



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0111469
(43) 공개일자 2016년09월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/48 (2006.01) C07K 16/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/48446 (2013.01)
A61K 47/48638 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7022661
(22) 출원일자(국제) 2015년01월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2016년08월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/012766
(87) 국제공개번호 WO 2015/112909
국제공개일자 2015년07월30일
(30) 우선권주장
61/931,478 2014년01월24일 미국(US)

(71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
길버트, 휴스턴 엔.
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
르마이유, 바네사
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
마슬리아, 다니엘
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 디
엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
(74) 대리인
양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 발명의 명칭 항-STEAP1 항체 및 면역접합체를 사용하는 방법

(57) 요약

본원은 항-STEAP-1 항체 및 그의 면역접합체를 사용하여 전립선암, 특히 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/48715 (2013.01)

C07K 16/30 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

세포독성제에 연결된 전립선-특이적 세포 표면 단백질에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 전립선암이 전이성 전립선암인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 전이성 전립선암이 전이성 거세-저항성 전립선암인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 안드로겐 수용체 억제제가 안드로겐 수용체에 대한 안드로겐 결합을 억제하고/거나 안드로겐 수용체 핵 전위 및 DNA와의 상호작용을 억제하는 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 안드로겐 수용체 억제제가 4-{3-[4-시아노-3-(트리플루오로메틸)페닐]-5,5-디메틸-4-옥소-2-솔파닐리덴이미다졸리딘-1-일}-2-플루오로-N-메틸벤즈아미드 또는 그의 염인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 세포독성제가 항유사분열제인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항유사분열제가 튜불린의 중합의 억제제인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 면역접합체가 화학식 Ab-(L-D)p를 갖고, 여기서:

- (a) Ab는 전립선-특이적 세포 표면 단백질에 결합하는 항체이고;
- (b) L은 링커이고;
- (c) D는 세포독성제이고, 세포독성제는 메이탄시노이드 또는 아우리스타틴으로부터 선택되고;
- (d) p는 1-8의 범위인

방법.

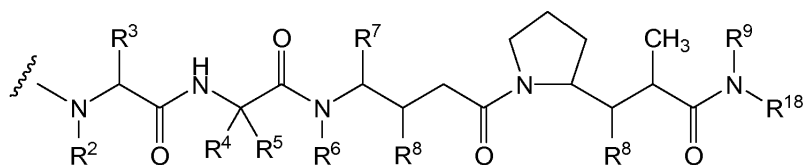
청구항 9

제8항에 있어서, D가 아우리스타틴인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, D가 하기 화학식 D_E를 갖고,

<화학식 D_E>



상기 식에서 R² 및 R⁶이 각각 메틸이고, R³ 및 R⁴가 각각 이소프로필이고, R⁵가 H이고, R⁷이 sec-부틸이고, 각각의 R⁸이 독립적으로 CH₃, O-CH₃, OH, 및 H로부터 선택되고; R⁹가 H이고; R¹⁸이 -C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-아릴인 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, D가 MMAE인 방법.

청구항 12

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 프로테아제에 의해 절단가능한 것인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 링커가 val-cit 디펩티드 또는 Phe-homoLys 디펩티드를 포함하는 것인 방법.

청구항 14

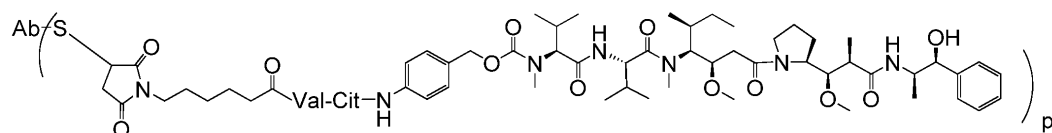
제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 산-불안정성인 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 링커가 히드라존을 포함하는 것인 방법.

청구항 16

제8항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 것인 방법.



상기 식에서, S는 황 원자이다.

청구항 17

제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, p가 2-5의 범위인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질이 전립선-특이적 막 항원 (PSM), 전립선 암종 종양 항원 (PCTA-1), 전립선 줄기 세포 항원 (PSCA), 용질 담체 패밀리 44, 구성원 4 (SLC44A4), 및 전립선의 6 막횡단 상피 항원 1 (STEAP-1) 중 1종 이상인 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질이 STEAP-1인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는

HVR-H3; (d) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 것인 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 9의 VH 서열 및 서열식별번호: 8의 VL 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 모노클로날 항체인 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 인간, 인간화 또는 키메라 항체인 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 전립선암이 또한 전립선-특이적 세포 표면 단백질의 발현에 대해 양성인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질이 STEAP-1인 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2014년 1월 24일에 출원된 미국 가출원 번호 61/931,478의 이익을 주장하며, 그의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 기술분야
- [0004] 본원은 항-STEAP1 항체 및 그의 면역접합체를 사용하여 전립선암, 특히 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다.

배경 기술

- [0005] 2012년 동안 미국에서 추정 241,740건의 새로운 사례의 전립선암이 발생할 것이다. 전립선암은 피부암을 제외하고 남성에서 가장 빈번하게 진단되는 암이다. 2012년에 추정되는 사망은 28,170건으로, 전립선암은 남성에서의 암 사망의 제2-주요 원인이다. 호르몬 요법, 화학요법, 방사선, 또는 이들 치료의 조합이 보다 진행된 질환을 치료하는데 사용된다. 전립선암 요법에서의 상기 확인되는 진보에도 불구하고, 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암에서의 진행을 비롯한 전립선암 진행을 효과적으로 억제할 수 있는 추가의 치료제에 대한 큰 필요가 존재한다.
- [0006] 특허 출원 및 공개를 비롯하여 본원에 인용된 모든 참고문헌은 그 전문이 참조로 포함된다.

발명의 내용

- [0007] 본원은 세포독성제에 연결된 전립선-특이적 세포 표면 단백질에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0008] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 전립선암은 전이성 전립선암이다. 일부 실시양태에서, 전이성 전립선암은 전이성 거세-저항성 전립선암이다. 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 안드로겐 수용체에 대한 안드로겐 결합을 억제하고/거나 안드로겐 수용체 핵 전위 및 DNA와의 상호작용을 억제한다. 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 4-{3-[4-시아노-3-(트리플루오로메틸)페닐]-5,5-디메

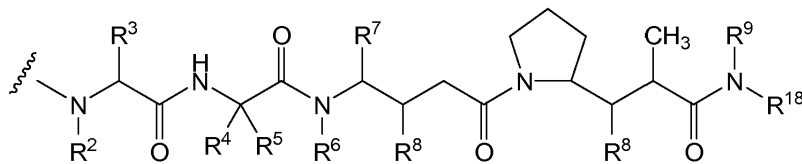
틸-4-옥소-2-술폰닐리덴이미다졸리딘-1-일}-2-플루오로-N-메틸벤즈아미드 또는 그의 염이다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 4-{3-[4-시아노-3-(트리플루오로메틸)페닐]-5,5-디메틸-4-옥소-2-술폰닐리덴이미다졸리딘-1-일}-2-플루오로-N-메틸벤즈아미드이다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 엔잘루타미드이다.

[0009] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 세포독성제는 항유사분열제이다. 일부 실시양태에서, 항유사분열제는 튜불린의 중합의 억제제이다.

[0010] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 면역접합체는 화학식 Ab-(L-D)_p를 갖고, 여기서: (a) Ab는 전립선-특이적 세포 표면 단백질에 결합하는 항체이고; (b) L은 링커이고; (c) D는 세포독성제이고, 세포독성제는 메이탄시노이드 또는 아우리스타틴으로부터 선택되고; (d) p는 1-8의 범위이다. 일부 실시양태에서, D는 아우리스타틴이다.

[0011] 일부 실시양태에서, D는 하기 화학식 D_E를 갖고

[0012] <화학식 D_E>



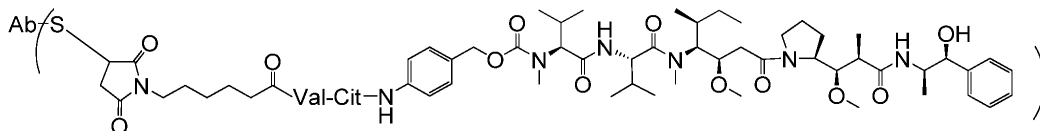
[0013]

[0014] 상기 식에서 R² 및 R⁶은 각각 메틸이고, R³ 및 R⁴는 각각 이소프로필이고, R⁵는 H이고, R⁷은 sec-부틸이고, 각각의 R⁸은 독립적으로 CH₃, O-CH₃, OH, 및 H로부터 선택되고; R⁹는 H이고; R¹⁸은 -C(R⁸)₂-C(R⁸)₂-아릴이다. 일부 실시양태에서, D는 MMAE이다.

[0015] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 링커는 프로테아제에 의해 절단가능하다. 일부 실시양태에서, 링커는 val-cit 디펩티드 또는 Phe-homoLys 디펩티드를 포함한다.

[0016] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 링커는 산-불안정성이다. 일부 실시양태에서, 링커는 히드라존을 포함한다.

[0017] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 화학식은 하기이다.



[0018]

[0019] 상기 식에서, S는 황 원자이다.

[0020] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, p는 2-5의 범위이다.

[0021] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질은 전립선-특이적 막 항원 (PSM), 전립선 암 종 중앙 항원 (PCTA-1), 전립선 줄기 세포 항원 (PSCA), 용질 담체 패밀리 44, 구성원 4 (SLC44A4), 및 전립선의 6 막횡단 상피 항원 1 (STEAP-1) 중 1종 이상이다. 일부 실시양태에서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질은 STEAP-1이다.

[0022] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 항체는 (a) 서열식별번호(SEQ ID NO): 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 9의 VH 서열 및 서열식별번호: 8의 VL 서열을 포함한다.

[0023] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간, 인간화 또는 키메라 항체이다.

[0024] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 전립선암은 또한 전립선-특이적 세포 표면 단백질의 발현에 대해 양성이다. 일부 실시양태에서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질은 STEAP-1이다.

[0025] 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 방법은 추가의 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 본원은 전립선-특이적 세포 표면 단백질에 결합하는 항체 및 그의 면역접합체, 특히 항유사분열제, 예컨대 튜블린의 중합의 억제제를 포함하는 면역접합체를 사용하여 전립선암, 특히 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0027] I. 일반적 기술

[0028] 달리 나타내지 않는 한, 본 발명의 실시는 분자 생물학 (재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이며, 이는 관련 기술분야의 기술 범위 내에 있다. 이러한 기술은 문헌, 예컨대 ["Molecular Cloning: A Laboratory Manual", second edition (Sambrook et al., 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait, ed., 1984); "Animal Cell Culture" (R. I. Freshney, ed., 1987); "Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.); "Current Protocols in Molecular Biology" (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, 및 periodic updates); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis et al., ed., 1994); "A Practical Guide to Molecular Cloning" (Perbal Bernard V., 1988); "Phage Display: A Laboratory Manual" (Barbas et al., 2001)]에 상세하게 설명되어 있다.

[0029] II. 정의

[0030] 본원에 사용된 용어 "전립선-특이적"은 마커가 전립선 조직에서 우선적으로 발견되고, 전립선 조직 또는 세포를 다른 조직 또는 세포와 실질적으로 구별한다는 것을 나타낸다. 특정 실시양태에서, 전립선-특이적 마커는 전립선 세포의 표면 또는 막 마커이다. 특정 실시양태에서, 전립선-특이적 마커는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 전립선의 6-막횡단 상피 항원 (STEAP-1) (예를 들어, 문헌 [Hubert et al., (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 14523-14528] 참조), 용질 담체 패밀리 44, 구성원 4 (SLC44A4) (예를 들어, Q53GD3), 전립선-특이적 막 항원 (PSM) (예를 들어, 문헌 [Israeli, R. S. et al., (1993) Cancer Res. 53, 227-230] 참조), 전립선 암종 종양 항원 (PCTA-1) (예를 들어, 문헌 [Su, Z. Z. et al., (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 7252-7257] 참조), 및 전립선 줄기 세포 항원 (PSCA) (예를 들어, 문헌 [Reiter, R. E. et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci USA 95, 1735-1740] 참조).

[0031] 본원에 사용된 용어 "전립선의 6-막횡단 상피 항원 1" 또는 "STEAP-1"은 달리 나타내지 않는 한 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들어, 인간, 시노몰구스 원숭이 (시노)) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 비롯한 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 STEAP-1을 지칭한다. STEAP-1은 전립선 조직에서 우세하게 발현되는 세포 표면 항원을 지칭하고, 다중 암 세포주에서 상향 조절되는 것으로 밝혀졌다. 예시적인 인간 STEAP-1은, 그의 전체 개시내용이 명백하게 본원에 참조로 포함되는 2007년 10월 26일에 출원된 US 2009/0280056에 개시된 바와 같은 서열식별번호: 1 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 갖는다. 용어 "STEAP-1"은 "전장," 비프로세싱 STEAP-1 뿐만 아니라, 세포 내 프로세싱으로부터 생성된 임의의 형태의 STEAP-1을 포괄한다. 상기 용어는 또한 STEAP-1의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체, 대립유전자 변이체, 및 이소형을 포괄한다. 본원에 기재된 STEAP-1 폴리펩티드는 다양한 공급원으로부터, 예컨대 인간 조직 유형으로부터 또는 또 다른 공급원으로부터 단리될 수 있거나, 또는 재조합 또는 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. "천연 서열 STEAP-1 폴리펩티드"는 자연에서 유래된 상응하는 STEAP-1 폴리펩티드와 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 이러한 천연 서열 STEAP-1 폴리펩티드는 자연으로부터 단리될 수 있거나, 또는 재조합 또는 합성 수단에 의해 생성될 수 있다. 용어 "천연 서열 STEAP-1 폴리펩티드"는 구체적으로 특정 STEAP-1 폴리펩티드의 자연-발생 말단절단된 또는 분비된 형태 (예를 들어, 세포외 도메인 서열), 폴리펩티드의 자연-발생 변이체 형태 (예를 들어, 대안적으로 스플라이싱된 형태) 및 자연-발생 대립유전자 변이체를 포괄한다.

[0032] "친화도"는 분자 (예를 들어, 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너 (예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총 합계의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원들 (예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수 (Kd)로 나타내어질 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 방법을 비롯하여, 관련 기술분야에 공지된 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 구체적인 설명적 및 예시적 실시양태가 하기 기재된다.

[0033] "친화도 성숙" 항체는 항원에 대한 항체의 친화도에서의 개선을 생성하는 변형을 보유하지 않는 모 항체와 비교

하여 1개 이상의 초가변 영역 (HVR)에서 1개 이상의 변형을 갖는 항체를 지칭한다.

- [0034] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 및 목적하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 항체 단편을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.
- [0035] "항체 단편"은 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는 무손상 항체의 일부를 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자 (예를 들어, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0036] 참조 항체와 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 경쟁 검정에서 참조 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단하는 항체를 지칭하고, 반대로 참조 항체는 경쟁 검정에서 항체의 그의 항원에 대한 결합을 50% 이상 차단한다.
- [0037] 용어 "에피토프"는 항체가 결합하는 항원 분자 상의 특정한 부위를 지칭한다.
- [0038] 용어 "키메라" 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 공급원 또는 종으로부터 유래된 반면에, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지가 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래된 항체를 지칭한다.
- [0039] 항체의 "부류"는 그의 중쇄가 보유하는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 5종의 주요 부류의 항체: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂로 추가로 나뉘어질 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다.
- [0040] 용어 "항-STEAP-1 항체" 또는 "STEAP-1에 결합하는 항체"는 항체가 STEAP-1 표적화 시 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 STEAP-1에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 바람직하게는, 비관련, 비-STEAP-1 단백질에 대한 항-STEAP-1 항체의 결합의 정도는, 예를 들어 방사선면역검정 (RIA)에 의한 측정 시, STEAP-1에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시양태에서, STEAP-1에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 의 해리 상수 (Kd)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 상이한 종으로부터의 STEAP-1 사이에 보존된 STEAP-1의 에피토프에 결합한다.
- [0041] "단리된" 핵산은 그의 자연 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 핵산 분자를 통상적으로 함유하는 세포 내에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체외에 또는 그의 천연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 존재한다.
- [0042] "단리된" 항체는 그의 자연 환경의 성분에서 분리된 것이다. 일부 실시양태에서, 항체는 예를 들어, 전기영동 (예를 들어, SDS-PAGE, 등전 포커싱 (IEF), 모세관 전기영동) 또는 크로마토그래피 (예를 들어, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의한 결정 시 95% 또는 99% 초과로 순도로 정제된다. 항체 순도의 평가 방법의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)]을 참조한다. 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노-말단 도메인을 지칭한다. 중쇄의 가변 도메인은 "VH"로 지칭될 수 있다. 경쇄의 가변 도메인은 "VL"로 지칭될 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로 항체의 가장 가변적인 부분이고, 항원-결합 부위를 함유한다.
- [0043] "항-STEAP-1 항체를 코딩하는 단리된 핵산"은 항체 중쇄 및 경쇄 (또는 그의 단편)를 코딩하는 1개 이상의 핵산 분자 (단일 벡터 또는 개별 벡터 내의 이러한 핵산 분자(들) 및 숙주 세포 내 1개 이상의 위치에 존재하는 이러한 핵산 분자(들) 포함)를 지칭한다.
- [0044] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉 상기 집단을 구성하는 개별 항체는, 일반적으로 소량으로 존재하는 예를 들어 자연 발생 돌연변이를 함유하거나 모노클로날 항체 제제의 생산 동안 생성되는 가능한 변이체 항체를 제외하고, 동일하고/거나 동일한 에피토프에 결합한다. 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시되는 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 대조적으로, 모노클로날 항체 제제의 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다. 따라서, 수식어 "모노클로날"은 항체의 실질적으로 동종인 집단으로부터 수득된 항체의 특성을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생산을 필요로 하는 것으로서 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 및 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유하는 트랜스제닉 동물을 이용하는 방법을 포함하나 이에 제한되

지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있고, 이러한 방법 및 모노클로날 항체를 제조하는 다른 예시적인 방법이 본원에 기재되어 있다.

- [0045] "네이키드 항체"는 이중 모이어티 (예를 들어, 세포독성 모이어티) 또는 방사성표지에 접합되지 않은 항체를 지칭한다. 네이키드 항체는 제약 제제에 존재할 수 있다.
- [0046] "천연 항체"는 다양한 구조를 갖는 자연 발생 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 예를 들어, 천연 IgG 항체는 디설피드-결합된 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 동일한 중쇄로 구성된 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질이다. N-말단에서 C-말단으로, 각각의 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인으로도 불리는 가변 영역 (VH)에 이어서 3개의 불변 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N-말단에서 C-말단으로, 각각의 경쇄는 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인으로도 불리는 가변 영역 (VL)에 이어서 불변 경쇄 (CL) 도메인을 갖는다. 항체의 경쇄는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기반으로 하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 불리는 2가지 유형 중 1가지로 할당될 수 있다.
- [0047] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. 상기 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카르복실-말단으로 연장된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다. 본원에서 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역 내의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 바와 같은, EU 인덱스로도 지칭되는 EU 넘버링 시스템에 따른다.
- [0048] "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 이루어진다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 순서로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.
- [0049] 본원의 목적상 "수용자 인간 프레임워크"는 하기 정의되는 바와 같은, 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크로부터 유래된 경쇄 가변 도메인 (VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인 (VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 그의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 아미노산 서열 변화를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 아미노산 변화의 수는 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 또는 2개 이하이다. 일부 실시양태에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과 서열이 동일하다.
- [0050] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 천연 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 갖거나 또는 본원에 정의된 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하는 것으로 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0051] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양물"은 상호교환가능하게 사용되고, 외인성 핵산이 도입된 세포 (이러한 세포의 자손 포함)를 지칭한다. 숙주 세포는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함하며, 이는 1차 형질전환된 세포 및 계대 횟수와 관계없이 그로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 모 세포와 핵산 함량이 완전히 동일하지 않을 수 있지만, 돌연변이를 함유할 수 있다. 원래 형질전환된 세포에 대해 스크리닝되거나 선택된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손이 본원에 포함된다.
- [0052] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산되거나, 또는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-코딩 서열을 사용하는 비-인간 공급원으로부터 유래된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 항체이다. 인간 항체의 이러한 정의에서 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 구체적으로 제외된다.
- [0053] "인간 컨센서스 프레임워크"는 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택 시 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 이뮤노글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 행한다. 일반적으로, 서열의 하위군은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3]에서와 같은 하위군이다. 한 실시양태에서, VL의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 실시양태에서, VH의 경우에 하위군은 상기 문헌 [Kabat et al.]에서와 같은 하위군 III이다.
- [0054] "인간화" 항체는 비-인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항

체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 인간화 항체는 적어도 1개, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 HVR (예를 들어, CDR)은 비-인간 항체의 그것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 그것에 상응한다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어 비-인간 항체의 "인간화 형태"는 인간화를 거친 항체를 지칭한다.

[0055] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변적이고/거나 구조적으로 한정된 루프 ("초가변 루프")를 형성하는 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 천연 4-쇄 항체는 6개의 HVR; VH 내에 3개 (H1, H2, H3) 및 VL 내에 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. HVR은 일반적으로 초가변 루프로부터의 및/또는 "상보성 결정 영역" (CDR)으로부터의 아미노산 잔기를 포함하며, 후자는 서열 가변성이 가장 높고/거나 항원 인식에 관여한다. 예시적인 초가변 루프는 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), 및 96-101 (H3)에서 발생한다. (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987).) 예시적인 CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기 24-34, L2의 50-56, L3의 89-97, H1의 31-35B, H2의 50-65 및 H3의 95-102에서 발생한다. (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991).) VH 내의 CDR1을 제외하고, CDR은 일반적으로 초가변 루프를 형성하는 아미노산 잔기를 포함한다. CDR은 또한 항원에 접촉하는 잔기인 "특이성 결정 잔기" 또는 "SDR"을 포함한다. SDR은 단축-CDR, 또는 a-CDR로 불리는 CDR의 영역 내에 함유된다. 예시적인 a-CDR (a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 및 a-CDR-H3)은 L1의 아미노산 잔기 31-34, L2의 50-55, L3의 89-96, H1의 31-35B, H2의 50-58 및 H3의 95-102에서 발생한다. (문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)] 참조.) 달리 나타내지 않는 한, HVR 잔기 및 가변 도메인 내의 다른 잔기 (예를 들어, FR 잔기)는 상기 문헌 [Kabat et al. 1.]에 따라 본원에서 넘버링된다.

[0056] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항원에 대한 항체의 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인 (각각 VH 및 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 초가변 영역 (HVR)을 포함한다. (예를 들어, 문헌 [Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)] 참조.) 단일 VH 또는 VL 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정한 항원에 결합하는 항체는 각각 상보적 VL 또는 VH 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0057] "이펙터 기능"은 항체 이소형에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에서 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.

[0058] "STEAP-1 폴리펩티드 변이체"는 본원에 개시된 바와 같은 전장 천연 서열 STEAP-1 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드가 결합된 STEAP-1 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드가 있거나 없는 STEAP-1 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 STEAP-1 폴리펩티드 서열의 임의의 다른 단편 (예컨대, 전장 STEAP-1 폴리펩티드에 대한 완전 코딩 서열의 일부만을 나타내는 핵산에 의해 코딩된 것)과 적어도 약 80%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 본원에 정의된 바와 같은 STEAP-1 폴리펩티드, 바람직하게는 활성 STEAP-1 폴리펩티드를 의미한다. 이러한 STEAP-1 폴리펩티드 변이체는, 예를 들어 1개 이상의 아미노산 잔기가 전장 천연 아미노산 서열의 N- 또는 C-말단에서 부가되거나 결실된 STEAP-1 폴리펩티드를 포함한다. 통상적으로, STEAP-1 폴리펩티드 변이체는 본원에 개시된 바와 같은 전장 천연 서열 STEAP-1 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드가 결합된 STEAP-1 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드가 있거나 없는 STEAP-1 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 STEAP-1 폴리펩티드 서열의 임의의 다른 구체적으로 정의된 단편에 대해 적어도 약 80% 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 아미노산 서열 동일성을 가질 것이다. 통상적으로, STEAP-1 변이체 폴리펩티드는 길이가 적어도 약 10 개 아미노산, 대안적으로 길이가 적어도 약 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550,

560, 570, 580, 590, 600개 아미노산 또는 그 초과이다. 임의로, STEAP-1 변이체 폴리펩티드는 천연 STEAP-1 폴리펩티드 서열과 비교하여 1개 이하의 보존적 아미노산 치환, 대안적으로는 천연 STEAP-1 폴리펩티드 서열과 비교하여 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 이하의 보존적 아미노산 치환을 가질 것이다.

[0059] 참조 폴리펩티드 서열에 대한 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 서열을 정렬시키고 필요한 경우에 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 갭을 도입한 후 임의의 보존적 치환은 서열 동일성 부분으로 간주하지 않으면서 참조 폴리펩티드 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 관련 기술분야 기술 내의 다양한 방식으로, 예를 들어 공개적으로 입수가 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 메갈라인(Megalign) (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 통상의 기술자는 비교할 전장 서열에 대한 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여 서열 정렬을 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제네테크, 인크.(Genentech, Inc.) 소유로서, 소스 코드는 미국 저작권청 (20559 워싱턴 디.씨.)에 사용자 문서로 제출되어 있고, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087 하에 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제네테크, 인크. (캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)로부터 공개적으로 입수가 가능하거나, 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D를 비롯한 UNIX 운영 시스템에서의 사용을 위해 컴파일링되어야 한다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되어 있으며 변하지 않는다.

[0060] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교를 위해 사용되는 경우에, 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 주어진 아미노산 서열 B와의, 또는 주어진 아미노산 서열 B 대비 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성 (대안적으로, 주어진 아미노산 서열 B에 대한, 주어진 아미노산 서열 B와의, 또는 주어진 아미노산 서열 B 대비 특정 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 또는 이를 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 기재될 수 있음)은 하기와 같이 계산되며:

[0061] X/Y 분율 $\times 100$

[0062] 여기서 X는 A 및 B의 프로그램 정렬 시 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일한 매치로 스코어링된 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B의 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우에는 B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성이 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임을 인식할 것이다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 직전 단락에 기재된 바와 같이 수득한다.

[0063] 본원에 사용된 용어 "백터"는, 연결된 또 다른 핵산을 증식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자기-복제 핵산 구조로서의 백터 뿐만 아니라, 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 혼입된 백터를 포함한다. 특정 백터는 작동가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 백터는 본원에서 "발현 백터"로 지칭된다.

[0064] "면역접합체"는 세포독성제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 이중 분자(들)에 접합된 항체이다.

[0065] 본원에 사용된 용어 "세포독성제"는 세포 기능을 억제 또는 방지하고/거나 세포 사멸 또는 파괴를 유발하는 물질을 지칭한다. 세포독성제는, 방사성 동위원소 (예를 들어, ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학요법제 또는 약물 (예를 들어, 메토틱렉세이트, 아드리아미신, 빈카 알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 삽입제); 성장 억제제; 효소 및 그의 단편, 예컨대 핵산분해 효소; 항생제; 독소, 예컨대 소분자 독소 또는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소 (그의 단편 및/또는 변이체 포함); 및 하기 개시된 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0066] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 비조절된 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 상태를 지칭하거나 기재한다. 일부 실시양태에서는, 암은 전립선암이다. 일부 실시양태에서, 전립선암은 전이성 전립선암이다. 일부 실시양태에서, 전립선암은 거세-저항성 전립선암이다. 일부 실시양태에서, 전립선암은 전이성 거세-저항성 전립선암이다.

[0067] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물이다. 포유동물은 가축 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개, 및 말), 영장류 (예를 들어, 인간 및 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼, 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.

- [0068] 작용제, 예를 들어 제약 제제의 "유효량"은 필요한 투여량에서 필요한 기간 동안 목적하는 치료 또는 예방 결과를 달성하기에 유효한 양을 지칭한다.
- [0069] 용어 "제약 제제"는 내부에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 하는 형태로 존재하며, 제제가 투여될 대상체에게 허용되지 않는 독성인 추가의 성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다.
- [0070] "제약상 허용되는 담체"는 대상체에게 비독성인, 활성 성분 이외의 제약 제제 내의 성분을 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0071] 본원에 사용된 "치료" (및 "치료하다" 또는 "치료하는"과 같은 그의 문법적 변형)는 치료할 개체의 자연적 과정을 변경시키기 위한 시도로의 임상 개입을 지칭하고, 임상 병리상태의 예방을 위해 또는 그 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 유리 경제의 감소, 질환의 발생 또는 재발 방지, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 질환 진행의 속도를 감소시키는 것, 질환 상태의 개선 또는 경감, 및 완화 또는 개선된 예후를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 질환의 발달을 지연시키는데 또는 질환의 진행을 느리게 하는데 사용된다.
- [0072] 용어 "STEAP-1-양성 암"은 그의 표면 상에 STEAP-1을 발현하는 세포를 포함하는 암을 지칭한다. 용어 "STEAP-1-양성 전립선암"은 그의 표면 상에 STEAP-1을 발현하는 전립선암 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 상에서의 STEAP-1의 발현은, 예를 들어 면역조직화학, FACS 등과 같은 방법에서 STEAP-1에 대한 항체를 사용하여 결정된다. 대안적으로, STEAP-1 mRNA 발현이 세포 표면 상에서의 STEAP-1 발현과 상관시키는데 고려되고, 이는 계내 혼성화 및 RT-PCR (정량적 RT-PCR 포함)로부터 선택된 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0073] 용어 "STEAP-1-양성 세포"는 그의 표면 상에 STEAP-1을 발현하는 세포를 지칭한다.
- [0074] 용어 "패키지 삽입물"은 치료 제품의 사용에 관한 적응증, 용법, 투여량, 투여, 조합 요법, 금기 및/또는 경고에 대한 정보가 담긴, 이러한 치료 제품의 상업용 패키지에 통상적으로 포함되는 지침을 지칭하는 것으로 사용된다.
- [0075] "알킬"은 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 C_1 - C_{18} 탄화수소이다. 예는 메틸 (Me, $-CH_3$), 에틸 (Et, $-CH_2CH_3$), 1-프로필 (n-Pr, n-프로필, $-CH_2CH_2CH_3$), 2-프로필 (i-Pr, i-프로필, $-CH(CH_3)_2$), 1-부틸 (n-Bu, n-부틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-메틸-1-프로필 (i-Bu, i-부틸, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-부틸 (s-Bu, s-부틸, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-메틸-2-프로필 (t-Bu, t-부틸, $-C(CH_3)_3$), 1-펜틸 (n-펜틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$), 3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$), 3-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$), 2-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$), 1-헥실 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-헥실 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$), 3-헥실 ($-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$), 2-메틸-2-펜틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$), 4-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$), 3-메틸-3-펜틸 ($-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$), 2,3-디메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$), 3,3-디메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)C(CH_3)_3$)이다.
- [0076] 본원에 사용된 용어 " C_1 - C_8 알킬"은 1 내지 8개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화수소를 지칭한다. 대표적인 " C_1 - C_8 알킬" 기는 -메틸, -에틸, -n-프로필, -n-부틸, -n-펜틸, -n-헥실, -n-헵틸, -n-옥틸, -n-노닐 및 -n-데실을 포함하나 이에 제한되지는 않고; 한편 분지형 C_1 - C_8 알킬은 -이소프로필, -sec-부틸, -이소부틸, -tert-부틸, -이소펜틸, 2-메틸부틸을 포함하나 이에 제한되지는 않고, 불포화 C_1 - C_8 알킬은 -비닐, -알릴, -1-부테닐, -2-부테닐, -이소부틸레닐, -1-펜테닐, -2-펜테닐, -3-메틸-1-부테닐, -2-메틸-2-부테닐, -2,3-디메틸-2-부테닐, 1-헥실, 2-헥실, 3-헥실, -아세틸레닐, -프로피닐, -1-부티닐, -2-부티닐, -1-펜티닐, -2-펜티닐, -3-메틸-1 부티닐을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. C_1 - C_8 알킬 기는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1$ - C_8 알킬, $-O$ -(C_1 - C_8 알킬), -아릴, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, -OH, -할로젠, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 -CN을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1개 이상의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1$ - C_8 알킬 및 아릴로부터 선택된다.
- [0077] 본원에 사용된 용어 " C_1 - C_{12} 알킬"은 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화

수소를 지칭한다. C_1-C_{12} 알킬 기는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1개 이상의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택된다.

[0078] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_6 알킬"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화수소를 지칭한다. 대표적인 " C_1-C_6 알킬" 기는 $-메틸$, $-에틸$, $-n-프로필$, $-n-부틸$, $-n-펜틸$, 및 $-n-헥실$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않고; 한편 분지형 C_1-C_6 알킬은 $-이소프로필$, $-sec-부틸$, $-이소부틸$, $-tert-부틸$, $-이소펜틸$, 및 $2-메틸부틸$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않고; 불포화 C_1-C_6 알킬은 $-비닐$, $-알릴$, $-1-부테닐$, $-2-부테닐$, 및 $-이소부틸레닐$, $-1-펜테닐$, $-2-펜테닐$, $-3-메틸-1-부테닐$, $-2-메틸-2-부테닐$, $-2,3-디메틸-2-부테닐$, $1-헥실$, $2-헥실$, 및 $3-헥실$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. C_1-C_6 알킬 기는 C_1-C_8 알킬 기에 대해 상기 기재된 바와 같이 비치환될 수 있거나, 또는 1개 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0079] 본원에 사용된 용어 " C_1-C_4 알킬"은 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 포화 또는 불포화 탄화수소를 지칭한다. 대표적인 " C_1-C_4 알킬" 기는 $-메틸$, $-에틸$, $-n-프로필$, $-n-부틸$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않고; 한편 분지형 C_1-C_4 알킬은 $-이소프로필$, $-sec-부틸$, $-이소부틸$, $-tert-부틸$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않고; 불포화 C_1-C_4 알킬은 $-비닐$, $-알릴$, $-1-부테닐$, $-2-부테닐$, 및 $-이소부틸레닐$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. C_1-C_4 알킬 기는 C_1-C_8 알킬 기에 대해 상기 기재된 바와 같이 비치환될 수 있거나, 또는 1개 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0080] "알콕시"는 산소에 단일 결합된 알킬 기이다. 예시적인 알콕시 기는 메톡시 ($-OCH_3$) 및 에톡시 ($-OCH_2CH_3$)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. " C_1-C_5 알콕시"는 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 알콕시 기이다. 알콕시 기는 알킬 기에 대해 상기 기재된 바와 같이 비치환될 수 있거나, 또는 1개 이상의 기로 치환될 수 있다.

[0081] "알케닐"은 적어도 1개의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp^2 이중 결합을 갖는 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 C_2-C_{18} 탄화수소이다. 예는 에틸렌 또는 비닐 ($-CH=CH_2$), 알릴 ($-CH_2CH=CH_2$), 시클로펜테닐 ($-C_5H_7$) 및 5-헥세닐 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. " C_2-C_8 알케닐"은 적어도 1개의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp^2 이중 결합을 갖는 2 내지 8개의 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 탄화수소이다.

[0082] "알키닐"은 적어도 1개의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp 삼중 결합을 갖는 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 C_2-C_{18} 탄화수소이다. 예는 아세틸렌계 ($-C\equiv CH$) 및 프로파르길 ($-CH_2C\equiv CH$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. " C_2-C_8 알키닐"은 적어도 1개의 불포화 부위, 즉 탄소-탄소, sp 삼중 결합을 갖는 2 내지 8개의 노르말, 2급, 3급 또는 시클릭 탄소 원자를 함유하는 탄화수소이다.

[0083] "알킬렌"은 모 알칸의 동일한 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터 2개의 수소를 제거함으로써 유래된 2개의 1가 라디칼 중심을 갖는, 1-18개의 탄소 원자의 포화, 분지형 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 전형적인 알킬렌 라디칼은 메틸렌 ($-CH_2-$), 1,2-에틸 ($-CH_2CH_2-$), 1,3-프로필 ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,4-부틸 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$) 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0084] " C_1-C_{10} 알킬렌"은 화학식 $-(CH_2)_{1-10}-$ 의 직쇄, 포화 탄화수소 기이다. C_1-C_{10} 알킬렌의 예는 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 헵틸렌, 옥틸렌, 노닐렌 및 데칼렌을 포함한다.

[0085] "알케닐렌"은 모 알켄의 동일한 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터 2개의 수소를 제거함으로써 유래된 2개의 1가 라디칼 중심을 갖는, 2-18개의 탄소 원자의 불포화, 분지형 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 전형적인 알케닐렌 라디칼은 1,2-에틸렌 ($-CH=CH-$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

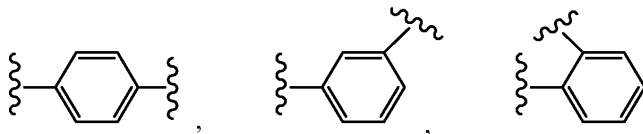
[0086] "알키닐렌"은 모 알킨의 동일한 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터 2개의 수소를 제거함으로써 유래된 2개의 1가 라디칼 중심을 갖는, 2-18개의 탄소 원자의 불포화, 분지형 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을

지칭한다. 전형적인 알킬렌 라디칼은 아세틸렌 ($-C\equiv C-$), 프로파르길 ($-CH_2C\equiv C-$) 및 4-펜티닐 ($-CH_2CH_2CH_2C\equiv C-$)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0087] "아릴"은 카르보시클릭 방향족 기를 지칭한다. 아릴 기의 예는 페닐, 나프틸 및 안트라세닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 카르보시클릭 방향족 기 또는 헤테로시클릭 방향족 기는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8 \text{ 알킬})$, $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1개 이상의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택된다.

[0088] " C_5-C_{20} 아릴"은 카르보시클릭 방향족 고리 내에 5 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 아릴 기이다. C_5-C_{20} 아릴 기의 예는 페닐, 나프틸 및 안트라세닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_5-C_{20} 아릴 기는 아릴 기에 대해 상기 기재된 바와 같이 치환 또는 비치환될 수 있다. " C_5-C_{14} 아릴"은 카르보시클릭 방향족 고리 내에 5 내지 14개의 탄소 원자를 갖는 아릴 기이다. C_5-C_{14} 아릴 기의 예는 페닐, 나프틸 및 안트라세닐을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_5-C_{14} 아릴 기는 아릴 기에 대해 상기 기재된 바와 같이 치환 또는 비치환될 수 있다.

[0089] "아릴렌"은 2개의 공유 결합을 갖는 아릴 기이며, 하기 구조에 나타난 바와 같이 오르토, 메타 또는 파라 배위로 존재할 수 있다:



[0090]

[0091] 상기 식에서 페닐 기는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8 \text{ 알킬})$, $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 4개 이하의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택된다.

[0092] "아릴알킬"은 탄소 원자, 전형적으로 말단 또는 sp^3 탄소 원자에 결합된 수소 원자 중 1개가 아릴 라디칼로 대체된 비-시클릭 알킬 라디칼을 지칭한다. 전형적인 아릴알킬 기는 벤질, 2-페닐에탄-1-일, 2-페닐에텐-1-일, 나프틸메틸, 2-나프틸에탄-1-일, 2-나프틸에텐-1-일, 나프토펜질, 2-나프토펜에탄-1-일 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 아릴알킬 기는 6 내지 20개의 탄소 원자를 포함하며, 예를 들어 아릴알킬 기의 알카닐, 알케닐 또는 알킬닐 기를 비롯한 알킬 모이어티는 1 내지 6개의 탄소 원자이고, 아릴 모이어티는 5 내지 14개의 탄소 원자이다.

[0093] "헤테로아릴알킬"은 탄소 원자, 전형적으로 말단 또는 sp^3 탄소 원자에 결합된 수소 원자 중 1개가 헤테로아릴 라디칼로 대체된 비-시클릭 알킬 라디칼을 지칭한다. 전형적인 헤테로아릴알킬 기는 2-벤즈이미다졸릴메틸, 2-푸릴에틸 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 헤테로아릴알킬 기는 6 내지 20개의 탄소 원자를 포함하며, 예를 들어 헤테로아릴알킬 기의 알카닐, 알케닐 또는 알킬닐 기를 비롯한 알킬 모이어티는 1 내지 6개의 탄소 원자이고, 헤테로아릴 모이어티는 5 내지 14개의 탄소 원자 및 N , O , P 및 S 로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자이다. 헤테로아릴알킬 기의 헤테로아릴 모이어티는 3 내지 7개의 고리원 (2 내지 6개의 탄소 원자)을 갖는 모노사이클, 또는 7 내지 10개의 고리원 (4 내지 9개의 탄소 원자 및 N , O , P 및 S 로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자)을 갖는 비사이클, 예를 들어: 비시클로 [4,5], [5,5], [5,6], 또는 [6,6] 시스템일 수 있다.

[0094] "치환된 알킬", "치환된 아릴" 및 "치환된 아릴알킬"은 1개 이상의 수소 원자가 각각 독립적으로 치환기로 대체된 알킬, 아릴 및 아릴알킬을 각각 의미한다. 전형적인 치환기는 $-X$, $-R$, $-O^-$, $-OR$, $-SR$, $-S^-$, $-NR_2$, $-NR_3$, $=NR$, $-CX_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-N=C=O$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $NC(=O)R$, $-C(=O)R$, $-C(=O)NR_2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R$, $-OS(=O)_2OR$, $-S(=O)_2NR$, $-S(=O)R$, $-OP(=O)(OR)_2$, $-P(=O)(OR)_2$, $-PO_3^-$, $-PO_3H_2$, $-C(=O)R$, $-C(=O)X$,

$-C(=S)R$, $-CO_2R$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR$, $-C(=O)SR$, $-C(=S)SR$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=S)NR_2$, $-C(=NR)NR_2$ 를 포함하나 이에 제한되지는 않고, 여기서 각각의 X는 독립적으로 할로젠: F, Cl, Br, 또는 I이고; 각각의 R은 독립적으로 $-H$, C_2-C_{18} 알킬, C_6-C_{20} 아릴, C_3-C_{14} 헤테로사이클, 보호기 또는 전구약물 모이어티이다. 상기 기재된 바와 같은 알킬렌, 알케닐렌 및 알키닐렌 기는 또한 유사하게 치환될 수 있다.

[0095] "헤테로아릴" 및 "헤테로사이클"은 1개 이상의 고리 원자가 헤테로원자, 예를 들어 질소, 산소 및 황인 고리계를 지칭한다. 헤테로사이클 라디칼은 3 내지 20개의 탄소 원자 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함한다. 헤테로사이클은 3 내지 7개의 고리원 (2 내지 6개의 탄소 원자 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자)을 갖는 모노사이클 또는 7 내지 10개의 고리원 (4 내지 9개의 탄소 원자 및 N, O, P 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자)을 갖는 비사이클, 예를 들어: 비시클로 [4,5], [5,5], [5,6], 또는 [6,6] 시스템일 수 있다.

[0096] 예시적인 헤테로사이클은 예를 들어 문헌 [Paquette, Leo A., "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968)], 특히 챕터 1, 3, 4, 6, 7, 및 9; 문헌 ["The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 to present)], 특히 제13권, 제14권, 제16권, 제19권 및 제28권; 및 문헌 [J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566]에 기재되어 있다.

[0097] 헤테로사이클의 예는, 예로서 비제한적으로, 피리딘, 디히드로피리딘, 테트라히드로피리딘 (피페리딘), 티아졸릴, 테트라히드로티오펜, 황 산화 테트라히드로티오펜, 피리미디닐, 푸라닐, 티에닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 테트라졸릴, 벤조푸라닐, 티아나프탈레닐, 인돌릴, 인돌레닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤즈이미다졸릴, 피페리디닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 2-피롤리도닐, 피롤리닐, 테트라히드로푸라닐, 비스-테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 비스-테트라히드로피라닐, 테트라히드로퀴놀리닐, 테트라히드로이소퀴놀리닐, 테카히드로퀴놀리닐, 옥타히드로이소퀴놀리닐, 아조시닐, 트리아지닐, 6H-1,2,5-티아디아지닐, 2H,6H-1,5,2-디티아지닐, 티에닐, 티안트레닐, 피라닐, 이소벤조푸라닐, 크로메닐, 크산테닐, 페녹사티닐, 2H-피롤릴, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 피라지닐, 피리다지닐, 인돌리지닐, 이소인돌릴, 3H-인돌릴, 1H-인다졸릴, 퓨리닐, 4H-퀴놀리지닐, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 퀴놀살리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프테리디닐, 4aH-카르바졸릴, 카르바졸릴, β -카르볼리닐, 페난트리디닐, 아크리디닐, 피리미디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 푸라자닐, 페녹사지닐, 이소크로마닐, 크로마닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피페라지닐, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 퀴누클리디닐, 모르폴리닐, 옥사졸리디닐, 벤조트리아졸릴, 벤즈이속사졸릴, 옥스인돌릴, 벤즈사졸리닐 및 이사티노일을 포함한다.

[0098] 예로서 비제한적으로, 탄소 결합된 헤테로사이클은 피리딘의 위치 2, 3, 4, 5 또는 6, 피리다진의 위치 3, 4, 5 또는 6, 피리미딘의 위치 2, 4, 5 또는 6, 피라진의 위치 2, 3, 5 또는 6, 푸란, 테트라히드로푸란, 티오프란, 티오펜, 피롤 또는 테트라히드로피롤의 위치 2, 3, 4 또는 5, 옥사졸, 이미다졸 또는 티아졸의 위치 2, 4 또는 5, 이속사졸, 피라졸 또는 이소티아졸의 위치 3, 4 또는 5, 아지리딘의 위치 2 또는 3, 아제티딘의 위치 2, 3 또는 4, 퀴놀린의 위치 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8, 또는 이소퀴놀린의 위치 1, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8에 결합된다. 보다 전형적으로, 탄소 결합된 헤테로사이클은 2-피리딘, 3-피리딘, 4-피리딘, 5-피리딘, 6-피리딘, 3-피리다지닐, 4-피리다지닐, 5-피리다지닐, 6-피리다지닐, 2-피리미디닐, 4-피리미디닐, 5-피리미디닐, 6-피리미디닐, 2-피라지닐, 3-피라지닐, 5-피라지닐, 6-피라지닐, 2-티아졸릴, 4-티아졸릴, 또는 5-티아졸릴을 포함한다.

[0099] 예로서 비제한적으로, 질소 결합된 헤테로사이클은 아지리딘, 아제티딘, 피롤, 피롤리딘, 2-피롤린, 3-피롤린, 이미다졸, 이미다졸리딘, 2-이미다졸린, 3-이미다졸린, 피라졸, 피라졸린, 2-피라졸린, 3-피라졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌, 인돌린, 1H-인다졸의 위치 1, 이소인돌 또는 이소인돌린의 위치 2, 모르폴린의 위치 4, 및 카르바졸 또는 β -카르볼린의 위치 9에 결합된다. 보다 전형적으로, 질소 결합된 헤테로사이클은 1-아지리딘, 1-아제티딘, 1-피롤릴, 1-이미다졸릴, 1-피라졸릴, 및 1-피페리디닐을 포함한다.

[0100] " C_3-C_8 헤테로사이클"은 고리 탄소 원자 중 1 내지 4개가 독립적으로 O, S 및 N으로 이루어진 군으로부터의 헤테로원자로 대체된 방향족 또는 비-방향족 C_3-C_8 카르보사이클을 지칭한다. C_3-C_8 헤테로사이클의 대표적인 예는 벤조푸라닐, 벤조티오펜, 인돌릴, 벤조피라졸릴, 쿠마리닐, 이소퀴놀리닐, 피롤릴, 티오펜, 푸라닐, 티아졸릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 트리아졸릴, 퀴놀리닐, 피리미디닐, 피리디닐, 피리도닐, 피라지닐, 피리다지닐, 이소티아졸릴, 이속사졸릴 및 테트라졸릴을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_3-C_8 헤테로사이클은 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8)$ 알킬), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$,

$-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 7개 이하의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택된다.

[0101] " C_3-C_8 헤테로시클로"는 헤테로사이클 기의 수소 원자 중 1개가 결합으로 대체된 상기 정의된 C_3-C_8 헤테로사이클 기를 지칭한다. C_3-C_8 헤테로시클로는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 6개 이하의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택된다.

[0102] " C_3-C_{20} 헤테로사이클"은 고리 탄소 원자 중 1 내지 4개가 독립적으로 O , S 및 N 으로 이루어진 군으로부터의 헤테로원자로 대체된 방향족 또는 비-방향족 C_3-C_8 카르보사이클을 지칭한다. C_3-C_{20} 헤테로사이클은 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 7개 이하의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택된다.

[0103] " C_3-C_{20} 헤테로시클로"는 헤테로사이클 기의 수소 원자 중 1개가 결합으로 대체된 상기 정의된 C_3-C_{20} 헤테로사이클 기를 지칭한다.

[0104] "카르보사이클"은 모노사이클로서 3 내지 7개의 탄소 원자 또는 비사이클로서 7 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 포화 또는 불포화 고리를 의미한다. 모노시클릭 카르보사이클은 3 내지 6개의 고리 원자, 보다 전형적으로 5 또는 6개의 고리 원자를 갖는다. 비시클릭 카르보사이클은, 예를 들어 비시클로 [4,5], [5,5], [5,6] 또는 [6,6] 시스템으로 배열된 7 내지 12개의 고리 원자, 또는 비시클로 [5,6] 또는 [6,6] 시스템으로 배열된 9 또는 10개의 고리 원자를 갖는다. 모노시클릭 카르보사이클의 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 1-시클로펜트-1-에닐, 1-시클로펜트-2-에닐, 1-시클로펜트-3-에닐, 시클로헥실, 1-시클로헥스-1-에닐, 1-시클로헥스-2-에닐, 1-시클로헥스-3-에닐, 시클로헥틸 및 시클로옥틸을 포함한다.

[0105] " C_3-C_8 카르보사이클"은 3-, 4-, 5-, 6-, 7- 또는 8-원 포화 또는 불포화 비-방향족 카르보시클릭 고리이다. 대표적인 C_3-C_8 카르보사이클은 $-시클로프로필$, $-시클로부틸$, $-시클로펜틸$, $-시클로펜타디에닐$, $-시클로헥실$, $-시클로헥세닐$, $-1,3-시클로헥사디에닐$, $-1,4-시클로헥사디에닐$, $-시클로헥틸$, $-1,3-시클로헥타디에닐$, $-1,3,5-시클로헥타트리에닐$, $-시클로옥틸$ 및 $-시클로옥타디에닐$ 을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. C_3-C_8 카르보사이클 기는 비치환될 수 있거나, 또는 $-C_1-C_8$ 알킬, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-할로젠$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ 을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1개 이상의 기로 치환될 수 있고; 여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H , $-C_1-C_8$ 알킬 및 아릴로부터 선택된다.

[0106] " C_3-C_8 카르보시클로"는 카르보사이클 기의 수소 원자 중 1개가 결합으로 대체된 상기 정의된 C_3-C_8 카르보사이클 기를 지칭한다.

[0107] "링커"는 항체를 약물 모이어티에 공유 부착시키는 공유 결합 또는 원자의 쌍을 포함하는 화학적 모이어티를 지칭한다. 다양한 실시양태에서, 링커는 2가 라디칼, 예컨대 알킬디일, 아릴디일, 헤테로아릴디일, 모이어티, 예컨대: $-(CR_2)_nO(CR_2)_n-$, 알킬옥시의 반복 단위 (예를 들어, 폴리에틸렌옥시, PEG, 폴리메틸렌옥시) 및 알킬아미노 (예를 들어, 폴리에틸렌아미노, 제파민(Jeffamine)TM); 및 숙시네이트, 숙신아미드, 디글리콜레이트, 말로네이트 및 카프로아미드를 비롯한 이산 에스테르 및 아미드를 포함한다. 다양한 실시양태에서, 링커는 1개 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 발린, 페닐알라닌, 리신 및 호모리신을 포함할 수 있다.

[0108] 용어 "키랄"은 거울상 파트너와 비-중첩가능 특성을 갖는 분자를 지칭하고, 용어 "비키랄"은 그의 거울상 파트너에 중첩가능한 분자를 지칭한다.

- [0109] 용어 "입체이성질체"는 동일한 화학적 구성을 갖지만, 공간 내 원자 또는 기의 배열이 상이한 화합물을 지칭한다.
- [0110] "부분입체이성질체"는 2개 이상의 키랄성 중심을 가지며 분자들이 서로의 거울상이 아닌 입체이성질체를 지칭한다. 부분입체이성질체는 상이한 물리적 특성, 예를 들어 용점, 비점, 스펙트럼 특성 및 반응성을 갖는다. 부분입체이성질체의 혼합물은 고해상도 분석 절차, 예컨대 전기영동 및 크로마토그래피 하에 분리될 수 있다.
- [0111] "거울상이성질체"는 서로 비-중첩가능한 거울상인, 화합물의 2종의 입체이성질체를 지칭한다.
- [0112] 본원에 사용된 입체화학적 정의 및 규정은 일반적으로 문헌 [S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 및 Eliel, E. and Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York]에 따른다. 많은 유기 화합물은 광학 활성 형태로 존재하고, 즉 이들은 평면-편광의 평면을 회전하는 능력을 갖는다. 광학 활성 화합물을 기재하는데 있어서, 접두어 D 및 L 또는 R 및 S는 그의 키랄 중심(들)에 대한 분자의 절대 배위를 나타내기 위해 사용된다. 접두어 d 및 l 또는 (+) 및 (-)는 화합물에 의한 평면-편광 회전의 부호를 지정하기 위해 사용되며, (-) 또는 l은 화합물이 좌선성임을 의미한다. 접두어 (+) 또는 d를 갖는 화합물은 우선성이다. 주어진 화학 구조에서, 이들 입체이성질체는 이들이 서로 거울상인 것을 제외하고는 동일하다. 특정한 입체이성질체가 또한 거울상이성질체로 지칭될 수 있고, 이러한 이성질체의 혼합물은 종종 거울상이성질체 혼합물로 불린다. 거울상이성질체의 50:50 혼합물은 라세미 혼합물 또는 라세미체로 지칭되며, 이들은 화학 반응 또는 과정에서 입체선택성 또는 입체특이성이 없는 경우에 발생할 수 있다. 용어 "라세미 혼합물" 및 "라세미체"는 광학 활성이 없는, 2종의 거울상이성질체 중의 등물 혼합물을 지칭한다.
- [0113] "이탈기"는 또 다른 관능기에 의해 치환될 수 있는 관능기를 지칭한다. 특정 이탈기는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예는 할라이드 (예를 들어, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드), 메탄술폰닐 (메실), p-톨루엔술폰닐 (토실), 트리플루오로메틸술폰닐 (트리플레이트) 및 트리플루오로메틸술폰네이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0114] 용어 "보호기"는 화합물상의 다른 관능기가 반응하는 동안 특정한 관능기를 차단하거나 보호하기 위해 통상적으로 사용되는 치환기를 지칭한다. 예를 들어, "아미노-보호기"는 화합물 내의 아미노 관능기를 차단하거나 보호하는, 아미노 기에 부착된 치환기이다. 적합한 아미노-보호기는 아세틸, 트리플루오로아세틸, t-부톡시카르보닐 (BOC), 벤질옥시카르보닐 (CBZ) 및 9-플루오레닐메틸렌옥시카르보닐 (Fmoc)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 보호기 및 그의 용도의 일반적 설명에 대해서는, 문헌 [T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991] 또는 후속 판을 참조한다.
- [0115] A. 사용 방법
- [0116] 본원은 세포독성제에 연결된 전립선-특이적 세포 표면 단백질에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0117] 특히, 본원은 항유사분열제 (예를 들어, 튜불린의 중합의 억제제)에 연결된 전립선-특이적 세포 표면 단백질을 인식하는 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 항유사분열제, 예컨대 튜불린의 중합의 억제제의 전립선-특이적 세포 표면 단백질에 결합하는 항체에 의한 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암 세포의 표적화는 세포 성장을 억제하는데 유효하다.
- [0118] 본원에 기재된 임의의 방법, 제제, 및/또는 용도의 일부 실시양태에서, 전립선암은 전이성 전립선암이다. 일부 실시양태에서, 전이성 전립선암은 전이성 거세-저항성 전립선암이다.
- [0119] 본원에 기재된 임의의 방법, 제제, 및/또는 용도의 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 예를 들어 안드로겐 수용체 단백질과의 상호작용에 의해 안드로겐 수용체를 직접 억제한다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 안드로겐 수용체에 대한 안드로겐 결합을 억제하고/거나 안드로겐 수용체 핵 전위 및 DNA와의 상호작용을 억제한다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 4-{3-[4-시아노-3-(트리플루오로메틸)페닐]-5,5-디메틸-4-옥소-2-술폰리덴이미다졸리딘-1-일}-2-플루오로-N-메틸벤즈아미드 또는 그의 염이다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 4-{3-[4-시아노-3-(트리플루오로메틸)페닐]-5,5-디메틸-4-옥소-2-술폰리덴이미다졸리딘-1-일}-2-플루오로-N-메틸벤즈아미드이다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 엔잘루타미드이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원은 항유사분열제 (예를 들어, 튜불린의 중합의 억제

제)에 연결된 전립선-특이적 세포 표면 단백질을 인식하는 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 엔잘루타미드 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 안드로겐 생합성을 억제함으로써 안드로겐 수용체를 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 17 α -히드록실라제/C17,20-리아제 (CYP17)를 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 프레그네놀론 및 프로게스테론의 17 α -히드록시 유도체로의 전환 및/또는 테히드로에피안드로스테론 (DHE) 및 안드로스텐디온의 형성을 억제하지 않는다. 일부 실시양태에서, 안드로겐 수용체 억제제는 아비라테론 또는 그의 염이 아니다.

[0120] 튜불린의 중합의 억제제 뿐만 아닌 항유사분열제가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Perez, Mol. Cancer Ther. 8:2086-2095 (2009), Doronina et al., Nat. Biotechnol. 21:778-784 (2003), 및 Doronina et al., Bioconjug Chem. 17:114-124 (2006)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 항유사분열제는 메이탄시노이드, 돌라스타틴, 아우리스타틴 및/또는 그의 유사체 및/또는 유도체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 항유사분열제는 아우리스타틴 및/또는 그의 유사체 및/또는 유도체이다. 일부 실시양태에서, 아우리스타틴 및/또는 그의 유사체 및/또는 유도체는 MMAE이다. 일부 실시양태에서, 아우리스타틴 및/또는 그의 유사체 및/또는 유도체는 MMAF이다. 예를 들어, 본원은 MMAE에 연결된 전립선-특이적 세포 표면 단백질을 인식하는 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0121] 전립선-특이적 세포 표면 단백질의 예는 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질은 전립선-특이적 막 항원 (PSM), 전립선 암종 종양 항원 (PCTA-1), 전립선 줄기 세포 항원 (PSCA), 용질 담체 패밀리 44, 구성원 4 (SLC44A4), 및 전립선의 6 막횡단 상피 항원 1 (STEAP-1)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 전립선-특이적 세포 표면 단백질은 STEAP-1이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원은 아우리스타틴 (예를 들어, MMAE)에 연결된 항-STEAP-1 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 120.v24 (예를 들어, 그 전문이 참조로 포함되는 미국 특허 8,436,147 참조) 및 그의 변이체와 같은 본원에 기재된 항체이다. 일부 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원은 항유사분열제 (예를 들어, 튜불린의 중합의 억제제)에 연결된 STEAP-1에 결합하는 항체를 포함하는 면역접합체를 사용하여 엔잘루타미드 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 항-STEAP-1 항체는 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0122] 한 측면에서, 본원에 제공된 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체는, 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체가 세포의 표면 상의 STEAP-1에 결합하는 것을 허용하는 조건 하에 세포를 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체에 노출시켜 세포의 증식을 억제하는 것을 포함하는, STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암 세포의 증식을 억제하는 방법에 사용된다. 특정 실시양태에서, 방법은 시험관내 또는 생체내 방법이다.

[0123] 시험관내 세포 증식의 억제는 프로메가(Promega) (위스콘신주 매디슨)로부터 상업적으로 입수가 가능한 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)TM 발광 세포 생존율 검정을 사용하여 검정할 수 있다. 그러한 검정은 대사적 활성 세포의 지표인 존재하는 ATP의 정량화를 기초로 하여 배양물 중 생존 세포의 수를 결정한다. 문헌 [Crouch et al. (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88], 미국 특허 번호 6602677을 참조한다. 상기 검정은 자동화된 고처리량 스크리닝 (HTS)에 적용가능하게 하는 96- 또는 384-웰 포맷으로 수행될 수 있다. 문헌 [Cree et al. (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404]을 참조한다. 검정 절차는 단일 시약 (셀타이터-글로[®] 시약)을 배양된 세포에 직접 첨가하는 것을 수반한다. 이는 세포 용해, 및 루시페라제 반응에 의해 생산되는 발광 신호의 생성을 일으킨다. 발광 신호는 존재하는 ATP의 양에 비례하고, 이는 배양물 중에 존재하는 생존 세포 수에 정비례한다. 테이터는 발광측정기 또는 CCD 카메라 영상화 장치에 의해 기록될 수 있다. 발광 출력은 상대 광 단위 (RLU)로 표현된다.

[0124] 또 다른 측면에서, 의약으로서 사용하기 위한 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체가 제공된다. 추가 측면에서, 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선의 치료 방법에 사용하기 위한 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체가 제공

된다. 특정 실시양태에서, STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는데 사용하기 위한 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체를 개체에게 투여하는 것을 포함하는, STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암에 걸린 개체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체를 제공한다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 유효량의 적어도 1종의 추가의 치료제를 개체에게 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0125] 추가 측면에서, 본 발명은 의약의 제작 또는 제조에서의 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 의약은 STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암의 치료를 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 의약은 유효량의 의약을 STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암에 걸린 개체에게 투여하는 것을 포함하는, STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 유효량의 적어도 1종의 추가의 치료제를 개체에게 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0126] 추가 측면에서, 본 발명은 STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 치료하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 유효량의 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체를 이러한 STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암에 걸린 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, 상기 방법은 유효량의 적어도 1종의 추가의 치료제를 개체에게 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0127] 임의의 상기 실시양태에 따른 "개체"는 인간일 수 있다.

[0128] 추가 측면에서, 본원은 본원에 기재된 임의의 치료 방법에 사용하기 위한 임의의 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체를 포함하는 제약 제제를 제공한다. 한 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 제약 제제는 본원에 제공된 임의의 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체, 및 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 적어도 1종의 추가의 치료제를 포함한다.

[0129] 본원에 제공된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 면역접합체는 요법에서 단독으로 또는 다른 작용제와 조합되어 사용될 수 있다. 상기 언급된 이러한 조합 요법은 조합 투여 (여기서 2종 이상의 치료제는 동일 또는 개별 제제에 포함됨) 및 개별 투여를 포괄하며, 이 경우에 본 발명의 항체 또는 면역접합체의 투여는 추가의 치료제 및/또는 아주반트의 투여 전에, 그와 동시에 및/또는 그 후에 일어날 수 있다. 항체 또는 면역접합체는 또한 방사선 요법과 조합되어 사용될 수 있다.

[0130] 본원에 기재된 임의의 치료 방법에 사용하기 위한 본원에 제공된 항체 또는 면역접합체 (및 임의의 추가의 치료제)는 비경구, 폐내 및 비강내를 비롯한 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있고, 원하는 경우에 국부 치료를 위해 병변내 투여될 수 있다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 투여는 임의의 적합한 경로에 의해, 예를 들어 부분적으로 투여가 단기적인지 또는 만성인지에 따라 정맥내 또는 피하 주사와 같은 주사에 의해 이루어질 수 있다. 단일 투여 또는 다양한 시점에 걸친 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 투여 스케줄이 본원에서 고려된다.

[0131] 본원에 기재된 임의의 치료 방법에 사용하기 위한 본원에 제공된 항체 또는 면역접합체는 우수한 의료 행위와 일치하는 방식으로 제제화, 투약 및 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 인자는 치료할 특정한 장애, 치료할 특정한 포유동물, 개별 환자의 임상 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄링, 및 의료 진료의에게 공지된 다른 인자를 포함한다. 항체 또는 면역접합체는 반드시 그럴 필요는 없지만, 임의로 해당 장애를 예방 또는 치료하는데 현재 사용되는 1종 이상의 작용제와 함께 제제화된다. 이러한 다른 작용제의 유효량은 제제 내에 존재하는 항체 또는 면역접합체의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기 논의된 다른 인자에 따라 달라진다. 이는 일반적으로 상기 기재된 것과 동일한 투여량 및 투여 경로로, 또는 본원에 기재된 투여량의 약 1 내지 99%로, 또는 실험적으로/임상적으로 적절한 것으로 결정된 임의의 투여량으로 및 임의의 경로에 의해 사용된다.

[0132] 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암의 예방 또는 치료를 위해, 본원에 기재된 항체 또는 면역접합체의 적절한 투여량 (단독으로, 또는 1종 이상의 다른 추가의 치료제와 조합되어 사용되는 경우)은 치료될 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암의 유형, 항체 또는 면역접합체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 항체 또는 면역접합체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 항체 또는 면역접합체에 대한 반응, 및 담당 의사의 판단에 따라 달라질 것이다. 항체 또는 면역접합체는 한 번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 개별 투여에 의해서든

또는 연속 주입에 의해서든 관계 없이, 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 15 mg/kg (예를 들어, 0.1 mg/kg -10 mg/kg)의 항체 또는 면역접합체가 환자에게 투여하기 위한 초기 후보 투여량일 수 있다. 한 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 또는 그 초과 범위일 수 있다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우에, 상태에 따라 치료는 일반적으로 질환 증상의 목적하는 억제에 일어날 때까지 지속될 것이다. 항체 또는 면역접합체의 하나의 예시적인 투여량은 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위일 것이다. 따라서, 약 0.5 mg/kg , 2.0 mg/kg , 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg (또는 그의 임의의 조합) 중 1개 이상의 용량이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예를 들어 매주 또는 3주마다 투여될 수 있다 (예를 들어, 약 2회 내지 약 20회, 또는 예를 들어 약 6회 용량의 항체 및/또는 면역접합체가 환자에게 제공되도록). 초기의 보다 높은 로딩 용량에 이어서, 1회 이상의 보다 낮은 용량이 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체는 약 1.2 mg/kg q3w, 1.8 mg/kg q3w, 2.4 mg/kg q3w, 및/또는 2.8 mg/kg q3w 중 임의의 것으로 투여된다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있다. 이 요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정에 의해 용이하게 모니터링된다.

- [0133] 임의의 상기 제제 또는 치료 방법은 본 발명의 면역접합체 및 항-STEAP-1 항체 둘 다를 사용하여 수행될 수 있는 것으로 이해된다.
- [0134] B. 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체
- [0135] 본원은 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항-STEAP-1 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 STEAP-1의 세포외 도메인에 결합한다.
- [0136] 비제한적인 예시적인 이러한 항체는 본원에 기재된 120.v24, 및 그의 변이체이다. 일부 실시양태에서, STEAP-1은 인간 STEAP-1이다. 일부 실시양태에서, STEAP-1은 인간, 시노물구스 원숭이, 마우스 및 래트 STEAP-1로부터 선택된다. 일부 이러한 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 STEAP-1에 $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, 또는 $\leq 9 \text{ nM}$, 또는 $\leq 8 \text{ nM}$, 또는 $\leq 7 \text{ nM}$, 또는 $\leq 6 \text{ nM}$, 또는 $\leq 5 \text{ nM}$, 또는 $\leq 4 \text{ nM}$, 또는 $\leq 3 \text{ nM}$, 또는 $\leq 2 \text{ nM}$, 또는 $\leq 1 \text{ nM}$, 및 임의로 $\geq 0.0001 \text{ nM}$, 또는 $\geq 0.001 \text{ nM}$, 또는 $\geq 0.01 \text{ nM}$ 의 친화도로 결합한다.
- [0137] 항체 120.v24 및 다른 실시양태
- [0138] 일부 실시양태에서, 본 발명은 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 HVR을 포함하는 항-STEAP-1 항체를 제공한다.
- [0139] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3 및 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 및 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다. 추가 실시양태에서, 항체는 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.
- [0140] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VL HVR 서열을 포함하는 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 항체는 (a) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.
- [0141] 또 다른 측면에서, 본 발명의 항체는 (a) (i) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3개의 VH HVR 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) (i) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 적어도 1, 적어도 2, 또는 모든 3

개의 VL HVR 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다.

- [0142] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는 항체를 제공한다.
- [0143] 임의의 상기 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 인간화된다. 한 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 임의의 상기 실시양태에서와 같은 HVR을 포함하고, 인간 수용자 프레임워크, 예를 들어 인간 이뮤노글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 인간 수용자 프레임워크는 인간 VL 카파 I 컨센서스 (VL_{KI}) 프레임워크 및/또는 VH 프레임워크 VH_I이다. 특정 실시양태에서, 인간 수용자 프레임워크는 하기 돌연변이: 경쇄 프레임워크 영역 FR3에서의 Y49H, V58I, T69R 및/또는 F71Y 돌연변이; 중쇄 프레임워크 영역 FR3에서의 V67A, I69L, R71A, T73K 및/또는 T75S 돌연변이 중 어느 하나를 포함하는, 인간 VL 카파 I 컨센서스 (VL_{KI}) 프레임워크 및/또는 VH 프레임워크 VH_I이다.
- [0144] 또 다른 측면에서, 항-STEAP-1 항체는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인 (VH) 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참조 서열에 비해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-STEAP-1 항체는 STEAP-1에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 10개의 아미노산이 서열식별번호: 9에서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 5개의 아미노산이 서열식별번호: 9에서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 HVR 외부 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-STEAP-1 항체는 서열식별번호: 9의 VH 서열 (그런 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VH는 (a) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 HVR을 포함한다.
- [0145] 또 다른 측면에서, 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 항-STEAP-1 항체가 제공된다. 특정 실시양태에서, 서열식별번호: 8의 아미노산 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참조 서열에 비해 치환 (예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-STEAP-1 항체는 STEAP-1에 결합하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 10개의 아미노산이 서열식별번호: 8에서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 총 1 내지 5개의 아미노산이 서열식별번호: 8에서 치환, 삽입 및/또는 결실된다. 특정 실시양태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 HVR 외부 영역에서 (즉, FR에서) 일어난다. 임의로, 항-STEAP-1 항체는 서열식별번호: 8의 VL 서열 (그런 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, VL은 (a) 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 HVR을 포함한다.
- [0146] 또 다른 측면에서, 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VH 및 상기 제공된 임의의 실시양태에서와 같은 VL을 포함하는 항-STEAP-1 항체가 제공된다.
- [0147] 한 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 9 및 서열식별번호: 8의 VH 및 VL 서열 (그런 서열의 번역후 변형 포함)을 포함한다.
- [0148] 추가 측면에서, 본원은 본원에 제공된 항-STEAP-1 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 서열식별번호: 9의 VH 서열 및 서열식별번호: 8의 VL 서열을 포함하는 항-STEAP-1 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.
- [0149] 본 발명의 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-STEAP-1 항체는 인간 항체를 비롯하여 모노클로날 항체이다. 한 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 항체 단편, 예를 들어 Fv, Fab, Fab', scFv, 디아바디, 또는 F(ab')₂ 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 실질적으로 전장 항체, 예를 들어 IgG1 항체, IgG2a 항체 또는 본원에 정의된 바와 같은 다른 항체 부류 또는 이소형이다.
- [0150] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-STEAP-1 항체는 하기 기재된 바와 같은 임의의 특색을 단독으

로 또는 조합하여 포함할 수 있다.

[0151] 추가 측면에서, 임의의 상기 실시양태에 따른 항-STEAP-1 항체는 하기 기재된 바와 같은 임의의 특색을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다.

[0152] 1. 항체 친화도

[0153] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 50 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 5 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ 의 해리 상수 (K_d)를 갖고, 임의로 $\geq 10^{-13} \text{ M}$ 이다. (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 10^{-9} M 내지 10^{-13} M).

[0154] 한 실시양태에서, K_d 는 하기 검정에 의해 기재된 바와 같이 관심 항체의 Fab 버전 및 그의 항원을 사용하여 수행된 방사성표지된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화도는 비표지된 항원의 적정 시리즈의 존재 하에 최소 농도의 (^{125}I)-표지된 항원으로 Fab를 평형화시킨 후, 항-Fab 항체-코팅된 플레이트를 사용하여 결합된 항원을 포획함으로써 측정한다 (예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)] 참조). 검정 조건을 확립하기 위해, 마이크로타이터(MICROTITER)® 멀티-웰 플레이트 (써모 사이언티픽(Thermo Scientific))를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중의 5 $\mu\text{g/ml}$ 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스 (Cappel Labs))로 밤새 코팅한 후, PBS 중의 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 2 내지 5시간 동안 실온 (대략 23°C)에서 차단한다. 비-흡착 플레이트 (눈크(Nunc) #269620)에서는 100 pM 또는 26 pM [^{125}I]-항원을 관심 Fab의 연속 희석물과 혼합한다 (예를 들어, 문헌 [Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)]의 항-VEGF 항체, Fab-12의 평가와 일치함). 이어서, 관심 Fab를 밤새 인큐베이션하지만; 평형에 도달하는 것을 확실하게 하기 위해 더 오랜 기간 (예를 들어, 약 65시간) 동안 계속 인큐베이션할 수 있다. 이후에, 혼합물을 포획 플레이트로 옮겨 실온에서 (예를 들어, 1시간 동안) 인큐베이션한다. 이어서, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중의 0.1% 폴리소르베이트 20 (트윈-20®)으로 8회 세척한다. 플레이트가 건조된 경우에, 150 μl /웰의 섬광제 (마이크로신티(MICROSCINT)-20™; 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탑카운트(TOPCOUNT)™ 감마 계수기 (팩커드) 상에서 10분 동안 계수한다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도를 선택하여 경쟁적 결합 검정에 사용한다.

[0155] 또 다른 실시양태에 따르면, K_d 는 ~10 반응 단위 (RU)로 고정된 항원 CM5 칩을 사용하여 25°C에서 비아코어 (BIACORE)®-2000 또는 비아코어®-3000 (비아코어, 인크.(BIAcore, Inc.), 뉴저지주 피스카타웨이)를 사용하는 표면 플라즈몬 공명 검정을 사용하여 측정된다. 간략하게, 카르복시메틸화 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코어, 인크.)을 공급업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 항원을 10 mM 아세트산나트륨, pH 4.8을 사용하여 5 $\mu\text{g/ml}$ (~0.2 μM)로 희석한 후에 커플링된 단백질의 대략 10 반응 단위 (RU)가 달성되도록 5 μl /분의 유량으로 주입한다. 항원의 주입 후, 1 M 에탄올아민을 주입하여 미반응기를 차단한다. 동역학적 측정을 위해, Fab의 2-배 연속 희석물 (0.78 nM 내지 500 nM)을 대략 25 μl /분의 유량으로 25°C에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (트윈-20™) 계면활성제를 갖는 PBS (PBST) 내에 주입한다. 간단한 일-대-일 랭뮤어 결합 모델 (비아코어® 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 회합 및 해리 센소그램을 동시에 피팅시켜 회합률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})을 계산한다. 평형 해리 상수 (K_d)는 k_{off}/k_{on} 의 비로 계산한다. 예를 들어, 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)]을 참조한다. 온-레이트가 상기 표면 플라즈몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 을 초과하는 경우에, 온-레이트는 분광계, 예컨대 정지-유동 설비 분광광도계 (아비브 인스트루먼트) 또는 교반 큐벳이 장착된 8000-시리즈 SLM-아민코™ 분광광도계 (써모스펙트로닉)에서 측정되는 바와 같은, 증가하는 농도의 항원의 존재 하에 PBS, pH 7.2 중 20 nM의 항-항원 항체 (Fab 형태)의 25°C에서의 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 대역-통과)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 켄칭 기술을 사용하는 것에 의해 결정될 수 있다.

[0156] 2. 항체 단편

[0157] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, 및 scFv 단편, 및 하기 기재된 다른 단편을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 항체 단편의 검토를 위해, 문헌 [Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)]을 참조한다. scFv 단편의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Pluckthuen, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds.,

(Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)]을 참조하고; 또한 WO 93/16185; 및 미국 특허 번호 5,571,894 및 5,587,458을 참조한다. 셀비지 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 논의에 대해서는, 미국 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

[0158] 디아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)]을 참조한다. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 문헌 [Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.

[0159] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 실시양태에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체이다 (도만티스, 인크.(Domantis, Inc.), 매사추세츠주 윌섬; 예를 들어 미국 특허 번호 6,248,516 참조).

[0160] 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같이, 무손상 항체의 단백질분해적 소화 뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이(E. coli) 또는 파지)에 의한 생산을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0161] 3. 키메라 및 인간화 항체

[0162] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 키메라 항체이다. 특정 키메라 항체는 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]에 기재되어 있다. 한 예에서, 키메라 항체는 비-인간 가변 영역 (예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼 또는 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 부류 또는 하위부류가 모 항체의 것으로부터 변화된 "부류 교체된" 항체이다. 키메라 항체는 그의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0163] 특정 실시양태에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비-인간 항체는 모 비-인간 항체의 특이성 및 친화도를 보유하면서 인간에 대한 면역원성이 감소되도록 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 HVR, 예를 들어 CDR (또는 그의 일부)이 비-인간 항체로부터 유래되고, FR (또는 그의 일부)이 인간 항체 서열로부터 유래된 1개 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 또한 임의로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 인간화 항체 내의 일부 FR 잔기는, 예를 들어 항체 특이성 또는 친화도를 복원하거나 또는 개선시키기 위해, 비-인간 항체 (예를 들어, HVR 잔기가 유래된 항체)로부터의 상응하는 잔기로 치환된다.

[0164] 인간화 항체 및 그의 제조 방법은 예를 들어 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)]에서 검토되었고, 예를 들어 문헌 [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)]; 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; 문헌 [Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (SDR (a-CDR) 그래프팅 기재); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) ("재표면화" 기재); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) ("FR 서플링" 기재); 및 Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (FR 서플링에 대한 "유도 선택" 접근법 기재)]에 추가로 기재되어 있다.

[0165] 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은, "최적-피트" 방법을 사용하여 선택된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Sims et al. J. Immunol. 151: 2296 (1993)] 참조); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 하위군의 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)] 참조); 인간 성숙 (체세포 성숙) 프레임워크 영역 또는 인간 배선 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)] 참조); 및 FR 라이브러리 스크리닝으로부터 유래된 프레임워크 영역 (예를 들어, 문헌 [Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)] 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0166] 4. 인간 항체

[0167] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 문헌 [van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)]에 기재되어 있다.

- [0168] 인간 항체는 항원 켈린지에 반응하여 인간 가변 영역을 갖는 무손상 인간 항체 또는 무손상 항체를 생산하도록 변형된 트랜스제닉 동물에게 면역원을 투여하는 것에 의해 제조할 수 있다. 이러한 동물은 전형적으로 내인성 이뮤노글로불린 유전자좌를 대체하거나 또는 염색체외에 존재하거나 동물의 염색체로 무작위적으로 통합된 인간 이뮤노글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유한다. 이러한 트랜스제닉 마우스에서, 내인성 이뮤노글로불린 유전자좌는 일반적으로 불활성화된다. 트랜스제닉 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법의 검토를 위해, 문헌 [Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 제노마우스(XENOMOUSE)TM 기술을 기재하는 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584; 휴맵(HuMab)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 번호 5,770,429; K-M 마우스(K-M MOUSE)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 번호 7,041,870, 및 벨로시마우스(VelociMouse)[®] 기술을 기재하는 미국 특허 출원 공개 번호 US 2007/0061900을 참조한다. 이러한 동물에 의해 생성된 무손상 항체로부터의 인간 가변 영역은 예를 들어 상이한 인간 불변 영역과 조합시키는 것에 의해 추가로 변형될 수 있다.
- [0169] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 모노클로날 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이중골수종 세포주가 기재되어 있다. (예를 들어, 문헌 [Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)] 참조.) 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체는 또한 문헌 [Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)]에 기재되어 있다. 추가의 방법은, 예를 들어 미국 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포주로부터의 모노클로날 인간 IgM 항체의 생산 기재) 및 문헌 [Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)] (인간-인간 하이브리도마 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술 (트리오마(Trioma) 기술)은 또한 문헌 [Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)]에 기재되어 있다.
- [0170] 인간 항체는 또한 인간-유래 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리하는 것에 의해 생성될 수 있다. 이어서, 이러한 가변 도메인 서열은 목적하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하는 기술은 하기 기재된다.
- [0171] 5. 라이브러리-유래 항체
- [0172] 본원에 기재된 항체는 목적 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝하는 것에 의해 단리될 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 생성하고, 목적하는 결합 특성을 보유하는 항체에 대해 이러한 라이브러리를 스크리닝하는 다양한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 이러한 방법은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)]에 검토되어 있고, 예를 들어 문헌 [McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)]에 추가로 기재되어 있다.
- [0173] 특정 파지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는 개별적으로 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 클로닝되고, 파지 라이브러리에 무작위 재조합되며, 이는 이어서 문헌 [Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)]에 기재된 바와 같이 항원-결합 파지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을 단일-쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으로 디스플레이한다. 면역화된 공급원으로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 구축할 필요없이 면역원에 대한 고-친화도 항체를 제공한다. 대안적으로, 나이브 레퍼토리를 클로닝 (예를 들어, 인간으로부터)하여, 문헌 [Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)]에 기재된 바와 같이 어떠한 면역화도 없이 광범위한 비-자기 및 또한 자기 항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공할 수 있다. 마지막으로, 문헌 [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)]에 기재된 바와 같이, 줄기 세포로부터의 비재배열 V-유전자 절편을 클로닝하고, 고도의 가변 CDR3 영역을 코딩하고 시험관내 재배열이 달성되도록 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용함으로써, 나이브 라이브러리를 또한 합성적으로 제조할 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기재하고 있는 특허 공개는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,750,373, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598,

2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360을 포함한다.

[0174] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은 본원에서 인간 항체 또는 인간 항체 단편으로 간주된다.

[0175] 6. 다중특이적 항체

[0176] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 다중특이적 항체이고, 예를 들어 이중특이적 항체가 본원에 기재된 방법에 유용하다. 다중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 부위에 대해 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 STEAP-1에 대한 것이고, 다른 것은 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 STEAP-1에 대한 것이고, 다른 것은 CD3에 대한 것이다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,821,337을 참조한다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 STEAP-1의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 세포독성제를 STEAP-1을 발현하는 세포에 국재화시키는 데 사용될 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0177] 다중특이적 항체를 제조하는 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 제조합 공-발현 (문헌 [Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)], WO 93/08829, 및 [Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)] 참조), 및 "노브-인-홀" 조작 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,731,168 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다중-특이적 항체는 또한 항체 Fc-이종이량체 분자를 제조하기 위한 정전기적 스테어링 효과를 조작하는 것 (WO 2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교하는 것 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,676,980, 및 문헌 [Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)] 참조); 이중특이적 항체를 생성하기 위해 류신 지퍼를 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)] 참조); 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 "디아바디" 기술을 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)] 참조); 및 단일-쇄 Fv (sFv) 이량체를 사용하는 것 (예를 들어, 문헌 [Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)] 참조); 및 예를 들어 문헌 [Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)]에 기재된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조하는 것에 의해 제조될 수 있다.

[0178] "옥토퍼스 항체"를 비롯하여, 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체가 또한 본원에 포함된다 (예를 들어, US 2006/0025576A1 참조).

[0179] 본원의 항체 또는 단편은 또한 STEAP-1 뿐만 아니라 또 다른 상이한 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 "이중 작용 Fab" 또는 "DAF"를 포함한다 (예를 들어, US 2008/0069820 참조).

[0180] 7. 항체 변이체

[0181] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 적절한 변형을 도입하는 것에 의해 또는 펩티드 합성에 의해 제조할 수 있다. 이러한 변형은 예를 들어 항체의 아미노산 서열 내 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 최종 구축물에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있고, 단 최종 구축물은 목적하는 특성, 예를 들어 항원-결합을 보유한다.

[0182] a. 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0183] 특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이유발을 위한 관심 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 표 1에서 "바람직한 치환"의 표제 하에 제시된다. 보다 실질적인 변화는 표 1에서 "예시적인 치환"의 표제 하에 제공되고, 아미노산 측쇄 부류에 관하여 하기에 추가로 기재된다. 아미노산 치환은 관심 항체에 도입될 수 있고, 산물은 목적 활성, 예를 들어 보유/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성 또는 개선된 ADCC 또는 CDC에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0184] <표 1>

원래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0185]

[0186] 아미노산은 공통적인 측쇄 특성에 따라 그룹화될 수 있다:

[0187] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0188] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0189] (3) 산성: Asp, Glu;

[0190] (4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0191] (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;

[0192] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0193] 비-보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 또 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.

[0194] 치환 변이체의 한 유형은 모 항체 (예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 1개 이상의 추가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다. 일반적으로, 추가의 연구를 위해 선택된 생성된 변이체(들)는 모 항체에 비해 특정 생물학적 특성 (예를 들어, 증가된 친화도, 감소된 면역원성)에서 변형 (예를 들어, 개선)을 가질 것이고/거나 모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 보유할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 예를 들어 본원에 기재된 것과 같은 파지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기술을 사용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화도 성숙 항체이다. 간략하게, 1개 이상의 HVR 잔기가 돌연변이되고, 변이체 항체가 파지 상에 디스플레이되고, 특정한 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다.

[0195] 변경 (예를 들어, 치환)은 예를 들어 항체 친화도를 개선시키기 위해 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉 체세포 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기 (예를

들어, 문헌 [Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)] 참조), 및/또는 SDR (a-CDR)에서 이루어질 수 있으며, 생성된 변이체 VH 또는 VL는 결합 친화도에 대해 시험된다. 2차 라이브러리로부터 구축 및 재선택하는 것에 의한 친화도 성숙은 예를 들어 문헌 [Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기재되어 있다. 친화도 성숙의 일부 실시양태에서, 다양성은 임의의 다양한 방법 (예를 들어, 오류-유발 PCR, 섹서 풀링, 또는 올리고뉴클레오타이드-지시된 돌연변이유발)에 의한 성숙을 위해 선택된 가변 유전자로 도입된다. 이어서, 2차 라이브러리가 생성된다. 이어서, 라이브러리를 스크리닝하여 목적 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 확인한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 HVR-지시된 접근법을 수반하며, 여기서 여러 HVR 잔기 (예를 들어, 한 번에 4-6개 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 수반되는 HVR 잔기는 예를 들어 알려진 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 사용하여 구체적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.

[0196] 특정 실시양태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이러한 변경이 항체가 항원에 결합하는 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 1개 이상의 HVR 내에서 일어날 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경 (예를 들어, 본원에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟" 또는 SDR의 외부일 수 있다. 상기 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 특정 실시양태에서, 각각의 HVR은 변경되지 않거나, 또는 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.

[0197] 문헌 [Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이, 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군 (예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys, 및 glu)이 확인되고, 중성 또는 음으로 하전된 아미노산 (예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체되어 항체와 항원의 상호작용에 영향을 미치는지 여부를 결정한다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 감수성이 입증된 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 항체와 항원 사이의 접촉점을 확인하기 위해 항원-항체 복합체의 결정 구조가 사용된다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기는 치환을 위한 후보로 표적화되거나 또는 제거될 수 있다. 변이체는 그들이 목적하는 특성을 함유하는지 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다.

[0198] 아미노산 서열 삽입은 길이 범위가 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 N- 또는 C-말단에 대한 효소 (예를 들어, ADEPT의 경우) 또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드의 융합을 포함한다.

[0199] b. 글리코실화 변이체

[0200] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경된다. 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 1개 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성될 수 있다.

[0201] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우에, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유동물 세포에 의해 생산된 천연 항체는 전형적으로 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에의 N-연결에 의해 일반적으로 부착되는 분지형, 이중안테나 올리고사카라이드를 포함한다. 예를 들어 문헌 [Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고사카라이드는 다양한 탄수화물, 예를 들어 만노스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토스 및 시알산 뿐만 아니라 이중안테나 올리고사카라이드 구조의 "줄기" 내의 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 내의 올리고사카라이드의 변형은 특정 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 생성하기 위해 이루어질 수 있다.

[0202] 한 실시양태에서, Fc 영역에 (직접적으로 또는 간접적으로) 부착된 푸코스가 결여된 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들어, 이러한 항체에서 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은 예를 들어 WO 2008/077546에 기재된 바와 같이 MALDI-TOF 질량 분광 측정법에 의한 측정 시, Asn 297에 부착된 모든 당구조물 (예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 높은 만노스 구조물)의 합계에 관하여 Asn297에서 당 섹스 내의 푸코스의 평균 양을 계산하는 것에 의해 결정된다. Asn297은 Fc 영역 내의 약 위치 297 (Fc 영역 잔기의 Eu 넘버링)에 위치한 아스파라긴 잔기를 지칭하지만; Asn297은 또한 항체에서의 부차적 서열 변이로 인해 위치 297의 약 ± 3 아미노산 상류 또는 하류, 즉 위치 294 및 300 사이에 위치할 수 있다. 이러한 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (교와 핫코 고교 캠퍼니 리미티드(Kyowa Hakko Kogyo Co.,

Ltd))을 참조한다. "탈푸코실화" 또는 "푸코스-결핍" 항체 변이체와 관련된 공개 문헌의 예는 US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; 문헌 [Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)]을 포함한다. 탈푸코실화 항체를 생산할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)); 미국 특허 출원 번호 US 2003/0157108 A1, Presta, L; 및 WO 2004/056312 A1, Adams et al., 특허 실시예 11에서), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, FUT8, 녹아웃 CHO 세포 (예를 들어, 문헌 [Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)]; 및 WO2003/085107 참조)를 포함한다.

[0203] 이등분된 올리고사카라이드를 갖는 항체 변이체가 추가로 제공되며, 예를 들어 여기서 항체의 Fc 영역에 부착된 이중안테나 올리고사카라이드는 GlcNAc에 의해 이등분된다. 이러한 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예가, 예를 들어 WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 미국 특허 번호 6,602,684 (Umana et al.); 및 US 2005/0123546 (Umana et al.)에 기재되어 있다. Fc 영역에 부착된 올리고사카라이드 내에 적어도 1개의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체가 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어 WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)에 기재되어 있다.

[0204] c. Fc 영역 변이체

[0205] 특정 실시양태에서, 1개 이상의 아미노산 변형이 본원에 제공된 항체의 Fc 영역에 도입되어, 그에 의해 Fc 영역 변이체가 생성될 수 있다. Fc 영역 변이체는 1개 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0206] 특정 실시양태에서, 본 발명은 생체내에서 항체의 반감기가 중요하지만 특성의 이펙터 기능 (예컨대 보체 및 ADCC)은 불필요하거나 해로운 적용에 대해 바람직한 후보가 되게 하는, 모든 이펙터 기능은 아니지만 일부 이펙터 기능을 보유하는 항체 변이체를 고려한다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정을 수행할 수 있다. 예를 들어, 항체에 Fc γ R 결합이 결합되어 있지만 (따라서 ADCC 활성이 결합될 수 있음), FcRn 결합 능력은 보유함을 확실하게 하기 위해 Fc 수용체 (FcR) 결합 검정을 수행할 수 있다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하는 반면에, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)]의 페이지 464, 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 검정의 비제한적 예가 미국 특허 번호 5,500,362 (예를 들어, 문헌 [Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)] 참조) 및 문헌 [Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)]; 5,821,337 (문헌 [Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)] 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로, 비-방사성 검정 방법을 사용할 수 있다 (예를 들어, 유동 세포측정법을 위한 악티 (ACTI)TM 비-방사성 세포독성 검정 (셀테크놀로지, 인크.(CellTechnology, Inc.), 캘리포니아주 마운틴 뷰); 및 사이토크스(CytoTox) 96 \oplus 비-방사성 세포독성 검정 (프로메가(Promega), 위스콘신주 매디슨) 참조). 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)]에 기재된 바와 같이 동물 모델에서 평가될 수 있다. 또한, C1q 결합 검정을 수행하여, 항체가 C1q에 결합할 수 없고 따라서 CDC 활성이 결합되어 있음을 확인할 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해 CDC 검정을 수행할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)] 참조). FcRn 결합 및 생체내 클리어런스/반감기 결정은 또한 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).

[0207] 감소된 이펙터 기능을 갖는 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 1개 이상의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 6,737,056). 이러한 Fc 돌연변이체는, 잔기 265 및 297이 알라닌으로 치환된 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 비롯하여, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 2개 이상에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다 (미국 특허 번호 7,332,581).

- [0208] FcR에 대해 개선되거나 감소된 결합을 갖는 특정 항체 변이체가 기재되어 있다. (예를 들어, 미국 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 및 문헌 [Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)] 참조.)
- [0209] 특정 실시양태에서, 항체 변이체는 ADCC를 개선시키는 1개 이상의 아미노산 치환, 예를 들어 Fc 영역의 위치 298, 333 및/또는 334 (잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다.
- [0210] 일부 실시양태에서, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642, 및 문헌 [Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)]에 기재된 바와 같이, 변경된 (즉, 개선된 또는 감소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 생성하는 변경이 Fc 영역에서 이루어진다.
- [0211] 증가된 반감기, 및 모체 IgG를 태아에게 전달하는 것을 담당하는 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 대한 개선된 결합을 갖는 항체 (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))가 US2005/0014934A1 (Hinton et al.)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 1개 이상의 치환을 그 내부에 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체는 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 1개 이상에서 치환, 예를 들어 Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다 (미국 특허 번호 7,371,826). Fc 영역 변이체의 다른 예에 관하여 또한 문헌 [Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 번호 5,648,260; 미국 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351을 참조한다.
- [0212] d. 시스테인 조작된 항체 변이체
- [0213] 특정 실시양태에서, 항체의 1개 이상의 잔기를 시스테인 잔기로 치환시킨 시스테인 조작된 항체, 예를 들어 "티오Mab"를 생성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 생성된다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써 그에 의해 반응성 티올기가 항체의 접근가능한 부위에 위치하게 되고, 이것을 사용하여 항체를 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합시켜 본원에 추가로 기재된 바와 같은 면역접합체를 생성할 수 있다. 특정 실시양태에서, 하기 잔기 중 어느 1개 이상이 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205 (카바트 넘버링); 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400 (EU 넘버링). 시스테인 조작된 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,521,541에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.
- [0214] e. 항체 유도체
- [0215] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 관련 기술분야에 공지되고 용이하게 입수가 가능한 추가의 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 수용성 중합체의 비제한적 예는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단독중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올 (예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 그의 혼합물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드가 물에서의 안정성으로 인해 제조에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지형 또는 비분지형일 수 있다. 항체에 부착되는 중합체의 수는 달라질 수 있고, 1개 초과인 중합체가 부착되는 경우에 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 개선시킬 항체의 특정한 특성 또는 기능, 항체 유도체가 요법에서 규정된 조건 하에 사용될 것인지 여부 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 고려사항을 기초로 하여 결정될 수 있다.
- [0216] 또 다른 실시양태에서, 항체, 및 방사선 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 한 실시양태에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 임의의 파장의 것일 수 있고, 통상적인 세포에는 해를 끼치지 않지만 항체-비단백질성 모이어티에 근접한 세포는 사멸시키는 온도로 비단백질성 모이어티를 가열하는 파장을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0217] C. 제조 방법 및 조성물
- [0218] 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같이 제조 방법 및 조성물을 사용하여 생산할 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 항-STEAP-1 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은

항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열 (예를 들어, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코딩할 수 있다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 1개 이상의 벡터 (예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 추가 실시양태에서, 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 하나의 이러한 실시양태에서, 숙주 세포는 (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함한다 (예를 들어, 이들로 형질감염된다). 한 실시양태에서, 숙주 세포는 진핵, 예를 들어 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 림프성 세포 (예를 들어, Y0, NS0, Sp20 세포)이다. 한 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하는 것 및 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 상기 항체를 임의로 회수하는 것을 포함하는, 상기에 제공된 바와 같은 항체를 제조하는 방법이 제공된다.

[0219] 항-STEAP-1 항체의 재조합 생산을 위해, 예를 들어 상기 기재된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 분리하고, 추가의 클로닝 및/또는 숙주 세포에서의 발현을 위해 1개 이상의 벡터에 삽입한다. 이러한 핵산은 통상의 절차를 사용하여 용이하게 분리되고 서열분석될 수 있다 (예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하는 것에 의함).

[0220] 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는 본원에 기재된 원핵 또는 진핵 세포를 포함한다. 예를 들어, 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않은 경우에, 항체를 박테리아에서 생산할 수 있다. 박테리아에서의 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 번호 5,648,237, 5,789,199 및 5,840,523을 참조한다. (또한, 이. 콜라이에서 항체 단편의 발현을 기재하는 문헌 [Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254] 참조.) 발현 후에, 가용성 분획에서 박테리아 세포 페이스트로부터 항체를 분리할 수 있고, 추가로 정제할 수 있다.

[0221] 원핵생물에 더하여, 진핵 미생물, 예컨대 글리코실화 경로가 "인간화"되어 부분 또는 완전 인간 글리코실화 패턴을 갖는 항체가 생산되게 하는 진균 및 효모 균주를 비롯한 사상 진균 또는 효모가 항체-코딩 벡터의 클로닝 또는 숙주 발현에 적합하다. 문헌 [Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 및 Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)]을 참조한다.

[0222] 글리코실화 항체의 발현에 적합한 숙주 세포는 또한 다세포 유기체 (무척추동물 및 척추동물)로부터 유래된다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 다수의 바칼로바이러스 균주가 곤충 세포와 함께, 특히 스포도프테라 프루기페르다(Spodoptera frugiperda) 세포를 형질감염시키는데 사용될 수 있는 것으로 확인되어 있다.

[0223] 식물 세포 배양물을 또한 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978, 및 6,417,429 (트랜스제닉 식물에서 항체를 생산하기 위한 플랜티바디스(PLANTIBODIES)TM 기술을 기재함)를 참조한다.

[0224] 척추동물 세포를 또한 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들어, 현탁액 중에서 성장시키는데 적합화된 포유동물 세포주가 유용할 수 있다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7); 인간 배아 신장 세포주 (예를 들어, 문헌 [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]에 기재된 바와 같은 293 또는 293 세포); 새끼 햄스터 신장 세포 (BHK); 마우스 세르톨리 세포 (예를 들어, 문헌 [Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)]에 기재된 바와 같은 TM4 세포); 원숭이 신장 세포 (CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76); 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA); 개 신장 세포 (MDCK); 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 마우스 유방 종양 (MMT 060562); 예를 들어 문헌 [Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)]에 기재된 바와 같은 TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는 DHFR⁻ CHO 세포를 비롯한 차이나이즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); 및 골수종 세포주, 예컨대 Y0, NS0 및 Sp2/0을 포함한다. 항체 생산에 적합한 특정 포유동물 숙주 세포주의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)]을 참조한다.

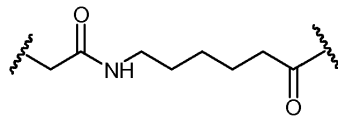
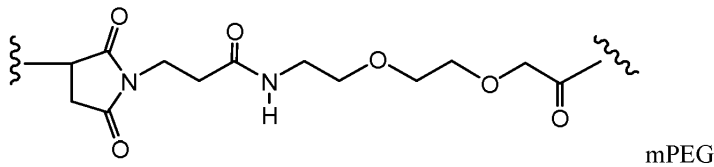
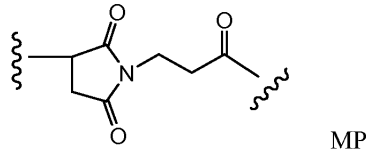
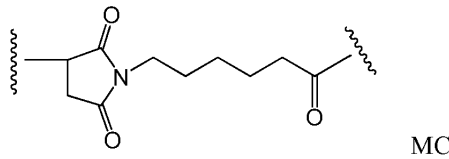
[0225] D. 검정

[0226] 본원에 제공된 항-STEAP-1 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정에 의해 확인되거나, 그의 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대해 스크리닝되거나, 특징화될 수 있다.

- [0227] 한 측면에서, 본 발명의 항체는 예를 들어 ELISA, 비아코어®, FACS, 또는 웨스턴 블롯과 같은 공지된 방법에 의해 그의 항원 결합 활성에 대해 시험된다.
- [0228] 또 다른 측면에서, 경쟁 검정을 사용하여 STEAP-1에의 결합에 대해 본원에 기재된 임의의 항체와 경쟁하는 항체를 확인할 수 있다. 특정 실시양태에서, 이러한 경쟁 항체는 본원에 기재된 항체가 결합하는 것과 동일한 에피토프 (예를 들어, 선형 또는 입체형태적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하는 상세한 예시적인 방법이 문헌 [Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)]에 제공되어 있다.
- [0229] 예시적인 경쟁 검정에서, 고정된 STEAP-1은 STEAP-1에 결합하는 제1 표지된 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 항체) 및 STEAP-1에의 결합에 대해 제1 항체와 경쟁하는 그의 능력에 대해 시험될 제2 비표지된 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이션된다. 제2 항체는 하이브리도마 상정액 중에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 고정된 STEAP-1은 제1 표지된 항체를 포함하나 제2 비표지된 항체는 포함하지 않는 용액 중에서 인큐베이션된다. STEAP-1에 대한 제1 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 인큐베이션한 후에, 잉여량의 미결합 항체를 제거하고, 고정된 STEAP-1과 회합된 표지의 양을 측정한다. 고정된 STEAP-1과 회합된 표지의 양이 대조군 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소된 경우에, 이는 제2 항체가 STEAP-1에의 결합에 대해 제1 항체와 경쟁한다는 것을 나타낸다. 문헌 [Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)]을 참조한다.
- [0230] E. 면역접합체
- [0231] 본원은 또한 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 1종 이상의 세포독성제, 예컨대 화학요법제 또는 약물, 성장 억제제, 독소 (예를 들어, 단백질 독소, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적 활성 독소 또는 그의 단편) 또는 방사성 동위원소 (예를 들어, 방사성접합체)에 접합된 본원의 항-STEAP-1 항체를 포함하는 면역접합체를 제공한다.
- [0232] 미접합 약물의 전신 투여가 정상 세포에 대해 허용되지 않는 수준의 독성을 야기할 수 있는 경우에, 면역접합체는 종양에 대한 약물 모이어티의 표적화된 전달, 및 일부 실시양태에서는 그 내부에서의 세포내 축적을 허용한다 (Polakis P. (2005) Current Opinion in Pharmacology 5:382-387).
- [0233] 항체-약물 접합체 (ADC)는 강력한 세포독성 약물을 항원-발현 종양 세포에 표적화시키고 (Teicher, B.A. (2009) Current Cancer Drug Targets 9:982-1004), 그에 의한 효능의 최대화 및 오프-타겟 독성의 최소화에 의해 치료 지수를 증진시킴으로써 (Carter, P.J. and Senter P.D. (2008) The Cancer Jour. 14(3):154-169; Chari, R.V. (2008) Acc. Chem. Res. 41:98-107) 항체 및 세포독성 약물 둘 다의 특성을 합한 표적화된 화학요법제 분자이다.
- [0234] 본 발명의 ADC 화합물은 항암 활성을 갖는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, ADC 화합물은 약물 모이어티에 접합된, 즉 공유 부착된 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 링커를 통해 약물 모이어티에 공유 부착된다. 본 발명의 항체-약물 접합체 (ADC)는 유효 용량의 약물을 종양 조직에 선택적으로 전달함으로써, 치료 지수 ("치료 범위")를 증가시키면서 보다 큰 선택성, 즉 보다 낮은 효과적인 용량을 달성할 수 있다.
- [0235] 항체-약물 접합체 (ADC)의 약물 모이어티 (D)는 세포독성 또는 세포증식억제성 효과를 갖는 임의의 화합물, 모이어티 또는 기를 포함할 수 있다. 약물 모이어티는 튜블린 결합, DNA 결합 또는 삽입, 및 RNA 폴리머라제, 단백질 합성 및/또는 토포이소머라제의 억제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 메커니즘에 의해 그의 세포독성 및 세포증식억제성 효과를 부여할 수 있다. 예시적인 약물 모이어티는 메이탄시노이드, 돌라스타틴, 아우리스타틴, 칼리케아미신, 안트라시클린, 두오카르마이신, 빈카 알칼로이드, 타산, 트리코테센, CC1065, 캅토테신, 엘리나피드, 및 세포독성 활성을 갖는 그의 입체이성질체, 동배체, 유사체 및 유도체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 면역접합체의 비제한적 예는 하기 추가의 세부사항에서 논의된다.
- [0236] 1. 예시적인 항체-약물 접합체
- [0237] 항체-약물 접합체 (ADC) 화합물의 예시적 실시양태는 종양 세포를 표적화하는 항체 (Ab), 약물 모이어티 (D), 및 Ab를 D에 부착시키는 링커 모이어티 (L)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 1개 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 리신 및/또는 시스테인을 통해 링커 모이어티 (L)에 부착된다. 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 면역접합체는 화학식 Ab-(L-D)_p를 갖고, 여기서: (a) Ab는 전립선암 세포 표면 단백질에 결합하는 항체이고; (b) L은 링커이고; (c) D는 세포독성제이고; (d) p는 1-8의 범위이다.

- [0238] 예시적인 ADC는 하기 화학식 I을 갖는다:
- [0239] <화학식 I>
- [0240] $Ab-(L-D)_p$
- [0241] 상기 식에서 p는 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, 항체에 접합될 수 있는 약물 모이어티의 수는 유리 시스템 잔기의 수에 의해 제한된다. 일부 실시양태에서, 유리 시스템 잔기는 본원에 기재된 방법에 의해 항체 아미노산 서열 내로 도입된다. 화학식 I의 예시적인 ADC는 1, 2, 3 또는 4개의 조작된 시스템 아미노산을 갖는 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다 (Lyon, R. et al. (2012) *Methods in Enzym.* 502:123-138). 일부 실시양태에서, 1개 이상의 유리 시스템 잔기는 조작을 사용하지 않고도 이미 항체에 존재하며, 이러한 경우에 기존 유리 시스템 잔기를 사용하여 항체를 약물에 접합시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 1개 이상의 유리 시스템 잔기를 생성하기 위해 항체의 접합 전에 환원 조건에 노출된다.
- [0242] a) 예시적인 링커
- [0243] "링커" (L)는 1종 이상의 약물 모이어티 (D)를 항체 (Ab)에 연결시켜 화학식 I의 항체-약물 접합체 (ADC)를 형성하는데 사용될 수 있는 이관능성 또는 다관능성 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 항체-약물 접합체 (ADC)는 약물 및 항체에 공유 부착시키기 위한 반응성 관능기를 갖는 링커를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체 (Ab)의 시스템 티올은 링커 또는 약물-링커 중간체의 반응성 관능기와 결합을 형성하여 ADC를 생성할 수 있다.
- [0244] 한 측면에서, 링커는 항체 상에 존재하는 유리 시스템과 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있는 관능기를 갖는다. 비제한적인 예시적인 이러한 반응성 관능기는 말레이미드, 할로아세트아미드, α -할로아세틸, 활성화된 에스테르, 예컨대 숙신이미드 에스테르, 4-니트로페닐 에스테르, 펜타플루오로페닐 에스테르, 테트라플루오로페닐 에스테르, 무수물, 산 클로라이드, 술폰일 클로라이드, 이소시아네이트 및 이소티오시아네이트를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Klussman, et al. (2004), *Bioconjugate Chemistry* 15(4):765-773]의 페이지 766의 접합 방법 및 본원의 실시예를 참조한다.
- [0245] 일부 실시양태에서, 링커는 항체 상에 존재하는 친전자성 기와 반응할 수 있는 관능기를 갖는다. 예시적인 이러한 친전자성 기는 알데히드 및 케톤 카르보닐 기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 링커의 반응성 관능기의 헤테로원자는 항체 상의 친전자성 기와 반응하여 항체 단위에 공유 결합을 형성할 수 있다. 비제한적인 예시적인 이러한 반응성 관능기는 히드라지드, 옥심, 아미노, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실레이트 및 아릴히드라지드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0246] 링커는 1개 이상의 링커 성분을 포함할 수 있다. 예시적인 링커 성분은 6-말레이미도카프로일 ("MC"), 말레이미도프로파노일 ("MP"), 발린-시트룰린 ("val-cit" 또는 "vc"), 알라닌-페닐알라닌 ("ala-phe"), p-아미노벤질 옥시카르보닐 ("PAB"), N-숙신이미딜 4-(2-피리딜티오) 펜타노에이트 ("SPP"), 및 4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1 카르복실레이트 ("MCC")를 포함한다. 다양한 링커 성분이 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 그 중 일부가 하기에 기재되어 있다.
- [0247] 링커는 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다. 비제한적인 예시적인 절단가능한 링커는 산-불안정성 링커 (예를 들어, 히드라존 포함), 프로테아제-감수성 (예를 들어, 펩티다제-감수성) 링커, 광불안정성 링커, 또는 디설피드-함유 링커를 포함한다 (Chari et al., *Cancer Research* 52:127-131 (1992); US 5208020).
- [0248] 특정 실시양태에서, 링커는 하기 화학식 II를 갖는다:
- [0249] <화학식 II>
- [0250]
$$-A_a-W_w-Y_y-$$
- [0251] 상기 식에서, A는 "스트레처 단위"이고, a는 0 내지 1의 정수이고; W는 "아미노산 단위"이고, w는 0 내지 12의 정수이고; Y는 "스페이서 단위"이고, y는 0, 1, 또는 2이고; Ab, D, 및 p는 화학식 I에 대해 상기 정의된 바와 같다. 이러한 링커의 예시적 실시양태는 명백하게 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 7,498,298에 기재되어 있다.
- [0252] 일부 실시양태에서, 링커 성분은 또 다른 링커 성분에 또는 약물 모이어티에 항체를 연결시키는 "스트레처

단위"를 포함한다. 비제한적인 예시적인 스트레처 단위가 하기 제시된다 (여기서 파상선은 항체, 약물 또는 추가의 링커 성분에 대한 공유 부착 부위를 나타냄):



[0253]

[0254]

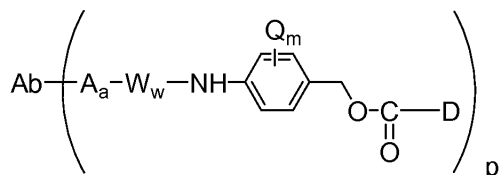
일부 실시양태에서, 링커 성분은 "아미노산 단위"를 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, 아미노산 단위는 프로테아제에 의한 링커의 절단을 허용하며, 이에 의해 세포내 프로테아제, 예컨대 리소솜 효소에 대한 노출 시면역접합체로부터의 약물 방출이 용이하게 된다 (Doronina et al. (2003) Nat. Biotechnol. 21:778-784). 예시적인 아미노산 단위는 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드 및 펜타펩티드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 디펩티드는 발린-시트룰린 (vc 또는 val-cit), 알라닌-페닐알라닌 (af 또는 ala-phe); 페닐알라닌-리신 (fk 또는 phe-lys); 페닐알라닌-호모리신 (phe-homolys); 및 N-메틸-발린-시트룰린 (Me-val-cit)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 트리펩티드는 글리신-발린-시트룰린 (gly-val-cit) 및 글리신-글리신-글리신 (gly-gly-gly)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 아미노산 단위는 자연 발생 아미노산 잔기 및/또는 소수 아미노산 및/또는 비-자연 발생 아미노산 유사체, 예컨대 시트룰린을 포함할 수 있다. 아미노산 단위는 특정한 효소, 예를 들어 종양-연관 프로테아제, 카텝신 B, C 및 D, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소적 절단을 위해 설계 및 최적화될 수 있다.

[0255]

일부 실시양태에서, 링커 성분은 항체를 약물 모이어티에 직접적으로 또는 스트레처 단위 및/또는 아미노산 단위를 통해 연결시키는 "스페이서" 단위를 포함한다. 스페이서 단위는 "자기-희생적" 또는 "비-자기-희생적"일 수 있다. "비-자기-희생적" 스페이서 단위는 스페이서 단위의 일부 또는 전부가 ADC의 절단 시 약물 모이어티에 결합된 상태로 남아있는 것이다. 비-자기-희생적 스페이서 단위의 예는 글리신 스페이서 단위 및 글리신-글리신 스페이서 단위를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 글리신-글리신 스페이서 단위를 함유하는 ADC의 종양-세포 연관 프로테아제에 의한 효소적 절단은 ADC의 나머지에서부터 글리신-글리신-약물 모이어티의 방출을 발생시킨다. 일부 이러한 실시양태에서, 글리신-글리신-약물 모이어티는 종양 세포에서 가수분해 단계에 적용되어, 약물 모이어티로부터 글리신-글리신 스페이서 단위가 절단된다.

[0256]

"자기-희생적" 스페이서 단위는 약물 모이어티의 방출을 허용한다. 특정 실시양태에서, 링커의 스페이서 단위는 p-아미노벤질 단위를 포함한다. 일부 이러한 실시양태에서, p-아미노벤질 알콜은 아미드 결합을 통해 아미노산 단위에 부착되고, 카르바메이트, 메틸카르바메이트 또는 카르보네이트가 벤질 알콜과 약물 사이에 생성된다 (Hamann et al. (2005) Expert Opin. Ther. Patents (2005) 15:1087-1103). 일부 실시양태에서, 스페이서 단위는 p-아미노벤질옥시카르보닐 (PAB)이다. 일부 실시양태에서, 자기-희생적 링커를 포함하는 ADC는 하기 구조를 갖는다:



[0257]

[0258]

상기 식에서, Q는 $-\text{C}_1-\text{C}_8$ 알킬, $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_8 \text{ 알킬})$, -할로젠, -니트로 또는 -시아노이고; m은 0 내지 4의 범위의 정수이고; p는 1 내지 약 20의 범위이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 10, 1 내지 7, 1 내지 5 또는 1 내지 4의 범위이다.

[0259]

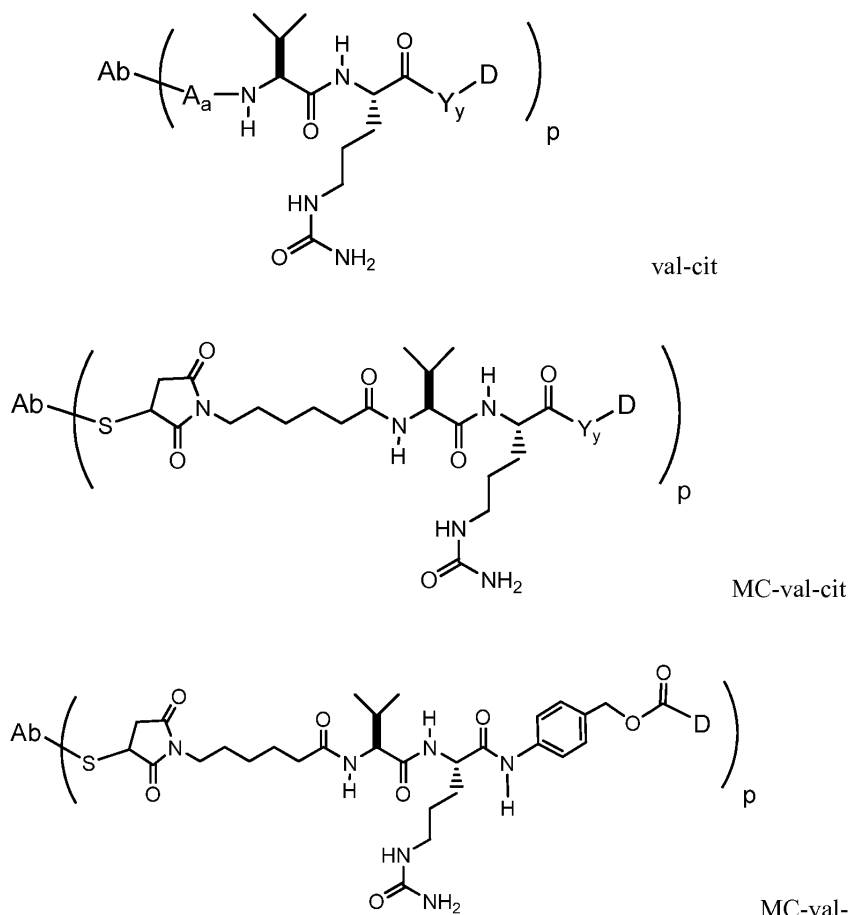
자기-희생적 스페이서의 다른 예는 PAB 기와 전자적으로 유사한 방향족 화합물, 예컨대 2-아미노이미다졸-5-메탄을 유도체 (미국 특허 번호 7,375,078; 문헌 [Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237]) 및 오르토- 또는 파라-아미노벤질아세탈을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 아미드 결합 가수분해 시 고리화를 거치는 스페이서, 예컨대 치환 및 비치환된 4-아미노부티르산 아미드 (Rodrigues et al. (1995) Chemistry Biology 2:223), 적절하게 치환된 비시클로[2.2.1] 및 비시클로[2.2.2] 고리계 (Storm et al. (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) 및 2-아미노페닐프로피온산 아미드 (Amsberry, et al. (1990) J. Org. Chem. 55:5867)가 사용될 수 있다. 글리신 잔기의 α -탄소에 대한 약물의 연결은 ADC에서 유용할 수 있는 자기-희생적 스페이서의 또 다른 예이다 (Kingsbury et al. (1984) J. Med. Chem. 27:1447).

[0260]

일부 실시양태에서, 링커 L은 1종 초과 의 약물 모이어티를 분지화, 다관능성 링커 모이어티를 통해 항체에 공유 부착시키기 위한 수지상 유형의 링커일 수 있다 (Sun et al. (2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215; Sun et al. (2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768). 수지상 링커는 ADC의 효력과 관련이 있는, 항체에 대한 약물의 몰비, 즉 로딩을 증가시킬 수 있다. 따라서, 항체가 단지 1개의 반응성 시스테인 티올 기를 보유하는 경우에, 다수의 약물 모이어티를 수지상 링커를 통해 부착시킬 수 있다.

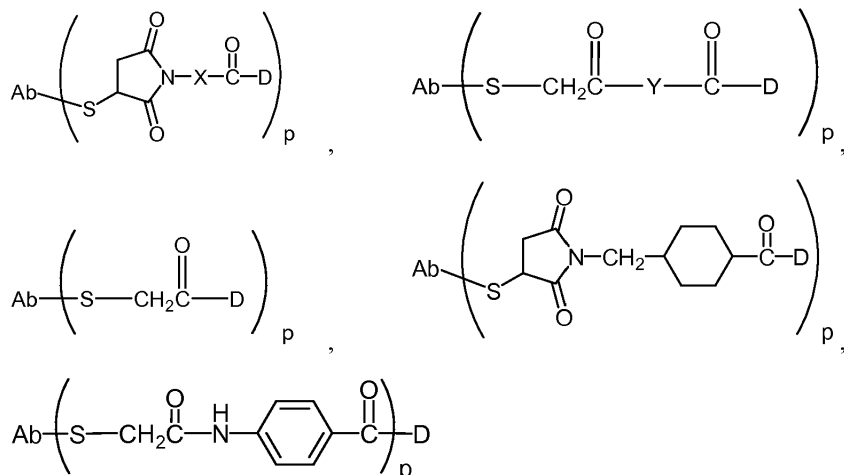
[0261]

화학식 I의 ADC와 관련하여 비제한적인 예시적인 링커가 하기 제시된다:



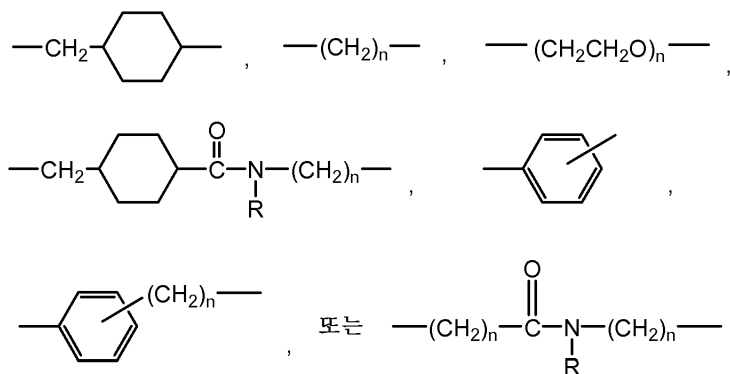
[0262]

[0263] 추가의 비제한적인 예시적인 ADC는 하기 구조를 포함한다:



[0264]

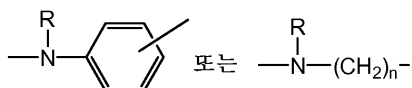
[0265] 상기 식에서, X는:



[0266]

[0267] 이고;

[0268] Y는:



[0269]

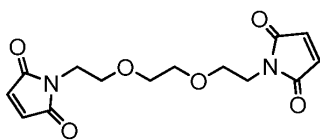
[0270] 이고;

[0271] 각각의 R은 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; n은 1 내지 12이다.

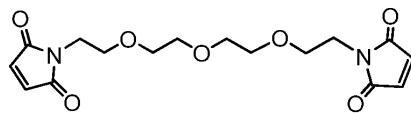
[0272] 전형적으로, 펩티드-유형 링커는 2개 이상의 아미노산 및/또는 펩티드 단편 사이에 펩티드 결합을 형성함으로써 제조될 수 있다. 이러한 펩티드 결합은 예를 들어 액체 상 합성 방법에 따라 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [E. Schroeder 및 K. Luebke (1965) "The Peptides", volume 1, pp 76-136, Academic Press]).

[0273] 일부 실시양태에서, 링커는 용해도 및/또는 반응성을 조정하는 기로 치환된다. 비제한적 예로서, 하전된 치환기, 예컨대 술포네이트 (SO₃⁻) 또는 암모늄은 링커 시약의 수용해도를 증가시키고, 링커 시약과 항체 및/또는 약물 모이어티의 커플링 반응을 용이하게 하거나, 또는 ADC 제조에 사용되는 합성 경로에 따라 Ab-L (항체-링커 중간체)와 D, 또는 D-L (약물-링커 중간체)와 Ab의 커플링 반응을 용이하게 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커의 일부는 항체에 커플링되고, 링커의 일부는 약물에 커플링되고, 이어서 Ab-(링커 일부)^a는 약물-(링커 일부)^b에 커플링되어 화학식 I의 ADC를 형성한다. 일부 이러한 실시양태에서, 항체는 화학식 I의 ADC에서 1종 초과 의 약물이 항체에 커플링되도록 1개 초과 의 (링커 일부)^a 치환기를 포함한다.

[0274] 본 발명의 화합물은 명백하게 하기 링커 시약: 비스-말레이미도-트리옥시에틸렌 글리콜 (BMPEO), N-(β -말레이미도프로필옥시)-N-히드록시 숙신이미드 에스테르 (BMPS), N-(ϵ -말레이미도카프로일옥시) 숙신이미드 에스테르 (EMCS), N-[γ -말레이미도부틸옥시]숙신이미드 에스테르 (GMBS), 1,6-헥산-비스-비닐술폰 (HBVS), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복시-(6-아미도카프로에이트) (LC-SMCC), m-말레이미도벤조일-N-히드록시숙신이미드 에스테르 (MBS), 4-(4-N-말레이미도페닐)부티르산 히드라지드 (MPBH), 숙신이미딜 3-(브로모아세트아미도)프로피오네이트 (SBAP), 숙신이미딜 아이오도아세트에이트 (SIA), 숙신이미딜 (4-아이오도아세틸)아미노벤조에이트 (SIAB), N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피오네이트 (SPDP), N-숙신이미딜-4-(2-피리딜티오) 펜타노에이트 (SPP), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트 (SMCC), 숙신이미딜 4-(p-말레이미도페닐)부티레이트 (SMPB), 숙신이미딜 6-[(베타-말레이미도프로피온아미도)헥사노에이트] (SMPH), 이미노티올란 (IT), 술폰-EMCS, 술폰-GMBS, 술폰-KMUS, 술폰-MBS, 술폰-SIAB, 술폰-SMCC, 및 술폰-SMPB, 및 숙신이미딜-(4-비닐술폰)벤조에이트 (SVSB), 및 예컨대 비스-말레이미드 시약: 디티오비스말레이미도에탄 (DTME), 1,4-비스말레이미도부탄 (BMB), 1,4 비스말레이미딜-2,3-디히드록시부탄 (BMDDB), 비스말레이미도헥산 (BMH), 비스말레이미도에탄 (BMOE), BM(PEG)₂ (하기 제시됨), 및 BM(PEG)₃ (하기 제시됨); 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스(p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)으로 제조된 ADC를 고려하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 비스-말레이미드 시약은 항체 내 시스테인의 티올 기의 티올-함유 약물 모이어티, 링커 또는 링커-약물 중간체에 대한 부착을 가능하게 한다. 티올 기와 반응성인 다른 관능기는 아이오도아세트아미드, 브로모아세트아미드, 비닐 피리딘, 디설파이드, 피리딜 디설파이드, 이소시아네이트 및 이소티오시아네이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.



BM(PEG)₂



BM(PEG)₃

[0275]

[0276] 특정의 유용한 링커 시약은 다양한 상업적 공급원, 예컨대 피어스 바이오테크놀로지, 인크.(Pierce Biotechnology, Inc.) (일리노이주 록포트), 몰레큘라 바이오사이언시스 인크.(Molecular Biosciences Inc.) (콜로라도주 볼더)로부터 입수할 수 있거나, 또는 관련 기술분야; 예를 들어 문헌 [Toki et al. (2002) J. Org. Chem. 67:1866-1872; Dubowchik, et al. (1997) Tetrahedron Letters, 38:5257-60; Walker, M.A. (1995) J. Org. Chem. 60:5352-5355; Frisch et al. (1996) Bioconjugate Chem. 7:180-186]; US 6214345; WO 02/088172; US 2003130189; US2003096743; WO 03/026577; WO 03/043583; 및 WO 04/032828에 기재된 절차에 따라 합성할 수 있다.

[0277] 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성뉴클레오타이드를 접합시키기 위한 예시적인 킬레이트화제이다. 예를 들어, W094/11026을 참조한다.

[0278] b) 예시적인 약물 모이어티

[0279] (1) 메이탄신 및 메이탄시노이드

[0280] 일부 실시양태에서, 면역접합체는 1개 이상의 메이탄시노이드 분자에 접합된 항체를 포함한다. 메이탄시노이드는 메이탄신의 유도체이고, 튜블린 중합을 억제함으로써 작용하는 유사분열 억제제이다. 메이탄신은 동아프리카 관목 메이테누스 세라타(Maytenus serrata)로부터 처음 단리되었다 (미국 특허 번호 3896111). 이후에, 특정 미생물이 또한 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄시놀 및 C-3 메이탄시놀 에스테르를 생산하는 것으로 밝혀졌다 (미국 특허 번호 4,151,042). 합성 메이탄시노이드는 예를 들어 미국 특허 번호 4,137,230; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428; 4,313,946; 4,315,929; 4,317,821; 4,322,348; 4,331,598; 4,361,650; 4,364,866; 4,424,219; 4,450,254; 4,362,663; 및 4,371,533에 개시되어 있다.

[0281] 메이탄시노이드 약물 모이어티는 (i) 발효 또는 화학적 변형 또는 발효 생성물의 유도체화에 의한 제조에 비교적 접근가능하고, (ii) 비-디설파이드 링커를 통해 항체에 접합시키기에 적합한 관능기로 유도체화될 수 있고,

(iii) 혈장에서 안정하고, (iv) 다양한 종양 세포주에 대해 효과적이기 때문에, 항체-약물 접합체에서 매력적인 약물 모이어티이다.

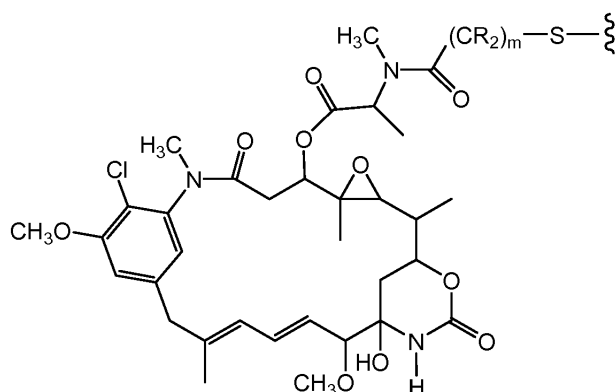
[0282] 메이탄시노이드 약물 모이어티로서 사용하기에 적합한 특정 메이탄시노이드는 관련 기술분야에 공지되어 있으며, 공지된 방법에 따라 천연 공급원으로부터 단리될 수 있거나 또는 유전 공학 기술을 사용하여 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Yu et al. (2002) PNAS 99:7968-7973] 참조). 메이탄시노이드는 또한 공지된 방법에 따라 합성적으로 제조될 수 있다.

[0283] 예시적인 메이탄시노이드 약물 모이어티는 변형된 방향족 고리를 갖는 것, 예컨대: C-19-테클로로 (미국 특허 번호 4256746) (예를 들어, 안사미토신 P2의 수소화알루미늄리튬 환원에 의해 제조됨); C-20-히드록시 (또는 C-20-테메틸) +/-C-19-테클로로 (미국 특허 번호 4361650 및 4307016) (예를 들어, 스트렙토미세스 (Streptomyces) 또는 악티노미세스(Actinomycetes)를 사용한 탈메틸화 또는 LAH를 사용한 탈염소화에 의해 제조됨); 및 C-20-테메톡시, C-20-아실옥시 (-OCOR), +/-테클로로 (미국 특허 번호 4,294,757) (예를 들어, 아실 클로라이드를 사용한 아실화에 의해 제조됨), 및 방향족 고리의 다른 위치에 변형을 갖는 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0284] 예시적인 메이탄시노이드 약물 모이어티는 또한 변형을 갖는 것, 예컨대: C-9-SH (미국 특허 번호 4424219) (예를 들어, 메이탄시놀과 H₂S 또는 P₂S₅의 반응에 의해 제조됨); C-14-알콕시메틸(테메톡시/CH₂OR) (US 4331598); C-14-히드록시메틸 또는 아실옥시메틸 (CH₂OH 또는 CH₂OAc) (미국 특허 번호 4450254) (예를 들어, 노카르디아 (Nocardia)로부터 제조됨); C-15-히드록시/아실옥시 (US 4364866) (예를 들어, 스트렙토미세스에 의한 메이탄시놀의 전환에 의해 제조됨); C-15-메톡시 (미국 특허 번호 4313946 및 4315929) (예를 들어, 트레위아 누디플로라(Trewia nudiflora)로부터 단리됨); C-18-N-테메틸 (미국 특허 번호 4362663 및 4322348) (예를 들어, 스트렙토미세스에 의한 메이탄시놀의 탈메틸화에 의해 제조됨); 및 4,5-테옥시 (US 4371533) (예를 들어, 메이탄시놀의 티타늄 트리클로라이드/LAH 환원에 의해 제조됨)를 포함한다.

[0285] 메이탄시노이드 화합물 상의 많은 위치가 연결 위치로서 유용하다. 예를 들어, 에스테르 연결은 통상적인 커플링 기술을 사용한 히드록실 기와의 반응에 의해 형성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 반응은 히드록실 기를 갖는 C-3 위치, 히드록시메틸로 변형된 C-14 위치, 히드록실 기로 변형된 C-15 위치, 및 히드록실 기를 갖는 C-20 위치에서 일어날 수 있다. 일부 실시양태에서, 연결은 메이탄시놀 또는 메이탄시놀 유사체의 C-3 위치에서 형성된다.

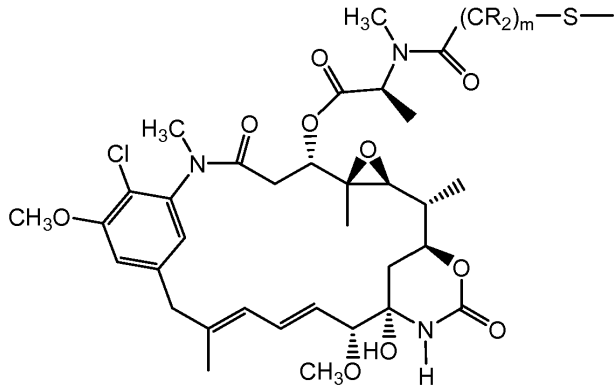
[0286] 메이탄시노이드 약물 모이어티는 하기 구조를 갖는 것을 포함한다:



[0287]

[0288] 상기 식에서, 과상선은 ADC의 링커에 대한 메이탄시노이드 약물 모이어티의 황 원자의 공유 부착을 나타낸다. 각각의 R은 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬일 수 있다. 아마이드 기를 황 원자에 부착시키는 알킬렌쇄는 메타닐, 에타닐 또는 프로필일 수 있고, 즉 m은 1, 2 또는 3이다 (US 633410; US 5208020; 문헌 [Chari et al. (1992) Cancer Res. 52:127-131; Liu et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci USA 93:8618-8623]).

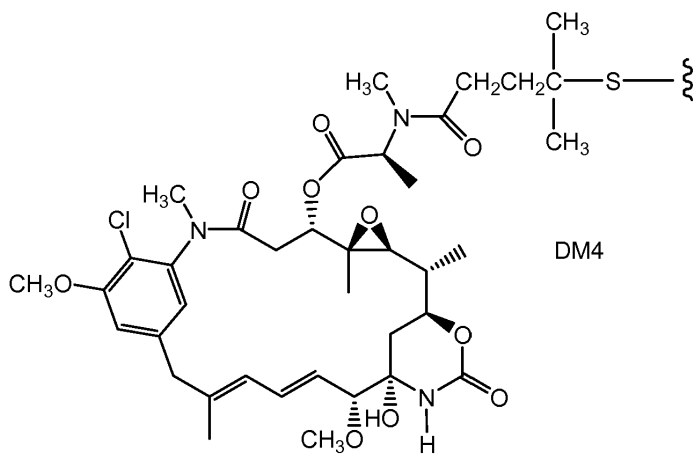
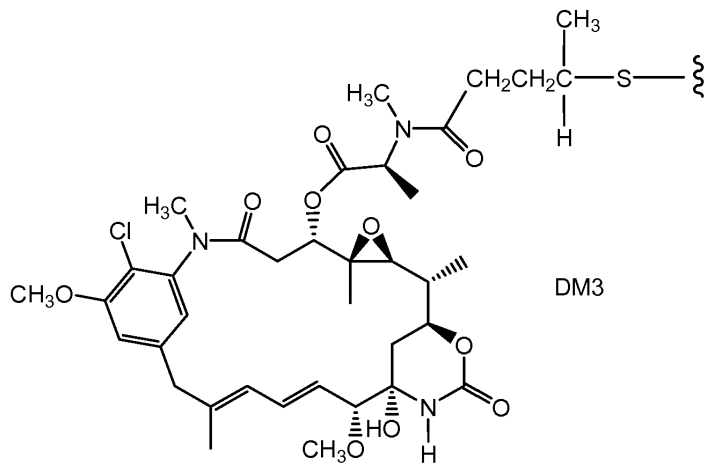
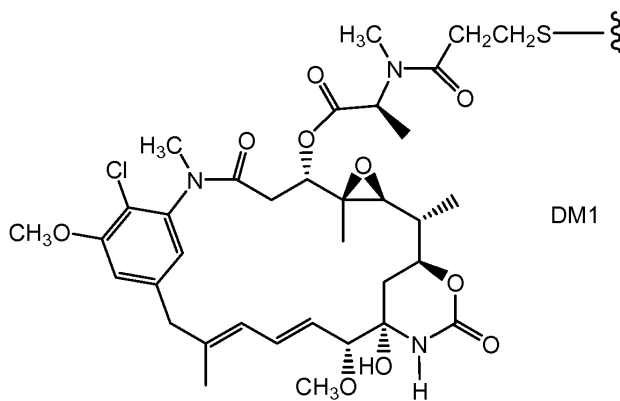
[0289] 본 발명의 ADC에 대해 메이탄시노이드 약물 모이어티의 모든 입체이성질체, 즉 키랄 탄소에서 R 및 S 배위의 임의의 조합이 고려된다 (US 7276497; US 6913748; US 6441163; US 633410 (RE39151); US 5208020; 문헌 [Widdison et al. (2006) J. Med. Chem. 49:4392-4408], 이들은 그 전문이 참조로 포함됨). 일부 실시양태에서, 메이탄시노이드 약물 모이어티는 하기 입체화학을 갖는다:



[0290]

[0291]

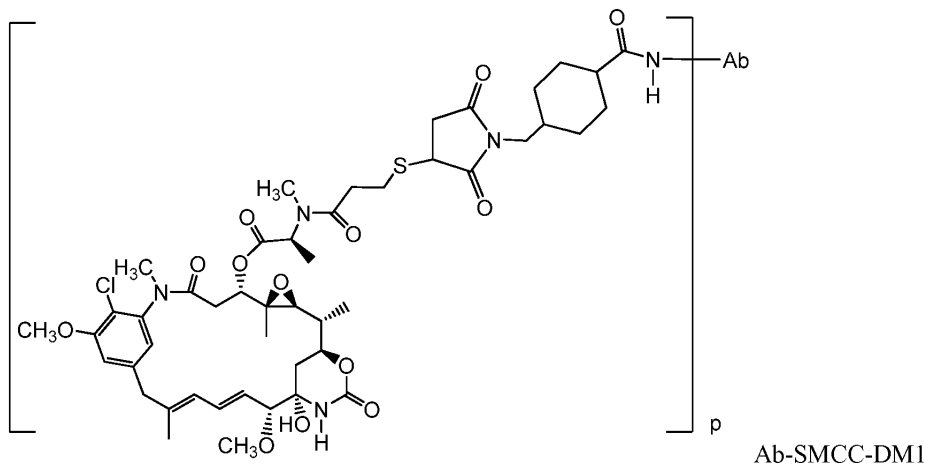
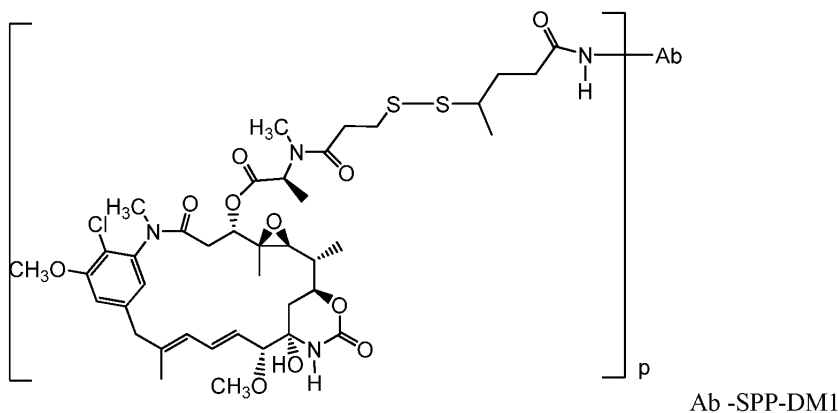
메이탄시노이드 약물 모이어티의 예시적 실시양태는 하기 구조를 갖는 DM1; DM3; 및 DM4를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:



[0292]

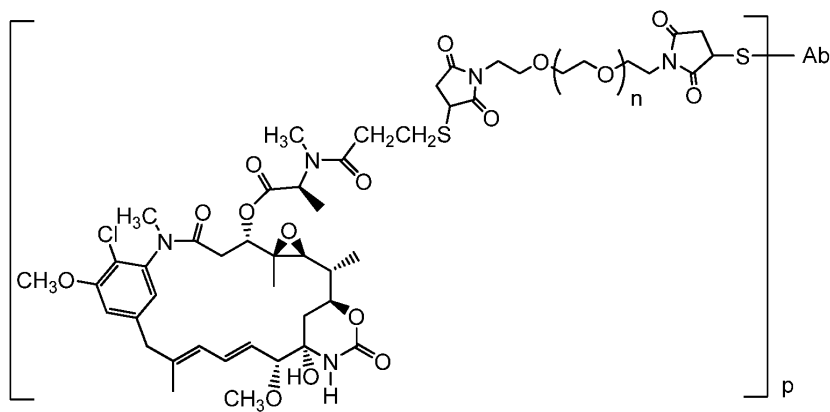
[0293] 상기 식에서, 파상선은 항체-약물 접합체의 링커 (L)에 대한 약물의 황 원자의 공유 부착을 나타낸다.

[0294] 다른 예시적인 메이탄시노이드 항체-약물 접합체는 하기 구조 및 약어를 갖는다 (여기서, Ab는 항체이고, p는 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 10이거나, p는 1 내지 7이거나, p는 1 내지 5이거나, 또는 p는 1 내지 4이다):



[0295]

[0296] DM1이 BMPEO 링커를 통해 항체의 티올 기에 연결된 예시적인 항체-약물 접합체는 하기 구조 및 약어를 갖는다:



[0297]

[0298] 상기 식에서, Ab는 항체이고; n은 0, 1 또는 2이고; p는 1 내지 약 20이다. 일부 실시양태에서, p는 1 내지 10이거나, p는 1 내지 7이거나, p는 1 내지 5이거나, 또는 p는 1 내지 4이다.

[0299] 메이탄시노이드를 함유하는 면역접합체, 그의 제조 방법, 및 그의 치료 용도는 예를 들어 미국 특허 번호 5,208,020 및 5,416,064; US 2005/0276812 A1; 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1에 개시되어 있으며, 이들 개시내용은 명백하게 본원에 참조로 포함된다. 또한, 문헌 [Liu et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996); 및 Chari et al. Cancer Research 52:127-131 (1992)]을 참조한다.

[0300] 일부 실시양태에서, 항체-메이탄시노이드 접합체는 항체 또는 메이탄시노이드 분자의 생물학적 활성을 유의하게

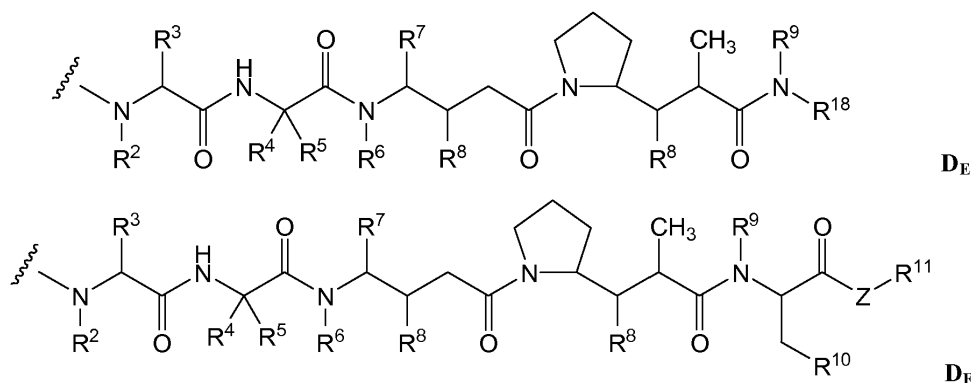
감소시키지 않으면서 항체를 메이탄시노이드 분자에 화학적으로 연결시킴으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,208,020 (그의 개시내용은 명백하게 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다. 일부 실시양태에서, 항체 분자당 평균 3-4개의 메이탄시노이드 분자가 접합된 ADC는 항체의 기능 또는 용해도에 부정적으로 영향을 미치지 않으면서 표적 세포의 세포독성을 증진시키는데 효능을 나타낸 바 있다. 일부 경우에, 심지어 1개의 독소/항체 분자가 네이키드 항체의 사용에 비해 세포독성을 증진시킬 것으로 예상된다.

[0301] 항체-메이탄시노이드 접합체를 제조하기 위한 예시적인 연결기는 예를 들어 본원에 기재된 것 및 미국 특허 번호 5208020; EP 특허 0 425 235 B1; 문헌 [Chari et al. Cancer Research 52:127-131 (1992)]; US 2005/0276812 A1; 및 US 2005/016993 A1에 개시된 것을 포함하며, 이들 개시내용은 명백하게 본원에 참조로 포함된다.

[0302] (2) 아우리스타틴 및 돌라스타틴

[0303] 약물 모이어티는 돌라스타틴, 아우리스타틴 및 그의 유사체 및 유도체 (US 5635483; US 5780588; US 5767237; US 6124431)를 포함한다. 아우리스타틴은 해양 연체동물 화합물 돌라스타틴-10의 유도체이다. 어떠한 특정한 이론에 얽매는 것을 의도하지는 않지만, 돌라스타틴 및 아우리스타틴은 미세관 역학, GTP 가수분해, 및 핵 및 세포 분열을 방해하고 (Woyke et al. (2001) Antimicrob. Agents and Chemother. 45(12):3580-3584), 항암 (US 5663149) 및 항진균 활성 (Pettit et al. (1998) Antimicrob. Agents Chemother. 42:2961-2965)을 갖는 것으로 밝혀진 바 있다. 돌라스타틴/아우리스타틴 약물 모이어티는 펩티드성 약물 모이어티의 N (아미노) 말단 또는 C (카르복실) 말단을 통해 항체에 부착될 수 있다 (WO 02/088172; 문헌 [Doronina et al. (2003) Nature Biotechnology 21(7):778-784; Francisco et al. (2003) Blood 102(4):1458-1465]).

[0304] 예시적인 아우리스타틴 실시양태는 US 7498298 및 US 7659241에 개시된, N-말단 연결된 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 D_E 및 D_F를 포함하며, 이들 개시내용은 그 전문이 명백하게 참조로 포함된다:



[0305]

[0306] 상기 식에서, D_E 및 D_F의 파상선은 항체 또는 항체-링커 성분에 대한 공유 부착 부위를 나타내고, 독립적으로 각각의 위치에서:

[0307] R²는 H 및 C₁-C₈ 알킬로부터 선택되고;

[0308] R³은 H, C₁-C₈ 알킬, C₃-C₈ 카르보사이클, 아릴, C₁-C₈ 알킬-아릴, C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 카르보사이클), C₃-C₈ 헤테로 사이클 및 C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 헤테로사이클)로부터 선택되고;

[0309] R⁴는 H, C₁-C₈ 알킬, C₃-C₈ 카르보사이클, 아릴, C₁-C₈ 알킬-아릴, C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 카르보사이클), C₃-C₈ 헤테로 사이클 및 C₁-C₈ 알킬-(C₃-C₈ 헤테로사이클)로부터 선택되고;

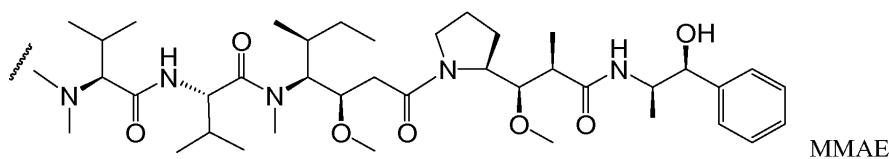
[0310] R⁵는 H 및 메틸로부터 선택되거나;

[0311] 또는 R⁴ 및 R⁵는 연합되어 카르보시클릭 고리를 형성하고 화학식 -(CR^aR^b)_n-을 가지며, 여기서 R^a 및 R^b는 독립적으로 H, C₁-C₈ 알킬 및 C₃-C₈ 카르보사이클로부터 선택되고, n은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되고;

- [0312] R^6 은 H 및 C_1-C_8 알킬로부터 선택되고;
- [0313] R^7 은 H, C_1-C_8 알킬, C_3-C_8 카르보사이클, 아릴, C_1-C_8 알킬-아릴, C_1-C_8 알킬-(C_3-C_8 카르보사이클), C_3-C_8 헤테로 사이클 및 C_1-C_8 알킬-(C_3-C_8 헤테로사이클)로부터 선택되고;
- [0314] 각각의 R^8 은 독립적으로 H, OH, C_1-C_8 알킬, C_3-C_8 카르보사이클 및 O-(C_1-C_8 알킬)로부터 선택되고;
- [0315] R^9 는 H 및 C_1-C_8 알킬로부터 선택되고;
- [0316] R^{10} 은 아릴 또는 C_3-C_8 헤테로사이클로부터 선택되고;
- [0317] Z는 O, S, NH, 또는 NR^{12} 이고, 여기서 R^{12} 는 C_1-C_8 알킬이고;
- [0318] R^{11} 은 H, C_1-C_{20} 알킬, 아릴, C_3-C_8 헤테로사이클, $-(R^{13}O)_m-R^{14}$, 또는 $-(R^{13}O)_m-CH(R^{15})_2$ 로부터 선택되고;
- [0319] m은 1-1000의 범위의 정수이고;
- [0320] R^{13} 은 C_2-C_8 알킬이고;
- [0321] R^{14} 는 H 또는 C_1-C_8 알킬이고;
- [0322] 각 경우의 R^{15} 는 독립적으로 H, COOH, $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$, $-(CH_2)_n-SO_3H$, 또는 $-(CH_2)_n-SO_3-C_1-C_8$ 알킬이고;
- [0323] 각 경우의 R^{16} 은 독립적으로 H, C_1-C_8 알킬, 또는 $-(CH_2)_n-COOH$ 이고;
- [0324] R^{18} 은 $-C(R^8)_2-C(R^8)_2$ -아릴, $-C(R^8)_2-C(R^8)_2-(C_3-C_8$ 헤테로사이클), 및 $-C(R^8)_2-C(R^8)_2-(C_3-C_8$ 카르보사이클)로부터 선택되고;
- [0325] n은 0 내지 6의 범위의 정수이다.
- [0326] 한 실시양태에서, R^3 , R^4 및 R^7 은 독립적으로 이소프로필 또는 sec-부틸이고, R^5 는 -H 또는 메틸이다. 예시적 실시양태에서, R^3 및 R^4 는 각각 이소프로필이고, R^5 는 -H이고, R^7 은 sec-부틸이다.
- [0327] 또 다른 실시양태에서, R^2 및 R^6 은 각각 메틸이고, R^9 는 -H이다.
- [0328] 또 다른 실시양태에서, 각 경우의 R^8 은 $-OCH_3$ 이다.
- [0329] 예시적 실시양태에서, R^3 및 R^4 는 각각 이소프로필이고, R^2 및 R^6 은 각각 메틸이고, R^5 는 -H이고, R^7 은 sec-부틸이고, 각 경우의 R^8 은 $-OCH_3$ 이고, R^9 는 -H이다.
- [0330] 한 실시양태에서, Z는 -O- 또는 -NH-이다.
- [0331] 한 실시양태에서, R^{10} 은 아릴이다.
- [0332] 예시적 실시양태에서, R^{10} 은 -페닐이다.
- [0333] 예시적 실시양태에서, Z가 -O-인 경우에, R^{11} 은 -H, 메틸 또는 t-부틸이다.
- [0334] 한 실시양태에서, Z가 -NH인 경우에, R^{11} 은 $-CH(R^{15})_2$ 이며, 여기서 R^{15} 는 $-(CH_2)_n-N(R^{16})_2$ 이고, R^{16} 은 $-C_1-C_8$ 알킬 또는 $-(CH_2)_n-COOH$ 이다.

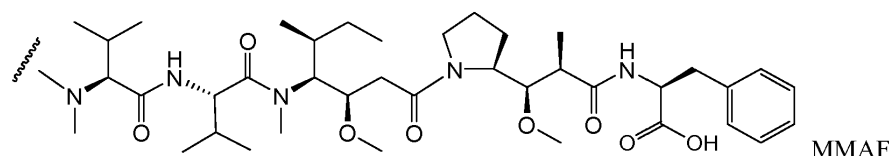
[0335] 또 다른 실시양태에서, Z가 -NH인 경우에, R^{11} 은 $-\text{CH}(R^{15})_2$ 이며, 여기서 R^{15} 는 $-(\text{CH}_2)_n-\text{SO}_3\text{H}$ 이다.

[0336] 화학식 D_E의 예시적인 아우리스타틴 실시양태는 MMAE이고, 여기서 파상선은 항체-약물 접합체의 링커 (L)에 대한 공유 부착을 나타낸다:



[0337]

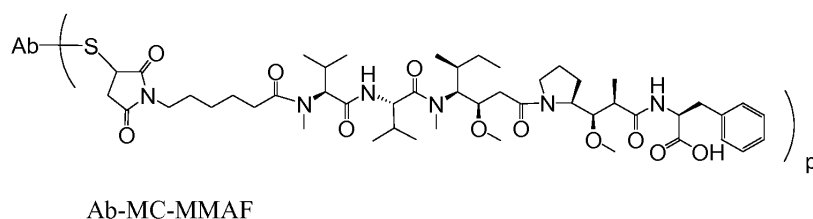
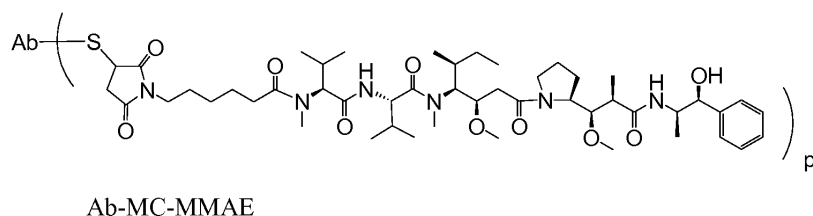
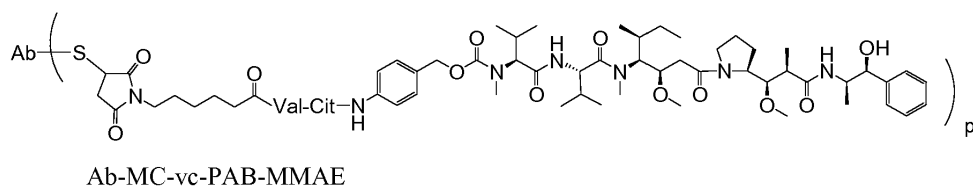
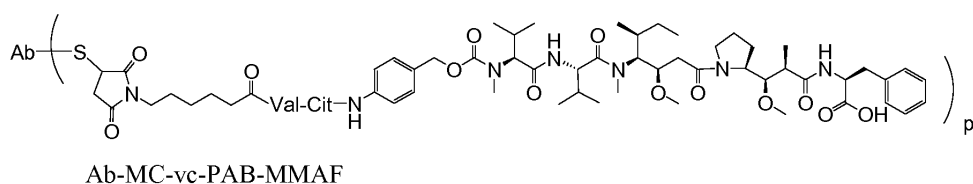
[0338] 화학식 D_F의 예시적인 아우리스타틴 실시양태는 MMAF이고, 여기서 파상선은 항체-약물 접합체의 링커 (L)에 대한 공유 부착을 나타낸다:



[0339]

[0340] 다른 예시적 실시양태는 펜타펩티드 아우리스타틴 약물 모이어티의 C-말단에서 페닐알라닌 카르복시 변형을 갖는 모노메틸발린 화합물 (WO 2007/008848), 및 펜타펩티드 아우리스타틴 약물 모이어티의 C-말단에서 페닐알라닌 측쇄 변형을 갖는 모노메틸발린 화합물 (WO 2007/008603)을 포함한다.

[0341] MMAE 또는 MMAF 및 다양한 링커 성분을 포함하는 화학식 I의 ADC의 비제한적인 예시적 실시양태는 하기 구조 및 약어를 갖는다 (여기서, "Ab"는 항체이고; p는 1 내지 약 8이고, "Val-Cit"는 발린-시트룰린 디펩티드이고; "S"는 황 원자임):



[0342]

- [0343] MMAF 및 다양한 링커 성분을 포함하는 화학식 I의 ADC의 비제한적인 예시적 실시양태는 Ab-MC-PAB-MMAF 및 Ab-PAB-MMAF를 추가로 포함한다. 단백질분해적으로 절단가능하지 않은 링커에 의해 항체에 부착된 MMAF를 포함하는 면역접합체는 단백질분해적으로 절단가능한 링커에 의해 항체에 부착된 MMAF를 포함하는 면역접합체와 대등한 활성을 보유하는 것으로 밝혀진 바 있다 (Doronina et al. (2006) Bioconjugate Chem. 17:114-124). 일부 이러한 실시양태에서, 약물 방출은 세포에서 항체 분해에 의해 일어나는 것으로 여겨진다.
- [0344] 전형적으로, 펩티드-기반 약물 모이어티는 2개 이상의 아미노산 및/또는 펩티드 단편 사이에 펩티드 결합을 형성함으로써 제조될 수 있다. 이러한 펩티드 결합은 예를 들어 액체 상 합성 방법에 따라 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [E. Schroeder and K. Luebke, "The Peptides", volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Press] 참조). 아우리스타틴/돌라스타틴 약물 모이어티는, 일부 실시양태에서: US 7498298; US 5635483; US 5780588; 문헌 [Pettit et al. (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit et al. (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G.R., et al. Synthesis, 1996, 719-725; Pettit et al. (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5:859-863; 및 Doronina (2003) Nat. Biotechnol. 21(7):778-784]의 방법에 따라 제조될 수 있다.
- [0345] 일부 실시양태에서, 화학식 D_E, 예컨대 MMAE, 및 D_F, 예컨대 MMAF의 아우리스타틴/돌라스타틴 약물 모이어티, 및 그의 약물-링커 중간체 및 유도체, 예컨대 MC-MMAF, MC-MMAE, MC-vc-PAB-MMAF, 및 MC-vc-PAB-MMAE는 US 7498298; 문헌 [Doronina et al. (2006) Bioconjugate Chem. 17:114-124; 및 Doronina et al. (2003) Nat. Biotech. 21:778-784]에 기재된 방법을 사용하여 제조된 다음, 관심 항체에 접합될 수 있다.
- [0346] (3) 칼리케아미신
- [0347] 일부 실시양태에서, 면역접합체는 1개 이상의 칼리케아미신 분자에 접합된 항체를 포함한다. 칼리케아미신 펩틸의 항생제 및 그의 유사체는 피코몰 미만의 농도에서 이중-가닥 DNA 파괴를 일으킬 수 있다 (Hinman et al., (1993) Cancer Research 53:3336-3342; Lode et al., (1998) Cancer Research 58:2925-2928). 칼리케아미신은 세포내 작용 부위를 갖지만, 특정 경우에는 형질 막을 용이하게 가로지르지 못한다. 따라서, 항체-매개 내재화를 통한 이들 작용제의 세포 흡수는 일부 실시양태에서 그의 세포독성 효과를 크게 증진시킬 수 있다. 칼리케아미신 약물 모이어티를 갖는 항체-약물 접합체를 제조하는 비제한적인 예시적인 방법은 예를 들어 US 5712374; US 5714586; US 5739116; 및 US 5767285에 기재되어 있다.
- [0348] (4) 다른 약물 모이어티
- [0349] 약물 모이어티는 또한 겔다나마이신 (Mandler et al. (2000) J. Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581; Mandler et al. (2000) Bioorganic & Med. Chem. Letters 10:1025-1028; Mandler et al. (2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791); 및 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 쇄 (슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa)로부터), 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(Phytolaca americana) 단백질 (PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(momordica charantia) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(sapaonarria officinalis) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센을 포함하나 이에 제한되지는 않는 효소적 활성 독소 및 그의 단편을 포함한다. 예를 들어, WO 93/21232를 참조한다.
- [0350] 약물 모이어티는 또한 핵산분해 활성 (예를 들어, 리보뉴클레아제 또는 DNA 엔도뉴클레아제)을 갖는 화합물을 포함한다.
- [0351] 특정 실시양태에서, 면역접합체는 고도의 방사성 원자를 포함할 수 있다. 다양한 방사성 동위원소가 방사성접합된 항체의 생산을 위해 이용가능하다. 예는 At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역접합체가 검출용으로 사용되는 경우에, 이는 신티그래피 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들어 Tc⁹⁹ 또는 I¹²³, 또는 핵 자기 공명 (NMR) 영상화 (자기 공명 영상화, MRI로도 공지됨)용 스핀 표지, 예컨대 지르코늄-89, 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 플루오린-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망가니즈 또는 철을 포함할 수 있다. 지르코늄-89는 예를 들어 PET 영상화를 위해, 다양한 금속 킬레이트화제에 복합체화되고, 항체에 접합될 수 있다 (WO 2011/056983).
- [0352] 방사성- 또는 다른 표지는 공지된 방식으로 면역접합체에 혼입될 수 있다. 예를 들어, 펩티드는 생합성될 수 있거나, 또는 예를 들어 1개 이상의 수소 대신에 1개 이상의 플루오린-19 원자를 포함하는 적합한 아미노산 전

구체를 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표지, 예컨대 Tc^{99} , I^{123} , Re^{186} , Re^{188} 및 In^{111} 은 항체 내 시스템인 잔기를 통해 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 이트륨-90은 항체의 리신 잔기를 통해 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 아이오도젠(ODOGEN) 방법 (Fraker et al. (1978) Biochem. Biophys. Res. Commun. 80: 49-57)을 사용하여 아이오딘-123을 혼입시킬 수 있다. 문헌 ["Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989)]은 특정의 다른 방법을 기재한다.

[0353] 특정 실시양태에서, 면역접합체는 전구약물-활성화 효소에 접합된 항체를 포함할 수 있다. 일부 이러한 실시양태에서, 전구약물-활성화 효소는 전구약물 (예를 들어, 펩티딜 화학요법제, WO 81/01145 참조)을 활성 약물, 예컨대 항암 약물로 전환시킨다. 이러한 면역접합체는 일부 실시양태에서 항체-의존성 효소-매개 전구약물 요법 ("ADEPT")에 유용하다. 항체에 접합될 수 있는 효소는 포스페이트-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 알칼리성 포스파타제; 술페이트-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 아릴술포타제; 비-독성 5-플루오로시토신을 항암 약물인 5-플루오로우라실로 전환시키는데 유용한 시토신 데아미나제; 펩티드-함유 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 프로테아제, 예컨대 세라티아 프로테아제, 썬모리신, 서브틸리신, 카르복시펩티다제 및 카텅신 (예컨대, 카텅신 B 및 L); D-아미노산 치환기를 함유하는 전구약물을 전환시키는데 유용한 D-알라닌카르복시펩티다제; 글리코실화 전구약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 탄수화물-절단 효소, 예컨대 β -갈락토시다제 및 뉴라미니다제; β -락탐으로 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 β -락타마제; 및 그의 아민 질소에서 각각 페녹시아세틸 또는 페닐아세틸 기로 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 페닐실린 아마미다제, 예컨대 페닐실린 V 아마미다제 및 페닐실린 G 아마미다제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 효소는 관련 기술분야에 널리 공지된 재조합 DNA 기술에 의해 항체에 공유 결합될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Neuberger et al., Nature 312:604-608 (1984)]을 참조한다.

[0354] c) 약물 로딩

[0355] 약물 로딩은 화학식 I의 분자에서 항체당 약물 모이어티의 평균 수인 p로 나타내어진다. 약물 로딩은 항체당 1 내지 20개의 약물 모이어티 (D) 범위일 수 있다. 화학식 I의 ADC는 1 내지 20개 범위의 약물 모이어티와 접합된 항체의 집합을 포함한다. 집합 반응으로부터의 ADC의 제조에서 항체당 약물 모이어티의 평균 수는 통상적인 수단, 예컨대 질량 분광분석법, ELISA 검정 및 HPLC에 의해 특징화될 수 있다. 또한, ADC의 정량적 분포가 p와 관련하여 결정될 수 있다. 일부 경우에, p가 다른 약물 로딩을 갖는 ADC로부터의 특정 값인 균질 ADC의 분리, 정제 및 특징화는 역상 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 달성될 수 있다.

[0356] 일부 항체-약물 접합체의 경우에, p는 항체 상의 부착 부위의 수에 의해 제한될 수 있다. 예를 들어, 상기 특정의 예시적 실시양태에서와 같이 부착 위치가 시스템인 티올인 경우에, 항체는 시스템인 티올 기를 단지 1개 또는 여러개 가질 수 있거나, 또는 링커가 부착될 수 있는 충분히 반응성인 티올 기를 단지 1개 또는 여러개 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 보다 높은 약물 로딩, 예를 들어 $p > 5$ 는 특정 항체-약물 접합체의 응집, 불용성, 독성 또는 세포 투과성 상실을 유발할 수 있다. 특정 실시양태에서, ADC에 대한 평균 약물 로딩은 1 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 또는 약 3 내지 약 5의 범위이다. 실제로, 특정 ADC의 경우에, 항체당 약물 모이어티의 최적 비는 8 미만일 수 있고, 약 2 내지 약 5일 수 있는 것으로 밝혀진 바 있다 (US 7498298).

[0357] 특정 실시양태에서, 이론상 최대치 미만의 약물 모이어티가 집합 반응 동안 항체에 접합된다. 항체는, 예를 들어 하기 논의되는 바와 같이 약물-링커 중간체 또는 링커 시약과 반응하지 않는 리신 잔기를 함유할 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 많은 유리 및 반응성 시스템인 티올 기를 함유하지 않고; 실제로 항체 내의 대부분의 시스템인 티올 잔기는 디설피드 가교로서 존재한다. 특정 실시양태에서, 항체를 부분 또는 전체 환원 조건 하에 환원제, 예컨대 디티오프로트레이톨 (DTT) 또는 트리카르보닐에틸포스핀 (TCEP)으로 환원시켜 반응성 시스템인 티올 기를 생성할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 변성 조건에 적용되어 반응성 친핵성 기, 예컨대 리신 또는 시스템인을 드러낸다.

[0358] ADC의 로딩 (약물/항체 비)은 상이한 방식으로, 예를 들어 (i) 항체에 비해 몰 과량의 약물-링커 중간체 또는 링커 시약의 제한, (ii) 집합 반응 시간 또는 온도의 제한, 및 (iii) 시스템인 티올 변형을 위한 부분적 또는 제한적 환원 조건에 의해 제어될 수 있다.

[0359] 1개 초과인 친핵성 기가 약물-링커 중간체 또는 링커 시약과 반응하는 경우에, 생성된 생성물은 항체에 부착된 1종 이상의 약물 모이어티의 분포를 갖는 ADC 화합물의 혼합물인 것으로 이해하여야 한다. 항체당 약물의 평균 수는 항체에 특이적이고 약물에 특이적인 이중 ELISA 항체 검정에 의해 혼합물로부터 계산될 수 있다. 개별 ADC 분자는 질량 분광분석법에 의해 혼합물 중에서 확인되고, HPLC, 예를 들어 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [McDonagh et al. (2006) Prot. Engr. Design & Selection

19(7):299-307; Hamblett et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Hamblett, K.J., et al. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C., et al. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004] 참조). 특정 실시양태에서, 단일 로딩 값을 갖는 균질 ADC는 전기영동 또는 크로마토그래피에 의해 접합 혼합물로부터 분리될 수 있다.

[0360] d) 면역접합체를 제조하는 특정 방법

[0361] 화학식 I의 ADC는 하기를 비롯한, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 유기 화학 반응, 조건 및 시약을 사용하여 여러 경로에 의해 제조될 수 있다: (1) 항체의 친핵성 기를 2가 링커 시약과 반응시켜, 공유 결합을 통해 Ab-L을 형성한 후, 이를 약물 모이어티 D와 반응시킴; 및 (2) 약물 모이어티의 친핵성 기를 2가 링커 시약과 반응시켜, 공유 결합을 통해 D-L을 형성한 후, 이를 항체의 친핵성 기와 반응시킴. 후자 경로를 통해 화학식 I의 ADC를 제조하는 예시적인 방법은 US 7498298에 기재되어 있으며, 이는 명백하게 본원에 참조로 포함된다.

[0362] 항체 상의 친핵성 기는 (i) N-말단 아민 기, (ii) 측쇄 아민 기, 예를 들어 리신, (iii) 측쇄 티올 기, 예를 들어 시스테인, 및 (iv) 당 히드록실 또는 아미노 기 (이 경우에 항체는 글리코실화됨)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 아민, 티올 및 히드록실 기는 친핵성이고, (i) 활성 에스테르, 예컨대 NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트 및 산 할라이드; (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예컨대 할로아세트아미드; 및 (iii) 알데히드, 케톤, 카르복실 및 말레이미드 기를 비롯한 링커 모이어티 및 링커 시약 상의 친전자성 기와 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있다. 특정 항체는 환원가능한 쇠간 디설파이드, 즉 시스테인 가교를 갖는다. 항체가 완전히 또는 부분적으로 환원되도록 환원제, 예컨대 DTT (디티오프레이톨) 또는 트리카르보닐에틸포스핀 (TCEP)으로 처리함으로써 항체를 링커 시약과의 접합을 위해 반응성이 되도록 할 수 있다. 따라서, 각각의 시스테인 가교는 이론적으로 2개의 반응성 티올 친핵체를 형성할 것이다. 리신 잔기의 변형을 통해, 예를 들어 리신 잔기를 2-이미노티올란 (트라우트(Traut) 시약)과 반응시켜 아민의 티올로의 전환을 발생시킴으로써, 추가의 친핵성 기를 항체 내로 도입할 수 있다. 반응성 티올 기는 또한 1, 2, 3, 4개 또는 그 초과인 시스테인 잔기를 도입함으로써 (예를 들어, 1개 이상의 비-천연 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 변이체 항체를 제조함으로써) 항체 내로 도입될 수 있다.

[0363] 본 발명의 항체-약물 접합체는 또한 항체 상의 친전자성 기, 예컨대 알데히드 또는 케톤 카르보닐 기와 링커 시약 또는 약물 상의 친핵성 기 사이의 반응에 의해 생성될 수 있다. 링커 시약 상의 유용한 친핵성 기는 히드라지드, 옥심, 아미노, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실레이트 및 아릴히드라지드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, 항체를 변형시켜 링커 시약 또는 약물 상의 친핵성 치환기와 반응할 수 있는 친전자성 모이어티를 도입한다. 또 다른 실시양태에서, 글리코실화 항체의 당을, 예를 들어 피라이오테이트 산화 시약으로 산화시켜 링커 시약 또는 약물 모이어티의 아민 기와 반응할 수 있는 알데히드 또는 케톤 기를 형성할 수 있다. 생성된 이민 쉬프 염기 기는 안정한 연결을 형성할 수 있거나, 또는 예를 들어 보로히드라이드 시약에 의해 환원되어 안정한 아민 연결을 형성할 수 있다. 한 실시양태에서, 글리코실화된 항체의 탄수화물 부분을 갈락토스 옥시다제 또는 소듐 메타-피라이오테이트와 반응시켜, 약물 상의 적절한 기와 반응할 수 있는 카르보닐 (알데히드 및 케톤) 기를 항체 내에 생성할 수 있다 (Hermanson, Bioconjugate Techniques). 또 다른 실시양태에서, N-말단 세린 또는 트레오닌 잔기를 함유하는 항체를 소듐 메타-피라이오테이트와 반응시켜, 제1 아미노산 대신 알데히드의 생산을 발생시킬 수 있다 (문헌 [Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146]; US 5362852). 이러한 알데히드는 약물 모이어티 또는 링커 친핵체와 반응할 수 있다.

[0364] 약물 모이어티 상의 예시적인 친핵성 기는, (i) 활성 에스테르, 예컨대 NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트 및 산 할라이드; (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예컨대 할로아세트아미드; (iii) 알데히드, 케톤, 카르복실 및 말레이미드 기를 비롯한 링커 모이어티 및 링커 시약 상의 친전자성 기와 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있는 아민, 티올, 히드록실, 히드라지드, 옥심, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실레이트 및 아릴히드라지드 기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0365] ADC를 제조하는데 사용될 수 있는 비제한적인 예시적인 가교 시약은 본원의 "예시적인 링커" 표제의 섹션에서 기재된다. 단백질성 모이어티 및 화학적 모이어티를 비롯한 2개의 모이어티를 연결하기 위해 이러한 가교 시약

을 사용하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 항체 및 세포독성제를 포함하는 융합 단백질은, 예를 들어 제조합 기술 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 제조합 DNA 분자는, 서로 인접해 있거나 또는 접합체의 목적하는 특성을 파괴하지 않는 링커 펩티드를 코딩하는 영역에 의해 분리되어 있는, 접합체의 항체 및 세포독성 부분을 코딩하는 영역을 포함할 수 있다.

[0366] 또 다른 실시양태에서, 항체를 중앙 사전-표적화에 활용하기 위해 "수용체" (예컨대 스트렙타비딘)에 접합시킬 수 있고, 여기서 항체-수용체 접합체를 환자에게 투여한 후, 제거제를 사용하여 미결합 접합체를 순환계로부터 제거한 다음, 세포독성제 (예를 들어, 약물 또는 방사성뉴클레오타이드)에 접합된 "리간드" (예를 들어, 아비딘)를 투여한다.

[0367] F. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물

[0368] 본원은 또한, 본원에 기재된 방법을 사용하여 치료하기 위한 환자를 선택하는데 사용하기 위한, 생물학적 샘플에서 STEAP-1의 존재를 검출하는 것을 포함하는 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한, STEAP-1 항체의 진단 및/또는 검출을 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 본원에 사용된 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포괄한다. "생물학적 샘플"은 예를 들어 세포 또는 조직을 포함한다.

[0369] 한 실시양태에서, 진단 또는 검출 방법에 사용하기 위한 항-STEAP-1 항체가 제공된다. 추가 측면에서, 생물학적 샘플에서 STEAP-1의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 본원에 기재된 바와 같은 항-STEAP-1 항체의 STEAP-1에 대한 결합을 허용하는 조건 하에 생물학적 샘플을 항-STEAP-1 항체와 접촉시키고, 항-STEAP-1 항체와 생물학적 샘플 내의 STEAP-1 사이에 복합체가 형성되는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 항-STEAP-1 항체를 사용하는 요법에 적절한 대상체를 선택하기 위해 사용되고, 예를 들어 여기서 STEAP-1은 환자의 선택을 위한 바이오마커이다. 추가 실시양태에서, 생물학적 샘플은 세포 및/또는 조직이다.

[0370] 추가 실시양태에서, 항-STEAP-1 항체는 생체내에서, 예를 들어 생체내 영상화에 의해 대상체에서 STEAP-1-양성 암을 검출하기 위해, 예를 들어 암을 진단, 예후, 또는 병기결정하거나, 요법의 적절한 과정을 결정하거나, 또는 요법에 대한 암의 반응을 모니터링하기 위한 목적으로 사용된다. 생체내 검출에 대해 관련 기술분야에 공지된 한 방법은, 예를 들어 문헌 [van Dongen et al., The Oncologist 12:1379-1389 (2007) 및 Verel et al., J. Nucl. Med. 44:1271-1281 (2003)]에 기재된 바와 같은 면역-양전자 방출 단층촬영 (면역-PET)이다. 이러한 실시양태에서, STEAP-1-양성 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에게 표지된 항-STEAP-1 항체를 투여하고, 대상체에서 표지된 항-STEAP-1 항체를 검출하는 것을 포함하는, 대상체에서 STEAP-1-양성 암을 검출하는 방법이 제공되며, 여기서 표지된 항-STEAP-1 항체의 검출은 대상체에서의 STEAP-1-양성 암을 나타낸다. 특징의 이러한 실시양태에서, 표지된 항-STEAP-1 항체는 양전자 방출체, 예컨대 ^{68}Ga , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{76}Br , ^{89}Zr , 및 ^{124}I 에 접합된 항-STEAP-1 항체를 포함한다. 특정한 실시양태에서, 양전자 방출체는 ^{89}Zr 이다.

[0371] 추가 실시양태에서, 진단 또는 검출 방법은 기질에 고정된 제1 항-STEAP-1 항체를 STEAP-1의 존재에 대해 시험될 생물학적 샘플과 접촉시키는 단계, 기질을 제2 항-STEAP-1 항체에 노출시키는 단계, 및 제2 항-STEAP-1이 생물학적 샘플에서 제1 항-STEAP-1 항체 및 STEAP-1 사이의 복합체에 결합하는지 여부를 검출하는 단계를 포함한다. 기질은 임의의 지지체 매질, 예를 들어 유리, 금속, 세라믹, 중합체 비드, 슬라이드, 칩 및 다른 기질일 수 있다. 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플은 세포 또는 조직을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 또는 제2 항-STEAP-1 항체는 본원에 기재된 임의의 항체이다.

[0372] 임의의 상기 실시양태에 따라 진단 또는 검출될 수 있는 예시적인 장애는 STEAP-1-양성 전립선암, 예컨대 STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암, 및/또는 STEAP-1-양성 안드로겐 수용체 억제제 나이브, 전이성 거세-저항성 전립선암을 포함한다. 일부 실시양태에서, STEAP-1-양성 암은 조건 하에 종양 세포의 >90%에서 염색이 매우 약함 또는 전혀 없음에 해당하는 "0" 초과 항-STEAP-1 면역조직화학 (IHC) 또는 계내 혼성화 (ISH) 스코어를 받은 암이다. 또 다른 실시양태에서, STEAP-1-양성 암은 조건 하에 정의된 바와 같은 1+, 2+ 또는 3+ 수준으로 STEAP-1을 발현한다. 일부 실시양태에서, STEAP-1-양성 암은 STEAP-1 mRNA를 검출하는 역전사효소 PCR (RT-PCR) 검정에 따라 STEAP-1을 발현하는 암이다. 일부 실시양태에서, RT-PCR은 정량적 RT-PCR이다.

[0373] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 표지된 항-STEAP-1 항체가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티 (예컨대, 형광, 발색, 전자-밀집, 화학발광 및 방사성 표지) 뿐만 아니라 간접적으로, 예를 들어 효소적 반응 또는 분자 상호작용을 통해 검출되는 모이어티, 예컨대 효소 또는 리간드를

포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 표지는 방사성동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , 및 ^{131}I , 형광단, 예컨대 회토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 단실, 움벨리페론, 루시페라제, 예를 들어 반딧불이 루시페라제 및 박테리아 루시페라제 (미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP), 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제, 글루코아밀라제, 리소자임, 사카라이드 옥시다제, 예를 들어 글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제, 및 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나제, 염료 전구체를 산화시키기 위해 과산화수소를 사용하는 효소, 예컨대 HRP, 락토퍼옥시다제, 또는 마이크로퍼옥시다제와 커플링된 헤테로시클릭 옥시다제, 예컨대 우리카제 및 크산틴 옥시다제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파지 표지, 안정한 자유 라디칼 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 또 다른 실시양태에서, 표지는 양전자 방출체이다. 양전자 방출체는 ^{68}Ga , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{76}Br , ^{89}Zr , 및 ^{124}I 를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정한 실시양태에서, 양전자 방출체는 ^{89}Zr 이다.

[0374] G. 제약 제제

[0375] 본원에 기재된 바와 같은 임의의 방법에 사용하기 위한 항-STEAP-1 항체 또는 면역접합체의 제약 제제는 목적하는 정도의 순도를 갖는 항체 또는 면역접합체를 1종 이상의 임의적인 제약상 허용되는 담체 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))와 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 혼합하는 것에 의해 제조된다. 제약상 허용되는 담체는 일반적으로 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 비롯한 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에서 예시적인 제약상 허용되는 담체는 간질성 약물 분산액 작용제, 예컨대 가용성 중성-활성 히알루로니다제 당단백질 (sHASEGP), 예를 들어 인간 가용성 PH-20 히알루로니다제 당단백질, 예컨대 rHuPH20 (힐레넥스(HYLENEX)®), 백스터 인터내셔널, 인크.(Baxter International, Inc.))을 추가로 포함한다. rHuPH20을 비롯한, 특정의 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 공개 번호 2005/0260186 및 2006/0104968에 기재되어 있다. 한 측면에서, sHASEGP는 1개 이상의 추가의 글리코사미노글리카나제, 예컨대 콘드로이티나제와 조합된다.

[0376] 예시적인 동결건조 항체 또는 면역접합체 제제는 미국 특허 번호 6,267,958에 기재되어 있다. 수성 항체 또는 면역접합체 제제는 미국 특허 번호 6,171,586 및 W02006/044908에 기재된 것을 포함하고, 후자의 제제는 히스티딘-아세테이트 완충제를 포함한다.

[0377] 본원의 제제는 또한 치료되는 특정한 적응증에의 필요에 따라 1종 초과 활성 성분, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 보완적 활성을 갖는 것을 함유할 수 있다.

[0378] 활성 성분은 예를 들어 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조되는 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐) 내에, 또는 마크로에멀전 내에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0379] 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 항체 또는 면역접합체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다.

[0380] 생체내 투여에 사용되는 제제는 일반적으로 멸균성이다. 멸균은 예를 들어 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.

[0381] H. 제조 물품

[0382] 본 발명의 또 다른 측면에서, 상기 기재된 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조 물

품이 제공된다. 제조 물품은 용기, 및 용기 상에 있거나 용기와 회합된 라벨 또는 패키지 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 시린지, IV 용액 백 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로 형성될 수 있다. 용기는 조성물을 그 자체로 수용하거나 또는 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유효한 또 다른 조성물과 조합하여 수용하며, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 막개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 조성물 중 적어도 1종의 활성제는 본 발명의 항체 또는 면역접합체이다. 라벨 또는 패키지 삽입물은 조성물이 선택된 상태를 치료하는데 사용된다는 것을 나타낸다. 또한, 제조 물품은 (a) 내부에 본 발명의 항체 또는 면역접합체를 포함하는 조성물이 수용된 제1 용기; 및 (b) 내부에 추가의 세포독성제 또는 다른 치료제를 포함하는 조성물이 수용된 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시양태에서 제조 물품은 조성물이 특정한 상태를 치료하는데 사용될 수 있음을 나타내는 패키지 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제조 물품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 정박테리아 주사용수 (BWF1), 포스페이트-완충 염수, 링거액 또는 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 (또는 제3) 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 시린지를 비롯하여, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

- [0383] 실시예
- [0384] 하기는 본 발명의 방법 및 조성물의 실시예이다. 상기 제공된 일반적 설명을 고려하여 다양한 다른 실시양태가 실시될 수 있는 것으로 이해된다.
- [0385] 실시예 1
- [0386] 재발성 또는 불응성 전립선암은 효과적인 표준 요법이 존재하지 않는 질환이다. 1상 임상 시험은 전이성 거세-저항성 전립선암에 걸린 환자에서 프로테아제-불안정성 링커 (MC-vc-PAB)를 통해 항-튜블린 화학요법 (MMAE)에 연결된 항-STEAP-1 항체 (120.v24)를 사용하여 개시되었다. 1상 시험은 표준 용량 증량/확장 설계-0.3 mg/kg q3w, 0.45 mg/kg q3w, 0.67 mg/kg q3w, 1mg/kg q3w, 1.5 mg/kg q3w, 2.25 mg/kg q3w, 2.4 mg/kg q3w, 및 2.8 mg/kg q3w였다.
- [0387] RECIST에 의한 반응 뿐만 아니라 기준선으로부터 PSA 수준에서의 변화를 분석하였다. 기준선으로부터 50% 이상의 PSA 수준의 감소를 PSA 반응으로서 카테고리화하였다. 2.25 mg/kg 이상으로 투여받은 환자 중에서, 대략 전체 PSA 반응률은 23%였다.
- [0388] 반응자의 환자 특징을 더 잘 이해하기 위해, 전립선암을 병변의 유형 및 전이 부위에 기초하여 추가로 하위카테고리화하였다. 전이성 전립선암은 골 및/또는 연부 조직 (예를 들어, 폐, 간, 및/또는 림프절)으로 전이될 수 있다. 병변 유형과 PSA 반응률 사이에 어떠한 상관관계도 관찰되지 않았다 (데이터는 제시되지 않음).
- [0389] 또한, 반응자의 환자 특징을 더 잘 이해하기 위해, 선행 요법에 기초하여 환자의 하위군 분석을 수행하였다. 도세탁셀, 카바지탁셀 또는 아비라테론에 의한 선행 치료에 기초하여 어떠한 유의차도 관찰되지 않았다. 놀랍게도, 2.25 mg/kg 이상으로 투여받은 환자에서, 사전 엔잘루타미드 노출된 환자들 사이의 0/21 반응과 비교하여 엔잘루타미드-나이프 환자들 사이에는 10/23 (44%) PSA 반응이 존재하였다. 보다 구체적으로, 2.4 mg/kg 이상으로 투여받은 환자들 사이에서, 사전 엔잘루타미드 노출된 환자들 사이의 0/19 반응과 비교하여 엔잘루타미드-나이프 환자들 사이에는 9/18 (50%) PSA 반응이 존재하였다. 2.4 mg/kg 이상으로 투여받은 모든 환자에 대한 전체 PSA 반응률은 24%였다. 평균 연령, ECOG 상태, 기준선 체중 및 BMI, 전이성 질환의 부위, 기준선 PSA (90과 비교하여 131), 및 기준선 항-STEAP-1 IHC H-스코어 (153과 비교하여 198)는 사전 엔잘루타미드 노출되지 않은 환자와 비교하여 사전 엔잘루타미드 노출된 2 mg/kg 초과로 투여받은 환자 사이에서 유사하였다. 이들 결과에 기초하여, 엔잘루타미드 나이브 전립선암 및/또는 안드로겐 수용체 억제제 나이브 전립선암을 다른 치료 양식과의 조합의 존재 또는 부재 하에 튜블린 억제제에 접합된 전립선-특이적 표면 단백질을 인식하는 항체를 사용하여 표적화하는 것은 실행가능한 치료 옵션인 것으로 입증되었다.

명칭	서열	서열식별번호
STEAP-1	MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYLHKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAHA DEFDCPSELQHTQELFPQWHLPIKIAAIASLTFLYTLREVIHPLATSHQQ YFYKIPILVINKVLPMSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDK WMLTRKQFGLLSFFFAVLHAIYSLSPMRRSYRYKLLNWAYQQVQONKEDAW IEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPSVSDSLTWREFHYIQSKLGIV SLLLGTIHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIVVLIKFSILFLPC LRKKILKIRHGWEDVTKINKTEICSQL	1
HVR L1	KSSQSLLYRSNQKNYLA	2
HVR L2	WASTRES	3
HVR L3	QQYYNYPRT	4
HVR H1	GYSTITSDYAWN	5
HVR H2	GYISNSGSTSYNPSLKS	6
HVR H3	ERNYDYDDYYAMDY	7
V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKSSQSLLYRSNQKNYLAWYQQKPGKAPKL LIYWASTRESGVPSRFSGSGSGDFTLTITSSLPEDFATYYCQQYYNYPRTF GGGTKVEIKR	8
V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSDYAWNVRQAPGKGLEWVGVI SNSGSTSYNPSLKSRTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERNYDY DDYYAMDYWGQGTLVTVSS	9

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC., ET AL.

<120> METHODS OF USING ANTI-STEAP1 ANTIBODIES AND IMMUNOCONJUGATES

<130> P5784R1-WO

<140><141><150> 61/931,478

<151> 2014-01-24

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 339

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Gln Glu Glu Leu Trp Lys Met

1 5 10 15

Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Glu Asp Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr

20 25 30

Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu His Gln

35 40 45

Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Thr

50 55 60

Gln	Glu	Leu	Phe	Pro	Gln	Trp	His	Leu	Pro	Ile	Lys	Ile	Ala	Ala	Ile
65				70				75				80			
Ile	Ala	Ser	Leu	Thr	Phe	Leu	Tyr	Thr	Leu	Leu	Arg	Glu	Val	Ile	His
85				90				95							
Pro	Leu	Ala	Thr	Ser	His	Gln	Gln	Tyr	Phe	Tyr	Lys	Ile	Pro	Ile	Leu
100				105				110							
Val	Ile	Asn	Lys	Val	Leu	Pro	Met	Val	Ser	Ile	Thr	Leu	Leu	Ala	Leu
115				120				125							
Val	Tyr	Leu	Pro	Gly	Val	Ile	Ala	Ala	Ile	Val	Gln	Leu	His	Asn	Gly
130				135				140							
Thr	Lys	Tyr	Lys	Lys	Phe	Pro	His	Trp	Leu	Asp	Lys	Trp	Met	Leu	Thr
145				150				155				160			
Arg	Lys	Gln	Phe	Gly	Leu	Leu	Ser	Phe	Phe	Phe	Ala	Val	Leu	His	Ala
165				170				175							
Ile	Tyr	Ser	Leu	Ser	Tyr	Pro	Met	Arg	Arg	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Lys	Leu
180				185				190							
Leu	Asn	Trp	Ala	Tyr	Gln	Gln	Val	Gln	Gln	Asn	Lys	Glu	Asp	Ala	Trp
195				200				205							
Ile	Glu	His	Asp	Val	Trp	Arg	Met	Glu	Ile	Tyr	Val	Ser	Leu	Gly	Ile
210				215				220							
Val	Gly	Leu	Ala	Ile	Leu	Ala	Leu	Leu	Ala	Val	Thr	Ser	Ile	Pro	Ser
225				230				235				240			
Val	Ser	Asp	Ser	Leu	Thr	Trp	Arg	Glu	Phe	His	Tyr	Ile	Gln	Ser	Lys
245				250				255							
Leu	Gly	Ile	Val	Ser	Leu	Leu	Leu	Gly	Thr	Ile	His	Ala	Leu	Ile	Phe
260				265				270							
Ala	Trp	Asn	Lys	Trp	Ile	Asp	Ile	Lys	Gln	Phe	Val	Trp	Tyr	Thr	Pro
275				280				285							
Pro	Thr	Phe	Met	Ile	Ala	Val	Phe	Leu	Pro	Ile	Val	Val	Leu	Ile	Phe
290				295				300							
Lys	Ser	Ile	Leu	Phe	Leu	Pro	Cys	Leu	Arg	Lys	Lys	Ile	Leu	Lys	Ile

305 310 315 320
 Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Cys
 325 330 335
 Ser Gln Leu

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 2

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Arg Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15
 Ala

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 3

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 4

Gln Gln Tyr Tyr Asn Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 5

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn

1 5 10

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 6

Gly Tyr Ile Ser Asn Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 7

Glu Arg Asn Tyr Asp Tyr Asp Asp Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 8

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Arg

20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Asn Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys Arg

<210> 9

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp

20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Tyr Ile Ser Asn Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Arg Asn Tyr Asp Tyr Asp Asp Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120