(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2018-520993
(P2018-520993A)
(43)公表日　平成30年8月2日(2018.8.2)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4B064
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA	4B065
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C084
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C085
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4C086

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 174 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-557938 (P2017-557938)
(86)(22)出願日　平成28年5月6日 (2016.5.6)
(85)翻訳文提出日　平成29年12月27日 (2017.12.27)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/031257
(87)国際公開番号　WO2016/179517
(87)国際公開日　平成28年11月10日 (2016.11.10)
(31)優先権主張番号　62/158,515
(32)優先日　平成27年5月7日 (2015.5.7)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　62/161,198
(32)優先日　平成27年5月13日 (2015.5.13)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　62/262,373
(32)優先日　平成27年12月2日 (2015.12.2)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　515124598
アジェナス　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４２１，　レキシントン，　フォーブスロード　３
(71)出願人　516029470
ルドウイグ　インスティテュート　フォー　キャンサー　リサーチ　エルティーディー
スイス国　シーエイチ－８００１　チューリッヒ　スタデルホフェルストラッセ　２２

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗ＯＸ４０抗体及びその使用方法

(57)【要約】
本開示は、ヒトＯＸ４０受容体（ＯＸ４０）に特異的に結合する抗体及びかかる抗体を含む組成物を提供する。ある具体的な態様において、この抗体はヒトＯＸ４０に特異的に結合し、且つＯＸ４０活性を調節する、例えば、ＯＸ４０活性を増強するか、活性化するか、若しくは誘導し、又はＯＸ４０活性を低下させるか、不活性化するか、若しくは阻害する。本開示はまた、ヒトＯＸ４０に特異的に結合し、且つＯＸ４０活性を調節する、例えば、ＯＸ４０活性を増強するか、活性化するか、又は誘導する抗体を投与することにより、癌などの障害を治療する方法も提供する。また、ヒトＯＸ４０に特異的に結合し、且つＯＸ４０活性を調節する、例えば、ＯＸ４０活性を低下させるか、不活性化するか、又は阻害する抗体を投与することにより、自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法も提供される。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、
（ａ）重鎖可変領域であって、
ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域１（ＣＤＲ１）と、
ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含む重鎖ＣＤＲ２と、
ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含む重鎖ＣＤＲ３と
を含む重鎖可変領域と、
（ｂ）軽鎖可変領域であって、
ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ１と、
ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ２と、
ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ３と
を含む軽鎖可変領域と
を含む単離抗体。
【請求項２】
前記重鎖可変領域が配列番号１６のアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の抗体。
【請求項３】
配列番号６０～６３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖配列を含む、請求項１又は２に記載の抗体。
【請求項４】
前記軽鎖可変領域が配列番号１５のアミノ酸配列を含む、請求項１～３のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項５】
配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖配列を含む、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項６】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、重鎖可変領域と軽鎖可変領域とを含み、前記重鎖可変領域が配列番号１６のアミノ酸配列を含む、単離抗体。
【請求項７】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、重鎖可変領域と軽鎖可変領域とを含み、前記軽鎖可変領域が配列番号１５のアミノ酸配列を含む、単離抗体。
【請求項８】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、
（ａ）配列番号１６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、
（ｂ）配列番号１５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と
を含む単離抗体。
【請求項９】
（ａ）配列番号６０のアミノ酸配列を含む重鎖と、
（ｂ）配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖と
を含む、請求項８に記載の抗体。
【請求項１０】
（ａ）配列番号６１のアミノ酸配列を含む重鎖と、
（ｂ）配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖と
を含む、請求項８に記載の抗体。
【請求項１１】
（ａ）配列番号６２又は６３のアミノ酸配列を含む重鎖と、
（ｂ）配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖と

を含む、請求項８に記載の抗体。
【請求項１２】
重鎖及び／又は軽鎖定常領域を更に含む、請求項１、２、４、又は６～８のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１３】
前記重鎖定常領域が、ヒト免疫グロブリンＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$、及びＩｇＡ$_2$からなる群から選択される、請求項１２に記載の抗体。
【請求項１４】
前記ＩｇＧ$_1$が非フコシル化ＩｇＧ$_1$である、請求項１３に記載の抗体。
【請求項１５】
ＩｇＧ$_1$のアミノ酸配列がＮ２９７Ａ突然変異又はＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む、請求項１３に記載の抗体。
【請求項１６】
ＩｇＧ$_1$のアミノ酸配列がＮ２９７Ｑ突然変異を含む、請求項１３に記載の抗体。
【請求項１７】
ＩｇＧ$_4$のアミノ酸配列がＳ２２８Ｐ突然変異を含む、請求項１３に記載の抗体。
【請求項１８】
ＩｇＧ$_2$のアミノ酸配列がＣ１２７Ｓ突然変異を含む、請求項１３に記載の抗体。
【請求項１９】
前記重鎖定常領域が、配列番号６４～７１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１３に記載の抗体。
【請求項２０】
前記軽鎖定常領域が、ヒト免疫グロブリンＩｇＧκ及びＩｇＧλからなる群から選択される、請求項１２～１９のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項２１】
ヒト抗体である、請求項１～２０のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項２２】
請求項１～２１のいずれか一項に記載の抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに結合する単離抗体。
【請求項２３】
アゴニスト性である、請求項１～２２のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項２４】
ヒトＯＸ４０の活性を活性化するか、増強するか、又は誘導する、請求項１～２３のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項２５】
ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を誘導する、請求項１～２４のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項２６】
前記ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖が前記抗体の濃度の実質的増加関数である、請求項２５に記載の抗体。
【請求項２７】
前記ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖がシグモイド用量反応曲線を示す、請求項２５に記載の抗体。
【請求項２８】
抗ＣＤ３刺激末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）によるＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、又はこれらの組み合わせの産生を誘導する、請求項１～２７のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項２９】
抗ＣＤ３刺激ＰＢＭＣによるＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、前記ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生が前記抗体の前記濃度の実質

的増加関数である、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３０】
抗ＣＤ３刺激ＰＢＭＣによるＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、前記ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生がシグモイド用量反応曲線を示す、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３１】
ＳＥＡ刺激末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）によるＩＬ－２産生を誘導し、且つＳＥＡ刺激ＰＢＭＣによるＩＬ－１０産生を抑制する、請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３２】
ＳＥＡ刺激ＰＢＭＣによるＩＬ－２産生を誘導し、前記ＩＬ－２産生が前記抗体の前記濃度の実質的増加関数である、請求項１～３１のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３３】
ＳＥＡ刺激ＰＢＭＣによるＩＬ－２産生を誘導し、前記ＩＬ－２産生がシグモイド用量反応曲線を示す、請求項１～３１のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３４】
調節性Ｔ細胞によるエフェクターＴ細胞の抑制を軽減する、請求項１～３３のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３５】
エフェクターＴ細胞と調節性Ｔ細胞との共培養によるＩＬ－２産生を誘導し、且つエフェクターＴ細胞と調節性Ｔ細胞との共培養によるＩＬ－１０産生を抑制する、請求項１～３４のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３６】
検出可能標識を更に含む、請求項１～３５のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項３７】
請求項１～３６のいずれか一項に記載の抗体の前記重鎖可変領域又は重鎖をコードする単離核酸分子。
【請求項３８】
請求項１～３６のいずれか一項に記載の抗体の前記軽鎖可変領域又は軽鎖をコードする単離核酸分子。
【請求項３９】
請求項１～３６のいずれか一項に記載の抗体の前記重鎖可変領域又は重鎖と、請求項１～３６のいずれか一項に記載の抗体の前記軽鎖可変領域又は軽鎖とをコードする単離核酸分子。
【請求項４０】
配列番号１６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域をコードする、請求項３７又は３９に記載の単離核酸分子。
【請求項４１】
配列番号１５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をコードする、請求項３８又は３９に記載の単離核酸分子。
【請求項４２】
請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子を含む単離ベクター。
【請求項４３】
請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項４２に記載のベクター、又は請求項３７若しくは４０に記載の核酸を含む第１のベクター及び請求項３８若しくは４１に記載の核酸を含む第２のベクターを含む宿主細胞。
【請求項４４】
大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）、シュードモナス属（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ）、バチルス属（Ｂａｃｉｌｌｕｓ）、ストレプトミセス属（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）、酵母、ＣＨ

Ｏ、ＹＢ／２０、ＮＳ０、ＰＥＲ－Ｃ６、ＨＥＫ－２９３Ｔ、ＮＩＨ－３Ｔ３、ＨｅＬａ、ＢＨＫ、Ｈｅｐ　Ｇ２、ＳＰ２／０、Ｒ１．１、Ｂ－Ｗ、Ｌ－Ｍ、ＣＯＳ１、ＣＯＳ７、ＢＳＣ１、ＢＳＣ４０、ＢＭＴ１０細胞、植物細胞、昆虫細胞、及び組織培養下のヒト細胞からなる群から選択される、請求項４３に記載の宿主細胞。

【請求項４５】

ヒトＯＸ４０に結合する抗体を作製する方法であって、請求項４３又は４４に記載の宿主細胞を、前記核酸分子が発現され、及び前記抗体が産生されるように培養するステップを含む方法。

【請求項４６】

ヒトＯＸ４０に特異的に結合し、且つ請求項３７～４１のいずれか一項に記載の単離核酸分子によってコードされる単離抗体。

【請求項４７】

請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体と、薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物。

【請求項４８】

請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体、請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項４２に記載のベクター、又は請求項４３若しくは４４に記載の宿主細胞と、薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物。

【請求項４９】

対象の免疫応答を調節する方法であって、請求項１～３６若しくは４６のいずれか一項に記載の抗体、請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項４２に記載のベクター、請求項４３若しくは４４に記載の宿主細胞、又は請求項４７若しくは４８に記載の医薬組成物の有効量を前記対象に投与するステップを含む方法。

【請求項５０】

免疫応答を調節することが、前記対象の前記免疫応答を増強又は誘導することを含む、請求項４９に記載の方法。

【請求項５１】

対象のＴ細胞拡大及びＴ細胞エフェクター機能を増強する方法であって、請求項１～３６若しくは４６のいずれか一項に記載の抗体、請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項４２に記載のベクター、請求項４３若しくは４４に記載の宿主細胞、又は請求項４７若しくは４８に記載の医薬組成物の有効量を前記対象に投与するステップを含む方法。

【請求項５２】

対象の癌を治療する方法であって、請求項１～３６若しくは４６のいずれか一項に記載の抗体、請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項４２に記載のベクター、請求項４３若しくは４４に記載の宿主細胞、又は請求項４７若しくは４８に記載の医薬組成物の有効量を前記対象に投与するステップを含む方法。

【請求項５３】

前記癌が、黒色腫、腎癌、前立腺癌、結腸癌、及び肺癌からなる群から選択される、請求項５２に記載の方法。

【請求項５４】

インドールアミン－２，３－ジオキシゲナーゼ（ＩＤＯ）の阻害薬を前記対象に投与するステップを更に含む、請求項５２又は５３に記載の方法。

【請求項５５】

前記阻害薬が、エパカドスタット、Ｆ００１２８７、インドキシモド、及びＮＬＧ９１９からなる群から選択される、請求項５４に記載の方法。

【請求項５６】

前記阻害薬がエパカドスタットである、請求項５５に記載の方法。

【請求項５７】

前記阻害薬がＦ００１２８７である、請求項５５に記載の方法。

【請求項５８】
前記阻害薬がインドキシモドである、請求項５５に記載の方法。
【請求項５９】
前記阻害薬がＮＬＧ９１９である、請求項５５に記載の方法。
【請求項６０】
前記対象にワクチンを投与するステップを更に含む、請求項５２又は５３に記載の方法。
【請求項６１】
前記ワクチンが、抗原ペプチドと複合体を形成している熱ショックタンパク質を含む熱ショックタンパク質ペプチド複合体（ＨＳＰＰＣ）を含む、請求項６０に記載の方法。
【請求項６２】
前記熱ショックタンパク質がｇｐ９６タンパク質であり、且つ腫瘍関連抗原ペプチドと複合体を形成しており、前記ＨＳＰＰＣが、対象から得られた腫瘍に由来する、請求項６１に記載の方法。
【請求項６３】
前記熱ショックタンパク質がｈｓｐ７０又はｈｓｃ７０タンパク質であり、且つ腫瘍関連抗原ペプチドと複合体を形成している、請求項６１に記載の方法。
【請求項６４】
前記対象がヒトである、請求項４９～６３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６５】
試料中のＯＸ４０を検出する方法であって、請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体に前記試料を接触させるステップを含む方法。
【請求項６６】
請求項１～３６若しくは４６のいずれか一項に記載の抗体、請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項４２に記載のベクター、請求項４３若しくは４４に記載の宿主細胞、又は請求項４７若しくは４８に記載の医薬組成物と、ａ）検出試薬、ｂ）ＯＸ４０抗原、ｃ）ヒト投与への使用若しくは販売の認可を反映する通知、又はｄ）これらの組み合わせとを含むキット。
【請求項６７】
ヒト免疫グロブリンIgG_1重鎖定常領域を含み、前記IgG_1重鎖定常領域のアミノ酸配列が、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異又はＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む、請求項１２、１３、２０～２２、３６、又は４６のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項６８】
前記抗体と変異ＯＸ４０との間の結合が、前記抗体と配列番号５５のヒトＯＸ４０配列との間の結合と比べて実質的に弱まり、前記変異ＯＸ４０が、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異を除いて、配列番号５５の配列を含む、請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項６９】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、前記抗体と変異ＯＸ４０との間の結合が、前記抗体と配列番号５５のヒトＯＸ４０配列との間の結合と比べて実質的に弱まり、前記変異ＯＸ４０が、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異を除いて、配列番号５５の配列を含む、単離抗体。
【請求項７０】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、前記抗体と変異ＯＸ４０との間の結合が、前記抗体と配列番号５５のヒトＯＸ４０配列との間の結合と比べて実質的に弱まり、前記変異ＯＸ４０が、アミノ酸突然変異Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、

Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａを除いて、配列番号５５の配列を含む、単離抗体。

【請求項７１】

配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する、請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項７２】

ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する単離抗体。

【請求項７３】

ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、アミノ酸突然変異Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａの存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する単離抗体。

【請求項７４】

６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の残基を含むヒトＯＸ４０配列のエピトープに特異的に結合する、請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項７５】

ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の残基を含むヒトＯＸ４０配列のエピトープに特異的に結合する単離抗体。

【請求項７６】

ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、配列番号５５の残基５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５を含むヒトＯＸ４０配列のエピトープに特異的に結合する単離抗体。

【請求項７７】

６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の少なくとも１つの残基に特異的に結合する、請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項７８】

ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の少なくとも１つの残基に特異的に結合する単離抗体。

【請求項７９】

配列番号５５の残基５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５に特異的に結合する、請求項１～３６又は４６のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項８０】

ヒト免疫グロブリンＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、前記ＩｇＧ$_1$重鎖定常領域のアミノ酸配列が、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異又はＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む、請求項６８～７９のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項８１】

請求項１、２、４、６～８、２１、２２、又は６８～７９のいずれか一項に記載の重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、及びｓｃＦｖ断片からなる群から選択される単離抗体。

【請求項８２】
１つの重鎖及び１つの軽鎖を含む、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、前記重鎖及び軽鎖が、それぞれ請求項１、２、４、６～８、２１、２２、又は６８～７９のいずれか一項に記載の重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む、単離抗体。
【請求項８３】
ヒト免疫グロブリンＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を更に含み、前記ＩｇＧ$_1$重鎖定常領域のアミノ酸配列が、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異又はＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む、請求項８２に記載の抗体。
【請求項８４】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、
（ａ）ヒトＯＸ４０に特異的に結合する第１の抗原結合ドメインと、
（ｂ）ヒト免疫細胞によって発現される抗原に特異的に結合しない第２の抗原結合ドメインと
を含む単離抗体。
【請求項８５】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、
（ａ）ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域（ＣＤＲ）１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３とを含む第１の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）と、
（ｂ）ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３とを含む第１の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）と
を含む、請求項８４に記載の抗体。
【請求項８６】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬを含む抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに特異的に結合する、請求項８４に記載の抗体。
【請求項８７】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する、請求項８４に記載の抗体。
【請求項８８】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインがＶＨとＶＬとを含み、前記ＶＨが配列番号１６のアミノ酸配列を含む、請求項８４に記載の抗体。
【請求項８９】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインがＶＨとＶＬとを含み、前記ＶＬが配列番号１５のアミノ酸配列を含む、請求項８４に記載の抗体。
【請求項９０】
前記第２の抗原結合ドメインが非ヒト抗原に特異的に結合する、請求項８４～８９のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項９１】
前記第２の抗原結合ドメインがウイルス抗原に特異的に結合する、請求項８４～８９のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項９２】
前記ウイルス抗原がＨＩＶ抗原である、請求項９１に記載の抗体。

【請求項９３】
前記第２の抗原結合ドメインがニワトリアルブミン又は鶏卵リゾチームに特異的に結合する、請求項８４～９０のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項９４】
ＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であって、
（ａ）第１の重鎖と軽鎖とを含む、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインと、
（ｂ）第２の重鎖又はその断片と
を含む単離抗体。
【請求項９５】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、
（ａ）ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域（ＣＤＲ）１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３とを含む第１の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）と、
（ｂ）ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３とを含む第１の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）と
を含む、請求項９４に記載の抗体。
【請求項９６】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬを含む抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに特異的に結合する、請求項９４に記載の抗体。
【請求項９７】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する、請求項９４に記載の抗体。
【請求項９８】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインがＶＨとＶＬとを含み、前記ＶＨが配列番号１６のアミノ酸配列を含む、請求項９４に記載の抗体。
【請求項９９】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインがＶＨとＶＬとを含み、前記ＶＬが配列番号１５のアミノ酸配列を含む、請求項９４に記載の抗体。
【請求項１００】
前記第２の重鎖の前記断片がＦｃ断片である、請求項９４～９９のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０１】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は９９％同一のアミノ酸配列を含むＶＨを含む、請求項８４～１００のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０２】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨを含む、請求項８４～１０１のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０３】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、ヒトＩＧＨＶ３－７３生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を含むＶＨを含む、請求項８４～１０１のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項１０４】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は９９％同一のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、請求項８４～１０３のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０５】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む、請求項８４～１０４のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０６】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、請求項８４～１０５のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０７】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項８４～１０６のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０８】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号５０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項８４～１０７のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１０９】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、ヒトＩＧＫＶ２－２８生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を含むＶＬを含む、請求項８４～１０３のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１０】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、それぞれ配列番号１６及び１５に示されるＶＨ及びＶＬ配列を含む、請求項８４～１０２のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１１】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメインが、配列番号６０のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項８４～１１０のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１２】
前記第１の抗原結合ドメイン及び前記第２の抗原結合ドメインが、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異又はＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む、請求項８４～９３又は１０１～１１１のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１３】
ヒトＯＸ４０に特異的に結合する前記抗原結合ドメイン及び前記第２の重鎖又はその断片が、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異又はＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む、請求項９４～１１１のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１４】
ヒトＯＸ４０に対してアンタゴニスト性である、請求項６７又は８０～１１３のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１５】
ヒトＯＸ４０の活性を不活性化するか、低下させるか、又は阻害する、請求項６７又は８０～１１４のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１６】
ヒトＯＸ４０のヒトＯＸ４０リガンドへの結合を阻害するか又は低下させる、請求項６７又は８０～１１５のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１７】
ヒトＯＸ４０シグナル伝達を阻害するか又は低下させる、請求項６７又は８０～１１６のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項１１８】
ヒトＯＸ４０リガンドによって誘導されるヒトＯＸ４０シグナル伝達を阻害するか又は低下させる、請求項６７又は８０～１１７のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１１９】
検出可能標識を更に含む、請求項６７又は８０～１１８のいずれか一項に記載の抗体。
【請求項１２０】
請求項６７又は８０～１１９のいずれか一項に記載の抗体と、薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物。
【請求項１２１】
対象の免疫応答を調節する方法であって、請求項１～３６若しくは４６、６７若しくは８０～１１９のいずれか一項に記載の抗体又は請求項１２０に記載の医薬組成物の有効量を前記対象に投与するステップを含む方法。
【請求項１２２】
免疫応答を調節することが、前記対象の前記免疫応答を低下させるか又は阻害することを含む、請求項１２０に記載の方法。
【請求項１２３】
対象の自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法であって、請求項１～３６若しくは４６、６７若しくは８０～１１９のいずれか一項に記載の抗体又は請求項１１８に記載の医薬組成物の有効量を前記対象に投与するステップを含む方法。
【請求項１２４】
前記疾患又は障害が、移植片拒絶反応、脈管炎、喘息、関節リウマチ、皮膚炎、炎症性腸疾患、ブドウ膜炎、及びループスからなる群から選択される、請求項１２３に記載の方法。
【請求項１２５】
前記対象がヒトである、請求項１２１～１２４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２６】
対象の感染症を治療する方法であって、請求項１～３６若しくは４６、６７若しくは８０～１１９のいずれか一項に記載の抗体、請求項３７～４１のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項４２に記載のベクター、請求項４３若しくは４４に記載の宿主細胞、又は請求項４７、４８若しくは１２０のいずれか一項に記載の医薬組成物の有効量を前記対象に投与するステップを含む方法。
【請求項１２７】
チェックポイントターゲティング剤を前記対象に投与するステップを更に含む、請求項５２又は５３に記載の方法。
【請求項１２８】
前記チェックポイントターゲティング剤が、アンタゴニスト抗ＰＤ－１抗体、アンタゴニスト抗ＰＤ－Ｌ１抗体、アンタゴニスト抗ＰＤ－Ｌ２抗体、アンタゴニスト抗ＣＴＬＡ－４抗体、アンタゴニスト抗ＴＩＭ－３抗体、アンタゴニスト抗ＬＡＧ－３抗体、アンタゴニスト抗ＣＥＡＣＡＭ１抗体、アゴニスト抗ＧＩＴＲ抗体、アゴニスト抗ＣＤ１３７抗体、及びアゴニスト抗ＯＸ４０抗体からなる群から選択される、請求項１２７に記載の方法。
【請求項１２９】
試料中のＯＸ４０を検出する方法であって、請求項６７又は８０～１１９のいずれか一項に記載の抗体に前記試料を接触させるステップを含む方法。
【請求項１３０】
請求項６７若しくは８０～１１９のいずれか一項に記載の抗体又は請求項１１８に記載の医薬組成物と、ａ）検出試薬、ｂ）ＯＸ４０抗原、ｃ）ヒト投与への使用若しくは販売の認可を反映する通知、又はｄ）これらの組み合わせとを含むキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】

【０００１】
配列表
本願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出された配列表を含み、この配列表は本明細書によって全体として参照により援用される（２０１６年５月５日に作成された前記ＡＳＣＩＩ複製物は、名称３６１７＿００３ＰＣ０４＿ＳＴ２５．ｔｘｔ、サイズが１２０，９２７バイトである）。
【０００２】
本開示は、ヒトＯＸ４０受容体（「ＯＸ４０」）に特異的に結合する抗体、かかる抗体を含む組成物、並びにＯＸ４０に特異的に結合する抗体を作製及び使用する方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
ヒト腫瘍成長の制御における自然及び適応免疫応答の寄与は十分に特徴付けられている（Ｖｅｓｅｌｙ ＭＤ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２９：２３５－２７１）。結果として、Ｔ細胞が発現する刺激受容体をアゴニスト抗体で標的化したり、又は抑制性受容体を機能性アンタゴニストで標的化したりするなど、癌療法のためにＴ細胞応答を増強することを目的とした抗体ベースの戦略が出現している（Ｍｅｌｌｍａｎ Ｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｎａｔｕｒｅ ４８０：４８０－４８９）。抗体介在性アゴニスト及びアンタゴニスト手法は、前臨床活性及び最近では臨床活性を示している。Ｔ細胞、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、及びＮＫ細胞機能を調節する重要な刺激受容体は、ＯＸ４０受容体である（ＯＸ４０、ＣＤ１３４、ＴＮＦＲＳＦ４、ＴＸＧＰ１Ｌ、ＡＣＴ３５、及びＡＣＴ－４としても知られる）（Ｓｕｇａｍｕｒａ Ｋ ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ ４：４２０－４３１）。ＯＸ４０は腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー（ＴＮＦＲＳＦ）のメンバーであり、ＯＸ４０を介したシグナル伝達は重要な免疫機能を調節し得る。
【０００４】
ＯＸ４０は、コグネイトペプチドが負荷されたＭＨＣクラスＩ又はＩＩ分子を提示するプロフェッショナル抗原提示細胞（ＡＰＣ）によるＴ細胞受容体（ＴＣＲ）刺激後に抗原特異的Ｔ細胞によって上方制御され得る（Ｓｕｇａｍｕｒａ Ｋ ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ ４：４２０－４３１）。樹状細胞（ＤＣ）などのＡＰＣは、成熟すると、刺激Ｂ７ファミリーメンバー（例えば、ＣＤ８０及びＣＤ８６）、並びにＯＸ４０リガンド（ＯＸ４０Ｌ）を含めたアクセサリー共刺激分子（Ｔ細胞免疫応答の反応速度及び規模並びに有効な記憶細胞分化を整えることを促進する）を上方制御する。特に、他の細胞型、例えば、Ｂ細胞、血管内皮細胞、マスト細胞、及び場合により活性化Ｔ細胞も構成的及び／又は誘導的レベルのＯＸ４０Ｌを発現し得る（Ｓｏｒｏｏｓｈ Ｐ ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １７６：５９７５－５９８７）。ＯＸ４０：ＯＸ４０Ｌ共会合は、より高次の受容体三量体クラスター形成及び続くシグナル伝達を駆動すると考えられている（Ｃｏｍｐａａｎ ＤＭ ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ １４：１３２１－１３３０）。
【０００５】
腫瘍微小環境内のＴ細胞によるＯＸ４０発現がマウス及びヒト腫瘍組織で観察されている（Ｂｕｌｌｉａｒｄ Ｙ ｅｔ ａｌ．，（２０１４）Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ ９２：４７５－４８０及びＰｉｃｏｎｅｓｅ Ｓ ｅｔ ａｌ．，（２０１４）Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ６０：１４９４－１５０７）。ＯＸ４０は、従来のＴ細胞集団と比べて腫瘍内の調節性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）集団に高度に発現し、それらの増殖状態に帰される特徴である（Ｗａｉｇｈｔ ＪＤ ｅｔ ａｌ．，（２０１５）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １９４：８７８－８８２及びＢｕｌｌｉａｒｄ Ｙ ｅｔ ａｌ．，（２０１４）Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ ９２：４７５－４８０）。初期の研究において、ＯＸ４０アゴニスト抗体がマウスモデルにおいて腫瘍拒絶を誘発可能であることが実証された（Ｗｅｉｎｂｅｒｇ ＡＤ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １６４：

２１６０－２１６９及びＰｉｃｏｎｅｓｅ Ｓ ｅｔ ａｌ．，（２００８）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ ２０５：８２５－８３９）。ヒトＯＸ４０シグナル伝達をアゴナイズするマウス抗体も癌患者の免疫機能を増強することが示されている（Ｃｕｒｔｉ ＢＤ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ７３：７１８９－７１９８）。

ＯＸ４０及びＯＸ４０Ｌ相互作用はまた、喘息／アトピー、脳脊髄炎、関節リウマチ、大腸炎／炎症性腸疾患、移植片対宿主病（例えば、移植片拒絶反応）、非肥満糖尿病マウスにおける糖尿病、及びアテローム性動脈硬化症のマウスモデルを含め、炎症性及び自己免疫性の疾患及び障害における免疫応答とも関連付けられている（Ｃｒｏｆｔ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ ２２９（１）：１７３－１９１、及びそこに引用される文献）。ＯＸ４０欠損及びＯＸ４０Ｌ欠損マウス、細胞増殖抑制薬を負荷した抗ＯＸ４０リポソームの投与を受けたマウス、及び抗ＯＸ４０Ｌ遮断抗体又はヒト免疫グロブリンのＦｃ部分と融合した組換えＯＸ４０でＯＸ４０及びＯＸ４０Ｌ相互作用が遮断されたマウスにおいて、これらの疾患及び障害に関連する症候の低減が報告されている（Ｃｒｏｆｔ Ｍ ｅｔ ａｌ．；Ｂｏｏｔ ＥＰＪ ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ Ｒｅｓ Ｔｈｅｒ ７：Ｒ６０４－６１５；Ｗｅｉｎｂｅｒｇ ＡＤ ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １６２：１８１８－１８２６）。遮断抗ＯＸ４０Ｌ抗体による治療はまた、アカゲザル喘息モデルにおいてＴｈ２炎症を阻害することも示された（Ｃｒｏｆｔ Ｍ ｅｔ ａｌ．；Ｓｅｓｈａｓａｙｅｅ Ｄ ｅｔ ａｌ．，（２００７）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ １１７：３８６８－３８７８）。加えて、ＯＸ４０Ｌの多型がループスと関連付けられている（Ｃｒｏｆｔ Ｍ ｅｔ ａｌ．）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００６】

【非特許文献１】Ｖｅｓｅｌｙ ＭＤ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２９：２３５－２７１

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

免疫応答の調節におけるヒトＯＸ４０の役割を所与として、本明細書には、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体及びＯＸ４０活性を調節するためのこれらの抗体の使用が提供される。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

一態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体が提供される。

【０００９】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、配列番号１６のＶＨ ＣＤＲ１を含む重鎖可変領域（ＶＨ）ＣＤＲ１と、配列番号１６のＶＨ ＣＤＲ２を含むＶＨ ＣＤＲ２と、配列番号１６のＶＨ ＣＤＲ３を含むＶＨ ＣＤＲ３と、配列番号１５のＶＬ ＣＤＲ１を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）ＣＤＲ１と、配列番号１５のＶＬ ＣＤＲ２を含むＶＬ ＣＤＲ２と、配列番号１５のＶＬ ＣＤＲ３を含むＶＬ ＣＤＲ３とを含み、ここで、各ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ定義、Ｃｈｏｔｈｉａ定義、Ｋａｂａｔ定義とＣｈｏｔｈｉａ定義との組み合わせ、ＩＭＧＴ付番方式、ＡｂＭ定義、又はＣＤＲのコンタクト定義に従い定義される。

【００１０】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、（ａ）ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域１（ＣＤＲ１）と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含む重鎖ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含む重鎖ＣＤＲ３とを含む重鎖可変領域と、

（ｂ）ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ３とを含む軽鎖可変領域を含む。

【００１１】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、（ａ）ＧＦＴＦＳＧＳＡ（配列番号４７）のアミノ酸配列を含む重鎖ＣＤＲ１と、ＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴ（配列番号４８）のアミノ酸配列を含む重鎖ＣＤＲ２と、ＴＳＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号４９）のアミノ酸配列を含む重鎖ＣＤＲ３とを含む重鎖可変領域と、（ｂ）ＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹ（配列番号４４）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ１と、ＬＧＳ（配列番号４５）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号４６）のアミノ酸配列を含む軽鎖ＣＤＲ３とを含む軽鎖可変領域を含む。

【００１２】

一実施形態において、本抗体は、ヒト又はヒト由来フレームワーク領域を有する重鎖可変領域を含む。

【００１３】

一実施形態において、本抗体は、ヒト遺伝子によってコードされるアミノ酸配列に由来する重鎖可変フレームワーク領域を含み、前記アミノ酸配列はＩＧＨＶ３－７３＊０１（配列番号１９）を含む。

【００１４】

一実施形態において、本抗体は、ヒト又はヒト由来フレームワーク領域を有する軽鎖可変配列を含む。

【００１５】

一実施形態において、本抗体は、ヒト遺伝子によってコードされるアミノ酸配列に由来する軽鎖可変フレームワーク領域を含み、前記アミノ酸配列はＩＧＫＶ２－２８＊０１（配列番号１８）を含む。

【００１６】

一実施形態において、本抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域配列を含む。

【００１７】

一実施形態において、本抗体は、配列番号２１、２３、５１、及び５２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖配列を含む。一実施形態において、本抗体は、配列番号６０～６３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖配列を含む。

【００１８】

一実施形態において、本抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域配列を含む。

【００１９】

一実施形態において、本抗体は、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖配列を含む。

【００２０】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は重鎖可変領域と軽鎖可変領域とを含み、重鎖可変領域は配列番号１６のアミノ酸配列を含む。

【００２１】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は重鎖可変領域と軽鎖可変領域とを含み、軽鎖可変領域は配列番号１５のアミノ酸配列を含む。

【００２２】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号１５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

【００２３】

一実施形態において、本抗体は、配列番号２１のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。一実施形態において、本抗体は、配列番号６０

のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。
【００２４】
一実施形態において、本抗体は、配列番号２３のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。一実施形態において、本抗体は、配列番号６１のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。
【００２５】
一実施形態において、本抗体は、配列番号５１又は５２のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。一実施形態において、本抗体は、配列番号６２又は６３のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。
【００２６】
一実施形態において、本抗体は重鎖及び／又は軽鎖定常領域を含む。一実施形態において、重鎖定常領域は、ヒト免疫グロブリンＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$、及びＩｇＡ$_2$からなる群から選択される。一実施形態において、ＩｇＧ$_1$は非フコシル化ＩｇＧ$_1$である。一実施形態において、ＩｇＧ$_1$のアミノ酸配列はＮ２９７Ａ突然変異を含む。一実施形態において、ＩｇＧ$_1$のアミノ酸配列は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。一実施形態において、ＩｇＧ$_1$のアミノ酸配列はＮ２９７Ｑ突然変異を含む。一実施形態において、ＩｇＧ$_4$のアミノ酸配列はＳ２２８Ｐ突然変異を含む。一実施形態において、ＩｇＧ$_2$のアミノ酸配列はＣ１２７Ｓ突然変異を含む。一実施形態において、重鎖定常領域は、配列番号３２～３７、５３～５４、及び６４～７１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。一実施形態において、軽鎖定常領域は、ヒト免疫グロブリンＩｇＧκ及びＩｇＧλからなる群から選択される。
【００２７】
一実施形態において、本抗体はヒト抗体である。
【００２８】
一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含む抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに結合する。一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＦＴＦＳＧＳＡ（配列番号４７）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴ（配列番号４８）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＴＳＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号４９）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹ（配列番号４４）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳ（配列番号４５）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号４６）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含む抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに結合する。一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号１５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに結合する。
【００２９】
一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。一実施形態において、本抗体はヒトＯＸ４０の活性を活性化するか、増強するか、又は誘導する。一実施形態において、本抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を誘導する。一実施形態において、ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖はシグモイド用量反応曲線を示す。一実施形態において、本抗体は、抗ＣＤ３刺激Ｔ細胞によるＩＬ－２、ＴＮＦα、ＩＦＮγ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、又はこれらの組み

合わせの産生を誘導する。一実施形態において、本抗体は、抗ＣＤ３刺激末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）によるＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、又はこれらの組み合わせの産生を誘導する。一実施形態において、本抗体は、抗ＣＤ３刺激ＰＢＭＣによるＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３のこの産生は抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、本抗体は、抗ＣＤ３刺激ＰＢＭＣによるＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３のこの産生は、シグモイド用量反応曲線を示す。一実施形態において、本抗体はＳＥＡ刺激Ｔ細胞によるＩＬ－２の産生を誘導し、且つＳＥＡ刺激Ｔ細胞によるＩＬ－１０の産生を抑制する。一実施形態において、本抗体はＳＥＡ刺激末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）によるＩＬ－２産生を誘導し、且つＳＥＡ刺激ＰＢＭＣによるＩＬ－２産生を抑制する。一実施形態において、本抗体はＳＥＡ刺激ＰＢＭＣによるＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、本抗体はＳＥＡ刺激ＰＢＭＣによるＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生はシグモイド用量反応曲線を示す。

【００３０】

一実施形態において、本抗体は調節性Ｔ細胞によるエフェクターＴ細胞の抑制を軽減する。

【００３１】

一実施形態において、本抗体はエフェクターＴ細胞と調節性Ｔ細胞との共培養によるＩＬ－２産生を誘導し、且つエフェクターＴ細胞と調節性Ｔ細胞との共培養によるＩＬ－１０産生を抑制する。

【００３２】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳ

ＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００３３】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００３４】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１

／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００３５】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６

）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００３６】

一実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３と、ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３とを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００３７】
一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００３８】
一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌ

のＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００３９】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００４０】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％Ｃ

O_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００４１】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００４２】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一

性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００４３】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、

例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００４４】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００４５】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ

／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００４６】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００４７】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとお

り、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００４８】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００４９】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列

と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５０】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は０．０３２μｇ／ｍｌの抗体の存在下と比べて４μｇ／ｍｌの抗体の存在下においてより高い。ＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価することができる。

【００５１】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合

抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５２】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば

電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５３】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むア

ッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５４】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は

、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５５】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）

との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５６】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって

計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５７】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１

つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５８】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００５９】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２

、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００６０】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００６１】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００６２】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一

性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００６３】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００６４】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％ＣＯ

$_2$で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル１０^{5}細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％ＣＯ$_2$で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００６５】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル１０^{5}細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％ＣＯ$_2$で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００６６】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル１０^{5}細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％ＣＯ$_2$で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μ

ｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００６７】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００６８】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによ

ってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００６９】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００７０】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【００７１】

一実施形態において、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＬドメインと、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも９８％の同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（

ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【００７２】

一実施形態において、抗体はヒト免疫グロブリンＩｇG_1重鎖定常領域を含み、このＩｇG_1重鎖定常領域のアミノ酸配列は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。一実施形態において、本抗体はＩｇG_1重鎖定常領域を含み、このＩｇG_1重鎖定常領域のアミノ酸配列は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。

【００７３】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、抗体と変異ＯＸ４０との間の結合が抗体と配列番号５５のヒトＯＸ４０配列との間の結合と比べて実質的に弱まっている抗体であり、この変異ＯＸ４０は、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異を除いて、配列番号５５の配列を含む。

【００７４】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、抗体と変異ＯＸ４０との間の結合が抗体と配列番号５５のヒトＯＸ４０配列との間の結合と比べて実質的に弱まっている抗体であり、この変異ＯＸ４０は、アミノ酸突然変異Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａを除いて、配列番号５５の配列を含む。

【００７５】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する抗体である。

【００７６】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体である。ヒトＯＸ４０に特異的に結合する単離抗体であり、この抗体は、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、アミノ酸突然変異Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａの存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する。

【００７７】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の残基を含むヒトＯＸ４０配列のエピトープに特異的に結合する抗体である。

【００７８】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、配列番号５５の残基５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５を含むヒトＯＸ４０配列のエピトープに特異的に結合する抗体である。

【００７９】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の少なくとも１つの残基に特異的に結合する抗体である。

【００８０】
一実施形態において、抗体は、本明細書に提供される抗体の重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含み、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、及びｓｃＦｖ断片からなる群から選択される。
【００８１】
一実施形態において、抗体はヒト免疫グロブリンＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、このＩｇＧ$_1$重鎖定常領域のアミノ酸配列は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。一実施形態において、本抗体はＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、このＩｇＧ$_1$重鎖定常領域のアミノ酸配列は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。
【００８２】
一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、（ａ）ヒトＯＸ４０に特異的に結合する第１の抗原結合ドメインと、（ｂ）ヒト免疫細胞が発現する抗原に特異的に結合しない第２の抗原結合ドメインとを含む。
【００８３】
一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、（ａ）ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域（ＣＤＲ）１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３とを含む第１の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）と、（ｂ）ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３とを含む第１の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨと配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬとを含む抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに特異的に結合する。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインはＶＨとＶＬとを含み、このＶＨは配列番号１６のアミノ酸配列を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインはＶＨとＶＬとを含み、このＶＬは配列番号１５のアミノ酸配列を含む。
【００８４】
一実施形態において、第２の抗原結合ドメインは非ヒト抗原に特異的に結合する。一実施形態において、第２の抗原結合ドメインはウイルス抗原に特異的に結合する。一実施形態において、ウイルス抗原はＨＩＶ抗原である。一実施形態において、第２の抗原結合ドメインはニワトリアルブミン又は鶏卵リゾチームに特異的に結合する。
【００８５】
一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体は、（ａ）ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域（ＣＤＲ）１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３とを含む第１の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）と、（ｂ）ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３とを含む第１の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨと配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬとを含む抗体と同じヒトＯＸ４０のエピトープに特異的に結合する。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメ

インは、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインはＶＨとＶＬとを含み、このＶＨは配列番号１６のアミノ酸配列を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインはＶＨとＶＬとを含み、このＶＬは配列番号１５のアミノ酸配列を含む。

【００８６】

一実施形態において、第２の重鎖はＦｃ断片である。

【００８７】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は９９％同一のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、ヒトＩＧＨＶ３－７３生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を含むＶＨを含む。

【００８８】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は９９％同一のアミノ酸配列を含むＶＬを含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬを含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号５０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、ヒトＩＧＫＶ２－２８生殖系列配列に由来するアミノ酸配列を含むＶＬを含む。

【００８９】

一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、それぞれ配列番号１６及び１５に示されるＶＨ及びＶＬ配列を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号２１のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号６０のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【００９０】

一実施形態において、第１の抗原結合ドメイン及び第２の抗原結合ドメインは、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む。一実施形態において、第１の抗原結合ドメイン及び第２の抗原結合ドメインは、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメイン及び第２の重鎖又はその断片は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む。一実施形態において、ヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメイン及び第２の重鎖又はその断片は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む。

【００９１】

一実施形態において、本抗体はヒトＯＸ４０に対してアンタゴニスト性である。一実施形態において、本抗体はヒトＯＸ４０の活性を不活性化するか、低下させるか、又は阻害する。一実施形態において、本抗体はヒトＯＸ４０のヒトＯＸ４０リガンドへの結合を阻害するか又は低下させる。一実施形態において、本抗体はヒトＯＸ４０シグナル伝達を阻

害するか又は低下させる。一実施形態において、本抗体は、ヒトＯＸ４０リガンドによって誘導されるヒトＯＸ４０シグナル伝達を阻害するか又は低下させる。

【００９２】

一実施形態において、本抗体は検出可能標識を含む。

【００９３】

一実施形態において、本発明は、医薬として用いられる本発明の抗体に関する。

【００９４】

一実施形態において、本発明は、診断薬として用いられる本発明の抗体に関する。

【００９５】

一実施形態において、本発明は、試料中のＯＸ４０をインビトロ検出するための本発明の抗体の使用に関する。一実施形態において、ＯＸ４０はヒトＯＸ４０である。

【００９６】

一実施形態において、本発明は、インビトロでヒトＯＸ４０の活性を活性化するか、増強するか、又は誘導するための本発明の抗体の使用に関する。一実施形態において、本抗体はインビトロでＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を誘導する。

【００９７】

一態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体をコードする単離核酸分子が提供される。一実施形態において、本核酸分子は、本明細書に提供される抗ＯＸ４０抗体の重鎖可変領域又は重鎖をコードする。一実施形態において、本核酸分子は、本明細書に提供される抗ＯＸ４０抗体の軽鎖可変領域又は軽鎖をコードする。一実施形態において、本核酸分子は、本明細書に提供される抗ＯＸ４０抗体の重鎖可変領域又は重鎖及びこの抗体の軽鎖可変領域又は軽鎖をコードする。一実施形態において、本核酸分子は、配列番号１６のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域をコードする。一実施形態において、本核酸分子は、配列番号１５のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をコードする。かかる核酸分子によってコードされる単離抗体も本明細書に提供される。

【００９８】

一態様において、本明細書には、かかる核酸分子を含むベクターが提供される。

【００９９】

一態様において、本明細書には、かかる核酸分子又はかかるベクターを含む宿主細胞が提供される。一実施形態において、本宿主細胞は、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）、シュードモナス属（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ）、バチルス属（Ｂａｃｉｌｌｕｓ）、ストレプトミセス属（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）、酵母、ＣＨＯ、ＹＢ／２０、ＮＳ０、ＰＥＲ－Ｃ６、ＨＥＫ－２９３Ｔ、ＮＩＨ－３Ｔ３、ＨｅＬａ、ＢＨＫ、Ｈｅｐ　Ｇ２、ＳＰ２／０、Ｒ１．１、Ｂ－Ｗ、Ｌ－Ｍ、ＣＯＳ１、ＣＯＳ７、ＢＳＣ１、ＢＳＣ４０、ＢＭＴ１０細胞、植物細胞、昆虫細胞、及び組織培養下のヒト細胞からなる群から選択される。

【０１００】

一態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体を作製する方法が提供され、この方法は、かかる宿主細胞を、核酸分子が発現され、及び抗体が産生されるように培養するステップを含む。

【０１０１】

一実施形態において、本発明は、医薬として用いられる本発明の抗体、本発明の核酸分子、本発明のベクター、及び／又は本発明の宿主細胞に関する。

【０１０２】

一実施形態において、本発明は、診断薬として用いられる本発明の抗体、本発明の核酸分子、本発明のベクター、及び／又は本発明の宿主細胞に関する。

【０１０３】

一実施形態において、本発明は、試料中のＯＸ４０をインビトロ検出するための本発明の抗体、本発明の核酸分子、本発明のベクター、及び／又は本発明の宿主細胞の使用に関する。一実施形態において、ＯＸ４０はヒトＯＸ４０である。

【０１０４】

一実施形態において、本発明は、インビトロでヒトＯＸ４０の活性を活性化するか、増強するか、又は誘導するための本発明の抗体の使用に関する。一実施形態において、本抗体はインビトロでＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を誘導する。

【０１０５】

一態様において、本明細書には、本明細書に提供されるＯＸ４０に特異的に結合する抗体を含む医薬組成物、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体をコードする核酸分子、かかる核酸分子を含むベクター、又はかかる核酸分子若しくはベクターを含む宿主細胞が提供される。

【０１０６】

一態様において、本明細書には、医薬として用いられる、本明細書に提供されるＯＸ４０に特異的に結合する抗体を含む医薬組成物、ＯＸ４０、例えばヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体をコードする核酸分子、かかる核酸分子を含むベクター、又はかかる核酸分子若しくはベクターを含む宿主細胞が提供される。

【０１０７】

一態様において、本明細書には、診断薬として用いられる、本明細書に提供されるＯＸ４０に特異的に結合する抗体を含む医薬組成物、ＯＸ４０、例えばヒトＯＸ４０に特異的に結合する抗体をコードする核酸分子、かかる核酸分子を含むベクター、又はかかる核酸分子若しくはベクターを含む宿主細胞が提供される。

【０１０８】

一態様において、本明細書には、対象の免疫応答を調節する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、対象の免疫応答を増強又は誘導する方法である。一実施形態において、免疫応答を調節することは、対象の免疫応答を増強又は誘導することを含む。

【０１０９】

一態様において、本発明は、免疫応答を調節する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。

【０１１０】

一態様において、本発明は、免疫応答を増強又は誘導する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１１１】

一態様において、本発明は、対象の免疫応答を調節する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。

【０１１２】

一態様において、本発明は、対象の免疫応答を増強又は誘導する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１１３】

一態様において、本発明は、対象の免疫応答を調節する方法であって、本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。

【０１１４】

一態様において、本発明は、対象の免疫応答を増強又は誘導する方法であって、本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１１５】

一態様において、本明細書には、対象のＴ細胞拡大及びＴ細胞エフェクター機能を増強

する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む。

【０１１６】

一態様において、本発明は、Ｔ細胞拡大及びＴ細胞エフェクター機能を増強する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１１７】

一態様において、本発明は、対象のＴ細胞拡大及びＴ細胞エフェクター機能を増強する方法に用いられる、本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１１８】

一態様において、本発明は、対象のＴ細胞拡大及びＴ細胞エフェクター機能を増強する方法であって、本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１１９】

一態様において、本明細書には、対象の癌を治療する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む。一部の実施形態において、癌は、黒色腫、腎癌、及び前立腺癌からなる群から選択される。一部の実施形態において、癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、結腸癌、及び肺癌からなる群から選択される。一部の実施形態において、肺癌は非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である。一例では、本方法は、チェックポイントターゲティング剤を対象に投与するステップを更に含む。一例では、チェックポイントターゲティング剤は、アンタゴニスト抗ＰＤ－１抗体、アンタゴニスト抗ＰＤ－Ｌ１抗体、アンタゴニスト抗ＰＤ－Ｌ２抗体、アンタゴニスト抗ＣＴＬＡ－４抗体、アンタゴニスト抗ＴＩＭ－３抗体、アンタゴニスト抗ＬＡＧ－３抗体、アンタゴニスト抗ＣＥＡＣＡＭ１抗体、アゴニスト抗ＧＩＴＲ抗体、アゴニスト抗ＣＤ１３７抗体、及びアゴニスト抗ＯＸ４０抗体からなる群から選択される。

【０１２０】

一態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１２１】

一態様において、本発明は、対象の癌を治療する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１２２】

一態様において、本発明は、対象の癌を治療する方法であって、本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１２３】

一態様において、本発明は、医薬として用いられる、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）チェックポイントターゲティング剤に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１２４】

一態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）チェックポイントターゲティング剤に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１２５】
一態様において、本発明は、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）チェックポイントターゲティング剤を含む医薬組成物、キット又はキットオブパーツに関する。
【０１２６】
本明細書に記載されるとおりの抗体は、癌の治療用のＩＤＯ阻害薬と併用して使用することができる。一実施形態において、本方法は、インドールアミン－２，３－ジオキシゲナーゼ（ＩＤＯ）阻害薬を対象に投与するステップを更に含む。癌の治療に用いられる本明細書に記載されるとおりのＩＤＯ阻害薬は、錠剤、丸薬又はカプセルなどの固形剤形の医薬組成物で存在し、この医薬組成物はＩＤＯ阻害薬と薬学的に許容可能な賦形剤とを含む。そのため、本明細書に記載されるとおりの抗体と本明細書に記載されるとおりのＩＤＯ阻害薬とは、別個の剤形として別個に、逐次的に又は同時に投与することができる。一実施形態において、本抗体は非経口投与され、ＩＤＯ阻害薬は経口投与される。詳細な実施形態において、この阻害薬は、エパカドスタット（Ｉｎｃｙｔｅ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、Ｆ００１２８７（Ｆｌｅｘｕｓ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、インドキシモド（ＮｅｗＬｉｎｋ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ）、及びＮＬＧ９１９（ＮｅｗＬｉｎｋ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ）からなる群から選択される。エパカドスタットについては、国際公開第２０１０／００５９５８号パンフレット（あらゆる目的のために全体として参照により本明細書に援用される）に記載されている。一実施形態において、阻害薬はエパカドスタットである。別の実施形態において、阻害薬はＦ００１２８７である。別の実施形態において、阻害薬はインドキシモドである。別の実施形態において、阻害薬はＮＬＧ９１９である。
【０１２７】
一態様において、本発明は、医薬として用いられる、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）ＩＤＯ阻害薬に関する。
【０１２８】
一態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）ＩＤＯ阻害薬に関する。一態様において、本発明は、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）ＩＤＯ阻害薬を含む組成物、キット又はキットオブパーツに関する。
【０１２９】
本明細書に記載される抗体は、ワクチンと併用して使用することができる。詳細な実施形態において、ワクチンは熱ショックタンパク質ペプチド複合体（ＨＳＰＰＣ）を含み、このＨＳＰＰＣは、１つ以上の抗原ペプチド（例えば、腫瘍関連抗原ペプチド）と複合体を形成している熱ショックタンパク質（例えば、ｇｐ９６タンパク質、ｈｓｐ７０タンパク質、又はｈｓｃ７０タンパク質）を含む。一実施形態において、熱ショックタンパク質はｇｐ９６タンパク質であり、腫瘍関連抗原ペプチドと複合体を形成する。一実施形態において、熱ショックタンパク質はｈｓｐ７０又はｈｓｃ７０タンパク質であり、腫瘍関連抗原ペプチドと複合体を形成する。一実施形態において、熱ショックタンパク質はｇｐ９６タンパク質であり、腫瘍関連抗原ペプチドと複合体を形成し、ここで、ＨＳＰＰＣは、対象から得られた腫瘍に由来する。一実施形態において、熱ショックタンパク質はｈｓｐ７０又はｈｓｃ７０タンパク質であり、腫瘍関連抗原ペプチドと複合体を形成し、ここで、ＨＳＰＰＣは、対象から得られた腫瘍に由来する。
【０１３０】
一態様において、本発明は、医薬として用いられる、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）ワクチンに関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。
【０１３１】
一態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）ワクチンに関する。一実

施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１３２】

一態様において、本発明は、（ａ）本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、並びに（ｂ）ワクチンを含む組成物、キット又はキットオブパーツに関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。

【０１３３】

一部の実施形態において、本開示は、癌の治療用医薬の製造における本明細書に記載されるとおりの抗体の使用を提供する。特定の実施形態において、本開示は、癌の治療に用いられる本明細書に記載されるとおりの抗体を提供する。特定の実施形態において、本開示は、癌の治療用医薬の製造における本明細書に記載されるとおりの医薬組成物の使用を提供する。特定の実施形態において、本開示は、癌の治療に用いられる本明細書に記載されるとおりの医薬組成物を提供する。

【０１３４】

一態様において、本明細書には、対象の自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む。一部の実施形態において、疾患又は障害は、移植片拒絶反応、脈管炎、喘息、関節リウマチ、皮膚炎、炎症性腸疾患、ブドウ膜炎、及びループスからなる群から選択される。

【０１３５】

一態様において、本発明は、自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０１３６】

一態様において、本発明は、対象の自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０１３７】

一態様において、本発明は、対象の自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法であって、本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０１３８】

一態様において、本明細書には、対象の感染症を治療する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む。

【０１３９】

一態様において、本発明は、感染症を治療する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。一実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０１４０】

一態様において、本発明は、対象の感染症を治療する方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。一実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０１４１】

一態様において、本発明は、対象の感染症を治療する方法であって、本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む方法に用いられる本発明の抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に関する。一実施形態において、本抗体はアゴニスト性である。一実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０１４２】
本明細書に提供される方法の一実施形態において、対象はヒトである。
【０１４３】
一態様において、本明細書には、試料中のＯＸ４０を検出する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体に前記試料を接触させるステップを含む。
【０１４４】
一態様において、本明細書には、試料中のＯＸ４０をインビトロで検出する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体に前記試料を接触させるステップを含む。一実施形態において、ＯＸ４０はヒトＯＸ４０である。
【０１４５】
一態様において、本明細書には、試料中のＯＸ４０をインビトロで検出する方法が提供され、この方法は、本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物に前記試料を接触させるステップを含む。一実施形態において、ＯＸ４０はヒトＯＸ４０である。
【０１４６】
一態様において、本明細書には、試料中のＯＸ４０のインビトロ検出のための本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物の使用、好ましくは本明細書に提供される抗体の使用が提供される。
【０１４７】
一態様において、本明細書には、対象のＯＸ４０の検出に用いられる本明細書に提供される抗体、核酸、ベクター、宿主細胞、及び／又は医薬組成物、好ましくは本明細書に提供される抗体が提供される。一実施形態において、対象はヒトである。
【０１４８】
一態様において、本明細書には、本明細書に提供されるＯＸ４０に特異的に結合する抗体、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体をコードする核酸分子、かかる核酸分子を含むベクター、かかる核酸分子若しくはベクターを含む宿主細胞、又はかかる抗体、核酸分子、ベクター、若しくは宿主細胞を含む医薬組成物と、ａ）検出試薬、ｂ）ＯＸ４０抗原、ｃ）ヒト投与への使用若しくは販売の認可を反映する通知、又はｄ）これらの組み合わせとを含むキットが提供される。
【図面の簡単な説明】
【０１４９】
【図１ＡＢ】図１Ａは、活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞に対する抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９及びアイソタイプ対照の結合を示すヒストグラムの対である。図１Ｂは、非刺激及び（抗ＣＤ３抗体を使用した）刺激ＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９－１及びアイソタイプ対照の結合を示すヒストグラムの対である。図１Ｃは、活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９－１又はアイソタイプ対照の用量タイトレーションの結合を示すグラフである。図１Ｄは、ヒト非刺激血液由来免疫細胞集団に対するｐａｂ１９４９－１及びアイソタイプ対照の結合を計測するヒストグラムの組である。図１Ｅは、活性化カニクイザル（マカカ・ファスシキュラリス（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ））ＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９及びアイソタイプ対照の結合のヒストグラムである。
【図１Ｃ】図１Ａは、活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞に対する抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９及びアイソタイプ対照の結合を示すヒストグラムの対である。図１Ｂは、非刺激及び（抗ＣＤ３抗体を使用した）刺激ＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９－１及びアイソタイプ対照の結合を示すヒストグラムの対である。図１Ｃは、活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９－１又はアイソタイプ対照の用量タイトレーションの結合を示すグラフである。図１Ｄは、ヒト非刺激血液由来免疫細胞集団に対するｐａｂ１９４９－１及びアイソタイプ対照の結合を計測するヒストグラムの組である。図１Ｅは、活性化カニクイザル（マカカ・ファスシキュラリス（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ））ＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９及びアイソタイプ対照

の結合のヒストグラムである。
【図１ＤＥ】図１Ａは、活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞に対する抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９及びアイソタイプ対照の結合を示すヒストグラムの対である。図１Ｂは、非刺激及び（抗ＣＤ３抗体を使用した）刺激ＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９－１及びアイソタイプ対照の結合を示すヒストグラムの対である。図１Ｃは、活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９－１又はアイソタイプ対照の用量タイトレーションの結合を示すグラフである。図１Ｄは、ヒト非刺激血液由来免疫細胞集団に対するｐａｂ１９４９－１及びアイソタイプ対照の結合を計測するヒストグラムの組である。図１Ｅは、活性化カニクイザル（マカカ・ファスシキュラリス（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ））ＣＤ４＋　Ｔ細胞に対するｐａｂ１９４９及びアイソタイプ対照の結合のヒストグラムである。
【図２ＡＢ】抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９（図２Ａ及び図２Ｃ）及びｐａｂ２０４４（図２Ｂ）の刺激がエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖に及ぼす効果を評価する準最適ＣＤ３刺激アッセイの結果のグラフである。抗体ｐａｂ１９４９はヒトＩｇＧ$_1$抗体である。抗体ｐａｂ２０４４はｐａｂ１９４９と同じ重鎖可変領域及び同じ軽鎖を共有するが、ヒトＩｇＧ$_4$定常領域を含む。試験した各抗体について（図２ＡではＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照、ｐａｂ１９４９、及び陽性対照としての抗ＣＤ２８抗体；及び図２ＢではＩｇＧ$_4$アイソタイプ対照、ｐａｂ２０４４、及び抗ＣＤ２８抗体）、細胞増殖（ＣＦＳＥ；ｘ軸）が示される。図２Ｃは、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９のタイトレーション（０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）及び抗体が準最適抗ＣＤ３刺激下でエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖に及ぼす効果を示す折れ線グラフである。
【図２Ｃ】抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９（図２Ａ及び図２Ｃ）及びｐａｂ２０４４（図２Ｂ）の刺激がエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖に及ぼす効果を評価する準最適ＣＤ３刺激アッセイの結果のグラフである。抗体ｐａｂ１９４９はヒトＩｇＧ$_1$抗体である。抗体ｐａｂ２０４４はｐａｂ１９４９と同じ重鎖可変領域及び同じ軽鎖を共有するが、ヒトＩｇＧ$_4$定常領域を含む。試験した各抗体について（図２ＡではＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照、ｐａｂ１９４９、及び陽性対照としての抗ＣＤ２８抗体；及び図２ＢではＩｇＧ$_4$アイソタイプ対照、ｐａｂ２０４４、及び抗ＣＤ２８抗体）、細胞増殖（ＣＦＳＥ；ｘ軸）が示される。図２Ｃは、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９のタイトレーション（０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）及び抗体が準最適抗ＣＤ３刺激下でエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖に及ぼす効果を示す折れ線グラフである。
【図３ＡＢ】種々の準最適濃度の抗ＣＤ３抗体及びＩＬ－２との併用で抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ１９４９－１によって誘導されたＩＦＮγ及びＴＮＦαサイトカインの産生の代表的な分析結果である。図３Ａ～図３Ｃにおいて、異なる４ドナー：ドナーＫＭ、ドナーＴＭ、ドナーＧＳ、及びドナーＳＢからのＰＢＭＣを試験した。図３Ａ及び図３Ｂは、ドナーＳＢ（図３Ａ）及びドナーＧＳ（図３Ｂ）からのＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞の細胞内サイトカイン染色（ＩＦＮγ及びＴＮＦα）を示すプロットである。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照について、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞又はＴＮＦα＋　単機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージをプロットする（図３Ｃ）。図３Ｃに示されるパーセンテージは、３つの異なる抗ＣＤ３抗体濃度下で生じた最も高い応答に相当する。エラーバーは標準偏差を表す（ｎ＝２）。図３Ｄ、図３Ｅ、及び図３Ｆは、同様の準最適抗ＣＤ３刺激アッセイでドナーＧＳのＰＢＭＣに由来する細胞において抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導されたＴＮＦα＋　ＣＤ４＋　Ｔ細胞（図３Ｄ）、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ８＋　Ｔ細胞（図３Ｅ）、及びＩＦＮγ＋　ＣＤ８＋　Ｔ細胞（図３Ｆ）のパーセンテージを示すグラフの組である。
【図３Ｃ】種々の準最適濃度の抗ＣＤ３抗体及びＩＬ－２との併用で抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ１９４９－１によって誘導されたＩＦＮγ及びＴＮＦαサイトカインの産生の代表的な分析結果である。図３Ａ～図３Ｃにおいて、異なる４ドナー：ドナー

ＫＭ、ドナーＴＭ、ドナーＧＳ、及びドナーＳＢからのＰＢＭＣを試験した。図３Ａ及び図３Ｂは、ドナーＳＢ（図３Ａ）及びドナーＧＳ（図３Ｂ）からのＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞の細胞内サイトカイン染色（ＩＦＮγ及びＴＮＦα）を示すプロットである。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照について、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞又はＴＮＦα＋　単機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージをプロットする（図３Ｃ）。図３Ｃに示されるパーセンテージは、３つの異なる抗ＣＤ３抗体濃度下で生じた最も高い応答に相当する。エラーバーは標準偏差を表す（ｎ＝２）。図３Ｄ、図３Ｅ、及び図３Ｆは、同様の準最適抗ＣＤ３刺激アッセイでドナーＧＳのＰＢＭＣに由来する細胞において抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導されたＴＮＦα＋　ＣＤ４＋　Ｔ細胞（図３Ｄ）、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ８＋　Ｔ細胞（図３Ｅ）、及びＩＦＮγ＋　ＣＤ８＋　Ｔ細胞（図３Ｆ）のパーセンテージを示すグラフの組である。

【図３Ｄ－Ｆ】種々の準最適濃度の抗ＣＤ３抗体及びＩＬ－２との併用で抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ１９４９－１によって誘導されたＩＦＮγ及びＴＮＦαサイトカインの産生の代表的な分析結果である。図３Ａ～図３Ｃにおいて、異なる４ドナー：ドナーＫＭ、ドナーＴＭ、ドナーＧＳ、及びドナーＳＢからのＰＢＭＣを試験した。図３Ａ及び図３Ｂは、ドナーＳＢ（図３Ａ）及びドナーＧＳ（図３Ｂ）からのＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞の細胞内サイトカイン染色（ＩＦＮγ及びＴＮＦα）を示すプロットである。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照について、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞又はＴＮＦα＋　単機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージをプロットする（図３Ｃ）。図３Ｃに示されるパーセンテージは、３つの異なる抗ＣＤ３抗体濃度下で生じた最も高い応答に相当する。エラーバーは標準偏差を表す（ｎ＝２）。図３Ｄ、図３Ｅ、及び図３Ｆは、同様の準最適抗ＣＤ３刺激アッセイでドナーＧＳのＰＢＭＣに由来する細胞において抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導されたＴＮＦα＋　ＣＤ４＋　Ｔ細胞（図３Ｄ）、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ８＋　Ｔ細胞（図３Ｅ）、及びＩＦＮγ＋　ＣＤ８＋　Ｔ細胞（図３Ｆ）のパーセンテージを示すグラフの組である。

【図４Ａ】ドナー１、２、４、５、７、８、９、及び１０のＰＢＭＣに由来する細胞を使用した準最適抗ＣＤ３刺激アッセイの結果を示すグラフの組である。ＩＦＮγ＋、ＴＮＦα＋、又はＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ４＋又はＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージをある抗体濃度範囲のｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体に対してプロットする。

【図４Ｂ】ドナー１、２、４、５、７、８、９、及び１０のＰＢＭＣに由来する細胞を使用した準最適抗ＣＤ３刺激アッセイの結果を示すグラフの組である。ＩＦＮγ＋、ＴＮＦα＋、又はＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ４＋又はＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージをある抗体濃度範囲のｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体に対してプロットする。

【図４Ｃ】ドナー１、２、４、５、７、８、９、及び１０のＰＢＭＣに由来する細胞を使用した準最適抗ＣＤ３刺激アッセイの結果を示すグラフの組である。ＩＦＮγ＋、ＴＮＦα＋、又はＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋　多機能性ＣＤ４＋又はＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージをある抗体濃度範囲のｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体に対してプロットする。

【図５Ａ】図５Ａは、ドナーＳＢ及びドナーＧＳからのＰＢＭＣを使用した準最適抗ＣＤ３刺激アッセイで抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照がサイトカインパネル（ＩＬ－２、ＴＮＦα、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、及びＩＬ－１３）の分泌に及ぼす効果を示す棒グラフの組である。健常ドナーからのＰＢＭＣを様々な準最適濃度の抗ＣＤ３抗体（クローンＳＰ３４）、ＩＬ２（２０Ｕ／ｍｌ）、及び５μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体又はIgG_1アイソタイプ対照を使用して活性化し、刺激後４日（ＳＢ＃１Ａ）又は３

日（ＳＢ＃１Ｂ、ＳＢ＃２、及びＧＳ）のいずれかにサイトカインを計測した。図５Ａのバーは、５μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体濃度で試験した全ての抗ＣＤ３濃度によって誘導された最も高いサイトカイン分泌を表す。エラーバーは標準偏差を表す（ｎ＝２）。図５Ｂ、図５Ｃ、及び図５Ｄは、準最適濃度の抗ＣＤ３抗体の存在下でドナーＧＳのＰＢＭＣに由来する細胞において様々な濃度のｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体によって誘導された分泌サイトカイン（ＴＮＦα、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３）の量を示すグラフの組である。

【図５Ｂ－Ｄ】図５Ａは、ドナーＳＢ及びドナーＧＳからのＰＢＭＣを使用した準最適抗ＣＤ３刺激アッセイで抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照がサイトカインパネル（ＩＬ－２、ＴＮＦα、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、及びＩＬ－１３）の分泌に及ぼす効果を示す棒グラフの組である。健常ドナーからのＰＢＭＣを様々な準最適濃度の抗ＣＤ３抗体（クローンＳＰ３４）、ＩＬ２（２０Ｕ／ｍｌ）、及び５μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照を使用して活性化し、刺激後４日（ＳＢ＃１Ａ）又は３日（ＳＢ＃１Ｂ、ＳＢ＃２、及びＧＳ）のいずれかにサイトカインを計測した。図５Ａのバーは、５μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体濃度で試験した全ての抗ＣＤ３濃度によって誘導された最も高いサイトカイン分泌を表す。エラーバーは標準偏差を表す（ｎ＝２）。図５Ｂ、図５Ｃ、及び図５Ｄは、準最適濃度の抗ＣＤ３抗体の存在下でドナーＧＳのＰＢＭＣに由来する細胞において様々な濃度のｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体によって誘導された分泌サイトカイン（ＴＮＦα、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３）の量を示すグラフの組である。

【図６Ａ】準最適抗ＣＤ３刺激アッセイでドナー１～１０のＰＢＭＣに由来する細胞においてｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＧＭ－ＣＳＦの量を示すグラフの組である。ＥＣＬは電気化学発光を指す。

【図６Ｂ】準最適抗ＣＤ３刺激アッセイでドナー１～１０のＰＢＭＣに由来する細胞においてｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＧＭ－ＣＳＦの量を示すグラフの組である。ＥＣＬは電気化学発光を指す。

【図６Ｃ】準最適抗ＣＤ３刺激アッセイでドナー１～１０のＰＢＭＣに由来する細胞においてｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＧＭ－ＣＳＦの量を示すグラフの組である。ＥＣＬは電気化学発光を指す。

【図７Ａ】図６Ａ、図６Ｂ、及び図６Ｃと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－２の量を示す。ＥＣＬは電気化学発光を指す。

【図７Ｂ】図６Ａ、図６Ｂ、及び図６Ｃと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－２の量を示す。ＥＣＬは電気化学発光を指す。

【図７Ｃ】図６Ａ、図６Ｂ、及び図６Ｃと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－２の量を示す。ＥＣＬは電気化学発光を指す。

【図８Ａ】図６Ａ、図６Ｂ、及び図６Ｃと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＴＮＦβの量を示す。

【図８Ｂ】図６Ａ、図６Ｂ、及び図６Ｃと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＴＮＦβの量を示す。

【図８Ｃ】図６Ａ、図６Ｂ、及び図６Ｃと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＴＮＦβの量を示す。

【図９】１：３（Ｔｒｅｇ：Ｔｅｆｆ）の比で共培養した調節性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）及びエフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）において可溶性又は架橋（抗Ｆｃ　Ｆ（ａｂ’）$_2$を使用した）のいずれかのｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体によって誘導されたＩＬ－２（図９Ａ）及びＩＬ－１０（図９Ｂ）の産生を示す棒グラフである。

【図１０Ａ－Ｄ】ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激時の初代ヒトＰＢＭＣに対する抗ＯＸ４０抗体の機能的活性を示すグラフである。一定濃度（１０μｇ／ｍｌ）又は種々の濃度の抗ＯＸ４０抗体又はアイソタイプ対照の非存在下又は存在下でヒトＰＢＭＣをＳＥＡで刺激し、ＩＬ－２又はＩＬ－１０サイトカイン分泌に関して分析した。試験した抗ＯＸ４０抗体には、ｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２１９３－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ、及び参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５が含まれる。試験抗体に関して、１０μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体濃度におけるＩＬ－２（図１０Ａ）及びＩＬ－１０（図１０Ｂ）の倍数変化をプロットする。図１０Ｃ、図１０Ｄ、及び図１０Ｅは、異なるｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、又は参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５濃度におけるＩＬ－２産生の倍数変化を示す用量反応曲線である。統計的有意性は、アスタリスクによって示されるアイソタイプ対照試料と比較したスチューデントｔ検定によって決定した。エラーバーはトリプリケートリピートからの標準偏差を表す。図１０Ａの＊はｐ＜０．００１を表す。図１０Ｂの＊はｐ＜０．０１を表す。図１０Ｆは、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２１９３－１、ＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体、又はＩｇＧ$_2$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導されたＩＬ－２産生を示すグラフである。図１０Ｇは、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ、又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションに応答したＩＬ－２産生を示すグラフである。

【図１０ＥＦ】ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激時の初代ヒトＰＢＭＣに対する抗ＯＸ４０抗体の機能的活性を示すグラフである。一定濃度（１０μｇ／ｍｌ）又は種々の濃度の抗ＯＸ４０抗体又はアイソタイプ対照の非存在下又は存在下でヒトＰＢＭＣをＳＥＡで刺激し、ＩＬ－２又はＩＬ－１０サイトカイン分泌に関して分析した。試験した抗ＯＸ４０抗体には、ｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２１９３－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ、及び参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５が含まれる。試験抗体に関して、１０μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体濃度におけるＩＬ－２（図１０Ａ）及びＩＬ－１０（図１０Ｂ）の倍数変化をプロットする。図１０Ｃ、図１０Ｄ、及び図１０Ｅは、異なるｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、又は参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５濃度におけるＩＬ－２産生の倍数変化を示す用量反応曲線である。統計的有意性は、アスタリスクによって示されるアイソタイプ対照試料と比較したスチューデントｔ検定によって決定した。エラーバーはトリプリケートリピートからの標準偏差を表す。図１０Ａの＊はｐ＜０．００１を表す。図１０Ｂの＊はｐ＜０．０１を表す。図１０Ｆは、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２１９３－１、ＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体、又はＩｇＧ$_2$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導されたＩＬ－２産生を示すグラフである。図１０Ｇは、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ、又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションに応答したＩＬ－２産生を示すグラフである。

【図１０Ｇ】ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激時の初代ヒトＰＢＭＣに対する抗ＯＸ４０抗体の機能的活性を示すグラフである。一定濃度（１０μｇ／ｍｌ）又は種々の濃度の抗ＯＸ４０抗体又はアイソタイプ対照の非存在下又は存在下でヒトＰＢＭＣをＳＥＡで刺激し、ＩＬ－２又はＩＬ－１０サイトカイン分泌に関して分析した。試験した抗ＯＸ４０抗体には、ｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２１９３－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ、及び参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５が含まれる。試験抗体に関して、１０μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体濃度におけるＩＬ－２（図１０Ａ）及びＩＬ－１０（図１０Ｂ）の倍数変化をプロットする。図１０Ｃ、図１０Ｄ、及び図１０Ｅは、異なるｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、又は参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５濃度におけるＩＬ－２産生の倍数

変化を示す用量反応曲線である。統計的有意性は、アスタリスクによって示されるアイソタイプ対照試料と比較したスチューデントｔ検定によって決定した。エラーバーはトリプリケートリピートからの標準偏差を表す。図１０Ａの＊はｐ＜０．００１を表す。図１０Ｂの＊はｐ＜０．０１を表す。図１０Ｆは、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２１９３－１、ＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体、又はＩｇＧ$_2$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導されたＩＬ－２産生を示すグラフである。図１０Ｇは、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ、又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションに応答したＩＬ－２産生を示すグラフである。

【図１１】ＯＸ４０　ＮＦ－κＢ－ルシフェラーゼレポーター細胞株を使用して可溶性の（可溶性条件、図１１Ａ）又は架橋した（複合体化条件、図１１Ｂ）ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体を試験したアッセイの結果である。試験した種々の抗体濃度に対する相対発光単位（ＲＬＵ）をプロットする。

【図１２】ＯＸ４０を発現する標的細胞に抗体が結合したときＦｃγＲＩＩＩＡ（図１２Ａ）又はＦｃγＲＩＩＡ^{H131}変異体（図１２Ｂ）を発現するレポーター細胞を活性化するその能力に関して抗ＯＸ４０抗体を試験したレポーターアッセイの結果である。図１２Ａでは、種々のｐａｂ１９４９－１及びｐａｂ２０４４－１濃度に対するΔＲＬＵ値をプロットする。ΔＲＬＵは、抗ＯＸ４０抗体のＲＬＵからアイソタイプ対照のＲＬＵを差し引いたものを表す。図１２Ｂでは、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ、ｐａｂ２１９３－１、ＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体、又はＩｇＧ$_2$アイソタイプ対照抗体の漸増濃度に対するＲＬＵ値をプロットする。

【図１３ＡＢ】図１３Ａは、フローサイトメトリーによって計測したときの、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８ビーズによって活性化した健常ドナーのｎＴｒｅｇ、ＣＤ４＋　Ｔ細胞又はＣＤ８＋　Ｔ細胞上のヒトＯＸ４０のΔＭＦＩを示す棒グラフである。ΔＭＦＩは抗ＯＸ４０抗体のＭＦＩからアイソタイプ対照のＭＦＩを差し引いたものを表す。使用した抗ＯＸ４０抗体は、ＰＥコンジュゲートマウス抗ヒトＯＸ４０抗体（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ：ＡＣＴ３５；カタログ：３５０００４；ロット：Ｂ１８１０９０）であった。図１３Ｂは、２人の健常ドナーの活性化ｎＴｒｅｇ及びエフェクターＴ細胞上のヒトＯＸ４０のΔＭＦＩを示す棒グラフである。細胞を市販の抗ＯＸ４０抗体（ＢＥＲ－ＡＣＴ３５クローン）又はアイソタイプ対照抗体で染色し、フローサイトメトリーを用いて分析した。図１３Ｃは、Ｆｃガンマ受容体ＩＩＩＡ（ＦｃγＲＩＩＩＡ）レポーター細胞株を使用して抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９を調べたグラフである。ＦｃγＲＩＩＩＡ（１５８Ｖ／Ｖ多型）を過剰発現するジャーカットＮＦＡＴ－ルシフェラーゼレポーター細胞を活性化初代ｎＴｒｅｇ及びエフェクターＴ細胞と共にｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照の存在下において３７℃で２０時間共培養した。２０時間後、ＦｃγＲＩＩＩＡ結合を表す相対発光単位（ＲＬＵ）を記録した。ΔＲＬＵは、抗ＯＸ４０抗体のＲＬＵからアイソタイプ対照のＲＬＵを差し引いたものを表す。エラーバーは標準偏差を表す（ｎ＝２）。示されるデータは、３ドナーの細胞を使用した実験の代表である。図１３Ｄは図１３Ｃと同様であり、修正プロトコルを使用してｐａｂ１９４９－１を試験した研究の結果を示す。

【図１３ＣＤ】図１３Ａは、フローサイトメトリーによって計測したときの、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８ビーズによって活性化した健常ドナーのｎＴｒｅｇ、ＣＤ４＋　Ｔ細胞又はＣＤ８＋　Ｔ細胞上のヒトＯＸ４０のΔＭＦＩを示す棒グラフである。ΔＭＦＩは抗ＯＸ４０抗体のＭＦＩからアイソタイプ対照のＭＦＩを差し引いたものを表す。使用した抗ＯＸ４０抗体は、ＰＥコンジュゲートマウス抗ヒトＯＸ４０抗体（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ：ＡＣＴ３５；カタログ：３５０００４；ロット：Ｂ１８１０９０）であった。図１３Ｂは、２人の健常ドナーの活性化ｎＴｒｅｇ及びエフェクターＴ細胞上のヒトＯＸ４０のΔＭＦＩを示す棒グラフである。細胞を市販の抗ＯＸ４０抗体（ＢＥＲ－ＡＣＴ３５クローン）又はアイソタイプ対照抗体で染色し、フローサイトメトリーを用いて分析した。図１３Ｃは、Ｆｃガンマ受容体ＩＩＩＡ（ＦｃγＲＩＩＩＡ）レポーター細胞株を使用して抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９を調べたグラフである。ＦｃγＲＩＩＩＡ（１５８Ｖ／Ｖ多型）を過剰発現するジャーカットＮＦＡＴ－ルシフェラーゼレポーター細胞を活性化初代ｎＴｒ

ｅｇ及びエフェクターＴ細胞と共にｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照の存在下において３７℃で２０時間共培養した。２０時間後、ＦｃγＲＩＩＩＡ結合を表す相対発光単位（ＲＬＵ）を記録した。ΔＲＬＵは、抗ＯＸ４０抗体のＲＬＵからアイソタイプ対照のＲＬＵを差し引いたものを表す。エラーバーは標準偏差を表す（ｎ＝２）。示されるデータは、３ドナーの細胞を使用した実験の代表である。図１３Ｄは図１３Ｃと同様であり、修正プロトコルを使用してｐａｂ１９４９－１を試験した研究の結果を示す。

【図１４ＡＢ】図１４Ａは、フローサイトメトリーによって計測したＯＸ４０の表面発現を示すヒストグラムの組である。健康ヒトドナー（ａ～ｃ、ｎ＝３）の血液又は非小細胞肺癌患者（ＮＳＣＬＣ）（ｄ～ｆ、ｎ＝３）の腫瘍組織から試料を収集した。細胞集団は、Ｔｃｏｎｖ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５低、及びＦＯＸＰ３－）又はＴｒｅｇ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５高、及びＦＯＸＰ３＋）として定義した。図１４Ｂは、図１４Ａに示すものと同様の研究のヒストグラムの対であり、子宮内膜癌試料のＣＤ８＋又はＣＤ４＋　Ｔ細胞、又はＴｒｅｇ細胞における表面ＯＸ４０発現を計測する。図１４Ｃは、様々な腫瘍型にわたるＴｒｅｇ細胞及びＴｅｆｆ細胞上のＯＸ４０発現を示す棒グラフである。図１４Ｄは、腫瘍関連ＣＤ４＋　Ｔｅｆｆ細胞及びＴｒｅｇ細胞におけるＯＸ４０発現を要約する表である。「－」は陰性発現／発現欠如を表し、「＋」は弱い発現を表し、「＋＋」は中程度の発現を表し、及び「＋＋＋」は高発現を表す。

【図１４Ｃ】図１４Ａは、フローサイトメトリーによって計測したＯＸ４０の表面発現を示すヒストグラムの組である。健康ヒトドナー（ａ～ｃ、ｎ＝３）の血液又は非小細胞肺癌患者（ＮＳＣＬＣ）（ｄ～ｆ、ｎ＝３）の腫瘍組織から試料を収集した。細胞集団は、Ｔｃｏｎｖ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５低、及びＦＯＸＰ３－）又はＴｒｅｇ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５高、及びＦＯＸＰ３＋）として定義した。図１４Ｂは、図１４Ａに示すものと同様の研究のヒストグラムの対であり、子宮内膜癌試料のＣＤ８＋又はＣＤ４＋　Ｔ細胞、又はＴｒｅｇ細胞における表面ＯＸ４０発現を計測する。図１４Ｃは、様々な腫瘍型にわたるＴｒｅｇ細胞及びＴｅｆｆ細胞上のＯＸ４０発現を示す棒グラフである。図１４Ｄは、腫瘍関連ＣＤ４＋　Ｔｅｆｆ細胞及びＴｒｅｇ細胞におけるＯＸ４０発現を要約する表である。「－」は陰性発現／発現欠如を表し、「＋」は弱い発現を表し、「＋＋」は中程度の発現を表し、及び「＋＋＋」は高発現を表す。

【図１４Ｄ】図１４Ａは、フローサイトメトリーによって計測したＯＸ４０の表面発現を示すヒストグラムの組である。健康ヒトドナー（ａ～ｃ、ｎ＝３）の血液又は非小細胞肺癌患者（ＮＳＣＬＣ）（ｄ～ｆ、ｎ＝３）の腫瘍組織から試料を収集した。細胞集団は、Ｔｃｏｎｖ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５低、及びＦＯＸＰ３－）又はＴｒｅｇ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５高、及びＦＯＸＰ３＋）として定義した。図１４Ｂは、図１４Ａに示すものと同様の研究のヒストグラムの対であり、子宮内膜癌試料のＣＤ８＋又はＣＤ４＋　Ｔ細胞、又はＴｒｅｇ細胞における表面ＯＸ４０発現を計測する。図１４Ｃは、様々な腫瘍型にわたるＴｒｅｇ細胞及びＴｅｆｆ細胞上のＯＸ４０発現を示す棒グラフである。図１４Ｄは、腫瘍関連ＣＤ４＋　Ｔｅｆｆ細胞及びＴｒｅｇ細胞におけるＯＸ４０発現を要約する表である。「－」は陰性発現／発現欠如を表し、「＋」は弱い発現を表し、「＋＋」は中程度の発現を表し、及び「＋＋＋」は高発現を表す。

【図１５Ａ】カニクイザルＰＢＭＣに由来する細胞においてｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＧＭ－ＣＳＦの量を示すグラフの組である。Ｃｙｎｏ　２及びＣｙｎｏ　９は、独立した実験で試験した同じカニクイザルのＰＢＭＣを指すことに留意されたい。他のＰＢＭＣ試料は全て異なるカニクイザルドナーから収集した。

【図１５Ｂ】カニクイザルＰＢＭＣに由来する細胞においてｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＧＭ－ＣＳＦの量を示すグラフの組である。Ｃｙｎｏ　２及びＣｙｎｏ　９は、独立した実験で試験し

た同じカニクイザルのＰＢＭＣを指すことに留意されたい。他のＰＢＭＣ試料は全て異なるカニクイザルドナーから収集した。
【図１６Ａ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－１７の量を示す。
【図１６Ｂ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－１７の量を示す。
【図１７Ａ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＴＮＦβの量を示す。
【図１７Ｂ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＴＮＦβの量を示す。
【図１８Ａ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－５の量を示す。
【図１８Ｂ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－５の量を示す。
【図１９Ａ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－１０の量を示す。
【図１９Ｂ】図１５Ａ及び図１５Ｂと同様であり、ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションによって誘導された分泌ＩＬ－１０の量を示す。
【図２０】ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激時の初代カニクイザルＰＢＭＣに対する抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１の機能的活性を調べたアッセイの結果を示すグラフの対である。２匹のカニクイザルドナーのＰＢＭＣによって分泌されたＩＬ－２の量をｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーションに対してプロットする。
【図２１】ヒトＯＸ４０アラニン突然変異体を発現する１６２４－５細胞に対するモノクローナル抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１及びｐａｂ１９２８の結合を要約する表である。
【発明を実施するための形態】
【０１５０】
本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つＯＸ４０活性を調節する抗体（例えば、モノクローナル抗体）が提供される。例えば、一態様において、本明細書には、ＯＸ４０に特異的に結合し、且つ１つ以上のＯＸ４０活性を増強するか、誘導するか、又は増加させる抗体が提供される。例えば、別の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つ１つ以上のＯＸ４０活性を不活性化するか、低下させるか、又は阻害する抗体が提供される。具体的な実施形態において、本抗体は単離されている。
【０１５１】
また、かかる抗体をコードする相補ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）などの単離核酸（ポリヌクレオチド）も提供される。更に、かかる抗体をコードする核酸（ポリヌクレオチド）を含むベクター（例えば、発現ベクター）及び細胞（例えば、宿主細胞）が提供される。また、かかる抗体を作製する方法も提供される。他の態様において、本明細書には、ＯＸ４０活性を誘導するか、増加させるか、又は増強し、及び癌など、ある種の病態を治療するための方法及び使用が提供される。更に、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性を不活性化するか、低下させるか、又は阻害し、及び炎症性又は自己免疫性疾患及び障害など、ある種の病態を治療するための方法及び使用が提供される。関連する組成物（例えば、医薬組成物）、キット、及び検出方法も提供される。
【０１５２】

５．１　用語

本明細書で使用されるとき、用語「約」及び「近似的」は、数値又は数値範囲を修飾して用いられるとき、その値又は範囲よりも５％～１０％上方及び５％～１０％下方の偏差が、記載される値又は範囲の意図された意味の範囲内に留まることを示す。

【０１５３】

本明細書で使用されるとき、例えば所与の実験において、又は複数回の実験からの平均値を用いたとき、指定される定義域にわたってＡの増加に伴いＢが実質的に増加する場合、ＢはＡ値の指定される定義域にわたってＡの「実質的増加関数」である。この定義は、指定されるＡの値に対応するＢの値が、任意のより低いＡの値に対応するＢの値と比べて最大１％、２％、３％、４％、５％、１０％、１５％、又は２０％低いことを許容する。

【０１５４】

本明細書で使用されるとき、用語「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）」及び「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）」は専門用語であり、本明細書では同義的に使用することができ、ある抗原と特異的に結合する抗原結合部位を有する分子を指す。

【０１５５】

抗体には、例えば、モノクローナル抗体、組換え産生抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、リサーフェシング抗体、キメラ抗体、免疫グロブリン、合成抗体、２つの重鎖及び２つの軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽鎖単量体、抗体重鎖単量体、抗体軽鎖二量体、抗体重鎖二量体、抗体軽鎖－抗体重鎖対、イントラボディ、ヘテロコンジュゲート抗体、シングルドメイン抗体、一価抗体、一本鎖抗体又は単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、ラクダ化抗体、アフィボディ、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体（例えば、抗抗Ｉｄ抗体を含む）、二重特異性抗体、及び多重特異性抗体が含まれ得る。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体はポリクローナル抗体集団を指す。抗体は、任意のタイプ（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、又はＩｇＹ）、任意のクラス（例えば、ＩｇG_1、ＩｇG_2、ＩｇG_3、ＩｇG_4、ＩｇA_1、又はＩｇA_2）、又は任意のサブクラス（例えば、ＩｇG_{2a}又はＩｇG_{2b}）の免疫グロブリン分子であってよい。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体はＩｇＧ抗体、又はそのクラス（例えば、ヒトＩｇG_1、ＩｇG_2、又はＩｇG_4）又はサブクラスである。具体的な実施形態において、本抗体はヒト化モノクローナル抗体である。別の具体的な実施形態において、本抗体は、例えば免疫グロブリンであるヒトモノクローナル抗体である。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、ＩｇG_1、ＩｇG_2、又はＩｇG_4抗体である。

【０１５６】

本明細書で使用されるとき、用語「抗原結合ドメイン」、「抗原結合領域」、「抗原結合部位」、及び類似の用語は、抗体分子のうち、抗体分子に抗原に対するその特異性を付与するアミノ酸残基（例えば、相補性決定領域（ＣＤＲ））を含む部分を指す。抗原結合領域は、げっ歯類（例えば、マウス、ラット、又はハムスター）及びヒトなど、任意の動物種に由来し得る。

【０１５７】

本明細書で使用されるとき、用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は同義的に使用され、当該技術分野において一般的である。可変領域は、典型的には、抗体間で配列が広範に異なり、且つ特定の抗体のその特定の抗原に対する結合及び特異性に用いられる抗体の一部分、概して軽鎖又は重鎖の一部分、典型的には成熟重鎖におけるアミノ末端約１１０～１２０アミノ酸又は１１０～１２５アミノ酸及び成熟軽鎖における約９０～１１５アミノ酸を指す。配列の変異性は相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる領域に集中している一方、可変ドメイン中のより高度に保存された領域はフレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。いかなる特定の機構又は理論によっても拘束されることを望むものではないが、軽鎖及び重鎖のＣＤＲが抗体の抗原との相互作用及び特異性に主として関与するものと考えられる。特定の実施形態において、可変領域はヒト可変領域である。特定の実施形態において、可変領域はげっ歯類又はマウスＣＤＲとヒトフレームワーク領域（ＦＲ）とを含む。

詳細な実施形態において、可変領域は霊長類（例えば、非ヒト霊長類）可変領域である。特定の実施形態において、可変領域はげっ歯類又はマウスＣＤＲと霊長類（例えば、非ヒト霊長類）フレームワーク領域（ＦＲ）とを含む。

【０１５８】

用語「ＶＬ」及び「ＶＬドメイン」は、抗体の軽鎖可変領域を指して同義的に使用される。

【０１５９】

用語「ＶＨ」及び「ＶＨドメイン」は、抗体の重鎖可変領域を指して同義的に使用される。

【０１６０】

用語「Ｋａｂａｔ付番」及び同様の用語は当該技術分野において認識されており、抗体の重鎖及び軽鎖可変領域、又はその抗原結合部分のアミノ酸残基の付番方式を指す。特定の態様において、抗体のＣＤＲはＫａｂａｔ付番方式に従い決定することができる（例えば、Ｋａｂａｔ ＥＡ&Ｗｕ ＴＴ（１９７１）Ａｎｎ ＮＹ Ａｃａｄ Ｓｃｉ １９０：３８２－３９１及びＫａｂａｔ ＥＡ ｅｔ ａｌ.，（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい）。Ｋａｂａｔ付番方式を用いると、抗体重鎖分子内のＣＤＲは、典型的にはアミノ酸位置３１～３５（任意選択で３５の後に１つ又は２つの追加的なアミノ酸（Ｋａｂａｔ付番スキームで３５Ａ及び３５Ｂと称される）が含まれ得る）（ＣＤＲ１）、アミノ酸位置５０～６５（ＣＤＲ２）、及びアミノ酸位置９５～１０２（ＣＤＲ３）に存在する。Ｋａｂａｔ付番方式を用いると、抗体軽鎖分子内のＣＤＲは、典型的にはアミノ酸位置２４～３４（ＣＤＲ１）、アミノ酸位置５０～５６（ＣＤＲ２）、及びアミノ酸位置８９～９７（ＣＤＲ３）に存在する。具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体のＣＤＲはＫａｂａｔ付番スキームにより決定される。

【０１６１】

本明細書で使用されるとき、用語「定常領域」又は「定常ドメイン」は同義的であり、その当該技術分野で一般的な意味を有する。定常領域は、抗体の抗原への結合に直接は関与しないが、Ｆｃ受容体との相互作用など、様々なエフェクター機能を呈し得る抗体部分、例えば軽鎖及び／又は重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は、概して免疫グロブリン可変ドメインと比べてより保存されたアミノ酸配列を有する。

【０１６２】

本明細書で使用されるとき、用語「重鎖」は、抗体に関連して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づき任意の異なるタイプ、例えば、アルファ（α）、デルタ（δ）、イプシロン（ε）、ガンマ（γ）、及びミュー（μ）を指すことができ、これは、ＩｇＧのサブクラス、例えばＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、及びＩｇＧ$_4$を含めた、それぞれ抗体のＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭクラスを生じさせる。

【０１６３】

本明細書で使用されるとき、用語「軽鎖」は、抗体に関連して使用されるとき、定常ドメインのアミノ酸配列に基づき任意の異なるタイプ、例えば、カッパ（κ）又はラムダ（λ）を指すことができる。軽鎖アミノ酸配列は当該技術分野において周知である。具体的な実施形態において、軽鎖はヒト軽鎖である。

【０１６４】

「結合親和性」は、概して、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合性相互作用の総和の強度を指す。特に指示がない限り、本明細書で使用されるとき、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）間の１：１相互作用を反映する固有結合親和性を指す。分子Ｘのそのパートナー Ｙに対する親和性は、概して解離定数（K_D）によって表され得る。親和性は、限定

はされないが、平衡解離定数（K_D）、及び平衡会合定数（K_A）を含め、当該技術分野において公知の幾つもの方法で計測及び／又は表現することができる。K_Dはk_{off}／k_{on}の商から計算され、一方、K_Aはk_{on}／k_{off}の商から計算される。k_{on}は（例えば、抗原に対する抗体の）会合速度定数を指し、k_{off}は（例えば、抗原に対する抗体の）解離を指す。k_{on}及びk_{off}は、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）又はＫｉｎＥｘＡなどの当業者に公知の技法によって決定することができる。

【０１６５】

本明細書で使用されるとき、「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が同様の側鎖を有するアミノ酸残基に置き換えられているものである。側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーが当該技術分野において定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、β分枝側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸が含まれる。特定の実施形態では、抗体のＣＤＲ内又はフレームワーク領域内の１つ以上のアミノ酸残基を同様の側鎖を有するアミノ酸残基に置き換えることができる。

【０１６６】

本明細書で使用されるとき、「エピトープ」は専門用語であり、抗体が特異的に結合することのできる抗原の限局的な領域を指す。エピトープは、例えば、ポリペプチドの連続するアミノ酸であってもよく（線状又は連続エピトープ）、又はエピトープは、例えば、１つ又は複数のポリペプチドの２つ以上の非連続的な領域が一体となってもよい（立体、非線状、不連続、又は非隣接エピトープ）。特定の実施形態において、抗体が結合するエピトープは、例えば、ＮＭＲ分光法、Ｘ線回折結晶学的研究、ＥＬＩＳＡアッセイ、質量分析法（例えば、液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析法）と併せた水素／重水素交換、アレイベースのオリゴ－ペプチドスキャニングアッセイ、及び／又は突然変異誘発マッピング（例えば、部位特異的突然変異誘発マッピング）により決定することができる。Ｘ線結晶学については、当該技術分野における公知の方法のいずれを用いて結晶化を達成してもよい（例えば、Ｇｉｅｇｅ Ｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ Ｄ Ｂｉｏｌ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ ５０（Ｐｔ ４）：３３９－３５０；ＭｃＰｈｅｒｓｏｎ Ａ（１９９０）Ｅｕｒ Ｊ Ｂｉｏｃｈｅｍ １８９：１－２３；Ｃｈａｙｅｎ ＮＥ（１９９７）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ５：１２６９－１２７４；ＭｃＰｈｅｒｓｏｎ Ａ（１９７６）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２５１：６３００－６３０３）。抗体：抗原結晶は周知のＸ線回折技法を用いて研究することができ、Ｘ－ＰＬＯＲなどのコンピュータソフトウェアを使用して精密化することができる（Ｙａｌｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ，１９９２，配布元Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｓｉｍｕｌａｔｉｏｎｓ，Ｉｎｃ．；例えば、Ｍｅｔｈ Ｅｎｚｙｍｏｌ（１９８５）ｖｏｌｕｍｅｓ １１４&１１５，ｅｄｓ Ｗｙｃｋｏｆｆ ＨＷ ｅｔ ａｌ．，；米国特許出願公開第２００４／００１４１９４号明細書を参照されたい）、及びＢＵＳＴＥＲ（Ｂｒｉｃｏｇｎｅ Ｇ（１９９３）Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ Ｄ Ｂｉｏｌ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ ４９（Ｐｔ １）：３７－６０；Ｂｒｉｃｏｇｎｅ Ｇ（１９９７）Ｍｅｔｈ Ｅｎｚｙｍｏｌ ２７６Ａ：３６１－４２３，ｅｄ Ｃａｒｔｅｒ ＣＷ；Ｒｏｖｅｒｓｉ Ｐ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ Ｄ Ｂｉｏｌ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ ５６（Ｐｔ １０）：１３１６－１３２３）。突然変異誘発マッピング研究は、当業者に公知の任意の方法を用いて達成することができる。アラニンスキャニング突然変異誘発法を含めた突然変異誘発法の説明については、例えば、Ｃｈａｍｐｅ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７０：１３８８－１３９４及びＣｕｎｎｉｎｇｈａｍ ＢＣ&Ｗｅｌｌｓ ＪＡ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４４：１０８１－１０８５を参照されたい。具体的な実施形態において、抗体

のエピトープはアラニンスキャニング突然変異誘発研究を用いて決定される。

【０１６７】

本明細書で使用されるとき、用語「免疫特異的に結合する」、「免疫特異的に認識する」、「特異的に結合する」、及び「特異的に認識する」は、抗体の二関連して、類似の用語であり、抗原（例えば、エピトープ又は免疫複合体）に結合する分子を（かかる結合が当業者によって理解されるとおり）指す。例えば、ある抗原に特異的に結合する分子は、他のペプチド又はポリペプチドに対して、例えばイムノアッセイ、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）、ＫｉｎＥｘＡ　３０００機器（Ｓａｐｉｄｙｎｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、Ｂｏｉｓｅ，ＩＤ）、又は当該技術分野において公知の他のアッセイによって決定するとき、概してより低い親和性で結合し得る。具体的な実施形態において、ある抗原に免疫特異的に結合する分子は、その分子が別の抗原に非特異的に結合するときのK_Aよりも少なくとも２対数、２．５対数、３対数、４対数又はそれを超えて高いK_Aでその抗原に結合する。抗ＯＸ４０抗原結合ドメインとヒト免疫細胞が発現する抗原に特異的に結合しない第２の抗原結合ドメインとを有する抗体に関連して、用語「免疫特異的に結合する」、「免疫特異的に認識する」、「特異的に結合する」、及び「特異的に認識する」は、２つ以上の抗原（即ち、ＯＸ４０及び第２の抗原結合ドメインに関連する抗原）に対して個別的な特異性を有する抗体を指す。

【０１６８】

別の具体的な実施形態において、抗原に免疫特異的に結合する分子は、同様の結合条件下で他のタンパク質と交差反応しない。別の具体的な実施形態において、抗原に免疫特異的に結合する分子は他の非ＯＸ４０タンパク質と交差反応しない。具体的な実施形態において、本明細書には、別の無関係の抗原に対するよりも高い親和性でＯＸ４０に結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、本明細書には、例えばラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴、又は結合平衡除外アッセイによって計測したとき、別の無関係の抗原に対するよりも２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又はそれを超えて高い親和性でＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に結合する抗体が提供される。具体的な実施形態において、無関係の非ＯＸ４０タンパク質に対する本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体の結合程度は、例えばラジオイムノアッセイによって計測したとき、ＯＸ４０タンパク質に対する抗体の結合の１０％、１５％、又は２０％未満である。

【０１６９】

具体的な実施形態において、本明細書には、別のＯＸ４０種に対するよりも高い親和性でヒトＯＸ４０に結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、本明細書には、例えばラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴、又は結合平衡除外アッセイによって計測したとき、別のＯＸ４０種に対するよりも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％又はそれを超えて高い親和性でヒトＯＸ４０に結合する抗体が提供される。具体的な実施形態において、ヒトＯＸ４０に結合する本明細書に記載される抗体は、別のＯＸ４０タンパク質種に対して、例えばラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴、又は結合平衡除外アッセイによって計測したとき、ヒトＯＸ４０タンパク質に対する抗体の結合の１０％、１５％、又は２０％未満で結合し得る。

【０１７０】

本明細書で使用されるとき、用語「ＯＸ４０受容体」又は「ＯＸ４０」又は「ＯＸ４０ポリペプチド」は、限定はされないが、天然ＯＸ４０、ＯＸ４０のアイソフォーム、又はＯＸ４０の種間ＯＸ４０ホモログを含めたＯＸ４０を指す。ＯＸ４０は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー４（ＴＮＦＲＳＦ４）、ＡＣＴ３５、ＣＤ１３４、ＩＭＤ１６、及びＴＸＧＰ１Ｌとしても知られる。ＧｅｎＢａｎｋ（商標）受託番号ＢＣ１０５０７０及びＢＣ１０５０７２がヒトＯＸ４０核酸配列を提供する。Ｒｅｆｓｅｑ番号ＮＰ＿００３３１８．１がヒトＯＸ４０のアミノ酸配列を提供する。ヒトＯＸ４０の未成熟アミノ酸配列は配列番号１７として提供される。ヒトＯＸ４０の成熟アミノ酸配列は配列

番号５５として提供される。ヒトＯＸ４０はＥｎｔｒｅｚ　ＧｅｎｅによってＧｅｎｅＩＤ：７２９３と指定される。ＲｅｆＳｅｑ番号ＸＭ＿００５５４５１２２．１及びＸＰ＿００５５４５１７９．１は、それぞれ予想カニクイザルＯＸ４０核酸配列及びアミノ酸配列を提供する。ヒトＯＸ４０の可溶性アイソフォームも報告されている（Ｔａｙｌｏｒ　Ｌ　ｅｔ　ａｌ．，（２００１）Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　２５５：６７－７２）。本明細書で使用されるとき、用語「ヒトＯＸ４０」は、配列番号５５のポリペプチド配列を含むＯＸ４０を指す。

【０１７１】

本明細書で使用されるとき、用語「ＯＸ４０リガンド」及び「ＯＸ４０Ｌ」は、腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー４（ＴＮＦＳＦ４）を指す。ＯＸ４０Ｌは、別名ＣＤ２５２、ＧＰ３４、ＴＸＧＰ１、及びＣＤ１３４Ｌとして知られる。ＧｅｎＢａｎｋ（商標）受託番号Ｄ９０２２４．１及びＡＫ２９７９３２．１が例示的ヒトＯＸ４０Ｌ核酸配列を提供する。ＲｅｆＳｅｑ番号ＮＰ＿００３３１７．１及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｐ２３５１０－１がアイソフォーム１の例示的ヒトＯＸ４０Ｌアミノ酸配列を提供する。ＲｅｆＳｅｑ番号ＮＰ＿００１２８４４９１．１及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｐ２３５１０－２がアイソフォーム２の例示的ヒトＯＸ４０Ｌアミノ酸配列を提供する。ヒトＯＸ４０ＬはＥｎｔｒｅｚ　ＧｅｎｅによってＧｅｎｅＩＤ：７２９２と指定される。詳細な実施形態において、ＯＸ４０Ｌは配列番号４２のヒトＯＸ４０Ｌアイソフォーム１又は配列番号４３のアイソフォーム２である。

【０１７２】

本明細書で使用されるとき、用語「宿主細胞」は、任意のタイプの細胞、例えば、初代細胞、培養下の細胞、又は細胞株由来の細胞であってよい。具体的な実施形態において、用語「宿主細胞」は、核酸分子がトランスフェクトされた細胞及びかかる細胞の子孫又は潜在的子孫を指す。かかる細胞の子孫は、例えば後続の世代で起こり得る突然変異若しくは環境の影響、又は宿主細胞ゲノムへの核酸分子の組み込みに起因して、核酸分子をトランスフェクトされた親細胞と同一ではないこともある。

【０１７３】

本明細書で使用されるとき、用語「有効量」は、対象への療法薬投与に関連して、所望の予防又は治療効果を実現する療法薬の量を指す。有効量の例は以下の第５．５．１．３節に提供される。

【０１７４】

本明細書で使用されるとき、用語「対象」と「患者」とは同義的に使用される。対象は動物であってもよい。一部の実施形態において、対象は、非霊長類（例えば、雌ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット等）又は霊長類（例えば、サル又はヒト）、最も好ましくはヒトなどの哺乳動物である。一部の実施形態において、対象はカニクイザルである。特定の実施形態において、かかる用語は非ヒト動物（例えば、ブタ、ウマ、雌ウシ、ネコ、又はイヌなどの非ヒト動物）を指す。一部の実施形態において、かかる用語はペット又は農業動物を指す。具体的な実施形態において、かかる用語はヒトを指す。

【０１７５】

本明細書で使用されるとき、試験抗体と第１の抗原との間の結合は、試験抗体と第１の抗原との間の結合が、例えばフローサイトメトリー分析で計測したとき、試験抗体と第２の抗原との間の結合と比べて少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、又は８０％低下する場合、試験抗体と第２の抗原との間の結合と比べて「実質的に弱まっている」。

【０１７６】

２つの配列（例えば、アミノ酸配列又は核酸配列）間の「同一性パーセント」の決定はまた、数学的アルゴリズムを用いて達成することもできる。２つの配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの具体的な非限定例は、Ｋａｒｌｉｎ　Ｓ＆Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ（１９９３）ＰＮＡＳ　９０：５８７３－５８７７にあるとおり修正した、Ｋａｒｌｉｎ　Ｓ＆Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ（１９９０）ＰＮＡＳ　８７：２２６４－２２６８のア

ルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９０）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２１５：４０３のＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴプログラムに組み込まれている。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索は、ＮＢＬＡＳＴヌクレオチドプログラムパラメータを例えばスコア＝１００、ワード長＝１２に設定して実施することにより、本明細書に記載される核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得ることができる。ＢＬＡＳＴタンパク質検索は、ＸＢＬＡＳＴプログラムパラメータを例えばスコア５０、ワード長＝３に設定して実施することにより、本明細書に記載されるタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較のためギャップ付きアラインメントを達成するには、Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９７）Ｎｕｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ　２５：３３８９　３４０２に記載されるとおりのギャップ付きＢＬＡＳＴを利用することができる。或いは、ＰＳＩ　ＢＬＡＳＴを用いて、分子間の距離関係を検出する反復検索を実施することができる（同上）。ＢＬＡＳＴ、ギャップ付きＢＬＡＳＴ、及びＰＳＩ　Ｂｌａｓｔプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムの（例えば、ＸＢＬＡＳＴ及びＮＢＬＡＳＴの）デフォルトパラメータを使用することができる（例えば、ワールドワイドウェブ、ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ上の国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）を参照されたい）。配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの別の具体的な非限定例は、Ｍｙｅｒｓ　ａｎｄ　Ｍｉｌｌｅｒ，１９８８，ＣＡＢＩＯＳ　４：１１　１７のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、ＧＣＧ配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれている。アミノ酸配列の比較にＡＬＩＧＮプログラムを利用する場合、ＰＡＭ１２０重み付け残基表、１２のギャップ長ペナルティ、及び４のギャップペナルティーを使用することができる。

【０１７７】

２つの配列間の同一性パーセントは、上記に記載されるものと同様の技法を、ギャップを許容して又は許容せずに用いて決定することができる。同一性パーセントの計算では、典型的には完全な一致のみがカウントされる。

【０１７８】

本明細書で使用されるとき、用語「ヒト免疫細胞が発現する抗原に結合しない抗原結合ドメイン」は、免疫応答において役割を果たす造血由来の任意のヒト細胞が発現する抗原に抗原結合ドメインが結合しないことを意味する。免疫細胞には、Ｂ細胞及びＴ細胞などのリンパ球；ナチュラルキラー細胞；並びに単球、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、好塩基球、及び顆粒球などの骨髄性細胞が含まれる。例えば、かかる結合ドメインであれば、ＯＸ４０、又はヒト免疫細胞が発現するＴＮＦ受容体スーパーファミリーの任意の他のメンバーに結合しないであろう。しかしながら、抗原結合ドメインは、限定はされないが、他の生物及び非ヒトで発現する抗原（即ち、非ヒト抗原）；野生型ヒト細胞が発現しない抗原；又はウイルス抗原、限定はされないが、ヒト細胞に感染しないウイルスの抗原、又は非感染ヒト免疫細胞に存在しないウイルス抗原などの抗原に結合することができる。

【０１７９】

５．２　抗体

ある具体的な態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体（例えば、モノクローナル抗体、例えば、キメラ、ヒト化、又はヒト抗体など）が提供される。

【０１８０】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体はヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞及びヒトＣＤ８＋　Ｔ細胞に結合する。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体はヒトＣＤ４＋　細胞及びカニクイザルＣＤ４＋　Ｔ細胞に結合する。

【０１８１】

詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、表１に示されるとおりの、

（ａ）アミノ酸配列ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）を含むか、それからなるか、又はそれから本質的になるＶＬ　ＣＤＲ１と、
（ｂ）アミノ酸配列ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）を含むか、それからなるか、又はそれから本質的になるＶＬ　ＣＤＲ２と、
（ｃ）アミノ酸配列ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）を含むか、それからなるか、又はそれから本質的になるＶＬ　ＣＤＲ３と
を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む。

【０１８２】

一部の実施形態において、本抗体は、本明細書に記載されるＶＬフレームワーク領域を含む。具体的な実施形態において、本抗体は、表３に示される抗体のＶＬフレームワーク領域（ＦＲ）を含む。

【０１８３】

別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、表２に示されるとおりの、
（ａ）アミノ酸配列ＧＳＡＭＨ（配列番号４）を含むか、それからなるか、又はそれから本質的になるＶＨ　ＣＤＲ１と、
（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）を含むか、それからなるか、又はそれから本質的になるＶＨ　ＣＤＲ２と、
（ｃ）アミノ酸配列ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）を含むか、それからなるか、又はそれから本質的になるＶＨ　ＣＤＲ３と
を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む。

【０１８４】

一部の実施形態において、本抗体は、本明細書に記載されるＶＨフレームワークを含む。具体的な実施形態において、本抗体は、表４に示される抗体のＶＨフレームワーク領域を含む。

【０１８５】

【表１】

表1. VL CDRアミノ酸配列[1]

抗体	VL CDR1 (配列番号)	VL CDR2 (配列番号)	VL CDR3 (配列番号)
pab1949	RSSQSLLHSNGYNYLD (1)	LGSNRAS (2)	MQALQTPLT (3)

[1]表１のVL CDRはKabatに従い決定される。

【０１８６】

【表２】

表2. VH CDRアミノ酸配列[2]

抗体	VH CDR1 (配列番号)	VH CDR2 (配列番号)	VH CDR3 (配列番号)
pab1949	GSAMH (4)	RIRSKANSYATAYAASVKG (5)	GIYDSSGYDY (6)

[2]表２のVH CDRはKabatに従い決定される。

【０１８７】

【表３】

表3. VL FRアミノ酸配列[3]

抗体	VL FR1 (配列番号)	VL FR2 (配列番号)	VL FR3 (配列番号)	VL FR4 (配列番号)
pab1949	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (7)	WYLQKPGQSP QLLIY (8)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYC (9)	FGGGTKVEIK (10)

[3]表 3 に記載される VL フレームワーク領域は、Kabat 付番方式による CDR の境界に基づき決定される。換言すれば、これらの VL CDR は Kabat により決定され、フレームワーク領域は、フォーマット FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及び FR4 の可変領域において CDR を取り囲むアミノ酸残基である。

【０１８８】
【表４】

表 4. VH FR アミノ酸配列[4]

抗体	VH FR1 (配列番号)	VH FR2 (配列番号)	VH FR3 (配列番号)	VH FR4 (配列番号)
pab1949	EVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFS (11)	WVRQASGKGLE WVG (12)	RFTISRDDSKNTAYLQMNS LKTEDTAVYYCTS (13)	WGQGTLVTVSS (14)

[4]表 4 に記載される VH フレームワーク領域は、Kabat 付番方式による CDR の境界に基づき決定される。換言すれば、これらの VH CDR は Kabat により決定され、フレームワーク領域は、フォーマット FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及び FR4 の可変領域において CDR を取り囲むアミノ酸残基である。

【０１８９】
具体的な実施形態において、本抗体は、表３に示される４つのＶＬフレームワーク領域（ＦＲ）と表４に示される４つのＶＨフレームワーク領域（ＦＲ）とを含む。
【０１９０】
特定の実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つ例えば表１及び表２に示されるとおりの（即ち、配列番号１～６）、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４の軽鎖可変領域（ＶＬ）ＣＤＲ及び重鎖可変領域（ＶＨ）ＣＤＲを含む抗体が提供される。特定の実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つ例えば表１及び表２に示されるとおりの（即ち、配列番号１～６）、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４の軽鎖可変領域（ＶＬ）ＣＤＲ及び重鎖可変領域（ＶＨ）ＣＤＲと表３及び表４に示されるＶＬフレームワーク領域及びＶＨフレームワーク領域とを含む抗体が提供される。
【０１９１】
詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、表１に示されるとおりのＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と表３に示されるＶＬフレームワーク領域とを含む。
【０１９２】
特定の実施形態において、抗体は、ヒト遺伝子によってコードされるアミノ酸配列に由来する軽鎖可変フレームワーク領域を含み、このアミノ酸配列はＩＧＫＶ２－２８＊０１（配列番号１８）のものである。
【０１９３】
詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、表２に示されるとおりのＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と表４に示されるＶＨフレームワーク領域とを含む。
【０１９４】

特定の実施形態において、本抗体は、ヒト遺伝子によってコードされるアミノ酸配列に由来する重鎖可変フレームワーク領域を含み、このアミノ酸配列はＩＧＨＶ３－７３＊０１（配列番号１９）のものである。

【０１９５】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列からなるか又はそれから本質的になるＶＬドメインを含む。

【０１９６】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体は、配列番号１６のアミノ酸配列からなるか又はそれから本質的になるＶＨドメインを含む。

【０１９７】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体はＶＨドメインとＶＬドメインとを含み、このＶＨドメイン及びＶＬドメインは、それぞれ配列番号１６及び配列番号１５のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体はＶＨドメインとＶＬドメインとを含み、このＶＨドメイン及びＶＬドメインは、それぞれ配列番号１６及び配列番号１５のアミノ酸配列からなるか又はそれから本質的になる。

【０１９８】

特定の態様において、本明細書に記載される抗体は、そのＶＬドメイン単独、又はそのＶＨドメイン単独によるか、又はその３つのＶＬ　ＣＤＲ単独、又はその３つのＶＨ　ＣＤＲ単独によって記載し得る。例えば、ヒト軽鎖又は重鎖ライブラリからそれぞれ相補的軽鎖又は重鎖を同定して、元の抗体と同程度か又はそれより高い親和性を有するヒト化抗体変異体を得ることによるマウス抗αｖβ３抗体のヒト化について記載しているＲａｄｅｒ　Ｃ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９８）ＰＮＡＳ　９５：８９１０－８９１５（全体として参照により本明細書に援用される）を参照されたい。また、特定のＶＬドメイン（又はＶＨドメイン）を使用し且つ相補的可変ドメインに関してライブラリをスクリーニングすることによる特異的抗原に結合する抗体を作製する方法について記載しているＣｌａｃｋｓｏｎ　Ｔ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ　３５２：６２４－６２８（全体として参照により本明細書に援用される）も参照されたい。このスクリーンにより、特定のＶＨドメインに対する１４個の新規パートナー及び特定のＶＬドメインに対する１３個の新規パートナーが生じ、これらは、ＥＬＩＳＡによって決定するとき、強力な結合剤であった。また、特定のＶＨドメインを使用し且つ相補的ＶＬドメインに関してライブラリ（例えば、ヒトＶＬライブラリ）をスクリーニングすることによる特異的抗原に結合する抗体を作製する方法について記載しているＫｉｍ　ＳＪ＆Ｈｏｎｇ　ＨＪ，（２００７）Ｊ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ　４５：５７２－５７７（全体として参照により本明細書に援用される）も参照されたい。これらの選択されたＶＬドメイン使用して、次に追加の相補的（例えば、ヒト）ＶＨドメインの選択をガイドし得る。

【０１９９】

特定の態様において、抗体のＣＤＲは、免疫グロブリン構造ループの位置を参照するＣｈｏｔｈｉａ付番スキームに従い決定することができる（例えば、Ｃｈｏｔｈｉａ　Ｃ＆Ｌｅｓｋ　ＡＭ，（１９８７），Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　１９６：９０１－９１７；Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ　Ｂ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９７）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２７３：９２７－９４８；Ｃｈｏｔｈｉａ　Ｃ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９２）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２２７：７９９－８１７；Ｔｒａｍｏｎｔａｎｏ　Ａ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９０）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２１５（１）：１７５－８２；及び米国特許第７，７０９，２２６号明細書を参照されたい）。典型的には、Ｋａｂａｔ付番慣習を使用するとき、Ｃｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲ－Ｈ１ループは重鎖アミノ酸２６～３２、３３、又は３４に位置し、Ｃ

ｈｏｔｈｉａ ＣＤＲ－Ｈ２ループは重鎖アミノ酸５２～５６に位置し、及びＣｈｏｔｈｉａ ＣＤＲ－Ｈ３ループは重鎖アミノ酸９５～１０２に位置する一方、Ｃｈｏｔｈｉａ ＣＤＲ－Ｌ１ループは軽鎖アミノ酸２４～３４に位置し、Ｃｈｏｔｈｉａ ＣＤＲ－Ｌ２ループは軽鎖アミノ酸５０～５６に位置し、及びＣｈｏｔｈｉａ ＣＤＲ－Ｌ３ループは軽鎖アミノ酸８９～９７に位置する。Ｋａｂａｔ付番慣習を使用して付番したときのＣｈｏｔｈｉａ ＣＤＲ～Ｈ１ループの終わりは、ループの長さに応じてＨ３２～Ｈ３４で異なる（これは、Ｋａｂａｔ付番スキームがＨ３５Ａ及びＨ３５Ｂに挿入を置くためである；３５Ａも３５Ｂも存在しない場合、ループは３２で終わる；３５Ａのみが存在する場合、ループは３３で終わる；３５Ａ及び３５Ｂの両方が存在する場合、ループは３４で終わる）。

【０２００】

特定の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬのＣｈｏｔｈｉａ ＶＬ ＣＤＲを含む抗体が提供される。特定の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨのＣｈｏｔｈｉａ ＶＨ ＣＤＲを含む抗体が提供される。特定の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬのＣｈｏｔｈｉａ ＶＬ ＣＤＲを含み、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨのＣｈｏｔｈｉａ ＶＨ ＣＤＲを含む抗体が提供される。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗体は１つ以上のＣＤＲを含み、ここで、Ｃｈｏｔｈｉａ及びＫａｂａｔ ＣＤＲは同じアミノ酸配列を有する。特定の実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つＫａｂａｔ ＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａ ＣＤＲとの組み合わせを含む抗体が提供される。

【０２０１】

特定の態様において、抗体のＣＤＲは、Ｌｅｆｒａｎｃ Ｍ－Ｐ，（１９９９）Ｔｈｅ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｓｔ ７：１３２－１３６及びＬｅｆｒａｎｃ Ｍ－Ｐ ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ ２７：２０９－２１２に記載されるとおりのＩＭＧＴ付番方式に従い決定することができる。ＩＭＧＴ付番スキームによれば、ＶＨ－ＣＤＲ１は２６～３５位にあり、ＶＨ－ＣＤＲ２は５１～５７位にあり、ＶＨ－ＣＤＲ３は９３～１０２位にあり、ＶＬ－ＣＤＲ１は２７～３２位にあり、ＶＬ－ＣＤＲ２は５０～５２位にあり、及びＶＬ－ＣＤＲ３は８９～９７位にある。詳細な実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つＩＭＧＴ付番方式によって決定されるとおりの、例えば、Ｌｅｆｒａｎｃ Ｍ－Ｐ（１９９９）前掲及びＬｅｆｒａｎｃ Ｍ－Ｐ ｅｔ ａｌ．，（１９９９）前掲）に記載されるとおりのｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体が提供される。

【０２０２】

特定の態様において、抗体のＣＤＲは、ＭａｃＣａｌｌｕｍ ＲＭ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２６２：７３２－７４５に従い決定することができる。例えば、Ｍａｒｔｉｎ Ａ.“Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｖａｒｉａｂｌｅ Ｄｏｍａｉｎｓ，” ｉｎ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ ａｎｄ Ｄｕｅｂｅｌ，ｅｄｓ．，Ｃｈａｐｔｅｒ ３１，ｐｐ．４２２－４３９，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｂｅｒｌｉｎ（２００１）も参照されたい。詳細な実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つＭａｃＣａｌｌｕｍ ＲＭ ｅｔ ａｌの方法によって決定されるとおりのｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体が提供される。

【０２０３】

特定の態様において、抗体のＣＤＲは、Ｋａｂａｔ ＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａ構造ループとの間の組み合わせに相当し、且つＯｘｆｏｒｄ ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モ

デル化ソフトウェア（Ｏｘｆｏｒｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｇｒｏｕｐ，Ｉｎｃ．）によって用いられているＡｂＭ超可変領域を参照するＡｂＭ付番スキームに従い決定することができる。詳細な実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合し、且つＡｂＭ付番スキームによって決定されるとおりのｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体が提供される。

【０２０４】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体のＶＨ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、又はＣＤＲ３）及び／又はＶＬ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、又はＣＤＲ３）領域に沿った１つ以上のＣＤＲの位置は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、１、２、３、４、５、又は６アミノ酸位置だけ異なってもよい。例えば、一実施形態において、本明細書に記載される抗体のＣＤＲを定義する位置は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４）のＣＤＲ位置と比べてＣＤＲのＮ末端及び／又はＣ末端境界を１、２、３、４、５、又は６アミノ酸だけシフトすることにより異なってもよい。別の実施形態において、本明細書に記載される抗体のＶＨ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、又はＣＤＲ３）及び／又はＶＬ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、又はＣＤＲ３）領域に沿った１つ以上のＣＤＲの長さは、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、１、２、３、４、５アミノ酸、又はそれを超えて異なってもよい（例えば、短くても又は長くてもよい）。

【０２０５】

一実施形態において、本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及び／又はＶＨ　ＣＤＲ３は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、本明細書に記載されるＣＤＲ（例えば、配列番号１～６）の１つ以上と比べて１、２、３、４、５アミノ酸又はそれを超えて短くてもよい。別の実施形態において、本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及び／又はＶＨ　ＣＤＲ３は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、本明細書に記載されるＣＤＲ（例えば、配列番号１～６）の１つ以上と比べて１、２、３、４、５アミノ酸又はそれを超えて長くてもよい。別の実施形態において、本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及び／又はＶＨ　ＣＤＲ３のアミノ末端は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、本明細書に記載されるＣＤＲ（例えば、配列番号１～６）の１つ以上と比較して１、２、３、４、５アミノ酸又はそれを超えて延長されてもよい。別の実施形態において、本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及び／又はＶＨ　ＣＤＲ３のカルボキシ末端は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、本明

細書に記載されるＣＤＲ（例えば、配列番号１～６）の１つ以上と比較して１、２、３、４、５アミノ酸又はそれを超えて延長されてもよい。別の実施形態において、本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及び／又はＶＨ　ＣＤＲ３のアミノ末端は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、本明細書に記載されるＣＤＲ（例えば、配列番号１～６）の１つ以上と比較して１、２、３、４、５アミノ酸又はそれを超えて短縮されてもよい。一実施形態において、本明細書に記載されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及び／又はＶＨ　ＣＤＲ３のカルボキシ末端は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されている（例えば、実質的に、例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％維持されている）限り、本明細書に記載されるＣＤＲ（例えば、配列番号１～６）の１つ以上と比較して１、２、３、４、５アミノ酸又はそれを超えて短縮されてもよい。当該技術分野において公知の任意の方法、例えば本明細書に提供される「実施例」の節（第６節）に記載される結合アッセイ及び条件を用いて、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対する免疫特異的結合が維持されているかどうかを確かめることができる。

【０２０６】

具体的な態様において、本明細書には、抗体軽鎖及び重鎖、例えば別個の軽鎖及び重鎖を含む抗体が提供される。軽鎖に関して、具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗体の軽鎖はκ軽鎖である。別の具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗体の軽鎖はλ軽鎖である。更に別の具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗体の軽鎖はヒトκ軽鎖又はヒトλ軽鎖である。詳細な実施形態では、ＯＸ４０ポリペプチド（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ＶＬドメインのアミノ酸配列が配列番号１５に示される配列を含む軽鎖であって、且つ軽鎖の定常領域がヒトκ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。別の詳細な実施形態では、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ＶＬドメインのアミノ酸配列が配列番号１５に示される配列を含む軽鎖であって、且つ軽鎖の定常領域がヒトλ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。具体的な実施形態では、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ＶＬドメインのアミノ酸配列が配列番号１５に示される配列を含む軽鎖であって、且つ軽鎖の定常領域がヒトκ又はλ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。ヒト定常領域配列の非限定的な例は当該技術分野において記載されており、例えば、米国特許第５，６９３，７８０号明細書及びＫａｂａｔ　ＥＡ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９１）前掲を参照されたい。

【０２０７】

詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２０８】

重鎖に関して、具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗体の重鎖は、アルファ（α）、デルタ（δ）、イプシロン（ε）、ガンマ（γ）又はミュー（μ）重鎖であり得る。別の具体的な実施形態では、記載される抗体の重鎖は、ヒトアルファ（α）、デルタ（δ）、イプシロン（ε）、ガンマ（γ）又はミュー（μ）重鎖を含み得る。詳細な実施形態では、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ＶＨドメインのアミノ酸配列が配列番号１６に示される配列を含み得る重鎖であって、重鎖の定常領域がヒトガンマ（γ）重鎖定常領域のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。具体的な実施形態では、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ＶＨドメインのアミノ酸配列が配列番号１６に示される配列を含む重鎖であって、重鎖の定常領域が本明細書に記載される又は当該技術分野において

公知のヒト重鎖のアミノ酸を含む重鎖を含む。ヒト定常領域配列の非限定的な例は当該技術分野において記載されており、例えば、米国特許第５，６９３，７８０号明細書及びＫａｂａｔ　ＥＡ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９１）前掲を参照されたい。

【０２０９】

詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２１に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号６０に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号６１に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号５１に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号６２に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号５２に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号６３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【０２１０】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される任意のアミノ酸配列を含むＶＬドメイン及びＶＨドメインを含み、定常領域がＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、又はＩｇＹ免疫グロブリン分子、又はヒトＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、又はＩｇＹ免疫グロブリン分子の定常領域のアミノ酸配列を含む。別の具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される任意のアミノ酸配列を含むＶＬドメイン及びＶＨドメインを含み、定常領域が、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、又はＩｇＹ免疫グロブリン分子、任意のクラス（例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2）、又は任意のサブクラス（例えば、IgG_{2a}及びIgG_{2b}）の免疫グロブリン分子の定常領域のアミノ酸配列を含む。詳細な実施形態において、定常領域は、ヒトＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、又はＩｇＹ免疫グロブリン分子、任意のクラス（例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2）、又は任意のサブクラス（例えば、IgG_{2a}及びIgG_{2b}）の免疫グロブリン分子の定常領域のアミノ酸配列を含む。

【０２１１】

別の具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される任意のアミノ酸配列を含むＶＬドメイン及びＶＨドメインを含み、定常領域が、ヒトIgG_1（例えば、アロタイプＧ１ｍ３、Ｇ１ｍ１７，１又はＧ１ｍ１７，１，２）、ヒトIgG_2、又はヒトIgG_4の定常領域のアミノ酸配列を含む。詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される任意のアミノ酸配列を含むＶＬドメイン及びＶＨドメインを含み、定常領域が、ヒトIgG_1（アロタイプＧ１ｍ３）の定常領域のアミノ酸配列を含む。ヒト定常領域の非限定的な例は当該技術分野において記載されており、例えば、Ｋａｂａｔ　ＥＡ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９１）前掲を参照されたい。

【０２１２】

別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖と配列番号２１

に示されるアミノ酸配列を含む重鎖とを含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖と配列番号６０に示されるアミノ酸配列を含む重鎖とを含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖と配列番号２３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖とを含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖と配列番号６１に示されるアミノ酸配列を含む重鎖とを含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖と配列番号５１又は５２に示されるアミノ酸配列を含む重鎖とを含む。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖と配列番号６２又は６３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖とを含む。

【０２１３】

特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域（例えば、ＣＨ２ドメイン（ヒトＩｇＧ$_1$の残基２３１～３４０）及び／又はＣＨ３ドメイン（ヒトＩｇＧ$_1$の残基３４１～４４７）及び／又はヒンジ領域（Ｋａｂａｔ付番方式（例えば、ＫａｂａｔのＥＵインデックス）に従う付番による））に１、２個、又はそれを超える突然変異（例えば、アミノ酸置換）を導入して、血清中半減期、補体結合、Ｆｃ受容体結合及び／又は抗原依存性細胞傷害など、抗体の１つ以上の機能特性を改変する。

【０２１４】

特定の実施形態では、例えば米国特許第５，６７７，４２５号明細書に記載されるとおり、Ｆｃ領域（ＣＨ１ドメイン）のヒンジ領域に１、２個、又はそれを超える突然変異（例えば、アミノ酸置換）を導入して、ヒンジ領域におけるシステイン残基の数を改変する（例えば、増加又は減少させる）。ＣＨ１ドメインのヒンジ領域におけるシステイン残基の数を改変すると、例えば、軽鎖及び重鎖のアセンブリが促進され、又は抗体の安定性が改変され得る（例えば、増加又は減少し得る）。

【０２１５】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域（例えば、ＣＨ２ドメイン（ヒトＩｇＧ$_1$の残基２３１～３４０）及び／又はＣＨ３ドメイン（ヒトＩｇＧ$_1$の残基３４１～４４７）及び／又はヒンジ領域（Ｋａｂａｔ付番方式（例えば、ＫａｂａｔのＥＵインデックス）に従う付番による））に１、２個、又はそれを超える突然変異（例えば、アミノ酸置換）を導入して、エフェクター細胞の表面上のＦｃ受容体（例えば、活性化Ｆｃ受容体）に対する抗体の親和性を増加又は低下させる。Ｆｃ受容体に対する抗体の親和性を低下又は増加させる抗体のＦｃ領域の突然変異及びＦｃ受容体又はその断片へのかかる突然変異の導入技法は当業者に公知である。Ｆｃ受容体に対する抗体の親和性を改変するために作製し得る抗体のＦｃ受容体における突然変異の例は、例えば、Ｓｍｉｔｈ Ｐ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）ＰＮＡＳ １０９：６１８１－６１８６、米国特許第６，７３７，０５６号明細書、及び国際公開第０２／０６０９１９号パンフレット；同第９８／２３２８９号パンフレット；及び同第９７／３４６３１号パンフレット（これらは参照により本明細書に援用される）に記載されている。

【０２１６】

具体的な実施形態では、ＩｇＧ定常ドメイン、又はそのＦｃＲｎ結合断片（好ましくはＦｃ又はヒンジ－Ｆｃドメイン断片）に１、２個、又はそれを超えるアミノ酸突然変異（即ち、置換、挿入又は欠失）を導入して、抗体のインビボ半減期を改変する（例えば、低下又は増加させる）。抗体のインビボ半減期を改変し得る（例えば、低下又は増加させ得る）突然変異の例については、例えば、国際公開第０２／０６０９１９号パンフレット；同第９８／２３２８９号パンフレット；及び同第９７／３４６３１号パンフレット；及び米国特許第５，８６９，０４６号明細書、同第６，１２１，０２２号明細書、同第６，２

７７，３７５号明細書及び同第６，１６５，７４５号明細書を参照されたい。一部の実施形態では、ＩｇＧ定常ドメイン、又はそのＦｃＲｎ結合断片（好ましくはＦｃ又はヒンジ－Ｆｃドメイン断片）に１、２個又はそれを超えるアミノ酸突然変異（即ち、置換、挿入、又は欠失）を導入して、抗体のインビボ半減期を減少させる。他の実施形態では、ＩｇＧ定常ドメイン、又はそのＦｃＲｎ結合断片（好ましくはＦｃ又はヒンジ－Ｆｃドメイン断片）に１、２個又はそれを超えるアミノ酸突然変異（即ち、置換、挿入又は欠失）を導入して、抗体のインビボ半減期を増加させる。具体的な実施形態では、本抗体は第２の定常（ＣＨ２）ドメイン（ヒトＩｇＧ$_1$の残基２３１～３４０）及び／又は第３の定常（ＣＨ３）ドメイン（ヒトＩｇＧ$_1$の残基３４１～４４７）（ＫａｂａｔのＥＵインデックス（Ｋａｂａｔ ＥＡ ｅｔ ａｌ．，（１９９１）前掲）に従う付番による）に１つ以上のアミノ酸突然変異（例えば、置換）を有し得る。具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体のＩｇＧ$_1$の定常領域は、２５２位におけるメチオニン（Ｍ）からチロシン（Ｙ）への置換、２５４位におけるセリン（Ｓ）からスレオニン（Ｔ）への置換、及び２５６位におけるスレオニン（Ｔ）からグルタミン酸（Ｅ）への置換（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）を含む。米国特許第７，６５８，９２１号明細書（参照により本明細書に援用される）を参照されたい。「ＹＴＥ突然変異体」と称されるこのタイプの突然変異ＩｇＧは、野生型バージョンの同じ抗体と比較して４倍増加した半減期を呈することが示されている（Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ＷＦ ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２８１：２３５１４－２４を参照されたい）。特定の実施形態において、抗体は、２５１～２５７、２８５～２９０、３０８～３１４、３８５～３８９、及び４２８～４３６位（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）にアミノ酸残基の１、２、３個又はそれを超えるアミノ酸置換を含むＩｇＧ定常ドメインを含む。

【０２１７】

更なる実施形態では、ＩｇＧ定常ドメインＦｃ領域に１、２個、又はそれを超えるアミノ酸置換を導入して、抗体の１つ又は複数のエフェクター機能を改変する。例えば、アミノ酸残基２３４、２３５、２３６、２３７、２９７、３１８、３２０及び３２２（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）から選択される１つ以上のアミノ酸を異なるアミノ酸残基に置き換えて、抗体がエフェクターリガンドに対して改変された親和性を有するが、親抗体の抗原結合能力は保持したままとなるようにし得る。親和性改変の対象となるエフェクターリガンドは、例えば、Ｆｃ受容体又は補体のＣ１成分であり得る。この手法は、米国特許第５，６２４，８２１号明細書及び同第５，６４８，２６０号明細書に更に詳細に記載されている。一部の実施形態では、定常領域ドメインの欠失又は不活性化（点突然変異又は他の手段による）により循環抗体のＦｃ受容体結合を低下させて、それにより腫瘍局在を増加させ得る。定常ドメインを欠失又は活性化させて、それにより腫瘍局在を増加させる突然変異の説明については、例えば、米国特許第５，５８５，０９７号明細書及び同第８，５９１，８８６号明細書を参照されたい。特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域に１つ以上のアミノ酸置換を導入してＦｃ領域上の潜在的グリコシル化部位を除去してもよく、これによりＦｃ受容体結合を低下させ得る（例えば、Ｓｈｉｅｌｄｓ ＲＬ ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７６：６５９１－６０４を参照されたい）。様々な実施形態において、本明細書に記載される抗体の定常領域に、以下の突然変異のうちの１つ以上を作製し得る：Ｎ２９７Ａ置換；Ｎ２９７Ｑ置換；Ｌ２３５Ａ置換及びＬ２３７Ａ置換；Ｌ２３４Ａ置換及びＬ２３５Ａ置換；Ｅ２３３Ｐ置換；Ｌ２３４Ｖ置換；Ｌ２３５Ａ置換；Ｃ２３６欠失；Ｐ２３８Ａ置換；Ｄ２６５Ａ置換；Ａ３２７Ｑ置換；又はＰ３２９Ａ置換（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）。特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体の定常領域に、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を作製し得る。

【０２１８】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は、Ｎ２９７Ｑ又はＮ２９７Ａ

アミノ酸置換を含むＩｇＧ$_1$の定常ドメインを含む。一実施形態において、本明細書に記載される抗体は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含むＩｇＧ$_1$の定常ドメインを含む。

【０２１９】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体の定常領域におけるアミノ酸残基３２９、３３１、及び３２２から選択される１つ以上のアミノ酸（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）は、抗体が改変されたＣ１ｑ結合及び／又は低下若しくは消失した補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）を有するように異なるアミノ酸残基に置き換えることができる。この手法については、米国特許第６，１９４，５５１号明細書（Ｉｄｕｓｏｇｉｅ ｅｔ ａｌ）に更に詳細に記載されている。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体のＣＨ２ドメインのＮ末端領域におけるアミノ酸位置２３１～２３８内にある１つ以上のアミノ酸残基を改変して、それにより抗体の補体結合能力を改変する。この手法については、国際公開第９４／２９３５１号パンフレットに更に記載されている。特定の実施形態では、以下の位置：２３８、２３９、２４８、２４９、２５２、２５４、２５５、２５６、２５８、２６５、２６７、２６８、２６９、２７０、２７２、２７６、２７８、２８０、２８３、２８５、２８６、２８９、２９０、２９２、２９３、２９４、２９５、２９６、２９８、３０１、３０３、３０５、３０７、３０９、３１２、３１５、３２０、３２２、３２４、３２６、３２７、３２８、３２９、３３０、３３１、３３３、３３４、３３５、３３７、３３８、３４０、３６０、３７３、３７６、３７８、３８２、３８８、３８９、３９８、４１４、４１６、４１９、４３０、４３４、４３５、４３７、４３８、又は４３９（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）にある１つ以上のアミノ酸を突然変異させる（例えば、アミノ酸置換を導入する）ことにより、本明細書に記載される抗体のＦｃ領域を修飾して、抗体が抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を媒介する能力を増加させ、及び／又はＦｃγ受容体に対する抗体の親和性を増加させる。この手法については、国際公開第００／４２０７２号パンフレットに更に記載されている。

【０２２０】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、２６７、３２８位、又はこれらの組み合わせ（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）に突然変異（例えば、置換）を含むＩｇＧ$_1$の定常ドメインを含む。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、Ｓ２６７Ｅ、Ｌ３２８Ｆ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異（例えば、置換）を含むＩｇＧ$_1$の定常ドメインを含む。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ突然変異（例えば、置換）を含むＩｇＧ$_1$の定常ドメインを含む。特定の実施形態において、Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ突然変異（例えば、置換）を含むＩｇＧ$_1$の定常ドメインを含む本明細書に記載される抗体は、ＦｃγＲＩＩＡ、ＦｃγＲＩＩＢ、又はＦｃγＲＩＩＡ及びＦｃγＲＩＩＢに対して増加した結合親和性を有する。

【０２２１】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体はＩｇＧ$_4$抗体の定常領域を含み、且つ重鎖のアミノ酸残基２２８におけるセリン（Ｋａｂａｔにあるとおりの ＥＵインデックスに従い付番する）がプロリンに置換されている。

【０２２２】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体はＩｇＧ$_2$抗体の定常領域を含み、且つ重鎖のアミノ酸残基１２７におけるシステイン（Ｋａｂａｔに従い付番する）がセリンに置換されている。

【０２２３】

フコース含量が低下した抗体は、例えばＦｃγＲＩＩＩＡなどのＦｃ受容体に対して増加した親和性を有することが報告されている。従って、特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は低下したフコース含量を有するか、又はフコース含量を有しない。かかる抗体は、当業者に公知の技法を用いて作製することができる。例えば、フコシル化

能が欠損又は欠如した細胞において抗体を発現させることができる。具体的な例では、α１，６－フコシルトランスフェラーゼの両方の対立遺伝子のノックアウトを有する細胞株を使用して、フコース含量が低下した抗体を作製することができる。Ｐｏｔｅｌｌｉｇｅｎｔ（登録商標）システム（Ｌｏｎｚａ）は、フコース含量が低下した抗体の作製に使用し得るかかるシステムの一例である。或いは、フコース含量が低下した又はフコース含量を有しない抗体は、例えば、（ｉ）フコシル化を妨げ又は低下させる条件下で細胞を培養すること；（ｉｉ）翻訳後のフコース除去（例えば、フコシダーゼ酵素による）；（ｉｉｉ）翻訳後の所望の炭水化物の付加、例えば非グリコシル化糖タンパク質の組換え発現後；又は（ｉｖ）糖タンパク質の精製による、フコシル化されていないその抗体の選択により、作製することができる。フコース含量を有しない又はフコース含量が低下したその抗体を作製する方法については、例えば、Ｌｏｎｇｍｏｒｅ　ＧＤ＆Ｓｃｈａｃｈｔｅｒ　Ｈ（１９８２）Ｃａｒｂｏｈｙｄｒ　Ｒｅｓ　１００：３６５－９２及びＩｍａｉ－Ｎｉｓｈｉｙａ　Ｈ　ｅｔ　ａｌ．，（２００７）ＢＭＣ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．７：８４を参照されたい。

【０２２４】

操作されたグリコフォームが、限定はされないがエフェクター機能の増強又は低下を含めた種々の目的に有用であり得る。本明細書に記載される抗体に操作されたグリコフォームを生成する方法としては、限定はされないが、例えば、Ｕｍａｎｙａ　Ｐ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９９）Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ　１７：１７６－１８０；Ｄａｖｉｅｓ　Ｊ　ｅｔ　ａｌ．，（２００１）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ　Ｂｉｏｅｎｇ　７４：２８８－２９４；Ｓｈｉｅｌｄｓ　ＲＬ　ｅｔ　ａｌ．，（２００２）Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２７７：２６７３３－２６７４０；Ｓｈｉｎｋａｗａ　Ｔ　ｅｔ　ａｌ．，（２００３）Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２７８：３４６６－３４７３；Ｎｉｗａ　Ｒ　ｅｔ　ａｌ．，（２００４）Ｃｌｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　１：６２４８－６２５５；Ｐｒｅｓｔａ　ＬＧ　ｅｔ　ａｌ．，（２００２）Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｓｏｃ　Ｔｒａｎｓ　３０：４８７－４９０；Ｋａｎｄａ　Ｙ　ｅｔ　ａｌ．，（２００７）Ｇｌｙｃｏｂｉｏｌｏｇｙ　１７：１０４－１１８；米国特許第６，６０２，６８４号明細書；同第６，９４６，２９２号明細書；及び同第７，２１４，７７５号明細書；米国特許出願公開第２００７／０２４８６００号明細書；同第２００７／０１７８５５１号明細書；同第２００８／００６００９２号明細書；及び同第２００６／０２５３９２８号明細書；国際公開第００／６１７３９号パンフレット；同第０１／２９２２４６号パンフレット；同第０２／３１１１４０号パンフレット；及び同第０２／３０９５４号パンフレット；Ｐｏｔｉｌｌｅｇｅｎｔ（商標）技術（Ｂｉｏｗａ，Ｉｎｃ．Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，Ｎ．Ｊ．）；及びＧｌｙｃｏＭＡｂ（登録商標）グリコシル化操作技術（Ｇｌｙｃａｒｔ　ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ＡＧ，Ｚｕｒｉｃｈ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）に記載されるものが挙げられる。例えば、Ｆｅｒｒａｒａ　Ｃ　ｅｔ　ａｌ．，（２００６）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ　Ｂｉｏｅｎｇ　９３：８５１－８６１；国際公開第０７／０３９８１８号パンフレット；同第１２／１３０８３１号パンフレット；同第９９／０５４３４２号パンフレット；同第０３／０１１８７８号パンフレット；及び同第０４／０６５５４０号パンフレットも参照されたい。

【０２２５】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体のＦｃドメインの操作に用いられる技術は、Ｘｅｎｃｏｒ（Ｍｏｎｒｏｖｉａ，ＣＡ）のＸｍａｂ（登録商標）技術である。例えば、米国特許第８，３６７，８０５号明細書；同第８，０３９，５９２号明細書；同第８，１２４，７３１号明細書；同第８，１８８，２３１号明細書；米国特許出願公開第２００６／０２３５２０８号明細書；国際公開第０５／０７７９８１号パンフレット；同第１１／０９７５２７号パンフレット；及びＲｉｃｈａｒｄｓ　ＪＯ　ｅｔ　ａｌ．，（２００８）Ｍｏｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒ　７：２５１７－２５２７を参照されたい。

【０２２６】

特定の実施形態において、ヒトＩｇＧ１重鎖のＬ２３４、Ｌ２３５、及びＤ２６５位に対応する位置にある本明細書に記載される抗体の定常領域におけるアミノ酸残基（ＥＵ付番インデックスに従い付番する）は、それぞれＬ、Ｌ、及びＤでない。この手法については、国際公開第１４／１０８４８３号パンフレットに詳細に記載されている。詳細な実施形態において、ヒトＩｇＧ１重鎖のＬ２３４、Ｌ２３５、及びＤ２６５位に対応するアミノ酸は、それぞれＦ、Ｅ、及びＡ；又はＡ、Ａ、及びＡである。

【０２２７】

特定の実施形態において、本明細書に記載される任意の定常領域突然変異又は修飾が、２つの重鎖定常領域を有する本明細書に記載される抗体の一方又は両方の重鎖定常領域に導入されてもよい。

【０２２８】

別の詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は軽鎖と重鎖とを含み、（ｉ）軽鎖は、配列番号１～３に示されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列（例えば、表１に掲載されるもの）を含むＶＬドメインを含み；（ｉｉ）重鎖は、配列番号４～６に示されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３アミノ酸配列（例えば、表２に掲載されるもの）を含むＶＨドメインを含み；（ｉｉｉ）軽鎖は、ヒトκ軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常軽鎖ドメインを更に含み；及び（ｉｖ）重鎖は、ヒトIgG_1（任意選択でIgG_1（アロタイプＧｌｍ３））重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常重鎖ドメインを更に含む。

【０２２９】

別の詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は軽鎖と重鎖とを含み、（ｉ）軽鎖は、配列番号１５に示されるアミノ酸を含むＶＬドメインを含み；（ｉｉ）重鎖は、配列番号１６に示されるアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含み；（ｉｉｉ）軽鎖は、ヒトκ軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常ドメインを更に含み；及び（ｉｖ）重鎖は、ヒトIgG_1（任意選択でIgG_1（アロタイプＧｌｍ３））重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常ドメインを更に含む。

【０２３０】

別の詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は軽鎖と重鎖とを含み、（ｉ）軽鎖は、配列番号１～３に示されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列（例えば、表１に掲載されるもの）を含むＶＬドメインを含み；（ｉｉ）重鎖は、配列番号４～６に示されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３アミノ酸配列（例えば、表２に掲載されるもの）を含むＶＨドメインを含み；（ｉｉｉ）軽鎖は、ヒトκ軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常軽鎖ドメインを更に含み；及び（ｉｖ）重鎖は、ヒトIgG_4重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常重鎖ドメインを更に含む。

【０２３１】

別の詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は軽鎖と重鎖とを含み、（ｉ）軽鎖は、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含み；（ｉｉ）重鎖は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含み；（ｉｉｉ）軽鎖は、ヒトκ軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常ドメインを更に含み；及び（ｉｖ）重鎖は、ヒトIgG_4重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常ドメインを更に含む。

【０２３２】

別の詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は軽鎖と重鎖とを含み、（ｉ）軽鎖は、配列番号１～３に示されるＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列（例えば、表１に掲載されるもの）を含むＶＬドメインを含み；（ｉｉ）重鎖は、配列番号４～６に示されるＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３アミノ酸配列（例えば、

表２に掲載されるもの）を含むＶＨドメインを含み；（ｉｉｉ）軽鎖は、ヒトκ軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常軽鎖ドメインを更に含み；及び（ｉｖ）重鎖は、ヒトＩｇＧ$_2$重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常重鎖ドメインを更に含む。

【０２３３】

別の詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は軽鎖と重鎖とを含み、（ｉ）軽鎖は、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含み；（ｉｉ）重鎖は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含み；（ｉｉｉ）軽鎖は、ヒトκ軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常ドメインを更に含み；及び（ｉｖ）重鎖は、ヒトＩｇＧ$_2$重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を含む定常ドメインを更に含む。特定の実施形態において、軽鎖は配列番号５０のアミノ酸配列を含み、且つ重鎖は配列番号５１のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、軽鎖は配列番号５０のアミノ酸配列を含み、且つ重鎖は配列番号６２のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、軽鎖は配列番号２０のアミノ酸配列を含み、且つ重鎖は配列番号５１のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、軽鎖は配列番号２０のアミノ酸配列を含み、且つ重鎖は配列番号６２のアミノ酸配列を含む。

【０２３４】

別の具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、（ａ）アミノ酸位置２９７にＮからＡ又はＱへのアミノ酸置換を有する配列番号２１のアミノ酸配列を含む重鎖と、（ｂ）配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。別の具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、（ａ）アミノ酸位置２９７にＮからＡ又はＱへのアミノ酸置換を有する配列番号６０のアミノ酸配列を含む重鎖と、（ｂ）配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【０２３５】

別の具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、（ａ）アミノ酸位置２６７におけるＳからＥ、アミノ酸位置３２８におけるＬからＦ、及びアミノ酸位置２６７におけるＳからＥとアミノ酸位置３２８におけるＬからＦとの両方からなる群から選択されるアミノ酸置換を有する配列番号２１のアミノ酸配列を含む重鎖と、（ｂ）配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。別の具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、（ａ）アミノ酸位置２６７におけるＳからＥ、アミノ酸位置３２８におけるＬからＦ、及びアミノ酸位置２６７におけるＳからＥとアミノ酸位置３２８におけるＬからＦとの両方からなる群から選択されるアミノ酸置換を有する配列番号６０のアミノ酸配列を含む重鎖と、（ｂ）配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【０２３６】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）活性を呈する。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ナチュラルキラー細胞媒介性細胞枯渇を惹起する。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ナチュラルキラー細胞による浸潤した腫瘍の治療に用いられる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、抗体依存性細胞食作用（ＡＤＣＰ）活性を呈する。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、マクロファージ媒介性細胞枯渇を惹起する。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、マクロファージによる浸潤した腫瘍の治療に用いられる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、腫瘍内調節性Ｔ細胞を選択的に枯渇させる。

【０２３７】
具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ヒトフレームワーク領域であるか又はヒトフレームワーク領域に由来するフレームワーク領域（例えば、ＶＬドメイン及び／又はＶＨドメインのフレームワーク領域）を含む。ヒトフレームワーク領域の非限定的な例は当該技術分野において記載されており、例えば、Ｋａｂａｔ　ＥＡ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９１）前掲）を参照されたい。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、霊長類（例えば、非ヒト霊長類）フレームワーク領域であるか又は霊長類（例えば、非ヒト霊長類）フレームワーク領域に由来するフレームワーク領域（例えば、ＶＬドメイン及び／又はＶＨドメインのフレームワーク領域）を含む。

【０２３８】
例えば、典型的にはげっ歯類（例えば、マウス又はラット）由来の抗原特異的非ヒト抗体のＣＤＲが相同ヒト又は非ヒト霊長類アクセプターフレームワークにグラフトされる。一実施形態において、非ヒト霊長類アクセプターフレームワークは旧世界類人猿のものである。具体的な実施形態において、旧世界類人猿アクセプターフレームワークは、パン・トログロディテス（Ｐａｎ　ｔｒｏｇｌｏｄｙｔｅｓ）、パン・パニスクス（Ｐａｎ　ｐａｎｉｓｃｕｓ）又はゴリラ・ゴリラ（Ｇｏｒｉｌｌａ　ｇｏｒｉｌｌａ）のものである。詳細な実施形態において、非ヒト霊長類アクセプターフレームワークはチンパンジー（パン・トログロディテス（Ｐａｎ　ｔｒｏｇｌｏｄｙｔｅｓ））のものである。詳細な実施形態において、非ヒト霊長類アクセプターフレームワークは旧世界ザルアクセプターフレームワークである。具体的な実施形態において、旧世界ザルアクセプターフレームワークはマカク属（Ｍａｃａｃａ）のものである。特定の実施形態において、非ヒト霊長類アクセプターフレームワークはカニクイザル（マカカ・シノモルグス（Ｍａｃａｃａ　ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ））に由来する。非ヒト霊長類フレームワーク配列については、米国特許出願公開第２００５／０２０８６２５号明細書に記載されている。

【０２３９】
特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、前掲表３に示される本明細書に抗体に関して記載されるアミノ酸配列を有する１、２個、又はそれを超えるＶＬフレームワーク領域（ＦＲ）を含む。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、前掲表４に示される本明細書に抗体に関して記載されるアミノ酸配列を有する１、２個、又はそれを超えるＶＨフレームワーク領域（ＦＲ）を含む。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、前掲表３に示される本明細書に抗体に関して記載されるアミノ酸配列を有する１、２個、又はそれを超えるＶＬフレームワーク領域と、前掲表４に示される本明細書に抗体に関して記載されるアミノ酸配列を有する１、２個、又はそれを超えるＶＨフレームワーク領域とを含む。

【０２４０】
一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、１、２、３、４、５、６、７、８、９個又はそれを超えるアミノ酸突然変異（例えば、保存的アミノ酸置換などのアミノ酸置換）を含むｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のアミノ酸配列（例えば、配列番号７～１０）を有するＶＬドメインの１、２、３、又は４個のフレームワーク領域及び／又はｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のアミノ酸配列（例えば、配列番号１１～１４）を有するＶＨドメインのフレームワーク領域を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、１、２、３、４、５、６、７、８、９個又はそれを超えるアミノ酸突然変異（例えば、保存的アミノ酸置換などのアミノ酸置換）を含むｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のアミノ酸配列（例えば、配列番号１１～１４）を有するＶＨドメインの１、２、３、又は４個のフレームワーク領域及び／又はｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のアミノ酸配列（例えば、配列番号７～１０）を有するＶＬドメイ

ンのフレームワーク領域を含む。

【０２４１】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書の前掲表３に記載されるＶＬフレームワーク領域と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬフレームワーク領域（ＦＲ）を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書の前掲表４に記載されるＶＨフレームワーク領域と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨフレームワーク領域（ＦＲ）を含む。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書の前掲表４に記載されるＶＨフレームワーク領域と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨフレームワーク領域（ＦＲ）と、本明細書の前掲表３に記載されるＶＬフレームワーク領域と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬフレームワーク領域（ＦＲ）とを含む。

【０２４２】

２つの配列（例えば、アミノ酸配列又は核酸配列）間の同一性パーセントの決定はまた、数学的アルゴリズムを用いて達成することもできる。２つの配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの具体的な非限定例は、Ｋａｒｌｉｎ　Ｓ＆Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ（１９９３）ＰＮＡＳ　９０：５８７３－５８７７にあるとおり修正した、Ｋａｒｌｉｎ　Ｓ＆Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ（１９９０）ＰＮＡＳ　８７：２２６４－２２６８のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９０）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２１５：４０３のＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴプログラムに組み込まれている。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索は、ＮＢＬＡＳＴヌクレオチドプログラムパラメータを例えばスコア＝１００、ワード長＝１２に設定して実施することにより、本明細書に記載される核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得ることができる。ＢＬＡＳＴタンパク質検索は、ＸＢＬＡＳＴプログラムパラメータを例えばスコア５０、ワード長＝３に設定して実施することにより、本明細書に記載されるタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較のためギャップ付きアラインメントを達成するには、Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ＳＦ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９７）Ｎｕｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ　２５：３３８９　３４０２に記載されるとおりのギャップ付きＢＬＡＳＴを利用することができる。或いは、ＰＳＩ　ＢＬＡＳＴを用いて、分子間の距離関係を検出する反復検索を実施することができる（同上）。ＢＬＡＳＴ、ギャップ付きＢＬＡＳＴ、及びＰＳＩ　Ｂｌａｓｔプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムの（例えば、ＸＢＬＡＳＴ及びＮＢＬＡＳＴの）デフォルトパラメータを使用することができる（例えば、ワールドワイドウェブ、ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ上の国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）を参照されたい）。配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの別の具体的な非限定例は、Ｍｙｅｒｓ　ａｎｄ　Ｍｉｌｌｅｒ，１９８８，ＣＡＢＩＯＳ　４：１１　１７のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、ＧＣＧ配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれている。アミノ酸配列の比較にＡＬＩＧＮプログラムを利用する場合、ＰＡＭ１２０重み付け残基表、１２のギャップ長ペナルティ、及び４のギャップペナルティーを使用することができる。

【０２４３】

２つの配列間の同一性パーセントは、上記に記載されるものと同様の技法を、ギャップを許容して又は許容せずに用いて決定することができる。同一性パーセントの計算では、典型的には完全な一致のみがカウントされる。

【０２４４】
特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬ　ＣＤＲと同一のＶＬ　ＣＤＲを含む。
【０２４５】
特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨ　ＣＤＲと同一のＶＨ　ＣＤＲを含む。
【０２４６】
特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬ　ＣＤＲ及びＶＨ　ＣＤＲと同一のＶＬ　ＣＤＲ及びＶＨ　ＣＤＲを含む。
【０２４７】
特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び

（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。

【０２４８】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、シグモイド用量反応曲線を示す。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２４９】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２

０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。

【０２５０】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、シグモイド用量反応曲線を示す。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－

２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２５１】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば5日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば5日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。

【０２５２】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９

５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、シグモイド用量反応曲線を示す。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２５３】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、Ｔ

ＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２５４】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４

日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２５５】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１

０、又はＩＬ－１３の産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、プレート結合時、プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃及び５％CO_2における例えば４日間の刺激時に例えばＰＢＭＣ又はＴ細胞において１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を誘導し、この１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．７μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、１．６μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、３．１μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌ、又は６．３μｇ／ｍｌ～５０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）プレート結合抗ＣＤ３抗体（例えば、０．８μｇ／ｍｌ）及び種々の濃度（例えば、０、０．３、１、３、６、１２、２５、及び５０μｇ／ｍｌ；又は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）のプレート結合抗体の存在下でＰＢＭＣを例えば３７℃及び５％CO_2において例えば４日間培養するステップ；及び（ｂ）上清を収集し、１つ以上のサイトカイン、例えば、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＦＮγ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＩＬ－１０、又はＩＬ－１３の産生を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）又は非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２５６】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密

に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【０２５７】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２５８】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレ

ート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【０２５９】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２６０】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイ

ン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【０２６１】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、（ｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＬドメインと、（ｉｉ）ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＨドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）と少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列同一性を有するＶＨドメインとを含み、この抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、又は２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。

【０２６２】

別の態様において、本明細書には、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４

９又はｐａｂ２０４４）と同じ又は重複するＯＸ４０のエピトープ（例えば、ヒトＯＸ４０のエピトープ）に結合する抗体が提供される。特定の実施形態において、抗体のエピトープは、例えば、ＮＭＲ分光法、Ｘ線回折結晶学的研究、ＥＬＩＳＡアッセイ、質量分析法（例えば、液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析法）と併せた水素／重水素交換、アレイベースのオリゴ－ペプチドスキャニングアッセイ、及び／又は突然変異誘発マッピング（例えば、部位特異的突然変異誘発マッピング）により決定することができる。Ｘ線結晶学については、当該技術分野における公知の方法のいずれを用いて結晶化を達成してもよい（例えば、Ｇｉｅｇｅ Ｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ Ｄ Ｂｉｏｌ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ ５０（Ｐｔ ４）：３３９－３５０；ＭｃＰｈｅｒｓｏｎ Ａ（１９９０）Ｅｕｒ Ｊ Ｂｉｏｃｈｅｍ １８９：１－２３；Ｃｈａｙｅｎ ＮＥ（１９９７）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ５：１２６９－１２７４；ＭｃＰｈｅｒｓｏｎ Ａ（１９７６）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２５１：６３００－６３０３）。抗体：抗原結晶は周知のＸ線回折技法を用いて研究することができ、Ｘ－ＰＬＯＲなどのコンピュータソフトウェアを使用して精密化し得る（Ｙａｌｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ，１９９２，配布元Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｓｉｍｕｌａｔｉｏｎｓ，Ｉｎｃ．；例えば、Ｍｅｔｈ Ｅｎｚｙｍｏｌ（１９８５）ｖｏｌｕｍｅｓ １１４＆１１５，ｅｄｓ Ｗｙｃｋｏｆｆ ＨＷ ｅｔ ａｌ．；米国特許出願公開第２００４／００１４１９４号明細書）、及びＢＵＳＴＥＲ（Ｂｒｉｃｏｇｎｅ Ｇ（１９９３）Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ Ｄ Ｂｉｏｌ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ ４９（Ｐｔ １）：３７－６０；Ｂｒｉｃｏｇｎｅ Ｇ（１９９７）Ｍｅｔｈ Ｅｎｚｙｍｏｌ ２７６Ａ：３６１－４２３，ｅｄ Ｃａｒｔｅｒ ＣＷ；Ｒｏｖｅｒｓｉ Ｐ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ Ｄ Ｂｉｏｌ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ ５６（Ｐｔ １０）：１３１６－１３２３を参照されたい）。突然変異誘発マッピング研究は、当業者に公知の任意の方法を用いて達成し得る。アラニンスキャニング突然変異誘発法を含めた突然変異誘発法の説明については、例えば、Ｃｈａｍｐｅ Ｍ ｅｔ ａｌ．、（１９９５）前掲及びＣｕｎｎｉｎｇｈａｍ ＢＣ＆Ｗｅｌｌｓ ＪＡ（１９８９）前掲を参照されたい。具体的な実施形態において、抗体のエピトープはアラニンスキャニング突然変異誘発研究を用いて決定される。加えて、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）の同じ又は重複するエピトープを認識してそれに結合する抗体は、イムノアッセイなどのルーチンの技法を用いて、例えばある抗体が別の抗体の標的抗原への結合を阻止する能力を示すこと、即ち競合的結合アッセイにより同定することができる。競合結合アッセイはまた、２つの抗体があるエピトープに対して同様の結合特異性を有するかどうかの決定にも用いることができる。競合的結合は、試験下の免疫グロブリンがＯＸ４０などの共通抗原に対する参照抗体の特異的結合を阻害するアッセイにおいて決定することができる。数多くの種類の競合的結合アッセイが公知であり、例えば、固相直接又は間接ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、固相直接又は間接酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）、サンドイッチ競合アッセイ（Ｓｔａｈｌｉ Ｃ ｅｔ ａｌ．，（１９８３）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ ９：２４２－２５３を参照されたい）；固相直接ビオチン－アビジンＥＩＡ（Ｋｉｒｋｌａｎｄ ＴＮ ｅｔ ａｌ．，（１９８６）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １３７：３６１４－９を参照されたい）；固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ（Ｈａｒｌｏｗ Ｅ＆Ｌａｎｅ Ｄ，（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓを参照されたい）；Ｉ－１２５標識を使用した固相直接標識ＲＩＡ（Ｍｏｒｅｌ ＧＡ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２５（１）：７－１５を参照されたい）；固相直接ビオチン－アビジンＥＩＡ（Ｃｈｅｕｎｇ ＲＣ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｖｉｒｏｌｏｇｙ １７６：５４６－５２）；及び直接標識ＲＩＡ（Ｍｏｌｄｅｎｈａｕｅｒ Ｇ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｓｃａｎｄ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ ３２：７７－８２）がある。典型的には、かかるアッセイは、固体表面に結合した精製抗原（例えば、ヒトＯＸ４０などのＯＸ４０）又はこれらの非標識試験免疫グロブリン及び標識参照免疫グロブリンのいずれかを担持する細胞の使用を伴う。競合阻害は、試験免疫グロブリ

ンの存在下で固体表面又は細胞に結合した標識の量を決定することにより計測し得る。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。通常、競合抗体が過剰に存在するとき、それが共通抗原に対する参照抗体の特異的結合を少なくとも５０～５５％、５５～６０％、６０～６５％、６５～７０％、７０～７５％又はそれを超えて阻害することになる。競合結合アッセイは、標識抗原又は標識抗体のいずれかを使用して数多くの異なるフォーマットで構成することができる。このアッセイの一般的な形では、抗原が９６ウェルプレート上に固定化される。次に、非標識抗体が標識抗体の抗原への結合を遮断する能力が、放射性標識又は酵素標識を用いて計測される。更なる詳細については、例えば、Ｗａｇｅｎｅｒ Ｃ ｅｔ ａｌ．，（１９８３）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １３０：２３０８－２３１５；Ｗａｇｅｎｅｒ Ｃ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ６８：２６９－２７４；Ｋｕｒｏｋｉ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５０：４８７２－４８７９；Ｋｕｒｏｋｉ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｎｖｅｓｔ ２１：５２３－５３８；Ｋｕｒｏｋｉ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ １１：３９１－４０７及びＡｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｅｄ Ｈａｒｌｏｗ Ｅ＆Ｌａｎｅ Ｄ ｅｄｉｔｏｒｓ ｓｕｐｒａ，ｐｐ．３８６－３８９を参照されたい。

【０２６３】

一実施形態において、競合アッセイは、表面プラズモン共鳴（ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標））を用いて、例えば、Ａｂｄｉｃｈｅ ＹＮ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ ３８６：１７２－１８０により記載されるものなどの「インタンデム手法」によって実施され、これはＯＸ４０抗原をチップ表面、例えばＣＭ５センサーチップ上に固定化し、次に抗ＯＸ４０抗体をチップ上に流すものである。抗体が本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体と競合するかどうかを決定するため、最初に抗ＯＸ４０抗体をチップ表面上に流して飽和を達成してから潜在的競合抗体を加える。次に競合抗体の結合を決定し、非競合対照と比べて定量化することができる。

【０２６４】

特定の態様では、競合ＥＬＩＳＡアッセイなどの競合結合アッセイ（これは、標識抗原又は標識抗体のいずれかを使用して、あらゆる異なるフォーマットで構成され得る）において２つの抗体が同一の又は立体的に重複するエピトープを認識するとき、競合結合アッセイを用いることにより、ある抗体が別の抗体、例えば参照抗体と本質的に同じエピトープ又は重複するエピトープに結合する抗体によって例えば用量依存的様式で競合的に遮断されるかどうかを決定することができる。詳細な実施形態において、抗体は、本明細書に記載される抗体（例えば、抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４）、又はそのキメラ若しくはＦａｂ抗体、又は本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４）のＶＨ ＣＤＲ及びＶＬ ＣＤＲを含む抗体との競合結合アッセイで試験することができる。

【０２６５】

別の態様において、本明細書には、当業者に公知の又は本明細書に記載されるアッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ競合アッセイ又は表面プラズモン共鳴）を用いて決定するとき、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への結合に関して本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４）と（例えば、用量依存的様式で）競合する抗体が提供される。別の態様において、本明細書には、当業者に公知の又は本明細書に記載されるアッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ競合アッセイ、又はサスペンションアレイ又は表面プラズモン共鳴アッセイ）を用いて決定するとき、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４）がＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に結合するのを競合的に（例えば、用量依存的様式で）阻害する抗体が提供される。詳細な実施形態において、かかる競合的遮断抗体は、１つ以上のＯＸ４０活性を活性化するか、誘導するか、又は増強する。具体的な態様において、本明細書には、当業者に公知の又は本明細書に記載されるアッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ競合アッセイ、又はサスペンションアレイ又は表面プラズモン共鳴アッセイ）を用いて決定するとき、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への

特異的結合に関して本明細書に記載されるアミノ酸配列（例えば、抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＶＬ及び／又はＶＨアミノ酸配列）を含む抗体と（例えば、用量依存的様式で）競合する抗体が提供される。

【０２６６】

特定の実施形態において、本明細書には、本明細書に記載される抗体がＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への結合に関して自己競合するのと同じ程度にＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への結合に関して本明細書に記載される抗体と競合する抗体が提供される。一部の実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への結合に関して本明細書に記載される抗体と競合する第１の抗体が提供され、この第１の抗体は、以下のステップ：（ａ）容器内でＯＸ４０トランスフェクト細胞を非標識形態の第１の抗体と共にインキュベートするステップ；及び（ｂ）容器に標識形態の本明細書に記載される抗体を加えて容器内の細胞をインキュベートするステップ；及び（ｃ）標識形態の本明細書に記載される抗体と細胞との結合を検出するステップを含むアッセイにおいて結合に関して競合する。特定の実施形態において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への結合に関して本明細書に記載される抗体と競合する第１の抗体が提供され、この競合は、ＯＸ４０への第１の抗体の結合の８０％超（例えば、８５％、９０％、９５％、又は９８％、又は８０％～８５％、８０％～９０％、８５％～９０％、又は８５％～９５％）の低下として示される。

【０２６７】

具体的な態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への特異的結合に関して、配列番号１５に示されるアミノ酸配列を有するＶＬドメインと配列番号１６に示されるアミノ酸配列を有するＶＨドメインとを含む抗体と（例えば、用量依存的様式で）競合する抗体が提供される。

【０２６８】

具体的な態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への特異的結合に関して、（ｉ）表１に掲載されるＶＬ　ＣＤＲのアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬドメインと、（ｉｉ）表２に掲載されるＣＤＲのアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨドメインとを含む抗体と（例えば、用量依存的様式で）競合する抗体が提供される。

【０２６９】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への特異的結合に関して配列番号１５に示されるアミノ酸配列を有するＶＬドメインと配列番号１６に示されるアミノ酸配列を有するＶＨドメインとを含む抗体によって（例えば、用量依存的様式で）競合的に遮断されるものである。

【０２７０】

別の具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は、（ｉ）表１に掲載されるＣＤＲのアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬドメインと、（ｉｉ）表２に掲載されるＣＤＲのアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨドメインとを含む抗体によって（例えば、用量依存的様式で）競合的に遮断されるものである。

【０２７１】

具体的な態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への特異的結合に関してｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４と同じエピトープに免疫特異的に結合する抗体が提供される。２つの抗体が同じエピトープに結合するかどうかは、当業者に公知の又は本明細書に記載されるアッセイ（例えば、Ｘ線結晶学、質量分析法（例えば、液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析法）と併せた水素／重水素交換、アラニンスキャニング、ＥＬＩＳＡアッセイ等）を用いて決定することができる。

【０２７２】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ

２０４４が結合するエピトープ又はそのエピトープと重複するエピトープと同じエピトープに免疫特異的に結合する。

【０２７３】

別の具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は、（ｉ）表１に掲載されるＣＤＲのアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３を含むＶＬドメイン及び（ｉｉ）表２に掲載されるＣＤＲのアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３を含むＶＨドメインを含む抗体と同じエピトープに免疫特異的に結合する。

【０２７４】

ある具体的な態様において、本明細書に記載される抗体と変異ＯＸ４０との間の結合は、この抗体と配列番号５５のヒトＯＸ４０配列との間の結合と比べて実質的に弱まり、この変異ＯＸ４０は、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異（例えば、置換）を除いて、配列番号５５の配列を含む。一部の実施形態において、変異ＯＸ４０は、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａからなる群から選択される任意の１つの突然変異を除いて、配列番号５５の配列を含む。一部の実施形態において、変異ＯＸ４０は、Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａからなる群から選択される任意の２、３、４、５、６、又は７つの突然変異を除いて、配列番号５５の配列を含む。一部の実施形態において、変異ＯＸ４０は、アミノ酸突然変異Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａを除いて、配列番号５５の配列を含む。

【０２７５】

ある具体的な態様において、本明細書に記載される抗体は、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の残基を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなるヒトＯＸ４０配列のエピトープに特異的に結合する。一部の実施形態において、エピトープは、配列番号５５の６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５からなる群から選択される任意の１つの残基を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。一部の実施形態において、エピトープは、配列番号５５の５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５からなる群から選択される任意の２、３、４、５、６、又は７つの残基を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。一部の実施形態において、エピトープは、配列番号５５の残基５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。

【０２７６】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される残基を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる配列番号５５のエピトープに特異的に結合する。一部の実施形態において、エピトープは、配列番号５５の６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５からなる群から選択される任意の１つの残基を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。一部の実施形態において、エピトープは、配列番号５５の５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５からなる群から選択される任意の２、３、４、５、６、又は７つの残基を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。一部の実施形態において、エピトープは、配列番号５５の残基５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる。

【０２７７】

ある具体的な態様において、本明細書に記載される抗体は、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される配列番号５５の少なくとも１つの残基に特異的に結合する。一部の実施形態において、本明細書に記載さ

れる抗体は、配列番号５５の６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５からなる群から選択される任意の１つの残基、又は任意の２、３、４、５、６、又は７つの残基に特異的に結合する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、配列番号５５の５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、及び１１５からなる群から選択される任意の２、３、４、５、６、又は７つの残基に特異的に結合する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、配列番号５５の残基５８、６０、６２、８０、８８、９３、９９、１１５に特異的に結合する。

【０２７８】

ある具体的な態様において、本明細書に記載される抗体は、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異（例えば、置換）の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する。一部の実施形態において、このタンパク質は、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａからなる群から選択される任意の１つの突然変異、又は任意の２、３、４、５、６、又は７つの突然変異を含むアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一である。一部の実施形態において、このタンパク質は、Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａからなる群から選択される任意の２、３、４、５、６、又は７つの突然変異を含むアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一である。一部の実施形態において、このタンパク質は、突然変異Ｗ５８Ａ、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、及びＰ１１５Ａを含むアミノ酸置換の存在を除いて、配列番号５５と同一である。

【０２７９】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体のエピトープは、抗体を作製するための免疫原として使用される。抗体を作製する方法については、例えば以下の第５．３節を参照されたい。

【０２８０】

具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、アゴニストとして機能する。

【０２８１】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される及び／又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性と比べてＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加させる。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される及び／又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性と比べてＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性を少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％増加させる。ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性の非限定的な例には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）シグナル伝達、細胞増殖、細胞生存、及びサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）が含まれ得る。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性を誘導するか、増強するか、又は増加させる。具体的な実施形態におい

て、ＯＸ４０活性の増加は、以下の実施例に記載されるとおり評価される。

【０２８２】

特定の態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ＯＸ４０を発現し且つＯＸ４０シグナル伝達に応答する細胞（例えば、Ｔ細胞など、ＯＸ４０刺激及びＯＸ４０シグナル伝達に応答して増殖する細胞）の細胞増殖を誘導するか、増強するか、又は増加させる。細胞増殖アッセイは、^{3}Ｈ－チミジン取込みアッセイ、ＢｒｄＵ取込みアッセイ、又は実施例２に記載されるようなＣＦＳＥアッセイなど、当該技術分野において記載されており、当業者は容易に実施し得る。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）は、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体などのＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤による刺激のみのＴ細胞と比べて細胞増殖が増加する。

【０２８３】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、^{3}Ｈ－チミジン取込みアッセイ、ＢｒｄＵ取込みアッセイ又は以下の実施例２に記載されるようなＣＦＳＥアッセイ）によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性刺激と比べて細胞増殖（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加させる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、^{3}Ｈ－チミジン取込みアッセイ、ＢｒｄＵ取込みアッセイ、又は以下の実施例２に記載されるようなＣＦＳＥアッセイ）によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性と比べて細胞増殖（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）を少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％増加させる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル１０^{5}細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、例えば、

以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば、２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体の濃度の実質的増加関数である。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体はＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を増加させ、このＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、例えば、以下のステップ：（ａ）例えばエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞を例えば１０μＭカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）によって例えば３７℃で例えば７分間標識するステップ；（ｂ）綿密に洗浄した後、細胞（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３μｇ／ｍｌの例えばプレート結合抗ＣＤ３抗体及び種々の濃度（例えば、０．００２、０．０２、０．２、２、及び２０μｇ／ｍｌ）の例えば本明細書に記載されるそのプレート結合抗体によって例えば３７℃及び５％CO_2で刺激するステップ；及び（ｃ）例えば４日目に、細胞を例えば抗ＣＤ４抗体で染色し、例えばフローサイトメトリーによってＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞の割合を計測することによりＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を調べるステップを含むアッセイで評価されるとおり、抗体が２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときにＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増加が大きくなる。

【０２８４】

一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン（例えば、抗ＣＤ３抗体又はホルボールエステル）によって刺激したＴ細胞（例えば、$CD4^+$又は$CD8^+$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、^3H－チミジン

取込みアッセイ、ＢｒｄＵ取込みアッセイ、又は以下の実施例２に記載されるようなＣＦＳＥアッセイ）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェンによる刺激のみのＴ細胞と比べて細胞増殖が少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加する。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、$CD4^+$又は$CD8^+$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、^3H－チミジン取込みアッセイ、ＢｒｄＵ取込みアッセイ、又は以下の実施例２に記載されるようなＣＦＳＥアッセイ）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）による刺激のみのＴ細胞と比べて細胞増殖が少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％増加する。具体的な実施形態において、細胞増殖は以下の実施例２に記載されるとおり評価される。具体的な実施形態において、５μｇ／ｍｌの本明細書に記載されるＯＸ４０抗体が、３μｇ／ｍｌ抗ＣＤ３抗体で処理したヒトＣＤ４　Ｔ細胞の増殖を少なくとも２０％増加させる。具体的な実施形態において、５μｇ／ｍｌの本明細書に記載されるＯＸ４０抗体が、３μｇ／ｍｌ抗ＣＤ３抗体で処理したヒトＣＤ４　Ｔ細胞の増殖を少なくとも３０％増加させる。具体的な実施形態において、５μｇ／ｍｌの本明細書に記載されるＯＸ４０抗体が、３μｇ／ｍｌ抗ＣＤ３抗体で処理したヒトＣＤ４　Ｔ細胞の増殖を少なくとも４０％増加させる。具体的な実施形態において、５μｇ／ｍｌの本明細書に記載されるＯＸ４０抗体が、３μｇ／ｍｌ抗ＣＤ３抗体で処理したヒトＣＤ４　Ｔ細胞の増殖を少なくとも５０％増加させる。

【０２８５】

特定の態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、細胞（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）の生存を増加させる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、$CD4^+$又は$CD8^+$エフェクターＴ細胞）は、Ｔ細胞マイトジェンによる刺激のみのＴ細胞と比べて生存が増加する。細胞生存アッセイについては当該技術分野において記載されており（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）、当業者は容易に実施し得る。

【０２８６】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、細胞生存（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）を、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合の少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加させる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗

体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性と比べて細胞生存（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）を少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％増加させる。

【０２８７】

一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン（例えば、抗ＣＤ３抗体又はホルボールエステル）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^+$又はＣＤ８$^+$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）による刺激のみのＴ細胞と比べて細胞生存が少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加する。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^+$又はＣＤ８$^+$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェンによる刺激のみのＴ細胞と比べて細胞生存が少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％増加する。

【０２８８】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、エフェクターＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^+$及びＣＤ８$^+$エフェクターＴ細胞）を活性化誘導性細胞死から保護する。

【０２８９】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される（実施例２など、以下の実施例を参照されたい）又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０Ｌ（例えば、ヒトＯＸ４０Ｌ）刺激の存在下又は非存在下でのサイトカイン産生と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）を少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％誘導し、又は増加させる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される（実施例２など、以下の実施例を参照されたい）又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０Ｌ（例えば、ヒトＯＸ４０Ｌ）刺激の存在下又は非存在下でのサイトカイン産生と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍誘導又は増強する。

【０２９０】
特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^+$又はＣＤ８$^+$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）による刺激のみのＴ細胞と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）が少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％増加する。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^+$又はＣＤ８$^+$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）による刺激のみのＴ細胞と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）が少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加する。

【０２９１】
具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される（実施例２など、以下の実施例を参照されたい）又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＩＬ－２産生と比べてブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激に応答したＩＬ－２産生を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加させる。

【０２９２】
特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^+$又はＣＤ８$^+$Ｔ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、ＳＥＡによる刺激のみのＴ細胞と比べてＩＬ－２産生が少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍増加する。

【０２９３】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＳＥＡとの組み合わせで抗体によって誘導されるＩＬ－２産生は、例えば０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、例えば０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌにおいて抗体濃度の実質的増加関数である。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、抗体が０．０３２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときに、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時のブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）に応答したＩＬ－２産生が高くなる。詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、抗体が０．１６μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときに、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時のブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）に応答したＩＬ－２産生が高くなる。

【０２９４】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）との組み合わせで、例えば電気化学

発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測されるとおり、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時に例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、シグモイド用量反応曲線を示す。特定の実施形態において、ＳＥＡとの組み合わせで抗体によって誘導されたＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、シグモイド用量反応曲線を示す。別の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．０３２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）との組み合わせで、例えばＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導し、このＩＬ－２産生は、抗ＯＸ４０抗体濃度が例えば０．１６μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．８μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、４μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌ、０．０３２μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、０．１６μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌ、又は０．８μｇ／ｍｌ～４μｇ／ｍｌのとき、例えば、以下のステップ：（ａ）種々の濃度（例えば、２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、０．００１２８、及び０．０００２５６μｇ／ｍｌ）の抗体、及び例えば１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡの非存在下又は存在下でＰＢＭＣ（例えば、１ウェル10^5細胞）を例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度において例えば５日間培養するステップ；及び（ｂ）清澄化した上清を収集し、ＩＬ－２の力価を、例えば電気化学発光、例えばヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）によって計測するステップを含むアッセイで評価されるとおり、シグモイド用量反応曲線を示す。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、抗体が０．０３２μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときに、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時のブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）に応答したＩＬ－２産生が高くなる。詳細な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、抗体が０．１６μｇ／ｍｌの濃度よりも２０μｇ／ｍｌの濃度で存在するときに、例えば３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度における例えば５日間の刺激時のブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）（例えば、１００ｎｇ／ｍｌ）に応答したＩＬ－２産生が高くなる。

【０２９５】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される（実施例２など、以下の実施例を参照されたい）又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＩＬ－１０産生と比べてブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシ

ンＡ（ＳＥＡ）刺激に応答したＩＬ－１０産生を少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、又は５０％低下させる。

【０２９６】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体の存在下でブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^+$又はＣＤ８$^+$Ｔ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、ＳＥＡによる刺激のみのＴ細胞と比べてＩＬ－１０産生が少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、又は５０％低下する。

【０２９７】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、Ｆｃガンマ受容体ＩＩＩＡ（ＣＤ１６）レポーターアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、活性化調節性Ｔ細胞に結合したとき、ＣＤ１６、ＣＤ３２Ａ及びＣＤ６４からなる群から選択される活性化Ｆｃガンマ受容体に対し、その抗体が活性化エフェクターＴ細胞に結合したときにＣＤ１６、ＣＤ３２Ａ及びＣＤ６４からなる群から選択される活性化Ｆｃガンマ受容体に結合するよりも大きい程度に（例えば、１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍）結合する。具体的な実施形態において、活性化Ｆｃガンマ受容体は、骨髄由来のエフェクター細胞及びリンパ球由来のエフェクター細胞からなる群から選択される細胞上で発現する。詳細な実施形態において、活性化Ｆｃガンマ受容体はＣＤ１６である。

【０２９８】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体は、活性化調節性Ｔ細胞に結合したとき、ＣＤ１６、ＣＤ３２Ａ及びＣＤ６４からなる群から選択される活性化Ｆｃガンマ受容体の活性化を、その抗体が活性化エフェクターＴ細胞に結合したときにＣＤ１６、ＣＤ３２Ａ及びＣＤ６４からなる群から選択される活性化Ｆｃガンマ受容体の活性化を生じさせるよりも強力に生じさせる。詳細な実施形態において、活性化Ｆｃガンマ受容体の活性化は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体が活性化調節性Ｔ細胞に結合したとき、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、Ｆｃガンマ受容体ＩＩＩＡ（ＣＤ１６）レポーターアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体が活性化エフェクターＴ細胞に結合したときの活性化Ｆｃガンマ受容体の活性化よりも少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍強力である。具体的な実施形態において、活性化Ｆｃガンマ受容体は、骨髄由来のエフェクター細胞及びリンパ球由来のエフェクター細胞からなる群から選択される細胞上で発現する。詳細な実施形態において、活性化Ｆｃガンマ受容体はＣＤ１６である。

【０２９９】

ある具体的な態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合するアンタゴニスト抗体が提供される。

【０３００】

ＯＸ４０シグナル伝達の活性化は、頂端のアダプタータンパク質を効率的に動員して細胞内シグナル伝達を駆動する高次の受容体複合体を形成する受容体クラスター形成に依存する。理論によって拘束されるものではないが、抗ＯＸ４０アゴニスト抗体は二価抗体アーム（即ち、各々がＯＸ４０抗原に結合する２本の抗体アーム）を介して、及び／又はア

クセサリー骨髄系又はリンパ系細胞上のＦｃ－Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）共会合を介して受容体クラスター形成を媒介し得る。結果的に、抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体を開発する１つの手法は、ＯＸ４０への結合に関してＯＸ４０リガンド（ＯＸ４０Ｌ）と競合する抗体を選択し、Ｆｃ受容体に対する抗体のＦｃ領域の結合を減弱又は消失させ、及び／又は一価抗体フォーマットを採用することである。一価抗体フォーマットには、構造的に一価の抗体、限定はされないが、１つの抗原結合ドメインのみ（例えば、１本のＦａｂアームのみ）を含む抗ＯＸ４０抗体、又は重鎖と対をなすか、又は重鎖の断片（例えば、Ｆｃ断片）と対をなすＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に結合する１つの抗原結合ドメインのみを含む抗体が含まれ得る。一価抗体フォーマットにはまた、機能的に一価の抗体、例えば、ヒト免疫細胞が発現する抗原に結合しない第２の抗原結合ドメインと対をなすＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に結合する１つの抗原結合ドメインのみを含む抗体（即ち、この抗体は２つの抗原結合ドメインを含むが、１つの抗原結合ドメインのみがＯＸ４０に結合する）も含まれ得る。

【０３０１】

上記では、Ｆｃ受容体結合を低下させる、又は潜在的なグリコシル化部位を除去し得るＩｇＧ定常ドメインＦｃ領域の突然変異の例が考察される。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体の重鎖定常領域は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、Ｃ１２７Ｓ、Ｓ２２８Ｐ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、この突然変異はＮ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせである。特定の実施形態において、この突然変異はＣ１２７Ｓである。特定の実施形態において、この突然変異はＳ２２８Ｐである。一実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体の重鎖定常領域は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、重鎖定常領域は、免疫グロブリンＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$、及びＩｇＡ$_2$からなる群から選択される。特定の実施形態において、免疫グロブリンはヒト免疫グロブリンである。突然変異（例えば、置換）を含有するヒト免疫グロブリンも本明細書ではヒト免疫グロブリンと称される。ある具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体は免疫グロブリンＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、このＩｇＧ$_1$重鎖定常領域のアミノ酸配列は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。一態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体は免疫グロブリンＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、このＩｇＧ$_1$重鎖定常領域のアミノ酸配列は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。ある具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体は免疫グロブリンＩｇＧ$_2$重鎖定常領域を含み、このＩｇＧ$_2$重鎖定常領域のアミノ酸配列はＣ１２７Ｓ突然変異を含む。ある具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体は免疫グロブリンＩｇＧ$_4$重鎖定常領域を含み、このＩｇＧ$_4$重鎖定常領域のアミノ酸配列はＳ２２８Ｐ突然変異を含む。特定の実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０３０２】

ある具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、及びｓｃＦｖ断片からなる群から選択され、このＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、又はｓｃＦｖ断片は本明細書に記載されるとおりの抗ＯＸ４０抗原結合ドメイン又は抗体の重鎖可変領域配列と軽鎖可変領域配列とを含む。Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、又はｓｃＦｖ断片は、限定はされないが、以下の第５．３節で考察するものを含め、当業者に公知の任意の技法によって作製することができる。特定の実施形態において、Ｆａｂ、Ｆａｂ’

、Ｆ（ａｂ’）$_2$、又はｓｃＦｖ断片は、抗体のインビボ半減期を延長させる部分を更に含む。この部分はまた、「半減期延長部分」とも称される。Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、又はｓｃＦｖ断片のインビボ半減期を延長させることが当業者に公知の任意の部分を使用することができる。例えば、半減期延長部分には、Ｆｃ領域、ポリマー、アルブミン、又はアルブミン結合タンパク質又は化合物が含まれ得る。ポリマーには、天然又は合成の、任意選択で置換されている直鎖又は分枝鎖ポリアルキレン、ポリアルケニレン、ポリオキシルアルキレン、多糖、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、メトキシポリエチレングリコール、ラクトース、アミロース、デキストラン、グリコーゲン、又はその誘導体が含まれ得る。置換基には、１つ以上のヒドロキシ、メチル、又はメトキシ基が含まれ得る。特定の実施形態において、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、又はｓｃＦｖ断片は、半減期延長部分を付加するための１つ以上のＣ末端アミノ酸を加えることにより修飾されてもよい。特定の実施形態において、半減期延長部分はポリエチレングリコール又はヒト血清アルブミンである。特定の実施形態において、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、又はｓｃＦｖ断片はＦｃ領域に融合する。特定の実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０３０３】

ある具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する抗体は１つの重鎖と１つの軽鎖とを含み（即ち、この抗体はいかなる追加の重鎖又は軽鎖も含まず、単一の重鎖－軽鎖対を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなる）、この重鎖及び軽鎖は、本明細書に記載されるとおりの抗ＯＸ４０抗原結合ドメイン又は抗体のそれぞれ重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む。特定の実施形態において、重鎖は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、Ｃ１２７Ｓ、Ｓ２２８Ｐ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、この突然変異は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせである。特定の実施形態において、この突然変異はＣ１２７Ｓである。特定の実施形態において、この突然変異はＳ２２８Ｐである。特定の実施形態において、重鎖は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、重鎖は、免疫グロブリンＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$、及びＩｇＡ$_2$からなる群から選択される。特定の実施形態において、免疫グロブリンはヒト免疫グロブリンである。特定の実施形態において、重鎖は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含むＩｇＧ$_1$重鎖である。特定の実施形態において、重鎖は、Ｃ１２７Ｓ突然変異を含むＩｇＧ$_2$重鎖である。特定の実施形態において、重鎖は、Ｓ２２８Ｐ突然変異を含むＩｇＧ$_4$重鎖である。特定の実施形態において、重鎖は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含むＩｇＧ$_1$重鎖である。特定の実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０３０４】

ある具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体は、本明細書に記載されるとおりの、ＯＸ４０に結合する第１の抗原結合ドメインと、本明細書に記載されるとおりの、ヒト免疫細胞が発現する抗原に特異的に結合しない第２の抗原結合ドメイン（即ち、第２の抗原結合ドメインはヒト免疫細胞が発現するＯＸ４０又は任意の他の抗原に結合しない）とを含む。特定の実施形態において、第１及び第２の抗原結合ドメインは相補的ＣＨ３ドメインを含む。例えば、相補的ＣＨ３ドメインは、それぞれの抗原結合ドメインのホモ二量体化よりむしろ、第１の抗原結合ドメインの重鎖と第２の抗原結合ドメインの重鎖との間のヘテロ二量体化を優先的に生じさせる。相補的ＣＨ３ドメインの作製には、限定はされないが、Ｒｉｄｇｗａｙ ＪＢＢ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ ９（７）：６１７－６２１及びＭｅｒｃｈａｎｔ Ｍ ｅｔ ａｌ．に記載されるとおりのノブイントゥホール技術を含め、当業者に公知の任意の技法を用いることができる。例えば、ノブイントゥホール技術では、第１のＣＨ３ドメインにおいて小さいアミノ酸をより大きいアミ

ノ酸（即ち、「ノブ」）に置き換え、第２のＣＨ３ドメインにおいて大きいアミノ酸をより小さいアミノ酸（即ち、「ホール」）に置き換える。従って、これらのＣＨ３ドメインを含むポリペプチドがノブとホールとの相互作用に基づき二量体化することができる。特定の実施形態において、抗原結合ドメインの一方が、Ｔ３６６Ｙ及びＴ３６６Ｗからなる群から選択される置換を含む第１のＩｇＧ$_1$　ＣＨ３ドメインを含み、他方の抗原結合ドメインが、Ｙ４０７Ｔ、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、及びＹ４０７Ｖからなる群から選択される置換を含む第２のＩｇＧ$_1$　ＣＨ３ドメインを含む。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインが結合する抗原は、天然でヒト免疫細胞によって発現されないものである。特定の実施形態において、免疫細胞は、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ４＋　Ｔ細胞又はＣＤ８＋　Ｔ細胞）、Ｂ細胞、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、及び好酸球からなる群から選択される。特定の実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは第１のＶＨと第１のＶＬとを含み、且つ第２の抗原結合ドメインは第２のＶＨと第２のＶＬとを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０に特異的に結合する抗原結合ドメインは第１の重鎖と第１の軽鎖とを含み、且つ第２の抗原結合ドメインは第２の重鎖と第２の軽鎖とを含む。特定の実施形態において、本抗体は、第２の抗原結合ドメインが非反応性の試料又は対象（即ち、第２の抗原結合ドメインが結合する抗原がその試料又は対象に存在しない）に投与されるものである。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインは、ＯＸ４０を発現する細胞上の抗原に特異的に結合しない（例えば、第２の抗原結合ドメインは、ＯＸ４０を発現する細胞が天然に発現する抗原に結合しない）。特定の実施形態において、本抗体は、試料又は対象において一価抗体（即ち、抗ＯＸ４０一価抗体）として機能し、ここで、抗体の第１の抗原結合ドメインはＯＸ４０に結合し、一方、第２の抗原結合ドメインは試料又は対象において非反応性である（例えば、第２の抗原結合ドメインが結合する抗原がその試料又は対象に存在しないため）。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインは非ヒト抗原（即ち、他の生物において発現し、ヒトでは発現しない抗原）に特異的に結合する。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインはウイルス抗原に特異的に結合する。特定の実施形態において、ウイルス抗原は、ヒトに感染しないウイルス（即ち、非ヒトウイルス）のものである。特定の実施形態において、このウイルス抗原はヒト免疫細胞に存在しない（例えば、ヒト免疫細胞は、そのウイルス抗原に関連するウイルスに非感染性である）。特定の実施形態において、ウイルス抗原はＨＩＶ抗原である。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインはニワトリアルブミン又は鶏卵リゾチームに特異的に結合する。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインは、野生型細胞（例えば、野生型ヒト細胞）が発現しない（即ち、それに存在しない）抗原に特異的に結合する。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインは、正常細胞（例えば、野生型細胞、例えば野生型ヒト細胞）が発現しない（即ち、それに存在しない）腫瘍関連抗原に特異的に結合する。特定の実施形態において、腫瘍関連抗原は、ヒト細胞が発現しない（即ち、それに存在しない）。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインの重鎖定常領域は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、Ｃ１２７Ｓ、Ｓ２２８Ｐ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、この突然変異は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせである。特定の実施形態において、この突然変異はＣ１２７Ｓである。特定の実施形態において、この突然変異はＳ２２８Ｐである。特定の実施形態において、第２の抗原結合ドメインの重鎖定常領域は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、第１及び第２の抗原結合ドメインの重鎖定常領域は、免疫グロブリンＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$、及びＩｇＡ$_2$からなる群から選択される。特定の実施形態において、免疫グロブリンはヒト免疫グロブリンである。特定の実施形態において、第１及び第２の抗原結合ドメインの重鎖定常領域は同じアイソタイプである。特定の実施形態において、第１の抗原結合ドメインが第１のＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、且つ第２の抗原結合ドメインが第２のＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、ここで、第１及び第２の重鎖定常領域は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせからなる群

から選択される同一の突然変異を含む。特定の実施形態において、第１の抗原結合ドメインが第１のＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、且つ第２の抗原結合ドメインが第２のＩｇＧ$_1$重鎖定常領域を含み、ここで、第１及び第２の重鎖定常領域は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、又はこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む。特定の実施形態において、第１の抗原結合ドメインが第１のＩｇＧ$_2$重鎖定常領域を含み、且つ第２の抗原結合ドメインが第２のＩｇＧ$_2$重鎖定常領域を含み、ここで、第１及び第２の重鎖定常領域はＣ１２７Ｓ突然変異を含む。特定の実施形態において、第１の抗原結合ドメインが第１のＩｇＧ$_4$重鎖定常領域を含み、且つ第２の抗原結合ドメインが第２のＩｇＧ$_4$重鎖定常領域を含み、ここで、第１及び第２の重鎖定常領域はＳ２２８Ｐ突然変異を含む。特定の実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０３０５】

ある具体的な態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるとおりの抗体は、第１の重鎖及び第１の軽鎖と、及び第２の重鎖又はその断片とを含む、ＯＸ４０に特異的に結合する第１の抗原結合ドメインを含む。特定の実施形態において、第１及び第２の重鎖、又は第２の重鎖の断片は、相補的ＣＨ３ドメインを含む。例えば、相補的ＣＨ３ドメインは、それぞれの重鎖のホモ二量体化よりむしろ、重鎖間におけるヘテロ二量体化を優先的に生じさせる。特定の実施形態において、重鎖の一方が、Ｔ３６６Ｙ及びＴ３６６Ｗからなる群から選択される置換を含む第１のＩｇＧ$_1$　ＣＨ３ドメインを含み、且つ他方の重鎖が、Ｙ４０７Ｔ、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、Ｙ４０７Ｖからなる群から選択される置換を含む第２のＩｇＧ$_1$　ＣＨ３ドメインを含む。一部の実施形態において、第２の重鎖の断片はＦｃ断片である。特定の実施形態において、第２の重鎖又はその断片は、非ヒト抗原（即ち、他の生物で発現し、ヒトでは発現しない抗原）に特異的に結合する抗原結合ドメインのものである。特定の実施形態において、第２の重鎖又はその断片は、ウイルス抗原に特異的に結合する抗原結合ドメインのものである。特定の実施形態において、このウイルス抗原はヒト免疫細胞に存在しない（例えば、ヒト免疫細胞は、そのウイルス抗原に関連するウイルスに非感染性である）。特定の実施形態において、ウイルス抗原はＨＩＶ抗原である。特定の実施形態において、第２の重鎖又はその断片は、ニワトリアルブミン又は鶏卵リゾチームに特異的に結合する抗原結合ドメインのものである。特定の実施形態において、第２の重鎖又はその断片は、野生型細胞（例えば、野生型ヒト細胞）が発現しない（即ち、それに存在しない）抗原に特異的に結合する抗原結合ドメインのものである。特定の実施形態において、第２の重鎖又はその断片は、正常細胞（例えば、野生型細胞、例えば野生型ヒト細胞）が発現しない（即ち、それに存在しない）腫瘍関連抗原に特異的に結合する抗原結合ドメインのものである。特定の実施形態において、腫瘍関連抗原は、ヒト細胞が発現しない（即ち、それに存在しない）。特定の実施形態において、第２の重鎖又はその断片は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、Ｃ１２７Ｓ、Ｓ２２８Ｐ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、この突然変異は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせである。特定の実施形態において、この突然変異はＣ１２７Ｓである。特定の実施形態において、この突然変異はＳ２２８Ｐである。特定の実施形態において、第２の重鎖又はその断片は、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。特定の実施形態において、第１及び第２の重鎖定常領域は、免疫グロブリンＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$、及びＩｇＡ$_2$からなる群から選択される。特定の実施形態において、免疫グロブリンはヒト免疫グロブリンである。特定の実施形態において、第１及び第２の重鎖定常領域は同じアイソタイプである。特定の実施形態において、第１及び第２の重鎖定常領域はＩｇＧ$_1$定常領域であり、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ、又はこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む。特定の実施形態において、第１及び第２の重鎖定常領域はＩｇＧ$_1$定常領域であり、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される同一の突然変異を含む。特定の実施形態において、第１及び第２の重鎖定常領域はＩｇＧ$_2$重鎖定常領域であり、Ｃ１２７Ｓ突然変

異を含む。特定の実施形態において、第１及び第２の重鎖定常領域はＩｇＧ$_4$重鎖定常領域であり、Ｓ２２８Ｐ突然変異を含む。特定の実施形態において、本抗体はアンタゴニスト性である。

【０３０６】

ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインと第２の抗原結合ドメイン又は第２の重鎖若しくはその断片のいずれかとを含む抗体に関する上記の態様において、抗原結合ドメインは、本明細書に記載される任意の抗ＯＸ４０配列を含み得る。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、（ａ）ＧＳＡＭＨ（配列番号４）のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域（ＣＤＲ）１と、ＲＩＲＳＫＡＮＳＹＡＴＡＹＡＡＳＶＫＧ（配列番号５）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２と、ＧＩＹＤＳＳＧＹＤＹ（配列番号６）のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３とを含む第１の重鎖可変ドメイン（ＶＨ）と、（ｂ）ＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤ（配列番号１）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１と、ＬＧＳＮＲＡＳ（配列番号２）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２と、ＭＱＡＬＱＴＰＬＴ（配列番号３）のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３とを含む第１の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨ及び配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬを含む抗体とＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）の同じエピトープに特異的に結合する。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号５５のヒトＯＸ４０配列への結合と比較して、Ｎ６０Ａ、Ｒ６２Ａ、Ｒ８０Ａ、Ｌ８８Ａ、Ｐ９３Ａ、Ｐ９９Ａ、Ｐ１１５Ａ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸突然変異の存在を除いて、配列番号５５と同一のタンパク質への結合の低下又は欠如を呈する。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインはＶＨとＶＬとを含み、このＶＨは配列番号１６のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインはＶＨとＶＬとを含み、このＶＬは配列番号１５のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は９９％同一のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０に結合する抗原結合ドメインは、ヒトＩＧＨＶ３－７３生殖系列配列（例えば、ＩＧＨＶ３－７３＊０１、例えば配列番号１９のアミノ酸配列を有するもの）に由来するアミノ酸配列を含むＶＨを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１５のアミノ酸配列と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は９９％同一のアミノ酸配列を含むＶＬを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、アミノ酸配列の配列番号３を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号１５のアミノ酸配列を含むＶＬを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号２０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号５０のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、ヒトＩＧＫＶ２－２８生殖系列配列（例えば、ＩＧＫＶ２－２８＊０１、例えば配列番号１８のアミノ酸配列を有するもの）に由来するアミノ酸配列を含むＶＬを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、それぞれ配列番号１６及び１５に示されるＶＨ及びＶＬ配列を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号２１のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。特定の実施形態に

おいて、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、配列番号６０のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２６５Ａ突然変異からなる群から選択される突然変異、又はこれらの組み合わせを含む。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する抗原結合ドメインは、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及びこれらの組み合わせからなる群から選択される突然変異を含む。

【０３０７】

特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に対してアンタゴニスト性である。特定の実施形態において、本抗体はＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）の活性を不活性化するか、低下させるか、又は阻害する。特定の実施形態において、本抗体はＯＸ４０リガンド（例えば、ヒトＯＸ４０リガンド）へのＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）の結合を阻害するか又は低下させる。特定の実施形態において、本抗体はＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）シグナル伝達を阻害するか又は低下させる。特定の実施形態において、本抗体は、ＯＸ４０リガンド（例えば、ヒトＯＸ４０リガンド）によって誘導されるＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性（例えば、ＯＸ４０シグナル伝達）を阻害するか又は低下させる。特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体はＴ細胞増殖を阻害するか又は低下させる。特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体はＴ細胞増殖を阻害するか又は低下させる。特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体はサイトカイン産生を阻害するか又は低下させる（例えば、刺激されたＴ細胞によるＩＬ－２、ＴＮＦα、ＩＦＮγ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、又はこれらの組み合わせの産生を阻害するか又は低下させる）。特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体はＳＥＡ刺激Ｔ細胞によるＩＬ－２産生を阻害するか又は低下させる。特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体はＯＸ４０とＯＸ４０Ｌとの相互作用を遮断する（例えば、ＯＸ４０ＬとＯＸ４０との互いの結合を遮断し、例えばヒトＯＸ４０リガンドとヒトＯＸ４０との結合を遮断する））。

【０３０８】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、本明細書に記載される及び／又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性と比べてＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍減少させる。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、本明細書に記載される及び／又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性と比べてＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性を少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％減少させる。ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性の非限定的な例には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）シグナル伝達、細胞増殖、細胞生存、及びサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）が含まれ得る。特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性を阻害するか、低下させるか、又は不活性化する。具体的な実施形態において、ＯＸ４０活性は、以下の実施例に記載されるとおり評価される。

【０３０９】
特定の態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、ＯＸ４０を発現し且つＯＸ４０シグナル伝達に応答する細胞（例えば、Ｔ細胞など、ＯＸ４０刺激及びＯＸ４０シグナル伝達に応答して増殖する細胞）の細胞増殖を阻害するか、低下させるか、又は不活性化する。細胞増殖アッセイは、^{3}Ｈ－チミジン取込みアッセイ、ＢｒｄＵ取込みアッセイ、又は以下の実施例に記載されるようなＣＦＳＥアッセイなど、当該技術分野において記載されており、当業者は容易に実施し得る。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）は、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体などのＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤による刺激のみのＴ細胞と比べて細胞増殖が減少する。

【０３１０】
特定の態様において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、細胞（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）の生存を減少させる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）は、Ｔ細胞マイトジェンによる刺激のみのＴ細胞と比べて生存が減少する。細胞生存アッセイについては当該技術分野において記載されており（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）、当業者は容易に実施し得る。

【０３１１】
具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、細胞生存（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）を、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合の少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍減少させる。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）活性と比べて細胞生存（例えば、ＣＤ４及びＣＤ８エフェクターＴ細胞などのＴ細胞）を少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％減少させる。

【０３１２】
一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン（例えば、抗ＣＤ３抗体又はホルボールエステル）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、

トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）による刺激のみのＴ細胞と比べて細胞生存を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍減少させる。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、トリパンブルー色素排除アッセイ）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェンによる刺激のみのＴ細胞と比べて細胞生存を少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％減少させる。

【０３１３】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、エフェクターＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）を活性化誘導性細胞死から保護しない。

【０３１４】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、本明細書に記載される（以下の実施例を参照されたい）又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０Ｌ（例えば、ヒトＯＸ４０Ｌ）刺激の存在下又は非存在下でのサイトカイン産生と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）を少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％阻害するか、低下させるか、又は不活性化する。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、本明細書に記載される（実施例２など、以下の実施例を参照されたい）又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＯＸ４０Ｌ（例えば、ヒトＯＸ４０Ｌ）刺激の存在下又は非存在下でのサイトカイン産生と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍阻害するか又は低下させる。

【０３１５】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又

はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）による刺激のみのＴ細胞と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）が少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、又は９９％減少する。一部の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体の存在下でＴ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$エフェクターＴ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、Ｔ細胞マイトジェン又はＴ細胞受容体複合体刺激剤（例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体）による刺激のみのＴ細胞と比べてサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３）が少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍減少する。

【０３１６】

具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体は、本明細書に記載される（実施例２など、以下の実施例を参照されたい）又は当業者に公知の方法によって評価されるとおり、いかなる抗体も伴わないか又は無関係の抗体（例えば、ＯＸ４０に免疫特異的に結合しない抗体）を伴う場合のＩＬ－２産生と比べてブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激に応答したＩＬ－２産生を少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍減少させる。

【０３１７】

特定の実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体の存在下でブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激によって刺激したＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞）は、本明細書に記載される又は当業者に公知の方法（例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ又は以下の実施例に記載されるとおりのもの）によって評価されるとおり、ＳＥＡによる刺激のみのＴ細胞と比べてＩＬ－２産生が少なくとも約１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、４．５倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、又は１００倍減少する。

【０３１８】

抗ＯＸ４０抗体は、検出可能標識又は物質に融合又はコンジュゲート（例えば、共有結合的又は非共有結合的に連結）されてもよい。検出可能標識又は物質の例としては、グルコースオキシダーゼなどの酵素標識；ヨウ素（^{125}Ｉ、^{121}Ｉ）、炭素（^{14}Ｃ）、硫黄（^{35}Ｓ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、インジウム（^{121}Ｉｎ）、及びテクネチウム（^{99}Ｔｃ）などの放射性同位元素；ルミノールなどの発光標識；及びフルオレセイン及びローダミンなどの蛍光標識、及びビオチンが挙げられる。かかる標識抗体を使用すると、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）タンパク質を検出することができる。例えば、以下の第５．５．２節を参照されたい。

【０３１９】

５．３　抗体産生

ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する抗体は、当該技術分野において公知の任意の抗体合成方法、例えば、化学合成によるか、又は組換え発現技術によって作製することができる。本明細書に記載される方法は、特に指示されない限り、分子生物学、微生物学、遺伝子解析、組換えＤＮＡ、有機化学、生化学、ＰＣＲ、オリゴヌクレオチド合成及び修飾、核酸ハイブリダイゼーション、及び当該技術分野の技能の範囲内にある関連分野の従来技術を用いる。これらの技術については、例えば、本明細書に引用される参考文献に記載されており、文献に十全に説明されている。例えば、Ｍａｎｉａｔｉｓ Ｔ ｅｔ ａｌ．，（１９８２）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；Ｓａｍｂｒｏｏｋ Ｊ ｅｔ ａｌ．，（１９８９），Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；Ｓａｍｂｒｏｏｋ Ｊ ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ；Ａｕｓｕｂｅｌ ＦＭ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ（１９８７及び年次更新版）；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ（１９８７及び年次更新版）Ｇａｉｔ（ｅｄ．）（１９８４）Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ；Ｅｃｋｓｔｅｉｎ（ｅｄ．）（１９９１）Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ａｎａｌｏｇｕｅｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ；Ｂｉｒｒｅｎ Ｂ ｅｔ ａｌ．，（ｅｄｓ．）（１９９９）Ｇｅｎｏｍｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓを参照されたい。

【０３２０】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は、ＤＮＡ配列の例えば合成、遺伝子操作による作成が関わる任意の手段によって調製され、発現し、作成され又は単離された抗体（例えば、組換え抗体）である。特定の実施形態において、かかる抗体は、インビボで動物又は哺乳類（例えば、ヒト）の抗体生殖細胞系列レパートリー内に天然には存在しない配列（例えば、ＤＮＡ配列又はアミノ酸配列）を含む。

【０３２１】

特定の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する抗体を作成する方法であって、本明細書に記載される細胞又は宿主細胞を培養するステップを含む方法が提供される。特定の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する抗体を作成する方法であって、本明細書に記載される細胞又は宿主細胞（例えば、本明細書に記載される抗体をコードするポリヌクレオチドを含む細胞又は宿主細胞）を使用して抗体を発現させる（例えば、組換え発現させる）ステップを含む方法が提供される。詳細な実施形態において、細胞は単離細胞である。詳細な実施形態において、細胞に外因性ポリヌクレオチドが導入される。詳細な実施形態において、本方法は、細胞又は宿主細胞から得られた抗体を精製するステップを更に含む。

【０３２２】

ポリクローナル抗体を作製する方法は、当該技術分野において公知である（例えば、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，（２００２）５ｔｈ Ｅｄ．，Ａｕｓｕｂｅｌ ＦＭ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ ＹｏｒｋのＣｈａｐｔｅｒ １１を参照されたい）。

【０３２３】
モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術、組換え技術、及びファージディスプレイ技術の使用、又はこれらの組み合わせを含めた、当該技術分野において公知の多様な技法を用いて調製することができる。例えば、モノクローナル抗体は、当該技術分野において公知のもの及び例えば、Ｈａｒｌｏｗ Ｅ＆Ｌａｎｅ Ｄ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ Ｇ Ｊ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３ ６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１）に教示されるものを含め、ハイブリドーマ法を用いて作製することができる。用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用されるとき、ハイブリドーマ技術によって作製された抗体に限定されない。例えば、モノクローナル抗体は、本明細書に記載される抗体を外因的に発現する宿主細胞から組換えによって作製することができる。

【０３２４】
具体的な実施形態において、「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用されるとき、単一細胞（例えば、組換え抗体を産生するハイブリドーマ又は宿主細胞）によって産生された抗体であり、この抗体は、例えば、ＥＬＩＳＡ又は当該技術分野において公知の若しくは本明細書に提供される実施例における他の抗原結合又は競合結合アッセイによって決定するとき、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する。詳細な実施形態において、モノクローナル抗体はキメラ抗体又はヒト化抗体であり得る。特定の実施形態において、モノクローナル抗体は一価抗体又は多価（例えば、二価）抗体である。特定の実施形態において、モノクローナル抗体はＦａｂ断片又はＦ（ａｂ’）$_2$断片であり得る。本明細書に記載されるモノクローナル抗体は、例えば、Ｋｏｈｌｅｒ Ｇ＆Ｍｉｌｓｔｅｉｎ Ｃ（１９７５）Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５に記載されるとおりのハイブリドーマ方法によって作成することができ、又は例えば、ファージライブラリから例えば本明細書に記載されるとおりの技法を用いて単離することができる。クローン細胞株及びそれが発現するモノクローナル抗体を調製する他の方法が、当該技術分野において周知である（例えば、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，（２００２）５ｔｈ Ｅｄ．，Ａｕｓｕｂｅｌ ＦＭ ｅｔ ａｌ．、前掲のＣｈａｐｔｅｒ １１を参照されたい）。

【０３２５】
ハイブリドーマ法を用いた特異抗体の作製及びスクリーニング方法はルーチンであり、当該技術分野において周知である。例えば、ハイブリドーマ方法では、マウス又は他の適切な宿主動物、例えば、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、ラット、ハムスター又はマカクザルを免疫して、免疫化に用いたタンパク質（例えば、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０））に特異的に結合する抗体を産生する又はその産生能を有するリンパ球を誘発する。或いは、リンパ球はインビトロで免疫されてもよい。次にリンパ球を好適な融合剤、例えばポリエチレングリコールを使用して骨髄腫細胞と融合し、ハイブリドーマ細胞を形成する（Ｇｏｄｉｎｇ ＪＷ（Ｅｄ），Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ．５９－１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６））。加えて、ＲＩＭＭＳ（反復多重部位免疫化）法を用いて動物を免疫してもよい（Ｋｉｌｐａｔｒｉｃｋ ＫＥ ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ １６：３８１－９（全体として参照により援用される））。

【０３２６】
一部の実施形態では、マウス（又はラット、サル、ロバ、ブタ、ヒツジ、ハムスター、又はイヌなどの他の動物）を抗原（例えば、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０））で免疫することができ、免疫応答が検出されると、マウス血清中に例えば抗原に特異的な抗体が検出され、マウス脾臓を採取して脾細胞を単離する。次に脾細胞を周知の技法によって任意の好適な骨髄腫細胞、例えばＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ（登録商標））（Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ）から入手可能な細胞

株ＳＰ２０の細胞と融合させてハイブリドーマを形成する。ハイブリドーマを選択し、限界希釈によってクローニングする。特定の実施形態では、免疫化マウスのリンパ節を採取し、ＮＳ０骨髄腫細胞と融合させる。

【０３２７】

このように調製したハイブリドーマ細胞は、融合していない親骨髄腫細胞の成長又は生存を阻害する１つ以上の物質を好ましくは含有する好適な培養培地に播種して成長させる。例えば、親骨髄腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴ又はＨＰＲＴ）を欠いている場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的には、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジンを含むことになり（ＨＡＴ培地）、これらの物質がＨＧＰＲＴ欠損細胞の成長を妨げる。

【０３２８】

具体的な実施形態では、効率的に融合し、選択の抗体産生細胞による安定した高度な抗体産生を補助し、且つＨＡＴ培地などの培地に感受性を示す骨髄腫細胞が用いられる。これらの骨髄腫細胞株の中には、ＮＳ０細胞株などのマウス骨髄腫株、又はソーク研究所分配センター（Ｓａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ）、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ，ＵＳＡから入手可能なＭＯＰＣ－２１及びＭＰＣ－１１マウス腫瘍に由来するもの、及びアメリカンタイプカルチャーコレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）、Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，ＭＤ，ＵＳＡから入手可能なＳＰ－２又はＸ６３－Ａｇ８．６５３細胞がある。ヒト骨髄腫及びマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株もヒトモノクローナル抗体の産生について記載されている（Ｋｏｚｂｏｒ Ｄ（１９８４）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １３３：３００１－５；Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７））。

【０３２９】

ハイブリドーマ細胞が成長している培養培地は、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的なモノクローナル抗体の産生に関してアッセイされる。ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、当該技術分野において公知の方法、例えば免疫沈降によるか、又はラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）若しくは酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）などのインビトロ結合アッセイによって決定される。

【０３３０】

所望の特異性、親和性、及び／又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞の同定後、それらのクローンを限界希釈手順によってサブクローニングし、標準方法によって成長させることができる（Ｇｏｄｉｎｇ ＪＷ（Ｅｄ），Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ、前掲）。この目的に好適な培養培地としては、例えば、Ｄ－ＭＥＭ又はＲＰＭＩ １６４０培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞は動物において腹水腫瘍としてインビボで成長させてもよい。

【０３３１】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、例えば、プロテインＡ－セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、又はアフィニティークロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製手順によって培養培地、腹水、又は血清から好適に分離される。

【０３３２】

本明細書に記載される抗体は、当業者に公知の任意の技法によって生成することができる。例えば、本明細書に記載されるＦａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$断片は、パパイン（Ｆａｂ断片の作製用）又はペプシン（Ｆ（ａｂ’）$_2$断片の作製用）などの酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解切断により作製することができる。Ｆａｂ断片は、四量体抗体分子の２本の同一のアームのうちの一方に対応し、重鎖のＶＨ及びＣＨ１ドメイ

ンと対をなす完全な軽鎖を含有する。Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、ヒンジ領域でジスルフィド結合によって連結した、四量体抗体分子のうちの２本の抗原結合アームを含有する。

【０３３３】

更に、本明細書に記載される抗体はまた、当該技術分野において公知の様々なファージディスプレイ方法を用いて生成することもできる。ファージディスプレイ方法では、タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を有するファージ粒子の表面上にタンパク質を提示する。詳細には、ＶＨ及びＶＬドメインをコードするＤＮＡ配列を動物ｃＤＮＡライブラリ（例えば、罹患組織のヒト又はマウスｃＤＮＡライブラリ）から増幅する。ＶＨ及びＶＬドメインをコードするＤＮＡをｓｃＦｖリンカーと共にＰＣＲによって組み換え、ファージミドベクターにクローニングする。このベクターを大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）に電気穿孔処理し、この大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）をヘルパーファージに感染させる。これらの方法に用いられるファージは、典型的にはｆｄ及びＭ１３を含む繊維状ファージであり、ＶＨ及びＶＬドメインは通常ファージ遺伝子ＩＩＩ又は遺伝子ＶＩＩＩのいずれかと組換えにより融合する。抗原、例えば標識抗原又は固体表面若しくはビーズに結合し若しくは捕捉された抗原を用いて、特定の抗原に結合する抗体を発現するファージを選択又は同定することができる。本明細書に記載される抗体の作成に用いることのできるファージディスプレイ方法の例としては、Ｂｒｉｎｋｍａｎ Ｕ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ １８２：４１－５０；Ａｍｅｓ ＲＳ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ １８４：１７７－１８６；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ ＣＡ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ｅｕｒ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２４：９５２－９５８；Ｐｅｒｓｉｃ Ｌ ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｇｅｎｅ １８７：９－１８；Ｂｕｒｔｏｎ ＤＲ＆Ｂａｒｂａｓ ＣＦ（１９９４）Ａｄｖａｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ ５７：１９１－２８０；ＰＣＴ出願ＰＣＴ／英国特許第９１／００１１３４号明細書；国際公開第９０／０２８０９号パンフレット、同第９１／１０７３７号パンフレット、同第９２／０１０４７号パンフレット、同第９２／１８６１９号パンフレット、同第９３／１１２３６号パンフレット、同第９５／１５９８２号パンフレット、同第９５／２０４０１号パンフレット、及び同第９７／１３８４４号パンフレット；及び米国特許第５，６９８，４２６号明細書、同第５，２２３，４０９号明細書、同第５，４０３，４８４号明細書、同第５，５８０，７１７号明細書、同第５，４２７，９０８号明細書、同第５，７５０，７５３号明細書、同第５，８２１，０４７号明細書、同第５，５７１，６９８号明細書、同第５，４２７，９０８号明細書、同第５，５１６，６３７号明細書、同第５，７８０，２２５号明細書、同第５，６５８，７２７号明細書、同第５，７３３，７４３号明細書、及び同第５，９６９，１０８号明細書に開示されるものが挙げられる。

【０３３４】

上記の参考文献に記載されるとおり、ファージ選択後、ファージから抗体コード領域を単離し、それを使用してヒト抗体を含めた抗体を生成し、例えば、以下に記載するとおり、哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、及び細菌を含めた任意の所望の宿主において発現させることができる。Ｆａｂ、Ｆａｂ’及びＦ（ａｂ’）$_2$断片などの抗体を組み換えにより作製する技法も、国際公開第９２／２２３２４号パンフレット；Ｍｕｌｌｉｎａｘ ＲＬ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １２（６）：８６４－９；Ｓａｗａｉ Ｈ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ａｍ Ｊ Ｒｅｐｒｏｄ Ｉｍｍｕｎｏｌ ３４：２６－３４；及びＢｅｔｔｅｒ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０４１－１０４３に開示されるものなど、当該技術分野において公知の方法を用いて利用することができる。

【０３３５】

一態様において、抗体の生成には、ＶＨ又はＶＬヌクレオチド配列、制限部位、及び制限部位を保護するフランキング配列を含むＰＣＲプライマーを使用して鋳型、例えばｓｃＦｖクローンからＶＨ又はＶＬ配列を増幅し得る。当業者に公知のクローニング技術を利用して、ＶＨ定常領域を発現するベクターにこのＰＣＲ増幅したＶＨドメインをクローニングすることができ、及び例えばヒトκ又はλ定常領域など、ＶＬ定常領域を発現するベ

クターにこのＰＣＲ増幅したＶＬドメインをクローニングすることができる。ＶＨ及びＶＬドメインはまた、必要な定常領域を発現する１つのベクターにクローニングすることもできる。次に、当業者に公知の技法を用いて、この重鎖転換ベクター及び軽鎖転換ベクターを細胞株にコトランスフェクトすると、抗体、例えばＩｇＧを発現する安定した又は一過性の細胞株が生成される。

【０３３６】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が異なる免疫グロブリン分子に由来する分子である。例えば、キメラ抗体は、ヒト抗体の定常領域に融合したマウス又はラットモノクローナル抗体の可変領域を含有し得る。キメラ抗体を作製する方法は当該技術分野において公知である。例えば、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ＳＬ（１９８５）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０２－７；Ｏｉ ＶＴ＆Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ＳＬ（１９８６）ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４－２２１；Ｇｉｌｌｉｅｓ ＳＤ ｅｔ ａｌ．，（１９８９）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ １２５：１９１－２０２；及び米国特許第５，８０７，７１５号明細書、同第４，８１６，５６７号明細書、同第４，８１６，３９７号明細書、及び同第６，３３１，４１５号明細書を参照されたい。

【０３３７】

ヒト化抗体は所定の抗原との結合能を有し、実質的にヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有するフレームワーク領域と実質的に非ヒト免疫グロブリン（例えば、マウス免疫グロブリン）のアミノ酸配列を有するＣＤＲとを含むものである。詳細な実施形態において、ヒト化抗体はまた、典型的にはヒト免疫グロブリンのものである免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部も含む。抗体はまた、重鎖のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、ＣＨ３、及びＣＨ４領域も含み得る。ヒト化抗体は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＤ、ＩｇＡ及びＩｇＥを含めた任意の免疫グロブリンクラス、及びIgG_1、IgG_2、IgG_3及びIgG_4を含めた任意のアイソタイプから選択することができる。ヒト化抗体は、限定はされないが、ＣＤＲグラフティング（欧州特許第２３９４００号明細書；国際公開第９１／０９９６７号パンフレット；及び米国特許第５，２２５，５３９号明細書、同第５，５３０，１０１号明細書、及び同第５，５８５，０８９号明細書）、ベニヤリング又はリサーフェシング（欧州特許第５９２１０６号明細書及び欧州特許第５１９５９６号明細書；Ｐａｄｌａｎ ＥＡ（１９９１）Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２８（４／５）：４８９－４９８；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ ＧＭ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ｐｒｏｔ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ７（６）：８０５－８１４；及びＲｏｇｕｓｋａ ＭＡ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）ＰＮＡＳ ９１：９６９－９７３）、チェインシャッフリング（米国特許第５，５６５，３３２号明細書）、及び例えば、米国特許第６，４０７，２１３号明細書、米国特許第５，７６６，８８６号明細書、国際公開第９３／１７１０５号パンフレット；Ｔａｎ Ｐ ｅｔ ａｌ．，（２００２）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １６９：１１１９－２５；Ｃａｌｄａｓ Ｃ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１３（５）：３５３－６０；Ｍｏｒｅａ Ｖ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０（３）：２６７－７９；Ｂａｃａ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７２（１６）：１０６７８－８４；Ｒｏｇｕｓｋａ ＭＡ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ ９（１０）：８９５ ９０４；Ｃｏｕｔｏ ＪＲ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５５（２３ Ｓｕｐｐ）：５９７３ｓ－５９７７ｓ；Ｃｏｕｔｏ ＪＲ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５５（８）：１７１７－２２；Ｓａｎｄｈｕ ＪＳ（１９９４）Ｇｅｎｅ １５０（２）：４０９－１０及びＰｅｄｅｒｓｅｎ ＪＴ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２３５（３）：９５９－７３に開示される技法を含め、当該技術分野において公知の種々の技法を用いて作製することができる。米国特許出願公開第２００５／００４２６６４Ａ１号明細書（２００５年２月２４日）（参照により全体として本明細書に援用される）も参照されたい。

【０３３８】

シングルドメイン抗体、例えば軽鎖を欠く抗体は、当該技術分野において周知の方法に

よって作製することができる。Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ Ｌ&Ｍｕｙｌｄｅｒｍａｎｓ Ｓ（１９９９）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２３１：２５－３８；Ｎｕｔｔａｌｌ ＳＤ ｅｔ ａｌ．，（２０００）Ｃｕｒｒ Ｐｈａｒｍ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ １（３）：２５３－２６３；Ｍｕｙｌｄｅｒｍａｎｓ Ｓ，（２００１）Ｊ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ ７４（４）：２７７－３０２；米国特許第６，００５，０７９号明細書；及び国際公開第９４／０４６７８号パンフレット、同第９４／２５５９１号パンフレット及び同第０１／４４３０１号パンフレットを参照されたい。

【０３３９】

更に、ＯＸ４０抗原に免疫特異的に結合する抗体は、次に、当業者に周知の技法を用いて、抗原を「模倣」する抗イディオタイプ抗体の生成に利用することができる。（例えば、Ｇｒｅｅｎｓｐａｎ ＮＳ&Ｂｏｎａ ＣＡ（１９８９）ＦＡＳＥＢ Ｊ ７（５）：４３７－４４４；及びＮｉｓｓｉｎｏｆｆ Ａ（１９９１）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １４７（８）：２４２９－２４３８を参照されたい）。

【０３４０】

詳細な実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体とＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）の同じエピトープに結合する本明細書に記載される抗体は、ヒト抗体である。詳細な実施形態において、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４）のいずれか１つがＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に結合するのを（例えば、用量依存的様式で）競合的に阻止する本明細書に記載される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において公知の任意の方法を用いて作製することができる。例えば、機能性の内因性免疫グロブリンの発現能を有しないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子は発現することができるトランスジェニックマウスを用いることができる。詳細には、ヒト重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体をランダムに、又は相同組換えにより、マウス胚性幹細胞に導入することができる。或いは、ヒト重鎖及び軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域、及び多様性領域をマウス胚性幹細胞に導入することができる。マウス重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同組換えによるヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入とは別に、又はそれと同時に非機能性にすることができる。詳細には、J_H領域のホモ接合性欠失が内因性抗体産生を妨げる。修飾された胚性幹細胞を拡大し、胚盤胞にマイクロインジェクションしてキメラマウスを作製する。次にこのキメラマウスを繁殖させて、ヒト抗体を発現するホモ接合子孫を作製する。トランスジェニックマウスを通常の方法によって選択の抗原、例えば抗原（例えば、ＯＸ４０）の全て又は一部で免疫する。これらの免疫したトランスジェニックマウスから、従来のハイブリドーマ法を用いて抗原に特異的なモノクローナル抗体を得ることができる。トランスジェニックマウスが担持するヒト免疫グロブリントランス遺伝子はＢ細胞分化中に再配列し、続いてクラススイッチ及び体細胞突然変異を起こす。従って、かかる技法を用いると、治療上有用なＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ及びＩｇＥ抗体を作製することが可能である。このヒト抗体作製技術の概要については、Ｌｏｎｂｅｒｇ Ｎ&Ｈｕｓｚａｒ Ｄ（１９９５）Ｉｎｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ １３：６５－９３を参照されたい。このヒト抗体及びヒトモノクローナル抗体の作製技術並びにかかる抗体の作製プロトコルの詳細な考察については、例えば、国際公開第９８／２４８９３号パンフレット、同第９６／３４０９６号パンフレット及び同第９６／３３７３５号パンフレット；及び米国特許第５，４１３，９２３号明細書、同第５，６２５，１２６号明細書、同第５，６３３，４２５号明細書、同第５，５６９，８２５号明細書、同第５，６６１，０１６号明細書、同第５，５４５，８０６号明細書、同第５，８１４，３１８号明細書及び同第５，９３９，５９８号明細書を参照されたい。ヒト抗体の産生能を有するマウスの例としては、Ｘｅｎｏｍｏｕｓｅ（商標）（Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．；米国特許第６，０７５，１８１号明細書及び同第６，１５０，１８４号明細書）、ＨｕＡｂ－Ｍｏｕｓｅ（商標）（Ｍｅｄｅｒｅｘ，Ｉｎｃ．／Ｇｅｎ Ｐｈａｒｍ；米国特許第５，５４５，８０６号明細書及び同第５，５６９、８２５号明細書）、Ｔｒａｎｓ Ｃｈｒｏｍｏ Ｍｏｕｓｅ（商標）（Ｋｉｒｉｎ）及びＫＭ Ｍｏｕｓｅ（商標）（Ｍｅｄａｒｅｘ／Ｋｉｒｉｎ）が挙げられる。

【０３４１】
ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合するヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリを用いた上記に記載するファージディスプレイ方法を含め、当該技術分野において公知の種々の方法によって作成することができる。米国特許第４，４４４，８８７号明細書、同第４，７１６，１１１号明細書及び同第５，８８５，７９３号明細書；及び国際公開第９８／４６６４５号パンフレット、同第９８／５０４３３号パンフレット、同第９８／２４８９３号パンフレット、同第９８／１６６５４号パンフレット、同第９６／３４０９６号パンフレット、同第９６／３３７３５号パンフレット、及び同第９１／１０７４１号パンフレットも参照されたい。

【０３４２】
一部の実施形態において、ヒト抗体はマウス－ヒトハイブリドーマを用いて作製することができる。例えば、エプスタイン・バーウイルス（ＥＢＶ）で形質転換したヒト末梢血リンパ球をマウス骨髄腫細胞と融合させて、ヒトモノクローナル抗体を分泌するマウス－ヒトハイブリドーマを作製することができ、これらのマウス－ヒトハイブリドーマをスクリーニングすることにより、標的抗原（例えば、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０））に免疫特異的に結合するヒトモノクローナル抗体を分泌するものを決定することができる。かかる方法は公知であり、当該技術分野において記載されており、例えば、Ｓｈｉｎｍｏｔｏ Ｈ ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｃｙｔｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ４６：１９－２３；Ｎａｇａｎａｗａ Ｙ ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ｈｕｍａｎ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ １４：２７－３１を参照されたい。

【０３４３】
５．３．１ ポリヌクレオチド
特定の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）抗原に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体又はその断片（例えば、可変軽鎖領域及び／又は可変重鎖領域）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、及びベクター、例えば、宿主細胞（例えば、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）及び哺乳類細胞）における組換え発現用の、かかるポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。本明細書には、本明細書に提供される抗体のいずれかをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、並びにかかるポリヌクレオチド配列を含むベクター、例えば、それらを宿主細胞、例えば哺乳類細胞において効率的に発現させるための発現ベクターが提供される。

【０３４４】
本明細書で使用されるとき、「単離された」ポリヌクレオチド又は核酸分子は、核酸分子の天然の供給源に（例えば、マウス又はヒトに）存在する他の核酸分子から分離されているものである。更に、「単離された」核酸分子、例えばｃＤＮＡ分子は、他の細胞材料、又は組換え技術によって産生される場合に培養培地を実質的に含まないか、又は化学的に合成される場合に化学的前駆体又は他の化学物質を実質的に含まないものであってよい。例えば、語句「実質的に含まない」には、他の材料、例えば、細胞材料、培養培地、他の核酸分子、化学的前駆体及び／又は他の化学物質が約１５％、１０％、５％、２％、１％、０．５％、又は０．１％未満（詳細には約１０％未満）であるポリヌクレオチド又は核酸分子の調製物が含まれる。具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体をコードする１つ又は複数の核酸分子は単離又は精製されている。

【０３４５】
詳細な態様では、本明細書には、ＯＸ４０ポリペプチド（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合し、且つ本明細書に記載されるとおりのアミノ酸配列を含む抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、並びにＯＸ４０ポリペプチドへの結合に関してかかる抗体と（例えば、用量依存的様式で）競合するか、又はかかる抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。

【０３４６】
特定の態様において、本明細書には、本明細書に記載される抗体の軽鎖又は重鎖をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。本ポリヌクレオチドは、

本明細書に記載される抗体のＶＬ　ＦＲ及びＣＤＲ（例えば、表１及び表３を参照されたい）を含む軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含み得る。本ポリヌクレオチドは、本明細書に記載される抗体のＶＨ　ＦＲ及びＣＤＲ（例えば、表２及び表４を参照されたい）を含む重鎖をコードするヌクレオチド配列を含み得る。具体的な実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、配列番号１５に示されるアミノ酸配列を含むＶＬドメインをコードする。具体的な実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、配列番号１６に示されるアミノ酸配列を含むＶＨドメインをコードする。

【０３４７】

詳細な実施形態において、本明細書には、３つのＶＬ鎖ＣＤＲを含む、例えば、本明細書に記載される抗体のいずれか１つのＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３（例えば、表１を参照されたい）を含有する抗ＯＸ４０抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。具体的な実施形態において、本明細書には、３つのＶＨ鎖ＣＤＲを含む、例えば、本明細書に記載される抗体のいずれか１つのＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３（例えば、表２を参照されたい）を含有するポリヌクレオチドが提供される。具体的な実施形態において、本明細書には、３つのＶＨ鎖ＣＤＲを含み、例えば、本明細書に記載される抗体のいずれか１つのＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３（例えば、表１を参照されたい）を含有し、且つ３つのＶＨ鎖ＣＤＲを含む、例えば、本明細書に記載される抗体のいずれか１つのＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３（例えば、表２を参照されたい）を含有する抗ＯＸ４０抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【０３４８】

詳細な実施形態において、本明細書には、本明細書に記載されるアミノ酸配列（例えば、表１及び表３を参照、例えばこれらの表に名指しで同定される特定の抗体のＶＬ　ＣＤＲ及びＶＬＦＲ）を含むＶＬドメインを含む、例えばＦＲ１－ＣＤＲ１－ＦＲ２－ＣＤＲ２－ＦＲ３－ＣＤＲ３－ＦＲ４を含有する抗ＯＸ４０抗体又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。具体的な実施形態において、本明細書には、本明細書に記載されるアミノ酸配列（例えば、表２及び表４を参照、例えば、これらの表に名指しで同定される特定の抗体のＶＨ　ＣＤＲ及びＶＨ　ＦＲ）を含むＶＨドメインを含む、例えばＦＲ１－ＣＤＲ１－ＦＲ２－ＣＤＲ２－ＦＲ３－ＣＤＲ３－ＦＲ４を含有する抗ＯＸ４０抗体又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【０３４９】

特定の実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）を含む軽鎖可変領域を含む本明細書に提供される抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体はＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する。特定の実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるアミノ酸配列（例えば、配列番号１５）を含む軽鎖可変領域を含む本明細書に提供される抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０３５０】

特定の実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）を含む重鎖可変領域を含む本明細書に提供される抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体はＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する。特定の実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるアミノ酸配列（例えば、配列番号１６）を含む重鎖可変領域を含む本明細書に提供される抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０３５１】

特定の態様において、ポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるアミノ酸配列を有す

る１つ以上のＶＬ　ＦＲ（例えば、表３を参照されたい）を含むＶＬドメインを含む本明細書に記載される抗体又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体はＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する。特定の態様において、ポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるアミノ酸配列を有する１つ以上のＶＨ　ＦＲ（例えば、表４を参照されたい）を含むＶＨドメインを含む本明細書に記載される抗体又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体はＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する。

【０３５２】

具体的な実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、ヒトフレームワーク領域であるフレームワーク領域（例えば、ＶＬドメイン及びＶＨドメインのフレームワーク領域）を含む本明細書に記載される抗体又はその断片をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体はＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する。特定の実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、上記の第５．２節に記載される抗体又はその断片（例えば、ＣＤＲ又は可変ドメイン）をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０３５３】

具体的な態様において、本明細書には、軽鎖及び重鎖、例えば別個の軽鎖及び重鎖を含む抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。軽鎖に関して、具体的な実施形態では、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、κ軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む。別の具体的な実施形態では、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、λ軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む。更に別の具体的な実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、ヒトκ軽鎖又はヒトλ軽鎖を含む本明細書に記載される抗体をコードするヌクレオチド配列を含む。詳細な実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体は軽鎖を含み、及びＶＬドメインのアミノ酸配列が配列番号１５に示されるアミノ酸配列を含んでもよく、及び軽鎖の定常領域がヒトκ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。別の詳細な実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合し、且つ軽鎖を含む抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、ＶＬドメインのアミノ酸配列が配列番号１５に示されるアミノ酸配列を含んでもよく、及び軽鎖の定常領域がヒトλ軽鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。例えば、ヒト定常領域配列は、米国特許第５，６９３，７８０号明細書に記載されるものであってもよい。

【０３５４】

詳細な実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体は重鎖を含み、ＶＨドメインのアミノ酸配列が配列番号１６に示されるアミノ酸配列を含んでもよく、及び重鎖の定常領域がヒトガンマ（γ）重鎖定常領域のアミノ酸配列を含む。

【０３５５】

特定の実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体（例えば、ＶＨドメインが配列番号１６又はＶＬドメインが配列番号１５などのｐａ９１９４９又はｐａｂ２０４４）のＶＨドメイン及び／又はＶＬドメインをコードする１つ又は複数のヌクレオチド配列を含む。

【０３５６】

更に別の具体的な実施形態において、本明細書に提供されるポリヌクレオチドは、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体をコードするヌクレオチド配列を含み、この抗体は、本明細書に記載される任意のアミノ酸配列を含むＶＬドメイン及びＶＨドメインを含み、及び定常領域が、ヒトＩｇＧ$_1$（例えば、アロタイプ１、１７、又は３）、ヒトＩｇＧ$_2$、又はヒトＩｇＧ$_4$の定常領域のアミノ酸

配列を含む。

【０３５７】

具体的な実施形態において、本明細書には、抗ＯＸ４０抗体又は本明細書において指定されるそのドメイン（例えば、表１～表４を参照されたい）、例えば抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【０３５８】

また、本明細書には、例えば、コドン／ＲＮＡ最適化、異種シグナル配列による置換、及びｍＲＮＡ不安定性エレメントの除去によって最適化された、抗ＯＸ４０抗体又はその断片をコードするポリヌクレオチドも提供される。ｍＲＮＡにおけるコドン変化の導入及び／又は阻害領域の除去による組換え発現のための抗ＯＸ４０抗体又はその断片（例えば、軽鎖、重鎖、ＶＨドメイン、又はＶＬドメイン）をコードする最適化された核酸の生成方法は、例えば米国特許第５，９６５，７２６号明細書；同第６，１７４，６６６号明細書；同第６，２９１，６６４号明細書；同第６，４１４，１３２号明細書；及び同第６，７９４，４９８号明細書に記載される最適化方法を適宜応用することにより実施し得る。例えば、ＲＮＡ内にある潜在的なスプライス部位及び不安定性エレメント（例えば、Ａ／ＴまたはＡ／Ｕリッチエレメント）を、核酸配列によってコードされるアミノ酸を変えることなく突然変異させて、組換え発現用のＲＮＡの安定性を高めることができる。これらの改変は遺伝子コードの縮重を利用するものであり、例えば、同一のアミノ酸に対する代替コドンを使用する。一部の実施形態において、保存された突然変異、例えば元のアミノ酸と同様の化学構造及び特性及び／又は機能を有する同様のアミノ酸をコードするように１つ以上のコドンを変えることが望ましいこともある。

【０３５９】

特定の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又はその断片（例えば、ＶＬドメイン又はＶＨドメイン）をコードする最適化されたポリヌクレオチド配列は、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又はその断片（例えば、ＶＬドメイン又はＶＨドメイン）をコードする最適化されていないポリヌクレオチド配列のアンチセンス（例えば、相補的）ポリヌクレオチドとハイブリダイズすることができる。具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又は断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又はその断片をコードする最適化されていないポリヌクレオチド配列のアンチセンスポリヌクレオチドと高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする。具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又はその断片をコードする最適化されたヌクレオチド配列は、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又はその断片をコードする最適化されていないヌクレオチド配列のアンチセンスポリヌクレオチドと高ストリンジェンシー、中程度の又はより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする。ハイブリダイゼーション条件に関する情報は記載されており、例えば、米国特許出願公開第２００５／００４８５４９号明細書（例えば、パラグラフ７２～７３）（参照により本明細書に援用される）を参照されたい。

【０３６０】

当該技術分野において公知の任意の方法により、ポリヌクレオチドを得ることができ、及びポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定することができる。本明細書に記載される抗体、例えば表１～表４に記載される抗体、及びこれらの抗体の修飾されたバージョンをコードするヌクレオチド配列は、当該技術分野において周知の方法を用いて決定することができ、即ち、その抗体をコードする核酸が生成されるような方法で、特定のアミノ酸をコードすることが分かっているヌクレオチドコドンがアセンブルされる。抗体をコードするかかるポリヌクレオチドは、化学的に合成したオリゴヌクレオチドからアセンブルすることができ（例えば、Ｋｕｔｍｅｉｅｒ Ｇ ｅｔ ａｌ．，（１９９４），ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １７：２４２－２４６に記載されるとおり）、これは、簡潔に言えば、抗体をコードする配列の各部分を含有する重複オリゴヌクレオチドの合成、それらの

オリゴヌクレオチドのアニーリング及びライゲーション、及び次にライゲートしたオリゴヌクレオチドのＰＣＲ増幅を伴うものである。

【０３６１】

或いは、本明細書に記載される抗体又はその断片をコードするポリヌクレオチドは、当該技術分野において周知の方法（例えば、ＰＣＲ及び他の分子クローニング方法）を用いて好適な供給源（例えば、ハイブリドーマ）由来の核酸から生成することができる。例えば、目的の抗体を産生するハイブリドーマ細胞から得られたゲノムＤＮＡを使用して、既知の配列の３’末端及び５’末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用したＰＣＲ増幅を実施することができる。かかるＰＣＲ増幅方法を用いることにより、抗体の軽鎖及び／又は重鎖をコードする配列を含む核酸を得ることができる。かかるＰＣＲ増幅方法を用いることにより、抗体の可変軽鎖領域及び／又は可変重鎖領域をコードする配列を含む核酸を得ることができる。増幅した核酸を宿主細胞における発現用及び更なるクローニング用のベクターにクローニングすると、例えば、キメラ抗体及びヒト化抗体を生成することができる。

【０３６２】

特定の抗体又はその断片をコードする核酸を含有するクローンが利用可能でなく、しかし、抗体分子又はその断片の配列が既知である場合、免疫グロブリン又は断片をコードする核酸は、化学的に合成することができ、又は好適な供給源（例えば、抗体ｃＤＮＡライブラリ、又は本明細書に記載される抗体の発現に選択されたハイブリドーマ細胞など、抗体を発現する任意の組織又は細胞から生成されたｃＤＮＡライブラリ、又はそれから単離された核酸、好ましくはポリＡ＋ＲＮＡ）から、配列の３’末端及び５’末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用したＰＣＲ増幅によるか、又は特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用したクローニングにより、例えば、抗体をコードするｃＤＮＡライブラリからｃＤＮＡクローンを同定することによって得ることができる。ＰＣＲによって生成された増幅核酸は、次に、当該技術分野において周知の任意の方法を用いて複製可能なクローニングベクターにクローニングすることができる。

【０３６３】

本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体をコードするＤＮＡは、従来の手順を用いて（例えば、抗ＯＸ４０抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子との特異的結合能を有するオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより）容易に単離し、配列決定することができる。ハイブリドーマ細胞はかかるＤＮＡの供給源として働き得る。単離後、このＤＮＡを発現ベクターに置くことができ、次にそれを大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）細胞、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（例えば、ＣＨＯ ＧＳ Ｓｙｓｔｅｍ（商標）（Ｌｏｎｚａ）のＣＨＯ細胞）、又は本来免疫グロブリンタンパク質を産生しない骨髄腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトすることにより、組換え宿主細胞における抗ＯＸ４０抗体の合成が達成される。

【０３６４】

抗体の生成には、ＶＨ又はＶＬヌクレオチド配列、制限部位、及び制限部位を保護するフランキング配列を含むＰＣＲプライマーを使用して、ｓｃＦｖクローンにおいてＶＨ又はＶＬ配列を増幅し得る。当業者に公知のクローニング技術を利用して、重鎖定常領域、例えばヒトγ４定常領域を発現するベクターにこのＰＣＲ増幅したＶＨドメインをクローニングすることができ、及び軽鎖定常領域、例えばヒトκ又はλ定常領域を発現するベクターにこのＰＣＲ増幅したＶＬドメインをクローニングすることができる。特定の実施形態において、ＶＨ又はＶＬドメインの発現用のベクターは、ＥＦ－１αプロモーター、分泌シグナル、可変ドメイン用のクローニング部位、定常ドメイン、及びネオマイシンなどの選択マーカーを含む。ＶＨ及びＶＬドメインはまた、必要な定常領域を発現する１つのベクターにクローニングすることもできる。次に、当業者に公知の技法を用いて、この重鎖転換ベクター及び軽鎖転換ベクターを細胞株にコトランスフェクトすると、完全長抗体、例えばＩｇＧを発現する安定した又は一過性の細胞株が生成される。

【０３６５】

ＤＮＡはまた、例えば、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード配列をマウス配列の代わりに置換することによるか、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全て又は一部を共有結合的につなぎ合わせることにより、修飾することもできる。

【０３６６】

また、本明細書に記載される抗体をコードするポリヌクレオチドと高ストリンジェンシー、中程度の又はより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドも提供される。具体的な実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、本明細書に提供されるＶＨドメイン（例えば、配列番号１６）及び／又はＶＬドメイン（例えば、配列番号１５）をコードするポリヌクレオチドと高ストリンジェンシー、中程度の又はより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする。

【０３６７】

ハイブリダイゼーション条件については当該技術分野において記載されており、当業者には周知である。例えば、ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションは、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中約４５℃におけるフィルタ結合ＤＮＡへのハイブリダイゼーションと、続く０．２×ＳＳＣ／０．１％ＳＤＳ中約５０～６５℃における１回以上の洗浄を伴うものであってもよく；高度にストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションは、６×ＳＳＣ中約４５℃におけるフィルタ結合核酸へのハイブリダイゼーションと、続く０．１×ＳＳＣ／０．２％ＳＤＳ中約６８℃における１回以上の洗浄を伴うものであってもよい。他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でのハイブリダイゼーションが当業者に公知であって、記載されており、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌ ＦＭ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，（１９８９）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．Ｉ，Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，Ｉｎｃ．ａｎｄ Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ ６．３．１～６．３．６頁及び２．１０．３頁を参照されたい。

【０３６８】

５．３．２ 細胞及びベクター

特定の態様において、本明細書には、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体を（例えば、組換え）発現する細胞（例えば、宿主細胞）並びに関連するポリヌクレオチド及び発現ベクターが提供される。本明細書には、宿主細胞、好ましくは哺乳類細胞における組換え発現のための抗ＯＸ４０抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含むベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。また、本明細書には、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体（例えば、ヒト又はヒト化抗体）の組換え発現のためのかかるベクターを含む宿主細胞も提供される。詳細な態様において、本明細書には、本明細書に記載される抗体を作製する方法が提供され、この方法は、宿主細胞においてかかる抗体を発現させるステップを含む。

【０３６９】

ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体又はその断片（例えば、本明細書に記載される抗体の重鎖又は軽鎖）の組換え発現は、抗体又は断片をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を伴う。本明細書に記載される抗体又はその断片（例えば、重鎖又は軽鎖可変ドメイン）をコードするポリヌクレオチドが得られると、抗体分子の産生のためのベクターを当該技術分野において周知の技法を用いた組換えＤＮＡ技術によって作製することができる。従って、抗体又は抗体断片（例えば、軽鎖又は重鎖）のコードヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドを発現させることによるタンパク質の調製方法が、本明細書に記載される。当業者に周知の方法を用いて、抗体又は抗体断片（例えば、軽鎖又は重鎖）コード配列並びに適切な転写及び翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方法としては、例えば、インビトロ組換えＤＮＡ法、合成法、及びインビボ遺伝子組換えが挙げ

られる。また、プロモーターに作動可能に連結された、本明細書に記載される抗体分子、抗体の重鎖若しくは軽鎖、抗体若しくはその断片の重鎖若しくは軽鎖可変ドメイン、又は重鎖若しくは軽鎖ＣＤＲをコードするヌクレオチド配列を含む複製可能なベクターも提供される。かかるベクターは、例えば、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列を含むことができ（例えば、国際公開第８６／０５８０７号パンフレット及び同第８９／０１０３６号パンフレット；及び米国特許第５，１２２，４６４号明細書を参照されたい）、及び抗体の可変ドメインを、全重鎖、全軽鎖、又は全重鎖及び全軽鎖の両方の発現のためかかるベクターにクローニングすることができる。

【０３７０】

発現ベクターは従来技術によって細胞（例えば、宿主細胞）に移入することができ、次に得られた細胞を従来技術によって培養することにより、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）又はその断片を作製することができる。従って、本明細書には、宿主細胞においてかかる配列を発現させるためのプロモーターに作動可能に連結された、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）又はその断片（例えば、その重鎖又は軽鎖、又はその断片）をコードするポリヌクレオチドを含有する宿主細胞が提供される。特定の実施形態において、二重鎖抗体の発現には、以下に詳述するとおり、全免疫グロブリン分子の発現のため宿主細胞において重鎖及び軽鎖の両方を個々にコードするベクターを発現させることができる。特定の実施形態において、宿主細胞は、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）の重鎖及び軽鎖の両方、又はその断片をコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含有する。具体的な実施形態において、宿主細胞は２つの異なるベクターを含有し、第１のベクターが、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）の重鎖又は重鎖可変領域、又はその断片をコードするポリヌクレオチドを含み、且つ第２のベクターが、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）の軽鎖又は軽鎖可変領域、又はその断片をコードするポリヌクレオチドを含む。他の実施形態では、第１の宿主細胞が、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）の重鎖又は重鎖可変領域、又はその断片をコードするポリヌクレオチドを含む第１のベクターを含み、且つ第２の宿主細胞が、本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）の軽鎖又は軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第２のベクターを含む。具体的な実施形態において、第１の細胞が発現する重鎖／重鎖可変領域が第２の細胞の軽鎖／軽鎖可変領域と結び付くことにより、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）を形成する。特定の実施形態において、本明細書には、かかる第１の宿主細胞とかかる第２の宿主細胞とを含む宿主細胞集団が提供される。

【０３７１】

詳細な実施形態において、本明細書には、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）の軽鎖／軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第１のベクターと、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）の重鎖／重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第２のベクターとを含むベクター集団が提供される。

【０３７２】

種々の宿主－発現ベクター系を利用して、本明細書に記載される抗体分子（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）を発現させることができる（例えば、米国特許第５，８０７，７１５号明細書を参照されたい）。かかる宿主－発現系は、目的のコード配列の産生及び続く精製を可能にする媒体に相当し、しかしまた、適切なヌクレオチドコード配列で形質転換又はトランスフェクトされるとき、本明細書に記載される抗体分子をインサイチューで発現する細胞にも相当する。これらとしては、限定はされ

ないが、例えば、抗体コード配列を含有する組換えバクテリオファージＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ又はコスミドＤＮＡ発現ベクターで形質転換された細菌（例えば、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）及び枯草菌（Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ））；抗体コード配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、サッカロミセス属（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）ピキア属（Ｐｉｃｈｉａ））；抗体コード配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；抗体コード配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、ＣａＭＶ；タバコモザイクウイルス、ＴＭＶ）に感染しているか、又は組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Ｔｉプラスミド）で形質転換された植物細胞系（例えば、，コナミドリムシ（Ｃｈｌａｍｙｄｏｍｏｎａｓ ｒｅｉｎｈａｒｄｔｉｉ）などの緑藻類）；又は哺乳類細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）又は哺乳類ウイルスに由来するプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス７．５Ｋプロモーター）を含有する組換え発現コンストラクトを担持する哺乳類細胞系（例えば、ＣＯＳ（例えば、ＣＯＳ１又はＣＯＳ）、ＣＨＯ、ＢＨＫ、ＭＤＣＫ、ＨＥＫ ２９３、ＮＳ０、ＰＥＲ．Ｃ６、ＶＥＲＯ、ＣＲＬ７０３０、ＨｓＳ７８Ｂｓｔ、ＨｅＬａ、及びＮＩＨ ３Ｔ３、ＨＥＫ－２９３Ｔ、ＨｅｐＧ２、ＳＰ２１０、Ｒ１．１、Ｂ－Ｗ、Ｌ－Ｍ、ＢＳＣ１、ＢＳＣ４０、ＹＢ／２０及びＢＭＴ１０細胞）が挙げられる。具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体（例えば、抗体ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のいずれか１つのＣＤＲを含む抗体）を発現させるための細胞は、ＣＨＯ細胞、例えばＣＨＯ ＧＳ Ｓｙｓｔｅｍ（商標）（Ｌｏｎｚａ）のＣＨＯ細胞である。詳細な実施形態において、本明細書に記載される抗体を発現させるための細胞は、ヒト細胞、例えばヒト細胞株である。具体的な実施形態において、哺乳類発現ベクターはｐＯｐｔｉＶＥＣ（商標）又はｐｃＤＮＡ３．３である。詳細な実施形態において、特に全組換え抗体分子を発現させるための大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ）などの細菌細胞又は真核細胞（例えば、哺乳類細胞）が、組換え抗体分子の発現に用いられる。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要中間体初期遺伝子プロモーターエレメントなどのベクターと併せたチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞などの哺乳類細胞が抗体に有効な発現系である（Ｆｏｅｃｋｉｎｇ ＭＫ＆Ｈｏｆｓｔｅｔｔｅｒ Ｈ（１９８６）Ｇｅｎｅ ４５：１０１－１０５；及びＣｏｃｋｅｔｔ ＭＩ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ８：６６２－６６７）。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体はＣＨＯ細胞又はＮＳ０細胞によって産生される。具体的な実施形態において、ＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）に免疫特異的に結合する本明細書に記載される抗体をコードするヌクレオチド配列の発現は、構成的プロモーター、誘導性プロモーター又は組織特異的プロモーターによって調節される。

【０３７３】

細菌系では、発現させる抗体分子の意図される用途に応じて幾つもの発現ベクターを有利に選択することができる。例えば、抗体分子の医薬組成物の生成のため、かかる抗体を多量に作製しようとする場合、精製が容易である、高レベルの融合タンパク質産物の発現を導くベクターが望ましいことになり得る。かかるベクターとしては、限定はされないが、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）発現ベクターｐＵＲ２７８（Ｒｕｅｔｈｅｒ Ｕ＆Ｍｕｅｌｌｅｒ－Ｈｉｌｌ Ｂ（１９８３）ＥＭＢＯ Ｊ ２：１７９１－１７９４）（ここで、抗体コード配列を、融合タンパク質が作製されるように、個々にベクターへとｌａｃ Ｚコード領域と共にインフレームでライゲートすることができる）；ｐＩＮベクター（Ｉｎｏｕｙｅ Ｓ＆Ｉｎｏｕｙｅ Ｍ（１９８５）Ｎｕｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ １３：３１０１－３１０９；Ｖａｎ Ｈｅｅｋｅ Ｇ＆Ｓｃｈｕｓｔｅｒ ＳＭ（１９８９）Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２４：５５０３－５５０９）などが挙げられる。例えば、ｐＧＥＸベクターもグルタチオン５－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）との融合タンパク質としての外来性ポリペプチドの発現に使用することができる。一般に、かかる融合タンパク質は可溶性であり、マトリックスグルタチオンアガロースビーズに対する吸着及び結合と、続く遊離グルタチオンの存在下における溶出とによって溶解細胞から容易に精製することができる

。ｐＧＥＸベクターは、クローニングされた標的遺伝子産物をＧＳＴ部分から放出させることを可能にするためトロンビン又は第Ｘａ因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計される。

【０３７４】

昆虫系では、例えば、オートグラファカリフォルニカ核多角体病ウイルス（ＡｃＮＰＶ）をベクターとして使用して、外来性遺伝子を発現させることができる。このウイルスはスポドプテラ・フルギペルダ（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ）細胞で成長する。抗体コード配列をウイルスの非必須領域（例えば、ポリヘドリン遺伝子）に個々にクローニングして、ＡｃＮＰＶプロモーター（例えば、ポリヘドリンプロモーター）の制御下に置くことができる。

【０３７５】

哺乳類宿主細胞では、幾つものウイルスベースの発現系を利用することができる。発現ベクターとしてアデノウイルスが使用される場合、目的の抗体コード配列をアデノウイルス転写／翻訳制御複合体、例えば、後期プロモーター及びトリパルタイト（ｔｒｉｐａｒｔｉｔｅ）リーダー配列にライゲートすることができる。次にこのキメラ遺伝子をインビトロ又はインビボ組換えによってアデノウイルスゲノムに挿入することができる。ウイルスゲノムの非必須領域（例えば、領域Ｅｌ又はＥ３）における挿入は、生存可能であり且つ感染宿主において抗体分子の発現能を有する組換えウイルスをもたらし得る（例えば、Ｌｏｇａｎ　Ｊ＆Ｓｈｅｎｋ　Ｔ（１９８４）ＰＮＡＳ　８１：３６５５－３６５９を参照されたい）。特定の開始シグナルも、挿入された抗体コード配列の効率的な翻訳に必要となり得る。これらのシグナルとしては、ＡＴＧ開始コドン及び隣接配列が挙げられる。更には、挿入物全体の翻訳を確実にするため、開始コドンは所望のコード配列のリーディングフレームとインフェーズ（ｉｎ　ｐｈａｓｅ）でなければならない。これらの外因性翻訳制御シグナル及び開始コドンは、天然及び合成の両方の、種々の起源であってよい。発現の効率は、適切な転写エンハンサーエレメント、転写ターミネーター等を含めることによって増強し得る（例えば、Ｂｉｔｔｅｒ　Ｇ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８７）Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ　１５３：５１６－５４４を参照されたい）。

【０３７６】

加えて、挿入された配列の発現を調節するか、又は遺伝子産物を所望の特定の方法で修飾及びプロセシングする宿主細胞株を選択することができる。タンパク質産物のかかる修飾（例えば、グリコシル化）及びプロセシング（例えば、切断）は、タンパク質の機能にとって重要であり得る。異なる宿主細胞は、タンパク質及び遺伝子産物の翻訳後プロセシング及び修飾に関して特徴的且つ特異的な機構を有する。適切な細胞株又は宿主系を選択することにより、発現した外来性タンパク質の正しい修飾及びプロセシングを確実にすることができる。このため、一次転写物を適切にプロセシングし、グリコシル化し、且つ遺伝子産物をリン酸化する細胞機構を有する真核生物宿主細胞を使用することができる。かかる哺乳類宿主細胞としては、限定はされないが、ＣＨＯ、ＶＥＲＯ、ＢＨＫ、Ｈｅｌａ、ＭＤＣＫ、ＨＥＫ　２９３、ＮＩＨ　３Ｔ３、Ｗ１３８、ＢＴ４８３、Ｈｓ５７８Ｔ、ＨＴＢ２、ＢＴ２０及びＴ４７Ｄ、ＮＳ０（いかなる免疫グロブリン鎖も内因的に産生しないマウス骨髄腫細胞株）、ＣＲＬ７０３０、ＣＯＳ（例えば、ＣＯＳ１又はＣＯＳ）、ＰＥＲ．Ｃ６、ＶＥＲＯ、ＨｓＳ７８Ｂｓｔ、ＨＥＫ－２９３Ｔ、ＨｅｐＧ２、ＳＰ２０、Ｒ１．１、Ｂ－Ｗ、Ｌ－Ｍ、ＢＳＣ１、ＢＳＣ４０、ＹＢ／２０、ＢＭＴ１０及びＨｓＳ７８ＢｓＴ細胞が挙げられる。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）は、ＣＨＯ細胞などの哺乳類細胞において作製される。

【０３７７】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は低下したフコース含量を有するか、又はフコース含量を有しない。かかる抗体は、当業者に公知の技法を用いて作製することができる。例えば、フコシル化の能力が欠損又は欠如した細胞において抗体を発現させることができる。具体的な例では、α１，６－フコシルトランスフェラーゼの両方の

対立遺伝子のノックアウトを有する細胞株を使用して、フコース含量が低下した抗体を作製することができる。Ｐｏｔｅｌｌｉｇｅｎｔ（登録商標）システム（Ｌｏｎｚａ）は、フコース含量が低下した抗体の作製に使用し得るかかるシステムの一例である。

【０３７８】

組換えタンパク質を長期にわたって高収率で産生させるには、安定発現細胞を生成することができる。例えば、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）を安定に発現する細胞株を操作することができる。具体的な実施形態において、本明細書に提供される細胞は、会合することにより本明細書に記載される抗体（例えば、ｐａｂ１９４９又はｐａｂ２０４４のＣＤＲを含む抗体）を形成する軽鎖／軽鎖可変ドメイン及び重鎖／重鎖可変ドメインを安定に発現する。

【０３７９】

特定の態様において、ウイルス複製起点を含有する発現ベクターを使用するよりむしろ、宿主細胞を、適切な発現制御エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位等）によって制御されるＤＮＡ、及び選択可能マーカーで形質転換することができる。外来ＤＮＡ／ポリヌクレオチドの導入後、操作された細胞を強化培地で１～２日成長させることができ、次に選択培地に切り換える。組換えプラスミド中の選択可能マーカーが選択に対する耐性を付与し、且つ細胞によるその染色体へのプラスミドの安定した組み込み、成長によるフォーカス形成を可能にし、次にそれを細胞株にクローニングして拡大することができる。この方法を用いて、有利には、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又はその断片を発現する細胞株を操作することができる。かかる操作された細胞株は、抗体分子と直接又は間接的に相互作用する組成物のスクリーニング及び評価に特に有用であり得る。

【０３８０】

幾つもの選択系を用いることができ、限定はされないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Ｗｉｇｌｅｒ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９７７）Ｃｅｌｌ １１（１）：２２３－２３２）、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｓｚｙｂａｌｓｋａ ＥＨ＆Ｓｚｙｂａｌｓｋｉ Ｗ（１９６２）ＰＮＡＳ ４８（１２）：２０２６－２０３４）及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｌｏｗｙ Ｉ ｅｔ ａｌ．，（１９８０）Ｃｅｌｌ ２２（３）：８１７－８２３）遺伝子を、それぞれｔｋ－、ｈｇｐｒｔ－又はａｐｒｔ－細胞において利用することができる。また、以下の遺伝子について、代謝拮抗薬耐性も選択基準として用いることができる：ｄｈｆｒ（メトトレキサート耐性を付与する）（Ｗｉｇｌｅｒ Ｍ ｅｔ ａｌ．，（１９８０）ＰＮＡＳ ７７（６）：３５６７－３５７０；Ｏ’Ｈａｒｅ Ｋ ｅｔ ａｌ．，（１９８１）ＰＮＡＳ ７８：１５２７－１５３１）；ｇｐｔ（ミコフェノール酸耐性を付与する）（Ｍｕｌｌｉｇａｎ ＲＣ＆Ｂｅｒｇ Ｐ（１９８１）ＰＮＡＳ ７８（４）：２０７２－２０７６）；ｎｅｏ（アミノグリコシドＧ－４１８耐性を付与する）（Ｗｕ ＧＹ＆Ｗｕ ＣＨ（１９９１）Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ ３：８７－９５；Ｔｏｌｓｔｏｓｈｅｖ Ｐ（１９９３）Ａｎｎ Ｒｅｖ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ Ｔｏｘｉｃｏｌ ３２：５７３－５９６；Ｍｕｌｌｉｇａｎ ＲＣ（１９９３）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６０：９２６－９３２；及びＭｏｒｇａｎ ＲＡ＆Ａｎｄｅｒｓｏｎ ＷＦ（１９９３）Ａｎｎ Ｒｅｖ Ｂｉｏｃｈｅｍ ６２：１９１－２１７；Ｎａｂｅｌ ＧＪ＆Ｆｅｌｇｎｅｒ ＰＬ（１９９３）Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ １１（５）：２１１－２１５）；及びｈｙｇｒｏ（ハイグロマイシン耐性を付与する）（Ｓａｎｔｅｒｒｅ ＲＦ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｇｅｎｅ ３０（１－３）：１４７－１５６）。組換えＤＮＡ技術分野において一般に知られている方法をルーチンで適用して所望の組換えクローンを選択することができ、かかる方法については、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌ ＦＭ ｅｔ ａｌ．，（ｅｄｓ．），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９３）；Ｋｒｉｅｇｌｅｒ Ｍ，Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ（１９９０）；及びＣｈａｐｔｅｒｓ

12 and 13, Dracopoli NC et al., (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley&Sons, NY (1994); Colbere-Garapin F et al., (1981) J Mol Biol 150:1-14（全体として参照によって本明細書に援用される）に記載されている。

【0381】

抗体分子の発現レベルは、ベクター増幅によって増加させることができる（レビューについては、Bebbington CR&Hentschel CCG, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3（Academic Press, New York, 1987）を参照されたい）。抗体を発現するベクター系中のマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物中に存在する阻害薬レベルが増加すると、マーカー遺伝子のコピー数が増加することになる。増幅領域は抗体遺伝子に関連付けられているため、抗体の産生も増加することになる（Crouse GF et al., (1983) Mol Cell Biol 3:257-66）。

【0382】

宿主細胞には、本明細書に記載される2つ以上の発現ベクター、重鎖由来のポリペプチドをコードする第1のベクターと軽鎖由来のポリペプチドをコードする第2のベクターとをコトランスフェクトすることができる。これらの2つのベクターは同一の選択可能マーカーを含有してもよく、これにより重鎖及び軽鎖ポリペプチドの等しい発現が可能となる。宿主細胞には、異なる量の2つ以上の発現ベクターをコトランスフェクトすることができる。例えば、宿主細胞には、以下の比：1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：12、1：15、1：20、1：25、1：30、1：35、1：40、1：45、又は1：50のうちのいずれか1つの第1の発現ベクターと第2の発現ベクターとをトランスフェクトすることができる。

【0383】

或いは、重鎖及び軽鎖ポリペプチドの両方をコードし、且つその発現能を有する単一のベクターを使用してもよい。かかる状況では、過剰な無毒重鎖を回避するため、軽鎖は重鎖よりも前に置かれるべきである（Proudfoot NJ (1986) Nature 322:562-565；及びKoehler G (1980) PNAS 77:2197-2199）。重鎖及び軽鎖のコード配列はcDNA又はゲノムDNAを含み得る。発現ベクターは単シストロン性又は多シストロン性であってもよい。多シストロン性核酸コンストラクトは、2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はそれを超える、又は2～5、5～10又は10～20個の範囲の遺伝子／ヌクレオチド配列をコードすることができる。例えば、二シストロン性核酸コンストラクトは、プロモーター、第1の遺伝子（例えば、本明細書に記載される抗体の重鎖）、及び第2の遺伝子（例えば、本明細書に記載される抗体の軽鎖）をこの順序で含み得る。かかる発現ベクターでは、両方の遺伝子の転写がこのプロモーターによって駆動されることができ、一方、第1の遺伝子からのmRNAの翻訳はcap依存性スキャニング機構によることができ、第2の遺伝子からのmRNAの翻訳はcap非依存性機構、例えばIRESによることができる。

【0384】

本明細書に記載される抗体分子が組換え発現によって作製されると、これを免疫グロブリン分子の精製に関して当該技術分野において公知の任意の方法、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、特にプロテインA後の特異的抗原に対する親和性によるもの、及びサイズ排除カラムクロマトグラフィー）、遠心、溶解度差によるか、又はタンパク質の精製に関する任意の他の標準的な技法により精製することができる。更に、本明細書に記載される抗体は、本明細書に記載される又はその他、当該技術分野において精製を促進することが公知の異種ポリペプチド配列に融合させることができる。

【0385】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は単離又は精製されている。概して、単離抗体とは、その単離抗体と異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まないものである。例えば、詳細な実施形態において、本明細書に記載される抗体の調製物は細胞材料及び／又は化学的前駆体を実質的に含まない。語句「細胞材料を実質的に含まない」には、それが単離され又は組換え産生される元となった細胞の細胞成分から抗体が分離されている抗体の調製物が含まれる。従って、細胞材料を実質的に含まない抗体には、異種タンパク質（本明細書では「夾雑タンパク質」とも称される）及び／又は抗体の変異体、例えば異なる翻訳後修飾形態の抗体が約３０％、２０％、１０％、５％、２％、１％、０．５％、又は０．１％未満（乾燥重量基準）である抗体の調製物が含まれる。抗体又は断片が組換えによって作製される場合、それはまた、概して培養培地も実質的に含まず、即ち、培養培地がタンパク質調製物の容積の約２０％、１０％、２％、１％、０．５％、又は０．１％未満を占める。抗体又は断片が化学合成によって作製される場合、それは概して化学的前駆体又は他の化学物質を実質的に含まず、即ち、それはタンパク質の合成に関わる化学的前駆体又は他の化学物質と分離されている。従って、抗体又は断片のかかる調製物は、目的の抗体又は断片以外の化学的前駆体又は化合物が約３０％、２０％、１０％、又は５％（乾燥重量基準）未満である。具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗体は単離又は精製されている。

【０３８６】

５．４　医薬組成物

本明細書には、生理学的に許容可能な担体、賦形剤又は安定剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９０）Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ）中において所望の程度の純度を有する本明細書に記載される抗体を含む組成物が提供される。許容可能な担体、賦形剤、又は安定剤は、用いられる投薬量及び濃度でレシピエントにとって非毒性である。

【０３８７】

本明細書に記載される医薬組成物は、ＯＸ４０活性の増強、誘導、又は活性化、並びに癌又は感染症などの病態の治療において有用であり得る。本明細書に記載される方法により治療し得る癌の例としては、限定はされないが、Ｂ細胞リンパ腫（例えば、Ｂ細胞慢性リンパ性白血病、Ｂ細胞非ホジキンリンパ腫、皮膚Ｂ細胞リンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫）、基底細胞癌、膀胱癌、芽細胞腫、脳転移、乳癌、バーキットリンパ腫、癌腫（例えば、腺癌（例えば、胃食道接合部腺癌））、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌（結腸癌及び直腸癌）、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング肉腫、濾胞性リンパ腫、胃癌、胃食道接合部癌、消化管癌、膠芽腫（例えば、多形性膠芽腫、例えば、新しく診断されたもの又は再発性）、神経膠腫、頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮癌）、肝転移、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫、腎癌（例えば、腎細胞癌及びウィルムス腫瘍）、喉頭癌、白血病（例えば、慢性骨髄球性白血病、ヘアリー細胞白血病）、肝臓癌（例えば、肝癌及びヘパトーマ）、肺癌（例えば、非小細胞肺癌及び小細胞肺癌）、リンパ芽球性リンパ腫、リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、転移性脳腫瘍、転移性癌、骨髄腫（例えば、多発性骨髄腫）、神経芽細胞腫、眼メラノーマ、中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵癌（例えば、膵管腺癌）、前立腺癌（例えば、ホルモン不応性（例えば、去勢抵抗性）、転移性、転移性ホルモン不応性（例えば、去勢抵抗性、アンドロゲン非依存性））、腎細胞癌（例えば、転移性）、唾液腺癌、肉腫（例えば、横紋筋肉腫）、皮膚癌（例えば、黒色腫（例えば、転移性黒色腫））、軟部組織肉腫、固形腫瘍、扁平上皮癌、滑膜肉腫、精巣癌、甲状腺癌、移行上皮癌（尿路上皮細胞癌）、ぶどう膜黒色腫（例えば、転移性）、いぼ状癌、外陰癌、及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症が挙げられる。一実施形態において、本明細書に記載される方法により治療し得る癌の例としては、限定はされないが、進行性、再発性、又は転移性固形腫瘍、リンパ腫（例えば、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫又はバーキットリンパ腫）、乳癌、前立腺癌、頭頸部癌、結腸直腸癌、結腸癌、黒色腫（例えば、転移性黒色腫）、子宮内膜癌、腎細胞癌、腎明細胞癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌又は肺腺癌）、卵巣癌、胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ　ｃａｎｃｅｒ）、膀胱癌、胃癌（ｓｔｏ

ｍａｃｈ　ｃａｎｃｅｒ）、子宮癌、褐色細胞腫、転移性皮膚扁平上皮癌（例えば、移植患者における）、メルケル細胞癌、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、神経内分泌腫瘍、骨由来腫瘍（例えば、骨肉腫）、血管外皮細胞腫、遺伝的症候群（ＮＦ１又はＶＨＬ）に関連する腫瘍、脊索腫、上衣腫、髄芽腫、胚細胞腫、小腸腫瘍、虫垂癌、及びウイルス関連腫瘍（例えば、カポジ肉腫）が挙げられる。本明細書に記載される医薬組成物は、一実施形態において、医薬又は診断薬として用いられるものである。本明細書に記載されるアゴニスト抗体を含む医薬組成物は、一実施形態において、癌を治療する方法に用いられるものである。

【０３８８】

本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体を含む本明細書に記載される医薬組成物は、ＯＸ４０活性を低下させるか、阻害するか又は不活性化させ、及び炎症性若しくは自己免疫性疾患若しくは障害又は感染症などの病態を治療するのに有用であり得る。本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体を含む医薬組成物は、一実施形態において、炎症性若しくは自己免疫性疾患若しくは障害又は感染症を治療する方法に用いられるものである。

【０３８９】

本明細書に記載されるアンタゴニスト抗体を含む本明細書に記載される医薬組成物は、ＯＸ４０活性を低下させるか、不活性化するか、又は阻害し、及び感染（ウイルス、細菌、真菌及び寄生虫）、感染に関連するエンドトキシンショック、関節炎、関節リウマチ、喘息、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、骨盤内炎症性疾患、アルツハイマー病、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、ペイロニー病、セリアック病、胆嚢疾患、毛巣病、腹膜炎、乾癬、脈管炎、外科的癒着、脳卒中、Ｉ型糖尿病、ライム病、関節炎、髄膜脳炎、ブドウ膜炎、自己免疫性ブドウ膜炎、中枢及び末梢神経系の免疫介在性炎症性障害（多発性硬化症、ループス（全身性エリテマトーデスなど）及びギラン・バレー症候群など）、皮膚炎、アトピー性皮膚炎、自己免疫性肝炎、線維性胞隔炎、グレーブス病、ＩｇＡ腎症、特発性血小板減少性紫斑病、メニエール病、天疱瘡、原発性胆汁性肝硬変、サルコイドーシス、強皮症、ウェゲナー肉芽腫症、膵炎、外傷（外科的）、移植片対宿主病、移植片拒絶反応、心筋梗塞並びにアテローム性動脈硬化症などの虚血性疾患を含めた心疾患（即ち、心血管疾患）、血管内凝固、骨吸収、骨粗鬆症、骨関節炎、歯周炎、低酸症、視神経脊髄炎、セリアック病、結合組織障害（例えば、ループス）、感染後炎症性障害（例えば、ギラン・バレー症候群）、及び腫瘍随伴症候群からなる群から選択される病態を治療するのに有用であり得る。

【０３９０】

生体内投与に用いられる組成物は無菌であり得る。これは、例えば滅菌ろ過膜によるろ過によって容易に達成される。

【０３９１】

５．５　使用及び方法

５．５．１　治療的使用及び方法

一態様において、本明細書には、対象の１つ以上の免疫機能又は免疫応答を調節する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体、又はその組成物を投与するステップを含む。ある具体的な態様において、本明細書には、対象の１つ以上の免疫機能又は免疫応答を活性化するか、増強するか、又は誘導する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。具体的な実施形態において、本明細書には、１つ以上の免疫機能又は免疫応答を活性化するか又増強することが望ましい疾患を予防及び／又は治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には感染症を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には癌を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。癌は、黒色腫、腎癌、及び前立腺癌からなる群から選択され得る。癌は、黒色腫、腎癌、前立腺癌、結腸癌、及び肺

癌からなる群から選択され得る。特定の実施形態において、本明細書には黒色腫を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には腎癌を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には前立腺癌を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には結腸癌を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には肺癌を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０抗体又はその組成物を投与するステップを含む。一例では、本方法は、チェックポイントターゲティング剤を対象に投与するステップを更に含む。一例では、チェックポイントターゲティング剤は、アンタゴニスト抗ＰＤ－１抗体、アンタゴニスト抗ＰＤ－Ｌ１抗体、アンタゴニスト抗ＰＤ－Ｌ２抗体、アンタゴニスト抗ＣＴＬＡ－４抗体、アンタゴニスト抗ＴＩＭ－３抗体、アンタゴニスト抗ＬＡＧ－３抗体、アンタゴニスト抗ＣＥＡＣＡＭ１抗体、アゴニスト抗ＧＩＴＲ抗体、アゴニスト抗ＣＤ１３７抗体、及びアゴニスト抗ＯＸ４０抗体からなる群から選択される。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤はアンタゴニスト抗ＰＤ－１抗体である。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤はアンタゴニスト抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤はアゴニスト抗ＧＩＴＲ抗体である。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤はアゴニスト抗ＣＤ１３７抗体である。

【０３９２】

特定の実施形態では、本明細書に開示される方法において抗ＰＤ－１抗体が使用される。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂによって開発された、ＢＭＳ－９３６５５８又はＭＤＸ１１０６としても知られるニボルマブである。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、Ｍｅｒｃｋ＆Ｃｏによって開発された、ランブロリズマブ又はＭＫ－３４７５としても知られるペンブロリズマブである。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、ＣｕｒｅＴｅｃｈによって開発された、ＣＴ－０１１としても知られるピジリズマブである。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅによって開発された、ＡＭＰ－５１４としても知られるＭＥＤＩ０６８０である。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、Ｎｏｖａｒｔｉｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されたＰＤＲ００１である。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓによって開発されたＲＥＧＮ２８１０である。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、Ｐｆｉｚｅｒによって開発されたＰＦ－０６８０１５９１である。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、ＢｅｉＧｅｎｅによって開発されたＢＧＢ－Ａ３１７である。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、ＡｎａｐｔｙｓＢｉｏ及びＴｅｓａｒｏによって開発されたＴＳＲ－０４２である。特定の実施形態において、抗ＰＤ－１抗体は、Ｈｅｎｇｒｕｉによって開発されたＳＨＲ－１２１０である。

【０３９３】

本明細書に開示される治療方法において使用し得る抗ＰＤ－１抗体の更なる非限定的な例が、以下の特許及び特許出願（これらは、あらゆる目的のために全体として参照により本明細書に援用される）に開示されている：米国特許第６，８０８，７１０号明細書；米国特許第７，３３２，５８２号明細書；米国特許第７，４８８，８０２号明細書；米国特許第８，００８，４４９号明細書；米国特許第８，１１４，８４５号明細書；米国特許第８，１６８，７５７号明細書；米国特許第８，３５４，５０９号明細書；米国特許第８，６８６，１１９号明細書；米国特許第８，７３５，５５３号明細書；米国特許第８，７４

７，８４７号明細書；米国特許第８，７７９，１０５号明細書；米国特許第８，９２７，６９７号明細書；米国特許第８，９９３，７３１号明細書；米国特許第９，１０２，７２７号明細書；米国特許第９，２０５，１４８号明細書；米国特許出願公開第２０１３／０２０２６２３　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１３／０２９１１３６　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１４／０３５６３６３　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１６／００７５７８３　Ａ１号明細書；及び国際公開第２０１３／０３３０９１　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１５／０３６３９４　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１４／１７９６６４　Ａ２号パンフレット；国際公開第２０１４／２０９８０４　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１４／２０６１０７　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１５／０５８５７３　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１５／０８５８４７　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１５／２００１１９　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１６／０１５６８５　Ａ１号パンフレット；及び国際公開第２０１６／０２０８５６　Ａ１号パンフレット。

【０３９４】

特定の実施形態では、本明細書に開示される方法において抗ＰＤ－Ｌ１抗体が使用される。特定の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈによって開発されたアテゾリズマブである。特定の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ、Ｃｅｌｇｅｎｅ及びＭｅｄｉｍｍｕｎｅによって開発されたデュルバルマブである。特定の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、Ｍｅｒｃｋ　Ｓｅｒｏｎｏ及びＰｆｉｚｅｒによって開発された、ＭＳＢ００１０７１８Ｃとしても知られるアベルマブである。特定の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂによって開発されたＭＤＸ－１１０５である。特定の実施形態において、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、Ａｍｐｌｉｍｍｕｎｅ及びＧＳＫによって開発されたＡＭＰ－２２４である。

【０３９５】

本明細書に開示される治療方法において使用し得る抗ＰＤ－Ｌ１抗体の非限定的な例は、以下の特許及び特許出願（これらは、あらゆる目的のために全体として参照により本明細書に援用される）に開示されている：米国特許第７，９４３，７４３号明細書；米国特許第８，１６８，１７９号明細書；米国特許第８，２１７，１４９号明細書；米国特許第８，５５２，１５４号明細書；米国特許第８，７７９，１０８号明細書；米国特許第８，９８１，０６３号明細書；米国特許第９，１７５，０８２号明細書；米国特許出願公開第２０１０／０２０３０５６　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２００３／０２３２３２３　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１３／０３２３２４９　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１４／０３４１９１７　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１４／００４４７３８　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１５／０２０３５８０　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１５／０２２５４８３　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１５／０３４６２０８　Ａ１号明細書；米国特許出願公開第２０１５／０３５５１８４　Ａ１号明細書；及び国際公開第２０１４／１０００７９　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１４／０２２７５８　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１４／０５５８９７　Ａ２号パンフレット；国際公開第２０１５／０６１６６８　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１５／１０９１２４　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１５／１９５１６３　Ａ１号パンフレット；国際公開第２０１６／０００６１９　Ａ１号パンフレット；及び国際公開第２０１６／０３０３５０　Ａ１号パンフレット。

【０３９６】

特定の実施形態において、本明細書には、Ｂ細胞リンパ腫（例えば、Ｂ細胞慢性リンパ性白血病、Ｂ細胞非ホジキンリンパ腫、皮膚Ｂ細胞リンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫）、基底細胞癌、膀胱癌、芽細胞腫、脳転移、乳癌、バーキットリンパ腫、癌腫（例えば、腺癌（例えば、胃食道接合部腺癌））、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌（結腸癌及び直腸癌）、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング肉腫、濾胞性リンパ腫、胃癌、胃食道接

合部癌、消化管癌、膠芽腫（例えば、多形性膠芽腫、例えば、新しく診断されたもの又は再発性）、神経膠腫、頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮癌）、肝転移、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫、腎癌（例えば、腎細胞癌及びウィルムス腫瘍）、喉頭癌、白血病（例えば、慢性骨髄球性白血病、ヘアリー細胞白血病）、肝臓癌（例えば、肝癌及びヘパトーマ）、肺癌（例えば、非小細胞肺癌及び小細胞肺癌）、リンパ芽球性リンパ腫、リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、転移性脳腫瘍、転移性癌、骨髄腫（例えば、多発性骨髄腫）、神経芽細胞腫、眼メラノーマ、中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵癌（例えば、膵管腺癌）、前立腺癌（例えば、ホルモン不応性（例えば、去勢抵抗性）、転移性、転移性ホルモン不応性（例えば、去勢抵抗性、アンドロゲン非依存性））、腎細胞癌（例えば、転移性）、唾液腺癌、肉腫（例えば、横紋筋肉腫）、皮膚癌（例えば、黒色腫（例えば、転移性黒色腫））、軟部組織肉腫、固形腫瘍、扁平上皮癌、滑膜肉腫、精巣癌、甲状腺癌、移行上皮癌（尿路上皮細胞癌）、ぶどう膜黒色腫（例えば、転移性）、いぼ状癌、外陰癌、及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症からなる群から選択される癌を治療する方法が提供される。特定の実施形態において、本明細書には、進行性、再発性、又は転移性固形腫瘍、リンパ腫（例えば、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫又はバーキットリンパ腫）、乳癌、前立腺癌、頭頸部癌、結腸直腸癌、結腸癌、黒色腫（例えば、転移性黒色腫）、子宮内膜癌、腎細胞癌、腎明細胞癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌又は肺腺癌）、卵巣癌、胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ　ｃａｎｃｅｒ）、膀胱癌、胃癌（ｓｔｏｍａｃｈ　ｃａｎｃｅｒ）、子宮癌、褐色細胞腫、転移性皮膚扁平上皮癌（例えば、移植患者における）、メルケル細胞癌、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、神経内分泌腫瘍、骨由来腫瘍（例えば、骨肉腫）、血管外皮細胞腫、遺伝的症候群（ＮＦ１又はＶＨＬ）に関連する腫瘍、脊索腫、上衣腫、髄芽腫、胚細胞腫、小腸腫瘍、虫垂癌、及びウイルス関連腫瘍（例えば、カポジ肉腫）からなる群から選択される癌を治療する方法が提供される。

【０３９７】

別の実施形態において、癌と診断された患者に対し、患者における１つ以上の免疫細胞集団（例えば、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞などのＴ細胞エフェクター細胞）の増殖及び／又はエフェクター機能を増加させるため抗ＯＸ４０抗体が投与される。

【０３９８】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、ＥＬＩＳＰＯＴ、ＥＬＩＳＡ、及び細胞増殖アッセイを用いると、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体を投与されない対象の免疫機能と比べて対象の１つ以上の免疫機能又は免疫応答を少なくとも９９％、少なくとも９８％、少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも３５％、少なくとも３０％、少なくとも２５％、少なくとも２０％、又は少なくとも１０％、又は１０％～２５％、２５％～５０％、５０％～７５％、又は７５％～９５％の範囲で活性化するか、又は増強するか、又は誘導する。具体的な実施形態において、免疫機能はサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３産生）である。別の実施形態において、免疫機能はＴ細胞増殖／拡大であり、これは、例えばフローサイトメトリーにより、Ｔ細胞のマーカー（例えば、ＣＤ３、ＣＤ４、又はＣＤ８）を発現する細胞数を検出してアッセイすることができる。別の実施形態において、免疫機能は抗体産生であり、これは、例えばＥＬＩＳＡによってアッセイすることができる。一部の実施形態において、免疫機能はエフェクター機能であり、これは、例えば細胞傷害性アッセイ又は当該技術分野において周知の他のアッセイによってアッセイすることができる。別の実施形態において、免疫機能はＴｈ１応答である。別の実施形態において、免疫機能はＴｈ２応答である。別の実施形態において、免疫機能はメモリー応答である。

【０３９９】

具体的な実施形態において、抗ＯＸ４０抗体によって増強又は誘導することのできる免疫機能の非限定的な例は、エフェクターリンパ球の増殖／拡大（例えば、エフェクターＴ

リンパ球数の増加）、及びエフェクターリンパ球（例えば、エフェクターＴリンパ球）のアポトーシスの阻害である。詳細な実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体によって増強又は誘導される免疫機能は、ＣＤ４$^{+}$　Ｔ細胞（例えば、Ｔｈ１及びＴｈ２ヘルパーＴ細胞）、ＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔリンパ球、α／βＴ細胞、及びγ／δＴ細胞）、Ｂ細胞（例えば、形質細胞）、メモリーＴ細胞、メモリーＢ細胞、腫瘍常在性Ｔ細胞、ＣＤ１２２$^{+}$　Ｔ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞）、マクロファージ、単球、樹状細胞、マスト細胞、好酸球、好塩基球又は多核白血球の数の増殖／拡大又はその活性化である。一実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、リンパ球前駆体の増殖／拡大又は数を活性化するか又は増強する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、陰性対照（例えば、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体によって治療されず、それと共に培養されず、又はそれと接触していないそれぞれの細胞の数）と比べて、ＣＤ４$^{+}$　Ｔ細胞（例えば、Ｔｈ１及びＴｈ２ヘルパーＴ細胞）、ＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔリンパ球、α／βＴ細胞、及びγ／δＴ細胞）、Ｂ細胞（例えば、形質細胞）、メモリーＴ細胞、メモリーＢ細胞、腫瘍常在性Ｔ細胞、ＣＤ１２２$^{+}$　Ｔ細胞、ナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞）、マクロファージ、単球、樹状細胞、マスト細胞、好酸球、好塩基球又は多核白血球の数をおよそ少なくとも９９％、少なくとも９８％、少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも３５％、少なくとも３０％、少なくとも２５％、少なくとも２０％、又は少なくとも１０％、又は１０％～２５％、２５％～５０％、５０％～７５％、又は７５％～９５％の範囲で増加させる。

【０４００】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、ＩＤＯ（インドールアミン－（２，３）－ジオキシゲナーゼ）及びＴＤＯ（トリプトファン２，３－ジオキシゲナーゼ）などの１つ又は複数の免疫調節酵素を標的とする化合物と併用して対象に投与される。詳細な実施形態において、かかる化合物は、エパカドスタット（Ｉｎｃｙｔｅ　Ｃｏｒｐ）、Ｆ００１２８７（Ｆｌｅｘｕｓ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、インドキシモド（ＮｅｗＬｉｎｋ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ）、及びＮＬＧ９１９（ＮｅｗＬｉｎｋ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ）からなる群から選択される。一実施形態において、化合物はエパカドスタットである。別の実施形態において、化合物はＦ００１２８７である。別の実施形態において、化合物はインドキシモドである。別の実施形態において、化合物はＮＬＧ９１９である。

【０４０１】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、ワクチンと併用して対象に投与される。

【０４０２】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、抗ＣＤ１３７抗体、リツキシマブ、シクロホスファミド、化学療法、又は放射線療法と併用して対象に投与される。

【０４０３】

一部の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、熱ショックタンパク質ベースの腫瘍ワクチン又は熱ショックタンパク質ベースの病原体ワクチンと併用して対象に投与される。具体的な実施形態において、抗ＯＸ４０抗体は、熱ショックタンパク質ベースの腫瘍ワクチンと併用して対象に投与される。熱ショックタンパク質（ＨＳＰ）は、あらゆる種に遍在的に存在する高度に保存されたタンパク質ファミリーである。その発現は、熱ショック又は他の形態の、毒素への曝露、酸化的ストレス若しくはグルコース欠乏を含めたストレスの結果として極めて高いレベルに強力に誘導され得る。分子量によって５つのファミリーに分類されている：ＨＳＰ－１１０、－９０、－７０、－６０及び－２８。ＨＳＰはマクロファージ及び樹状細胞（ＤＣ）などの抗原提示細胞（ＡＰＣ）の

交差提示経路を介して免疫原性ペプチドを送達し、Ｔ細胞活性化をもたらす。ＨＳＰは腫瘍関連抗原ペプチドのシャペロン担体として機能し、腫瘍特異的免疫を誘導することが可能な複合体を形成する。瀕死の腫瘍細胞から放出されると、このＨＳＰ－抗原複合体は抗原提示細胞（ＡＰＣ）に取り込まれ、ここで、抗原が、ＭＨＣクラスＩ及びクラスＩＩ分子に結合するペプチドにプロセシングされて、抗腫瘍ＣＤ８＋及びＣＤ４＋　Ｔ細胞の活性化がもたらされる。腫瘍調製物に由来するＨＳＰ複合体によって誘発された免疫は、各対象の癌が発現するユニークな抗原ペプチドレパートリーを特異的に標的とする。

【０４０４】

熱ショックタンパク質ペプチド複合体（ＨＳＰＰＣ）は、抗原ペプチドと非共有結合的に複合体化した熱ショックタンパク質からなるタンパク質ペプチド複合体である。ＨＳＰＰＣは自然免疫応答及び適応免疫応答の両方を誘発する。具体的な実施形態において、この抗原ペプチドは治療下の癌に対して抗原性を示す。ＨＳＰＰＣはＡＰＣによって膜受容体（主にＣＤ９１）を介して又はＴｏｌｌ様受容体への結合によって効率的に捕捉される。ＨＳＰＰＣのインターナリゼーションにより、ケモカイン及びサイトカイン産生を伴うＡＰＣの機能的成熟が起こり、ナチュラルキラー細胞（ＮＫ）、単球並びにＴｈ１及びＴｈ－２介在性免疫応答の活性化がもたらされる。一部の実施形態において、本明細書に開示される方法に用いられるＨＳＰＰＣは、抗原ペプチドと複合体化したストレスタンパク質のｈｓｐ６０、ｈｓｐ７０、又はｈｓｐ９０ファミリーからの１つ以上の熱ショックタンパク質を含む。一部の実施形態において、ＨＳＰＰＣは、ｈｓｃ７０、ｈｓｐ７０、ｈｓｐ９０、ｈｓｐ１１０、ｇｒｐ１７０、ｇｐ９６、カルレティキュリン、又はこれらの２つ以上の組み合わせを含む。

【０４０５】

具体的な実施形態において、抗ＯＸ４０抗体は、癌の治療のため熱ショックタンパク質ペプチド複合体（ＨＳＰＰＣ）、例えば熱ショックタンパク質ペプチド複合体－９６（ＨＳＰＰＣ－９６）と併用して対象に投与される。ＨＳＰＰＣ－９６は、抗原ペプチドと複合体化した９６ｋＤａ熱ショックタンパク質（Ｈｓｐ）、ｇｐ９６を含む。ＨＳＰＰＣ－９６は、対象の腫瘍から製造される癌免疫療法薬であり、癌の抗原性「フィンガープリント」を含む。一部の実施形態において、このフィンガープリントは、その特定の対象の特異的癌細胞のみに存在するユニークな抗原を含み、ワクチンの注射が対象の免疫系を刺激して、特異的癌フィンガープリントを有する任意の細胞を認識して攻撃することが意図される。

【０４０６】

一部の実施形態において、ＨＳＰＰＣ、例えばＨＳＰＰＣ－９６は、対象の腫瘍組織から作製される。具体的な実施形態において、ＨＳＰＰＣ（例えば、ＨＳＰＰＣ－９６）は、治療下の癌又はその転移のタイプの腫瘍から作製される。別の具体的な実施形態において、ＨＳＰＰＣ（例えば、ＨＳＰＰＣ－９６）は、治療下の対象にとって自己である。一部の実施形態において、腫瘍組織は非壊死腫瘍組織である。一部の実施形態において、少なくとも１グラム（例えば、少なくとも１、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、又は少なくとも１０グラム）の非壊死腫瘍組織が、ワクチンレジメンの作製に使用される。一部の実施形態において、外科的切除後、ワクチン製剤における使用前に非壊死腫瘍組織は凍結される。一部の実施形態において、ＨＳＰＰＣ、例えばＨＳＰＰＣ－９６は、腫瘍組織から精製技法によって単離され、ろ過され、及び注射ワクチン用に調製される。一部の実施形態において、対象には６～１２用量のＨＳＰＰＣ、例えばＨＳＰＣＣ－９６が投与される。かかる実施形態において、ＨＳＰＰＣ、例えば、ＨＳＰＰＣ－９６用量は、初めの４用量が毎週投与され、次に追加の２～８用量が隔週で投与される。

【０４０７】

本明細書に記載される方法において使用し得るＨＳＰＰＣの更なる例が、以下の特許及び特許出願（これらは、あらゆる目的のために全体として参照により本明細書に援用される）、米国特許第６，３９１，３０６号明細書、同第６，３８３，４９２号明細書、同第

６，４０３，０９５号明細書、同第６，４１０，０２６号明細書、同第６，４３６，４０４号明細書、同第６，４４７，７８０号明細書、同第６，４４７，７８１号明細書及び同第６，６１０，６５９号明細書に開示されている。

【０４０８】

一部の実施形態では、本発明は、医薬として用いられる本発明の抗体又は医薬組成物に関する。一部の態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる本発明の抗体又は医薬組成物に関する。一部の態様において、本発明は、対象の癌を治療する方法であって、本発明の抗体又は医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含む方法に用いられる本発明の抗体又は医薬組成物に関する。一部の態様において、本発明は、医薬として用いられる（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）チェックポイントターゲティング剤に関する。一部の態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）チェックポイントターゲティング剤に関する。一部の態様において、本発明は、（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）チェックポイントターゲティング剤を含む組成物、キット又はキットオブパーツに関する。一態様において、本発明は、医薬として用いられる（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）ＩＤＯ阻害薬に関する。一部の態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）ＩＤＯ阻害薬に関する。一部の態様において、本発明は、（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）ＩＤＯ阻害薬を含む組成物、キット又はキットオブパーツに関する。一部の態様において、本発明は、医薬として用いられる（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）ワクチンに関する。一部の態様において、本発明は、癌を治療する方法に用いられる（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）ワクチンに関する。一部の態様において、本発明は、（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物及び（ｂ）ワクチンを含む組成物、キット又はキットオブパーツに関する。癌を治療する方法に用いられる抗体又は医薬組成物の好ましい実施形態において、抗体はアゴニスト性である。

【０４０９】

一態様において、本明細書に提供されるとおりの対象の１つ以上の免疫機能又は免疫応答を調節する方法は、対象の１つ以上の免疫機能又は免疫応答を不活性化するか、低下させるか、又は阻害する方法であり、この方法は、それを必要としている対象に、抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体又はその組成物を投与するステップを含む。具体的な実施形態において、本明細書には、１つ以上の免疫機能又は免疫応答を不活性化するか、低下させるか、又は阻害することが望ましい疾患を予防及び／又は治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に、本明細書に記載される抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体又はその組成物を投与するステップを含む。特定の実施形態において、本明細書には、自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法が提供され、この方法は、それを必要としている対象に抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体又はその組成物の有効量を投与するステップを含む。特定の実施形態において、対象はヒトである。特定の実施形態において、疾患又は障害は、感染（ウイルス、細菌、真菌及び寄生虫）、感染に関連するエンドトキシンショック、関節炎、関節リウマチ、喘息、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、骨盤内炎症性疾患、アルツハイマー病、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、ペイロニー病、セリアック病、胆嚢疾患、毛巣病、腹膜炎、乾癬、脈管炎、外科的癒着、脳卒中、Ｉ型糖尿病、ライム病、関節炎、髄膜脳炎、ブドウ膜炎、自己免疫性ブドウ膜炎、中枢及び末梢神経系の免疫介在性炎症性障害（多発性硬化症、ループス（全身性エリテマトーデスなど）及びギラン・バレー症候群など）、皮膚炎、アトピー性皮膚炎、自己免疫性肝炎、線維性胞隔炎、グレーブス病、ＩｇＡ腎症、特発性血小板減少性紫斑病、メニエール病、天疱瘡、原発性胆汁性肝硬変、サルコイドーシス、強皮症、ウェゲナー肉芽腫症、膵炎、外傷（外科的）、移植片対宿主病、移植片拒絶反応、心筋梗塞並びにアテローム性動脈硬化症などの虚血性疾患を含めた心疾患（即ち、心血管疾患）、血管内凝固、骨吸収、骨粗鬆症、骨関節炎、歯周炎、低酸症、視神経脊髄炎、セリアック病、結合組織障害（例えば、ループス）、感染後炎症性障害（例えば、ギラン・バレー症候群）、及び腫瘍随伴症候群から

なる群から選択される。特定の実施形態において、疾患又は障害は、移植片拒絶反応、脈管炎、喘息、関節リウマチ、皮膚炎、炎症性腸疾患、ブドウ膜炎、及びループスからなる群から選択される。特定の実施形態において、本明細書における任意の方法（例えば、感染症を治療する方法、又は自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法）が、本明細書に記載されるとおりの抗体とチェックポイントターゲティング剤との対象への投与を含む。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤は抗体（例えば、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、抗ＣＴＬＡ－４抗体、抗ＴＩＭ－３抗体、抗ＬＡＧ－３抗体、抗ＣＥＡＣＡＭ１抗体、抗ＧＩＴＲ抗体、抗ＣＤ１３７抗体、又は抗ＯＸ４０抗体）である。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤はアンタゴニスト抗体又はアゴニスト抗体である。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤は抗ＰＤ－１抗体である。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤は抗ＧＩＴＲ抗体である。特定の実施形態において、チェックポイントターゲティング剤は抗ＣＤ１３７抗体である。

【０４１０】

別の実施形態において、自己免疫性又は炎症性疾患又は障害と診断された患者に対し、患者における１つ以上の免疫細胞集団（例えば、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞などのＴ細胞エフェクター細胞）の増殖及び／又はエフェクター機能を減少させるため抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体が投与される。

【０４１１】

具体的な実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体は、当該技術分野において周知のアッセイ、例えば、ＥＬＩＳＰＯＴ、ＥＬＩＳＡ、及び細胞増殖アッセイを用いると、本明細書に記載される抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体を投与されない対象の免疫機能と比べて対象の１つ以上の免疫機能又は免疫応答を少なくとも９９％、少なくとも９８％、少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも３５％、少なくとも３０％、少なくとも２５％、少なくとも２０％、又は少なくとも１０％、又は１０％～２５％、２５％～５０％、５０％～７５％、又は７５％～９５％の範囲で不活性化するか、又は低下させるか、又は阻害する。具体的な実施形態において、免疫機能はサイトカイン産生（例えば、ＩＬ－２、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及び／又はＩＬ－１３産生）である。別の実施形態において、免疫機能はＴ細胞増殖／拡大であり、これは、例えばフローサイトメトリーにより、Ｔ細胞のマーカー（例えば、ＣＤ３、ＣＤ４、又はＣＤ８）を発現する細胞数を検出してアッセイすることができる。別の実施形態において、免疫機能は抗体産生であり、これは、例えばＥＬＩＳＡによってアッセイすることができる。一部の実施形態において、免疫機能はエフェクター機能であり、これは、例えば細胞傷害性アッセイ又は当該技術分野において周知の他のアッセイによってアッセイすることができる。別の実施形態において、免疫機能はＴｈ１応答である。別の実施形態において、免疫機能はＴｈ２応答である。別の実施形態において、免疫機能はメモリー応答である。

【０４１２】

具体的な実施形態において、抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体によって低下させるか又は阻害することのできる免疫機能の非限定的な例は、エフェクターリンパ球の増殖／拡大（例えば、エフェクターＴリンパ球数の減少）、及びエフェクターリンパ球（例えば、エフェクターＴリンパ球）のアポトーシスの刺激である。詳細な実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体によって低下又は阻害される免疫機能は、ＣＤ４$^{+}$　Ｔ細胞（例えば、Ｔｈ１及びＴｈ２ヘルパーＴ細胞）、ＣＤ８$^{+}$　Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔリンパ球、α／βＴ細胞、及びγ／δＴ細胞）、Ｂ細胞（例えば、形質細胞）、メモリーＴ細胞、メモリーＢ細胞、腫瘍常在性Ｔ細胞、ＣＤ１２２$^{+}$　Ｔ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞）、マクロファージ、単球、樹状細胞、マスト細胞、好酸球、好塩基球又は多核白血球の数の増殖／拡大又はその活性化である。一実施形態におい

て、本明細書に記載される抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体は、リンパ球前駆体の増殖／拡大又は数を不活性化するか、又は低下させるか、又は阻害する。一部の実施形態において、本明細書に記載される抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体は、陰性対照（例えば、本明細書に記載される抗ＯＸ４０アンタゴニスト抗体によって治療されず、それと共に培養されず、又はそれと接触していないそれぞれの細胞の数）と比べて、ＣＤ４$^+$　Ｔ細胞（例えば、Ｔｈ１及びＴｈ２ヘルパーＴ細胞）、ＣＤ８$^+$　Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔリンパ球、α／βＴ細胞、及びγ／δＴ細胞）、Ｂ細胞（例えば、形質細胞）、メモリーＴ細胞、メモリーＢ細胞、腫瘍常在性Ｔ細胞、ＣＤ１２２$^+$　Ｔ細胞、ナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞）、マクロファージ、単球、樹状細胞、マスト細胞、好酸球、好塩基球又は多核白血球の数をおよそ少なくとも９９％、少なくとも９８％、少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも３５％、少なくとも３０％、少なくとも２５％、少なくとも２０％、又は少なくとも１０％、又は１０％～２５％、２５％～５０％、５０％～７５％、又は７５％～９５％の範囲で減少させる。

【０４１３】

一部の態様において、本発明は、自己免疫性又は炎症性疾患又は障害を治療する方法に用いられる本発明の抗体又は医薬組成物に関する。一態様において、本発明は、感染症を治療する方法に用いられる本発明の抗体又は医薬組成物に関する。自己免疫性若しくは炎症性疾患若しくは障害、又は感染症を治療する方法に用いられる抗体又は医薬組成物の好ましい実施形態において、抗体はアンタゴニスト性である。

【０４１４】

５．５．１．１　投与経路及び投薬量

本明細書に記載される抗体又は組成物は、非経口、皮下、静脈内、皮内、経皮、鼻腔内、腫瘍内、及び腫瘍流入領域リンパ節への投与など、種々の経路によって対象に送達することができる。一実施形態において、本抗体又は組成物は静脈内又は腫瘍内経路によって投与される。

【０４１５】

病態の治療及び／又は予防において有効となり得る抗体又は組成物の量は疾患の性質に依存することになり、標準的な臨床技術によって決定することができる。

【０４１６】

組成物中に用いられる正確な用量も投与経路、及び疾患の重症度に依存することになり、専門家の判断及び各対象の状況に応じて決定されなければならない。例えば、有効用量はまた、投与手段、標的部位、患者の生理学的状態（年齢、体重及び健康を含む）、患者がヒト又は動物か、投与されている他の薬物療法、又は治療が予防的又は療法的かによっても異なり得る。通常、患者はヒトであるが、トランスジェニック哺乳動物を含めた非ヒト哺乳動物も治療することができる。治療投薬量は、安全性及び有効性が最適となるように最適にタイトレーションされる。

【０４１７】

特定の実施形態において、最適投薬量範囲の同定を促進するため、インビトロアッセイが用いられる。有効用量は、インビトロ又は動物モデル試験系から得られた用量反応曲線から推定することができる。

【０４１８】

概して、ヒト抗体は、外来性ポリペプチドに対する免疫応答に起因して、他の種からの抗体よりもヒト体内でより長い半減期を有する。従って、より低い投薬量のヒト抗体及びより少ない頻度の投与が可能であることが多い。

【０４１９】

５．５．２　検出及び診断的使用

本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体（例えば、第５．２節を参照されたい）を使用することにより、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、免疫沈降、又はウエスタンブ

ロッティングなどのイムノアッセイを含めた当業者に公知の古典的な免疫組織学的方法を用いて生体試料中のＯＸ４０タンパク質レベルをアッセイすることができる。好適な抗体アッセイ標識は当該技術分野において公知であり、グルコースオキシダーゼなどの酵素標識；ヨウ素（^{125}Ｉ、^{121}Ｉ）、炭素（^{14}Ｃ）、硫黄（^{35}Ｓ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、インジウム（^{121}Ｉｎ）、及びテクネチウム（^{99}Ｔｃ）などの放射性同位元素；ルミノールなどの発光標識；及びフルオレセイン及びローダミンなどの蛍光標識、及びビオチンが挙げられる。かかる標識は、本明細書に記載される抗体の標識に使用することができる。或いは、本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体を認識する二次抗体を標識し、これを抗ＯＸ４０抗体と組み合わせて用いることにより、ＯＸ４０タンパク質レベルを検出してもよい。

【０４２０】

ＯＸ４０タンパク質の発現レベルのアッセイは、第１の生体試料中のＯＸ４０タンパク質レベルを直接（例えば、絶対タンパク質レベルを決定又は推定することによる）、又は相対的に（例えば、第２の生体試料中の疾患関連タンパク質レベルと比較することによる）、定性的又は定量的に計測又は推定することを含むものと意図される。第１の生体試料中のＯＸ４０ポリペプチド発現レベルは、計測又は推定し、標準ＯＸ４０タンパク質レベルと比較することができ、この標準は、障害を有しない個体から得られた第２の生体試料から採取されるか、又は障害を有しない個体集団からのレベルを平均することによって決定される。当該技術分野では理解されるであろうとおり、「標準」ＯＸ４０ポリペプチドレベルが既知となれば、それを比較用の標準として繰り返し使用することができる。

【０４２１】

本明細書で使用されるとき、用語「生体試料」は、対象から得られた任意の生体試料、細胞株、組織、又は潜在的にＯＸ４０を発現する細胞の他の供給源を指す。動物（例えば、ヒト）から組織生検及び体液を入手する方法は、当該技術分野において周知である。生体試料には、末梢単核血球が含まれる。

【０４２２】

本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は、当業者に周知の標準的であり且つ本記載に基づくインビトロ及びインビボ適用を含め、予後判定、診断、モニタリング及びスクリーニング適用に使用することができる。免疫系の状態及び／又は免疫応答のインビトロ評価及び判定用の予後判定、診断、モニタリング及びスクリーニングアッセイ及びキットを利用して予測、診断及びモニタすることにより、免疫系機能不全を有することが分かっているか、又はそれを有する疑いがあるものを含めた患者試料を、又は予想される又は所望の免疫系応答、抗原応答又はワクチン応答に関して判定してもよい。免疫系の状態及び／又は免疫応答の評価及び判定はまた、ある薬物の臨床試験又は特定の化学療法剤若しくは抗体の投与が（これらの組み合わせを含め）別の薬剤又は抗体と比べて患者に適合するかどうかの決定においても有用である。この種の予後判定及び診断モニタリング及び評価では、既に、乳癌におけるＨＥＲ２タンパク質に対する抗体（ＨｅｒｃｅｐＴｅｓｔ（商標），Ｄａｋｏ）が実際に利用されており、このアッセイはまた、Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標）を使用した抗体療法に関する患者の判定にも用いられている。インビボ適用としては、標的化細胞療法及び免疫系調節及び免疫応答の放射性イメージングが挙げられる。

【０４２３】

一実施形態では、抗ＯＸ４０抗体は、生検試料の免疫組織化学において使用することができる。

【０４２４】

別の実施形態では、抗ＯＸ４０抗体を使用してＯＸ４０レベル、又はその膜表面上にＯＸ４０を含有する細胞のレベルを検出し、次にそのレベルを特定の疾患症状に関係付けることができる。本明細書に記載される抗ＯＸ４０抗体は検出可能標識又は機能性標識を有し得る。蛍光標識が用いられる場合、現在利用可能な顕微鏡法及び蛍光活性化セルソーター分析（ＦＡＣＳ）又は当該技術分野において公知の両方法の組み合わせ手順を利用して特異的結合メンバーを同定し、及び定量化することができる。本明細書に記載される抗Ｏ

ＯＸ４０抗体は蛍光標識を有することができる。例示的蛍光標識としては、例えば、反応性及びコンジュゲート型プローブ、例えば、アミノクマリン、フルオレセイン及びテキサスレッド、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ色素、Ｃｙ色素及びＤｙＬｉｇｈｔ色素が挙げられる。抗ＯＸ４０抗体は、同位元素^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{36}Ｃｌ、^{51}Ｃｒ、^{57}Ｃｏ、^{58}Ｃｏ、^{59}Ｆｅ、^{67}Ｃｕ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{117}Ｌｕ、^{121}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{198}Ａｕ、^{211}Ａｔ、^{213}Ｂｉ、^{225}Ａｃ及び^{186}Ｒｅなどの放射性標識を有することができる。放射性標識が用いられる場合、当該技術分野において公知の現在利用可能なカウント手順を利用してＯＸ４０（例えば、ヒトＯＸ４０）への抗ＯＸ４０抗体の特異的結合を同定し、定量化し得る。標識が酵素である例では、検出は、当該技術分野において公知のとおりの現在利用されている比色分析法、分光光度法、蛍光分光光度法、電流測定法又は気体定量法のいずれかによって達成し得る。これは、抗体とＯＸ４０との間の複合体形成を可能にする条件下で試料又は対照試料を抗ＯＸ４０抗体に接触させることにより実現し得る。抗体とＯＸ４０との間に形成される任意の複合体が検出され、試料及び対照において比較される。本明細書に記載される抗体のＯＸ４０に対する特異的結合を踏まえると、その抗体を使用して細胞表面上のＯＸ４０発現を特異的に検出することができる。本明細書に記載される抗体はまた、イムノアフィニティー精製によるＯＸ４０の精製にも使用することができる。

【０４２５】

また、本明細書には、例えば、ＯＸ４０又はＯＸ４０／ＯＸ４０Ｌ複合体の存在の程度を定量分析するための、試験キットの形態で調製されてもよいアッセイシステムも含まれる。このシステム又は試験キットは、標識された構成成分、例えば標識された抗体と、１つ以上の追加の免疫化学的試薬とを含み得る。キットに関する詳細については、例えば、以下の第５．６節を参照されたい。

【０４２６】

一部の態様では、試料中のＯＸ４０をインビトロで検出する方法であって、前記試料を抗体と接触させるステップを含む方法が、本明細書に提供される。一部の態様において、本明細書には、試料中のＯＸ４０のインビトロ検出のための本明細書に提供される抗体の使用が提供される。一態様において、本明細書には、対象におけるＯＸ４０の検出に用いられる本明細書に提供される抗体又は医薬組成物が提供される。一態様において、本明細書には、診断薬として用いられる本明細書に提供される抗体又は医薬組成物が提供される。好ましい一実施形態において、本抗体は検出可能標識を含む。好ましい一実施形態において、ＯＸ４０はヒトＯＸ４０である。好ましい一実施形態において、対象はヒトである。

【０４２７】

５．６　キット

本明細書には、本明細書に記載される１つ以上の抗体又はそのコンジュゲートを含むキットが提供される。具体的な実施形態において、本明細書には、本明細書に提供される１つ以上の抗体など、本明細書に記載される医薬組成物の成分の１つ以上が充填された１つ以上の容器を含む医薬パック又はキットが提供される。一部の実施形態において、本キットには、本明細書に記載される医薬組成物と、本明細書に記載されるものなどの任意の予防剤又は治療剤とが含まれる。特定の実施形態において、本キットには、Ｔ細胞マイトジェン、例えば、フィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）及び／又はホルボールミリステートアセテート（ＰＭＡ）など、又はＴＣＲ複合体刺激抗体、例えば抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体が含まれ得る。任意選択で、医薬品又は生物学的製剤の製造、使用又は販売を規制する行政機関が指定する様式の通知がかかる容器と関連付けられてもよく、この通知は、その機関によるヒト投与向けの製造、使用又は販売の認可を反映するものである。

【０４２８】

また、本明細書には、上記の方法において使用することのできるキットも提供される。一実施形態において、キットは、１つ以上の容器に本明細書に記載される抗体、好ましくは精製抗体を含む。具体的な実施形態において、本明細書に記載されるキットには、対照

として使用することのできる実質的に単離されたＯＸ４０抗原（例えば、ヒトＯＸ４０）が含まれる。別の具体的な実施形態において、本明細書に記載されるキットは、ＯＸ４０抗原と反応しない対照抗体を更に含む。別の具体的な実施形態において、本明細書に記載されるキットには、ＯＸ４０抗原への抗体の結合を検出するための１つ以上の要素が含まれる（例えば、抗体が、蛍光化合物、酵素基質、放射性化合物又は発光化合物などの検出可能な基質にコンジュゲートされてもよく、又は第１の抗体を認識する二次抗体を検出可能な基質にコンジュゲートしてもよい）。具体的な実施形態において、本明細書に提供されるキットは、組換え産生されるか又は化学的に合成されたＯＸ４０抗原を含み得る。キットに提供されるＯＸ４０抗原はまた、固体支持体に結合されていてもよい。より具体的な実施形態において、上述のキットの検出手段は、ＯＸ４０抗原が結合する固体支持体を含む。かかるキットはまた、結合されていない、レポーターで標識された抗ヒト抗体又は抗マウス／ラット抗体も含み得る。この実施形態において、ＯＸ４０抗原への抗体の結合は、前記レポーター標識抗体の結合によって検出することができる。また、（ａ）本発明の抗体又は医薬組成物、及び（ｂ）チェックポイントターゲティング剤、ＩＤＯ阻害薬及び／又はワクチンを含むキット又はキットオブパーツも提供される。

【０４２９】

以下の例は、限定としてではなく、例示として提供される。

【実施例】

【０４３０】

本節（即ち、第６節）の例は、限定としてではなく、例示として提供される。

【０４３１】

６．１　実施例１：ヒトＯＸ４０に対する新規抗体の生成

この例は、ヒトＯＸ４０に結合する抗体の生成及び特徴付けについて記載する。詳細には、この例は、ヒトＯＸ４０に特異的に結合し且つＴ細胞に対して共刺激効果を呈するヒト抗体の生成について記載する。

【０４３２】

６．１．１　ライブラリ生成

Ｒｅｔｒｏｃｙｔｅ　Ｄｉｓｐｌａｙ（商標）ライブラリの生成が本明細書に記載される。ライブラリインサートの生成のため、２つの臍帯血試料に由来するＦＡＣＳで分取したＣＤ１９陽性ヒトＢリンパ球からフェノール／クロロホルムで全ＲＮＡを抽出した。各臍帯血試料の全ＲＮＡ（１μｇ）を使用することにより、ＦｅｒｍｅｎｔａｓのＲｅｖｅｒｔＡｉｄ　Ｆｉｒｓｔ　Ｓｔｒａｎｄ　ｃＤＮＡ合成キット（カタログ番号Ｋ１６２１及びＫ１６２２）を用いて第１鎖ｃＤＮＡを合成した。このｃＤＮＡからＰＣＲによって抗体可変領域を増幅し、レトロウイルス発現ベクター（ｐＣＭＡ）にクローニングした。続いてこれらのコンストラクトを使用してｐｒｅＢ細胞を形質導入し、Ｒｅｔｒｏｃｙｔｅ　Ｄｉｓｐｌａｙ（商標）技術を用いて表面上に抗体を発現させた。このレトロウイルス発現ベクターは、５’及び３’ＬＴＲと、膜アンカーフラクション（ＩＧＨＧ１）を含む免疫グロブリン定常領域（ＩＧＨＧ１又はＩＧＫＣ）と、ＣＤ４表面マーカー遺伝子とを含んだ。

【０４３３】

軽鎖可変領域（ＶＬ）は、Ｖκファミリー特異的フォワードプライマー及びリバースプライマー混合物を使用したセミネステッドＰＣＲによって増幅した。フォワードプライマーがＨｉｎｄＩＩＩクローニング部位を導入し、リバースプライマーがＥｃｏ４７ＩＩＩクローニング部位を導入した。

【０４３４】

重鎖可変領域（ＶＨ）は、ＶＨファミリー特異的フォワードプライマー及びリバースプライマー混合物を使用したＰＣＲによって増幅した。フォワードプライマーがＨｉｎｄＩＩＩクローニング部位を導入し、リバースプライマーがＥｃｏ４７ＩＩＩクローニング部位を導入した。

【０４３５】

増幅したＶＨ及びＶκ領域を３７℃で一晩消化した。消化後、４００～４５０ｂｐのサイズのバンドが得られ、これをゲル精製した（Ｍａｃｈｅｒｅｙ＆Ｎａｇｅｌ，ＮｕｃｌｅｏＳｐｉｎ Ｇｅｌ ａｎｄ ＰＣＲ ｃｌｅａｎ－ｕｐ）。

【０４３６】

重鎖可変領域のクローニングについては、コンストラクト３１８１（ｐＣＭＡ－ＩｎｓＸ Ｃｇ（ｉｓｏ３）ｌｏｘＰ２－Ｉ－ｔｒ＿ｈｕＣＤ４－ｌｏｘＰ）をＨｉｎｄＩＩＩ／Ｅｃｏ４７ＩＩＩによって３７℃で４時間消化し、８３６２ｂｐのサイズのバンドをゲル精製した。κ軽鎖可変領域のクローニングについては、コンストラクト３２０４（ｐＣＭＡ－ＩｎｓＸ Ｃｋ－Ｉ－ＣＤ４）をＨｉｎｄＩＩＩ／Ｅｃｏ４７ＩＩＩによって３７℃で４時間消化し、７４６５ｂｐのサイズのバンドをゲル精製した。

【０４３７】

消化及び精製した抗体可変領域を適切な発現ベクターに１：３のベクター対インサート比を用いてインフレームでライゲートした。各ＶＨ及びＶκファミリーを個別にレトロウイルス発現ベクターにライゲートし、沈殿によって１０倍濃縮した。沈殿したＶＨ及びＶκライゲーション反応物はまた、ライブラリ生成のため個別に大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＤＨ１０Ｂ細胞に形質転換した。各ＶＨ及びＶκファミリーを個別にライゲートし、沈殿させ、及び形質転換することにより、ライブラリが機能性生殖系列遺伝子の天然の分布を反映することが可能になり、機能性生殖系列遺伝子の数がそれ程多くないファミリーと比較して、多数の機能性生殖系列遺伝子を有するＶＨ又はＶκファミリーが最終的なライブラリにおいて高度に表現されることが確実となる。形質転換後、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）細胞を回収し、最終的なライブラリに組み合わせた。各ライブラリの品質は、診断的制限消化及びシーケンシングデータの分析によって管理した。配列解析のデータから、ライブラリの多様性を計算した。

【０４３８】

６．１．２　事前選択されたｐｒｅＢ細胞クローンからの重鎖及び軽鎖の回収

上記に記載したとおり生成したライブラリ材料を使用して、ＯＸ４０に対する結合親和性が高い抗体を同定した。Ｂ細胞クローンを溶解させて、ゲノムＤＮＡに安定に組み込まれた挿入レトロウイルスベクターから当該技術分野において標準的なＰＣＲ方法を用いて重鎖及び軽鎖可変領域を増幅した。続いて増幅された重鎖及び軽鎖可変領域を、ヒト重鎖及び軽鎖定常領域を含有する哺乳類発現ベクターにクローニングした。続いてＤＮＡプラスミド調製物を使用してＣＨＯ細胞をトランスフェクトし、発現した抗体を、サスペンションアレイ技術を用いて試験した。抗体重鎖及び軽鎖をＭｉｃｒｏｓｙｎｔｈ（Ｂａｌｇａｃｈ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）においてシーケンシングした。

【０４３９】

６．１．３　抗ＯＸ４０抗体の生物物理学的特徴付け

ｐａｂ１９４９と命名される抗体が選択され、これを以下に記載するとおり幾つものアッセイで特徴付けた。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９は、配列番号６０のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号５０のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。抗体ｐａｂ１９４９は、定常領域への可変領域のインフレームでのクローニングを容易にするＴ１０９Ｓ置換（即ち、野生型軽鎖定常ドメインと比べて、１０９位のスレオニンのセリンによる置換）（Ｋａｂａｔに従い付番）を軽鎖定常ドメインに含むヒトＩｇＧ$_1$抗体である。この突然変異は、抗体の結合又は機能に影響を及ぼさない保存された修飾である。ｐａｂ１９４９－１と呼ばれる野生型対応物（これは、Ｋａｂａｔに従い付番して１０９位にスレオニンを含む）も生成した。抗体ｐａｂ１９４９－１は、配列番号６０の重鎖と配列番号２０の軽鎖とを含むヒトＩｇＧ$_1$抗体である。

【０４４０】

６．１．３．１　バイオレイヤー干渉法による親和性測定

ｐａｂ１９４９－１の親和性をバイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって決定した。簡潔に言えば、１×ＰＢＳを使用して組換えヒトＯＸ４０抗原（ＯＸ４０－Ｆｃ、Ｒ＆Ｄ）を希釈することにより０．２μＭの１，０００μｌを得て、９６ウェルプレートに加えた

。ｐａｂ１９４９－１を５０ｎＭの濃度となるように１×ＰＢＳに希釈した。この５０ｎＭ溶液から１×ＰＢＳを使用してｐａｂ１９４９－１の６ポイント段階希釈物を調製することにより５０ｎＭ～０．７８ｎＭの範囲の抗体希釈物を得て、ウェル当たり１００μｌのそれぞれの抗体段階希釈を９６ウェルプレートに加えた。製造者の指示に従い閾値を１．０ｎｍとしてＯｃｔｅｔ（登録商標）の１６チャネルモードを用いてセンサをヒトＯＸ４０抗原で２５℃において５分間被覆した。ブロックするため、０．５ｍｇ／ｍｌの非特異的IgG_1抗体を１０分間インキュベートした。ｐａｂ１９４９－１の段階抗体希釈物が入ったプレートをＯｃｔｅｔ（登録商標）機器に置いた。製造者の指示に従いアッセイを行った。ＯＸ４０抗原に対するｐａｂ１９４９－１の結合及び解離は、それぞれ３分間及び１０分間記録した。データはＯｃｔｅｔ（登録商標）データ分析ソフトウェアを使用して分析しており、結果を表５に示す。

【０４４１】

【表５】

表 5. pab1949-1 の親和性測定

K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D (nM)
1.09×10^{6}	1.26×10^{-4}	0.11

【０４４２】

６．１．３．２　活性化ヒト又はカニクイザルＴ細胞への抗体結合

抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１のヒト又はカニクイザルＯＸ４０への結合特性をフローサイトメトリーによって分析した。

【０４４３】

健常ドナーバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ，ＬＬＣ）からＦｉｃｏｌｌグラジエントで単離したヒトＰＢＭＣについて、磁気ベースの分離（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を用いて手付かずのＣＤ４＋及びＣＤ８＋　Ｔ細胞をエンリッチした。次にエンリッチされたＴリンパ球集団を推奨される培養条件下でＣＤ３－ＣＤ２８拡大用エクスパンションビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）によって５００Ｕ　ｒＩＬ－２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）と共に３日間、その後は５０Ｕ　ｒＩＬ－２と共に活性化した。推奨される培養条件は、１０％ウシ胎仔血清、１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ及び１×Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ－グルタミンを補足したＲＰＭＩ－１６４０培地において３７℃及び５％CO_2で培養される細胞として定義された。活性化後、細胞をＦＡＣＳ緩衝液（２％ＦＢＳ含有ＰＢＳ）に希釈したＣＤ３（ＢＶ７１１、ＯＫＴ３）、ＣＤ４（ＢＶ６０５、ＯＫＴ４）、ＣＤ８ａ（ＢＶ６５０、ＲＰＡ－Ｔ８）のコンジュゲート抗体、及びプレコンジュゲート抗ＯＸ４０抗体又はアイソタイプ対照（両方ともＡｆｌｕｏｒ４８８、１０μｇ／ｍｌ）を含有する表面抗体カクテルと共に４℃で３０分間インキュベートした。単染色コンペンセーションコントロール（ＣＤ４５－ＢＶ６５０、ＣＤ４５－Ａｆｌｕｏｒ４８８、ＣＤ４５－ＢＶ６０５、及びＣＤ４５－ＢＶ７１１）のため、更なる試料を取っておいた。次に細胞をＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して分析した。フローサイトメトリープロットは、ＦＡＣＳ　ＤＩＶＡ及びＷＥＨＩ　Ｗｅａｓｅｌソフトウェアの組み合わせを用いて分析した。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９は活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞に結合した（図１Ａ）。

【０４４４】

活性化Ｔ細胞への結合に関して一連の濃度のｐａｂ１９４９－１を試験して、用量反応関係を特徴付けた。端的には、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を解凍してＰＢＳで洗浄した。磁気ビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）でＴ細胞のネガティブ単離を実施し、精製されたＴ細胞をＲＰＭＩ＋１０％ＦＢＳに再懸濁し、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８ビーズによって３７℃及び５％CO_2で７２時間刺激した。これらの細胞を洗浄し、Ｆｃブロ

ッキング溶液（Ｔｒｕｓｔａｉｎ，Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）によって室温で１５分間ブロックした。細胞を再び洗浄し、ｐａｂ１９４９－１の段階希釈物（１０～０．００００３μｇ／ｍｌ）によって暗所で４℃において４５分間染色した。細胞を洗浄し、次に抗ＣＤ３イソチオシアン酸フルオレセイン（ＦＩＴＣ）（クローンＳＰ３４）及び抗ＣＤ４ブリリアントバイオレット（ＢＶ）５１０（クローンＯＫＴ４）を含む系列マーカー抗体で二次抗体と共に染色してｐａｂ１９４９－１（抗κＩｇＧ　ＰＥ）を検出した。細胞を洗浄し、１．６％パラホルムアルデヒドで固定し、Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ　Ｆｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーターを使用して捕捉した。ｐａｂ１９４９－１は、刺激されたＴ細胞にのみ結合し、しかし、非刺激Ｔ細胞には結合しないことを実証した（図１Ｂ）。ｐａｂ１９４９－１の活性化ヒトＣＤ４＋　Ｔ細胞への結合は用量依存的であった（図１Ｃ）。

【０４４５】

次に、ｐａｂ１９４９－１の結合に関して幾つもの静止免疫細胞サブタイプを試験した。ヒトＰＢＭＣを解凍してＰＢＳで洗浄した。死細胞を染色するため、赤外（ＩＲ）生死判別色素を加え、遮光下室温で１５分間インキュベートした。細胞を洗浄し、アミン色素赤外（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）によって室温で１５分間染色した。細胞を洗浄し、室温で１０分間Ｆｃブロックした（Ｔｒｕｓｔａｉｎ　ＦｃＸ，Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）。洗浄後、細胞を１μｇ／ｍｌのｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照と共に遮光下４℃で３０分間インキュベートした。細胞を洗浄し、二次試薬（抗Ｆｃ　Ｆ（ａｂ’）ＰＥ、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｅ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）で染色し、続いて、抗ＣＤ３フィコエリトリンシアニン７（ＰＥＣｙ７、クローンＳＰ３４．２）、抗ＣＤ８　ＢＶ５１０（クローンＳＫ１）、抗ＣＤ４ペリジニン－クロロフィル－タンパク質複合体（ＰｅｒＣＰ）Ｃｙ５（クローンＬｙ２００）、及び抗ＣＤ１４　ＦＩＴＣ（クローンＴＵＫ４）を含む系列マーカー抗体で染色した。細胞を洗浄し、１．６％パラホルムアルデヒドで固定して、Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ　Ｆｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーターを使用して捕捉した。図１Ｄに示すとおり、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１は、ＣＤ１４＋　細胞、ＣＤ４＋　Ｔ細胞、ＣＤ８＋　Ｔ細胞、ＣＤ２０＋　Ｂ細胞、又はＣＤ３－ＣＤ２０－　細胞への検出可能な結合を示さなかった。

【０４４６】

種交差反応性に関して試験するため、活性化カニクイザル（マカカ・ファスシキュラリス（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ））ＰＢＭＣを使用して細胞結合アッセイを実施した。簡潔に言えば、１０％熱失活ＦＢＳを補足したＲＰＭＩ培地中、５％CO_2加湿チャンバ内において３７℃で生存カニクイザルＰＢＭＣ（Ｗｏｒｌｄｗｉｄｅ　Ｐｒｉｍａｔｅｓ　Ｉｎｃ．）をコンカナバリンＡ（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、５μｇ／ｍｌ）及び組換えＩＬ－２（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ、２０Ｕ／ｍｌ）と共に3日間活性化した。活性化後、細胞をヒトＦｃ－受容体ブロック（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）と共に室温で１５分間インキュベートして非特異的結合を減らした。この試料に抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はヒトIgG_1アイソタイプ対照（１０μｇ／ｍｌ）を加え、４℃で３０分間インキュベートした。ＦＡＣＳ緩衝液で1回洗浄した後、ＡＰＣコンジュゲート抗ヒトκ抗体並びにＣＤ４（ＢＶ６０５、ＯＫＴ４）及びＣＤ８ａ（ＰＥ、ＲＰＡ－Ｔ８）に特異的な抗体をいずれも２．５μｇ／ｍｌで含有する抗体カクテルをＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、２ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．５％ＢＳＡ及びｐＨ７．２）で希釈し、各試料に加えて４℃で３０分間インキュベートした。染色前に、単染色コンペンセーションコントロール（カニクイザル反応性：ＣＤ４－ＢＶ６０５、ＣＤ４－ＰＥ、及びＣＤ４－ＡＰＣ）のため、更なる試料を取っておいた。試料をＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用いて分析した。図１Ｅに示すとおり、ｐａｂ１９４９は活性化カニクイザルＣＤ４＋　Ｔ細胞に結合した。

【０４４７】

６．１．３．３　ＯＸ４０抗体選択性アッセイ

ＴＮＦＲスーパーファミリーの他のメンバーに対するｐａｂ１９４９－１のＯＸ４０選択性を、多重アッセイとしてサスペンションアレイ技術を用いて評価した。標準的なＮＨＳ－エステル化学を用いて幾つものＴＮＦＲファミリーメンバーをＬｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ミクロスフェアに化学的にカップリングした。ｐａｂ１９４９－１の精製材料をアッセイ緩衝液（Ｒｏｃｈｅ　１１１１２５８９００１）中に１０ｎｇ／ｍｌ、１００ｎｇ／ｍｌ及び１０００ｎｇ／ｍｌに希釈した。簡潔に言えば、２５μｌの各希釈物を暗所（２０℃、６５０ｒｐｍ）で５μｌアッセイ緩衝液中の１５００個のＬｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ミクロスフェアと共に９６ハーフウェルフィルタプレート（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，ＭＡＢＶＮ１２５０）において１時間インキュベートした。Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ミクロスフェア（Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｃｏｒｐ、ＬＣ１０００１－０１、ＬＣ１０００５－０１、ＬＣ１００１０－０１、ＬＣ１００１４－０１、ＬＣ１００１５－０１、ＬＣ１００１８－０１、ＬＣ１００２２－０１、ＬＣ１００２６－０１、ＬＣ１００５２－０１、ＬＣ１００５３－０１及びＬＣ１００５５－０１）に、ＣＯＯＨビーズ表面とのアミンカップリングによって組換えヒトＬＴＢＲ－Ｆｃ（Ａｃｒｏｓ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，ＬＴＲ－Ｈ５２５１）、抗ヒトＩｇＧ（Ｆ（ａｂ）$_2$特異的、ＪＩＲ、１０５－００６－０９７）、組換えヒトＯＸ４０－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ、３３８８－ＯＸ）、組換えヒトＧＩＴＲ－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ、６８９－ＧＲ）、組換えヒトＤＲ６－Ｆｃ（ＳｉｎｏＢｉｏｌｏｇｉｃａｌ、１０１７５－Ｈ０２Ｈ）、組換えヒトＤＲ３－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ、９４３－Ｄ３）、組換えヒトＧＩＴＲ－Ｈｉｓ（ＳｉｎｏＢｉｏｌｏｇｉｃａｌ、１３６４３－Ｈ０８Ｈ）、組換えヒトＴＷＥＡＫ　Ｒ－Ｆｃ（ＳｉｎｏＢｉｏｌｏｇｉｃａｌ、１０４３１－Ｈ０１Ｈ）、組換えヒトＯＸ４０－Ｈｉｓ（ＳｉｎｏＢｉｏｌｏｇｉｃａｌ、１０４８１－Ｈ０８Ｈ）、組換えヒト４－１ＢＢ－Ｈｉｓ（ＳｉｎｏＢｉｏｌｏｇｉｃａｌ、１００４１－Ｈ０８Ｈ）又は組換えヒトＢＡＦＦＲ－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ、１１６２－ＢＲ）をカップリングした。１：３希釈系列（０．０８～５４０ｎｇ／ｍｌ）のデュプリケートの２５μｌヒトＩｇＧ１標準（Ｓｉｇｍａ、Ｉ５１５４）を使用して標準曲線を生成した。検出は、Ｒ－ＰＥ（２．５μｇ／ｍｌ；ＪＩＲ　１０９－１１６－０９８、ＡｂＤＳｅｒｏｔｅｃ　Ｒａｐｉｄ　ＲＰＥ抗体コンジュゲーションキット、ＬＮＫ０２２ＲＰＥ）で標識した６０μｌのヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆ（ａｂ）$_2$を使用して、更に１時間のインキュベーション時間（２０℃、６５０ｒｐｍ）で行った。Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）２００システム（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を使用してプレートを分析した。４８μｌ試料容積中ウェル当たりの合計１００ビーズをカウントした。ＰＥ　ＭＦＩ値を使用して、上述の組換えタンパク質への特異的又は非特異的結合を決定した。

【０４４８】

抗体ｐａｂ１９４９－１はヒトＯＸ４０への特異的結合を示し、試験濃度では、他のＴＮＦＲファミリーメンバーへの有意な結合は観察されなかった（データは示さず）。

【０４４９】

６．２　実施例２：抗ＯＸ４０抗体の機能的特徴付け

この例は、上記に記載した方法によって生成された抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１がＯＸ４０のアゴニストとして機能する能力を実証する。抗体ｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１をアッセイし、初代ヒトＣＤ４＋又はＣＤ８＋　Ｔ細胞を共刺激するそれらの能力を決定した。加えて、ヒトＩｇＧ$_1$抗体であるｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１をヒトＩｇＧ$_4$抗体、それぞれｐａｂ２０４４及びｐａｂ２０４４－１に変換した。抗体ｐａｂ２０４４はｐａｂ１９４９と同じ重鎖可変領域及び同じ軽鎖を共有するが、ヒトＩｇＧ$_4$定常領域を含む。抗体ｐａｂ２０４４は配列番号６１の重鎖配列と配列番号５０の軽鎖配列とを含む。ｐａｂ１９４９と同様に、ｐａｂ２０４４は、抗体の結合又は機能に影響しない保存的修飾であるＴ１０９Ｓ単一アミノ酸置換を軽鎖定常領域に含み、クローニングを促進する。野生型対応物ｐａｂ２０４４－１は、Ｋａｂａｔに従い付番して１０９位にスレオニンを含み、配列番号６１の重鎖配列と配列番号２０の軽鎖配列とを含む。同様に、ｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１はまた、ヒトＩｇＧ$_2$抗体、それぞれｐａｂ２１９３及びｐａｂ２１９３－１にも変換した。抗体ｐａｂ

２１９３は配列番号６２の重鎖配列と配列番号５０の軽鎖配列とを含む。抗体ｐａｂ２１９３－１は配列番号６２の重鎖配列と配列番号２０の軽鎖配列とを含む。幾つかのアッセイにおいて、ｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２０４４、ｐａｂ２０４４－１、ｐａｂ２１９３、又はｐａｂ２１９３－１の機能活性を調べた。

【０４５０】

アッセイの幾つかにおいて、本発明の抗ＯＸ４０抗体のアゴニスト活性を参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５と比較した。抗体ｐａｂ１７８４は、米国特許第７，９６０，５１５号明細書（本明細書において参照により援用される）に提供される抗体１１Ｄ４の可変領域をベースとして生成された。ｐａｂ１７８４の重鎖は１１Ｄ４の重鎖可変領域（配列番号２６）及び配列番号６５のヒトＩｇＧ１定常領域のアミノ酸配列を含む。ｐａｂ１７８４の軽鎖は１１Ｄ４の軽鎖可変領域（配列番号２４）及び配列番号２５の定常領域のアミノ酸配列を含む。

【０４５１】

抗体ｐａｂ２０４５は、国際公開第１３／０３８１９１号パンフレット（本明細書において参照により援用される）に提供される抗体２０Ｅ５の可変領域をベースとして生成された。ｐａｂ２０４５の重鎖は２０Ｅ５の重鎖可変領域（配列番号３０）及び配列番号６５のヒトIgG_1定常領域のアミノ酸配列を含む。ｐａｂ２０４５の軽鎖は２０Ｅ５の軽鎖可変領域（配列番号２８）及び配列番号４１の定常領域のアミノ酸配列を含む。

【０４５２】

６．２．１　抗ＯＸ４０抗体が抗ＣＤ３刺激ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖に及ぼす効果

ｐａｂ１９４９がＴ細胞増殖に及ぼす効果を調べるため、健常ドナーバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ，ＬＬＣ）からＦｉｃｏｌｌグラジエントで単離したヒトＰＢＭＣについて、磁気ベースの分離（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて手付かずのＣＤ４＋　Ｔ細胞をエンリッチした。分裂細胞内のカルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）色素の希釈をモニタすることにより、細胞増殖を決定した（Ｑｕａｈ　ＢＪ　ｅｔ　ａｌ．，（２００７）Ｎａｔ　Ｐｒｏｔｏｃ，２（９）：２０４９－５６）。エンリッチドＣＤ４＋Ｔ細胞を１０μＭ　ＣｅｌｌＴｒａｃｅ（商標）ＣＦＳＥ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）によって３７℃で７分間標識した。綿密な洗浄後、１０％熱失活ＦＢＳを補足したＲＰＭＩ１６４０培地中に細胞を1×10^6細胞／ｍｌで懸濁した。５μｇ／ｍｌのｐａｂ１９４９、５μｇ／ｍｌのＩｇＧ１アイソタイプ対照、又は２μｇ／ｍｌの抗ＣＤ２８抗体（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）のいずれかと共に、抗ＣＤ３抗体（３μｇ／ｍｌ、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で予め被覆した平底９６ウェルプレートの各ウェルに合計１００μｌ（1×10^5細胞）を播種し、３７℃及び５％CO_2で培養した。５日目に細胞をＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ中２％ＦＢＳ）中０．５μｌ／ウェルのＰｅｒＣＰ－Ｃｙ５．５標識抗ＣＤ４抗体によって４℃で３０分間染色し、ＣＦＳＥ低ＣＤ４＋細胞のパーセンテージをＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）でフローサイトメトリーによって決定した。フローサイトメトリーデータはＦｌｏｗＪｏを使用して分析した。

【０４５３】

上記に記載したのと同様のアッセイを用いてｐａｂ２０４４の活性を評価し、ここで、５μｇ／ｍｌのｐａｂ２０４４、５μｇ／ｍｌのIgG_4アイソタイプ対照（ｐａｂ２０３１）、又は２μｇ／ｍｌの抗ＣＤ２８抗体（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）のいずれかと共に、抗ＣＤ３抗体（３μｇ／ｍｌ、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で予め被覆した９６ウェルプレートにＣＦＳＥ標識ＣＤ４＋　Ｔ細胞を播種した。５日目にＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって決定した。

【０４５４】

図２Ａ及び図２Ｂは、抗ＯＸ４０抗体との共刺激によって誘導されたＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の代表的なフローサイトメトリー分析のヒストグラムであり、細胞数（Ｙ軸）及びＣＦＳＥ標識ＣＤ４＋　Ｔ細胞によって放出された蛍光レベル（Ｘ軸）を示す。ＣＦＳＥに

よって放出される蛍光レベルが減弱した細胞の割合の増加により、ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖の増強が示される。ＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞のパーセンテージがヒストグラムに示される。ｐａｂ１９４９（図２Ａ）及びｐａｂ２０４４（図２Ｂ）は両方ともに、プレート結合時、準最適濃度の抗ＣＤ３抗体で活性化した細胞に加えたとき、ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖を誘導した。

【０４５５】

次に、Ｔ細胞増殖の誘導におけるｐａｂ１９４９の用量反応を計測した。健常ドナーバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ，ＬＬＣ）からＦｉｃｏｌｌグラジエントで単離したＰＢＭＣについて、磁気ベースの分離（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて手付かずのＣＤ４＋　Ｔ細胞をエンリッチした。次にエンリッチドＣＤ４＋　Ｔ細胞集団を１０μＭ　ＣｅｌｌＴｒａｃｅ（商標）ＣＦＳＥ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）によって３７℃で７分間標識した。綿密な洗浄後、１０％熱失活ＦＢＳを補足したＲＰＭＩ１６４０培地中に細胞を1×10^{6}／ｍｌで懸濁した。種々の濃度のｐａｂ１９４９又はIgG_1アイソタイプ対照と共に、抗ＣＤ３抗体（３μｇ／ｍｌ、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で予め被覆した平底９６ウェルプレートの各ウェルに１００μｌ（1×10^{5}）の細胞を播種し、３７℃及び５％CO_2で培養した。４日目に細胞をＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ中２％ＦＢＳ）中０．５μｌ／ウェルのＡＰＣ標識抗ＣＤ４抗体によって４℃で３０分間染色し、ＣＦＳＥ低ＣＤ４＋　細胞のパーセンテージをＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）でフローサイトメトリーによって決定した。

【０４５６】

図２Ｃに示すとおり、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９は、薬理学的に関連性のある抗体濃度で高レベルのＴ細胞増殖を維持することが可能であった。ＣＤ４＋　Ｔ細胞増殖は、０．２μｇ／ｍｌ～２０μｇ／ｍｌにおいてｐａｂ１９４９の濃度の実質的増加関数であった（図２Ｃ）。

【０４５７】

６．２．２　抗ＯＸ４０抗体が抗ＣＤ３刺激ヒトＰＢＭＣサイトカイン産生に及ぼす効果

抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１のアゴニスト活性の更なるエビデンスとして、準最適抗ＣＤ３刺激下のサイトカイン産生を計測した。

【０４５８】

細胞内サイトカイン染色実験のため、健常ドナーバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ，ＬＬＣ）からＦｉｃｏｌｌグラジエントで単離したヒトＰＢＭＣを液体窒素中に保存し、実験当日に解凍した。細胞を細胞培養培地（ＲＰＭＩ＋１０％ＦＢＳ＋２０Ｕ／ｍＬのＩＬ－２）に再懸濁し、様々な準最適濃度のプレート結合抗ＣＤ３抗体＋５μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照IgG_1抗体が入った９６ウェル培養プレートに加えた。これらの試料を３７℃及び５％CO_2で３日間インキュベートした。活性化後、細胞内タンパク質輸送を阻害するため、細胞をブレフェルジンＡ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で製造者の指示に従い処理し、試料を３７℃及び５％CO_2で６時間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を生死判別アミン色素（Ｌｉｆｅ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で死細胞に関して染色した。ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、２％ＦＢＳ、ｐＨ７．２）で洗浄した後、冷ＦＡＣＳ緩衝液で希釈したＣＤ３（ＡＰＣ　Ｃｙ７、ＳＰ３４．２）、ＣＤ４（ＰｅｒｃＰ　Ｃｙ５．５、Ｌ２００）、及びＣＤ８ａ（ＰＥ　Ｃｙ７、ＳＫ１）に特異的な抗体を含有する抗体カクテルを各試料に加え、４℃で１０分間インキュベートした。細胞を固定し、細胞内染色のためＣｙｔｏｆｉｘ－Ｃｙｔｏｐｅｒｍ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で製造者の指示に従い透過処理した。ＩＦＮγ（Ａｌｅｘａ６４７、Ｂ２７）及びＴＮＦα（ＰＥ、Ｍａｂ１１）に特異的な抗体でＰＢＭＣを染色し、室温で１０分間インキュベートした。染色前、マウスＩｇＧ抗体のκ軽鎖を結合するビーズを、単染色コンペンセーションコントロールを使用して細胞の染色に使用する抗体で染色した。１×Ｐｅｒｍ－洗浄緩衝液（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して試料を洗浄し、ＦＡＣＳ　Ｃａｎｔｏフ

ローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して分析した。フローサイトメトリープロットはＦｌｏｊｏソフトウェアを使用して分析した。

【０４５９】

異なる４ドナーからのＰＢＭＣを試験した：ドナーＫＭ、ドナーＴＭ、ドナーＧＳ、及びドナーＳＢ。全てのドナーについて、ｐａｂ１９４９はヒトＴ細胞に対する共刺激活性を実証し、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋多機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞及びＴＮＦα＋単機能性ＣＤ４＋　Ｔ細胞及びＣＤ８＋　Ｔ細胞を誘導した（図３Ａ、図３Ｂ、及び図３Ｃ）。ドナーＧＳのＰＢＭＣでは、ｐａｂ１９４９はまた、ＩＦＮγ＋単機能性Ｔ細胞の割合も増加させることが可能であった（図３Ｂ）。

【０４６０】

次に、上記に記載したものと同様の準最適抗ＣＤ３刺激アッセイにおいて、ドナーＧＳのＰＢＭＣに由来する細胞を使用して抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１の用量タイトレーションを試験した。簡潔に言えば、ＰＢＭＣをプレート結合抗ＣＤ３抗体（０．８μｇ／ｍｌ）及びプレート結合ｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体（０、０．３、１、３、６、１２、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）と共に３７℃及び５％CO_2で４日間インキュベートした。活性化後、細胞内タンパク質輸送を阻害するため、細胞をブレフェルジンＡ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で製造者の指示に従い処理し、試料を３７℃及び５％CO_2で６時間インキュベートした。インキュベーション後、細胞をＦＩＴＣ生死判別アミン色素（Ｌｉｆｅ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で染色して生細胞と死細胞とを判別した。冷緩衝液（１×ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ、ｐＨ７．２）で洗浄した後、抗ＣＤ３（ＡＰＣ　Ｃｙ７、ＳＰ３４．２）、抗ＣＤ４（ＰｅｒｃＰ　Ｃｙ５．５、Ｌ２００）、及び抗ＣＤ８ａ（ＰＥ　Ｃｙ７、ＳＫ１）を含有する抗体カクテルを各試料に加え、４℃で１０分間インキュベートした。細胞を固定し、細胞内染色のためＣｙｔｏｆｉｘ－Ｃｙｔｏｐｅｒｍ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で製造者の指示に従い透過処理した。ＰＢＭＣを抗ＩＦＮγ抗体（Ａｌｅｘａ６４７、Ｂ２７）及び抗ＴＮＦα抗体（ＰＥ、Ｍａｂ１１）で染色し、室温で１０分間インキュベートした。１×Ｐｅｒｍ－洗浄緩衝液（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して試料を洗浄し、ＦＡＣＳｃａｎｔｏフローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して捕捉した。フローサイトメトリープロットはＦｌｏｊｏソフトウェアを使用して分析した。図３Ｄ～図３Ｆに示されるとおり、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１は共刺激活性を実証し、ＴＮＦα＋　ＣＤ４＋　Ｔ細胞、ＩＦＮγ＋　ＴＮＦα＋多機能性ＣＤ８＋　Ｔ細胞、及びＩＦＮγ＋　ＣＤ８＋　Ｔ細胞の割合を用量依存的様式で増加させた。

【０４６１】

ある範囲用量のｐａｂ１９４９－１の共刺激活性について、上記に記載した準最適抗ＣＤ３刺激アッセイにおいて追加のドナーのＰＢＭＣに由来する細胞を使用して更に試験した。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１及びIgG_1アイソタイプ対照抗体は０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌで試験した。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１は、複数のドナーのＰＢＭＣにおいてＩＦＮγ＋及び／又はＴＮＦα＋　Ｔ細胞の割合を一貫して増加させた（図４Ａ～図４Ｃ）。

【０４６２】

特に、多くのドナーのＰＢＭＣについて、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１によって誘導されたＩＦＮγ＋及び／又はＴＮＦα＋　Ｔ細胞の割合は、試験した幅広い抗体濃度にわたって抗体濃度の実質的増加関数であった（図３Ｄ～図３Ｆ及び図４Ａ～図４Ｃ）。

【０４６３】

抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９のアゴニスト活性を更に調べるため、サイトカインの分泌量を計測した。健常ドナーバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ，ＬＬＣ）からＦｉｃｏｌｌグラジエントで単離したヒトＰＢＭＣを液体窒素中に保存し、実験当日に解凍した。細胞を細胞培養培地（ＲＰＭＩ＋１０％ＦＢＳ＋２０Ｕ／ｍＬのＩＬ－２）に再懸濁し、様々な準最適濃度のプレート結合抗ＣＤ３抗体＋５μｇ／ｍｌの抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はアイソタイプ対照IgG_1抗体が入った

９６ウェル培養プレートに加えた。これらの試料を３７℃及び５％CO_2でインキュベートし、４日後（ＳＢ＃１Ａ）又は3日後（ＳＢ＃１Ｂ、ＳＢ＃２、及びＧＳ）のいずれかに細胞培養上清を回収した。ＩＬ－２、ＴＮＦα、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、及びＩＬ－１３の産生に関して、Ｖ－ＰＬＥＸ　Ｐｒｏｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ　Ｐａｎｅｌ１（ヒト）キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を製造者の指示に従い使用して試料を試験した。

【０４６４】

図５Ａに示されるとおり、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９は異なる２ドナー：ドナーＳＢ及びドナーＧＳからのヒトＰＢＭＣにおけるサイトカイン産生を共刺激した。ドナーＳＢのＰＢＭＣのサイトカイン産生は２つの別個の実験で試験した：ＳＢ＃１Ａ及びＳＢ＃１Ｂは、それぞれ刺激から４日後及び３日後にサイトカインを計測した第１の実験の結果を示し；及びＳＢ＃２は、刺激から３日後にサイトカインを計測した第２の実験の結果を示す。

【０４６５】

次に、上記に記載したものと同様の準最適抗ＣＤ３刺激アッセイにおいてドナーＧＳのＰＢＭＣに由来する細胞を使用して、ｐａｂ１９４９－１の用量タイトレーションによって誘導されたサイトカイン分泌を調べた。端的には、ＰＢＭＣをプレート結合抗ＣＤ３抗体（０．８μｇ／ｍｌ）及びプレート結合ｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体（０、０．３、１、３、６、１２、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）と共に３７℃及び５％CO_2で４日間インキュベートした。活性化後、細胞培養上清を回収し、ヒトＴＨ１／ＴＨ２　１０－Ｐｌｅｘ組織培養キット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を使用してサイトカインを検出した。

【０４６６】

図５Ｂ～図５Ｄに示されるとおり、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１はＴＮＦα、ＩＬ－１０、及びＩＬ－１３産生を用量依存的様式で刺激した。

【０４６７】

サイトカイン分泌の誘導におけるｐａｂ１９４９－１の共刺激活性を、追加のドナーのＰＢＭＣに由来する細胞を使用して更に確かめた。簡潔に言えば、ＰＢＭＣをプレート結合抗ＣＤ３抗体（０．８μｇ／ｍｌ）及びプレート結合ｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体（０、０．７、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）と共に３７℃及び５％CO_2で４日間インキュベートした。活性化後、上清に分泌されたサイトカインの量を非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を使用して計測した。

【０４６８】

試験した全てのドナーについて、ｐａｂ１９４９－１はＧＭ－ＣＳＦ（図６Ａ～図６Ｃ）、ＩＬ－２（図７Ａ～図７Ｃ）、及びＴＮＦβ（図８Ａ～図８Ｃ）の分泌を用量依存的に増加させた。

【０４６９】

多くのドナーのＰＢＭＣについて、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１によって誘導されたサイトカイン（ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－２、ＴＮＦα、ＴＮＦβ、ＩＬ－１０、及びＩＬ－１３）の分泌は、幅広い抗体濃度にわたって抗体濃度の実質的増加関数であった（図５Ｂ～図５Ｄ、図６Ａ～図６Ｃ、図７Ａ～図７Ｃ、及び図８Ａ～図８Ｃ）。

【０４７０】

６．２．３　エフェクターＴ細胞：調節性Ｔ細胞共培養アッセイにおける抗ＯＸ４０抗体の効果

次に、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１について、エフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）：調節性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）共培養アッセイにおけるその活性を調べた。端的には、健常ドナーバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ，ＬＬＣ）からＦｉｃｏｌｌグラジエントで単離したヒトＰＢＭＣを液体窒素中に保存し、実験当日に解凍した。調節性Ｔ細胞及びエフェクターＴ細胞を磁気ビーズ分離（それぞれＣＤ４

$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｄｉｍ／－}$調節性Ｔ細胞単離キットＩＩ及びＰａｎ　Ｔ細胞キット、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）によって単離した。次に調節性Ｔ細胞を抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８／抗ＣＤ２ビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）と共に細胞培養培地（ＲＰＭＩ＋１０％ＦＢＳ）中１：２（Ｔ細胞：ビーズ）の比でインキュベートすることにより２日間活性化した。活性化後、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８／抗ＣＤ２ビーズ、可溶性又は架橋（抗Ｆｃ　Ｆ（ａｂ’）$_2$を使用、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照（１０μｇ／ｍｌ）の存在下で調節性Ｔ細胞及びエフェクターＴ細胞を９６ウェル培養プレートに１：３（Ｔｒｅｇ：Ｔｅｆｆ）の比で加えた。これらの試料を３７℃及び５％ＣＯ$_2$で４日間インキュベートした。活性化後、上清を回収し、ＡｌｐｈａＬＩＳＡ（登録商標）（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用してＩＬ－１０又はＩＬ－２を計測した。

【０４７１】

このインビトロＴｅｆｆ：Ｔｒｅｇ共培養アッセイにおいて、アイソタイプ処理細胞と比較したｐａｂ１９４９－１処理細胞によるＩＬ－２産生の増強（図９Ａ）及びＩＬ－１０産生の低下（図９Ｂ）から明らかなとおり、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１はＴｒｅｇ細胞によるＴｅｆｆ細胞集団の抑制を軽減した。

【０４７２】

６．２．４　ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激時に抗ＯＸ４０抗体がヒトＰＢＭＣに及ぼす効果

ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激後、初代ヒトＰＢＭＣに対する抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１の機能的活性を更に評価した。ペニシリン、ストレプトマイシン及び１０％ＦＢＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）を補足したＲＰＭＩ１６４０中の凍結保存したＰＢＭＣ（10^5細胞／ウェル）を９６ウェルＮＵＮＣＬＯＮ　ｄｅｌｔａ表面プレート（ＮＵＮＣ（商標））に加えた。一定濃度（図１０Ａ及び図１０Ｂの１０μｇ／ｍｌ）又は種々の濃度（図１０Ｃ及び図１０Ｄの２０、４、０．８、０．１６、０．０３２、０．００６４、及び０．００１２８μｇ／ｍｌ；図１０Ｅの５０、１０、２、０．４、０．０８、０．０１６、及び０．００３２μｇ／ｍｌ）の抗ＯＸ４０抗体又はアイソタイプ対照及び１００ｎｇ／ｍｌのＳＥＡ（Ｔｏｘｉｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）の非存在下又は存在下においてこれらの細胞を３７℃、５％ＣＯ$_2$及び９７％湿度で５日間培養した。清澄化した上清を回収し、分析時まで－８０℃で保存した。ＩＬ－２及びＩＬ－１０について電気化学発光（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を用いてサイトカインの力価を求めた。

【０４７３】

抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９はこの初代ヒトＰＢＭＣアッセイでアゴニスト活性を示し、ＩＬ－２産生を誘導し（図１０Ａ）、及びＩＬ－１０産生を抑制した（図１０Ｂ）。１０μｇ／ｍｌのｐａｂ１９４９によるＩＬ－２産生の増強は、参照抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５で観察されるものよりも優れていた（図１０Ａ）。図１０Ｃ、図１０Ｄ、及び図１０Ｅは３つの独立した実験からの用量反応曲線であり、異なる濃度のｐａｂ１９４９、ｐａｂ１９４９－１、又は参照抗体ｐａｂ１７８４及びｐａｂ２０４５による共刺激後のＩＬ－２の倍数変化を示す。抗体ｐａｂ１９４９及びｐａｂ１９４９－１は参照抗体と異なる用量反応関係を呈し、薬理学的に関連性のある抗体濃度で高レベルのＩＬ－２産生を誘導することが可能であった。ｐａｂ１９４９又はｐａｂ１９４９－１によって誘導されたＩＬ－２産生は、幅広い抗体濃度（例えば、図１０Ｃ及び図１０Ｄに示されるとおり０．０３２～２０μｇ／ｍｌ、又は図１０Ｅに示されるとおり０．００３２～５０μｇ／ｍｌ）にわたって抗体濃度の実質的増加関数であった。

【０４７４】

次に、上記に記載した初代ヒトＰＢＭＣアッセイにおいて、ＩｇＧ$_1$抗体ｐａｂ１９４９－１及びＩｇＧ$_2$抗体ｐａｂ２１９３－１の機能的活性を比較した。簡潔に言えば、９６ウェルＮＵＮＣＬＯＮ　ｄｅｌｔａ表面プレート中のＮｏｒｍｏｃｉｎ（商標）（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ、＃ａｎｔ－ｎｒ）及び１０％熱失活ＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ、Ｉｎｖｉｔｒ

ｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を補足したＲＰＭＩ１６４０培地に凍結保存ヒトＰＢＭＣ（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）を10^5細胞／ウェルでプレーティングした。細胞を漸増濃度（５０、１０、２、０．４、０．０８、０．０１６、及び０．００３２μｇ／ｍｌ）のｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２１９３－１、IgG_1アイソタイプ対照抗体、又はIgG_2アイソタイプ対照抗体、及び１００ｎｇ／ｍｌ　ＳＥＡスーパー抗原（Ｔｏｘｉｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）と共に３７℃、５％CO_2、及び９７％湿度で５日間インキュベートした。清澄化した上清を回収し、分析時まで－８０℃で保存した。ＩＬ－２の濃度をＥＬＩＳＡによって計測した。

【０４７５】

図１０Ｆに示すとおり、IgG_1抗体ｐａｂ１９４９－１及びIgG_2抗体ｐａｂ２１９３－１は両方ともにヒトＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を誘導した。ｐａｂ１９４９－１と同様に、ｐａｂ２１９３－１もＩＬ－２産生が抗体濃度の実質的増加関数である用量反応関係を呈した。

【０４７６】

更に、IgG_1抗体ｐａｂ１９４９－１を無グリコシル化変異体ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａと比較することにより、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１の機能的活性におけるＦｃγＲ相互作用の役割を調べた。ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａはｐａｂ１９４９－１と重鎖可変領域及び軽鎖配列を共有するが、重鎖定常領域にＮ２９７Ａ置換（ＥＵ付番方式によって付番）を含む。

【０４７７】

健常ドナーバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ，ＬＬＣ）からＦｉｃｏｌｌグラジエントで単離したヒトＰＢＭＣを液体窒素中に保存し、実験当日に解凍した。細胞を細胞培養培地（ＲＰＭＩ＋１０％熱失活ＦＢＳ）に再懸濁し、１００ｎｇ／ｍｌ　ＳＥＡ（Ｔｏｘｉｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）及びｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ、又はIgG_1アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーション（０～５０μｇ／ｍｌ）と共に３７℃及び５％CO_2で５日間インキュベートした。上清を回収し、次にＡｌｐｈａＬＩＳＡ（登録商標）（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用してＩＬ－２に関して試験した。

【０４７８】

図１０Ｇに示すとおり、ｐａｂ１９４９－１及びｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａは両方ともにＳＥＡ刺激時にヒトＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を用量依存的様式で誘導した。アスパラギン２９７（Ｎ２９７）における単一のＮ結合型グリコシル化部位の鍵となるグリコシル化の存在がｐａｂ１９４９－１－Ｎ２９７Ａ変異抗体では失われ、そのためそのＦｃ断片のＦｃγＲへの結合の喪失につながる。この変異抗体は、野生型対応物と比較してアゴニスト活性の低下を呈した。

【０４７９】

６．２．５　アゴニスト抗ＯＸ４０抗体がＯＸ４０　ＮＦ－κＢ－ルシフェラーゼレポーター細胞株に及ぼす効果

抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１がＴ細胞におけるシグナル伝達を媒介する能力を、ヒトＯＸ４０　ＮＦ－κＢ－ルシフェラーゼレポーター細胞株を使用して計測した。ジャーカット細胞株を用いて生成したレポーター細胞をアッセイ培地（ＲＰＭＩ＋１０％ＦＢＳ＋ペニシリン／ストレプトマイシン／グルタミン酸塩＋１μｇ／ｍｌピューロマイシン）に再懸濁し、抗Ｆｃ試薬の存在下（複合体化条件）又は非存在下（可溶性条件）で様々な濃度の可溶性ｐａｂ１９４９－１（０～６μｇ／ｍｌ）又はIgG_1アイソタイプ対照抗体と共にインキュベートした。プレートを３７℃及び５％CO_2で２時間インキュベートした。インキュベーション後、プレートを室温で平衡化し、次に等容積の室温のＮａｎｏ－Ｇｌｏ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）を加えた。ＥｎＶｉｓｉｏｎマルチラベルリーダー２１００を使用して発光を読み取った。

【０４８０】

架橋ｐａｂ１９４９－１のみがＯＸ４０　ＮＦ－κＢ－ルシフェラーゼレポーター細胞

株の有意な活性化を誘導した（図１１Ｂ）。可溶性ｐａｂ１９４９－１はレポーター細胞株の最小限の活性化を誘導し、ＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体は検出可能なレベルのルシフェラーゼ発現を誘導しなかった（図１１Ａ及び図１１Ｂ）。

【０４８１】

６．２．６　アゴニスト抗ＯＸ４０抗体がＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡレポーター細胞株に及ぼす効果

この例では、Ｆｃガンマ受容体ＩＩＩＡを発現するレポーター細胞株を、ヒトＯＸ４０を発現する標的細胞と共に使用して、ＩｇＧ$_1$抗体ｐａｂ１９４９－１及びＩｇＧ$_4$抗体ｐａｂ２０４４－１がＯＸ４０と共会合し、Ｆｃガンマ受容体の活性化を介してシグナルを送る能力を判定した。ＦｃγＲＩＩＩＡ（１５８Ｖ／Ｖ多型）（Ｐｒｏｍｅｇａ）を過剰発現するジャーカットＮＦＡＴ－ルシフェラーゼレポーター細胞をエフェクター細胞として使用した。抗体／抗原複合体（抗原が標的細胞の表面上に位置する）がエフェクター細胞上のＦｃγＲＩＩＩＡに結合すると、プロモーター／レポーターコンストラクトにシグナルが送られ、ルシフェラーゼ遺伝子発現がもたらされる。

【０４８２】

可溶性ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ２０４４－１、ＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照、又はＩｇＧ$_2$アイソタイプ対照（０～１０μｇ／ｍｌ）の用量タイトレーションの存在下でＯＸ４０過剰発現細胞（ＰＨＡ活性化Ｈｕｔ１０２細胞）をＦｃγＲＩＩＩＡレポーター細胞と共培養した。製造者の指示に従いレポーター細胞の活性化を評価し、相対発光単位（ＲＬＵ）を記録した。ΔＲＬＵは、抗ＯＸ４０抗体のＲＬＵからアイソタイプ対照のＲＬＵを差し引いたものとして計算した。図１２Ａに示すとおり、ＯＸ４０発現細胞との結合時、ＩｇＧ$_1$抗体ｐａｂ１９４９－１のみがＦｃγＲＩＩＩＡレポーター細胞を活性化させた。

【０４８３】

６．２．７　アゴニスト抗ＯＸ４０抗体がＦｃガンマ受容体ＩＩＡレポーター細胞株に及ぼす効果

次に、ＦｃγＲＩＩＡ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を発現するレポーター細胞株を標的細胞（ヒトＯＸ４０を発現するジャーカット細胞）と共に使用して、ＩｇＧ$_1$抗体ｐａｂ１９４９－１及びｐａｂ１９４９－１－Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ並びにＩｇＧ$_2$抗体ｐａｂ２１９３－１がＯＸ４０と共会合し、ＦｃγＲＩＩＡを介してシグナルを送る能力を判定した。ｐａｂ１９４９－１－Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆはｐａｂ１９４９－１と重鎖及び軽鎖配列を共有するが、重鎖定常領域にＳ２６７Ｅ及びＬ３２８Ｆ置換（ＥＵ付番方式によって付番）を含む。

【０４８４】

高親和性１３１Ｈ／Ｈ多型を有するＦｃγＲＩＩＡ及びホタルルシフェラーゼの発現を駆動するＮＦＡＴ応答エレメントを発現するジャーカット細胞をエフェクター細胞として使用した。簡潔に言えば、２５μｌの標的細胞（６×１０^{6}細胞／ｍｌ）を２５μｌの段階希釈抗体と９６ウェル白色アッセイプレートのデュプリケートウェルで混合した。試験した抗体は、ｐａｂ１９４９－１、ｐａｂ１９４９－１－Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ、ｐａｂ２１９３－１、ＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体、及びＩｇＧ$_2$アイソタイプ対照抗体であった。次に、２５μｌのエフェクター細胞（６×１０^{6}細胞／ｍｌ）を各ウェルに加えると、１：１のエフェクター対標的比が得られた。プレートを３７℃及び５％ＣＯ$_2$で２０時間インキュベートした。このインキュベーション後、Ｂｉｏ－Ｇｌｏルシフェラーゼアッセイ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）を室温で解凍し、各ウェルに７５μｌを加えた。５～１０分以内にＥｎＶｉｓｉｏｎマルチラベルプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を使用して発光を計測した。各試料の読み取りからバックグラウンド発光を減じ、調整後相対発光単位（ＲＬＵ）を記録した。

【０４８５】

図１２Ｂに示すとおり、ＯＸ４０を発現する細胞への結合時、ＩｇＧ$_2$抗体ｐａｂ２１９３－１がＦｃγＲＩＩＡ^{Ｈ１３１}の最も強力な活性化を示し、ｐａｂ１９４９－１－Ｓ

２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ及びｐａｂ１９４９－１がそれに続いた。

【０４８６】

６．２．８　抗ＯＸ４０抗体と調節性Ｔ細胞又はエフェクターＴ細胞との相互作用

この例では、活性化天然調節性Ｔ細胞（ｎＴｒｅｇ）及びＴエフェクター（Ｔｅｆｆ）細胞によるヒトＯＸ４０の発現を調べた。健常ドナーから単離したＰＢＭＣについて、磁気ベースの分離を用いて手付かずのＣＤ３＋　Ｔ細胞（Ｔｅｆｆ）又はＣＤ４＋　ＣＤ２５＋　ＣＤ４５ＲＡ＋　Ｔ細胞（ｎＴｒｅｇ）をエンリッチした。Ｔリンパ球を抗ＣＤ３／ＣＤ２８カップリングビーズによって５００Ｕ　ｒＩＬ－２と共に４日間、及び５０Ｕ　ｒＩＬ－２と共に更に４日間活性化させた。活性化の８日後、Ｔ細胞を回収し、ＰＢＳ中の固定可能な生死判別近赤外死細胞染色によって４℃で２０分間染色した。緩衝液（２％ＦＢＳ含有ＰＢＳ）中に希釈したＣＤ４（ＢＶ６０５、ＯＫＴ４）、ＣＤ８ａ（ＢＶ６５０、ＲＰＡ－Ｔ８）、ＣＤ１２７（ＢＶ４２１、ＡＯ１９０５）、ＣＤ２５（ＡＰＣ、Ｍ－Ａ２５１）、及びＯＸ－４０（ＰＥ、ＡＣＴ３５）に対するコンジュゲート抗体を含有する表面抗体カクテルを各試料に加え、４℃で３０分間インキュベートした。次に細胞を緩衝液で洗浄し、固定し、緩衝液中に希釈したＣＤ３（ＢＶ７１１、ＯＫＴ３）及びＦｏｘｐ３（ＡＦ４８８、ＰＣＨ１０１）に対するコンジュゲート抗体を含有する細胞内抗体カクテルで染色した。各Ｔ細胞集団から１つの試料についてはまた、マウス抗ヒトＩｇＧ１－ＰＥアイソタイプ対照を使用してＯＸ４０に関してｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ　ｍｉｎｕｓ　ｏｎｅ（ＦＭＯ）対照によっても染色した。試料をフローサイトメトリーによって分析した。ＰＥコンジュゲートＱｕａｎｔｉｂｒｉｔｅビーズを同時にランし、これを使用して製造者の指示どおりＯＸ４０受容体密度を定量化した。

【０４８７】

図１３Ａに示すとおり、活性化ｎＴｒｅｇ細胞上のヒトＯＸ４０の表面発現は活性化ＣＤ４＋又はＣＤ８＋　エフェクターＴ細胞上のものよりも高かった。

【０４８８】

同様の試験において、２ドナーからの活性化ｎＴｒｅｇ及びＴｅｆｆを市販の抗ＯＸ４０抗体（ＢＥＲ－ＡＣＴ３５クローン）又はアイソタイプ対照抗体で染色し、フローサイトメトリーによって分析した。デルタ平均蛍光強度（ΔＭＦＩ）は、抗ＯＸ４０抗体のＭＦＩからアイソタイプ対照のＭＦＩを差し引いたものに相当する。結果を図１３Ｂに示す。

【０４８９】

次に、上記に記載したＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ（ＦｃγＲＩＩＩＡ）を発現するレポーター細胞株を、記載されるとおり生成した活性化Ｔエフェクター（Ｔｅｆｆ）又はｎＴｒｅｇ細胞と共に使用して、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９がＯＸ４０を共会合し、Ｆｃガンマ受容体の活性化を介してシグナルを送る能力を判定した。抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９又はIgG_1アイソタイプ対照を１０μｇ／ｍｌの出発最終濃度の３倍希釈物として段階希釈した。デュプリケートウェルにおいて、Ｔｅｆｆ又はｎＴｒｅｇ細胞に２５μｌの各抗体希釈物を加えた。ＦｃγＲＩＩＩＡ（１５８Ｖ／Ｖ多型）を過剰発現するジャーカットＮＦＡＴ－ルシフェラーゼレポーター細胞を１：１のエフェクター対標的比で加えた。プレートを２０時間インキュベートし、次にＢｉｏ－Ｇｌｏルシフェラーゼアッセイ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して分析した。各試料読み取りからバックグラウンド発光（外側のブランクウェル）を減じ、調整後相対発光単位（ＲＬＵ）を記録した。抗ＯＸ４０抗体のＲＬＵからアイソタイプ対照のＲＬＵを差し引いたものに相当するΔＲＬＵを図１３Ｃに示す。

【０４９０】

少し修正したプロトコルを用いて図１３Ｃに示す試験を繰り返した。端的には、健常ボランティアからのバフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）を使用して初代調節性Ｔ細胞及びエフェクターＴ細胞を単離した。両方のＴ細胞サブセットを磁気ビーズ分離（それぞれ$CD4^+CD25^+CD127^{dim/-}$調節性Ｔ細胞単離キットＩＩ及びＰａｎｔ　Ｔ細胞キット、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）によ

って精製し、次に細胞培養培地（ＲＰＭＩ＋１０％ＦＢＳ）中で細胞を抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８／抗ＣＤ２ビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）と共に１：４（Ｔ細胞：ビーズ）の比でインキュベートすることにより、７日間活性化した。可溶性ｐａｂ１９４９－１又はＩｇＧ$_1$アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーション（０～１０μｇ／ｍｌ）の存在下で、活性化したＴｒｅｇ細胞又はＴｅｆｆ細胞を上記に記載したＦｃγＲＩＩＩＡ発現ジャーカットＮＦＡＴ－ルシフェラーゼレポーター細胞（Ｐｒｏｍｅｇａ）と共培養した。レポーター細胞の活性化を製造者の指示に従い評価しており、ΔＲＬＵを図１３Ｄに示す。

【０４９１】

活性化ｎＴｒｅｇと活性化ＣＤ４＋又はＣＤ８＋　エフェクターＴ細胞との間の表面ＯＸ４０発現差と一致して（図１３Ａ及び図１３Ｂ）、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９（図１３Ｃ）及びｐａｂ１９４９－１（図１３Ｄ）は活性化ｎＴｒｅｇ細胞を優先的に標識し、レポーター細胞株においてＦｃγＲＩＩＩＡ依存性シグナル伝達を誘導した。

【０４９２】

ＯＸ４０の過剰発現が、腫瘍微小環境内に位置する調節性Ｔ細胞の特徴であったかどうかを判定するため、健康ヒトドナーの血液（図１４Ａ、ａ～ｃ、ｎ＝３）又は非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）患者の腫瘍組織（図１４Ａ、ｄ～ｆ、ｎ＝３）から単離したＴ細胞でＯＸ４０発現を比較した。免疫集団に対する抗体のバックグラウンド結合を除去するため、全ての細胞を精製ＣＤ１６／３２抗体（１０μｇ／ｍｌ、室温で２０分間）と共にインキュベートしてから、細胞表面抗体及び細胞内抗体を加えた。ＦｃＲブロック後、これらの試料を全て、ＡＰＣコンジュゲート抗ＯＸ４０抗体（クローンＢｅｒ－ＡＣＴ３５）又はアイソタイプ対照及び細胞表面抗体系列カクテル（ＣＤ３－ＦＩＴＣ、ＣＤ２５－ＰＥＣｙ７、ＣＤ４－ＢＶ６５０及びＣＤ８ａ－ＰＥ）と共に氷上で４５分間インキュベートし（各１μｇ／ｍｌ）、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、ＥＤＴＡ及び０．５％ＢＳＡ）で３回洗浄し、続いて固定／透過処理し、パシフィックブルーコンジュゲートＦＯＸＰ３と共にインキュベートした（固定／透過処理及びインキュベーション氷上各４５分、１μｇ／ｍｌ）。次にＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して、染色した試料を分析した。図１４Ａの細胞集団は、Ｔｃｏｎｖ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５低、ＦＯＸＰ３－）又はＴｒｅｇ（ＣＤ３＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８ａ－、ＣＤ２５高、ＦＯＸＰ３＋）として定義した。

【０４９３】

図１４Ａに示すとおり、ＯＸ４０表面発現はＮＳＣＬＣ患者の腫瘍組織から単離した調節性Ｔ細胞で最も高く、健常ドナーからのＴｒｅｇ又は従来のＴ細胞では、検出可能なレベルはほとんど又は全くなかった。

【０４９４】

他の腫瘍型について同様の分析を行った。端的には、凍結分離した腫瘍試料（Ｃｏｎｖｅｒｓａｎｔ）又はＰＢＭＣをＡｕｔｏＭＡＣＳリンス溶液（洗浄緩衝液、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）中で解凍し、細胞をＦｃブロック（Ｔｒｕｓｔａｉｎ　ＦｃＸ、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）した後、細胞表面染色した。細胞を洗浄緩衝液で洗浄し、抗ＣＤ３（クローンＳＰ３４）、抗ＣＤ４（クローンＯＫＴ４）、抗ＣＤ８（クローンＳＫ１）、抗ＣＤ２５（クローンＭＡ－２５１）、及び抗ＯＸ４０（クローンＢＥＲ－ＡＣＴ３５）を含む系列マーカー抗体によって４℃で４５分間染色した。細胞を洗浄し、フォークヘッドボックスＰ３（ＦＯＸＰ３）／転写因子染色緩衝液セット（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で製造者の指示に従い透過処理した。透過処理後、細胞を抗ＦＯＸＰ３　ｅＦｌｕｏｒ４５０（クローンＰＣＨ１０１、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で染色した。染色した試料をＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｆｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーターを使用して捕捉し、データを、Ｆｌｏｊｏソフトウェアを使用して分析した。

【０４９５】

卵巣癌、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、子宮内膜癌、腎細胞癌（ＲＣＣ）、非小細胞癌（ＮＳＣＬＣ）、及び乳癌を含めた複数の腫瘍型からの試料が、腫瘍関連エフェクターＴ細胞と

比べて腫瘍関連調節性Ｔ細胞においてより高いＯＸ４０発現を実証した（図１４Ｂ、図１４Ｃ、及び図１４Ｄ）。

【０４９６】

６．２．９　抗ＯＸ４０抗体が抗ＣＤ３刺激カニクイザルＰＢＭＣサイトカイン産生に及ぼす効果

次に、準最適抗ＣＤ３刺激アッセイを用いてカニクイザルＰＢＭＣに対する抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１のアゴニスト活性を調べた。簡潔に言えば、凍結カニクイザルＰＢＭＣ（Ｗｏｒｌｄ　Ｗｉｄｅ　Ｐｒｉｍａｔｅｓ）を液体窒素中に保存し、実験当日に解凍した。細胞を細胞培養培地（ＲＰＭＩ＋１０％ＦＢＳ＋２０Ｕ／ｍｌのＩＬ－２）に再懸濁し、プレート結合抗ＣＤ３抗体（０．８μｇ／ｍｌ）及びプレート結合ｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体（０、０．８、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）と共に３７℃及び５％CO_2で４日間インキュベートした。細胞培養上清を回収し、非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を使用して分泌サイトカインを調べた。

【０４９７】

抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１は、複数のカニクイザルのＰＢＭＣにおいてＧＭ－ＣＳＦ（図１５Ａ及び図１５Ｂ）、ＩＬ－１７（図１６Ａ及び図１６Ｂ）、ＴＮＦβ（図１７Ａ及び図１７Ｂ）、ＩＬ－５（図１８Ａ及び図１８Ｂ）、及びＩＬ－１０（図１９Ａ及び図１９Ｂ）の産生を用量依存的に増強した。

【０４９８】

６．２．１０　ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激時に抗ＯＸ４０抗体がカニクイザルＰＢＭＣに及ぼす効果

ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）刺激後に、ｐａｂ１９４９－１がカニクイザルＰＢＭＣを共刺激する能力を更に分析した。凍結カニクイザルＰＢＭＣ（Ｗｏｒｌｄ　Ｗｉｄｅ　Ｐｒｉｍａｔｅｓ）を液体窒素中に保存し、実験当日に解凍した。細胞を細胞培養培地（ＲＰＭＩ＋１０％熱失活ＦＢＳ）に再懸濁し、ＳＥＡ抗原（１００ｎｇ／ｍｌ）並びにｐａｂ１９４９－１又はIgG_1アイソタイプ対照抗体の用量タイトレーション０、０．８、１．６、３．１、６．３、１２．５、２５、又は５０μｇ／ｍｌ）と共に３７℃及び５％CO_2で５日間インキュベートした。活性化後、細胞培養上清を回収し、非ヒト霊長類（ＮＨＰ）Ｖ－Ｐｌｅｘアッセイキット（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を使用して分泌サイトカインを調べた。

【０４９９】

図２０Ａ及び図２０Ｂに示されるとおり、抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１は、２ドナーからのカニクイザルＰＢＭＣにおいてＩＬ－２産生を増加させた。

【０５００】

６．３　実施例３：抗ＯＸ４０抗体のエピトープマッピング

この例では、ｐａｂ１９４９及び参照抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９２８のエピトープをアラニンスキャニングによって分析した。抗体ｐａｂ１９２８は、米国特許出願公開第２０１３／０２８０２７５号明細書（本明細書において参照により援用される）に提供される抗体Ｈｕ１０６－１２２の可変領域に基づき生成した。ｐａｂ１９２８の重鎖はＨｕ１０６－１２２の重鎖可変領域（配列番号５６）及び配列番号６５のヒトＩｇＧ１定常領域のアミノ酸配列を含む。ｐａｂ１９２８の軽鎖はＨｕ１０６－１２２の軽鎖可変領域（配列番号５７）及び配列番号２５の定常領域のアミノ酸配列を含む。従って重鎖は配列番号７２のアミノ酸配列を含み、軽鎖は配列番号５９のアミノ酸配列を含む。

【０５０１】

６．３．１　エピトープマッピング－アラニンスキャニング

ｐａｂ１９４９－１及び参照抗体ｐａｂ１９２８の結合特性をアラニンスキャニングによって評価した。簡潔に言えば、Ａｇｉｌｅｎｔ　ＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓのＱｕｉｋ Ｃｈａｎｇｅ　ＨＴタンパク質エンジニアリングシステム（Ｇ５９０１Ａ）を使用して、細胞外ドメインにアラニン置換を有するヒトＯＸ４０突然変異体を生成した。標準的なト

ランスフェクション技法と、続いて上記に記載したとおりの形質導入を用いて、ヒトＯＸ４０突然変異体を１６２４－５細胞の表面上に発現させた。

【０５０２】

フローサイトメトリーにおけるポリクローナル抗ＯＸ４０抗体への結合から明らかなとおりの、正しく折り畳まれたヒトＯＸ４０突然変異体を発現する細胞について、モノクローナル抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１又はｐａｂ１９２８に結合しなかったヒトＯＸ４０突然変異体を発現する部分集団を更に選択した。非結合細胞集団から、特異的抗体結合を呈した細胞を分取高速ＦＡＣＳ（ＦＡＣＳＡｒｉａＩＩ、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）によって分離した。抗体反応性又は非反応性細胞プールを再び組織培養で拡大し、レトロウイルスによって形質導入した細胞は安定発現表現型のため、明確に検出可能な抗ＯＸ４０抗体（ｐａｂ１９４９－１又はｐａｂ１９２８）非反応性細胞集団が得られる時点まで、抗体特異的細胞選別及び組織培養拡大のサイクルを繰り返した。この抗ＯＸ４０抗体非反応性細胞集団を最終的な単細胞選別ステップに供した。数日間の細胞拡大後、単細胞選別された細胞を、ポリクローナル抗ＯＸ４０抗体への結合及びモノクローナル抗体ｐａｂ１９４９－１又はｐａｂ１９２８への非結合に関してフローサイトメトリーを用いて再び試験した。簡潔に言えば、個々のヒトＯＸ４０アラニン突然変異体を発現する１６２４－５細胞をモノクローナル抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１又はｐａｂ１９２８と共にインキュベートした。各抗体につき２つの抗体濃度を試験した（ｐａｂ１９４９－１：２μｇ／ｍｌ及び０．５μｇ／ｍｌ；ｐａｂ１９２８：１．１μｇ／ｍｌ及び０．４μｇ／ｍｌ）。ＡＰＣにコンジュゲートしたポリクローナル抗ＯＸ４０抗体（ＡＦ３３８８、Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ）を１：２０００で希釈した。Ｆｃ受容体ブロック（１：２００；ＢＤカタログ番号５５３１４２）を加え、これらの試料を４℃で２０分間インキュベートした。洗浄後、検出に必要であれば細胞を二次抗ＩｇＧ抗体と共に（ＰＥコンジュゲート型；ＢＤカタログ番号１０９－１１６－０９７）４℃で２０分間インキュベートした。次に細胞を洗浄し、フローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して捕捉した。

【０５０３】

表現型（ポリクローナル抗ＯＸ４０抗体＋、モノクローナル抗ＯＸ４０抗体－）を遺伝子型と関係付けるため、単細胞選別したヒトＯＸ４０突然変異体のシーケンシングを実施した。図２１は、ポリクローナル抗ＯＸ４０抗体とはなおも結合するが、モノクローナル抗ＯＸ４０抗体ｐａｂ１９４９－１又はｐａｂ１９２８とは結合しないヒトＯＸ４０アラニン突然変異体を示す表である。全ての残基はヒトＯＸ４０の成熟アミノ酸配列（配列番号５５）に従い付番する。「＋」はフローサイトメトリー分析に基づいた結合を示し、「－」は結合の喪失を示す。

【０５０４】

本発明は、本明細書に記載される具体的な実施形態によって範囲が限定されるべきではない。実際、当業者には、前述の説明及び添付の図から、記載されているものに加えて本発明の様々な変形形態が明らかになるであろう。かかる変形形態は、添付の特許請求の範囲内に含まれることが意図される。

【０５０５】

本明細書に引用される参考文献（例えば、刊行物又は特許又は特許出願）は、全て各個別の参考文献（例えば、刊行物又は特許又は特許出願）があらゆる目的のために全体として参照により援用されることが具体的且つ個別的に示されたものとみなすのと同程度に、全体として及びあらゆる目的のために参照により本明細書に援用される。

【０５０６】

他の実施形態が以下の特許請求の範囲内にある。

【図１ＡＢ】

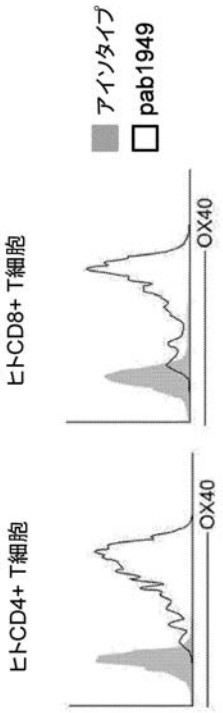


図1A

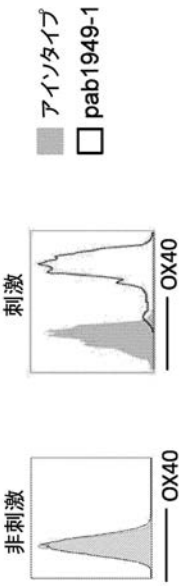


図1B

【図１Ｃ】

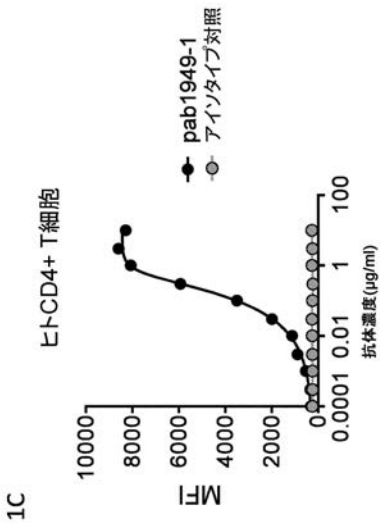


図1C

【図１ＤＥ】

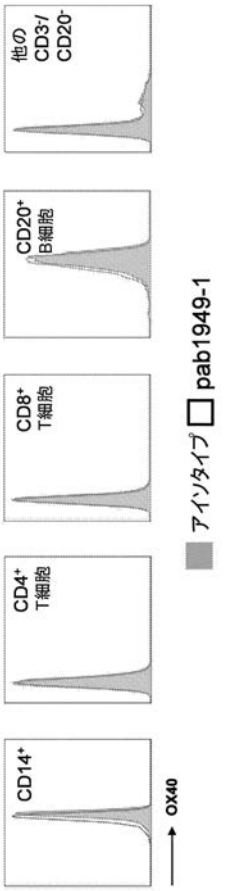


図1D

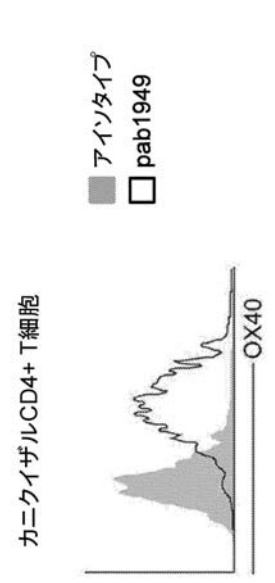


図1E

【図２ＡＢ】

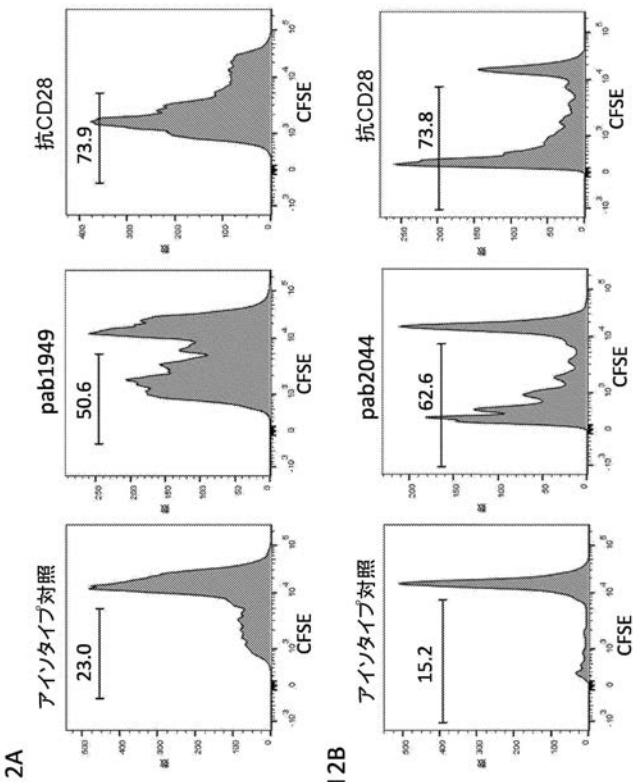


図2A

図2B

【図２Ｃ】

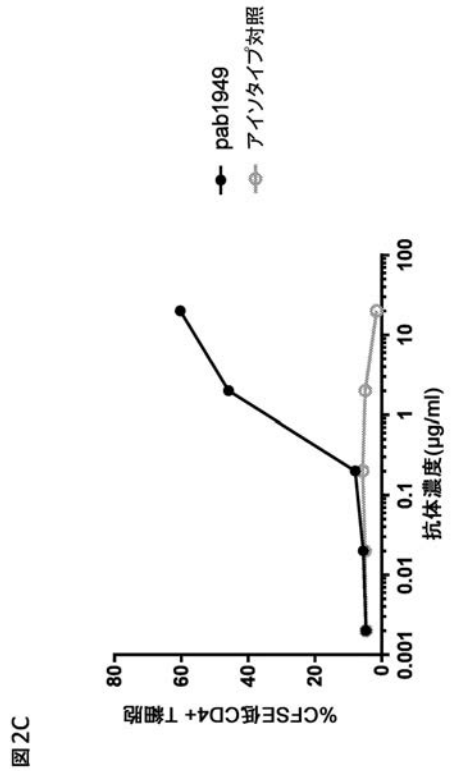
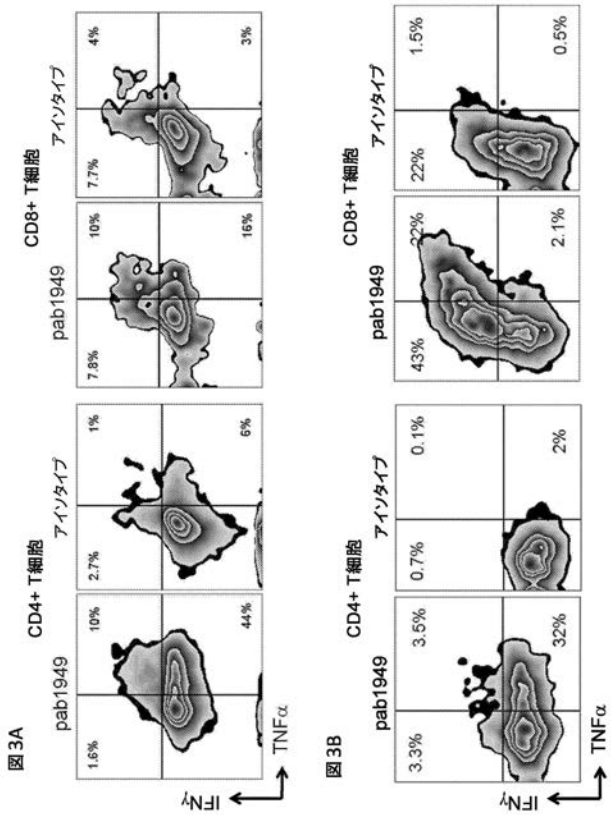
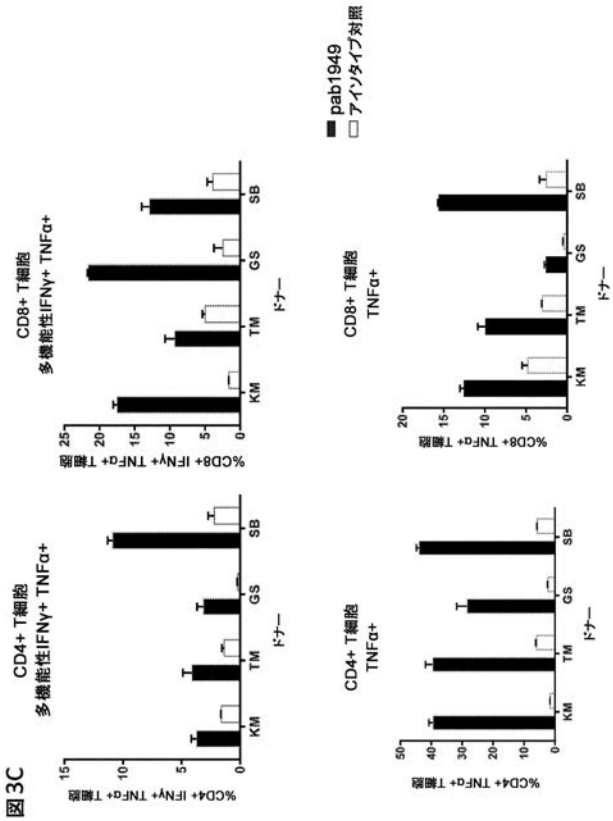


図2C

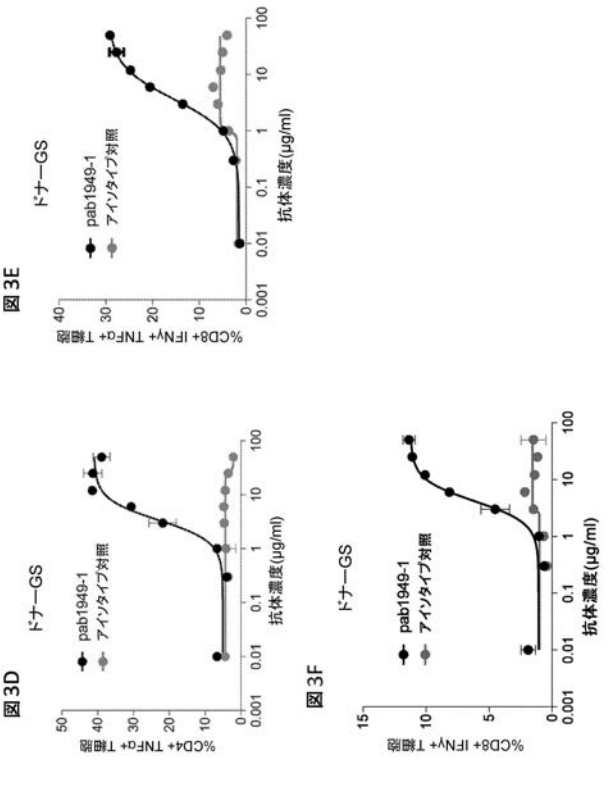
【図３ＡＢ】



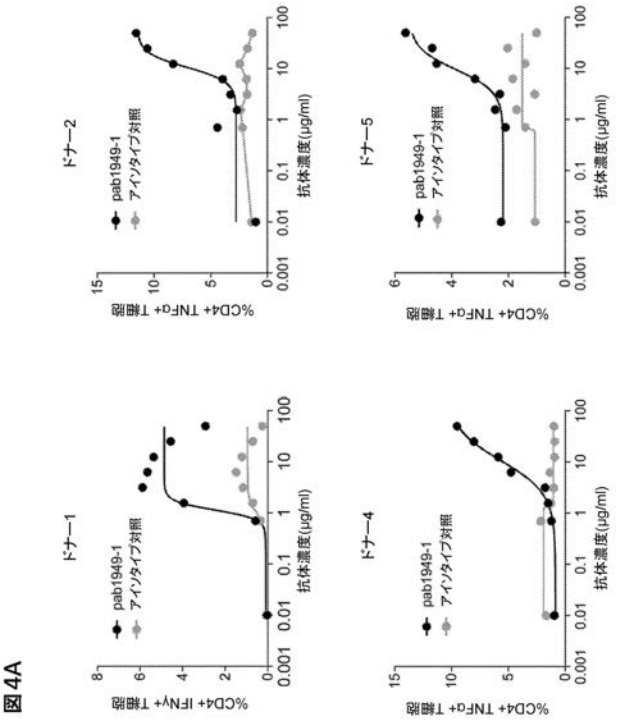
【図３Ｃ】



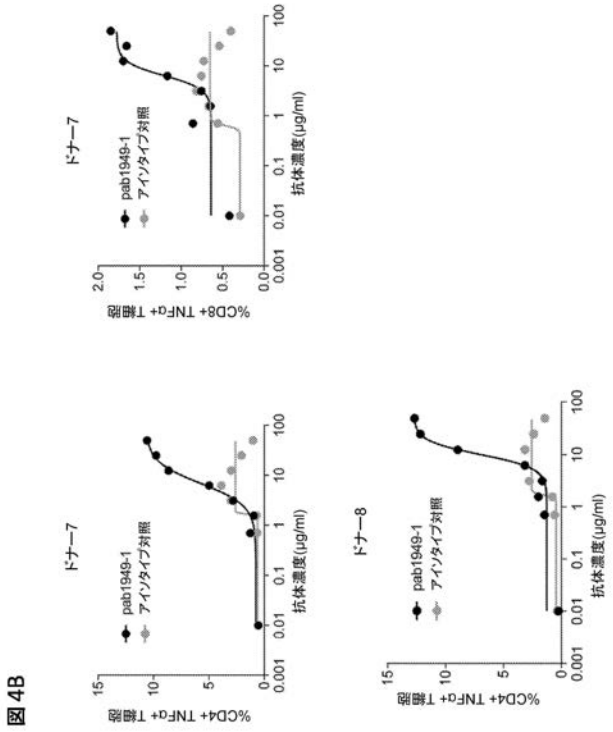
【図３Ｄ－Ｆ】



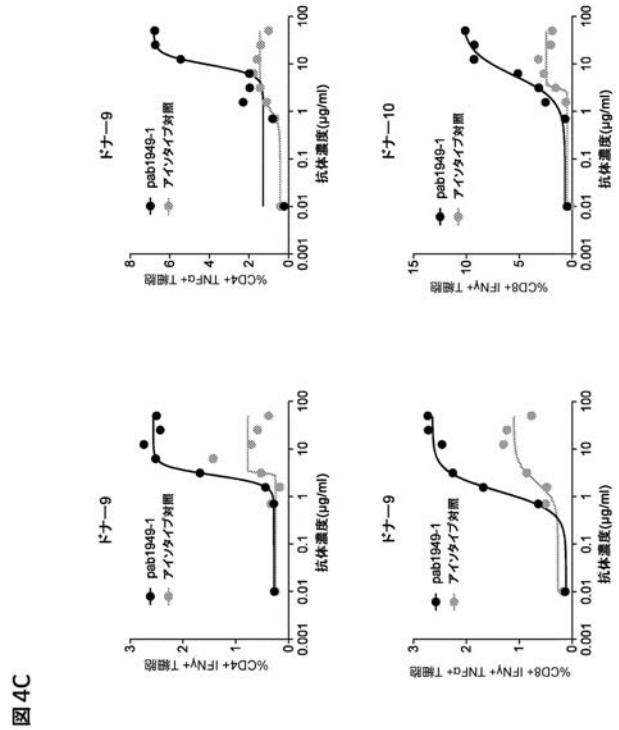
【図４Ａ】



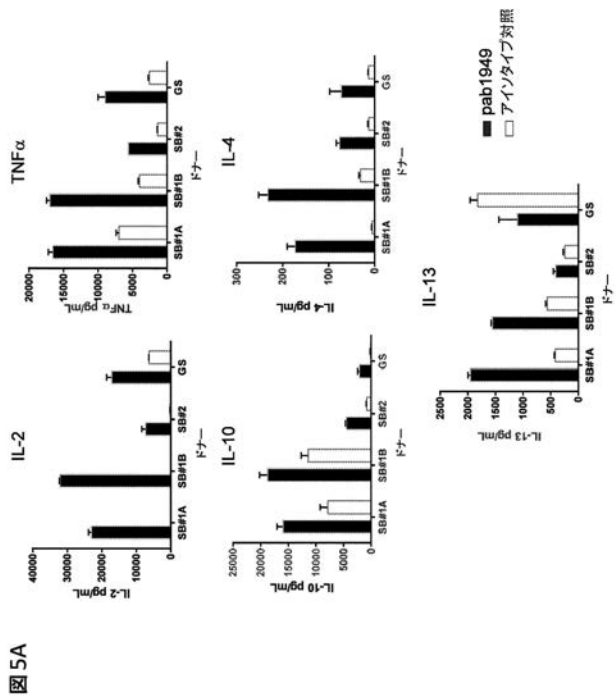
【図４Ｂ】



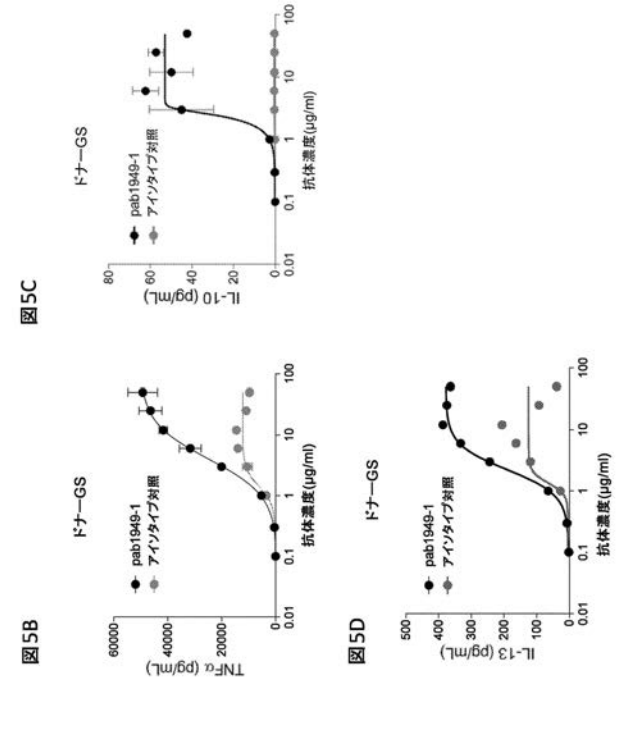
【図４Ｃ】



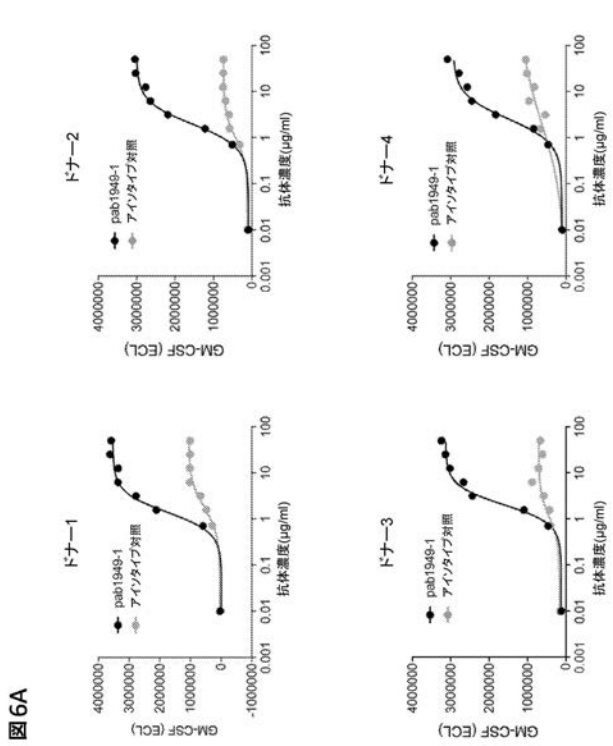
【図５Ａ】



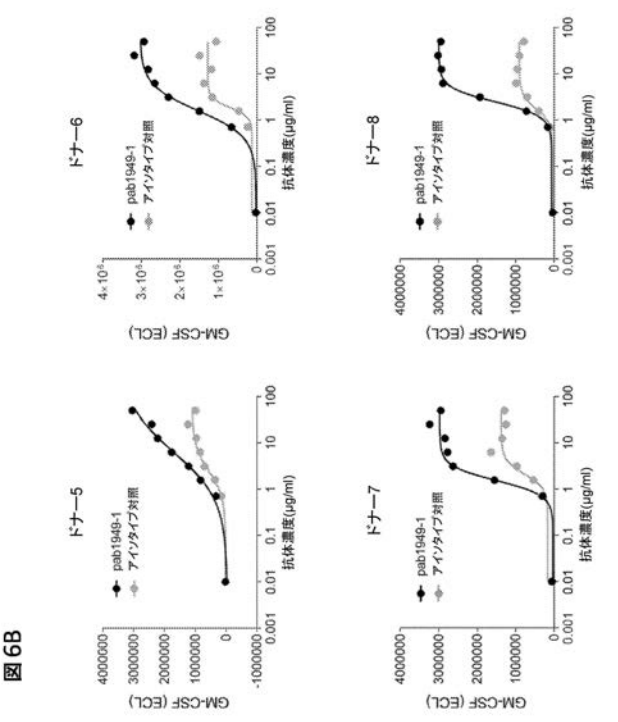
【図５Ｂ－Ｄ】



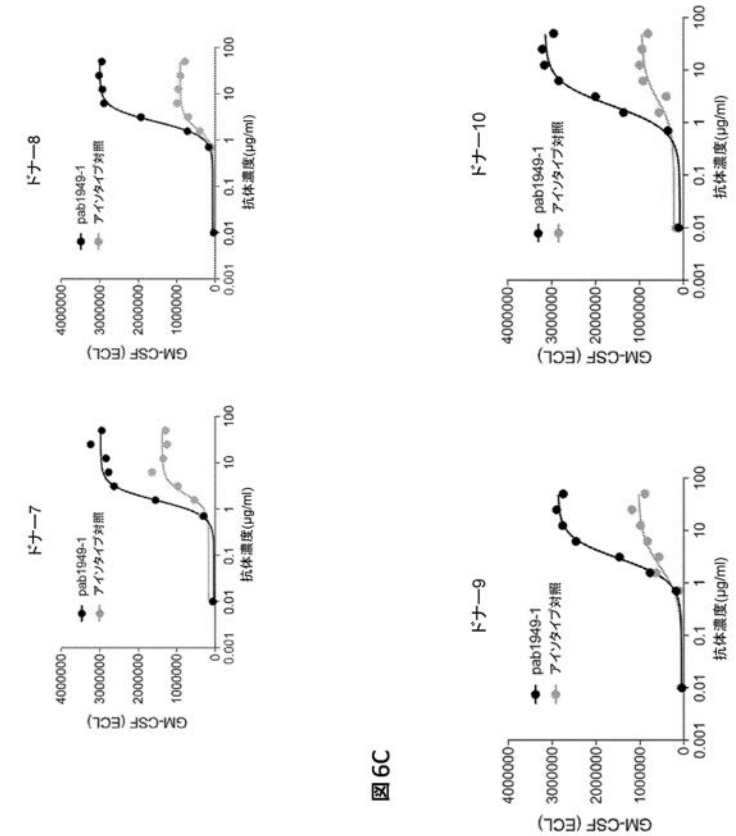
【図６Ａ】



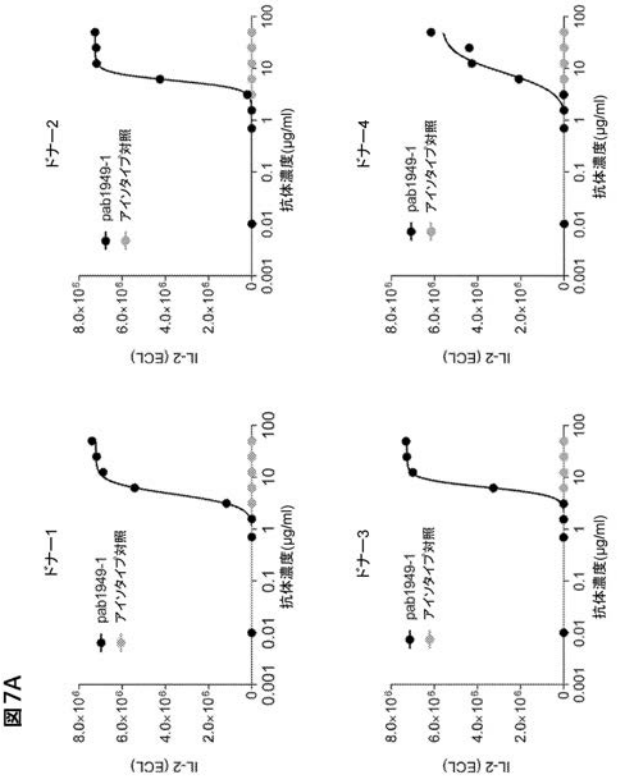
【図６Ｂ】



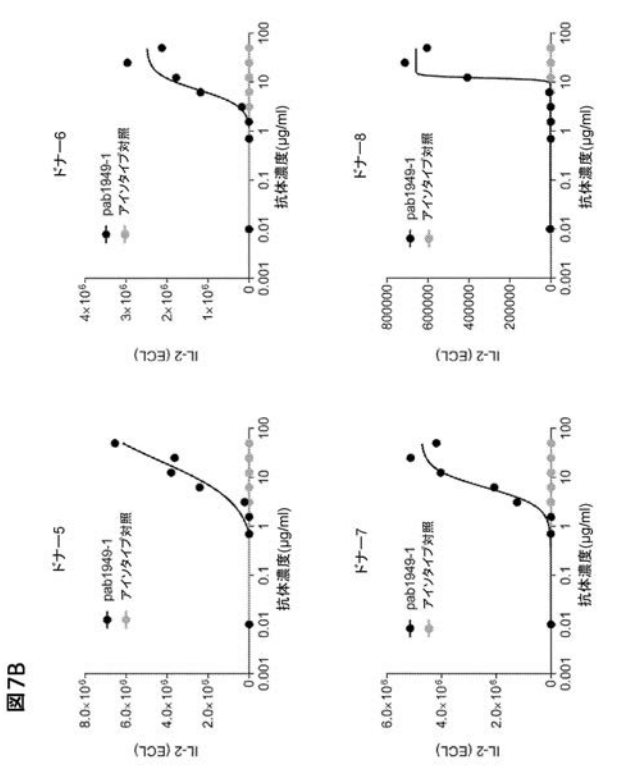
【図６Ｃ】



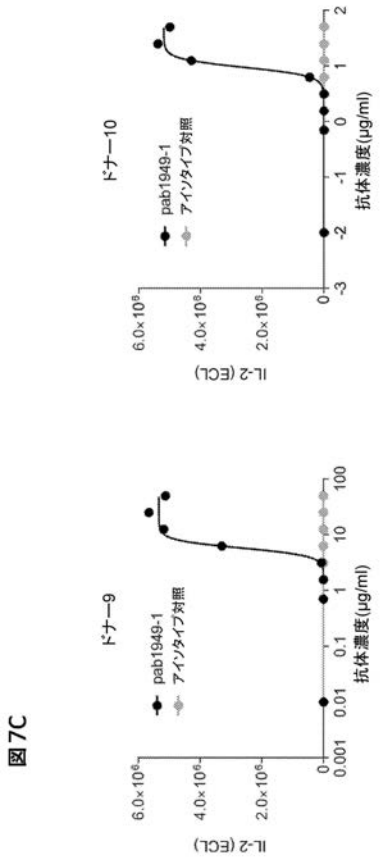
【図７Ａ】



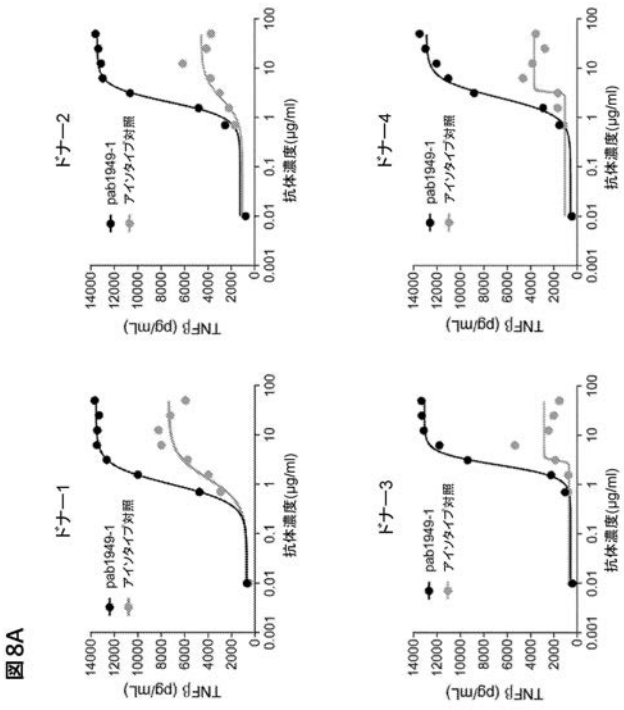
【図７Ｂ】



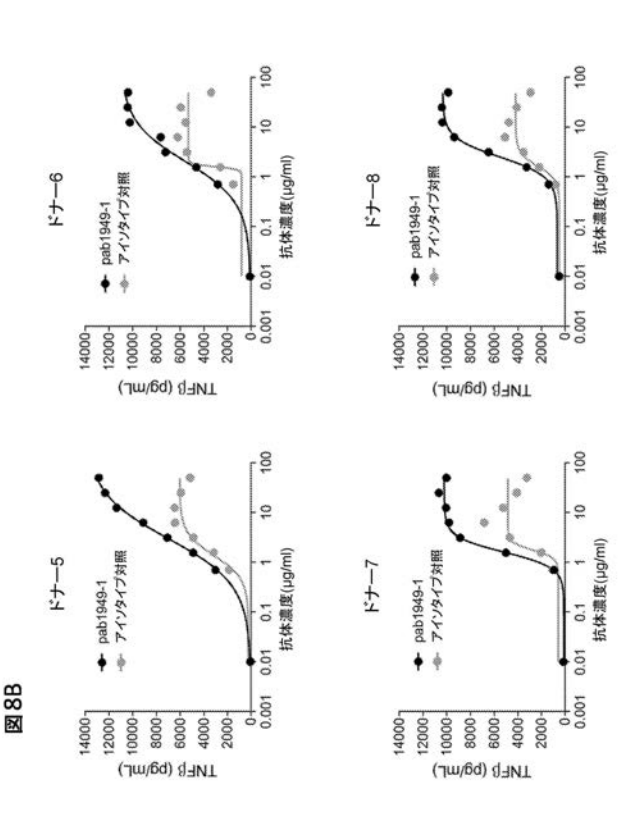
【図７Ｃ】



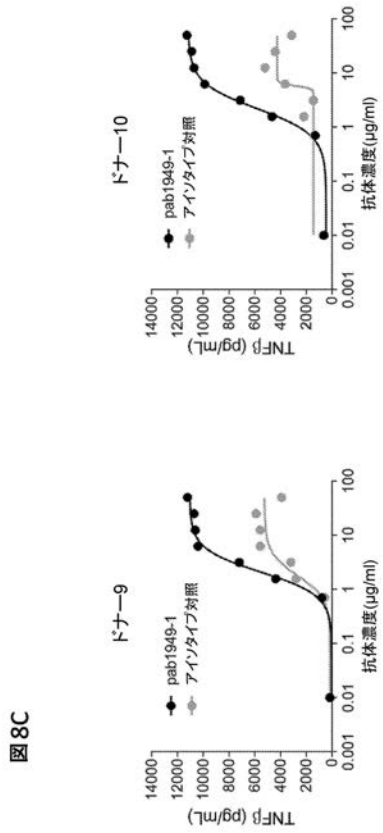
【図８Ａ】



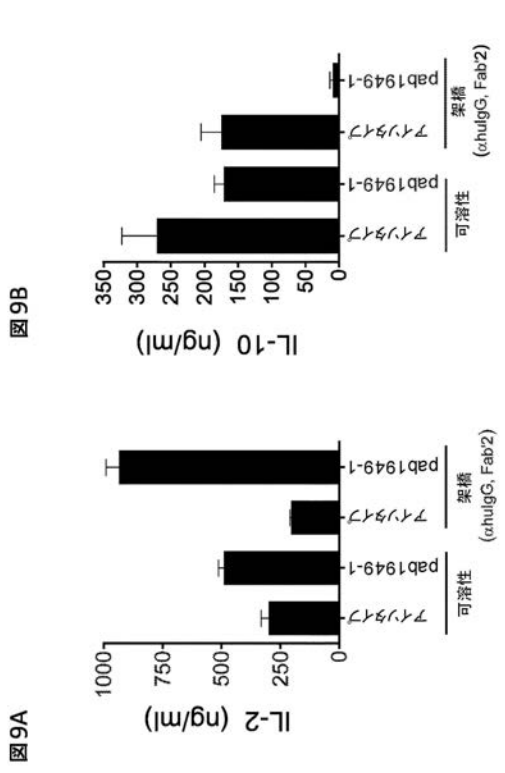
【図８Ｂ】



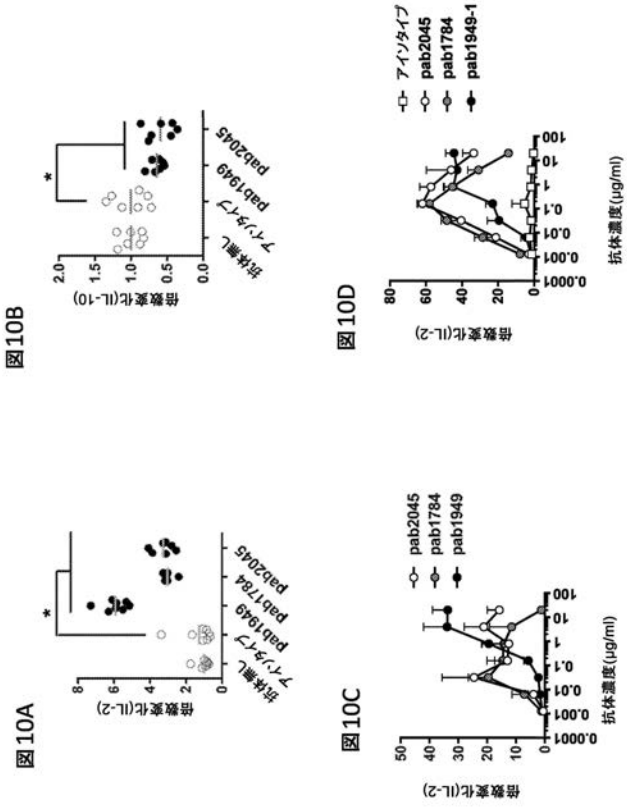
【図８Ｃ】



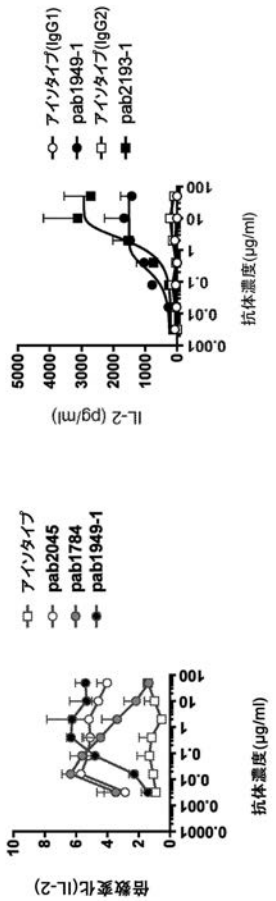
【図９】



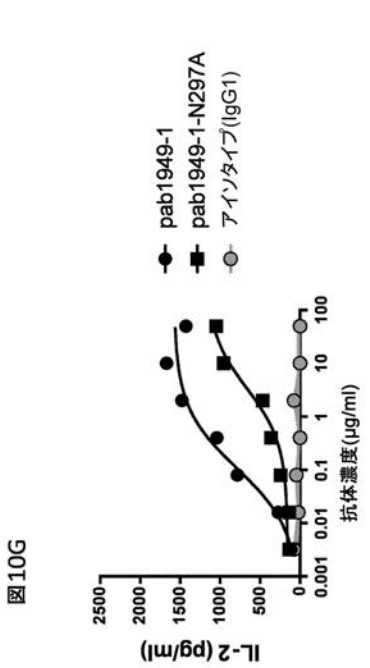
【図１０Ａ－Ｄ】



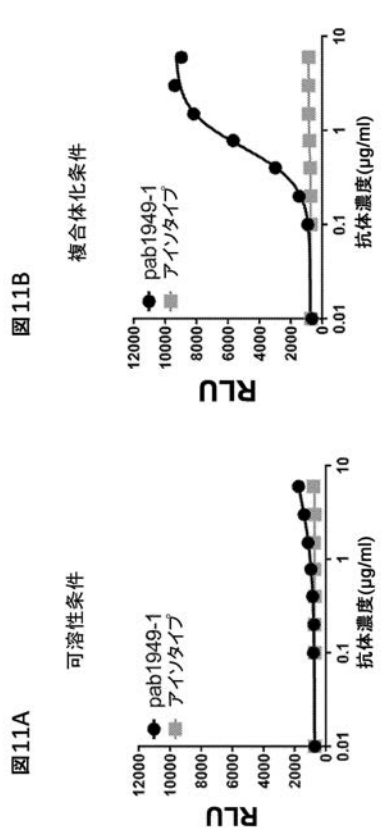
【図１０ＥＦ】



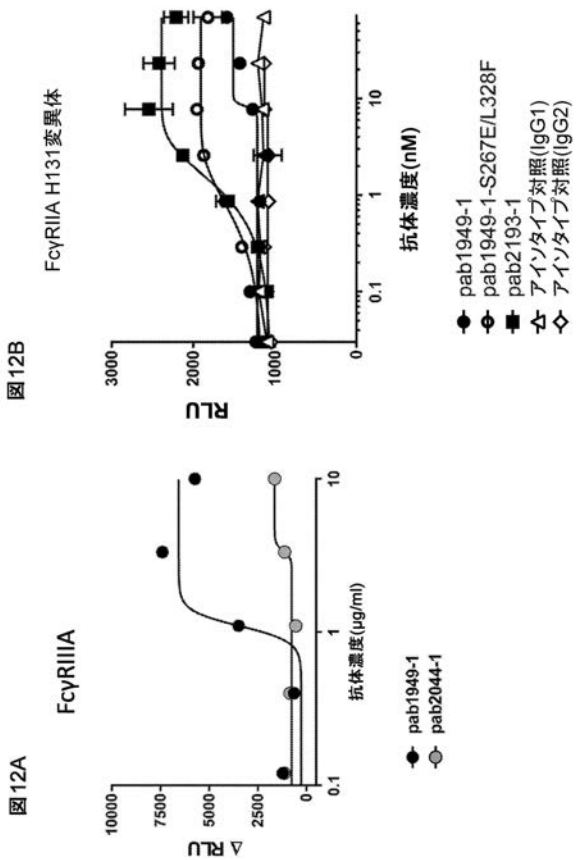
【図１０Ｇ】



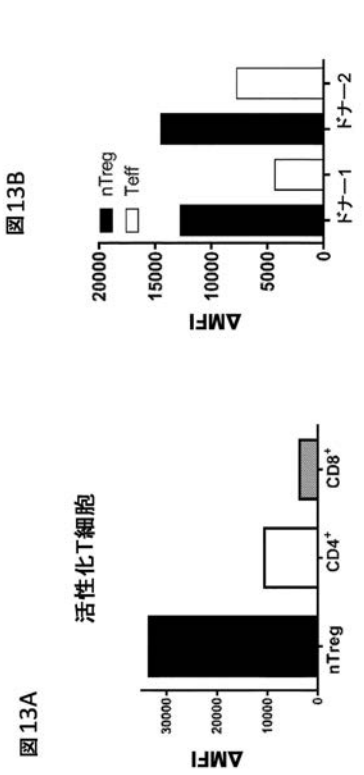
【図１１】



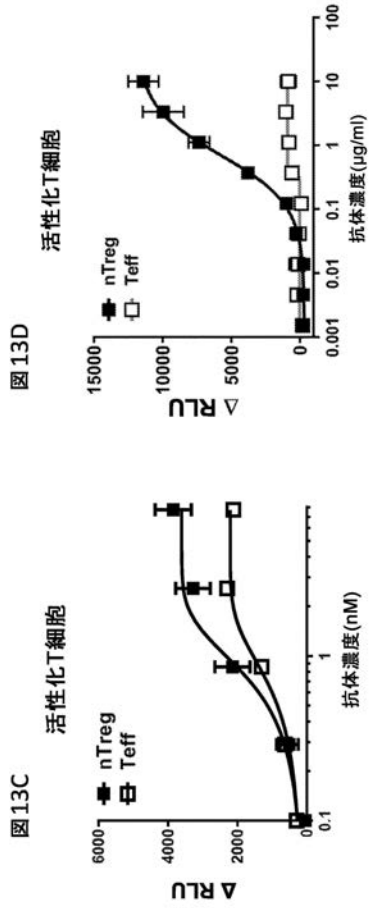
【図１２】



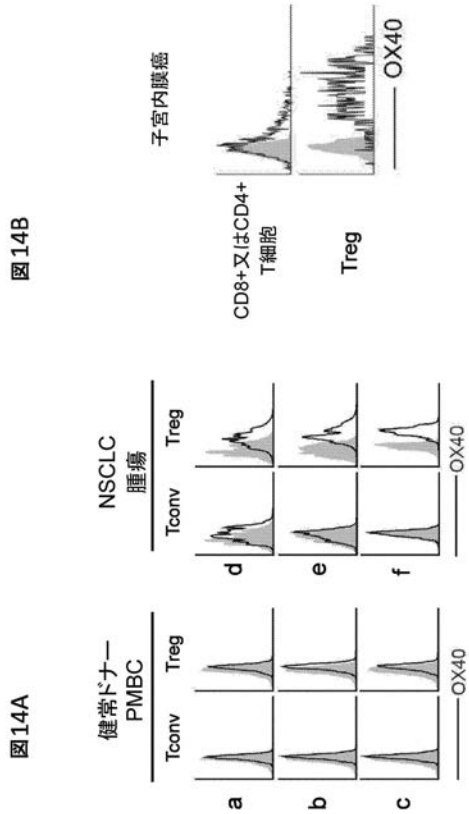
【図１３ＡＢ】



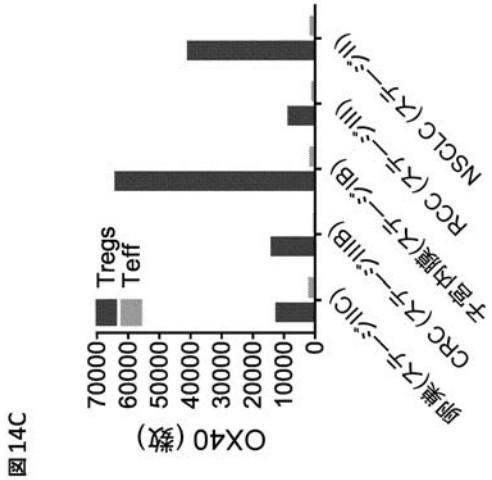
【図１３ＣＤ】



【図１４ＡＢ】



【図１４Ｃ】



【図１４Ｄ】

図14D

適用	試料(n)	$CD4^+$ 細胞	調節性T細胞
NSCLC	4	+/-	+++
子宮内膜	2	+/-	+++
結腸直腸	2	-	+
乳房	2	-	+
卵巣	1	-	++
腎臓	1	-	+

【図１５Ａ】

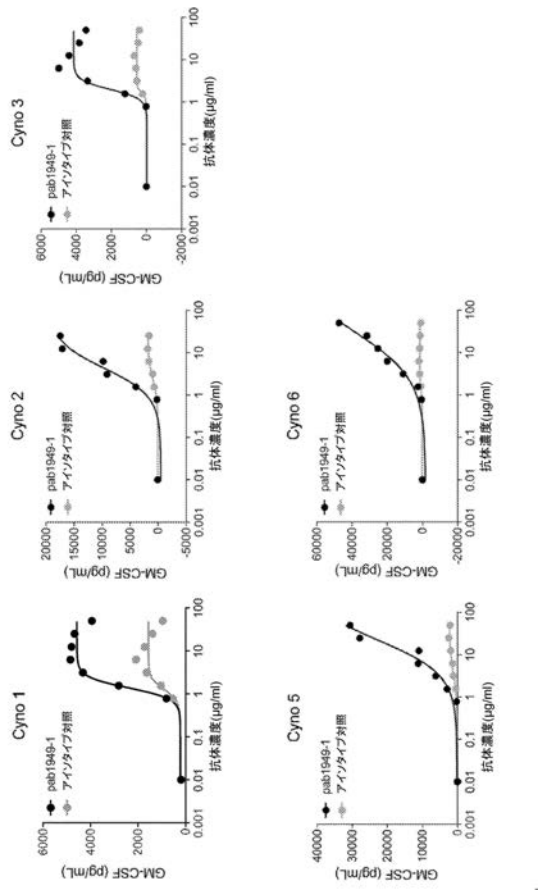


図15A

【図１５Ｂ】

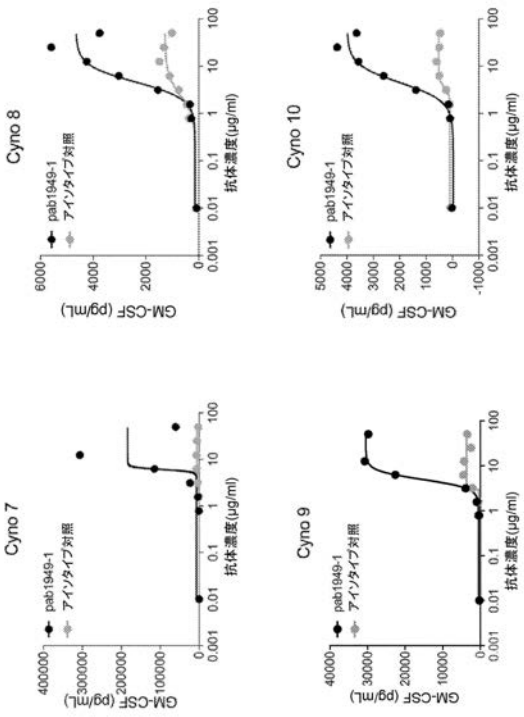


図15B

【図１６Ａ】

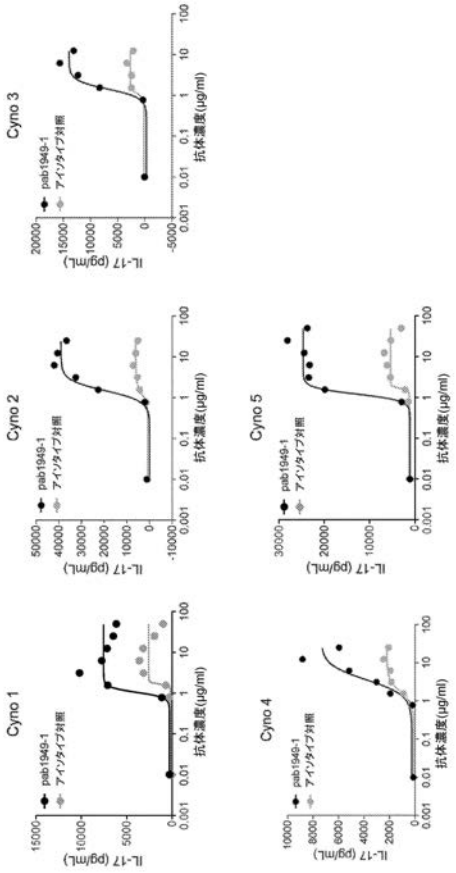
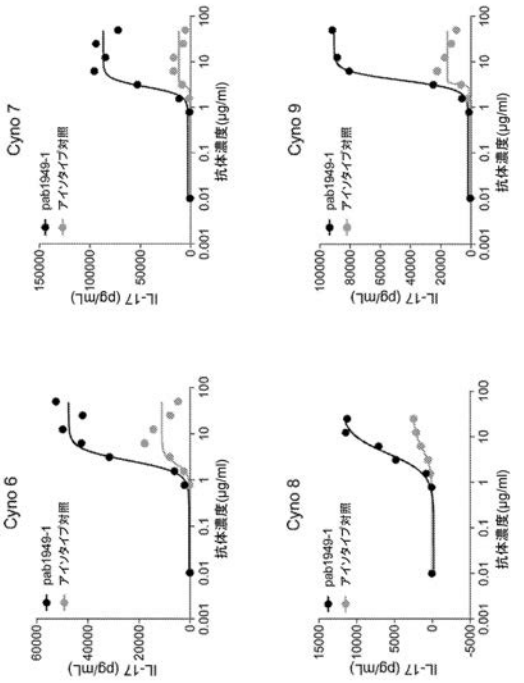


図16A

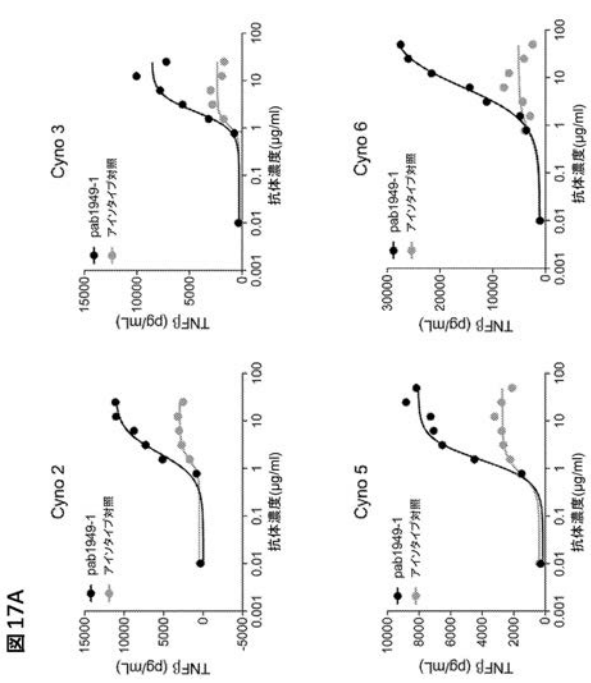
【図１６Ｂ】

図16B



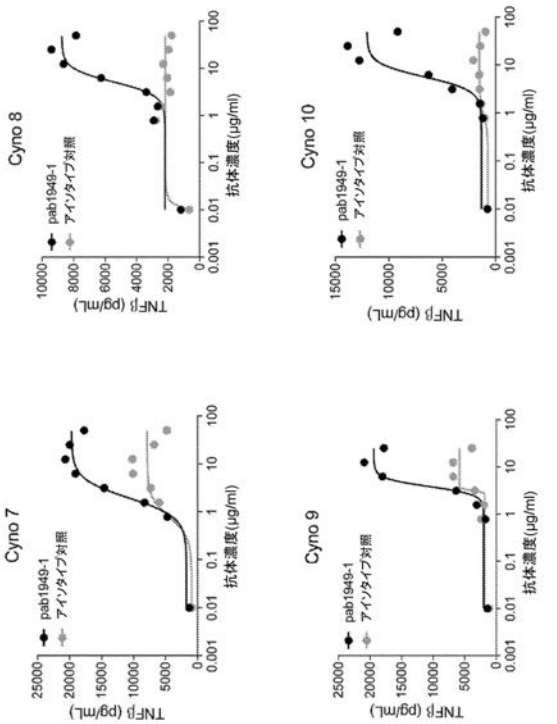
【図１７Ａ】

図17A



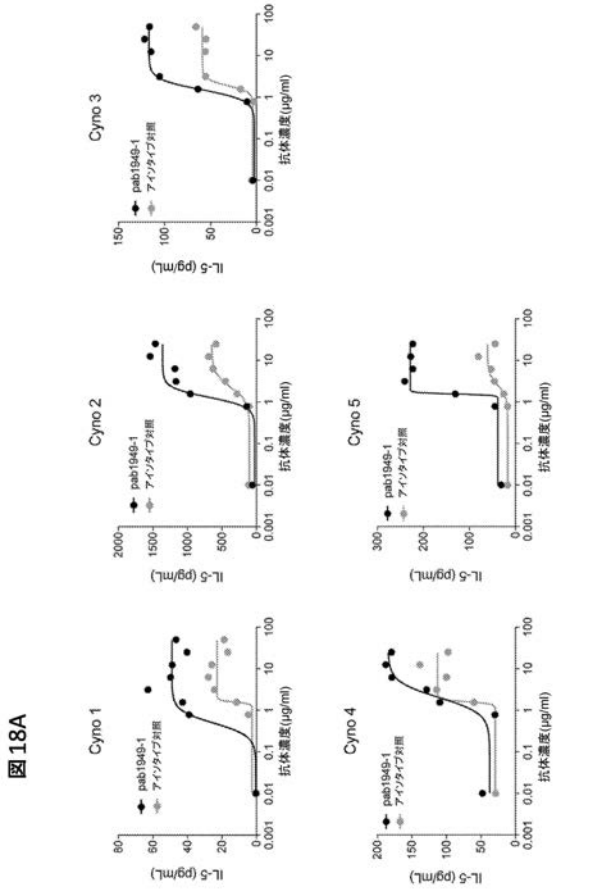
【図１７Ｂ】

図17B

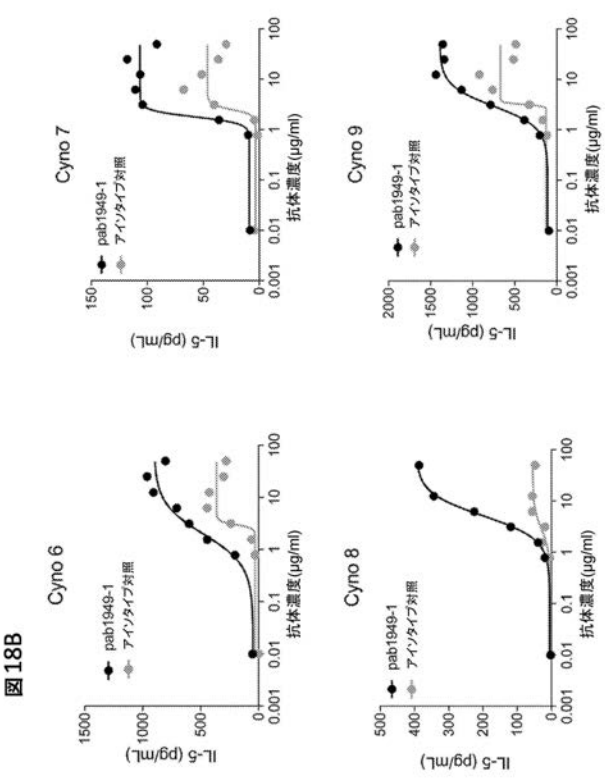


【図１８Ａ】

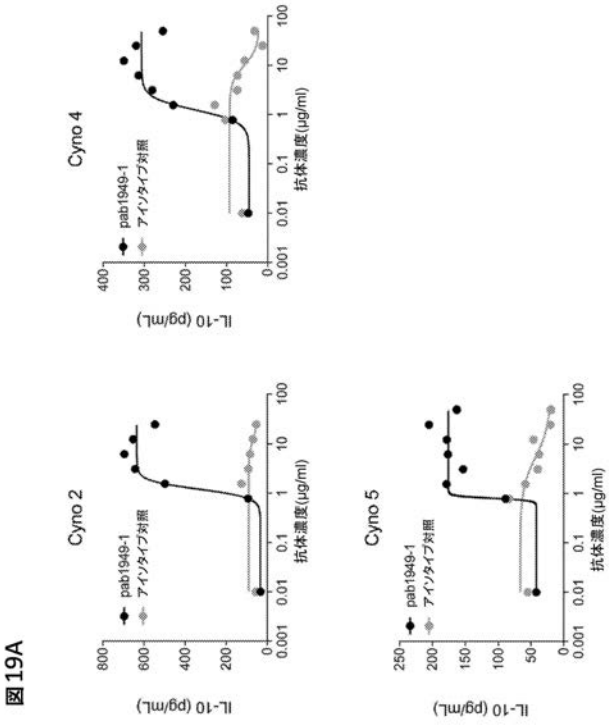
図18A



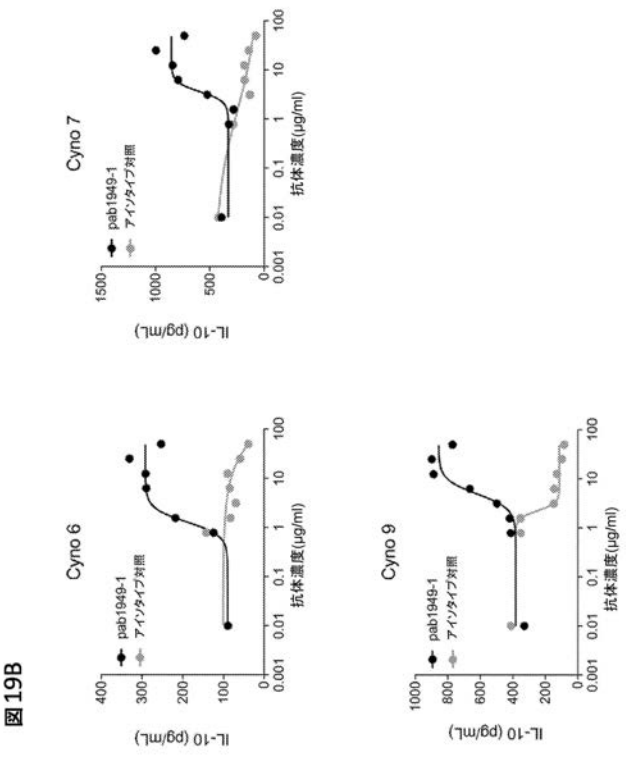
【図１８Ｂ】



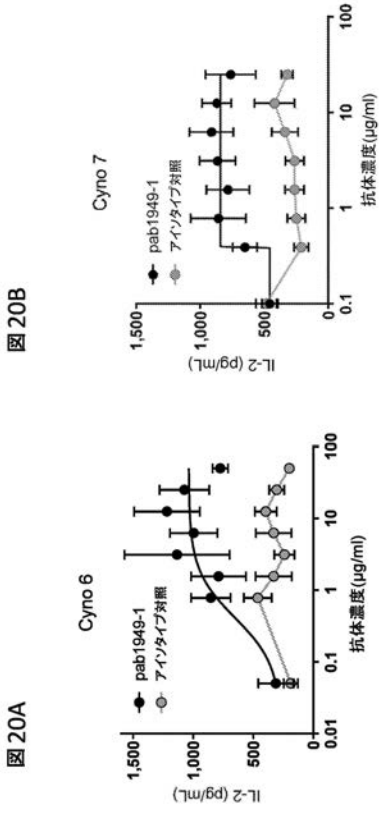
【図１９Ａ】



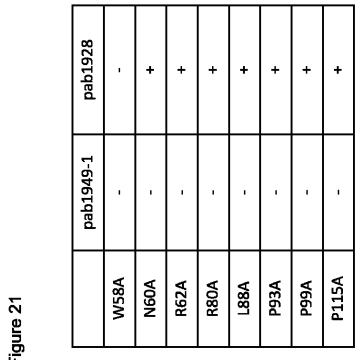
【図１９Ｂ】



【図２０】



【図２１】



	pab1949-1	pab1928
W58A	-	-
N60A	-	+
R62A	-	+
R80A	-	+
L88A	-	+
P93A	-	+
P99A	-	+
P115A	-	+

Figure 21

【配列表】
2018520993000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2016/031257

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/092001 A1 (SYNIMMUNE GMBH [DE]) 27 June 2013 (2013-06-27) the whole document in particular, page 36, 99 and figures 1H-1M -----	84,94
X	WO 2013/068563 A2 (UCB PHARMA SA [BE]) 16 May 2013 (2013-05-16) the whole document in particular, page 3, lines 5-10 -----	84
Y	WO 2014/148895 A1 (BIOCEROX PRODUCTS B V [NL]; JANSSEN PHARMACEUTICALS INC [US]) 25 September 2014 (2014-09-25) the whole document in particular, pages 20, , 27, 28, 33, 34, 42, 43, 45, 53-55, 62-63 and the examples ----- -/--	1-83, 85-93, 95-130

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
7 July 2016	18/07/2016

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Pérez-Mato, Isabel

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2016/031257

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2013/028231 A1 (UNIV TEXAS [US]; LIU YONG-JUN [US]; VOO KUI SHIN [US]; BOVER LAURA [US]) 28 February 2013 (2013-02-28) the whole document in particular, pages 3, 30-31, 59, 42 and the examples	1-83, 85-93, 95-130
Y	WO 2009/079335 A1 (MEDAREX INC [US]; PFIZER [US]; MIN JING [US]; WU YANLI [US]; FINN RORY) 25 June 2009 (2009-06-25) cited in the application the whole document in particular, pages 2, 3, 16, 17, 19-34	1-83, 85-93, 95-130
Y	WO 03/106498 A2 (CRUCELL HOLLAND BV [NL]; BAKKER ALEXANDER BERTHOLD HEND [NL]; MEESTER-) 24 December 2003 (2003-12-24) the whole document in particular, pages 57-59 and 66-82	1-11, 22-25, 37-53, 65,66, 121-130
Y	XIE F ET AL: "Characterization and application of two novel monoclonal antibodies against human OX40: costimulation of T cells and expression on tumor as well as normal gland tissues", TISSUE ANTIGENS, MUNKSGAARD, COPENHAGEN, DK, vol. 67, no. 4, 1 April 2006 (2006-04-01), pages 307-317, XP002525127, ISSN: 0001-2815, DOI: 10.1111/J.1399-0039.2006.00584.X the whole document in particular, pages 313-314	1-35, 67-83, 85-93, 95-119
Y	SILVIA PICONESE ET AL: "OX40 triggering blocks suppression by regulatory T cells and facilitates tumor rejection", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US , vol. 205, no. 4 1 April 2008 (2008-04-01), pages 825-839, XP002719644, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.20071341 Retrieved from the Internet: URL:http://jem.rupress.org/content/205/4/825 [retrieved on 2008-03-24] the whole document in particular, pages 830-831	1-35, 67-83, 85-93, 95-119

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2016/031257

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	K. S. VOO ET AL: "Antibodies Targeting Human OX40 Expand Effector T Cells and Block Inducible and Natural Regulatory T Cell Function", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 191, no. 7, 6 September 2013 (2013-09-06), pages 3641-3650, XP055194259, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.1202752 the whole document in particular, pages 3-8	1-35, 67-83, 85-93, 95-119
Y	B. D. CURTI ET AL: "OX40 Is a Potent Immune-Stimulating Target in Late-Stage Cancer Patients", CANCER RESEARCH, vol. 73, no. 24, 31 October 2013 (2013-10-31), pages 7189-7198, XP055194254, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4174 the whole document in particular, pages 7191-7195	1-35, 67-83, 85-93, 95-119
Y	WEINBERG ANDREW D ET AL: "Anti-OX40 (CD134) administration to nonhuman primates: immunostimulatory effects and toxicokinetic study", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINGS INC, vol. 29, no. 6, 1 November 2006 (2006-11-01), pages 575-585, XP009115398, ISSN: 1524-9557, DOI: 10.1097/01.CJI.0000211319.00031.FC the whole document in particular, pages 578-585	1-35, 67-83, 85-93, 95-119
Y	WO 2012/130831 A1 (ROCHE GLYCART AG [CH]; BAEHNER MONIKA [DE]; JENEWEIN STEFAN [DE]; KUBB) 4 October 2012 (2012-10-04) cited in the application the whole document for instance, page 1	15-17

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2016/031257

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SANDRA LIGHTLE ET AL: "Mutations within a human IgG2 antibody form distinct and homogeneous disulfide isomers but do not affect Fc gamma receptor or C1q binding", PROTEIN SCIENCE, vol. 19, no. 4, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 753-762, XP055072622, ISSN: 0961-8368, DOI: 10.1002/pro.352 the whole document in particular, page 755	18
Y	CORMAC SHERIDAN: "IDO inhibitors move center stage in immuno-oncology", NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 33, no. 4, 7 April 2015 (2015-04-07), pages 321-322, XP055286744, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/nbt0415-321 the whole document in particular, table 1	54-59
Y	STRBO NATASA ET AL: "Secreted heat shock protein gp96-Ig: next-generation vaccines for cancer and infectious diseases", IMMUNOLOGIC RESEARCH, HUMANA PRESS, INC, US, vol. 57, no. 1, 20 November 2013 (2013-11-20), pages 311-325, XP035952374, ISSN: 0257-277X, DOI: 10.1007/S12026-013-8468-X [retrieved on 2013-11-20] the whole document	61,62
Y	JIANLIN GONG ET AL: "A Heat Shock Protein 70-Based Vaccine with Enhanced Immunogenicity for Clinical Use", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 184, no. 1, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 488-496, XP002639947, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/JIMMUNOL.0902255 [retrieved on 2009-11-30] the whole document	63

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2016/031257

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013092001 A1	27-06-2013	CA 2859767 A1	27-06-2013
		CN 104203981 A	10-12-2014
		EP 2794658 A1	29-10-2014
		JP 2015502373 A	22-01-2015
		US 2015119555 A1	30-04-2015
		WO 2013092001 A1	27-06-2013
WO 2013068563 A2	16-05-2013	AR 088820 A1	10-07-2014
		AU 2012333997 A1	29-05-2014
		CA 2855174 A1	16-05-2013
		CL 2014001193 A1	26-12-2014
		CN 103946240 A	23-07-2014
		CO 7010784 A2	31-07-2014
		EA 201400565 A1	30-12-2014
		EP 2776469 A2	17-09-2014
		JP 2015506910 A	05-03-2015
		KR 20140097329 A	06-08-2014
		MA 35724 B1	01-12-2014
		NZ 624583 A	29-05-2015
		PE 19952014 A1	06-12-2014
		SG 11201402093R A	27-06-2014
		TW 201326205 A	01-07-2013
		US 2013243772 A1	19-09-2013
		US 2016031974 A1	04-02-2016
		WO 2013068563 A2	16-05-2013
WO 2014148895 A1	25-09-2014	AU 2014238546 A1	01-10-2015
		CA 2907436 A1	25-09-2014
		CN 105229032 A	06-01-2016
		CR 20150498 A	30-03-2016
		EA 201591495 A1	31-05-2016
		EP 2976361 A1	27-01-2016
		JP 2016515544 A	30-05-2016
		KR 20160006168 A	18-01-2016
		MD 20150102 A2	29-02-2016
		PH 12015502185 A1	25-01-2016
		SG 11201507781V A	29-10-2015
		US 2014377284 A1	25-12-2014
		WO 2014148895 A1	25-09-2014
WO 2013028231 A1	28-02-2013	AU 2012299421 A1	06-03-2014
		AU 2016200435 A1	18-02-2016
		CA 2845810 A1	28-02-2013
		CN 103946238 A	23-07-2014
		EP 2748199 A1	02-07-2014
		JP 2014526898 A	09-10-2014
		KR 20140090976 A	18-07-2014
		TN 2013000076 A1	25-06-2014
		WO 2013028231 A1	28-02-2013
WO 2009079335 A1	25-06-2009	AR 069681 A1	10-02-2010
		AU 2008338591 A1	25-06-2009
		BR PI0820875 A2	16-06-2015
		CA 2707773 A1	25-06-2009
		CN 101918447 A	15-12-2010
		CO 6280541 A2	20-05-2011
		DK 2242771 T3	26-08-2013
		DK 2594590 T3	12-01-2015

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2016/031257

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		EP 2242771 A1	27-10-2010
		EP 2594590 A1	22-05-2013
		EP 2851374 A1	25-03-2015
		ES 2425269 T3	14-10-2013
		ES 2526887 T3	16-01-2015
		HR P20141188 T1	13-03-2015
		IL 206297 A	30-06-2016
		JP 5761997 B2	12-08-2015
		JP 2011505836 A	03-03-2011
		JP 2015110558 A	18-06-2015
		KR 20100102657 A	24-09-2010
		KR 20150061041 A	03-06-2015
		PA 8807601 A1	17-09-2009
		PE 12692009 A1	09-09-2009
		PH 12015500806 A1	02-12-2015
		PT 2242771 E	29-08-2013
		PT 2594590 E	14-01-2015
		RU 2010129045 A	20-01-2012
		SG 186656 A1	30-01-2013
		SI 2242771 T1	30-09-2013
		SI 2594590 T1	31-03-2015
		TW 200932268 A	01-08-2009
		US 2009214560 A1	27-08-2009
		US 2011206681 A1	25-08-2011
		US 2012225086 A1	06-09-2012
		US 2015218279 A1	06-08-2015
		UY 31533 A1	03-08-2009
		WO 2009079335 A1	25-06-2009
WO 03106498 A2	24-12-2003	AU 2003257419 A1	31-12-2003
		CA 2489004 A1	24-12-2003
		DE 60317677 T2	30-10-2008
		EP 1525223 A2	27-04-2005
		ES 2295639 T3	16-04-2008
		NZ 536746 A	23-02-2007
		US 2006281072 A1	14-12-2006
		US 2011123552 A1	26-05-2011
		WO 03106498 A2	24-12-2003
WO 2012130831 A1	04-10-2012	AR 085741 A1	23-10-2013
		AU 2012234335 A1	05-09-2013
		CA 2828289 A1	04-10-2012
		CN 103476795 A	25-12-2013
		EP 2691417 A1	05-02-2014
		JP 5926791 B2	25-05-2016
		JP 2014514287 A	19-06-2014
		KR 20130139342 A	20-12-2013
		KR 20160044598 A	25-04-2016
		NZ 614658 A	31-07-2015
		RU 2013145623 A	10-05-2015
		SG 193554 A1	29-11-2013
		SG 10201602394Q A	30-05-2016
		US 2012251531 A1	04-10-2012
		US 2015239981 A1	27-08-2015
		WO 2012130831 A1	04-10-2012

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/10		4H045
C07K 16/46	*(2006.01)*	C07K	16/46		
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	D	
A61P 37/02	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	107	
A61P 1/00	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P	1/00		
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P 13/08	*(2006.01)*	A61P	13/12		
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61P	13/08		
A61K 39/00	*(2006.01)*	A61K	45/00		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61K	39/00	H	
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	11/06		
A61P 19/02	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61K 31/4245	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61K 31/405	*(2006.01)*	A61K	31/4245		
A61K 31/41	*(2006.01)*	A61K	31/405		
A61K 31/4188	*(2006.01)*	A61K	31/41		
A61K 31/47	*(2006.01)*	A61K	31/4188		
G01N 33/53	*(2006.01)*	A61K	31/47		
G01N 33/531	*(2006.01)*	G01N	33/53	D	
C12N 15/63	*(2006.01)*	G01N	33/531	A	
		C12N	15/63	Z	

(31)優先権主張番号 62/323,458
(32)優先日 平成28年4月15日(2016.4.15)
(33)優先権主張国 米国(US)

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

(71)出願人 500213834
メモリアル スローン ケタリング キャンサー センター
アメリカ合衆国 ニューヨーク １００６５, ニューヨーク, ヨーク アベニュー １２７５
(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　ファン　ダイク，　マルク
オランダ国　３７２２ゼットエイチ　ビルトホーフェン，　ガーイラーン　１６
(72)発明者　ブレオス－ニストロム，　エカテリーナ
スイス国　４０５２　バーゼル，　ヴァルデンブルガーシュトラーセ　１５
(72)発明者　シーベルト，　フォルカー
ドイツ国　７９５３９　レラハ，　トゥムリンガー　ストラッセ　２６１ツェー
(72)発明者　リッター，　ゲルト
アメリカ合衆国　ニューヨーク　１００１７，　ニューヨーク，　サード　アベニュー　６６６，　２８ティーエイチ　フロア
(72)発明者　スカエル，　デイビッド
アメリカ合衆国　ニューヨーク　１０５４３，　ママロネック，　ショア　エイカーズ　ドライブ　７１５
(72)発明者　ヒルシュホルン－サイマーマン，　ダニエル
アメリカ合衆国　ニューヨーク　１００１７，　ニューヨーク，　イースト　４９ティーエイチ　ストリート　２５５，　２７ビー
(72)発明者　メルゴウブ，　タハ
アメリカ合衆国　ニュージャージー　０７３０６，　ジャージー　シティ，　ヒューロン　アベニュー　１０，　アパートメント　１４ケー
(72)発明者　タン，　ハオ
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４２１，　レキシントン，　バトラー　アベニュー　１０
(72)発明者　サヴィツキー，　デイビッド　エー.
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０１９２１，　ボックスフォード，　サンライズ　ロード　２８
(72)発明者　ワイト，　ジェレミー
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１４９，　エバリット，　チャールトン　ストリート　２５，　アパートメント　４０３
(72)発明者　ウィルソン，　ニコラス　エス.
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１４４，　サマービル，　エレクトリック　アベニュー　６８，　アパートメント　１

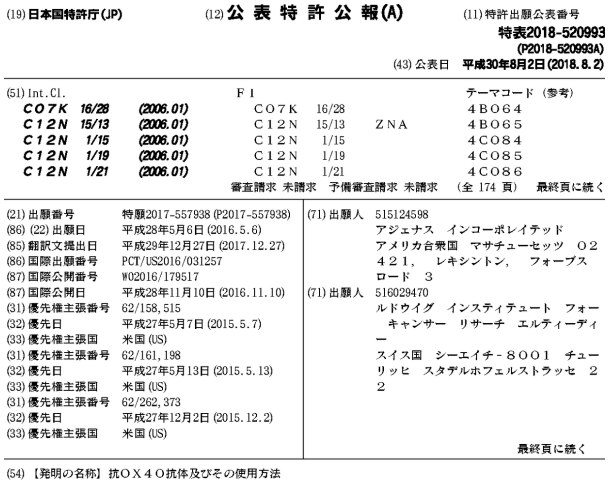
Ｆターム(参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01
4B065 AA01X AA26X AA41X AA50X AA57X AA72X AA88X AA90X AA90Y AB01
AC14 BA02 CA25 CA44 CA46
4C084 AA19 NA05 ZB261 ZB262 ZC202
4C085 AA03 AA13 BB11
4C086 AA01 AA02 BC13 BC28 BC71 CB03 MA02 MA04 NA05 ZB26
4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74 GA26

专利名称(译)	抗OX40抗体及其使用方法		
公开(公告)号	JP2018520993A	公开(公告)日	2018-08-02
申请号	JP2017557938	申请日	2016-05-06
[标]申请(专利权)人(译)	一个公司杰纳斯 世界テュートフォーキャンサーリサーチエルティーディー晶须注册葡萄酒 纪念斯隆-凯特琳癌症中心		
申请(专利权)人(译)	Ajenasu公司 Rudouigu癌症研究所厄尔尼诺迪茶		
[标]发明人	ファンダイクマルク ブレオスニストロムエカテリーナ シーベルトフォルカー リッターゲルト スカエルデイビッド ヒルシュホルンサイマーマンダニエル メルゴウブタハ タンハオ サヴィツキーデイビッドエー ワイトジェレミー ウィルソンニコラスエス		
发明人	ファン ダイク, マルク ブレオス-ニストロム, エカテリーナ シーベルト, フォルカー リッター, ゲルト スカエル, デイビッド ヒルシュホルン-サイマーマン, ダニエル メルゴウブ, タハ タン, ハオ サヴィツキー, デイビッド エー. ワイト, ジェレミー ウィルソン, ニコラス エス.		
IPC分类号	C07K16/28 C12N15/13 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/46 C12P21/08 A61K39/395 A61P37/02 A61P43/00 A61P35/00 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/12 A61P13/08 A61K45/00 A61K39/00 A61P37/06 A61P11/06 A61P29/00 A61P19/02 A61P1/04 A61P17/00 A61K31/4245 A61K31/405 A61K31/41 A61K31/4188 A61K31/47 G01N33/53 G01N33/531 C12N15/63		
CPC分类号	A61P1/00 A61P1/04 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/08 A61P13/12 A61P17/00 A61P19/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P43/00 C07K16/2875 C07K2317/21 C07K2317/33 C07K2317/34 C07K2317/41 C07K2317/524 C07K2317/70 C07K2317/71 C07K2317/74 C07K2317/75 C07K2317/92 A61K31/4245 A61K39/3955 A61K45/06 A61K2039/505 C07K16/2878 C07K2317/565 G01N33/6863 G01N2333/70578 C07K2317/51 C07K2317/515 C07K2317/56		
FI分类号	C07K16/28 C12N15/13.ZNA C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/46 C12P21/08 A61K39/395.D A61K39/395.N A61P37/02 A61P43/00.107 A61P35/00 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/12 A61P13/08 A61K45/00 A61K39/00.H A61P37/06 A61P11/06 A61P29/00.101 A61P19/02 A61P1/04 A61P17/00 A61K31/4245 A61K31/405 A61K31/41 A61K31/4188 A61K31/47 G01N33/53.D G01N33/531.A C12N15/63.Z		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA01X 4B065/AA26X 4B065/AA41X 4B065/AA50X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA88X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01		

	4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA19 4C084/NA05 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZC202 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/BB11 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC13 4C086/BC28 4C086/BC71 4C086/CB03 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA26
代理人(译)	夏木森下
优先权	62/158515 2015-05-07 US 62/161198 2015-05-13 US 62/262373 2015-12-02 US 62/323458 2016-04-15 US
其他公开文献	JP2018520993A5
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本公开提供了特异性结合人OX40受体（OX40）的抗体和包含此类抗体的组合物。在一个具体实施方案中，抗体特异性结合人OX40并调节OX40活性，例如，增强，激活或诱导OX40活性，或降低OX40活性。或者灭活或抑制。本公开还通过特异性结合人OX40和调节OX40活性来描述诸如癌症的病症，例如通过施用增强，激活或诱导OX40活性的抗体。还提供了治疗方法。此外，通过施用特异性结合人OX40并调节OX40活性的抗体，例如减少，失活或抑制OX40活性，自身免疫或炎性疾病。或者还提供了治疗疾病的方法。



(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2018-520993
(P2018-520993A)
(43)公表日　平成30年8月2日(2018.8.2)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4B064
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA	4B065
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C084
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C085
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4C086

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 174 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2017-557938 (P2017-557938)
(86)(22)出願日	平成28年5月6日 (2016.5.6)
(85)翻訳文提出日	平成29年12月27日 (2017.12.27)
(86)国際出願番号	PCT/US2016/031257
(87)国際公開番号	WO2016/179517
(87)国際公開日	平成28年11月10日 (2016.11.10)
(31)優先権主張番号	62/158,515
(32)優先日	平成27年5月7日 (2015.5.7)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	62/161,198
(32)優先日	平成27年5月13日 (2015.5.13)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	62/262,373
(32)優先日	平成27年12月2日 (2015.12.2)
(33)優先権主張国	米国 (US)

(71)出願人　515124598
アジェナス　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４２１，　レキシントン，　フォーブスロード　３
(71)出願人　516029470
ルドウイグ　インスティテュート　フォー　キャンサー　リサーチ　エルティーディー
スイス国　シーエイチ－８００１　チューリッヒ　スタデルホフェルストラッセ　２２

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗ＯＸ４０抗体及びその使用方法