

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7167041号  
(P7167041)

(45)発行日 令和4年11月8日(2022.11.8)

(24)登録日 令和4年10月28日(2022.10.28)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A
A 6 1 K	51/10	(2006.01)	A 6 1 K	51/10	2 0 0
A 6 1 K	51/00	(2006.01)	A 6 1 K	51/00	2 0 0
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	

請求項の数 33 (全79頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-543051(P2019-543051)  
 (86)(22)出願日 平成30年2月9日(2018.2.9)  
 (65)公表番号 特表2020-507571(P2020-507571 A)  
 (43)公表日 令和2年3月12日(2020.3.12)  
 (86)国際出願番号 PCT/US2018/017525  
 (87)国際公開番号 WO2018/148476  
 (87)国際公開日 平成30年8月16日(2018.8.16)  
 審査請求日 令和3年2月8日(2021.2.8)  
 (31)優先権主張番号 62/457,287  
 (32)優先日 平成29年2月10日(2017.2.10)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)

(73)特許権者 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  
 R E G E N E R O N P H A R M A C E U T I C A L S , I N C .  
 アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 - 6 7 0 7 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 7 7 7 番  
 (74)代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74)代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹  
 (72)発明者 ケリー, マーカス  
 アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 5 9 1 , タリータウン, オールド ソー ミ  
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 免疫 P E T イメージングのための放射標識抗 L A G 3 抗体

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

リンパ球活性化遺伝子 - 3 ( L A G 3 ) に結合する抗体またはその抗原結合性断片、およびポジロン放出体を含む、放射標識抗体コンジュゲートであって、前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 4 1 8 の重鎖可変領域 ( H C V R ) アミノ酸配列内の 3 つの重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) および配列番号 4 2 6 の軽鎖可変領域 ( L C V R ) アミノ酸配列内の 3 つの軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) を含む、放射標識抗体コンジュゲート。

## 【請求項 2】

キレート形成性部分をさらに含む、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

10

## 【請求項 3】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、式 ( A ) の 1 つまたは複数の部分：

- L - M<sub>z</sub>

( A )

(式中、L はキレート形成性部分であり、M はポジロン放出体であり、z は、独立して、出現ごとに、0 または 1 であり、z の少なくとも 1 つは、1 である) に共有結合している、請求項 1 または 2 に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 4】

前記キレート形成性部分が、デスフェリオキサミンを含む、請求項 2 に記載のコンジュゲート。

20

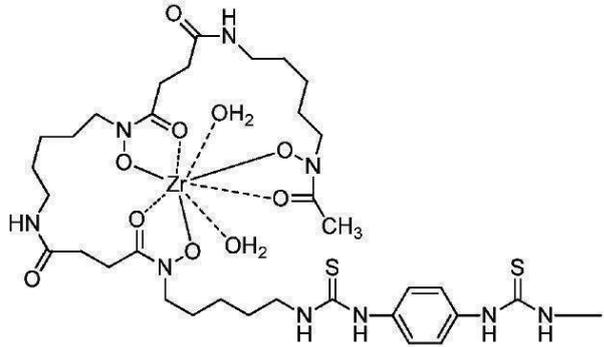
## 【請求項 5】

前記ポジトロン放出体が $^{89}\text{Zr}$ である、請求項 1 から 4 のいずれかに記載のコンジュゲート。

## 【請求項 6】

- L - M が、

## 【化 6】



10

であり、 $\text{Zr}$ が前記ポジトロン放出体 $^{89}\text{Zr}$ である、請求項 3 に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 7】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、式 (A) の 1 つ、2 つまたは 3 つの部分に共有結合している、請求項 1 から 6 のいずれかに記載のコンジュゲート。

20

## 【請求項 8】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、以下：

(a) 37 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約 8 nM 未満の結合解離平衡定数 ( $K_D$ ) で、ヒトLAG3 単量体に結合すること、

(b) 25 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約 10 nM 未満の  $K_D$  で、ヒトLAG3 単量体に結合すること、

(c) 37 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約 1 nM 未満の  $K_D$  で、ヒトLAG3 二量体に結合すること、

(d) 25 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約 1 . 1 nM 未満の  $K_D$  で、ヒトLAG3 二量体に結合すること

30

からなる群から選択される、1 つまたは複数の特性を有する、請求項 1 から 7 のいずれかに記載のコンジュゲート。

## 【請求項 9】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 420 を含む重鎖相補性決定領域 (HCDR) - 1 ; 配列番号 422 を含む HCDR 2 ; および配列番号 424 を含む HCDR 3 ; 配列番号 428 を含む軽鎖相補性決定領域 (LCDR) - 1 ; 配列番号 430 を含む LCDR 2 ; および配列番号 432 を含む LCDR 3 を含む、請求項 1 から 8 のいずれかに記載のコンジュゲート。

## 【請求項 10】

前記抗体が、配列番号 418 の HCV R ; および配列番号 426 の LCV R を含む、請求項 1 から 9 のいずれかに記載のコンジュゲート。

40

## 【請求項 11】

LAG3 を発現する組織をイメージングする方法において使用するための、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の放射標識抗体コンジュゲートを含む組成物であって、前記方法は、前記組織に前記組成物を投与するステップ、およびポジトロン断層法 (PET) イメージングにより LAG3 発現を可視化するステップを含む、組成物。

## 【請求項 12】

ポジトロン断層法 (PET) イメージングにより、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの局在化をイメージングすることにより、固形腫瘍が LAG3 ポジティブな細胞を

50

含むことを判定する方法において使用するための、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の放射標識抗体コンジュゲートを含む医薬組成物であって、前記腫瘍における前記放射標識抗体コンジュゲートの存在により、前記腫瘍が L A G 3 ポジティブな細胞を含むことを示す、医薬組成物。

【請求項 1 3】

前記固形腫瘍が L A G 3 ポジティブな細胞を含むことが決定された場合、抗腫瘍療法が、L A G 3 の阻害剤、P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達軸の阻害剤、C T L A - 4 阻害剤、T I M 3 阻害剤、B T L A 阻害剤、T I G I T 阻害剤、C D 4 7 阻害剤、G I T R 阻害剤、別の T 細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト、インドールアミン - 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ ( I D O ) 阻害剤、血管内皮細胞成長因子 ( V E G F ) アンタゴニスト、A n g 2 阻害剤、トランスフォーミング成長因子ベータ ( T G F ) 阻害剤、上皮成長因子受容体 ( E G F R ) 阻害剤、C D 2 0 阻害剤、腫瘍特異的抗原に対する抗体、がんワクチン、二重特異性抗体、細胞毒、化学療法剤、シクロホスファミド、放射線療法、I L - 6 R 阻害剤、I L - 4 R 阻害剤、I L - 1 0 阻害剤、I L - 2、I L - 7、I L - 2 1、I L - 1 5、および抗体 - 薬物コンジュゲート ( A D C ) からなる群から選択される、請求項 1 2 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 1 4】

前記抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体、R E G N 2 8 1 0、B G B - A 3 1 7、ニボルマブ、ピジリズマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、M D X - 1 1 0 5、R E G N 3 5 0 4、イピリムマブ、抗 C D - 2 8 抗体、抗 2 B 4 抗体、抗 L Y 1 0 8 抗体、抗 L A I R 1 抗体、抗 I C O S 抗体、抗 C D 1 6 0 抗体、抗 V I S T A 抗体、アフリベルセプト、ペバシズマブ、ラニビズマブ、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、ネスバクマブ、エルロチニブ、セツキシマブ、リツキシマブ、抗 C A 9 抗体、抗 C A 1 2 5 抗体、抗黒色腫関連抗原 3 ( M A G E 3 ) 抗体、抗癌胎児性抗原 ( C E A ) 抗体、抗ビメンチン抗体、抗腫瘍 - M 2 - P K 抗体、抗前立腺特異的抗原 ( P S A ) 抗体、抗ムチン - 1 抗体、抗 M A R T - 1 抗体、抗 C A 1 9 - 9 抗体、カルメット - グラン桿菌、C D 3 x C D 2 0 二重特異性抗体、P S M A x C D 3 二重特異性抗体、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ピンクリスチン、シクロホスファミド、放射線療法、サリルマブ、デュピルマブ、抗 C D 1 9 - D M 4 A D C、および抗 D S 6 - D M 4 A D C からなる群から選択される、請求項 1 3 に記載の医薬組成物。

20

30

【請求項 1 5】

前記抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片、抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片および抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合性断片からなる群から選択される、請求項 1 3 または 1 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

前記抗腫瘍療法が、配列番号 2 / 1 0、1 8 / 2 6、3 4 / 4 2、5 0 / 5 8、6 6 / 7 4、8 2 / 9 0、9 8 / 1 0 6、1 1 4 / 1 2 2、1 3 0 / 1 3 8、1 4 6 / 1 5 4、1 6 2 / 1 7 0、1 7 8 / 1 8 6、1 9 4 / 2 0 2、2 1 0 / 2 1 8、2 2 6 / 2 3 4、2 4 2 / 2 5 0、2 5 8 / 2 6 6、2 7 4 / 2 8 2、2 9 0 / 2 9 8、3 0 6 / 3 1 4、3 2 2 / 3 3 0、3 3 8 / 3 4 6、3 5 4 / 3 6 2、3 7 0 / 3 7 8、3 8 6 / 3 9 4、4 0 2 / 4 1 0、4 1 8 / 4 2 6、4 3 4 / 4 4 2、4 5 0 / 5 2 2、4 5 8 / 5 2 2、4 6 6 / 5 2 2、4 7 4 / 5 2 2、4 8 2 / 5 2 2、4 9 0 / 5 2 2、4 9 8 / 5 3 0、5 0 6 / 5 3 0、5 1 4 / 5 3 0、5 3 8 / 5 4 6、および 5 5 4 / 5 6 2 からなる群から選択される重鎖可変領域 ( H C V R ) / 軽鎖可変領域 ( L C V R ) 配列対内に、3 つの重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) および 3 つの軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) を含む抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 1 7】

前記抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗 L A G 3

50

抗体またはその抗原結合性断片が、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、84 / 86 / 88 / 92 / 94 / 96、100 / 102 / 104 / 108 / 110 / 112、116 / 118 / 120 / 124 / 126 / 128、132 / 134 / 136 / 140 / 142 / 144、148 / 150 / 152 / 156 / 158 / 160、164 / 166 / 168 / 172 / 174 / 176、180 / 182 / 184 / 188 / 190 / 192、196 / 198 / 200 / 204 / 206 / 208、212 / 214 / 216 / 220 / 222 / 224、228 / 230 / 232 / 236 / 238 / 240、244 / 246 / 248 / 252 / 254 / 256、260 / 262 / 264 / 268 / 270 / 272、276 / 278 / 280 / 284 / 286 / 288、292 / 294 / 296 / 300 / 302 / 304、308 / 310 / 312 / 316 / 318 / 320、324 / 326 / 328 / 332 / 334 / 336、340 / 342 / 344 / 348 / 350 / 352、356 / 358 / 360 / 364 / 366 / 368、372 / 374 / 376 / 380 / 382 / 384、388 / 390 / 392 / 396 / 398 / 400、404 / 406 / 408 / 412 / 414 / 416、420 / 422 / 424 / 428 / 430 / 432、436 / 438 / 440 / 444 / 446 / 448、452 / 454 / 456 / 524 / 526 / 528、460 / 462 / 464 / 524 / 526 / 528、468 / 470 / 472 / 524 / 526 / 528、476 / 478 / 480 / 524 / 526 / 528、484 / 486 / 488 / 524 / 526 / 528、492 / 494 / 496 / 524 / 526 / 528、500 / 502 / 504 / 532 / 534 / 536、508 / 510 / 512 / 532 / 534 / 536、516 / 518 / 520 / 532 / 534 / 536、540 / 542 / 544 / 548 / 550 / 552、および 556 / 558 / 560 / 564 / 566 / 568 からなる群から選択される 3 つの H C D R および 3 つの L C D R の組合せを含む、請求項 15 に記載の医薬組成物。

10

20

【請求項 18】

前記抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 418 の H C V R 内の 3 つの H C D R ; および配列番号 426 の L C V R 内の 3 つの L C D R を含む、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記抗腫瘍療法が、R E G N 2810、ニボルマブおよびペムブロリズマブからなる群から選択される、抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 20】

前記抗腫瘍療法が、アテゾリズマブ、アベルマブおよびデュルバルマブからなる群から選択される抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 21】

前記抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片が、第 2 の抗腫瘍療法と組み合わせて投与される、請求項 18 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 22】

前記第 2 の抗腫瘍療法が、P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達軸の阻害剤、C T L A - 4 阻害剤、T I M 3 阻害剤、B T L A 阻害剤、T I G I T 阻害剤、C D 47 阻害剤、G I T R 阻害剤、別の T 細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト、インドールアミン - 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ ( I D O ) 阻害剤、血管内皮細胞成長因子 ( V E G F ) アンタゴニスト、A n g 2 阻害剤、トランスフォーミング成長因子ベータ ( T G F ) 阻害剤、上皮成長因子受容体 ( E G F R ) 阻害剤、C D 20 阻害剤、腫瘍特異的抗原に対する抗体、がんワクチン、二重特異性抗体、細胞毒、化学療法剤、シクロホスファミド、放射線療法、I L - 6 R 阻害剤、I L - 4 R 阻害剤、I L - 10 阻害剤、I L - 2、I L - 7、I L - 21、I L - 15、および抗体 - 薬物コンジュゲート ( A D C ) からなる群から選択

50

される、請求項 2 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 3】

前記第 2 の抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体、REGN 2 8 1 0、B G B - A 3 1 7、ニボルマブ、ピジリズマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、MDX - 1 1 0 5、REGN 3 5 0 4、イピリムマブ、抗 C D - 2 8 抗体、抗 2 B 4 抗体、抗 L Y 1 0 8 抗体、抗 L A I R 1 抗体、抗 I C O S 抗体、抗 C D 1 6 0 抗体、抗 V I S T A 抗体、アフリベルセプト、ベバシズマブ、ラニビズマブ、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、ネスバクマブ、エルロチニブ、セツキシマブ、リツキシマブ、抗 C A 9 抗体、抗 C A 1 2 5 抗体、抗黒色腫関連抗原 3 ( M A G E 3 ) 抗体、抗癌胎児性抗原 ( C E A ) 抗体、抗ビメンチン抗体、抗腫瘍 - M 2 - P K 抗体、抗前立腺特異的抗原 ( P S A ) 抗体、抗ムチン - 1 抗体、抗 M A R T - 1 抗体、抗 C A 1 9 - 9 抗体、カルメット - グラン桿菌、C D 3 x C D 2 0 二重特異性抗体、P S M A x C D 3 二重特異性抗体、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキソルビシン、ダウノルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキセート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ピンクリスチン、シクロホスファミド、放射線療法、サリルマブ、デュピルマブ、抗 C D 1 9 - D M 4 A D C、および抗 D S 6 - D M 4 A D C からなる群から選択される、請求項 2 1 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 2 4】

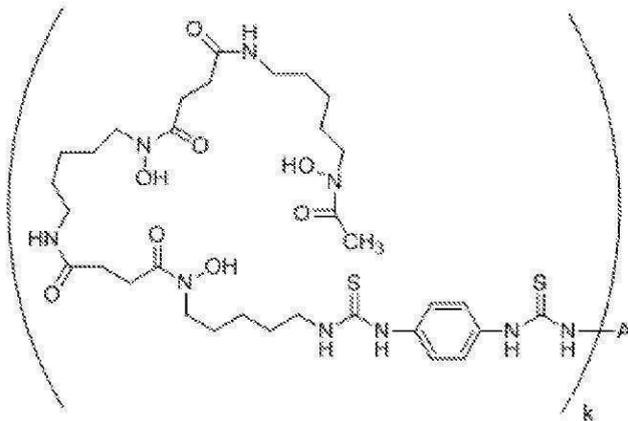
前記腫瘍が、血液がん、脳がん、腎細胞がん、卵巣がん、膀胱がん、前立腺がん、乳がん、肝細胞癌、骨がん、結腸がん、非小細胞肺癌、頭頸部の扁平上皮癌、結腸直腸がん、中皮腫、B 細胞リンパ腫および黒色腫からなる群から選択される、請求項 1 2 から 2 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

【請求項 2 5】

式 ( I I I ) の化合物：

【化 7】



30

( 式中、A は、配列番号 4 1 8 の H C V R アミノ酸配列内の 3 つの H C D R および配列番号 4 2 6 の L C V R アミノ酸配内の 3 つの L C D R を含む、L A G 3 に結合する抗体またはその抗原結合性断片であり、k は 1 ~ 3 0 である ) 。

40

【請求項 2 6】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、以下：

( a ) 3 7 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約 8 n M 未満の結合解離平衡定数 ( K D ) で、ヒト L A G 3 単量体に結合すること、

( b ) 2 5 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約 1 0 n M 未満の K D で、ヒト L A G 3 単量体に結合すること、

( c ) 3 7 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約 1 n M 未満の K D で、ヒト L A G 3 二量体に結合すること、

50

(d) 25 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約 1 . 1 n M 未満の  $K_D$  で、ヒト L A G 3 二量体に結合することからなる群から選択される、1 つまたは複数の特性を有する、請求項 2 5 に記載の化合物。  
【請求項 2 7】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 4 1 8 の H C V R および配列番号 4 2 6 の L C V R を含む、請求項 2 5 または請求項 2 6 に記載の化合物。

【請求項 2 8】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 4 2 0 を含む重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) - 1 ; 配列番号 4 2 2 を含む H C D R 2 ; および配列番号 4 2 4 を含む H C D R 3 ; 配列番号 4 2 8 を含む軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) - 1 ; 配列番号 4 3 0 を含む L C D R 2 ; および配列番号 4 3 2 を含む L C D R 3 を含む、請求項 2 5 から 2 7 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 2 9】

k が 2 未満または 2 に等しい、請求項 2 5 から 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 3 0】

k が 1 または 2 である、請求項 2 5 から 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 3 1】

T 細胞疲弊を識別するための、請求項 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の放射標識抗体コンジュゲートを含む医薬組成物。

【請求項 3 2】

前記 T 細胞疲弊はがん、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染または寄生虫感染によるものである、請求項 3 1 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 3 3】

P E T イメージングを使用する、細胞における L A G 3 発現を識別または可視化するための、請求項 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の放射標識抗体コンジュゲートを含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本開示は、放射標識抗 L A G 3 抗体、および免疫 P E T イメージングにおけるその使用に関する。

30

【0 0 0 2】

配列表

配列表の正式な複製は、2 0 1 8 年 2 月 0 9 日の作成日、および約 2 5 4 K B のサイズである、「1 0 3 2 9 W O 0 1 \_ \_ S E Q \_ \_ L I S T \_ \_ S T 2 5 . t x t」というファイル名を有する、A S C I I 形式の配列表として、E F S - W e b から電子的に、本明細書と同時に提出する。この A S C I I 形式の文書に含まれている配列表は、本明細書の一部であり、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。

【背景技術】

【0 0 0 3】

背景

T 細胞共刺激性分子および共阻害性分子 ( まとめて、共シグナル伝達分子と称される ) は、T 細胞活性化、サブセット分化、エフェクター機能および生存の調節に重要な役割を果たしている ( C h e n ら、2 0 1 3 年、N a t u r e R e v . I m m u n o l . 1 3 巻 : 2 2 7 ~ 2 4 2 頁 ) 。共シグナル伝達受容体は、T 細胞受容体 ( T C R ) による抗原提示細胞上の同族ペプチド - M H C 複合体の認識後、T 細胞受容体と共に、免疫シナプスに共局在化し、そこで、これらの受容体は、T C R シグナル伝達と相乗的に作用して、T 細胞活性化および機能を促進または阻害する ( F l i e s ら 2 0 1 1 年、Y a l e J . B i o l . M e d . 8 4 巻 : 4 0 9 ~ 4 2 1 頁 ) 。最終的な免疫応答は、共刺激性シグナルと共阻害性シグナルとの間のバランス ( 「免疫チェックポイント」 ) によって調

40

50

節される (Pardoll 2012年、Nature Reviews Cancer 12巻: 252~264頁)。リンパ球活性化遺伝子-3 (LAG3) は、末梢T細胞寛容を媒介する際に、このような1つの「免疫チェックポイント」として機能する。

【0004】

LAG3 (CD223とも呼ばれる) は、活性化CD4 T細胞およびCD8 T細胞、T細胞、ナチュラルキラーT細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、形質細胞様樹状細胞および制御性T細胞上に発現する503のアミノ酸の膜貫通タンパク質受容体である。LAG3は、免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーのメンバーである。LAG3の主要な機能は、免疫応答を弱めることである。MHCクラスII分子にLAG3が結合すると、負のシグナルがLAG3発現細胞に送達されて、抗原依存性CD4およびCD8 T細胞応答を下方調節する。LAG3は、T細胞の「疲弊」と呼ばれる、T細胞の増殖能力、サイトカインを産生する能力および標的細胞を溶解する能力を負に調節する。LAG3はまた、T調節性(Treg)細胞機能を増強する際に、ある役割を果たすことが報告されている (Pardoll 2012年、Nature Reviews Cancer 12巻: 252~264頁)。

10

免疫-ポジトロン断層法(PET)は、抗体の標的特性とポジトロン断層法用カメラの感度とを組み合わせた、ポジトロン放出体により標識されたモノクローナル抗体を利用する診断的イメージング機器である。例えば、The Oncologist、12巻: 1379頁(2007年); Journal of Nuclear Medicine、52巻(8号): 1171頁(2011年)を参照されたい。免疫PETにより、in vivoで、抗原および抗体の蓄積の可視化ならびに定量が可能になり、こうして、これは、診断剤および療法を補完するための重要な手段として働くことができる。例えば、免疫PETは、特定の療法のための潜在的な患者候補の選択および処置のモニタリングの助けとなり得る。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【文献】Chenら、2013年、Nature Rev. Immunol. 13巻: 227~242頁

Fliesら、2011年、Yale J. Biol. Med. 84巻: 409~421頁

30

Pardoll、2012年、Nature Reviews Cancer 12巻: 252~264頁

The Oncologist、12巻: 1379頁(2007年)

Journal of Nuclear Medicine、52巻(8号): 1171頁(2011年)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

LAG3は、腫瘍免疫療法および感染性免疫療法に対する標的として台頭してきており、とりわけ、前記療法法に対する好適な患者候補を見つけ出すことを可能にする診断的手段を含めた、抗LAG3療法法のための診断用手段が必要とされている。

40

【0007】

簡単な要旨

免疫PETイメージングにおいて使用するための放射標識抗LAG3抗体コンジュゲートが、本開示に含まれている。

【0008】

一態様では、本コンジュゲートは、抗LAG3抗体またはその抗原結合性断片、キレート形成性部分およびポジトロン放出体を含む。

【0009】

50

前記コンジュゲートを合成するための方法、および合成に有用な合成中間体も本明細書において提供されている。

【0010】

L A G 3を発現する組織をイメージングする方法であって、本明細書に記載されている放射標識抗L A G 3抗体コンジュゲートを組織に投与するステップ、およびポジトロン断層法(P E T)イメージングによりL A G 3発現を可視化するステップを含む方法も本明細書において提供されている。

【0011】

L A G 3発現細胞を含む組織、例えばL A G 3発現腫瘍内リンパ球をイメージングする方法であって、本明細書に記載されている放射標識抗L A G 3抗体コンジュゲートを組織に投与するステップ、およびP E TイメージングによりL A G 3発現を可視化するステップを含む方法も本明細書において提供されている。

10

【0012】

組織中のL A G 3を検出する方法であって、本明細書に記載されている放射標識抗L A G 3抗体コンジュゲートを組織に投与するステップ、およびP E TイメージングによりL A G 3発現を可視化するステップを含む方法も本明細書において提供されている。一実施形態では、組織はヒト対象に存在する。ある種の実施形態では、対象は非ヒト哺乳動物である。ある種の実施形態では、対象は、がん、炎症性疾患もしくは感染などの疾患または障害を有する。

【0013】

固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、本明細書に記載されている放射標識抗体コンジュゲートを投与するステップ、およびP E Tイメージングによって腫瘍における投与された放射標識抗体コンジュゲートを可視化するステップを含む、L A G 3の阻害剤を含む、抗腫瘍療法に好適な患者を特定する方法であって、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、患者をL A G 3の阻害剤を含む抗腫瘍療法に好適であると特定する方法も本明細書において提供されている。

20

【0014】

腫瘍を処置する方法であって、固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、固形腫瘍がL A G 3ポジティブであると判定するステップ、およびそれを必要としている対象に抗腫瘍療法を行うステップを含む方法も本明細書において提供されている。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、L A G 3の阻害剤を含む。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、P D - 1 / P D - L 1シグナル伝達軸(例えば、抗P D - 1抗体または抗P D - L 1抗体)の阻害剤を含む。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、L A G 3の阻害剤、および/またはP D - 1 / P D - L 1シグナル伝達軸の阻害剤を含む。ある種の実施形態では、対象に、本明細書に記載されている放射標識抗L A G 3抗体コンジュゲートを投与し、放射標識抗体コンジュゲートの局在化をポジトロン断層法(P E T)イメージングによりイメージングして、腫瘍がL A G 3ポジティブであるかどうかを判定する。ある種の実施形態では、対象に、放射標識抗P D - 1抗体コンジュゲートがさらに投与され、放射標識抗体コンジュゲートの局在化をポジトロン断層法(P E T)イメージングによりイメージングして、腫瘍がP D - 1ポジティブであるかどうかを判定する。

30

40

【0015】

抗腫瘍療法により処置される、固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、本明細書に記載されている放射標識抗L A G 3コンジュゲートを対象に投与するステップ、P E Tイメージングにより腫瘍における投与された放射標識コンジュゲートの局在化をイメージングするステップ、および腫瘍成長を判定するステップを含む、対象において、抗腫瘍療法の効力をモニタリングするための方法であって、コンジュゲートの取り込み時のベースラインからの低下、または放射標識されたシグナルが、抗腫瘍療法の効力を示す、方法も本明細書において提供されている。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、L A G 3の阻害剤(例えば、抗L A G 3抗体)を含む。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、L A G 3の阻害剤、およびP D - 1 / P D - L 1シグナル伝達軸の阻害剤を含む。ある種の実施形

50

態では、抗腫瘍療法は、PD-1阻害剤（例えば、REGN2810、BGB-A317、ニボルマブ、ピジリズマブおよびペムブロリズマブ）、PD-L1阻害剤（例えば、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、MDX-1105およびREGN3504、ならびに特許公開US2015-0203580に開示されているもの）、CTLA-4阻害剤（例えば、イピリムマブ）、TIM3阻害剤、BTLA阻害剤、TIGIT阻害剤、CD47阻害剤、GITR阻害剤、別のT細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト（例えば、CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160またはVISTAに対する抗体）、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO）阻害剤、血管内皮細胞成長因子（VEGF）アンタゴニスト〔例えば、アフリベルセプト、またはUS7,087,411に記載されている他のVEGF阻害性融合タンパク質、または抗VEGF抗体もしくはその抗原結合性断片（例えば、ベバシズマブまたはラニビズマブ）、またはVEGF受容体の低分子キナーゼ阻害剤（例えば、スニチニブ、ソラフェニブまたはパゾパニブ）などの「VEGF-トラップ」〕、Ang2阻害剤（例えば、ネスバクマブ）、トランスフォーミング成長因子ベータ（TGF $\beta$ ）阻害剤、上皮成長因子受容体（EGFR）阻害剤（例えば、エルロチニブ、セツキシマブ）、CD20阻害剤（例えば、リツキシマブなどの抗CD20抗体）、腫瘍特異的抗原への抗体〔例えば、CA9、CA125、黒色腫関連抗原3（MAGE3）、癌胎児性抗原（CEA）、ビメンチン、腫瘍-M2-PK、前立腺特異的抗原（PSA）、ムチン-1、MART-1およびCA19-9〕、ワクチン（例えば、カルメット-ゲラン桿菌、がんワクチン）、抗原提示を向上するアジュバント（例えば、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子）、二重特異性抗体（例えば、CD3 $\times$ CD20二重特異性抗体またはPSMA $\times$ CD3二重特異性抗体）、細胞毒、化学療法剤（例えば、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセルおよびピンクリスチン）、シクロホスファミド、放射線療法、IL-6R阻害剤（例えば、サリルマブ）、IL-4R阻害剤（例えば、デュピルマブ）、IL-10阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21およびIL-15などのサイトカインおよび抗体-薬物コンジュゲート（ADC）（例えば、抗CD19-DM4 ADCおよび抗DS6-DM4 ADC）を含む。

#### 【0016】

さらに、固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、および腫瘍がLAG3ポジティブであるかどうかを判定するステップを含む、患者の抗腫瘍療法に対する応答を予測するための方法であって、腫瘍がLAG3ポジティブである場合、患者の抗腫瘍療法への応答がポジティブであると予測する方法も本明細書において提供されている。ある種の実施形態では、腫瘍は、本開示の放射標識抗LAG3抗体コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートを局在化させることにより、ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がLAG3ポジティブであることが示される。一部の実施形態では、抗腫瘍療法は、PD-1阻害剤（例えば、REGN2810、BGB-A317、ニボルマブ、ピジリズマブおよびペムブロリズマブ）、PD-L1阻害剤（例えば、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、MDX-1105およびREGN3504）、CTLA-4阻害剤（例えば、イピリムマブ）、TIM3阻害剤、BTLA阻害剤、TIGIT阻害剤、CD47阻害剤、GITR阻害剤、別のT細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト（例えば、CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160またはVISTAに対する抗体）、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO）阻害剤、血管内皮細胞成長因子（VEGF）アンタゴニスト〔例えば、アフリベルセプト、またはUS7,087,411に記載されている他のVEGF阻害性融合タンパク質、または抗VEGF抗体もしくはその抗原結合性断片（例えば、ベバシズマブまたはラニビズマブ）、またはVEGF受容体の低分子キナーゼ阻害剤（例えば、スニチニブ、ソラフェニブまたはパゾパニブ）などの「VEGF-トラップ」〕、Ang2阻害剤（例えば、ネスバクマ

10

20

30

40

50

ブ)、トランスフォーミング成長因子ベータ(TGF $\beta$ )阻害剤、上皮成長因子受容体(EGFR)阻害剤(例えば、エルロチニブ、セツキシマブ)、CD20阻害剤(例えば、リツキシマブなどの抗CD20抗体)、腫瘍特異的抗原への抗体[例えば、CA9、CA125、黒色腫関連抗原3(MAGE3)、癌胎児性抗原(CEA)、ビメンチン、腫瘍-M2-PK、前立腺特異的抗原(PSA)、ムチン-1、MART-1およびCA19-9]、ワクチン(例えば、カルメット-ゲラン桿菌、がんワクチン)、抗原提示を向上するアジュバント(例えば、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子)、二重特異性抗体(例えば、CD3 $\times$ CD20二重特異性抗体またはPSMA $\times$ CD3二重特異性抗体)、細胞毒、化学療法剤(例えば、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセルおよびピンクリスチン)、シクロホスファミド、放射線療法、IL-6R阻害剤(例えば、サリルマブ)、IL-4R阻害剤(例えば、デュピルマブ)、IL-10阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21およびIL-15などのサイトカインおよび抗体-薬物コンジュゲート(ADC)(例えば、抗CD19-DM4 ADCおよび抗DS6-DM4 ADC)から選択される。

10

## 【0017】

固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、および腫瘍がLAG3ポジティブであるかどうかを判定するステップを含む、患者のLAG3阻害剤を含む抗腫瘍療法に対する応答を予測するための方法であって、腫瘍が、LAG3ポジティブである場合、患者のLAG3の阻害剤を含む抗腫瘍療法への応答がポジティブであることを示す方法も本明細書において提供されている。ある種の実施形態では、腫瘍は、本開示の放射標識抗LAG3抗体コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートを局在化させることにより、ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がLAG3ポジティブであることが示される。

20

## 【図面の簡単な説明】

## 【0018】

【図1】図1は、DFO修飾抗LAG3抗体(mAb1-DFO)のUV/VISスペクトルを示す図である。

## 【0019】

【図2】図2は、DFO修飾抗LAG3抗体のHPLC-SECを示す図である。

30

## 【0020】

【図3】図3は、検討1に関する、 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識した後の、アイソタイプ-DFO-コンジュゲートの放射SEC-HPLCを示す図である。

## 【0021】

【図4】図4は、検討1に関する、 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識した後の、抗LAG3-DFO-コンジュゲートの放射SEC-HPLCを示す図である。

## 【0022】

【図5】図5は、検討2に関する、 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識した後の、抗LAG3-DFO-コンジュゲートの放射SEC-HPLCを示す図である。

40

## 【0023】

【図6】図6は、検討1に関する、 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識した後の、アイソタイプ-DFO-コンジュゲートのUV280-SEC-HPLCクロマトグラムおよび放射iTLCトレースを示す図である。

## 【0024】

【図7】図7は、検討1に関する、 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識した後の抗LAG3-DFO-コンジュゲートのUV280-SEC-HPLCクロマトグラムおよび放射iTLCトレースを示す図である。

## 【0025】

【図8】図8は、検討2に関する、 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識した後の、抗LAG3-DFO-コ

50

ンジュゲートのUV280-SEC-HPLCクロマトグラムおよび放射iTLCトレースを示す図である。

【0026】

【図9】図9は、タンパク質用量が5mg/kg(Ms01)または0.03mg/kg(Ms14)で注入された<sup>89</sup>Zr-DFO-mAb1の代表的な画像を示し、これらにより、0.03mg/kgの<sup>89</sup>Zr-DFO-mAb1を使用すると、<sup>89</sup>Zr-DFO-mAb1はRaji/hPBMCT腫瘍を特異的標的とすること、および5mg/kgの<sup>89</sup>Zr-DFO-mAb1で遮断することが実証される。0.03mg/kgという低い用量の<sup>89</sup>Zr-DFO-mAb1で、脾臓およびリンパ節における特異的な取り込みが観察される。

10

【0027】

【図10】図10は、PBMCT/Raji異種移植片に由来する組織試料(腫瘍埋め込み後の27日目および15日目に得られた)において、および黒色腫の臨床試料においてLAG3が発現していることを示す図である。

【0028】

【図11】図11は、腫瘍微小環境において、REGN2810抗ヒトPD-1AbおよびmAb1抗ヒトLAG-3により、それぞれ、LAG-3+T細胞およびPD-1+T細胞が増加していることを実証しているデータを示す図である。

【0029】

【図12】図12は、実施例7において検討した黒色腫試料の特徴を提示する図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0030】

詳細な説明

I. 定義

本明細書において特に定義されない限り、本明細書において使用される技術的用語および科学的用語はすべて、開示されている主題が属する当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。

【0031】

用語「LAG3」とは、CD223としても公知である、リンパ球活性化遺伝子-3タンパク質、免疫チェックポイント受容体またはT細胞共阻害剤を指す。完全長LAG3のアミノ酸配列は、受託番号NP\_\_002277.4としてGenBankに提供されており、本明細書において、配列番号582とも呼ばれる。用語「LAG3」はまた、配列番号574、575または576のアミノ酸配列を有する、LAG3のタンパク質バリエーションを含む。用語「LAG3」は、組換えLAG3またはその断片を含む。この用語はまた、例えば、ヒスチジンタグ、マウスもしくはヒトFcに結合しているLAG3もしくはその断片、またはROR1のシグナル配列などのシグナル配列を包含する。例えば、この用語は、完全長エクドメインLAG3のアミノ酸残基29~450に結合している、C末端における、マウスFc(mIgG2a)を含む配列番号575によって例証されている配列を含む。配列番号574によって例証されるタンパク質バリエーションは、完全長エクドメインLAG3のアミノ酸残基29~450に結合している、C末端における、ヒスチジンタグを含む。非ヒト種に由来すると特定されていない場合、用語「LAG3」は、ヒトLAG3を意味する。

30

【0032】

LAG3は、免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーのメンバーである。LAG3は、4つの細胞外Ig様ドメインD1~D4を有する1型膜貫通タンパク質であり、活性化T細胞、ナチュラルキラー細胞、B細胞、形質細胞様樹状細胞および制御性T細胞を含めた、腫瘍内リンパ球に発現する。LAG3受容体は、抗原提示細胞(APC)に存在するMHCクラスII分子に結合する。

40

【0033】

用語「B7-1」は、共刺激性因子CD80としても公知である、T-リンパ球活性化

50

抗原を指す。B7-1は、IgV様(aa37~138)およびIgC様(aa154~232)領域、膜貫通ドメイン(aa243~263)およびC末端細胞内領域(aa263~288)を含む細胞外N末端ドメインを有する、288アミノ酸膜受容体である。完全長B7-1のアミノ酸配列は、受託番号NP\_005182.1としてGenBankにおいて提供されている。

【0034】

本明細書で使用する場合、用語「T細胞共阻害剤」は、T細胞活性化または抑制により免疫応答をモジュレートする、リガンドおよび/または受容体を指す。T細胞共シグナル伝達分子としても公知である、用語「T細胞共阻害剤」には、以下に限定されないが、リンパ球活性化遺伝子3タンパク質(LAG-3であり、CD223としても公知である)、プログラム死-1(PD-1)、細胞傷害性T-リンパ球抗原-4(CTLA-4)、BおよびTリンパ球アテニューエータ(BTLA)、CD-28、2B4、LY108、T細胞免疫グロブリンおよびムチン-3(TIM3)、免疫グロブリンおよびITIMドメインを有するT細胞免疫受容体(TIGIT; VSIG9としても公知である)、白血球関連免疫グロブリン様受容体1(LAIR1; CD305としても公知である)、誘導性T細胞共刺激分子(ICOS; CD278としても公知である)、B7-1(CD80)およびCD160が含まれる。

【0035】

用語「抗体」は、本明細書で使用する場合、ジスルフィド結合により相互結合している4つのポリペプチド鎖、すなわち2つの重(H)鎖および2つの軽(L)鎖からなる免疫グロブリン分子(すなわち、「完全抗体分子」)、およびその多量体(例えば、IgM)またはその抗原結合性断片を指すことが意図されている。重鎖はそれぞれ、重鎖可変領域(「HCVR」または「V<sub>H</sub>」)および重鎖定常領域(ドメインC<sub>H1</sub>、C<sub>H2</sub>およびC<sub>H3</sub>からなる)からなる。軽鎖はそれぞれ、軽鎖可変領域(「LCVR」または「V<sub>L</sub>」)および軽鎖定常領域(C<sub>L</sub>)からなる。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>領域は、相補性決定領域(CDR)と称される超可変性の領域、フレームワーク領域(FR)と称される、より多くが保存されている領域が分散した領域にさらに小さく分類され得る。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>はそれぞれ、以下の順序: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で、アミノ末端からカルボキシ末端まで並んだ、3つのCDRおよび4つのFRからなる。ある種の実施形態では、抗体(またはその抗原結合性断片)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は人為的に改変されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2つまたはそれより多いCDRの段階的な解析に基づいて定義され得る。

【0036】

1つもしくは複数のCDR残基の置換、または1つもしくは複数のCDRのないこともありうる。抗体は、科学文献に記載されており、これらの中で、1つまたは2つのCDRが、結合のために分配され得る。Padlanら(1995年、FASEB J. 9巻: 133~139頁)は、公開されている結晶構造に基づいて、抗体とその抗原との間の接触領域を解析し、CDRの約5分の1から3分の1しか、実際には、抗原に接触していないと結論付けた。Padlanはまた、1つまたは2つのCDRが、抗原に接触しているアミノ酸を有さない、多数の抗体も見いだした(同様に、Vajdosら、2002年、J Mol Biol 320巻: 415~428頁を参照されたい)。

【0037】

抗原に接触していないCDR残基は、これまでの検討(例えば、CDRH2における残基H60~H65は必要とされないことが多い)に基づいて、分子モデリングによって、および/または経験的に、Chothia CDRの外側にあるKababのCDRの領域から特定され得る。CDRまたはその残基がない場合、別のヒト抗体配列またはこのような配列のコンセンサスにおいて、対応する位置を占めているアミノ酸によって、通常、置換されている。CDR内の置換位置、および置換するアミノ酸はまた、経験的に選択され得る。経験的な置換は、保存的置換または非保存的置換とすることができる。

【0038】

10

20

30

40

50

本明細書において開示されている抗LAG3モノクローナル抗体は、対応する生殖系列配列と比べて、重鎖可変ドメイン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CDR領域に、1つまたは複数のアミノ酸置換、挿入および/または欠失を含むことがある。このような変異は、本明細書において開示されているアミノ酸配列と、例えば、公的な抗体配列データベースから入手可能な生殖系列配列とを比較することにより容易に確認することができる。本開示は、抗体およびその抗原結合性断片を含み、これらは、本明細書において開示されているアミノ酸配列のいずれかに由来しており、1つまたは複数のフレームワークおよび/またはCDR領域内の1つまたは複数のアミノ酸は、抗体が導かれる生殖系列配列の対応する残基に、または別のヒト生殖系列配列の対応する残基に、または対応する生殖系列残基の保存的アミノ酸置換に変異する(このような配列の変化は、本明細書において、まとめて「生殖系列変異」と称される)。当業者は、本明細書において開示されている重鎖および軽鎖可変領域配列から始めて、1つまたは複数の個々の生殖系列変異またはその組合せを含む、多数の抗体および抗原結合性断片を容易に生成することができる。ある種の実施形態では、V<sub>H</sub>および/またはV<sub>L</sub>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、抗体が導かれる元の生殖系列配列に見いだされる残基に変異して戻り、他の実施形態では、ある種の残基だけが、元の生殖系列配列に変異して戻り、例えば、変異残基は、FR1の最初の8つのアミノ酸内に、またはFR4の最後の8つのアミノ酸内にしか観察されない、または変異残基は、CDR1、CDR2またはCDR3内にしか観察されない。他の実施形態では、フレームワークおよび/またはCDR残基の1つまたは複数は、異なる生殖系列配列(すなわち、抗体が元々、導かれた生殖系列配列とは異なる、生殖系列配列)の対応する残基に変異する。さらに、本開示の抗体は、フレームワークおよび/またはCDR領域内の2つまたはそれより多い生殖系列変異の任意の組合せを含むことがあり、例えば、ある種の個々の残基は、特定の生殖系列配列の対応する残基に変異する一方、元の生殖系列配列とは異なるある種の他の残基は維持されるか、または異なる生殖系列配列の対応する残基に変異される。1つまたは複数の生殖系列変異を含有する抗体および抗原結合性断片は、一旦得られると、結合特異性の改善、結合親和性の向上、拮抗性の改善もしくは増強、または生物学的アゴニスト特性(場合による)、免疫原性の低下などの1つまたは複数の所望の特性について容易に試験され得る。この一般的な方法で得られた抗体および抗原結合性断片は、本開示内に包含される。

#### 【0039】

本開示はまた、HCVR、LCVR、および/または1つもしくは複数の保存的置換を有する、本明細書において開示されているCDRアミノ酸配列のいずれかのバリエーションを含む抗LAG3モノクローナル抗体を含む。例えば、本開示は、HCVR、LCVR、ならびに/または本明細書に開示されているHCVR、LCVRおよび/もしくはCDRアミノ酸配列のいずれかと比べて、例えば、10またはそれより少ない、8またはそれより少ない、6またはそれより少ない、4またはそれより少ないなどの保存的アミノ酸置換を有するCDRアミノ酸配列を有する抗LAG3抗体を含む。

#### 【0040】

用語「ヒト抗体」は、本明細書で使用する場合、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意図されている。本開示のヒトmAbは、例えば、CDR、特にCDR3において、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によりコードされないアミノ酸残基(例えば、*in vitro*でのランダムもしくは部分特異的突然変異誘発により、または*in vivo*での体細胞変異により誘発される変異)を含むことがある。しかし、用語「ヒト抗体」は、本明細書で使用する場合、mAbを含むことは意図されておらず、この場合、別の哺乳種(例えば、マウス)の生殖系列に由来するCDR配列が、ヒトFR配列にグラフトされている。

#### 【0041】

用語「多重特異性抗原結合性分子」とは、本明細書で使用する場合、二重特異性、三重特異的または多重特異性抗原結合性分子、およびそれらの抗原結合性断片を指す。多重特異性抗原結合性分子は、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

10

20

30

40

50

か、または1つより多い標的ポリペプチドのエピトープに特異的な抗原結合性ドメインを含み得る。多重特異性抗原結合性分子は、単一の多機能性ポリペプチドとすることができるか、または共有結合によりもしくは非共有結合により互いに結合している2つまたはそれより多いポリペプチドからなる多量複合体とすることができる。用語「多重特異性抗原結合性分子」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していてもよい、またはこれと共発現し得る、本開示の抗体を含む。例えば、抗体またはその断片は、タンパク質またはその断片などの1つまたは複数の別の分子実体に官能基により連結（例えば、化学的カップリング、遺伝子的融合、非共有結合、またはその他による）して、第2の結合特異性を有する、二重特異性または多重特異性抗原結合性分子を生成することができる。本開示によれば、用語「多重特異性抗原結合性分子」はまた、二重特異性、三重特異的もしくは多重特異性抗体、またはそれらの抗原結合性断片を含む。ある種の実施形態では、本開示の抗体は、別の抗体またはその抗原結合性断片に官能基により連結して、第2の結合特異性を有する二重特異性抗体を生成する。本開示の二重特異性抗体および多重特異性抗体は、本明細書のどこかに記載されている。

10

**【0042】**

用語「特異的に結合する」または「に特異的に結合する」などは、抗体またはその抗原結合性断片が、生理的条件下、比較的安定な抗原と複合体を形成することを意味する。特異的結合は、少なくとも約 $1 \times 10^{-8}$  Mまたはそれより小さな平衡解離定数（例えば、 $K_D$ が小さいほど、結合が強いことを意味する）を特徴とすることができる。2つの分子が特異的に結合するかどうかを決定する方法は、当技術分野で周知であり、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴などを含む。本明細書に記載されている通り、抗体は、LAG3に特異的に結合する、表面プラズモン共鳴、例えば、BIACORE（商標）によって特定される。LAG3および1つまたは複数のさらなる抗原における1つのドメインに結合する多重特異性抗体、またはLAG3の2つの異なる領域に結合する二重特異性抗体は、それでもやはり、本明細書で使用する場合、「特異的に結合する」抗体と考えられる。

20

**【0043】**

抗体の「抗原結合性部分」、抗体の「抗原結合性断片」などの用語は、本明細書で使用する場合、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、天然に発生する、酵素により得ることができる、合成により、または遺伝的に操作されたポリペプチドまたはグリコタンパク質のいずれかを含む。抗体の「抗原結合性断片」または「抗体断片」という用語は、本明細書で使用する場合、LAG3に結合する能力を保持している抗体の1つまたは複数の断片を指す。

30

**【0044】**

「単離された抗体」は、本明細書で使用する場合、異なる抗原特異性を有する他の抗体（Ab）を実質的に含まない抗体を指す（例えば、LAG3に特異的に結合する単離された抗体またはその断片が、LAG3以外の抗原に特異的に結合するAbを実質的に含まない）。

**【0045】**

用語「表面プラズモン共鳴」とは、本明細書で使用する場合、例えば、BIACORE（商標）系（Pharmacia Biosensor AB、Uppsala、SwedenおよびPiscataway、N.J.）を使用して、バイオセンサーマトリクス内のタンパク質濃度の変化を検出することによる、生物分子のリアルタイム相互作用の分析を可能にする、光学的現象を指す。

40

**【0046】**

用語「 $K_D$ 」は、本明細書で使用する場合、特定の抗体-抗原相互作用の平衡解離定数を指すことが意図されている。

**【0047】**

用語「エピトープ」とは、パラトープとして公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。単一抗原は、1つより多いエピトープを有することがある。したがって、異なる抗体は、抗原上の異なるエリアに結合すること

50

があり、異なる生物学的影響を及ぼすことがある。用語「エピトープ」はまた、Bおよび/またはT細胞が応答する抗原上の部位を指す。エピトープはまた、抗体によって結合されている抗原の領域を指す。エピトープは、構造的または機能的なものとして定義され得る。機能的エピトープは、一般に、構造的エピトープのサブセットであり、相互作用の親和性に直接的に寄与する残基を有する。エピトープはまた、すなわち、非直鎖状アミノ酸からなる、立体構造的なものであってもよい。ある種の実施形態では、エピトープは、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基またはスルホニル基などの、分子の化学的に活性な表面基である決定因子を含むことができ、ある種の実施形態では、特定の三次元構造の特徴、および/または特定の電荷特徴を有することがある。

#### 【0048】

用語「実質的な同一性」または「実質的に同一である」は、核酸またはその断片を言う場合、別の核酸（またはその相補鎖）を含む適切なヌクレオチド挿入または欠失を伴って最適に整列していると、FASTA、BLASTまたはGAPなどの周知の配列同一性アルゴリズムのいずれかによって測定すると、少なくとも約90%、より好ましくは少なくとも約95%、96%、97%、98%または99%のヌクレオチド塩基において、ヌクレオチド配列同一性があることを示す。

#### 【0049】

ポリペプチドに該当する通り、用語「実質的な類似性」または「実質的に類似している」は、最適に整列している場合、デフォルトギャップ重み付け（default gap weight）を使用して、GAPまたはBESTFITというプログラムなどによる、2つのペプチド配列が、少なくとも90%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも95%、98%または99%の配列同一性を共有することを意味する。好ましくは、同一ではない残基の位置は、保存的アミノ酸置換によって異なる。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似した化学的性質（例えば、電荷または疎水性）を有する側鎖（R基）を有する別のアミノ酸残基により置換されているものである。一般に、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。2つまたはそれより多いアミノ酸配列が、保存的置換によって互いに異なる場合、類似性の割合または程度は、置換の保存的性質を補正するよう上方に調節され得る。この調節を行う手段は、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ている、Pearson（1994年）Methods Mol. Biol. 24巻：307～331頁を参照されたい。類似した化学的性質を有する側鎖を有するアミノ酸の群の例には、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：リシン、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）硫黄含有側鎖：システインおよびメチオニンを含む。好ましい保存的アミノ酸の置換基は、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、リシン - 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。代替的に、保存的置き換えは、参照により本明細書に組み込まれている、Gonnetら（1992年）Science 256巻：1443～45頁に開示されている、PAM250対数尤度マトリックスにおいて、正の値を有する任意の変化である。「適度に保守的な」置き換えは、PAM250対数尤度マトリックスにおける負ではない値を有する任意の変化である。ポリペプチドの配列類似性は、通常、配列解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めた、様々な置換、欠失および他の改変に割り当てられる、類似性の尺度を使用する類似配列に一致する。例えば、GCGソフトウェアは、生物の異なる種に由来する、または野生型タンパク質とその突然変異タンパク質との間の相同性ポリペプチドなどの、密接に関連するポリペプチド間の配列相同性または配列同一性を決定するためのデフォルトパラメータと共に使用され得る、GAPおよびBESTFITなどプログラムを含む。例えば、GCGバージョン6.1を参照されたい。ポリペプチド配列はまた、デフォルトパラメ

10

20

30

40

50

ータまたは推奨パラメータを含むFASTA; GCGバージョン6.1におけるプログラムを使用して比較することができる。FASTA(例えば、FASTA2およびFASTA3)は、クエリー配列と探索配列との間の最良の重なり領域の整列および配列同一性割合を提供する(Pearson(2000年)、上記)。別の好ましいアルゴリズムは、本開示の配列と様々な生物に由来する大多数の配列を含むデータベースとを比較する場合、デフォルトパラメータを使用する、BLAST、とりわけBLASTPまたはBLASTNというコンピュータプログラムである。例えば、その各々が参照により本明細書に組み込まれている、Altschulら(1990年)J. Mol. Biol. 215巻: 403~410頁および(1997年)Nucleic Acids Res. 25巻: 3389~3402頁を参照されたい。

10

## 【0050】

言い回し「治療有効量」とは、所望の効果であって、そのために投与される所望の効果を生じる量を意味する。正確な量は、処置の目的に依存し、公知技術を使用して、当業者により確認される(例えば、Lloyd(1999年)The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compoundingを参照されたい)。

## 【0051】

本明細書で使用する場合、用語「対象」とは、慢性ウイルス感染、がんまたは自己免疫疾患などの疾患または障害の改善、予防および/または処置を必要とする、動物、好ましくは哺乳動物を指す。

20

## II. 免疫PETイメージングのためのLAG3抗体の放射標識イムノコンジュゲート

## 【0052】

LAG3に結合する放射標識抗原結合性タンパク質が、本明細書において提供されている。一部の実施形態では、放射標識抗原結合性タンパク質は、ポジトロン放出体と共有結合により連結されている抗原結合性タンパク質を含む。一部の実施形態では、放射標識抗原結合性タンパク質は、ポジトロン放出体とキレート形成することが可能な化学部分である、1つまたは複数のキレート形成性部分に共有結合により連結されている抗原結合性タンパク質を含む。

## 【0053】

一部の実施形態では、LAG3に結合する抗原結合性タンパク質、例えば抗体が提供され、LAG3に結合する前記抗原結合性タンパク質は、以下の構造:

30



を有する1つまたは複数の部分に共有結合により結合しており、式中、Lはキレート形成性部分であり、Mはポジトロン放出体であり、zは、独立して、出現ごとに、0または1であり、zの少なくとも1つは1である。

## 【0054】

一部の実施形態では、放射標識抗原結合性タンパク質は、式(I)の化合物:



## (I)

であり、Aは、LAG3に結合するタンパク質であり、Lはキレート形成性部分であり、Mはポジトロン放出体であり、zは0または1であり、kは0~30の整数である。一部の実施形態では、kは1である。

40

## 【0055】

ある種の実施形態では、放射標識抗原結合性タンパク質は、式(II)の化合物:



## (II)

であり、式中、Aは、LAG3に結合するタンパク質であり、Lはキレート形成性部分であり、Mはポジトロン放出体であり、kは1~30の整数である。

## 【0056】

一部の実施形態では、以下の構造:

50

A - L<sub>k</sub>

を有する、コンジュゲートを含む組成物が本明細書において提供され、式中、Aは、LAG3に結合するタンパク質であり、Lはキレート形成性部分であり、kは1～30の整数であり、コンジュゲートは、臨床的PETイメージングに好適な比放射能を実現するのに十分な量で、ポジトロン放出体とキレートを形成する。

【0057】

好適な結合性タンパク質、キレート形成性部分およびポジトロン放出体が、以下に提供される。

A・LAG3結合性タンパク質

【0058】

好適なLAG3結合性タンパク質は、その全体が参照により本明細書に組み込まれている、PCT/US16/56156に記載されているものを含めた、LAG3に特異的に結合するタンパク質である。本開示の例示的な抗LAG3抗体は、やはり以下に提示されている、PCT/US16/56156の表1に列挙されている。

【表1-1】

表1:アミノ酸配列の識別子

抗体の名称	配列番号							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M14985N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1M14987N	18	20	22	24	26	28	30	32
H2M14811N	34	36	38	40	42	44	46	48
H2M14885N	50	52	54	56	58	60	62	64
H2M14926N	66	68	70	72	74	76	78	80
H2M14927N	82	84	86	88	90	92	94	96
H2M14931N	98	100	102	104	106	108	110	112
H2M18336N	114	116	118	120	122	124	126	128
H2M18337N	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H15477P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H15483P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H15484P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H15491P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H17823P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H17826P2	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H17828P2	242	244	246	248	250	252	254	256
H4sH15460P	258	260	262	264	266	268	270	272
H4sH15462P	274	276	278	280	282	284	286	288
H4sH15463P	290	292	294	296	298	300	302	304
H4sH15464P	306	308	310	312	314	316	318	320

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

H4sH15466P	322	324	326	328	330	332	334	336
H4sH15467P	338	340	342	344	346	348	350	352
H4sH15470P	354	356	358	360	362	364	366	368
H4sH15475P	370	372	374	376	378	380	382	384
H4sH15479P	386	388	390	392	394	396	398	400
H4sH15480P	402	404	406	408	410	412	414	416
H4sH15482P	418	420	422	424	426	428	430	432
H4sH15488P	434	436	438	440	442	444	446	448
H4sH15496P 2	450	452	454	456	522	524	526	528
H4sH15498P 2	458	460	462	464	522	524	526	528
H4sH15505P 2	466	468	470	472	522	524	526	528
H4sH15518P 2	474	476	478	480	522	524	526	528
H4sH15523P 2	482	484	486	488	522	524	526	528
H4sH15530P 2	490	492	494	496	522	524	526	528
H4sH15555P 2	498	500	502	504	530	532	534	536
H4sH15558P 2	506	508	510	512	530	532	534	536
H4sH15567P 2	514	516	518	520	530	532	534	536
H4H14813N	538	540	542	544	546	548	550	552
H4H17819P	554	556	558	560	562	564	566	568

表 1 は、例示的な抗LAG3抗体の重鎖可変領域（HCVR）、軽鎖可変領域（LCVR）、重鎖相補性決定領域（HC DR 1、HC DR 2 および HC DR 3）および軽鎖相補性決定領域（LC DR 1、LC DR 2 および LC DR 3）のアミノ酸配列識別子を記載している。

## 【0059】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている HCVR アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98% もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を含む HCVR を含む抗体または抗原結合性断片である。

## 【0060】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている LCVR アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98% もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を含む LCVR を含む抗体または抗原結合性断片である。

## 【 0 0 6 1 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、H C V R、および表 1 に列挙されている L C V R アミノ酸配列のいずれかと対を形成する表 1 に列挙されている H C V R アミノ酸配列のいずれかを含む H C V R および L C V R アミノ酸配列対 ( H C V R / L C V R ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。ある種の実施形態によれば、本開示は、表 1 に列挙されている例示的な抗 L A G 3 抗体のいずれかに含まれる、H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む、抗体またはその抗原結合性断片を提供する。ある種の実施形態では、H C V R / L C V R アミノ酸配列対は、配列番号 2 / 1 0、1 8 / 2 6、3 4 / 4 2、5 0 / 5 8、6 6 / 7 4、8 2 / 9 0、9 8 / 1 0 6、1 1 4 / 1 2 2、1 3 0 / 1 3 8、1 4 6 / 1 5 4、1 6 2 / 1 7 0、1 7 8 / 1 8 6、1 9 4 / 2 0 2、2 1 0 / 2 1 8、2 2 6 / 2 3 4、2 4 2 / 2 5 0、2 5 8 / 2 6 6、2 7 4 / 2 8 2、2 9 0 / 2 9 8、3 0 6 / 3 1 4、3 2 2 / 3 3 0、3 3 8 / 3 4 6、3 5 4 / 3 6 2、3 7 0 / 3 7 8、3 8 6 / 3 9 4、4 0 2 / 4 1 0、4 1 8 / 4 2 6、4 3 4 / 4 4 2、4 5 0 / 5 2 2、4 5 8 / 5 2 2、4 6 6 / 5 2 2、4 7 4 / 5 2 2、4 8 2 / 5 2 2、4 9 0 / 5 2 2、4 9 8 / 5 3 0、5 0 6 / 5 3 0、5 1 4 / 5 3 0、5 3 8 / 5 4 6、および 5 5 4 / 5 6 2 からなる群から選択される。ある種の実施形態では、H C V R / L C V R アミノ酸配列対は、配列番号 3 8 6 / 3 9 4 (例えば、H 4 s H 1 5 4 7 9 P)、4 1 8 / 4 2 6 (例えば、H 4 s H 1 5 4 8 2 P) または 5 3 8 / 5 4 6 (例えば、H 4 s H 1 4 8 1 3 N) のうちの 1 つから選択される。ある種の実施形態では、H C V R / L C V R アミノ酸配列対は、配列番号 4 5 8 / 4 6 4 (例えば、H 4 s H 1 5 4 9 8 P 2)、1 6 2 / 1 7 0 (例えば、H 4 H 1 5 4 8 3 P) および 5 7 9 / 5 7 8 (例えば、H 4 H 1 5 4 8 2 P) のうちの 1 つから選択される。

10

20

## 【 0 0 6 2 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている H C D R 1 アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % もしくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を含む重鎖 C D R 1 ( H C D R 1 ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。

## 【 0 0 6 3 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている H C D R 2 アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % もしくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を含む重鎖 C D R 2 ( H C D R 2 ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。

30

## 【 0 0 6 4 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている H C D R 3 アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % もしくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を含む重鎖 C D R 3 ( H C D R 3 ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。

40

## 【 0 0 6 5 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている L C D R 1 アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % もしくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を含む軽鎖 C D R 1 ( L C D R 1 ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。

## 【 0 0 6 6 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている L C D R 2 アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % もしくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するそれらの実質的に

50

類似する配列を含む軽鎖 C D R 2 ( L C D R 2 ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。

【 0 0 6 7 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている L C D R 3 アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 % もしくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を含む軽鎖 C D R 3 ( L C D R 3 ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。

【 0 0 6 8 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、H C D R 3、および表 1 に列挙されている L C D R 3 アミノ酸配列のいずれかと対を形成する、表 1 に列挙されている H C D R 3 アミノ酸配列のいずれかを含む H C D R 3 および L C D R 3 アミノ酸配列対 ( H C D R 3 / L C D R 3 ) を含む、抗体または抗原結合性断片である。ある種の実施形態によれば、本開示は、表 1 に列挙されている例示的な抗 L A G 3 抗体のいずれかに含まれる、H C D R 3 / L C D R 3 アミノ酸配列対を含む、抗体またはその抗原結合性断片を提供する。ある種の実施形態では、H C D R 3 / L C D R 3 アミノ酸配列対は、配列番号 3 9 2 / 4 0 0 (例えば、H 4 s H 1 5 4 7 9 P)、4 2 4 / 4 3 2 (例えば、H 4 s H 1 5 4 8 2 P) および 5 4 4 / 5 5 2 (例えば、H 4 s H 1 4 8 1 3 N) からなる群から選択される。

【 0 0 6 9 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている、例示的な抗 L A G 3 抗体のうちいずれかに含まれる、一組の 6 つの C D R (すなわち、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) を含む、抗体または抗原結合性断片である。ある種の実施形態では、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 アミノ酸配列の組は、配列番号 3 8 8 - 3 9 0 - 3 9 2 - 3 9 6 - 3 9 8 - 4 0 0 (例えば、H 4 s H 1 5 4 7 9 P)、4 2 0 - 4 2 2 - 4 2 4 - 4 2 8 - 4 3 0 - 4 3 2 (例えば、H 4 s H 1 5 4 8 2 P) および 5 4 0 - 5 4 2 - 5 4 4 - 5 4 8 - 5 5 0 - 5 5 2 (例えば、H 4 s H 1 4 8 1 3 N) からなる群から選択される。

【 0 0 7 0 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、表 1 に列挙されている、例示的な抗 L A G 3 抗体のうちいずれかによって規定される、H C V R / L C V R アミノ酸配列対内に含まれる、一組の 6 つの C D R (すなわち、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) を含む、抗体または抗原結合性断片である。例えば、一部の実施形態では、結合性タンパク質は、配列番号 3 8 6 / 3 9 4 (例えば、H 4 s H 1 5 4 7 9 P)、4 1 8 / 4 2 6 (例えば、H 4 s H 1 5 4 8 2 P) および 5 3 8 / 5 4 6 (例えば、H 4 s H 1 4 8 1 3 N) からなる群から選択される、H C V R / L C V R アミノ酸配列対内に含まれる、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 アミノ酸配列の組を含む、抗体または抗原結合性断片である。H C V R および L C V R アミノ酸配列内の C D R を特定するための方法および技法は、当技術分野で周知であり、これを使用して、本明細書において開示されている特定の H C V R および / または L C V R アミノ酸配列内の C D R を特定することができる。C D R の境界を特定するために使用することができる例示的な慣習は、例えば、K a b a t の定義、C h o t h i a の定義および A b M の定義を含む。一般用語では、K a b a t の定義は、配列可変性に基づくものであり、C h o t h i a の定義は、構造上のループ領域の位置に基づくものであり、A b M の定義は、K a b a t 手法と C h o t h i a 手法との間の折衷である。例えば、K a b a t、「S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t」、N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h、B e t h e s d a、M d . ( 1 9 9 1 年 ) ; A l - L a z i k a n i ら、J . M o l . B i o l . 2 7 3 巻 : 9 2 7 ~ 9 4 8 頁 ( 1 9 9 7 年 ) ; および M a r t i n ら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 8 6 巻 : 9 2 6 8

10

20

30

40

50

～ 9 2 7 2 頁 ( 1 9 8 9 年 ) を参照されたい。抗体内の C D R 配列を特定するための公的データベースも入手可能である。

【 0 0 7 1 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、LAG 3 への特異的結合に対して、H C V R の C D R および L C V R の C D R を含む抗体またはその抗原結合性断片と競合する抗体およびその抗原結合性断片であり、H C V R および L C V R はそれぞれ、表 1 に列挙されている H C V R および L C V R 配列から選択されるアミノ酸配列を有する。

【 0 0 7 2 】

本明細書において有用なさらなる例示的な抗 L A G 3 抗体には、L A G 5 2 5 ( および U . S . 2 0 1 0 0 2 3 3 1 8 3 に開示されている他の L A G 3 抗体 )、レトリマブ ( および U . S . 2 0 1 1 0 1 5 0 8 9 2 に開示されている他の L A G 3 抗体 )、G S K 2 8 3 1 7 8 1 ( および U . S . 2 0 1 4 0 2 8 6 9 3 5 に開示されている他の L A G 3 抗体 )、M G D 0 1 3 ( および W O 2 0 1 5 2 0 0 1 1 9 に開示されている他の L A G 3 抗体 ) および U . S . 2 0 1 6 0 2 2 2 1 1 6、U . S . 2 0 1 7 0 0 2 2 2 7 3、U . S . 2 0 1 7 0 0 9 7 3 3 3、U . S . 2 0 1 7 0 1 3 7 5 1 7、U . S . 2 0 1 7 0 2 6 7 7 5 9、U . S . 2 0 1 7 0 2 9 0 9 1 4、U . S . 2 0 1 7 0 3 3 4 9 9 5、W O 2 0 1 6 1 2 6 8 5 8、W O 2 0 1 6 2 0 0 7 8 2、W O 2 0 1 7 0 8 7 5 8 9、W O 2 0 1 7 0 8 7 9 0 1、W O 2 0 1 7 1 0 6 1 2 9、W O 2 0 1 7 1 4 9 1 4 3、W O 2 0 1 7 1 9 8 7 4 1、W O 2 0 1 7 2 1 9 9 9 5 および W O 2 0 1 7 2 2 0 5 6 9 に開示されている L A G 3 抗体が含まれる。

【 0 0 7 3 】

M H C クラス I I に結合する L A G 3 を遮断する、単離された抗体およびその抗原結合性断片も本明細書において提供されている。一部の実施形態では、L A G 3 結合を遮断する抗体またはその抗原結合性断片は、L A G 3 上の M H C クラス I I と同じエピトープに結合することがあるか、または L A G 3 上の M H C クラス I I と異なるエピトープに結合することがある。ある種の実施形態では、M H C クラス I I に結合する L A G 3 を遮断する本開示の抗体は、表 1 に列挙されている H C V R 配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C V R の C D R、および表 1 に列挙されている L C V R 配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C V R の C D R を含む。

【 0 0 7 4 】

代替的な実施形態では、本開示は、M H C クラス I I に結合する L A G 3 を遮断しない、抗体およびその抗原結合性断片を提供する。

【 0 0 7 5 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、ヒトまたは他の種に由来する L A G 3 に特異的に結合する、抗体およびその抗原結合性断片である。ある種の実施形態では、この抗体は、ヒト L A G 3 および / または カニクイザルの L A G 3 に結合することができる。

【 0 0 7 6 】

一部の実施形態では、結合性タンパク質は、L A G 3 への結合に対して、H C V R の C D R および L C V R の C D R を含む参照抗体またはその抗原結合性断片と交差競合する抗体およびその抗原結合性断片であり、H C V R および L C V R はそれぞれ、表 1 に列挙されている H C V R および L C V R 配列から選択されるアミノ酸配列を有する。

【 0 0 7 7 】

一実施形態では、結合性タンパク質は、以下の特徴：( a ) L A G 3 の結合、または M H C クラス I I の結合を遮断すること；( b ) ヒト L A G 3 および / または カニクイザルの L A G 3 に特異的に結合すること；( c ) T 細胞活性化の L A G 3 誘導性損傷を遮断して、T 細胞シグナル伝達をレスキューすること；および ( d ) がんを有する対象において、腫瘍成長を抑制して、生存率を向上することのうちの 1 つまたは複数を含む、単離された抗体または抗原結合性断片である。

【 0 0 7 8 】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、作動的に L A G 3 に特異的に

10

20

30

40

50

結合することができる。すなわち、これは、LAG3結合および/もしくは活性を増強または刺激することができる。他の実施形態では、抗体は、拮抗的に、LAG3に特異的に結合することができる。すなわち、これは、LAG3がそのリガンドに結合するのを遮断することができる。

【0079】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、中立的に、LAG3に特異的に結合することができる。すなわち、これは、LAG3に結合するが、LAG3の結合および/または活性を遮断も増強も刺激することもない。

【0080】

ある種の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、LAG3への第1の結合特異性、および第2の標的エピトープに対する第2の結合特異性を含む、二重特異性である。第2の標的エピトープは、LAG3または異なるタンパク質上の別のエピトープであってもよい。ある種の実施形態では、第2の標的エピトープは、様々なT細胞、B細胞、腫瘍細胞またはウイルス感染細胞を含めた、様々な細胞上とすることができる。

【0081】

ある種の実施形態では、ヒトリンパ球活性化遺伝子3(LAG3)タンパク質に特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合性断片が提供され、抗体またはその抗原結合性断片は、以下からなる群から選択される特性を有する：(a)25において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約10nM未満の結合解離平衡定数( $K_D$ )で、ヒトLAG3単量体に結合する(PCT/US16/56156の実施例3に規定されているアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用して)；(b)37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約8nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3単量体に結合する；(c)25において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約1.1nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3二量体に結合する；(d)37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約1nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3二量体に結合する；(e)フローサイトメトリーアッセイで測定すると、約8nM未満の $EC_{50}$ で、hLAG3発現細胞に結合する；(f)フローサイトメトリーアッセイで測定すると、約2.3nM未満の $EC_{50}$ で、mfLAG3発現細胞に結合する；(g)細胞接着アッセイによって決定すると、約32nM未満の $IC_{50}$ で、hLAG3がヒトMHCクラスIIに結合するのを遮断する；(h)細胞接着アッセイによって決定すると、約30nM未満の $IC_{50}$ で、hLAG3がマウスMHCクラスIIに結合するのを遮断する；(i)細胞接着アッセイによって決定すると、90%よりも高く、hLAG3がMHCクラスIIに結合するのを遮断する；(j)ルシフェラーゼレポーターアッセイにおいて決定すると、約9nM未満の $EC_{50}$ で、T細胞活性のLAG3媒介性阻害をレスキューする；および(k)蛍光アッセイで決定すると、約1.2nM未満の $EC_{50}$ で、活性化CD4+およびCD8+T細胞に結合する。

【0082】

一部の実施形態では、抗体およびその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US16/56156の実施例3に規定されているアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用して、25または37で表面プラズモン共鳴によって測定すると、約1.6分より長い解離半減期( $t_{1/2}$ )で、LAG3に結合する。ある種の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、例えば、PCT/US16/56156の実施例3に規定されているアッセイフォーマット(例えば、mAb-捕捉フォーマットまたは抗原捕捉フォーマット)または実質的に類似するアッセイを使用して、25または37で表面プラズモン共鳴によって測定すると、約5分より長い、約10分より長い、約30分より長い、約50分より長い、約60分より長い、約70分より長い、約80分より長い、約90分より長い、約100分より長い、約200分より長い、約300分より長い、約400分より長い、約500分より長い、約600分より長い、約700分より長い、約800分より長い、約900分より長い、約1000分より長い、または約1100分より長い $t_{1/2}$ で、LAG3に結合する。

10

20

30

40

50

## 【0083】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、PCT/US 16/56156の実施例5に規定されているフローサイトメトリーアッセイまたは実質的に類似するアッセイによって測定すると、約8 nM未満のEC<sub>50</sub>で、ヒトLAG3発現細胞に結合する。ある種の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US 16/56156の実施例5におけるアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用する、フローサイトメトリーアッセイによって測定すると、約5 nM未満、約2 nM未満、約1 nM未満または約0.5 nM未満のEC<sub>50</sub>で、hLAG3発現細胞に結合する。

## 【0084】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、PCT/US 16/56156の実施例5に規定されているフローサイトメトリーアッセイまたは実質的に類似するアッセイによって測定すると、約2.5 nM未満のEC<sub>50</sub>で、カニクイザルLAG3発現細胞に結合する。ある種の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US 16/56156の実施例5に規定されているアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用する、フローサイトメトリーアッセイによって測定すると、約2 nM未満または約1 nM未満のEC<sub>50</sub>で、mfLAG3発現細胞に結合する。

## 【0085】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US 16/56156の実施例7または実質的に類似するアッセイに示される、細胞接着アッセイを使用して決定すると、約32 nM未満のIC<sub>50</sub>で、MHCクラスII（例えば、ヒトHLA-DR2）にLAG3が結合するのを遮断する。ある種の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US 16/56156の実施例7に規定されているアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用する、細胞接着アッセイによって測定すると、約25 nM未満、約20 nM未満、約10 nM未満または約5 nM未満のIC<sub>50</sub>で、ヒトMHCクラスIIにLAG3が結合するのを遮断する。

## 【0086】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US 16/56156の実施例7または実質的に類似するアッセイに示される、細胞接着アッセイを使用して決定すると、約30 nM未満のIC<sub>50</sub>で、MHCクラスIIにLAG3が結合するのを遮断する。ある種の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US 16/56156の実施例7に規定されているアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用する、細胞接着アッセイによって測定すると、約25 nM未満、約20 nM未満、約10 nM未満または約5 nM未満のIC<sub>50</sub>で、ヒトMHCクラスIIにマウスLAG3が結合するのを遮断する。

## 【0087】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、PCT/US 16/56156の実施例7に規定されている細胞接着アッセイまたは実質的に類似するアッセイによって測定すると、90%よりも高く、ヒトまたはマウスMHCクラスIIにLAG3が結合するのを遮断する。

## 【0088】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、PCT/US 16/56156の実施例8に規定されているT細胞/APCルシフェラーゼレポーターアッセイまたは実質的に類似するアッセイによって測定すると、9 nM未満のEC<sub>50</sub>で、LAG誘導性T細胞の下方調節を遮断する。ある種の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US 16/56156の実施例8に規定されているアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用する、T細胞/APCルシフェラーゼレポーターアッセイによって測定すると、約5 nM未満、約1 nM未満、約0.5 nM未満または約0.1 nM未満のEC<sub>50</sub>で、LAG3誘導性T細胞の下方調節を遮断する。

## 【0089】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、PCT/US16/56156の実施例9に規定されている蛍光アッセイまたは実質的に類似するアッセイによって測定すると、約1.2 nM未満のEC<sub>50</sub>で、カニクイザルの活性化CD4+およびCD8+T細胞に結合する。ある種の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、例えば、PCT/US16/56156の実施例9に規定されているアッセイフォーマットまたは実質的に類似するアッセイを使用する、蛍光アッセイによって測定すると、約1.1 nM未満、約1 nM未満、約0.5 nM未満、約0.2 nM未満または約0.1 nM未満のEC<sub>50</sub>で、カニクイザルの活性化CD4+およびCD8+T細胞に結合する。

【0090】

一実施形態では、抗体またはその断片は、LAG3に結合するモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその断片は、以下の特徴：(i)配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、386、402、418、434、450、458、466、474、482、490、498、506、514、538および554からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するHCVRを含むこと、(ii)配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330、346、362、378、394、410、426、442、522、530、546および562からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するLCVRを含むこと、(iii)配列番号8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328、344、360、376、392、408、424、440、456、464、472、480、488、496、504、512、520、544および560からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するHC DR3ドメイン；および配列番号16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336、352、368、384、400、416、432、448、528、536、552および568からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するLC DR3ドメインを含むこと；(iv)配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324、340、356、372、388、404、420、436、452、460、468、476、484、492、500、508、516、540および556からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するHC DR1ドメイン；配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326、342、358、374、390、406、422、438、454、462、470、478、486、494、502、510、518、542および558からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するHC DR2ドメイン；配列番号12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332、348、3

10

20

30

40

50

64、380、396、412、428、444、524、532、548および564からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するLCDR1ドメイン；および配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334、350、366、382、398、414、430、446、526、534、550および566からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するLCDR2ドメインを含むこと；(v)25において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約10nM未満の結合解離平衡定数(K<sub>D</sub>)で、ヒトLAG3単量体に結合すること；(vi)37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約8nM未満のK<sub>D</sub>で、ヒトLAG3単量体に結合すること；(vii)25において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約1.1nM未満のK<sub>D</sub>で、ヒトLAG3二量体に結合すること；(viii)37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約1nM未満のK<sub>D</sub>で、ヒトLAG3二量体に結合すること；(ix)フローサイトメトリーアッセイで測定すると、約8nM未満のEC<sub>50</sub>で、hLAG3発現細胞に結合すること；(x)フローサイトメトリーアッセイで測定すると、約2.3nM未満のEC<sub>50</sub>で、mfLAG3発現細胞に結合すること；(xi)細胞接着アッセイによって決定すると、約32nM未満のIC<sub>50</sub>で、hLAG3がヒトMHCクラスIIに結合するのを遮断すること；(xii)細胞接着アッセイによって決定すると、約30nM未満のIC<sub>50</sub>で、hLAG3がマウスMHCクラスIIに結合するのを遮断すること；(xiii)細胞接着アッセイによって決定すると、90%よりも高く、hLAG3がMHCクラスIIに結合するのを遮断すること；(xiv)ルシフェラーゼレポーターアッセイにおいて決定すると、約9nM未満のEC<sub>50</sub>で、T細胞活性のLAG3媒介性阻害をレスキューすること；(xv)蛍光アッセイで決定すると、約1.2nM未満のEC<sub>50</sub>で、活性化CD4+およびCD8+T細胞に結合すること；および(xvi)がんを有する対象において、腫瘍成長を抑制して、生存率を向上することのうちの1つまたは複数を示す。

10

20

【0091】

一実施形態では、抗体またはその断片は、LAG3がMHCクラスIIに結合するのを遮断するモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその断片は、以下の特徴：(i)配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、386、402、418、434、450、458、466、474、482、490、498、506、514、538および554からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有する、HCVRを含むこと、(ii)配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330、346、362、378、394、410、426、442、522、530、546および562からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有する、LCVRを含むこと、(iii)配列番号8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328、344、360、376、392、408、424、440、456、464、472、480、488、496、504、512、520、544および560からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するHCDR3ドメイン；および配列番号16、32

30

40

50

、 48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336、352、368、384、400、416、432、448、528、536、552および568からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するLCDR3ドメインを含むこと；(iv)配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324、340、356、372、388、404、420、436、452、460、468、476、484、492、500、508、516、540および556からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するHCDR1ドメイン；配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326、342、358、374、390、406、422、438、454、462、470、478、486、494、502、510、518、542および558からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するHCDR2ドメイン；配列番号12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332、348、364、380、396、412、428、444、524、532、548および564からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するLCDR1ドメイン；および配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334、350、366、382、398、414、430、446、526、534、550および566からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するそれらの実質的に類似する配列を有するLCDR2ドメインを含むこと；(v)25において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約10nM未満の結合解離平衡定数( $K_D$ )で、ヒトLAG3単量体に結合すること；(vi)37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約8nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3単量体に結合すること；(vii)25において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約1.1nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3二量体に結合すること；(viii)37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約1nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3二量体に結合すること；(ix)フローサイトメトリーアッセイで測定すると、約8nM未満の $EC_{50}$ で、hLAG3発現細胞に結合すること；(x)フローサイトメトリーアッセイで測定すると、約2.3nM未満の $EC_{50}$ で、mfLAG3発現細胞に結合すること；(xi)細胞接着アッセイによって決定すると、約32nM未満の $IC_{50}$ で、hLAG3がヒトMHCクラスIIに結合するのを遮断すること；(xii)細胞接着アッセイによって決定すると、約30nM未満の $IC_{50}$ で、hLAG3がマウスMHCクラスIIに結合するのを遮断すること；(xiii)細胞接着アッセイによって決定すると、90%よりも高く、hLAG3がMHCクラスIIに結合するのを遮断すること；(xiv)ルシフェラーゼレポートアッセイにおいて決定すると、約9nM未満の $EC_{50}$ で、T細胞活性のLAG3媒介性阻害をレスキューすること；(xv)蛍光アッセイで決定すると、約1.2nM未満の $EC_{50}$ で、活性化CD4+およびCD8+T細胞に結合すること；および(xvi)がんを有する対象において、腫瘍成長を抑制して、生存率を向上することのうちの1つまたは複数を示す。

【0092】

10

20

30

40

50

ある種の実施形態では、抗体は、完全長タンパク質の他の領域または断片のいずれかに結合することによる、LAG3に関連するMHCクラスII結合活性を遮断または阻害することにより機能することができ、完全長タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号582に示されている。

【0093】

ある種の実施形態では、抗体は、二重特異性抗体である。二重特異性抗体は、1つのドメイン中の1つのエピトープに結合することができ、LAG3の異なるドメイン中の第2のエピトープにも結合することができる。ある種の実施形態では、二重特異性抗体は、同じドメイン中の2つの異なるエピトープに結合する。一実施形態では、多重特異性抗原結合性分子は、第1の抗原結合特異性（第1の結合特異性は、LAG3の細胞外ドメインまたはその断片を含む）、およびLAG3の別のエピトープへの第2の抗原結合特異性を含む。

10

【0094】

ある種の実施形態では、抗LAG3抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号582に例示されている天然形態、または配列番号574～576に例示されている組換えにより生成した形態のどちらかで、LAG3に例示されている領域のいずれか1つまたは複数内のエピトープにまたはそれらの断片に結合する。一部の実施形態では、抗体は、LAG3のアミノ酸残基29～450からなる群から選択される、1つまたは複数のアミノ酸を含む細胞外領域に結合する。一部の実施形態では、抗体は、配列番号576により例示されるカニクイザルのLAG3のアミノ酸残基1～533からなる群から選択される、1つまたは複数のアミノ酸を含む細胞外領域に結合する。

20

【0095】

ある種の実施形態では、抗LAG3抗体およびその抗原結合性断片は、LAG3（配列番号588）の細胞外領域内に見いだされる1つまたは複数のエピトープと相互作用する。エピトープは、LAG3の細胞外領域内に位置する、3つまたはそれより多い（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20またはそれより多い）アミノ酸のうち1つまたは複数の連続する配列からなることができる。代替的に、エピトープは、LAG3の細胞外領域内に位置する複数の非連続アミノ酸（またはアミノ酸配列）からなることができる。例示的な抗体H4sH15482Pが相互作用するLAG3のエピトープは、配列番号588のアミノ酸28～71に相当する、アミノ酸配列LRRAAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSSWGPRPRRY（配列番号589）によって規定される。したがって、配列番号588のアミノ酸28～71からなる領域（すなわち、配列LRRAAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSSWGPRPRRY〔配列番号589〕）内に含まれる1つまたは複数のアミノ酸と相互作用する、抗LAG3抗体も含まれる。

30

【0096】

本開示は、表1中に本明細書に記載されている例示的な特異的抗体のいずれか、または表1に記載されている例示的な抗体のいずれかのCDR配列を有する抗体として、同じエピトープまたはエピトープの一部分に結合する抗LAG3抗体を含む。同様に、表1中の本明細書に記載されている例示的な特異的抗体のいずれか、または表1に記載されている例示的な抗体のいずれかのCDR配列を有する抗体と、LAG3またはLAG3断片への結合について競合する抗LAG3抗体も含まれる。例えば、本開示は、本明細書において提供されている1つまたは複数の抗体と、LAG3への結合について交差競合する抗LAG3抗体を含む（例えば、H4sH15482P、H4sH15479P、H4sH14813N、H4H14813N、H4H15479P、H4H15482P、H4H15483P、H4sH15498P、H4H15498P、H4H17828P2、H4H17819PおよびH4H17823P）。

40

【0097】

本明細書に記載されている抗体および抗原結合性断片は、LAG3と特異的に結合し、

50

L A G 3 と M H C クラス I I との相互作用をモジュレートする。抗 L A G 3 抗体は、高い親和性で、または低い親和性で、L A G 3 に結合することができる。ある種の実施形態では、抗体は遮断抗体であり、この場合、抗体は、L A G 3 に結合して、L A G 3 と M H C クラス I I との相互作用を遮断する。一部の実施形態では、本開示の遮断抗体は、L A G 3 の M H C クラス I I への結合を遮断する、および/または T 細胞活性化を刺激もしくは増強する。一部の実施形態では、遮断抗体は、免疫応答を刺激もしくは増強する、および/またはがんもしくは慢性ウイルス感染に罹患している対象を処置するのに有用である。抗体は、それを必要とする対象に投与されると、対象における、ヒト免疫不全ウイルス (H I V)、B 型肝炎ウイルス (H B V)、C 型肝炎ウイルス (H C V)、ヒトパピローマウイルス (H P V)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (L C M V) およびサル免疫不全ウイルス (S I V) などのウイルスによる慢性感染を低減することができる。それらは、対象における、腫瘍細胞の成長を阻害するために使用され得る。それらは、単独で使用されてもよく、または他の治療用部分との補助療法として、またはがんもしくはウイルス感染を処置する当技術分野で公知のモダリティとして使用されてもよい。ある種の実施形態では、低い親和性で L A G 3 に結合する抗 L A G 3 抗体は、多重特異性抗原結合性分子として使用され、この場合、第 1 の結合特異性は、低い親和性で L A G 3 に結合し、第 2 の結合特異性は、L A G 3 の異なるエピトープおよび別の T 細胞共阻害剤からなる群から選択される抗原に結合する。

10

#### 【0098】

一部の実施形態では、抗体は、L A G 3 に結合し、疲弊 T 細胞のアネルギー状態を反転する。ある種の実施形態では、抗体は、L A G 3 に結合し、制御性 T 細胞活性を阻害する。一部の実施形態では、抗体は、免疫応答を刺激もしくは増強する、および/またはがん、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染もしくは寄生虫感染に罹患している対象を処置するのに有用となり得る。抗体は、それを必要とする対象に投与されると、対象において、H I V、L C M V または H B V などのウイルスによる慢性感染を低減することがある。それらは、対象における、腫瘍細胞の成長を阻害するために使用され得る。それらは、単独で使用されてもよく、または他の治療用部分との補助療法として、またはがんもしくはウイルス感染を処置する当技術分野で公知のモダリティとして使用されてもよい。

20

#### 【0099】

ある種の実施形態では、本開示の抗体は、アゴニスト抗体であり、この場合、抗体は、L A G 3 に結合して、L A G 3 と M H C クラス I I との相互作用を増強する。一部の実施形態では、活性抗体は、L A G 3 の M H C クラス I I への結合を増強する、および/または T 細胞活性化を阻害もしくは抑制する。本開示の活性抗体は、対象における免疫応答を阻害する、および/または自己免疫疾患を処置するのに有用となり得る。

30

#### 【0100】

ある種の抗 L A G 3 抗体は、*in vitro* または *in vivo* アッセイによって決定される通り、L A G 3 に結合して、その活性を中和することができる。抗体が L A G 3 に結合して、この活性を中和する能力は、本明細書に記載されている結合アッセイまたは活性アッセイを含めた、当業者に公知の任意の標準的方法を使用して測定することができる。

40

#### 【0101】

結合活性を測定するための非限定的な例示的 *in vitro* アッセイは、P C T / U S 1 6 / 5 6 1 5 6 に提示されている実施例に例示されている：実施例 3 では、ヒト L A G 3 に対するヒト抗 L A G 3 抗体の結合親和性および速度定数は、表面プラズモン共鳴によって決定され、この測定は、B i a c o r e 4 0 0 0 または T 2 0 0 機器で行われた。実施例 4 では、遮断アッセイを使用して、抗 L A G 3 抗体間の交差競合が決定された。実施例 5 および 6 は、L A G 3 を過剰発現する細胞への抗体の結合を記載している。実施例 7 では、結合アッセイを使用して、抗 L A G 3 抗体が *in vitro* で、L A G 3 の M H C クラス I I への結合能力を遮断する能力が決定された。実施例 8 では、ルシフェラーゼアッセイを使用して、抗 L A G 3 抗体が、T 細胞における L A G 3 シグナル伝達を拮抗

50

する能力が決定された。実施例 9 では、蛍光アッセイを使用して、抗 L A G 3 抗体が、活性化サル C D 4 + および C D 8 + T 細胞に結合する能力が決定された。

#### 【 0 1 0 2 】

特に具体的に示さない限り、用語「抗体」は、本明細書で使用する場合、2つの免疫グロブリン重鎖および2つの免疫グロブリン軽鎖（すなわち、「完全抗体分子」）、ならびにそれらの抗原結合性断片を含む抗体分子を包含することが理解されるものとする。抗体の「抗原結合性部分」、抗体の「抗原結合性断片」などの用語は、本明細書で使用する場合、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、天然に発生する、酵素により得ることができる、合成により、または遺伝的に操作されたポリペプチドまたはグリコタンパク質のいずれかを含む。抗体の「抗原結合性断片」または「抗体断片」という用語は、本明細書で使用する場合、L A G 3 に特異的に結合する能力を保持している抗体の1つまたは複数の断片を指す。抗体断片は、F a b 断片、F ( a b ' )<sub>2</sub>断片、F v 断片、d A b 断片、C D R または単離 C D R を含有する断片を含むことができる。ある種の実施形態では、用語「抗原結合性断片」とは、多重特異性抗原結合性分子のポリペプチドまたはその断片を指す。このような実施形態では、用語「抗原結合性断片」は、例えば、L A G 3 に特異的に結合する M H C クラス I I 分子を含む。抗体の抗原結合性断片は、抗体可変ドメインおよび（必要に応じて）定常ドメインをコードする DNA の操作および発現を含めた、タンパク質分解性消化または組換え遺伝子工学技法などの任意の好適な標準技法を使用して、例えば完全抗体分子から誘導され得る。このような DNA は公知である、かつ/または例えば、市販源、DNA ライブラリ（例えば、ファージ抗体ライブラリを含む）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、化学的に、または例えば、1つもしくは複数の可変ドメインおよび/または定常ドメインを好適な構成に配置させる、またはコドンを導入する、システイン残基を作製する、アミノ酸を改変する、付加させるまたは欠失させるなどの分子生物学的技法を使用することにより、配列決定または操作され得る。

#### 【 0 1 0 3 】

抗原結合性断片の非限定例は、( i ) F a b 断片；( i i ) F ( a b ' )<sub>2</sub>断片；( i i i ) F d 断片；( i v ) F v 断片；( v ) 単鎖 F v ( s c F v ) 分子；( v i ) d A b 断片；および( v i i ) 抗体の超可変領域を模倣するアミノ酸残基からなる最小限の認識単位（例えば、C D R 3 ペプチドなどの単離された相補性決定領域（C D R））、または拘束 F R 3 - C D R 3 - F R 4 ペプチドを含む。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、C D R グラフト抗体、ダイアボディ、トライアボディ、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）、小モジュラー免疫医薬品（S M I P）およびサメ可変 I g N A R ドメインなどの他の操作された分子もまた、本明細書において使用する「抗原結合性断片」という表現に包含される。

#### 【 0 1 0 4 】

抗体の抗原結合性断片は、通常、少なくとも1つの可変ドメインを含む。可変ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成であってもよく、1つまたは複数のフレームワーク配列を有するフレームに隣接している、またはこのフレーム内に存在する少なくとも1つの C D R を一般に含む。V<sub>L</sub>ドメインに結合したV<sub>H</sub>ドメインを有する抗原結合性断片では、V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>ドメインは、任意の好適な配列で、互いに対して位置することができる。例えば、可変領域は二量体であってもよく、V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>、V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>またはV<sub>L</sub>-V<sub>L</sub>二量体を含有してもよい。代替的に、抗体の抗原結合性断片は、V<sub>H</sub>またはV<sub>L</sub>ドメインモノマーを含有してもよい。

#### 【 0 1 0 5 】

ある種の実施形態では、抗体の抗原結合性断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合により連結されている少なくとも1つの可変ドメインを含有することができる。本開示の抗体の抗原結合性断片内に見いだ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構成は、：( i ) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1；( i i ) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2；( i i i ) V

10

20

30

40

50

H - C<sub>H</sub>3 ; ( i v ) V<sub>H</sub> - C<sub>H</sub>1 - C<sub>H</sub>2 ; ( v ) V<sub>H</sub> - C<sub>H</sub>1 - C<sub>H</sub>2 - C<sub>H</sub>3 ; ( v i ) V<sub>H</sub> - C<sub>H</sub>2 - C<sub>H</sub>3 ; ( v i i ) V<sub>H</sub> - C<sub>L</sub> ; ( v i i i ) V<sub>L</sub> - C<sub>H</sub>1 ; ( i x ) V<sub>L</sub> - C<sub>H</sub>2 ; ( x ) V<sub>L</sub> - C<sub>H</sub>3 ; ( x i ) V<sub>L</sub> - C<sub>H</sub>1 - C<sub>H</sub>2 ; ( x i i ) V<sub>L</sub> - C<sub>H</sub>1 - C<sub>H</sub>2 - C<sub>H</sub>3 ; ( x i i i ) V<sub>L</sub> - C<sub>H</sub>2 - C<sub>H</sub>3 ; および ( x i v ) V<sub>L</sub> - C<sub>L</sub> を含む。上に列挙されている例示的な構成のいずれかを含めた、可変ドメインおよび定常ドメインのいずれかの構成において、可変ドメインおよび定常ドメインは、互いに直接、連結され得るか、またはヒンジ領域もしくはリンカー領域の全体または一部により連結され得るかのどちらかである。ヒンジ領域は、少なくとも2つ(例えば、5、10、15、20、40、60またはそれより多い)アミノ酸からなることができ、単一ポリペプチド分子中に、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連結をもたらす。さらに、本開示の抗体の抗原結合性断片は、互いに、および/または1つもしくは複数のV<sub>H</sub>またはV<sub>L</sub>ドメインモノマーと(例えば、ジスルフィド結合による)非共有結合で、上で列挙されている可変ドメイン構成および定常ドメイン構成のいずれかのホモ二量体またはヘテロ二量体(または、他のマルチマー)を含むことができる。

10

## 【0106】

完全抗体分子と同様に、抗原結合性断片は、単一特異的または多重特異性(例えば、二重特異性)であってもよい。抗体の多重特異性抗原結合性断片は、少なくとも2つの異なる可変ドメインを通常、含み、この場合、各可変ドメインは、個別の抗原または同じ抗原上の異なるエピトープに特異的に結合することができる。本明細書において開示されている例示的な二重特異性抗体フォーマットを含めた、いずれの多重特異性抗体フォーマットも、当技術分野において利用可能な慣用技術を使用して、本開示の抗体の抗原結合性断片の文脈において使用するよう適合され得る。

20

## 【0107】

本開示の抗LAG3抗体および抗体断片は、記載されている抗体のものと異なるが、LAG3に結合する能力を保持するアミノ酸配列を有するタンパク質を包含する。このようなバリエーション抗体および抗体断片は、親配列と比べると、アミノ酸の1つまたは複数の付加、欠失または置換を含むが、記載されている抗体の生物活性と本質的に等価な生物活性を示す。同様に、本開示の抗体をコードするDNA配列は、開示されている配列と比べた場合、ヌクレオチドの1つもしくは複数の付加、欠失または置換を含むが、本開示の抗体または抗体断片に本質的に生物学的に等価な抗体または抗体断片をコードする配列を包含する。

30

## 【0108】

2つの抗原結合性タンパク質または抗体は、例えば、単回投与であれ、複数回投与であれ、同様の試験条件下、同じモル濃度用量で投与された場合に、その吸収速度および程度が有意な差異を示さない、医薬同等物または医薬代替物であれば、生物学的に等価であると考えられる。一部の抗体は、その吸収速度の程度が等価であるが、吸収速度が等価ではない場合、等価物または医薬品代替物と考えられるであろうが、吸収速度のこのような差異は、意図的なものであり、標識時に反映されて、例えば継続的使用に及ぼす有効な身体薬物濃度の実現に必須でなく、検討されている特定の薬物製品にとって医療的に重要ではないと考えられるので、上記の抗体は生物学的に等価であるとやはり考えることができる。

40

## 【0109】

一実施形態では、2つの抗原結合性タンパク質は、その安全性、純度または効能に臨床的に有意な差異が存在しない場合、生物学的に等価である。

## 【0110】

一実施形態では、2つの抗原結合性タンパク質は、参照製品と生物学的製品とを切り替えない継続的治療と比べ、免疫原性の臨床的に有意な変化または有効性の低下を含めた悪影響のリスクの増大が予期されることなしに、このような切り替えが患者に1回または複数回、行われ得る場合、生物学的に等価である。

## 【0111】

一実施形態では、2つの抗原結合性タンパク質は、使用の条件(単数または複数)に対

50

する一般的な機序または作用機序が公知である程度に、このような機序によってどちらも作用する場合、生物学的に等価である。

【0112】

生物学的等価性は、*in vivo*および/または*in vitro*方法によって実証され得る。生物学的等価性の尺度は、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において、時間の関数として測定される、ヒトまたは他の哺乳動物での*in vivo*試験；(b)ヒトの*in vivo*での生体利用率データと相関し、その合理的な予測が可能な*in vitro*試験；(c)抗体(またはその標的)の適切な急性薬理学的影響が、時間の関数として測定される、ヒトまたは他の哺乳動物における*in vivo*試験；および(d)抗体の安全性、効力、または生体利用率もしくは生物学的等価性を確立する十分に制御された臨床試験を含む。

10

【0113】

本開示の抗体の生物学的等価なバリエーションは、例えば、生物活性に必要としない、残基または配列の様々な置換を行うことにより、あるいは末端残基もしくは内部残基または配列を欠失させることにより構築することができる。例えば、生物活性にとって不可欠でないシステイン残基は、還元時に不必要なまたは不適切な分子内ジスルフィド架橋の形成を防止するため、欠失され得るか、または他のアミノ酸と置き換えられ得る。他の文脈では、生物学的に等価な抗体は、抗体のグリコシル化特徴を改変するアミノ酸の変化、例えば、グリコシル化を排除または除去する変異を含む抗体バリエーションを含んでもよい。

【0114】

本開示のある種の実施形態によれば、抗LAG3抗体は、例えば、中性pHに比べて、酸性pHにおいて、FcRn受容体に抗体が結合するのを増強するまたは低下させる、1つまたは複数の変異を含むFcドメインを含む。例えば、本開示は、FcドメインのCH2またはCH3領域における変異であって、酸性環境(例えば、pHが、約5.5~約6.0の範囲であるエンドソーム中)で、FcRnに対するFcドメインの親和性を向上させる、変異を含む抗LAG3抗体を含む。このような変異は、動物に投与された場合、抗体の血清半減期の向上をもたらすことがある。このようなFc改変の非限定例には、例えば、位置250(例えば、EまたはQ)；250および428(例えば、LまたはF)、252(例えば、L/Y/F/WまたはT)、254(例えば、SまたはT)および256(例えば、S/R/Q/E/DまたはT)における改変；または位置428および/もしくは433(例えば、H/L/R/S/P/QまたはK)および/もしくは434(例えば、A、W、H、FまたはY[N434A、N434W、N434H、N434FまたはN434Y])における改変；または位置250および/または428における改変；または位置307もしくは308(例えば、308F、V308F)および434における改変が含まれる。一実施形態では、改変は、428L(例えば、M428L)および434S(例えば、N434S)改変；428L、259I(例えば、V259I)および308F(例えば、V308F)改変；433K(例えば、H433K)および434(例えば、434Y)改変；252、254および256(例えば、252Y、254Tおよび256E)改変；250Qおよび428L改変(例えば、T250QおよびM428L)；および307および/または308改変(例えば、308Fまたは308P)を含む。さらに別の実施形態では、改変は、265A(例えば、D265A)および/または297A(例えば、N297A)改変を含む。

20

30

40

【0115】

例えば、本開示は、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)；257Iおよび311I(例えば、P257IおよびQ311I)；257Iおよび434H(例えば、P257IおよびN434H)；376Vおよび434H(例えば、D376VおよびN434H)；307A、380Aおよび434A(例えば、T307A、E380AおよびN434A)；ならびに433Kおよび434F(例えば、H433KおよびN43

50

4 F) からなる群から選択される変異の1つもしくは複数の対または群を含むFcドメインを含む抗LAG3抗体を含む。一実施形態では、本開示は、二量体の安定化を促進する、IgG4のヒンジ領域において、S108P変異を含むFcドメインを含む抗LAG3抗体を含む。上述のFcドメイン変異、および本明細書において開示されている抗体可変ドメイン内の他の変異のありうるすべての組合せが、本開示の範囲内に企図される。

#### 【0116】

本開示はまた、キメラ重鎖定常(CH)領域を含む抗LAG3抗体を含み、ここでは、キメラCH領域は、1つより多い免疫グロブリンアイソタイプのCH領域に由来するセグメントを含む。例えば、本開示の抗体は、ヒトIgG1、ヒトIgG2またはヒトIgG4分子に由来するCH2ドメインの一部またはすべてを、ヒトIgG1、ヒトIgG2またはヒトIgG4分子に由来するCH3ドメインの一部またはすべてと組み合わせて含むキメラCH領域を含むことができる。ある種の実施形態によれば、本開示の抗体は、キメラヒンジ領域を有するキメラCH領域を含む。例えば、キメラヒンジは、ヒトIgG1、ヒトIgG2またはヒトIgG4ヒンジ領域に由来する「上部ヒンジ」アミノ酸配列(EU番号付けに準拠すると、位置216~227までのアミノ酸残基)を、ヒトIgG1、ヒトIgG2またはヒトIgG4ヒンジ領域に由来する「下部ヒンジ」配列(EU番号付けに準拠すると、位置228~236までのアミノ酸残基)と組み合わせて含むことができる。ある種の実施形態によれば、キメラヒンジ領域は、ヒトIgG1またはヒトIgG4上部ヒンジに由来するアミノ酸残基、およびヒトIgG2下部ヒンジに由来するアミノ酸残基を含む。本明細書に記載されているキメラCH領域を含む抗体は、ある種の実施形態では、抗体の治療的特性または薬物動態特性に悪影響を及ぼすことなく、改変したFcエフェクター機能を示すことがある。(例えば、その開示の全体が参照により本明細書に組み込まれている、米国特許公開第20140243504号を参照されたい)。ある種の実施形態では、Fc領域は、配列番号569、570、571、572および573からなる群から選択される配列を含む。

#### B. ポジトロン放出体およびキレート形成性部分

##### 【0117】

好適なポジトロン放出体には、以下に限定されないが、キレート形成性部分と安定な錯体を形成し、免疫PETイメージング目的に好適な物理的半減期を有するものが含まれる。例示的なポジトロン放出体には、以下に限定されないが、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{44}\text{Sc}$ および $^{86}\text{Y}$ が含まれる。適切なポジトロン放出体にはまた、以下に限定されないが、 $^{76}\text{Br}$ および $^{124}\text{I}$ 、ならびに補欠分子族を介して導入されるもの、例えば $^{18}\text{F}$ を含めた、LAG3結合性タンパク質と直接、結合するものも含まれる。

##### 【0118】

本明細書に記載されているキレート形成性部分は、LAG3結合性タンパク質、例えば抗LAG3抗体に共有結合により連結されている化学部分であり、ポジトロン放出体とキレート形成することが可能な部分、すなわち、ポジトロン放出体と反応して配位キレート錯体を形成することが可能な部分を含む。好適な部分は、特定の金属を十分に搭載することが可能なもの、および診断的使用、例えば免疫PETイメージングにとって*in vivo*で十分に安定な金属-キレート剤の錯体を形成するものを含む。例示的なキレート形成性部分は、ポジトロン放出体の解離、ならびに診断的使用に好適な程度に堆積する、無機骨、血漿タンパク質および/または骨髄における蓄積を最小限にするものを含む。

##### 【0119】

キレート形成性部分の例には、以下に限定されないが、ポジトロン放出体 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{44}\text{Sc}$ および/または $^{86}\text{Y}$ と安定な錯体を形成するものが含まれる。例示的なキレート形成性部分には、以下に限定されないが、その全体が参照により組み込まれている、*Nature Protocols*、5巻(4号):739頁、2010年; *Bioconjugate Chem.*、26巻(12号):2579頁(2015年); *Chem Commun (Camb)*、51巻(12号):2301頁(2015年); *Mol. Pharmaceutics*、12巻:2142頁(2015年); Mo

10

20

30

40

50

l. *Imaging Biol.*、18巻：344頁(2015年)；*Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*、37巻：250頁(2010年)；*Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*(2016年)。doi：10.1007/s00259-016-3499-x；*Bioconjugate Chem.*、26巻(12号)：2579頁(2015年)；WO2015/140212A1；およびUS5,639,879に記載されているものが含まれる。

#### 【0120】

例示的なキレート形成性部分にはまた、以下に限定されないが、デスフェリオキサミン(DFO)、1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、(1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-テトラ(メチレンホスホン)酸(DOTP)、1R,4R,7R,10R)-'''-テトラメチル-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTMA)、1,4,8,11-テトラアザシクロドデカン-1,4,8,11-四酢酸(TETA)、H<sub>4</sub>オクタパ、H<sub>6</sub>ホスバ、H<sub>2</sub>デドパ、H<sub>5</sub>デカパ、H<sub>2</sub>アザパ、HOPO、DO2A、1,4,7,10-テトラキス(カルバモイルメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン(DOTAM)、1,4,7-トリアザシクロノナン-N,N',N''-三酢酸(NOTA)、1,4,7,10-テトラキス(カルバモイルメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン(DOTAM)、1,4,8,11-テトラアザビシクロ[6.6.2]ヘキサデカン-4,11-二酢酸(dicetic acid)(CB-TE2A)、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン(サイクレン)、1,4,8,11-テトラアザシクロドデカン(サイクラム)、八座キレート剤、例えば、DFO\* (これは、DFO\*-pPhe-NCSにより抗体にコンジュゲートされ得る)(Vugtra、*Eur J Nucl Med Mol Imaging*(2017年)44巻：286~295頁を参照されたい)、六座キレート剤、ホスホネートをベースとするキレート剤、マクロ環式キレート剤、マクロ環式テレフタルアミド配位子を含むキレート剤、二官能性キレート剤、フサリニンCおよびフサリニンC誘導体キレート剤、トリアセチルフサリニンC(TAFC)、フェリオキサミンE(FOX E)、フェリオキサミンB(FOX B)、フェリクロメA(FCHA)などを含むものを含む。

#### 【0121】

一部の実施形態では、キレート形成性部分は、キレート形成性部分のキレート形成部分が結合性タンパク質に共有結合により結合している、リンカー部分を介して、LAG3結合性タンパク質、例えば抗体またはその抗原結合性断片に共有結合している。一部の実施形態では、これらのリンカー部分は、LAG3結合性タンパク質の反応性部分、例えば抗体のシステインまたはリシンと、例えば、p-イソチオシアナトベンジル(isothiocyanatobenzyl)基、および以下のコンジュゲート方法に提示されている反応性部分を含めたキレート剤に結合する反応性部分との間の反応から形成される。さらに、このようなリンカー部分は、極性、溶解度、立体的相互作用、剛直性および/またはキレート形成性部分とLAG3結合性タンパク質との間の長さを調節する目的のために使用される化学基を必要に応じて含む。

#### C. 放射標識抗LAG3コンジュゲートの調製

##### 【0122】

放射標識抗LAG3タンパク質コンジュゲートは、(1)LAG3結合性タンパク質、例えば抗体と、ポジトロン放出体キレート剤およびLAG3結合性タンパク質の望ましいコンジュゲート部位に反応性の部分を含む分子を反応させて、(2)所望のポジトロン放出体を搭載させることにより調製することができる。

##### 【0123】

適切なコンジュゲート部位には、以下に限定されないが、リシンおよびシステインが含まれ、これらはどちらも、例えば、天然または操作されたものとすることができ、例えば、抗体の重鎖または軽鎖上に存在し得る。システインコンジュゲート部位は、以下に限定

されないが、抗体ジスルフィド結合の変異、挿入または還元から得られたものを含む。システインを操作した抗体を作製する方法は、以下に限定されないが、WO 2011/056983に開示されているものを含む。抗体の特異的部位にコンジュゲート反応を向かわせて、所望の化学量論を実現する、および/または所望のキレート剤対抗体の比を実現する、部位特異的コンジュゲート方法を使用することもできる。このようなコンジュゲート方法は、当業者に公知であり、以下に限定されないが、システイン操作法、ならびに以下に限定されないが、グルタミンコンジュゲート、Q295コンジュゲートおよびトランスグルタミナーゼ媒介性コンジュゲートを含めた酵素法および化学酵素法、ならびにその全体が参照により本明細書に組み込まれている、J. Clin. Immunol.、36巻：100頁(2016年)に記載されているものを含む。所望のコンジュゲート部位に反応性を示す好適な部分により、LAG3結合性タンパク質、例えば抗体とポジトロン放出体キレート剤との効率的かつ容易なカップリングが、一般に可能になる。リシンおよびシステイン部位に反応性を示す部分は、当業者に公知の求電子性基を含む。ある種の態様では、所望のコンジュゲート部位がリシンである場合、反応性部分は、イソチオシアネート、例えばp-イソチオシアナトベンジル基または反応性エステルである。ある種の態様では、所望のコンジュゲート部位がシステインである場合、反応性部分はマレイミドである。

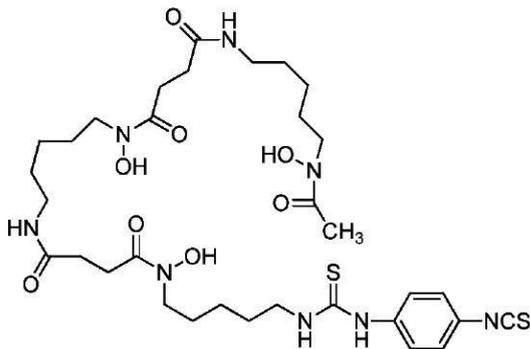
10

## 【0124】

キレート剤が、デスフェリオキサミン(DFO)である場合、好適な反応性部分には、以下に限定されないが、イソチオシアナトベンジル基、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、2,3,5,6テトラフルオロフェノールエステル、N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート、およびその全体が参照により本明細書に組み込まれている、BioMed Research International、2014巻、書籍ID 203601に記載されているものが含まれる。ある種の実施形態では、LAG3結合性タンパク質は抗体であり、ポジトロン放出体キレート剤およびコンジュゲート部位に反応性を示す部分を含む分子は、p-イソチオシアナトベンジル-デスフェリオキサミン(p-SCN-Bn-DFO)：

20

## 【化1】



30

である。

40

## 【0125】

ポジトロン放出体の搭載は、例えば、本明細書に提示されている実施例に記載されている方法、または実質的に同様の方法を行うことにより、前記ポジトロン放出体をキレート剤に配位させるのに十分な時間、ポジトロン放出体とともにLAG3結合性タンパク質キレート剤コンジュゲートをインキュベートすることにより行われる。

## D. コンジュゲートの例示的实施形態

## 【0126】

ヒトLAG3に結合する抗体またはその抗原結合性断片、およびポジトロン放出体を含む放射標識抗体コンジュゲートが本開示に含まれる。同様に、ヒトLAG3に結合する抗体またはその抗原結合性断片、キレート形成性部分およびポジトロン放出体を含む放射標

50

識抗体コンジュゲートが、本開示に含まれる。

【0127】

一部の実施形態では、キレート形成性部分は、 $^{89}\text{Zr}$ と錯体を形成することが可能なキレート剤を含む。ある種の実施形態では、キレート形成性部分は、デスフェリオキサミンを含む。ある種の実施形態では、キレート形成性部分は、p-イソチオシアナトベンジル-デスフェリオキサミンである。

【0128】

一部の実施形態では、ポジトロン放出体は、 $^{89}\text{Zr}$ である。一部の実施形態では、抗LAG3抗体の1.0%未満しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.9%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.8%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.7%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.6%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.5%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.4%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.3%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、0.2%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない、または0.1%未満の抗LAG3抗体しかポジトロン放出体とコンジュゲートされていない。

【0129】

一部の実施形態では、コンジュゲートの抗体に対するキレート形成性部分の比は、1~2である。

【0130】

特定の実施形態では、キレート形成性部分は、p-イソチオシアナトベンジル-デスフェリオキサミンであり、ポジトロン放出体は、 $^{89}\text{Zr}$ である。別の特定の実施形態では、キレート形成性部分はp-イソチオシアナトベンジル-デスフェリオキサミンであり、ポジトロン放出体は $^{89}\text{Zr}$ であり、コンジュゲートの抗体に対するキレート形成性部分の比は1~2である。

【0131】

一部の実施形態では、LAG3に結合する抗原結合性タンパク質が提供され、LAG3に結合する前記抗原結合性タンパク質は、以下の構造：

- L - M<sub>z</sub>

を有する1つまたは複数の部分に共有結合により結合しており、式中、Lはキレート形成性部分であり、Mはポジトロン放出体であり、zは、独立して、出現ごとに、0または1であり、zの少なくとも1つは、1である。ある種の実施形態では、放射標識抗原結合性タンパク質は、式(I)の化合物：

M - L - A - [ L - M<sub>z</sub> ]<sub>k</sub>

(I)

であり、Aは、LAG3に結合するタンパク質であり、Lはキレート形成性部分であり、Mはポジトロン放出体であり、zは、0または1であり、kは0~30の整数である。一部の実施形態では、kは1である。

【0132】

一部の実施形態では、Lは、以下：

10

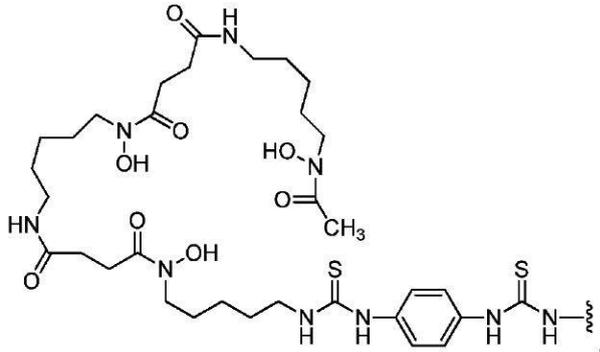
20

30

40

50

## 【化 2】



10

である。

## 【 0 1 3 3 】

一部の実施形態では、Mは<sup>89</sup>Zrである。

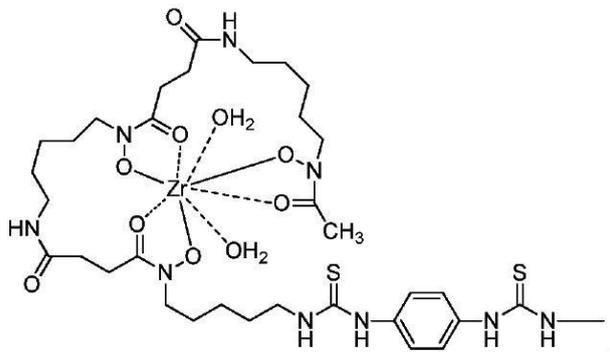
## 【 0 1 3 4 】

一部の実施形態では、kは、1～2の整数である。一部の実施形態では、kは1である。

## 【 0 1 3 5 】

一部の実施形態では、-L-Mは、以下：

## 【化 3】



30

である。

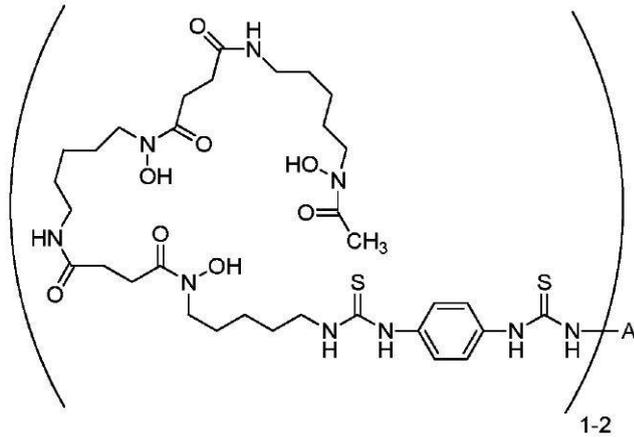
## 【 0 1 3 6 】

式(III)の化合物：

40

50

## 【化4】



10

を、 $^{89}\text{Zr}$ に接触させるステップを含む、放射標識抗体コンジュゲートを合成する方法も、本開示に含まれ、式中、Aは、LAG3に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。ある種の実施形態では、式(III)の化合物は、LAG3に結合する抗体またはその抗原結合性断片をp-SCN-Bn-DFOに接触させることにより合成される。

20

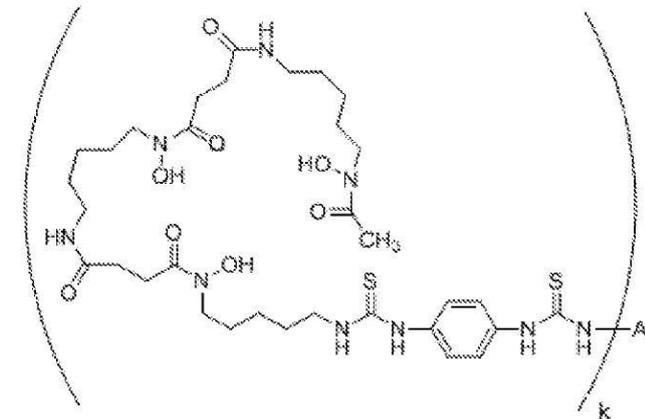
## 【0137】

式(III)の化合物と $^{89}\text{Zr}$ との間の反応生成物も、本明細書において提供されている。

## 【0138】

式(III)の化合物：

## 【化5】



30

が本明細書において提供され、式中、Aは、LAG3に結合する抗体またはその抗原結合性断片であり、kは1~30の整数である。一部の実施形態では、kは、1または2である。

## 【0139】

一部の実施形態では、以下の構造：

A - L<sub>k</sub>

を有する、コンジュゲートを含む組成物が本明細書において提供され、式中、Aは、LAG3に結合するタンパク質であり、Lはキレート形成性部分であり、kは1~30の整数であり、コンジュゲートは、臨床的PETイメージングに好適な比放射能を実現するのに

50

十分な量で、ポジトロン放出体とキレートを形成する。一部の実施形態では、キレート形成したポジトロン放出体の量は、LAG3に結合するタンパク質1~50mgあたり、約1~約20mCiの比放射能をもたらすのに十分な量である。一部の実施形態では、キレート形成したポジトロン放出体の量は、LAG3に結合するタンパク質1~50mgあたり、最大で20mCi、最大で15mCiまたは最大で10mCi、例えば約3~約20mCi、約5~約20mCi、約1~約15mCi、約3~約15mCi、約5~約15mCi、約1~約10mCiまたは約3~約10mCiの範囲の比放射能をもたらすのに十分な量である。

【0140】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約2nM未満の結合解離平衡定数(K<sub>D</sub>)で、ヒトLAG3単量体に結合する。

10

【0141】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、25において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約1.5nM未満のK<sub>D</sub>で、ヒトLAG3単量体に結合する。

【0142】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、37において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約90pM未満のK<sub>D</sub>で、ヒトLAG3二量体に結合する。

【0143】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、25において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約20pM未満のK<sub>D</sub>で、ヒトLAG3二量体に結合する。

20

【0144】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、ヒトLAG3への結合について、HCVR(HCVRは、表1に列挙されているHCVR配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する)の相補性決定領域(CDR)およびLCVR(LCVRは、表1に列挙されているLCVR配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する)のCDRを含む参照抗体と競合する。一部の実施形態では、参照抗体またはその抗原結合性断片は、表1に記載されているHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。一部の実施形態では、参照抗体は、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330、338/346、354/362、370/378、386/394、402/410、418/426、434/442、450/522、458/522、466/522、474/522、482/522、490/522、498/530、506/530、514/530、538/546、および554/562からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。

30

【0145】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、LAG3がMHCクラスIIに結合するのを増大する。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、LAG3がMHCクラスIIに結合するのを遮断する。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、LAG3がそのリガンドに結合するのを増大も低下もさせない。

40

【0146】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、HCVRの相補性決定領域(CDR)(HCVRは、配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、386、402、418、434、450、458、466、474、482、490、498、506、514、538および554からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する);およびLCVRのCDR(LCVRは、配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、

50

154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330、346、362、378、394、410、426、442、522、530、546および562からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する)を含む。ある種の実施形態では、単離された抗体は、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330、338/346、354/362、370/378、386/394、402/410、418/426、434/442、450/522、458/522、466/522、474/522、482/522、490/522、498/530、506/530、514/530、538/546、および554/562からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。ある種の実施形態では、単離された抗体は、配列番号386/394、418/426、538/546、577/578、579/578および580/581からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。

10

## 【0147】

一部の実施形態では、抗体は、ヒトLAG3に特異的に結合するヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその抗原結合性断片は、表1に列挙されている重鎖可変領域(HCVR)配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCVRを含む。

20

## 【0148】

一部の実施形態では、抗体は、ヒトLAG3に特異的に結合するヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその抗原結合性断片は、表1に列挙されている軽鎖可変領域(LCVR)配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCVRを含む。

## 【0149】

一部の実施形態では、抗体は、ヒトLAG3に特異的に結合するヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその抗原結合性断片は、(a)表1に列挙されているHCVR配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCVR、および(b)表1に列挙されているLCVR配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCVRを含む。

30

## 【0150】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、表1に列挙されている重鎖可変領域(HCVR)配列のいずれか1つ内に含まれている、3つの重鎖相補性決定領域(CDR)(HC DR1、HC DR2およびHC DR3)；および表1に列挙されている軽鎖可変領域(LCVR)配列のいずれか1つ内に含まれている3つの軽鎖CDR(LC DR1、LC DR2およびLC DR3)を含む。

## 【0151】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、以下：

(a) 配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、324、340、356、372、388、404、420、436、452、460、468、476、484、492、500、508、516、540および556からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHC DR1ドメイン、

40

(b) 配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、326、342、358、374、390、406、422、438、454、462、470、478、486、494、502、510、518、542および558からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHC DR2ドメイン、

(c) 配列番号8、24、40、56、72、88、104、120、136、152

50

、 168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、328、344、360、376、392、408、424、440、456、464、472、480、488、496、504、512、520、544および560からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCDR3ドメイン、

(d) 配列番号12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、316、332、348、364、380、396、412、428、444、524、532、548および564からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR1ドメイン、

(e) 配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、318、334、350、366、382、398、414、430、446、526、534、550および566からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR2ドメイン、および

(f) 配列番号16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、320、336、352、368、384、400、416、432、448、528、536、552および568からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR3ドメイン

を含む。

#### 【0152】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330、338/346、354/362、370/378、386/394、402/410、418/426、434/442、450/522、458/522、466/522、474/522、482/522、490/522、498/530、506/530、514/530、538/546、および554/562からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号386/394、418/426および538/546からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。

E. 抗LAG3抗体 - キレート剤コンジュゲートを生成するためのスケールを向上した製造

#### 【0153】

キレート剤にコンジュゲートされた抗LAG3抗体を生成するためのスケールアップ製造法が、本開示に含まれる。抗LAG3抗体 - キレート剤コンジュゲートは、放射標識に好適な形態にある。

#### 【0154】

良好な製造法は、滅菌環境の維持、滅菌手順の実践、すべての過程の記録の保管、ならびに製品品質、純度、力価および同一性の文書化、ならびにこれらからのいかなる逸脱を含めた、製品のすべての態様において順守される。

#### 【0155】

スケールアップ製造法は、一部の実施形態では、研究および開発のための製造法よりかなり速い。一部の実施形態では、スケールアップ製造法は、12時間未満、または10時間未満、または8時間未満、または6時間未満、または4時間未満、または約2時間またはそれ未満しかかかり得ない。

#### 【0156】

一部の実施形態では、第1のステップは、コンジュゲート過程を阻害する、賦形剤、コンジュゲート妨害性化学種および塩を除去するための、30~50kDaの膜を使用する

10

20

30

40

50

、抗LAG3抗体の限外ろ過およびダイアフィルトレーション(UFD F)を含む。例示的な膜ポリマーには、ポリエーテルスルホン(PES)、酢酸セルロース(CA)および再生セルロース(RC)が含まれる。このステップでは、抗体は、低イオン強度および非妨害性緩衝溶液中でバッファー交換される。緩衝液のpHは、約4.5~約6、または約5~約6、または約5.3~約5.7の間、または約5.5とすることができる。本明細書において企図される緩衝系には、一級アミンのない任意の緩衝系が含まれる。例示的な緩衝液には、酢酸、リン酸またはクエン酸緩衝液が含まれる。緩衝液は、事前コンジュゲート処理中、タンパク質に安定性をもたらす。この過程の体積をさらに低下させて抗体を濃縮し、次に、滅菌ろ過することができる。

**【0157】**

事前コンジュゲートUFD Fの後、濃縮してろ過した抗体を、アミン不含炭酸緩衝系に移送することができる。炭酸緩衝系は、約8.5~約9.6、または約9.0~約9.6、または約9.2~約9.4、または約9.4~約9.6の範囲のpH、または約9.4のpHを有することができる。

**【0158】**

溶媒中のキレート剤、例えばDFOを、抗体を含有する緩衝系に目標濃度まで加え、追加の溶媒をこの溶液に加えて、所望の百分率にすることができる。キレート剤は、過剰モルの抗体で、例えば、3.5~5:1となる抗体に対するキレート剤で添加することができる。全反応体積は、最大5Lとすることができる。

**【0159】**

反応温度および反応時間は、反比例の関係にある。例えば、反応温度が高いほど、反応時間は短い。反応温度が低いほど、反応時間は長い。例示的には、約18より高い温度では、反応は、2時間未満しかかからないことがあり、18未満の温度では、反応は、2時間を超えることがある。

**【0160】**

コンジュゲート反応は、クエンチすることにより、例えば、酢酸の添加によって終了させることができる。

**【0161】**

一部の実施形態では、抗体とデフェロキサミンとのコンジュゲートを行い、DFO-mAbコンジュゲートを生成する。一部の実施形態では、抗体とp-SCN-Bn-デフェロキサミンとのコンジュゲートを行うと、DFO-mAbコンジュゲートが生成する。

**【0162】**

キレート剤用の例示的な溶媒には、DMSOおよびDMAが含まれる。後続のUFD Fステップは膜を利用し、この膜は、コンジュゲートステップで使用される溶媒系に基づいて選択される。例えば、DMAは、PES膜を溶かすので、これら2つを同じ系で使用することはできない。

**【0163】**

炭酸緩衝液は、長期保管中のコンジュゲートの安定性に関する好ましくない。したがって、一旦、抗体-キレート剤コンジュゲートが形成されると、それらは、特に長期保管および安定性のために選択された緩衝液へとバッファー交換され得る。例示的な緩衝液には、クエン酸、酢酸、リン酸、アルギニンおよびヒスチジンの緩衝液が含まれる。さらなるUFD Fステップを行って、残留塩を除去すること、および好適な濃度、賦形剤レベル、およびコンジュゲートされたモノクローナル抗体のpHを実現することができる。得られた抗体-キレート剤コンジュゲートは、その後の製剤化のため、滅菌ろ過して保管され得る。

**III. 放射標識イムノコンジュゲートを使用する方法****【0164】**

ある種の態様では、本開示は、本開示の放射標識抗体コンジュゲートの使用の診断的および治療的方法を提供する。

**【0165】**

10

20

30

40

50

一態様によれば、本開示は、組織中のLAG3を検出する方法であって、本明細書において提供されている放射標識抗LAG3抗体コンジュゲートを組織に投与するステップ、およびポジトロン断層法(PET)イメージングによりLAG3発現を可視化するステップを含む方法を提供する。ある種の実施形態では、組織は、細胞または細胞系を含む。ある種の実施形態では、組織は、対象に存在し、対象は哺乳動物である。ある種の実施形態では、対象は、ヒト対象である。ある種の実施形態では、対象は、がん、感染症および炎症性疾患からなる群から選択される疾患または障害を有する。一実施形態では、対象はがんを有する。ある種の実施形態では、感染症は、例えば、rickettsial細菌、bacilli、klebsiella、meningococciおよびgonococci、proteus、pneumococci、pseudomonas、streptococci、staphylococci、serratia、Borriella、Bacillus anthracis、Chlamydia、Clostridium、Corynebacterium diphtheriae、Legionella、Mycobacterium leprae、Mycobacterium lepromatosis、Salmonella、Vibrio choleraeおよびYersinia pestisによって引き起こされる細菌感染である。ある種の実施形態では、感染症は、例えば、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、B型肝炎ウイルス(HBV)、ヘルペスウイルス(例えば、VZV、HSV-I、HAV-6、HSV-II、CMVおよびエプスタインパールウイルス)、ヒトパピローマウイルス(HPV)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)、およびサル免疫不全ウイルス(SIV)によって引き起こされるウイルス感染である。ある種の実施形態では、感染症は、例えば、Entamoeba spp.、Enterobius vermicularis、Leishmania spp.、Toxocara spp.、Plasmodium spp.、Schistosoma spp.、Taenia solium、Toxoplasma gondiiおよびTrypanosoma cruziによって引き起こされる寄生虫感染である。ある種の実施形態では、感染症は、Aspergillus(fumigatus、nigerなど)、Blastomyces dermatitidis、Candida(albicans、krusei、glabrata、tropicalisなど)、Coccidioides immitis、Cryptococcus neoformans、Genus Mucorales(mucor、absidia、rhizopusなど)、Histoplasma capsulatum、Paracoccidioides brasiliensisおよびSporothrix schenckiiによって引き起こされる真菌感染である。

#### 【0166】

一態様によれば、本開示は、LAG3を発現する組織をイメージングする方法であって、本開示の放射標識抗LAG3抗体コンジュゲートを組織に投与するステップ、およびポジトロン断層法(PET)イメージングによりLAG3発現を可視化するステップを含む方法を提供する。一実施形態では、組織は、腫瘍に含まれる。一実施形態では、組織は、腫瘍細胞培養物または腫瘍細胞系に含まれる。一実施形態では、組織は、対象における腫瘍病変に含まれる。一実施形態では、組織は、組織中の腫瘍内リンパ球である。一実施形態では、組織は、LAG3発現細胞を含む。

#### 【0167】

一態様によれば、本開示は、療法への応答を測定するための方法であって、療法への応答が、炎症の測定により測定される、方法を提供する。本方法は、この態様によれば、それを必要とする対象に本明細書において提供される放射標識抗体コンジュゲートを投与するステップ、およびポジトロン断層法(PET)イメージングによってLAG3発現を可視化するステップを含む。ある種の実施形態では、炎症は、対象における腫瘍中に存在する。ある種の実施形態では、LAG3発現の向上は、腫瘍における炎症の増大に相関する。ある種の実施形態では、炎症は、対象における感染組織に存在する。ある種の実施形態では、LAG3発現の低下は、感染組織における炎症の低下に相関する。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 6 8 】

一態様によれば、本開示は、療法への応答を測定するための方法であって、療法への応答が、炎症の測定により測定される、方法を提供する。本方法は、この態様によれば、( i )それを必要とする対象に本明細書において提供される放射標識抗体コンジュゲートを投与するステップ、およびポジトロン断層法 ( P E T ) イメージングによって L A G 3 発現を可視化するステップ、および ( i i ) 療法の開始後に、1回または複数回、ステップ ( i ) を繰り返すステップを含む。ある種の実施形態では、炎症は、対象における組織中に存在する。ある種の実施形態では、L A G 3 発現の向上は、組織における炎症の増大に相関する。ある種の実施形態では、L A G 3 発現の低下は、組織における炎症の低下に相関する。ある種の実施形態では、ステップ ( i ) において可視化した L A G 3 発現は、ステップ ( i i ) において可視化した L A G 3 発現と比較される。

10

## 【 0 1 6 9 】

一態様によれば、本開示は、固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、本開示の放射標識抗体コンジュゲートを投与するステップ、および P E T イメージングによって腫瘍における投与された放射標識抗体コンジュゲートを局在化させるステップを含む、患者が、L A G 3 の阻害剤を含む抗腫瘍療法に好適かどうかを判定するための方法であって、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、患者を L A G 3 の阻害剤を含む抗腫瘍療法に好適であると特定する方法を提供する。

## 【 0 1 7 0 】

一態様によれば、本開示は、固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、本開示の放射標識抗体コンジュゲートを投与するステップ、および P E T イメージングによって腫瘍における投与された放射標識抗体コンジュゲートを局在化させるステップを含む、L A G 3 の阻害剤および P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達軸の阻害剤を含む抗腫瘍療法のための候補を特定する方法であって、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、患者を L A G 3 の阻害剤を含む抗腫瘍療法に好適であると特定する方法を提供する。一部の実施形態では、患者は、放射標識抗 P D - 1 コンジュゲートをさらに投与されて、投与した放射標識抗 P D - 1 コンジュゲートは、P E T イメージングによって腫瘍に局在化させ、この場合、腫瘍中の放射標識抗体コンジュゲートの存在により、患者を P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達軸の阻害剤を含む抗腫瘍療法に好適であると特定する。

20

## 【 0 1 7 1 】

固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、および腫瘍が L A G 3 ポジティブであるかどうかを判定するステップを含む、患者の抗腫瘍療法に対する応答を予測するための方法であって、腫瘍が、L A G 3 ポジティブである場合、患者の抗腫瘍療法への応答がポジティブであると予測する方法も本明細書において提供される。ある種の実施形態では、腫瘍は、本開示の放射標識抗 L A G 3 抗体コンジュゲートを投与して、P E T イメージングによって腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートを局在化させることにより、ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍が L A G 3 ポジティブであることが示される。

30

## 【 0 1 7 2 】

一部の実施形態では、抗腫瘍療法は、P D - 1 阻害剤 ( 例えば、R E G N 2 8 1 0、B G B - A 3 1 7、ニボルマブ、ピジリズマブおよびペムブロリズマブ )、P D - L 1 阻害剤 ( 例えば、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、M D X - 1 1 0 5 および R E G N 3 5 0 4、ならびに特許公開 U S 2 0 1 5 - 0 2 0 3 5 8 0 に開示されているもの )、C T L A - 4 阻害剤 ( 例えば、イピリムマブ )、T I M 3 阻害剤、B T L A 阻害剤、T I G I T 阻害剤、C D 4 7 阻害剤、G I T R 阻害剤、別の T 細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト ( 例えば、C D - 2 8、2 B 4、L Y 1 0 8、L A I R 1、I C O S、C D 1 6 0 または V I S T A に対する抗体 )、インドールアミン - 2、3 - ジオキシゲナーゼ ( I D O ) 阻害剤、血管内皮細胞成長因子 ( V E G F ) アンタゴニスト [ 例えば、アフリベルセプト、または U S 7, 0 8 7, 4 1 1 に記載されている他の V E G F 阻害性融合タンパク質、または抗 V E G F 抗体もしくはその抗原結合性断片 ( 例えば、ベバシズ

40

50

マブまたはラニビズマブ)、またはVEGF受容体の低分子キナーゼ阻害剤(例えば、スニチニブ、ソラフェニブまたはパゾパニブ)などの「VEGF-トラップ」、Ang2阻害剤(例えば、ネスバクマブ)、トランスフォーミング成長因子ベータ(TGFβ)阻害剤、上皮成長因子受容体(EGFR)阻害剤(例えば、エルロチニブ、セツキシマブ)、CD20阻害剤(例えば、リツキシマブなどの抗CD20抗体)、腫瘍特異的抗原への抗体[例えば、CA9、CA125、黒色腫関連抗原3(MAGE3)、癌胎児性抗原(CEA)、ビメンチン、腫瘍-M2-PK、前立腺特異的抗原(PSA)、ムチン-1、MART-1およびCA19-9]、ワクチン(例えば、カルメット-ゲラン桿菌、がんワクチン)、抗原提示を向上するアジュバント(例えば、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子)、二重特異性抗体(例えば、CD3×CD20二重特異性抗体またはPSMA×CD3二重特異性抗体)、細胞毒、化学療法剤(例えば、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセルおよびピンクリスチン)、シクロホスファミド、放射線療法、IL-6R阻害剤(例えば、サリルマブ)、IL-4R阻害剤(例えば、デュピルマブ)、IL-10阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21およびIL-15などのサイトカインおよび抗体-薬物コンジュゲート(ADC)(例えば、抗CD19-DM4 ADCおよび抗DS6-DM4 ADC)から選択される。

10

## 【0173】

一部の実施形態では、抗腫瘍療法は、以下：ニボルマブ、イピリムマブ、ペムプロリズマブおよびそれらの組合せから選択される。

20

## 【0174】

一態様によれば、本開示は、固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、腫瘍がLAG3ポジティブであるかどうかを判定するステップを含む、LAG3の阻害剤を含む抗腫瘍療法に対する患者の応答を予測するための方法であって、腫瘍が、LAG3ポジティブである場合、患者のポジティブ応答が予測される、方法を提供する。ある種の実施形態では、腫瘍は、本開示の放射標識抗体コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートを局在化させることにより、ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がLAG3ポジティブであることが示される。

30

## 【0175】

一態様によれば、本開示は、固形腫瘍を有する患者を選択するステップ、腫瘍がLAG3ポジティブおよびPD-1ポジティブであるかどうかを判定するステップを含む、PD-1/PD-L1シグナル伝達軸の阻害剤と組み合わせた、LAG3の阻害剤を含む抗腫瘍療法に対する患者の応答を予測するための方法であって、腫瘍が、LAG3ポジティブおよびPD-1ポジティブである場合、患者のポジティブ応答が予測される、方法を提供する。ある種の実施形態では、腫瘍は、放射標識抗LAG3コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートを局在化させることにより、LAG3ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がLAG3ポジティブであることが示される。ある種の実施形態では、腫瘍は、放射標識抗PD-1コンジュゲートをさらに投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗PD-1コンジュゲートを局在化させることにより、PD-1ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がPD-1ポジティブであることが示される。

40

## 【0176】

一態様によれば、本開示は、対象における、LAG3ポジティブ腫瘍を検出するための方法を提供する。本方法は、本態様によれば、固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、対象に本開示の放射標識抗体コンジュゲートを投与するステップ、およびPETイメージングによって放射標識抗体コンジュゲートの局在化を判定するステップを含み、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がLAG3ポジティブであること

50

が示される。

【0177】

一部の態様では、それを必要とする対象には、放射標識抗LAG3抗体コンジュゲートが、約20mgまたはそれ未満の用量、約15mgまたはそれ未満の用量、約10mgまたはそれ未満の用量、例えば、2mgまたは5mgまたは10mgの用量で投与される。

【0178】

本明細書で使用する場合、表現「それを必要とする対象」は、がんの1つもしくは複数の症状または兆候を示しており、かつ/または固形腫瘍を含めたがんと診断を受け、これらの処置を必要とするヒトまたは非ヒト哺乳動物を意味する。多くの実施形態では、用語「対象」は、用語「患者」と互換的に使用され得る。例えば、ヒト対象は、原発性または転移性腫瘍、および/または以下に限定されないが、解明できない体重減少、全身の脱力感、持続性倦怠感、食欲不振、発熱、寝汗、骨痛、息切れ、腹部の腫れ、胸部痛/圧、脾臓の膨張、およびがん関連バイオマーカー（例えば、CA125）のレベルの向上を含めた、1つまたは複数の症状または兆候の診断を受け得る。この表現は、原発性または定着した腫瘍を有する対象を含む。具体的な実施形態では、この表現は、固形腫瘍、例えば、結腸がん、乳がん、肺がん、前立腺がん、皮膚がん、肝臓がん、骨がん、卵巣がん、子宮頸がん、膵臓がん、頭頸部がんおよび脳がんを有する、および/またはこれらの処置を必要とするヒト対象を含む。この用語は、原発性または転移性腫瘍（進行性悪性腫瘍）を有する対象を含む。ある種の実施形態では、表現「それを必要とする対象」は、以前の療法（例えば、抗がん剤による処置）に抵抗性もしくは不応性を示す、またはこれにより適切に制御されない固形腫瘍を有する患者を含む。例えば、この表現は、化学療法（例えば、カルボプラチンまたはドセタキセル）による処置などの、以前の療法の1つまたは複数の方針により処置された対象を含む。ある種の実施形態では、表現「それを必要とする対象」は、以前の療法の1つまたは複数の方針により処置されたが、後で再発または転移した、固形腫瘍を有する患者を含む。ある種の実施形態では、この用語は、以下に限定されないが、がん、関節リウマチ、アテローム性動脈硬化、歯周炎、花粉症、心臓疾患、冠動脈疾患、感染症、気管支炎、皮膚炎、髄膜炎、喘息、結核、潰瘍性大腸炎、クローン病、炎症性腸疾患、肝炎、静脈洞炎、乾癬、アレルギー、線維症、ループス、脈管炎（vasculitis）、強直性脊椎炎、グレーブス病、セリアック病、線維筋痛症および移植拒絶を含めた炎症性疾患または障害を有する対象を含む。

【0179】

ある種の実施形態では、本開示の方法は、固形腫瘍を有する対象において使用される。用語「腫瘍」、「がん」および「悪性」は、本明細書において互換的に使用される。本明細書で使用する場合、用語「固形腫瘍」とは、囊腫または液状エリアを通常、含まない、組織の異常塊を指す。固形腫瘍は、良性の（がんではない）または悪性腫瘍（がん）とすることができる。一部の実施形態では、腫瘍は転移性である。本開示の目的のため、用語「固形腫瘍」は、悪性固形腫瘍を意味する。この用語は、固形腫瘍、すなわち肉腫、癌腫およびリンパ腫を形成する、細胞タイプに命名される、様々なタイプの固形腫瘍を含む。ある種の実施形態では、用語「固形腫瘍」は、以下に限定されないが、結腸直腸がん、卵巣がん、前立腺がん、乳がん、脳がん、子宮頸がん、膀胱がん、肛門がん、子宮がん、結腸がん、肝臓がん、黒色腫、転移性黒色腫、膵臓がん、肺がん、子宮内膜がん、骨がん、精巣がん、皮膚がん、腎臓がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、唾液腺がんおよび骨髄腫を含めたがんを含む。

【0180】

一部の実施形態では、本明細書において開示されている方法は、がんを有する対象、例えば血液がん、脳がん、腎細胞がん、卵巣がん、膀胱がん、前立腺がん、乳がん、肝細胞癌、骨がん、結腸がん、非小細胞肺癌、頭頸部の扁平上皮癌、結腸直腸がん、中皮腫、B細胞リンパ腫および黒色腫を有する対象に使用され得る。一部の態様では、がんは、転移性、例えば転移性黒色腫である。

【0181】

10

20

30

40

50

一態様によれば、本開示は、対象における、腫瘍を処置する方法を提供する。本方法は、この態様によれば、固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、腫瘍がLAG3ポジティブであることを判定するステップ、LAG3の阻害剤の1つまたは複数の用量を投与するステップを含む。ある種の実施形態では、腫瘍は、対象に本開示の放射標識抗体コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートを可視化することによりLAG3ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がLAG3ポジティブであることが示される。

#### 【0182】

さらなる態様では、処置の方法は、CTLA-4阻害剤（例えば、イピリムマブ）、TIM3阻害剤、BTLA阻害剤、TIGIT阻害剤、CD47阻害剤、GITR阻害剤、別のT細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト（例えば、CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160またはVISTAに対する抗体）、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO）阻害剤、血管内皮細胞成長因子（VEGF）アンタゴニスト [例えば、アフリベルセプト、またはUS7,087,411に記載されている他のVEGF阻害性融合タンパク質、または抗VEGF抗体もしくはその抗原結合性断片（例えば、ペバシズマブまたはラニビズマブ）、またはVEGF受容体の低分子キナーゼ阻害剤（例えば、スニチニブ、ソラフェニブまたはパゾパニブ）などの「VEGF-トラップ」、Ang2阻害剤（例えば、ネスバクマブ）、トランスフォーミング成長因子ベータ（TGF $\beta$ ）阻害剤、上皮成長因子受容体（EGFR）阻害剤（例えば、エルロチニブ、セツキシマブ）、CD20阻害剤（例えば、リツキシマブなどの抗CD20抗体）、腫瘍特異的抗原への抗体 [例えば、CA9、CA125、黒色腫関連抗原3（MAGE3）、癌胎児性抗原（CEA）、ビメンチン、腫瘍-M2-PK、前立腺特異的抗原（PSA）、ムチン-1、MART-1およびCA19-9]、ワクチン（例えば、カルメット-ゲラン桿菌、がんワクチン）、抗原提示を向上するアジュバント（例えば、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子）、二重特異性抗体（例えば、CD3 $\times$ CD20二重特異性抗体またはPSMA $\times$ CD3二重特異性抗体）、細胞毒、化学療法剤（例えば、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキソルビシン、ダウノルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセルおよびピンクリスチン）、シクロホスファミド、放射線療法、IL-6R阻害剤（例えば、サリルマブ）、IL-4R阻害剤（例えば、デュピルマブ）、IL-10阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21およびIL-15などのサイトカイン、抗体-薬物コンジュゲート（ADC）（例えば、抗CD19-DM4 ADCおよび抗DS6-DM4 ADC）、抗炎症性薬物（例えば、コルチコステロイドおよび非ステロイド系抗炎症薬）、抗酸化剤などの栄養補助食品、またはがんを処置するための任意の他の療法ケアと組み合わせて、1つまたは複数の用量のLAG3の阻害剤を投与するステップを含む。ある種の実施形態では、LAG3の阻害剤は、樹状細胞ワクチン、腫瘍溶解性ウイルス、腫瘍細胞ワクチンなどを含めたがんワクチンと組み合わせて使用し、抗腫瘍応答を増大させることができる。LAG3の阻害剤と組み合わせて使用することができるがんワクチンの例は、黒色腫および膀胱がんのMAGE3ワクチン、乳がんのMUC1ワクチン、脳がん（多形神経膠芽細胞腫を含む）のEGFR $\nu$ 3（例えば、リンドベピムト）、またはALVAC-CEA（CEA+がんの場合）を含む。

#### 【0183】

ある種の実施形態では、LAG3の阻害剤は、長期間の持続性抗腫瘍応答を発生する、かつ/またはがんを有する患者の生存率を高める方法において、放射線療法と組み合わせて使用することができる。一部の実施形態では、LAG3の阻害剤、例えば抗LAG3抗体は、がん患者への放射線療法を行う前、これと同時にまたはこの後に、投与され得る。例えば、放射線療法は、腫瘍病変に1つまたは複数の用量で行われ、次いで、1つまたは複数の用量の抗LAG3抗体が投与され得る。一部の実施形態では、放射線療法は、腫瘍病変に局所的に行われ、患者の腫瘍の局所免疫原性（アジュバント作用性放射線照射（a

djuvinating radiation))を増強する、かつ/または腫瘍細胞を死滅させ(破壊的照射)、次いで抗LAG3抗体を全身投与することができる。例えば、頭蓋内放射線照射を、脳がん(例えば、多形神経膠芽細胞腫)を有する患者に、抗LAG3抗体の全身投与と組み合わせて投与することができる。ある種の実施形態では、抗LAG3抗体は、放射線療法、および化学療法薬(例えばテモゾロミド)、またはVEGFアンタゴニスト(例えば、アフリベルセプト)と組み合わせて投与することができる。

【0184】

ある種の実施形態では、LAG3の阻害剤は、1つまたは複数の抗ウイルス薬と組み合わせて投与され、例えば、LCMV、HIV、HPV、HBVまたはHCVによって引き起こされるウイルス感染を処置することができる。抗ウイルス薬の例には、以下に限定されないが、ジドブジン、ラミブジン、アバカビル、リバビリン、ロピナビル、エファビレンズ、コピシタット、テノホビル、リルピビリンおよびコルチコステロイドが含まれる。

10

【0185】

ある種の実施形態では、LAG3の阻害剤は、rickettsial細菌、bacilli、klebsiella、meningococciおよびgonococci、proteus、pneumococci、pseudomonas、streptococci、staphylococci、serratia、Borriella、Bacillus anthracis、Chlamydia、Clostridium、Corynebacterium diphtheriae、Legionella、Mycobacterium leprae、Mycobacterium lepromatosis、Salmonella、Vibrio choleraeおよびYersinia pestisによって引き起こされる細菌感染を処置するための1種または複数の抗細菌薬と組み合わせて投与され得る。抗細菌薬物の例には、以下に限定されないが、ペニシリン、テトラサイクリン、セファロsporin、キノロン、リンコマイシン、マクロライド、ケトライド、スルホンアミド、グリコペプチド、アミノグリコシドおよびカルバペネムが含まれる。

20

【0186】

ある種の実施形態では、LAG3の阻害剤は、例えば、Aspergillus(fumigatus、nigerなど)、Blastomyces dermatitidis、Candida(albicans、krusei、glabrata、tropicalisなど)、Coccidioides immitis、Cryptococcus neoformans、Genus Mucorales(mucor、absidia、rhizopusなど)、Histoplasma capsulatum、Paracoccidioides brasiliensisおよびSporothrix schenckiiによって引き起こされる真菌感染を処置するための1種または複数の抗真菌薬と組み合わせて投与され得る。抗真菌薬の例には、以下に限定されないが、アムホテリシンB、フルコナゾール、ボリコナゾール(voriconazole)、ボサコナゾール、イトラコナゾール、ボリコナゾール、アニデュラフンギン、カスポフンギン、ミカファンギンおよびフルシトシンが含まれる。

30

【0187】

ある種の実施形態では、LAG3の阻害剤は、例えば、Entamoeba spp.、Enterobius vermicularis、Leishmania spp.、Toxocara spp.、Plasmodium spp.、Schistosoma spp.、Taenia solium、Toxoplasma gondiiおよびTrypanosoma cruziにより引き起こされる寄生虫感染を処置するための、1種または複数の抗寄生虫薬と組み合わせて投与され得る。抗寄生虫薬の例には、以下に限定されないが、プラジカンテル、オキサニクイン、メトロニダゾール、チニダゾール、ニタゾキサニド、デヒドロエメチンまたはクロロキン、ジロキサニドフルオエート、ヨードキノリン、クロロキン、パロモマイシン、パモ酸ピランテル、アルベンダゾール、ニフルチモクスおよびベンズニダゾールが含まれる。

40

50

## 【0188】

追加の治療活性剤 / 構成成分は、LAG3の阻害剤の投与前、これと同時に、またはこの後に投与され得る。本開示の目的のため、このような投与レジメンは、第2の治療的に活性な構成成分と「組み合わせた」、LAG3阻害剤の投与と考えられる。

## 【0189】

一部の態様では、処置する方法は、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染または寄生虫感染を有する対象を選択するステップ、対象における罹患組織がLAG3ポジティブであると判定するステップ、および感染に適切な1つまたは複数の用量の治療剤を投与するステップを含む。ある種の実施形態では、罹患組織は、対象に本開示の放射標識抗LAG3コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって対象における放射標識抗体コンジュゲートを可視化することによりLAG3ポジティブと判定され、組織における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、組織がLAG3ポジティブであることが示される。ある種の実施形態では、投与するステップおよび可視化するステップは、感染を処置する際に、治療剤の有効性をモニタリングするため、1回または複数回、行われる。

10

## 【0190】

一部の態様では、処置方法は、固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、腫瘍がLAG3ポジティブおよびPD-1ポジティブであると判定するステップ、ならびに1つもしくは複数の用量のLAG3の阻害剤、および/または1つもしくは複数の用量のPD-1/PD-L1シグナル伝達軸の阻害剤(例えば、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体)を投与するステップを含む。ある種の実施形態では、腫瘍は、対象に本開示の放射標識抗LAG3コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートを可視化することによりLAG3ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗体コンジュゲートの存在により、腫瘍がLAG3ポジティブであることが示される。ある種の実施形態では、腫瘍は、対象に本開示の放射標識抗PD-1コンジュゲートを投与して、PETイメージングによって腫瘍における放射標識抗PD-1コンジュゲートを可視化することによりPD-1ポジティブと判定され、腫瘍における放射標識抗PD-1コンジュゲートの存在により、腫瘍がPD-1ポジティブであることが示される。

20

## 【0191】

例示的な抗PD-1抗体には、REGN2810、BGB-A317、ニボルマブ、ピジリズマブおよびペムブロリズマブが含まれる。

30

## 【0192】

例示的な抗PD-L1抗体には、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、MDX-1105およびREGN3504、ならびに特許公開US2015-0203580に開示されているものが含まれる。

## 【0193】

PD-1/PD-L1シグナル伝達軸の阻害剤は、LAG3の阻害剤の投与前、これと同時に、またはこの後に投与され得る。本開示の目的のため、このような投与レジメンは、PD-1/PD-L1シグナル伝達軸の阻害剤と「組み合わせた」、LAG3阻害剤の投与と考えられる。

40

## 【0194】

本明細書で使用する場合、用語「処置する」、「処置すること」などは、一時的または恒久的のどちらかで症状を軽減する、症状の原因を取り除く、腫瘍成長を遅延させるもしくは阻害する、腫瘍細胞荷重もしくは腫瘍負荷を軽減する、腫瘍退縮を促進する、腫瘍収縮、壊死および/もしくは消失を引き起こす、腫瘍再発を予防する、転移を予防または阻害する、転移性腫瘍成長を阻害する、および/または対象の生存期間を延ばすことを意味する。

## 【0195】

一態様によれば、本開示は、抗腫瘍療法により処置される、固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、本開示の放射標識抗LAG3コンジュゲートを対象に投与するステップ

50

、PETイメージングにより腫瘍における投与された放射標識コンジュゲートの局在化をイメージングするステップ、および腫瘍成長を判定するステップを含む、対象において抗腫瘍療法の効力をモニタリングするための方法であって、放射標識されたシグナルのベースラインからの低下が、抗腫瘍療法の効力を示す、方法を提供する。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、LAG3の阻害剤を含む。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、PD-1/PD-L1シグナル伝達軸の阻害剤（例えば、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体）をさらに含む。

#### 【0196】

ある種の実施形態では、本開示は、抗腫瘍療法により処置される、固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、本明細書に提供されている放射標識抗LAG3コンジュゲートを対象に投与するステップ、およびPETイメージングにより腫瘍における投与された放射標識コンジュゲートの局在化をイメージングするステップを含む、腫瘍の炎症状態の変化をアセスメントする方法であって、放射標識されたシグナルにおけるベースラインからの向上が、炎症および抗腫瘍療法の効力の向上を示す方法を提供する。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、LAG3の阻害剤、および/またはPD-1/PD-L1シグナル伝達軸の阻害剤（例えば、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体）を含む。ある種の実施形態では、抗腫瘍療法は、PD-1阻害剤（例えば、REGN2810、BGB-A317、ニボルマブ、ピジリズマブおよびペムブロリズマブ）、PD-L1阻害剤（例えば、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、MDX-1105およびREGN3504）、CTLA-4阻害剤（例えば、イピリムマブ）、TIM3阻害剤、BTLA阻害剤、TIGIT阻害剤、CD47阻害剤、GITR阻害剤、別のT細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト（例えば、CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160またはVISTAに対する抗体）、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO）阻害剤、血管内皮細胞成長因子（VEGF）アンタゴニスト〔例えば、アフリベルセプト、またはUS7,087,411に記載されている他のVEGF阻害性融合タンパク質、または抗VEGF抗体もしくはその抗原結合性断片（例えば、ペバシズマブまたはラニビズマブ）、またはVEGF受容体の低分子キナーゼ阻害剤（例えば、スニチニブ、ソラフェニブまたはパゾパニブ）などの「VEGF-トラップ」〕、Ang2阻害剤（例えば、ネスパクマブ）、トランスフォーミング成長因子ベータ（TGF $\beta$ ）阻害剤、上皮成長因子受容体（EGFR）阻害剤（例えば、エルロチニブ、セツキシマブ）、CD20阻害剤（例えば、リツキシマブなどの抗CD20抗体）、腫瘍特異的抗原への抗体〔例えば、CA9、CA125、黒色腫関連抗原3（MAGE3）、癌胎児性抗原（CEA）、ビメンチン、腫瘍-M2-PK、前立腺特異的抗原（PSA）、ムチン-1、MART-1およびCA19-9〕、ワクチン（例えば、カルメット-ゲラン桿菌、がんワクチン）、抗原提示を向上するアジュバント（例えば、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子）、二重特異性抗体（例えば、CD3 $\times$ CD20二重特異性抗体またはPSMA $\times$ CD3二重特異性抗体）、細胞毒、化学療法剤（例えば、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセルおよびピンクリスチン）、シクロホスファミド、放射線療法、IL-6R阻害剤（例えば、サリルマブ）、IL-4R阻害剤（例えば、デュビルマブ）、IL-10阻害剤、IL-2、IL-7、IL-21およびIL-15などのサイトカインおよび抗体-薬物コンジュゲート（ADC）（例えば、抗CD19-DM4 ADCおよび抗DS6-DM4 ADC）を含む。

#### 【0197】

本明細書で使用する場合、腫瘍におけるLAG3の発現に関する用語「ベースライン」は、ある用量の抗腫瘍療法の投与前または投与時の、対象に対する放射標識コンジュゲートの取り込み量の数値を意味する。放射標識コンジュゲートの取り込み量は、当技術分野において公知の方法を使用して決定される（例えば、Oostingら 2015年、J. Nucl. Med. 56巻：63~69頁を参照されたい）。ある種の実施形態では、

10

20

30

40

50

抗腫瘍療法は、LAG3の阻害剤を含む。

【0198】

一部の実施形態では、連続的なiPET走査および腫瘍生検は、標準のケア免疫療法による処置前および処置後に行われる。このような免疫療法は、以下：ニボルマブ、イピリムマブ、ペムブロリズマブおよびそれらの組合せから選択され得る。

【0199】

抗腫瘍療法に効力があるかどうか判断するために、ベースライン時、およびLAG3阻害剤の投与後の1つまたは複数の時点に、放射標識コンジュゲートの取り込み量を定量する。例えば、投与される放射標識抗体コンジュゲート（例えば、放射標識抗LAG3抗体コンジュゲート）の取り込み量は、LAG3阻害剤（例えば、抗LAG3抗体）による最初の処置後の、2日目、3日目、4日目、5日目、6日目、7日目、8日目、9日目、10日目、11日目、12日目、14日目、15日目、22日目、25日目、29日目、36日目、43日目、50日目、57日目、64日目、71日目、85日目、または1週目、2週目、3週目、4週目、5週目、6週目、7週目、8週目、9週目、10週目、11週目、12週目、13週目、14週目、15週目、16週目、17週目、18週目、19週目、20週目、21週目、22週目、23週目、24週目またはこれより長い後の終わりに測定され得る。処置の開始後の特定の時点における取り込み量の値と、ベースライン時の取り込み量の値との間の差異を使用して、抗腫瘍療法が有効であるかどうかを確立する（腫瘍退縮または進行）。

10

【0200】

ある種の実施形態では、放射標識抗体コンジュゲートは、対象に静脈内または皮下に投与される。ある種の実施形態では、放射標識抗体コンジュゲートは、腫瘍内に投与される。投与時に、放射標識抗体コンジュゲートは、腫瘍に局在化する。局在化した放射標識抗体コンジュゲートは、PETイメージングによってイメージングされ、腫瘍による放射標識抗体コンジュゲートの取り込み量は、当技術分野において公知の方法により測定される。ある種の実施形態では、イメージングは、放射標識コンジュゲートを投与して、1、2、3、4、5、6または7日後に行われる。ある種の実施形態では、イメージングは、放射標識抗体コンジュゲートの投与時と同じ日に行われる。

20

【0201】

ある種の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、LAG3に特異的に結合する。ある種の実施形態では、抗LAG3抗体は、HCVRのCDR（HCVRは、配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、386、402、418、434、450、458、466、474、482、490、498、506、514、538および554からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する）、およびLCVRのCDR（LCVRは、配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330、346、362、378、394、410、426、442、522、530、546および562からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する）を含む。

30

【0202】

ある種の実施形態では、LAG3阻害剤は、LAG3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む。ある種の実施形態では、抗LAG3抗体はBMS986016である。ある種の実施形態では、LAG3阻害剤は、LAG3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む。一実施形態では、抗LAG3抗体は、配列番号418のHCVRおよび配列番号426のLCVRを含む。

40

IV.

【実施例】

【0203】

本開示のある種の実施形態は、以下の非限定実施例により例示される。

50

## (実施例 1)

LAG 3 に対するヒト抗体の生成

## 【0204】

LAG 3 に対するヒト抗体は、マウス Fc 領域に遺伝的に融合された GenBank 受託番号 NP\_002277.4 のほぼアミノ酸 29 ~ 450 (配列番号 582) までの範囲となる LAG 3 の断片を使用して生成した。US 8,502,018 B2 に記載されている通り、免疫原を、免疫応答を刺激するアジュバントと共に、VELOCIIMMUNE (登録商標) マウス (すなわち、ヒト免疫グロブリン重鎖およびカッパ軽鎖の変領域をコードする DNA を含む、操作されたマウス) に直接投与するか、または WO 2013022782 に記載されている通り、ヒト化ユニバーサル軽鎖 (ULC) VelocImmune (登録商標) マウスに直接投与した。抗体の免疫応答を、LAG 3 特異的免疫アッセイによってモニタリングした。所望の免疫応答に到達すると、脾臓細胞を収穫し、マウス骨髄腫細胞と融合して、その生存率を保持して、ハイブリドーマ細胞系を形成した。このハイブリドーマ細胞系をスクリーニングして選別し、LAG 3 特異的抗体を産生する細胞系を特定した。この技法、および上記の免疫原を使用して、いくつかの抗 LAG 3 キメラ抗体 (すなわち、ヒト可変ドメインおよびマウス定常ドメインを有する抗体) を得た。抗体の完全ヒト型は、マウス定常領域をヒト定常領域に置き換えることにより作製され得る。この方法で、VELOCIIMMUNE (登録商標) マウスから生成した例示的な抗体を、H1M14985N、H1M14987N、H2M14811N、H2M14885N、H2M14926N、H2M14927N、H2M14931N、H2M18336N、H2M18337N および H4H14813N と表した。

10

20

## 【0205】

その全体が参照により本明細書に具体的に組み込まれている米国特許第 7,582,298 号に記載されている通り、抗 LAG 3 抗体は、骨髄腫細胞への融合なしに、抗原ポジティブ B 細胞 (免疫付与マウスのいずれかに由来) から直接、単離した。この方法を使用して、いくつかの抗 LAG 3 抗体 (すなわち、ヒト可変ドメインおよびヒト定常ドメインを有する抗体) を得た。この方法で生成する例示的な抗体を、以下の通り表した: H4H15477P、H4H15483P、H4H15484P、H4H15491P、H4H17823P、H4H17826P2、H4H17828P2、H4sH15460P、H4sH15462P、H4sH15463P、H4sH15464P、H4sH15466P、H4sH15467P、H4sH15470P、H4sH15475P、H4sH15479P、H4sH15480P、H4sH15482P、H4sH15488P、H4sH15496P2、H4sH15498P2、H4sH15505P2、H4sH15518P2、H4sH15523P2、H4sH15530P2、H4sH15555P2、H4sH15558P2、H4sH15567P2、および H4H17819P。

30

## 【0206】

例示的な抗体 H4sH15496P2、H4sH15498P2、H4sH15505P2、H4sH15518P2、H4sH15523P2、H4sH15530P2、H4sH15555P2、H4sH15558P2 および H4sH15567P2 は、ULC VELOCIIMMUNE (登録商標) マウスに由来する B 細胞から生成した。

40

## 【0207】

この実施例の方法に準拠して生成した例示的な抗体の生物学的特性は、以下に記載されている実施例に詳細に記載されている。

## (実施例 2)

抗 LAG 3 抗体 H4sH15482P の p-SCN-Bn-DFO とのコンジュゲート

## 【0208】

親となる抗 LAG 3 抗体、H4sH15482P (配列番号 418 / 426 の HCVR / LCVR 配列対を有する; 本明細書のこれ以降、mAb1 と称する) および放射標識による免疫 PET 検討に好適なアイソタイプ対照抗体を改変するため、この抗体にキレート

50

剤である p - SCN - bn - デフェロキサミン ( DFO ; Macrocylics、カタログ番号 : B - 705 ) を結合した。

【 0209 】

改変に関する、mAb1をまず、4 で一晩の透析によって、ヒスチジン緩衝液から PBS ( pH 7 . 2 ) にバッファー交換し ( Slide - A - Lyzer 透析カセット G 2 10k MWCO ; ThermoScientific )、次に、PD - 10カラム ( GE Healthcare、カタログ番号 : 17 - 0851 - 01 ) を使用して、50 mM炭酸緩衝液、150 mM NaCl、pH 9 . 0 ( コンジュゲート用緩衝液 ) からなる緩衝液に、再度、バッファー交換した。緩衝液の交換後の濃度を決定するため、この試料を MacVector 配列に基づく  $223400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  の吸光係数および分子量  $145709 \text{ g/mol}$  を使用して、Nanodrop 2000 UV / VIS 分光計 ( ThermoScientific ) で測定した ( 表 2 を参照されたい )。15 mL のポリプロピレン製管中で、5374 . 8  $\mu\text{L}$  のコンジュゲート用緩衝液に、1485 . 24  $\mu\text{L}$  の mAb1 ( 70 mg ) を加えた。mAb1 溶液に、DFO の DMSO 溶液 139  $\mu\text{L}$  を 4 分の 1 刻みで加え、各回に、ピペットを上下に操作することにより優しく混合した。最終溶液は、コンジュゲート用緩衝液中の 10 mg / mL の mAb1 ( 2 % DMSO ) となり、モル対モルで 3 倍過剰の DFO を含んだ。さらに攪拌しないで、この溶液を 37

10

【 0210 】

37 で 30 分後、この溶液を、pH 5 . 4 の 250 mM の NaAcO を含有する緩衝液 ( 製剤緩衝液 ) により予め平衡化した PD - 10 脱塩カラム ( GE Healthcare、カタログ番号 : 17 - 0851 - 01 ) に速やかに通した。この溶液の体積を、10 K MWCO 濃縮器 ( Amicon Ultra - 15 Centrifugal Filter Unit、EMD Millipore、カタログ番号 : UFC901024 ) を用いて、約 50 % 低下させた。最終溶液をシリンジフィルター ( Acrodisc 13 mm のシリンジフィルター、Pall Corporation、カタログ番号 : 4602 ) によって滅菌ろ過した。続いて、濃度、および DFO と抗体との比 ( DAR ) を UV / VIS 分光法によって測定した。図 1 を参照されたい。吸光度測定に関しては、252 nm ( A252 )、280 nm ( A280 ) および 600 nm ( A600 ) で、DFO - コンジュゲート抗体を製剤緩衝液に対して測定した。算出に関しては、以下の式 :

20

30

【 数 1 】

$$A'_\lambda = A_\lambda - A_{600}$$

を使用して、各吸光度値におけるバックグラウンドを補正した。

【 0211 】

25  $\mu\text{g}$  の試料を Superdex 200 カラム ( GE Healthcare、カタログ番号 17 - 5175 - 01 ) に注入して、SEC クロマトグラフィーを使用して凝集に関してこの抗体コンジュゲートを試験し、PBS 移動相 ( 0 . 75 mL / 分 ) を用いて、280 nm でモニタリングした。図 2 を参照されたい。抗体完全性は、2  $\mu\text{g}$  の試料をロードして、SDS - PAGE 4 ~ 20 % Tris / Gly プレキャストゲル ( Novex ) によって評価した。抗体濃度、コンジュゲート濃度および DAR は、以下の式を使用して算出した :

40

抗体濃度の算出

【 数 2 】

$$\text{mAb の濃度 (mg/mL)} = \frac{A'_{280}}{\epsilon_{280}} * MW$$

コンジュゲート濃度の算出

50

【数 3】

$$\text{コンジュゲートの濃度 (mg/mL)} = \frac{A'_{252} - 1.53A'_{280}}{\epsilon_{252} - 1.53\epsilon_{280}} * MW$$

D A R 算出

【数 4】

$$DAR = \frac{\epsilon_{252}A'_{280} - \epsilon_{280}A'_{252}}{18800A'_{252} - 28700A'_{280}}$$

10

【表 2】

表2:モル吸光係数および分子量

mAb	MW (g $\text{mol}^{-1}$ )	$\epsilon_{280}$ (M $^{-1}\text{cm}^{-1}$ )	$\epsilon_{252}$ (M $^{-1}\text{cm}^{-1}$ )
mAb1	145709	223400	87077

【表 3】

表3: DFO結合後のUV DAR、凝集率および濃度

抗体	UV DAR	濃度 (mg/mL)	%凝集
mAb1	1.48	13.58	1.4%

20

(実施例 3)

D F Oコンジュゲートモノクローナル抗体の $^{89}\text{Zr}$ キレート形成

【0212】

免疫PET *in vivo* 検討に使用するため、DFO-コンジュゲート抗LAG3抗体、mAb1およびDFO-コンジュゲートアイソタイプ対照抗体に、 $^{89}\text{Zr}$ を放射標識した。

30

【0213】

DFO-コンジュゲート抗体をまず、1M HEPES (pH 7.2) 中の1.25 mg/mLにした。各検討用のDFO-Abコンジュゲート溶液の組成を表4に列挙する。個別に、表5に示されているそれぞれ対応する検討用の組成を使用して、 $^{89}\text{Zr}$ 溶液を調製した。 $^{89}\text{Zr}$ -シュウ酸保存溶液を3Dイメージングから得た。この溶液の最終放射活性は、まず、Capintec CRC-25R用量校正器(Capintec #520)を使用して確認し、次に、DFO-Abコンジュゲート溶液と直ちに混合して穏やかに混合し(ピペットを上下に操作)、続いて、室温で45分間、インキュベートした。

【0214】

インキュベート後、この混合物を、重量供給方式の脱塩のために、pH 5.4の250 mM酢酸ナトリウムで予め平衡化した、検討1のためのPD-10 (GE Healthcare、カタログ番号: 17-0851-01)、または検討2のためのNAP-5 (GE Healthcare、カタログ番号17-0853-02)のどちらか一方の脱塩カラムに移送した。検討1の場合、この反応混合物をPD-10カラムに加えた。反応の内容物がカラム床に入った後、流れ出たものを廃棄した。生成物をpH 5.4の250 mM酢酸ナトリウム(製剤緩衝液)で溶出し、溶離液を製造業者の指示書に従い採集した。検討2の場合、この混合物をNAP-5カラムに移し、流れ出たものを廃棄した。生成物をpH 5.4の250 mM酢酸ナトリウム(製剤緩衝液)で溶出し、溶離液を製造業者の指示書に従い採集した。続いて、Ab濃度をUV/VIS分光計により測定し、280

40

50

nmにおける適切な吸光係数および吸光度 ( a b s o r p t i o n ) を使用して、以下の式：

濃度 ( m g / m L ) = 2 8 0 n m における吸光度 ÷ 2 8 0 n m の吸光係数 ( 表 6 に見られる ) を使用して算出した。

【 0 2 1 5 】

グラムで測定した最終質量を表 7 に記録した。次に、用量校正器を使用して放射活性を測定し、表 7 に報告した。0.75 mL / 分の流速の P B S 移動相を用いて、Superdex 200 Increase カラムを使用し、直列に接続した UV 280 および放射性同位体検出器を備える SEC - H P L C ( L a b l o g i c R a d i o - T L C / H P L C 検出器 S C A N - R A M を備える A g i l e n t 1 2 6 0 ) を使用して、最終物質 ( 5 u g ) を解析した。総タンパク質ピーク ( 約 1 0 ~ 1 6 分間 ) の合計と非標識  $^{89}\text{Zr}$  ピーク ( 約 2 5 分間 ) の積分値とを比較することによって、放射化学的純度 ( 1 0 0 % - 非標識  $^{89}\text{Zr}$  の割合 ) を決定するために放射トレースを使用した。高分子量 ( H M W ) 化学種ピーク ( 1 0 分 ~ 約 1 5 分 ) とモノマー ( 約 1 6 分 ) の積分値とを比較することにより、UV 280 トレースによってモノマー純度 ( % ) を決定した。

【 0 2 1 6 】

各放射標識コンジュゲートの比放射能およびタンパク質回収率 ( % ) を、以下の式を使用して決定した：

a . コンジュゲートの質量 ( m g ) = 濃度 ( m g / m L ) × 溶液の質量 ( グラム )

b . 比放射能 ( m C i / m g ) = バイアルの活性 ( m C i ) ÷ コンジュゲートの質量 ( m g )

c . タンパク質の回収率 = 始めのコンジュゲート質量 ( m g ) ÷ コンジュゲートの質量 ( m g )

【 0 2 1 7 】

最後に、外観を書き留め、表 7 に記録した。これらの結果が表 7 にまとめられている。図 3 ~ 5 に示されている放射 SEC - H P L C クロマトグラムにより、少なくとも 9 8 % の放射化学的純度であることが確認される。図 6 ~ 8 に示されている UV 280 - H P L C SEC のクロマトグラムにより、モノマーが多い生成物 ( > 9 0 % ) であることが確認される。

【 表 4 】

表 4. 放射標識のための DFO-抗体コンジュゲートの調製

放射標識番号	検討番号	放射標識ロット	濃度 (mg/mL)	DAR*	コンジュゲート質量 (mg)	合計体積 (uL)	最終濃度 (mg/mL)
1	1	アイソタイプ-DFO- $^{89}\text{Zr}$	15.4	1.53	250	200	1.25
2	1	mAb1-DFO- $^{89}\text{Zr}$	13.6	1.48	500	400	1.25
3	2	mAb1-DFO- $^{89}\text{Zr}$	13.6	1.48	100	80	1.25

\* DARは、DFO対抗体の比として定義する

10

20

30

40

50

## 【表 5】

表5. 放射標識のための<sup>89</sup>Zr反応溶液の調製

放射標識	検討番号	放射標識ロット	<sup>89</sup> Zr-オキサレート (uL)	1 M HEPES, pH 7.2 (uL)	最終体積 (uL)	最終活性 (uCi)	比放射能 (uCi/uL)
1	1	アイソタイプ-DFO- <sup>89</sup> Zr	約3	500	1000	995	1.0
2	1	mAb1-DFO- <sup>89</sup> Zr	約5	500	2000	2060	1.0
3	2	mAb1-DFO- <sup>89</sup> Zr	約6	394	400	2010	5.0

10

## 【表 6】

表6: コンジュゲートロットに関する吸光係数

放射標識ロット	$\epsilon_{280}$ (AU ml mg <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )
アイソタイプ-DFO- <sup>89</sup> Zr	1.70
mAb1-DFO- <sup>89</sup> Zr	1.72

20

## 【表 7】

表7. in vivoでのイメージングおよび生体内分布検討に関する<sup>89</sup>Zr 標識DFO-Abコンジュゲートのまとめ

放射標識	検討番号	コンジュゲートロット	外観	放射化学的純度* (%)	モノマー純度** (%)	タンパク質回収率 (%)	濃度 (mg/mL)	比放射能 (mCi/mg)
1	1	アイソタイプ-DFO- <sup>89</sup> Zr	濁りなし	99.7%	98.6%	70%	0.108	3.41
2	1	mAb1-DFO- <sup>89</sup> Zr	濁りなし	>99.9%	97.5%	70%	0.133	3.58
3	2	mAb1-DFO- <sup>89</sup> Zr	濁りなし	98.2%	93.8%	57%	0.121	14.7

30

\* 放射SEC-HPLCによる。\*\* UV-SEC-HPLCによる

## (実施例 4)

## 免疫反応性

## 【0218】

放射標識抗LAG3抗体およびアイソタイプ対照抗体の免疫反応性(IR)を以下の通り測定した。これらのアッセイでは、20 ngのそれぞれの<sup>89</sup>Zr標識抗体を、最終体積1 mLで、 $1.5 \times 10^6$ 個のMC38-cOVA/eGFP-mLAG3<sup>+/+</sup>LAG3<sup>T8</sup>細胞に加えた。連続混合しながら、試料を45分間(37℃、5%CO<sub>2</sub>)、インキュベートした後、培地で2回、洗浄して、いかなる未結合抗体も除去した。次に、試験細胞のペレットの放射活性を、同じ20 ngの<sup>89</sup>Zr標識抗体を含有する2つの参照標準品に対して、自動ガンマ計数器(2470 Wizard 2、Perkin Elmer)で計数した。これらの試料に関する免疫反応性の百分率は、全活性の尺度として、標準品の平均値を使用して決定した。

40

## 【0219】

50

表 8 で見られる通り、 $^{89}\text{Zr}$  標識抗LAG3抗体は、コンジュゲートおよび放射標識後に免疫反応性を保持し、86%IRであった。

【表 8】

表8:  $^{89}\text{Zr}$ キレート形成したDFO-コンジュゲートの免疫反応性

試料	Zr89 CPM
標準品 1	39643
標準品 2	40134
標準品の平均値	39889
細胞	34261
IR	86%

10

(実施例 5)

マウスにおけるLAG3ポジティブ腫瘍への放射標識抗LAG3抗体の選択的局在化腫瘍の埋め込みおよび投与群の割り当て：

【0220】

*in vivo*でのイメージング検討のため、LAG3ポジティブ腫瘍系を使用した。最初に、マウス結腸癌細胞系であるMC38-cOVA/eGFP-mLAG3-hLAG3<sup>Tg</sup>を使用した。ここで、細胞は、レンチウイルス形質導入によって導入(それぞれ、pLVX-EF1aおよびpLKO-SSFV)したeGFPを融合したヒトLAG3および完全長ニワトリオボアルブミンを過剰発現する。MC38-cOVA/eGFP-mLAG3-hLAG3<sup>Tg</sup>腫瘍同種移植片の場合、 $1 \times 10^6$ 個の細胞を雄NCrヌード(Taconic, Hudson NY)の左脇腹の皮下に埋め込んだ。一旦、腫瘍が $100 \sim 150 \text{ mm}^3$ の平均体積に到達すると(埋め込み後、約7日)、マウスを無作為に5つの群に分け、試験 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識抗体または対照 $^{89}\text{Zr}$ 放射標識抗体を投与した。

20

$^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1の投与および生体内分布：

【0221】

MC38/ova/LAG3腫瘍を有するヌードマウスでの初期検討に関して、マウスに、約 $0.6 \text{ mg/kg}$ のタンパク質用量を含む、 $50 \pm 1 \mu\text{Ci}$ の $^{89}\text{Zr}$ 標識抗体を投与した。生体内分布検討に關すると、マウスを投与の6日後に安楽死させて、心穿刺により血液を採集した。次に、腫瘍および正常組織を摘出し、計数管に入れた。次に、自動ガンマ計数器(Wizard 2470, Perkin Elmer)で試料を測定することにより、CPM中の $^{89}\text{Zr}$ の計数データを採集した。組織もすべて秤量し、注入物質から調製した標準品を使用して、各試料について1グラムあたりの注入用量(%)(%ID/g)を算出した。

30

結果、要約および結論：

【0222】

この実施例では、MC38/ova/hLAG3腫瘍を有するNCrマウスに、 $50 \mu\text{Ci}$ /マウスの最終用量で、 $^{89}\text{Zr}$ コンジュゲート抗LAG3-mAb1または非結合抗体を投与した。続いて、血液、腫瘍および組織を採取するまでマウスを6日間、放置し、全試料について、試料の%ID/gを算出した。各抗体の平均%ID/gを表9に示す。ここから、MC38/ova/hLAG3腫瘍中において、明確な取り込み率の高さが他の正常組織よりも明白であり、43.1%の腫瘍内取り込み率は、胸腺において観察された、2番目に高い $6.6 \text{ \% ID/g}$ という取り込み率よりも有意に高かった。腫瘍への抗LAG3-mAb1取り込みの特異性は、非結合抗体について観察された、著しく低い7.8%という腫瘍取り込み率の点で明白である。

40

## 【表 9】

表9:

試料	<sup>89</sup> Zr- mAb1		<sup>89</sup> Zr-非結合性Ab	
	平均値 %ID/G	標準偏差 %ID/G	平均値 %ID/G	標準偏差 %ID/G
肝臓	0.5	6.2	3.9	0.3
脾臓	4.2	0.8	6.7	0.8
腎臓	5.1	0.8	6.2	1.2
骨	4.3	2.1	4.9	1.0
肺	3.1	2.3	9.3	2.1
心臓	2.6	0.9	6.5	2.4
血液	5.9	3.1	15.7	2.6
胸腺	6.7	1.7	12.1	1.8
MC38/ova/LAG3	43.1	9.5	7.8	0.4
小腸	1.7	0.5	2.8	0.5

## (実施例 6)

マウスにおける R a j i / P B M C 腫瘍への放射標識抗 L A G 3 抗体の選択的局在化

## 【0223】

この実施例は、R a j i 細胞およびヒト P B M C を共埋め込みした N S G マウスにおける、ジルコニウム - 8 9 標識 D F O - 抗 L A G 3 抗体コンジュゲートの i n v i v o でのイメージングおよび e x v i v o での生体内分布を記載する。

## 【0224】

この実施例に使用した例示的な抗体は、配列番号 4 1 8 / 4 2 6 の H C V R / L C V R を含む、M A b 1 であった。

腫瘍の埋め込みおよび投与群の割り当て：

## 【0225】

L A G 3 標的化に対する放射標識抗体の特異性を実証するため、 $2 \times 10^6$  個の R a j i 細胞および  $5 \times 10^5$  個のヒト P B M C (ロット 0 1 5 1 0 2 9、Reach Bio Research Labs) を、雌 N S G マウス (8 ~ 10 週齢、Jackson Labs) の右脇腹に共埋め込みした。腫瘍埋め込み後の 1 4 日目に、マウスを 4 つの群に無作為化し、様々なタンパク質用量の <sup>89</sup>Zr - D F O - m A b 1 を静脈内に注入した。<sup>89</sup>Zr - D F O - m A b 1 の投与および P E T / C T イメージング

## 【0226】

R a j i / h P B M C 腫瘍を有するマウスに、腫瘍埋め込み後の 1 4 日目に、5、0.3、0.1 または 0.03 mg / kg の <sup>89</sup>Zr - D F O - m A b 1 を注入した。0.1 および 0.03 mg / kg 用量の投与を受けたマウスに、それぞれ、約 30 または約 9 μ C i の放射標識 <sup>89</sup>Zr - D F O - m A b 1 を投与した。5 または 0.3 mg / kg のタンパク質用量の投与を受けたマウスに、約 30 μ C i の放射標識 <sup>89</sup>Zr - D F O - m A b 1、および最終的に注入した総タンパク質の用量とするための補給物として、追加の非 D F O コンジュゲート m A b 1 (L 5) を投与した。

## 【0227】

抗体局在化の P E T イメージングは、<sup>89</sup>Zr - D F O - m A b 1 を投与して 6 日目にアセスメントした。Sofie Biosciences G 8 P E T / C T を使用して、P E T / C T 画像 (Sofie Biosciences および Perkin Elmer) を得た。この機器は、画像を取得する前に、<sup>89</sup>Zr を検出するよう予め校正した。エネルギーウィンドウは、視野の中央において 1.4 mm の再構築分解能で、150 ~ 650 keV の範囲とした。イソフルランを使用してマウスに誘導麻酔を施し、イメージング中、イソフルランの連続流下に維持した。G 8 アクイジションソフトウェアを使用して、10 分間の静止画像を取得し、続いて、予め構成した設定を使用して再構築した。画像

10

20

30

40

50

データは、減衰および他のパラメータに関して補正した。PET取得後にCT画像を得て、続いてPET画像と一緒に登録した。画像は、VivoQuant後処理ソフトウェア (inviCRO Imaging Services) を使用して調製した。

$^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1の生体内分布：

【0228】

生体内分布検討に関しては、最後の時点にマウスを安楽死させて ( $^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1の投与後6日目)、心穿刺により血液を採集した。次に、Raji/hPBMC腫瘍および正常組織を摘出し、計数管に入れて秤量した。次に、自動ガンマ計数器 (Wizard 2470、Perkin Elmer) で試料を測定することにより、CPM中の $^{89}\text{Zr}$ の計数データを採集した。注入物質から調製した標準品を使用して、各試料について1グラムあたりの注入用量 (% ID/g) を算出した。

10

結果、要約および結論：

【0229】

この検討は、NSGマウスにおいて成長した皮下のRaji/hPBMC腫瘍中のヒトリンパ球上で発現したLAG3への $^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1の抗原特異的標的化を実証する。Raji/hPBMC腫瘍において、5 mg/kgの $^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1の遮断用量は、0.3、0.1および0.03 mg/kgの $^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1という一層少ない用量と比較して、血液への取り込み率 (% ID/g) が向上し、腫瘍への取り込み率 (% ID/g) は低下することが示された (表10)。さらに、タンパク質用量が低下するにつれて、平均の腫瘍対血液の比が向上し、in vivoでは、Lag-3に特異的となることが実証された (表10)。0.3、0.1および0.03 mg/kgの $^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1という一層少ない用量でも、Raji/hPBMC腫瘍中で発現したLag-3を標的とすることに加えて、腫瘍を有するマウスの脾臓および腋窩リンパ節を標的とすることが実証された。 $^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1投与後の6日目の代表的なPET画像 (図9) により、 $^{89}\text{Zr}$ -DFO-mAb1は、5 mg/kgの場合と比べて、0.03 mg/kgで、腫瘍、脾臓および腋窩リンパ節を一層高度に標的とすることが実証される。

20

30

40

50

## 【表 10】

表10: Raji/hPBMC腫瘍を有するNSGマウスにおける、5、0.3、0.1または0.03mg/kgとなるタンパク質用量で注入した<sup>89</sup>Zr-DFO-mAb1の投与後の6日目のex vivoでの生体内分布。値は%ID/gの平均値および標準偏差、ならびに腫瘍対血液の比として示している。

試料	<sup>89</sup> Zr-DFO- mAb1 5 mg/kg		<sup>89</sup> Zr-DFO- mAb1 0.3 mg/kg		<sup>89</sup> Zr-DFO- mAb1 0.1 mg/kg		<sup>89</sup> Zr-DFO- mAb1 0.03 mg/kg	
	平均値 % ID/g	標準 偏差 % ID/g	平均値 % ID/g	標準 偏差 % ID/g	平均値 % ID/g	標準 偏差 % ID/g	平均値 % ID/g	標準 偏差 % ID/g
血液	18.45	1.69	12.17	3.20	8.13	4.28	7.81	5.37
腫瘍	20.52	5.34	40.43	8.09	33.26	10.81	48.92	28.53
胸腺	7.78	0.64	6.57	2.04	7.98	4.71	3.22	2.43
心臓	5.5	0.45	3.74	0.57	2.79	1.14	2.39	1.47
肺	10.14	0.54	8.30	2.40	9.72	1.63	8.14	1.08
脾臓	7.74	0.17	22.32	13.82	103.68	126.79	59.20	40.84
腸	1.82	0.23	1.43	0.20	0.80	0.44	1.19	0.23
肝臓	4.51	0.26	5.56	1.16	9.75	3.87	10.75	5.58
腎臓	6.73	0.99	6.17	1.28	5.77	1.59	5.49	1.56
骨	8.78	1.75	8.39	3.10	8.87	2.64	9.83	1.54
腫瘍対 血液比	1.10	0.21	3.46	1.05	5.44	3.60	9.71	8.27

## (実施例7)

Raji / PBMC異種移植片および臨床試料におけるLAG3のLC-PRM-MS定量【0230】

凍結組織試料(Raji / PBMC腫瘍、マウス脾臓および黒色腫組織；黒色腫組織源および特徴に関しては図12を参照されたい)を溶解緩衝液(1% RapiGestを含む50mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>中の8Mウレア)で溶解した。組織を小片に切り、強固に装着したダウンス型ホモジナイザー中で1mLの溶解緩衝液を用いてホモジナイズした。溶解物を、10分ごとに30秒間、音波照射しながら、氷上で30分間、インキュベートし、タンパク質抽出を完全にした。この溶解物を10分間、14,000gで遠心分離した。タンパク質濃度をBCAアッセイによって測定した。各試料を1mg/mLに希釈し、次に、10分間、14,000gで遠心分離し、一定分量中で、-80℃で保管した。

## 【0231】

埋め込みしていないNSGマウスの脾臓溶解物をサロゲートマトリックスとして使用し、LAG3定量用の標準曲線を生成した。LAG3のFcを、0.39~50ng/mgタンパク質(1:2の段階希釈)の範囲の最終濃度で、マウス脾臓溶解物100μgのそれぞれにスパイクした。標準品、異種移植片および臨床黒色腫溶解物を冷アセトン900μL中で一晚、沈殿させて、次に、37℃で1時間、8Mウレア/TCEP緩衝液90μL中で変性させた。重標識ヒトLAG3ペプチド(FVWSSLDTPSQR<sup>13</sup>C6<sup>15</sup>N4)を内部標準としてすべての試料に加えた。標準品および試験試料を室温で30分間、IAAによりアルキル化し、37℃で、Lys-C(1:100w/w)により4時間、次にトリプシン(1:20w/w)により一晚、消化させた。試料を10%FAによりクエンチし、最終体積100μLに到達させた。

## 【0232】

処理した試料(2μL)をそれぞれ、予め平衡化したナノC18トラップカラムに注入

し、簡易型 ( e a s y ) ナノ C 1 8 分離カラムにより分離した。流速は、250 nL / 分間 ( 移動相 A : 水 : ギ酸 / 100 : 0.1 [ V : V ] および移動相 B : アセトニトリル : ギ酸 / 100 : 0.1 [ V : V ] ) とした。保持時間およびピーク面積は、S k y l i n e ソフトウェアを使用して決定した。L A G 3 . F c 参照標準 ( h L A G 3 のトリプシン消化により生成した、非標識 L A G 3 ペプチド F V W S S L D T P S Q R <sup>1 2</sup> C <sub>6</sub> <sup>1 4</sup> N <sub>4</sub> ) のピーク面積比を内部標準 ( 安定な同位体標識 L A G 3 ペプチド ) に対してプロットすることにより較正曲線を生成した。各試料中の L A G 3 の濃度は、線形回帰を使用して算出した。L A G 3 参照標準の最低濃度 ( 0.39 ng / mg タンパク質 ) は、アッセイのダイナミックレンジ内にあり、このアッセイの定量下限値として規定した。

結果、要約および結論 :

10

【 0 2 3 3 】

27日目から P B M C / R a j i 異種移植片のうちの4つからの組織試料、腫瘍埋め込み後15日目から5つの異種移植片、および10の黒色腫臨床試料に対して、L A G 3 の定量を行った。組織重量、タンパク質量、抽出収率および L A G 3 発現を表 1 1 に列挙した。B m a x は、1 g / m L という腫瘍密度の推定値を使用して、以下の式に基づいて算出した。

【 数 5 】

$$B_{max} \text{ (nM)} = \frac{\text{LAG3 (ng/mgタンパク質)} \times \text{総タンパク質量 (mg)} \times 10E6}{5.74 * 10E4 \times \text{腫瘍重量 (mg)}}$$

20

【 0 2 3 4 】

10の黒色腫組織試料のうちの5つは、2.52 ± 1.87 nM の平均発現レベルで L A G 3 ポジティブとして検出された。この発現レベルは、27日目 ( 3.79 ± 1.93 nM ) および15日目 ( 6.06 ± 4.04 nM ) における R a j i / P B M C モデルに類似している。表 1 1 および同様に図 1 0 も参照されたい。

30

40

50

【表 1 1】

表 11:

		組織重量 (mg)	総タンパク質 量 (mg)	% タンパク質	Lag3 (ng/mg タンパク質)	Bmax (nM)
黒色腫組織	131815T2(3)	290	9.1	3.14%	BLQ	BLQ
	131719T2(3)	230	17.6	7.65%	BLQ	BLQ
	<b>13841T2(1)</b>	<b>220</b>	<b>20.1</b>	<b>9.14%</b>	<b>0.73</b>	<b>1.16</b>
	<b>13788T2(4)</b>	<b>250</b>	<b>24.1</b>	<b>9.64%</b>	<b>1.04</b>	<b>1.75</b>
	13765T2(2)	250	19.4	7.76%	BLQ	BLQ
	131778T2(5)	180	9.2	5.11%	BLQ	BLQ
	<b>131291T2(1)</b>	<b>240</b>	<b>17.4</b>	<b>7.25%</b>	<b>0.84</b>	<b>1.06</b>
	131086T6(1)	180	9.32	5.18%	BLQ	BLQ
	<b>13547T2(1)</b>	<b>220</b>	<b>16.1</b>	<b>7.32%</b>	<b>2.42</b>	<b>3.08</b>
	<b>13524T2(7)</b>	<b>200</b>	<b>13</b>	<b>6.50%</b>	<b>4.90</b>	<b>5.53</b>
	平均値	<b>226</b>	<b>15.5</b>	<b>6.87%</b>	<b>1.99</b>	<b>2.52</b>
SD	<b>34</b>	<b>5.2</b>	<b>1.96%</b>	<b>1.76</b>	<b>1.87</b>	
Raji/PBMC 異種移植片 (27日間)	85100_0	419.5	20.9	4.98%	4.74	4.10
	85101_8	248.9	10.3	4.14%	1.58	1.14
	85104_23	256.5	9.74	3.80%	6.24	4.12
	85103_19	112.5	5.92	5.26%	6.32	5.78
	平均値	<b>259</b>	<b>11.72</b>	<b>4.54%</b>	<b>4.72</b>	<b>3.79</b>
	SD	<b>126</b>	<b>6.43</b>	<b>0.69%</b>	<b>2.21</b>	<b>1.93</b>
Raji/PBMC 異種移植片 (15日間)	213_1	140	8.8	6.29%	11.46	12.5
	213_2	260	10.14	3.90%	4.54	3.08
	213_3	230	9.3	4.04%	7.22	5.09
	213_4	160	7.9	4.94%	2.95	2.54
	213_5	50	2.8	5.60%	7.23	7.05
	平均値	<b>168</b>	<b>7.8</b>	<b>4.95%</b>	<b>6.68</b>	<b>6.06</b>
	SD	<b>82</b>	<b>6.43</b>	<b>0.69%</b>	<b>2.21</b>	<b>1.93</b>

(実施例 8)

REGN2810 (抗ヒトPD-1Ab) およびmAb1 (抗ヒトLAG-3Ab) での療法による腫瘍微小環境におけるT細胞上のヒトLAG-3およびPD-1発現の上方調節【0235】

この実験は、Regeneronの独占所有権のあるPD-1<sup>hu/hu</sup>/LAG-3<sup>hu/hu</sup>二重ヒト化免疫コンピテントマウスを使用する、REGN2810およびmAb1による処置時の、腫瘍微小環境におけるT細胞に対するヒトLAG-3およびPD-1の発現レベルのモジュレートを評価するために行った。この実験に使用した腫瘍細胞系は、マウス結腸癌細胞系MC38 (Frederick, MD, Laboratory of Tumor Immunology and BiologyのNCIから取得) であり、これは、eGFPを融合した完全長のニワトリオボアルブミンを発現するよう自家で操作した(したがって、ここでは、MC38-cOVA/eGFPと呼ぶ)。ヒトLAG-3の発現レベルは、腫瘍を有する二重ヒト化マウスから抽出し、酵素により解離させた腫瘍に由来するCD4とCD8 T細胞の両方に対して、*ex vivo*で評価した。標準プロトコルに準拠し、抗体(抗ヒトLAG-3抗体: eBioscience、クローン3DS223H; 抗ヒトPD-1抗体: BioLegend、クローンEH12.2H7)に直接コンジュゲートした市販の蛍光色素を用いて、表面全体を染色した。手短に言えば、腫瘍細胞を一度、PBSにより洗浄し、氷冷染色用緩衝液で1回、洗浄し、市販の蛍光色素が直接コンジュゲートされている抗ヒトPD-1または抗ヒトLAG-3抗体を用いて、暗所中、氷上で、染色用緩衝液中、30分間、染色し、ここでもやはり2mlのPBSにより洗浄した。固定可能な色素eFluor506も、製造業者のプロトコル(eBi

oscience)に従い、含ませた。試料は、DIVA v8を装備したBD FACSCanto II (商標) IVD10で取得した。データをFlowJo v10.0.6または後続バージョンによりさらに解析した。

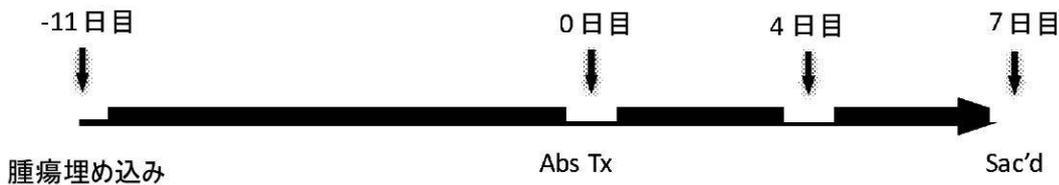
結果、要約および結論：

【0236】

表12は、前臨床腫瘍設定における、治療投与レジメンの概略図を提示している。1 × 10<sup>6</sup>個のMC38-cOVA/eGFP細胞を、PD-1<sup>hu/hu</sup>/LAG-3<sup>hu/hu</sup>二重ヒト化免疫コンピテントマウスの皮下に埋め込んだ。約11日目に、マウスを約100mm<sup>3</sup>の平均腫瘍体積で4つの群に無作為化し、表示した通りに処置を開始した。腫瘍試料を第2の用量後の3日目に採集した。

【表12】

表12: 治療の投与レジメンの概略図。



群	処置	マウス数
アイソタイプ	25 mg/kg, 2x 週間, 2回の投与, IP	10
REGN2810 (PD-1)	10 mg/kg, 2x 週間, 3回の投与, IP	12
mAb1 (抗ヒト LAG-3)	25 mg/kg, 2x 週間, 2回の投与, IP	12
REGN2810 + mAb1	10 mg/kg + 25 mg/kg, 2x 週間, 2回の投与, IP	12

【0237】

表13に示される通り、抗ヒトPD-1 (REGN2810)と抗ヒトLAG-3 (mAb1)とを組み合わせると、二重ヒト化マウスでのMC38-cOVA/eGFP同系腫瘍モデルにおいて、腫瘍成長が有意に阻害された。腫瘍を有するマウス(約100mm<sup>3</sup>の腫瘍サイズ)を、hIgG4アイソタイプ対照抗体、REGN2810(抗ヒトPD-1、hIgG4)、mAb1(抗ヒトLAG-3、hIgG4s)、およびREGN2810とmAb1との組合せにより、1週間に2回、2回の用量で処置し、腫瘍サイズをキャリパーにより測定した。腫瘍体積は $V = L \times W^2 / 2$ として算出した。対照群では、腫瘍サイズは、300 ~ 869mm<sup>3</sup>の範囲であり、548mm<sup>3</sup>のメジアン値となった。REGN2810処置群は、腫瘍サイズの縮小(121 ~ 721mm<sup>3</sup>で、466mm<sup>3</sup>のメジアン)を示したが、差異は、統計的有意性には到達しなかった。mAb1処置群は、アイソタイプ対照群のいずれからとも差異を示さなかった(203 ~ 721mm<sup>3</sup>で、592mm<sup>3</sup>のメジアン)一方、組合せ処置は、腫瘍成長(113 ~ 621mm<sup>3</sup>、289mm<sup>3</sup>のメジアン、 $p < 0.01$ )を有意に遅延させた。

10

20

30

40

50

## 【表 13】

表13: 抗ヒトPD-1 (REGN2810) および抗ヒトLAG-3 (mAb1) は、二重ヒト化マウスでのMC38-cOVA/GFP同系腫瘍モデルにおいて、腫瘍成長を有意に阻害した。

	イソ**	ahPD-1	ahLAG-3**	組合せ
マウス/群	10	12	12	12
最小値	299.9	120.9	202.6	113.4
25% 百分位数	437.6	321.3	426.9	192.6
メジアン	548.4	465.5	592.1	289.1
75% 百分位数	617.6	597.8	631.1	349.7
最大値	868.7	710.6	760.7	631.4

10

## 【0238】

図11で分かる通り、REGN2810抗ヒトPD-1 AbおよびmAb1抗ヒトLAG-3はそれぞれ、腫瘍微小環境では、LAG-3+T細胞およびPD-1+T細胞を増大させた。個々のマウスからの腫瘍は、製造業者のプロトコルに準拠して、Gentall MAC (Miltenyi Biotech) によって分離した。試料をAbのパネルにより染色し、フローサイトメータによって解析した。提示されているデータは、FSC/SSC、生存率、シングレット、CD45+CD3+細胞に関して予めゲート (gate) し、次に、CD4またはCD8 T細胞に対してさらにゲートした。異なる群間でヒトLAG-3およびヒトPD-1の発現を評価した。ありうるAbの交差競合を排除するため、REGN2810処置群および組合せ処置群をヒトPD-1解析から除外した。同様に、mAb1処置群および組合せ処置群もまた、ヒトLAG-3分析から除外した。2回の治療用量後、REGN2810は、腫瘍微小環境において、ヒトLAG-3+CD4 T細胞の出現度が約24% ( $p = 0.0006$ ) と有意に向上したが、試験した投与レジメンによるCD8 T細胞上でのLAG-3発現の場合、直接的な調節役割を有するよう  
 30

20

30

## 【0239】

ここで実施したこの検討からの結果は、<sup>89</sup>Zrにより標識した抗LAG3抗体は、有意かつ特異的に腫瘍に局在化することができることを明確に実証している。LAG3阻害剤で単独で、またはPD-1/PD-L1シグナル伝達軸の阻害剤を含めた、他の抗がん治療剤と組み合わせて、続けて処置した場合に、抗LAG3抗体は、LAG3ポジティブ腫瘍を有する患者の選択に使用されるとい  
 40

(実施例9)

ДФO-抗LAG3抗体コンジュゲートを生成するためのスケールアップ製造法

## 【0240】

この実施例は、p-SCN-bn-デフェロキサミン (ДФO) を本明細書に記載されている抗LAG3抗体 (mAb、H4SH15482P) に結合させることにより、放射標識に好適な抗LAG3抗体を調製するスケールアップ製造方法を詳述する：(1) mAbのコンジュゲート前に、限外ろ過およびダイアフィルトレーション (UFDF) 過程は、コンジュゲート過程を阻害する賦形剤を除去する、(2) UFDFを事前コンジュゲートした後、p-SCN-Bn-デフェロキサミンによるmAbのコンジュゲートを行い、DFO-mAbコンジュゲートを生成する、および(3) 残留塩を除去するためのコンジュゲート後のUFDFにより、コンジュゲートモノクローナル抗体の好適な濃度、賦形剤レベルおよびpHを実現する。次に、得られたDFO-mAbコンジュゲートが、その後の製剤化のために、安定性の向上した緩衝化状態で提供される。  
 50

40

50

## (1) 事前コンジュゲート限外ろ過およびダイアフィルトレーション (UFDF)

## 【0241】

Sius Prostream (TangenX Technology Corporation) 膜 (500 g/m<sup>2</sup> の膜容量) を使用して、pH 5.50 を有する 5 mM の酢酸塩緩衝溶液に、100 g の mAb をバッファー交換し、コンジュゲート前に残留塩を除去した。この過程の体積を減少させて、さらに抗体を濃縮し、次に、0.45 / 0.2 μm (不均一 PEG 二重層) または等価な細孔サイズを有する Sartopore 2 (Sartorius) 膜を使用して、この抗体を滅菌ろ過した。酢酸緩衝液の温度を 20 ± 5 の目標温度に維持した。この溶液を十分に混合した。

## (2) コンジュゲート

## 【0242】

濃縮してろ過した抗体 (20 g) をアミン不含炭酸緩衝液系 (56 mM 炭酸塩、167 mM 塩化ナトリウム、pH 9.40) を含有するコンジュゲート用容器に移し、残留酢酸塩が無視できるレベルとなるようにした。DFO (25 mM p-SCN-Bn-デフェロキサミン) を DMSO に溶解し、追加の DMSO と共にコンジュゲート用容器に加え、こうして DMSO を 5% の最終量で存在するようにした。DFO を、DFO と mAb の比が 4.5 : 1 となる過剰モル数で加えた。全反応体積は、2.0 L にした。反応成分を添加している間、および反応時間全体にわたり、この緩衝系を混合した。

## 【0243】

反応温度は、温度を反応時間に関連付ける式を使用することにより、特定の時間、制御した。この例では、反応温度は、20 ± 2 で 180 分間、保持した。2 M 酢酸 (23 mL / L) を添加することによってこの反応をクエンチし、pH 6 を有する溶液にした。

## (3) コンジュゲート後の UFDF

## 【0244】

コンジュゲートステップの後、クエンチした DFO - mAb コンジュゲート溶液を、ヒスチジン緩衝液 (せん断保護剤として 0.0005% (w/v) 超高純度ポリソルベート 80 を含む、10 mM ヒスチジン、pH 5.50) にバッファー交換し、残留処理塩、DMSO および未反応 DFO を除去した。一度、透析ろ過し、次に、この溶液を濃縮して、次いで製剤化した。-80 でタンパク質を長期保管するために、ヒスチジン緩衝液を選択した。最終 UFDF ステップに、ステップ (1) で述べた同じ Sius Prostream 膜を使用した。上記の Sartopore 2 フィルターを使用して、得られた濃縮 DFO - mAb コンジュゲート溶液を滅菌ろ過した。

## 【0245】

UV-DAR (1.5 を目標) およびタンパク質濃度決定は、実施例 2 に記載されている通り実施した。

## 【表 14】

表14. モル吸光係数および分子量

抗体	MW (g mol <sup>-1</sup> )	□280 (L g <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	□252 (L g <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )
H4sH15482P	145709	223400	87077

## (実施例 10)

転移性黒色腫を有する患者における <sup>89</sup>Zr - DFO - 抗LAG3 抗体コンジュゲートを使用する、腫瘍における LAG3 の免疫PETイメージング

## 【0246】

この検討の主要な目的は、<sup>89</sup>Zr - DFO - 抗LAG3 抗体コンジュゲートの安全性および耐容性を決定することであり、この場合、放射標識コンジュゲートに使用した抗L

A G 3 抗体は、H 4 s H 1 5 4 8 2 P である。転帰尺度は、安全性に関する有害事象および慣用法の実験室試験をモニタリングする。

【 0 2 4 7 】

本検討の二次目的は以下である：

・ 検討部分 A：腫瘍における L A G 3 発現を評価するためのバイオマーカーとしての  $^{89}\text{Zr}$ -D F O - 抗 L A G 3 P E T を適格化すること。これは、 $^{89}\text{Zr}$ -D F O - 抗 L A G 3 P E T トレーサーの安全性を評価して、最適トレーサー投与質量用量および注入後の最適イメージング時間を決定し、腫瘍 P E T シグナルと L A G 3 組織をベースとする発現との関係を確立し、患者における線量測定を評価することにより行われる。部分 A は、腫瘍生検と共に、連続トレーサー用量漸増設計を含む。イメージング、およびトレーサー注入後の 1、4 および 7 日目に抜き取った血液により、その後のイメージング時の腫瘍：血液の比の算出を含めた血液プール (p o o) S U V；組織放射線吸収線量に基づいた臨床的線量測定、ならびに P E T 画像アクイジションデータおよび血中のトレーサー活性濃度から算出した有効用量；目的の腫瘍領域にわたる、標準化後の取り込み値 (S U V - 標準的組織中の減衰による補正済み活性濃度を注入時における身体中の平均活性濃度で除算)；目的の腫瘍領域 (R O I) 内の最大 S U V (S U V<sub>max</sub>)；および曲線下面積 (A U C<sub>0-7 days</sub>) の算出を含む、血漿トレーサー活性濃度が可能となる。

・ 検討部分 B：I O 療法後の組織をベースとする L A G 3 発現による P E T シグナルと臨床的転帰 (奏効率および無増悪生存率) とを関連付けることによる、 $^{89}\text{Zr}$ -D F O - 抗 L A G 3 P E T の構築物および基準関連妥当性を探索すること。表示により許容される以下：ニボルマブ、イピリムマブ、ペムプロリズマブおよび組合せから選択される、標準のケア免疫療法による処置前および処置後に、一連の i P E T 走査および腫瘍生検を行う。

【 0 2 4 8 】

L A G 3 腫瘍の存在および確立された免疫療法によって誘発された L A G 3 シグナルの変化を検出する能力を試験することにより、ならびに i P E T シグナルと臨床的転帰 (基準関連妥当性：生物学的および臨床的に有意な転帰に対する) との相関関係を探索することによって、最初に免疫 P E T (i P E T) トレーサーの有用性をアセスメントすることができる。

【 0 2 4 9 】

P E T、トレーサー P K および線量測定によって適切な腫瘍取り込み量を示す、 $^{89}\text{Zr}$ -D F O - 抗 L A G 3 の安全な最適質量用量を特定することができる。3つのトレーサー質量用量レベルの選択は、前臨床のマウス異種移植片イメージングおよび生体内分布検討、ならびに非標識抗 L A G 3 治療用抗体を使用する、臨床データおよび前臨床データに基づく。計画した質量用量の漸増は、2 mg、5 mg および 10 mg である。この手法は、前向き抗腫瘍療法を妨害しないよう、治療量未満または薬理学的に活性のない用量を使用する。

【 0 2 5 0 】

最適な質量用量は、目的の腫瘍病変領域 (R O I) 内の腫瘍 S U V、最大 S U V (S U V<sub>max</sub>)、および少なくとも 1つの病変における腫瘍：血液の比がすべて > 1 (さらに、理想的には、腫瘍 - 血液比は 3 ~ 4 である) (理想的には、いくつかの腫瘍転移を有する患者では、> 1 の病変における) であることを実証する。

【 0 2 5 1 】

血漿 (または血清) におけるトレーサー活性および / または血液プール S U V (活性 P K をこの検討のために測定する) は、投与後の 7 日間のイメージング期間にわたり検出可能であり、トレーサーを腫瘍病変にコンパートメント化するのに利用可能であることを示唆している。腫瘍と血液のシグナル比は、S U V に基づくが、他の活性濃度単位を使用することもできる。同じことが、絶対単位または正規化後の単位に関して報告され得る、血液活性濃度の測定に該当する。

【 0 2 5 2 】

10

20

30

40

50

生検した病変におけるLAG3 PETシグナルの強度は、半定量的手段を使用して、組織生検におけるLAG3発現の程度と共変する。

【0253】

オートラジオグラフィーによるLAG3 PETシグナルは、組織生検試料におけるLAG3発現と空間的に相関する。

【0254】

LAG3 PETシグナルの強度は、免疫療法による処置後に増大する。

【0255】

LAG3 PETのシグナル強度の増大は、免疫療法による処置後の応答と相関する。

【0256】

さらに、探索目的および転帰尺度は、免疫組織化学、RNA scope、液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)およびオートラジオグラフィーを使用して、腫瘍による $^{89}\text{Zr}$ -DFO-抗LAG3の取り込み量との相関関係における、組織生検中のLAG3の発現の判定を含む。部分Bだけに関する、探索目的は、処置後の $^{89}\text{Zr}$ -DFO-抗LAG3シグナルの変化、および処置後の $^{89}\text{Zr}$ -DFO-抗LAG3シグナルと臨床的転帰との相関関係を測定することである。転帰尺度は、免疫療法処置後のSU<sub>V</sub>、SU<sub>V</sub>max、腫瘍：血液比、および臨床的転帰(RECIST1.1を使用する、応答者状況を算出するための連続CTおよび腫瘍体積)、奏効率、および無増悪生存率を含む。

10

患者標的集団

20

【0257】

標的集団は、進行性転移性黒色腫を有する18歳またはそれより年長の患者であって、生検への修正が可能な(amendable)少なくとも1つの病変があるという診断が組織学的または細胞学的に確認された上記の患者からなる。患者は、2未満またはこれに等しいECOGパフォーマンスステータス、少なくとも3か月の寿命予測、ならびに適切な臓器および骨髄機能を有していなければならない。

【0258】

高い有病率の標的を有する指標を有する患者を含めると、本検討の重要な転帰となる、LAG3 iPET腫瘍局在化のアセスメントが支援される。免疫療法後のLAG3発現の検出、およびこれと臨床的転帰との相関関係には、免疫療法に対する十分に特徴づけられている臨床応答率を有する患者集団が必要とされる。転移性黒色腫の患者は、チェックポイント阻害剤に対する確立された応答率、ならびに高いレベルの有病率およびLAG3の発現を有する患者集団となる。

30

検討設計

【0259】

この検討は部分A(構築物バリデーション)および部分B(基準バリデーション)を含む。検討期間は、部分Aの場合、9週間(4週間のスクリーニング、1週間のトレーサー投与、走査および生検、4週間の安全性経過観察)、および部分Bの場合、18週間(4週間のスクリーニング、1週間のトレーサー投与、走査および生検、最大8週間の免疫療法、1週間の第2のトレーサー投与および走査、4週間の安全性経過観察)である。

40

部分A

【0260】

部分Aは、用量調査検討であり、この場合、患者は単一トレーサー用量の投与を受けて、次いで7日間の期間にわたる、連続走査および生検が続く。一旦、一連の走査および生検が完了すると、対象は、標準のケア免疫療法のレジメン(抗PD-1単独で、または表示されている適応症に従い、抗CTLA4と組み合わせる)により直ちに処置され得る。

部分Aにおける用量コホート

【0261】

部分Aは、合計で6名の患者(3+3の設計)までコホートを拡張する可能性を伴う、3名の患者からなる、3連続用量コホートを含む。用量漸増決定は、a)安全性、および

50

b) iPETがポジティブであるという評価によって情報提供を受ける。用量規定毒性(DLT)は、トレーサー投与の1週間後に、 $^{89}\text{Zr}$ -DFO-抗LAG3に関連する、または関連する可能性のある、グレード3またはそれより高い(NTCAE)有害事象(AE)として定義する。血液学的な検査室でのAEに関すると、DLTをグレード4またはそれより高く定義する。腫瘍取り込みがポジティブであること/腫瘍の局在化は、腫瘍:血液比が、1より高いことによって定義する。適切なPKは、最適なイメージング時間(注入後4日目または7日目)において、血液中のSUVが1~5の範囲であることにより定義する。

#### 【0262】

6名の患者に対するコホートの拡張は、以下の条件のいずれかを満足する場合に行う：  
(a) ちょうど1名の患者がDLTを経験する、または(b) 3名の患者のうちの少なくとも1名が、腫瘍局在化および適切なPKを示し、かつ1名以下の患者がDLTを経験する。

10

#### 【0263】

3名または6名の対象のいずれかのコホートの完了時に、拡張コホートにおける3名未満の患者がDLTを経験する場合、用量漸増は一層高い利用可能な用量まで行う。

#### 【0264】

検討の部分Aは、以下の条件のいずれかを満足した場合、停止する(部分Aの停止規則)：コホートにおける1名より多い患者がDLTを経験する；3名より多い患者が、2つの連続する拡張コホートの各々において、目視可能な腫瘍局在化および適切なPKを示す；または漸増に一層高い用量を利用することができない。

20

#### 【0265】

部分Aの停止規則に達すると、部分B用量は以下のように選択される：a) 2つまたは3つの拡張コホートが、腫瘍局在化および適切なPKを有する3名より多い患者を示す場合、より多数の患者における腫瘍局在化または最高の腫瘍:血液比を伴う用量コホートが選択される。これらが、コホート間で類似している場合、より少ない用量が選択される。b) 1つのコホートが、腫瘍局在化および適切なPKを有する患者が3名より多いことを示した場合、この用量を選択する。c) コホートが、腫瘍局在化および適切なPKを有する患者が3名より多いことを示さない場合、この検討は部分Bに進むことなく終了する。

部分B

30

#### 【0266】

部分Bは、免疫療法前と免疫療法後の両方で、規定されたトレーサー用量および注入後の時点(部分Aで決定した)におけるLAG3 iPETシグナルを測定して、腫瘍炎症応答の指標としてのLAG3の役割を取り巻く仮説をアセスメントする(探索目的)。部分Bでの患者はすべて、部分Aにおいて特定された最適トレーサー質量用量および注入後のイメージングタイミングを受ける。

#### 【0267】

部分Bの患者は、ベースライン時でのLAG3 iPET走査、および療法前の生検を受ける。次に、患者は、標識に従って標準のケア免疫療法(現在、これらは、モノクローナル抗体をベースとするPD-1およびCTLA-4経路遮断剤である)を受ける。4~8週間後に、追加のiPET走査を行い、次いで、実現可能な場合、第2の生検を行う。

40

#### 【0268】

最適トレーサー質量用量の投与を受け、適切な走査の質を達成した部分Aにおける患者は、部分Bにも適格となり得、合計で2回のiPETトレーサー注入を受ける。部分Bにおける対象の総数(部分Aから参加したものを含む)は、20名を超えない。

生検の考慮

#### 【0269】

病変は、接近のし易さおよびサイズ(通常、少なくとも20mmの直径)に基づいて生検を選択する。患者はすべて、iPET検討がポジティブであるか否かに関わりなく、最初の一式のiPET走査の最後の日に、ベースライン生検を受ける。このように、ネガテ

50

ィブ患者を含めて、LAG3シグナルとの相関関係のために、幅広い範囲のLAG3組織の発現を有する患者からの組織を採集する。生検は、患者への療法遅延を最小化するため、注入日から7日以内に計画する。

【0270】

生検から始め、次いで、トレーサーの投与および走査、次に療法を開始する一連のアセスメントが、実用上の理由のために好ましいものとなり得る。

【0271】

部分Bに関する、第2の走査後の第2の生検は、実現可能であり必要に応じて、行ってもよい。実施可能な場合、一連の生検は、同一部位から行われる。

【0272】

オートラジオグラフィ検査は、LAG3に対して染色された隣接切片と共に、iPET走査に対してポジティブな生検済み腫瘍の一部に行く。

検討介入

部分A

【0273】

スクリーニングに続いて、対象はそれぞれ、ある用量の $^{89}\text{Zr}$ -DFO-抗LAG3の投与、次いで、6~7日間にわたり、3回の連続したiPET走査を受ける。開始用量は、動物検討およびモデリングから決定した、2mgとなる。最後のiPET走査の後の1日以内に、対象は、放射線でガイドする生検を受ける。利用可能な場合、LAG3発現について、保管された生検腫瘍組織をIHCによっても分析する。

【0274】

部分Aの場合、対象の全員が、最終的に特定された最適トレーサー用量を受けるわけではないので、生検は必要に応じる。

【0275】

部分Bへ進むかどうかの決定は、部分Aのデータおよび動員率に基づいて行われる。

部分B

【0276】

スクリーニングに続いて、黒色腫患者はそれぞれ、最適化した質量用量(部分Aから)で $^{89}\text{Zr}$ -DFO-抗LAG3の投与、次いで、最適な注入後時点(部分Aから)においてPET走査を受ける。次に、iPETイメージング後の1日以内に、対象は、放射線でガイドする病変の生検を受ける。続いて、患者は、利用可能な承認を受けている免疫療法レジメン(表示通りに投与)で、非盲検で処置を受ける。対象は、免疫療法を開始して4~8週間後に、第2の走査を受ける。第2の走査後の第2の生検は、実現可能で必要に応じて、行ってもよい。

【0277】

患者はすべて、 $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT走査によってスクリーニングを受ける。PET/CT走査のCT部分は、診断品質でなければならないか、またはスクリーニング期間中に取得した診断用CTスキャンは、病変の位置および寸法をアセスメントするのに利用可能でなければならない。これらの走査を使用して、代謝活性/生存率および適切な寸法に関して病変を評価する。

【0278】

上記の実施形態および実施例は、単に例示に過ぎず、非限定例であることが意図されている。当業者は、慣用法の実験だけを使用して、具体的な化合物、物質および手順の多数の等価物を認識するか、または突き止めることができる。このような等価物はすべて、本範囲内と考えられ、添付の特許請求の範囲によって包含される。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

リンパ球活性化遺伝子-3(LAG3)に結合する抗体またはその抗原結合性断片、およびポジトロン放出体を含む、放射標識抗体コンジュゲート。

(項目2)

10

20

30

40

50

キレート形成性部分をさらに含む、項目 1 に記載のコンジュゲート。

(項目 3)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、式 (A) の 1 つまたは複数の部分：

- L - M<sub>z</sub>

(A)

(式中、L はキレート形成性部分であり、M はポジトロン放出体であり、z は、独立して、出現ごとに、0 または 1 であり、z の少なくとも 1 つは、1 である)

に共有結合している、項目 1 または 2 に記載のコンジュゲート。

(項目 4)

前記キレート形成性部分が、デスフェリオキサミンを含む、項目 2 に記載のコンジュゲート。

10

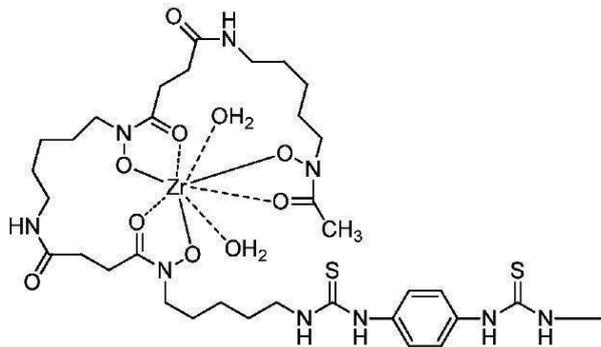
(項目 5)

前記ポジトロン放出体が<sup>89</sup>Zr である、項目 1 から 4 のいずれかに記載のコンジュゲート。

(項目 6)

- L - M が、

【化 6】



20

である、項目 3 に記載のコンジュゲート。

(項目 7)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、式 (A) の 1 つ、2 つまたは 3 つの部分に共有結合している、項目 1 から 6 のいずれかに記載のコンジュゲート。

30

(項目 8)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、以下：

(a) 37 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約 8 nM 未満の結合解離平衡定数 (K<sub>D</sub>) で、ヒトLAG3 単量体に結合すること、

(b) 25 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約 10 nM 未満の K<sub>D</sub> で、ヒトLAG3 単量体に結合すること、

(c) 37 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約 1 nM 未満の K<sub>D</sub> で、ヒトLAG3 二量体に結合すること、

(d) 25 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約 1.1 nM 未満の K<sub>D</sub> で、ヒトLAG3 二量体に結合すること

40

からなる群から選択される、1 つまたは複数の特性を有する、項目 1 から 7 のいずれかに記載のコンジュゲート。

(項目 9)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、386、402、418、434、450、458、466、474、482、490、498、506、514、538 および 554 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、重鎖可変領

50

域 (H C V R) において 3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R) ; および配列番号 1 0、  
2 6、4 2、5 8、7 4、9 0、1 0 6、1 2 2、1 3 8、1 5 4、1 7 0、1 8 6、2  
0 2、2 1 8、2 3 4、2 5 0、2 6 6、2 8 2、2 9 8、3 1 4、3 3 0、3 4 6、3  
6 2、3 7 8、3 9 4、4 1 0、4 2 6、4 4 2、5 2 2、5 3 0、5 4 6 および 5 6 2  
からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域 (L C V R) において、3  
つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R) を含む、項目 1 から 8 のいずれかに記載のコンジュ  
ゲート。

(項目 1 0)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 4 2 0 を含む重鎖相補性決定領域 (H  
C D R) - 1 ; 配列番号 4 2 2 を含む H C D R 2 ; および配列番号 4 2 4 を含む H C D R  
3 ; 配列番号 4 2 8 を含む軽鎖相補性決定領域 (L C D R) - 1 ; 配列番号 4 3 0 を含む  
L C D R 2 ; および配列番号 4 3 2 を含む L C D R 3 を含む、項目 1 から 9 のいずれかに  
記載のコンジュゲート。

10

(項目 1 1)

前記抗体が、配列番号 4 1 8 の H C V R に 3 つの C D R ; および配列番号 4 2 6 の L C  
V R に 3 つの C D R を含む、項目 1 から 9 のいずれかに記載のコンジュゲート。

(項目 1 2)

L A G 3 を発現する組織をイメージングする方法であって、前記組織に項目 1 から 1 1  
のいずれか一項に記載の放射標識抗体コンジュゲートを投与するステップ、およびポジト  
ロン断層法 (P E T) イメージングにより L A G 3 発現を可視化するステップを含む、方法。

20

(項目 1 3)

( a ) 固形腫瘍を有する対象を選択するステップ、  
( b ) ( i ) それを必要とする前記対象に項目 1 から 1 1 のいずれか一項に記載の放射  
標識抗体コンジュゲートを投与すること、および ( i i ) ポジトロン断層法 (P E T) イ  
メージングにより、前記腫瘍における前記放射標識抗体コンジュゲートの局在化をイメ  
ージングすることを含む、前記固形腫瘍が L A G 3 ポジティブな細胞を含むことを判定する  
ステップであって、前記腫瘍における前記放射標識抗体コンジュゲートの存在により、前  
記腫瘍が L A G 3 ポジティブな細胞を含むことを示す、判定するステップ、および  
( c ) それを必要とする前記対象に抗腫瘍療法の 1 つまたは複数の用量を投与するステ  
ップ  
を含む、腫瘍を処置する方法。

30

(項目 1 4)

前記抗腫瘍療法が、L A G 3 の阻害剤、P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達軸の阻害剤  
、C T L A - 4 阻害剤、T I M 3 阻害剤、B T L A 阻害剤、T I G I T 阻害剤、C D 4 7  
阻害剤、G I T R 阻害剤、別の T 細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト、インド  
ールアミン - 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ ( I D O ) 阻害剤、血管内皮細胞成長因子 ( V E  
G F ) アンタゴニスト、A n g 2 阻害剤、トランスフォーミング成長因子ベータ ( T G F  
 ) 阻害剤、上皮成長因子受容体 ( E G F R ) 阻害剤、C D 2 0 阻害剤、腫瘍特異的抗原  
に対する抗体、がんワクチン、二重特異性抗体、細胞毒、化学療法剤、シクロホスファミ  
ド、放射線療法、I L - 6 R 阻害剤、I L - 4 R 阻害剤、I L - 1 0 阻害剤、I L - 2、  
I L - 7、I L - 2 1、I L - 1 5、および抗体 - 薬物コンジュゲート ( A D C ) からな  
る群から選択される、項目 1 3 に記載の方法。

40

(項目 1 5)

前記抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体、R E G N 2 8 1 0、B G B - A 3 1 7、ニボルマ  
ブ、ピジリズマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、  
M D X - 1 1 0 5、R E G N 3 5 0 4、イピリムマブ、抗 C D - 2 8 抗体、抗 2 B 4 抗体  
、抗 L Y 1 0 8 抗体、抗 L A I R 1 抗体、抗 I C O S 抗体、抗 C D 1 6 0 抗体、抗 V I S  
T A 抗体、アフリベルセプト、ベバシズマブ、ラニビズマブ、スニチニブ、ソラフェニブ  
、パゾパニブ、ネスバクマブ、エルロチニブ、セツキシマブ、リツキシマブ、抗 C A 9 抗

50

体、抗CA125抗体、抗黒色腫関連抗原3(MAGE3)抗体、抗癌胎児性抗原(CEA)抗体、抗ビメンチン抗体、抗腫瘍-M2-PK抗体、抗前立腺特異的抗原(PSA)抗体、抗ムチン-1抗体、抗MART-1抗体、抗CA19-9抗体、カルメット-グラン桿菌、CD3×CD20二重特異性抗体、PSMA×CD3二重特異性抗体、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキセート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ピンクリスチン、シクロホスファミド、放射線療法、サリルマブ、デュピルマブ、抗CD19-DM4 ADC、および抗DS6-DM4 ADCからなる群から選択される、項目13または14に記載の方法。

(項目16)

前記抗腫瘍療法が、抗LAG3抗体またはその抗原結合性断片、抗PD-1抗体またはその抗原結合性断片および抗PD-L1抗体またはその抗原結合性断片からなる群から選択される、項目13から15のいずれか一項に記載の方法。

(項目17)

前記抗腫瘍療法が、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330、338/346、354/362、370/378、386/394、402/410、418/426、434/442、450/522、458/522、466/522、474/522、482/522、490/522、498/530、506/530、514/530、538/546、および554/562からなる群から選択される重鎖可変領域(HCVR)/軽鎖可変領域(LCVR)配列対内に、3つの重鎖相補性決定領域(HCDR)および3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR)を含むLAG3抗体またはその抗原結合性断片である、項目16に記載の方法。

(項目18)

前記抗LAG3抗体またはその抗原結合性断片が、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、84/86/88/92/94/96、100/102/104/108/110/112、116/118/120/124/126/128、132/134/136/140/142/144、148/150/152/156/158/160、164/166/168/172/174/176、180/182/184/188/190/192、196/198/200/204/206/208、212/214/216/220/222/224、228/230/232/236/238/240、244/246/248/252/254/256、260/262/264/268/270/272、276/278/280/284/286/288、292/294/296/300/302/304、308/310/312/316/318/320、324/326/328/332/334/336、340/342/344/348/350/352、356/358/360/364/366/368、372/374/376/380/382/384、388/390/392/396/398/400、404/406/408/412/414/416、420/422/424/428/430/432、436/438/440/444/446/448、452/454/456/524/526/528、460/462/464/524/526/528、468/470/472/524/526/528、476/478/480/524/526/528、484/486/488/524/526/528、492/494/496/524/526/528、500/502/504/532/534/536、508/510/512/532/534/536、516/518/520/532/534/536、540/542/544/548/550/552、および556/558/560/564/566/568からなる群から選択される3つのHCDRおよび3つのLCDRを含む、

10

20

30

40

50

項目 1 7 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記抗 L A G 3 抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号 4 1 8 の H C V R に 3 つの H C D R ; および配列番号 4 2 6 の L C V R に 3 つの L C D R を含む、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記抗腫瘍療法が、REGN 2 8 1 0、ニボルマブおよびペムプロリズマブからなる群から選択される、抗 P D - 1 抗体またはその抗原結合性断片である、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記抗腫瘍療法が、アテゾリズマブ、アベルマブおよびデュルバルマブからなる群から選択される抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合性断片である、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 2)

前記抗 L A G 3 抗体が、第 2 の抗腫瘍療法と組み合わせて投与される、項目 1 9 に記載の方法。

(項目 2 3)

前記第 2 の抗腫瘍療法が、P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達軸の阻害剤、C T L A - 4 阻害剤、T I M 3 阻害剤、B T L A 阻害剤、T I G I T 阻害剤、C D 4 7 阻害剤、G I T R 阻害剤、別の T 細胞共阻害剤またはリガンドのアンタゴニスト、インドールアミン - 2 , 3 - ジオキシゲナーゼ ( I D O ) 阻害剤、血管内皮細胞成長因子 ( V E G F ) アンタゴニスト、A n g 2 阻害剤、トランスフォーミング成長因子ベータ ( T G F ) 阻害剤、上皮成長因子受容体 ( E G F R ) 阻害剤、C D 2 0 阻害剤、腫瘍特異的抗原に対する抗体、がんワクチン、二重特異性抗体、細胞毒、化学療法剤、シクロホスファミド、放射線療法、I L - 6 R 阻害剤、I L - 4 R 阻害剤、I L - 1 0 阻害剤、I L - 2、I L - 7、I L - 2 1、I L - 1 5、および抗体 - 薬物コンジュゲート ( A D C ) からなる群から選択される、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 4)

前記第 2 の抗腫瘍療法が、抗 L A G 3 抗体、REGN 2 8 1 0、B G B - A 3 1 7、ニボルマブ、ピジリズマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、M D X - 1 1 0 5、REGN 3 5 0 4、イピリムマブ、抗 C D - 2 8 抗体、抗 2 B 4 抗体、抗 L Y 1 0 8 抗体、抗 L A I R 1 抗体、抗 I C O S 抗体、抗 C D 1 6 0 抗体、抗 V I S T A 抗体、アフリベルセプト、ベバシズマブ、ラニビズマブ、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、ネスバクマブ、エルロチニブ、セツキシマブ、リツキシマブ、抗 C A 9 抗体、抗 C A 1 2 5 抗体、抗黒色腫関連抗原 3 ( M A G E 3 ) 抗体、抗癌胎児性抗原 ( C E A ) 抗体、抗ビメンチン抗体、抗腫瘍 - M 2 - P K 抗体、抗前立腺特異的抗原 ( P S A ) 抗体、抗ムチン - 1 抗体、抗 M A R T - 1 抗体、抗 C A 1 9 - 9 抗体、カルメット - ゲラン桿菌、C D 3 x C D 2 0 二重特異性抗体、P S M A x C D 3 二重特異性抗体、ダカルバジン、テモゾロミド、シクロホスファミド、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、シスプラチン、カルボプラチン、ゲムシタピン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ピンクリスチン、シクロホスファミド、放射線療法、サリルマブ、デュピルマブ、抗 C D 1 9 - D M 4 A D C、および抗 D S 6 - D M 4 A D C からなる群から選択される、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 5)

前記腫瘍が、血液がん、脳がん、腎細胞がん、卵巣がん、膀胱がん、前立腺がん、乳がん、肝細胞癌、骨がん、結腸がん、非小細胞肺癌、頭頸部の扁平上皮癌、結腸直腸がん、中皮腫、B 細胞リンパ腫および黒色腫からなる群から選択される、項目 1 3 から 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6)

式 ( I I I ) の化合物：

10

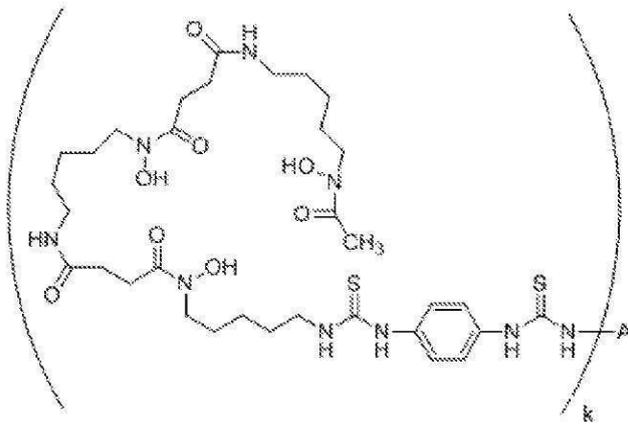
20

30

40

50

## 【化 7】



(式中、Aは、LAG3に結合する抗体またはその抗原結合性断片であり、kは1～30である)。

## (項目 27)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、以下：

(a) 37 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約8 nM未満の結合解離平衡定数 ( $K_D$ ) で、ヒトLAG3単量体に結合すること、

(b) 25 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約10 nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3単量体に結合すること、

(c) 37 において表面プラズモン共鳴アッセイで測定すると、約1 nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3二量体に結合すること、

(d) 25 において表面プラズモン共鳴アッセイにおいて、約1.1 nM未満の $K_D$ で、ヒトLAG3二量体に結合すること

からなる群から選択される、1つまたは複数の特性を有する、項目26に記載の化合物。

## (項目 28)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、322、338、354、370、386、402、418、434、450、458、466、474、482、490、498、506、514、538および554からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、重鎖可変領域 (HCVR) において3つの重鎖相補性決定領域 (HCDR)；および配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、314、330、346、362、378、394、410、426、442、522、530、546および562からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域 (LCVR) において、3つの軽鎖相補性決定領域 (LCDR) を含む、項目26または27のいずれかに記載の化合物。

## (項目 29)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/314、322/330、338/346、354/362、370/378、386/394、402/410、418/426、434/442、450/522、458/522、466/522、474/522、482/522、490/522、498/530、506/530、514/530、538/546、および554/

10

20

30

40

50

562 からなる群から選択される重鎖可変領域 (H C V R) / 軽鎖可変領域 (L C V R) 配列対内に、3つの重鎖相補性決定領域 (H C D R) および3つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R) を含む、項目26から28のいずれか一項に記載の化合物。

(項目30)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、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、84 / 86 / 88 / 92 / 94 / 96、100 / 102 / 104 / 108 / 110 / 112、116 / 118 / 120 / 124 / 126 / 128、132 / 134 / 136 / 140 / 142 / 144、148 / 150 / 152 / 156 / 158 / 160、164 / 166 / 168 / 172 / 174 / 176、180 / 182 / 184 / 188 / 190 / 192、196 / 198 / 200 / 204 / 206 / 208、212 / 214 / 216 / 220 / 222 / 224、228 / 230 / 232 / 236 / 238 / 240、244 / 246 / 248 / 252 / 254 / 256、260 / 262 / 264 / 268 / 270 / 272、276 / 278 / 280 / 284 / 286 / 288、292 / 294 / 296 / 300 / 302 / 304、308 / 310 / 312 / 316 / 318 / 320、324 / 326 / 328 / 332 / 334 / 336、340 / 342 / 344 / 348 / 350 / 352、356 / 358 / 360 / 364 / 366 / 368、372 / 374 / 376 / 380 / 382 / 384、388 / 390 / 392 / 396 / 398 / 400、404 / 406 / 408 / 412 / 414 / 416、420 / 422 / 424 / 428 / 430 / 432、436 / 438 / 440 / 444 / 446 / 448、452 / 454 / 456 / 524 / 526 / 528、460 / 462 / 464 / 524 / 526 / 528、468 / 470 / 472 / 524 / 526 / 528、476 / 478 / 480 / 524 / 526 / 528、484 / 486 / 488 / 524 / 526 / 528、492 / 494 / 496 / 524 / 526 / 528、500 / 502 / 504 / 532 / 534 / 536、508 / 510 / 512 / 532 / 534 / 536、516 / 518 / 520 / 532 / 534 / 536、540 / 542 / 544 / 548 / 550 / 552、および556 / 558 / 560 / 564 / 566 / 568 からなる群から選択される3つのH C D R および3つのL C D R を含む、項目26から28のいずれか一項に記載の方法。

10

20

(項目31)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号418のH C V Rに3つのH C D R ; および配列番号426のL C V Rに3つのL C D R を含む、項目26から28のいずれか一項に記載の化合物。

30

(項目32)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号420を含む重鎖相補性決定領域 (H C D R) - 1 ; 配列番号422を含むH C D R 2 ; および配列番号424を含むH C D R 3 ; 配列番号428を含む軽鎖相補性決定領域 (L C D R) - 1 ; 配列番号430を含むL C D R 2 ; および配列番号432を含むL C D R 3 を含む、項目26から31のいずれか一項に記載の化合物。

(項目33)

k が2未満または2に等しい、項目26から32のいずれか一項に記載の化合物。

40

(項目34)

k が1または2である、項目26から32のいずれか一項に記載の化合物。

50

【図面】

【図 1】

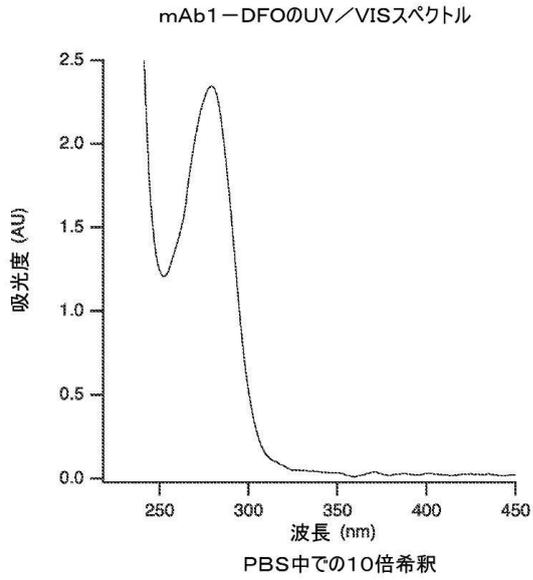


FIGURE 1

【図 2】

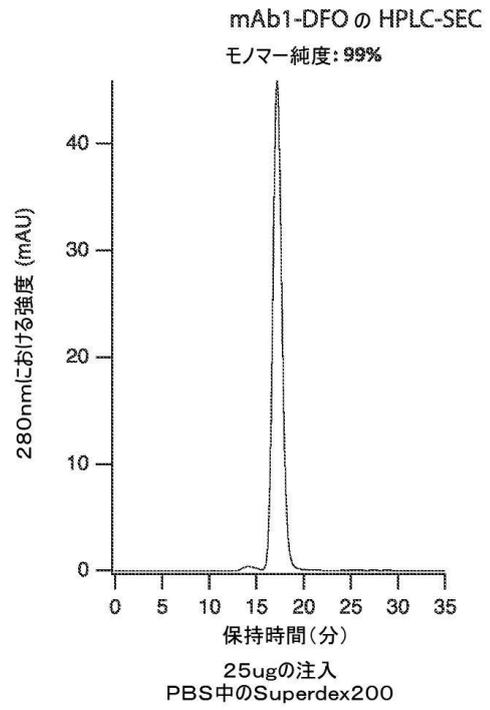


FIGURE 2

10

20

30

40

50

【 図 3 】

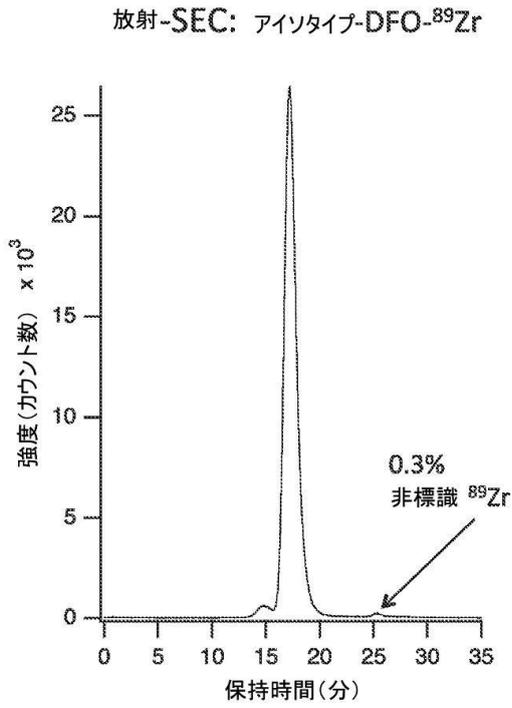


FIGURE 3

【 図 4 】

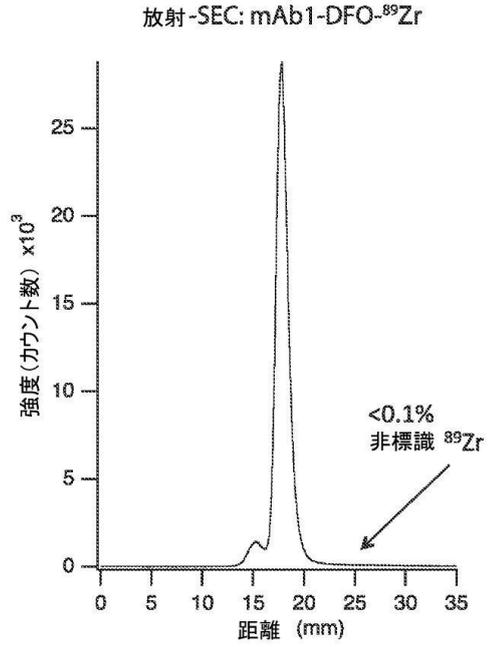


FIGURE 4

【 図 5 】

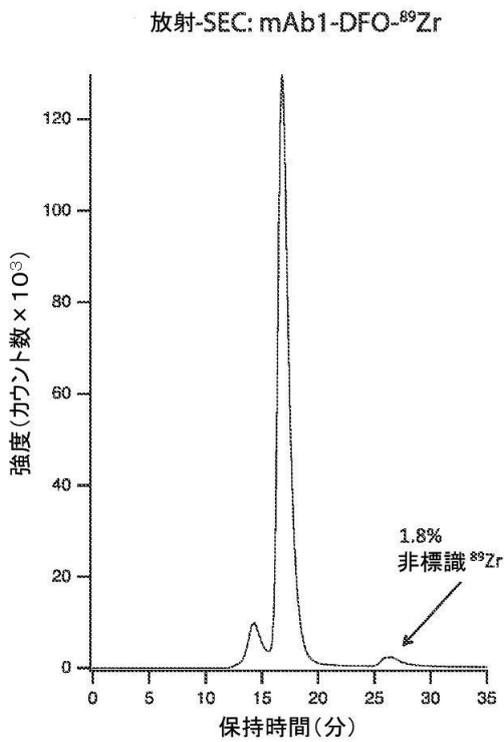


FIGURE 5

【 図 6 】

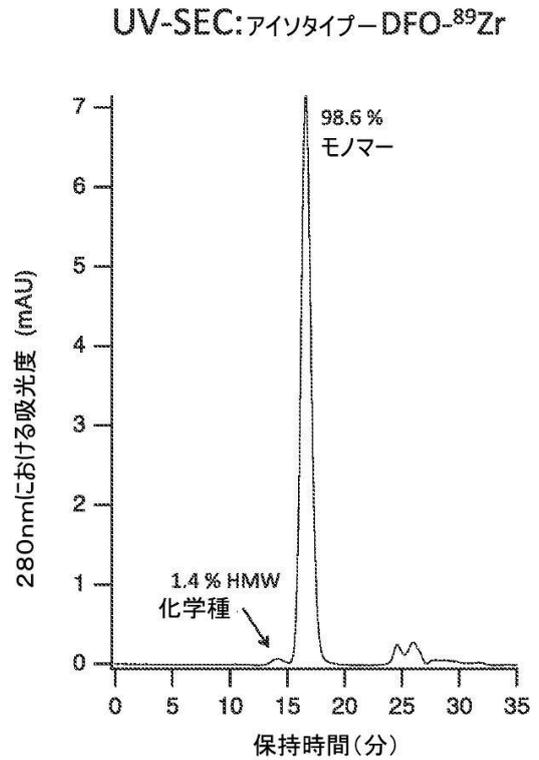


FIGURE 6

10

20

30

40

50

【 図 7 】

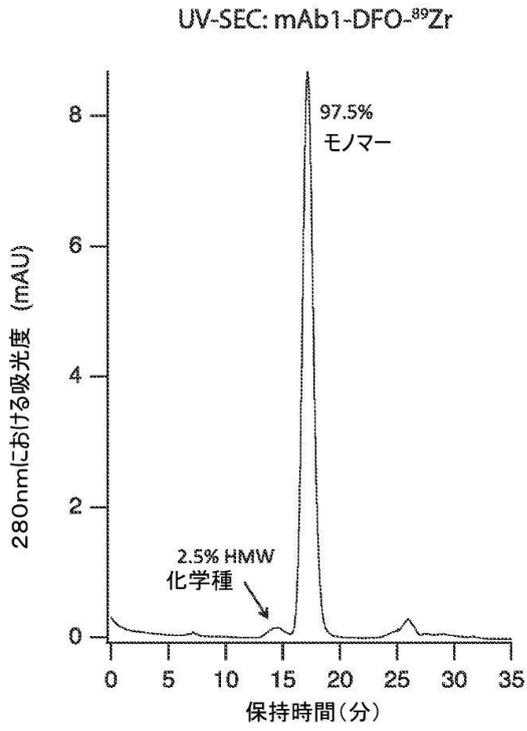


FIGURE 7

【 図 8 】

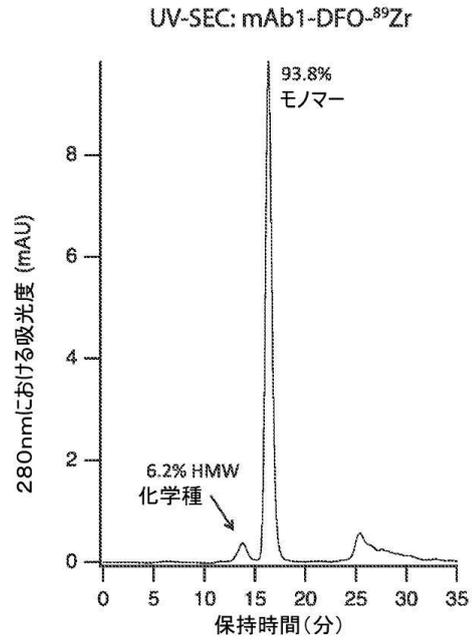


FIGURE 8

【 図 9 】

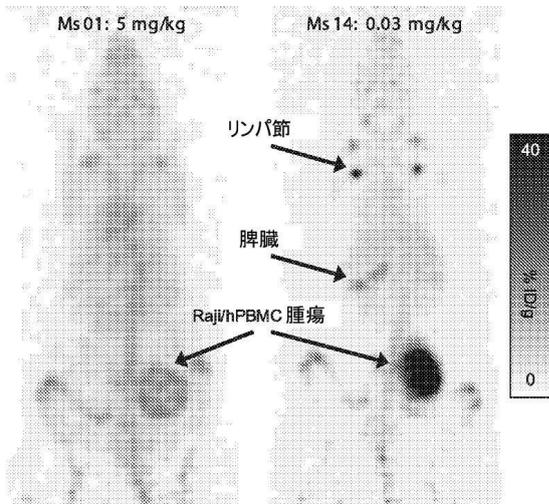


FIGURE 9

【 図 10 】

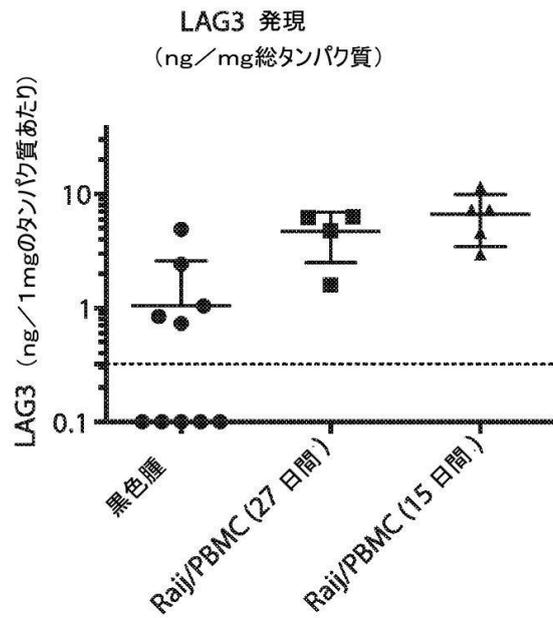


FIGURE 10

10

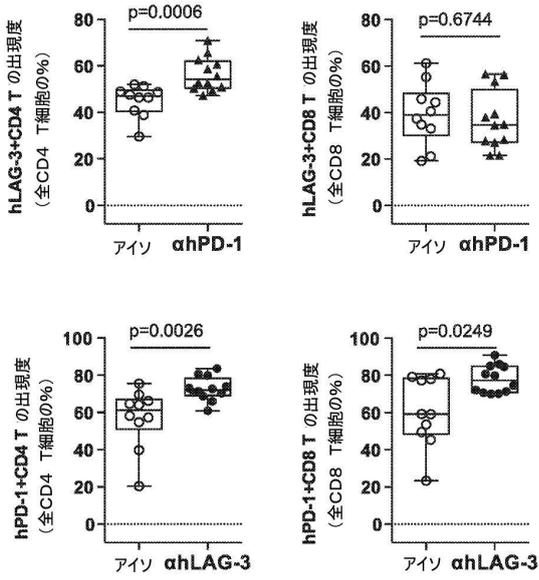
20

30

40

50

【 図 1 1 】



統計的解析は、対応のないMann-Whitneyノンパラメトリック検定を使用して行った

FIGURE 11

【 図 1 2 】

黒色腫組織の試料情報

試料ID	性別	年齢	民族性	試料マテリアルタイプ	診断	組織学	TRM	ステージ	免疫細胞の割合 (%)	免疫細胞の割合 (%)	腫瘍サイズ, cm	転移	手術日	腫瘍重量, g
13181572(1)	M	45	白人	FF	皮膚 黒色腫	上皮細胞 黒色腫	T4N3M0	IIC	V	I	1.8x0.4	0/0	09/16/2015	95
13171972(1)	M	58	白人	FF	皮膚 黒色腫	基底細胞 黒色腫	T4N0M0	IIC	V	I	6x5.4	なし	09/23/2014	100
1384172(1)	F	51	白人	FF	皮膚 黒色腫	混合型 黒色腫	T6aN0M0	IIB	IV	I.3	3.5x2.5x1.3	なし	02/08/2010	100
1378872(4)	F	68	白人	FF	皮膚 黒色腫	基底細胞 黒色腫	T4N1M0	IIC	III	2.5	7 cm	3/1	10/29/2009	100
1379572(2)	M	56	白人	FF	皮膚 黒色腫	上皮細胞 黒色腫	T4N3M0	IIC	III	0.7	2.5x1.5	6/6	08/26/2009	90
13177872(1)	M	58	白人	FF	皮膚 黒色腫	上皮細胞 黒色腫	T4N3M0	IIC	V	30 mm	5x3x2	11/17	10/15/2014	100
1352972(1)	F	38	白人	FF	皮膚 黒色腫	基底細胞 黒色腫	T4N3M0	IIC	III	15 mm	3x1.5	6/6	09/15/2012	100
13108672(4)	M	59	白人	FF	皮膚 黒色腫	上皮細胞 黒色腫	T6aN0M0	IIB	V	10 mm	2.5 cm	なし	05/12/2011	75
1385772(1)	M	78	白人	FF	皮膚 軟部組織	上皮細胞 黒色腫	再発性	再発性	III	15 mm	N/A	1/18	02/17/2008	100
1352472(1)	F	44	白人	FF	皮膚 黒色腫	上皮細胞 黒色腫	T4N2M0	IIC	III	22 mm	2 cm	2/12	01/24/2008	100

FIGURE 12

【 配列表 】

0007167041000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

		F I		
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/543 (2006.01)	G 0 1 N	33/543	5 9 5
G 0 1 T	1/161 (2006.01)	G 0 1 T	1/161	A

- (72)発明者 ル リバー ロード 7 7 7 , 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 気付  
マ , ダンシェ  
アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 5 9 1 , タリータウン , オールド ソー ミル リバー ロー  
ド 7 7 7 , 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 気付
- (72)発明者 オルソン , ウィリアム  
アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 5 9 1 , タリータウン , オールド ソー ミル リバー ロー  
ド 7 7 7 , 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 気付
- (72)発明者 タヴァレ , リチャード  
アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 5 9 1 , タリータウン , オールド ソー ミル リバー ロー  
ド 7 7 7 , 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 気付
- (72)発明者 サーストン , ギャビン  
アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 5 9 1 , タリータウン , オールド ソー ミル リバー ロー  
ド 7 7 7 , 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 気付

審査官 池上 京子

- (56)参考文献 国際公開第 2 0 1 7 / 0 1 5 5 6 0 ( W O , A 1 )  
Expert Opin. Ther. Targets , 2011年 , vol.15, no.1 , p.91-101  
Eur J Nucl Med Mol Imaging , 2010年 , vol.37 , p.250-259

## (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0  
C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0  
C 1 2 Q 1 / 0 0 - 3 / 0 0  
A 6 1 K 3 9 / 0 0 - 3 9 / 4 4  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )  
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )