

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-511479

(P2024-511479A)

(43)公表日 令和6年3月13日(2024.3.13)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 7 6
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		4 C 0 8 6
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00		4 H 0 4 5
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/04		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全150頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-559015(P2023-559015)	(71)出願人	520069899		
(86)(22)出願日	令和4年3月25日(2022.3.25)		アンジーエックス・インコーポレーテッド		
(85)翻訳文提出日	令和5年11月22日(2023.11.22)		アメリカ合衆国マサチューセッツ州01		
(86)国際出願番号	PCT/US2022/022041		742-2124, コンコード, ベイカー・アベニュー 300 스위트 300		
(87)国際公開番号	WO2022/204568				
(87)国際公開日	令和4年9月29日(2022.9.29)	(74)代理人	100118902		
(31)優先権主張番号	63/166,793		弁理士 山本 修		
(32)優先日	令和3年3月26日(2021.3.26)	(74)代理人	100106208		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 宮前 徹		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,	(74)代理人	100196508		
	最終頁に続く		弁理士 松尾 淳一		
		(74)代理人	100188374		
			弁理士 一宮 維幸		
		(72)発明者	ジャミネット, ポール・エイ	最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 メイタンシン抗体コンジュゲートおよびそれを使用する方法

(57)【要約】

抗TM4SF1抗体、その抗原結合フラグメント、リンカーおよび薬物を含む、抗体薬物コンジュゲート(ADC)が記載される。薬物は、チューブリン重合の阻害剤である。ADCの使用方法も記載される。

【選択図】図10

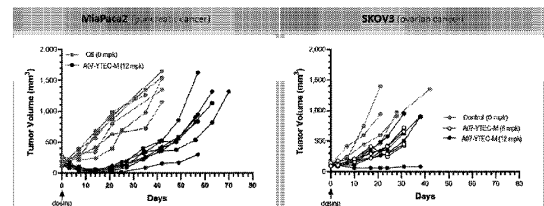


FIG. 10

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

i) 抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメント ; および

i i) チューブリン重合の阻害剤

を含む、抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 2】

チューブリン重合の阻害剤がメイタンシンまたはその誘導体である、請求項 0 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3】

チューブリン重合の阻害剤がメイタンシンである、請求項 0 または 2 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4】

抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントおよびチューブリン重合の阻害剤が、一段階または多段階プロトコールにおいてリンカーによってコンジュゲートされている、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 5】

リンカーが、切断可能リンカー、切断不能リンカー、親水性リンカー、プロ荷電リンカー、またはジカルボン酸ベースのリンカーを含む、請求項 4 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6】

切断可能リンカーが、切断可能な共有結合性または非共有結合性リンカーを含む、請求項 5 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7】

リンカーが、切断不能な共有結合性または非共有結合性リンカーを含む、請求項 4 から 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 8】

切断可能リンカーが、酸不安定性リンカー、プロテアーゼ感受性リンカー、光解離性リンカー、またはジスルフィド含有リンカーを含む、請求項 5 または 6 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 9】

リンカーが、システインリンカーまたは非システインリンカーを含む、請求項 4 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 10】

非システインリンカーが、リジンリンカーを含む、請求項 9 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 11】

リンカーが、M C (6-マレイミドカプロイル)、M C C (マレイミドメチルシクロヘキサ-1-カルボキシレート)、M P (マレイミドプロパノイル)、v a l - c i t (バリン-シトルリン)、v a l - a l a (バリン-アラニン)、a l a - p h e (アラニン-フェニルアラニン)、P A B (p-アミノベンジルオキシカルボニル)、S P P (N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-メチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-メチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘプタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-エチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘプタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロペンチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロヘキシル-4-(

10

20

30

40

50

ピリジン-2-イルチオ) ブタノエート、SMCC (N-スクシンイミジル 4-(N-マレイミドメチル) シクロヘキサン-1 カルボキシレート)、またはSIAB (N-スクシンイミジル (4-ヨードアセチル) アミノベンゾエート) を含む、請求項 4 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 12】

リンカーが、架橋試薬に由来し、架橋試薬が、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ) プロピオネート (SPDP)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 3-シクロプロピル-3-(ピリジン-2-イルジスルファニル) プロパノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 3-シクロブチル-3-(ピリジン-2-イルジスルファニル) プロパノエート、N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルジチオ) ペンタノエート (SPP)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル) ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル) ブタノエート、N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルジチオ) ブタノエート (SPDB)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル) ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル) ブタノエート、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホ-ブタノエート (スルホ-SPDB)、N-スクシンイミジル ヨードアセテート (SIA)、N-スクシンイミジル (4-ヨードアセチル) アミノベンゾエート (SIAB)、マレイミドPEG NHS、N-スクシンイミジル 4-(マレイミドメチル) シクロヘキサンカルボキシレート (SMCC)、N-スルホスクシンイミジル 4-(マレイミドメチル) シクロヘキサンカルボキシレート (スルホ-SMCC)、または 2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 17-(2, 5-ジオキソ-2, 5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5, 8, 11, 14-テトラオキソ-4, 7, 10, 13-テトラアザヘプタデカン-1-オエート (CX1-1) を含む、請求項 4 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 13】

リンカーが、切断不能な共有結合性リンカーを含む、請求項 4 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 14】

切断不能な共有結合性リンカーが、抗TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントのN末端、C末端または内部アミノ酸位置に接着されている、請求項 13 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 15】

切断不能な共有結合性リンカーが、チューブリン重合の阻害剤に共有結合性に接着されている、請求項 13 または 14 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 16】

切断不能な共有結合性リンカーが、N、O、またはSを含むヘテロ原子またはチューブリン重合の阻害剤の炭素原子に共有結合性に接着されている、請求項 13 から 15 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 17】

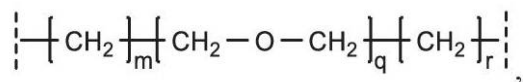
切断不能な共有結合性リンカーが、C₁~C₆ アルキレン、アルケニレン、3~7 員環を有するシクロアルキレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、N、OまたはSの1~3原子を含む5~12員環を有するヘテロシクレン、-O-、-NH-、-S-、-N(C₁~C₆アルキル)-、-C(=O)-、-C(=O)NH-、またはこれらの組合せを含み、C₁~C₆ アルキレン、アルケニレン、3~7 員環を有するシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびN、OまたはSの1~3原子を含む5~12員環を有するヘテロシクレンは、非置換であるかまたはハライド、アミノ、-CF₃、C₁~C₃ アルキル、C₃~C₆ シクロアルキル、C₁~C₃ アルコキシ、C₁~C₃ アルコキシ、またはC₁~C₃ アルキルチオによって置換されている、請求項 13 から 16

のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 18】

切断不能な共有結合性リンカーが、

【化 1】



(式中、整数 m は 0 ～ 3 であり、整数 q は 0 ～ 12 であり、整数 r は 1 ～ 3 である)

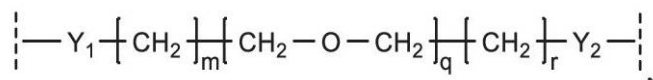
を含む、請求項 13 から 17 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項 19】

切断不能な共有結合性リンカーが、

【化 2】



(式中、各 Y_1 および Y_2 は、独立して結合、O、S、または NR^{100} であり；

R^{100} は、独立して H、重水素、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_6$ シクロアルキル、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり； $\text{C}_6 \sim \text{C}_{12}$ アリール、5 ～ 12 員ヘテロアリール、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_{12}$ シクロアルキル、または 3 ～ 12 員複素脂環式基、または R^{100} が結合される窒素と共に R^{100} および切断不能リンカーの別の原子、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、またはチューブリン重合の阻害剤が組み合わされ、N、O、および S からなる群から選択される 1 ～ 3 個のさらなるヘテロ原子を含有してもよい 3 ～ 12 員複素脂環式または 5 ～ 12 員ヘテロアリール基を形成し；

20

整数 m は 0 ～ 3 であり、整数 q は 0 ～ 12 であり、整数 r は 1 ～ 3 である)

を含む、請求項 13 から 18 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 20】

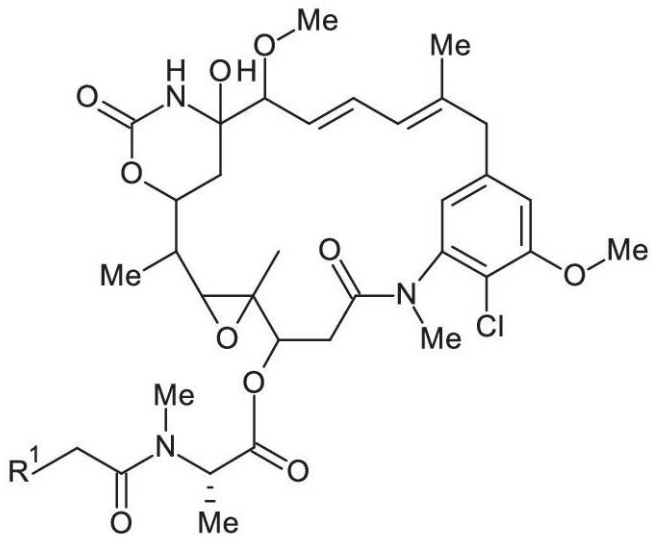
式 (I)、その立体異性体または薬学的に許容される塩：

30

40

50

【化 3】



10

20

式(I)

(式中：

 R^1 は、 $-LL-AA$ であり；

LL は、抗 $TM4SF1$ 抗体またはその抗原結合フラグメントとチューブリン重合の阻害剤との間のリンカーであり；

AA は、抗 $TM4SF1$ 抗体またはその抗原結合フラグメントである）を有する、請求項 4 から 19 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 21】

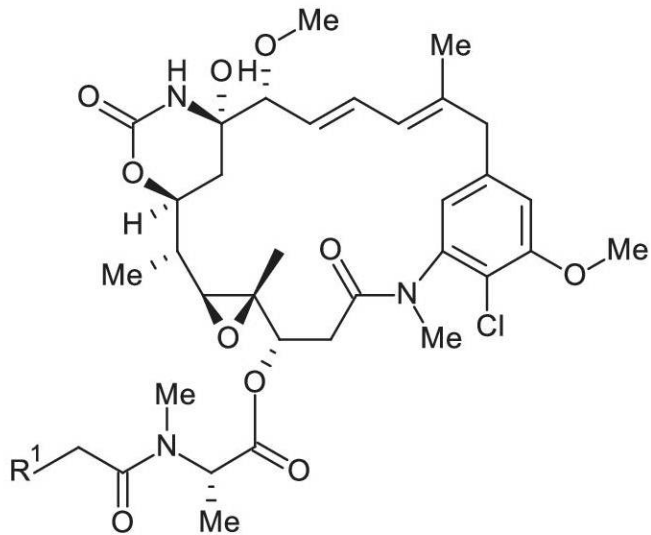
30

式 (II) またはその薬学的に許容される塩：

40

50

【化 4】



10

20

式(II)

(式中：

R¹ は、-LL-AAであり；

LLは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントとチューブリン重合の阻害剤との間のリンカーであり；

AAは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである）を有する、請求項20に記載の抗体薬物コンジュゲート。

30

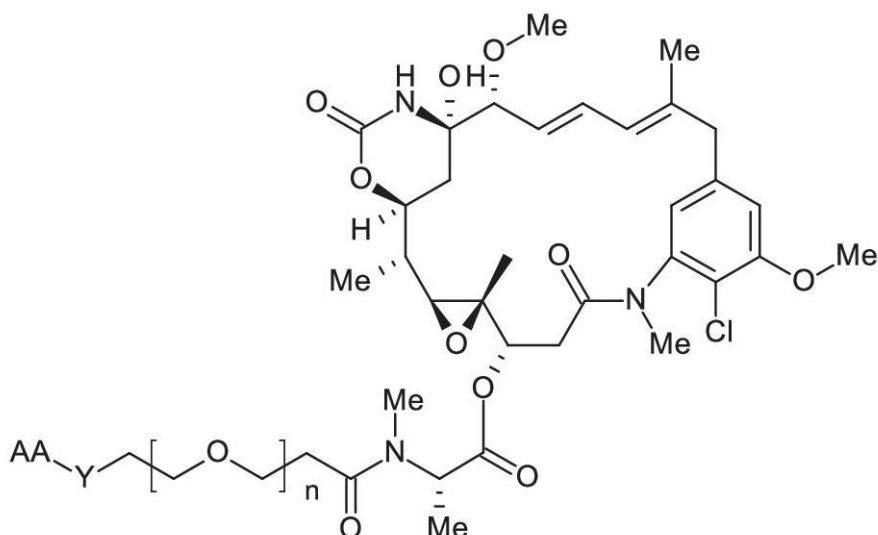
【請求項22】

式(III)またはその薬学的に許容される塩：

40

50

【化 5】



式(III)

(式中：

整数 n は、1～12であり；

Y は、MC (6-マレイミドカプロイル)、MCC (マレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシレート)、MP (マレイミドプロパノイル)、val-cit (バリン-シトルリン)、val-ala (バリン-アラニン)、ala-phe (アラニン-フェニルアラニン)、PAB (p-アミノベンジルオキシカルボニル)、SPP (N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート)、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-メチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-メチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘプタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-エチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘプタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロペンチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロヘキシル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、SMCC (N-スクシンイミジル 4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート)、または SIAB (N-スクシンイミジル (4-ヨード-アセチル)アミノベンゾエート) であり；

AA は、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントである)
を有する、請求項 20 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 23】

式 (IV) またはその薬学的に許容される塩：

10

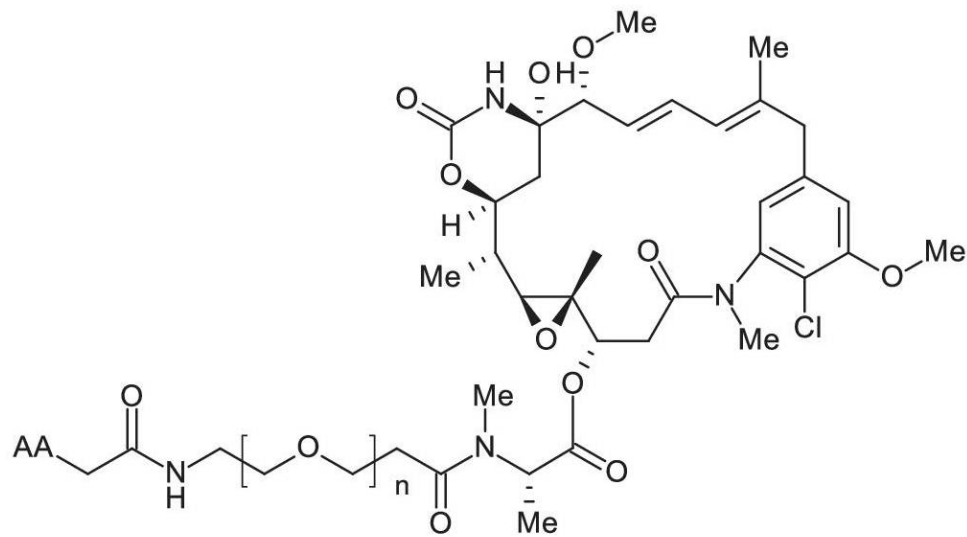
20

30

40

50

【化 6】



式(IV)

(式中：

整数 n は、1～7であり；

AAは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである）
を有する、請求項20に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項24】

式(V)またはその薬学的に許容される塩：

10

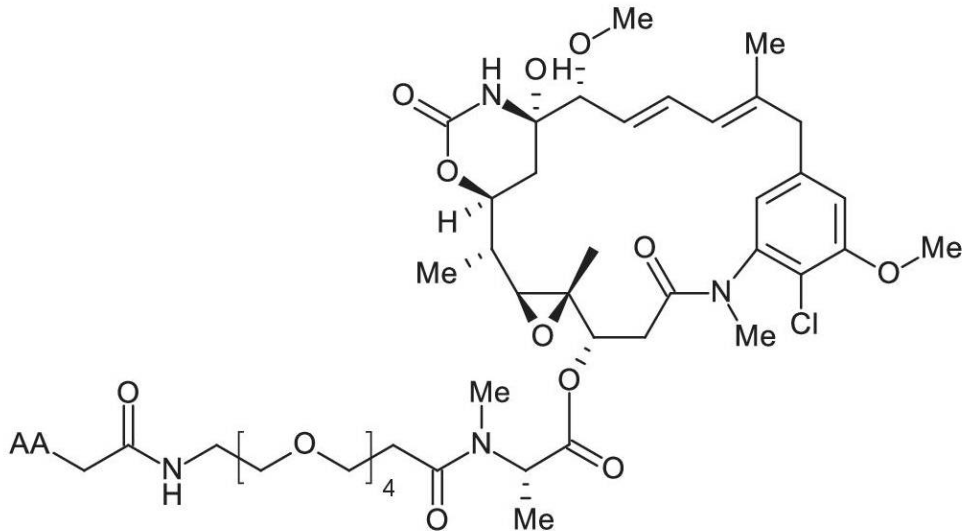
20

30

40

50

【化 7】



式(V)

(式中：

AAは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである）
を有する、請求項20に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項25】

抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントの操作されたアミノ酸残基とチューブリン重合の阻害剤に接着したリンカーとの間に共有結合を含む、請求項20に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項26】

抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントが、改変されたIgG Fc領域を含み、改変されたIgG Fc領域が野生型IgG Fc領域と比較して1つまたは複数の置換を含む、請求項1から25のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項27】

野生型IgG Fc領域が、野生型IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域である、請求項26に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項28】

野生型Fc領域がIgG1 Fc領域であり、改変されたIgG1 Fc領域が、Kababattに記載されるようにEUインデックスにより番号付けられた場合、野生型IgG1 Fc領域のE233、L234、L235、G237、M252、S254、T250、T256、D265、N297、K322、P331、M428、N434からなる群から選択される1つまたは複数の位置における突然変異を含むIgG1 Fc領域を含む、請求項26または27に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項29】

改変されたIgG1 Fc領域がN297位に突然変異をさらに含む、請求項28に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項30】

N297位の突然変異がシステインである、請求項29に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 1】

改変された I g G 1 F c 領域が E 2 3 3 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 3 0 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 2】

E 2 3 3 位の突然変異がプロリンである、請求項 3 1 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 3】

改変された I g G 1 F c 領域が L 2 3 4 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 3 2 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 4】

L 2 3 4 位の突然変異がアラニンである、請求項 3 3 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 5】

改変された I g G 1 F c 領域が L 2 3 5 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 3 4 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 6】

L 2 3 5 位の突然変異がアラニンである、請求項 3 5 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 7】

改変された I g G 1 F c 領域が G 2 3 7 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 3 6 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 8】

G 2 3 7 位の突然変異がアラニンである、請求項 3 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 3 9】

改変された I g G 1 F c 領域が M 2 5 2 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 3 8 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 0】

M 2 5 2 位の突然変異がチロシンである、請求項 3 9 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 1】

改変された I g G 1 F c 領域が S 2 5 4 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 2】

S 2 5 4 位の突然変異がスレオニンである、請求項 4 1 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 3】

改変された I g G 1 F c 領域が T 2 5 6 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 4 2 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 4】

T 2 5 6 位の突然変異がグルタミン酸である、請求項 4 3 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 5】

改変された I g G 1 F c 領域が M 4 2 8 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 4 4 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 6】

M 4 2 8 位の突然変異がロイシンである、請求項 4 5 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 4 7】

改変された I g G 1 F c 領域が N 4 3 4 位に突然変異を含む、請求項 2 8 から 4 6 の

10

20

30

40

50

いずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 48】

N 4 3 4 位の突然変異がセリンまたはアラニンである、請求項 47 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 49】

改変された I g G 1 F c 領域が T 2 5 0 位に突然変異を含む、請求項 28 から 48 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 50】

T 2 5 0 位の突然変異がグルタミンである、請求項 49 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 51】

改変された I g G 1 F c 領域が D 2 6 5 位に突然変異を含む、請求項 28 から 50 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 52】

D 2 6 5 位の突然変異がアラニンである、請求項 51 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 53】

改変された I g G 1 F c 領域が K 3 2 2 位に突然変異を含む、請求項 28 から 52 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 54】

K 3 2 2 位の突然変異がアラニンである、請求項 53 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 55】

改変された I g G 1 F c 領域が P 3 3 1 位に突然変異を含む、請求項 28 から 54 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 56】

P 3 3 1 位の突然変異がグリシンである、請求項 55 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 57】

野生型 F c 領域が I g G 4 F c 領域であり、改変された I g G 4 F c 領域が、K a b b a t に記載されるように E U インデックスにより番号付けられた場合、野生型 I g G 4 F c 領域の S 2 2 8、F 2 3 4、L 2 3 5、G 2 3 7、P 2 3 8、F 2 4 3、T 2 5 0、M 2 5 2、S 2 5 4、T 2 5 6、E 2 5 8、D 2 5 9、V 2 6 4、D 2 6 5、K 2 8 8、T 2 9 9、T 3 0 7、V 3 0 8、Q 3 1 1、K 3 2 2、L 3 2 8、P 3 2 9、A 3 3 0、P 3 3 1、T 3 5 6、K 3 7 0、A 3 7 8、R 4 0 9、V 4 2 7、M 4 2 8、H 4 3 3、N 4 3 4、H 4 3 5 からなる群から選択される 1 つまたは複数の位置における突然変異を含む I g G 4 F c 領域を含む、請求項 26 または 27 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 58】

K 4 4 7 位の後の 1 つまたは複数のアミノ酸残基が、独立して、リジン、プロリン、アルギニン、またはこれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項 0 から 25、または 57 のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 59】

K 4 4 7 位の後の 1 つまたは複数のアミノ酸残基が、独立して、リジンおよびプロリンからなる群から選択される、請求項 58 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 60】

改変された I g G F c 領域が、S 2 2 8 位に突然変異を含む、請求項 57 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 61】

S 2 2 8 位の突然変異が S 2 2 8 P を含む、請求項 60 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

20

30

40

50

【請求項 6 2】

改変された I g G 4 F c 領域が、F 2 3 4 位に突然変異を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 3】

F 2 3 4 位の突然変異が F 2 3 4 A を含む、請求項 6 2 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 4】

改変された I g G 4 F c 領域が、L 2 3 5 位に突然変異を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 5】

L 2 3 5 位の突然変異が L 2 3 5 E を含む、請求項 6 4 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 6】

改変された I g G 4 F c 領域が、S 2 2 8 P および L 2 3 5 E を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 7】

改変された I g G 4 F c 領域が、S 2 2 8 P、L 2 3 5 E、および N 2 9 7 C を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 8】

改変された I g G 4 F c 領域が、S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 E、および N 2 9 7 C を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 6 9】

改変された I g G 4 F c 領域が、M 4 2 8 L および N 4 3 4 S を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 0】

改変された I g G 4 F c 領域が、L 2 3 5 および F 2 3 4 位に突然変異を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 1】

改変された I g G 4 F c 領域が、L 3 2 8、A 3 3 0、および T 2 9 9 位に突然変異を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 2】

改変された I g G 4 F c 領域が、S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 A、G 2 3 7 A、および P 2 3 8 S を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 3】

改変された I g G 4 F c 領域が、F 2 4 3 A および V 2 6 4 A を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 4】

改変された I g G 4 F c 領域が、S 2 2 8 P および L 2 3 5 A を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 5】

改変された I g G 4 F c 領域が、M 2 5 2 Y および M 4 2 8 L；D 2 5 9 I および V 3 0 8 F；または N 4 3 4 S を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 6】

改変された I g G 4 F c 領域が、T 3 0 7 Q および N 4 3 4 S；M 4 2 8 L および V 3 0 8 F；Q 3 1 1 V および N 4 3 4 S；H 4 3 3 K および N 4 3 4 F；E 2 5 8 F および V 4 2 7 T；または T 2 5 6 D、Q 3 1 1 V、および A 3 7 8 V を含む、請求項 5 7 に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項 7 7】

抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントが、

a. 配列番号 8、20、32、44、56、68、80、96、118、119、12

10

20

30

40

50

0、または121からなる群から選択される配列に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン；配列番号7、19、31、43、55、67、79、95、116、または117からなる群から選択される配列に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン；および配列番号6、18、30、42、54、66、78、94、または115からなる群から選択される配列に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む重鎖；ならびに

b. 配列番号14、26、38、50、62、74、86、110、または129からなる群から選択される配列に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン；配列番号13、25、37、49、61、73、85、109、または128からなる群から選択される配列に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン；および配列番号12、24、36、48、60、72、または84、107、108、124、125、126、または127からなる群から選択される配列に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む軽鎖

を含む、請求項0から76のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項78】

重鎖が、配列番号3、15、27、39、51、63、75、90、92、112、114、130、または132に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、軽鎖が、配列番号9、21、33、45、57、69、81、97、99、101、122、131、または133に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項77に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項79】

重鎖が、配列番号3、15、27、39、51、63、75、90、92、112、114、130、または132に記載の配列を含み、軽鎖可変ドメインが、配列番号9、21、33、45、57、69、81、97、99、101、122、131、または133に記載の配列を含む、請求項78に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項80】

重鎖が、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号14に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号13に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号12に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項81】

重鎖が、配列番号20に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号19に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号26に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号25に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号24に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項82】

重鎖が、配列番号32に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号31に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号30に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号38に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号37に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号36に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項83】

重鎖が、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号43に

10

20

30

40

50

記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号50に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号49に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項84】

重鎖が、配列番号56に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号55に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号54に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号62に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号61に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号60に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項85】

重鎖が、配列番号68に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号67に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号66に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号74に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号73に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号72に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

20

【請求項86】

重鎖が、配列番号80に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号79に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号78に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号86に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号85に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号84に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

30

【請求項87】

重鎖が、配列番号96に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号95に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号94に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号111または配列番号110に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号109に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号107または配列番号108に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

40

【請求項88】

重鎖が、配列番号96に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号95に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号94に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号110に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号109に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号107に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

50

【請求項89】

重鎖が、配列番号96に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号95に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号94に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号110に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号109に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号108に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項90】

重鎖が、配列番号96に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号95に

50

記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号94に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号111に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号109に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号107に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項91】

重鎖が、配列番号96に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号95に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号94に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号111に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号109に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号108に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

10

【請求項92】

重鎖が、配列番号118に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号116に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号115に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号129に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号128に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号124に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項93】

20

重鎖が、配列番号118、配列番号119、配列番号120、または配列番号121に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号116または配列番号117に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号115に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み、軽鎖が、配列番号129に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号128に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号124、配列番号125、配列番号126、または配列番号127に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む、請求項77から79のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項94】

抗原結合フラグメントが、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、VHH、またはscFvを含む、請求項0から93のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

30

【請求項95】

チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体が、リソソーム内移行によって無力であるように構成されている、請求項1から94のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項96】

チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体が、核内移行後に効力があるように構成されている、請求項95に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項97】

チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体が、リソソーム内で分解されるように構成されている、請求項95または96に記載の抗体薬物コンジュゲート。

40

【請求項98】

チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体が、リソソーム内に閉じ込められるように構成されている、請求項95または96に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項99】

請求項0から98のいずれか一項に記載の抗体薬物コンジュゲート、および薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項100】

対象における疾患または障害を処置または予防する方法であって、疾患が、異常な内皮細胞(EC)相互作用を特徴とし、請求項99に記載の医薬組成物を対象に投与するステ

50

ップを含む、方法。

【請求項 101】

EC細胞相互作用が、EC-間葉幹細胞、EC-線維芽細胞、EC-平滑筋細胞、EC-腫瘍細胞、EC-白血球、EC-脂肪細胞、およびEC-神経細胞相互作用の1つまたは複数を含む、請求項100に記載の方法。

【請求項 102】

疾患または障害が、炎症性疾患またはがんを含む、請求項100または101に記載の方法。

【請求項 103】

対象における炎症を処置または予防する方法であって、請求項99に記載の医薬組成物を対象に投与するステップを含む、方法。

【請求項 104】

対象における転移を処置または予防する方法であって、請求項99に記載の医薬組成物を対象に投与するステップを含み、対象が、がんからの部分または完全寛解にある、方法。

【請求項 105】

高い転移リスクを伴うがんを有する対象を処置する方法であって、請求項99に記載の医薬組成物を、高い転移リスクを伴うがんを有する対象に投与するステップを含む、方法。

【請求項 106】

がんを有する対象における転移を処置または予防する方法であって、請求項99に記載の医薬組成物を、がんを有する対象に投与するステップを含む、方法。

【請求項 107】

対象が、転移を誘発する可能性がある処置を受けている、請求項104から106のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 108】

処置が、外科手術、放射線処置または化学療法を含む、請求項107に記載の方法。

【請求項 109】

対象が哺乳動物である、請求項103から107のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 110】

対象が、ヒトである、請求項103から107のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 111】

がんが、癌腫または肉腫である、請求項102および請求項104から110のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 112】

癌腫が、乳がん、肺がん、結腸がん、前立腺がん、膵臓がん、肝臓がん、胃がん、腎臓がん、膀胱がん、子宮がん、子宮頸がん、または卵巣がんを含む、請求項111に記載の方法。

【請求項 113】

肉腫が、血管肉腫、骨肉腫または軟部組織肉腫を含む、請求項111に記載の方法。

【請求項 114】

がんが、膠芽腫である、請求項102および請求項104から110のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 115】

ヒト対象におけるリンパまたは血行性転移を処置または予防する方法であって、請求項99に記載の医薬組成物をヒト対象に投与するステップを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 相互参照

10

20

30

40

50

[0001]本出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる2021年3月26日に出願された米国仮出願第63/166793号の利益を主張する。

【背景技術】

[0002]

2. 背景技術

[0002]がん治療薬、特に原発性腫瘍ならびに浸潤性腫瘍細胞および転移を退縮させることができる、治療余地が改善した治療薬の必要性が未だある。

[0003]

[0003]腫瘍血管を破壊するように計画したがん治療は、毒性により過去に臨床試験が失敗している。例としては、血管破壊剤、例えばコンプレタスタチン(CA4P)が挙げられる。例えば、Grishamら Clinical trial experience with CA4P anticancer therapy: focus on efficacy, cardiovascular adverse events, and hypertension management. Gynecol Oncol Res Pract. 2018; 5: 1を参照されたい。フェーズIIのFALCON試験では、CA4Pは、全生存を16.2~13.6カ月減少させ、CA4Pにより処置している間に7人の患者が心臓発作を経験した。同文献。冠動脈心疾患および脳卒中が主な死因であり、いずれの血管標的化毒治療も致死毒性のリスクをもたらし得る。

10

[0004]

[0004]TM4SF1は、血管新生に機能的役割を有する内皮細胞マーカーである。例えば、Shihら The L6 protein TM4SF1 is critical for endothelial cell function and tumor angiogenesis. Cancer Res. 2009; 69(8): 3272~7を参照されたい。抗TM4SF1抗体薬物コンジュゲート(ADC)が、固形腫瘍のための治療としてそれらの有望性を満たすように、TM4SF1を標的化する抗体薬物コンジュゲートが以前に検討されたが(例えば、Visintinら Novel Anti-TM4SF1 Antibody-Drug Conjugates with Activity against Tumor Cells and Tumor Vasculature, Mol Cancer Ther 2015(14)(8)1868~1876を参照されたい)、正常血管、特に動脈への毒性を低減したTM4SF1標的化ADCが必要である。

20

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

[0005]

3. 発明の概要

[0005]メイタンシン、ベンゾアンサマクロリドは、ナノモルまたはナノモル以下の濃度で有糸分裂停止を誘導し、腫瘍細胞を死滅させる、非常に強力な微小管標的化化合物である。しかしながら、メイタンシンは、臨床環境で腫瘍特異性を示さず、容認できない全身毒性を示す。メイタンシンの強力な細胞死滅能は、多発性骨髄腫の処置で使用され得る。血管毒性を最小にしたメイタンシンを使用する標的化ADC治療が必要とされる。

40

[0006]

[0006]本開示の一態様は：i) 抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント；およびii) チューブリン重合阻害剤を含む抗体薬物コンジュゲート(ADC)に関する。一部の実施形態において、チューブリン重合の阻害剤は、メイタンシンまたはその誘導体である。一部の実施形態において、チューブリン重合の阻害剤はメイタンシンである。

[0007]

[0007]一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントおよびチューブリン重合の阻害剤は、一段階または多段階プロトコールにおいてリンカーによってコンジュゲートされている。一部の実施形態において、リンカーは、切断可能

50

リンカー、切断不能リンカー、親水性リンカー、プロ荷電リンカー、またはジカルボン酸ベースのリンカーを含む。一部の実施形態において、切断可能リンカーは、切断可能な共有結合性または非共有結合性リンカーを含む。他の実施形態において、リンカーは、切断不能な共有結合性または非共有結合性リンカーを含む。一部の実施形態において、切断可能リンカーは、酸不安定性リンカー、プロテアーゼ感受性リンカー、光解離性リンカー、またはジスルフィド含有リンカーを含む。一部の実施形態において、リンカーは、システムリンカーまたは非システムリンカーを含む。特定の実施形態において、非システムリンカーは、リジンリンカーを含む。一部の実施形態において、リンカーは、MC (6-マレイミドカプロイル)、MCC (マレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシレート)、MP (マレイミドプロパノイル)、val-cit (バリン-シトルリン)、val-ala (バリン-アラニン)、ala-phe (アラニン-フェニルアラニン)、PAB (p-アミノベンジルオキシカルボニル)、SPP (N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-メチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-エチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロペンチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロヘキシル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、SMCC (N-スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート)、またはSIAB (N-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート)を含む。一部の実施形態において、リンカーは、架橋試薬に由来し、架橋試薬は、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート (SPDP)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 3-シクロプロピル-3-(ピリジン-2-イルジスルファニル)プロパノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 3-シクロブチル-3-(ピリジン-2-イルジスルファニル)プロパノエート、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート (SPP)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル)ブタノエート、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート (SPDB)、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル)ブタノエート、2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルジスルファニル)ブタノエート、N-スクシンイミジル-4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホ-ブタノエート (スルホ-SPDB)、N-スクシンイミジル ヨードアセテート (SIA)、N-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート (SIAB)、マレイミドPEG NHS、N-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート (SMCC)、N-スルホスクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート (スルホ-SMCC)、または2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル 17-(2, 5-ジオキソ-2, 5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5, 8, 11, 14-テトラオキソ-4, 7, 10, 13-テトラアザヘブタデカン-1-オエート (CX1-1)を含む。

[0008]

[0008]一部の実施形態において、リンカーは、切断不能な共有結合性リンカーを含む。一部の実施形態において、切断不能な共有結合性リンカーは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントのN末端、C末端または内部アミノ酸位置に接着されている。一部の実施形態において、切断不能な共有結合性リンカーは、チューブリン重合の阻害

10

20

30

40

50

剤に共有結合性に接着されている。一部の実施形態において、切断不能な共有結合性リンカーは、N、O、またはSを含むヘテロ原子またはチューブリン重合の阻害剤の炭素原子に共有結合性に接着されている。

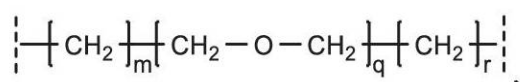
【0009】

【0009】一部の実施形態において、切断不能な共有結合性リンカーは、 C_1-C_6 アルキレン、アルケニレン、3～7員環を有するシクロアルキレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、N、OまたはSの1～3原子を含む5～12員環を有するヘテロシクレン、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-N(C_1\sim C_6\text{アルキル})-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 、またはこれらの組合せを含み、 $C_1\sim C_6$ アルキレン、アルケニレン、3～7員環を有するシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびN、OまたはSの1～3原子を含む5～12員環を有するヘテロシクレンは、非置換であるかまたはハライド、アミノ、 $-CF_3$ 、 $C_1\sim C_3$ アルキル、 $C_3\sim C_6$ シクロアルキル、 $C_1\sim C_3$ アルコキシ、 $C_1\sim C_3$ アルコキシ、または $C_1\sim C_3$ アルキルチオによって置換されている。一部の実施形態において、切断不能リンカーは、

10

【0010】

【化1】



20

【0011】

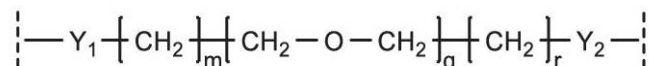
(式中、整数mは0～3であり、整数qは0～12であり、整数rは1～3である)を含む。

【0012】

【0010】一部の実施形態において、切断不能リンカーは、

【0013】

【化2】



30

【0014】

(式中、各 Y_1 および Y_2 は、独立して結合、O、S、または NR^{100} であり； R^{100} は、独立してH、重水素、 $C_1\sim C_6$ アルキル、 $C_3\sim C_6$ シクロアルキル、 $C_1\sim C_6$ アルキルであり； $C_6\sim C_{12}$ アリアル、5～12員ヘテロアリアル、 $C_3\sim C_{12}$ シクロアルキル、または3～12員複素脂環式基、または R^{100} が結合される窒素と共に R^{100} および切断不能リンカーの別の原子、抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメント、またはチューブリン重合の阻害剤が組み合わされ、N、O、およびSからなる群から選択される1～3個のさらなるヘテロ原子を含有してもよい3～12員複素脂環式または5～12員ヘテロアリアル基を形成し；整数mは0～3であり、整数qは0～12であり、整数rは1～3である)を含む。

40

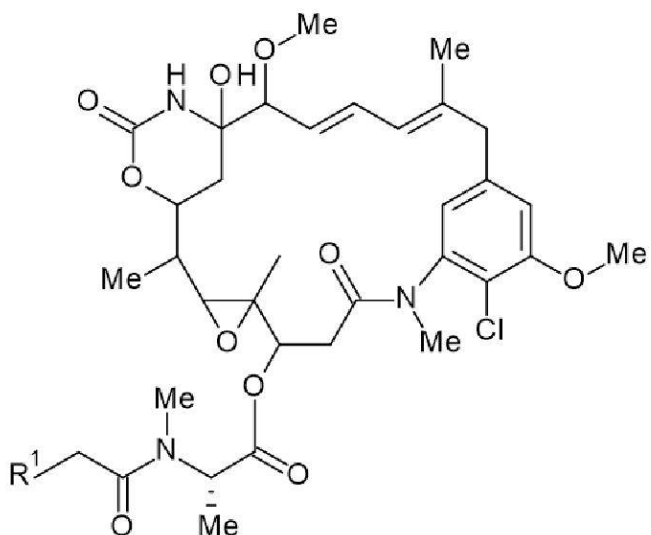
【0015】

【0011】一部の実施形態において、抗体薬物コンジュゲートは、式(I)、その立体異性体または薬学的に許容される塩：

【0016】

50

【化 3】



10

20

式(I)

【0017】

(式中：

R¹ は、-LL-AAであり；

LLは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントとチューブリン重合の阻害剤との間のリンカーであり；

AAは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである）を有する。

30

【0018】

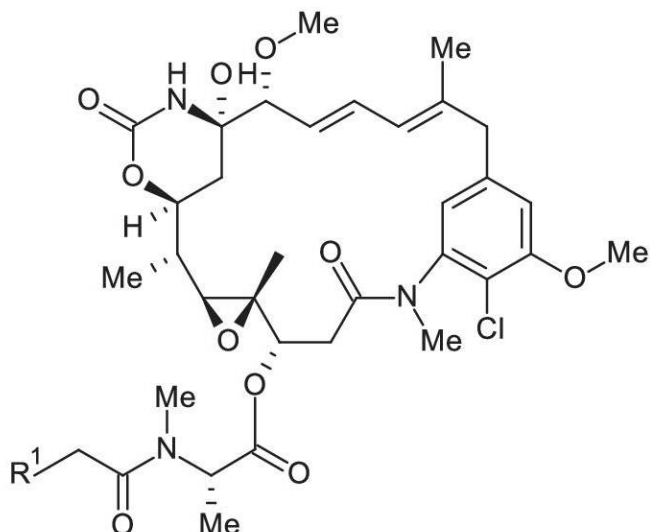
【0012】一部の実施形態において、抗体薬物コンジュゲートは、式（II）またはその薬学的に許容される塩：

【0019】

40

50

【化 4】



10

20

式(II)

【0020】

(式中：

R¹ は、-LL-AAであり；

LLは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントとチューブリン重合の阻害剤との間のリンカーであり；

AAは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである）を有する。

30

【0021】

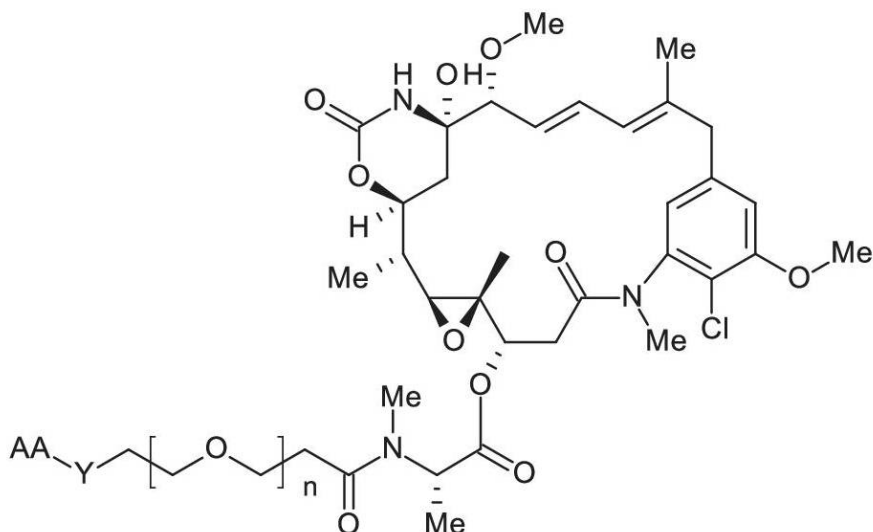
[0013]一部の実施形態において、抗体薬物コンジュゲートは、式(III)またはその薬学的に許容される塩：

【0022】

40

50

【化 5】



10

20

式(III)

【0023】

(式中：

整数 n は、1～12であり；

Y は、MC (6-マレイミドカプロイル)、MCC (マレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシレート)、MP (マレイミドプロパノイル)、val-cit (バリン-シトルリン)、val-ala (バリン-アラニン)、ala-phe (アラニン-フェニルアラニン)、PAB (p-アミノベンジルオキシカルボニル)、SPP (N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート)、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-メチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘキサノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-メチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘプタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 5-エチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ヘプタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロプロピル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロブチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロペンチル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 4-シクロヘキシル-4-(ピリジン-2-イルチオ)ブタノエート、SMCC (N-スクシンイミジル 4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート)、またはSIAB (N-スクシンイミジル (4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート) であり；

30

40

AA は、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである)を有する。

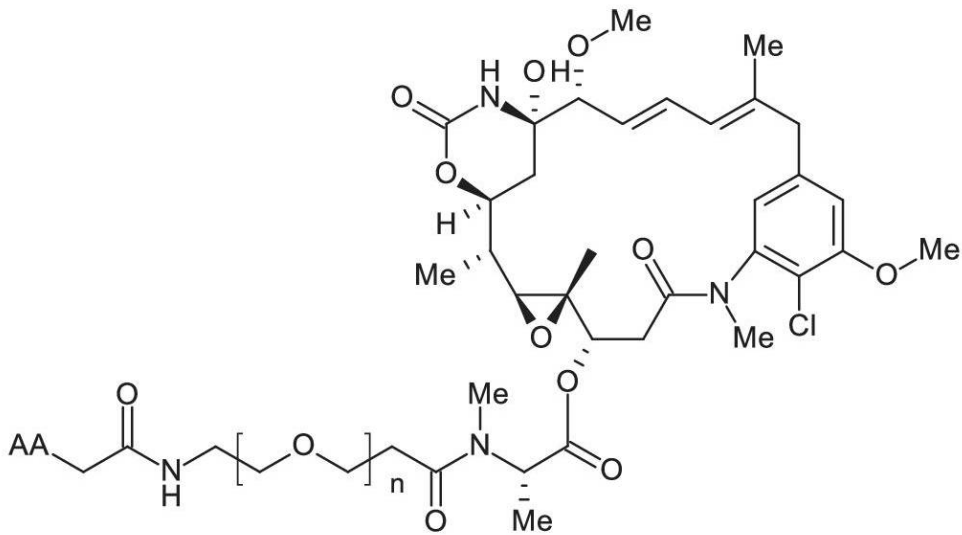
【0024】

[0014] 一部の実施形態において、抗体薬物コンジュゲートは、式(IV)またはその薬学的に許容される塩：

【0025】

50

【化 6】



10

20

式(IV)

【0026】

(式中：

整数 n は、1～7であり；AAは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである）
を有する。

【0027】

[0015] 一部の実施形態において、抗体薬物コンジュゲートは、式(V)またはその薬学的に許容される塩：

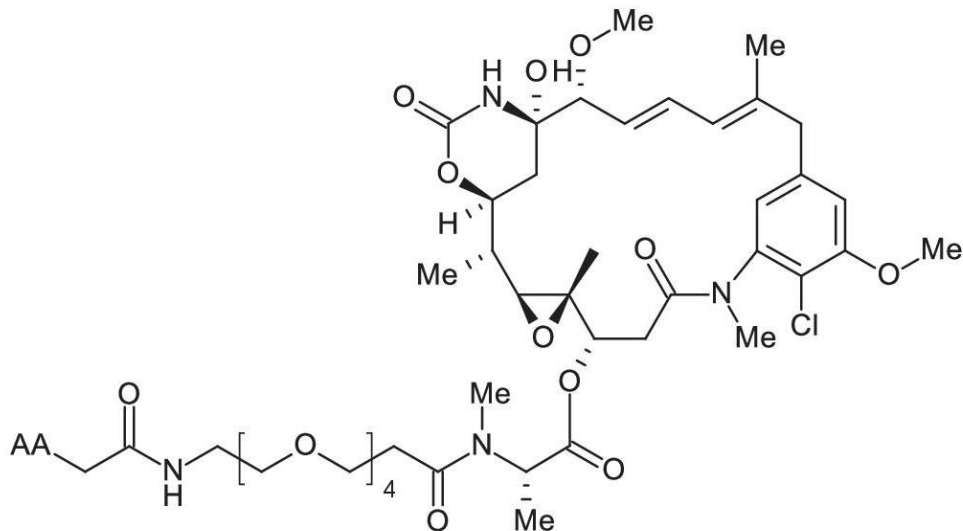
30

【0028】

40

50

【化 7】



式(V)

【0029】

(式中：

AAは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントである)
を有する。

【0030】

[0016] 一部の実施形態において、抗体薬物コンジュゲートは、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントの操作されたアミノ酸残基とチューブリン重合の阻害剤に
接着したリンカーとの間に共有結合を含む。

【0031】

[0017] 一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、改変されたIgG Fc領域を含み、改変されたIgG Fc領域は野生型IgG Fc領域と比較して1つまたは複数の置換を含む。一部の実施形態において、野生型IgG Fc領域は、野生型IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域である。一部の実施形態において、野生型Fc領域はIgG1 Fc領域であり、改変されたIgG1 Fc領域は、Kabataに記載されるようにEUインデックスにより番号付けられた場合、野生型IgG1 Fc領域のE233、L234、L235、G237、M252、S254、T250、T256、D265、N297、K322、P331、M428、N434からなる群から選択される1つまたは複数の位置における突然変異を含むIgG1 Fc領域を含む。一部の実施形態において、改変されたIgG1 Fc領域は、N297位に突然変異をさらに含む。一部の実施形態において、N297位の突然変異はシステインである。一部の実施形態において、改変されたIgG1 Fc領域はE233位に突然変異を含む。一部の実施形態において、E233位の突然変異はプロリンである。一部の実施形態において、改変されたIgG1 Fc領域はL234位に突然変異を含む。一部の実施形態において、L234位の突然変異はアラニンである。一部の実施形態において、改変されたIgG1 Fc領域はL235位に突然変異を含む。一部の実施形態において、L235位の突然変異はアラニンである。一部の実施形態において、改変されたIgG1 Fc領域はG237位に突然変異を含む。一部の実施形態において、

G 2 3 7 位の突然変異はアラニンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は M 2 5 2 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、M 2 5 2 位の突然変異はチロシンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は S 2 5 4 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、S 2 5 4 位の突然変異はスレオニンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は T 2 5 6 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、T 2 5 6 位の突然変異はグルタミン酸である。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は M 4 2 8 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、M 4 2 8 位の突然変異はロイシンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は N 4 3 4 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、N 4 3 4 位の突然変異はセリンまたはアラニンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は T 2 5 0 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、T 2 5 0 位の突然変異はグルタミンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は D 2 6 5 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、D 2 6 5 位の突然変異はアラニンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は K 3 2 2 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、K 3 2 2 位の突然変異はアラニンである。一部の実施形態において、改変された I g G 1 F c 領域は P 3 3 1 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、P 3 3 1 位の突然変異はグリシンである。

10

【0032】

[0018] 一部の実施形態において、野生型 F c 領域は I g G 4 F c 領域であり、改変された I g G 4 F c 領域は、K a b a t に記載されるように E U インデックスにより番号付けられた場合、野生型 I g G 4 F c 領域の S 2 2 8、F 2 3 4、L 2 3 5、G 2 3 7、P 2 3 8、F 2 4 3、T 2 5 0、M 2 5 2、S 2 5 4、T 2 5 6、E 2 5 8、D 2 5 9、V 2 6 4、D 2 6 5、K 2 8 8、T 2 9 9、T 3 0 7、V 3 0 8、Q 3 1 1、K 3 2 2、L 3 2 8、P 3 2 9、A 3 3 0、P 3 3 1、T 3 5 6、K 3 7 0、A 3 7 8、R 4 0 9、V 4 2 7、M 4 2 8、H 4 3 3、N 4 3 4、H 4 3 5 からなる群から選択される 1 つまたは複数の位置における突然変異を含む I g G 4 F c 領域を含む。

20

【0033】

[0019] 一部の実施形態において、K 4 4 7 位の後の 1 つまたは複数のアミノ酸残基は、独立して、リジン、プロリン、アルギニン、またはこれらの任意の組合せからなる群から選択される。

30

【0034】

[0020] 一部の実施形態において、K 4 4 7 位の後の 1 つまたは複数のアミノ酸残基は、独立して、リジンおよびプロリンからなる群から選択される。

【0035】

[0021] 一部の実施形態において、改変された I g G F c 領域は、S 2 2 8 位に突然変異を含む。一部の実施形態において、S 2 2 8 位の突然変異は、S 2 2 8 P を含む。

【0036】

[0022] 一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、F 2 3 4 位に突然変異を含む。

【0037】

40

[0023] 一部の実施形態において、F 2 3 4 位の突然変異は、F 2 3 4 A を含む。

【0038】

[0024] 一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、L 2 3 5 位に突然変異を含む。

【0039】

[0025] 一部の実施形態において、L 2 3 5 位の突然変異は、L 2 3 5 E を含む。

【0040】

[0026] 一部の実施形態において、L 2 3 5 位の突然変異は、L 2 3 5 E を含む。

【0041】

[0027] 一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、S 2 2 8 P、L

50

2 3 5 E、および N 2 9 7 C を含む。

【0042】

【0028】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 E、および N 2 9 7 C を含む。

【0043】

【0029】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、M 4 2 8 L および N 4 3 4 S を含む。

【0044】

【0030】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、L 2 3 5 および F 2 3 4 に突然変異を含む。

【0045】

【0031】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、L 3 2 8、A 3 3 0、および T 2 9 9 位に突然変異を含む。

【0046】

【0032】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 A、G 2 3 7 A、および P 2 3 8 S を含む。

【0047】

【0033】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、F 2 4 3 A および V 2 6 4 A を含む。一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は S 2 2 8 P および L 2 3 5 A を含む。

【0048】

【0034】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、M 2 5 2 Y および M 4 2 8 L；D 2 5 9 I および V 3 0 8 F；または N 4 3 4 S を含む。

【0049】

【0035】一部の実施形態において、改変された I g G 4 F c 領域は、T 3 0 7 Q および N 4 3 4 S；M 4 2 8 L および V 3 0 8 F；Q 3 1 1 V および N 4 3 4 S；H 4 3 3 K および N 4 3 4 F；E 2 5 8 F および V 4 2 7 T；または T 2 5 6 D、Q 3 1 1 V、および A 3 7 8 V を含む。

【0050】

【0036】一実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは：(i) 配列番号 8、20、32、44、56、68、80、96、118、119、120、または 121 からなる群から選択される配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 ドメイン；配列番号 7、19、31、43、55、67、79、95、116、または 117 からなる群から選択される配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 2 ドメイン；および配列番号 6、18、30、42、54、66、78、94、または 115 からなる群から選択される配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 1 ドメインを含む重鎖；ならびに(ii) 配列番号 14、26、38、50、62、74、86、110、または 129 からなる群から選択される配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 ドメイン；配列番号 13、25、37、49、61、73、85、109、または 128 からなる群から選択される配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 2 ドメイン；および配列番号 12、24、36、48、60、72、または 84、107、108、124、125、126、または 127 からなる群から選択される配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 1 を含む軽鎖を含む。

【0051】

【0037】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号 3、15、27、39、51、63、75、90、92、112、114、130、または 132 に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を含み、軽鎖は、配列番号 9、21、33、45、57

10

20

30

40

50

、69、81、97、99、101、122、131、または133に対して少なくとも75%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0052】

【0038】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号3、15、27、39、51、63、75、90、92、112、114、130、または132に記載の配列を含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号9、21、33、45、57、69、81、97、99、101、122、131、または133に記載の配列を含む。

【0053】

【0039】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み；軽鎖は、配列番号14に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号13に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号12に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む。

10

【0054】

【0040】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号20に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号19に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み；軽鎖は、配列番号26に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号25に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号24に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む。

20

【0055】

【0041】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号32に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号31に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号30に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み；軽鎖は、配列番号38に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号37に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号36に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む。

【0056】

【0042】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み；軽鎖は、配列番号50に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号49に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む。

30

【0057】

【0043】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号56に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号55に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号54に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み；軽鎖は、配列番号62に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号61に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号60に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む。

40

【0058】

【0044】一部の実施形態において、重鎖は、配列番号68に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号67に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号66に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含み；軽鎖は、配列番号74に記載のアミノ酸配列を含むCDR3ドメイン、配列番号73に記載のアミノ酸配列を含むCDR2ドメイン、および配列番号72に記載のアミノ酸配列を含むCDR1ドメインを含む。

【0059】

50

10

20

30

40

50

【 0 0 6 3 】

【 0 0 6 4 】

【 0 0 6 5 】

【 0 0 6 6 】

[0052] 一部の実施形態において、重鎖は、配列番号 118、配列番号 119、配列番号

号 1 2 0、または配列番号 1 2 1 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 ドメイン、配列番号 1 1 6 または配列番号 1 1 7 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 ドメイン、および配列番号 1 1 5 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 ドメインを含み；軽鎖は、配列番号 1 2 9 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 ドメイン、配列番号 1 2 8 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 ドメイン、および配列番号 1 2 4、配列番号 1 2 5、配列番号 1 2 6、または配列番号 1 2 7 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 ドメインを含む。

【 0 0 6 7 】

【 0 0 5 3 】一部の実施形態において、抗原結合フラグメントは、F a b、F a b'、F (a b') 2、F v、V H H、または s c F v を含む。

【 0 0 6 8 】

【 0 0 5 4 】一部の実施形態において、チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体は、リソソーム内移行によって無力であるように構成されている。

【 0 0 6 9 】

【 0 0 5 5 】一部の実施形態において、チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体は、核内移行後に効力があるように構成されている。

【 0 0 7 0 】

【 0 0 5 6 】一部の実施形態において、チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体は、リソソーム内で分解されるように構成されている。

【 0 0 7 1 】

【 0 0 5 7 】一部の実施形態において、チューブリン重合の阻害剤またはその誘導体は、リソソーム内に閉じ込められるように構成されている。

【 0 0 7 2 】

【 0 0 5 8 】本開示の別の態様は、本開示の抗体－薬物コンジュゲート、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物に関する。

【 0 0 7 3 】

【 0 0 5 9 】本開示の別の態様は、対象における疾患または障害を処置または予防する方法に関し、疾患は、異常な内皮細胞 (E C) 相互作用を特徴とし、方法は、本開示の医薬組成物を対象に投与するステップを含む。

【 0 0 7 4 】

【 0 0 6 0 】一部の実施形態において、E C 細胞相互作用は、E C－間葉幹細胞、E C－線維芽細胞、E C－平滑筋、E C－腫瘍細胞、E C－白血球、E C－脂肪細胞、および E C－神経細胞相互作用の 1 つまたは複数を含む。

【 0 0 7 5 】

【 0 0 6 1 】一部の実施形態において、疾患または障害は、炎症性疾患またはがんを含む。

【 0 0 7 6 】

【 0 0 6 2 】本開示の別の態様は、対象における炎症を処置または予防する方法であって、本開示の医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法に関する。

【 0 0 7 7 】

【 0 0 6 3 】本開示の別の態様は、対象における転移を処置または予防する方法であって、本開示の医薬組成物を対象に投与するステップを含む方法に関する。一部の実施形態において、対象は、がんからの部分または完全寛解にある。

【 0 0 7 8 】

【 0 0 6 4 】本開示の別の態様は、高い転移リスクを伴うがんを有する対象を処置する方法であって、本開示の医薬組成物を投与するステップを含む方法に関する。一部の実施形態において、がんを有する対象は高い転移リスクを伴う。

【 0 0 7 9 】

【 0 0 6 5 】本開示の別の態様は、がんを有する対象における転移を処置または予防する方法であって、本開示の医薬組成物を、がんを有する対象に投与するステップを含む方法に関する。

【 0 0 8 0 】

10

20

30

40

50

[0066]本開示のさらに別の態様は、対象における転移を処置または予防する方法であって、高い転移リスクを伴うがんを有する対象を処置する、およびがんを有する対象における転移を処置または予防する方法に関する。一部の実施形態において、対象は、転移を誘発する可能性がある処置を受けている。一部の実施形態において、処置は、外科手術、放射線処置または化学療法を含む。

【0081】

[0067]一部の実施形態において、対象は哺乳動物である。一部の実施形態において、対象は、ヒトである。一部の実施形態において、がんは、癌腫または肉腫である。一部の実施形態において、癌腫は、乳がん、肺がん、結腸がん、前立腺がん、膵臓がん、肝臓がん、胃がん、腎臓がん、膀胱がん、子宮がん、子宮頸がん、または卵巣がんである。一部の実施形態において、肉腫は、血管肉腫、骨肉腫または軟部組織肉腫を含む。一部の実施形態において、がんは、膠芽腫である。

10

【0082】

[0068]本開示の別の態様は、本開示による医薬組成物をヒト対象に投与するステップを含む、ヒト対象においてリンパまたは血行性転移を処置または予防する方法に関する。

【0083】

4. 参照による組み込み

[0069]本明細書に記載される全ての公報、特許、および特許出願は、それぞれ個々の公報、特許、または特許出願が参照により組み込まれることが具体的かつ個々に示されたのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【図面の簡単な説明】

【0084】

【図1】[0070]図1は、ペイロード（メイタンシン）をリンカーにより抗T M 4 S F 1抗体（A 0 7 - Y T E C）に接着することによって抗T M 4 S F 1抗体-薬物コンジュゲート（A D C）を形成し、A D C（A 0 7 - Y T E C - Mコンジュゲート）を生じる図解例を示す図である。

【図2A】[0071]図2Aは、突然変異を有するか、または突然変異がないA 0 7抗体のキャピラリー電気泳動S D S（C E - S D S）の安定性試験結果を示す図である。

【図2B】図2Bは、サイズ排除クロマトグラフィー-H P L C（S E C - H P L C）解析でのA 0 7 - Y T E C抗体の安定性試験結果を示す図である。

30

【図3】[0072]図3は、A 0 7 - Y T E CおよびA 0 7 - Y T E C - MコンジュゲートのS E C - H P L Cクロマトグラムを示す図である。

【図4】[0073]図4は、A 0 7 - Y T E C抗体およびA 0 7 - Y T E C - Mコンジュゲートの疎水性相互作用クロマトグラフィー-H P L C（H I C - H P L C）クロマトグラムを示す図である。

【図5】[0074]図5は、非還元A 0 7 - Y T E C抗体および非還元A 0 7 - Y T E C - Mコンジュゲートの逆相H P L C解析の結果を示す図である。

【図6】[0075]図6は、還元A 0 7 - Y T E C抗体および還元A 0 7 - Y T E C - Mコンジュゲートの逆相H P L C解析の結果を示す図である。

【図7】[0076]図7は、A 0 7 - Y T E C抗体およびA 0 7 - Y T E C - MコンジュゲートのデコンボリュートしたL C - M Sスペクトルを示す図である。フルマス範囲のデコンボリューションが実施された。

40

【図8A】[0077]図8Aは、A 0 7 - Y T E C抗体の70 k D aのデコンボリュートしたL C - M Sスペクトルを示す図である。

【図8B】図8Bは、A 0 7 - Y T E C抗体の150 k D aのデコンボリュートしたL C - M Sスペクトルを示す図である。

【図8C】図8Cは、A 0 7 - Y T E C - Mコンジュゲートの70 k D aのデコンボリュートしたL C - M Sスペクトルを示す図である。

【図8D】図8Dは、A 0 7 - Y T E C - Mコンジュゲートの150 k D aのデコンボリュートしたL C - M Sスペクトルを示す図である。

50

【図 9】[0078]図 9 は、A 0 7 - Y T E C - M コンジュゲートの D A R 値を推定する場合、デコンボリユートした L C - M S スペクトルを提供する図である。

【図 1 0】[0079]図 1 0 は、膵臓がん (M i a P a c a 2) および卵巣がん (S K O V 3) を標的化する、A 0 7 - Y T E C - M コンジュゲート (6 または 1 2 m g / k g、1 回の注射中) 実験の腫瘍退縮解析を示す図である。

【図 1 1 A】[0080]図 1 1 A および図 1 1 B は、サルにおける A D C のインビボ薬物動態プロファイルを提供する。図 1 1 A は、総抗体および A D C の血漿濃度 - 時間プロファイルを示す図である。

【図 1 1 B】図 1 1 B は、血漿 - 時間プロファイルにおける総抗体にわたる % A D C を示す図である。

【図 1 2】[0081]図 1 2 は、ペイロードがインビボでどのようにリンカー - ペイロード複合体から分離され得るかの概略を提供する図である。

【図 1 3 A】[0082]図 1 3 A は、カニクイザルへの注射後 4 日目に、血漿中の A 0 7 - Y T E C - M コンジュゲートのデコンボリユートした L C - M S スペクトルを示す図である。

【図 1 3 B】図 1 3 B は、カニクイザルへの注射後 8 日目に、血漿中の A 0 7 - Y T E C - M コンジュゲートのデコンボリユートした L C - M S スペクトルを示す図である。

【図 1 3 C】図 1 3 C は、カニクイザルへの注射後 1 2 日目に、血漿中の A 0 7 - Y T E C - M コンジュゲートのデコンボリユートした L C - M S スペクトルを示す図である。ピークパーセンテージは、総ピーク高に基づいて算出した。

【図 1 4 A】[0083]図 1 4 A は、試験対象の個体心拍数および個体 Q R S 時間の心電図 (E C G) のダイアグラムを示す図である。

【図 1 4 B】図 1 4 B は、試験対象の個体 Q T 間隔および個体補正 Q T 間隔の心電図 (E C G) のダイアグラムを示す図である。

【図 1 4 C】図 1 4 C は、試験対象の個体 R R 間隔および個体 P R 間隔の心電図 (E C G) のダイアグラムを示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0085】

6. 発明を実施するための形態

【0084】膜貫通 - 4 L 6 ファミリーメンバー - 1 (T M 4 S F 1) は、多くのヒト上皮腫瘍細胞上および内皮細胞、特に血管新生血管または過形成の新しい血管の内皮細胞において高度に発現されるテトラスパニンの形態を有する小さい膜糖タンパク質である。

【0086】

【0085】一実施形態において、例えば、腫瘍血管の内皮細胞を致死させることにより、原発性腫瘍を退縮させることができる、血管標的化治療のための抗体薬物コンジュゲート (A D C) が本明細書で提供される。この治療は、様々な魅力的特徴を含み得る。特に、(1) 血管新生は、がんの特徴であり、血管新生血管を破壊する治療は固形腫瘍の一般的な処置であり得る；(2) 血管内皮は未変異の宿主システムであり、治療耐性に進化することができないであろう。したがって、血管標的化治療は、標的組織が治療耐性に進化するおよび治療耐性になる、腫瘍細胞標的化治療に伴う共通問題を克服することができ；(3) 腫瘍の血管内皮は、静脈内に注入された薬物に直接曝露され、したがって、腫瘍細胞に到達することができない薬物に接近可能にすることができる。腫瘍細胞に接近可能でないことは、がん、例えば腫瘍細胞への薬物の接近を制限する高密度の線維性の間質を有する膵臓がんにおいて重大な問題であり得る。抗 T M 4 S F 1 抗体を含む A D C を使用する、血管標的化治療は、腫瘍の血管内皮に有利に到達することができる。

【0087】

【0086】一実施形態において、本開示は、T M 4 S F 1 結合タンパク質、例えば抗 T M 4 S F 1 抗体およびその抗原結合フラグメントを含む、抗体薬物コンジュゲート (A D C) を提供する。本開示は、一部の例において、がんを処置または予防するために A D C を使用方法を含む。本開示は、一部の実施形態において、抗体にコンジュゲートした薬

10

20

30

40

50

物ペイロードがメイタンシンを含むADCを含む。

【0088】

6.1 定義

【0087】本明細書において別段の定義がない限り、本発明の開示と関連して使用される科学用語および専門用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。用語の意味および範囲は明確であるべきであるが、何らかの潜在的なあいまいさがある場合、本明細書で提供される定義が、いずれの辞書または非本質的な定義よりも優先される。さらに、文脈上別段の要求がなされない限り、単数形の用語は複数形を含むものとし、複数形の用語は単数形を含むものとする。本出願において、「または」の使用は、別段の指定がない限り「および／または」を意味する。さらに、用語「含む (including)」、加えて他の形態、例えば「含む (includes)」および「含まれる (included)」の使用は、非限定的である。

10

【0089】

【0088】一般的に、本明細書に記載される細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、ならびにタンパク質および核酸化学およびハイブリダイゼーションと関連して使用される学術名、およびその技術は、周知であり、当技術分野において一般的に使用されるものである。本発明の開示の方法および技術は、一般的に、別段の指定がない限り、当技術分野において周知の従来方法に従って、さらに、本明細書中で引用および考察される様々な一般的な参考文献やより詳細な参考文献に記載されるように実行される。酵素反応および精製技術は、当技術分野で一般的に達成される通り、または本明細書に記載される通り、製造元の詳細な説明に従って実行される。本明細書に記載される分析化学、合成有機化学、ならびに医薬および製薬化学と関連して使用される学術名、ならびにそれらの実験手順および技術は、周知であり、当技術分野において一般的に使用されるものである。化学合成、化学分析、医薬の調製、配合、および送達、ならびに患者の処置に関して、標準的な技術が使用される。

20

【0090】

【0089】本発明の開示がより容易に理解できるように、選択される用語は、以下で定義される。用語「膜貫通-4L6ファミリーメンバー-1」または「TM4SF1」は、本明細書で使用される場合、腫瘍血管系内皮細胞 (EC)、腫瘍細胞 (TC)、網膜血管系および血管新生の血管を発達させるEC上で高度に発現される膜貫通4スーパーファミリー/テトラスパニンファミリーのポリペプチドを指す。TM4SF1は、4つの膜貫通ドメイン (M1、M2、M3、およびM4) によって分離される2つの細胞外ループ (ECL1およびECL2)、NおよびC末端、ならびに細胞内ループ (ICL) を有する。ECL2は、2つのN-グリコシル化部位を含有する。ヒトTM4SF1 (hTM4SF1) のアミノ酸配列は、配列番号90に記載される (NCBI参照配列番号NP_055035.1も参照)。

30

【0091】

【0090】用語「抗体」は、本明細書で使用される場合、特定の抗原 (例えば、TM4SF1) に特異的に結合するかまたはそれと相互作用する少なくとも1つの相補性決定領域 (CDR) を含むあらゆる抗原結合分子を意味する。用語「抗体」は、4つのポリペプチド鎖、すなわちジスルフィド結合によって相互連結された2つの重 (H) 鎖および2つの軽 (L) 鎖を含む免疫グロブリン分子、加えて、それらの多量体 (例えば、IgM) を含む。各重鎖は、重鎖可変領域 (本明細書ではHCVRまたはVHと略記される) および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2およびCH3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域 (本明細書ではLCVRまたはVLと略記される) および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン (CL1) を含む。VHおよびVL領域は、超可変性を有する領域にさらに細かく分類でき、この領域は、フレームワーク領域 (FR) と呼ばれるより高度に保存された領域に散在する相補性決定領域 (CDR) と呼ばれる。各VHおよびVLは、3つのCDRおよび4つのFRで構成され、これらは、アミノ末端からカルボキシ末端にかけて以下の順：FR1、CDR1、FR2、CDR2

40

50

、FR3、CDR3、FR4で配列される。本開示の異なる実施形態において、抗TMS4F1抗体（またはその抗原結合部位）のFRは、ヒト生殖細胞系配列に同一であってもよいし、または天然にもしくは人工的に改変されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2つまたはそれより多くのCDRの並行分析に基づき定義することができる。

【0092】

【0091】用語「YTEC」は、本明細書で使用される場合、一般に、Fc領域に改変を有する抗TMS4SF1抗体（例えば、A07-YTEC抗体）を指す。

【0093】

【0092】用語「無傷の抗体」は、4つのポリペプチド鎖、すなわちジスルフィド結合によって相互連結した2つの重（H）鎖および2つの軽（L）鎖を含む抗体を指す。一実施形態において、抗TMS4SF1抗体は、無傷の抗体である。一実施形態において、無傷の抗体は、無傷のヒトIgG1、IgG2またはIgG4アイソタイプである。ある特定の実施形態において、抗TMS4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒトIgG1、IgG2、またはIgG4アイソタイプである。

【0094】

【0093】抗体の「抗原結合部位」、抗体の「抗原結合フラグメント」、または「抗体フラグメント」などの用語は、本明細書で使用される場合、抗原と特異的に結合して複合体を形成する、あらゆる天然に存在する、酵素によって入手可能な、合成の、または遺伝子操作されたポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合フラグメントは、例えば、タンパク質分解消化、または抗体の可変ドメインおよび任意選択で定常ドメインをコードするDNAの操作および発現を含む組換え遺伝子工学技術などのあらゆる好適な標準的技術を使用して、無傷の抗体分子から得ることができる。このようなDNAは公知であり、および／または例えば、商業的な供給源、DNAライブラリー（例えば、ファージ-抗体ライブラリーなど）から容易に入手可能であり、または合成することができる。DNAは、シーケンシングし、化学的に、または分子生物学的技術を使用することによって操作して、例えば、1つまたは複数の可変および／または定常ドメインを好適な配置に配列する、またはコドンを導入する、システイン残基を作り出す、アミノ酸の改変、付加もしくは欠失などをもたらすことができる。

【0095】

【0094】抗原結合フラグメントの非限定的な例としては、(i) Fabフラグメント；(ii) F(ab')₂フラグメント；(iii) Fdフラグメント；(iv) Fvフラグメント；(v) 単鎖Fv(scFv)分子；(vi) dAbフラグメント；および(vii) 抗体の高度可変領域（例えば、単離した相補性決定領域（CDR）、例えばCDR3ペプチド）、または拘束性FR3-CDR3-FR4ペプチドを模擬するアミノ酸残基からなる最小認識単位が挙げられる。

【0096】

【0095】抗体またはそのフラグメントの「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、本明細書で使用される場合、相補性決定領域（CDR；すなわち、CDR-1、CDR-2、およびCDR-3）、およびフレームワーク領域（FR）のアミノ酸配列を含む、抗体分子の軽鎖および重鎖の部分に指す。VHは、重鎖の可変ドメインを指す。VLは、軽鎖の可変ドメインを指す。本開示で使用される方法によれば、CDRおよびFRに割り振られたアミノ酸位置は、Kabat (Sequences of Protein of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987および1991)) に従って定義することができる。抗体または抗原結合フラグメントのアミノ酸の番号付けも、Kabatの番号付けに従う。

【0097】

【0096】用語「相補性決定領域」または「CDR」は、本明細書で使用される場合、抗体可変配列内の相補性決定領域を指す。重鎖および軽鎖の可変領域のそれぞれの3つのCDRがあり、これらは、可変領域のそれぞれにつきCDR1、CDR2およびCDR3と

指定される。用語「CDRセット」は、本明細書で使用される場合、抗原に結合が可能な単一の可変領域中に生じる3つのCDRのグループを指す。これらのCDRの正確な境界は、異なるシステムに従って異なって定義されている。Kabatによって説明されるシステム(Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) および(1991)))は、抗体のあらゆる可変領域に適用可能な疑いのない残基の番号付けシステムを提供することに加えて、3つのCDRを定義する正確な残基の境界も提供する。これらのCDRは、Kabat CDRと称する場合もある。Chothiaおよび共同研究者(Chothiaら、J. Mol. Biol. 196:901~917 (1987) およびChothiaら、Nature 342:877~883 (1989))は、Kabat CDR内の特定の低位部分が、アミノ酸配列のレベルで大きな多様性を有するにもかかわらず、ほぼ同一のペプチドバックボーンコンフォメーションをとることを見出した。これらの低位部分を、L1、L2およびL3またはH1、H2およびH3と指定した。ここで「L」および「H」はそれぞれ軽鎖および重鎖領域を指示する。これらの領域は、Chothia CDRと称する場合もあり、Kabat CDRとオーバーラップする境界を有する。Kabat CDRとオーバーラップするCDRを定義する他の境界は、Padlan (FASEB J. 9:133~139 (1995)) およびMacCallum (J Mol Biol 262(5):732~45 (1996)) によって説明されている。さらに他のCDRの境界の定義は、上記のシステムのどちらかに厳密に従っていない場合があるが、それでもKabat CDRとオーバーラップすると予想され、それにもかかわらず、それらは、特定の残基もしくは残基の群が、またはCDR全体も、抗原結合に顕著な影響を与えないという予測または実験的発見の観点で、短くしたりまたは長くしたりすることができる。本明細書で使用される方法は、これらのシステムのいずれかに従って定義されたCDRを利用することができるが、好ましい実施形態は、KabatまたはChothiaによって定義されたCDRを使用する。

10

20

30

40

50

【0098】

【0097】用語「フレームワーク領域」(以下FR)は、本明細書で使用される場合、CDR残基以外の可変ドメイン残基を指す。各可変ドメインは、典型的には、FR1、FR2、FR3およびFR4として同定された4つのFRを有する。抗体またはその機能的なフラグメントの可変領域のうち共通の構造的特徴は当技術分野において周知である。特定の抗体をコードするDNA配列は、一般的に、周知の方法、例えば、参考文献として本明細書に組み込まれるKabatら、1987 Sequence of Protein of Immunological Interest、U. S. Department of Health and Human Services、Bethesda MDに記載される方法に従って見出すことができる。加えて、抗体から機能的な可変領域をクローニングするための一般的な方法は、参考文献として本明細書に組み込まれるChaudhary, V. K. ら、1990 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1066に見出すことができる。

【0099】

【0098】本明細書における用語「Fc領域」は、抗体重鎖のC末端領域を定義するのに使用され、例えば、天然配列のFc領域、組換えFc領域、およびバリエーションFc領域が含まれる。抗体重鎖のFc領域の境界は変わる場合があるが、ヒトIgG重鎖のFc領域は、Cys226位のアミノ酸残基から、またはPro230から、そのカルボキシル末端への伸長部分と定義されることが多い。Fc領域のC末端リジン(Kabatらに記載されるEU番号付けシステムに従って残基447)は、例えば、抗体の産生または精製中に除去してもよいし、または抗体の重鎖をコードする核酸を組換え操作することによって除去してもよい。したがって、無傷の抗体の組成物は、全てのK447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されていない抗体集団、およびK447残基を有するおよび有さない抗体の混合物を有する抗体集団を含んでいてもよい。さらに、本開示の無傷の

抗体の組成物は、C末端のリジン、K 4 4 7の後に残基の伸長を有する抗体集団を含み得る。

【0100】

[0099]用語「ヒト化抗体」は、本明細書で使用される場合、目的の抗原（例えば、ヒトTM4SF1）に免疫特異的に結合し、実質的にヒト抗体のアミノ酸配列を有するフレームワーク（FR）領域と、実質的に非ヒト抗体のアミノ酸配列を有する相補性決定領域（CDR）とを含む、抗体またはそのバリエーション、誘導体、類似体もしくはフラグメントを指す。非ヒト（例えば、マウス）抗体のヒト化形態は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小配列を含有するキメラ免疫グロブリンである。一般的に、ヒト化抗体は、CDR領域の全てまたは実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリンに対応し、FR領域の全てまたは実質的に全てが、ヒト免疫グロブリン配列のFR領域である、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含むと予想される。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のFcの少なくとも一部を含んでいてもよい。抗体ヒト化方法は、当技術分野において公知である。例えば、全て参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Riechmannら、1988、Nature 332:323~7; Queenらの、米国特許第5,530,101号; 5,585,089号; 5,693,761号; 5,693,762号; および6,180,370号; EP239400; PCT公報WO91/09967; 米国特許第5,225,539号; EP592106; EP519596; Padlan、1991、Mol. Immunol.、28:489~498; Studnickaら、1994、Prot. Eng. 7:805~814; Roguskaら、1994、Proc. Natl. Acad. Sci. 91:969~973; ならびに米国特許第5,565,332号を参照されたい。

【0101】

[0100]用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用される場合、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、可能性のある突然変異、例えば少量で存在する可能性がある天然に存在する突然変異を除いて、同一である。したがって、修飾句「モノクローナル」は、分離した抗体の混合物ではないという抗体の特徴を示す。特定の実施形態において、このようなモノクローナル抗体は、典型的には、標的と結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列からの単一の標的結合ポリペプチド配列の選択を含むプロセスによって得られた。例えば、選択プロセスは、複数のクローンからの、例えばハイブリドーマクローン、ファージクローン、または組換えDNAクローンのプールからの固有なクローンの選択であってもよい。典型的には異なる決定基（エピトープ）に対して向けられた異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一のエピトープに対して向けられる。

【0102】

[0101]用語「キメラ抗体」は、本明細書で使用される場合、所望の生物学的活性を示す限り、特定の種由来の、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または相同な重鎖および／または軽鎖の部分を含む、それと同時に、鎖の残部が、別の種由来の、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体、加えてこのような抗体のフラグメントにおける対応する配列と同一または相同である抗体（免疫グロブリン）を指す（米国特許第4,816,567号; およびMorrisoら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851~6855 (1984)）。

【0103】

[0102]用語「エピトープ」は、本明細書で使用される場合、パラトープとして公知の抗体分子の可変領域中の特異的な抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原が、1つより多くのエピトープを有する場合もある。したがって、異なる抗体は、抗原上の異なる領域に結合する場合もあるし、異なる生物学的作用を有する場合もある。エ

ピトープは、構造的または機能的と定義される場合もある。機能的エピトープは、一般的に、構造的エピトープのサブセットであり、相互作用の親和性に直接的に寄与する残基を有する。またエピトープは、配座エピトープであってもよく、すなわち非線形アミノ酸で構成されていてもよい。特定の実施形態において、エピトープは、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基、またはスルホニル基などの化学的に活性な表面の分子群である決定基を含む場合もあり、特定の実施形態において、特定の3次元構造特徴、および／または特定の電荷の特徴を有していてもよい。

【0104】

【0103】用語「有効量」は、本明細書で使用される場合、疾患の処置に関して、所望の結果を達成するのに必要な投与量、および時間での有効な量を指す。例えば、ドライアイ疾患の処置において、がんの任意の症状を低減、予防、遅延または抑制または停止させる薬剤（すなわち、化合物、医薬組成物、抗体薬物コンジュゲート）が有効である。有効量の薬剤は、疾患または状態の治療に必要ではないが、疾患または状態の発症が遅延される、妨げられる、もしくは予防されるか、または疾患もしくは状態の症状が緩和されるような、疾患または状態の処置を提供するであろう。有効量は、好適な形態で1、2、またはそれ以上の用量に分けられ、指定した時間にわたり1回、2回またはそれ以上投与されてもよい。

【0105】

【0104】用語「ペイロード」、「薬物ペイロード」、「治療分子」、「治療ペイロード」、「治療剤」、「治療成分」は、本明細書では置き換え可能に使用され、抗TMSF1抗体または抗原結合フラグメント（例えば、本明細書に開示の抗TM4SF1抗体または抗原結合フラグメント）にコンジュゲートされている、化学成分または生物成分を指し、メイタンシンおよびその誘導体を含み得る。

【0106】

【0105】用語「ポリペプチド」または「ペプチド」は、共有結合（例えば、アミド結合）によって接続された2つまたはそれ以上の自然または非自然発生のアミノ酸を指し得る。ポリペプチドまたはペプチドは、本明細書に記載される場合、全長タンパク質（例えば、完全にプロセシングされたタンパク質）ならびに短いアミノ酸配列（例えば、自然発生のタンパク質のフラグメントまたは合成ポリペプチドフラグメント）を含む。テトラペプチドは、共有結合によって共有結合性に接続された4つのアミノ酸を有する。

【0107】

【0106】用語「置換基」は、任意の分子、化合物または部分上の水素原子などの第2の原子または基を置き換える基を指し得る。好適な置換基は、限定はされないが、ハロ、ヒドロキシ、メルカプト、オキソ、ニトロ、ハロアルキル、アルキル、アルカリル、アリール、アラルキル、アルコキシ、チオアルコキシ、アリールオキシ、アミノ、アルコキシカルボニル、アミド、カルボキシ、アルカンスルホニル、アルキルカルボニル、およびシアノ基を含み得る。

【0108】

【0107】用語「薬物対抗体比」または「DAR」は、本明細書に開示のADCの、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントに接着した、薬物（本明細書では、治療分子、治療剤、または治療成分とも称される）の数を指し得る。ADCのDARは、典型的には、1～12の範囲であるが、より高い負荷、例えば16も、抗体上の結合部位の数または複数の薬剤ペイロードが1つの結合部位に接着されている多価結合の使用に応じて可能である。用語、DARは、個々の抗体上に負荷された薬物分子の数を参照して使用され得る、または加えて、平均薬物負荷を反映するADCの群の平均または中間DARを参照して使用され得る。組成物、バッチ、および／または複数のADCの製剤は、平均DARによって特徴付けられ得る。DARおよび平均DARは、様々な従来手段、例えばUV分光法、質量分析、ELISAアッセイ、放射測定法、疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）、電気泳動およびHPLCによって決定され得る。

【0109】

【0108】用語「結合親和性」は、一般的に、分子（例えば、抗体などの結合タンパク質）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合による相互作用の総計の強度を指す。結合分子X（例えば、抗TM4SF1抗体）のその結合パートナーY（例えば、ヒトTM4SF1）に対する親和性は、一般的に、解離定数（KD）によって表することができる。親和性は、本明細書に記載されるものなどの当技術分野において公知の一般的な方法によって測定することができる。低親和性抗体は、一般的に、ゆっくり抗原と結合し、容易に解離する傾向があり、それに対して高親和性抗体は、一般的に、より速く抗原と結合し、より長く結合したままの状態である傾向がある。結合親和性を測定する様々な方法が当技術分野において公知であり、それらのいずれかは、本発明の開示の目的のために使用することができる。特定の例示的な実施形態は、以下を含む。一実施形態において、「KD」または「KD値」は、当技術分野において公知のアッセイによって、例えば結合アッセイによって測定することができる。KDは、RIAで測定することができ、これは例えば、目的の抗体のFabバージョンおよびその抗原を用いて実行される（Chenら、1999、J. Mol Biol 293:865～81）。KDはまた、FACS、またはBIACOREによる、例えばBIACORE2000もしくはBIACORE3000を使用する、表面プラズモン共鳴アッセイを使用することによって、または例えばOCTET QK384システムを使用するバイオレイヤー干渉法によっても測定できる。特定の実施形態において、抗TM4SF1抗体のKDは、HUV EC細胞を用いる標準的なフローサイトメトリーアッセイを使用して決定される。また、「オンレート」または「会合の速度」または「会合速度」または「kon」および「オフレート」または「解離の速度」または「解離速度」または「koff」も、例えばBIACORE2000もしくはBIACORE3000、またはOCTET QK384システムを使用する、上述した同じ表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法技術で決定することができる。

10

20

【0110】

【0109】用語「kon」は、本明細書で用いられる場合、当技術分野において公知のように、抗体／抗原複合体を形成するための抗体の抗原への会合に関するオンレート定数を指すことが意図される。

【0111】

【0110】用語「koff」は、本明細書で用いられる場合、当技術分野において公知のように、抗体／抗原複合体からの抗体の解離に関するオフレート定数を指すことが意図される。

30

【0112】

【0111】用語「阻害」または「阻害する」は、本明細書で使用される場合、部分的な（例えば、1%、2%、5%、10%、20%、25%、50%、75%、90%、95%、99%の）または完全な（すなわち、100%の）阻害を指す。

【0113】

【0112】用語「がん」は、本明細書で使用される場合、哺乳動物における典型的には無秩序な細胞増殖を特徴とする生理学的状态を指すかまたは記載する。

【0114】

【0113】用語「高い転移リスクを伴うがん」は、本明細書で使用される場合、がんを有する対象が転移がんを発症させるリスクを増加させることがわかっている少なくとも1つの因子に関連するがんを指す。転移リスクの増加に関連する因子の例としては、これらに限定されないが、対象が最初のがん診断時に有するがん性のリンパ節の数、腫瘍のサイズ、組織学的な格付け、および最初の診断時のがんの段階が挙げられる。

40

【0115】

【0114】用語「血行性転移」は、本明細書で使用される場合、がん細胞が血管壁に侵入し、その後、血流（循環腫瘍細胞）を介して体内の他の部位および組織に循環できる能力を指す。

【0116】

50

【0115】用語「リンパ転移」は、本明細書で使用される場合、がん細胞がリンパ管に侵入し、血管に排出する能力を指す。

【0117】

【0116】本開示に関して、用語「処置する」または「処置」は、本明細書で使用される場合、このような用語が適用される障害もしくは状態、またはこのような障害もしくは状態の1つまたは複数の症状を、回復させること、軽減すること、その進行を阻害すること、または予防することを意味する。用語「がんを処置する」は、本明細書で使用される場合、がん細胞の増殖および／または増殖の阻害を意味する。一実施形態において、本明細書に記載される組成物および方法は、転移がんを有する対象における転移を処置するのに使用される。

10

【0118】

【0117】用語「がんを予防する」または「がんの予防」は、発癌または腫瘍形成の発生が証明されていないが、例えば遺伝学的スクリーニングによって決定したかまたはそれ以外の方法によるかにかかわらず、がんの素因が同定されている哺乳動物におけるがんの発病を、遅らせること、阻害すること、または予防することを指す。この用語はまた、悪性になる前の状態を有する哺乳動物を処置して、悪性になる前の状態から悪性状態への進行を止める、またはそのような進行を逆行させることも包含する。悪性になる前の状態の例としては、過形成、形成異常、および異形成が挙げられる。一部の実施形態において、がんの予防は、がんからの寛解にある対象に関して使用される。

【0119】

20

【0118】悪性もしくは良性のおよび／または原発性もしくは続発性などの様々ながんが、本開示による方法で処置または予防することができる。このようながんの例は、当業者に公知であり、Merck Manual of Diagnosis and Therapy (Merckにより出版)などの標準的な教本に列挙される。

【0120】

【0119】用語「対象」は、本明細書で使用される場合、哺乳動物（例えば、ヒト）を指す。

【0121】

【0120】用語「投与する」は、本明細書で使用される場合、抗体またはそのフラグメント、または組成物（例えば、医薬組成物）の投薬量を対象に与える方法を指す。投与方法は、様々な要因（例えば、投与される結合タンパク質または医薬組成物、および処置される状態、疾患、または障害の重症度）に応じて変更することができる。

30

【0122】

【0121】用語「有効量」は、本明細書で使用される場合、所望の転帰をもたらすのに十分な、本明細書で提供される抗体または医薬組成物の量を指す。

【0123】

【0122】用語「約」および「およそ」は、所与の値または範囲の、20%以内、15%以内、10%以内、9%以内、8%以内、7%以内、6%以内、5%以内、4%以内、3%以内、2%以内、1%以内、またはそれ未満を意味する。

【0124】

40

【0123】用語「同一性」、または「相同性」は、本明細書では置き換え可能に使用され、最適な比較目的で配列をアライメントすること（例えば、第1の配列の配列中にギャップを導入してもよい）によって決定できる2つまたはそれより多くのヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の「同一性」、「相同性」、または「パーセント相同性」の計算値であり得る。次いで対応する位置のヌクレオチドを比較することができ、2つの配列間のパーセント同一性は、配列が共通する同一の位置の数の関数であり得る（すなわち、%相同性＝同一の位置の数／位置の合計数×100）。例えば、第1の配列における位置は、第2の配列における対応する位置と同じヌクレオチドで占められていてもよく、その場合、分子はその位置で同一である。2つの配列間のパーセント相同性は、2つの配列の最適なアライメントのために導入する必要があるギャップの数および各ギャップの長さを考慮に入れ

50

た、配列が共通する同一の位置の数の関数であり得る。一部の実施形態において、比較目的でアライメントされた配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも約30%、約40%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、または約95%であり得る。BLAST（登録商標）検索は、2つの配列間の相同性を決定することができる。2つの配列は、遺伝子、ヌクレオチド配列、タンパク質配列、ペプチド配列、アミノ酸配列、またはそのフラグメントであり得る。2つの配列の実際の比較は、周知の方法によって、例えば数学的なアルゴリズムを使用して達成することができる。このような数学的なアルゴリズムの非限定的な例は、Karlin, S. および Altschul, S., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90-5873-5877 (1993) に記載され得る。このようなアルゴリズムは、Altschul, S.ら、Nucleic Acids Res., 25:3389~3402 (1997) に記載されるように、NBLASTおよびXBLASTプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている場合もある。BLASTおよびギャップ有りBLASTプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、NBLAST）のあらゆる関連パラメーターを使用することができる。例えば、配列比較に関するパラメーターは、スコア=100、ワード長さ=12に設定してもよいし、または変更してもよい（例えば、W=5またはW=20）。他の例としては、Myersおよびミラー、CABIOS (1989) のアルゴリズム、ADVANCE、ADAM、BLAT、およびFASTAが挙げられる。別の実施形態において、2つのアミノ酸配列間のパーセント同一性は、例えば、GCGソフトウェアパッケージ（Accelrys、Cambridge、UK）中のGAPプログラムを使用して達成することができる。

10

20

30

40

50

【0125】

【0124】用語「製造性」は、本明細書で使用される場合、特定のタンパク質の組換え発現および精製中におけるそのタンパク質の安定性を指す。製造性は、発現および精製の条件下における分子の固有の特性によると考えられる。改善された製造性の特徴の例としては、タンパク質の均一なグリコシル化、増加した細胞力価、タンパク質の組換え産生中の増殖およびタンパク質発現、改善された精製特性、凝集する傾向が低いことまたは凝集しないこと、ならびにこれらに限定されないが、低いpHでの熱安定性および安定性などの改善された安定性が挙げられる。一部の実施形態において、他のTM4SF1抗体と比較して、インビトロおよびインビボでの活性の保持と共に製造性を示すTM4SF1結合タンパク質が提供される。一部の実施形態において、CDRまたはフレームワーク領域中にアミノ酸置換をもたらすことによる親TM4SF1結合タンパク質のヒト化は、追加の製造性の利益を付与することができる。

【0126】

【0125】一部の実施形態において、これらに限定されないが、例えばプロテインA精製またはサイズ排除クロマトグラフィー後の改善された精製収量、精製後の改善された均一性、改善された熱安定性などの改善された発展性の特徴を示すTM4SF1結合タンパク質が提供される。一部の場合において、改善は、HLA分子結合によって決定した場合、ハイブリドーママウス細胞株8G4-5-13-13F（PTA-120523）によって産生された抗TM4SF1抗体に関する改善である。

【0127】

【0126】一部の例において、結合親和性は、スキッチャード分析によって決定され、この分析は、未結合リガンドに結合したリガンドの濃度と結合したリガンドの濃度との比率のプロットであるスキッチャードプロットを作成することを含む。

【0128】

【0127】用語「血管毒性」は、抗原担持細胞に作用する抗体または治療分子により直接、または免疫系の活性化または生じる炎症により間接的に血管傷害をもたらす、抗TM4SF1抗体-治療分子コンジュゲート（本明細書では、抗TM4SF1 ADCまたはTM4SF1標的化ADCとも称される）の任意の効果を指す。そのような血管傷害は、こ

れらに限定されないが、血管内皮細胞または下にある平滑筋細胞または周皮細胞、または心内膜（心臓の内膜）を含む、任意の血管の基底膜に影響する損傷または炎症を含み得る。そのような血管傷害は、主幹動脈、例えば大動脈、弾性動脈（大動脈など）、サイズが多様な筋動脈、例えば冠動脈、肺動脈、頸動脈、細動脈、毛細血管、脳または腎臓の動脈を含む動脈；細静脈（*venues*）、静脈に影響し得る；または毛嚢、消化管、および骨髄に供給する血管を含む、血管新生血管に影響し得る。そのような血管傷害は、心臓、肺、腎臓、網膜、脳、皮膚、肝臓、消化管、骨髄、内分泌腺、精巣または卵巣、子宮内膜、および他の標的器官における微小血管の機能障害または損傷を含み得る、ならびに腎臓、網膜または脳血管循環の機能障害を含み得る。

【0129】

【0128】用語「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）」は、本明細書で使用される場合、細胞傷害性顆粒の内容物の放出を特徴とする非食細胞プロセスを介した細胞傷害性エフェクター細胞によって、または細胞死誘導分子の発現によって、抗体被覆標的細胞を致死させることを指す。ADCCは、標的結合抗体（IgGまたはIgAまたはIgEクラスに属する）と、特定のFc受容体（FcR）、すなわち免疫グロブリン（Ig）のFc領域に結合するエフェクター細胞表面上に存在する糖タンパク質との相互作用を介して開始される。ADCCを媒介するエフェクター細胞としては、ナチュラルキラー（NK）細胞、単球、マクロファージ、好中球、好酸球および樹状細胞が挙げられる。ADCCは、迅速なエフェクターメカニズムであり、その効能は、多数のパラメーター（標的細胞の表面上の抗原の密度および安定性；抗体親和性ならびにFcR結合親和性）に依存する。PBMCベースのADCCアッセイおよびナチュラルキラー細胞ベースのADCCアッセイは、ADCCを検出するのに使用することができる。これらのアッセイにおける読み出しは、終点駆動型（標的細胞溶解）である。

【0130】

【0129】用語「補体依存性細胞傷害」または「CDC」は、相補物の存在下における標的細胞の溶解を指す。古典的補体経路の活性化は、補体系の第1の要素（C1q）が、その同族抗原に結合する抗体（適切なサブクラスに属するもの）に結合することによって開始される。補体活性化を評価するために、CDCアッセイ（例えば、Gazzano-Santoroら、1996、J. Immunol. Methods 202:163を参照）を実行してもよい。変更されたFc領域アミノ酸配列（バリエーションFc領域を有するポリペプチド）および増加または減少したC1q結合能力を有するポリペプチドバリエーションが記載されている（例えば、米国特許第6,194,551号；WO1999/51642；Idusogieら、2000、J. Immunol. 164:4178~84を参照）。CDC活性をほとんど有さない抗体（またはフラグメント）も使用のために選択され得る。

【0131】

【0130】用語「エフェクター機能」は、本明細書で使用される場合、IgGのFcエフェクタードメイン（例えば、免疫グロブリンのFc領域）が寄与する機能を指す。このような機能は、例えば、Fcエフェクタードメインが、食細胞または溶解活性を有する免疫細胞上のFc受容体に結合することによって、またはFcエフェクタードメインが補体系の要素に結合することによって達成することができる。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合および補体依存性細胞傷害（CDC）；Fc受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）；貪食（ADCP）；細胞表面受容体（例えばB細胞受容体）の下方調節；およびB細胞活性化が挙げられる。

【0132】

【0131】用語「低減する」または「消失させる」は、本明細書で使用される場合、全体で、好ましくは20%以上、より好ましくは50%以上、最も好ましくは75%、85%、90%、95%、またはそれより多くの減少を引き起こす能力を指す。低減または消失は、2つの分子の結合親和性、例えば、C1qまたはFc受容体への免疫グロブリンへの結合を指す場合があり；または処置される障害（例えば、がん）の症状、例えば転移の存

在もしくはサイズまたは原発性腫瘍のサイズを指す場合もある。

【0133】

【0132】用語「低減したA D C C / C D C機能」は、本明細書で使用される場合、対照（例えば突然変異を含まないF c領域を有する抗体）と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%またはそれより多くの、特異的なエフェクター機能、例えばA D C Cおよび／またはC D Cの低減を指す。

【0134】

【0133】用語「細胞毒素」は、本明細書で使用される場合、がん細胞内で放出される場合に、その細胞に毒性である分子を指す。本発明で特に注目した細胞毒素は、チューブリン（例えば、天然のチューブリンまたはそれらの誘導体）、オーリスタチン（例えば、モノメチルオーリスタチンEおよびモノメチルオーリスタチンF）、メイタンシノイド（例えばメルタンシン）、カリケアミシン（cahcheamicins）（例えば、カリケアミシンγ）である。

【0135】

【0134】本発明の開示で考察される全てのアミノ酸位置に関して、抗体またはその抗原結合フラグメントの文脈において、番号付けはE Uインデックスに従う。「E Uインデックス」または「K a b a tらに記載されるE Uインデックス」または「E U番号付けスキーム」は、E U抗体の番号付けを指す（E d e l m a nら、1969；K a b a tら、1991を参照）。

【0136】

6. 2 改変されたF c領域および／またはC D R領域を有する抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメントを含有する抗体薬物コンジュゲート

【0135】本開示の一実施形態は、治療分子に連結された抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む抗体薬物コンジュゲート（A D C）であって、抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメントが、改変されたF c領域、例えば1つまたは複数の突然変異を含む、改変されたI g G領域（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4）を含む、抗体薬物コンジュゲートを提供する。一部の場合において、F c領域における1つまたは複数の突然変異は、1）エフェクター機能の低減、2）半減期調節、3）安定性、および4）下流プロセスなどの改善の領域において、そのような改変されたF c領域を含む薬物の改善をもたらす。一部の場合において、改変されたF c領域は、抗体と免疫系の間の相互作用を低減または消失する1つまたは複数の突然変異を含み得る。重要な相互作用は、抗体F cと白血球および血小板上のF c γ受容体、および補体依存性細胞傷害をもたらす補体系のC 1 qとの相互作用を含み得る。

【0137】

【0136】本発明の開示は、一部の場合において、例えば、F c領域、そのような場合では改変されたF c領域、例えば、改変されたI g G F c領域において免疫消失突然変異を含む、抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメントを含むA D Cを提供する。一部の実施形態において、改変されたF c領域は、N 2 9 7位に改変を含む。一部の実施形態において、改変されたF c領域は、E 2 3 3、L 2 3 4またはF 2 3 4、L 2 3 5、G 2 3 7、P 2 3 8、F 2 4 3、T 2 5 0、M 2 5 2、S 2 5 4、T 2 5 6、E 2 5 8、D 2 5 9、V 2 6 4、D 2 6 5、K 2 8 8、N 2 9 7、T 2 9 9、T 3 0 7、V 3 0 8、Q 3 1 1、K 3 2 2、L 3 2 8、P 3 2 9、A 3 3 0、P 3 3 1、T 3 5 6、K 3 7 0、A 3 7 8、R 4 0 9、V 4 2 7、M 4 2 8、H 4 3 3、N 4 3 4、およびH 4 3 5位、またはこれらの任意の組合せに、1つまたは複数の突然変異を含む、改変されたI g G F c領域（例えば、改変されたI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4 F c領域）を含む。一部の実施形態において、F c領域は、正電荷がC末端で維持されるように、そのC末端に残基の伸長を含む（例えば、一部の場合において、抗T M 4 S F 1抗体または抗原結合フラグメントが2つの重鎖を含む場合、少なくとも1つの重鎖がC末端に残基

の伸長を含む)。残基のそのような伸長は、1つまたは複数のアミノ酸、例えばアルギニン、リジン、プロリン、またはこれらの任意の組合せの付加を含み得る。一部の例において、Fc領域の伸長したC末端は、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント、および抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含むADCのCDC機能の低減をもたらす。そのような効果は、一部の例において、単独または他の突然変異との組合せで、IgG1またはIgG4におけるFcのK447の後のKP残基の付加によって見られる(例えば、K322A、P331G-IgG1)。

【0138】

【0137】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、Fc領域残基238、265、269、270、297、327および329の1つまたは複数の置換を含む、エフェクター機能が低減した抗体を含み得る(例えば、米国特許第6,737,056号参照)。一部の例において、Fc領域におけるそのような突然変異は、アミノ酸位置265、269、270、297および327の2つまたはそれ以上における置換、例えば、残基265および297のアラニンへの置換(DANA突然変異、すなわちD265AおよびN297A)を含み得る(例えば、米国特許第7,332,581号参照)。一部の例において、Fc領域における突然変異は、アミノ酸位置E233、L234、L235、G237、D265、N297、K322、およびP331の1つまたは複数において置換を含み得る。一部の例において、Fc領域における突然変異は、E233P、L234A、L235A、G237A、D265A、N297A、K322A、およびP331Gの少なくとも1つ、またはこれらの任意の組合せを含み得る。例えば、Fc領域における突然変異は、L234A/L235A/G237A(IgG1)、またはF234A/L235E(IgG4)を含んでよく、そのような突然変異を含む抗TM4SF1抗体または抗原結合フラグメントは、変更されたFcγRI相互作用を示し得る。

【0139】

【0138】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、以下の突然変異:M428位およびN434位におけるアミノ酸置換(M428L、N434S)を含むFcバリエーションを含み得る(例えば、US9803023を参照)。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、以下の突然変異:T250位およびM428位におけるアミノ酸置換(T250Q、M428L)を含むFcバリエーションを含み得る(例えば、US9803023を参照)。

【0140】

【0139】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、突然変異D265AおよびN297Aを含み得る。一部の例において、野生型ヒトFc領域の329位のプロリン(P329)は、グリシンまたはアルギニン、またはFcのP329とFcγRIIIのトリプトファン残基W87およびWHOの間に形成される、Fc/Fcγ受容体界面内のプロリンサンドイッチを破壊するのに十分な大きさのアミノ酸残基と置換され得る(例えば、Sondermannら、Nature 406、267~273(2000 July)を参照)。さらなる実施形態において、Fc領域における突然変異は、S228P(IgG4)、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D、またはP331Sなどの1つまたは複数のアミノ酸置換、さらに他の実施形態において、ヒトIgG1 Fc領域のL234AおよびL235AまたはヒトIgG4 Fc領域のS228PおよびF234A、L235A、またはL235Eを含み得る。

【0141】

【0140】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒトIgG Fc領域のP329がグリシンによって置換された野生型ヒトIgG Fc領域のFcバリエーションであり、Fcバリエーションが、ヒトIgG1 Fc領域のL234AおよびL235AまたはヒトIgG4 Fc領域のS228PおよびL235Eにおいて少なくとも2つのさらなるアミノ酸置換を含み、残基がEU番号付けに従って番号付

けされる、改変されたFc領域を含み得る（例えば、US8969526を参照）。P329G、L234AおよびL235A置換を含むポリペプチドは、野生型ヒトIgG Fc領域を含むポリペプチドによって誘導されるADCCの少なくとも20%までADCCの下方調節、および／またはADCPの下方調節のために、ヒトFcγRIIIAおよびFcγRIIIAへの親和性の低減を示し得る（例えば、US8969526を参照）。

【0142】

【0141】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、三重突然変異：P329位におけるアミノ酸置換、L234AおよびL235A突然変異（P329／LALA）を含むFcバリエーションを含み得る（例えば、US8969526を参照）。

【0143】

【0142】本開示の特定の抗TM4SF1抗体または抗原結合フラグメントは、一部の実施形態において、FcRへの、改善または減退された結合を示す突然変異を含み得る（例えば、US6737056、WO2004／056312、およびShieldsら、J. Biol. Chem. 9（2）：6591～6604（2001）を参照）。

【0144】

【0143】一部の例において、抗TM4SF1抗体または抗原結合フラグメントは、ADCCを改善する1つまたは複数のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298位、333位、および／または334位における置換を有するFc領域を含み得る。例えば、US6194551、WO99／51642号、およびIdusogieら（2000）J. Immunol. 164：4178～4184に記載されるように、変更された（すなわち、改善または減退された）C1q結合および／または補体依存性細胞傷害（CDC）を生じる変更が、Fc領域に行われ得る。

【0145】

【0144】増加した半減期および新生児のFc受容体（FcRn）への結合が改善された抗体。母親のIgGの胎児への移行のためのその機能にちなんで名付けられたFcRnはまた、それらをエンドソームにおいて捕捉し、それらを循環に戻すことにより、リソソームにおける分解から抗体を保護することに寄与する。（例えば、Guyerら、J. Immunol. 117：587（1976）およびKimら、J. Immunol. 24：249（1994）を参照）、US2005／0014934に記載される。いずれの特定の理論にも縛られることなく、FcRnへの結合が改善した抗体は、TM4SF1から離れ、FcRnに結合し、次いでADCをリサイクルして循環に戻し、したがって血管毒性を低減させると考えられる。一部の実施形態において、本明細書では、FcRnリサイクルを強化する1つまたは複数の置換を有するFc領域を含む、抗TM4SF1抗体または抗原結合フラグメントを提供する。一部の実施形態において、本明細書では、FcRnへのFc領域の結合を改善する1つまたは複数の置換、例えば、位置：238、250、252、254、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、428、424、434、および435の1つまたは複数における置換、例えば、EU番号付けに従ってFc領域残基434の置換（US7371826）を有するFc領域を含む、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。Fc領域バリエーションの他の例に関し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Duncan & Winter, Nature 322：738～40（1988）；US5648260；US5624821；US2005／0014934およびWO94／29351も参照されたい。

【0146】

【0145】一部の実施形態において、本明細書では、pH依存的FcRn結合親和性を有する、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。いずれの特定の理論にも縛られることなく、pH依存的FcRn結合親和性を有するADC抗体またはその抗原結合フラグメントは、pH>7でFcRnから離れ、pH6でFcRnに結合する

10

20

30

40

50

と考えられる。したがって、酸性 pH の細胞内小器官、例えばエンドソームにおける FcRn は、そのような抗体を結合し、抗体を細胞膜へと運び戻し、pH > 7 で血漿へと抗体を放出し、抗体をリサイクルし、ADC ペイロードのリソソーム放出を避ける。

【0147】

[0146] 特定の実施形態において、本明細書では、FcRn リサイクルを調節する 1 つまたは複数の置換を有する Fc 領域を含む、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一部の実施形態において、本明細書は、酸性 pH、例えば pH 6 での FcRn 結合を強化し、中性または塩基性 pH、例えば pH 7 での FcRn 結合に影響しない、1 つまたは複数の置換を含む抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、EU 番号付けに従って、250 位、252 位、254 位、256 位、428 位、および 434 位の 1 つまたは複数の置換を含み得る。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、置換 T250Q、M252Y、S254T、T256E、M428L、および N434S の 1 つまたは複数の置換を含む Fc バリエーションを含み得る。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、置換 T250Q および M428L (「QL 突然変異」) を含む IgG1 Fc バリエーションを含み得る。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、置換 T250Q および M428L (「QL 突然変異」) を含む IgG4 Fc バリエーションを含み得る。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、置換 M252Y、S254T、および T256E (「YTE 突然変異」) を含む IgG1 Fc バリエーションを含み得る。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、置換 M428L および N434S (「LS 突然変異」) を含む IgG1 Fc バリエーションを含み得る。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、置換 M428L および N434S (「LS 突然変異」) を含む IgG4 Fc バリエーションを含み得る。FcRn リサイクルを調節する Fc 領域におけるアミノ酸置換の効果は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Hamblett ら, Mol. Pharm. 13 (7): 2387~96 (2016); Dall'Acqua ら, J. Biol. Chem. 281 (33): 23514~24 (2006), Hinton ら, J. Biol. Chem. 279 (8): 6213~6 (2003), Hinton ら, J. Immunol., 176 (1): 346~56 (2006)、US 20080181887、US 7361740、および EP 2235059 に記載される。

10

20

30

40

50

【0148】

[0147] 特定の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1 アイソタイプであり、T250Q、M252Y、S254T、T256E、M428L、および N434S からなる群から選択される 1 つまたは複数の置換を含む Fc 領域を含む。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG4 アイソタイプであり、T250Q、M252Y、S254T、T256E、M428L、および N434S からなる群から選択される 1 つまたは複数の置換を含む Fc 領域を含む。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1 アイソタイプであり、置換 T250Q および M428L 含む Fc 領域を含む。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1 アイソタイプであり、置換 M252Y、S254T、および T256E 含む Fc バリエーションを含む。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG4 アイソタイプであり、置換 M252Y、S254T、および T256E 含む Fc バリエーションを含む。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1 アイソタイプであり、置換 M428L および N434S 含む Fc バリエーションを含む。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG4 アイソタイプであり、置換 M428L および N434S 含む Fc バリエーションを含む。

【0149】

【0148】特定の実施形態において、本明細書に開示のADCは、低減された血管毒性、低減されたリソソーム毒性、改善された有効性、および／または改善された治療限界を示す。一部の実施形態において、本明細書に開示のADCは、増加したFcRn結合親和性および増加した血清半減期を有する突然変異したFc領域を含む、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。特定の実施形態において、突然変異したFc領域を含む、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、少なくとも10日、少なくとも15日、少なくとも20日、少なくとも25日、少なくとも30日、少なくとも35日、少なくとも40日、少なくとも50日、少なくとも60日、少なくとも70日、少なくとも80日、少なくとも90日、少なくとも100日またはそれ以上の血清半減期を有する。一部の実施形態において、

10

【0149】特定の実施形態において、本開示のADCは、低減された血管毒性、改善された治療限界、または両方を示す。特定の実施形態において、本開示のADCは、本開示の抗体と同じアミノ酸配列を有するがFc領域への少なくとも1つのアミノ酸残基の付加、置換、または欠失を含まない抗体（本明細書では、「改変されていない抗体」とも称される）と比較して、エフェクター機能を促進することに関与するFcリガンドへの親和性が低減または消失している突然変異したFc領域を含む、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。

【0150】

【0150】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、抗体またはその抗原結合フラグメントのADCCおよび／またはCDCエフェクター機能を低減または消失する少なくとも2つの突然変異を含むFc領域を含む。さらなる実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、抗体またはその抗原結合フラグメントのADCCおよび／またはCDCエフェクター機能を低減するまたは消失させる、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10個またはそれより多くの突然変異を含むFc領域を含む。

20

【0151】

【0151】特定の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、E233P、L234V、L234A、L235A、G236デルタ（欠失）、G237A、V263L、N297A、N297D、N297G、N297Q、K322A、A327G、P329A、P329G、P329R、A330S、P331A、P331G、およびP331Sからなる群から選択される1つまたは複数の突然変異を含むFc領域を含む。

30

【0152】

【0152】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、G237A突然変異と共に、またはG237A突然変異なしで、L234A／L235A突然変異を含むFc領域を含む。一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、L234A、L235A、およびG237A突然変異を含むFc領域を含む。

40

【0153】

【0153】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、A327G／A330S／P331S突然変異を含むFc領域を含む。

【0154】

【0154】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるAn Zら、Mabs 2009 Nov-Ec; 1(6): 572～9で記載されるように、FcγRI（本明細書ではFcγRIとも称される）、FcγRIIA（本明細書ではFcγRIIAとも称される）、FcγRIIIA（本明細書ではFcγRIIIAとも称される）、

50

Iとも称される)への低減した結合、および低減したADCCおよびCDCエフェクター機能を提供するE233P/L234V/L235A/デルタG236(欠失)突然変異を含むFc領域を含む。

【0155】

【0155】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、N297x突然変異(式中、x=A、D、G、Q)を含むFc領域を含む。

【0156】

【0156】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、A327G/A330S/P331S突然変異を含むFc領域を含む。

10

【0157】

【0157】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるCanfield & Morrison, J Exp Med (1991) 173 (6) : 1483~91. 10. 1084で記載されるように、C1qへの低減した結合を提供するK322A、P329A、およびP331Aの1つまたは複数に突然変異を含むFc領域を含む。

【0158】

【0158】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるHezarehら、J Virol. 2001 Dec; 75 (24) : 12161~8に記載されるように、FcγRIIB(本明細書ではFcγRIIBとも称される)への強化された結合および強化されたADCCを提供するV263L突然変異を含むFc領域を含む。

20

【0159】

【0159】他の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、L234A/L235A、G237AまたはL235E突然変異を含むFc領域を含む。

【0160】

【0160】他の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG1アイソタイプであり、L234F、L235EまたはP331S突然変異を含むFc領域を含む。

30

【0161】

【0161】特定の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG2アイソタイプであり、V234A、G237A、P238S、H268AまたはH268Q、V309L、A330SおよびP331Sからなる群から選択される1つまたは複数の突然変異を含むFc領域を含む。

【0162】

【0162】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG2アイソタイプであり、A330S/P331S突然変異を含むFc領域を含む。

40

【0163】

【0163】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG2アイソタイプであり、A330S/P331S、V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331SまたはH268Q/V309L/A330S/P331S突然変異を含むFc領域を含む。

【0164】

【0164】他の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、IgG4アイソタイプであり、S228P、E233P、F234A、F234V、

50

L 2 3 5 E、L 2 3 5 A、G 2 3 6 デルタ（欠失）、N 2 9 7 A、N 2 9 7 D、N 2 9 7 G、N 2 9 7 Q、P 3 2 9 G、P 3 2 9 R からなる群から選択される 1 つまたは複数の突然変異を含む F c 領域を含む。

【0165】

【0165】特定の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる Ch a p p e l ら、P r o c N a t l A c a d S c i U S A (1 9 9 1) 8 8 (2 0) : 9 0 3 6 ~ 4 0 に記載されるように、低減した F a b - アーム交換および低減した凝集を提供する S 2 2 8 P 突然変異を含む F c 領域を含む。

【0166】

【0166】一実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、S 2 2 8 P / L 2 3 5 E 突然変異を含む F c 領域を含む。

【0167】

【0167】一実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、S 2 2 8 P / E 2 3 3 P / F 2 3 4 V / L 2 3 5 A / デルタ G 2 3 6 （欠失）突然変異を含む F c 領域を含む。

【0168】

【0168】一実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、N 2 9 7 x 突然変異（式中、x = A、D、G、Q）を含む F c 領域を含む。

【0169】

【0169】一実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、S 2 2 8 P / F 2 3 4 A / L 2 3 5 A 突然変異を含む F c 領域を含む。

【0170】

【0170】一実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、例えば、S a x e n a ら、F r o n t I m m u n o l . 2 0 1 6 D e c 1 2 ; 7 : 5 8 0 に記載されるように、F c γ R I、F c γ R I I A、F c γ R I I I A への低減した結合および低減した A D C C および C D C エフェクター活性を提供する L 2 3 5 E 突然変異を含む F c 領域を含む。

【0171】

【0171】他の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、S 2 2 8 P / F 2 3 4 A / L 2 3 5 A または E 2 3 3 P / L 2 3 5 A / G 2 3 6 デルタ突然変異を含む F c 領域を含む。

【0172】

【0172】一実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、少なくとも S 2 2 8 P 突然変異を含む F c 領域を含む。A n g a ら（M o l I m m u n o l . 1 9 9 3 J a n ; 3 0 (1) : 1 0 5 ~ 8）は、残基 2 4 1 におけるセリンの存在（E U 番号付けシステムに従って、ここでは K a b a t 番号付けにおける残基 2 2 8 に対応する）が、分泌されたヒト I g G 4 の所定の割合において、ヒンジ領域における重鎖間ジスルフィド架橋の不均質性の原因であることを決定するための、ヒト I g G 4 重鎖のヒンジ配列の分析を記載する。S i l v a ら（J B i o l C h e m . 2 0 1 5 F e b 2 7 ; 2 9 0 (9) : 5 4 6 2 ~ 9）は、インビボおよびインビトロにおける I g G 4 F a b - アーム交換を防止するヒト I g G 4 における S 2 2 8 P 突然変異を記載する。

【0173】

【0173】他の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4 アイソタイプであり、L 2 3 5 E または S 2 2 8 P 突然変異を含む F c 領域を含む。

10

20

30

40

50

【0174】

【0174】他の実施形態において、抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4またはI g G 1アイソタイプであり、N 2 9 7 A、N 2 9 7 DまたはN 2 9 7 G突然変異を含むF c領域を含む。

【0175】

【0175】他の実施形態において、抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 4またはI g G 1アイソタイプであり、P 3 2 9 G、P 3 2 9 R突然変異を含むF c領域を含む。

【0176】

【0176】例示的な実施形態の一つにおいて、いずれかのI g Gアイソタイプの突然変異したF c領域が、2 3 4位、2 3 5位、2 3 6位、2 3 7位、2 9 7位、3 1 8位、3 2 0位、3 2 2位（参照によりその全体が本明細書に組み込まれるW O 1 9 8 8 0 0 7 0 8 9に記載される通り）に1つまたは複数の突然変異を含む。また置換、欠失および付加などのF c領域における他の可能性のある突然変異は、例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれるU S 2 0 1 4 0 1 7 0 1 4 0、W O 2 0 0 9 1 0 0 3 0 9、U S 2 0 0 9 0 1 3 6 4 9 4およびU S 8 9 6 9 5 2 6にも記載される。

【0177】

【0177】インビトロおよび／またはインビボの細胞傷害性アッセイは、C D Cおよび／またはA D C C活性の低減または消失を確認するのに実行することができる。例えば、F c受容体（F c R）結合アッセイを実行して、抗体がF c γ R結合を喪失しているが（したがってA D C C活性を喪失している可能性がある）、F c R n結合能力を保持することを確認することができる。A D C Cを媒介するための初代細胞、NK細胞は、F c γ R I I Iのみを発現するが、それに対して単球は、F c γ R I、R I IおよびR I I Iを発現する。目的の分子のA D C C活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5, 500, 362号（例えばH e l l s t r o m, I. ら、P r o c. N a t' l A c a d. S c i. U S A 83 (1986) 7059～7063を参照）およびH e l l s t r o m, I. ら、P r o c. N a t' l A c a d. S c i. U S A 82 (1985) 1499～1502；米国特許第5, 821, 337号（B r u g g e m a n n, M. ら、J. E x p. M e d. 166 (1987) 1351～1361を参照）に記載される。代替として、非放射性アッセイ方法が採用される場合がある（例えば、フローサイトメトリーのためのA C T I（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（C e l l T e c h n o l o g y, I n c. M o u n t a i n V i e w, C a l i f.；およびC y t o T o x 96（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（P r o m e g a, M a d i s o n, W i s.）を参照されたい。このようなアッセイのための有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核細胞（P B M C）およびナチュラルキラー（NK）細胞が挙げられる。代替として、または加えて、目的の分子のA D C C活性は、インビボで、例えば、例えばC l y n e s ら、P r o c. N a t' l A c a d. S c i. U S A 95 (1998) 652～656で開示された動物モデルで、評価することができる。またC 1 q結合アッセイを行って、抗体が、C 1 qに結合できないこと、したがってC D C活性を喪失していることを確認することもできる。例えば、W O 2 0 0 6 / 0 2 9 8 7 9およびW O 2 0 0 5 / 1 0 0 4 0 2に記載のC 1 qおよびC 3 c結合E L I S Aを参照されたい。補体活性化を評価するために、C D Cアッセイを実行することができる（例えば、G a z z a n o - S a n t o r o ら、J. I m m u n o l. M e t h o d s 202 (1996) 163；C r a g g, M. S. ら、B l o o d 101 (2003) 1045～1052；およびC r a g g, M. S.、およびG l e n n i e, M. J.、B l o o d 103 (2004) 2738～2743を参照）。またF c R n結合およびインビボにおけるクリアランス／半減期の決定も、当技術分野において公知の方法を使用して実行することができる（例えば、P e t k o v a, S. B. ら、I n t' l. I m m u n o l. 18 (12) (2006) 1759～1769を参照）。

【0178】

[0178] 一部の実施形態において、いずれかのIgGアイソタイプの突然変異したFc領域が、L328位に突然変異、例えばL328M、L328D、L328E、L328N、L328Q、L328F、L328I、L328V、L328T、L328H、L328Aを含む（例えば、US20050054832を参照）。

[0179]

[0179] 一実施形態において、本開示の抗体またはその抗原結合フラグメントは、改変されていない抗体と比較して、低減または消失したADCCエフェクター機能を示す。別の実施形態において、本開示の抗体またはその抗原結合フラグメントは、改変されていない抗体のADCCエフェクター機能の、2分の1以下、または3分の1以下、または5分の1以下、または10分の1以下、または50分の1以下、または100分の1以下に低減したADCCエフェクター機能を示す。さらに別の実施形態において、本開示の抗体は、改変されていない抗体と比べて、少なくとも10%、または少なくとも20%、または少なくとも30%、または少なくとも40%、または少なくとも50%、または少なくとも60%、または少なくとも70%、または少なくとも80%、または少なくとも90%、または少なくとも100%低減したADCCエフェクター機能を示す。本開示のさらなる態様において、本発明の開示の抗体またはその抗原結合フラグメントにより誘発されたADCCエフェクター機能の低減または下方調節は、改変されていない抗体によるADCCの誘発について観察された値の0、2、5、5、10、20、50または75%の低減である。特定の実施形態において、ADCC活性の低減および／または消失は、本開示の抗体またはその抗原結合フラグメントのFcリガンドおよび／または受容体に対する低減した親和性に起因する可能性がある。

10

20

[0180]

[0180] 抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントのpH依存的TM4SF1結合を調節するCDR置換

[0181] 本開示の一実施形態は、治療分子またはペイロードに連結された抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含むADCであって、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントがTM4SF1へのpH依存的な結合親和性を示す、ADCを提供する。一部の例において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、他のpH範囲と比較して、特定のpH範囲において高い親和性でTM4SF1に結合する。例えば、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、酸性pHにおいて、中性pHまたは塩基性pHとは異なる親和性でTM4SF1に結合し得る。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、酸性pHにおいて、中性pHまたは塩基性pHよりも高い親和性でTM4SF1に結合する。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、酸性pHにおいて、中性pHまたは塩基性pHよりも低い親和性でTM4SF1に結合する。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、酸性pHにおいてTM4SF1に結合し、中性pHまたは塩基性pHにおいてTM4SF1から解離する。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、pH7またはそれ以上でTM4SF1に結合し、pH6またはそれ以下でTM4SF1から離れる。血漿、サイトゾル、および核などの細胞内区画では、pHは中性または塩基性である。リソソームまたはエンドソームでは、pHは酸性である。いずれの特定の理論にも縛られることなく、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは抗原に結合し、続いてエンドソームの膜において内部移行する。pH依存的抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、エンドソームにおいてTM4SF1から離れ、エンドソーム内のFcRn受容体に結合することができ、FcRn受容体によってリサイクルされ、エンドソームが進行するリソソームにおいて分解されるよりも循環に戻され得る。したがって、pH依存的抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、複数回TM4SF1抗原に結合することができる。したがって、pH依存的抗TM4SF1抗体およびそれと会合される治療分子またはペイロードは、リソソームにおいてペイロードを放出することなく、FcRn受容体によってリサイクルされ得る。

30

40

50

【0181】

【0182】標的介在性の薬物消失 (Target-mediated drug disruption)、またはTMDDは、抗原が、結合した抗体および／または任意の会合したADCペイロードをリソソームに運ぶ場合に起こり、ADCは分解され、ペイロードは放出される。TMDDに関連するリソソーム毒性は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Grimmら、J. Pharmacokinetic Pharmacodyn. 36 (5) : 407~20 (2009)に記載される。一部の実施形態において、本明細書では、低減された血管毒性、増加された血清半減期、および／または改善された治療限界を示す、治療分子に連結された抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含むADCが提供される。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、CDR残基において1つまたは複数のヒスチジンアミノ酸残基置換を含む。いずれの特定の理論にも縛られることなく、抗TM4SF1抗体の好適な位置におけるヒスチジン残基の導入は、TM4SF1へのpH調節性の結合親和性を可能にし得る。例えば、pH依存的抗TM4SF1抗体を有するADCは、酸性リソソームまたはエンドソーム環境においてTM4SF1から解離し、続いてFcRn結合を介して循環へとリサイクルされ得る。他の匹敵する野生型抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントと比較すると、pH依存的抗TM4SF1抗体は、増加した血清半減期および低減された分解速度またはリソソームにおけるペイロード放出速度を示し得る。一部の場合において、pH依存的抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含むADCは、増加された血清半減期、低減された血管毒性、改善された治療限界、および／または改善されたまたは少なくともおよそ等価なインビボ効力を示し得る。

10

20

【0182】

【0183】本明細書では、抗体-TM4SF1結合が、少なくとも2、3、4、8、10、16もしくはそれ以上、または2、3、4、8、10、16もしくはそれ以上の間の範囲である、pH6.0/pH7.4でのKd比および／またはKoff比を有するように、抗体のpKaに影響する微小環境を最適化する抗体CDRヒスチジン残基または他の残基を選択するステップを含む、pH依存的な方法で抗体-TM4SF1結合親和性を調節するステップにより増加された半減期および／または薬力学的効果を有する、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含むADCを作製する方法を開示する。一部の実施形態において、方法は、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントにアミノ酸置換を導入し、25℃で測定した場合に少なくとも100nMのpH7.4でのKDを有するTM4SF1親和性を達成するステップを含む。特定の実施形態において、方法は、pKaに影響する微小環境を最適化するCDR残基または他の残基においてヒスチジンが濃縮された抗体ライブラリーを生成するステップを含む。一部の実施形態において、抗体ライブラリーは、CDR位置に導入されたヒスチジン残基を有する抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。一部の実施形態において、抗体ライブラリーは、一連の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含み、抗体ライブラリーの各抗TM4SF1抗体は、異なるCDR位置に単一のヒスチジン置換を含む。一部の実施形態において、抗体ライブラリーは、それぞれヒスチジン残基に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、または17個の突然変異を含む、一連の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。一部の実施形態において、抗体ライブラリーのTM4SF1抗体または抗原フラグメントの少なくとも1つにおいて、全てのCDR位置がヒスチジンに突然変異される。

30

40

【0183】

【0184】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、CDR領域において1、2、3、4、5またはそれ以上のヒスチジン置換を含む。ヒスチジン残基は、pH依存的な結合親和性のため、抗TM4SF1抗体軽鎖(LC)または重鎖(HC)の異なる位置に操作され得る。したがって、一部の実施形態において、本明細書では、ヒスチジン操作された抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを有するADCが提供される。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはそ

50

の抗原結合フラグメントは、軽鎖可変領域（V_L）のCDR1、CDR2、および／またはCDR3に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、軽鎖可変領域（V_L）のCDR1に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、軽鎖可変領域（V_L）のCDR2に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、軽鎖可変領域（V_L）のCDR3に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖可変領域（V_H）のCDR1、CDR2、および／またはCDR3に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖可変領域（V_H）のCDR1に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖可変領域（V_H）のCDR2に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖可変領域（V_H）のCDR3に1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。したがって、一部の実施形態において、本開示のADCは、ヒスチジン操作された抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。

10

【0184】

【0185】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、軽鎖のCDR1、CDR2、および／またはCDR3、例えば配列番号101または配列番号131の30位（S30H）、92位（S92H）、および93位（N93H）の1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖のCDR1、CDR2、および／またはCDR3、例えば配列番号92または配列番号130の28位（T28H）、31位（N31H）、32位（Y32H）、52位（N52H）、54位（Y54H）、57位（N57H）、100位（Q100H）、および101位（Y101H）の1つまたは複数のヒスチジン残基を含む。

20

【0185】

【0186】N297位（Asn297）における置換および抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントへの1つまたは複数の治療分子のコンジュゲーション

30

【0187】ヒトIgG分子は、CH2ドメインの各N297残基に保存されたグリコシル化部位を有し、これらのペンダントN-グリカン部位を部位特異的コンジュゲーションのための便利な標的にする。このグリコシル化部位は、可変領域から十分遠く、薬物部分の接着したグリカンへのコンジュゲーションは抗原結合に影響しない。本開示の一部の実施形態において、過ヨウ素酸塩によるこれらのグリカンに含有される隣接ジオール部分の酸化的切断を含み、還元的にアミノ化され、ヒドラジドおよびアミノオキシ化合物にコンジュゲートされ得るアルデヒドを生成する例示的な方法を使用して、治療分子はグリカンに連結される。（例えば、O'Shannessyら（1984）Immunol. Lett. 8:273~77を参照）。

【0186】

40

【0188】別の方法は、これらのグリカンにおけるN-アセチルグルコサミン残基のフコシル化を増加するステップを含み得る。これらのフコース残基の酸化は、抗体のこれらの特定の部位に薬物および蛍光を連結させるために使用され得るカルボン酸およびアルデヒド部分を産生し得る（例えば、Zuberbuhlerら（2012）Chem. Commun. 48:7100~02を参照）。別の方法は、これらのグリカンのシアル酸を改変するステップ（ならびにこれらのグリカンにおけるシアル酸含量を増加するステップ）、続いてシアル酸の酸化およびオキシム連結コンジュゲートを形成するアミノオキシ薬とのコンジュゲーションを含み得る（例えば、Zhouら（2014）Bioconjugate Chem. 25:510~20を参照）。

【0187】

50

[0189]あるいは、シアリルトランスフェラーゼは、これらのグリカンへと成体直交型の官能基を含有する改変されたシアル酸残基を組み込むために使用され得る。成体直交型の官能基は、次いで、グリカンの部位へと治療分子を接着するように改変され得る（例えば、Liら（2014）*Angew. Chem. Int.* 53: 7179～82を参照）。これらのグリカン部位を改変する別のアプローチは、ガラクトース、またはケトンもしくはアジドを含有するガラクトース類似物を、これらのグリカンのN-アセチルグルコサミンへと連結する、グリコシルトランスフェラーゼの使用であり、薬物または放射性ヌクレオチドをガラクトース分子に連結することである（例えば、Khidkelら（2003）*J. Am. Chem. Soc.* 125: 16162～63；Clarkら，（2008）*J. Am. Chem. Soc.* 130: 11576～77；Boeggemanら（2007）*Bioconjugate Chem.* 18: 806～14を参照）。別のアプローチは、代謝性オリゴ糖工学による抗体の発現時の、これらのグリカンへの改変された糖の導入による（例えば、Campbellら（2007）*Mol. Biosyst.* 3: 187～94；Agardら，（2009）*Acc. Chem. Res.* 42: 788～97を参照）。

10

【0188】

[0190]一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、部位特異的コンジュゲーションによって、治療分子にコンジュゲートされている。システインおよびグルタミンを含む、いくつかの天然または工学的に操作されたアミノ酸は、コンジュゲーションの部位として選択され得る。

20

【0189】

[0191]一部の例において、システイン残基は、例えばN297位、すなわちN297Cなど、連結のために抗体重鎖（HC）または軽鎖（LC）の異なる位置に工学的に操作され得る。したがって、一部の実施形態において、本開示のADCは、システイン操作された抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。

【0190】

[0192]抗TM4SF1抗体の好適な位置におけるシステイン残基の導入は、コンジュゲーションの部位の制御を可能にすることができ、得られた部位特異的コンジュゲートは、野生型コンジュゲーション、すなわち還元された鎖間のシステインを介するコンジュゲーション、を介して得られたコンジュゲートよりもより均一であり得る。一部の例において、システインを介する少なくとも1つのコンジュゲーションを含むADCは、野生型コンジュゲートと比較して、少なくとも等価なインビボ効力、改善された薬物動態（PK）、および拡大された治療濃度域を示し得る。一部の実施形態において、ADCは、切断可能なジペプチドリンカー（すなわち、バリン-アラニン）および抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントのFc部分の重鎖N297C位においてシステインに連結される薬物としてDNA架橋ピロロベンゾジアゼピン（PBD）二量体を含む。一部の例において、ADCは、1以上の平均薬物対抗体比（DAR）、例えば約2、6、10等のDARを有する。

30

【0191】

[0193]いずれの特定の理論にも縛られることなく、非対合のシステインを介する部位特異的コンジュゲーションは、比較的簡単およびスケラブルであり得ると考えられる。例えば、治療分子の連結は、特別な試薬を必要とせずに行われ得る。一部の例において、部位特異的システインを介して調製されたADCは、強いインビボ抗腫瘍活性を示し、従来のコンジュゲートよりもより耐性であり得る。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントのN297位は、システイン、すなわちN297Cに突然変異されてよく、システイン残基は治療分子にコンジュゲートされ得る。一部の例において、N297C突然変異は、近くの残基のさらなる突然変異と組み合わせられ、安定化する残基（例えば、アルギニン、リジン）を付加および／またはグルタミン酸を除去する。一部の例では、N297Cに加えて、残基292～303から1つまたは複数の位置が改変される。292～303位の配列は、REEQYCS TYRVV（IGG1

40

50

）、および R E E Q F C S T Y R V V (I g G 4) であり得る。

【 0 1 9 2 】

【 0 1 9 4 】 一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、グルタミン残基を介する部位特異的コンジュゲーションにより、治療分子にコンジュゲートされている。一部の場合において、微生物のトランスグルタミナーゼ (m T G) が、T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメント、例えば、脱グルコシル化抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖の Q 2 9 5 残基へと、薬物-リンカーまたは反応性スパーサーを含有するアミンを移行するために使用され得る。コンジュゲーションは、2 段階の化学酵素アプローチを使用して最適化され、それにより、成体直交型のアジドまたはチオール機能性リンカーを含有する反応性スパーサーが m T G により抗体に接着され、続いてジベンゾシクロオクチン (D B C O) または M M A E を含有するマレイミドと反応した。歪み促進型アジド-アルキン環化付加 (S P A A C) またはチオール-マレイミド化学を使用することにより、A D C は、例えば、約 2 の D A R で生成され得る。

10

【 0 1 9 3 】

【 0 1 9 5 】 一部の例において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、グルタミン残基 (例えば Q 2 9 5) ならびに 2 9 7 位におけるシステイン、N 2 9 7 C を介して、部位特異的コンジュゲーションによって、治療分子にコンジュゲートされている。突然変異のこの組合せは、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントにおける 2 つのコンジュゲーションハンドルを開き、より高い D A R の A D C を得ることができると。したがって、本開示の一部の実施形態において、1 つより多くの治療分子 (例えば 2 つの治療分子) が N 2 9 7 C および Q 2 9 5 における部位特異的コンジュゲーションを介して抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされている、A D C が提供される。例えば、システインコンジュゲーションは、マレイミド、ハロアセトアミド、または別のパートナーであり得る。

20

【 0 1 9 4 】

【 0 1 9 6 】 増加された D A R は有効な A D C 構築、抗体構造の最低限の不安定化、および強化された A D C 有効性をもたらし得る。モジュラーペイロード導入を可能にするシステインコンジュゲーションベースの 2 重負荷リンカーが近年開発された (L e v e n g o o d ら, 2 0 1 7) 。したがって、複数のペイロードを送達することができる A D C の必要性が未だある。

30

【 0 1 9 5 】

【 0 1 9 7 】 加えて、A D C リンカー構造および抗体-ペイロードコンジュゲーション様式は、A D C 均一性、細胞傷害性能、耐性、および薬物動態 (P K) に影響する。これらの重要なパラメーターは、全体的なインビボ治療有効性に非常に貢献し得る (例えば、L u ら, 2 0 1 6 、H a m b l e t t ら, 2 0 0 4 、J u n u t u l a ら, 2 0 0 8 、および B e h r e n s ら, 2 0 1 5 を参照)。したがって、リンカーおよびコンジュゲーション化学を精製することは、A D C の治療能および安全性プロファイルを最大にするために極めて重要である。

【 0 1 9 6 】

40

【 0 1 9 8 】 バイオコンジュゲーション様式および方法は、改善された A D C 安定性および有効性のために最適化され得る。一部の実施形態において、1 つまたは複数の治療剤および／または診断剤は、マレイミド、例えばシステイン-マレイミドコンジュゲーションを介して抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされている。マレイミド以外の他の官能基は、一部の例において、抗 T M 4 S F 1 抗体、例えばシステイン操作された抗 T M 4 S F 1 抗体のチオール基と反応性であり、ヨードアセトアミド、プロモアセトアミド、ビニルピリジン、ジスルフィド、ピリジルジスルフィド、イソシアネート、およびイソチオシアネートを含む。一部の実施形態において、治療剤および／または診断剤は、アセトアミドを介して、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされている。例えば、治療剤は、プロモアセトアミドコンジュゲ

50

ーションを介して抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされ得る。一部の場合において、プロモアセトアミドコンジュゲートした抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含むADCは、増加された安定性、増加された半減期、低減された毒性、および／または改善された治療限界を示す。例示的なADC構造は、図1～6に提供する。

【0197】

6.3 抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント

【0199】TM4SF1は、テトラスパニン形態を有するが相同性を有さない小さい原形質膜糖タンパク質である（NCBI参照配列番号NP_055035.1）（Wrightら、Protein Sci. 9:1594～1600、2000）。これは、原形質膜上にTM4SF1濃縮ドメイン（TMED）を形成し、この場合、真のテトラスパニンのように、機能的に関連する膜およびサイトゾル分子を補充する分子促進剤として役立ち（Shihら、Cancer Res. 69:3272～3277、2009；Zukasら、Angiogenesis. 14:345～354、2011）、がん細胞増殖（Hellstromら、Cancer Res. 46:3917～3923、1986）、運動性（Changら、Int J Cancer. 116:243～252、2005）、および転移（Richmanら、Cancer Res. 59:16s～5920s、1995）において重要な役割を果たす。ヒトTM4SF1タンパク質のアミノ酸配列（NCBI参照配列番号NP_055035.1）は、以下に配列番号134として示される。

【0198】

【0200】M C Y G K C A R C I G H S L V G L A L L C I A A N I L L Y F P N
G E T K Y A S E N H L S R F V W F F S G I V G G G L L M L L P A F V F I G
L E Q D D C C G C C G H E N C G K R C A M L S S V L A A L I G I A G S G
Y C V I V
A A L G L A E G P L C L D S L G Q W N Y T F A S T E G Q Y L L D T S T W S E C
T E P K H I V E W N V S L F S I L L A L G G I E F I L C L I Q V I N G V L G G
I C G F C C S H Q Q Q Y D C（配列番号91）

【0201】一部の実施形態において、本開示の、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、TM4SF1のECL2ドメインに特異的である。ヒトTM4SF1のECL2ドメインのアミノ酸配列は、EGPLCLDSL GQWNYTFASTE GQYLLDTSTWSECTEPKHIVEWNVS LFS（配列番号92）である。

【0199】

【0202】以下の表5に記載されるように、TM4SF1に特異的な新規の抗体が本開示に含まれる。表5に記載される抗体は、モノクローナルマウス抗体AGX-A03、AGX-A04、AGX-A05、AGX-A07、AGX-A08、AGX-A09、およびAGX-A11であり、これらのそれぞれは実施例に記載されるスクリーニングで同定されたものであり、TM4SF1のECL2領域と結合する。さらに以下の表5に、ヒト化抗体hAGX-A07およびhAGX-A01が提供される。

【0200】

【0203】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号87または88に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号73または74に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%同一の配列を含むIgG重鎖定常領域を含む。

【0201】

【0204】別の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号89に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号89に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約

80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%同一の、または100%同一の配列を含む軽鎖定常領域を含む。

【0202】

【0205】別の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号3、15、27、39、51、63、または75に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号3、15、27、39、51、63、または75に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%同一の、または100%同一の配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

10

【0203】

【0206】別の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号90または92に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号90または92に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%同一の、または100%同一の配列を含む重鎖を含む。

【0204】

【0207】別の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号112または114に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号112または114に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%同一の、または100%同一の配列を含む重鎖を含む。

20

【0205】

【0208】別の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号9、21、33、45、57、69、または81に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号9、21、33、45、57、69、または81に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%同一の、または100%同一の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

30

【0206】

【0209】別の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号97、99、101、103、または105に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号97、99、101、103または105に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%同一の、または100%同一の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。別の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号97、99、または101に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号97、99、または101に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%同一の、または100%同一の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

40

【0207】

【0210】別の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント

50

は、ヒト化されており、配列番号 1 2 2 に記載のアミノ酸配列を含むか、または配列番号 1 2 2 に、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 6 5 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 7 5 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 % 同一の、または 1 0 0 % 同一の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【0208】

[0211] 一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 6、1 8、3 0、4 2、5 4、6 6、または 7 8 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 を含む。一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 7、1 9、3 1、4 3、5 5、6 7、または 7 9 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 を含む。一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 8、2 0、3 2、4 4、5 6、6 8、または 8 0 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 を含む。

【0209】

[0212] 一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 2、2 4、3 6、4 8、6 0、7 2、または 8 4 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 を含む。一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 3、2 5、3 7、4 9、6 1、7 3、または 8 5 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 を含む

。一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 4、2 6、3 8、5 0、6 2、7 4、または 8 6 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を含む。

【0210】

[0213] 一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号 9 4 または配列番号 1 1 5 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 を含む。一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号 9 5、配列番号 1 1 6、または配列番号 1 1 7 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 を含む。一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号 9 6、配列番号 1 1 8、配列番号 1 1 9、配列番号 1 2 0、または配列番号 1 2 1 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 を含む。

【0211】

[0214] 一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号 1 0 7、配列番号 1 0 8、配列番号 1 2 4、配列番号 1 2 5、配列番号 1 2 6、または配列番号 1 2 7 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 0 % から少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 1 % から少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 2 % から少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 3 % から少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 4 % から少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 5 % から少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 6 % から少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 7 % から少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 % から少なくとも約 9 9 %、または少なくとも約 9 9 % から 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 を含む。一部の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号 1 0 9、または配列番号 1 2 8 に、少なくとも約 8 0 % から少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 5 % から少なくとも約

90%、少なくとも約90%から少なくとも約91%、少なくとも約91%から少なくとも約92%、少なくとも約92%から少なくとも約93%、少なくとも約93%から少なくとも約94%、少なくとも約94%から少なくとも約95%、少なくとも約95%から少なくとも約96%、少なくとも約96%から少なくとも約97%、少なくとも約97%から少なくとも約98%、少なくとも約98%から少なくとも約99%、または少なくとも約99%から100%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号110、配列番号111、または配列番号129に、少なくとも約80%から少なくとも約85%、少なくとも約85%から少なくとも約90%、少なくとも約90%から少なくとも約91%、少なくとも約91%から少なくとも約92%、少なくとも約92%から少なくとも約93%、少なくとも約93%から少なくとも約94%、少なくとも約94%から少なくとも約95%、少なくとも約95%から少なくとも約96%、少なくとも約96%から少なくとも約97%、少なくとも約97%から少なくとも約98%、少なくとも約98%から少なくとも約99%、または少なくとも約99%から100%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されており、配列番号110または配列番号129に、少なくとも約80%から少なくとも約85%、少なくとも約85%から少なくとも約90%、少なくとも約90%から少なくとも約91%、少なくとも約91%から少なくとも約92%、少なくとも約92%から少なくとも約93%、少なくとも約93%から少なくとも約94%、少なくとも約94%から少なくとも約95%、少なくとも約95%から少なくとも約96%、少なくとも約96%から少なくとも約97%、少なくとも約97%から少なくとも約98%、少なくとも約98%から少なくとも約99%、または少なくとも約99%から100%同一のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を含む。

10

20

【0212】

【0215】マウスモノクローナル抗体AGX-A03のアミノ酸配列は、表5に記載される。具体的には、重鎖CDR配列は、配列番号6、7、および8（CDR1、CDR2、およびCDR3）に記載され、軽鎖CDRアミノ酸配列は、配列番号12、13、および14（CDR1、CDR2、およびCDR3）に記載される。配列番号6、7、および8のアミノ酸配列に記載のCDRを含む重鎖可変領域、および／または配列番号12、13、および14のアミノ酸配列に記載のCDRを含む軽鎖可変領域を含む抗TM4SF1抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。AGX-A03のCDRを含むヒト化抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。さらに、AGX-A03の重鎖可変アミノ酸配列および軽鎖可変アミノ酸配列は、それぞれ配列番号3および9に記載される。

30

【0213】

【0216】マウスモノクローナル抗体AGX-A04のアミノ酸配列は、表5に記載される。具体的には、重鎖CDR配列は、配列番号18、19、および20（CDR1、CDR2、およびCDR3）に記載され、軽鎖CDRアミノ酸配列は、配列番号24、25、および26（CDR1、CDR2、およびCDR3）に記載される。配列番号18、19、および20のアミノ酸配列に記載のCDRを含む重鎖可変領域、および／または配列番号24、25、および26のアミノ酸配列に記載のCDRを含む軽鎖可変領域を含む抗TM4SF1抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。AGX-A04のCDRを含むヒト化抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。さらに、AGX-A04の重鎖可変アミノ酸配列および軽鎖可変アミノ酸配列は、それぞれ配列番号15および21に記載される。

40

【0214】

【0217】マウスモノクローナル抗体AGX-A05のアミノ酸配列は、表5に記載される。具体的には、重鎖CDR配列は、配列番号30、31、および32（CDR1、CDR2、およびCDR3）に記載され、軽鎖CDRアミノ酸配列は、配列番号36、37、および38（CDR1、CDR2、およびCDR3）に記載される。配列番号30、31

50

、および 32 のアミノ酸配列に記載の CDR を含む重鎖可変領域、および／または配列番号 36、37、および 38 のアミノ酸配列に記載の CDR を含む軽鎖可変領域を含む抗 T M 4 S F 1 抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。A G X - A 0 5 の C D R を含むヒト化抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。さらに、A G X - A 0 5 の重鎖可変アミノ酸配列および軽鎖可変アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 27 および 33 に記載される。マウスモノクローナル抗体 A G X - A 0 7 のアミノ酸配列は、表 5 に記載される。具体的には、重鎖 C D R 配列は、配列番号 42、43、および 44 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載され、軽鎖 C D R アミノ酸配列は、配列番号 48、49、および 50 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載される。配列番号 42、43、および 44 のアミノ酸配列に記載の C D R を含む重鎖可変領域、および／または配列番号 48、49、および 50 のアミノ酸配列に記載の C D R を含む軽鎖可変領域を含む抗 T M 4 S F 1 抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。A G X - A 0 7 の C D R を含むヒト化抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。さらに、A G X - A 0 7 の重鎖可変アミノ酸配列および軽鎖可変アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 39 および 45 に記載される。

10

【0215】

[0218] 一実施形態において、配列番号 90 のアミノ酸配列に記載の重鎖配列を含むヒト化された A G X - A 0 7 (h A G X - A 0 7) 抗体またはその抗原結合フラグメントが提供される。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 90 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 (h m A G X - A 0 7) 抗体またはその抗原結合フラグメントである。表 5 に示されるように、配列番号 90 に記載の重鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 7 H 2 と称される。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 90 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントであって、1 つまたは複数の置換は、配列番号 90 のアミノ酸位置 1、44、および 80 にある、抗体またはその抗原結合フラグメントである。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、E 1 Q (重鎖、配列番号 90 の 1 位におけるグルタミン酸からグルタミンへの置換) を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、D 44 G (重鎖、配列番号 90 の 44 位におけるアスパラギン酸からグリシンへの置換) を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、F 80 Y (重鎖、配列番号 90 の 80 位におけるフェニルアラニンからチロシンへの置換) を含む。一部の実施形態において、配列番号 92 のアミノ酸配列に記載の重鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体または抗原結合フラグメントが提供される。表 5 に示されるように、配列番号 92 に記載の重鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 7 H 2 v 1 と称される。一部の実施形態において、配列番号 97 のアミノ酸配列に記載の軽鎖配列を含むヒト化された A G X - A 0 7 抗体または抗原結合フラグメントが提供される。表 5 に示されるように、配列番号 97 に記載の軽鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 7 L 5 と称される。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 97 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 97 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントであり、ここで 1 つまたは複数の置換は、配列番号 97 のアミノ酸位置 3、26、62、および 90 にある。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I 3 V (軽鎖、配列番号 97 の 3 位におけるイソロイシンからバリンへの置換) を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメ

20

30

40

50

ントは、N 2 6 Q（軽鎖、配列番号 9 7 の 2 6 位におけるアスパラギンからグルタミンへの置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、N 2 6 S（軽鎖、配列番号 9 7 の 2 6 位におけるアスパラギンからセリンへの置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、G 6 2 S（軽鎖、配列番号 9 7 の 6 2 位におけるグリシンからセリンへの置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、W 9 0 Y（軽鎖、配列番号 9 7 の 9 0 位におけるトリプトファンからチロシンへの置換）を含む。一部の実施形態において、配列番号 9 9、配列番号 1 0 1、配列番号 1 0 3、および配列番号 1 0 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列に記載の軽鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体または抗原結合フラグメントが提供される。表 5 に示されるように、配列番号 9 9 に記載の軽鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 7 L 5 v 1 と称され、配列番号 1 0 1 に記載の軽鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 7 L 5 v 2 と称され、配列番号 1 0 3 に記載の軽鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 7 L 5 v 3 と称され、配列番号 1 0 5 に記載の軽鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 7 L 5 v 4 と称される。ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖に関する例示的なコード配列は、配列番号 9 1 で提供される。ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖に関する例示的なコード配列は、配列番号 9 3 で提供される。ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖に関する例示的なコード配列は、配列番号 9 8（A G X - A 0 7 L 5）で提供される。ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖に関する例示的なコード配列は、配列番号 1 0 0（A G X - A 0 7 L 5 v 1）、配列番号 1 0 2（A G X - A 0 7 L 5 v 2）、配列番号 1 0 4（A G X - A 0 7 L 5 v 3）、および配列番号 1 0 6（A G X - A 0 7 L 5 v 4）で提供される。

10

20

30

40

50

【0216】

[0219]—実施形態において、配列番号 1 3 0 または配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列に記載の重鎖可変ドメイン配列を含むヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントが提供される。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 3 0 または配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖可変ドメイン配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一実施形態において、配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列に記載の軽鎖可変ドメイン配列を含むヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントが提供される。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖可変ドメイン配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。

【0217】

[0220]—一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 3 1 のアミノ酸配列に記載の配列を含む軽鎖可変ドメイン配列、および配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列に記載の配列を含む重鎖可変ドメイン配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 3 1 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖可変ドメイン配列、および配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖可変ドメイン配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列に記載の配列を含む軽鎖可変ドメイン配列、および配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列に記載の配列を含む重鎖可変ドメイン配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。

トである。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖可変ドメイン配列、および配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖可変ドメイン配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列に記載の配列を含む重鎖配列、または配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列中に 1 つまたは複数の置換を含む配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントである。

【0218】

10

[0221] 一部の場において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 4、9 5、および 9 6 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の重鎖 C D R 配列、または配列番号 9 4、9 5、および 9 6 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 4、9 5、および 9 6 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の重鎖 C D R 配列、または配列番号 9 4、9 5、および 9 6 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。

【0219】

20

[0222] 一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 4 に記載の重鎖 C D R 1 配列、または配列番号 9 4 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖 C D R 1 配列を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 5 に記載の重鎖 C D R 2 配列、または配列番号 9 5 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖 C D R 2 配列を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 6 に記載の重鎖 C D R 3 配列、または配列番号 9 6 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖 C D R 3 配列を含む。

【0220】

30

[0223] 一部の場において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 0 7、1 0 9、および 1 1 0 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の軽鎖 C D R 配列、または配列番号 1 0 7、1 0 9、および 1 1 0 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。一部の場において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 0 7、1 0 9、および 1 1 1 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の軽鎖 C D R 配列、または配列番号 1 0 7、1 0 9、および 1 1 1 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。一部の場において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 0 8、1 0 9、および 1 1 0 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の軽鎖 C D R 配列、または配列番号 1 0 8、1 0 9、および 1 1 0 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。一部の場において、ヒト化された A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 0 8、1 0 9、および 1 1 1 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の軽鎖 C D R 配列、または配列番号 1 0 8、1 0 9、および 1 1 1 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。

40

【0221】

[0224] 一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 0 7 または 1 0 8 に記載の軽鎖 C D R 1 配列、または配列番号 1 0 7 または 1 0 8 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖 C D R 1 配列を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 7 抗体またはその抗原結合フラ

50

グメントは、配列番号 109 に記載の軽鎖 CDR2 配列、または配列番号 109 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖 CDR2 配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 AGX-A07 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 110 または 111 に記載の軽鎖 CDR3 配列、または配列番号 110 または 111 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖 CDR1 配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 AGX-A07 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 110 に記載の軽鎖 CDR3 配列、または配列番号 110 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖 CDR1 配列を含む。

【0222】

[0225] 一部の実施形態において、ヒト化突然変異 AGX-A07 は、配列番号 132 中に以下のアミノ酸置換：Q1E、D44G、F80Y を含む重鎖可変領域（本明細書では AGX-A07H2 と称される）、および配列番号 133 中に以下のアミノ酸置換：I3V、N26Q、G62S を含む軽鎖可変領域（本明細書では AGX-A07L5 と称される）を含む。一部の実施形態において、ヒト化突然変異 AGX-A07 は、配列番号 132 中に以下のアミノ酸置換：Q1E、D44G、F80Y を含む重鎖可変領域、および配列番号 133 中に以下のアミノ酸置換：I3V、N26Q、G62S を含む軽鎖可変領域を含み、この重鎖は、CDR1（配列番号 94）、CDR2（配列番号 95）、および CDR3（配列番号 96）を含み、この軽鎖は、CDR1（配列番号 108）、CDR2（配列番号 109）、および CDR3（配列番号 110）を含む。一部の実施形態において、ヒト化突然変異 AGX-A07 は、AGX-A07H2v1L5v2 であり、配列番号 130 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖（本明細書では AGX-A07H2v1 と称される）、および配列番号 131 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖（本明細書では AGX-A07L5v2 と称される）を含む。一部の実施形態において、ヒト化突然変異 AGX-A07 は、配列番号 92 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 101 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0223】

[0226] マウスモノクローナル抗体 AGX-A08 のアミノ酸配列は、表 5 に記載される。具体的には、重鎖 CDR 配列は、配列番号 54、55、および 56（CDR1、CDR2、および CDR3）に記載され、軽鎖 CDR アミノ酸配列は、配列番号 60、61、および 62（CDR1、CDR2、および CDR3）に記載される。配列番号 54、55、および 56 のアミノ酸配列に記載の CDR を含む重鎖可変領域、および／または配列番号 60、61、および 62 のアミノ酸配列に記載の CDR を含む軽鎖可変領域を含む抗 TMSF1 抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。AGX-A08 の CDR を含むヒト化抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。さらに、AGX-A08 の重鎖可変アミノ酸配列および軽鎖可変アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 51 および 57 に記載される。

【0224】

[0227] マウスモノクローナル抗体 AGX-A09 のアミノ酸配列は、表 5 に記載される。具体的には、重鎖 CDR 配列は、配列番号 66、67、および 68（CDR1、CDR2、および CDR3）に記載され、軽鎖 CDR アミノ酸配列は、配列番号 72、73、および 74（CDR1、CDR2、および CDR3）に記載される。配列番号 66、67、および 68 のアミノ酸配列に記載の CDR を含む重鎖可変領域、および／または配列番号 72、73、および 74 のアミノ酸配列に記載の CDR を含む軽鎖可変領域を含む抗 TMSF1 抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。AGX-A09 の CDR を含むヒト化抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。さらに、AGX-A09 の重鎖可変アミノ酸配列および軽鎖可変アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 63 および 69 に記載される。

【0225】

[0228] マウスモノクローナル抗体 AGX-A11 のアミノ酸配列は、表 5 に記載される。具体的には、重鎖 CDR 配列は、配列番号 78、79、および 80（CDR1、CDR2、および CDR3）に記載される。

R 2、および C D R 3) に記載され、軽鎖 C D R アミノ酸配列は、配列番号 8 4、8 5、および 8 6 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載される。配列番号 7 8、7 9、および 8 0 のアミノ酸配列に記載の C D R を含む重鎖可変領域、および / または配列番号 8 4、8 5、および 8 6 2 のアミノ酸配列に記載の C D R を含む軽鎖可変領域を含む抗 T M 4 S F 1 抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。A G X - A 1 1 の C D R を含むヒト化抗体または抗原結合フラグメントが、本開示に含まれる。さらに、A G X - A 1 1 の重鎖可変アミノ酸配列および軽鎖可変アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 7 5 および 8 1 に記載される。

【0226】

[0229] ヒト化抗体 A G X - A 0 1 (h A G X - A 0 1) のアミノ酸配列は、表 5 に記載される。表 5 に示されるように、配列番号 1 1 2 に記載の重鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 1 H 1 と称される。具体的には、重鎖 C D R 配列は、配列番号 1 1 5、1 1 6、および 1 1 8 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載され、軽鎖 C D R アミノ酸配列は、配列番号 1 2 4、1 2 8、および 1 2 9 (C D R 1、C D R 2、および C D R 3) に記載される。さらに、例示的なヒト化された A G X - A 0 1 の重鎖アミノ酸配列および軽鎖アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 1 1 2 および 1 2 2 に記載される。ヒト化された A G X - A 0 1 の重鎖および軽鎖の例示的なコード配列は、それぞれ配列番号 1 1 3 および 1 2 3 に記載される。

【0227】

[0230] 一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 1 (h m A G X - A 0 1) 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントであり、1 つまたは複数の置換は、配列番号 1 1 2 のアミノ酸位置 6 3 および 1 0 6 にある。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、G 6 3 S (重鎖、配列番号 1 1 2 の 6 3 位におけるグリシンからセリンへの置換) を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、D 1 0 6 E (重鎖、配列番号 1 1 2 の 1 0 6 位におけるアスパラギン酸からグルタミン酸への置換) を含む。一部の場において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、D 1 0 6 S (重鎖、配列番号 1 1 2 の 1 0 6 位におけるアスパラギン酸からセリンへの置換) を含む。一部の実施形態において、配列番号 1 1 4 のアミノ酸配列に記載の重鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体または抗原結合フラグメントが提供される。表 5 に示されるように、配列番号 1 1 4 に記載の重鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 1 H 1 v 1 と称される。

【0228】

[0231] 一部の実施形態において、配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列に記載の軽鎖配列を含むヒト化された A G X - A 0 1 抗体または抗原結合フラグメントが提供される。表 5 に示されるように、配列番号 1 2 2 に記載の軽鎖配列はまた、本明細書で A G X - A 0 1 L 1 0 と称される。一部の実施形態において、ヒト化された A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一部の実施形態において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントであり、1 つまたは複数の置換は、配列番号 1 2 2 のアミノ酸位置 1、3 3、4 2、5 1、8 6、および 9 0 から選択される 1 つまたは複数のアミノ酸位置にある。一部の実施形態において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フ

ラグメントは、配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む軽鎖配列を含むヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントであり、1 つまたは複数の置換は、配列番号 1 2 2 のアミノ酸位置 1、3 3、4 2、5 1、および 8 6 から選択される 1 つまたは複数のアミノ酸位置にある。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、A 1 E（軽鎖、配列番号 1 2 2 の 1 位におけるアラニンからグルタミン酸への置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、N 3 3 S（軽鎖、配列番号 1 2 2 の 3 3 位におけるアスパラギンからセリンへの置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、M 4 2 Q（軽鎖、配列番号 1 2 2 の 4 2 位におけるメチオニンからグルタミン酸への置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、V 5 1 L（軽鎖、配列番号 1 2 2 の 5 1 位におけるバリンからロイシンへの置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、D 8 6 E（軽鎖、配列番号 1 2 2 の 8 6 位におけるアスパラギン酸からグルタミン酸への置換）を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I 9 0 V（軽鎖、配列番号 1 2 2 の 9 0 位におけるイソロイシンからバリンへの置換）を含む。

10

【0 2 2 9】

[0 2 3 2] 一部の場合において、ヒト化された A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 5（C D R 1）；1 1 6（C D R 2）；および 1 1 8（C D R 3）に記載の重鎖 C D R 配列、または配列番号 1 1 5（C D R 1）；1 1 6（C D R 2）；および 1 1 8（C D R 3）に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 5（C D R 1）；1 1 6 または 1 1 7（C D R 2）；および 1 1 8、1 1 9、1 2 0、または 1 2 1（C D R 3）に記載の重鎖 C D R 配列、または配列番号 1 1 5（C D R 1）；1 1 6 または 1 1 7（C D R 2）；および 1 1 8、1 1 9、1 2 0、または 1 2 1（C D R 3）に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。

20

【0 2 3 0】

[0 2 3 3] 一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 5 に記載の重鎖 C D R 1 配列、または配列番号 1 1 5 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖 C D R 1 配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 6 に記載の重鎖 C D R 2 配列、または配列番号 1 1 6 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖 C D R 2 配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 7 に記載の重鎖 C D R 2 配列、または配列番号 1 1 7 に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖 C D R 2 配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 1 8、1 1 9、1 2 0 および 1 2 1 から選択される配列に記載の重鎖 C D R 3 配列、または配列番号 1 1 8、1 1 9、1 2 0、および 1 2 1 から選択される配列中に 1 つまたは複数の置換を含む重鎖 C D R 3 配列を含む。

30

40

【0 2 3 1】

[0 2 3 4] 一部の場合において、ヒト化された A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 2 4（C D R 1）；1 2 8（C D R 2）；および 1 2 9（C D R 3）に記載の軽鎖 C D R 配列、または配列番号 1 2 4（C D R 1）；1 2 8（C D R 2）；および 1 2 9（C D R 3）に記載の配列中に 1 つまたは複数の置換を含む C D R 配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異 A G X - A 0 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 1 2 4、1 2 5、1 2 6、もしくは 1 2 7（C D R 1）；1 2 8（C D R 2）；および 1 2 9（C D R 3）に記載の軽鎖 C D R 配列、または配列番号 1 2 4、1 2 5、1 2 6、もしくは 1 2 7（C D R 1）；1 2 8（C D R 2）；および 1 2 9

50

(CDR3)に記載の配列中に1つまたは複数の置換を含むCDR配列を含む。

【0232】

【0235】一部の場合において、ヒト化突然変異AGX-A01抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号125、126、127、もしくは128に記載の軽鎖CDR1配列、または配列番号125、126、127、もしくは128に記載の配列中に1つまたは複数の置換を含む軽鎖CDR1配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異AGX-A01抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号129に記載の軽鎖CDR2配列、または配列番号129に記載の配列中に1つまたは複数の置換を含む軽鎖CDR2配列を含む。一部の場合において、ヒト化突然変異AGX-A01抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号130に記載の軽鎖CDR3配列、または配列番号130に記載の配列中に1つまたは複数の置換を含む軽鎖CDR1配列を含む。

10

【0233】

【0236】一実施形態において、本開示は、配列番号3に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号9に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号15に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号21に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号27に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号33に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号39に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号45に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号51に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号57に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号63に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号69に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号75に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号81に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号90に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号97に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号90に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号99に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号90に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号101に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号90に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号103に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号90に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号105に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号92に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号97に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態に

20

30

40

50

において、本開示は、配列番号 92 に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号 99 に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号 92 に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号 101 に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号 92 に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号 103 に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号 92 に記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメイン、および配列番号 105 に記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。

10

【0234】

【0237】一実施形態において、本発明の開示は、配列番号 3、配列番号 15、配列番号 27、配列番号 39、配列番号 51、配列番号 63、配列番号 75、配列番号 90、配列番号 92、配列番号 112、または配列番号 114 から選択されるアミノ酸配列に、少なくとも 95% 同一の、少なくとも 96% 同一の、少なくとも 97% 同一の、少なくとも 98% 同一の、少なくとも 99% 同一の、または 100% 同一の重鎖可変ドメイン配列を有し；配列番号 9、配列番号 21、配列番号 33、配列番号 45、配列番号 57、配列番号 69、配列番号 81、配列番号 97、配列番号 99、配列番号 101、配列番号 103、配列番号 105、または配列番号 122 から選択されるアミノ酸配列に、少なくとも 95% 同一の、少なくとも 96% 同一の、少なくとも 97% 同一の、少なくとも 98% 同一の、少なくとも 99% 同一の、または 100% 同一の軽鎖可変ドメイン配列を有する抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本発明の開示は、配列番号 3、配列番号 15、配列番号 27、配列番号 39、配列番号 51、配列番号 63、配列番号 75、配列番号 90、配列番号 92、配列番号 112、または配列番号 114 から選択されるアミノ酸配列に、少なくとも 95% 同一の、少なくとも 96% 同一の、少なくとも 97% 同一の、少なくとも 98% 同一の、少なくとも 99% 同一の、または 100% 同一の重鎖可変ドメイン配列を有し；配列番号 9、配列番号 21、配列番号 33、配列番号 45、配列番号 57、配列番号 69、配列番号 81、配列番号 97、配列番号 99、配列番号 101、配列番号 103、配列番号 105、または配列番号 122 から選択されるアミノ酸配列に、少なくとも 95% 同一の、少なくとも 96% 同一の、少なくとも 97% 同一の、少なくとも 98% 同一の、少なくとも 99% 同一の、または 100% 同一の軽鎖可変ドメイン配列を有する抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本発明の開示は、配列番号 3、配列番号 15、配列番号 27、配列番号 39、配列番号 51、配列番号 63、配列番号 75、配列番号 90、配列番号 92、配列番号 112、または配列番号 114 から選択されるアミノ酸配列に、少なくとも 95% 同一の、少なくとも 96% 同一の、少なくとも 97% 同一の、少なくとも 98% 同一の、少なくとも 99% 同一の、または 100% 同一の重鎖可変ドメイン配列を有し；配列番号 9、配列番号 21、配列番号 33、配列番号 45、配列番号 57、配列番号 69、配列番号 81、配列番号 97、配列番号 99、配列番号 101、または配列番号 122 から選択されるアミノ酸配列に、少なくとも 95% 同一の、少なくとも 96% 同一の、少なくとも 97% 同一の、少なくとも 98% 同一の、少なくとも 99% 同一の、または 100% 同一の軽鎖可変ドメイン配列を有する抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。

20

30

40

【0235】

【0238】一実施形態において、本開示は、I g G であり、それぞれ重鎖可変ドメインならびに重鎖定常領域 C H 1、C H 2 および C H 3 を含む 2 つの重鎖と、それぞれ軽鎖可変ドメインおよび軽鎖定常領域 (C L) を含む 2 つの軽鎖とを包含する 4 つのポリペプチド鎖を含む抗 T M 4 S F 1 抗体を含む。特定の実施形態において、抗体は、ヒト I g G 1、

50

I g G 2、またはI g G 4である。特定の実施形態において、抗体は、ヒトI g G 1である。他の実施形態において、抗体は、I g G 2である。重鎖および軽鎖可変ドメイン配列は、表5に記載のCDRを含有していてもよい。

【0236】

[0239]相補性決定領域(CDR)は、軽鎖および重鎖可変ドメインの両方において高度可変領域として公知である。それより高度に保存された可変ドメインの部分は、フレームワーク(FR)と呼ばれる。所与の抗体のCDRおよびフレームワーク領域(FR)は、Kabatra、上記; Lefrancら、上記および/またはHoneggerおよびPluckthun、上記により説明されたシステムを使用して同定することができる。また、Kabatra(1991、NIH Publication 91~3242、National Technical Information Service、Springfield、Va.)に記載される番号付けシステムも当業者によく知られている。これに関して、Kabatraは、あらゆる抗体に適用可能なCDRの同定を含む可変ドメイン配列の番号付けシステムを定義した。

10

【0237】

[0240]1つまたは複数のCDRを、共有結合または非共有結合のいずれかで分子に取り込むことで、それを抗原結合タンパク質にすることもできる。

【0238】

[0241]抗原結合タンパク質は、CDRをより大きいポリペプチド鎖の一部として取り込んでいてもよいし、共有結合でCDRが別のポリペプチド鎖に連結されていてもよいし、または非共有結合でCDRを取り込んでいてもよい。CDRは、抗原結合タンパク質が目的の特定の抗原に特異的に結合することを許容する。特にCDR3は、抗体または抗体フラグメントの抗原結合において重要な役割を果たすことがわかっている。

20

【0239】

[0242]一実施形態において、本開示は、配列番号8、配列番号20、配列番号32、配列番号44、配列番号56、配列番号68、または配列番号80のいずれか1つに記載のCDR3ドメインを含む重鎖を含み、配列番号3、配列番号15、配列番号27、配列番号39、配列番号51、配列番号63、または配列番号75のいずれか1つに記載の配列に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変ドメインを含む、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号14、配列番号26、配列番号38、配列番号50、配列番号62、配列番号74、または配列番号86のいずれか1つに記載のCDR3ドメインを含む軽鎖を含み、配列番号9、配列番号21、配列番号33、配列番号45、配列番号57、配列番号69、または配列番号81のいずれか1つに記載の配列に、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを有する、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。したがって、特定の実施形態において、CDR3ドメインは一定に保ちつつ、重鎖および/または軽鎖の残存するCDRおよび/またはフレームワーク領域に可変性が導入されてもよく、一方で抗体またはその抗原結合フラグメントは、TM4SF1に結合する能力を保持し、親の機能的特徴、例えば結合親和性を保持するか、または親と比較して改善された機能的特徴、例えば結合親和性を有する。

30

40

【0240】

[0243]一実施形態において、本開示は、配列番号7、配列番号19、配列番号31、配列番号43、配列番号55、配列番号67、または配列番号79のいずれか1つに記載のCDR2ドメインを含む重鎖を含み、配列番号3、配列番号15、配列番号27、配列

50

番号 39、配列番号 51、配列番号 63、または配列番号 75 のいずれか 1 つに記載の配列に、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%、または 100% の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変ドメインを含む、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号 13、配列番号 25、配列番号 37、配列番号 49、配列番号 61、配列番号 73、または配列番号 85 のいずれか 1 つに記載の C D R 2 ドメインを含む軽鎖を含み、配列番号 9、配列番号 21、配列番号 33、配列番号 45、配列番号 57、配列番号 69、または配列番号 81 のいずれか 1 つに記載の配列に、少なくとも約 60%、
10 少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%、または 100% の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを有する、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。したがって、特定の実施形態において、C D R 2 ドメインは一定に保ちつつ、重鎖および／または軽鎖の残存する C D R および／またはフレームワーク領域に可変性が導入されてもよく、一方で抗体またはその抗原結合フラグメントは、T M 4 S F 1 に結合する能力を保持し、親の機能的特徴、例えば結合親和性を保持するか、または親と比較して改善された機能的特徴、例えば結合親和性を有する。
20

【0241】

[0244]一実施形態において、本開示は、配列番号 6、配列番号 18、配列番号 30、配列番号 42、配列番号 54、配列番号 66、または配列番号 78 のいずれか 1 つに記載の C D R 1 ドメインを含む重鎖を含み、配列番号 3、配列番号 15、配列番号 27、配列番号 39、配列番号 45、配列番号 69、または配列番号 81 のいずれか 1 つに記載の配列に、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%、または 100% の同一性を有するアミノ酸配列を含む可変ドメインを含む、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。一実施形態において、本開示は、配列番号 12、配列番号 24、配列番号 36、配列番号 48、配列番号 60、配列番号 72、または配列番号 84 のいずれか 1 つに記載の C D R 1 ドメインを含む軽鎖を含み、配列番号 9、配列番号 21、配列番号 33、配列番号 45、配列番号 57、配列番号 69、または配列番号 81 のいずれか 1 つに記載の配列に、少なくとも約 60%、
30 少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%、または 100% の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを有する、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。したがって、特定の実施形態において、C D R 1 ドメインは一定に保ちつつ、重鎖および／または軽鎖の残存する C D R および／またはフレームワーク領域に可変性が導入されてもよく、一方で抗体またはその抗原結合フラグメントは、T M 4 S F 1 に結合する能力を保持し、親の機能的特徴、例えば結合親和性を保持する。
40

【0242】

[0245]一部の実施形態において、本開示の抗 T M 4 S F 1 抗体は、F c 領域を含む重鎖を含み、F c 領域は、配列番号 135、配列番号 136、配列番号 137、配列番号 138、配列番号 139、配列番号 140、配列番号 141、配列番号 142、配列番号 143、配列番号 144、配列番号 145、配列番号 151、配列番号 152、および配列番号 153 からなる群から選択される配列を含み、または F c 領域は、配列番号 135、配列番号 136、配列番号 137、配列番号 138、配列番号 139、配列番号 140、
50

配列番号 1 4 1、配列番号 1 4 2、配列番号 1 4 3、配列番号 1 4 4、配列番号 1 4 5、配列番号 1 5 1、配列番号 1 5 2、および配列番号 1 5 3 からなる群から選択される配列中に 1 つまたは複数の置換を含む配列を含む。例えば、一部の実施形態において、本開示の抗 T M 4 S F 1 抗体は F c 領域を含み、F c 領域は、配列番号 1 3 5、配列番号 1 3 6、配列番号 1 3 7、配列番号 1 3 8、配列番号 1 3 9、配列番号 1 4 0、配列番号 1 4 1、配列番号 1 4 2、配列番号 1 4 3、配列番号 1 4 4、配列番号 1 4 5、配列番号 1 5 1、配列番号 1 5 2、および配列番号 1 5 3 からなる群から選択される配列に、少なくとも約 7 0 % から約 1 0 0 %、例えば少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 7 5 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 1 %、少なくとも約 8 2 %、少なくとも約 8 3 %、少なくとも約 8 4 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 6 %、少なくとも約 8 7 %、少なくとも約 8 8 %、少なくとも約 8 9 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % 同一の配列を含む。

10

【0243】

【0246】一部の実施形態において、本開示の抗 T M 4 S F 1 抗体は、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 0、配列番号 1 5 4、配列番号 1 5 5、および配列番号 1 5 6 からなる群から選択される配列を含む重鎖を含み、重鎖は、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 0、配列番号 1 5 4、配列番号 1 5 5、および配列番号 1 5 6 からなる群から選択される配列中に 1 つまたは複数の置換を含む配列を含む。例えば、一部の実施形態において、本開示の抗 T M 4 S F 1 抗体は、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 0、配列番号 1 5 4、配列番号 1 5 5、および配列番号 1 5 6 からなる群から選択される配列に、少なくとも約 7 0 % から約 1 0 0 %、例えば少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 7 5 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 1 %、少なくとも約 8 2 %、少なくとも約 8 3 %、少なくとも約 8 4 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 6 %、少なくとも約 8 7 %、少なくとも約 8 8 %、少なくとも約 8 9 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % 同一の配列を含む重鎖を含む。

20

30

【0244】

【0247】また表 5 に記載される抗 T M 4 S F 1 抗体およびフラグメントは、ヒト化されていてもよい。非ヒト抗体をヒト化するための様々な方法が当技術分野において公知である。例えば、ヒト化抗体は、非ヒト源からそれに導入される 1 つまたは複数のアミノ酸残基を有していてもよい。これらの非ヒトアミノ酸残基は、「インポート」残基と称されることが多く、これは、典型的には「インポート」可変ドメインから得られる。ヒト化は、例えば、Jones ら、1986、Nature 321:522~25; Riechmann ら、1988、Nature 332:323~27; および Verhoeven ら、1988、Science 239:1534~36 の方法に従って、高度可変領域配列をヒト抗体の対応する配列で置換することによって実行することができる。

40

【0245】

【0248】一部の場合において、ヒト化抗体は、CDR グラフティングによって構築され、この場合、親非ヒト抗体（例えば、げっ歯類）の 6 つの CDR のアミノ酸配列が、ヒト抗体フレームワーク上にグラフト化される。例えば、Padlan らは、CDR 中の残基の約 3 分の 1 のみが実際に抗原と接触することを決定し、これらを「特異性決定残基」、または SDR と名付けた（Padlan ら、1995、FASEB J. 9:133~39）。SDR グラフティングの技術において、SDR 残基のみが、ヒト抗体フレームワーク上にグラフト化される（例えば、Kashmiri ら、2005、Methods 36:25~34 を参照）。

【0246】

50

[0249] ヒト化抗体の作製において使用される、ヒト可変ドメイン、軽鎖および重鎖の両方の選択は、抗原性を低減するのに重要であり得る。例えば、いわゆる「ベストフィット」方法に従って、非ヒト（例えば、げっ歯類）抗体の可変ドメインの配列は、公知のヒト可変ドメイン配列のライブラリー全体に対してスクリーニングされる。げっ歯類の配列に最も近いヒト配列が、ヒト化抗体のヒトフレームワークとして選択され得る（Simsら、1993、J. Immunol. 151: 2296~308；および Chothiaら、1987、J. Mol. Biol. 196: 901~17）。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定のサブグループの全てのヒト抗体のコンセンサス配列由来の特定のフレームワークを使用する。同じフレームワークが、いくつかの異なるヒト化抗体に使用される可能性がある（Carterら、1992、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 4285~89；および Prestaら、1993、J. Immunol. 151: 2623~32）。一部の場において、フレームワークは、最も豊富なヒトサブクラスであるVL6サブグループI（VL6I）およびVHサブグループIII（VHIII）のコンセンサス配列由来である。別の方法において、ヒト生殖細胞系遺伝子は、フレームワーク領域の源として使用される。

10

【0247】

[0250] さらに、一般的に、抗体が、その抗原に対する親和性や他の好都合な生物学的特性を保持しながらヒト化されることが望ましい。この目標を達成するために、1つの方法によれば、ヒト化抗体は、親配列およびヒト化された配列の3次元モデルを使用した親配列および様々な概念のヒト化生成物の分析のプロセスによって調製される。3次元免疫グロブリンモデルが一般的に利用可能であり、当業者によく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の可能性がある3次元立体配座構造を例示および表示するコンピュータプログラムが利用可能である。そのようなものとしては、例えば、WAM（WhitelleggおよびRees、2000、Protein Eng. 13: 819~24）、Modeller（SaliおよびBlundell、1993、J. Mol. Biol. 234: 779~815）、およびSwiss PDB Viewer（GuexおよびPeitsch、1997、Electrophoresis 18: 2714~23）が挙げられる。これらの表示の検査は、候補免疫グロブリン配列の機能化における残基の可能性がある役割の分析、例えば、候補免疫グロブリンがその抗原に結合する能力に影響を与える残基の分析を許容する。この方法では、FR残基は、所望の抗体の特徴、例えば標的抗原への親和性の増加が達成されるように、レシピエントおよびインポート配列から選択し組み合わせることができる。一般的に、高度可変領域残基は、直接的に、ほぼ実質的に、抗原結合への影響に関与する。

20

30

【0248】

[0251] ヒト化に使用可能なヒトフレームワーク領域としては、これらに限定されないが、「ベストフィット」方法を使用して選択されたフレームワーク領域（例えば、Simsら、J. Immunol. 151（1993）2296を参照）；軽鎖または重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列由来のフレームワーク領域（例えば、Carterら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89（1992）4285；および Prestaら、J. Immunol.、151（1993）2623を参照）；ヒト成熟（体細胞突然変異）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Almagro、およびFransson、Front. Biosci. 13（2008）1619~1633を参照）；およびFRライブラリーをスクリーニングすることによって得られたフレームワーク領域（例えば、Bacaら、J. Biol. Chem. 272（1997）10678~10684およびRosokら、J. Biol. Chem. 271（1996）22611~22618を参照）が挙げられる。

40

【0249】

[0252] ヒト化抗体およびその作製方法は、例えば、Almagro、およびFransson、Front. Biosci. 13（2008）1619~1633で総論され

50

、さらに、例えば、Riechmannら、Nature 332 (1988) 323～329；Queenら、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86 (1989) 10029～10033；米国特許第5,821,337号、7,527,791号、6,982,321号、および7,087,409号；Kashmiriら、Methods 36 (2005) 25～34 (SDR (a-CDR) グラフティングを説明する)；Padlan、Mol. Immunol. 28 (1991) 489～498 (「リサーフェイシング (resurfacing)」を説明する)；Dall'Acquaら、Methods 36 (2005) 43～60 (「FRシャッフリング」を説明する)；ならびにOsbourneら、Methods 36 (2005) 61～68およびKlimkaら、Br. J. Cancer、83 (2000) 252～260 (FRシャッフリングへの「ガイド選択」アプローチを説明する)で説明される。

10

【0250】

【0253】一実施形態において、本開示の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、約 1×10^{-6} M以下のKDでカニクイザルTM4SF1に結合する。

【0251】

【0254】特定の実施形態において、本開示の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、HUVEC細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで決定した場合、約 5×10^{-8} M以下のKDで、ヒトTM4SF1のECL2ループ上のエピトープに結合する。

【0252】

20

【0255】特定の実施形態において、本開示の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、HUVEC細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで、約 1×10^{-8} M以下のKDでヒトTM4SF1に結合する。

【0253】

【0256】特定の実施形態において、本開示の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、約 1×10^{-3} Mから約 1×10^{-4} M、約 1×10^{-4} Mから約 1×10^{-5} M、約 1×10^{-5} Mから約 1×10^{-6} M、約 1×10^{-6} Mから約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-7} Mから約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-8} Mから約 1×10^{-9} M、約 1×10^{-9} Mから約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-10} Mから約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-11} Mから約 1×10^{-12} M、約 2×10^{-3} Mから約 2×10^{-4} M、約 2×10^{-4} Mから約 2×10^{-5} M、約 2×10^{-5} Mから約 2×10^{-6} M、約 2×10^{-6} Mから約 2×10^{-7} M、約 2×10^{-7} Mから約 2×10^{-8} M、約 2×10^{-8} Mから約 2×10^{-9} M、約 2×10^{-9} Mから約 2×10^{-10} M、約 2×10^{-10} Mから約 2×10^{-11} M、約 2×10^{-11} Mから約 2×10^{-12} M、約 3×10^{-3} Mから約 3×10^{-4} M、約 3×10^{-4} Mから約 3×10^{-5} M、約 3×10^{-5} Mから約 3×10^{-6} M、約 3×10^{-6} Mから約 3×10^{-7} M、約 3×10^{-7} Mから約 3×10^{-8} M、約 3×10^{-8} Mから約 3×10^{-9} M、約 3×10^{-9} Mから約 3×10^{-10} M、約 3×10^{-10} Mから約 3×10^{-11} M、約 3×10^{-11} Mから約 3×10^{-12} M、約 4×10^{-3} Mから約 4×10^{-4} M、約 4×10^{-4} Mから約 4×10^{-5} M、約 4×10^{-5} Mから約 4×10^{-6} M、約 4×10^{-6} Mから約 4×10^{-7} M、約 4×10^{-7} Mから約 4×10^{-8} M、約 4×10^{-8} Mから約 4×10^{-9} M、約 4×10^{-9} Mから約 4×10^{-10} M、約 4×10^{-10} Mから約 4×10^{-11} M、約 4×10^{-11} Mから約 4×10^{-12} M、約 5×10^{-3} Mから約 5×10^{-4} M、約 5×10^{-4} Mから約 5×10^{-5} M、約 5×10^{-5} Mから約 5×10^{-6} M、約 5×10^{-6} Mから約 5×10^{-7} M、約 5×10^{-7} Mから約 5×10^{-8} M、約 5×10^{-8} Mから約 5×10^{-9} M、約 5×10^{-9} Mから約 5×10^{-10} M、約 5×10^{-10} Mから約 5×10^{-11} M、約 5×10^{-11} Mから約 5×10^{-12} M、約 5×10^{-7} Mから約 5×10^{-8} M、約 5×10^{-8} Mから約 5×10^{-9} M、約 5×10^{-9} Mから約 5×10^{-10} M、約 5×10^{-10} Mから約 5×10^{-11} M、約 5×10^{-11} Mから約 5×10^{-12} M、約 1×10^{-7} M、約 5×10^{-8} M、約 1×10^{-8} M、約 5×10^{-9} M、約 1×10^{-9} M、約 5×10^{-10} M、約 1×10^{-10} M、約 5×10^{-11} Mまたは約 1×10^{-11} MのKDでヒトTM

30

40

50

4 S F 1 に結合する。一部の実施形態において、K D は、H U V E C 細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで決定される。

【0254】

【0257】特定の実施形態において、本開示の抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、H U V E C 細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで、約 5×10^{-10} M 以下の K D でヒト T M 4 S F 1 に結合する。

【0255】

【0258】特定の実施形態において、本開示の抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、H E K 2 9 3 過剰発現細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで、約 1×10^{-6} M 以下の K D でカニクイザル T M 4 S F 1 に結合する。一実施形態において、H E K 2 9 3 細胞は、カニクイザル T M 4 S F 1 を発現するようにトランスフェクトされている。さらなる実施形態において、H E K 2 9 3 細胞は、106 コピーの 18 S rRNA 当たり約 600 の mRNA コピーで、カニクイザル T M 4 S F 1 を発現する。

【0256】

【0259】抗体または抗体フラグメントの K D を決定する方法は、当技術分野において公知である。例えば、表面プラズモン共鳴は、抗原に対する抗体の K D を決定するのに使用することができる（例えば、B I A C O R E 2 0 0 0 または B I A C O R E 3 0 0 0 (B I A c o r e , I n c . , P i s c a t a w a y , N . J .) を、約 10 反応単位 (R U) での固定化した抗原または F c 受容体 C M 5 チップと共に、25 °C で使用して）。特定の実施形態において、F A C S またはフローサイトメトリーは、K D を決定するのに使用され、T M 4 S F 1 を発現する細胞、例えば H E K 2 9 3 細胞または H U V E C 細胞は、抗体またはフラグメントに結合させて、標準的な方法に従って K D を測定するのに使用される。フローサイトメトリーを使用する抗体の親和性決定は、例えば、G e u i j e n ら (2005) J I m m u n o l M e t h o d s . 302 (1~2) : 68~77 に記載される。特定の実施形態において、F A C S は、抗体の親和性を決定するのに使用される。

【0257】

【0260】一実施形態において、本開示は、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントが、表 5 に記載の C D R アミノ酸配列に対して、少なくとも 95 % 同一の（または少なくとも 96 % 同一の、または少なくとも 97 % 同一の、または少なくとも 98 % 同一の、または少なくとも 99 % 同一の）C D R のアミノ酸配列を含むように、本明細書に記載される保存的アミノ酸置換を含む C D R アミノ酸配列を有する抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを特徴とする。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の化学的特性（例えば、電荷または疎水性）を有する側鎖（R 基）を有する別のアミノ酸残基で置換される置換である。一般的に、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の機能特性を実質的に変化させないものである。2 つまたはそれより多くのアミノ酸配列が保存的置換により互いに異なる場合、パーセント配列同一性または類似性の程度は、置換の保存的性質のために補正されるように上方調整される場合がある。この調整を行うための手段は当業者に周知である。例えば、参照により本明細書に組み込まれる P e a r s o n (1994) M e t h o d s M o l . B i o l . 24 : 307~331 を参照されたい。類似の化学的特性を有する側鎖を有するアミノ酸のグループの例としては、(1) 脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン；(2) 脂肪族ヒドロキシル側鎖：セリンおよびスレオニン；(3) アミドを含有する側鎖：アスパラギンおよびグルタミン；(4) 芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン；(5) 塩基性側鎖：リジン、アルギニン、およびヒスチジン；(6) 酸性側鎖：アスパラギン酸およびグルタミン酸、ならびに (7) 硫黄を含有する側鎖：システインおよびメチオニンが挙げられる。

【0258】

【0261】本開示はさらに、一態様において、H U V E C 細胞を使用する標準的なフロー

サイトメトリーアッセイで決定した場合、約 5×10^{-8} M 以下の KD で、ヒト TM4SF1 の ECL2 ループ上のエピトープに結合する抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントを特徴とし、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト IgG フレームワーク領域を含む軽鎖可変領域を含み、ヒト IgG フレームワーク領域を含む重鎖可変領域を含む。一実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されている。一実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、カニクイザル TM4SF1 と交差反応する。

【0259】

【0262】本開示の別の態様において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、HUVEC 細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで決定した場合、約 5×10^{-8} M 以下の KD で、ヒト TM4SF1 の ECL2 ループ上のエピトープに結合する、ヒト化された抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントである。一実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、HEK293 過剰発現細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで、約 1×10^{-6} M 以下の KD でカニクイザル TM4SF1 に結合する。一実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、HUVEC 細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで、約 1×10^{-8} M 以下の KD でヒト TM4SF1 に結合する。一実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、 1×10^{-3} M から約 1×10^{-4} M、約 1×10^{-4} M から約 1×10^{-5} M、約 1×10^{-5} M から約 1×10^{-6} M、約 1×10^{-6} M から約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-7} M から約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-8} M から約 1×10^{-9} M、約 1×10^{-9} M から約 1×10^{-10} M、約 1×10^{-10} M から約 1×10^{-11} M、約 1×10^{-11} M から約 1×10^{-12} M、約 2×10^{-3} M から約 2×10^{-4} M、約 2×10^{-4} M から約 2×10^{-5} M、約 2×10^{-5} M から約 2×10^{-6} M、約 2×10^{-6} M から約 2×10^{-7} M、約 2×10^{-7} M から約 2×10^{-8} M、約 2×10^{-8} M から約 2×10^{-9} M、約 2×10^{-9} M から約 2×10^{-10} M、約 2×10^{-10} M から約 2×10^{-11} M、約 2×10^{-11} M から約 2×10^{-12} M、約 3×10^{-3} M から約 3×10^{-4} M、約 3×10^{-4} M から約 3×10^{-5} M、約 3×10^{-5} M から約 3×10^{-6} M、約 3×10^{-6} M から約 3×10^{-7} M、約 3×10^{-7} M から約 3×10^{-8} M、約 3×10^{-8} M から約 3×10^{-9} M、約 3×10^{-9} M から約 3×10^{-10} M、約 3×10^{-10} M から約 3×10^{-11} M、約 3×10^{-11} M から約 3×10^{-12} M、約 4×10^{-3} M から約 4×10^{-4} M、約 4×10^{-4} M から約 4×10^{-5} M、約 4×10^{-5} M から約 4×10^{-6} M、約 4×10^{-6} M から約 4×10^{-7} M、約 4×10^{-7} M から約 4×10^{-8} M、約 4×10^{-8} M から約 4×10^{-9} M、約 4×10^{-9} M から約 4×10^{-10} M、約 4×10^{-10} M から約 4×10^{-11} M、約 4×10^{-11} M から約 4×10^{-12} M、約 5×10^{-3} M から約 5×10^{-4} M、約 5×10^{-4} M から約 5×10^{-5} M、約 5×10^{-5} M から約 5×10^{-6} M、約 5×10^{-6} M から約 5×10^{-7} M、約 5×10^{-7} M から約 5×10^{-8} M、約 5×10^{-8} M から約 5×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M から約 5×10^{-10} M、約 5×10^{-10} M から約 5×10^{-11} M、約 5×10^{-11} M から約 5×10^{-12} M、約 5×10^{-7} M から約 5×10^{-8} M、約 5×10^{-8} M から約 5×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M から約 5×10^{-10} M、約 5×10^{-10} M から約 5×10^{-11} M または約 1×10^{-11} M の KD でヒト TM4SF1 に結合する。一部の実施形態において、KD は、HUVEC 細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで決定される。一実施形態において、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、TM4SF1 を発現する HUVEC 細胞を使用する標準的なフローサイトメトリーアッセイで、約 5×10^{-10} M 以下の KD でヒト TM4SF1 に結合する。

【0260】

【0263】一実施形態において、本開示の抗 TM4SF1 抗体または抗原結合フラグメントのヒト TM4SF1 への結合は、ヒト TM4SF1 の ECL2 ループのグリコシル化に

依存的でなく、すなわち、抗体の結合は、E C L 2 ループ（配列番号 77）内の T M 4 S F 1 のグリコシル化から独立している。

【0261】

【0264】本開示の抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、いずれかのアイソタイプ（例えば、これらに限定されないが、I g G、I g M、および I g E）のいずれかであり得る。特定の実施形態において、本開示の抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G アイソタイプである。具体的な実施形態において、本開示の抗体またはその抗原結合フラグメントは、I g G 1、I g G 2 または I g G 4 アイソタイプ由来である。特定の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト I g G 1、ヒト I g G 2、またはヒト I g G 4 アイソタイプである。

10

【0262】

【0265】I g G 2 は、天然において、A D C C および／または C D C 活性が最も低い（A n r a、M A b s. 2009 年 11 月～12 月；1（6）：572～579）。したがって、特定の実施形態において、I g G 2 は、有利に使用される。しかしながら、I g G 2 は、2 つの余分なシステイン（4 つのヒンジ間ジスルフィド結合を生じる）を有し、それにより抗体間ジスルフィド結合の形成を介した凝集が起こりやすくなる。関連する実施形態において、凝集を減少させるために、I g G 2 システインへの突然変異が作製される。

【0263】

【0266】本発明の開示は、T M 4 S F 1 に結合する抗体フラグメントを提供する。特定の環境において、全抗体よりも抗体フラグメントを使用するほうが利点がある。フラグメントのサイズが小さいほど迅速なクリアランスが可能になり、それにより細胞、組織、または臓器への改善された接近をもたらすことができる。特定の抗体フラグメントの総論に関して、Hudson ら、2003、Nature Med. 9：129～34 を参照されたい。

20

【0264】

【0267】抗体フラグメントを産生するための様々な技術が開発されてきた。従来、これらのフラグメントは、無傷の抗体のタンパク質分解消化を介して得られた（例えば、Morimoto ら、1992、J. Biochem. Biophys. Methods 24：107～17；および Brennan ら、1985、Science 229：81～83 を参照）。しかしながら、現在これらのフラグメントは、組換え宿主細胞によって直接産生することができる。F a b、F v、および s c F v 抗体フラグメントは全て、E. coli または酵母細胞で発現および分泌させることができ、したがって大量のこれらのフラグメントの容易な産生が可能である。抗体フラグメントは、上記で論じられた抗体ファージライブラリーから単離することができる。代替として、F a b' - S H フラグメントは、E. coli から直接回収し、化学的にカップリングして、F (a b') 2 フラグメントを形成することができる（Carter ら、1992、Bio/Technology 10：163～67）。別のアプローチによれば、F (a b') 2 フラグメントは、組換え宿主細胞培養物から直接単離することができる。サルベージ受容体結合エピソード残基を含むインビボでの半減期が増加した F a b および F (a b') 2 フラグメントは、例えば、米国特許第 5,869,046 号に記載されている。抗体フラグメントを産生するための他の技術は、熟練した専門家には明らかであると予想される。特定の実施形態において、抗体は、単鎖 F v フラグメント（s c F v）である（例えば、WO 93/16185；米国特許第 5,571,894 号および第 5,587,458 号を参照）。F v および s c F v は、定常領域を欠く無傷の結合部位を有する。したがってそれらは、インビボでの使用中における非特異的な結合の低減に適している可能性がある。s c F v 融合タンパク質を構築して、s c F v のアミノまたはカルボキシ末端のいずれかにおけるエフェクタータンパク質の融合をもたらすことができる（例えば、Borrebaeck 編、上記を参照）。抗体フラグメントはまた、「線状抗体」であってもよく、例えば、上記で引用された参考文献に記載されたものである。このような線状抗体は、単一特異性または多重特異性、例えば二重特異性であってもよい。

30

40

50

【0265】

[0268] 特定の実施形態において、抗原結合フラグメントは、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、およびscFvからなる群から選択される。

【0266】

[0269] 例えばヒトTM4SF1に高親和性を有する抗TM4SF1抗体（およびフラグメント）は、当技術分野において公知のスクリーニング技術を使用して同定することができる。例えば、モノクローナル抗体は、Kohlerら、1975、Nature 256:495~97により最初に説明されたハイブリドーマ方法を使用して作製してもよいし、または組換えDNA方法によって作製してもよい（例えば、米国特許第4,816,567号を参照）。

10

【0267】

[0270] ハイブリドーマ方法において、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターは、例えばヒトTM4SF1のECL2ループまたはTM4SF1を発現する細胞を使用することにより免疫化されて（それによってECL2ループが細胞表面上に発現される）、免疫化に使用されるタンパク質に特異的に結合すると予想される抗体を産生するかまたは産生することが可能なリンパ球を惹起する。代替として、リンパ球は、インビトロで免疫化されてもよい。免疫化後、リンパ球を単離し、次いで好適な融合剤、例えばポリエチレングリコールを使用して骨髓腫細胞株と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する（Goding、Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 59~103（1986））。

20

【0268】

[0271] このようにして調製されたハイブリドーマ細胞は、好適な培養培地中にシーディングされ、増殖させ、このような培養培地は、特定の実施形態において、融合していない親の骨髓腫細胞（融合パートナーとも称される）の増殖または生存を阻害する1つまたは複数の物質を含有する。例えば、親の骨髓腫細胞が酵素のヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPRTまたはHPRT）を喪失している場合、ハイブリドーマに選択的な培養培地は、典型的には、ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジンを含むと予想され（HAT培地）、これは、HGPRT欠損細胞の増殖を防止するものである。

【0269】

30

[0272] 例示的な融合パートナーである骨髓腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による安定して高レベルの抗体産生を維持し、融合していない親細胞を選択する選択的な培地に感受性を有するものである。例示的な骨髓腫細胞株は、マウス骨髓腫細胞、例えばSP-2および誘導体、例えば、American Type Culture Collection (Manassas, Va.) より入手可能なX63-Ag8-653細胞、ならびにSalk Institute Cell Distribution Center (San Diego, Calif.) より入手可能なMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍由来のものである。またヒト骨髓腫およびマウス-ヒトヘテロミエローマ細胞株も、ヒトモノクローナル抗体産生に関して記載されている（Kozbor、1984、Immunol. 133:3001~05；およびBrodeurら、Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications 51~63（1987））。

40

【0270】

[0273] ハイブリドーマ細胞が増殖する培養培地は、抗原に対して向けられたモノクローナル抗体の産生に関してアッセイされる。ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降によって、またはインビトロでの結合アッセイ、例えばRIAもしくはELISAによって決定される。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えば、Munsonら、1980、Anal. Biochem. 107:220~39に記載されるスキャッチャード分析によって決定することができる。

【0271】

50

[0274] 所望の特異性、親和性、および／または活性を有する抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定されたら、クローンを限界希釈法によってサブクロニングし、標準的な方法によって増殖させる (G o d d i n g、上記)。この目的のために好適な培養培地としては、例えば、D M E M または R P M I - 1 6 4 0 培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、動物において腹水腫瘍として、例えばマウスへの細胞の i . p . 注射によって、インビボで増殖させることができる。

【0272】

[0275] サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、好適には、培養培地、腹水、または血清から、例えば、アフィニティークロマトグラフィー (例えば、プロテイン A またはプロテイン G - セファロースを使用するもの) またはイオン交換クロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析などの従来の抗体精製手順によって分離される。

10

【0273】

[0276] モノクローナル抗体をコードする D N A は、従来の手順を使用して (例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することが可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって)、容易に単離およびシーケンシングされる。ハイブリドーマ細胞は、このような D N A の源として役立つ可能性がある。D N A は、単離されたら、発現ベクターに入れてもよく、次いで発現ベクターは、トランスフェクトされなければ抗体タンパク質を産生しない宿主細胞、例えば E . c o l i 細胞、サル C O S 細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞、または骨髓腫細胞にトランスフェクトされて、組換え宿主細胞におけるモノクローナル抗体の合成が達成される。抗体をコードする D N A の細菌における組換え発現に関する総論としては、S k e r r a ら、1 9 9 3、C u r r . O p i n i o n i n I m m u n o l . 5 : 2 5 6 ~ 6 2 および P l u c k t h u n、1 9 9 2、I m m u n o l . R e v s . 1 3 0 : 1 5 1 ~ 8 8 が挙げられる。

20

【0274】

[0277] さらに実施形態において、モノクローナル抗体または抗体フラグメントは、例えば、A n t i b o d y P h a g e D i s p l a y : M e t h o d s a n d P r o t o c o l s (O ' B r i e n および A i t k e n 編、2 0 0 2) に記載される技術を使用して生成した抗体ファージライブラリーから単離することができる。原則的に、合成抗体クローンは、ファージコートタンパク質に融合した抗体可変領域 (F v) の様々なフラグメントを提示するファージを含有するファージライブラリーをスクリーニングすることによって選択される。このようなファージライブラリーは、所望の抗原に対してスクリーニングされる。所望の抗原に結合することが可能な F v フラグメントを発現するクローンは抗原に吸着されるため、ライブラリー中の非結合クローンから分離される。次いで結合クローンは抗原から溶出され、さらに、抗原吸着／溶出の追加のサイクルによって濃縮することができる。

30

【0275】

[0278] 可変ドメインは、例えば W i n t e r ら、1 9 9 4、A n n . R e v . I m m u n o l . 1 2 : 4 3 3 ~ 5 5 に記載されるように、V H と V L とが短いフレキシブルなペプチドを介して共有結合で連結されている単鎖 F v (s c F v) フラグメントとして、またはそれぞれ定常ドメインに融合しており、非共有結合によって相互作用する F a b フラグメントとしてのいずれかで、ファージ上に機能的に提示させることが可能である。

40

【0276】

[0279] V H および V L 遺伝子のレパートリーは、P C R によって別々にクローニングし、ファージライブラリー中でランダムに組み換えることができ、これは次いで、W i n t e r ら、上記に記載されるように、抗原結合クローンに関して検索することができる。免疫化源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築することを必要とせずに、免疫原に対して高親和性の抗体を提供する。代替として、G r i f f i t h s ら、1 9 9 3、E M B O J 1 2 : 7 2 5 ~ 3 4 で記載されるように、ナイーブレパートリーをクローニ

50

ングして、免疫化をまったく行わなくても、多様な非自己に対する、さらには自己抗原にも対するヒト抗体の単一の源を提供することができる。最後に、ナイーブライブラリーはまた、例えば、HoogenboomおよびWinter、1992、J. Mol. Biol. 227:381~88によって記載されるように、幹細胞からの再配列されていないV-遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して、高度に可変性のCDR3領域をコードし、インビトロでの再配列を達成することによって、合成的に作製することもできる。

【0277】

【0280】ライブラリーのスクリーニングは、当技術分野において公知の様々な技術によって達成することができる。例えば、TM4SF1（例えば、ECL2ループまたはループを発現する細胞の可溶性形態）を使用して、吸着プレートのウェルをコーティングする、吸着プレートに付着させた宿主細胞上で発現させる、またはセルソーティングで使用する、ストレプトアビジンでコーティングされたビーズを捕獲するためにビオチンにコンジュゲートする、またはディスプレイライブラリーをパニングするための他のあらゆる方法で 사용할 ことができる。遅い解離速度論（例えば、優れた結合親和性）を有する抗体の選択は、Bassら、1990、Proteins 8:309~14およびWO92/09690に記載されるように、長い洗浄および1価ファージディスプレイの使用によって、さらに、Marksら、1992、Biotechnol. 10:779~83に記載されるように抗原の低いコーティング密度の使用によって向上させることができる。

【0278】

【0281】抗TM4SF1抗体は、目的のファージクローンを選択するのに好適な抗原スクリーニング手順を設計し、それに続き、目的のファージクローンからの、VHおよび／もしくはVL配列（例えば、Fv配列）、またはVHおよびVL配列からの様々なCDR配列、ならびにKabataら、上記に記載される好適な定常領域（例えば、Fc）配列を使用して全長抗TM4SF1抗体クローンを構築することにより得ることができる。

【0279】

【0282】抗TM4SF1抗体のスクリーニングは、抗体がTM4SF1のECL2ループに治療的な親和性を有するかどうかを決定するために、当技術分野において公知の、および本明細書に記載される結合アッセイを使用して実行することができる。転移性の細胞活性を阻害したりまたは減少させたりする抗体の能力は、当技術分野における標準的なアッセイや、本明細書に記載される標準的なアッセイを使用して測定することができる。前臨床アッセイは、一般的に以下の3つのタイプのうち1つの転移の動物モデルの使用を必要とする：（i）転移性マウス腫瘍細胞、例えばB16F10黒色腫TCを、一般的に、肺転移を生成するために尾静脈注射を介して、肝臓転移を生成するために門脈または脾臓内注射を介して、または骨および他の転移を生成するために心臓の左心室への注射を介してマウスに注射すること；（ii）転移性腫瘍細胞または無傷の腫瘍フラグメントを、マウスに同所移植することであり、この方法はしばしば、原発性腫瘍増殖に関連する罹患率を抑えるために後の原発性腫瘍の外科的切除を必要とするもの；および（iii）遺伝子操作された自然転移のマウスモデルであり、そのうち最も一般的なものは、MMTV-Py（マウス乳がんウイルス-ポリオーマウイルス中型T抗原）マウス乳癌モデルであり、これは、ヒトがん転移の極めてリアルなマウスモデルを提供し、半接合MMTV-PyMT雌の85%より多くが、8~16週齢で肺に転移する触診可能な乳がんを自然に発症するもの。生きた動物を画像化するか、またはTM4SF1免疫遮断（immunoblockade）の程度の関数として致死させた動物の肺における転移性小結節を直接計数するか、のいずれかによって肺における転移性の負荷量を定量化して、治療的なレベル、例えば肺転移の少なくとも50%の低減が達成されることが、治療抗体が例えば本開示の方法で使用できることの指標となると予想される。さらに、異種間反応性アッセイは、当技術分野において公知である。使用できるアッセイの例は、例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれるKhannaおよびHunter（Carcinogenesis 2005年3月；26（3）：513~23）ならびにSaxenaおよびCh

10

20

30

40

50

ristofori (Mol Oncol. 2013年4月; 7(2): 283~96) に記載される。

【0280】

【0283】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体およびその抗原結合フラグメントは、例えばがんを処置または予防するために使用され得る。特定の実施形態において、本開示の抗TM4SF1抗体および抗原結合フラグメントは、腫瘍細胞の転移を予防するのに使用することができる。本開示の抗TM4SF1抗体およびその抗原結合フラグメントは、一部の例において、腫瘍細胞と血管内皮細胞との相互作用を妨害することによって腫瘍細胞の転移を予防する。

【0281】

6.4 メイタンシン

【0284】メイタンシノイドはメイタンシンの誘導体であり、チューブリン重合を阻害することによって作用する、細胞分裂阻害剤である。メイタンシンは、東アフリカの低木メイテナス・セラタから初めて単離された（例えば、米国特許第3896111号を参照）。ある特定の微生物が、メイタンシノイド、例えばメイタンシノールおよびC-3メイタンシノールエステルを産生し得ることも発見された（例えば、米国特許第4151042号を参照）。合成メイタンシノイドは、例えば、米国特許第4137230号；同第4248870号；同第4256746号；同第4260608号；同第4265814号；同第4294757号；同第4307016号；同第4308268号；同第4308269号；同第4309428号；同第4313946号；同第4315929号；同第4317821号；同第4322348号；同第4331598号；同第4361650号；同第4364866号；同第4424219号；同第4450254号；同第4362663号；および同第4371533号に開示され、そのそれぞれはその全体が本明細書に参照により組み込まれる。

【0282】

【0285】メイタンシノイドは、それらが：(i) 発酵もしくは化学改変または発酵産物の誘導体化による調製に比較的利用しやすい、(ii) 抗体への非ジスルフィドリンカーによるコンジュゲーションに好適な官能基による誘導体化に適している、(iii) 血漿中で安定である、および(iv) 様々な腫瘍細胞株に対して有効であるため、抗体-薬物コンジュゲートの魅力的な薬物である。

【0283】

【0286】特定のメイタンシノイドは、公知の方法によって天然原料から単離され得るか、または遺伝子工学技術を使用して産生され得る（例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Yuら(2002)PNAS 99: 7968-7973を参照）。メイタンシノイドは、公知の方法により合成によっても調製され得る。

【0284】

【0287】メイタンシノイドの例は、限定はされないが、改変された芳香族環を有するもの、例えば：C-19デクロロ（米国特許第4256746号）（例えば、アンサミトシン(ansamycin) P2の水素化アルミニウムリチウム還元によって調製される）；C-20-ヒドロキシ（またはC-20-デメチル）+/-C-19デクロロ（米国特許第4361650号および同第4307016号）（例えば、スプレプトミセス属(*Streptomyces*) またはアクチノミセス属(*Actinomyces*) を使用して脱メチル化によって、またはLAHを使用して脱塩素によって調製される）；およびC-20-デメトキシ、C-20-アシルオキシ(-OCOR)、+/-デクロロ（米国特許第4294757号）（例えば、塩化アシルを利用してアシル化によって調製される）、ならびに芳香族環のその他の位置に改変を有するものを含む。この段落で引用した各特許は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0285】

【0288】メイタンシノイドの例は、改変、例えば：C-9-SH（米国特許第4424219号）（例えば、メイタンシノールのH2SまたはP2S5との反応によって調製さ

10

20

30

40

50

れる) ; C-14-アルコキシメチル (デメトキシ / CH₂OR) (米国特許第 4331598 号) ; C-14-ヒドロキシメチルまたはアシルオキシメチル (CH₂OH または CH₂OAc) (米国特許第 4450254 号) (例えば、ノカルジア属 (*Nocardia*) から調製される) ; C-15-ヒドロキシ / アシルオキシ (米国特許第 4364866 号) (例えば、ストレプトミセス属によるメイタンシノールの変換によって調製される) ; C-15-メトキシ (米国特許第 4313946 号および同第 4315929 号) (例えば、トレウィア・ヌディフロラ (*Trewia nudiflora*) から単離される) ; C-18-N-デメチル (米国特許第 4362663 号および同第 4322348 号) (例えば、ストレプトミセス属によるメイタンシノールの脱メチル化によって調製される) ; および 4, 5-デオキシ (米国特許第 4371533 号) (例えば、メイタンシノールの三塩化チタン / LAH 還元によって調製される) を有するものも含む。この段落で引用した各特許は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0286】

【0289】本発明に記載されるように、抗体へのメイタンシンの化学コンジュゲーションは、腫瘍血管および周辺細胞に細胞傷害性剤を選択的に送達すると期待される。

【0287】

6.5 ADC 中のメイタンシン

【0290】一部の実施形態において、本開示の ADC は、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートした 1 つまたは複数の治療 (本明細書では、治療分子または治療剤とも呼ばれる) を含む。一部の実施形態において、ADC は、核に向けられ、ND-ADC として公知である。一部の実施形態において、薬剤は、メイタンシンまたはその誘導体である。

20

【0288】

【0291】理論に縛られることなく、メイタンシンにコンジュゲートした抗 TM4SF1 抗体およびその誘導体は、薬物による毒性を低減すると期待される。

【0289】

6.6 リンカー

【0292】1 つまたは複数の薬剤 (例えば、治療剤および / または診断剤) は、抗 TM4SF1 抗体または抗原結合フラグメントに間接的にコンジュゲートさせてもよい (例えば、直接的な共有結合または非共有結合による相互作用でリンカーを用いることによって)。リンカーは、化学的な連結剤、例えばホモ二官能性およびヘテロ二官能性架橋剤であってもよく、これらは、多くの商業的な供給源より入手可能である。架橋に利用可能な領域は、本開示の結合タンパク質 (例えば、抗 TM4SF1 抗体) 上に見出すことができる。リンカーは、フレキシブルなアーム、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または 15 個の炭素原子を含んでもよい。例示的なリンカーとしては、BS3 ([ビス (スルホスクシンイミジル) スベリン酸塩] ; BS3 は、接近可能な第一アミンを標的化するホモ二官能性 N-ヒドロキスクシンイミドエステルである)、NHS / EDC (N-ヒドロキスクシンイミドおよび N-エチル- (ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド ; NHS / EDC は、第一アミン基とカルボキシル基とのコンジュゲーションを可能にする)、スルホ-EMCS ([N-e-マレイミドカプロン酸] ヒドラジド ; スルホ-EMCS は、スルフヒドリルおよびアミノ基に反応性を有するヘテロ二官能性反応性基 (マレイミドおよび NHS-エステル) である)、ヒドラジド (ほとんどのタンパク質は露出した炭水化物を含有し、ヒドラジドは、カルボキシル基を第一アミンに連結するのに有用な試薬である)、および SATA (N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート ; SATA は、アミンに反応性を有し、保護されたスルフヒドリル基を付加する) が挙げられる。共有結合を形成するために、化学的に反応性の基は、様々な活性カルボキシル基 (例えば、エステル) であり、その場合、ヒドロキシル部分は、ペプチドを改変するのに必要なレベルで生理学的に許容される。特定の薬剤としては、N-ヒドロキスクシンイミド (NHS)、N-ヒドロキシースルホスクシンイミド (スルホ-NHS)、マレイミド-ベンゾイル-スクシンイミド (MBS)、ガンマ-マ

30

40

50

レイミドーブチリルオキシスクシンイミドエステル (G M B S)、マレイミドプロピオン酸 (M P A)、マレイミドヘキサン酸 (M H A)、およびマレイミドウンデカン酸 (M U A) が挙げられる。第一アミンは、N H S エステルの主要な標的である。タンパク質の N 末端に存在する接近可能な α -アミノ基およびリジンの ϵ -アミンは、N H S エステルと反応する。アミド結合は、N H S エステルのコンジュゲーション反応物が第一アミンと反応して N-ヒドロキシスクシンイミドを放出すると形成される。これらのスクシンイミドを含有する反応性基は、本明細書ではスクシンイミジル基と称される。本開示の特定の実施形態において、タンパク質上の官能基は、チオール基と予想され、化学的に反応性の基は、マレイミドを含有する基、例えばガンマーマレイミドーブチリルアミド (G M B A または M P A) と予想される。このようなマレイミドを含有する基は、本明細書では、マレイミド基と称される。マレイミド基は、反応混合物の pH が 6.5 ~ 7.4 である場合、ペプチド上のスルフヒドリル基にとって最も選択的である。pH 7.0 において、マレイミド基のスルフヒドリル (例えば、血清アルブミンまたは Ig G などのタンパク質上のチオール基) との反応速度は、アミンより 1000 倍速い。したがって、マレイミド基とスルフヒドリルとの間の安定なチオエーテル結合を形成することができる。

10

【0290】

[0293] 他の実施形態において、リンカーは、少なくとも 1 つのアミノ酸を含む (例えば、少なくとも 2、3、4、5、6、7、10、15、20、25、40、または 50 アミノ酸のペプチド)。特定の実施形態において、リンカーは、単一のアミノ酸 (例えば、あらゆる天然に存在するアミノ酸、例えば C y s) である。他の実施形態において、グリシンリッチなペプチド、例えばペプチドが使用できる。一部の場合において、リンカーは、単一のアミノ酸 (例えば、あらゆるアミノ酸、例えば G l y または C y s) であってもよい。好適なリンカーの例は、コハク酸、L y s、G l u、および A s p であるか、または G l y - L y s などのジペプチドである。リンカーがコハク酸である場合、その 1 つのカルボキシル基は、アミノ酸残基のアミノ基とアミド結合を形成することができ、その他のカルボキシル基は、例えば、ペプチドまたは置換基のアミノ基とアミド結合を形成することができる。リンカーが L y s、G l u、または A s p である場合、それらのカルボキシル基は、アミノ酸残基のアミノ基とアミド結合を形成でき、それらのアミノ基は、例えば、置換基のカルボキシル基とアミド結合を形成できる。L y s がリンカーとして使用される場合、さらなるリンカーが、L y s の ϵ -アミノ基と置換基との間に挿入される場合もある。1 つの特定の実施形態において、さらなるリンカーは、コハク酸であり、これは例えば、L y s の ϵ -アミノ基および置換基に存在するアミノ基とアミド結合を形成する。一実施形態において、さらなるリンカーは、G l u または A s p であり (例えばこれは、L y s の ϵ -アミノ基とアミド結合を形成し、置換基に存在するカルボキシル基と別のアミド結合を形成する)、すなわち置換基は、N E アシル化リジン残基である。

20

30

【0291】

[0294] 一部の実施形態において、本明細書に記載される抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントおよびオリゴヌクレオチド (例えば、R N A 分子または D N A 分子などの核酸分子) が、様々なアプローチ、例えば、遺伝的コンジュゲーション、酵素的コンジュゲーション、化学的コンジュゲーション、またはこれらの任意の組合せを使用してコンジュゲートされ得る。

40

【0292】

[0295] 一部の実施形態において、A D C 内の R N A 分子は、哺乳動物または細菌トランスグルタミナーゼ酵素の使用を含む、酵素的な部位特異的コンジュゲーション法を使用して、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートされ得る。微生物トランスグルタミナーゼ (m T G) は、現代の研究およびバイオテクノロジーにおいて用途の広いツールである。大量の比較的純度の高い酵素の入手可能性、使用の容易さ、およびカルシウムおよびグアノシン-5'三リン酸 (G T P) による調節の欠如は、m T G を、食品産業とバイオテクノロジーの両方において使用される主要な架橋酵素に推進した。現在、m T G は、多くの適用に使用され、タンパク質およびペプチドを、小分子、

50

ポリマー、表面、DNA、ならびに他のタンパク質に接着させる。例えば、Pavel Strp, Veracity of microbial transglutaminase, Bioconjugate Chem. 25, 5, 855~862を参照)。

【0293】

【0296】一部の実施形態において、コンジュゲート内のRNA分子は、直接的な共有結合または非共有結合による相互作用でリンカーを用いることによって、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントにコンジュゲートさせてもよい。リンカーは、アミノ酸またはペプチドベースのリンカー、または化学的な連結剤、例えばホモ二官能性およびヘテロ二官能性架橋剤であってもよく、これらは、多くの商業的な供給源より入手可能である。架橋に利用可能な領域は、本開示の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント上に見出すことができる。リンカーは、フレキシブルなアーム、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15個の炭素原子を含んでいてもよい。例示的なリンカーとしては、切断可能、切断不能、共有結合性、または非共有結合性リンカー、またはこれらの任意の組合せが挙げられる。一部の実施形態において、切断可能リンカーは、酸不安定性リンカー、プロテアーゼ感受性リンカー、光解離性リンカー、またはジスルフィド含有リンカーを含む。一部の実施形態において、リンカーは、システインリンカーまたはリジンリンカーなどの非システインリンカーを含む。一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは非天然アミノ酸を含み、抗体または抗体フラグメントおよびオリゴヌクレオチドは、非天然アミノ酸を介して連結／コンジュゲートされている。

10

20

【0294】

【0297】一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、天然アミノ酸を含み、抗体または抗体フラグメントおよびオリゴヌクレオチドは、天然アミノ酸を介して連結／コンジュゲートされている。非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントにおける2つの自然発生のアミノ酸の間に挿入され得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントにおける1つまたは複数の自然発生のアミノ酸を置き換えることができる。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントのN末端に組み込まれ得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントのC末端に組み込まれ得る。非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの結合領域から離れて組み込まれ得る。非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの結合領域近くに組み込まれ得る。非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの結合領域に組み込まれ得る。

30

【0295】

【0298】1つまたは複数の非天然アミノ酸は、20個のアミノ酸の1つをコードしないコドンによってコードされ得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、ナンセンスコドン（停止コドン）によってコードされ得る。停止コドンは、アンバーコドンであり得る。アンバーコドンは、UAG配列を含み得る。停止コドンは、オーカーコドンであり得る。オーカーコドンは、UAA配列を含み得る。停止コドンは、オパールまたはアンバーコドンであり得る。オパールまたはアンバーコドンは、UGA配列を含み得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、4塩基コドンによってコードされ得る。

40

【0296】

【0299】1つまたは複数の非天然アミノ酸は、p-アセチルフェニルアラニン (pAcFまたはpAcPhe) であり得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、セレノシステインであり得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、p-フルオロフェニルアラニン (pFPhe) であり得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、p-アジドフェニルアラニン (pAzF)、p-アジドメチルフェニルアラニン (pAzCH₂F)、p-ベンゾイルフェニルアラニン (pBpF)、p-プロパルギルオキシフェニルアラニン (pPrF)、p-ヨードフェニルアラニン (pIF)、p-シアノフェニルアラニン (pCNF)、p-カルボキシメチルフェニルアラニン (pCmF)、3-(2-ナフチル)アラニン (NapA)、p-ボロノフェニルアラニン (pBoF)、o-ニトロフェニルアラニン

50

ン (o N i F)、(8-ヒドロキシキノリン-3-イル)アラニン (H Q A)、セレノステイン、および(2, 2'-ビピリジン-5-イル)アラニン (B i p y A)を含む群から選択され得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、4-(6-メチル-s-テトラジン-3-イル)アミノフェニルアラニンであり得る。

【0297】

【0300】1つまたは複数の非天然アミノ酸は、 β アミノ酸 ($\beta 3$ および $\beta 2$)、ホモアミノ酸、プロリンおよびピルビン酸誘導体、3-置換アラニン誘導体、グリシン誘導体、環置換フェニルアラニンおよびチロシン誘導体、直鎖コアアミノ酸、ジアミノ酸、D-アミノ酸、N-メチルアミノ酸、またはこれらの組合せであり得る。

【0298】

【0301】非天然アミノ酸の追加の例は、限定はされないが、1) 様々な置換チロシンおよびフェニルアラニン類似体、例えばO-メチル-L-チロシン、p-アミノ-L-フェニルアラニン、3-ニトロ-L-チロシン、p-ニトロ-L-フェニルアラニン、m-メトキシ-L-フェニルアラニンおよびp-イソプロピル-L-フェニルアラニン；2) 光架橋され得るアリールアジドおよびベンゾフェノン基を有するアミノ酸；3) アセチル-L-フェニルアラニンおよびm-アセチル-L-フェニルアラニン、O-アリール-L-チロシン、O-(2-プロピニル)-L-チロシン、p-エチルチオカルボニル-L-フェニルアラニンおよびp-(3-オキソブタノイル)-L-フェニルアラニンを含むユニーク化学反応性を有するアミノ酸；4) p-ヨードおよびp-ブロモ-L-フェニルアラニンを含むX線結晶解析におけるフェージングのためのアミノ酸を含有する重原子；5) 酸化還元活性のあるアミノ酸であるジヒドロキシ-L-フェニルアラニン；6) b-N-アセチルグルコサミン-O-セリンおよびN-アセチルガラクトサミン-O-スレオニンを含むグリコシル化アミノ酸；7) ナフチル、ダンシル、および7-アミノクマリン側鎖を有する蛍光アミノ酸；8) アゾベンゼンおよびニトロベンジル C y s、S e r、および T y r 側鎖を有する光切断可能および光異性化アミノ酸；9) ホスホチロシン模倣p-カルボキシメチル-L-フェニルアラニン；10) グルタミン相同ホモグルタミン；ならびに11) 2-アミノオクタン酸を含む。非天然アミノ酸は、化学基を組み込むように改変することができる。非天然アミノ酸は、ケトン基を組み込むように改変することができる。

【0299】

【0302】1つまたは複数の非天然アミノ酸は、少なくとも1つのオキシム、カルボニル、ジカルボニル、ヒドロキシルアミン基またはこれらの組合せを含み得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、少なくとも1つのカルボニル、ジカルボニル、アルコキシアミン、ヒドラジン、非環式アルケン、非環式アルキン、シクロオクテン、アリール/アルキルアジド、ノルボルネン、シクロプロペン、トランス-シクロオクテン、またはテトラジン官能基またはこれらの組合せを含み得る。

【0300】

【0303】1つまたは複数の非天然アミノ酸は、当技術分野で公知の方法によって、抗体または抗体フラグメントに組み込まれ得る。細胞ベースまたは細胞フリーシステムは、抗体または抗体フラグメントの遺伝子配列を変更し、それにより1つまたは複数の非天然アミノ酸を有する抗体または抗体フラグメントを産生することに使用され得る。栄養要求性菌株は、操作されたtRNAおよび合成酵素の代わりに使用され得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、1つまたは複数の天然アミノ酸の選択反応を介して産生され得る。選択反応は、1つまたは複数の酵素によって媒介され得る。非限定的な一例において、ホルミルグリシン生成酵素 (F G E) による1つまたは複数のシステインの選択反応は、R a b u k a ら, N a t u r e P r o t o c o l s 7: 1052~1067 (2012) に記載されるように1つまたは複数のホルミルグリシンを産生し得る。

【0301】

【0304】1つまたは複数の非天然アミノ酸は、化学反応に参加し、リンカーを形成し得る。リンカーを形成する化学反応は、生体直交型の反応であり得る。リンカーを形成する

化学反応は、クリックケミストリーであり得る。

【0302】

[0305]追加の非天然アミノ酸は、Liuら (Annu Rev Biochem, 79:413~44, 2010)、Wangら (Angew Chem Int Ed, 44:34~66, 2005) およびPCT出願番号PCT/US2012/039472、PCT/US2012/039468、PCT/US2007/088009、PCT/US2009/058668、PCT/US2007/089142、PCT/US2007/088011、PCT/US2007/001485、PCT/US2006/049397、PCT/US2006/047822およびPCT/US2006/044682に開示され、その全てはその全体が参照により組み込まれる。

10

【0303】

[0306]1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントにおいて1つまたは複数のアミノ酸を置き換えることができる。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントにおいて任意の天然アミノ酸を置き換えることができる。

【0304】

[0307]1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの軽鎖に組み込まれ得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの重鎖に組み込まれ得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの重鎖および軽鎖に組み込まれ得る。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの軽鎖のアミノ酸を置き換えることができる。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの重鎖のアミノ酸を置き換えることができる。1つまたは複数の非天然アミノ酸は、抗体または抗体フラグメントの重鎖および軽鎖のアミノ酸を置き換えることができる。

20

【0305】

[0308]抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント。一部の実施形態において、リンカーは、小分子フラグメント、スペーサー、非共有結合性リンカー、またはこれらの組合せを含む。一部の実施形態において、リンカーは、1つまたは複数の小分子フラグメントを含む。一部の実施形態において、リンカーはスペーサーを含む。

【0306】

[0309]一部の実施形態において、リンカーは、1つまたは複数の反応性成分を含む。一部の実施形態において、リンカーは、マイケルアクセプター成分、脱離基成分、または抗体フラグメントおよび／または治療剤と共有結合を形成することができる成分から選択される反応性成分を含む。

30

【0307】

[0310]一部の実施形態において、小さい抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントは、反応性成分を含む。一部の実施形態において、小分子フラグメントは、マイケルアクセプター成分、脱離基成分、またはシステイン残基のチオール基と共有結合を形成することができる成分から選択される反応性成分を含む。

【0308】

[0311]一部の実施形態において、マイケルアクセプター成分は、アルケンまたはアルキン成分を含む。一部の実施形態において、小分子フラグメントは、化合物ライブラリーから得られる。一部の実施形態において、化合物ライブラリーは、ChemBridgeフラグメントライブラリー、Pyramid Platformフラグメントベースの創薬、Maybridgeフラグメントライブラリー、AnalytiConのFRGx、AnCoreXのTCI-Frag、ASINEXのBio Building Blocks、Charles RiverのBioFocus 3D、Emerald BioのFragments of Life (FOL)、Enamineフラグメントライブラリー、IOTA Diverse 1500、BIONETフラグメントライブラリー、Life Chemicals Fragments Collection、OTAVAフラグメントライブラリー、Prestwickフラグメントライブラリー、Se

40

50

l c i aフラグメントライブラリー、T i m T e cフラグメントベースのライブラリー、V i t a s - M L a b o r a t o r yのA l l i u m、あるいはZ e n o b i aフラグメントライブラリーを含む。

【0309】

【0312】一部の実施形態において、小分子フラグメントは、カルボジイミド、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) エステル、イミドエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、ヒドロキシメチルホスフィン、マレイミド、ハロアセチル、ピリジルジスルフィド、チオスルホネート、ビニルスルホン、ヒドラジド、アルコキシアミン、アルキン、アジド、またはイソシアネート基を含む。一部の実施形態において、小分子フラグメントは、アルキンまたはアジド基を含む。一部の実施形態において、小分子フラグメントは、アルキン基を含む。一部の実施形態において、小分子フラグメントは、アジド基を含む。

10

【0310】

【0313】一部の実施形態において、小分子フラグメントは、スペーサーと共有結合により相互作用する。一部の実施形態において、スペーサーは、アミド成分、エステル成分、エーテル成分、置換または非置換C1～C6アルキレン成分、置換または非置換C1～C6ハロアルキレン成分、置換または非置換C1～C6ヘテロアルキレン成分、置換または非置換C3～C8シクロアルキレン成分、置換または非置換C2～C7ヘテロシクロアルキレン成分、置換または非置換アリーレン成分、置換または非置換ヘテロアリーレン成分またはこれらの任意の組合せを含む。

20

【0311】

【0314】一部の実施形態において、リンカーは、MC (6-マレイミドカプロイル)、MCC (マレイミドメチルシクロヘキサン-1-カルボキシレート)、MP (マレイミドプロパノイル)、val-cit (バリン-シトルリン)、val-ala (バリン-アラニン)、ala-phe (アラニン-フェニルアラニン)、PAB (p-アミノベンジルオキシカルボニル)、SPP (N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート)、SMCC (N-スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート)、SAIB (N-スクシンイミジル(4-ヨード-アセチル)アミノベンゾエートを含む。リンカーのさらなる例としては：BS3 ([ビス(スルホスクシンイミジル)スベリン酸塩]；BS3は、接近可能な第一アミンを標的化するホモ二官能性N-ヒドロキシスクシンイミドエステルである)、NHS/EDC (N-ヒドロキシスクシンイミドおよびN-エチル-(ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド；NHS/EDCは、第一アミン基とカルボキシル基とのコンジュゲーションを可能にする)、スルホ-EMCS ([N-e-マレイミドカプロン酸]ヒドラジド；スルホ-EMCSは、スルフヒドリルおよびアミノ基に反応性を有するヘテロ二官能性反応性基(マレイミドおよびNHS-エステル)である)、ヒドラジド(ほとんどのタンパク質は露出した炭水化物を含有し、ヒドラジドは、カルボキシル基を第一アミンに連結するのに有用な試薬である)、およびSATA (N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート；SATAは、アミンに反応性を有し、保護されたスルフヒドリル基を付加する)が挙げられる。共有結合を形成するために、化学的に反応性の基は、様々な活性カルボキシル基(例えば、エステル)であり、その場合、ヒドロキシル成分は、ペプチドを改変するのに必要なレベルで生理学的に許容される。特定の薬剤としては、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)、N-ヒドロキシースルホスクシンイミド(スルホ-NHS)、マレイミド-ベンゾイル-スクシンイミド(MBS)、ガンマ-マレイミド-ブチリルオキシスクシンイミドエステル(GMBS)、マレイミドプロピオン酸(MPA)、マレイミドヘキサン酸(MHA)、およびマレイミドウンデカン酸(MUA)が挙げられる。第一アミンは、NHSエステルの主要な標的である。タンパク質のN末端に存在する接近可能なα-アミノ基およびリジンのε-アミンは、NHSエステルと反応する。アミド結合は、NHSエステルのコンジュゲーション反応物が第一アミンと反応してN-ヒドロキシスクシンイミドを放出すると形成される。これらのスクシンイミドを含有する反応性基は、本明細書ではスクシンイミジル基と称される。本開示の特定の実施形態において、タンパク質上の官能

30

40

50

基は、チオール基と予想され、化学的に反応性の基は、マレイミドを含有する基、例えばガンママレイミドブチリルアミド（G M B AまたはM P A）と予想される。このようなマレイミドを含有する基は、本明細書では、マレイミド基と称される。マレイミド基は、反応混合物のp Hが6.5～7.4である場合、ペプチド上のスルフヒドリル基にとって最も選択的である。p H 7.0において、マレイミド基のスルフヒドリル（例えば、血清アルブミンまたはI g Gなどのタンパク質上のチオール基）との反応速度は、アミンより1000倍速い。したがって、マレイミド基とスルフヒドリルとの間の安定なチオエーテル結合を形成することができる。

【0312】

[0315]他の実施形態において、リンカーは、少なくとも1つのアミノ酸を含む（例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、10、15、20、25、40、または50アミノ酸のペプチド）。特定の実施形態において、リンカーは、単一のアミノ酸（例えば、あらゆる天然に存在するアミノ酸、例えばC y sまたはL y s）である。他の実施形態において、グリシンリッチなペプチド、例えばペプチドが使用できる。一部の場合において、リンカーは、単一のアミノ酸（例えば、あらゆるアミノ酸、例えばG l yまたはC y sまたはL y s）であってもよい。好適なリンカーの例は、コハク酸、L y s、G l u、およびA s pであるか、またはG l y-L y sなどのジペプチドである。リンカーがコハク酸である場合、その1つのカルボキシル基は、アミノ酸残基のアミノ基とアミド結合を形成することができ、その他のカルボキシル基は、例えば、ペプチドまたは置換基のアミノ基とアミド結合を形成することができる。リンカーがL y s、G l u、またはA s pである場合、それらのカルボキシル基は、アミノ酸残基のアミノ基とアミド結合を形成でき、それらのアミノ基は、例えば、置換基のカルボキシル基とアミド結合を形成できる。L y sがリンカーとして使用される場合、さらなるリンカーが、L y sのε-アミノ基と置換基との間に挿入される場合もある。1つの特定の実施形態において、さらなるリンカーは、コハク酸であり、これは例えば、L y sのε-アミノ基および置換基に存在するアミノ基とアミド結合を形成する。一実施形態において、さらなるリンカーは、G l uまたはA s pであり（例えばこれは、L y sのε-アミノ基とアミド結合を形成し、置換基に存在するカルボキシル基と別のアミド結合を形成する）、すなわち置換基は、N Eアシル化リジン残基である。一部の実施形態において、リンカーはリジンからなる単一アミノ酸ペプチドを含む。一部の実施形態において、リンカーはL y s L y sジペプチドを含む。一部の実施形態において、リンカーは* L y sおよび／またはL y s*ジペプチドを含む。一部の実施形態において、リンカーはL y s L y s*および／または* L y s L y s、L y s* L y sトリペプチドを含む。一部の実施形態において、リンカーはL y s L y s L y sトリペプチドを含む。

【0313】

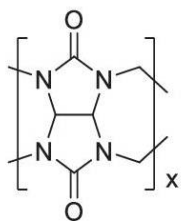
[0316]一部の実施形態において、抗T M 4 S F 1抗体またはその抗原結合フラグメントとR N A分子のコンジュゲーションは、環に繋がれた分子を産生する方法で行われる。一部の実施形態において、スパーサーはさらに大環状分子を含む。一部の実施形態において、大環状分子は非共有結合性大環状分子を含む。一部の実施形態において、大環状分子は共有結合性大環状分子を含む。

【0314】

[0317]一部の実施形態において、大環状分子は、ククルビット[X]ウリル（式中Xは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20である）を含む。一部の実施形態において、大環状分子は、ククルビット[X]ウリル（式中Xは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15である）を含む。一部の実施形態において、大環状分子は、ククルビット[X]ウリル（式中Xは、5、6、7、または8である）を含む。一部の実施形態において、ククルビット[X]ウリルは、

【0315】

【化 8】



【0316】

(式中、 x は 5、6、7、または 8 である)

10

によって表される構造を有する。

【0317】

【0318】一部の実施形態において、 x は 5 である。一部の実施形態において、 x は 6 である。一部の実施形態において、 x は 7 である。一部の実施形態において、 x は 8 である。

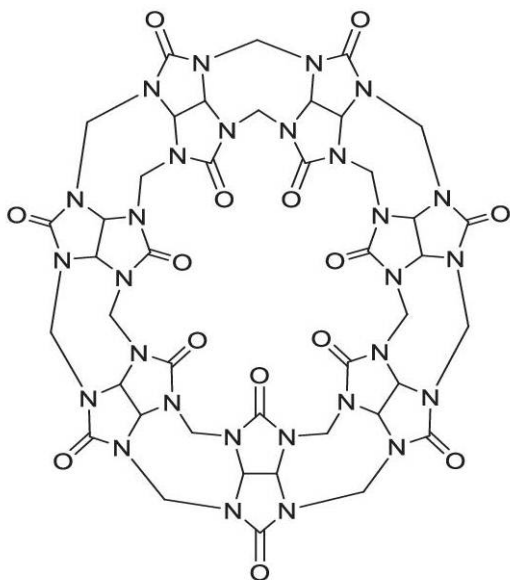
【0318】

【0319】一部の実施形態において、大環状分子は、ククルビット [6] ウリルを含む (CB 6)。一部の実施形態において、大環状分子は、ククルビット [7] ウリルを含む (CB 7)。一部の実施形態において、ククルビット [7] ウリルは、

【0319】

20

【化 9】



30

【0320】

によって表される構造を有する。

40

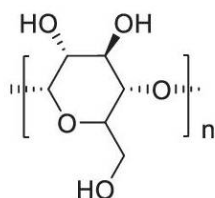
【0321】

【0320】一部の実施形態において、大環状分子は、シクロデキストリン (CD) を含む。一部の実施形態において、シクロデキストリンは、

【0322】

50

【化 1 0】



【 0 3 2 3 】

(式中、 n は5、6、7、または8である)

10

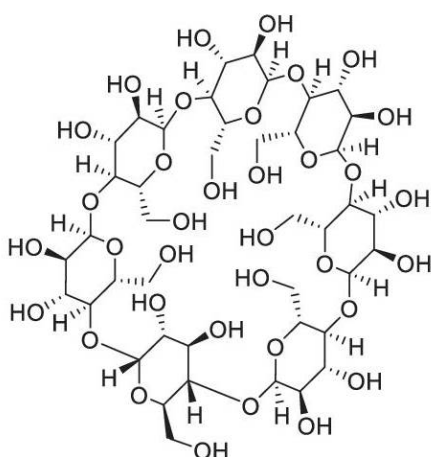
によって表される構造を有する。

【 0 3 2 4 】

【0321】一部の実施形態において、大環状分子は、ベータ-シクロデキストリン ($n = 7$) を含む。一部の実施形態において、大環状分子は、ガンマ-シクロデキストリン ($n = 8$) を含む。一部の実施形態において、ベータ-シクロデキストリンは、

【 0 3 2 5 】

【化 1 1】



20

30

【 0 3 2 6 】

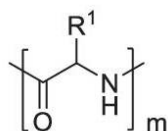
によって表される構造を有する。

【 0 3 2 7 】

【0322】一部の実施形態において、大環状分子は、ポリペプチドを含む。一部の実施形態において、ポリペプチドは、

【 0 3 2 8 】

【化 1 2】



40

【 0 3 2 9 】

(式中、 R^1 はH、D、F、 $-CN$ 、置換または非置換C1～C6アルキル、置換または非置換C1～C6フルオロアルキル、置換または非置換C1～C6ヘテロアルキル、置換または非置換C3～C8シクロアルキル、置換または非置換アリール、および置換または非置換ヘテロアリールであり； m は5、6、7、または8である)

によって表される構造を有する。

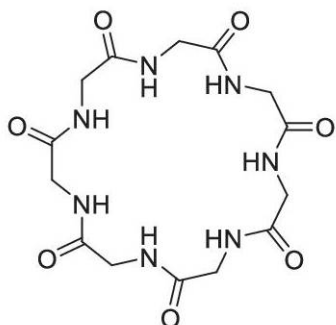
【 0 3 3 0 】

50

【0323】一部の実施形態において、大環状分子は、シクログリシンを含む。一部の実施形態において、大環状分子は、シクロ（グリシルグリシルグリシルグリシルグリシルグリシル）を含む。一部の実施形態において、大環状分子は、シクロ（グリシルグリシルグリシルグリシルグリシルグリシル）を含む。一部の実施形態において、シクロ（グリシルグリシルグリシルグリシルグリシルグリシルグリシルグリシル）は、

【0331】

【化13】



10

【0332】

によって表される構造を有する。

【0333】

【0324】一部の実施形態において、大環状分子は、クラウンエーテルを含む。一部の実施形態において、クラウンエーテルは、15-クラウン-5、18-クラウン-6、ジベンゾ-18-クラウン-6、またはジアザ-18-クラウン-6である。

【0334】

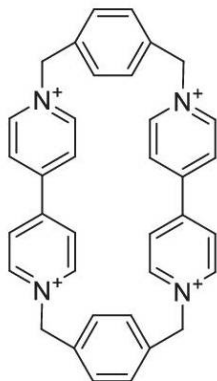
【0325】一部の実施形態において、大環状分子は、シクロアルカンを含む。一部の実施形態において、シクロアルkanは、シクロペンタデカン、シクロヘキサデカン、シクロヘプタデカン、またはシクロオクタデカンである。

【0335】

【0326】一部の実施形態において、大環状分子は、シクロビス（パラコート-p-フェニレン）（CBPQT4+）を含む。一部の実施形態において、シクロビス（パラコート-p-フェニレン）（CBPQT4+）は、

【0336】

【化14】



40

【0337】

によって表される構造を有する。

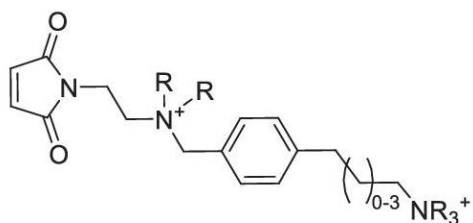
【0338】

【0327】一部の実施形態において、リンカーは、第4級窒素を含む。一部の実施形態において、リンカーは、

50

【 0 3 3 9 】

【 化 1 5 】



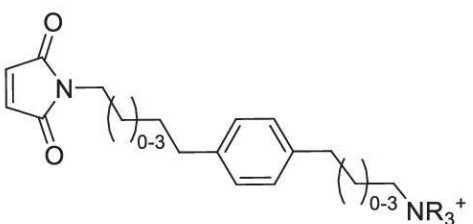
【 0 3 4 0 】

10

(式中、各 R は独立して、H または C 1 ～ C 6 アルキルである)
である。一部の実施形態において、リンカーは、

【 0 3 4 1 】

【 化 1 6 】



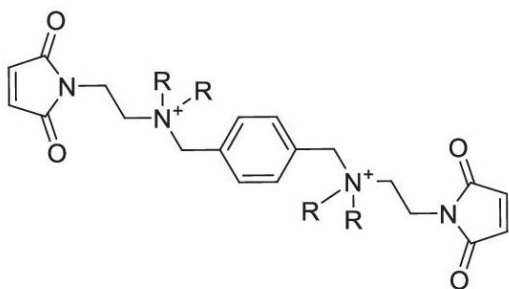
20

【 0 3 4 2 】

(式中、各 R は独立して、H または C 1 ～ C 6 アルキルである)
である。一部の実施形態において、リンカーは、

【 0 3 4 3 】

【 化 1 7 】



30

【 0 3 4 4 】

(式中、各 R は独立して、H または C 1 ～ C 6 アルキルである)
である。

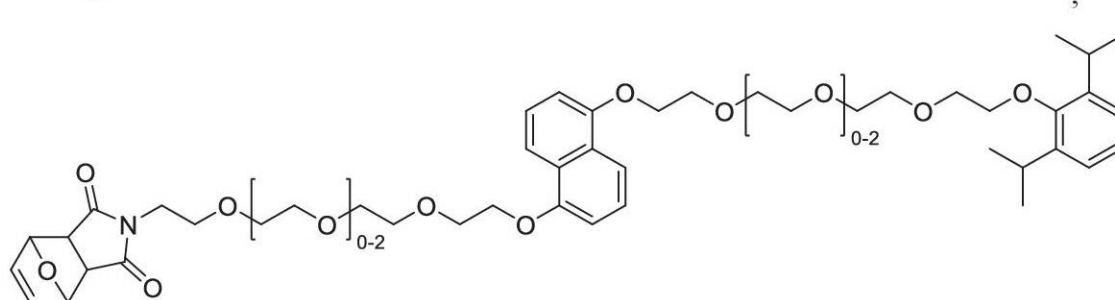
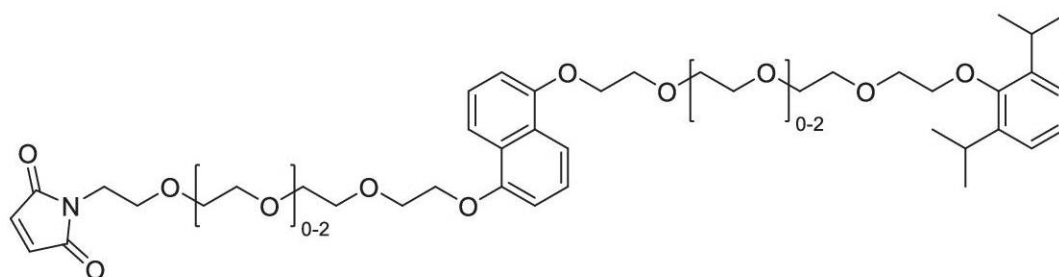
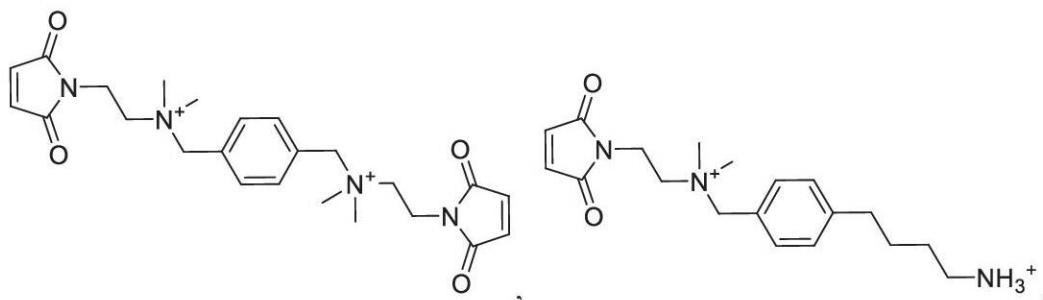
【 0 3 4 5 】

40

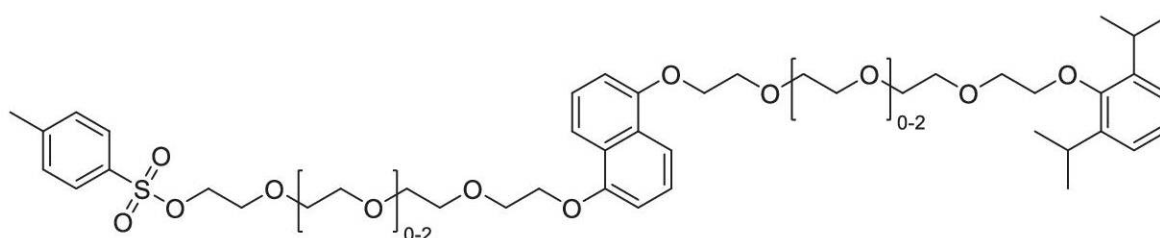
[0 3 2 8] 一部の実施形態において、リンカーは、

【 0 3 4 6 】

【化 1 8】



または



【0347】

である。

【0348】

[0329] 一部の実施形態において、コンジュゲートは、抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントにリンカーの第 1 の部分、およびオリゴヌクレオチドにリンカーの第 2 の部分を連結することによって産生される。抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントまたは治療分子にリンカーをコンジュゲートするステップは、リンカーと抗体、その抗原結合フラグメント、または治療剤の間にイオン結合、共有結合、非共有結合、またはこれらの組合せの産生を含み得る。抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントまたはオリゴヌクレオチドにリンカーをコンジュゲートするステップは、一部の 경우에는、Robert s ら, Advanced Drug Delivery Reviews 54: 459~476 (2002) に記載されるように実施され得る。リンカーは、二官能性リンカー、切断可能リンカー、切断不能リンカー、エチレングリコールリンカー、二官能性エチレングリコールリンカー、フレキシブルなリンカー、またはフレキシブルではないリンカーから選択され得る。リンカーは、シクロオクチン、シクロプロペ

ン、アリール／アルキルアジド、トランスシクロオクテン、ノルボレン、およびテトラジンから選択される化学基を含み得る。一部の実施形態において、リンカーの末端は、アルコキシアミンを含む。一部の実施形態において、リンカーの末端は、アジドまたはシクロオクチン基を含む。一部の実施形態において、抗体または抗体フラグメントまたは治療剤は、シクロオクチン、シクロプロペン、アリール／アルキルアジド、トランスシクロオクテン、ノルボレン、およびテトラジンから選択される化学基によってリンカーに結合され得る。抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントまたはオリゴヌクレオチドをリンカーに連結するステップは、1つまたは複数の銅フリー反応を実施するステップを含み得る。抗体または抗体フラグメントまたはオリゴヌクレオチドをリンカーに連結するステップは、1つまたは複数の銅含有反応を実行することを含み得る。抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントまたはオリゴヌクレオチドをリンカーに連結するステップは、1つまたは複数の環化付加を含み得る。抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントまたはオリゴヌクレオチドをリンカーに連結するステップは、1つまたは複数のヒュズゲン環化付加を含み得る。抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントまたはオリゴヌクレオチドをリンカーに連結するステップは、1つまたは複数のディールス・アルダー反応を含み得る。抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントまたはオリゴヌクレオチドをリンカーに連結するステップは、1つまたは複数のヘテロ・ディールス・アルダー反応を含み得る。一部の実施形態において、リンカーの末端は脱離基を含む。

10

20

【0349】

【0330】一部の実施形態において、本明細書に記載されるように、リンカーの第1の部分は、システインを含有する抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントと共有結合により相互作用する。一部の実施形態において、本明細書に記載されるように、リンカーの第1の部分は、システインを含有する抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントと共有結合により相互作用する。一部の実施形態において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチドは、リンカーの第2の部分と共有結合により相互作用する。一部の実施形態において、本明細書に記載のオリゴヌクレオチドは、リンカーの第2の部分と非共有結合により相互作用する。

【0350】

【0331】一部の実施形態において、ウイルスタンパク質p19ベースのsiRNA担体が考えられ、そのタンパク質は、siRNAに高い親和性を有することが示された。例えば、Yangら Cytosolic delivery of siRNA by ultra-high affinity dsRNA binding proteins, Nucleic Acids Res. 2017 Jul 27; 45(13): 7602~7614を参照。一部の例において、p19-siRNA複合体が生成され、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントに融合される。さらなる実施形態において、統計的または無作為コンジュゲーション方法は、抗体またはその抗原結合フラグメント内のCys、Lys、またはアルギニン残基を介する。

30

【0351】

【0332】抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント、およびsiRNAを含むADCの合成

40

【0333】一実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントおよびオリゴヌクレオチドを含むコンジュゲートは、抗体または抗原結合フラグメントおよびRNA分子（例えば、siRNA）の共有結合性コンジュゲーションによって開発される。そのような例示的なプロセスの第1のステップとして、システイン残基が重鎖内に導入された操作された抗TM4SF1抗体が生成される（それにより、抗TM4SF1 HCTHIOMABを産生する）。一部の例において、抗TM4SF1 thiomabは、siRNAとなど、RNA分子と結合するための少なくとも2つの別々の位置を提供する。例えば、1つのsiRNA分子は、抗TM4SF1 thiomabの各重鎖に結合され得る。コンジュゲーションプロセスの別々のまたは継続するステップにおいて、ペ

50

ブチジルプロピルイソメラーゼ B (PPIB、シクロフィリン B) を標的化する配列を有するパッセンジャー鎖に結合するための 3'-アミンによって改変された、化学的に安定な siRNA (例えば、siSTABLE ケミストリーを使用して合成される) が生成される。一部の実施形態において、コンジュゲーションは、還元性 N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルジチオ) ブチレート (SPDB) または非還元性スクシンイミジル 4-[N-マレイミドメチル] シクロヘキサン-1-カルボキシレート) (SMCC) NHS (N-ヒドロキシスクシンイミド) リンカーをさらに含む。一部の実施形態において、抗 TM4SF1 thiomab を使用して、本開示に記載の例示的なコンジュゲート分子は、少なくとも 2 つの主なステップを含む多段階プロセスで生成される: (i) チオール反応性 siRNA リンカー付加物を形成する、NHS リンカーとのアミンタグ siRNA の反応、および (ii) チオール-エステル結合を介して siRNA を共有結合により連結する THIOMAB のチオール基と付加物を反応させるステップ。例示的な ADC は、続いて陰イオン交換クロマトグラフィーを使用して精製され、遊離の siRNA を除去され、次いでサイズ排除クロマトグラフィーによって未結合の抗体を除去される。さらなる技術、例えばゲル電気泳動およびエレクトロスプレー TOF マススペクトロメトリーを次いで使用して、例示的な ADC の収率、ならびに抗体当たり 1 つまたは 2 つの連結した siRNA との単量体コンジュゲートなどの特徴を評価し得る。コンジュゲーションに用いることができるさらなる方法は、化学またはペプチドベースリンカー、化学または酵素的コンジュゲーション方法 (例えば、哺乳動物または細菌トランスグルタミナーゼを使用する)、またはこれらの任意の組合せの使用を含む。上記の任意のリンカーおよび/または方法が、コンジュゲートの抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントおよびオリゴヌクレオチドを結合するために使用され得る。

10

20

[0352]

[0334] 適切な結合方法を使用して、例えば、約 1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、もしくは 1:10 またはそれ以上の比でオリゴヌクレオチドに対して抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、本開示の ADC を生成することが可能である。一部の実施形態において、ADC は、1:1 の比でオリゴヌクレオチドに対して抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。これは、例えば、抗体の抗原結合フラグメントまたは部分、例えばシステイン操作された THIOMAB を含むハーフ抗体、Fab、または他のフラグメントを使用することによって達成され得る。一部の例において、ADC は、多元金属タンパク質 (例えば、ヘキサロジウムメタロペプチド) を利用して、分子認識に基づいて、タンパク質の改変を可能にするコンジュゲーション方法によってオリゴヌクレオチドにコンジュゲートされている全抗体を使用して、1:1 比の抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメント対オリゴヌクレオチドを含むように設計され得る。例えば、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントおよびオリゴヌクレオチドは、多元金属タンパク質による抗体の Fc ドメイン定常領域の分子認識に基づき、部位特異的抗体機能化を使用してコンジュゲートされ得る。一部の実施形態において、多元金属タンパク質は、抗体の Fc ドメインに結合するタンパク質の特異的部位に接着する 3 つのロジウム複合体を含む。結合時、多元金属タンパク質は、抗体へのオリゴヌクレオチドの部位特異的コンジュゲーションを触媒し得る。多元金属タンパク質を使用することの利点は、コンジュゲーション中に抗体内の残基を操作されることを避けることによるなど、抗体の破壊が最小限であることであり得る。

30

40

[0353]

[0335] 切断不能リンカー

[0336] 一部の実施形態において、切断不能リンカーは、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントとメイタンシンまたはその誘導体の間である。一部の実施形態において、切断不能リンカーは共有結合性リンカーである。一部の実施形態において、切断不能リンカーは、抗 TM4SF1 抗体またはその抗原結合フラグメントの N 末端、C 末端または内部アミノ酸位置に接着されている。一部の実施形態において、切断不能リンカーは、メイタンシンまたはその誘導体に共有結合性に接着されている。一部の実施形態にお

50

いて、切断不能リンカーは、メイタンシンまたはその誘導体のN、O、もしくはS、またはC₁～C₆アルキル、アルケニル、アルキニル、C₃～C₁₂シクロアルキル、C₅～C₁₂シクロアルケニル、C₈～C₁₆シクロアルキニル、C₆～C₁₂アリアル、5～12員ヘテロアリアル、または3～12員複素脂環式基の炭素原子を含むヘテロ原子に共有結合性に接着されている。

【0354】

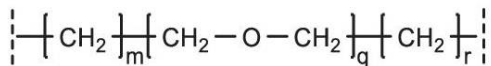
【0337】一部の実施形態において、切断不能リンカーは、C₁～C₆アルキレン、アルケニレン、3～7員環を有するシクロアルキレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、N、OまたはSの1～3原子を含む5～12員環を有するヘテロシクレン、-O-、-NH-、-S-、-N(C₁～C₆アルキル)-、-C(=O)-、-C(=O)NH-、またはこれらの組合せを含み、C₁～C₆アルキレン、アルケニレン、3～7員環を有するシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびN、OまたはSの1～3原子を含む5～12員環を有するヘテロシクレンは、非置換であるかまたはハライド、アミノ、-CF₃、C₁～C₃アルキル、C₃～C₆シクロアルキル、C₁～C₃アルコキシ、C₁～C₃アルコキシ、またはC₁～C₃アルキルチオによって置換されている。

【0355】

【0338】一部の実施形態において、切断不能リンカーは、

【0356】

【化19】



【0357】

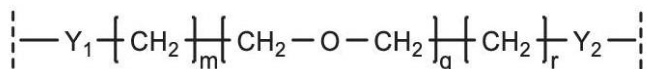
(式中、整数mは0～3であり、整数qは0～12であり、整数rは1～3である)を含む。

【0358】

【0339】一部の実施形態において、切断不能リンカーは、

【0359】

【化20】



【0360】

(式中、各Y₁およびY₂は、独立して結合、O、S、またはNR¹⁰⁰であり；R¹⁰⁰は、独立してH、重水素、C₁～C₆アルキル、C₃～C₆シクロアルキル、C₁～C₆アルキルであり；C₆～C₁₂アリアル、5～12員ヘテロアリアル、C₃～C₁₂シクロアルキル、または3～12員複素脂環式基、またはR₁が結合される窒素と共にR₁および切断不能リンカーの別の原子、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメント、またはメイタンシンが組み合わされ、N、O、およびSからなる群から選択される1～3個のさらなるヘテロ原子を含有してもよい3～12員複素脂環式または5～12員ヘテロアリアル基を形成し；整数mは0～3であり、整数qは0～12であり、整数rは1～3である)を含む。

【0361】

【0340】切断不能リンカーを含有する抗体薬物コンジュゲートの合成

【0341】切断不能リンカーを介する薬物への抗体の接着は、様々な方法で実施され得る。例えば、一方法は、抗体および薬物を別々に調製する。次いで、その末端に2つの異なる活性化／活性化可能基を有するリンカー試薬を調製する。2つの異なる活性化／活性化可能基は、それぞれ抗体および薬物と選択的に反応でき、それにより抗体薬物コンジュゲ

10

20

30

40

50

ートの合成が完了する。例えば、1つの活性化／活性化可能基は $\text{BrCH}_2\text{C}(=\text{O})-$ であってもよく、抗体のチオール基、特に表面チオール基と反応し、リンカーを抗体に接着することができる。別の活性化／活性化可能基は、活性化カルボニル、例えば塩化アシルまたは混合無水もしくは単にカルボン酸であってもよく、それは薬物のアミノ基と反応し得る。共有結合形成反応を使用して、リンカーを抗体または薬物に接着することができる。

【0362】

【0342】別の方法は、薬物の合成中にリンカー基またはそのフラグメントを組み込む。薬物の合成が完了した後、組み込まれたリンカー基またはそのフラグメントの改変は、リンカーの遊離末端に活性化／活性化可能基の付加／アンマスクをもたらす。新規に明らかになったリンカーの活性化／活性化可能基は、抗体の表面反応基（例えば、チオール基）と反応し得る。

10

【0363】

【0343】図1は、メイタンシン会合ADCの例およびその合成をもたらす経路の例を示す。

【0364】

6.7 ポリヌクレオチド

【0344】また、一部の実施形態において、抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントをコードするポリヌクレオチドも提供される。一部の実施形態において、ポリヌクレオチド分子は、DNAコンストラクトとして提供される。他の実施形態において、ポリヌクレオチド分子は、メッセンジャーRNA転写物として提供される。

20

【0365】

【0345】一部の例において、本発明の開示の抗TM4SF1抗体は、配列番号4、16、28、40、52、64、または76のいずれか1つに記載の核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメインを含む。一部の例において、本発明の開示の抗TM4SF1抗体は、配列番号10、22、34、46、58、70、または82のいずれか1つに記載の核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む。

【0366】

【0346】一部の実施形態において、宿主細胞、例えば、*E. coli*などの細菌、またはCHO細胞などの真核細胞での発現のためにコドンが最適化された核酸配列が提供される。一部の例において、核酸配列は、CHO細胞での発現のためにコドンが最適化されている。一部の例において、本発明の開示の抗TM4SF1抗体は、配列番号5、17、29、41、53、65、または77のいずれか1つに記載のコドンが最適化された核酸配列によってコードされた重鎖可変ドメインを含む。一部の例において、本発明の開示の抗TM4SF1抗体は、配列番号11、23、35、47、59、71、または83のいずれか1つに記載のコドンが最適化された核酸配列によってコードされた軽鎖可変ドメインを含む。特定の場合において、配列番号5、17、29、41、53、65、または77のいずれか1つの核酸配列は、CHO細胞での発現のためにコドンが最適化された核酸配列である。特定の場合において、配列番号11、23、35、47、59、71、または83のいずれか1つの核酸配列は、CHO細胞での発現のためにコドンが最適化された核酸配列である。

30

40

【0367】

【0347】ポリヌクレオチド分子は、公知の方法によって、例えば、好適なプロモーターに、および任意選択で好適な転写ターミネーターに連結された遺伝学的コンストラクトに、結合タンパク質をコードする遺伝子を取り込ませ、それを細菌または他の適切な発現系、例えばCHO細胞などで発現することによって構築される。利用されるベクター系および宿主に応じて、構成的および誘導性プロモーターを含む様々な好適な転写および翻訳エレメントを使用することができる。プロモーターは、それがそれぞれの宿主細胞においてポリヌクレオチドの発現を駆動するように選択される。

【0368】

50

【0348】一部の実施形態において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、ベクター、好ましくは発現ベクターに挿入され、これは、さらなる実施形態の一つに相当する。この組換えベクターは、公知の方法に従って構築することができる。特に興味深いベクターとしては、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、ウイルス（*virii*）（例えば、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、レンチウイルスなど）、およびコスミドが挙げられる。

【0369】

【0349】様々な発現ベクター／宿主系が、記載されたTM4SF1結合タンパク質のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含有および発現するのに利用することができる。E. coliでの発現のための発現ベクターの例は、pSKK（Le Gallら、J Immunol Methods.（2004）285（1）：111～27）であり、または哺乳類細胞での発現のためには、pcDNA5（Invitrogen）である。

10

【0370】

【0350】したがって、本明細書に記載されるTM4SF1結合タンパク質は、一部の実施形態において、上述したタンパク質をコードするベクターを宿主細胞に導入し、宿主細胞を、タンパク質ドメインが発現される条件下で培養することによって産生され、これらは単離してもよいし、任意選択でさらに精製してもよい。

【0371】

6.8 処置の方法

20

【0351】本開示は、内皮細胞（EC）特異的であるが、例えば、EC-EC、EC-間葉幹細胞、EC-繊維芽細胞、EC-平滑筋細胞、EC-腫瘍細胞、EC-白血球、EC-脂肪細胞、およびEC-神経細胞相互作用に限定されない細胞-細胞相互作用を阻害する方法をさらに提供する。特定の実施形態において、本開示の抗TM4SF1抗体およびフラグメントを含有するADCは、異常なEC-細胞相互作用によって特徴付けられる病態を有する任意のヒトの疾患または障害を処置するために使用され得る。特定の実施形態において、EC-細胞相互作用は、EC-白血球相互作用であり、EC-白血球相互作用の阻害は炎症を予防するために使用される。

【0372】

【0352】他の実施形態において、本開示は、対象における疾患または障害を処置または予防する方法に注目し、疾患または障害は、異常な内皮細胞（EC）-細胞相互作用を特徴とし、方法は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントを投与するステップを含む。特定の実施形態において、EC-細胞相互作用は、EC-間葉幹細胞、EC-繊維芽細胞、EC-平滑筋細胞、EC-腫瘍細胞、EC-白血球、EC-脂肪細胞、およびEC-神経細胞相互作用の1つまたは複数を含む。例示的な実施形態において、疾患は、炎症性疾患または障害であり、本開示の抗体およびフラグメントは、EC-白血球相互作用を阻害するために使用される。別の例示的な実施形態において、疾患または障害は、炎症性疾患またはがんから選択される。白血球の血管内皮への付着は、炎症工程の顕著な特徴である。したがって、一実施形態において、本開示の抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含有するADCは炎症性疾患を処置するために使用され、白血球の内皮細胞への接着、または内皮を通る白血球遊出の阻害は処置に有用である（例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれるRychlyら、Curr Pharm Des. 2006；12（29）：3799～806参照）。例としては、限定はされないが、敗血症、炎症性腸疾患、乾癬、または多発性硬化症が挙げられる。

30

【0373】

【0353】米国だけでも、毎年およそ50万人の患者ががんにより死亡する。腫瘍転移は、これらの死の約90%の原因である。転移を遮断する治療は公知ではない。本開示は、新規の標的、TM4SF1によって媒介される腫瘍細胞（TC）-内皮細胞（EC）相互作用の免疫遮断に基づいてがんを処置し、転移細胞を阻害することができる抗体およびその抗原結合フラグメントを提供する。

40

50

【0374】

【0354】上記のように、TM4SF1は、元々は、TC浸潤および転移における役割を有するTC抗原として発見された小さい、テトラスパニン様、細胞表面糖タンパク質である。TM4SF1は、TCおよびECによって選択的に発現される。TM4SF1は、マウスとヒトの両方において正常組織に供給する血管ECに低レベルで発現される。TM4SF1は、多くのヒトがんにおいて正常組織に供給する血管の内側にある血管ECに約10～20倍の高レベルで発現され、培養ECに同等の高レベルで発現されることが示されている。TM4SF1濃縮マイクロドメイン(TMED)は細胞表面タンパク質様インテグリンを動員し、ナノポディア、細胞表面から伸びた薄膜チャネルの形成を補助し、細胞-細胞相互作用を媒介する。したがって、特定の例において、本明細書に記載の抗TM4SF1抗体およびフラグメントを含有するADCは、ナノポディア媒介相互作用を干渉し、TC血管外遊出に必要であるTCのECとの相互作用を阻害する。

10

【0375】

【0355】本開示のADCは、病的血管新生(例えば、がん、例えば乳がん、卵巣がん、腎臓がん、結腸直腸がん、肝臓がん、胃がん、および肺がん；肥満；黄斑変性症；糖尿病性網膜症；乾癬；リウマチ性関節炎；細胞性免疫；および酒さに関連する障害を有する対象(例えばヒト)を処置するために製剤化され得る。

【0376】

【0356】TM4SF1は、ほとんどの上皮TCの表面に高度に発現され、腫瘍血管の内側にあるECおよび培養ECにおいても高度に発現される。それは、正常血管ECの表面に約10～20分の1の低レベルで発現される。マウスモデルでは、肺への腫瘍転移は、ECとTCの両方でのTM4SF1発現と関連する。転移は、血管ECへのTCの最初の接着、および肺または他の転移部位に侵入するECを通るそれらのその後の遊走を必要とする。以下の例は、一部の例において、本開示の抗TM4SF1抗体が培養においてTC-EC相互作用と干渉し、インビボで腫瘍転移も阻害し得ることを示す。

20

【0377】

【0357】したがって、本開示のADCは、転移の初期段階、すなわち、血管ECへのTC接着および／またはECを通るTCの遊出の1つまたは両方を遮断するために使用され、それによりリスクのあるがん患者における転移を予防するかまたは転移の数を実質的に低減することができる。

30

【0378】

【0358】本開示は、転移を予防する方法をさらに提供する。ヒト腫瘍は、典型的には増殖の初期に血液およびリンパにTCを流す；それゆえに、原発性腫瘍の早期処置は転移がまだ起こっていないという保証を与えない。したがって、TM4SF1の免疫遮断は、血行性転移を処置もしくは予防するため、またはリンパ性転移を処置もしくは予防するために使用され得る。

【0379】

【0359】本開示の方法は、一部の実施形態において、対象における転移細胞を阻害するステップに向けられる。一実施形態において、対象は、がん、例えば転移と関連するがんまたはすでに転移したがんを有する。他の実施形態において、対象はすでにがんを処置され、寛解または部分寛解であり、本明細書に記載の抗TM4SF1抗体またはフラグメントを含有するADCを投与するステップの利点は、それらが転移を予防し、寛解または部分寛解を維持するために作用することである。

40

【0380】

【0360】特定の実施形態において、本開示は、転移発生のリスクが高いヒトを処置する方法を提供し、本明細書に記載の抗TM4SF1抗体およびフラグメントを含有するADCの投与は、転移の発生を阻害または遅延するために使用され得る。

【0381】

【0361】本開示には、抗TM4SF1抗体を、それを必要とする対象に投与するステップにより、腫瘍転移、特に肺への転移を遮断する方法が含まれる。一部の例において、抗

50

T M 4 S F 1 抗体はヒト抗 T M 4 S F 1 抗体であり、本明細書において抗 h T M 4 S F 1 とも呼ばれる。特定の実施形態において、方法は、有効量の抗 h T M 4 S F 1 抗体を含有する A D C のそれを必要とする対象への投与を含み、有効量の抗体は、血管内皮細胞 (E C) への腫瘍細胞 (T C) の接着および血管内皮細胞 (E C) を通る遊走を防止する。

【 0 3 8 2 】

【 0 3 6 2 】 特定の実施形態において、抗 T M 4 S F 1 抗体を含有する A D C は、投与量および頻度が長期の T M 4 S F 1 免疫遮断を維持するように、がんを有する対象または転移を有するリスクのある対象に投与される。投与レジメンは、対象の正常血管 E C に発現する T M 4 S F 1 を飽和するのに十分な量で対象に抗 T M 4 S F 1 抗体を含有する A D C を投与するステップにより T M 4 S F 1 媒介転移を最大限に阻害する。

10

【 0 3 8 3 】

【 0 3 6 3 】 特定の実施形態において、投与される抗 T M 4 S F 1 抗体を含有する A D C 、またはその抗原結合フラグメントの有効量は、1週間で循環抗体濃度 $> 1 \mu\text{g} / \text{mL}$ を達成するのに十分な量である。

【 0 3 8 4 】

【 0 3 6 4 】 特定の実施形態において、投与される抗 T M 4 S F 1 抗体を含有する A D C 、またはその抗原結合フラグメントの有効量は、抗体の血清濃度を約1カ月間継続して $1 \mu\text{g} / \text{mL}$ 以上に維持するのに十分な量である。

【 0 3 8 5 】

【 0 3 6 5 】 一実施形態において、本開示は、有効量の抗 T M 4 S F 1 抗体を含有する A D C 、またはその抗原結合フラグメントを対象に投与するステップを含むヒト対象における転移を処置または予防する方法を提供し、抗体、またはその抗原結合フラグメントの有効量は、 $1 \sim 80 \text{mg} / \text{kg}$ の量の抗体、またはその抗原結合フラグメントを含む。

20

【 0 3 8 6 】

【 0 3 6 6 】 本開示の A D C の治療用途のための投与の様式は、抗体を宿主に送達する任意の好適な経路、例えば錠剤、カプセル剤、溶液、粉末、ゲル、粒子の、およびシリンジ、移植装置、浸透圧ポンプ、カートリッジ、マイクロポンプに含有される製剤を使用する、非経口投与、例えば皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内または皮下、肺、経粘膜（経口、鼻腔内、膣内、直腸）、または当業者によって認められ、当技術分野で周知の他の手段であり得る。部位特異的投与は、例えば、関節内 (i n t r a r t i c u l a r) 、気管支内、腹内、嚢内、軟骨内、体腔内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、子宮頸部内、胃内、肝臓内、心臓内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、腹膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、関節滑液嚢内、胸腔内、子宮内、血管内、膀胱内、病巣内、膣、直腸、頬側、舌下、鼻腔内、または経皮送達によって達成され得る。

30

【 0 3 8 7 】

【 0 3 6 7 】 一部の実施形態において、本開示の A D C は、対象に、任意の好適な経路によって、例えば静脈内 (i . v .) 注入またはボラス注射により非経口的に (p a r e n t a l l y) 、筋肉内または皮下または腹腔内に投与され得る。i . v . 注入は、例えば15、30、60、90、120、180、もしくは240分にわたって、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11もしくは12時間から与えられ得る。一部の実施形態において、対象に与えられる用量は、約 $0.005 \text{mg} \sim 100 \text{mg} / \text{kg}$ 、例えば約 $0.05 \text{mg} \sim 30 \text{mg} / \text{kg}$ または約 $5 \text{mg} \sim 25 \text{mg} / \text{kg}$ 、または約 $4 \text{mg} / \text{kg}$ 、約 $8 \text{mg} / \text{kg}$ 、約 $16 \text{mg} / \text{kg}$ または約 $24 \text{mg} / \text{kg}$ 、または例えば約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4、5、6、7、8、9または $10 \text{mg} / \text{kg}$ である。特定の実施形態において、対象に与えられる用量は、例えば約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40、50、60、70、80、90または $100 \text{mg} / \text{kg}$ である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、静脈内投与を介して約 $0.1 \text{mg} / \text{kg} \sim 10 \text{mg} / \text{kg}$ であり得る。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、皮下投与を介して約 $0.1 \text{mg} / \text{kg} \sim 10 \text{mg} / \text{kg}$ であ

40

50

る。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、静脈内投与を介して約 0.1 mg/kg である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、皮下投与を介して約 0.1 mg/kg である。一部の実施形態において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、静脈内投与を介して約 0.3 mg/kg である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、皮下投与を介して約 0.3 mg/kg である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、静脈内投与を介して約 1.0 mg/kg である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、皮下投与を介して約 1.0 mg/kg である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、静脈内投与を介して約 3.0 mg/kg である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、皮下投与を介して約 3.0 mg/kg である。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、静脈内投与を介して約 10.0 mg/kg であり得る。一部の例において、対象に与えられる本開示の抗体の用量は、皮下投与を介して約 10.0 mg/kg である。

10

20

30

40

50

【0388】

[0368] 特定の実施形態において、本開示の抗体の固定単位用量、例えば 50 、 100 、 200 、 500 または 1000 mg が与えられ、または用量は患者の表面積、例えば 500 、 400 、 300 、 250 、 200 、または 100 mg/m^2 に基づき得る。一部の例において、 $1 \sim 8$ の間の用量（例えば、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 または 8 ）が投与され、患者を処置するが、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 、 20 またはそれ以上の用量が与えられる。

【0389】

[0369] 本明細書に記載の本開示のADCの投与は、一部の実施形態において、 1 日、 2 日、 3 日、 4 日、 5 日、 6 日、 1 週間、 2 週間、 3 週間、 1 カ月、 5 週間、 6 週間、 7 週間、 2 カ月、 3 カ月、 4 カ月、 5 カ月、 6 カ月またはそれ以上の後に反復される。慢性投与として、処置の反復コースも可能である。反復投与は、同じ用量または異なる用量である。一部の例において、本明細書に記載の本開示のADCは、 8 週間の間 1 週間間隔で 8 mg/kg または 16 mg/kg 、続いてさらに 16 週間の間 2 週間毎に 8 mg/kg または 16 mg/kg での投与、続いて静脈内注入によって 4 週間毎に 8 mg/kg または 16 mg/kg での投与で投与される。代わりに、一部の実施形態において、本明細書に記載の本開示のADCは、 17 週間の間 1 週間間隔で $0.1 \text{ mg/kg} \sim 10 \text{ mg/kg}$ の間で投与される。例えば、一部の場、本開示の抗体は 1 日投与量として、 24 、 12 、 8 、 6 、 4 、または 2 時間毎の単回または分割用量、または任意のそれらの組合せを使用して、処置の開始後少なくとも 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 、 20 、 21 、 22 、 23 、 24 、 25 、 26 、 27 、 28 、 29 、 30 、 31 、 32 、 33 、 34 、 35 、 36 、 37 、 38 、 39 、または 40 日目の少なくとも 1 日、または代わりに、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 、または 20 週目の少なくとも 1 週、またはそれらの任意の組合せに、 1 日当たり、約 $0.1 \sim 100 \text{ mg/kg}$ 、例えば 0.5 、 0.9 、 1.0 、 1.1 、 1.5 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 、 20 、 21 、 22 、 23 、 24 、 25 、 26 、 27 、 28 、 29 、 30 、 40 、 45 、 50 、 60 、 70 、 80 、 90 、または 100 mg/kg の量で提供される。一部の実施形態において、本明細書に記載の本開示のADCは、炎症性疾患、例えばRA、乾癬性関節炎または乾癬の発症のリスクを低減するため、炎症性疾患、例えばRA、乾癬性関節炎または乾癬の進行における事象の出現の発病を遅らせるために予防的に投与される。一部の例において、本開示のADCは、貯蔵のために凍結乾燥され、使用前に好適な担体で再構成される。一部の場、本開示の抗体は、フリップオフキャップの栓およびアルミニウムシールを有するガラスバイアル中の滅菌された凍結液体として供給される。一部の例において、各バイアルは、 $\text{pH } 5.8$ の 10 mM ヒスチジン、 8.5% (w/v) スクロース、および 0.04% (w/v) ポリソルベート 80 の製剤中 3.3 mL の抗体の 50 mg/mL

溶液（１０％過剰量を含む）を含有するＡＤＣを含有する場合がある。一部の例において、バイアルは保存剤を含有せず、単回使用用である。バイアルは凍結して保存され、光から保護される。ＩＶ投与のための調製をするため、ＡＤＣ製剤は、一部の例において、滅菌希釈剤に希釈される前に０．２２ミクロンフィルターによって濾過される。一部の例において、およそ１００ｍＬまで体積を合わせた希釈ＡＤＣは、インライン０．２２ミクロンフィルターを使用して少なくとも３０分の期間にわたってＩＶ注入によって投与される。代わりに、一部の実施形態において、ＡＤＣは、約３．３ｍＬ中約５０ｍｇ／ｍＬ抗体を含有する１または２回の皮下注射として投与される。皮下注射部位は、例えば、腹部領域内であってよい。

【０３９０】

【０３７０】患者の処置

【０３７１】本開示の組成物または単位剤形は、がんの形態を有する患者に同時に投与され得る。一部の実施形態において、組成物が投与され、腫瘍増殖が阻害される。一部の実施形態において、組成物は、腫瘍の明確な証拠または診断がなくても、その保護効果のために投与される。高齢者は、歳を取ると一部の型の腫瘍を発症し得るため、本開示のＡＤＣを使用する予防処置は、この患者集団においてその抗腫瘍効果のために有益であり得る。

【０３９１】

【０３７２】一部の実施形態において、本開示は、がんを有する患者の処置に向けられる。一部の実施形態において、がんは血管肉腫である。本明細書で使用される場合、用語「血管肉腫」（ＨＳＡ）は、血管内皮で生じるがんを指し得る。ＨＳＡは、心臓、血管、リンパ、および脾臓のいずれかの内側で生じ得る。しかしながら、ＨＳＡは、心臓、心膜および脾臓を好む。ヒトに加えて、本開示の方法は、本開示に記載のＡＤＣを使用して、任意の種において血管肉腫を処置し得る。

【０３９２】

【０３７３】一部の実施形態において、ヒトで生じる他の型のがんも同様に処置の標的とされ得る。本開示のＡＤＣによって処置され得るヒトがんの型の例は、限定はされないが、肉腫、癌腫、および腺癌を含み得る。がんまたは悪性腫瘍は、それらが発症する組織の型によって分類され得る。がんの広範な分割は、上皮組織から生じる癌腫、腫瘍、および全ての他の組織から生じる肉腫を分ける。上皮は、身体の内側または外部表面を覆う組織である。したがって、例えば、皮膚、口の内側、胃、腸、および膀胱は全て上皮組織である。

【０３９３】

【０３７４】癌腫のカテゴリー内で、それらが由来し得る異なる上皮の型に相当する多くの細分があり得る。したがって、扁平上皮と呼ばれる上皮の型からなる皮膚は、扁平上皮癌を生じ得る。皮膚には他の上皮細胞も存在し、基底細胞は基底細胞癌を生じ、メラノサイトはメラノーマを生じ得る。

【０３９４】

【０３７５】腺癌は、腺細胞に生じるがんである。腺癌は、肺において、気管支の小さい腺から；胃において、その内側のいくつかの型の腺の１つから、結腸、乳、卵巣、精巣、前立腺、肺および他の位置において生じ得る。異なる器官から生じる腺癌は、それらが転移した異なる位置、例えば肝臓から取られた場合でさえも、病理学者によって顕微鏡で同定されることが多い。したがって、それは肝臓に転移した胃の腺癌を指すか、または肺に転移した結腸からのものを指し得る。

【０３９５】

【０３７６】本発明の化合物、医薬組成物、または単位剤形は、いずれの潜在的な毒性も最小にしながら最適な活性を得るため、通常の試験によって既定された適切な投与量で単独で投与され得る。

【０３９６】

【０３７７】処置の投与量

【０３７８】本開示のＡＤＣの一日投与量は、様々な因子、例えば基礎疾患状態、個々の型

10

20

30

40

50

、種、および健康状態、体重、性別、年齢、処置される状態の重症度；投与の経路；ならびに用いられるその特定の化合物によって変わり得る。当業者の医師または獣医師は、状態の進行を予防、対抗、または停止するのに必要な薬物の有効量を容易に決定および処方することができる。毒性をもたらさずに有効性を生じる範囲内の薬物の濃度を達成する最適な処方、標的部位への薬物の利用可能性の動力学に基づくレジメンを必要とし得る。これは、容易に定量される、薬物の吸収、分配、代謝、および排泄の検討を含み得る。

【0397】

【0379】医薬組成物または単位剤形は、単回の一日量で投与されるか、または総一日投与量が1日2、3、または4回の分配用量で投与されてもよい。一部の実施形態において、投与レジメンの投与は、毎日、1日置き、3日置き、毎週、隔週、毎月、隔月、半年に1回、または年1回であり得る。

10

【0398】

【0380】さらに、他の活性剤の共投与または順投与が望ましいことがある。1つより多くの活性剤による組合せ処置のため、活性剤は別の投与製剤中であり、活性剤は同時に投与されてもよく、またはそれぞれ時差で別々に投与されてもよい。投与量は、上記のように他の活性剤と組み合わせる場合、所望の効果を達成するため調整され得る。一方、これらの様々な活性剤の単位剤形は、独立して最適化され、組み合わせ、それぞれの活性剤が単独で使用された場合よりも病変が減少される相乗的な結果を達成し得る。

【0399】

【0381】本開示により、投与は、少なくとも所定の処置ウィンドウ中、製剤の抗転移効果を持続するように、継続および定期的でなければならない。一部の実施形態において、投与は無期限に延長する。

20

【0400】

【0382】本開示の製剤は、腫瘍発生の予防薬として診断前の任意の時点で投与され、好ましくは脾臓摘出後に転移を阻害する。本開示において、患者の寿命は、平均生存期間が80日より長く、好ましくは、400日より長く、最も好ましくは500日より長く延長する。

【0401】

【0383】本明細書で使用される場合、「寿命の延長」は、がんのみの予後を指し得る。

【0402】

30

【0384】臨床的利点および使用

【0385】本開示は、がん、特に血管肉腫の最初の処置レジメンを提供する。本レジメンは、転移を阻害することにより動物の寿命を延長するだけでなく、がんに関連する腫瘍の再発に対する製剤としても使用され得る。さらに、本発明は、腫瘍退縮および正常な血液学的プロファイルを促進する。本明細書に開示のADSを含む組成物の投与により、動物は体重減少を経験せず、外皮の手触りが改善し得る。また、本明細書に開示のADCの投与は、神経学的な症状を伴わない。

【0403】

6.9 医薬組成物

【0386】本開示のADCは、一部の実施形態において、組成物（例えば、医薬組成物）に含まれ得る。本開示の医薬組成物は、医薬的に許容される担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含み得る。

40

【0404】

【0387】本明細書で使用する用語「医薬組成物」は、医薬的に許容される担体によって製剤化される本明細書に記載のTM4SF1結合タンパク質を含有する組成物を指し、哺乳動物における疾患の処置のための治療レジメンの一部として政府規制機関の認可により製造または販売される。医薬組成物は、例えば、単位剤形（例えば、錠剤、カプセル剤、カプレット、ゲルカップ、またはシロップ）での経口投与のため、局所投与のため（例えば、クリーム、ゲル、ローション、または軟膏として）、静脈内投与のため（例えば、粒状塞栓のない滅菌溶液としておよび静脈内使用に適した溶媒系で）、または本明細書に記

50

載の任意の他の製剤で製剤化され得る。

【0405】

[0388] 本明細書で使用する用語「医薬的に許容される担体」は、それにより投与されるタンパク質の治療特性を保持しながら処置される哺乳動物（例えば、ヒト）に生理的に許容される担体を指す。1つの例示的な医薬的に許容される担体は、生理食塩水である。他の生理的に許容される担体およびそれらの製剤は当業者に公知であり、例えば参照により本明細書に組み込まれる Remington's Pharmaceutical Sciences (18th edition, A. Gennaro, 1990, Mack Publishing Company, Easton, PA) に記載される。

【0406】

[0389] 抗 T M 4 S F 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを含有する ADC を含有する医薬組成物は、一部の実施形態において、吸入可能剤形として、鼻腔内剤形として、リポソーム製剤、ナノ粒子を含む剤形、マイクロ粒子を含む剤形、ポリマー剤形、またはそれらの任意の組合せとして、溶液、グリセロール中分散液、液体ポリエチレングリコール、および油中、固体剤形中のそれらの任意の組合せとして調製される。

【0407】

[0390] 医薬的に許容される賦形剤は、一部の例において、Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association (1986) に記載の賦形剤である。好適な賦形剤の非限定的な例としては、緩衝剤、保存剤、安定剤、結合剤、圧縮剤、潤滑剤、キレート剤、分散強化剤、崩壊剤、風味剤、甘味料、着色料が挙げられる。

【0408】

[0391] 一部の実施形態において、賦形剤は緩衝剤である。好適な緩衝剤の非限定的な例としては、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、炭酸水素マグネシウム、炭酸カルシウム、および炭酸水素カルシウムが挙げられる。緩衝剤としては、一部の実施形態において、本開示の医薬組成物において、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、水酸化マグネシウム、乳酸マグネシウム、グルコン酸マグネシウム (magnesium glucomate)、水酸化アルミニウム、クエン酸ナトリウム、酒石酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、ポリリン酸カリウム、ピロリン酸ナトリウム、ピロリン酸カリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸三カリウム、メタリン酸カリウム、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、炭酸マグネシウム、ケイ酸マグネシウム、酢酸カルシウム、グリセロリン酸カルシウム、塩化カルシウム、水酸化カルシウム、および他のカルシウム塩またはそれらの組合せが使用される。

【0409】

[0392] 一部の実施形態において、賦形剤は保存剤を含む。好適な保存剤の非限定的な例としては、抗酸化剤、例えば α トコフェロールおよびアスコルビン酸塩、ならびに抗菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、およびフェノールが挙げられる。一部の例において、抗酸化剤としては、限定はされないが、EDTA、クエン酸、アスコルビン酸、ブチルヒドロキシトルエン (BHT)、ブチルヒドロキシアニソール (BHA)、亜硫酸ナトリウム、p-アミノ安息香酸、グルタチオン、没食子酸プロピル、システイン、メチオニン、エタノールおよび N-アセチルシステインがさらに挙げられる。一部の例において、保存剤としては、バリダマイシン A、TL-3、オルトバナジウム酸ナトリウム、フッ化ナトリウム、N-アートシル-Phenylクロロメチルケトン、N-アートシル-Lysineクロロメチルケトン、アプロチニン、フッ化フェニルメチルスルホニル、ジイソプロピルフルオロリン酸、キナーゼ阻害剤、ホスファターゼ阻害剤、カスパーゼ阻害剤、グランザイム阻害剤、細胞接着阻害剤、細胞分裂阻害剤、細胞周期阻害剤、脂質シグナル伝達阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、還元剤、アルキル化剤、抗菌剤、オキシダーゼ阻害剤、または他の阻害剤が挙げられる。

【0410】

【0393】一部の実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、賦形剤として結合剤を含む。好適な結合剤の非限定的な例としては、デンプン、アルファ化デンプン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリビニルオキサゾリドン (polyvinyl oxazolidone)、ポリビニルアルコール、C12~C18 脂肪酸アルコール、ポリエチレングリコール、ポリオール、サッカリド、オリゴサッカリド、およびこれらの組合せが挙げられる。医薬製剤に使用される結合剤は、一部の例において、デンプン、例えばジャガイモデンプン、トウモロコシデンプン、コムギデンプン；糖、例えばスクロース、グルコース、デキストロース、ラクトース、マルトデキストリン；天然および合成ゴム；ゼラチン；セルロース誘導体、例えば結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース；ポリビニルピロリドン（ポビドン）；ポリエチレングリコール（PEG）；ワックス；炭酸カルシウム；リン酸カルシウム；アルコール、例えばソルビトール、キシリトール、マンニトール、および水またはこれらの任意の組合せから選択される。

10

【0411】

【0394】一部の実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、賦形剤として潤滑剤を含む。好適な潤滑剤の非限定的な例としては、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、水添植物油、ステロテックス、モノステアリン酸ポリオキシエチレン、滑石、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウムおよび軽油が挙げられる。医薬製剤に使用される潤滑剤は、一部の実施形態において、ステアリン酸金属塩類（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウム）、脂肪酸エステル（例えば、フマル酸ステアリルナトリウム）、脂肪酸（例えば、ステアリン酸）、脂肪アルコール、ベヘン酸グリセリル、鉱油、パラフィン、水添植物油、ロイシン、ポリエチレングリコール（PEG）、ラウリル硫酸金属塩類（metallic lauryl sulphate）（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム）、塩化ナトリウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、および滑石またはこれらの組合せから選択される。

20

【0412】

【0395】一部の実施形態において、医薬製剤は賦形剤として分散強化剤を含む。好適な分散剤の非限定的な例としては、一部の例において、デンプン、アルギン酸、ポリビニルピロリドン、グアーゴム、カオリン、ベントナイト、精製木材セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、イソアモルファスシリケート、および高HLB乳化剤界面活性剤としての結晶セルロースが挙げられる。

30

【0413】

【0396】一部の実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、賦形剤として崩壊剤を含む。一部の実施形態において、崩壊剤は非起泡性崩壊剤である。好適な非起泡性崩壊剤の非限定的な例としては、デンプン、例えばトウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、これらのアルファ化および修飾デンプン、甘味料、粘土、例えばベントナイト、結晶セルロース、アルギン酸塩、デンプングリコール酸ナトリウム、ゴム、例えばカンテン、ガウア、イナゴマメ、カラヤ、ペシチン (pectin)、およびトラガカントが挙げられる。一部の実施形態において、崩壊剤は起泡性崩壊剤である。好適な起泡性崩壊剤の非限定的な例としては、クエン酸と組み合わせた炭酸水素ナトリウムおよび酒石酸と組み合わせた炭酸水素ナトリウムが挙げられる。

40

【0414】

【0397】一部の実施形態において、賦形剤は風味剤を含む。外層に組み込まれる風味剤は、一部の例において、合成風味油および風味香料；天然油；植物、葉、花および果物からの抽出物ならびにこれらの組合せから選択される。一部の実施形態において、風味剤は、ケイヒ油；ウインターグリーン油；ハッカ油；クローバー油；干し草油；アニス油；ユ

50

ーカリ；バニラ；柑橘類の油、例えばレモン油、オレンジ油、ブドウおよびグレープフルーツ油；ならびにリンゴ、モモ、セイヨウナシ、イチゴ、ラズベリー、サクランボ、プラム、パイナップルおよびアブリコットを含む果実エキスからなる群から選択され得る。

【0415】

[0398] 一部の実施形態において、賦形剤は、甘味料を含む。好適な甘味料の非限定的な例としては、グルコース（コーンシロップ）、デキストロース、転化糖、フルクトースおよびこれらの混合物（担体として使用されない場合）；サッカリンおよびその様々な塩、例えばナトリウム塩；ジペプチド甘味料、例えばアスパルテーム；ジヒドロカルコン化合物、グリチルリジン；ステビア（*Stevia Rebaudiana*）（ステビオシド）；スクロースのクロロ誘導体、例えばスクラロース；および糖アルコール、例えばソルビトール、マンニトール、シリトール（*sylitol*）などが挙げられる。

10

【0416】

[0399] 一部の例において、本明細書に記載の医薬組成物は、着色料を含む。好適な着色料の非限定的な例としては、食品、医薬品および化粧品色素（*FD & C*）、医薬品および化粧品色素（*D & C*）、ならびに外用医薬品および化粧品色素（*Ext. D & C*）が挙げられる。着色料は、染料またはこれらの対応するレーキとして使用され得る。

【0417】

[0400] 一部の例において、本明細書に記載の医薬組成物は、キレート剤を含む。一部の場合、キレート剤は殺真菌性キレート剤である。例としては、限定はされないが、以下が挙げられる：エチレンジアミン-*N*, *N*, *N*' , *N*' -四酢酸（*EDTA*）；*EDTA*の 20
ニナトリウム、三ナトリウム、四ナトリウム、二カリウム、三カリウム、二リチウムおよびニアンモニウム塩；*EDTA*のバリウム、カルシウム、コバルト、銅、ジスプロシウム、ユーロピウム、鉄、インジウム、ランタン、マグネシウム、マンガン、ニッケル、サマリウム、ストロンチウム、または亜鉛キレート；トランス-1, 2-ジアミノシクロヘキサ-*N*, *N*, *N*' , *N*' -四酢酸一水和物；*N*, *N*-ビス（2-ヒドロキシエチル）グリシン；1, 3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパン-*N*, *N*, *N*' , *N*' -四酢酸；1, 3-ジアミノプロパン-*N*, *N*, *N*' , *N*' -四酢酸；エチレンジアミン-*N*, *N*' -二酢酸；エチレンジアミン-*N*, *N*' -二プロピオン酸二塩酸塩；エチレンジアミン-*N*, *N*' -ビス（メチレンホスホン酸）半水和物；*N*-（2-ヒドロキシエチル）エチレンジアミン-*N*, *N*' , *N*' -三酢酸；エチレンジアミン-*N*, *N*, *N*' , *N*' -テトラキス（メチレン 30
ホスホン酸）；*O*, *O*' -ビス（2-アミノエチル）エチレングリコール-*N*, *N*, *N*' , *N*' -四酢酸；*N*, *N*-ビス（2-ヒドロキシベンジル）エチレンジアミン-*N*, *N*-二酢酸；1, 6-ヘキサメチレンジアミン-*N*, *N*, *N*' , *N*' -四酢酸；*N*-（2-ヒドロキシエチル）イミノ二酢酸；イミノ二酢酸；1, 2-ジアミノプロパン-*N*, *N*, *N*' , *N*' -四酢酸；ニトリロ三酢酸；ニトリロ三プロピオン酸；ニトリロトリス（メチレンホスホン酸（*methylenephosphoric acid*））の三ナトリウム塩；7, 19, 30-トリオキサ-1, 4, 10, 13, 16, 22, 27, 33-オクタアザビシクロ[11, 11, 11]ペンタトリアコンタンヘキサヒドロプロミド；またはトリエチレントトラミン-*N*, *N*, *N*' , *N*' ' , *N*' ' ' , *N*' ' ' -六酢酸。

30

【0418】

[0401] また、本明細書で開示される抗 *TM4SF1* 抗体および 1 つまたは複数の他の抗菌剤または抗真菌剤、例えば、ポリエン、例えば、アンホテリシン B、アンホテリシン B 脂質複合体（*ABCD*）、リポソーム型アンホテリシン B（*L-AMB*）およびリポソーム型ナイスタチン、アゾールおよびトリアゾール、例えばポリコナゾール、フルコナゾール、ケトコナゾール、イトラコナゾール、ポサコナゾール（*posaconazole*）など；グルカンシンターゼ阻害剤、例えば、カスポファンギン、ミカファンギン（*FK463*）、および *V-エキノカンジン*（*LY303366*）；グリセオフルビン；アリルアミン、例えば、テルビナフィン；フルシトシンまたは本明細書に記載されるそれらを含む他の抗真菌剤を含む組合せ製品が考えられる。さらに、ペプチドは、局所抗真菌剤、例えば、シクロピロックスオラミン、ハロプロジン、トルナフテート、ウンデシレン酸塩、

40

50

局所ナイスタチン（nysatin）、アモロルフィン、ブテナフィン、ナフチフィン、テルビナフィンおよび他の局所薬剤と組み合わせられ得ると考えられる。一部の例において、医薬組成物は、さらなる薬剤を含む。一部の例、さらなる薬剤は医薬組成物に治療有効量で存在する。

【0419】

【0402】貯蔵および使用の通常の条件下で、本明細書に記載の医薬組成物は、保存剤を含み、微生物の増殖を防止する。特定の例において、本明細書に記載の医薬組成物は、保存剤を含まない。注射可能な使用に好適な医薬品形態は、滅菌注射可能溶液または分散液の即時調製のための滅菌水溶液または分散液および滅菌粉末を含む。医薬組成物は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、および／または植物油、またはこれらの任意の組合せを含有する溶媒または分散培地である担体を含む。良好な流動性は、例えば、コーティング、例えばレシチンの使用によって、分散液の場合必要な粒子サイズの維持によって、ならびに界面活性剤の使用によって維持される。微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどによってもたらされる。多くの場合、等張剤、例えば、糖または塩化ナトリウムが含まれる。注射可能な組成物の吸収の延長は、吸収を遅延する薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの組成物での使用によってもたらされ得る。

10

【0420】

【0403】水溶液での非経口投与のため、例えば、液体剤形は必要であれば好適に緩衝され、液体希釈剤は十分な生理食塩水またはグルコースによって等張にされる。液体剤形は、特に静脈内、筋肉内、皮下、腫瘍内、および腹腔内投与に好適である。これに関連して、用いられ得る滅菌水性培地は、本開示に照らして当業者に公知である。例えば、1回の投与量は、特定の例、1 mL～20 mLの等張NaCl溶液に溶解され、100 mL～1000 mLの液体、例えば炭酸水素ナトリウム緩衝生理食塩水に添加されるか、注入の提案された部位で注射された。

20

【0421】

【0404】特定の実施形態において、滅菌注射可能溶液は、免疫療法剤を、必要な場合、上記に列挙した様々な他の成分と適切な溶媒に必要な量で組み入れ、滅菌濾過することによって調製される。通常、分散液は様々な滅菌活性成分を、基本分散培地および上記に列挙したものからの必要な他の成分を含有する滅菌ビヒクルに組み入れることによって調製される。本明細書で開示される組成物は、一部の例において、中性または塩形態に製剤化される。医薬的に許容される塩としては、例えば、酸付加塩（タンパク質の遊離アミノ基によって形成される）が挙げられ、それらは無機酸、例えば塩酸もしくはリン酸など、または有機酸、例えば酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸などによって形成される。遊離カルボキシル基によって形成された塩は、一部の例、無機塩基、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウムなど、または水酸化第二鉄、および有機塩基、例えばイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインなどに由来する。製剤時、医薬組成物は、一部の実施形態において、投与製剤に対応した方法および治療に有効であるような量で投与される。

30

40

【0422】

【0405】特定の実施形態において、本開示の医薬組成物は、医薬的に許容される担体と組み合わせて本明細書で開示される有効量の抗TM4SF1抗体を含む。本明細書で使用する「医薬的に許容される」は、活性成分の生物学的活性の有効性に干渉しないおよび／または投与される患者に毒性ではない任意の担体を含む。好適な医薬担体の非限定的な例としては、リン酸緩衝生理食塩水溶液、水、エマルジョン、例えば、油／水型エマルジョン、様々な型の湿潤剤および滅菌溶液が挙げられる。医薬的に適合する担体のさらなる非限定的な例としては、ゲル、生体吸収性マトリックス材、免疫療法剤または任意の他の好適なビヒクルを含有する移植エレメント、送達または分配手段または材料が挙げられ得る。そのような担体は、例えば従来の方法によって製剤化され、有効量で対象に投与される

50

。

【0423】

6.10 組合せ療法

[0406] 特定の実施形態において、本開示の方法は、1つまたは複数のさらなる治療に続く、先行されるまたは組み合わせる、本明細書で開示されるADCを投与するステップを含む。さらなる治療の例としては、限定はされないが、化学療法、放射線、抗がん剤、またはこれらの任意の組合せが挙げられ得る。さらなる治療は、免疫療法の投与と同時にまたは順に投与され得る。特定の実施形態において、本開示の方法は、1つまたは複数の抗がん剤またはがん治療に続く、先行される、または組み合わせる本明細書で開示される免疫療法を投与するステップを含む。抗がん剤としては、限定はされないが、化学療法剤、放射線療法剤、サイトカイン、免疫チェックポイント阻害剤、抗血管新生剤、アポトーシス誘導剤、抗がん抗体、および／または抗サイクリン依存性キナーゼ剤が挙げられる。特定の実施形態において、がん治療としては、化学療法、生物学的療法、放射線療法、免疫療法、ホルモン療法、抗血管療法、寒冷療法、毒物療法、および／または外科手術またはこれらの組合せが挙げられる。特定の実施形態において、本開示の方法は、1つまたは複数のさらなる免疫調節剤に続く、先行される、または組み合わせる本明細書で開示される免疫療法を投与するステップを含む。免疫調節剤としては、一部の例において、腫瘍またはがんに関連する抗ウイルス免疫を抑制することができる任意の化合物、分子または物質が挙げられる。さらなる免疫調節剤の非限定的な例としては、抗CD33抗体またはこれらの可変領域、抗CD11b抗体またはこれらの可変領域、COX2阻害剤、例えばセレコキシブ、サイトカイン、例えばIL-12、GM-CSF、IL-2、IFN3およびIFNγ、ならびにケモカイン、例えばMIP-1、MCP-1、およびIL-8が挙げられる。

10

20

【0424】

[0407] 特定の例において、さらなる治療は例示的な放射線量が5,000 Rads (50 Gy) ~ 100,000 Rads (10,000 Gy)、または50,000 Rads (5,000 Gy)、または記載した範囲内の他の適切な線量である。代わりに、例えば上記の線量測定試験によって決定された線量により、放射線量は約30~60 Gy、約40~約50 Gy、約40~48 Gy、または約44 Gy、または記載した範囲内の他の適切な線量である。本明細書で使用する「Gy」は、100 Radsに等しい放射線の特定の吸収線量の単位を指し得る。Gyは、「グレイ (Gray)」の省略形である。

30

【0425】

[0408] 特定の例において、さらなる治療は化学療法であり、例示的な化学療法剤としては、限定はされないが、アルキル化剤（例えば、ナイトロジェンマスタード誘導体、エチレンイミン、スルホン酸アルキル、ヒドラジンおよびトリアジン、ニトロソウレア (nitrosourea)、ならびに金属塩）、植物アルカロイド（例えば、ベンカアルカロイド、タキサン、ポドフィロトキシン、およびカンプトテシン (camptothecin) 類似体）、抗腫瘍抗生物質（例えば、アントラサイクリン、クロモマイシンなど）、代謝拮抗薬（例えば、葉酸拮抗薬、ピリミジン拮抗薬、プリン拮抗薬、およびアデノシンデアミナーゼ阻害剤）、トポイソメラーゼI阻害剤、トポイソメラーゼII阻害剤、および種々の抗悪性腫瘍薬（例えば、リボヌクレオチド還元酵素阻害剤、副腎皮質ステロイド阻害剤、酵素、微小管阻害剤、およびレチノイド）が挙げられる。例示的な化学療法剤としては、限定はされないが、アナストロゾール (Arimidex (登録商標))、ピカルタミド (Casodex (登録商標))、ブレオマイシン硫酸塩 (Blenoxane (登録商標))、ブスルファン (Myleran (登録商標))、ブスルファン注射剤 (Busulfex (登録商標))、カペシタビン (Xeloda (登録商標))、N4-ペントキシカルボニル-5-デオキシ-5-フルオロシチジン、カルボプラチン (Paraplatin (登録商標))、カルムスチン (BiCNU (登録商標))、クロラムブシル (Leukeran (登録商標))、シスプラチン (Platinol (登録商標))、クラドリビン (Leustatin (登録商標))、シクロホスファミド (Cytos

40

50

an（登録商標）またはNeosar（登録商標）、シタラビン、シトシンアラビノシド（Cytosar-U（登録商標）、シタラビンリポソーム注射剤（DepoCyt（登録商標）、ダカルバジン（DTIC-Dome（登録商標）、ダクチノマイシン（アクチノマイシンD、コスメガン（cosmegán）、塩酸ダウノルビシン（Cerubidine（登録商標）、クエン酸ダウノルビシンリポソーム注射剤（DaunoXome（登録商標）、デキサメタゾン、ドセタキセル（Taxotere（登録商標）、塩酸ドキソルビシン（Adriamycin（登録商標）、Rubex（登録商標）、エトポシド（Vepesid（登録商標）、リン酸フルダラビン（Fludara（登録商標）、5-フルオロウラシル（Aldrucil（登録商標）、Efudex（登録商標）、フルタミド（Eulexin（登録商標）、テザシチビン（tezacitibine）、ゲムシタビン（ジフルオロデオキシシチジン）、ヒドロキシ尿素（Hydrea（登録商標）、イダルビシン（Idamycin（登録商標）、イフォスファミド（IFEX（登録商標）、イリノテカン（Campptosar（登録商標）、L-アスパラギナーゼ（ELSPAR（登録商標）、ロイコボリンカルシウム、メルファラン（Alkeran（登録商標）、6-メルカプトプリン（Purinethol（登録商標）、メトトレキセート（Folex（登録商標）、ミトキサントロン（Novantrone（登録商標）、マイロターグ、パクリタキセル（Taxol（登録商標）、フェニックス（イットリウム90/MX-DTPA）、ペントスタチン、カルムスチンインプラント含有ポリフェプロサン20（Gliadel（登録商標）、クエン酸タモキシフェン（Nolvadex（登録商標）、テニポシド（Vumon（登録商標）、6-チオグアニン、チオテパ、チラパザミン（Tirazone（登録商標）、注射用の塩酸トポテカン（Hycamtin（登録商標）、ビンブラスチン（Velban（登録商標）、ピンクリスチン（Oncovin（登録商標）、およびビノレルビン（Navelbine（登録商標）、イブルチニブ、イデラリシブ、およびブレンツキシマブベドチンが挙げられ得る。

10

20

30

40

50

【0426】

[0409]例示的なアルキル化剤としては、限定はされないが、ナイトロジェンマスタード、エチレンイミン誘導体、スルホン酸アルキル、ニトロソウレアおよびトリアゼン）：ウラシルマスタード（Aminouracil Mustard（登録商標）、Chlorethaminacil（登録商標）、Demethyldopan（登録商標）、Desmethyldopan（登録商標）、Haemanthamine（登録商標）、Nordopan（登録商標）、Uracil nitrogen Mustard（登録商標）、Uracil lost（登録商標）、Uracil mostaza（登録商標）、Uramustin（登録商標）、Uramustine（登録商標）、クロルメチン（Mustargen（登録商標）、シクロホスファミド（Cytosan（登録商標）、Neosar（登録商標）、Clafen（登録商標）、Endoxan（登録商標）、Procytos（登録商標）、Revimmune（商標）、イフォスファミド（Mitoxana（登録商標）、メルファラン（Alkeran（登録商標）、クロラムブシル（Leukeran（登録商標）、ピボプロマン（Amedel（登録商標）、Vercyte（登録商標）、トリエチレンメラミン（Hemel（登録商標）、Hexalen（登録商標）、Hexastat（登録商標）、トリエチレンチオホスフォルアミン、テモゾロミド（Temodar（登録商標）、チオテパ（Thioplex（登録商標）、ブスルファン（Busilvex（登録商標）、Myleran（登録商標）、カルムスチン（BiCNU（登録商標）、ロムスチン（CeeNU（登録商標）、ストレプトゾシン（Zanosar（登録商標）、およびダカルバジン（DTIC-Dome（登録商標）が挙げられる。さらなる例示的なアルキル化剤としては、限定はされないが、オキサリプラチン（Eloxatin（登録商標）；テモゾロミド（Temodar（登録商標）およびTemodal（登録商標）；ダクチノマイシン（アクチノマイシンDとしても公知、Cosmegen（登録商標）；メルファラン（L-PAM、L-サルコリシン、およびフェニルアラニンマスタードとしても

公知、Alkeran（登録商標））；アルトレタミン（ヘキサメチルメラミン（HMM）としても公知、Hexalen（登録商標））；カルムスチン（BiCNU（登録商標））；ベンダムスチン（Treanda（登録商標））；ブスルファン（Busulfex（登録商標）およびMyleran（登録商標））；カルボプラチン（Paraplatin（登録商標））；ロムスチン（CCNUとしても公知、CeeNU（登録商標））；シスプラチン（CDDPとしても公知、Platinol（登録商標）およびPlatinol（登録商標）-AQ）；クロラムブシル（Leukeran（登録商標））；シクロホスファミド（Cytosan（登録商標）およびNeosar（登録商標））；ダカルバジン（DTIC、DICおよびイミダゾールカルボキサミドとしても公知、DTIC-Dome（登録商標））；アルトレタミン（ヘキサメチルメラミン（HMM）としても公知、Hexalen（登録商標））；イフォスファミド（Ifex（登録商標））；ブレドニマスチン（Prednumustine）；プロカルバジン（Matulane（登録商標））；メクロレタミン（ナイトロジェンマスタード、ムスチンおよび塩酸メクロレタミン（mechchloroethamine）としても公知、Mustargen（登録商標））、ストレプトゾシン（Zanosar（登録商標））；チオテパ（チオホスファミド（thiophosphoamide）、TESPAおよびTSPAとしても公知、Thioplex（登録商標））；シクロホスファミド（Endoxan（登録商標）、Cytosan（登録商標）、Neosar（登録商標）、Procytos（登録商標）、Revimmune（登録商標））；およびベンダムスチンHCl（Treanda（登録商標））が挙げられる。

10

20

【0427】

【0410】例示的なアントラサイクリンとしては、限定はされないが、例えば、ドキソルビシン（Adriamycin（登録商標）およびRubex（登録商標））；ブレオマイシン（Lenoxane（登録商標））；ダウノルビシン（塩酸ダウノルビシン（daunorubicin hydrochloride）、ダウノマイシン、および塩酸ルビドマイシン、Cerubidine（登録商標））；ダウノルビシンリポソーム（クエン酸ダウノルビシンリポソーム、DaunoXome（登録商標））；ミトキサントロン（DHAD、Novantrone（登録商標））；エピルビシン（Ellence（商標））；イダルビシン（Idamycin（登録商標）、Idamycin PFS（登録商標））；マイトマイシンC（Mutamycin（登録商標））；ゲルダナマイシン；ハービマイシン；ラビドマイシン；およびデスアセチルラビドマイシンが挙げられ得る。

30

【0428】

【0411】例示的なピンカアルカロイドとしては、限定はされないが、酒石酸ビンORELビン（Navelbine（登録商標））、ピンクリスチン（Oncovin（登録商標））、およびビンデシン（Eldisine（登録商標））；ピンブラスチン（硫酸ピンブラスチン、ピンカロイコブラスチンおよびVLBとしても公知、Alkabab-AQ（登録商標）およびVelban（登録商標））；およびビンORELビン（Navelbine（登録商標））が挙げられる。

【0429】

【0412】例示的なプロテオソーム阻害剤としては、限定はされないが、ボルテゾミブ（Velcade（登録商標））；カルフィルゾミブ（PX-171-007、（S）-4-メチル-N-（（S）-1-（（（S）-4-メチル-1-（（R）-2-メチルオキシラン-2-イル）-1-オキソペンタン-2-イル）アミノ）-1-オキソ-3-フェニルプロパン-2-イル）-2-（（S）-2-（2-モルホリノアセトアミド）-4-フェニルブタンアミド）-ペンタンアミド）；マリゾミブ（NPI-0052）；クエン酸イキサゾミブ（MLN-9708）；デランゾミブ（CEP-18770）；およびO-メチル-N-〔（2-メチル-5-チアゾリル）カルボニル〕-L-セリル-O-メチル-N-〔（1S）-2-〔（2R）-2-メチル-2-オキシラニル〕-2-オキソ-1-（フェニルメチル）エチル〕-L-セリンアミド（ONX-0912）が挙げられ得る。

40

50

【0430】

【0413】本明細書で使用する「と組み合わせる」は、抗TM4SF1抗体とさらなる治療が、処置レジメンまたは計画の一部として対象に投与されることを意味する。特定の実施形態において、組合せで使用されるステップは、抗TM4SF1抗体とさらなる治療が投与前に物理的に組み合わせられるまたは同じ時間枠にわたって投与される必要がない。例えば、限定としてではなく、抗TM4SF1抗体と1つまたは複数の薬剤は、処置される対象に同時に投与される、または同時にもしくは任意の順序でもしくは異なる時点で順に投与される。

【0431】

6.11 キット

【0414】一部の実施形態において、本開示は、本開示の組成物（例えば医薬組成物）（例えば抗TM4SF1抗体またはその抗原結合フラグメントを含有するADCを含む組成物）を含むキットを提供する。キットは、臨床医（例えば医師または看護師）がそこに含有される組成物を対象に投与し、病的血管新生（例えばがん）と関連する障害を処置することを可能にする説明書を含む。

【0432】

【0415】特定の実施形態において、キットは、有効量の本開示の抗体を含有する単回用量の医薬組成物のパッケージを含む。任意選択により、医薬組成物を投与するステップに必要な器具または装置がキットに含まれ得る。例えば、本開示のキットは、本開示の有効量のワクチン、ベクター、安定化三量体、または最適化ウイルスポリペプチドを含有する1つまたは複数のプレフィルドシリンジを提供し得る。さらに、キットはさらなる構成成分、例えば、病的血管新生（例えばがん）と関連する障害を有する対象の投与スケジュールに関する説明書も含み、本開示のTM4SF1結合タンパク質またはポリヌクレオチドを含有する医薬組成物を使用し得る。

【実施例】

【0433】

7. 実施例

【0416】ペイロードとのコンジュゲーションのためのN297C突然変異を有するかまたは有さないA07-YTEC抗体の安定性試験

【0417】A07-YTECへの部位特異的リンカーを使用するペイロードコンジュゲーションのため、抗体を、N297突然変異によって改変した。N297突然変異を有するA07-YTEC抗体の安定性は、CE-SDSおよびSEC-HPLC解析によって評価した。CE-SDS実験は、非還元条件下で実施した。試料を混合し、遠心分離し、図2Aに示すように5分間95℃で加熱した。各試料は、ゲルへの注入の前に室温まで冷却した。CE-SDS解析の結果は図2Aに示し、SEC-HPLCの結果は図2Bに示す。結果は、約40～50%のA07-YTEC抗体が、重鎖内ジスルフィド結合せずに単量体抗体として結ばれていることを示し得る。

【0434】

【0418】A07-YTEC抗体への薬物のコンジュゲーションの特徴付け

【0419】A07-YTEC抗体へのメイタンシンのコンジュゲーションは、それぞれAgilent AdvanceBio 300 mm SECカラム、ThermoFisher MabPac HIC-butylカラム、Agilent PLRP-S 300Aカラム（2.1x50mm）、およびAgilent PLRP-S 300Aカラム（2.1x50mm）を使用して、SEC-HPLC（図3）、HIC-HPLC（図4）、非還元逆相HPLC（図5）および還元逆相HPLC（図6）によって評価した。SEC-HPLCクロマトグラムは、図3に示したように、ペイロードとのコンジュゲーション後に1つの主要な単量体ピークを示したが、HIC-HPLCクロマトグラムは、ペイロードとのコンジュゲーション後にシフトを示し、薬物負荷を示している（図4）。非還元逆相HPLCおよび還元逆相HPLCのクロマトグラムは、それぞれ図5および図6に示すように、A07-YTEC抗体がペイロードとコンジュゲートされたことを

10

20

30

40

50

示す。

【0435】

【0420】抗体薬物コンジュゲート（ADC）の薬物対抗体比（DAR）の推定

【0421】A07-YTEC-MコンジュゲートのDAR値は、UV-VIS分光法実験（表1および表2）およびインタクトLC-MS実験（図7、図8A～8D、および図9）によって推定された。UV-VIS分光法を使用して、表1に示したように、ADCの吸光度、抗体および薬物の吸光係数を測定することによって平均DAR値を決定した。インタクトLC-MS解析では、同様に、生データを70kDaと150kDaの質量範囲でデコンボリュートした（それぞれ、図7および図8）。A07-YTEC-MコンジュゲートのDAR推定を図9にまとめる。

10

【0436】

【表1】

表1.UV-VIS測定によるA07-YTEC-Mコンジュゲート推定のDAR値の参照値

名称	MW(g/mol)	A280(L/(mol*cm))	A254(L/(mol*cm))
Ab	145063	211794.9	76591.8309
LP-1	10184	5183	24414.31879

20

【0437】

【表2】

表2.UV-VIS測定によるA07-YTEC-MコンジュゲートのDAR値の推定

	測定したA254	測定したA280	mAb濃度(mM)	LP-1濃度(mM)	DAR(mol/mol)	ADC濃度(mg/mL)	ADC濃度(mg/mL)	希釈倍率	ADC濃度(mg/mL)
	8.89	15.95	71.92	138.49	1.93	10433.69	10.43	1.00	10.43
	8.98	16.11	72.62	140.00	1.93	10534.51	10.53	1.00	10.53
	8.90	16.00	72.15	138.14	1.91	10467.14	10.47	1.00	10.47
平均		16.02			1.92				10.478

30

【0438】

【0422】A07-YTEC-Mコンジュゲートのインビトロでの死滅活性

【0423】細胞死滅アッセイ。内皮細胞（HUVEC、HPAEC、AHEC、およびAMVEC-1）および腫瘍細胞（MiaPaca2、A549、SKOV3、およびColo205）を、96ウェル平底黒色マイクロプレート（Corning、パート#3904）に、アッセイ培地（HUVECはEGM2完全培地；MiaPaca2およびA549はRPMI/10%FBS）100μl/ウェル中10000個の細胞/mLの密度で播種した。細胞は、37℃で終夜培養した。2日目に、A07-YTEC-Mコンジュゲートを培養培地中で5倍に段階希釈し、100μlの希釈した化合物を細胞プレートに移した。細胞プレート中の試験A07-YTEC-Mコンジュゲートの最終の最高濃度は333.335nMであり、最低濃度は0.0043nMであった。細胞プレートは、5日間37℃でインキュベートした。10μlのPrestoBlue HS細胞生存試験薬（ThermoFisher cat#P50201）を各ウェルに添加し、プレートリーダー（Varioskan（商標）LUXマルチモードマイクロプレートリーダー）によって570nm/600nm励起および発光での吸光度を読み取る前に、CO₂イ

40

50

ンキュベーター内で1時間インキュベートした。結果は表3に示す。

【0439】

【表3】

表3. インビトロでの培養細胞の死滅活性

		名称	細胞起源	結合親和性 (EC50; nM)	インビトロ効力(EC50; nM)
A07- YTEC-M コンジュ ゲート	内皮細胞 (EC)	HUVEC	ヒト臍静脈	1.74/2.16	0.102/0.103/0.186/0.176/0.287
		HPAEC	ヒト肺動脈	n.a.*	0.087
		AHEC	ヒト大動脈	n.a.*	0.272
		AMVEC-1	ヒト肺微小血管	n.a.*	0.039/0.016
	腫瘍細胞 (TC)	MiaPaca2	ヒト膵臓がん	1.01	0.056/0.023
		A549	ヒト肺がん	1.31	0.810/1.415
		SKOV3	ヒト卵巣がん	1.35	24.51
		Colo205	ヒト結腸がん	2.2	-
フリーペ イロード	NHA-メイ タンシン	HUVEC	ヒト臍血管	92.66	-
フリー LP	LP1			31.08/15.54	-
血漿中の 潜在的な 異化産物	Cys-LP			146.2	-

10

20

30

【0440】

【0424】*n.a. : 該当なし

【0425】インビボでの腫瘍退縮実験

【0426】簡潔に言うと、腫瘍細胞を8週齢のマウスの上脇腹に皮下注射し、MiaPaca2腫瘍については、腫瘍容積が $200 \pm 50 \text{ mm}^3$ に達すると処置を開始した。マウス（群あたり5匹のマウス）に、6または12 mg/kgの試験物質を1回注射により、腹腔内に投与し、腫瘍容積および体重を、腫瘍容積が $1500 \sim 2000 \text{ mm}^3$ に達するまで、週に2回測定した。腫瘍容積測定に使用した数学式は、（長さ×幅×高さ）／2である。結果は、両腫瘍について図10に示す。

【0441】

40

【0427】インビボ薬物動態実験

【0428】インビボでの抗体-薬物コンジュゲートの薬物動態は、それぞれ図11Aおよび図11Bに示すように、血漿濃度-時間プロファイル、および試験対象（サル）への抗体-薬物コンジュゲートの注射後の血漿中の総抗体量にわたるADCのパーセンテージを得ることによって評価した。最初の注射用量は40 mpkであった（体重のkg当たりのADCのmg）。

【0442】

【0429】インビボでのカニクイザルにおけるA07-YTEC-Mコンジュゲートの安定性試験

【0430】ADCのLC-MS解析は、試験対象（カニクイザル）へのADCの注射後4

50

日目、8日目、および12日目に実施し、それぞれ図14A～14Cに示すように、インビボでの抗体およびADCの安定性を評価した。結果は、メイシン分子がペイロードから欠失する図13により、リンカー-ペイロードからのペイロード欠失のメカニズムを示唆する。メイシンは、メイタンシンの約1/10000の効力を示した。

【0443】

【0431】表4に記載する、例示的な抗TM4SF1抗体を含有する抗体薬物コンジュゲート（ADC）。抗体は、化学コンジュゲーション法によって調製した。図1は、マレイミドコンジュゲーションハンドルを使用して、メイタンシンまたはその誘導体にコンジュゲートした抗TM4SF1抗体の構造を提供する。このメイタンシン-ADCは、表4の例示的な抗TM4SF1 AGX-A07抗体を使用して生成され得る。メイタンシンまたはその誘導体にコンジュゲートした抗TM4SF1抗体の例は、マレイミドコンジュゲーションハンドル、2-ブromoアセトアミドコンジュゲーションハンドル、またはコンジュゲーションのためのNHSエステルハンドルのいずれかを使用して合成され得る。

【0444】

【0432】本開示の趣旨または範囲から逸脱することなく、本開示の組成物、方法、およびキットに様々な修正および変更がなされ得ることは当業者には明らかである。したがって、本開示は、添付の特許請求の範囲およびそれらの等価物の範囲内に入ることを条件に本開示の修正および変更をカバーすることを意図する。

【0445】

【表4-1】

表4. 配列説明

配列番号	説明	配列
抗体AGX-A01		
1	AGX-A01 可変重(VH)鎖アミノ酸	EVILVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSF AMSWVRQTPEKRLEWVATISSGSIYIYTDG VKGRFTISRDNNAKNTVHLQMSSLRSEDAM YYCARRGIYYGYDGYAMDYWGQGTSTVTVS
2	AGX-A01 可変軽(VL)鎖アミノ酸	AVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYMQKPGQSPKVLIIKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADDLGIYFCS QSTHIPLAFGAGTKLELK
抗体AGX-A03		
3	AGX-A03 可変重(VH)鎖アミノ酸	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYSTRDY GMNWVKQAPGRFTKWMGWINTYTGPVY AADFKGRFAFSLDTSASAAFLQINNLIKNETD ATYFCARWVSYGNNRNWFFDFWGAGTTVT VSS
4	AGX-A03 可変重(VH)鎖核酸	CAGATCCAGTTGGTGCACTCTGGACCTGAG CTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGAT CTCCTGCAAGGCTTCTGGGTATTCTTCAG AGACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGG CTCCAGGAAGGACTTTTAAGTGGATGGGCT GGATAAACACCTACACTGGAGCGCCAGTA TATGCTGCTGACTTCAAGGGACGTTTGCC TTCTCTTTGGACACCTCTGCCAGCGCTGCC

10

20

30

40

50

【 0 4 4 6 】

【 表 4 - 2 】

配列 番号	説明	配列
		TTTTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAA GACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGATGG GTCTCCTACGGTAATAACCGCAACTGGTTC TTCGATTTTTGGGGCGCAGGGACCACGGTC ACCGTCTCCTCA
5	AGX-A03 可変重(VH)鎖コドン最適化 核酸	CAAATTCAGTTGGTTCAATCCGGCCCTGAG CTCAAGAAGCCTGGAGAGACAGTGAAGAT AAGTTGTAAGGCTAGTGGCTATTCATTTCG AGATTATGGGATGAATTGGGTCAAGCAGG CCCCAGGGCGGACCTTCAAATGGATGGGG TGGATCAATACTTACACTGGCGCACCAGTA TATGCAGCTGATTTTAAGGGTCGCTTTGCA TTTTCACTTGATACTTCAGCCAGTGCCGCT TTTTTGCAAATCAACAATCTCAAAAATGAA GACACTGCTACATATTTCTGCGCCAGGTGG GTGAGCTATGGCAATAACAGAAATTGGTT CTTTGACTTTTGGGGCGCAGGCACCACCGT CACTGTCCTCATCA
6	VH- CDR1	GYSFRDYGMN
7	VH-CDR2	WINTYTGAPVYAADFKE
8	VH-CDR3	WVSYGNNRNWFEDF
9	AGX-A03 可変軽(VL)鎖アミノ酸	DVLMTQTPLSLPVRLGDQASISCRSSQTLVHS NGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNNLSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEDTLGVYYCF QGSHGPWTFGGGTKLEIK
10	AGX-A03 可変軽(VL)鎖核酸	GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCC CTGCCTGTCCGICTTGGAGATCAGGCCCTCC ATCTCTTGTAGATCTAGTCAGACCCTTGTA CATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATG GTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAA AACTCTTGATCTACAAAGTTTCCAATCGAC TTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCA GTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAG ATCAGCAGAGTGGAGACTGAGGATCTGGG AGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGG TCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGC TGGAAATCAAA
11	AGX-A03	GACGTACTTATGACACAAACTCCCTTGAGC TTGCCAGTACGGCTTGGCGATCAAGCTTCA

【 0 4 4 7 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

配列 番号	説明	配列
	可変軽(VL)鎖コドン最適化 核酸	ATTTCAIGTCGTTCTTCTCAAACACTTGTC ACTCAAATGGGAATACATATTTGGAATGGT ATCTCCAAAAGCCCGCCAATCCCCAAAA TTGTTGATTTACAAGGTGTCTAATCGACTC TCAGGCGTCCCCGACCGATTCTCCGGGAGC GGGTCCGGTACAGACTTCACCTTGAAAATC TCCAGGGTAGAACTGAAGACCTCGGAGT CTACTATTGTTTCCAGGGGTACACGGCCC CTGGACATTTGGAGGAGGAATAAGCTCG AGATCAAA
12	VL- CDR1	RSSQTLVHSNGNTYLE
13	VL-CDR2	KVSNRLS
14	VL-CDR3	FQSGHPWT
抗体 AGX-A04		
15	AGX-A04 可変重(VH)鎖アミノ酸	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGY TFTDYTEMHWRQSHGKSLEWIGSFNPNNGG LTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTVYMDLRSL TSEDSAVYYCTRIRATGFDSWGQGTTLTVSS
16	AGX-A04 可変重(VH)鎖核酸	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGAC CTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGATATCCTGCAAGACTTCTGGATACACA TTCAGTATTACACCATGCACTGGGTGAGG CAGAGCCATGGAAAAGAGCCTTGAGTGGAT TGGAAAGTTTAAATCCTAACAATGGTGGTCT TACTAACTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCA AGGCCACATTGACTGTGGACAAGTCTTCCA GCACAGTGTACATGGACCTCCGCAGCCTG ACATCTGAGGATTCTGCAGTCTATTACTGT ACAAGAATCCGGGCTACGGGCTTTGACTCC TGGGGCCAGGGCACCCTCTCACAGTCTCC TCA
17	AGX-A04 可変重(VH)鎖コドン最適化 核酸	GAGGTACAACCTGCAACAGAGTGGAC CTGAACCTTGTCAAACCTGGAGCAAGTGTG AAGATTAGCTGTAAAACCAAGTGGCTACAC ATTTACCGATTATACTATGCACTGGGTAAG ACAGAGCCACGGAATACTGAGAGTGGGA TTGGTAGTTTCAATCCTAACAACGGAGGAT TGACAAATTACAACCAGAAGTTCAAAGGG AAAGCCACCTTGACAGTTGATAAGTCCTCA

10

20

30

40

【 0 4 4 8 】

50

【表 4 - 4】

配列 番号	説明	配列
		AGTACCGTGTATATGGATCTGCGTTCTCTC ACAAGTGAAGATAGCGCAGTTTACTACTGT ACCCGCATCCGAGCCACCGGGTTCGATTCA TGGGGTCAGGGGACAACACTGACTGTTTCT TCT
18	VH- CDR1	GYTFTDYTMH
19	VH-CDR2	SFNPNNGGLTNYNQKFKG
20	VH-CDR3	IRATGFDS
21	AGX-A04 可変軽(VL)鎖アミノ酸	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLN SRTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIWASTRE SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLTVY YCKQSYNPPWTFGGGTKLEIK
22	AGX-A04 可変軽(VL)鎖核酸	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCC CTGGCTGTGTCAGCAGGAGAGAAGGTCAC TATGAGCTGCAAATCCAGTCAGAGTCTGCT CAACAGTAGAACCCGAAAGAACTACTTGG CTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTAAACTGCTGATCTACTGGGCATCCACT AGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACA GGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAATGTGCAGGCTGAAGACCT GACAGTTTATTACTGCAAGCAATCTTATAA TCCTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAA GCTGGAAATCAAA
23	AGX-A04 可変軽(VL)鎖コドン最適化 核酸	GACATAGTTATGTCCCAGTCTCCATCCAGC TTGGCTGTCAGCGCCGGAGAGAAAGTGAC TATGAGTTGTAAATCTTCCCAGTCCCTGCT TAACTCACGTACTCGGAAGAATTATCTTGC CTGGTATCAACAAAAGCCAGGTCAAAGTC CTAAGCTCCTTATTTACTGGGCCTCAACAC GGGAGTCAGGTGTCCCGATCGCTTCACAG GTAGTGGGAGTGGTACTGACTTCACTCTCA CCATTTCAAATGTCCAAGCAGAAGACTTGA CTGTGTATTACTGTAAGCAGAGTTACAACC CTCCTTGGACCTTTGGTGGGGGGACCAAAAC TGGAGATCAAG
24	VL- CDR1	KSSQSLLNSRTRKNYLA
25	VL-CDR2	WASTRES

【 0 4 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

配列 番号	説明	配列
26	VL-CDR3	KQSYNPPWT
抗体 AGX-A05		
27	AGX-A05 可変重(VH)鎖アミノ酸	EVQVQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFT SYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPNNDNINY NEKFKGKASLTSDKSSNTVYMELSSLTSEDS AVYYCAGYGNSGANWGQGTLLTVSA
28	AGX-A05 可変重(VH)鎖核酸	GAGGTCCAGGTACAGCAGTCTGGACCTGA ACTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TGCCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATTCA CTAGCTATGTCATGCACTGGGTGAAGCAG AAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGG ATATATTAATCCTAACAAATGATAATATTAA CTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCT CACTGACTTCAGACAAATCCTCCAACACAG TCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTG AGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAGGCT ATGGTAACTCCGGAGCTAACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
29	AGX-A05 可変重(VH)鎖コドン最適化 核酸	GAAGTTCAAGTTCAGCAAAGCGGGCCTGA GCTTGTCAAGCCAGGCGCATCAGTCAAAA TGAGCTGTAAGGCTTCCGGGTACACCTTCA CCAGTTATGTCATGCATTGGGTAAAACAAA AGCCAGGACAGGGACTCGAGTGGATAGGA TACATTAACCCAAATAACGACAACATTAA CTACAACGAGAAATTCAAGGGCAAAGCAT CATTGACTTCCGATAAATCCTCTAACACCG TGTACATGGAGCTGAGTTCATTGACCAGCG AGGATTCTGCCGTGTACTACTGTGCAGGTT ATGGCAACTCTGGTGCTAACTGGGGGCAG GGGACTCTGGTCACAGTCAGCGCA
30	VH- CDR1	GYTFTSYVMH
31	VH-CDR2	YINPNNDNINYNEKFKG
32	VH-CDR3	YGNSGAN
33	AGX-A05 可変軽(VL)鎖アミノ酸	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRTSKNIFNFI AWYHQQGRSPRLVSHKTLAAGVPSRFS GSGSGTQFSLKINSLQPEDFGIYYCQHHYGTP WTFGGGTKLEIK

【 0 4 5 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 6】

配列番号	説明	配列
34	AGX-A05 可変軽(VL)鎖核酸	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCC CTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACC ATCACATGTGCAACAAGTAAAAATATTTTC AATTTTTTAGCATGGTATCACCAGAAACAG GGAAGATCTCCTCGACTCCTGGTCTCTCAT ACAAAAACCTTAGCAGCAGGTGTGCCATC AAGGTTCAGTGGCAGTGGCTCAGGCACAC AGTTTTCTCTGAAGATCAACAGCCTGCAGC CTGAAGATTTTGGGATTTATTACTGTCAAC ATCATTATGGTACTCCGTGGACGTTTCGGTG GAGGCACCAAACCTGGAAATCAAA
35	AGX-A05 可変軽(VL)鎖コドン最適化核酸	GACATTCAGATGACCCAGTCACCAGCATCT TTGAGCGCATCCGTTGGGGAGACTGTGAC AATCACATGCCGAACCAGTAAGAACATCT TCAACTTCCTCGCATGGTACCATCAAAAGC AGGGCAGGTCTCCAGACTGCTTGTCTCTC ACACCAAGACACTGGCAGCAGGCGTCCCC AGCCGGTTTAGTGGTAGTGGATCTGGCACA CAGTTTAGTTTGAAAATCAATTCCTGCAA CCCGAAGACTTCGGCATATACTATTGCCAG CACCCTATGGGACACCTTGGACTTTCGGA GGTGGTACTAAACTTGAGATTAAA
36	VL- CDR1	RTSKNIFNFLA
37	VL-CDR2	HTKTLAA
38	VL-CDR3	QHHYGTPWT
抗体AGX-A07		
39	AGX-A07 可変重(VH)鎖アミノ酸	QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASGYTFTNY GVKWVKQAPGKDLKWMGWINTYTGNIPIYA ADFKGRFAFSLETSASTAFLQINNLIKNETAT YFCVRFQYGDYRYFDVWGAGTTVTVSS
40	AGX-A07 可変重(VH)鎖核酸	CAGATCCAGITGGTGCAGTCTGGACCTGAG CTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGAT CTCCTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCAC AAACTATGGAGTGAAGTGGGTGAAGCAGG CTCCAGGAAAGGATTTAAAGTGGATGGGC TGGATAAACACCTACACTGGAAATCCAATT TATGCTGCTGACTTCAAGGGACGGTTTGCC TTCTCTTGGAGACCTCTGCCAGCACTGCC

【 0 4 5 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

配列 番号	説明	配列
		TTTTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAG GACACGGCTACATATTTCTGTGTAAGATT CAATATGGCGATTACCGGTACTTCGATGTC TGGGGCGCAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCA
41	AGX-A07 可変重(VH)鎖コドン最適化 核酸	CAAATCCAACCTGTCCAGAGCGGTCCCGA GTTGAAGAAGCCTGGCGAAACCGTGAAAA TCTCATGCAAGGCCAGTGGATATACATT CAAATATGGCGTCAAGTGGGTGAAACAA GCCCCAGGTAAAGACTTGAAATGGATGGG ATGGATCAACACATACACAGGGAATCCTA TCTATGCAGCCGACTTTAAAGGCAGATTTG CCTTCAGTTTGGAGACATCTGCCTCCACCG CTTCCTGCAAATAAATAACCTGAAAAATG AAGATACCGCTACATACTTCTGTGTACGGT TCCAGTACGGAGATTACCGCTATTTCGATG TGTGGGGCGCAGGTACCACAGTAACCGTC TCCTCA
42	VH- CDR1	GYIFTNYGVK
43	VH-CDR2	WINTYTGNIPIYAADFKG
44	VH-CDR3	FQYGDYRYFDV
45	AGX-A07 可変軽(VL)鎖アミノ酸	QILSQSPAILSASPGEKVTMTCRANS GISFIN WYQQKPGSSPKPWIYGTANLASGV PARFGG SGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQ QWSSNP LTFGAGTKLELR
46	AGX-A07 可変軽(VL)鎖核酸	CAAATTATTCTCTCCCAGTCTCCAGCAATC CTGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCAC GATGACTTGCAGGGCCAACTCAGGTATTA GTTTCATCAACTGGTACCAGCAGAAGCCA GGATCCTCCCCCAAACCTGGATTTATGGC ACAGCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCT CGCTTCGGTGGCAGTGGGTCTGGGACTTCT TACTCTCTCACAATCAGCAGAGTGGAGGCT GAAGACGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAG TGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGTGCT GGGACCAAGCTGGAGTTGAGA

【 0 4 5 2 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 8】

配列 番号	説明	配列
47	AGX-A07 可変軽(VL)鎖コドン最適化 核酸	CAAATAATTCTGTCACAGTCCCCGCTATA CTTAGTGCTTCACCAGGAGAAAAAGTGAC CATGACTTGTAGAGCTAATTCTGGCATATC ATTCATCAACTGGTATCAACAAAAGCCAG GTTCTCCCCCAAGCCATGGATTTACGGGA CCGCCAACCTTGCTTCTGGGGTACCCGCTC GTTTCGGCGGATCAGGTTTCAGGAACCTCCT ATAGCCTCACTATCAGTCGGGTGGAAGCTG AGGATGCCGCTACATATTACTGCCAGCAAT GGTCTAGTAATCCACTTACCTTTGGAGCTG GCACCAAATTGGAACCTTCGT
48	VL- CDR1	RANSGISFIN
49	VL-CDR2	GTANLAS
50	VL-CDR3	QQWSSNPLT
抗体 AGX-A08		
51	AGX-A08 可変重(VH)鎖アミノ酸	EVQLQQSGPELVKPGASVKLSCKASGYTVTS YVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYSDVTNC NEKFKGKATLTSKTSSTAYMELSSLTSEDS AVYYCSSYGGGFAYWGQGLTVTVSA
52	AGX-A08 可変重(VH)鎖核酸	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGA GCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGC TGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACAGTCA CTAGCTATGTTATGCACTGGGTGAAGCAGA AGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGA TATATTAATCCTTACAGTGATGTTACTAAC TGCAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCAC ACTGACTTCAGACAAAACCTCCAGCACAG CCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTG AGGACTCTGCGGTCTATTACTGTTCTCTCT ACGGTGGGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAA GGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
53	AGX-A08 可変重(VH)鎖コドン最適化 核酸	GAAGTCCAGCTTCAGCAATCCGGCCCAGA ACTGGTAAAACCAGGCGCAAGTGTTAAGT TGAGTTGCAAAGCCAGTGGTTATACCGTTA CTTCATACGTCATGCATTGGGTAAAACAAA AGCCCGGCCAAGGGCTTGAATGGATCGGC TACATCAACCCCTTACTCTGACGTCACCAAC TGCAACGAGAAATTCAAAGGGAAAGCCAC

【 0 4 5 3 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 9】

配列 番号	説明	配列
		ATTGACCTCTGACAAGACAAGCAGTACCG CCTACATGGAGCTTTCTAGTTTGACTTCTG AAGACTCTGCTGTCTACTACTGTAGCAGCT ACGGCGGCGGCTTTGCTTACTGGGGCCAG GGTACATTGGTGACTGTGAGTGCA
54	VH- CDR1	GYTVTSYVMH
55	VH-CDR2	YINPYSDVTNCNEKFKG
56	VH-CDR3	YGGGFAY
57	AGX-A08 可変軽(VL)鎖アミノ酸	DIQMTQSPASLSASVGEPTITCRASKNIYTY LAWYHQKQGKSPQFLVYNARTLAGGVPSRL SGSGSVTQFSLNINTLHREDLGTYFCQHHYD TPYTFGGGTNLEIK
58	AGX-A08 可変軽(VL)鎖核酸	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCC CTATCTGCATCTGTGGGAGAACCTGTCACC ATCACATGTCGAGCAAGTAAGAATATTAC ACATATTTAGCATGGTATCACCAGAAACA GGGAAAATCTCCTCAGTTCCTGGTCTATAA TGCAAGAACCTTAGCAGGAGGTGTGCCAT CAAGGCTCAGTGGCAGTGGATCAGTCACG CAGTTTTCTCTAAACATCAACACCTTGCAT CGAGAAGATTTAGGGACTTACTTCTGTCAA CATCATTATGATACTCCGTACACGTTCCGA GGGGGGACCAACCTGGAAATAAAA
59	AGX-A08 可変軽(VL)鎖コドン最適化 核酸	GACATCCAGATGACACAGTCACCAGCATC CCTGTCCGCCTCAGTTGGGGAGCCTGTTAC CATAACTTGTCGGGCAAGCAAAAACATAT ACACCTATTTGGCTTGGTATCACCAAAGC AAGGTAAGTCACCTCAGTTTCTTGTATATA ATGCCCGCACACTTGCTGGCGGAGTACCCT CTCGATTGTCTGGATCTGGCAGCGTTACCC AATTCAGCCTGAACATCAACACCCTCCATC GGGAAGATTTGGGTACCTATTTCTGTCAAC ATCACTACGACACCCCATACACCTTCGGAG GCGGCACAAATTTGGAAATTAATA
60	VL- CDR1	RASKNIYTYLA
61	VL-CDR2	NARTLAG

【 0 4 5 4 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 0】

配列 番号	説明	配列
62	VL-CDR3	QHHYDTPYT
抗体 AGX-A09		
63	AGX-A09 可変重(VH)鎖アミノ酸	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSS YVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYSDVTNY NEKFKGKATLTSDRSSNTAYMELSSLTSEDS AVYYCARNYFDWGRGTLVTVSA
64	AGX-A09 可変重(VH)鎖核酸	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGA GCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TGCTCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCT CTAGCTATGTTATGCACTGGGTGAAGCAGA AGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGA TATATTAATCCTTACAGTGATGTCACTAAC TACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCAC ACTGACTTCAGACAGATCCTCCAACACAGC CTACATGGAAGTCAAGCAGCCTGACCTCTGA GGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAAA TTACTTCGACTGGGGCCGAGGGACTCTGGT CACAGTCTCTGCA
65	AGX-A09 可変重(VH)鎖コドン最適化 核酸	GAGGTACAGCTTCAGCAGAGTGGTCCAGA ACTCGTCAAGCCTGGGGCAAGCGTTAAGA TGAGTTGTAAAGCATCCGGTTACACATTCA GTAGCTATGTTATGCACTGGGTCAAACAGA AGCCTGGGCAGGGGTTGGAGTGGATCGGA TATATAAATCCCTATTACAGACGTAATAAT TATAATGAAAAGTTCAAGGGGAAAGCAAC CTTGACAAGTGACCGGTCATCTAATACCGC ATACATGGAGCTGAGCTCATTGACAAGTG AGGACTCTGCTGTGTATTACTGTGCCCCGA ACTACTTCGACTGGGGTAGGGGCACACTG GTAAGTGTAGTGCA
66	VH- CDR1	GYTFSSYVMH
67	VH-CDR2	YINPYSDVTNYNEKFKG
68	VH-CDR3	NYFD
69	AGX-A09 可変軽(VL)鎖アミノ酸	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASKNVYS YLAWFQKQKQKSPQLLVYNAKTLAEGVPSR FSGGGSGTQFSLKINS LQPADFGSYYCQHYY NIPFTFGSGTKLEIK

10

20

30

40

【 0 4 5 5】

【表 4 - 1 1】

配列 番号	説明	配列
70	AGX-A09 可変軽(VL)鎖核酸	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCC CTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACC ATCACATGTCGAGCAAGTAAAAATGTTTAC AGTTATTTAGCATGGTTTCAACAGAAACAG GGGAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAAT GCTAAACCTTAGCAGAAGGTGTGCCATC AAGGTTCAGTGGCGGGGGATCAGGCACAC AGTTTTCTCTGAAGATCAACAGCCTGCAGC CTGCAGATTTTGGGAGTTATTACTGTCAAC ATCATTATAATATTCCATTCACGTTTCGGCT CGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA
71	AGX-A09 可変軽(VL)鎖コドン最適化 核酸	GACATACAAATGACACAAAGTCCCGCTAG TCTTTCAGCCAGTGTGGTGAGACTGTGAC AATAACCTGTAGAGCTAGCAAAAATGTCT ACTCCTATCTGGCTTGGTTCAGCAGAAAC AAGGAAAGAGTCCTCAGTTGCTCGTATATA ATGCTAAACCTTGGCAGAAGGCGTCCCTT CTCGTTTCAGTGGCGGAGGAAGTGGGACT CAATTCTCACTGAAGATCAATAGCCTCCAG CCCGCCGACTTTGGGAGCTACTATTGCCAA CATCATTACAACATACCATTACCTTTGGC TCAGGTACTAAACTCGAAATTAAA
72	VL- CDR1	RASKNVYSYLA
73	VL-CDR2	NAKTLAE
74	VL-CDR3	QHYNIPFT
抗体 AGX-A11		
75	AGX-A11 可変重(VH)鎖アミノ酸	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGFTFTNY PMHWVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTY ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLIKNE DMATYFCARGGYDGSREFAYWGQGLVTVS
76	AGX-A11 可変重(VH)鎖核酸	CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGAC CTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTC AAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGTTTACC TTCACAAACTATCCAATGCACTGGGTGAAG CAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGAT GGGCTGGATAAACACCTACTCTGGAGTGC CAACATATGCAGATGACTTCAAGGGACGG TTTGCCTTCTCTTGGAAACCTCTGCCAGC

【 0 4 5 6 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 2】

配列 番号	説明	配列
		ACTGCATATTTGCAGATCAACAACCTCAA AATGAGGACATGGCTACATATTTCTGTGCA AGAGGGGGCTACGATGGTAGCAGGGAGTT TGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCAC TGTCTCT
77	AGX-A11 可変重(VH)鎖コドン最適化 核酸	CAGATACAACCTCGTCCAGTCAGGTC CAGAGTTGAAGAAACCCGGAGAACTGTG AAGATATCCTGTAAAGCCAGCGGCTTTACT TTCACAAACTACCCCATGCATTGGGTGAAG CAGGCCCCCGGAAAAGGACTCAAATGGAT GGGATGGATCAACACATACAGTGGGGTGC CTACTTACGCAGACGATTTCAAAGGAAGG TTCGCATTTAGCTTGGAACTAGCGCATCT ACAGCATATCTCCAGATTAACAATCTTAAA AATGAGGATATGGCAACATACTTCTGCGCT AGGGGAGGTTACGATGGGAGCAGGGAGTT CGCTTATTGGGGGCAAGGGACTCTTGTGAC TGTAAGT
78	VH- CDR1	GFTFTNYPMH
79	VH-CDR2	WINTYSGVPTYADDFKG
80	VH-CDR3	GGYDGSREFAY
81	AGX-A11 可変軽(VL)鎖アミノ酸	DIVLTQSPASLAASLGQRATTSYRASK SVSTSGYSYMHWNQKPGQPRLIYLVSNL ESGVPARFSGSGTDFTLNIIHPVEEEDAATY YCQHIRELTTFGGGTKLEIK
82	AGX-A11 可変軽(VL)鎖核酸	GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTG CTTCCTTAGCTGCATCTCTGGGGCAGAGGG CCACCACCTCATACAGGGCCAGCAAAAGT GTCAGTACATCTGGCTATAGTTATATGCAC TGGAACCAACAGAAACCAGGACAGCCACC CAGACTCCTCATCTATCTTGTATCCAACCT AGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAAGTGG CAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAA CATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTG CAACCTATTACTGTCAGCACATTAGGGAGC TTACCACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTG GAAATAAAA
83	AGX-A11	GACATAGTGCTCACTCAGAGCCCTG CATCCCTTGCCGCCTCCCTCGGACAACGAG

10

20

30

40

【 0 4 5 7】

【表 4 - 1 3】

配列番号	説明	配列
	可変軽(VL)鎖コドン最適化核酸	CTACTACAAGCTACCGGGCATCAAAGTCC GTTAGCACATCAGGATACAGCTATATGCAC TGGAATCAGCAAAAGCCAGGCCAACCACC CCGTCTTCTCATCTACCTCGTAAGTAATCT GGAATCAGGCGTGCCAGCCCGATTCAAGTG GGTCAGGGTCTGGGACAGATTTACCCCTCA ACATCCATCCAGTAGAGGAAGAGGACGCA GCAACATATTACTGCCAACACATTAGAGA ACTTACCCTTTTCGGAGGAGGAATAAATT GGAGATCAAA
84	VL- CDR1	RASKSVSTSGYSYMH
85	VL-CDR2	LVSNLES
86	VL-CDR3	QHIRELT
定常領域配列		
87	IgG1 G1m17* (重鎖定常領域) *L234A/L235A/G237A 突然変異を有する 配列番号 88 は、末端リジンがない配列である	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
88	IgG1 G1m17* (重鎖定常領域) L234A/L235A/G237A 突然変異を有する	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
89	IgG1 Km3 (軽鎖定常領域)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK

【 0 4 5 8】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 4】

配列番号	説明	配列
		DSTYSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
ヒト化 AGX-A07 配列		
90	AGX-A07 (ヒト化) H2 重鎖アミノ酸	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWRQAPGQDLEWMGWINTYTGNPI YAADFGRVTMTTDTSTSTAFMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLTVT SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
91	AGX-A07 (ヒト化) H2 重鎖核酸	TCTACCGGACAGGTGCAGTTGGTTCAGTCT GGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCTTC TGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTA CACCTTACCAACTACGGCGTGAAATGGGT CCGACAGGCTCCTGGACAGGATCTGGAAT GGATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGC AATCCTATCTACGCCGCCGACTTCAAGGGC AGAGTGACCATGACCACCGACACCTCTAC CTCCACCGCCTTCATGGAAGTGCAGTCCCT GAGATCTGACGACACCGCCGTGTACTACTG CGTGCGGTTTCAGTACGGCGACTACCGGTA CTTTGATGTGTGGGGCCAGGGCACACTGGT CACCGTTTCTCCGCTTCTACCAAGGGACC CAGCGTGTTCCTCTGGCTCCTTCCTCTAA ATCCACCTCTGGCGGAACCGCTGCTCTGGG CTGTCTGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGCC TGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGTGCTCT GACATCCGGCGTGCACACCTTCCAGCTGT GCTGCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTC CTCTGTCTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA ACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGAC AGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAA GACCCACACCTGTCTCCATGTCCTGCTCC AGAAGCTGCTGGCGCTCCCTCTGTGTTCCCT GTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCCTGAT GATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGT

【 0 4 5 9 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 5】

配列 番号	説明	配列
		GGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCAG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGC GTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC TAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACA GAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAG TGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCCG TCCTATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCTAA GGGCCAGCCTCGGGAACCTCAGGTTTACA CCCTGCCTCCATCTCGGGAAGAGATGACCA AGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGA AGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGG AATGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAAC AACTACAAGACAACCCCTCCTGTGTGGAC TCCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAG CTGACAGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCA GGGCAACGTGTTCTCCTGTTCTGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAACCACTACACACAGA AGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGCAAGTGA
92	AGX-A07 H2v1 重鎖アミノ酸	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNI YAADFKGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFYQYGDYRYFDVWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
93	AGX-A07 H2v1 重鎖核酸	GAAGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGCGCCGA AGTGAAGAAACCTGGCGCTTCTGTGAAGG TGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACACCTTTA CCAACCTACGGCGTGAAATGGGTCCGACAG GCTCCTGGACAAGGCCTGGAATGGATGGG CTGGATCAACACCTACACCGGCAATCCTAT CTACGCCGCCGACTTCAAGGGCAGAGTGA CCATGACCACCGACACCTCTACCTCCACCG CCTACATGGAAGTGCAGTCCCTGAGATCTG ACGACACCGCCGTGTACTACTGCGTGCGGT TTCAGTACGGCGACTACCGGTACTTTGATG TGTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGTTT

【 0 4 6 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 6】

配列番号	説明	配列
		CTCCGCTTCTACCAAGGGACCCAGCGTGT TCCCTCTGGCTCCTTCTCTAAATCCACCTC TGGCGGAACCGCTGCTCTGGGCTGTCTGGT CAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAATTCTGGTGCTCTGACATCCGG CGTGACACACCTTCCAGCTGTGCTGCAGTC CTCTGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTCTGTG ACCGTGCCTTCTAGCTCTCTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCT TCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGA ACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCT GTCCTCCATGTCTGCTCCAGAAGCTGCTG GCGCTCCCTCTGTGTTCCTGTTTCCCTCCAA GCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGGAC CCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGT GTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCA ATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGAC AACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACA GTACAACCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGA ACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCC AACAAGGCACTGCCCGCTCCTATCGAAAA GACCATCTCCAAGGCTAAGGGCCAGCCTC GGGAACCTCAGGTTTACACCCTGCCTCCAT CTCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGCTTCTAC CCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC AATGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGAC AACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTC ATTCTTCCCTGTACTCCAAGCTGACAGTGA CAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGTTCTGTGATGCACGAGGCCCTGC ACAACCACTACACACAGAAGTCCCTGTCTC TGTCCTGGAAGTGA
94	VH-CDR1	GYTFTNYGVK
95	VH-CDR2	WINTYTGNPIYAADFK
96	VH-CDR3	FQYGDYRYFDV
97	AGX-A07 L5 軽鎖アミノ酸	EIILTQSPATLSLSPGERATLSCRANS GISFIN WYQQKPGQAPRLLIYGTANLASGIPARFGGS GSGRDFLT L ISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPLT FGGGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS

【 0 4 6 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 7】

配列番号	説明	配列
		QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
98	AGX-A07 L5 軽鎖核酸	AAGCTTGCCACCATGGAAACCGACACACT GCTGCTGTGGGTGCTGTTGTTGTGGGTGCC AGGATCTACCGGAGAGATCATCCTGACAC AGAGCCCCGCCACATTGTCTCTGAGTCCTG GCGAGAGAGCTACCCTGTCCTGTAGAGCC AACTCCGGCATCTCCTTCATCAACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTAGACT GCTGATCTATGGCACCCTAACCTGGCCTC TGGCATCCCTGCTAGATTGCGGGCTCTGG CTCTGGCAGAGACTTCACCCTGACCATCTC TAGCCTGGAACCTGAGGACTTCGCCGTGTA CTACTGCCAGCAGTGGTCTAGCAACCCTCT GACCTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAA TCAAGAGAACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGT TCATCTTCCCACCATCTGACGAGCAGCTGA AGTCTGGCACAGCCTCTGTCGTGTGCCTGC TGAACAACCTTCTACCCTCGGGAAGCCAAG GTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCA GTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCG AGCAGGACTCCAAGGACTCTACCTACAGC CTGTCTCCACACTGACCCTGTCTAAGGCC GACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTG TGAAGTGACCCACCAGGACTGTCTAGCC CCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGT GCTGA
99	AGX-A07 L5v1 軽鎖アミノ酸	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANSISFIN WYQQKPGQAPRLLIYGTANLASGIPARFSGS GSGRDFLTITISLEPEDFAVYYCQQWSSNPLT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
100	AGX-A07 L5v1 軽鎖核酸	TCTACAGGCGAGATCGTGCTGACCCAGTCT CCTGCCACATTGTCTCTGAGTCCTGGCGAG AGAGCTACCCTGTCCTGTAGAGCCAACTCC GGCATCTCCTTCATCAACTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCTCCTAGACTGCTGATC TATGGCACCGCTAACCTGGCCTCTGGCATC CCTGCTAGATTTCCGGCTCTGGCTCTGGC AGAGACTTCACCCTGACCATCTCTAGCCTG GAACCTGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGC CAGCAGTGGTCTAGCAACCCTCTGACCTTT GGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGAG

【 0 4 6 2 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 8】

配列 番号	説明	配列
		AACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTT CCCACCATCTGACGAGCAGCTGAAGTCTG GCACAGCCTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGT GGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGCGC AACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGA CTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCCTC CACACTGACCCTGTCTAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAAGTGA CCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCA AGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGCTGA
101	AGX-A07 L5v2 軽鎖アミノ酸	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSGISFIN WYQQKPGQAPRLLIYGTANLASGIPARFSGS GSGRDFLTITSSLEPEDFAVYYCQWSSNPLT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
102	AGX-A07 L5v2 軽鎖核酸	TCTACAGGCGAGATCGTGCTGACCCAGTCT CCTGCCACATTGTCTCTGAGTCCTGGCGAG AGAGCTACCCTGTCTTGTAGAGCCCAGTCC GGCATCTCCTTCATCAACTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCTCCTAGACTGCTGATC TATGGCACCGCTAACCTGGCCTCTGGCATC CCTGCTAGATTTCCGGCTCTGGCTCTGGC AGAGACTTCACCCTGACCATCTCTAGCCTG GAACCTGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGC CAGCAGTGGTCTAGCAACCCTCTGACCTTT GGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGAG AACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTT CCCACCATCTGACGAGCAGCTGAAGTCTG GCACAGCCTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGT GGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCTGGC AACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGA CTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCCTC CACACTGACCCTGTCTAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAAGTGA CCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCA AGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGCTGA
103	AGX-A07 L5v3 軽鎖アミノ酸	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANS GISFIN WYQQKPGQAPRLLIYGTANLASGIPARFSGS GSGRDFLTITSSLEPEDFAVYYCQYSSNPLT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS

【 0 4 6 3】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 9】

配列 番号	説明	配列
		QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
104	AGX-A07 L5v3 軽鎖核酸	TCTACAGGCGAGATCGTGCTGACCCAGTCT CCTGCCACATTGTCTCTGAGTCCTGGCGAG AGAGCTACCCTGTCTGTAGAGCCAACTCC GGCATCTCCTTCATCAACTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCTCCTAGACTGCTGATC TATGGCACCGCTAACCTGGCCTCTGGCATC CCTGCTAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGC AGAGACTTCACCCTGACCATCTCTAGCCTG GAACCTGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGC CAGCAGTACAGCAGCAACCCTCTGACCTTT GGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGAG AACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTT CCCACCATCTGACGAGCAGCTGAAGTCTG GCACAGCCTCTGTCTGTGCTGCTGAACA ACTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGT GGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGC AACTCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGA CTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCTC CACACTGACCCTGTCTAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAAGTGA CCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCA AGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGCTGA
105	AGX-A07 L5v4 軽鎖アミノ酸	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSGISFIN WYQQKPGQAPRLLIYGTANLASGIPARFSGS GSGRDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQYSSNPLT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
106	AGX-A07 L5v4 軽鎖核酸	TCTACAGGCGAGATCGTGCTGACCCAGTCT CCTGCCACATTGTCTCTGAGTCCTGGCGAG AGAGCTACCCTGTCTGTAGAGCCAGTCC GGCATCTCCTTCATCAACTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCTCCTAGACTGCTGATC TATGGCACCGCTAACCTGGCCTCTGGCATC CCTGCTAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGC AGAGACTTCACCCTGACCATCTCTAGCCTG GAACCTGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGC CAGCAGTACAGCAGCAACCCTCTGACCTTT GGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGAG AACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTT CCCACCATCTGACGAGCAGCTGAAGTCTG GCACAGCCTCTGTCTGTGCTGCTGAACA

【 0 4 6 4 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 0】

配列 番号	説明	配列
		ACTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGT GGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCTGGC AACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGA CTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCCTC CACACTGACCCTGTCTAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAAGTGA CCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCA AGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGCTGA
107	VL-CDR1 (バリエント 1)	RANSGISFIN
108	VL-CDR1 (バリエント 2)	RAQSGISFIN
109	VL-CDR2	GTANLAS
110	VL-CDR3 (バリエント 1)	QQWSSNPLT
111	VL-CDR3 (バリエント 2)	QQYSSNPLT
ヒト化 AGX-A01 配列		
112	AGX-A01 H1 重鎖アミノ酸	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS FAMSWVRQAPGKLEWVSTISSGSIYIYTD GVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARRGIYYGYDGYAMDYWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
113	AGX-A01 H1 重鎖核酸	GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGAGG ACTTGTGAAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACT GTCTTGTGCCGCCTCTGGCTTACCTTCTCC AGCTTTGCCATGTCTGGGTCCGACAGGCT CCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCCAC CATCTCCTCCGGCTCCATCTACATCTACTA CACCGACGGCGTGAAGGGCAGATTACCA TCAGCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGA

【 0 4 6 5 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 1】

配列 番号	説明	配列
		GGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGACG GGGCATCTACTATGGCTACGACGGCTACGC TATGGACTATTGGGGACAGGGCACACTGG TCACCGTGTCTCTGCTTCTACCAAGGGAC CCAGCGTGTTCCTCTGGCTCCTTCCTCTA AATCCACCTCTGGCGGAACCGCTGCTCTGG GCTGTCTGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGC CTGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGTGCTC TGACATCCGGCGTGACACACCTTCCAGCTG TGCTGCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGT CCTCTGTCTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA ACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGAC AAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAA GACCCACACCTGTCTCCATGTCTGCTCC AGAAGCTGCTGGCGCTCCCTCTGTGTTCCT GTTTCTCCAAAGCCTAAGGACACCTGAT GATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCAG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGC GTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC TAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACA GAGTGGTGTCTGTGCTGACCGTGCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAG TGCAAGGTGTCCAACAAGGCACTGCCCCG TCCTATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCTAA GGGCCAGCCTCGGGAACCTCAGGTTTACA CCCTGCCTCCATCTCGGGAAGAGATGACCA AGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGA AGGGCTTCTACCTTCCGATATCGCCGTGG AATGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAAC AACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGAC TCCGACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAG CTGACAGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCA GGGCAACGTGTCTCTCTGTGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAACCACTACACACAGA AGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGCAAGTGA
114	AGX-A01 H1v1 重鎖アミノ酸	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS FAMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGSIYIYTD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARRGIYYGYEGYAMDYWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVF LFPPKPKDILMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR

【 0 4 6 6 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 2】

配列 番号	説明	配列
		VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
115	VH- CDR1	GFTFSSFAMS
116	VH-CDR2 (バリエント 1)	TISSGSIYIYYTDGVKG
117	VH-CDR2 (バリエント 2)	TISSGSIYIYYTDSVKG
118	VH-CDR3 (バリエント 1)	RGIYYGYDGYAMDY
119	VH-CDR3 (バリエント 2)	RGIYYGYEGYAMDY
120	VH-CDR3 (バリエント 3)	RGIYYGYSGYAMDY
121	VH-CDR3 (バリエント 4)	RGIYYGYAGYAMDY
122	AGX-A01 L10 軽鎖アミノ酸	AIVLTQSPGTLSPGERATLSCRSSQSLVHS NGNTYLHWYMQKPGQAPRVLIYKVSNRFSG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPDDFAIYYCSQ STHIPLAFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVYCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
123	AGX-A01 L10 軽鎖核酸	GCCATCGTGTGACCCAGTCTCCAGGCACA TTGTCTCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACC CTGTCTCTGAGATCTTCTCAGTCCCTGGTG CACTCCAACGGCAACACCTACCTGCACTGG TACATGCAGAAGCCCGGACAGGCTCCCAG AGTGTCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGT CTCTGGCATCCCCGACAGATTTTCCGGCTC TGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCAT CTCTAGACTGGAACCCGACGACTTCGCCAT CTACTACTGCTCCCAGTCCACACACATCCC TCTGGCTTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGA AATCAAGAGAACCGTGGCCGCTCCTTCCGT GTTTCATCTTCCACCATCTGACGAGCAGCT GAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCTGTGTGCT GCTGAACAACCTCTACCCTCGGGAAGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTG CAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACC GAGCAGGACTCCAAGGACTCTACCTACAG

10

20

30

40

【 0 4 6 7 】

50

【表 4 - 2 3】

配列 番号	説明	配列
		CCTGTCCTCCACACTGACCCTGTCTAAGGC CGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCT GTGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGC CCTGTGACCAAGTC'TTCAACCGGGGCGAG TGTGA
124	VL- CDR1 (バリエント 1)	RSSQSLVHSNGNTYLH
125	VL-CDR1 (バリエント 2)	RSSQSLVHSSGNTYLH
126	VL-CDR1 (バリエント 3)	RSSQSLVHSTGNTYLH
127	VL-CDR1 (バリエント 4)	RSSQSLVHSQGNTYLH
128	VL-CDR2	KVSNRFS
129	VL-CDR3	SQSTHIPLA
ヒト化 AGX-A07 H2v1L5v2		
130	AGX-A07 H2v1 重鎖可変領域アミノ酸	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNPI YAADF ~~K~~ GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLTVTV SS
131	AGX-A07 H2v1L5v2 軽鎖可変領域アミノ酸	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSGISFIN WYQQKPGQAPRLLIYGTANLASGIPARFSGS GSGRDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPLT FGGGTKVEIK
ヒト化 AGX-A07 H2L5		
132	AGX-A07 H2 重鎖可変領域アミノ酸	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQDLEWMGWINTYTGNPI YAADF ~~K~~ GRVTMTTDTSTSTAFMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLTVTV SS
133	AGX-A07 L5 軽鎖可変領域アミノ酸	EILTQSPATLSLSPGERATLSCRANS GISFIN WYQQKPGQAPRLLIYGTANLASGIPARFGGS GSGRDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPLT FGGGTKVEIK

【 0 4 6 8 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 4】

配列 番号	説明	配列
Fc 領域配列		
135	IgG1 L234A/L235A/G237A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE ~~AA~~ G ~~4~~ P SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
136	IgG1 L234A/L235A/G237A+N297C	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE ~~AA~~ G ~~4~~ PSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY ~~C~~ STYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
137	IgG1 L234A/L235A/G237A + P331G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE ~~AA~~ G ~~4~~ PSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA ~~G~~ I EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
138	IgG1 L234A/L235A/G237A + N297C/P331G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE ~~AA~~ G ~~4~~ PSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY ~~C~~ STYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA ~~G~~ I EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

【 0 4 6 9 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2 5】

配列 番号	説明	配列
		PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
139	IgG1 L234A/L235A/G237A + K322A/P331G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAGI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
140	IgG1 L234A/L235A/G237A + E233P/P331G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAGI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
141	IgG1 L234A/L235A/G237A + E233P/N297C	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYCYSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
142	IgG1 L234A/L235A/G237A + N297C/K322A/P331G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNIKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYCYSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAGI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQV

10

20

30

40

【 0 4 7 0 】

【表 4 - 2 6】

配列 番号	説明	配列
		SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
143	IgG1 L234A/L235A/G237A + E233P/N297C/P331G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>E44G</u> APSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY <u>C</u> STYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAGI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
144	IgG1 L234A/L235A/G237A + E233P/D265A/N297C/K322A/P 331G	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>E44G</u> APSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY <u>C</u> STYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYK <u>C4</u> VSNKALPAGI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
145	IgG1 L234A/L235A/G237A + E233P/D265A/N297C/K322A/P 331G-PGKKP	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE <u>E44G</u> APSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY <u>C</u> STYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYK <u>C4</u> VSNKALPAGI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK <u>KP</u>
146	IgG4 S228P (配列は、AGX-A07H2v1 重鎖可変領域アミノ酸を含む)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYGNPI YAADF ~~K~~ GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVR ~~F~~ QYGDYRYFDVWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGT ~~K~~ TYTCNV ~~D~~ HKPSNT

【 0 4 7 1 】

10

20

30

40

【表 4 - 2 7】

配列 番号	説明	配列
		KVDKRVESKYGP ~~PC~~ PAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK
147	IgG4 S228P/L235E (配列は、AGX-A07 H2v1 重鎖可変領域アミノ酸を含む)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNPI YAADFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNT KV ~~DK~~ RVESKYGP ~~PC~~ PAPEF ~~EG~~ GPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK
148	IgG4 S228P/L235E/N297C (配列は、AGX-A07 H2v1 重鎖可変領域アミノ酸を含む)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNPI YAADFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNT KV ~~DK~~ RVESKYGP ~~PC~~ PAPEF ~~EG~~ GPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQF ~~C~~ STYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLGLGK
149	IgG4 S228P/F234A/L235E/N297C (配列は、AGX-A07 H2v1 重鎖可変領域アミノ酸を含む)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNPI YAADFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNT

10

20

30

40

【 0 4 7 2 】

【表 4 - 2 8】

配列 番号	説明	配列
		KVDKRVESKYGP ~~PCP~~ <u>PC</u> PAPE <u>AE</u> GGPSVFLF PPKPKDTLMISRTP ~~EV~~ TCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF <u>C</u> STYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK
150	IgG4 S228P/L235E/N297C-LGKKP (配列は、AGX-A07H2v1 重鎖可変領域アミノ酸を含む)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVK ~~WVR~~ QAPGQGLEWMGWINTYTGNPI YAADFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLTVT SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVT ~~SV~~ SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSV ~~TV~~ VPSSSLGTQTYTCNV ~~DH~~ KPSNT KVDKRVESKYGP ~~PCP~~ <u>PC</u> PAPE <u>E</u> GGPSVFLFP PPKPKDTLMISRTP ~~EV~~ TCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQF <u>C</u> STYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK <u>KP</u>
151	IgG1 M252Y/S254T/T256E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVT ~~SV~~ SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSV ~~TV~~ VPSSSLGTQTYICNVN ~~HK~~ PSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTL <u>Y</u> TR <u>E</u> PEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
152	IgG1 T252Q/M428L	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVT ~~SV~~ SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSV ~~TV~~ VPSSSLGTQTYICNVN ~~HK~~ PSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKD <u>Q</u> LMISRTP ~~EV~~ TCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS V <u>L</u> HEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

【 0 4 7 3 】

50

【表 4 - 2 9】

配列 番号	説明	配列
153	IgG1 M428L/N434S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS <u>V</u> LHEALH <u>S</u> HYTQKSLSLSPGK
154	IgG4 T250Q/M428L (配列は、AGX-A07 H2v1 重鎖可変領域アミノ酸を含む)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNI YAADFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKD <u>Q</u> LMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV <u>L</u> HEALHNHYTQKSLSLSLGK
155	IgG4 M428L/N434S (配列は、AGX-A07 H2v1 重鎖領域アミノ酸を含む)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGVKWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNI YAADFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP VLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV <u>L</u> HEALH <u>S</u> HYTQKSLSLSLGK
156	IgG1 M252Y/S254T/T256E	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>NYGVK</u> WVRQAPGQGLEWMGWINTYTGNI <u>YAADFK</u> GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCVRFQYGDYRYFDVWGQGLVTV

10

20

30

40

【 0 4 7 4 】

【表 4－30】

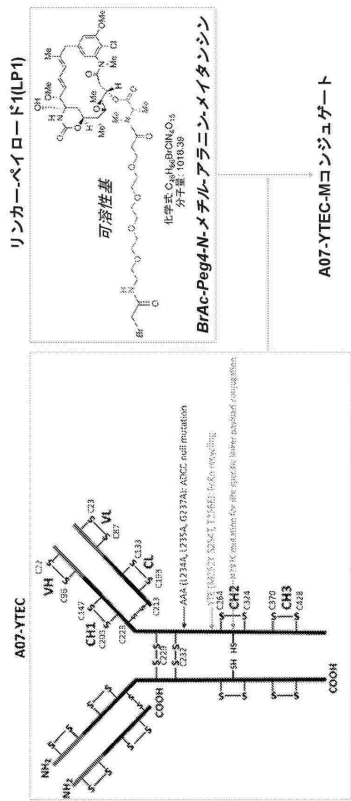
配列番号	説明	配列
	(配列は、AGX-A07 H2v1 重鎖可変領域アミノ酸を含む)	SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTL <u>Y</u> <u>T</u> <u>R</u> EPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0475】

【0433】本開示の好ましい実施形態が示され、本明細書に記載されるが、当業者にはそのような実施形態が例示のためだけに提供されることが明らかである。多くの変更、改変および置換が、ここで本開示から逸脱することなく当業者に想起されるであろう。本明細書に記載の本開示の実施形態の様々な代替が本開示の実行に用いられ得ることが理解されるはずである。以下の特許請求の範囲が本開示の範囲を規定し、これらの特許請求の範囲の範囲内の方法および構造ならびにそれらの等価物がそれによりカバーされることが意図される。

【図面】

【図 1】



【図 2 A】

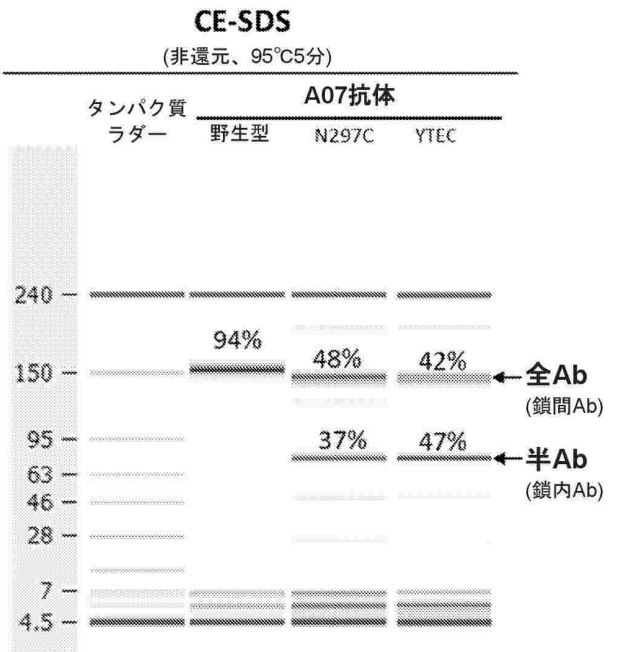


FIG. 2A

【図 2 B】

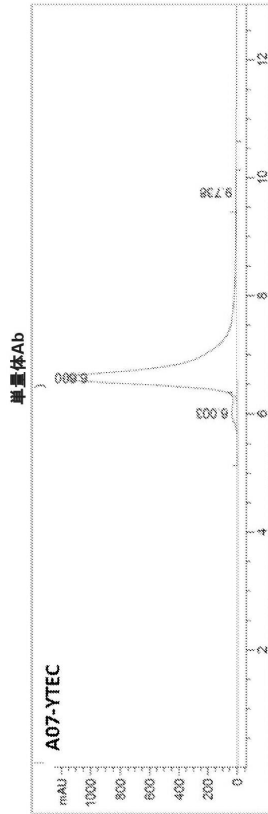


FIG. 2B

【図 3】

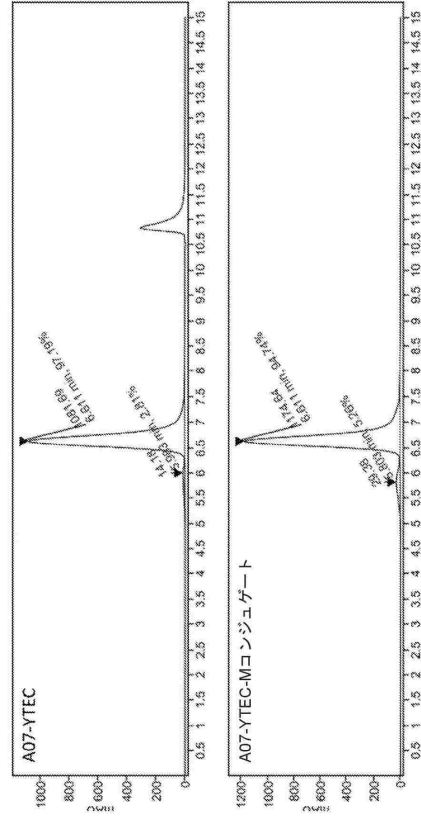


FIG. 3

【図 4】

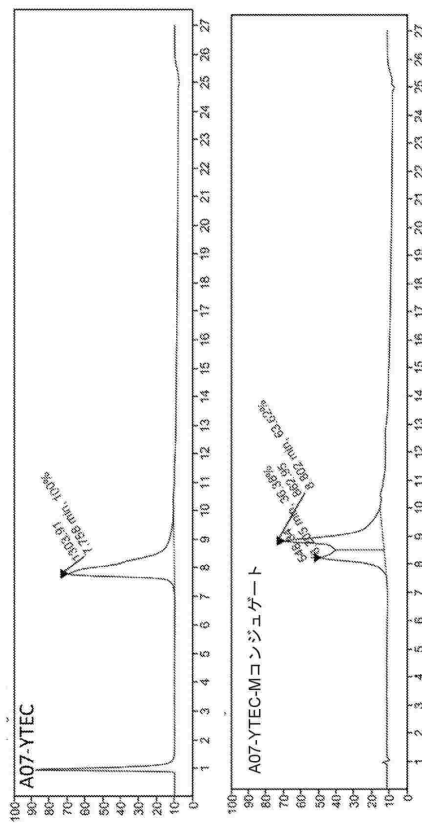


FIG. 4

【図 5】

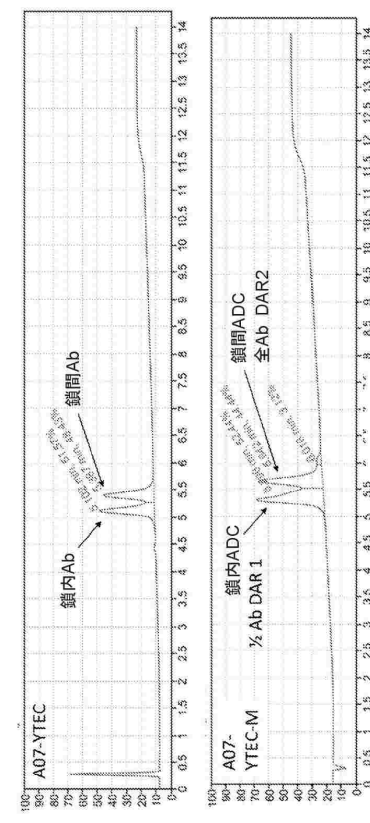


FIG. 5

10

20

30

40

50

【図 6】

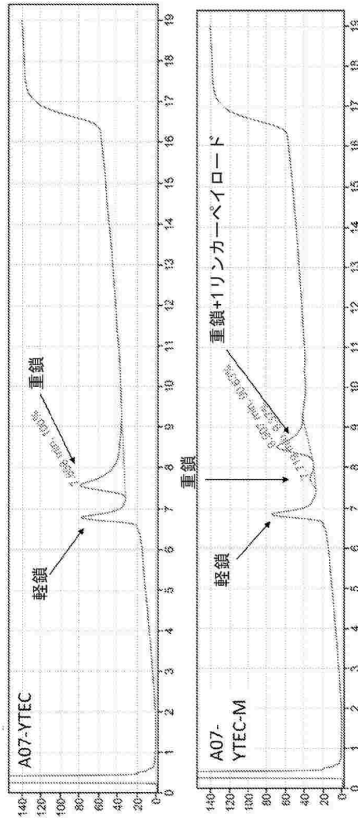
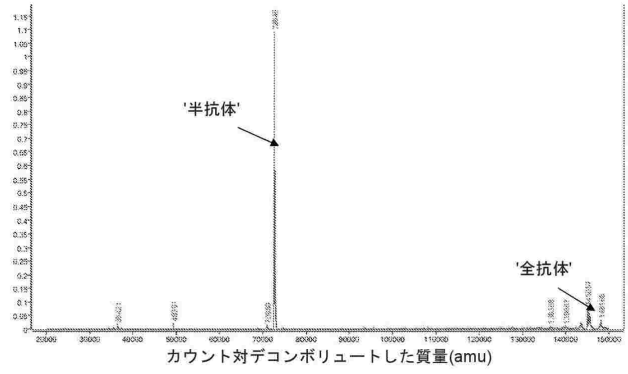


FIG. 6

【図 7】



10

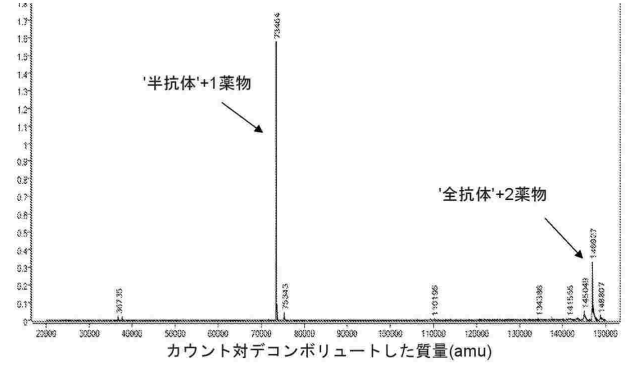


FIG. 7

20

【図 8 A】

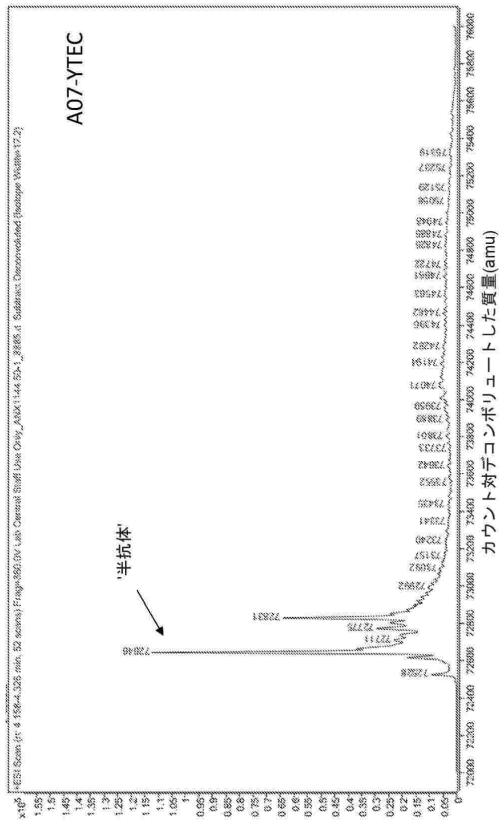


FIG. 8A

【図 8 B】

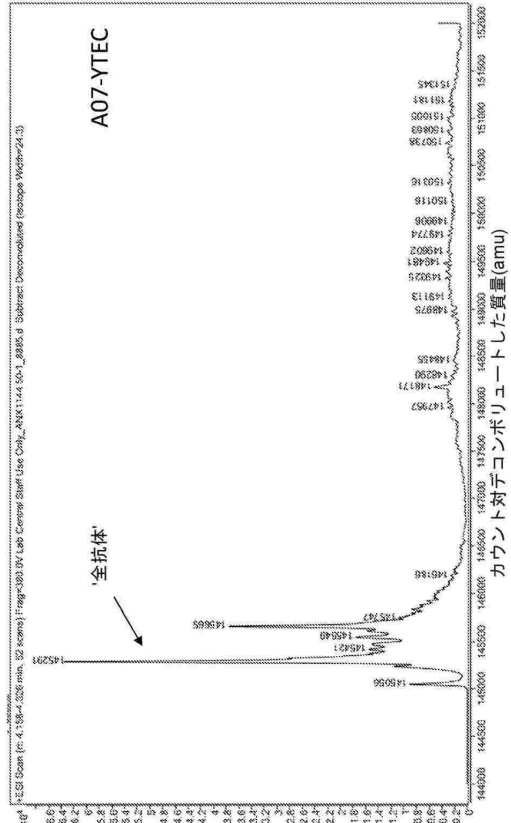


FIG. 8B

30

40

50

【図 8 C】

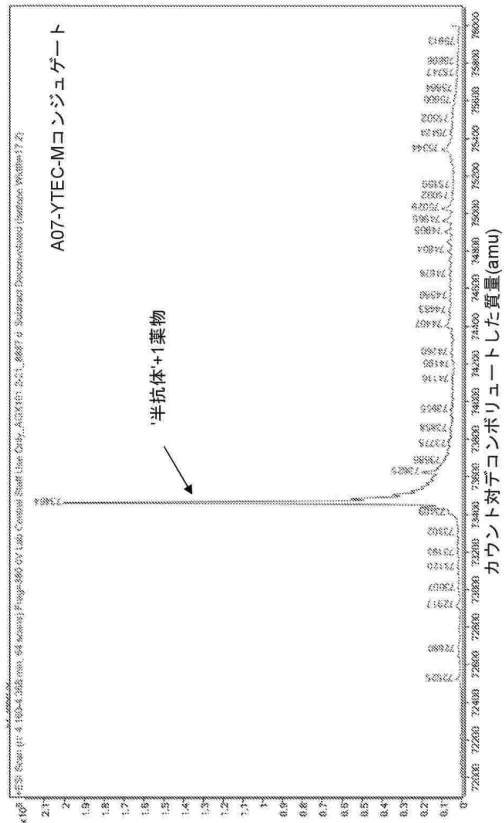


FIG. 8C

【図 8 D】

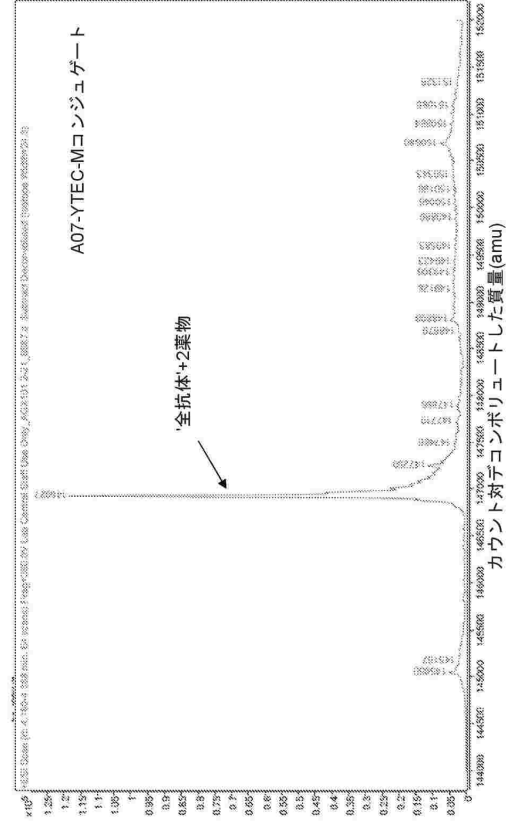


FIG. 8D

【図 9】

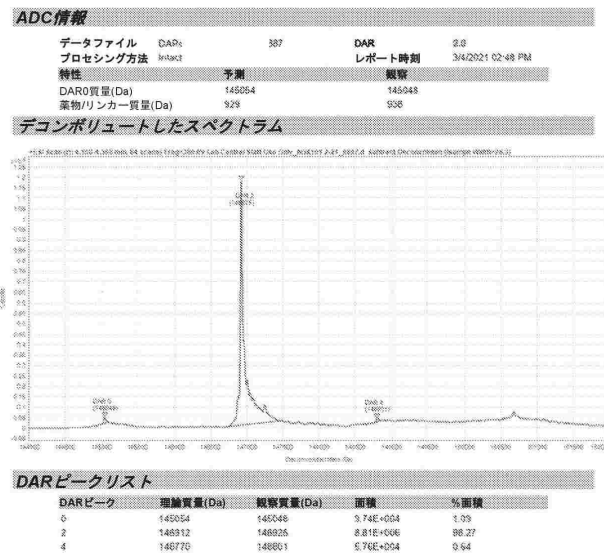


FIG. 9

【図 10】

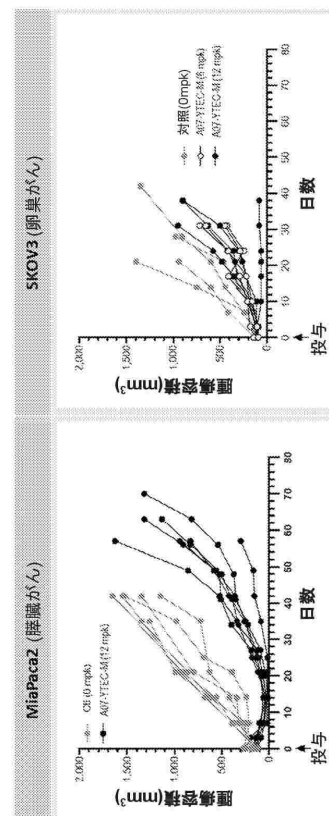


FIG. 10

10

20

30

40

50

【図 1 1 A】

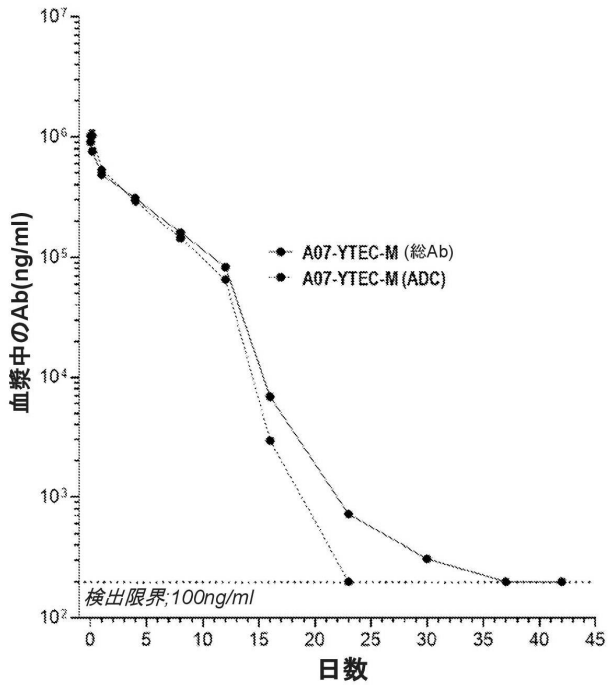


FIG. 11A

【図 1 1 B】

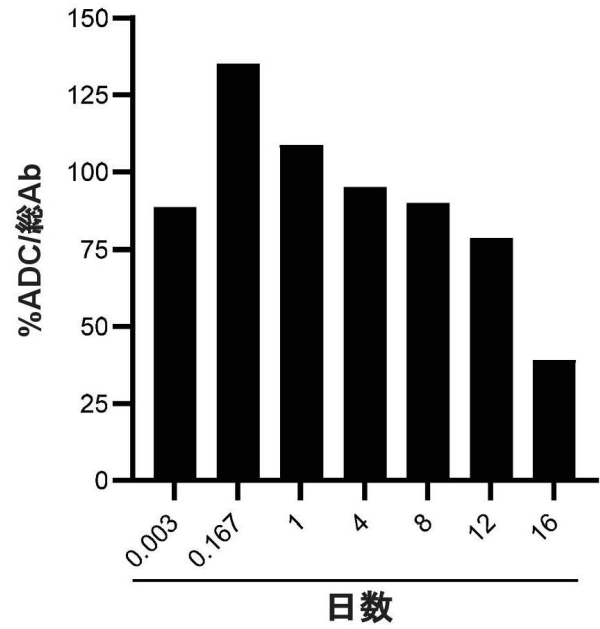


FIG. 11B

【図 1 2】

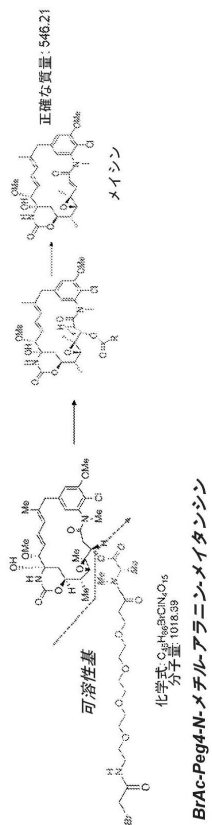


FIG. 12

【図 1 3 A】

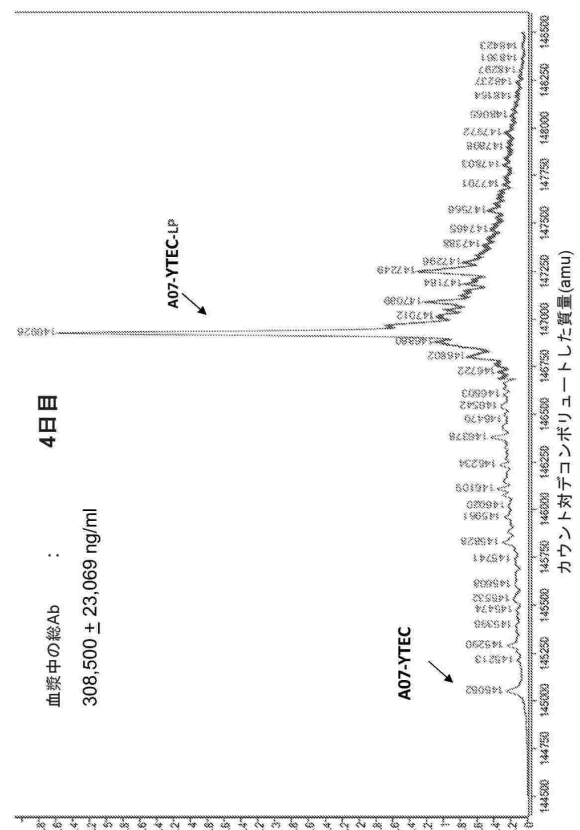


FIG. 13A

10

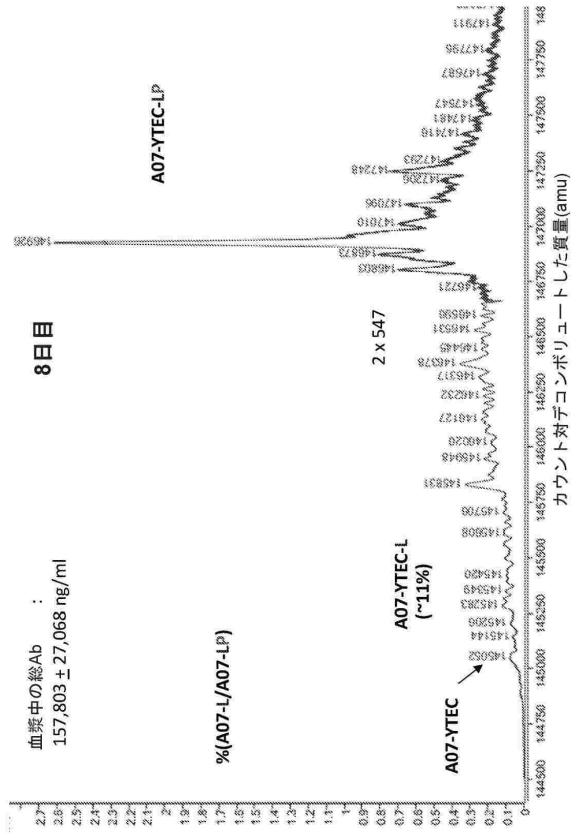
20

30

40

50

【図 13 B】



【図 14C】

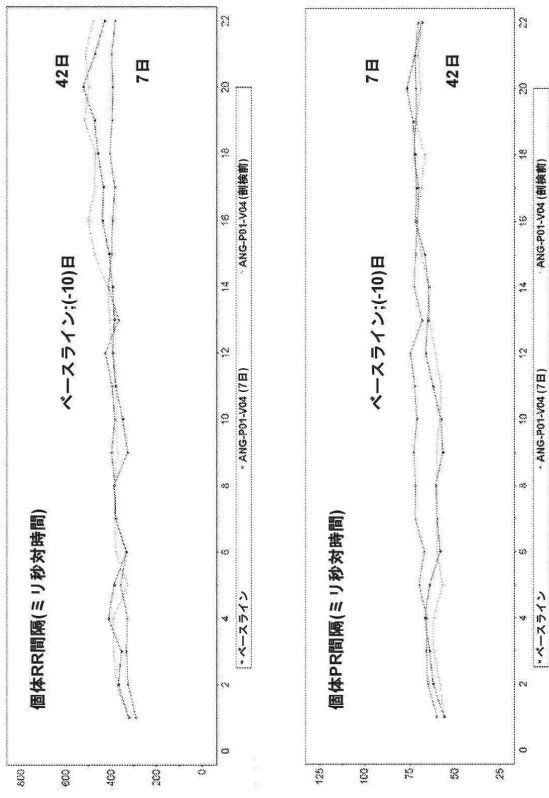


FIG. 14C

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/022041

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 31/03; A61K 31/122; A61K 31/535; A61K 39/395; A61K 47/68; C07K 16/28 (2022.01)

CPC - A61K 31/03; A61K 31/122; A61K 31/535; A61K 39/39558; A61K 47/6849; A61K 2039/505; C07K 16/28 (2022.05)

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)

see Search History document

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

see Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

see Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020/176794 A1 (ANGIEX INC) 03 September 2020 (03.09.2020) entire document	1-3
A	WO 2015/054427 A1 (BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER INC) 16 April 2015 (16.04.2015) entire document	1-3
P, X	US 11,208,495 B2 (ANGIEX INC) 28 December 2021 (28.12.2021) entire document	1-3

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ 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

"D" document cited by the applicant in the international application

"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

24 May 2022

Date of mailing of the international search report

JUN 22 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Taina Matos

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/022041

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☐ forming part of the international application as filed:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/022041

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-115
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/5386(2006.01)

A 6 1 K 31/5386

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 K 47/68

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

D

A 6 1 K 39/395

N

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,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,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JM,JO,J
P,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,N
A,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,
TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01742, コンコード, バイカー・アベニュー 300, ス
イート 300, ケア・オブ・アンジーエックス・インコーポレーテッド

(72)発明者 ジャミネット, ショウ・チン・エス

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01742, コンコード, バイカー・アベニュー 300, ス
イート 300, ケア・オブ・アンジーエックス・インコーポレーテッド

(72)発明者 ハ, エドワード・エイチ

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01742, コンコード, バイカー・アベニュー 300, ス
イート 300, ケア・オブ・アンジーエックス・インコーポレーテッド

(72)発明者 プレスタ, レオナルド・ジー

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01742, コンコード, バイカー・アベニュー 300, ス
イート 300, ケア・オブ・アンジーエックス・インコーポレーテッド

(72)発明者 ハドリカル, マニッシュ

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01742, コンコード, バイカー・アベニュー 300, ス
イート 300, ケア・オブ・アンジーエックス・インコーポレーテッド

(72)発明者 ルッツ, ロバート

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01742, コンコード, バイカー・アベニュー 300, ス
イート 300, ケア・オブ・アンジーエックス・インコーポレーテッド

F ターム (参考)

4C076 AA95 CC04 CC27 CC41

4C085 AA13 BB11 EE01

4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA14 ZB11 ZB26

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA72 CA40 DA76 EA28 FA74