

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7297672号

(P7297672)

(45)発行日 令和5年6月26日(2023.6.26)

(24)登録日 令和5年6月16日(2023.6.16)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 16/28

Z N A

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/46

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/63

Z

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

請求項の数 14 (全120頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-553886(P2019-553886)

(86)(22)出願日 平成30年4月12日(2018.4.12)

(65)公表番号 特表2020-516240(P2020-516240  
A)

(43)公表日 令和2年6月11日(2020.6.11)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/027310

(87)国際公開番号 WO2018/191502

(87)国際公開日 平成30年10月18日(2018.10.18)

審査請求日 令和3年4月12日(2021.4.12)

(31)優先権主張番号 62/485,365

(32)優先日 平成29年4月13日(2017.4.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(73)特許権者 515124598

アジェナス インコーポレイテッド  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02  
421, レキシントン, フォーブス  
ロード 3

(74)代理人 100108453

弁理士 村山 靖彦

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(74)代理人 100133400

弁理士 阿部 達彦

(72)発明者

ヤンビン・シャオ  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0  
2446・ブルックライン・バブコック  
・ストリート・60・ユニット・66

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗CD137抗体およびその使用方法

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

ヒトCD137に特異的に結合する単離された抗体であって、前記抗体が、相補性決定領域(CDR)を含む重鎖可変領域(VH)であるCDRH1、CDRH2、およびCDRH3と、CDRを含む軽鎖可変領域(VL)であるCDRL1、CDRL2、およびCDRL3と、を含み、

CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3が、それぞれ配列番号1、2、3、4、5、および6に記載のアミノ酸配列を含む、抗体。

## 【請求項2】

(a) VHが、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含み、および/または、VLが配列番号8のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含む、または、

(b) 前記VH及びVLが、それぞれ配列番号7および8を含むまたはからなる、請求項1に記載の単離された抗体。

## 【請求項3】

前記抗体が、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2からなる群から選択される重鎖定常領域、および/または配列番号22のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、請求項1または2に記載の単離された抗体。

## 【請求項4】

10

20

- ( a ) 前記抗体が、 I g G 1 重鎖定常領域を含み、  
 ( i ) 前記 I g G 1 重鎖定常領域が、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む、  
 ( i i ) 前記 I g G 1 重鎖定常領域のアミノ酸配列が、 E U 番号付けシステムに従って番号付けされた N 2 9 7 A 変異を含む、  
 ( i i i ) I g G 1 重鎖定常領域が、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む、  
 ( i v ) 前記 I g G 1 重鎖定常領域が、 E U 番号付けシステムに従って番号付けされた S 2 6 7 E および L 3 2 8 F 変異を含む、および/または  
 ( v ) 前記重鎖定常領域が配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む、  
 ( b ) 前記抗体が、 I g G 2 重鎖定常領域を含み、  
 ( i ) 前記 I g G 2 重鎖定常領域が、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む、  
 ( i i ) 前記 I g G 2 重鎖定常領域のアミノ酸配列が、 E U 番号付けシステムに従って番号付けされた N 2 9 7 A 変異を含む、および/または  
 ( i i i ) 前記 I g G 2 重鎖定常領域が、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む、  
 ( c ) 前記抗体が、 I g G 4 重鎖定常領域を含み、  
 ( i ) I g G 4 重鎖定常領域のアミノ酸配列が、 E U 番号付けシステムに従って番号付けされた S 2 2 8 P 変異を含む、および/または  
 ( i i ) 前記 I g G 4 重鎖定常領域が、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む、または  
 ( d ) 前記抗体が、野生型重鎖定常領域のバリエーションである重鎖定常領域を含み、バリエーション重鎖定常領域が、前記野生型重鎖定常領域が F c R に結合するよりも高い親和性で前記 F c R に結合する、  
 請求項 3 に記載の単離された抗体。

10

20

## 【請求項 5】

- ( a ) 配列番号 9 ~ 1 4 及び 4 9 ~ 5 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、重鎖、ならびに/または、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖、または、  
 ( b ) それぞれ配列番号 9 および 2 1、1 0 および 2 1、1 1 および 2 1、1 2 および 2 1、1 3 および 2 1、1 4 および 2 1、4 9 および 2 1、5 0 および 2 1、5 1 および 2 1、5 2 および 2 1、5 3 および 2 1、または、5 4 および 2 1 のアミノ酸配列を含むまたはから成る、重鎖および軽鎖を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された抗体。

## 【請求項 6】

- それぞれ配列番号 9 および 2 1 のアミノ酸配列を含む、重鎖および軽鎖を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の単離された抗体。

30

## 【請求項 7】

- ( a ) ヒト抗体である、  
 ( b ) 多重特異性抗体である、  
 ( c ) 細胞傷害性剤、細胞分裂阻害剤、毒素、放射性核種、または検出可能な標識と共役している、および/または  
 ( d ) 第 2 の抗体と共役している、  
 請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の単離された抗体。

## 【請求項 8】

- 請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体の、 V H および V L または重鎖および軽鎖をコードする単離されたポリヌクレオチド。

40

## 【請求項 9】

- 請求項 8 に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

## 【請求項 10】

- ( a ) 請求項 8 に記載のポリヌクレオチド、  
 ( b ) 請求項 9 に記載のベクター、または  
 ( c ) 請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体の V H もしくは重鎖をコードする第一のポリヌクレオチド、および、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体の V L もしくは軽鎖をコードする第二のポリヌクレオチド、

50

を含む、組み換え宿主細胞。

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体、請求項 8 に記載のポリヌクレオチド、請求項 9 に記載のベクター、または請求項 1 0 に記載の宿主細胞と、薬学的に許容される担体もしくは賦形剤と、を含む、薬学的組成物。

【請求項 1 2】

ヒト CD 1 3 7 に特異的に結合する抗体を産生する方法であって、前記ポリヌクレオチドが発現され、かつ前記抗体が産生されるのに好適な条件下で、請求項 1 0 に記載の宿主細胞を培養することを含む、方法。

【請求項 1 3】

癌もしくは感染症を治療する、もしくは免疫応答を増加させる方法において使用するための、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体、請求項 8 に記載のポリヌクレオチド、請求項 9 に記載のベクター、請求項 1 0 に記載の宿主細胞、または請求項 1 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 4】

( a ) 前記抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物が  
 ( i ) 全身投与される、もしくは  
 ( i i ) 皮下、腫瘍内に投与されるか、もしくは腫瘍流入領域リンパ節に送達される、および/または  
 ( b ) 前記方法が追加の治療薬を対象に投与することをさらに含み、  
 ( i ) 前記追加の治療薬が、化学療法薬である、  
 ( i i ) 前記追加の治療薬が、チェックポイント標的薬である、  
 ( i i i ) 前記追加の治療薬が、アンタゴニスト抗 PD - 1 抗体、アンタゴニスト抗 PD - L 1 抗体、アンタゴニスト抗 PD - L 2 抗体、アンタゴニスト抗 CTLA - 4 抗体、アンタゴニスト抗 TIM - 3 抗体、アンタゴニスト抗 LAG - 3 抗体、アンタゴニスト抗 VISTA 抗体、アンタゴニスト抗 CD 9 6 抗体、アンタゴニスト抗 CEACAM 1 抗体、アンタゴニスト抗 TIGIT 抗体、アゴニスト抗 GITR 抗体、およびアゴニスト抗 OX 4 0 抗体からなる群から選択される、  
 ( i v ) 前記追加の治療薬が、ペムブロリズマブまたはニボルマブから選択される抗 PD - 1 抗体である、  
 ( v ) 前記追加の治療薬が、インドールアミン - 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ ( IDO ) の阻害剤である、  
 ( v i ) 前記追加の治療薬が、エパカドスタット、F 0 0 1 2 8 7、インドキシモド、および NLG 9 1 9 からなる群から選択される、または  
 ( v i i ) 前記追加の治療薬がワクチンである、  
 ( v i i i ) 前記追加の治療薬が、抗原ペプチドと複合体形成された熱ショックタンパク質を含む熱ショックタンパク質ペプチド複合体 ( H S P P C ) を含むワクチンである、  
 請求項 1 3 に記載の抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願

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、2 0 1 7 年 4 月 1 3 日出願の米国仮特許出願第 6 2 / 4 8 5 , 3 6 5 号の利益を主張する。

【0 0 0 2】

本開示は、CD 1 3 7 (例えば、ヒト CD 1 3 7 ) に特異的に結合する抗体およびそれを使用する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

T N F R S F 9 または 4 - 1 B B としても知られる CD 1 3 7 は、腫瘍壊死因子 ( T N

10

20

30

40

50

F) 受容体スーパーファミリーの膜貫通タンパク質である。それは、システインリッチモチーフを含有するN-末端細胞外ドメイン(膜貫通ドメイン)、および潜在的なリン酸化部位を含有する短いC-末端細胞質内ドメインを有する。CD137は、活性化CD4<sup>+</sup>Tリンパ球、活性化CD8<sup>+</sup>Tリンパ球、活性化ナチュラルキラー(NK)細胞、単球、樹状細胞、B細胞、好中球、およびmast細胞上で発現する(Vinay et al. (2011) Cellular & Molecular Immunology 8:281-84)。TNFSF9または4-1BBLとしても知られるCD137Lは、CD137のリガンドである。CD137Lが結合すると、CD137は、細胞の生存、増殖、サイトカイン産生、およびエフェクター機能の活性化を促進する共刺激シグナルを変換する。CD137LのCD137への結合はまた、CD4<sup>+</sup>T細胞よりも高い割合でCD8<sup>+</sup>T細胞を共刺激することが示されている。

10

## 【0004】

動物モデルでの研究では、CD137Lまたはアゴニスト抗体のいずれかを使用するCD137のライゲーションは、T細胞活性化を促進することにより腫瘍の成長を抑制することが示されている(Vinay et al. (2012) Mol. Cancer Ther. 11:1062-70)。CD137はまた、ワクチン接種後のヒト免疫不全ウイルス(HIV)およびC型肝炎ウイルス(HCV)に対するT細胞免疫を向上させることが示されている(Munks et al. (2004) Immunology 112:559-66、Arribillaga et al. (2005) Vaccine 23:3493-99)。加えて、CD137アゴニストは、狼瘡、コラーゲン誘導関節炎、および実験的自己免疫性脳脊髄炎の動物モデルにおいて、自己免疫を改善することが示されている。

20

## 【0005】

免疫応答調節におけるヒトCD137の明らかな役割を考慮すると、CD137シグナル伝達を促進するように設計された治療薬は、免疫抑制に関与する疾患の治療にかなり有望である。

## 【発明の概要】

## 【0006】

本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)へ特異的に結合し、CD137機能、例えば、CD137媒介性免疫活性化を増加または促進する抗体を提供する。これらの抗体を含む薬学的組成物、これらの抗体をコードする核酸、これらの抗体を作製するための発現ベクターおよび宿主細胞、ならびにこれらの抗体を使用して対象を治療する方法もまた提供される。本明細書に開示の抗体は、抗原(例えば、腫瘍抗原または感染症抗原)に対するT細胞活性化を増加させるのに、および/またはTreg媒介性免疫抑制を減少させるのに特に有用であり、それ故に、対象における癌の治療または対象における感染症の治療もしくは予防に特に有用である。

30

## 【0007】

したがって、一態様では、本開示は、相補性決定領域(CDR)CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域(VH)と、相補性決定領域CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域(VL)と、を含む、抗体または単離された抗体であって、

40

(a) CDRH1が、X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>H(配列番号82)のアミノ酸配列を含み、式中、X<sub>1</sub>が、G、A、D、E、L、N、Q、R、S、またはWであり、

X<sub>2</sub>が、Y、F、H、N、R、またはSであり、

X<sub>3</sub>が、YまたはHであり、

X<sub>4</sub>が、M、I、T、またはVであり、

(b) CDRH2が、WINPNSGGTNYAQKFQG(配列番号2)のアミノ酸配列を含み、

(c) CDRH3が、X<sub>1</sub>PX<sub>2</sub>YX<sub>3</sub>GX<sub>4</sub>GLX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>(配列番号83)のアミノ酸配列を含み、式中、

50

$X_1$  が、E または G であり、  
 $X_2$  が、G、A、R、または S であり、  
 $X_3$  が、Y、F、H、または S であり、  
 $X_4$  が、S、A、または T であり、  
 $X_5$  が、D または G であり、  
 $X_6$  が、Y または H であり、  
 (d) CDR L1 が、GGDDIGDKRVH (配列番号 4) のアミノ酸配列を含み、  
 (e) CDR L2 が、EDRYRPS (配列番号 5) のアミノ酸配列を含み、かつ/ある  
 いは

(f) CDR L3 が、 $QX_1WX_2X_3X_4X_5X_6X_7PGV$  (配列番号 84) のアミノ酸配列を含み、式中、

10

$X_1$  が、V または I であり、  
 $X_2$  が、D、A、E、G、H、N、または Y であり、  
 $X_3$  が、S、A、E、F、L、P、R、T、W、または Y であり、  
 $X_4$  が、S、A、L、M、または R であり、  
 $X_5$  が、S、A、F、G、L、P、Q、R、または T であり、  
 $X_6$  が、D、E、H、V、または Y であり、  
 $X_7$  が、H または Y である、抗体または単離された抗体を提供する。

## 【0008】

ある特定の実施形態では、

20

(a) CDR H1 が、 $X_1X_2YX_3H$  (配列番号 85) のアミノ酸配列を含み、式中、  
 $X_1$  が、G、A、D、L、R、S、または W であり、  
 $X_2$  が、Y、F、H、または N であり、  
 $X_3$  が、M または V であり、

(b) CDR H3 が、 $EPGYX_1GX_2GLDX_3$  (配列番号 86) のアミノ酸配列を含み、式中、

$X_1$  は、Y または F であり、  
 $X_2$  は、S または T であり、  
 $X_3$  が、Y または H であり、かつ/あるいは

(c) CDR L3 が、 $QVWX_1X_2X_3X_4X_5X_6PGV$  (配列番号 87) のアミノ酸配列を含み、式中、

30

$X_1$  が、D、A、E、H、N、または Y であり、  
 $X_2$  が、S、A、E、L、R、または T であり、  
 $X_3$  が、S、A、L、または R であり、  
 $X_4$  が、S、A、F、G、L、P、Q、または R であり、  
 $X_5$  が、D、E、または V であり、  
 $X_6$  が、H または Y である。

## 【0009】

ある特定の実施形態では、

(a) CDR H1 が、GY YMH (配列番号 1) のアミノ酸配列を含み、  
 (b) CDR H3 が、EPGY YG SGLDY (配列番号 3) または EPGY YGTGLDY (配列番号 59) のアミノ酸配列を含み、かつ/あるいは  
 (c) CDR L3 が、QVWDSSSDHPGV (配列番号 6)、QVWNSSSSDHPGV (配列番号 60)、QVWDSSSDYPGV (配列番号 61)、または QVWYSSPDHPGV (配列番号 62) のアミノ酸配列を含む。

40

## 【0010】

ある特定の実施形態では、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3 は、それぞれ配列番号 1、2、3、4、5、および 6；1、2、59、4、5、および 6；1、2、3、4、5、および 60；1、2、3、4、5、および 61；または 1、2、3、4、5、および 62 に記載のアミノ酸配列を含む。

50

## 【 0 0 1 1 】

ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。ある特定の実施形態では、VHは、配列番号7、63、64、または65のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、VHは、配列番号7のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7、63、64、または65のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、Xは、グルタミン(Q)である。ある特定の実施形態では、Xは、ピログルタミン酸(pE)である。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号8のアミノ酸配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、99%、または100%同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。ある特定の実施形態では、VLは、配列番号8、66、67、または68のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、VLは、配列番号8のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、VLのアミノ酸配列は、配列番号8、66、67、または68のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、VLのアミノ酸配列は、配列番号8のアミノ酸配列からなる。

10

## 【 0 0 1 2 】

別の態様では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、配列番号7、63、64、または65のアミノ酸配列を含むVHを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、VHは、配列番号7のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7、63、64、または65のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、VHのアミノ酸配列は、配列番号7のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、Xは、グルタミン(Q)である。ある特定の実施形態では、Xは、ピログルタミン酸(pE)である。

20

## 【 0 0 1 3 】

別の態様では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、配列番号8、66、67、または68のアミノ酸配列を含むVLを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、VLは、配列番号8のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、VLのアミノ酸配列は、配列番号8、66、67、または68のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、VLのアミノ酸配列は、配列番号8のアミノ酸配列からなる。

30

## 【 0 0 1 4 】

別の態様では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、それぞれ配列番号7および8、63および8、64および66、7および67、または65および68のアミノ酸配列を含むVHならびにVLを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、VHおよびVLのアミノ酸配列は、それぞれ配列番号7および8、63および8、64および66、7および67、または65および68のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、配列番号7、63、64、または65のXは、グルタミン(Q)である。ある特定の実施形態では、配列番号7、63、64、または65のXは、ピログルタミン酸(pE)である。

40

## 【 0 0 1 5 】

別の態様では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、ヒトIGHV1-2\*02生殖系列配列由来のアミノ酸配列を有するVHを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、VHは、配列番号3または59に記載のアミノ酸配列を含む。

## 【 0 0 1 6 】

別の態様では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、ヒトIGLV3-21

50

\* 0 2 生殖系列配列由来のアミノ酸配列を有する V L を含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、V L は、配列番号 6、6 0、6 1 または 6 2 に記載のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 7 】

別の態様では、本開示は、C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7) に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、ヒト I G H V 1 - 2 \* 0 2 生殖系列配列由来のアミノ酸配列を有する V H を含み、V L が、ヒト I G L V 3 - 2 1 \* 0 2 生殖系列配列由来のアミノ酸配列を有する、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、V H は、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含み、V L は、配列番号 6、6 0、6 1、または 6 2 に記載のアミノ酸配列を含む。

10

【 0 0 1 8 】

ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、および I g A 2 からなる群から選択される重鎖定常領域を含む。

【 0 0 1 9 】

ある特定の実施形態では、抗体は、I g G 1 重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、I g G 1 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、N 2 9 7 A 変異体を含む。ある特定の実施形態では、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、I g G 1 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた S 2 6 7 E および L 3 2 8 F 変異体を含む。ある特定の実施形態では、配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。

20

【 0 0 2 0 】

ある特定の実施形態では、抗体は、I g G 2 重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、I g G 2 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、N 2 9 7 A 変異体を含む。ある特定の実施形態では、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。

【 0 0 2 1 】

ある特定の実施形態では、抗体は、I g G 4 重鎖定常領域を含む。ある特定の実施形態では、I g G 4 重鎖定常領域のアミノ酸配列は、E U 番号付けシステムに従って番号付けされた、S 2 2 8 P 変異体を含む。ある特定の実施形態では、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。

30

【 0 0 2 2 】

ある特定の実施形態では、抗体が、野生型重鎖定常領域の多様体である重鎖定常領域を含み、野生型重鎖定常領域が F c R に結合するよりも高い親和性で、多様体重鎖定常領域が F c R に結合する。ある特定の実施形態では、F c R は、F c R I I B である。

【 0 0 2 3 】

ある特定の実施形態では、本抗体は、配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む。

40

【 0 0 2 4 】

別の態様では、本開示は、C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7) に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、( a ) 配列番号 9 ~ 1 4、4 9 ~ 5 4、および 7 3 ~ 7 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、ならびに / あるいは ( b ) 配列番号 2 1 および 7 9 ~ 8 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、重鎖および軽鎖は、それぞれ配列番号 9 および 2 1、1 0 および 2 1、1 1 および 2 1、1 2 および 2 1、1 3 および 2 1、1 4 および 2 1、4 9 および 2 1、5 0 および 2 1、5 1 および 2 1、5 2 および 2 1、5 3 および 2 1、5 4 および 2 1、7 3 および 2 1、7 4 および 2 1、7 5 および 7 9、7 6 および 7 9、9 および 8 0、4 9 および 8 0、7 7 および 8 1、または 7 8

50

および 81 のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、重鎖および軽鎖は、それぞれ配列番号 9 および 21、または 49 および 21 のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、重鎖および軽鎖のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 9 および 21、10 および 21、11 および 21、12 および 21、13 および 21、14 および 21、49 および 21、50 および 21、51 および 21、52 および 21、53 および 21、54 および 21、73 および 21、74 および 21、75 および 79、76 および 79、9 および 80、49 および 80、77 および 81、または 78 および 81 のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、重鎖および軽鎖のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 9 および 21、または 49 および 21 のアミノ酸配列からなる。ある特定の実施形態では、X は、グルタミン (Q) である。ある特定の実施形態では、X は、ピログルタミン酸 (pE) である。

10

**【0025】**

別の態様では、本開示は、CD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137) に特異的に結合する単離された抗体を提供し、CD137 への抗体の結合が、抗体不在下での二量体化のレベルと比較して、CD137 と第 2 のヒトCD137 分子との間の二量体化のレベルを増加させる。ある特定の実施形態では、CD137 への抗体の結合が、抗体不在下での 2 つの CD137 分子の PLAD ドメイン間での一対ごとの結合レベルと比較して、2 つの CD137 分子の PLAD ドメイン間での一対ごとの結合レベルを増加させる。ある特定の実施形態では、CD137 への抗体の結合は、抗体不在下での CD137 分子の第 1 の領域と第 2 のヒトCD137 分子の第 2 の領域との間の一対ごとの結合レベルと比較して、第 1 の領域と第 2 の領域との間の一対ごとの結合レベルを増加させ、第 1 の領域および/または第 2 の領域が、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む。

20

**【0026】**

別の態様では、本開示は、CD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137) に特異的に結合する単離された抗体を提供し、CD137 への抗体の結合が、抗体不在下での CD137 多量体化 (例えば、二量体化) のレベルと比較して、CD137 多量体化 (例えば、二量体化) のレベルを増加させる。ある特定の実施形態では、CD137 多量体化 (例えば、二量体化) のレベルの増加は、2 つの CD137 分子の PLAD ドメイン間での一対ごとの結合レベルの増加を含む。ある特定の実施形態では、CD137 多量体化 (例えば、二量体化) のレベルの増加は、第 1 の CD137 分子の第 1 の領域と第 2 の分子の第 2 の領域との間の一対ごとの結合レベルの増加を含み、第 1 および/または第 2 の領域が、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む。

30

**【0027】**

ある特定の実施形態では、抗体は、多価抗体であり、CD137 の 2 つ以上の分子に同時に結合することが可能である。

**【0028】**

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、ヒトCD137 のヒトCD137 L への結合を実質的に阻害しない。

**【0029】**

別の態様では、本開示は、ヒトCD137 に特異的に結合し、ヒトCD137 のヒトCD137 L への結合を実質的に阻害しない、単離された抗体を提供する。

40

**【0030】**

ある特定の実施形態では、抗体は、ヒトCD137 の可溶性断片の、ヒトCD137 L の可溶性断片への結合を実質的に阻害しない。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137 発現細胞の、ヒトCD137 L の可溶性断片への結合を実質的に阻害しない。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137 発現細胞の、CD137 L 発現細胞への結合を実質的に阻害しない。

**【0031】**

ある特定の実施形態では、抗体は、ヒトCD137 の可溶性断片の、ヒトCD137 L の可溶性断片への結合を阻害しない。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137 発現

50



細胞のヒトCD137Lの可溶性断片への結合を阻害しない。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137発現細胞のCD137L発現細胞への結合を阻害しない。

【0032】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、ヒトCD137に拮抗性である。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒトCD137の活性を増加または促進する。ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性を増加または促進する抗体の能力は、抗体の架橋に依存する。ある特定の実施形態では、抗体は、架橋不在下でのヒトCD137の活性化を実質的に増加も促進もしない。

【0033】

別の態様では、本開示は、ヒトCD137の活性を増加または促進する抗体の能力が、抗体の架橋に依存する、CD137（例えば、ヒトCD137）に特異的に結合し、ヒトCD137の活性を増加又は促進する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、架橋不在下でのヒトCD137の活性化を実質的に増加も促進もしない。

10

【0034】

ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性を増加または促進する抗体の能力は、CD137Lの存在に依存する。

【0035】

別の態様では、本開示は、ヒトCD137の活性を増加または促進する抗体の能力が、CD137Lの存在に依存する、CD137（例えば、ヒトCD137）に特異的に結合し、ヒトCD137の活性を増加または促進する単離された抗体を提供する。

20

【0036】

ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性を増加または促進する抗体の能力は、CD137Lの濃度と正相関する。ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性を増加または促進する抗体の能力は、CD137Lの濃度の実質的増加関数である。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137L不在下でのヒトCD137の活性を実質的に増加も促進もしない。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137L不在下でのヒトCD137の活性を増加または促進しない。

【0037】

ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性は、ヒトCD137を発現するT細胞を活性化することを含む。ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性は、ブドウ球菌エンテロトキシンA（SEA）で刺激した末梢血単核細胞（PBMC）によって、IL-2産生を誘導することを含む。ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性は、ヒトCD137を発現するナチュラルキラー細胞（NK）を活性化することを含む。ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性は、CD137Lを発現する抗原提示細胞（APC）を活性化することを含む。

30

【0038】

ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号7のアミノ酸配列を含むVHおよび配列番号8のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体と同じ、ヒトCD137のエピトープに結合する。

【0039】

別の態様では、本開示は、抗体が、配列番号7のアミノ酸配列を含むVHおよび配列番号8のアミノ酸配列を含むVLを含む抗体と同じ、ヒトCD137のエピトープに結合する、ヒトCD137に特異的に結合する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒトCD137のCRD4ドメイン内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、ヒトCD137のCRD4ドメインは、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含む。

40

【0040】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、配列番号26～31および43のうちいずれか1つのアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、本抗体は、配列番号43のアミノ酸配列からな

50

るヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。

【0041】

別の態様では、本開示は、抗体が、配列番号26～31および43のうちのいずれか1つのアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する、ヒトCD137に特異的に結合する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本抗体は、配列番号43のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。

【0042】

ある特定の実施形態では、抗体は、列配列番号45のアミノ酸配を含むタンパク質に実質的に結合しない。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号46のアミノ酸配列を含むタンパク質に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、列配列番号46のアミノ酸配を含むタンパク質に特異的に結合し、配列番号45のアミノ酸配列を含むタンパク質には実質的に結合しない。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号45のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質に実質的に結合しない。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号46のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号46のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質に特異的に結合し、配列番号45のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質に実質的に結合しない。

【0043】

ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、(a) VHおよびVLの各々2つを含むF(ab')<sub>2</sub>が、配列番号27のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合し、かつ/あるいは、(b) VHおよびVLを含むFabが、配列番号26のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープ、ならびに任意選択的に、配列番号28または29のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。

【0044】

ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、(a) VHおよびVLの各々2つを含むF(ab')<sub>2</sub>として抗体がフォーマットされている場合、F(ab')<sub>2</sub>が、配列番号27のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合し、かつ/あるいは、(b) VHおよびVLを含むFabとして抗体がフォーマットされている場合、Fabが、配列番号26のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープ、ならびに任意選択的に、配列番号28または29のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。

【0045】

ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、(a) VHおよびVLの各々2つを含むF(ab')<sub>2</sub>が、水素/重水素交換アッセイにより測定した場合、F(ab')<sub>2</sub>不在下での同じ領域における水素と重水素との交換と比較して、配列番号34のアミノ酸配列からなるCD137の領域における水素と重水素との交換を実質的に低減し、(b) VHおよびVLを含むFabが、水素/重水素交換アッセイにより測定した場合、Fab不在下での同じ領域における水素と重水素の交換と比較して、配列番号34のアミノ酸配列からなるCD137の領域における水素と重水素との交換を実質的に低減しない。

【0046】

ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、(a) VHおよびVLの各々2つを含むF(ab')<sub>2</sub>として抗体がフォーマットされている場合、F(ab')<sub>2</sub>が、水素/重水素交換アッセイにより測定した場合、F(ab')<sub>2</sub>不在下での同じ領域における水素と重水素との交換と比較して、配列番号34のアミノ酸配列からなるCD137の領域における水素と重水素との交換を実質的に低減し、(b) VHおよびVLを含むFabとして抗体がフォーマットされている場合、Fabが、水素/重水素交換アッセイにより測定した場合、Fab不在下での同じ領域における水素と重水素の交換と比較して、配

10

20

30

40

50

列番号 34 のアミノ酸配列からなる CD 137 の領域における水素と重水素との交換を実質的に低減しない。

【 0047 】

ある特定の実施形態では、抗体は、列配列番号 37 のアミノ酸配を含むタンパク質に特異的に結合し、抗体は、配列番号 38 のアミノ酸配列を含むタンパク質には特異的に結合しない。

【 0048 】

別の態様では、本開示は、ヒト CD 137 に特異的に結合する単離された抗体を提供し、抗体が、配列番号 37 のアミノ酸配列を含むタンパク質に特異的に結合し、抗体が、配列番号 38 のアミノ酸配列を含むタンパク質に特異的に結合しない。

10

【 0049 】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、ヒト抗体である。ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、多重特異性抗体である。

【 0050 】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、細胞傷害性剤、細胞分裂阻害剤、毒素、放射性核種、または検出可能な標識に共役している。ある特定の実施形態では、抗体は、第 2 の抗体に共役している。

【 0051 】

別の態様では、本開示は、本明細書に開示の抗体の V H および / もしくは V L または重鎖および / もしくは軽鎖をコードする単離されたポリヌクレオチドを提供する。別の態様では、本開示は、本明細書に開示のポリヌクレオチドを含むベクターを提供する。別の態様では、本開示は、本明細書に開示のポリヌクレオチドまたはベクターを含む、組み換え宿主細胞を提供する。

20

【 0052 】

別の態様では、本開示は、本明細書に開示の、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、または宿主細胞と、薬学的に許容される担体または賦形剤と、を含む薬学的組成物を提供する。

【 0053 】

別の態様では、本開示は、ヒト CD 137 に特異的に結合する抗体を産生する方法であって、ポリヌクレオチドが発現され、かつ抗体が産生されるような好適な条件下で、本明細書に開示の宿主細胞を培養することを含む、方法を提供する。

30

【 0054 】

別の態様では、本開示は、対照の免疫応答を増加させる方法であって、有効量の本明細書に開示の抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。

【 0055 】

別の態様では、本開示は、対象の抗原に応答する T 細胞活性化および / または N K 細胞活性化を増加させる方法であって、有効量の本明細書に開示の、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。

40

【 0056 】

別の態様では、本開示は、対象の癌を治療する方法であって、有効量の本明細書に開示の、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。

【 0057 】

ある特定の実施形態では、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物は、全身投与される。ある特定の実施形態では、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物は、静脈内投与される。ある特定の実施形態では、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物は、皮下、腫瘍内投与されるか、または腫瘍流入領域リンパ節に送達される。

50

【 0 0 5 8 】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の、対象の免疫応答を増加させる方法、対象の抗原に应答するT細胞活性化および/もしくはNK細胞活性化を増加させる方法、または対象の癌を治療する方法は、追加の治療薬を対象に投与することをさらに含む。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、化学療法薬である。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、チェックポイント標的薬である。ある特定の実施形態では、チェックポイント標的薬は、アンタゴニスト抗PD-1抗体、アンタゴニスト抗PD-L1抗体、アンタゴニスト抗PD-L2抗体、アンタゴニスト抗CTLA-4抗体、アンタゴニスト抗TIM-3抗体、アンタゴニスト抗LAG-3抗体、アンタゴニスト抗VISTA抗体、アンタゴニスト抗CD96抗体、アンタゴニスト抗CEACAM1抗体、アンタゴニスト抗TIGIT抗体、アゴニスト抗GITR抗体、およびアゴニスト抗OX40抗体からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、抗PD-1抗体であり、任意選択的に、抗PD-1抗体は、ペムブロリズマブまたはニボルマブである。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)の阻害剤である。ある特定の実施形態では、阻害剤は、エパカドスタット、F001287、インドキシモド、およびNLG919からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、ワクチンである。ある特定の実施形態では、ワクチンは、抗原ペプチドと複合体形成された熱ショックタンパク質を含む熱ショックタンパク質ペプチド複合体(HSPPC)を含む。ある特定の実施形態では、熱ショックタンパク質は、hsc70であり、腫瘍関連抗原ペプチドと複合体形成されている。ある特定の実施形態では、熱ショックタンパク質は、gp96タンパク質であり、腫瘍関連抗原ペプチドと複合体形成されており、HSPPCが、対象から得られた腫瘍に由来する。

10

20

【 0 0 5 9 】

別の態様では、本開示は、対象の感染症を治療する方法であって、有効量の本明細書に開示の、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、または薬学的組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 6 0 】

【 図 1 】 抗CD137抗体Ba001またはIgG1アイソタイプ対照抗体の、ヒトCD137(図1A)またはカニクイザルCD137(図1B)をそれらの細胞表面上に発現している細胞への結合を示す、一連のフローサイトメトリーのグラフである。図1Aでは、それらの表面上にヒトCD137を発現するように操作されたJurkat細胞(左側パネル)、内在性CD137を発現している活性化ヒトCEM/C1-T細胞(中央パネル)、または活性化ヒト初代CD8+T細胞(右側パネル)で、ヒトCD137への結合を評価した。図1Bでは、それらの表面上にカニクイザルCD137を発現するように操作されたJurkat細胞(左側パネル)または活性化カニクイザル初代CD8+T細胞(右側パネル)で、カニクイザルCD137への結合を評価した。

30

【 図 2 】 CD137/Ba001-F(ab')<sub>2</sub>複合体の状況下で、ヒトCD137へのヒトCD137Lの結合を示す、表面プラズモン共鳴のグラフである。図2Aでは、Ba001-F(ab')<sub>2</sub>をフローセルに結合し、次いでCD137をフローセル上に泳動させ、それによりCD137/Ba001-F(ab')<sub>2</sub>複合体を形成する。次いで、CD137Lをフローセル上に泳動させ、複合体への結合を示した。図2Bでは、まず、事前に形成したCD137/Ba001-F(ab')<sub>2</sub>複合体をフローセルに結合した。次いで、CD137Lをフローセル上に泳動させ、複合体への結合を示した。

40

【 図 3 】 抗ヒトCD137抗体Ba001が、CD137へのCD137Lの結合を遮断しないことを示すグラフである。図3Aは、Ba001が、それらの細胞上にCD137Lを発現している細胞の、それらの表面上にCD137を発現している細胞への結合を遮断しないことを示す、一連のフローサイトメトリープロットである。プロットの上段は、各抗体の側方散乱(SSC)シグナルおよび前方散乱(FSC)シグナルを示し、プロットの下段は、各抗体のJurkat-CD137(PE)シグナルおよびJurkat-

50

CD137L (FITC) シグナルを示している。図3Bおよび3Cは、2種の細胞を混合培養に組み合わせる前(図3B)または後(図3C)で抗CD137抗体またはアイソタイプ対照抗体を添加した、抗CD137L発現細胞およびCD137発現細胞の共培養、細胞全数中の共役細胞のパーセンテージを示すグラフである。

【図4】抗CD137抗体BA001の架橋依存性を示すグラフである。図4Aは、1 $\mu$ g/mLのCD137L不在下で、2 $\mu$ g/mLの架橋させたBA001、アイソタイプ対照、または参照抗CD137抗体#2と培養した、ヒトCD137を発現しているJurkat細胞中のNF $\kappa$ B-ルシフェラーゼレポーター活性を示している。レポーター活性は、発光レベルによって表され、架橋剤(AffiniPure F(ab')<sub>2</sub>断片ヤギ抗ヒトIgG)対抗体のモルでの対数比に対してプロットしている。図4Bは、CD137発現CHO細胞と共培養したヒトCD137を発現しているJurkat細胞のNF $\kappa$ B-ルシフェラーゼレポーター活性を示している。

10

【図5】ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)で刺激した際のヒト末梢血単核細胞(PBMC)中の、抗CD137抗体(すなわち、BA001および2つの参照抗CD137抗体)または対応するアイソタイプ対照抗体(すなわち、それぞれIgG1、IgG2、およびIgG4アイソタイプ対照抗体)によって誘導されたIL-2の産生を示すグラフである。

【図6】抗CD3抗体(図6Aおよび6B)で刺激された、精製されたヒトT細胞中の抗CD137抗体によって誘導されたIL-2の産生を示すグラフである。これらの実験で使用された精製されたヒトT細胞中のCD137L発現を、フローサイトメトリーによって評価した。これらの細胞上には、検出可能なCD137Lの発現は観察されなかった(図6C)。

20

【図7A】1 $\mu$ g/mLのCD137L存在下または不在下で測定した、Jurkatレポーター細胞中の抗CD137抗体BA001の、架橋依存性およびリガンド依存性を示すグラフである。

【図7B】Jurkatレポーター細胞の表面上のCD137およびCD137Lの発現(または発現の欠如)を示すヒストグラムである。新たに解凍した細胞(「0時間」)、解凍後4時間培養した細胞(「4時間」)、および解凍後24時間培養した細胞(「24時間」)からの発現を分析した。

【図8】ヒトCD137(図8Aおよび8B)またはカニクイザルCD137(図8Cおよび8D)のいずれかを発現している、段階希釈した抗CD137抗体BA001またはアイソタイプ対照抗体と培養したJurkat細胞におけるNF $\kappa$ B-ルシフェラーゼレポーター活性を示すグラフである。一組の試料ではまた、ヒトCD137Lの存在下(図8Bおよび8D)または不在下(図8Aおよび8C)で細胞を培養した。

30

【図9】ヒトCD137を発現している、(i)2 $\mu$ g/mLの抗CD137抗体(BA001または2つの参照抗CD137抗体のうちの1つ)または適切なアイソタイプ対照抗体、および(ii)段階希釈したヒトCD137L(リガンド)と培養したJurkat細胞におけるNF $\kappa$ B-ルシフェラーゼレポーター活性を示す一連のグラフである。第1の組の試料では、抗CD137抗体またはアイソタイプ対照抗体をCD137Lの前に添加した(図9A)。第2の組の試料では、抗CD137抗体またはアイソタイプ対照抗体をCD137Lと同時に添加した(図9B)。第3の組の試料では、抗CD137抗体またはアイソタイプ対照抗体の前にCD137Lを添加した(図9C)。

40

【図10A】ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)で刺激した際のヒト末梢血単核細胞(PBMC)中のBA001または対応するアイソタイプ対照抗体のFc多様体によって誘導された、IL-2の産生を示すグラフである。

【図10B】ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)で刺激した際のヒト末梢血単核細胞(PBMC)中のBA001または対応するアイソタイプ対照抗体の段階希釈したFc多様体によって誘導された、IL-2の産生を示すグラフである。

【図11】ヒトまたはカニクイザルCD137のいずれかを発現している、段階希釈したBA001または適切なアイソタイプ対照抗体のFc多様体と培養したJurkat細胞

50

における、一連のNF B - ルシフェラーゼレポーター活性である。一組の試料ではまた、ヒトCD137L存在下(右段)または不在下(左段)で細胞を培養した。

【図12】ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)で刺激した際のヒト末梢血単核細胞(PBMC)中の抗体によって誘導された、IL-2の産生を示すグラフである。図12Aで試験された抗体は、抗CD137抗体BA001、アイソタイプ対照抗体、抗PD-1抗体、およびBA001と抗PD-1抗体との組み合わせを含む。図12Bで試験された抗体は、抗CD137抗体BA001、アイソタイプ対照抗体、抗OX40抗体、およびBA001と抗OX40抗体との組み合わせを含む。

【図13】ヒトCD137およびカニクイザルCD137の配列アライメントである。「\*」(アスタリスク)は、単一の完全保存残基を有する位置を示す。「:」(コロン)は、強く類似した特性の群間の保存を示す。「.」(ピリオド)は、弱く類似した特性の群間の保存を示す。点線で囲まれた領域(DPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCD、配列番号34)は、ヒトCD137がBA001-F(ab')<sub>2</sub>に結合され、この領域にCD137ホモ二量体化を有し得るとき、重水素取り込みの緩やかな減少を呈した。実線で囲まれた領域(FNDQKRGI CRPW TNCSL、配列番号26)は、ヒトCD137がBA001-Fabに結合されると、重水素取り込みの強い減少を呈した。

【図14】FACSによるBA001のエピトープマッピングを示す一連の図である。図14Aでは、示された領域の各々(すなわち、5014、5015、5016、5017、および5018、以下の表5参照)の、ヒトからマウスへ配列を切り替えた一連のCD137の変異体を生成した。次いで、抗CD137抗体結合をFACSによって分析するために、これらの変異構造体をJurkat細胞にトランスフェクトした。図14Bは、BA001、参照抗CD137抗体#1および#2(それぞれ「参照#1」および「参照#2」)、ならびにアイソタイプ対照抗体の、上述の切り替えた変異体の各々を発現するように操作されたJurkat細胞への、細胞結合データを示している。

【図15】表面プラズモン共鳴(SPR)アッセイによるCD137エピトープのフィンマッピングを示している。図15Aは、ヒトCD137およびマウスCD137の配列アライメントである。「\*」(アスタリスク)は、単一の完全保存残基を有する位置を示す。「:」(コロン)は、強く類似した特性の群間の保存を示す。「.」(ピリオド)は、弱く類似した特性の群間の保存を示す。実線で囲まれた領域(FNDQKRGI CRPW TNCSL、配列番号26)は、図13に示される水素/重水素交換アッセイによって特定されたエピトープ領域である。点線で囲まれた領域(LTKKGCKDCCFGTFNDQKRGI CRPW TNCSL、配列番号30)は、図14Aおよび14Bに示されるヒト-マウス融合構造体を使用した結合アッセイから特定された5017領域である。実線によって強調されている領域(KRGI、配列番号43)は、ヒトCD137とマウスCD137との間で切り替えられてキメラタンパク質が生成されたアミノ酸配列を示している。図15Bは、BA001の、ヒトCD137、ならびに「ヒトからマウス」および「マウスからヒト」のキメラタンパク質への結合を示す、SPRアッセイによるセンサーグラムである。図15Cは、参照抗CD137抗体#1(「参照#1」)の、同じCD137タンパク質への結合を示す、同様のSPRアッセイによるセンサーグラムである。

【図16】蛍光標識を使用して読み出した酵素結合免疫吸着法アッセイ(ELISA)により測定した場合の、4つのBA001多様体、BA049、BA050、BA051、およびBA052の、ヒトCD137(図16A)、カニクイザルCD137(図16B)、マウス-ヒト融合構造体5017(「mCD137-ヒト112-139」)(図16C)、およびマウス-ヒト融合構造体5015(「mCD137-ヒト53-80」)(図16D)の細胞外ドメインへの結合を示す一連のグラフである。中央値蛍光強度レベルを、抗CD137抗体の濃度に対してプロットした。

【発明を実施するための形態】

【0061】

本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)へ特

10

20

30

40

50

異的に結合し、CD137機能、例えば、CD137媒介性免疫活性化を増加または促進する抗体を提供する。これらの抗体を含む薬学的組成物、これらの抗体をコードする核酸、これらの抗体を作製するための発現ベクターおよび宿主細胞、ならびにこれらの抗体を使用して対象を治療する方法もまた提供される。本明細書に開示の抗体は、抗原（例えば、腫瘍抗原または感染症抗原）に応答してT細胞活性化を増加させるため、それ故に対象の癌を治療する、または対象の感染症を治療もしくは予防するために特に有用である。本明細書に記載の「単離された抗体」の全ての例が、単離することができるが、単離される必要はない抗体として、追加的に企図される。本明細書に記載の「単離されたポリヌクレオチド」の全ての例が、単離することができるが、単離される必要はないポリヌクレオチドとして、追加的に企図される。本明細書に記載の「抗体」の全ての例が、単離することができるが、単離される必要はない抗体として、追加的に企図される。本明細書に記載の「ポリヌクレオチド」の全ての例が、単離することができるが、単離される必要はないポリヌクレオチドとして、追加的に企図される。

10

【0062】

## 5.1 定義

本明細書で使用される場合、「約」および「およそ」という用語は、数値または数値範囲を修飾するために使用されるとき、5%~10%上回り（例えば、最大5%~10%上回る）、かつ5%~10%下回る（例えば、最大5%~10%下回る）その値または範囲の偏差が、列挙される値または範囲の意図される意味に留まることを示す。

【0063】

本明細書で使用される場合、「CD137」という用語は、TNFRSF9遺伝子によってコードされるヒトのTNF受容体スーパーファミリーメンバー9（4-1BBとしても知られる）を指す。本明細書で使用される場合、「ヒトCD137」という用語は、野生型ヒトCD137遺伝子（例えば、GenBank（商標）受入番号NM\_001561.5）またはそのようなタンパク質の細胞外ドメインによってコードされるCD137タンパク質を指す。未成熟ヒトCD137タンパク質の例示的なアミノ酸配列が、配列番号25として提供されている。成熟ヒトCD137タンパク質の例示的なアミノ酸配列が、配列番号33として提供されている。成熟ヒトCD137タンパク質の細胞外ドメインの例示的なアミノ酸配列が、配列番号24として提供されている。

20

【0064】

本明細書で使用される場合、「抗体」および「抗体（複数）」という用語は、完全長抗体、完全長抗体の抗原結合断片、ならびに抗体CDR、VH領域および/またはVL領域を含む分子を含む。抗体の例としては、限定されないが、モノクローナル抗体、組み換え産生された抗体、単一特異性抗体、多特異性抗体（二重特異性抗体を含む）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、免疫グロブリン、合成抗体、2つの重鎖および2つの軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽鎖単量体、抗体重鎖単量体、抗体軽鎖二量体、抗体重鎖二量体、抗体軽鎖-抗体重鎖対、細胞内抗体、ヘテロコンジュゲート抗体、抗体-薬物コンジュゲート、単ドメイン抗体、一価抗体、一本鎖抗体または一本鎖Fv（scFv）、ラクダ化抗体、アフィボディ、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、ジスルフィド結合Fv（sdFv）、抗イディオタイプ（抗Id）抗体（例えば、抗抗Id抗体を含む）、および上記のうちのいずれかの抗原結合断片が挙げられ得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、ポリクローナル抗体集団を指す。抗体は、免疫グロブリン分子の任意の種類（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、もしくはIgY）、任意のクラス（例えば、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgA<sub>1</sub>、もしくはIgA<sub>2</sub>）、または任意のサブクラス（例えば、IgG<sub>2a</sub>もしくはIgG<sub>2b</sub>）のものであり得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、IgG抗体、またはそのクラス（例えば、ヒトIgG<sub>1</sub>もしくはIgG<sub>4</sub>）もしくはサブクラスである。具体的な実施形態では、抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。別の具体的な実施形態では、抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。

30

40

【0065】

50

本明細書で使用される場合、「VH領域」および「VL領域」という用語はそれぞれ、FR（フレームワーク領域）1、2、3、および4、ならびにCDR（相補性決定領域）1、2、および3を含む、単一の抗体重鎖および軽鎖可変領域を指す（その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Kabata et al., (1991) Sequence of Proteins of Immunological Interest (NIH Publication No. 91-3242, Bethesda)を参照されたい）。

【0066】

本明細書で使用される場合、「CDR」または「相補性決定領域」という用語は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見出される不連続な抗原結合部位を意味する。これらの特定の領域は、Kabata et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) および Kabata et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991)、Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)、ならびに MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)（それらの全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載されており、定義は、互いに比較したときに、重複するアミノ酸残基またはそれらのサブセットを含む。ある特定の実施形態では、「CDR」という用語は、Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)の、MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)、および Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains" によって定義される CDR である。ある特定の実施形態では、「CDR」という用語は、Kabata et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) および Kabata et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991) によって定義される CDR である。ある特定の実施形態では、抗体の重鎖 CDR および軽鎖 CDR は、異なる規約を使用して定義される。例えば、ある特定の実施形態では、重鎖 CDR は、MacCallum (上記) に従って定義され、軽鎖 CDR は、Kabata (上記) に従って定義される。CDRH1、CDRH2、および CDRH3 は、重鎖 CDR を表し、CDRL1、CDRL2、および CDRL3 は、軽鎖 CDR を表す。

【0067】

本明細書で使用される場合、「フレームワーク（FR）アミノ酸残基」という用語は、免疫グロブリン鎖のフレームワーク領域内のアミノ酸のものを指す。本明細書で使用される場合、「フレームワーク領域」または「FR領域」という用語は、可変領域の一部であるが、CDRの一部ではない（例えば、CDRのKabata定義またはMacCallum定義を使用する）アミノ酸残基を含む。

【0068】

本明細書で使用される場合、「可変領域」および「可変ドメイン」という用語は、交換可能に使用され、当該技術分野において共通のものである。可変領域は、典型的には、抗体の一部分、一般に、軽鎖または重鎖の一部分、典型的には、抗体間の配列が広範に異なり、かつその特定の抗原に対する特定の抗体の結合および特異性において使用される、成熟重鎖のアミノ末端から約110~120アミノ酸または110~125アミノ酸、および成熟軽鎖の約90~115アミノ酸を指す。配列の可変性が相補性決定領域（CDR）と呼ばれる領域内で凝縮されている一方で、可変ドメイン内のより高度に保存された領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。いかなる特定の機構または理論に束縛されることを望むものではないが、軽鎖および重鎖のCDRが、抗原に対する抗体の相互作用および特異性に主に関与すると考えられる。ある特定の実施形態では、可変領域は、ヒト

10

20

30

40

50



可変領域である。ある特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類またはマウスCDRおよびヒトフレームワーク領域（FR）を含む。特定の実施形態では、可変領域は、霊長類（例えば、非ヒト霊長類）可変領域である。ある特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類またはマウスCDRおよび霊長類（例えば、非ヒト霊長類）フレームワーク領域（FR）を含む。

【0069】

「VL」および「VLドメイン」という用語は、抗体の軽鎖可変領域を指すために交換可能に使用される。

【0070】

「VH」および「VHドメイン」という用語は、抗体の重鎖可変領域を指すために交換可能に使用される。

10

【0071】

本明細書で使用される場合、「定常領域」および「定常ドメイン」という用語は、交換可能であり、当該技術分野において共通のものである。定常領域は、抗体部分、例えば、抗体の抗原への結合には直接関与しないが、Fc受容体（例えば、Fcガンマ受容体）との相互作用などの様々なエフェクター機能を呈することができる、軽鎖および/または重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は一般に、免疫グロブリンの可変ドメインと比較して、より保存されたアミノ酸配列を有する。

【0072】

本明細書で使用される場合、「重鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の別個の種類、それぞれIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMクラスの抗体（IgGのサブクラス、例えば、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、およびIgG<sub>4</sub>を含む）をもたらす、例えばアルファ（ $\alpha$ ）、デルタ（ $\delta$ ）、エプシロン（ $\epsilon$ ）、ガンマ（ $\gamma$ ）、およびミュー（ $\mu$ ）を指し得る。

20

【0073】

本明細書で使用される場合、「軽鎖」という用語は、抗体に関して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の別個の種類、例えば、カッパ（ $\kappa$ ）またはラムダ（ $\lambda$ ）を指し得る。軽鎖アミノ酸配列は、当該技術分野において周知である。具体的な実施形態では、この軽鎖は、ヒト軽鎖である。

【0074】

本明細書で使用される場合、「EU番号付けシステム」という用語は、Edelman, G. M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) および Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 5th edition, 1991 に記載の抗体の定常領域のEU番号付けの規約を指し、その各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0075】

「結合親和性」とは、一般に、分子の単一の結合部位（例えば、抗体）とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有相互作用の合計強度を指す。別途示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」とは、結合対（例えば、抗体および抗原）のメンバー間の1:1の相互作用を反映する内因性の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数（ $K_D$ ）によって表すことができる。親和性は、平衡解離定数（ $K_D$ ）および平衡会合定数（ $K_A$ ）を含むが、これらに限定されない当該技術分野で既知のいくつかの方法で測定および/または表現することができる。 $K_D$ は、 $k_{off}/k_{on}$ の商から計算される一方で、 $K_A$ は、 $k_{on}/k_{off}$ の商から計算される。 $k_{on}$ は、例えば、抗原に対する抗体の会合速度定数を指し、 $k_{off}$ は、例えば、抗原に対する抗体の解離速度定数を指す。 $k_{on}$ および $k_{off}$ は、BIACore（登録商標）またはKinExAなどの当業者に既知の技法によって決定することができる。本明細書で使用される場合、「より低い親和性」は、より大きい $K_D$ を指す。

40

50

## 【0076】

本明細書で使用される場合、「特異的に結合する」、「特異的に認識する」、「免疫特異的に結合する」、および「免疫特異的に認識する」という用語は、抗体の文脈において類似の用語であり、かかる結合が当業者に理解されるように、抗原（例えば、エピトープまたは免疫複合体）に結合する分子を指す。例えば、抗原に特異的に結合する分子は、例えば、免疫アッセイ、BIAcore（登録商標）、KinExA 3000機器（Sapidyne Instruments, Boise, ID）、または当該技術分野で既知の他のアッセイによって決定された場合、一般により低い親和性で他のペプチドまたはポリペプチドに結合することができる。具体的な一実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、少なくとも $\log 2$ （例えば、係数10） $\log 2.5$ 、 $\log 3$ 、 $\log 4$ であるか、または分子が別の抗原に非特異的に結合するときの $K_A$ を超える $K_A$ で抗原に結合する。

10

## 【0077】

別の具体的な実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、同様の結合条件下で他のタンパク質と交差反応しない。別の具体的な実施形態では、CD137に特異的に結合する分子は、他の非CD137タンパク質とは交差反応しない。具体的な一実施形態では、別の非関連抗原に対するよりも高い親和性で、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に結合する抗体が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、例えば、放射免疫アッセイ、表面プラズモン共鳴、または動態排除アッセイにより測定した場合、別の非関連抗原に対するよりも20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%高い、またはより高い親和性で、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に結合する抗体が本明細書に提供される。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CD137抗体の、非関連非CD137タンパク質への結合の程度は、例えば、放射免疫アッセイによって測定して、この抗体の、CD137タンパク質への結合の10%、15%、または20%未満である。

20

## 【0078】

本明細書で使用される場合、Aは「実質的にBを阻害しない」とは、Aが不在下でのBと比較して、Aの存在下でBが、1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、または30%超低減されないことを意味する。

30

## 【0079】

本明細書で使用される場合、例えば、所与の実験、または複数の実験からの平均値を使用して、Aが特定のドメインを上回って増加するにつれてBが実質的に増加する場合、BはAの値の特定のドメインを上回るAの「実質的増加関数」である。この定義では、Aの特定の値に対応するBの値が、Aの任意のより低い値に対応するBの値と比較して、最大で1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%）、または20%）低いことを考慮する。

## 【0080】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」は、当該技術分野における用語であり、抗体が特異的に結合し得る抗原の局在化領域を指す。エピトープは、例えば、ポリペプチドの隣接アミノ酸（線形もしくは隣接エピトープ）であり得るか、またはエピトープは、例えば、1つのポリペプチドもしくは複数のポリペプチドの2つ以上の非隣接領域由来（立体構造、非線形、非連続、もしくは非隣接エピトープ）であり得る。ある特定の実施形態では、抗体が結合するエピトープは、例えば、NMR分光法、X線回折結晶学研究、ELISAアッセイ、質量分析（例えば、液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析）と組み合わせた水素/重水素交換、アレイに基づくオリゴ-ペプチド走査アッセイ（例えば、CLIPS（足場上へのペプチドの化学結合）を使用してペプチドを拘束して、非連続もしくは立体構造エピトープをマッピングすること）、および/または変異誘発マッピング（例えば、部位特異的変異誘発マッピング）によって決定することができる。X線結晶学の場合、結晶化は、当該技術分野で既知の方法のうちのいずれかを使用して達成

40

50

され得る(例えば、Giege R et al., (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4):339-350、McPherson A(1990) Eur J Biochem 189:1-23、Chayen NE(1997) Structure 5:1269-1274、McPherson A(1976) J Biol Chem 251:6300-6303、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。抗体：抗原結晶は、周知のX線回折技法を使用して研究することができ、X-PLOR(Yale University, 1992、販売元Molecular Simulations, Inc.、例えば、Meth Enzymol(1985)volumes 114&115, eds Wyckoff HW et al.,、US2004/0014194を参照)、およびBUSTER(Bricogne G(1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1):37-60、Bricogne G(1997) Meth Enzymol 276A:361-423, ed Carter CW、Roversi P et al., (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10):1316-1323(その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる))などのコンピュータソフトウェアを使用して細かく区別され得る。変異誘発マッピング研究は、当業者に既知の任意の方法を使用して達成することができる。例えば、アラニン走査変異誘発技法を含む、変異誘発技法の説明については、Champe M et al., (1995) J Biol Chem 270:1388-1394およびCunningham BC&Wells JA(1989) Science 244:1081-1085を参照されたい(その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。CLIPS(ペプチドの足場上への化学結合)は、構造的に拘束された立体配置にある1つ以上のペプチドを、複合タンパク質ドメインの機能的な模倣物として挙動するように提示する技術である。例えば、米国公開第2008/0139407A1号および同第2007/099240A1号、ならびに米国特許第972,993号を参照されたい(その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。特定の実施形態では、抗体のエピトープは、アラニン走査変異誘発研究を使用して決定される。具体的な一実施形態では、抗体のエピトープは、質量分析と組み合わせた水素/重水素交換を使用して決定される。具体的な一実施形態では、抗体のエピトープは、Pepscan TherapeuticsのCLIPSエピトープマッピング技術を使用して決定される。具体的な一実施形態では、抗体のエピトープは、タンパク質変異誘発によって、例えば、別の種からのそのオーソログの部分を用いて抗原の切り替え変異体を生成し、次いで切り替え変異体の抗原結合の損失を試験することによって、(例えば、本明細書に記載のFACSに基づく細胞結合アッセイによって)決定される。

#### 【0081】

本明細書で使用される場合、ヒトCD137の領域「内に位置するエピトープ」という用語は、特定の領域のアミノ酸残基のうち1つ以上を含むエピトープを指す。ある特定の実施形態では、エピトープは、特定の領域内に位置するアミノ酸残基の1つ1つを含む。ある特定の実施形態では、エピトープは、特定の領域内に位置するアミノ酸残基のうち各1つからなる。ある特定の実施形態では、特定の領域外のヒトCD137の1つ以上の追加のアミノ酸残基は、特定の領域内に位置するエピトープと一緒に抗体に結合する。

#### 【0082】

本明細書で使用される場合、「T細胞受容体」および「TCR」という用語は、互換的に使用され、完全長ヘテロ二量体またはTCR、完全長TCRの抗原結合断片、およびTCR CDRまたは可変領域を含む分子を指す。TCRの例としては、完全長TCR、完全長TCRの抗原結合断片、膜貫通領域および細胞質領域を欠如する可溶性TCR、可動性リンカーによって結合したTCRの可変領域を含有する一本鎖TCR、操作されたジスルフィド結合によって結合したTCR鎖、単一特異性抗体TCR、多重特異性TCR(二重特異TCRを含む)、TCR融合体、ヒトTCR、ヒト化TCR、キメラTC

R、組み換え産生されたTCR、ならびに合成TCRが挙げられるが、これらに限定されない。この用語は、野生型TCRおよび遺伝子操作されたTCR（例えば、第1の種のTCR由来の第1の部分および第2の種のTCR由来の第2の部分を含むキメラTCR鎖を含む、キメラTCR）を包含する。

【0083】

本明細書で使用される場合、「CD137多量体化のレベル」という用語は、CD137分子の集団（例えば、1つ以上の細胞の表面上に発現されるCD137分子の集団）中の単量体CD137と比較した、多量体（例えば、二量体）CD137の相対的な量を指す。

【0084】

本明細書で使用される場合、「主要組織適合遺伝子複合体」および「MHC」という用語は、互換的に使用され、MHCクラスI分子および/またはMHCクラスII分子を指す。

【0085】

本明細書で使用される場合、「ペプチド-MHC複合体」という用語は、当該技術分野で認識されるMHCのペプチド結合ポケットにおいて結合されるペプチドを有するMHC分子（MHCクラスIまたはMHCクラスII）を指す。

【0086】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療すること」、および「治療」は、本明細書に記載の治療手段または予防手段を指す。「治療」方法は、疾患もしくは障害を有するか、またはそのような疾患もしくは障害に罹りやすい対象に対する抗体の投与を用いて、疾患もしくは障害または疾患もしくは障害の再発を予防、治癒、遅延、その重症度を低減、またはその1つ以上の症状を寛解させるか、あるいはそのような治療の不在下で予想される生存期間を超えて対象の生存期間を延長させる。

【0087】

本明細書で使用される場合、「有効量」という用語は、対象への治療の投与との関連において、所望の予防または治療効果を達成する治療の量を指す。

【0088】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、あらゆるヒトまたは非ヒト動物を含む。一実施形態では、対象は、ヒトまたは非ヒト哺乳動物である。一実施形態では、対象は、ヒトである。

【0089】

2つの配列（例えば、アミノ酸配列または核酸配列）間の「同一性パーセント」の決定は、数学アルゴリズムを使用して達成され得る。2つの配列の比較に利用される数学アルゴリズムの特定の非限定例は、Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873 - 5877にあるように修正されたKarlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264 - 2268のアルゴリズムである5873 - 5877に記載される、IMGT番号付けシステムに従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。かかるアルゴリズムは、Altschul SF et al., (1990) J Mol Biol 215: 403のNBLASTプログラムおよびXBLASTプログラムに組み込まれる（これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。BLASTヌクレオチド検索は、本明細書に記載の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得るために、例えば、スコア = 100、文字長 = 12のNBLASTヌクレオチドプログラムパラメータセットで行うことができる。BLASTタンパク質検索は、本明細書に記載のタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得るために、例えば、スコア = 50、文字長 = 3のXBLASTプログラムパラメータセットで行うことができる。比較目的のためにギャップありの(gapped)アラインメントを得るには、Gapped BLASTを、Altschul SF et al., (1997) Nuc Acids Res 25: 3389 - 3402（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載のように利用してもよい。あるいは、PSI BL

10

20

30

40

50

A S Tを使用して、分子間の距離関係 ( I d . ) を検出する反復サーチを行うことができる。B L A S T、ギャップ有りのB L A S T、およびP S I B l a s tプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムの ( 例えばX B L A S TおよびN B L A S Tの ) デフォルトパラメータを使用することができる ( 例えば、ワールドウェブn c b i . n l m . n i h . g o vにあるNational Center for Biotechnology Information ( N C B I ) を参照されたい)。配列比較のために利用される数学アルゴリズムの別の具体的な非限定的な例は、Myers and Miller, 1988, C A B I O S 4 : 11 - 17 ( 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる ) のアルゴリズムである。そのようなアルゴリズムは、G C G 配列アライメントソフトウェアパッケージの一部であるA L I G Nプログラム ( バージョン2 . 0 ) に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためにA L I G Nプログラムを利用する場合、P A M 120重量残基表、12のギャップ長ペナルティ、および4のギャップペナルティを使用することができる。

10

**【0090】**

2つの配列間の同一性パーセントは、ギャップを許容して、または許容することなく、上述のものと同様の技法を使用して決定することができる。同一性パーセントの計算では、典型的には、正確な一致のみを計数する。

**【0091】****5.2 抗CD137抗体**

一態様では、本開示は、CD137 ( 例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137 ) に特異的に結合し、CD137機能を増加または促進する抗体を提供する。例示的な抗体のアミノ酸配列は、本明細書の表1に記載されている。

20

30

40

50

【表 1】

表 1. 例示的な抗CD137抗体のアミノ酸配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
CDRH1 コンセンサス配列 1	$X_1X_2X_3X_4H$ 、式中、 $X_1$ が、G、A、D、E、L、N、Q、R、S、またはWであり、 $X_2$ が、Y、F、H、N、R、またはSであり、 $X_3$ が、YまたはHであり、 $X_4$ が、M、I、T、またはVである	82
CDRH3 コンセンサス配列 1	$X_1PX_2YX_3GX_4GLX_5X_6$ 、式中、 $X_1$ が、EまたはGであり、 $X_2$ が、G、A、R、またはSであり、 $X_3$ が、Y、F、H、またはSであり、 $X_4$ が、S、A、またはTであり、 $X_5$ が、DまたはGであり、 $X_6$ が、YまたはHである	83
CDRL3 コンセンサス配列 1	$QX_1WX_2X_3X_4X_5X_6X_7PGV$ 、式中、 $X_1$ が、VまたはIであり、 $X_2$ が、D、A、E、G、H、N、またはYであり、 $X_3$ が、S、A、E、F、L、P、R、T、W、またはYであり、 $X_4$ が、S、A、L、M、またはRであり、 $X_5$ が、S、A、F、G、L、P、Q、R、またはTであり、 $X_6$ が、D、E、H、V、またはYであり、 $X_7$ は、HまたはYである	84
CDRH1 コンセンサス配列 2	$X_1X_2YX_3H$ 、式中、 $X_1$ が、G、A、D、L、R、S、またはWであり、 $X_2$ が、Y、F、H、またはNであり、 $X_3$ が、MまたはVである	85
CDRH3 コンセンサス配列 2	$EPGYX_1GX_2GLDX_3$ 、式中、 $X_1$ は、YまたはFであり、 $X_2$ は、SまたはTであり、 $X_3$ が、YまたはHである	86

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
CDRL3 コンセンサス配列2	QVWX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> PGV、式中、 X <sub>1</sub> が、D、A、E、H、N、またはYであり、 X <sub>2</sub> が、S、A、E、L、R、またはTであり、 X <sub>3</sub> が、S、A、L、またはRであり、 X <sub>4</sub> が、S、A、F、G、L、P、Q、またはRであり、 X <sub>5</sub> が、D、E、またはVであり、 X <sub>6</sub> は、HまたはYである	87
BA001 CDRH1	GYMH	1
BA001 CDRH2	WINPNSGGTNYAQKFQG	2
BA001 CDRH3	EPGYYGSGLDY	3
BA001 CDRL1	GGDDIGDKRVH	4
BA001 CDRL2	EDRYRPS	5
BA001 CDRL3	QVWDSSSDHPGV	6
BA001 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLVTVSS、式中、X=グルタミン (Q) または ピログルタミン酸 (pE)	7
BA001 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWDSSSDHPGVFGGGTQLLIL	8

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001完全長重鎖(IgG1) (C末端リシンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPQGQLEWMGWNPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG、式中、X=グルタミン(Q)またはピログルタミン酸(pE)	9
BA001完全長重鎖(IgG1) (C末端リシンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPQGQLEWMGWNPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK、式中、X=グルタミン(Q)またはピログルタミン酸(pE)	49

10

20

30

40

50



説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 IgG1 N297A多様体完全長重鎖(C末端リシンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKLSLS PG、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	10
BA001 IgG1 N297A多様体完全長重鎖(C末端リシンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKLSLS PGK、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	50

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 Ig G1 S267E L328F多様体 完全長重鎖 (C末 端リシンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	11
BA001 Ig G1 S267E L328F多様体 完全長重鎖 (C末 端リシンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	51

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 Ig G2多様体完全長 重鎖 (C末端リシ ンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERK CCVECPAPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSIVLTIVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREEQVYTLPPSRTEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNHYTQKSLSLSPG 、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	12
BA001 Ig G2多様体完全長 重鎖 (C末端リシ ンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERK CCVECPAPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSIVLTIVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREEQVYTLPPSRTEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNHYTQKSLSLSPG K、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	52

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 Ig G2 N297A 多様体完全長重鎖 (C末端リシンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGW INPNSGGTNYAQKFQGR VTMT RDTSI STAYMEL SRLRSDDTA VYYCAREP GYYGSGLD YWGQGL LTVSSAST KGPSVFL APCSRST SESTAALG CLVKDY FPEPVT VSWNSG ALTSGVHT FPAVLQSS GLYS LSSVVT VPSSNFG TQTYTC NVDHKPS NTKVDK TVERK CCVEC PPCPAPP VAGPSV FLFPPK PKDTLM ISRTP EVTC VVVDV SHEDPE VQFNW YVDGVE VHNAK TKPREE QFA STFRV VSVLTV VHQD WLNGKE YKCKV SNKGLP APIEK TISKTK GQPREP QVYTL PPSRE EMTKN QVSLT CLVKGF YPSDIN VEWES NGQPEN NYKTTP PMLDSD GGSFF LYSKL TVDKSR WQQGN VFSCS VMHEAL HNHYT QKSL SLSPG 、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	13
BA001 Ig G2 N297A 多様体完全長重鎖 (C末端リシンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGW INPNSGGTNYAQKFQGR VTMT RDTSI STAYMEL SRLRSDDTA VYYCAREP GYYGSGLD YWGQGL LTVSSAST KGPSVFL APCSRST SESTAALG CLVKDY FPEPVT VSWNSG ALTSGVHT FPAVLQSS GLYS LSSVVT VPSSNFG TQTYTC NVDHKPS NTKVDK TVERK CCVEC PPCPAPP VAGPSV FLFPPK PKDTLM ISRTP EVTC VVVDV SHEDPE VQFNW YVDGVE VHNAK TKPREE QFA STFRV VSVLTV VHQD WLNGKE YKCKV SNKGLP APIEK TISKTK GQPREP QVYTL PPSRE EMTKN QVSLT CLVKGF YPSDIN VEWES NGQPEN NYKTTP PMLDSD GGSFF LYSKL TVDKSR WQQGN VFSCS VMHEAL HNHYT QKSL SLSPG K、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	53

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 Ig G4 S228P 多様体完全長重鎖 (C末端リシンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG 、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	14
BA001 Ig G4 S228P 多様体完全長重鎖 (C末端リシンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK 、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	54

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 定常領域 (IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ENSGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	15
BA001 IgG1 N297A 多様体定常領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ENSGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	16
BA001 IgG1 S267E L328F 多様体定常領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ENSGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	17

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 IgG2 多様体定常領域	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFG TQYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	18
BA001 IgG2 N 2 9 7 A 多様体 定常領域	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFG TQYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDINVEWESN GQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	19
BA001 IgG4 S 2 2 8 P 多様体 定常領域	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSDQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	20

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA001 完全長 軽鎖	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWDSSDHPGVFGGGTQLLILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	21
BA001 軽鎖定 常領域	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTP EQWKSCHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	22
BA001 scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSLD YWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLRVEAGDEAD YYCQVWDSSDHPGVFGGGTQLLIL	55
BA001 CD RH1 (太字) プ ラスN末端隣接残 基	<b>TFTGYYMH</b>	56
BA050 CD RH1 (太字) プ ラスN末端隣接残 基	<b>SFTGYYMH</b>	57
BA052 CD RH1 (太字) プ ラスN末端隣接残 基	<b>NFSGYYMH</b>	58
BA049 CDRH3	EPGYYGTGLDY	59
BA050 CDRL3	QVWNSSDHPGV	60
BA051 CDRL3	QVWDSSDYPGV	61
BA052 CDRL3	QVWYSSPDHPGV	62

10

20

30

40

50



説明	アミノ酸配列	配列番号
BA049 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGTLLVTVSS、式中、X=グルタミン (Q) または ピログルタミン酸 (p E)	63
BA050 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSLD YWGQGTLLVTVSS、式中、X=グルタミン (Q) または ピログルタミン酸 (p E)	64
BA052 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFSGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSLDY WGQGTLLVTVSS、式中、X=グルタミン (Q) または ピログルタミン酸 (p E)	65
BA050 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWNSSDHPGVFGGGTQLLIL	66
BA051 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWSSSDYPGVFGGGTQLLIL	67
BA052 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWYSSPDHPGVFGGGTQLLIL	68
BA049 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLRVEAGDEAD YYCQVWSSSDHPGVFGGGTQLLIL、式中、X= グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (p E)	69

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA050 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLRVEAGDEAD YYCQVWNSSSDHPGVFGGGTQLIIL、式中、X＝ グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (p E)	70
BA051 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLRVEAGDEAD YYCQVWDSSSDYPGVFGGGTQLIIL、式中、X＝ グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (p E)	71
BA052 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFSGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLDY WGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGASSYVLTQPPSV SVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLVV YEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLRVEAGDEADY YCQVWYSSPDHPGVFGGGTQLIIL、式中、X＝ グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (p E)	72

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
B A 0 4 9 完全長 重鎖 (C末端リシ ンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	73
B A 0 4 9 完全長 重鎖 (C末端リシ ンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	74

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
B A 0 5 0 完全長重鎖 (C末端リシンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYSFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	75
B A 0 5 0 完全長重鎖 (C末端リシンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYSFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	76

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
B A 0 5 2 完全長重鎖 (C末端リンなし)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYNFSGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSLDY WGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	77
B A 0 5 2 完全長重鎖 (C末端リンあり)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYNFSGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSLDY WGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK、式中、X=グルタミン (Q) またはピログルタミン酸 (pE)	78
B A 0 5 0 完全長軽鎖	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWNSSDHPGVFGGGTQLIILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	79

10

20

30

40

50

説明	アミノ酸配列	配列番号
BA051 完全長 軽鎖	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWDSSSDYPGVFGGGTQLIILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	80
BA052 完全長 軽鎖	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLR VEAGDEADYYCQVWYSSPDHPGVFGGGTQLIILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	81

10

20

## 【表 2】

表 2. 例示的な抗CD137抗体のVH、VL、scFv、ならびに完全長重鎖および軽鎖配列

抗体	配列番号				
	VH	VL	scFv	完全長重鎖	完全長軽鎖
BA001	7	8	55	9	21
BA049	63	8	69	74	21
BA050	64	66	70	76	79
BA051	7	67	71	49	80
BA052	65	68	72	78	81

30

40

50

## 【表 3】

表 3. B A 0 0 1 に最も近い生殖系列遺伝子

最も近い生殖系列遺伝子	アミノ酸配列	配列番号
I G H V 1 - 2 * 0 2 重鎖可変領域	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVR QAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCAR	40
I G L V 3 - 2 1 * 0 2 軽鎖可変領域	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH	41

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4. ヒトCD137の例示的な配列

説明	アミノ酸配列	配列番号
CD137シグナルペプチド	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRS	23
例示的なCD137細胞外ドメイン配列	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPAREPGHSPQ	24
例示的な未成熟CD137完全長配列	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCD NNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRK ECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELT KKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNG TKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISF FLALTSTALLFLLFLLTLRFSVVKRGRKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	25
CD137細胞外エピトープ配列 # 1	FNDQKRGICRPWTNCSL	26
CD137細胞外エピトープ配列 # 2	FNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERD	27
CD137細胞外エピトープ配列 # 3	TPGFHCLGAG	28
CD137細胞外エピトープ配列 # 4	KQGQEL	29
CD137細胞外エピトープ配列 # 5	LTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNC	30
CD137細胞外エピトープ配列 # 6	FNDQKRGICRPWTNC	31

10

20

30

40

50



説明	アミノ酸配列	配列番号
例示的な成熟CD 137完全長配列	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLFFLTLRFSVV KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCEL	33
CD137断片	DPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCD	34
CD137 CR D4配列	CCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDV VC	42
CD137断片	KRGI	43

10

20

## 【0092】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、本明細書の表1に記載のVHドメインのCDRのうちの一つ、二つ、または三つ全てを含むVHドメインを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本抗体は、表1に記載のVHドメインのうちの一つのCDRH1を含む。ある特定の実施形態では、本抗体は、表1に記載のVHドメインのうちの一つのCDRH2を含む。ある特定の実施形態では、本抗体は、表1に記載のVHドメインのうちの一つのCDRH3を含む。

30

## 【0093】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、本明細書の表1に開示のVLドメインのCDRのうちの一つ、二つ、または三つ全てを含むVLドメインを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本抗体は、表1に記載のVLドメインのうちの一つのCDRL1を含む。ある特定の実施形態では、本抗体は、表1に記載のVLドメインのうちの一つのCDRL2を含む。ある特定の実施形態では、本抗体は、表1に記載のVLドメインのうちの一つのCDRL3を含む。

## 【0094】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) および Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest (1991) に従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。ある特定の実施形態では、抗体の軽鎖CDRは、Kabatに従って決定され、抗体の重鎖CDRは、MacCallum (上記) に従って決定される。

40

## 【0095】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、免疫グロブリン構造ループの位置を指すChothia番号付けスキームに従って決定することができる（例えば、Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196:901-917, Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273:9

50

27-948、Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 27:799-817、Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1):175-82、および米国特許第7,709,226号を参照。その全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)。典型的には、Kabab番号付け規約を使用する場合、Chothia CDRH1ループは、重鎖アミノ酸26~32、33、または34に存在し、Chothia CDRH2ループは、重鎖アミノ酸52~56に存在し、Chothia CDRH3ループは、重鎖アミノ酸95~102に存在するが、Chothia CDRL1ループは、軽鎖アミノ酸24~34に存在し、Chothia CDRL2ループは、軽鎖アミノ酸50~56に存在し、Chothia CDRL3ループは、軽鎖アミノ酸89~97に存在する。Chothia CDRH1ループの末端は、Kabab番号付け規約を使用して番号付けされる場合、ループの長さに応じてH32とH34との間で異なる(これは、Kabab番号付けスキームがH35AおよびH35Bに挿入を置くためであり、35Aも35Bも存在しない場合、ループは32で終わり、35Aのみが存在する場合、ループは33で終わり、35Aおよび35Bの両方が存在する場合、ループは34で終わる)。

【0096】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、本明細書の表1に開示のVHのChothia VH CDRを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、本明細書の表1に開示のVLのChothia VL CDRを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、本明細書の表1に開示の抗体のChothia VL CDRおよびChothia VL CDRを含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する抗体は、ChothiaおよびKabab CDRが、同じアミノ酸配列を有する、1つ以上のCDRを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合し、Kabab CDRとChothia CDRとの組み合わせを含む、単離された抗体を提供する。

【0097】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、MacCallum RM et al., (1996) J Mol Biol 262:732-745に従って決定され得、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。また例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin(2001)中の、Martin A. Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains を参照されたい。

【0098】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7:132-136およびLefranc M-P et al., (1999) Nucleic Acids Res 27:209-212に記載される、IMGT番号付けシステムに従って決定することができ、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。IMGT番号付けスキームに従って、CDRH1は、位置26~35にあり、CDRH2は、位置51~57にあり、CDRH3は、位置93~102にあり、CDRL1は、位置27~32にあり、CDRL2は、位置50~52にあり、CDRL3は、位置89~97にある。

【0099】

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合し、例えば、上記のLefranc M-P（1999）および上記のLefranc M-P et al.,（1999）に記載の、IMGT番号付けシステムによって決定される、本明細書の表1に開示の抗体のCDRを含む抗体を提供する。

【0100】

ある特定の実施形態では、抗体のCDRは、Kabata CDRとChothia構造ループとの間の折衷案を表し、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェア（Oxford Molecular Group, Inc.）によって使用されているAbM超可変領域を指す、AbM番号付けスキームに従って決定され得る。特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合し、AbM番号付けスキームによって決定される、本明細書の表1に開示の抗体のCDRを含む抗体を提供する。

10

【0101】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供し、抗体が、VHのCDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、VLのCDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、を含み、VHおよびVLのアミノ酸配列が、それぞれ配列番号7および8、63および8、64および66、7および67、または65および68に記載されており、各CDRが、CDRのMacCallum定義、Kabata定義、Chothia定義、Kabata定義とChothia定義との組み合わせ、IMGT番号付けシステム、またはAbM定義に従って決定される。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供し、抗体が、列配列番号7に記載のVHドメインのCDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域アミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号8に記載のVLドメインのCDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域アミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、を含み、各CDRが、CDRのMacCallum定義、Kabata定義、Chothia定義、Kabata定義とChothia定義との組み合わせ、IMGT番号付けシステム、またはAbM定義に従って決定される。

20

30

【0102】

別の態様では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、相補性決定領域（CDR）CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含む重鎖可変領域（VH）と、CDRCDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含む軽鎖可変領域（VL）と、を含み、  
 (a) CDRH1が、 $X_1X_2X_3X_4H$ （配列番号82）のアミノ酸配列を含み、式中、  
 $X_1$ が、G、A、D、E、L、N、Q、R、S、またはWであり、  
 $X_2$ が、Y、F、H、N、R、またはSであり、  
 $X_3$ が、YまたはHであり、  
 $X_4$ が、M、I、T、またはVであり、  
 (b) CDRH2が、WINPNSGGTNYAQKFQG（配列番号2）のアミノ酸配列を含み、  
 (c) CDRH3が、 $X_1PX_2YX_3GX_4GLX_5X_6$ （配列番号83）のアミノ酸配列を含み、式中、  
 $X_1$ が、EまたはGであり、  
 $X_2$ が、G、A、R、またはSであり、  
 $X_3$ が、Y、F、H、またはSであり、  
 $X_4$ が、S、A、またはTであり、  
 $X_5$ が、DまたはGであり、

40

50

$X_6$  が、Y または H であり、  
 (d) CDR L1 が、GGDDIGDKRVH (配列番号 4) のアミノ酸配列を含み、  
 (e) CDR L2 が、EDRYRPS (配列番号 5) のアミノ酸配列を含み、かつ / ある  
 いは  
 (f) CDR L3 が、 $QX_1WX_2X_3X_4X_5X_6X_7PGV$  (配列番号 84) のアミノ  
 酸配列を含み、式中、  
 $X_1$  が、V または I であり、  
 $X_2$  が、D、A、E、G、H、N、または Y であり、  
 $X_3$  が、S、A、E、F、L、P、R、T、W、または Y であり、  
 $X_4$  が、S、A、L、M、または R であり、  
 $X_5$  が、S、A、F、G、L、P、Q、R、または T であり、  
 $X_6$  が、D、E、H、V、または Y であり、  
 $X_7$  が、H または Y である、単離された抗体を提供する。

10

## 【0103】

ある特定の実施形態では、CDRH1 は、 $X_1X_2X_3X_4H$  (配列番号 82) のアミノ  
 酸配列を含み、式中、 $X_1$  が、G、A、D、E、L、N、Q、R、S、または W であり、  
 $X_2$  が、Y、F、H、N、R、または S であり、 $X_3$  が、Y または H であり、 $X_4$  が、M、  
 I、T、または V である。ある特定の実施形態では、CDRH3 は、 $X_1PX_2YX_3GX_4GLX_5X_6$   
 (配列番号 83) のアミノ酸配列を含み、式中、 $X_1$  が、E または G であり、  
 $X_2$  が、G、A、R、または S であり、 $X_3$  が、Y、F、H、または S であり、 $X_4$  が、  
 S、A、または T であり、 $X_5$  が、D または G であり、 $X_6$  が、Y または H である。ある  
 特定の実施形態では、CDRL3 は、 $QX_1WX_2X_3X_4X_5X_6X_7PGV$  (配列番号  
 84) のアミノ酸配列を含み、式中、 $X_1$  が、V または I であり、 $X_2$  が、D、A、E、  
 G、H、N、または Y であり、 $X_3$  が、S、A、E、F、L、P、R、T、W、または Y  
 であり、 $X_4$  が、S、A、L、M、または R であり、 $X_5$  が、S、A、F、G、L、P、  
 Q、R、または T であり、 $X_6$  が、D、E、H、V、または Y であり、 $X_7$  が、H または  
 Y である。ある特定の実施形態では、

20

(a) CDRH1 が、 $X_1X_2X_3X_4H$  (配列番号 82) のアミノ酸配列を含み、式中、  
 $X_1$  が、G、A、D、E、L、N、Q、R、S、または W であり、  
 $X_2$  が、Y、F、H、N、R、または S であり、  
 $X_3$  が、Y または H であり、  
 $X_4$  が、M、I、T、または V であり、

30

(b) CDRH2 が、WINPNSGGTNYAQKFQG (配列番号 2) のアミノ酸配  
 列を含み、

(c) CDRH3 が、 $X_1PX_2YX_3GX_4GLX_5X_6$  (配列番号 83) のアミノ酸配  
 列を含み、式中、

$X_1$  が、E または G であり、  
 $X_2$  が、G、A、R、または S であり、  
 $X_3$  が、Y、F、H、または S であり、  
 $X_4$  が、S、A、または T であり、  
 $X_5$  が、D または G であり、  
 $X_6$  が、Y または H であり、

40

(d) CDR L1 が、GGDDIGDKRVH (配列番号 4) のアミノ酸配列を含み、

(e) CDR L2 が、EDRYRPS (配列番号 5) のアミノ酸配列を含み、

(f) CDR L3 が、 $QX_1WX_2X_3X_4X_5X_6X_7PGV$  (配列番号 84) のアミノ  
 酸配列を含み、式中、

$X_1$  が、V または I であり、  
 $X_2$  が、D、A、E、G、H、N、または Y であり、  
 $X_3$  が、S、A、E、F、L、P、R、T、W、または Y であり、  
 $X_4$  が、S、A、L、M、または R であり、

50

$X_5$  が、S、A、F、G、L、P、Q、R、またはTであり、  
 $X_6$  が、D、E、H、V、またはYであり、  
 $X_7$  が、HまたはYである。

## 【0104】

ある特定の実施形態では、

(a) CDRH1 が、 $X_1 X_2 Y X_3 H$  (配列番号85) のアミノ酸配列を含み、式中、

$X_1$  が、G、A、D、L、R、S、またはWであり、

$X_2$  が、Y、F、H、またはNであり、

$X_3$  が、MまたはVであり、

(b) CDRH3 が、 $EPGYX_1GX_2GLDX_3$  (配列番号86) のアミノ酸配列を含み、式中、

$X_1$  は、YまたはFであり、

$X_2$  は、SまたはTであり、

$X_3$  が、YまたはHであり、かつ/あるいは

(c) CDRL3 が、 $QVWX_1X_2X_3X_4X_5X_6PGV$  (配列番号87) のアミノ酸配列を含み、式中、

$X_1$  が、D、A、E、H、N、またはYであり、

$X_2$  が、S、A、E、L、R、またはTであり、

$X_3$  が、S、A、L、またはRであり、

$X_4$  が、S、A、F、G、L、P、Q、またはRであり、

$X_5$  が、D、E、またはVであり、

$X_6$  が、HまたはYである。

## 【0105】

ある特定の実施形態では、CDRH1 は、 $X_1 X_2 Y X_3 H$  (配列番号85) のアミノ酸配列を含み、式中、 $X_1$  が、G、A、D、L、R、S、またはWであり、 $X_2$  が、Y、F、H、またはNであり、 $X_3$  が、MまたはVである。ある特定の実施形態では、CDRH3 は、 $EPGYX_1GX_2GLDX_3$  (配列番号86) のアミノ酸配列を含み、式中、 $X_1$  が、YまたはFであり、 $X_2$  が、SまたはTであり、 $X_3$  が、YまたはHである。ある特定の実施形態では、CDRL3 は、 $QVWX_1X_2X_3X_4X_5X_6PGV$  (配列番号87) のアミノ酸配列を含み、式中、 $X_1$  が、D、A、E、H、N、またはYであり、 $X_2$  が、S、A、E、L、R、またはTであり、 $X_3$  が、S、A、L、またはRであり、 $X_4$  が、S、A、F、G、L、P、Q、またはRであり、 $X_5$  が、D、E、またはVであり、 $X_6$  が、HまたはYである。ある特定の実施形態では、

(a) CDRH1 が、 $X_1 X_2 Y X_3 H$  (配列番号85) のアミノ酸配列を含み、式中、

$X_1$  が、G、A、D、L、R、S、またはWであり、

$X_2$  が、Y、F、H、またはNであり、

$X_3$  が、MまたはVであり、

(b) CDRH3 が、 $EPGYX_1GX_2GLDX_3$  (配列番号86) のアミノ酸配列を含み、式中、

$X_1$  は、YまたはFであり、

$X_2$  は、SまたはTであり、

$X_3$  が、YまたはHであり、

(c) CDRL3 が、 $QVWX_1X_2X_3X_4X_5X_6PGV$  (配列番号87) のアミノ酸配列を含み、式中、

$X_1$  が、D、A、E、H、N、またはYであり、

$X_2$  が、S、A、E、L、R、またはTであり、

$X_3$  が、S、A、L、またはRであり、

$X_4$  が、S、A、F、G、L、P、Q、またはRであり、

$X_5$  が、D、E、またはVであり、

$X_6$  が、HまたはYである。

## 【0106】

ある特定の実施形態では、CDRH1は、配列番号1のアミノ酸配列を含む。ある特定の  
実施形態では、CDRH3は、配列番号3または59のアミノ酸配列を含む。ある特定の  
実施形態では、CDRL3は、配列番号6、61、62、または63のアミノ酸配列。

## 【0107】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニク  
イザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、それぞれ配  
列番号1、2、および3；または1、2、および59に記載のCDRH1、CDRH2、  
およびCDRH3アミノ酸配列を含むVHドメインを含む、単離された抗体を提供する。  
ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニク  
イザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供し、抗体が、それぞれ配  
列番号4、5、および6；4、5、および60；4、5、および61；または4、5、およ  
び62に記載のCDRL1、CDRL2、およびCDRL3アミノ酸配列を含むVLドメ  
インを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137  
またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供し、抗体が、  
CDRH1、CDRH2、およびCDRH3領域を含む重鎖可変領域と、CDRL1、C  
DRL2、およびCDRL3領域を含む軽鎖可変領域と、を含み、CDRH1、CDRH  
2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域が、それぞれ配列番号  
1、2、3、4、5、および6；1、2、59、4、5、および6；1、2、3、4、5  
、および60；1、2、3、4、5、および61；または1、2、3、4、5、および6  
2に記載のアミノ酸配列を含む。

10

20

## 【0108】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニク  
イザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、  
(a) CDRH1が、GYMH（配列番号1）のアミノ酸配列を含み、  
(b) CDRH2が、WINPNSGGTNYAQKFQG（配列番号2）のアミノ酸配  
列を含み、  
(c) CDRH3が、EPGYYGSGLDY（配列番号3）のアミノ酸配列を含み、  
(d) CDRL1が、GGDDIGDKRVH（配列番号4）のアミノ酸配列を含み、  
(e) CDRL2が、EDRYRPS（配列番号5）のアミノ酸配列を含み、かつ/ある  
いは  
(f) CDRL3が、QVWDSSSDHPGV（配列番号6）のアミノ酸配列を含む、  
抗体を提供する。

30

## 【0109】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニク  
イザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供し、抗体が、それぞれ配  
列番号1、2、および3に記載のCDRH1、CDRH2、およびCDRH3アミノ酸配  
列を含むVHドメインを含む。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば  
、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体を  
提供し、抗体が、それぞれ配列番号4、5、および6に記載のCDRL1、CDRL2、  
およびCDRL3アミノ酸配列を含むVLドメインを含む。ある特定の実施形態では、本  
開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的  
に結合する単離された抗体を提供し、抗体が、CDRH1、CDRH2、およびCDRH  
3領域を含む重鎖可変領域と、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3領域を含む軽  
鎖可変領域と、を含み、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2  
、およびCDRL3領域が、それぞれ配列番号1、2、3、4、5、および6に記載のア  
ミノ酸配列を含む。

40

## 【0110】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を  
含む、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に

50

結合する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、99%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、CD137（例えば、ヒト CD137 または カニクイザル CD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、重鎖可変領域は、配列番号 63、64、または 65 のアミノ酸配列を含む。

【0111】

ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、CD137（例えば、ヒト CD137 または カニクイザル CD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、99%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、CD137（例えば、ヒト CD137 または カニクイザル CD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、軽鎖可変領域は、配列番号 66、67、または 68 のアミノ酸配列を含む。

10

【0112】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒト CD137 または カニクイザル CD137）に特異的に結合し、配列番号 7 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、を含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列と少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、または 100%（例えば、少なくとも 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または 99%）同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と、を含む、CD137（例えば、ヒト CD137 または カニクイザル CD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号 63 および 8、64 および 66、7 および 67、または 65 および 68 のアミノ酸配列を含む。

20

30

【0113】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGHV1-2 生殖系列配列（例えば配列番号 40 のアミノ酸配列を有する、例えば、IGHV1-2\*02）由来のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む、CD137（例えば、ヒト CD137 または カニクイザル CD137）に特異的に結合する単離された抗体を提供する。フレームワーク 1、フレームワーク 2、フレームワーク 3、CDRH1、および CDRH2 から選択される 1 つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの 2 つ、3 つ、4 つ、または 5 つ）は、ヒトIGHV1-2 生殖系列配列（例えば、配列番号 40 のアミノ酸配列を有する、例えば、IGHV1-2\*02）に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク 1、フレームワーク 2、フレームワーク 3、CDRH1、および CDRH2 は全て、ヒトIGHV1-2 生殖系列配列（例えば、配列番号 40 のアミノ酸配列を有する、例えば、IGHV1-2\*02）に由来する。ある特定の実施形態では、重鎖可変領域は、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む。

40

【0114】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGLV3-21 生殖系列配列（例えば、配列番号 41 のアミノ酸配列を有する例えば IGLV3-21\*02、または IGLV3-2103）由来のアミノ酸配列を有する軽可変領域を含む、CD137（例えば、ヒト CD137 または カニクイザル CD137）に特異的に結合する、単離抗体を提供する。フ

50

フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2から選択される1つ以上の領域（例えば、これらの領域のうちの2つ、3つ、4つ、または5つ）は、ヒトIGLV3-21生殖系列配列（例えば、配列番号41のアミノ酸配列を有する例えばIGLV3-21\*02、またはIGLV3-21\*03）に由来し得る。一実施形態では、フレームワーク1、フレームワーク2、フレームワーク3、CDRL1、およびCDRL2は全て、ヒトIGLV3-21生殖系列配列（例えば、配列番号41のアミノ酸配列を有する例えばIGLV3-21\*02、またはIGLV3-21\*03）に由来する。ある特定の実施形態では、軽鎖可変領域は、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含む。

#### 【0115】

ある特定の実施形態では、本開示は、ヒトIGHV1-2生殖系列配列（例えば、配列番号40のアミノ酸配列を有する、例えばIGHV1-2\*02）由来のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、ヒトIGLV3-21生殖系列配列（例えば、配列番号41のアミノ酸配列を有する例えばIGLV3-21\*02、またはIGLV3-21\*03）由来のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域と、を含む、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離抗体を提供する。ある特定の実施形態では、重鎖可変領域は、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含む。

#### 【0116】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に結合するために、それぞれ配列番号7および8に記載の重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と交差競合する、単離された抗体を提供する。

#### 【0117】

ある特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載の抗体、例えば、それぞれ配列番号7および8に記載の重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む抗体と同じか、または重複するCD137のエピトープ（例えば、ヒトCD137のエピトープまたはカニクイザルCD137のエピトープ）に結合する、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体のエピトープは、例えば、NMR分光法、表面プラズモン共鳴（BIACORE（登録商標））、X線回折結晶学研究、ELISAアッセイ、質量分析（例えば、液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析）と組み合わせた水素/重水素交換、アレイに基づくオリゴ-ペプチド走査アッセイ、および/または変異誘発マッピング（例えば、部位特異的変異誘発マッピング）によって決定することができる。X線結晶学の場合、結晶化は、当該技術分野で既知の方法のうちのいずれかを使用して達成され得る（例えば、Giege R et al., (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50 (Pt 4): 339-350、McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23、Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274、McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303（それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。抗体：抗原結晶は、周知のX線回折技法を使用して研究することができ、X-PLOR (Yale University, 1992、販売元Molecular Simulations, Inc., 例えば、Meth Enzymol (1985) volumes 114&115, eds Wyckoff HW et al.,、米国特許出願第2004/0014194号参照)、およびBUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49 (Pt 1): 37-60、Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter CW、Roversi P et al., (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56 (Pt 10): 1316-1323（それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）などのコンピュータソフトウェアを使用して細かく区別され得る。変異誘発マッピング研究は、当

10

20

30

40

50



業者に既知の任意の方法を使用して達成することができる。アラニン走査変異誘発技法を含む変異誘発技法の説明については、例えば、Champé Mら(1995)(上記)およびCunningham BC&Wells JA(1989)(上記)を参照されたい。特定の実施形態では、抗体のエピトープは、アラニン走査変異誘発研究を使用して決定される。加えて、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)と同じか、または重複するエピトープを認識および結合する抗体は、例えば、1つの抗体が別の抗体の標的抗原への結合を遮断する能力を示すことによる免疫アッセイ、すなわち、競合的結合アッセイなどの通例の技法を使用して特定することができる。競合結合アッセイを使用して、2つの抗体があるエピトープに対して類似した結合特異性を有するかを決定することもできる。競合的結合は、試験用の免疫グロブリンがCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)などの共通の抗原への参照抗体の特異的結合を阻害するアッセイにおいて決定することができる。多数の種類競合的結合アッセイ、例えば、固相直接または間接放射免疫アッセイ(RIA)、固相直接または間接酵素免疫アッセイ(EIA)、サンドイッチ法競合アッセイ(Stahli C et al., (1983) Methods Enzymol 9: 242-253参照)、固相直接ビオチン-アビジンEIA(Kirkland TN et al., (1986) J Immunol 137: 3614-9参照)、固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ(Harlow E&Lane D, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press参照)、1~125個の標識を使用する固相直接標識RIA(Morel GA et al., (1988) Mol Immunol 25(1): 7-15参照)、固相直接ビオチン-アビジンEIA(Cheung RC et al., (1990) Virology 176: 546-52参照)、および直接標識RIA(Moldenhauer G et al., (1990) Scand J Immunol 32: 77-82参照)が知られている(それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)。典型的には、そのようなアッセイは、これらの未標識試験免疫グロブリンおよび標識参照免疫グロブリンのうちのいずれかを担持する固体表面または細胞に結合している精製された抗原(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137などのCD137)の使用に参与する。競合的阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で、固体表面または細胞に結合した標識の量を決定することによって測定することができる。通常、試験免疫グロブリンは、過剰に存在している。通常、競合抗体が過剰に存在している場合、それは、基準抗体の共通抗原への特異的結合を少なくとも50~55%、55~60%、60~65%、65~70%、70~75%、またはそれ以上阻害するであろう。競合結合アッセイは、標識抗原または標識抗体のいずれかを使用して多数の異なる形式で構成することができる。このアッセイの一般的なバージョンでは、抗原を96ウェルプレート上に固定する。その後、非標識抗体が標識抗体の抗原への結合を遮断する能力を、放射性標識または酵素標識を使用して測定する。さらなる詳細については、例えば、それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Wagener C et al., (1983) J Immunol 130: 2308-2315、Wagener C et al., (1984) J Immunol Methods 68: 269-274、Kuroki M et al., (1990) Cancer Res 50: 4872-4879、Kuroki M et al., (1992) Immunol Invest 21: 523-538、Kuroki M et al., (1992) Hybridoma 11: 391-407 and Antibodies: A Laboratory Manual、Ed Harlow E&Lane D editors上記、pp. 386-389を参照されたい。

【0118】

別の態様では、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する抗体または単離された抗体を提供し、(a)抗体が、配列番号37のアミノ酸配列を含むタンパク質に特異的に結合し、(b)抗体が、配列番号38のアミノ酸配列を含むタンパク質に特異的に結合しな

10

20

30

40

50

い。

【0119】

別の態様では、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する抗体または単離された抗体を提供し、抗体が、配列番号37のアミノ酸配列を有するタンパク質に対するよりも低い親和性で、配列番号38のアミノ酸配列を有するタンパク質に特異的に結合する。

【0120】

別の態様では、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する抗体または単離された抗体を提供し、抗体が、配列番号38のアミノ酸配列を有するタンパク質に特異的に結合しない。

【0121】

別の態様では、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する抗体または単離された抗体を提供し、抗体と配列番号38のアミノ酸配列を有するタンパク質との間の結合が、抗体と配列番号37のアミノ酸配列を有するタンパク質との間の結合と比較して、実質的に弱められている。

【0122】

別の態様では、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合する抗体または単離された抗体を提供し、抗体が、配列番号37のアミノ酸配列を有するタンパク質への結合と比較して、配列番号38のアミノ酸配列を有するタンパク質への結合の低減または不在を呈する。

【0123】

別の態様では、本開示は、本発明の任意の抗体と同じヒトCD137のエピトープに特異的に結合する、抗体または単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号37のアミノ酸配列を有するタンパク質に対するよりも低い親和性で、配列番号38のアミノ酸配列を有するタンパク質に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号38のアミノ酸を有するタンパク質に特異的に結合しない。ある特定の実施形態では、抗体と配列番号38のアミノ酸配列を有するタンパク質との間の結合が、抗体と配列番号37のアミノ酸配列を有するタンパク質との間の結合と比較して、実質的に弱められている。一実施形態では、抗体は、配列番号37のアミノ酸配列を有するタンパク質への結合と比較して、配列番号38のアミノ酸配列を有するタンパク質への結合の低減または不在を呈する。

【0124】

ある特定の実施形態では、単離された抗体は、配列番号26～31および43のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含むヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離された抗体は、配列番号26～31および43のうちのいずれか1つのアミノ酸配列から実質的になるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離された抗体は、配列番号26～31および43のうちのいずれか1つのアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、単離された抗体は、複数のアミノ酸配列を含むヒトCD137の領域内に位置する不連続なエピトープに結合し、複数のアミノ酸配列の各々が、配列番号26～31および43のうちのいずれか1つのアミノ酸配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含む。

【0125】

ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号26に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。別の態様では、本開示は、ヒトCD137タンパク質またはその断片に結合すると、水素/重水素交換アッセイによって決定した場合、抗体の不在下での配列番号26に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素/重水素交換と比較して、配列番号26に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素/重水素交換を低減する、抗体を提供する。ある特定の実施形態では、水素/重水素交換の低減は、例えば本明細書の実施例に記載の水素-重水素交換(HDX)を使用して測定される。

【0126】

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヒト CD137 の領域内に位置するエピトープに結合する。別の態様では、本開示は、ヒト CD137 タンパク質またはその断片に結合すると、水素 / 重水素交換アッセイによって決定した場合、抗体の不在下での配列番号 27 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換と比較して、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換を低減する、抗体を提供する。ある特定の実施形態では、水素 / 重水素交換の低減は、例えば本明細書の実施例に記載の水素 - 重水素交換 (HDX) を使用して測定される。

【0127】

ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 28 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヒト CD137 の領域内に位置するエピトープに結合する。別の態様では、本開示は、ヒト CD137 タンパク質またはその断片に結合すると、水素 / 重水素交換アッセイによって決定した場合、抗体の不在下での配列番号 28 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換と比較して、配列番号 28 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換を低減する、抗体を提供する。ある特定の実施形態では、水素 / 重水素交換の低減は、例えば本明細書の実施例に記載の水素 - 重水素交換 (HDX) を使用して測定される。

10

【0128】

ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 29 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヒト CD137 の領域内に位置するエピトープに結合する。別の態様では、本開示は、ヒト CD137 タンパク質またはその断片に結合すると、水素 / 重水素交換アッセイによって決定した場合、抗体の不在下での配列番号 29 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換と比較して、配列番号 29 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換を低減する、抗体を提供する。ある特定の実施形態では、水素 / 重水素交換の低減は、例えば本明細書の実施例に記載の水素 - 重水素交換 (HDX) を使用して測定される。

20

【0129】

ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 30 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヒト CD137 の領域内に位置するエピトープに結合する。別の態様では、本開示は、ヒト CD137 タンパク質またはその断片に結合すると、水素 / 重水素交換アッセイによって決定した場合、抗体の不在下での配列番号 30 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換と比較して、配列番号 30 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換を低減する、抗体を提供する。ある特定の実施形態では、水素 / 重水素交換の低減は、例えば本明細書の実施例に記載の水素 - 重水素交換 (HDX) を使用して測定される。

30

【0130】

ある特定の実施形態では、単離抗体は、配列番号 31 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヒト CD137 の領域内に位置するエピトープに結合する。別の態様では、本開示は、ヒト CD137 タンパク質またはその断片に結合すると、水素 / 重水素交換アッセイによって決定した場合、抗体の不在下での配列番号 31 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換と比較して、配列番号 31 に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素 / 重水素交換を低減する、抗体を提供する。ある特定の実施形態では、水素 / 重水素交換の低減は、例えば本明細書の実施例に記載の水素 - 重水素交換 (HDX) を使用して測定される。

40

【0131】

ある特定の実施形態では、単離された抗体は、K R G I (配列番号 43) のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヒト CD137 の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または少なくとも 3 つの K R G I のアミノ酸残基に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、4 つ全ての K R G I のアミノ酸残基に結合する。別の態様では、本

50

開示は、ヒトCD137タンパク質またはその断片に結合すると、水素/重水素交換アッセイによって決定した場合、抗体の不在下での配列番号43に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素/重水素交換と比較して、配列番号43に記載のアミノ酸配列からなる領域における水素/重水素交換を低減する、抗体を提供する。ある特定の実施形態では、水素/重水素交換の低減は、例えば本明細書の実施例に記載の水素-重水素交換(HDX)を使用して測定される。別の態様では、本開示は、ヒトCD137に特異的に結合し、マウスCD137に実質的に結合しない抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、列配列番号46のアミノ酸配列を含むタンパク質に特異的に結合し、かつ/あるいは配列番号45のアミノ酸配列を含むタンパク質には実質的に結合しない。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号46のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質に特異的に結合し、かつ/あるいは配列番号45のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質には実質的に結合しない。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号46のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質に特異的に結合し、配列番号45のアミノ酸配列からなるか、または本質的にそれからなるタンパク質に実質的に結合しない。

10

#### 【0132】

別の態様では、本開示は、本発明の抗体と同じヒトCD137のエピトープに結合する、例えば特異的に結合する、抗体または単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、エピトープは、例えば実施例に記載の水素-重水素交換(HDX)によって、または例えば実施例に記載のタンパク質変異誘発によって決定される。

20

#### 【0133】

ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、抗体が、VHおよびVLの各々2つを含むF(ab')<sub>2</sub>としてフォーマットされている場合、F(ab')<sub>2</sub>は、配列番号27のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、抗体が、VHおよびVLの各々2つを含むF(ab')<sub>2</sub>としてフォーマットされている場合、水素/重水素交換アッセイにより測定した場合、F(ab')<sub>2</sub>不在下での同じ領域における水素と重水素との交換と比較して、F(ab')<sub>2</sub>は、配列番号27のアミノ酸配列からなるCD137の領域における水素と重水素との交換を、実質的に(例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%)低減する。

30

#### 【0134】

ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、抗体が、VHおよびVLを含むFabとしてフォーマットされている場合、Fabは、配列番号26のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープ、ならびに任意選択的に、配列番号28および/または29のアミノ酸配列からなるヒトCD137の領域内に位置するエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、VHおよびVLを含み、抗体が、VHおよびVLを含むFabとしてフォーマットされている場合、水素/重水素交換アッセイにより測定した場合、Fab不在下での同じ領域における水素と重水素との交換と比較して、Fabは、配列番号26のアミノ酸配列からなるCD137の領域における水素と重水素との交換を、実質的に(例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%)低減し、かつ任意選択的に、Fab不在下での同じ領域における水素と重水素との交換と比較して、配列番号28および/または配列番号29のアミノ酸配列からなるCD137の領域における水素と重水素との交換を、実質的に(例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%)低減する。

40

#### 【0135】

ある特定の実施形態では、抗体はVHおよびVLを含み、2つの鎖を含み、各鎖がVHおよびVLを含むF(ab')<sub>2</sub>として抗体がフォーマットされている場合、水素/重水素交換アッセイにより測定した場合、F(ab')<sub>2</sub>不在下での同じ領域における水素と重水

50

素との交換と比較して、F ( a b ' )<sub>2</sub> は、配列番号 3 4 のアミノ酸配列からなる C D 1 3 7 の領域における水素と重水素との交換を、実質的に（例えば、少なくとも 5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 %）低減する。ある特定の実施形態では、抗体は、V H および V L を含み、抗体が、V H および V L 含む F a b としてフォーマットされている場合、F a b は、水素 / 重水素交換アッセイにより測定した場合、F a b 不在下での同じ領域における水素と重水素との交換と比較して、配列番号 3 4 のアミノ酸配列からなる C D 1 3 7 の領域における水素と重水素との交換を、実質的に低減しない（例えば、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、または 3 0 % 超低減しない）。

#### 【 0 1 3 6 】

ある特定の実施形態では、本開示は、C D 1 3 7（例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7）に特異的に結合し、ヒト C D 1 3 7 がヒト C D 1 3 7 L に結合することを阻害しない、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、ヒト C D 1 3 7 のヒト C D 1 3 7 L への結合は、抗体不在下でのヒト C D 1 3 7 のヒト C D 1 3 7 L への結合と比較して、抗体存在下で 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、または 3 0 % 超低減されない。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト C D 1 3 7 の可溶性断片の、ヒト C D 1 3 7 L の可溶性断片への結合を阻害しない。ある特定の実施形態では、ヒト C D 1 3 7 の可溶性断片のヒト C D 1 3 7 L の可溶性断片への結合は、抗体不在下でのヒト C D 1 3 7 の可溶性断片のヒト C D 1 3 7 L の可溶性断片への結合と比較して、抗体存在下で 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、または 3 0 % 超低減されない。ある特定の実施形態では、抗体は、C D 1 3 7 発現細胞のヒト C D 1 3 7 L の可溶性断片への結合を阻害しない。ある特定の実施形態では、ヒト C D 1 3 7 発現細胞のヒト C D 1 3 7 L の可溶性断片への結合は、抗体不在下での C D 1 3 7 発現細胞のヒト C D 1 3 7 L の可溶性断片への結合と比較して、抗体存在下で 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、または 3 0 % 超低減されない。ある特定の実施形態では、抗体は、C D 1 3 7 発現細胞の C D 1 3 7 L 発現細胞への結合を阻害しない。ある特定の実施形態では、C D 1 3 7 発現細胞の C D 1 3 7 L 発現細胞への結合は、抗体不在下での C D 1 3 7 発現細胞の C D 1 3 7 L 発現細胞への結合と比較して、抗体存在下で 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、または 3 0 % 超低減されない。

#### 【 0 1 3 7 】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、抗体不在下での C D 1 3 7 多量体化のレベルと比較して、C D 1 3 7 多量体化（例えば、二量体化または三量体化）のレベルを少なくとも約 1 . 1 倍、1 . 2 倍、1 . 3 倍、1 . 4 倍、1 . 5 倍、2 倍、2 . 5 倍、3 倍、3 . 5 倍、4 倍、4 . 5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、1 0 倍、1 5 倍、2 0 倍、3 0 倍、4 0 倍、5 0 倍、6 0 倍、7 0 倍、8 0 倍、9 0 倍、1 0 0 倍以上増加させる。ある特定の実施形態では、多量体 C D 1 3 7 は、C D 1 3 7 および C D 1 3 7 L 分子を含む複合体（例えば、3 つの C D 1 3 7 L 分子および 2 つの C D 1 3 7 分子を含む複合体、または 3 つの C D 1 3 7 L 分子および 3 つの C D 1 3 7 分子を含む複合体）で存在する。ある特定の実施形態では、C D 1 3 7 多量体化（例えば、二量体化または三量体化）のレベルは、C D 1 3 7 および C D 1 3 7 L 分子を平衡に含むインビトロ系で測定され、任意選択的に C D 1 3 7 分子が、脂質二重層にある。ある特定の実施形態では、C D 1 3 7 多量体化（例えば、二量体化または三量体化）のレベルは、細胞中または細胞の形質膜上で測定される。ある特定の実施形態では、C D 1 3 7 多量体化（例えば、二量体化または三量体化）のレベルは、C D 1 3 7 の可溶性断片を使用して測定される。

#### 【 0 1 3 8 】

ある特定の実施形態では、本開示は、C D 1 3 7（例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、配列番号 9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、4 9、5 0、5 1、5 2、5 3、5 4、7 3、7 4、7 5、7 6、7 7、または 7 8 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、単離された抗体

10

20

30

40

50





## 【 0 1 4 1 】

ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号 9、10、11、12、13、14、49、50、51、52、53、54、73、74、75、76、77、または78のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21、79、80、または81のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号9のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号10のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号11のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号12のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号13のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号14のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号49のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号50のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号51のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号52のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号53のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号54のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号73のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号74のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号75のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号79のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号76のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号79のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号9のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号80のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号49のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号80のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号77のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号81のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、配列番号78のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号81のアミノ酸配列からなる軽鎖と、を含む。

10

20

30

## 【 0 1 4 2 】

任意の抗体フォーマットを、本明細書に開示の抗体に使用することができる。ある特定の実施形態では、抗体は、一本鎖抗体または一本鎖Fv (s c F v) である。ある特定の実施形態では、抗体は、Fc領域と融合させたs c F v である (s c F v - Fc)。ある特定の実施形態では、抗体は、Fab断片である。ある特定の実施形態では、抗体は、F(ab')<sub>2</sub>断片である。

40

## 【 0 1 4 3 】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、CD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137) および第2の抗原に特異的に結合する、多重特異性抗体 (例えば、二重特異性抗体) である。

## 【 0 1 4 4 】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、第2の抗原に特異的に結合する第2の抗体に共役している。ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、第2の抗体に共有結合的に共役している。ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、第

50



2の抗体に非共有結合的に共役している。ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、第2の抗体に架橋している。ある特定の実施形態では、第2の抗原は、腫瘍関連抗原（例えば、腫瘍中で過剰発現したポリペプチド、腫瘍ウイルス由来のポリペプチド、腫瘍に特異的な翻訳後修飾を含むポリペプチド、腫瘍中で特異的に変異したポリペプチド）である。ある特定の実施形態では、腫瘍関連抗原は、EGFR（例えば、ヒトEGFR）、Her2（例えば、ヒトHer2）、またはCD20（例えば、ヒトCD20）である。

【0145】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗体は、細胞傷害性剤、細胞分裂阻害剤、毒素、放射性核種、または検出可能な標識に共役している。ある特定の実施形態では、細胞傷害性剤は、それと接触した細胞の死または破壊を誘導することが可能である。ある特定の実施形態では、細胞分裂阻害剤は、それと接触した細胞の、増殖を防止または実質的に低減することが可能であり、かつ/あるいは活性または機能を阻害することが可能である。ある特定の実施形態では、細胞傷害性剤または細胞分裂阻害剤は、化学療法薬である。ある特定の実施形態では、放射性核種は、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{58}\text{Co}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{117}\text{Lu}$ 、 $^{121}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ および $^{186}\text{Re}$ のアイソトープからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、検出可能な標識は、蛍光部分またはクリックケミストリーハンドルを含む。

【0146】

任意の免疫グロブリン(Ig)定常領域は、本明細書に開示の抗体に使用することができる。ある特定の実施形態では、Ig領域は、ヒトIgG、IgE、IgM、IgD、IgA、またはIgY免疫グロブリン分子、免疫グロブリン分子の任意のクラス（例えば、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>、IgA<sub>1</sub>、およびIgA<sub>2</sub>）、または任意のサブクラス（例えば、IgG<sub>2a</sub>およびIgG<sub>2b</sub>）である。

【0147】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、配列番号15、16、17、18、19、または20のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、配列番号22のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む、単離された抗体を提供する。

【0148】

ある特定の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上の変異（例えば、アミノ酸置換）を、EU番号付けシステムに従って番号付けされた本明細書に記載の抗体のFc領域（例えば、CH2ドメイン（ヒトIgG<sub>1</sub>の残基231~340）、および/またはCH3ドメイン（ヒトIgG<sub>1</sub>の残基341~447）、および/またはヒンジ領域に導入して、血清半減期、補体結合、Fc受容体結合、および/または抗原依存性細胞障害性などの、抗体の1つ以上の機能的特性を改変する。

【0149】

ある特定の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上の変異（例えば、アミノ酸置換）は、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第5,677,425号に記載のように、ヒンジ領域内のシステイン残基の数を改変する（例えば、増加または減少させる）ように、Fc領域（CH1ドメイン）のヒンジ領域に導入される。CH1ドメインのヒンジ領域内のシステイン残基の数を改変して、例えば、軽鎖および重鎖のアセンブリを促進しても、または抗体の安定性を改変しても（例えば、増加もしくは減少させても）よい。

【0150】

具体的な一実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上のアミノ酸変異（例えば、置換、挿入、または欠失）をIgG定常ドメイン、またはそのFcRn-結合断片（好ましく

10

20

30

40

50

は、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入して、インピボで抗体の半減期を改変する(例えば、減少または増加させる)。例えばインピボで抗体の半減期を改変する(例えば減少または増加させる)であろう変異についての、例えば、それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO02/060919号、同第WO98/23289号、および同第WO97/34631号、ならびに米国特許第5,869,046号、同第6,121,022号、同第6,277,375号、および同第6,165,745号を参照されたい。ある特定の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上のアミノ酸変異(例えば、置換、挿入、または欠失)を、IgG定常ドメインまたはそのFcRn結合断片(好ましくはFcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入して、インピボでの抗体の半減期を減少させる。他の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上のアミノ酸変異(例えば、置換、挿入、または欠失)を、IgG定常ドメインまたはそのFcRn結合断片(好ましくはFcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)に導入して、インピボで抗体の半減期を増加させてもよい。具体的な一実施形態では、抗体は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、第2の定常(CH2)ドメイン(ヒトIgG<sub>1</sub>の残基231~340)および/または第3の定常(CH3)ドメイン(ヒトIgG<sub>1</sub>の残基341~447)の1つ以上のアミノ酸変異(例えば、置換)を有してもよい。具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体のIgG<sub>1</sub>の定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、252位のメチオニン(M)からチロシン(Y)への置換、254位のセリン(S)からトレオニン(T)への置換、および256位のトレオニン(T)からグルタミン酸(E)への置換を含む。参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第7,658,921号を参照されたい。この種類の変異体IgGは、同じ抗体の野生型バージョンと比較して、4倍増加した半減期を示すことが知られている「YTE変異体」と称される(Dall'Acqua WF et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-24(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる))。ある特定の実施形態では、抗体は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、251~257、285~290、308~314、385~389、および428~436位のアミノ酸残基の1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のアミノ酸置換を含むIgG定常ドメインを含む。

#### 【0151】

ある特定の実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上の変異(例えば、アミノ酸置換)を、本明細書に記載の抗体のFc領域(例えば、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、CH2ドメイン(ヒトIgG<sub>1</sub>の残基231~340)および/またはCH3ドメイン(ヒトIgG<sub>1</sub>の残基341~447))、および/またはヒンジ領域に導入して、エフェクター細胞の表面上のFc受容体(例えば、活性化Fc受容体)に対する抗体の親和性を増加または減少させる。Fc受容体に対する抗体の親和性を増加または減少させる抗体のFc領域内の変異、およびそのような変異をFc受容体またはその断片に導入するための技法は、当業者にとって既知である。Fc受容体に対する抗体の親和性を改変するように行われ得る、抗体のFc受容体の変異の例は、例えば、それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Smith Pet al., (2012) PNAS 109:6181-6186、米国特許第6,737,056号、ならびに国際公開第WO02/060919号、同第WO98/23289号、および同第WO97/34631に記載されている。

#### 【0152】

ある特定の実施形態では、抗体が、野生型重鎖定常領域の多様体である重鎖定常領域を含み、野生型重鎖定常領域がFcRIIBに結合するよりも高い親和性で、多様体重鎖定常領域がFcRIIBに結合する。ある特定の実施形態では、多様体重鎖定常領域は、多様体ヒト重鎖定常領域、例えば、多様体ヒトIgG<sub>1</sub>、多様体ヒトIgG<sub>2</sub>、または多様体ヒトIgG<sub>4</sub>重鎖定常領域である。ある特定の実施形態では、多様体ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って、以下のうちの1つ以上のアミノ酸変異を含む:G236D、P238D、S239D、S267E、L328F、およびL328

10

20

30

40

50

E。ある特定の実施形態では、変異形ヒトIgG重鎖定常領域は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、以下からなる群から選択されるアミノ酸変異のセットを含む。EU番号付けシステムに従って、S267EおよびL328F、P238DおよびL328E、P238D、ならびにE233D、G237D、H268D、P271G、およびA330R；P238D、E233D、G237D、H268D、P271G、およびA330R；G236DおよびS267E；S239DおよびS267E；V262E、S267E、およびL328F；およびV264E、S267E、およびL328Fからなる群から選択される1つ以上の置換。ある特定の実施形態では、FcRIIBは、マクロファージ、単球、B細胞、樹状細胞、内皮細胞、および活性化T細胞からなる群から選択される細胞上に発現される。

10

#### 【0153】

さらなる一実施形態では、1つ、2つ、またはそれ以上のアミノ酸置換をIgG定常ドメインFc領域に導入して、抗体のエフェクター機能（複数可）を改変する。例えば、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、アミノ酸残基234、235、236、237、297、318、320、および322から選択される1つ以上のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置換して、エフェクターリガンドに対する抗体の親和性は改変されるが、親抗体の抗原結合能は保持するようにすることができる。親和性を改変させるエフェクターリガンドは、例えば、Fc受容体または補体のC1成分であり得る。このアプローチは、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第5,624,821号および同第5,648,260号にさらに詳細に記載されている。ある特定の  
実施形態では、（点変異または他の手段を通した）定常領域ドメインの欠失または不活性化は、循環抗体のFc受容体結合を低減させ、それにより腫瘍の局在化を増加させ得る。定常ドメインを欠失または不活性化させ、それにより腫瘍の局在化を増加させる変異についての記載については、例えば、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第5,585,097号および同第8,591,886号を参照されたい。ある特定の  
実施形態では、1つ以上のアミノ酸置換を、本明細書に記載の抗体のFc領域に導入して、Fc受容体結合を減少させ得るFc領域上の潜在的なグリコシル化部位を除去してもよい（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Shields  
RL et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604を参照されたい）。様々な実施形態では、本明細書に記載の抗体の定常領域内で、EU番号  
付けシステムに従って番号付けされた、次の変異：N297Aの置換、N297Qの置換、L235Aの置換およびL237Aの置換、L234Aの置換およびL235Aの置換、E233Pの置換、L234Vの置換、L235Aの置換、C236の欠失、P238Aの置換、D265Aの置換、S267Eの置換およびL328Fの置換、A327Qの置換、またはP329Aの置換のうちの1つ以上が行われ得る。ある特定の  
実施形態では、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、D265A、P329A、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される変異が、本明細書に記載の抗体の定常領域内で  
行われ得る。

20

30

#### 【0154】

具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、EU番号付けシステムに従って番号付けされたN297QまたはN297Aのアミノ酸置換を有するIgG<sub>1</sub>の定常ドメインを含む。一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、D265A、P329A、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される変異を有するIgG<sub>1</sub>の定常ドメインを含む。別の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、L234A、L235A、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される変異を有するIgG<sub>1</sub>の定常ドメインを含む。ある特定の  
実施形態では、EU番号付けシステムに従って番号付けされた、ヒトIgG<sub>1</sub>重鎖のL234位、L235位、およびD265位に対応する位置における、本明細書に記載の抗体の定常領域内のアミノ酸残基はそれぞれ、L、L、およびDではない。このアプローチは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO1

40

50

4 / 1 0 8 4 8 3号に詳細に記載されている。特定の一実施形態では、E U番号付けシステムに従って番号付けされた、ヒトIgG<sub>1</sub>重鎖のL 2 3 4位、L 2 3 5位、およびD 2 6 5位に対応するアミノ酸はそれぞれ、F、E、およびA；またはA、A、およびAである。

【0155】

ある特定の実施形態では、抗体が改変されたC 1 q結合および/または低減もしくは停止された補体依存性細胞傷害性(CDC)を有するように、E U番号付けシステムに従って番号付けされた本明細書に記載の抗体の定常領域内のアミノ酸残基3 2 9、3 3 1、および3 2 2から選択される1つ以上のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置換してもよい。このアプローチは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6, 1 9 4, 5 5 1号(Indusogie et al.)にさらに詳細に記載されている。ある特定の実施形態では、E U番号付けシステムに従って番号付けされた、本明細書に記載の抗体のCH2ドメインのN末端領域内のアミノ酸位置2 3 1~2 3 8内の1つ以上のアミノ酸残基を改変して、それにより抗体が補体を固定する能力を改変する。このアプローチは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO 9 4 / 2 9 3 5 1号にさらに記載されている。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体のFc領域は、E U番号付けシステムに従って番号付けされた、以下の位置で1つ以上のアミノ酸を変異させる(例えば、アミノ酸置換を導入することによって、抗体依存性細胞障害性(ADCC)を媒介する、および/またはFc受容体への抗体の親和性を増加させる抗体の能力を増加させるように修飾される。2 3 8、2 3 9、2 4 8、2 4 9、2 5 2、2 5 4、2 5 5、2 5 6、2 5 8、2 6 5、2 6 7、2 6 8、2 6 9、2 7 0、2 7 2、2 7 6、2 7 8、2 8 0、2 8 3、2 8 5、2 8 6、2 8 9、2 9 0、2 9 2、2 9 3、2 9 4、2 9 5、2 9 6、2 9 8、3 0 1、3 0 3、3 0 5、3 0 7、3 0 9、3 1 2、3 1 5、3 2 0、3 2 2、3 2 4、3 2 6、3 2 7、3 2 8、3 2 9、3 3 0、3 3 1、3 3 3、3 3 4、3 3 5、3 3 7、3 3 8、3 4 0、3 6 0、3 7 3、3 7 6、3 7 8、3 8 2、3 8 8、3 8 9、3 9 8、4 1 4、4 1 6、4 1 9、4 3 0、4 3 4、4 3 5、4 3 7、4 3 8、または4 3 9。このアプローチは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO 0 0 / 4 2 0 7 2号にさらに記載されている。

【0156】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、IgG<sub>4</sub>抗体の定常領域を含み、E U番号付けシステムに従って番号付けされた、重鎖のアミノ酸残基2 2 8のセリンが、プロリンに置換される。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する単離された抗体であって、抗体が、配列番号2 0のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む、単離された抗体を提供する。

【0157】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の定常領域変異または修飾のいずれかが、2つの重鎖定常領域を有する本明細書に記載の抗体の一方または両方の重鎖定常領域に導入されてもよい。

【0158】

配列番号7、9、10、11、12、13、14、49、50、51、52、53、54、63、64、65、69、70、71、72、73、74、75、76、77、または78が列挙される本明細書に開示の態様のうちのいずれかのある特定の実施形態では、配列番号7、9、10、11、12、13、14、49、50、51、52、53、54、63、64、65、69、70、71、72、73、74、75、76、77、または78が列挙される本明細書に開示の態様のうちのいずれかのある特定の実施形態では、配列番号7、9、10、11、12、13、14、49、50、51、52、53、54、63、64、65、69、70、71、72、7

10

20

30

40

50

3、74、75、76、77、または78のXは、ピログルタミン酸(pE)である。

【0159】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合し、アゴニストとして機能する、単離された抗体を提供する。

【0160】

ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合し、本明細書に記載のおよび/または当業者に既知の方法によって評価した場合、いかなる抗体にもよらないか、または非関連抗体(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合しない抗体)によるCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)活性と比較して、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)活性を少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加または促進する、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合し、本明細書に記載のおよび/または当業者に既知の方法によって評価した場合、いかなる抗体にもよらないか、または非関連抗体(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137)に特異的に結合しない抗体)によるCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)活性と比較して、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)活性を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍以上増加または促進する、単離された抗体を提供する。CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)活性の非限定的な例としては、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)シグナル伝達、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)のCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)リガンド(例えば、CD137L(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)もしくはその断片、および/またはその融合タンパク質)への結合、T細胞(例えば、ヒトCD137を発現するT細胞)活性化、サイトカイン(例えば、IL-2、IFN-、および/またはTNF-)産生の増加、ナチュラルキラー(NK)細胞の活性化、CD137L活性の増加、およびCD137Lを発現する抗原提示細胞(APC)の活性化を挙げることができる。具体的な実施形態では、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)活性の増加は、以下の実施例に記載のように評価される。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137のリガンド(例えば、CD137L(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)もしくはその断片、および/またはその融合タンパク質)の存在下で、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)活性を増加または促進する。

【0161】

ある特定の実施形態では、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)の活性を活性化、増加、または促進する抗体の能力は、抗体の架橋の存在に依存する。ある特定の実施形態では、抗体は、抗体の架橋の不在下で、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)の活性を最小限に増加または促進する。ある特定の実施形態では、抗体は、抗体の架橋の不在下で、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)の活性を実質的に増加も促進もしない。一実施形態では、例えば、抗体の架橋の不在下で本明細書に記載の実施例で測定した場合、抗体は、NF-レポーター細胞株におけるNF-シグナル伝達を最小限に誘導する。一実施形態では、例えば、抗体の架橋の不在下で本明細書に記載の実施例で測定した場合、抗体は、抗CD3抗体刺激下で精製されたT細胞からのIL-2および/またはIF

10

20

30

40

50

N 産生を最小限に誘導する。本明細書で企図される抗体の架橋は、抗体のクラスターリングを含む。当該技術分野で既知である架橋する方法が、本明細書で使用される。ある特定の実施形態では、抗体は、抗体のFc領域、例えば、本明細書に記載の実施例で使用される抗ヒトIgG (Fab')<sub>2</sub>を二量体化する薬剤によって架橋される。ある特定の実施形態では、抗体は、抗体のFc領域（例えば、FcRIIIa、FcRIIIb、FcRIIIa、FcRIIIb、またはFcRI）に結合するFc受容体を発現する細胞との接触によって架橋される。ある特定の実施形態では、Fc受容体は、細胞表面上のクラスターで発現される。ある特定の実施形態では、抗体が結合する抗原のリガンドもまた、細胞上に発現される。ある特定の実施形態では、細胞は、抗原提示細胞（例えば、マクロファージ、単球、樹状細胞、またはBリンパ球）である。

10

## 【0162】

ある特定の実施形態では、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）の活性を活性化、増加、または促進する抗体の能力は、CD137のリガンド（例えば、CD137L（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）もしくはその断片および/またはその融合タンパク質）の存在に依存する。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137のリガンド（例えば、CD137L（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）Lもしくはその断片および/またはその融合タンパク質）の不在下で、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）の活性を最小限に増加または促進する。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137のリガンド（例えば、CD137L（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137））もしくはその断片および/またはその融合タンパク質）の不在下で、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）の活性を実質的に増加も促進もしない。一実施形態では、例えば、本明細書に記載の実施例で測定した場合、抗体は、抗CD3抗体刺激下で精製されたT細胞からのIL-2および/またはIFN産生を最小限に誘導する。一実施形態では、例えば、本明細書に記載の実施例で測定した場合、抗体は、NF-レポーター細胞株におけるNF-シグナル伝達を最小限に誘導する。ある特定の実施形態では、ヒトCD137の活性を活性化、増加、または促進する抗体の能力は、CD137Lの濃度と正相関する。ある特定の実施形態では、CD137L依存性は、抗体が、例えば、約1:1~1:10（例えば、約1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、またはそれ以下）の架橋剤対抗体の比で、抗ヒトIgG (Fab')<sub>2</sub>と架橋されると観察される。

20

30

## 【0163】

具体的な実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合し、T細胞（例えばヒトCD137を発現するT細胞）を活性化し、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、活性化T細胞は、1つ以上のマーカー（例えば、パーフォリン、グランザイムA、グランザイムB、Bcl-X<sub>L</sub>）の、増加されたレベル（例えば、少なくとも約1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍の増加）で発現し、任意選択的にマーカーのレベルは、フローサイトメトリーによって測定してもよい。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137のリガンド（例えば、CD137L（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137））もしくはその断片、および/またはその融合タンパク質）の存在下で、T細胞（例えば、ヒトCD137を発現するT細胞）を活性化する。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137のリガンド（例えば、CD137L（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137））もしくはその断片、および/またはその融合タンパク質）の不在下で、T細胞（例えば、ヒトCD137を発現するT細胞）を活性化しない。

40

## 【0164】

具体的な実施形態では、本開示は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合し、本明細書に記載の方法（以下の実施例を参照され

50

たい) または当業者に既知の方法によって評価した場合、いかなる抗体にもよらないか、または非関連抗体(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合しない抗体)によるサイトカイン産生と比較して、サイトカイン(例えば、IL-2、IFN-、またはTNF-)産生を少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%増加させる、単離された抗体を提供する。具体的な実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合し、かつ本明細書に記載の方法(以下の実施例を参照されたい)または当業者に既知の方法によって評価した場合、いかなる抗体も用いないか、または非関連抗体(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合しない抗体)を用いたサイトカイン産生と比較して、サイトカイン(例えば、IL-2、IFN-、および/またはTNF-)産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137のリガンド(例えば、CD137L(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)、またはその断片および/もしくは融合タンパク質)の存在下で、サイトカイン(例えば、IL-2、IFN-、および/またはTNF-)産生を増加させる。ある特定の実施形態では、CD137のリガンド(例えば、CD137L(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)またはその断片および/もしくは融合タンパク質)不在下で、いかなる抗体も用いないか、または非関連抗体(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合しない抗体)を用いたサイトカイン産生と比較して、抗体は、サイトカイン(例えば、IL-2、IFN-、および/またはTNF-)産生を1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、または30%超増加させない。

#### 【0165】

具体的な実施形態では、本開示は、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合し、単独でまたは抗PD-1抗体(例えば、ペムプロリズマブまたはニボルマブ)と組み合わせるのいずれかが、ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)刺激にตอบสนองしたヒト末梢血単核細胞(PBMC)で、いかなる抗体にもよらないか、または非関連抗体(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合しない抗体)によるIL-2および/またはIFN産生と比較して、本明細書に記載の方法(以下の実施例参照)または当業者に既知の方法によって評価した場合、IL-2および/またはIFN産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させる、単離された抗体を提供する。ある特定の実施形態では、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する、本明細書に記載の抗体の存在下で、ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)で刺激したヒト末梢血単核細胞(PBMC)は、本明細書に記載の方法(以下の実施例を参照されたい)または当業者に既知の方法によって評価した場合、いかなる抗体にもよらないか、または非関連抗体(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合しない抗体)によるSEAで刺激したのみPBMCからのIL-2および/またはIFN産生と比較して、IL-2および/またはIFN産生を少なくとも約1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍増加させた。ある特定の実施形態では、抗体は、CD137のリガンド(例えば、CD137L(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)もしくはその

10

20

30

40

50

断片、および/またはその融合タンパク質)の存在下で、S E A 刺激に応答したヒト P B M C での I L - 2 および/または I F N 産生を増加させる。ある特定の実施形態では、C D 1 3 7 のリガンド(例えば、C D 1 3 7 L (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7 ) もしくはその断片、および/またはその融合タンパク質)不在下で、いかなる抗体にもよらないか、または非関連抗体(例えば、C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7 ) に特異的に結合しない抗体)によるサイトカイン産生と比較して、抗体は、S E A 刺激に応答したヒト P B M C での I L - 2 および/または I F N - 産生を 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、または 3 0 % 超増加させない。

【 0 1 6 6 】

### 5 . 3 薬学的組成物

生理学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤中で所望の純度を有する本明細書に開示の抗 C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7 ) 抗体を含む組成物が本明細書に提供される(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA を参照されたい)。許容される担体、賦形剤、または安定剤は、用いられる投与量および濃度で受容者に対して非毒性であり、これらには、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸などの緩衝液; アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤; 保存剤(例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; 塩化ヘキサメトニウム; 塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム; フェノール、ブチル、もしくはベンジルアルコール; メチルもしくはプロピルパラベンなど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; および m - クレゾール); 低分子量(約 1 0 未満の残基)ポリペプチド; 血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質; ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー; 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、もしくはリジンなどのアミノ酸; グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む単糖類、二糖類、および他の炭水化物; E D T A などのキレート剤; スクロース、マンニトール、トレハロース、もしくはソルビトールなどの糖類; ナトリウムなどの塩形成対イオン; 金属錯体(例えば、Z n - タンパク質錯体); ならびに/または T W E E N (商標)、P L U R O N I C S (商標)、もしくはポリエチレングリコール(P E G)などの非イオン界面活性剤が含まれる。

【 0 1 6 7 】

具体的な一実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される担体中に、本明細書に開示の抗 C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7 ) 抗体と、任意選択的に 1 つ以上の追加の予防薬または治療薬と、を含む。具体的な一実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される担体中に、有効量の本明細書に記載の抗体と、任意選択的に 1 つ以上の追加の予防薬または治療薬と、を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、薬学的組成物中に含まれる唯一の活性成分である。本明細書に記載の薬学的組成物は、C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7 ) の活性を増加または促進すること、および癌または感染症などの状態を治療することに有用であり得る。一実施形態では、本発明は、医薬品として使用するための本発明の抗 C D 1 3 7 抗体を含む、本発明の薬学的組成物に関する。別の実施形態では、本発明は、癌または感染症を治療するための方法に使用するための、本発明の薬学的組成物に関する。

【 0 1 6 8 】

非経口調製物に使用される薬学的に許容される担体としては、水性ビヒクル、非水性ビヒクル、抗菌剤、等張剤、緩衝液、抗酸化剤、局所麻酔剤、懸濁化剤および分散剤、乳化剤、封鎖剤またはキレート化剤、ならびに他の薬学的に許容される物質が挙げられる。水性ビヒクルの例としては、塩化ナトリウム注射剤、リンガー注射剤、等張デキストロース注射剤、滅菌水注射剤、デキストロース、および乳酸化リンガー注射剤が挙げられる。非水性非経口ビヒクルとしては、植物由来の固定油、綿実油、トウモロコシ油、ゴマ油、およびピーナツ油が挙げられる。静菌性または静真菌性の濃度の抗菌剤は、フェノールまた

10

20

30

40

50



はクレゾール、水銀剤、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチル、およびプロピル p - ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサル、ベンズアルコニウムクロリド、およびベンゼトニウムクロリドを含む、多回投与容器中にパッケージされた非経口調製物に添加され得る。等張剤としては、塩化ナトリウムおよびデキストロースが挙げられる。緩衝液としては、リン酸塩およびクエン酸塩が挙げられる。抗酸化剤としては、重硫酸ナトリウムが挙げられる。局所麻酔剤としては、塩酸プロカインが挙げられる。懸濁化剤および分散剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびポリビニルピロリドンが挙げられる。乳化剤としては、Polysorbate 80 (TWEEN (登録商標) 80) が挙げられる。金属イオンの封鎖剤またはキレート化剤としては、EDTA が挙げられる。薬学的担体としてはまた、水混和性ビヒクルのためのエチルアルコール、ポリエチレングリコール、およびプロピレングリコール、ならびに pH 調節のための水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸、または乳酸が挙げられる。

10

## 【0169】

薬学的組成物は、対象への投与の任意の経路用に配合されてもよい。投与経路の特定の例としては、鼻腔内、経口、肺、経皮、皮内、および非経口が挙げられる。皮下、筋肉内、または静脈内注射のいずれかを特徴とする非経口投与もまた、本明細書で企図される。注射物質は、液体溶液または懸濁液のいずれかの従来の形態で、注射前の液体中の溶液または懸濁液に好適な固体形態で、またはエマルジョンとして調製することができる。注射物質、溶液、およびエマルジョンはまた、1 種以上の賦形剤を含有する。好適な賦形剤は、例えば、水、食塩水、デキストロース、グリセロール、またはエタノールである。さらに、所望であれば、投与すべき薬学的組成物はまた、少量の非毒性補助物質、例えば湿潤剤または乳化剤、pH 緩衝剤、安定化剤、溶解度増強剤、および他のかかる薬剤、例えば酢酸ナトリウム、ソルピタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレアート、およびシクロデキストリンなどを含有することができる。

20

## 【0170】

抗体の非経口投与の調製物としては、注射可能な滅菌溶液、使用直前に溶媒と混合することができる、皮下注射錠剤を含む凍結乾燥粉末などの滅菌乾燥溶解性産生物、注射可能な滅菌懸濁液、使用直前に溶媒と混合することができる滅菌乾燥不溶性産生物、および滅菌エマルジョンが挙げられる。溶液は、水性であっても、非水性であってもよい。

30

## 【0171】

静脈内に投与される場合、好適な担体としては、生理食塩水またはリン酸緩衝食塩水 (PBS)、ならびに増粘剤および可溶化剤、例えば、グルコース、ポリエチレングリコール、およびポリプロピレングリコール、ならびにそれらの混合物を含む溶液が挙げられる。

## 【0172】

抗体を含む局所混合物は、局所および全身投与について記載されるように調製される。結果として生じる混合物は、溶液、懸濁液、またはエマルジョンなどであり得、クリーム、ゲル、軟膏、エマルジョン、溶液、エリキシル剤、ローション、懸濁液、チンキ剤、ペースト、泡沫、エアロゾル、灌注、スプレー、坐薬、包帯、皮膚パッチ、または外用投与に好適な任意の他の製剤として配合され得る。

40

## 【0173】

本明細書に開示の抗 CD 137 (例えば、ヒト CD 137 またはカニクイザル CD 137) 抗体は、吸引などによる外用適用用のエアロゾルとして配合され得る (例えば、炎症性疾患、特に喘息の治療に有用なステロイドを送達するためのエアロゾルについて記載し、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第 4, 044, 126 号、同第 4, 414, 209 号、および同第 4, 364, 923 号を参照されたい)。気道への投与のためのこれらの製剤は、単独またはラクトースなどの不活性担体と組み合わせ、噴霧器用のエアロゾルまたは溶液の形態であっても、吹送法のための超微粒粉末としてであってもよい。かかる場合、製剤の粒子は、一実施形態では、50 ミクロン未満、一実施形態では、10 ミクロン未満の直径を有するであろう。

50

## 【0174】

本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、皮膚および眼内などの粘膜への外用適用のためなど局所または外用適用に、ならびに目への適用または嚢内もしくは脊髄内適用に、ゲル、クリーム、およびローションの形態で配合されてもよい。外用投与は、経皮送達およびまた目もしくは粘膜への投与のため、または吸入療法のためにも企図される。単独または他の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせた、この抗体の点鼻薬もまた、投与され得る。

## 【0175】

イオン泳動および電気泳動装置を含む、経皮パッチは、当業者に周知であり、抗体を投与するために使用することができる。例えば、そのようなパッチは、それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6,267,983号、同第6,261,595号、同第6,256,533号、同第6,167,301号、同第6,024,975号、同第6,010,715号、同第5,985,317号、同第5,983,134号、同第5,948,433号、および同第5,860,957号に開示されている。

10

## 【0176】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体を含む薬学的組成物は、溶液、エマルジョン、および他の混合物として投与用に再構成することができる、凍結乾燥された粉末である。それはまた、固体またはゲルとして再構成および配合されてもよい。凍結乾燥された粉末は、本明細書に記載の抗体、またはその薬学的に許容される誘導体を好適な溶媒に溶解することによって調製される。ある特定の実施形態では、凍結乾燥された粉末は、滅菌されている。溶媒は、粉末または粉末から調製した再構成溶液の安定性または他の薬理的構成成分を改善する賦形剤を含有してもよい。使用され得る賦形剤としては、デキストロース、ソルビトール、フルクトース、コーンシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、スクロース、または他の好適な薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。溶媒はまた、緩衝液、例えば、クエン酸塩、ナトリウム、もしくはリン酸カリウムまたは当業者に既知の他のかかる緩衝液、一実施形態では、約中性pHで含有してもよい。その後溶液を滅菌濾過し、続いて当業者にとって既知である標準的な条件下で凍結乾燥させることにより、所望の製剤が得られる。一実施形態では、結果として生じる溶液は、凍結乾燥のためにバイアルに分配されるであろう。各バイアルは、単回投与量または複数回投与量の化合物を含有するであろう。凍結乾燥は、適切な条件下、例えば約4～室温で保存することができる。凍結乾燥粉末の注射用水での再構成により、非経口投与に使用するための製剤が得られる。再構成のために、凍結乾燥粉末を滅菌水または他の好適な担体に添加する。正確な量は、選択される化合物に依存する。そのような量は、経験的に決定することができる。

20

30

## 【0177】

本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体および本明細書に提供される他の組成物はまた、治療される対象の身体の特定の組織、受容体、または他の領域を標的とするように配合され得る。多くのかかる標的方法は、当業者に周知である。全てのかかる標的方法は、本組成物で使用するために本明細書で企図される。標的方法の非限定例については、例えば、それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6,316,652号、同第6,274,552号、同第6,271,359号、同第6,253,872号、同第6,139,865号、同第6,131,570号、同第6,120,751号、同第6,071,495号、同第6,060,082号、同第6,048,736号、同第6,039,975号、同第6,004,534号、同第5,985,307号、同第5,972,366号、同第5,900,252号、同第5,840,674号、同第5,759,542号、および同第5,709,874号を参照されたい。具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、腫瘍を標的とする。

40

## 【0178】

50

インビボ投与に使用される組成物は、滅菌され得る。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。

【0179】

#### 5.4 使用方法および使用

別の態様では、本開示は、本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体を使用して対象を治療する方法を提供する。CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）機能の増加から利益を得るであろう対象の任意の疾患または障害は、本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体を使用して治療することができる。本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137）抗体は、腫瘍に対する免疫系の寛容性を阻害するのに特に有用であり、したがって、癌を有する対象のための免疫療法として使用することができる。例えば、ある特定の実施形態では、本開示は、対象における抗原に応答したT細胞活性化を増加させる方法であって、対象に有効量の本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、対象における癌を治療する方法であって、対象に有効量の本明細書に開示の抗体または薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。

10

【0180】

本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体または薬学的組成物を用いて治療することができる癌としては、限定されないが、固形腫瘍、血液癌（例えば、白血病、リンパ腫、例えば多発性骨髄腫などの骨髄腫）、および転移病巣が挙げられる。一実施形態では、癌は固形腫瘍である。固形腫瘍の例としては、悪性腫瘍、例えば肉腫および癌腫、例えば肺、乳房、卵巣、リンパ組織、胃腸（例えば、結腸）、肛門、性器、および泌尿生殖路（例えば、腎臓、尿路上皮、膀胱細胞、前立腺）、咽頭、CNS（例えば、脳、神経、またはグリア細胞）、頭頸部、皮膚（例えば、黒色腫）、および膵臓に影響を与えるものなど様々な器官系の腺癌、ならびに結腸癌、直腸癌、腎細胞癌腫、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌または小細胞肺癌）、小腸癌および食道癌などの悪性腫瘍を含む腺癌が挙げられる。癌は、早期、中期、末期、または転移性癌であり得る。

20

【0181】

一実施形態では、癌は、肺癌（例えば、肺腺癌または非小細胞肺癌（NSCLC）（例えば、扁平組織および/または非扁平組織を有するNSCLC、またはNSCLC腺癌腫））、黒色腫（例えば進行性黒色腫）、腎臓癌（例えば腎細胞癌腫）、肝臓癌（例えば肝細胞癌腫）、骨髄腫（例えば多発性骨髄腫）、前立腺癌、乳癌（例えば、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、またはHer2/neuのうちの1つ、2つ、または全てを発現しない乳癌、例えば、トリプルネガティブ乳癌）、卵巣癌、大腸癌、膵臓癌、頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平細胞癌腫（HNSCC）、肛門癌、胃食道癌（例えば、食道扁平細胞癌腫）、中皮腫、鼻咽頭癌、甲状腺癌、子宮頸癌、上皮癌、腹膜癌、またはリンパ増殖性疾患（例えば、移植後リンパ増殖性疾患）から選択される。具体的な一実施形態では、癌は、子宮頸癌である。

30

【0182】

一実施形態では、癌は、血液癌、例えば白血病、リンパ腫、または骨髄腫である。一実施形態では、癌は、白血病、例えば、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性骨髄芽球性白血病（AML）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性骨髄単球性白血病（CMML）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、または有毛細胞白血病である。一実施形態では、癌は、リンパ腫、例えば、B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、活性化B細胞様（ABC）びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、胚中心B細胞（GCB）びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、再発性非ホジキンリンパ腫、難治性非ホジキンリンパ腫、再発性

40

50

濾胞性非ホジキンリンパ腫、バーキットリンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、濾胞性リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、または節外性辺縁帯リンパ腫である。一実施形態では、癌は、骨髄腫、例えば多発性骨髄腫である。

【0183】

別の実施形態では、癌は、癌腫（例えば、進行性または転移性癌腫）、黒色腫、または肺癌腫、例えば非小細胞肺癌腫から選択される。

【0184】

一実施形態では、癌は、肺癌、例えば肺腺癌、非小細胞肺癌、または小細胞肺癌である。

【0185】

一実施形態では、癌は、黒色腫、例えば進行性黒色腫である。一実施形態では、癌は、進行性黒色腫、または他の治療に応答しない切除不能な黒色腫である。他の実施形態では、癌は、BRAF変異（例えば、BRAF V600変異）を有する黒色腫である。さらに他の実施形態では、本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体または薬学的組成物は、BRAF阻害剤（例えば、ベムラフェニブまたはダブラフェニブ）を含むかまたは含まない抗CTLA-4抗体（例えば、イピリムマブ）を用いた治療後に投与される。

10

【0186】

別の実施形態では、癌は、肝細胞癌腫、例えばウイルス感染を伴う例えば慢性ウイルス性肝炎か、または伴わない進行性肝細胞癌腫である。

【0187】

別の実施形態では、癌は、前立腺癌、例えば進行性前立腺癌である。

20

【0188】

さらに別の実施形態では、癌は、骨髄腫、例えば多発性骨髄腫である。

【0189】

さらに別の実施形態では、癌は、腎臓癌、例えば、腎細胞癌腫（RCC）（例えば、転移性RCC、淡明細胞腎細胞癌腫（CCRCC）、または腎臓乳頭状癌腫）である。

【0190】

さらに別の実施形態では、癌は、肺癌、黒色腫、腎臓癌、乳癌、大腸癌、白血病、または癌の転移病巣から選択される。

【0191】

ある特定の実施形態では、本開示は、対象の感染症を予防または治療する方法であって、対象に有効量の本明細書に開示の抗CD137（ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体、またはその薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。一実施形態では、感染症（例えば、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、原虫感染症、または寄生虫感染症）を予防および/または治療するための方法が本明細書に提供される。本方法に従って予防および/または治療された感染症は、本明細書に特定された感染性因子によって引き起こされ得る。具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその組成物は、対象に投与される唯一の活性薬剤である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CD137（ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその組成物は、感染症の治療のために、抗感染症介入物（例えば、抗ウイルス性、抗菌性、抗真菌性、または抗寄生虫性）と組み合わせて使用される。したがって、一実施形態では、本発明は、感染症を予防および/または治療する方法に使用するための本発明の抗体および/または薬学的組成物に関し、任意選択的に抗体または薬学的組成物が、対象に投与される唯一の活性薬剤であるか、または抗体もしくは薬学的組成物が、抗感染性介入物と組み合わせて使用される。

30

【0192】

本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体または薬学的組成物によって治療および/または予防され得る感染症は、細菌、寄生虫、真菌、原虫、およびウイルスを含むが、これらに限定されない、感染病原体によ

40

50

って引き起こされる。具体的な一実施形態では、本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体または薬学的組成物によって治療および/または予防される感染症は、ウイルスによって引き起こされる。本明細書に記載の方法に従って予防および/または治療され得るウイルス疾患またはウイルス感染としては、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、インフルエンザ（例えば、A型インフルエンザまたはB型インフルエンザ）、水痘、アデノウイルス、単純ヘルペスI型（HSV-I）、単純ヘルペスII型（HSV-II）、牛痘、ライノウイルス、エコーウイルス、ロタウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、パピローマウイルス、パポバウイルス、サイトメガロウイルス、エキノウイルス（echinovirus）、アルポウイルス、ハンタウイルス、コクサッキーウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ポリオウイルス、痘瘡、エプスタイン・バーウイルス、ヒト免疫不全ウイルスI型（HIV-I）、ヒト免疫不全ウイルスII型（HIV-II）によって引き起こされるもの、およびウイルス性髄膜炎、脳炎、デング熱、または痘瘡などのウイルス疾患の病原因子が挙げられるが、これらに限定されない。

10

#### 【0193】

予防および/または治療され得る細菌感染症としては、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Staphylococcus aureus*、*Enterococcus faecalis*、*Proteus vulgaris*、*Staphylococcus viridans*、および*Pseudomonas aeruginosa*によって引き起こされる感染症が挙げられる。本明細書に記載の方法に従って予防および/または治療され得る細菌（例えば、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Staphylococcus aureus*、*Enterococcus faecalis*、*Proteus vulgaris*、*Staphylococcus viridans*、および*Pseudomonas aeruginosa*）によって引き起こされる細菌性疾患としては、*Mycobacteria rickettsia*、*Mycoplasma*、*Neisseria*、*S. pneumoniae*、*Borrelia burgdorferi*（ライム病）、*Bacillus anthracis*（炭疽）、破傷風、*Streptococcus*、*Staphylococcus*、*mycobacterium*、百日咳、コレラ、ペスト、ジフテリア、クラミジア感染症、*S. aureus*、および*legionella*が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

#### 【0194】

本明細書に記載の方法に従って予防および/または治療され得る原虫によって引き起こされる原虫疾患または原虫感染症としては、リーシュマニア、コクシジウム症、トリパノソーマ住血吸虫属、またはマラリアが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載の方法に従って予防および/または治療され得る寄生虫によって引き起こされる寄生虫疾患または寄生虫感染症としては、クラミジア感染症およびリケッチアが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0195】

本明細書に記載の方法に従って予防および/または治療され得る真菌性疾患または真菌感染症としては、カンジダ感染症、接合菌症、カンジダ性髄膜炎、潜在性トリコスポロン血症を伴う進行性播種性トリコスポロン症、播種性カンジダ症、肺パラコクシジオイデス症、肺アスペルギルス症、ニューモシスチスカリニ肺炎、クリプトコッカス髄膜炎、コクシジオイデス髄膜脳炎、および脳脊髄脈管炎、アスペルギルスニガー感染症、フザリウム角膜炎、副鼻腔ミコース、アスペルギルス・フミガーツス心内膜炎、脛骨の軟骨発育不全症、カンジダグラブラタ腔炎、口腔咽頭カンジダ症、X連鎖慢性肉芽腫性疾患、足白癬、皮膚カンジダ症、真菌性胎盤炎、播種性トリコスポロン症、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、真菌性角膜炎、クリプトコックス・ネオフォルマンズ感染症、真菌性腹膜炎、クルブラリアゲニクラータ感染症、ブドウ球菌性眼内炎、スポロトリウム症、および皮膚糸状菌症が挙げられるが、これらに限定されない。

40

50

## 【0196】

ある特定の実施形態では、これらの方法は、対象に追加の治療薬を投与することをさらに含む。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、化学療法薬、放射線療法薬、またはチェックポイント標的薬である。ある特定の実施形態では、化学療法薬は、低メチル化剤（例えば、アザシチジン）である。ある特定の実施形態では、チェックポイント標的薬は、アンタゴニスト抗CTLA-4抗体、アンタゴニスト抗PD-L1抗体、アンタゴニスト抗PD-L2抗体、アンタゴニスト抗PD-1抗体、アンタゴニスト抗TIM-3抗体、アンタゴニスト抗LAG-3抗体、アンタゴニスト抗VISTA抗体、アンタゴニスト抗CD96抗体、アンタゴニスト抗CEACAM1抗体、抗体抗TIGIT抗体、アゴニスト抗GITR抗体、およびアゴニスト抗OX40抗体からなる群から選択される。

10

## 【0197】

一実施形態では、本発明は、本発明の方法に使用するための本発明の抗体および/または薬学的組成物に関し、方法が、対象に追加の治療薬を投与することをさらに含む。一実施形態では、本発明は、(a)本発明の抗体および/または薬学的組成物、ならびに(b)医薬品として使用するための追加の治療薬に関する。一実施形態では、本発明は、癌を治療するための方法に使用するための、(a)本発明の抗体および/または薬学的組成物、ならびに(b)追加の治療薬に関する。さらなる実施形態では、本発明は、(a)本発明の抗体、および/または薬学的組成物と、(b)追加の治療薬と、を含む薬学的組成物、キット、または部品キットに関する。一実施形態では、追加の治療薬は、化学療法薬、放射線療法薬、またはチェックポイント標的薬である。

20

## 【0198】

ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、本明細書に開示される方法において使用される。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ニボルマブ(BMS-936558またはMDX1106としても知られる、Bristol-Myers Squibbにより開発された)である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ペムブロリズマブ(ランプロリズマブまたはMK-3475としても知られる、Merck & Co.により開発された)である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ピディリズマブ(CT-011としても知られる、CureTechにより開発された)である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、MED10680(AMP-514としても知られる、Medimmuneにより開発された)である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Novartis Pharmaceuticalsにより開発されたPDR001である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Regeneron Pharmaceuticalsにより開発されたREGN2810である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Pfizerにより開発されたPF-06801591である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、BeiGeneにより開発されたBGB-A317である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、AnaptysBio and Tesaroにより開発されたTSR-042である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、Hengruiにより開発されたSHR-1210である。

30

## 【0199】

本明細書に開示の治療方法に使用され得る抗PD-1抗体のさらなる非限定的な例は、それらの全てが全ての目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、以下の特許および特許出願に開示されている：米国特許第6,808,710号、米国特許第7,332,582号、米国特許第7,488,802号、米国特許第8,008,449号、米国特許第8,114,845号、米国特許第8,168,757号、米国特許第8,354,509号、米国特許第8,686,119号、米国特許第8,735,553号、米国特許第8,747,847号、米国特許第8,779,105号、米国特許第8,927,697号、米国特許第8,993,731号、米国特許第9,102,727号、米国特許第9,205,148号、米国公開第2013/0202623A1号、米国公開第2013/0291136A1号、米国公開第2014/0044738A1号、米国公開第2014/0356363A1号、米国公開第2016/00757

40

50

83A1号、ならびにPCT公開第WO2013/033091A1号、PCT公開第WO2015/036394A1号、PCT公開第WO2014/179664A2号、PCT公開第WO2014/209804A1号、PCT公開第WO2014/206107A1号、PCT公開第WO2015/058573A1号、PCT公開第WO2015/085847A1号、PCT公開第WO2015/200119A1号、PCT公開第WO2016/015685A1号、およびPCT公開第WO2016/020856A1号。

#### 【0200】

ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、本明細書に開示される方法において使用される。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、Genentechによって開発されたアテゾリズマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、AstraZeneca、Celgene、およびMedimmuneによって開発されたデュルバルマブである。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、アベルマブ(MS B0010718Cとしても知られる、Merck SeronoおよびPfizerにより開発された)である。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、Bristol-Myers Squibbにより開発されたMDX-1105である。ある特定の実施形態では、抗PD-L1抗体は、AmplimmuneおよびGSKにより開発されたAMP-224である。

10

#### 【0201】

本明細書に開示の治療方法に使用され得る抗PD-L1抗体の非限定的な例は、それらの全てが、全ての目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、以下の特許および特許出願に開示されている：米国特許第7,943,743号、米国特許第8,168,179号、米国特許第8,217,149号、米国特許第8,552,154号、米国特許第8,779,108号、米国特許第8,981,063号、米国特許第9,175,082号、米国公開第2010/0203056A1号、米国公開第2003/0232323A1号、米国公開第2013/0323249A1号、米国公開第2014/0341917A1号、米国公開第2014/0044738A1号、米国公開第2015/0203580A1号、米国公開第2015/0225483A1号、米国公開第2015/0346208A1号、米国公開第2015/0355184A1号、ならびにPCT公開第WO2014/100079A1号、PCT公開第WO2014/022758A1号、PCT公開第WO2014/055897A2号、PCT公開第WO2015/061668A1号、PCT公開第WO2015/109124A1号、PCT公開第WO2015/195163A1号、PCT公開第WO2016/000619A1号、およびPCT公開第WO2016/030350A1号。

20

30

#### 【0202】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体は、IDO(インドールアミン-(2,3)-ジオキシゲナーゼ)および/またはTDO(トリプトファン2,3-ジオキシゲナーゼ)などの免疫調節酵素(複数可)を標的とする化合物と組み合わせて対象に投与される。したがって、一実施形態では、追加の治療薬は、インドールアミン-(2,3)-ジオキシゲナーゼ(IDO)の阻害剤などの免疫調節酵素(複数可)を標的とする化合物である。ある特定の実施形態では、そのような化合物は、epacadostat(Incyte Corp、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるWO2010/005958参照)、F001287(Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb)、indoximod(NewLink Genetics)、およびNLG919(NewLink Genetics)からなる群から選択される。一実施形態では、化合物は、エパカドスタットである。別の実施形態では、この化合物は、F001287である。別の実施形態では、化合物は、インドキシモドである。別の実施形態では、この化合物は、NLG919である。具体的な一実施形態では、本明細書に開示の抗CD137(例えば、ヒトCD137)抗体は、癌を治療するためのIDO阻

40

50

害剤と組み合わせて対象に投与される。癌治療において使用するための本明細書に記載の I D O 阻害剤は、錠剤、丸剤、またはカプセル剤などの薬学的組成物の固体剤形で存在し、この薬学的組成物は、I D O 阻害剤および薬学的に許容される賦形剤を含む。したがって、本明細書に記載の抗体および本明細書に記載の I D O 阻害剤は、別個に、順次に、または別個の剤形として同時に投与され得る。一実施形態では、抗体は、非経口投与され、I D O 阻害剤は、経口投与される。特定の実施形態では、阻害剤は、エパカドスタット (Incyte Corporation)、F 0 0 1 2 8 7 (Flexus Biosciences / Bristol-Myers Squibb)、インドキシモド (NewLink Genetics)、および N L G 9 1 9 (NewLink Genetics) からなる群から選択される。E p a c a d o s t a t は、全ての目的のために参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、P C T 公開第 W O 2 0 1 0 / 0 0 5 9 5 8 号に記載されている。一実施形態では、阻害剤は、エパカドスタットである。別の実施形態では、阻害剤は、F 0 0 1 2 8 7 である。別の実施形態では、阻害剤は、インドキシモドである。別の実施形態では、阻害剤は、N L G 9 1 9 である。

10

#### 【 0 2 0 3 】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗 C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7) 抗体は、ワクチンと組み合わせて対象に投与される。ワクチンは、例えば、ペプチドワクチン、DNA ワクチン、または RNA ワクチンであり得る。ある特定の実施形態では、ワクチンは、熱ショックタンパク質ベースの腫瘍ワクチンまたは熱ショックタンパク質ベースの病原体ワクチンである。具体的な一実施形態では、本明細書に開示の C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 またはカニクイザル C D 1 3 7) 抗体は、熱ショックタンパク質系腫瘍ワクチンと組み合わせて対象に投与される。熱ショックタンパク質 (H S P) は、全ての種にわたって遍見される高度に保存されたタンパク質のファミリーである。それらの発現は、熱ショック、または毒素への曝露、酸化的ストレス、もしくはグルコース除去を含む、他のストレス形態の結果としてさらにより高いレベルまで強力に誘導され得る。分子量により 5 つのファミリー: H S P - 1 1 0、- 9 0、- 7 0、- 6 0、および - 2 8 に分類されている。H S P は、T 細胞の活性化を引き起こす、マクロファージおよび樹状細胞 (D C) などの抗原を呈する細胞 (A P C) における交差呈示経路を通して、免疫原性ペプチドを送達する。H S P は、腫瘍特異的免疫を誘導することが可能な複合体を形成する腫瘍関連抗原ペプチドのシャペロン担体としての機能を果たす。瀕死の状態である腫瘍細胞からの放出時、H S P 抗原複合体は、抗原が抗腫瘍 C D 8 + および C D 4 + T 細胞の活性化を引き起こす M H C クラス I およびクラス II 分子に結合するペプチドへと処理される、抗原提示細胞 (A P C) によって取り込まれる。腫瘍調製物由来の H S P 複合体によって誘発される免疫は、各対象の癌によって発現される独自の抗原ペプチドレパートリーに対して特異的に指向される。したがって、一実施形態では、本発明は、例えば、癌を治療するための方法に使用するための医薬品として使用するための、( a ) 本発明の抗体および / または薬学的組成物、ならびに ( b ) ワクチンに関する。一実施形態では、本発明は、( a ) 本発明の抗体、および / または薬学的組成物と、( b ) ワクチンと、を含む薬学的組成物、キット、または部品キットに関する。一実施形態では、ワクチンは、熱ショックタンパク質系腫瘍ワクチンである。一実施形態では、ワクチンは、熱ショックタンパク質系病原体ワクチンである。ある特定の実施形態では、ワクチンは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、W O 2 0 1 6 / 1 8 3 4 8 6 に記載されている。

20

30

40

#### 【 0 2 0 4 】

熱ショックタンパク質ペプチド複合体 (H S P P C) は、抗原ペプチドと非共有結合的に複合体形成された熱ショックタンパク質からなるタンパク質ペプチド複合体である。H S P P C は、先天性免疫応答および適応性免疫応答の両方を誘発する。具体的な実施形態では、抗原ペプチド (複数可) は、治療される癌に対して抗原性を示す。H S P P C は、膜受容体 (主に C D 9 1) を介する A P C によってまたは T o l l 様受容体への結合によって効率よく獲得される。H S P P C の内在性は、ナチュラルキラー細胞 (N K)、単球

50



、ならびにTh1およびTh2媒介性免疫応答の活性化を引き起こすケモカインおよびサイトカイン産生によるAPCの機能的成熟をもたらす。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される方法で使用されるHSPPCは、抗原ペプチドと複合体形成されたストレスタンパク質のhsp60、hsp70、またはhsp90ファミリーからの1つ以上の熱ショックタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、HSPPCは、hsc70、hsp70、hsp90、hsp110、grp170、gp96、カルレティキュリン、またはそれらの2つ以上の組み合わせを含む。

#### 【0205】

具体的な実施形態では、熱ショックタンパク質ペプチド複合体(HSPPC)は、組み換え熱ショックタンパク質(例えば、hsp70またはhsc70)または組み換え抗原ペプチドと複合体形成されたそのペプチド結合ドメインを含む。組み換え熱ショックタンパク質は、例えば、Dworniczak and Mirault, *Nucleic Acids Res.* 15:5181-5197(1987)およびGenBank受入番号P11142および/またはY00371(その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)に記載のヒトhsc70配列を使用して、組み換えDNA技術により産生され得る。ある特定の実施形態では、Hsp70配列は、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、*Hunt and Morimoto Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82(19), 6455-6459(1985)、ならびにGenBank受入番号P0DMV8および/またはM11717に記載のとおりである。抗原ペプチドも当該技術分野で既知の組み換えDNA方法により調製され得る。

#### 【0206】

ある特定の実施形態では、抗原ペプチドは修飾されたアミノ酸を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたアミノ酸は、翻訳後修飾を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたアミノ酸は、翻訳後修飾の模倣物を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたアミノ酸は、側鎖ヒドロキシルまたはアミンでリン酸化されたTyr、Ser、Thr、Arg、Lys、またはHisである。ある特定の実施形態では、修飾されたアミノ酸は、側鎖ヒドロキシルまたはアミンでリン酸化されたTyr、Ser、Thr、Arg、Lys、またはHisアミノ酸の模倣物である。

#### 【0207】

具体的な一実施形態では、本明細書に開示の抗CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体は、癌を治療するために、熱ショックタンパク質ペプチド複合体(HSPPC)、例えば、熱ショックタンパク質ペプチド複合体-96(HSPPC-96)と組み合わせて対象に投与される。HSPPC-96は、抗原ペプチドと複合体形成された96kDa熱ショックタンパク質(Hsp)、gp96を含む。HSPPC-96は、対象の腫瘍から製作された癌免疫療法剤であり、癌の抗原性の「はっきりした特徴」を含む。ある特定の実施形態では、このはっきりした特徴は、その特定の対象の特異的癌細胞にのみ存在する独自の抗原を含有し、ワクチンの注射は、特異的な癌のはっきりした特徴を有するあらゆる細胞を認識し、攻撃するために、対象の免疫系を刺激するよう意図されている。したがって、一実施形態では、本発明は、医薬品として使用するためのおよび/または癌を治療するための方法に使用するための、熱ショックタンパク質ペプチド複合体(HSPPC)と組み合わせた、本発明の抗体および/または薬学的組成物に関する。

#### 【0208】

ある特定の実施形態では、HSPPC、例えば、HSPPC-96は、対象の腫瘍組織から産生される。具体的な実施形態では、HSPPC(例えば、HSPPC-96)は、治療される癌の種類、腫瘍またはその転移から産生される。別の具体的な実施形態では、HSPPC(例えば、HSPPC-96)は、治療される対象に対して自家性である。ある特定の実施形態では、腫瘍組織は、非壊死腫瘍組織である。ある特定の実施形態では、少なくとも1グラム(例えば、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、または

少なくとも10グラム)の非壊死腫瘍組織が、ワクチンレジメンを産生するために使用される。ある特定の実施形態では、外科的切除後、非壊死腫瘍組織は、ワクチン調製物で使用する前に冷凍される。ある特定の実施形態では、HSPPC、例えば、HSPPC-96は、精製技法によって腫瘍組織から単離され、濾過され、注射可能なワクチン用に調製される。ある特定の実施形態では、対象は、6~12用量のHSPPC、例えば、HSPCC-96を投与される。そのような実施形態では、HSPPC、例えば、HSPPC-96用量は、最初の4回の用量が週1回投与され得、次いで、2~8回の追加用量が週2回投与され得る。

#### 【0209】

本明細書に記載の方法に従って使用され得るHSPPCのさらなる例は、それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、以下の特許および特許出願：米国特許第6,391,306号、同第6,383,492号、同第6,403,095号、同第6,410,026号、同第6,436,404号、同第6,447,780号、同第6,447,781号、および同第6,610,659号に開示されている。

10

#### 【0210】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体は、アジュバントと組み合わせて対象に投与される。様々なアジュバントを、治療状況に応じて使用することができる。適切なアジュバントの非限定的な例としては、完全フロイントアジュバント(CFA)、不完全フロイントアジュバント(IFA)、モンタニドISA(不完全セピックアジュバント)、Ribiaアジュバント系(RAS)、Titer Max、ムラミルペプチド、シンテックスアジュバント製剤(SAF)、ミョウバン(水酸化アルミニウムおよび/またはリン酸アルミニウム)、アルミニウム塩アジュバント、Gerbu(登録商標)アジュバント、ニトロセルロース吸着抗原、被包性または封入抗原、3De-O-アシル化モノホスホリル脂質A(3D-MPL)、疫刺激性オリゴデオキシヌクレオチド、toll様受容体(TLR)リガンド、マンナン結合レクチン(MBL)リガンド、STINGアゴニスト、サポリンなどの免疫刺激複合体、QuilA、QS-21、QS-7、ISCOMATRIXなどが挙げられるが、これらに限定されない。他のアジュバントとしては、CpGオリゴヌクレオチドおよび二本鎖RNA分子、例えば、ポリ(A)およびポリ(U)が挙げられる。また、上記のアジュバントの組み合わせも使用してもよい。例えば、米国特許第6,645,495号、同第7,029,678号、および同第7,858,589号(それらの全ては参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。一実施形態では、本明細書で使用されるアジュバントはQS-21 STIMULONである。

20

30

#### 【0211】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体は、TCRを含む追加の治療薬と組み合わせて対象に投与される。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、可溶性TCRである。ある特定の実施形態では、追加の治療薬は、TCRを発現する細胞である。したがって、一実施形態では、本発明は、医薬品として使用するためのおよび/または癌を治療するための方法に使用するための、TCRを含む追加の治療薬と組み合わせた、本発明の抗体および/または薬学的組成物に関する。

40

#### 【0212】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体は、キメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞と組み合わせて対象に投与される。ある特定の実施形態では、この細胞は、T細胞である。

#### 【0213】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体は、TCR模倣抗体と組み合わせて対象に投与される。ある特定の実施形態では、TCR模倣抗体は、ペプチド-MHC複合体に特異的に結合する抗体である。TCR模倣抗体の非限定的な例は、例えば、それらの全てが、参照によ

50

りそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第9,074,000号、ならびに米国公開第2009/0304679A1号、および同第2014/0134191A1号を参照されたい。

【0214】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるWO2005/061547A2に記載の）二重特異T細胞誘導抗体（bispecific T-cell engager）（BiTE）、および/または（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるWO2012/162067A2に記載の）二重親和性再標的化抗体（DART）と組み合わせて対象に投与される。ある特定の実施形態では、BiTEおよび/またはDARTは、腫瘍関連抗原（例えば、腫瘍中で過剰発現したポリペプチド、腫瘍ウイルス由来のポリペプチド、腫瘍に特異的な翻訳後修飾を含むポリペプチド、腫瘍中で特異的に変異したポリペプチド）、およびエフェクター細胞上の分子（例えば、CD3またはCD16）に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、腫瘍関連抗原は、EGFR（例えば、ヒトEGFR）、Her2（例えば、ヒトHer2）、またはCD20（例えば、ヒトCD20）である。

10

【0215】

抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体および追加の治療薬（例えば、化学療法薬、放射線療法薬、チェックポイント標的薬、IDO阻害剤、ワクチン、アジュバント、可溶性TCR、TCRを発現する細胞、キメラ抗原受容体を発現する細胞、および/またはTCR模倣抗体）は、別々に、連続的に、または同時に別々の剤形として投与することができる。一実施形態では、抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、非経口投与され、IDO阻害剤は、経口投与される。

20

【0216】

本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、種々の経路によって対象に送達され得る。これらにとして、非経口、鼻腔内、気管内、経口、皮内、局所、筋肉内、腹腔内、経皮、静脈内、腫瘍内、結膜、動脈内、および皮下経路が挙げられるが、これらに限定されない。肺内投与は、例えば、吸入器または噴霧器、およびスプレー用としてエアロゾル化剤を含む製剤の使用によっても用いられ得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、皮下または静脈内送達される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、動脈内送達される。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、腫瘍内送達される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体または薬学的組成物は、腫瘍流入領域リンパ節に送達される。

30

【0217】

状態の治療および/または予防に有効である抗体または薬学的組成物の量は、疾患の性質に依存し、標準的な臨床技法によって決定され得る。

【0218】

組成物中で用いられるべき正確な用量は、投与経路、およびそれによって引き起こされる感染症または疾患の重症度にも依存し、臨床医の判断および各対象の状況に従って決定されるべきである。例えば、有効な用量はまた、投与手段、標的部、患者の生理的状態（年齢、体重、および健康を含む）、患者がヒトであるかまたは動物であるかということ、投与される他の薬品、または治療が予防的であるかまたは治療的であるかということによって異なってもよい。通常、患者は、ヒトであるが、トランスジェニック哺乳動物を含む非ヒト哺乳動物も治療することができる。治療投与量は、安全性および有効性を最適化するために最適に滴定される。

40

【0219】

本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体を使用して、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、免疫沈降、またはウェスタンブロット法などの免疫アッセイを含む、当業者に既知の従来の免疫組織学的方法を

50

使用して、生体試料中のCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）タンパク質レベルをアッセイすることもできる。好適な抗体アッセイ標識は、当該技術分野で既知であり、グルコース酸化酵素などの酵素標識、ヨウ素（ $^{125}\text{I}$ 、 $^{121}\text{I}$ ）、炭素（ $^{14}\text{C}$ ）、硫黄（ $^{35}\text{S}$ ）、トリチウム（ $^3\text{H}$ ）、インジウム（ $^{121}\text{In}$ ）、およびテクネチウム（ $^{99}\text{Tc}$ ）などの放射性アイソトープ、ルミノールなどの発光標識、ならびにフルオレセインおよびローダミン、およびビオチンなどの蛍光標識が挙げられる。そのような標識を使用して、本明細書に記載の抗体を標識することができる。あるいは、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体を認識する第2の抗体を標識して、これを抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体と組み合わせて使用して、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）タンパク質レベルを検出することができる。したがって、一実施形態では、本発明は、生体試料中のCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）タンパク質をインビトロで検出するための、本発明の抗体の使用に関する。さらなる実施形態では、本発明は、インビトロでの生体試料中のCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）タンパク質レベルをアッセイおよび/または検出するための、本発明の抗CD137抗体の使用に関し、任意選択的に抗CD137抗体が、放射性核種もしくは検出可能な標識に共役され、かつ/または本明細書に記載の標識を担持し、かつ/または免疫組織学的方法が使用される。

10

#### 【0220】

20

CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）タンパク質の発現レベルをアッセイすることは、直接的に（例えば、絶対的なタンパク質レベルを決定または推定することによって）、または相対的に（例えば、第2の生体試料中の疾患関連タンパク質レベルと比較することによって）のいずれかで、第1の生体試料中のCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）タンパク質のレベルを定性的または定量的に測定または推定することを含むことが意図されている。第1の生体試料中のCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）ポリペプチド発現レベルを測定または推定し、標準的なCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）タンパク質レベルと比較することができ、この標準物は、例えば、障害を有しない個体から得た第2の生体試料から採取されるか、または障害を有しない個体の集団からのレベルを平均することによって決定される。当該技術分野で理解されるであろうように、「標準的な」CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）ポリペプチドレベルを知れば、それを比較のための標準物として繰り返し使用することができる。したがって、さらなる実施形態では、本発明は、生体試料中のCD137タンパク質の、例えばヒトCD137タンパク質のレベルを免疫組織学的方法によって定性的または定量的に測定または推定することを含む、生体試料中のCD137タンパク質レベル、例えばヒトCD137タンパク質レベルをアッセイおよび/または検出するための、インビトロ法に関する。

30

#### 【0221】

本明細書で使用される場合、「生体試料」という用語は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）を潜在的に発現する、対象から得られた任意の生体試料、細胞株、組織、または他の細胞源を指す。動物（例えば、ヒトまたはカニクイザル）からの組織生検および体液を得るための方法は、当該技術分野で周知である。生体試料は、末梢血単核細胞を含む。

40

#### 【0222】

本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、当業者に周知かつ標準的であり、本説明に基づいたインビトロおよびインビボでの適用を含む、予後的監視、診断的監視、およびスクリーニング用途に使用することができる。免疫系状態および/または免疫応答のインビトロ査定および評価のための予後的、診断的、監視、およびスクリーニングアッセイおよびキットを利用して、免疫系機能不

50

全を有することが知られているか、もしくは疑われるものを含む患者試料、または所望の免疫系応答に関して抗原応答もしくはワクチン応答を評価するために、予測、診断、および監視することができる。免疫系状態および/または免疫応答の査定および評価はまた、異なる薬剤または抗体に対する、薬物の臨床試験への、または特定の化学療法薬、放射線療法薬、もしくは抗体（それらの組み合わせを含む）の投与への患者の適合性を決定するのに有用である。この種類の予後的監視および診断的監視ならびに査定は、乳癌におけるHER2タンパク質（Herceptest（商標）、Dako）に対する抗体を利用して既に実際に使用されており、このアッセイはまた、Herceptin（登録商標）を使用する抗体治療のために患者を評価するのに使用されている。インビボ用途には、指向性細胞療法および免疫系調節、ならびに免疫応答の放射線撮像が含まれる。したがって、一実施形態では、本発明は、本発明の抗CD137抗体および/または薬学的組成物の診断的使用に関する。一実施形態では、本発明は、免疫系機能不全を有するか有すると疑われ、かつ/あるいは期待されるかまたは所望の免疫系応答、抗原応答、またはワクチン応答に関して、対象を予測、診断、および/もしくは監視するための方法に使用するための、本発明の抗CD137抗体および/または薬学的組成物に関する。別の実施形態では、本発明は、免疫系機能不全を有するか有すると疑われ、かつ/あるいは期待されるかまたは所望の免疫系応答、抗原応答、もしくはワクチン応答に関して、インビトロでの対象の生体試料中のヒトCD137タンパク質レベルをアッセイおよび/または検出することによって、対象を予測、診断、および/または監視するための方法に使用するための、本発明の抗CD137抗体の使用に関する。

#### 【0223】

一実施形態では、抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、生検試料を免疫組織学的に使用することができる。一実施形態では、方法は、インビトロ法である。別の実施形態では、抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体を使用して、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）のレベル、または細胞膜表面上にCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）を含有する細胞のレベル、次いである特定の疾患症状に関連し得るそれらのレベルを検出することができる。本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、検出可能な標識または機能的標識を担持してもよく、かつ/あるいは、放射性核種または検出可能な標識に共役されていてもよい。蛍光標識が使用される場合、現在入手可能な顕微鏡および蛍光活性化細胞分取装置分析（FACS）または当該技術分野において既知である方法手順の両方の組み合わせを利用して、特異的結合メンバーを特定および定量化することができる。本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、蛍光標識を担持しても、これに共役されていてもよい。例示的な蛍光標識としては、例えば、反応性およびコンジュゲートプローブ、例えば、アミノクマリン、フルオレセイン、およびテキサスレッド、Alexa Fluor色素、Cy色素およびDyLight色素が挙げられる。抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体は、アイソトープ<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>36</sup>Cl、<sup>51</sup>Cr、<sup>57</sup>Co、<sup>58</sup>Co、<sup>59</sup>Fe、<sup>67</sup>Cu、<sup>90</sup>Y、<sup>99</sup>Tc、<sup>111</sup>In、<sup>117</sup>Lu、<sup>121</sup>I、<sup>124</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>198</sup>Au、<sup>211</sup>At、<sup>213</sup>Bi、<sup>225</sup>Acおよび<sup>186</sup>Reなどの放射性標識または放射性核種を担持しても、これに共役されていてもよい。放射性標識が使用されるとき、当該技術分野で既知の現在利用可能な計数手順を利用して、抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体のCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）への特異的結合を特定および定量化してもよい。標識が酵素である場合には、検出は、当該技術分野において既知である現在利用される比色分析法、分光光度法、蛍光分光光度法、電流測定技法、または気体定量技術のいずれかによって達成され得る。これは、抗体とCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）との間の複合体の形成を可能にする条件下で、試料または対照試料を抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイ

10

20

30

40

50

ザルCD137)抗体と接触させることによって、達成することができる。抗体とCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)との間に形成される任意の複合体は、試料および対照で検出され、比較される。CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)への本明細書に記載の抗体の特異的結合を考慮して、細胞表面上のCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)発現を特異的に検出するために抗体を使用することができる。また、本明細書に記載の抗体を使用して、免疫親和性精製を介してCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)を精製することもできる。例えばCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)、またはCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)/CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)リガンド複合体の存在の範囲を定量的に分析するための試験キット、またはキット部品の形態で調製され得るアッセイシステムもまた本明細書に含まれる。システム、試験キット、またはキット部品は、標識構成成分、例えば、標識抗体と、1つ以上の追加の免疫化学試薬とを含み得る。

10

#### 【0224】

#### 5.5 抗CD137抗体を産生するポリヌクレオチド、ベクター、および方法

別の態様では、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗原に特異的に結合する本明細書に記載の抗体またはその断片(例えば、軽鎖可変領域および/または重鎖可変領域)をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、ならびにベクター、例えば、宿主細胞(例えば、E.coliおよび哺乳類細胞)内での組み換え発現のためのそのようなポリヌクレオチドを含むベクターが本明細書に提供される。本明細書に提供される抗体のうちのいずれかの重鎖および/または軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、ならびにそのようなポリヌクレオチド配列を含むベクター、例えば、宿主細胞、例えば、哺乳類細胞においてそれらを効率的に発現するための発現ベクターが本明細書に提供される。

20

#### 【0225】

本明細書で使用される場合、「単離された」ポリヌクレオチドまたは核酸分子は、核酸分子の天然源(例えば、マウスまたはヒト)に存在する他の核酸分子から分離されたものである。さらに、cDNA分子などの「単離された」核酸分子は、組み換え技法によって産生されるとき、他の細胞材料または培養培地を実質的に含み得ないか、または化学的に合成されるとき、化学的前駆体もしくは他の化学物質を実質的に含み得ない。例えば、「実質的に含まない」という用語は、約15%、10%、5%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満(特に約10%未満)の他の物質、例えば、細胞材料、培養培地、他の核酸分子、化学的前駆体、および/または他の化学物質を有するポリヌクレオチドまたは核酸分子の調製物を含む。具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体をコードする核酸分子(複数可)は、単離または精製される。

30

#### 【0226】

特定の態様では、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)ポリペプチドに特異的に結合し、本明細書に記載のアミノ酸配列、ならびにCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)ポリペプチドへの結合についてそのような抗体と(例えば、用量依存的様式で)競合するか、またはそのような抗体のものと同じエピトープに結合する、抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に提供される。

40

#### 【0227】

ある特定の態様では、本明細書に記載の抗体の軽鎖または重鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが本明細書に提供される。ポリヌクレオチドは、本明細書に記載の抗体のVLFRおよびCDRを含む軽鎖をコードするヌクレオチド配列(例えば表1参照)、または本明細書に記載の抗体のVHFRおよびCDRを含む重鎖をコードするヌクレオチド配列(例えば表1参照)を含み得る。

#### 【0228】

50

例えば、コドン/RNA最適化、異種シグナル配列での置換、およびmRNA不安定性要素の排除によって最適化された抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体をコードするポリヌクレオチドもまた本明細書に提供される。したがって、mRNAにおいてコドン変化を導入することおよび/または阻害領域を排除することによって、組み換え発現のための抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその断片（例えば、軽鎖、重鎖、VH領域、またはVL領域）をコードする最適化された核酸を生成する方法は、例えば、それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第5,965,726号、同第6,174,666号、同第6,291,664号、同第6,414,132号、および同第6,794,498号に記載の最適化方法を適応することによって実行することができる。例えば、RNA内の潜在的なスプライス部位および不安定性要素（例えば、A/TまたはA/Uの豊富な要素）は、組み換え発現のためのRNAの安定性を増加させるために核酸配列によってコードされるアミノ酸を改変させずに変異することができる。改変は、例えば、同一のアミノ酸についての代替的なコドンを使用して、遺伝子コードの縮重を利用する。ある特定の実施形態では、1つ以上のコドンを改変して、保存的変異、例えば元のアミノ酸と同様の化学構造ならびに特性および/または機能を有する同様のアミノ酸をコードすることが望ましい場合がある。そのような方法は、抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその断片の発現を、最適化されていないポリヌクレオチドによってコードされる抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体の発現と比較して、少なくとも1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍以上増加させることができる。

#### 【0229】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその断片（例えば、VLDメインおよび/またはVHドメイン）をコードする最適化されているポリヌクレオチド配列は、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその断片（例えば、VLDメインおよび/またはVHドメイン）をコードする最適化されていないポリヌクレオチド配列のアンチセンス（例えば相補的）ポリヌクレオチドにハイブリダイズすることができる。具体的な実施形態では、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体または断片をコードする最適化されているヌクレオチド配列は、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその断片をコードする最適化されていないポリヌクレオチド配列のアンチセンスポリヌクレオチドに高厳密性条件下でハイブリダイズする。具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその断片をコードする最適化されているヌクレオチド配列は、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体またはその断片をコードする最適化されていないポリヌクレオチド配列のアンチセンスポリヌクレオチドに高厳密性、中厳密性、または低厳密性ハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする。ハイブリダイゼーション条件に関する情報は記載されており、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2005/0048549号（例えば、段落72~73）を参照されたい。

#### 【0230】

当該技術分野で既知の任意の方法によって、ポリヌクレオチドが得られ、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が決定され得る。本明細書に記載の抗体、例えば、表1に記載の抗体およびこれらの抗体の修飾バージョンをコードするヌクレオチド配列は、当該技術分野において周知である方法を使用して決定することができ、すなわち、特定のアミノ酸をコードすることが知られているヌクレオチドコドンは、その抗体をコードする核酸を生成するような方法でアセンブリされる。抗体をコードするそのようなポリヌクレオチドは、

化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから組み立てることができ（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Kutmeier G et al., (1994)、BioTechniques 17: 242-6に記載）、これは、要するに、抗体をコードする配列の部分を含むオリゴヌクレオチドの重複、それらのオリゴヌクレオチドのアニーリングおよび連結、ならびに次いでPCRによって連結されたオリゴヌクレオチドの増幅による合成に関与する。

#### 【0231】

あるいは、本明細書に記載の抗体をコードするポリヌクレオチドは、当該技術分野で周知の方法（例えば、PCRおよび他の分子クローニング方法）を使用して、好適な供給源（例えば、ハイブリドーマ）由来の核酸から生成してもよい。例えば、既知の配列の3'および5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用したPCR増幅は、対象となる抗体を産生するハイブリドーマ細胞から得られるゲノムDNAを使用して実行され得る。そのようなPCR増幅方法を使用して、抗体の軽鎖および/または重鎖をコードする配列を含む核酸を得ることができる。そのようなPCR増幅方法を使用して、抗体の変軽鎖領域および/または可変重鎖領域をコードする配列を含む核酸を得ることができる。宿主細胞内での発現および更なるクローニングのために、増幅核酸をベクターにクローニングして、例えば、キメラ抗体およびヒト化抗体を生成することができる。

#### 【0232】

特定の抗体をコードする核酸を含むクローンは入手不可能であるが、その抗体分子の配列が既知である場合、免疫グロブリンをコードする核酸を化学的に合成するか、あるいは好適な供給源（例えば、抗体cDNAライブラリ、または抗体を発現する任意の組織もしくは細胞（本明細書に記載の抗体を発現するように選択されたハイブリドーマ細胞など）から生成されたcDNAライブラリ、またはそれから単離された核酸、好ましくはポリA+RNA）から、例えば、抗体をコードするcDNAライブラリ由来のcDNAクローンを特定するために、その配列の3'および5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用したPCR増幅によって、またはその特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用したクローニングによってまたは得ることができる。その後、PCRによって生成された増幅核酸は、当該技術分野において周知である任意の方法を使用して、複製可能なクローニングベクターにクローニングされ得る。

#### 【0233】

本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体をコードするDNAは、（例えば、抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体）の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することが可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用することによる）従来の手順を使用して、容易に単離および配列決定することができる。ハイブリドーマ細胞は、そのようなDNAの供給源として機能し得る。単離され次第、DNAを発現ベクター中に置き、次いで、これを、E. coli細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（例えば、CHO GS System（商標）（Lonza）からのCHO細胞）、または免疫グロブリンタンパク質を産生しない骨髄腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトさせて、組み換え宿主細胞中で抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体の合成を得ることができる。

#### 【0234】

全抗体を生成するために、VHまたはVLヌクレオチド配列、制限部位、および制限部位を保護するための隣接配列を含むPCRプライマーを使用して、scFvクローンのVHまたはVL配列を増幅することができる。当業者にとって既知であるクローニング技術を利用して、PCR増幅VHドメインは、重鎖定常領域、例えば、ヒトガンマ4定常領域を発現するベクターにクローニングすることができ、PCR増幅VLドメインは、軽鎖定常領域、例えば、ヒトカッパまたはラムダ定常領域を発現するベクターにクローニングすることができる。ある特定の実施形態では、VHまたはVLドメインを発現させるためのベクターは、EF-1プロモーター、分泌シグナル、可変領域に対するクローニング部

10

20

30

40

50



位、定常ドメイン、および選択マーカ（ネオマイシンなど）を含む。VHおよびVLドメインはまた、必要な定常領域を発現する1つのベクターにクローニングすることもできる。その後、重鎖変換ベクターおよび軽鎖変換ベクターは、当業者に既知の技術を使用して、完全長抗体、例えば、IgGを発現する、安定した細胞株または一過性型細胞株を生成するように細胞株に同時トランスフェクトされる。

【0235】

例えば、マウス配列に代わってヒト重鎖および軽鎖定常ドメインのコード配列を置換することによって、また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てまたは一部を共有結合させることによって、DNAを修飾することもできる。

【0236】

本明細書に記載の抗体をコードするポリヌクレオチドに高厳密性、中厳密性、または低厳密性ハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドもまた提供される。具体的な実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドは、本明細書に提供されるVHドメインおよび/またはVLドメインをコードするポリヌクレオチドに高厳密性、中厳密性、または低厳密性ハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする。

【0237】

ハイブリダイゼーション条件は、当該技術分野に記載されており、当業者に既知である。例えば、ストリンジェント条件下でのハイブリダイゼーションは、約45で6×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中でのフィルター結合DNAとのハイブリダイゼーション、続いて、約50~65で0.2×SSC/0.1%SDS中の1回以上の洗淨に

関与し得、高ストリンジェント条件下でのハイブリダイゼーションは、約45で6×SSC中でのフィルター結合核酸とのハイブリダイゼーション、続いて、約68

で0.1×SSC/0.2%SDS中の1回以上の洗淨に関与し得る。他のストリンジェントハイブリダイゼーション条件下でのハイブリダイゼーションは、当業者に既知であり、記載されており、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Ausubel

et al., eds., (1989) Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., New York at pages 6.3.1-6.3.6 and 2.10.3

を参照されたい。

【0238】

ある特定の態様では、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）および関連するポリヌクレオチド、ならびに発現ベクターに特異的に結合する、本明細書に記載の抗体を（例えば、組み換えによって）発現する細胞（例えば、宿主細胞）が本明細書に提供される。宿主細胞、好ましくは哺乳類細胞（例えばCHO細胞）内での

組み換え発現のための抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体または断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含むベクター（例えば、発現ベクター）が本明細書に提供される。本明細書に記載の抗CD137

（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体（例えばヒトまたはヒト化抗体）を組み換え発現させるためのそのようなベクターを含む宿主細胞もまた本明細書に提供される。特定の態様では、本明細書に記載の抗体を産生するための方法であって、

宿主細胞からそのような抗体を発現させることを含む、方法が本明細書に提供される。

【0239】

CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体（例えば、本明細書に記載の完全長抗体、抗体の重鎖および/もしくは軽鎖、または一本鎖抗体）の組み換え発現は一般に、その抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築に関与する。本明細書に記載の抗体分子をコードするポリヌクレオチド、抗体の重鎖および/もしくは軽鎖、またはその断片（例えば、重鎖および/もしくは軽鎖可変領域）が得られた後、抗体分子の産生のためのベクター

10

20

30

40

50

が、当該技術分野において周知である技術を使用して組み換えDNA技術によって産生され得る。したがって、ヌクレオチド配列をコードする抗体または抗体断片（例えば、軽鎖または重鎖）を含有するポリヌクレオチドを発現させることによって、タンパク質を調製するための方法が本明細書に記載されている。当業者にとって周知である方法を使用して、配列をコードする抗体または抗体断片（例えば、軽鎖もしくは重鎖）ならびに適切な転写および翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方法としては、例えば、インピトロ組み換えDNA技法、合成技法、およびインピボ遺伝子組み換えが挙げられる。プロモーターに作動可能に結合された、本明細書に記載の抗体分子、抗体の重鎖もしくは軽鎖、抗体もしくはその断片の重鎖もしくは軽鎖可変領域、または重鎖もしくは軽鎖CDRをコードするヌクレオチド配列を含む、複製可能なベクターもまた提供される。そのようなベクターは、例えば、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列（例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO86/05807号、および同第WO89/01036号、ならびに米国特許第5,122,464号参照）を挙げることができ、抗体の可変領域は、重鎖全体、軽鎖全体、または重鎖全体および軽鎖全体の両方の発現のためのそのようなベクターにクローニングすることができる。

10

#### 【0240】

発現ベクターは、従来技法によって細胞（例えば、宿主細胞）に導入されてもよく、次いで得られる細胞を従来技法によって培養して、本明細書に記載の抗体またはその断片を産生することができる。したがって、宿主細胞内でのそのような配列の発現のためにプロモーターに作動可能に結合された、本明細書に記載の抗体もしくはその断片、あるいはその重鎖もしくは軽鎖またはその断片、あるいは本明細書に記載の一本鎖抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する、宿主細胞が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、二本鎖抗体の発現のために、重鎖および軽鎖の両方をコードするベクターを宿主細胞内で同時発現させて、個別に、以下に詳述される全免疫グロブリン分子の発現させることができる。ある特定の実施形態では、宿主細胞は、本明細書に記載の抗体、またはその断片の重鎖および軽鎖の両方をコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含有する。具体的な実施形態では、宿主細胞は、2つの異なるベクターを含有し、第1のベクターは、本明細書に記載の抗体またはその断片の重鎖または重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含み、第2のベクターは、本明細書に記載の抗体またはその断片の軽鎖または軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む。他の実施形態では、第1の宿主細胞は、本明細書に記載の抗体またはその断片の重鎖または重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第1のベクターを含み、第2の宿主細胞は、本明細書に記載の抗体またはその断片の軽鎖または軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第2のベクターを含む。具体的な実施形態では、重鎖/重鎖可変領域は、第2の細胞の軽鎖/軽鎖可変領域と会合した第1の細胞によって発現して、本明細書に記載の抗CD137（ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体を形成した。ある特定の実施形態では、そのような第1の宿主細胞およびそのような第2の宿主細胞を含む宿主細胞の集団が本明細書に提供される。

20

30

#### 【0241】

特定の実施形態で、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体の軽鎖/軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第1のベクターと、本明細書に記載の抗CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗体の重鎖/重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第2のベクターと、を含む、ベクターの集団が本明細書に提供される。

40

#### 【0242】

種々の宿主-発現ベクター系を利用して、本明細書に記載の抗体分子を発現することができる（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第5,807,715号を参照されたい）。そのような宿主発現系は、対象となるコード配列を産生およびその後精製することができるビヒクルであるが、適切なヌクレオチドコード配列で形

50

質転換またはトランスフェクトされた場合に、原位置で本明細書に記載の抗体分子を発現し得る細胞でもある。これらには、抗体コード配列を含有する組み換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNA、もしくはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物（例えば、*E. coli*および*B. subtilis*）；抗体コード配列を含有する組み換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、*Saccharomyces Pichia*）；抗体コード配列を含有する組み換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；抗体コード配列を含有する組み換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス（CaMV）、タバコモザイクウイルス（TMV））に感染しているか、もしくは組み換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換された植物細胞系（例えば、*Chlamydomonas reinhardtii*などの緑藻類）；または哺乳類細胞のゲノム由来のプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）もしくは哺乳動物ウイルス由来のプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター、ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）を含有する組み換え発現構築物を有する哺乳類細胞系（例えば、COS（例えば、COS1もしくはCOS）、CHO、BHK、MDCK、HEK293、NS0、PER.C6、VERO、CRL7030、HsS78Bst、HeLa、およびNIH3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、およびBMT10細胞）が含まれるが、これらに限定されない。具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体を発現するための細胞は、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、例えば、CHO GS System（商標）（Lonza）からのCHO細胞である。ある特定の実施形態では、CHO細胞によって産生された抗体の重鎖および/または軽鎖は、N末端グルタミンまたはピログルタミン酸によって置換されたグルタミン酸残基を有し得る。特定の一実施形態では、本明細書に記載の抗体を発現させるための細胞は、ヒト細胞、例えば、ヒト細胞株である。具体的な実施形態では、哺乳類発現ベクターは、pOptiVEC（商標）またはpcDNA3.3である。特定の一実施形態では、*Escherichia coli*などの細菌細胞、または特に全組み換え抗体分子の発現のための真核細胞（例えば、哺乳類細胞）が、組み換え抗体分子の発現に使用される。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要な中間初期遺伝子プロモーターエレメントなどのベクターと組み合わせたCHO細胞などの哺乳類細胞は、抗体の効果的な発現系である（Foecking MK&Hofstetter H（1986）Gene 45：101-5、およびCockett MI et al.,（1990）Biotechnology 8（7）：662-7、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、CHO細胞またはNS0細胞によって産生される。具体的な一実施形態では、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する本明細書に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列の発現は、構成的プロモーター、誘導性プロモーター、または組織特異的プロモーターにより調節されている。

#### 【0243】

細菌系では、抗体分子を発現させることを意図した使用に応じて、多くの発現ベクターを有利に選択することができる。例えば、抗体分子の薬学的組成物の生成のために、大量のそのような抗体が産生される場合、容易に精製される高レベルの融合タンパク質産物の発現を指向するベクターが望ましくあり得る。そのようなベクターとしては、限定されないが、*E. coli*発現ベクターpUR278（Ruether U&Mueller-Hill B（1983）EMBO J2：1791-1794）が挙げられ、これは、融合タンパク質が産生されるように、配列をコードする抗体が、lacZをコードする領域を有するフレームのベクターに個々に連結することができる（pIN vectors（Inouye S&Inouye M（1985）Nuc Acids Res 13：3101-3109、Van Heeke G&Schuster SM（1989）J Biol Chem 24：5503-5509）など、それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。例えば、pGEXベクターはまた、グルタチオ

10

20

30

40

50

ン5 - トランスフェラーゼ (G S T) との融合タンパク質として外来性ポリペプチドを発現するために使用することもできる。一般に、そのような融合タンパク質は、可溶性であり、マトリックスグルタチオンアガロースビーズへの吸着および結合、続いて遊離グルタチオンの存在下での溶出により、溶解した細胞から容易に精製することができる。p G E X ベクターは、クローニングされた標的遺伝子産物が G S T 部分から放出され得るように、トロンピンまたは X a 因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計されている。

#### 【0244】

昆虫系では、例えば、*Autographa californica* 核多角体病ウイルス (A c N P V) が、外来遺伝子を発現するためのベクターとして使用することができる。ウイルスは、*Spodoptera frugiperda* 細胞中で成長する。抗体コード配列は、ウイルスの非必須領域 (例えば、ポリヘドリン遺伝子) 内に個々にクローニングされ、A c N P V プロモーター (例えば、ポリヘドリンプロモーター) の制御下に置かれ得る。

10

#### 【0245】

哺乳類宿主細胞では、いくつかのウイルスベースの発現系を利用することができる。アデノウイルスが発現ベクターとして使用される場合、対象となる抗体コード配列は、アデノウイルス転写 / 翻訳制御複合体、例えば、後期プロモーターおよび三者間リーダー配列に連結され得る。次いで、このキメラ遺伝子は、インビトロまたはインビボ組み換えによってアデノウイルスゲノムに挿入され得る。ウイルスゲノムの非必須領域 (例えば、領域 E 1 または E 3) 中への挿入により、感染した宿主内で生存可能であり、抗体分子を発現することが可能な組み換えウイルスが得られるであろう (例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81 (12) : 3655 - 9 を参照されたい)。特異的開始シグナルはまた、挿入された抗体コード配列の効率的な翻訳に必要とされ得る。これらのシグナルは、A T G 開始コドンおよび隣接配列を含む。さらに、開始コドンは、全挿入の翻訳を確実にするように、所望のコード配列のリーディングフレームと一致しなければならない。これらの外因性の翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、天然および合成の両方の、種々の起源のものであり得る。発現の効率は、適切な転写エンハンサー要素、転写ターミネーターなどの包含によって向上することができる (例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Bitter G et al., (1987) Methods Enzymol. 153 : 516 - 544 を参照されたい)。

20

30

#### 【0246】

加えて、挿入された配列の発現を調節するか、または所望の特異的な形で遺伝子産物を修飾およびプロセッシングする宿主細胞株を選択することができる。タンパク質産物のそのような修飾 (例えば、グリコシル化) およびプロセッシング (例えば、切断) は、タンパク質の機能に重要であり得る。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の翻訳後のプロセッシングおよび修飾に対する独特かつ特異的な機構を有する。適切な細胞株または宿主系を、発現した外来タンパク質の正しい修飾およびプロセッシングを確実にするために選択することができる。この目的を達成するために、遺伝子産物の一次転写物の適当なプロセッシング、グリコシル化、およびリン酸化のための細胞の機構を有する真核生物の宿主細胞を使用することができる。そのような哺乳類宿主細胞としては、C H O、V E R O、B H K、H e l a、M D C K、H E K 2 9 3、N I H 3 T 3、W 1 3 8、B T 4 8 3、H s 5 7 8 T、H T B 2、B T 2 O、および T 4 7 D、N S 0 (任意の免疫グロブリン鎖を内因的に産生しないマウス骨髄腫細胞株)、C R L 7 O 3 O、C O S (例えば、C O S 1 または C O S)、P E R . C 6、V E R O、H s S 7 8 B s t、H E K - 2 9 3 T、H e p G 2、S P 2 1 0、R 1 . 1、B - W、L - M、B S C 1、B S C 4 0、Y B / 2 0、B M T 1 0、および H s S 7 8 B s t 細胞が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 C D 1 3 7 (例えば、ヒト C D 1 3 7 または カニクイザル C D 1 3 7) 抗体は、C H O 細胞などの哺乳類細胞で産生される。

40

#### 【0247】

50

具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、フコース含有量が低減しているか、または一切のフコース含有量を有しない。そのような抗体は、当業者にとって既知である技法を使用して産生され得る。例えば、抗体は、フコシル化の能力が欠損または欠如している細胞内で発現され得る。具体的な一例では、1,6-フコシルトランスフェラーゼの両方の対立遺伝子のノックアウトを有する細胞株は、低減したフコース含量を有する抗体を産生するために使用することができる。Potelligent (登録商標)系(Lonza)は、フコース含量が低減された抗体を産生するために使用することができるような系の一例である。

#### 【0248】

組み換えタンパク質の長期的で高収率な産生では、安定した発現細胞を生成することができる。例えば、本明細書に記載の抗CD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体を安定的に発現する細胞株を操作することができる。具体的な実施形態では、本明細書に提供される細胞は、会合して本明細書に記載の抗体を形成する軽鎖/軽鎖可変領域および重鎖/重鎖可変領域を安定的に発現する。

10

#### 【0249】

ある特定の態様では、ウイルスの複製起源を含有する発現ベクターを使用するよりもむしろ、宿主細胞を、適切な発現制御要素 (例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など) によって制御されたDNA、および選択可能なマーカーで形質転換することができる。外来DNA/ポリヌクレオチドの導入後、操作された細胞は、濃縮培養培地中で1~2日間成長させることができ、次いで選択培地に交換される。組み換えプラスミド内の選択可能なマーカーは、選択への耐性を付与し、細胞が、その染色体中にプラスミドを安定して組み込み、焦点 (これは、次にクローニングし、細胞株に拡大することができる) を形成するように成長することを可能にする。この方法を有利に使用して、本明細書に記載の抗CD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体またはその断片を発現する細胞株を操作することができる。そのような操作された細胞株は、抗体分子と直接的または間接的に相互作用する組成物のスクリーニングおよび評価において特に有用であり得る。

20

#### 【0250】

限定されないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (Wigler M et al., (1977) Cell 11(1): 223-32)、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034)、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Lowy I et al., (1980) Cell 22(3): 817-23) tk-, hgprt-またはaprt-細胞中のそれぞれの遺伝子を含む、多数の系を選択して使用することができ、それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。また、代謝拮抗物質耐性を、以下の遺伝子の選択の基準として使用することができる: メトトレキサートへの耐性を与えるdhfr (Wigler M et al., (1980) PNAS 77(6): 3567-70、O'Hare K et al., (1981) PNAS 78: 1527-31)、ミコフェノール酸への耐性を与えるgpt (Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6)、アミノグリコシドG-418への耐性を与えるneo (Wu G Y & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95、Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596、Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932、およびMorgan RA & Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62: 191-217、Nabel GJ & Feigner PL (1993) Trends Biotechnol 11(5): 211-5)、およびハイグロマイシンへの耐性を与えるhygro (Santerre RF et al., (1984) Gene 30(1-3): 147-56) (それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)。組み換えDNA技術の当該技術分野で一般に知られてい

30

40

50

る方法は、所望の組み換えクローンを選択するために日常的に適用することができ、かかる方法は、例えば、Ausubel FM et al., (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)、Kriegler M, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)、ならびにDracopoli NC et al., (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)の第12章および13章、Colbere-Garapin F et al., (1981) J Mol Biol 150: 1-14に記載されており、これらの全ては、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

## 【0251】

抗体の発現レベルは、ベクター増幅によって増加させることができる(概説としては、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Bebbington CR & Hentschel CCG, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)を参照されたい)。抗体を発現するベクター系におけるマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物中に存在する阻害剤のレベルの増加は、マーカー遺伝子のコピー数を増加させる。増幅された領域が抗体遺伝子と関連するので、抗体の産生も増加するであろう(Crouse GF et al., (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66 (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる))。

20

## 【0252】

宿主細胞は、本明細書に記載の2つ以上の発現ベクター、すなわち重鎖由来のポリペプチドをコードする第1のベクター、および軽鎖由来のポリペプチドをコードする第2のベクターでコトランスフェクトすることができる。2つのベクターは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの等しい発現を可能にする同一の選択可能なマーカーを含有し得る。宿主細胞は、異なる量の2つ以上の発現ベクターで同時トランスフェクトされ得る。例えば、宿主細胞は、以下の、約1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:12、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45、または1:50のうちのいずれか1つの、第1の発現ベクターと第2の発現ベクターとの比でトランスフェクトすることができる。

30

## 【0253】

あるいは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方をコードし、発現することが可能な単一ベクターを使用してもよい。そのような状況では、軽鎖を重鎖の前に置いて、過剰な毒性のない重鎖を回避するべきである(Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565、およびKohler G (1980) PNAS 77: 2197-2199、その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。重鎖および軽鎖のコード配列は、cDNAまたはゲノムDNAを含み得る。発現ベクターは、モノシストロン性またはマルチシストロン性であり得る。マルチシストロン性核酸構築物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10個以上の遺伝子/ヌクレオチド配列、または2~5、5~10、もしくは10~20個の遺伝子/ヌクレオチド配列の範囲内でコードすることができる。例えば、2シストロン性核酸構築物は、以下の順序で、プロモーター、第1の遺伝子(例えば、本明細書に記載の抗体の重鎖)、および第2の遺伝子(例えば、本明細書に記載の抗体の軽鎖)を含むことができる。かかる発現ベクターでは、両方の遺伝子の転写がプロモーターによって駆動され得る一方で、第1の遺伝子由来のmRNAの翻訳は、キャップ依存的走査機構によるものであり得、第2の遺伝子由来のmRNAの翻訳は、例えば、IRESによるキャップ非依存的機構によるものであり得る。

40

## 【0254】

50

本明細書に記載の抗体分子が組み換え発現によって産生され次第、それは、免疫グロブリン分子の精製のための当該技術分野で既知の任意の方法によって、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、特にタンパク質Aの後の特異的抗原に対する親和性、およびサイズカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、吸収率較差溶解度によって、またはタンパク質の精製のための任意の他の標準的な技法によって精製することができる。さらに、本明細書に記載の抗体を、本明細書に記載されるか、または当該技術分野において別様に既知である異種ポリペプチド配列に融合させて、精製を促進することができる。

#### 【0255】

具体的な実施形態では、本明細書に記載の抗体は、単離または精製される。一般に、単離された抗体は、単離された抗体とは異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まないものである。例えば、特定の一実施形態では、本明細書に記載の抗体の調製物は、細胞材料および/または化学的前駆体を実質的に含まない。「細胞材料を実質的に含まない」という用語は、抗体が単離または組み換え産生される細胞の細胞構成成分から抗体が分離される、抗体の調製物を含む。したがって、細胞材料を実質的に含まない抗体は、（乾燥重量によって）約30%、20%、10%、5%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満の抗体の異種タンパク質（本明細書では「混入タンパク質」とも称される）および/またはバリエーション、例えば、異なる翻訳後修飾形態の抗体または抗体の他の異なるバージョン（例えば、抗体断片）を有する、抗体の調製物を含む。抗体が組み換え産生される場合、それはまた一般に、培養培地を実質的に含まず、すなわち、培養培地は、タンパク質調製物の体積の約20%、10%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満である。抗体が化学的合成によって産生される場合、それは一般に、化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まず、すなわち、それは、タンパク質の合成に参与する化学的前駆体または他の化学物質から分離される。したがって、抗体のかかる調製物は、約30%、20%、10%、または5%（乾燥重量で）未満の化学的前駆体または対象となる抗体以外の化合物を有する。具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、単離または精製される。

#### 【0256】

CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）に特異的に結合する抗体またはその断片は、抗体の合成のための当該技術分野で既知の任意の方法によって、例えば、化学的合成によって、または組み換え発現技法によって産生することができる。本明細書に記載の方法は、特に明記しない限り、分子生物学、微生物学、遺伝分析、組み換えDNA、有機化学、生化学、PCR、オリゴヌクレオチド合成および修飾、核酸ハイブリダイゼーション、ならびに当該技術分野の範囲内である関連分野における従来の技法を用いる。これらの技法は、本明細書で引用される参考文献に記載され、その文献で詳細に説明されている。例えば、Maniatis T et al., (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Sambrook J et al., (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Sambrook J et al., (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, Ausubel FM et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987および年次更新), *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987および年次更新) Gait (ed.) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press, Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues*

10

20

30

40

50

es: A Practical Approach, IRL Press, Birren B et al., (eds.) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

## 【0257】

具体的な一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、例えば、合成、DNA配列の遺伝子操作を介した作製に関与する任意の手段によって調製、発現、作製、または単離された抗体(例えば、組み換え抗体)である。ある特定の実施形態では、そのような抗体は、インビボで動物または哺乳動物(例えば、ヒト)の抗体生殖系列レパトリー内で天然に存在しない配列(例えば、DNA配列またはアミノ酸配列)を含む。

10

## 【0258】

一態様では、本明細書に記載の細胞または宿主細胞を培養することを含む、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する抗体を作製する方法が本明細書に提供される。一実施形態では、方法は、インビトロで実施される。ある特定の態様では、本明細書に記載の細胞または宿主細胞(例えば、本明細書に記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含む細胞または宿主細胞)を使用して抗体を発現すること(例えば、組み換え発現すること)を含む、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する抗体を作製する方法が本明細書に提供される。特定の実施形態では、細胞は、単離された細胞である。特定の実施形態では、外因性ポリヌクレオチドは、細胞に導入されている。特定の実施形態では、本方法は、細胞または宿主細胞から得られた抗体を精製するステップをさらに含む。

20

## 【0259】

ポリクローナル抗体を産生するための方法は、当該技術分野で既知である(例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel F M et al., eds., John Wiley and Sons, New Yorkを参照されたい)。

## 【0260】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組み換え、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む当該技術分野で既知の多種多様の技法を使用して調製され得る。例えば、モノクローナル抗体は、当該技術分野で既知であり、例えば、Harlow E & Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)、Hammerling G J et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)(その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)に教示されるものを含む、ハイブリドーマ技法を使用して産生することができる。本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術を通して産生される抗体に限定されない。例えば、モノクローナル抗体は、本明細書に記載の抗体またはその断片、例えば、そのような抗体の軽鎖および/または重鎖を外因的に発現する宿主細胞から組み換え産生され得る。

30

40

## 【0261】

具体的な実施形態では、本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」は、単一細胞(例えば、組み換え抗体を産生するハイブリドーマまたは宿主細胞)によって産生される抗体であり、抗体は、例えば、ELISA、または当該技術分野で既知であるかまたは本明細書に提供される実施例の他の抗原結合または競合的結合アッセイによって決定した場合、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合する。特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、キメラ抗体またはヒト化抗体であり得る。ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、一価抗体または多価(例

50



例えば、二価)抗体である。特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、単一特異性または多重特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)である。本明細書に記載のモノクローナル抗体は、例えば、Kohler G & Milstein C (1975) Nature 256:495に記載されるハイブリドーマ法によって作製され得るか、(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)、または例えば、本明細書に記載の技法を使用して、例えばファージライブラリから単離され得る。クローナル細胞株およびそれによって発現されるモノクローナル抗体の調製のための他の方法は、当該技術分野で周知である(例えば、Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM et al., 上記の第11章を参照)。

#### 【0262】

本明細書で使用される場合、各一価の結合ドメインが抗原のエピトープに結合することが可能である、少なくとも2つの(例えば2つ以上の)一価の結合ドメインを含むとき、抗体は、抗原に多価的に(例えば二価的に)結合する。各一価の結合ドメインは、抗原上の同じかまたは異なるエピトープに結合することができる。

#### 【0263】

ハイブリドーマ技術を使用した特異性抗体を産生およびスクリーニングするための方法は、当該技術分野で慣用的かつ周知である。例えば、ハイブリドーマ方法では、免疫化に使用されるタンパク質(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137))に特異的に結合するであろう抗体を産生するか、または産生することが可能なリンパ球を誘発するように、マウス、またはヒツジ、ヤギ、ウサギ、ラット、ハムスター、もしくはマカクザルなどの他の適切な宿主動物を免疫化する。あるいは、リンパ球をインビトロで免疫化してもよい。次いで、リンパ球は、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を用いて骨髓腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成する(Godling JW (Ed), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる))。加えて、RIMMS(反復免疫化多重部位)技法を使用して、動物を免疫化してもよい(その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Kilpatrick KE et al., (1997) Hybridoma 16:381-9)。

#### 【0264】

ある特定の実施形態では、マウス(またはラット、サル、ロバ、ブタ、ヒツジ、ハムスター、もしくはイヌなどの他の動物)を、抗原(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137))で免疫化することができ、免疫応答が検出されると、例えば、マウス血清中に抗原に特異的な抗体が検出されると、マウス臍臓を採取し、臍細胞を単離する。次いで、周知の技法によって臍細胞を任意の好適な骨髓腫細胞、例えば、American Type Culture Collection(ATCC(登録商標))(Manassas, VA)から入手可能な細胞株SP20由来の細胞と融合させて、ハイブリドーマを形成する。ハイブリドーマは、限界希釈により選択およびクローニングされる。ある特定の実施形態では、免疫化されたマウスのリンパ節が採取され、NS0骨髓腫細胞と融合する。

#### 【0265】

このようにして調製されたハイブリドーマ細胞を、好ましくは未融合の親骨髓腫細胞の成長または生存を阻害する1つ以上の物質を含有する好適な培養培地中に播種し、成長させる。例えば、親骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPRT)を欠いている場合、ハイブリドーマのための培養培地は、ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン(HAT培地)を含み、これらの物質は、HGPRT欠損細胞の成長を阻止するであろう。

#### 【0266】

特定の実施形態は、効果的に融合し、選択された抗体を産生する細胞によって安定した

10

20

30

40

50

高レベルの抗体の産生を支援し、HAT培地などの培地に対して感受性がある骨髄腫細胞を用いる。これらのなかでも、骨髄腫細胞株は、NS0細胞株またはSalk Institute Cell Distribution Center (San Diego, CA, USA) から入手可能なMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍由来のもの、ならびにAmerican Type Culture Collection (Rockville, MD, USA) から入手可能なSP-2またはX63-Ag8.653細胞などのマウス骨髄腫株である。ヒト骨髄腫およびマウス-ヒトヘテロ骨髄腫細胞株はまた、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 D (1984) J Immunol 133:3001-5、Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987) (その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

10

#### 【0267】

ハイブリドーマ細胞が成長している培養培地は、CD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137) に対して指向されたモノクローナル抗体の産生についてアッセイされる。ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、当該技術分野で既知の方法によって、例えば、免疫沈降、または放射免疫アッセイ (RIA) もしくは酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) などのインビトロ結合アッセイによって決定される。

20

#### 【0268】

所望の特異性、親和性、および/または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞を特定した後、そのクローンを、限界希釈法によってサブクローニングし、標準の方法によって成長させることができる (Goding JW (Ed), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice、上記)。この目的のために好適な培養培地は、例えば、D-MEMまたはRPMI 1640培地を含む。加えて、ハイブリドーマ細胞は、動物において腹水腫瘍としてインビボで成長させることができる。

#### 【0269】

サブクローンにより分泌されるモノクローナル抗体は、例えば、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、または親和性クロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製方法によって培養培地、腹水、または血清から適切に分離される。

30

#### 【0270】

本明細書に記載の抗体は、特異的なCD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137) を認識する抗体断片を含み、これは当業者に既知の任意の技法によって生成することができる。例えば、本明細書に記載のFabおよびF(ab)<sub>2</sub>断片は、パパイン (Fab断片を産生するため) またはペプシン (F(ab)<sub>2</sub>断片を産生するため) などの酵素を用いて、免疫グロブリン分子のタンパク質切断によって産生され得る。Fab断片は、抗体分子の2つの同一のアームのうち的一方に対応し、重鎖のVHおよびCH1ドメインと対になった完全な軽鎖を含有する。F(ab)<sub>2</sub>断片は、ヒンジ領域内のジスルフィド結合によって結合されている抗体分子の2つの抗原結合アームを含有する。

40

#### 【0271】

さらに、本明細書に記載の抗体はまた、当該技術分野で既知の様々なファージディスプレイ法を使用して生成することもできる。ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面上に提示される。具体的には、VHおよびVLドメインをコードするDNA配列は、動物cDNAライブラリ (例えば、患部組織のヒトまたはマウスcDNAライブラリ) から増幅される。VHおよびVLドメインをコードするDNAは、PCRによってscFvリンカーと

50

一緒に組み換えられ、ファージミドベクターにクローニングされる。ベクターは、E. coliに電気穿孔処理され、E. coliはヘルパーファージに感染する。これらの方法において使用されるファージは、典型的にはfdおよびM13を含む繊維状ファージであり、VHおよびVLドメインは通常、ファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIのいずれかに組み換え融合される。特定の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現しているファージは、抗原で、例えば、標識した抗原または固体表面もしくはビーズに結合もしくは捕捉された抗原を使用して、選択または特定することができる。本明細書に記載の抗体を製作するために使用され得るファージディスプレイ法の例としては、Brinkman U et al., (1995) J Immunol Methods 182:41-50、Ames RS et al., (1995) J Immunol Methods 184:177-186、Kettleborough CA et al., (1994) Eur J Immunol 24:952-958、Persic L et al., (1997) Gene 187:9-18、Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 57:191-280、PCT出願第PCT/GB91/001134号、国際公開第WO90/02809号、同第WO91/10737号、同第WO92/01047号、同第WO92/18619号、同第WO93/11236号、同第WO95/15982号、同第WO95/20401号、および同第WO97/13844号、ならびに米国特許第5,698,426号、同第5,223,409号、同第5,403,484号、同第5,580,717号、同第5,427,908号、同第5,750,753号、同第5,821,047号、同第5,571,698号、同第5,427,908号、同第5,516,637号、同第5,780,225号、同第5,658,727号、同第5,733,743号、および同第5,969,108号に開示のものが挙げられる(それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)。

#### 【0272】

上記の参考文献に記載されているように、ファージ選択後、ファージ由来の抗体コード領域は、ヒト抗体を含む抗体全体、または任意の他の所望の抗原結合断片を生成するために単離されかつ使用されて、例えば下述の哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌を含む任意の所望の宿主内で発現することができる。Fab、Fab<sub>2</sub>、およびFab(ab)<sub>2</sub>断片などの抗体断片を組み換え産生する技法はまた、PCT公開第WO92/22324号、Mullinax RL et al., (1992) BioTechniques 12(6):864-9、Sawai H et al., (1995) Am J Reprod Immunol 34:26-34、およびBetter M et al., (1988) Science 240:1041-1043に記載されており、これらの全ては、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0273】

ある特定の実施形態では、抗体全体を生成するために、VHまたはVLヌクレオチド配列、制限部位、および制限部位を保護するための隣接配列を含むPCRプライマーを使用して、テンプレート、例えば、scFvクローンからVHまたはVL配列を増幅することができる。当業者にとって既知であるクローニング技術を利用して、PCR増幅VHドメインを、VH定常領域を発現するベクターにクローニングすることができ、PCR増幅VLドメインを、VL定常領域、例えば、ヒトカッパまたはラムダ定常領域を発現するベクターにクローニングすることができる。VHおよびVLドメインはまた、必要な定常領域を発現する1つのベクターにクローニングすることもできる。その後、重鎖変換ベクターおよび軽鎖変換ベクターは、当業者に既知の技法を使用して、完全長抗体、例えば、IgGを発現する、安定した細胞株または一過性型細胞株を生成するように細胞株に同時トランスフェクトされる。

#### 【0274】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が異なる免疫グロブリン分子に由来する分子である。例えば、キメラ抗体は、ヒト抗体の定常領域に融合したマウスまたはラットモノクローナ

10

20

30

40

50

ル抗体の可変領域を含有することができる。キメラ抗体を産生するための方法は、当該技術分野において既知である。例えば、Morrisson SL (1985) Science 229:1202-7、Oi VT&Morrisson SL (1986) BioTechniques 4:214-221、Gillies SD et al., (1989) J Immunol Methods 125:191-202、および米国特許第5,807,715号、同第4,816,567号、同第4,816,397号、および同第6,331,415号(それらの全てが、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

#### 【0275】

ヒト化抗体は、所定の抗原に結合することができ、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク領域および非ヒト免疫グロブリン(例えば、マウス免疫グロブリン)のアミノ酸配列を実質的に有するCDRを含む。特定の実施形態では、ヒト化抗体はまた、少なくとも免疫グロブリン定常領域(Fc)の一部、典型的には、ヒト免疫グロブリンの一部を含む。この抗体はまた、重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3、およびCH4領域を含み得る。ヒト化抗体は、IgM、IgG、IgD、IgA、およびIgEを含む免疫グロブリンの任意のクラス、ならびにIgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、およびIgG<sub>4</sub>を含む任意のアイソタイプから選択され得る。ヒト化抗体は、当該技術分野で既知の種々の技法を使用して産生することができ、CDRグラフト化(欧州特許第EP239400号、国際公開第WO91/09967号、および米国特許第5,225,539号、同第5,530,101号、および同第5,585,089号)、ペニアリングまたはリサーフェシング(欧州特許第EP592106号および同第EP519596号、Padlan EA (1991) Mol Immunol 28(4/5):489-498、Studnicka GM et al., (1994) Prot Engineering 7(6):805-814、およびRoguska MA et al., (1994) PNAS 91:969-973)、鎖シャッフリング(米国特許第5,565,332号)、ならびに例えば、米国特許第6,407,213号、米国特許第5,766,886号、国際公開第WO93/17105号、Tan P et al., (2002) J Immunol 169:1119-25、Caldas C et al., (2000) Protein Eng. 13(5):353-60、Morea V et al., (2000) Methods 20(3):267-79、Baca M et al., (1997) J Biol Chem 272(16):10678-84、Roguska MA et al., (1996) Protein Eng 9(10):895-904、Couto JR et al., (1995) Cancer Res. 55(23 Supp):5973s-5977s、Couto JR et al., (1995) Cancer Res 55(8):1717-22、Sandhu JS (1994) Gene 150(2):409-10、およびPedersen JT et al., (1994) J Mol Biol 235(3):959-73に記載されており、これらの全ては、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。また、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国出願公開第2005/0042664 A 1号(2005年2月24日)も参照されたい。

#### 【0276】

多重特異性(例えば、二重特異性抗体)を作製するための方法は記載されており、例えば、それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第7,951,917号、同第7,183,076号、同第8,227,577号、同第5,837,242号、同第5,989,830号、同第5,869,620号、同第6,132,992号、および同第8,586,713号を参照されたい。

#### 【0277】

単ドメイン抗体、例えば、軽鎖を欠いている抗体は、当該技術分野で周知の方法によって産生することができる。Riechmann L&Muyldermans S (1999) J Immunol 231:25-38、Nuttall SD et al.,

10

20

30

40

50

(2000) Curr Pharm Biotechnol 1(3):253-263、Muyldermans S, (2001) J Biotechnol 74(4):277-302、米国特許第6,005,079号、ならびに国際公開第WO94/04678号、同第WO94/25591号、および同第WO01/44301号(それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

【0278】

さらに、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗原に特異的に結合する抗体は、当業者に周知の技法を使用して、抗原を「模倣する」抗イデオタイプ抗体を生成するために利用することができる。例えば、Greenspan N S & Bona CA (1989) FASEB J 7(5):437-444、および Nissinoff A (1991) J Immunol 147(8):2429-2438(その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

【0279】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗体と同じCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)のエピトープに結合する、本明細書に記載の抗体は、ヒト抗体である。特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体のうちのいずれか1つが、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に結合することから(例えば、用量依存的様式で)競合的に遮断する、本明細書に記載の抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において既知である任意の方法を使用して産生することができる。例えば、機能的な内在性免疫グロブリンを発現することはできないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することはできるトランスジェニックマウスを使用することができる。具体的には、ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体は、ランダムに、または相動的組み換えによりマウス胚幹細胞内に導入することができる。あるいは、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域、および多様性領域をマウス胚幹細胞に導入することができる。マウス重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相動的組み換えによって、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入で別々にまたは同時に非機能性を与えられ得る。具体的には、JH領域のホモ接合型欠失は、内因性抗体産生を防止する。修飾した胚幹細胞を拡大し、胚盤胞内に微量注入し、キメラマウスを産生する。次いで、キメラマウスを繁殖させて、ヒト抗体を発現するホモ接合性子孫を産生する。トランスジェニックマウスは、選択された抗原、例えば、抗原(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137))の全てまたは一部分を用いて、通常の様式で免疫化される。抗原に対して指向されたモノクローナル抗体は、従来のハイブリドーマ技術を使用して免疫化したトランスジェニックマウスから得ることができる。トランスジェニックマウスが有するヒト免疫グロブリン遺伝子は、B細胞分化の間に再編成し、その後クラススイッチおよび体細胞変異を起こす。したがって、かかる技法を使用して、治療に有用なIgG、IgA、IgM、およびIgE抗体を産生することが可能である。ヒト抗体を産生するためのこの技術の概要については、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Lonberg N & Huszar D (1995) Int Rev Immunol 13:65-93を参照されたい。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのこの技術、ならびにかかる抗体を産生するためのプロトコルの詳細な考察については、例えば、それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO98/24893号、同第WO96/34096号、および同第WO96/33735号、ならびに米国特許第5,413,923号、同第5,625,126号、同第5,633,425号、同第5,569,825号、同第5,661,016号、同第5,545,806号、同第5,814,318号、および同第5,939,598号を参照されたい。ヒト抗体を産生することが可能なマウスの例としては、それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Xenomouse(商標)(Abgenix, Inc.、米国特許第6,075,181号および同第6,150,184号)、HuAb-マウス(商標)(Mederex, Inc./GenPharm、米

10

20

30

40

50

国特許第5,545,806号および同第5,569,825号)、Trans Chromo Mouse (商標)(Kirin)、およびKM Mouse (商標)(Medarex/Kirin)が挙げられる。

#### 【0280】

CD137 (例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)に特異的に結合するヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列由来の抗体ライブラリを使用する上述のファージディスプレイ法を含む、当該技術分野で既知の種々の方法によって作製することができる。また、それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第4,444,887号、同第4,716,111号、および同第5,885,793号、ならびに国際公開第WO98/46645号、同第WO98/50433号、同第WO98/24893号、同第WO98/16654号、同第WO96/34096号、同第WO96/33735号、および同第WO91/10741号も参照されたい。

10

#### 【0281】

ある特定の実施形態では、ヒト抗体は、マウス-ヒトハイブリドーマを使用して産生することができる。例えば、エプスタイン・バーウイルス(EBV)で形質転換されたヒト末梢血リンパ球をマウス骨髄腫細胞と融合させて、ヒトモノクローナル抗体を分泌するマウス-ヒトハイブリドーマを産生することができ、これらのマウス-ヒトハイブリドーマをスクリーニングして、標的抗原(例えば、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137))に特異的に結合するヒトモノクローナル抗体を分泌するものを決定することができる。かかる方法は、当該技術分野で既知であり、記載されており、例えば、Shinmoto H et al., (2004) Cytotechnology 46:19-23、Naganawa Y et al., (2005) Human Antibodies 14:27-31(その各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

20

#### 【0282】

### 5.6 キット

本明細書に記載の1つ以上の抗体、またはその薬学的組成物もしくはその共役体を含むキットもまた提供される。特定の実施形態では、本明細書に提供される1つ以上の抗体などの本明細書に記載の薬学的組成物の成分のうち1つ以上で充填された1つ以上の容器を含む薬学的パックまたはキットが本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、キットは、本明細書に記載の薬学的組成物、およびの本明細書に記載のものなどの任意の予防薬または治療薬を含有する。ある特定の実施形態では、これらのキットは、例えば、フィットヘムアグルチニン(PHA)および/もしくはホルボールミリステートアセテート(PMA)、または抗CD3抗体および抗CD28抗体などのTCR複合体刺激抗体などのT細胞マイトジェンを含有し得る。任意選択的に、そのような容器(複数可)とともに、調合薬または生物学的製剤の製造、使用、または販売を規制する行政機関によって規定された様式の注意書きを含むことができ、この注意書きは、ヒトへの投与のための製造、使用、または販売の機関による承認を反映する。

30

#### 【0283】

上記の方法で使用され得るキットも提供される。一実施形態では、キットは、1つ以上の容器内に、本明細書に記載の抗体、好ましくは精製された抗体を含む。具体的な一実施形態では、本明細書に記載のキットは、対照として、実質的に単離されたCD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗原を含有する。別の具体的な実施形態では、本明細書に記載のキットは、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗原と反応しない対照抗体をさらに含む。別の具体的な実施形態では、本明細書に記載のキットは、CD137(例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137)抗原への抗体の結合を検出するための1つ以上の要素を含有する(例えば、抗体は、蛍光化合物、酵素基質、放射性化合物、もしくは発光化合物などの検出可能な基質に共役されてもよいが、または第1の抗体を認識する第2の抗体が、検出可能な基質に共役されてもよい)。具体的な実施形態では、本明細書で提供されるキットは、組み

40

50

換え産生または化学的に合成されたCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗原を含んでもよい。キットに提供されるCD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗原はまた、固体支持体に付着させてもよい。より具体的な一実施形態では、上述のキットの検出手段は、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗原が付着している固体支持体を含む。そのようなキットはまた、非結合レポーター標識抗ヒト抗体または抗マウス/ラット抗体を含んでもよい。この実施形態では、CD137（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）抗原への抗体の結合は、当該レポーター標識抗体の結合によって検出することができる。一実施形態では、本発明は、生体試料中のCD137抗原（例えば、ヒトCD137またはカニクイザルCD137）のインビトロアッセイおよび/または検出のための本発明のキットの使用に関する。

10

【実施例】

【0284】

この項（すなわち、項6）における実施例は、例証として提供されており、限定するものではない。

【0285】

6.1 実施例1：抗CD137抗体の特徴評価

この実施例は、ヒトCD137に結合する抗体の特徴評価について説明する。具体的には、ヒトCD137に特異的に結合し、ヒトCD137の機能を刺激するBA001抗体について、特徴評価した。BA001の可変領域の配列情報を表1に提供する。

20

【0286】

6.1.1 抗ヒトCD137抗体は、CD137を発現している細胞に結合する。

図1Aおよび1Bに示されるように、種々の細胞の種類におけるヒト抗CD137 IgG1抗体Ba001の、ヒトCD137またはカニクイザルCD137を発現している細胞に結合する能力を試験した。

【0287】

操作されたJurkat細胞

一実施例では、ヒトCD137またはカニクイザルCD137のいずれかを構成的に発現するようにJurkat細胞を操作して、抗体Ba001の結合を分析するために使用した。要するに、トランスフェクトJurkat細胞を $5 \times 10^4$ 細胞/ウェルで96ウェル丸底プレートに被せ、段階希釈した抗体（すなわち、示されている濃度のBA001またはアイソタイプ対照）と4で25分間培養した（図1Aおよび1Bの左側パネル）。細胞を2回洗浄し、抗ヒトlambda-PEの二次抗体（Life Technologies、Cat#MH10614）と培養した。細胞を洗浄し、PBS中で調製した2%のパラホルムアルデヒド（Electron Microscopy Science）80μlに懸濁した。BD FACS Cantoを用いてデータを収集し、BD FACS Divaソフトウェアを使用して分析した。

30

【0288】

図1Aおよび1B（左側パネル）に示されるように、BA001抗体は、ヒトCD137またはカニクイザルCD137のいずれかを発現しているJurkat細胞に結合した。

40

【0289】

活性化CEM/C1 T細胞

第2の実施例では、内在性ヒトCD137を発現している活性化ヒトCEM/C1 T細胞に結合するBA001の能力を試験した。要するに、CEM/C1細胞を、10ng/mlのホルポール12-ミリスチン酸13-アセテート（PMA）および1μg/mlのイオノマイシンと37で18時間培養することによって刺激した。刺激した細胞を $1 \times 10^5$ 細胞/ウェルで96ウェル丸底プレートに被せ、段階希釈した抗体（すなわち、図1Aの中央パネルに示されている濃度のBA001またはアイソタイプ対照）と4で25分間培養した。細胞を2回洗浄しおよび抗ヒトlambda-PE二次抗体（Life Technologies、Cat#MH10614）と培養した。細胞を洗浄し、

50

PBS中で調製した2%のパラホルムアルデヒド(Electron Microscopy Sciences) 80  $\mu$ lに懸濁した。BD FACS Cantoを用いてデータを収集し、BD FACSDivaソフトウェアを使用して分析した。

【0290】

図1Aの中央パネルに示されるように、BA001抗体は、内在性CD137を発現している活性化CEM/C1細胞に結合した。

【0291】

活性化初代CD8+T細胞

第3の実施例では、BA001の、活性化ヒトまたはカニクイザルCD8+T細胞に結合する能力を試験した。要するに、ヒトまたはカニクイザルPBMCを、10 ng/mlのPMAおよび1  $\mu$ g/mlのイオノマイシンと37  $^{\circ}$ Cで18時間培養することによって刺激した。刺激した細胞を1  $\times$  10<sup>5</sup>細胞/ウェルで96ウェル丸底プレートに被せ、段階希釈した抗体(すなわち、図1Aおよび1Bの右側パネルに示される濃度のBA001またはアイソタイプ対照)、および抗ヒトCD8-APC(Biolegend、Cat #311049)と4  $^{\circ}$ Cで25分間培養した。細胞を2回洗浄し、F(ab')<sub>2</sub>ヤギ抗ヒトIgG-PE二次抗体(Jackson ImmunoResearch、Cat #109-116-098)と培養した。細胞を洗浄し、PBS中で調製した2%のパラホルムアルデヒド(Electron Microscopy Sciences) 80  $\mu$ lに懸濁した。BD FACS Cantoを用いてデータを収集し、次いでFlowjo V10を使用して(CD8+T細胞にゲート設定して)分析した。

【0292】

図1A~1Bの右側パネルに示されるように、BA001抗体は、内在性CD137を発現している活性化ヒトまたはカニクイザルCD8+T細胞に結合した。

【0293】

6.1.2 抗CD137抗体は、CD137Lの、CD137への結合を遮断しない。CD137/BA001-F(ab')<sub>2</sub>複合体へのCD137Lの結合

表面プラズモン共鳴を使用して、BA001(BA001-F(ab')<sub>2</sub>)のF(ab')<sub>2</sub>断片に複合体形成されたCD137に結合するCD137Lの能力を評価した。FragsT(商標)キット(Genovis(Cat #A2-FR2-100))を使用して、BA001-F(ab')<sub>2</sub>を生成した。BIAcore(登録商標)T200(GE Healthcare)および泳動用緩衝液として1X HBS-P+(GE Healthcare、BR-1006-71)を使用して、25  $^{\circ}$ Cで全ての相互作用を分析した。

【0294】

一実施例では、BA001-F(ab')<sub>2</sub>をチップ上に固定化し、次いでCD137に結合させ、その後CD137LをCD137/BA001-F(ab')<sub>2</sub>複合体に結合させた。まず、抗ヒトFab捕捉抗体(GE Healthcare、Fab Capture Kit、28-9583-25)をCM5シリーズSセンサーチップ(GE Healthcare、29-1496-03)のフローセル2上に固定化した。次いで、BA001-F(ab')<sub>2</sub>を泳動用緩衝液で6.75  $\mu$ g/mlに希釈し、120秒間10  $\mu$ l/分でフローセル1に固定化した。CD137またはCD137Lの非特異的な相互作用を測定するための対照として、チップのフローセル1を抗ヒトFab捕捉抗体と単独で結合させた。BA001-F(ab')<sub>2</sub>の捕捉後、両方のチップのフローセル上に100 nMのCD137(Aero Biosystem、41B-H5227)を90秒間30  $\mu$ l/分で泳動させ、続いて400秒解離させた。次いで、両方のフローセル上で200 nMのCD137L(R&D Systems、#2295-4L-025)を90秒間30  $\mu$ l/分で泳動させ、続いて400秒解離させた。

【0295】

フローセル2で得た応答から、フローセル1で得た応答を引いたものを図2Aに示す。CD137をフローセル2上で泳動させると、応答シグナルの増加が検出され、これはBA001-F(ab')<sub>2</sub>へのCD137の結合を示している。CD137は、BA001



- F ( a b ' )<sub>2</sub> から非常にゆっくりと解離したように見えた。次いで C D 1 3 7 L をフローセル 2 上に泳動させると、シグナル応答の増加が観察され、これは、C D 1 3 7 / B A 0 0 1 - F ( a b ' )<sub>2</sub> 複合体への C D 1 3 7 L の結合を示している。これらの結果は、C D 1 3 7 への B A 0 0 1 - F ( a b ' )<sub>2</sub> の結合が、C D 1 3 7 への C D 1 3 7 L の結合が遮断しないことを示している。

#### 【 0 2 9 6 】

別の実施例では、過剰な C D 1 3 7 ( 1 1 0 n M ) を B A 0 0 1 - F ( a b ' )<sub>2</sub> ( 6 μ g / m L 、 5 4 n M ) と事前に混合して、C D 1 3 7 / B A 0 0 1 - F ( a b ' )<sub>2</sub> 複合体を形成した。次いで複合体を C M 5 シリーズ S センサーチップ ( G E H e a l t h c a r e 、 2 9 - 1 4 9 6 - 0 3 ) のフローセル 3 上に 1 0 μ l / 分で 1 8 0 秒固定化し、続いて 6 0 秒解離させた。次いで、全てのフローセル上で 6 0 n M の C D 1 3 7 L を 9 0 秒間 5 0 μ l / 分で泳動させ、続いて 4 0 0 秒解離させた。C D 1 3 7 または C D 1 3 7 L の非特異的な相互作用を測定するための対照として、チップのフローセル 1 を抗ヒト F a b 捕捉抗体と単独で結合させた。

10

#### 【 0 2 9 7 】

フローセル 3 で得た応答から、フローセル 1 で得た応答を引いたものを図 2 B に示す。これらのデータは、B A 0 0 1 - F ( a b ' )<sub>2</sub> は高い親和性で C D 1 3 7 に結合するが、この相互反応は、C D 1 3 7 への C D 1 3 7 L の結合を損なわないことを示している。

#### 【 0 2 9 8 】

B A 0 0 1 および B A 0 0 1 由来の F a b 断片 ( B A 0 0 1 - F a b 、 データは示さず ) でも、この実施例に記載のものと同様の結果が観察された。したがって、B A 0 0 1 は、リガンドを遮断しない抗 C D 1 3 7 抗体である。

20

#### 【 0 2 9 9 】

B A 0 0 1 は、C D 1 3 7 細胞表面に結合している C D 1 3 7 L 細胞表面を遮断しなかった。

B A 0 0 1 が、C D 1 3 7 L と細胞の表面上に発現される C D 1 3 7 との間の結合を遮断し得るかどうかを決定するために、(すなわち、より生理学的な設定で)、X i a o e t a l . ( 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、J E M 2 1 1 ( 5 ) : 9 4 3 - 9 5 9 、 2 0 1 4 ) に記載の方法論を使用して、細胞共役アッセイを実施した。要するに、一組の J u r k a t 細胞を、ヒト C D 1 3 7 とトランスフェクトした ( J u r k a t - C D 1 3 7 ) 、別の組の J u r k a t 細胞をヒト C D 1 3 7 L とトランスフェクトした ( J u r k a t - C D 1 3 7 L ) 。 C D 1 3 7 発現 J u r k a t 細胞を赤色色素 P K H 2 6 ( S i g m a C a t # P K H 2 6 G L - 1 K T ) で染色し、C D 1 3 7 L 発現 J u r k a t 細胞を緑色色素 P K H 6 7 ( S i g m a C a t # P K H 6 7 G L - 1 K T ) で染色した。赤色色素で標識した J u r k a t - C D 1 3 7 細胞 ( 1 × 1 0 <sup>5</sup> / ウェル ) を、丸底 9 6 ウェルプレート中で、5 0 μ g / m l の B A 0 0 1 、参照抗 C D 1 3 7 抗体 # 1 、参照抗 C D 1 3 7 抗体 # 2 、またはアイソタイプ対照と室温で 3 0 分間培養した。次いで緑色色素で標識した J u r k a t - C D 1 3 7 L 細胞 ( 1 × 1 0 <sup>5</sup> / ウェル ) を添加し、3 7 ° C で 4 5 分間培養した。B D F A C S C a n t o および B D F A C S D i v a ソフトウェアを使用するフローサイトメトリーによって、細胞の細胞への結合 / 共役形成を分析した。赤色色素には P E チャネルを使用し、緑色色素には F I T C チャネルを使用した。したがって、C D 1 3 7 発現細胞と C D 1 3 7 L 発現細胞との間の結合により、検出される細胞サイズの増加を呈するダブルポジティブのシグナル (すなわち、赤色 + 緑色) が得られるであろう。この効果は、抗 C D 1 3 7 抗体を遮断するリガンドによって低減または停止されるであろう。

30

40

#### 【 0 3 0 0 】

図 3 A は、B A 0 0 1 および参照抗 C D 1 3 7 抗体 # 2 が、細胞上の C D 1 3 7 L の細胞上の C D 1 3 7 への結合を遮断しないことを示している。対照的に、参照抗 C D 1 3 7 抗体 # 1 は、リガンドの結合を遮断した。

#### 【 0 3 0 1 】

50

同様の設定でCD137L発現細胞およびCD137発現細胞をPKH26赤色蛍光細胞リンカーまたはPKH67緑色蛍光細胞リンカーでそれぞれ染色し、ハンクス平衡塩溶液(HBSS)中に $4 \times 10^6$ 細胞/mLの濃度で懸濁した。三倍で段階希釈したBA001、参照抗CD137抗体#1、参照抗CD137抗体#2、またはそれぞれのアイソタイプ対照抗体を3X作用濃度で、HBSS中で調製した。U字底96ウェルプレートで、25 $\mu$ LのJurkat-CD137細胞を25 $\mu$ Lの抗CD137抗体と室温で30分間培養し、CD137L発現細胞を添加した。あるいは、25 $\mu$ LのJurkat-CD137細胞を、25 $\mu$ LのCD137L発現細胞と室温で30分間培養し、抗CD137抗体を添加した。プレートを37Cおよび5%CO<sub>2</sub>で45分間培養し、BD Fortessaサイトメーターを使用するフローサイトメトリーによって、PEおよびFITCダブルポジティブ性としてCD137L発現細胞とCD137発現細胞との共役を特定した。

10

#### 【0302】

図3Bおよび3Cに示されるように、抗CD137抗体が細胞の共培養前(図3B)に添加されるか、または後(図3C)に添加されると、BA001および参照抗CD137抗体#2は、CD137発現細胞のCD137L発現細胞との共役に影響しなかった。対照的に、参照抗CD137抗体#1は、細胞の共役を阻害し、この抗体が細胞表面CD137Lの細胞表面CD137への結合を遮断したことを示している。

#### 【0303】

6.2 実施例2: 抗CD137抗体のアゴニスト活性は、架橋依存性およびリガンド依存性である。

20

6.2.1 抗CD137抗体は、抗体架橋の存在下でのみNF- $\kappa$ B駆動遺伝子発現を誘導する。

CD137シグナル伝達を活性化するBA001の能力を特徴評価するために、(i)NF- $\kappa$ B-ルシフェラーゼレポーター構造体、および(ii)ヒトまたはカニクイザルCD137のいずれかの発現構造体を組み込んだJurkatレポーター細胞を生成した。したがって、レポーター細胞の表面上のCD137の活性化により、NF- $\kappa$ Bプロモーターの制御下でルシフェラーゼの発現を駆動する下流のシグナル伝達が誘導された。

#### 【0304】

CD137を活性化するBA001の能力は、BA001の架橋に依存することが発見された。実際に、架橋していないBA001は、CD137およびNF- $\kappa$ Bルシフェラーゼレポーター構造体を発現するように操作されたJurkat細胞のレポーター活性を刺激することは不可能であった(データは示さず)。架橋依存性を特徴評価するために、BA001、アイソタイプ対照抗体、および参照抗CD137抗体#2を、架橋剤(AffiniPure F(ab')<sub>2</sub>断片ヤギ抗ヒトIgG、Fc Fragment Specific(Jackson ImmunoResearch、109-006-098))を用量漸増しながら培養した。Jurkatレポーター細胞を50,000細胞/ウェルの密度で播種し、2 $\mu$ g/mLのBA001、アイソタイプ対照抗体、または参照抗CD137抗体#2で4時間培養した。NF- $\kappa$ B活性をNano-Glo(登録商標)ルシフェラーゼアッセイシステム(Promega N1120)によって測定した。

30

40

#### 【0305】

図4Aに示されるように、1:1超の架橋剤対抗体の比で架橋されると、このアッセイでは、BA001は活性を得た。対照的に、参照抗CD137抗体#2は架橋剤なしで活性化され、架橋剤の量が増えると徐々に活性を喪失した。

#### 【0306】

人工的な抗体架橋剤の不在下で抗体クラスターリングすると、BA001がCD137をアゴナイズすることが可能であるかどうかを、さらに評価した。FcRIIIa(CD16)を発現するように操作されたCHO細胞によって、抗体クラスターリングを誘導した。要するに、2 $\mu$ g/mLのBA001、アイソタイプ対照抗体、またはFc領域にN297A変異を有するBA001多様体の存在下で、CD16を発現するように操作された

50

CHO細胞または対照CHO細胞を用量漸増しながら、50,000細胞/ウェルの密度でJurkatレポーター細胞を共培養した。培養の4時間後に、NF-kB活性をNano-Glo(登録商標)ルシフェラーゼアッセイシステム(Promega N1120)によって測定した。

#### 【0307】

図4Bに示されるように、BA001単独では、CD137シグナル伝達を活性化せず、CD16発現CHO細胞単独では、限られた効果しか有さなかった。しかしながら、BA001とCD16発現CHO細胞との組み合わせは、レポーター細胞を相乗的に活性化した。N297A変異は、CD137シグナル伝達を刺激するBA001の能力を無効にし、これは、N297A Fc多様体がCHO細胞上に発現されたCD16を係合することが不可能であり、したがって、抗体クラスターリングを実行することが不可能であるためと思われる。この結果は、BA001が、CD16発現細胞(例えば、抗原提示細胞またはNK細胞)が存在する微小環境で選択的に活性であり得ることを示唆している。

10

#### 【0308】

6.2.2 抗CD137抗体は、PBMC全体でT細胞機能を向上させるが、精製されたT細胞は向上させない。

CD137Lの存在下で、BA001は、ヒトT細胞によるIL-2分泌を促進した。

初代ヒトPBMC上のBA001のアゴニスト活性を、ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)刺激後に評価した。要するに、冷凍保存したPBMCを、段階希釈した抗体(すなわち、図5に示される濃度のBA001、参照抗CD137抗体#1もしくは#2、またはアイソタイプ対照抗体)の存在下で、200ng/mlのSEAスーパー抗原(Toxin Technologies, Cat#AT101red)と、5日間37で刺激した。培養上清中のIL-2濃度は、AlphaLISA(Perkin Elmer, Cat#AL221F)によって分析した。各条件で5つの複製を試験した。

20

#### 【0309】

図5に示されるように、抗CD137抗体Ba001(IgG1)は、参照抗CD137抗体のものと同様かそれを超えるレベルで、用量依存的様式でヒトPBMCのIL-2産生を増加させた。

CD137Lの不在下では、BA001は、精製されたヒトT細胞によるIL-2分泌を促進しなかった。

30

#### 【0310】

CD137Lを発現している抗原提示細胞の不在下で、精製され刺激されたヒトT細胞上のBA001のアゴニスト活性を評価した。要するに、製造者の指示書に従って、autoMACSカラムを備えたMACS PanT細胞単離キット(ヒト)を使用して、冷凍保存されたPBMCからT細胞を精製した。少量のエンドトキシン、アジ化合物を含まない(LEAF)抗CD3抗体(Biolegend Cat#300432)2μg/mlで事前にコーティングした96ウェル培養プレートに、精製されたT細胞を1×10<sup>6</sup>細胞/ウェルで被せた。5μg/mlの抗CD137抗体(BA001、参照抗CD137抗体#1、または参照抗CD137抗体#2)またはアイソタイプ対照をF(ab')<sub>2</sub>断片ヤギ抗ヒトIgG(Jackson ImmunoResearch, Cat#109-006-098)と架橋させ、次いでプレートに添加した。細胞を37で3日間培養した。次いで培養上清中のIL-2濃度を、AlphaLISA(Perkin Elmer, Cat#AL221F)によって分析した。各条件で6つの複製を試験した。

40

#### 【0311】

図6A~6Bに示されるように、BA001は、アイソタイプ対照と比較して、精製されたT細胞によるIL-2分泌の増加を促進しなかった。対照的に、両方の参照抗CD137抗体は、精製されたT細胞によるIL-2分泌の上昇を誘導した。図6Cは、精製されたT細胞が、検出可能なレベルのCD137Lを発現しなかったことを示している。

#### 【0312】

総合すると、段落6.2.2のデータは、PBMC全体として、(例えば、CD137

50

L発現細胞によって産生された) CD137L存在下でBA001のアゴニスト活性が上昇したことを示している。使用された条件下では、BA001のアゴニスト活性は、CD137Lの存在を必要とし得ることが企図される。したがって、これらのデータは、CD137発現細胞を活性化するBA001の能力が、リガンド依存性であり得ることを示した。

【0313】

6.2.3 抗CD137抗体は、CD137Lの存在下でのみNF- $\kappa$ B駆動遺伝子の発現を誘導する。

NF- $\kappa$ B-ルシフェラーゼレポーター細胞におけるBA001のリガンド依存性

BA001活性は、CD137Lの不在下では、架橋に依存することが段落6.2.1に示された。CD137Lの存在下での架橋剤の効果をさらに評価した。要するに、1  $\mu$ g/mLのCD137L(組み換えヒト4-1BBリガンド/TNFSF9(Hisタグ)、R&D system、2295-4L-025/CF)を、任意選択的に上述の培養系に添加し、NF- $\kappa$ B活性を同様に測定した。

【0314】

図7Aに示されるように、CD137Lの存在下では、BA001はまたレポーターアッセイの活性に架橋剤を必要とし、CD137Lおよび架橋の効果は付加的なものであった。架橋剤対抗体の比が約1:10~1:1のとき、BA001は、CD137Lの存在下でのみ活性を示した。

【0315】

外因的CD137Lがこの実験的な系においてCD137Lの唯一の供給源であることを確認するために、Jurkatレポーター細胞をフローサイトメトリーによって分析した。要するに、CD137発現およびCD137L発現Jurkat細胞を解凍し、10%のウシ胎児血清および1  $\mu$ g/mLのピューロマイシンで補ったRPMI培地で4時間または24時間培養した。フローサイトメトリーによる分析用に、 $3 \times 10^4$ 細胞を96ウェルU字底のプレートに被せ、2%のウシ胎児血清で補った冷たいリン酸緩衝生理食塩水で2回洗浄し、フィコエリスリン(PE)と共役させた抗CD137抗体、アロフィコシアニン(APC)と共役させた抗CD137L抗体、および近赤外線live/dead色素を用いて標識した。対照群の染色では、PEと共役させた関連のないアイソタイプ対照抗体、APCと共役させた関連のないアイソタイプ対照抗体、およびlive/dead色素を用いて細胞を標識した。

【0316】

図7Bに示されるように、CD137発現Jurkatレポーター細胞は、高いレベルのCD137を発現したが、CD137Lは発現しなかった。比較すると、CD137L発現Jurkat細胞は、高いレベルのCD137Lを発現したが、CD137は発現しなかった。

【0317】

Jurkatレポーター細胞を使用した以下の全てのNF- $\kappa$ B活性化アッセイでは、抗CD137抗体およびそれらのアイソタイプ対照抗体を、1:2の比で架橋させた。

【0318】

一実施例では、可溶性ヒトCD137L(125ng/mL)の存在下でまたは不在下で、ヒトCD137を発現しているJurkat NF- $\kappa$ B-ルシフェラーゼレポーター細胞(50,000細胞/ウェル)を、段階希釈したBA001またはアイソタイプ対照と37°Cで4時間培養した。Nano-Glo(登録商標)ルシフェラーゼアッセイシステム(Promega Cat#N1120)およびEnVisionプレートリーダーを使用して、ルシフェラーゼ発現を検出した。図8Aに示されるように、BA001は、CD137Lの不在下でNF- $\kappa$ B-ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。CD137Lの存在下では、BA001は、用量依存的様式でNF- $\kappa$ B-ルシフェラーゼ発現を誘導することが可能であった(図8B)。

【0319】

10

20

30

40

50

別の実施例では、可溶性ヒトCD137L (150 ng/ml) の存在下でまたは不在下で、カニクイザルCD137を発現しているJurkat NF-B-ルシフェラーゼレポーター細胞 (50,000細胞/ウェル) を、段階希釈したBA001またはアイソタイプ対照と37で4時間培養した。Nano-Glo (登録商標) ルシフェラーゼアッセイシステム (Promega Cat#N1120) およびEnVisionプレートリーダーを使用して、ルシフェラーゼ発現を検出した。図8Cに示されるように、BA001は、CD137Lの不在下でNF-B-ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。CD137Lの存在下では、BA001は、用量依存的様式でNF-B-ルシフェラーゼ発現を誘導することが可能であった (図8D)。

#### 【0320】

したがって、これらのデータは、使用した条件下では、対応するCD137Lの存在下でのみ、BA001がNF-Bを通じてヒトまたはカニクイザルCD137シグナル伝達を誘導することを示している。

#### 【0321】

BA001は、CD137Lと協働してCD137シグナル伝達を促進した。

さらなる実施例では、段階希釈した可溶性ヒトCD137L (図9A~9Cに示されるように0~1000 ng/ml) の存在下で、ヒトCD137を発現しているJurkat NF-B-ルシフェラーゼレポーター細胞 (50,000細胞/ウェル) を、2 µg/モルの抗CD137抗体 (BA001、参照抗CD137抗体#1、または参照抗CD137抗体#2)、またはアイソタイプ対照と37で4時間培養した。一組の試料では、CD137Lの前に抗CD137抗体を添加した (図9A)。第2の組の試料では、抗CD137抗体およびCD137Lを同時に添加した (図9B)。第3の組の試料では、抗CD137抗体の前にCD137Lを添加した (図9C)。Nano-Glo (登録商標) ルシフェラーゼアッセイシステム (Promega Cat#N1120) およびEnVisionプレートリーダーを使用して、ルシフェラーゼ発現を検出した。

#### 【0322】

図9A~9Cに示されるように、CD137Lは、用量依存的様式でNF-B-ルシフェラーゼ発現を誘導した。BA001は、リガンド依存的様式でNF-B-ルシフェラーゼ発現を誘導し、より高いリガンド濃度のアイソタイプ対照で検出されるものを超えて、レポーター発現を実質的に増加させた。抗体およびリガンドを添加する順序に関係なく、この効果は観察された (図9A~9C、左側パネル)。対照的に、存在するCD137Lの濃度に関係なく (例えば、CD137Lの不在下で)、かつ抗体およびリガンドを添加する順序に関係なく、リガンドを遮断する参照抗CD137抗体#1は、ほぼ同じレベルのレポーター発現を駆動した (図9A~9C、中央パネル)。部分的にリガンドを遮断する/リガンドを遮断しない参照抗CD137抗体#2はまた、リガンドの前に抗体が添加されると (図9A、右側パネル)、存在するCD137Lの濃度に関係なく (例えば、CD137Lの不在下で) 同様のレベルのレポーター発現を駆動したが、抗体およびリガンドと一緒に添加されると (図9B、右側パネル)、または抗体の前にリガンドが添加されると (図9C、右側パネル)、より高いCD137L濃度でレポーター発現の実質的な低減を示した。

#### 【0323】

### 6.3 異なるFc領域を有する抗CD137抗体の特徴付け

この実施例は、抗CD137抗体BA001の機能的活性に対するFc/Fc受容体相互作用の影響を分析する。具体的には、IgG2およびIgG4を含む様々なFc骨格、ならびにFc領域がEU番号付けシステムに従って番号付けられたN297AまたはS267E/L328F (SELF) 変異を含むIgG1骨格、およびFc領域がN297A変異を含むIgG2骨格を有するBA001のVH領域を発現させた。当該技術分野で既知であるように、IgG1 N297AおよびIgG2 N297A多様体は、FcRsの係合を停止する、したがってFcRsを介した抗体のADCC/ADCPの潜在性または架橋を遮断する、Fcサイレント変異を担持している。IgG1 SELF Fc多様

10

20

30

40

50

体は、Fc RIIIIa結合の低減およびFc RIIIIb結合の向上を呈し、したがってFc RIIIIbを介した抗体のADCC/ADCP潜在性を低減するが架橋を向上させる。ある場合では、本明細書に記載の抗CD137抗体の重鎖配列のN末端残基は、グルタミンである。ある場合では、本明細書に記載の抗CD137抗体の重鎖配列のN末端残基は、(例えば、翻訳後プロセシングに起因して)ピログルタミン酸である。

【0324】

抗体BA001(IgG1)は、配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む。抗体BA001 IgG1 N297A(すなわちBA001のIgG1 N297A多様体)は、配列番号10のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む。抗体BA001 IgG1 S  
ELF(すなわち、BA001のIgG1 S267E/L328F多様体)は、配列番号のアミノ酸配列11を含む重鎖と、配列番号のアミノ酸配列21を含む軽鎖と、を含む。抗体BA001 IgG2(すなわち、BA001のIgG2多様体)は、配列番号12のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む。抗体BA001 IgG2 N297A(すなわちBA001のIgG2 N297A多様体)は、配列番号13のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む。抗体BA001 IgG4(すなわち、BA001のIgG4多様体)は、配列番号14のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号21のアミノ酸配列を含む軽鎖と、を含む。ある場合では、IgG4 Fc領域を含む抗体(例えば、抗体Ba001 IgG4)は、重鎖の安定性を増加させ得るS228P変異を含む。次いで下述のように、機  
能的アッセイでこれらのBA001のFc多様体を試験した。

【0325】

6.3.1 初代ヒトPBMCのFc多様体機能性

初代ヒトPBMCについて、上述のBA001 Fc多様体の機能的活性を、SEA刺激後に評価した。要するに、冷凍保存されたPBMCを、段階希釈したBA001 Fc多様体または対応するアイソタイプ対照抗体の存在下で、200ng/mlのSEAスーパー抗原(Toxin Technologies、Cat#AT101red)と5日間37で刺激した。培養上清中のIL-2濃度は、AlphaLISA(Perkin Elmer、Cat#AL221F)によって分析した。各条件で5つの複製を試験した。

【0326】

図10Aに示されるように、BA001 IgG1およびBA001 IgG1 SELFは各々、SEAで刺激した初代ヒトPBMCにおいて強いIL-2発現を誘導し、これは、これらの多様体の抗体の向上した架橋に起因し得る。対照的に、抗体の架橋を形成しないBA001 IgG1 N297AおよびBA001 IgG2 N297A多様体は、検出可能な機能をほとんどまたは全く呈さなかった。これらのデータは、抗体の架橋が、初代ヒトT細胞上のCD137をアゴナイズするBA001の機能を向上させたことを示した。BA001 IgG2およびBA001 IgG4はまた、適度なレベルのIL-2発現を誘導した。

【0327】

図10Bは、SEAで刺激した初代ヒトT細胞によってIL-2発現が向上した、N297A変異体を除くBA001 Fc多様体の用量依存的活性を示している。BA001 IgG1 SELFおよびBA001 IgG1は、最も強固な効果を誘導し、BA001 IgG4およびBA001 IgG2が続いて強固な効果を誘導した。

【0328】

6.3.2 Fc多様体は、リガンド依存性を維持する。

段落2.2に記載のNF B-ルシフェラーゼレポーター系を使用して、BA001 Fc多様体のリガンド依存性を調べた。要するに、可溶性ヒトCD137L(125ng/ml)の存在下または不在下で、段落6.2.3に記載の方法によって架橋させた、ヒトCD137を発現しているJurkat NF B-ルシフェラーゼレポーター細胞(50,000細胞/ウェル)を、段階希釈したBA001 Fc多様体または対応する

10

20

30

40

50

アイソタイプ対照と37で4時間培養した。Nano-Glo(登録商標)ルシフェラーゼアッセイシステム(Promega Cat#N1120)およびEnVisionプレートリーダーを使用して、ルシフェラーゼ発現を検出した。

#### 【0329】

図11に示されるように、BA001Fc多様体の全てがリガンドに依存するCD137のアゴニズムを呈した。CD137Lの不在下では、試験したFc多様体のうちのいずれでもレポーター活性は検出されなかった(図11左段)一方で、CD137Lの存在下では、全てのBA001Fc多様体は、用量依存的様式でレポーター発現を誘導した(図11右段)。すなわち、初代T細胞のCD137発現レベルと比較して、この状況において、CD137をアゴナイズすることが可能な架橋がFc多様体に不足しているのは、レポーター細胞によって発現される非常に高いレベルのCD137に起因すると思われる。

10

#### 【0330】

##### 6.4 併用療法

##### 6.4.1 抗PD-1抗体との組み合わせ

単独で、または抗PD-1抗体もしくは抗OX40抗体と組み合わせた活性化T細胞による、サイトカイン産生を刺激する能力について、抗CD137抗体Ba001をさらに評価した。一実施例では、冷凍保存した初代ヒトPBMCを、BA001(5µg/mL)とアイソタイプ対照(10µg/mL)、抗PD-1抗体(10µg/mL)とアイソタイプ対照(5µg/mL)、BA001(5µg/mL)と抗PD-1抗体(10µg/mL)との組み合わせ、またはアイソタイプ対照単独(15µg/mL)のいずれかの存在下で、上述のようにSEAで刺激した。別の実施例では、冷凍保存した初代ヒトPBMCを、BA001(5µg/mL)とアイソタイプ対照(10µg/mL)、抗OX40抗体(10µg/mL)とアイソタイプ対照(5µg/mL)、BA001(5µg/mL)と抗OX40抗体(10µg/mL)との組み合わせ、またはアイソタイプ対照単独(15µg/mL)のいずれかの存在下で、上述のようにSEAで刺激した。培養上清中のIL-2濃度を、AlphaLISA(Perkin Elmer, Cat#AL221F)によって分析した。各条件で6つの複製を試験した。

20

#### 【0331】

図12Aに示されるように、BA001と抗PD-1抗体との組み合わせは、いずれの抗体単独よりも高いIL-2分泌を生じた。同様に、図12Bに示されるように、BA001と抗OX40抗体との組み合わせは、いずれの抗体単独よりも高いIL-2分泌を誘導した。

30

#### 【0332】

##### 6.5 エピトープマッピング

HDX質量分析法によって、ヒトCD137の、BA001(BA001-Fab)のFab断片またはBA001(BA001-F(ab')<sub>2</sub>)のF(ab')<sub>2</sub>断片との相互作用を研究した。これらのデータを使用して、ヒトCD137の細胞外のドメイン上のBA001-FabおよびBA001-F(ab')<sub>2</sub>によって結合されているエピトープ領域を特定した。

40

#### 【0333】

##### 6.5.1 水素-重水素交換(HDX)による抗CD137抗体のエピトープマッピング

以下の方法を使用して、CD137の抗ヒトCD137-F(ab')<sub>2</sub>および抗ヒトCD137-Fabとの相互作用を評価した。

#### 【0334】

##### (A) CD137の抗ヒトCD137-F(ab')<sub>2</sub>との相互作用

20µlのヒトCD137(5.48µg)または20µlのヒトCD137と、BA001-F(ab')<sub>2</sub>との混合物(5.48µg:22.36µg)を、20の105µlの酸化重水素標識緩衝液(50mMのリン酸ナトリウム、100mMの塩化ナトリウム、pD7.4)と、0秒、60秒、300秒、1800秒、7200秒、および14

50

400秒間培養した。水素/重水素交換を125 $\mu$ Lの4Mのグアニジン塩酸塩、0.85MのTCEP緩衝液(最終pHは2.5である)を添加することによってクエンチし、20で5分間混合物を培養した。その後、クエンチした試料にオンカラムペプシン/プロテアーゼXIII消化および下述のLC-MS分析を施した。質量スペクトルは、MSオンリーモードで記録した。

#### 【0335】

(B)CD137の抗ヒトCD137 Fabとの相互作用

15 $\mu$ LのヒトCD137(5.0 $\mu$ g)または15 $\mu$ LのヒトCD137と、BA001-Fabとの混合物(5.0 $\mu$ gのヒトCD137+15.0 $\mu$ gのFab)を、25の110 $\mu$ Lの酸化重水素標識緩衝液(50mMのリン酸ナトリウム、100mMの塩化ナトリウム、pD7.4)と、0秒、60秒、300秒、および1800秒間培養した。水素/重水素交換を125 $\mu$ Lの4Mのグアニジン塩酸塩、0.85MのTCEP緩衝液(最終pHは2.5である)を添加することによってクエンチし、25で3分間混合物を培養した。その後、クエンチした試料にオンカラムペプシン/プロテアーゼXIII消化および下述のLC-MS分析を施した。質量スペクトルは、MSオンリーモードで記録した。

#### 【0336】

HDXデータ分析

H/D交換MSデータ分析のために、HDX Work Benchソフトウェアを使用して、未修正のMSデータを処理した。重水素化ペプチドとその天然形態(to)との間の平均質量差を使用して、重水素レベルを計算した。重水素組み込みの計算のために、所与のペプチドについての質量分析を、抽出されたイオンクロマトグラムピークにわたって組み合わせ、加重平均m/zを計算した。天然のペプチドの質量(0分)から加重平均質量への質量増加は、重水素の組み込みレベルに対応する。

#### 【0337】

ペプシン/プロテアーゼXIII消化およびLC-MS

ペプシン/プロテアーゼXIII消化によるHDXに使用するために、Hisタグ付けしたヒトCD137(AcroBioSystems Inc.)をペプチドに断片化した。125 $\mu$ Lの対照緩衝液(50mMのリン酸塩、100mMの塩化ナトリウム、pH7.4)中5.48 $\mu$ gのヒトCD137を、125 $\mu$ Lの4M塩酸グアニジン、0.85MのTCEP緩衝液(最終pHは2.5である)を添加し、混合物を20で5分間培養することによって変性させた。混合物を、社内で充填したペプシン/プロテアーゼXIIIカラム(w/w1:1)を使用して、オンカラムペプシン/プロテアーゼXIII消化を施し、得られたペプチドを、Q Exactive(商標)Hybrid Quadrupole-Orbitrap質量分析計(Thermo)に取り付けられたWaters Acquity UPLCで構成されたUPLC-MSシステムを使用して分析した。ペプチドの特定は、Mascotを用いて、ヒトCD137配列に対するMS/MSデータを検索することによって実施した。前駆体および産生物イオンの質量耐性は、それぞれ10ppmおよび0.05Daであった。

#### 【0338】

抗ヒトCD137 F(ab')<sub>2</sub>のエピトープ結合

CD137ペプチドの大部分は、BA001-F(ab')<sub>2</sub>の存在下、および不在下で、同一または同様の重水素レベルを示した。しかしながら、いくつかのペプチドセグメントは、F(ab')<sub>2</sub>結合時に顕著に減少した重水素の組み込みを有することが見出された。この段落での全ての残基は、配列番号25に従って番号付けされる。残基125~155(FNDQKRGI CRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERD、配列番号27)からなる1つの領域は、ヒトCD137がBA001-F(ab')<sub>2</sub>に結合すると、強い重水素保護を経験した。したがって、この領域は、CD137上のBA001のエピトープまたはその部分に対応する。BA001が強く結合した、ヒトおよびカニクイザルCD137(図1Aおよび1B)の両方の配列を検査することにより、上述の領域における

10

20

30

40

50



完全な配列同一性が明らかになった(図11)。対照的に、ヒトCD137と比較して多数のアミノ酸置換および挿入をこの領域に含むBA001は、顕著な程度ではマウスCD137に結合しない(データは示さず)(図14A)。最後に、CD137の断片、残基26~63(DP C S N C P A G T F C D N N R N Q I C S P C P P N S F S S A G G Q R T C D、配列番号34)はまた、重水素保護を示した。理論に束縛されることを望むものではないが、このシグナルはPLAD-PLAD相互作用を介したCD137二量体化を反映していることが企図され、これは、BA001-F(ab')<sub>2</sub>の各アームによる例えば2つの別個のCD137分子のうちの1つへの結合によって向上され得、それによりCD137分子のPLADドメインの十分に近位に近づいて結合してPLAD-PLAD相互作用を可能にする。

10

#### 【0339】

#### 抗ヒトCD137 Fabのエピトープ結合

CD137ペプチドの大部分は、BA001Fabの存在下、および不在下で、同一または同様の重水素レベルを示した。しかしながら、いくつかのペプチドセグメントは、BA001-Fab結合時に顕著に減少した重水素の組み込みを有することが見出された。この段落での全ての残基は、配列番号25に従って番号付けされる。残基125~141(FNDQKRGI CRPWTNCSL、配列番号26)によって画定される領域は、ヒトCD137がBA001-Fabに結合すると、強い重水素保護を経験した。したがって、この領域は、CD137上のBA001のエピトープまたはその部分に対応する。残基89~98(TPGFHCLGAG、配列番号28)、および残基107~112(KQGQEL、配列番号29)からなる2つの追加の領域はまた、実質的な重水素保護を呈し、したがって、CD137のBA001の追加のエピトープまたはその部分に任意選択的に対応する。BA001が強く結合した、ヒトおよびカニクイザルCD137(図1Aおよび1B)の両方の配列を検査することにより、上述の、配列番号26および29に対応する領域における完全な配列同一性が明らかになった(図13)。これらの領域でヒトCD137とは実質的に異なるBA001は、顕著な程度ではマウスCD137に結合しない(データは示さず)(図14A)。4つのアミノ酸置換は、配列番号28(すなわち、T82I、P83S、F85Y、およびG91E)に対応するカニクイザル配列の領域に見出される。残基26~63(配列番号34)からなるCD137の領域は、この実験において重水素保護を全く呈さなかった。理論に束縛されることを望むものではないが、個々のBA001-Fab断片のCD137の単一分子へのその結合が、PLAD-PLAD二量体化を促進しないことが企図される。

20

30

#### 【0340】

#### 6.5.2 ヒト/マウスキメラタンパク質を使用する抗CD137抗体のエピトープマッピング

一連のJurkat細胞にトランスフェクトされたマウス切り替え変異構造体を使用して、抗CD137抗体Ba001によって認識されるヒトCD137上のエピトープをさらに研究し、次いでFACSによって分析することができた。細胞外ドメイン内に単一の変異した領域を含有するヒトCD137を構造的に各々発現する、ヒトCD137配列のその部分がマウスCD137(すなわち、図14Aに示される変異体5014~5018、以下の表5に提供される配列)からの対応する配列と切り替えられている、Jurkat切り替え変異体を生成した。

40

## 【表 5】

表 5. CD137 のヒト-マウス融合構造体配列の細胞外ドメイン

説明	アミノ酸配列*	配列番号
ヒト-マウス融合構造体5014の細胞外ドメイン	LQDPCSNCPAGTF <b>CRKYNPVCKSCPPST</b> FSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPARPGHSPQ	35
ヒト-マウス融合構造体5015の細胞外ドメイン	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSS <b>IGGQPNC</b> <b>NICRV</b> CAGYFR <b>FKKFC</b> SSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPAREPGHSPQ	36
ヒト-マウス融合構造体5016の細胞外ドメイン	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTH <b>NAECECIEGFHCLGPQ</b> <b>CTRCEKDCRPGQEL</b> TKKGCKDCCFGTFNDQKRGICR PWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASS VTPPAPAREPGHSPQ	37
ヒト-マウス融合構造体5017の細胞外ドメイン	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQEL <b>TKQGCKTCSL</b> GTTFNDQNGTGVC <b>RP</b> WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGAS SVTPPAPAREPGHSPQ	38
ヒト-マウス融合構造体5018の細胞外ドメイン	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLD <b>GRSVLKTGTTEK</b> DVVCGPSPADLSPGASS VTPPAPAREPGHSPQ	39

\*ヒトCD137配列をプレーンテキストで示す。マウスCD137配列は、太字である。

## 【0341】

これらの操作された変異体細胞株を使用して、抗CD137抗体が、特定の切り替え変異体に結合することができるかどうかを試験した。それによる結合の不在は、可能なエピトープ位置を示したであろう。概して段落1.1に記載の細胞結合アッセイを実施した。要するに、段階希釈した抗CD137抗体（すなわち、BA001、参照抗CD137抗体#1、または参照抗CD137抗体#2）を使用して、96ウェルプレートで、 $5 \times 10^4$ 細胞/ウェルのトランスフェクトしたJurkat細胞を4で25分間染色した。細胞を2回洗浄し、F(ab')<sub>2</sub>ヤギ抗ヒトIgG-PE二次抗体（Jackson ImmunoResearch、Cat#109-116-098）と培養した。次いで細

胞を洗浄し、PBS中で調製した2%のパラホルムアルデヒド (Electron Microscopy Sciences) 80  $\mu$ lに懸濁した。BD FACS Cantoを用いてデータを収集し、BD FACS Divaソフトウェアを使用して分析した。

【0342】

図14Bに示されるように、抗体Ba001は、ヒトCD137の配列LTKKGCKDCCFGTFNDQKRGI CRPWTNC (配列番号30)がマウスCD137の対応する領域で置換されている、変異体5017を除く全てのマウス切り替え変異体を発現しているJurkat細胞に結合することができた。BA001が呈する結合パターンは、参照抗CD137抗体#1および#2が呈するものとは異なる (図14B)。参照抗CD137抗体#1は、より低い抗体濃度で変異体5017へのわずかな結合を呈したが、結合は10  $\mu$ g/ml以上の濃度ではっきりと検出された。加えて、BA001とは異なり、参照抗CD137抗体#1は、変異体5016への結合を全く示さなかった。

10

【0343】

マウス切り替え変異体から特定されたヒトCD137のBA001エピートープは、段落6.5.1に記載のHDXエピートープマッピング実験において特定されたBA001エピートープと実質的に重複した。重複している領域では、KRGI (配列番号43)の配列を有する、ヒトCD137の4つの連続したアミノ酸残基は、マウスCD137の対応する領域で見出されるNGTGV (配列番号44)の配列とは異なった (図15A)。この差異は、マウスCD137へのBA001の実質的な親和性の欠如を説明し得る。KRGI (配列番号43)の配列がBA001によって認識されるエピートープであるかどうかを決定するために、キメラCD137細胞外ドメインを含む2つのタンパク質を生成した：「4 - aaヒトからマウス」CD137タンパク質は、KRGI配列がNGTGVで置換されたヒトCD137細胞外ドメインであり、「4 - aaマウスからヒト」CD137タンパク質は、NGTGV配列がKRGIで置換されたマウスCD137細胞外ドメインであった。これらのキメラタンパク質は、C-末端にGly-Serリンカーおよび6xHisタグをさらに含む。細胞外ドメインの配列を表6に提供する。

20

30

40

50

【表 6】

表 6. キメラ CD 1 3 7 タンパク質およびその断片の細胞外ドメイン

説明	アミノ酸配列*	配列番号
マウス CD 1 3 7 断片	NGTGV	44

説明	アミノ酸配列*	配列番号
「4-a a ヒトからマウス」 CD 1 3 7 の細胞外ドメイン	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQNGTGVC PWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASS VTPPAPAREPGHSPQ	45
「4-a a マウスからヒト」 CD 1 3 7 の細胞外ドメイン	VQNSCDNCQPGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSIGGQPNC NICRVCAGYFRFKKFCSSSTHNAECECIEGFHCLGPQCT RCEKDCRPGQELTKQGCKTCSLGTTFNDQKRGICRPWT NCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPPVVSFSPSTTISVTPE GGPGHSLQVL	46

## 【 0 3 4 4 】

表面プラズモン共鳴 (SPR) アッセイで、上述のキメラ CD 1 3 7 タンパク質を試験した。要するに、まず、アミンカップリングキットを使用して、CM5 センサーチップを抗ヒト Fab 抗体でコーティングした。フローセル 1 を参照として保持し、フローセル 2 および 3 上で 6  $\mu$ g/mL の BA001 および参照抗 CD 1 3 7 抗体 # 1 をそれぞれ 10  $\mu$ l/分の流量で捕捉した。次いで、60 nM の濃度の完全なヒト CD 1 3 7 タンパク質、「ヒトからマウス」CD 1 3 7 キメラタンパク質、および「マウスからヒト」CD 1 3 7 キメラタンパク質を、90 秒間 30  $\mu$ l/分でフローセル上に独立して泳動させ、続いて 400 秒解離させた。会合および解離相の両方の間のセンサーグラムを記録した。

## 【 0 3 4 5 】

図 15 B に示されるように、ヒト CD 1 3 7 の KRGI (配列番号 43) 配列をマウス CD 1 3 7 の NGTGV (配列番号 44) 配列で置換すると、キメラタンパク質は、BA001 に結合するその能力を喪失した。逆に、マウス CD 1 3 7 の NGTGV (配列番号 44) 配列をヒト CD 1 3 7 の KRGI (配列番号 43) 配列で置換すると、キメラタンパク質は、BA001 に結合する能力を得た。これらのデータは、KRGI (配列番号 43) 配列が、BA001 への結合に関与するヒト CD 1 3 7 の重要なエピトープ領域を表すことを示唆した。

## 【 0 3 4 6 】

比較すると、図 15 C に示されるように、ヒト CD 1 3 7 の KRGI (配列番号 43) 配列をマウス CD 1 3 7 の NGTGV (配列番号 44) 配列で置換すると、キメラタンパク質は、参照抗 CD 1 3 7 抗体 # 1 に結合するその能力を喪失した。しかしながら、マウス CD 1 3 7 の NGTGV (配列番号 44) 配列をヒト CD 1 3 7 の KRGI (配列番号 43) 配列で置換すると、キメラタンパク質は、参照抗 CD 1 3 7 抗体 # 1 に結合する能

力を得なかった。これらのデータは、K R G I (配列番号 4 3) 配列が、参照抗 C D 1 3 7 抗体 # 1 の結合に必要なにもかかわらず、マウス C D 1 3 7 の状況では十分でなかったことを示唆した。

【 0 3 4 7 】

#### 6 . 6 抗 C D 1 3 7 抗体多様体の特徴評価

この実施例は、B A 0 0 1 抗体の多様体である抗 C D 1 3 7 抗体の特徴評価について説明する。これらの抗体のうちの 4 つの可変領域の配列情報を表 1 および 2 に提供する。

【 0 3 4 8 】

#### 6 . 6 . 1 B A 0 0 1 多様体は、ヒトおよびカニクイザル C D 1 3 7 に結合する。

B A 0 0 1 の C D R H 1、C D R H 3、および C D R L 3 にアミノ酸置換を含有する s c F v ファージディスプレイライブラリをスクリーニングすることによって、B A 0 0 1 の多様体を生成した。要するに、配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含む B A 0 0 1 の s c F v を生成し、s c F v の変異誘発を行い、親和性に基づいて選択することによってポジティブクローンを濃厚にした。ヒト C D 1 3 7 に結合する合計 3 4 7 個のクローンを特定した。3 4 7 個のクローンのアミノ酸配列の分析から構成した、コンセンサス C D R H 1、C D R H 3、および C D R L 3 配列は、それぞれ配列番号 8 2、8 3、および 8 4 に記載されている。3 4 7 個のクローンのなかでも、2 3 3 個が、 $1 \times 10^{-3}$  秒<sup>-1</sup> 未満の解離速度を有した。これらの 2 3 3 個のクローンから構成した、コンセンサス C D R H 1、C D R H 3、および C D R L 3 配列は、それぞれ配列番号 8 5、8 6、および 8 7 に記載されている。

【 0 3 4 9 】

B A 0 0 1 多様体のうちの 4 つの C D 1 3 7 への結合親和性をさらに特徴評価した。B A 0 4 9、B A 0 5 0、B A 0 5 1、および B A 0 5 2 という名称のこれらの 4 つの多様体は、表 1 に提供される列配列番号 6 9、7 0、7 1、および 7 2 にそれぞれ記載の s c F v アミノ酸配列を含んだ。4 つの多様体を I g G 1 フォーマットに変換し、それらの重鎖配列および軽鎖配列を表 1 および 2 に提供する。結合親和性を測定するために、各々 G l y - S e r リンカー、続いて 6 x H i s タグを含む、ヒト C D 1 3 7、カニクイザル C D 1 3 7、マウス - ヒト融合構造体 5 0 1 5 (アミノ酸残基 5 3 ~ 8 1 を対応するヒト C D 1 3 7 の配列で置換したマウス C D 1 3 7)、およびマウス - ヒト融合構造体 5 0 1 7 (アミノ酸残基 1 1 2 ~ 1 4 0 を対応するヒト C D 1 3 7 の配列で置換したマウス C D 1 3 7) の細胞外ドメインを、抗原として使用した。(リンカーおよび 6 x H i s タグを除く) 2 つのキメラタンパク質の細胞外ドメイン配列を表 7 に提供する。

10

20

30

40

50

## 【表 7】

表 7. キメラCD<sub>137</sub>タンパク質の細胞外ドメイン

説明	アミノ酸配列*	配列番号
マウス-ヒト融合構造体5015の細胞外ドメイン	VQNSCDNCQPGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTHNAECECIEGFHCLGPQ CTRCEKDCRPGQELTKQGCKTCSLGTENDQNGTGVC PWTNCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPPVVSFSPSTTIS VTPEGGPGGHS LQVL	47
マウス-ヒト融合構造体5017の細胞外ドメイン	VQNSCDNCQPGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSIGGQPNC NICRVCAGYFRFKKFCSSSTHNAECECIEGFHCLGPQCT RCEKDCRPGQELTKKGCKDCCFGTFENDQKRGICRP WTNCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPPVVSFSPSTTISV TPEGGPGGHS LQVL	48

## 【0350】

(IgG1フォーマットにおける)BA001多様体の抗原に対する親和性をELISAによって測定した。特に、1xPBS(pH7.4)(Gibco(商標)、Cat#10010056)で希釈した5µg/mLの各抗原50µlを、Thermo Scientific(商標)Black96ウェルImmuno Plate(Thermo Fisher Scientific、Cat#437111)の各ウェルに添加し、4で一晩培養した。Biostack3マイクロプレートスタッカーを備えたBiotek405TSマイクロプレート洗浄器を使用して、プレートをPBSで3回洗浄した。PBS中3%のミルク粉末(Marvel乾燥スキムミルク粉末)を含む300ul/ウェルを用いて室温で1時間培養することによって、プレートを遮断し、1xPBSで3回洗浄した。3%M-PBS(1xPBS中のミルク粉末)に抗体を滴定してプレートに添加して、室温で1時間培養した。プレートを、0.1%のTween20(Sigma Aldrich、Cat#P1379)を含む1xPBSで3回、プレート洗浄器を使用して1xPBSで3回洗浄した。3%M-PBS中1:2000で希釈した、50µlのピオチン-SP(ロングスパー)AffiniPureヤギ抗ヒトIgG、Fc Fragment Specific(Jackson Immuno Research、Code:109-065-098、ロット番号123909)を各ウェルに添加し、室温で1時間培養した。プレートを、0.1%のTween20を含む1xPBSで3回、およびプレート洗浄器を使用して1xPBSで3回洗浄した。検出用に、DEL FIA(登録商標)アッセイ緩衝液(PerkinElmer、製品番号4002-0010、ロット番号646702)中1:500で希釈した、50µlのDEL FIA(登録商標)ユウロピウムで標識したストレプトアビジン(PerkinElmer、製品番号1244-360、ロット番号2195997)を各ウェルに添加し、室温で1時間培養した。プレートを、0.1%のTween20を含む1xPBSで3回、およびプレート洗浄器を使用してPBSで3回洗浄した。50ulのDEL FIA(登録商標)エンハンスメント溶液(PerkinElmer、製品番号4001-0010、ロット番号650872)を各ウェルに添加し、穏やかに振盪しながら室温で5分間培養した。Tecan Infinite M1000 Proプレートリーダーを使用して、励起340nmおよび

10

20

30

40

50

放射 615 nm で蛍光を読み出した。データを Tecan iControl ソフトウェア 1.11.1.0 版を用いて取得し、Graphpad Prism 7.02 版を用いて分析した。

【0351】

図 16 A および 16 B に示されるように、4 つの BA001 多様体は、ヒトおよびカニクイザル CD137 への結合を示した。加えて、それらはマウス - ヒト融合構造体 5017 (「mCD137 - ヒト 112 - 139」) に結合したが (図 16 C)、マウス - ヒト融合構造体 5015 (「mCD137 - ヒト 53 - 80」) には結合せず (図 16 D)、それらはアミノ酸残基 112 ~ 139 の領域におけるヒト CD137 のエピトープに結合したことを示している。これらのデータは、これらの 4 つの多様体が、BA001 と同じかまたは同様のエピトープに結合したことを示唆している。

10

【0352】

本発明の範囲は、本明細書に記載の具体的な実施形態に限定されるものではない。実際には、記載される修正に加えて本発明の様々な修正が、前述の説明および添付の図面から当業者に明らかになるであろう。そのような修正は、添付の特許請求の範囲内に収まるよう意図されている。

【0353】

本明細書に引用される全ての参考文献 (例えば、出版物または特許または特許出願) は、各々の個別の参考文献 (例えば、出版物または特許または特許出願) が全ての目的のために参照によりその全体が組み込まれると具体的かつ個別に示される場合と同じ程度に、参照によりそれらの全体がおよび全ての目的のために本明細書に組み込まれる。

20

【0354】

他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内である。

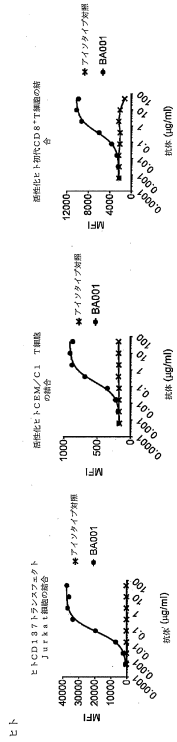
30

40

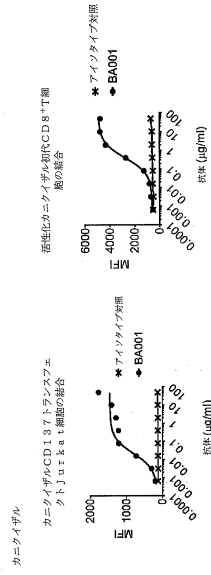
50

【図面】

【図 1 A】



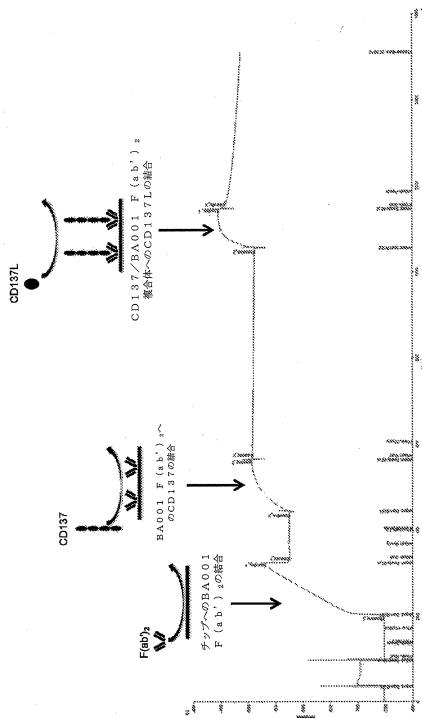
【図 1 B】



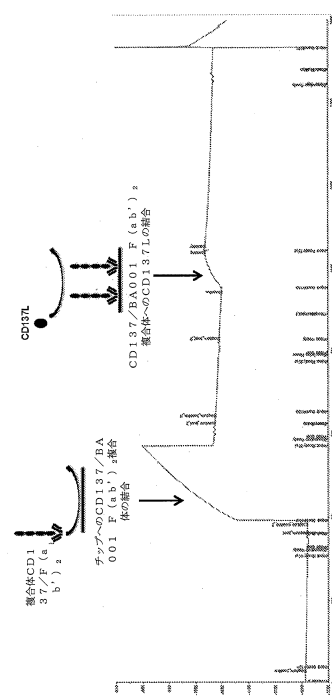
10

20

【図 2 A】



【図 2 B】



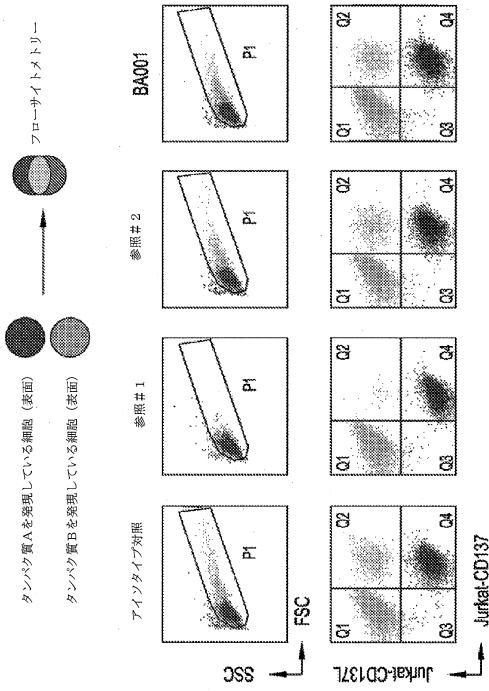
30

40

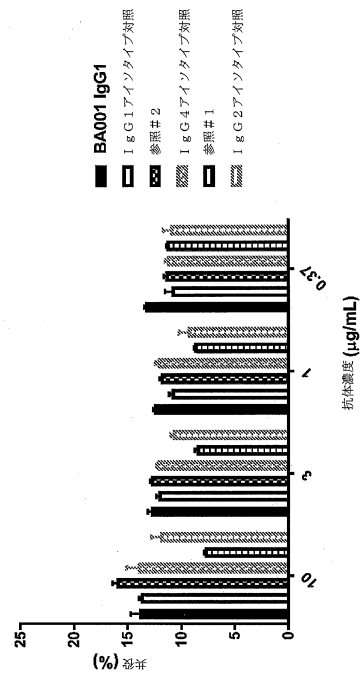
50



【 3 A 】



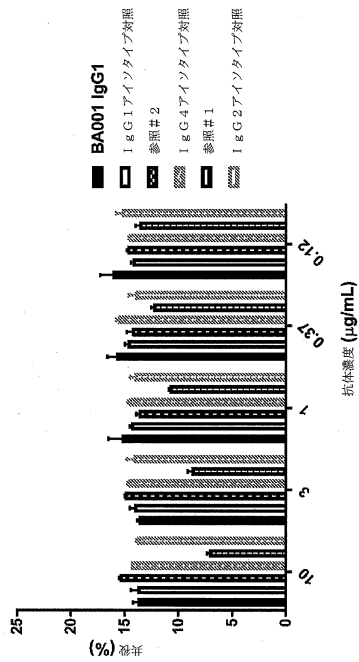
【 3 B 】



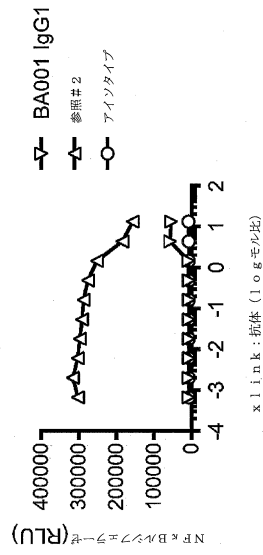
10

20

【 3 C 】



【 4 A 】

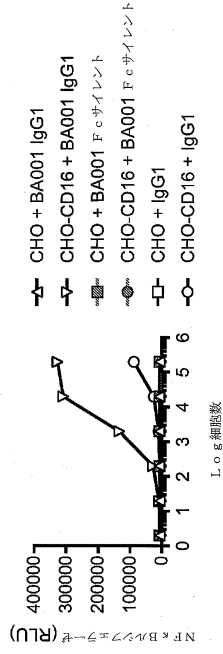


30

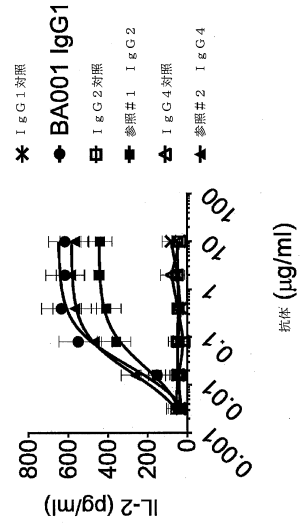
40

50

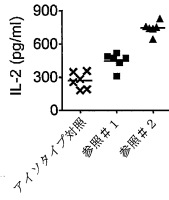
【 図 4 B 】



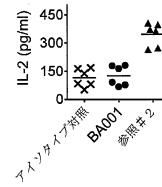
【 図 5 】



【 図 6 A 】



【 図 6 B 】



10

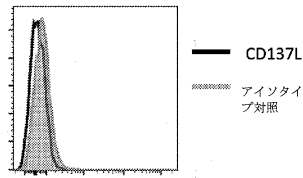
20

30

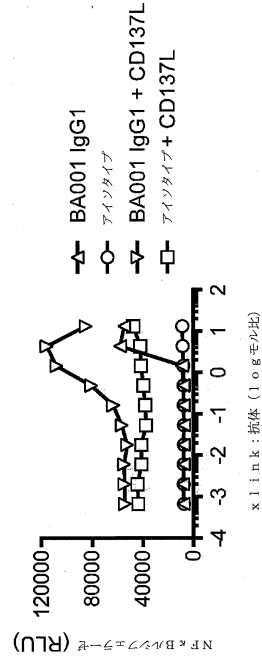
40

50

【 図 6 C 】



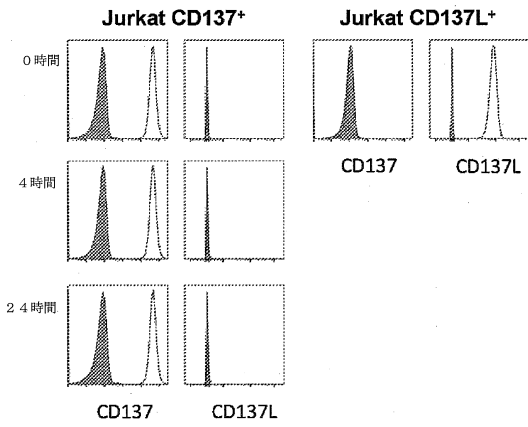
【 図 7 A 】



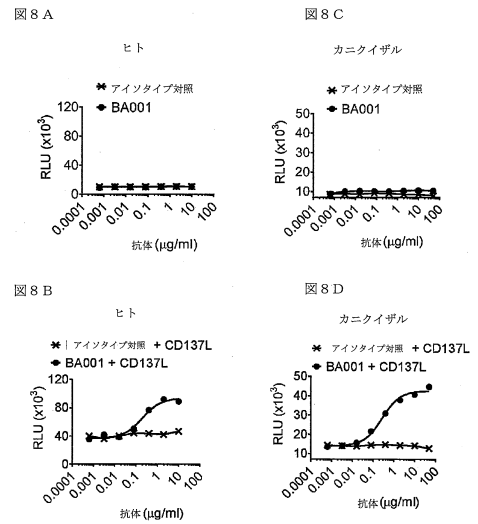
10

20

【 図 7 B 】



【 図 8 】

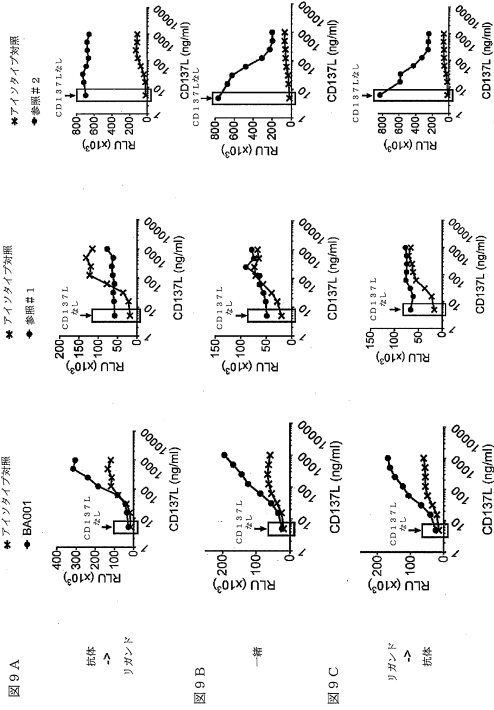


30

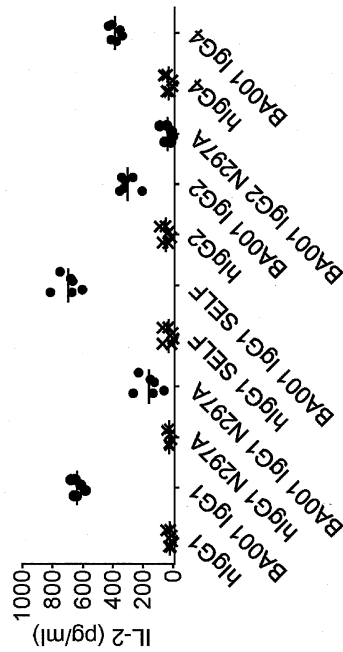
40

50

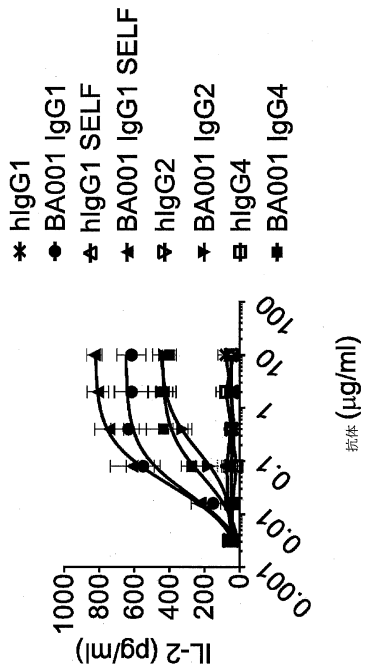
【 図 9 】



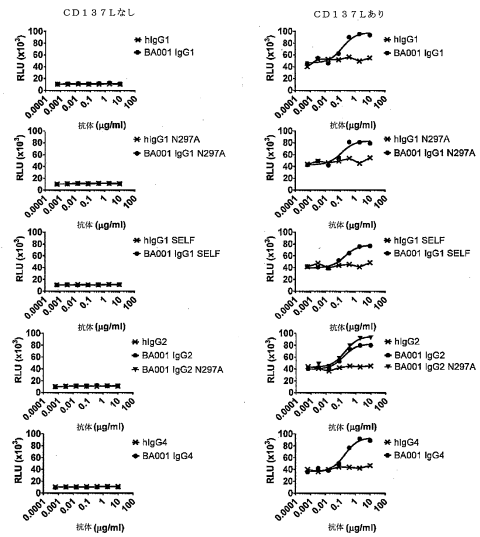
【 図 10 A 】



【 図 10 B 】



【 図 11 】



10

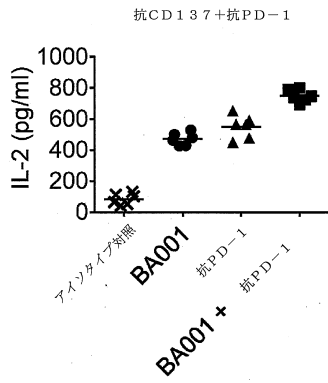
20

30

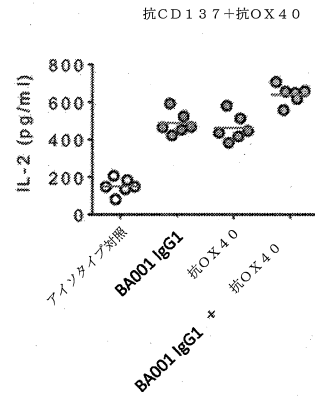
40

50

【図 1 2 A】



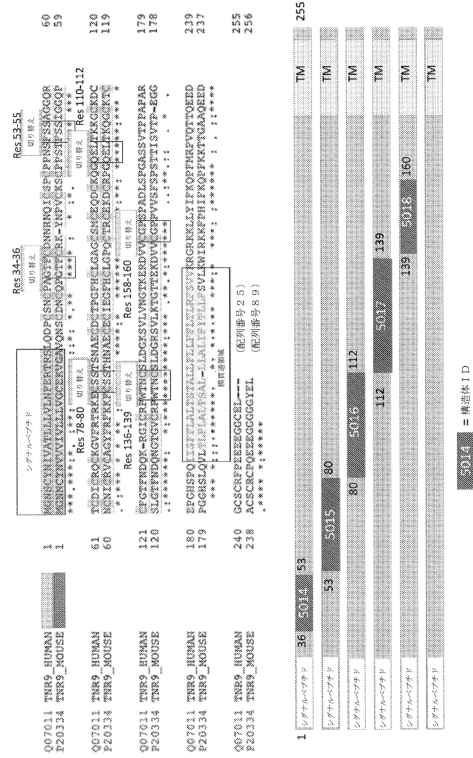
【図 1 2 B】



【図 1 3】

NP\_001552.2\_00137\_1-1T MGNSCYIVATLLVILNERTRSLDPPCSNPAGTFCNNRNOICSPPPNPFSSAGGQFTDIDGCKGKGFTRKCCSS 80  
 XP\_005544946.1\_00137\_1AACFA MGNSCYIVATLLVILNERTRSLDLCSNPAGTFCNNRNSQICSPPPNPFSSAGGQFTDIDGCKGKGFTRKCCSS 80  
 NP\_001552.2\_00137\_1-2T TSNMCDCTRFHCLGAGCSMCEDDKGGKCCGTFVNDKRGICRPMTNCSLDKGSVAVNTEKERDWCQP 160  
 XP\_005544946.1\_00137\_1AACFA TSNMCDCTRFHCLGAGCSMCEDDKGGKCCGTFVNDKRGICRPMTNCSLDKGSVAVNTEKERDWCQP 160  
 NP\_001552.2\_00137\_1-3T SPADLSPGASSYPPAPAREPQRSQIISFFLALITSTVLLFFLFLRFVSWKRRKLLYIFKPPRPPVOTTEEDS 240  
 XP\_005544946.1\_00137\_1AACFA SPADLSPGASSYPPAPAREPQRSQIISFFLALITSTVLLFFLFLRFVSWKRRKLLYIFKPPRPPVOTTEEDS 239  
 NP\_001552.2\_00137\_1-4T CSORFPEEEGGCEL (配列番号 2 5)  
 XP\_005544946.1\_00137\_1AACFA CSORFPEEEGGCEL (配列番号 8 8)

【図 1 4 A】



10

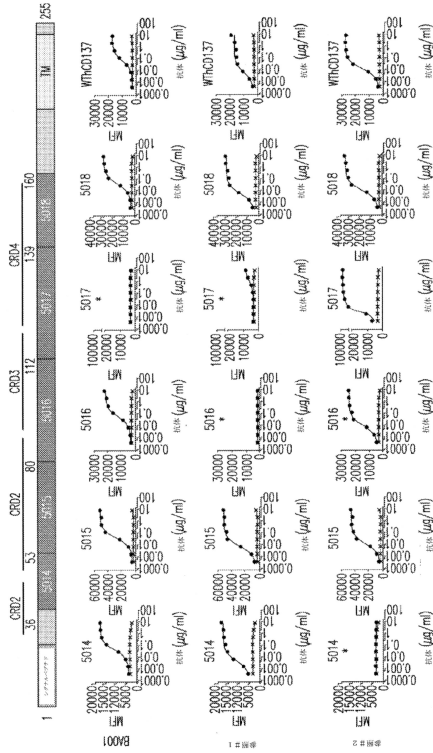
20

30

40

50

【 1 4 B 】



【 1 5 A 】

```

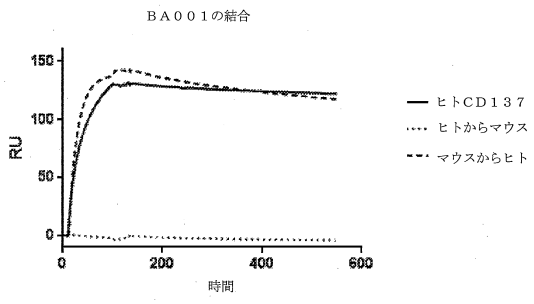
MGNSCYNIATLLVLFNFRTRSLQDPCSNCPAGTFCDNINRQICSPCPNFSFSSAGGQR
MGNNCYVWVTVLLVGCCKVGVQNSDNCQPGTFC-RKYNPVKSCPPSTFSSIGGQP
***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***
TQDLCRQKGVFRTRKESSTNAECDCTPGFHLGAGCSMCEQDCKQGAELTKKGKQC
NCLICRVAGYFRFKFOSSTHNAECEIEGFHCLGPGCTCECKDRPQAEITKGGKTC
***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***
CFGTFNDQK-RGTCRPTWNCISLDCXSVLVNGTKERDWCQSPADLSPGAS-SVTPPPAPA
ISLGFNDQNGTGYCRPTWNCISLDCRSVLKGTTEKDWCGPVPVSFSPSTTISVTP----
***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***.***
REPCHSQIISFFLALITSTALLFLFLIRFSWKGRKRLLYIFKQPEMPVQTQEE
-EGGPA-----FKTTGAAQEE
* * * * *
DGCSCRFPEEEE---GGCEL (配列番号25)
DACSRCRQEEEGGGGVEL (配列番号89)
* * * * *

```

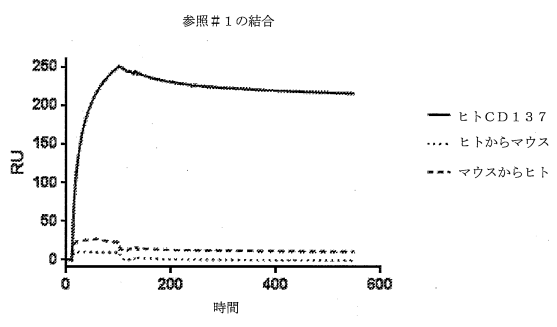
マウス  
マウス  
マウス  
マウス  
マウス  
マウス

10  
20


【 1 5 B 】

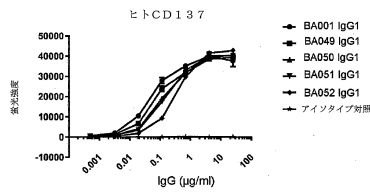



【 1 5 C 】

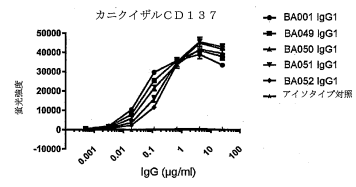



30  
40

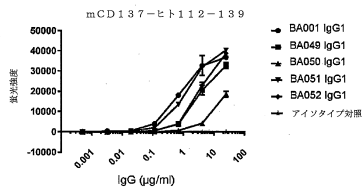
【 16 A】




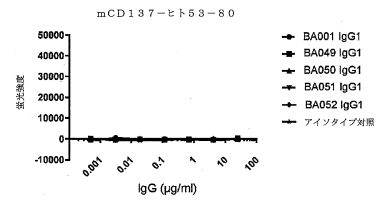
【 16 B】



【 16 C】



【 16 D】



10

【配列表】

[0007297672000001.app](#)

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

## F I

C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	E
		A 6 1 K	39/395	Y
		A 6 1 K	39/395	M
		A 6 1 K	45/00	

- (72)発明者 ニコラス・スチュアート・ウィルソン  
アメリカ合衆国・カリフォルニア・9 4 0 7 0・サン・カルロス・ウィロー・グレン・ウェイ・4  
3
- (72)発明者 ベンジャミン・マキシム・モーリン  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 2 1 4 4・サマーヴィル・ゴーラム・ストリート・1 8・  
アパートメント・2
- (72)発明者 マーク・アーサー・フィンダイス  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 2 4 7 8・ベルモント・スクール・ストリート・4 3 1
- (72)発明者 コルネリア・アンネ・ムント  
ドイツ・7 9 5 3 9・レラハ・ハングシュトラッセ・3 4
- (72)発明者 マルク・ファン・デイク  
オランダ・3 7 3 5カーヘー・ボス・エン・ダイン・トルハイスラーン・8アー
- (72)発明者 ダン・シッタールタ・チャンド  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 1 8 0 1・ウォバーン・プロスペクト・ストリート・4
- (72)発明者 デイヴィッド・アダム・サヴィツキー  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 1 9 2 1・ボックスフォード・サンライズ・ロード・2 8
- (72)発明者 デニス・ジョン・アンダーウッド  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0 2 1 3 0・ボストン・パーク・プレイス・2
- (72)発明者 オルガ・イグナトヴィッチ  
イギリス・C B 1・8 P Y・ケンブリッジ・ボーマント・ロード・3 4

審査官 鈴木 崇之

- (56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 1 6 / 0 2 4 4 5 2 8 ( U S , A 1 )  
特表 2 0 0 7 - 5 3 2 0 9 5 ( J P , A )  
BLOOD, 2008年08月01日, Vol. 112, No. 3, pp. 699-707  
J. Mol. Recognit., 2009年, Vol. 22, pp. 242-249

## (58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0  
C 0 7 K 1 6 / 0 0 - 1 6 / 4 6