(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2018-528759
(P2018-528759A)
(43)公表日　平成30年10月4日(2018.10.4)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA	4B064
C12N 15/63	(2006.01)	C12N	15/63	Z	4B065
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C076
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C084
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 114 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-567294 (P2017-567294)
(86)(22)出願日　平成28年6月29日 (2016.6.29)
(85)翻訳文提出日　平成30年2月21日 (2018.2.21)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/040183
(87)国際公開番号　WO2017/004254
(87)国際公開日　平成29年1月5日 (2017.1.5)
(31)優先権主張番号　62/187,204
(32)優先日　平成27年6月30日 (2015.6.30)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　516359779
ヘンリアス　バイオテック　カンパニー　リミテッド
台湾　ニュー　タイペイ　シティ　２２１８０，　シーチー　ディストリクト，　カンニン　ストリート，　レーン　１６９，　２１番，　９エフ－２
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　チアン，　ウェイ－トン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９５１２９，　サン　ノゼ，　イラファ　コート　１４３８

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体

(57)【要約】
抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体及びその抗原結合断片が提供される。抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片をコードする単離された核酸分子、関連する発現ベクター、及び宿主細胞もまた提供される。抗ＶＥＧＦＲ２抗体及びその抗原結合断片を作製する方法が提供される。抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）を含む関連する薬学的組成物、及び過剰な血管新生を特徴とする病的状態の治療におけるそれらの使用方法もまた提供される。
【選択図】図１

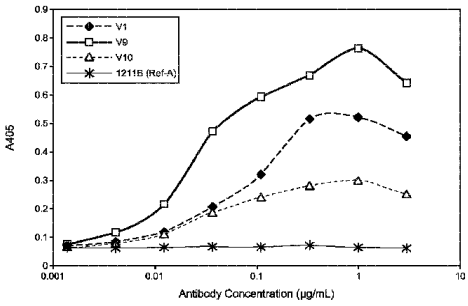


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックしない、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２】
抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合する、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３】
抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックせず、かつ抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合する、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
抗体が全ＨＵＶＥＣ細胞に結合する、請求項１－３の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
抗体又はその抗原結合断片がインビトロで血管新生を阻害しない、請求項１－４の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６】
抗体又はその抗原結合断片がインビボで血管新生を阻害する、請求項１－４の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項７】
抗体又はその抗原結合断片がインビトロで血管新生を阻害せず、かつ抗体又はその抗原結合断片がインビボで血管新生を阻害する、請求項１－４の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項８】
（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）又はＲＡＳＱＳＶＳ－Ｓ／Ｎ－Ｓ／Ｎ－ＹＬ－Ｇ／Ａ（配列番号８３）又はＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）又はＲＳＳＱＳＬ－Ｌ／Ｖ／Ｙ－Ｈ／Ｙ－Ｇ／Ｓ／Ｒ－Ｄ／Ｎ－Ｇ－Ｎ／Ｋ／Ｙ－Ｎ／Ｔ－Ｙ／Ｆ－ＬＤ（配列番号８４）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ａ／Ｇ／Ｋ／Ｅ－Ｇ／Ａ／Ｖ／Ｎ／Ｓ－Ｓ／Ｄ－Ｎ／Ｓ／Ｑ／Ｋ－Ｒ／Ｌ－Ａ／Ｋ／Ｄ／Ｐ－Ｓ／Ｔ（配列番号６０）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｑ－Ｑ／Ｓ－Ａ／Ｓ／Ｒ／Ｇ／Ｙ－Ｌ／Ｙ／Ｓ／Ａ／Ｄ／Ｇ／Ｔ－Ｑ／Ｓ／Ｎ／Ｈ／Ｆ－Ｔ／Ｉ／Ｗ／Ｓ－Ｐ／Ｔ－Ｙ／Ｌ／Ｐ／Ｖ／Ｇ／Ｉ－Ｔ／Ｖ（配列番号７２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｔ／Ｓ－Ｙ－Ｙ／Ｇ／Ａ／Ｓ－Ｍ／Ｉ－Ｈ／Ｎ／Ｓ（配列番号３４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ／Ｖ／Ｇ／Ｓ－Ｉ－Ｎ／Ｓ／Ｉ－Ｐ／Ｙ／Ｓ／Ｇ－Ｓ／Ｄ／Ｉ－Ｇ／Ｆ／Ｓ－Ｇ／Ｓ－Ｓ／Ｎ／Ｔ／Ｙ／Ａ－Ｔ／Ｋ／Ａ／Ｉ－Ｓ／Ｙ／Ｎ／Ｈ－ＹＡ－Ｑ／Ｄ－Ｋ／Ｓ－Ｆ／Ｖ－Ｋ／Ｑ－Ｇ（配列番号４０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）又はＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）又はＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）又はＤ／Ｇ－Ｆ／Ｉ－Ｙ／Ｉ－Ｅ／Ｖ－Ａ／Ｇ－Ｇ／Ｐ－Ｇ／Ｔ－Ｗ／Ｄ－Ｙ／Ａ－ＦＤ－Ｌ／Ｉ（配列番号５１）又はＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）又はＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）又はＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）又はＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９】
軽鎖可変ドメイン配列が、（１）配列番号７５－８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）配列番号６３－７１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）配列番号

２９－３３及び８５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）配列番号３５－３９及び１２５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）配列番号４２－５０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１０】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＨＧＮＧＮＮＹＬＤ（配列番号７５）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＹＴ（配列番号６３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＴＹＹＭＨ（配列番号２９）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項１又は２に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１１】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＫＳ（配列番号５５）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＳＹＳＩＰＹＴ（配列番号６４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１２】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＮＮＹＬＧ（配列番号７７）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＬＴ（配列番号６５）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＭＨ（配列番号３１）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１３】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＶＹＳＤＧＫＴＹＬＤ（配列番号７８）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＫＶＳＮＲＤＳ（配列番号５７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＡＨＷＰＰＴ（配列番号６６）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１４】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＰＴ（配列番号６７）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号１２５）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）ＤＦＹＥＡＧＧＷＹＦＤＬ（配列番号４６）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１５】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＥＮＤＱＲＰＳ（配列番号５８）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＳＹＤＦＳＴＶＶ（配列番号６８）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１６】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＹＧＳＳＰＧＴ（配列番号６９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＩＩＶＧＰＴＤＡＦＤＩ（配列番号４８）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１７】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦＬＤ（配列番号８１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＳＳＫＲＤＳ（配列番号５９）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号７０）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＴＹＡＭＳ（配列番号３３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＳＧＳＧＧＡＴＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３９）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１８】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＹＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号８２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＩＴ（配列番号７１）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、請求項８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１９】

（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又は抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体である抗原結合断片であって、変異体が、配列番号２２、２３、２４、２５、２６、及び／又は２７の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又は抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体である抗原結合断片。

【請求項２０】

第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＶＥＧＦＲ２への結合を競合的に阻害する抗血管内皮増殖

因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片であって、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片。

【請求項２１】

ＶＥＧＦＲ２に対する第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体と同じＶＥＧＦＲ２のエピトープに特異的に結合する抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片であって、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片。

【請求項２２】

抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含み、変異体が、配列番号２２、２３、２４、２５、２６、及び／又は２７の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む、請求項２０又は２１に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項２３】

抗体が、（１）配列番号１及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）配列番号２、７、及び８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）配列番号３、９、及び１２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）配列番号４、１３、１４、及び１５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）配列番号５、７、１７、１８、１９、２０、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）配列番号６、１０、及び１１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項２４】

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＳＳ（配列番号２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含

む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２５】
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２６】
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２７】
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２８】
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２９】
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＲＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号１５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＱＡＴ（配列番号２０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３０】
抗体が、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ

酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項３１】

抗体が、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項２０－２２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項３２】

抗体がヒトＩｇＧのＦｃ配列を含む、請求項１－３１の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項３３】

抗原結合断片が、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ）’２、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、Ｆｖ断片、ダイアボディ、及び直鎖状抗体からなる群から選択される、請求項１－３２の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体の抗原結合断片。

【請求項３４】

抗体が多重特異性抗体である、請求項１－３３の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体。

【請求項３５】

治療剤にコンジュゲートしている、請求項１－３４の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項３６】

標識にコンジュゲートしている、請求項１－３４の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

【請求項３７】

標識が、放射性同位体、蛍光色素、及び酵素からなる群から選択される、請求項３６に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体。

【請求項３８】

請求項１－３４の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片をコードする、単離された核酸分子。

【請求項３９】

請求項３８に記載の核酸分子をコードする発現ベクター。

【請求項４０】

請求項３９に記載の発現ベクターを含む細胞。

【請求項４１】

請求項４０に記載の細胞を培養すること、及び細胞培養物から抗ＶＥＧＦＲ２抗体を回収することを含む、抗ＶＥＧＦＲ２抗体を産生する方法。

【請求項４２】

請求項１－３５の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片及び薬学的に許容される担体を含む組成物。

【請求項４３】

請求項１－３４及び３６－３７の何れか一項に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片を試料に接触させること、及びＶＥＧＦＲ２タンパク質に結合した抗ＶＥＧＦＲ２抗体を検出することにより、患者からの試料中のＶＥＧＦＲ２タンパク質を検出する方法。

【請求項４４】

抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片が免疫組織化学アッセイ（ＩＨＣ）又はＥＬＩＳＡアッセイで使用される、請求項４３に記載の方法。

【請求項４５】

請求項４２に記載の組成物の有効量を被験体に投与することを含む、被験体における過剰な血管新生を特徴とする病的状態を治療する方法。

【請求項４６】

過剰な血管新生を特徴とする病的状態が、がん、眼疾患、又は炎症からなる群から選択される、請求項４５に記載の方法。

【請求項４７】

過剰な血管新生を特徴とする病的状態ががんである、請求項４６に記載の方法。

【請求項４８】

がんが、結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん、又は固形腫瘍である、請求項４７に記載の方法。

【請求項４９】

がんが肺がんであり、かつ、該肺がんが非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、請求項４８に記載の方法。

【請求項５０】

被験体が、抗腫瘍剤、化学療法剤、増殖阻害剤、及び細胞傷害性剤からなる群から選択される治療剤を更に投与される、請求項４５－４９に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願との相互参照

【０００２】

本出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、２０１５年６月３０日に出願された米国仮出願第６２／１８７２０４号の優先権を主張する。

【０００３】

ＡＳＣＩＩテキストファイルの配列表の提出

ＡＳＣＩＩテキストファイルの以下の提出の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：配列表のコンピュータ可読形式（ＣＲＦ）（ファイル名：７１９９０２０００２４０ＳＥＱＬＩＳＴ．ＴＸＴ、記録日：２０１６年６月２８日、サイズ：７５ＫＢ）。

【背景技術】

【０００４】

発明の背景

血管内皮増殖因子受容体（ＶＥＧＦＲ２、ＫＤＲ、ＦＬＫ１、及びＣＤ３０９としても知られている）は、ＶＥＧＦＲ１（ＦＬＴ、ＦＬＴ１）、ＶＥＧＦＲ２、及びＶＥＧＦＲ３（ＦＬＴ４、ＰＣＬ）を含む３つの密接に関連する受容体チロシンキナーゼのサブファミリーである受容体のＶＥＧＦの細胞表面受容体である。リガンド（例えば、ＶＥＧＦＡ、Ｃ、Ｄ、又はＥ）へのＶＥＧＦＲ２の結合は、受容体二量体化及びＶＥＧＦＲ２のＣ末端ドメインにおける幾つかのチロシン（Ｙ）残基の自己リン酸化を誘導する。この自己リン酸化は、幾つかのシグナル伝達カスケードの下流での活性化を誘発し、内皮細胞の増殖及び遊走、血管透過性、及び血管新生を生じる。

【０００５】

ＶＥＧＦＲ２又はファミリーメンバーの突然変異、増幅又は誤制御は、上皮がんに関与している。例えば、ＶＥＧＦＲ２の変異及び増幅の比較的高い頻度（９％）が肺腺癌において検出されている。更に、ＮＳＣＬＣ腫瘍における研究は、肺腺癌及び扁平上皮癌におけるＶＥＧＦＲ２コピー数変化（３２％）の頻度が高く、ＶＥＧＦＲ－２タンパク質発現がより高くなることを示した。がん遺伝子としてのＶＥＧＦＲ２の同定により、ＶＥＧＦＲ２に対する抗癌治療薬の開発が必要となっている。本発明は、この必要性及び他の必要

性を満たしている。
【発明の概要】
【０００６】
発明の概要
本明細書において提供されるのは、抗体又はその抗原結合断片が、ＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックしない、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片である。また本明細書において提供されるのは、抗体又はその抗原結合断片が、ＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合する、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片である。また本明細書において提供されるのは、抗体又はその抗原結合断片が、ＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックせず、かつ抗体又はその抗原結合断片が、ＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合する、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片である。
【０００７】
上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、全ＨＵＶＥＣ細胞に結合する。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、インビトロで血管新生を阻害しない。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、インビボで血管新生を阻害する。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、インビトロで血管新生を阻害せず、かつ抗体又はその抗原結合断片は、インビボで血管新生を阻害する。
【０００８】
本明細書で提供されるのは、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片であって、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）又はＲＡＳＱＳＶＳ－Ｓ／Ｎ－Ｓ／Ｎ－ＹＬ－Ｇ／Ａ（配列番号８３）又はＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）又はＲＳＳＱＳＬ－Ｌ／Ｖ／Ｙ－Ｈ／Ｙ－Ｇ／Ｓ／Ｒ－Ｄ／Ｎ－Ｇ－Ｎ／Ｋ／Ｙ－Ｎ／Ｔ－Ｙ／Ｆ－ＬＤ（配列番号８４）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ａ／Ｇ／Ｋ／Ｅ－Ｇ／Ａ／Ｖ／Ｎ／Ｓ－Ｓ／Ｄ－Ｎ／Ｓ／Ｑ／Ｋ－Ｒ／Ｌ－Ａ／Ｋ／Ｄ／Ｐ－Ｓ／Ｔ（配列番号６０）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｑ－Ｑ／Ｓ－Ａ／Ｓ／Ｒ／Ｇ／Ｙ－Ｌ／Ｙ／Ｓ／Ａ／Ｄ／Ｇ／Ｔ－Ｑ／Ｓ／Ｎ／Ｈ／Ｆ－Ｔ／Ｉ／Ｗ／Ｓ－Ｐ／Ｔ－Ｙ／Ｌ／Ｐ／Ｖ／Ｇ／Ｉ－Ｔ／Ｖ（配列番号７２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｔ／Ｓ－Ｙ－Ｙ／Ｇ／Ａ／Ｓ－Ｍ／Ｉ－Ｈ／Ｎ／Ｓ（配列番号３４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ／Ｖ／Ｇ／Ｓ－Ｉ－Ｎ／Ｓ／Ｉ－Ｐ／Ｙ／Ｓ／Ｇ－Ｓ／Ｄ／Ｉ－Ｇ／Ｆ／Ｓ－Ｇ／Ｓ－Ｓ／Ｎ／Ｔ／Ｙ／Ａ－Ｔ／Ｋ／Ａ／Ｉ－Ｓ／Ｙ／Ｎ／Ｈ－ＹＡ－Ｑ／Ｄ－Ｋ／Ｓ－Ｆ／Ｖ－Ｋ／Ｑ－Ｇ（配列番号４０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）又はＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）又はＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）又はＤ／Ｇ－Ｆ／Ｉ－Ｙ／Ｉ－Ｅ／Ｖ－Ａ／Ｇ－Ｇ／Ｐ－Ｇ／Ｔ－Ｗ／Ｄ－Ｙ／Ａ－ＦＤ－Ｌ／Ｉ（配列番号５１）又はＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）又はＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）又はＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）又はＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含むものである。
【０００９】
上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）配列番号７５－８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）配列番号６３－７１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）配列番号２９－３３及び８５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）配列番号３５－３９及び１２５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３

）配列番号４２－５０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１０】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＨＧＮＧＮＮＹＬＤ（配列番号７５）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＹＴ（配列番号６３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＴＹＹＭＨ（配列番号２９）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１１】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＫＳ（配列番号５５）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＳＹＳＩＰＹＴ（配列番号６４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１２】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＮＮＹＬＧ（配列番号７７）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＬＴ（配列番号６５）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＭＨ（配列番号３１）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１３】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＶＹＳＤＧＫＴＹＬＤ（配列番号７８）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＫＶＳＮＲＤＳ（配列番号５７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＡＨＷＰＰＴ（配列番号６６）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１４】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＰＴ（配列番号６７）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号１２５）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）ＤＦＹＥＡＧＧＷＹＦＤＬ（配列番号４６）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１５】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）を含む

ＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＥＮＤＱＲＰＳ（配列番号５８）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＳＹＤＦＳＴＶＶ（配列番号６８）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１６】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＹＧＳＳＰＧＴ（配列番号６９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＩＩＶＧＰＴＤＡＦＤＩ（配列番号４８）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１７】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦＬＤ（配列番号８１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＳＳＫＲＤＳ（配列番号５９）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号７０）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＴＹＡＭＳ（配列番号３３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＳＧＳＧＧＡＴＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３９）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１８】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、軽鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＹＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号８２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＩＴ（配列番号７１）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００１９】

本明細書で提供されるのは、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又は抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体である抗原結合断片であって、該抗体は（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含み、ここで該変異体は、配列番号２２，２３，２４，２５，２６、及び／又は２７の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む。

【００２０】

また提供されるのは、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＶＥＧＦＲ２への結合を競合的に阻害する抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片であって、ここで該抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号

２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【００２１】

また本明細書で提供されるのは、ＶＥＧＦＲ２に対する第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体と同じＶＥＧＦＲ２のエピトープに特異的に結合する抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片であって、ここで該第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【００２２】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗体又はその抗原結合断片は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含み、ここで該変異体は、配列番号２２，２３，２４，２５，２６、及び／又は２７の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む。

【００２３】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗体又はその抗原結合断片は、（１）配列番号１及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）配列番号２，７、及び８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）配列番号３，９、及び１２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）配列番号４，１３，１４、及び１５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）配列番号５，７，１７，１８，１９，２０、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）配列番号６，１０、及び１１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【００２４】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又はその抗原結合断片は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＳＳ（配列番号２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００２５】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又

はその抗原結合断片は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００２６】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又はその抗原結合断片は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００２７】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又はその抗原結合断片は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００２８】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又はその抗原結合断片は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００２９】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又はその抗原結合断片は、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、（１）アミノ酸配列ＲＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号１５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＱＡＴ（配列番号２０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００３０】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００３１】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、その抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列は、アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。

【００３２】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗体は、ヒトＩｇＧのＦｃ配列を含む。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗原結合断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ）’２、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、Ｆｖ断片、ダイアボディ、及び直鎖状抗体からなる群から選択される。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗体は多重特異性抗体である。

【００３３】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、上記の実施態様の何れか１つに従う抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、治療剤にコンジュゲートされる。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗体又はその抗原結合断片は、標識にコンジュゲートされる。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、標識は、放射性同位体、蛍光色素、及び酵素からなる群から選択される。

【００３４】

本明細書において、上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片をコードする単離された核酸分子が提供される。また、上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）核酸分子をコードする発現ベクターも提供される。本明細書において、上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）発現ベクターを含む細胞が提供される。本明細書において、上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）細胞を培養すること、及び抗ＶＥＧＦＲ２抗体を細胞培養物から回収することを含む抗ＶＥＧＦＲ２抗体を産生する方法が提供される。

【００３５】

上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片を含む組成物及び薬学的に許容される担体が提供される。また、上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片を試料に接触させて、ＶＥＧＦＲ２タンパク質に結合した抗ＶＥＧＦＲ２抗体を検出することによって患者からの試料中のＶＥＧＦＲ２タンパク質を検出する方法が提供される。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、免疫組織化学アッセイ（ＩＨＣ）又はＥＬＩＳＡアッセイで使用される。

【００３６】

本明細書において、上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）組成物の有効量を被験体に投与することを含む、被験体における過剰な血管新生を特徴とする病的状態を治療する方法が提供される。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、過剰な血管新生を特徴とする病的状態は、がん、眼疾患、又は炎症からなる群から選択される。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、過剰な血管新生を特徴とする病的状態はがんである。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、がんは結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん又は固形腫瘍である。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、被験体は、抗新生物剤、化学療法剤、成長阻害剤、及び細胞傷害性剤からなる群から選択される治療剤を更に投与される。上記実施態様の何れかに従う（又は適用される）特定の実施態様において、がんは非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である。

【図面の簡単な説明】
【００３７】
【図１】図１は、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ１、Ｖ９、Ｖ１０、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）のＶＥＧＦＲ２ドメイン５－７への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの結果を示す。
【図２】図２は、ＶＥＧＦＲ２へのＶＥＧＦ結合を阻害する抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ１、Ｖ２、Ｖ３、Ｖ４、Ｖ５、Ｖ６、Ｖ７、Ｖ８、Ｖ９、Ｖ１０、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）の能力を評価するために行われたＥＬＩＳＡの結果を示す。
【図３】図３は、全ＨＵＶＥＣ細胞に結合するＶ９，１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）及び１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）の能力を比較するために行われたアッセイの結果を示す。
【図４】図４は、ＨＵＶＥＣ遊走に対するＶ１、Ｖ２、Ｖ６、Ｖ７、Ｖ８、Ｖ９、Ｖ１０、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）の効果を比較するために行われたアッセイの結果を示す。
【図５】図５は、ＨＵＶＥＣ生存に対するＶ１、Ｖ２、Ｖ６、Ｖ７、Ｖ８、Ｖ９、Ｖ１０、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）の効果を比較するために行われたアッセイの結果を示す。
【図６】図６は、ＨＵＶＥＣ増殖に対するＶ１、Ｖ２、Ｖ６、Ｖ７、Ｖ８、Ｖ９、Ｖ１０、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）の効果を比較するために行われたアッセイの結果を示す。
【図７】図７は、インビボでの血管新生に対するＶ９及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）の効果を比較するために行われたアッセイの結果を示す。
【図８】図８は、Ｖ１、Ｖ９、Ｖ１０、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）の腫瘍増殖を阻害する能力を測定するＨＣＴ－１１６腫瘍異種移植アッセイの結果を示す。
【図９】図９は、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ９、２９、３０、３２、３４、及び６７のＶＥＧＦＲ２ドメイン５－７への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの結果を示す。
【図１０】図１０Ａは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、Ｖ９／２９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、抗ＰＤＧＦＲα抗体、及びＥＲＢＩＴＵＸ（すなわち、抗ＥＧＦＲ抗体）のＶＥＧＦＲ２への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの結果を示す。図１０Ｂは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、Ｖ９／２９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、抗ＰＤＧＦＲα抗体、及びＥＲＢＩＴＵＸ（すなわち、抗ＥＧＦＲ抗体）のＶＥＧＦＲ２への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの第２のセットの結果を示す。
【図１１】図１１Ａは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、Ｖ９／２９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１２１１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びＡｖａｓｔｉｎ（すなわち、抗ＶＥＧＦ）のインビトロでＨＵＶＥＣ増殖を阻害する能力を評価するために行われたアッセイの結果を示す。図１１Ｂは、図１１Ａで試験した各抗体の増殖阻害％を示す。
【図１２】図１２Ａは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、Ｖ９／２９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１２１１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びＡｖａｓｔｉｎ（すなわち、抗ＶＥＧＦ）のインビトロでＨＵＶＥＣ生存を阻害する能力を評価するために行われたアッセイの結果を示す。図１２Ｂは、図１２Ａで試験した各抗体の生存阻害％を示す。
【図１３】図１３Ａは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）

、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）のＶＥＧＦＲ２への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの結果を示す。図１３Ｂは、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）を含まない図１３Ａの結果を提供する。図１３Ｃは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）のＶＥＧＦＲ２への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの第２のセットの結果を示す。図１３Ｄは、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）を含まない図１３Ｃの結果を提供する。

【図１４】図１４Ａは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）のＶＥＧＦＲ２への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの結果を示す。図１４Ｂは、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）を含まない図１４Ａの結果を提供する。図１４Ｃは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）のＶＥＧＦＲ２への結合を比較するために行われたＥＬＩＳＡの第２のセットの結果を示す。図１４Ｄは、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）を含まない図１４Ｃの結果を提供する。

【図１５】図１５は、全ＨＵＶＥＣ細胞に結合する３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）及び１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）の能力を比較するために行われたアッセイの結果を示す。

【図１６Ａ】図１６Ａは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、Ｖ９／２９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１２１１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びＡｖａｓｔｉｎ（すなわち、抗ＶＥＧＦ）のインビトロでＨＵＶＥＣ増殖を阻害する能力を評価するために行われたアッセイの結果を示す。図１６Ｂは、図１６Ａで試験した各抗体の増殖阻害％を示す。

【図１７Ａ】図１７Ａは、抗ＶＥＧＦＲ２抗体Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、Ｖ９／２９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１２１１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びＡｖａｓｔｉｎ（すなわち、抗ＶＥＧＦ）のインビトロでＨＵＶＥＣ生存を阻害する能力を評価するために行われたアッセイの結果を示す。図１７Ｂは、図１７Ａで試験した各抗体の生存阻害％を示す。

【図１８Ａ】図１８Ａは、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びコントロール抗体（ＨＬＸ０２）のマウスＶＥＧＦＲ２に結合する能力を評価するために行われたＥＬＩＳＡの結果を示す。イチジク。図１８Ｂは、重複セットのＥＬＩＳＡの結果を示す。

【図１９Ａ】図１９Ａは、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）及び１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）のＶＥＧＦＲ２リン酸化を阻害する能力を比較するために行われたアッセイの結果を示す。図１９Ｂは、図１９Ａの定量結果を提供する。

【図２０】図２０は、ＨＵＶＥＣ遊走に対するＶ９、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４

／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びＡｖａｓｔｉｎの効果を比較するために行われたアッセイの結果を示す。

【図２１】図２１は、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、及び１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）の腫瘍増殖を阻害する能力を測定するＨＣＴ－１１６腫瘍異種移植アッセイの結果を示す。

【図２２】図２２は、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、及び１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）の腫瘍増殖を阻害する能力を測定するＨＣＴ－１１６腫瘍異種移植アッセイの結果を示す。

【図２３Ａ】図２３Ａは、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）の異なる製剤で実施された安定性試験の結果を示す。図２３Ｂは、１１０／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）の異なる製剤で実施された安定性試験の結果を示す。

【図２４Ａ】図２４Ａは、抗体１１０／１１０ＢがＶＥＧＦＲ１に結合することができるかどうかを決定するために行われた実験の結果を示す。図２４Ｂは、抗体１１０／１１０ＢがＶＥＧＦＲ３に結合することができるかどうかを決定するために行われた実験の結果を示す。

【図２５】図２５は、抗体１１０／１１０ＢがＶＥＧＦ－Ｃ刺激ヒトリンパ内皮細胞（ＨＬＥＣ）の増殖を阻害することができるかどうかを決定するために行われた実験の結果を示す。

【図２６Ａ】図２６Ａは、抗体１１０／１１０ＢがＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ２リン酸化を阻害することができるかどうかを決定するために行われた実験の結果を示す。図２６Ｂは、図２６Ａの定量化された結果を提供する。

【図２７Ａ】図２７Ａは、抗体１１０／１１０ＢがＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ３リン酸化を阻害することができるかどうかを決定するために行われた実験の結果を示す。図２７Ｂは、図２６Ａの定量化された結果を提供する。

【図２８】図２８は、１１０Ｂ／１１０Ｂが腫瘍増殖を阻害する能力を測定するＮＣＩ－Ｈ４６０腫瘍異種移植アッセイの結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【００３８】

発明の詳細な説明

本発明は、新規抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体を提供する。出願人は、驚くべきことに、当技術分野で周知の他の抗ＶＥＧＦＲ２抗体とは対照的に、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体がＶＥＧＲ２のドメイン５－７に結合することを見出した。本明細書に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＶＥＧＦのＶＥＧＦＲ２への結合をブロックしないが、インビトロ及びインビボで血管新生を阻害することができる。

【００３９】

また、イムノコンジュゲート、本明細書に記載の新規抗ＶＥＧＦＲ２抗体をコードする核酸、及び組成物（薬学的組成物など）も提供される。本発明はまた、新規な抗ＶＥＧＦＲ２抗体を使用して、試料（インビボ又はエクスビボの試料など）中のＶＥＧＦＲ２を検出する方法、がんを治療することおける使用のためのそのような抗体を含む組成物、及びがんの治療のための医薬の製造におけるそのような抗体の使用を提供する。

【００４０】

定義

本明細書で使用される「治療」又は「治療する」とは、臨床結果を含む有益な又は所望の結果を得るためのアプローチである。本発明の目的のために、有益な又は所望の臨床結果には、限定されないが以下の１つ又は複数が含まれる：疾患から生じる一又は複数の症状を軽減させること、疾患の程度を減少させること、疾患を安定化させること（例えば、

疾患の悪化（例えば、進行）を予防又は遅延させる）、疾患の広がり（例えば、転移）を予防又は遅延させること、疾患の再発を予防又は遅延させること、疾患の進行を遅延又は緩慢にすること、疾患状態を寛解させること、疾患の寛解（部分的又は完全）を提供すること、疾患を治療するために必要とされる一又は複数の他の医薬の用量を減少させること、疾患の進行を遅延させること、生活の質を向上又は改善すること、体重増加を増やすこと、及び／又は生存を延長すること。また、「治療」に包含されるのは、がんの病理学的帰結（例えば、腫瘍体積など）の減少である。本明細書で提供される方法は、治療のこれらの態様の何れか一又は複数を企図する。

【００４１】

「再発（recurrence）」、「再発（relapse）」又は「再発（relapsed）」という用語は、疾患の消失を臨床的に評価した後のがん又は疾患の再発（return）を指す。遠隔転移又は局所再発の診断は再発とみなすことができる。

【００４２】

用語「難治性」又は「耐性」とは、治療に応答しないがん又は疾患を指す。

【００４３】

「補助療法」という用語は、一次療法（通常は外科手術）後に施される治療を意味する。がん又は疾患のための補助療法には、免疫療法、化学療法、放射線療法、又はホルモン療法が含まれ得る。

【００４４】

「維持療法」という用語は、以前の治療効果を維持するのに役立つよう与えられるスケジュールされた再治療を指す。維持療法は、がんを寛解状態に保つのを助けるために、又は疾患の進行にかかわらず特定の療法への応答を延長するために、しばしば施される。

【００４５】

用語「侵襲性がん」とは、正常な周囲組織に始まった組織の層を越えて広がっているがんを指す。浸潤性がんは転移性である場合と転移性でない場合がある。

【００４６】

用語「非侵襲性がん」とは、非常に初期のがん又は起源の組織を超えて広がっていないがんを指す。

【００４７】

腫瘍学における「無増悪生存期間」という用語は、がんが増殖しない治療中及び治療後の期間を指す。無増悪生存期間には、患者が完全な応答又は部分応答を経験した時間、並びに患者が安定した疾患を経験した時間が含まれる。

【００４８】

腫瘍学における「進行性疾患」という用語は、治療の開始以来、腫瘍の質量の増加又は広がりに起因した、２０％以上の腫瘍増殖を指すことができる。

【００４９】

「障害」は、抗体による治療から利益を得るであろう任意の状態である。例えば、異常なＶＥＧＦＲ２活性に罹患しているか又はその予防が必要な哺乳動物。これには、哺乳動物に問題の疾患に罹らせる病的状態を含む慢性及び急性の障害又は疾患が含まれる。本明細書で治療される障害の非限定的な例には、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）、及び過度の血管新生を特徴とする病的状態が含まれる。本発明によって提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体による治療から利益を得るであろう過度の血管新生によって特徴付けられる例示的ながん及び病的状態は、本明細書の他の箇所で更に詳細に記載される。

【００５０】

本明細書で用いられる「腫瘍」は、悪性又は良性に関わらず、全ての腫瘍細胞成長及び増殖、及び全ての前がん性及びがん性の細胞及び組織を意味する。

【００５１】

用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、具体的には、例えば単一モノクローナル抗体（アゴニスト、アンタゴニスト及び中和抗体を含む）、ポリエピトープ特異性を有する

抗体組成物、ポリクローナル抗体、一本鎖抗体、及び抗体の断片（下記を参照）（それらが天然ポリペプチドに特異的に結合し、及び／又は本発明の生物学的活性又は免疫学的活性を示す限り）を含む。特定の実施態様では、抗体はタンパク質に特異的に結合し、この結合は本発明のモノクローナル抗体（例えば、本発明の寄託抗体など）によって阻害され得る。抗体の「機能的断片又は類似体」という語句は、それが参照される抗体と共通の定性的な生物活性を有する化合物である。例えば、本発明の抗体の機能的断片又は類似体は、ＶＥＧＦＲ２に特異的に結合することができるものであり得る。一実施態様において、抗体は、ＶＥＧＦＲ２が細胞増殖を誘導する能力を予防するか、又は実質的に低下させることができる。

【００５２】

「単離された」抗体とは、その自然環境の成分から同定され分離され及び／又は回収されたものである。その自然環境の汚染成分とは、その抗体の診断又は治療への使用を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質を含むことができる。好ましい実施態様において、抗体は、（１）ローリー法により判定して抗体９５重量％超、及び最も好ましくは９９重量％超まで、（２）スピニングカップシークエネーターを使用することにより、Ｎ末端もしくは内部アミノ酸配列の少なくとも１５残基を得るのに十分な程度まで、又は（３）クーマシーブルーもしくは好ましくは銀染色を用いる還元もしくは非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥにより均一になるまで精製される。単離された抗体には、組換え細胞内のインサイツの抗体が含まれるが、これは抗体の自然環境の少なくとも一の成分が存在しないからである。しかしながら、通常は、単離された抗体は少なくとも一つの精製工程により調製されるであろう。

【００５３】

基本的な４鎖抗体単位は、２つの同一の軽（Ｌ）鎖及び２つの同一の重（Ｈ）鎖からなるヘテロ四量体糖タンパク質である（ＩｇＭ抗体は、Ｊ鎖と呼ばれる付加的ポリペプチドと共に５つの基本的なヘテロ四量体単位からなり、従って、１０の抗原結合部位を含み、一方分泌型ＩｇＡ抗体は重合し、Ｊ鎖と共に２つから５つの基本的な４鎖単位を含む多価集合体を形成することができる）。ＩｇＧの場合、４鎖単位は一般的に約１５００００ダルトンである。各Ｌ鎖は一つの共有ジスルフィド結合によりＨ鎖に連結している一方、２つのＨ鎖はＨ鎖のアイソタイプに応じて一又は複数のジスルフィド結合により互いに連結されている。また各Ｈ及びＬ鎖は、規則的に離間した鎖内ジスルフィド架橋を有している。各Ｈ鎖は、Ｎ末端に可変ドメイン（ＶＨ）と、これに続くα及びγ鎖それぞれに対しては３つの定常ドメイン（ＣＨ）と、μ及びεアイソタイプに対しては４つのＣＨドメインを有する。各Ｌ鎖は、Ｎ末端に可変ドメイン（ＶＬ）と、これに続く定常ドメイン（ＣＬ）をその他端に有する。ＶＬはＶＨに整列しており、ＣＬは重鎖の第１定常ドメイン（ＣＨ１）に整列している。特定のアミノ酸残基が、軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの間の界面を形成すると考えられている。ＶＨとＶＬの対形成は、一緒に単一の抗原結合部位を形成する。異なったクラスの抗体の構造及び特性について、例えば、Basic and Clinical Immunology, ８版、Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow（編）, Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, ７１頁、６章を参照のこと。

【００５４】

任意の脊椎動物種由来のＬ鎖は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ及びラムダと呼ばれる２つの明確に異なる型のうちの１つに割り当てることができる。重鎖の定常ドメイン（ＣＨ）のアミノ酸配列に依存して、免疫グロブリンを異なるクラス又はアイソタイプに割り当てることができる。免疫グロブリンには、それぞれ、α、δ、γ、ε及びμと命名された重鎖を有するＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ及びＩｇＭの５つのクラスがある。γ及びαクラスは更にＣＨ配列及び機能の比較的小さな差異に基づいてサブクラスに分割され、例えばヒトでは、次のサブクラス：ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２を発現する。

【００５５】

「可変」なる用語は、可変ドメインの所定のセグメントが抗体間で配列の点で広範囲に

相違していることを意味する。Ｖドメインは抗原結合を媒介し、特定の抗体のその特定の抗原に対する特異性を定める。しかしながら、可変性は可変ドメインの１１０アミノ酸全長にわたって均一に分布しているのではない。代わりに、Ｖ領域は、それぞれが９～１２アミノ酸長である「超可変領域」と呼ばれる極端な可変性のより短い領域によって分離された１５～３０アミノ酸のフレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる比較的不変のストレッチからなる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、βシート構造を連結するループを形成する、場合によってはβシート構造の一部を形成する３つの超可変領域によって連結された、βシート構造を主に採用する４つのＦＲを含む。各鎖の超可変領域はＦＲによって極く近傍に一緒に保持され、他の鎖からの超可変領域とともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)を参照）。定常ドメインは抗体の抗原への結合に直接は関係しないが、例えば抗体依存性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）における抗体の関与のような様々なエフェクター機能を示す。

【００５６】

本明細書中で使用される場合、用語「ＣＤＲ」又は「相補性決定領域」は、重鎖及び軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見出される非連続抗原結合部位を意味することが意図される。これらの特定の領域は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest" (1991); by Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)；及びMacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)により記載され、ここではその定義は、互いに比較した場合に、アミノ酸残基の重複又はサブセットを含む。それにもかかわらず、抗体若しくは移植抗体又はその変異体のＣＤＲを意味する何れかの定義の適用は、本明細書において定義され、使用される場合の用語の範囲内にあることを意図している。上記の引用文献の各々によって定義されるように、ＣＤＲを包含するアミノ酸残基が、比較として以下の表１に記載されている。

表 1:CDR の定義

	Kabat[1]	Chothia[2]	MacCallum[3]
V_H CDR1	31-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	91-96	89-96

[1]残基番号付けは、上記のKabatらの命名法に従う。
[2]残基番号付けは、上記のChothiaらの命名法に従う。
[3]残基番号付けは、上記のMacCallumらの命名法に従う。

【００５７】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」なる用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団に含まれる個々の抗体は、少量で存在することができる可能な自然に生じる突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であって、単一の抗原部位に対するものである。更に、異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、それらが、他の抗体により汚染されずに合成されることができる点で有利である。修飾語「モノクローナル」は、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とする

と解釈されるべきではない。例えば、本発明において有用なモノクローナル抗体は、Kohler et al. Nature. 256:495 (1975)によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって調製することができ、又は細菌、真核生物の動物又は植物細胞において組換えＤＮＡ法を用いて作製することができる（例えば、米国特許第４８１６５６７号参照）。また「モノクローナル抗体」は、例えばClackson et al., Nature, 352:624-628 (1991), Marks et al., J. Mol. Biol. , 222:581-597 (1991)、及び以下の実施例に記載された技術を用いてファージ抗体ライブラリーから単離することもできる。

【００５８】

本発明のモノクローナル抗体は、重鎖及び／又は軽鎖の一部分が特定の種に由来する又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又は相同であるが、その（それらの）鎖の残部は別の種に由来する又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又は相同である「キメラ」抗体、並びにそのような抗体の断片（但し、それらが本発明の生物学的活性を示すことを条件とする）であり得る（米国特許第４８１６５６７号；Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)）。本明細書における対象のキメラ抗体には、非ヒト霊長類（例えば旧世界ザル、類人猿など）及びヒト定常領域配列に由来する可変ドメイン抗原結合配列を含む霊長類化抗体が含まれる。

【００５９】

「インタクトな」抗体は、抗原結合部位並びにＣＬ及び少なくとも重鎖定常ドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含むものである。定常ドメインは、天然配列定常ドメイン（例えば、ヒト天然配列定常ドメイン）又はそのアミノ酸配列変異体であることができる。好ましくは、インタクトな抗体は、一又は複数のエフェクター機能を有する。

【００６０】

「抗体断片」は、インタクトな抗体の一部、好ましくはインタクトな抗体の抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例には、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２及びＦｖ断片；ダイアボディ；直鎖状抗体（米国特許第５６４１８７０号の実施例２；Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995]参照）；一本鎖抗体分子；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が含まれる。

【００６１】

「直鎖状抗体」という表現は、一般的には、Zapata et al., Protein Eng., 8(10):1057-1062 (1995)に記載された抗体を意味する。簡単に言えば、これらの抗体は、相補的な軽鎖ポリペプチドと共に抗原結合領域の対を形成する一対の直列のＦｄセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）を含む。直鎖状抗体は、二重特異性又は単一特異性であり得る。

【００６２】

抗体のパパイン消化は、「Ｆａｂ」断片と呼ばれる２つの同一の抗体結合断片と、残りの「Ｆｃ」断片（容易に結晶化する能力を反映する命名である）を生成する。Ｆａｂ断片は、Ｌ鎖全体並びにＨ鎖の可変領域ドメイン（ＶＨ）、及び一つの重鎖の第１の定常ドメイン（ＣＨ１）からなる。各Ｆａｂ断片は、抗原結合に関して一価であり、すなわち単一の抗原結合部位を有する。抗体のペプシン処理により単一の大きなＦ（ａｂ’）２断片が生じ、これは凡そ、二価の抗原結合活性を有するジスルフィド結合した二つのＦａｂ断片に対応し、依然として抗原に架橋することができる。Ｆａｂ’断片は、抗体ヒンジ領域由来の一又は複数のシステインを含むＣＨ１ドメインのカルボキシ末端に数個の残基を更に有している点でＦａｂ断片とは異なる。Ｆａｂ’－ＳＨは、本明細書において、Ｆａｂ’の名称であり、定常ドメインのシステイン残基が遊離チオール基を持つ。Ｆ（ａｂ’）２抗体断片はもともと、それらの間にヒンジシステインを有するＦａｂ’フラグメントの対として産生された。抗体断片の他の化学結合も知られている。

【００６３】

Ｆｃ断片は、ジスルフィドによって一緒に保持された両方のＨ鎖のカルボキシ末端部分を含む。抗体のエフェクター機能は、Ｆｃ領域内の配列によって決定される。この領域は

、特定の細胞型に見られるＦｃ受容体（ＦｃＲ）によって認識される部分でもある。

【００６４】

「変異体Ｆｃ領域」は、本明細書に定義される少なくとも１つの「アミノ酸修飾」により、天然配列Ｆｃ領域とは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、変異Ｆｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域又は親ポリペプチドのＦｃ領域と比較して、少なくとも１つのアミノ酸置換を有し、例えば、天然配列Ｆｃ領域又は親ポリペプチドのＦｃ領域に、約１から約１０のアミノ酸置換、及び好ましくは約１から約５のアミノ酸置換を有する。一実施態様において、本明細書の変異体Ｆｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域と少なくとも約８０％の相同性、少なくとも約８５％の相同性、少なくとも約９０％の相同性、少なくとも約９５％の相同性又は少なくとも約９９％の相同性を有する。別の実施態様において、本明細書の変異体Ｆｃ領域は、親ポリペプチドのＦｃ領域と少なくとも約８０％の相同性、少なくとも約８５％の相同性、少なくとも約９０％の相同性、少なくとも約９５％の相同性又は少なくとも約９９％の相同性を有する。

【００６５】

「Ｆｃ領域含有ポリペプチド」という用語は、Ｆｃ領域を含む抗体又はイムノアドヘシン（本明細書の他の箇所の定義を参照のこと）などのポリペプチドを指す。Ｆｃ領域のＣ末端リジン（ＥＵ番号付けシステムによれば残基４４７）は、例えば、ポリペプチドの精製中に、又はポリペプチドをコードする核酸を組換え的に遺伝子操作することによって取り除かれてもよい。従って、本発明によるＦｃ領域を有する抗体を含むポリペプチドを含む組成物は、全てのＫ４４７残基が除去されたポリペプチド集団、Ｋ４４７残基が除去されていないポリペプチド集団、又はＫ４４７残基を有するポリペプチドと有さないポリペプチドの混合物を有するポリペプチド集団を含むことができる。

【００６６】

抗体「エフェクター機能」とは、抗体のＦｃ領域（天然配列Ｆｃ領域又はアミノ酸配列変異体Ｆｃ領域）に起因し得る生物学的活性を指し、抗体のアイソタイプにより変化する。抗体のエフェクター機能の例は：Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞障害；Ｆｃ受容体結合性；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）；貪食作用；細胞表面受容体のダウンレギュレーション；及びＢ細胞活性化を含む。「天然配列Ｆｃ領域」は、天然にみられるＦｃ領域のアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含む。Ｆｃ配列の例は、例えば、限定されるものではないが、Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)に記載される。

【００６７】

「Ｆｖ」は、完全な抗原認識及び結合部位を含む最小抗体断片である。この断片は、一つの重鎖及び一つの軽鎖可変領域ドメインが、堅固な非共有結合をなした二量体からなる。これら二つのドメインの折り畳みから、抗原結合のためのアミノ酸残基に寄与し、抗体に対する抗原結合特異性を付与する６つの超可変ループ（Ｈ鎖及びＬ鎖それぞれ由来の３つのループ）が生じる。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は抗原に対して特異的な三つのＣＤＲのみを含むＦｖの半分）でさえ、結合部位全体よりも親和性が低くなるが、抗原を認識して結合する能力を有している。

【００６８】

「ｓＦｖ」又は「ｓｃＦｖ」とも略称される「一本鎖Ｆｖ」は、単一のポリペプチド鎖内に結合したＶＨ及びＶＬ抗体ドメインを含む抗体断片である。好ましくは、ｓＦｖポリペプチドはＶＨ及びＶＬドメイン間にポリペプチドリンカーを更に含み、それはｓＦｖが抗原結合のために望まれる構造を形成することを可能にする。ｓＦｖの総説については、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); Borrebaeck 1995, infraを参照のこと。

【００６９】

用語「ダイアボディ（diabodies）」は、鎖間ではなく鎖内でＶドメインを対形成させ

、結果として二価の断片、すなわち２つの抗原－結合部位を有する断片が得られるように、ＶＨとＶＬドメインとの間に短いリンカー（約５－１０残基）を有するｓＦｖ断片（前の段落を参照）を構築することにより調製される小型の抗体断片を意味する。二重特異性ダイアボディは、二つの抗体のＶＨドメインとＶＬドメインが異なるポリペプチド鎖上に存在する二つの「クロスオーバー」Ｆｖ断片のヘテロ二量体である。ダイアボディは、例えば、欧州特許第４０４０９７号；国際公開第９３／１１１６１号；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。

【００７０】

非ヒト（例えばげっ歯類）抗体の「ヒト化」型は、非ヒト抗体に由来する最小配列を含むキメラ抗体である。大抵の場合、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域由来の残基が、非ヒト種、例えば、所望の抗体特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、ウサギ、又は非ヒト霊長動物の超可変領域（ドナー抗体）由来の残基により置き換えられているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。幾つかの例においては、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（ＦＲ）の残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体又はドナー抗体に見出されない残基を含むことができる。これらの修飾は、抗体の性能を更に改良するためになされる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも一つ、典型的には二つの可変ドメインの全てを実質的に含み、ここでは超可変ループの全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、ＦＲの全て又は実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は、場合によっては、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのそれも含むであろう。更なる詳細については、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。

【００７１】

本明細書において同定されたポリペプチド及び抗体配列に対する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」又は「相同性」は、任意の保存的置換を配列同一性の一部として考慮して配列を整列させた後に、比較されるポリペプチド中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアラインメントは、当分野の技術の範囲内にある種々の方法、例えばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、又はＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェアのような公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、ここでの目的のためには、％アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータプログラムＡＬＩＧＮ－２を使用して生成される。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータプログラムは、ジェネンテック社によって著作され、ソースコードは米国著作権庁、ワシントンＤ．Ｃ．，２０５５９に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号ＴＸＵ５１００８７で登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、カリフォルニア州サウスサンフランシスコのジェネンテック社（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ、Ｉｎｃ．）から公的に入手可能である。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、ＵＮＩＸ（登録商標）オペレーティングシステム、好ましくはデジタルＵＮＩＸ（登録商標）Ｖ４．０Ｄでの使用のためにコンパイルする必要がある。全ての配列比較パラメータは、ＡＬＩＧＮ－２プログラムによって設定されて変動しない。

【００７２】

「Ｆｃ受容体」又は「ＦｃＲ」という用語は、抗体のＦｃ領域に結合する受容体を記述するために使用される。一実施態様において、本発明のＦｃＲは、ＩｇＧ抗体（γ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、これらの受容体の対立遺伝子変異体及び選択的スプライシング型を含む。ＦｃγＲＩＩ受容体は、ＦｃγＲＩＩＡ（「活性化受容体」）及びＦｃγＲＩＩＢ（「阻害受容体」）を含み、それらは、主としてその細胞質ドメインにおいて異なる類似のアミノ

酸配列を有する。活性化ＦｃγＲＩＩＡは、その細胞質ドメインに、免疫受容体チロシン－ベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を有する。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－ベース活性化モチーフ（ＩＴＩＭ）を有する（総説Daeron, Annu. Rev. Immunol., 15:203-234(1997)を参照）。その用語には、ＦｃγＲＩＩＡアロタイプ：ＦｃγＲＩＩＩＡ－Ｐｈｅ１５８、ＦｃγＲＩＩＩＡ－Ｖａｌ１５８、ＦｃγＲＩＩＡ－Ｒ１３１及び／又はＦｃγＲＩＩＡ－Ｈ１３１などのアロタイプが含まれる。ＦｃＲは、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)に総説される。他のＦｃＲは、将来同定されるべきものを含み、本明細書にて用語「ＦｃＲ」により網羅される。この用語には、胎児への母親のＩｇＧの移行に関与している新生児の受容体ＦｃＲｎも含まれる（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及びKim et al., J. Immunol. 249 (1994)）。

【００７３】

「ＦｃＲｎ」という用語は、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）を指す。ＦｃＲｎは主要組織適合複合体（ＭＨＣ）と構造的に類似しており、β２－ミクログロブリンに非共有結合したα鎖からなる。新生児Ｆｃ受容体ＦｃＲｎの複数の機能は、Ghetie and Ward (2000) Annu. Rev. Immunol. 18, 739-766に総説される。ＦｃＲｎは、母親から子どもへの免疫グロブリンＩｇＧの受動的送達及び血清ＩｇＧレベルの調節において役割を果たす。ＦｃＲｎは、サルベージ受容体として作用し、細胞内及び細胞間のインタクトな形態の貪食されたＩｇＧを結合及び輸送し、それらをデフォルトの分解経路から救出することができる。

【００７４】

ヒトＩｇＧ　Ｆｃ領域の「ＣＨ１ドメイン」（「Ｈ１」ドメインの「Ｃ１」とも称される）は、通常約アミノ酸１１８から約アミノ酸２１５（ＥＵ番号付けシステム）に及ぶ。

【００７５】

「ヒンジ領域」は、通常、ヒトＩｇＧ１のＧｌｕ２１６からＰｒｏ２３０まで延びていると定義される（Burton, Molec. Immunol.22:161-206, 1985）。他のＩｇＧアイソタイプのヒンジ領域は、同じ位置に内部重鎖Ｓ－Ｓ結合を形成する最初と最後のシステイン残基を配置することによりＩｇＧ１と整列させることができる。

【００７６】

Ｆｃ領域の「下部ヒンジ領域」は、通常、ヒンジ領域のすぐＣ末端の残基、すなわちＦｃ領域の残基２３３から２３９のストレッチとして定義される。以前の報告では、ＦｃＲ結合は、一般に、ＩｇＧ　Ｆｃ領域の下部ヒンジ領域のアミノ酸残基によるものである。

【００７７】

ヒトＩｇＧ　Ｆｃ領域の「ＣＨ２ドメイン」（「Ｈ２」ドメインの「Ｃ２」とも称される）は、通常約アミノ酸２３１から約アミノ酸３４０に及ぶ。ＣＨ２ドメインは、別のドメインと密接に対合しないという点で独特である。むしろ、２つのＮ結合分岐型糖鎖が、インタクトな天然型ＩｇＧ分子の２つのＣＨ２ドメインの間に挿入される。糖鎖はドメイン－ドメイン対合の代替物を提供し、ＣＨ２ドメインを安定化させるのに役立つことが推測されている。Burton, Molec Immunol. 22:161-206 (1985)。

【００７８】

「ＣＨ３ドメイン」（「Ｃ２」又は「Ｈ３」ドメインとも称される）は、Ｆｃ領域のＣ末端からＣＨ２ドメインまでの残基のストレッチ（すなわち、抗体配列のアミノ酸残基約３４１からＣ末端まで、典型的にはＩｇＧのアミノ酸残基４４６又は４４７まで）を含む。

【００７９】

「機能的Ｆｃ領域」は、天然型配列Ｆｃ領域の「エフェクター機能」を有する。例示的な「エフェクター機能」には、Ｃ１ｑ結合、補体依存性細胞障害作用（ＣＤＣ）、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞障害作用（ＡＤＣＣ）、食作用、細胞表面受容体（例えばＢ細胞受容体；ＢＣＲ）の下方制御などが含まれる。そのようなエフェクター機能

は、通常、Ｆｃ領域が結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わさることを必要とし、例えばここ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。

【００８０】

「Ｃ１ｑ」は、免疫グロブリンのＦｃ領域の結合部位を含むポリペプチドである。Ｃ１ｑは、２つのセリンプロテアーゼＣ１ｒ及びＣ１ｓとともに、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）経路の第１成分である複合体Ｃ１を形成する。ヒトＣ１ｑは、例えばＱｕｉｄｅｌ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡから商業的に購入することができる。

【００８１】

「結合ドメイン」という用語は、別の分子に結合するポリペプチドの領域を指す。ＦｃＲの場合、結合ドメインは、Ｆｃ領域の結合に関与するポリペプチド鎖の一部（例えば、そのアルファ鎖）を含むことができる。有用な結合ドメインの１つは、ＦｃＲアルファ鎖の細胞外ドメインである。

【００８２】

「改変された」ＦｃＲ結合親和性又はＡＤＣＣ活性を有する変異体ＩｇＧ　Ｆｃを有する抗体は、親ポリペプチド又は天然配列Ｆｃ領域を含むポリペプチドと比較して、ＦｃＲ結合活性（例えば、ＦｃγＲ又はＦｃＲｎ）及び／又はＡＤＣＣ活性の何れかを増強又は低下させたものである。ＦｃＲに対して「増加した結合を示す」変異体Ｆｃは、親ポリペプチド又は天然配列ＩｇＧ　Ｆｃよりも高い親和性（例えば、低い見かけのＫｄ又はＩＣ５０値）で少なくとも１つのＦｃＲに結合する。幾つかの実施態様によれば、親ポリペプチドと比較した結合の改善は、約３倍、好ましくは約５，１０，２５，５０，６０，１００，１５０，２００，最大５００倍又は約２５％から１０００％の結合の改善である。ＦｃＲに対して「減少した結合を示す」ポリペプチド変異体は、親ポリペプチドよりも低い親和性（例えば、高い見かけのＫｄ又はＩＣ５０値）で少なくとも１つのＦｃＲに結合する。親ポリペプチドと比較した結合の減少は、結合の約４０％以上の減少であり得る。

【００８３】

「抗体依存性細胞介在性細胞傷害活性」又はＡＤＣＣは、ある種の細胞障害細胞（例えば、ナチュラルキラー（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（ＦｃＲｓ）と結合した分泌Ｉｇにより、これらの細胞障害エフェクター細胞が抗原担持標的細胞に特異的に結合し、続いて細胞毒により標的細胞を死滅させることを可能にする細胞障害性の形態を意味する。抗体は細胞障害性細胞を「作動可能にし」、このような死滅に絶対的に必要とされる。ＡＤＣＣを媒介する主要な細胞であるＮＫ細胞がＦｃγＲＩＩＩのみを発現するのに対し、単球はＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ及びＦｃγＲＩＩＩを発現する。造血細胞上の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。対象の分子のＡＤＣＣ活性をアッセイするために、米国特許第５５００３６２号若しくは同第５８２１３３７号又は以下の例に記載されているようなインビトロＡＤＣＣアッセイを実施することができる。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞は、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞を含む。代わりに、又は更に、対象の分子のＡＤＣＣ活性は、インビボで、例えばClynes et al. PNAS (USA) 95:652-656 (1998)に開示されている動物モデルなどの動物モデルで評価され得る。

【００８４】

野生型ＩｇＧ　Ｆｃ又は親ポリペプチドを有するポリペプチドよりも効果的にヒトエフェクター細胞の存在下で「ＡＤＣＣの増加を示す」、又は抗体依存性細胞媒介性細胞毒性（ＡＤＣＣ）を媒介する変異体Ｆｃ領域を含むポリペプチドは、変異体Ｆｃ領域を有するポリペプチド及び野生型Ｆｃ領域を有するポリペプチド（又は親ポリペプチド）の量がアッセイにおいて本質的に同じである場合、インビトロ又はインビボでＡＤＣＣを媒介する上で実質的により効果的であるものである。一般に、そのような変異体は、例えば動物モデルにおいてＡＤＣＣ活性を測定するためのアッセイ又は方法など、当技術分野で周知の任意のインビトロＡＤＣＣアッセイを用いて同定されるであろう。一実施態様において、好ましい変異体は、野生型Ｆｃ（又は親ポリペプチド）よりもＡＤＣＣを媒介する点にお

いて、約５倍から約１００倍、例えば約２５倍から約５０倍、より効果的である。

【００８５】

「補体依存性細胞傷害」又は「ＣＤＣ」は、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。標準的補体経路の活性化は、補体系の第１の成分（Ｃ１ｑ）の、それらの同種抗原に結合した（適切なサブクラスの）抗体への結合により開始される。補体活性化を評価するために、ＣＤＣアッセイが、例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)に記載されるように実施することができる。Ｆｃ領域アミノ酸配列が改変されてＣ１ｑ結合能力が向上したか又は低下したポリペプチド変異体は、米国特許第６１９４５５Ｂ１号及び国際公開第９９／５１６４２号に記述されている。これらの特許文献の内容は出典明示により本明細書に援用される。また、Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)も参照のこと。

【００８６】

本明細書に開示される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の「有効量」は、具体的に述べられた目的を実行するのに十分な量である。「有効量」は、経験的に、及び記載された目的に関連する周知の方法によって決定することができる。

【００８７】

「治療的有効量」という用語は、哺乳動物（別名患者）の疾患又は障害の「治療」のために有効な、本明細書に開示される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の量を指す。がんの場合は、本明細書に開示される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の治療的有効量は、がん細胞の数を減少させる；腫瘍の大きさ又は重さを小さくする；がん細胞の周辺器官への浸潤を阻害する（すなわち、ある程度まで遅くする、好ましくは止める）；腫瘍の転移を阻害する（すなわち、ある程度まで遅くする、好ましくは止める）；腫瘍の増殖をある程度まで阻害する；及び／又はがんに関連する一又は複数の症状をある程度まで和らげることが可能である。本明細書に開示される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物が、現存のがん細胞の増殖を妨げ及び／又は死滅させる程度まで、それは細胞分裂停止性及び／又は細胞障害性であり得る。一実施態様では、治療的有効量は増殖阻害量である。別の実施態様では、治療的有効量は、患者の生存期間を延長する量である。別の実施態様では、治療的有効量は、患者の無増悪生存期間を改善する量である。

【００８８】

本発明の本明細書に開示される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の「増殖阻害量」は、インビトロ又はインビボの何れかで細胞、特に腫瘍、例えばがん細胞の増殖を阻害することができる量である。腫瘍細胞増殖を阻害する目的のための本発明のポリペプチド、抗体、アンタゴニスト又は組成物の「増殖阻害量」は、経験的に、及び既知の方法又は本明細書で提供される実施例により決定することができる。

【００８９】

本発明の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の「細胞傷害性量」は、インビトロ又はインビボの何れかで細胞、特に腫瘍、例えばがん細胞の破壊を引き起こすことができる量である。腫瘍細胞増殖を阻害する目的のための本発明の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の「細胞傷害性量」は、経験的に、及び当技術分野で周知の方法により決定することができる。

【００９０】

本発明の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の「増殖阻害量」は、インビトロ又はインビボの何れかで細胞、特に腫瘍、例えばがん細胞の増殖を阻害することができる量である。腫瘍細胞増殖を阻害する目的のための本発明の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）又は組成物の「増殖阻害量」は、経験的に、及び既知の方法又は本明細書で提供される実施例により決定することができる。

【００９１】

本明細書中で使用される場合、「薬学的に許容可能」又は「薬理学的に適合性」とは、生物学的又はその他の点で所望されなくない物質を意味し、例えば、物質は、有意な所望

されない生物学的効果を引き起こすことなく、又はそれが含まれる組成物の他の成分の何れかと有害な様式で相互作用することなく、患者に投与される薬学的組成物に組み込むことができる。薬学的に許容される担体又は賦形剤は、好ましくは、毒物学及び製造試験の要求基準を満たしているか、及び／又は米国食品医薬品局によって作成された不活性成分ガイドに含まれている。

【００９２】

「検出する」という用語は、物質の存在又は非存在を決定すること又は物質（ＶＥＧＦＲ２など）の量を定量することを含むことを意図する。従って、その用語は、定性的及び定量的測定のための本発明の材料、組成物、及び方法の使用を指す。一般に、検出に使用される特定の技術は、本発明の実施には重要ではない。

【００９３】

例えば、本発明による「検出する」とは、ＶＥＧＦＲ２遺伝子産物、ｍＲＮＡ分子、又はＶＥＧＦＲ２ポリペプチドの存在又は非存在；ＶＥＧＦＲ２ポリペプチドのレベル又は標的に結合した量の変化；ＶＥＧＦＲ２ポリペプチドの生物学的機能／活性の変化を観察することを含み得る。幾つかの実施態様において、「検出する」は、野生型ＶＥＧＦＲ２レベル（例えば、ｍＲＮＡ又はポリペプチドレベル）を検出することを含み得る。検出するとは、対照と比較した場合、１０％から９０％の間の任意の値、又は３０％から６０％の間の任意の値、又は１００％を超える任意の値の変化（増加又は減少）を定量化することを含み得る。検出するとは、２倍から１０倍までの間の任意の値、又はそれ以上、例えば１００倍の変化を定量化することが含まれ得る。

【００９４】

本明細書で使用する場合、「標識」という単語は、抗体に直接的又は間接的にコンジュゲートした検出可能な化合物又は組成物を指す。標識がそれ自体で検出可能（例えば放射性標識又は蛍光性標識）であってもよく、又は酵素標識の場合は、検出可能な基質化合物又は組成物の化学的変化を触媒するものであってもよい。

【００９５】

本明細書における値又はパラメータの「約」への言及は、この技術分野の当業者に容易に知られているそれぞれの値に対する通常の誤差範囲を指す。本明細書における値又はパラメータの「約」への言及は、その値又はパラメータ自体を対象にする態様を含む（及び記載する）。例えば、「約Ｘ」に言及する記述は「Ｘ」の記述が含まれる。

【００９６】

本明細書に記載される本発明の態様及び実施態様は、態様及び実施態様を「含む」、「からなる」及び／又は「から本質的になる」を含むことが理解される。

【００９７】

特許出願及び刊行物を含む、本明細書に引用される全ての参考文献は、その全体が参考により本明細書に援用される。

【００９８】

抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体

本発明は、血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）に結合する新規な抗体の同定に基づく。抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、様々な治療方法及び診断方法において使用することができる。例えば、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、例えば、大腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん、固形腫瘍、及び過剰な血管新生を特徴とする病的状態（本明細書の他の箇所に記載されるものなど）を含む、異常なＶＥＧＦＲ２発現又は異常なＶＥＧＦＲ２活性により特徴付けられる疾患の治療において、単独で又は他の薬剤と組み合わせて使用することができる。本明細書で提供される抗体は、抗ＶＥＧＦＲ２抗体を患者に投与し、患者からの試料中において（例えば、インビボ又はエクスビボで）ＶＥＧＦＲ２タンパク質に結合した抗ＶＥＧＦＲ２抗体を検出することによって、又は患者からの試料と抗ＶＥＧＦＲ２抗体とを接触させ、ＶＥＧＦＲ２タンパク質に結合した抗ＶＥＧＦＲ２抗体を定性的に又は定量的に検出することによって、患者又は患者試料中のＶＥＧＦＲ２タンパク質を検出するために使用することもできる。

【００９９】
血管内皮増殖因子受容体２又は「ＶＥＧＦＲ２」（例えばＫＤＲ、「キナーゼインサートドメイン受容体」、ＦＬＫ１、「胎児肝臓キナーゼ１」及びＣＤ３０９としても知られている）は、ＶＥＧＦＲファミリーの受容体であり、３つの密接に関連した受容体チロシンキナーゼのサブファミリーである。ＶＥＧＦ受容体は、典型的には、それらのアミノ末端細胞外受容体リガンド結合ドメインに数個、典型的には５又は７個の免疫グロブリン様ループを有することを特徴とするクラスＩＩＩ受容体チロシンキナーゼである（Kaipainen et al., J. Exp. Med., 178:2077-88 (1993)）。血管新生及びリンパ脈管新生シグナル伝達を促進するＶＥＧＦＲ２は、内皮細胞上の主なＶＥＧＦ受容体である。ＶＥＧＦＲ２はＶＥＧＦＡの結合によって活性化され、ＶＥＧＦＲ２は二量体化及びチロシン自己リン酸化を受ける。自己リン酸化は、例えばＰＬＣ－ガンマ、ＶＲＡＰ（ＶＥＧＦ受容体関連タンパク質）及びＳｃｋなどＳＨ２ドメイン含有シグナル伝達分子の下流の直接活性化、並びにＳｒｃ及びＰＩ３Ｋ（ホスファチジルイノシトール３－キナーゼ）の間接的活性化をもたらす。ＶＥＧＦＲ２は、内皮細胞の増殖、遊走、分化、管形成、血管透過性の増加、及び血管完全性の維持をもたらす主なＶＥＧＦシグナルトランスデューサーであると一般的に考えられている。異常なＶＥＧＦＲ２発現又はＶＥＧＦＲ２活性は、多くのがん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）及び過剰な血管新生を特徴とする病的状態（本明細書の他の箇所に記載されるものなど）と関連している。

【０１００】
抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、十分な親和性及び特異性でＶＥＧＦＲ２に結合する抗体である。好ましくは、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、ＶＥＧＦＲ２活性が関与する疾患又は状態を標的としかつ妨げる治療剤として使用することができる。特定の実施態様では、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＶＥＧＦＲ１／ＦＬＴ１又はＶＥＧＦＲ３／ＦＬＴ４／ＰＣＬ／Ｃｈｙなどの他のＶＥＧＦ受容体ファミリーのメンバーに結合しない。特定の実施態様では、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体はまた、ＶＥＧＦＲ３／ＦＬＴ４／ＰＣＬ／Ｃｈｙに結合する。特定の実施態様では、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、組換えヒト化抗ＶＥＧＦＲ２モノクローナル抗体である。一実施態様によれば、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、本明細書中に開示される抗体の何れか１つのＣＤＲ、可変重鎖領域、及び／又は可変軽鎖領域を含む。

【０１０１】
特定の実施態様では、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体のヒトＶＥＧＦＲ２への結合を競合的に阻害しない。特定の実施態様において、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡ（配列番号７３）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＤＳＳＮＲＡＴ（配列番号５２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＨＮＴＦＰＰＴ（配列番号６１）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＶＴＤＡＦＤＩ（配列番号４１）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。特定の実施態様では、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、米国特許出願公開第２００９／０３０６３４８号（この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている１１２１Ｂである。特定の実施態様において、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＧＩＤＮＷＬＧ（配列番号７４）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＤＡＳＮＬＤＴ（配列番号５３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＱＱＡＫＡＦＰＰＴ（配列番号６２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＶＴＤＡＦＤＩ（配列番号４１）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。特定の実施態様では、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、米国特許第７４９８４１４号（この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれ

る）に記載されている１１２１Ｎである。
【０１０２】
特定の実施態様では、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体によって結合されたＶＥＧＦＲ２のドメインに結合しない。特定の実施態様において、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡ（配列番号７３）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＤＳＳＮＲＡＴ（配列番号５２）を含むＣＤＲ－Ｌ２及びアミノ酸配列ＬＱＨＮＴＦＰＰＴ（配列番号６１）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＶＴＤＡＦＤＩ（配列番号４１）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。特定の実施態様では、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、配列番号１０４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１０６のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様では、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、米国特許出願公開第２００９／０３０６３４８号に記載されている１１２１Ｂである。特定の実施態様において、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＧＩＤＮＷＬＧ（配列番号７４）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＤＡＳＮＬＤＴ（配列番号５３）を含むＣＤＲ－Ｌ２及びアミノ酸配列ＱＱＡＫＡＦＰＰＴ（配列番号６２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＶＴＤＡＦＤＩ（配列番号４１）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。特定の実施態様では、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、配列番号１０５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１０６のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様では、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、米国特許第７，４９８，４１４号に記載されている１１２１Ｎである。
【０１０３】
配列番号１０４－１０６のアミノ酸配列を以下に示す。
ＥＩＶＭＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＳＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰＥＤＦＡＴＹＹＣＬＱＨＮＴＦＰＰＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮ（配列番号１０４）

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＩＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＤＮＷＬＧＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＤＡＳＮＬＤＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＹＦＴＬＴＩＳＳＬＱＡＥＤＦＡＶＹＦＣＱＱＡＫＡＦＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＤＩＫＧＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮ（配列番号１０５）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＶＴＤＡＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号１０６）
【０１０４】
特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックしない。
【０１０５】
特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合する。

【０１０６】
特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、以下の実施例に記載されるように、フローサイトメトリーによって決定されるように、全ＨＵＶＥＣ細胞に結合する。
【０１０７】
特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ヒト臍帯静脈内皮細胞（ＨＵＶＥＣ）管形成アッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣ管形成アッセイなど）において管形成を阻害する。特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＨＵＶＥＣ遊走アッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣ遊走アッセイなど）においてＨＵＶＥＣ遊走を阻害する。特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＨＵＶＥＣ遊走アッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣ遊走アッセイなど）においてＨＵＶＥＣ遊走を阻害しない。特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＨＵＶＥＣ生存アッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣ生存アッセイなど）においてＨＵＶＥＣ生存を阻害する。特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＨＵＶＥＣ増殖アッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣ増殖アッセイなど）においてＨＵＶＥＣ増殖を阻害する。
【０１０８】
特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、インビトロアッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣ発芽アッセイなど）において血管新生を阻害しない。特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、インビボアッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣマトリゲルプラグアッセイ）において血管新生を阻害する。特定の実施態様では、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、インビトロアッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣ発芽アッセイなど）において血管新生を阻害しないが、インビボアッセイ（以下の実施例に記載のＨＵＶＥＣマトリゲルプラグアッセイ）において血管新生を阻害する。
【０１０９】
特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）又はＲＡＳＱＳＶＳ－Ｓ／Ｎ－Ｓ／Ｎ－ＹＬ－Ｇ／Ａ（配列番号８３）又はＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）又はＲＳＳＱＳＬ－Ｌ／Ｖ／Ｙ－Ｈ／Ｙ－Ｇ／Ｓ／Ｒ－Ｄ／Ｎ－Ｇ－Ｎ／Ｋ／Ｙ－Ｎ／Ｔ－Ｙ／Ｆ－ＬＤ（配列番号８４）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列Ｌ／Ａ／Ｇ／Ｋ／Ｅ－Ｇ／Ａ／Ｖ／Ｎ／Ｓ－Ｓ／Ｄ－Ｎ／Ｓ／Ｑ／Ｋ－Ｒ／Ｌ－Ａ／Ｋ／Ｄ／Ｐ－Ｓ／Ｔ（配列番号６０）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列Ｍ／Ｑ－Ｑ／Ｓ－Ａ／Ｓ／Ｒ／Ｇ／Ｙ－Ｌ／Ｙ／Ｓ／Ａ／Ｄ／Ｇ／Ｔ－Ｑ／Ｓ／Ｎ／Ｈ／Ｆ－Ｔ／Ｉ／Ｗ／Ｓ－Ｐ／Ｔ－Ｙ／Ｌ／Ｐ／Ｖ／Ｇ／Ｉ－Ｔ／Ｖ（配列番号７２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列Ｔ／Ｓ－Ｙ－Ｙ／Ｇ／Ａ／Ｓ－Ｍ／Ｉ－Ｈ／Ｎ／Ｓ（配列番号３４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列Ｉ／Ｖ／Ｇ／Ｓ－Ｉ－Ｎ／Ｓ／Ｉ－Ｐ／Ｙ／Ｓ／Ｇ－Ｓ／Ｄ／Ｉ－Ｇ／Ｆ／Ｓ－Ｇ／Ｓ－Ｓ／Ｎ／Ｔ／Ｙ／Ａ－Ｔ／Ｋ／Ａ／Ｉ－Ｓ／Ｙ／Ｎ／Ｈ－ＹＡ－Ｑ／Ｄ－Ｋ／Ｓ－Ｆ／Ｖ－Ｋ／Ｑ－Ｇ（配列番号４０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）又はＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）又はＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）又はＤ／Ｇ－Ｆ／Ｉ－Ｙ／Ｉ－Ｅ／Ｖ－Ａ／Ｇ－Ｇ／Ｐ－Ｇ／Ｔ－Ｗ／Ｄ－Ｙ／Ａ－ＦＤ－Ｌ／Ｉ（配列番号５１）又はＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）又はＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）又はＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）又はＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。
【０１１０】
特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、配列番号７５－８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；配列番号５４－

５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び配列番号６３－７１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに配列番号２９－３３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；配列番号３５－３９及び１２５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び配列番号４２－５０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１１】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＨＧＮＧＮＮＹＬＤ（配列番号７５）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＹＴ（配列番号６３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＴＹＹＭＨ（配列番号２９）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１２】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＫＳ（配列番号５５）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＱＱＳＹＳＩＰＹＴ（配列番号６４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１３】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＮＮＹＬＧ（配列番号７７）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＬＴ（配列番号６５）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＡＭＨ（配列番号３１）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１４】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＶＹＳＤＧＫＴＹＬＤ（配列番号７８）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＫＶＳＮＲＤＳ（配列番号５７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＡＨＷＰＰＴ（配列番号６６）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１５】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＰＴ（配列番号６７）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号１２５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＤＦＹＥＡＧＧＷＹＦＤＬ（配列番号４６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１６】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＥＮＤＱＲＰＳ（配列番号５８）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＱＳＹＤＦＳＴＶＶ（配列番号６８）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１７】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＱＱＹＧＳＳＰＧＴ（配列番号６９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＧＩＩＶＧＰＴＤＡＦＤＩ（配列番号４８）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１８】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦＬＤ（配列番号８１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＬＳＳＫＲＤＳ（配列番号５９）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号７０）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＴＹＡＭＳ（配列番号３３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＧＩＳＧＳＧＧＡＴＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３９）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１１９】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＹＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号８２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＩＴ（配列番号７１）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１２０】

本明細書に記載のＣＤＲの配列を以下の表２に示す。

表２

配列番号 28	SYSMN	配列番号 56	GASSRAT
配列番号 29	TYYMH	配列番号 57	KVSNRDS
配列番号 30	SYGMH	配列番号 58	ENDQRPS
配列番号 31	SYAMH	配列番号 59	LSSKRDS
配列番号 32	SYSMN	配列番号 63	MQALQTPYT
配列番号 33	TYAMS	配列番号 64	QQSYSIPYT
配列番号 35	SISSSSSYIYYADSVKG	配列番号 65	QQRSNWPLT
配列番号 36	IINPSGGSTSYAQKFQG	配列番号 66	MQGAHWPPT
配列番号 37	VISYDGSNKYYADSVKG	配列番号 67	QQRSNWPPT
配列番号 38	GIIPIFGTANYAQKFQG	配列番号 68	QSYDFSTVV
配列番号 39	GISGSGGATHYADSVKG	配列番号 69	QQYGSSPGT
配列番号 42	DLVVPAATLDY	配列番号 70	MQGTHWPYT
配列番号 43	ESYGGQFDY	配列番号 71	MQALQTPIT
配列番号 44	DGFGLAVAGPYWYFDL	配列番号 75	RSSQSLLHGNGNNYLD
配列番号 45	PTRSRDFWSGLGYYYYMDV	配列番号 76	RASQNIASYLN
配列番号 46	DFYEAGGWYFDL	配列番号 77	RASQSVSNNYLG
配列番号 47	VGATTSLYYYYGMDV	配列番号 78	RSSQSLVYSDGKTYLD
配列番号 48	GIIVGPTDAFDI	配列番号 79	RASQSVSSSYLA
配列番号 49	GLWFGEGY	配列番号 80	TRSRGSIASSYVQ
配列番号 50	RDGSLGVGYYYMDF	配列番号 81	RSSQSLYYRDGYTFLD
配列番号 54	LGSNRAS	配列番号 82	RSSQSLLYSNGYNYLD
配列番号 55	AASSLKS	配列番号 85	SYAIS
配列番号 125	VISYDGSNKHYADSVKG		

【０１２１】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、配列番号８６－９４からなる群から選択される軽鎖可変ドメイン配列及び配列番号９５－１０３からなる群から選択される重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１２２】

配列番号８６－１０３のアミノ酸配列を以下に示す。

ＤＶＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＳＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＧＮＧＮＮＹＬＤＷＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＱＩＳＲＶＥＰＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＬＱＴＰＹＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮ（配列番号８６）

ＤＶＶＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＶＴＣＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮＷＹＱＱＫＰ

ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＫＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＲＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＡＹＹＣＱＱＳＹＳＩＰＹＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰ
ＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＬＧＮ（配
列番号８７）

ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＮＮＹＬＧＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＶＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＲＳＮＷＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰ
ＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮ（
配列番号８８）

ＤＶＶＭＴＱＳＰＬＳＬＳＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＶＹＳＤＧＫＴＹＬＤＷ
ＦＬＱＲＰＧＱＳＰＲＲＬＩＹＫＶＳＮＲＤＳＧＶＳＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＧＡＨＷＰＰＴＦＧＱＧＴＲＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶ
ＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱ
ＳＧＮ（配列番号８９）

ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＲＳＮＷＰＰＴＦＧＰＧＴＫＶＤＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰ
ＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮ（
配列番号９０）

ＮＦＭＬＴＱＰＨＳＶＳＥＳＰＧＫＴＶＴＶＳＣＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱＷＹＱＱＲ
ＰＧＲＳＰＴＮＶＩＹＥＮＤＱＲＰＳＧＶＰＴＲＦＳＧＳＶＤＲＳＳＮＳＡＳＬＴＩＳＧ
ＬＥＴＥＤＥＡＤＹＹＣＱＳＹＤＦＳＴＶＶＦＧＧＧＴＫＬＴＶＬＳＱＰＫＡＡＰＳＶＴ
ＬＦＰＰＳＳＥＥＬＱＡＮＫＡＴＬＶＣＬＩＳＤＦＹＰＧＡＶＴＶＡＷＫＡＤＳＳＰＶＫ
ＡＧ（配列番号９１）

ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＶＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＧＳＳＰＧＴＦＧＱＧＴＫＶＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰ
ＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮ（
配列番号９２）

ＤＶＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＬＧＱＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦＬＤＷ
ＹＶＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＳＳＫＲＤＳＧＶＰＤＲＩＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＲＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＧＴＨＷＰＹＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶ
ＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱ
ＳＧＮ（配列番号９３）

ＤＶＶＭＴＱＳＰＬＳＬＡＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＹＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＬＱＴＰＩＴＦＧＰＧＴＫＶＤＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶ
ＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱ
ＳＧＮ（配列番号９４）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＲＡＳＧＦＳＦＴＴＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号９５）

ＥＶＱＬＶＱＴＧＧＧＡＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＴＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＳＹＧＧＱＦＤＹＷＧＰＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号９６）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＡＭＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号９７）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＩＴＡＤＥＳＴＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＧＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＹＭＤＶＷＧＫＧＴＴＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号９８）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＳＹＤＧＳＮＫＨＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＦＹＥＡＧＧＷＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号９９）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＧＩＩＰＩＦＧＴＡＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＩＴＡＤＥＳＴＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号１００）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＩＩＶＧＰＴＤＡＦＤＩＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号１０１）

ＱＶＱＬＶＱＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＳＦＳＴＹＡＭＳＷＶＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＧＳＧＧＡＴＨＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＶＮＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＫＧＬＷＦＧＥＧＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号１０２）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＩＴＡＤＥＳＴＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦＷＧＫＧＴＴＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴ（配列番号１０３）

【０１２３】
特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号８６に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号９５に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号８７に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号９６に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号８８に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号９７に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号８９に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号９８に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号９９に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９１に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１００に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９２に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１０１に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９３に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１０２に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９４に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１０３に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１２４】
重鎖及び軽鎖可変ドメインは、可能な全ての対合の組み合わせで組み合わせて、幾つかの抗ＶＥＧＦＲ２抗体を生成する。

【０１２５】
特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体のヒトＶＥＧＦＲ２への結合を競合的に阻害する。幾つかの実施態様において、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＬＳＳ（配列番号２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；及びアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体であり、ここで該変異体は、配列番号１，２，３，４，５及び／又は６の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む。幾つかの実施態様において、変異体は、配列番号１、２、３、４、５及び／又は６のうちの１つ又は複数において、少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、又は少なくとも１０個のアミノ酸置換を含む。特定の実施態様において、アミノ酸置換は保存的アミノ酸置換である。特定の実施態様において、アミノ酸置換は、抗体が抗原に結合する能力を実質的に低下させない。例えば、ＶＥＧＦＲ２結合親和性を実質的に低下させない保存的改変（例えば、以下の表３に記載のように本明細書で提供される保存的置換）を行うことができる。抗ＶＥＧＦＲ２抗体変異体の結合親和性は、以下の実施例に記載の方法を用いて評価することができる。

【０１２６】
保存的置換は、「保存的置換」の見出しの下に表３に示されている。「例示的置換」の見出しの下で、そしてアミノ酸側鎖クラスを参照して以下に更に記載されるように、より実質的な変化が表３に提供される。アミノ酸置換は対象の抗体に導入され、生成物は、所

望の活性、例えば、保持された／改善されたＶＥＧＦＲ２結合性、減少した免疫原性、又は改善されたＡＤＣＣもしくはＣＤＣについてスクリーニングされ得る。

表３：保存的置換

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

【０１２７】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの一クラスのメンバーを別のクラスのもと交換することを必要とするであろう。例示的な置換変異体は、親和性成熟抗体であり、例えば本明細書に記載のファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を用いて、簡便に生成することができる。簡潔には、１つ又は複数のＣＤＲ残基が変異され、変異体抗体がファージ上に提示され、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。ＨＶＲにおいて、例えば抗体親和性を改善するために、改変（例えば、置換）を行うことができる。このような改変は、ＨＶＲの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程中に高頻度で変異を受けるコドンにコードされた残基で（例えばChowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)を参照）、及び／又はＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）で行うことができ、得られた変異体ＶＨ又はＶＬは結合親和性について試験される。二次ライブラリーからの構築及び再選択による親和性成熟が、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)に記載されている。

【０１２８】

親和性成熟の幾つかの実施態様において、多様性が、種々の方法（例えば変異性ＰＣＲ、鎖シャッフリング又はオリゴヌクレオチド指定突然変異誘発）の何れかにより、成熟のために選択された可変遺伝子に導入される。次に、二次ライブラリーが作製される。次いで、ライブラリーをスクリーニングして、所望の親和性を有する任意の抗体変異体を同定する。多様性を導入するための別の方法は、幾つかのＨＶＲ残基（例えば、一度に４－６残基）がランダム化されるＨＶＲ指向のアプローチを含む。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突然変異誘発又はモデリングを用いて特異的に同定することができる。特に、ＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３がしばしば標的とされる。

【０１２９】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）によって結合されたヒトＶＥＧＦＲ２の同じエピトープに結合する。特定の実施態様において、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＬＳＳ（配列番号２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；及びアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体であり、ここで該変異体は、配列番号１、２、３、４、５及び／又は６の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む。幾つかの実施態様において、変異体は、配列番号１、２、３、４、５及び／又は６のうちの１つ又は複数において、少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、又は少なくとも１０個のアミノ酸置換を含む。特定の実施態様において、アミノ酸置換は保存的アミノ酸置換である。特定の実施態様において、アミノ酸置換は、抗体が抗原に結合する能力を実質的に低下させない。例えば、ＶＥＧＦＲ２結合親和性を実質的に低下させない保存的改変（例えば、上の表３に記載のように本明細書で提供される保存的置換）を行うことができる。

【０１３０】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＬＳＳ（配列番号２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；及びアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体であり、ここで該変異体は、配列番号１、２、３、４、５及び／又は６の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む。幾つかの実施態様において、変異体は、配列番号１、２、３、４、５及び／又は６のうちの１つ又は複数において、少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、又は少なくとも１０個のアミノ酸置換を含む。特定の実施態様において、アミノ酸置換は保存的アミノ酸置換である。特定の実施態様において、アミノ酸置換は、抗体が抗原に結合する能力を実質的に低下させない。例えば、ＶＥＧＦＲ２結合親和性を実質的に低下させない保存的改変（例えば、上の表３に記載のように本明細書で提供される保存的置換）を行うことができる。抗ＶＥＧＦＲ２抗体変異体の結合親和性は、以下の実施例に記載の方法を用いて評価することができる。

【０１３１】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ヒトＶＥＧＦＲ２に対する第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体の結合を競合的に阻害し、ここで第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；

及びアミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１３２】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体と同じヒトＶＥＧＦＲ２のエピトープに結合し、ここで第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１３３】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体であり、ここで該変異体は、配列番号１、２、３、４、５、及び／又は６の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む。幾つかの実施態様において、変異体は、配列番号１、２、３、４、５及び／又は６のうちの１つ又は複数において、少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、又は少なくとも１０個のアミノ酸置換を含む。特定の実施態様において、アミノ酸置換は保存的アミノ酸置換である。特定の実施態様において、アミノ酸置換は、抗体が抗原に結合する能力を実質的に低下させない。例えば、ＶＥＧＦＲ２結合親和性を実質的に低下させない保存的改変（例えば、上の表３に記載のように本明細書で提供される保存的置換）を行うことができる。

【０１３４】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１３５】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；配列番号２、７、及び８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び配列番号３、９、及び１２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに配列番号４、及び１３－１５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；配列番号５、及び１７－２１からなる群から選択されるアミノ酸配列

を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び配列番号６、及び１０－１１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。本明細書に記載のＣＤＲの配列を以下の表４に示す。

表４

配列番号１	QSLYYRDGYTF	**配列番号８**	RSS	**配列番号１５**	RFSFSTYA
配列番号２	LSS	**配列番号９**	LQGTHWPYT	**配列番号１６**	QSLYYRSGYTF
配列番号３	MQGTHWPYT	**配列番号１０**	KGLWFGEGL	**配列番号１７**	INGSGGAT
配列番号４	GFSFSTYA	**配列番号１１**	KGLWFGEGI	**配列番号１８**	ISGSSGAT
配列番号５	ISGSGGAT	**配列番号１２**	FQGTHWPYT	**配列番号１９**	ISGNGGAT
配列番号６	KGLWFGEGY	**配列番号１３**	GFTFSTYA	**配列番号２０**	ISGSGQAT
配列番号７	QSS	**配列番号１４**	GFPFSTYA	**配列番号２１**	ISGSGGTT

【０１３６】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその抗原結合断片）は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＬＳＳ（配列番号２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１３７】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１３８】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＲＳＳ（配列番号８）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１３９】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＩ（配列番号１１）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４０】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４１】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４２】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４３】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４４】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４５】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４６】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列

番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４７】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号１３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＮＧＳＧＧＡＴ（配列番号１７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４８】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号１３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＮＧＳＧＧＡＴ（配列番号１７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１４９】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＳＧＡＴ（配列番号１８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５０】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＳＧＡＴ（配列番号１８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５１】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＰＦＳＴＹＡ（配列番号１４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＮＧＧＡＴ（配列番号１９）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５２】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＲＦＳＦＳＴＹＡ（

配列番号１５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＱＡＴ（配列番号２０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５３】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５４】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５５】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号１３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＮＧＳＧＧＡＴ（配列番号１７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５６】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号１３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＮＧＳＧＧＡＴ（配列番号１７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５７】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＳＧＡＴ（配列番号１８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５８】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＳＧＡＴ（配列番号１８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ

３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１５９】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＰＦＳＴＹＡ（配列番号１４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＮＧＧＡＴ（配列番号１９）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む。

【０１６０】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、配列番号１０７－１１３の何れか１つに記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、配列番号１１４－１２４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン（V_H）を含む。配列番号１０７－１２４のアミノ酸配列を以下に示す。

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSS**QSLY YRDGYTF**LDWY VQKPGQSPQL
LIY**LSS**KRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS RVEAEDVGVY YC**MQGTHWPYT**
FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSGN (**配列番号** 107)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSS**QSLY YRDGYTF**LDWY VQKPGQSPQL
LIY**QSS**KRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS RVEAEDVGVY YC**MQGTHWPYT**
FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSGN (**配列番号** 108)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSS**QSLY YRDGYTF**LDWY VQKPGQSPQL
LIY**RSS**KRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS RVEAEDVGVY YC**LQGTHWPYT**
FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSGN (**配列番号** 109)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSS**QSLY YRDGYTF**LDWY VQKPGQSPQL
LIY**QSS**KRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS RVEAEDVGVY YC**LQGTHWPYT**
FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSGN (**配列番号** 110)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSS**QSLY YRDGYTF**LDWY VQKPGQSPQL
LIY**QSS**KRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS RVEAEDVGVY YC**FQGTHWPYT**
FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSGN (**配列番号** 111)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSS**QSLY YRSGYTF**LDWY VQKPGQSPQL
LIY**QSS**KRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS RVEAEDVGVY YC**MQGTHWPYT**
FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSGN (**配列番号** 112)

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSS**QSLY YRSGYTF**LDWY VQKPGQSPQL
LIY**QSS**KRDS GVPDRISGSG SGTDFTLRIS RVEAEDVGVY YC**FQGTHWPYT**
FGQGTKLEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSGN (**配列番号** 113)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(**配列番号** 114)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGLWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT

(配列番号115)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGIWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号116)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFTFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
INGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号117)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFTFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
INGSGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGLWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号118)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSSGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号119)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSSGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGLWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号120)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFPFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGNGGATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号121)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**RFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSGQATHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号122)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSGGTTHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号123)

QVQLVQSGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFSFS TYA**MSWVRQA PGKGLEWVSG
ISGSGGTTHY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVN LQMNSLRAED TAVYYCA**KGL**
WFGEGLWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVT
(配列番号124)

【０１６１】
特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１０７に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１０８に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１０９に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１５に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１６に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１５に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１１に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１６２】
特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１１に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１０８に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１５に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１１に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１５に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１６３】
特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１７に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１８に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１９に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１２０に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１０８に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１２１に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１２に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１２２に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１２に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１２３に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗Ｖ

ＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１２に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１２４に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１６４】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１７に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１８に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１６５】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１１９に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１０に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１２０に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１０８に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び配列番号１２１に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１６６】

重鎖及び軽鎖可変ドメインは、可能な全ての対合の組み合わせで組み合わせて、幾つかの抗ＶＥＧＦＲ２抗体を生成する。

【０１６７】

特定の実施態様において、抗体は、ヒトＩｇＧ、例えばヒトＩｇＧ１又はヒトＩｇＧ４のＦｃ配列を含む。特定の実施態様において、Ｆｃ配列は、しばしばＦｃ受容体（ＦｃＲ）への結合に関連する抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）エフェクター機能を欠如するように改変されるか又はそうでなければ変化している。エフェクター機能を改変し得るＦｃ配列に対する変化又は突然変異の多くの例が存在する。例えば、国際公開第００／４２０７２号及びShields et al. J Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001) は、ＦｃＲへの結合が改善又は減少した抗体変異体を記載している。これらの出版物の内容は出典明示により本明細書に援用される。抗体は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ）’２、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、Ｆｖ断片；ダイアボディ及び直鎖状抗体の形態であり得る。また、抗体は、ＥＧＦＲに結合するが、１つ以上の他の標的に結合し、それらの機能を阻害する多重特異性抗体であってもよい。抗体は、治療剤（例えば、細胞傷害性剤、放射性同位元素及び化学療法剤）又は患者試料中若しくはインビボで画像化（例えば、放射性同位元素、蛍光色素及び酵素）によりＶＥＧＦＲ２を検出するための標識にコンジュゲートさせることができる。

【０１６８】

抗ＶＥＧＦＲ２抗体をコードする核酸分子、本明細書に記載のＣＤＲ及び／又は重鎖可変ドメイン及び／又は軽鎖可変ドメインをコードする核酸分子を含む発現ベクター並びに核酸分子を含む細胞もまた意図される。これらの抗体は、本明細書中に記載される療法において、かつ患者試料中のＶＥＧＦＲ２タンパク質を（例えば、ＦＡＣＳ、免疫組織化学（ＩＨＣ）、ＥＬＩＳＡアッセイを介して）検出するために使用することができる。

【０１６９】

機能特性

特定の実施態様において、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＶＥＧＦＲ１／ＦＬＴ１又はＶＥＧＦＲ３／ＦＬＴ４／ＰＣＬ／Ｃｈｙのような、ＶＥＧＦＲ２の相同体に対して有するよりも、ＶＥＧＦＲ２に対して強い結合親和性を有する。通常、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＶＥＧＦＲ２に「特異的に結合する」（すなわち、約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、好ましくは約１×１０$^{-8}$Ｍ以下、最も好ましくは約１×１０$^{-9}$Ｍ以下の結合親和性（Ｋｄ）値を有する）が、ＶＥＧＦＲ２に対するその結合親和性よりも少なくとも約５０倍、又は少なくとも約５００倍、又は少なくとも約１０００倍弱い、ＶＥＧＦＲ２ファミリーのメンバーに対する結合親和性を有する。特定の実施

態様において、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、１×１０$^{-9}$Ｍ未満のＫｄを有する。ＶＥＧＦＲ２に特異的に結合する抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、上で定義した様々な型の抗体の何れでもあり得るが、好ましくはヒト化又はヒト抗体である。

【０１７０】

幾つかの実施態様において、非標的タンパク質（ＶＥＧＦＲ１／ＦＬＴ１又はＶＥＧＦＲ３／ＦＬＴ４／ＰＣＬ／Ｃｈｙなど）に対する抗ＶＥＧＦＲ２抗体の結合の程度は、ＥＬＩＳＡ、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）分析、又はラジオイムノ沈降（ＲＩＡ）などの当技術分野で周知の方法によって決定されるように、抗体のＶＥＧＦＲ２への結合の約１０％未満である。特異的結合は、例えば、一般には結合活性を有さない類似の構造の分子である対照分子の結合と比較した分子の結合を測定することによって測定することができる。例えば、特異的結合は、標的、例えば標識していない過剰な量の標的に類似した対照分子との競合により決定することができる。この場合、標識された標的のプローブへの結合が、過剰の非標識の標的によって競合的に阻害される場合、特異的結合が示される。本明細書で使用される特定のポリペプチド又は特定のポリペプチド標的上のエピトープに対する「特異的結合」又は「に特異的に結合する」又は「に特異的である」といった用語は、例えば、少なくとも約１０$^{-4}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-5}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-6}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-7}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-8}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-9}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-10}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-11}$Ｍ、あるいは少なくとも約１０$^{-12}$Ｍ、又はそれ以上の標的に対するＫｄを有する分子によって示され得る。一実施態様では、用語「特異的な結合」は、分子が他のいかなるポリペプチド又はポリペプチドエピトープに実質的に結合せずに特定のポリペプチド又は特定のポリペプチド上のエピトープに結合する結合を指す。

【０１７１】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＶＥＧＦＲ３にも結合する。

【０１７２】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、約０．１ｐＭから２００ｐＭ（０．２ｎＭ）の間のＫｄ、例えば、約０．１ｐＭ、約０．２５ｐＭ、約０．５ｐＭ、約０．７５ｐＭ、約１ｐＭ、約５ｐＭ、約１０ｐＭ、約２０ｐＭ、約３０ｐＭ、約４０ｐＭ、約５０ｐＭ、約６０ｐＭ、約７０ｐＭ、約８０ｐＭ、約９０ｐＭ、約１００ｐＭ、約１１０ｐＭ、約１２０ｐＭ、約１３０ｐＭ、約１４０ｐＭ、約１５０ｐＭ、約１６０ｐＭ、約１７０ｐＭ、約１８０ｐＭ、約１９０ｐＭ、又は約１９０ｐＭを超える）（これらの値の間の任意の範囲を含む）でヒトＶＥＧＦＲ２に結合する。特定の実施態様において、ＶＥＧＦＲ２に対する抗ＶＥＧＦＲ２抗体の結合親和性は、ＶＥＧＦＲ２に対する１１２１Ｂ（米国特許出願公開第２００９／０３０６３４８号）又は１１２１Ｎ（米国特許第７，４９８，４１４号）の結合親和性よりも、約１％、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、約１００％、又は約１００％超高い（例えば、約１０５％、約１１０％、約１２０％又は約１３０％）。特定の実施態様において、ＶＥＧＦＲ２に対する抗ＶＥＧＦＲ２の結合親和性は、ＶＥＧＦＲ２に対する１１２１Ｂ（米国特許出願公開第２００９／０３０６３４８号）又は１１２１Ｎ（米国特許第７，４９８，４１４号）の結合親和性よりも、約１．１倍、約１．２倍、約１．３倍、約１．４倍、約１．５倍、約１．６倍、約１．７倍、約１．８倍、約１．９倍、約２倍、約２．２５倍、約２．５倍、約２．７５倍、約３倍、約３．２５倍、約３．５倍、約３．７５倍、約４倍、約４．２５倍、約４．５倍、約４．７５倍、又は約４．７５倍超高い（これらの値の間の任意の範囲を含む）。

【０１７３】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ヒト臍帯静脈内皮細胞（ＨＵＶＥＣＳ）に結合する。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＨＵＶＥＣ管形成を阻害する。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＨＵＶＥＣ遊走を阻害する。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＨＵＶＥＣ生存を阻害する。特定の実施態

様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＨＵＶＥＣ増殖を阻害する。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＨＵＶＥＣ発芽を阻害する。

【０１７４】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はインビトロで血管新生を阻害する。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はインビボで血管新生を阻害する。

【０１７５】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＶＥＧＦ－Ｃ刺激ヒトリンパ内皮細胞（ＨＬＥＣ）の増殖を阻害する。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ－２リン酸化を阻害する。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体はまた、ＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ－３リン酸化を阻害する。

【０１７６】

モノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、例えば、Kohler and Milstein、Nature、256:495(1975)に記載されているようなハイブリドーマ法を用いて調製することができ、又は組換えＤＮＡ法（米国特許第４８１６５６７号）若しくは以下の実施例において本明細書に記載の方法により作製することができる。ハイブリドーマ法においては、ハムスター、マウス、又は他の適切な宿主動物は、免疫剤に特異的に結合するであろう抗体を産生する、又は産生することができるリンパ球を誘発するために、免疫剤で典型的に免疫される。別法として、リンパ球をインビトロで免疫することもできる。

【０１７７】

免疫剤は、典型的には、目的のタンパク質のポリペプチド若しくは融合タンパク質又はタンパク質を含む組成物を含む。一般には、ヒト起源の細胞が所望される場合には、末梢血リンパ球（「ＰＢＬ」）が使用され、又は非ヒト哺乳動物供給源が所望される場合は、脾臓細胞又はリンパ節細胞が使用される。次いで、ポリエチレングリコールなどの適切な融合剤を用いてリンパ球を不死化細胞株と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成させる。Goding, MONOCLONAL ANTIBODIES: PRINCIPLES AND PRACTICE (New York: Academic Press, 1986), pp. 59-103。不死化細胞株は、通常、形質転換された哺乳動物細胞、特にげっ歯類、ウシ及びヒト起源の骨髄腫細胞である。通常、ラット又はマウス骨髄腫細胞株が使用される。ハイブリドーマ細胞は、融合されていない不死化細胞の増殖又は生存を阻害する１つ又は複数の物質を好ましくは含有する好適な培地で培養することができる。例えば、親細胞が酵素ヒポキサンチングアニジンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴ又はＨＰＲＴ）を欠失するならば、ハイブリドーマのための培地は、典型的には、ＨＧＰＲＴ欠失細胞の増殖を妨げる物質であるヒポキサンチン、アミノプテリン及びチミジンを含むであろう（ＨＡＴ培地）。

【０１７８】

好適な不死化細胞株は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定な高レベルの発現を支援し、ＨＡＴ培地などの培地に対して感受性である細胞である。より好適な不死化細胞株は、例えば、カリフォルニア州サンディエゴのＳａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ及びバージニア州マナッサスのアメリカンタイプカルチャーコレクションから得ることができるマウス骨髄腫株である。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記載されている。Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al. MONOCLONAL ANTIBODY PRODUCTION TECHNIQUES AND APPLICATIONS (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987) pp. 51-63。

【０１７９】

次いで、ハイブリドーマ細胞が培養される培養培地を、ポリペプチドに対するモノクローナル抗体の存在についてアッセイすることができる。ハイブリドーマ細胞により産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降又はインビトロ結合検定、例えばラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）又は酵素結合免疫吸着検定（ＥＬＩＳＡ）によって測定することができる。そのような技術及びアッセイは、当技術分野で周知である。モノクローナ

ル抗体の結合親和性は、例えば、Scatchard analysis of Munson and Pollard, Anal. Biochem., 107:220 (1980)のスキャッチャード分析によって決定することができる。

【０１８０】

所望のハイブリドーマ細胞が同定された後、限界希釈法によってクローンをサブクローニングし、標準的な方法で増殖させることができる。Ｇｏｄｉｎｇ、上記。この目的に対して好適な培地は、例えば、ダルベッコ改変イーグル培地及びＲＰＭＩ－１６４０培地を含む。あるいは、ハイブリドーマ細胞は、哺乳類の腹水としてインビボで増殖させることができる。

【０１８１】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、プロテイン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、又はアフィニティークロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製手順によって培養培地又は腹水から単離又は精製することができる。

【０１８２】

モノクローナル抗体は、米国特許第４８１６５６７号に記載されているような組換えＤＮＡ法によっても作製することができる。本明細書で提供されるモノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、（例えば、マウス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することによって）従来の手順を用いて容易に単離及び配列決定することができる。本明細書で提供されるハイブリドーマ細胞は、そのようなＤＮＡの好ましい供給源としての役割を果たす。ひとたび単離されたならば、ＤＮＡを発現ベクター中に入れ、ついでこれを、この状況以外ではイムノグロブリンタンパク質を産生しない、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、又は骨髄腫細胞のような宿主細胞中に形質移入し、組換え宿主細胞におけるモノクローナル抗体の合成を獲得することができる。ＤＮＡは、また例えばヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード化配列を相同的マウス配列に代えて置換することにより（米国特許第４８１６５６７号；Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、上記）、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全部又は一部を共有結合させることによって、修飾することができる。そのような非免疫グロブリンポリペプチドは、本明細書で提供される抗体の定常ドメインと置換することができ、又はキメラ二価抗体を作製するために本明細書で提供される抗体の１つの抗原結合部位の可変ドメインと置換することができる。

【０１８３】

抗体は、一価抗体であり得る。一価抗体を調製するための方法は、当技術分野で周知である。例えば、１つの方法は、免疫グロブリン軽鎖及び修飾された重鎖の組換え発現を含む。重鎖は、重鎖の架橋を防止するために、Ｆｃ領域の任意の点で一般的に切断される。あるいは、関連するシステイン残基を別のアミノ酸残基で置換するか、又は架橋を防止するために欠失させる。

【０１８４】

インビトロ法はまた、一価抗体を調製するために適している。抗体断片、特にＦａｂ断片を産生するための抗体の消化は、限定されないが、当技術分野で周知の技術を用いて達成され得る。

【０１８５】

ヒト及びヒト化抗体

抗体は、ヒト化抗体又はヒト抗体であり得る。非ヒト（例えばマウス）抗体のヒト化型とは、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又はその断片（例えばＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$あるいは抗体の他の抗原結合サブ配列）であって、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を典型的に含むものである。ヒト化抗体はレシピエントのＣＤＲ由来の残基が、マウス、ラット又はウサギのような所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種（ドナー抗体）のＣＤＲ由来の残基によって置換されたヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）を含む。幾つかの例では、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレーム

ワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置換されている。また、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入されたＣＤＲもしくはフレームワーク配列にも見出されない残基を含むことができる。一般に、ヒト化抗体は、全てあるいは実質的に全てのＣＤＲ領域が非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、全てあるいは実質的に全てのＦＲ領域がヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである少なくとも一つ、典型的には二つの可変ドメインの実質的に全てを含むことができる。ヒト化抗体は、好ましくは、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのそれも含むであろう。Jones et al. Nature, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988); Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992)。

【０１８６】

一般に、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入された１つ以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。一実施態様によれば、ヒト化は、Ｗｉｎｔｅｒ及び共同研究者（Jones et al. Nature, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al. Nature, 332: 323-327 (1988); Verhoeyen et al. Science, 239: 1534-1536 (1988)）の方法に従って、げっ歯類のＣＤＲ又はＣＤＲ配列をヒト抗体の対応する配列に置換することによって本質的に実施することができる。従って、このような「ヒト化」抗体は、インタクトなヒト可変ドメインより実質的に少ない分が非ヒト種由来の対応する配列で置換された抗体（米国特許第４８１６５６７号）である。実際には、ヒト化抗体は、典型的には、幾つかのＣＤＲ残基及び場合によっては幾つかのＦＲ残基が、げっ歯類抗体の類似部位由来の残基によって置換されているヒト抗体である。

【０１８７】

ヒト化の代わりに、ヒト抗体を生成することができる。例えば、内在性免疫グロブリン産生の非存在下で、免疫化により、ヒト抗体の完全なレパートリーを産生することが可能なトランスジェニック動物（例えば、マウス）を生み出すことが現在では可能である。例えば、キメラ及び生殖系列突然変異体マウスにおける抗体重鎖結合領域（ＪＨ）遺伝子のホモ接合型欠失は、内因性抗体産生の完全な阻害をもたらすことが記載されている。そのような生殖系列突然変異体マウスへのヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子アレイの移入は、抗原チャレンジ時にヒト抗体の産生をもたらすであろう。例えば、Jakobovits et al. PNAS USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993); Bruggemann et al. Year in Immunol., 7:33 (1993)；米国特許第５５４５８０６号、第５５６９８２５号、第５５９１６６９号；第５５４５８０７号；及び国際公開第９７／１７８５２号を参照。あるいは、ヒト免疫グロブリン遺伝子座をトランスジェニック動物、例えば内在性免疫グロブリン遺伝子が部分的又は完全に不活性化されたマウスに導入することによって、ヒト抗体を作製することができる。チャレンジすると、遺伝子再構成、アセンブリ、及び抗体レパートリーを含む、ヒトの全ての点で見られるものに非常に類似したヒト抗体産生が観察される。このアプローチは、例えば、米国特許第５５４５８０７号；第５５４５８０６号；第５５６９８２５号；第５６２５１２６号；第５６３３４２５号；及び第５６６１０１６号、並びにMarks et al., Bio/Technology, 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature, 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature, 368: 812-813 (1994); Fishwild et al. Nature Biotechnology, 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology, 14: 826 (1996); Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol., 13: 65-93 (1995)に記載されている。

【０１８８】

あるいは、ファージディスプレイ技術（McCafferty et al., Nature 348:552-553 [1990]）を使用して、免疫化されていないドナー由来の免疫グロブリン可変（Ｖ）ドメイン遺伝子レパートリーからヒト抗体及び抗体断片をインビトロで産生させることができる。この技術の一実施態様によれば、抗体Ｖドメイン配列は、繊維状バクテリオファージ、例えばＭ１３又はｆｄのメジャー又はマイナーコートタンパク質遺伝子の何れかにインフレームでクローニングされ、ファージ粒子の表面上に機能的抗体断片として提示される。ファ

ージディスプレイは、例えば以下の実施例の項で説明するように、又は例えば、Johnson, Kevin S.及びChiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)に総説されたように、様々なフォーマットで実施することができる。Ｖ遺伝子セグメントの幾つかの供給源がファージディスプレイのために使用可能である。Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)は、免疫マウスの脾臓に由来するＶ遺伝子の小さなランダムコンビナトリアルライブラリーから抗オキサゾロン抗体の多様なアレイを単離した。免疫化されていないヒトドナー由来のＶ遺伝子のレパートリーを構築することができ、抗原（自己抗原を含む）の多様なアレイに対する抗体をMarks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)、又はGriffith et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)に記載の技術に本質的に従って単離することができる。また、米国特許第５５６５３３２号及び同５５７３９０５号を参照のこと。

【０１８９】

上で論じた通り、ヒト抗体はインビトロで活性化されたＢ細胞によって産生され得る（米国特許第５５６７６１０号及び同第５２２９２７５号を参照のこと）。

【０１９０】

ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリーを含む、当技術分野で周知の様々な技術を用いて産生することができる。Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581 (1991)。Ｃｏｌｅら及びＢｏｅｒｎｅｒらの技術はヒトモノクローナル抗体の調製にも利用可能である。Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)及びBoerner et al., J. Immunol., 147(1): 86-95 (1991)。

【０１９１】

多重特異性抗体

多重特異性抗体は、２つ以上の異なる抗原に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体、好ましくはヒト又はヒト化抗体である（例えば、二重特異性抗体は少なくとも２つの抗原に対する結合特異性を有する）。例えば、結合特異性の１つはａ５－１タンパク質のためのものであり、他方は任意の他の抗原のためのものであり得る。１つの好ましい実施態様によれば、他の抗原は細胞表面タンパク質又は受容体又は受容体サブユニットである。例えば、細胞表面タンパク質は、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞受容体であり得る。従って、一実施態様によれば、本発明の二重特異性抗体は、ＶＥＧＦＲ２及び例えば第２の細胞表面受容体の両方に結合することができる。

【０１９２】

二重特異性抗体を作製するための適切な方法は、当技術分野において周知である。例えば、二重特異性抗体の組換え産生は、２つの重鎖が異なる特異性を有する２つの免疫グロブリン重鎖／軽鎖対の同時発現に基づいている。Milstein and Cuello, 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に、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は、１０種の異なる抗体分子の潜在的な混合物を生成し、そのうちの１つだけが正しい二重特異性構造を有する。正しい分子の精製は、通常、アフィニティークロマトグラフィー工程によって達成される。類似の手順が国際公開第９３／０８８２９号、及びTraunecker et al., EMBO, 10: 3655-3659 (1991)に開示されている。

【０１９３】

所望の結合特異性（抗体－抗原結合部位）を有する抗体可変ドメインは、免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合することができる。融合は、好ましくは、ヒンジの少なくとも一部、ＣＨ２及びＣＨ３領域を含むイムノグロブリン重鎖定常ドメインとである。軽鎖の結合に必要な部位を含む第一の重鎖定常領域（ＣＨ１）を、融合体の少なくとも一つに存在させることが望ましい。免疫グロブリン重鎖融合体及び必要に応じて免疫グロブリン軽鎖をコードするＤＮＡを別々の発現ベクターに挿入し、適切な宿主生物に同時トランスフェクトする。二重特異性抗体を産生する更なる詳細については、例えばSuresh et al., Methods in Enzymology, 121: 210 (1986)を参照のこと。

【０１９４】

組換え細胞培養物から二重特異性抗体断片を直接作製及び単離するための種々の技術も記載されている。例えば、二重特異性抗体はロイシンジッパーを使用して生産されている。Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)。Ｆｏｓ及びＪｕｎタンパク質からのロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合により二つの異なった抗体のＦａｂ’部分に結合させた。抗体ホモ二量体をヒンジ領域で還元してモノマーを形成し、次いで再酸化して抗体ヘテロダイマーを形成した。この方法は、抗体ホモ二量体の産生のために利用することもできる。Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)によって記載された「ダイアボディ」技術は、二重特異性抗体断片を作製するための代替の機構を提供している。断片は、同じ鎖上の２つのドメイン間の対形成を可能にするには短すぎるリンカーによってＶＬに連結されたＶＨを含む。従って、一方の断片のＶＨ及びＶＬドメインは、別の断片の相補的なＶＬ及びＶＨドメインと強制的に対を形成し、それによって２つの抗原結合部位を形成する。一本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体の使用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。

【０１９５】

３価以上の抗体が考えられる。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)。

【０１９６】

ヘテロコンジュゲート抗体

ヘテロコンジュゲート抗体は、２つの共有結合した抗体から構成される。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不要な細胞に対してターゲティングさせるため［米国特許第４６７６９８０号］及びＨＩＶ感染の治療のために提案されている。国際公開第９１／００３６０号；国際公開第９２／２００３７３号；欧州特許第０３０８９号。この抗体は、架橋剤を含むものを含む合成タンパク質化学における既知の方法を用いてインビトロで調製することができると考えられる。例えば、免疫毒素は、ジスルフィド交換反応を用いて、又はチオエーテル結合を形成することによって構築することができる。この目的に対して好適な試薬の例には、イミノチオレート及びメチル－４－メルカプトブチルイミダート、及び例えば米国特許第４６７６９８０号に開示されたものが含まれる。

【０１９７】

エフェクター機能工学

がん（例えば、結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍）又は眼球疾患（例えば、本明細書の他の箇所に記載されているもの）などの過剰な血管新生に関連する病的状態を治療する際の抗体の有効性を高めるように、エフェクター機能に関して本明細書で提供される抗体を修飾することが望ましい。例えば、例えば、システイン残基をＦｃ領域に導入することができ、それによってこの領域内に鎖間ジスルフィド結合を形成させることができる。このようにして生成されたホモ二量体抗体は、改善された内在化能力及び／又は補体媒介性細胞死滅並びに抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を有することができる。Caron et al., J. Exp. Med., 176: 1191-1195 (1992)及びShapes, J. Immunol., 148: 2918-2922 (1992)を参照。増強された抗腫瘍活性を有するホモ二量体抗体は、Wolff et al., Cancer Research, 53: 2560-2565 (1993)に記載されているようなヘテロ二官能性架橋剤を用いて調製することもできる。あるいは、二重のＦｃ領域を有し、それによって亢進された補体溶解及びＡＤＣＣ能を有することができるように抗体を操作することができる。Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design: 219-230 (1989)を参照。

【０１９８】

Ｆｃ領域の配列の変異又は改変は、ＦｃＲ結合（例えば、ＦｃγＲ、ＦｃＲｎ）を改善するために行うことができる。一実施態様によれば、本発明の抗体は、天然型ＩｇＧ又は親抗体と比較して、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ、及び改善されたＦｃＲｎ結合からなる群から選択される少なくとも１つの変化したエフェクター機能を有する。幾つかの有用な特異的変異の例は、例えば、Shields, RL et al. (2001) JBC 276(6)6591-6604; Presta, L.G., (20

02) Biochemical Society Transactions 30(4):487-490；及び国際公開第００／４２０７２号に記載される。

【０１９９】

一実施態様によれば、Ｆｃ受容体変異は、Ｆｃ領域の３８、２３９、２４６、２４８、２４９、２５２、２５４、２５５、２５６、２５８、２６５、２６７、２６８、２６９、２７０、２７２、２７６、２７８、２８０、２８３、２８５、２８６、２８９、２９０、２９２、２９３、２９４、２９５、２９６、２９８、３０１、３０３、３０５、３０７、３０９、３１２、３１５、３２０、３２２、３２４、３２６、３２７、３２９、３３０、３３１、３３２、３３３、３３４、３３５、３３７、３３８、３４０、３６０、３７３、３７６、３７８、３８２、３８８、３８９、３９８、４１４、４１６、４１９、４３０、４３４、４３５、４３７、４３８又は４３９からなる群から選択される少なくとも１つの位置での置換であり、ここでＦｃ領域の残基の番号付けはＥＵ番号付けシステムに従う。幾つかの実施態様において、Ｆｃ受容体変異はＤ２６５Ａ置換である。幾つかの実施態様において、Ｆｃ受容体変異はＮ２９７Ａ置換である。更なる適切な変異は、米国特許第７，３３２，５８１号に記載されている。

【０２００】

特定の実施態様において、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、アフコシル化される（afucosylated）（すなわち、「アフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体」又は「非フコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体」）。「アフコシル化抗体」又は「非フコシル化抗体」とは、Ａｓｎ２９７でのＦｃ領域のグリコシル化パターンが改変され、フコース残基の量が低下しているＩｇＧ１又はＩｇＧ３アイソタイプの抗体を指す。ヒトＩｇＧ１又はＩｇＧ３のグリコシル化は、コアフコシル化された二分岐複合オリゴ糖のグリコシル化が最大２つのＧａｌ残基で終結している場合、Ａｓｎ２９７で生じる。これらの構造は、末端Ｇａｌ残基の量に応じて、ＧＯ、Ｇ１（ａ１，６又はａ１，３）、又はＧ２グリカン残基と命名される（Raju, T.S., Bioprocess Int. 1(2003) 44-53）。抗体のＦｃ部分のＣＨＯ型グリコシル化は、例えば、Routier, F.H., Glycoconjugate J. 14(1997) 201-207により記載されている。非糖修飾されたＣＨＯ宿主細胞で組換えにより発現している抗体は、通常、少なくとも８５％の量で、Ａｓｎ２９７でフコシル化されている。特定の実施態様において、本明細書で提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、低下したレベルのフコース残基を有する。特定の実施態様において、本明細書において提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、そのグリコシル化パターンにおいてフコースを有しない。抗体における典型的なグリコシル化残基の位置は、ＥＵ番号付けシステムに従って位置２９７のアスパラギン（「Ａｓｎ２９７」）であることが一般に知られている。

【０２０１】

従って、特定の実施態様において、本明細書において提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、そのグリコシル化パターンにおいて低下したレベルのフコース残基を有するか又はフコースを有しないように、改変されるか又はさもなければ変化したＦｃ配列を含む。特定の実施態様において、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＥＵ番号付けシステムに従って位置２９７に改変を有するＦｃ配列を含む。

【０２０２】

特定の実施態様において、本明細書において提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、低又はアフコシル化グリカンを産生することができる宿主細胞によって産生される。アフコシル化抗体を産生することができる安定な哺乳動物宿主細胞株が樹立されており、例えば、Yamane-Ohnuki et al. (2004) Biotechnol Bioeng. 87, 614-622; Mori et al. (2004) Biotechnol Bioeng. 88, 901-908; Kanda et al (2006) Biotechnol Bioeng. 94, 680-688; Kanda (2007) J Biotechnol. 130, 300-310; Imai-Nishiya (2007) BMC Biotechnol 7, 84; Yamane-Ohnuki and Satoh (2009) mAbs 1, 230-236に記載される。特定の実施態様において、本明細書において提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ｂ（１，４）－Ｎ－アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼＩＩＩ活性を発現するように操作された糖修飾宿主細胞において発現される。特定の実施態様において、本明細書

において提供されるアフコシル化抗ＥＧＦＲ抗体は、１，６－フコシルトランスフェラーゼ活性が減少又は消失した糖修飾宿主細胞において発現される。糖修飾された宿主細胞の生産に関する詳細については、例えば、米国特許第６９４６２９２号を参照されたい。抗体のフコシル化の量は、例えば、発酵条件（例えば発酵時間）によって又はフコシル化した量が異なる少なくとも二つの抗体の組み合わせによっての何れかにより、予め決定することができる。このようなアフコシル化抗体及びそれぞれの糖操作方法は、国際公開第２００５／０４４８５９号、国際公開第２００４／０６５５４０号、国際公開第２００７／０３１８７５号、Umana et al., Nature Biotechnol. 17 (1999) 176-180、国際公開第９９／１５４３４２号、国際公開第２００５／０１８５７２号、国際公開第２００６／１１６２６０号、国際公開第２００６／１１４７００号、国際公開第２００５／０１１７３５号、国際公開第２００５／０２７９６６号、国際公開第９７／０２８２６７、米国特許出願公開第２００６／０１３４７０９号、米国特許出願公開第２００５／００５４０４８号、米国特許出願公開第２００５／０１５２８９４号、国際公開第２００３／０３５８３５号、国際公開第２０００／０６１７３９号に記載されている。これらの糖操作された抗体は、増加したＡＤＣＣを有する。本発明によるアフコシル化抗体を産生する他の糖鎖工学方法は、例えば、Niwa, R. et al., J. Immunol. Methods 306 (2005) 151-160; Shinkawa, T., et al., J. Biol. Chem, 278 (2003) 3466-3473；国際公開第０３／０５５９９３号又は米国特許出願公開第２００５／０２４９７２２号に記載される。

【０２０３】

特定の実施態様において、本明細書で提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、インビトロ技術を用いて産生される。特定の実施態様において、本明細書で提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、化学的に合成される。（例えば、単球走化性タンパク質３（ＭＣＰ－３）の非フコシル化形態の化学合成を記載しているYamamoto et al. (2008) JACS 130, 501-510を参照されたい）。特定の実施態様において、本明細書で提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、ＩｇＧ上のフコース残基を除去するためにフコシダーゼを使用することによって産生される。（例えば、Yazawa et al. (1986) Biochem Biophys Res Commun. 136, 563-569を参照）。

【０２０４】

特定の実施態様において，本明細書で提供されるアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、当業者に周知のアッセイによって示されるように、フコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体と比較して，抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）エフェクター機能を改善している。例えば、Suzuki et al. (2007) Clin Cancer Res 13, 1875を参照。例えば、特定の実施態様において、本明細書に記載のアフコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＡＤＣＣエフェクター機能活性は、フコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＡＤＣＣエフェクター機能活性の少なくとも約１４０％、少なくとも約１５０％、少なくとも約１６０％、少なくとも約１７０％、少なくとも約１８０％、少なくとも約１９０％、少なくとも約１９０％、少なくとも約２００％、少なくとも約２１０％、少なくとも約２２０％、少なくとも約２３０％、少なくとも約２４０％、少なくとも約２５０％、少なくとも約２６０％、少なくとも約２７０％、少なくとも約２８０％、少なくとも約２９０％、又は少なくとも約３００％であり、これらの値の間の任意の範囲を含む。特定の実施態様において、本明細書に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＡＤＣＣエフェクター機能活性は、フコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＡＤＣＣエフェクター機能活性の約３００％超であり、フコシル化抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＡＤＣＣエフェクター機能活性の少なくとも約３５０％、少なくとも約３６０％、少なくとも約３７０％、少なくとも約３８０％、少なくとも約３９０％、少なくとも約４００％、少なくとも約４１０％、少なくとも約４２０％、少なくとも約４３０％、少なくとも約４４０％、少なくとも約４５０％、少なくとも約４６０％、少なくとも約４７０％、少なくとも約４８０％、少なくとも約４９０％、少なくとも約５００％、少なくとも約５１０％、少なくとも約５２０％、少なくとも約５３０％、少なくとも約５４０％、少なくとも約５５０％、少なくとも約５６０％、少なくとも約５７０％、少なくとも約５８０％、少なくとも約５９０％、又は少なくとも約６００％を含み、これらの値の間の任意の範囲を含む。

【０２０５】
イムノコンジュゲート
本発明はまた、化学療法剤、毒素（例えば、細菌、真菌、植物又は動物起源の酵素的に活性な毒素、又はその断片）などの細胞傷害性剤、あるいは放射性同位体（すなわち、放射性コンジュゲート）にコンジュゲートした抗体を含むイムノコンジュゲートに関する。
【０２０６】
使用可能な酵素的に活性な毒素及びその断片には、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素Ａ鎖（シュードモナス・アエルギノーサ（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ　ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）由来）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシン（ｍｏｄｅｃｃｉｎ）Ａ鎖、アルファ－サルシン（ｓａｒｃｉｎ）、アレウライツ・フォルディイ（Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ　ｆｏｒｄｉｉ）プロテイン、ジアンチンタンパク質、フィトラッカ・アメリカーナ（Ｐｈｙｔｏｌａｃａ　ａｍｅｒｉｃａｎａ）プロテイン（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ及びＰＡＰ－Ｓ）、モモルディカ・キャランティア（ｍｏｍｏｒｄｉｃａ　ｃｈａｒａｎｔｉａ）阻害剤、クルシン（ｃｕｒｃｉｎ）、クロチン、サパオナリア（ｓａｐａｏｎａｒｉａ）オフィシナリス阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン（ｍｉｔｏｇｅｌｌｉｎ）、レストリクトシン（ｒｅｓｔｒｉｃｔｏｃｉｎ）、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコテシン（ｔｒｉｃｏｔｈｅｃｅｎｅｓ）が含まれる。放射性コンジュゲート抗体の生成には、様々な放射性ヌクレオチドが利用可能である。例として、^{212}Ｂｉ、^{131}Ｉ、^{131}Ｉｎ、^{90}Ｙ、及び^{186}Ｒｅが挙げられる。このようなイムノコンジュゲートの生成に有用な例示的な化学療法剤としては、本明細書の他の箇所に記載されているものが挙げられる。
【０２０７】
抗体及び細胞傷害性剤の複合体は、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオール）プロピオナート（ＳＰＤＰ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能性誘導体（ジメチルアジピミデートＨＣＬ等）、活性エステル（ジスクシンイミジルスベレート等）、アルデヒド（グルタルアルデヒド等）、ビス－アジド化合物（ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン等）、ビスジアゾニウム誘導体（ビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミン等）、ジイソシアネート（トリエン２，６－ジイソシアネート等）、及びビス－活性フッ素化合物（１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン等）を用いて作製される。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science, 238: 1098 (1987)に記載されているように調製することができる。炭素１４標識１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、抗体への放射性ヌクレオチドのコンジュゲーションのための例示的なキレート剤である。国際公開第９４／１１０２６号を参照。
【０２０８】
別の実施態様では、腫瘍プレターゲティングに利用するために、抗体を「受容体」（例えば、ストレプトアビジン）に結合させることができ、ここでは抗体－受容体コンジュゲートを患者に投与し、続いてクリアリング剤を用いて循環から未結合コンジュゲートを除去し、次いで細胞傷害性剤（例えば放射性ヌクレオチド）にコンジュゲートした「リガンド」（例えばアビジン））を投与する。
【０２０９】
共有結合性修飾
抗ＶＥＧＦＲ２抗体及びその断片の共有結合性修飾は、本発明の範囲内に含まれる。共有結合性修飾の１つのタイプは、ポリペプチドの標的化アミノ酸残基を、ポリペプチドの選択された側鎖又はＮ－又はＣ－末端残基と反応することができる有機誘導体化剤と反応させることを含む。二官能性薬剤による誘導体化は、例えば、抗体を精製するための方法における使用のためにポリペプチドを水不溶性支持マトリックス又は表面に架橋するのに有用であり、逆もまた同様である。一般に用いられる架橋剤は、例えば、１，１－ビス（ジアゾアセチル）－２－フェニルエタン、グルタルアルデヒド、Ｎ－ヒドロキシスクシン

イミドエステル、例えば４－アジドサリチル酸とのエステル、３，３’－ジチオビス（スクシンイミジル－プロピオナート）のようなジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性イミドエステル、ビス－Ｎ－マレイミド－１，８－オクタンのような二官能性マレイミド、及びメチル－３－［（ｐ－アジドフェニル）－ジチオ］プロピオイミダートなどの薬剤が挙げられる。

【０２１０】

他の修飾は、グルタミニル残基及びアスパラギニル残基の、それぞれ対応するグルタミル残基及びアスパルチル残基への脱アミド化、プロリン及びリジンのヒドロキシル化、セリル又はトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン、アルギニン、及びヒスチジン側鎖のα－アミノ基のメチル化［T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983)］、Ｎ末端アミンのアセチル化、並びに任意のＣ末端カルボキシル基のアミド化を含む。

【０２１１】

他の修飾には、メイタンシン及びメイタンシノイド、カリケアマイシン並びに他の細胞傷害性剤のようなアンタゴニストへの毒素のコンジュゲーションが含まれる。

【０２１２】

ポリペプチドの共有結合性修飾の別のタイプは、ポリペプチドを種々の非タンパク質様ポリマーの一つ、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、又はポリオキシアルキレンへ、米国特許第４６４０８３５号；第４４９６６８９号；第４３０１１４４号；第４６７０４１７号；第４７９１１９２号又は第４１７９３３７号に記載された方法で結合させることを含む。

【０２１３】

キメラ分子

本発明の抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）は、別の異種ポリペプチド又はアミノ酸配列（例えば、イムノアドヘシン又はペプチボディ）に融合されたポリペプチドを含むキメラ分子を形成する方法において有利であれば修飾することもできる。

【０２１４】

一実施態様において、このようなキメラ分子は、例えば、ヒト免疫不全ウイルスＴＡＴタンパク質のタンパク質導入ドメインを用いて、ポリペプチドと、そのポリペプチドを様々な組織へ、より具体的には脳血液関門を越えて送達するための標的とするタンパク質導入ドメインとの融合を含む（Schwarze et al., 1999, Science 285: 1569-72）。

【０２１５】

別の実施態様において、そのようなキメラ分子は、ポリペプチドと、抗タグ抗体が選択的に結合することができるエピトープを提供するタグポリペプチドとの融合を含む。エピトープタグは、一般に、ポリペプチドのアミノ又はカルボキシル末端に配置される。そのようなエピトープタグが付加された形態のポリペプチドの存在は、タグポリペプチドに対する抗体を用いて検出することができる。また、エピトープタグの提供は、抗タグ抗体又はエピトープタグに結合する別のタイプの親和性マトリックスを用いたアフィニティー精製によってポリペプチドを容易に精製することを可能にする。様々なタグポリペプチド及びそれらのそれぞれの抗体は、当技術分野で周知である。例としては、ポリヒスチジン（ポリＨｉｓ）又はポリヒスチジングリシン（ポリＨｉｓ－ｇｌｙ）タグ；インフルエンザＨＡタグポリペプチド及びその抗体１２ＣＡ５［Field et al., Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)］；ｃ－ｍｙｃタグ及びそれに対する８Ｆ９、３Ｃ７、６Ｅ１０、Ｇ４、Ｂ７及び９Ｅ１０抗体［Evan et al., Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)］；並びに単純ヘルペスウイルス糖タンパク質Ｄ（ｇＤ）タグ及びその抗体［Paborsky et al., Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)］が挙げられる。他のタグポリペプチドは、Ｆｌａｇ－ペプチド［Hopp et al., BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)］；ＫＴ３エピトープペプチド［Martin et al., Science, 255:192-194 (1992)］；α－チューブリンエピトープペプチド［Skinner et al., J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)］；及びＴ７遺伝子１０タンパク質ペプチドタグ［Lutz-Freyermuth et al., Proc.

Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)］を含む。

【０２１６】

代替的な実施態様において、キメラ分子は、ポリペプチドと免疫グロブリン又は免疫グロブリンの特定領域との融合を含んでもよい。キメラ分子の二価形態（例えば、「イムノアドヘシン」）について、このような融合は、ＩｇＧ分子のＦｃ領域に対するものであり得る。本発明のＩｇ融合物は、Ｉｇ分子内の少なくとも１つの可変領域の代わりに、おおよそ又は僅かにヒトの残基９４－２４３、残基３３－５３又は残基３３－５２を含むポリペプチドを含む。特に好ましい実施態様において、免疫グロブリン融合体は、ＩｇＧ１分子の、ヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３の領域、又はヒンジ、ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３の領域を含む。免疫グロブリン融合体の製造については、１９９５年６月２７日に発行された米国特許第５４２８１３０号も参照のこと。

【０２１７】

免疫リポソーム

本明細書中に開示される抗体はまた、免疫リポソームとして処方され得る。抗体を含むリポソームは、Epstein et al., PNAS USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., PNAS USA, 77: 4030 (1980)；及び米国特許第４４８５０４５号及び同第４５４４５４５号に記載されるような当技術分野で周知の方法によって調製される。循環時間が増したリポソームは米国特許第５０１３５５６号に開示されている。

【０２１８】

特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール、及びＰＥＧ誘導体化ホスファチジルエタノールアミン（ＰＥＧ－ＰＥ）を含む脂質組成物を用いた逆相蒸発法によって生成することができる。リポソームは、所定の細孔サイズのフィルターを通して押し出され、所望の直径を有するリポソームが得られる。本発明の抗体のＦａｂ’断片は、Martinet al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)に記載されているように、ジスルフィド交換反応を介してリポソームにコンジュゲートすることができる。抗腫瘍剤、増殖阻害剤、又は化学療法剤（例えば、ドキソルビシン）も任意でリポソーム内に含まれる。Gabizon et al., J. National Cancer Inst., 81(19): 1484 (1989)を参照。

【０２１９】

抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体を用いた治療

本発明の別の態様では、血管新生を阻害するために抗ＶＥＧＦＲ２抗体が使用される。血管内皮のＶＥＧＦＲ刺激は、血管新生疾患及び腫瘍の血管新生に関連する。従って、本明細書で提供されるヒト抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、血管新生腫瘍又は新生物又は血管新生疾患を有する被験体を治療するために有効である。そのような腫瘍及び新生物には、例えば、芽細胞腫、癌腫又は肉腫などの悪性腫瘍及び新生物、並びに高度に血管性の腫瘍及び新生物が含まれる。本発明によって提供される方法によって治療され得るがんには、例えば、脳のがん、尿生殖器のがん、リンパ系のがん、胃がん、腎臓がん（腎がん）、結腸がん、喉頭がん及び肺がん及び骨のがんが含まれる。非限定的な例は、類表皮腫瘍、扁平上皮腫瘍、例えば頭頸部腫瘍、腹膜がん、結腸直腸腫瘍、結腸直腸がん、直腸腫瘍、直腸がん、前立腺腫瘍、乳房腫瘍、子宮頸部の持続性、再発性又は転移性の癌腫、肺腺がん及び小細胞肺がん及び非小細胞肺がんを含む肺腫瘍、膵臓腫瘍、甲状腺腫瘍、卵管腫瘍、卵巣腫瘍（例えば、再発上皮卵巣癌）及び肝腫瘍を更に含む。この方法は、扁平上皮癌、基底細胞癌、及び皮膚癌であって悪性ケラチノサイト、例えばヒト悪性ケラチノサイトの増殖を抑制することによって治療することができるものを含む、血管形成された皮膚がんの治療にも使用される。治療できる他のがんには、カポジ肉腫、ＣＮＳ新生物（神経芽細胞腫、毛細血管芽細胞腫、髄膜腫及び脳転移）、メラノーマ、胃腸癌及び腎細胞癌、及び肉腫、横紋筋肉腫、多形神経膠芽腫を含む神経膠芽腫、及び平滑筋肉腫が挙げられる。

【０２２０】

本発明の更なる態様は、例えば、アテローム性動脈硬化症、リウマチ性関節炎（ＲＡ）、新血管新生緑内障、増殖性糖尿病性網膜症を含む増殖性網膜症、血管腫、血管線維腫、及び乾癬などの血管新生及び／又は炎症を含む、過剰な血管新生を特徴とする病的状態を

治療又は予防する方法である。非腫瘍性血管新生疾患の他の非限定的な例は、未熟児網膜症（後天性線維化症）、角膜移植拒絶、インスリン依存性真性糖尿病、多発性硬化症、重症筋無力症、クローン病、自己免疫性腎炎、原発性胆汁性肝硬変、急性膵炎、同種移植片拒絶反応、アレルギー性炎症、接触性皮膚炎及び遅延過敏反応、炎症性腸疾患、敗血症性ショック、骨粗鬆症、変形性関節症、ニューロンの炎症によって誘導される認知欠損、オスラー－ウェーバー症候群、再狭窄、並びにサイトメガロウイルス感染を含む真菌感染、寄生虫感染及びウイルス感染が挙げられる。特定の実施態様において、過剰な血管新生を特徴とする病的状態は眼疾患である。特定の実施態様において、眼疾患は、網膜症、加齢性黄斑変性症（例えば、湿性ＡＭＤ）、糖尿病性黄斑浮腫、ルベオーシス、乾癬に起因するブドウ膜炎、炎症性腎疾患、溶血性尿毒症性症候群、糖尿病性腎症（例えば、増殖性糖尿病性網膜症）、炎症性腸疾患、慢性炎症、慢性網膜剥離、慢性ブドウ膜炎、慢性硝子体炎、角膜移植拒絶、角膜血管新生、角膜移植血管新生、近視、眼の新生血管疾患、パジェット病、類天疱瘡、多発動脈炎、ポストレーザー放射状角膜切開、網膜血管新生、ソグレン症候群、潰瘍性大腸炎、移植片拒絶反応、肺炎症、ネフローゼ症候群、浮腫、及び新血管性緑内障からなる群から選択される。特定の実施態様において、本発明は、例えば上に記載される眼疾患の治療のための医薬の製造における使用のための抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）を提供する。特定の実施態様において、本発明は、被験体において眼疾患（上記のものなど）を治療することに使用のための抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）を提供する。特定の実施態様において、治療される被験体は哺乳動物（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、ラット、マウス、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコなど）である。特定の実施態様において、被験体はヒトである。特定の実施態様において、被験体は、臨床患者、臨床試験ボランティア、実験動物などである。特定の実施態様において、被験体は、眼疾患（上記のものなど）を有するか、又は有するリスクがあると疑われている。特定の実施態様において、被験体は、眼疾患（上記のものなど）と診断されている。

【０２２１】

本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）及び／又は組成物は、例えば、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）又は過剰な血管新生を特徴とする病的状態（上記のものなど）を含む異常なＶＥＧＦＲ２活性に関与する疾患及び障害を治療するために被験体（例えば、ヒトなどの哺乳動物）に投与することができる。特定の実施態様において、本発明は、被験体における、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）又は過剰な血管新生を特徴とする病的状態（上記のものなど）の治療のための医薬の製造における使用のための抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）を提供する。特定の実施態様において、本発明は、被験体において、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）又は過剰な血管新生を特徴とする病的状態（上記のものなど）を治療することに使用のための抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）を提供する。特定の実施態様において、治療される被験体は哺乳動物（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、ラット、マウス、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコなど）である。特定の実施態様において、被験体はヒトである。特定の実施態様において、被験体は、臨床患者、臨床試験ボランティア、実験動物などである。特定の実施態様において、被験体は、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）又は過剰な血管新生を特徴とする病的状態を有するか、又は有するリスクがあると疑われている。特定の実施態様において、被験体は、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）又は過剰な血管新生を特徴とする病的状態（上記のものなど）と診断されている。

【０２２２】

がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）又は過剰な血管新生を特徴とする病的状態（上記のものなど）のための多くの診断方法及びこれらの疾患の臨床的描写は当技術分野で周知である。そのような方法としては、限定されないが、例えば、免疫組織化学、ＰＣＲ、蛍光インサイツハイブリダイゼーシ

ョン（ＦＩＳＨ）が挙げられる。異常なＶＥＧＦＲ２活性又は発現の診断方法に関する更なる詳細は、例えば、Gupta et al. (2009) Mod Pathol. 22(1): 128-133; Lopez-Rios et al. (2013) J Clin Pathol. 66(5): 381-385; Ellison et al. (2013) J Clin Pathol 66(2): 79-89；及びGuha et al. (2013) PLoS ONE 8(6): e67782に記載される。当業者は、個体が本明細書に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体による治療のための候補である場合、例えば、臨床試験、身体検査及び医学／家族歴の使用によって容易に決定することができる。

【０２２３】

投与は、例えば、静脈内、筋肉内、又は皮下などの任意の適切な経路によって行うことができる。幾つかの実施態様において、異常なＶＥＧＦＲ２活性に関与する疾患又は障害を治療するために、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）及び／又は組成物は、第２、第３又は第４の薬剤（例えば、抗悪性腫瘍薬、増殖阻害剤、細胞傷害性剤、又は化学療法剤を含む）と併用して投与される。そのような薬剤には、例えば、ドセタキセル、ゲフィチニブ、ＦＯＬＦＩＲＩ（イリノテカン、５－フルオロウラシル及びロイコボリン）、イリノテカン、シスプラチン、カルボプラチン、パクリタキセル、ベバシズマブ（抗ＶＥＧＦ抗体）、ＦＯＬＦＯＸ－４（注入フルオロウラシル、ロイコボリン、及びオキサリプラチン、アファチニブ、ゲムシタビン、カペシタビン、ペメトレキセド、チバンチニブ、エベロリムス、ＣｐＧ－ＯＤＮ、ラパマイシン、レナリドマイド、ベムラフェニブ、エンドスタチン、ラパチニブ、ＰＸ－８６６、Ｉｍｐｒｉｍｅ　ＰＧＧ及びエルロチニブを含む。幾つかの実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）は、付加的薬剤にコンジュゲートされる。

【０２２４】

治療すべき適応症及び当該分野の医師が熟知している用量に関連する因子に依存して、本明細書で提供される抗体は、毒性及び副作用を最小限に抑えながらその適応症の治療に有効な用量で投与されるであろう。がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）及び過剰な血管新生を特徴とする病的状態（本明細書の他の箇所に記載されるようなもの）の治療のために、典型的な用量は、例えば、０．００１から１０００μｇとすることができるが；しかしながら、この例示的な範囲より下又は上の用量が本発明の範囲内である。１日の用量は、約０．１μｇ／ｋｇから約１００ｍｇ／ｋｇ全体重（例えば、約５μｇ／ｋｇ、約１０μｇ／ｋｇ、約１００μｇ／ｋｇ、約５００μｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、又は上記の値の何れか２つによって規定される範囲）、好ましくは約０．３μｇ／ｋｇから約１０ｍｇ／ｋｇ全体重（例えば約０．５μｇ／ｋｇ、約１μｇ／ｋｇ、約５０μｇ／ｋｇ、約１５０μｇ／ｋｇ、約３００μｇ／ｋｇ、約７５０μｇ／ｋｇ、約１．５ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、又は上記の値の何れか２つによって定義される範囲）、より好ましくは約１μｇ／ｋｇから１ｍｇ／ｋｇ全体重（例えば、約３μｇ／ｋｇ、約１５μｇ／ｋｇ、約７５μｇ／ｋｇ、約３００μｇ／ｋｇ、約９００μｇ／ｋｇ、又は上記の値の任意の２つによって規定される範囲）、更により好ましくは約０．５から１０ｍｇ／ｋｇ体重／日（例えば、約２ｍｇ／ｋｇ、約４ｍｇ／ｋｇ、約７ｍｇ／ｋｇ、約９ｍｇ／ｋｇ、又は上記の値の任意の２つの値によって規定される範囲）とすることができる。上記のように、治療的又は予防的有効性は、治療された患者の定期的な評価によってモニターすることができる。数日又はそれ以上にわたる反復投与では、状態に応じて、治療は疾患症状の所望の抑制が生じるまで反復される。しかしながら、他の投薬レジメンが有用であり得、本発明の範囲内である。所望の投与量は、組成物の単回ボーラス投与、組成物の複数回のボーラス投与、又は組成物の連続注入投与によって送達することができる。

【０２２５】

抗ＶＥＧＦＲ２抗体を含む医薬組成物は、１日に１、２、３又は４回投与することができる。組成物はまた、毎日よりも少ない頻度で、例えば、週に６回、週に５回、週に４回、週に３回、週に２回、週に１回、２週間に１回、３週間に１回、１ヶ月に１回、２ヶ月に１回、６ヶ月に１回、又は６ヶ月に１回投与することができる。組成物はまた、ある期間にわたって使用するために組成物を徐々に放出し、かつ組成物の投与頻度を１ヶ月に１

回、２から６ヶ月に１回、毎年１回、又は実に１回の投与など低くすることができるインプラントのような徐放性製剤で投与することができる。持続放出デバイス（ペレット、ナノ粒子、微粒子、ナノスフェア、マイクロスフェアなど）は、注射によって投与することができる。

【０２２６】

抗体（又はその抗原結合断片）は、１日１回の投与で投与してもよく、又は１日総用量を１日２回、３回又は４回の分割投与で投与してもよい。組成物はまた、毎日よりも少ない頻度で、例えば、週に６回、週に５回、週に４回、週に３回、週に２回、週に１回、２週間に１回、３週間に１回、１ヶ月に１回、２ヶ月に１回、６ヶ月に１回、又は６ヶ月に１回投与することができる。組成物はまた、ある期間にわたって使用するために組成物を徐々に放出し、かつ組成物の投与頻度を１ヶ月に１回、２から６ヶ月に１回、毎年１回、又は実に１回の投与など低くすることができるインプラントのような徐放性製剤で投与することができる。持続放出デバイス（ペレット、ナノ粒子、微粒子、ナノスフェア、マイクロスフェアなど）は、注射によって投与することができ、又は様々な場所に外科的に埋め込むことができる。

【０２２７】

がん治療は、限定するものではないが、例えば、腫瘍再発、腫瘍重量ないしサイズの収縮、進行時間、生存期間、進行がない生存、全体の応答速度、応答の継続期間、生活の質、タンパク質の発現及び／又は活性などで評価されてもよい。例えば放射線画像法による応答の測定を含む、治療の有効性を判定するためのアプローチを用いることができる。

【０２２８】

幾つかの実施態様において、治療の有効性は、式１００－（Ｔ／Ｃ×１００）を用いて計算した腫瘍増殖阻害率（％ＴＧＩ）として測定され、ここで、Ｔは治療された腫瘍の平均相対腫瘍体積であり、Ｃは非治療腫瘍の腫瘍体積である。特定の実施態様において、％ＴＧＩは、約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、約９１％、約９２％、９３％、約９４％、約９５％、又は９５％超であり、これらの値の間の任意の範囲を含む。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２の％ＴＧＩは、１１２１Ｂ（米国特許出願公開第２００９／０３０６３４８号）又は１１２１Ｎ（米国特許第７４９８４１４号）の％ＴＧＩと同じか又はそれ以上であり、例えば１１２１Ｂ（米国特許出願公開第２００９／０３０６３４８号）又は１１２１Ｎ（米国特許第７４９８４１４号）の％ＴＧＩの約１．１倍、約０．７倍、約０．９倍、約１．１倍、約１．２倍、約１．３倍、約１．４倍、約１．５倍、約１．６倍、約１．７倍、約１．８倍、約１．９倍、約２倍、約２．１倍、約２．２倍、約２．３倍、約２．４倍、約２．５倍、約２．６倍、約２．７倍であるか、又はそれより約２．７倍以上大きい。

【０２２９】

薬学的製剤

抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）は、それらが投与に適しているように、適切な担体又は賦形剤と共に製剤化することができる。抗体の適切な製剤は、所望の純度を有する抗体（又はその断片）を任意の薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）と混合することによって凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で得ることができる。許容される担体、賦形剤、又は安定化剤は、用いられる用量及び濃度でレシピエントに非毒性であり、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；保存料（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；ベンズアルコニウムクロライド；ベンゼトニウムクロライド；フェノール；ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベン等のアルキルパラベン；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－クレゾールなど）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；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、又はリジン等のアミノ酸；グルコース、マンノ

ース、又はデキストリンを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；ＥＤＴＡ等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質錯体）又はＴＷＥＥＮ[ＴＭ]、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ[ＴＭ]又はポリエチレングリコール（ＰＥＧ）等の非イオン性界面活性剤を含む。例示的な抗体製剤は、参照により本明細書に援用される国際公開第９７／５６４１８号に記載されている。皮下投与に適した凍結乾燥製剤は、国際公開第９７／０４８０１号に記載されている。そのような凍結乾燥製剤は、適切な希釈剤を用いて高タンパク質濃度まで再構成することができ、再構成製剤は、本明細書で治療される哺乳動物に皮下投与することができる。

【０２３０】

本明細書の製剤は、治療される特定の徴候に必要な２つ以上の活性化合物、好ましくは相互に悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものも含み得る。例えば、抗腫瘍剤、増殖阻害剤、細胞傷害性剤、又は化学療法剤を更に提供することが望ましい場合がある。そのような分子は、意図される目的のために有効な量で組み合わされて適切に存在する。そのような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、疾患若しくは障害又は治療の種類、及び上記の他の要因に依存する。これらは一般には本明細書に記載されるように同じ投薬量及び投与経路で又はこれまでに用いられている投薬量のおよそ１から９９％で使用される。活性成分もまた、例えばコアセルベーション法又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えばそれぞれコロイド薬剤送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル）又はマクロエマルジョンで、ヒドリキシメチルセルロース又はゼラチン－マイクロカプセル、及びポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセルに封入され得る。このような技術は、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。徐放性製剤が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例は、アンタゴニストを含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、そのマトリックスは成形品、例えばフィルム又はマイクロカプセルの形をしている。徐放性マトリックスの例は、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）、又はポリ（ビニルアルコール））、ポリ乳酸（米国特許第３７７３９１９号）、Ｌ－グルタミン酸及びγエチル－Ｌ－グルタメートの共重合体、非分解性エチレン－酢酸ビニル、分解性乳酸－グリコール酸共重合体、例えばＬＵＰＲＯＮ　ＤＥＰＯＴ[ＴＭ]（乳酸－グリコール酸共重合体及び酢酸ロイプロリドからなる注射可能なミクロスフィア）、及びポリ－Ｄ－（－）－３－ヒドロキシ酪酸を含む。

【０２３１】

リポフェクチン又はリポソームを用いて、本発明のポリペプチド及び抗体（又はその断片）又は組成物を細胞に送達することができる。抗体断片が使用される場合には、標的タンパク質の結合ドメインに結合する最小阻害断片が好ましい。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、ペプチド分子は、標的タンパク質配列に結合する能力を保持するように設計できる。そのようなペプチドは、化学的に合成することができ、及び／又は組換えＤＮＡ技術によって産生することができる。例えば、Marasco et al., PNAS USA, 90: 7889-7893 (1993)を参照。

【０２３２】

活性成分もまた、例えばコアセルベーション法又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えばそれぞれコロイド薬剤送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル）又はマクロエマルジョンで、ヒドリキシメチルセルロース又はゼラチン－マイクロカプセル、及びポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセルに封入され得る。このような技術は、上記のRemington's PHARMACEUTICAL SCIENCESにおいて開示される。

【０２３３】

徐放性製剤を調製することができる。徐放性製剤の好適な例は、抗体（又はその断片）を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、そのマトリックスは成形品、

例えばフィルム又はマイクロカプセルの形をしている。徐放性マトリックスの例は、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）、又はポリ（ビニルアルコール））、ポリ乳酸（米国特許第３７７３９１９号）、Ｌ－グルタミン酸及びγエチル－Ｌ－グルタメートの共重合体、非分解性エチレン－酢酸ビニル、分解性乳酸－グリコール酸共重合体、例えばＬＵＰＲＯＮ　ＤＥＰＯＴ^{TM}（乳酸－グリコール酸共重合体及び酢酸ロイプロリドからなる注射可能なミクロスフィア）、及びポリ－Ｄ－（－）－３－ヒドロキシ酪酸を含む。エチレン－酢酸ビニル及び乳酸－グリコール酸のようなポリマーは、１００日以上にわたって分子の放出を可能にするが、特定のヒドロゲルは、より短い期間、タンパク質を放出する。カプセル化された抗体が身体内に長時間残ると、それらは３７℃の水分に露出されることにより変性又は凝集し、その結果、生物学的活性の低下及び起こり得る免疫原性の変化をもたらす。関与する機序に応じて、安定化のために合理的な戦略を講じることができる。例えば、凝集の機序が、チオ－ジスルフィド交換による分子間Ｓ－Ｓ結合の形成であることが発見された場合、スルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結、水分含有率の制御、適切な添加剤の使用、及び特定のポリマー基質組成物の開発により、安定化させることができる。

【０２３４】

特定の実施態様において、製剤は、本明細書に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体を、約０．５ｍｇ／ｍｌ超、約１ｍｇ／ｍｌ超（例えば約１．１ｍｇ／ｍｌ、約１．２ｍｇ／ｍｌ、約１．３ｍｇ／ｍｌ、約１．４ｍｇ／ｍｌ、約１．５ｍｇ／ｍｌ、約１．６ｍｇ／ｍｌ、約１．７ｍｇ／ｍｌ、約１．８ｍｇ／ｍｌ、約１．９ｍｇ／ｍｌ、又は約１．９ｍｇ／ｍｌ超）、約２ｍｇ／ｍｌ超（例えば約２．１ｍｇ／ｍｌ、約２．２ｍｇ／ｍｌ、約２．３ｍｇ／ｍｌ、約２．４ｍｇ／ｍｌ、約２．５ｍｇ／ｍｌ、約２．６ｍｇ／ｍｌ、約２．７ｍｇ／ｍｌ、約２．８ｍｇ／ｍｌ、約２．９ｍｇ／ｍｌ、又は約２．９ｍｇ／ｍｌ超）、約３ｍｇ／ｍｌ超、約４ｍｇ／ｍｌ超、約５ｍｇ／ｍｌ超、約６ｍｇ／ｍｌ超、約７ｍｇ／ｍｌ超、約８ｍｇ／ｍｌ超、約９ｍｇ／ｍｌ超、約１０ｍｇ／ｍｌ超、約１１ｍｇ／ｍｌ超、約１２ｍｇ／ｍｌ超、約１３ｍｇ／ｍｌ超、約１４ｍｇ／ｍｌ超、約１５ｍｇ／ｍｌ超（これらの値の間の任意の範囲を含む）の濃度で含む。

【０２３５】

特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、クエン酸塩、ヒスチジン、酢酸塩、リン酸塩、スクロース、ＮａＣｌ、コハク酸塩、グリシン、ポリソルベート８０（Ｔｗｅｅｎ　８０）、又はこれらの任意の組み合わせを含む緩衝液中に処方される。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、約１０ｍＭのクエン酸塩、約１０ｍＭの酢酸塩、又は約１０ｍＭのリン酸塩を含む緩衝液中に処方される。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、約５０ｍＭから約１００ｍＭのＮａＣｌを含む緩衝液中に処方される。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、約０．５％～約３％のグリシンを含む緩衝液中に処方される。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、約０．００５％～約０．０２％のポリソルベート８０（Ｔｗｅｅｎ　８０）を含む緩衝液中で処方される。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、約５．５～６．５のｐＨを有する緩衝液中に処方される。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、１０ｍＭのクエン酸塩、７５ｍＭのＮａＣｌ、２％のグリシン、２％のスクロース及び０．０２％のポリソルベート８０を含む緩衝液中に処方され、ここでその製剤はｐＨ＝６．０である。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、１０ｍＭの酢酸塩、７５ｍＭのＮａＣｌ、２％のグリシン、２％のスクロース及び０．０２％のポリソルベート８０を含む緩衝液中に処方され、ここでその製剤はｐＨ＝６．０である。特定の実施態様において、抗ＶＥＧＦＲ２抗体は、１０ｍＭのリン酸、７５ｍＭのＮａＣｌ、２％のグリシン、２％のスクロース及び０．０２％のポリソルベート８０を含む緩衝液中に処方され、ここでその製剤はｐＨ＝６．０である。

【０２３６】

特定の実施態様において、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体を含む製剤は、約０．５週間、１．０週間、１．５週間、２．０週間、２．５週間、３．５週間、４．０週

間、４．５週間、又は５．０週間（これらの値の間の任意の範囲を含む）、－８０℃で安定である。特定の実施態様において、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体を含む製剤（１０ｍＭのクエン酸塩、７５ｍＭのＮａＣｌ、２％のグリシン、２％のスクロース及び０．０２％のポリソルベート８０を含み、その製剤がｐＨ＝６．０である製剤など）は、約０．５週間、１．０週間、１．５週間、２．０週間、２．５週間、３．５週間、４．０週間、４．５週間、又は５．０週間（これらの値の間の任意の範囲を含む）、加速条件下で（約４０℃での保存など）安定である。

【０２３７】

インビボ投与に使用される製剤は滅菌されていなければならない。これは、例えば、滅菌濾過膜を通した濾過によって容易に達成される。

【０２３８】

抗上皮増殖因子受容体抗体を用いた診断及び画像化の方法

ＶＥＧＦＲ２ポリペプチドに特異的に結合する、標識抗ＶＥＧＦＲ２抗体、その断片、及びその誘導体及び類似体は、ＶＥＧＦＲ２の発現、異常な発現及び／又は活性に関連する疾患及び／又は障害を検出、診断又はモニターする診断目的のために使用することができる。例えば、本明細書において提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）は、インサイツ、インビボ、エクスビボ、及びインビトロ診断アッセイ又は画像化アッセイにおいて使用され得る。（ａ）本発明の１つ以上の抗体を用いて個体の細胞（例えば、組織）又は体液中のポリペプチドの発現をアッセイすること及び（ｂ）遺伝子発現のレベルを標準的な遺伝子発現レベルと比較することを含む、ＶＥＧＦＲ２ポリペプチドの発現を検出するための方法であって、それによって、標準的な発現レベルと比較してアッセイされた遺伝子発現レベルの増加又は減少が、異常な発現を示す、方法。

【０２３９】

本明細書で提供される更なる実施態様は、動物（例えば、ヒトなどの哺乳動物）におけるＶＥＧＦＲ２の発現又は異常発現に関連する疾患又は障害を診断する方法を含む。本方法は、哺乳動物においてＶＥＧＦＲ２分子を検出することを含む。特定の実施態様において、診断は、（ａ）有効量の標識抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）を哺乳動物に投与すること、（ｂ）標識抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）が、ＶＥＧＦＲ２分子が発現される被験体の部位に優先的に集中すること（未結合の標識分子がバックグラウンドレベルまでクリアされること）を可能にするために、投与後の時間間隔を待機する；（ｃ）バックグラウンドレベルを決定すること；（ｄ）バックグラウンドレベルを上回る標識分子の検出が、被験体がＥＧＦＲの発現又は異常発現に関連する特定の疾患又は障害を有することを示すように、被験体における標識分子を検出することを含む。バックグラウンドレベルは、検出された標識分子の量を、特定の系について以前に決定された標準値と比較することを含む様々な方法によって決定することができる。

【０２４０】

本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）は、当業者に周知の古典的な免疫組織学的方法を用いて、生物学的試料中のタンパク質レベルをアッセイするために使用することができる（例えば、Jalkanen, et al., J. Cell. Biol. 101:976-985 (1985); Jalkanen, et al., J. Cell. Biol. 105:3087-3096 (1987)を参照）。タンパク質遺伝子発現を検出するために有用な他の抗体ベースの方法には、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）及びラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）のようなイムノアッセイが含まれる。適切な抗体アッセイ標識は、当技術分野で周知であり、酵素標識、例えば、グルコースオキシダーゼ；放射性同位体、例えば、ヨウ素（^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、^{121}Ｉ）、炭素（^{14}Ｃ）、硫黄（^{35}Ｓ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、インジウム（^{115m}Ｉｎ、^{113m}Ｉｎ、^{112}Ｉｎ、^{111}Ｉｎ）、及びテクネチウム（^{99}Ｔｃ、^{99m}Ｔｃ）、タリウム（^{201}Ｔｉ）、ガリウム（^{68}Ｇａ、^{67}Ｇａ）、パラジウム（^{103}Ｐｄ）、モリブデン（^{99}Ｍｏ）、キセノン（^{133}Ｘｅ）、フッ素（^{18}Ｆ）、^{153}Ｓｍ、^{177}Ｌｕ、^{159}Ｇｄ、^{149}Ｐｍ、^{140}Ｌａ、^{175}Ｙｂ、^{166}Ｈｏ、^{90}Ｙ、^{47}Ｓｃ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{142}Ｐｒ、^{105}Ｒｈ、^{97}Ｒｕ；ルミノール

；及びフルオレセイン及びローダミンなどの蛍光標識、及びビオチンが挙げられる。

【０２４１】

当技術分野で周知の技術は、本明細書で提供される標識抗体（又はその断片）に適用され得る。そのような技術には、限定されないが、二官能性コンジュゲート剤の使用が含まれる（例えば、米国特許第５７５６０６５号；５７１４６３１号；５６９６２３９号；５６５２３６１号；５５０５９３１号；５４８９４２５号；５４３５９９０号；５４２８１３９号；５３４２６０４号；５２７４１１９号；４９９４５６０号；及び５８０８００３号を参照）。あるいは、又はそれに加えて、例えば、ＥＧＦＲをコードする核酸又はその相補物に対応する核酸ベースのプローブを用いた蛍光インサイツハイブリダイゼーションを介して、細胞内のＶＥＧＦＲ２ポリペプチドをコードする核酸又はｍＲＮＡのレベルを測定することができる；（ＦＩＳＨ；１９９８年１０月公開の国際公開第９８／４５４７９号を参照）、サザンブロッティング、ノーザンブロッティング、又はリアルタイム定量ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）などのポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）技術。例えば抗体に基づくアッセイを用いて、血清などの生物学的液体中のｓｈｅｄ抗原を測定することによってＶＥＧＦＲ２過剰発現を研究することもできる（例えば、１９９０年6月１２日に発行された米国特許第４９３３２９４号；１９９１年４月１８日に公開された国際公開第９１／０５２６４号；１９９５年3月２８日に発行された米国特許第５４０１６３８号；及びSias et al., J. Immunol. Methods 132:73-80 (1990)も参照）。上記のアッセイとは別に、様々なインビボ及びエクスビボアッセイが当業者に利用可能である。例えば、哺乳動物の体内の細胞を、検出可能な標識、例えば、放射性同位元素で任意に標識された抗体に曝露することができ、それに対する抗体の結合は、例えば、放射能の外部走査によって、又は抗体に前もって曝露された哺乳動物から採取された試料（例えば、生検又は他の生物学的試料）を分析することによって評価することができる。

【０２４２】

製造品及びキット

本発明の別の実施態様は、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）及び過剰な血管新生を特徴とする病的状態（本明細書の他の箇所に記載されるようなもの）の治療に有用な物質を含有する製造品である。製造品は、容器と、容器上又は容器に付随したラベル又は添付文書を含むことができる。好適な容器は、例としてボトル、バイアル、シリンジ等を含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な物質から形成され得る。一般に、容器は、症状の治療に有効である組成物を収容し、無菌のアクセスポートを有し得る（例えば、容器は皮下注射針により貫通可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってよい）。組成物中の少なくとも１つの活性剤は、本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）である。ラベル又は添付文書は、組成物が特定の疾患の治療に用いられることを示す。ラベル又は添付文書は、抗体組成物を患者に投与するための説明書を更に含むであろう。また、本明細書中に記載の併用治療薬を含む製造品及びキットも考慮される。

【０２４３】

添付文書は、そのような治療用製品の使用に関する適応症、使用法、用量、投与、禁忌及び／又は警告に関する情報を含む治療用製品の市販パッケージに慣例的に含まれる説明書を指す。一実施態様において、添付文書は、組成物が、がん（結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん及び固形腫瘍など）及び過剰な血管新生を特徴とする病的状態（本明細書の他の箇所に記載されるようなもの）を治療するために使用されることを示す。

【０２４４】

更に、製造品は、静菌注射用水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝化生理食塩水、リンゲル液及びデキストロース溶液などの薬学的に許容される緩衝液を含む第２の容器を更に含み得る。それは、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含む商業的及びユーザーの観点から望ましい他の物質を更に含み得る。

【０２４５】

任意に製造品と組み合わせて、様々な目的、例えば患者におけるＶＥＧＦＲ２の単離又は検出のために有用なキットも提供される。ＥＧＦＲの単離及び精製のために、キットは、ビーズ（例えば、セファロースビーズ）に結合した本明細書で提供される抗ＶＥＧＦＲ２抗体（又はその断片）を含み得る。例えば、ＥＬＩＳＡ又はウエスタンブロットにおいて、ＶＥＧＦＲ２を検出及び定量するための抗体（又はその断片）を含むキットが提供され得る。製造品と同様に、キットは、容器と容器上の又は容器に付随するラベル又は添付文書とを含む。例えば、容器は、本明細書で提供される少なくとも１つの抗－ＶＥＧＦＲ２抗体を含む組成物を保持する。例えば、希釈剤及び緩衝液、対照抗体を含有する追加の容器を含めることができる。ラベル又は添付文書は、組成物の説明並びに意図されたインビトロ又は診断用途のための指示書を提供することができる。

【実施例】

【０２４６】

実施例１　抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体の生成、親和性成熟、及び特徴づけ

１０個の陽性抗ＶＥＧＦＲ２抗体クローン（すなわちＶ１－Ｖ１０）を、ヒトファージディスプレイライブラリーをＶＥＧＦＲ２－Ｆｃでスクリーニングすることによって同定した。以下で更に詳細に説明し、表５に要約したインビトロ機能アッセイを実施してクローンを特徴づけた。アッセイは１１２１Ｂ（本明細書ではＲｅｆ－Ａとも称される）、すなわち米国特許出願公開第２００９／０３０６３４８号に記載されている抗ＶＥＧＦＲ２抗体、及び／又は１１２１Ｎ（本明細書ではＲｅｆ－Ｂとも称される）、すなわち陽性対照として米国特許第７，４９８，４１４号に記載されている抗ＶＥＧＦＲ２抗体を用いて実施した。

表５

アッセイ/抗体	V1	V2	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	Ref-A
ECD (D1-7)	++/+++	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++++
ドメイン 2-3	−	−	−	+	−	−	++	−	−	++++
ドメイン 1-3	−	−	−	+	+++	−	++	−	−	++++
ドメイン 1-4	−	−	−	+	++/+++	−	+++	−	−	+
配列	K	K	K	K	K	λ	K	K	K	K
リガンド結合のブロッキング	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+++
競合アッセイ(IMC-1121B と競合する)	−	ND	ND	ND	ND	ND	ND	−	−	+++
管形成(2-D 血管新生)の阻害(*BD HUVEC*)	−	+++	−	−	++++	++	++++	++	+	+++
管形成の阻害 (*BD+BCRC HUVEC*)	−	+++	ND	ND	++++	++	++++	++	+	+++
HUVEC 遊走の阻害 (*BD+BCRC HUVEC*)	++++	++++	ND	ND	−	−	+	+	+	+
HUVEC 生存の阻害 (*BD+BCRC HUVEC*)	++++	−	ND	ND	−	−	−	++++	++/+++	+++/++++
HUVEC 増殖の阻害 (*BD+BCRC HUVEC*)	+++/++++	−	ND	ND	−/+	+	−	++++	+	+++
発芽アッセイ(3-D 血管新生)	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	++	ND	+++
マトリゲルプラグアッセイ(インビボ血管新生)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	++++	ND	++++

【０２４７】

表５の第１－４行は、ＶＥＧＦＲ２のドメイン１－７、ＶＥＧＦＲ２のドメイン２－３、ＶＥＧＦＲ２のドメイン１－３及びＶＥＧＦＲ２のドメイン１－４のそれぞれに対するＶ１－Ｖ１０の結合を評価するために実施されたＥＬＩＳＡアッセイの結果を提供する。第２行に示すように、Ｖ５及びＶ８は、ＶＥＧＦＲ２のドメイン２－３に結合することができる；しかしながら、Ｖ５は低親和性で結合する。

【０２４８】

ＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に対するＶ１、Ｖ９、Ｖ１０及び１１２１Ｂの結合を評価するために、更なるＥＬＩＳＡアッセイを実施した。簡潔には、Ｖ１、Ｖ９、Ｖ１０及び１１２１Ｂの連続希釈物を、マイクロタイターディッシュのウェル中においてヒツジ抗ヒトｆｄ抗体で捕捉した。ＶＥＧＦＲ２－Ｄ５－７結合は、ＶＥＧＦＲ２－Ｄ５－７－ＡＰ融合タンパク質をウェルに添加することによって測定した。インキュベーション及び洗浄後、ｐＮＰＰをウェルに添加し、３０分間インキュベートした。ＡＰ活性は、４０５ｎｍにおける吸光度の増加をモニターすることによって測定した。抗体濃度をＡＰ活性の関数としてプロットした（図１）。図１に示すように、クローンＶ１、Ｖ９及びＶ１０はＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合するが、１１２１Ｂは結合しない。

【０２４９】

表５の第６行は、クローンＶ１－Ｖ１０がＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックすることが見出されなかったことを示す。簡潔には、各クローンの連続希釈物を、ＶＥＧＦＲ２－ＡＰと共に２８℃で２時間インキュベートした。各抗体：抗原混合物をマイクロタイターディッシュのＶＥＧＦ被覆ウェルに添加した。インキュベーション及び洗浄後、ｐＮＰＰをウェルに添加し、３０分間インキュベートした。ＡＰ活性は、４０５ｎｍにおける吸光度の増加をモニターすることによって測定した。抗体濃度をＡＰ活性の関数としてプロットした（図２）。図２に示すように、１１２１ＢはＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックしたが、クローンＶ１－Ｖ１０はブロックしなかった。Ｖ１、Ｖ９、及びＶ１０も、競合ＥＬＩＳＡにおいてＶＥＧＦＲ２への結合について１１２１Ｂと競合しないことが決定された。（表５の第７行を参照）。

【０２５０】

次に、ヒト臍帯静脈内皮細胞（ＶＥＧＦＲ２を発現するＨＵＶＥＣ）に対するクローンＶ１－Ｖ１０の結合をアッセイした。簡単には、ＨＵＶＥＣ（２×１０^{5}）をＰＢＳで１回洗浄し、４％パラホルムアルデヒドで４℃で３０分間固定し、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ中の１％ウシ胎仔血清）で洗浄し、９６ウェルプレートのウェルに移した（２×１０^{5}細胞／ウェル）。４℃で５００×ｇで５分間遠心分離した後、１００μｌの抗体（３μｌ／ｍｌのストックから３倍に希釈）をウェルに添加し、４℃で３０分間インキュベートした。次いで、細胞をＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、抗Ｆｃｒ－ＦＩＴＣ抗体と共に４℃で３０分間インキュベートした。次いで、細胞をＦＡＣＳ緩衝液で３回洗浄し、４％パラホルムアルデヒドで４℃で３０分間固定し、４℃で５分間５００×ｇで遠心分離した。上清を捨てた。細胞をＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁し、フローサイトメトリーにより分析した。図３に示すように、クローンＶ９はＨＵＶＥＣに結合することが見出されたが、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）も１２１１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）もＨＵＶＥＣに結合しないことが見出された。

【０２５１】

表５の第８行及び９行は、血管新生を阻害するクローンＶ１－Ｖ１０の能力を評価するために実施されたＨＵＶＥＣ管形成アッセイの定性的結果を提供する。増殖因子が減少した基底膜抽出物のゲル上で培養すると、ＨＵＶＥＣは毛細管様の管状構造を形成する。アッセイは以下のように行った：解凍したマトリゲル（増殖因子を減少させたもの）をμ－Ｓｌｉｄｅｓ（ＩＢＩＤＩ）に添加し、３７℃で１時間重合させた。培養したＨＵＶＥＣ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ製）をプレートから剥離し、３回洗浄し、培地（ＥＢＭ－２＋１０％の「使用した」ＥＧＭ－２（すなわち、２晩培養し、次いで収集し、濾過した）＋５ｎｇ／ｍｌのｂＦＧＦ）に再懸濁した。５０μｌのＨＵＶＥＣを０．２μｇ／ｍｌ又は５μｇ／ｍｌの各抗体と共に３７℃で２０分間インキュベートした。５０ｎｇ／ｍｌのＶＥＧＦ－１６５（すなわち、ＶＥＧＦ－Ａの１６５アミノ酸スプライス変異体）を各プレートに加え、プレートを３７℃で６時間インキュベートした。各抗体５μｇ／ｍｌを試験したとき、Ｖ８は１１２１ＢよりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。１１２１Ｂは、Ｖ５、Ｖ６又はＶ９よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。Ｖ５、Ｖ６及びＶ９は、Ｖ２又はＶ１０よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。Ｖ７、Ｖ４、及びＶ１は、５μｇ／ｍｌでＨＵＶＥＣ管形成の阻害を示さなかった。（データ非表示）。各抗体０．２μｇ／ｍｌを試験したとき、Ｖ８及び１１２１Ｂは、Ｖ２又はＶ６よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。Ｖ２及びＶ６は、Ｖ１０、Ｖ９、Ｖ４、及びＶ４よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。Ｖ５及びＶ１は、０．２μｇ／ｍｌでＨＵＶＥＣ管形成の阻害を示さなかった。（データ非表示）。

【０２５２】

ＢＤ　ＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓとＢｉｏｒｅｓｏｕｒｃｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　ＣｅｎｔｅｒからののＨＵＶＥＣの混合物を用いてＨＵＶＥＣ管形成アッセイを繰り返した。２５００ｎｇ／ｍｌ、５０ｎｇ／ｍｌ、及び１ｎｇ／ｍｌの各抗体を試験した。２５００ｎｇ／ｍｌの各抗体を使用したとき、１１２１Ｂ、Ｖ７、Ｖ８、Ｖ９、及びＶ１０は、Ｖ１、Ｖ２、及びＶ６よりもより強いＨＵＶＥＣ管形成の阻害を示した。（データ非表示）。各抗体５０ｎｇ／ｍｌを試験したとき、１１２１Ｂ及び

Ｖ６は、Ｖ１、Ｖ２、Ｖ７、Ｖ８、及びＶ９よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。Ｖ１０は５０ｎｇ／ｍｌでＨＵＶＥＣ管形成の阻害を示さなかった。（データ非表示）。各抗体１ｎｇ／ｍｌを試験したとき、１１２１Ｂ及びＶ７は、Ｖ６及びＶ１０よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。Ｖ８、Ｖ９、Ｖ１及びＶ２は１ｎｇ／ｍｌでＨＵＶＥＣ管形成の阻害を示さなかった。（データ非表示）。

【０２５３】

表５の第１０行は、ＨＵＶＥＣの遊走活性を阻害するクローンＶ１－Ｖ１０の能力を評価するために実施されたＨＵＶＥＣ遊走アッセイの定性的結果を提供する。アッセイは以下のように行った：コンフルエントなＨＵＶＥＣ（８×１０^{5}細胞／プレート）を２６時間継代培養した後、剥離し、ＥＢＭ－２（内皮基礎培地－２）で３回洗浄し、約５×１０^{5}細胞／μｌの濃度でＥＢＭ－２に再懸濁した。０．１ｍｌの細胞懸濁液を３０μｇ／ｍｌの抗体と共に３７℃で２０分間インキュベートした。８ミクロンの細孔サイズのトランスウェル透過性支持体インサート（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を５０ｍｌのＰＢＳですすぎ、５０μｌの１０μｇ／ｍｌフィブロネクチン（２μｇ／ｃｍ^{2}）で３時間被覆した。コーティング溶液を除去し、細胞懸濁液／抗体混合物をトランスウェルに移した。トランスウェルを、４００ｎｇ／ｍｌのＶＥＧＦ１６５－Ｆｃを含む又は含まない０．７ｍｌのＥＢＭ－２を含む下部区画を有するウェルに移した。１６－１７時間のインキュベーション後、残りの細胞を除去し、トランスウェルをＰＢＳで２回洗浄した。遊走した細胞を１００％メタノールで２０分間固定し、乾燥させ、次いで０．１Ｍホウ酸塩／２％エタノール（ｐＨ＝９）中の０．１５％クリスタルバイオレットで３０分間染色した。次いで、染色されたトランスウェルをdH_2Oで洗浄し、トランスウェルの上面を綿棒で洗浄した。染色した細胞を６０μｌの１０％酢酸で抽出した。吸光度値は５９０ｎＭで測定した。％遊走は以下の式に従って決定した：

$$\%\text{遊走}=\frac{OD_{590(\text{試料})}-OD_{590(\text{VEGF を含まず})}}{OD_{590(\text{VEGF を含む})}-OD_{590(\text{VEGF を含まず})}}\times 100$$

【０２５４】

Ｖ１及びＶ２は、Ｖ８、Ｖ９、Ｖ１０、及び１２１１ＢよりもＨＵＶＥＣ遊走のより強い阻害を示した。図４を参照。

【０２５５】

表５の第１１行は、ＨＵＶＥＣ生存を阻害するクローンＶ１－Ｖ１０の能力を評価するために実施されたＨＵＶＥＣ生存アッセイの定性的結果を提供する。簡潔には、ＨＵＶＥＣをコンフルエントになるまで８００μｌのＥＧＭ－２培地を含む４８ウェル培養プレート中で増殖させ、次いでＰＢＳで３回洗浄した。抗ＶＥＧＦＲ２抗体の連続希釈物をウェルに添加し、３７℃で３０分間インキュベートした。ＶＥＧＦ－１６５－Ｆｃを各ウェルに添加した後、細胞を３７℃（５％CO_2）で２日間インキュベートした。３日目に、８０μｇの５ｍｇ／ｍｌのＭＴＴ（すなわち、生存細胞中の紫色ホルマザンに還元される黄色テトラゾール）を各ウェルに添加し、３時間インキュベートした。各ウェルに１００μｌのＤＭＳＯを添加し、各ウェルについて５６５ｎｍで吸光度を測定した。Ｖ９、Ｖ１及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）は、Ｖ１０よりもＨＵＶＥＣ生存のより強い阻害を示した。Ｖ７、Ｖ６、Ｖ２及びＶ８はＨＵＶＥＣ生存の阻害を示さなかった。（図５を参照）。

【０２５６】

表５の第１２行は、ＨＵＶＥＣ増殖を阻害するクローンＶ１－Ｖ１０の能力を評価するために実施されたＨＵＶＥＣ細胞増殖アッセイの定性的結果を提供する。アッセイは以下のように行った：ＨＵＶＥＣを培養プレートから剥離し、ＥＢＭ－２培地に再懸濁し、４８ウェル組織培養プレートのウェルに播種した。各抗体の連続希釈物をウェルに添加し、３７℃で３０分間インキュベートした。ＶＥＧＦ－１６５を各ウェルに添加した後、細胞を３７℃（５％CO_2）で３日間インキュベートした。インキュベーションの終わりに、８０μｌの５ｍｇ／ｍｌのＭＴＴを各ウェルに添加し、３時間インキュベートした。各ウェルに１００μｌのＤＭＳＯを添加し、各ウェルについて５６５ｎｍで吸光度を測定した

。Ｖ９は、Ｖ１及び１１２１ＢよりもＨＵＶＥＣ増殖のより強い阻害を示した。Ｖ１及び１１２１Ｂは、Ｖ１０及びＶ７よりもＨＵＶＥＣ生存のより強い阻害を示した。Ｖ６、Ｖ２及びＶ８はＨＵＶＥＣ増殖の阻害を示さなかった。（図６を参照）。

【０２５７】

表５の第１３行は、血管新生因子によって誘導されるＨＵＶＥＣ発芽（すなわち、三次元血管新生）を阻害するクローンＶ１－Ｖ１０の能力を評価するために実施されたインビトロＨＵＶＥＣ発芽アッセイの定性的結果を提供する。簡潔には、２５ｎｇ／ｍｌのＶＥＧＦ$_{165}$（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）、２０ｎｇ／ｍｌのｂＦＧＦ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）、及び漸増濃度の１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、Ａｖａｓｔｉｎ、Ｖ１又はＶ９を、培地：メトセル（４０：６０）溶液（１００μｌ）に添加した。次いでこれを作業（ｗｏｒｋｉｎｇ）コラーゲン溶液（１ｘＰＢＳ、ｐＨ７．０中）と１：１で混合した。混合直後に、マトリックスを予熱した４８ウェルプレートに加え、３７℃に戻した。一方、未処置の無菌９６ウェルマイクロプレート中で７５０個の細胞のスフェロイドを１８時間形成させるように誘導されたＨＵＶＥＣが収集され（１５０×ｇ、ブレーキなし）、ＰＢＳで１回洗浄し、次いでＥＢＭ－２（約５０個のスフェロイド／ｍＬ）中に懸濁させた。懸濁したスフェロイドをマイクロチューブに移し、ペレット化した。上清を吸引した後、増殖因子及び抗体を含む培地：メトセル溶液（１５０μｌ）をペレット上に重層し、続いて１５０μｌの作業（working）コラーゲンストックを添加した。溶液を直ちに混合し、マトリックスのベースコートを含むプレートに移した。３７℃で２時間インキュベートした後、増殖因子及び抗体を含む１５０μｌの培地を各ウェルの表面に添加した。発芽は、３７℃で４８－６４時間のインキュベーション後に画像化された。

【０２５８】

表５の第１４行は、インビボで血管新生を阻害するＶ１－Ｖ９の能力を評価するために実施されたマトリゲルプラグアッセイの定性的結果を提供する。実験は、重症複合免疫不全マウス（ＳＣＩＤ）マウスで行われた。ＨＵＶＥＣスフェロイドは、一晩のスフェロイド形成を可能にするために、未処置の９６ウェルマイクロプレート上における垂下液滴中に１０００個のＨＵＶＥＣをピペッティングすることによって調製した。翌日、ＨＵＶＥＣスフェロイドを回収し、マトリゲル溶液中で単一のＨＵＶＥＣと混合し、注入したプラグ当たりスフェロイドとして最終的に１００個のＨＵＶＥＣ及び２００，０００個の単一ＨＵＶＥＣを得た。ＶＥＧＦ１６５及び線維芽細胞増殖因子２（ＦＧＦ－２）を１０００ｎｇ／ｍＬの最終濃度で添加した。処置群当たり２匹のＳＣＩＤマウスに、急速に重合した０．５ｍＬの細胞／マトリックス懸濁液を皮下注射した。週２回の抗体の投与は、０日目から開始した（細胞／マトリックス接種の４時間後）。１８日目に研究を終了した。マトリゲルプラグを除去し、写真撮影し、４％パラホルムアルデヒド中、室温で４－１２時間固定した。その後、プラグを標準的な手順でパラフィン包埋した。ヒト脈管構造の組織学的検査のために、全てのプラグからパラフィン切片（厚さ８－１０μｍ）を調製した。ヒト血管形成を、マウス抗ヒトＣＤ３４（Ｄａｋｏ、カタログ番号Ｍ７１６５０１）及びＦＩＴＣコンジュゲートウサギ抗マウス二次抗体（Ｄａｋｏ、カタログ番号Ｆ０２６１０２）で染色することにより検出した。プラグ毎に２つの切片を分析し、Ｅｃｌｉｐｓｅ　ＴＥ２０００－Ｕ顕微鏡（Ｎｉｋｏｎ）を用いて２００倍の倍率で各切片から５枚の画像が撮影された。ヒト脈管構造のレベルは、ＦＩＴＣ陽性（ＣＤ３４陽性）領域の平均パーセンテージによって決定された。図７に示すように、Ｖ９は１２１１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）と同程度にインビボで血管新生を阻害した。

【０２５９】

ヒトＨＣＴ－１１６ヒト結腸癌腫瘍異種移植片を保有するマウスを、クローンＶ１、Ｖ９、及びＶ１０の治療有効性をアッセイするために使用した。簡潔には、ヒトＨＣＴ－１１６ヒト結腸がん細胞（接種＝１×１０^{6}個の細胞）を雌のＢＡＬＢ／ｃヌードマウスに移植した。マウスを無作為に７群に分けた。各群は、以下の表６に記載の投与計画の１つにより処置した：

表 6

群	動物	腫瘍	処置剤(抗体)	用量	処置スケジュール
1	BALB/c NU 雌 5 週齢 4 匹のマウス／群	HCT-116 接種=1 × 10^6 個の細胞	1121B	100mg/kg	接種後 3 日目; 5 週間、1 週間に 2 回
2			V9	100mg/kg	
3			1121B	50mg/kg	
4			V9	50mg/kg	
5			V1	50mg/kg	
6			V10	50mg/kg	
7			プラセボ	10ml/kg	

【０２６０】

処置の開始後２１日目に、Ｖ９（１００ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスの腫瘍は、プラセボを投与したマウスの腫瘍より約５１％小さく、１１２１Ｂ（１００ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスの腫瘍は、プラセボを投与したマウスの腫瘍より約６１％小さかった。処置の開始後２１日目に、Ｖ９（５０ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスの腫瘍は、プラセボを投与したマウスの腫瘍より約４３％小さく、１１２１Ｂ（５０ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスの腫瘍は、プラセボを投与したマウスの腫瘍より約３１％小さかった。図８及び下記の表７を参照。

表７

	TV[1] (21 日目)	RTV[2] (21 日目)	TV/CV %[3] (21 日間)	TGI %[4] (21 日目)	TV のp値[5] (21 日目)	
1121B (100 mg/kg)	462	304%	50%	61%	0.010	<0.05*
V9 (100 mg/kg)	542	317%	59%	51%	0.0308	<0.05*
1121B (50 mg/kg)	689	431%	75%	31%	0.121	>0.05
V9 (50 mg/kg)	596	358%	65%	43%	0.060	>0.05
V1 (50 mg/kg)	684	406%	74%	32%	0.146	>0.05
V10 (50 mg/kg)	700	429%	76%	29%	0.148	>0.06
プラセボ	919	640%	–	–	–	–

[1]TV : 腫瘍体積
[2]RTV : 最初に対する腫瘍体積
[3]TV/CV% : 処置群の体積/対照群の体積
[4]TGI% : 腫瘍増殖阻害率 = 1- (T21-T0)/(C21-C0)%
[5]p 値 : ＜0.05 = ＊ ＜0.01= ＊＊ ＜0.001=＊＊＊

【０２６１】
次いで、クローンＶ９を、改善された結合性能を有する更なるクローンを生成するために、更なるインビトロファージディスプレイに基づく親和性成熟実験に使用した。最初に、ＣＤＲ－Ｌ２／ＣＤＲ－Ｌ３／ＣＤＲ－Ｈ３核酸ライブラリーをＰＣＲにより生成し、ファージディスプレイベクターにクローニングし、大腸菌に形質転換してファージライブラリーを作製した。３ラウンドのパンニングの後、７７のＦａｂクローンをＥＬＩＳＡによってスクリーニングし、５つのクローン（すなわち、２９，３０，３２，３４、及び６７）がＶ９と同等又はそれ以上の結合性能を有することが判明した（図９参照）。

【０２６２】
更なるＥＬＩＳＡを、以下の軽鎖／重鎖の組合せを含む全長ＩｇＧクローンを用いて行った：Ｖ９／Ｖ９、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）。１１２１Ｂ及び２つの陰性対照抗体も試験した。各クローン、１１２１Ｂ及び２つの陰性対照抗体の連続希釈物を、マイクロタイターディッシュのウェル中のＶＥＧＦＲ２－Ｆｃで捕捉した。抗ヒトカッパ－ＨＲＰコンジュゲート二次抗体を用いて各ウェル中の捕捉された抗体の量を定量した。ＨＲＰコンジュゲート二次抗体をウェルに添加し、インキュベーション後、過剰の二次抗体を洗い流した。ＴＭＢをウェルに添加し、インキュベーション後、反応を停止させ、ＨＲＰ活性を４５０ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した（図１０Ａ）。３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は、試験されたクローンのうちＶＥＧＦＲ２に対する最も強い結合を示した。

【０２６３】
Ｖ９／Ｖ９、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）の完全長ＩｇＧクローン、１１２１Ｂ、及び２つの陰性対照抗体がマイクロタイターディッシュのウェル中で抗Ｆｄにより捕捉される第３セットのＥＬＩＳＡが実施され

た。各ウェルにおける捕捉抗体の量を、ＡＰコンジュゲートＶＥＧＦＲ２を用いて定量した。インキュベーション後、過剰のＶＥＧＦＲ２－ＡＰを洗い流した。アルカリホスファターゼ基質をウェルに添加し、インキュベーション後、反応を停止させ、ＡＰ活性を４０５ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した（図１０Ｂ）。３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、及び２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）は、試験されたクローンのうちＶＥＧＦＲ２に対する最も強い結合を示した。

【０２６４】

ＳＰＲが、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）及び２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）で実施された。結果を以下の表８Ａ－８Ｃに示す。

表 8A

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)
V9/V9	6.53×10^{5}	6.37×10^{-4}	9.76×10^{-10}
34/34	8.25×10^{5}	3.89×10^{-4}	4.71×10^{-10}
34/V9	7.48×10^{5}	2.72×10^{-4}	3.64×10^{-10}
67/34	5.49×10^{5}	2.63×10^{-4}	4.79×10^{-10}
67/V9	6.41×10^{5}	3.17×10^{-4}	4.94×10^{-10}
29/34	7.97×10^{5}	3.36×10^{-4}	4.26×10^{-10}
29/V9	9.64×10^{5}	2.10×10^{-4}	2.18×10^{-10}

表 8B

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)
V9/V9	6.9×10^{5}	3.6×10^{-4}	5.1×10^{-10}
34/34	8.3×10^{5}	2.4×10^{-4}	2.9×10^{-10}
34/V9	4.4×10^{5}	2.3×10^{-4}	5.3×10^{-10}
67/34	5.8×10^{5}	1.5×10^{-4}	2.5×10^{-10}
67/V9	6.9×10^{5}	2.0×10^{-4}	2.8×10^{-10}
29/34	6.0×10^{5}	1.6×10^{-4}	2.7×10^{-10}
29/V9	7.2×10^{5}	4.8×10^{-5}	6.7×10^{-11}

表 8C

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)
V9/V9	8.55×10^{5}	5.28×10^{-4}	6.17×10^{-10}
34/34	1.22×10^{6}	2.55×10^{-4}	2.09×10^{-10}
34/V9	9.23×10^{5}	2.37×10^{-4}	2.57×10^{-10}
67/34	7.98×10^{5}	6.53×10^{-5}	8.19×10^{-11}
67/V9	6.69×10^{5}	9.00×10^{-5}	1.34×10^{-10}
29/34	8.45×10^{5}	9.22×10^{-5}	1.09×10^{-10}
29/V9	9.32×10^{5}	2.23×10^{-4}	2.39×10^{-10}
1121B (Ref A)	7.52×10^{5}	9.62×10^{-4}	1.28×10^{-9}

【０２６５】

２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は、試験した他のクローンよりも一貫してより強いK_Dを示した。６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）は一貫して最低のk_{off}を示し、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）は一貫して最高のk_{on}を示した。３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）及び２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は全て、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＬＣ）と比較して解離の改善を示している。

【０２６６】

ＨＵＶＥＣ増殖アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。図１１Ａ及び１１Ｂに示すように、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、及び２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は、試験した全てのクローンのうちＨＵＶＥＣ増殖の最も強い阻害を示した。

【０２６７】

ＨＵＶＥＣ生存アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。図１２Ａ及び１２Ｂに示すように、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、及び２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は、試験した全てのクローンのうちＨＵＶＥＣ生存の最も強い阻害を示した。

【０２６８】

ＨＵＶＥＣ管形成アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）は、ＨＵＶＥＣ管形成の最も強い阻害を示した。Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）は、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）よりも強いＨＵＶＥＣ管形

成を示した。（データ非表示）。

【０２６９】

ＨＵＶＥＣ発芽アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、６７／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）は、ＨＵＶＥＣ発芽の最も強い阻害を示した。６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）及び３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）は、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した。１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）は、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した。３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は、２９／３４（ＬＣ／ＨＣ）よりも強い発芽阻害を示したＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）及び６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した。２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）はＨＵＶＥＣ発芽の強い阻害を示さなかった。（データ非表示）。

【０２７０】

ＣＤＲ－Ｈ１／ＣＤＲ－Ｈ１／ＣＤＲ－Ｈ２ライブラリーを作製するための基礎として、クローン２９、３４、及び６７を選択して使用した。ＣＤＲ－Ｈ１／ＣＤＲ－Ｈ１／ＣＤＲ－Ｈ２核酸ライブラリーをＰＣＲにより生成し、ファージディスプレイベクターにクローニングし、大腸菌に形質転換してファージライブラリーを作製した。２ラウンドのパニング後、７つのクローン、すなわち８０Ａ、８０Ｂ、８６Ａ、８６Ｂ、８８、１０９、１１０Ａ及び１１０ＢをＥＬＩＳＡによってスクリーニングし、改善された結合特性を有することが見出された。

【０２７１】

更なるＥＬＩＳＡを、以下のように以下の軽鎖／重鎖の組合せを含む抗ＶＥＧＦＲ２抗体を用いて実施した：Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）。各クローン及び１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）の連続希釈物を、マイクロタイターディッシュのウェル中の抗Ｆｃ抗体で捕捉した。各ウェルにおける捕捉抗体の量を、ＡＰコンジュゲートＶＥＧＦＲを用いて定量した。インキュベーション後、過剰のＶＥＧＦＲ２－ＡＰを洗い流した。アルカリホスファターゼ基質をウェルに添加し、インキュベーション後、反応を停止させ、ＡＰ活性を４０５ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した（図１３Ａ及び１３Ｂ）。１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）は、ＶＥＧＦＲ２に対する最も強い結合を示し、次に３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、及び３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）が続き、次に２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、及び２９／ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）が続いた。

【０２７２】

更なるＥＬＩＳＡが実施され、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂがマイクロタイターディッシュのウェル中で抗ｆｄにより捕捉された。各ウェルにおける捕捉抗体の量を、ＡＰコンジュゲートＶＥＧＦＲを用いて定量した。インキュベーション後、過剰のＶＥＧＦＲ２－ＡＰを洗い流した。アルカリホスファターゼ基質をウェルに添加し、インキュベーション後、反応を停止させ、ＡＰ活性を４０５ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した（図１３Ｃ及び１３Ｄ）。１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）は、ＶＥＧＦＲ２に対する最も強い結合を示し、次に３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、及び３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）が続き、次に２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０

９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、及び２９／ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）が続いた。試験された全てのクローンはＶ９よりもＶＥＧＦＲ２に対して強い結合を示した（図１３Ｄ参照）。

【０２７３】

ＥＬＩＳＡの第３セットが実施された。簡潔には、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂがマイクロタイターディッシュのウェル中でＶＥＧＦＲ２－Ｆｃにより捕捉された。抗ヒトカッパ－ＨＲＰコンジュゲート二次抗体を用いて各ウェル中の捕捉された抗体の量を定量した。ＨＲＰコンジュゲート二次抗体をウェルに添加し、インキュベーション後、過剰の二次抗体を洗い流した。ＴＭＢをウェルに添加し、インキュベーション後、反応を停止させ、ＨＲＰ活性を４５０ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した（図１４Ａ及び１４Ｂ）。３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）はＶＥＧＦＲ２に対する最も強い結合を示し、次にＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）及び３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）が続いた。試験された全てのクローンは１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）よりもＶＥＧＦＲ２に対して強い結合を示した。

【０２７４】

更なるＥＬＩＳＡが実施され、簡潔には、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１２１Ｂがニュートラアビジン被覆マイクロタイターディッシュのウェル中に固定化したビオチン化ＶＥＧＦＲ２－Ｆｃで捕捉された。抗ヒトカッパ－ＨＲＰコンジュゲート二次抗体を用いて各ウェル中の捕捉された抗体の量を定量した。ＨＲＰコンジュゲート二次抗体をウェルに添加し、インキュベーション後、過剰の二次抗体を洗い流した。ＴＭＢをウェルに添加し、インキュベーション後、反応を停止させ、ＨＲＰ活性を４５０ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した（図１４Ｃ及び１４Ｄ）。３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／３４（ＬＣ／ＨＣ）、及び６７／３４（ＬＣ／ＨＣ）はＶＥＧＦＲ２に対する最も強い結合を示し、次にＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）及び３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）が続いた。試験された全てのクローンは１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）よりもＶＥＧＦＲ２への強い結合を示した。

【０２７５】

ＳＰＲが、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、及び２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）で実施された。結果を以下の表９Ａ－９Ｂに示す。

表 9A

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)
V9/V9	$1.1x10^{6}$	$8.49x10^{-4}$	$7.74x10^{-10}$
34/V9	$7.84x10^{5}$	$2.27x10^{-4}$	$2.89x10^{-10}$
34/80A	$2.15x10^{5}$	$2.98x10^{-4}$	$1.38x10^{-9}$

表 9B

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)
V9/V9	7.90×10^{5}	8.82×10^{-4}	1.12×10^{-9}
34/80A	4.12×10^{4}	1.31×10^{-4}	3.17×10^{-9}
110A/110A	2.28×10^{6}	1.88×10^{-4}	8.26×10^{-11}
34/80B	4.88×10^{4}	2.44×10^{-4}	5.01×10^{-09}
110B/110B	1.70×10^{6}	2.19×10^{-4}	1.29×10^{-10}
29/V9	8.67×10^{5}	3.47×10^{-4}	4.01×10^{-10}

【０２７６】

１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）は試験した他のクローンと比較して改善されたk_a、k_d及びK_Dを示す。１１０Ａ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）の結合は１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）よりもわずかに低い。３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）の結合は３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）よりもわずかに低い。

【０２７７】

ＳＰＲ動態解析が、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、及び２９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）で実施された。結果を以下の表１０Ａ－１０Ｃに示す。

表 10A

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)	Rmax
V9/V9	2.02×10^{6}	3.94×10^{-4}	1.95×10^{-10}	42
110A/110A	1.80×10^{6}	8.76×10^{-6}	4.88×10^{-12}	107
34/86	6.12×10^{5}	1.00×10^{-4}	1.64×10^{-10}	79
34/80A	6.12×10^{5}	5.75×10^{-5}	9.39×10^{-11}	40
109/109	1.67×10^{6}	7.08×10^{-5}	4.25×10^{-11}	118
29/88	8.90×10^{5}	7.80×10^{-5}	8.76×10^{-11}	63

表 10B

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)	Rmax	Fold KD
V9/V9	9.89×10^{5}	3.47×10^{-4}	3.51×10^{-10}	62.9	1
110A/110A	1.64×10^{6}	4.78×10^{-5}	2.92×10^{-11}	92.2	12
109/109	1.71×10^{6}	7.88×10^{-5}	4.61×10^{-11}	108.4	8
67/V9	6.20×10^{5}	6.03×10^{-5}	9.72×10^{-11}	73.3	4
34/34	9.30×10^{5}	1.39×10^{-4}	1.49×10^{-10}	69.2	2

表 10C

LC/HC	ka (1/(M*s))	kd (1/s)	K_D (M)	Rmax	Fold KD
V9/V9	9.98×10^{5}	4.24×10^{-4}	4.25×10^{-10}	70.69	1.0
110A/110A	1.35×10^{6}	1.21×10^{-4}	8.92×10^{-11}	104.93	4.8
109/109	1.54×10^{6}	8.19×10^{-5}	5.33×10^{-11}	116.29	8.0
67/V9	6.14×10^{5}	7.88×10^{-5}	1.28×10^{-10}	91.8	3.3
34/34	8.92×10^{5}	1.38×10^{-4}	1.54×10^{-10}	80.53	2.8

【０２７８】

１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）及び１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）は、Ｖ９／Ｖ９よりも一貫して高いk_a及び低いk_dを示した。従って、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）及び１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）のK_Dは低かった。更に、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）及び１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）のＲｍａｘは一貫して高かった。

【０２７９】

クローン３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１０Ｂ／１１０Ｂを、以下のようにＨＵＶＥＣ全細胞に結合する能力について評価した：ＨＵＶＥＣを回収し、ＰＢＳで洗浄し、４℃で３０分間パラホルムアルデヒドで固定した。次いで、細胞をＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、マイクロタイタープレートのウェルに添加し、次いでこれを遠心分離した。各ウェルに３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、又は１１０Ｂ／１１０Ｂを添加し、４℃で３０分間インキュベートした。ウェルをＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄した後、ビオチン化ウサギ抗ヒトＩｇＧを各ウェルに添加し、４℃で３０分間インキュベートした。ＦＡＣＳ緩衝液で更に２回洗浄した後、ストレプトアビジン－ＰＥ（すなわち、フィコエリトリンにコンジュゲートしたストレプトアビジン）を各ウェルに添加し、インキュベートした。ウェルをＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、４％パラホルムアルデヒドで固定し、遠心分離した。上清を廃棄し、細胞をＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁し、フローサイトメトリーにより分析した。図１５に示すように、クローン１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、及び１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣに対して強い結合を示した１１２１Ｎよりも、ＨＵＶＥＣＳに対して強い結合を示した。試験された全てのクローンは１１２１ＢよりもＨＵＶＥＣに対して強い結合を示した。そのような結果は、上記のＥＬＩＳＡ

結果に対応する。

【０２８０】

ＨＵＶＥＣ増殖アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。図１６Ａ及び１６Ｂに示すように、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）及び１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）は、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）及び１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）を含む、試験した全てのクローンのうちＨＵＶＥＣ増殖の最も強い阻害を示した。１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、及びＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ増殖のより強い阻害を示した１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）よりもＨＵＶＥＣ増殖のより強い阻害を示した。３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／９９（ＬＣ／ＨＣ）、及びＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ増殖のより強い阻害を示した１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）よりもＨＵＶＥＣ増殖のより強い阻害を示した。

【０２８１】

ＨＵＶＥＣ生存アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。図１７Ａ及び１７Ｂに示すように、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）及び１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）は、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）及び１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）を含む、試験した全てのクローンのうちＨＵＶＥＣ生存の最も強い阻害を示した。１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、及びＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ生存のより強い阻害を示した１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）よりもＨＵＶＥＣ生存のより強い阻害を示した。３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／９９（ＬＣ／ＨＣ）、及びＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ生存のより強い阻害を示した１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）よりもＨＵＶＥＣ生存のより強い阻害を示した。

【０２８２】

ＨＵＶＥＣ管形成アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）は、試験した全てのクローンのうちＨＵＶＥＣ管形成の最も強い阻害を示した。１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）及び１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）は、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示したアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）及び３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）及び３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示したＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ管形成のより強い阻害を示した。

【０２８３】

ＨＵＶＥＣ発芽アッセイを、クローンＶ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１１

０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）、及びアバスチン（Ａｖａｓｔｉｎ）を用いて上記のように実施した。１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）は、試験した全てのクローンのうちＨＵＶＥＣ発芽の最も強い阻害を示した。１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）及び１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）は、３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した。３４／８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）は、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した。２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）は、Ｖ９／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した３４／８０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）よりもＨＵＶＥＣ発芽のより強い阻害を示した。

【０２８４】

１１２１Ｂ（Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）と比較して、クローン３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）の異種間活性を評価するために別のセットのＥＬＩＳＡを実施した。マウスＶＥＧＦＲ２－Ｆｃを捕捉試薬として使用し、抗ヒトカッパ－ＨＲＰコンジュゲート二次抗体を用いて各ウェル中の捕捉された抗体の量を定量した。ＨＲＰコンジュゲート二次抗体をウェルに添加し、インキュベーション後、過剰の二次抗体を洗い流した。ＴＭＢをウェルに添加し、インキュベーション後、反応を停止させ、ＨＲＰ活性を４５０ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した。図１８Ａ及び１８Ｂは、１１０Ｂ／１１０ＢがマウスＶＥＧＦＲ２に対する最も強い結合親和性を示す二重ＥＬＩＳＡ実験の結果を示す。

【０２８５】

次に、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）と比較して、１１０／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）がＶＥＧＦＲ２のリン酸化を阻害する能力を評価するためにアッセイを実施した。簡潔には、8×10^5個のＨＵＶＥＣ細胞を１０ｃｍのディッシュに播種し、コンフルエントになるまで増殖させた。次いで、血清飢餓のために培地を３７℃でＥＢＭ－２と交換した。抗体を各ディッシュに添加し、３７℃で３０分間インキュベートした。次に、２５μｇ／ｍｌのＶＥＧＦ１６５（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、カタログ番号６８－８７８４－８２）を各ディッシュに３７℃で１０分間添加してＶＥＧＦＲ２を刺激した。ＶＥＧＦ１６５の添加後、培地を吸引し、細胞を冷ＰＢＳで洗浄した。ＰＢＳを廃棄し、細胞溶解緩衝液（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、カタログ番号９８０３Ｓ）＋１ｘＨａｌｔプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤カクテル（Ｐｉｅｒｃｅ、カタログ番号ＰＩＥ７８４４０）＋５ｍＭのNa_3VO_4を各ディッシュに添加した。４℃で５分間のインキュベーションの後、細胞を回収し、溶解させ、２回の凍結－解凍サイクルを行い、１４，０００×ｇで４℃で１５分間遠心分離した。上清を新しいチューブに移し、ＢＣＡ試薬（Ｐｉｅｒｃｅ、カタログ番号ＰＩＥ２３２２５）を用いて各チューブの全タンパク質を定量した。１５０μｇの各全溶解物を、５μｇのＩＭＣ－１１２Ｎ（すなわち、Ｒｅｆ　Ｂ、社内で調製、ロット番号１４０５０９０５１６）との免疫沈降反応で使用した。免疫沈降反応を、傾斜回転を伴って４℃で一晩インキュベートした。次いで、免疫沈降反応をプロテインＡビーズを用いて精製し、洗浄し、マウス抗ホスホチロシン（４Ｇ１０）抗体（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、カタログ番号０５－１０５０）、続いてＨＲＰコンジュゲート二次抗体を用いてウエスタンで分析した。ＥＣＬを添加し、抗ホスホチロシン抗体結合をＸ線フィルムにより検出した。次いで、膜を、ストリッピング緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ、カタログ番号２１０５９）を用いて剥離し、ウサギ抗ＶＥＧＦＲ２（５５Ｂ１１）抗体（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、カタログ番号２４７９）、続いてＨＲＰコンジュゲート二次抗体でプローブした。ＥＣＬを添加し、抗ＶＥＧＦＲ２抗体結合をＸ線フィルムにより検出した。図１９Ａに示すように、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）は、１１０／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）よりも低濃度でＶＥＧＦＲ２リン酸化をより強く阻害した。図１９Ａの結果は図１９Ｂに定量化される。

【０２８６】

上記の遊走アッセイを実施して、クローンＶ９、３４／８０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／

８６Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、３４／８６Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）、２９／８８（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１０／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）のＨＵＶＥＣの遊走活性を阻害する能力を評価した。図２０に示すように、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）は、１２１１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）よりもＨＵＶＥＣ遊走のより強い阻害を示した。

【０２８７】

次に、抗体１１０／１１０ＢがＶＥＧＦＲ２ファミリーの他のメンバーに結合することができるかどうかを決定するためにＥＬＩＳＡ実験を実施した。簡潔には、組換えヒトＶＥＧＦＲ１－Ｆｃ融合タンパク質（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を９６ウェルプレートのウェル中に固定化した。抗体１１２１Ｎ（Ｒｅｆ－Ｂ）、抗体１１０／１１０Ｂ、及びマウス抗ヒトＶＥＧＦＲ１（１０μｇ／ｍｌからの３倍希釈）をウェルに添加した。固定化ＶＥＧＦＲ１－Ｆｃに対する抗体の抗体への結合を検出するために、ヤギ抗ヒトＦ（ａｂ）’$_2$－ＨＲＰ又はヤギ抗マウスＦ（ａｂ）’$_2$－ＨＲＰの何れかを各ウェルに添加した。ＴＭＢをウェルに添加し、室温で５分間のインキュベーション後、反応を停止させ、ＨＲＰ活性を４５０ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した。図２４Ａに示すように、１１０／１１０Ｂも１１２１Ｎ（Ｒｅｆ－Ｂ）もＶＥＧＦＲ１－Ｆｃに結合しないことが見出された。

【０２８８】

同様のセットのＥＬＩＳＡにおいて、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ－Ｂ）、１１０／１１０Ｂ、及びマウス抗ヒトＶＥＧＦＲ３（１０μｇ／ｍｌからの３倍希釈）をＶＥＧＦＲ３－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）が固定化された９６ウェルプレートのウェルに添加した。固定化ＶＥＧＦＲ３－Ｆｃに対する抗体の抗体への結合を検出するために、ヤギ抗ヒトＦ（ａｂ）’$_2$－ＨＲＰ又はヤギ抗マウスＦ（ａｂ）’$_2$－ＨＲＰの何れかを各ウェルに添加した。ＴＭＢをウェルに添加し、室温で１５分間のインキュベーション後、反応を停止させ、ＨＲＰ活性を４５０ｎｍでの吸光度の増加をモニターすることによって測定した。図２４Ｂに示されるように、１１０／１１０Ｂは、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ－Ｂ）よりもヒトＶＥＧＦＲ３－Ｆｃに対してより良好な結合活性を有することが見出された。

【０２８９】

ＶＥＧＦ－Ｃの主な機能の１つはリンパ脈管新生であり、ここでそれはＬＥＣの生存、増殖及び遊走を促進するためにＶＥＧＦＲ－３を介してリンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）に作用する。実験は、ＶＥＧＦ－Ｃ誘導ヒトリンパ管内皮細胞（ＨＬＥＣ）増殖に対する抗体１１０／１１０Ｂの効果を決定するために実施された。ＨＬＥＣ（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌ；Ｐ５）をプレートから剥離し、遠心分離により収集し、内皮細胞培地（ＥＣＭ）（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌ；カタログ番号１００１）に3×10^4細胞／ｍｌで再懸濁した。１００μｌの細胞懸濁液を９６ウェルプレートの各ウェルに播種した（すなわち、３０００細胞／ウェルのカウントを達成するため）。約２４時間後、ＨＬＥＣをＰＢＳで１回洗浄し、７０μｌの基底内皮細胞培地（ＥＣＭ－ｂ）（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌ；カタログ番号１００１－ｂ）を各ウェルに添加した。１１２１（Ｒｅｆ－Ｂ）、１１０／１１０Ｂ、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）の何れかを含む５０μｌのＥＣＭ－ｂをウェルに４×連続希釈で添加し（すなわち２４０μｇ／ｍｌから、これは８０μｇ／ｍｌ／ウェルの最終濃度を達成した）、３７℃で３０分間インキュベートした。２．５μｇ／ｍｌのＶＥＧＦ－Ｃ（ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ、カタログ番号１００－２０Ｃ）３０μｌをウェルの半分に添加し（すなわち、５００ｎｇ／ウェルの最終濃度を達成するため）、プレートを３７℃で５％CO_2で約３日間（７２時間）インキュベートした。３０μｌのＭＴＳ／ＰＭＳ混合物（ＭＴＳ（テトラゾリウム化合物）：Ｐｒｏｍｅｇａ、カタログ番号Ｇ１１１２；ＰＭＳ（電子カップリング試薬）：ＧｅｎｅＬａｂｓ、カタログ番号ＡＣ－Ａ２２１２．０００５）を各ウェルに添加し、プレートを３７℃で３．５時間インキュベートした。ホルマザンへのＭＴＳの変換は、代謝的に活性な細胞中に見出されるデヒドロゲナーゼ酵素によって達成される。４９０ｎｍの吸光度の量によって測定されたホルマザン生成物の量は、培養物中の生存細胞の数に正比例する。図２５に示すように、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ－Ｂ）及び１１０／１

１Ｂの両方が、ＶＥＧＦ－Ｃ誘導ＨＥＬＣ増殖を阻害する。

【０２９０】

次に、ＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ２リン酸化に対する抗体１１０／１１０Ｂの効果を以下のように測定した。１０ｃｍディッシュ上に$1x10^6$個のＨＬＥＣ（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌ：Ｐ５）を播種し、内皮細胞培地（ＥＣＭ）（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌ；カタログ番号１００１）中で８０－９０％コンフルエンスまで増殖させた。次いで、培地をＥＣＭ－ｂ（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌ；カタログ番号１００１－ｂ）と置換し、３７℃で一晩インキュベートした。抗体１１２１Ｎ（Ｒｅｆ－Ｂ）又は１１０／１１０Ｂを２セットのディッシュに添加した。一セットのディッシュでは、０．２８８μｇ／ｍｌの抗体を添加して５０ｍＭの最終濃度を達成し、第２セットのディッシュでは、７．２μｇ／ｍｌの抗体を添加して２ｍＭの最終濃度を達成した。２００ｍｇ／ｍｌのＶＥＧＦ－Ｃ（ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ；カタログ番号１００－２１０Ｃ）を添加し、ディッシュを３７℃で１０分間インキュベートして、ＶＥＧＦＲ２のリン酸化を刺激した。インキュベーション後、培地を吸引し、各ディッシュを冷たい１ｘＰＢＳで１回洗浄した。ＰＢＳを廃棄後、各皿に３００－４００μｌの細胞溶解緩衝液（ＣｅｌｌＳｉｇｎａｌｉｎｇ；カタログ番号９８０３Ｓ）を添加し、続いて１×ＨＡＬＴプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤カクテル（Ｐｉｅｒｃｅ；カタログ番号ＰＩＥ７８４４０）及び５ｍＭのNa_3VO_4を添加した。４℃で５分間のインキュベーション後、各ディッシュから各細胞溶解物を収集し、２７Ｇ針を通して均質化した。ホモジナイズした細胞溶解物をチューブに移し、ドライアイス上で２回の凍結－解凍サイクルを行い、次いで１４，０００×ｇで４℃で１５分間遠心分離した。上清を新しいチューブに移し、各チューブ中の全タンパク質濃度をＢＣＡ試薬（Ｐｉｅｒｃｅ；カタログ番号ＰＩＥ２３２２５）により測定した。

【０２９１】

１５０μｇの各溶解物を、以下のように実施される免疫沈降実験に使用した。抗体１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）５μｇを各溶解物に添加し、４℃で一晩傾斜回転させてインキュベートした。次に、樹脂Ａを各抗体／溶解物混合物に添加し、４℃で２時間傾斜回転させてインキュベートした。次いで、各混合物をＰｉｅｒｃｅ　Ｍｉｃｒｏ－Ａ　Ｐｉｎカラム（Ｐｉｅｒｃｅ；カタログ番号８９８７９）に添加し、カラムを２０００×ｇで１分間遠心分離した。次いで、カラムを５００μｌの洗浄緩衝液（０．０２％ＰＢＳＴ＋５ｍＭのNa_3VO_4）で５回洗浄した。各樹脂Ａ試料に１０－１５μｌの５×試料緩衝液を添加し、混合物を９５℃で５分間煮沸した。各試料を回転させて樹脂Ａをペレット化し、各試料を６％のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル上で分離した。次いで、タンパク質を標準的な方法を用いてＰＶＤＦ膜上に移した。移した後、膜を５％のＢＳＡ／ＰＢＳでブロックした。

【０２９２】

最初に、膜を１％のＢＳＡ／０．０５　ＰＢＳＴ中の１０００×希釈マウス抗ホスホチロシン（４Ｇ１０）（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ：カタログ番号０５－１０５０）でプローブし、０．１％のＰＢＳＴ中で５分間３回洗浄した。次に、膜を０．０５％のＰＢＳＴ中の１０００ｘヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）を用いて室温で１時間プローブし、０．１％のＰＢＳＴ中で５分間３回洗浄した。ＥＣＬを添加し、抗ホスホチロシン抗体結合をＸ線フィルムにより検出した。

【０２９３】

膜を室温で１５分間ストリッピング緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ；Ｃａｔ＃２１０５９）で剥離し、０．０５％のＰＢＳＴで５分間洗浄した。次いで、膜を５％のＢＳＡ／ＰＢＳで再びブロックした。

【０２９４】

次に、膜を１％のＢＳＡ／０．０５　ＰＢＳＴ中の１０００×希釈ウサギ抗ＶＥＧＦＲ２（５５ＢＢ１）（ＣｅｌｌＳｉｇｎａｌｉｎｇ；カタログ番号２４７９）でプローブし、０．１％のＰＢＳＴ中で５分間３回洗浄した。次に、膜を０．０５％のＰＢＳＴ中の１０００ｘヤギ抗ウサギＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）を用いて室温で１時間プローブし、０．１％のＰＢＳＴ中で５分間３回洗浄した。ＥＣＬを添加し、抗ホスホチロシン抗体結合をＸ線フィ

ルムにより検出した。

【０２９５】

図２６Ａに示すように、１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）及び１１０／１１０Ｂの両方が、ＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ２リン酸化を阻害することができた。図２６Ａの定量結果を図２６Ｂに示す。抗体１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）は、抗体１１０／１１０Ｂよりもより強くＶＥＧＦＲ２のリン酸化を阻害した。

【０２９６】

同様の実験が、ＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ３リン酸化に対する抗体１１０／１１０Ｂの効果を測定するために実施された。実験は、免疫沈降において５μｇの抗体１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）の代わりに１μｌのヤギ抗ヒトＶＥＧＦＲ３（Ｒ＆Ｄ；カタログ番号ＡＦ３４９）又は３μｌのマウス抗ＶＥＧＦ３（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ；カタログ番号ＭＡＢ３７５７）を使用し；抗体／ＶＥＧＦＲ３複合体を沈殿させるためにプロテインＧ及びプロテインＡビーズを使用し；リン酸化ＶＥＧＦ３をプローブするために、マウス抗ＶＥＧＦＲ２の代わりに１０００ｘ希釈マウス抗ＶＥＧＦＲ３（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ；カタログ番号ＭＡＢ３５７５）を使用して、上記のように実施した。図２７Ａに示すように、抗体１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）及び抗体１１０／１１０Ｂの両方が、ＶＥＧＦ－Ｃ刺激ＶＥＧＦＲ３リン酸化を阻害することができた。図２７Ａの定量結果を示す図２７Ｂにおいて、低濃度の１１０／１１０Ｂは、低濃度の１１２１Ｎ（Ｒｅｆ　Ｂ）よりもＶＥＧＦＲ３リン酸化に対するより良好な阻害効果を有することが示された。

【０２９７】

１１２１Ｂ（すなわち、Ｒｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（すなわち、Ｒｅｆ　Ｂ）及びプラセボと比較して、クローン３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、及び１１０Ｂ／１１０Ｂ（ＬＣ／ＨＣ）の治療有効性をアッセイするために、ヒトＨＣＴ－１１６ ヒト結腸がん腫瘍異種移植片を保有するマウスを用いた。簡潔には、ヒトＨＣＴ－１１６ヒト結腸がん細胞（接種＝1×10^{6}個の細胞）を雌のＢＡＬＢ／ｃヌードマウスに移植した。マウスを無作為に７群に分けた。各群は、以下の表１１に記載の投与計画の１つにより処置した：

表 11

群	動物	腫瘍	処置剤(抗体)(LC/HC)	用量	処置スケジュール
1	BALB/c NU 雌 6－7 週齢 4 匹のマウス／群	HCT-116 接種=1×10^6 個の細胞	34/V9	100mg/kg	接種後 3 日目; 3-4 週間、1 週間に 2 回
2			109/109		
3			110A/110A		
4			110B/110B		
5			1121B (Ref A)		
6			1121N (Ref B)		
7			プラセボ	10ml/kg	

【０２９８】

処置の開始後４６日目に、１１０Ｂ／１１０Ｂ（１００ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスは、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１２１Ｂ（すなわちＲｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（すなわちＲｅｆ　Ｂ）、及びプラセボと比較して、腫瘍負荷の最大の減少を示した。１１０Ｂ／１１０Ｂ（１００ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスは、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１２１Ｂ（すなわち、Ｒｅｆ　Ａ）、及びプラセボで処置したマウスよりも腫瘍負荷のより大きな減少を示した。図２１及び下記の表１２を参照。

表 12

	TV[1] (46 日目)	RTV[2] (46 日目)	TV/CV %[3] (46 日目)	TGI %[4] (46 日目)	TV のp値[5] (46 日目)	
34/V9 (100 mg/kg)	1382	905%	84%	18%	$3x10^{-2}$	p<0.05*
109/109 (100 mg/kg)	1680	981%	102%	−2%	$4x10^{-1}$	p>0.05
110A/110A (100 mg/kg)	1538	908%	93%	8%	$3x10^{-1}$	p>0.05
110B/110B (100 mg/kg)	933	579%	56%	48%	$3x10^{-3}$	p<0.01**
1121B (Ref A) (100 mg/kg)	1553	912%	94%	7%	$3x10^{-1}$	p>0.05
1121N (Ref B) (100 mg/kg)	1223	787%	74%	29%	$6x10^{-2}$	p>0.05
プラセボ	1654	989%	−	−	−	−

[1]TV : 腫瘍体積
[2]RTV : 最初に対する腫瘍体積
[3]TV/CV% : 処置群の体積/対照群の体積
[4]TGI% : 腫瘍増殖阻害率 = 1− (T46−T0)/(C46−C0)%
[5]p 値 : ＜0.05 = ＊ ＜0.01= ＊＊ ＜0.001=＊＊＊

【０２９９】

表１１に記載される異種移植実験からの更なるデータが本明細書に提供される。図２２及び下記の表１３に示すように、処置の開始後４２日目に、１１０Ｂ／１１０Ｂ（１００ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスは、３４／Ｖ９（ＬＣ／ＨＣ）１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１２１Ｂ（すなわちＲｅｆ　Ａ）、１１２１Ｎ（すなわちＲｅｆ　Ｂ）、及びプラセボと比較して、腫瘍負荷の最大の減少を示した。１１０Ｂ／１１０Ｂ（１００ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスは、１０９／１０９（ＬＣ／ＨＣ）、１１０Ａ／１１０Ａ（ＬＣ／ＨＣ）、１２１Ｂ（すなわち、Ｒｅｆ　Ａ）、及びプラセボで処置したマウスよりも腫瘍負荷のより大きな減少を示した。

表 13

	TV[1]（42 日目）	RTV[2]（42 日目）	TV/CV %[3]（42 日目）	TGI %[4]（42 日目）	TV のp値[5]（42 日目）	
34/V9 (100 mg/kg)	1221	803%	87%	15%	$9x10^{-2}$	p>0.05
109/109 (100 mg/kg)	1435	833%	102%	−2%	$4x10^{-1}$	p>0.05
110A/110A (100 mg/kg)	1403	832%	100%	0%	$5x10^{-1}$	p>0.05
110B/110B (100 mg/kg)	858	525%	61%	44%	$8x10^{-3}$	p<0.01**
1121B (Ref A) (100 mg/kg)	1404	838%	100%	0%	$5x10^{-1}$	p>0.05
1121N (Ref B) (100 mg/kg)	1055	660%	75%	29%	$4x10^{-2}$	p<0.05*
プラセボ	1407	841%	−	−		−

[1]TV : 腫瘍体積
[2]RTV : 最初に対する腫瘍体積
[3]TV/CV% : 処置群の体積/対照群の体積
[4]TGI% : 腫瘍増殖阻害率 = 1− (T42−T0)/(C42−C0)%
[5]p 値 : ＜0.05 = ＊ ＜0.01= ＊＊ ＜0.001=＊＊＊

【０３００】

抗体３４／Ｖ９及び抗体１１０／１１０Ｂ（すなわち、下の表１４に記載のＦ１－Ｆ４）の４つの製剤を、表１５に記載の濃度で調製し、試験し、－８０℃又は４０℃の何れかで２週間保存した。

表 14

	緩衝液	賦形剤	PH
F1	10mM のヒスチジン	75mM の NaCl、1%のグリシン、2%のスクロース、0.02%の Tween 80	6
F2	10mM のクエン酸塩	75mM の NaCl、2%のグリシン、2%のスクロース、0.02%の Tween 80	6
F3	10mM の酢酸塩	75mM の NaCl、2%のグリシン、2%のスクロース、0.02%の Tween 80	6
F4	10mM のリン酸塩	75mM の NaCl、1%のグリシン、2%のスクロース、0.02%の Tween 80	6

表 15

抗体	製剤	濃度(μg/ml)	保存温度
34/V9 (LC/HC)	F1	1974	−80°C
	F1	1527	40°C
	F2	2441	−80°C
	F2	2677	40°C
	F3	1358	−80°C
	F3	1669	40°C
	F4	2033	−80°C
	F4	2225	40°C
110/110B (LC/HC)	F1	1734	−80°C
	F1	1797	40°C
	F2	2172	−80°C
	F2	2773	40°C
	F3	2150	−80°C
	F3	2306	40°C
	F4	2124	−80°C
	F4	2381	40°C

【０３０１】

次いで、各保存条件下の各製剤からの抗体の試料を、還元条件下及び非還元条件下の両方で電気泳動によって分析した。図２３Ａに示すように、抗体３４／Ｖ９の安定性は、Ｆ２製剤で最も高かった。３４／Ｖ９の安定性は、Ｆ３及びＦ４においてほぼ同等であり、３４／Ｖ９はＦ１において最も安定でなかった。抗体１１０／１１０Ｂについても同じ結果が見られた。図２３Ｂを参照。

【０３０２】

ヒトＮＣＩ－Ｈ４６０非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）腫瘍異種移植片を保有するマウスを、プラセボと比較して１１０Ｂ／１１０Ｂの治療有効性をアッセイするために使用した。簡潔には、ヒトＮＣＩ－Ｈ４６０　ＮＳＣＬＣ細胞（接種＝３×１０^{6}個の細胞）を雌のＢＡＬＢ／ｃヌードマウスに移植した。マウスを無作為に４群に分けた。各群は、以下の表１６に記載の投与計画の１つにより処置した：

表 16

群	動物	腫瘍	処置剤(抗体)(LC/HC)	用量	処置スケジュール
1	BALB/c NU 雌 ～6－7 週齢 ～3-4 匹のマウス／群	NCI-H460 接種=3×10^6 個の細胞	110B/110B	100mg/kg	接種後 4 日目; 3 週間、1 週間に 2 回
2				50 mg/kg	
3				25 mg/kg	
4			プラセボ	10 ml/kg	

【０３０３】

処置の開始後２１日目に、１１０／１１０Ｂ（１００ｍｇ／ｋｇ）で処置したマウスは、１１０／１１０Ｂ（５０ｍｇ／ｋｇ）、１１０／１１０Ｂ（２５ｍｇ／ｋｇ）及びプラセボで処置したマウスと比較して、腫瘍負荷の最大の減少を示した。図２８及び下記の表１７を参照。

表 17

	TV[1] (21 日目)	RTV[2] (21 日目)	TV/CV %[3] (21 日目)	TGI %[4] (21 日目)	TV のp値[5] (21 日目)	
100/100B (100 mg/kg)	893	1181%	58%	42%	0.015	p>0.05
100/100B (50 mg/kg)	1425	1406%	93%	6%	0.392	p>0.05
100/100B (25 mg/kg)	1606	1121%	105%	−4%	0.397	0.392
プラセボ	1529	1302%	−	−		−

[1]TV : 腫瘍体積
[2]RTV : 最初に対する腫瘍体積
[3]TV/CV% : 処置群の体積/対照群の体積
[4]TGI% : 腫瘍増殖阻害率 = 1− (T42−T0)/(C42−C0)%
[5]p 値 : ＜0.05 = ＊ ＜0.01= ＊＊ ＜0.001=＊＊＊

【０３０４】

前述の実施例は、説明の目的でのみ提供されており、決して本発明の範囲を限定するものではない。本明細書に示され記載されたものに加えて、本発明の様々な改変は、前述の説明から当業者には明らかであり、添付の特許請求の範囲に含まれる。

【０３０５】

実施態様の一覧

１．

抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックしない、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

２．

抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合する、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

３．

抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のＶＥＧＦへの結合をブロックせず、かつ抗体又はその抗原結合断片がＶＥＧＦＲ２のドメイン５－７に結合する、抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

４．

抗体が全ＨＵＶＥＣ細胞に結合する、実施態様１－３の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

５．

抗体又はその抗原結合断片がインビトロで血管新生を阻害しない、実施態様１－４の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

６．

抗体又はその抗原結合断片がインビボで血管新生を阻害する、実施態様１－４の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

７．

抗体又はその抗原結合断片がインビトロで血管新生を阻害せず、かつ抗体又はその抗原結合断片がインビボで血管新生を阻害する、実施態様１－４の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

８．

（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）又はＲＡＳＱＳＶＳ－Ｓ／Ｎ－Ｓ／Ｎ－ＹＬ－Ｇ／Ａ（配列番号８３）又はＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）又はＲＳＳＱＳＬ－Ｌ／Ｖ／Ｙ－Ｈ／Ｙ－Ｇ／Ｓ／Ｒ－Ｄ／Ｎ－Ｇ－Ｎ／Ｋ／Ｙ－Ｎ／Ｔ－Ｙ／Ｆ－ＬＤ（配列番号８４）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ａ／Ｇ／Ｋ／Ｅ－Ｇ／Ａ／Ｖ／Ｎ／Ｓ－Ｓ／Ｄ－Ｎ／Ｓ／Ｑ／Ｋ－Ｒ／Ｌ－Ａ／Ｋ／Ｄ／Ｐ－Ｓ／Ｔ（配列番号６０）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｑ－Ｑ／Ｓ－Ａ／Ｓ／Ｒ／Ｇ／Ｙ－Ｌ／Ｙ／Ｓ／Ａ／Ｄ／Ｇ／Ｔ－Ｑ／Ｓ／Ｎ／Ｈ／Ｆ－Ｔ／Ｉ／Ｗ／Ｓ－Ｐ／Ｔ－Ｙ／Ｌ／Ｐ／Ｖ／Ｇ／Ｉ－Ｔ／Ｖ（配列番号７２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｔ／Ｓ－Ｙ－Ｙ／Ｇ／Ａ／Ｓ－Ｍ／Ｉ－Ｈ／Ｎ／Ｓ（配列番号３４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ／Ｖ／Ｇ／Ｓ－Ｉ－Ｎ／Ｓ／Ｉ－Ｐ／Ｙ／Ｓ／Ｇ－Ｓ／Ｄ／Ｉ－Ｇ／Ｆ／Ｓ－Ｇ／Ｓ－Ｓ／Ｎ／Ｔ／Ｙ／Ａ－Ｔ／Ｋ／Ａ／Ｉ－Ｓ／Ｙ／Ｎ／Ｈ－ＹＡ－Ｑ／Ｄ－Ｋ／Ｓ－Ｆ／Ｖ－Ｋ／Ｑ－Ｇ（配列番号４０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）又はＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）又はＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）又はＤ／Ｇ－Ｆ／Ｉ－Ｙ／Ｉ－Ｅ／Ｖ－Ａ／Ｇ－Ｇ／Ｐ－Ｇ／Ｔ－Ｗ／Ｄ－Ｙ／Ａ－ＦＤ－Ｌ／Ｉ（配列番号５１）又はＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）又はＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）又はＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）又はＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片。

９．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）配列番号７５－８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）配列番号６３－７１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）配列番号

２９－３３及び８５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）配列番号３５－３９及び１２５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）配列番号４２－５０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１０．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＨＧＮＧＮＮＹＬＤ（配列番号７５）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＹＴ（配列番号６３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＴＹＹＭＨ（配列番号２９）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＤＬＶＶＰＡＡＴＬＤＹ（配列番号４２）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様１又は２に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１１．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＮＩＡＳＹＬＮ（配列番号７６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＡＡＳＳＬＫＳ（配列番号５５）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＳＹＳＩＰＹＴ（配列番号６４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＥＳＹＧＧＱＦＤＹ（配列番号４３）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１２．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＮＮＹＬＧ（配列番号７７）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＬＴ（配列番号６５）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＭＨ（配列番号３１）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３７）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＤＧＦＧＬＡＶＡＧＰＹＷＹＦＤＬ（配列番号４４）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１３．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＶＹＳＤＧＫＴＹＬＤ（配列番号７８）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＫＶＳＮＲＤＳ（配列番号５７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＡＨＷＰＰＴ（配列番号６６）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＰＴＲＳＲＤＦＷＳＧＬＧＹＹＹＭＤＶ（配列番号４５）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１４．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＲＳＮＷＰＰＴ（配列番号６７）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＧＭＨ（配列番号３０）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）ＶＩＳＹＤＧＳＮＫＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号１２５）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）ＤＦＹＥＡＧＧＷＹＦＤＬ（配列番号４６）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１５．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＴＲＳＲＧＳＩＡＳＳＹＶＱ（配列番号８０）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＥＮＤＱＲＰＳ（配列番号５８）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＳＹＤＦＳＴＶＶ（配列番号６８）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）と記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＶＧＡＴＴＳＬＹＹＹＹＧＭＤＶ（配列番号４７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１６．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡ（配列番号７９）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＧＡＳＳＲＡＴ（配列番号５６）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＱＱＹＧＳＳＰＧＴ（配列番号６９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＳＭＮ（配列番号２８）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＩＩＶＧＰＴＤＡＦＤＩ（配列番号４８）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１７．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦＬＤ（配列番号８１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＳＳＫＲＤＳ（配列番号５９）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号７０）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＴＹＡＭＳ（配列番号３３）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＳＧＳＧＧＡＴＨＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号３９）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号４９）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１８．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＹＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号８２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号５４）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＩＴ（配列番号７１）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＳＹＡＩＳ（配列番号８５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧ（配列番号３８）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＲＤＧＳＬＧＶＧＹＹＹＭＤＦ（配列番号５０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む、実施態様８又は９に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

１９．

（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又は抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体である抗原結合断片であって、変異体が、配列番号２２、２３、２４、２５、２６、及び／又は２７の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又は抗ＶＥＧＦＲ２抗体の変異体である抗原結合断片。

２０．

第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体のＶＥＧＦＲ２への結合を競合的に阻害する抗血管内皮増殖

因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片であって、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片。

２１．

ＶＥＧＦＲ２に対する第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体と同じＶＥＧＦＲ２のエピトープに特異的に結合する抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片であって、第２の抗ＶＥＧＦＲ２抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、抗血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）抗体又はその抗原結合断片。

２２．

抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲ－Ｄ／Ｓ－ＧＹＴＦ（配列番号２２）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列Ｌ／Ｑ／Ｒ－ＳＳ（配列番号２３）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列Ｍ／Ｌ／Ｆ－ＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号２４）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列Ｇ／Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ／Ｐ－ＦＳＴＹＡ（配列番号２５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列Ｉ－Ｓ／Ｎ－Ｇ－Ｓ／Ｎ－Ｇ／Ｓ－Ｇ／Ｑ－Ａ／Ｔ－Ｔ（配列番号２６）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧ－Ｙ／Ｌ／Ｉ（配列番号２７）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含み、変異体が、配列番号２２、２３、２４、２５、２６、及び／又は２７の１つ又は複数において少なくとも１つのアミノ酸置換を含む、実施態様２０又は２１に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

２３．

抗体が、（１）配列番号１及び１６からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）配列番号２、７、及び８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）配列番号３、９、及び１２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）配列番号４、１３、１４、及び１５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）配列番号５、７、１７、１８、１９、２０、及び２１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）配列番号６、１０、及び１１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

２４．

軽鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＬＳＳ（配列番号２）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、かつ、重鎖可変ドメイン配列が、（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含

む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
２５．
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
２６．
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
２７．
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
２８．
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＤＧＹＴＦ（配列番号１）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＬＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号９）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＡＴ（配列番号５）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
２９．
抗体が、（１）アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；（２）アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及び（３）アミノ酸配列ＭＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号３）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びに（１）アミノ酸配列ＲＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号１５）を含むＣＤＲ－Ｈ１；（２）アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＱＡＴ（配列番号２０）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及び（３）アミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。
３０．
抗体が、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ

酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＹ（配列番号６）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

３１．

抗体が、アミノ酸配列ＱＳＬＹＹＲＳＧＹＴＦ（配列番号１６）を含むＣＤＲ－Ｌ１；アミノ酸配列ＱＳＳ（配列番号７）を含むＣＤＲ－Ｌ２；及びアミノ酸配列ＦＱＧＴＨＷＰＹＴ（配列番号１２）を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変ドメイン配列；並びにアミノ酸配列ＧＦＳＦＳＴＹＡ（配列番号４）を含むＣＤＲ－Ｈ１；アミノ酸配列ＩＳＧＳＧＧＴＴ（配列番号２１）を含むＣＤＲ－Ｈ２；及びアミノ酸配列ＫＧＬＷＦＧＥＧＬ（配列番号１０）を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変ドメイン配列を含む、実施態様２０－２２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

３２．

抗体がヒトＩｇＧのＦｃ配列を含む、実施態様１－３１の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

３３．

抗原結合断片が、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ）’２、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、Ｆｖ断片、ダイアボディ、及び直鎖状抗体からなる群から選択される、実施態様１－３２の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体の抗原結合断片。

３４．

抗体が多重特異性抗体である、実施態様１－３３の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体。

３５．

治療剤にコンジュゲートしている、実施態様１－３４の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

３６．

標識にコンジュゲートしている、実施態様１－３４の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片。

３７．

標識が、放射性同位体、蛍光色素、及び酵素からなる群から選択される、実施態様３６に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体。

３８．

実施態様１－３４の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片をコードする、単離された核酸分子。

３９．

実施態様３８に記載の核酸分子をコードする発現ベクター。

４０．

実施態様３９に記載の発現ベクターを含む細胞。

４１．

実施態様４０に記載の細胞を培養すること、及び細胞培養物から抗ＶＥＧＦＲ２抗体を回収することを含む、抗ＶＥＧＦＲ２抗体を産生する方法。

４２．

実施態様１－３５の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片及び薬学的に許容される担体を含む組成物。

４３．

実施態様１－３４及び３６－３７の何れか一に記載の抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片を試料に接触させること、及びＶＥＧＦＲ２タンパク質に結合した抗ＶＥＧＦＲ２抗体を検出することにより、患者からの試料中のＶＥＧＦＲ２タンパク質を検出する方法。

４４．

抗ＶＥＧＦＲ２抗体又はその抗原結合断片が免疫組織化学アッセイ（ＩＨＣ）又はＥＬＩＳＡアッセイで使用される、実施態様４３に記載の方法。

４５．

実施態様４２に記載の組成物の有効量を被験体に投与することを含む、被験体における過剰な血管新生を特徴とする病的状態を治療する方法。

４６．

過剰な血管新生を特徴とする病的状態が、がん、眼疾患、又は炎症からなる群から選択される、実施態様４５に記載の方法。

４７．

過剰な血管新生を特徴とする病的状態ががんである、実施態様４６に記載の方法。

４８．

がんが、結腸がん、結腸直腸がん、胃がん、胃食道がん、膀胱がん、肺がん、又は固形腫瘍である、実施態様４７に記載の方法。

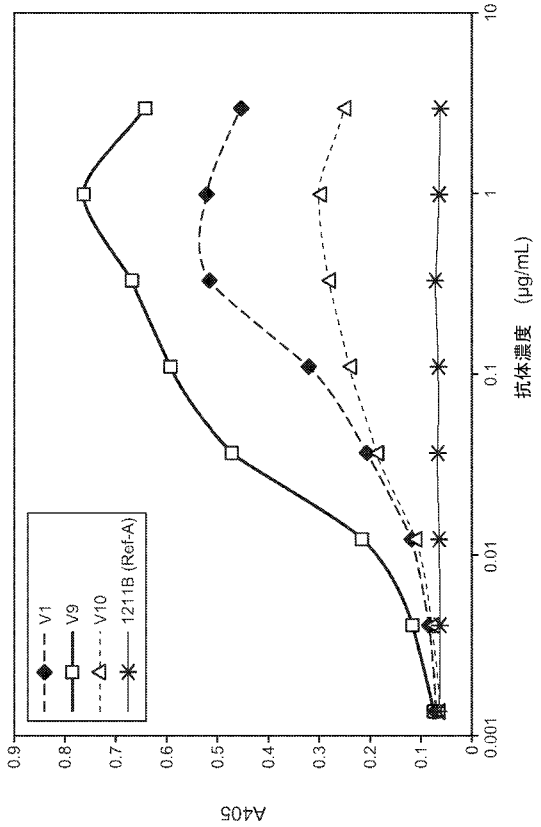
４９．

がんが肺がんであり、かつ、該肺がんが非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である、実施態様４８に記載の方法。

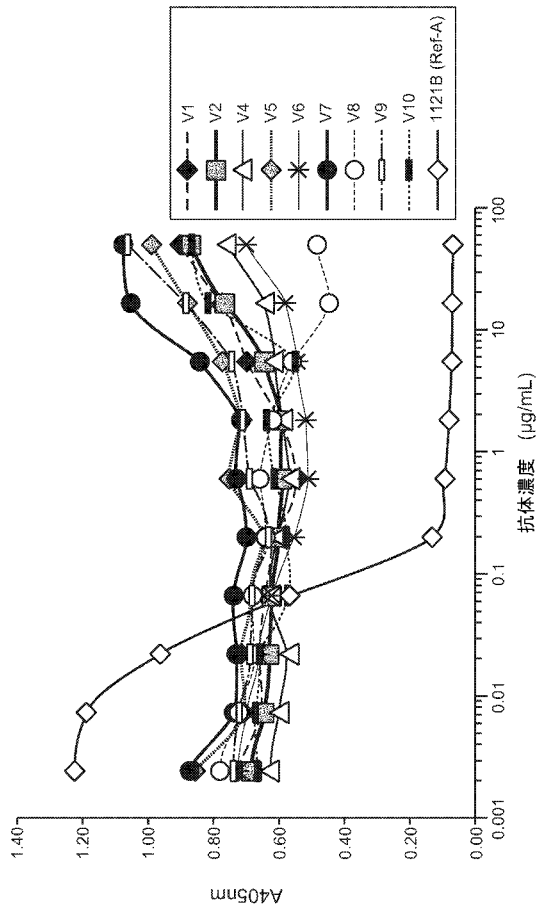
５０．

被験体が、抗腫瘍剤、化学療法剤、増殖阻害剤、及び細胞傷害性剤からなる群から選択される治療剤を更に投与される、実施態様４５－４９に記載の方法。

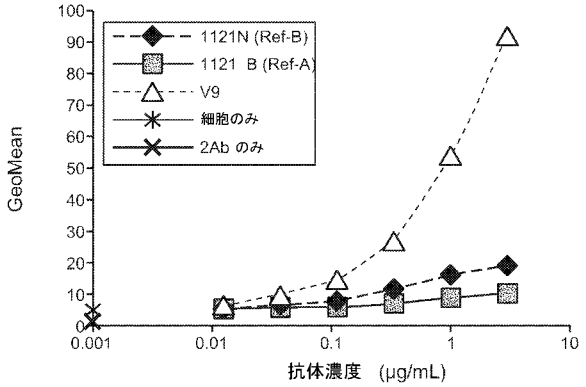
【図１】



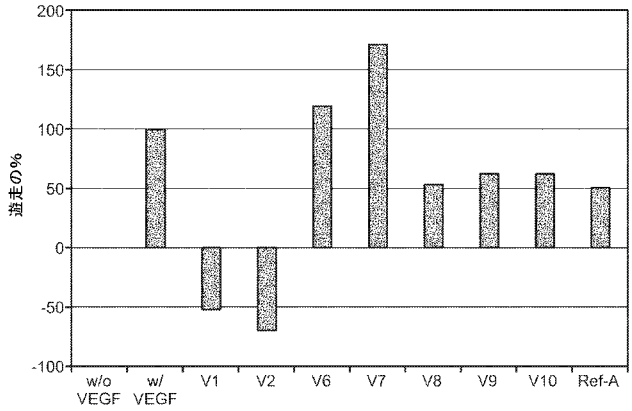
【図２】



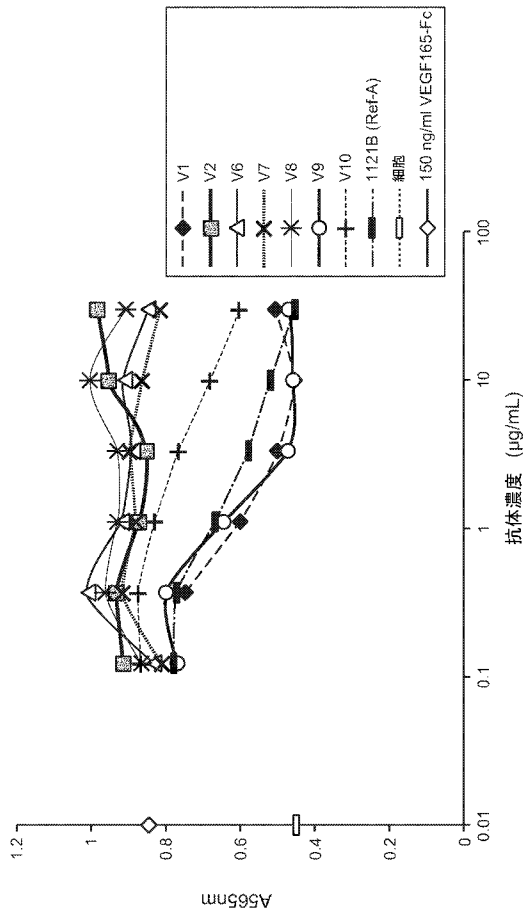
【図３】


1121N (Ref-B)
1121 B (Ref-A)
V9
細胞のみ
2Ab のみ
GeoMean
抗体濃度 (μg/mL)

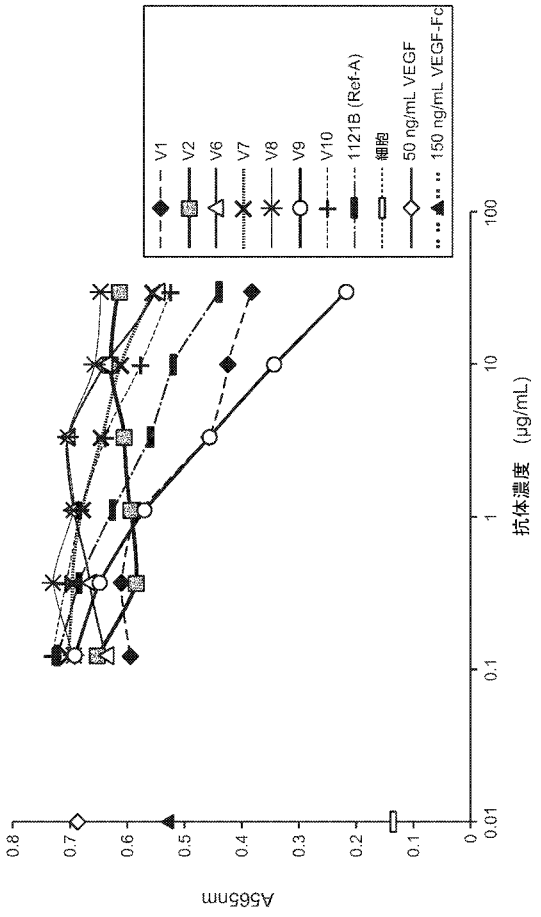
【図４】


遊走の%
w/o VEGF
w/ VEGF
V1
V2
V6
V7
V8
V9
V10
Ref-A

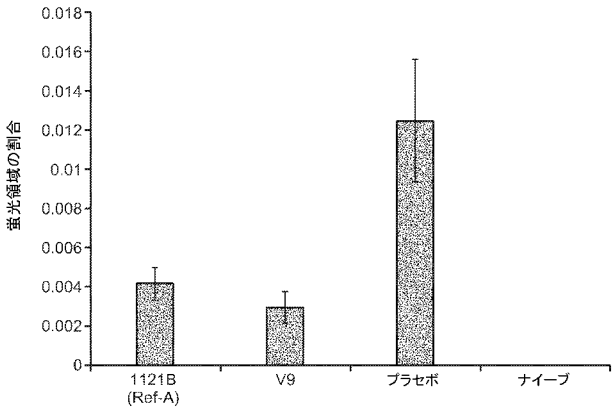
【図５】


V1
V2
V6
V7
V8
V9
V10
1121B (Ref-A)
細胞
150 ng/ml VEGF165-Fc
抗体濃度 (μg/mL)
A565nm

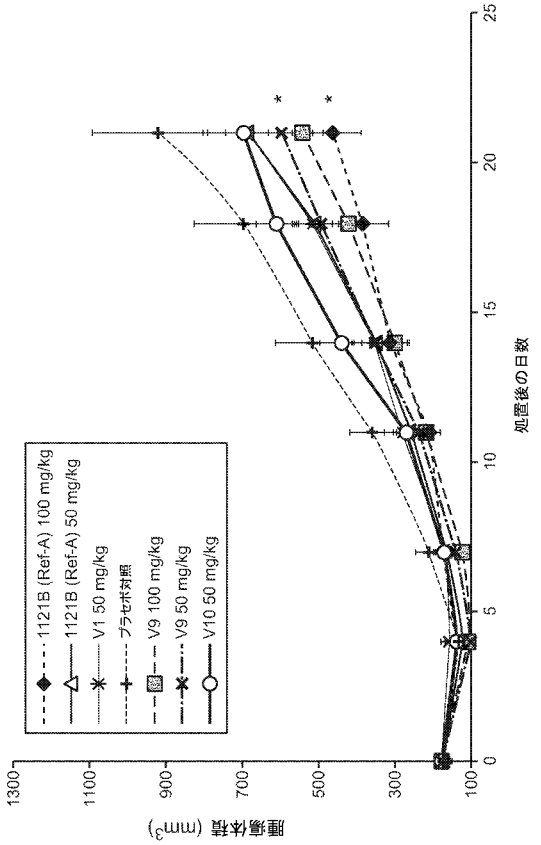
【図６】


V1
V2
V6
V7
V8
V9
V10
1121B (Ref-A)
細胞
50 ng/mL VEGF
150 ng/mL VEGF-Fc
抗体濃度 (μg/mL)
A565nm

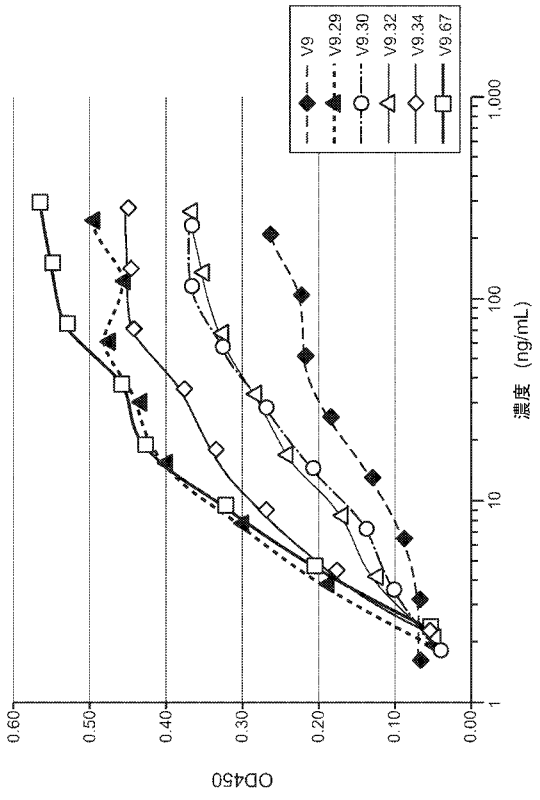
【図７】


蛍光領域の割合
1121B (Ref-A)
V9
プラセボ
ナイーブ

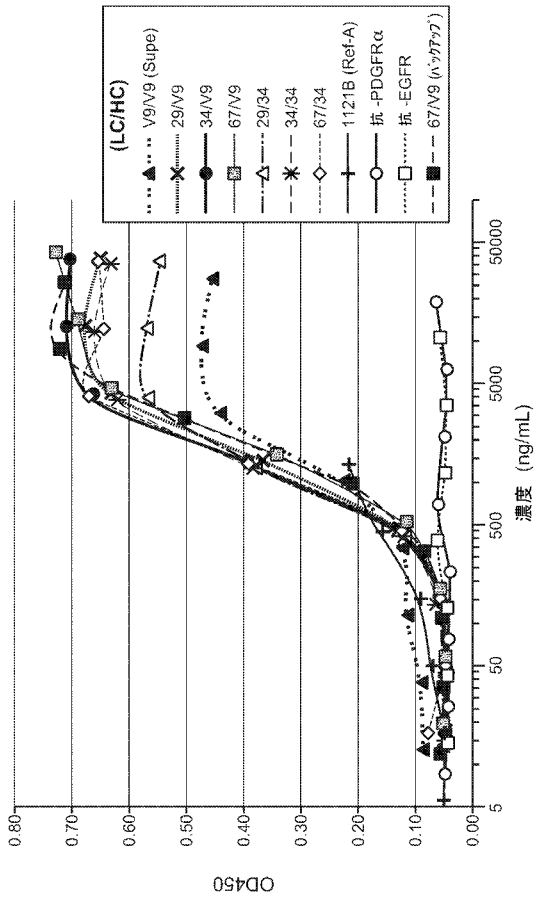
【図８】



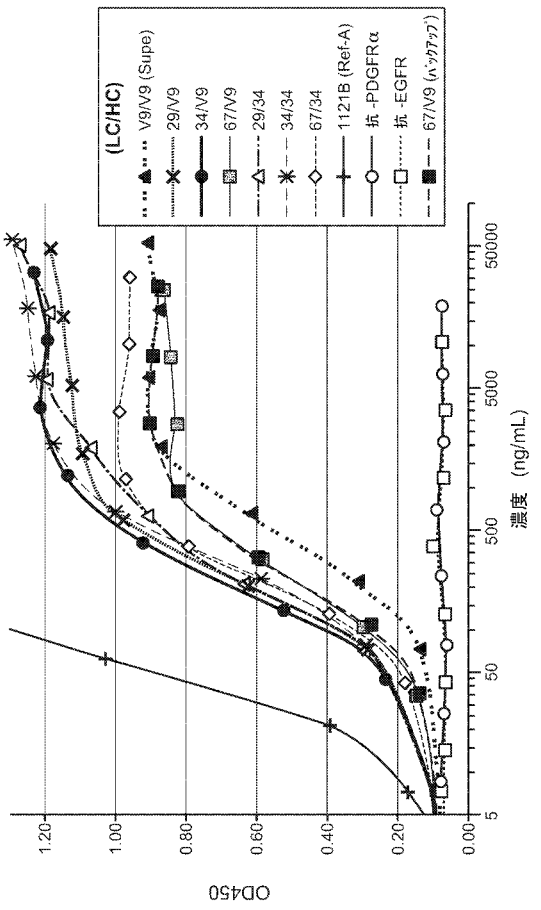
【図９】



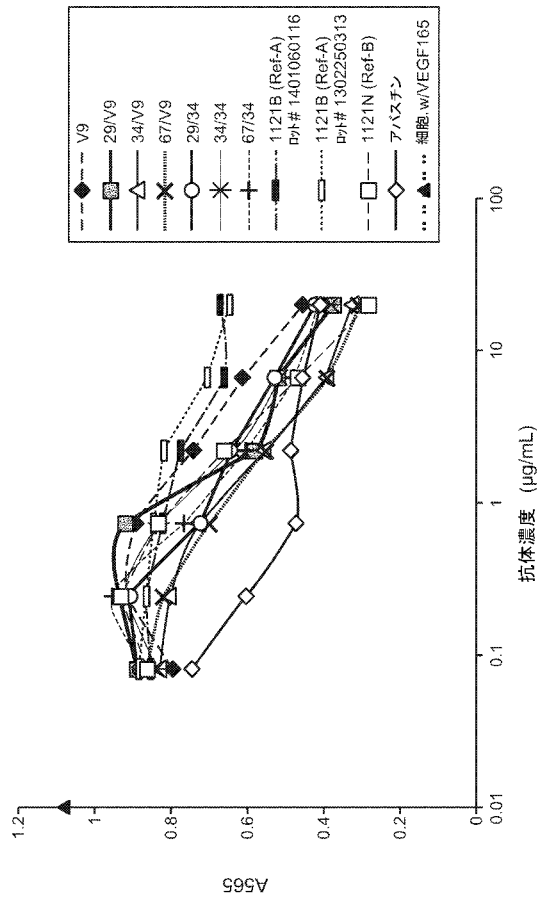
【図１０Ａ】



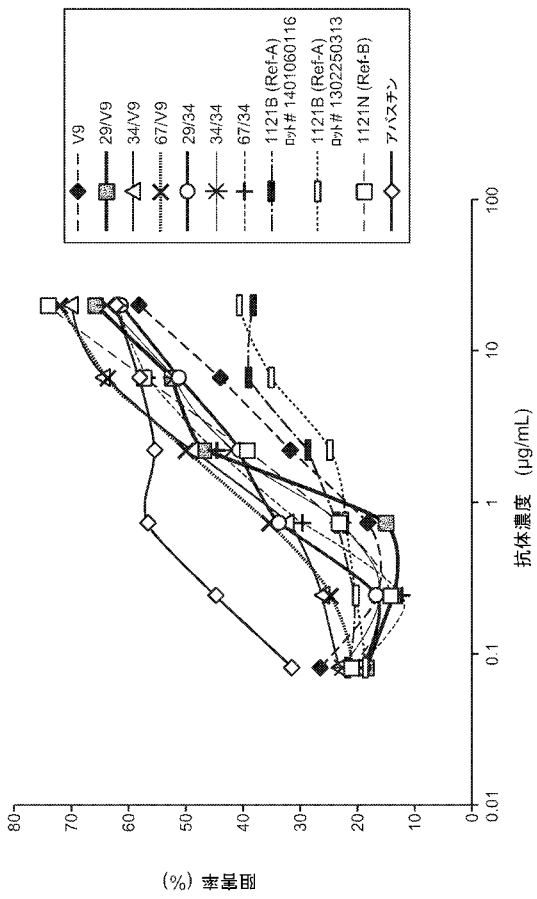
【図１０Ｂ】



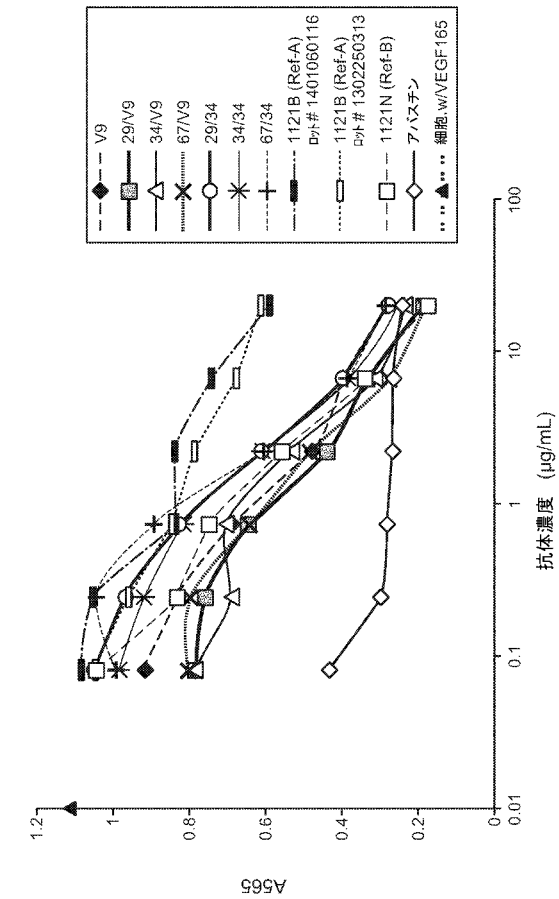
【図１１Ａ】



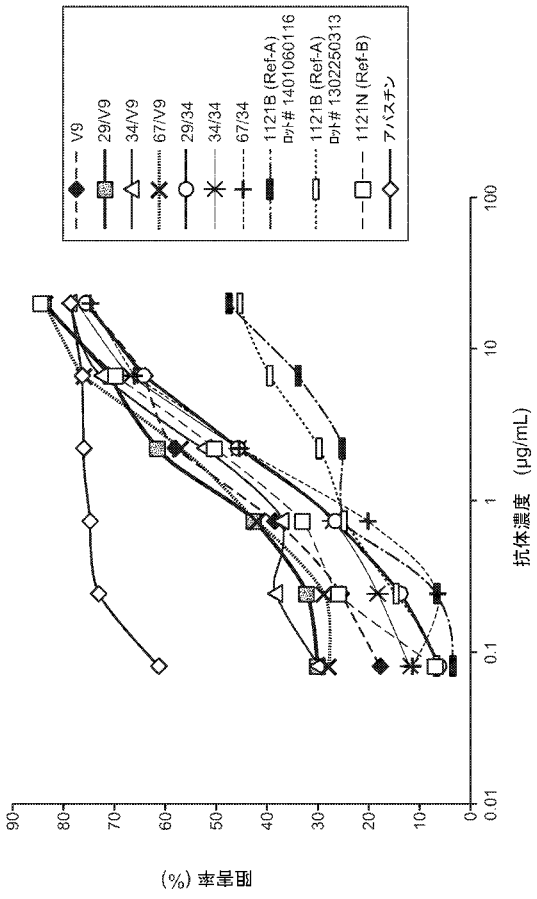
【図１１Ｂ】



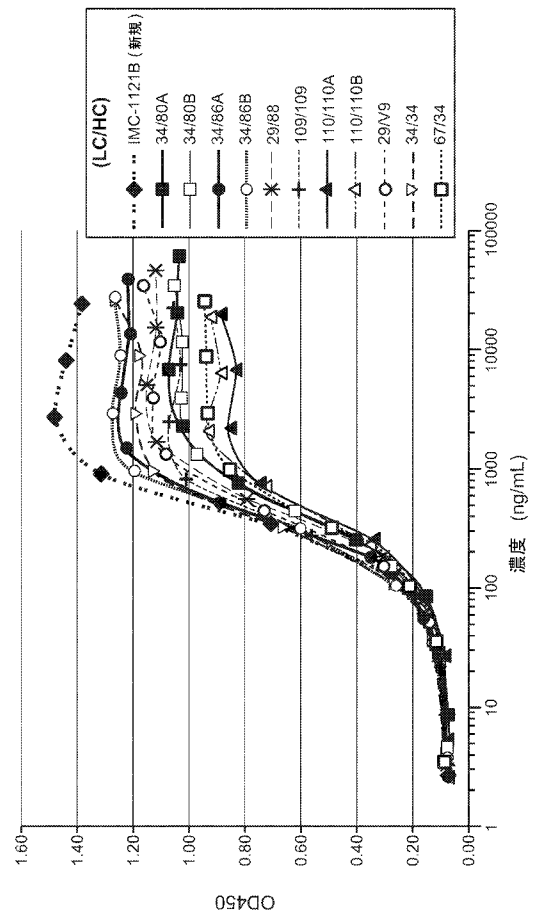
【図１２Ａ】



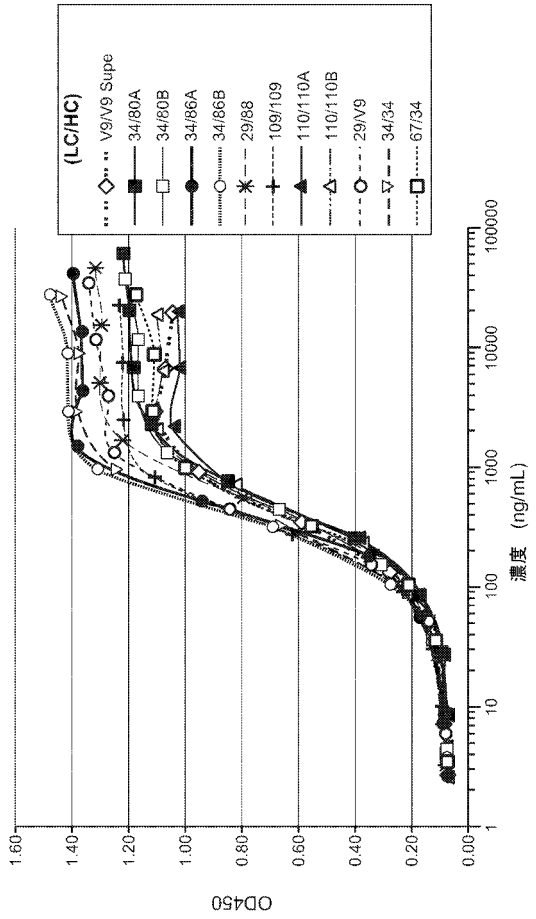
【図１２Ｂ】



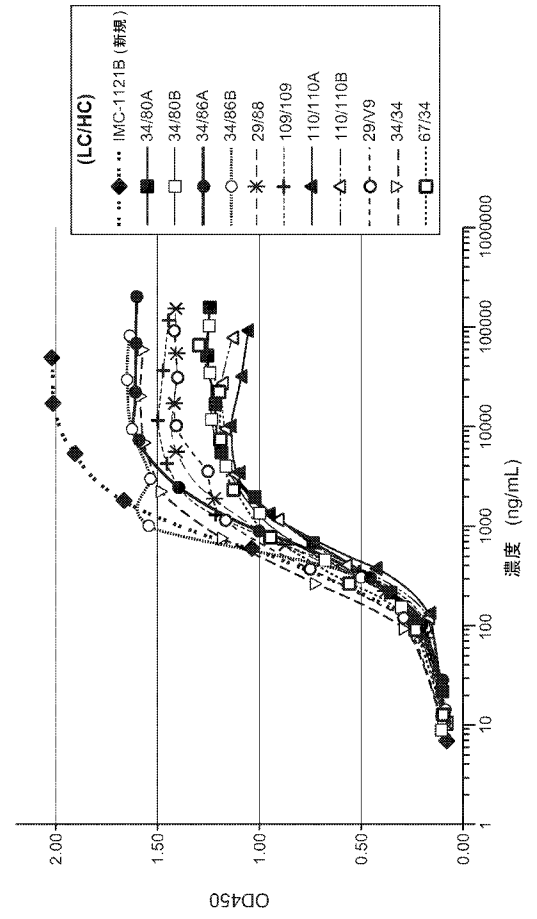
【図１３Ａ】



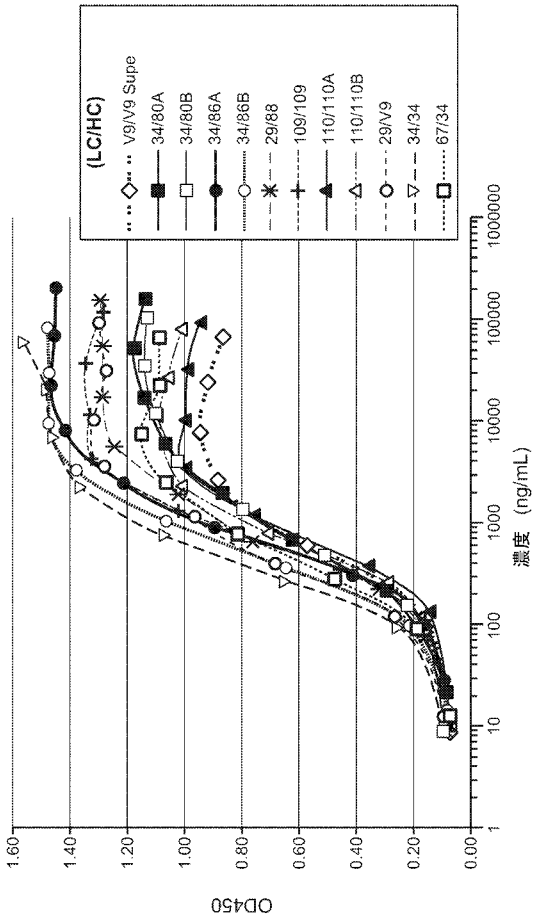
【図１３Ｂ】



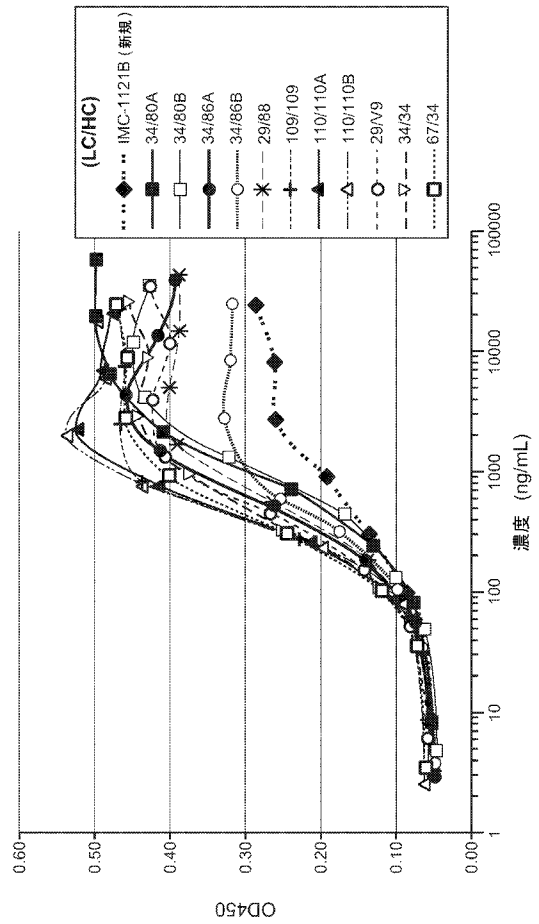
【図１３Ｃ】



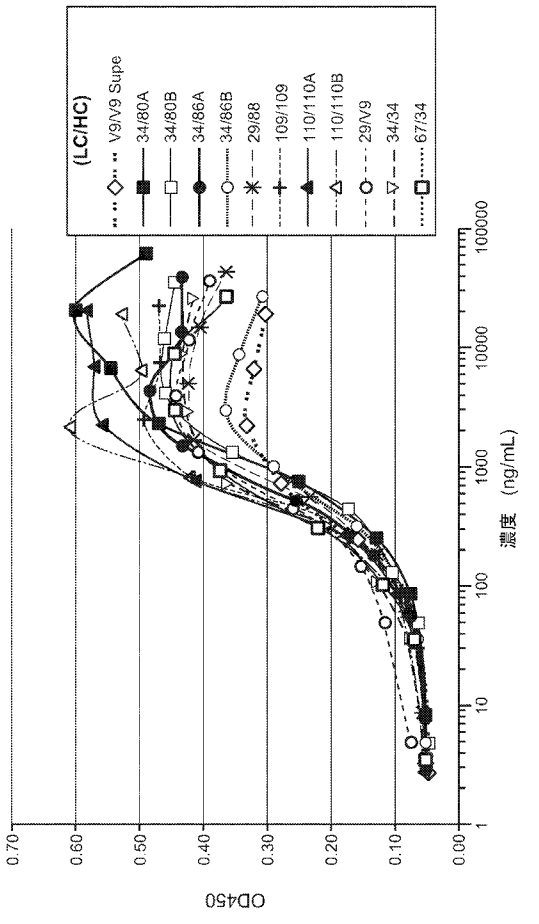
【図１３Ｄ】



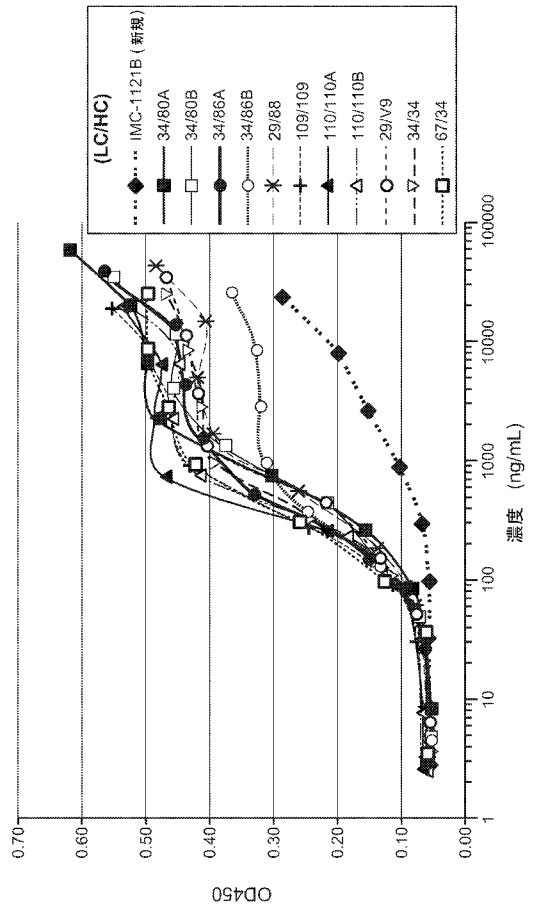
【図１４Ａ】



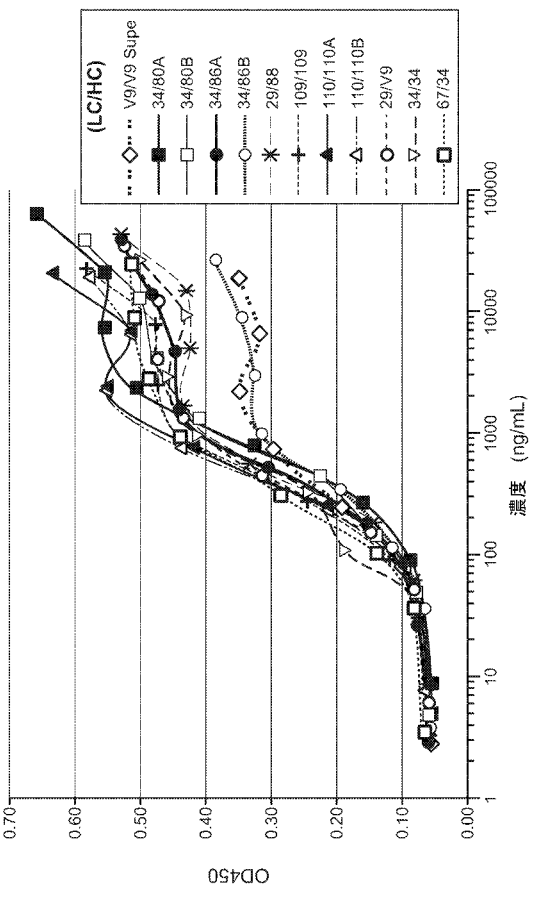
【図１４Ｂ】



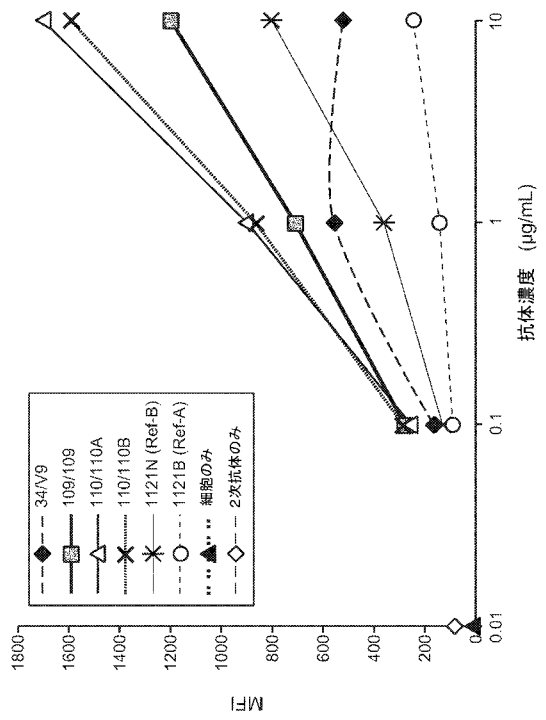
【図１４Ｃ】



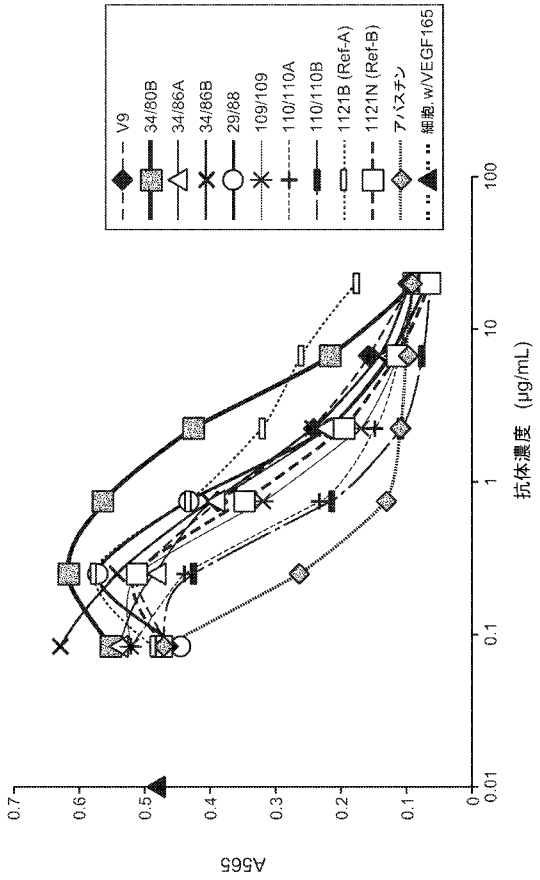
【図１４Ｄ】



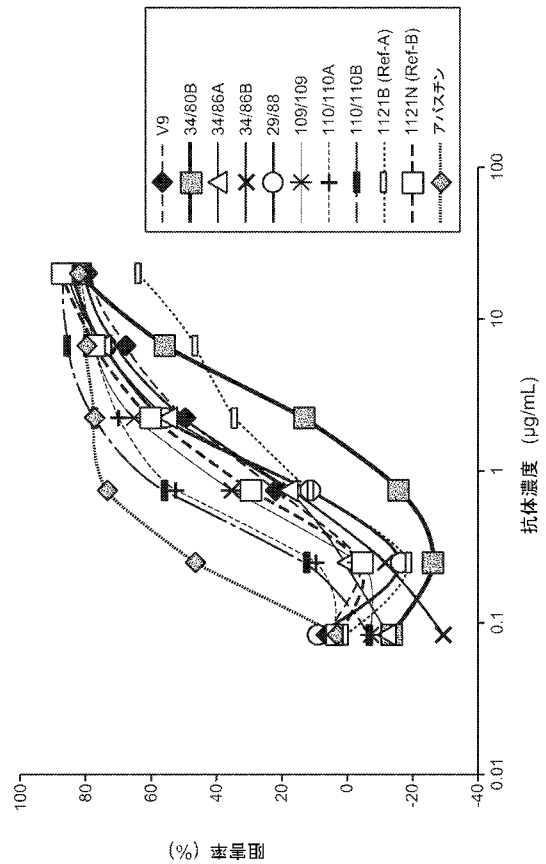
【図１５】



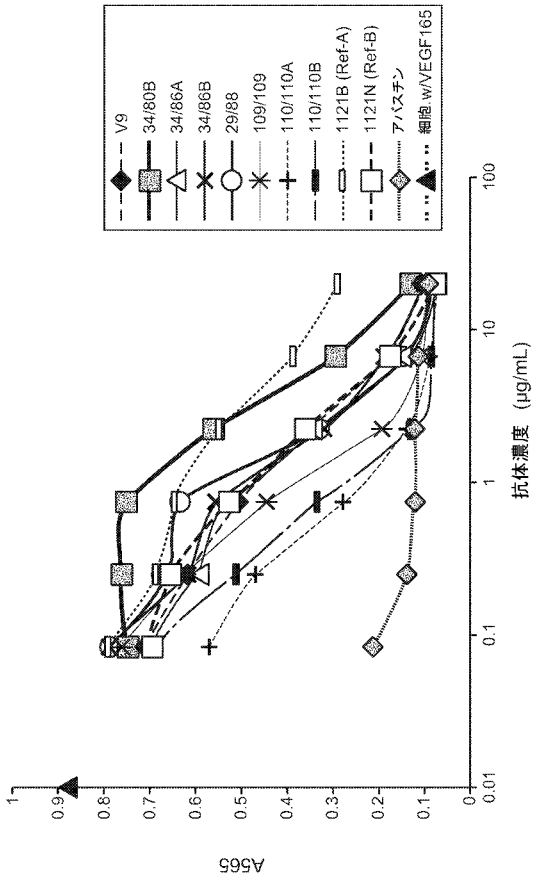
【図１６Ａ】



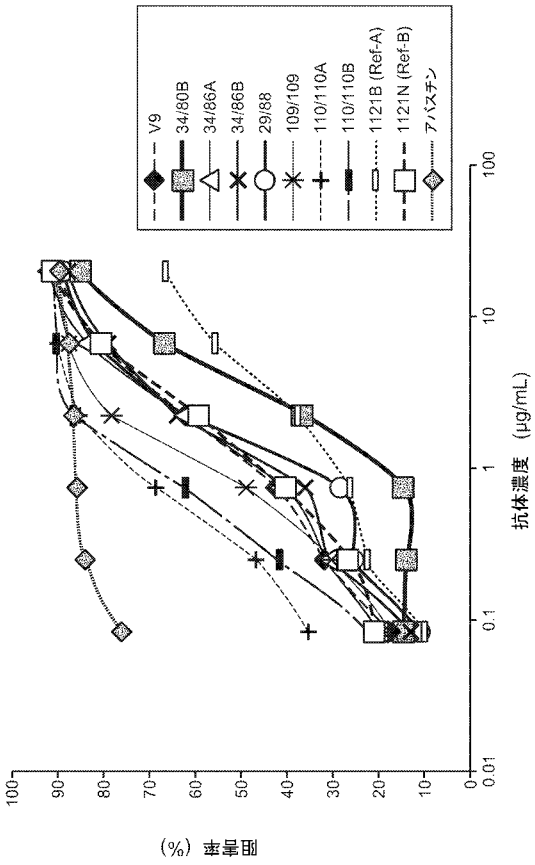
【図１６Ｂ】



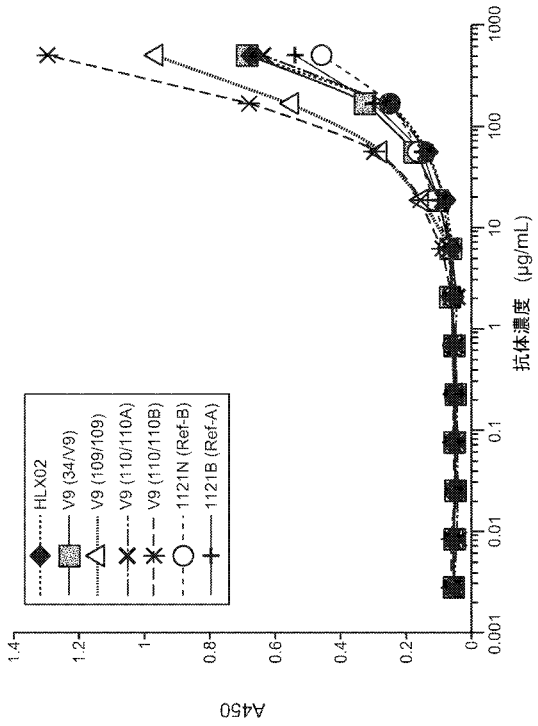
【図１７Ａ】



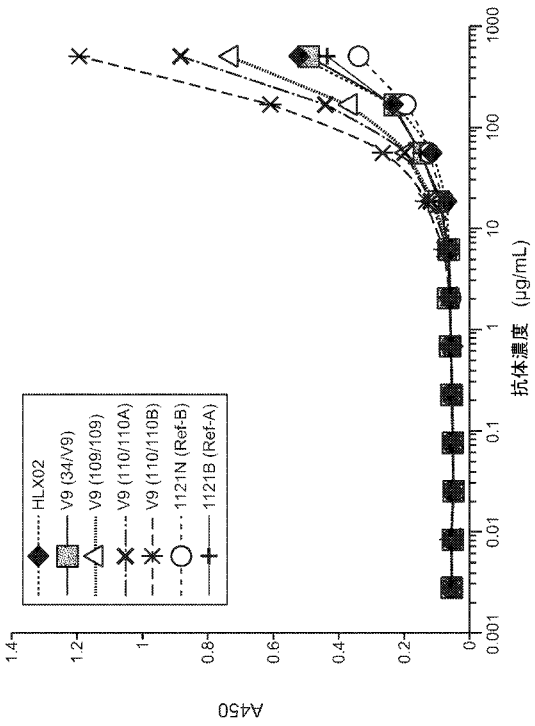
【図１７Ｂ】



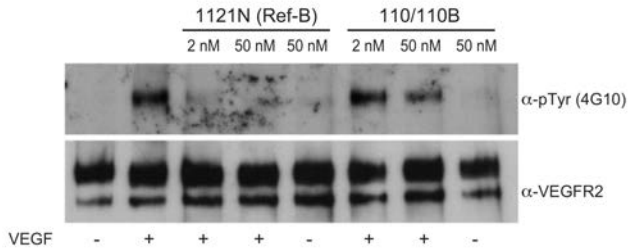
【図１８Ａ】



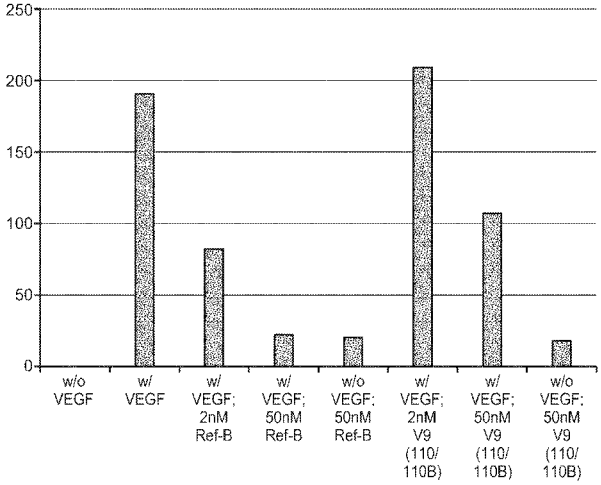
【図１８Ｂ】



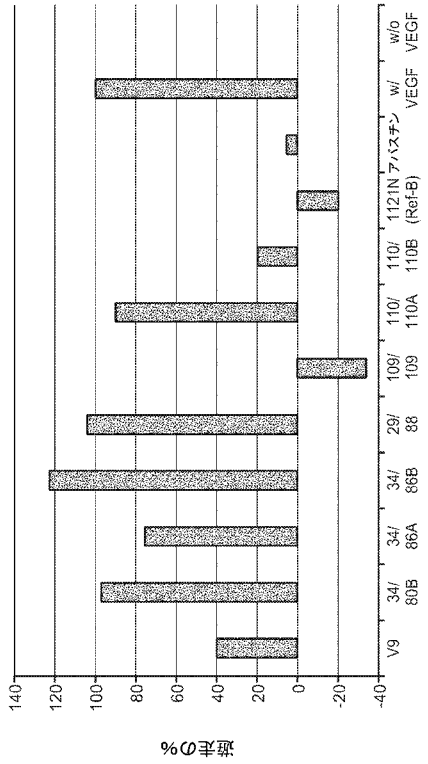
【図１９Ａ】



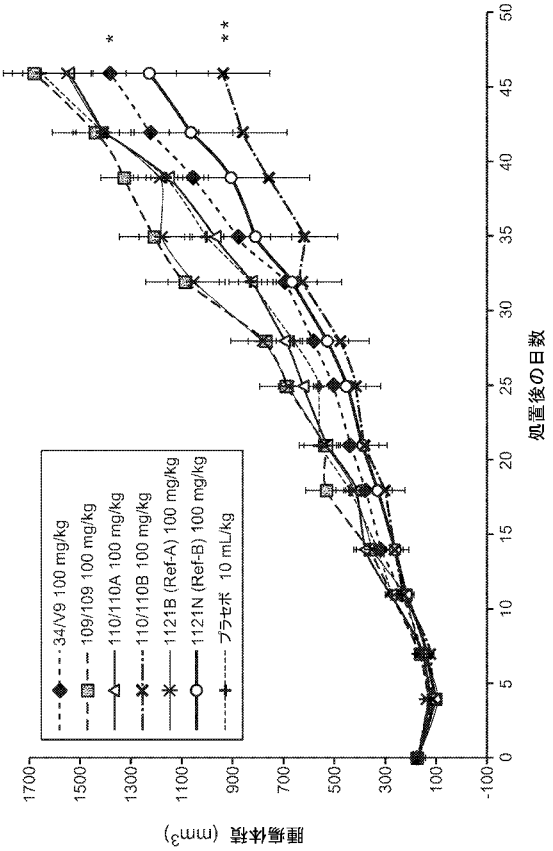
【図１９Ｂ】



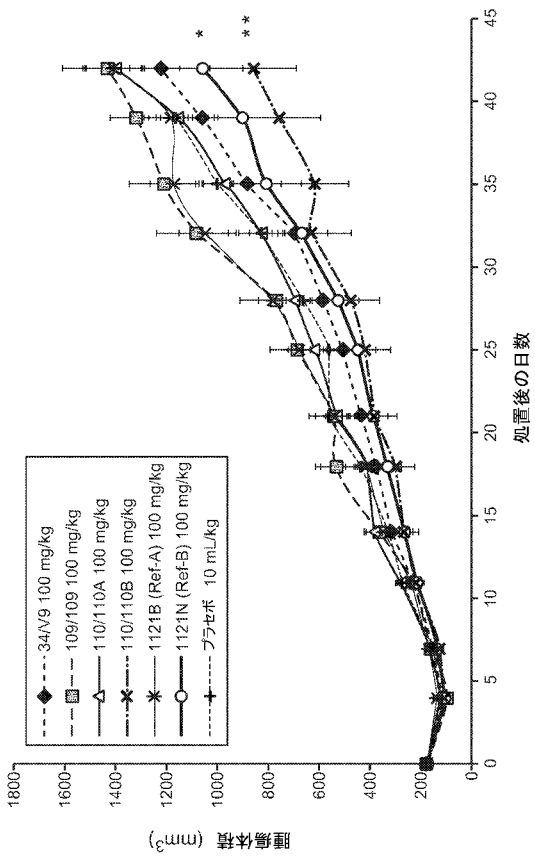
【図２０】



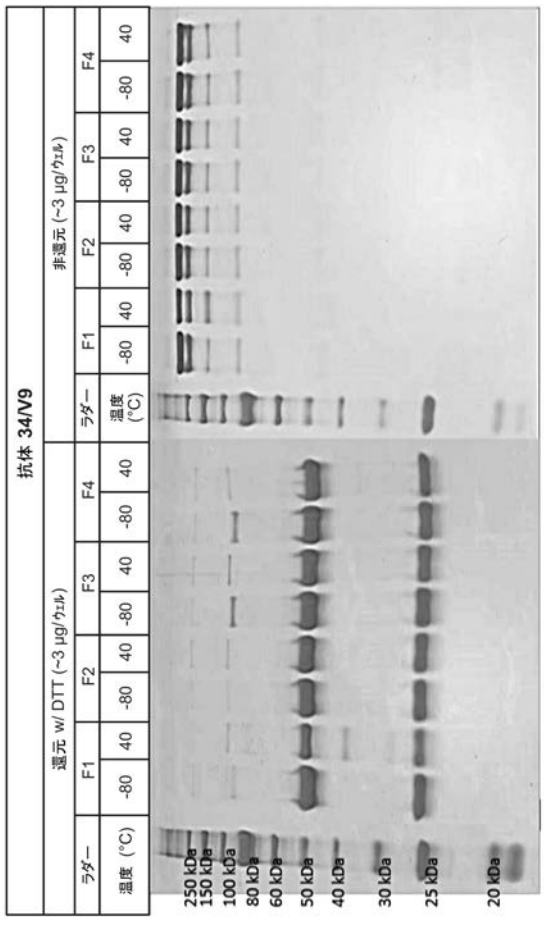
【図２１】



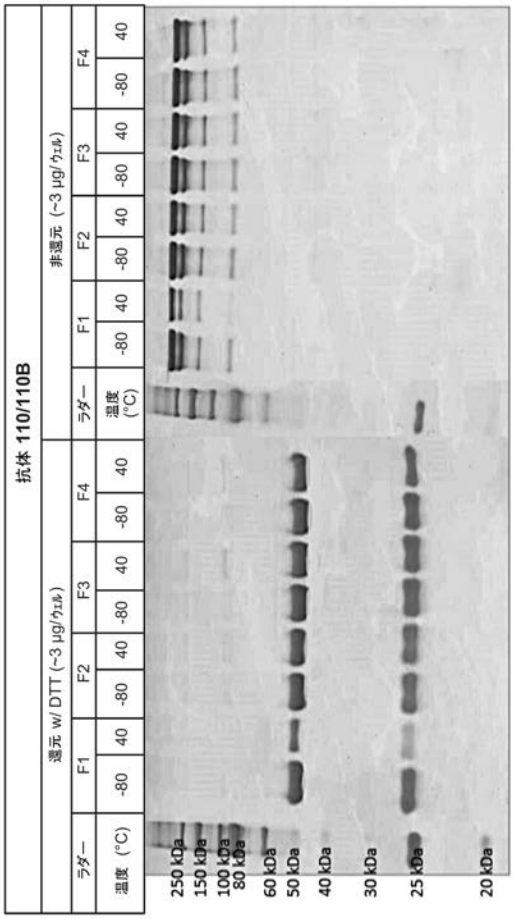
【図２２】



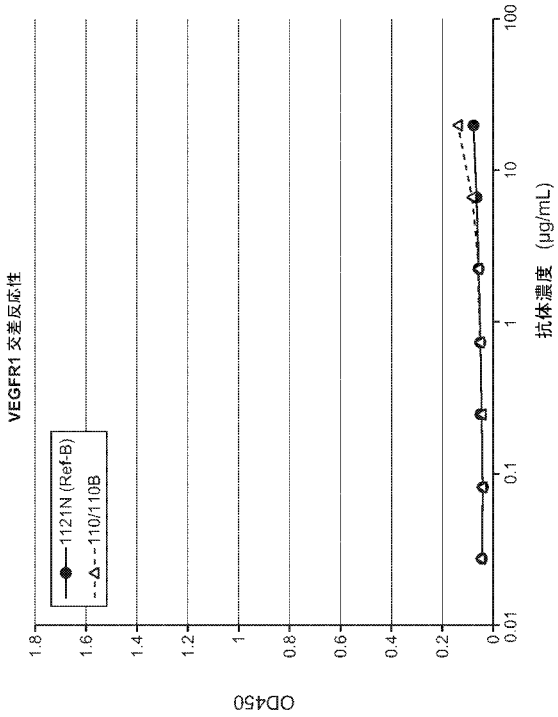
【図２３Ａ】



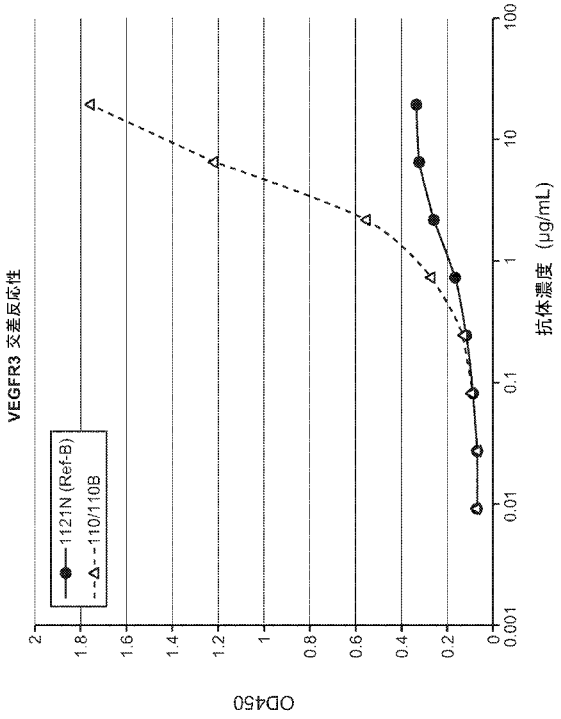
【図２３Ｂ】



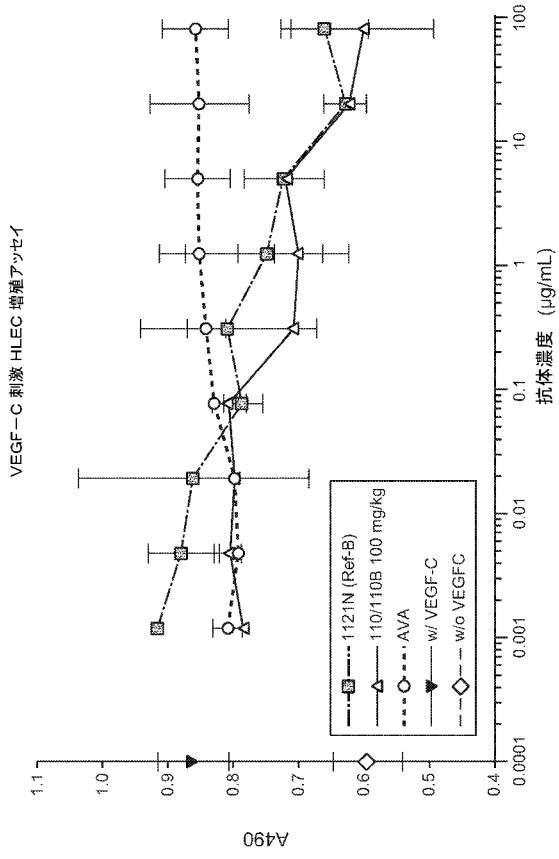
【図２４Ａ】



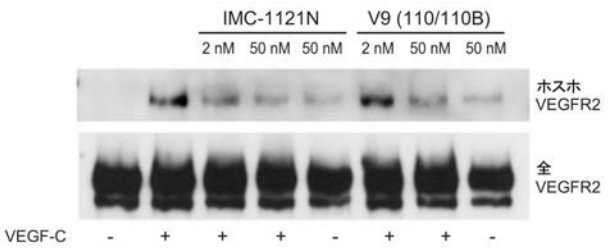
【図２４Ｂ】



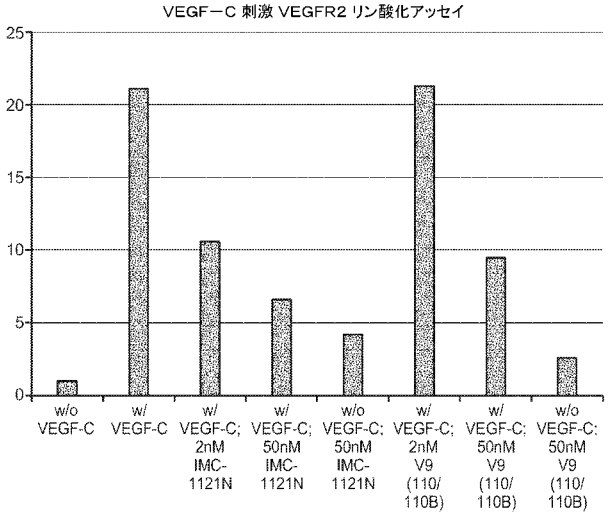
【図２５】



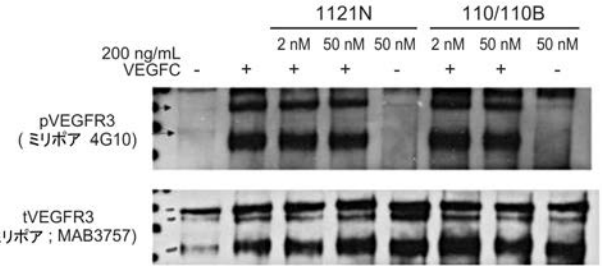
【図２６Ａ】



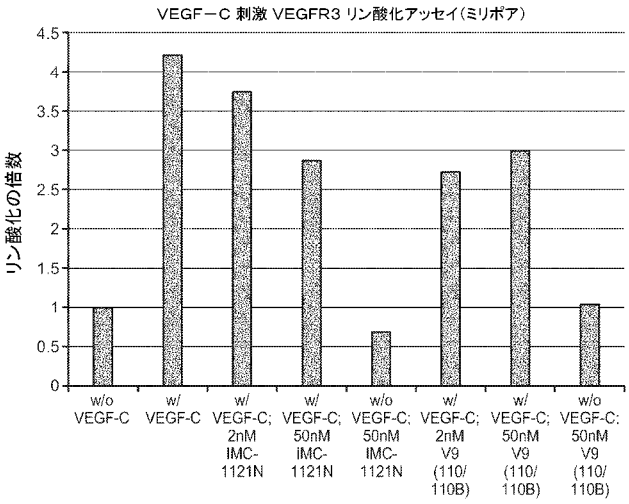
【図２６Ｂ】



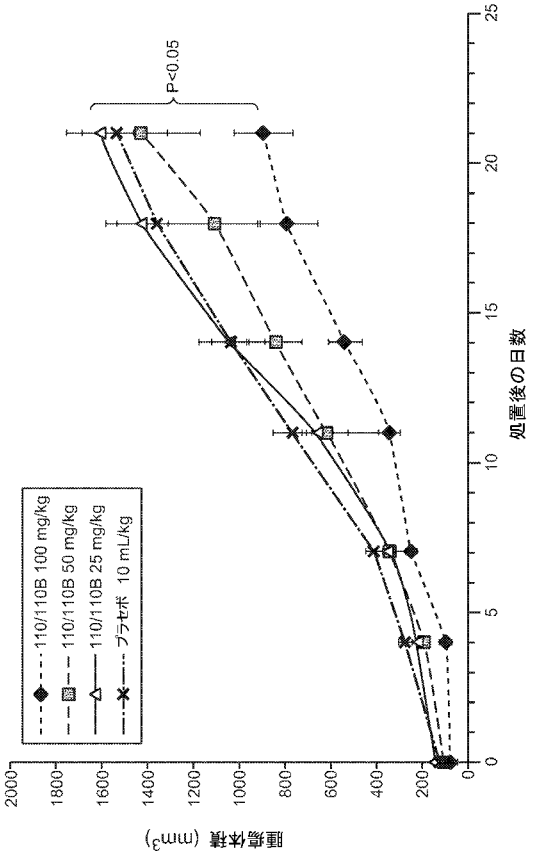
【図２７Ａ】



【図２７Ｂ】



【図２８】



【配列表】
2018528759000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US16/40183

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 39/395, 38/18; C07K 14/475, 16/22 (2016.01)
CPC - A61K 39/3955, 39/39553, 38/1866; C07K 14/475, 14/515, 16/22
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)
IPC(8): A61K 39/395, 38/18, 47/48, 9/127; C07K 14/475, 16/22, 16/00, 16/28 (2016.01)
CPC: A61K 39/3955, 39/39553, 38/1866; C07K 14/475, 14/515, 16/22, 2713/73, 16/2863, 2317/76, 2317/24, 2317/92

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)
PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); Lens sequence search database; Google Scholar; Pubmed; EBSCO, NCBI BLAST; VEGF, antibody*, domain, CDR, bind*

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	(KENDREW, J et al.) An Antibody Targeted to VEGFR-2 Ig Domains 4-7 Inhibits VEGFR-2 Activation and VEGFR-2–Dependent Angiogenesis without Affecting Ligand Binding. Molecular Cancer Therapeutics. 09 March, 2011; Vol. 10, No. 5; pages 770-783; page 779, column 1, paragraph 2 – column 2, paragraph 1; DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0876	1-3, 4/1-3
A	(GHIOTTO, F et al.) Immunoglobulin light chain variable region, partial [Homo sapiens]. NCBI PDB Accession No. AAK94852, Immunoglobulin light chain variable region, partial [Homo sapiens]. Submitted 29 June, 2001; downloaded from the internet < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAK94852> on 24 October, 2016; pages 1-2	8-9
A	US 2011/0027268 A1 (KAHNERT, A et al.) 03 February, 2011; paragraph [0056]; SEQ ID NO: 104	8-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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
24 October 2016 (24.10.2016)	08 DEC 2016
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US16/40183

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

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

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US16/40183

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.: 5-7, 23-50
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:
-Please See Supplemental Page-*-

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 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.:
Groups I+, Claims 1-4, 8-9; SEQ ID NO: 76 (CDR-L1), SEQ ID NO: 54 (CDR-L2), SEQ ID NO: 63 (CDR-L3); SEQ ID NO: 29 (CDR-H1), SEQ ID NO: 36 (CDR-H2), SEQ ID NO: 49 (CDR-H3);

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.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US16/40183

-***-Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-***-
Groups I+, Claims 1-4, 8-18 and SEQ ID NOs: 76, 54, 63, 29, 36 and 49 are directed toward anti-VEGFR2 antibody or antigen binding fragment thereof, wherein the antibody or antigen binding fragment thereof does not block the binding of VEGFR2 to VEGF, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds domains 5-7 of VEGFR2.

The anti-VEGFR2 antibody will be searched to the extent it comprises a CDR-L1 encompassing SEQ ID NO: 76 (first exemplary CDR-L1), a CDR-L2 encompassing SEQ ID NO: 54 (first exemplary CDR-L2), a CDR-L3 encompassing SEQ ID NO: 63 (first exemplary CDR-L3); and a CDR-H1 encompassing SEQ ID NO: 29 (first exemplary CDR-H1), a CDR-H2 encompassing SEQ ID NO: 36 (first exemplary CDR-H2) and a CDR-H3 encompassing SEQ ID NO: 49 (first exemplary CDR-H3). Applicant is invited to elect additional CDR(s), with specified SEQ ID NO: representing a fully specified sequence (i.e. no optional or variable residues) for each CDR, or specified substitution(s) at specified site(s) of a CDR SEQ ID NO:, to be searched. Additional fully specified CDR sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-4, 8 (in-part) and 9 (in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 76 (CDR-L1), SEQ ID NO: 54 (CDR-L2), SEQ ID NO: 63 (CDR-L3); SEQ ID NO: 29 (CDR-H1), SEQ ID NO: 36 (CDR-H2) and SEQ ID NO: 49 (CDR-H3). Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected CDR sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be a CDR-L1 encompassing SEQ ID NO: 75 (first exemplary elected CDR-L1).

Groups II+, Claims 19-22 and SEQ ID NOs: 1-6 are directed toward an anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibody or antigen binding fragment that is a variant of an anti-VEGFR2 antibody comprising a light chain variable domain sequence and a heavy chain variable domain sequence and antibody that competitively inhibits the binding of a second antibody; and an antibody that binds to the same epitope.

The antibody can be searched to the extent that it comprises a CDR-L1 encompassing SEQ ID NO: 1 (first exemplary CDR-L1), a CDR-L2 encompassing SEQ ID NO: 2 (first exemplary CDR-L2), a CDR-L3 encompassing SEQ ID NO: 3 (first exemplary CDR-L3); and a CDR-H1 encompassing SEQ ID NO: 4 (first exemplary CDR-H1), a CDR-H2 encompassing SEQ ID NO: 5 (first exemplary CDR-H2) and a CDR-H3 encompassing SEQ ID NO: 6 (first exemplary CDR-H3). Applicant is invited to elect additional CDR(s), with specified SEQ ID NO: representing a fully specified sequence (i.e. no optional or variable residues) for each CDR, or specified substitution(s) at specified site(s) of a CDR SEQ ID NO:, to be searched. Additional fully specified CDR sequence(s) can be searched upon the payment of further additional fees, following payment for a search of Groups II+. It is believed that claims 19 (in-part), 20 (in-part), 21 (in-part) and 22 (in-part) encompass this first named invention and thus these claims can be searched with payment of a fee for the search of Groups II+ to the extent that they encompass SEQ ID NO: 1 (CDR-L1), SEQ ID NO: 2 (CDR-L2), SEQ ID NO: 3 (CDR-L3); SEQ ID NO: 4 (CDR-H1), SEQ ID NO: 5 (CDR-H2) and SEQ ID NO: 6 (CDR-H3). Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected CDR sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be a CDR-L1 encompassing SEQ ID NO: 16 (first exemplary elected CDR-L1).

The inventions listed as Groups I+ and II+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Groups I+ include SEQ ID NO: 76, not present in any of Groups II+; the special technical features of Groups II+ include SEQ ID NO: 1, not present in any of Groups I+.

No technical features are shared between the antibody CDR sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori. No technical features are shared between the antibody CDR sequences of Groups II+ (in particular, due to the presence of at least one substitution in at least one CDR of the antibody, wherein the location of said substitution is not limited) and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Groups I+ and II+ share the technical features including: an anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibody or antigen binding fragment thereof comprising a light chain variable domain comprising a CDR-L1, CDR-L2 and CDR-L3; and a heavy chain variable domain region comprising a CDR-H1, CDR-H2 and CDR-H3. Groups I+ share the technical features including: an anti-VEGFR2 antibody or antigen binding fragment thereof, wherein the antibody or antigen binding fragment thereof does not block the binding of VEGFR2 to VEGF, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds domains 5-7 of VEGFR2. Groups II+ share the technical features including: an anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibody or antigen binding fragment thereof that competitively inhibits the binding of a second anti-VEGFR2 antibody to VEGFR2; and an anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibody or antigen binding fragment thereof that specifically binds to the same epitope of VEGFR2 as a second anti-VEGFR2 antibody.

-***-Continued Within the Next Supplemental Box-***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US16/40183

-***-Continued from Previous Supplemental Page:

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2010/0260765 A1 to Barry et al. (hereinafter 'Barry').

Barry discloses an anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibody (an anti-KDR (vascular endothelial growth factor receptor 2) antibody; abstract) comprising a light chain variable domain (comprising a light chain variable domain; paragraph [0032]) comprising a CDR-L1, CDR-L2 and CDR-L3 (comprising a CDR-L1, CDR-L2 and CDR-L3; paragraph [0032]); and a heavy chain variable domain (and a heavy chain variable domain; paragraph [0032]) comprising a CDR-H1, CDR-H2 and CDR-H3 (comprising a CDR-H1, CDR-H2 and CDR-H3; paragraph [0032]); an anti-VEGFR2 antibody (an anti-KDR (VEGFR2) antibody; abstract), wherein the antibody or antigen binding fragment thereof does not block the binding of VEGFR2 to VEGF (wherein the antibody binds to the KDR/VEGF complex (wherein the antibody or antigen binding fragment thereof does not block the binding of VEGFR2 to VEGF); paragraphs [0123]-[0125]), and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds domains 5-7 of VEGFR2 (wherein the antibody inhibits dimerization by binding to one of domains 4-6 (wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds domains 5-7 of VEGFR2); paragraphs [0007], [0009]); an anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibody (an anti-KDR (vascular endothelial growth factor receptor 2) antibody; abstract) that competitively inhibits the binding of a second anti-VEGFR2 antibody to VEGFR2 (that competitively inhibits the binding of a second anti-KDR (VEGFR2) antibody to KDR (VEGFR2); paragraph [0048]); and an anti-vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) antibody (an anti-KDR (vascular endothelial growth factor receptor 2) antibody; abstract) that specifically binds to the same epitope of VEGFR2 as a second anti-VEGFR2 antibody (that specifically binds to the same epitope of KDR (VEGFR2) as a second anti-KDR (VEGFR2) antibody; paragraph [0051]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ and II+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Barry reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N 5/10		*(2006.01)*	C12N	5/10		4H045
C07K 16/28		*(2006.01)*	C07K	16/28		
C07K 16/46		*(2006.01)*	C07K	16/46		
C12P 21/02		*(2006.01)*	C12P	21/02	C	
A61P 43/00		*(2006.01)*	A61P	43/00	105	
A61P 35/00		*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P 27/02		*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P 29/00		*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P 1/04		*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 13/10		*(2006.01)*	A61P	13/10		
A61P 11/00		*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61K 47/68		*(2017.01)*	A61P	43/00	121	
A61K 39/395		*(2006.01)*	A61K	47/68		
A61K 51/10		*(2006.01)*	A61K	39/395	D	
A61K 49/00		*(2006.01)*	A61K	39/395	E	
A61K 45/00		*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
G01N 33/53		*(2006.01)*	A61K	39/395	T	
C07K 7/06		*(2006.01)*	A61K	39/395	C	
			A61K	39/395	L	
			A61K	51/10	200	
			A61K	49/00		
			A61K	45/00		
			G01N	33/53	D	
			C07K	7/06		

(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 リン, ペイーホア
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95131, サン ノゼ, ウェストバリー ドライブ 1175
(72)発明者 ツェン, チーーリン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94538, フリーモント, ミルモント ドライブ 48860, スイート 107シー, シー／オー ヘンリアス バイオファーマシューティカルズ インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B064 AG26 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01
4B065 AA01X AA57X AA83X AA86X AA87X AA90X AA90Y AA93X AA93Y AB01 AC14 BA01 BA02 CA24 CA25 CA44
4C076 AA95 BB13 BB15 BB16 CC04 CC10 CC15 CC16 CC17 CC27 CC41 EE59
4C084 AA19 NA05 ZA331 ZA591 ZA661 ZA811 ZB111 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262 ZC751

4C085 AA13 AA14 AA25 BB31 BB36 BB41 BB42 CC01 CC31 DD62
EE01 EE03 GG02 GG03 GG04 HH03 HH11 HH20 KA03 KA04
KA27 KA29 KA36 KB82 LL05 LL09 LL11 LL18
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA14 BA15 BA16 CA40 DA50 DA75
DA76 EA20 FA10 FA74

专利名称(译)	抗血管内皮生长因子受体2（VEGFR2）抗体		
公开(公告)号	JP2018528759A	公开(公告)日	2018-10-04
申请号	JP2017567294	申请日	2016-06-29
[标]申请(专利权)人(译)	汉霖生技股份有限公司		
[标]发明人	チアンウェイトン リンペイホア ツェンチーリン		
发明人	チアン, ウェイ-トン リン, ペイ-ホア ツェン, チー-リン		
IPC分类号	C12N15/13 C12N15/63 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/28 C07K16/46 C12P21/02 A61P43/00 A61P35/00 A61P27/02 A61P29/00 A61P1/04 A61P13/10 A61P11/00 A61K47/68 A61K39/395 A61K51/10 A61K49/00 A61K45/00 G01N33/53 C07K7/06		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P11/00 A61P35/00 C07K14/71 C07K16/2863 C07K2317/21 C07K2317/70 C07K2317/73 C07K2317/76 A61K47/68 C07K2317/31 C07K2317/75 G01N33/6893 G01N2333/71 A61K39/39558 A61K39/44 G01N33/74		
FI分类号	C12N15/13.ZNA C12N15/63.Z C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/28 C07K16/46 C12P21/02.C A61P43/00.105 A61P35/00 A61P27/02 A61P29/00 A61P1/04 A61P13/10 A61P11/00 A61P43/00.121 A61K47/68 A61K39/395.D A61K39/395.E A61K39/395.N A61K39/395.T A61K39/395.C A61K39/395.L A61K51/10.200 A61K49/00 A61K45/00 G01N33/53.D C07K7/06		
F-TERM分类号	4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA83X 4B065/AA86X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4C076/AA95 4C076/BB13 4C076/BB15 4C076/BB16 4C076/CC04 4C076/CC10 4C076/CC15 4C076/CC16 4C076/CC17 4C076/CC27 4C076/CC41 4C076/EE59 4C084/AA19 4C084/NA05 4C084/ZA331 4C084/ZA591 4C084/ZA661 4C084/ZA811 4C084/ZB111 4C084/ZB211 4C084/ZB212 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZC751 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA25 4C085/BB31 4C085/BB36 4C085/BB41 4C085/BB42 4C085/CC01 4C085/CC31 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/HH03 4C085/HH11 4C085/HH20 4C085/KA03 4C085/KA04 4C085/KA27 4C085/KA29 4C085/KA36 4C085/KB82 4C085/LL05 4C085/LL09 4C085/LL11 4C085/LL18 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA14 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA10 4H045/FA74		
优先权	62/187204 2015-06-30 US		
其他公开文献	JP2018528759A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了抗血管内皮生长因子受体2（VEGFR2）抗体及其抗原结合片段。 还提供了分离的编码抗VEGFR2抗体或其抗原结合片段的核酸分子，相关的表达载体和宿主细胞。 提供了制备抗VEGFR2抗体及其抗原结合片段的方法。 还提供了包含抗VEGFR2抗体（或其抗原结合片段）的相关药物组合物及其在治疗以过度血管生成为特征的病理状况中的用途的方法。 [选型图]图1

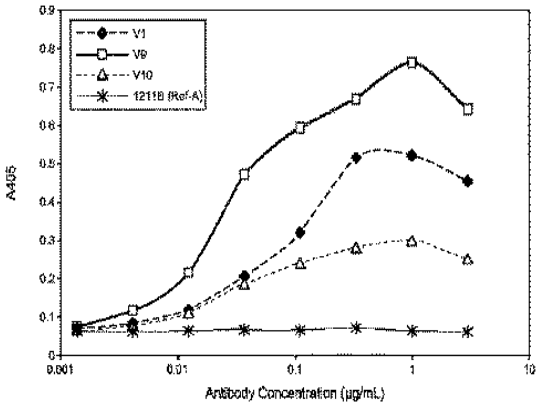

V1
V9
V10
1211B (Ref-A)
A405
Antibody Concentration (µg/mL)
0.001
0.01
0.1
1
10

FIG. 1