

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6767362号
(P6767362)

(45) 発行日 令和2年10月14日(2020.10.14)

(24) 登録日 令和2年9月23日(2020.9.23)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z N A E
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
	A 6 1 P 35/02

請求項の数 22 (全 46 頁)

(21) 出願番号	特願2017-514484 (P2017-514484)	(73) 特許権者	506000184
(86) (22) 出願日	平成27年9月15日 (2015.9.15)		イナート・ファルマ・ソシエテ・アノニム
(65) 公表番号	特表2017-530119 (P2017-530119A)		I N N A T E P H A R M A P H A R M
(43) 公表日	平成29年10月12日 (2017.10.12)		A S . A .
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/071069		フランス、エフー13009マルセイユ、
(87) 国際公開番号	W02016/041945		アブニユ・ドゥ・リュミニエー117番
(87) 国際公開日	平成28年3月24日 (2016.3.24)	(74) 代理人	100145403
審査請求日	平成30年4月10日 (2018.4.10)		弁理士 山尾 憲人
(31) 優先権主張番号	62/050, 948	(74) 代理人	100122301
(32) 優先日	平成26年9月16日 (2014.9.16)		弁理士 富田 憲史
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100157956
			弁理士 稲井 史生
(31) 優先権主張番号	62/083, 929	(74) 代理人	100170520
(32) 優先日	平成26年11月25日 (2014.11.25)		弁理士 笹倉 真奈美
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リンパ球における阻害経路の中和

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒト患者のがんの処置で使用するための、ヒトNKG2Aの阻害活性を中和する薬剤であって、抗NKG2A抗体および抗PD-L1抗体を含み、前記処置は、(a)前記抗NKG2A抗体および(b)抗PD-L1抗体それぞれの有効量を前記患者に投与することを含む、薬剤。

【請求項2】

前記抗NKG2A抗体の少なくとも2回の用量を、この抗体の投与後に少なくとも1週間にわたり少なくとも10μg/mlの抗NKG2A抗体の連続血中濃度を達成するのに有効な量で投与する、請求項1に記載の薬剤。

【請求項3】

前記処置が少なくとも1回の投与サイクルを含み、前記サイクルは8週の期間であり、各サイクルに関して、前記抗NKG2A抗体の2回、3回または4回の用量を投与し、前記抗PD-L1抗体の2回、3回または4回の用量を投与する、請求項1または2に記載の薬剤。

【請求項4】

前記抗NKG2A抗体と前記抗PD-L1抗体とが別々の投与用に製剤化されており、これらの抗体を同時にまたは順次に投与する、請求項1～3のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項5】

前記抗NKG2A抗体と前記抗PD-L1抗体とが単一製剤での同時投与用に製剤化されている、請求項1～4のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項6】

前記抗NKG2A抗体と前記抗PD-L1抗体とが同日での同時投与用に製剤化されている、請求項1～5のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項7】

前記がんが固形腫瘍である、請求項1～6のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項8】

前記がんが血液腫瘍である、請求項1～6のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項9】

前記がんが、肺がん、腎細胞癌(RCC)、黒色腫、結腸直腸がんおよび卵巣がんからなる群から選択される、請求項7に記載の薬剤。

【請求項10】

前記がんがHLA-E発現がんである、請求項7～9のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項11】

前記抗NKG2A抗体が、配列番号4～8のいずれか1つに記載の配列を有する重鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインと、配列番号9に記載の配列を有する軽鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインとを含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項12】

前記抗PD-L1抗体がPD-L1ポリペプチドに結合する抗体である、請求項1～11のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項13】

前記抗体がキメラ抗体、ヒト抗体またはヒト化抗体である、請求項1～12のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項14】

前記抗NKG2A抗体が非枯渇性抗体である、請求項1～13のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項15】

前記抗PD-L1抗体が非枯渇性抗体である、請求項1～14のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項16】

前記抗体がIgG4抗体である、請求項1～15のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項17】

前記抗体がFcドメインを欠失している、またはFcドメインとFcレセプターとの間の結合を低減するように改変されているFcドメインを含む、請求項1～16のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項18】

前記抗体が前記抗体の抗原結合断片である、請求項1～17のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項19】

前記抗体の抗原結合断片が、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、ダイアボディ、単鎖抗体断片または複数種の異なる抗体断片を含む多重特異性抗体から選択される、請求項18に記載の薬剤。

【請求項20】

抗NKG2A抗体と、抗PD-L1抗体と、薬学的に許容される担体とを含む、がんの処置のための医薬組成物。

【請求項21】

(a)ある用量の、抗NKG2A抗体と、(b)ある用量の、抗PD-L1抗体とを含む、がんの処置のためのキット。

10

20

30

40

50

【請求項 2 2】

(a) 抗 N K G 2 A 抗体の有効量を含む単回用量の医薬組成物の複数のパッケージと、
(b) 抗 P D - 1 抗体の有効量を含む単回用量の医薬組成物の複数のパッケージとを含む、がんの処置のためのキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2014年9月16日に出願された米国仮特許出願第62/050,948号明細書、2014年11月25日に出願された米国仮特許出願第62/083,929号明細書および2014年12月17日に出願された米国仮特許出願第62/093,141号明細書の利益を主張し、これらは全て、あらゆる図面を含むその全体が参照により本明細書に援用される。

10

【0002】

配列表への言及

本出願は、電子フォーマットの配列表と一緒に出願されている。この配列表は、サイズが38KBである「NKG2A-PD1-ST25」という標題のファイル(2015年9月15日に作成した)で提供されている。この配列表の電子フォーマット中の情報は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0003】

本発明は、がんの処置のためのNKG2A中和剤とPD-1中和剤との併用に関する。

20

【背景技術】

【0004】

NK細胞の活性は、活性化シグナルおよび阻害シグナルの両方を含む複雑な機序により制御されている。NK細胞により媒介されるHLAクラスI欠損標的細胞(HLA Class I deficient target cell)の認識および死滅において重要な役割を果たすいくつかの異なるNK特異的レセプターが同定されている。天然細胞傷害性レセプター(Natural Cytotoxicity Receptor)(NCR)は、NK細胞中で特異的に発現される活性型レセプタータンパク質のクラスおよびこのタンパク質を発現する遺伝子を意味する。NCRの例として、NKp30、NKp40およびNKp46が挙げられる(例えば、(非特許文献1)、(非特許文献2)、(非特許文献3)、(非特許文献4)、(非特許文献5)、(非特許文献6)を参照されたい。これらの開示全体が参照により本明細書に援用される)。このレセプターはIgスーパーファミリのメンバーであり、このレセプターの架橋(特異的なmAbにより誘発される)により、NK細胞が強力に活性化されて細胞内Ca⁺⁺レベルが増加し、細胞傷害性およびリンホカイン放出が誘発され、多くの種類の標的細胞に対するNK細胞傷害性が活性化される。

30

【0005】

CD94/NKG2Aは、リンパ球のサブセット上で見出される阻害レセプターである。CD94/NKG2Aは、サイトカイン放出と、CD94/NKG2AのリガンドであるHLA-Eを発現する細胞に対するある種のリンパ球の細胞傷害応答とを制限する(例えば(特許文献1)を参照されたい)。HLA-Eはまた、ある種の腫瘍細胞により(非特許文献7)および活性化された内皮細胞により(非特許文献8)、可溶性で分泌されることも分かっている。CD94/NKG2Aシグナル伝達を阻害する抗体は、サイトカイン放出とHLA-E陽性標的細胞に対するリンパ球の細胞溶解活性とを増加させることができ、例えばHLA-E発現腫瘍細胞またはウイルス感染細胞に対するCD94/NKG2A陽性NK細胞の応答を増加させることができる。従って、CD94/NKG2Aを阻害するがCD94/NKG2A発現細胞の死滅を誘発しない治療用抗体(即ち、非枯渇性抗体(non-depleting antibody))は、がん患者の腫瘍増殖の制御を誘導することができる。

40

50

【0006】

PD-1はCD28ファミリーのレセプターの阻害メンバーであり、このCD28ファミリーには、CD28、CTLA-4、ICOSおよびBTLAも含まれる。PD-1は、活性化されたB細胞上で、T細胞上でおよび骨髄細胞上で発現される（非特許文献9）、（非特許文献10）。PD-1に対する2種のリガンドPD-L1およびPD-L2が同定されており、これらのリガンドはPD-1への結合時にT細胞活性化を下方制御することが明らかになっている（（非特許文献11）、（非特許文献12）、（非特許文献13））。PD-L1は様々なヒトがんで豊富に存在している（（非特許文献14））。PD-1とPD-L1との相互作用により、腫瘍浸潤リンパ球が減少し、T細胞レセプターにより媒介される増殖が低下し、がん性細胞による免疫回避が起こる。PD-1とPD-L1との局所的な相互作用を阻害することにより免疫抑制を元に戻すことができ、この効果は、PD-1とPD-L2との相互作用が同様に遮断される際にも付加される。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】国際公開第99/28748号パンフレット

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Lanier (2001) Nat Immunol 2:23-27

【非特許文献2】Pende et al. (1999) J Exp Med. 190: 1505-1516

20

【非特許文献3】Cantoni et al. (1999) J Exp Med. 189:787-796

【非特許文献4】Sivori et al (1997) J. Exp. Med. 186: 1129-1136

【非特許文献5】Pessino et al. (1998) J Exp Med. 188(5):953-60

【非特許文献6】Mandelboim et al. (2001) Nature 409:1055-1060

【非特許文献7】Derre et al., J Immunol 2006;177: 3100-7

30

【非特許文献8】Coupel et al., Blood 2007;109:2806-14

【非特許文献9】Okazaki et al. (2002) Curr. Opin. Immunol. 14:391779-82

【非特許文献10】Bennett et al. (2003) J Immunol 170:711-8

【非特許文献11】Freeman et al. (2000) J Exp Med 192:1027-34

【非特許文献12】Latchman et al. (2001) Nat Immunol 2:261-8

40

【非特許文献13】Carter et al. (2002) Eur J Immunol 32:634-43

【非特許文献14】Dong et al. (2002) Nat. Med. 8:787-9

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

PD-1遮断により、多数の臨床試験において印象的な抗腫瘍応答が起きている。しかしながら、全ての患者が抗腫瘍応答で処置に応答するわけではなく、更に一部の患者では

50

処置後にはがんが再発する。従って、当分野では、PD-1軸(PD-1 axis)の阻害剤により処置される患者への利点の改善が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明は、例えば抗体の使用による阻害レセプターNKGAおよびPD-1の複合中和によって抗腫瘍免疫応答を高める、改善された方法を提供する。(末梢中の)CD8T細胞およびNK細胞はNKGAおよびPD-1の両方を発現しないが、腫瘍細胞の除去を媒介する腫瘍浸潤リンパ球が阻害レセプターPD-1および阻害レセプターNKGAの両方を発現し得ることを発見した。加えて、抗PD-1による処置によって、腫瘍浸潤リンパ球上のNKGAレセプターの上方制御が起こる可能性があり、その結果、NKGAは、PD1軸を遮断する薬剤の有効性を制限している場合がある。これらのレセプターは両方とも、腫瘍浸潤リンパ球の細胞傷害活性を制限する可能性があることから、抗体によるこれら2種のレセプターの両方の阻害活性の中和により、NKGA+PD1+リンパ球はがん細胞を効率的に除去することができる。一実施形態では、このNKGA+PD1+リンパ球は細胞傷害性リンパ球であり、任意選択でCD8+T細胞またはNK細胞である。

10

【0011】

PD-1の阻害活性の阻害または中和は、例えば、PD-1の天然リガンドPD-L1との相互作用を遮断する(および任意選択でPD-1とPD-L2との相互作用を更に遮断する)ことによりPD-L1誘発性PD-1シグナル伝達を防止するポリペプチド(例えば、抗体、Fcドメインに融合したポリペプチド、イムノアドヘシン等)の使用を有利に含むことができる。一態様では、このポリペプチドはPD-1に結合する抗体(抗PD-1抗体)であり、そのような抗体は、PD-1とPD-L1との相互作用および/またはPD-1とPD-L2との相互作用を遮断することができる。別の態様では、このポリペプチドはPD-L1に結合する抗体(抗PD-L1抗体)であり、PD-1とPD-L1との相互作用を遮断する。

20

【0012】

従って、一実施形態では、提供されるのは、個体のがんを処置するまたは予防する方法であって、(a)ヒトNKGAポリペプチドを阻害する化合物の治療上有効な量と、(b)ヒトPD-1ポリペプチドを阻害する化合物の治療上有効な量とを個体に投与することを含む方法である。一実施形態では、このがんは固形腫瘍である。一実施形態では、ヒトNKGAポリペプチドを阻害する化合物は、NKGAの阻害活性を中和する抗体である。一実施形態では、ヒトPD-1ポリペプチドを阻害する化合物は、PD-1の阻害活性を中和する抗PD-1抗体または抗PDL-1抗体である。この個体をヒトに指定することができる。

30

【0013】

一実施形態では、提供されるのは、個体中におけるCD8+腫瘍浸潤T細胞の活性を活性化させるまたは増強する方法であって、(a)ヒトNKGAポリペプチドを阻害する化合物の治療上有効な量と、(b)ヒトPD-1ポリペプチドを阻害する化合物の治療上有効な量とを個体に投与することを含む方法である。一実施形態では、提供されるのは、個体中における腫瘍浸潤NK細胞の活性を活性化させるまたは増強する方法であって、(a)ヒトNKGAポリペプチドを阻害する化合物の治療上有効な量と、(b)ヒトPD-1ポリペプチドを阻害する化合物の治療上有効な量とを個体に投与することを含む方法である。

40

【0014】

一態様では、提供されるのは、NKGAの阻害活性を中和する抗体とPD-1の阻害活性を中和する抗体との組合せを投与することを含む処置である。

【0015】

一態様では、提供されるのは、ヒトNKGAポリペプチドを阻害する抗体とヒトPD-1ポリペプチドを阻害する抗体とを含む組成物である。一態様では、この組成物は、が

50

んの処置または予防で使用されるためのものであり、任意選択で固形腫瘍の処置または予防で使用されるためのものであり、任意選択で血液悪性腫瘍の処置または予防で使用されるためのものである。

【0016】

一実施形態では、抗NKG2A抗体を、(in vivoで)ヒト患者中においてヒトCD94/NKG2Aの阻害活性の中和が起こる量で投与し、例えば、ヒト患者中においてCD8T細胞上のおよびNK細胞上のヒトCD94/NKG2Aの阻害活性の中和が起こる量で投与する。一実施形態では、ヒト患者中においてヒトCD94/NKG2Aの阻害活性の中和が起こる量は、(例えば、PBMCに対して抗体が漸増される結合アッセイで)NKG2A+細胞の表面上のNKG2Aレセプターを実質的に飽和させるのに必要な最低濃度の少なくとも10倍(例えば、10~20倍、10~50倍、10~100倍、20~50倍、20~100倍、30~100倍、50~100倍)であり、任意選択で少なくとも50倍、60倍、80倍または100倍である。一実施形態では、この抗NKG2A抗体は、ヒトNKG2Aへの結合に関してHLA-Eと競合する。

10

【0017】

一実施形態では、抗NKG2A抗体を少なくとも1回の投与サイクルで投与し、この投与サイクルは、抗NKG2A抗体の少なくとも1回目のおよび2回目の(ならびに任意選択で3回目の、4回目の、5回目の、6回目の、7回目のおよび/もしくは8回目の、または更なる)投与を含み、抗NKG2A抗体を、1回目の投与と2回目の(および任意選択で更なる)投与との間で少なくとも10 μ g/ml(または任意選択で20、30、40もしくは50 μ g/ml)の抗NKG2A抗体の連続(最低)血中濃度を達成するのに有効な量で投与する。指定された連続血中濃度の達成または維持は、指定された期間の持続時間(例えば、抗体の2回の投与の間、数週間)にわたり血中濃度が指定された血中濃度を実質的に下回らないことを意味しており、即ち、血中濃度は指定された期間にわたり可変であり、指定された血中濃度は最低濃度または「トラフ」濃度を表す。

20

【0018】

一実施形態では、抗NKG2A抗体を、投与時に(例えば投与の1日以内にまたは2日以内に)約または少なくとも約50、60、70または80 μ g/mlの、任意選択で少なくとも約100 μ g/mlの、ピーク血中濃度を達成するのに有効な量で投与する。

【0019】

一実施形態では、抗NKG2A抗体を、この抗体の投与後に少なくとも1週間または少なくとも2週間にわたり、約または少なくとも約10、20、30、40、50、60、70または80 μ g/mlの、任意選択で約100 μ g/mlの、抗NKG2A抗体の連続(最低)血中濃度を達成するのに有効な量で投与する。

30

【0020】

一実施形態では、抗NKG2A抗体を、2回の連続する投与の間で約または少なくとも約50、60、70または80 μ g/mlの、任意選択で少なくとも約100 μ g/mlの、抗NKG2A抗体の連続(最低)血中濃度を達成するのに有効な量で投与する。一実施形態では、1回目の投与および2回目の投与は約2週間の期間で隔てられており、任意選択で約1週間の期間で隔てられている。

40

【0021】

任意選択で、抗NKG2A抗体を、有効な量でおよび投与サイクルの持続時間全体にわたり指定されている連続(最低)血中濃度を達成する頻度に従って投与することができる。

【0022】

一実施形態では、個体の固形腫瘍を処置するために、ヒトPD-1ペプチドを中和する抗体と組み合わせて抗NKG2A抗体を投与し、この投与サイクルは抗NKG2A抗体の少なくとも2回の投与を含み、2回の連続する投与の間で少なくとも4 μ g/mlの、任意選択で10 μ g/mlの、(例えば腫瘍環境下での)血管外組織中での連続(最低)濃度を達成するのに有効な量で抗NKG2A抗体を投与する。任意選択で、この投与サイク

50

ルの持続時間全体にわたり、少なくとも4 µg/mLの、任意選択で少なくとも10 µg/mLの、(例えば腫瘍環境下での)血管外組織中での連続(最低)濃度を達成するのに有効な量で抗NKG2A抗体を投与する。一実施形態では、2回の連続する投与の間で、またはこの投与サイクルの持続時間にわたり、少なくとも40 µg/mLの、任意選択で少なくとも100 µg/mLの、抗NKG2A抗体の連続(最低)血中濃度を達成するのに有効な量で抗NKG2A抗体を投与する。

【0023】

一実施形態では、ヒトPD-1ペプチドを中和する抗体を、(in vivoで)ヒト患者中においてヒトPD-1の阻害活性の中和が起こる量で投与し、例えば、ヒト患者中においてCD8T細胞上のおよびNK細胞上のヒトPD-1の阻害活性の中和が起こる量で投与する。一態様では、この組合せを、特定の臨床投与レジメン(特に特定の用量)および具体的な投薬スケジュールに従って投与する、または、この組合せは、特定の臨床投与レジメン(特に特定の用量)および具体的な投薬スケジュールに従った投与用である。

10

【0024】

一態様では、NKG2Aを中和する抗体は非枯渇性抗体であり、例えば、死滅させず、除去せず、溶解させず、またはそのような死滅、除去もしくは溶解を誘発せず、その結果、サンプル中にまたは対象中に存在するNKG2A発現細胞の数の悪影響を及ぼさない抗体である。一態様では、PD-1を中和する抗体は非枯渇性抗体である。非枯渇性抗体は例えば、Fcドメインを欠失することができる、または1種もしくは複数種のFcレセプター(例えばCD16)への結合が最小であるFcドメインもしくはこのFcレセプターに結合しないFcドメインを有することができる。例として、ヒトIgG4アイソタイプ抗体からの定常領域を有する抗体、1種または複数種のFcレセプター(例えばCD16)への結合を低減するようにまたは消失させるように定常領域が改変されているあらゆるアイソタイプ(例えばIgG1、IgG2、IgG3)の抗体が挙げられる。

20

【0025】

一実施形態では、がんは、進行性のおよび/または難治性の固形腫瘍である。非限定的な一実施形態では、がん(例えば進行性で難治性の固形腫瘍)は、非小細胞肺癌(NSCLC)、腎がん、膵臓または食道の腺癌、乳がん、腎細胞癌(RCC)、黒色腫、結腸直腸がんおよび卵巣がんからなる群から選択される。

【0026】

NKG2Aポリペプチドを阻害する化合物(抗NKG2A剤)は、NKG2Aを発現するNK細胞および/またはT細胞のHLA-E発現細胞の死滅を引き起こす能力を増大させる化合物である。任意選択で、NKG2Aポリペプチドを阻害する化合物は、NKG2Aポリペプチドに結合するポリペプチド(任意選択で抗体(例えばモノクローナル抗体))である。

30

【0027】

一実施形態では、抗NKG2A剤は、NKG2AのリガンドHLA-Eの結合を遮断することによりNKG2Aの阻害活性を低下させる。即ち、抗NKG2A剤は、HLA-EによるNKG2Aの結合を妨げる。配列番号4~8のいずれかの重鎖と配列番号9の軽鎖とを有する抗体は、そのような抗体の一例である。一実施形態では、抗NKG2A剤は、NKG2AのリガンドHLA-Eの結合を遮断することなくNKG2Aの阻害活性を低下させる。即ち、抗NKG2A剤は非競合アンタゴニストであり、HLA-EによるNKG2Aの結合を妨げない。それぞれ配列番号10および配列番号11の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を有する抗体は、そのような抗体の一例である。

40

【0028】

一実施形態では、抗NKG2A剤は、1種または複数種の活性化NKG2レセプターへの結合と比べて有意に高い親和性でNKG2Aに結合する抗体である。例えば、一実施形態では、この薬剤は、NKG2Cへの結合と比べて有意に高い親和性でNKG2Aに結合する抗体である。追加のまたは代替の実施形態では、この薬剤は、NKG2Eへの結合と比べて有意に高い親和性でNKG2Aに結合する抗体である。追加のまたは代替の実施形

50

態では、この薬剤は、NK G 2 Hへの結合と比べて有意に高い親和性でNK G 2 Aに結合する抗体である。

【0029】

一実施形態では、抗NK G 2 A剤は、CD 9 4 / NK G 2 Aへの結合において、それぞれ配列番号4～8および配列番号9の重鎖および軽鎖を有する抗体またはそれぞれ配列番号10および配列番号11の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を有する抗体と競合する。この薬剤は、例えばヒト抗NK G 2 A抗体またはヒト化抗NK G 2 A抗体であることができる。

【0030】

一実施形態では、抗NK G 2 A抗体は、それぞれ配列番号4～8のいずれかの重鎖のいずれかの重鎖CD Rと配列番号9の軽鎖の軽鎖CD Rとを有するヒト化抗体である。一実施形態では、抗NK G 2 A抗体は、それぞれ配列番号4～8のいずれかの重鎖のいずれかの重鎖可変領域と配列番号9の軽鎖の軽鎖可変領域とを有するヒト化抗体である。改善された特性（例えば、より低い免疫原性、改善された抗原結合特性もしくはその他の機能特性等）および/または改善された物理化学的特性（例えばより良好な安定性等）を有するそのようなヒト化抗体の例示的な相補性決定領域（CD R）の残基もしくは配列および/またはフレームワーク領域（FR）中でのアミノ酸置換用の部位が提供される。

【0031】

ある特定の任意選択の態様では、NK G 2 A用のリガンドの、任意選択で更にPD - 1のリガンドの、腫瘍サンプル（例えば腫瘍組織および/または腫瘍隣接組織）中での存在を評価することにより、抗NK G 2 A剤およびPD 1中和剤による処置用に患者を同定することができる。本明細書における治療的使用またはがんの処置方法もしくは予防方法のいずれかの一実施形態では、個体のがんの処置または予防は、

a) がんを有する個体内での悪性細胞のHL A - Eポリペプチド状態を判定すること、および

b) 悪性細胞（例えば腫瘍細胞）により（例えば悪性細胞の表面上で）HL A - Eポリペプチドが顕著に発現されているとの判定時に、ヒトNK G 2 Aポリペプチドの阻害活性を中和する化合物とヒトPD - 1ポリペプチドを阻害する薬剤とを個体に投与することを含む。

【0032】

本明細書における治療的使用またはがんの処置方法もしくは予防方法のいずれかの一実施形態では、個体のがんの処置または予防は、

a) がんを有する個体内での悪性細胞（例えば腫瘍細胞）のHL A - Eポリペプチド状態およびPD - L 1ポリペプチド状態を判定すること、ならびに

b) 悪性細胞の表面上でHL A - EポリペプチドおよびPD - L 1ポリペプチドが顕著に発現されているとの判定時に、ヒトNK G 2 Aポリペプチドの阻害活性を中和する化合物とヒトPD - 1ポリペプチドを阻害する薬剤とを個体に投与することを含む。

【0033】

一実施形態では、生物学的サンプル（例えば、腫瘍細胞、腫瘍組織および/または腫瘍隣接組織を含むサンプル）がHL A - Eの核酸またはポリペプチドを顕著に発現するという判定は、ヒトPD - 1ポリペプチドを阻害する薬剤との組合せで、NK G 2 Aを阻害する薬剤により処置することができるがんを個体が有することを示す。

【0034】

これらの方法のいずれかの一実施形態では、工程(a)におけるHL A - Eポリペプチド状態の判定または発現レベルの判定は、生物学的サンプル中における悪性細胞のHL A - Eの核酸またはポリペプチドの発現レベルを測定すること、およびこのレベルを参照レベル（例えば、値、弱いまたは強い細胞表面染色等）と比較することを含む。この参照レベルは、例えば、健康な個体、（任意選択でヒトPD - 1ポリペプチドを阻害する薬剤との組合せで）抗NK G 2 Aによる処置から導かれる臨床的利益がない/もしくは低い個体

10

20

30

40

50

、または（任意選択でヒトPD-1ポリペプチドを阻害する薬剤との組合せで）抗NKG2A抗体による処置から実質的な臨床的利益が導かれる個体に対応することができる。生物学的サンプルが、増加したレベル（例えば、高い値、強い表面染色、抗NKG2A抗体による処置から臨床的利益が実質的に導かれる個体のレベルに対応するレベル、抗NKG2A抗体による処置から導かれる臨床的利益がない/または低い個体に対応するレベルと比べて高いレベル等）でHLA-Eの核酸またはポリペプチドを発現するという判定は、例えば本明細書で説明する処置方法に従って、ヒトPD-1ポリペプチドを阻害する薬剤との組合せで抗NKG2A抗体により処置することができるがんを個体が有することを示す。

【0035】

一実施形態では、提供されるのは、NKG2A阻害PD-1発現リンパ球（NKG2A-inhibited PD-1-expressing lymphocyte）を同定する方法であって、

a) 生物学的サンプル中におけるNKリンパ球および/またはCD8Tリンパ球のNKG2Aポリペプチド状態およびPD-1ポリペプチド状態を判定することを含み、

b) 相当な割合のリンパ球の表面上でNKG2AポリペプチドおよびPD-1ポリペプチドが発現されているとの判定は、リンパ球がNKG2A阻害PD-1発現リンパ球であることを示す、

方法である。任意選択で、このリンパ球は腫瘍浸潤リンパ球である。任意選択で、この生物学的サンプルは、腫瘍組織および/または腫瘍隣接組織を含むサンプルである。

【0036】

一実施形態では、提供されるのは、抗NKG2A剤による処置が適しているがんを有する個体を同定する方法であって、

a) 個体からの腫瘍浸潤リンパ球のNKG2Aポリペプチド状態およびPD-1ポリペプチド状態を判定することを含み、

b) 個体からの相当な割合の腫瘍浸潤リンパ球の表面上で、任意選択で予め定義されたサブセットのTIL（例えば、CD8T細胞、NK細胞）の表面上で、NKG2AポリペプチドおよびPD-1ポリペプチドが発現されているとの判定は、この個体には、ヒトNKG2Aポリペプチドの阻害活性を中和する化合物とヒトPD-1ポリペプチドを阻害する薬剤とによる処置が適していることを示す、

方法である。

【0037】

一実施形態では、提供されるのは、個体のがんの処置方法または予防方法であって、

a) 個体からの腫瘍浸潤リンパ球のNKG2Aポリペプチド状態およびPD-1ポリペプチド状態を判定すること、ならびに

b) 個体からの相当な割合の腫瘍浸潤リンパ球の表面上で、任意選択で予め定義されたサブセットのTIL（例えば、CD8T細胞、NK細胞）の表面上で、NKG2AポリペプチドおよびPD-1ポリペプチドが発現されているとの判定時に、ヒトNKG2Aポリペプチドの阻害活性を中和する化合物とヒトPD-1ポリペプチドを阻害する薬剤とを含む治療レジメンを個体に施すこと

を含む方法である。

【0038】

一実施形態では、腫瘍浸潤リンパ球はCD8T細胞である。一実施形態では、腫瘍浸潤リンパ球はNK細胞である。一実施形態では、CD8T細胞の少なくとも10%、15%、20%、25%がNKG2A⁺PD⁺である。一実施形態では、CD8T細胞の少なくとも10%、15%、20%または25%がNKG2A⁺PD-1⁺である。一実施形態では、NK細胞の少なくとも20%、25%、30%または35%がNKG2A⁺PD-1⁺である。

【0039】

その他の実施形態では、医薬組成物およびキットが提供され、これらを使用する方法も

10

20

30

40

50

提供される。一実施形態では、提供されるのは、ヒトNKG2Aポリペプチドの阻害活性を中和する化合物とヒトPD-1ポリペプチドを阻害する薬剤とを含む医薬組成物である。一実施形態では、提供されるのは、ヒトNKG2Aポリペプチドの阻害活性を中和する化合物とヒトPD-1ポリペプチドを阻害する薬剤とを含むキットである。

【0040】

これらの態様を、本明細書で提供する本発明の説明においてより完全に説明し、追加の態様、特徴および利点は、本明細書で提供する本発明の説明から明らかであるだろう。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1-1B】PD-L1+ Qa-1+ RMA-S Qa-1 Qdm B2m腫瘍細胞およびA20腫瘍細胞は、NKG2Aを発現するNK細胞ならびにNKG2Aおよび/またはPD-1を発現するCD8Tに浸潤されることを示すグラフである。RMA-S Qa-1 Qdm B2m腫瘍担持マウス(上側の列)およびA20腫瘍担持マウス(下側の列)を、腫瘍体積が約500mm³である場合に屠殺した。腫瘍細胞(図1A)および腫瘍浸潤リンパ球-TIL-(図1B)を、腫瘍細胞の場合にはQa-1およびPD-L1の発現に関してならびにTILの場合にはNKG2A/C/EおよびPD-1の発現に関して、それぞれフローサイトメトリーにより分析した。MFI: 蛍光強度の中央値

10

【図2】マウス中におけるNK細胞およびT細胞のサブセット上でのNKG2AおよびPD-1の分布を示すグラフである。脾臓から、腫瘍所属リンパ節(tumor draining lymph node)から、および固形腫瘍内からリンパ球を採取した。PD-1発現は、脾臓およびリンパ節からの全ての細胞サブセットで低頻度であったが、またはなかったが、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)では、全ての細胞サブセットは、PD-1を発現する細胞を比較的高い割合で有した。その一方で、脾臓およびリンパ節では、NKG2AがNK細胞上で見出されたがT細胞サブセット上では見出されず、更に腫瘍では有意な割合のTIL上で見出され、平均してNK細胞の30%超およびCD8T細胞の19%超がNKG2AおよびPD-1に関して二重陽性であった。

20

【図3A-3B】腫瘍担持マウス中におけるNKG2AおよびPD-1の発現を示すグラフである。RMA Ra e1腫瘍担持マウス(上側の列)、MC38腫瘍保持マウス(中央の列)およびRMA腫瘍保持マウス(下側の列)を、これらの腫瘍がそれぞれ500、2000および800mm³の体積に達した場合に屠殺した。NK細胞(図3A)およびCD8T細胞(図3B)を、NKG2A/C/EおよびPD-1の発現に関して、脾臓中での、腫瘍所属リンパ節(LN)中でのおよび腫瘍中でのフローサイトメトリーにより分析した。

30

【図4】抗PD-1mAbによるマウスの処置により、MC38腫瘍中においてNKG2A発現CD8T細胞の頻度が増加することを示すグラフである。MC38腫瘍担持マウスを、細胞生着から11日後、14日後および17日後に、200μgのラットIgG2aアイソタイプコントロール(IC)または抗マウスPD-1抗体のいずれかで処置した。31日目にマウスを屠殺し、脾臓中での、腫瘍所属リンパ節(LN)中でのおよび腫瘍中でのフローサイトメトリーによりCD8T細胞をキャラクタライズした。

40

【図5】11日目、14日目および18日目に、アイソタイプコントロール、抗マウスNKG2AmAb(200μg、iv)、抗マウスPD-L1mAb(200μg、ip)または抗mNKG2A/mPD-L1組合せで処置したマウスにおける、腫瘍体積の中央値を経時的に示すグラフである。このモデルにおいて、抗NKG2Aではアイソタイプコントロールと比較して控えめな抗腫瘍効果のみが得られ、抗PD-L1では相当な抗腫瘍効果が得られたが、腫瘍体積は28日頃に増加し、抗NKG2Aおよび抗PD-L1の組合せ処置では腫瘍増殖が完全に消失し、28日目に観測した腫瘍体積において有意な増加はなかった。

【発明を実施するための形態】

【0042】

50

定義

本明細書で使用する場合、「a」または「an」は1または複数を意味することができる。特許請求の範囲で使用する場合、単語「含む」と共に使用する際には単語「a」または「an」は1以上を意味することができる。本明細書で使用する場合、「別の」は少なくとも2番目またはより以降を意味することができる。

【0043】

「含む」を使用する場合、この「含む」を「から本質的になる」または「からなる」で任意選択的に置き換えることができる。

【0044】

NKG2A (OMIM161555、この開示全体が参照により本明細書に援用される)は、NKG2群の転写産物のメンバーである(Houchins, et al. (1991) J. Exp. Med. 173: 1017-1020)。NKG2Aは、25kbに及ぶ7個のエクソンによりコードされており、いくつかの異なるスプライシングを示す。CD94と一緒に、NKG2Aはヘテロ二量体阻害レセプターCD94/NKG2Aを形成し、このCD94/NKG2Aは、NK細胞、 γ T細胞、 δ T細胞およびNKT細胞のサブセットの表面上で見出される。阻害KIRレセプターと同様に、NKG2Aは、この細胞質ドメインにおいてITIMを持つ。本明細書で使用する場合、「NKG2A」は、NKG2A遺伝子またはコードされたタンパク質のあらゆる多様体、誘導体またはアイソフォームを意味する。ヒトNKG2Aは、下記の3個のドメイン中に233個のアミノ酸を含む：下記の配列の残基1~70を含む細胞質ドメイン、下記の配列の残基71~93を含む膜貫通領域、下記の配列の残基94~233を含む細胞外領域：

【化1】

MDNQGVIYSDLNLPNPKRQQRKPKGNKSSILATEQEITYAELNLQKASQDFQGN-
KTYHCKDLPSAPEKLIVGILGIIICLILMASVVTIVVIPSTLIQRHNNSSLNTRTQKARHCGHCP
EEWITYSNSCYIYGKERRTWEESLLACTSKNSSLLSIDNEEEMKFLSIISPSSWIGVFRNSS
HHPWVTMNGLAFKHEIKDSDNAELNCAVLQVNRLKSAQCGSSIIYHCKHKL (配列番号1)

【0045】

NKG2C (OMIM602891、この開示全体が参照により本明細書に援用される)およびNKG2E (OMIM602892、この開示全体が参照により本明細書に援用される)は、NKG2群の転写産物のその他の2種のメンバーである(Gilenske, et al. (1998) Immunogenetics 48: 163-173)。CD94/NKG2CレセプターおよびCD94/NKG2Eレセプターは、NK細胞およびT細胞等のリンパ球のサブセットの表面上で見出される活性型レセプターである。

【0046】

HLA-E (OMIM143010、この開示全体が参照により本明細書に援用される)は、細胞表面上で発現されるおよびペプチド(例えばその他のMHCクラスI分子のシグナル配列に由来する断片等)の結合により制御される非古典的なMHC分子である。HLA-Eの可溶性バージョンも同定されている。HLA-EのT細胞レセプター結合特性に加えて、HLA-Eは、CD94/NKG2A、CD94/NKG2BおよびCD94/NKG2Cへの特異的な結合により、ナチュラルキラー(NK)細胞、ナチュラルキラーT細胞(NKT)ならびにT細胞(γ および δ)のサブセットに結合する(例えばBraud et al. (1998) Nature 391: 795-799を参照されたい。この開示全体が参照により本明細書に援用される)。HLE-Aの表面発現により、標的細胞は、CD94/NKG2A+のNK細胞クローン、T細胞クローンまたはNKT細胞クローンによる溶解から保護される。本明細書で使用する場合、「HLA-E」は、HLA-E遺伝子またはコードされたタンパク質のあらゆる多様体、誘導体またはアイソフォームを意味する。

【0047】

10

20

30

40

50

本発明の文脈では、「NK G 2 A」または「CD 9 4 / NK G 2 A 陽性リンパ球」は、細胞表面上で CD 9 4 / NK G 2 A を発現するリンパ系の細胞（例えば NK 細胞、NK T 細胞および T 細胞）を意味しており、この細胞を、例えば、CD 9 4 上および NK G 2 A 上の複合エピトープまたは NK G 2 A 上のエピトープのみを特異的に認識する抗体を使用するフローサイトメトリーにより検出することができる。「NK G 2 A 陽性リンパ球」はまたは、リンパ起源の不死化細胞株（例えば NK L、NK - 9 2）も含む。

【 0 0 4 8 】

本発明の文脈において、「NK G 2 A の阻害活性を低下させる」、「NK G 2 A を中和する」または「NK G 2 A の阻害活性を中和する」は、サイトカイン放出および細胞傷害応答等のリンパ球応答が引き起こされる細胞内プロセスに悪影響を及ぼす CD 9 4 / NK G 2 A の能力が阻害されるプロセスを意味する。このことを、例えば NK 細胞または T 細胞をベースとする細胞傷害アッセイで測定することができ、この細胞傷害アッセイでは、CD 9 4 / NK G 2 A 陽性リンパ球による H L A - E 陽性細胞の死滅を刺激する治療用化合物の能力が測定される。一実施形態では、抗体調製物により、CD 9 4 / NK G 2 A 制限リンパ球 (CD 9 4 / NK G 2 A - r e s t r i c t e d l y m p h o c y t e) の細胞傷害性が少なくとも 1 0 % 増大し、任意選択でリンパ球の細胞傷害性が少なくとも 4 0 % または 5 0 % 増大し、任意選択で NK 細胞傷害性が少なくとも 7 0 % 増大し、説明する細胞傷害アッセイを参照する。抗 NK G 2 A 抗体が CD 9 4 / NK G 2 A の H L A - E との相互作用を低下させるまたは遮断する場合、CD 9 4 / NK G 2 A 制限リンパ球の細胞障害性を増加させることができる。このことを、例えば CD 9 4 / NK G 2 A を発現する NK 細胞と H L A - E を発現する標的細胞とを使用する標準的な 4 時間 *i n v i t r o* 細胞傷害アッセイで評価することができる。そのような NK 細胞による H L A - E 発現標的の死滅は効率的ではない。なぜならば、CD 9 4 / NK G 2 A が H L A - E を認識し、リンパ球により媒介される細胞溶解を防止する阻害シグナル伝達を開始されて伝播されるからである。そのような *i n v i t r o* 細胞傷害アッセイを、例えば Coligan et al., eds., Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N. Y., (1992, 1993) に記載されているように当分野で公知である標準的な方法により実行することができる。また、リンパ球を刺激して P 8 1 5 細胞、K 5 6 2 細胞等の標的細胞または適切な腫瘍細胞を死滅させる抗体の能力を評価するためのクロム放出および/またはその他のパラメータが、Sivori et al., J. Exp. Med. 1997; 186: 1129 - 1136、Vitale et al., J. Exp. Med. 1998; 187: 2065 - 2072、Pesino et al. J. Exp. Med. 1998; 188: 953 - 960、Neri et al. Clin. Diag. Lab. Immun. 2001; 8: 1131 - 1135、Pende et al. J. Exp. Med. 1999; 190: 1505 - 1516 で開示されており、これらの開示全体がそれぞれ参照により本明細書に援用される。NK 細胞の添加前に標的細胞を ^{51}Cr で標識し、次いで、死滅の結果としてのこの細胞から培地への ^{51}Cr の放出に比例して死滅を推定する。CD 9 4 / NK G 2 A が H L A - E に結合するのを防止する抗体の添加により、CD 9 4 / NK G 2 A による阻害シグナル伝達を開始および伝播が防止される。従って、そのような薬剤の添加により、リンパ球により媒介される標的細胞の死滅が増加する。その結果、この工程により、例えばリガンド結合を遮断することで CD 9 4 / NK G 2 A 誘発性の負のシグナル伝達を防止する薬剤が同定される。特定の ^{51}Cr 放出細胞傷害アッセイでは、CD 9 4 / NK G 2 A 発現 NK エフェクター細胞は H L A - E 陰性 L C L 7 2 1 . 2 2 1 標的細胞を死滅させることができるが、H L A - E 発現 L C L 7 2 1 . 2 2 1 - C w 3 コントロール細胞をあまり死滅させることができない。対照的に、CD 9 4 / NK G 2 A を欠失している Y T S エフェクター細胞は両方の細胞株を効率的に死滅させる。そのため、NK エフェクター細胞による H L A - E + L C L 7 2 1 . 2 2 1 - C w 3 細胞の死滅は、CD 9 4 / NK G 2 A による H L A - E 誘発性阻害シグナル伝達に起因してあまり効率的ではない。そのよう

10

20

30

40

50

な⁵¹Cr放出細胞傷害アッセイにおいて、NK細胞を、本発明に係る抗CD94/NKG2A抗体を遮断しつつプレインキュベートする場合、HLA-E発現LCL721.221-Cw3細胞は、抗体濃度依存的様式でより効率的に死滅される。抗NKG2A抗体の阻害活性（即ち細胞傷害性を高める能力）を、多くのその他の方法のいずれかで評価することもでき、例えば、例えばSivori et al., J. Exp. Med. 1997; 186: 1129-1136（この開示は参照により本明細書に援用される）で説明されているような細胞内遊離カルシウムへの効果により評価することもできる。NK細胞の細胞傷害性の活性化を、例えばサイトカイン産生（例えばIFN- γ 産生）または細胞傷害性マーカー（例えばCD107またはCD137の動員）の増加を測定することにより評価することができる。例示的なプロトコルでは、PBMCからのIFN- γ 産生を、培養下での4日後に細胞表面および細胞質内の染色により評価してフローサイトメトリーにより分析する。簡潔に言うと、培養の最後の4時間にわたり5 μ g/mlの最終濃度でBrefeldin A (Sigma Aldrich)を添加する。次いで、透過処理 (IntraPrep (商標)、Beckman Coulter) およびPE抗IFN- γ またはPE-IgG1 (Pharmingen) による染色の前に、細胞を抗CD3および抗CD56mAbと共にインキュベートする。ELISA (GM-CSF: DuoSet Elisa, R&D Systems, Minneapolis, MN、IFN- γ : OptEIAセット、Pharmingen) を使用して、上清中におけるポリクローナル活性化NK細胞からのGM-CSFおよびIFN- γ の産生を測定する。

10

【0049】

20

本明細書で使用する場合、用語「PD-1」は、CD28ファミリーのレセプターの阻害メンバーであるタンパク質プログラム死1 (protein Programmed Death 1) (PD-1) («プログラム細胞死1」とも称される) を意味しており、このCD28ファミリーには、CD28、CTLA-4、ICOSおよびBTLAも含まれる。完全ヒトPD-1配列をGenBank受託番号U64863で見出すことができ、下記に示す：

【化2】

```

MQIPQAPWPFVWAVLQLGWRPGWFLDSEDRFWNPPPTFFPALLVVTEGD-
NATFTCSFSNTSESEFVLNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCFRFRVTQLPNGRD-
FHMSVVRARRNDSTYLCGAI SLAPKAQIKESLRaelRVTERRAEVPTAHP-
SPSPRPAGQFQTLVVGVVGGLLGLSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAV-
PVFSVDYGELDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSPGMGTSSPARRG-
SADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (配列番号2)

```

30

【0050】

「PD-1」はまた、PD-1遺伝子またはコードされたタンパク質のあらゆる多様体、誘導体またはアイソフォームも含む。PD-1は、活性化されたB細胞上で、T細胞上でおよび骨髄細胞上で発現されるOkazaki et al. (2002) Curr. Opin. Immunol. 14: 391779-82、Bennett et al. (2003) J. Immunol. 170: 711-8)。このファミリーの最初のメンバーであるCD28およびICOSは、モノクローナル抗体の添加後のT細胞増殖の増大への機能的効果により発見された (Hutloff et al. (1999) Nature 397: 263-266、Hansen et al. (1980) Immunogenetics 10: 247-260)。PD-1に対する2種のリガンドPD-L1およびPD-L2が同定されており、これらのリガンドはPD-1への結合時にT細胞活性化を下方制御することが分かっている (Freeman et al. (2000) J. Exp. Med. 192: 1027-34、Latchman et al. (2001) Nat. Immunol. 2: 261-8、Carter et al. (2002) Eur. J. Immunol. 32: 634-43)。PD-L1およびPD-L2は両方とも、PD-1に結合するがその他のCD28ファミリーメンバーには結合しないB7相同

40

50

体である。

【0051】

完全ヒトPD-L1配列をUniProtKB/Swiss-Prot識別子Q9NZQ7-1で見出すことができ、下記に示す：

【化3】

MRIFAVFIFM TYWHLNAFT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL
 AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAAALQ
 ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPVTSE
 HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTTLRIN
 TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVPIPELP LAHPPNERTH LVILGAILLC
 LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET (配列番号3)

10

【0052】

PD-L1は様々なヒトがんで豊富に存在している(Dong et al. (2002) Nat. Med. 8:787-9)。PD-1とPD-L1との相互作用により、腫瘍浸潤リンパ球が減少し、T細胞レセプターにより媒介される増殖が低下し、がん性細胞による免疫回避が起こる(Dong et al. (2003) J. Mol. Med. 81:281-7、Blank et al. (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314、Konishi et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100)。PD-1とPD-L1との局所的な相互作用を阻害することにより免疫抑制を元に戻すことができ、この効果は、PD-1とPD-L2との相互作用が同様に遮断される際にも付加される。

20

【0053】

本発明の文脈において、「ヒトPD-1の阻害活性を低下させる」、「PD-1を中和する」または「ヒトPD-1の阻害活性を中和する」は、PD-1と、このPD-1の結合パートナー(例えばPD-L1またはPD-L2)の内の1種または複数種との相互作用により生じるPD-1のシグナル伝達能力が阻害されるプロセスを意味する。PD-1の阻害活性を中和する薬剤は、PD-1と、このPD-1の結合パートナー(例えばPD-L1、PD-L2)の内の1種または複数種との相互作用により生じるシグナル伝達を低減する、遮断する、阻害する、抑止する、または妨げる。その結果、そのような薬剤は、Tリンパ球上で発現される細胞表面タンパク質により媒介される負の共刺激シグナルまたはこの細胞表面タンパク質を介した負の共刺激シグナルを低減することができ、その結果、増殖、サイトカイン産生および/または細胞傷害性等のT細胞エフェクター機能が増強される。

30

【0054】

本明細書全体において、「がんの処置」等が抗NKG2Aと抗PD-1結合剤または抗PD-L1結合剤(例えば抗体)とに関して述べられている場合は常に、(a)がんの処置方法であって、がんの処置を可能とする用量(治療上有効な量)で、任意選択で本明細書において指定する用量(量)で、そのような処置を必要とする個体、哺乳動物、特にヒトに、(例えば薬学的に許容される担体材料と一緒にまたは別々に)NKG2Aと抗PD-1結合剤もしくは抗PD-L1結合剤とを(少なくとも1回の処置のために)投与する工程を含む方法；(b)がんの処置のための抗NKG2Aと抗PD-1結合剤もしくは抗PD-L1結合剤との使用、または(特にヒトにおいて)前記処置で使用するための抗NKG2A結合剤、(c)がんの処置用の医薬調製物を製造するための抗NKG2Aと抗PD-1結合剤もしくは抗PD-L1結合剤との使用、がんの処置用の医薬調製物を製造するために抗NKG2Aと抗PD-1結合剤もしくは抗PD-L1結合剤とを使用する方法であって、抗NKG2Aおよび抗PD-1結合剤もしくは抗PD-L1結合剤と薬学的に許容される担体とを混合することを含む方法、またはがんの処置に適切な抗NKG2Aと抗PD-1結合剤もしくは抗PD-L1結合剤との有効用量を含む医薬調製物；または(

40

50

d) 本出願が出願される国での特許が許容される主題に従う a)、b) および c) の任意の組合せが含まれる。

【0055】

用語「生検」は、本明細書で使用する場合、診断を確立するため等の検査を目的とする組織の摘出として定義される。生検の種類例として、シリンジに取り付けられた針による等の吸引の適用によるもの、機器による組織断片の摘出によるもの、内視鏡を介した適切な機器による摘出によるもの、例えば病変全体外科的切除によるもの等が挙げられる。

【0056】

用語「抗体」は、本明細書で使用する場合、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を意味する。重鎖中の定常ドメインの種類に応じて、抗体は下記の5種の主なクラスの内1種に割り当てられる：IgA、IgD、IgE、IgGおよびIgM。これらの内のいくつかは、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4等のサブクラスまたはアイソタイプに更に分類される。例示的な免疫グロブリン(抗体)構造単位は四量体を含む。各四量体は2つの同一対のポリペプチド鎖で構成され、各対は、1本の「軽」鎖(約25kDa)および1本の「重」鎖(約50~70kDa)を有する。各鎖のN末端は、抗原認識に主に関与する約100~110個またはより多くのアミノ酸の可変領域を画定する。用語可変軽鎖(V_L)および可変重鎖(V_H)はそれぞれ、これらの軽鎖および重鎖を意味する。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常ドメインはそれぞれ、「アルファ」、「デルタ」、「イプシロン」、「ガンマ」および「ミュー」と称される。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および3次元立体配置が公知である。IgGは、本明細書で用いる抗体の例示的なクラスである。なぜならば、IgGは、生理学的状況下で最も一般的な抗体であり、研究室の環境下で最も容易に作製されるからである。任意選択で、抗体はモノクローナル抗体である。抗体の特定の例は、ヒト化されている、キメラである、ヒトである、またはヒトに適した抗体である。「抗体」はまたは、本明細書で説明する抗体のいずれかのあらゆる断片または誘導体を含む。

【0057】

用語「特異的に結合する」は、タンパク質の組み換え形態、このタンパク質中のエピトープ、または単離標的細胞の表面上に存在する天然タンパク質のいずれかを使用して評価する場合、抗体が好ましくは競合結合アッセイにおいて結合パートナー(例えばNKG2A、PD-1、PD-L1)に結合することができることを意味する。競合結合アッセイおよび特異的な結合を判定するためのその他の方法は当分野で公知である。例えば、放射能標識により、質量分析等の物理的方法により、または例えば細胞蛍光測定分析(例えばFACSscan)を使用して検出される直接蛍光標識もしくは間接蛍光標識により、結合を検出することができる。非特異的薬剤であるコントロールで見られる量を超える結合は、薬剤が標的に結合することを示す。NKG2Aに特異的に結合する薬剤は、NKG2AのみにまたはCD94との二量体としてのNKG2Aに結合することができる。

【0058】

抗体が特定のモノクローナル抗体と「競合する」と言う場合、このことは、組み換え分子(例えばNKG2A、PD-1、PD-L1)または表面で発現される分子(例えばNKG2A、PD-1、PD-L1)のいずれかを使用する結合アッセイにおいて、抗体がモノクローナル抗体と競合することを意味する。例えば、試験抗体が、結合アッセイにおいて配列番号4~8のいずれかの重鎖と配列番号9の軽鎖とを有する抗体のNKG2AポリペプチドまたはNKG2A発現細胞への結合を低下させる場合、この抗体は、そのような抗体とそれぞれ「競合する」と言う。

【0059】

用語「親和性」は、本明細書で使用する場合、エピトープへの抗体の結合の強さを意味する。抗体の親和性は、 $[Ab] \times [Ag] / [Ab-Ag]$ として定義される解離定数K_dにより得られ、 $[Ab-Ag]$ は抗体-抗原複合体のモル濃度であり、 $[Ab]$ は非結合抗体のモル濃度であり、 $[Ag]$ は非結合抗原のモル濃度である。親和性定数K_aは1/K_dで定義される。mAbの親和性を判定する方法を、Harlow, et al.

10

20

30

40

50

, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988)、Coligan et al., eds., *Current Protocols in Immunology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993) および Muller, *Meth. Enzymol.* 92: 589-601 (1983) 中に見出すことができ、これらの参考文献はその全体が参照により本明細書に援用される。mAbの親和性を判定するための当分野で公知の標準的な方法は、(例えば、BIAcore (商標) SPR分析デバイスでの分析による) 表面プラズモン共鳴 (SPR) スクリーニングの使用である。

10

【0060】

本明細書の文脈中において、「決定基」はポリペプチド上の相互作用部位または結合部位を示す。

【0061】

用語「エピトープ」は抗原決定基を意味しており、抗体が結合する抗原上のエリアまたは領域のことである。タンパク質エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基と、特異的な抗原結合抗体または抗原結合ペプチドにより効率的に遮断されるアミノ酸残基(即ち、抗体の「フットプリント」内のアミノ酸残基)とを含むことができる。タンパク質エピトープは、例えば抗体またはレセプターと結合することができる複雑な抗原分子上の最も単純な形のまたは最小の構造エリアである。エピトープは、直線状または立体構造的/構造的であることができる。用語「直線状エピトープ」は、アミノ酸の直線状配列(一次構造)上で連続するアミノ酸残基で構成されているエピトープと定義される。用語「立体構造的エピトープまたは構造的エピトープ」は、全てが連続しているわけではなく、そのため分子のフォールディング(二次構造、三次構造および/または四次構造)により互いに近接するようになるアミノ酸の直線状配列の分離した部分を表すアミノ酸残基で構成されているエピトープと定義される。立体構造的エピトープは3次元構造に依存する。従って、用語「立体構造的」は「構造的」と互換的に使用されることが多い。

20

【0062】

本明細書では、用語「薬剤」を、化学化合物、化学化合物の混合物、生体高分子、または生体物質から作られた抽出物を示すために使用する。用語「治療剤」は、生物学的活性を有する薬剤を意味する。

30

【0063】

本明細書での目的のために、「ヒト化」抗体または「ヒト」抗体は、1種または複数種のヒト免疫グロブリンの定常フレームワークおよび可変フレームワークが動物免疫グロブリンの結合領域(例えばCDR)と融合している抗体を意味する。そのような抗体は、結合領域が由来する非ヒト抗体の結合特異性を維持するが非ヒト抗体に対する免疫応答を回避するように設計されている。そのような抗体を、抗原負荷に反応して特異的なヒト抗体を産生するように「設計されている」トランスジェニックマウスまたはその他の動物から得ることができる(例えばGreen et al. (1994) *Nature Genet* 7: 13、Lonberg et al. (1994) *Nature* 368: 856、Taylor et al. (1994) *Int Immun* 6: 579を参照されたい。これらの教示全体が参照により本明細書に援用される)。完全ヒト抗体を、遺伝子または染色体のトランスフェクション法およびファージディスプレイ技術により構築することもでき、これらは全て当分野で既知である(例えばMcCafferty et al. (1990) *Nature* 348: 552-553を参照されたい)。ヒト抗体を、*in vitro*で活性化されたB細胞により生成することもできる(例えば米国特許第5,567,610号明細書および米国特許第5,229,275号明細書を参照されたい。これらの全体が参照により援用される)。

40

【0064】

「キメラ抗体」は、(a) 定常領域もしくはその一部が改変され、置換され、もしくは

50

交換され、その結果、抗原結合部位（可変領域）が、異なるもしくは改変されたクラスの定常領域、エフェクター機能および/もしくは種に連結されている、またはキメラ抗体に新たな特性を付与する完全に異なる分子、例えば酵素、毒素、ホルモン、増殖因子、薬等に連結されている、または（b）可変領域もしくはその一部が、異なるもしくは改変された抗原特異性を有する可変領域により改変されている、置換されている、もしくは交換されている、抗体分子である。

【0065】

用語「Fcドメイン」、「Fc部分」および「Fc領域」は抗体重鎖のC末端断片を意味しており、例えば、ヒト（ガンマ）重鎖の約アミノ酸（aa）230～約aa450もしくはその他の種類の抗体重鎖（例えば、ヒト抗体の場合、 γ および μ ）中における前記約アミノ酸（aa）230～約aa450に対応する配列またはこれらの天然に存在するアロタイプからのC末端断片を意味する。別途指定しない限り、本開示全体を通して、免疫グロブリンに関して一般に認められるKabataアミノ酸ナンバリングを使用する（Kabata et al. (1991) Sequences of Protein of Immunological Interest, 5th ed., United States Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MDを参照されたい）。

10

【0066】

用語「単離された」、「精製された」または「生物学的に純粋な」は、その天然な状態で見られるように通常付随する構成成分を実質的にまたは本質的に含まない物質を意味する。純度および均一性は概して、ポリアクリルアミドゲル電気泳動または高速液体クロマトグラフィー等の分析化学技術を使用して測定される。調製物中に存在する主な種であるタンパク質は、実質的に精製されている。

20

【0067】

本明細書において、用語「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」を、アミノ酸残基のポリマーを意味するように互換的に使用する。これらの用語を、1個または複数個のアミノ酸残基が、対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学的模倣物であるアミノ酸ポリマー、ならびに天然に存在するアミノ酸ポリマーおよび天然には存在しないアミノ酸ポリマーに適用する。

30

【0068】

用語「組み換え」は、例えば細胞、核酸、タンパク質またはベクターに関して使用する場合、細胞、核酸、タンパク質またはベクターが異種の核酸もしくはタンパク質の導入または天然の核酸もしくはタンパク質の変更により改変されていること、または細胞がそのように改変されている細胞に由来することを示す。そのため、例えば、組み換え細胞は、天然（非組み換え）形態の細胞内では見られない遺伝子を発現する、または異常に発現される、不十分に発現されるもしくは全く発現されない天然遺伝子を発現する。

【0069】

本明細書の文脈中において、用語ポリペプチドまたはエピトープに「結合する」抗体は、特異性および/または親和性で前記決定基に結合する抗体を示す。

40

【0070】

用語「同一性」または「同一の」は、2種以上のポリペプチドの配列間の関係で使用する場合、2種以上のアミノ酸残基の列の間のマッチの数により決定されるように、ポリペプチド間の配列関連性の程度を意味する。「同一性」は、特定の数理モデルまたはコンピュータプログラム（即ち「アルゴリズム」）により処理されるギャップアラインメント（ある場合）を有する2種以上の配列のより小さい方の間の同一マッチの割合を示す。関連するポリペプチドの同一性を、既知の方法により容易に算出することができる。そのような方法として、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988、Biocomputing: Informatics and

50

Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993、Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994、Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987、Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York, 1991およびCarillo et al., SIAM J. Applied Math. 48, 1073 (1988)に記載されているものが挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0071】

同一性を測定する方法は、試験する配列の間に最大のマッチをもたらすように設計されている。同一性を測定する方法は、公的に入手可能なコンピュータプログラムに記載されている。2種の配列間の同一性を測定するためのコンピュータプログラム法として、GAP (Devereux et al., Nucl. Acid. Res. 12, 387 (1984); Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.)等のGCGプログラムパッケージ、BLASTP、BLASTNおよびFASTA (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215, 403-410 (1990))が挙げられる。BLASTXプログラムは、National Center for Biotechnology Information (NCBI)およびその他の供給源 (BLAST Manual, Altschul et al. NCB/NLM/NIH Bethesda, Md. 20894, Altschul et al., 上記参照)から公的に入手可能である。公知のSmith Watermanアルゴリズムを、同一性を測定するために使用することもできる。

20

【0072】

NKG2A中和治療剤

抗NKG2A薬剤はヒトCD94/NKG2Aレセプターの細胞外部分に結合し、CD94/NKG2A陽性リンパ球の表面上で発現されたヒトCD94/NKG2Aレセプターの阻害活性を低下させる。一実施形態では、この薬剤は、CD94/NKG2Aへの結合においてHLA-Eと競合する。即ち、この薬剤は、CD94/NKG2AとこのCD94/NKG2AのリガンドHLA-Eとの相互作用を遮断する。別の実施形態では、この薬剤は、CD94/NKG2Aへの結合においてHLA-Eと競合しない。即ち、この薬剤は、HLA-Eと同時にCD94/NKG2Aに結合することができる。この抗体は、CD94上およびNKG2A上の複合エピトープまたはならびにNKG2A上のエピトープのみに結合することができる。

30

【0073】

一態様では、この抗NKG2A薬剤は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体およびキメラ抗体から選択される抗体である。一態様では、この薬剤は、ヒトIgG1抗体、ヒトIgG2抗体、ヒトIgG3抗体またはヒトIgG4抗体に由来する定常ドメインを含む。一態様では、この薬剤は、IgA抗体、IgD抗体、IgG抗体、IgE抗体およびIgM抗体から選択される抗体の断片である。一態様では、この薬剤は、Fab断片、Fab'断片、Fab'-SH断片、F(ab)2断片、F(ab')2断片、Fv断片、重鎖Ig(ラマまたはラクダのIg)、V_HH断片、単ドメインFvおよび単鎖抗体断片から選択される抗体断片である。一態様では、この薬剤は、scFv、dsFv、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、カップボディ、IgNARおよび多重特異性抗体から選択される合成のまたは半合成の抗体由来分子である。

40

【0074】

任意選択で、この抗NKG2A抗体は、Fcレセプター(例えばCD16)への実質

50

的な特異的結合を示さない。そのような抗体は、Fcレセプターに結合しないことが分かっている様々な重鎖の定常領域を含むことができる。そのような一例は、ヒトIgG4定常領域である。一実施形態では、IgG4抗体は、*in vivo*での半抗体の形成(fabアーム交換)を防止するような改変を含み、例えば、この抗体は、EUインデックスに従う228位に対応する残基241でのセリンからプロリンへの変異を含むIgG4重鎖を含む(Kabat et al., "Sequences of proteins of immunological interest", 5th ed., NIH, Bethesda, MD, 1991)。そのような改変IgG4抗体は、結合親和性を変更させる可能性がある一価様式でNKG2Aに結合するような*in vivo*でのfabアーム交換を受けるであろう天然IgG4とは対照的に、*in vivo*で原形を維持してNKG2Aへの二価(高親和性)結合を維持することができる。あるいは、Fab断片またはF(ab')₂断片等の定常領域を含まない抗体断片を使用して、Fcレセプター結合を回避することができる。Fcレセプター結合を当分野で既知の方法に従って評価することができる。この方法として、例えば、BIACOREアッセイにおいてFcレセプタータンパク質への抗体の結合を試験することが挙げられる。また、Fcレセプターへの結合が最小化されるようにまたは除去されるようにFc部分が改変されている、あらゆるヒト抗体タイプ(例えばIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4)を使用することができる(例えば国際公開第03101485号パンフレットを参照されたい。この開示は参照により本明細書に援用される)。Fcレセプター結合を評価するためのアッセイ(例えば細胞ベースのアッセイ)は当分野で公知であり、例えば国際公開第03101485号パンフレットで説明されている。

10

20

【0075】

そのため、本発明は、NKG2Aに結合する抗体またはその他の薬剤に関する。一態様では、この抗体は、ヒトNKG2Cおよび/またはNKG2Eへの結合と比べて少なくとも100倍低いKDでNKG2Aに結合する。

【0076】

本発明の一態様では、この薬剤は、例えば、NKG2AによるHLA-Eの結合を妨げることにより、CD94/NKG2Aレセプターでの立体構造変化を防止するもしくは誘発することにより、ならびに/またはCD94/NKG2Aレセプターの二量体化および/もしくはクラスター化に影響を及ぼすことにより、CD94/NKG2Aシグナル伝達を妨げること、CD94/NKG2A発現リンパ球のCD94/NKG2A媒介性阻害を低下させる。

30

【0077】

本発明の一態様では、この薬剤は、NKG2Cへの結合と比べて少なくとも100倍低いKDでNKG2Aの細胞外部分に結合する。更に好ましい態様では、この薬剤は、NKG2Cへの結合と比べて少なくとも150、200、300、400または10,000倍低いKDでNKG2Aの細胞外部分に結合する。本発明の別の態様では、この薬剤は、NKG2C、NKG2Eおよび/またはNKG2H分子への結合と比べて少なくとも100倍低いKDでNKG2Aの細胞外部分に結合する。更に好ましい態様では、この薬剤は、NKG2C、NKG2Cおよび/またはNKG2H分子への結合と比べて少なくとも150、200、300、400または10,000倍低いKDでNKG2Aの細胞外部分に結合する。このことを例えばBiacore実験で測定することができ、このBiacore実験では、固定されたCD94/NKG2A(例えば、CD94/NKG2発現細胞から精製されている、または生体系で産生されている)の細胞外部分に結合する薬剤の能力を測定し、同じアッセイにおける、同様に産生されたCD94/NKG2Cおよび/またはその他のCD94/NKG2多様体への薬剤の結合と比較する。あるいは、CD94/NKG2Aを普通に発現するまたは(例えば一過性のもしくは安定した遺伝子導入の後に)過剰に発現する細胞への薬剤の結合を測定し、CD94/NKG2Cおよび/またはその他のCD94/NKG2多様体を発現する細胞への結合と比較することができる。抗NKG2A抗体は任意選択でNKG2Bに結合することができ、このNKG2Bは、C

40

50

D94と一緒に阻害レセプターを形成するNKG2Aスプライス多様体である。一実施形態では、米国特許第8,206,709号明細書で開示されている方法を使用して親和性を測定することができ、例えば米国特許第8,206,709号明細書の実施例8に示されているBiacoreにより、共有結合により固定されたNKG2A-CD94-Fc融合部分への結合を評価することで親和性を測定することができ、この明細書の開示は参照により本明細書に援用される。

【0078】

この抗NKG2A抗体はヒト化抗体であることができ、例えば、例えばVH1__18、VH5__a、VH5__51、VH1__fおよびVH1__46およびJH6 Jセグメントから選択されるヒトアクセプター配列からのVHヒトアクセプターフレームワークまたは当分野で既知のその他のヒト生殖系列VHフレームワーク配列を含むヒト化抗体であることができる。VL領域ヒトアクセプター配列は例えばVKI__O2/JK4であることができる。

10

【0079】

一実施形態では、この抗体は、抗体Z270をベースとするヒト化抗体である。様々なヒト化Z270VH鎖を配列番号4~8(可変領域ドメインアミノ酸に下線を引いてある)に示す。HumZ270VH6(配列番号4)はVH5__51をベースとしており、HumZ270VH1(配列番号5)はVH1__18をベースとしており、humZ270VH5(配列番号6)はVH5__aをベースとしており、humZ270VH7(配列番号7)はVH1__fをベースとしており、humZ270VH8(配列番号8)はVH1__46をベースとしており、全てがJH6 Jセグメントを有する。これらの抗体はそれぞれ、この抗体に対する宿主免疫応答の可能性が低いNKG2Aへの高親和性の結合を保持する。なぜならば、ヒト化構築物それぞれのKabab CDR-H2の6個のC末端アミノ酸残基はヒトアクセプターフレームワークと同一だからである。アラインメントプログラムVectorNTIを使用して、humZ270VH1とhumZ270VH5、humZ270VH6、humZ270VH7およびhumZ270VH8との間の下記の配列同一性を得た：78,2%(VH1対VH5)、79,0%(VH1対VH6)、88,7%(VH1対VH7)および96,0%(VH1対VH8)。

20

【0080】

一態様では、この薬剤は、(i)配列番号4~8のいずれかまたはこの配列と少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%もしくは99%同一のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、(ii)配列番号9またはこの配列と少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%もしくは99%同一のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域とを含む。一態様では、この薬剤は、(i)配列番号4~8のいずれかのアミノ酸配列またはこのアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%もしくは99%同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、(ii)配列番号9のアミノ酸配列またはこのアミノ酸配列と少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%もしくは99%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。配列番号4~8のいずれかの重鎖と配列番号9の軽鎖とを有する抗体は、NKG2Aの阻害活性を中和するが、活性型レセプターNKG2C、NKGEまたはNKG2Hには実質的に結合しない。この抗体は更に、細胞の表面上のNKG2Aへの結合に関してHLA-Eと競合する。一態様では、この薬剤は、配列番号4~8のいずれかのアミノ酸配列を有する重鎖に由来するHCDR1配列、HCDR2配列および/またはHCDR3配列を含む。本発明の一態様では、この薬剤は、配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖に由来するLCDR1配列、LCDR2配列および/またはLCDR3配列を含む。

30

40

【0081】

重鎖

VH6:

【化4】

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYD-
SETHYSPSFQGVVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARGGYDFDVGTLV-
WFFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKP-
SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS-
RTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK-
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK-
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN-
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK

(配列番号4)

10

【0082】

VH1:

【化5】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYA-
QKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDAVYYCARGGYDFDVGTLVWFFDVWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYS-
LSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLS
LSLGLGK (配列番号5)

20

【0083】

VH5:

【化6】

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYD-
SETHYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARGGYDFDVGTLV-
WFFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKP-
SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS-
RTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLS
LSLGLGK (配列番号6)

30

40

【0084】

VH7:

【化7】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYFTTSYWMNWVQQAPGKGLEWMGRIDPYDSETHY
AEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCATGGYDFDVGTLY-
WFFDVGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKP-
 SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS-
 RTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
 LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHHEALHNHYTQKSLS
 LSLGK (配列番号7)

10

【0085】

VH8:

【化8】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHY
AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGGYDFDVGTLWFFDVGQGTTVTVS
 SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT-
 FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE-
 FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK-
 TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK-
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN-
 NYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHHEALHNHYTQKSLSLSLGLK (配列番号8)

20

【0086】

軽鎖

【化9】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSYLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGS
 GSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQHHYGTPTRFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
 LLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
 LSSPVTKSFNRGEC (配列番号9)

30

【0087】

一態様では、この抗NKGA抗体は、配列番号4～8の残基31～35に対応するCDR-H1と、配列番号4～8の残基50～60（任意選択でヒト起源のアミノ酸を含む場合には50～66）に対応するCDR-H2と、配列番号4～8の残基99～114（Kabataによれば95～102）に対応するCDR-H3とを含む抗体である。一実施形態では、配列番号4～8の残基50～66に対応するCDR-H2。任意選択で、CDRは、1個、2個、3個、4個またはより多くのアミノ酸置換を含むことができる。

40

【0088】

一態様では、この抗NKGA抗体は、配列番号9の残基24～34に対応するCDR-L1と、配列番号9の残基50～56に対応するCDR-L2と、配列番号9の残基89～97に対応するCDR-L3とを含む抗体である。任意選択で、CDRは、1個、2個、3個、4個またはより多くのアミノ酸置換を含むことができる。

【0089】

一態様では、この抗NKGA抗体は、配列番号4～8の残基31～35に対応するCDR-H1と、配列番号4～8の残基50～60（任意選択で50～66）に対応するCDR-H2と、配列番号4～8の残基99～114（Kabataによれば95～102）

50

に対応するCDR-H3と、配列番号9の残基24～34に対応するCDR-L1と、配列番号9の残基50～56に対応するCDR-L2と、配列番号9の残基89～97に対応するCDR-L3とを含む抗体である。

【0090】

一態様では、この薬剤は、配列番号10のアミノ酸配列を有するVHに由来するHCDR1配列、HCDR2配列および/またはHCDR3配列を含む。本発明の一態様では、この薬剤は、配列番号11のアミノ酸配列を有するVLに由来するLCDR1配列、LCDR2配列および/またはLCDR3配列を含む。一態様では、この薬剤は、配列番号10のアミノ酸配列を有するVHに由来するHCDR1配列、HCDR2配列および/またはHCDR3配列と、配列番号11のアミノ酸配列を有するVLに由来するLCDR1配列、LCDR2配列および/またはLCDR3配列とを含む。配列番号10の重鎖と配列番号11の軽鎖とを有する抗体は、NKG2Aの阻害活性を中和し、更に活性型レセプターNKG2C、NKG2EまたはNKG2Hに結合する。この抗体は、細胞の表面上のNKG2Aへの結合に関してHLA-Eと競合しない(即ち、この抗体はNKG2Aの非競合的アンタゴニストである)。

10

【化10】

EVQLVESGGGLVKGPGGSLKLSAASGFTFSSYAMSWVRQSPEKRLEWVAEISSGGSYTY
PDTVTGRFTISRDNKNTLYLEISSLRSEDTAMYYCTRHGDIYPRFFDVGAGTTVTVSS

(配列番号10)

20

【化11】

QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSSVSYIYWYQQKPRSSPKWIYLTSLASGVPAR
FSGSGSGTSSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSGNPYTFGGGTKLEIKR

(配列番号11)

【0091】

一態様では、この薬剤は、可変重(V_H)ドメイン(配列番号10)のアミノ酸残基31～35、50～60、62、64、66および99～108と、可変軽(V_L)ドメイン(配列番号11)のアミノ酸残基24～33、49～55および88～96とを含み、任意選択で、1個、2個、3個、4個またはより多くのアミノ酸が置換されている。

30

【0092】

一態様では、この薬剤は、上述した抗体のいずれかが結合するCD94/NKG2Eエプトープに対して産生されている完全ヒト抗体である。

【0093】

上述した抗体を使用することができるが、その他の抗体がNKG2Aポリペプチドの任意の部分を認識し得るおよびこの任意の部分に対して産生され得、但しこの抗体はNKG2Aの阻害活性の中和を引き起こすことが認識されるだろう。例えば、NKG2A(好ましくはヒトNKG2Aであるがこれに限定されない)の任意の断片を、またはNKG2A断片の任意の組合せを、抗体を産生するための免疫源として使用することができ、この抗体はNKG2Aポリペプチド内の任意の位置でエプトープを認識することができ、但し、この抗体は、本明細書で説明したNKG2A発現NK細胞上でそのように行なうことができる。任意選択で、このエプトープは、配列番号4～8の重鎖と配列番号9の軽鎖とを有する抗体により特異的に認識されるエプトープである。

40

【0094】

一態様では、この薬剤は、ヒトCD94/NKG2Aレセプターの細胞外部分への結合において、米国特許第8,206,709号明細書(この開示は参照により本明細書に採用される)で開示されているhumZ270抗体と競合する。例えば、humZ270で飽和された、固定されたCD94/NKG2Aレセプター(例えば、CD94/NKG2発現細胞から精製されている、または生体系で産生されている)の細胞外部分への結合に

50

関して薬剤の能力を測定するB i a C o r e実験において、競合的結合を測定することができる。あるいは、C D 9 4 / N K G 2 Aレセプターを普通に発現するまたは（例えば一過性のもしくは安定した遺伝子導入の後に）過剰に発現する細胞への薬剤の結合が測定され、この細胞は、飽和用量のZ 2 7 0と共にプレインキュベートされている。一実施形態では、米国特許第8, 206, 709号明細書で開示されている方法を使用して競合的結合を測定することができ、例えば米国特許第8, 206, 709号明細書の実施例15に示されているフローサイトメトリーによりB a / F 3 - C D 9 4 - N K G 2 A細胞への結合を評価することで競合的結合を測定することができる。

【0095】

P D - 1中和治療剤

現在、P D - 1 / P D - L 1経路を遮断する少なくとも6種の薬剤が存在しており、これらの薬剤は市販されている、または臨床評価中である。一例の薬剤は、B M S - 9 3 6 5 5 8 (N i v o l u m a b / O N O - 4 5 3 8、B r i s t o l - M y e r s S q u i b b ; 以前はM D X - 1 1 0 6) である。N i v o l u m a b (商品名O p d i v o (登録商標)) は、P D - 1およびC D 8 0の両方へのP D - L 1リガンドの結合を阻害し、国際公開第2006/121168号パンフレット（この開示は参照により本明細書に援用される）において抗体5 C 4として説明されている、F D Aにより承認された完全ヒトI g G 4抗P D - L 1m A bである。黒色腫患者の場合では3 m g / k gの用量で最も有意なO Rが観測されたが、その他のがんの種類の場合では10 m g / k gで最も有意なO Rが観測された。N i v o l u m aは一般に、がんの進行まで3週毎に10 m g / k g

【0096】

M K - 3 4 7 5 (M e r c kのヒトI g G 4抗P D - 1m A b) (ランプロリズマブまたはペンプロリズマブ (商品名K e y t r u d a (登録商標)) とも称される) は黒色腫の処置用にF D Aにより承認されており、その他のがんでは試験中である。ペンプロリズマブは、疾患の進行まで2週毎にまたは3週毎に2 m g / k gまたは10 m g / k gで試験された。ヒト化抗体h 4 0 9 A I Iの重鎖および軽鎖の可変領域をコードするD N A構築物が、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n P a t e n t D e p o s i t o r y (1 0 8 0 1 U n i v e r s i t y B l v d . , M a n a s s a s , V A) により寄託されている。h 4 0 9 A - I 1の重鎖をコードするD N Aを含むプラスミドが2008年6月9日に寄託されて081469__S P D - Hと識別され、h 4 0 9 A I 1の軽鎖をコードするD N Aを含むプラスミドが2008年6月9日に寄託されて0801470__S P D - L - I 1と識別された。また、国際公開第2009/114335号パンフレットにはM K - 3 4 7 5 (M e r c k 3 7 4 5またはS C H - 9 0 0 4 7 5としても知られている) も説明されている。

【0097】

M P D L 3 2 8 0 A / R G 7 4 4 6 (R o c h e / G e n e n t e c hの抗P D - L 1) は、F c R結合を最小化し、結果として抗体依存性細胞傷害(A D C C) を最小化することにより有効性および安全性を最適化するように設計されている操作F cドメインを含むヒト抗P D - L 1m A bである。1、10、15および25 m g / k gの用量のM P D L 3 2 8 0 Aは最大で1年にわたり3週毎に投与された。第3相試験において、M P D L 3 2 8 0 Aは、N S C L Cにおいて3週毎に静脈内注入により1200 m gで投与される。

【0098】

A M P - 2 2 4 (A m p l i m m u n eおよびG S K) は、F cドメインに融合したP D - L 2細胞外ドメインを含むイムノアドヘシンである。P D - 1を中和する薬剤のその他の例として、P D - L 2に結合してP D - 1とP D - L 2との相互作用を遮断する抗体(抗P D - L 2抗体) を挙げることができる。

【0099】

P i d l i z u m a b (C T - 0 1 1 ; C u r e T e c h) (C u r e T e c h / T e

10

20

30

40

50

v aのヒト化 I g G 1 抗 P D 1 m A b)、P i d l i z u m a b (C T - 0 1 1 ; C u r e T e c h) (例 えば 国 際 公 開 第 2 0 0 9 / 1 0 1 6 1 1 号 パ ン フ レ ッ ト を 参 照 さ れ たい)、リツキシマブに敏感な再発FLを有する30例の患者が、CT011の最初の注入から2週後に開始して、4週間にわたり毎週375mg/m²で投与されるリツキシマブと組み合わせられて、4回の注入で4週毎に3mg/kgの静脈内CT-011で処置された。

【0100】

更に既知のPD-1抗体およびその他のPD-1阻害剤として、AMP-224(GSKに認可されたB7-DC/IgG1融合タンパク質)、国際公開第2012/145493号パンフレットで説明されているAMP-514、国際公開第2011/066389号パンフレットおよび米国特許出願公開第2013/034559号明細書で説明されている抗体MEDI-4736(AstraZeneca/Medimmuneにより開発された抗PD-L1)、国際公開第2010/077634号パンフレットで説明されている抗体YW243.55.S70(抗PD-L1)、国際公開第2007/005874号パンフレットで説明されている、Bristol-Myers Squibbにより開発された抗PD-L1抗体であるMDX-1105(BMS-936559としても知られている)、国際公開第2006/121168号パンフレット、国際公開第2009/014708号パンフレット、国際公開第2009/114335号パンフレットおよび国際公開第2013/019906号パンフレットで説明されている抗体および阻害剤が挙げられ、これらの開示は参照により本明細書に援用される。抗PD-1抗体の更なる例が国際公開第2015/085847号パンフレット(Shanghai Hengrui Pharmaceutical Co., Ltd.)に開示されており、例えば、それぞれ配列番号6、配列番号7および/または配列番号8の軽鎖可変ドメインCDR1、2および3と、それぞれ配列番号3、配列番号4または配列番号5の抗体重鎖可変ドメインCDR1、2および3とを有する抗体であり、これらの配列番号の言及は、国際公開第2015/085847号パンフレットに従うナンバリングであり、この開示は参照により本明細書に援用される。PD-1またはPD-L1への結合に関してこれらの抗体のいずれかと競合する抗体を使用することもできる。

【0101】

例示的な抗PD-1抗体はペンブロリズマブである(例えば国際公開第2009/114335号パンフレットを参照されたい。この開示は参照により本明細書に援用される)。抗PD-1抗体は、国際公開第2008/156712号パンフレットにおける抗h409AIであることができ、この抗h409AIは、081469__SPD-HでATCCに寄託されたDNAによりコードされる重鎖可変領域と、0801470__SPD-L-I1でATCCに寄託されたDNAによりコードされる軽鎖可変領域とを含む。その他の実施形態では、この抗体は、ペンブロリズマブの重鎖および軽鎖のCDRまたは可変領域を含む。従って、一実施形態では、この抗体は、081469__SPD-HでATCCに寄託されたDNAによりコードされるペンブロリズマブのVHのCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインと、0801470__SPD-L-I1でATCCに寄託されたDNAによりコードされるペンブロリズマブのVLのCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインとを含む。

【0102】

一部の実施形態では、このPD-1中和剤は、PD1へのPD-L1の結合を阻害する抗PD-L1mAbである。一部の実施形態では、このPD-1中和剤は、PD-L1へのPD-1の結合を阻害する抗PD1mAbである。一部の実施形態では、このPD-1中和剤はイムノアドヘシン(例えば、定常領域(例えば、免疫グロブリン配列のFc領域)に融合したPD-L1またはPD-L2の細胞外部分またはPD-1結合部分を含むイムノアドヘシン)である。

【0103】

別の例示的な抗PD-1抗体は、配列番号12および配列番号13に示す各配列または

10

20

30

40

50

これらと少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%もしくは99%同一の各アミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖を含むニボルマブ、またはこのニボルマブの抗原結合断片および多様体である。その他の実施形態では、この抗体は、ニボルマブの重鎖および軽鎖のCDRまたは可変領域を含む。従って、一実施形態では、この抗体は、配列番号12に記載の配列を有するニボルマブの重鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインと、配列番号13に記載の配列を有するニボルマブの軽鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインとを含む。

【化12】

QVQLVESGGGWQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVrWY
 DGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLT
 VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVTVPSSSLGT TYTCNVDHKPSNTKVD RVES YGPPCPPCPAPEFLGG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCWVDVSEQEDPEVQFNWYYDGVEVHNA TKPREEQF
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA GQPREPQVYTLPPSQ
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEKKNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
 SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

10

(配列番号12)

【化13】

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQ PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSG
 TDFTLTISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGKVEI RTVAAPSVFI FPPSDEQL SGTASVVCLLN
 NFYPREA VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS DSTYSL SSTLLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
 PVTSFNRGEC

20

(配列番号13)

【0104】

例示的な抗PD-L1抗体は、配列番号14および配列番号15に示す各配列またはこれらとそれぞれ少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%もしくは99%同一なアミノ酸配列を有する重鎖および軽鎖の可変領域、またはこれらの抗原結合断片および多様体を含む。その他の実施形態では、この抗体は、MPDL3280Aの重鎖および軽鎖のCDRまたは可変領域を含む。従って、一実施形態では、この抗体は、配列番号14に記載の配列を有する重鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインと、配列番号15に記載の配列を有する軽鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインとを含む。

30

【化14】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWIS PYGGSTY-
 YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ NSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWG QGTLVTVSS

40

(配列番号14)

【化15】

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVSTAVAWYQQ PGKAPKLLIY SASF
 LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQYLYHPATFGQGKVEIKR

(配列番号15)

【0105】

この抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体を、完全ヒト抗体、ヒト化抗体およびキメラ抗体から選択することができる。本発明の一態様では、この薬剤は、ヒトIgG1抗体

50

、ヒトIgG2抗体、ヒトIgG3抗体またはヒトIgG4抗体に由来する定常ドメインを含む。本発明の一態様では、この薬剤は、IgA抗体、IgD抗体、IgG抗体、IgE抗体およびIgM抗体から選択される抗体の断片である。本発明の一態様では、この薬剤は、Fab断片、Fab'断片、Fab'-SH断片、F(ab)2断片、F(ab')2断片、Fv断片、重鎖Ig(ラムまたはラクダのIg)、V_HH断片、単ドメインFvおよび単鎖抗体断片から選択される抗体断片である。本発明の一態様では、この薬剤は、scFv、dsFv、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、カップボディ、IgNARおよび多重特異性抗体から選択される合成のまたは半合成の抗体由来分子である。

【0106】

この抗PD-1抗体または抗PD-1抗体は、Fcレセプター(例えばCD16)への実質的な特異的結合を欠失することができる。そのような抗体は、Fcレセプターに結合しないことが分かっている様々な重鎖の定常領域を含むことができる。そのような一例はIgG4定常領域である。IgG4、あるいは、定常領域を含まない抗体断片(例えばFab断片またはF(ab')2断片)を使用して、Fcレセプター結合を回避することができる。Fcレセプター結合を当分野で既知の方法に従って評価することができ、この方法として、例えば、BIACOREアッセイにおいてFcレセプタータンパク質への抗体の結合を試験することが挙げられる。また、Fcレセプターへの結合が最小化されるようにまたは除去されるようにFc部分が改変されている、あらゆるヒト抗体タイプ(例えばIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4)を使用することができる。従って、この抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体は概してエフェクター機能が低減され得る、または最小化され得る。一態様では、最小のエフェクター機能は原核細胞中での産生に起因する。一態様では、最小のエフェクター機能は、「エフェクターレスFc変異」または非グリコシル化(aglycosylation)に起因する。更なる実施形態では、このエフェクターレスFc変異は、定常領域におけるN297A置換またはD265A/N297A置換である。

【0107】

製剤

抗NKG2A薬剤または抗PD-1薬剤または抗PD-L1薬剤、例えば抗体は、1mg/ml~500mg/mlの濃度で含む医薬製剤に組み込まれ得、前記製剤のpHは2.0~10.0である。この製剤は、緩衝系、防腐剤、等張化剤、キレート剤、安定剤および界面活性剤を更に含むことができる。一実施形態では、この医薬製剤は水性製剤であり、即ち水を含む製剤である。そのような製剤は概して、溶液または懸濁液である。更なる実施形態では、この医薬製剤は水溶液である。用語「水性製剤」は、少なくとも50重量/重量%の水を含む製剤と定義される。同様に、用語「水溶液」は、少なくとも50重量/重量%の水を含む溶液と定義され、用語「水性懸濁液」は、少なくとも50重量/重量%の水を含む懸濁液と定義される。

【0108】

別の実施形態では、この医薬製剤は、医師または患者が使用前に溶媒および/または希釈剤を添加する凍結乾燥製剤である。

【0109】

別の実施形態では、この医薬製剤は、あらゆる事前の溶解を必要とすることなく使用可能な(例えば凍結乾燥されているまたは噴霧乾燥されている)乾燥製剤である。

【0110】

更なる態様では、この医薬製剤は、そのような抗体および緩衝剤の水溶液を含み、この抗体は1mg/ml以上の濃度で存在し、前記製剤のpHは約2.0~約10.0である。

【0111】

別の実施形態では、この製剤のpHは、約2.0~約10.0、約3.0~約9.0、約4.0~約8.5、約5.0~約8.0および約5.5~約7.5からなるリストから

10

20

30

40

50

選択される範囲である。

【0112】

更なる実施形態では、緩衝剤は、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、クエン酸塩、グリシルグリシン、ヒスチジン、グリシン、リシン、アルギニン、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸ナトリウムおよびトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、ピシン、トリシン、マレイン酸、コハク酸塩、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、アスパラギン酸またはこれらの混合物からなる群から選択される。これらの特定の緩衝剤はそれぞれ、本発明の代替実施形態を構成する。

【0113】

更なる実施形態では、この製剤は、薬学的に許容される防腐剤を更に含む。更なる実施形態では、この製剤は等張剤を更に含む。更なる実施形態では、この製剤はキレート剤も含む。本発明の更なる実施形態では、この製剤は安定剤を更に含む。更なる実施形態では、この製剤は界面活性剤を更に含む。便宜上、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995を参照する。

10

【0114】

本発明のペプチド医薬製剤中にはその他の成分が存在し得ることも可能である。そのような追加の成分として、湿潤剤、乳化剤、抗酸化剤、充填剤、張度調整剤、キレート剤、金属イオン、油性賦形剤、タンパク質(例えばヒト血清アルブミン、ゼラチンまたはタンパク質)ならびに双性イオン(例えば、ベタイン、タウリン、アルギニン、グリシン、リシンおよびヒスチジン等のアミノ酸)を挙げることができる。そのような追加の成分は、当然のことながら本発明の医薬製剤全体の安定性に悪影響を及ぼすべきではない。

20

【0115】

いくつかの投与経路(例えば静脈内)を経て、本発明に係る医薬製剤を投与することができる。適切な抗体製剤を、その他の既に開発された治療用モノクローナル抗体による実験を調べることにより決定することもできる。Rituxan(Rituximab)、Herceptin(Trastuzumab)Xolair(Omalizumab)、Bexxar(Tositumomab)、Campath(Alemtuzumab)、Zevalin、Oncolympおよび同様の製剤等の、臨床的状況下で有効であることが分かっているいくつかのモノクローナル抗体を、本発明の抗体と共に使用することができる。例えば、モノクローナル抗体は、100mg(10mL)または500mg(50mL)の使い捨てバイアル中に10mg/mLの濃度で供給され得、9.0mg/mLの塩化ナトリウム、7.35mg/mLのクエン酸ナトリウム二水和物、0.7mg/mLのポリソルベート80および注射用無菌水でIV投与用に製剤化される。pHは6.5に調整される。別の実施形態では、この抗体は、約20mMのクエン酸Na、約150mMのNaClを含む製剤(約6.0のpH)で供給される。

30

【0116】

また、提供されるのは、上述の方法での使用に適した治療上有効な量で、抗NKG2A抗体および抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体と薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を含むキットである。このキットは任意選択で、このキットに含まれる組成物ががん(例えば固形腫瘍)を有する患者に投与するために、専門家(例えば、医師、看護師および患者)がこの組成物を投与することを可能にする使用説明書(例えば投与スケジュールを含む)も含むことができる。このキットはシリンジを含むこともできる。

40

【0117】

任意選択で、このキットは、上記に記載の方法に従う単回投与用に有効量の抗NKG2A抗体、抗PD-1抗体またはPD-L1抗体をそれぞれ含む単回用量の医薬組成物の複数のパッケージを含む。このキットには、この医薬組成物の投与に必要な機器またはデバイスも含まれ得る。例えば、キットは、ある量の抗NKG2A抗体、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体を含む1本または複数本のプレフィルドシリンジを提供することができる。

50

【0118】

一実施形態では、本発明は、ヒト患者のがんを処置するためのキットであって、

(a) 配列番号4～8のいずれかに記載の配列を有する重鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインと、配列番号9に記載の配列を有する軽鎖のCDR1ドメイン、CDR2ドメインおよびCDR3ドメインとを含む、ある用量の抗NKG2A抗体、

(b) ある用量の抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体、ならびに

(c) 任意選択で、本明細書で説明する方法のいずれかで抗NKG2A抗体と抗PD-1抗体とを使用するための使用説明書を含むキットを提供する。

10

【0119】

悪性腫瘍の診断、予後予測および処置

説明されているのは、個体のがんの診断、予後予測、モニタリング、処置および予防で有用な方法である。本明細書で説明する処置のレジメンおよび方法は固形腫瘍の処置に特に有用であるが、本明細書で説明する処置のレジメンおよび方法を、様々な血液がんならびに感染性疾患および炎症および自己免疫障害に使用することもできる。本発明の方法および組成物は例えば様々ながんおよびその他の増殖性疾患の処置に用いられ、その他の増殖性疾患として下記が挙げられるがこれらに限定されない：癌腫、例えば、膀胱、乳房、結腸、腎臓、肝臓、肺、卵巣、前立腺、膵臓、胃、頸部、甲状腺および皮膚の癌腫；リンパ系の造血器腫瘍、例えば、白血病、急性リンパ球性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性リンパ芽球性白血病、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、有毛細胞リンパ腫およびパーキットリンパ腫および多発性骨髄腫；骨髄系の造血器腫瘍、例えば、急性および慢性の骨髄性白血病、前骨髄球性白血病および骨髄異形成症候群；間葉系起源の腫瘍、例えば線維肉腫および横紋筋肉腫(rhabdomyosarcoma)；その他の腫瘍、例えば、黒色腫、精上皮腫、奇形癌腫、神経芽細胞腫および神経膠腫；中枢神経系および末梢神経系の腫瘍、例えば、星状細胞腫、神経芽細胞腫、神経膠腫およびシュワン腫；間葉系起源の腫瘍、例えば、線維肉腫、横紋筋肉腫(rhabdomyosarcoma)および骨肉腫；ならびにその他の腫瘍、例えば黒色腫、色素性乾皮症、角化棘細胞腫、精上皮腫および甲状腺濾胞がん。

20

【0120】

本明細書に記載したがんの処置用の併用療法は、中和抗NKG2A抗体とPD-1中和薬剤(例えば、中和抗PD-1抗体または中和抗PD-L1抗体)とを投与して、がん(例えば進行性で難治性の固形腫瘍)に苦しむ対象を処置することを含む。一実施形態では、本発明は、固形腫瘍(例えば、固形腫瘍、進行性で難治性の固形腫瘍)を有する対象または血液腫瘍を有する対象を処置するための、抗NKG2A抗体と抗PD-1抗体との組合せを提供する。特定の実施形態では、抗NKG2A抗体は、配列番号4～8のいずれかの重鎖と配列番号9の軽鎖とを含む。一実施形態では、PD-1の阻害活性を中和する抗体は、ペンプロリズマブ、ニボルマブ、AMP-514、MED1-4736、CT-011およびMPDL3280Aからなる群から選択される。

30

【0121】

本明細書で使用する場合、付属的なまたは複合の投与(同時投与)として、同じもしくは異なる剤形での化合物の同時投与または化合物の別々の投与(例えば順次の投与)が挙げられる。そのため、抗NKG2A抗体と抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体とを単一製剤で同時に投与することができる。あるいは、抗NKG2A抗体と抗PA-1抗体または抗PD-L1抗体とを別々の投与用に製剤化することができ、これらの抗体を同時にまたは順次に投与する。

40

【0122】

一実施形態では、本明細書で開示する方法で処置するがんはHLA-E発現がんである。一実施形態では、このがんは、肺がん(例えば非小細胞肺がん(NSCLC))、腎細胞癌(RCC)、黒色腫、結腸直腸がんおよび卵巣がんからなる群から選択される。

50

【 0 1 2 3 】

がんを有する患者を、腫瘍細胞の表面上でのHLA-Eの発現を評価するための事前検出工程の有無にかかわらず抗NKGA2A剤で処置することができる。有利には、この処置方法は、個体からの（例えば腫瘍細胞に関する）腫瘍の生物学的サンプル中におけるHLA-Eの核酸またはポリペプチドを検出する工程を含むことができる。生物学的サンプルの例として、あらゆる適切な体液（例えば、血清、リンパ液、血液）、細胞サンプルまたは組織サンプルを挙げるることができる。例えば、組織サンプルは、腫瘍組織または腫瘍隣接組織のサンプルであることができる。任意選択で、HLA-Eポリペプチドを悪性細胞の表面上で検出する。生物学的サンプルがHLA-Eを発現する（例えば、顕著に発現する；参照と比較して抗HLA-E抗体による染色の高レベル、高強度でHLA-Eを発現する）ことの検出は、NKGA2Aを阻害する薬剤による処置の利益が強力であり得るがんを個体が有することを示す。一実施形態では、この方法は、生物学的サンプル中におけるHLA-Eの核酸またはポリペプチドの発現のレベルを検出すること、ならびに、このレベルを、健康な個体に対応する参照レベル（例えば、値、弱い細胞表面染色等）と比較することを含む。生物学的サンプルが参照レベルと比較して高いレベルでHLA-Eの核酸またはポリペプチドを発現することの検出は、NKGA2Aを阻害する薬剤により処置され得るがんを個体が有することを示す。

10

【 0 1 2 4 】

一実施形態では、生物学的サンプル（例えば、腫瘍細胞、腫瘍組織および/または腫瘍隣接組織を含むサンプル）がHLA-Eの核酸またはポリペプチドを顕著に発現することの検出は、NKGA2Aを阻害する薬剤で処置され得るがんを個体が有することを示す。「顕著に発現されている」は、HLA-Eポリペプチドに関する場合、所与の個体から採取された腫瘍細胞の相当な数でHLA-Eポリペプチドが発現されていることを意味する。用語「顕著に発現されている」の定義は正確な割合の値に拘束されないが、一部の例では、「顕著に発現されている」といわれるレセプターは、（サンプル中における）患者から採取された腫瘍細胞の少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%またはより多くで存在し得る。

20

【 0 1 2 5 】

HLA-Eポリペプチドを発現するがん細胞を個体が有するかどうかを検出することは、例えば、個体から（例えば生検を実施することにより）がん細胞を含む生物学的サンプルを得ること、前記細胞を、HLA-Eポリペプチドに結合する抗体と接触させること、および細胞がこの細胞の表面上でHLA-Eを発現するかどうかを検出することを含むことができる。任意選択で、HLA-Eを発現するがん細胞を個体が有するかどうかを検出することは、免疫組織化学アッセイを行なうことを含む。任意選択で、HLA-Eを発現するがん細胞を個体が有するかどうかを検出することは、フローサイトメトリーアッセイを行なうことを含む。

30

【 0 1 2 6 】

この処置方法では、抗NKGA2A抗体と抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体とを、別々に、一緒にもしくは順次にまたはカクテルで投与することができる。一部の実施形態では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与前に抗原結合化合物を投与する。例えば、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与の約0~30日前に抗NKGA2A抗体を投与することができる。一部の実施形態では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与の約30分~約2週間前に、約30分~約1週間前に、約1時間~約2時間前に、約2時間~約4時間前に、約4時間~約6時間前に、約6時間~約8時間前に、約8時間~1日前にまたは約1~5日前に、抗NKGA2A抗体を投与する。一部の実施形態では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与と同時に抗NKGA2A抗体を投与する。一部の実施形態では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与後に抗NKGA2A抗体を投与する。例えば、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与の約0~30日後に抗NKGA2A抗体を投与することができる。一部の実施形態では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与の約30分~約2週間後に、約30分~約1週間後に、約1

40

50

時間～約2時間後に、約2時間～約4時間後に、約4時間～約6時間後に、約6時間～約8時間後に、約8時間～1日後にまたは約1～5日後に、抗NKGA抗体を投与する。

【0127】

がんを有するヒトを処置するのに適した処置プロトコルは、例えば、NKGAを阻害する抗体およびヒトPD-1の阻害活性を中和する抗体それぞれの有効量を患者に投与することを含み、この方法は、少なくとも1回の用量の抗NKGA抗体を1～10mg/体重kgの用量で投与し、少なくとも1回の用量の抗PD-1抗体または抗Pd-L1抗体を1～20mg/体重kgの用量で投与する少なくとも1回の投与サイクルを含む。一実施形態では、この投与サイクルは2週～8週である。

【0128】

一実施形態では、この方法は少なくとも1回の投与サイクルを含み、このサイクルは8週未満の期間であり、少なくとも1回のサイクルのそれぞれに関して、2回、3回または4回の用量の抗NKGA抗体を1～10mg/体重kgの用量を投与し、2回、3回または4回の用量の抗PD-1抗体または抗Pd-L1抗体を1～20mg/体重kgの用量で投与する。

【0129】

この抗NKGA抗体を、(例えば、PBMCにおいてNKGA発現細胞に対して抗NKGA抗体を漸増させることで評価する場合に)実質的に完全な(例えば90%、95%)レセプター飽和に必要な濃度と比べて少なくとも10倍、20倍もしくは30倍高い循環濃度を達成する量で、または任意選択で(例えば、PBMCにおいてNKGA発現細胞に対して抗NKGA抗体を漸増させることで評価する場合に)実質的に完全なレセプター飽和に必要な濃度と比べて少なくとも10倍、20倍もしくは30倍高い細胞外組織(例えば腫瘍組織または環境)中での濃度を達成する量で、有利に投与することができる。

【0130】

HLEA-E発現標的細胞に対するNKGA発現NK細胞の細胞傷害活性に関する適切なアッセイを使用して、NKGA+HK細胞応答を評価することができる。例として、NK細胞活性化のマーカー(例えばCD107またはCD137の発現)をベースとするアッセイが挙げられる。本明細書の実施例で使用する抗NKGA抗体humZ270(例えば配列番号4～8のいずれかの重鎖と配列番号9の軽鎖を有する)の遮断の(例えば、CD107動員アッセイで評価する場合の)NKGA+NH細胞応答に関するEC₅₀は約4μg/mlであり、EC₁₀₀は約10μg/mlである。そのため、抗NKGA抗体を、少なくとも4μg/mlの連続(最低)血中濃度を維持する量で投与する。有利には、抗NKGA抗体を、少なくとも10μg/mlの連続(最低)血中濃度を達成するおよび/または維持する量で投与することができる。例えば、達成されるおよび/または維持される血中濃度は、10～12μg/ml、10～15μg/ml、10～20μg/ml、10～30μg/ml、10～40μg/ml、10～50μg/ml、10～70μg/ml、10～100μg/ml、10～150μg/mlまたは10～200μg/mlであることができる。(例えば固形腫瘍の処置において)血管系外の組織を標的とする場合、抗NKGA抗体を、少なくとも10μg/mlの組織濃度を達成するおよび/または維持する量で投与し、例えば、抗NKGA抗体を少なくとも100μg/mlの血中濃度を達成する量で投与することにより、少なくとも10μg/mlの組織濃度が達成されると予想される。例えば、組織中において10μg/mlを達成する/維持するために達成すべきおよび/または維持すべき血中濃度は、100～110μg/ml、100～120μg/ml、100～130μg/ml、100～140μg/ml、100～150μg/ml、100～200μg/ml、100～250μg/mlまたは100～300μg/mlであることができる。

【0131】

一部の実施形態では、抗NKGA抗体を、NKGA+リンパ球細胞応答(例えばNKGA+NK細胞応答)に関する少なくともEC₅₀に対応し、任意選択で約EC₁₀₀

10

20

30

40

50

。または少なくとも約 EC_{100} に対応する血液（例えば血清）中の濃度を得る量で投与する。NK G 2 A + 細胞応答（例えばNK細胞応答）に関する「 EC_{50} 」（または「 EC_{100} 」）は、この細胞の最大応答またはそのようなNK G 2 A + 細胞応答（例えばNK細胞応答）に関する効果の50%（または EC_{100} を指す場合には100%）を生じる抗NK G 2 A抗体の効率的な濃度を意味する。一部の実施形態では、特に固形腫瘍の処置の場合、達成される濃度は、（血管系外の、例えば腫瘍環境中の）組織中の濃度がNK G 2 A + NK細胞応答に関する少なくとも EC_{50} に対応し、任意選択でNK G 2 A + NK細胞応答に関する約 EC_{100} または少なくとも約 EC_{100} に対応するように設計される。

【0132】

NK G 2 A + NK細胞応答に関する EC_{100} が約 $10 \mu g / ml$ である本明細書の実施例で使用するhumZ270等の抗NK G 2 A抗体に適した処置プロトコルは、少なくとも1回の用量の抗NK G 2 A抗体を $2 \sim 10 mg / kg$ の用量で投与し、任意選択で $4 \sim 10 mg / kg$ の用量で投与し、任意選択で $6 \sim 10 mg / kg$ の用量で投与し、任意選択で $2 \sim 6 mg / kg$ の用量で投与し、任意選択で $2 \sim 8 mg / kg$ の用量で投与し、または任意選択で $2 \sim 4 mg / 体重 kg$ の用量で投与する少なくとも1回の投与サイクルを含む。任意選択で、少なくとも2回、3回、4回、5回、6回、7回または8回の用量の抗NK G 2 A抗体を投与する。一実施形態では、この投与サイクルは2週～8週である。一実施形態では、この投与サイクルは8週である。一実施形態では、この投与サイクルは8週であり、2週毎に抗NK G 2 A抗体の1回の用量（即ち合計で4回の用量）を投与

【0133】

本明細書の実施形態のいずれかの一態様では、この抗NK G 2 A抗体を約2週毎に1回投与する。

【0134】

特に造血器腫瘍の処置のための、抗NK G 2 A抗体による使用に適した処置プロトコルは、例えば、抗NK G 2 A抗体の少なくとも2回の連続する投与の間で少なくとも $10 \mu g / ml$ の抗NK G 2 A抗体の連続血中濃度を維持するのに有効な量で1ヶ月当たり2回、抗NK G 2 A抗体を患者に投与することを含み、この量は $2 \sim 10 mg / kg$ であり、任意選択で $2 \sim 6 mg / kg$ であり、任意選択で $2 \sim 8 mg / kg$ であり、任意選択で $2 \sim 4 mg / kg$ であり、任意選択で $2 \sim 6 mg / kg$ であり、任意選択で $2 \sim 4 mg / kg$ であり、任意選択で約 $4 mg / 体重 kg$ である。任意選択で、これらの用量を、処置サイクル全体を通して少なくとも $10 \mu g / ml$ の抗NK G 2 A抗体の連続血中濃度を實現するように投与することができる。 $10 \mu g / ml$ の抗NK G 2 A抗体の血中濃度の達成は、ヒト化Z270等の抗体に関する EC_{100} に対応する。

【0135】

特に血管外組織中で（例えば、腫瘍中でまたは腫瘍環境下で）抗NK G 2 A抗体の EC_{50} 濃度が求められる固形腫瘍の処置のための、抗NK G 2 A抗体による使用に適した処置プロトコルは、例えば、抗NK G 2 A抗体の少なくとも2回の連続する投与の間で少なくとも $40 \mu g / ml$ の抗NK G 2 A抗体の連続血中濃度を維持するのに有効な量で1ヶ月当たり2回、抗NK G 2 A抗体を患者に投与することを含み、この量は $2 \sim 10 mg / kg$ であり、任意選択で $2 \sim 6 mg / kg$ であり、任意選択で $2 \sim 4 mg / kg$ であり、任意選択で約 $4 mg / 体重 kg$ である。任意選択で、これらの用量を、処置サイクル全体を通して少なくとも $40 \mu g / ml$ の抗NK G 2 A抗体の連続血中濃度を實現するように投与することができる。 $40 \mu g / ml$ の抗NK G 2 A抗体の血中濃度の達成により約 $4 \mu g / ml$ の組織（例えば血管外組織、腫瘍環境）濃度が實現されると予想され、ひいてはヒト化Z270等の抗体に関する EC_{50} に対応する。

【0136】

特に血管外組織中で（例えば腫瘍中でまたは腫瘍環境下で）抗NK G 2 A抗体の EC_{50} 濃度が求められる固形腫瘍の処置のための、抗NK G 2 A抗体による使用に適した処置

10

20

30

40

50

プロトコルは、例えば、抗NKGA抗体の有効量を患者に投与することを含み、この抗体を1ヶ月当たり2回投与し、抗NKGA抗体の少なくとも2回の連続する投与の間で少なくとも100 μ g/mlの抗NKGA抗体の連続血中濃度を維持するのに有効な量は4~10mg/kgであり、任意選択で4~6mg/kgであり、任意選択で4~8mg/kgであり、任意選択で約4mg/kgであり、任意選択で約6mg/kgであり、任意選択で約8mg/kgであり、または任意選択で約10mg/kgである。任意選択で、これらの用量を、処置サイクル全体を通して少なくとも100 μ g/mlの抗NKGA抗体の連続血中濃度を實現するように投与することができる。100 μ g/mlの抗NKGA抗体の血中濃度の達成により約10 μ g/mlの組織（例えば血管外、腫瘍環境）濃度が實現されると予想され、ひいてはヒト化Z270等の抗体のEC₁₀₀に対応する。

10

【0137】

抗NKGA抗体による使用に適した更なる処置プロトコルは、より高い用量の負荷期間を用い、続いて維持期間を用いるレジメンを含む。例えば、負荷期間は、抗NKGA抗体の有効量を患者に投与することを含み、この抗体を、維持レジメン中の抗NKGA抗体の最初の投与まで少なくとも100 μ g/mlの抗NKGA抗体の連続血中濃度を維持するのに有効な量で1回または複数回投与する。例えば、1回投与する場合、抗NKGA抗体の10mg/kgの負荷用量を投与することができ、負荷用量の約2週（またはより短い期間）後に、維持レジメン中の抗NKGA抗体の最初の投与を行なう。次いで、維持レジメンは、より低い用量および/または投与のより低い頻度を用いて、維持

20

【0138】

ある特定の実施形態では、抗NKGA抗体の用量（例えば各用量）を4、6、8または10mg/kgで投与する。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体の用量（例えば各用量）を1~20mg/kgで投与し、任意選択で10mg/kgで投与する。ある特定

30

の実施形態では、抗PD-L1抗体の用量（例えば各用量）を10、15、20または25mg/kgで投与し、任意選択で1200mgの総用量で投与する。ある特定の実施形態では、併用療法により、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体をより低い用量で投与することが可能となり、一実施形態では、抗PD-1抗体の各用量を2または3mg/kgで投与する。

【0139】

一実施形態では、抗NKGA抗体と抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体とを下記の用量で投与する：

(a) 1~10mg/kgの抗NKGA抗体、および(i) 1~10mg/kgの抗PD-1抗体もしくは(ii) 1~20mg/kgの抗PD-L1抗体、

40

(b) 4、6、8もしくは10mg/kgの抗NKGA抗体、および10mg/kgの抗PD-1抗体もしくは抗PD-L1抗体、

(c) 4、6、8もしくは10mg/kgの抗NKGA抗体、および3mg/kgの抗PD-1抗体、または

(d) 4、6、8もしくは10mg/kgの抗NKGA抗体、および2mg/kgの抗PD-1抗体。

【0140】

本明細書の実施形態のいずれかの一態様では、抗NKGA抗体を約2週毎に1回投与する。本明細書の実施形態のいずれかの一態様では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体を約3週毎に1回投与する。本明細書の実施形態のいずれかの一態様では、抗PD-

50

1抗体または抗PD-L1抗体を約2週毎に1回投与する。本明細書の実施形態のいずれかの一態様では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体を約4週毎に1回投与する。

【0141】

一実施形態では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体と抗NKG2A抗体とを静脈内投与する。一実施形態では、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体と抗NKG2A抗体とを同日に投与し、任意選択で更に約2週毎に1回投与し、任意選択で更に静脈内投与する。

【0142】

その他の態様では、NKG2A+PD1+のNK細胞およびT細胞を同定する方法が提供される。NK細胞上でのおよび/またはT細胞上でのNKG2AおよびPD-1の同時発現を評価することを、診断方法または予後予測方法で使用することができる。例えば、生物学的サンプルを個体から(例えばがん患者から得たがん組織またはがん隣接組織から)得て、NKG2A+PD1+のNK細胞および/またはT細胞の存在に関して分析することができる。例えば、そのような細胞上でのNKG2AおよびPD-1の両方の発現を使用して、NKG2AポリペプチドおよびPD1ポリペプチドの両方により阻害される腫瘍浸潤NK細胞および/または腫瘍浸潤T細胞を有する個体を同定することができる。この方法は、例えば、NKG2Aを中和する薬剤による処置への応答に関する予後予測として、PD1を中和する薬剤による処置への応答に関する予後予想として、またはNKG2Aを中和する薬剤とPD1を中和する薬剤との組合せ処置に関する応答に関する予後予測として有用であることができる。

【0143】

一実施形態では、提供されるのは、NKG2Aを阻害する薬剤とヒトPD-1の阻害活性を中和する薬剤とによる処置に個体が適しているかどうかを評価する方法であって、個体からの生物学的サンプル中においてNKG2Aの核酸またはポリペプチドとPG-1の核酸またはポリペプチドとの両方を発現するリンパ球集団(例えばCD8+T細胞)を検出することを含む方法である。NKG2Aの核酸またはポリペプチドとPD-1の核酸またはポリペプチドとの両方を発現するリンパ球集団を個体が有するという検出は、この患者が、NKG2Aを阻害する薬剤とヒトPD-1の阻害活性を中和する薬剤との組合せで処置され得るがんを有することを示す。

【0144】

その他の態様では、NKG2A+PD1+のNK細胞および/またはT細胞を同定する方法が提供される。腫瘍浸潤エフェクターリンパ球が阻害レセプターNKG2AおよびPD-1の両方を発現し得るという発見により、処置方法ならびに診断および予測で有用であり得るそのような二重制限/阻害エフェクター細胞を検出する方法が改善される。

【0145】

例えば、生物学的サンプルを個体から(例えば、がん患者から得たがん組織またはがん隣接組織から)得て、NKG2A+PD1+のNK細胞および/またはT細胞の存在に関して分析することができる。例えば、そのような細胞上でのNKG2AおよびPD-1の両方の発現を使用して、NKG2AポリペプチドおよびPD1ポリペプチドの両方により阻害される腫瘍浸潤NK細胞および/または腫瘍浸潤T細胞を有する個体を同定することができる。この方法は、例えば、NKG2Aを中和する薬剤による処置への応答に関する予後予測として、PD1を中和する薬剤による処置への応答に関する予後予測として、またはNKG2Aを中和する薬剤とPD1を中和する薬剤との組合せ処置に関する応答に関する予後予測として有用であることができる。

【0146】

生物学的サンプル内のNKG2AおよびPD-1が制限されたNK細胞および/またはCD8T細胞を検出することはより一般的に、NK細胞および/またはCD8T細胞のキャラクタリゼーションが興味の対象である病理の研究、評価、診断、予後予測および/または予測での使用に利点を有することができる。例えば、腫瘍または腫瘍隣接組織が、NKG2AおよびPD-1の両方を発現する浸潤NK細胞および/または浸潤CD8T細胞

10

20

30

40

50

を特徴とするかどうかを評価することにより、好ましいまたは好ましくないがんの予後予測を行なうことができる。

【0147】

例えば、抗NKG2A抗体および抗PD-1抗体を使用して、患者のがんをキャラクタライズして、または評価して、そのようなNK細胞および/またはCD8T細胞が(がん隣接組織中の)腫瘍周辺で存在するかどうか等の、腫瘍浸潤NK細胞および/または腫瘍浸潤CD8T細胞がNKG2A+PD1+であるかどうかを評価することができる。この方法は、患者が、(例えばNKG2Aおよび/もしくはPD-1またはこれらそれぞれのリガンドHLA-EもしくはPD-L1に結合することにより)NK細胞および/またはCD8T細胞に直接作用するまたは(例えばNK細胞および/もしくはCD8T細胞の活性を調節することができるサイトカインもしくはその他のシグナル伝達分子を産生することにより)NK細胞および/またはCD8T細胞に間接的に作用する治療剤による調節に適している可能性があるNK細胞および/またはCD8T細胞を特徴とする病理を有するかどうかを判定するのに有用であることができる。任意選択で、任意の実施形態では、この患者は、PD-1を中和する薬剤により処置されている。任意選択で、本明細書で説明する方法は、腫瘍浸潤NK細胞および/または腫瘍浸潤CD8T細胞に作用する治療剤による調節に適している可能性がある病理を個体が有すると判定した場合には、そのような治療剤をこの個体に投与することを更に含むことができる。

10

【0148】

一態様では、本発明者らは、NKG2A+PD-1+リンパ球(任意選択でNK細胞またはCD8+T細胞)を検出する*in vitro*での方法であって、腫瘍浸潤リンパ球を含む生物学的サンプルを準備すること、およびこのリンパ球がNKG2AおよびPD-1を発現するかどうかを判定することを含む方法を提供する。

20

【0149】

一態様では、本発明者らは、ヒト個体からのサンプル内におけるNKG2AおよびPD-1を発現する(即ち二重陽性)CD8T細胞またはNK細胞を検出する*in vitro*での方法であって、個体からのサンプルを準備すること、サンプル中においてヒトNKG2Aポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体とヒトPD-1ポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体とを使用して前記サンプル中の細胞を接触させること、およびこれらの抗体の細胞への結合を検出することを含む方法を提供する。一実施形態では、この細胞はCD8T細胞および/またはNK細胞である。

30

【0150】

一態様では、本発明者らは、ヒト個体からのサンプル内においてNKG2AおよびPD-1の両方により阻害される組織浸潤ヒトCD8T細胞および/または組織浸潤ヒトNK細胞を検出する*in vitro*での方法であって、個体からのサンプルを準備すること、サンプル中においてヒトNKG2Aポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体とヒトPD-1ポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体とを使用して前記サンプル中の組織浸潤CD8T細胞および/または組織浸潤NK細胞を検出することであり、NKG2AポリペプチドおよびPD-1ポリペプチドの検出は、NKG2AおよびPD-1が阻害される組織浸潤CD8T細胞および/または組織浸潤NK細胞の存在を示す、検出することを含む方法を提供する。任意選択で、任意の実施形態では、この患者は、PD-1を中和する薬剤により処置されている。一実施形態では、このサンプルは、腫瘍細胞、腫瘍組織または腫瘍隣接組織を含む。一実施形態では、このCD8T細胞および/またはNK細胞を、免疫組織化学法を使用して検出する。一実施形態では、このサンプルはパラフィン包埋サンプルであり、任意選択で、固定し、パラフィン中に包埋し、薄片にし、脱パラフィンし、モノクローナル抗体と接触させる前にスライドに移しているパラフィン包埋サンプルである。一実施形態では、このCD8T細胞および/またはNK細胞を、フローサイトメトリー法を使用して同定する。

40

【実施例】

【0151】

50

実施例 1 - RMA-S 腫瘍細胞および A20 腫瘍細胞は、NKG2A を発現する NK 細胞と NKG2A および / または PD-1 を発現する CD8 T 細胞とに浸潤される

リンパ球は概して、NKG2A および PD-1 を同時発現しないことが分かっている。腫瘍浸潤リンパ球上でこれらのレセプターの発現を調べるために、NKG2A および PD-1 の分布を、マウスからの腫瘍中における NK 細胞および T 細胞のサブセットで研究した。脾臓から、腫瘍所属リンパ節から、および固形腫瘍内からリンパ球を採取した。

【0152】

C57/BL6 マウスに、PDL-1 + Qa-1 + RMA-S 細胞 (Qa-1, Qdm, B2m) または A20 腫瘍細胞を生着させた (sc)。RMA-S Qa-1 Qdm B2m 腫瘍担持マウス (上側の列) および A20 腫瘍担持マウス (下側の列) を、腫瘍体積が約 500 mm³ である場合に屠殺した。

10

【0153】

結果を図 1A および図 1B に示す。腫瘍細胞 (図 1A) および腫瘍浸潤リンパ球 - TIL - (図 1B) を、腫瘍細胞の場合には Qa-1 および PDL-1 の発現に関してならびに TIL の場合には NKG2A および PD-1 の発現に関して、それぞれフローサイトメトリーにより分析した。3 匹の内の 1 匹の代表的なマウスを示す。MFI : 蛍光強度の中央値。

【0154】

両方の腫瘍タイプからの浸潤 NK 細胞の半数超が NKG2A を発現しており、このことは、腫瘍浸潤 NK 細胞が NKG2A により阻害されることを示唆する。NKG2A + NK 細胞は概して、有意な量の PD-1 を発現しなかった。しかしながら、NKG2A および PD-1 の両方に対して陽性である CD8 T 細胞を発見しており、このことは、CD8 T 細胞が阻害レセプター NKG2A および PD-1 の両方により制限され得ることを示唆する。

20

【0155】

実施例 2 - rma-rae1 腫瘍を担持するマウスからの NK 細胞および T 細胞のサブセットは NKG2A および PD1 の同時発現が可能である

レセプター NKG2A および PD-1 の発現を更に調べるために、NKG2A および PD-1 の分布を、マウス中における NK 細胞および T 細胞のサブセットで研究した。脾臓から、腫瘍所属リンパ節から、および固形腫瘍内からリンパ球を採取した。

30

【0156】

C57/BL6 マウスに RMA-Rae クローン 6 (200 万個の細胞) を生着させた (sc)。この腫瘍細胞は、CD94/NKG2A リガンド Qa-1 を発現する。12 日目 (平均腫瘍体積 : 723 mm³、SD : 161 mm³、n = 4) にマウスを屠殺した。脾臓、LN および腫瘍からの細胞懸濁液の調製後、細胞を下記のように染色した : CD3e PerCP Cy5.5、NKP46 Alexa 647、NKG2A / C / E FITC、PD1 PE、CD8 Pacific Blue。

【0157】

結果を、図 2 および表 1 ~ 3 に示す。

【0158】

NK 細胞のサブセットでは、所属リンパ節および脾臓の両方における細胞は、およそ半数が NKG2A 陽性であり、半数が NKG2A 陰性であったが、いずれの場合にも PD1 の有意な発現はなかった。リンパ節からの NK 細胞は NKG2A⁺PD-1⁻ (49.2%) および NKG2A⁻PD-1⁻ (49.5%) であり、NK 細胞の 1% 未満 (平均) が NKG2A⁺PD-1⁺ であった。脾臓からの NK 細胞は NKG2A⁺PD-1⁻ (44.1%) および NKG2A⁻PD-1⁻ (55.7%) であり、NK 細胞の平均 0.1% (平均) が NKG2A⁺PD-1⁺ であった。

40

【0159】

T 細胞のサブセットでは、ほとんどの細胞が NKG2A 陰性であり (リンパ節におけるわずか 1.1% および脾臓における 4.7% が NKG2A⁺ である)、ごく一部の細胞が

50

PD-1⁺であり（リンパ節における3.5%および脾臓における10%がPD-1⁺NKG2A⁻であった）、有意な二重陽性NKG2A⁺PD-1細胞はなかった。リンパ節中におけるT細胞のわずか0.1%（平均）がNKG2A⁺PD-1⁺であり、脾臓中におけるT細胞のわずか0.4%（平均）がNKG2A⁺PD-1⁺であった。リンパ節からのT細胞の95.1%が二重陰性であり、脾臓からのT細胞の85.6%が二重陰性であった。

【0160】

CD8T細胞のサブセットでは、ほとんどの細胞が再びNKG2A陰性であり（リンパ節におけるわずか1.6%および脾臓における3.9%がNKG2A⁺である）、ごく一部の細胞がPD-1⁺であり（リンパ節における1.1%および脾臓における2.5%がPD-1⁺NKG2A⁻であった）、有意な二重陽性NKG2A⁺PD-1細胞はなかった。リンパ節中におけるT細胞のわずか0.2%（平均）がNKG2A⁺PD-1⁺であり、脾臓中におけるT細胞のわずか0.3%（平均）がNKG2A⁺PD-1⁺であった。リンパ節からのT細胞の97.3%が二重陰性であり、脾臓からのT細胞の93.6%が二重陰性であった。

10

【0161】

しかしながら、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）では、全ての細胞サブセットがPD-1を発現する細胞を有した。NK細胞（これまで、PD-1を発現することが有意な割合で見出されなかった）は、NKG2A⁺サブセット内等で、PD-1陽性であることが腫瘍中で観察され、NK細胞の31.8%（平均）がNKG2A⁺PD-1⁺であった。腫瘍の外側のほとんどのCD8T細胞はNKG2A発現を有しなかったが、腫瘍ではPD-1を発現するCD8T細胞の頻度が高かった（腫瘍浸潤CD8T細胞サブセットは、平均して26.3%のNKG2A⁺陽性細胞を有した）。更に、このNKG2A陽性CD8T細胞サブセット内では、細胞のほとんどがNKG2A⁺PD-1⁺であった（19.4%（平均））。更に、CD8⁻T細胞サブセットでは、腫瘍中におけるT細胞のわずか5.1%がNKG2Aを発現し、T細胞のわずか3.6%が二重陽性NKG2A⁺PD-1であったことから、TILと脾臓またはリンパ節細胞との間で観測したNKG2A発現にわずかな差異があった。

20

【0162】

【表1】

表1:脾臓

NK中の%					
	%NK NKG2A- PD1+	%NK NKG2A+ PD1+	%NK NKG2A+ PD1-	%NK NKG2A- PD1-	%NK NKG2A+ PD1-
マウス1					
脾臓	0.064	0.064	41.8	58.1	41.864
マウス2					
脾臓	0.15	0.098	46.1	53.7	46.198
マウス4					
脾臓	0.19	0.19	44.3	55.3	44.49
平均	0.1	0.1	44.1	55.7	44.2
SD	0.1	0.1	2.2	2.2	2.2
Tリンパ球中の%					
	%T NKG2A- PD1+	%T NKG2A+ PD1+	%T NKG2A+ PD1-	%T NKG2A- PD1-	%T NKG2A+ PD1-
マウス1脾臓	8.08	0.38	4.52	87	4.54
マウス2脾臓	9.64	0.32	4.22	85.8	6.25
マウス4脾臓	12.3	0.41	3.21	84.1	3.37
平均	10.0	0.4	4.0	85.6	4.7
SD	2.13	0.05	0.69	1.46	1.45
CD8+Tリンパ球中の%					
	%TCD8+ NKG2A- PD1+	%TCD8+ NKG2A+ PD1+	%TCD8+ NKG2A+ PD1-	%TCD8+ NKG2A- PD1-	%T CD8+ NKG2A+
マウス1脾臓	1.8	0.27	4.68	93.2	4.95
マウス2脾臓	2.08	0.27	3.09	94.6	3.36
マウス4脾臓	3.67	0.48	2.97	92.9	3.45
平均	2.5	0.3	3.6	93.6	3.9
SD	1.01	0.12	0.95	0.91	0.89

【0163】

10

20

30

40

【表 2】

表2:腫瘍所属リンパ節

NK中の%					
	%NK NKG2A- PD1+	%NK NKG2A+ PD1+	%NK NKG2A+ PD1-	% NK NKG2A- PD1-	%NK NKG2A+
マウス1 LN	0.68	0.85	45.10	53.40	45.95
マウス3 LN	0.20	0.40	54.70	44.70	55.10
マウス4 LN	0.61	1.21	47.90	50.30	49.11
平均	0.50	0.82	49.23	49.47	50.05
SD	0.26	0.41	4.94	4.41	4.65
Tリンパ球中の%					
	%T NKG2A- PD1+	% T NKG2A+ PD1+	% T NKG2A+ PD1-	% T NKG2A- PD1-	% T NKG2A+
マウス1 LN	2.8	0.1	1.8	95.3	0.5
マウス3 LN	6.6	0.4	2.4	90.6	0.7
マウス4 LN	2.1	0.0	0.6	97.2	0.6
平均	3.5	0.1	1.3	95.1	1.1
SD	2.1	0.2	0.9	3.1	1.1
CD8+Tリンパ球中の%					
	%TCD8+ NKG2A- PD1+	%TCD8+ NKG2A+ PD1+	%TCD8+ NKG2A+ PD1-	%TCD8+ NKG2A- PD1-	% T CD8+ NKG2A+
マウス1 LN	1.0	0.2	2.0	96.8	2.1
マウス3 LN	2.1	0.6	2.5	94.8	3.1
マウス4 LN	0.6	0.1	0.7	98.6	0.8
平均	1.1	0.2	1.4	97.3	1.6
SD	0.7	0.3	1.0	1.9	1.3

10

20

30

【 0 1 6 4 】

【表 3】

表3:腫瘍浸潤リンパ球

	NL中の%				
	%NK NKG2A-		%NK NKG2A+		%NK NKG2A-
	PD1+	PD1+	PD1-	PD1-	
マウス1 TIL	18.8	25.6	26.6	28.9	52.2
マウス2 TIL	22.8	31	13.5	32.7	44.5
マウス3 TIL	26	38.2	13.8	22	52
マウス4 TIL	24.4	32.5	22.5	20.7	55
平均	23	31.8	19.1	26.1	50.9
SD	3.1	5.2	6.5	5.7	4.5
	Tリンパ球中の%				
	%T NKG2A-		%T NKG2A+		%T NKG2A-
	PD1+	PD1+	PD1-	PD1-	
マウス1 TIL	51.7	4.85	7.8	35.6	2.89
マウス2 TIL	86.5	1.47	1.42	10.7	8.22
マウス3 TIL	75	4.93	3.29	16.8	9.3
マウス4 TIL	66	3.1	6.2	24.7	0
平均	69.8	3.6	4.7	22.0	5.1
SD	14.7	1.6	2.9	10.8	4.4
	CD8+Tリンパ球中の%				
	%TCD8+ NKG2A-		%TCD8+ NKG2A+		%TCD8+ NKG2A- PD1-
	PD1+	PD1+	PD1-	PD1-	
マウス1 TIL	49.5	16	10.8	23.7	26.8
マウス2 TIL	52.2	21.7	4.35	21.7	26.05
マウス3 TIL	44.3	28.6	5.71	21.4	34.31
マウス4 TIL	52.8	11.3	6.6	29.2	17.9
平均	49.7	19.4	6.9	24.0	26.3
SD	3.9	7.5	2.8	3.6	6.7

【0165】

実施例3 - 腫瘍担持マウス中におけるNK G 2 AおよびPD - 1の発現

腫瘍担持マウス中におけるNK G 2 AおよびPD - 1の発現を更に調べるために、C 5 7 / B L 6 マウスに様々な腫瘍細胞、即ちR M A - R a e 1、M C 3 8またはR M A株のいずれかを生着させた(s c)。腫瘍体積の影響を評価するために、マウスの腫瘍が5 0 0、2 0 0 0および8 0 0 m m ³の体積にそれぞれ達した場合にマウスを屠殺した。

【0166】

R M A R a e 1 (上側の列)、M C 3 8 (中央の列)およびR M A (下側の列)での結果を図3 Aおよび図3 Bに示す。NK細胞(図3 A)およびC D 8 T細胞(図3 B)を、NK G 2 AおよびPD - 1の発現に関して、脾臓中における、腫瘍所属リンパ節(L N)中におけるおよび腫瘍中におけるフローサイトメトリーにより分析した。2 ~ 4匹中の1匹の代表的なマウスを示す。

【 0 1 6 7 】

NK細胞サブセットでは、腫瘍中における、リンパ節中におけるおよび脾臓中における細胞はおよそ半数がNK G 2 A陽性であり、半数がNK G 2 A陰性であった。所属リンパ節または脾臓からのNK細胞はいずれも（これらのNK細胞のNK G 2 A発現にかかわらず）、PD 1のあらゆる有意な発現を示さなかった。しかしながら、RMA - R a e 1およびRMAからの腫瘍浸潤NK細胞は、NK G 2 AおよびPD 1の両方を有意なレベルで発現した。特に大きな体積（2000 mm³）で屠殺した腫瘍株MC 3 8からの腫瘍浸潤NK細胞は、NK G 2 Aを発現した（50%）がPD 1を有意に発現しなかった（3%）。

【 0 1 6 8 】

集団のおよそ半分でNK G 2 Aを発現するNK細胞とは異なり、脾臓およびリンパ節からのCD 8 T細胞は概して、NK G 2 AもPD 1も発現しなかった。しかしながら、腫瘍中では、CD 8 T細胞の大部分がNK G 2 AおよびPD 1の両方を発現した（RMA - R a e 1では28%、MC 3 8の43%およびRMAの40%が二重陽性であった）。これらの結果は、腫瘍浸潤CD 8 T細胞および腫瘍浸潤NK細胞が阻害レセプターNK G 2 AおよびPD 1の両方により制限され得、更に腫瘍細胞の種類の違いを超えて制限され得ることを再び示唆する。

【 0 1 6 9 】

実施例 4 - 抗PD - 1 m A bによる処置により、腫瘍中におけるNK G 2 A発現CD 8 T細胞の頻度が増加する

抗PD - 1抗体による処置のCD 8 T細胞への効果を評価するために、細胞の生着から11日後、14日後および17日後に、MC 3 8腫瘍担持マウスを、200 μgのラットIg G 2アイソタイプコントロール（IC）または中和抗マウスPD - 1モノクローナル抗体のいずれかで処置した。マウス（n = 3 / 群）を31日目に屠殺し、脾臓中において、腫瘍所属リンパ節（LN）中においておよび腫瘍中においてフローサイトメリーによりCD 8 T細胞をキャラクタライズした。CD 8 T細胞におけるCD 8 NK G 2 A +の割合の平均+ / - SD（n = 3）を表す。P < 0 . 0 0 5（* * *）、P < 0 . 0 0 0 5（* * * *）、統計的分析を、Two way ANOVA後のT u k e yの多重比較検定で実施した。

【 0 1 7 0 】

結果を図4に示す。その他の発現で観測されたものと同様に、リンパ節の脾臓からのCD 8 T細胞はNK G 2 Aを有意に発現しなかった。抗PD 1抗体を投与しても、脾臓またはリンパ節のT細胞中におけるNK G 2 A発現のレベルのいかなる変化も生じなかった。しかしながら、腫瘍浸潤CD 8 T細胞集団では、抗PD 1抗体の投与により、NK G 2 A発現CD 8 T細胞の50%超の増加が生じた。これらの結果は、抗PD 1抗体による処置時に、NK G 2 Aレセプターは*in vivo*での腫瘍に対するCD 8 T細胞応答の阻害への寄与が増加し得ることを示唆する。従って、NK G 2 Aの中和は、抗PD 1抗体または抗PD L 1抗体等のPD - 1軸を中和する薬剤で処置した個体中におけるNK G 2 A制限T細胞の阻害を元に戻すのに有用であることができる。

【 0 1 7 1 】

実施例 5 - 組合せ抗NK G 2 A / 抗PD - 1遮断は腫瘍増殖を阻害する

中和抗PD 1抗体および中和抗NK G 2 A抗体による組合せ処置の効果を評価するために、C 5 7 B L / 6マウスにRMA - S Q a - 1 Q d m B 2 m腫瘍細胞を生着させ（s c）、中和抗PD 1剤（中和抗PD - L 1抗体）および中和抗NK G 2 A抗体で処置した。

【 0 1 7 2 】

簡潔に言うと、RMA - S Q a - 1 Q d m B 2 m腫瘍体積が約85 mm³（n = 8のマウス / 群）である11日目にC 5 7 B L / 6マウスを無作為化し、11日目、14日目および18日目に、アイソタイプコントロール、抗マウスNK G 2 A m A b（200 μg、i v）、抗マウスPD - L 1 m A b（200 μg、i p）または抗mNK G 2 A /

10

20

30

40

50

m P D L - 1 組合せで処置した。腫瘍体積をカリパスで 1 週間に 2 回測定した。腫瘍が大きくなった場合に (体積 > 2 0 0 0 m m ³)、潰瘍化した場合に、または壊死した場合に、動物を安楽死させた。データは、1 回の実験当たりの腫瘍体積の中央値を表す。

【 0 1 7 3 】

経時的な腫瘍体積の中央値の進展を図 5 に示す。このモデルにおいて、抗 N K G 2 A ではアイソタイプコントロールと比較して控えめな抗腫瘍効果のみが得られ、抗 P D - L 1 では相当な抗腫瘍効果が得られたが、腫瘍体積は 2 8 日頃に増加し、抗 N K G 2 A および抗 P D - L 1 の組合せ処置では腫瘍増殖が完全に消失し、2 8 日目に観測した腫瘍体積において有意な増加はなかった。

【 0 1 7 4 】

本明細書で引用した、刊行物、特許出願および特許を含む全ての参考文献は、それらの参考文献の全体が参照により本明細書に援用され、ならびに本明細書の他の箇所で行なわれた、いかなる別途記載された特定の文献の援用にもかかわらず、それらの参考文献が参照により援用されると個々におよび具体的に指示されたかのようにおよび (法的に認められる最大限まで) その全体が本明細書に記載されたのと同程度まで、本明細書に援用される。

【 0 1 7 5 】

本発明を説明する文脈における用語「 a 」および「 a n 」および「 t h e 」および類似の指示語の使用は、本明細書において別途指示しない限りまたは文脈により明らかに否定されない限り、単数および複数の両方をカバーすると解釈しなければならない。

【 0 1 7 6 】

別途明記しない限り、本明細書で提供される全ての正確な値は、対応する近似値の代表である (例えば、特定の因子または測定値に関して提供される全ての正確な例示的値は、必要に応じて「約」で修飾される、対応する近似の測定値も提供するとみなすことができる)。「約」が数字との組合せで使用される場合、このことは、指定した数字の + / - 1 0 % に対応する値を含むように指定され得る。

【 0 1 7 7 】

要素に関して「含む (c o m p r i s i n g)」、「有する」、「含む (i n c l u d i n g)」または「含む (c o n t a i n i n g)」等の用語を使用する本発明の任意の態様または実施形態の本明細書における説明は、別途明記しない限りまたは文脈により明らかに否定されない限り、この特定の要素「からなる」、「から本質的になる」または「を実質的に含む」本発明の類似の態様または実施形態への支持を提供することが意図されている (例えば、特定の要素を含むと本明細書で説明されている組成物は、別途明記しない限りまたは文脈により明らかに否定されない限り、その要素からなる組成物も説明すると理解すべきである)。

【 0 1 7 8 】

本明細書において提供される任意のおよび全ての実施例または例示的な言葉 (例えば「等」) の使用は、本発明をより明らかにすることのみが意図されており、別途主張しない限り本発明の範囲の限定を提示しない。本明細書における言葉は、特許請求されていない任意の要素を本発明の実施に必須であるとして示すと解釈すべきではない。

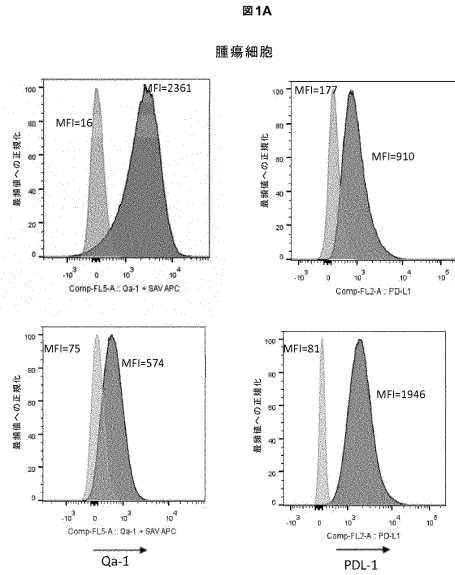
10

20

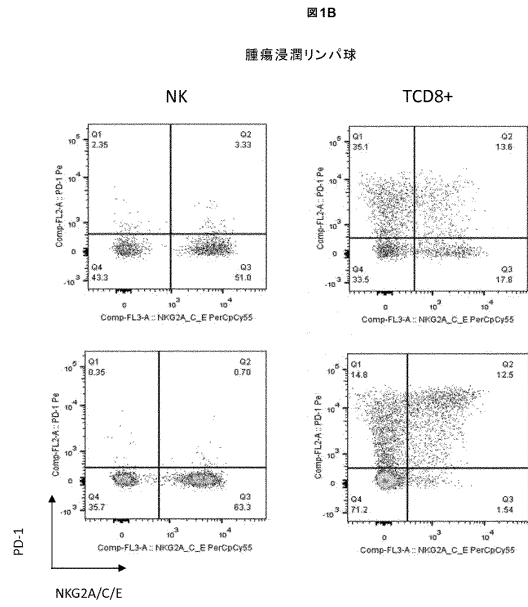
30

40

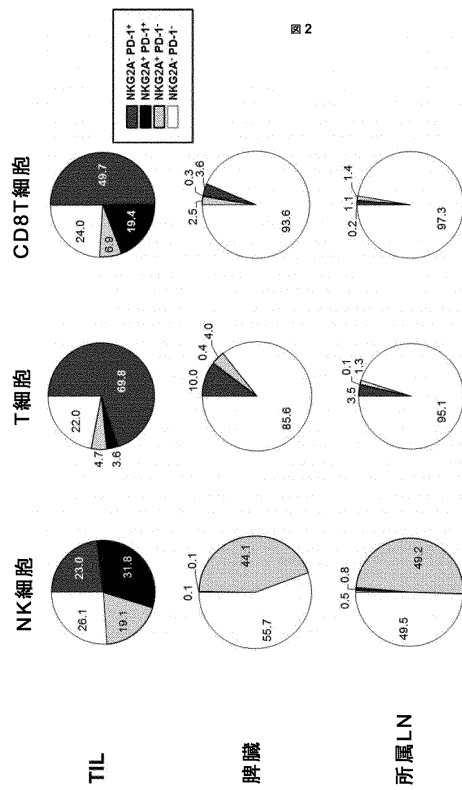
【 図 1 A 】



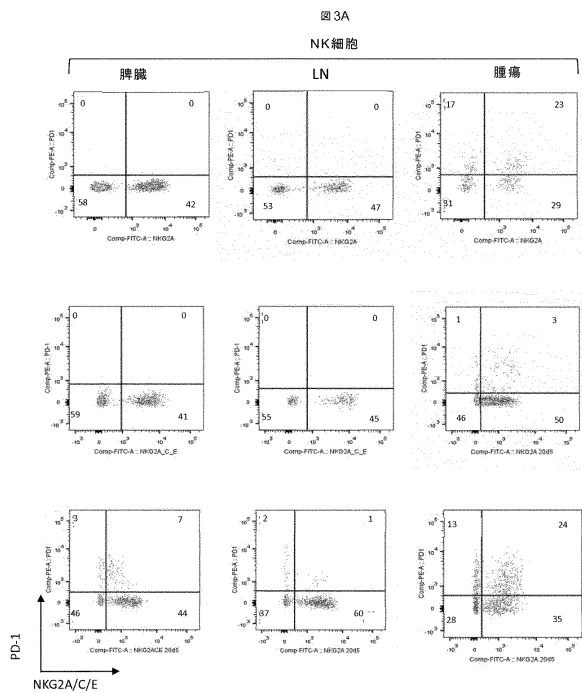
【 図 1 B 】



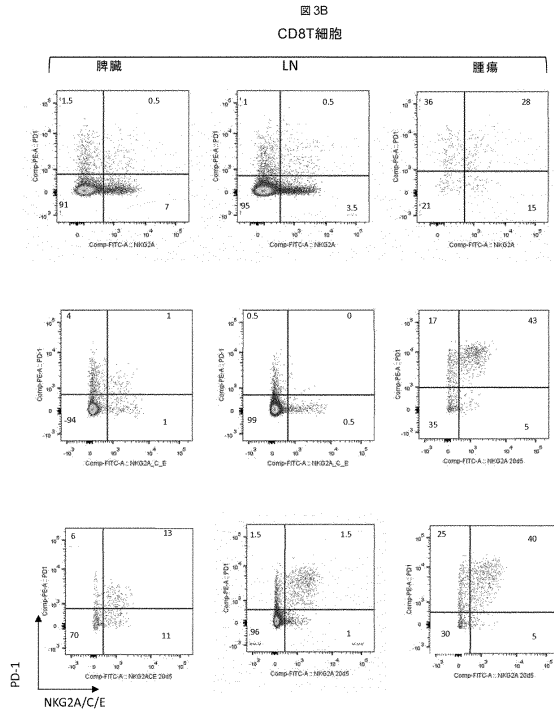
【 図 2 】



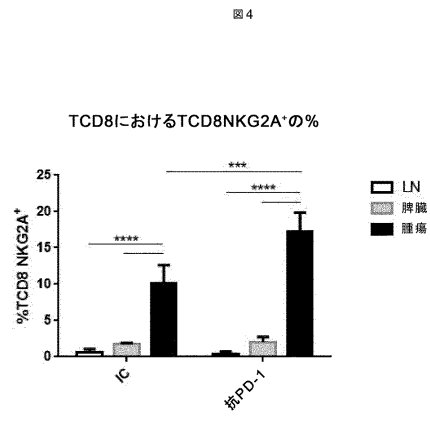
【 図 3 A 】



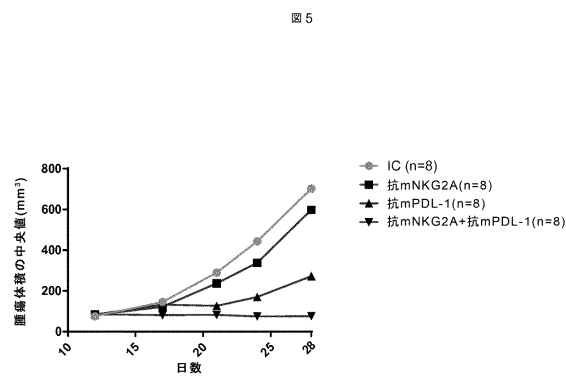
【 図 3 B 】



【 図 4 】



【 図 5 】



【配列表】

0006767362000001.app

フロントページの続き

- (31)優先権主張番号 62/093,141
(32)優先日 平成26年12月17日(2014.12.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

- (72)発明者 パスカル・アンドレ
フランス、エフ - 1 3 0 0 6 マルセイユ、リュ・ドゥ・ラ・ルービエール3 8 番
(72)発明者 マチュー・ブルリー
フランス、エフ - 1 3 0 0 9 マルセイユ、ブルヴァール・デュ・ヴェソー5 0 番、レ・ゾー・ド
ゥ・マザルギユ・パティマン・デ4
(72)発明者 カリーヌ・パトゥレル
フランス、エフ - 6 9 2 8 0 マルシー・レトワール、アレ・デュ・ボワ4 1 1 番
(72)発明者 ニコライ・ヴァクトマン
フランス、エフ - 1 3 2 6 0 カシス、アブニュ・ ジョゼフ・リオトー1 6 番

審査官 菊池 美香

- (56)参考文献 特表2 0 0 8 - 5 2 5 5 2 0 (J P , A)
特表2 0 1 4 - 5 1 9 5 2 2 (J P , A)
特表2 0 1 2 - 5 0 3 9 8 4 (J P , A)
innate pharma R&D Update [online], April 10, 2014, [検索日 2019.3.15], internet:<URL:
http://innate-pharma.com/sites/default/files/140410_rd_day_final_0.pdf>

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 9 / 3 9 5
A 6 1 P 3 5 / 0 0
A 6 1 P 3 5 / 0 2
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)