

明 細 書

発明の名称： がんを治療又は予防するための医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、がんを治療又は予防するための医薬組成物に関する。

背景技術

[0002] コートマータンパク質複合体サブユニットベータ2（COPB2）は、細胞内に存在する小胞体とゴルジ装置間の膜輸送に関与するコートマーを形成する非クラスリンコート小胞体サブユニットの1つであり、小胞体とゴルジ装置間の膜輸送に関与するコートマータンパク質である。

[0003] 非特許文献1には、COPB2は、コートマータンパク質として、胚発生や腫瘍の進行に重要な役割を担い様々な病態に関与し、がん細胞の増殖、生存、浸潤、及び転移等の制御にも関与することから多くのがんにおいて重要な因子であるとして研究が進められていることが開示されている。

非特許文献2には、神経膠腫（グリオーマ）でCOPB2が高度に発現したこと、COPB2の高発現が、全生存期間の短縮やいくつかの不良な臨床予後変数と相関したことが開示されている。そして、非特許文献2には、COPB2は潜在的な予後バイオマーカーや神経膠腫の免疫療法のターゲットとなり得ることが開示されている。

非特許文献3には、肝細胞がん（HCC）において、COPB2が過剰に発現していること、COPB2をサイレンシングすることで、上皮間葉転換とmTORシグナル伝達を抑制することにより、肝細胞がんの増殖、遊走、及び浸潤能力が阻害されたことが開示されている。そして、非特許文献3には、COPB2は新規の予後バイオマーカーやHCCの有力な治療ターゲットであることが開示されている。

非特許文献4には、乳がん組織でCOPB2遺伝子が過剰発現していること、COPB2の下方制御が、MDA-MB-231及びBT-549細胞株の増殖及び細胞浸潤の能力を阻害できることが開示されている。

非特許文献5には、肺線がん細胞でCOPB2が高度に発現していること、COPB2をサイレンシングすることで、細胞の生存率と転移が抑制され、アポトーシスが大幅に増加したことが開示されている。

非特許文献6には、COPB2遺伝子をサイレンシングすることで、結腸直腸がん(CRC)細胞の増殖を阻害し、JNK/c-Junシグナル伝達経路を介してアポトーシスを誘導し得ることが開示されている。

非特許文献7には、骨髄間葉系幹細胞エクソソーム由来のmiR-4461はCOPB2の発現を下方制御し、大腸がん細胞の遊走と浸潤を抑制したことが開示されている。そして、非特許文献9には、miR-4461が大腸がん(結腸・直腸)の診断と治療の潜在的ターゲットになり得ることが開示されている。

非特許文献8には、COPB2のサイレンシングは、胃がん細胞の増殖を阻害し、RTKシグナル伝達経路の抑制を介してアポトーシスを誘導することが開示されている。

非特許文献9には、抗腫瘍特性を有するクリシンによる胃がん細胞の治療後に下方制御され、差次的に発現するmRNAとしてCOPB2が特定されたことが開示されている。

非特許文献10には、COPB2が前立腺がんでは上方制御され、PC-3細胞増殖、細胞周期、及びアポトーシスを調節することが開示されている。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1: Clin Transl Oncol, 2021 (11) : 2195—2205.

非特許文献2: CNS Neuroscience&Therapeutics, 2020, March;26(3):309—318.

非特許文献3: BioMed Research International; 2021:6648078.

非特許文献4: J Cell Mol Med. 2019 Aug;23(8):5235—5245.

非特許文献5: Transl Cancer Res. 2020 April;9(4):2648—2659.

非特許文献6: PLoS One, November 19, 2020:e0240106.

非特許文献7 : Biosci Biotechnol Biochem. 2020 Feb;84(2):338–346. 2019 Oct 21.

非特許文献8 : Int J Oncol. 2019 Apr;54(4):1195–1208.

非特許文献9 : Front Oncol. 2021 Jun 3;11:651644.

非特許文献10 : Arch Med Res. 2016 Aug;47(6):411–418.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 以上のように、COPB2と各種がんとの関連について研究報告がなされている。しかしながら、これらの研究は、COPB2遺伝子のサイレンシング等により細胞内タンパク質としてのCOPB2の生理的な機能解析に限られていた。

本発明は、COPB2を標的としたがんを治療又は予防するための新たな医薬組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らが鋭意検討した結果、細胞内タンパク質であるCOPB2に対する抗体が、驚くべきことにがんの治療や転移抑制に有効であることを見出し、本発明を完成した。

[0007] すなわち、本発明は、以下のとおりである。

[1]

コートマータンパク質複合体サブユニットベータ2 (COPB2) に対する抗体又はその抗原結合断片を含む、がんを治療又は予防するための医薬組成物。

[2]

がんが原発腫瘍である、[1]に記載の医薬組成物。

[3]

がんの再発を抑制するための、[1]又は[2]に記載の医薬組成物。

[4]

がんの転移を抑制するための、[1]～[3]のいずれかに記載の医薬組

成物。

[5]

がんが、乳がん、神経膠腫、消化管がん、肝細胞がん、肝臓がん、前立腺がん、肺がん、及び、膵臓がんからなる群から選択される 1 以上である、[1] ～ [4] のいずれかに記載の医薬組成物。

[0008] また本発明は以下の態様も含む。

[A 1]

がんを治療又は予防する方法であって、それを必要とする患者に治療学的に有効量のコートマータンパク質複合体サブユニットベータ 2 (C O P B 2) に対する抗体又はその抗原結合断片を投与することを含む、方法。

[A 2]

がんが原発腫瘍である、[A 1] に記載の方法。

[A 3]

がんの再発を抑制するための、[A 1] 又は [A 2] に記載の方法。

[A 4]

がんの転移を抑制するための、[A 1] ～ [A 3] のいずれかに記載の方法。

[A 5]

がんが、乳がん、神経膠腫、消化管がん、肝細胞がん、肝臓がん、前立腺がん、肺がん、及び、膵臓がんからなる群から選択される 1 以上である、[A 1] ～ [A 4] のいずれかに記載の方法。

[0009] [B 1]

がんを治療又は予防するための、コートマータンパク質複合体サブユニットベータ 2 (C O P B 2) に対する抗体又はその抗原結合断片。

[B 2]

がんが原発腫瘍である、[B 1] に記載の抗体又はその抗原結合断片。

[B 3]

がんの再発を抑制するための、[B 1] 又は [B 2] に記載の抗体又はそ

の抗原結合断片。

[B 4]

がんの転移を抑制するための、[B 1] ~ [B 3] のいずれかに記載の抗体又はその抗原結合断片。

[B 5]

がんが、乳がん、神経膠腫、消化管がん、肝細胞がん、肝臓がん、前立腺がん、肺がん、及び、膵臓がんからなる群から選択される1以上である、[B 1] ~ [B 4] のいずれかに記載の抗体又はその抗原結合断片。

[0010] [C 1]

がんを治療又は予防するための、コートマータンパク質複合体サブユニットベータ2 (COPB2) に対する抗体又はその抗原結合断片の使用。

[C 2]

がんが原発腫瘍である、[C 1] に記載の使用。

[C 3]

がんの再発を抑制するための、[C 1] 又は [C 2] に記載の使用。

[C 4]

がんの転移を抑制するための、[C 1] ~ [C 3] のいずれかに記載の使用。

[C 5]

がんが、乳がん、神経膠腫、消化管がん、肝細胞がん、肝臓がん、前立腺がん、肺がん、及び、膵臓がんからなる群から選択される1以上である、[C 1] ~ [C 4] のいずれかに記載の使用。

[0011] [D 1]

がんを治療又は予防するための医薬組成物の製造における、コートマータンパク質複合体サブユニットベータ2 (COPB2) に対する抗体又はその抗原結合断片の使用。

[D 2]

がんが原発腫瘍である、[D 1] に記載の使用。

[D 3]

がんの再発を抑制するための医薬組成物の製造における、[D 1] 又は [D 2] に記載の使用。

[D 4]

がんの転移を抑制するための医薬組成物の製造における、[D 1] ～ [D 3] のいずれかに記載の使用。

[D 5]

がんが、乳がん、神経膠腫、消化管がん、肝細胞がん、肝臓がん、前立腺がん、肺がん、及び、脾臓がんからなる群から選択される 1 以上である、[D 1] ～ [D 4] のいずれかに記載の使用。

[0012] [1] ～ [5]、[A 1] ～ [A 5]、[B 1] ～ [B 5]、[C 1] ～ [C 5]、及び [D 1] ～ [D 5] のいずれかの発明において、コートマータンパク質複合体サブユニットベータ 2 (C O P B 2) に対する抗体又はその抗原結合断片などの発明の構成は、以下の本実施形態として記載するいずれかの好ましい態様であってよい。また、[1] ～ [5]、[A 1] ～ [A 5]、[B 1] ～ [B 5]、[C 1] ～ [C 5]、及び [D 1] ～ [D 5] のいずれかの発明において、発明の構成は、以下の本実施形態として記載する任意の好ましい態様の組み合わせを選択してもよい。好ましい態様には、より好ましい態様、さらに好ましい態様、及びよりさらに好ましい態様が含まれる。

発明の効果

[0013] 本発明によれば、C O P B 2 に対する抗体又はその抗原結合断片を含む、がんを治療又は予防するための医薬組成物を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]マウスにおいて精製ヒトC O P B 2 (6 5 0 - 9 0 6) タンパク質の免疫後の抗体価の測定原理を示す。

[図2]マウスにおいて精製ヒトC O P B 2 タンパク質による 2 回免疫後の抗体価を示す。A / J a c k s o n マウスはいずれも 8 0 万カウント以上の高い

抗体価が認められ、B a l b / c マウスにおいては、20万カウント以下の抗体価が認められた。

[図3] ヒト細胞及びマウス細胞中のC O P B 2 蛋白をウェスタンブロット法により検出できるか否かについての検討を示す。レーン1 ; H E K 2 9 3 細胞抽出液10 μ g、レーン2 ; マウス肝臓抽出液5 μ g、レーン3 ; マウス肝臓抽出液10 μ g。

[図4] クローンA 2 - 7 C 6 の重鎖C D R 1 ~ 3 及び軽鎖C D R 1 ~ 3 のアミノ酸配列 (図4 A) 並びに重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (図4 B) を示す。

[図5] クローンA 2 - 7 D 1 1 の重鎖C D R 1 ~ 3 及び軽鎖C D R 1 ~ 3 のアミノ酸配列 (図5 A) 並びに重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (図5 B) を示す。

[図6] クローンA 3 - 8 C 9 の重鎖C D R 1 ~ 3 及び軽鎖C D R 1 ~ 3 のアミノ酸配列 (図6 A) 並びに重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (図6 B) を示す。

[図7] 乳がん細胞由来の発光量を示す。

[図8] 原発腫瘍のI V I S による測定画像を示す。対照群よりも、抗C O P B 2 抗体を投与した群において、発光量が低いことが確認された。

[図9] 原発腫瘍のI V I S による測定結果を示す。対照群よりも、抗C O P B 2 抗体を投与した群において、発光量が低いことが確認された。

[図10] 原発腫瘍摘出後の乳がんモデルマウスの全身のI V I S による測定画像を示す。対照群よりも、抗C O P B 2 抗体を投与した群において、発光量が低いことが確認された。

[図11] 原発腫瘍摘出後の乳がんモデルマウスの全身のI V I S による測定結果 (図11 A) 及び転移巣の数 (図11 B) を示す。対照群よりも、抗C O P B 2 抗体を投与した群において、発光量が低く、転移巣の数も少ないことが確認された。

[図12] ヒトC O P B 2 の全長アミノ酸配列を示す。

[図13]クローンTA201C003a（識別番号：#003）の重鎖CDR1～3及び軽鎖CDR1～3のアミノ酸配列（図13A）並びに重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列（図13B）を示す。

[図14]クローンTA201B010a（識別番号：#010）の重鎖CDR1～3及び軽鎖CDR1～3のアミノ酸配列（図14A）並びに重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列（図14B）を示す。

[図15]TC-mAbマウスにおける精製ヒトCOPB2タンパク質による2回免疫後の抗体力価を示す。抗血清の解析により免疫を実施した全個体で力価の上昇が確認された。

[図16]二次スクリーニングランキング上位クローンの吸光度を示す。限界希釈法でクローニングし、培養上清で大腸菌由来と動物由来の2種類の固相化抗原を使用してELISAを行った。

[図17]精製ヒトモノクローナル抗体のSDS-PAGE結果を示す。還元剤であるDTTで処理したサンプル（DTT+）と未処理のサンプル（DTT-）の結果を比較した。

[図18]精製ヒトモノクローナル抗体のELISA結果を示す。本結果より、識別番号：#010，002，007の力価が高いことが判明した。なお、識別番号：#009は無血清培地に順応できなかったと思われ、精製抗体が少量しか回収できなかった。精製抗体中に狭雑タンパク質も多く含まれていると思われるため、ELISAの力価が低く出たと考えられる。

[図19]ウェスタンブロッティングによる、ヒトモノクローナル抗体のCOPB2反応性を示す。5種類の抗体はいずれもヒトCOPB2と反応することが示された。TA201C003aおよびTA201B008aはヒトCOPB2特異的で、マウスCOPB2とは反応しないことが確認された。TA201B010aはヒトおよびマウスCOPB2のいずれにも強く反応することが確認された。TA201B007aおよびTA201C002aはいずれもヒトCOPB2よりもマウスCOPB2に強く反応することが確認された。

[図20]ヒューマンアイソタイピングキットの結果を示す。識別番号：#003、#010の精製ヒモノクローナル抗体は、どちらもサブクラスがIgG1／kappaであることが確認された。

[図21]乳がん細胞に対する抗COPB2抗体の殺細胞効果（Cell Viability）と、アポトーシス誘導効果（Caspase3／7活性）の結果を示す。TA201B010aクローンを高濃度（20 μM）で含む培地で培養したヒト乳がん細胞（MDA-MB-231-D3H2LN）は、PBS（－）のみを含む培地で培養したものよりもViabilityの優位な低下が確認された。また、TA201B010aクローン、及びTA201C003aクローンを高濃度で含む培地で培養したものは、Caspase3／7活性の優位な低下が確認された。

発明を実施するための形態

[0015] 以下、本発明の実施形態について説明するが、以下の例示によって本発明は限定されない。

[0016] （抗COPB2抗体又はその抗原結合断片）

本明細書において、コートマータンパク質複合体サブユニットベータ2に対する抗体は、抗COPB2抗体とも称される。抗COPB2抗体についての説明は、抗COPB2抗体の抗原結合断片にも適用される。したがって、本明細書においては、抗COPB2抗体の抗原結合断片についての言及がなくても、抗COPB2抗体についての説明は、そのまま、抗COPB2抗体の抗原結合断片についての説明と理解される。

[0017] COPB2は、酵母からヒトに至るまで幅広く保存されるタンパク質である。一態様において、抗COPB2抗体は、ヒトCOPB2に対して特異的に結合する抗体であり、抗COPB2抗体の抗原結合断片も、ヒトCOPB2に対して特異的に結合する抗原結合断片であり得る。

[0018] 抗COPB2抗体は、ヒトCOPB2に対して特異的に結合して、ヒトCOPB2の活性を阻害する抗体であればよく、例えば、ヒトCOPB2に結合することによりヒトCOPB2がヒトCOPB2受容体に結合できないよ

うにする抗体等が挙げられる。

[0019] 抗COPB2抗体が結合するCOPB2の結合部位は、特に限定されないが、例えば、ヒトCOPB2のアミノ酸配列を有する一つ以上のペプチドに結合することが好ましい。

[0020] また、抗COPB2抗体が、がんの治療又は予防に有効である理由として、特に限定する趣旨ではないが、本発明者らは以下のように推測している。すなわち、抗COPB2抗体を投与することで、抗COPB2抗体がCOPB2に特異的に結合し、COPB2の発現が抑制されたり、ヒトCOPB2受容体に結合することが抑制されたりする。それにより、がんの増殖が抑制されたり、がん細胞のアポトーシスが誘導されたりすると考えられる。また、がん細胞からのエクソソームの分泌も抑制されると考えられる。

[0021] 本明細書において、用語「抗体」は、一对のジスルフィド結合で安定化された2本の重鎖（H鎖）と2本の軽鎖（L鎖）が会合した構造を有する分子を意味する。

2本の重鎖は、それぞれ、重鎖可変領域VH、重鎖定常領域CH1、CH2、CH3、及びCH1とCH2の間に位置するヒンジ領域からなり、軽鎖は、軽鎖可変領域VLと軽鎖定常領域CLとからなる。抗体においては、VHとVLからなる可変領域断片（Fv）が、抗原に対する結合に直接関与する領域である。また、VL、CL、VH、CH1からなる抗原結合領域をFab領域と呼び、ヒンジ領域、CH2、CH3からなる領域をFc領域と呼ぶ。

[0022] 可変領域のうち、直接抗原と接触する領域は特に変化が大きく、相補性決定領域（complementarity-determining region：CDR）と呼ばれる。CDR以外の比較的変異の少ない部分をフレームワーク（framework region：FR）と呼ぶ。軽鎖と重鎖の可変領域には、それぞれ3つのCDR（重鎖CDR1～3、及び軽鎖CDR1～3）が存在する。

[0023] 抗COPB2抗体としては、特に限定されないが、例えば、モノクローナ

ル抗体やポリクローナル抗体であってよい。

[0024] 本明細書において、用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を意味する。モノクローナル抗体は、特に限定されないが、例えば、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、又はヒト免疫グロブリン座の全て若しくは部分を含有する遺伝子組換え動物を活用する方法、あるいはこれらを組み合わせた方法により製造される。

[0025] 本明細書において、用語「ポリクローナル抗体」は、1つの抗原上の複数のエピトープを認識する異なる抗体の混合物を意味する。ポリクローナル抗体は、特に限定されないが、例えば、哺乳類（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ウシ、サル等）又は鳥類（例えば、ニワトリ等）等に、目的の抗原を含む免疫原を投与することによって製造される。

[0026] 本明細書において、用語「エピトープ」は、ある物質がそれに対する抗体を誘発する（抗原）場合に、免疫システムによって認識される部位（抗原決定基）を意味する。

[0027] 抗COPB2抗体は、他の薬剤とのコンジュゲートである抗体-薬物複合体（ADC）であってもよい。

ADCを構成するための他の薬剤としては、特に限定されないが、例えば、チューブリン合成阻害剤（抗がん性植物アルカロイド）、核酸合成の阻害剤であるアルキル化剤、トポイソメラーゼ阻害剤、代謝拮抗剤、抗がん性抗生物質、ホルモン製剤、白金製剤、非特異的抗悪性腫瘍剤等が挙げられる。

チューブリン合成阻害剤（抗がん性植物アルカロイド）としては、特に限定されないが、例えば、アウリスタチン、硫酸ビンクリスチン、硫酸ビンブラスチン、硫酸ビンデシン、ドセタキセル水和物、パクリタキセル、酒石酸ビンレルビン、メイタンシノイド等が挙げられる。

アルキル化剤としては、特に限定されないが、例えば、シクロフォスファミド、イフォスファミド、メルファラン、チオテバ、ブスルファン、カルボコン、ダカルバジン、塩酸ニムスチン、ラニムスチン等が挙げられる。

トポイソメラーゼ阻害剤としては、特に限定されないが、例えば、カンブトテシン、トポテカン、エトポシド、塩酸イリノテカン、塩酸ノギテカン等が挙げられる。

代謝拮抗剤としては、特に限定されないが、例えば、メトトレキサート、メルカプトプリン、6-メルカプトプリンリボシド、フルオロウラシル（5-FU）、テガフル、テガフルウラシル、カルモフル、ドキシフルリジン、シタラビンオクホスファート、ヒドロキシカルバミド、シタラビン、塩酸ゲムシタビン、リン酸フルダラビン、エノシタビン、ロイコボリン等が挙げられる。

抗がん性抗生物質としては、特に限定されないが、例えば、塩酸ドキソルビシン、塩酸イダルビシン、塩酸エピルビシン、塩酸ピラルビシン、塩酸ダウノルビシン、塩酸アクリルビシン、マイトマイシンC、アクチノマイシンD、ブレオマイシン、硫酸ペプロマイシン、ネオカルチノスタチン、ジノスタチンスチマラマー等が挙げられる。

ホルモン製剤としては、特に限定されないが、例えば、リン酸エストラムスチンタトリウム、フルタミド、ピカルタミド、酢酸ゴセレリン、酢酸ニュープロレリン、クエン酸タモキシフェン、塩酸フォドロゾール水和物、アナストロゾール、メピチオスタン、エピチオスタノール、酢酸メドロキシプロゲステロン等が挙げられる。

白金製剤としては、特に限定されないが、例えば、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチン等が挙げられる。

非特異的抗悪性腫瘍剤としては、特に限定されないが、例えば、クレスチン、レンアチン、シゾフィラン、ウベニメクス等が挙げられる。

その他の薬剤としては、例えば、塩酸ミトキサントロン、塩酸プロカルバジン、ペントスタチン、ソブゾキサン、トレチノイン、L-アスパラギナーゼ、アセグラトン、ミトタン、ポルフィマーナトリウム等が挙げられる。

[0028] 本明細書において、用語「抗原結合断片」は、抗体の一部を含み、当該抗体と同一の抗原に結合し得る分子を意味する。抗原結合断片としては、特に

限定されないが、例えば、 F_v 、 F_{ab} 、 F_{ab}' 、 $F_{ab}'-SH$ 、 $F(ab')_2$ 、ダイアボディ、線状抗体、単鎖抗体分子（例えば scF_v ）等が挙げられる。

[0029] 本明細書において、用語「バイスペシフィック抗体」は、1つの抗体で2種類の抗原に結合できる二重特異性抗体を意味し、生物工学的に改変された抗体を含むが、これに限定されない。

[0030] 本明細書において、用語「ヌクレオチド」又は「ポリヌクレオチド」は、核酸を意味し、DNA、RNA、プローブ、オリゴヌクレオチド及びプライマーを含むが、これに限定されない。

[0031] 本明細書において、用語「発現ベクター」は、目的遺伝子を発現させるために必要な導入因子を意味し、プラスミド及びバクテリオファージ等のウイルスを含むが、これに限定されない。

[0032] 抗COPB2抗体は、抗体として知られる構造を有してよく、 IgG 、 IgM 、 IgA 、 IgD 、 IgE のいずれのアイソタイプであってよい。 IgG は、 γ 重鎖を持つ免疫グロブリンであり、抗原への二次免疫応答の一部として産生される。 IgM は、 μ 重鎖を持つ免疫グロブリンであり、哺乳動物において五量体として存在する。 IgA は、 α 重鎖を持つ免疫グロブリンであり、 IgD は、 ϵ 重鎖を持つ免疫グロブリンであり、 IgE は、 δ 重鎖を持つ免疫グロブリンである。

[0033] 抗COPB2抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体等であってよい。抗COPB2抗体の抗原結合断片は、キメラ抗体の抗原結合断片、ヒト化抗体の抗原結合断片、ヒト抗体の抗原結合断片等であってよい。キメラ抗体は、異なる種に由来する抗体の断片が連結された抗体である。ヒト化抗体は、ヒト抗体にヒト以外のCDRアミノ酸配列を移植した抗体である。ヒト化抗体としては、特に限定されないが、例えば、マウス又はラットを免疫して作製した抗体の重鎖CDR1～3及び軽鎖CDR1～3を有し、その他の全ての領域がヒト抗体に由来する抗体が挙げられる。ヒト化抗体という場合、ヒトキメラ抗体、変異ヒト抗体、及びヒト型抗体を意味する場合もある。

[0034] 本実施形態の一態様において、抗C O P B 2抗体又はその抗原結合断片は、以下の（a）～（e）のC D Rのセットのいずれかを含んでよい。

（a）

配列番号：1で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 1

配列番号：2で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 2

配列番号：3で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 3

配列番号：4で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 1

配列番号：5で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 2、及び

配列番号：6で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 3

（b）

配列番号：7で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 1

配列番号：8で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 2

配列番号：9で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 3

配列番号：10で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 1

配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 2、及び

配列番号：12で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 3

（c）

配列番号：13で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 1

配列番号：14で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 2

配列番号：15で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 3

配列番号：16で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 1

配列番号：17で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 2、及び

配列番号：18で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 3

（d）

配列番号：32で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 1

配列番号：33で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 2

配列番号：34で表されるアミノ酸配列からなる重鎖C D R 3

配列番号：35で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖C D R 1

配列番号：36で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR2、及び

配列番号：37で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR3

(e)

配列番号：38で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR1

配列番号：39で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR2

配列番号：40で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR3

配列番号：41で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR1

配列番号：42で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR2、及び

配列番号：43で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR3

[0035] 抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、上記(a)～(e)のCDRのセットのいずれかを有することにより、COPB2に特異的に結合することが可能である。

[0036] 本実施形態の一態様において、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、以下の(a1)～(e1)のCDRのセットのいずれかを含んでよい。

(a1)

配列番号：1で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：1で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR1

配列番号：2で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：2で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR2

配列番号：3で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：3で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR3

配列番号：4で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：4で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR1

配列番号：5で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：5で表される

アミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR 2、及び

配列番号：6 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：6 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR 3

(b 1)

配列番号：7 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：7 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR 1

配列番号：8 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：8 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR 2

配列番号：9 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：9 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR 3

配列番号：10 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：10 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR 1

配列番号：11 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：11 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR 2、及び

配列番号：12 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：12 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR 3

(c 1)

配列番号：13 で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：13 で表されるアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR 1

配列番号：１４で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：１４で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ２

配列番号：１５で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：１５で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ３

配列番号：１６で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：１６で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ１

配列番号：１７で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：１７で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ２、及び

配列番号：１８で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：１８で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ３

(d 1)

配列番号：３２で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：３２で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ１

配列番号：３３で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：３３で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ２

配列番号：３４で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：３４で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ３

配列番号：３５で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：３５で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ１

配列番号：36で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：36で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR2、及び

配列番号：37で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：37で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR3

(e1)

配列番号：38で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：38で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR1

配列番号：39で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：39で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR2

配列番号：40で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：40で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる重鎖CDR3

配列番号：41で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：41で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR1

配列番号：42で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：42で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR2、及び

配列番号：43で表されるアミノ酸配列であるか、配列番号：43で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列からなる軽鎖CDR3

[0037] 抗COPB2抗体は、上記(a)～(e)のCDRのセットのいずれかを含む抗体であることが好ましいが、上記(a1)～(e1)のCDRのセットのいずれかを含む抗体であってもよい。すなわち、上記説明は、そのまま

、抗COPB2抗体の抗原結合断片は、上記(a)～(e)のCDRのセットのいずれかを含む抗原結合断片であることが好ましいが、上記(a1)～(e1)のCDRのセットのいずれかを含む抗原結合断片であってもよい、と理解される。

上記(a1)～(e1)のCDRのセットにおいては、重鎖CDR1～CDR3及び軽鎖CDR1～CDR3が、上記(a)～(e)のいずれかのCDRのセットであってもよい。上記(a1)～(e1)のCDRのセットにおいては、いずれかのCDRのアミノ酸配列が、配列番号：1～6で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列であってもよく、1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含むアミノ酸配列であるCDRは、1～6個であってもよい。

[0038] 抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、上記(a1)～(e1)のCDRのセットのいずれかを有する場合、CDRのセットのいずれにおいても、COPB2に対する結合能を有するあるいは保持するセットである。

[0039] 本明細書において、「1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含む」という場合、付加、置換、又は欠失するアミノ酸の数は、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、又は10個であってもよい。

[0040] CDRのアミノ酸配列において「1から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失を含む」という場合、付加、置換又は欠失されるアミノ酸の個数は、抗COPB2抗体がCOPB2への結合性を有する限り特に限定されないが、例えば、1個、2個、3個又は4個としてよい。「1個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失」を含んでもよく、「1～2個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失」を含んでもよく、「1～3個のアミノ酸の付加、又は欠失」を含んでもよく、「1～4個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失」を含んでもよい。CDRのアミノ酸配列においては、「1～2個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失」が好ましく、「1個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失」が好ましい。

[0041] アミノ酸の付加、置換、又は欠失の位置は、C O P B 2 への結合性を保持する限り、C D R のアミノ酸配列中のどの位置であってもよい。抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域は、N 末端から C 末端へ、F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、及び F R 4 を含み、特に、重鎖 C D R 3 は、抗体の抗原特異性を決定する重要な部分である。抗 C O P B 2 抗体は、C D R に変異を有する場合、抗原特異性を保持する限り、C D R 3 以外の C D R 1 及び／又は C D R 2 に 1 から数個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失があってもよく、1 個のアミノ酸の付加、置換、又は欠失であってもよい。

[0042] 本実施形態の一態様において、抗 C O P B 2 抗体又はその抗原結合断片は、以下の (a 2) ~ (e 2) の C D R のセットのいずれかを含んでよい。

(a 2)

配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 1

配列番号：2 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 2

配列番号：3 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 3

配列番号：4 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 1

配列番号：5 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 2、及び

配列番号：6 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 3

(b 2)

配列番号：7 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 1

配列番号：8 で表されるアミノ酸配列と 80% 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 2

配列番号： 9 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 3

配列番号： 10 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 1

配列番号： 11 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 2、及び

配列番号： 12 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 3

(c 2)

配列番号： 13 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 1

配列番号： 14 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 2

配列番号： 15 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 3

配列番号： 16 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 1

配列番号： 17 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 2、及び

配列番号： 18 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖 C D R 3

(d 2)

配列番号： 32 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 1

配列番号： 33 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 2

配列番号： 34 で表されるアミノ酸配列と 80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖 C D R 3

配列番号：３５で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ１

配列番号：３６で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ２、及び

配列番号：３７で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ３

(e2)

配列番号：３８で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ１

配列番号：３９で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ２

配列番号：４０で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ３

配列番号：４１で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ１

配列番号：４２で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ２、及び

配列番号：４３で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ３

[0043] 抗ＣＯＰＢ２抗体は、上記（a）～（e）のＣＤＲのセットのいずれかを含む抗体であることが好ましいが、上記（a2）～（e2）のＣＤＲのセットのいずれかを含む抗体であってもよい。すなわち、上記説明は、そのまま、抗ＣＯＰＢ２抗体の抗原結合断片は、上記（a）～（e）のＣＤＲのセットのいずれかを含む抗原結合断片であることが好ましいが、上記（a2）～（e2）のＣＤＲのセットのいずれかを含む抗原結合断片であってもよい、と理解される。

上記（a2）～（e2）のＣＤＲのセットにおいては、重鎖ＣＤＲ１～ＣＤＲ３及び軽鎖ＣＤＲ１～ＣＤＲ３が、上記（a）～（e）のいずれかのＣ

DRのセットであってもよい。上記(a2)～(e2)のCDRのセットにおいては、上記(a)～(e)のいずれかのCDRのセットではない場合として、いずれかのCDRのアミノ酸配列が、配列番号；1～6で表されるアミノ酸配列において、80%以上の同一性を有するアミノ酸配列であってもよく、80%以上の同一性を有するアミノ酸配列であるCDRは、1～6個であってよい。

[0044] 抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、上記(a2)～(e2)のCDRのセットのいずれかを有する場合、CDRのセットのいずれにおいても、COPB2に対する結合能を有するあるいは保持するセットである。

[0045] 本明細書において、「80%以上の同一性を有する」とは、変異前のアミノ酸配列と当該アミノ酸配列から変異したアミノ酸配列との一致が最大になるようにアライメントしたときに、共通するアミノ酸残基の数が、変異前のアミノ酸配列のアミノ酸数の80%以上であることを意味する。

同一性は、例えば、85%以上、90%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上であってよい。同一性は、100%であってよい。

100%の同一性を有するアミノ酸配列のみからなる重鎖CDR1～CDR3及び軽鎖CDR1～CDR3のセットは、上記(a)～(e)のいずれかのCDRのセットである。

[0046] 本実施形態の一態様において、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、以下の(f)～(j)の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片であってよい。

以下の(f)～(j)の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域においては、上記いずれかのCDRのセットを有することが好ましく、上記(a)～(e)のいずれかのCDRのセットを有することがより好ましい。

(f)の場合を例にとって説明すると((g)～(j)においても同様である)、(f)の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域とは、(f)に記載される重鎖可変領域のいずれかであるか、(f)に記載される軽鎖可変領域

のいずれかであるか、(f)に記載される重鎖可変領域のいずれかであり、かつ、(f)に記載される軽鎖可変領域のいずれかであることを意味する。

なお、抗COPB2抗体は、以下の(f)～(j)の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含むことが好ましく、この場合、例えば、(f)の場合、(f)のいずれかの重鎖可変領域と(f)のいずれかの軽鎖可変領域を含むことがより好ましい。

(f)

配列番号：19で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：19で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：19で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：20で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：20で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：20で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

(g)

配列番号：21で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：21で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：21で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：22で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：22で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：22で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

(h)

配列番号：23で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：23で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：23で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：24で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：24で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：24で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

(i)

配列番号：44で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：44で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：44で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：45で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：45で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：45で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

(j)

配列番号：46で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：46で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：46で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：47で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：47で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：47で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

[0047] 重鎖可変領域と軽鎖可変領域は、CDRに加え、フレームワーク領域（FR）を有する。FRのアミノ酸配列は、各免疫グロブリンの各可変領域のFRに由来するアミノ酸配列そのものであってもよいし、アミノ酸配列に変異を有する配列であってもよいし、FRに由来するアミノ酸配列の一部に制限酵素認識部位を導入するなど、一部改変したものであってもよい。重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域のアミノ酸配列において、アミノ酸の変異は、抗原との反応性への影響が少ないという観点から、CDR以外の領域、すなわちFR中であってもよい。

[0048] 抗COPB2抗体は、以下のCDRのセットを含み、

配列番号：1で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR1

配列番号：2で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR2

配列番号：3で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR3

配列番号：4で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR1

配列番号：5で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR2、及び

配列番号：6で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR3

かつ、以下のいずれかの重鎖可変領域及び／又は以下のいずれかの軽鎖可変領域を含んでいてもよい。

配列番号：19で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：19で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：19で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：20で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：20で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は
配列番号：20で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

[0049] 抗COPB2抗体は、以下のCDRのセットを含み、

配列番号：7で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR1

配列番号：8で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR2

配列番号：9で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR3

配列番号：10で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR1

配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR2、及び

配列番号：12で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR3

かつ、以下のいずれかの重鎖可変領域及び／又は以下のいずれかの軽鎖可変領域を含んでもよい。

配列番号：21で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：21で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は
配列番号：21で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：22で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：22で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は
配列番号：22で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

[0050] 抗COPB2抗体は、以下のCDRのセットを含み、

配列番号：13で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR1

配列番号：14で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR2

配列番号：15で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR3

配列番号：16で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR1

配列番号：１７で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ２、及び

配列番号：１８で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ３

かつ、以下のいずれかの重鎖可変領域及び／又は以下のいずれかの軽鎖可変領域を含んでいてもよい。

配列番号：２３で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：２３で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：２３で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：２４で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：２４で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：２４で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

[0051] 抗ＣＯＰＢ２抗体は、以下のＣＤＲのセットを含み、

配列番号：３２で表されるアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ１

配列番号：３３で表されるアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ２

配列番号：３４で表されるアミノ酸配列からなる重鎖ＣＤＲ３

配列番号：３５で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ１

配列番号：３６で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ２、及び

配列番号：３７で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖ＣＤＲ３

かつ、以下のいずれかの重鎖可変領域及び／又は以下のいずれかの軽鎖可変領域を含んでいてもよい。

配列番号：４４で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：４４で表されるアミノ酸配列において、１から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：４４で表されるアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：45で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：45で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：45で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

[0052] 抗COPB2抗体は、以下のCDRのセットを含み、

配列番号：38で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR1

配列番号：39で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR2

配列番号：40で表されるアミノ酸配列からなる重鎖CDR3

配列番号：41で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR1

配列番号：42で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR2、及び

配列番号：43で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖CDR3

かつ、以下のいずれかの重鎖可変領域及び／又は以下のいずれかの軽鎖可変領域を含んでもよい。

配列番号：46で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：46で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：46で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：47で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：47で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：47で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

[0053] 抗COPB2抗体において、CDRが規定される場合のCDR以外の領域、重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域が規定される場合の可変領域以外の領域については、抗COPB2抗体が、COPB2に対する結合能を有する限りにおいて、通常の抗体の有する領域から選択されてよい。

また、抗COPB2抗体における重鎖可変領域及び軽鎖可変領域においては、配列番号19～24、及び44～47で表されるアミノ酸配列より、シグナル配列を構成するアミノ酸を欠失したアミノ酸配列であってもよい。

すなわち、抗COPB2抗体においては、

配列番号：19、21、23、44、46のいずれかで表されるアミノ酸配列において、シグナル配列を構成するアミノ酸を欠失したアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び／又は

配列番号：20、22、24、45、47のいずれかで表されるアミノ酸配列において、シグナル配列を構成するアミノ酸を欠失したアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、を含んでいてもよい。

1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域又は軽鎖可変領域としても、配列番号：19～24、及び44～47のいずれかで表されるアミノ酸配列において、シグナル配列を構成するアミノ酸を欠失したアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域又は軽鎖可変領域であってよい。

また、80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域又は軽鎖可変領域としても、配列番号：19～24、及び44～47のいずれかで表されるアミノ酸配列において、シグナル配列を構成するアミノ酸を欠失したアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域又は軽鎖可変領域であってよい。

シグナル配列は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域におけるN末端のアミノ酸から約20アミノ酸が相当する。

[0054] シグナル配列に対応するアミノ酸配列は、以下のとおりである。

配列番号：19 1～28位

配列番号：20 1～36位

配列番号：21 1～28位

配列番号：22 1～22位

配列番号：23 1～19位

配列番号：24 1～19位

配列番号：44 1～19位

配列番号：45 1～20位

配列番号：46 1～19位

配列番号：47 1～22位

したがって、上記（f）～（j）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片については、シグナル配列を含まない抗体又はその抗原結合断片として、以下の（f1）～（j1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片であってもよい。

（f1）

配列番号：19の29～145位（配列番号：25）で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：19の29～145位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：19の29～145位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：20の37～143位（配列番号：26）で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：20の37～143位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：20の37～143位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

（g1）

配列番号：21の29～145位（配列番号：27）で表されるアミノ酸

配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：21の29～145位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：21の29～145位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：22の23～129位（配列番号：28）で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：22の23～129位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：22の23～129位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

(h1)

配列番号：23の20～134位（配列番号：29）で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：23の20～134位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：23の20～134位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：24の20～131位（配列番号：30）で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：24の20～131位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：24の20～131位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

(i 1)

配列番号：44の20～146位（配列番号：48）で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：44の20～146位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：44の20～146位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：45の21～132位（配列番号：49）で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：45の21～132位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：45の21～132位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

(j 1)

配列番号：46の20～144位（配列番号：50）で表されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；

配列番号：46の20～144位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；又は

配列番号：46の20～144位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、

配列番号：47の23～129位（配列番号：51）で表されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

配列番号：47の23～129位で表されるアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸の付加、置換、若しくは欠失を含むアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；又は

配列番号：47の23～129位で表されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域

[0055] 上記（f1）～（j1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、上記（a）～（e）、（a1）～（e1）又は（a2）～（e2）のCDRのセットのいずれかを含む抗体又はその抗原結合断片であることが好ましい。

すなわち、上記（f1）～（j1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、（f1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の場合、（a）、（a1）又は（a2）のCDRのセットのいずれかを含むことが好ましく、（a）のCDRのセットを含むことがより好ましく、

（g1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の場合、（b）、（b1）又は（b2）のCDRのセットのいずれかを含むことが好ましく、（b）のCDRのセットを含むことがより好ましく、

（h1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の場合、（c）、（c1）又は（c2）のCDRのセットのいずれかを含むことが好ましく、（c）のCDRのセットを含むことがより好ましく、

（i1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の場合、（d）、（d1）又は（d2）のCDRのセットのいずれかを含むことが好ましく、（d）のCDRのセットを含むことがより好ましく、

（j1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の場合、（e）、（e1）又は（e2）のCDRのセットのいずれかを含むことが好ましく、（e）のCDRのセットを含むことがより好ましい。

[0056] 上記（f1）～（j1）の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む、

(a) ~ (e) のCDRのセットのいずれかを含む抗COPB2抗体又はその抗原結合断片であってよい。

(f) ~ (j) の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域についての説明は、(f1) ~ (j1) の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域についての説明と理解される。以下の核酸、発現ベクター、形質転換体、製造方法、キット等に関する本明細書における説明においても、(f) ~ (j) の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域についてと同様、(f1) ~ (j1) の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域についての説明と理解される。

[0057] 本実施形態の一態様において、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、COPB2に対する抗体に由来するものであれば特に限定されないが、市販の抗COPB2抗体又はその抗原結合断片であってもよい。抗COPB2抗体として、一般に入手可能であれば、特に限定されないが、例えば、Novus Biologicals社製の抗COPB2モノクローナル抗体（製品名：COPB2 Antibody (M3A5)、製品コード：NB600-102等）、Bethyl Laboratories社製の抗COPB2ポリクローナル抗体（製品名：COPB2 Polyclonal Antibody、カタログ番号：Cat# A304-522A, Cat# A304-523A, Cat# A304-522A-M, Cat# A304-523A-M等）、Invitrogen社製の抗COPB2ポリクローナル抗体（製品名：COPB2 Polyclonal Antibody、カタログ番号：Catalog # PA5-77106、# PA5-96557、# PA5-49113、# PA5-57852、# PA5-66144等）、AssayGenie社製の抗COPB2抗体（製品名：Anti-COPB2 Antibody、カタログ番号：PACO44494、CAB7036等）、Solarbio社製の抗COPB2ポリクローナル抗体（製品名：Anti-COPB2 Polyclonal Antibody、カタログ番号：K110122P-SAlexa Fluor 633等）、Abcam社製の抗COPB2ポ

リクローナル抗体（製品名：Anti-COPB2 抗体、製品コード：ab229639、ab2915、ab192924等）、Atlas Antibodies社製の抗COPB2抗体（製品名：Anti-COPB2 antibody produced in rabbit、製品番号：HPA036867、HPA058180等）として入手することもできる。

また、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、市販の抗COPB2抗体のアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含むものであってもよい。

[0058] 本実施形態の一態様において、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の抗原は、COPB2のアミノ酸配列に由来するものであれば特に限定されない。抗原のアミノ酸配列は、特に限定されないが、例えば、以下のとおりである。

ヒトCOPB2の全長アミノ酸配列（配列番号：31）

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、286番目から380番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、494番目から511番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、650番目から906番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、657番目から906番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、707番目から786番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、800番目から850番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、814番目から843番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、850番目から906番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、856番目から906番目までに相当するアミノ酸配列

これらの中でも、抗原のアミノ酸配列は、特に限定されないが、ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、650番目から906番目までに相当するアミノ酸配列から選択される連続した25～257個のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列であることが好ましく、以下のアミノ酸配列であることがより好ましい。

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、650番目から906番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、850番目から906番目までに相当するアミノ酸配列

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、856番目から906番目までに相当するアミノ酸配列

[0059] 抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、配列番号：31で表されるアミノ酸配列を有する抗原に対する抗体、又はその抗原結合断片であってよい。

また、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、配列番号：31で表されるアミノ酸配列において、286番目から380番目までのアミノ酸配列、494番目から511番目までのアミノ酸配列、650番目から906番目までのアミノ酸配列、657番目から906番目までのアミノ酸配列、707番目から786番目までのアミノ酸配列、800番目から850番目までのアミノ酸配列、814番目から843番目までのアミノ酸配列、850番目から906番目までのアミノ酸配列、又は856番目から906番目までのアミノ酸配列を有する抗原に対する抗体、又は、その抗原結合抗体であってよく、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片は、配列番号：31で表されるアミノ酸配列において、650番目から906番目までのアミノ酸配

列、657番目から906番目までのアミノ酸配列、707番目から786番目までのアミノ酸配列、800番目から850番目までのアミノ酸配列、814番目から843番目までのアミノ酸配列、850番目から906番目までのアミノ酸配列、又は856番目から906番目までのアミノ酸配列を有する抗原に対する抗体、又は、その抗原結合抗体であってよく、配列番号：31で表されるアミノ酸配列において、650番目から906番目までのアミノ酸配列、850番目から843番目までのアミノ酸配列、又は856番目から906番目までのアミノ酸配列を有する抗原に対する抗体、又はその抗原結合断片であってよい。

[0060] (抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の製造方法)

抗COPB2抗体又はその抗原結合断片の製造方法は、特に限定されないが、例えば、モノクローナル抗体である場合、COPB2又はその断片で免疫した非ヒト哺乳動物から抗体産生細胞を単離し、これを骨髓腫細胞などと融合させてハイブリドーマを作製し、このハイブリドーマが産生した抗体を精製する方法であってよい。また、ポリクローナル抗体は、COPB2又はその断片で免疫した動物の血清から得てもよい。

[0061] 抗COPB2抗体又はその抗原結合断片を遺伝子組換え法で作製する場合、例えば、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を含む発現ベクターで適当な宿主細胞を形質転換し、得られた形質転換体を適当な条件で培養して抗体又は抗原結合断片を発現させてよい。その後、公知の方法又はそれに準ずる方法により、単離精製してもよい。

[0062] 抗体又は抗原結合断片を単離精製する方法としては、特に限定されないが、例えば、プロテインA等を用いたアフィニティークラムやその他のクロマトグラフィーカラムを用いたカラム精製、フィルター濾過、限外濾過、塩析、透析等が挙げられ、これらを適宜組み合わせてもよい。

[0063] 抗COPB2抗体が、重鎖CDR1～3及び軽鎖CDR1～3のアミノ酸配列にアミノ酸を付加、置換、又は欠失させたアミノ酸配列からなるCDRを有する場合や、重鎖CDR1～3及び軽鎖CDR1～3のアミノ酸配列が

80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるCDRを有する場合に、当該抗COPB2抗体は、部位特異的変異導入法、ランダム変異導入法、チェーンシャフリング法、CDRウォーキング法等の公知の方法を用いて作製してよい。

[0064] ファージディスプレイ法によってCDRに種々の変異を有する抗体又はその抗原結合断片をファージ表面に提示させ、抗原を使用してスクリーニングすることにより、より親和性が成熟したCDRのセットを含む抗体又はその抗原結合断片を得られることが当業者によく知られている（例えば、Wu et al., PNAS, 95:6037-6042 (1998); Schier, R. et al., J. Mol. Biol. 263:551-567 (1996); Schier, R. et al., J. Mol. Biol. 255:28-43 (1996); Yang, W. P. et al., J. Mol. Biol., 254:392-403 (1995)。）。したがって、当該方法により、抗COPB2抗体を作製してもよい。

[0065] キメラ抗体、ヒト化抗体、及びヒト抗体は、公知の方法又はそれに準ずる方法により、作製してよい。

ヒト以外の動物の抗体を産生するハイブリドーマのmRNAから抗体遺伝子をクローン化し、これをヒト抗体遺伝子の一部と遺伝子組換え技術で連結することによって得られた遺伝子を用いて作製してよい。

抗COPB2抗体の遺伝子としては、上記(a)～(j)として記載されるCDRのアミノ酸配列や可変領域のアミノ酸配列に応じて決定されるものであってもよい。

[0066] キメラ抗体の作製においては、特に限定されないが、例えば、上記(f)～(j)の重鎖可変領域(VH)及び軽鎖可変領域(VL)を遺伝子組換えによりヒト抗体由来配列と置換して得られる核酸を用いて製造してもよい。

また、ヒトIgG1の重鎖及び軽鎖の定常領域をクローニングし、重鎖と軽鎖それぞれについて、例えば、上記(f)～(j)の重鎖可変領域(VH)及び軽鎖可変領域(VLと、ヒト抗体由来定常領域とをPCRによるOv

erlapping Hanging法で連結し、増幅後に得られたDNAを適当なベクターに挿入し、これを形質転換して、キメラ抗体を得てもよい。

[0067] ヒト化抗体の作製においては、ヒト抗体可変部をクローン化し、メガプライマー法を用いた部位選択的突然変異導入により、抗COPB2抗体のCDRの塩基配列に改変する。フレームワーク領域を構成するアミノ酸配列をヒト化すると抗原との特異的な結合ができなくなる場合には、フレームワークの一部のアミノ酸をヒト型からラット型に変換してもよい。

[0068] 元のCDRのアミノ酸配列において、1又は複数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加を有するアミノ酸配列からなるCDRや、元の配列に80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるCDRは、部位特異的変異導入法、ランダム変異導入法、チェーンシャフリング法、CDRウォーキング法等の公知の方法を用いて作製してもよい。

[0069] 抗COPB2抗体の抗原結合断片は、当該断片をコードする核酸を用いて上述の方法で発現させてもよいし、また、全長の抗体を得てからパパイン、ペプシン等の酵素で処理して断片化してもよい。

[0070] 上記製造方法で得られた抗COPB2抗体又はその抗原結合断片が、抗COPB2抗体であることは、例えば、試料中のCOPB2タンパク質を、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片を用いた免疫学的測定法により検出できることを指標として確認することができる。

目的タンパク質を免疫学的測定により検出するイムノアッセイはこの分野において周知である。

各イムノアッセイに必要な試薬類も周知であり、イムノアッセイに用いる抗体として、抗COPB2抗体又はその抗原結合断片を用いて、通常のイムノアッセイキットを用いてCOPB2タンパク質の免疫学的検出を行なってもよい。

イムノアッセイとしては、特に限定されないが、例えば、免疫組織化学法(IHC)、免疫蛍光法(IF)、フローサイトメトリー、酵素結合免疫吸

着法（E L I S A）、又は免疫ブロット等が好ましい。

[0071] （医薬組成物）

本実施形態のがんを治療又は予防するための医薬組成物は、C O P B 2 に対する抗体又はその抗原結合断片を含む。ここで、C O P B 2 に対する抗体又はその抗原結合断片は上述したものと同様であってもよい。

[0072] 本明細書において、用語「治療又は予防」は、治療的及び／又は予防的処置を意味する。用語「治療的又は予防的処置」は、当技術分野において承認されており、医薬組成物の対象への投与を含んでもよい。

治療的処置としては、望ましくない状態（例えば、対象の疾患又は他の望ましくない状態）の所見後に投与することを意味してもよく、現存する望ましくない状態又はその副作用を減退、抑制、回復、緩和又は安定化させることを意図してもよい。また、疾患による任意の直接的又は間接的な病理的影響の減弱、転移の防止を含む。

また、疾患の発症を遅らせる、又は疾患の進行を遅くするための処置を意味してもよい。

予防的処置としては、望ましくない状態の臨床所見以前に投与することを意味してもよく、望ましくない状態の再発の抑制及び／又は防止を意図してもよい。

[0073] 本明細書において、用語「医薬組成物」は、有効成分と、添加剤（薬的に許容される成分等）とを含み、当業界において、汎用される、医薬製剤（`pharmaceutical formulation`や`pharmaceutical preparation`）を意味してもよい。本実施形態において、医薬組成物は、C O P B 2 に対する抗体又はその抗原結合断片を有効成分として少なくとも含む。

[0074] 本実施形態の一態様は、がんを治療するための医薬組成物である。がんの治療は、特に限定されないが、本実施形態の医薬組成物の単剤投与又は併用療法によって、対象のがん細胞数が減少すること、がん細胞が消失すること、がん細胞の増殖が抑制されること、腫瘍のサイズが減少すること、末梢器

官へのがん細胞の浸潤を抑制すること、がん細胞の転移を抑制すること、又はがんに起因する様々な症状が改善されることを意味してもよく、がん細胞が消失すること、又はがん細胞の転移を抑制すること、を意味することが好ましい。

[0075] 本実施形態の一態様は、がんを予防するための医薬組成物である。がんの予防は、特に限定されないが、がんの再発を抑制することを意味してもよく、減少したがん細胞が再度増殖することによるがん細胞数の増加を防止すること、増殖が抑制されたがん細胞の再度増殖を防止すること、又は減少した腫瘍のサイズが再度増大することを防止すること、を意味することが好ましい。

[0076] 本明細書において、用語「がん」は、調節されない細胞成長／増殖によって典型的に特徴づけられる哺乳動物における生理学的状態を意味する。「がん(cancer)」、「癌(carcinoma)」、「腫瘍(tumor)」、「新生物(neoplasm)」等の用語は互いに区別されず、相互に交換可能である。

[0077] がんとしては、特に限定されないが、例えば、原発腫瘍、進行がん、再発がん、転移がん又はそれらの組合せが挙げられ、原発腫瘍の治療又は予防に用いられることがより好ましい。

[0078] 本明細書において、用語「再発」は、がんが検出されない期間が続いた後に、再びがんが発生したり、治療により縮小したがんが再び大きくなったり、別の場所に同じがんが出現したりすることを意味する。

本明細書について、用語「転移」は、がん細胞が最初に発生した場所から、血管やリンパを媒介して別の臓器や器官へ移動し、そこで増えることを意味する。

[0079] がんとしては、いずれの臓器、組織に発生したがんであってもよいが、COPB2が分布している臓器、組織に発生したがんであることが好ましい。がんとしては、特に限定されないが、例えば、脳、目、内分泌組織、呼吸器系、消化管、肝臓、胆のう、膵臓、腎臓、膀胱、生殖組織、筋肉組織、結合組織、軟組織、皮膚、骨髄、リンパ組織等に発生するがんが挙げられる。ま

た、上皮性の悪性腫瘍、非上皮性の悪性腫瘍のいずれであってもよい。

具体的ながんとしては、特に限定されないが、例えば、甲状腺がん、副腎皮質がん（A C C）、肺がん（例えば、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺腺がん（L U A D）、肺の扁平上皮がん等）、消化管がん（例えば、食道がん、胃がん、大腸がん、直腸腺がん（R E A D）等）、胆管がん（C H O L）、肝臓がん、肝細胞がん、ヘパトーマ、膵臓がん、腎臓がん（例えば、腎色素嫌悪（K I C H）、腎乳頭細胞癌（K I R P）等）、膀胱がん、腹膜がん、唾液腺がん、皮膚がん（例えば、皮膚黒色腫（S K C M）等）、扁平上皮細胞がん、多発性骨髄腫、神経膠腫、脳腫瘍（例えば、脳低悪性度神経膠腫（L G G）、多形性膠芽腫（G B M）等）、褐色細胞腫、傍ガン神経膠腫（P C P G）、子宮がん（例えば、子宮内膜がん、子宮体がん、子宮頸がん、子宮がん肉腫（U C S）等）、卵巣がん（例えば、卵巣漿液性嚢胞腺癌（O V）等）、乳がん（例えば、乳腺がん、乳腺湿潤がん（B R C A）等）、前立腺がん、精巣がん（例えば、精巣胚細胞腫瘍（T G C T）等）、外陰部がん、胸腺腫（T H Y M）、白血病（例えば、A M L（急性骨髄性白血病）、C M L（慢性骨髄性白血病）等）、悪性リンパ腫、A L L（急性リンパ性白血病）、C L L（慢性リンパ性白血病）、H o d g k i n l y m p h o m a（ホジキンリンパ腫）、N o n - H o d g k i n l y m p h o m a（非ホジキンリンパ腫）、リンパ系新生物びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（D L B C）及び他のリンパ球増殖性障害等が挙げられる。

これらの中でも、本実施形態の医薬組成物は、乳がん、神経膠腫、消化管がん、肝細胞がん、肝臓がん、前立腺がん、肺がん、及び、膵臓がんからなる群から選択される1以上のがんの治療又は予防に使用されることが好ましく、乳がん、肝臓がん、胃がん、大腸がん、肝細胞がん、前立腺がん、肺がん、及び、膵臓がんからなる群から選択される1以上のがんの治療又は予防に用いられることがより好ましい。

[0080] 本実施形態の医薬組成物は、抗C O P B 2抗体又はその抗原結合断片を含み、さらに薬学的に許容される担体及び／又は添加剤を含んでもよい。担体

又は添加剤の配合割合については、医薬品分野において通常採用されている範囲に基づいて適宜設定すればよい。

担体としては、特に制限されないが、例えば、水、生理食塩水、その他の水性溶媒、及び、水性又は油性基剤等が挙げられる。

添加剤としては、特に制限されないが、例えば、賦形剤、結合剤、pH調整剤、崩壊剤、吸収促進剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、及び香料等が挙げられる。

[0081] 医薬組成物の製剤化の形態としては、特に制限されないが、例えば、錠剤、被覆錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤等の経口剤、及び、注射剤、輸液、坐剤、軟膏、パッチ剤等の非経口剤が挙げられる。

[0082] 医薬組成物の投与方法としては、特に制限されないが、注射剤又は輸液として、非経口投与経路、例えば、静脈内、筋肉内、皮膚内、腹腔内、皮下又は局所に投与することが好ましく、局所に投与することがより好ましい。

抗COPB2抗体又はその抗原結合断片を含む注射剤又は輸液は、溶液、懸濁液又は乳濁液として用いることができる。その溶剤としては、例えば、注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖溶液、及び等張液（例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン、マンニトール、ソルビトール、ホウ酸、ホウ砂、プロピレングリコール等の溶液）等が挙げられる。これらの溶剤は1種単独で用いてもよく、2種以上を組み合わせ用いてもよい。

[0083] さらに、上記注射剤又は輸液は、安定剤、溶解補助剤、懸濁剤、乳化剤、無痛化剤、緩衝剤、保存剤、防腐剤、pH調整剤等の添加剤を含んでいてもよい。

安定剤としては、特に制限されないが、例えば、アルブミン、グロブリン、ゼラチン、マンニトール、グルコース、デキストラン、エチレングリコール、プロピレングリコール、アスコルビン酸、亜硫酸水素ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、EDTAナトリウム、クエン酸ナトリウム、ジブチルヒドロキシトルエン等が挙げられる。

溶解補助剤としては、特に制限されないが、例えば、アルコール（例えば、エタノール等）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等）、非イオン性界面活性剤（例えば、ポリソルベート 80（登録商標）、HCO-50等）等が挙げられる。

懸濁剤としては、特に制限されないが、例えば、モノステアリン酸グリセリン、モノステアリン酸アルミニウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ラウリル硫酸ナトリウム等が挙げられる。

乳化剤としては、特に制限されないが、例えば、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、トラガント等が挙げられる。

無痛化剤としては、特に制限されないが、例えば、ベンジルアルコール、クロロブタノール、ソルビトール等が挙げられる。

緩衝剤としては、特に制限されないが、例えば、リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、炭酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、等が挙げられる。

保存剤としては、特に制限されないが、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピル、パラオキシ安息香酸ブチル、クロロブタノール、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、ホウ酸、ホウ砂等が挙げられる。

防腐剤としては、特に制限されないが、例えば、塩化ベンザルコニウム、パラオキシ安息香酸、クロロブタノール等が挙げられる。

pH調整剤としては、特に制限されないが、例えば、塩酸、水酸化ナトリウム、リン酸、酢酸等が挙げられる。

[0084] 医薬組成物の活性成分の投与量及び投与間隔は、投与される対象、投与経路、疾患、対象の年齢、体重及び症状によって適宜選択することができる。

例えば、経口投与の場合、特に限定されないが、例えば、成人に対して、活性成分の投与量は、1日当たり、0.01mg～10gであり、100m

g～6 gであってよく、50 mg～500 mgであってよい。医薬組成物の投与間隔は、1日の投与量を1日1回投与してもよく、数回に分けて投与してもよい。

[0085] 医薬組成物が投与される対象は、哺乳動物である。哺乳動物として、特に限定されないが、例えば、ヒト、非ヒト霊長類、飼育動物、実験動物、及び家畜等が挙げられ、好ましくはヒトである。

[0086] 本実施形態の医薬組成物は、1つ又は複数の他の剤と併用投与されてもよい。他の剤としては、特に限定されないが、例えば、免疫調節剤、細胞分裂阻害剤、細胞接着の阻害剤、細胞傷害剤、細胞アポトーシスの活性化剤、又はアポトーシス誘導因子に対する細胞の感受性を増加させる剤等の他の治療剤、微小管破壊剤、抗代謝剤、トポイソメラーゼ阻害剤、DNAインターカレート剤、アルキル化剤、ホルモン療法、キナーゼ阻害剤、受容体アンタゴニスト、腫瘍細胞アポトーシスの活性化剤、又は抗血管新生剤等の抗がん剤等が挙げられる。

[0087] 併用投与においては、本実施形態の医薬組成物と、他の剤と別時に投与してもよい。

同時に投与する場合、2種以上の有効成分は、同一の製剤中にあってもよく、それぞれ別々の製剤として投与されてもよい。

別時に投与する場合、2種以上の有効成分の所望の投与レジメンに沿って投与すればよい。他の有効成分の投与量や投与間隔は、所定の投与レジメンに沿えばよい。

実施例

[0088] 上記本願実施形態のいくつかの実施例が以下に記載される。以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されない。

[0089] 1. 抗原タンパク質の作製

ヒトCOPB2のアミノ酸配列のうち、650番目のグルタミンから906番目のアスパラギン酸までに相当する255アミノ酸残基をコードするc

DNAの下流に6×Hisタグを接続した形のcDNAを合成し、発現ベクターp cDNA5/TO (ThermoFisher Scientific社) にクローンした。このプラスミドをExpi293細胞 (ThermoFisher Scientific社) にトランスフェクトすることによりヒトCOPB2抗原タンパク質を発現させた。トランスフェクションはExpi293fectamine (ThermoFisher Scientific社) を用いて添付文書に記載の方法に従って行った。トランスフェクション6日後の培養液と細胞をそれぞれ回収し、細胞からはRIPA (Invitrogen社) により細胞抽出液を調製した。培養液10μL及び細胞抽出液10μgを還元条件下でSDS-PAGEし、抗Hisタグ抗体 (proteintech社) によるウェスタンブロット法により、COPB2 (650-906) の発現を確認した。

その結果、培養液及び細胞内ともにCOPB2 (650-906) の発現が認められたが、細胞内により多く発現し蓄積していることが確認された。

[0090] トランスフェクションしたExpi293細胞の培養液及び細胞からのCOPB2 (650-906) タンパク質の精製はTALONレジン (Clontech社) を用いて実施した。2回のトランスフェクション実験により、培養液及び細胞から合計524μgのCOPB2 (650-906) 精製タンパク質が得られた。

[0091] 2. モノクローナル抗体の作製

精製ヒトCOPB2 (650-906) タンパク質をA/Jacksonマウス3匹及びBalb/cマウス3匹に免疫した。すなわち、マウス1匹1回あたり腹腔に50μg、頸部皮下に50μg投与することを3週間ごとに2回実施した。2回免疫後に採血を行い抗原タンパク質に対する抗体価を測定した。測定法の原理を図1に示す。

[0092] その結果、ヒトCOPB2タンパク質を免疫したA/Jacksonマウスはいずれも80万カウント以上の高い抗体価が認められた。一方、Balb/cマウスにおいては、20万カウント以下の抗体価が認められた (図2

）。

[0093] 精製ヒトCOPB2タンパク質を2回免疫することにより高い抗体価を示したA/Jacksonマウス1匹(A/J#3マウス)について最終のブースターとして抗原タンパク質を投与し、その4日後に脾臓を摘出して脾細胞を調製し、引き続き脾細胞とミエローマ細胞(P3U1)との細胞融合を行った。ハイブリドーマは96穴プレート10枚に播種し、合計928ウェルにおける培養上清について免疫原であるヒトCOPB2タンパク質に対する抗体価を測定したところ5個の陽性サンプルが確認された。これら5個の陽性サンプルのウェルに含まれる細胞について、さらに2度限界希釈法により単クローン化を進めた。その結果、2クローンのハイブリドーマがCOPB2タンパク質と高い反応性を示す抗体を産生する細胞株として樹立された(クローン#A3-3G10, #A3-8C9)。

[0094] さらに、3回目の免疫に進めて高い抗体価を示したマウス(A/J#2マウス)からも脾細胞を調製し、同様に細胞融合を行い、768検体のハイブリドーマのスクリーニングを実施した。その結果、2個の陽性サンプルが検出され、さらに2度の限界希釈法によりそれぞれ単クローン化された(クローン#A2-7C6, #A2-7D11)。

以上より、合計4クローンの抗COPB2モノクローナル抗体が作製された。

[0095] 3. ウェスタンブロットの検討

4クローンの抗体について、ヒト細胞及びマウス細胞中のCOPB2タンパク質をウェスタンブロット法により検出できるかについて検討した。すなわち、ヒト由来HEK293細胞からRIPA溶解液(Santa Cruz Biotechnology社製)により調製した細胞抽出液10 μ g、及びマウス肝臓からT-PER溶解液(ThermoFisher Scientific社製)により調製した組織抽出液5, 10 μ gを還元条件下のSDS-PAGE後にImmobilion-P膜(Merck Millipore社)に転写し、3%スキムミルクを含むTBS-T (0.

0.5 M Tris-HCl, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween 20, pH 7.6) 室温で1時間ブロッキングを行い、各抗体を1 μ g/mLの濃度で3%スキムミルクを含むTBS-Tに溶解した液と4℃で終夜反応させた。反応後、それぞれの膜をTBS-Tで10分、3回洗浄した後、HRP標識ウサギ抗マウスIgGポリクローナル抗体(Dako社製)を3%スキムミルクを含むTBS-Tで1000倍希釈した液と4℃で2時間反応させ、TBS-Tで10分、3回洗浄した後、ケミルミワンSuper(ナカライテスク社製)により検出した(図3)。その結果、いずれの抗体もヒトCOPB2とは強く反応し、クローン#A2-7C6及び#A2-7D11はマウスCOPB2とも交差反応することが示唆された。また、クローン#A3-3G10はマウスCOPB2と弱く交差反応し、クローン#A3-8C9はマウスCOPB2とは全く反応しなかった。

[0096] 4. 抗COPB2抗体の構造解析

抗COPB2モノクローナル抗体A2-7C6、A2-7D11、A3-8C9の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域の構造解析をRepertoire Genesys株式会社のバイオインフォマティクス解析システムにより行った。

抗COPB2モノクローナル抗体A2-7C6、A2-7D11、A3-8C9の重鎖CDR1~3及び軽鎖CDR1~3のアミノ酸配列並びに重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図4~6に示す。

[0097] 5. ヒトモノクローナル抗体の作製

a: 免疫による抗体誘導

精製ヒトCOPB2(650-906)タンパク質を、TC-mAbマウス(株式会社 Trans Chromosomics)5匹(個体番号: 7337, 7366, 7397, 7412, 7484)に免疫した。免疫箇所はマウスの複数部位に対して行い、3週間の間に2回以上の投与を実施した。3週間の経過後に採血を行い、血清の抗体力価をELISAで確認した。

[0098] ELISAの実験手順は下記のとおりである。すなわち、イムノプレートマキシソープ(442404, Thermo Fisher)に抗原タンパク質を50 ng/wellとなるよう分注し固相化した。その後、5%スキムミルク(Difco, 232100)/TBS-T(50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.14 M NaCl, 0.05% Tween 20)でブロッキングしたのち、TBS-Tで1/2,000, 1/8,000, 1/32,000, 1/128,000に希釈した血清を加えて反応させた。続いてTBS-Tで1/50,000に希釈したAnti-IgG (Fc), Human, Goat-Poly, HRP (A80-104P, Bethyl)を加えて反応させたのち、0.5 mg/mLのオーフェニレンジアミンで発色を行い、1 M硫酸で反応を停止させた。最後に492 nmの吸光度で測定を行い、抗体価を算出した。

[0099] その結果、免疫を実施した全ての個体で抗体価の上昇が確認された(図15)。5匹の中で最も抗体価が高かった個体(個体番号: 7484)を細胞融合の実験に用いた。

[0100] b: 細胞融合

個体番号: 7484の脾臓および腸骨リンパ節などから内部の細胞を回収し細胞数をカウントした。細胞を電気融合用電極液(0.3 M Mannitol, 0.1 mM CaCl₂, 0.1 mM MgCl₂)に懸濁し、同様に電気融合用電極液に懸濁した同数のミエローマ細胞(P3X63Ag8.653)と混合した。細胞融合装置(ECFG21, ネッパジーン)を用いて細胞を融合し、HAT(H0262-10VL, Merck)を含む培地で96 well plateに播種し、2週間の選択培養を行なった。

[0101] c: スクリーニング

イムノプレートマキシソープ(442404, Thermo Fisher)に大腸菌で発現させた抗原タンパク質を50 ng/wellとなるよう分注し固相化した。5%スキムミルク(Difco, 232100)/TBS-T(50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.14 M NaC

l, 0.05% Tween 20) でブロッキングしたのち、TBS-Tで2／3に希釈したハイブリドーマ培養上清を加えて反応させた。続いてTBS-Tで1／50, 000に希釈したAnti-IgG (Fc), Human, Goat-Poly, HRP (A80-104P, Bethyl) を加えて反応させた。0.5mg/mLのo-フェニレンジアミンで発色を行い、1M硫酸で反応を停止させた。最後に492nmの吸光度を測定し、スクリーニングを行った（一次スクリーニング）。

一次スクリーニングの陽性ウェルからハイブリドーマコロニーをピックアップした。2～3日培養したのち培養上清を回収し、一次スクリーニングと同様にELISAでスクリーニングを行なった（二次スクリーニング）。

[0102] d : クローニング

二次スクリーニングで得られた吸光度の上位10クローンのハイブリドーマ細胞について、限界希釈法を用いてクローニングを実施した。陽性ウェルのスクリーニングは一次スクリーニングと同様にELISAにて実施した。シングルコロニーの陽性ウェルが2回以上取得できるまでクローニングを繰り返す、陽性ハイブリドーマ147種類のうち、抗体力価の高いクローン6種（識別番号：#002, 003, 007, 008, 009, 010）を抗体精製に用いた（図16）。

[0103] e : 抗体精製

識別番号：#002, 003, 007, 008, 009, 010のハイブリドーマ細胞を、それぞれ100 mLの無血清培地で2週間培養し、培養上清を回収した。抗体の精製は、Protein G Sepharose (cytiva) を用いて添付文書の記載の方法に従って実施した。精製後、限外濾過膜を使用して抗体を濃縮するとともに溶媒をDPBS（－）に置換した。

[0104] SDS-PAGEにより、抗体が精製されていることを確認した（図17）。さらに抗体力価をELISAにより確認した（図18）。抗体力価の上位5つに含まれる識別番号：#002, 003, 007, 008, 010を

ウェスタンブロット解析に用いた。

[0105] 6. ウェスタンブロットの検討

5 クローンの抗体について、ヒト細胞及びマウス細胞中のCOPB2タンパク質をウェスタンブロット法により検出できるかについて検討した。すなわち、ヒト由来HEK293細胞からRIPA溶解液（Santa Cruz Biotechnology社製）により調製した細胞抽出液10 μ g、及びマウス肝臓からT-PER溶解液（ThermoFisher Scientific社製）により調製した組織抽出液5, 10 μ gを還元条件下のSDS-PAGE後にImmobilon-P膜（Merck Millipore社）に転写し、3%スキムミルクを含むTBS-T（0.05M Tris-HCl, 0.15M NaCl, 0.05% Tween 20, pH 7.6）室温で1時間ブロッキングを行い、各抗体を1 μ g/mLの濃度で3%スキムミルクを含むTBS-Tに溶解した液と4℃で終夜反応させた。反応後、それぞれの膜をTBS-Tで10分、3回洗浄した後、HRP標識ウサギ抗マウスIgGポリクローナル抗体（Dako社製）を3%スキムミルクを含むTBS-Tで1000倍希釈した液と4℃で2時間反応させ、TBS-Tで10分、3回洗浄した後、ケミルミワンSuper（ナカライテスク社製）により検出した（図19）。その結果、いずれの抗体もヒトCOPB2とは強く反応し、識別番号：#003及び#008以外はマウスCOPB2とも交差反応することが示唆された。また、識別番号：#010はヒト及びマウスCOPB2のいずれにも強く反応することが確認された。なお、識別番号：#002及び#007はヒトCOPB2よりもマウスCOPB2に強く反応することが確認された。

[0106] 7. アイソタイプ解析とCDR解析

アイソタイプ解析の手順は下記のとおりである。すなわち、識別番号：#003, #010の精製抗体をD-PBS（-）で2 μ g/mLに希釈し、ヒューマンアイソタイピングキット（ISO-Hu-20, Antigen）のカセットに100 μ Lずつ添加した。その結果、識別番号：#003, #0

10のサブクラスがIgG1／kappaであることを確認した(図20)。

[0107] CDR解析の手順は下記のとおりである。すなわち、識別番号：#003，#010のハイブリドーマ細胞を10cm dishでコンフルエント状態になるまで培養した。その後、遠心して細胞ペレットを回収し、RNA抽出に供した。RNA抽出は、NucleoSpinRNA Plus (タカラバイオ株式会社)を用いて添付文書の記載の方法に従って実施した。抽出したRNAをSMARTer RACE 5'／3' Kit (タカラバイオ株式会社)を用いて添付文書の記載の方法に従って逆転写し、cDNAを得た。得られたcDNAをpRACE配列(タカラバイオ株式会社)にライゲーションし、発現ベクターを作製した。得られた発現ベクターを常法に従って大腸菌でクローニングし、精製したプラスミドのシーケンス解析から、CDR配列の解析を行った。

ヒトモノクローナル抗体、#003，#010の重鎖CDR1～3及び軽鎖CDR1～3のアミノ酸配列並びに重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図13、14に示す。

[0108] 8. 乳がん細胞に対する抗COPB2抗体投与の検討

a) 殺細胞効果(Cell Viability)と、アポトーシス誘導効果(Caspase3／7活性)の検討

ヒトリプルネガティブ乳がん細胞株であるMDA-MB-231-luc-D3H2LN (Xenogen, Inc)を、0.5mL serum-free mediumを培地で96well plateに2,000 cells／wellの密度で播種して培養した。培養から24時間後、完全ヒトモノクローナル抗体であるTA201B010a、及びTA201C003aを5μM又は20μMの濃度で含む培地、並びにコントロールとしてPBS(－)を含む培地と交換した。さらに72時間後、培養した細胞についてApoLive-Glo Multiplex Assayキットを用いて、添付文書の記載の方法に従って、Cell Viability、及

びCaspase 3/7 活性を測定した。

b) 結果

ヒト乳がん細胞 (MDA-MB-231-luc-D3H2LN) に対して、 $20\mu\text{M}$ 濃度の完全ヒトモノクローナル抗体 (TA201B010aクローン) の存在は、Viabilityに優位な低下を及ぼすことが確認された (図10)。一方で、Caspase 3/7 活性も同様に、TA201B010aクローン、及びTA201C003aクローン両方の $20\mu\text{M}$ 濃度存在下において、優位な低下が確認された (図10)。このことから、抗COPB2抗体は、乳がん細胞に対して、細胞死を誘導する効果が示唆されるものの、その細胞死はカスパーゼ活性とは独立のプロセスによるものであることが推測される。

[0109] 9. 乳がんモデルマウスに対する抗COPB2抗体投与の検討

a) 乳がんモデルマウスの作製

ヒトトリプルネガティブ乳がん細胞株であるMDA-MB-231-luc-D3H2LN (Xenogen, Inc) を、 $8 \times 10^7 \text{ cells} + 2 \text{ ml}$ (PBS 0.5 ml : Matrimix 1.5 ml)、 $4 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ で調整し (Matrimixは、A液 : B液 : C液 = 5.4 : 0.6 : 4.0 になるように氷上で調製)、Scid-Beige mouse (ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン、雌、6週) の右鼠径部乳頭周囲の皮下脂肪組織に、 $2 \times 10^6 \text{ cells}$ を移植し、乳がんモデルマウスを作製した。

b) 抗COPB2抗体の投与

細胞移植後5、8、11、14、17日目に抗COPB2抗体 (抗COPB2モノクローナル抗体A2-7C6) を $50\mu\text{g}/0.1\text{mL}/\text{mouse}$ で尾静脈投与した。対照として同容量のPBSを投与した ($n=8$)。

c) 評価1

乳がん細胞由来の発光量の変化を調べるため、移植後7、14、21、28、37日目にIVIS (PerkinElmer, Inc.、IVIS

Lumina-LT) を使用して測定を行った。なお、FOV (Field of view, カメラの高さ) は 12.5、f1.2 であり、測定時間は 30 秒、Binning (感度) は 8 または 4 で撮影し、解析には LivingImage, ver. 4.7.3 を使用し、発光量の数値化を行った。その結果を図 7 に示した。ヒト乳がん細胞の移植から毎週 IVIS で測定したマウス全身の発光量は、3、4 週目では、抗 COPB2 抗体投与群で PBS (ー) 投与群よりも優位に高かったが、5 週目では、逆転し抗 COPB2 抗体投与群で発光量は低い傾向がみられた。

d) 評価 2

5 週目 (37 日目) に乳がんモデルマウスを安楽死させ、原発腫瘍を摘出した。原発腫瘍、及び原発腫瘍摘出後の乳がんモデルマウスの全身の発光量を測定した。その結果を図 8～11 に示した。原発腫瘍及び原発腫瘍摘出後の乳がんモデルマウスの全身において、抗 COPB2 抗体投与群で、発光量が優位に低い結果が得られ、転移巣の数においても低下傾向を示した。この結果から、抗 COPB2 抗体の投与により、移植した原発腫瘍が縮小したこと、がんの転移が抑制されたことが分かった。

請求の範囲

- [請求項1] コートマータンパク質複合体サブユニットベータ2（COPB2）に対する抗体又はその抗原結合断片を含む、がんを治療又は予防するための医薬組成物。
- [請求項2] がんが原発腫瘍である、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項3] がんの再発を抑制するための、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項4] がんの転移を抑制するための、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項5] がんが、乳がん、神経膠腫、消化管がん、肝細胞がん、肝臓がん、前立腺がん、肺がん、及び、膵臓がんからなる群から選択される1以上である、請求項1に記載の医薬組成物。