＧＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫ（配列番号８）を含む重鎖可変領域、及びアミノ酸配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ　ＳＡＳＦ　ＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＬＹＨＰＡＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号９）を含む軽鎖可変領域を含む単離された抗ＰＤＬ１抗体が提供される。なおさらなる一実施形態では、重鎖配列及び／または軽鎖配列を含む単離された抗ＰＤＬ１抗体が提供され、

（ａ）重鎖配列は、以下の重鎖配列と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYA
DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPG

（配列番号２９）、及び／または

（ｂ）軽鎖配列は、以下の軽鎖配列と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有する：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号３０）。

【０１８８】

なおさらなる一実施形態では、本発明は、上述の抗ＰＤＬ１抗体のうちのいずれかと少なくとも１つの薬学的に許容される担体とを組み合わせて含む組成物を提供する。

【０１８９】
なおさらなる一実施形態では、抗ＰＤＬ１抗体の軽鎖可変領域配列または重鎖可変領域配列をコードする単離された核酸が提供され、
（ａ）重鎖は、それぞれ、ＧＦＴＦＳＤＳＷＩＨ（配列番号１）、ＡＷＩＳＰＹＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２）、及びＲＨＷＰＧＧＦＤＹ（配列番号３）と少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、及びＨＶＲ－Ｈ３配列をさらに含み、
（ｂ）軽鎖は、それぞれ、ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号４）、ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５）、及びＱＱＹＬＹＨＰＡＴ（配列番号６）と少なくとも８５％の配列同一性を有するＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２、及びＨＶＲ－Ｌ３配列をさらに含む。

【０１９０】
具体的な一態様では、配列同一性は、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％である。態様では、重鎖可変領域は、（ＨＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｈ１）－（ＨＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｈ２）－（ＨＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｈ３）－（ＨＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、（ＬＣ－ＦＲ１）－（ＨＶＲ－Ｌ１）－（ＬＣ－ＦＲ２）－（ＨＶＲ－Ｌ２）－（ＬＣ－ＦＲ３）－（ＨＶＲ－Ｌ３）－（ＬＣ－ＦＲ４）のようにＨＶＲ間に並置された１つ以上のフレームワーク配列を含む。なお別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列由来である。さらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、Ｋａｂａｔ下位群Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩ配列由来である。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列は、ＶＨ下位群ＩＩＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、重鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである：

ＨＣ－ＦＲ１	ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳ	（配列番号１６）
ＨＣ－ＦＲ２	ＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶ	（配列番号１７）
ＨＣ－ＦＲ３	ＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲ	（配列番号１８）
ＨＣ－ＦＲ４	ＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＡ	（配列番号１９）

【０１９１】
なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＫａｂａｔカッパＩ、ＩＩ、ＩＩ、またはＩＶ下位群配列由来である。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列は、ＶＬカッパＩコンセンサスフレームワークである。なおさらなる一態様では、軽鎖フレームワーク配列のうちの１つ以上は、以下のものである。

ＬＣ－ＦＲ１	ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣ	（配列番号２３）
ＬＣ－ＦＲ２	ＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹ	（配列番号２４）
ＬＣ－ＦＲ３	ＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣ	（配列番号２５）
ＬＣ－ＦＲ４	ＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ	（配列番号２６）

【０１９２】
なおさらに具体的な一態様では、本明細書に記載の抗体（抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、または抗ＰＤＬ２抗体等）は、ヒトまたはマウス定常領域をさらに含む。なおさらなる一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４からなる群から選択される。なおさらに具体的な一態様では、ヒト定常領域は、ＩｇＧ１である。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２

Ｂ、ＩｇＧ３からなる群から選択される。なおさらなる一態様では、マウス定常領域は、ＩｇＧ２Ａである。なおさらに具体的な一態様では、本抗体は、低減されたまたは最小のエフェクター機能を有する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、原核細胞内での産生に起因する。なおさらに具体的な一態様では、最小のエフェクター機能は、「エフェクターなしのＦｃ変異」またはアグリコシル化に起因する。なおさらなる一態様では、エフェクターなしのＦｃ変異は、定常領域内でのＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ置換である。

【０１９３】

なおさらなる一態様では、本明細書に記載の抗体のうちのいずれかをコードする核酸が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、核酸は、前述の抗ＰＤＬ１、抗ＰＤ－１、または抗ＰＤＬ２抗体のうちのいずれかをコードする核酸の発現に好適なベクターをさらに含む。なおさらに具体的な一態様では、ベクターは、核酸の発現に好適な宿主細胞をさらに含む。なおさらに具体的な一態様では、宿主細胞は、真核細胞または原核細胞である。なおさらに具体的な一態様では、真核細胞は、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）等の哺乳類細胞である。

【０１９４】

本抗体またはその抗原結合断片は、当該技術分野で既知の方法を使用して、例えば、前述の抗ＰＤＬ１、抗ＰＤ－１、もしくは抗ＰＤＬ２抗体、または抗原結合断片のうちのいずれかをコードする核酸を発現に好適な形態で含有する宿主細胞をかかる抗体または断片の産生に好適な条件下で培養することと、その抗体または断片を回収することとを含むプロセスによって作製され得る。

【０１９５】

いくつかの実施形態では、単離された抗ＰＤＬ１抗体は、アグリコシル化される。抗体のグリコシル化は、典型的には、Ｎ結合型またはＯ結合型のいずれかである。Ｎ結合型とは、炭水化物部分のアスパラギン残基の側鎖への結合を指す。トリペプチド配列であるアスパラギン－Ｘ－セリン及びアスパラギン－Ｘ－トレオニン（式中、Ｘは、プロリン以外の任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分のアスパラギン側鎖への酵素結合の認識配列である。したがって、ポリペプチド内でのこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在により、潜在的なグリコシル化部位が作製される。Ｏ結合型グリコシル化とは、糖類、Ｎ－アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースのうちの１つのヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはトレオニンへの結合を指すが、５－ヒドロキシプロリンまたは５－ヒドロキシリジンも使用され得る。抗体からのグリコシル化部位の除去は、（Ｎ結合型グリコシル化部位について）上述のトリペプチド配列のうちの１つが除去されるようにアミノ酸配列を改変することによって好都合に達成される。この改変は、グリコシル化部位内のアスパラギン、セリン、またはトレオニン残基の別のアミノ酸残基（例えば、グリシン、アラニンまたは保存的置換）との置換によって行われ得る。

【０１９６】

本明細書における実施形態のうちのいずれかでは、単離された抗ＰＤＬ１抗体は、ヒトＰＤＬ１、例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＮＺＱ７．１に示されるヒトＰＤＬ１、またはその変異形に結合することができる。

【０１９７】

なおさらなる一実施形態では、本発明は、本明細書に提供される抗ＰＤＬ１、抗ＰＤ－１、もしくは抗ＰＤＬ２抗体、またはその抗原結合断片と、少なくとも１つの薬学的に許容される担体とを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、個体に投与される抗ＰＤＬ１、抗ＰＤ－１、もしくは抗ＰＤＬ２抗体、またはその抗原結合断片は、１つ以上の薬学的に許容される担体を含む組成物である。本明細書に記載のまたは当該技術分野で既知の薬学的に許容される担体のうちのいずれかが使用され得る。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＰＤＬ１抗体は、約６０ｍｇ／ｍＬの量の本抗体、約２０ｍＭの濃度の酢酸ヒスチジン、約１２０ｍＭの濃度のスクロース、及び

０．０４％（ｗ／ｖ）の濃度のポリソルベート（例えば、ポリソルベート２０）を含む製剤中に存在し、この製剤は、約５．８のｐＨを有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＰＤＬ１抗体は、約１２５ｍｇ／ｍＬの量の本抗体、約２０ｍＭの濃度の酢酸ヒスチジン、約２４０ｍＭの濃度のスクロース、及び０．０２％（ｗ／ｖ）の濃度のポリソルベート（例えば、ポリソルベート２０）を含む製剤中に存在し、この製剤は、約５．５のｐＨを有する。

【０１９９】

ＩＩＩ．ＯＸ４０結合アゴニスト

個体に有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法が本明細書に提供される。個体に有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストを投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能の増強方法も本明細書に提供される。

【０２００】

ＯＸ４０結合アゴニストとしては、例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）、ＯＸ４０Ｌアゴニスト断片、ＯＸ４０オリゴマー受容体、及びＯＸ４０イムノアドヘシンが挙げられる。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＯＸ４０アゴニスト抗体での治療前の増殖及び／またはサイトカイン産生と比較して、ＣＤ４＋エフェクターＴ細胞増殖を増加させ、かつ／またはＣＤ４＋エフェクターＴ細胞によるサイトカイン産生を増加させる。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ＩＦＮ－γである。

【０２０２】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、メモリーＴ細胞増殖を増加させ、かつ／またはメモリー細胞によるサイトカイン産生を増加させる。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ＩＦＮ－γである。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、エフェクターＴ細胞機能のＴｒｅｇ抑制を阻害する。いくつかの実施形態では、エフェクターＴ細胞機能は、エフェクターＴ細胞増殖及び／またはサイトカイン産生である。いくつかの実施形態では、エフェクターＴ細胞は、ＣＤ４＋エフェクターＴ細胞である。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＯＸ４０を発現する標的細胞におけるＯＸ４０シグナル伝達を増加させる。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０シグナル伝達は、ＮＦｋＢ下流シグナル伝達を監視することによって検出される。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、枯渇抗ヒトＯＸ４０抗体である（例えば、ヒトＯＸ４０を発現する細胞を枯渇させる）。いくつかの実施形態では、ヒトＯＸ４０発現細胞は、ＣＤ４＋エフェクターＴ細胞である。いくつかの実施形態では、ヒトＯＸ４０発現細胞は、Ｔｒｅｇ細胞である。いくつかの実施形態では、枯渇は、ＡＤＣＣ及び／または食作用によるものである。いくつかの実施形態では、本抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたＦｃγＲを結合し、かつヒトエフェクター細胞機能を活性化することによってＡＤＣＣを媒介する。いくつかの実施形態では、本抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたＦｃγＲを結合し、かつヒトエフェクター細胞機能を活性化することによって食作用を媒介する。例示のヒトエフェクター細胞としては、例えば、マクロファージ、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、単球、好中球が挙げられる。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、マクロファージである。

【０２０６】

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

の実施形態では、機能的Ｆｃ領域のエフェクター機能は、ＡＤＣＣ及び食作用である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ１である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ４である。

【０２０７】

いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、ヒト抗体またはヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体）は、ＭＥＤＩ６３８３ではない。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、ＯＸ４０アゴニスト抗体）は、ＭＥＤＩ０５６２ではない。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYTMNWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA

DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRYSQVHYALDYWGQGTLVTVSS

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY

SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP

PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC

LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM

HEALHNHYTQKSLSLSPGK

（配列番号３１）を含む重鎖及び／または配列

DIVMTQSPDSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKAGQSPQLLIYLGSNRASGV

PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQYYNHPTTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD

EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA

DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号３２）を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗体００８の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗体００８の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、

DIQMTQSPDSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKAGQSPQLLIYLGSNRASGV

PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQYYNHPTTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD

EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA

DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号３３）の配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗体ＳＣ０２００８の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗体ＳＣ０２００８の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１０】
いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

EVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGTGGGTYYA
DSVMGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDNVMGLYWFDYWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

（配列番号３４）を含む重鎖及び／または配列

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG
SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号３５）を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗体０２３の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，５５０，１４０号に記載の抗体０２３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１１】
いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第７，９６０，５１５号に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＹＩＳＳＳＳＳＴＩＤＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹＬＱＭＮＳＬＲＤＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＳＧＷＹＬＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ（配列番号３６）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰＥＫＡＰＫＳＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＮＳＹＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ（配列番号３７）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，９６０，５１５号に記載の抗体１１Ｄ４の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，９６０，５１５号に記載の抗体１１Ｄ４の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１２】
いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、米国特許第７，９６０，５１５号に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYA
DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDQSTADYYFYYGMDVWGQGTTVT
VSS

（配列番号３８）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＥＩＶＶＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＲＳＮＷＰＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫ（配列番号３９）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，９６０，５１５号に記載の抗体１８Ｄ８の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、米国特許第７，９６０，５１５号に記載の抗体１８Ｄ８の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１３】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１２／０２７３２８に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQGLKWMGWINTETGEPTY

ADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCANPYYDYVSYYAMDYWGQGTTVTVS

S

（配列番号４０）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＫＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＹＬＹＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＦＴＩＳＳＬＱＰＥＤＩＡＴＹＹＣＱＱＨＹＳＴＰＲＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫ（配列番号４１）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１２／０２７３２８に記載の抗体ｈｕ１０６－２２２の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１２／０２７３２８に記載の抗体ｈｕ１０６－２２２の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１４】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１２／０２７３２８に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEYEFPSHDMSWVRQAPGKGLELVAAINSDGGSTYYP

DTMERRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHYDDYYAWFAYWGQGTMVTVSS

（配列番号４２）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＫＳＶＳＴＳＧＹＳＹＭＨＷＹＱＱＫＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＬＡＳＮＬＥＳＧＶＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＨＳＲＥＬＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ（配列番号４３）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１２／０２７３２８に記載の抗体Ｈｕ１１９－１２２の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１２／０２７３２８に記載の抗体Ｈｕ１１９－１２２の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１３／０２８２３１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

MYLGLNYVFIVFLLNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPE
KGLEWVAEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTWGEV
FYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYITCNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

（配列番号４４）を含む重鎖及び／または配列

MRPSIQFLGLLLFWLHGAQCDIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKSSQDINKYIAWYQHKPGKG
PRLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDIATYYCLQYDNLLTFGAGTKLELKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号４５）を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

MYLGLNYVFIVFLLNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPE
KGLEWVAEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTWGEV
FYFDYWGQGTTLTVSS

（配列番号６１）を含む重鎖可変領域及び／または配列

MRPSIQFLGLLLFWLHGAQCDIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKSSQDINKYIAWYQHKPGKG
PRLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDIATYYCLQYDNLLTFGAGTKLELK

（配列番号６２）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１３／０２８２３１に記載の抗体Ｍａｂ　ＣＨ　１１９－４３－１の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１３／０２８２３１に記載の抗体Ｍａｂ　ＣＨ　１１９－４３－１の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１３／０３８１９１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTSVTVSS

（配列番号４６）を含む重鎖可変領域及び／または配列

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFS
GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKR

（配列番号４７）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１３／０３８１９１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１３／０３８１９１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１７】
いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１３／０３８１９１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFKDYTMHWVKQSHGKSLEWIGGIYPNNGGSTYN

QNFKDKATLTVDKSSSTAYMEFRSLTSEDSAVYYCARMGYHGPHLDFDVWGAGTTVTVSP

（配列番号４８）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＶＭＴＱＳＨＫＦＭＳＴＳＬＧＤＲＶＳＩＴＣＫＡＳＱＤＶＧＡＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＱＳＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＨＴＧＶＰＤＲＦＴＧＧＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＮＶＱＳＥＤＬＴＤＹＦＣＱＱＹＩＮＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲ（配列番号４９）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１３／０３８１９１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１３／０３８１９１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１８】
いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWMGYINPYNDGTK

YNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS

（配列番号５０）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＹＴＳＲＬＨＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＧＮＴＬＰＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５１）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２１９】
いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWMGYINPYNDGTK

YNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS

（配列番号５０）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＶＫＬＬＩＹＹＴＳＲＬＨＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＦＣＱＱＧＮＴＬＰＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５２）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２０】
いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYNDGTKY

NEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS

（配列番号５３）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＹＴＳＲＬＨＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＧＮＴＬＰＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５１）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYNDGTKY

NEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS

（配列番号５３）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＶＫＬＬＩＹＹＴＳＲＬＨＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＦＣＱＱＧＮＴＬＰＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５２）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYNDGTKY

NEKFKGRATLTSDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS

（配列番号５４）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＹＴＳＲＬＨＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＧＮＴＬＰＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５１）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYNDGTKY

NEKFKGRATLTSDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS

（配列番号５４）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰＧＫＡＶＫＬＬＩＹＹＴＳＲＬＨ

ＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＦＣＱＱＧＮＴＬＰＷＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５２）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン２０Ｅ５の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWMGGIYPNNGGST

YNQNFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTV

ＳＳ（配列番号５５）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＫＡＳＱＤＶＧＡＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＨＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＩＮＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５６）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWMGGIYPNNGGST

YNQNFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTV

SS

（配列番号５５）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＫＡＳＱＤＶＧＡＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＨＴＧＶＰＤＲＦＳＧＧＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＩＮＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５７）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTY

NQNFKDRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVS

S

（配列番号５８）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＫＡＳＱＤＶＧＡＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＨＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＩＮＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５６）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３

の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTY

NQNFKDRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVS S

（配列番号５８）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＫＡＳＱＤＶＧＡＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＨＴＧＶＰＤＲＦＳＧＧＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＩＮＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５７）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２８】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTY

NQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVS S

（配列番号５９）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＫＡＳＱＤＶＧＡＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＨＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＩＮＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５６）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、配列

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNNGGSTY

NQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVS S

（配列番号５９）を含む重鎖可変領域及び／または配列ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＫＡＳＱＤＶＧＡＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＨＴＧＶＰＤＲＦＳＧＧＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＩＮＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲ（配列番号５７）を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つの超可変領域（ＨＶＲ）配列を含む。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＷＯ２０１４／１４８８９５Ａ１に記載の抗体クローン１２Ｈ３の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトＯＸ４０抗体は、Ｌ１０６　ＢＤ（Ｐｈａ

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

【０２３１】

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

【０２３２】

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

【０２３３】

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

【０２３４】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト抗体は、上述のＯＸ４０アゴニスト抗体のうちのいずれかと同じエピトープに結合するアゴニスト抗体である。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、機能的Ｆｃ領域を有する。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ１である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ４である。いくつかの実施形態では、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体は、エフェクター機能を増加させる（例えば、野生型ＩｇＧ１におけるエフェクター機能と比較して）ように操作される。いくつかの実施形態では、本抗体は、Ｆｃγ受容体への結合の増加を有する。いくつかの実施形態では、本抗体は、Ｆｃ領域に（直接または間接的に）結合したフコースを欠く。例えば、かかる抗体中のフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、または２０％～４０％であり得る。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、二分オリゴ糖を含み、これは、例えば、本抗体のＦｃ領域に結合している二分岐オリゴ糖がＧｌｃＮＡｃによって二分されている。いくつかの実施形態では、本抗体は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８、３３３、及び／または３３４位での置換（残基のＥＵ番号付け）を有するＦｃ領域を含む。

【０２３６】

本明細書に記載の方法に有用なＯＸ４０アゴニストは、決して抗体に限定されるようには意図されていない。非抗体ＯＸ４０アゴニストが企図され、当該技術分野で周知である。

【０２３７】

上述のように、ＯＸ４０Ｌ（別名、ＣＤ１３４Ｌ）は、ＯＸ４０のリガンドとしての機能を果たす。したがって、ＯＸ４０Ｌの一部または全てを提示するアゴニストは、ＯＸ４０アゴニストとしての機能を果たし得る。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニスト

は、ＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含み得る。ＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインの例としては、ＯＸ４０結合ドメインが挙げられ得る。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、ＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含むが、タンパク質の他の不溶性ドメイン、例えば、膜貫通ドメインを欠くＯＸ４０Ｌの可溶性形態であり得る。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、ＯＸ４０Ｌに結合することができるＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含む可溶性タンパク質である。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、別のタンパク質ドメインに連結して、例えば、その有効性、半減期、または他の所望の特性を高めることができる。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、免疫グロブリンＦｃドメインに連結したＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含み得る。

【０２３８】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、米国特許第７，６９６，１７５号に記載のＯＸ４０アゴニストのうちのいずれかであり得る。

【０２３９】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、オリゴマー分子または多量体分子であり得る。例えば、ＯＸ４０アゴニストは、タンパク質がオリゴマー化するのを可能にするドメイン（例えば、ロイシンジッパードメイン）を１つ以上含有し得る。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、１つ以上のロイシンジッパードメインに連結したＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含み得る。

【０２４０】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、欧州特許第ＥＰ０６７２１４１　Ｂ１号に記載のＯＸ４０アゴニストのうちのいずれかであり得る。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、三量体ＯＸ４０Ｌ融合タンパク質であり得る。例えば、ＯＸ４０アゴニストは、免疫グロブリンＦｃドメイン及び三量体化ドメイン（イソロイシンジッパードメインを含むが、これに限定されない）に連結したＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインを１つ以上含み得る。

【０２４２】

いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、ＯＸ４０イムノアドヘシン等の国際公開第ＷＯ２００６／１２１８１０号に記載のＯＸ４０アゴニストのうちのいずれかであり得る。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０イムノアドヘシンは、三量体ＯＸ４０－Ｆｃタンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０アゴニストは、ＭＥＤＩ６３８３である。

【０２４３】

ＩＶ．抗体の調製

本明細書に記載の抗体は、抗体を生成するための当該技術分野で利用可能な技法を使用して調製され、その例示の方法は、以下の節により詳細に記載される。

【０２４４】

本抗体は、目的とする抗原（すなわち、ＰＤ－Ｌ１（ヒトＰＤ－Ｌ１等）、ＯＸ４０（ヒトＯＸ４０等））に対して指向される。好ましくは、抗原は、生物学的に重要なポリペプチドであり、障害に罹患している哺乳動物への本抗体の投与により、その哺乳動物に治療的利点がもたらされ得る。

【０２４５】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、１μＭ以下、１５０ｎＭ以下、１００ｎＭ以下、５０ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、０．１ｎＭ以下、０．０１ｎＭ以下、または０．００１ｎＭ以下（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）の解離定数（Ｋｄ）を有する。

【０２４６】

一実施形態では、Ｋｄは、以下のアッセイにより説明されるように、目的とする抗体のＦａｂバージョン及びその抗原を用いて行われる放射標識抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）に

よって測定される。抗原に対するＦａｂの溶液結合親和性は、滴定系列の非標識抗原の存在下でＦａｂを最小濃度の（^{125}Ｉ）標識抗原と平衡にし、その後、結合した抗原を抗Ｆａｂ抗体コーティングプレートで捕捉することによって測定される（例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照のこと）。アッセイの条件を確立するために、ＭＩＣＲＯＴＩＴＥＲ（登録商標）マルチウェルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）中５μｇ／ｍＬの捕捉抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ　Ｌａｂｓ）で一晩コーティングし、その後、ＰＢＳ中２％（ｗ／ｖ）のウシ血清アルブミンで、室温（およそ２３℃）で２～５時間遮断する。非吸着性プレート（Ｎｕｎｃ番号２６９６２０）内で、１００ｐＭまたは２６ｐＭの［^{125}Ｉ］抗原を目的とするＦａｂの連続希釈液と混合する。その後、目的とするＦａｂを一晩インキュベートするが、インキュベーションをより長い期間（例えば、約６５時間）続けて、平衡に達することを確実にすることができる。その後、室温でのインキュベーション（例えば、１時間）のために混合物を捕捉プレートに移す。その後、溶液を除去し、プレートをＰＢＳ中０．１％ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））で８回洗浄する。プレートが乾燥した時点で、１５０μＬ／ウェルのシンチラント（ｓｃｉｎｔｉｌｌａｎｔ）（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）、Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、プレートをＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）ガンマ計数器（Ｐａｃｋａｒｄ）で１０分間計数する。最大結合の２０％以下をもたらす各Ｆａｂの濃度を競合結合アッセイでの使用に選択する。

【０２４７】

別の実施形態によれば、Ｋｄは、約１０応答単位（ＲＵ）の固定化抗原ＣＭ５チップを有するＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－２０００またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を２５℃で使用した表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。簡潔には、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ（ＣＭ５、ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ．）を、供給業者の指示に従って、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）及びＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）で活性化する。抗原を１０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ４．８）で５μｇ／ｍＬ（約０．２μＭ）になるまで希釈した後に、５μＬ／分の流量で注入して、およそ１０応答単位（ＲＵ）のカップリングしたタンパク質を得る。抗原の注入後、１Ｍのエタノールアミンを注入して、未反応基を遮断する。反応速度測定のために、Ｆａｂの２倍連続希釈液（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）を、２５℃の０．０５％ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（商標））界面活性剤（ＰＢＳＴ）を有するＰＢＳ中におよそ２５μＬ／分の流量で注入する。単純１対１ラングミュア結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）評価ソフトウェアバージョン３．２）を使用して、会合センサグラムと解離センサグラムを同時に当てはめることによって会合速度（k_{on}）及び解離速度（k_{off}）を計算する。平衡解離定数（Ｋｄ）をk_{off}／k_{on}比として計算する。例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい。上述の表面プラズモン共鳴アッセイによりオン速度が１０６Ｍ－１　ｓ－１を超える場合、オン速度を、ストップフローを装備した分光測色計（Ａｖｉｖ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）または撹拌キュベットを有する８０００シリーズＳＬＭ－ＡＭＩＮＣＯ（商標）分光測色計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）等の分光計で測定される抗原の増加した濃度の存在下でＰＢＳ（ｐＨ７．２）中２０ｎＭの抗抗原抗体（Ｆａｂ形態）の２５℃での蛍光発光強度（励起＝２９５ｎｍ、発光＝３４０ｎｍ、１６ｎｍ帯域通過）の増加または減少を測定する蛍光クエンチ技法を使用することによって決定することができる。

【０２４８】

（ｉ）抗原の調製

任意に他の分子にコンジュゲートする可溶性抗原またはその断片は、抗体を生成するための免疫原として使用され得る。受容体等の膜貫通分子の場合、これらの断片（例えば、受容体の細胞外ドメイン）が免疫原として使用され得る。あるいは、膜貫通分子を発現す

る細胞が免疫原として使用され得る。かかる細胞は、天然源（例えば、癌細胞株）由来であり得るか、または膜貫通分子を発現するように組換え技法によって形質転換された細胞であり得る。抗体の調製に有用な他の抗原及びその形態は、当業者には明らかであろう。

【０２４９】

（ｉｉ）ある特定の抗体に基づく方法

ポリクローナル抗体は、好ましくは、関連抗原及びアジュバントの複数回の皮下（ｓｃ）または腹腔内（ｉｐ）注入により動物に産生される。二官能性剤または誘導体化剤、例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を介するコンジュゲーション）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（リジン残基を介する）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、$SOCl_2$、または$R^1N=C=NR$（式中、Ｒ及びR^1が異なるアルキル基である）を使用して、関連抗原を、免疫化される種において免疫原性であるタンパク質、例えば、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、または大豆トリプシン阻害剤にコンジュゲートさせることが有用であり得る。

【０２５０】

動物を、例えば、１００μｇまたは５μｇのタンパク質またはコンジュゲート（それぞれ、ウサギまたはマウスの場合）を３体積の完全フロイントアジュバントと合わせ、かつこの溶液を複数の部位で皮内注入することによって、抗原、免疫原性コンジュゲート、または誘導体に対して免疫化する。１ヶ月後、動物を、複数の部位での皮下注入により、完全フロイントアジュバント中の最初の量の１／５～１／１０のペプチドまたはコンジュゲートで追加免疫する。７～１４日後、動物を採血し、血清を抗体力価についてアッセイする。力価が水平状態になるまで動物を追加免疫する。好ましくは、動物を、同じ抗原のコンジュゲートであるが、異なるタンパク質にコンジュゲートしたもの及び／または異なる架橋試薬によりコンジュゲートしたもので追加免疫する。コンジュゲートを、タンパク質融合物として組換え細胞培養で作製することもできる。ミョウバン等の凝集剤も免疫応答を増強するために好適に使用される。

【０２５１】

本発明のモノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）により初めて説明され、例えば、Ｈｏｎｇｏ ｅｔ ａｌ．，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ，１４（３）：２５３－２６０（１９９５）、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，抗体：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）、Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３－６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１）、及びＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５－２６８（２００６）（ヒト－ヒトハイブリドーマに関する）にさらに説明されているハイブリドーマ法を使用して作製され得る。さらなる方法としては、例えば、米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒト天然ＩｇＭ抗体の産生に関する）に記載の方法が挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）については、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２０（３）：９２７－９３７（２００５）及びＶｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５－９１（２００５）に記載されている。

【０２５２】

様々な他のハイブリドーマ技法については、例えば、ＵＳ２００６／２５８８４１、ＵＳ２００６／１８３８８７（完全ヒト抗体）、ＵＳ２００６／０５９５７５、ＵＳ２００５／２８７１４９、ＵＳ２００５／１００５４６、ＵＳ２００５／０２６２２９、ならびに米国特許第７，０７８，４９２号及び同第７，１５３，５０７号を参照されたい。ハイブリドーマ法を使用してモノクローナル抗体を産生するための例示のプロトコルが以下に

記載される。一実施形態では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えば、ハムスターは、免疫化に使用されるタンパク質に特異的に結合する抗体を産生するか、または抗体を産生することができるリンパ球を誘発するように免疫化される。抗体は、本発明のポリペプチドまたはその断片、及びアジュバント、例えば、モノホスホリル脂質Ａ（ＭＰＬ）／ジクリノミコール酸トレハロース（ＴＤＭ）（Ｒｉｂｉ Ｉｍｍｕｎｏｃｈｅｍ．Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｈａｍｉｌｔｏｎ，Ｍｏｎｔ．）の複数回の皮下（ｓｃ）または腹腔内（ｉｐ）注入により動物に産生される。本発明のポリペプチド（例えば、抗原）またはその断片は、組換え方法等の当該技術分野で周知の方法を使用して調製することができ、これらのうちのいくつかは、本明細書にさらに記載される。免疫化動物由来の血清が抗抗原抗体についてアッセイされ、ブースター免疫化が任意に施される。抗抗原抗体を産生する動物由来のリンパ球が単離される。あるいは、リンパ球がインビトロで免疫化され得る。

【０２５３】

その後、リンパ球は、ポリエチレングリコール等の好適な融合剤を使用して骨髄腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成する。例えば、Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ．５９－１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６）を参照されたい。効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による安定した高レベルの抗体産生を支援し、ＨＡＴ培地等の培地に感受性を示す骨髄腫細胞が使用され得る。例示の骨髄腫細胞としては、マウス骨髄腫株、例えば、Ｓａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．ＵＳＡから入手可能なＭＯＰＣ－２１及びＭＰＣ－１１マウス腫瘍由来のマウス骨髄腫株、ならびにＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍｄ．ＵＳＡ．から入手可能なＳＰ－２またはＸ６３－Ａｇ８－６５３細胞由来のマウス骨髄腫株が挙げられるが、これらに限定されない。ヒト骨髄腫及びマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株もヒトモノクローナル抗体の産生について説明されている（Ｋｏｚｂｏｒ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）、Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７））。

【０２５４】

そのように調製されたハイブリドーマ細胞は、播種され、好適な培養培地、例えば、融合していない親骨髄腫細胞の成長または生存を阻害する１つ以上の物質を含有する培地で成長する。例えば、親骨髄腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴまたはＨＰＲＴ）を欠く場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的には、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン（ＨＡＴ培地）を含み、これらの物質は、ＨＧＰＲＴ欠損細胞の成長を阻止する。好ましくは、例えば、Ｅｖｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２４（３），１０５－１０８（２００６）に記載されるように、ウシ胎児血清等の動物由来の血清の使用を低減するために、血清を含まないハイブリドーマ細胞培養法が使用される。

【０２５５】

ハイブリドーマ細胞培養の生産性を改善するためのツールとしてのオリゴペプチドについては、Ｆｒａｎｅｋ，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１１１－１２２（２００５）に記載されている。具体的には、標準の培養培地がある特定のアミノ酸（アラニン、セリン、アスパラギン、プロリン）、またはタンパク質加水分解画分で富化され、アポトーシスが３～６つのアミノ酸残基から構成される合成オリゴペプチドによって著しく抑制され得る。これらのペプチドは、ミリモル濃度またはそれより高い濃度で存在する。

【０２５６】

ハイブリドーマ細胞が成長する培養培地は、本発明の抗体に結合するモノクローナル抗

体の産生についてアッセイされ得る。ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降またはインビトロ結合アッセイ、例えば、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）または酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）によって決定され得る。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えば、スキャッチャード分析によって決定され得る。例えば、Ｍｕｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１０７：２２０（１９８０）を参照されたい。

【０２５７】

所望の特異性、親和性、及び／または活性を有する抗体を産生するハイブリドーマ細胞が特定された後、クローンは、限界希釈手技によってサブクローニングされ得、標準の方法によって成長し得る。例えば、Ｇｏｄｉｎｇ（上記参照）を参照されたい。この目的に好適な培養培地としては、例えば、Ｄ－ＭＥＭ培地またはＲＰＭＩ－１６４０培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、動物における腹水腫瘍としてインビボで成長し得る。サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体は、従来の免疫グロブリン精製手技、例えば、タンパク質Ａ－セファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、または親和性クロマトグラフィー等によって、培養培地、腹水、または血清から好適に分離される。ハイブリドーマ細胞からのタンパク質の単離の手技の１つがＵＳ２００５／１７６１２２及び米国特許第６，９１９，４３６号に記載されている。この方法は、結合プロセスで離液性塩等の最小限の塩を使用することを含み、好ましくは、溶出プロセスで少量の有機溶媒を使用することも含む。

【０２５８】

（ｉｉｉ）ライブラリ由来の抗体

本発明の抗体は、所望の活性（複数可）を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることによって単離され得る。例えば、実施例３に記載の方法等のファージディスプレイライブラリを生成し、かつ所望の結合特性を有する抗体についてかかるライブラリをスクリーニングするための様々な方法が当該技術分野で既知である。さらなる方法が、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　１７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００１）で概説されており、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３４８：５５２－５５４、Ｃｌａｃｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３５２：６２４－６２８（１９９１）、Ｍａｒｋｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９２）、Ｍａｒｋｓ　ａｎｄ　Ｂｒａｄｂｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　２４８：１６１－１７５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３），Ｓｉｄｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０（２００４）、Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３（２００４）、Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　１０１（３４）：１２４６７－１２４７２（２００４）、及びＬｅｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２８４（１－２）：１１９－１３２（２００４）にさらに記載されている。

【０２５９】

ある特定のファージディスプレイ法では、ＶＨ及びＶＬ遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって別個にクローニングされ、ファージライブラリ内でランダムに組換えられ、その後、これは、Ｗｉｎｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１２：４３３－４５５（１９９４）に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングされ得る。ファージは、典型的には、抗体断片を一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片またはＦａｂ断片のいずれかとしてディスプレイする。免疫化源由来のライブラリは、ハイブリドーマの構築を必要とすることなく、免疫原に高親和性抗体を提供する。あるいは、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ，１２：７２５－７３４（１９９３）に記載されるように、ナイーブレパートリーがクローニング（例えば、ヒトから）されて、いずれの免疫化もなしに広範囲の非自己抗原及び自己抗原に対す

る抗体の単一源を提供することができる。最後に、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１－３８８（１９９２）に記載されるように、ナイーブライブラリは、幹細胞から再配列されていないＶ遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するＰＣＲプライマーを使用して、高度可変ＣＤＲ３領域をコードし、かつインビトロで再配列を達成することによって合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリについて記載している特許公報としては、例えば、米国特許第５，７５０，３７３号、ならびに米国特許公開第２００５／００７９５７４号、同第２００５／０１１９４５５号、同第２００５／０２６６０００号、同第２００７／０１１７１２６号、同第２００７／０１６０５９８号、同第２００７／０２３７７６４号、同第２００７／０２９２９３６号、及び同第２００９／０００２３６０号が挙げられる。

【０２６０】

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

【０２６１】

（ｉｖ）キメラ、ヒト化、及びヒト抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体が、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号、及びＭｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５（１９８４））に記載されている。一例では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、または非ヒト霊長類、例えば、サル由来の可変領域）及びヒト定常領域を含む。さらなる例では、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のクラスまたはサブクラスから変化した「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

【０２６２】

ある特定の実施形態では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減する一方で、親非ヒト抗体の特異性及び親和性は保持するようにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、ＨＶＲ、例えば、ＣＤＲ（またはそれらの部分）が非ヒト抗体由来であり、かつＦＲ（またはそれらの部分）がヒト抗体配列由来である、１つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、任意に、ヒト定常領域の少なくとも一部も含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体におけるいくつかのＦＲ残基は、例えば、抗体特異性または親和性を復元または改善するように、非ヒト抗体（例えば、ＨＶＲ残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換される。

【０２６３】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）に概説されており、例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１００２９－１００３３（１９８９）、米国特許第５，８２１，３３７号、同第７，５２７，７９１号、同第６，９８２，３２１号、及び同第７，０８７，４０９号、Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：２５－３４（２００５）（ＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）グラフトについて記載）、Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９－４９８（１９９１）（「リサーフェシング」について記載）、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：４３－６０（２００５）（「ＦＲシャッフリング」について記載）、ならびにＯｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：６１－６８（２００５）及びＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，８３：２５２－２６０（２０００）（ＦＲシャッフリングへの「誘導選択」アプローチについて記載）にさらに記載されている。

【０２６４】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域としては、「ベストフィット」法を使用

して選択されるフレームワーク領域（例えば、Ｓｉｍｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）を参照のこと）、軽鎖可変領域または重鎖可変領域の特定の下位群のヒト抗体のコンセンサス配列由来のフレームワーク領域（例えば、Ｃａｒｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）、及びＰｒｅｓｔａ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２６２３（１９９３）を参照のこと）、ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域またはヒト生殖系列フレームワーク領域（例えば、Ａｌｍａｇｒｏ　ａｎｄ　Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）を参照のこと）、ならびにＦＲライブラリのスクリーニングから得られるフレームワーク領域（例えば、Ｂａｃａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：１０６７８－１０６８４（１９９７）及びＲｏｓｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７１：２２６１１－２２６１８（１９９６）を参照のこと）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２６５】

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

【０２６６】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答してヒト可変領域を有するインタクトなヒト抗体またはインタクトな抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製することができる。かかる動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置き換えるか、または染色体外に存在するか、もしくは動物の染色体にランダムに組み込まれるヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有する。かかるトランスジェニックマウスにおいて、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、一般に、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２３：１１１７－１１２５（２００５）を参照されたい。例えば、米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号（ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術について記載）、米国特許第５，７７０，４２９号（ＨｕＭａｂ（登録商標）技術について記載）、米国特許第７，０４１，８７０号（Ｋ－Ｍ　ＭＯＵＳＥ（登録商標）技術について記載）、ならびに米国特許出願公開第ＵＳ２００７／００６１９００号（ＶｅｌｏｃｉＭｏｕｓｅ（登録商標）技術について記載）も参照されたい。かかる動物によって生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによってさらに修飾され得る。

【０２６７】

ヒト抗体は、ハイブリドーマに基づく方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体を産生するためのヒト骨髄腫及びマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株について説明されている（例えば、Ｋｏｚｂｏｒ　Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）、Ｂｒｏｄｅｕｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，１９８７）、及びＢｏｅｒｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：８６（１９９１）を参照のこと）。ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術によって生成されたヒト抗体についても、Ｌｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７－３５６２（２００６）に記載されている。さらなる方法としては、例えば、米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトＩｇＭ抗体の産生について記載）及びＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ　Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５－２６８（２００６）（ヒト－ヒトハイブリドーマについて記載）に記載の方法が挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）についても、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ　ａｎｄ　Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏ

ｌｏｇｙ，２０（３）：９２７－９３７（２００５）及びＶｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５－９１（２００５）に記載されている。

【０２６８】

ヒト抗体は、ヒト由来のファージディスプレイライブラリから選択されるＦｖクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成することもできる。その後、かかる可変ドメイン配列は、所望のヒト定常ドメインと組み合わせられ得る。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技法が以下に記載されている。

【０２６９】

（ｖ）抗体断片

抗体断片は、酵素消化等の伝統的な手段または組換え技法によって生成され得る。ある特定の状況下では、全抗体ではなく抗体断片を使用する利点がある。より小さいサイズの断片により、迅速なクリアランスが可能になり、固形腫瘍へのアクセスの改善がもたらされ得る。ある特定の抗体断片の概説については、Ｈｕｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４を参照されたい。

【０２７０】

抗体断片を産生するために様々な技法が開発されている。伝統的には、これらの断片は、インタクトな抗体のタンパク質分解消化によって得られた（例えば、Ｍｏｒｉｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ ａｎｄ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ２４：１０７－１１７（１９９２）、及びＢｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）を参照のこと）。しかしながら、これらの断片は、現在、組換え宿主細胞から直接産生することができる。Ｆａｂ、Ｆｖ、及びＳｃＦｖ抗体断片は全て、Ｅ．ｃｏｌｉで発現され、Ｅ．ｃｏｌｉから分泌され得るため、これらの断片の容易な大量産生が可能になる。抗体断片は、上述の抗体ファージライブラリから単離することができる。あるいは、Ｆａｂ′－ＳＨ断片は、Ｅ．ｃｏｌｉから直接回収され、化学的にカップリングして、Ｆ（ａｂ′）$_2$断片を形成することができる（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６３－１６７（１９９２））。別のアプローチに従って、Ｆ（ａｂ′）$_2$断片は、組換え宿主細胞培養から直接単離することができる。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含むインビボ半減期が増加したＦａｂ及びＦ（ａｂ′）$_2$断片については、米国特許第５，８６９，０４６号に記載されている。抗体断片を産生するための他の技法は、当業者に明らかである。ある特定の実施形態では、抗体は、一本鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）である。ＷＯ９３／１６１８５、米国特許第５，５７１，８９４号、及び同第５，５８７，４５８号を参照されたい。Ｆｖ及びｓｃＦｖは、定常領域を欠くインタクトな結合部位を有する唯一の種であり、それ故に、それらは、インビボでの使用中の非特異的結合の低減に好適であり得る。ｓｃＦｖ融合タンパク質を構築して、ｓｃＦｖのアミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかでのエフェクタータンパク質の融合をもたらすことができる。Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，ｅｄ．Ｂｏｒｒｅｂａｅｃｋ（上記参照）を参照されたい。抗体断片は、例えば、米国特許第５，６４１，８７０号等に記載の「直鎖状抗体」であり得る。かかる直鎖状抗体は、単一特異性または二重特異性であり得る。

【０２７１】

（ｖｉ）多重特異性抗体

多重特異性抗体は、少なくとも２つの異なるエピトープに対する結合特異性を有し、これらのエピトープは、通常、異なる抗原由来である。かかる分子が通常２つの異なるエピトープ（すなわち、二重特異性抗体、ＢｓＡｂ）のみに結合する一方で、三重特異性抗体等のさらなる特異性を有する抗体は、本明細書で使用される場合、この表現に包含される。二重特異性抗体は、全長抗体または抗体断片（例えば、Ｆ（ａｂ′）$_2$二重特異性抗体）として調製することができる。一態様では、ＯＸ４０及びＰＤ－１に結合する二重特異性抗体が提供される。一態様では、ＯＸ４０及びＰＤ－Ｌ１に結合する二重特異性抗体が

提供される。

【０２７２】

二重特異性抗体の作製方法は、当該技術分野で既知である。全長二重特異性抗体の伝統的な産生は、２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の共発現に基づき、これらの２つの鎖は、異なる特異性を有する（Ｍｉｌｌｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３０５：５３７－５３９（１９８３））。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖のランダムな分類のため、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は、１０個の異なる抗体分子を有する混合物を産生する可能性があり、これらのうちの１つのみが正しい二重特異性構造を有する。通常親和性クロマトグラフィーステップによって行われるこの正しい分子の精製は、幾分厄介であり、生成物収率は低い。同様の手技が、ＷＯ９３／０８８２９、及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．，１０：３６５５－３６５９（１９９１）に開示されている。

【０２７３】

当該技術分野で既知の二重特異性抗体を作製するためのアプローチの１つは、「ノブイントゥホール（ｋｎｏｂｓ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅｓ）」または「プロチェバランスイントゥキャビティ（ｐｒｏｔｕｂｅｒａｎｃｅ－ｉｎｔｏ－ｃａｖｉｔｙ）」アプローチである（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号を参照のこと）。このアプローチにおいて、２つの免疫グロブリンポリペプチド（例えば、重鎖ポリペプチド）が各々界面を含む。一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面が他方の免疫グロブリンポリペプチドの対応する界面と相互作用し、それにより、２つの免疫グロブリンポリペプチドの会合を可能にする。これらの界面は、一方の免疫グロブリンポリペプチドの界面に位置する「ノブ」または「プロチェバランス」（これらの用語は、本明細書で同義に使用され得る）は、他方の免疫グロブリンポリペプチドの界面に位置する「ホール」または「キャビティ」（これらの用語は、本明細書で同義に使用され得る）に対応するように操作することができる。いくつかの実施形態では、ホールは、ノブと同一または同様の大きさのものであり、２つの界面が相互作用するときに、一方の界面のノブが他方の界面の対応するホール内に位置付け可能であるように好適に位置付けられる。理論に拘束されることを望むことなく、これは、ヘテロ多量体を安定させ、かつ他の種、例えば、ホモ多量体よりもヘテロ多量体の形成を好むと考えられる。いくつかの実施形態では、このアプローチを使用して、２つの異なる免疫グロブリンポリペプチドのヘテロ多量体化を促進し、異なるエピトープに対する結合特異性を有する２つの免疫グロブリンポリペプチドを含む二重特異性抗体を作製することができる。

【０２７４】

いくつかの実施形態では、ノブは、小さいアミノ酸側鎖をより大きい側鎖で置き換えることによって構築され得る。いくつかの実施形態では、ホールは、大きいアミノ酸側鎖をより小さい側鎖で置き換えることによって構築され得る。ノブまたはホールは、元の界面に存在し得るか、または合成的に導入され得る。例えば、ノブまたはホールは、界面をコードする核酸配列を改変させて、少なくとも１つの「元の」アミノ酸残基を少なくとも１つの「移入」アミノ酸残基で置き換えることによって合成的に導入され得る。核酸配列を改変させるための方法としては、当該技術分野で周知の標準の分子生物学技法が挙げられ得る。様々なアミノ酸残基の側鎖体積は、以下の表に示される。いくつかの実施形態では、元の残基は、小さい側鎖体積（例えば、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、トレオニン、またはバリン）を有し、ノブを形成するための移入残基は、天然に存在するアミノ酸であり、アルギニン、フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファンを含み得る。いくつかの実施形態では、元の残基は、大きい側鎖体積（例えば、アルギニン、フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファン）を有し、ホールを形成するための移入残基は、天然に存在するアミノ酸であり、アラニン、セリン、トレオニン、及びバリンを含み得る。

表１．アミノ酸残基の特性

アミノ酸	一文字略語	質量[a]（ダルトン）	体積[b]（Å^3）	アクセス可能な表面積[c]（Å^2）
アラニン（Ａｌａ）	A	７１．０８	８８．６	１１５
アルギニン（Ａｒｇ）	R	１５６．２０	１７３．４	２２５
アスパラギン（Ａｓｎ）	N	１１４．１１	１１７．７	１６０
アスパラギン酸（Ａｓｐ）	D	１１５．０９	１１１．１	１５０
システイン（Ｃｙｓ）	C	１０３．１４	１０８．５	１３５
グルタミン（Ｇｌｎ）	Q	１２８．１４	１４３．９	１８０
グルタミン酸（Ｇｌｕ）	E	１２９．１２	１３８．４	１９０
グリシン（Ｇｌｙ）	G	５７．０６	６０．１	７５
ヒスチジン（Ｈｉｓ）	H	１３７．１５	１５３．２	１９５
イソロイシン（Ｉｌｅ）	I	１１３．１７	１６６．７	１７５
ロイシン（Ｌｅｕ）	L	１１３．１７	１６６．７	１７０
リジン（Ｌｙｓ）	K	１２８．１８	１６８．６	２００
メチオニン（Ｍｅｔ）	M	１３１．２１	１６２．９	１８５
フェニルアラニン（Ｐｈｅ）	F	１４７．１８	１８９．９	２１０
プロリン（Ｐｒｏ）	P	９７．１２	１２２．７	１４５
セリン（Ｓｅｒ）	S	８７．０８	８９．０	１１５
トレオニン（Ｔｈｒ）	T	１０１．１１	１１６．１	１４０
トリプトファン（Ｔｒｐ）	W	１８６．２１	２２７．８	２５５
チロシン（Ｔｙｒ）	Y	１６３．１８	１９３．６	２３０
バリン（Ｖａｌ）	V	９９．１４	１４０．０	１５５

[a]アミノ酸の分子量は、水の分子量を差し引いたものである。Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｐｈｙｓｉｃｓ，４３^{ｒｄ} ｅｄ．Ｃｌｅｖｅｌａｎｄ，Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｕｂｂｅｒ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，１９６１からの値。
[b]Ａ．Ａ．Ｚａｍｙａｔｎｉｎ，Ｐｒｏｇ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２４：１０７－１２３，１９７２からの値。
[c]Ｃ．Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１０５：１－１４，１９７５からの値。アクセス可能な表面積は、この参考文献の図６～２０に定義されている。

【０２７５】

いくつかの実施形態では、ノブまたはホールを形成するための元の残基は、ヘテロ多量体の三次元構造に基づいて特定される。当該技術分野で既知の三次元構造を得るための技法としては、Ｘ線結晶学及びＮＭＲが挙げられ得る。いくつかの実施形態では、界面は、免疫グロブリン定常ドメインのＣＨ３ドメインである。これらの実施形態では、ヒトＩｇＧ$_1$のＣＨ３／ＣＨ３界面は、４つの逆平行β鎖上に位置する各ドメイン上に１６個の残基を含む。理論に拘束されることを望むことなく、変異残基は、好ましくは、ノブがパートナーＣＨ３ドメイン内の補償ホールではなく周囲の溶媒によって収容され得る危険性を最小限に抑えるように、これらの２つの中央逆平行β鎖上に位置する。いくつかの実施形態では、２つの免疫グロブリンポリペプチド内の対応するノブ及びホールを形成する変異は、以下の表に提供される１つ以上の対に対応する。

表２．対応するノブ及びホール形成変異の例示の組

第１の免疫グロブリンのＣＨ３	第２の免疫グロブリンのＣＨ３
Ｔ３６６Ｙ	Ｙ４０７Ｔ
Ｔ３６６Ｗ	Ｙ４０７Ａ
Ｆ４０５Ａ	Ｔ３９４Ｗ
Ｙ４０７Ｔ	Ｔ３６６Ｙ
Ｔ３６６Ｙ：Ｆ４０５Ａ	Ｔ３９４Ｗ：Ｙ４０７Ｔ
Ｔ３６６Ｗ：Ｆ４０５Ｗ	Ｔ３９４Ｓ：Ｙ４０７Ａ
Ｆ４０５Ｗ：Ｙ４０７Ａ	Ｔ３６６Ｗ：Ｔ３９４Ｓ
Ｆ４０５Ｗ	Ｔ３９４Ｓ

変異は、元の残基、続いて、Ｋａｂａｔ番号付けシステムを使用した位置、その後、移入残基で表示されている（残基は全て一文字のアミノ酸コードで示されている）。複数の変異は、コロンで区切られている。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、免疫グロブリンポリペプチドは、上の表２に列記される１つ以上のアミノ酸置換を含むＣＨ３ドメインを含む。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、表２の左側の欄に列記される１つ以上のアミノ酸置換を含むＣＨ３ドメインを含む第１の免疫グロブリンポリペプチドと、表２の右側の欄に列記される１つ以上の対応するアミノ酸置換を含むＣＨ３ドメインを含む第２の免疫グロブリンポリペプチドとを含む。

【０２７７】

上述のようにＤＮＡを変異させた後、１つ以上の対応するノブまたはホール形成変異を有する修飾された免疫グロブリンポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、当該技術分野で既知の標準の組換え技法及び細胞系を使用して発現及び精製することができる。例えば、米国特許第５，７３１，１６８号、同第５，８０７，７０６号、同第５，８２１，３３３号、同第７，６４２，２２８号、同第７，６９５，９３６号、同第８，２１６，８０５号、米国公開第２０１３／００８９５５３号、及びＳｐｉｅｓｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ３１：７５３－７５８，２０１３を参照されたい。修飾された免疫グロブリンポリペプチドは、Ｅ．ｃｏｌｉ等の原核宿主細胞またはＣＨＯ細胞等の真核宿主細胞を使用して産生することができる。対応するノブ及びホールを持つ免疫グロブリンポリペプチドは、共培養下で、宿主細胞で発現され、ヘテロ多量体として一緒に精製され得るか、または単一培養下で発現され、別個に精製され、インビトロで構築され得る。いくつかの実施形態では、細菌宿主細胞の２つの株（一方はノブを有する免疫グロブリンポリペプチドを発現し、他方はホールを有する免疫グロブリンポリペプチドを発現する）は、当該技術分野で既知の標準の細菌培養技法を使用して共培養される。いくつかの実施形態では、２つの株は、例えば、培養下で等しい発現レベルを達成するように、特定の比率で混合され得る。いくつかの実施形態では、２つの株は、５０：５０、６０：４０、または７０：３０の比率で混合され得る。ポリペプチドが発現した後、これらの細胞が一緒に溶解され得、タンパク質が抽出され得る。ホモ多量体種対ヘテロ多量体種の存在量の測定を可能にする当該技術分野で既知の標準の技法としては、サイズ排除クロマトグラフィーが挙げられ得る。いくつかの実施形態では、各修飾された免疫グロブリンポリペプチドは、標準の組換え技法を使用して別個に発現され、それらはインビトロで一緒に構築され得る。構築は、例えば、各修飾された免疫グロブリンポリペプチドを精製し、それらを等しい質量で一緒に混合及びインキュベートし、ジスルフィドを還元し（例えば、ジチオスレイトールで処理することにより）、濃縮し、かつポリペプチドを再酸化することによって達成され得る。形成された二重特異性抗体は、カチオン交換クロマトグラフィー等の標準の技法を使用して精製することができ、サイズ排除クロマトグラ

フィー等の標準の技法を使用して測定することができる。これらの方法のより詳細な説明については、Ｓｐｅｉｓｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ ３１：７５３－８，２０１３を参照されたい。いくつかの実施形態では、修飾された免疫グロブリンポリペプチドは、ＣＨＯ細胞で別個に発現し、上述の方法を使用してインビトロで構築することができる。

【０２７８】

異なるアプローチに従って、所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン（抗体－抗原結合部位）は、免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合する。この融合は、好ましくは、ヒンジ領域、ＣＨ２領域、及びＣＨ３領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとの融合である。これらの融合のうちの少なくとも１つに存在する、軽鎖結合に必要な部位を含有する第１の重鎖定常領域（ＣＨ１）を有することが典型的である。免疫グロブリン重鎖融合物、所望の場合、免疫グロブリン軽鎖をコードするＤＮＡが別個の発現ベクターに挿入され、好適な宿主生物に共トランスフェクトされる。これにより、構築時に使用される不均等な比率の３つのポリペプチド鎖が最適収率を提供する実施形態において、３つのポリペプチド断片の相互割合を調整する際に優れた柔軟性が提供される。しかしながら、等しい比率での少なくとも２つのポリペプチド鎖の発現が高収率をもたらす場合に、またはそれらの比率が特に重要でない場合に、２つまたは３つ全てのポリペプチド鎖をコードする配列を１つの発現ベクターに挿入することが可能である。

【０２７９】

このアプローチの一実施形態では、二重特異性抗体は、一方のアームにある第１の結合特異性を有するハイブリッド免疫グロブリン重鎖、及び他方のアームにあるハイブリッド免疫グロブリン重鎖－軽鎖対（第２の結合特異性を提供する）から成る。二重特異性分子の半分のみでの免疫グロブリン軽鎖の存在により容易な分離方法が提供されるため、この非対称構造が望ましくない免疫グロブリン鎖の組み合わせからの所望の二重特異性化合物の分離を促進することが見出された。このアプローチは、ＷＯ９４／０４６９０に開示されている。二重特異性抗体の生成のさらなる詳細については、例えば、Ｓｕｒｅｓｈ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，１２１：２１０（１９８６）を参照されたい。

【０２８０】

ＷＯ９６／２７０１１に記載の別のアプローチに従って、抗体分子の対間の界面は、組換え細胞培養から回収されるヘテロ二量体の割合を最大にするように操作され得る。１つの界面は、抗体定常ドメインのC_H3ドメインの少なくとも一部を含む。この方法では、第１の抗体分子の界面由来の１つ以上の小さいアミノ酸側鎖は、より大きい側鎖（例えば、チロシンまたはトリプトファン）で置き換えられる。大きい側鎖（複数可）と同一または同様の大きさの補償「キャビティ」は、大きいアミノ酸側鎖をより小さいアミノ酸側鎖（例えば、アラニンまたはトレオニン）で置き換えることによって第２の抗体分子の界面上に作製される。これにより、ホモ二量体等の他の望ましくない最終生成物と比べてヘテロ二量体の収率を増加させるための機構が提供される。

【０２８１】

二重特異性抗体は、架橋または「ヘテロコンジュゲート」抗体を含む。例えば、ヘテロコンジュゲート中の抗体の一方がアビジンにカップリングし、他方がビオチンにカップリングし得る。かかる抗体が、例えば、免疫系細胞を望ましくない細胞に標的させる（米国特許第４，６７６，９８０号）、ＨＩＶ感染の治療用のものである（ＷＯ９１／００３６０、ＷＯ９２／２００３７３、及びＥＰ０３０８９）ことが提案されている。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の簡便な架橋方法を使用して作製することができる。好適な架橋剤が当該技術分野で周知であり、いくつかの架橋技法とともに、米国特許第４，６７６，９８０号に開示されている。

【０２８２】

抗体断片から二重特異性抗体を生成するための技法も本文献に記載されている。例えば、二重特異性抗体は、化学結合を使用して調製することができる。Ｂｒｅｎｎａｎ ｅｔ

ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）は、インタクトな抗体がタンパク質分解的に切断されて、Ｆ（ａｂ′）$_2$断片を生成する手技について説明している。これらの断片は、ジチオール錯化剤である亜ヒ酸ナトリウムの存在の存在下で還元されて、隣接するジチオールを安定させ、分子間ジスルフィド形成を阻止する。その後、生成されたＦａｂ′断片は、チオニトロベンゾエート（ＴＮＢ）誘導体に変換される。その後、Ｆａｂ′－ＴＮＢ誘導体の一方がメルカプトエチルアミンでの還元によってＦａｂ′－チオールに再変換され、等モル量の他方のＦａｂ′－ＴＮＢ誘導体と混合されて、二重特異性抗体を形成する。産生された二重特異性抗体は、酵素の選択的固定化のための薬剤として使用され得る。

【０２８３】

近年の進歩により、化学的にカップリングして二重特異性抗体を形成することができるＦａｂ′－ＳＨ断片のＥ．ｃｏｌｉからの直接回収が容易になった。Ｓｈａｌａｂｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１７５：２１７－２２５（１９９２）は、完全ヒト化二重特異性抗体Ｆ（ａｂ′）$_2$分子の産生について記載している。各Ｆａｂ′断片は、Ｅ．ｃｏｌｉから別個に分泌され、インビトロでの指向性化学カップリングに供されて、二重特異性抗体を形成する。

【０２８４】

二重特異性抗体断片を組換え細胞培養から直接作製及び単離するための様々な技法も記載されている。例えば、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体が産生された。Ｋｏｓｔｅｌｎｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）。Ｆｏｓ及びＪｕｎタンパク質由来のロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合によって２つの異なる抗体のＦａｂ′部分に連結させた。抗体ホモ二量体をヒンジ領域で還元して単量体を形成し、その後、再酸化して抗体ヘテロ二量体を形成した。この方法は、抗体ホモ二量体の産生にも利用することができる。Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）によって説明される「ダイアボディ」技術により、二重特異性抗体断片を作製するための代替機構が提供された。それらの断片は、同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーによって軽鎖可変ドメイン（V_L）に接続された重鎖可変ドメイン（V_H）を含む。したがって、ある断片のV_Hドメイン及びV_Lドメインが別の断片の相補的V_Lドメイン及びV_Hドメインと対合させられ、それにより、２つの抗原結合部位が形成される。一本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体を使用することによって二重特異性抗体断片を作製するための別の戦略も報告されている。Ｇｒｕｂｅｒ　ｅｔ　ａｌ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ，１５２：５３６８（１９９４）を参照されたい。

【０２８５】

２を超える結合価を有する抗体が企図される。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Ｔｕｆｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１）。

【０２８６】

（ｖｉｉ）単一ドメイン抗体

いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、単一ドメイン抗体である。単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部を含む単一のポリペプチド鎖である。ある特定の実施形態では、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，Ｍａｓｓ．、例えば、米国特許第６，２４８，５１６　Ｂ１号を参照のこと）。一実施形態では、単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てまたは一部からなる。

【０２８７】

（ｖｉｉｉ）抗体変異形

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体のアミノ酸配列修飾（複数可）が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善することが望ましくあり得る。本抗体のアミノ酸配列変異形は、本抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な変化を導入することによって、またはペプチド合成によって調製することができる

。かかる修飾としては、例えば、本抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／またはそれへの挿入、及び／またはその置換が挙げられる。欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせにより、最終構築物に到達することができるが、但し、最終構築物が所望の特性を有することを条件とする。主題の抗体のアミノ酸配列が作製されるときにアミノ酸改変がその配列に導入されてもよい。

【０２８８】

（ｉｘ）置換、挿入、及び欠失変異形

ある特定の実施形態では、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異形が提供される。置換型変異誘発の目的とする部位としては、ＨＶＲ及びＦＲが挙げられる。保存的置換が表１の「保存的置換」という見出しの下に示される。より実質的な変化が表１の「例示の置換」という見出しの下に示され、アミノ酸側鎖クラスを参照して以下にさらに記載される。アミノ酸置換が目的とする抗体に導入され、生成物が所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の低減、またはＡＤＣＣまたはＣＤＣの改善についてスクリーニングされ得る。

表３．例示の置換

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

【０２８９】

アミノ酸は、一般的な側鎖特性に従って群分けされ得る。

ａ．疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ

ｂ．中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ

ｃ．酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ
ｄ．塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ
ｅ．鎖配向に影響を及ぼす残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ
ｆ．芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ

【０２９０】

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

【０２９１】

ある種類の置換型変異形は、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の１つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、さらなる研究のために選択される結果として生じる変異形（複数可）は、親抗体と比較したある特定の生物学的特性（例えば、親和性の増加、免疫原性の低減）の修正（例えば、改善）を有し、かつ／または実質的に保持された親抗体のある特定の生物学的特性を有する。例示の置換型変異形は、例えば、本明細書に記載の技法等のファージディスプレイに基づく親和性成熟技法を使用して好都合に生成され得る親和性成熟抗体である。簡潔には、１つ以上のＨＶＲ残基が変異され、変異形抗体がファージ上にディスプレイされ、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

【０２９２】

改変（例えば、置換）がＨＶＲに行われて、例えば、抗体親和性を改善することができる。かかる改変が、ＨＶＲ「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を経るコドンによってコードされた残基（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９－１９６（２００８）を参照のこと）、及び／またはＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）に行われてもよく、結果として生じる変異形ＶＨまたはＶＬが結合親和性について試験される。二次ライブラリの構築及びそれからの再選択による親和性成熟については、例えば、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　１７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，（２００１））に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、多様性が、様々な方法（例えば、エラー．プローンＰＣＲ、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性変異誘発）のうちのいずれかによって、成熟させるために選択された可変遺伝子に導入される。その後、二次ライブラリが作製される。その後、このライブラリがスクリーニングされて、所望の親和性を有する任意の抗体変異形を特定する。多様性を導入する別の方法は、いくつかのＨＶＲ残基（例えば、一度に４～６個の残基）がランダム化されるＨＶＲ指向性アプローチを伴う。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを使用して、特異的に特定され得る。特にＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３が標的とされることが多い。

【０２９３】

ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、かかる改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、１つ以上のＨＶＲ内で生じ得る。例えば、結合親和性を実質的に低減しない保存的改変（例えば、本明細書に提供される保存的置換）がＨＶＲで行われ得る。かかる改変は、ＨＶＲ「ホットスポット」またはＳＤＲ外であり得る。上述の変異形ＶＨ配列及びＶＬ配列のある特定の実施形態では、各ＨＶＲは、改変されないか、または１つより多く、２つより多く、もしくは３つより多くのアミノ酸置換を含有しないかのいずれかである。

【０２９４】

変異誘発のために標的とされ得る抗体の残基または領域の特定に有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ　ａｎｄ　Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５によって説明される「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、残基または標的残基群（例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、及びｇｌｕ等の荷電残基）が特定され、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）によって置き換えられて、抗体と抗原との相互作用に影響が及ぼされたかを決定する

。さらなる置換が最初の置換に対する機能感受性を示すアミノ酸位置に導入され得る。あるいは、または加えて、抗体と抗原との間の接触点を特定するための抗原－抗体複合体の結晶構造。かかる接触残基及び隣接する残基が置換の候補として標的とされ得るか、または排除され得る。変異形がスクリーニングされて、それらが所望の特性を有するかを決定することができる。

【０２９５】

アミノ酸配列挿入としては、１個～１００個の範囲の残基またはそれ以上の残基を含有するポリペプチド長のアミノ末端融合及び／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が挙げられる。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型変異形としては、（例えば、ＡＤＥＰＴのために）抗体の血清半減期を増加させる酵素またはポリペプチドへの抗体のＮ末端またはＣ末端の融合が挙げられる。

【０２９６】

（ｘ）グリコシル化変異形

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

【０２９７】

この抗体がＦｃ領域を含む場合、それに結合した炭水化物が改変され得る。哺乳類細胞によって産生される天然抗体は、典型的には、一般にＮ結合によってＦｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７に結合される分岐状の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Ｗｒｉｇｈｔ　ｅｔ　ａｌ．ＴＩＢＴＥＣＨ　１５：２６－３２（１９９７）を参照されたい。オリゴ糖としては、様々な炭水化物、例えば、マンノース、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース、及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」のＧｌｃＮＡｃに結合したフコースが挙げられ得る。いくつかの実施形態では、ある特定の特性が改善された抗体変異形を作製するために、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾が行われ得る。

【０２９８】

一実施形態では、Ｆｃ領域を含む抗体変異形が提供され、Ｆｃ領域に結合した炭水化物構造は、フコースが減少しているか、またはフコースを欠き、これによりＡＤＣＣ機能が改善され得る。具体的には、野生型ＣＨＯ細胞で産生される同じ抗体のフコースの量と比較してフソース（ｆｕｃｏｓｅ）が減少した抗体が本明細書で企図される。すなわち、それらは、それらが天然ＣＨＯ細胞（例えば、天然ＦＵＴ８遺伝子を含有するＣＨＯ細胞等の天然グリコシル化パターンを産生するＣＨＯ細胞）によって産生された場合にさもなければ有するであろう量よりも少ない量のフコースを有することを特徴とする。ある特定の実施形態では、本抗体は、そのＮ結合型グリカンの約５０％、４０％、３０％、２０％、１０％、または５％未満がフコースを含む抗体である。例えば、かかる抗体中のフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、または２０％～４０％であり得る。ある特定の実施形態では、本抗体は、そのＮ結合型グリカンのいずれもフコースを含まない抗体であり、すなわち、本抗体は、フコースを全く有しないか、またはフコースを有しないか、またはアフコシル化されている。フコースの量は、例えば、ＷＯ２００８／０７７５４６に記載のＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析によって測定される、Ａｓｎ２９７に結合した全ての糖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計に対するＡｓｎ２９７での糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Ａｓｎ２９７とは、Ｆｃ領域内の約２９７位（Ｆｃ領域残基のＥｕ番号付け）に位置するアスパラギン残基を指すが、Ａｓｎ２９７は、抗体内の些細な配列変異のため、２９７位から約±３アミノ酸上流または下流に、すなわち、２９４位と３００位との間に位置し得る。かかるフコシル化変異形は、改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。例えば、米国特許公開第ＵＳ２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）、ＵＳ２００４／００９

３６２１号（Ｋｙｏｗａ　Ｈａｋｋｏ　Ｋｏｇｙｏ　Ｃｏ．，Ｌｔｄ）を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異形に関する公報の例としては、ＵＳ２００３／０１５７１０８、ＷＯ２０００／６１７３９、ＷＯ２００１／２９２４６、ＵＳ２００３／０１１５６１４、ＵＳ２００２／０１６４３２８、ＵＳ２００４／００９３６２１、ＵＳ２００４／０１３２１４０、ＵＳ２００４／０１１０７０４、ＵＳ２００４／０１１０２８２、ＵＳ２００４／０１０９８６５、ＷＯ２００３／０８５１１９、ＷＯ２００３／０８４５７０、ＷＯ２００５／０３５５８６、ＷＯ２００５／０３５７７８、ＷＯ２００５／０５３７４２、ＷＯ２００２／０３１１４０、Ｏｋａｚａｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３６：１２３９－１２４９（２００４）、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損したＬｅｃ１３　ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ　ｅｔ　ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４９：５３３－５４５（１９８６）、米国特許出願第ＵＳ２００３／０１５７１０８　Ａ１号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ）、及びＷＯ２００４／０５６３１２　Ａ１（Ａｄａｍｓ　ｅｔ　ａｌ．）、具体的には、実施例１１）、及びノックアウト細胞株、例えば、アルファ－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＦＵＴ８、ノックアウトＣＨＯ細胞（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：６１４（２００４）、Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，９４（４）：６８０－６８８（２００６）、及びＷＯ２００３／０８５１０７を参照のこと）が挙げられる。

【０２９９】

例えば、抗体のＦｃ領域に結合した二分岐オリゴ糖がＧｌｃＮＡｃによって二分されている二分オリゴ糖を有する抗体変異形がさらに提供される。かかる抗体変異形は、低減されたフコシル化及び／または改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。かかる抗体変異形の例は、例えば、ＷＯ２００３／０１１８７８（Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔ　ｅｔ　ａｌ．）、米国特許第６，６０２，６８４号（Ｕｍａｎａ　ｅｔ　ａｌ．）、ＵＳ２００５／０１２３５４６（Ｕｍａｎａ　ｅｔ　ａｌ．）、及びＦｅｒｒａｒａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，９３（５）：８５１－８６１（２００６）に記載されている。Ｆｃ領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも１つのガラクトース残基を有する抗体変異形も提供される。かかる抗体変異形は、改善されたＣＤＣ機能を有し得る。かかる抗体変異形は、例えば、ＷＯ１９９７／３００８７（Ｐａｔｅｌ　ｅｔ　ａｌ．）、ＷＯ１９９８／５８９６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）、及びＷＯ１９９９／２２７６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）に記載されている。

【０３００】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のＦｃ領域を有する抗体変異形は、ＦｃγＲＩＩＩに結合することができる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のＦｃ領域を含む抗体変異形は、ヒトエフェクター細胞の存在下でＡＤＣＣ活性を有するか、またはヒトエフェクター細胞の存在下でヒト野生型ＩｇＧ１Ｆｃ領域を有するという点以外は同じ抗体と比較して増加したＡＤＣＣ活性を有する。

【０３０１】

（ｘｉ）Ｆｃ領域変異形

ある特定の実施形態では、１つ以上のアミノ酸修飾が本明細書に提供される抗体のＦｃ領域に導入され、それにより、Ｆｃ領域変異形が生成され得る。Ｆｃ領域変異形は、１つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含むヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域）を含み得る。

【０３０２】

ある特定の実施形態では、本発明は、全てではないが、いくつかのエフェクター機能を有することにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、ある特定のエフェクター機能（補体及びＡＤＣＣ等）が不要または有害である用途に望ましい候補となる抗体変異形を企図する。インビトロ及び／またはインビボ細胞毒性アッセイを行って、ＣＤＣ及び

／またはＡＤＣＣ活性の低減／枯渇を確認することができる。例えば、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを行って、抗体がＦｃγＲ結合を欠く（故にＡＤＣＣ活性を欠く可能性が高い）が、ＦｃＲｎ結合能力を保持していることを確実にすることができる。ＡＤＣＣを媒介するための初代細胞であるＮＫ細胞が、Ｆｃ（ＲＩＩＩのみを発現する一方で、単球は、Ｆｃ（ＲＩ、Ｆｃ（ＲＩＩ、及びＦｃ（ＲＩＩＩを発現する。造血細胞でのＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７－４９２（１９９１）の４６４頁の表３に要約されている。目的とする分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定例が、米国特許第５，５００，３６２号（例えば、Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ．ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８３：７０５９－７０６３（１９８６）を参照のこと）、及びＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：１４９９－１５０２（１９８５）、５，８２１，３３７（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，Ｍ．ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６６：１３５１－１３６１（１９８７）を参照のこと）に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ方法が用いられ得る（例えば、フローサイトメトリーのためのＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞毒性アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，ＣＡ、及びＣｙｔｏＴｏｘ ９６（登録商標）非放射性細胞毒性アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）を参照のこと。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が挙げられる。あるいは、または加えて、目的とする分子のＡＤＣＣ活性は、インビボで、例えば、動物モデル、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９５：６５２－６５６（１９９８）に開示の動物モデルで評価され得る。Ｃ１ｑ結合アッセイを実行して、抗体がＣ１ｑに結合することができず、それ故にＣＤＣ活性を欠くことを確認することができる。例えば、ＷＯ２００６／０２９８７９及びＷＯ２００５／１００４０２のＣ１ｑ及びＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照されたい。補体活性化を評価するために、ＣＤＣアッセイが行われ得る（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０２：１６３（１９９６）、Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ １０１：１０４５－１０５２（２００３）、及びＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ａｎｄ Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｂｌｏｏｄ １０３：２７３８－２７４３（２００４）を参照のこと）。当該技術分野で既知の方法を使用して、ＦｃＲｎ結合及びインビボクリアランス／半減期の決定を行うこともできる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（１２）：１７５９－１７６９（２００６）を参照のこと）。

【０３０３】

低減したエフェクター機能を有する抗体としては、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７、及び３２９のうちの１つ以上の置換を有する抗体が挙げられる（米国特許第６，７３７，０５６号）。かかるＦｃ変異体としては、アミノ酸位置２６５、２６９、２７０、２９７、及び３２７のうちの２つ以上の置換を有するＦｃ変異体、例えば、残基２６５及び２９７のアラニンへの置換を有するいわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ変異体が挙げられる（米国特許第７，３３２，５８１号）。

【０３０４】

ＦｃＲへの結合が改善または低減されたある特定の抗体変異形が記載されている（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号、ＷＯ２００４／０５６３１２、及びＳｈｉｅｌｄｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）：６５９１－６６０４（２００１））。

【０３０５】

ある特定の実施形態では、抗体変異形は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８，３３３、及び／または３３４位（残基のＥＵ番号付け）での置換を有するＦｃ領域を含む。例示の一実施形態では、本抗体は、そのＦｃ領域に以下のアミノ酸置換：Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、及びＫ３３４Ａを含む。

【０３０６】
いくつかの実施形態では、例えば、米国特許第６，１９４，５５１号、ＷＯ９９／５１６４２、及びＩｄｕｓｏｇｉｅ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４（２０００）に記載されるように、改変された（すなわち、改善されたかまたは低減されたかのいずれかの）Ｃ１ｑ結合及び／または補体依存性細胞毒性（ＣＤＣ）をもたらす改変がＦｃ領域に行われる。

【０３０７】
母体ＩｇＧの胎児への移送に関与する半減期の延長及び新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への結合の改善を有する抗体（Ｇｕｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９（１９９４））については、ＵＳ２００５／００１４９３４Ａ１（Ｈｉｎｔｏｎ ｅｔ ａｌ．）に記載されている。それらの抗体は、Ｆｃ領域のＦｃＲｎへの結合を改善する１つ以上の置換を有するＦｃ領域をそこに含む。かかるＦｃ変異形は、Ｆｃ領域残基：２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４、または４３４のうちの１つ以上での置換、例えば、Ｆｃ領域残基４３４の置換を有するものを含む（米国特許第７，３７１，８２６号）。Ｆｃ領域変異形の他の例に関しては、Ｄｕｎｃａｎ ＆ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ ３２２：７３８－４０（１９８８）、米国特許第５，６４８，２６０号、米国特許第５，６２４，８２１号、及びＷＯ９４／２９３５１も参照されたい。

【０３０８】
（ｘｉｉ）抗体誘導体
本発明の抗体は、当該技術分野で既知であり、かつ容易に入手可能なさらなる非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾され得る。ある特定の実施形態では、本抗体の誘導体化に好適なこれらの部分は、水溶性ポリマーである。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性のため、製造時に有利であり得る。ポリマーは、任意の分子量のものであり得、分岐状または非分岐状であり得る。本抗体に結合したポリマーの数は異なり得、１つより多くのポリマーが結合している場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／または種類は、改善される本抗体の具体的な特性または機能、本抗体の誘導体が規定の状態下である療法で使用されるか等を含むが、これらに限定されない検討事項に基づいて決定され得る。

【０３０９】
（ｘｉｉｉ）ベクター、宿主細胞、及び組換え方法
抗体は、組換え方法を使用して産生され得る。抗抗原抗体の組換え産生について、本抗体をコードする核酸が単離され、さらなるクローニング（ＤＮＡの増幅）または発現のために複製可能なベクターに挿入される。本抗体をコードするＤＮＡは、容易に単離され、従来の手技を使用して（例えば、本抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用して）配列決定され得る。多くのベクターが利用可能である。ベクター成分としては、一般に、以下：シグナル配列、複製起点、１つ以上のマーカー遺伝子、エンハンサー要素、プロモーター、及び転写終結配列のうちの１つ以上が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３１０】
（ａ）シグナル配列成分
本発明の抗体は、直接のみならず、異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとしても組換え的に産生され得、この異種ポリペプチドは、好ましくは、成熟タンパク質またはポリペプチドのＮ末端に特異的切断部位を有するシグナル配列または他のポリペプチドである。選択される異種シグナル配列は、好ましくは、宿主細胞によって認識及びプロセシング（例えば、シグナルペプチダーゼによって切断される）ものである。天然抗体シグナル配列を認識もプロセシングもしない原核宿主細胞の場合、シグナル配列は、例えば、アルカリ性ホスファターゼ、ペニシリナーゼ、ｌｐｐ、または熱安定性エンテロトキシンＩＩリーダーの群から選択される原核シグナル配列によって置換される。酵母分泌の場合、天然シグナル配列は、例えば、酵母インベルターゼリーダー、因子リーダー（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ及びＫｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓα－因子リーダー等）、または酸性ホスファターゼリーダー、Ｃ．ａｌｂｉｃａｎｓグルコアミラーゼリーダー、またはＷＯ９０／１３６４６に記載のシグナルによって置換され得る。哺乳類細胞発現において、哺乳類シグナル配列、ならびにウイルス分泌リーダー、例えば、単純ヘルペスｇＤシグナルが利用可能である。
【０３１１】
（ｂ）複製起点
発現ベクターもクローニングベクターもいずれも、ベクターの１つ以上の選択された宿主細胞における複製を可能にする核酸配列を含有する。一般に、クローニングベクターにおいて、この配列は、宿主染色体ＤＮＡとは無関係にベクターの複製を可能にするものであり、これらとしては、複製起点または自己複製配列が挙げられる。かかる配列は、様々な細菌、酵母、及びウイルスで周知である。プラスミドｐＢＲ３２２由来の複製起点が大半のグラム陰性細菌に好適であり、２μプラスミド起点が酵母に好適であり、様々なウイルス起点（ＳＶ４０、ポリオーマ、アデノウイルス、ＶＳＶまたはＢＰＶ）が哺乳類細胞におけるクローニングベクターに有用である。一般に、複製起点成分は、哺乳類発現ベクターに必要とされない（ＳＶ４０起点が初期プロモーターを含有するという理由のみで、それが典型的に使用され得る。
【０３１２】
（ｃ）選択遺伝子成分
発現ベクター及びクローニングベクターは、選択遺伝子、別名、選択可能なマーカーを含有し得る。典型的な選択遺伝子は、（ａ）抗生物質もしくは他の毒素、例えば、アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキサート、もしくはテトラサイクリンへの耐性を与えるか、（ｂ）栄養要求性欠損を保管するか、または（ｃ）複合培地から入手不可能な必須の栄養素、例えば、ＢａｃｉｌｌｉのためのＤ－アラニンラセマーゼをコードする遺伝子を供給するタンパク質をコードする。
【０３１３】
選択スキームの一例は、宿主細胞の成長を停止する薬物を利用する。異種遺伝子での形質転換に成功した細胞は、薬物耐性を与え、それ故に選択レジメンで生き残るタンパク質を産生する。かかる優性選択の例は、薬物ネオマイシン、ミコフェノール酸、及びハイグロマイシンを使用する。
【０３１４】
哺乳類細胞に好適な選択可能なマーカーの別の例は、ＤＨＦＲ、グルタミンシンテターゼ（ＧＳ）、チミジンキナーゼ、メタロチオネイン－Ｉ及び－ＩＩ、好ましくは、霊長類メタロチオネイン遺伝子、アデノシンデアミナーゼ、オルニチンデカルボキシラーゼ等の抗体コード核酸を取り込むための細胞成分の特定を可能にするものである。
【０３１５】
例えば、ＤＨＦＲ遺伝子で形質転換された細胞は、ＤＨＦＲの競合アンタゴニストであるメトトレキサート（Ｍｔｘ）を含有する培養培地中で形質転換体を培養することによって特定される。これらの条件下で、ＤＨＦＲ遺伝子は、任意の他の共形質転換された核酸

とともに増幅される。内因性ＤＨＦＲ活性が欠損したチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株（例えば、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－９０９６）が使用され得る。

【０３１６】

あるいは、ＧＳ遺伝子で形質転換された細胞は、ＧＳ阻害剤であるＬ－メチオニンスルホキシミン（Ｍｓｘ）を含有する培養培地中で形質転換体を培養することによって特定される。これらの条件下で、ＧＳ遺伝子は、任意の他の共形質転換された核酸とともに増幅される。ＧＳ選択／増幅系が、上述のＤＨＦＲ選択／増幅系と組み合わせて使用され得る。

【０３１７】

あるいは、目的とする抗体をコードするＤＮＡ配列、野生型ＤＨＦＲ遺伝子、及び別の選択可能なマーカー、例えば、アミノグリコシド３′－ホスホトランスフェラーゼ（ＡＰＨ）で形質転換または共形質転換された宿主細胞（具体的には、内因性ＤＨＦＲを含有する野生型宿主）は、アミノグリコシド抗生物質、例えば、カナマイシン、ネオマイシン、またはＧ４１８等の選択可能なマーカー用の選択剤を含有する培地中での細胞成長によって選択され得る。米国特許第４，９６５，１９９号を参照されたい。

【０３１８】

酵母での使用に好適な選択遺伝子は、酵母プラスミドＹＲｐ７中に存在するｔｒｐ１遺伝子である（Ｓｔｉｎｃｈｃｏｍｂ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２８２：３９（１９７９））。ｔｒｐ１遺伝子は、トリプトファン、例えば、ＡＴＣＣ番号４４０７６またはＰＥＰ４－１で成長する能力を欠く酵母の変異株のための選択マーカーを提供する。Ｊｏｎｅｓ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，８５：１２（１９７７）。その後、酵母宿主細胞ゲノム中でのｔｒｐ１病変の存在により、トリプトファンの不在下での成長による形質転換の検出に有効な環境が提供される。同様に、Ｌｅｕ２が欠損した酵母株（ＡＴＣＣ２０，６２２または３８，６２６）は、Ｌｅｕ２遺伝子を持つ既知のプラスミドによって補完される。

【０３１９】

加えて、１．６μｍの環状プラスミドｐＫＤ１由来のベクターが、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ酵母の形質転換に使用され得る。あるいは、組換え仔牛キモシンの大規模産生のための発現系としてＫ．ｌａｃｔｉｓが報告された。Ｖａｎ　ｄｅｎ　Ｂｅｒｇ，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，８：１３５（１９９０）。Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓの工業用株による成熟組換えヒト血清アルブミンの分泌のための安定した多コピー発現ベクターも開示されている。Ｆｌｅｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，９：９６８－９７５（１９９１）。

【０３２０】

（ｄ）プロモーター成分

発現ベクター及びクローニングベクターは、一般に、宿主生物によって認識され、かつ抗体をコードする核酸に作動可能に連結されるプロモーターを含有する。原核宿主との使用に好適なプロモーターとしては、ｐｈｏＡプロモーター、β－ラクタマーゼ及びラクトースプロモーター系、アルカリ性ホスファターゼプロモーター、トリプトファン（ｔｒｐ）プロモーター系、ならびにハイブリッドプロモーター、例えば、ｔａｃプロモーターが挙げられる。しかしながら、他の既知の細菌プロモーターも好適である。細菌系で使用するためのプロモーターは、抗体をコードするＤＮＡに作動可能に連結されるシャイン・ダルガノ（Ｓ．Ｄ．）配列も含有する。

【０３２１】

真核生物のプロモーター配列が既知である。実質的に全ての真核遺伝子が、転写が始まる部位からおよそ２５～３０塩基上流に位置するＡＴに富んだ領域を有する。多くの遺伝子の転写開始から７０～８０塩基上流に見られる別の配列は、Ｎが任意のヌクレオチドであるＣＮＣＡＡＴ領域である。大半の真核遺伝子の３′末端は、コード配列の３′末端へのポリＡ尾部の付加のためのシグナルであり得るＡＡＴＡＡＡ配列である。これらの配列の全てが核発現ベクターに好適に挿入される。

【０３２２】

酵母宿主との使用に好適なプロモーター配列の例としては、３－ホスホグリセリン酸キナーゼまたは他の解糖酵素のプロモーター、例えば、エノラーゼ、グリセルアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース－６－リン酸イソメラーゼ、３－ホスホグリセリン酸ムターゼ、ピルビン酸キナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、グルコースリン酸イソメラーゼ、及びグルコキナーゼが挙げられる。

【０３２３】

成長条件によって制御された転写にさらに有利な誘導可能なプロモーターである他の酵母プロモーターは、アルコールデヒドロゲナーゼ２、イソシトクロムＣ、酸性ホスファターゼ、窒素代謝に関連する分解酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ、ならびにマルトース及びガラクトース利用に関与する酵素のプロモーター領域である。酵母発現での使用に好適なベクター及びプロモーターについては、ＥＰ７３，６５７にさらに記載されている。酵母エンハンサーも酵母プロモーターとともに有利に使用される。

【０３２４】

哺乳類宿主細胞中のベクターからの抗体転写は、例えば、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス（アデノウイルス２等）、ウシ乳頭腫ウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）等のウイルスのゲノムから、または異種哺乳類プロモーター、例えば、アクチンプロモーターもしくは免疫グロブリンプロモーターから、熱ショックプロモーターから得られるプロモーターによって制御され得るが、但し、かかるプロモーターが宿主細胞系と適合性であることを条件とする。

【０３２５】

ＳＶ４０ウイルスの初期プロモーター及び後期プロモーターは、ＳＶ４０ウイルス複製起点も含有するＳＶ４０制限断片として好都合に得られる。ヒトサイトメガロウイルスの前初期プロモーターは、ＨｉｎｄＩＩＩ　Ｅ制限断片として好都合に得られる。ウシ乳頭腫ウイルスをベクターとして使用して哺乳類宿主におけるＤＮＡを発現させる系が米国特許第４，４１９，４４６号に開示されている。この系の修飾については、米国特許第４，６０１，９７８号に記載されている。単純ヘルペスウイルス由来のチミジンキナーゼプロモーターの制御下でのマウス細胞でのヒトβ－インターフェロンｃＤＮＡの発現に関しては、Ｒｅｙｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　２９７：５９８－６０１（１９８２）も参照されたい。あるいは、ラウス肉腫ウイルス長末端反復がプロモーターとして使用され得る。

【０３２６】

（ｅ）エンハンサー要素成分

より高次の真核生物による本発明の抗体をコードするＤＮＡの転写は、多くの場合、エンハンサー配列をベクターに挿入することによって増大する。哺乳類遺伝子（グロビン、エラスターゼ、アルブミン、α－フェトプロテイン、及びインスリン）由来の多くのエンハンサー配列が現在既知である。しかしながら、典型的には、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーを使用する。例としては、複製起点の後半側のＳＶ４０エンハンサー（ｂｐ１００～２７０）、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後半側のポリオーマエンハンサー、及びアデノウイルスエンハンサーが挙げられる。真核プロモーターの活性化のための増強要素に関しては、Ｙａｎｉｖ，Ｎａｔｕｒｅ　２９７：１７－１８（１９８２）も参照されたい。エンハンサーは、抗体コード配列の５′位または３′位でベクターにスプライスされ得るが、好ましくは、プロモーターから５′部位に位置する。

【０３２７】

（ｆ）転写終結成分

真核宿主細胞（酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、または他の多細胞生物由来の有核細胞）で使用される発現ベクターは、転写終結及びｍＲＮＡの安定化に必要な配列も含

有する。かかる配列は、一般に、真核またはウイルスＤＮＡまたはｃＤＮＡの５′非翻訳領域、時折、３′非翻訳領域から入手可能である。これらの領域は、抗体をコードするｍＲＮＡの非翻訳部分内のポリアデニル化断片として転写されたクレオチドセグメントを含有する。１つの有用な転写終結成分は、ウシ成長ホルモンポリアデニル化領域である。ＷＯ９４／１１０２６及びそれに開示される発現ベクターを参照されたい。

【０３２８】

（ｇ）宿主細胞の選択及び形質転換

本明細書におけるベクター中でのＤＮＡのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞は、上述の原核生物、酵母、またはより高次の真核生物細胞である。この目的に好適な原核生物としては、真正細菌、例えば、グラム陰性またはグラム陽性生物、例えば、腸内細菌科、例えば、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ、例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒ、Ｅｒｗｉｎｉａ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ、Ｐｒｏｔｅｕｓ、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、例えば、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ、Ｓｅｒｒａｔｉａ、例えば、Ｓｅｒｒａｔｉａ ｍａｒｃｅｓｃａｎｓ、及びＳｈｉｇｅｌｌａ、ならびにＢａｃｉｌｌｕｓ、例えば、Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ及びＢ．ｌｉｃｈｅｎｉｆｏｒｍｉｓ（例えば、１９８９年４月１２日公開のＤＤ２６６，７１０に開示されるＢ．ｌｉｃｈｅｎｉｆｏｒｍｉｓ ４１Ｐ）、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ、例えば、Ｐ．ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ、及びＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓが挙げられる。１つの好ましいＥ．ｃｏｌｉクローニング宿主はＥ．ｃｏｌｉ ２９４（ＡＴＣＣ３１，４４６）であるが、Ｅ．ｃｏｌｉ Ｂ、Ｅ．ｃｏｌｉ Ｘ１７７６（ＡＴＣＣ３１，５３７）、及びＥ．ｃｏｌｉ Ｗ３１１０（ＡＴＣＣ２７，３２５）等の他の株も好適である。これらの例は、限定するものではなく、例証するものである。

【０３２９】

全長抗体、抗体融合タンパク質、及び抗体断片は、具体的には、グリコシル化及びＦｃエフェクター機能が必要とされない場合に、例えば、治療抗体が、単独で腫瘍細胞破壊における効果を示す細胞毒性薬（例えば、毒素）にコンジュゲートする場合に、細菌内で産生され得る。全長抗体は、より優れた血中半減期を有する。Ｅ．ｃｏｌｉでの産生がより迅速であり、より費用効率が高い。細菌での抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第５，６４８，２３７号（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ． ａｌ．）、米国特許第５，７８９，１９９号（Ｊｏｌｙ ｅｔ ａｌ．）、米国特許第５，８４０，５２３号（Ｓｉｍｍｏｎｓ ｅｔ ａｌ．）（発現及び分泌を最適化するための翻訳開始領域（ＴＩＲ）及びシグナル配列について記載）を参照されたい。Ｃｈａｒｌｔｏｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００３），ｐｐ．２４５－２５４（Ｅ．ｃｏｌｉでの抗体断片の発現について記載）も参照されたい。発現後、本抗体は、可溶性画分中のＥ．ｃｏｌｉ細胞ペーストから単離され得、例えば、アイソタイプに応じてタンパク質ＡまたはＧカラムにより精製され得る。最終精製は、例えば、ＣＨＯ細胞で発現された抗体を精製するためのプロセスと同様に行われ得る。

【０３３０】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母等の真核微生物が、抗体コードベクターに好適なクローニングまたは発現宿主である。より下位の真核宿主微生物の中でＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅまたは一般的なパン酵母が最も一般的に使用されている。しかしながら、Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｐｏｍｂｅ、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ宿主、例えば、Ｋ．ｌａｃｔｉｓ、Ｋ．ｆｒａｇｉｌｉｓ（ＡＴＣＣ１２，４２４）、Ｋ．ｂｕｌｇａｒｉｃｕｓ（ＡＴＣＣ１６，０４５）、Ｋ．ｗｉｃｋｅｒａｍｉｉ（ＡＴＣＣ２４，１７８）、Ｋ．ｗａｌｔｉｉ（ＡＴＣＣ５６，５００）、Ｋ．ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａｒｕｍ（ＡＴＣＣ３６，９０６）、Ｋ．ｔｈｅｒｍｏｔｏｌｅｒａｎｓ、及びＫ．ｍａｒｘｉａｎｕｓ等、ｙａｒｒｏｗｉａ（ＥＰ４０２，２２６）、Ｐｉｃｈｉａ ｐａｓｔｏｒｉｓ（ＥＰ１８３，０７０）、Ｃａｎｄｉｄａ、Ｔｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ ｒｅｅｓｉａ（ＥＰ２４４，２３４）、Ｎｅｕｒｏｓｐｏｒａ ｃｒａｓｓａ

、Ｓｃｈｗａｎｎｉｏｍｙｃｅｓ、例えば、Ｓｃｈｗａｎｎｉｏｍｙｃｅｓ ｏｃｃｉｄｅｎｔａｌｉｓ、及び糸状菌、例えば、Ｎｅｕｒｏｓｐｏｒａ、Ｐｅｎｉｃｉｌｌｉｕｍ、Ｔｏｌｙｐｏｃｌａｄｉｕｍ等、及びＡｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ宿主、例えば、Ａ．ｎｉｄｕｌａｎｓ及びＡ．ｎｉｇｅｒ等のいくつかの他の属、種、及び株も一般に利用可能であり、本明細書で有用である。治療的タンパク質の産生のための酵母及び糸状菌の使用について論じている概説については、例えば、Ｇｅｒｎｇｒｏｓｓ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２２：１４０９－１４１４（２００４）を参照されたい。

【０３３１】

グリコシル化経路が「ヒト化」されており、結果として部分的または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらすある特定の真菌及び酵母株が選択され得る。例えば、Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２４：２１０－２１５（２００６）（Ｐｉｃｈｉａ ｐａｓｔｏｒｉｓにおけるグリコシル化経路のヒト化について記載）、及びＧｅｒｎｇｒｏｓｓ ｅｔ ａｌ．（上記参照）を参照されたい。

【０３３２】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞は、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）からも得られる。無脊椎動物細胞の例としては、植物細胞及び昆虫細胞が挙げられる。多数のバキュロウイルス株及び変異形、ならびに宿主、例えば、Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ（毛虫）、Ａｅｄｅｓ ａｅｇｙｐｔｉ（ｍｏｓｑｕｉｔｏ）、Ａｅｄｅｓ ａｌｂｏｐｉｃｔｕｓ（蚊）、Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ ｍｅｌａｎｏｇａｓｔｅｒ（ミバエ）、及びＢｏｍｂｙｘ ｍｏｒｉ由来の対応する許容昆虫宿主細胞が特定されている。トランスフェクションのための様々なウイルス株、例えば、Ａｕｔｏｇｒａｐｈａ ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ ＮＰＶのＬ－１変異形及びＢｏｍｂｙｘ ｍｏｒｉ ＮＰＶのＢｍ－５株が公的に入手可能であり、かかるウイルスは、具体的には、Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞のトランスフェクションのために、本発明による本明細書におけるウイルスとして使用され得る。

【０３３３】

綿、トウモロコシ、ジャガイモ、大豆、ペチュニア、トマト、ウキクサ（Ｌｅｎｉｎａｃｅａｅ）、ムラサキウマゴヤシ（Ｍ．ｔｒｕｎｃａｔｕｌａ）、及びタバコの植物細胞培養物も宿主として利用され得る。例えば、米国特許第５，９５９，１７７号、同第６，０４０，４９８号、同第６，４２０，５４８号、同第７，１２５，９７８号、及び同第６，４１７，４２９号（トランスジェニック植物における抗体の産生のためのＰＬＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ（商標）技術について記載）を参照されたい。

【０３３４】

脊椎動物細胞が宿主として使用され得、培養下での脊椎動物細胞の繁殖（組織培養）が日常的な手技になっている。有用な哺乳類宿主細胞株の例は、ＳＶ４０によって形質転換されたサル腎臓ＣＶ１株（ＣＯＳ－７、ＡＴＣＣ ＣＲＬ １６５１）、ヒト胚腎臓株（懸濁培養下での成長のためにサブクローニングされた２９３または２９３細胞、Ｇｒａｈａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ．３６：５９（１９７７））、ベビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ、ＡＴＣＣ ＣＣＬ １０）、マウス セルトリ細胞（ＴＭ４、Ｍａｔｈｅｒ，Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３－２５１（１９８０））、サル腎臓細胞（ＣＶ１ ＡＴＣＣ ＣＣＬ ７０）、アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６、ＡＴＣＣ ＣＲＬ－１５８７）、ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ、ＡＴＣＣ ＣＣＬ ２）、イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ、ＡＴＣＣ ＣＣＬ ３４）、バッファローラット肝細胞（ＢＲＬ ３Ａ、ＡＴＣＣ ＣＲＬ １４４２）、ヒト肺細胞（Ｗ１３８、ＡＴＣＣ ＣＣＬ ７５）、ヒト肺細胞（Ｈｅｐ Ｇ２、ＨＢ ８０６５）、マウス乳腺腫瘍（ＭＭＴ ０６０５６２、ＡＴＣＣ ＣＣＬ５１）、ＴＲＩ細胞（Ｍａｔｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎａｌｓ Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４－６８（１９８２））、ＭＲＣ ５細胞、ＦＳ４細胞、及びヒト肝癌（Ｈｅｐ Ｇ２）である。他の有用な哺乳類宿主細胞株としては、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、例えば、ＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞（Ｕｒｌａｕｂ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ

７７：４２１６（１９８０））、ならびに骨髄腫細胞株、例えば、ＮＳ０及びＳｐ２／０が挙げられる。抗体産生に好適なある特定の哺乳類宿主細胞株の概説については、例えば、Ｙａｚａｋｉ ａｎｄ Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．，２００３），ｐｐ．２５５－２６８を参照されたい。

【０３３５】

宿主細胞は、抗体産生のために上述の発現ベクターまたはクローニングベクターで形質転換され、プロモーターの誘導、形質転換対の選択、または所望の配列をコードする遺伝子の増幅に適切なものとして修飾された従来の栄養素培地中で培養される。

【０３３６】

（ｈ）宿主細胞の培養

本発明の抗体を産生するために使用される宿主細胞は、様々な培地中で培養される。ハムＦ１０（Ｓｉｇｍａ）、最小必須培地（（ＭＥＭ）、（Ｓｉｇｍａ）、ＲＰＭＩ－１６４０（Ｓｉｇｍａ）、及びダルベッコ修飾イーグル培地（（ＤＭＥＭ）、Ｓｉｇｍａ）等の市販の培地が、宿主細胞の培養に好適である。加えて、Ｈａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．５８：４４（１９７９）、Ｂａｒｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１０２：２５５（１９８０）、米国特許第４，７６７，７０４号、同第４，６５７，８６６号、同第４，９２７，７６２号、同第４，５６０，６５５号、もしくは同第５，１２２，４６９号、ＷＯ９０／０３４３０、ＷＯ８７／００１９５、または米国特許再発行第３０，９８５号に記載の培地のうちのいずれかが、宿主細胞の培養培地として使用され得る。これらの培地のうちのいずれかも、必要に応じて、ホルモン及び／または他の成長因子（インスリン、トランスフェリン、または上皮成長因子等）、塩（塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、及びリン酸塩等）、緩衝液（ＨＥＰＥＳ等）、ヌクレオチド（アデノシン及びチミジン等）、抗生物質（ＧＥＮＴＡＭＹＣＩＮ（商標）薬物等）、微量元素（通常マイクロモル範囲の最終濃度で存在する無機化合物として定義される）、ならびにグルコースまたは等価エネルギー源が補充され得る。任意の他の必要な補充物も当業者に既知の適切な濃度で含まれ得る。培養条件、例えば、温度、ｐＨ等は、発現のために選択された宿主細胞で既に使用したものであり、当業者に明らかであろう。

【０３３７】

（ｘｉｖ）抗体の精製

組換え技法を使用する場合、本抗体は、細胞内で産生され得るか、ペリプラズム空間で産生され得るか、または培地に直接分泌され得る。本抗体が細胞内で産生される場合、第１のステップとして、微粒子残屑（宿主細胞または溶解断片のいずれか）が、例えば、遠心分離または限外濾過によって除去される。Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６３－１６７（１９９２）は、Ｅ．ｃｏｌｉのペリプラズム空間に分泌される抗体を単離するための手技について記載している。簡潔には、細胞ペーストが、酢酸ナトリウム（ｐＨ３．５）、ＥＤＴＡ、及びフッ化フェニルメチルスルホニル（ＰＭＳＦ）の存在下で、約３０分間にわたって解凍される。細胞残屑が遠心分離によって除去され得る。本抗体が培地に分泌される場合、かかる発現系由来の上清が、一般に、市販のタンパク質濃縮フィルター、例えば、ＡｍｉｃｏｎまたはＭｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｐｅｌｌｉｃｏｎ限外濾過装置を使用して最初に濃縮される。タンパク質分解を阻害するためのＰＭＳＦ等のプロテアーゼ阻害剤が前述のステップのうちのいずれかに含まれてもよく、外来性汚染物質の成長を阻止する抗生物質が含まれてもよい。

【０３３８】

細胞から調製された抗体組成物は、例えば、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、及び親和性クロマトグラフィーを使用して精製され得、親和性クロマトグラフィーが典型的に好ましい精製ステップのうちの１つである。タンパク質Ａの親和性リガンドとしての好適性は、本抗体中に存在する任意の免疫グロブリンＦｃドメインの種及びアイソタイプに依存する。タンパク質Ａを使用して、ヒトγ１、γ２、またはγ４重鎖に基づく抗体を精製することができる（Ｌ

ｉｎｄｍａｒｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．６２：１－１３（１９８３））。タンパク質Ｇが全てのマウスアイソタイプ及びヒトγ３に推奨される（Ｇｕｓｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．５：１５６７１５７５（１９８６））。親和性リガンドが結合するマトリックスは、ほとんどの場合、アガロースであるが、他のマトリックスも利用可能である。制御細孔ガラスまたはポリ（スチレンジビニル）ベンゼン等の機械的に安定なマトリックスにより、アガロースで達成され得るよりも速い流速及び短いプロセシング時間が可能になる。本抗体がC_H3ドメインを含む場合、Ｂａｋｅｒｂｏｎｄ ＡＢＸ（商標）樹脂（Ｊ．Ｔ．Ｂａｋｅｒ，Ｐｈｉｌｌｉｐｓｂｕｒｇ，Ｎ．Ｊ．）が精製に有用である。タンパク質精製のための他の技法、例えば、イオン交換カラム上での分別、エタノール沈殿、逆相ＨＰＬＣ、シリカ上でのクロマトグラフィー、ヘパリン上でのクロマトグラフィー、アニオンまたはカチオン交換樹脂（ポリアスパラギン酸カラム等）上でのＳＥＰＨＡＲＯＳＥ（商標）クロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、及び硫酸アンモニウム沈殿も、回収される抗体に応じて利用可能である。

【０３３９】

一般に、研究、試験、及び臨床で使用するための抗体を調製するための様々な方法論が当該技術分野で確立されており、上述の方法論と一致しており、かつ／または当業者によって目的とする特定の抗体に適切であると見なされる。

【０３４０】

Ｃ．生物学的に活性な抗体の選択

上述のように産生された抗体は、１つ以上の「生物学的活性」アッセイに供されて、治療的観点から有益な特性を有する抗体を選択するか、または本抗体の生物学的活性を保持する製剤及び条件を選択することができる。本抗体は、それが産生される抗原に結合するその能力について試験され得る。例えば、当該技術分野で既知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡ、ウエスタンブロット等）が使用され得る。

【０３４１】

例えば、抗ＰＤＬ１抗体の場合、抗体の抗原結合特性は、ＰＤＬ１に結合する能力を検出するアッセイで評価され得る。いくつかの実施形態では、本抗体の結合は、例えば、飽和結合、ＥＬＩＳＡ、及び／または競合アッセイ（例えば、ＲＩＡ）によって決定され得る。本抗体は、例えば、治療薬としてのその有効性を評価するために、他の生物学的活性アッセイにも供され得る。かかるアッセイが当該技術分野で既知であり、本抗体の標的抗原及び意図される使用に依存する。例えば、本抗体によるＰＤ－Ｌ１遮断の生物学的効果は、ＣＤ８＋Ｔ細胞、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（ＬＣＭＶ）マウスモデル、及び／または同系腫瘍モデル、例えば、米国特許第８，２１７，１４９号に記載のモデルにおいて評価され得る。

【０３４２】

目的とする抗原上の特定のエピトープに結合する抗体（例えば、例示の抗ＰＤＬ１抗体のＰＤ－Ｌ１への結合を遮断する抗体）についてスクリーニングするために、日常的な交差遮断アッセイ、例えば、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｅｄ Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｄａｖｉｄ Ｌａｎｅ（１９８８）に記載のアッセイが行われ得る。あるいは、エピトープマッピング、例えば、Ｃｈａｍｐｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７０：１３８８－１３９４（１９９５）に記載のマッピングを行って、本抗体が目的とするエピトープに結合するかを決定することができる。

【０３４３】

一態様では、生物学的活性を有するその抗ＯＸ４０抗体を特定するためのアッセイが提供される。生物学的活性としては、例えば、ＯＸ４０の結合（例えば、ヒト及び／またはカニクイザルＯＸ４０の結合）、ＯＸ４０媒介シグナル伝達の増加（例えば、ＮＦｋＢ媒介転写の増加）、ヒトＯＸ４０を発現する細胞（例えば、Ｔ細胞）の枯渇、エフェクターＴ細胞機能の増強（例えば、ＣＤ４＋エフェクターＴ細胞、ＣＤ８＋エフェクターＴ細胞）（例えば、エフェクターＴ細胞増殖の増加及び／またはエフェクターＴ細胞によるサイ

トカイン産生の増加（例えば、ガンマインターフェロン）による）、メモリーＴ細胞機能の増強（例えば、ＣＤ４＋メモリーＴ細胞）（例えば、メモリーＴ細胞増殖の増加及び／またはメモリーＴ細胞によるサイトカイン産生の増加（例えば、ガンマインターフェロン）による）、制御性Ｔ細胞機能の阻害（例えば、エフェクターＴ細胞機能（例えば、ＣＤ４＋エフェクターＴ細胞機能、ＣＤ８＋エフェクターＴ細胞機能）のＴｒｅｇ抑制の低減による）が挙げられる。インビボ及び／またはインビトロでかかる生物学的活性を有する抗体が提供される。

【０３４４】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、かかる生物学的活性について試験される。

【０３４５】

当該技術分野で既知の方法を使用してＴ細胞共刺激をアッセイすることができ、例示の方法が本明細書に開示されている。例えば、Ｔ細胞（例えば、メモリーまたはエフェクターＴ細胞）は、末梢白血球から得られ得る（例えば、Ｆｉｃｏｌｌ勾配遠心分離を使用してヒト全血から単離され得る）。メモリーＴ細胞（例えば、ＣＤ４＋メモリーＴ細胞）またはエフェクターＴ細胞（例えば、ＣＤ４＋Ｔｅｆｆ細胞）は、当該技術分野で既知の方法を使用してＰＢＭＣから単離され得る。例えば、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　ＣＤ４＋メモリーＴ細胞単離キットまたはＭｉｌｔｅｎｙｉナイーブＣＤ４＋Ｔ細胞単離キットが使用され得る。単離されたＴ細胞は、抗原提示細胞（例えば、ＣＤ３２及びＣＤ８０を発現する照射Ｌ細胞）の存在下で培養され、ＯＸ４０アゴニスト抗体の存在下または不在下で抗ＣＤ３抗体の添加によって活性化される。アゴニストＯＸ４０抗体のＴ細胞増殖への影響は、当該技術分野で周知の方法を使用して測定され得る。例えば、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ　Ｇｌｏキット（Ｐｒｏｍｅｇａ）が使用されてもよく、結果がマルチラベルリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）で読み取られる。アゴニストＯＸ４０抗体のＴ細胞機能への影響も、Ｔ細胞によって産生されたサイトカインの分析によって決定され得る。一実施形態では、ＣＤ４＋Ｔ細胞によるインターフェロンガンマの産生は、例えば、細胞培養上清中のインターフェロンガンマの測定によって決定される。インターフェロンガンマの測定方法は、当該技術分野で周知である。

【０３４６】

当該技術分野で既知の方法を使用してＴｒｅｇ細胞機能をアッセイすることができ、例示の方法が本明細書に開示されている。一例では、エフェクターＴ細胞増殖を抑制するＴｒｅｇの能力がアッセイされる。Ｔ細胞は、当該技術分野で既知の方法を使用して（例えば、メモリーＴ細胞またはナイーブＴ細胞を単離することによって）ヒト全血から単離される。精製されたＣＤ４＋ナイーブＴ細胞が（例えば、ＣＦＳＥで）標識され、精製されたＴｒｅｇ細胞が異なる試薬で標識される。照射抗原提示細胞（例えば、ＣＤ３２及びＣＤ８０を発現するＬ細胞）が、標識され精製されたナイーブＣＤ４＋Ｔ細胞及び精製されたＴｒｅｇとともに共培養される。共培養が抗ＣＤ３抗体を使用して活性化され、アゴニストＯＸ４０抗体の存在下または不在下で試験される。好適な時間（例えば、６日間の共培養）後、ＣＤ４＋ナイーブＴ細胞増殖のレベルが、ＦＡＣＳ分析を使用して、低減された標識染色（例えば、低減されたＣＦＳＥ標識染色）における色素希釈によって追跡される。

【０３４７】

当該技術分野で周知の方法を使用してＯＸ４０シグナル伝達をアッセイすることができ、例示の方法が本明細書に開示されている。一実施形態では、ヒトＯＸ４０及びレポーター遺伝子（例えば、ベータルシフェラーゼ）に融合したＮＦｋＢプロモーターを含むレポーター遺伝子を発現するトランスジェニック細胞が生成される。それらの細胞へのＯＸ４０アゴニスト抗体の添加により、ＮＦｋＢ転写の増加がもたらされ、これは、レポーター遺伝子についてのアッセイを使用して検出される。

【０３４８】

食作用は、例えば、単球由来のマクロファージ、またはＵ９３７細胞（成熟マクロファージの形態及び特性を有するヒト組織球性リンパ腫細胞株）を使用してアッセイされ得る

。ＯＸ４０発現細胞が、抗ＯＸ４０アゴニスト抗体の存在下または不在下で、単球由来のマクロファージまたはＵ９３７細胞に添加される。これらの細胞を好適な期間培養した後、食作用の割合が、１）マクロファージまたはＵ９３７細胞及び２）ＯＸ４０発現細胞のマーカーを二重染色する細胞の割合を試験し、かつこれをＯＸ４０発現細胞のマーカー（例えば、ＧＦＰ）を示す細胞の総数で除することによって決定される。分析は、フローサイトメトリーによって行われ得る。別の実施形態では、分析は、蛍光顕微鏡分析によって行われ得る。

【０３４９】

ＡＤＣＣは、例えば、当該技術分野で周知の方法を使用してアッセイされ得る。例示の方法が定義の節に記載されており、例示のアッセイが実施例に開示されている。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０のレベルは、ＡＤＣＣアッセイにおける試験のために使用されるＯＸ４０発現細胞上で特徴付けられる。細胞が検出可能に標識された抗ＯＸ４０抗体（例えば、ＰＥ標識）で染色され、その後、蛍光レベルがフローサイトメトリーを使用して決定され、結果が平均蛍光強度中央値（ＭＦＩ）として提示され得る。別の実施形態では、ＡＤＣＣがＣｅｌｌＴｉｔｅｒ　Ｇｌｏアッセイキットによって分析され得、細胞生存／細胞毒性がケミオルミネッセンス（ｃｈｅｍｉｏｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ）によって決定され得る。

【０３５０】

様々な抗体のＦｃγＲＩＡ、ＦｃγＲＩＩＡ、ＦｃγＲＩＩＢ、及びＦｃγＲＩＩＩＡの２つのアロタイプ（Ｆ１５８及びＶ１５８）への結合親和性が、それぞれの組換えＦｃγ受容体を使用してＥＬＩＳＡに基づくリガンド結合アッセイにおいて測定され得る。精製されたヒトＦｃγ受容体は、Ｃ末端のＧｌｙ／６ｘＨｉｓ／グルタチオンＳ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）ポリペプチドタグに連結した受容体γ鎖の細胞外ドメインを含有する融合タンパク質として発現される。抗体のそれらのヒトＦｃγ受容体への結合親和性は、以下のようにアッセイされる。低親和性受容体、すなわち、ＦｃγＲＩＡ（ＣＤ３２Ａ）、ＦｃγＲＩＩＢ（ＣＤ３２Ｂ）、及びＦｃγＲＩＩＩＡ（ＣＤ１６）の２つのアロタイプＦ－１５８及びＶ－１５８の場合、抗体は、抗体：架橋Ｆ（ａｂ’）$_2$の適切なモル比１：３でヤギ抗ヒトカッパ鎖（ＩＣＮ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ、Ｉｒｖｉｎｅ，ＣＡ）のＦ（ａｂ’）２断片と架橋させることによって多量体として試験され得る。プレートが抗ＧＳＴ抗体（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）でコーティングされ、ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）で遮断される。ＥＬｘ４０５（商標）プレート洗浄機（Ｂｉｏｔｅｋ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、Ｗｉｎｏｏｓｋｉ，ＶＴ）を用いて０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０を含有するリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で洗浄した後、Ｆｃγ受容体が２５ｎｇ／ウェルでプレートに添加され、室温で１時間インキュベートされる。プレートが洗浄された後、試験抗体の連続希釈物が多量体複合体として添加され、プレートを室温で２時間インキュベートした。プレートが洗浄されて結合していない抗体が除去された後、Ｆｃγ受容体に結合した抗体がヤギ抗ヒトＦ（ａｂ’）$_2$（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＰＡ）の西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）コンジュゲートＦ（ａｂ’）$_2$断片で検出され、その後、基質テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）（Ｋｉｒｋｅｇａａｒｄ　＆　Ｐｅｒｒｙ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）が添加される。試験されるＦｃγ受容体に応じてプレートが室温で５～２０分間インキュベートされて、発色を可能にする。反応を１ＭのH_3PO_4で終了させ、４５０ｎｍでの吸光度をマイクロプレートリーダー（ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ（登録商標）１９０、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ、Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ）で測定した。抗体希釈物の重複物からの平均吸光度値を抗体の濃度に対してプロットすることによって用量応答結合曲線が生成される。Ｆｃγ受容体への結合からの最大応答の５０％（EC_{50}）が検出される抗体の有効濃度の値を、ＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）を使用して、結合曲線を４パラメータ等式に当てはめた後に決定した。

【０３５１】

上述のインビトロアッセイのうちのいずれかで使用するための細胞としては、ＯＸ４０を天然に発現するか、またはＯＸ４０を発現するように操作された細胞または細胞株が挙げられる。かかる細胞としては、ＯＸ４０を天然に発現する活性化Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ細胞、及び活性化メモリーＴ細胞が挙げられる。かかる細胞としては、ＯＸ４０を通常発現しないが、ＯＸ４０をコードする核酸でトランスフェクトしたＯＸ４０及び細胞株を発現する細胞株も挙げられる。上述のインビトロアッセイのうちのいずれかで使用するための本明細書に提供される例示の細胞株としては、ヒトＯＸ４０を発現するトランスジェニックＢＴ４７４細胞（ヒト乳癌細胞株）が挙げられる。

【０３５２】

本発明の免疫コンジュゲートを抗ＯＸ４０抗体の代わりにまたはそれに加えて使用して、上述のアッセイのうちのいずれかを行うことができることが理解される。

【０３５３】

抗ＯＸ４０抗体及びさらなる治療薬（例えば、ＰＤ－１軸結合剤（例えば、抗ＰＤ－１または抗ＰＤ－Ｌ１抗体）を使用して、上述のアッセイのうちのいずれかを行うことができることが理解される。

【０３５４】

Ｄ．薬学的組成物及び製剤

ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／または本明細書に記載の抗体（抗ＰＤ－Ｌ１抗体、または抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体等と、薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物及び製剤も本明細書に提供される。

【０３５５】

本明細書に記載の薬学的組成物及び製剤は、所望の純度を有する活性成分（抗体またはポリペプチド等）を１つ以上の任意の薬学的に許容される担体（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０））と凍結乾燥製剤または水溶液の形態で混合することによって調製することができる。薬学的に許容される担体は、一般に、用いられる投薬量及び濃度でレシピエントに非毒性であり、それらとしては、緩衝液、例えば、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸及びメチオニン；防腐剤（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、またはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾール等）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジン；単糖、二糖、及び他の炭水化物、例えば、グルコース、マンノース、またはデキストリン；キレート剤、例えば、ＥＤＴＡ；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロース、またはソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質錯体）；及び／または非イオン界面活性剤、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書における例示の薬学的に許容される担体としては、間質性薬物分散剤、例えば、可溶性中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（ｓＨＡＳＥＧＰ）、例えば、ヒト可溶性ＰＨ－２０ヒアルロニダーゼ糖タンパク質、例えば、ｒＨｕＰＨ２０（ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．）がさらに挙げられる。ｒＨｕＰＨ２０等のある特定の例示のｓＨＡＳＥＧＰ及び使用方法が、米国特許公開第２００５／０２６０１８６号及び同第２００６／０１０４９６８号に記載されている。一態様では、ｓＨＡＳＥＧＰは、コンドロイチナーゼ等の１つ以上のさらなるグリコサミノグリカナーゼと組み合わせられる。

【０３５６】

例示の凍結乾燥抗体製剤が、米国特許第６，２６７，９５８号に記載されている。水性抗体製剤としては、米国特許第６，１７１，５８６号及びＷＯ２００６／０４４９０８に

記載のものが挙げられ、後者の製剤にはヒスチジン－酢酸緩衝液が含まれる。

【０３５７】

本明細書における組成物及び製剤は、治療される特定の適応症に必要な１つより多くの活性成分、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものも含有し得る。かかる活性成分は、好適には、意図される目的に有効な量で、組み合わせで存在する。

【０３５８】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技法または界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン－マイクロカプセル及びポリ－（メチルメタクリレート）マイクロカプセル中に、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）中に、またはマクロエマルジョン中に封入され得る。かかる技法は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）に開示されている。

【０３５９】

持続放出調製物が調製され得る。持続放出調製物の好適な例としては、本抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、これらのマトリックスは、成形物品、例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態である。インビボ投与に使用される製剤は、一般に、滅菌のものである。滅菌性は、例えば、滅菌濾過膜を通す濾過によって容易に達成され得る。

【０３６０】

ＩＶ．治療方法

個体に有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）を投与することを含む、個体における癌の治療方法またはその進行の遅延方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、この治療は、治療の中止後に個体における持続的応答をもたらす。本明細書に記載の方法は、癌の治療のための腫瘍免疫原性の増大等の免疫原性の増強が所望される状態の治療における使用を見出し得る。個体に有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）を投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能の増強方法も本明細書に提供される。さらなる態様では、感染（例えば、細菌またはウイルスまたは他の病原体感染）の治療方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、感染は、ウイルス感染及び／または細菌感染である。いくつかの実施形態では、感染は、病原体感染である。いくつかの実施形態では、感染は、急性感染である。いくつかの実施形態では、感染は、慢性感染である。

【０３６１】

当該技術分野で既知のまたは本明細書に記載のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストのうちのいずれかが、これらの方法で使用され得る。

【０３６２】

いくつかの実施形態では、個体は、ヒトである。

【０３６３】

いくつかの実施形態では、個体は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）との併用治療前にＯＸ４０結合アゴニスト療法で治療されている。

【０３６４】

いくつかの実施形態では、個体は、１つ以上のＰＤ－１軸アンタゴニストに耐性を示す（耐性を示すと実証された）癌を有する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸アンタゴニストへの耐性は、癌の再発または不応性癌を含む。再発とは、治療後の発症元の部位または新たな部位における癌の再現を指し得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸アンタゴニストへの耐性は、ＰＤ－１軸アンタゴニストでの治療中の癌の進行を含む。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸アンタゴニストへの耐性は、治療に応答しない癌を含む。癌は、治療開始時に耐性を示し得るか、または治療中に耐性を示すようになり得る。いく

つかの実施形態では、癌は、早期癌または後期癌である。

【０３６５】

別の態様では、個体は、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーを発現する（例えば、診断試験において、発現することが示された）癌を有する。いくつかの実施形態では、患者の癌は、低ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーを発現する。いくつかの実施形態では、患者の癌は、高ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーを発現する。これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、試料の０％に含まれる場合、試料中に存在しない。

【０３６６】

これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、試料の０％超に含まれる場合、試料中に存在する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、試料の少なくとも１％に存在する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、試料の少なくとも５％に存在する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、試料の少なくとも１０％に存在する。

【０３６７】

これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＦＡＣＳ、ウエスタンブロット、ＥＬＩＳＡ、免疫沈降、免疫組織化学、免疫蛍光、ラジオイムノアッセイ、ドットブロット法、免疫検出方法、ＨＰＬＣ、表面プラズモン共鳴、光学分光学、質量分光、ＨＰＬＣ、ｑＰＣＲ、ＲＴ－ｑＰＣＲ、多重ｑＰＣＲまたはＲＴ－ｑＰＣＲ、ＲＮＡ－ｓｅｑ、マイクロアレイ分析、ＳＡＧＥ、ＭａｓｓＡＲＲＡＹ技法、及びＦＩＳＨ、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される方法を使用して試料中で検出される。

【０３６８】

これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、タンパク質発現によって試料中で検出される。いくつかの実施形態では、タンパク質発現は、免疫組織化学（ＩＨＣ）によって決定される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体を使用して検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって弱い染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって中程度の染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって強い染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞、及びそれらの任意の組み合わせ中で検出される。いくつかの実施形態では、染色は、膜染色、細胞質染色、またはそれらの組み合わせである。

【０３６９】

これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの不在は、試料中の染色不在または染色なしとして検出される。これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの存在は、試料中の任意の染色として検出される。

【０３７０】

いくつかの実施形態では、本発明の併用療法は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）の投与を含む。ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストは、当該技術分野で既知の任意の好適な様式で投与され得る。例えば、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストは、連続して（異なる時点で）または同時に（同じ時点で）投与され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＯＸ４０結合アゴニストと別個の組成物中に存在する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、ＯＸ４０結合アゴニストと同じ組成物中に存在する。

【０３７１】
ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）は、同じ投与経路または異なる投与経路によって投与され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストは、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、髄腔内、脳室内、または鼻腔内投与される。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニストは、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、髄腔内、脳室内、または鼻腔内投与される。有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストは、疾患の予防または治療のために投与され得る。ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）の適切な投薬量は、治療される疾患の種類、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストの種類、疾患の重症度及び経過、個体の臨床状態、個体の臨床歴及び治療への応答、及び主治医の判断に基づいて決定され得る。いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）とＰＤ－１軸結合アンタゴニスト（例えば、抗ＰＤ－１または抗ＰＤＬ１抗体）との併用治療は相乗的であり、それにより、併用でのＯＸ４０結合剤（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）の有効用量が、単剤としてのＯＸ４０結合剤（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）の有効用量と比較して減少する。
【０３７２】
一般的な提案として、ヒトに投与される治療有効量の抗体は、１回以上の投与によるかにかかわらず、約０．０１～約５０ｍｇ／患者の体重ｋｇの範囲であろう。いくつかの実施形態では、使用される本抗体は、約０．０１～約４５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約４０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約３５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約３０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約２５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約２０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約１５ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．０１～約５ｍｇ／ｋｇ、または約０．０１～約１ｍｇ／ｋｇであり、例えば、毎日投与される。いくつかの実施形態では、本抗体は、１５ｍｇ／ｋｇで投与される。しかしながら、他の投薬量レジメンも有用であり得る。一実施形態では、本明細書に記載の抗ＰＤＬ１抗体は、２１日周期の１日目に、約１００ｍｇ、約２００ｍｇ、約３００ｍｇ、約４００ｍｇ、約５００ｍｇ、約６００ｍｇ、約７００ｍｇ、約８００ｍｇ、約９００ｍｇ、約１０００ｍｇ、約１１００ｍｇ、約１２００ｍｇ、約１３００ｍｇ、または約１４００ｍｇの用量でヒトに投与される。この用量は、注入等の単回投薬または複数回投薬（例えば、２回もしくは３回投薬）として投与され得る。併用治療において投与される本抗体の用量は、単剤治療と比較して減少し得る。この療法の進展は、従来の技法によって容易に監視される。
【０３７３】
いくつかの実施形態では、これらの方法は、さらなる療法をさらに含み得る。さらなる療法は、放射線療法、手術（例えば、腫瘍摘出手術及び乳房切除）、化学療法、遺伝子療法、ＤＮＡ療法、ウイルス療法、ＲＮＡ療法、免疫療法、骨髄移植術、ナノ療法、モノクローナル抗体療法、または前述の組み合わせであり得る。さらなる療法は、アジュバント療法またはネオアジュバント療法の形態であり得る。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、小分子酵素阻害剤または抗転移薬の投与である。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、副作用制限剤（例えば、治療の副作用の発生及び／または重症度を軽減するよう意図された薬剤、例えば、制嘔吐剤等）の投与である。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、放射線療法である。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、手術である。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、放射線療法と手術との併用である。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、ガンマ照射である。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路を標的とする療法、ＨＳＰ９０阻害剤、チューブリン阻害剤、アポトーシス阻害剤、及び／または化学予防剤である。いくつかの実施形態では、さらなる療法は、ＣＴＬＡ－４（別名、ＣＤ１５２）、例えば、遮断抗体、イピリムマブ（別名、ＭＤＸ－０１０、ＭＤＸ－１０１、またはＹｅｒｖｏｙ（登録商

標））、トレメリムマブ（別名、チシリムマブまたはＣＰ－６７５，２０６）、Ｂ７－Ｈ３に対して指向されたアンタゴニスト（別名、ＣＤ２７６）、例えば、遮断抗体、ＭＧＡ２７１、ＴＧＦベータに対して指向されたアンタゴニスト、例えば、メテリムマブ（別名、ＣＡＴ－１９２）、フレソリムマブ（別名、ＧＣ１００８）、またはＬＹ２１５７２９９、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞（例えば、細胞毒性Ｔ細胞またはＣＴＬ）の養子移入を含む治療、ドミナントネガティブＴＧＦベータ受容体、例えば、ドミナントネガティブＴＧＦベータＩＩ型受容体を含むＴ細胞の養子移入を含む治療、ＨＥＲＣＲＥＥＭプロトコルを含む治療（例えば、ＣｌｉｎｉｃａｌＴｒｉａｌｓ．ｇｏｖ　Ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｒ　ＮＣＴ００８８９９５４を参照のこと）、ＣＤ１３７に対して指向されたアゴニスト（別名、ＴＮＦＲＳＦ９、４－１ＢＢ、またはＩＬＡ）、例えば、活性化抗体、ウレルマブ（別名、ＢＭＳ－６６３５１３）、ＣＤ４０に対して指向されたアゴニスト、例えば、活性化抗体、ＣＰ－８７０８９３、異なる抗ＯＸ４０抗体（例えば、ＡｇｏｎＯＸ）との併用で投与されるＯＸ４０に対して指向されたアゴニスト（別名、ＣＤ１３４）、例えば、活性化抗体、ＣＤ２７に対して指向されたアゴニスト、例えば、活性化抗体、ＣＤＸ－１１２７、インドールアミン－２，３－ジオキシゲナーゼ（ＩＤＯ）、１－メチル－Ｄ－トリプトファン（別名、１－Ｄ－ＭＴ）、抗体－薬物コンジュゲート（いくつかの実施形態では、メルタンシンまたはモノメチルオーリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）を含む）、抗ＮａＰｉ２ｂ抗体－ＭＭＡＥコンジュゲート（別名、ＤＮＩＢ０６００ＡまたはＲＧ７５９９）、トラスツズマブエムタンシン（別名、Ｔ－ＤＭ１、アドトラスツズマブエムタンシン、またはＫＡＤＣＹＬＡ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ＤＭＵＣ５７５４Ａ、エンドセリンＢ受容体（ＥＤＮＢＲ）を標的とする抗体－薬物コンジュゲート、例えば、ＭＭＡＥとコンジュゲートしたＥＤＮＢＲに対して指向された抗体、血管新生阻害剤、ＶＥＧＦに対して指向された抗体、例えば、ＶＥＧＦ－Ａ、ベバシズマブ（別名、ＡＶＡＳＴＩＮ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、アンジオポエチン２（別名、Ａｎｇ２）に対して指向された抗体、ＭＥＤＩ３６１７、抗新生物薬、ＣＳＦ－１Ｒを標的とする薬剤（別名、Ｍ－ＣＳＦＲまたはＣＤ１１５）、抗ＣＳＦ－１Ｒ（別名、ＩＭＣ－ＣＳ４）、インターフェロン、例えば、インターフェロンアルファまたはインターフェロンガンマ、ロフェロン－Ａ、ＧＭ－ＣＳＦ（別名、組換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、ｒｈｕ　ＧＭ－ＣＳＦ、サルグラモスチム、またはＬｅｕｋｉｎｅ（登録商標））、ＩＬ－２（別名、アルデスロイキンまたはＰｒｏｌｅｕｋｉｎ（登録商標））、ＩＬ－１２、ＣＤ２０を標的とする抗体（いくつかの実施形態では、ＣＤ２０を標的とするこの抗体は、オビヌツズマブ（別名、ＧＡ１０１もしくはＧａｚｙｖａ（登録商標））またはリツキシマブである）、ＧＩＴＲを標的とする抗体（いくつかの実施形態では、ＧＩＴＲを標的とするこの抗体は、ＴＲＸ５１８である）、癌ワクチン（いくつかの実施形態では、癌ワクチンは、ペプチド癌ワクチンであり、これは、いくつかの実施形態では、個別化ペプチドワクチンであり、いくつかの実施形態では、ペプチド癌ワクチンは、多価長ペプチド、多ペプチド、ペプチドカクテル、ハイブリッドペプチド、またはペプチドパルス樹状細胞ワクチンである（例えば、Ｙａｍａｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｓｃｉ，１０４：１４－２１、２０１３）を参照のこと）との併用、アジュバントとの併用、ＴＬＲアゴニスト、例えば、ポリ－ＩＣＬＣ（別名、Ｈｉｌｔｏｎｏｌ（登録商標））、ＬＰＳ、ＭＰＬ、またはＣｐＧ　ＯＤＮ、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）アルファ、ＩＬ－１、ＨＭＧＢ１、ＩＬ－１０アンタゴニスト、ＩＬ－４アンタゴニスト、ＩＬ－１３アンタゴニスト、ＨＶＥＭアンタゴニスト、ＩＣＯＳアゴニスト、例えば、ＩＣＯＳ－Ｌの投与による、またはＩＣＯＳに対して指向されたアゴニスト抗体、ＣＸ３ＣＬ１を標的とする治療、ＣＸＣＬ１０を標的とする治療、ＣＣＬ５を標的とする治療、ＬＦＡ－１またはＩＣＡＭ１アゴニスト、セレクチンアゴニスト、標的療法、Ｂ－Ｒａｆ阻害剤、ベムラフェニブ（別名、Ｚｅｌｂｏｒａｆ（登録商標）、ダブラフェニブ（別名、Ｔａｆｉｎｌａｒ（登録商標））、エルロチニブ（別名、Ｔａｒｃｅｖａ（登録商標））、ＭＥＫ阻害剤、例えば、ＭＥＫ１（別名、ＭＡＰ２Ｋ１）またはＭＥＫ２（別名、ＭＡＰ２Ｋ２）、コビメチニブ（別名、ＧＤＣ－０９７３またはＸＬ－５１８）、トラメチニブ（別名、Ｍ

ｅｋｉｎｉｓｔ（登録商標））、Ｋ－Ｒａｓ阻害剤、ｃ－Ｍｅｔ阻害剤、オナルツズマブ（別名、ＭｅｔＭＡｂ）、Ａｌｋ阻害剤、ＡＦ８０２（別名、ＣＨ５４２４８０２またはアレクチニブ）、ホスファチジルイノシトール３－キナーゼ阻害剤（ＰＩ３Ｋ）、ＢＫＭ１２０、イデラリシブ（別名、ＧＳ－１１０１またはＣＡＬ－１０１）、ペリホシン（別名、ＫＲＸ－０４０１）、Ａｋｔ、ＭＫ２２０６、ＧＳＫ６９０６９３、ＧＤＣ－０９４１、ｍＴＯＲ阻害剤、シロリムス（別名、ラパマイシン）、テムシロリムス（別名、ＣＣＩ－７７９またはＴｏｒｉｓｅｌ（登録商標））、エベロリムス（別名、ＲＡＤ００１）、リダフォロリムス（別名、ＡＰ－２３５７３、ＭＫ－８６６９、またはデフォロリムス）、ＯＳＩ－０２７、ＡＺＤ８０５５、ＩＮＫ１２８、二重ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤、ＸＬ７６５、ＧＤＣ－０９８０、ＢＥＺ２３５（別名、ＮＶＰ－ＢＥＺ２３５）、ＢＧＴ２２６、ＧＳＫ２１２６４５８、ＰＦ－０４６９１５０２、ＰＦ－０５２１２３８４（別名、ＰＫＩ－５８７）である。さらなる療法は、本明細書に記載の化学療法剤のうちの１つ以上であり得る。

【０３７４】

本明細書に記載の方法（例えば、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニストとを併用投与することを含む併用治療）のうちのいずれかの効力は、臨床モデルまたは前臨床モデル等の当該技術分野で既知の様々なモデルで試験され得る。好適な前臨床モデルが本明細書に例示されており、さらに、ＩＤ８卵巣癌、ＧＥＭモデル、Ｂ１６黒色腫、ＲＥＮＣＡ腎細胞癌、ＣＴ２６結腸直腸癌、ＭＣ３８結腸直腸癌、及びクラウドマン黒色腫癌モデルが挙げられ得るが、これらに限定されない。

【０３７５】

本明細書に記載の方法（例えば、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニストとを併用投与することを含む併用治療）のうちのいずれかの効力は、非小細胞肺癌、膵管腺癌、または黒色腫のＧＥＭモデルを含むが、これらに限定されない腫瘍を発症するＧＥＭモデルで試験され得る。例えば、アデノウイルスリコンビナーゼ治療後にｐ５３^{ヌル}バックグラウンドにおいてＫｒａｓ^{Ｇ１２Ｄ}を発現するマウス（Ｊａｃｋｓｏｎ，Ｅ．Ｌ．，ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１５（２４）：３２４３－８（Ｋｒａｓ^{Ｇ１２Ｄ}の説明）及びＬｅｅ，Ｃ．Ｌ．，ｅｔ ａｌ．（２０１２）Ｄｉｓ．Ｍｏｄｅｌ Ｍｅｃｈ．５（３）：３９７－４０２（ＦＲＴ媒介ｐ５３^{ヌル}対立遺伝子）に記載される）が、非小細胞肺癌の前臨床モデルとして使用され得る。別の例として、ｐ１６／ｐ１９^{ヌル}バックグラウンドにおいてＫｒａｓ^{Ｇ１２Ｄ}を発現するマウス（Ｊａｃｋｓｏｎ，Ｅ．Ｌ．，ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１５（２４）：３２４３－８（Ｋｒａｓ^{Ｇ１２Ｄ}の説明）及びＡｇｕｉｒｒｅ，Ａ．Ｊ．，ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１７（２４）：３１１２－２６（ｐ１６／ｐ１９^{ヌル}対立遺伝子）に記載される）が、膵管腺癌（ＰＤＡＣ）の前臨床モデルとして使用され得る。さらなる例として、誘導性（例えば、４－ＯＨＴ治療）リコンビナーゼ治療後にメラニン細胞特異的ＰＴＥＮ^{ヌル}バックグラウンドにおいてＢｒａｆ^{Ｖ６００Ｅ}を発現するメラニン細胞を有するマウス（Ｄａｎｋｏｒｔ，Ｄ．，ｅｔ ａｌ．（２００７）Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．２１（４）：３７９－８４（Ｂｒａｆ^{Ｖ６００Ｅ}の説明）及びＴｒｏｔｍａｎ，Ｌ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．（２００３）ＰＬｏＳ Ｂｉｏｌ．１（３）：Ｅ５９（ＰＴＥＮ^{ヌル}対立遺伝子）に記載される）が、黒色腫の前臨床モデルとして使用され得る。これらの例示のモデルのうちのいずれかについて、腫瘍を発症した後、マウスは、抗ＰＤＬ１とＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）との併用処置を受ける処置群または対照処置を受ける処置群に無作為に動員される。腫瘍サイズ（例えば、腫瘍体積）が処置経過中に測定され、全体的な生存率も監視される。

【０３７６】

別の態様では、有効量のＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニストとを併用投与することを含む、癌を有する個体における免疫機能の増強方法が本明細書に提供される。

【０３７７】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、癌（いくつかの実施形態では、診断試験を使用して試験される患者の癌の試料）は、上昇したレベルのＴ細胞浸潤を有する。本明細書で使用されるとき、癌のＴ細胞浸潤とは、癌組織中のまたはさもなければ癌組織に関連する腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）等のＴ細胞の存在を指し得る。Ｔ細胞浸潤がある特定の癌における臨床転帰の改善に関連し得ることが当該技術分野で既知である（例えば、Ｚｈａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３４８（３）：２０３－２１３（２００３）を参照のこと）。

【０３７８】

しかしながら、Ｔ細胞消耗は、癌の主な免疫学的特徴でもあり、多くの腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）が高レベルの阻害性共受容体を発現し、エフェクターサイトカインを産生する能力を欠く（Ｗｈｅｒｒｙ，Ｅ．Ｊ．Ｎａｔｕｒｅ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１２：４９２－４９９（２０１１）、Ｒａｂｉｎｏｖｉｃｈ，Ｇ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎｕａｌ　ｒｅｖｉｅｗ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　２５：２６７－２９６（２００７））。本開示の方法のいくつかの実施形態では、個体は、Ｔ細胞機能障害性障害を有する。本開示の方法のいくつかの実施形態では、Ｔ細胞機能障害性障害は、Ｔ細胞アネルギー、またはサイトカインを分泌する能力、増殖する能力、もしくは細胞溶解活性を実行する能力の低下を特徴とする。本開示の方法のいくつかの実施形態では、Ｔ細胞機能障害性障害は、Ｔ細胞消耗を特徴とする。本開示の方法のいくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞である。理論に拘束されることなく、ＯＸ４０結合アゴニスト治療は、前記組み合わせの投与前と比較して、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、メモリーＴ細胞）プライミング、活性化、及び／または増殖を増加させ得る。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、ＣＤ４＋及び／またはＣＤ８＋Ｔ細胞である。

【０３７９】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、癌（いくつかの実施形態では、患者の癌の試料が診断試験を使用して試験される）は、低レベルのＴ細胞浸潤を有する。いくつかの実施形態では、癌（いくつかの実施形態では、患者の癌の試料が診断試験を使用して試験される）は、検出可能なＴ細胞浸潤物を有しない。いくつかの実施形態では、癌は、非免疫原性癌（例えば、非免疫原性結腸直腸癌及び／または卵巣癌）である。理論に拘束されることなく、ＯＸ４０結合アゴニスト治療は、前記組み合わせの投与前と比較して、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、メモリーＴ細胞）プライミング、活性化、及び／または増殖を増加させ得る。

【０３８０】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、個体における活性化ＣＤ４及び／またはＣＤ８　Ｔ細胞は、前記組み合わせの投与前と比較した、ＣＤ４及び／またはＣＤ８　Ｔ細胞を産生するγ－ＩＦＮ$^{+}$及び／または細胞溶解活性の増強を特徴とする。γ－ＩＦＮ$^{+}$は、例えば、細胞固定、透過化、及びγ－ＩＦＮに対する抗体での染色を伴う細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）を含む、当該技術分野で既知の任意の手段によって測定され得る。細胞溶解活性は、当該技術分野で既知の任意の手段によって、例えば、エフェクターと標的細胞とを混合した細胞死滅アッセイを使用して測定され得る。

【０３８１】

いくつかの実施形態では、ＣＤ８＋Ｔ細胞は、例えば、ＣＤ８ｂ発現の存在（例えば、ｒｔＰＣＲ、例えば、Ｆｌｕｉｄｉｇｍを使用して）（ＣＤ８ｂの別名、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ８ベータ鎖、ＣＤ８抗原、アルファポリペプチドｐ３７、受託番号ＮＭ＿１７２２１３）を特徴とする。いくつかの実施形態では、ＣＤ８＋Ｔ細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、ＣＤ８＋Ｔ細胞は、腫瘍由来である。

【０３８２】

いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇ細胞は、例えば、Ｆｏｘ３ｐ発現の存在（例えば、ｒｔＰＣＲ、例えば、Ｆｌｕｉｄｉｇｍを使用して）（Ｆｏｘｐ３の別名、フォークヘッドボックスタンパク質Ｐ３、スカルフィン（ｓｃｕｒｆｉｎ）、ＦＯＸＰ３デルタ７、免疫欠損、多腺性内分泌障害、腸症、Ｘ連鎖性、受託番号ＮＭ＿０１４００９）を特徴とす

る。いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇは、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇ細胞は、腫瘍由来である。

【０３８３】

いくつかの実施形態では、炎症性Ｔ細胞は、例えば、Ｔｂｅｔ及び／またはＣＸＣＲ３発現の存在（例えば、ｒｔＰＣＲ、例えば、Ｆｌｕｉｄｉｇｍを使用して）を特徴とする。いくつかの実施形態では、炎症性Ｔ細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、炎症性Ｔ細胞は、腫瘍由来である。

【０３８４】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、ＣＤ４及び／またはＣＤ８　Ｔ細胞は、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、及びインターロイキンからなる群から選択されるサイトカインの放出の増加を呈する。サイトカインの放出は、当該技術分野で既知の任意の手段によって、例えば、ＣＤ４及び／またはＣＤ８　Ｔ細胞を含有する試料中での放出されたサイトカインの存在を検出するためのウエスタンブロット、ＥＬＩＳＡ、または免疫組織化学的アッセイを使用して測定され得る。

【０３８５】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、ＣＤ４及び／またはＣＤ８　Ｔ細胞は、エフェクターメモリーＴ細胞である。本開示の方法のいくつかの実施形態では、ＣＤ４及び／またはＣＤ８エフェクターメモリーＴ細胞は、ＣＤ４４^{高}ＣＤ６２Ｌ^{低}の発現を有することを特徴とする。ＣＤ４４^{高}ＣＤ６２Ｌ^{低}の発現は、当該技術分野で既知の任意の手段によって、例えば、組織（例えば、癌組織）の単一細胞懸濁液を調製し、かつＣＤ４４及びＣＤ６２Ｌに対する市販の抗体を使用して表面染色及びフローサイトメトリーを行うことによって検出され得る。本開示の方法のいくつかの実施形態では、ＣＤ４及び／またはＣＤ８エフェクターメモリーＴ細胞は、ＣＸＣＲ３の発現（別名、Ｃ－Ｘ－Ｃケモカイン受容体３型、Ｍｉｇ受容体、ＩＰ１０受容体、Ｇタンパク質カップリング受容体９、インターフェロン誘導性タンパク質１０受容体、受託番号ＮＭ＿００１５０４）を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、ＣＤ４及び／またはＣＤ８エフェクターメモリーＴ細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、ＣＤ４及び／またはＣＤ８エフェクターメモリーＴ細胞は、腫瘍由来である。

【０３８６】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、個体への有効量のヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストの投与は、ヒトＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストの投与前と比較した、ＣＤ８　Ｔ細胞における炎症性マーカー（例えば、ＣＸＣＲ３）の増加を特徴とする。ＣＸＣＲ３／ＣＤ８　Ｔ細胞は、当該技術分野で既知の任意の手段及び実施例に記載の方法によって測定され得る。いくつかの実施形態では、ＣＸＣＲ３／ＣＤ８　Ｔ細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、ＣＸＣＲ３／ＣＤ８　Ｔ細胞は、腫瘍由来である。

【０３８７】

本発明の方法のいくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇ機能は、前記組み合わせの投与前と比較して抑制される。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞消耗は、前記組み合わせの投与前と比較して減少する。

【０３８８】

いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇの数は、前記組み合わせの投与前と比較して増加する。いくつかの実施形態では、血漿インターフェロンガンマは、前記組み合わせの投与前と比較して増加する。Ｔｒｅｇの数は、例えば、ＣＤ４＋Ｆｏｘ３ｐ＋ＣＤ４５＋細胞の割合を決定する（例えば、ＦＡＣＳ分析によって）ことによって評価され得る。いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇの絶対数（例えば、試料中）が決定される。いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇは、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、Ｔｒｅｇは、腫瘍由来である。

【０３８９】

いくつかの実施形態では、Ｔ細胞プライミング、活性化、及び／または増殖は、前記組

み合わせの投与前と比較して増加する。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、ＣＤ４＋及び／またはＣＤ８＋Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞増殖は、Ｋｉ６７＋ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合を決定する（例えば、ＦＡＣＳ分析によって）ことによって検出される。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞増殖は、Ｋｉ６７＋ＣＤ４＋Ｔ細胞の割合を決定する（例えば、ＦＡＣＳ分析によって）ことによって検出される。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、末梢血由来である。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、腫瘍由来である。

【０３９０】

当該技術分野で既知のまたは本明細書に記載のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニストのうちのいずれかが、本開示の方法で使用され得る。

【０３９１】

ＶＩ．検出及び診断方法

いくつかの実施形態では、試料は、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストでの治療前に（いくつかの実施形態では、ＯＸ４０結合アゴニスト、例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体での治療前に、例えば、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療前に）得られる。いくつかの実施形態では、組織試料は、ホルマリン固定及びパラフィン包埋試料、アーカイブ試料、新鮮な試料、または凍結試料である。

【０３９２】

いくつかの実施形態では、試料は、全血である。いくつかの実施形態では、全血は、免疫細胞、循環腫瘍細胞、及びそれらの任意の組み合わせを含む。

【０３９３】

バイオマーカーの基準レベル及び／または発現レベル／量（例えば、ＰＤ－Ｌ１）は、ＤＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、タンパク質、タンパク質断片、及び／または遺伝子コピー数を含むが、これらに限定されない当該技術分野で既知の任意の好適な判断基準に基づいて質的及び／または量的に決定され得る。ある特定の実施形態では、第１の試料中のバイオマーカーの存在及び／または発現レベル／量が、第２の試料中の存在／不在及び／または発現レベル／量と比較して増加または上昇する。ある特定の実施形態では、第１の試料中のバイオマーカーの存在／不在及び／または発現レベル／量が、第２の試料中の存在及び／または発現レベル／量と比較して減少または低下する。ある特定の実施形態では、第２の試料は、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織である。遺伝子の存在／不在及び／または発現レベル／量を決定するためのさらなる開示が本明細書に記載されている。

【０３９４】

これらの方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、上昇した発現とは、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織と比較した、本明細書に記載の方法等の標準の当該技術分野で既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはｍＲＮＡ））のレベルの約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上のうちのいずれかの全体的な増加を指す。ある特定の実施形態では、上昇した発現とは、試料中のバイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、この増加は、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織中のそれぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約１．５倍、１．７５倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、２５倍、５０倍、７５倍、または１００倍のうちのいずれかである。いくつかの実施形態では、上昇した発現とは、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、対照組織、または内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、約１．５倍、約１．７５倍、約２倍、約２．２５倍、約２．５倍、約２．７５倍、約３．０倍、または約３．２５倍を超える全体的な増加を指す。

【０３９５】

これらの方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、低減した発現とは、基準試

料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織と比較した、本明細書に記載の方法等の標準の当該技術分野で既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはｍＲＮＡ））のレベルの約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上のうちのいずれかの全体的な低減を指す。ある特定の実施形態では、低減した発現とは、試料中のバイオマーカーの発現レベル／量の減少を指し、この減少は、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織中のそれぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約０．９倍、０．８倍、０．７倍、０．６倍、０．５倍、０．４倍、０．３倍、０．２倍、０．１倍、０．０５倍、または０．０１倍のうちのいずれかである。

【０３９６】

試料中の様々なバイオマーカーの存在及び／または発現レベル／量は、いくつかの方法論によって分析され得、これらの多くは、当該技術分野で既知であり、当業者に理解されており、免疫組織化学（「ＩＨＣ」）、ウエスタンブロット分析、免疫沈降、分子結合アッセイ、ＥＬＩＳＡ、ＥＬＩＦＡ、蛍光活性化細胞選別（「ＦＡＣＳ」）、ＭａｓｓＡＲＲＡＹ、プロテオミクス、定量的血液ベースのアッセイ（例えば、血清ＥＬＩＳＡ）、生化学的酵素活性アッセイ、インサイツハイブリダイゼーション、サザン分析、ノーザン分析、全ゲノム配列決定、ポリメラーゼ連鎖反応（「ＰＣＲ」）、例えば、定量的リアルタイムＰＣＲ（「ｑＲＴ－ＰＣＲ」）及び他の増幅型検出方法、例えば、分岐状ＤＮＡ、ＳＩＳＢＡ、ＴＭＡ等）、ＲＮＡ－Ｓｅｑ、ＦＩＳＨ、マイクロアレイ分析、遺伝子発現プロファイリング、及び／または遺伝子発現連続分析（「ＳＡＧＥ」）、ならびにタンパク質、遺伝子、及び／または組織アレイ分析によって行われ得る多種多様なアッセイのうちのいずれかを含むが、これらに限定されない。遺伝子及び遺伝子産物の状態を評価するための典型的なプロトコルは、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，１９９５，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ Ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｕｎｉｔｓ ２（ノーザンブロット法）、４（サザンブロット法）、１５（免疫ブロット法）、及び１８（ＰＣＲ分析）で見つけられる。Ｒｕｌｅｓ Ｂａｓｅｄ ＭｅｄｉｃｉｎｅまたはＭｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（「ＭＳＤ」）から入手可能なアッセイ等の多重化免疫アッセイも使用され得る。

【０３９７】

いくつかの実施形態では、バイオマーカーの存在及び／または発現レベル／量は、（ａ）試料（対象癌試料等）において、遺伝子発現プロファイリング、ＰＣＲ（ｒｔＰＣＲもしくはｑＲＴ－ＰＣＲ等）、ＲＮＡ－ｓｅｑ、マイクロアレイ分析、ＳＡＧＥ、ＭａｓｓＡＲＲＡＹ技法、またはＦＩＳＨを行うことと、ｂ）試料中のバイオマーカーの存在及び／または発現レベル／量を決定することとを含む方法を使用して決定される。いくつかの実施形態では、マイクロアレイ方法は、ストリンジェントな条件下で上述の遺伝子をコードする核酸分子にハイブリダイズすることができる１つ以上の核酸分子を有するか、または上述の遺伝子によってコードされるタンパク質のうちの１つ以上に結合することができる１つ以上のポリペプチド（ペプチドもしくは抗体等）を有するマイクロアレイチップの使用を含む。一実施形態では、ＰＣＲ方法は、ｑＲＴ－ＰＣＲである。一実施形態では、ＰＣＲ方法は、多重ＰＣＲである。いくつかの実施形態では、遺伝子発現は、マイクロアレイによって測定される。いくつかの実施形態では、遺伝子発現は、ｑＲＴ－ＰＣＲによって測定される。いくつかの実施形態では、発現は、多重ＰＣＲによって測定される。

【０３９８】

細胞中のｍＲＮＡの評価方法が周知であり、例えば、相補的ＤＮＡプローブを使用したハイブリダイゼーションアッセイ（１つ以上の遺伝子に特異的な標識リボプローブを使用したインサイツハイブリダイゼーション、ノーザンブロット、及び関連技法等）、ならびに様々な核酸増幅アッセイ（遺伝子のうちの１つ以上に特異的な相補的プライマーを使用したＲＴ－ＰＣＲ、及び他の増幅型検出方法、例えば、分岐状ＤＮＡ、ＳＩＳＢＡ、ＴＭＡ等）が挙げられる。

【０３９９】
哺乳動物由来の試料は、ノーザンブロット、ドットブロット、またはＰＣＲ分析を使用してｍＲＮＡについて好都合にアッセイされ得る。加えて、かかる方法は、生物学的試料中の標的ｍＲＮＡのレベルを決定する（例えば、アクチンファミリーメンバー等の「ハウスキーピング」遺伝子の比較対照ｍＲＮＡ配列のレベルを同時に試験することによって）ことを可能にする１つ以上のステップを含み得る。任意に、増幅標的ｃＤＮＡの配列が決定され得る。

【０４００】
任意の方法は、マイクロアレイ技術によって組織または細胞試料中の標的ｍＲＮＡ等のｍＲＮＡを試験または検出するプロトコルを含む。核酸マイクロアレイを使用して、試験及び対照組織試料由来の試験及び対照ｍＲＮＡ試料が逆転写及び標識されて、ｃＤＮＡプローブを生成する。その後、プローブは、固体支持体に固定された核酸のアレイにハイブリダイズされる。このアレイは、このアレイの各メンバーの配列及び位置が知られるように構成される。例えば、発現が抗血管新生療法の臨床的利益の増加または低減と相関する様々な遺伝子が固体支持体上にアレイされ得る。特定のアレイメンバーでの標識プローブのハイブリダイゼーションは、プローブが由来する試料がその遺伝子を発現することを示す。

【０４０１】
いくつかの実施形態によれば、存在及び／または発現レベル／量は、前述の遺伝子のタンパク質発現レベルを観察することによって測定される。ある特定の実施形態では、この方法は、バイオマーカーの結合を許容する条件下で生物学的試料を本明細書に記載のバイオマーカーに対する抗体（例えば、抗ＰＤ－Ｌ１抗体）と接触させることと、複合体が抗体とバイオマーカーとの間に形成されるかを検出することとを含む。かかる方法は、インビトロ方法またはインビボ方法であり得る。一実施形態では、抗体を使用して、ＰＤ－Ｌ１軸結合アンタゴニストでの療法に適格な対象、例えば、個体の選択のためのバイオマーカーを選択する。

【０４０２】
ある特定の実施形態では、試料中のバイオマーカータンパク質の存在及び／または発現レベル／量は、ＩＨＣ及び染色プロトコルを使用して試験される。組織切片のＩＨＣ染色は、試料中のタンパク質の存在を決定または検出する信頼できる方法であることが示されている。これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＰＤ－Ｌ１である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１は、免疫組織化学によって検出される。いくつかの実施形態では、個体由来の試料中のＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの上昇した発現は、上昇したタンパク質発現であり、さらなる実施形態では、ＩＨＣを使用して決定される。一実施形態では、バイオマーカーの発現レベルは、（ａ）抗体を用いた試料（対象癌試料等）のＩＨＣ分析を行うことと、ｂ）試料中のバイオマーカーの発現レベルを決定することとを含む方法を使用して決定される。いくつかの実施形態では、ＩＨＣ染色強度は、基準と比較して決定される。いくつかの実施形態では、基準は、基準値である。いくつかの実施形態では、基準は、基準試料（例えば、対照細胞株染色試料または非癌性患者由来の組織試料）である。

【０４０３】
ＩＨＣは、形態学的染色及び／または蛍光インサイツハイブリダイゼーション等のさらなる技法と組み合わせて行われ得る。２つの一般的なＩＨＣ方法、直接アッセイ及び間接アッセイが利用可能である。第１のアッセイに従って、抗体の標的抗原への結合は、直接決定される。この直接アッセイは、さらなる抗体相互作用なしで可視化され得る蛍光タグまたは酵素標識一次抗体等の標識試薬を使用する。典型的な間接アッセイでは、コンジュゲートしていない一次抗体が抗原に結合し、その後、標識二次抗体がその一次抗体に結合する。二次抗体が酵素標識にコンジュゲートする場合、発色基質または蛍光発生基質が添加されて、抗原の可視化をもたらす。いくつかの二次抗体が一次抗体上の異なるエピトープと反応するため、シグナル増幅が生じる。

【０４０４】
ＩＨＣに使用される一次抗体及び／または二次抗体は、典型的には、検出可能な部分で標識される。多数の標識が利用可能であり、これらは、一般に、以下のカテゴリーに群分けされ得る：（ａ）放射性同位体、例えば、^{35}Ｓ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、及び^{131}Ｉ、（ｂ）コロイド金粒子、（ｃ）蛍光標識を含むが、これらに限定されない、希土類キレート（ユウロピウムキレート）、Ｔｅｘａｓ　Ｒｅｄ、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン、ウンベリフェロン、フェコシリスリン（ｐｈｙｃｏｃｒｙｔｈｅｒｉｎ）、フィコシアニン、または市販のフルオロフォア、例えば、ＳＰＥＣＴＲＵＭ　ＯＲＡＮＧＥ７及びＳＰＥＣＴＲＵＭ　ＧＲＥＥＮ７、ならびに／または上記のうちのいずれか１つ以上の誘導体、（ｄ）様々な酵素－基質標識が利用可能であり、米国特許第４，２７５，１４９号は、これらのうちのいくつかの概説を提供する。酵素標識の例としては、ルシフェラーゼ（例えば、蛍ルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ、米国特許第４，７３７，４５６号）、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ウレアーゼ、ペルオキシダーゼ、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰＯ）、アルカリ性ホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカリドオキシダーゼ（例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ）、複素環オキシダーゼ（ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ等）、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼ等が挙げられる。

【０４０５】
酵素と基質との組み合わせの例としては、例えば、基質として水素ペルオキシダーゼを有する西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰＯ）、発色基質としてパラ－ニトロフェニルリン酸塩を有するアルカリ性ホスファターゼ（ＡＰ）、及び発色基質（例えば、ｐ－ニトロフェニル－β－Ｄ－ガラクトシダーゼ）または蛍光発生基質（例えば、４－メチルウンベリフェリル－β－Ｄ－ガラクトシダーゼ）を有するβ－Ｄ－ガラクトシダーゼ（β－Ｄ－Ｇａｌ）が挙げられる。これらの一般概説については、米国特許第４，２７５，１４９号及び同第４，３１８，９８０号を参照されたい。

【０４０６】
これらの方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１は、抗ＰＤ－Ｌ１診断抗体（すなわち、一次抗体）を使用した免疫組織化学によって検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１診断抗体は、ヒトＰＤ－Ｌ１に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１診断抗体は、非ヒト抗体である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１診断抗体は、ラット、マウス、またはウサギ抗体である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１診断抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１診断抗体は、直接標識される。

【０４０７】
このようにして調製された検体は、載置及びカバースリップされ得る。その後、スライド評価が、例えば、顕微鏡を使用して決定され、当該技術分野によって日常的に使用されている染色強度判断基準が用いられ得る。一実施形態では、腫瘍由来の細胞及び／または組織がＩＨＣを使用して試験される場合、染色は、一般に、（試料中に存在する間質または周辺組織とは対照的に）腫瘍細胞及び／または組織において決定または評価されることが理解される。いくつかの実施形態では、腫瘍由来の細胞及び／または組織がＩＨＣを使用して試験される場合、染色は、腫瘍内または腫瘍周辺免疫細胞等の腫瘍浸潤免疫細胞における決定または評価を含むことが理解される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの存在は、以下の表４に記載されるように、ＩＨＣによって、試料の０％超、試料の少なくとも１％、試料の少なくとも５％、または試料の少なくとも１０％で検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの存在は、ＩＨＣによって、細胞の５％未満で検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの存在は、ＩＨＣによって、細胞の１％未満で検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの存在は、ＩＨＣによって、細胞の０％で検出される。

【０４０８】
これらの方法、アッセイ、及び／またはキットのうちのいずれかのいくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーの存在は、ＩＨＣによって、任意の強度のＰＤ－Ｌ１染色で検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって弱い染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって中程度の染色強度として検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって強い染色強度として検出される。
【０４０９】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＩＨＣによって、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、及びそれらの組み合わせ中で検出される。
【０４１０】
ＩＨＣでの使用に好適な抗ＰＤ－Ｌ１抗体が当該技術分野で周知である。当業者であれば、さらなる好適な抗ＰＤ－Ｌ１抗体が、例えば、本明細書に開示されるＩＨＣプロトコルを使用して、抗ＰＤ－Ｌ１抗体と比較することによって特定及び特徴付けられ得ることを理解する。
【０４１１】
陽性組織対照が、胎盤及び扁桃腺組織（強いＰＤ－Ｌ１染色強度）、組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞（弱い、中程度、及び強い強度の様々な程度のＰＤ－Ｌ１染色強度）を使用して例示される。以下は、例示のＰＤ－Ｌ１　ＩＨＣ判断基準について言及し得る。
表４．

ＰＤ－Ｌ１状態	染色判断基準
陰性	任意の染色強度で０％の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
陽性	任意の染色強度で０％を超える膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
	任意の染色強度で１％以上の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
	任意の染色強度で５％以上の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
	任意の染色強度で１０％以上の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ

【０４１２】
いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１状態は、上の表４に提供されるガイドラインに従って診断される。
【０４１３】
いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１　ＩＨＣ診断評価の判断基準が以下に提供される。
表５

ＰＤ－Ｌ１診断評価	ＩＨＣスコア
いずれの識別可能なＰＤ－Ｌ１染色も不在 または 腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の１％未満を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ０
腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の１％以上～５％未満を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ１
腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の５％以上～１０％未満を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ２
腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の１０％以上を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ３

【０４１４】

いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１状態は、上の表５に提供されるガイドラインに従って診断される。いくつかの実施形態では、ＩＨＣ０及び／またはＩＨＣ１のスコアを有する試料がＰＤＬ１バイオマーカー陰性と見なされ得る。いくつかの実施形態では、ＩＨＣ２及び／またはＩＨＣ３のスコアを有する試料がＰＤＬ１バイオマーカー陽性と見なされ得る。いくつかの実施形態では、試料は、ＩＨＣ０、ＩＨＣ０及び／または１、ＩＨＣ１、ＩＨＣ１及び／または２、ＩＨＣ２、ＩＨＣ２及び／または３、またはＩＨＣ３と診断される。

【０４１５】

いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１発現は、腫瘍または腫瘍試料で評価される。本明細書で使用されるとき、腫瘍または腫瘍試料は、腫瘍細胞によって占有される腫瘍面積の一部または全てを包含し得る。いくつかの実施形態では、腫瘍または腫瘍試料は、腫瘍関連腫瘍内細胞及び／または腫瘍関連間質（例えば、隣接腫瘍周辺線維形成性間質）によって占有される腫瘍面積をさらに包含する。腫瘍関連腫瘍内細胞及び／または腫瘍関連間質は、主要な腫瘍塊に直接隣接しており、かつ／またはそれと隣接している免疫浸潤物（例えば、本明細書に記載の腫瘍浸潤免疫細胞）の面積を含み得る。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１発現は、腫瘍細胞で評価される。いくつかの実施形態では、ＰＤＬ１発現は、腫瘍浸潤免疫細胞等の上述の腫瘍面積内の免疫細胞で評価される。

【０４１６】

代替の方法では、試料は、抗体－バイオマーカー複合体が生じるのに十分な条件下で前記バイオマーカーに特異的な抗体と接触させられてもよく、その後、前記複合体を検出する。バイオマーカーの存在は、血漿または血清等の多種多様な組織及び試料をアッセイするためのいくつかの方法で、例えば、ウエスタンブロット法及びＥＬＩＳＡ手技によって検出され得る。かかるアッセイ形式を使用した広範な免疫アッセイ技法が利用可能であり、例えば、米国特許第４，０１６，０４３号、同第４，４２４，２７９号、及び同第４，０１８，６５３号を参照されたい。これらとしては、非競合型の単一部位及び二部位の両方または「サンドイッチ」アッセイ、ならびに伝統的な競合結合アッセイが挙げられる。これらのアッセイは、標識抗体の標的バイオマーカーへの直接結合も含む。

【０４１７】

組織または細胞試料中の選択されたバイオマーカーの存在及び／または発現レベル／量も、機能アッセイまたは活性ベースのアッセイによって試験され得る。例えば、バイオマーカーが酵素である場合、当該技術分野で既知のアッセイを行って、組織または細胞試料中の所与の酵素活性の存在を決定または検出することができる。

【０４１８】
ある特定の実施形態では、試料は、アッセイされるバイオマーカーの量の差及び使用される試料の質の変動の両方、ならびにアッセイラン間の変動について正規化される。かかる正規化は、周知のハウスキーピング遺伝子等のある特定の正規化バイオマーカーの発現を検出し、かつ組み込むことによって達成され得る。あるいは、正規化は、アッセイされた遺伝子またはその大サブセットの全ての平均シグナルまたはシグナル中央値に基づき得る（包括的正規化アプローチ）。遺伝子毎に、対象の腫瘍ｍＲＮＡまたはタンパク質の測定された正規化量が、基準セットで見られる量と比較される。対象毎の試験された腫瘍毎の各ｍＲＮＡまたはタンパク質の正規化発現レベルが、基準セットにおける測定された発現レベルの割合として表され得る。分析される特定の対象試料中の測定された存在及び／または発現レベル／量がこの範囲内のある百分率に入り、これは、当該技術分野で周知の方法によって決定され得る。

【０４１９】
一実施形態では、試料は、臨床試料である。別の実施形態では、試料は、診断アッセイで使用される。いくつかの実施形態では、試料は、原発性腫瘍または転移性腫瘍から得られる。組織生検は、多くの場合、腫瘍組織の代表的な小片を得るために使用される。あるいは、腫瘍細胞は、目的とする腫瘍細胞を含有することで知られているか、またはそう考えられている組織または流体の形態で間接的に得られ得る。例えば、肺癌病変試料は、切除、気管支鏡法、微細針吸引、気管支擦過によって、または痰、胸膜液、もしくは血液から得られ得る。遺伝子または遺伝子産物は、癌もしくは腫瘍組織から、または他の身体試料、例えば、尿、痰、血清、もしくは血漿から検出され得る。癌性試料中の標的遺伝子または遺伝子産物の検出について上で論じられた同じ技法が他の身体試料に適用され得る。癌細胞が癌病変から脱落し、かかる身体試料中に現れ得る。かかる身体試料をスクリーニングすることにより、これらの癌の簡単な早期診断が達成され得る。加えて、療法の進展が、かかる身体試料を標的遺伝子または遺伝子産物について試験することによってより容易に監視され得る。

【０４２０】
ある特定の実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、試験試料が得られたときとは異なる１つ以上の時点で得られる同じ対象または個体由来の単一の試料または組み合わせられた複数の試料である。例えば、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、試験試料が得られるよりも早い時点で同じ対象または個体から得られる。かかる基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、基準試料が癌の初期診断中に得られる場合、かつ癌が転移性癌になったときに試験試料が得られる場合に有用であり得る。

【０４２１】
ある特定の実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、対象または個体ではない１以上の健常な個体由来の組み合わせられた複数の試料である。ある特定の実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、対象または個体ではない疾患または障害（例えば、癌）を有する１以上の個体由来の組み合わせられた複数の試料である。ある特定の実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、正常組織由来のプールされたＲＮＡ試料、または対象もしくは個体ではない１以上の個体由来のプールされた血漿もしくは血清試料である。ある特定の実施形態では、基準試料、基準細胞、基準組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、腫瘍組織由来のプールされたＲＮＡ試料、または対象もしくは個体ではない疾患もしくは障害（例えば、癌）を有する１以上の個体由来のプールされた血漿もしくは血清試料である。

【０４２２】
いくつかの実施形態では、試料は、個体由来の組織試料である。いくつかの実施形態では、組織試料は、腫瘍組織試料（例えば、生検組織）である。いくつかの実施形態では、組織試料は、肺組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、腎組織である。いく

つかの実施形態では、組織試料は、皮膚組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、膵臓組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、胃組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、膀胱組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、食道組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、中皮組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、乳房組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、甲状腺組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、結腸直腸組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、頭頸部組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、骨肉腫組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、前立腺組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、卵巣組織、ＨＣＣ（肝臓）、血球、リンパ節、及び／または骨／骨髄組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、結腸組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、子宮内膜組織である。いくつかの実施形態では、組織試料は、脳組織（例えば、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫等）である。

【０４２３】

いくつかの実施形態では、腫瘍組織試料（「腫瘍試料」という用語は、本明細書で同義に使用される）は、腫瘍細胞によって占有される腫瘍面積の一部または全てを包含し得る。いくつかの実施形態では、腫瘍または腫瘍試料は、腫瘍関連腫瘍内細胞及び／または腫瘍関連間質（例えば、隣接腫瘍周辺線維形成性間質）によって占有される腫瘍面積をさらに包含する。腫瘍関連腫瘍内細胞及び／または腫瘍関連間質は、主要な腫瘍塊に直接隣接しており、かつ／またはそれと隣接している免疫浸潤物（例えば、本明細書に記載の腫瘍浸潤免疫細胞）の面積を含み得る。

【０４２４】

いくつかの実施形態では、腫瘍細胞染色は、任意の強度の膜染色を示す全ての腫瘍細胞のパーセントとして表される。浸潤免疫細胞染色は、任意の強度の染色を示す免疫細胞によって占有される総腫瘍面積のパーセントとして表され得る。総腫瘍面積は、悪性細胞、ならびに腫瘍関連間質を包含し、主要な腫瘍塊に直接隣接しており、かつそれと隣接している免疫浸潤物の面積を含む。加えて、浸潤免疫細胞染色は、全ての腫瘍浸潤免疫細胞のパーセントとして表され得る。

【０４２５】

これらの方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、疾患または障害は、腫瘍である。いくつかの実施形態では、腫瘍は、悪性癌性腫瘍（すなわち、癌）である。いくつかの実施形態では、腫瘍及び／または癌は、固形腫瘍または非固形もしくは軟組織腫瘍である。軟組織腫瘍の例としては、白血病（例えば、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、成人急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、成熟Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、前リンパ球性白血病、もしくはヘアリー細胞白血病）、またはリンパ腫（例えば、非ホジキンリンパ腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、もしくはホジキン病）が挙げられる。固形腫瘍は、血液、骨髄、またはリンパ系以外の身体組織の任意の癌を含む。固形腫瘍は、上皮細胞起源のもの及び非上皮細胞起源のものにさらに分類され得る。上皮細胞固形腫瘍の例としては、胃腸管、結腸、結腸直腸（例えば、類基底結腸直腸癌）、乳房、前立腺、肺、腎臓、肝臓、膵臓、卵巣（例えば、類内膜卵巣癌）、頭頸部、口腔、胃、十二指腸、小腸、大腸、肛門、胆嚢、唇、鼻咽頭、皮膚、子宮、男性生殖器、泌尿器官（例えば、尿路上皮癌、異型尿路上皮癌、移行上皮癌）、膀胱、及び皮膚の腫瘍が挙げられる。非上皮起源の固形腫瘍としては、肉腫、脳腫瘍、及び骨腫瘍が挙げられる。いくつかの実施形態では、癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である。いくつかの実施形態では、癌は、二次または三次局所進行性または転移性非小細胞肺癌である。いくつかの実施形態では、癌は、腺癌である。いくつかの実施形態では、癌は、扁平上皮癌である。いくつかの実施形態では、癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌）、胃癌、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、または肝細胞癌である。いくつかの実施形態では、癌は、原発性腫瘍である。いくつかの実施形態では、癌は、上述の癌型のうちのいずれか由来の第２の部位での転移性腫瘍である。

【０４２６】

これらの方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、癌は、ヒトエフェクター細胞を呈する（例えば、ヒトエフェクター細胞によって浸潤される）。例えば、ＩＨＣによる方法等のヒトエフェクター細胞の検出方法が当該技術分野で周知である。いくつかの実施形態では、癌は、高レベルのヒトエフェクター細胞を呈する。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、ＮＫ細胞、マクロファージ、単球のうちの１つ以上である。いくつかの実施形態では、癌は、本明細書に記載の任意の癌である。いくつかの実施形態では、癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌）、胃癌、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、または肝細胞癌である。

【０４２７】

これらの方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、癌は、ＦｃＲを発現する細胞を呈する（例えば、ＦｃＲを発現する細胞によって浸潤される）。例えば、ＩＨＣによる方法等のＦｃＲの検出方法が当該技術分野で周知である。いくつかの実施形態では、癌は、高レベルのＦｃＲを発現する細胞を呈する。いくつかの実施形態では、ＦｃＲは、ＦｃγＲである。いくつかの実施形態では、ＦｃＲは、活性化ＦｃγＲである。いくつかの実施形態では、癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、黒色腫、乳癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌）、胃癌、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、または肝細胞癌である。

【０４２８】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＦＡＣＳ、ウエスタンブロット、ＥＬＩＳＡ、免疫沈降、免疫組織化学、免疫蛍光、ラジオイムノアッセイ、ドットブロット法、免疫検出方法、ＨＰＬＣ、表面プラズモン共鳴、光学分光学、質量分光、ＨＰＬＣ、ｑＰＣＲ、ＲＴ－ｑＰＣＲ、多重ｑＰＣＲまたはＲＴ－ｑＰＣＲ、ＲＮＡ－ｓｅｑ、マイクロアレイ分析、ＳＡＧＥ、ＭａｓｓＡＲＲＡＹ技法、及びＦＩＳＨ、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される方法を使用して試料中で検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＦＡＣＳ分析を使用して検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカーは、ＰＤ－Ｌ１である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１発現は、血液試料中で検出される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１発現は、血液試料中の循環免疫細胞で検出される。いくつかの実施形態では、循環免疫細胞は、ＣＤ３＋／ＣＤ８＋Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、分析前に、免疫細胞が血液試料から単離される。細胞選別を含むが、これに限定されない、かかる細胞集団の任意の好適な単離／濃縮方法が使用され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１発現は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体等のＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－１軸経路阻害剤での処置に応答する個体由来の試料中で上昇する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１発現は、血液試料中のＣＤ３＋／ＣＤ８＋Ｔ細胞等の循環免疫細胞で上昇する。

【０４２９】

対象から得られた白血球を含む試料中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）（例えば、サイトカイン、例えば、ガンマインターフェロン）、及び／または細胞組成物の発現レベル（例えば、Ｔｒｅｇの割合及び／またはＴｒｅｇの絶対数、例えば、ＣＤ８＋エフェクターＴ細胞の数）を測定すること（対象が、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）で治療されており、１つ以上のマーカー遺伝子が、Ｔ細胞マーカー遺伝子、またはメモリーＴ細胞マーカー遺伝子（例えば、エフェクターメモリーＴ細胞のマーカー）から選択される）と、この治療を、基準と比較して、対象から得られた試料中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）、及び／または細胞組成物の発現レベルに基づいて、薬力学的活性を示すものと決定すること（基準と比較した１つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルの増加が、ＯＸ４０アゴニスト治療に対する薬力学的活性を示す）とによる、ＯＸ４０アゴニスト治療の薬力学的活性の監視方法が本明細書に提供される。マーカー遺伝子、タンパク質、及び／または細胞組成物の発現レベルは、本明細書に記載の１つ以上の方法によって測定される。

【０４３０】
本明細書で使用されるとき、「薬力学的（ＰＤ）活性」とは、対象への治療（例えば、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸アンタゴニストとの併用治療）の効果を指し得る。ＰＤ活性の一例として、１つ以上の遺伝子の発現レベルの調節が挙げられ得る。理論に拘束されることを望むことなく、遺伝子マーカーの発現を測定すること等によるＰＤ活性の監視が、ＯＸ４０アゴニスト及びＰＤ－１軸アンタゴニストを試験する臨床試験中に有利であり得ると考えられる。ＰＤ活性の監視を用いて、例えば、治療、毒性等への応答を監視することができる。
【０４３１】
いくつかの実施形態では、１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質、及び／または細胞組成物の発現レベルは、治療（例えば、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療）を受けていない対象由来の試料を含み得る基準と比較され得る。いくつかの実施形態では、基準は、治療（例えば、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療）を受ける前の同じ対象由来の試料を含み得る。いくつかの実施形態では、基準は、治療（例えば、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸アンタゴニストとの併用治療）を受けている他の対象由来の１つ以上の試料の基準値を含み得る。例えば、患者集団が治療され得、１つ以上の遺伝子の発現レベルの平均値、平均、または中央値が全体としてその集団から生成され得る。共通の特性（例えば、同じ癌型及び／もしくは病期、またはＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療等の共通の治療への曝露）を有する癌から得られた試料セットが、臨床転帰研究等の集団から研究され得る。このセットを使用して、対象の試料が比較され得る基準、例えば、基準数を導き出すことができる。本明細書に記載の基準のうちのいずれかが、ＰＤ活性を監視するための基準として使用され得る。
【０４３２】
対象から得られた白血球中の試料中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）（例えば、サイトカイン、例えば、ガンマインターフェロン）、及び／または細胞組成物の発現レベル（例えば、Ｔｒｅｇの割合及び／またはＴｒｅｇの絶対数、例えば、末梢血試料中のＣＤ８＋エフェクターＴ細胞の数）を測定すること（対象が、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）で治療されており、１つ以上のマーカー遺伝子が、Ｔ細胞マーカー遺伝子、またはメモリーＴ細胞マーカー遺伝子（例えば、エフェクターメモリーＴ細胞のマーカー）から選択される）と、対象を、基準と比較して、対象から得られた試料中の１つ以上のマーカー遺伝子、タンパク質（複数可）、及び／または細胞組成物の発現レベルに基づいて、この治療に応答性または非応答性であると分類すること（基準と比較した１つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルの増加が、ＯＸ４０アゴニスト治療に対する応答性または応答性の欠如を示す）とによる、対象のＯＸ４０アゴニスト治療への応答性の監視方法が本明細書に提供される。マーカー遺伝子、タンパク質、及び／または細胞組成物の発現レベルは、本明細書に記載の１つ以上の方法によって測定される。
【０４３３】
いくつかの実施形態では、応答性を監視するための基準は、治療（例えば、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療）を受けていない対象由来の試料を含み得る。いくつかの実施形態では、応答性を監視するための基準は、治療（例えば、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療）を受ける前の同じ対象由来の試料を含み得る。いくつかの実施形態では、応答性を監視するための基準は、治療（例えば、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－１軸結合アンタゴニストとの併用治療）を受けている他の患者由来の１つ以上の試料の基準値を含み得る。例えば、患者集団が治療され得、１つ以上の遺伝子の発現レベルの平均値、平均、または中央値が全体としてその集団から生成され得る。共通の特性（例えば、同じ癌型及び／もしくは病期、またはＯＸ４０アゴニスト等の共通の治療への曝露）を有する癌から得られた試料セットが、臨床転帰研究等の集団から研究され得る。このセットを使用して、対象の試料が比較され得る基準、

例えば、基準数を導き出すことができる。本明細書に記載の基準のうちのいずれかが、ＰＤ活性を監視するための基準として使用され得る。

【０４３４】

本開示のある特定の態様は、試料中の１つ以上の遺伝子または１つ以上のタンパク質の発現レベルの測定に関する。いくつかの実施形態では、試料は、白血球を含み得る。いくつかの実施形態では、試料は、末梢血試料（例えば、腫瘍を有する患者由来）であり得る。いくつかの実施形態では、試料は、腫瘍試料である。腫瘍試料は、癌細胞、リンパ球、白血球、間質、血管、結合組織、基底膜、及び腫瘍に関連する任意の他の細胞型を含み得る。いくつかの実施形態では、試料は、腫瘍浸潤白血球を含有する腫瘍組織試料である。いくつかの実施形態では、試料は、１つ以上の細胞型（例えば、白血球）に分離または単離するように処理され得る。いくつかの実施形態では、試料は、細胞型を分離または単離することなく使用され得る。

【０４３５】

腫瘍試料は、生検、内視鏡検査、または外科的手技を含むが、これらに限定されない当該技術分野で既知の任意の方法によって対象から得られ得る。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、凍結、固定（例えば、ホルマリンもしくは同様の固定剤を使用して）、及び／またはパラフィンワックスでの包理等の方法によって調製することができる。いくつかの実施形態では、腫瘍試料が切片化され得る。いくつかの実施形態では、新鮮な腫瘍試料（すなわち、上述の方法によって調製されていない腫瘍試料）が使用され得る。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、ｍＲＮＡ及び／またはタンパク質の完全性を保存するために溶液中でのインキュベーションによって調製することができる。

【０４３６】

いくつかの実施形態では、試料は、末梢血試料であり得る。末梢血試料は、白血球、ＰＢＭＣ等を含み得る。当該技術分野で既知の白血球を末梢血試料から単離するための任意の技法が使用され得る。例えば、血液試料が採取されてもよく、赤血球が溶解されてもよく、白血球ペレットが試料のために単離及び使用されてもよい。別の例では、密度勾配分離を使用して、白血球（例えば、ＰＢＭＣ）を赤血球から分離することができる。いくつかの実施形態では、新鮮な末梢血試料（すなわち、上述の方法によって調製されていない末梢血試料）が使用され得る。いくつかの実施形態では、末梢血試料は、ｍＲＮＡ及び／またはタンパク質の完全性を保存するために溶液中でのインキュベーションによって調製することができる。

【０４３７】

いくつかの実施形態では、治療への応答性とは、生存期間の延長（全体的な生存期間及び無増悪生存期間を含む）、客観的応答（完全応答もしくは部分的応答を含む）をもたらすこと、または癌の兆候または症状の改善のうちのいずれか１つ以上を指し得る。いくつかの実施形態では、応答性とは、癌患者における腫瘍の状態、すなわち、応答、安定、または進行を決定するための公開された一組のＲＥＣＩＳＴガイドラインに従う１つ以上の要因の改善を指し得る。これらのガイドラインのより詳細な考察については、Ｅｉｓｅｎｈａｕｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ２００９；４５：２２８－４７、Ｔｏｐａｌｉａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ２０１２；３６６：２４４３－５４、Ｗｏｌｃｈｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ Ｃａｎ Ｒｅｓ ２００９；１５：７４１２－２０、及びＴｈｅｒａｓｓｅ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｎａｔｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．９２：２０５－１６（２０００）を参照されたい。応答性対象とは、癌（複数可）が、例えば、ＲＥＣＩＳＴ判断基準に基づく１つ以上の要因に従う改善を示す対象を指し得る。非応答性対象とは、癌（複数可）が、例えば、ＲＥＣＩＳＴ判断基準に基づく１つ以上の要因に従う改善を示さない対象を指し得る。

【０４３８】

従来の応答判断基準は、免疫療法薬の抗腫瘍活性を特徴付けるには適切でない場合があり、新たな病変の出現等の最初の明らかな放射線学的進行が先行し得る遅延応答をもたらし得る。したがって、新たな病変の出現の可能性を説明し、かつその後の評価で確認され

る放射線学的進行を可能にする修正された応答判断基準が開発されている。したがって、いくつかの実施形態では、応答性とは、免疫関連応答判断基準２（ｉｒＲＣ）に従うより多くの要因のうちの１つの改善を指し得る。例えば、Ｗｏｌｃｈｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｌｉｎ　Ｃａｎ　Ｒｅｓ　２００９；１５：７４１２－２０を参照されたい。いくつかの実施形態では、新たな病変は、定義された腫瘍負荷に追加され、例えば、その後の評価での放射線学的進行が続く。いくつかの実施形態では、非標的病変の存在は、完全応答の評価に含まれ、放射線学的進行の評価には含まれない。いくつかの実施形態では、放射線学的進行は、測定可能な疾患のみに基づいて決定され得、かつ／または最初に記録された日から４週間以上の連続評価によって確認され得る。

【０４３９】

いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化を含み得る。いくつかの実施形態では、応答性は、治療効力を含み得る。いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化及び治療効力を含み得る。

【０４４０】

ＶＩ．製品またはキット

本発明の別の実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）を含む製品またはキットが提供される。いくつかの実施形態では、製品またはキットは、ＰＤ－１軸結合アンタゴニストをＯＸ４０結合アゴニストと併せて使用して、個体における癌を治療するか、もしくはその進行を遅延するか、癌を有する個体の免疫機能を増強する指示を含む添付文書をさらに含む。本明細書に記載のＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及び／またはＯＸ４０結合アゴニストのうちのいずれかが製品またはキットに含まれ得る。

【０４４１】

いくつかの実施形態では、ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト及びＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）は、同じ容器または別個の容器内にある。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋、及びシリンジが挙げられる。容器は、ガラス、プラスチック（ポリ塩化ビニルもしくはポリオレフィン等）、または金属合金（ステンレス鋼もしくはハステロイ等）等の様々な材料から形成され得る。いくつかの実施形態では、容器は、製剤を保持し、容器上のラベルまたは容器に関連するラベルは、使用上の指示を示し得る。製品またはキットは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、シリンジ、及び使用上の指示を有する添付文書等の商業的視点及び使用者の視点から望ましい他の材料をさらに含み得る。いくつかの実施形態では、製品は、別の薬剤（例えば、化学療法剤及び抗新生物薬）のうちの１つ以上をさらに含む。１つ以上の薬剤に好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、袋、及びシリンジが挙げられる。

【０４４２】

本明細書は、当業者が本発明を実施することを可能にするのに十分であると見なされる。本明細書に示され、かつ本明細書記載の修正に加えて、本発明の様々な修正は、前述の説明から当業者に明らかになり、それらは添付の特許請求の範囲内に入る。本明細書で引用される全ての公報、特許、及び特許出願は、あらゆる目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【０４４３】

本発明は、以下の実施例を参照することによってより十分に理解される。しかしながら、それらは、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書に記載の実施例及び実施形態が例証目的のみのためであり、それを考慮に入れた様々な修正または変更が当業者に提案されており、本明細書の趣旨及び範囲ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれるべきであることが理解される。

【０４４４】

材料及び方法

インビボ腫瘍モデル：ＣＴ２６及びＭＣ３８結腸直腸細胞株をＧｅｎｅｎｔｅｃｈで維

持した。ＣＴ２６研究について、８～１０週齢の雌Ｂａｌｂ／ｃマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｈｏｌｌｉｓｔｅｒ，ＣＡ）の右側側腹部に１０万個のＣＴ２６細胞を皮下接種した。ＭＣ３８研究について、８～１０週齢の雌Ｃ５７ＢＬ／６マウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）の右側側腹部に１０万個のＭＣ３８細胞を皮下接種した。腫瘍がおよそ１５０ｍｍ３の平均腫瘍体積に到達した時点で、マウスを動員し、処置群に無作為化し、抗体処置を翌日の１日目に開始した。全ての動物研究をＡｎｉｍａｌｓ Ｗｅｌｆａｒｅ Ａｃｔ ａｎｄ Ｔｈｅ Ｇｕｉｄｅ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｃａｒｅ ａｎｄ Ｕｓｅ ｏｆ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ａｎｉｍａｌｓ ａｎｄ ＩＡＣＵＣ Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅｓに記載のガイドライン及び規則に従って行った。処置群は、以下の通りであった：１）対照抗体、初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）、ＢＩＷ×２、ｎ＝５、２）マウス抗マウスＯＸ４０アゴニストモノクローナル抗体（ＯＸ８６抗体及びマウスＩｇＧ２ａ Ｆｃ由来のラット抗マウスＯＸ４０可変領域を有するキメラ抗体。したがって、このマウス抗体は、ＡＤＣＣを含むが、これに限定されないエフェクター機能の能力を有する）、初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）、その後、腹腔内、ＴＩＷ×２、ｎ＝５、３）マウス抗ＰＤ－Ｌ１、初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）、ＴＩＷ×２、ｎ＝５、ならびに４）マウス抗マウスＯＸ４０モノクローナル抗体、初回投薬０．１ｍｇ／ｋｇ（静脈内）、その後、腹腔内、ＴＩＷ×２、及びマウス抗ＰＤ－Ｌ１、初回投薬１０ｍｇ／ｋｇ（静脈内）、その後、５ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）ＴＩＷ×２、ｎ＝５。マウスを屠殺し、末梢血を第１の投薬後９日目に採取した。

【０４４５】

抗体：全ての処置抗体をＧｅｎｅｎｔｅｃｈで生成した。対照抗体は、抗ｇｐ１２０マウスＩｇＧ１、クローン１０Ｅ７．１Ｄ２であった。抗ＯＸ４０抗体は、クローンＯＸ－８６マウスＩｇＧ２ａ（ラット抗マウスＯＸ４０アゴニスト抗体ＯＸ－８６をマウスＩｇＧ２ａ骨格にクローニングすることによって生成）であり、抗ＰＤＬ１は、クローン６Ｅ１１．１．９マウスＩｇＧ１であった。静脈内（ＩＶ）投与による初回投薬または単回投薬及びその後の腹腔内（ＩＰ）投与による投薬という投薬スケジュールを図の説明文に示した。抗体をＰＢＳまたは２０ｍＭの酢酸ヒスチジン、２４０ｍＭのスクロース、０．０２％ポリソルベート２０（ｐＨ５．５）のいずれか中に希釈した。ＴＩＷは、週３回の投与を示し、ＢＩＷは、週２回の投与を示す。

【０４４６】

腫瘍処理及びフローサイトメトリー：腫瘍を採取し、かみそり刃で細切した後、Ｃ管（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）内のロッキングプラットフォーム上の５％ウシ胎児血清及びＣｏｌｌａｇｅｎａｓｅ Ｄ（Ｒｏｃｈｅ、Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）（０．２５ｍｇ／ｍＬ）ならびにＤＮＡｓｅ Ｉ（Ｒｏｃｈｅ）（０．１ｍｇ／ｍＬ）を有するＲＰＭＩ－１６４０培地中に３７Ｃで１５分間消化した。インキュベーション後、腫瘍をｇｅｎｔｌｅＭＡＣＳ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）上で処理し、濾過し、洗浄して、単一細胞懸濁液を得た。細胞をＶｉ－Ｃｅｌｌ計数器（Ｂｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒ、Ｂｒｅａ，ＣＡ）で計数した。

【０４４７】

フローサイトメトリーにより、末梢血をＴ細胞の活性化及び増殖について評価した。５０ｕＬの血液を、製造業者の指示に従って、ＣＤ４５、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＸＣＲ３（全てＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）及びＫｉ６７（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）に対する商業用抗体で染色した。最初に、細胞を氷上のＰＢＳ中のＬｉｖｅ／Ｄｅａｄ Ｎｅａｒ－Ｉｎｆａｒｅｄ生存率色素（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ，ＮＹ）で３０分間染色し、その後、洗浄した。その後、細胞を精製抗ＣＤ１６／－ＣＤ３２（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ Ｊｏｓｅ，ＣＡ）でＦｃ受容体遮断した後、氷上のＰＢＳ＋０．５％ＢＳＡ＋２ｍＭのＥＤＴＡ緩衝液中で３０分間表面染色した。ＰＤ－１及びＴ細胞のＯＸ４０発現を評価するために、細胞を以下の通り染色した：ＰＤ１－ＦＩＴＣ、ＣＤ３－ＰｅｒＣｐ．Ｃｙ５．５、ＣＤ４－ＰＥ－Ｃ

ｙ７、ＣＤ８パシフィックブルー、ＣＤ４５　ｖ５００（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＯＸ４０　Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６４７（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ、クローン１Ｈ１）。様々な細胞型のＰＤＬ１発現を評価するために、染色を以下の通り行った：ＣＤ１１ｂ－ＦＩＴＣ、Ｇｒ－１　ＰＥ－Ｃｙ７、ＣＤ８　Ａｌｅｘａ　７００、ＣＤ４５　ｖ５００、ＣＤ４－ＰｅｒＣｐ．Ｃｙ５．５（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＰＤＬ１－ビオチン（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ、クローン６Ｆ８．２．５）、その後、ストレプトアビジン－ＰＥ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）。Ｆｏｘｐ３＋制御性Ｔ細胞集団を評価するために、最初に細胞の表面をＣＤ４５－ＰＥ－Ｃｙ７、ＣＤ４　ＰｅｒＣｐ－Ｃｙ５．５（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で染色し、その後、１倍ｆｏｘｐ３固定／透過化緩衝液（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）中に４Ｃで一晩固定した。その後、細胞を１倍ｆｏｘｐ３透過化緩衝液（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）中で透過化し、Ｆｏｘｐ３－ＦＩＴＣ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で染色した。ＦｏｒｔｅｓｓａのＦＡＣＳ　Ｄｉｖａソフトウェアまたは ＦＡＣＳ　Ｃａｎｔｏ　ＩＩ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して染色した細胞を得て、その後、ＦｌｏｗＪｏソフトウェアで分析した。

【０４４８】

腫瘍解剖及びＦｌｕｉｄｉｇｍ発現分析：ＲＮＡを、記載されるように、ＵＢＣまたはＮＳＣＬＣのＦＦＰＥ由来アーカイブ腫瘍から抽出した（Ｐｏｗｌｅｓ，Ｔ．，ｅｔ　ａｌ．（２０１４）Ｎａｔｕｒｅ　５１５：５５８－６２、Ｈｅｒｂｓｔ，Ｒ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ（２０１４）Ｎａｔｕｒｅ　５１５：５６３－７）。簡潔には、腫瘍ＦＦＰＥ切片をマクロ解剖して新生物組織を濃縮し、腫瘍溶解緩衝液及びプロテイナーゼＫを使用して組織を溶解させて、完全な消化及び核酸の放出を可能にした。製造業者のプロトコルに従ってＨｉｇｈ　Ｐｕｒｅ　ＦＦＰＥ　ＲＮＡマイクロキット（Ｒｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）を使用して、ＲＮＡを単離した。

【０４４９】

以前に記載されているように、ＢｉｏＭａｒｋ　ＨＤリアルタイムＰＣＲプラットフォーム（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ）を使用して、遺伝子発現分析を行った（Ｓｈａｍｅｓ，Ｄ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．（２０１３）ＰＬｏＳ　ＯＮＥ　８：ｅ５６７６５）。発現パネルの全てのＴａｑ－ｍａｎアッセイはＦＡＭ－ＭＧＢであり、受注生産または特注設計のいずれかでＬｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから注文したものであり、４つの基準遺伝子：ＳＰ２、ＧＵＳＢ、ＴＭＥＭ５５Ｂ、及びＶＰＳ３３Ｂを含んだ。これらの４つの基準遺伝子（ＳＰ２、ＧＵＳＢ、ＴＭＥＭ５５Ｂ、及びＶＰＳ３３Ｂ）のC_t値の幾何学的中央値を試料毎に計算し、以下の通りデルタC_t（DC_t）方法を使用して発現レベルを決定した：C_t（標的遺伝子）２幾何学的中央値C_t（基準遺伝子）。研究対象患者にわたるｍＲＮＡ発現レベル中央値（免疫チップ（ｉＣｈｉｐ）によって測定したもの）をカットオフとして使用して、高発現対低発現カテゴリー化を導き出した。Ｐ値をｔ検定によって決定した。

【０４５０】

ＰＤ－Ｌ１免疫組織化学（ＩＨＣ）：腫瘍試料または癌細胞株のホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）切片を分析した。

【０４５１】

ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片を脱パラフィン化した後、抗原を回収し、遮断し、一次抗ＰＤ－Ｌ１抗体とともにインキュベートした。二次抗体とのインキュベーション及び酵素発色後、切片を対比染色し、一連のアルコール及びキシレンで脱水した後、カバースリップした。

【０４５２】

以下のプロトコルをＩＨＣに使用した。厚さ４ｍｍのホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）組織切片を、４．３ｍｇ／ｍＬの濃度を使用して、自動染色プラットフォーム上で、抗ヒトＰＤ－Ｌ１ウサギモノクローナル抗体でＰＤ－Ｌ１に対して染色し、ジアミノベンジジンによりシグナル可視化し、切片をヘマトキシリンで対比染色した。以下のス

コア化スキームを使用して腫瘍浸潤免疫細胞でのＰＤ－Ｌ１発現を評価した。

ＰＤ－Ｌ１診断評価	ＩＨＣスコア
いずれの識別可能なＰＤ－Ｌ１染色も不在 または 腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の１％未満を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ０
腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の１％以上～５％未満を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ１
腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の５％以上～１０％未満を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ２
腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の１０％以上を覆う腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在	ＩＨＣ３

【０４５３】

Ｖｅｎｔａｎａ　Ｂｅｎｃｈｍａｒｋ　ＸＴまたは Ｂｅｎｃｈｍａｒｋ　Ｕｌｔｒａシステムを使用して、以下の試薬及び物質を使用したＰＤ－Ｌ１　ＩＨＣ染色を行った。

一次抗体：抗ＰＤ－Ｌ１ウサギモノクローナル一次抗体

検体型：様々な染色強度の組織試料及び対照細胞ペレットのホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）切片

手技に用いた種：ヒト

器具：ＢｅｎｃｈＭａｒｋ　ＸＴまたは Ｂｅｎｃｈｍａｒｋ　Ｕｌｔｒａ

エピトープ回収条件：細胞条件付け、標準１（ＣＣ１、Ｖｅｎｔａｎａ、カタログ番号９５０－１２４）

一次抗体条件：１／１００、６．５μｇ／ｍＬ／３６℃で１６分間

希釈剤：抗体希釈緩衝液（担体タンパク質及びＢｒｉｇ－３５を含有するトリス緩衝生理食塩水）

陰性対照：６．５μｇ／ｍＬのナイーブウサギＩｇＧ（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ）または希釈剤のみ

検出：Ｏｐｔｉｖｉｅｗまたは Ｕｌｔｒａｖｉｅｗ　Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　ＤＡＢ検出キット（Ｖｅｎｔａｎａ）、及び増幅キット（該当する場合）を製造業者（Ｖｅｎｔａｎａ）の指示に従って使用した。

対比染色：Ｖｅｎｔａｎａ　Ｈｅｍａｔｏｘｙｌｉｎ　ＩＩ（カタログ番号７９０－２２０８）／Ｂｌｕｉｎｇ試薬（カタログ番号７６０－２０３７）（それぞれ、４分間及び４分間）

【０４５４】

ベンチマークプロトコルは、以下の通りであった。

１．パラフィン（選択）
２．脱パラフィン化（選択）
３．細胞条件付け（選択）
４．条件付け装置番号１（選択）
５．標準のＣＣ１（選択）
６．Ａｂインキュベーション温度（選択）
７．３６Ｃ　Ａｂ　Ｉｎｃ．（選択）
８．滴定（選択）
９．自動分注（一次抗体）、及びインキュベート（１６分間）

１０．対比染色（選択）
１１．一滴の（ヘマトキシリンＩＩ）（対比染色）の適用、カバースリップの適用、インキュベート（４分間）
１２．対比染色後（選択）
１３．一滴の（ＢＬＵＩＮＧ試薬）（対比染色後）の適用、カバースリップの適用、インキュベート（４分間）
１４．スライドを石鹸水で洗浄して油を除去する
１５．スライドを水ですすぐ
１６．スライドを９５％エタノール、１００％エタノール、さらにキシレンで脱水する（Ｌｅｉｃａ自動染色機プログラム番号９）
１７．スリップで覆う

【０４５５】

結果

ＯＸ４０が活性化ＣＤ４Ｔ細胞（Ｔｅｆｆ）及びＴ制御性（Ｔｒｅｇ）細胞で発現する共刺激分子であることが知られている。ＯＸ４０は、ナイーブＴ細胞で恒常的に発現されないが、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の関与後に誘導される。ＴＣＲ刺激の存在下でのＯＸ４０のライゲーションが、Ｔｅｆｆ細胞の活性化を強化し、かつＴｒｅｇ細胞を阻害する二重機構によりエフェクターＴ細胞機能を増強することが知られている。抗ＯＸ４０処置によりインビトロＴｒｅｇ抑制アッセイにおいてＴｒｅｇ活性が低減されることが見出された。これらの結果により、ＯＸ４０アゴニスト処置がいくつかの重大なＴ細胞機能を調節することができることが実証される。

【０４５６】

ＰＤ－Ｌ１シグナル伝達の阻害は、癌（例えば、腫瘍免疫）、ならびに感染、例えば、急性及び慢性（例えば、持続性）の両方の感染の治療のためにＴ細胞免疫を増強する手段として提案されている。

【０４５７】

我々は、腫瘍内Ｔ細胞がＰＤ－１及びＯＸ４０を発現するかを試験した。図１に示されるように、腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞がＰＤ－１等の阻害性受容体を発現したが、これらの細胞の大半は、ＯＸ４０も発現した。この結果により、エフェクターＴ細胞のＯＸ４０刺激が、Ｔ細胞で発現されるＰＤ－１及び他の阻害性受容体の影響を打ち消し得ることが示唆される。

【０４５８】

抗ＯＸ４０アゴニスト抗体（単剤）での処置により、ＣＤ４５＋細胞の総数に対する腫瘍内Ｆｏｘｐ３＋制御性Ｔ細胞の割合が著しく減少し（ＣＤ４５は白血球等の全ての造血細胞を定義する、図２Ａ）、腫瘍内Ｆｏｘｐ３＋Ｔｒｅｇの絶対数も著しく減少した（図２Ｂ）。加えて、抗ＯＸ４０アゴニスト抗体と抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体との併用処置により、ＣＤ４５＋細胞の総数に対する腫瘍内Ｆｏｘｐ３＋制御性Ｔ細胞の割合が著しく減少し（図２Ａ）、腫瘍内Ｆｏｘｐ３＋Ｔｒｅｇの絶対数も著しく減少した（図２Ｂ）。これらの結果により、ＯＸ４０アゴニストが抗ＰＤＬ１アンタゴニストと併用投与されたときに、腫瘍内Ｆｏｘｐ３＋ＴｒｅｇのＯＸ４０アゴニスト媒介低減が維持されることが実証された。

【０４５９】

我々は、ＯＸ４０アゴニスト処置のＰＤ－Ｌ１発現への影響を試験した。抗ＯＸ４０アゴニストでの処置により、腫瘍細胞及び腫瘍内骨髄性細胞でのＰＤ－Ｌ１発現が著しく減少し、ＰＤ－Ｌ１が負のフィードバック様式で抗ＯＸ４０効力を制限し得ることを示唆する（図３Ａ及びＢ）。理論に拘束されることなく、これらの結果により、ＯＸ４０アゴニストでの処置がＰＤ－Ｌ１発現を増加させたため、ＯＸ４０アゴニストでの処置がＰＤ－１軸阻害剤での処置を増強し得ることが示唆される。臨床データは、ＰＤＬ１発現の増加をＰＤ１軸アンタゴニスト（例えば、抗ＰＤ－Ｌ１アンタゴニスト抗体）への応答の拡大として関連付ける。

【０４６０】
抗ＯＸ４０アゴニスト抗体及び抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体での処置により、ＣＴ２６及びＭＣ３８結腸直腸癌同系腫瘍モデルにおける相乗的併用効力が実証された（図４Ａ及びＢ、５Ａ及びＢ）。個々の腫瘍体積測定結果（各実験の個々のマウス、図４Ｂ、５Ｂ）の分析により、併用処置した動物が、いずれかの薬剤（ＯＸ４０アゴニスト、ＰＤＬ１アンタゴニスト）単独で処置した動物と比較して、より高い頻度で著しい腫瘍サイズの低減を示したことが明らかになった。言い換えれば、部分及び完全応答を示す動物の頻度は、いずれかの薬剤単独で処置した動物と比較して、併用処置した動物において著しくより高い。

【０４６１】
併用処置したＣＴ２６マウスから採取した末梢血の分析により、エフェクター細胞増殖及び炎症性Ｔ細胞マーカーの増加が明らかになった（図９Ａ、Ｂ、Ｃ、及びＤ）。ＣＤ８＋Ｔ細胞（図９Ａ）、Ｔｒｅｇ細胞（図９Ｂ）、血漿インターフェロンガンマレベル（図９Ｃ）、及び活性化Ｔ細胞（図９Ｄ）の増殖レベルを試験した。併用アームにおける増殖（Ｋｉ６７）、血漿インターフェロンガンマ、及び炎症性マーカー（Ｔｂｅｔ、ＣＸＣＲ３）の増加（いずれかの単剤アームと比較した）により、ａＰＤＬ１（チェックポイント遮断）及びａＯＸ４０（共刺激）活性の相乗性が明らかになった。

【０４６２】
具体的には、増殖ＣＤ８＋Ｔ細胞レベル（ｋｉ６７＋／総ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合として表される）は、ＯＸ４０アゴニストまたはＰＤＬ１アンタゴニスト単独での処置に対して、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－Ｌ１アンタゴニストで併用処置した動物において著しく増加した（図９Ａ）。併用処置した動物における増殖ＣＤ８＋Ｔ細胞レベルは、単剤処置した集団の相加効果よりも高く、ＯＸ４０アゴニスト処置とＰＤ－１軸阻害とを併用した相乗効果が末梢血マーカー及び細胞の分析によって検出され得ることを実証する。

【０４６３】
加えて、末梢血Ｔｒｅｇの低減がＯＸ４０アゴニスト単剤での処置で観察され、末梢血Ｔｒｅｇの低減が併用（ＯＸ４０アゴニストとＰＤＬ１アンタゴニスト）療法アームで維持された（図９Ｂ）。血漿ガンマインターフェロンの増加がＯＸ４０アゴニストとＰＤＬ１アンタゴニストとの併用で観察された（図９Ｃ）。

【０４６４】
ケモカイン受容体ＣＸＣＲ３は、ＣＸＣケモカイン受容体ファミリーのＧαｉタンパク質カップリング受容体である。ＣＸＣＲ３には２つの変異形が存在し、ＣＸＣＲ３－Ａが、ＣＸＣケモカインＣＸＣＬ９（ＭＩＧ）、ＣＸＣＬ１０（ＩＰ－１０）、及びＣＸＣＬ１１（Ｉ－ＴＡＣ）に結合する一方で、ＣＸＣＲ３－Ｂは、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、及びＣＸＣＬ１１に加えて、ＣＸＣＬ４にも結合することができる（Ｃｌａｒｋ－Ｌｅｗｉｓ，Ｉ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７８（１）：２８９－９５）。ＣＸＣＲ３は、主に活性化Ｔリンパ球及びＮＫ細胞、ならびにいくつかの上皮細胞で発現する。ＣＸＣＲ３及びＣＣＲ５は、Ｔｈ１細胞で優先的に発現し、エフェクターメモリーＣＤ８　Ｔ細胞で上方制御される（Ｇｒｏｏｍ，Ｊ．Ｒ．ａｎｄ　Ｌｕｓｔｅｒ，Ａ．Ｄ．（２０１１）Ｅｘｐ．Ｃｅｌｌ　Ｒｅｓ．３１７（５）：６２０－３１）。ＣＸＣＲ３は、白血球トラフィッキングを制御することができる。ケモカインのＣＸＣＲ３への結合により、様々な細胞応答、最も注目すべきは、炎症性細胞のインテグリン活性化、細胞骨格変化、及び走化性遊走が誘導される（Ｇｒｏｏｍ，Ｊ．Ｒ．ａｎｄ　Ｌｕｓｔｅｒ，Ａ．Ｄ．（２０１１）Ｅｘｐ．Ｃｅｌｌ　Ｒｅｓ．３１７（５）：６２０－３１）。

【０４６５】
活性化Ｔ細胞レベル（具体的には、活性化メモリーＴｅｆｆ細胞、ＣＸＣＲ３マーカーを使用して決定される）は、ＯＸ４０アゴニストまたはＰＤＬ１アンタゴニスト単独での処置に対して、ＯＸ４０アゴニストとＰＤ－Ｌ１アンタゴニストで併用処置した動物において著しく増加した（図９Ｄ）。併用処置した動物におけるメモリーエフェクターＴ細胞

（ＣＸＣＲ３＋）のレベルは、単剤処置した集団の相加効果よりも高く、ＯＸ４０アゴニスト処置とＰＤ－１軸阻害とを併用した相乗効果が末梢血マーカー及び細胞の分析によって検出され得ることを実証する。併用処置アームにおけるＣＤ８　Ｔ細胞での増殖（Ｋｉ６７）及び炎症性マーカー（ＣＸＣＲ３）の増加により、抗ＰＤＬ１（チェックポイント遮断）及び抗ＯＸ４０（共刺激）活性の相乗性による細胞毒性の増強が示唆され得る。

【０４６６】

加えて、併用処置効果を、いずれかの薬剤単独で処置した試料に対して併用処置した腫瘍試料で分析される、エフェクター及び炎症性Ｔ細胞マーカーの増加によって（例えば、ｒｔＰＣＲ（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ）によって）検出した。例えば、Ｔｒｅｇ（Ｆｏｘ３ｐ）、ＣＤ８＋Ｔｅｆｆ（ＣＤ８ｂ）、及び活性化Ｔ細胞（例えば、Ｔｂｅｔ、ＣＸＣＲ３、例えば、インターフェロンガンマ応答関連遺伝子）のマーカーを分析することができる。

【０４６７】

ＣＴ２６結腸直腸癌同系腫瘍モデルにおけるＯＸ４０アゴニスト抗体処置の用量応答効果を試験する実験を行った。抗ＯＸ４０アゴニスト抗体単剤処置は、用量応答性を示した（図６Ａ、Ｂ）。０．１ｍｇ／ｍＬの投薬が最大下効力を示し、さらなる併用処置実験に選択した。

【０４６８】

図７Ａ及びＢは、いずれかの薬剤単独での処置と比較した、治療下用量（ｓｕｂ－ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　ｄｏｓｅ）の抗ＯＸ４０アゴニスト抗体と抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体との併用処置の結果を示す。相乗的併用効力が観察され、ＯＸ４０アゴニスト抗体の最大有効用量が、ＰＤ－１軸アンタゴニストで併用処置したときよりも低くあり得ることを示唆する。

【０４６９】

図８Ａ及びＢは、いずれかの薬剤単独での処置と比較した、単回投薬での治療下レベル（ｓｕｂ－ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　ｌｅｖｅｌ）の抗ＯＸ４０アゴニスト抗体と抗ＰＤＬ１アンタゴニスト抗体との併用処置の結果を示す。相乗的併用効力が観察され、ＯＸ４０アゴニスト抗体の最大有効用量が、ＯＸ４０アゴニスト抗体がＰＤ－１軸アンタゴニストとの併用で提供されるときよりも低くあり得ることを示唆する。

【０４７０】

図１０は、ＯＸ４０発現と尿路上皮膀胱癌（ＵＢＣ）及び非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）を有するヒト患者由来の癌試料におけるＰＤＬ１診断状態との関連を示す。組織試料は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＰＤＬ３２８０Ａを用いた第１相臨床試験に参加した患者由来のものであった。本明細書に開示されるＩＨＣを使用して腫瘍浸潤免疫細胞（ＩＣ）のＰＤ－Ｌ１バイオマーカー状態を決定した。ｒｔＰＣＲ分析（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ）を使用してＯＸ４０発現レベルを決定した。ＵＢＣにおいて、ＯＸ４０発現が、０または１のＰＤＬ１　ＩＨＣ状態を有する患者において観察された。ＯＸ４０発現のレベルは、ＰＤＬ１　ＩＨＣ状態と相関し、ＰＤＬ１発現の増加は、ＯＸ４０発現の増加と相関した。ＮＳＣＬＣにおいて、ＯＸ４０発現が、ＩＨＣによって、低いＰＤＬ１発現を有するか、またはＰＤＬ１発現を有しない患者（ならびに２及び３のＰＤＬ１　ＩＨＣ状態を有する試料）において観察された。これらの結果により、（ａ）ＰＤＬ１　ＩＨＣ０及び／または１状態を有する患者におけるＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）との併用処置への応答の改善の可能性、（ｂ）ＰＤ－１軸結合アンタゴニスト前処置に応答しない患者におけるＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）との併用処置への応答の改善の可能性、ならびに（ｃ）ＰＤＬ１　ＩＨＣ２及び／または３状態を有する患者におけるＰＤ－１軸結合アンタゴニストとＯＸ４０結合アゴニスト（例えば、抗ヒトＯＸ４０アゴニスト抗体）との併用処置への応答の改善の可能性が示唆される。

【０４７１】

癌治療に使用するための抗ＰＤ－Ｌ１抗体ＭＰＤＬ３２８０Ａを評価する臨床研究の結果により、ＰＤ－Ｌ１発現がＭＰＤＬ３２８０Ａへの臨床応答と関連することが示唆され

た。腫瘍浸潤免疫細胞でのＰＤＬ１発現と処置応答との関連性が、腫瘍細胞でのＰＤＬ１発現との関連性よりも強いように見えることが見出された。腫瘍浸潤免疫細胞は、ＩＦＮｇ発現により感受性を示し得、治療前に既存のＴ細胞応答を抑制する役割を優先的に果たし得る（Ｈｅｒｂｓｔ，Ｒ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ（２０１４）Ｎａｔｕｒｅ　５１５：５６３－７）。理論に拘束されることを望むことなく、ＯＸ４０アゴニスト処置がＩＦＮｇ発現を増加させ、腫瘍浸潤免疫細胞でのＰＤＬ１発現の増強及びＰＤ－１軸結合アンタゴニスト処置への応答性の同時増加がもたらされ得ると考えられる。したがって、ＯＸ４０結合アゴニスト及びＰＤ－１軸結合アンタゴニストを含む併用治療は、より低いＰＤＬ１バイオマーカー状態を有する患者の治療に有用であり得る。

【０４７２】

ＩＨＣによるＰＤ－Ｌ１発現のスコア化：ＩＨＣによってヒトホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）組織中のＰＤ－Ｌ１を検出することができる抗ＰＤ－Ｌ１特異的抗体を使用して、腫瘍検体におけるＰＤ－Ｌ１発現の存在または不在を評価した。腫瘍試料中のＰＤ－Ｌ１の相対発現を測定及び定量するために、腫瘍細胞及び腫瘍浸潤免疫細胞におけるＰＤ－Ｌ１特異的シグナルを測定するためのＰＤ－Ｌ１　ＩＨＣスコア化システムを開発した。免疫細胞を、リンパ球及び／またはマクロファージ／組織球形態を有する細胞と定義する。

【０４７３】

腫瘍細胞染色を、任意の強度の膜染色を示す全ての腫瘍細胞のパーセントとして表す。浸潤免疫細胞染色を、任意の強度の染色を示す免疫細胞によって占有される総腫瘍面積のパーセントと定義する。総腫瘍面積は、悪性細胞、ならびに腫瘍関連間質を包含し、主要な腫瘍塊に直接隣接しており、かつそれと隣接している免疫浸潤物の面積を含む。加えて、浸潤免疫細胞染色を、全ての腫瘍浸潤免疫細胞のパーセントと定義する。

【０４７４】

腫瘍組織において、広ダイナミックレンジのＰＤ－Ｌ１染色強度が存在した。細胞内局在化にかかわらず、シグナルを、強い、中程度、弱い、または負の染色にも分類した。

【０４７５】

図１１に示されるように、負のシグナル強度は、ＨＥＫ－２９３細胞を使用して例証されるように、任意の検出可能なシグナルの不在を特徴とした（図１１Ａ）。対照的に、正のシグナル強度は、組換えヒトＰＤ－Ｌ１でトランスフェクトしたＨＥＫ－２９３細胞を使用して例証されるように、金色～濃茶色の膜染色を特徴とした（図１１Ｂ～Ｄを参照のこと）。最後に、正のシグナル強度を、胎盤栄養膜細胞の染色（図１１Ｅ）、及び扁桃腺窩領域における強い染色（図１１Ｆ）、及び多くの場合、金色～濃茶色の染色を特徴とする膜パターンによっても例証した。腫瘍組織において、ＰＤ－Ｌ１陰性試料を、２０倍対物レンズを使用して評価したときに検出可能なシグナルを有しないものまたは弱い細胞質バックグラウンド染色のみを有するものとして定量した。対照的に、ＰＤ－Ｌ１陽性試料は、腫瘍細胞及び／または浸潤免疫細胞において主に膜染色を示した。ＰＤ－Ｌ１染色が、低倍率でも容易に認識される弱い（薄茶色の薄膜）～強い（濃茶色の厚膜）といった様々な強度で観察された。

【０４７６】

３つの代表的なＰＤ－Ｌ１陽性腫瘍試料を図１２に示す。トリプルネガティブ乳癌の場合、大半の腫瘍細胞が、ＰＤ－Ｌ１に対して高度に陽性であり、膜染色と細胞質染色の組み合わせを示すことが観察された（１００倍率）（図１２Ａ）。悪性黒色腫の場合、免疫細胞クラスターを観察し、それらのうちのいくつかのＰＤ－Ｌ１に対する膜染色が観察され、珍しい腫瘍細胞（矢印）のＰＤ－Ｌ１に対する膜染色が観察された（４００倍率）（図１２Ｂ）。ＮＳＣＬＣ、腺癌の場合、ＰＤ－Ｌ１に対する強い染色を有する免疫細胞クラスターが観察され、ＰＤ－Ｌ１に対する膜染色及び／または細胞質染色を有するいくつかの腫瘍細胞（矢印）が観察された（４００倍率）（図１２Ｃ）。

【０４７７】

正の場合の染色は、空間分布及び強度に対して焦点分布及び強度である傾向があった。

任意の強度の染色を示す腫瘍または免疫細胞の割合を視覚的に推定及び使用して、ＰＤ－Ｌ１状態を決定した。アイソタイプ陰性対照を使用して、試験試料におけるバックグラウンドの存在を評価した。

【０４７８】

染色は、Ｈ＆Ｅの第１の連続組織切片、抗ＰＤ－Ｌ１の第２の連続組織切片、及びアイソタイプ陰性対照の第３の連続組織切片を必要とした。ＰＤ－Ｌ１トランスフェクトＨＥＫ－２９３細胞株対照または扁桃腺スライドを、アッセイ特異性の実行対照及び基準として使用した。

【０４７９】

ＰＤＬ－１状態判断基準

ＰＤ－Ｌ１状態	染色判断基準
陰性	任意の染色強度で０％の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
陽性	任意の染色強度で０％を超える膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
	任意の染色強度で１％以上の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
	任意の染色強度で５％以上の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ
	任意の染色強度で１０％以上の膜染色もしくは細胞質染色またはこれらの両方の組み合わせ

【０４８０】

上に示される表は、ＰＤＬ１染色判断基準を使用してＰＤＬ１状態を決定する一実施形態について説明する。別の実施形態では、ＩＨＣ０及び／または１のＩＨＣスコアを有する試料をＰＤＬ１陰性と見なすことができる一方で、ＩＨＣ２及び／または３のＩＨＣスコアを有する試料は、ＰＤＬ１陽性と見なすことができる。いくつかの実施形態では、腫瘍自体でのＰＤＬ１発現（例えば、ＰＤＬ１染色）を評価する。

【０４８１】

いくつかの場合では、ＰＤ－Ｌ１陽性状態は、腫瘍細胞、関連腫瘍内、及び隣接腫瘍周辺線維形成性間質によって占有される腫瘍面積の最大５０％における、腫瘍細胞または腫瘍浸潤免疫細胞のいずれかでの任意の強度の識別可能なＰＤ－Ｌ１染色の存在を含み得る。したがって、ＰＤ－Ｌ１陽性染色は、任意の強度の染色を示す腫瘍細胞または腫瘍浸潤免疫細胞の最大５０％を含む。

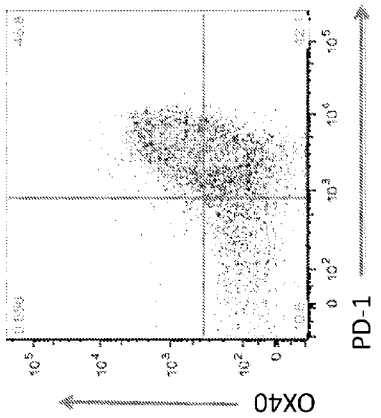
【０４８２】

抗ＰＤ－Ｌ１で染色した評価可能なスライドを上述のように評価した。陰性染色強度は、（茶色または茶褐色ではなく）淡灰色～青色を特徴とする任意の検出可能なシグナルまたはシグナルの不在及び膜増強の不在を特徴とした。膜染色が存在しない（例えば、不在である）場合、陰性である。

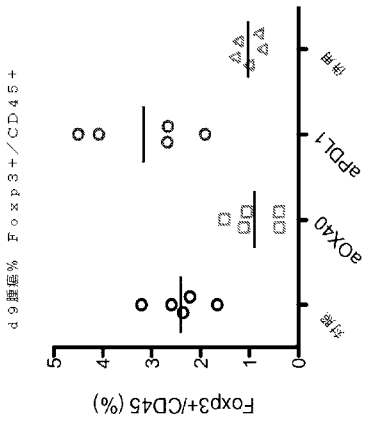
【０４８３】

前述の発明が明確な理解のために例証及び例によって多少詳しく説明されているが、これらの説明及び例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書で引用される全ての特許及び科学文献の開示は、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

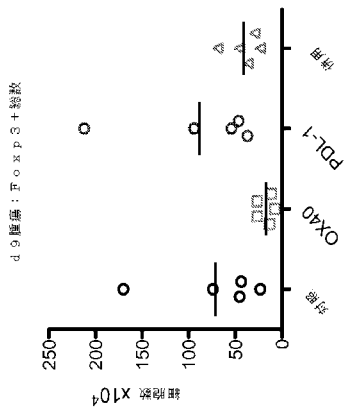
【図１】



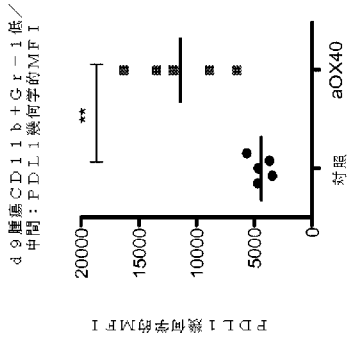
【図２Ａ】



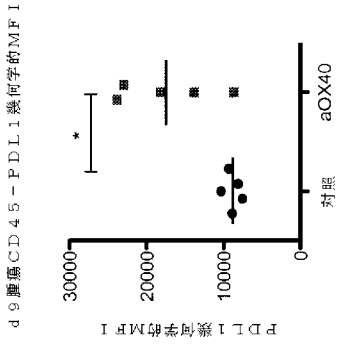
【図２Ｂ】



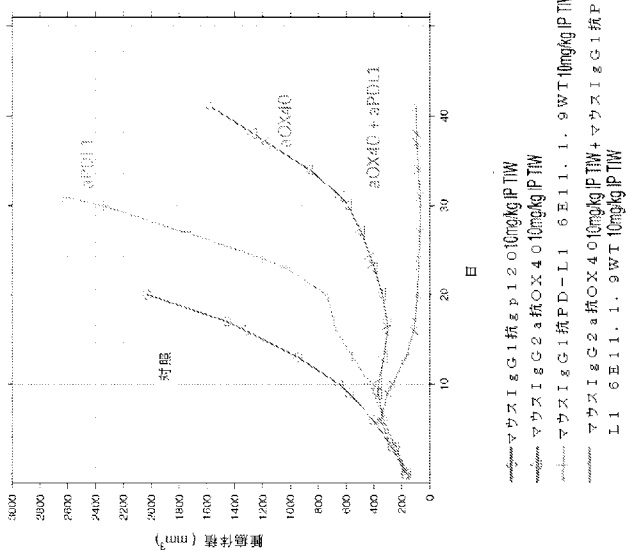
【図３Ａ】



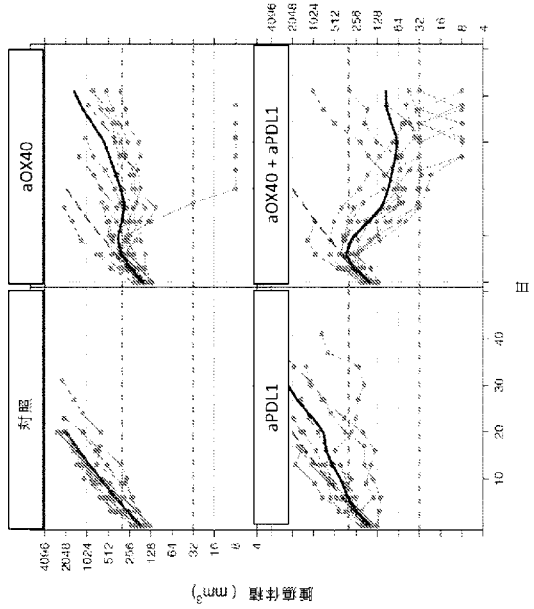
【図３Ｂ】



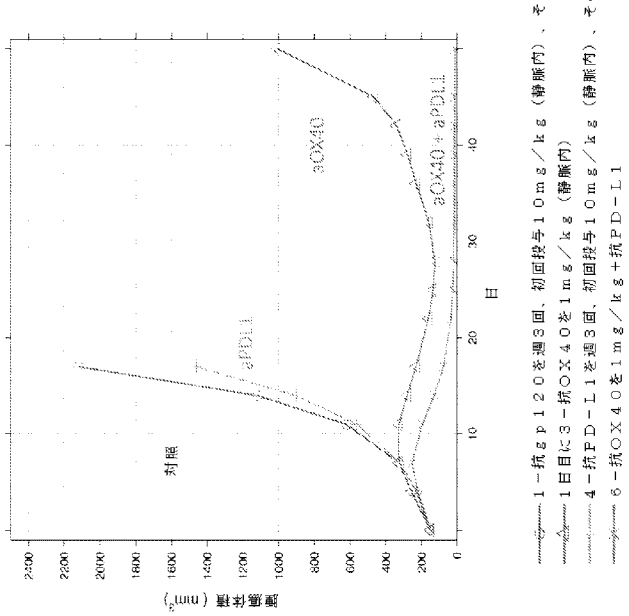
【図４Ａ】



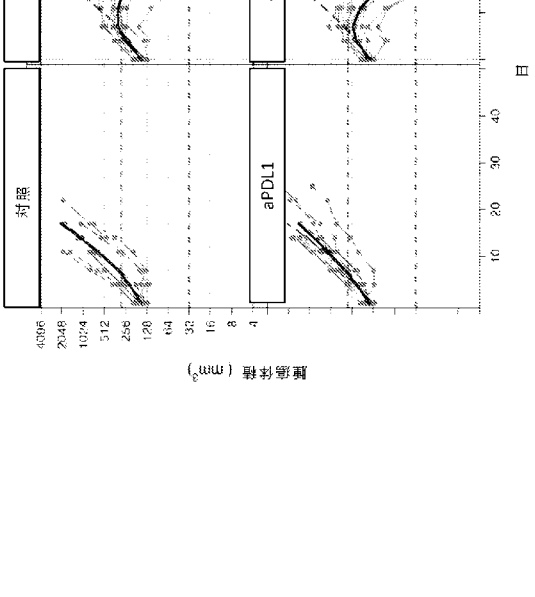
【図４Ｂ】



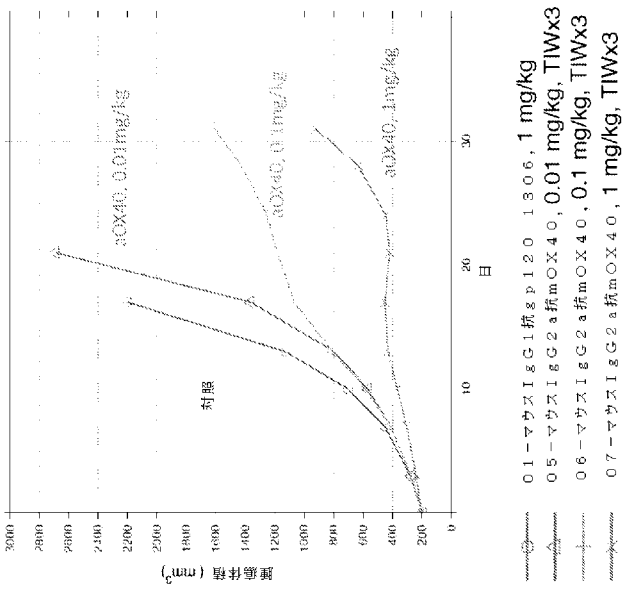
【図５Ａ】



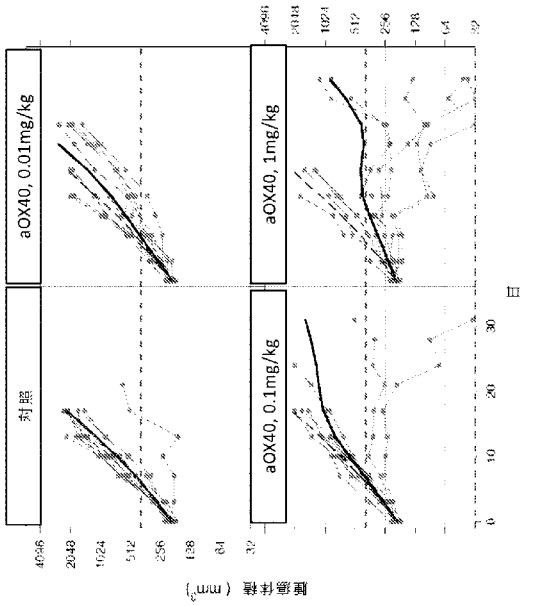
【図５Ｂ】



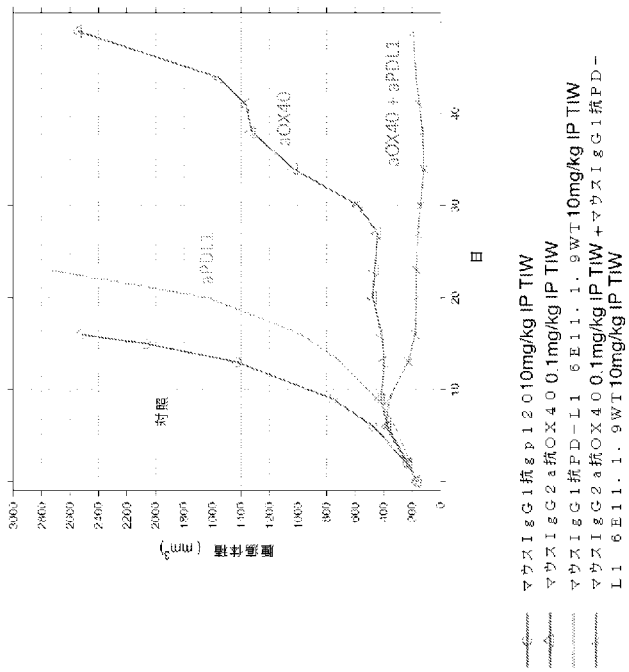
【図６Ａ】



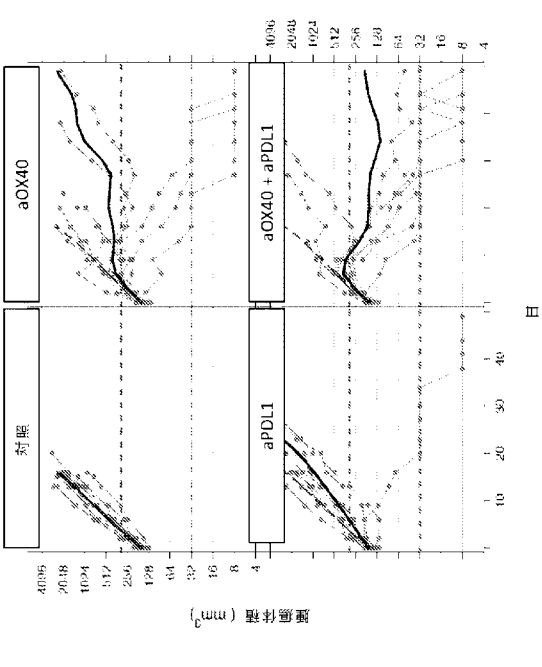
【図６Ｂ】



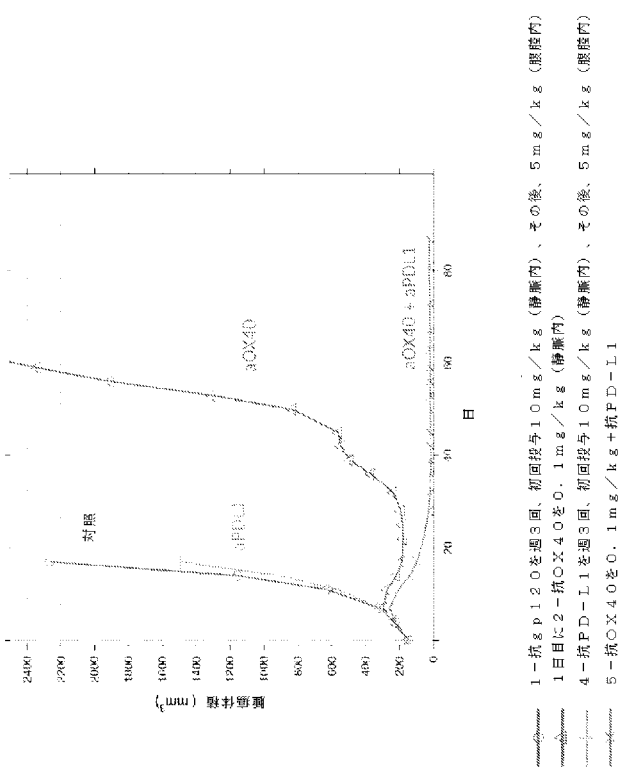
【図７Ａ】



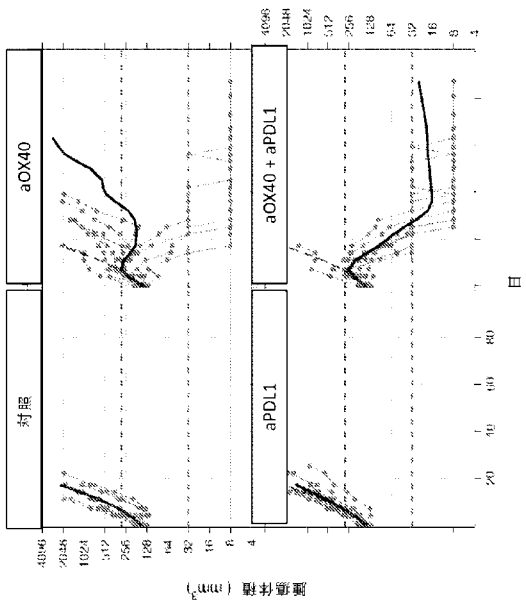
【図７Ｂ】



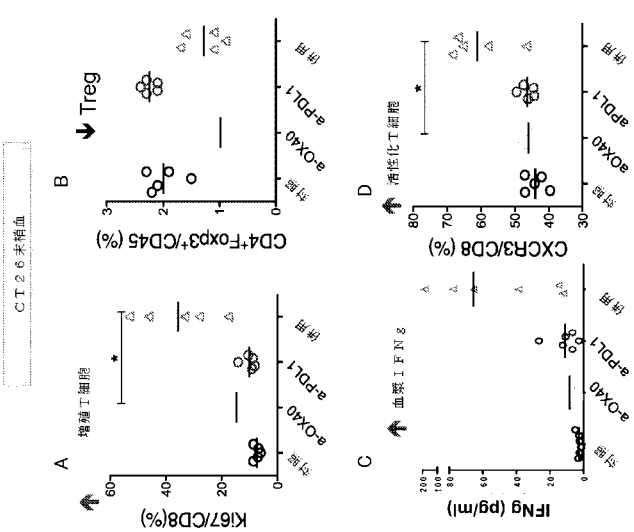
【図８Ａ】



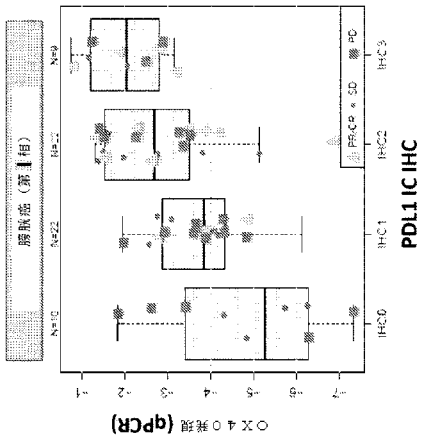
【図８Ｂ】



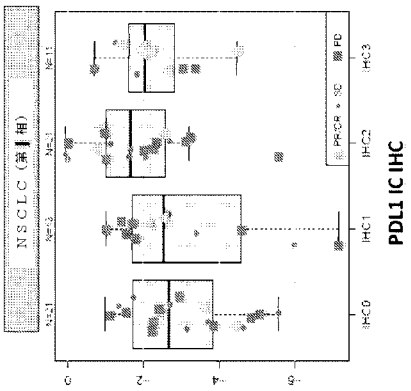
【図９Ａ－Ｄ】



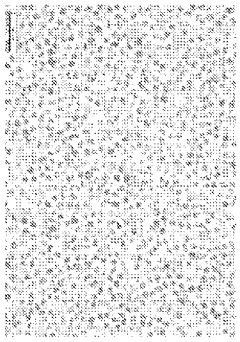
【図１０Ａ】



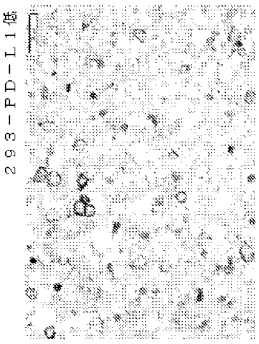
【図１０Ｂ】



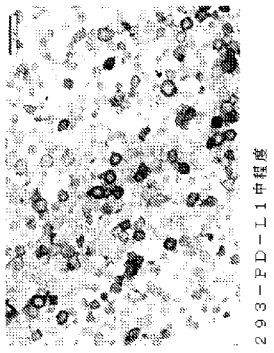
【図１１Ａ】



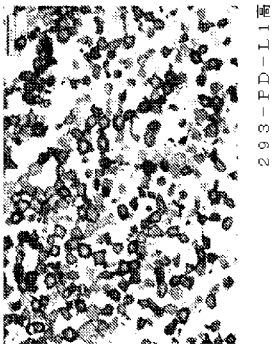
【図１１Ｂ】



【図１１Ｃ】

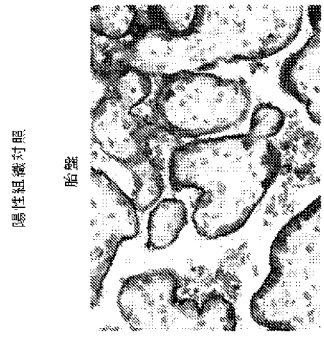


【図１１Ｄ】



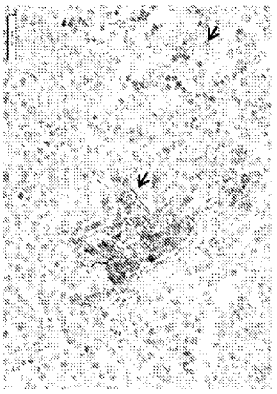
【図１１Ｆ】

【図１１Ｅ】



【図１２Ａ】

【図１２Ｂ】



【図１２Ｃ】

【配列表】
2017537090000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/060941

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 A61K31/337
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	A. MORALES-KASTRESANA ET AL: "Combined Immunostimulatory Monoclonal Antibodies Extend Survival in an Aggressive Transgenic Hepatocellular Carcinoma Mouse Model", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 19, no. 22, 12 September 2013 (2013-09-12), pages 6151-6162, XP055176308, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1189 page 6153, right-hand column, paragraph 3; figures 1,2 page 6158, left-hand column, paragraph 3 - page 6158, right-hand column abstract ----- -/--	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 January 2016	08/04/2016

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Le Flao, Katell

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/060941

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZHIQIANG GUO ET AL: "PD-1 Blockade and OX40 Triggering Synergistically Protects against Tumor Growth in a Murine Model of Ovarian Cancer", PLOS ONE, vol. 9, no. 2, 27 February 2014 (2014-02-27), page e89350, XP055132840, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/journal.pone.0089350 the whole document	1-3, 12-20, 40, 46-48, 50-52, 60-79, 99, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123
Y	WO 2013/019906 A1 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]; MAECKER HEATHER [US]; IRVI) 7 February 2013 (2013-02-07) claims 1-79	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123
Y	I. MELERO ET AL: "Clinical Development of Immunostimulatory Monoclonal Antibodies and Opportunities for Combination", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 19, no. 5, 1 March 2013 (2013-03-01), pages 997-1008, XP055151065, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2214 page 1000, left-hand column - page 1002, right-hand column, paragraph 1; table 1	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123
A	FOELL JEURGEN ET AL: "T cell costimulatory and inhibitory receptors as therapeutic targets for inducing anti-tumor immunity.", CURRENT CANCER DRUG TARGETS FEB 2007, vol. 7, no. 1, February 2007 (2007-02), pages 55-70, XP002737585, ISSN: 1873-5576 page 58, right-hand column, last paragraph - page 60, left-hand column, paragraph 1 page 62, right-hand column, last paragraph - page 64, left-hand column, paragraph 1	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/060941

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Suzanne L Topalian ET AL: "Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer", The New England journal of medicine, 28 June 2012 (2012-06-28), pages 2443-2454, XP055098235, United States DOI: 10.1056/NEJMoa1200690 Retrieved from the Internet: URL:http://search.proquest.com/docview/1022620071 the whole document -----	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123
A	J. QIAN ET AL: "Active vaccination with Dickkopf-1 induces protective and therapeutic antitumor immunity in murine multiple myeloma", BLOOD, vol. 119, no. 1, 2 November 2011 (2011-11-02), pages 161-169, XP055149675, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2011-07-368472 the whole document -----	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123
A	CHA E: "S49. Clinical activity and development of biomarkers for an engineered anti PDL1 antibody MPDL3280A", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 2, no. Suppl 2, 12 March 2014 (2014-03-12), page I21, XP021179575, ISSN: 2051-1426, DOI: 10.1186/2051-1426-2-S2-I21 abstract -----	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123
A	X. HUANG ET AL: "Identification of B7-H1 as a Novel Mediator of the Innate Immune/Proinflammatory Response as well as a Possible Myeloid Cell Prognostic Biomarker in Sepsis", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 192, no. 3, 1 February 2014 (2014-02-01), pages 1091-1099, XP055222550, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.1302252 the whole document -----	1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113,115, 117,119, 121,123

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/060941

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	MENG XIANGJIAO ET AL: "Predictive biomarkers in PD-1/PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy", CANCER TREATMENT REVIEWS, vol. 41, no. 10, 2015, pages 868-876, XP029315381, ISSN: 0305-7372, DOI: 10.1016/J.CTRV.2015.11.001 the whole document -----	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2015/060941

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113, 115, 117, 119
121, 123(all partially)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2015/060941

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-3, 12-24, 39-43, 46-52, 60-83, 95, 99-102, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 agonist antibody, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

2. claims: 1-3, 12-14, 25-35, 39-43, 46-52, 60-73, 84-95, 99-102, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 agonist antibody, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

3. claims: 1-3, 12-14, 36-43, 46-52, 60-73, 95-102, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 agonist antibody, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

4. claims: 1-3, 12-24, 39, 40, 44-52, 60-83, 95, 99, 103-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40L agonist fragment, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

5. claims: 1-3, 12-14, 25-35, 39, 40, 44-52, 60-73, 84-95, 99, 103-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in

International Application No. PCT/US2015/060941

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40L agonist fragment, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

6. claims: 1-3, 12-14, 36-40, 44-52, 60-73, 95-99, 103-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40L agonist fragment, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

7. claims: 1-3, 12-24, 39, 40, 46-52, 60-83, 95, 99, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 oligomeric receptor, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

8. claims: 1-3, 12-24, 39, 40, 46-52, 60-83, 95, 99, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 oligomeric receptor, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

9. claims: 1-3, 12-24, 39, 40, 46-52, 60-83, 95, 99, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 oligomeric receptor, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

International Application No. PCT/US2015/060941

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

10. claims: 1-3, 12-24, 39, 40, 46-52, 60-83, 95, 99, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 immunoadhesin, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

11. claims: 1-3, 12-24, 39, 40, 46-52, 60-83, 95, 99, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 immunoadhesin, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

12. claims: 1-3, 12-24, 39, 40, 46-52, 60-83, 95, 99, 105-111, 113, 115, 117, 119, 121, 123(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 immunoadhesin, and wherein the cancer cells in a tumor sample do not express PD-L1.

---

13. claims: 4-24, 39-43, 46-49, 53-83, 95, 99-102, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 agonist antibody, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

14. claims: 4-14, 25-35, 39-43, 46-49, 53-73, 84-95, 99-102, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an

International Application No. PCT/US2015/060941

effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 agonist antibody, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

15. claims: 4-14, 36-43, 46-49, 53-73, 96-102, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 agonist antibody, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

16. claims: 4-24, 39, 40, 44-49, 53-83, 95, 99, 103-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40L agonist fragment, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

17. claims: 4-14, 25-35, 39, 40, 44-49, 53-73, 84-95, 99, 103-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40L agonist fragment, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

18. claims: 4-14, 36-40, 44-49, 53-73, 96-99, 103-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40L agonist fragment, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

International Application No. PCT/US2015/060941

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

19. claims: 4-24, 39, 40, 46-49, 53-83, 95, 99, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 oligomeric receptor, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

20. claims: 4-14, 25-35, 39, 40, 46-49, 53-73, 84-95, 99, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 oligomeric receptor, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

21. claims: 4-14, 36-40, 46-49, 53-73, 96-99, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 oligomeric receptor, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

22. claims: 4-24, 39, 40, 46-49, 53-83, 95, 99, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 immunoadhesin, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

23. claims: 4-14, 25-35, 39, 40, 46-49, 53-73, 84-95, 99, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding

International Application No. PCT/US2015/060941

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

antagonist is a PD-L1 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 immunoadhesin, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

---

24. claims: 4-14, 36-40, 46-49, 53-73, 96-99, 105-110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124(all partially)

A method for treating or delaying progression of cancer in an individual comprising administering to the individual an effective amount of a human PD-1 axis binding antagonist and an OX40 binding agonist, wherein the PD-1 axis binding antagonist is a PD-L2 binding antagonist and the OX40 binding agonist is an OX40 immunoadhesin, and wherein the cancer cells in a tumor sample express PD-L1.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2015/060941

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013019906 A1	07-02-2013	AR 087405 A1	19-03-2014
		AU 2012290121 A1	09-05-2013
		AU 2016201086 A1	10-03-2016
		CA 2843595 A1	07-02-2013
		CN 103842030 A	04-06-2014
		CO 6900118 A2	20-03-2014
		CR 20140034 A	23-07-2014
		EA 201490369 A1	29-08-2014
		EC SP14013223 A	31-03-2014
		EP 2739358 A1	11-06-2014
		JP 2014525918 A	02-10-2014
		KR 20140063643 A	27-05-2014
		MA 35366 B1	01-08-2014
		PE 16932014 A1	24-11-2014
		TW 201318638 A	16-05-2013
		US 2014341902 A1	20-11-2014
		WO 2013019906 A1	07-02-2013

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
A61K	***45/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	37/04		
G01N	***33/53***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	45/00		
C12N	*15/09*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｙ	
			Ｃ１２Ｎ	15/00	ＺＮＡＡ	

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

(72)発明者 フセニ, マールーク
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １, シー／オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
(72)発明者 キム, ジョン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０－４９９０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １, シー／オー ジェネンテック, インコーポレイテッド

Ｆターム(参考) 4C084 AA20 AA22 MA02 MA52 MA56 MA59 MA63 MA66 MA67 NA14
ZB091 ZB261 ZC021 ZC751
4C085 AA14 EE03 GG02 GG03 GG04 GG05 GG06 GG08 GG10

专利名称(译)	联合治疗包括OX40结合激动剂和PD-1轴结合拮抗剂		
公开(公告)号	JP2017537090A	公开(公告)日	2017-12-14
申请号	JP2017526558	申请日	2015-11-16
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	チャンジャンヌ フセニマールーク キムジョン		
发明人	チャン, ジャンヌ フセニ, マールーク キム, ジョン		
IPC分类号	A61K45/06 A61P35/00 A61P43/00 A61K39/395 A61P37/04 A61K45/00 G01N33/53 C12N15/09		
CPC分类号	A61K2039/507 C07K16/2827 C07K16/2878 C07K2317/75 C07K2317/76 A61K38/16 A61K39/3955 A61K39/39558 A61K45/06 A61K2039/55		
FI分类号	A61K45/06 A61P35/00 A61P43/00.111 A61P43/00.121 A61K39/395.N A61P37/04 A61K45/00 G01N33/53.Y C12N15/00.ZNA.A		
F-TERM分类号	4C084/AA20 4C084/AA22 4C084/MA02 4C084/MA52 4C084/MA56 4C084/MA59 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/MA67 4C084/NA14 4C084/ZB091 4C084/ZB261 4C084/ZC021 4C084/ZC751 4C085/AA14 4C085/EE03 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG08 4C085/GG10		
优先权	62/093400 2014-12-17 US 62/080991 2014-11-17 US		
其他公开文献	JP2017537090A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于治疗癌症的组合物和方法。这涉及施用PD-1轴结合拮抗剂和OX40结合激动剂。（图8A）。

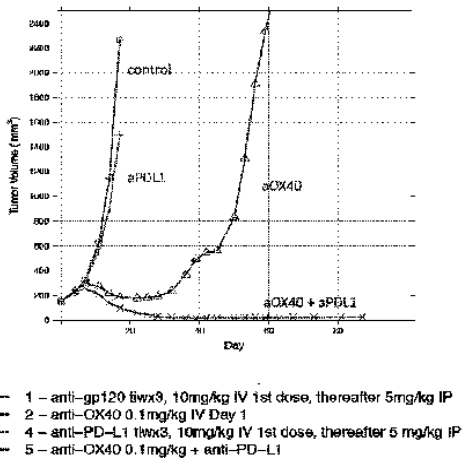



FIG. 8A