

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-531005
(P2021-531005A)

(43) 公表日 令和3年11月18日(2021.11.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13 Z N A	4 B O 6 5
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62 Z	4 C O 8 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 C O 8 5
C O 7 K 16/46 (2006.01)	C O 7 K 16/46	4 H O 4 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 113 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2021-502831 (P2021-502831)
 (86) (22) 出願日 令和1年7月18日 (2019.7.18)
 (85) 翻訳文提出日 令和3年1月29日 (2021.1.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/042447
 (87) 国際公開番号 W02020/018820
 (87) 国際公開日 令和2年1月23日 (2020.1.23)
 (31) 優先権主張番号 62/700,596
 (32) 優先日 平成30年7月19日 (2018.7.19)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/750,968
 (32) 優先日 平成30年10月26日 (2018.10.26)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 597160510
 リジェネロン・ファーマシューティカルズ
 ・インコーポレイテッド
 REGENERON PHARMACEU
 TICALS, INC.
 アメリカ合衆国10591-6707ニュ
 ーヨーク州タリータウン、オールド・ソー
 ・ミル・リバー・ロード777番
 (74) 代理人 100127926
 弁理士 結田 純次
 (74) 代理人 100140132
 弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 二重特異性抗BCMA×抗CD3抗体およびそれらの使用

(57) 【要約】

B細胞成熟抗原(BCMA)は、悪性形質細胞上に発現する。本発明は、BCMAおよびCD3の両方に結合し、BCMA発現腫瘍細胞の存在下でCD3複合体を介してT細胞を活性化する新規な二重特異性抗体(bsAb)を提供する。ある特定の実施形態において、本発明の二重特異性抗原結合分子は、BCMAを発現する腫瘍の成長を阻害することができる。本発明の二重特異性抗原結合分子は、上方制御または誘導されたBCMA標的化免疫応答が望ましいかつ/または治療的に有益である疾患および障害の治療に有用である。例えば、本発明の二重特異性抗体は、多発性骨髄腫を含む様々な癌の治療に有用である。

【選択図】 図1

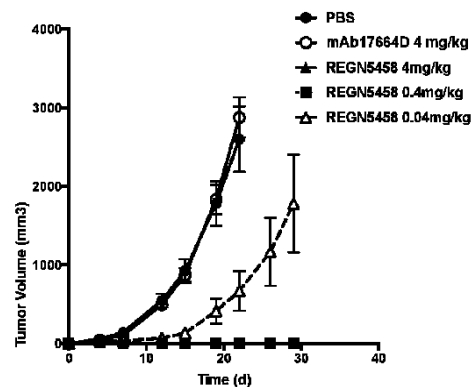


Figure 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

単離された二重特異性抗原結合分子であって、

(a) インビトロ FACS 結合アッセイによって測定されるように、約 100 nM 未満の EC₅₀ を有する、標的腫瘍細胞上のヒト B 細胞成熟抗原 (BCMA) に特異的に結合する第 1 の抗原結合ドメインと、

(b) インビトロ FACS 結合アッセイによって測定されるように、約 10⁻⁶ M 未満の EC₅₀ を有する、ヒト CD3 に特異的に結合する第 2 の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 2】

前記二重特異性抗原結合分子が、約 10⁻⁹ M 未満の EC₅₀ を有するインビトロで T 細胞を活性化する、請求項 1 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 3】

前記二重特異性抗原結合分子が、約 10⁻⁹ M 未満の EC₅₀ を有する BCMA を発現する腫瘍細胞株のインビトロ T 細胞死滅を媒介する、請求項 1 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 4】

前記二重特異性抗原結合分子が、約 10⁻⁸ M 未満の EC₅₀ を有する BCMA を発現する原発性骨髄腫細胞のインビトロ自己 T 細胞死滅を媒介する、請求項 1 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 5】

前記二重特異性抗原結合分子が、配列番号 106 に記載の BCMA のアミノ酸残基 1 ~ 43 と相互作用する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 6】

前記標的腫瘍細胞が、形質細胞である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 7】

前記標的腫瘍細胞が、多発性骨髄腫に罹患している患者からのものであるか、または BCMA を発現する B 細胞を有することを部分的に特徴とする別の B 細胞障害からのものである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 8】

前記二重特異性抗原結合分子が、カニクイザル BCMA と交差反応する、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 9】

前記二重特異性抗原結合分子が、カニクイザル BCMA と交差反応しない、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 10】

前記二重特異性抗原結合分子が、約 0.04 mg/kg ~ 約 4.0 mg/kg の用量で BCMA 発現腫瘍細胞の増殖を阻害する、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 11】

前記二重特異性抗原結合分子が、骨髄腫細胞、リンパ腫細胞、および白血病細胞からなる群から選択される BCMA + 腫瘍細胞の増殖を阻害する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 12】

前記二重特異性抗原結合分子が、H929 細胞、MOLP-8 細胞、および OPM 細胞からなる群から選択される BCMA + 腫瘍細胞の増殖を阻害する、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 13】

10

20

30

40

50

前記第 1 の抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) 内に含まれる 3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R 1、H C D R 2、および H C D R 3) と、

(b) 配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) 内に含まれる 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1、L C D R 2、および L C D R 3) と、を含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 1 4】

配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含む H C D R 1 と、配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む H C D R 2 と、配列番号 7 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 3 と、を含む、請求項 1 3 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

10

【請求項 1 5】

配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む L C D R 1 と、配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含む L C D R 2 と、配列番号 8 8 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 と、を含む、請求項 1 3 または 1 4 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 1 6】

前記第 1 の抗原結合ドメインが、配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む H C V R と、配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む L C V R と、を含む、請求項 1 3 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 1 7】

前記第 2 の抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 9 0 または配列番号 9 8 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) 内に含まれる 3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R 1、H C D R 2、および H C D R 3) と、

(b) 配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) 内に含まれる 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1、L C D R 2、および L C D R 3) と、を含む、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

20

【請求項 1 8】

前記第 2 の抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 9 2 または配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列を含む H C D R 1 と、

(b) 配列番号 9 4 または配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含む H C D R 2 と、

(c) 配列番号 9 6 または配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含む H C D R 3 と、を含む、請求項 1 7 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

30

【請求項 1 9】

前記第 2 の抗原結合ドメインが、配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む L D C R 1 と、配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含む L D C R 2 と、配列番号 8 8 のアミノ酸配列を含む L C D R 3 と、を含む、請求項 1 7 または 1 8 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項 2 0】

前記第 2 の抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 9 2、9 4、9 6 のアミノ酸配列をそれぞれ含む、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3 ドメインと、配列番号 8 4、8 6、8 8 のアミノ酸配列をそれぞれ含む、L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3 ドメインと、または

(b) 配列番号 1 0 0、1 0 2、1 0 4 のアミノ酸配列をそれぞれ含む、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3 ドメインと、配列番号 8 4、8 6、8 8 のアミノ酸配列をそれぞれ含む、L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3 ドメインと、を含む、請求項 1 9 に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

40

【請求項 2 1】

前記第 2 の抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 9 0 のアミノ酸配列を含む H C V R と、配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む L C V R と、または

(b) 配列番号 9 8 のアミノ酸配列を含む H C V R と、配列番号 8 2 のアミノ酸配列を

50

含むLCVRと、を含む、請求項20に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項22】

単離された二重特異性抗原結合分子であって、

(a) 配列番号68、70、72のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、

(b) 配列番号92、94、96のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子。

10

【請求項23】

単離された二重特異性抗原結合分子であって、

(a) 配列番号68、70、72のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、

(b) 配列番号100、102、104のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子。

20

【請求項24】

(a) 配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、

(b) 配列番号90のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む、請求項22に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項25】

(a) 配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、

(b) 配列番号98のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む、請求項23に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

30

【請求項26】

(a) ヒトBCMAに特異的に結合し、かつ配列番号2、18、34、50、66、122、および124からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むHCVRのCDRと、配列番号10、26、42、58、74、82、123、および125からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むLCVRのCDRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、

(b) ヒトCD3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子。

40

【請求項27】

前記第1の抗原結合ドメインが、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、122/123、124/125、2/82、18/82、34/82、50/82、66/82、122/82、および124/82からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対からのCDRを含む、請求項26に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項28】

前記第1の抗原結合ドメインが、それぞれ、配列番号4-6-8-12-14-16、20-22-24-28-30-32、36-38-40-44-46-48、52-54-56-60-62-64、68-70-72-76-78-80、4-6-8-84

50

- 86 - 88、20 - 22 - 24 - 84 - 86 - 88、36 - 38 - 40 - 84 - 86 - 88、52 - 54 - 56 - 84 - 86 - 88、および68 - 70 - 72 - 84 - 86 - 88からなる群から選択されるHC DR 1 - HC DR 2 - HC DR 3 - LC DR 1 - LC DR 2 - LC DR 3ドメインを含む、請求項27に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項29】

前記第1の抗原結合ドメインが、配列番号2 / 10、18 / 26、34 / 42、50 / 58、66 / 74、122 / 123、124 / 125、2 / 82、18 / 82、34 / 82、50 / 82、66 / 82、122 / 82、および124 / 82からなる群から選択される前記HC VR / LC VRアミノ酸配列対を含む、請求項28に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

10

【請求項30】

前記第2の抗原結合ドメインが、配列番号90 / 82および98 / 82からなる群から選択されるHC VR / LC VRアミノ酸配列対のCDRを含む、請求項26 ~ 29のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項31】

BCMAへの結合を競合する、または参照抗体としてBCMA上の同じエピトープに結合する、単離された二重特異性抗原結合分子であって、前記参照抗体が、配列番号66 / 82のアミノ酸配列を含むHC VR / LC VR対を含む第1の抗原結合ドメインと、配列番号90 / 82または配列番号98 / 82のいずれかのアミノ酸配列を含むHC VR / LC VR対を含む第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子。

20

【請求項32】

ヒトCD3への結合を競合する、または参照抗体としてヒトCD3上の同じエピトープに結合する、単離された二重特異性抗原結合分子であって、前記参照抗体が、配列番号66 / 82のアミノ酸配列を含むHC VR / LC VR対を含む第1の抗原結合ドメインと、配列番号90 / 82または配列番号98 / 82のいずれかのアミノ酸配列を含むHC VR / LC VR対を含む第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項33】

二重特異性抗体である、請求項1 ~ 32のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

30

【請求項34】

前記二重特異性抗体が、ヒトIgG重鎖定常領域を含む、請求項33に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項35】

前記ヒトIgG重鎖定常領域が、アイソタイプIgG1である、請求項34に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項36】

前記ヒトIgG重鎖定常領域が、アイソタイプIgG4である、請求項34に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

40

【請求項37】

前記二重特異性抗体が、同じアイソタイプの野生型ヒンジと比較して、Fc受容体結合を減少させるキメラヒンジを含む、請求項33 ~ 36のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子。

【請求項38】

請求項1 ~ 37のいずれか一項に記載の二重特異性抗原結合分子と、薬学的に許容される担体または希釈剤と、を含む、薬学的組成物。

【請求項39】

請求項1 ~ 37のいずれか一項に記載の二重特異性抗原結合分子をコードするヌクレオ

50

チド配列を含む、核酸分子。

【請求項 40】

請求項 39 に記載の核酸分子を含む、発現ベクター。

【請求項 41】

請求項 40 に記載の発現ベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 42】

対象における形質細胞腫瘍の成長を阻害する方法であって、前記対象に、請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子、または請求項 38 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 43】

前記形質細胞腫瘍が、多発性骨髄腫である、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 44】

第 2 の治療剤または治療レジメンを投与することをさらに含む、請求項 42 または 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記第 2 の治療剤または治療レジメンが、化学療法薬、DNAアルキル化剤、免疫調節剤、プロテアソーム阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、放射線療法、幹細胞移植、異なる腫瘍細胞表面抗原および T 細胞または免疫細胞抗原と相互作用する異なる二重特異性抗体、抗体薬物コンジュゲート、抗腫瘍剤にコンジュゲートした二重特異性抗体、PD-1、PD-L1、または CTLA-4 チェックポイント阻害剤、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

多発性骨髄腫、または別の BCM A 発現 B 細胞悪性腫瘍に罹患している患者を治療する方法であって、前記対象に、請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子、または請求項 38 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 47】

前記 BCM A 発現 B 細胞悪性腫瘍が、ワルデンストレームマクログロブリン血症、パーキットリンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ性白血病、濾胞性リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、およびホジキンリンパ腫からなる群から選択される、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

第 2 の治療剤を投与することをさらに含む、請求項 46 または 47 に記載の方法。

【請求項 49】

前記第 2 の治療剤または治療レジメンが、化学療法薬、DNAアルキル化剤、免疫調節剤、プロテアソーム阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、放射線療法、幹細胞移植、異なる腫瘍細胞表面抗原および T 細胞または免疫細胞抗原と相互作用する異なる二重特異性抗体、抗体薬物コンジュゲート、抗腫瘍剤にコンジュゲートした二重特異性抗体、PD-1、PD-L1、または CTLA-4 チェックポイント阻害剤、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

BCM A 発現腫瘍に罹患している患者を治療する方法であって、前記対象に、請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の単離された二重特異性抗原結合分子、または請求項 38 に記載の薬学的組成物を、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合断片と組み合わせて投与することを含む、方法。

【請求項 51】

前記抗 PD-1 抗体または抗原結合断片が、抗 PD-1 抗体である、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記抗 PD-1 抗体が、セミプリマブ (REGN2810) である、請求項 51 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 5 3】

B C M A の発現に関連する疾患または障害の治療における、請求項 1 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の二重特異性抗原結合分子、または請求項 3 8 に記載の薬学的組成物の使用。

【請求項 5 4】

前記疾患または障害が、癌である、請求項 5 3 に記載の使用。

【請求項 5 5】

前記癌が、多発性骨髄腫である、請求項 5 4 に記載の使用。

【請求項 5 6】

前記抗原結合分子または薬学的組成物が、抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合断片と組み合わせて使用されるためのものである、請求項 5 3 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の使用

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

配列表の参照

本出願は、2019年7月8日に作成され、63,211バイトを含むファイル10452WO01 - 配列としてコンピュータ可読形式で提出された配列表を参照することにより組み込む。

【0 0 0 2】

本発明は、B細胞成熟抗原(B C M A)に特異的である、抗体およびその抗原結合断片、ならびにそれらの使用方法に関する。本発明は、B C M A および C D 3 に結合する二重特異性抗原結合分子(例えば、二重特異性抗体)、ならびにそれらの使用方法を含む。

20

【背景技術】

【0 0 0 3】

T N F R S F 1 7 または C D 2 6 9 としても知られている B 細胞成熟抗原 (B C M A) は、シグナルペプチドを欠き、システインに富む細胞外ドメインを含む I I I 型膜貫通タンパク質である。B C M A は、密接に関連するタンパク質と共に、発達の異なる段階で B 細胞の生存を促進する。B C M A は、B 細胞系列細胞、特に胚中心の濾胞間領域、ならびに形質芽細胞および分化した形質細胞でのみ発現する。B C M A は、形質細胞の分化中に選択的に誘導され、骨髄中の長寿命の形質細胞の最適な生存に必要である。多発性骨髄腫では、B C M A は、悪性形質細胞上に高レベルで広く発現しており、B C M A の発現は、正常細胞から活動性多発性骨髄腫への進行と共に増加する。B C M A はまた、ワルデンストレームマクログロブリン血症、パーキットリンパ腫、およびびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫を含む、他の B 細胞悪性腫瘍でも発現する。非特許文献 1。

30

【0 0 0 4】

C D 3 は、T 細胞受容体複合体 (T C R) と共に T 細胞上に発現されるホモ二量体またはヘテロ二量体抗原であり、T 細胞活性化に必要とされる。機能的 C D 3 は、4 つの異なる鎖：イプシロン、ゼータ、デルタ、およびガンマのうちの 2 つの二量体会合から形成される。C D 3 の二量体配置は、ガンマ/イプシロン、デルタ/イプシロン、およびゼータ/ゼータを含む。C D 3 に対する抗体は T 細胞上で C D 3 をクラスター化し、それによってペプチド負荷 M H C 分子による T C R の関与と同様の様式で T 細胞活性化を引き起こすことが示されている。したがって、抗 C D 3 抗体は T 細胞の活性化を含む治療目的のために提案されている。さらに、C D 3 および標的抗原に結合することができる二重特異性抗体は、標的抗原を発現する組織および細胞に対する T 細胞免疫応答を標的化することを含む治療的使用のために提案されている。

40

【0 0 0 5】

B C M A および C D 3 の両方に結合する二重特異性抗原結合分子を含む、B C M A を標的化する抗原結合分子は、B C M A を発現する細胞を特異的に標的化し、T 細胞媒介的に死滅することが望まれる治療設定において有用であり得る。

【先行技術文献】

50

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Tai et al., Immunotherapy, 7(11): 1187-1199, 2015.

【発明の概要】

【0007】

一態様では、本発明は、(a) インビトロFACS結合アッセイによって測定されるように、約100 nM未満のEC₅₀を有する、標的腫瘍細胞上のヒトB細胞成熟抗原(BCMA)に特異的に結合する第1の抗原結合ドメインと、(b) インビトロFACS結合アッセイによって測定されるように、約10⁻⁶ M未満のEC₅₀を有する、ヒトCD3

10

【0008】

場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、約10⁻⁹ M未満のEC₅₀を有するインビトロでT細胞を活性化する。場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、約10⁻⁹ M未満のEC₅₀を有するBCMAを発現する腫瘍細胞株のインビトロT細胞死滅を媒介する。場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、約10⁻⁸ M未満のEC₅₀を有するBCMAを発現する原発性骨髄腫細胞のインビトロ自己T細胞死滅を媒介する。いくつかの実施形態において、二重特異性抗原結合分子は、配列番号115に記載のBCMAのアミノ酸残基1~43と相互作用する。

20

【0009】

場合によっては、標的腫瘍細胞は、形質細胞である。場合によっては、標的腫瘍細胞は、多発性骨髄腫を罹患している患者からのものであるか、またはBCMAを発現するB細胞を有することを部分的に特徴とする別のB細胞障害からのものである。場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、約0.04 mg/kg~約4.0 mg/kgの用量で、BCMA発現腫瘍細胞の増殖を阻害する。場合によっては、用量は、0.04 mg/kg、0.4 mg/kg、または4 mg/kgである。いくつかの実施形態において、用量は、投与を必要とする患者に、少なくとも7回の用量に対して週に少なくとも2回投与される。場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、骨髄腫細胞、リンパ腫細胞、および白血病細胞からなる群から選択されるBCMA+腫瘍細胞の増殖を阻害する。場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、H929細胞、MOLP-8細胞、およびOPM細胞からなる群から選択されるBCMA+腫瘍細胞の増殖を阻害する。

30

【0010】

場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、カニクイザルBCMAと交差反応する。場合によっては、二重特異性抗原結合分子は、カニクイザルBCMAと交差反応しない。

【0011】

いくつかの実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a) 配列番号66のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)内に含まれる3つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、(b) 配列番号82のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)内に含まれる3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む、第1の抗原結合ドメインを含む。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、配列番号68のアミノ酸配列を含むHCDR1と、配列番号70のアミノ酸配列を含むHCDR2と、配列番号72のアミノ酸配列を含むHCDR3と、を含む。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、配列番号84のアミノ酸配列を含むLCDR1と、配列番号86のアミノ酸配列を含むLCDR2と、配列番号88のアミノ酸配列を含むLCDR3と、を含む。場合によっては、第1の抗原結合ドメインは、配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む。

40

【0012】

いくつかの実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a) 配列番号

50

90または配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)内に含まれる3つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、(b)配列番号82のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)内に含まれる3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む、第2の抗原結合ドメインを含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、(a)配列番号92または配列番号100のアミノ酸配列を含むHCDR1と、(b)配列番号94または配列番号102のアミノ酸配列を含むHCDR2と、(c)配列番号96または配列番号104のアミノ酸配列を含むHCDR3と、を含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、配列番号84のアミノ酸配列を含むLCDR1と、配列番号86のアミノ酸配列を含むLCDR2と、配列番号88のアミノ酸配列を含むLCDR3と、を含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、(a)配列番号92、94、96のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HCDR1、HCDR2、HCDR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LCDR1、LCDR2、LCDR3ドメインと、または(b)配列番号100、102、104のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HCDR1、HCDR2、HCDR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LCDR1、LCDR2、LCDR3ドメインと、を含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、(a)配列番号90のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、または(b)配列番号98のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む。

10

20

30

40

50

【0013】

別の態様では、本発明は、(a)配列番号68、70、72のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HCDR1、HCDR2、HCDR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LCDR1、LCDR2、LCDR3ドメインと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)配列番号92、94、96のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HCDR1、HCDR2、HCDR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LCDR1、LCDR2、LCDR3ドメインと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子を提供する。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)配列番号90のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む。

【0014】

別の態様では、本発明は、(a)配列番号68、70、72のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HCDR1、HCDR2、HCDR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LCDR1、LCDR2、LCDR3ドメインと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)配列番号100、102、104のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HCDR1、HCDR2、HCDR3ドメインと、配列番号84、86、88の配列をそれぞれ含む、LCDR1、LCDR2、LCDR3ドメインと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子を提供する。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)配列番号98のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む。

【0015】

別の態様では、本発明は、(a)ヒトBCMAに特異的に結合し、かつ配列番号2、18、34、50、66、122、および124からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むHCVRのCDRと、配列番号10、26、42、58、74、82、123、および125からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むLCVRのCDRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)ヒトCD3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子を提供する。場合によっては、第1の抗

原結合ドメインは、配列番号 2 / 10、18 / 26、34 / 42、50 / 58、66 / 74、122 / 123、124 / 125、2 / 82、18 / 82、34 / 82、50 / 82、66 / 82、122 / 82、および 124 / 82 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対からの C D R を含む。場合によっては、第 1 の抗原結合ドメインは、それぞれ、配列番号 4 - 6 - 8 - 12 - 14 - 16、20 - 22 - 24 - 28 - 30 - 32、36 - 38 - 40 - 44 - 46 - 48、52 - 54 - 56 - 60 - 62 - 64、68 - 70 - 72 - 76 - 78 - 80、4 - 6 - 8 - 84 - 86 - 88、20 - 22 - 24 - 84 - 86 - 88、36 - 38 - 40 - 84 - 86 - 88、52 - 54 - 56 - 84 - 86 - 88、および 68 - 70 - 72 - 84 - 86 - 88 からなる群から選択される H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3 - L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3 ドメインを含む。場合によっては、第 1 の抗原結合ドメインは、配列番号 2 / 10、18 / 26、34 / 42、50 / 58、66 / 74、122 / 123、124 / 125、2 / 82、18 / 82、34 / 82、50 / 82、66 / 82、122 / 82、および 124 / 82 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む。場合によっては、第 2 の抗原結合ドメインは、配列番号 90 / 82 および 98 / 82 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対の C D R を含む。

10

【0016】

別の態様では、本発明は、B C M A への結合を競合する、または参照抗体として B C M A 上の同じエピトープに結合する、単離された二重特異性抗原結合分子であって、当該参照抗体は、配列番号 66 / 82 のアミノ酸配列を含む H C V R / L C V R 対を含む第 1 の抗原結合ドメインと、配列番号 90 / 82 または配列番号 98 / 82 のいずれかのアミノ酸配列を含む H C V R / L C V R 対を含む第 2 の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子を提供する。

20

【0017】

別の態様では、本発明は、ヒト C D 3 への結合を競合する、または参照抗体としてヒト C D 3 上の同じエピトープに結合する、単離された二重特異性抗原結合分子であって、当該参照抗体は、配列番号 66 / 82 のアミノ酸配列を含む H C V R / L C V R 対を含む第 1 の抗原結合ドメインと、配列番号 90 / 82 または配列番号 98 / 82 のいずれかのアミノ酸配列を含む H C V R / L C V R 対を含む第 2 の抗原結合ドメインと、を含む、単離された二重特異性抗原結合分子を提供する。

30

【0018】

上記または本明細書で論じられる二重特異性抗原結合分子のいずれも、二重特異性抗体であり得る。場合によっては、二重特異性抗体は、ヒト I g G 重鎖定常領域を含む。場合によっては、ヒト I g G 重鎖定常領域は、アイソタイプ I g G 1 である。場合によっては、ヒト I g G 重鎖定常領域は、アイソタイプ I g G 4 である。様々な実施形態において、二重特異性抗体は、同じアイソタイプの野生型ヒンジと比較して、F c 受容体結合を減少させるキメラヒンジを含む。

【0019】

別の態様では、本発明は、上記または本明細書で論じられる二重特異性抗原結合分子（例えば、二重特異性抗体）と、薬学的に許容される担体または希釈剤と、を含む、薬学的組成物を提供する。

40

【0020】

別の態様では、本発明は、上記または本明細書で論じられる二重特異性抗原結合分子（例えば、二重特異性抗体）をコードするヌクレオチド配列を含む、核酸分子を提供する。

【0021】

別の態様では、本発明は、上記で論じられる核酸分子を含む、発現ベクターを提供する。

【0022】

別の態様では、本発明は、上記で論じられる発現ベクターを含む、宿主細胞を提供する。

50

【 0 0 2 3 】

別の態様では、本発明は、対象における形質細胞腫瘍の成長を阻害する方法であって、対象に、上記または本明細書で論じられるように、単離された二重特異性抗原結合分子、または二重特異性抗原結合分子を含む薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。場合によっては、形質細胞腫瘍は、多発性骨髄腫である。場合によっては、この方法は、第2の治療剤または治療レジメンを投与することをさらに含む。いくつかの実施形態において、第2の治療剤は、抗腫瘍剤（例えば、メルファラン、ビンクリスチン（オノピン）、シクロホスファミド（シトキサン）、エトポシド（VP-16）、ドキシソルピシン（アドリアマイシン）、リポソームドキシソルピシン（ドキシル）、オペンダムスチン（Treanda）を含む化学療法剤、または対象における形質細胞腫瘍の治療に有効であることが知られている任意の他のもの）を含む。いくつかの実施形態において、第2の治療剤は、ステロイドを含む。いくつかの実施形態において、第2の治療剤は、サリドマイド、レナリドマイド、およびボルテゾミブを含む標的療法を含み、これらは、新たに診断された患者を治療するために承認された療法である。レナリドミド、ボマリドミド、ボルテゾミブ、カルフィルゾミブ、パノピノスタット、イキサゾミブ、エロツズマブ、およびダラツムマブは、再発性骨髄腫を治療するために有効な第2の治療剤の例である。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、放射線療法または幹細胞移植を含むレジメンである。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、免疫調節剤であり得る。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、ボルテゾミブ（Velcade）、カルフィルゾミブ（Kyprolis）、イキサゾミブ（Ninlaro）を含むプロテアソーム阻害剤であり得る。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、パノピノスタット（Farydak）などのヒストンデアセチラーゼ阻害剤であり得る。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、モノクローナル抗体、抗体薬物コンジュゲート、抗腫瘍剤にコンジュゲートした二重特異性抗体、チェックポイント阻害剤、またはそれらの組み合わせであり得る。

10

20

【 0 0 2 4 】

別の態様では、本発明は、多発性骨髄腫または別のBCMA発現B細胞悪性腫瘍に罹患している患者を治療する方法であって、対象に、上記または本明細書で論じられるように、単離された二重特異性抗原結合分子、または二重特異性抗原結合分子を含む薬学的組成物を投与することを含む、方法を提供する。場合によっては、BCMA発現B細胞悪性腫瘍は、ワルデンストレームマクログロブリン血症、パーキットリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ性白血病、濾胞性リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、およびホジキンリンパ腫からなる群から選択される。場合によっては、本方法は、第2の治療剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態において、第2の治療剤は、抗腫瘍剤（化学療法剤）、DNAアルキル化剤、免疫調節剤、プロテアソーム阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤放射線療法、幹細胞移植、免疫調節剤、腫瘍細胞表面上に発現された抗原と相互作用するモノクローナル抗体、形質細胞表面上の異なる抗原と相互作用し得る本明細書に記載のもの以外のモノクローナル抗体、腫瘍細胞表面上の抗原に結合する一方のアームおよびT細胞上の抗原に結合する他方のアームを有する二重特異性抗体、抗体薬物コンジュゲート、抗腫瘍剤にコンジュゲートした二重特異性抗体、チェックポイント阻害剤、例えば、PD-1またはCTLA-4を標的化するもの、またはそれらの組み合わせを含む。ある特定の実施形態において、チェックポイント阻害剤は、ペンブロリズマブ（Keytruda）、ニボルマブ（Opdivo）、またはセンプリマブ（REGN2810）などのPD-1阻害剤から選択され得る。ある特定の実施形態において、チェックポイント阻害剤は、アテゾリズマブ（Tecentriq）、アベルマブ（Bavencio）、またはデュルバルマブ（Imfinzi）などのPD-L1阻害剤から選択され得る。ある特定の実施形態において、チェックポイント阻害剤は、イピリムマブ（Yervoy）などのCTLA-4阻害剤から選択され得る。本発明の抗体と組み合わせ使用することができる他の組み合わせは、上に記載されている。

30

40

50

【0025】

別の態様では、本発明は、BCMA発現腫瘍に罹患している患者を治療する方法であって、対象に、上記または本明細書で論じられるように、単離された二重特異性抗原結合分子、またはそれを含む薬学的組成物を、抗PD-1抗体またはその抗原結合断片と組み合わせることを含む、方法を提供する。場合によっては、抗PD-1抗体または抗原結合断片は、抗PD-1抗体である。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体は、センプリマブ(REGN2810)である。様々な実施形態において、抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子(例えば、二重特異性抗体)および抗PD-1抗体または抗原結合断片(例えば、抗PD-1抗体)の組み合わせは、BCMA発現腫瘍の治療において相乗的な治療効果を生み出す。

10

【0026】

別の態様では、本発明は、BCMAの発現に関連する疾患または障害の治療における、上記または本明細書で論じられる二重特異性抗原結合分子、または上記または本明細書で論じられる薬学的組成物の使用を提供する。場合によっては、疾患または障害は、癌である。いくつかの実施形態において、癌は、多発性骨髄腫である。場合によっては、疾患または障害は、キャッスルマン病である。場合によっては、抗原結合分子は、抗PD-1抗体またはその抗原結合断片と組み合わせるためのものであり、任意に、抗PD-1抗体は、センプリマブ(REGN2810)である。

【0027】

本発明は、BCMAの発現に関連する疾患または障害を治療するための薬剤の製造における、上記または本明細書で論じられる二重特異性抗原結合分子の使用をさらに含む。場合によっては、疾患または障害は、癌である。いくつかの実施形態において、癌は、多発性骨髄腫である。

20

【0028】

様々な実施形態において、上記または本明細書で論じられる実施形態の特徴または構成要素のいずれかを組み合わせることができ、そのような組み合わせは、本開示の範囲内に含まれる。上記または本明細書で論じられる任意の特定の値は、上記または本明細書で論じられる別の関連する値と組み合わせ、範囲の上端および下端を表す値で範囲を列挙することができ、そのような範囲は本開示の範囲内に含まれる。

【0029】

他の実施形態は、後述の詳細な説明の精査から明らかとなるであろう。

30

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458およびREGN5459による、インビボでのBCMA発現NCI-H929ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞の予防的用量依存性腫瘍阻害をそれぞれ示す。NCI-H929細胞は、高レベルのBCMAを発現する。

【図2】抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458およびREGN5459による、インビボでのBCMA発現NCI-H929ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞の予防的用量依存性腫瘍阻害をそれぞれ示す。NCI-H929細胞は、高レベルのBCMAを発現する。

40

【図3】抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458およびREGN5459による、インビボでの確立されたBCMA発現NCI-H929ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞の治療的用量依存性腫瘍阻害をそれぞれ示す。NCI-H929細胞は、高レベルのBCMAを発現する。

【図4】抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458およびREGN5459による、インビボでの確立されたBCMA発現NCI-H929ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞の治療的用量依存性腫瘍阻害をそれぞれ示す。NCI-H929細胞は、高レベルのBCMAを発現する。

【図5】抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458およびREGN5459

50

による、インビボでのBCMA発現MOLP-8ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞の予防的用量依存的腫瘍阻害をそれぞれ示す。MOLP-8細胞は、中程度のレベルのBCMAを発現する。

【図6】抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458およびREGN5459による、インビボでのBCMA発現MOLP-8ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞の予防的用量依存的腫瘍阻害をそれぞれ示す。MOLP-8細胞は、中程度のレベルのBCMAを発現する。

【図7】対照と比較して、抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458およびREGN5459による、インビボでのBCMA発現OPM-2ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞の確立された腫瘍負荷の治療的減少を示す。OPM-2細胞は、低レベルのBCMAを発現する。

10

【発明を実施するための形態】

【0031】

本発明を説明する前に、本発明は、特定の方法および説明される実験条件が変わり得るので、このような方法および条件に制限されないことは理解されることになっている。本明細書で使用される用語は、特定の実施形態のみを説明するためのものであり、本発明の範囲が添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるので、限定することを企図するものではないことも理解されるべきである。

【0032】

別段定義されない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語はすべて、本発明の属する技術分野の当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書で使用される場合、「約」という用語は、特定の列挙された数値に関して使用されるとき、その値が列挙された値から1%以下だけ変動し得ることを意味する。例えば、本発明で使用する場合、「約100」との表現は、99および101、ならびにその間の全値（例えば、99.1、99.2、99.3、99.4など）を含む。

20

【0033】

本明細書に説明されるものと類似のまたは等価の任意の方法および材料を本発明の実施または試験に使用することができるが、好ましい方法および材料をこれから説明する。本明細書で言及される特許、出願、および非特許刊行物はすべて、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0034】

定義

本明細書で用いられる「CD3」という表現は、多分子T細胞受容体(TCR)の一部としてT細胞上に発現され、4つの受容体鎖すなわちCD3-イプシロン、CD3-デルタ、CD3-ゼータ、CD3-ガンマのうち2つの会合から形成されるホモ二量体またはヘテロ二量体からなる抗原を指す。ヒトCD3-イプシロンは、配列番号116に記載のアミノ酸配列を含み、ヒトCD3-デルタは、配列番号117に記載のアミノ酸配列を含み、ヒトCD3-ゼータは、配列番号118に記載のアミノ酸配列を含み、CD3-ガンマは、配列番号119に記載のアミノ酸配列を含む。本明細書におけるタンパク質、ポリペプチド、およびタンパク質断片についてのすべての言及は、非ヒト種由来であることが明確に特定されない限り、それぞれのタンパク質、ポリペプチド、またはタンパク質断片のヒト型を指すことを意図している。したがって、表現「CD3」は、非ヒト種、例えば「マウスCD3」、「サルCD3」などに由来するものとして特定されない限り、ヒトCD3を意味する。

40

【0035】

本明細書で使用される場合、「CD3に結合する抗体」または「抗CD3抗体」は、単一のCD3サブユニット（例えば、イプシロン、デルタ、ガンマ、またはゼータ）を特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片、ならびに2つのCD3サブユニットの二量体複合体を特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片（例えば、ガンマ/イプシロン、デルタ/イプシロン、およびゼータ/ゼータCD3二量体）を含む。本発明の抗体および

50

抗原結合断片は、可溶性CD3および/または細胞表面発現CD3に結合することができる。可溶性CD3には、天然CD3タンパク質、ならびに膜貫通ドメインを欠くかまたは細胞膜と会合していない、例えば単量体および二量体CD3構築物などの組換えCD3タンパク質変異体が含まれる。

【0036】

本明細書で使用される場合、表現「細胞表面発現CD3」は、インビトロまたはインビボで細胞表面上に発現される1つ以上のCD3タンパク質（複数可）を意味し、CD3タンパク質の少なくとも一部は細胞膜の細胞外側に曝され、抗体の抗原結合部分に接近可能である。「細胞表面発現CD3」としては、細胞膜内の機能的T細胞受容体の中に含まれるCD3タンパク質が挙げられる。「細胞表面発現CD3」という表現は、細胞の表面上のホモ二量体またはヘテロ二量体の一部として発現されるCD3タンパク質（例えば、ガンマ/イプシロン、デルタ/イプシロン、およびゼータ/ゼータCD3二量体）を含む。「細胞表面発現CD3」という表現はまた、他のCD3鎖型なしで、細胞の表面上にそれ自体で発現するCD3鎖（例えば、CD3-イプシロン、CD3-デルタ、またはCD3-ガンマ）も含む。あるいは、「細胞表面発現CD3」は、通常CD3タンパク質を発現する細胞の表面上に発現されるCD3タンパク質を含むかまたはそれからなることができる。あるいは、「細胞表面発現CD3」は、通常その表面にヒトCD3を発現しないがその表面にCD3を発現するように人工的に操作されている細胞の表面上に発現されるCD3タンパク質を含むかまたはそれからなることができる。

10

【0037】

本明細書で使用される「BCMA」という表現は、B細胞成熟抗原を指す。BCMA（TNFRSF17およびCD269としても知られている）は、悪性形質細胞上に発現する細胞表面タンパク質であり、B細胞の成熟および免疫グロブリン産生形質細胞への分化の調節において中心的な役割を果たす。ヒトBCMAのアミノ酸配列は、配列番号115に示され、GenBankアクセッション番号NP_001183.2にも見出され得る。

20

【0038】

本明細書で使用される場合、「BCMAに結合する抗体」または「抗BCMA抗体」は、BCMAを特異的に認識する抗体およびその抗原結合断片を含む。

【0039】

「抗原結合分子」という用語は、抗体および抗体の抗原結合断片を含み、例えば二重特異性抗体を含む。

30

【0040】

本発明で使用する場合、「抗体」という用語は、特定の抗原（例えばBCMAまたはCD3）に特異的に結合するかまたはそれと相互作用する少なくとも1つの相補性決定領域（CDR）を含む、任意の抗原結合分子または分子複合体を意味する。「抗体」という用語は、ジスルフィド結合によって相互連結された4本のポリペプチド鎖、2本の重（H）鎖および2本の軽（L）鎖を含む免疫グロブリン分子、ならびにそれらの多量体（例えば、IgM）を含む。「抗体」という用語は、ジスルフィド結合によって相互連結された4本のポリペプチド鎖、2本の重（H）鎖および2本の軽（L）鎖を含む免疫グロブリン分子も含む。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではHCVRまたはV_Hと略される）および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、C_H1、C_H2、およびC_H3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではLCVRまたはV_Lと略される）および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（C_L1）を含む。V_H領域およびV_L領域は、フレームワーク領域（FR）と称される、より保存された領域が点在する相補性決定領域（CDR）と称される超可変領域へとさらに細分することができる。各V_HおよびV_Lは、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順でアミノ末端からカルボキシ末端へと配置された3つのCDRおよび4つのFRからなる。本発明の異なる実施形態において、抗BCMA抗体または抗CD3抗体（またはその抗原結合部分）のFRは、ヒト生殖系列配列と同一であってもよく、または天然にもしく

40

50

は人工的に修飾されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2つ以上のCDRの並列分析に基づいて定義され得る。

【0041】

本明細書で使用される「抗体」という用語はまた、完全抗体分子の抗原結合断片を含む。抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」および同様の用語は、本明細書で使用される場合、天然の、酵素処理で入手可能な、合成の、または遺伝子操作された、抗原を特異的に結合して複合体を形成するポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合断片は、例えば、抗体可変ドメインおよび任意に定常ドメインをコードするDNAの操作および発現に関連するタンパク質消化技術または組換え遺伝子操作技術などの任意の適切な標準的技術を使用して、完全抗体分子から誘導され得る。かかるDNAは既知であり、および/または例えば市販の供給源、DNAライブラリー（例えばファージ-抗体ライブラリーを含む）から容易に入手可能であるか、または合成することができる。DNAは、例えば、1つ以上の可変ドメインおよび/もしくは定常ドメインを好適な配置へと配置するか、またはコドンを導入し、システイン残基を作成し、アミノ酸を修飾、付加、もしくは欠失などするために、化学的に、または分子生物学技術を使用することによって配列決定および操作され得る。

10

【0042】

抗体結合断片の非限定例としては、(i) Fab断片、(ii) F(ab')₂断片、(iii) Fd断片、(iv) Fv断片、(v) 一本鎖Fv(scFv)分子、(vi) dAb断片、および(vii) 抗体の超可変領域（例えば、CDR3ペプチドなどの単離された相補性決定領域(CDR)）を模倣するアミノ酸残基、または拘束FR3-CDR3-FR4ペプチドからなる最小認識単位が挙げられる。ドメイン特異的抗体、単ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ（例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど）、小型モジュール型免疫医薬品(SMIP)、およびサメ可変IgNARDドメインなどの他の操作された分子も、本明細書で使用する「抗原結合断片」という表現に包含される。

20

【0043】

抗体の抗原結合断片は、典型的には、少なくとも1つの可変ドメインを含むであろう。可変ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成物であり得、概して、1つ以上のフレームワーク配列に隣接しているかまたは1つ以上のフレームワーク配列とインフレームである少なくとも1つのCDRを含む。V_Lドメインと結合したV_Hドメインを有する抗体結合断片において、V_HドメインおよびV_Lドメインは、任意の好適な配置で互いに対して配置され得る。例えば、可変領域は二量体であり、V_H-V_H、V_H-V_LまたはV_L-V_L二量体を含み得る。あるいは、抗体の抗原結合断片は、単量体のV_HドメインまたはV_Lドメインを含み得る。

30

【0044】

ある特定の実施形態において、抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合された少なくとも1つの可変ドメインを含み得る。本発明の抗体の抗原結合断片内に見出すことができる可変ドメインおよび定常ドメインの非限定的な例示的立体配置としては、(i) V_H-C_H1、(ii) V_H-C_H2、(iii) V_H-C_H3、(iv) V_H-C_H1-C_H2、(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3、(vi) V_H-C_H2-C_H3、(vii) V_H-C_L、(viii) V_L-C_H1、(ix) V_L-C_H2、(x) V_L-C_H3、(xi) V_L-C_H1-C_H2、(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3、(xiii) V_L-C_H2-C_H3、および(xiv) V_L-C_Lが挙げられる。上に列挙した例示的な立体配置のいずれかを含む、可変ドメインおよび定常ドメインの任意の立体配置において、可変ドメインおよび定常ドメインは、互いに直接連結されていてもよく、または完全もしくは部分的ヒンジ領域もしくはリンカー領域によって連結されていてもよい。ヒンジ領域は、単一のポリペプチド分子において隣接する可変ドメインおよび/または定常ドメイン間の可撓性または半可撓性の結合をもたらす少なくとも2

40

50

つの（例えば、5、10、15、20、40、60またはそれより多数の）アミノ酸からなり得る。そのうえ、本発明の抗体の抗原結合断片は、互いのおよび/または1つ以上の単量体V_HドメインもしくはV_Lドメイン（例えば、ジスルフィド結合（複数可）により）との非共有結合において、上に列挙した可変ドメイン立体配置および定常ドメイン立体配置のいずれかのホモ二量体またはヘテロ二量体（または他の多量体）を含み得る。

【0045】

完全抗体分子と同様に、抗体結合断片は、単一特異性または多重特異性（例えば、二重特異性）であり得る。抗体の多重特異性抗原結合断片は、典型的には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含むことになっており、各可変ドメインは、別個の抗原へまたは同じ抗原上の異なるエピトープへ特異的に結合することができる。本明細書に開示される例示的な二重特異性抗体フォーマットを含む任意の多重特異性抗体フォーマットは、当該技術分野で利用可能な通例の技術を使用して、本発明の抗体の抗原結合断片との関連で使用に適合し得る。

10

【0046】

本発明の抗体は、補体依存性細胞傷害（CDC）または抗体依存性細胞媒介細胞傷害（ADCC）を介して機能し得る。「補体依存性細胞傷害」（CDC）は、補体の存在下における本発明の抗体による抗原発現細胞の溶解を指す。「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」（ADCC）は、Fc受容体（FcR）を発現する非特異的細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、およびマクロファージ）が標的細胞上の結合抗体を認識し、それによって標的細胞の溶解をもたらす、細胞媒介性反応を指す。CDCおよびADCCは、当技術分野において周知であり利用可能なアッセイを使用して測定することができる。（例えば、米国特許第5,500,362号および第5,821,337号、ならびにClynes et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656を参照されたい）。抗体の定常領域は、補体を固定して細胞依存性細胞傷害性を媒介する抗体の能力において重要である。したがって、抗体のアイソタイプは、その抗体が細胞傷害性を媒介することが望ましいかに基づいて選択され得る。

20

【0047】

ある特定の実施形態において、本発明の抗BCMA単一特異性抗体または抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体は、ヒト抗体である。「ヒト抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むことが企図される。本発明のヒト抗体は、例えば、CDR、特にCDR3における、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列（例えば、インビトロでのランダムもしくは部位特異的変異誘発によってまたはインビボでの体細胞突然変異によって導入された変異）によってコードされないアミノ酸残基を含み得る。しかしながら、本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、別の哺乳類種（例えば、マウス）の生殖系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列へと移植された抗体を含むことを意図するものではない。

30

【0048】

本発明の抗体は、いくつかの実施形態において、組換えヒト抗体であり得る。本明細書で使用される用語「組換えヒト抗体」は、宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現される抗体など組換え手段によって調製、発現、作成または単離されるすべてのヒト抗体（後述）、組換え型コンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（後述）、ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックである動物（例えばマウス）から単離された抗体（例えば、Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295を参照のこと）、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、作成、または単離された抗体を含むことを意図する。かかる組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する。しかしながら、特定の実施形態において、かかる組換えヒト抗体は、インビトロ

40

50

変異誘発（または、ヒトIg配列についてトランスジェニック動物が使用される場合は、インビボ体細胞変異誘発）を受け、したがって、組換え抗体のV_HおよびV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V_HおよびV_L配列に由来し関連してはいるが、インビボでヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然には存在し得ない配列である。

【0049】

ヒト抗体は、ヒンジの不均一性に関連する2つの形態で存在することができる。第1の形態において、免疫グロブリン分子は、二量体が鎖間重鎖ジスルフィド結合によって一緒に保持されている約150～160kDaの安定な四本鎖構築物を含む。第2の形態において、二量体は鎖間ジスルフィド結合を介して連結されておらず、共有結合した軽鎖および重鎖からなる約75～80kDaの分子が形成される（半抗体）。これらの形態は、親和性精製後でさえも分離することが極めて困難とされている。

10

【0050】

様々な無傷のIgGアイソタイプにおける第2の形態の出現頻度は、抗体のヒンジ領域アイソタイプに関連する構造上の相違によるが、それに限定されない。ヒトIgG4ヒンジのヒンジ領域における単一アミノ酸置換は、ヒトIgG1ヒンジを使用して典型的に観察されるレベルまで第2の形態の出現を有意に減少させることができる（Angale et al. (1993) Molecular Immunology 30:105）。本発明は、ヒンジ、C_H2またはC_H3領域に1つ以上の変異を有する抗体を包含し、例えば産生において、所望の抗体形態の収率を改善するのに望ましい場合がある。

【0051】

本発明の抗体は単離された抗体であり得る。本明細書で使用される「単離された抗体」は、同定された抗体、およびその天然環境の少なくとも1つの成分から分離および/または回収された抗体を意味する。例えば、生物の少なくとも1つの成分から、または抗体が天然に存在するかもしくは天然に産生される組織または細胞から分離または除去された抗体は、本発明の目的のための「単離された抗体」である。単離された抗体はまた、組換え細胞内の原位置の抗体を含む。単離された抗体は、少なくとも1つの精製または単離工程を受けている抗体である。ある特定の形態によらず、単離された抗体は他の細胞性物質および/または化学物質を実質的に含まなくてもよい。

20

【0052】

本発明はまた、BCMAに結合するワンアーム抗体も含む。本明細書中で使用される場合、「ワンアーム抗体」とは、単一の抗体重鎖および単一の抗体軽鎖を含む抗原結合分子を意味する。本発明のワンアーム抗体は、表1に記載のHCVR/LCVRまたはCDRアミノ酸配列のいずれかを含み得る。

30

【0053】

本明細書に開示される抗BCMAまたは抗BCMA×抗CD3抗体は、抗体が由来した対応する生殖系列配列と比較して、重鎖および軽鎖可変ドメインのフレームワーク領域および/またはCDR領域において1つ以上のアミノ酸置換、挿入、および/または欠失を含み得る。このような変異は、本明細書に開示されるアミノ酸配列を、例えば、公共の抗体配列データベースから入手可能な生殖系列配列と比較することによって容易に確認することができる。本発明は、本明細書に開示されるアミノ酸配列のいずれかに由来する抗体およびその抗原結合断片を含み、ここで、1つ以上のフレームワーク領域および/またはCDR領域内の1つ以上のアミノ酸は、抗体が由来した生殖系列配列の対応する残基（複数可）に変異し、もしくは別のヒト生殖系列配列の対応する残基（複数可）に変異し、または対応する生殖系列残基（複数可）の保存的アミノ酸置換に変異する（このような配列変化を本明細書ではまとめて、「生殖系列変異」と称する）。当業者は、本明細書に開示される重鎖および軽鎖可変領域配列から出発して、1つ以上の個々の生殖系列変異またはそれらの組み合わせを含む多くの抗体および抗体結合断片を容易に産生することができる。ある特定の形態において、V_Hおよび/またはV_Lドメイン内のフレームワークおよび/またはCDR残基はすべて、抗体が由来した元の生殖系列配列において見出される残基へと再び変異する。他の実施形態において、ある特定の残基のみが元の生殖系列配列

40

50

へと変異し戻され、例えば、変異した残基はFR1の最初の8個のアミノ酸内に、もしくは変異した残基はFR4の最後の8個のアミノ酸内に認められ、または変異した残基は、CDR1、CDR2もしくはCDR3内にのみ認められる。他の実施形態において、フレームワークおよび/またはCDR残基(複数可)の1つ以上は、異なる生殖系列配列(すなわち、抗体が本来由来した生殖系列配列とは異なる生殖系列配列)の対応する残基(複数可)へ変異する。さらに、本発明の抗体は、フレームワークおよび/またはCDR領域内に2つ以上の生殖系列変異の任意の組み合わせを含有してもよく、例えば、ある特定の個々の残基は、特定の生殖系列配列の対応する残基へ変異するのに対し、元の生殖系列配列とは異なるある特定の他の残基は、維持され、または異なる生殖系列配列の対応する残基へ変異する。いったん得られれば、1つ以上の生殖系列変異を含有する抗体および抗体結合断片は、結合特異性の改善、結合親和性の増加、アンタゴニストまたはアゴニストの生物学的特性の改善または増強(場合によって)、免疫原性の低下などの1つ以上の所望の特性について容易に試験することができる。この一般的な様式で得られる抗体および抗体結合断片は、本発明の範囲内に包含される。

10

20

30

40

50

【0054】

本発明はまた、1つ以上の保存的置換を有する本明細書に開示されるHCVRアミノ酸配列、LCVRアミノ酸配列、および/またはCDRアミノ酸配列のいずれかの変異体を含む、抗BCMAまたは抗BCMA×抗CD3抗体を含む。例えば、本発明は、本明細書の表1および3に記載のHCVRアミノ酸配列、LCVRアミノ酸配列、および/またはCDRアミノ酸配列のうちいずれかに対して、例えば10個以下、8個以下、6個以下、または4個以下などの保存的アミノ酸置換を有するHCVRアミノ酸配列、LCVRアミノ酸配列、および/またはCDRアミノ酸配列を有する抗BCMAまたは抗BCMA×抗CD3抗体、あるいはWO2014/047231またはWO2017/053856(これらの各々は、参照により本明細書に組み込まれる)に開示される抗CD3抗体を含む。

【0055】

「エピトープ」という用語は、パラトープとして既知の抗体分子の可変領域における特異的抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原は2つ以上のエピトープを有してもよい。したがって、異なる抗体は、抗原上の異なる領域へ結合し得、異なる生物学的効果を有し得る。エピトープは、立体配座または線状のいずれかであり得る。立体配座エピトープは、直鎖状ポリペプチド鎖の異なるセグメントから空間的に並置されたアミノ酸によって産生される。直鎖状エピトープは、ポリペプチド鎖中の隣接するアミノ酸残基によって産生されるものである。特定の状況において、エピトープは、抗原上の糖類、ホスホリル基、またはスルホニル基の部分を含み得る。

【0056】

「実質的な同一性」または「実質的に同一である」という用語は、核酸またはその断片を指す場合、別の核酸(またはその相補鎖)との適切なヌクレオチド挿入または欠失と最適に整列した場合、以下に考察するように、FASTA、BLAST、またはGapなど、配列同一性の任意の周知のアルゴリズムによって測定される場合に、ヌクレオチド塩基の少なくとも約95%、より好ましくは少なくとも約96%、97%、98%、または99%のヌクレオチド配列同一性があることを示す。参照核酸分子と実質的な同一性を有する核酸分子は、特定の場合では、参照核酸分子によってコードされるポリペプチドと同じまたは実質的に類似のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードすることができる。

【0057】

ポリペプチドへ適用される場合、「実質的な類似性」または「実質的に類似の」という用語は、2つのペプチド配列が、既定のギャップ重みを使用してプログラムGAPまたはBESTFITなどによって最適に整列した場合、少なくとも95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも98%または99%の配列同一性を共有する。好ましくは、同一ではない残基位置は、保存的アミノ酸置換だけ異なる。「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、類似の化学的特性(例えば、電荷または疎水性)を備えた側鎖(R基

を有する別のアミノ酸残基によって置換されたものである。概して、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の機能的特性を実質的に変化させないことになっている。2つ以上のアミノ酸配列が保存的置換だけ互いに異なる場合、配列同一性の割合または類似性の程度は、置換の保存的性質を補正するために上向きに調整してもよい。この調整を行うための手段は、当業者に周知である。例えば、参照により本明細書に組み込まれる Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331 を参照されたい。類似の化学的特性を備えた側鎖を有するアミノ酸の基の例としては、(1) 脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン、(2) 脂肪族-ヒドロキシル側鎖：セリンおよびトレオニン、(3) アミド含有側鎖：アスパラギンおよびグルタミン、(4) 芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン、(5) 塩基性側鎖：リジン、アルギニン、およびヒスチジン、(6) 酸性側鎖：アスパラギン酸およびグルタミン酸、ならびに(7) 含硫側鎖：システインおよびメチオニンが挙げられる。好ましい保存的アミノ酸置換基は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸-アスパラギン酸、およびアスパラギン-グルタミンである。あるいは、保存的置換とは、参照により本明細書に組み込まれる Gonnert et al. (1992) *Science* 256: 1443-1445 に開示される PAM250 対数尤度行列において正値を有する任意の変化である。「適度に保存的な」置換とは、PAM250 対数尤度マトリックスにおいて負以外の値を有する任意の変化である。

10

20

【0058】

ポリペプチドに対する配列類似性は、配列同一性とも呼ばれ、典型的には配列分析ソフトウェアを使用して測定される。タンパク質解析ソフトウェアは、保存的アミノ酸置換を含む種々の置換、欠失および他の修飾へ割り当てられた類似の測定値を使用して類似の配列と一致させる。例えば、GCGソフトウェアは、異なる種の生物由来の相同ポリペプチドのような密接に関連するポリペプチド間の、または野生型タンパク質とその変異タンパク質の間の配列相同性または配列同一性を決定するための既定パラメータと共に使用することができる Gap および Bestfit などのプログラムを含有する。例えば、GCG 第6.1版を参照されたい。ポリペプチド配列は、GCG 第6.1版におけるプログラムである、既定パラメータまたは推奨パラメータを備えた FASTA を使用して比較することもできる。FASTA (例えば、FASTA2 および FASTA3) は、問い合わせ配列と検索配列の間の最良重複の領域の整列およびパーセント配列同一性を提供する (Pearson (2000) 上記)。本発明の配列を、異なる生物由来の多数の配列を含有するデータベースと比較する場合の別の好ましいアルゴリズムは、既定パラメータを使用するコンピュータプログラム BLAST、特に BLASTP または TBLASTN である。例えば、各々、参照により本明細書に組み込まれる、Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 および Altschul et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-402 を参照されたい。

30

【0059】

生殖系列変異

本明細書に開示する抗CD3抗体は、対応する生殖系列配列と比較して、重鎖可変ドメインのフレームワーク領域および/またはCDR領域に1つ以上のアミノ酸置換、挿入および/または欠失を含む。

40

【0060】

本発明はまた、本明細書に開示するアミノ酸配列のいずれかに由来する抗体およびその抗原結合断片を含み、1つ以上のフレームワークおよび/またはCDR領域内の1つ以上のアミノ酸は、抗体が由来した生殖系列配列の対応する残基(複数可)へ、または別のヒト生殖系列配列の対応する残基(複数可)へ、または対応する生殖系列残基(複数可)の保存的アミノ酸置換へ変異し(このような配列変化はまとめて、「生殖系列変異」と本明細書で呼ばれる)、CD3抗原への検出可能な結合が弱いまたはない。

50

【0061】

さらに、本発明の抗体は、フレームワークおよび/またはCDR領域内に2つ以上の生殖系列変異の任意の組み合わせを含有してもよく、例えば、ある特定の個々の残基は、特定の生殖系列配列の対応する残基へ変異するのに対し、元の生殖系列配列とは異なるある特定の他の残基は、維持され、または異なる生殖系列配列の対応する残基へ変異する。いったん得られれば、1つ以上の生殖系列変異を含む抗体および抗体結合断片を、結合特異性の向上、結合親和性の弱さまたは低下、薬物動態学的特性の向上または増強、免疫原性の低下などの1つ以上の所望の特性に関して試験することができる。本開示の指針を考慮してこの一般的な様式で得られた抗体および抗原結合断片は、本発明の範囲内に包含される。

10

【0062】

本発明はまた、本明細書に開示されるHCVRおよび/またはCDRアミノ酸配列のいずれかと実質的に同一であるHCVRおよび/またはCDRアミノ酸配列を有する抗原結合ドメインを含む抗原結合分子を含むが、CD3抗原への所望の弱い親和性を維持または改善する。アミノ酸配列意味する場合、「実質的な同一性」または「実質的に同一の」という用語は、2つのアミノ酸配列が、既定のギャップ重みを使用してプログラムGAPまたはBESTFITなどによって最適に整列した場合、少なくとも95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも98%、または99%の配列同一性を共有する。好ましくは、同一ではない残基位置は、保存的アミノ酸置換だけ異なる。2つ以上のアミノ酸配列が保存的置換だけ互いに異なる場合、配列同一性の割合または類似性の程度は、置換の保存的性質を補正するために上向きに調整してもよい。この調整を行うための手段は、当業者に周知である。例えば、Pearson(1994)Methods Mol.Biol.24:307-331を参照されたい。

20

【0063】

ポリペプチドに対する配列類似性は、配列同一性とも呼ばれ、典型的には配列分析ソフトウェアを使用して測定される。タンパク質解析ソフトウェアは、保存的アミノ酸置換を含む種々の置換、欠失および他の修飾へ割り当てられた類似の測定値を使用して類似の配列と一致させる。例えば、GCGソフトウェアは、異なる種の生物由来の相同ポリペプチドのような密接に関連するポリペプチド間の、または野生型タンパク質とその変異タンパク質の間の配列相同性または配列同一性を決定するための既定パラメータと共に使用することができるGapおよびBestfitなどのプログラムを含有する。例えば、GCG第6.1版を参照されたい。ポリペプチド配列は、GCG第6.1版におけるプログラムである、既定パラメータまたは推奨パラメータを備えたFASTAを使用して比較することもできる。FASTA(例えば、FASTA2およびFASTA3)は、問い合わせ配列と検索配列の間の最良重複の領域の整列およびパーセント配列同一性を提供する(Pearson(2000)上記)。本発明の配列を、異なる生物由来の多数の配列を含有するデータベースと比較する場合の別の好ましいアルゴリズムは、既定パラメータを使用するコンピュータプログラムBLAST、特にBLASTPまたはTBLASTNである。例えば、Altschulet al.(1990)J.Mol.Biol.215:403-410およびAltschulet al.(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-402を参照されたい。

30

40

【0064】

抗体の結合特性

本明細書で使用される場合、抗体、免疫グロブリン、抗体結合断片、またはFc含有タンパク質のいずれかが、例えば、細胞表面タンパク質またはその断片などの所定の抗原へ結合する文脈における用語「結合」は、典型的には、最低2つの実体または抗体-抗原相互作用などの分子構造間の相互作用または会合を指す。

【0065】

例えば、結合親和性は、リガンドとして抗原を、分析物(または抗リガンド)として抗体、Ig、抗体結合断片、またはFc含有タンパク質を使用して、例えば、BIACOR

50

e 3000 機器における表面プラズモン共鳴 (SPR) 技術により決定される場合、典型的には約 10^{-7} M 以下、例えば約 10^{-8} M 以下、例えば約 10^{-9} M 以下の K_D 値に対応する。蛍光活性化細胞選別 (FACS) 結合アッセイなどの細胞ベースの結合戦略もまた、日常的に使用されており、FACS データは、放射性リガンド競合結合および SPR などの他の方法とよく関連する (Benedict, CA, J Immunol Methods. 1997, 201 (2): 223-31、Geuijen, CA, et al. J Immunol Methods. 2005, 302 (1-2): 68-77)。

【0066】

したがって、本発明の抗体または抗原結合タンパク質は、非特異的抗原 (例: BSA、カゼイン) へ結合するその親和性よりも少なくとも 10 倍低い K_D 値に対応する親和性を有する所定の抗原または細胞表面分子に結合する。本発明によると、非特異的抗原よりも 10 倍以下の低い K_D 値に対応する抗体の親和性は、検出不可能な結合と見なすことができるが、そのような抗体は、本発明の二重特異性抗体を産生するための第 2 の抗原結合アームと対をなすことができる。

10

【0067】

「 K_D 」(M) という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離平衡定数、または抗原に結合する抗体もしくは抗体結合断片の解離平衡定数を指す。 K_D と結合親和性との間には逆の関係があり、したがって、 K_D 値が小さいほど、親和性は高い、すなわちより強い。したがって、「より高い親和性」または「より強い親和性」という用語は、相互作用を形成するより高い能力、つまりより小さい K_D 値に関し、逆に「より低い親和性」または「より弱い親和性」という用語は、相互作用を形成するより低い能力、つまりより大きな K_D 値に関する。状況によっては、他の相互作用パートナー分子 (例えば抗原 Y) に対する分子 (例えば抗体) の結合親和性と比較して、その相互作用パートナー分子 (例えば抗原 X) に対する特定の分子 (例えば抗体) のより高い結合親和性 (または K_D) は、より大きな K_D 値 (より低い、またはより弱い、親和性) をより小さな K_D (より高い、またはより強い、親和性) で割ることによって決定される結合比として表され、例えば、場合によって 5 倍または 10 倍高い結合親和性として表される。

20

【0068】

「 k_d 」(sec⁻¹ または 1/s) という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離速度定数、または抗体もしくは抗体結合断片の解離速度定数を指す。その値は k_{off} 値とも呼ばれる。

30

【0069】

「 k_a 」(M⁻¹ × sec⁻¹ または 1/M) という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の会合速度定数、または抗体もしくは抗体結合断片の会合速度定数を指す。

【0070】

「 K_A 」(M⁻¹ または 1/M) という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の会合平衡定数、または抗体もしくは抗体結合断片の会合平衡定数を指す。会合平衡定数は、 k_a を k_d で割ることによって得られる。

40

【0071】

「EC50」または「EC₅₀」という用語は、最大半量の有効濃度を指し、特定の曝露時間後にベースラインと最大値との間の中間で応答を誘導する抗体の濃度を含む。EC₅₀ は本質的に、その最大効果の 50% が観察される抗体の濃度を表す。ある特定の実施形態において、EC₅₀ 値は、例えば FACS 結合アッセイによって決定された場合に、CD3 または腫瘍関連抗原 (例えば BCM A) を発現する細胞に最大半量の結合を与える本発明の抗体の濃度に等しい。したがって、低下したまたは弱い結合は、EC₅₀ の増加、または最大半量の有効濃度値で観察される。

【0072】

一実施形態において、結合の低下は、最大半量の標的細胞への結合を可能にする EC₅₀ 抗体濃度の増加として定義することができる。

50

【0073】

別の実施形態において、 EC_{50} 値は、T細胞の細胞毒性活性による標的細胞の最大半量の枯渇を誘発する本発明の抗体の濃度を表す。したがって、細胞毒性活性の増加（例えば、T細胞媒介性腫瘍細胞死滅）は、 EC_{50} の低下、または最大有効濃度値の半分で観察される。

【0074】

二重特異性抗原結合分子

本発明の抗体は、単一特異性、二重特異性または多重特異性であり得る。多重特異性抗体は、1つの標的ポリペプチドの異なるエピトープに特異的であり得るか、または2つ以上の標的ポリペプチドに特異的な抗原結合ドメインを含有し得る。例えば、Tuttle et al., 1991, J. Immunol. 147: 60-69、Kuffer et al., 2004, Trends Biotechnol. 22: 238-244を参照されたい。本発明の抗BCMA単一特異性抗体または抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体は、別の機能性分子、例えば、別のペプチドまたはタンパク質に連結するか、またはそれと同時に発現させることができる。例えば、抗体またはその断片は、別の抗体または抗体断片などの1つ以上の他の分子実体に（例えば、化学結合、遺伝的融合、非共有結合性会合などにより）機能的に連結されて、第2のまたは追加の結合特異性を有する二重特異性または多重特異性抗体を生成することができる。

【0075】

本明細書の「抗CD3抗体」または「抗BCMA抗体」という表現の使用は、単一特異性の抗CD3抗体または抗BCMA抗体、ならびにCD3結合アームおよびBCMA結合アームを含む二重特異性抗体の両方を含むことを意図する。したがって、本発明は、免疫グロブリンの一方のアームがヒトCD3に結合し、免疫グロブリンの他方のアームがヒトBCMAに特異的である二重特異性抗体を含む。CD3結合アームは、本明細書の表3に記載のHCVR/LCVRまたはCDRアミノ酸配列のうちのいずれか、あるいはWO2014/047231またはWO2017/053856に開示される抗CD3抗体を含み得る。

【0076】

ある特定の実施形態において、CD3結合アームは、ヒトCD3に結合し、ヒトT細胞活性化を誘導する。ある特定の実施形態において、CD3結合アームは、ヒトCD3に弱く結合し、ヒトT細胞活性化を誘導する。他の実施形態において、CD3結合アームは、ヒトCD3に弱く結合し、二重特異性抗体または多重特異性抗体との関連で腫瘍関連抗原発現細胞死滅を誘導する。他の実施形態において、CD3結合アームは、ヒトおよびカニクイザル（サル）CD3と弱く結合または会合するが、それでも結合相互作用は当技術分野で既知のインビトロアッセイでは検出できない。BCMA結合アームは、本明細書の表1に記載のHCVR/LCVRまたはCDRアミノ酸配列のうちのいずれかを含み得る。

【0077】

ある特定の例示的な実施形態によると、本発明は、CD3およびBCMAに特異的に結合する二重特異性抗原結合分子を含む。そのような分子は、本明細書において、例えば、「抗BCMA×抗CD3」または「抗CD3/抗BCMA」、または「抗CD3×BCMA」または「CD3×BCMA」二重特異性分子、または他の同様の用語（例えば、抗BCMA/抗CD3）と称することができる。

【0078】

本明細書で使用される「BCMA」という用語は、非ヒト種（例えば、「マウスBCMA」、「サルBCMA」など）に由来するものとして指定されない限り、ヒトBCMAタンパク質を指す。ヒトBCMAタンパク質は、配列番号115に示されるアミノ酸配列を有する。

【0079】

CD3およびBCMAに特異的に結合する前述の二重特異性抗原結合分子は、インビトロ親和性結合アッセイで測定した場合に、約40nM超の K_D を示す弱い結合親和性を有

10

20

30

40

50

するCD3に結合する、抗CD3抗原結合分子を含むことができる。

【0080】

本明細書で使用される場合、「抗原結合分子」という表現は、単独で、または特定の抗原に特異的に結合する、1つ以上のさらなるCDRおよび/またはフレームワーク領域(FR)と組み合わせて少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含むまたはそれからなるタンパク質、ポリペプチド、または分子複合体を意味する。ある特定の実施形態において、抗原結合分子は、それらの用語が本明細書の他所で定義されているように、抗体または抗体の断片である。

【0081】

本明細書で使用される場合、「二重特異性抗原結合分子」という表現は、少なくとも第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインを含むタンパク質、ポリペプチド、または分子複合体を意味する。二重特異性抗原結合分子内の各抗原結合ドメインは、単独で、または1つ以上の追加のCDRおよび/またはFRと組み合わせて、特定の抗原に特異的に結合する少なくとも1つのCDRを含む。本発明の文脈において、第1の抗原結合ドメインは、第1の抗原(例えばBCMA)に特異的に結合し、第2の抗原結合ドメインは、第2の異なる抗原(例えばCD3)に特異的に結合する。

【0082】

本発明のある特定の例示的实施形態において、二重特異性抗原結合分子は、二重特異性抗体である。二重特異性抗体の各抗原結合ドメインは、重鎖可変ドメイン(HCVR)および軽鎖可変ドメイン(LCVR)を含む。第1および第2の抗原結合ドメインを含む二重特異性抗原結合分子(例えば、二重特異性抗体)の文脈において、第1の抗原結合ドメインのCDRは、接頭辞「D1」を付けて指定され、第2の抗原結合ドメインのCDRは、接頭辞「D2」を付けて指定され得る。したがって、第1の抗原結合ドメインのCDRは、本明細書においてD1-HCDR1、D1-HCDR2、およびD1-HCDR3と称されてもよく、第2の抗原結合ドメインのCDRは、本明細書においてD2-HCDR1、D2-HCDR2、およびD2-HCDR3と称されてもよい。

【0083】

ある特定の例示的な実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号66のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)内に含まれる3つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、(b)配列番号82のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)内に含まれる3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む、第1の抗原結合ドメインを含む。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、配列番号68のアミノ酸配列を含むHCDR1と、配列番号70のアミノ酸配列を含むHCDR2と、配列番号72のアミノ酸配列を含むHCDR3と、を含む。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、配列番号84のアミノ酸配列を含むLCDR1と、配列番号86のアミノ酸配列を含むLCDR2と、配列番号88のアミノ酸配列を含むLCDR3と、を含む。場合によっては、第1の抗原結合ドメインは、配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む。

【0084】

ある特定の例示的な実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号90または配列番号98のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)内に含まれる3つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、(b)配列番号82のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)内に含まれる3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む、第2の抗原結合ドメインを含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、(a)配列番号92または配列番号100のアミノ酸配列を含むHCDR1と、(b)配列番号94または配列番号102のアミノ酸配列を含むHCDR2と、(c)配列番号96または配列番号104のアミノ酸配列を含むHCDR3と、を含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、配列番号84のアミノ酸配列を含むLCDR1と、配列番号86のアミノ酸配

10

20

30

40

50

列を含むLCDR2と、配列番号88のアミノ酸配列を含むLCDR3と、を含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、(a)配列番号92、94、96のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、または(b)配列番号100、102、104のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、(a)配列番号90のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、または(b)配列番号98のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む。

10

【0085】

ある特定の例示的な実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号68、70、72のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)配列番号92、94、96のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第1

20

【0086】

ある特定の例示的な実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号68、70、72のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)配列番号100、102、104のアミノ酸配列をそれぞれ含む、HC DR1、HC DR2、HC DR3ドメインと、配列番号84、86、88のアミノ酸配列をそれぞれ含む、LC DR1、LC DR2、LC DR3ドメインと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む。場合によっては、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)配列番号66のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)配列番号98のアミノ酸配列を含むHCVRと、配列番号82のアミノ酸配列を含むLCVRと、を含む、第2の抗原結合ドメインと、を含む。

30

【0087】

ある特定の例示的な実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、(a)ヒトBCMAに特異的に結合し、かつ配列番号2、18、34、50、66、122、および124からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むHCVRのCDRと、配列番号10、26、42、58、74、82、123、および125からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むLCVRのCDRと、を含む、第1の抗原結合ドメインと、(b)ヒトCD3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む。場合によっては、第1の抗原結合ドメインは、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、122/123、124/125、2/82、18/82、34/82、50/82、66/82、122/82、および124/82からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対からのCDRを含む。場合によっては、第1の抗原結合ドメインは、それぞれ、配列番号4-6-8-12-14-16、20-22-24-28-30-32、36-38-40-44-46-48、52-54-56-60-62-64、68-70-72-76-78-80、4-6-8-84-86-88、20-22-24-84-86-88、36-38-40-84-86-88、52-54-56-

40

50

84 - 86 - 88、および68 - 70 - 72 - 84 - 86 - 88からなる群から選択されるHCDR1 - HCDR2 - HCDR3 - LCDR1 - LCDR2 - LCDR3ドメインを含む。場合によっては、第1の抗原結合ドメインは、配列番号2 / 10、18 / 26、34 / 42、50 / 58、66 / 74、122 / 123、124 / 125、2 / 82、18 / 82、34 / 82、50 / 82、66 / 82、122 / 82、および124 / 82からなる群から選択されるHCVR / LCVRアミノ酸配列対を含む。場合によっては、第2の抗原結合ドメインは、配列番号90 / 82および98 / 82からなる群から選択されるHCVR / LCVRアミノ酸配列対のCDRを含む。

【0088】

ある特定の例示的な実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、BCMAへの結合を競合する、または参照抗体としてBCMA上の同じエピトープに結合し、参照抗体は、配列番号66 / 82のアミノ酸配列を含むHCVR / LCVR対を含む第1の抗原結合ドメインと、配列番号90 / 82または配列番号98 / 82のいずれかのアミノ酸配列を含むHCVR / LCVR対を含む第2の抗原結合ドメインと、を含む。

10

【0089】

ある特定の例示的な実施形態において、単離された二重特異性抗原結合分子は、ヒトCD3への結合を競合する、または参照抗体としてヒトCD3上の同じエピトープに結合し、参照抗体は、配列番号66 / 82のアミノ酸配列を含むHCVR / LCVR対を含む第1の抗原結合ドメインと、配列番号90 / 82または配列番号98 / 82のいずれかのアミノ酸配列を含むHCVR / LCVR対を含む第2の抗原結合ドメインと、を含む。

20

【0090】

上記または本明細書で論じられる二重特異性抗原結合分子は、二重特異性抗体であり得る。場合によっては、二重特異性抗体は、ヒトIgG重鎖定常領域を含む。場合によっては、ヒトIgG重鎖定常領域は、アイソタイプIgG1である。場合によっては、ヒトIgG重鎖定常領域は、アイソタイプIgG4である。様々な実施形態において、二重特異性抗体は、同じアイソタイプの野生型ヒンジと比較して、Fc受容体結合を減少させるキメラヒンジを含む。

【0091】

第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインは、互いに直接的または間接的に結合して、本発明の二重特異性抗原結合分子を形成し得る。あるいは、第1の抗原結合ドメインおよび第2の抗原結合ドメインは、それぞれ別々の多量体化ドメインに連結されていてもよい。1つの多量体化ドメインと別の多量体化ドメインとの会合は、2つの抗原結合ドメイン間の会合を促進し、それによって二重特異性抗原結合分子を形成する。本明細書で使用される場合、「多量体化ドメイン」は、同一または類似の構造または構成の第2の多量体化ドメインと会合する能力を有する任意の高分子、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、またはアミノ酸である。例えば、多量体化ドメインは、免疫グロブリンC_H3ドメインを含むポリペプチドであってもよい。多量体化成分の非限定的な例は、免疫グロブリンのFc部分(C_H2 - C_H3ドメインを含む)、例えばアイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4から選択されるIgGのFcドメイン、ならびに各アイソタイプ群内のアロタイプである。

30

40

【0092】

本発明の二重特異性抗原結合分子は、典型的には2つの多量体化ドメイン、例えば、それぞれ別々の抗体重鎖の一部である2つのFcドメインを含む。第1および第2の多量体化ドメインは、例えば、IgG1 / IgG1、IgG2 / IgG2、IgG4 / IgG4などの同じIgGアイソタイプであり得る。あるいは、第1および第2の多量体化ドメインは、例えば、IgG1 / IgG2、IgG1 / IgG4、IgG2 / IgG4などの異なるIgGアイソタイプのものであり得る。

【0093】

ある特定の実施形態において、多量体化ドメインは、Fc断片または少なくとも1つのシステイン残基を含有する長さが1 ~ 約200アミノ酸のアミノ酸配列である。他の実施

50

形態において、多量体化ドメインはシステイン残基、または短いシステイン含有ペプチドである。他の多量体化ドメインには、ロイシンジッパー、ヘリックスループヘリックス、またはコイルドコイルモチーフを含むかまたはそれらからなるペプチドまたはポリペプチドが含まれる。

【0094】

任意の二重特異性抗体フォーマットまたは技術を使用して、本発明の二重特異性抗原結合分子を作製することができる。例えば、第1の抗原結合特異性を有する抗体またはその断片は、第2の抗原結合性を有する他の抗体または抗体断片などの1つ以上の他の分子実体に（例えば、化学結合、遺伝的融合、非共有結合などにより）機能的に連結されて、二重特異性抗原結合分子を生成することができる。本発明の文脈において使用できる特定の例示的な二重特異性フォーマットには、例えば、scFv系フォーマットまたはダイアボディ二重特異性フォーマット、IgG-scFv融合、二重可変ドメイン(DVD)-IgG、Quadroma、ノブズ-イントゥ-ホールズ(knobs-into-holes)、共通の軽鎖（例えば、ノブズ-イントゥ-ホールズを備えた共通の軽鎖など）、CrossMab、CrossFab、(SEED)ボディ、ロイシンジッパー、Duobody、IgG1/IgG2、二重作用型Fab(DAF)-IgG、およびMab²二重特異性フォーマットが含まれるが、これらに限定されない（上述のフォーマットの総説については、例えば、Klein et al. 2012, mAbs 4:6, 1-11、およびそこに引用されている参考文献を参照されたい）。

【0095】

本発明の二重特異性抗原結合分子との関連で、多量体化ドメイン、例えば、Fcドメインは、野生型の、天然に存在するFcドメインと比較して、1つ以上のアミノ酸変化（例えば、挿入、欠失、または置換）を含んでもよい。例えば、本発明は、FcとFcRnとの間の修飾された結合相互作用（例えば、増強または減少）を有する改変Fcドメインをもたらす、Fcドメイン中の1つ以上の修飾を含む二重特異性抗原結合分子を含む。一実施形態において、二重特異性抗原結合分子は、C_H2またはC_H3領域に修飾を含み、この修飾は酸性環境（例えば、pH範囲約5.5~約6.0のエンドソーム内）において、FcRnに対するFcドメインの親和性を高める。そのようなFc修飾の非限定的な例には、例えば、250位（例えば、EまたはQ）、250位および428位（例えば、LまたはF）、252位（例えば、L/Y/F/WまたはT）、254位（例えば、SまたはT）、および256位（例えば、S/R/Q/E/DまたはT）での修飾、あるいは428位および/または433位（例えば、L/R/S/P/QまたはK）および/または434位（例えば、H/FまたはY）での修飾、あるいは250位および/または428位の修飾、あるいは307位もしくは308位（例えば、308F、V308F）、ならびに434位での修飾が含まれる。一実施形態において、修飾は428L（例えば、M428L）および434S（例えば、N434S）の修飾、428L、259I（例えば、V259I）、および308F（例えば、V308F）の修飾、433K（例えば、H433K）および434（例えば、434Y）の修飾、252、254、および256（例えば、252Y、254T、および256E）の修飾、250Qおよび428Lの修飾（例えば、T250QおよびM428L）、307および/または308の修飾（例えば、308Fまたは308P）を含む。

【0096】

本発明はまた、第1のC_H3ドメインおよび第2のIgC_H3ドメインを含む二重特異性抗原結合分子を含み、第1および第2のIgC_H3ドメインは、少なくとも1つのアミノ酸ほど互いに異なっており、少なくとも1つのアミノ酸の相違は、アミノ酸の相違を欠失する二重特異性抗体と比較して、プロテインAへの二重特異性抗体の結合を低減させる。一実施形態において、第1のIgC_H3ドメインはプロテインAを結合し、第2のIgC_H3ドメインはH95R修飾（IMGTエクソン番号付けによる、EU番号付けではH435R）などのプロテインA結合を低減または消失させる変異を含有する。第2のC_H3は、Y96F修飾（IMGTによるものであり、EUではY436F）をさらに含み得

る。例えば、米国特許第 8, 586, 713 号を参照されたい。第 2 の C_H3 内に認められ得るさらなる修飾には、I g G 1 抗体の場合、D 1 6 E、L 1 8 M、N 4 4 S、K 5 2 N、V 5 7 M、および V 8 2 I (I M G T によるものであり、E U による D 3 5 6 E、L 3 5 8 M、N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、V 3 9 7 M、および V 4 2 2 I)、I g G 2 抗体の場合、N 4 4 S、K 5 2 N、および V 8 2 I (I M G T であって、E U による N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、および V 4 2 2 I)、ならびに I g G 4 抗体の場合、Q 1 5 R、N 4 4 S、K 5 2 N、V 5 7 M、R 6 9 K、E 7 9 Q、および V 8 2 I (I M G T によるものであり、E U による Q 3 5 5 R、N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、V 3 9 7 M、R 4 0 9 K、E 4 1 9 Q、および V 4 2 2 I) が含まれる。

【0097】

ある特定の実施形態において、F c ドメインは、2 つ以上の免疫グロブリンアイソタイプに由来する F c 配列を組み合わせたキメラであり得る。例えば、キメラ F c ドメインは、ヒト I g G 1、ヒト I g G 2、またはヒト I g G 4 の C_H2 領域に由来する C_H2 配列の一部または全部、およびヒト I g G 1、ヒト I g G 2、またはヒト I g G 4 に由来する C_H3 配列の一部または全部を含むことができる。キメラ F c ドメインはまた、キメラヒンジ領域を含み得る。例えば、キメラヒンジは、ヒト I g G 1 ヒンジ領域、ヒト I g G 2 ヒンジ領域、またはヒト I g G 4 ヒンジ領域に由来する「下部ヒンジ」配列と組み合わせた、ヒト I g G 1 ヒンジ領域、ヒト I g G 2 ヒンジ領域、またはヒト I g G 4 ヒンジ領域に由来する「上部ヒンジ」配列を含むことができる。本明細書に記載の抗原結合分子のいずれかに含まれ得るキメラ F c ドメインの特定の例は、N 末端から C 末端に、[I g G 4 C_H1] - [I g G 4 上方ヒンジ] - [I g G 2 下方ヒンジ] - [I g G 4 C_H2] - [I g G 4 C_H3] を含む。本明細書に記載の抗原結合分子のいずれかに含まれ得るキメラ F c ドメインの別の例は、N 末端から C 末端に、[I g G 1 C_H1] - [I g G 1 上方ヒンジ] - [I g G 2 下方ヒンジ] - [I g G 4 C_H2] - [I g G 1 C_H3] を含む。本発明の抗原結合分子のいずれかに含まれ得るキメラ F c ドメインのこれらおよび他の例は、2014 年 8 月 28 日に公開された米国特許公開第 2014/0243504 号に記載されており、その全体が本明細書に組み込まれる。これらの一般的な構造配置を有するキメラ F c ドメイン、およびその変異体は、F c 受容体結合を変えてしまうことができ、そのことが F c エフェクター機能に影響を及ぼす。

【0098】

配列変異体

本明細書の抗体および二重特異性抗原結合分子は、個々の抗原結合ドメインが由来した対応する生殖系列配列と比較して、重鎖および軽鎖可変ドメインのフレームワークおよび/または C D R 領域に 1 つ以上のアミノ酸置換、挿入および/または欠失を含み得る。このような変異は、本明細書中に開示するアミノ酸配列を、例えば公共の抗体配列データベースから入手可能な生殖系列配列と比較することによって容易に確認することができる。本発明の抗原結合分子は、本明細書に開示する例示的なアミノ酸配列のいずれかに由来する抗原結合ドメインを含んでもよく、1 つ以上のフレームワークおよび/または C D R 領域内の 1 つ以上のアミノ酸は、抗体が由来した生殖系列配列の対応する残基 (複数可) へ、または別のヒト生殖系列配列の対応する残基 (複数可) へ、または対応する生殖系列残基 (複数可) の保存的アミノ酸置換へ変異する (このような配列変化はまとめて、「生殖系列変異」と本明細書で呼ばれる)。当業者は、本明細書に開示する重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列から出発して、1 つ以上の個々の生殖系列変異またはこれらの組み合わせを含む多数の抗体および抗体結合断片を容易に産生することができる。特定の実施形態において、V_H ドメインおよび/または V_L ドメイン内のフレームワークおよび/または C D R 残基はすべて、抗原結合ドメインが由来した元の生殖系列配列において認められる残基へと戻り変異する。他の実施形態において、ある特定の残基のみが元の生殖系列配列へと変異し戻され、例えば、変異した残基は F R 1 の最初の 8 個のアミノ酸内に、もしくは変異した残基は F R 4 の最後の 8 個のアミノ酸内に認められ、または変異した残基は、C D R 1、C D R 2 もしくは C D R 3 内にのみ認められる。他の実施形態において、

10

20

30

40

50

フレームワークおよび/またはCDR残基(複数可)の1つ以上は、異なる生殖系列配列(すなわち、抗原結合ドメインが本来由来した生殖系列配列とは異なる生殖系列配列)の対応する残基(複数可)へ変異する。さらに、抗原結合ドメインは、フレームワークおよび/またはCDR領域内に2つ以上の生殖系列変異のいずれかの組み合わせを含有してもよく、例えば、特定の個々の残基は、特定の生殖系列配列の対応する残基へ変異するのに対し、元の生殖系列配列とは異なるある特定の他の残基は維持され、または異なる生殖系列配列の対応する残基へ変異する。いったん得られれば、1つ以上の生殖系列変異を含有する抗原結合ドメインは、結合特異性の改善、結合親和性の増大、アンタゴニストまたはアゴニストの生物学的特性の改善または増強(場合によって)、免疫原性の低下などの1つ以上の所望の特性について容易に試験することができる。この一般的な様式で得られた1つ以上の抗原結合ドメインを含む二重特異性抗原結合分子は、本発明の範囲内に含まれる。

10

20

30

40

50

【0099】

pH依存性結合

本発明は、pH依存性の結合特性を有する、抗BCMA抗体、および抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子を含む。例えば、本発明の抗BCMA抗体は、中性pHと比較して、酸性pHでBCMAへの結合の低下を示し得る。あるいは、本発明の抗BCMA抗体は、中性pHと比較して、酸性pHでBCMAへの増強された結合を示し得る。「酸性pH」という表現は、約6.2未満、例えば、約6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0以下のpH値を含む。本明細書で使用される場合、「中性pH」という表現は、約7.0~約7.4のpHを意味する。「中性pH」という表現は、約7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35、および7.4のpH値を含む。

【0100】

場合によっては、「中性pHと比較して、酸性pHで...結合の低下」は、中性pHでその抗原に結合する抗体の K_D 値に対する酸性pHでその抗原に結合する抗体の K_D 値の比に関して、表される(またはその逆)。例えば、抗体またはその抗原結合断片が、約3.0以上の酸性/中性 K_D 比を示す場合、本発明の目的のために、抗体またはその抗原結合断片は、「中性pHと比較して、酸性pHではBCMAへの結合の低下」を示すと見なされ得る。ある特定の例示的な実施形態において、本発明の抗体または抗原結合の酸性/中性 K_D 比は、約3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0、またはそれ以上であり得る。

【0101】

pH依存性結合特性を有する抗体は、例えば、中性pHと比較して、酸性pHで特定の抗原への結合の低下(または増強)について抗体の集団をスクリーニングすることによって得ることができる。さらに、アミノ酸レベルでの抗原結合ドメインの修飾は、pH依存的特徴を有する抗体を産生し得る。例えば、抗原結合ドメイン(例えばCDR内)の1つ以上のアミノ酸をヒスチジン残基で置換することにより、中性pHに対して酸性pHで抗原結合が低下した抗体を得ることができる。

【0102】

Fc変異体を含む抗体

本発明のある特定の実施形態によると、例えば、中性pHと比較して、酸性pHで、FcRn受容体への抗体結合を増強または減少させる1つ以上の変異を含むFcドメインを含む、抗BCMA抗体、および抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子が、提供される。例えば、本発明は、Fcドメインの C_H2 または C_H3 領域に変異を含む抗体を含み、変異(複数可)は、酸性環境においてFcRnに対するFcドメインの親和性を増加

させる（例えば、pHが約5.5～約6.0の範囲のエンドソームにおいて）。そのような変異は、動物に投与したときに抗体の血清半減期の増加をもたらし得る。そのようなFc修飾の非限定的な例には、例えば、250位（例えば、EまたはQ）、250位および428位（例えば、LまたはF）、252位（例えば、L/Y/F/WまたはT）、254位（例えば、SまたはT）、および256位（例えば、S/R/Q/E/DまたはT）での修飾、または428位および/または433位（例えば、H/L/R/S/P/QまたはK）および/または434位（例えば、H/FまたはY）での修飾、あるいは250位および/または428位の修飾、あるいは307位もしくは308位（例えば、308F、V308F）、ならびに434位での修飾が含まれる。一実施形態において、修飾は428L（例えば、M428L）および434S（例えば、N434S）の修飾、428L、259I（例えば、V259I）、および308F（例えば、V308F）の修飾、433K（例えば、H433K）および434（例えば、434Y）の修飾、252、254、および256（例えば、252Y、254T、および256E）の修飾、250Qおよび428Lの修飾（例えば、T250QおよびM428L）、307および/または308の修飾（例えば、308Fまたは308P）を含む。

【0103】

例えば、本発明は、250Qおよび248L（例えば、T250QおよびM248L）、252Y、254Tおよび256E（例えば、M252Y、S254TおよびT256E）、428Lおよび434S（例えば、M428LおよびN434S）、ならびに433Kおよび434F（例えば、H433KおよびN434F）からなる群から選択される、1つ以上の変異対または変異群を含むFcドメインを含む、抗BCMA抗体、および抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子を含む。前述のFcドメイン変異、および本明細書に開示される抗体可変ドメイン内の他の変異のすべての可能な組み合わせが、本発明の範囲内で熟慮される。

【0104】

抗体および二重特異性抗原結合分子の生物学的特性

本発明は、高い親和性（例えば、ナノモル以下の K_D 値）を有するヒトBCMAに結合する抗体およびその抗原結合断片を含む。

【0105】

ある特定の実施形態によると、本発明は、表面プラズモン共鳴、例えば、本明細書の実施例4で定義するアッセイフォーマットを使用して測定した場合に、約5nM未満の K_D を有するヒトBCMA（例えば25）に結合する抗体および抗体の抗原結合断片を含む。ある特定の実施形態において、表面プラズモン共鳴、例えば、本明細書の実施例4で定義するアッセイフォーマットを使用して、または実質的に類似のアッセイで測定した場合に、本発明の抗体または抗原結合断片は、約20nM未満、約10nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約800pM未満、約700pM未満、約500pM未満、約400pM未満、約300pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約50pM未満、または約25pM未満の K_D を有するBCMAに結合する。本発明は、二重特異性抗原結合分子（例えば、表面プラズモン共鳴、例えば、本明細書の実施例4で定義するアッセイフォーマットを使用して、または実質的に類似のアッセイで測定した場合に、約25pM未満の K_D を有するヒトBCMAに結合し、約170pM未満の K_D を有するサルBCMAに結合する二重特異性抗体を含む。

【0106】

本発明はまた、25での表面プラズモン共鳴、例えば、本明細書の実施例4に定義されるアッセイフォーマットを使用して、または実質的に類似のアッセイで測定した場合に、約10分超または約125分超の解離半減期（ $t_{1/2}$ ）を有するBCMAに結合する抗体およびその抗原結合断片を含む。ある特定の実施形態において、25での表面プラズモン共鳴、例えば、本明細書の実施例4で定義するアッセイフォーマットを使用して、または実質的に類似のアッセイで測定した場合に、本発明の抗体または抗原結合断片は、

約3分超、約4分超、約10分超、約20分超、約30分超、約40分超、約50分超、約60分超、約70分超、約80分超、約90分超、約100分超、約110分超、または約120分超の $t_{1/2}$ を有するBCMAに結合する。本発明は、二重特異性抗原結合分子（例えば、25の表面プラズモン共鳴、例えば、本明細書の実施例4において定義されたアッセイフォーマットを使用して、または実質的に類似のアッセイで測定した場合に、約10分超でBCMAに結合する二重特異性抗体を含む。

【0107】

本発明はまた、実施例6に記載のFACS結合アッセイまたは実質的に類似のアッセイによって決定された場合に、内因性BCMA（例えば、NCI-H929、MOLP-8、またはOMP-2）を発現するヒト細胞株に特異的に結合する抗体およびその抗原結合断片も含む。

10

【0108】

本発明はまた、(a)ヒト多発性骨髄腫異種移植片を保有する免疫不全マウスにおける腫瘍成長を阻害すること、(b)ヒト多発性骨髄腫異種移植片を保有する免疫不全マウスにおける確立された腫瘍の腫瘍成長を抑制すること（例えば、実施例10～15を参照されたい）、および(c)ヒトCD3を発現する免疫応答性マウスにおけるヒトBCMAを発現するように操作された同系メラノーマ(syngenic melanoma)および結腸癌細胞の腫瘍成長を抑制すること、からなる群から選択される1つ以上の特徴を示す抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子を含む。

20

【0109】

本発明は、高い親和性を有するヒトCD3に結合する抗体およびその抗原結合断片を含む。本発明はまた、治療状況および所望される特定の標的化特性に応じて、中程度または低い親和性を有するヒトCD3に結合する抗体およびその抗原結合断片を含む。場合によっては、低親和性には、300nM超、500nM超、または1 μ M超の K_D または EC_{50} （例えば、表面プラズモン共鳴アッセイで測定した場合）を有するCD3に結合する抗体が含まれる。本発明はまた、検出不可能な親和性を有するヒトCD3に結合する抗体およびその抗原結合断片を含む。例えば、一方のアームがCD3に結合し、別のアームが標的抗原（例えば、BCMA）に結合する二重特異性抗原結合分子の状況下では、標的抗原結合アームが高い親和性を有する標的抗原に結合することが望ましいが、抗CD3アームは中程度または低い親和性を有するまたは親和性を有しないCD3に結合する。この様式において、標的抗原を発現する細胞への抗原結合分子の優先的標的化は、一般的/非標的化CD3結合およびそれに付随する結果として生じる有害な副作用を回避しながら達成され得る。

30

【0110】

本発明は、ヒトCD3およびヒトBCMAに同時に結合することができる二重特異性抗原結合分子（例えば、二重特異性抗体）を含む。CD3を発現する細胞と相互作用する結合アームは、適切なインビトロ結合アッセイで測定した場合に、弱から検出不可能な結合を有し得る。二重特異性抗原結合分子がCD3および/またはBCMAを発現する細胞と結合する程度は、本明細書の実施例5および6に示すように、蛍光活性化細胞選別(FACS)によって評価することができる。

40

【0111】

例えば、本発明は、CD3を発現するヒト細胞株に特異的に結合するが、BCMA（例えば、Jurkat）および/またはBCMA発現細胞を発現しない抗体、抗体結合断片、およびその二重特異性抗体を含む。

【0112】

本発明は、弱い（すなわち低い）親和性またはさらに検出不可能な親和性を有するヒトCD3に結合する抗体、その抗体結合断片、およびその二重特異性抗体を含む。

【0113】

本発明は、弱い（すなわち低い）親和性またはさらに検出不可能な親和性を有するサル（すなわちカニクイザル）CD3に結合する抗体、その抗体結合断片、およびその二重特

50

異性抗体を含む。

【0114】

本発明は、ヒトCD3に結合してT細胞活性化を誘導する抗体、その抗体結合断片、およびその二重特異性抗体を含む。

【0115】

本発明は、対象における腫瘍抗原発現細胞を枯渇または減少させることができる抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子を含む（例えば、実施例8～16、または実質的に同様のアッセイを参照されたい）。例えば、ある特定の実施形態によると、抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子が提供され、対象への0.04mg/kg、0.4mg/kg、または4mg/kgの二重特異性抗原結合分子の単回投与または複数回投与が対象におけるBCMA発現細胞数の減少を引き起こす（例えば、対象における腫瘍成長が抑制または阻害される）。

【0116】

エピトープマッピングおよび関連技術

本発明の抗原結合分子が結合するCD3および/またはBCMA上のエピトープは、CD3またはBCMAタンパク質の3つ以上（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、またはそれ以上）のアミノ酸の単一連続配列からなってもよい。あるいは、エピトープは、CD3またはBCMAの複数の非連続アミノ酸（またはアミノ酸配列）からなってもよい。本発明の抗体は、単一のCD3鎖内に含まれるアミノ酸（例えば、CD3-イプシロン、CD3-デルタ、またはCD3-ガンマ）と相互作用し得るか、または2つ以上の異なるCD3鎖上のアミノ酸と相互作用し得る。本発明で使用する場合、「エピトープ」という用語は、パラトープとして既知の抗体分子の可変領域における特異的抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原は2つ以上のエピトープを有してもよい。したがって、異なる抗体は、抗原上の異なる領域へ結合し得、異なる生物学的効果を有し得る。エピトープは、立体配座または線状のいずれかであり得る。立体配座エピトープは、直鎖状ポリペプチド鎖の異なるセグメントから空間的に並置されたアミノ酸によって産生される。直鎖状エピトープは、ポリペプチド鎖中の隣接するアミノ酸残基によって産生されるものである。ある特定の状況において、エピトープは、抗原上の糖類、ホスホリル基、またはスルホニル基の部分を含み得る。

【0117】

当業者に既知の種々の技術を使用して、抗体の抗原結合ドメインがポリペプチドまたはタンパク質内にある「1つ以上のアミノ酸と相互作用する」かどうかを決定することができる。例示的な技術としては、例えば、Antibodies, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)に記載されている日常的なクロス遮断アッセイ、アラニンスクヤニング突然変異分析、ペプチドプロット分析(Reineke, 2004, Methods Mol Biol 248: 443-463)、およびペプチド切断分析が挙げられる。加えて、エピトープ切除、エピトープ抽出、および抗原の化学修飾などの方法を採用することができる(Tomer (2000) Protein Science 9: 487-496)。抗体の抗原結合ドメインが相互作用するポリペプチド内のアミノ酸を同定するために用いることができる別の方法は、質量分析によって検出される水素/重水素交換である。一般的にいえば、水素/重水素交換法は、関心対象のタンパク質を重水素標識した後、抗体を重水素標識タンパク質へ結合させることを包含する。次に、タンパク質/抗体複合体を水に移して、抗体によって保護されている残基（重水素標識されたままである）を除くすべての残基で水素-重水素交換を生じさせる。抗体の解離後、標的タンパク質をプロテアーゼ切断および質量分析へ供し、それにより、抗体が相互作用する特異的アミノ酸に対応する重水素標識残基を明らかにする。例えば、Ehring (1999) Analytical Biochemistry 267 (2): 252-259、Engen and Smith (2001) Anal. Chem. 73: 256A-265

10

20

30

40

50

Aを参照されたい。抗原/抗体複合体のX線結晶解析もまた、エピトープマッピング目的に使用してもよい。

【0118】

本発明はさらに、本明細書に記載の特定の例示的な抗体のうちのいずれかと同じエピトープに結合する抗BCMA抗体（例えば、本明細書の表1に記載のアミノ酸配列のうちのいずれかを含む抗体）を含む。同様に、本発明はまた、BCMAへの結合について本明細書に記載の特定の例示的な抗体のいずれかと競合する抗BCMA抗体（例えば、本明細書の表1に記載のアミノ酸配列のうちのいずれかを含む抗体）を含む。

【0119】

本発明はまた、低いまたは検出不可能な結合親和性を有するヒトCD3および/またはカニクイザルCD3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、ヒトBCMAに特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む二重特異性抗原結合分子を含み、第2の抗原結合ドメインは、本明細書に記載の特定の例示的なCD3特異的抗原結合ドメインのうちのいずれかと同じCD3上のエピトープに結合し、および/または第2の抗原結合ドメインは、本明細書に記載の特定の例示的なBCMA特異的抗原結合ドメインのうちのいずれかと同じBCMA上のエピトープに結合する。

【0120】

同様に、本発明はまた、ヒトBCMAに特異的に結合する第1の抗原結合ドメインと、ヒトCD3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む二重特異性抗原結合分子を含み、第1の抗原結合ドメインは、BCMAへの結合について、本明細書に記載の特定の例示的なBCMA特異的抗原結合ドメインのうちのいずれかと競合し、かつ/または第2の抗原結合ドメインは、CD3への結合について、本明細書に記載の特定の例示的なCD3特異的抗原結合ドメインのうちのいずれかと競合する。

【0121】

特定の抗原結合分子（例えば、抗体）またはその抗原結合ドメインが、本発明の参照抗原結合分子と同じエピトープに結合するか、または結合するために本発明の参照抗原結合分子と競合するかどうかは、当技術分野で既知の常法を使用して容易に決定できる。例えば、試験抗体が本発明の参照二重特異性抗原結合分子と同じBCMA（またはCD3）上のエピトープに結合するかどうかを決定するために、参照二重特異性分子は、最初にBCMAタンパク質（またはCD3タンパク質）に結合させる。次に、BCMA（またはCD3）分子に結合する試験抗体の能力を評価する。試験抗体が参照二重特異性抗原結合分子と飽和結合後にBCMA（またはCD3）に結合することができる場合、試験抗体は参照二重特異性抗原とは異なるBCMA（またはCD3）のエピトープに結合すると結論付けることができる。その一方で、試験抗体が、参照二重特異性抗原結合分子に飽和結合後にBCMA（またはCD3）分子に結合することができない場合、試験抗体は、本発明の参照二重特異性抗原結合分子によって結合したエピトープと同じBCMA（またはCD3）のエピトープに結合してもよい。次に、試験抗体の結合の観察された欠失が、実際に、参照二重特異性抗原結合分子と同じエピトープへの結合によるものであるか、それとも立体遮断（または別の現象）が、観察された結合の欠失の原因であるのかを確認するために、さらなる通例の実験（例えば、ペプチド変異および結合分析）を実施することができる。この種の実験は、ELISA、RIA、Biacore、フローサイトメトリー、または当該技術分野で利用可能な任意の他の定量的もしくは定性的な抗体結合アッセイを使用することができる。本発明の特定の実施形態によると、例えば、1倍、5倍、10倍、20倍、または100倍過剰量の一方の抗原結合タンパク質が、競合結合アッセイでの測定で少なくとも50%、しかし、好ましくは75%、90%、またはさらに99%他方の結合を阻害する場合、2つの抗原結合タンパク質は、同一（または重複）エピトープに結合する（例えば、Jung et al., Cancer Res. 1990:50:1495-1502を参照されたい）あるいは、一方の抗原結合タンパク質の結合を低減または排除する抗原における本質的にすべてのアミノ酸変異が、もう一方の結合を低減または排除する場合、2つの抗原結合タンパク質は同じエピトープと結合すると

10

20

30

40

50

見なされる。一方の抗原結合タンパク質の結合を減少または排除するアミノ酸変異のサブセットのみが他方の結合を減少または排除する場合、2つの抗原結合タンパク質は「重複エピトープ」を有するとみなされる。

【0122】

抗体またはその抗原結合ドメインが、結合について、参照抗原結合分子と競合するかどうかを決定するために、上述の結合方法を2つの方向性で実施する。第1の方向性において、参照抗原結合分子を飽和条件下でBCMAタンパク質（またはCD3タンパク質）に結合させた後、BCMA（またはCD3）分子への試験抗体の結合を評価する。第2の方向性において、試験抗体を飽和条件下でBCMA（またはCD3）分子に結合させた後、参照抗原結合分子のBCMA（またはCD3）分子への結合を評価する。両方向において、第1の（飽和）抗原結合分子のみがBCMA（またはCD3）分子に結合することができる場合、試験抗体および参照抗原結合分子は、BCMA（またはCD3）への結合について競合すると結論付けられる。当業者によって認識されるように、参照抗原結合分子との結合について競合する抗体は、必ずしも参照抗体と同一のエピトープへ結合するわけではないが、重複しているまたは隣接しているエピトープに結合することによって、参照抗体の結合を立体的に遮断し得る。

10

【0123】

抗原結合ドメインの調製および二重特異性分子の調製

特定の抗原に特異的な抗原結合ドメインは、当技術分野で既知の任意の抗体産生技術によって調製することができる。いったん得られれば、2つの異なる抗原（例えば、CD3およびBCMA）に特異的な2つの異なる抗原結合ドメインを互いに適切に配置して、常法を使用して本発明の二重特異性抗原結合分子を産生することができる。（本発明の二重特異性抗原結合分子を構築するために使用できる例示的な二重特異性抗体フォーマットの考察は、本明細書の他所に提供される）。ある特定の実施形態において、本発明の多重特異性抗原結合分子の1つ以上の個々の構成要素（例えば、重鎖および軽鎖）は、キメラ抗体、ヒト化抗体または完全ヒト型抗体に由来する。そのような抗体を作製するための方法は当技術分野において周知である。例えば、本発明の二重特異性抗原結合分子の1つ以上の重鎖および/または軽鎖は、VELOCIMMUNE（商標）技術を使用して調製することができる。VELOCIMMUNE（商標）技術（または任意の他のヒト抗体生成技術）を使用して、特定の抗原（例えば、CD3またはBCMA）に対する高親和性キメラ抗体が、ヒト可変領域およびマウス定常領域を有して最初に単離される。抗体を、親和性、選択性、エピトープなどを含む望ましい特徴について特徴付けし選択する。マウス定常領域は、所望のヒト定常領域と置換されて、本発明の二重特異性抗原結合分子に組み込まれ得る完全ヒト型重鎖および/または軽鎖を生成する。

20

30

【0124】

遺伝子操作された動物は、ヒト二重特異性抗原結合分子を作製するために使用し得る。例えば、内因性マウス免疫グロブリン軽鎖可変配列を再編成および発現することができない、遺伝子改変マウスを使うことができ、マウスは、内在性マウスカッパ遺伝子座のマウスカッパ定常遺伝子に作動可能に連結されているヒト免疫グロブリン配列によってコードされる1つまたは2つのヒト軽鎖可変ドメインのみを発現する。そのような遺伝子改変マウスを使用して、2つの異なるヒト軽鎖可変領域遺伝子セグメントのうちの1つに由来する可変ドメインを含む同一の軽鎖と会合する2つの異なる重鎖を含む完全ヒト型二重特異性抗原結合分子を産生することができる。（例えば、US2011/0195454を参照されたい）。完全ヒト型とは、抗体またはその抗原結合断片もしくは免疫グロブリンドメインの各ポリペプチドの全長にわたるヒト型配列に由来するDNAによってコードされるアミノ酸配列を含む、抗体、またはその抗原結合断片もしくは免疫グロブリンドメインを指す。いくつかの例において、完全ヒト型配列は、ヒトに対して内因性のタンパク質に由来する。他の例において、完全ヒト型タンパク質またはタンパク質配列は、各成分配列がヒト型配列に由来するキメラ配列を含む。いずれの理論にも縛られないが、キメラタンパク質またはキメラ配列は、一般に、例えば任意の野生型ヒト免疫グロブリン領域またはド

40

50

メインと比較して、成分配列の接合部における免疫原性エピトープの作成を最小にするように設計される。

【0125】

生物学的等価物

本発明は、本明細書に開示される例示的な分子のものとは異なるが、CD3および/またはBCMAに結合する能力を保持するアミノ酸配列を有する抗原結合分子を包含する。このような変異体抗体は、親配列と比較してアミノ酸の1つ以上の付加、欠失、または置換を含むが、説明された二重特異性抗原結合分子の生物学的活性とは本質的に等価である生物学的活性を示す。

【0126】

本発明は、本明細書に記載の例示的な抗原結合分子のいずれかと生物学的に等価な抗原結合分子を含む。2つの抗原結合タンパク質または抗体は、例えば、それらが類似の実験条件下で単回用量または複数回用量のいずれかで同じモル用量で投与された場合に、吸収速度および吸収の程度が有意差を示さない医薬的等価物または医薬的選択肢である場合、生物学的等価物とみなされる。これらの吸収の程度は等価であるが吸収速度は等価ではなく、吸収速度におけるこのような差が意図的、かつ標識に反映されているので生物学的に等価とみなされ得る場合、いくつかの抗原結合タンパク質は、等価物または薬学的選択肢とみなされることになっており、例えば長期使用に及ぼす有効な身体薬剤濃度の達成に必須ではなく、試験した特定の薬剤製品にとって医学的に有意ではないとみなされる。

【0127】

一実施形態において、2つの抗原結合タンパク質は、これらの安全性、純度、および有効性において臨床的に有意性のある差がない場合、生物学的に等価である。

【0128】

一実施形態において、2つの抗原結合タンパク質は、免疫原性の臨床的に有意な変化または有効性の減退を含む有害作用のリスクの期待される上昇なしで参照生成物と生物学的生成物の間での切り替えなしで持続される療法と比較して、患者を1回以上切り替えられることができる場合、生物学的に等価である。

【0129】

一実施形態において、2つの抗原結合タンパク質は、これらが両方とも、使用条件（複数可）についての共通の機序または作用機序によって、このような機序が既知である程度まで作用する場合、生物学的に等価である。

【0130】

生物学的等価性は、インビボおよびインビトロの方法によって実証され得る。生物学的等価性測定法には、例えば、(a)抗体またはその代謝産物の濃度が血液、血漿、血清または他の生物学的流体中で時間の関数として測定される、ヒトまたは他の哺乳類におけるインビボでの試験、(b)ヒトインビボ生物学的利用能データと相関した、このデータを合理的に予測しているインビトロ試験、(c)抗体（またはその標的）の適切な急性薬理学的効果が時間の関数として測定されるヒトまたは他の哺乳類におけるインビボ試験、および(d)抗原結合タンパク質の安全性、効能、または生物学的利用能もしくは生物学的等価性を確立する、十分に管理された臨床試験が含まれる。

【0131】

本明細書に示す例示的な二重特異性抗原結合分子の生物学的に等価な変異体は、例えば、残基もしくは配列の種々の置換を生じること、または生物活性に必要とされない末端もしくは内部の残基もしくは配列を欠失することによって構築され得る。例えば、生物学的活性にとって必須ではないシステイン残基は、再生の際の不必要または不正確な分子内ジスルフィド架橋の形成を防止するために、欠失または他のアミノ酸で置換することができる。他の文脈において、生物学的等価な抗原結合タンパク質は、分子のグリコシル化特性を修飾するアミノ酸変化、例えばグリコシル化を排除または除去する変異を含む、本明細書に記載の例示的な二重特異性抗原結合分子の変異体を含み得る。

【0132】

10

20

30

40

50

種の選択性および種の交差反応性

本発明の特定の実施形態によると、ヒトCD3に結合するが他の種由来のCD3には結合しない抗原結合分子が提供される。ヒトBCMAに結合するが、他種由来のBCMAには結合しない抗原結合分子もまた、提供される。本発明はまた、ヒトCD3および1つ以上の非ヒト種由来のCD3に結合する抗原結合分子、および/またはヒトBCMAおよび1つ以上の非ヒト種由来のBCMAに結合する抗原結合分子を含む。

【0133】

本発明のある特定の例示的な実施形態によると、ヒトCD3および/またはヒトBCMAに結合し、場合によっては、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、スナネズミ、ブタ、ネコ、イヌ、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、ウシ、ウマ、ラクダ、カニクイザル、マーモセット、アカゲザルまたはチンパンジーCD3および/またはBCMAのうちの1つ以上に結合し得るか、または結合し得ない抗原結合分子が提供される。例えば、本発明の特定の例示的な実施形態において、ヒトBCMAおよびカニクイザルBCMAに結合する第1の抗原結合ドメインと、ヒトCD3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む二重特異性抗原結合分子、またはヒトBCMAおよびカニクイザルBCMAに結合する第1の抗原結合ドメインと、ヒトCD3に特異的に結合する第2の抗原結合ドメインと、を含む二重特異性抗原結合分子が提供される。

10

【0134】

治療用製剤および投与

本発明は、本発明の抗原結合分子を含む薬学的組成物を提供する。本発明の薬学的組成物は、適切な担体、賦形剤、および改善された移動、送達、耐性などをもたらす他の薬剤と共に製剤化される。多くの適切な製剤は、製薬化学者全員に既知の処方集：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PAにおいて認めることができる。これらの製剤には、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、ベシクル(LIPOFECTIN(商標)、Life Technologies, Carlsbad, CAなど)を含有する脂質(カチオン性またはアニオン性)、DNA複合体、無水吸収ペースト、水中油エマルジョンおよび油中水エマルジョン、エマルジョンカーボワックス(種々の分子量のポリエチレングリコール)、半固体ゲル、ならびにカーボワックスを含有する半固体混合物が含まれる。Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311も参照されたい。

20

30

【0135】

患者に投与される抗原結合分子の用量は、患者の年齢および大きさ、標的疾患、病態、投与経路などに応じて変わり得る。好ましい用量は、典型的には体重または体表面積に従って計算される。本発明の二重特異性抗原結合分子が成人患者の治療目的に使用される場合、本発明の二重特異性抗原結合分子を通常約0.01~約20mg/kg体重の単回投与で、より好ましくは約0.02~約7、約0.03~約5、または約0.05~約3mg/kg体重の単回投与で静脈内投与することが有利であり得る。病態の重症度に応じて、治療の頻度および期間を調整することができる。二重特異性抗原結合分子を投与するための有効投与量およびスケジュールは経験的に決定され、例えば、患者の経過を定期的な評価によってモニターし、それに依りて用量を調整することができる。さらに、投与量の種間スケールリングは、当技術分野において周知の方法を使用して実施することができる(例えば、Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351)。

40

【0136】

種々の送達系は既知であり、本発明の薬学的組成物を投与するために使用することができ、例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセルにおける封入、変異ウイルスを発現することのできる組換え細胞、受容体媒介性エンドサイトーシスである(例えば、Wu

50

et al., 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429 - 4432を参照されたい)。導入方法には、皮内経路、経皮経路、筋肉内経路、腹腔内経路、静脈内経路、皮下経路、鼻腔内経路、硬膜外経路および経口経路が含まれるが、これらに限定されない。組成物は、例えば、注入もしくはポラス注射、上皮または粘膜皮膚内層 (linings) (例えば、口腔粘膜、直腸および腸粘膜など) を介した吸収による任意の好都合な経路によって投与することができ、他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与することができる。投与は全身または局所であり得る。

【0137】

本発明の薬学的組成物は、標準的な針および注射器を用いて皮下にまたは静脈内に送達することができる。加えて、皮下送達に関して、ペン送達デバイスは、本発明の薬学的組成物を送達する上での適用を容易に有する。このようなペン送達デバイスは、再利用可能または使い捨て可能であり得る。再利用可能なペン送達デバイスは、概して、薬学的組成物を含有する交換可能なカートリッジを利用する。一度、カートリッジ内の薬学的組成物がすべて投与され、カートリッジが空になると、この空のカートリッジは容易に廃棄することができ、薬学的組成物を含有する新しいカートリッジと容易に交換することができる。次に、ペン送達デバイスは再利用することができる。使い捨てのペン送達デバイスにおいて、交換可能なカートリッジは存在しない。むしろ、使い捨てペン送達デバイスは、このデバイス内の貯蔵器の中に保持された薬学的組成物が事前に充填されている。一度、貯蔵器が薬学的組成物に関して空になると、デバイス全体が廃棄される。

10

【0138】

数多くの再利用可能なペン送達デバイスおよび自動注射送達デバイスは、本発明の薬学的組成物の皮下送達における用途を有する。例としては、AUTOPEN (商標) (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC (商標) pen (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25 (商標) pen、HUMALOG (商標) pen、HUMALIN 70/30 (商標) pen (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN (商標) I, IIおよびIII (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR (商標) (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD (商標) pen (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN (商標)、OPTIPEN PRO (商標)、OPTIPEN STARLET (商標)、およびOPTICLIK (商標) (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany) が挙げられるが、これらに限定されず、ほんの数種類しか挙げていない。本発明の薬学的組成物の皮下送達での用途を有する使い捨てペン送達装置の例としては、SOLOSTAR (商標) ペン (Sanofi-Aventis)、FLEXPEN (商標) (Novo Nordisk)、およびKWIKPEN (商標) (Eli Lilly)、SURECLICK (商標) 自動注射器 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET (商標) (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.) およびHUMIRA (商標) ペン (Abbott Labs, Abbott Park IL) が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

40

【0139】

ある特定の状況において、薬学的組成物は、徐放系で送達することができる。一実施形態において、ポンプを使用することができる (Langer, 上記; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201を参照されたい)。別の実施形態において、ポリマー材料を使用することができる。Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Floridaを参照されたい。さらに別の実施形態において、徐放系を組成物の標

50

的の近傍に配置することができ、それによって全身用量のほんの一部のみが必要となる（例えば、Goodson, 1984, Medical Applications of Controlled Release, 上記, vol. 2, pp. 115 - 138を参照されたい）。他の徐放系は、Langer, 1990, Science 249: 1527 - 1533による総説で論じられている。

【0140】

注射可能な調製物には、静脈内注射、皮下注射、皮内注射および筋肉内注射、点滴注入などのための剤形が含まれ得る。これらの注射可能な調製物は、公的に既知の方法によって調製され得る。例えば、注射可能な調製物は、例えば、注射用に従来通り使用される滅菌水性媒体または油性媒体中に上述の抗体またはその塩を溶解、懸濁または乳化させることによって調製され得る。注入用水性媒体としては、例えば、生理食塩水、グルコース含有等張液、および他の補助剤などがあり、これらは、アルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤〔例えば、ポリソルベート80、HCO-50（水素化ヒマシ油のポリオキシエチレン（50mol）付加物）〕などの適切な可溶化剤と組み合わせて使用してもよい。油性媒体として、例えば、ゴマ油、ダイズ油などが使用され、ベンジルベンゾエート、ベンジルアルコールなどの可溶化剤と組み合わせて使用してもよい。このように調製された注射は、好ましくは適切なアンプルに充填される。

10

【0141】

有益なことに、上記に記載される経口または非経口での使用のための薬学的組成物は、有効成分の用量に適合するために好適な単位用量の投薬形態へと調製される。このような単位用量の剤形には、例えば、錠剤、ピル、カプセル、注射（アンプル）、坐薬などが含まれる。前述の含有される抗体の量は概して、単位用量の剤形あたり約5～約500mgであり、特に注射の形態では、前述の抗体は、約5～約100mgで、他の剤形については約10～約250mgで含有されることが好ましい。

20

【0142】

抗原結合分子の治療的使用

本発明は、抗BCMA抗体もしくはその抗原結合断片、またはCD3およびBCMAに特異的に結合する二重特異性抗原結合分子を含む治療用組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む方法を含む。治療用組成物は、本明細書に開示される抗体または二重特異性抗原結合分子のいずれかと薬学的に許容される担体または希釈剤とを含み得る。本明細書で使用される場合、「それを必要とする対象」という表現は、癌の1つ以上の症状または徴候を示すヒトまたは非ヒト動物（例えば、腫瘍を発現する対象または本明細書で後述される癌のうちのいずれかに罹患している対象）、あるいは、そうでなければBCMA活性の阻害もしくは減少またはBCMA+細胞（例えば、多発性骨髄腫細胞）の枯渇から利益を得る者を意味する。

30

【0143】

本発明の抗体および二重特異性抗原結合分子（およびそれを含む治療用組成物）は、とりわけ、免疫応答の刺激、活性化および/または標的化が有益である任意の疾患または障害の治療に有用である。特に、本発明の抗BCMA抗体または抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子は、BCMA発現もしくは活性またはBCMA+細胞の増殖に関連するかまたはそれによって媒介される任意の疾患または障害の治療、予防、および/または改善に使用され得る。本発明の治療方法が達成される作用機序は、エフェクター細胞の存在下で、例えば、CDC、アポトーシス、ADCC、食作用、またはこれらの機序のうちの2つ以上の組み合わせによるBCMAを発現する細胞の死滅を含む。本発明の二重特異性抗原結合分子を使用して阻害または死滅させることができるBCMAを発現する細胞には、例えば、多発性骨髄腫細胞が含まれる。

40

【0144】

本発明の抗原結合分子は、例えば、多発性骨髄腫を含む癌または他のB細胞もしくは形質細胞癌、例えば、ワルデンストレームマクログロブリン血症、パーキットリンパ腫、お

50

よびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、およびホジキンリンパ腫を含む、BCMA発現に関連する疾患または障害を治療するために使用され得る。本発明のある特定の実施形態によると、抗BCMA抗体または抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体は、多発性骨髄腫に罹患している患者を治療するのに有用である。本発明の他の関連実施形態によると、本明細書に開示される抗BCMA抗体または抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子を、多発性骨髄腫に罹患している患者に投与することを含む方法が提供される。腫瘍スキャンニングなどの当技術分野において既知の分析的/診断的方法を使用して、患者が多発性骨髄腫または別のB細胞系統癌を抱えているかどうかを確かめることができる。

10

【0145】

本発明はまた、対象における残存癌を治療するための方法も含む。本明細書で使用される場合、「残存癌」という用語は、抗癌療法による治療後の対象における1つ以上の癌性細胞の存在または持続を意味する。

【0146】

ある特定の態様によると、本発明は、対象が多発性骨髄腫であると決定された後、本明細書の他所に記載の抗BCMAまたは二重特異性抗原結合分子のうちの1つ以上を対象に投与することを含む、BCMA発現に関連する疾患または障害（例えば、多発性骨髄腫）を治療するための方法を提供する。例えば、本発明は、対象が他の免疫療法または化学療法を受けてから1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、または4週間、2カ月、4カ月、6カ月、8カ月、1年、またはそれ以上後に、抗BCMA抗体または抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子を患者に投与することを含む、多発性骨髄腫を治療するための方法を含む。

20

【0147】

併用療法および製剤

本発明は、本明細書に記載の例示的な抗体および二重特異性抗原結合分子のいずれかを含む薬学的組成物を1つ以上の追加の治療剤と組み合わせて投与することを含む方法を提供する。本発明の抗原結合分子と組み合わせて、または組み合わせて投与することができる例示的な追加の治療剤は、例えば、抗腫瘍剤（例えば、メルファラン、ビンクリスチン（オンコピン）、シクロホスファミド（シトキサン）、エトポシド（VP-16）、ドキシソルピシン（アドリアマイシン）、リボソームドキシソルピシン（ドキシル）、オペンダムスチン（Treanda）を含む化学療法剤、または対象における形質細胞腫瘍の治療に有効であることが知られている任意の他のもの）を含む。いくつかの実施形態において、第2の治療剤は、ステロイドを含む。いくつかの実施形態において、第2の治療剤は、サリドマイド、レナリドマイド、およびボルテゾミブを含む標的療法を含み、これらは、新たに診断された患者を治療するために承認された療法である。レナリドミド、ポマリドミド、ボルテゾミブ、カルフィルゾミブ、パノピノスタット、イキサゾミブ、エロツズマブ、およびダラツムマブは、再発性骨髄腫を治療するために有効な第2の治療剤の例である。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、放射線療法または幹細胞移植を含むレジメンである。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、免疫調節剤であり得る。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、ボルテゾミブ（Velcade）、カルフィルゾミブ（Kyprolis）、イキサゾミブ（Ninlaro）を含むプロテアソーム阻害剤であり得る。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、パノピノスタット（Farydak）などのヒストンデアセチラーゼ阻害剤であり得る。ある特定の実施形態において、第2の治療剤は、モノクローナル抗体、抗体薬物コンジュゲート、抗腫瘍剤にコンジュゲートした二重特異性抗体、チェックポイント阻害剤、またはそれらの組み合わせであり得る。本発明の抗原結合分子と組み合わせて有益に投与され得る他の薬剤には、小分子サイトカイン阻害剤およびIL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-13、IL-17、IL-18などのサイトカインに結合する抗体、またはそれらのそれぞれの受容体を含

30

40

50

むサイトカイン阻害剤が含まれる。本発明の薬学的組成物（例えば、本明細書に開示される、抗BCMA×抗CD3二重特異性抗原結合分子を含む薬学的組成物）はまた、形質細胞表面上の異なる抗原と相互作用し得る本明細書に記載の抗体以外のモノクローナル抗体、腫瘍細胞表面上の抗原に結合する一方のアームおよびT細胞上の抗原に結合する他方のアームを有する二重特異性抗体、抗体薬物コンジュゲート、抗腫瘍剤にコンジュゲートした二重特異性抗体、チェックポイント阻害剤、例えば、PD-1またはCTLA-4を標的化するもの、またはそれらの組み合わせ、から選択される1つ以上の治療的組み合わせを含む治療レジメンの一部として投与され得る。ある特定の実施形態において、チェックポイント阻害剤は、ペンブロリズマブ（Keytruda）、ニボルマブ（Opdivo）、またはセンプリマブ（REGN2810）などのPD-1阻害剤から選択され得る。ある特定の実施形態において、チェックポイント阻害剤は、アテゾリズマブ（Tecentriq）、アベルマブ（Bavencio）、またはデュルバルマブ（Imfinzi）などのPD-L1阻害剤から選択され得る。ある特定の実施形態において、チェックポイント阻害剤は、イピリムマブ（Yervoy）などのCTLA-4阻害剤から選択され得る。本発明の抗体と組み合わせ使用することができる他の組み合わせは、上に記載されている。

10

【0148】

本発明はまた、本明細書に記載の抗原結合分子のいずれか、およびVEGF、Ang2、DLL4、EGFR、ErbB2、ErbB3、ErbB4、EGFRvIII、cMet、IGF1R、B-raf、PDGFR-、PDGFR-、FOLH1（PSMA）、PRLR、STEAP1、STEAP2、TMPRSS2、MSLN、CA9、ウロプラキンのうちの1つ以上の阻害剤、または前述のサイトカインのいずれかを含む治療組合せを含み、その阻害剤は、アプタマー、アンチセンス分子、リボザイム、siRNA、ペプチボディ、ナノボディもしくは抗体断片（例えば、Fab断片、F(ab')₂断片、Fd断片、Fv断片、scFv、dAb断片、またはダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、および最小認識ユニット）である。本発明の抗原結合分子は、抗ウイルス薬、抗生物質、鎮痛薬、コルチコステロイドおよび/またはNSAIDと組み合わせ投与および/または同時製剤することもできる。本発明の抗原結合分子はまた、放射線治療および/または従来化学療法も含む治療計画の一部として投与してもよい。

20

30

【0149】

追加の治療活性成分は（複数可）、本発明の抗原結合分子の投与の直前、同時に、または直後に投与してもよい。（本開示の目的のために、このような投与計画は、追加の治療活性成分と「組み合わせて」抗原結合分子を投与することと見なされる。

【0150】

本発明には、本発明の抗原結合分子が、本明細書の他所に記載の追加の治療活性成分（複数可）の1つ以上と同時製剤された薬学的組成物が含まれる。

【0151】

投与レジメン

本発明のある特定の実施形態によると、複数回用量の抗原結合分子（例えば、BCMAおよびCD3に特異的に結合する抗BCMA抗体または二重特異性抗原結合分子）を、所定の期間にわたって対象に投与することができる。本発明のこの態様による方法は、本発明の抗原結合分子の複数回用量を対象へ連続的に投与することを含む。本明細書で使用する場合、「連続的に投与すること」は、抗原結合分子の各用量が、異なる時点、例えば、所定の間隔（例えば、数時間、数日間、数週間または数か月間）によって分けられた異なる日に対象へ投与されることを意味する。本発明には、抗原結合分子の単回の一次用量と、それに続く抗原結合分子の1回以上の二次用量、次いで場合により抗原結合分子の1回以上の三次用量を患者へ連続的に投与することを含む方法が含まれる。

40

【0152】

「一次用量」、「二次用量」、および「三次用量」という用語は、本発明の抗原結合分

50

子の投与の時系列を指す。したがって、「一次用量」とは、治療様式の開始時に投与される用量（「ベースライン用量」とも呼ばれる）であり、「二次用量」とは、一次用量後に投与される用量であり、「三次用量」とは、二次用量後に投与される用量である。一次用量、二次用量、および三次用量はすべて、同じ量の抗原結合分子を含有し得るが、概して、投与頻度に関して互いに異なり得る。しかしながら、特定の実施形態において、一次用量、二次用量および/または三次用量に含有される抗原結合分子の量は、治療経過の間、互いに異なる（例えば、適宜上下に調整される）。ある特定の実施形態において、2回以上（例えば、2回、3回、4回、または5回）の用量が治療レジメンの開始時において「負荷用量（loading dose）」として投与され、続いてより低い頻度に基づいて投与される後続用量（例えば、「維持用量」）が投与される。

10

【0153】

本発明のある例示的な実施形態において、各二次用量および/または三次用量は、直前の用量の1～26（例えば、1、1と1/2、2、2と1/2、3、3と1/2、4、4と1/2、5、5と1/2、6、6と1/2、7、7と1/2、8、8と1/2、9、9と1/2、10、10と1/2、11、11と1/2、12、12と1/2、13、13と1/2、14、14と1/2、15、15と1/2、16、16と1/2、17、17と1/2、18、18と1/2、19、19と1/2、20、20と1/2、21、21と1/2、22、22と1/2、23、23と1/2、24、24と1/2、25、25と1/2、26、26と1/2、またはそれ以上）週間後に投与される。「直前の用量」という句は、本明細書で使用する場合、一連の複数回投与において、抗原結合分子の用量を意味し、これは、介入用量のない直後の用量の投与の前に患者へ投与される。

20

【0154】

本発明のこの態様による方法は、抗原結合分子（例えば、BCMAおよびCD3に特異的に結合する抗BCMA抗体または二重特異性抗原結合分子）の二次用量および/または三次用量の任意の回数を患者に投与することを含んでよい。例えば、ある特定の実施形態において、単回の二次用量のみが患者に投与される。他の実施形態において、2回以上（例えば、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回またはそれ以上）の二次用量が患者に投与される。同様に、ある特定の実施形態において、単回の三次用量のみが患者に投与される。他の実施形態において、2回以上（例えば、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回またはそれ以上）の三次用量が患者に投与される。

30

【0155】

複数回の二次用量を伴う実施形態において、各二次用量は他の二次用量と同じ頻度で投与され得る。例えば、各二次用量は、直前の用量の1～2週間後に患者に投与されてもよい。同様に、複数の三次用量を含む実施形態において、各三次用量は他の三次用量と同じ頻度で投与されてもよい。例えば、各三次用量は、直前の用量の2～4週間後に患者に投与されてもよい。あるいは、二次用量および/または三次用量が患者へ投与される頻度は、治療計画の経過にわたって変動し得る。投与頻度はまた、臨床検査後の個々の患者の必要性に応じて、医師によって治療経過の間に調整され得る。

【0156】

抗体の診断的使用

本発明の抗BCMA抗体はまた、例えば診断目的のために、サンプル中のBCMA、またはBCMA発現細胞を検出および/または測定するために使用してもよい。例えば、抗BCMA抗体またはその断片を使用して、BCMAの異常な発現（例えば、過剰発現、過少発現、発現欠如など）を特徴とする病態または疾患を診断してよい。BCMAについての例示的な診断アッセイは、例えば、患者から得られたサンプルを本発明の抗BCMA抗体と接触させることを含んでよく、抗BCMA抗体は検出可能な標識またはレポーター分子で標識されている。あるいは、標識されていない抗BCMA抗体は、それ自体が検出可能に標識された二次抗体と組み合わせて診断用途において使用することができる。検出可能な標識またはレポーター分子は、³H、¹⁴C、³²P、³⁵Sもしくは¹²⁵Iなどの放射性同位体、フルオレセインイソチオシアナートもしくはローダミンなどの蛍光部分

40

50

もしくは化学発光部分、またはアルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、セイヨウウサビペルオキシダーゼ、もしくはルシフェラーゼなどの酵素であり得る。本発明の抗BCMA抗体の別の例示的な診断用途は、 ^{89}Zr -デスフェリオキサミン標識などの、対象において腫瘍細胞の非侵襲的識別および追跡の目的のための ^{89}Zr -標識抗体（例えば、Tavaré, R. et al. Cancer Res. 2016 Jan 1; 76(1): 73-82、およびAzad, B.B. et al. Oncotarget. 2016 Mar 15; 7(11): 12344-58を参照されたい。）サンプル中のBCMAを検出または測定するために使用することができる特定の例示的アッセイには、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、および蛍光活性化細胞選別(FACS)が含まれる。

10

【0157】

本発明によるBCMA診断アッセイにおいて使用することができるサンプルには、正常条件または病理学的条件下で、検出可能な量のBCMAタンパク質またはその断片を含有する、患者から得ることのできる任意の組織または体液サンプルが含まれる。一般に、健康な患者（例えば、異常なBCMAレベルまたは活性と関連した疾患または病態に罹患していない患者）から得られた特定のサンプル中のBCMAのレベルは、BCMAのベースラインレベルまたは標準レベルをまず確立するために測定されるであろう。次いで、このBCMAのベースラインレベルを、BCMAに関連する疾患（例えば、BCMA発現細胞を含む腫瘍）または病態を有することが疑われる個体から得られたサンプルにおいて測定

20

【実施例】

【0158】

以下の実施例は、本発明の方法および組成物をどのように作製および使用するかに関する完全な開示および説明を当業者に提供するために提示されており、本発明者らが本発明とみなすことの範囲を限定することを企図するものではない。使用される数値（例えば、量、温度など）に関して正確性を確保するための努力はしてきたが、いくつかの実験上の誤差および偏差が考慮されるべきである。別段示されない限り、部分は重量部分であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏度であり、圧力は大気圧またはそれに近い圧力である。

30

【0159】

実施例1：抗BCMA抗体の生成

抗BCMA抗体は、遺伝子改変マウスをヒトBCMA抗原（例えば、hBCMA、配列番号115）で免疫することによって、またはヒト免疫グロブリン重鎖およびカッパ軽鎖可変領域をコードするDNAを含む遺伝子操作マウスをヒトBCMA抗原で免疫することによって得られた。

【0160】

免疫後、各マウスから脾細胞を採取して、(1)マウス骨髄腫細胞と融合してそれらの生存率を維持し、ハイブリドーマ細胞を形成してBCMA特異性についてスクリーニングし、または(2)反応性抗体（抗原陽性B細胞）に結合して同定する選別試薬としてヒトBCMA断片を使用して、B細胞を選別した（US2007/0280945A1に記載の通り）。

40

【0161】

ヒト可変領域およびマウス定常領域を有するBCMAに対するキメラ抗体が最初に単離された。抗体を、親和性、選択性などを含む望ましい特徴について特徴付けし選択する。必要ならば、マウス定常領域を所望のヒト定常領域、例えば野生型または改変IgG1またはIgG4定常領域と置き換えて、完全ヒト型抗BCMA抗体を生成した。選択された定常領域は特異的用途に応じて変化し得るが、高親和性抗原結合特徴および標的特異性特徴は、可変領域に存在する。

【0162】

50

抗 B C M A 抗体の重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸および核酸配列：表 1 は、本発明の選択された抗 B C M A 抗体の重鎖および軽鎖可変領域ならびに C D R のアミノ酸配列識別子を示す。対応する核酸配列識別子を表 2 に示す。

【表 1】

表 1：アミノ酸配列識別子

抗体名	配列番号：							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb16711	2	4	6	8	10	12	14	16
mAb16716	18	20	22	24	26	28	30	32
mAb16732	34	36	38	40	42	44	46	48
mAb16747	50	52	54	56	58	60	62	64
mAb21581	66	68	70	72	74	76	78	80
mAb21587	122				123			
mAb21589	124				125			

10

【表 2】

表 2：核酸配列識別子

抗体名	配列番号：							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb16711	1	3	5	7	9	11	13	15
mAb16716	17	19	21	23	25	27	29	31
mAb16732	33	35	37	39	41	43	45	47
mAb16747	49	51	53	55	57	59	61	63
mAb21581	65	67	69	71	73	75	77	79

20

30

【 0 1 6 3 】

実施例 2：抗 C D 3 抗体の生成

抗 C D 3 抗体は、参照により本明細書に組み込まれる W O 2 0 1 7 / 0 5 3 8 5 6 に記載されているように生成された。2つのそのような抗 C D 3 抗体は、本発明による二重特異性抗 B C M A × 抗 C D 3 抗体の産生から選択された。表 3 は、選択された抗 C D 3 抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域ならびに C D R のアミノ酸配列識別子を示す。対応する核酸配列識別子を表 4 に示す。本発明による二重特異性抗体の調製に使用するための他の抗 C D 3 抗体は、例えば、W O 2 0 1 4 / 0 4 7 2 3 1 に見出すことができる。

【表 3】

表 3：アミノ酸配列識別子

抗体名	配列番号：							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb7221G	90	92	94	96	82	84	86	88
mAb7221G20	98	100	102	104	82	84	86	88

40

【表 4】

表 4：核酸配列識別子

抗体名	配列番号：							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb7221G	89	91	93	95	81	83	85	87
mAb7221G20	97	99	101	103	81	83	85	87

【0164】

10

実施例 3：BCMA および CD3 に結合する二重特異性抗体の生成

本発明は、CD3 および BCMA に結合する二重特異性抗原結合分子を提供し、そのような二重特異性抗原結合分子はまた、本明細書において「抗 BCMA × 抗 CD3 または抗 CD3 × BCMA または抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性分子」とも称される。抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性分子の抗 BCMA 部分は、BCMA (CD269 としても知られている) を発現する腫瘍細胞を標的化するのに有用であり、二重特異性分子の抗 CD3 部分は、T 細胞を活性化するのに有用である。腫瘍細胞上の BCMA および T 細胞上の CD3 の同時結合は、活性化 T 細胞によって標的腫瘍細胞の直接死滅 (細胞溶解) を促進する。

【0165】

20

抗 BCMA 特異的結合ドメインおよび抗 CD3 特異的結合ドメインを含む二重特異性抗体を、標準的な方法を使用して構築し、抗 BCMA 抗原結合ドメインおよび抗 CD3 抗原結合ドメインが、各々、共通の LCVR と対をなす異なる別個の HCVR を含む。例示された二重特異性抗体では、これらの分子は、抗 CD3 抗体からの重鎖、抗 BCMA 抗体からの重鎖、および抗 CD3 抗体からの共通軽鎖を利用して構築された (10082)。他の例では、二重特異性抗体は、抗 CD3 抗体からの重鎖、抗 BCMA 抗体からの重鎖、および抗 CD3 抗体からの軽鎖、または乱雑であって、あるいは様々な重鎖アームと効果的に対をなすことが知られている抗体軽鎖を利用して構築され得る。

【表 5】

表 5：抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体の構成要素の要約

30

二重特異性抗体識別子	抗 BCMA	抗 CD3	共通軽鎖可変領域
	抗原結合ドメイン	抗原結合ドメイン	
	重鎖可変領域	重鎖可変領域	
bsAb25441D9 (REGN5458 とともに称される)	mAb21581	mAb7221G	mAb7221G
bsAb25442D (REGN5459 とともに称される)	mAb21581	mAb7221G20	mAb7221G20

40

【0166】

表 6 は、本明細書に例示される二重特異性抗 BCMA × 抗 CD3 抗体のアミノ酸配列識別子を示す。

【表 6】

表 6：抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体のアミノ酸配列

二重特異性 抗体識別子	抗 BCMA の第 1 の抗原結合 ドメイン				抗 CD3 の第 2 の抗原結合ド メイン				共通軽鎖可変領域			
	HC VR	HCD R1	HCD R2	HCD R3	HC VR	HCD R1	HCD R2	HCD R3	LC VR	LCDR 1	LCD R2	LCD R3
bsAb25441D (REGN5458)	66	68	70	72	90	92	94	96	82	84	86	88
bsAb25442D (REGN5459)	66	68	70	72	98	100	102	104	82	84	86	88

10

【 0 1 6 7 】

実施例 4：抗 BCMA 抗体および抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体の表面プラズモン共鳴由来の結合親和性および動態定数

精製された抗 BCMA mAb および抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性 mAb に結合する hBCMA . mmh (配列番号 106) の平衡解離定数 (K_D 値) は、Biacore 4000 装置を使用するリアルタイム表面プラズモン共鳴バイオセンサーを使用して決定された。CM5 Biacore センサー表面を、モノクローナルマウス抗ヒト Fc 抗体 (GE、#BR-1008-39) とのアミンカップリングによって誘導体化して、精製された抗 BCMA mAb および抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性 mAb を捕捉した。すべての Biacore 結合試験は、0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05 体積 / 体積 % 界面活性剤 P20 (HBS-ET ランニング緩衝液) で構成される緩衝液中で実施した。単量体親和性については、C 末端 myc - myc - ヘキサヒスチジンタグ (ヒト BCMA - MMH; 配列番号 106) で発現されたヒト BCMA または C 末端 myc - myc - ヘキサヒスチジンタグ (サル BCMA - MMH; 配列番号 110) で発現されたサル BCMA の異なる濃度の細胞外ドメインを、HBS-ET ランニング緩衝液 (90 ~ 1.11 nM、3 倍希釈) 中で調製した。二量体親和性については、C 末端 mFc タグ (ヒト BCMA - MFC; 配列番号 108) で発現されたヒト BCMA または C 末端 mFc タグ (サル BCMA - MFC; 配列番号 112) で発現されたサル BCMA の異なる濃度の細胞外ドメインを、HBS-ET ランニング緩衝液 (30 ~ 0.37 nM、3 倍希釈) 中で調製したか、または C 末端 mFc タグ (マウス BCMA - MFC; 配列番号 114) で発現された 30 nM の BCMA を、調製した。次いで、抗原サンプルを、30 μ L / 分の流量で表面に捕捉された抗 BCMA および抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性 mAb にわたって注入した。HBS-ET ランニング緩衝液中での解離を 10 分間モニタリングしながら、抗体 - 試薬結合物を 5 分間モニタリングした。すべての結合速度論実験を、25 で実施した。Scrubber 2.0c 曲線適合ソフトウェアを使用してリアルタイムセンサーグラムを 1 : 1 結合モデルへあてはめることによって、動的結合 (k_a) 速度定数および動的解離 (k_d) 速度定数を決定した。結合解離平衡定数 (K_D) および解離半減期 ($t_{1/2}$) を、動的な速度定数から以下のように計算した：

20

30

40

【数 1】

$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}、おおよび t_{1/2} (分) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

【 0 1 6 8 】

50

表 7 に示すように、25 で、本発明のすべての抗 B C M A 抗体は、1.06 n M ~ 3.56 n M の範囲の K_D 値を有するヒト B C M A - M M H に結合した。表 8 に示すように、25 で、本発明のすべての抗 B C M A 抗体は、22.3 p M ~ 103 p M の範囲の K_D 値を有するヒト B C M A - M F C に結合した。表 9 に示すように、25 で、本発明の 2 つの抗 B C M A 抗体は、38.8 n M ~ 49.92 n M の範囲の K_D 値を有するサル B C M A - M M H に結合した。表 10 に示すように、25 で、本発明の 4 つの抗 B C M A 抗体は、148 p M ~ 14.7 n M の範囲の K_D 値を有するサル B C M A - M F C に結合した。表 11 に示すように、25 で、本発明の 4 つの抗 B C M A 抗体は、677 p M ~ 18.8 n M の範囲の K_D 値を有するマウス B C M A - M F C に結合した。

【表 7】

表 7 : 25°C でヒト B C M A - M M H に結合する抗 B C M A モノクローナル抗体の結合動力学パラメータ

REGN #	Ab PID #	mAb 捕捉 (RU)	90nM hBCMA.mmh 結合 (RU)	ka(1/ミリ秒)	kd(1/秒)	KD(M)	t1/2(分)
REGN5458	bsAb25441D	437.5±1.1	19.9	8.27E+05	8.74E-04	1.06E-09	13.2
REGN5459	bsAb25442D	384.8±1.4	17.0	7.30E+05	1.01E-03	1.38E-09	11.5
	mAb16711	275.0±2.8	22.2	2.01E+06	3.47E-03	1.73E-09	3.3
	mAb16716	310.3±2.2	26.4	8.41E+05	2.99E-03	3.56E-09	3.9
REGN4514	mAb16732	284.1±0.9	25.3	1.06E+06	2.85E-03	2.69E-09	4.1
REGN4515	mAb16747	332.5±0.9	31.4	8.69E+05	2.47E-03	2.84E-09	4.7

10

20

【表 8】

表 8 : 25°C でヒト B C M A - M F C に結合する抗 B C M A モノクローナル抗体の結合動力学パラメータ

REGN #	Ab PID #	mAb 捕捉 (RU)	30nM hBCMA.mFc 結合 (RU)	ka(1/ミリ秒)	kd(1/秒)	KD(M)	t1/2(分)
REGN5458	bsAb25441D	437.9±0.1	106.8	4.48E+05	≤ 1E-5	2.23E-11	≤ 1155
REGN5459	bsAb25442D	385.2±0.1	96.8	4.49E+05	≤ 1E-5	2.23E-11	≤ 1155
	mAb16711	268.9±1.4	113.5	1.85E+06	1.90E-04	1.03E-10	60.8
	mAb16716	303.4±1.2	120.3	8.62E+05	8.35E-05	9.68E-11	138.4
REGN4514	mAb16732	282.3±1.0	124.1	1.07E+06	4.53E-05	4.22E-11	255.2
REGN4515	mAb16747	327.3±1.5	146.0	1.41E+06	8.95E-05	6.33E-11	129.0

30

【表 9】

表 9 : 25°CでサルBCMA-MMHに結合する抗BCMAモノクローナル抗体の結合動力学パラメータ

REGN #	Ab PID #	mAb 捕捉 (RU)	90nM mfBCMA.mmh 結合(RU)	ka(1/ミリ秒)	kd(1/秒)	KD(M)	t1/2(分)
REGN5458	bsAb25441D	438.2±0.9	14.8	1.82E+05	9.09E-03	4.99E-08	1.3
REGN5459	bsAb25442D	384.6±1.4	12.7	2.23E+05	8.64E-03	3.88E-08	1.3
	mAb16711	263.5±1.7	-0.5	NB	NB	NB	NB
	mAb16716	301.8±0.5	0.8	NB	NB	NB	NB
REGN4514	mAb16732	279.1±0.8	1.1	NB	NB	NB	NB
REGN4515	mAb16747	326.2±0.5	1.9	NB	NB	NB	NB

10

【表 10】

表 10 : 25°CでサルBCMA-MFCに結合する抗BCMAモノクローナル抗体の結合動力学パラメータ

REGN #	Ab PID #	mAb 捕捉 (RU)	30nM の mfBCMA.mFc 結合(RU)	ka(1/ミリ秒)	kd(1/秒)	KD(M)	t1/2(分)
REGN5458	bsAb25441D	437.9±1.1	107.7	5.28E+05	8.80E-05	1.67E-10	131.2
REGN5459	bsAb25442D	386.2±0.22	97.0	4.82E+05	7.15E-05	1.48E-10	161.6
	mAb16711	259.4±1.4	0.9	NB	NB	NB	NB
	mAb16716	300.8±0.6	3.2	IC	IC	IC	IC
REGN4514	mAb16732	276.9±1.1	40.3	4.92E+05	7.24E-03	1.47E-08	1.6
REGN4515	mAb16747	324.4±0.7	101.3	2.13E+06	7.16E-03	3.37E-09	1.6

20

30

【表 11】

表 11 : 25°CでマウスBCMA-MFCに結合する抗BCMAモノクローナル抗体の結合動力学パラメータ

REGN #	Ab PID #	mAb 捕捉 (RU)	30nM の mBCMA.mFc 結合(RU)	ka(1/ミリ秒)	kd(1/秒)	KD(M)	t1/2(分)
REGN5458	bsAb25441D	438.8	2.7	NB	NB	NB	NB
REGN5459	bsAb25442D	383.9	2.4	NB	NB	NB	NB
	mAb16711	257.0	90.0	1.07E+06	1.10E-03	1.02E-09	10.5
	mAb16716	300.0	33.4	2.05E+05	3.85E-03	1.88E-08	3.0
REGN4514	mAb16732	276.1	109.6	3.97E+05	2.69E-04	6.77E-10	43.0
REGN4515	mAb16747	323.1	107.6	9.47E+05	4.18E-03	4.42E-09	2.8

40

【0169】

実施例 5 : ヒトおよびカニクイザルCD3発現細胞への抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体のFACS結合

50

フローサイトメトリー分析を利用して、ヒトおよびカニクイザルCD3 (Jurkat細胞、mfCD3操作Jurkat細胞、一次ヒトCD8+およびカニクイザルCD8+T細胞)へのBCMA×CD3二重特異性抗体の結合を決定した。簡言すれば、1e05細胞/ウェルを、BCMA×CD3および対照抗体の連続希釈法を伴うブロック(PBS+1%濾過FBS+5%マウス血清)を用いたFACS洗浄の存在下で氷上で30分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を冷FACS洗浄(PBS+1%濾過FBS)で2回洗浄し、氷上でさらに30分間、Alexa647でコンジュゲートした抗ヒト二次抗体でインキュベートすることによって、結合抗体を検出した。抗体なしまたは二次抗体のみを含有するウェルを対照として使用した。サルおよびヒトT細胞を検出するために、CD4、CD8、およびCD16に対するヒトおよびカニクイザルの交差反応性抗体のカクテルを抗ヒト二次抗体に添加した。インキュベーション後、細胞を洗浄し、1%濾過FBSを含有する200μLの冷PBSに再懸濁し、BD FACS Canto IIでフローサイトメトリーによって分析した。細胞を、FSC-HによってFSC-Aによってゲーティングし、シングルイベントを選択し、続いて側面散乱および前方散乱がライブイベントを選択した。サルT細胞については、CD8+/CD16-細胞で追加のゲーティングを実施した。

【0170】

FACS結合のEC50値は、Prismソフトウェアの4パラメータ非線形回帰分析を使用して計算した。

【0171】

Jurkat細胞は、T細胞リンパ芽球性細胞株を発現するヒトCD3である。REGN5458は、中央値のEC50が、それぞれ、 1.50×10^{-8} Mおよび 3.20×10^{-8} Mを有するJurkat細胞および一次ヒトCD8+T細胞上のヒトCD3に結合した。REGN5459の結合は、ヒトCD3で弱く、中央値EC50が、Jurkat細胞では 5.58×10^{-7} Mであり、一次ヒトCD8+T細胞では 4.71×10^{-6} であった。CRISPR/Cas9技術を利用して、Jurkat細胞株は、ヒトバージョンの代わりにカニクイザルCD3 およびCD3 鎖を発現するように操作された。mfCD3を操作したJurkat細胞株へのREGN5458の結合の中央値EC50は、 1.51×10^{-8} Mであり、一次カニクイザルCD8+T細胞へのその結合の中央値EC50は、 4.66×10^{-8} Mであった。REGN5459は、mfCD3発現細胞には結合しなかった。

【0172】

mAb15260と呼ばれる陰性アイソタイプ対照抗体のいかなる細胞株においても結合は観察されなかった。

【表12】

表12：CD3発現細胞への結合：中央値EC50

REGN	Jurkat-hCD3		Jurkat-mfCD3		ヒトCD8+T細胞		Mf(Cyno)CD8+T細胞	
	EC50[M]	数	EC50[M]	数	EC50[M]	数	EC50[M]	数
REGN5458	1.50E-08	5	1.51E-08	2	3.20E-08	1	4.66E-08	1
REGN5459	5.58E-07	5	結合なし	2	4.71E-06	1	結合なし	1

【0173】

実施例6：細胞表面抗原結合能を評価するためのFACS結合アッセイ

抗BCMA×CD3抗体、mAb25442Dが、BCMA陽性多発性骨髄腫(NCI-H929、MM.1S、OPM-2、およびRPMI-8226)、BCMA陽性リンパ腫(RajiおよびDaudi)、ならびにBCMA陰性(HEK293)細胞の表面に結合する能力を、フローサイトメトリーで決定した。細胞解離緩衝液(Millipore、カタログ番号S-004-C)を使用してフラスコから細胞を回収し、染色緩衝液

(PBS、カルシウムおよびマグネシウムを含まない(Irving 9240) + 2% FBS(ATCC 30-2020)中に96ウェルV字底プレートのウェルあたり500,000個の細胞の密度で播種した。細胞を、4℃で30分間、Alexa647コンジュゲート抗BCMA×CD3抗体(mAb25442D-A647)または無関連腫瘍標的アーム(アイソタイプ-A647)と対となる同じCD3結合アームを有するAlexa647コンジュゲートアイソタイプ対照の2倍段階希釈で、4℃で30分間染色した。細胞を、染色緩衝液で2回洗浄し、製造業者の取扱説明書に従ってLIVE/DEAD(商標)Fixable Green死細胞染色キット(Invitrogen, L34970)で標識して、生細胞と死細胞を区別した。次いで、細胞を洗浄し、PBSで希釈したBD Cytotfix(BD、カタログ番号554655)の50%溶液を使用して、4℃で25分間固定した。サンプルは、Accuri C6フローサイトメーター(BD Biosciences)で実行され、Flowjo 10.2(Tree Star)で分析された。生細胞および単一細胞についてゲーティングした後、平均蛍光強度(MFI)を決定し、MFI値は、EC₅₀を計算するために10ポイントの応答曲線上に4パラメータロジスティック方程式を使用して、Graphpad Prismにプロットした。各用量反応曲線のゼロ条件も、2倍連続希釈の継続として分析に含まれ、最低用量として表される。信号対雑音比(S/N)は、mAb25442D-A647 MFIとIsotype-A647 MFIの比率をとることによって決定される。(表13)。mAb25442D-A647のS/Nは、2~470の範囲であり、EC₅₀値は、27~83nMの範囲であった。HEK293細胞では、検出可能な結合は観察されなかった。

10

20

【表13】

表13：細胞への結合

細胞株	mAb25442D-A647 S/N	mAb25442D-A647 EC ₅₀ (nM)
NCI-H929	470	79
MM.1S	43	83
OPM-2	19	57
RPMI-8226	9	27
Daudi	3	ND
Raji	2	ND
HEK293	1	ND

30

ND=非シグモイド曲線のため決定されない

【0174】

実施例7：BCMA発現細胞の存在下での二重特異性抗BCMA×抗CD3抗体を介したT細胞活性化

抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体の活性は、BCMA表面発現のレベルが異なるいくつかの細胞株を利用したJurkat/NFATLucレポーターバイオアッセイで評価された。Jurkat細胞は、NFAT-ルシフェラーゼレポーター(Jurkat/NFATLuc.3C7)を発現するように設計され、50,000個のJurkatレポーター細胞が、50ulのアッセイ培地(10%FBSおよび1%P/S/Gを含むRPMI培地)中の、50,000個のBCMA陽性(Daudi、MM1-S、NCI-H929、OPM-2、RPMI-8226、MOLP-8、もしくはRaji)またはThermo Nuncデルタ96ウェル白色マイクロウェルプレート(Thermo Scientific、カタログ番号136102)中のBCMA陰性(HEK293)細胞と混合した。BCMA×CD3二重特異性抗体(mAb25441DもしくはmAb25442D)または二価抗BCMA抗体(mAb21581)の3倍連続希釈液

40

50

を、50 uLのアッセイ緩衝液中に直ちに添加した。プレートを穏やかに攪拌し、37、5% CO₂ インキュベーター中で4~6時間インキュベートした。NFAT-ルシフェラーゼ活性は、Promega One-Glo (カタログ番号E6130) およびPerkin Elmer Envisionプレートリーダーを使用して決定した。RLUは、EC₅₀ 値を計算するために、12ポイントの応答曲線上で4パラメータロジスティック方程式を使用して、GraphPad Prismにプロットした。各用量応答曲線の抗体を用いない治療条件も、3倍連続希釈の連続として分析に含まれ、最低用量として表される。信号対雑音比(S:N)は、曲線上の最高のRLUと最低のRLUの比率をとることによって決定される。

【0175】

mAb25441Dは、EC₅₀が0.61 nM~2.1 nMの範囲で、S:Nが8~123の範囲のBCMA発現細胞の存在下でJurkat/NFATLuc細胞を活性化した。mAb25442Dは、EC₅₀が2.6 nM~11 nMの範囲で、S:Nが7~120の範囲のBCMA発現細胞の存在下でJurkat/NFATLuc細胞を活性化した。親和性の高いCD3結合アームを備えたBCMA×CD3 bispecific mAb25441Dは、親和性の低いCD3結合アームを備えたmAb25442Dよりも一貫して強力であり、一方、S:Nは、2つの二重特異性で類似していた。どちらの抗体も、HEK293細胞の存在下でJurkat/NFATLuc細胞を活性化せず、対照の二重特異性抗体は、試験した細胞株のいずれにおいてもJurkatレポーター活性を有意に増加させなかった。結果を、以下の表14Aおよび14Bに示す。

【表14】

表14A：T細胞の活性化

抗体	Daudi		MM1-S		NCI-H929		OPM-2	
	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N
bsAb25441D	2.1E-9	43	1.2E-9	165	6.8E-10	39	6.6E-10	8
bsAb25442D	7.9E-9	25	4.4E-9	120	2.7E-9	32	2.6E-9	7
mAb21581	ND	1	ND	1	ND	1	ND	1

【表15】

表14B：T細胞の活性化

抗体	RPMI-8226		MOLP-8		Raji		HEK293	
	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N	EC50	S:N
bsAb25441D	6.1E-10	55	1.4E-9	32	1.6E-9	123	ND	1
bsAb25442D	2.6E-9	42	1.1E-8	31	7.4E-9	78	ND	1
mAb21581	ND	1	ND	1	ND	1	ND	1

【0176】

実施例8：抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体の存在下でのBCMA発現多発性骨髄腫細胞のT細胞媒介性死滅を評価するためのFACSベースの細胞毒性アッセイ。

市販の抗ヒトBCMA抗体(クローン19F2)の抗体結合能(ABC)は、Quantum Simply Cellular抗ヒトIgGキットを使用し、製造業者の取扱説明書(Bangs Laboratories)に従って、多発性骨髄腫細胞株のパネル上で決定した。

【0177】

簡言すれば、多発性骨髄腫(MM)細胞株(H929、MM1S、U266、MOLP8、およびRPMI8226)ならびにQuantum Simply Cellularビーズを、APCコンジュゲートした抗hBCMA-19F2抗体の滴定によって4で30分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞およびビーズを3回洗浄し

10

20

30

40

50

、1%濾過FBSを含有する200 μ Lの冷PBSに再懸濁し、フローサイトメトリーによって分析した。QuickCal（登録商標）テンプレート（Bangs Labs）を使用して、各細胞株の抗BCMA 19F2のABCの飽和レベルを、飽和時のビーズ集団のチャンネル強度によって生成された標準曲線から補間した。

【0178】

ヒトまたはカニクイザルのT細胞を休止させることによるBCMA発現標的細胞の死滅は、フローサイトメトリーによって決定された。簡言すれば、ヒトまたはカニクイザルの末梢血単核細胞（PBMC）を、 1×10^6 細胞/mLで補充RPMI（ヒト）またはX-Vivo（カニクイザル）培地に播種し、付着マクロファージ、樹状細胞、およびいくつかの単球を枯渇させることによってリンパ球を濃縮するために37 $^{\circ}$ Cで一晩インキュベートした。翌日、BCMA発現標的細胞を、1 μ MのViolet Cell Traceで標識し、付着細胞枯渇PBMC（エフェクター/標的細胞4:1比）およびBCMA \times CD3二重特異性の連続希釈液または対照抗体と37 $^{\circ}$ Cで共培養した。48~72時間後、細胞を、細胞培養プレートから取り出し、カクテル表現型抗体および生/死細胞生存率色素で染色し、FACSにより分析した。ウェル中に存在する生標的細胞の数を定量化するために、20 μ LのCountBright絶対カウントビーズを、取得直前にウェルに添加した。死滅の特異性を評価するために、細胞を、バイオレット細胞追跡標識集団にゲーティングした。標的細胞の生存率は、次のように計算された：標的生存率 = $(R_1 / R_2) \times 100$ （式中、 R_1 = エフェクター細胞および抗体の存在下での生標的細胞の絶対数、 R_2 = 生標的細胞のみの数（エフェクター細胞または試験抗体なしで培養））。

10

20

【0179】

ヒトCD8 $^+$ T細胞を、CD45 $^+$ /CD14 $^-$ /CD4 $^-$ /CD8 $^+$ としてゲーティングした。カニクイザルCD8 $^+$ T細胞を、CD45 $^+$ /CD20 $^-$ /CD14 $^-$ /CD4 $^-$ /CD8 $^+$ としてゲーティングし、T細胞活性化を、CD8 $^+$ T細胞全体のうちのCD25 $^+$ またはCD69 $^+$ T細胞の割合として報告した。

【0180】

標的細胞の生存およびT細胞活性化のEC50値は、Prismソフトウェアの4パラメータ非線形回帰分析を使用して計算した。

【0181】

抗BCMA \times 抗CD3二重特異性抗体を、休止状態のヒトおよびカニクイザルT細胞を活性化して、表面BCMAレベルが異なるBCMA発現細胞のパネルを死滅させる能力について試験した。エフェクター細胞としてヒトT細胞を休止して、REGN5458は、5つの異なるBCMA細胞株を媒介し、EC50値は、 7.07×10^{-10} M ~ 3.45×10^{-11} Mの範囲であった。REGN5459は、同じ5つの細胞株の死滅を示し、EC50値が 1.66×10^{-9} M ~ 1.06×10^{-10} Mの範囲であった。CD8 $^+$ T細胞におけるCD25の上方調節によって測定されるように、T細胞活性化のためにEC50は、死滅するEC50と同様であった。中程度のT細胞活性化は、1 μ M CD3アイソタイプ対照mAb17664Dの存在下で観察されたが、U266細胞株でのみ観察された。試験したアイソタイプ対照では、細胞毒性は観察されなかった。

30

40

【0182】

カニクイザルT細胞によるBCMA \times CD3を媒介した死滅は、MM細胞株H929でのみ試験された。REGN5458およびREGN5459によって媒介された細胞毒性のEC50は、それぞれ、 2.34×10^{-11} および 6.92×10^{-11} であった。ヒトまたはカニクイザルエフェクター細胞を用いたアイソタイプ対照抗体mAb15260では、細胞毒性またはT細胞活性化は観察されなかった。結果を、以下の表15A、15B、および16に示す。

【表 1 6】

表 1 5 A : 中央値 EC₅₀、ヒトエフェクター細胞

REGN#	H929(40000 ABC)			MMIS(18000 ABC)			U266(13000 ABC)		
	数	生存率(%)	T 活性化(%)	数	生存率(%)	T 活性化(%)	数	生存率(%)	T 活性化(%)
REGN5458	3	1.03E-10	2.11E-10	2	6.46E-11	7.06E-11	1	3.28E-10	1.07E-10
REGN5459	4	3.01E-10	3.00E-10	2	2.88E-10	4.58E-10	1	1.66E-09	4.69E-10

【表 1 7】

表 1 5 B : 中央値 EC₅₀、ヒトエフェクター細胞

REGN#	RPMI8226(10000 ABC)			Molp8(2000 ABC)		
	数	生存率(%)	T 活性化(%)	数	生存率(%)	T 活性化(%)
REGN5458	1	3.45E-11	6.49E-11	2	7.07E-10	1.10E-9
REGN5459	1	1.06E-10	7.50E-10	3	1.36E-09	6.47E-9

【表 1 8】

表 1 6 : 中央値 EC₅₀、カニクイザルエフェクター細胞

REGN#	H929		
	数	生存率(%)	T 活性化(%)
REGN5458	4	2.34E-11	6.83E-11
REGN5459	4	6.92E-11	1.58E-10

【 0 1 8 3 】

実施例 9 : 抗 B C M A × 抗 C D 3 二重特異性抗体の存在下での一次多発性骨髄腫芽球細胞の自己 T 細胞媒介性死滅に対する F A C S 細胞毒性アッセイ

フローサイトメトリーによって多発性骨髄腫細胞の特異的の死滅をモニタリングするために、多発性骨髄腫患者からの骨髄単核細胞 (B M M C) をヒト間質細胞 (H S 5) に播種し、37 °C で一晩休ませた。別に、適合した患者の末梢血単核細胞 (P B M C) を、解凍し、付着細胞を枯渇させることによってリンパ球を濃縮するために、 1×10^6 細胞 / mL で補充 R P M I 培地中で 37 °C で一晩培養した。翌日、B M M C は、間質細胞 (H S 5) 上の付着細胞枯渇タイプ P B M C および B C M A × C D 3 二重特異性または 1 アーム C D 3 アイソタイプ対照 (開始濃度 66 . 7 n M) の連続 10 倍希釈液を用いて 37 °C で共培養した。3、4、または 7 日目に、細胞を細胞培養プレートから取り出し、F A C S により分析した。死滅の特異性を評価するために、多発性骨髄腫細胞を、単一、生、C D 9 0 陰性 (間質細胞を除く)、C D 2 陰性、C D 5 6 陽性としてゲーティングした。C D 4 5 は、M M 4 5 5 を除くほとんどのサンプルで多発性骨髄腫細胞において低かった。調整された生存率の計算のために、生標的細胞の割合を、以下のように報告した : 調整された生存率 = (R 1 / R 2) * 100 (式中、R 1 = 抗体の存在下での生標的細胞の割合 (%)、および R 2 = 試験抗体の不在下での生標的細胞の割合 (%))。

【 0 1 8 4 】

T 細胞を、C D 2 陽性、C D 5 6 陰性、および C D 4 陽性または C D 8 陽性としてゲーティングした。T 細胞の活性化を、C D 4 または C D 8 T 細胞全体のうちの C D 2 5 + C D 4 または C D 8 T 細胞の割合として報告した。

【 0 1 8 5 】

10

20

30

40

50

BCMA × CD3 二重特異性抗体を、自家ドナー PBM C による一次多発性骨髄腫芽球の死滅を再指向する能力について試験した。一次 MM 芽球の最大の BCMA × CD3 媒介性細胞毒性は、52 ~ 96 % の範囲であり、REGN5458 については、EC50 が $9.89 \times 10^{-11} \text{ M} \sim 3.67 \times 10^{-9} \text{ M}$ の範囲であり、REGN5459 については、 $4.96 \times 10^{-10} \text{ M} \sim 7.94 \times 10^{-8} \text{ M}$ の範囲であった。T細胞活性化は、CD8 + T細胞上の CD25 の上方調節を評価することによって測定された。T細胞活性化の EC50 は、 $3.23 \times 10^{-9} \sim 1.69 \times 10^{-10}$ であった。中程度の細胞毒性および T細胞活性化が、1アーム CD3 (標的結合なし) アイソタイプ対照で観察された。結果を、以下の表 17A および 17B に示す。

【表 19】

表 17A : MM溶解 (%)

サンプル ID	病期	E:T 比	治療期間	66nM の REGN5458 での MM 溶解 (%)	66nM の REGN5459 での MM 溶解 (%)	66nM の アイソタイプ での MM 溶解 (%)
MM2	新たに診断された	1.4	7 日間	88	85	27.5
MM369	新たに診断された	0.3	3 日間	96	94	0
MM453	新たに診断された	2.4	3 日間	82	80	40
MM455	進行、治療された	0.4	3 日間	63	52	24

【表 20】

表 17B : MM溶解 EC50 および T細胞活性化

サンプル ID	病期	E:T 比	治療期間	MM 溶解の EC50 REGN5458	MM 溶解の EC50 REGN5459	CD25 上方調節の EC50 REGN5456	CD25 上方調節の EC50 REGN5456
MM2	新たに診断された	1.4	7 日間	7.47E-10	7.24E-09	まだ行われず	まだ行われず
MM369	新たに診断された	0.3	3 日間	1.07E-10	4.96E-10	1.69E-10	2.03E-10
MM453	新たに診断された	2.4	3 日間	9.89E-11	1.19E-09	1.71E-10	3.23E-9
MM455	進行、治療された	0.4	3 日間	3.67E-09	7.94E-08	2.06E-10	1.16E-9

【0186】

実施例 10 : 抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体は、異種腫瘍モデルにおいてインピボで BCMA 発現腫瘍 (NCI-H929) の成長を防止する

BCMA × CD3 二重特異性抗体 (Ab) のインピボでの有効性を決定するために、異種腫瘍研究を実施した。免疫不全 NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1W}

10

20

30

40

50

j¹ / SzJ (NSG) マウスに、 1.0×10^6 個の BCMA 発現 NCI - H929 多発性骨髄腫細胞と正常ドナーから単離された 0.5×10^6 個のヒト末梢血単核細胞 (PBM C) との混合物を皮下に移植した。マウス (群あたり n = 7) に、PBS ビヒクル対照、無関連抗 Fe1D1 二価アイソタイプ対照 Ab (REGN2759)、CD3 結合対照二重特異性 Ab (mAb17664D)、BCMA x CD3 (G; REGN5458) 二重特異性 Ab、または BCMA x CD3 (G20; REGN5459) 二重特異性抗体を 4 mg / kg の用量で直ちに投与した。マウスに、Ab を週に 2 回、合計 3 週間投与し、腫瘍の成長を 40 日間にわたって評価した。BCMA⁺ 腫瘍は、ビヒクル、アイソタイプ対照、および CD3 結合対照治療マウスで同様に成長したが、試験された BCMA x CD3 Ab は両方とも、インビボでの腫瘍の成長を防止した。

10

【0187】

同系腫瘍の移植および測定：NSG マウスに、 1.0×10^6 個の BCMA 発現 NCI - H929 多発性骨髄腫細胞と正常ドナーに由来する 0.5×10^6 個の PBM C との混合物を皮下に移植した。マウス (群あたり n = 7) に、PBS ビヒクル対照、無関連抗 Fe1D1 二価アイソタイプ対照 Ab (REGN2759)、CD3 結合対照二重特異性 Ab (mAb17664D)、BCMA x CD3 (G; REGN5458) 二重特異性 Ab、または BCMA x CD3 (G20; REGN5459) 二重特異性抗体を 4 mg / kg の用量で直ちに投与した。マウスに、Ab を週に 2 回、合計 3 週間投与した。腫瘍成長を、実験の期間中、キャリパーを用いて週 2 回測定した。腫瘍移植後、40 日目にマウスを殺処分した。

20

【0188】

同系腫瘍成長および阻害の計算：外部キャリパーで腫瘍体積を決定するために、最大長径 (長さ mm) および最大横径 (幅 mm) を決定した。キャリパー測定値に基づいて、腫瘍体積を、式：体積 (mm³) = (長さ x 幅²) / 2 により計算した。

【0189】

BCMA x CD3 二重特異性 Ab は、異種腫瘍モデルにおいてインビボで BCMA⁺ NCI - H929 腫瘍の成長を防止した。結果を、以下の表 18 に示す。

【表 21 - 1】

表 18：様々な時点での平均腫瘍サイズ

30

抗体(4mg/kg)	4日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	67.1±5.9
REGN2759 (アイソタイプ対照)	62.6±3.7
mAb17664D (CD3 結合対照)	76.1±7.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	39.5±9.1
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	26.5±6.2

40

【表 2 1 - 2】

抗体(4mg/kg)	7日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	123.0±25.2
REGN2759 (アイソタイプ対照)	109.7±20.3
mAb17664D (CD3 結合対照)	182.0±19.4
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0±0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0±0

10

【表 2 1 - 3】

抗体(4mg/kg)	11日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	361.5±35.7
REGN2759 (アイソタイプ対照)	415.3±11.4
mAb17664D (CD3 結合対照)	449.6±46.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0±0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0±0

20

【表 2 1 - 4】

抗体(4mg/kg)	14日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	581.4±57.9
REGN2759 (アイソタイプ対照)	734.3±41.8
mAb17664D (CD3 結合対照)	741.2±56.0
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0±0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0±0

30

【表 2 1 - 5】

抗体(4mg/kg)	18日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	1033.4±143.7
REGN2759 (アイソタイプ対照)	1586.1±101.4
mAb17664D (CD3 結合対照)	1511.4±80.7
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0±0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0±0

40

【表 2 1 - 6】

抗体(4mg/kg)	21 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	1730.9±244.8
REGN2759 (アイソタイプ対照)	2554.7±148.8
mAb17664D (CD3 結合対照)	2474.0±132.6
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0±0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0±0

10

【表 2 1 - 7】

抗体(4MG/KG)	28 日目の平均腫瘍サイズ (MM3)±sem
pbs (ビヒクル対照)	殺処分—測定されず
regn2759 (アイソタイプ対照)	殺処分—測定されず
MaB17664d (cd3 結合対照)	殺処分—測定されず
regn5458 (bcmaXcd3-g)	0±0
regn5459 (bcmaXcd3-g20)	0±0

20

【表 2 1 - 8】

抗体(4mg/kg)	40 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分—測定されず
REGN2759 (アイソタイプ対照)	殺処分—測定されず
mAb17664D (CD3 結合対照)	殺処分—測定されず
REGN5458 (BCMAxCD3-G)	0±0
REGN5459 (BCMAxCD3-G20)	0±0

30

【 0 1 9 0 】

実施例 1 1 : 抗 B C M A x 抗 C D 3 二重特異性抗体は、異種のインビボ腫瘍モデルにおいて用量依存的様式で B C M A 発現腫瘍 (N C I - H 9 2 9) の成長を防止する

抗 B C M A x 抗 C D 3 二重特異性抗体 (A b) のインビボでの有効性を決定するために、異種腫瘍研究を実施した。免疫不全 N O D . C g - P r k d c ^s c i d I l 2 r g ^t m ¹ w j ¹ / S z J (N S G) マウスに、 1.0×10^6 個の B C M A 発現 N C I - H 9 2 9 ヒト多発性骨髄腫細胞と正常な健常ドナーから単離された 0.5×10^6 個のヒト末梢血単核細胞 (P B M C) との混合物を皮下に移植した。次いで、マウス (群あたり n = 7) に、P B S ビヒクル対照、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G ; m A b 1 7 6 6 4 D) を 4 m g / k g の用量で、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G 2 0 ; R E G N 4 4 6 0) を 4 m g / k g の用量で、B C M A x C D 3 (G ; R E G N 5 4 5 8) 二重特異性 A b を 4 m g / k g 、 0 . 4 m g / k g 、もしくは 0 . 0 4 m g / k g のいずれかの用量で、または B C M A x C D 3 (G 2 0 ; R E G N 5 4 5 9) 二重特異性 A b を 4 m g / k g 、 0 . 4 m g / k g 、もしくは 0 . 0 4 m g / k g のいずれかの用量で直ちに投与した。マウス

40

50

に、これらの A b を週に 2 回、合計 7 回の用量を投与し、腫瘍の成長を 60 日間にわたって評価した。B C M A + N C I - H 9 2 9 腫瘍は、ビヒクルおよび C D 3 結合対照で治療されたマウスで同様に成長したが、試験された抗 B C M A × 抗 C D 3 A b は両方とも、インビボでの用量依存的様式で腫瘍の成長を防止した。

【 0 1 9 1 】

異種腫瘍の移植および測定：N S G マウスに、 10×10^6 個の B C M A 発現 N C I - H 9 2 9 多発性骨髄腫細胞と正常な健常ドナーに由来する 0.5×10^6 個の P B M C との混合物を皮下に移植した。マウス（群あたり $n = 7$ ）に、P B S ビヒクル対照、C D 3 結合対照二重特異性 A b（G；m A b 1 7 6 6 4 D）、C D 3 結合対照二重特異性 A b（G 2 0；R E G N 4 4 6 0）、B C M A × C D 3（G；R E G N 5 4 5 8）二重特異性 A b、または B C M A × C D 3（G 2 0；R E G N 5 4 5 9）二重特異性 A b を直ちに投与した。m A b 1 7 6 6 4 D および R E G N 4 4 6 0 を、4 m g / k g で投与したが、R E G N 5 4 5 8 および R E G N 5 4 5 9 は、4 m g / k g、0.4 m g / k g、または 0.04 m g / k g のいずれかで投与した。マウスに、A b を週に 2 回、合計 7 回の用量で投与した。腫瘍成長を、実験の期間中、キャリパーを用いて週 2 回測定した。

10

【 0 1 9 2 】

異種腫瘍成長および阻害の計算：外部キャリパーで腫瘍体積を決定するために、最大長径（長さ m m）および最大横径（幅 m m）を決定した。キャリパー測定値に基づいて、腫瘍体積を、式：体積（ mm^3 ）=（長さ × 幅²）/ 2 により計算した。

20

【 0 1 9 3 】

B C M A × C D 3 二重特異性 A b は、この異種のインビボ腫瘍モデルにおいて、用量依存的様式で B C M A + N C I - H 9 2 9 腫瘍の成長を防止した。結果を、以下の表 1 9 に示し、図 1 および 2 に示す。

【 表 2 2 - 1 】

表 1 9：様々な時点での平均腫瘍サイズ

抗体治療	4 日目の平均腫瘍サイズ (mm^3)±SEM
PBS（ビヒクル対照）	60.1±7.9
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	42.5±4.7
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	52.0±5.9
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	18.0±1.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	31.9±2.0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	32.0±2.9
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	21.8±3.4
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	19.6±4.4
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	33.0±4.4

30

40

【表 2 2 - 2】

抗体治療	7日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	138.2±25.1
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	108.6±17.8
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	132.4±21.1
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	1.3±1.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	11.3±3.0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	30.8±5.5
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	8.0±4.3
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	7.3±3.6
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	8.4±4.0

10

【表 2 2 - 3】

抗体治療	12日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	545.4±88.7
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	493.4±67.5
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	616.2±84.4
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1.6±1.6
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	71.5±22.4
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	1.7±1.7
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	0±0

20

30

【表 2 2 - 4】

抗体治療	15 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	921.4±147.5
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	874.8±86.6
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	1190.7±91.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	133.4±50.9
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	7.9±7.9

10

【表 2 2 - 5】

抗体治療	19 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	1785.3±282.2
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	1833.4±186.6
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	2336.5±188.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	413.7±162.7
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	23.1±23.1

20

30

【表 2 2 - 6】

抗体治療	22 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	2601.5±414.5
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	2878.5±257.6
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	3374.3±267.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	669.4±248.5
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	69.5±69.5

10

【表 2 2 - 7】

抗体治療	26 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	1167.0±431.7
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	156.7±156.7

20

30

【表 2 2 - 8】

抗体治療	29 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	1781.8±620.7
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	226.6±226.6

10

【表 2 2 - 9】

抗体治療	34 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

20

30

【表 2 2 - 1 0】

抗体治療	39 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【表 2 2 - 1 1】

抗体治療	42 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

20

30

【表 2 2 - 1 2】

抗体治療	46 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【表 2 2 - 1 3】

抗体治療	55 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

20

30

【表 2 2 - 1 4】

抗体治療	60 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【 0 1 9 4】

実施例 1 2: 抗 B C M A × 抗 C D 3 二重特異性抗体は、異種のインビボ腫瘍モデルにおいて用量依存的様式で確立された B C M A 発現腫瘍 (N C I - H 9 2 9) のサイズを縮小し、その成長を防止する

20

抗 B C M A × 抗 C D 3 二重特異性抗体 (A b) のインビボでの有効性を決定するために、異種腫瘍研究を実施した。免疫不全 N O D . C g - P r k d c ^s c ⁱ d I l 2 r g ^t m ¹ w j ¹ / S z J (N S G) マウスに、 1.0×10^6 個の B C M A 発現 N C I - H 9 2 9 ヒト多発性骨髄腫細胞と正常な健常ドナーから単離された 0.5×10^6 個のヒト末梢血単核細胞 (P B M C) との混合物を皮下に移植した。腫瘍は、サイズが約 70 mm^3 になるまで、5 日間成長および確立した。次いで、5 日目に、マウス (群あたり $n = 7 \sim 8$) に、P B S ビヒクル対照、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G ; m A b 1 7 6 6 4 D) を $4 \text{ mg} / \text{kg}$ の用量で、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G 2 0 ; R E G N 4 4 6 0) を $4 \text{ mg} / \text{kg}$ の用量で、B C M A × C D 3 (G ; R E G N 5 4 5 8) 二重特異性 A b を $4 \text{ mg} / \text{kg}$ 、 $0.4 \text{ mg} / \text{kg}$ 、もしくは $0.04 \text{ mg} / \text{kg}$ のいずれかの用量で、または B C M A × C D 3 (G 2 0 ; R E G N 5 4 5 9) 二重特異性 A b を $4 \text{ mg} / \text{kg}$ 、 $0.4 \text{ mg} / \text{kg}$ 、もしくは $0.04 \text{ mg} / \text{kg}$ のいずれかの用量で投与した。マウスに、これらの A b を週に 2 回、合計 7 回の用量を投与し、腫瘍の成長を 55 日間にわたって評価した。B C M A + N C I - H 9 2 9 腫瘍は、ビヒクルおよび C D 3 結合対照で治療されたマウスで同様に成長したが、試験された B C M A × C D 3 A b は両方とも、インビボでの用量依存的様式で確立した腫瘍を縮小し、腫瘍の成長を防止した。

30

【 0 1 9 5】

異種腫瘍の移植および測定: N S G マウスに、 1.0×10^6 個の B C M A 発現 N C I - H 9 2 9 多発性骨髄腫細胞と正常な健常ドナーに由来する 0.5×10^6 個の P B M C との混合物を皮下に移植した。腫瘍は、サイズが約 70 mm^3 になるまで、5 日間成長および確立した。次いで、5 日目に、マウス (群あたり $n = 7 \sim 8$) に、P B S ビヒクル対照、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G ; m A b 1 7 6 6 4 D)、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G 2 0 ; R E G N 4 4 6 0)、B C M A × C D 3 (G ; R E G N 5 4 5 8) 二重特異性 A b、または B C M A × C D 3 (G 2 0 ; R E G N 5 4 5 9) 二重特異性 A b を直ちに投与した。m A b 1 7 6 6 4 D および R E G N 4 4 6 0 を、 $4 \text{ mg} / \text{kg}$ で投与したが、R E G N 5 4 5 8 および R E G N 5 4 5 9 は、 $4 \text{ mg} / \text{kg}$ 、 $0.4 \text{ mg} / \text{kg}$ 、または $0.04 \text{ mg} / \text{kg}$ のいずれかで投与した。マウスに、A b を週に 2 回、合計 7 回の用量で投与した。腫瘍成長を、実験の期間中、キャリパーを用いて週 2 回測定した。

40

50

【 0 1 9 6 】

異種腫瘍成長および阻害の計算：外部キャリパーで腫瘍体積を決定するために、最大長径（長さmm）および最大横径（幅mm）を決定した。キャリパー測定値に基づいて、腫瘍体積を、式：体積（ mm^3 ）=（長さ×幅²）/2により計算した。

【 0 1 9 7 】

抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体は、この異種のインビボ腫瘍モデルにおいて用量依存的様式で確立されたBCMA⁺NCI-H929腫瘍のサイズを縮小し、その成長を防止した。結果を、以下の表20に示し、図3および4に示す。

【表23-1】

表20：様々な時点での平均腫瘍サイズ

抗体治療	5日目の平均腫瘍サイズ (mm^3)±SEM
PBS（ビヒクル対照）	61.5±6.4
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	63.7±5.4
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	62.6±3.6
REGN5458(BCMA×CD3-G)-4mg/kg	71.9±10.3
REGN5458(BCMA×CD3-G)-0.4mg/kg	69.3±7.3
REGN5458(BCMA×CD3-G)-0.04mg/kg	58.1±5.6
REGN5459(BCMA×CD3-G20)-4mg/kg	61.8±5.2
REGN5459(BCMA×CD3-G20)-0.4mg/kg	69.5±4.1
REGN5459(BCMA×CD3-G20)-0.04mg/kg	74.9±6.4

【表23-2】

抗体治療	8日目の平均腫瘍サイズ (mm^3)±SEM
PBS（ビヒクル対照）	124.3±17.3
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	145.3±22.0
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	170.7±15.5
REGN5458(BCMA×CD3-G)-4mg/kg	64.7±16.4
REGN5458(BCMA×CD3-G)-0.4mg/kg	120.3±16.3
REGN5458(BCMA×CD3-G)-0.04mg/kg	130.3±16.7
REGN5459(BCMA×CD3-G20)-4mg/kg	45.8±9.8
REGN5459(BCMA×CD3-G20)-0.4mg/kg	171.9±23.2
REGN5459(BCMA×CD3-G20)-0.04mg/kg	152.3±20.0

【表 2 3 - 3】

抗体治療	12 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	565.7±64.7
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	585.0±64.4
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	706.8±46.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	19.5±10.9
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	262.7±61.6
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	525.9±71.5
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	11.5±8.9
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	233.8±63.5
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	462.5±57.7

10

【表 2 3 - 4】

抗体治療	15 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	1150.4±105.7
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	1041.4±101.3
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	1298.4±71.0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	25.6±19.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	476.2±133.5
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	1031.2±164.3
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	327.2±135.6
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	1094.2±78.9

20

30

【表 2 3 - 5】

抗体治療	19 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	2621.3±190.9
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	2557.5±241.1
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	3383.3±183.1
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	40.6±32.8
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1347.5±334.7
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	2467.5±370.0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	606.2±288.8
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	2412.5±184.6

10

【表 2 3 - 6】

抗体治療	22 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	3717.9±214.5
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	3688.9±272.0
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	4492.2±344.0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	78.3±60.8
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	2068.5±465.0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	3745.7±541.2
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	815.4±387.1
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	3285.9±227.3

20

30

【表 2 3 - 7】

抗体治療	27 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	252.3±185.1
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	3463.9±1025.0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	1589.1±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	1849.9±903.1
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【表 2 3 - 8】

抗体治療	30 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	411.3±307.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	2144.2±2144.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	2886.5±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	661.8±490.1
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

20

30

【表 2 3 - 9】

抗体治療	35 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	633.5±473.5
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	996.8±771.0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【表 2 3 - 1 0】

抗体治療	40 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	369.5±369.5
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	375.6±375.6
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

20

30

【表 23 - 11】

抗体治療	55 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【0198】

実施例 13: 抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体は、異種のインビボ腫瘍モデルにおいて用量依存的様式で BCMA 発現腫瘍 (MOLP-8) の成長を防止する

20

抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体 (Ab) のインビボでの有効性を決定するために、異種腫瘍研究を実施した。免疫不全 NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) マウスに、 5×10^6 個の BCMA 発現 MOLP-8 ヒト多発性骨髄腫細胞と正常な健常ドナーから単離された 1×10^6 個のヒト末梢血単核細胞 (PBMC) との混合物を皮下に移植した。次いで、マウス (群あたり $n = 7$) に、PBS ビヒクル対照、CD3 結合対照二重特異性 Ab (G; mAb17664D) を 4 mg/kg の用量で、CD3 結合対照二重特異性 Ab (G20; REGN4460) を 4 mg/kg の用量で、BCMA × CD3 (G; REGN5458) 二重特異性 Ab を 4 mg/kg 、 0.4 mg/kg 、もしくは 0.04 mg/kg のいずれかの用量で、または BCMA × CD3 (G20; REGN5459) 二重特異性 Ab を 4 mg/kg 、 0.4 mg/kg 、もしくは 0.04 mg/kg のいずれかの用量で直ちに投与した。マウスに、これらの Ab を週に 2 回、合計 7 回の用量を投与し、腫瘍の成長を 56 日間にわたって評価した。BCMA⁺MOLP-8 腫瘍は、ビヒクルおよび CD3 結合対照で治療されたマウスで同様に成長したが、試験された BCMA × CD3 Ab は両方とも、インビボでの用量依存的様式で腫瘍の成長を防止した。

30

【0199】

異種腫瘍の移植および測定: NSG マウスに、 5×10^6 個の BCMA 発現 MOLP-8 多発性骨髄腫細胞と正常な健常ドナーに由来する 1×10^6 個の PBMC との混合物を皮下に移植した。マウス (群あたり $n = 7$) に、PBS ビヒクル対照、CD3 結合対照二重特異性 Ab (G; mAb17664D)、CD3 結合対照二重特異性 Ab (G20; REGN4460)、BCMA × CD3 (G; REGN5458) 二重特異性 Ab、または BCMA × CD3 (G20; REGN5459) 二重特異性 Ab を直ちに投与した。mAb17664D および REGN4460 を、 4 mg/kg で投与したが、REGN5458 および REGN5459 は、 4 mg/kg 、 0.4 mg/kg 、または 0.04 mg/kg のいずれかで投与した。マウスに、Ab を週に 2 回、合計 7 回の用量で投与した。腫瘍成長を、実験の期間中、キャリパーによって週 2 回測定した。

40

【0200】

異種腫瘍成長および阻害の計算: 外部キャリパーで腫瘍体積を決定するために、最大長径 (長さ mm) および最大横径 (幅 mm) を決定した。キャリパー測定値に基づいて、腫

50

瘍体積を、式：体積 (mm³) = (長さ × 幅²) / 2 により計算した。

【 0 2 0 1 】

抗BCMA × 抗CD3 二重特異性抗体は、この異種のインビボ腫瘍モデルにおいて用量依存的様式でBCMA + MOLP - 8 腫瘍の成長を防止した。結果を、以下の表 2 1 に示し、図 5 および 6 に示す。

【表 2 4 - 1】

表 2 1 : 様々な時点での平均腫瘍サイズ

抗体治療	3 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	10.3±3.0
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	11.6±2.0
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	14.1±3.9
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	12.5±1.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	13.5±1.5
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	9.3±2.4
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	12.9±1.3
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	14.0±1.6
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	11.7±2.1

10

20

【表 2 4 - 2】

抗体治療	7 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	73.4±13.5
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	50.0±6.6
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	45.7±6.1
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1.0 1.0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	18.3±5.0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0.6±0.6
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	37.0±5.7

30

40

【表 2 4 - 3】

抗体治療	10 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	249.9±47.6
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	125.0±6.8
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	173.9±99
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	73.9±25.7
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	104±23.0

10

【表 2 4 - 4】

抗体治療	14 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	677.0±62.7
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	530.0±44.6
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	549.1±59.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0±0
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	255.4±79.7
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	356.7±84.6

20

30

【表 2 4 - 5】

抗体治療	17 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	1349.5±149.7
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	935.3±71.3
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	1027.1±86.6
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	14.5±7.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1.7±1.7
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	494.3±144.3
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	645.6±140.9

10

【表 2 4 - 6】

抗体治療	21 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	2990.9±291.7
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	2249.6±113.5
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	2473.4±170.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	102.7±66.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	5.3±5.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	1373.0±366.6
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	1442.4±310.7

20

30

【表 2 4 - 7】

抗体治療	23 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	4155.1±401.8
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	3288.4±204.6
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	3592.7±224.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	193.3±117.7
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	9.7±9.7
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	1882.3±551.5
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	2124.4±444.1

10

【表 2 4 - 8】

抗体治療	28 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	627.4±318.1
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	47.4±47.4
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	2542.5±613.3
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	1.9±1.9
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	1939.3±840.6

20

30

【表 2 4 - 9】

抗体治療	31 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	1018.5±498.3
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	104.7±92.6
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	2906.1±532.6
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	3.8±3.0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	2688.7±1176.6

10

【表 2 4 - 1 0】

抗体治療	35 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	1342.9±629.6
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	375.1±307.5
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	3538.0±0.0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	9.3±7.5
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	612.1±0

20

30

【表 2 4 - 1 1】

抗体治療	42 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	2363.0±890.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	968.8±689.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	12.8±12.8
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【表 2 4 - 1 2】

抗体治療	49 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	1683.5±1683.5
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	記録なし
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	記録なし
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	記録なし
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

20

30

【表 2 4 - 1 3】

抗体治療	56 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
PBS (ビヒクル対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN4460(CD3 結合対照-G20)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	3108.1±3108.1
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1742.4±635.2
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	殺処分した動物
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-4mg/kg	17.2±17.2
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	0±0
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.04mg/kg	殺処分した動物

10

【 0 2 0 2】

実施例 1 4: 抗 B C M A × 抗 C D 3 二重特異性抗体は、異種 (X e n o g r a p h i c)
インビボ腫瘍モデルにおいて B C M A 発現腫瘍 (M O L P - 8) の成長を遅らせる。

20

抗 B C M A × 抗 C D 3 二重特異性抗体 (A b) のインビボでの有効性を決定するために、異種腫瘍研究を実施した。11日目に、免疫不全 N O D . C g - P r k d c ^{s c i d} I 1 2 r g ^{t m 1 W j 1} / S z J (N S G) マウスに、正常な健常ドナーからの 4×10^6 個のヒト末梢血単核細胞 (P B M C) を腹腔内に注射した。0日目に、マウスに、ホタルルシフェラーゼ (M O L P - 8 - ルシフェラーゼ細胞) も発現するように操作された 2×10^6 個の B C M A ⁺ M O L P - 8 ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞を静脈内投与した。次いで、マウス (群あたり n = 5) に、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G ; m A b 1 7 6 6 4 D) を 4 m g / k g の用量で、または B C M A × C D 3 (G ; R E G N 5 4 5 8) 二重特異性 A b を 4 m g / k g の用量で直ちに投与した。マウスに、これらの A b を 3 および 7 日目に 2 回以上、合計 3 回の用量を投与した。麻酔した動物の腫瘍生物発光 (B L I) を測定することによって、48日間にわたって腫瘍の成長を評価した。陽性対照として、マウス群 (n = 5) には、M O L P - 8 - ルシフェラーゼ細胞のみを投与し、P B M C または抗体は投与しなかった。バックグラウンド B L I レベルを測定するために、マウス群 (n = 5) は治療せず、腫瘍、P B M C、または抗体を投与しなかった。B C M A ⁺ M O L P - 8 - ルシフェラーゼ腫瘍は、C D 3 結合対照治療マウスで進行的に成長したが、R E G N 5 4 5 8 による B C M A × C D 3 A b 治療は、インビボで腫瘍の成長を遅らせた。

30

【 0 2 0 3】

異種腫瘍の移植および測定: 11日目に、免疫不全 N O D . C g - P r k d c ^{s c i d} I 1 2 r g ^{t m 1 W j 1} / S z J (N S G) マウスに、腹腔内に、正常な健常ドナーからの 5×10^6 個のヒト P B M C を注射した。0日目に、マウスに、 2×10^6 個の B C M A ⁺ M O L P - 8 - ルシフェラーゼ細胞を静脈内投与した。次いで、マウス (群あたり n = 5) に、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G ; m A b 1 7 6 6 4 D) を 4 m g / k g の用量で、または B C M A × C D 3 (G ; R E G N 5 4 5 8) 二重特異性 A b を 4 m g / k g の用量で直ちに投与した。マウスに、これらの A b を 3 および 7 日目に 2 回以上、合計 3 回の用量を投与した。麻酔した動物の腫瘍 B L I を測定することによって、48日間にわたって腫瘍の成長を評価した。陽性対照として、マウス群 (n = 5) には、M O L P - 8 - ルシフェラーゼ細胞のみを投与し、P B M C または抗体は投与しなかった。バックグラウンド B L I レベルを測定するために、マウス群 (n = 5) は治療せず、腫瘍、P B M C、または抗体を投与しなかった。

40

50

【0204】

異種腫瘍成長の測定：BLIイメージングを使用して腫瘍負荷を測定した。マウスに、PBS中に懸濁したルシフェラーゼ基質のD-ルシフェリン150mg/kgをIP注射した。この注射から5分後、マウスのBLIイメージングを、Xenogen IVISシステムを使用してイソフルラン麻酔下で実施した。Dでの視野、1.5cmの被写体の高さ、およびLiving Imageソフトウェアによって決定される自動露光時間の中程度のビニングレベルで、画像収集を行った。Living Imageソフトウェアを使用してBLIシグナルを抽出した：目的の領域を各細胞量の周囲に描き、光子強度をp/s/cm²/srとして記録した。

【0205】

抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体REGN5458は、この異種のインビボ腫瘍モデルにおいてBCMA⁺MOLP-8-ルシフェラーゼ腫瘍の成長を遅らせた。結果を、以下の表22に示す。

【表25-1】

表22：様々な時点での平均腫瘍サイズ（放射輝度別）

抗体治療	移植から8日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし（バックグラウンドBLI）	4.93E+05±1.66E+04
PBMC／抗体なし（陽性対照）	5.73E+05±5.27E+04
mAb17664D(CD3結合対照-G)-4mg/kg	6.08E+05±5.16E+04
REGN5458(BCMA×CD3-G)-4mg/kg	5.66E+05±1.97E+04

【表25-2】

抗体治療	移植から15日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし（バックグラウンドBLI）	5.37E+05±1.46E+04
PBMC／抗体なし（陽性対照）	1.24E+06±9.67E+04
mAb17664D(CD3結合対照-G)-4mg/kg	1.61E+06±9.64E+04
REGN5458(BCMA×CD3-G)-4mg/kg	5.28E+05±4.13E+04

【表25-3】

抗体治療	移植から22日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし（バックグラウンドBLI）	7.00E+05±1.03E+04
PBMC／抗体なし（陽性対照）	1.23E+07±1.02E+06
mAb17664D(CD3結合対照-G)-4mg/kg	1.98E+07±8.86E+06
REGN5458(BCMA×CD3-G)-4mg/kg	1.08E+06±1.71E+05

【表 2 5 - 4】

抗体治療	移植から 24 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	5.24E+05±1.86E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	1.56E+07±1.29E+06
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	5.26E+07±1.91E+07
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	1.02E+06±1.99E+05

10

【表 2 5 - 5】

抗体治療	移植から 28 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	7.09E+05±2.28E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	3.01E+07±4.78E+06
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	5.69E+07±2.77E+07
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	3.56E+06±6.34E+05

20

【表 2 5 - 6】

抗体治療	移植から 30 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	6.44E+05±4.56E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	6.92E+06±1.40E+06

30

【表 2 5 - 7】

抗体治療	移植から 34 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	7.78E+05±3.02E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	2.65E+07±1.36E+07

40

【表 2 5 - 8】

抗体治療	移植から 37 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	7.59E+05±2.96E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	4.52E+07±1.40E+07

50

【表 25 - 9】

抗体治療	移植から 43 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	6.26E+05±4.18E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	1.06E+08±3.43E+07

10

【表 25 - 10】

抗体治療	移植から 48 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	8.24E+05±1.73E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-4mg/kg	3.22E+08±1.27E+08

20

【0206】

実施例 15 : 抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体は、腫瘍 (OPM - 2) の負荷をインビボでバックグラウンドレベルに低減する

抗 BCMA × 抗 CD3 二重特異性抗体 (Ab) のインビボでの有効性を決定するために、異種腫瘍研究を実施した。0 日目に、免疫不全 NOD . Cg - Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl} / SzJ (NSG) マウスに、ホタルルシフェラーゼ (OPM - 2 - ルシフェラーゼ細胞) も発現するように設計された 2×10^6 個の BCMA⁺ OPM - 2 ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞を静脈内投与した。10 日目に、マウスに、正常な健常ドナーからの 4×10^6 個のヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を腹腔内に注射した。21 日目に、マウス (群あたり n = 5) に、CD3 結合対照二重特異性 Ab (G ; mAb17664 D) を 0.4 mg / kg の用量で、BCMA × CD3 (G ; REGN5458) 二重特異性 Ab を 0.4 mg / kg で、または BCMA × CD3 (G20 ; REGN5459) 二重特異性 Ab を 0.4 mg / kg で投与した。マウスに、これらの Ab を 25 および 28 日目に 2 回以上、合計 3 回の用量を投与した。麻酔した動物の腫瘍生物発光 (BLI) を測定することによって、61 日間にわたって腫瘍の成長を評価した。陽性対照として、マウス群 (n = 5) には、OPM - 2 - ルシフェラーゼ細胞のみを投与し、PBMC または抗体は投与しなかった。バックグラウンド BLI レベルを測定するために、マウス群 (n = 5) は治療せず、腫瘍、PBMC、または抗体を投与しなかった。BCMA⁺ OPM - 2 - ルシフェラーゼ腫瘍は、CD3 結合対照で治療されたマウスで徐々に成長したが、REGN5458 および REGN5459 による BCMA × CD3 Ab 治療は、動物の大多数で腫瘍負荷をバックグラウンドレベルまで減少させた。

30

40

【0207】

異種腫瘍の移植および測定 : 0 日目に、免疫不全 NOD . Cg - Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl} / SzJ (NSG) マウスに、ホタルルシフェラーゼ (OPM - 2 - ルシフェラーゼ細胞) も発現するように設計された 2×10^6 個の BCMA⁺ OPM - 2 ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞を静脈内投与した。10 日目に、マウスに、正常な健常ドナーからの 4×10^6 個のヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を腹腔内に注射した。21 日目に、マウス (群あたり n = 5) に、CD3 結合対照二重特異性 Ab (G ; mAb17664 D) を 0.4 mg / kg の用量で、BCMA × CD3 (G ; REGN5458) 二重特異性 Ab を 0.4 mg / kg で、または BCMA × CD3 (G20 ; REGN5459)

50

二重特異性 A b を 0.4 mg / kg で投与した。マウスに、これらの A b を 25 および 28 日目に 2 回以上、合計 3 回の用量を投与した。麻酔した動物の腫瘍生物発光 (B L I) を測定することによって、61 日間にわたって腫瘍の成長を評価した。陽性対照として、マウス群 (n = 5) には、O P M - 2 - ルシフェラーゼ細胞のみを投与し、P B M C または抗体は投与しなかった。バックグラウンド B L I レベルを測定するために、マウス群 (n = 5) は治療せず、腫瘍、P B M C、または抗体を投与しなかった。

【 0 2 0 8 】

異種腫瘍成長の測定：B L I イメージングを使用して腫瘍負荷を測定した。マウスに、P B S 中に懸濁したルシフェラーゼ基質の D - ルシフェリン 150 mg / kg を I P 注射した。この注射から 5 分後、マウスの B L I イメージングを、X e n o g e n I V I S システムを使用してイソフルラン麻酔下で実施した。D での視野、1.5 cm の被写体の高さ、および L i v i n g I m a g e ソフトウェアによって決定される自動露光時間の中程度のピニングレベルで、画像収集を行った。L i v i n g I m a g e ソフトウェアを使用して B L I シグナルを抽出した：目的の領域を各細胞量の周囲に描き、光子強度を p / s / c m ² / s r として記録した。

10

【 0 2 0 9 】

B C M A + O P M - 2 - ルシフェラーゼ腫瘍は、C D 3 結合対照で治療されたマウスで徐々に成長したが、R E G N 5 4 5 8 および R E G N 5 4 5 9 による B C M A x C D 3 A b 治療は、動物の大多数で腫瘍負荷をバックグラウンドレベルまで減少させた。結果を、以下の表 2 3 に示し、図 7 に示す。

20

【表 2 6 - 1】

表 2 3 : 様々な時点での平均腫瘍サイズ (放射輝度別)

抗体治療	移植から 5 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	6.22E+05±2.77E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	5.62E+05±2.75E+04
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	5.73E+05±3.02E+04
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	5.87E+05±2.40E+04
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	5.09E+05±3.56E+04

30

【表 2 6 - 2】

抗体治療	移植から 11 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	6.90E+05±3.64E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	6.22E+05±3.34E+04
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	6.25E+05±3.80E+04
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	6.19E+05±4.39E+04
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	6.45E+05±2.39E+04

40

【表 2 6 - 3】

抗体治療	移植から 20 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	7.59E+05±5.82E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	2.32E+06±2.94E+05
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	2.36E+06±5.46E+05
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1.81E+06±2.37E+05
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	2.13E+06±1.69E+05

10

【表 2 6 - 4】

抗体治療	移植から 26 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	5.51E+05±2.51E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	5.96E+06±8.74E+05
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	6.05E+06±1.32E+06
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1.73E+06±8.69E+05
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	1.28E+06±7.36E+05

20

【表 2 6 - 5】

抗体治療	移植から 31 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	6.62E+05±3.35E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	1.58E+07±4.84E+06
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	1.35E+07±2.35E+06
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	3.50E+06±2.42E+06
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	1.98E+06±1.36E+06

30

【表 2 6 - 6】

抗体治療	移植から 34 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	4.57E+05±1.04E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	3.36E+07±1.27E+07
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	2.35E+07±5.72E+06
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	4.85E+06±3.24E+06
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	4.24E+06±3.69E+06

40

【表 2 6 - 7】

抗体治療	移植から 38 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	6.60E+05±3.13E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	3.91E+07±6.87E+06
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	4.84E+07±1.65E+07
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	5.30E+06±3.44E+06
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	3.21E+06±2.52E+06

10

【表 2 6 - 8】

抗体治療	移植から 40 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	5.39E+05±9.67E+03
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	5.06E+06±3.36E+06
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	3.84E+06±3.34E+06

20

【表 2 6 - 9】

抗体治療	移植から 47 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	7.73E+05±1.91E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	7.76E+05±7.85E+04
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	7.34E+05±2.62E+04

30

【表 2 6 - 1 0】

抗体治療	移植から 54 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	7.49E+05±1.95E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	5.78E+05±1.15E+05
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	6.41E+05±5.96E+04

40

【表 2 6 - 1 1】

抗体治療	移植から 61 日後の放射輝度 [p/s/cm ² /sr](平均±SEM)
腫瘍なし (バックグラウンド BLI)	6.18E+05±2.77E+04
PBMC/抗体なし (陽性対照)	殺処分した動物
mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	殺処分した動物
REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	5.23E+05±4.10E+04
REGN5459(BCMAxCD3-G20)-0.4mg/kg	6.03E+05±5.29E+04

10

【 0 2 1 0】

実施例 1 6 : B C M A × C D 3 二重特異性抗体は、用量依存的様式でインビボで同系腫瘍の成長を抑制する

抗 B C M A × 抗 C D 3 二重特異性抗体 (A b) のインビボでの有効性を決定するために、ヒト C D 3 を発現するマウスにおいて同系腫瘍研究を実施した。マウス C D 3 d e g (C D 3 - ヒト化マウス) の代わりにヒト C D 3 d e g を発現する C 5 7 B L / 6 マウスに、完全長ヒト B C M A (B 1 6 / B C M A 細胞) を発現するように操作された 0.5×10^6 個の B 1 6 メラノーマ細胞または完全長ヒト B C M A (M C 3 8 / B C M A) を発現するように操作された 1×10^6 個の M C 3 8 結腸癌細胞のいずれかを皮下に移植した。次いで、マウス (群あたり $n = 7$) に、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G ; m A b 1 7 6 6 4 D) を 0.4 mg / kg の用量で、または B C M A × C D 3 (G ; R E G N 5 4 5 8) 二重特異性 A b を 0.4 mg / kg もしくは 0.04 mg / kg の用量で直ちに投与した。マウスに、これらの A b を 4 および 7 日目に 2 回以上、合計 3 回の用量を投与し、腫瘍成長を、実験を通して評価した。B 1 6 / B C M A 腫瘍および M C 3 8 / B C M A 腫瘍は、C D 3 結合対照治療マウスで成長したが、B C M A × C D 3 R E G N 5 4 5 8 は、インビボで用量依存的様式で両方の腫瘍株の成長を抑制することができた。

20

【 0 2 1 1】

同系腫瘍の移植および測定 : マウス C D 3 d e g (C D 3 - ヒト化マウス) の代わりにヒト C D 3 d e g を発現する C 5 7 B L / 6 マウスに、完全長ヒト B C M A (B 1 6 ヒト / B C M A 細胞) を発現するように操作されている 0.5×10^6 個の B 1 6 F 1 0 メラノーマ細胞または完全長ヒト B C M A (M C 3 8 / B C M A) を発現するように操作されている 1×10^6 個の M C 3 8 結腸癌細胞のいずれかを皮下に移植した。次いで、マウス (群あたり $n = 7$) に、C D 3 結合対照二重特異性 A b (G ; m A b 1 7 6 6 4 D) を 0.4 mg / kg の用量で、または B C M A × C D 3 (G ; R E G N 5 4 5 8) 二重特異性 A b を 0.4 mg / kg もしくは 0.04 mg / kg の用量で直ちに投与した。マウスに、これらの A b を 4 および 7 日目に 2 回以上、合計 3 回の用量を投与し、腫瘍成長を、実験を通して評価した。

30

【 0 2 1 2】

同系 (s y n g e n i c) 腫瘍成長および阻害の計算 : 外部キャリパーによって腫瘍体積を決定するために、最大長径 (長さ mm) および最大横径 (幅 mm) を決定した。キャリパー測定値に基づいて、腫瘍体積を、式 : 体積 (mm^3) = (長さ × 幅²) / 2 により計算した。

40

【 0 2 1 3】

B 1 6 / B C M A 腫瘍および M C 3 8 / B C M A 腫瘍は、C D 3 結合対照治療マウスで成長したが、B C M A × C D 3 R E G N 5 4 5 8 は、インビボで用量依存的様式で両方の腫瘍株の成長を抑制することができた。結果を、以下の表 2 4 に示す。

【表 27 - 1】

表 24 : 様々な時点での平均腫瘍サイズ

抗体治療	5 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
B16/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	25.6±2.7
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0.0±0.0
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	3.3±2.2
MC38/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	29.3±4.4
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	1.4±1.4
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	11.9±2.9

10

20

【表 27 - 2】

抗体治療	10 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
B16/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	179.2±30.6
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0.0±0.0
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	15.4±12.5
MC38/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	123.1±14.6
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	0.0±0.0
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	66.7±22.5

30

40

【表 27 - 3】

抗体治療	14 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
B16/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	763.1±156.2
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	8.1±4.4
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	81.4±49.2
MC38/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	477.1±77.1
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	2.9±2.9
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	273.3±115.3

10

20

【表 27 - 4】

抗体治療	18 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
B16/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	2068.9±357.7
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	47.1±17.0
B16/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	127.2±63.9
MC38/BCMA 腫瘍 mAb17664D(CD3 結合対照-G)-0.4mg/kg	1432.5±231.6
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.4mg/kg	7.5±7.5
MC38/BCMA 腫瘍 REGN5458(BCMAxCD3-G)-0.04mg/kg	641.5±309.8

30

40

【0214】

実施例 17 : 水素重水素交換による BCMA への REGN5458 結合のエピトープマッピング

質量分析 (HDX-MS) による H/D 交換エピトープマッピングを実施して、REGN5458 (BCMA x CD3 二重特異性抗体) と相互作用する BCMA (組換えヒト BCMA、配列番号 115 のアミノ酸配列) のアミノ酸残基を決定した。H/D 交換法の

50

一般的な説明は、例えば、Ehring (1999) Analytical Biochemistry 267 (2) : 252 - 259、および Engen and Smith (2001) Anal. Chem. 73 : 256 A - 265 A に記載されている。

【0215】

HDX-MS 実験を、統合型 HDX / MS プラットフォーム上で実施し、これは重水素標識およびクエンチのための Leaptec HDX PAL システム、サンプル消化および充填のための Waters Acquity M-Class (Auxiliary solvent manager)、分析用勾配のための Waters Acquity M-Class (μ Binary solvent manager)、およびペプチド質量測定のための Thermo Q Exactive HF 質量分析計からなる。

10

【0216】

標識溶液を、pD 7.0 (10 mM のリン酸緩衝液、140 mM の NaCl、および 3 mM の KCl、25 で pH 7.4 に相当) の D_2O 中 PBS 緩衝液として調製した。重水素標識のために、10 μ L の hBCMA.hFc (REGN2746、54.5 μ M ; 配列番号 120 または 1 : 2 のモル比で REGN5458 と予め混合した hBCMA.hFc (Ag-Ab 複合体)) を、複製中の様々な時点 (例えば、非重水素化制御 = 0 秒、5 分間および 10 分間重水素化標識化された) で、20 で 90 μ L の D_2O 標識溶液を用いてインキュベートした。重水素化反応は、100 μ L の事前に冷却したクエンチ緩衝液 (0.5 M の TCEP-HCl、8 M の尿素および 1% ギ酸) を各サンプルに添加して、20 で 5 分間インキュベートすることによりクエンチした。次に、クエンチした試料

20

【0217】

重水素化されていない BCMA サンプルの LC-MS/MS データは、Byonic 検索エンジン (Protein Metrics) を使用して、BCMA およびそのランダム化された配列を含むデータベースに対して検索された。検索パラメータ (ELN) は、一般的な変数の変更として非特異的な酵素消化およびヒトのグリコシル化を使用してデフォルトとして設定された。次いで、同定されたペプチドのリストを、HDX Workbench ソフトウェア (バージョン 3.3) にインポートして、すべての重水素化サンプルから LC-MS によって検出された各ペプチドの重水素取り込みを計算した。所与のペプチドについて、各時点での重心質量 (強度加重平均質量) を使用して、重水素取り込み (D) および重水素取り込みの割合 (D (%)) を計算した。

30

【表 28】

重水素取り込み (D 取り込み)	=	平均質量 (重水素化) - 平均質量 (重水素化されていない)
重水素取り込みの割合 (D (%))	=	$\frac{\text{各時点でのペプチドの D 取り込み} \times 100\%}{\text{ペプチドの最大 D 取り込み (ELN で定義)}}$

40

【0218】

hBCMA.hFc からの合計 8 つのペプチドが、hBCMA.hFc のみと REGN5458 サンプルと複合体を形成した hBCMA.hFc の両方から同定され、hBCMA の 100% の配列カバレッジを表す。すべてのペプチドの平均標準偏差 (SD) は、1.4% と評価された (詳細な計算は ELN および Pascal, BD et al (2012) Journal of the American Society for Mass Spectrometry 23 (9) : 1512 - 1521 で定義された)。したがって、4.2% (平均 SD の 3 倍) を超える D 取り込み値の異なる割合を示した

50

任意のペプチドは、有意に保護されていると定義された。hBCMA・hFcの場合、配列番号106のアミノ酸1~43に対応するペプチド(MLQMA G Q C S Q N E Y F D S L L H A C I P C Q L R C S S N T P P L T C Q R Y C N A ; 配列番号121)は、REGN5458によって有意に保護された。REGN5458によるこれらの残基の保護は、hBCMA・mmH(REGN2744、配列番号106のアミノ酸配列)を使用して確認された。

【表29】

表25：REGN5458に結合した際に有意な保護を有する選択されたBCMA・hFcペプチド

BCMA 残基	5分			10分			-hFc
	REGN2746	REGN2746 + REGN5458		REGN2746	REGN2746 + REGN5458		
	質量中心 MH ⁺	質量中心 MH ⁺	ΔD	質量中心 MH ⁺	質量中心 MH ⁺	ΔD	Δ%D
1~28	3217.16	3212.39	-4.77	3218.05	3212.62	-5.43	-25.2
4~26	2582.03	2577.26	-4.77	2582.71	2577.45	-5.26	-31
27~43	1921.75	1920.69	-1.06	1922.1	1920.83	-1.27	-11.1

10

20

【0219】

実施例18：抗BCMA抗体との一晚のインキュベーション後の多発性骨髄腫細胞株に対するBCMA×CD3二重特異性抗体および追加のBCMA抗体のFACS結合アッセイ
フローサイトメトリー分析を利用して、多発性骨髄腫細胞株と抗BCMA抗体との一晚のインキュベーションが表面BCMAのレベルに及ぼす影響を決定した。MM細胞株(H929、Molp8、U266、およびMM1.S)を2回洗浄し、66.7または667nMの抗BCMA抗体、を含むR10培地(RPMI+10%FBS+pen/strep/glut)、DAPT(ガンマセクレターゼ阻害剤)、または培地のみで37で培養した。18時間後、ウェルを、冷FACS洗浄(PBS+1%濾過FBS)で洗浄し、氷上で30分間、冷染色緩衝液(Miltenyi 130-091-221)中の667nMの同じ抗BCMA抗体に再懸濁した。インキュベーション後、細胞を、冷FACS洗浄(PBS+1%濾過FBS)で2回洗浄し、氷上で適切な抗ヒト二次抗体(抗hIgGまたは抗HIS)とさらに30~45分間インキュベートすることによって、結合した抗体を検出した。インキュベーション後、細胞を洗浄し、1%濾過FBSを含有する200μLの冷PBSに再懸濁し、BD FACS Canto IIでフローサイトメトリーによって分析した。染色の増倍は、BCMA abまたはDAPTでこれまでに一晚インキュベートした染色細胞のMFIを、培地のみで一晚インキュベートした染色細胞のMFIで除することによって計算された。

30

【0220】

BCMAは、酵素ガンマ-セクレターゼによって細胞の表面から急速に切断される。DAPTなどのガンマ-セクレターゼ阻害剤で一晚インキュベートすると、BCMAの切断が防止され、細胞表面上のBCMAレベルが上昇する。表26~29は、培地のみでインキュベートした細胞と比較した、抗BCMA抗体またはDAPTで一晚インキュベートした細胞でのBCMAの蛍光強度中央値(MFI)の増倍を報告する。DAPTでの一晚のインキュベーションにより、H929、Molp8、U266、およびMM1.Sで抗BCMA抗体(BCMA×CD3二重特異性R5458、親BCMA抗体mAb15281、およびその他の社内BCMA抗体)によって検出されるBCMAレベルが、それぞれ、2.3~4倍、2.4~8.6倍、5.3~9.0倍、および11.9倍増加することが観察された。

40

【0221】

50

注目すべきことに、MM細胞株を66.7または667nMのREGN5458または親の二価抗BCMA抗体mAb21581で一晩インキュベートすると、同様にFACSによって検出される表面BCMAのレベルが増加することが観察され、抗BCMA抗体の結合がガンマセクレターゼによるBCMAの切断を防止することが示唆された。抗体が細胞株によって異なる表面BCMAの増加を誘導し、H929またはU266と比較してMolp8およびMM1S細胞では倍率がさらに増加した。この現象は、他の社内BCMA抗体でも観察されたため、REGN5458に限定されなかった。

【表30】

表26：培地のみでインキュベートした細胞のMFI倍率変化（NCI-H929）

NCI-H929		67nM		667nM		DAPT	
		平均	数	平均	数	平均	数
mAb21581	aBCMA(R5458の親)	1.2	5	1.4	3	3.5	6
REGN5458	BCMAxCD3	2.0	3	3.0	1	4.0	3
mAb16749	aBCMA	1.0	2	0.8	1	2.3	3
mAb16711	aBCMA	2.8	2	2.1	1	3.8	3
mAb16747	aBCMA	1.8	2	2.1	1	3.9	3
REGN960	scFv IsoC	1.0	2	1.1	1	1.1	3
mAb11810	IgG1 IsoC	1.0	2	1.0	1	1.1	3
mAb11810	IgG4s IsoC	1.3	2	1.0	1	1.1	3

10

20

【表31】

表27：培地のみでインキュベートした細胞のMFI倍率変化（Molp8）

Molp8		67nM		667nM		DAPT	
		平均	数	平均	数	平均	数
mAb21581	aBCMA(R5458の親)	2.3	5	3.7	3	6.3	6
REGN5458	BCMAxCD3	2.3	3	4.5	1	8.6	3
mAb16749	aBCMA	1.1	2	3.4	1	4.0	3
mAb16711	aBCMA	3.5	2	3.0	1	5.1	3
mAb16747	aBCMA	2.2	2	0.6	1	6.2	3
REGN960	scFv IsoC	1.1	2	1.0	1	1.0	3
mAb11810	IgG1 IsoC	1.0	2	1.3	1	1.1	3
mAb11810	IgG4s IsoC	0.9	2	1.2	1	1.0	3

30

【表 3 2】

表 2 8 : 培地のみでインキュベートした細胞の M F I 倍率変化 (U 2 6 6)

U266		67nM		667nM		DAPT	
		平均	数	平均	数	平均	数
mAb21581	aBCMA(R5458 の親)	1.8	2	2.3	1	6.7	6
REGN5458	BCMAxCD3	1.4	2	2.3	1	9.0	3
mAb16749	aBCMA	1.3	2	1.2	1	5.3	3
mAb16711	aBCMA	2.2	2	2.2	1	7.2	3
mAb16747	aBCMA	1.5	2	1.7	1	8.3	3
REGN960	scFv IsoC	1.0	2	1.0	1	1.0	3
mAb11810	IgG1 IsoC	1.0	2	1.1	1	1.1	3
mAb11810	IgG4s IsoC	1.1	2	1.1	1	1.4	3

10

【表 3 3】

表 2 9 : 培地のみでインキュベートした細胞の M F I 倍率変化 (M M 1 S)

MMIS		67nM		667nM		DAPT	
		平均	数	平均	数	平均	数
mAb21581	aBCMA(R5458 の親)	7.3	2	7.0	2	11.9	2

20

【 0 2 2 2 】

実施例 1 9 : B C M A × C D 3 二重特異性抗体の存在下でのヒトおよびカニクイザル形質細胞の自己 T 細胞媒介性死滅

刺激されていない自己 T 細胞による濃縮 C D 1 3 8 + ヒトまたはカニクイザル形質細胞の特異的死滅は、フローサイトメトリーによって評価された。ヒトまたはカニクイザルの骨髓穿刺液および血液は、採取から 2 4 時間以内に提供された。C D 1 3 8 + 形質細胞は、製造業者の取扱説明書に従って、E a s y S e p H u m a n C D 1 3 8 + 陽性選択キットを使用した陽性選択によって、骨髓から濃縮された。全血からの P B M C は、密度分離によって分離された。P B M C は、1 μ M の V y b r a n t C F D A - S E 蛍光追跡色素で標識された。標識後、1 × 1 0 ⁴ 個の富化 C D 1 3 8 + 形質細胞は、1 0 : 1 の E : T 比で丸底 9 6 ウェルプレートに V y b r a n t C F D A - S E 標識 P B M C、および R E G N 5 4 5 8、C D 3 結合対照 b s A b、または B C M A 結合対照 m A b の連続希釈で、完全培地中で 3 7 ° C で 7 2 時間播種した。培養の最後に、生存している C D 1 3 8 + 形質細胞を、固定可能な L I V E / D E A D 色素および形質細胞特異的細胞表面マーカーを利用してフローサイトメトリーによって分析した。生存率は、対照条件 (P B M C のみの存在下の形質細胞) に対して正規化された。T 細胞の活性化は、フローサイトメトリーによって評価された。活性化は、C D 2 5 を発現する C D 2 + / C D 4 + または C D 2 + / C D 8 + / C D 1 6 - T 細胞の割合として報告される。T 細胞活性化の割合は、対照条件 (P B M C のみの存在下の形質細胞) に対して正規化された。

30

40

【 0 2 2 3 】

インビトロ研究は、一次ヒトおよびカニクイザルの T 細胞活性化および自己形質細胞の細胞毒性に対する R E G N 5 4 5 8 または陰性対照 (B C M A 結合対照 m A b または C D 3 結合対照 b s A b) の効果を評価した。各ドナーに対する細胞毒性および T 細胞活性化の割合における E C ₅₀ 値を、表 3 0 に要約する。

【 0 2 2 4 】

R E G N 5 4 5 8 は、自己 T 細胞の存在下でドナー 1 および 2 の一次ヒト形質細胞の細胞毒性を濃度依存的様式で媒介し、E C ₅₀ 値は、それぞれ、4 2 . 8 p M および 1 9 1

50

pMであり、細胞毒性の最大割合は、それぞれ、91%および89%であった。並行して、REGN5458は、ドナー1および2からのヒト形質細胞の存在下で、濃度依存的様式でT細胞活性化を媒介し、CD8⁺T細胞活性化におけるEC₅₀値は、それぞれ、214pMおよび860pMであり、CD8⁺T細胞活性化の最大割合は、それぞれ、2%および36%であった。両方のドナーにおける形質細胞の細胞毒性およびドナー2のみにおけるCD8⁺T細胞活性化の増加は、CD3結合対照のナノモル濃度で観察された。いずれかのドナーで試験された濃度のいずれにおいても、BCMA結合対照では細胞毒性またはT細胞活性化への影響は観察されなかった。

【0225】

REGN5458は、両方のドナーにおける濃度依存的様式で一次カニクイザル形質細胞の細胞毒性を媒介し、1.31nMのEC₅₀が、ドナー1について計算されたが、ドナー2についてEC₅₀は、決定することができなかった。両方のドナーにおいて、REGN5458での治療により、形質細胞の細胞毒性が増加した(ドナー1および2における細胞毒性の最大割合は、それぞれ、94%および91%であった)。並行して、REGN5458は、ドナー1および2からのカニクイザル形質細胞の存在下で濃度依存的様式でT細胞活性化を媒介し、CD4⁺T細胞活性化についてEC₅₀値は、それぞれ、28.1nMおよび18.1nMであり、CD8⁺T細胞活性化についてEC₅₀値は、22.4nMおよび76.7nMであった。結果として得られたT細胞活性化の最大割合は、ドナー1および2における、CD4⁺T細胞においては、それぞれ、9%および16%であり、CD8⁺T細胞においては、それぞれ、12%および17%であった。

【0226】

評価された細胞株のいずれかで試験したいかなる濃度でも、BCMA結合対照では標的細胞の死滅は観察されなかった。ドナー2からの形質細胞の存在下でのいくつかの標的細胞の死滅およびT細胞活性化が、ナノモル濃度のCD3結合対照で観察された。

【表34】

表30：各ドナーに対する細胞毒性およびT細胞活性化の割合におけるEC₅₀値

細胞株		細胞毒性死滅		T細胞活性化 (CD25の上方調節(%))			
				CD4 ⁺ T細胞		CD8 ⁺ T細胞	
エフェクター細胞	標的細胞	EC ₅₀ (M)	細胞毒性の最大割合(%)	EC ₅₀ (M)	活性化(%)	EC ₅₀ (M)	活性化(%)
一次ヒトT細胞 ^a	ヒトドナー1形質細胞	4.28×10 ⁻¹¹	91	NR	NR	2.14×10 ⁻¹⁰	2
	ヒトドナー2形質細胞	1.91×10 ⁻¹⁰	89	NR	NR	8.60×10 ⁻¹⁰	36
一次カニクイザルT細胞 ^a	カニクイザルドナー1形質細胞	1.31×10 ⁻⁹	94	2.81×10 ⁻⁸	9	2.24×10 ⁻⁸	12
	カニクイザルドナー2形質細胞	ND	91	約1.81×10 ⁻⁸	16	7.67×10 ⁻⁸	17

^a自己形質細胞は、各ドナーについて試験した。

【0227】

実施例20：抗BCMA×抗CD3二重特異性抗体は、抗PD-1抗体と相乗的に作用して、インビボで抗腫瘍効果を増強する

BCMA×CD3二重特異性抗体(Ab)がPD-1遮断と相乗作用して、インビボで優れた抗腫瘍効果を提供するかどうかを決定するために、ヒトCD3を発現するマウスにおいて同系腫瘍研究を実施した。結果は、REGN5458とPD-1遮断の組み合わせ

が、REGN5458またはPD-1遮断単独よりも優れた抗腫瘍効果を提供することを示す。

【0228】

同系腫瘍の移植および測定：マウスCD3deg(CD3-ヒト化マウス)の代わりにヒトCD3degを発現するC57BL/6マウスに、完全長ヒトBCMA(MC38/BCMA)を発現するように操作されている 1×10^6 個のMC38結腸癌細胞を皮下に移植した。腫瘍を、3日間確立させ、その時点でマウス(群あたりn=6または7)に、4mg/kgの代理抗マウスPD-1抗体(クローンRPM1-14)、または4mg/kgのアイソタイプ対照Ab(クローン2A3)のいずれかと共に、CD3結合対照二重特異性Ab(G;H4SH17664D)を0.4mg/kgの用量で、BCMA \times CD3(G;REGN5458)を0.04mg/kgまたは0.24mg/kgの用量で投与した。具体的な治療群を、以下の表31に示す。

【表35】

表31：治療群

群	二重特異性治療	抗体	数
1	H4SH17664D(0.24mg/kg)	アイソタイプ(4mg/kg)	7
2	H4SH17664D(0.24mg/kg)	RPM1-14(4mg/kg)	7
3	REGN5458(0.04mg/kg)	アイソタイプ(4mg/kg)	7
4	REGN5458(0.04mg/kg)	RPM1-14(4mg/kg)	7
5	REGN5458(0.24mg/kg)	アイソタイプ(4mg/kg)	6
6	REGN5458(0.24mg/kg)	RPM1-14(4mg/kg)	6

【0229】

マウスに、これらのAbを7および11日目に2回以上、合計3回の用量を投与し、腫瘍成長を、実験を通して評価した。

【0230】

同系(synthetic)腫瘍成長および阻害の計算：外部キャリパーによって腫瘍体積を決定するために、最大長径(長さmm)および最大横径(幅mm)を決定した。キャリパー測定値に基づいて、腫瘍体積を、式：体積(mm³)=(長さ \times 幅²)/2により計算した。

【0231】

結果は、REGN5458とPD-1遮断の組み合わせが、REGN5458またはPD-1遮断単独よりも優れた抗腫瘍効果を提供することを示す。特に、結果は、24日目(すべての治療群のデータが収集された最後の日)に、BCMA \times CD3二重特異性抗体と抗PD-1抗体との組み合わせが腫瘍成長の阻害において統計的に有意な相乗的治療効果をもたらしたことを示した(表32、0.04mg/kgのBCMA \times CD3および4mg/kgの抗PD-1)。24日目に、2元配置分散分析を使用すると、(i)REGN5458(0.04mg/kg)+アイソタイプとREGN5458(0.04mg/kg)+抗PD-1抗体の組み合わせ(群3対群4)、(ii)REGN5458(0.24mg/kg)+アイソタイプとREGN5458(0.24mg/kg)+抗PD-1抗体の組み合わせ(群5対群6)、(iii)抗PD-1とREGN5458(0.04mg/kg)+抗PD-1抗体の組み合わせ(群2対群6)、との間でp<0.0001であった。24日目に、2元配置分散分析を使用すると、抗PD-1とREGN5458(0.04mg/kg)+抗PD-1抗体の組み合わせ(群2対群4)との間でp=0.0005であった。PD-1遮断と組み合わせてBCMA \times CD3二重特異性抗体(0.24mg/kg)の用量を増やすと、この実験において、低用量の二重特異性抗体およびPD-1遮断に匹敵する腫瘍阻害が得られた。低用量の二重特異性抗体との実証された相乗効果は、低用量の使用が有害な副作用のリスクを低減するため、有利である。同様に

、BCMA×CD3二重特異性抗体と抗PD-1抗体との組み合わせは、表33に示すように、実験の終了時(28日目)に、腫瘍のないマウスの数において、二重特異性抗体の両方の用量(0.04mg/kgおよび0.24mg/kg)で相乗的な治療効果を示した。

【表36-1】

表32：様々な時点での平均腫瘍サイズ

抗体治療	3日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	16.30±1.50 n=7
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	14.34±1.17 n=7
BCMA×CD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	15.62±1.61 n=7
BCMA×CD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	19.20±2.94 n=7
BCMA×CD3 REGN5458(0.24mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	13.13±3.12 n=6
BCMA×CD3 REGN5458(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	20.41±3.15 n=6

10

20

【表36-2】

抗体治療	7日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	55.78±6.61 n=7
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	43.59±8.32 n=7
BCMA×CD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	37.98±3.93 n=7
BCMA×CD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	30.30±6.47 n=7
BCMA×CD3 REGN5458(0.24mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	29.27±5.00 n=6
BCMA×CD3 REGN5458(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	29.18±3.65 n=6

30

40

【表 3 6 - 3】

抗体治療	11 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	145.74±21.37 n=7
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	45.33±11.46 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	112.53±17.39 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	8.81±0.88 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	36.63±14.89 n=6
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	12.99±4.35 n=6

10

20

【表 3 6 - 4】

抗体治療	14 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +アイトタイプ (4mg/kg)	414.28±46.72 n=7
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	49.50±17.02 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	438.16±59.56 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	6.86±3.90 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	224.33±47.04 n=6
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	22.75±17.62 n=6

30

40

【表 3 6 - 5】

抗体治療	18 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	1035.43±123.41 n=6
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	100.83±41.62 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	1040.12±61.95 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	7.81±7.81 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +アイソタイプ(4mg/kg)	515.15±115.38 n=6
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	57.79±43.62 n=6

10

20

【表 3 6 - 6】

抗体治療	21 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg)+アイソタイプ (4mg/kg)	1834.87±639.56 n=2
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg)+PD-1 遮断 RPM1- 14(4mg/kg)	208.29±91.80 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg)+アイソタイプ(4mg/kg)	2133.12±129.26 n=6
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg)+PD-1 遮断 RPM1- 14(4mg/kg)	21.13±21.13 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg)+アイソタイプ(4mg/kg)	1225.47±289.39 n=6
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg)+PD-1 遮断 RPM1- 14(4mg/kg)	113.69±85.39 n=6

30

40

【表 3 6 - 7】

抗体治療	24 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	2358.81±0.00 n=1
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	534.03±205.49 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	3648.37±536.71 n=3
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	53.52±53.52 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	1493.26±973.01 n=2
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	54.29±54.29 n=5

10

20

【表 3 6 - 8】

抗体治療	28 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	殺処分したすべての動物 n=0
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	1196.57±467.34 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	殺処分したすべての動物 n=0
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	141.68±141.68 n=7
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	1371.17±0.00 n=1
BCMAxCD3 REGN5458(0.24mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	104.44±104.44 n=5

30

40

【表 3 7】

表 3 3 : 実験の終了時の腫瘍のないマウス

抗体治療	実験の終了時 (28日目) に 腫瘍のないマウスの数
CD3結合対照H4SH17664D (0.24mg/kg) + アイソタイプ (4mg/kg)	0/7
CD3結合対照H4SH17664D (0.24mg/kg) + PD-1遮断RPM1-14 (4mg/kg)	2/7
BCMA x CD3 REGN5458 (0.04mg/kg) + アイソタイプ (4mg/kg)	0/7
BCMA x CD3 REGN5458 (0.04mg/kg) + PD-1遮断RPM1-14 (4mg/kg)	6/7
BCMA x CD3 REGN5458 (0.24mg/kg) + アイソタイプ (4mg/kg)	0/6
BCMA x CD3 REGN5458 (0.24mg/kg) + PD-1遮断RPM1-14 (4mg/kg)	4/6

10

20

【0232】

実施例 21 : 抗BCMA x 抗CD3二重特異性抗体は、抗PD-1抗体と相乗的に作用して、インビボで抗腫瘍効果を増強する

群あたりのマウスの数が10であり、BCMA x CD3 REGN5458の高用量が0.4mg/kgであったことを除いて、実施例20において上記で論じられたものと同様である、類似の結果が、第2の実験で得られた。第2の実験における特定の治療群を、以下の表34に示す。

30

【表 3 8】

表 3 4 : 治療群

群	二重特異性治療	抗体	数
1	H4SH17664D(0.4mg/kg)	アイソタイプ(4mg/kg)	10
2	H4SH17664D(0.4mg/kg)	RPM1-14(4mg/kg)	10
3	REGN5458(0.04mg/kg)	アイソタイプ(4mg/kg)	10
4	REGN5458(0.04mg/kg)	RPM1-14(4mg/kg)	10
5	REGN5458(0.4mg/kg)	アイソタイプ(4mg/kg)	10
6	REGN5458(0.4mg/kg)	RPM1-14(4mg/kg)	10

40

【0233】

結果は、REGN5458とPD-1遮断の組み合わせが、REGN5458またはPD-1遮断単独よりも優れた抗腫瘍効果を提供することを示す。特に、結果は、21日目(すべての治療群のデータが収集された最後の日)に、BCMA x CD3二重特異性抗体と抗PD-1抗体との組み合わせが腫瘍成長の阻害において相乗的治療効果をもたらしたことを示した(表35、0.04mg/kgのBCMA x CD3および4mg/kgの抗PD-1)。21日目に、2元配置分散分析を使用すると、(i) REGN5458 (0.04mg/kg) + アイソタイプとREGN5458 (0.04mg/kg) + 抗PD

50

- 1 抗体の組み合わせ (群 3 対群 4)、(i i) 抗 P D - 1 と R E G N 5 4 5 8 (0 . 0 4 m g / k g) + 抗 P D - 1 抗体の組み合わせ (群 2 対群 4)、(i i i) 抗 P D - 1 と R E G N 5 4 5 8 (0 . 4 m g / k g) + 抗 P D - 1 抗体の組み合わせ (群 2 対群 6)、との間で $p < 0 . 0 0 0 1$ であった。実施例 2 0 において上記で論じられたように、P D - 1 遮断と組み合わせで B C M A x C D 3 二重特異性抗体 (0 . 4 m g / k g) の用量を増やすと、この実験において、P D - 1 遮断と組み合わせた低用量の二重特異性抗体に匹敵する腫瘍阻害が得られた。低用量の二重特異性抗体との実証された相乗効果は、低用量の使用が有害な副作用のリスクを低減するため、有利である。同様に、B C M A x C D 3 二重特異性抗体と抗 P D - 1 抗体との組み合わせは、表 3 6 に示すように、実験の終了時 (2 5 日目) に、腫瘍のないマウスの数において、二重特異性抗体の両方の用量 (0 . 0 4 m g / k g および 0 . 4 m g / k g) で相乗的治療効果を示した。

【表 3 9 - 1】

表 3 5 : 様々な時点での平均腫瘍サイズ

抗体治療	3 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	9.85±0.61 n=10
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	13.44±1.44 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	12.41±2.56 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	9.73±1.25 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	11.22±0.68 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	9.59±1.78 n=10

10

20

30

【表 3 9 - 2】

抗体治療	6 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	40.43±4.07 n=10
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	44.52±2.80 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	38.79±3.52 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	36.42±3.51 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	16.11±1.27 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	24.34±1.86 n=10

10

20

【表 3 9 - 3】

抗体治療	10 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	149.41±17.08 n=10
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	107.34±13.73 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	116.32±19.99 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	23.48±3.24 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	24.27±6.74 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	3.60±1.92 n=10

30

40

【表 3 9 - 4】

抗体治療	13 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	386.55±48.49 n=10
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	186.87±41.06 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	319.91±53.05 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	10.60±2.34 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	50.93±20.00 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	0.74±0.74 n=10

10

20

【表 3 9 - 5】

抗体治療	18 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg)+アインタイプ (4mg/kg)	1809.29±242.64 n=9
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg)+PD-1 遮断 RPM1- 14(4mg/kg)	688.52±152.20 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg)+アインタイプ(4mg/kg)	1314.27±211.22 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg)+PD-1 遮断 RPM1- 14(4mg/kg)	6.28±4.55 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg)+アインタイプ(4mg/kg)	248.51±107.21 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg)+PD-1 遮断 RPM1- 14(4mg/kg)	3.93±2.67 n=10

30

40

【表 39 - 6】

抗体治療	21 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	3094.87±482.38 n=8
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	1425.22±338.49 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	2446.35±395.48 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	15.03±10.35 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	453.43±174.75 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	9.34±7.59 n=10

10

20

【表 39 - 7】

抗体治療	25 日目の平均腫瘍サイズ (mm ³)±SEM
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	殺処分した動物 n=0
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	1918.27±571.19 n=6
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	2411.64±451.96 n=3
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	38.96±21.47 n=10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +アイトタイプ(4mg/kg)	661.70±331.60 n=8
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	32.02±24.67 n=10

30

40

【表 4 0】

表 3 6 : 実験の終了時の腫瘍のないマウス

抗体治療	実験の終了時 (25 日目) に 腫瘍のないマウスの数
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	0/10
CD3 結合対照 H4SH17664D(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	1/10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	0/10
BCMAxCD3 REGN5458(0.04mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	7/10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +アインタイプ(4mg/kg)	2/10
BCMAxCD3 REGN5458(0.4mg/kg) +PD-1 遮断 RPM1-14(4mg/kg)	8/10

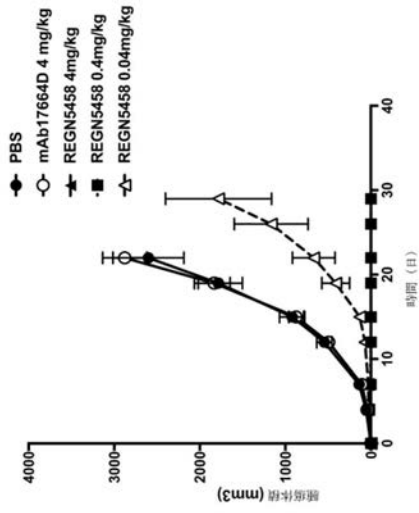
10

20

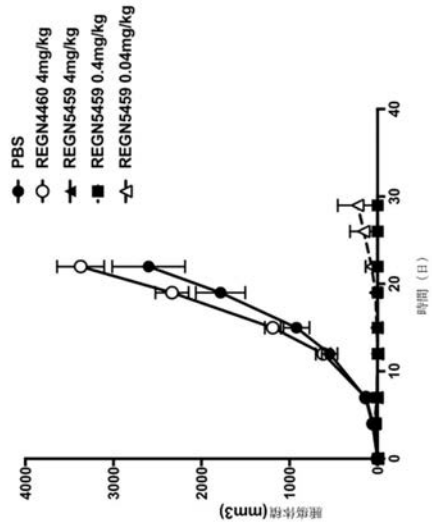
【 0 2 3 4】

本発明は、本明細書に記載される特定の実施形態によって範囲が限定されるべきではない。実際、本明細書に記載されるものに加えて本発明の様々な変更が前述の記載から当業者には明らかとなるであろう。そのような変更は、添付の特許請求の範囲内に含まれることが意図されている。

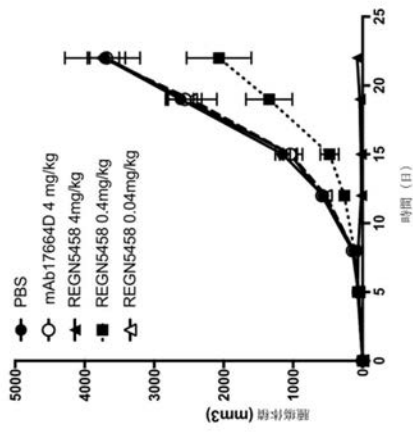
【 図 1 】



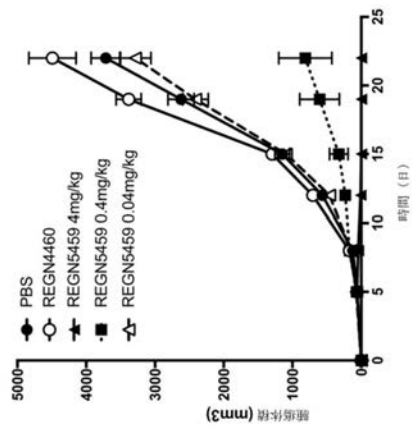
【 図 2 】



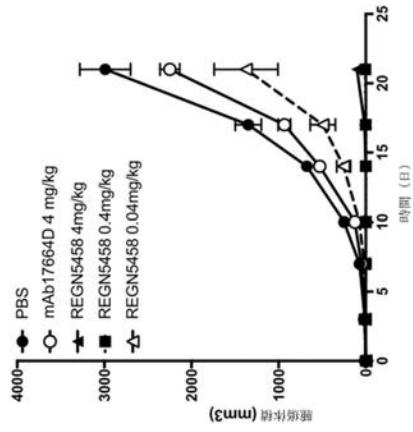
【 図 3 】



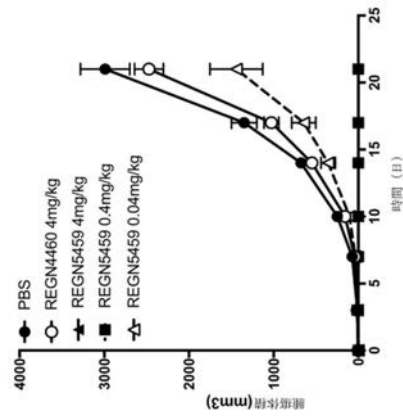
【 図 4 】



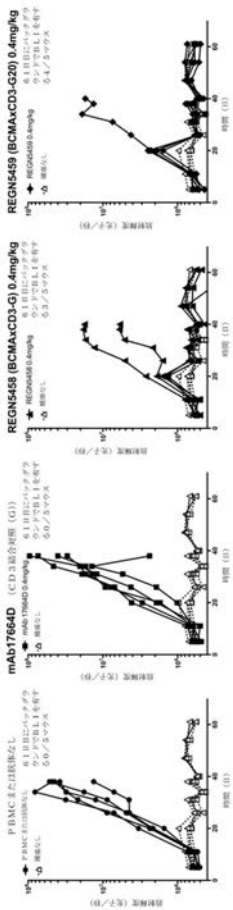
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【配列表】

2021531005000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/042447

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/00 A61P35/02 C07K16/28 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, Sequence Search		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/031104 A1 (JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE]; PILLARISETTI KODANDARAM [US]) 23 February 2017 (2017-02-23) the whole document	13-16, 33-56
A	----- the whole document	22-25
A	WO 2014/047231 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 27 March 2014 (2014-03-27) cited in the application CD3 binding moieties 7221G and G20	13-16, 22-25, 33-56
A	----- WO 2018/067331 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 12 April 2018 (2018-04-12) CD3 binding moieties 7221G and G20	13-16, 22-25, 33-56
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 14 October 2019		Date of mailing of the international search report 20/12/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Galli, Ivo

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/042447

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	<p>Dilillo, D: "REGN5458, a Bispecific BCMAxCD3 T Cell Engaging Antibody, Demonstrates Robust In Vitro and In Vivo Anti-Tumor Efficacy in Multiple Myeloma Models, Comparable to That of BCMA CAR T Cells", 60th ASH meeting, Nov. 29, 2018 Blood, vol. 132, no. S1, 1944, December 2018 (2018-12), XP002794959, Retrieved from the Internet: URL:https://ashpublications.org/blood/article/132/Supplement%201/1944/261532/REGN5458-a-Bispecific-BCMAxCD3-T-Cell-Engaging?searchresult=1 [retrieved on 2019-10-14] the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	<p>13-16, 22-25, 33-56</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2019/042447**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.: 1-12, 31, 32
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
13-16, 22-25(completely); 33-56(partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ US2019/ 042447

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 13-16, 22-25(completely); 33-56(partially)

Bispecific BCMA x CD 3 characterized by the BCMA arm, namely having (i) a light chain VL=SEQ82 (LCDRs=SEQ84, 86, 88) and (ii) a heavy chain having VH=SEQ66 (HCDRS=SEQ68, 70, 72); AND PREFERABLY preferably being further characterized by the CD3 arm, having (iii) the same light chain as the BCMA arm and (iv) the heavy chain of Abs 7221G (VH=SEQ 90; HCDR=SEQ92, 94, 96) or 7221G20 (VH=SEQ98; HCDR=SEQ100, 102, 104).

2. claims: 17-21(completely); 33-56(partially)

Bispecific BCMA x CD 3 antibodies characterized by the CD3 arm (the BCMA arm being generic), namely having (i) the same light chain as the BCMA in item (1) and the heavy chain of Abs 7221G or 7221G20 as defined in item 1.

3-6. claims: 26-30(completely); 33-56(partially)

Bispecific BCMA x CD 3 antibodies by other anti-BCMA moieties (with the respective VH and non-common VL), viz of anti-BCMA antibodies 16711, 13716, 13732, 13747.

International Application No. PCT/ US2019/ 042447

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1-12, 31, 32

Claims 1-12 concerns antibodies defined exclusively by desiderata. Such claims so lack clarity, support and disclosure that they cannot be searched.

Claims 31-32 concern antibodies that compete with certain antibodies disclosed for binding to their cognate epitope. Since the epitope itself is not disclosed, such claims cannot be searched at all.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/042447

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017031104	A1	23-02-2017	AR 105724 A1 01-11-2017
			AU 2016308567 A1 08-03-2018
			BR 112018003017 A2 25-09-2018
			CA 2995754 A1 23-02-2017
			CL 2018000431 A1 23-11-2018
			CN 108350076 A 31-07-2018
			CO 2018001524 A2 10-07-2018
			EA 201890513 A1 30-11-2018
			EP 3337824 A1 27-06-2018
			JP 2018525005 A 06-09-2018
			KR 20180040671 A 20-04-2018
			PE 7952018 A1 09-05-2018
			PH 12018500361 A1 03-09-2018
			SV 2018005634 A 26-06-2018
			TW 201718651 A 01-06-2017
			US 2017051068 A1 23-02-2017
			UY 36859 A 28-04-2017
			WO 2017031104 A1 23-02-2017
			ZA 201801789 B 30-10-2019

WO 2014047231	A1	27-03-2014	AR 092612 A1 29-04-2015
			AU 2013318059 A1 09-04-2015
			AU 2018232926 A1 04-10-2018
			BR 112015005380 A2 08-08-2017
			CA 2885156 A1 27-03-2014
			CL 2015000713 A1 10-07-2015
			CL 2017001729 A1 16-03-2018
			CN 104640881 A 20-05-2015
			CN 110041429 A 23-07-2019
			CO 7400860 A2 30-09-2015
			EA 201590613 A1 31-08-2015
			EP 2897981 A1 29-07-2015
			HK 1212996 A1 24-06-2016
			JP 2015535828 A 17-12-2015
			KR 20150046789 A 30-04-2015
			NZ 706232 A 30-11-2018
			PH 12015500328 A1 30-03-2015
			SG 10201704833W A 28-07-2017
			SG 11201501269X A 30-03-2015
			TW 201418282 A 16-05-2014
TW 201809007 A 16-03-2018			
US 2014088295 A1 27-03-2014			
US 2017320948 A1 09-11-2017			
US 2018215823 A1 02-08-2018			
UY 35042 A 30-04-2014			
WO 2014047231 A1 27-03-2014			

WO 2018067331	A1	12-04-2018	AU 2017331363 A1 11-04-2019
			AU 2017339711 A1 11-04-2019
			BR 112019005670 A2 04-06-2019
			BR 112019005697 A2 16-07-2019
			CA 3037536 A1 29-03-2018
			CA 3037738 A1 12-04-2018
			CL 2019000712 A1 31-05-2019
			CL 2019000726 A1 31-05-2019
			CN 110036032 A 19-07-2019
			CN 110214026 A 06-09-2019
			CO 2019003967 A2 10-05-2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/042447

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		EP 3515487 A1	31-07-2019
		EP 3515946 A1	31-07-2019
		JP 2019533807 A	21-11-2019
		KR 20190067808 A	17-06-2019
		KR 20190073377 A	26-06-2019
		PH 12019500550 A1	27-05-2019
		PH 12019500604 A1	03-06-2019
		US 2018112001 A1	26-04-2018
		US 2018118848 A1	03-05-2018
		WO 2018058003 A1	29-03-2018
		WO 2018067331 A1	12-04-2018

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
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	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
	A 6 1 P 43/00	1 0 5
	A 6 1 K 39/395	N

(31) 優先権主張番号 62/793,645

(32) 優先日 平成31年1月17日(2019.1.17)

(33) 優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

(72) 発明者 エリック・スミス
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 カラ・オルソン
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 フランク・デルフィーノ
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 デーヴィッド・ディリロ
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 ジェシカ・カーシュナー
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 オルガ・シネシュェコワ
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 チェン・チャン
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA25 CA44

4C084 AA19 MA17 MA66 NA05 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZC202 ZC412

ZC751

4C085 AA13 AA14 BB11 DD62 EE01 GG02 GG03 GG04 GG05 GG06
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 DA76 EA20 FA72 FA74