

(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2017-534260

(P2017-534260A)

(43) 公表日 平成29年11月24日(2017.11.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 ZNAA	4B064
C07K 16/28 (2006.01)	C07K 16/28	4B065
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4C076
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	4C084
C12N 1/21 (2006.01)	C12N 1/21	4C085
審査請求 有 予備審査請求 未請求		(全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-514697 (P2017-514697)
 (86) (22) 出願日 平成27年9月16日 (2015. 9. 16)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年5月12日 (2017. 5. 12)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/050365
 (87) 国際公開番号 W02016/044383
 (87) 国際公開日 平成28年3月24日 (2016. 3. 24)
 (31) 優先権主張番号 62/051, 650
 (32) 優先日 平成26年9月17日 (2014. 9. 17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508285606
 ザ ユナイテッド ステイツ オブ アメ
 リカ, アズ リプレゼンテッド バイ
 ザ セクレタリー, デパートメント オ
 ブ ヘルス アンド ヒューマン サービ
 シーズ
 アメリカ合衆国, メリーランド 2089
 2-7660, ベセスダ, エグゼクティ
 ブ ブールバード 6011, スイート
 325, エムエスシー 7660

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗CD276抗体 (B7H3)

(57) 【要約】

CD276に特異的に結合してそれを免疫学的に認識するポリペプチドおよびタンパク質が開示されている。前記ポリペプチドおよびタンパク質に関連する、キメラ抗原受容体 (CAR)、抗CD276結合性部分、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、医薬組成物、およびコンジュゲートも開示されている。哺乳動物において (a) がんまたは (b) 腫瘍血管系の存在を検出する方法および哺乳動物において (a) がんを治療もしくはは予防するかまたは (b) 腫瘍血管系を低減する方法も開示されている。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 配列番号 1 ~ 6、(i i) 配列番号 1 1 ~ 1 6、または(i i i) 配列番号 2 0 ~ 2 5 を含むポリペプチド。

【請求項 2】

(i) 配列番号 7 および 8、(i i) 配列番号 1 7 および 1 8、または(i i i) 配列番号 2 6 および 2 7 を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

(i) 配列番号 1 ~ 3、(i i) 配列番号 1 1 ~ 1 3、または(i i i) 配列番号 2 0 ~ 2 2 を含む第 1 のポリペプチド鎖および(i) 配列番号 4 ~ 6、(i i) 配列番号 1 4 ~ 1 6、または(i i i) 配列番号 2 3 ~ 2 5 を含む第 2 のポリペプチド鎖を含むタンパク質。

10

【請求項 4】

配列番号 7、1 7、または 2 6 を含む第 1 のポリペプチド鎖および配列番号 8、1 8、または 2 7 を含む第 2 のポリペプチド鎖を含む、請求項 3 に記載のタンパク質。

【請求項 5】

リンカーをさらに含む、請求項 1 もしくは 2 に記載のポリペプチドまたは請求項 3 もしくは 4 に記載のタンパク質。

【請求項 6】

前記リンカーが配列番号 9 または 1 0 を含む、請求項 5 に記載のポリペプチドまたはタンパク質。

20

【請求項 7】

請求項 1 から 2 および 5 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたは請求項 3 から 6 のいずれか一項に記載のタンパク質を含む抗 C D 2 7 6 結合性部分であって、前記抗 C D 2 7 6 結合性部分は、抗体、F a b 断片(F a b)、F (a b ')₂ 断片、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、単鎖可変領域断片(s c F v)、またはジスルフィドで安定化された可変領域断片(d s F v)である、抗 C D 2 7 6 結合性部分。

【請求項 8】

(b) エフェクター分子にコンジュゲートされている、(a) 請求項 1 から 2 および 5 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 3 から 6 のいずれか一項に記載のタンパク質、または請求項 7 に記載の抗 C D 2 7 6 結合性部分を含む、コンジュゲート。

30

【請求項 9】

前記エフェクター分子がピロロベンゾジアゼピン(P B D) 二量体である、請求項 8 に記載のコンジュゲート。

【請求項 10】

前記エフェクター分子が、薬物、毒素、標識、小分子、または抗体である、請求項 8 に記載のコンジュゲート。

【請求項 11】

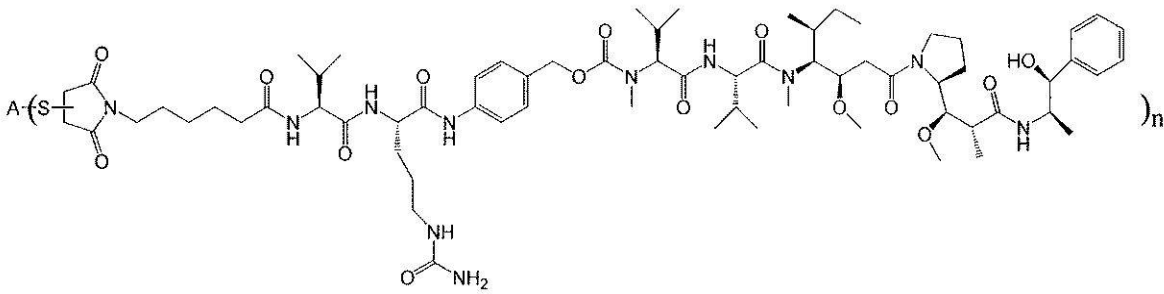
前記エフェクター分子がモノメチルアウリスタチン E (M M A E) である、請求項 8 に記載のコンジュゲート。

40

【請求項 12】

以下：

【化 9】



を含む、請求項 8 に記載のコンジュゲートであって、式中、

n は、偶数の整数であり、

A は、配列番号 26 および 27 のアミノ酸配列を含む抗 CD276 結合性部分である、
コンジュゲート。

【請求項 13】

(a) が次世代部位特異的コンジュゲーションにより (b) にコンジュゲートされている、請求項 8 から 12 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 14】

請求項 1 から 2 および 5 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 3 から 6 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 7 に記載の抗 CD276 結合性部分、または請求項 8 に記載のコンジュゲートをコードするヌクレオチド配列を含む核酸。

【請求項 15】

(i) 配列番号 53 および 54、(ii) 配列番号 55 および 56、または (iii) 配列番号 57 および 58 を含むヌクレオチド配列を含む、請求項 14 に記載の核酸。

【請求項 16】

請求項 14 または 15 に記載の核酸を含む組換え発現ベクター。

【請求項 17】

請求項 16 に記載の組換え発現ベクターを含む単離された宿主細胞。

【請求項 18】

請求項 17 に記載の少なくとも 1 つの宿主細胞を含む細胞の集団。

【請求項 19】

請求項 1 から 2 および 5 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 3 から 6 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 7 に記載の抗 CD276 結合性部分、請求項 8 から 13 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 14 または 15 に記載の核酸、請求項 16 に記載の組換え発現ベクター、請求項 17 に記載の単離された宿主細胞、または請求項 18 に記載の細胞の集団、および薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項 20】

(a) ががんを治療もしくは予防するかまたは (b) 腫瘍血管系を低減するためのキットであって、前記キットは、請求項 1 から 2 および 5 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 3 から 6 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 7 に記載の抗 CD276 結合性部分、請求項 8 から 13 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 14 または 15 に記載の核酸、請求項 16 に記載の組換え発現ベクター、請求項 17 に記載の単離された宿主細胞、請求項 18 に記載の細胞の集団、または請求項 19 に記載の医薬組成物を含む、キット。

【請求項 21】

前記キットが、以下：

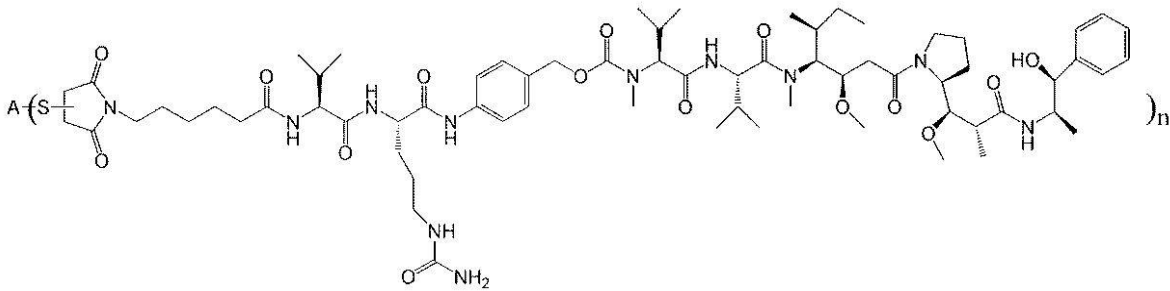
10

20

30

40

【化 1 0】



を含むコンジュゲートを含み、式中、

n は、偶数の整数であり、

A は、配列番号 2 6 および 2 7 のアミノ酸配列を含む抗 C D 2 7 6 結合性部分である、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 2】

哺乳動物において (a) がんまたは (b) 腫瘍血管系の存在を検出する方法であって、前記方法は、以下：

(a) 前記哺乳動物に由来する 1 つまたは複数の細胞を含む試料を、請求項 1 から 2 および 5 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 3 から 6 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 7 に記載の抗 C D 2 7 6 結合性部分、請求項 8 から 1 3 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 1 4 または 1 5 に記載の核酸、請求項 1 6 に記載の組換え発現ベクター、請求項 1 7 に記載の単離された宿主細胞、請求項 1 8 に記載の細胞の集団、または請求項 1 9 に記載の医薬組成物と接触させることにより、複合体を形成するステップ、および

(b) 前記複合体を検出するステップ

を含み、前記複合体の検出が前記哺乳動物における (a) がんまたは (b) 腫瘍血管系の存在を示す、方法。

【請求項 2 3】

哺乳動物において (a) がんを治療もしくは予防するかまたは (b) 腫瘍血管系を低減するのに使用するための、請求項 1 から 2 および 5 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 3 から 6 のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項 7 に記載の抗 C D 2 7 6 結合性部分、請求項 8 から 1 3 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 1 4 または 1 5 に記載の核酸、請求項 1 6 に記載の組換え発現ベクター、請求項 1 7 に記載の単離された宿主細胞、請求項 1 8 に記載の細胞の集団、または請求項 1 8 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願への相互参照

この特許出願は、2 0 1 4 年 9 月 1 7 日に提出された米国仮特許出願第 6 2 / 0 5 1 , 6 5 0 号 (これは、その全体が参考として本明細書に援用される) の利益を主張する。

電子的に提出された資料の参照による組み込み

本出願と同時に提出され、2 0 1 5 年 9 月 1 6 日付の「7 2 1 4 8 2 _ S T 2 5 . t x t」と名付けられ、1 つの 3 6 , 2 8 6 B y t e A S C I I (T e x t) ファイルとして特定された、コンピューターで読取り可能なヌクレオチド / アミノ酸配列表はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0 0 0 2】

がんは公衆衛生上の問題である。化学療法のような治療の進歩にも関わらず、固形腫瘍を含めて多くのがんに対する予後は不良であることがある。約 5 5 9 , 6 5 0 人のアメリカ人ががんのために死亡していると見積もられており、これは 1 日当たり 1 , 5 0 0 人が

10

20

30

40

50

死亡していることになる (Jemalら、CA Cancer J. Clin.、57巻：43～66頁(2007年))。したがって、がん、特に固形腫瘍のための別の治療に対して満たされていない要求がある。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】Jemalら、CA Cancer J. Clin. (2007年) 57巻：43～66頁

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

10

【0004】

本発明のある実施形態は、(i)配列番号1～6、(ii)配列番号11～16、または(iii)配列番号20～25を含むポリペプチドを提供する。

【0005】

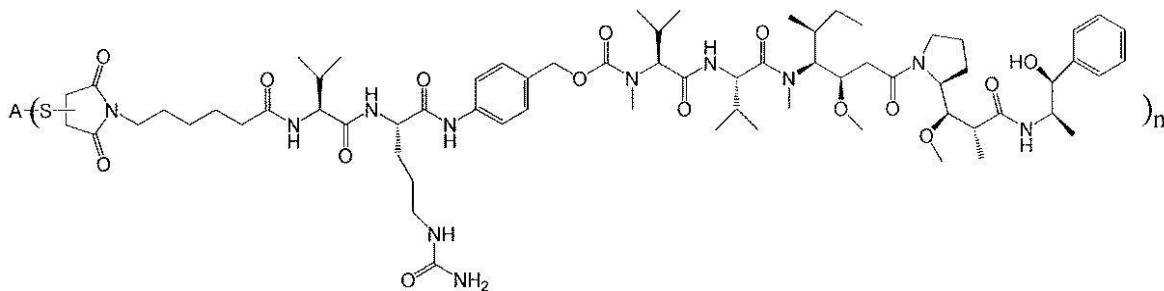
本発明の別の実施形態は、(i)配列番号1～3、(ii)配列番号11～13、または(iii)配列番号20～22を含む第1のポリペプチド鎖および(i)配列番号4～6、(ii)配列番号14～16、または(iii)配列番号23～25を含む第2のポリペプチド鎖を含むタンパク質を提供する。

【0006】

本発明の別の実施形態は、

20

【化1】



30

(式中、

nは、偶数の整数であり、

Aは、配列番号26および27のアミノ酸配列を含む抗CD276結合性部分である)を含むコンジュゲートを提供する。

【0007】

本発明のさらなる実施形態は、本発明のポリペプチドおよびタンパク質に関する関連の抗CD276結合性部分、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、コンジュゲート、キット、および医薬組成物を提供する。

【0008】

本発明の追加の実施形態は、哺乳動物において(a)がんもしくは(b)腫瘍血管系の存在を検出する方法、および哺乳動物においてがんを治療もしくは予防し、または(b)腫瘍血管系を低減する方法を提供する。

40

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】図1Aは、以下の通り、示されている希釈度でヒトCD276と共にインキュベートされた(1)クローンm852(配列番号7を含む重鎖および配列番号8を含む軽鎖を含む)(四角)、(2)m857(配列番号17を含む重鎖および配列番号18を含む軽鎖を含む)(「x」)、および(3)m8524(m276)(配列番号26を含む重鎖および配列番号27を含む軽鎖を含む)(丸)のような重鎖および軽鎖アミノ酸配列を含むscFv-Fc融合タンパク質に対するELISA結合アッセイにおいて測定された450nmでの光学密度(OD)読み取りを示すグラフである。図1Bは、以下の通り、

50

示されている希釈度でマウスCD276と共にインキュベートされた(1)クローンm852(配列番号7を含む重鎖および配列番号8を含む軽鎖を含む)(灰色の四角)、(2)m857(配列番号17を含む重鎖および配列番号18を含む軽鎖を含む)(黒い四角)、および(3)m8524(m276)(配列番号26を含む重鎖および配列番号27を含む軽鎖を含む)(丸)のような重鎖および軽鎖アミノ酸配列を含むscFv-Fc融合タンパク質に対するELISA結合アッセイにおいて測定された450nmでのOD読み取りを示すグラフである。

【0010】

【図2】図2は、表面プラズモン共鳴により $KD = 4.9 \times 10^{-11}$ Mで測定された、クローンm8524(m276)(配列番号26を含む重鎖および配列番号27を含む軽鎖を含む)のヒトCD276に対する結合親和性(応答、(RU))を経時的に(秒、(s))示すグラフである。この図は、生のデータに対応する線およびフィッティングを行ってKDを計算したときにソフトウェアにより作成された線の両方がほとんど同じであることを示している。

10

【0011】

【図3】図3は、HCT116ヒト結腸細胞の接種後様々な時点(日)で野生型(WT)(ひし形)およびCD276ノックアウト(KO)(四角)マウスにおいて測定された腫瘍の体積(mm^3)を示すグラフである。

【0012】

【図4】図4は、フローサイトメトリーにより測定されたカウント数を示すグラフであり、形質導入されてない(CHO)またはマウスCD276(CHO-msCD276)もしくはヒトCD276(CHO-huCD276)を発現するように形質導入されたチャイニーズハムスター卵巣細胞に対する抗CD276 scFv-Fc(m8524)(配列番号26および27)の結合のレベルを示している。

20

【0013】

【図5】図5は、フローサイトメトリーにより測定されたカウント数を示すグラフであり、形質導入されてない(293)(陰影をつけたピーク)かまたはヒトCD276(293/CD276)(陰影をつけてないピーク)を発現するように形質導入されたヒト胎児腎臓(HEK)細胞に対するFITC標識されたヒト抗CD276抗体m8524 IgG1の結合のレベルを示している。

30

【0014】

【図6】図6Aおよび6Bは、ラミニン(図6A)またはFITC標識されたヒト抗CD276抗体(m8524)(図6B)で染色されたMC38結腸がん腫瘍担持マウスの正常肝臓/腫瘍辺縁の試料の写真画像である。N = 正常肝臓、T = 腫瘍。

【0015】

【図7】図7は、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)(白いひし形)、m276(m8524)(白三角)、m825(無関係の対照抗体)-抗体薬物コンジュゲート(ADC)(白丸)またはm8524-ADC(白四角)で処理された293細胞ならびに様々な濃度(nM)のMMAEおよびモノクローナル抗体(mAb)またはADCのMMAE(黒いひし形)、m8524(黒三角)、m825-ADC(黒丸)またはm8524-ADC(黒四角)で処理された、CD276(293/CD276)で形質導入された293細胞の細胞生存率(対照に対する%)を示すグラフである。

40

【0016】

【図8】図8および9は、対照(ビヒクル)(ひし形)、m8524(M276)単独(30mg/kg(mpk))(丸)または様々な投与量(1mpk(四角)、3mpk(三角)、10mpk(x)または30mpk(*))のm8524(m276)-MMAE-ADCで治療されたHCT-116腫瘍担持マウスにおける投与から約15日後まで(図8)および約75日後まで(図9)の様々な時点(日)での腫瘍体積(mm^3)を示すグラフである。図8では、組成物は1、4、7、および11日目に投与した。

【0017】

50

【図9】図8および9は、対照（ビヒクル）（ひし形）、m8524（M276）単独（30mg/kg（mpk））（丸）または様々な投与量（1mpk（四角）、3mpk（三角）、10mpk（x）または30mpk（*））のm8524（m276）-MMAE ADCで治療されたHCT-116腫瘍担持マウスにおける投与から約15日後まで（図8）および約75日後まで（図9）の様々な時点（日）での腫瘍体積（mm³）を示すグラフである。図8では、組成物は1、4、7、および11日目に投与した。

【0018】

【図10】図10および11は、対照（ビヒクル）（ひし形）、m8524（M276）単独（10mg/kg（mpk））（*）、または様々な投与量（1mpk（四角）、3mpk（三角）、または10mpk（x））のm8524（m276）-MMAE ADCで治療された腫瘍担持マウスにおける投与後の様々な時点（日）でのHT-29（図10）またはKM12（図11）の腫瘍体積（mm³）を示すグラフである。

10

【図11】図10および11は、対照（ビヒクル）（ひし形）、m8524（M276）単独（10mg/kg（mpk））（*）、または様々な投与量（1mpk（四角）、3mpk（三角）、または10mpk（x））のm8524（m276）-MMAE ADCで治療された腫瘍担持マウスにおける投与後の様々な時点（日）でのHT-29（図10）またはKM12（図11）の腫瘍体積（mm³）を示すグラフである。

【0019】

【図12】図12は、対照（ビヒクル）（ひし形）、m8524（M276）単独（10mg/kg（mpk））（*）、MMAE単独（0.2mpk）（丸）、または様々な投与量（1mpk（四角）、3mpk（三角）、または10mpk（x））のm8524（m276）-MMAE ADCで治療されたOVCAR3腫瘍担持マウスにおける投与後の様々な時点（日）での腫瘍体積（mm³）を示すグラフである。図12では、組成物は1、4、8、および11日目に投与した。

20

【0020】

【図13】図13は、様々な濃度（nM）のm8524-MMAE ADCで処理されたHCT116（ひし形）、HT29（白丸）、KM12（四角）およびOVCAR3（黒丸）がん細胞株の細胞生存率（対照に対する%）を示すグラフである。

【0021】

【図14】図14は、対照（ビヒクル）（四角）またはm8524（m276）-PBD ADC（三角）で治療されたMC38腫瘍担持マウスにおけるMC38細胞接種後の様々な時点（日）での腫瘍体積（mm³）を示すグラフである。

30

【0022】

【図15】図15は、対照（ビヒクル）（ひし形）、m8524（M276）単独（10mg/kg（mpk））（*）、MMAE単独（0.2mpk）（丸）、または様々な投与量（1mpk（四角）、3mpk（三角）、または10mpk（x））のm8524（m276）-MMAE ADCで治療されたOVCAR3腫瘍担持マウスにおける投与後の様々な時点（日）での腫瘍体積（mm³）を示すグラフである。

【0023】

【図16】図16は、対照（ビヒクル）（ひし形）、m8524（M276）単独（10mg/kg（mpk））（*）、または1mpk（四角）もしくは10mpk（x）の投与量のm8524（m276）-MMAE ADCで治療されたMDA-MB231腫瘍担持マウスにおける投与後の様々な時点（日）での腫瘍体積（mm³）を示すグラフである。

40

【発明を実施するための形態】

【0024】

本発明のある実施形態は、抗CD276抗体の抗原結合ドメインを含むポリペプチドおよびタンパク質を提供する。これらのポリペプチドおよびタンパク質は、有利なことにCD276（B7-H3としても公知である）を特異的に認識し、それに高い親和性で結合する。これらのポリペプチドおよびタンパク質は、有利なことに可溶性のCD276を特

50

異的に認識しそれに結合し、また細胞表面に発現されたCD276を特異的に認識しそれに結合する。CD276は小児固形腫瘍および成人癌を含めて多様なヒト腫瘍で発現または過剰に発現する。CD276を発現または過剰に発現するがんの例としては、限定されることはないが、神経芽細胞腫、ユーング肉腫、横紋筋肉腫、ならびに前立腺、卵巣、結腸直腸、および肺がんがある。CD276はまた腫瘍血管系でも発現され、腫瘍内皮マーカーである。特定の理論または機序に縛られることはないが、CD276を特異的に認識しそれに結合することによって、本発明のポリペプチドおよびタンパク質は、有利なことに、CD276を発現するがん細胞および/または腫瘍血管系を標的化することができると考えられる。本発明のある実施形態では、本発明のポリペプチドおよびタンパク質はCD276に対する抗原特異的応答を引き出すことができる。したがって、特定の理論または機序に縛られることはないが、CD276を特異的に認識しそれに結合することによって、本発明のタンパク質およびポリペプチドは、以下：CD276を発現するがん細胞および/または腫瘍血管系を検出する、CD276を発現するがん細胞および/または腫瘍血管系を標的化し破壊する、がん細胞および/または腫瘍血管系を低減または排除する、免疫細胞および/またはエフェクター分子の腫瘍部位および/または腫瘍血管系への浸潤を容易にする、および抗がんおよび/または抗腫瘍血管系応答を増進/拡大することの1つまたは複数を提供することができると考えられる。

10

20

30

40

50

【0025】

本明細書で使用される場合、用語「ポリペプチド」はオリゴペプチドを含み、1つまたは複数のペプチド結合で連結されたアミノ酸の単鎖を指す。ポリペプチドは抗CD276抗体の抗原結合ドメインの1つまたは複数の可変領域（例えば、2つの可変領域）を含み得、各可変領域は相補性決定領域（CDR）1、CDR2、およびCDR3を含む。好ましくは、第1の可変領域は、配列番号1、11、または20のアミノ酸配列を含むCDR1（第1の可変領域のCDR1）、配列番号2、12、または21のアミノ酸配列を含むCDR2（第1の可変領域のCDR2）、および配列番号3、13、または22のアミノ酸配列を含むCDR3（第1の可変領域のCDR3）を含み、第2の可変領域は、配列番号4、14、または23のアミノ酸配列を含むCDR1（第2の可変領域のCDR1）、配列番号5、15、または24のアミノ酸配列を含むCDR2（第2の可変領域のCDR2）、および配列番号6、16、または25のアミノ酸配列を含むCDR3（第2の可変領域のCDR3）を含む。この点で、本発明のポリペプチドは配列番号1～3、4～6、11～13、14～16、20～22、23～25、1～6、11～16、または20～25を含むことができる。したがって、本発明のある実施形態は、(i)配列番号1～6、(ii)配列番号11～16、または(iii)配列番号20～25を含むポリペプチドを提供する。好ましくは、ポリペプチドは配列番号20～25のアミノ酸配列を含む。

【0026】

ある実施形態では、ポリペプチドは各々が抗CD276抗体の抗原結合ドメインの1つまたは複数の可変領域（例えば、第1および第2の可変領域）を含み、各々上記のようにCDRを含む。第1の可変領域は配列番号7、17、または26を含み得る。第2の可変領域は配列番号8、18、または27を含み得る。したがって、本発明のある実施形態では、ポリペプチドは配列番号7、配列番号8、配列番号17、配列番号18、配列番号26、配列番号27、配列番号7および8、配列番号17および18、または配列番号26および27を含む。好ましくは、ポリペプチドは配列番号26および27を含む。本発明のある実施形態では、第1の可変領域は抗CD276抗体の重鎖であり、第2の可変領域は抗CD276抗体の軽鎖である。

【0027】

本発明のある実施形態では、ポリペプチドの可変領域はリンカーによって接合することができる。リンカーは任意の適切なアミノ酸配列を含み得る。本発明のある実施形態では、リンカーは配列番号9または10を含み得る。

【0028】

ある実施形態では、ポリペプチドはリーダー配列を含む。リーダー配列は軽鎖可変領域

のアミノ末端に位置し得る。リーダー配列は任意の適切なリーダー配列を含み得る。ある実施形態では、リーダー配列はヒト顆粒球 - マクロファージコロニー - 刺激因子 (GM-CSF) 受容体配列である。リーダー配列は、例えば、配列番号 39、40、または 41 を含み得る。本発明のある実施形態では、リーダー配列は細胞の表面でのポリペプチドの発現を容易にし得るが、発現されたポリペプチド内のリーダー配列の存在はポリペプチドが機能するために必要なわけではない。本発明のある実施形態では、細胞表面でのポリペプチドの発現の際、リーダー配列はポリペプチドから開裂され得る。したがって、本発明のある実施形態では、ポリペプチドはリーダー配列を欠く。

【0029】

本発明は、さらに、本明細書に記載されているポリペプチドの少なくとも 1 つを含むタンパク質を提供する。「タンパク質」とは、1 つまたは複数のポリペプチド鎖を含む分子を意味する。

10

【0030】

本発明のタンパク質は、(i) 配列番号 1 ~ 3、(ii) 配列番号 11 ~ 13、または (iii) 配列番号 20 ~ 22 のアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖および (i) 配列番号 4 ~ 6、(ii) 配列番号 14 ~ 16、または (iii) 配列番号 23 ~ 25 を含む第 2 のポリペプチド鎖を含むことができる。本発明のタンパク質は、例えば、配列番号 7、17、または 26 のアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖および配列番号 8、18、または 27 のアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖を含むことができる。この点で、タンパク質は、配列番号 7、17、または 26 を含む第 1 のポリペプチド鎖および配列番号 8、18、または 27 を含む第 2 のポリペプチド鎖を含み得る。

20

【0031】

タンパク質は、さらに、本発明の他の態様に関連して本明細書に記載されているリーダー配列および/またはリンカーを含んでいてもよい。ある実施形態では、タンパク質はリーダー配列を欠く。

【0032】

本発明のタンパク質は、例えば、融合タンパク質であってもよい。例えば、タンパク質が (i) 配列番号 7、17、または 26 および (ii) 配列番号 8、18、または 27 を含む単一のポリペプチド鎖を含む場合、またはタンパク質の第 1 および/または第 2 のポリペプチド鎖がさらに他のアミノ酸配列、例えば、免疫グロブリンまたはその一部分をコードするアミノ酸配列を含む場合、本発明のタンパク質は融合タンパク質であってもよい。この点で、本発明はまた、本明細書に記載されている本発明のポリペプチドの少なくとも 1 つを少なくとも 1 つの他のポリペプチドと共に含む融合タンパク質も提供する。この他のポリペプチドは融合タンパク質の別個のポリペプチドとして存在することができるが、または本明細書に記載されている本発明のポリペプチドの 1 つとインフレームで (タンデムで) 発現されるポリペプチドとして存在することができる。この他のポリペプチドは、限定されることはないが、免疫グロブリン、CD3、CD4、CD8、MHC 分子、CD1 分子、例えば、CD1a、CD1b、CD1c、CD1d などの任意のペプチド性もしくはタンパク質性分子、またはその一部分をコードすることができる。

30

【0033】

融合タンパク質は、本発明のポリペプチドの 1 コピーまたは複数コピーおよび/または他のポリペプチドの 1 コピーまたは複数コピーを含むことができる。例えば、融合タンパク質は本発明のポリペプチドおよび/または他のポリペプチドの 1、2、3、4、5 コピー、またはそれ超を含むことができる。融合タンパク質を作製するための適切な方法は当技術分野で公知であり、例えば組換え法がある。例えば、Choiら、Mol. Biotechnol. 31 巻: 193 ~ 202 頁 (2005 年) 参照。

40

【0034】

本発明のポリペプチドおよびタンパク質は抗 CD276 結合性部分として有用であり得ることが企図される。この点で、本発明のある実施形態は、本明細書に記載されているポリペプチドまたはタンパク質のいずれかを含む抗 CD276 結合性部分を提供する。本発

50

明のある実施形態では、抗CD276結合性部分は本明細書に記載されているポリペプチドまたはタンパク質のいずれかの抗原結合性の一部分を含む。抗原結合性の一部分は少なくとも1つの抗原結合性部位を有する任意の一部分であってもよい。ある実施形態では、抗CD276結合性部分は抗体、Fab断片(Fab)、F(ab')₂断片、ダイアボディ(diabody)、トリアボディ(triabody)、テトラボディ(tetraabody)、単鎖可変領域断片(scFv)、またはジスルフィドで安定化された可変領域断片(dsFv)である。

【0035】

ある実施形態では、抗CD276結合性部分は抗体である。抗体は、例えば、本明細書に記載されている本発明のポリペプチドの少なくとも1つを含む組換え抗体であってもよい。本明細書で使用される場合、「組換え抗体」とは、本発明のポリペプチドまたはタンパク質の少なくとも1つおよびある抗体の1つまたは複数のポリペプチド鎖、またはその一部分を含む組換え(例えば、遺伝子操作された)タンパク質を指す。抗体のポリペプチド、またはその一部分は、例えば、重鎖もしくは軽鎖の定常領域、または抗体のFc断片などであってもよい。抗体のポリペプチド鎖、またはその一部分は、組換え抗体の別個のポリペプチドとして存在することができる。あるいは、抗体のポリペプチド鎖、またはその一部分は、本発明のポリペプチドまたはタンパク質とインフレームで(タンデムで)発現されるポリペプチドとして存在することができる。抗体のポリペプチド、またはその一部分は、任意の抗体または任意の抗体断片のポリペプチドであってもよい。

10

【0036】

本発明の抗体は、当技術分野で公知のあらゆるタイプの免疫グロブリンであってもよい。例えば、抗CD276結合性部分は任意のアイソタイプの抗体、例えば、IgA、IgD、IgE、IgG(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4)、IgMなどであってもよい。抗体はモノクローナルまたはポリクローナルであってもよい。抗体は天然に存在する抗体、例えば、哺乳動物、例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ウマ、ニワトリ、ハムスター、ヒトなどから単離および/または精製された抗体であってもよい。あるいは、抗体は遺伝子操作された抗体、例えば、ヒト化抗体またはキメラ抗体であってもよい。抗体はモノマー性またはポリマー性の形態であってもよい。また、抗体はCD276に対して任意のレベルの親和性またはアビディティを有することができる。

20

【0037】

抗体のCD276に結合する能力を試験する方法は当技術分野で公知であり、例えば、ラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)、ウェスタンブロット、免疫沈降、および競合阻害アッセイのようなあらゆる抗体-抗原結合アッセイが含まれる(例えば、Murphyら、下記参照、および米国特許出願公開第2002/0197266A1号参照)。

30

【0038】

抗体を作製するのに適した方法は当技術分野で公知である。例えば、標準的なハイブリドーマ法は、例えば、KoehlerおよびMilstein、Eur. J. Immunol.、5巻、511~519頁(1976年)、Greenfield(編)、Antibodies: A Laboratory Manual、第2版、CSH Press(2013年)、ならびにMurphyら(編)、Janeway's Immunobiology、第8版、Taylor & Francis, Inc.、New York、NY(2011年)に記載されている。あるいは、Epstein-Barウイルス(EBV)-ハイブリドーマ法(HaskardおよびArcher、J. Immunol. Methods、74巻(2号)、361~67頁(1984年)、ならびにRoderら、Methods Enzymol.、121巻、140~67頁(1986年))、およびバクテリオファージベクター発現系(例えば、Huseら、Science、246巻、1275~81頁(1989年)参照)のような他の方法が当技術分野で公知である。さらに、非ヒト動物で抗体を産生する方法は、例えば、米国特許第5,545,806号、同第5,569,825号、および同第5,714,352号

40

50

、ならびに米国特許出願公開第2002/0197266A1号に記載されている。

【0039】

ファージディスプレイはさらに抗体を生成するのに使用することができる。この点で、抗体の抗原結合性可変(V)ドメインをコードするファージライブラリーは標準的な分子生物学および組換えDNA技法を使用して生成することができる。例えば、Greenら(編)、Molecular Cloning, A Laboratory Manual、第4版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、New York(2012年)およびAusubelら、Current Protocols in Molecular Biology、Greene Publishing AssociatesおよびJohn Wiley & Sons、NY(2007年)参照。所望の抗原に対して特異的に結合する所望の特異性を有する可変領域をコードするファージを選択し、選択された可変ドメインを含む完全または部分的な抗体を再構成する。再構成された抗体をコードする核酸配列をハイブリドーマの産生に使用される骨髓腫細胞のような適切な細胞株に導入して、モノクローナル抗体の特徴を有する抗体がその細胞によって分泌されるようにする(例えば、Murphyら、上記参照、Huseら、上記参照、および米国特許第6,265,150号参照)。

10

【0040】

抗体は、特異的な重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックであるトランスジェニックマウスにより産生することができる。かかる方法は当技術分野で公知であり、例えば米国特許第5,545,806号および同第5,569,825号、

20

【0041】

ヒト化抗体を生成する方法は当技術分野で周知であり、例えば、Murphyら、上記参照、米国特許第5,225,539号、同第5,585,089号および同第5,693,761号、欧州特許第0239400B1号、ならびに英国特許第2188638号に詳細に記載されている。ヒト化抗体はまた、米国特許第5,639,641号およびPedersenら、J. Mol. Biol.、235巻、959~973頁(1994年)に記載されている抗体リサーフェシング(antibody resurfacing)技術を使用して生成することもできる。

【0042】

好ましい実施形態では、抗CD276結合性部分は単鎖可変領域断片(scFv)である。合成ペプチドを介して抗体軽鎖の可変(V)ドメインに連結された抗体重鎖のVドメインを含むトランケート型Fab断片である単鎖可変領域断片(scFv)抗体断片は、慣用的な組換えDNA技術技法を使用して生成することができる(例えば、Murphyら、上記参照)。同様に、ジスルフィドで安定化された可変領域断片(dsFv)を組換えDNA技術によって製造することができる(例えば、Reiterら、Protein Engineering、7巻:697~704頁(1994年)参照)。しかしながら、本発明の抗CD276結合性部分は、これらの代表的なタイプの抗体断片に限定されない。

30

【0043】

また、抗CD276結合性部分は、例えば、放射性同位体、フルオロフォア(例えば、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)、フィコエリトリン(PE))、酵素(例えば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ)、および元素粒子(例えば、金粒子)のような検出可能な標識を含むように改変することができる。

40

【0044】

本発明の別の実施形態は、(a)本明細書に記載されているポリペプチドまたはタンパク質のいずれかを含む抗原結合ドメイン、(b)膜貫通ドメイン、および(c)細胞内T細胞シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体(CAR)を提供する。

【0045】

キメラ抗原受容体(CAR)は、T細胞シグナル伝達ドメインに連結されたある抗体の

50

抗原結合ドメイン（例えば、単鎖可変断片（s c F v））を含有する人工的に構築されたハイブリッドタンパク質またはポリペプチドである。CARの特徴には、モノクローナル抗体の抗原結合特性を活用してT細胞特異性および反応性を選択された標的に非MHC拘束的に向け直す（redirect）その能力が含まれる。非MHC拘束的抗原認識により、CARを発現する細胞は、抗原プロセッシングとは無関係に抗原を認識する能力が与えられ、したがって腫瘍エスケープの主要な機序を迂回する。また、T細胞内で発現されたとき、CARは有利なことに、内因性のT細胞受容体（TCR）アルファおよびベータ鎖と二量体を形成しない。

【0046】

本明細書で使用される場合、語句「抗原特異性を有する」および「抗原特異的応答を引き出す」とは、CARがある抗原と特異的に結合し免疫学的に認識することができ、CARのその抗原への結合が免疫応答を引き出すことを意味する。

10

【0047】

本発明のCARは、CD276（B7-H3としても公知である）に対して抗原特異性を有する。特定の理論または機序に縛られることはないが、CD276に対する抗原特異的応答を引き出すことによって、本発明のCARは、以下：CD276を発現するがん細胞および/または腫瘍血管系を標的化し破壊する、がん細胞および/または腫瘍血管系を低減または排除する、腫瘍部位および/または腫瘍血管系への免疫細胞の浸潤を容易にする、および抗がんおよび抗腫瘍血管系応答を増進/拡大することの1つまたは複数を提供すると考えられる。

20

【0048】

本発明のある実施形態は、抗CD276抗体の抗原結合ドメインを含むCARを提供する。抗CD276抗体の抗原結合ドメインはCD276と特異的に結合する。CARの抗原結合ドメインは本明細書に記載されているポリペプチドまたはタンパク質のいずれかを含み得る。本発明のある実施形態では、CARは抗CD276単鎖可変断片（s c F v）を含む。この点で、本発明の好ましい実施形態は、本明細書に記載されているポリペプチドまたはタンパク質のいずれかを含む単鎖可変断片（s c F v）を含む抗原結合ドメインを含むCARを提供する。

【0049】

本発明の好ましい実施形態では、CARは、各々が相補性決定領域（CDR）1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含む重鎖および軽鎖を含む。好ましくは、重鎖は、配列番号1、11、または20のアミノ酸配列を含むCDR1（重鎖のCDR1）、配列番号2、12、または21のアミノ酸配列を含むCDR2（重鎖のCDR2）、および配列番号3、13、または22のアミノ酸配列を含むCDR3（重鎖のCDR3）を含み、軽鎖は、配列番号4、14、または23のアミノ酸配列を含むCDR1（軽鎖のCDR1）、配列番号5、15、または24のアミノ酸配列を含むCDR2（軽鎖のCDR2）、および配列番号6、16、または25のアミノ酸配列を含むCDR3（軽鎖のCDR3）を含む。この点で、本発明のCARは配列番号1～3、4～6、11～13、14～16、20～22、23～25、1～6、11～16、または20～25を含むことができる。好ましくは、CARは配列番号20～25のアミノ酸配列を含む。

30

40

【0050】

CARの抗原結合ドメインは各々軽鎖および重鎖を含む。軽鎖は配列番号8、18、または27を含み得る。重鎖は配列番号7、17、または26を含み得る。したがって、本発明のある実施形態では、抗原結合ドメインは配列番号7、配列番号8、配列番号17、配列番号18、配列番号26、配列番号27、配列番号7および8、配列番号17および18、または配列番号26および27を含む。好ましくは、CARは配列番号26および27を含む。

【0051】

ある実施形態では、CARの抗原結合ドメインはリーダー配列を含む。リーダー配列は本発明の他の態様に関連して本明細書に記載されているものでよい。本発明のある実施形

50

態では、CARはリーダー配列を欠く。

【0052】

ある実施形態では、CARは免疫グロブリン定常ドメインを含む。好ましくは、免疫グロブリン定常ドメインはヒト免疫グロブリン配列である。ある実施形態では、免疫グロブリン定常ドメインは免疫グロブリンCH2およびCH3免疫グロブリンG(IgG1)ドメイン配列(CH2CH3)を含む。この点で、CARは配列番号45を含む免疫グロブリン定常ドメインを含み得る。特定の理論に縛られることなく、CH2CH3ドメインはscFvの結合モチーフを、CARを発現する細胞の膜から離れて伸長させ、天然のTCRのサイズおよびドメイン構造をより正確に模倣することができると考えられる。一部の実施形態では、CARは免疫グロブリン定常ドメインを欠いてもよい。

10

【0053】

本発明のある実施形態では、CARは膜貫通ドメインを含む。本発明のある実施形態では、膜貫通ドメインはi)CD8および/またはii)CD28を含む。好ましい実施形態では、CD8およびCD28はヒトである。CD8またはCD28はそれぞれCD8またはCD28の全体未満を含み得る。この点で、CARは、配列番号29を含むCD8アミノ酸配列、配列番号30を含むCD28アミノ酸配列、および配列番号31を含むCD8アミノ酸配列のいずれか1つまたは複数を含む膜貫通ドメインを含む。

【0054】

本発明のある実施形態では、CARはi)CD28、ii)CD137、およびiii)CD3ゼータ()の1つまたは複数を含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインを含む。好ましい実施形態では、CD28、CD137、およびCD3ゼータの1つまたは複数はヒトである。CD28はT細胞共刺激(co-stimulation)において重要なT細胞マーカーである。4-1BBとしても公知であるCD137は、強力な共刺激シグナルをT細胞に伝達し、分化を促進し、Tリンパ球の長期間生存を増進する。CD3はTCRと会合してシグナルを生成し、免疫受容活性化チロシンモチーフ(ITAM)を含有する。CD28、CD137、およびCD3ゼータの1つまたは複数はそれぞれCD28、CD137、またはCD3ゼータの全体未満を含み得る。本発明のある実施形態では、細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは配列番号32および/または配列番号35を含むCD28アミノ酸配列を含む。本発明の別の実施形態では、細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは配列番号33および/または配列番号37を含むCD137アミノ酸配列を含む。本発明の別の実施形態では、細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは配列番号34、36、および38のいずれか1つまたは複数を含むCD3ゼータアミノ酸配列を含む。

20

30

【0055】

本発明のある実施形態では、CARは、CD28を含む膜貫通ドメインならびにCD28およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインを含む。この点で、CARは配列番号30、35、および36の各々を含み得る。ある実施形態では、CD28を含む膜貫通ドメインならびにCD28およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは配列番号47を含む。好ましくは、CARは、(a)配列番号1~6、45、30、35、および36の各々；(b)配列番号7、8、45、30、35、および36の各々；(c)配列番号11~16、45、30、35、および36の各々；(d)配列番号17、18、45、30、35、および36の各々；(e)配列番号20~25、45、30、35、および36の各々；または(f)配列番号26、27、45、30、35、および36の各々を含む。

40

【0056】

本発明のある実施形態では、CARは、CD8を含む膜貫通ドメインならびにCD28、CD137、およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインを含む。この点で、CARは配列番号29および32~34の各々を含み得る。ある実施形態では、CD8を含む膜貫通ドメインならびにCD28、CD137、およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは配列番号49を含む。好ましくは、CARは、(a)配列番号1~6、45、29、および32~34の各々；(b)配列番号7、8、45

50

、 29、および32～34の各々；(c)配列番号11～16、45、29、および32～34の各々；(d)配列番号17、18、45、29、および32～34の各々；(e)配列番号20～25、45、29、および32～34の各々；または(f)配列番号26、27、45、29、および32～34の各々を含む。

【0057】

本発明のある実施形態では、CARは、CD8を含む膜貫通ドメインならびにCD137およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインを含む。この点で、CARは配列番号31、37、および38の各々を含み得る。ある実施形態では、CD8を含む膜貫通ドメインならびにCD137およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは配列番号48を含む。好ましくは、CARは、(a)配列番号1～6、45、31、37、および38の各々；(b)配列番号7、8、45、31、37、および38の各々；(c)配列番号11～16、45、31、37、および38の各々；(d)配列番号17、18、45、31、37、および38の各々；(e)配列番号20～25、45、31、37、および38の各々；または(f)配列番号26、27、45、31、37、および38の各々の各々を含む。

10

【0058】

本明細書に記載されている本発明のポリペプチド、タンパク質、およびCARの機能性部分が本発明の範囲に包含される。用語「機能性部分」は、ポリペプチド、タンパク質、またはCARに関して使用されているとき、本発明のポリペプチド、タンパク質、またはCARの任意の一部または断片であって、それが一部となっているポリペプチド、タンパク質、またはCAR(親ポリペプチド、タンパク質、またはCAR)の生物学的活性を保持している、一部または断片を指す。機能性部分は、例えば、あるポリペプチド、タンパク質、またはCARの部分であって、その親ポリペプチド、タンパク質、またはCARと同様な程度に、同一程度に、またはより高い程度に、標的細胞を認識し、または疾患を検出し、治療し、もしくは予防する能力を保持している部分を包含する。親のポリペプチド、タンパク質、またはCARに対して、機能性部分は親のポリペプチド、タンパク質、またはCARの、例えば、約10%、25%、30%、50%、68%、80%、90%、95%、またはそれ超を含むことができる。

20

【0059】

機能性部分は、その部分のアミノもしくはカルボキシ末端、または両末端に、親のポリペプチド、タンパク質、またはCARのアミノ酸配列には見られない追加のアミノ酸を含むことができる。望ましくは、これら追加のアミノ酸は機能性部分の生物学的な機能、例えば、標的細胞を認識する、がんおよび/または腫瘍血管系を検出する、がんを治療または予防する、腫瘍血管系を低減または排除するなどの機能に干渉しない。より望ましくは、追加のアミノ酸は、親のポリペプチド、タンパク質、またはCARの生物学的活性と比較してその生物学的活性を高める。

30

【0060】

本明細書に記載されている本発明のポリペプチド、タンパク質、またはCARの機能性変異体が本発明の範囲内に含まれる。用語「機能性変異体」は、本明細書で使用される場合、親のポリペプチド、タンパク質、またはCARに対して実質的または相当の配列同一性または類似性を有するポリペプチド、タンパク質、またはCARを指し、その機能性変異体は、変異体であるポリペプチド、タンパク質、またはCARの生物学的活性を保持する。機能性変異体は、例えば、本明細書に記載されているポリペプチド、タンパク質、またはCAR(親ポリペプチド、タンパク質、またはCAR)の変異体であって、親のポリペプチド、タンパク質、またはCARと同様な程度に、同一程度に、またはより高い程度に標的細胞を認識する能力を保持する変異体を包含する。親のポリペプチド、タンパク質、またはCARに関して、機能性変異体は親のポリペプチド、タンパク質、またはCARに対してアミノ酸配列が、例えば、少なくとも約30%、約50%、約75%、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%またはそれ超同一であってもよい。

40

50

【0061】

機能性変異体は、例えば、少なくとも1つの保存的なアミノ酸置換を有する親のポリペプチド、タンパク質、またはCARのアミノ酸配列を含むことができる。あるいは、または加えて、機能性変異体は、少なくとも1つの非保存的なアミノ酸置換を有する親のポリペプチド、タンパク質、またはCARのアミノ酸配列を含むことができる。この場合、非保存的なアミノ酸置換が機能性変異体の生物学的活性に干渉したり阻害したりしないことが好ましい。非保存的なアミノ酸置換は、親のポリペプチド、タンパク質、またはCARと比較して機能性変異体の生物学的活性が増大するように機能性変異体の生物学的活性を高めることがある。

【0062】

本発明のポリペプチド、タンパク質、またはCARのアミノ酸置換は、好ましくは保存的なアミノ酸置換である。保存的なアミノ酸置換は、当技術分野で公知であり、ある特定の物理的および/または化学的特性を有する1つのアミノ酸が、同一または類似の化学的または物理的な特性を有する別のアミノ酸と交換されるアミノ酸置換を含む。例えば、保存的なアミノ酸置換は、酸性の/負に荷電した極性アミノ酸を別の酸性の/負に荷電した極性アミノ酸の代わりに用いること(例えば、AspまたはGlu)、非極性側鎖を有するアミノ酸を非極性側鎖を有する別のアミノ酸の代わりに用いること(例えば、Ala、Gly、Val、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Trp、Cys、Valなど)、塩基性の/正に荷電した極性アミノ酸を別の塩基性の/正に荷電した極性のアミノ酸の代わりに用いること(例えば、Lys、His、Argなど)、極性側鎖を有する非荷電アミノ酸を極性側鎖を有する別の非荷電のアミノ酸の代わりに用いること(例えば、Asn、Gln、Ser、Thr、Tyrなど)、ベータ分枝した側鎖を有するアミノ酸をベータ分枝した側鎖を有する別のアミノ酸の代わりに用いること(例えば、Ile、Thr、およびVal)、芳香族側鎖を有するアミノ酸を芳香族側鎖を有する別のアミノ酸の代わりに用いること(例えば、His、Phe、Trp、およびTyr)などであってもよい。

【0063】

ポリペプチド、タンパク質、またはCARは、他の成分、例えば他のアミノ酸がポリペプチド、タンパク質、CAR、機能性部分、または機能性変異体の生物学的活性を実質的に変化させないように、本明細書に記載されている特定のアミノ酸配列または配列から本質的になることができる。

【0064】

本発明の実施形態のポリペプチド、タンパク質、またはCAR(機能性部分および機能性変異体を含む)はいかなる長さであってもよく、すなわち、いかなる数のアミノ酸を含むこともできるが、ただし、ポリペプチド、タンパク質、またはCAR(またはその機能性部分または機能性変異体)が、その生物学的活性、例えば、抗原と特異的に結合し、哺乳動物において疾患細胞を検出し、または哺乳動物において疾患を治療もしくは予防するなどの能力を保持することを条件とする。例えば、ポリペプチド、タンパク質、またはCARは50、70、75、100、125、150、175、200、300、400、500、600、700、800、900、1000またはそれ超の長さのアミノ酸のような約50~約5000のアミノ酸長であってもよい。

【0065】

本発明の実施形態のポリペプチド、タンパク質、またはCAR(本発明の機能性部分および機能性変異体を含む)は、1つまたは複数の天然に存在するアミノ酸の代わりに合成のアミノ酸を含むことができる。かかる合成のアミノ酸は当技術分野で公知であり、例えば、アミノシクロヘキサンカルボン酸、ノルロイシン、 α -アミノ n -デカン酸、ホモセリン、 S -アセチルアミノメチル-システイン、トランス-3-およびトランス-4-ヒドロキシプロリン、4-アミノフェニルアラニン、4-ニトロフェニルアラニン、4-クロロフェニルアラニン、4-カルボキシフェニルアラニン、 β -フェニルセリン-ヒドロキシフェニルアラニン、フェニルグリシン、 β -ナフチルアラニン、シクロヘキシル

10

20

30

40

50

アラニン、シクロヘキシルグリシン、インドリン - 2 - カルボン酸、1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸、アミノマロン酸、アミノマロン酸モノアミド、N' - ベンジル - N' - メチル - リジン、N', N' - ジベンジル - リジン、6 - ヒドロキシリジン、オルニチン、 - アミノシクロペンタンカルボン酸、 - アミノシクロヘキサンカルボン酸、 - アミノシクロヘプタンカルボン酸、 - (2 - アミノ - 2 - ノルボルナン) - カルボン酸、 , - ジアミノ酪酸、 , - ジアミノプロピオン酸、ホモフェニルアラニン、および - tert - ブチルグリシンが含まれる。

【0066】

本発明の実施形態のポリペプチド、タンパク質、またはCAR（機能性部分および機能性変異体を含む）は、グリコシル化され得るか、アミド化され得るか、カルボキシル化され得るか、リン酸化され得るか、エステル化され得るか、N - アシル化され得るか、例えばジスルフィド架橋を介して環化され得るか、または酸付加塩に変換され得るか、および/または場合により二量体を形成し得るかもしくは重合体化され得る。

10

【0067】

本発明の実施形態のポリペプチド、タンパク質、またはCAR（これらの機能性部分および機能性変異体を含む）は当技術分野で公知の方法によって得ることができる。ポリペプチド、タンパク質、またはCARはポリペプチドまたはタンパク質を作製するのに適したいかなる方法で作製してもよい。ポリペプチドおよびタンパク質を新たに合成する適切な方法は、Chanら、Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis、Oxford University Press、Oxford、United Kingdom、2000年；Peptide and Protein Drug Analysis、Reid、R. 編、Marcel Dekker, Inc.、2000年；Epitope Mapping、Westwoodら編、Oxford University Press、Oxford、United Kingdom、2001年；および米国特許第5,449,752号のような文献に記載されている。また、ポリペプチドおよびタンパク質は、本明細書に記載されている核酸を使用して、標準的な組換え方法を使用して組換えで産生することができる。例えば、Greenら、上記、およびAusubelら、上記参照。さらに、本発明のポリペプチド、タンパク質、またはCAR（これらの機能性部分および機能性変異体を含む）の一部は、植物、細菌、昆虫、哺乳動物、例えば、ラット、ヒトなどのような供給源から単離および/または精製することができる。単離および精製の方法は当技術分野で周知である。あるいは、本明細書に記載されているポリペプチド、タンパク質、またはCAR（これらの機能性部分および機能性変異体を含む）は、Synpep (Dublin, CA)、Peptide Technologies Corp. (Gaithersburg, MD)、およびMultiple Peptide Systems (San Diego, CA)のような会社により商業的に合成されている。この関係で、本発明のポリペプチド、タンパク質、またはCARは合成のものであり得るか、組換えのものであり得るか、単離され得るか、および/または精製され得る。

20

30

【0068】

本発明のポリペプチド、タンパク質、CAR、抗CD276結合性部分、またはこれらの機能性部分もしくは機能性変異体のいずれかを含むコンジュゲート、例えば、バイオコンジュゲートは本発明の範囲に含まれる。コンジュゲート、ならびに一般にコンジュゲートを合成する方法は当技術分野で公知である（例えば、Hudecz, F., Methods Mol. Biol. 298巻：209~223頁（2005年）およびKirinら、Inorg Chem. 44巻（15号）：5405~5415頁（2005年）参照）。この点で、本発明のある実施形態は、本明細書に記載されている（a）ポリペプチド、タンパク質、CAR、または抗CD276結合性部分のいずれかが（b）エフェクター分子にコンジュゲートされているコンジュゲートを提供する。エフェクター分子は、いかなる治療用分子またはコンジュゲートの検出を容易にする分子であってもよい。エフェクター分子は限定されることはなく、いかなる適切なエフェクター分子であって

40

50

もよい。例えば、エフェクター分子は、薬物、毒素、標識（例えば、本明細書に記載されている検出可能な標識のいずれか）、小分子、または別の抗体のうちの任意の1つまたは複数であり得る。例えば、毒素は、各々が参照により本明細書に組み込まれる、例えば、米国特許第4,892,827号；同第5,512,658号；同第5,602,095号；同第5,608,039号；同第5,821,238号；同第5,854,044号；米国特許出願公開第2010/0215656号；および国際公開第2012/041234号に記載されているような、*Pseudomonas* 外毒素A（「PE」）または、例えばPE4E、PE40、PE38、PE25、PE38QQR、PE38KDEL、PE-LR、およびPE35のいずれかのようなその変異体であってもよい。本発明のコンジュゲートに適し得る薬物の例として、限定されることはないが、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）二量体、チューブリン-バインダー、例えば、ドラスタチン10、モノメチルドラスタチン10、アウリスタチン（auristatin）E、モノメチルアウリスタチンE（MMAE）、アウリスタチンF、モノメチルアウリスタチンF、HTI-286、チューブリンシノイドAP-3、クリプトフィシン、Boc-Val-Dil-Dap-OH、チューブリンIM-1、Boc-Val-Dil-Dap-Phe-OMe、チューブリンIM-2、Boc-Nme-Val-Val-Dil-Dap-OH、チューブリンIM-3、およびコルヒチンDA；DNA-アルキル化剤（デュオカルマイシンアナログ）、例えば、デュオカルマイシンSA、デュオカルマイシンCN、デュオカルマイシンDMG、デュオカルマイシンDMA、デュオカルマイシンMA、デュオカルマイシンTM、デュオカルマイシンMB、デュオカルマイシンGA；トマイマイシン（tomaymycin）DM；SJG-136；イルジン（illudine）S；イロフルベン；アバジクオン；トリプトリド；スタウロスポリン；カンプトテシン；メトトレキサート；ならびにその他の抗がん薬、例えば、キナーゼ阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤、プロテアソーム阻害剤、およびマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）阻害剤がある。ある実施形態では、薬物はMMAEまたはPBD二量体である。

10

20

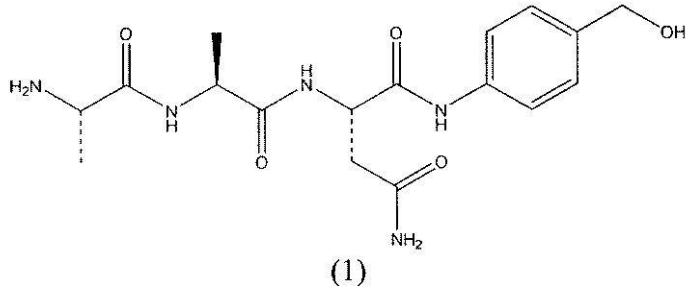
【0069】

本明細書に記載されているポリペプチド、タンパク質、CAR、または抗CD276結合性部分は、直接または間接的に、例えば連結部分を介して、(b)エフェクター分子にコンジュゲートされていてもよい。連結部分は当技術分野で公知のいかなる適切な連結部分であってもよい。ある実施形態では、連結部分は、コンジュゲートを哺乳動物に投与した際に開裂され得る開裂可能なリンカーである。本発明のコンジュゲートに使用するのに適切であり得る連結部分の例には、限定されることはないが、例えば化学構造(1)および(2)を有する連結部分のようなペプチドプロドラッグ連結部分；例えば化学構造(3)および(4)を有する連結部分のようなジスルフィドプロドラッグ連結部分；例えば化学構造(5)および(6)を有する連結部分のような二官能性の連結部分；例えば化学構造(7)および(8)を有する連結部分のようなチオール反応性の連結部分；例えば化学構造(9)および(10)を有する連結部分のようなオキシム/アルデヒド連結部分；例えば化学構造(11)を有する連結部分のようなエチレングリコールをベースとする連結部分、ならびに化学構造(12)を有する連結部分がある：

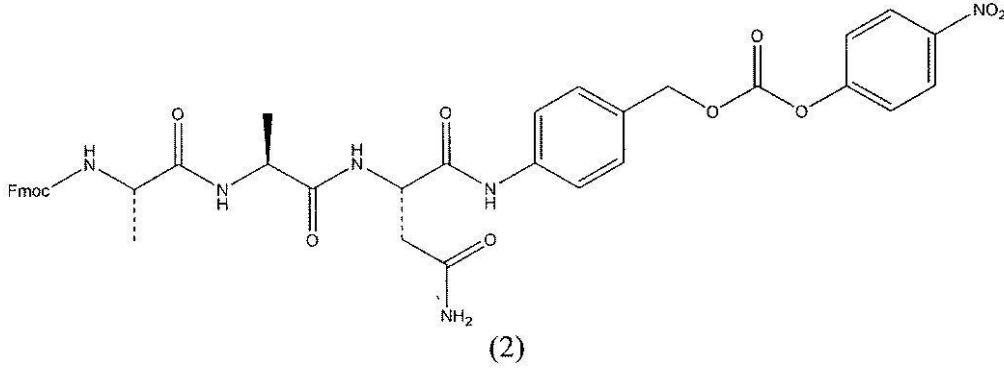
30

40

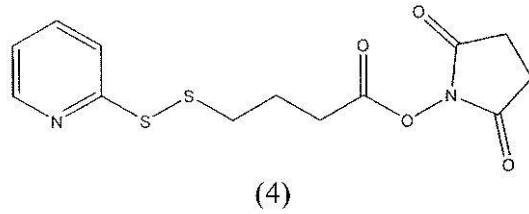
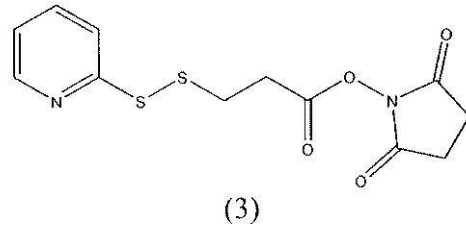
【化 2】



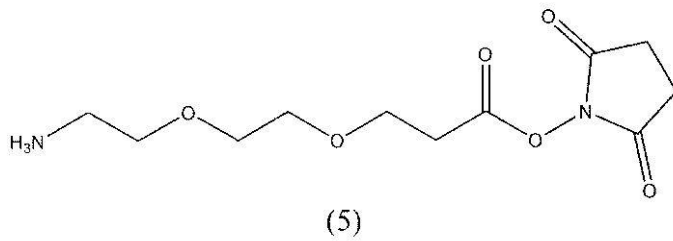
10



20

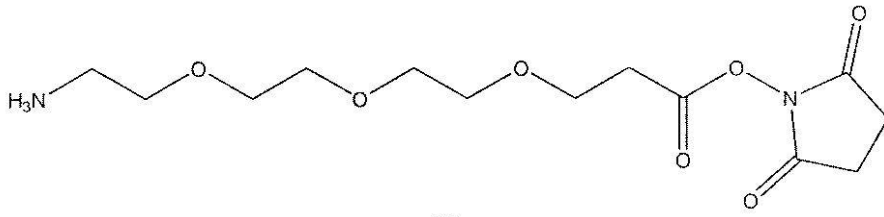


30

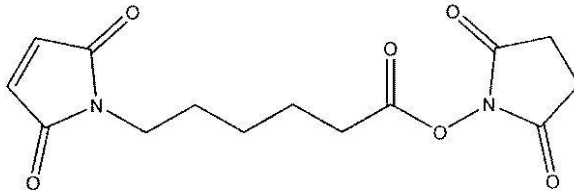


40

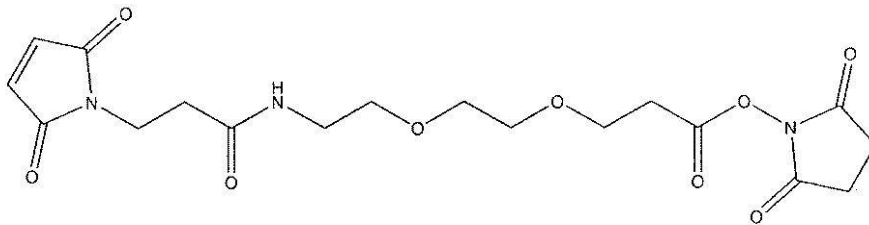
【化 3】



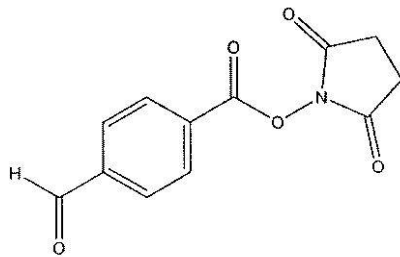
(6)



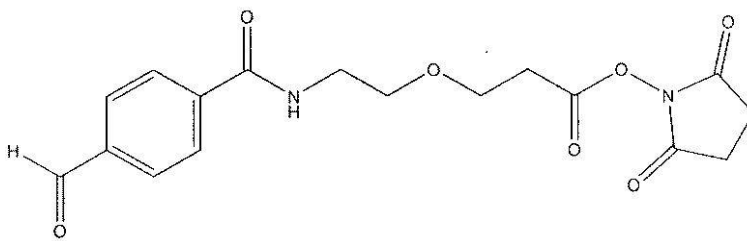
(7)



(8)



(9)



(10)



(11)

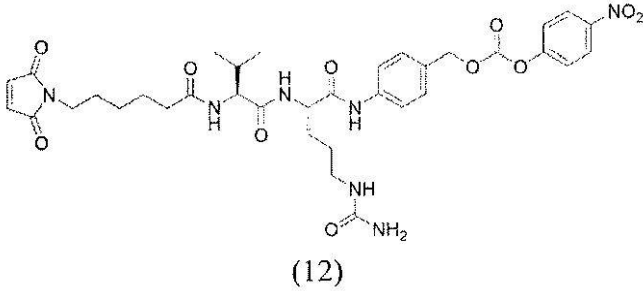
10

20

30

40

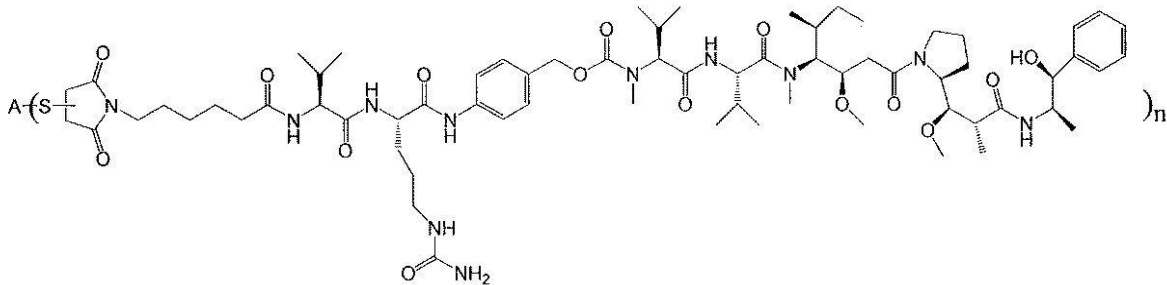
【化4】



【0070】

本発明の別の実施形態は、

【化5】



10

20

(式中、

nは、偶数の整数、好ましくは0～8の偶数の整数、より好ましくは0～4の偶数の整数であり(例えば、nは2、4、6、または8である)、

Aは、本発明の他の態様に関連して本明細書に記載されているポリペプチド、タンパク質、または抗CD276結合性部分のいずれか、好ましくは配列番号26および27のアミノ酸配列を含む抗CD276結合性部分である)

を含むコンジュゲートを提供する。

【0071】

本発明のある実施形態では、本発明のコンジュゲートの抗CD276ポリペプチド、抗CD276タンパク質、または抗CD276結合性部分は、次世代部位特異的コンジュゲーション技術によってエフェクター分子にコンジュゲートされる。次世代部位特異的コンジュゲーション技術の例としては、限定されることはないが、Igenica Biot therapeutics (Burlingame, CA)から利用可能なSNAP部位特異的抗体薬物コンジュゲート(ADC)リンカー技術およびCatalent Pharma Solutions (Woodstock, IL)から利用可能なSMARTAG技術がある。

30

【0072】

さらに、本発明のある実施形態により、ポリペプチド、タンパク質、CAR、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、またはこれらの機能性部分もしくは機能性変異体のいずれかをコードするヌクレオチド配列を含む核酸が提供される。本発明の核酸は本明細書に記載されているリーダー配列、リンカー、抗原結合ドメイン、免疫グロブリンドメイン、膜貫通ドメイン、および/または細胞内T細胞シグナル伝達ドメインのいずれかをコードするヌクレオチド配列を含み得る。例えば、核酸は、リーダーをコードするヌクレオチド配列を含み得、このヌクレオチド配列は配列番号42、43、または44を含む。あるいは、または加えて、核酸は、リンカーをコードするヌクレオチド配列を含んでいてもよく、このヌクレオチド配列は配列番号59を含む。あるいは、または加えて、核酸は、免疫グロブリン定常ドメインをコードするヌクレオチド配列を含んでいてもよく、このヌクレオチド配列は配列番号46を含む。あるいは、または加えて、核酸は、CD28を含む膜貫通ドメインならびにCD28およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ド

40

50

メインをコードするヌクレオチド配列を含んでいてもよく、このヌクレオチド配列は配列番号50を含む。あるいは、または加えて、核酸は、CD8を含む膜貫通ドメインならびにCD28、CD137、およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインをコードするヌクレオチド配列を含んでいてもよく、このヌクレオチド配列は配列番号52を含む。あるいは、または加えて、核酸は、CD8を含む膜貫通ドメインならびにCD137およびCD3ゼータを含む細胞内T細胞シグナル伝達ドメインをコードするヌクレオチド配列を含んでいてもよく、このヌクレオチド配列は配列番号51を含む。

【0073】

本発明のある実施形態は、本明細書に記載されているポリペプチド、タンパク質、または抗CD276結合性部分のいずれかをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。この点で、核酸は、それぞれ(i)配列番号53および54、(ii)配列番号55および56、または(iii)配列番号57および58の、第1および第2の可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む。本発明の別の実施形態は、本明細書に記載されているCARのいずれかをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。

10

【0074】

「核酸」は、本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸分子」を含み、一般にDNAまたはRNAのポリマーを意味し、これは、一本鎖または二本鎖で、合成することができ、または天然の供給源から得る(例えば、単離および/または精製する)ことができ、天然、非天然のまたは変更されたヌクレオチドを含有することができ、未改変のオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間に見られるホスホジエステルの代わりにホスホロアミデート結合またはホスホロチオエート結合のような天然、非天然のまたは変更されたヌクレオチド間結合を含有することができる。一部の実施形態では、核酸は挿入、欠失、逆位、および/または置換を全く含まない。しかしながら、一部の 경우에는、本明細書中で述べるように、核酸が1つまたは複数の挿入、欠失、逆位、および/または置換を含むことが適切なことがある。一部の実施形態では、核酸は、ポリペプチド、タンパク質、またはCARの機能に影響を及ぼすことがなく、宿主細胞による核酸の発現の際に翻訳されたりされなかつたりする追加のアミノ酸配列(例えば、AAA)をコードしてもよい。本発明のある実施形態では、核酸は相補的DNA(cDNA)である。本発明のある実施形態では、核酸はコドン最適化されたヌクレオチド配列を含む。

20

30

【0075】

本発明のある実施形態の核酸は組換えであり得る。本明細書で使用される場合、用語「組換え」は、(i)生細胞内で複製することができる核酸分子に天然または合成の核酸セグメントを接合することにより生細胞の外で構築される分子、または(ii)上の(i)に記載されているものの複製の結果生じる分子を指す。本発明の目的から、複製は*in vitro*複製または*in vivo*複製であってもよい。

【0076】

核酸は、他の成分、例えば他のヌクレオチドが、コードされているCAR、ポリペプチド、タンパク質、抗CD276結合性部分、機能性部分、または機能性変異体の生物学的活性を実質的に変化させないように、本明細書に記載されている1つまたは複数の特定のヌクレオチド配列から本質的になることができる。

40

【0077】

組換え核酸は、天然に存在しない配列を有するか、または他の場合には分離されている配列の2つのセグメントの人工の組合せにより作製される配列を有するものであり得る。この人工の組合せは、化学合成によって、または、より一般的には、例えば、Greenら、上記に記載されているもののような遺伝子工学技法により核酸の単離されたセグメントの人工の操作によって、達成されることが多い。核酸は化学合成および/または当技術分野で公知の手法を使用する酵素的なライゲーション反応に基づいて構築することができる。例えば、Greenら、上記、およびAusubelら、上記参照。例えば、核酸は、天然に存在するヌクレオチドまたは分子の生物学的安定性を増大するかまたはハイブリ

50

ダイゼーションの際に形成される二重鎖の物理的安定性を増大するように設計された様々に改変されたヌクレオチド（例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換されたヌクレオチド）を用いて化学的に合成することができる。核酸を生成するのに使用することができる改変されたヌクレオチドの例として、限定されることはないが、5 - フルオロウラシル、5 - プロモウラシル、5 - クロロウラシル、5 - ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4 - アセチルシトシン、5 - (カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチル - 2 - チオウリジン、5 - カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、ベータ - D - ガラクトシルケウオシン (queosine)、イノシン、N⁶ - イソペンテニルアデニン、1 - メチルグアニン、1 - メチルイノシン、2, 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N⁶ - 置換アデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノメチル - 2 - チオウラシル、ベータ - D - マンノシルケウオシン、5' - メトキシカルボキシメチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N⁶ - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、ワイプトキソシン、プソイドウラシル、ケウオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、および 2, 6 - ジアミノプリンがある。あるいは、本発明の核酸の1つまたは複数が Macromolecular Resources (Fort Collins, CO) および SyntheGen (Houston, TX) などの会社から購入することができる。

【0078】

核酸は、ポリペプチド、タンパク質、CAR、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、またはこれらの機能性部分もしくは機能性変異体のいずれかをコードするいかなる単離または精製されたヌクレオチド配列を含むことができる。あるいは、ヌクレオチド配列は、上記配列のいずれかと縮重しているヌクレオチド配列または縮重配列の組合せを含むことができる。

【0079】

また、本発明のある実施形態は、本明細書に記載されている核酸のいずれかのヌクレオチド配列と相補的なヌクレオチド配列または本明細書に記載されている核酸のいずれかのヌクレオチド配列にストリンジентな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む単離または精製された核酸も提供する。

【0080】

ストリンジентな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列は高いストリンジエンシー条件下でハイブリダイズし得る。「高いストリンジエンシー条件」とは、ヌクレオチド配列が、標的配列（本明細書に記載されている核酸のいずれかのヌクレオチド配列）に対して、非特異的なハイブリダイゼーションと比べて検出可能なほどにより強い量で特異的にハイブリダイズすることを意味する。高いストリンジエンシー条件は、正確な相補的配列を有するポリヌクレオチド、またはヌクレオチド配列とマッチする数個の小さい領域（例えば、3 ~ 10個の塩基）を偶発的に有するランダムな配列とのミスマッチを散在して数個のみ含有するポリヌクレオチドを識別する条件を含む。かかる相補性の小さい領域は14 ~ 17個またはそれ超の塩基の全長相補体より容易に融解し、高いストリンジエンシーのハイブリダイゼーションは、それを容易に識別可能にする。比較的高いストリンジエンシー条件は、例えば、約0.02 ~ 0.1 MのNaClまたは同等物により、約50 ~ 70の温度で提供されるような低塩および/または高温条件を含む。かかる高いストリンジエンシー条件は、ヌクレオチド配列と鑄型または標的鎖との間のミスマッチを、あるにしてもほとんど許容せず、本発明のポリペプチド、タンパク質、CAR、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、またはこれらの機能性部分もしくは機能性変異体のいずれかの発現を検出するのに特に適している。一般に、条件は増加する量のホルムアミドの添加によってよりストリンジентにすることができると理解される。

【0081】

本発明はまた、本明細書に記載されている核酸のいずれかと少なくとも約70%またはそれ超、例えば、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、または約99%同一であるヌクレオチド配列を含む核酸も提供する。

【0082】

ある実施形態では、本発明の核酸は組換え発現ベクターに組み込むことができる。この点で、本発明のある実施形態は、本発明の核酸のいずれかを含む組換え発現ベクターを提供する。本発明の目的から、用語「組換え発現ベクター」とは、遺伝子改変されたオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド構築物であって、この構築物がmRNA、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、mRNA、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドが細胞内で発現するのに十分な条件下でベクターが細胞と接触したとき、宿主細胞によるmRNA、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドの発現を可能にする構築物を意味する。本発明のベクターは全体として天然に存在しない。しかしながら、ベクターの一部は天然に存在してもよい。本発明の組換え発現ベクターは、限定されることはないがDNAおよびRNAを含めて任意のタイプのヌクレオチドを含むことができ、これは一本鎖または二本鎖で、合成され得るかまたは部分的に天然供給源から取得され得、天然、非天然のまたは変更されたヌクレオチドを含有することができる。組換え発現ベクターは天然に存在するもしくは天然に存在しないヌクレオチド間結合、または両方のタイプの結合を含むことができる。好ましくは、天然に存在しないまたは変更されたヌクレオチドまたはヌクレオチド間結合はベクターの転写または複製を妨害しない。

10

20

【0083】

ある実施形態では、本発明の組換え発現ベクターは任意の適切な組換え発現ベクターであってもよく、任意の適切な宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトするのに使用することができる。適切なベクターには、増殖および拡大増殖(expansion)もしくは発現またはその両方のために設計されたもの、例えばプラスミドおよびウイルスがある。ベクターはpUCシリーズ(Fermentas Life Sciences、Glen Burnie、MD)、pBluescriptシリーズ(Stratagene、La Jolla、CA)、pETシリーズ(Novagen、Madison、WI)、pGEXシリーズ(Pharmacia Biotech、Uppsala、Sweden)、およびpEXシリーズ(Clontech、Palo Alto、CA)からなる群より選択することができる。GT10、GT11、ZapII(Stratagene)、EMBL4、およびNM1149のようなバクテリオファージベクターも使用することができる。植物の発現ベクターの例には、pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121およびpBIN19(Clontech)がある。動物の発現ベクターの例には、pEUK-Cl、pMAM、およびpMAMneo(Clontech)がある。組換え発現ベクターはウイルスベクター、例えば、レトロウイルスベクターであってもよい。

30

【0084】

いくつかのトランスフェクション技法は当技術分野で一般に公知である(例えば、Grahamら、Virology、52巻:456~467頁(1973年);Greenら、上記;Davisら、Basic Methods in Molecular Biology、Elsevier(1986年);およびChuら、Gene、13巻:97頁(1981年)参照。トランスフェクション方法には、リン酸カルシウム共沈(例えば、Grahamら、上記参照)、培養細胞への直接微量注入(例えば、Capecci、Cell、22巻:479~488頁(1980年)参照)、エレクトロポレーション(例えば、Shigekawaraら、BioTechniques、6巻:742~751頁(1988年)参照)、リポソーム媒介遺伝子導入(例えば、Manninoら、BioTechniques、6巻:682~690頁(1988年)参照)、脂質媒介

40

50

形質導入（例えば、Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、84巻：7413～7417頁（1987年）参照）、および高速微粒子（microprojectile）を使用した核酸送達（例えば、Kleinら、Nature、327巻：70～73頁（1987年）参照）。

【0085】

ある実施形態では、本発明の組換え発現ベクターは例えば、Greenら、上記、およびAusubelら、上記に記載されている標準的な組換えDNA技法を使用して製造することができる。環状または線状の発現ベクターの構築物は、原核生物または真核生物宿主細胞で機能性の複製系を含有するように製造することができる。複製系は、例えば、ColE1、2μプラスミド、SV40、ウシパピローマウイルスなどに由来することができる。

10

【0086】

組換え発現ベクターは、必要に応じて、ベクターがDNAまたはRNAをベースとするかどうかを考慮して、ベクターが導入される宿主細胞のタイプ（例えば、細菌、真菌、植物、または動物）に特異的な転写ならびに翻訳開始および停止コドンのような調節配列を含み得る。組換え発現ベクターはクローニングを容易にするために制限部位を含み得る。

【0087】

組換え発現ベクターは、形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞の選択を可能にする1つまたは複数のマーカー遺伝子を含むことができる。マーカー遺伝子としては、殺生物剤耐性、例えば、抗生物質、重金属などに対する耐性、原栄養性を提供するための栄養要求性宿主における補完などがある。本発明の発現ベクターに適したマーカー遺伝子には、例えば、ネオマイシン/G418耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子、ヒスチジノール耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子、およびアンピシリン耐性遺伝子がある。

20

【0088】

組換え発現ベクターは、ポリペプチド、タンパク質、CAR、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、またはこれらの機能性部分もしくは機能性変異体をコードするヌクレオチド配列、または本発明のポリペプチド、タンパク質、CAR、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、またはこれらの機能性部分もしくは機能性変異体をコードするヌクレオチド配列と相補的であるかまたはハイブリダイズするヌクレオチド配列に作動可能に連結した天然または非天然のプロモーターを含むことができる。例えば、強い、弱い、誘導性、組織特異的および発生特異的なプロモーターの選択は当業者の通常の技量の範囲内である。同様に、ヌクレオチド配列をプロモーターと組み合わせることも当業者の通常の技量の範囲内である。プロモーターは、非ウイルスプロモーターまたはウイルスプロモーター、例えば、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター、SV40プロモーター、RSVプロモーター、またはネズミの幹細胞ウイルスの長い末端反復内に見られるプロモーターであってもよい。

30

【0089】

本発明の組換え発現ベクターは一過性の発現、安定な発現、または両方のために設計することができる。また、組換え発現ベクターは構成的な発現または誘導性の発現用に作製することができる。

40

【0090】

さらに、組換え発現ベクターは自殺遺伝子を含むように作製することができる。本明細書で使用される場合、用語「自殺遺伝子」とは、自殺遺伝子を発現する細胞を死滅させる遺伝子を指す。自殺遺伝子は、その遺伝子を発現する細胞に、作用物質、例えば薬物に対する感受性を付与し、その細胞がその作用物質に接触するかまたは曝露されたときにその細胞を死滅させる遺伝子であってもよい。自殺遺伝子は当技術分野で公知であり（例えば、Suicide Gene Therapy: Methods and Reviews, Springer, Caroline J. (Cancer Research UK Centre for Cancer Therapeutics at th

50

e Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, UK)、Humana Press、2004年参照)、例えば、単純ヘルペスウイルス(HSV)チミジンキナーゼ(TK)遺伝子、シトシンデアミナーゼ(dam
inase)、プリンクレオシドホスホリラーゼ、およびニトロレダクターゼを含む。
【0091】

本発明のある実施形態は、本明細書に記載されている組換え発現ベクターのいずれかを含む宿主細胞をさらに提供する。本明細書で使用される場合、用語「宿主細胞」とは、本発明の組換え発現ベクターを含有することができる任意のタイプの細胞を指す。宿主細胞は真核生物細胞、例えば、植物、動物、真菌、もしくは藻類であってもよく、または原核生物細胞、例えば、細菌もしくは原生生物であってもよい。宿主細胞は、培養細胞または初代細胞であってもよく、すなわち、生物、例えばヒトから直接単離され得る。宿主細胞は、接着細胞または浮遊細胞、すなわち懸濁物中で増殖する細胞であってもよい。適切な宿主細胞は当技術分野で公知であり、例えば、DH5 E. coli細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞、サルVERO細胞、COS細胞、HEK293細胞などがある。組換え発現ベクターを増幅または複製する目的からは、宿主細胞は原核生物の細胞、例えば、DH5細胞でよい。組換えポリペプチド、タンパク質、CAR、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、またはこれらの機能性部分もしくは機能性変異体を産生する目的では、宿主細胞は哺乳動物の細胞であり得る。宿主細胞はヒト細胞であってもよい。宿主細胞はあらゆる細胞型のものであってもよく、任意のタイプの組織に由来することができるが、任意の発生段階にあることができるが、宿主細胞は末梢血リンパ球(PBL)または末梢血単核球(PBMC)であり得る。宿主細胞はB細胞でもT細胞でもよい。

10

20

30

40

50

【0092】

本発明の目的から、T細胞は任意のT細胞であってもよく、例えば培養されたT細胞、例えば、初代T細胞、または培養されたT細胞株に由来するT細胞、例えば、Jurkat、SupT1など、または哺乳動物から得られたT細胞であってもよい。哺乳動物から得る場合、T細胞は、限定されることはないが血液、骨髄、リンパ節、胸腺、もしくは他の組織または流体を始めとする多数の供給源から得ることができる。T細胞はまた、濃縮もしくは精製することもできる。T細胞はヒトT細胞であってもよい。T細胞はヒトから単離されたT細胞でもよい。T細胞は任意のタイプのT細胞であってもよく、任意の発生段階にあることができ、例えば、限定されることはないが、CD4⁺/CD8⁺ダブルポジティブT細胞、CD4⁺ヘルパーT細胞、例えば、Th₁およびTh₂細胞、CD8⁺T細胞(例えば、細胞傷害性T細胞)、腫瘍浸潤性細胞、メモリーT細胞、ナイーブT細胞などであってもよい。T細胞はCD8⁺T細胞またはCD4⁺T細胞であってもよい。

【0093】

また、本発明のある実施形態により、本明細書に記載されている少なくとも1つの宿主細胞を含む細胞の集団も提供される。細胞の集団は、記載されている組換え発現ベクターのいずれかを含む宿主細胞を、少なくとも1つの他の細胞、例えば、組換え発現ベクターを一切含まない宿主細胞(例えば、T細胞)、またはT細胞以外の細胞、例えば、B細胞、マクロファージ、好中球、赤血球、肝細胞、内皮細胞、上皮細胞、筋肉細胞、脳細胞などを加えて含む、不均質な集団であってもよい。あるいは、細胞の集団は、集団が、組換え発現ベクターを含む宿主細胞を主として含む(例えば、上記宿主細胞から本質的になる)、実質的に均質な集団であってもよい。集団はまた、集団の全ての細胞が、組換え発現ベクターを含む単一の宿主細胞のクローンであって、結果として集団の全ての細胞が組換え発現ベクターを含む、細胞のクローンの集団であってもよい。本発明の一実施形態では、細胞の集団は、本明細書に記載されている組換え発現ベクターを含む宿主細胞を含むクローンの集団である。

【0094】

ポリペプチド、タンパク質、CAR(これらの機能性部分および変異体を含む)、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞(これらの集団を含む)、抗CD276結合性部分、およびコンジュゲートは、以後すべて総称して「本発明の抗CD276材料」と称するが、

単離および/または精製することができる。用語「単離された」とは、本明細書で使用される場合、その天然環境から取り出されていることを意味する。用語「精製された」または「単離された」は絶対的な純度も単離も必要とせず、むしろ、相対的な用語として意図されている。したがって、例えば、精製された（または単離された）宿主細胞調製物は、宿主細胞が体内の天然の環境にある細胞よりも純粋であるものである。かかる宿主細胞は、例えば、標準的な精製技法によって産生され得る。一部の実施形態では、宿主細胞の調製物は、宿主細胞が調製物の総細胞含量の少なくとも約50%、例えば、少なくとも約70%となるように精製される。例えば、純度は少なくとも約50%であってもよく、約60%、約70%または約80%超であってもよく、または約100%であってもよい。

【0095】

本発明の抗CD276材料は、医薬組成物のような組成物に製剤化することができる。この点で、本発明のある実施形態は、本明細書に記載されている本発明の抗CD276材料のいずれかおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。本発明の抗CD276材料のいずれかを含有する本発明の医薬組成物は、1つより多くの本発明の抗CD276材料、例えば、コンジュゲートおよび核酸、または2つまたはそれ超の異なるコンジュゲートを含むことができる。あるいは、医薬組成物は化学療法剤、例えば、アスパラギナーゼ、ブスルファン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルビシン、ドキシソルビシン、フルオロウラシル、ゲムシタピン、ヒドロキシウレア、メトトレキサート、パクリタキセル、リツキシマブ、ビンブラスチン、ピンクリスチンなどのような他の薬学的に活性な作用物質または薬物と組み合わせて本発明の抗CD276材料を含むことができる。好ましい実施形態では、医薬組成物は本発明のコンジュゲートを含む。

【0096】

本発明の抗CD276材料は、塩、例えば薬学的に許容される塩の形態で提供することができる。適切な薬学的に許容される酸付加塩には、塩酸、臭化水素酸、リン酸、メタリン酸、硝酸、および硫酸のような鉱酸、ならびに酒石酸、酢酸、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、フマル酸、安息香酸、グリコール酸、グルコン酸、コハク酸、およびアリアルスルホン酸、例えばp-トルエンスルホン酸のような有機酸から誘導される塩がある。

【0097】

医薬組成物に関連して、薬学的に許容される担体は、慣習的に使用されているもののいずれかであってもよく、溶解度および活性な作用物質との反応性の欠如のような物理化学的な観点、ならびに投与経路によってのみ制限される。本明細書に記載されている薬学的に許容される担体、例えば、ビヒクル、アジュバント、賦形剤、および希釈剤は当業者に周知であり、公に容易に利用可能である。薬学的に許容される担体は、活性な作用物質に対して化学的に不活性であるものおよび使用条件下で有害な副作用も毒性も有さないものであることが好ましい。

【0098】

担体の選択は部分的に、特定の本発明の抗CD276材料により、ならびに本発明の抗CD276材料を投与するのに使用される特定の方法により、決定される。したがって、本発明の医薬組成物に適した様々な製剤がある。保存剤を使用し得る。適切な保存剤として、例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、および塩化ベンザルコニウムを挙げることができる。任意選択で、2種またはそれ超の保存剤の混合物を使用し得る。保存剤またはその混合物は通例、全組成の約0.0001%~約2重量%の量で存在する。

【0099】

適切な緩衝剤としては、例えば、クエン酸、クエン酸ナトリウム、リン酸、リン酸カリウム、ならびに様々な他の酸および塩を挙げることができる。任意選択で、2つまたはそれ超の緩衝剤の混合物も使用できる。緩衝剤またはその混合物は通例全組成の約0.001%~約4重量%の量で存在する。

【0100】

医薬製剤中の本発明の抗CD276材料の濃度は、例えば、約1重量%未満、通常約1

10

20

30

40

50

0重量%または少なくとも約10重量%から、例えば約20重量%～約50重量%またはそれ超までも変化することができ、主として流体体積、および粘度により、選択された特定の投与様式に従って選択することができる。

【0101】

投与可能な（例えば、非経口で投与可能な）組成物を製造する方法は当業者に公知または明白であり、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、Lippincott Williams & Wilkins、第21版（2005年5月1日）により詳細に記載されている。

【0102】

経口、エアゾール、非経口（例えば、皮下、静脈内、動脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、および髄腔内）、および局所投与用の以下の製剤は単に代表例であり、いかなる意味でも限定することはない。1つより多くの経路を使用して本発明の抗CD276材料を投与することができ、ある特定の場合では、特定の経路が別の経路より即時でより有効な応答を提供することができる。

10

【0103】

経口投与に適した製剤は、(a)水、食塩水、またはオレンジジュースのような希釈剤に溶解した有効量の本発明の抗CD276材料のような液体溶液；(b)各々が固体または顆粒として所定量の有効成分を含有するカプセル、サシェ(sachet)、錠剤、ロゼンジ、およびトローチ；(c)散剤；(d)適当な液体中の懸濁物；および(e)適切な乳剤を含むかまたはこれからなることができる。液体製剤は、薬学的に許容される界面活性剤を添加したかまたはしてない、水ならびにアルコール、例えば、エタノール、ベンジルアルコール、およびポリエチレンアルコールのような希釈剤を含み得る。カプセル形態は、例えば、界面活性剤、滑沢剤、ならびにラクトース、スクロース、リン酸カルシウム、およびコーンスターチのような不活性充填剤を含有する通常の硬質または軟質シエルのゼラチンタイプのものであってもよい。錠剤形態は、1つまたは複数のラクトース、スクロース、マンニトール、コーンスターチ、ジャガイモデンプン、アルギン酸、微結晶性セルロース、アカシア、ゼラチン、グアーガム、コロイド状二酸化ケイ素、クロスカルメロースナトリウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸、ならびに他の賦形剤、着色剤、希釈剤、緩衝剤、崩壊剤、湿潤剤、保存剤、矯味矯臭剤、および他の薬理的に適合性の賦形剤を含むことができる。ロゼンジ形態は、矯味矯臭薬、通常スクロースおよびアカシアまたはトラガカント中に本発明の抗CD276材料を含むことができ、同様にトローチ(pastille)は当技術分野で公知のかかる賦形剤を含有するか、またはこれに加えて、ゼラチンおよびグリセリン、またはスクロースおよびアカシア、乳剤、ゲルなどの不活性な基剤中に本発明の抗CD276材料を含むことができる。

20

30

【0104】

非経口投与に適した製剤としては、酸化防止剤、緩衝液、静菌剤、および製剤を意図された受容者の血液と等張にする溶質を含有する水性および非水性の等張性で無菌の注射溶液、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤、および保存剤を含むことができる水性および非水性の無菌懸濁物がある。本発明の抗CD276材料は、生理学的に許容可能な希釈剤中、無菌の液体または液体の混合物のような医薬担体において投与ことができ、かかる担体には、水、食塩水、水性デキストロースおよび関連の糖溶液、アルコール、例えばエタノールまたはヘキサデシルアルコール、グリコール、例えばプロピレングリコールまたはポリエチレングリコール、ジメチルスルホキシド、グリセロール、ケタール、例えば2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール、エーテル、ポリ(エチレングリコール)400、油、脂肪酸、脂肪酸エステルもしくはグリセリド、またはアセチル化脂肪酸グリセリドがあり、薬学的に許容される界面活性剤、例えば石ケンまたは洗浄剤、懸濁化剤、例えばペクチン、カルボマー、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、またはカルボキシメチルセルロース、または乳化剤および他の医薬アジュバントを添加してもしなくてもよい。

40

50

【0105】

非経口製剤に使用することができる油には、石油、動物、植物、または合成の油がある。油の具体的な例として、ピーナツ油、ダイズ油、ゴマ油、綿実油、トウモロコシ油、オリーブ油、ペトロラタム、および鉱油がある。非経口製剤に使用するのに適した脂肪酸にはオレイン酸、ステアリン酸、およびイソステアリン酸がある。オレイン酸エチルおよびミリスチン酸イソプロピルは適切な脂肪酸エステル例である。

【0106】

非経口製剤に使用するのに適した石ケンには脂肪酸のアルカリ金属 (fatty alkali metal)、アンモニウム、およびトリエタノールアミン塩があり、適切な洗浄剤としては (a) 例えば、ジメチルジアルキルアンモニウムハライド、およびアルキルピリジニウムハライドのようなカチオン性の洗浄剤、(b) 例えば、アルキル、アリール、およびオレフィンスルホネート、アルキル、オレフィン、エーテル、およびモノグリセリドスルフェート、およびスルホスクシネートのようなアニオン性の洗浄剤、(c) 例えば、脂肪アミンオキシド、脂肪酸アルカノールアミド、およびポリオキシエチレンポリプロピレンコポリマーのような非イオン性の洗浄剤、(d) 例えば、アルキル - アミノプロピオネート、および2 - アルキル - イミダゾリン第四級アンモニウム塩のような両性洗浄剤、ならびに (e) これらの混合物がある。

【0107】

非経口製剤は、通例、例えば約0.5%~約25重量%の本発明の抗CD276材料を溶液中に含有する。保存剤および緩衝液を使用し得る。注射部位における刺激を最小にするかまたは排除するために、かかる組成物は、例えば、約12~約17の親水性-親油性バランス(HLB)を有する1つまたは複数の非イオン性界面活性剤を含有し得る。かかる製剤中の界面活性剤の量は、通例、例えば約5%~約15重量%の範囲である。適切な界面活性剤としては、ソルビタンモノオレエートのようなポリエチレングリコールソルビタン脂肪酸エステル、ならびにプロピレンオキシドとプロピレングリコールとの縮合により形成される疎水性ベースを有するエチレンオキシドの高分子量付加物がある。非経口製剤は、アンプルおよびバイアルのような単位用量または複数用量の密封容器で提供することができ、使用直前に無菌の液体賦形剤、例えば注射用水の添加を要するだけである凍結乾燥(凍結乾燥)条件で貯蔵することができる。即時注射溶液および懸濁物は既に記載した種類の無菌の散剤、顆粒、および錠剤から製造することができる。

【0108】

注射可能な製剤は本発明のある実施形態に従う。注射可能な組成物に有効な医薬担体としての要件は当業者に周知である(例えば、A Practical Guide to Contemporary Pharmacy Practice、第3版、Lippincott Williams and Wilkins、Philadelphia、PA、ThompsonおよびDavidow、編、(2009年)、およびHandbook on Injectable Drugs、Trissel、第16版、(2010年)参照)。

【0109】

経皮薬物放出に有用なものを含めて局所製剤は当業者に周知であり、皮膚への適用のための本発明の実施形態との関連で適切である。単独または他の適切な成分と組み合わせた本発明の抗CD276材料は、吸入によって投与されるエアゾール製剤として作製することができる。これらのエアゾール製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素、などのような加圧された許容可能な噴霧体中に入れることができる。これらはまた、ネブライザーまたはアトマイザーのような加圧されていない調製物用の医薬品として製剤化してもよい。かかるスプレー製剤はまた粘膜に噴霧するために使用してもよい。

【0110】

「有効量」または「治療するのに有効な量」とは、個体において(a)がんを予防または治療するか、または(b)腫瘍血管系を低減または排除するのに適切な用量を指す。治療または予防での使用のために有効な量は、例えば、治療される疾患または傷害の段階お

10

20

30

40

50

よび重症度、患者の年齢、体重、および一般的な健康状態、ならびに処方する医師の判断に依存する。用量のサイズはまた、選択された活性剤 (a c t i v e)、投与方法、投与のタイミングおよび頻度、特定の活性剤の投与に伴う可能性がある何らかの有害な副作用の存在、性質、および程度、ならびに所望の生理学的効果によっても決定される。当業者には理解されるように、様々な疾患または傷害は、投与の各々または様々なラウンドにおける、おそらく本発明の抗CD276材料を使用する複数の投与を含む長期の治療を必要とする可能性がある。本発明を限定する意図がない例を示すと、本発明の抗CD276材料の用量は治療される被験体の体重kg当たり1日毎に約0.001~約1000mg、約0.01~約10mg/kg体重/日、約0.01mg~約1mg/kg体重/日であってもよい。

10

【0111】

本発明の目的から、投与される本発明の抗CD276材料の量または用量は妥当な時間枠にわたって被験体または動物において治療または予防上の応答をもたらすのに充分であるべきである。例えば、本発明の抗CD276材料の用量は、投与の時から約2時間またはそれより長い期間、例えば、約12~約24またはそれ超の時間、抗原に結合し、腫瘍血管系を検出し、低減し、もしくは排除し、または疾患を検出し、治療し、または予防するのに充分であるべきである。ある特定の実施形態では、期間はさらに長くなる可能性がある。用量は、特定の発明の抗CD276材料の効力および動物(例えば、ヒト)の状態、ならびに治療される動物(例えば、ヒト)の体重によって決定される。

20

【0112】

本発明の目的のために、例えば、各々いろいろな用量の本発明の抗CD276材料を与えられた一組の哺乳動物のうちで、所与の用量の本発明の抗CD276材料が哺乳動物に投与された際に標的細胞が死滅した程度を比較することを含むアッセイを使用して、哺乳動物に投与される開始用量を決定することができよう。ある特定の用量の投与の際に標的細胞が死滅した程度は当技術分野で公知の方法によってアッセイすることができる。

30

【0113】

前述の医薬組成物に加えて、本発明の抗CD276材料はシクロデキストリン包接複合体のような包接複合体 (i n c l u s i o n c o m p l e x)、またはリポソームとして製剤化することができる。リポソームは、特定の組織に対して本発明の抗CD276材料を標的化させるのに役立つことができる。リポソームはまた本発明の抗CD276材料の半減期を増大するのに使用することもできる。例えば、S z o k a r a、A n n . R e v . B i o p h y s . B i o e n g .、9巻、467頁(1980年)ならびに米国特許第4,235,871号、同第4,501,728号、同第4,837,028号、および同第5,019,369号に記載されているように多くの方法が、リポソームを調製するのに利用可能である。

40

【0114】

本発明の実施形態との関連で有用な送達系として、治療される部位の感作の前に、かつ感作を引き起こすのに十分な時間で、本発明の組成物の送達がおこるように、時限放出 (t i m e - r e l e a s e d)、遅延放出、および持続放出送達系が含まれ得る。本発明の組成物は他の治療剤または療法と併せて使用することができる。かかる系は本発明の組成物の反復投与を回避することができ、そのため被験体および医師に対する利便性が増大し、本発明のある特定の組成物の実施形態にとっては特に適切であり得る。

50

【0115】

多くのタイプの放出送達系が利用可能であり、当業者に公知である。それらには、ポリ(ラクチド-グリコリド)、コポリオキサレート、ポリカプロラクトン、ポリエステルアミド、ポリオルトエステル、ポリヒドロキシ酪酸、およびポリ無水物のようなポリマーベースの系がある。薬物を含む上記ポリマーのマイクロカプセルが、例えば、米国特許第5,075,109号に記載されている。送達系にはまた、コレステロール、コレステロールエステルのようなステロール、ならびに脂肪酸またはモノ-、ジ-およびトリ-グリセリドのような中性脂肪を始めとする脂質である非ポリマー系；ヒドロゲル放出系；サ

60

イラストリック (s y l a s t i c) 系 ; ペプチドベースの系 ; ワックスコーティング ; 慣用のバインダーおよび賦形剤を用いる圧縮錠剤 ; 部分的に融合したインプラントなどもある。具体的な例として、限定されることはないが : (a) 米国特許第 4 , 4 5 2 , 7 7 5 号、同第 4 , 6 6 7 , 0 1 4 号、同第 4 , 7 4 8 , 0 3 4 号、および同第 5 , 2 3 9 , 6 6 0 号に記載されているもののような、活性な組成物がマトリックス内である形態で含有されている浸食系、ならびに (b) 米国特許第 3 , 8 3 2 , 2 5 3 号および同第 3 , 8 5 4 , 4 8 0 号に記載されているもののような、活性成分が制御された速度でポリマーから浸透する拡散系がある。さらに、ポンプをベースとするハードウェア送達系を使用することができ、そのうちの幾つかは移植に適している。

【 0 1 1 6 】

当業者には容易に理解されるように、本発明の抗 C D 2 7 6 材料は、改変により本発明の抗 C D 2 7 6 材料の治療効力または予防効力が増大するように、あらゆる方法で改変することができる。例えば、本発明の抗 C D 2 7 6 材料は、本発明の抗 C D 2 7 6 材料が投与された身体中に放出される方式が時間および身体内の位置に関連して制御されるように、デポー形態に改変することができる (例えば、米国特許第 4 , 4 5 0 , 1 5 0 号参照) 。デポー形態の本発明の抗 C D 2 7 6 材料は、例えば、本発明の抗 C D 2 7 6 材料およびポリマーのような多孔質または非多孔質材料を含む移植可能な組成物であってもよく、ここで本発明の抗 C D 2 7 6 材料は、材料によりカプセル化されているか、または材料全体に拡散しており、および / または非多孔質材料の分解。このデポーはその後身体内の所望の位置に移植され、本発明の抗 C D 2 7 6 材料はインプラントから所定の速度で放出される。

【 0 1 1 7 】

本発明の抗 C D 2 7 6 材料を 1 つまたは複数の追加の治療剤と共に投与するとき、1 つまたは複数の追加の治療剤は哺乳動物に共投与する (c o a d m i n i s t e r) ことができる。「共投与する」とは、本発明の抗 C D 2 7 6 材料が 1 つまたは複数の追加の治療剤の効果を増進することができるか、またはその逆も同様に行われるように、1 つまたは複数の追加の治療剤および本発明の抗 C D 2 7 6 材料を時間的に充分近接して投与することを意味する。この点で、本発明の抗 C D 2 7 6 材料を最初に投与し、1 つまたは複数の追加の治療剤を次に投与するか、またはその逆も同様に行うことができる。あるいは、本発明の抗 C D 2 7 6 材料および 1 つまたは複数の追加の治療剤は、同時に投与することができる。抗 C D 2 7 6 材料と共投与することができる代表的な治療剤は I L - 2 である。I L - 2 は本発明の抗 C D 2 7 6 材料の治療効果を高めると考えられる。本発明の方法の目的から、宿主細胞または細胞の集団を哺乳動物に投与する場合、細胞は哺乳動物に対して同種異系または自家の細胞であってもよい。

【 0 1 1 8 】

本発明の抗 C D 2 7 6 材料および医薬組成物は哺乳動物において疾患を治療または予防する方法に使用できると企図される。特定の理論または機序に縛られることはないが、本発明の抗 C D 2 7 6 材料は生物学的活性、例えば、抗原、例えば C D 2 7 6 を認識する能力を有し、その結果、抗 C D 2 7 6 材料はエフェクター分子を標的細胞または標的組織に向かわせることができる。この点で、本発明のある実施形態は、本発明のポリペプチド、タンパク質、C A R、機能性部分、機能性変異体、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗 C D 2 7 6 結合性部分、コンジュゲート、および / または医薬組成物のいずれかを、哺乳動物において (a) がんを治療もしくは予防するかまたは (b) 腫瘍血管系を低減もしくは排除するのに有効な量で哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において (a) がんを治療もしくは予防するかまたは (b) 腫瘍血管系を低減もしくは排除する方法を提供する。

【 0 1 1 9 】

本発明のある実施形態は、さらに、本発明の抗 C D 2 7 6 材料を投与する前に哺乳動物をリンパ枯渇させる (l y m p h o d e p l e t e) ことを含む。リンパ枯渇の例としては、限定されることはないが、骨髄非破壊的なリンパ枯渇化学療法、骨髄破壊的なリンパ

10

20

30

40

50

枯渇化学療法、全身照射などがある。

【0120】

本発明の方法の目的にとって、宿主細胞または細胞の集団を投与する場合、細胞は哺乳動物に対して同種異系または自家の細胞であってもよい。好ましくは、細胞は哺乳動物に対して自家である。

【0121】

本明細書でいう哺乳動物はあらゆる哺乳動物であってもよい。本明細書で使用される場合、用語「哺乳動物」とは、限定されることはないが、マウスおよびハムスターのようなげっ歯目の哺乳動物、ならびにウサギのようなウサギ (Logomorpha) 目の哺乳動物を含めたあらゆる哺乳動物を指す。哺乳動物はネコ (Feline) (ネコ (cat)) およびイヌ (Canine) (イヌ (dog)) を含む食肉目でもよい。哺乳動物はウシ (Bovine) (ウシ (cow)) およびブタ (Swine) (ブタ (pig)) を含む偶蹄目、またはウマ (Equine) (ウマ (horse)) を含む奇蹄目 (Perissodactyla) でもよい。哺乳動物は霊長目、Ceboïd、もしくはSimoid (サル) または真猿亜目 (Anthropoid) (ヒトおよび類人猿) でもよい。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

【0122】

本発明の方法に関連して、がんは、急性リンパ球性がん、急性骨髄性白血病、横紋筋肉腫、膀胱がん (例えば、膀胱癌)、骨がん、脳がん (例えば、髄芽腫、神経芽細胞腫、およびグリア芽腫)、乳がん、肛門、肛門管、または肛門直腸 (anorectum) のがん、目のがん、肝内胆管のがん、関節のがん、首、胆嚢、または胸膜のがん、鼻、鼻腔、または中耳のがん、口腔のがん、陰門のがん、慢性のリンパ球性白血病、慢性の骨髄性がん、結腸がん、ユーイング肉腫、食道がん、子宮頸がん (cervical cancer)、線維肉腫、胃腸のカルチノイド、頭頸部がん (例えば、頭頸部扁平上皮細胞癌)、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、腎臓がん、喉頭がん、白血病、液体腫瘍 (liquid tumor)、肝臓がん、肺がん (例えば、非小細胞肺癌)、リンパ腫、悪性中皮腫、肥満細胞腫、黒色腫、多発性骨髄腫、鼻咽頭がん、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、B - 慢性のリンパ球性白血病、ヘアリーセル白血病、急性リンパ球性白血病 (ALL)、およびパーキットリンパ腫、卵巣がん、膵臓がん、腹膜、網、および腸間膜がん、咽頭がん、前立腺がん、直腸がん、腎臓がん、皮膚がん、小腸がん、軟組織がん、固形腫瘍、胃がん、精巣がん、甲状腺がん、および尿管がんを含むあらゆるがんであってもよい。好ましくは、がんは固形腫瘍 (例えば、小児固形腫瘍)、成人癌、神経芽細胞腫、グリア芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、前立腺がん、卵巣がん、結腸直腸がん、または肺がんである。ある実施形態では、がんはCD276の発現または過剰発現を特徴とする。

【0123】

特定の理論または機序に縛られることはないが、血管系 (例えば、腫瘍血管系) はCD276を発現する標的であり得ると考えられる。したがって、本発明のある実施形態では、がんは腫瘍血管系以外の領域におけるCD276の発現または過剰発現を特徴としない。

【0124】

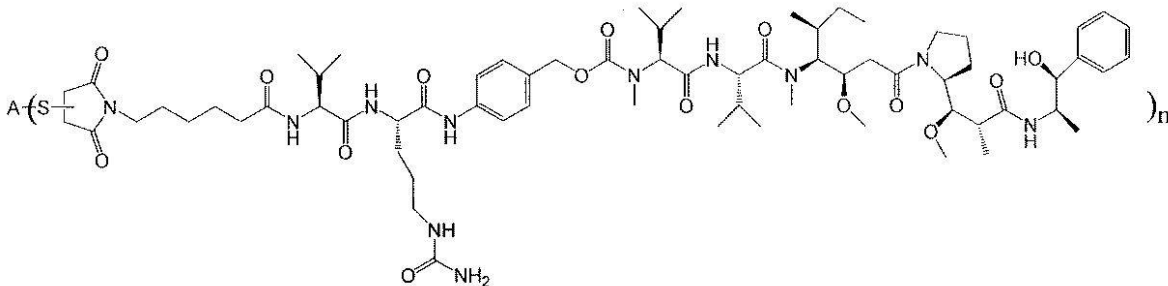
用語「治療する」および「予防する」ならびにそれから派生する語は、本明細書で使用される場合、必ずしも100%または完全な治療または予防を意味しない。むしろ、当業者が潜在的な利益または治療効果を有すると認識する治療または予防の様々な程度がある。この関係で、本発明の方法は哺乳動物においてがんの治療または予防の任意のレベルの任意の量を提供することができる。なお、本発明の方法により提供される治療または予防は、治療または予防される疾患、例えばがんの1つまたは複数の状態または症状の治療または予防を含むことができる。また、本発明の目的にとって、「予防」は、疾患、またはその症状もしくは状態の発現を遅らせることを包含することができる。

【0125】

本発明の別の実施形態は、(a) がんを治療もしくは予防するかまたは (b) 腫瘍血管

系を低減するためのキットであって、本発明の他の態様に関連して本明細書に記載されているポリペプチド、タンパク質、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、核酸、組換え発現ベクター、単離された宿主細胞、細胞の集団、または医薬組成物のいずれかを含むキットを提供する。好ましい実施形態では、キットは

【化6】



10

(式中、

nは偶数の整数であり、

Aは配列番号26および27のアミノ酸配列を含む抗CD276結合性部分である)

を含むコンジュゲートを含む。キットのある実施形態は、(a)本発明の他の態様に関連して本明細書に記載されている薬学的に許容される担体(例えば、緩衝剤)、(b)キットを使用するための印刷された指示、(c)本発明の他の態様に関連して本明細書に記載されている化学療法剤のような1つまたは複数の他の薬学的に活性な作用物質または薬物のいずれか1つまたは複数を含み得る。キットを使用するための印刷された指示は、本発明の他の態様に関連して本明細書に記載されている本発明の抗CD276材料を投与する方法を説明している。キットのある実施形態は、1つまたは複数の薬学的に許容される担体の各々、1つまたは複数の本発明の抗CD276材料の各々、および1つまたは複数の他の薬学的に活性な作用物質または薬物の各々を保つための別個の容器をさらに含む。

20

【0126】

本発明の別の実施形態は、哺乳動物における(a)がんの治療もしくは予防、または(b)腫瘍血管系の低減もしくは排除のための、本発明のポリペプチド、タンパク質、CAR、機能性部分、機能性変異体、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗CD276結合性部分、コンジュゲート、または医薬組成物のいずれかの使用を提供する。

30

【0127】

本発明の別の実施形態は、哺乳動物において(a)がんまたは(b)腫瘍血管系の存在を検出する方法であって、(a)哺乳動物に由来する1つまたは複数の細胞を含む試料を、本発明のポリペプチド、タンパク質、CAR、機能性部分、機能性変異体、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗CD276結合性部分、またはコンジュゲートと接触させることにより複合体を形成するステップ、および(b)複合体を検出するステップを含み、複合体の検出は哺乳動物における(a)がんまたは(b)腫瘍血管系の存在を示す、方法を提供する。

40

【0128】

試料は、何らかの適切な方法、例えば生検または剖検によって得ることができる。生検は、個体から組織および/または細胞を取り出すことである。かかる取り出しは、取り出された組織および/または細胞に対して実験を行うために、個体から組織および/または細胞を収集することであり得る。この実験は、個体がある特定の状態または疾患状態を有するか、および/または罹患しているかを決定するための実験を含み得る。この状態または疾患は、例えば、がんであり得る。

【0129】

哺乳動物において(a)がんまたは(b)腫瘍血管系の存在を検出する本発明の方法のある実施形態に関連して、哺乳動物の細胞を含む試料は全細胞、その溶解物、または全細

50

胞溶解物の画分、例えば、細胞核もしくは細胞質画分、全タンパク質画分、もしくは核酸画分を含む試料であってもよい。試料が全細胞を含む場合、細胞は哺乳動物のあらゆる細胞、例えば、血液細胞または内皮細胞を含む任意の器官もしくは組織の細胞であってもよい。

【0130】

本発明の検出方法の目的から、接触は哺乳動物に対して *in vitro* または *in vivo* で行うことができる。好ましくは、接触は *in vitro* である。

【0131】

また、複合体の検出は当技術分野で公知のあらゆる方法で実施することができる。例えば、本明細書に記載されている本発明の CAR、ポリペプチド、タンパク質、機能性部分、機能性変異体、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗 CD276 結合性部分、またはコンジュゲートは、例えば、放射性同位体、フルオロフォア（例えば、フルオレセインイソチオシアネート (FITC)、フィコエリトリン (PE)）、酵素（例えば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ）、および元素粒子（例えば、金粒子）のような検出可能な標識で標識することができる。

【0132】

抗 CD276 材料の標的細胞を認識する能力および抗原特異性を試験する方法は当技術分野で公知である。例えば、Clayton, J. Immunol., 163 巻: 507 ~ 513 頁 (1999 年) は、サイトカイン（例えば、インターフェロン- γ 、顆粒球/単球コロニー刺激因子 (GM-CSF)、腫瘍壊死因子 α (TNF- α) またはインターロイキン 2 (IL-2) の放出を測定する方法を教示している。さらに、抗 CD276 材料の機能は Zhao, J. Immunol., 174 巻: 4415 ~ 4423 頁 (2005 年) に記載されているように細胞傷害の測定によって評価することができる。

【実施例】

【0133】

以下の実施例は本発明をさらに例証するが、当然、いかなる意味でもその範囲を限定すると解釈されるべきではない。

【0134】

(実施例 1)

この実施例は、抗 CD276 結合ドメインの同定、精製、および特徴付けを実証する。

【0135】

酵母ディスプレイライブラリー、抗体、ビオチン化キット、細胞ファージディスプレイ Fab ライブラリーの構築に使用した遺伝子を含むヒト抗体遺伝子レパートリーのコレクションを使用して大きい酵母ディスプレイ単鎖可変断片 (scFv) ヒト抗体ライブラリーを構築した (Zhu, Methods Mol. Biol., 525 巻: 129 ~ 142 頁, xv (2009 年))。

【0136】

マウスモノクローナル抗 c-Myc 抗体は Roche (Pleasanton, California) から購入した。PE コンジュゲートストレプトアビジンおよび Alexa-488 コンジュゲートヤギ抗マウス抗体は Invitrogen (Carlsbad, CA) から購入した。プロテイン G カラムは GE Healthcare (Waukesha, WI) から購入した。Avidin-タグ特異的ビオチン化キットは Avidity (Aurora, CO) から購入した。酵母プラスミド抽出キットは Zymo Research (Irvine, CA) から購入した。293 フリースタイルタンパク質発現キットは Invitrogen から購入した。AutoMACS System は Miltenyi Biotec (Cologne, Germany) から購入した。

【0137】

初期酵母ディスプレイヒト抗体ライブラリーの MACS 選別のダウンサイズ

ビオチン化したヒトおよびマウス CD276 細胞外ドメインを 3 回の選別の標的として使用して、初期酵母ディスプレイライブラリーをダウンサイズした。初

10

20

30

40

50

期ナイーブ抗体ライブラリーに由来するおよそ1010の細胞および10 μ gのビオチン化したCD276細胞外ドメインを、50mlのPBSA(0.1%ウシ血清アルブミンを含有するリン酸緩衝化食塩水)中室温(RT)で2hr回転させながらインキュベートした。ライブラリーからの細胞上にディスプレイした抗体に結合したビオチン化CD276細胞外ドメインの混合物を3回PBSAで洗浄し、100 μ lのストレプトアビジンとコンジュゲートしたマイクロビーズ(Miltenyi Biotec)と共にRTでインキュベートした。得られた混合物を1回PBSAで洗浄し、1回目の選別のためにAutoMACSシステムにロードした。選別した細胞を、SDCAA培地(1リットル水中における20gのデキストロース、6.7gのアミノ酸不含(w/o)DIFCO酵母ニトロゲンベース、5gのBACTOカザミノ酸、5.4gのNa₂HPO₄および8.56gのNaH₂PO₄・H₂O)中で、30、250回転/分(rpm)で24時間(hr)増幅した。その後、SGCAA培地(1リットル水中における20gのガラクトース、20gのラフィノース、1gのデキストロース、6.7gのアミノ酸不含DIFCO酵母ニトロゲンベース、5gのBACTOカザミノ酸、5.4gのNa₂HPO₄および8.56gのNaH₂PO₄・H₂O)中、20、250rpmで16~18hr培養を誘発した。

10

【0138】

同じ量の抗原およびインキュベーション体積を次の2回の選別のために使用した。これら2回の選別に用いた細胞数を、前回の選別から選別したプールのサイズの100倍に設定して各々の選別したプールの多様性を保った。

20

【0139】

scFv-Fcタンパク質の発現と精製

酵母プラスミド抽出キット(Zymo Research, Irvine, California)を使用し、製造業者の指示に従って、同定された酵母クローンからプラスミドを抽出した。抽出したプラスミドをさらなる増幅のために10G化学的コンピテントE.coli(Lucigen, Middleton, WI)に形質転換した。細菌から抽出されたプラスミドをDNA配列決定に使用し、陽性のバインダー抗体をコードする核酸配列を得た。

【0140】

3つの抗CD276抗体が同定され、各々、以下の通り、(1)クローンm852(配列番号7を含む重鎖および配列番号8を含む軽鎖を含む)、(2)クローンm857(配列番号17を含む重鎖および配列番号18を含む軽鎖を含む)、および(3)クローンm8524(m276)(配列番号26を含む重鎖および配列番号27を含む軽鎖を含む)の重鎖および軽鎖アミノ酸配列を含む。

30

【0141】

ユニークなクローンのscFvをコードするインサートをSfiIで消化し、同じセットのSfiI部位および可溶性発現のためのFc-Aviタグを担持する改変されたpSecTagにライゲーションした。これらの構築物を、製造業者のプロトコルに従って発現用の293T細胞にトランスフェクトした。72hrの増殖後、培養培地中のscFv-Fc融合タンパク質をELISA結合アッセイに使用した。

40

【0142】

ELISA結合アッセイ

2 μ g/mlでPBSに希釈したヒト(図1A)またはマウス(図1B)CD276-AP融合タンパク質50 μ lを96ウェルプレートに4で一晚コートした。培養培地中の一過性に発現したscFv-Fc融合タンパク質を連続的に希釈し、標的タンパク質をコートしたウェルに加えた。洗浄後、1:3000に希釈した西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)コンジュゲートヤギ抗ヒトIgG抗体を1hr、RTで加えた。洗浄後、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)基質を加え、光学密度(O.D.)を450nmで読み取った。結果を図1Aおよび1Bに示す。図1Aおよび1Bに示されているように、以下の通り、各々ヒト(図1A)およびマウス(図1B)CD276の両

50

方に結合した(1)クローンm852(配列番号7を含む重鎖および配列番号8を含む軽鎖を含む)、(2)m857(配列番号17を含む重鎖および配列番号18を含む軽鎖を含む)、および(3)m8524(m276)(配列番号26を含む重鎖および配列番号27を含む軽鎖を含む)の重鎖および軽鎖アミノ酸配列をs c F v - F c融合タンパク質。

【0143】

表面プラズモン共鳴による親和性決定

ヒトCD276細胞外ドメインに対するヒト抗CD276 s c F v m8524の結合親和性をBiacore X100機器(GE Healthcare)を使用する表面プラズモン共鳴技術によって分析した。ヒトCD276可溶性細胞外ドメインを、カルボジイミドカップリング化学反応を使用してセンサーチップ(CM5)上に共有結合により固定化した。非特異的な結合および屈折率の変化のために対照の基準表面を調製した。相互作用の動力学的分析のために、10mMのHEPES、150mMのNaCl、3mMのEDTA、および0.05%の界面活性剤P-20(pH7.4)を含有する泳動緩衝液を使用して様々な濃度の抗原を30μl/minの流量で注入した。会合および解離相データを、非線形データ解析プログラムBIAevaluation 3.2を使用して1:1のLangumirグローバルモデルに同時にフィットさせた。実験は全て25で行った。抗体m8524(m276)(配列番号26を含む重鎖および配列番号27を含む軽鎖を含む)の親和性を図2に示す。図2は、生のデータに対応する線とKDを計算するためにフィッティングを実行したときにソフトウェアによって作成された線とがいずれも実際上同じであることを示している。

10

20

【0144】

(実施例2)

この実施例は、皮下のHCT116ヒト結腸異種移植腫瘍の増殖がCD276ノックアウト(KO)マウスで損なわれることを実証する。

【0145】

野生型(WT)およびCD276 KOマウスに、HCT116ヒト結腸腫瘍細胞を接種し、接種後約1ヶ月の期間にわたって腫瘍体積を約3日毎に測定した。結果を図3に示す。図3に示されているように、皮下のHCT116ヒト結腸異種移植腫瘍の増殖はCD276 KOマウスでは損なわれる。

30

【0146】

(実施例3)

この実施例は、細胞表面に発現したマウスおよびヒトCD276に対する抗CD276 s c F v - F c m8524(m276)の結合を実証する。

【0147】

チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を形質導入しないかまたは形質導入してマウスCD276またはヒトCD276を発現させた。細胞を、1μg/100μlの抗CD276 s c F v - F c m8524(m276)(配列番号26および27)(一次抗体)およびフルオレセインイソチオシアネート(FITC)Gt抗ヒト抗体(H+L)(二次抗体として)と共に培養した。細胞表面上に発現したマウスまたはヒトCD276に対する抗CD276 s c F v - F c m8524(m276)の結合をフローサイトメトリーにより測定した。結果を図4に示す。図4に示されているように、抗CD276 s c F v - F c m8524(m276)は細胞表面上に発現したマウスおよびヒトCD276に結合した。

40

【0148】

(実施例4)

この実施例は、Pan02膵臓腺癌腫瘍を有するWTおよびCD276 KOマウスにおける腫瘍血管系に対するヒト抗CD276抗体m8524 IgG1の特異的な結合を実証する。

【0149】

50

各々Pan02膵臓腺癌腫瘍を担持するCD276 KOマウスおよびCD276 WTマウスに、FITCで標識した8524 IgG1 (配列番号26および27) および抗CD31 / 抗Meca32を注射した(IP)。抗Meca32は、マウス内皮に対する特異性を有するモノクローナル抗体である。免疫蛍光染色により、CD276 WTマウスにおいてヒト抗CD276抗体m8524 IgG1 (緑色染色) と抗CD31 / 抗Meca32陽性腫瘍血管系 (赤色染色) との共同在が明らかになった。赤色染色はCD276 KOマウスの腫瘍血管系で観察された。しかしながら、CD276 KOマウスにおける緑色染色の欠如により、抗体の宿主血管系に対する特異性が確かめられた。

【0150】

(実施例5)

この実施例は、ヒト胎児腎臓(HEK)293細胞の表面に発現したヒトCD276に対するFITCで標識されたヒト抗CD276抗体m8524 IgG1の特異的な結合を実証する。

【0151】

HEK293細胞を形質導入しないかまたはヒトCD276を発現するように形質導入した。細胞を、FITCで標識したヒト抗CD276抗体m8524 IgG1 (配列番号26および27) と共に培養した。細胞表面に発現したヒトCD276に対するFITCで標識されたヒト抗CD276抗体m8524 IgG1の結合をフローサイトメトリーで測定した。結果を図5に示す。図5に示されているように、フローサイトメトリーにより、トランスフェクトしていない親の293細胞と比較してCD276でトランスフェクトされた293細胞(293/CD276)に対するヒト抗CD276抗体m8524の増大した結合が明らかになった。

【0152】

(実施例6)

この実施例は、腫瘍担持CD276 KOマウスに腹腔内(IP)注射後、FITCで標識したヒト抗CD276抗体(m8524 IgG1)が血管系ではなくヒト腫瘍細胞に局在することを実証する。

【0153】

CD276陽性のPan02膵臓腺癌腫瘍を担持するCD276 KOマウスに、FITCで標識した8524 IgG1 (配列番号26および27) (緑色染色) および抗CD31 / 抗Meca32 (赤色染色) を注射した(IP)。CD31 / Meca32陽性血管は赤色に染色した。ヒト腫瘍細胞は緑色に染色した。緑色および赤色染色の別々の写真画像を撮り、赤色および緑色染色の画像を合わせて、赤色および緑色染色の共同在が黄色のシグナルを与える第3の画像を得た。宿主に由来するCD276ヌルの血管にはCD276発現が欠如するため合わせた画像で黄色シグナルが観察されず、合わせた画像に共同在(黄色シグナル)が得られなかった。これらの画像は、FITCで標識したヒト抗CD276抗体(m8524 IgG1)が、腫瘍担持CD276 KOマウスへの注射後に、血管系ではなくヒト腫瘍細胞に局在することを示していた。

【0154】

(実施例7)

この実施例は、FITC標識したヒト抗CD276抗体(m8524 IgG1)が、腫瘍担持CD276 WTマウスへのIP注射後、ヒト腫瘍細胞および血管系の両方に局在することを実証する。

【0155】

CD276陽性のPan02膵臓腺癌腫瘍を担持するCD276 WTマウスに、FITC標識した8524 IgG1 (配列番号26および27) (緑色染色) および抗CD31 / 抗Meca32 (赤色染色) を注射した(IP)。CD31 / Meca32陽性血管は赤色に染色した。ヒト腫瘍細胞は緑色に染色した。緑色および赤色染色の別々の写真画像を撮り、赤色および緑色染色の画像を合わせて、赤色および緑色染色の共同在が黄色シグナルを与える第3の画像を得た。宿主に由来するCD276陽性血管ではCD276

10

20

30

40

50

の発現が存在するため、合わせた画像では黄色シグナルが観察され、合わせた画像に共同在（黄色シグナル）が生じた。これらの画像は、FITC標識したヒト抗CD276抗体（m8524 IgG1）が、腫瘍担持CD276 WTマウスへの注射後、ヒト腫瘍細胞および腫瘍血管系の両方に局在することを示していた。

【0156】

（実施例8）

この実施例は、抗CD276抗体（m8524 IgG1）が、腫瘍細胞および腫瘍血管系を染色するが正常な肝臓は染色しないことを実証する。

【0157】

各々Pan02膵臓腺癌腫瘍を担持するCD276 KOマウスおよびCD276 WTマウスに、FITC標識した8524 IgG1（配列番号26および27）および抗CD31/抗Meca32を注射した（IP）。CD276 KOおよびCD276 WTマウスの両方の正常な肝臓ならびにCD276 WTマウスの腫瘍血管系におけるCD31/Meca32陽性血管は赤色に染色された。ヒト腫瘍細胞および腫瘍血管系はCD276 WTマウスで緑色に染色された。CD276 WTマウスの腫瘍における緑色および赤色染色の別々の写真画像を撮り、赤色および緑色染色の画像を合わせて、赤色および緑色染色の共同在が黄色シグナルを与える第3の画像を得た。抗CD276 mAb（m8524 IgG1；緑色）は、CD276 WTマウスにおいて腫瘍細胞および腫瘍血管系を染色したが、CD276 WTまたはCD276 KOマウスの正常な肝臓は染色しなかったことが観察された。CD276 WTマウスの腫瘍の合わせた画像では黄色シグナルが観察された。黄色シグナルはCD31/Meca32染色（赤色）とCD276染色（緑色）との共同在を示していた。

【0158】

（実施例9）

この実施例は、抗CD276抗体（m8524 IgG1）が腫瘍細胞および腫瘍血管系を染色するが正常な組織は染色しないことを実証する。

【0159】

Pan02膵臓腺癌腫瘍を担持するCD276 WTマウスに、FITC標識した8524 IgG1（配列番号26および27）および抗CD31/抗Meca32を注射した（IP）。CD276 WTマウスの脳、心臓、腸、肝臓、筋肉、脾臓、および胃を含む正常な組織内のCD31/Meca32陽性血管を赤色に染色した。Pan02腫瘍を全ての正常な組織の染色のための陽性対照として使用した。CD276 WTマウスの腫瘍血管系内のCD31/Meca32陽性血管も赤色に染色した。ヒト腫瘍細胞および腫瘍血管系はCD276 WTマウス内で緑色に染色した。CD276 WTマウスの腫瘍における緑色および赤色染色の別々の写真画像を撮り、緑色および赤色染色の画像を合わせて、赤色および緑色染色の共同在が黄色シグナルを与える第3の画像を得た。抗CD276 mAb（m8524）はCD276 WTマウスで腫瘍細胞（緑色）および腫瘍血管系（黄色シグナル、抗CD31/抗Meca32の共同在を示す）を染色することが観察された。しかし、抗CD276 mAb（m8524）はCD276 WTマウスの正常な組織のいずれも染色しなかった。

【0160】

（実施例10）

この実施例は、抗CD276抗体（m8524 IgG1）による正常な肝臓/腫瘍辺縁における肝臓内のMC38腫瘍の共免疫蛍光標識を実証する。

【0161】

MC38（結腸がん）腫瘍担持WTマウスの正常な肝臓/腫瘍辺縁の試料を、FITC標識したヒト抗CD276抗体（m8524 IgG1）（配列番号26および27）（図6B）またはラミニン（図6A）で事後染色した（post-stain）。写真画像を撮った。結果は図6Aおよび6Bに示す。図6Aに示されているように、ラミニンは正常および腫瘍組織の両方で血管を染色した。図6Bに示されているように、抗CD276

10

20

30

40

50

抗体 (m8524 IgG1) は腫瘍細胞を染色したが正常な肝臓 / 腫瘍辺縁に位置する正常な組織は染色しなかった。

【0162】

(実施例11)

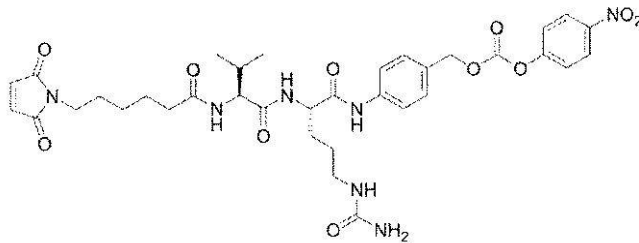
この実施例は、抗CD276抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) の調製を実証する。

【0163】

MMAEに連結部分を介してコンジュゲートしたm8524抗体を含むADC (m8524-ADC) を調製した。m8524-ADCを調製するのに使用した試薬は、化学構造(12)を有する連結部分、化学構造(13)を有するMMAE、および化学構造(14)を有する、連結部分にコンジュゲートしたMMAEを含んだ：

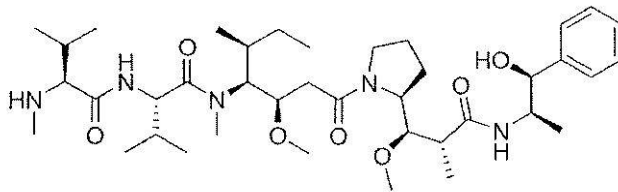
10

【化7】



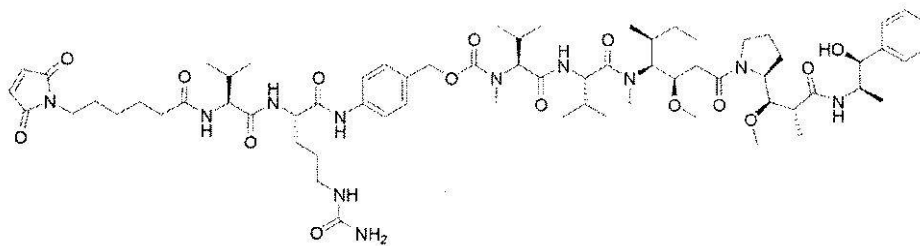
(12)

20



(13)

30



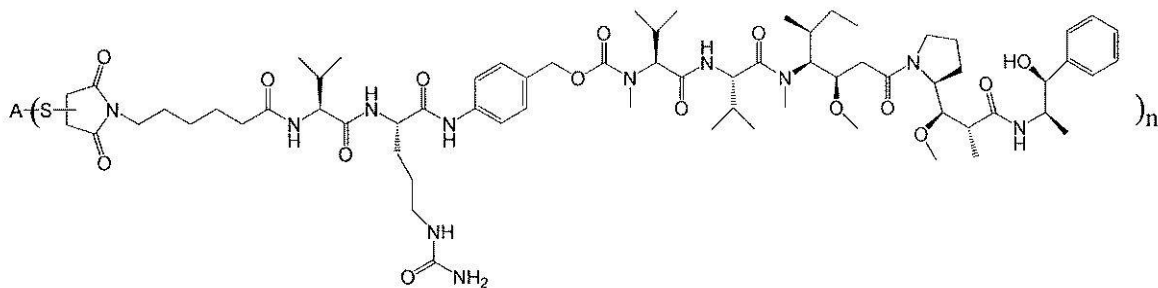
(14)

【0164】

m8524-ADCは化学構造(15)

【化8】

40



(15)

50

(式中、

nは、2、4、6、または8であり、

Aは、配列番号26および27のアミノ酸配列を含む抗CD276抗体である)を有した。

【0165】

(実施例12)

この実施例は、CD276に対する免疫蛍光染色で、HEK293非形質導入細胞における低レベルのCD276およびCD276で安定にトランスフェクトされた293/CD276細胞における高レベルのCD276が明らかになることを実証する。

【0166】

HEK293細胞またはCD276を形質導入したHEK293細胞(293/CD276)を無関係のヒトIgG対照抗体、無関係のADC対照、またはm8524-ADCと共に共培養した。ADCの薬物はMMAEであった。

【0167】

細胞の核をDAPIで青色に対比染色した。写真画像を撮った。CD276に対する免疫蛍光染色(緑色)により、形質導入されてない293細胞における低レベルのCD276およびCD276で形質導入された293細胞における高レベルのCD276が明らかになった。

【0168】

(実施例13)

この実施例は、m8524抗体薬物コンジュゲート(ADC)がCD276を発現する細胞に対して選択的に細胞傷害性であることを実証する。

【0169】

HEK293細胞(293)またはCD276で形質導入されたHEK293細胞(293/CD276)を、MMAE単独、m8524(m276)(配列番号26および27)抗体単独、m825(無関係の対照抗体)-ADC、またはm8524-ADCで処理した。ADCの薬物はMMAEであった。細胞を、図7に示す様々な濃度のMMAE、ADC、または抗体で処理した。図7に示されているように、MMAEを含まない薬物は全ての細胞に対して細胞傷害性であり、CD276を発現する細胞に対する選択性を示さなかった。293細胞および293/CD276細胞はCD276裸抗体(m8524)または別の標的に対するMMAEコンジュゲート抗体による死滅に抵抗性であった。MMAEとコンジュゲートした抗CD276抗体(m8524-ADC)は293/CD276および293細胞に対して選択的に細胞傷害性であり、毒性はCD276の発現レベルに対応していた。

【0170】

(実施例14)

この実施例は、無胸腺ヌードマウスにおけるヒト結腸がん異種移植片に対するCD276 ADCのin vivo効力を実証する。

【0171】

HCT-116ヒト結腸がん異種移植片を担持する無胸腺ヌードマウスを、対照(ビヒクル)、m8524(m276)(配列番号26および27)単独(30mg/kg(mpk))、または様々な投与量(1mpk、3mpk、10mpk、または30mpk)のm8524(m276)-MMAE ADCで週2回3週間治療した。投与後の様々な時点で腫瘍体積を測定した。結果を図8および9に示す。図8および9に示されているように、m8524(m276)-MMAE ADCで治療したマウスの腫瘍体積は、対照またはm8524(m276)単独で治療したマウスの腫瘍体積と比較して減少した。

【0172】

HT29ヒト結腸直腸腺癌異種移植片を担持する無胸腺ヌードマウスを、対照(ビヒクル)、m8524(m276)(配列番号26および27)単独(10mg/kg(mpk))、または様々な投与量(1mpk、3mpk、または10mpk)のm8524(

10

20

30

40

50

m 2 7 6) - M M A E A D Cで週 2 回 3 週間治療した。投与後の様々な時点で腫瘍体積を測定した。結果を図 1 0 に示す。図 1 0 に示されているように、m 8 5 2 4 (m 2 7 6) - M M A E A D Cで治療したマウスの腫瘍体積は、対照またはm 8 5 2 4 (m 2 7 6) 単独で治療したマウスの腫瘍体積と比較して減少した。

【 0 1 7 3 】

K M 1 2 ヒト結腸がん腫異種移植片を担持する無胸腺ヌードマウスを、対照 (ビヒクル)、m 8 5 2 4 (m 2 7 6) (配列番号 2 6 および 2 7) 単独 (1 0 m g / k g (m p k))、または様々な投与量 (1 m p k、3 m p k、または 1 0 m p k) の m 8 5 2 4 (m 2 7 6) - M M A E A D Cで週 2 回 3 週間、次いで 2 日間中断、その後、別の用量で週 2 回 3 週間治療した。投与後の様々な時点で腫瘍体積を測定した。結果を図 1 1 に示す。図 1 1 に示されているように、m 8 5 2 4 (m 2 7 6) - M M A E A D Cで治療したマウスの腫瘍体積は、対照またはm 8 5 2 4 (m 2 7 6) 単独で治療したマウスの腫瘍体積と比較して減少した。

10

【 0 1 7 4 】

(実施例 1 5)

この実施例は、S C I Dマウスにおけるヒト卵巣がん異種移植片に対する C D 2 7 6 A D Cの *i n v i v o* 効力を実証する。

【 0 1 7 5 】

O V C A R 3 ヒト卵巣異種移植片を担持する S C I Dマウスを、対照 (ビヒクル)、m 8 5 2 4 (m 2 7 6) (配列番号 2 6 および 2 7) 単独 (1 0 m g / k g (m p k))、M M A E 単独 (0 . 2 m p k)、または様々な投与量 (1 m p k、3 m p k、または 1 0 m p k) の m 8 5 2 4 (m 2 7 6) - M M A E A D Cで 1、4、8 および 1 1 日目に治療した。投与後の様々な時点で腫瘍体積を測定した。結果を図 1 2 (1 1 日目まで) および図 1 5 (5 3 日目まで) に示す。図 1 2 および 1 5 に示されているように、m 8 5 2 4 (m 2 7 6) - M M A E A D Cで治療したマウスの腫瘍体積は、対照、M M A E 単独、またはm 8 5 2 4 (m 2 7 6) 単独で治療したマウスの腫瘍体積と比較して減少した。

20

【 0 1 7 6 】

(実施例 1 6)

この実施例は、H C T 1 1 6、H T 2 9、および O V C A R 3 がん細胞株に対する C D 2 7 6 A D Cの *i n v i t r o* 細胞傷害性の効力を実証する。

30

【 0 1 7 7 】

H C T 1 1 6、H T 2 9、K M 1 2 または O V C A R 3 細胞を図 1 3 に示す濃度の m 8 5 2 4 - M M A E A D Cと共に培養した。細胞生存率を測定し、その結果を図 1 3 に示す。図 1 3 に示されているように、m 8 5 2 4 - M M A E A D C 処理は H C T 1 1 6、H T 2 9、および O V C A R 3 細胞の生存率を低下させた。

【 0 1 7 8 】

(実施例 1 7)

この実施例は、免疫応答性マウスにおける結腸がんに対する C D 2 7 6 A D Cの *i n v i v o* 効力を実証する。

【 0 1 7 9 】

同系の M C 3 8 ネズミ結腸がん腫瘍を担持する C 5 7 B L / 6 マウスを、対照 (ビヒクル)、または 1 m p k の m 8 5 2 4 (m 2 7 6) - P B D A D Cで週 2 回 2 週間治療した。治療は、腫瘍接種 1 1 日後に開始した。投与後の様々な時点で腫瘍体積を測定した。図 1 4 に示されているように、m 8 5 2 4 (m 2 7 6) - P B D A D Cで治療したマウスの腫瘍体積はビヒクル単独で治療したマウスの腫瘍体積と比較して減少した。

40

【 0 1 8 0 】

(実施例 1 8)

この実施例は、無胸腺ヌードマウスにおけるヒト乳がん異種移植片に対する C D 2 7 6 A D Cの *i n v i v o* 効力を実証する。

【 0 1 8 1 】

50

M D A - M B 2 3 1 ヒト乳がん細胞を無胸腺ヌードマウスの乳房脂肪パッドに移植した（同所性モデル）。腫瘍担持マウスを対照（ビヒクル）、m 8 5 2 4（m 2 7 6）（配列番号 2 6 および 2 7）単独（1 0 m g / k g（m p k））、または m 8 5 2 4（m 2 7 6）- M M A E A D C（用量 1 m p k または 1 0 m p k）で週 2 回 3 週間治療した。投与後の様々な時点で腫瘍体積を測定した。結果を図 1 6 に示す。図 1 6 に示されているように、m 8 5 2 4（m 2 7 6）- M M A E A D C で治療したマウスの腫瘍体積は対照または m 8 5 2 4（m 2 7 6）単独で治療したマウスの腫瘍体積と比較して減少した。

【 0 1 8 2 】

刊行物、特許出願、および特許を含めて本明細書で引用した全ての文献は、あたかも各々の文献が参照により組み込まれると個別かつ具体的に表示され、その全体が本明細書に記載されているのと同程度に、ここで参照により組み込まれる。

10

【 0 1 8 3 】

本発明の記載との関連で（とりわけ以下の特許請求の範囲との関連で）用語「a」および「an」および「the」ならびに類似の指示対象の使用は、本明細書中で他に示されない限り、または文脈から明らかに矛盾しない限り、単数と複数の両方を網羅するものと解釈されるべきである。用語「含む（comprising）」、「有する」、「含む（including）」および「含有する」は、他に断りのない限り、オープンエンド用語（すなわち、「限定されることなく含む（including）」を意味する）と解釈されるべきである。本明細書で値の範囲の引用は、本明細書中で他に示されない限り、各々の個別の値をそれぞれ参照する簡潔な方法として役立つことを意図しているに過ぎず、各々の個別の値は、あたかもそれぞれ本明細書で個々に述べられているかのごとく、本明細書に組み込まれる。本明細書に記載されている全ての方法は、本明細書中で他に示されない限り、または文脈から明らかに矛盾しない限り、あらゆる適切な順序で実施することができる。本明細書で提示するいずれかおよび全ての例、または例示の言語（例えば、「のような」）の使用は、他に断りのない限り、単に、本発明の理解を容易にすることを意図したものであり、本発明の範囲に制限を課すものではない。本明細書中のいかなる言語も、特許請求の範囲に記載されていない要素が本発明の実施に必須であることを示すと解釈されるものではない。

20

【 0 1 8 4 】

本発明者らが知る限り本発明を実施する上での最良の形態を含めて本発明の好ましい実施形態が本明細書に記載されている。好ましい実施形態の変形は以上の記載に接した当業者には明白であろう。本発明者らは、当業者が必要に応じてかかる変形を利用することを期待しており、また本発明者らは本発明が具体的に本明細書に記載されているのとは異なって実施され得ることを意図している。したがって、本発明は、本明細書に添付の特許請求の範囲に記載の主題のあらゆる改変形態および均等物を適用可能な法で許されるように含む。また、あらゆる可能な変形における上記要素の任意の組合せが、本明細書中で他に示されない限り、または文脈と矛盾しない限り、本発明に包含される。

30

【 図 1 】

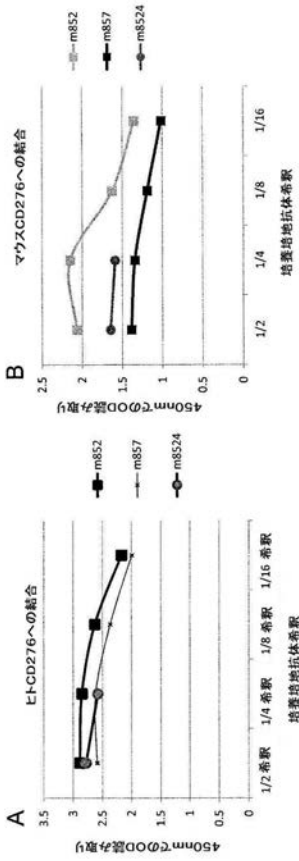


FIG. 1

【 図 2 】

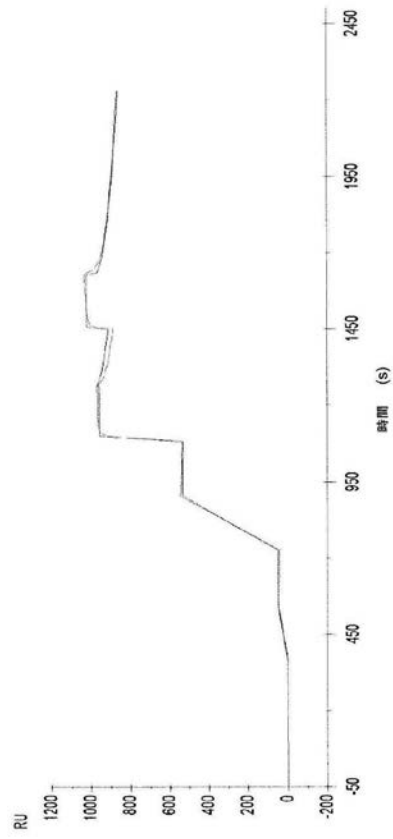
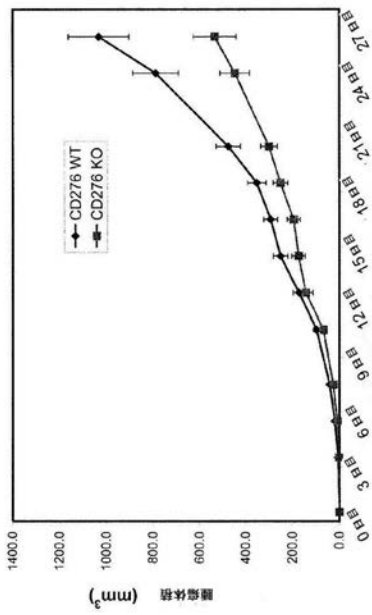


FIG. 2

【 図 3 】



接種後の日数

FIG. 3

【 図 4 】

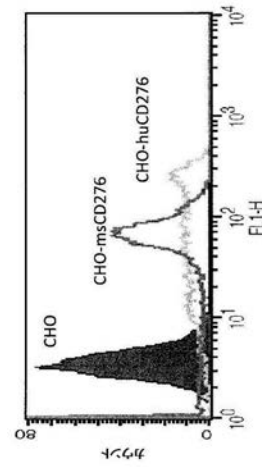


FIG. 4

【 図 5 】

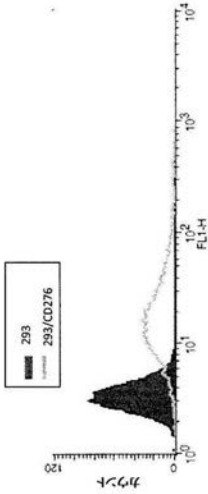
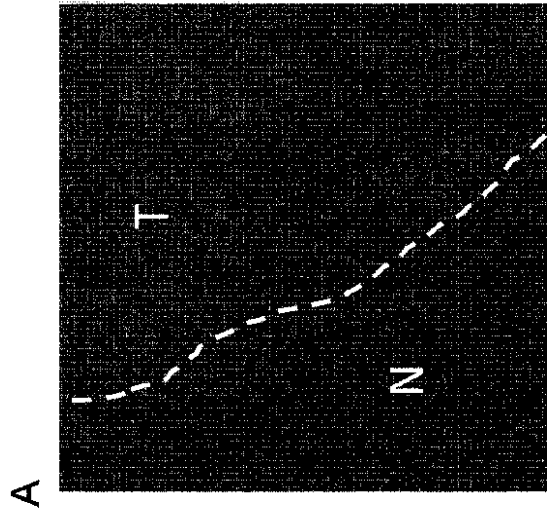
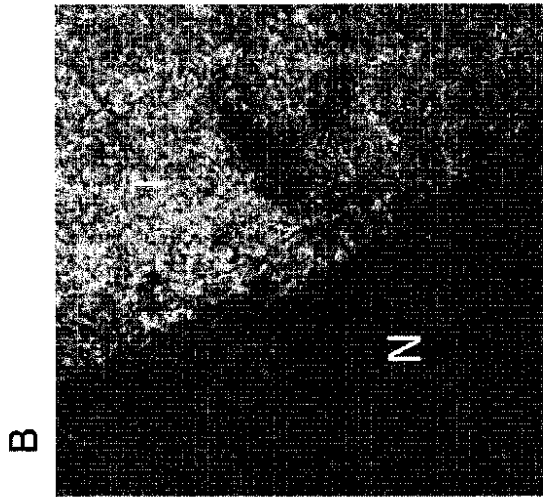


FIG. 5

【 図 6 A 】



【 図 6 B 】



【 図 7 】

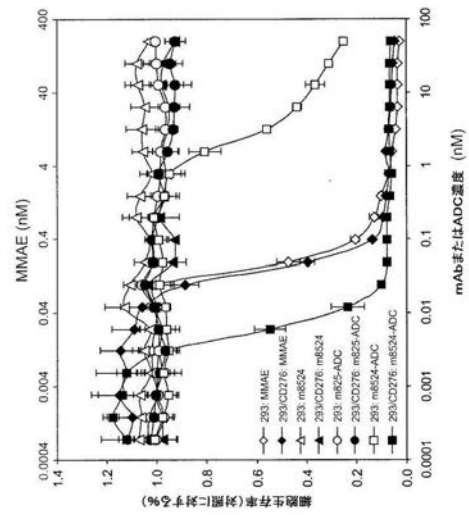


FIG. 7

【 図 8 】

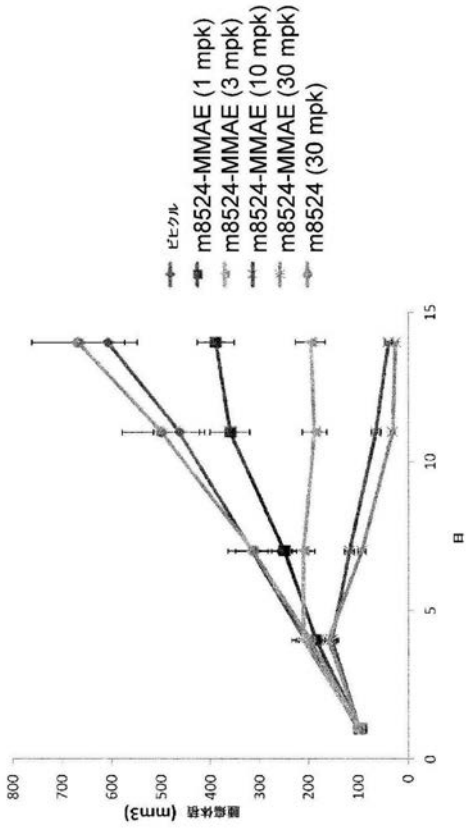


FIG. 8

【 図 9 】

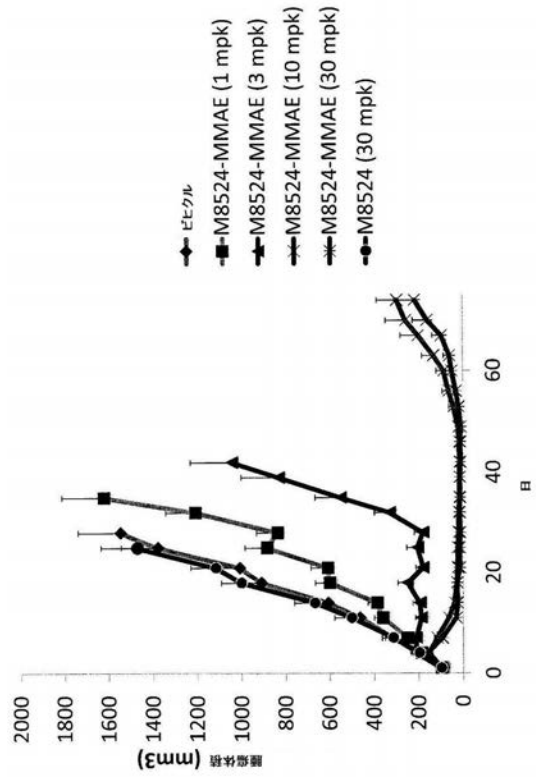


FIG. 9

【 図 10 】

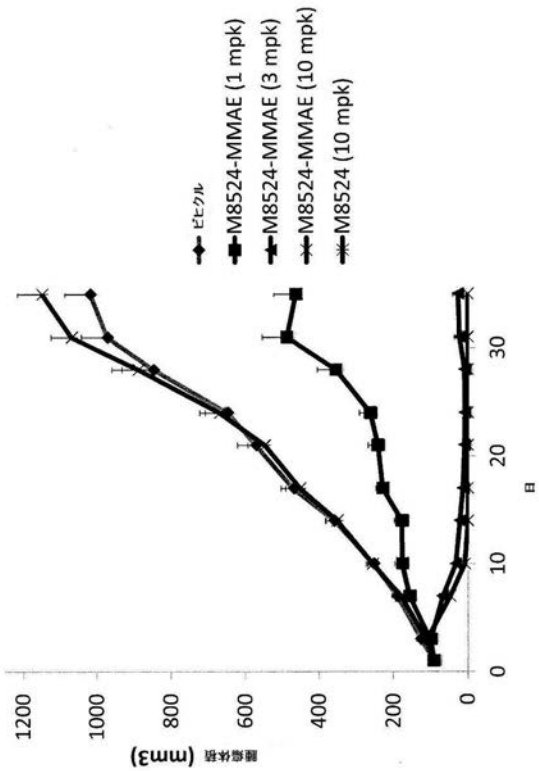


FIG. 10

【 図 11 】

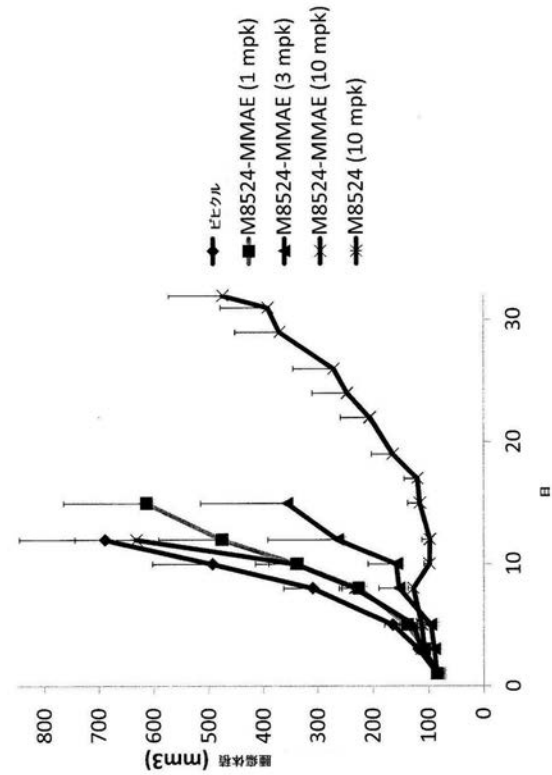


FIG. 11

【 図 1 2 】

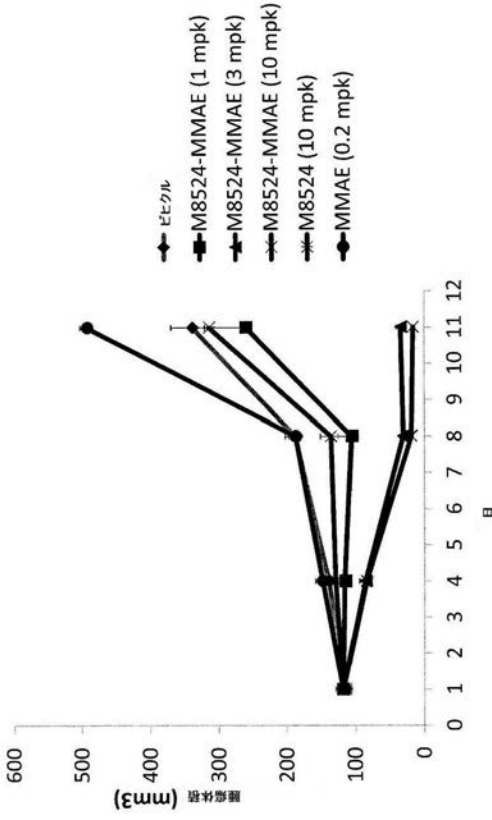


FIG. 12

【 図 1 3 】

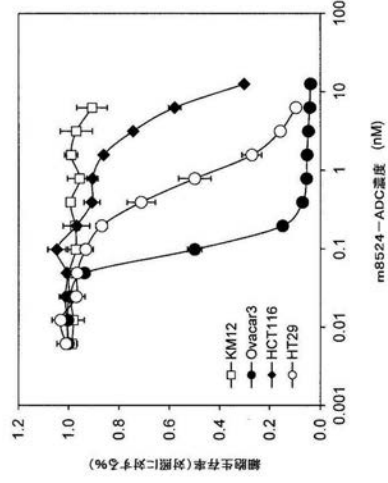


FIG. 13

【 図 1 4 】

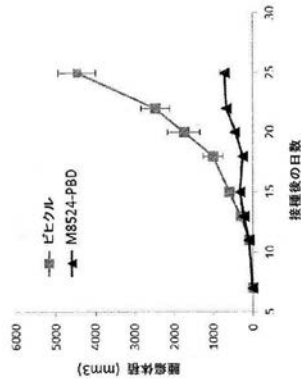


FIG. 14

【 図 1 5 】

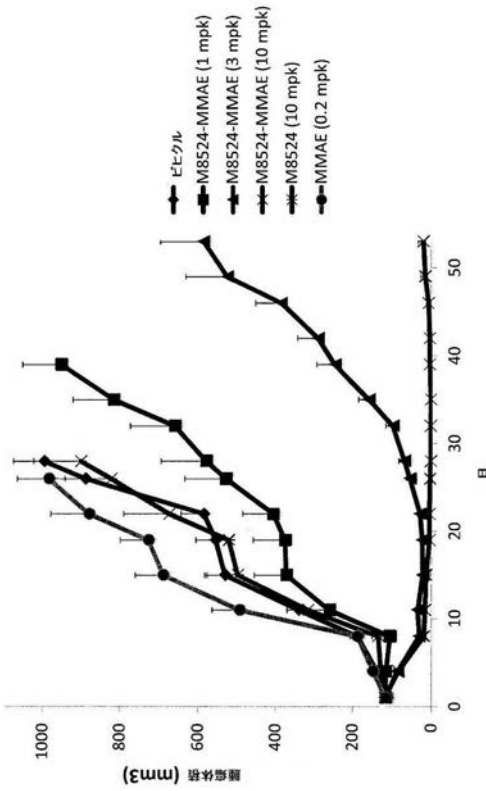


FIG. 15

【 図 1 6 】

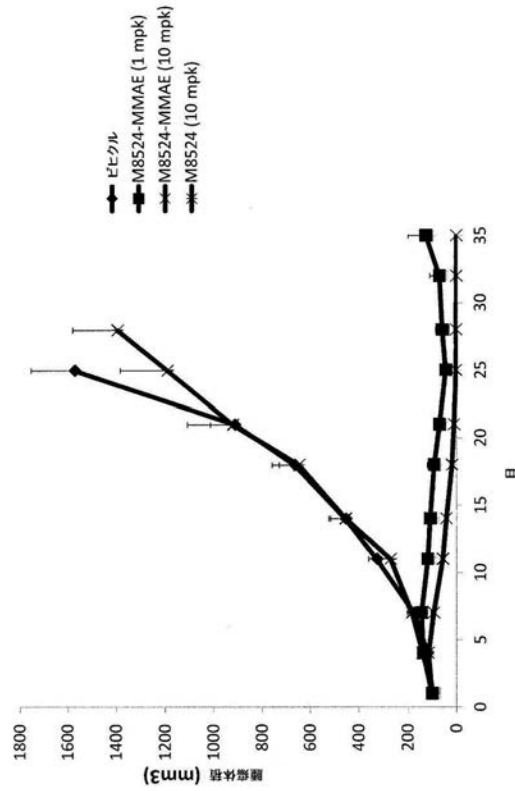


FIG. 16

【配列表】

2017534260000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2015/050365

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. A61K39/395	A61K45/06	C07K16/28
A61P35/00	A61K47/48	A61K49/00
ADD. A61K39/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K G01N		
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	US 2012/294796 A1 (JOHNSON LESLIE S [US] ET AL) 22 November 2012 (2012-11-22)	1-4, 14-20, 22,23
Y	See paragraphs 35, 103, 335, 341, claims -----	5-13,21
X	WO 2011/109400 A2 (MACROGENICS INC [US]; LOO DERYK T [US]; HUANG LING [US]) 9 September 2011 (2011-09-09)	1-4, 14-20, 22,23
Y	See paragraph 291, claims -----	5-13,21
Y	WO 2014/011518 A1 (GENENTECH INC [US]; SPIROGEN SARL [CH]; POLAKIS PAUL [US]; POLSON ANDR) 16 January 2014 (2014-01-16) See 368-377; example II A (Production of Anti-CD22 Antibody Drug Conjugates) -----	5-13,21
A	US 2003/198638 A1 (WATKINS JEFFRY D [US]) 23 October 2003 (2003-10-23) See sequences 4, 10; claims -----	1-4
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *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 26 November 2015		Date of mailing of the international search report 07/12/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Nauche, Stéphane

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/050365

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2012294796 A1	22-11-2012	US 2012294796 A1 US 2014328750 A1	22-11-2012 06-11-2014
WO 2011109400 A2	09-09-2011	AU 2011223782 A1 CA 2791658 A1 CL 2012002433 A1 CN 102892426 A CO 6630123 A2 CR 20120450 A EA 201270734 A1 EC SP12012139 A EP 2542256 A2 HN 2012001846 A JP 2013520994 A KR 20130010117 A MA 34062 B1 NZ 602161 A NZ 701539 A NZ 705128 A PE 04792013 A1 SG 183847 A1 TW 201130514 A TW 201410255 A TW 201439120 A US 2013149236 A1 US 2015259434 A1 US 2015274838 A1 WO 2011109400 A2	20-09-2012 09-09-2011 22-03-2013 23-01-2013 01-03-2013 27-12-2012 30-04-2013 28-12-2012 09-01-2013 04-05-2015 10-06-2013 25-01-2013 05-03-2013 24-12-2014 24-04-2015 24-04-2015 12-05-2013 30-10-2012 16-09-2011 16-03-2014 16-10-2014 13-06-2013 17-09-2015 01-10-2015 09-09-2011
WO 2014011518 A1	16-01-2014	AR 091703 A1 AU 2013288929 A1 CA 2873889 A1 CN 104540524 A CR 20150048 A EA 201590174 A1 EP 2869849 A1 IL 235985 A JP 2015527318 A KR 20150027829 A PE 06152015 A1 PH 12014502797 A1 TW 201406785 A US 2014030279 A1 WO 2014011518 A1	25-02-2015 04-12-2014 16-01-2014 22-04-2015 14-04-2015 30-09-2015 13-05-2015 29-01-2015 17-09-2015 12-03-2015 28-05-2015 09-02-2015 16-02-2014 30-01-2014 16-01-2014
US 2003198638 A1	23-10-2003	US 2003198638 A1 US 2006228366 A1	23-10-2003 12-10-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	4 C 0 8 7
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	4 H 0 4 5
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	Z
A 6 1 K 38/17 (2006.01)	A 6 1 K 38/17	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	C
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	L
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	G 0 1 N 33/574	
	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/53	M
	G 0 1 N 33/53	Y
	C 1 2 P 21/08	

(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, T J, 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, R O, 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, H N, 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 514063906
 バイオメッド バレー ディスカパリーズ, インコーポレイティド
 アメリカ合衆国, ミズーリ 6 4 1 1 1, カンザス シティ, メイン ストリート 4 5 2 0, シ
 ックスティーンズ フロア
- (74)代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
- (74)代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
- (74)代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
- (74)代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔
- (74)代理人 230113332
 弁護士 山本 健策
- (72)発明者 ディミトロフ, ディミター エス.
 アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 7 0 2, フレデリック, スターリントン ドライブ 1
 0 1 9
- (72)発明者 ズー, ゾンギユ
 アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 7 0 2, フレデリック, キャリントン ウェイ 2 5 0
 1
- (72)発明者 セントクロイ, ブラッドリー
 アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 7 0 3, フレデリック, アリントン マナー サークル

ウエスト 9010

- (72)発明者 シーマン, スティーブン
アメリカ合衆国 ウェストバージニア 25404, マーティンズバーグ, メイソン レーン 66
- (72)発明者 サハ, サウラブ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02481, ウェルズリー ヒルズ, カールズブルック ロード 44
- (72)発明者 ザン, シャオヤン マイケル
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02421, レキシントン, キットソン パーク ドライブ 3
- (72)発明者 デクレッセンゾ, ゲイリー エー.
アメリカ合衆国 ミズーリ 64152, パークビル, ウェストウッド コート 6135
- (72)発明者 ウェルシュ, ディーン
アメリカ合衆国 ミズーリ 64152, パークビル, エヌダブリュー リバー ヒルズ ブレイス 10427

F ターム(参考) 4B064 AG27 CA06 CA10 CA19 CC03 CC06 CC12 CC15 CC24 CD02
CD09 CD21 DA01 DA13
4B065 AA72X AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02 BA21 BB03 BB15 BB25
BB31 BC03 BC09 CA25 CA44 CA46
4C076 CC27 CC41 EE41 EE59
4C084 AA02 AA03 AA07 AA13 BA01 CA53 NA14 ZB262
4C085 AA13 AA14 AA19 AA26 BB42 CC22 CC23 DD62 DD63 EE01
GG01
4C087 AA01 AA02 BB37 BB65 NA14 ZB26
4H045 AA11 AA30 BA50 BA72 DA76 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	抗CD276抗体(B7H3)		
公开(公告)号	JP2017534260A	公开(公告)日	2017-11-24
申请号	JP2017514697	申请日	2015-09-16
[标]申请(专利权)人(译)	美国卫生及公共服务部		
申请(专利权)人(译)	美利坚合众国，如丽局局长介绍泰德，健康和人类Sabishizu系 生物医学谷发现的，Incorporated的雷开球德		
[标]发明人	デイミトロフデミターエス ズーゾンギユ セントクロイブラッドリー シーマンスティーブン サハサウラブ ザンシャオヤンマイケル デクレッセンズゲイリーエー ウェルシュディーン		
发明人	デイミトロフ, デミター エス. ズー, ゾンギユ セントクロイ, ブラッドリー シーマン, スティーブン サハ, サウラブ ザン, シャオヤン マイケル デクレッセンズ, ゲイリー エー. ウェルシュ, ディーン		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/46 A61K48/00 A61K35/17 A61K38/17 A61K39/395 A61K47/68 A61P35/00 G01N33/574 G01N33/53 C12P21/08		
CPC分类号	A61K39/39558 A61K47/6803 A61K47/6849 A61K2039/505 A61K2300/00 A61P35/00 C07K16/2827 C07K16/30 C07K2317/24 C07K2317/92 A61K47/6851 C07K2317/622 G01N33/57492 G01N2333 /70532		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/46 A61K48/00 A61K35/17.Z A61K38/17 A61K39/395.N A61K39/395.D A61K39/395.C A61K39/395.L A61K47/68 A61P35/00 G01N33/574 G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/53.Y C12P21/08		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA06 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC03 4B064/CC06 4B064/CC12 4B064 /CC15 4B064/CC24 4B064/CD02 4B064/CD09 4B064/CD21 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA72X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA21 4B065/BB03 4B065 /BB15 4B065/BB25 4B065/BB31 4B065/BC03 4B065/BC09 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C076/CC27 4C076/CC41 4C076/EE41 4C076/EE59 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA07 4C084 /AA13 4C084/BA01 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA19 4C085/AA26 4C085/BB42 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/EE01 4C085 /GG01 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB37 4C087/BB65 4C087/NA14 4C087/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA50 4H045/BA72 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	62/051650 2014-09-17 US		

摘要(译)

公开了特异性结合并免疫识别CD276的多肽和蛋白质。还公开了嵌合抗原受体(CAR),抗CD276结合部分,核酸,重组表达载体,宿主细胞,细胞群,药物组合物以及与所述多肽和蛋白质有关的缀合物。还公开了检测哺乳动物中(a)癌症或(b)肿瘤脉管系统的存在的方法以及治疗或预防哺乳动物中(a)癌症或(b)降低肿瘤脉管系统的方法。 ing。

(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2017-534260

(2017-534260A)

(43) 公表日 平成29年11月24日(2017.11.24)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00	Z N A A 4 B 0 6 4
C07K 16/28 (2006.01)	C07K 16/28	4 B 0 6 5
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4 C 0 7 6
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	4 C 0 8 4
C12N 1/21 (2006.01)	C12N 1/21	4 C 0 8 5
	審査請求 有	予備審査請求 未請求 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-514697 (P2017-514697)
(86) (22) 出願日	平成27年9月16日 (2015. 9. 16)
(85) 翻訳文提出日	平成29年5月12日 (2017. 5. 12)
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/050365
(87) 国際公開番号	W02016/044383
(87) 国際公開日	平成28年3月24日 (2016. 3. 24)
(31) 優先権主張番号	62/051, 650
(32) 優先日	平成26年9月17日 (2014. 9. 17)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(71) 出願人 508285606
ザ ユナイテッド ステイツ オブ アメリカ, アス リプレゼンテッド バイ ザ セクレタリー, アパートメント オブヘルス アンド ヒューマン サービス
アメリカ合衆国, メリーランド 20892-7660, ベセダ, エグゼクティブ プールバード 6011, スイート 325, エムエスシー 7660

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗CD276抗体 (B7H3)