

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-553665

(P2022-553665A)

(43)公表日 令和4年12月26日(2022.12.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 7 6
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 4
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全48頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-522761(P2022-522761)			(71)出願人	519365207
(86)(22)出願日	令和2年10月23日(2020.10.23)				ガママブス ファルマ
(85)翻訳文提出日	令和4年6月13日(2022.6.13)				フランス国, 3 1 1 0 6 トゥールーズ,
(86)国際出願番号	PCT/EP2020/079934				ブラス ピエール ポティエ オンコポ
(87)国際公開番号	WO2021/078959				ール アントレ ペー, サントル ピエール
(87)国際公開日	令和3年4月29日(2021.4.29)				ポティエ 1
(31)優先権主張番号	19306377.3			(74)代理人	100085545
(32)優先日	令和1年10月23日(2019.10.23)				弁理士 松井 光夫
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)			(74)代理人	100118599
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く			(72)発明者	ブロスト, ジャン - フランソワ
					フランス国, 7 8 0 0 0 ベルサイユ,
					2 1 アベニュー ヴィルヌーヴ レタン
				(72)発明者	デュブレユ, オリヴィエ
					フランス国, 3 1 1 9 0 モーレサック
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 A M H - 競合的アンタゴニスト抗体

(57)【要約】

本発明は、AMHR-IIに特異的に結合する競合的アンタゴニスト抗体に関し、該抗体が、(a)重鎖、ここで、該可変ドメインは、配列ID番号：3として記載された配列を有するH-CDR1；配列ID番号：4として記載された配列を有するH-CDR2；及び、配列ID番号：5として記載された配列を有するH-CDR3を含む、並びに、(b)軽鎖、ここで、該可変ドメインは、配列ID番号：8として記載された配列を有するL-CDR1；配列ID番号：9として記載された配列を有するL-CDR2；及び、配列ID番号：10として記載された配列を有するL-CDR3からなる群から選択される少なくともCDRを含む、を含む。上記の抗体をコードする核酸配列、該核酸配列を含むベクター、該核酸配列又はベクターを含む宿主細胞、上記の抗体を含むイムノコンジュゲート、上記の抗体又はイムノコンジュゲートを含む医薬組成物、並びに、上記の抗体、細胞又は組成物の薬物としての使用がまた、本発明において考慮される。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

AMHR-IIの細胞外ドメインに特異的に結合するアンタゴニスト抗体又はそのフラグメント、特に、AMHR-IIの細胞外ドメインに特異的に結合する競合的アンタゴニスト抗体。

【請求項 2】

前記抗体が、

(a) 重鎖、ここで、前記可変ドメインは、

配列ID番号：3として記載された配列を有するH-CDR1；

配列ID番号：4として記載された配列を有するH-CDR2；及び、

配列ID番号：5として記載された配列を有するH-CDR3

を含む、

並びに、

(b) 軽鎖、ここで、前記可変ドメインは、

配列ID番号：8として記載された配列を有するL-CDR1；

配列ID番号：9として記載された配列を有するL-CDR2；及び、

配列ID番号：10として記載された配列を有するL-CDR3

からなる群から選択される少なくともCDRを含む、

を含む、請求項1に記載の抗体又はそのフラグメント。

【請求項 3】

前記抗体が非免疫原性であり、特にFc受容体に結合することができない、請求項1又は2に記載の抗体又はそのフラグメント。

【請求項 4】

前記抗体が、配列ID番号：2として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する重鎖可変領域を含み：ここで、

前記H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

前記H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、

前記H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する、

請求項2又は3に記載の抗体又はそのフラグメント。

【請求項 5】

前記抗体の前記重鎖可変領域が、配列ID番号：2として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有する、請求項4に記載の抗体又はそのフラグメント。

【請求項 6】

前記抗体が、配列ID番号：7として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する軽鎖可変領域を含み：ここで、

前記L-CDR1が、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

前記L-CDR2が、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、

前記L-CDR3が、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する、

請求項2～5のいずれか1項に記載の抗体又はそのフラグメント。

【請求項 7】

前記抗体の前記軽鎖可変領域が、配列ID番号：7として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有する、請求項6に記載の抗体又はそのフラグメント。

【請求項 8】

前記抗体が、配列ID番号：1として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する重鎖を含み；ここで、

前記H-CDR1が、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

- 前記H-CDR2が、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、
- 前記H-CDR3が、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する請求項2～7のいずれか1項に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項9】
- 前記抗体の前記重鎖が、配列ID番号：1として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有する、
- 請求項8に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項10】
- 前記抗体が、配列ID番号：6として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する軽鎖を含み；ここで、
- 前記L-CDR1が、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；
- 前記L-CDR2が、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、
- 前記L-CDR3が、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する請求項2～9のいずれか1項に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項11】
- 前記抗体の前記軽鎖が、配列ID番号：6として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有する、請求項10に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項12】
- 前記抗体が、配列ID番号：1として記載された配列を有する重鎖及び配列ID番号：6として記載された配列を有する軽鎖を含む、請求項1～11のいずれか1項に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項13】
- 前記抗体又はそのフラグメントが、AMHR-IIの細胞外ドメインへの結合について、請求項1～12のいずれか1項に記載の抗体と競合する、請求項1に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項14】
- 前記抗体又はそのフラグメントが、MHR-IIの細胞外ドメインへの結合について、AMHと競合する、請求項1に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項15】
- 前記抗体のフラグメントが、Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、scFv、sc(Fv)₂及び二重特異性抗体からなる群から選択される、請求項1～14のいずれか1項に記載の抗体又はそのフラグメント。
- 【請求項16】
- 請求項1～14のいずれか1項に記載の抗体又はそのフラグメントをコードする核酸配列。
- 【請求項17】
- 請求項16に記載の核酸配列を含むベクター。
- 【請求項18】
- 請求項16に記載の核酸配列又は請求項17に記載のベクターを含む宿主細胞。
- 【請求項19】
- 治療薬に連結された請求項1～15のいずれか1項に記載の抗体又はそのフラグメントを含むイムノコンジュゲート。
- 【請求項20】
- 医薬的に許容される媒体中に、請求項1～15のいずれか1項に記載の少なくとも1つの抗体若しくはそのフラグメント、又は請求項19に記載の少なくとも1つのイムノコンジュゲートを含む医薬組成物。
- 【請求項21】
- 薬剤としての使用の為の、特に、AMHR-IIと抗ミューラーホルモン(AMH)との相互作用

から生じる疾病の予防及び／又は処置における使用の為の、請求項 1 ～ 15 のいずれか 1 項に記載の抗体又はそのフラグメント、請求項 18 に記載の宿主細胞、請求項 19 に記載のイムノコンジュゲート、又は請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

前記疾病が、

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)；

子宮内膜症；

早発閉経、並びに

AMHR-IIの発現に関連付けられた癌、特に婦人科癌から選択される癌；結腸癌；肺癌；肝細胞癌；精巣癌；膵臓癌；腎臓癌；乳癌；甲状腺癌；胃癌；副腎癌；膀胱癌、及び前立腺癌

10

からなる群から選択される、請求項 21 に記載の使用の為の、抗体又はそのフラグメント、宿主細胞、又は医薬組成物。

【請求項 23】

別の処置、特に別の抗癌処置、と組み合わせての、請求項 21 又は 22 に記載の使用の為の、抗体又はそのフラグメント、宿主細胞、又は医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗ミュラーホルモン(AMH: Anti-Mullerian Hormone)の競合的且つアンタゴニストであるヒト抗ミュラーホルモン II 型受容体(AMHR-II: Anti-Mullerian Hormone type II receptor)に対して向けられた新規な抗体に、及び治療法におけるそれらの使用に関する。

20

【背景技術】

【0002】

形質転換成長因子ベータ(TGF-ベータ: transforming growth factor-beta)スーパーファミリーのメンバーは、様々な生理学的プロセスの重要な調節因子である。抗ミュラーホルモン(AMH: Anti-Mullerian Hormone)は140Kdaの糖タンパク質であり、且つTGF-ベータスーパーファミリーのメンバーであり、それは特に、男性の性分化におけるその役割でよく知られている(Josso N et al. *Pediatr Endocrinol. Rev* 2006; 3(4): 347-358)。女性において、AMHは肉芽腫細胞(GCs: granulosa cells)によって出生後に低レベルで最初に分泌され、次に、AMHレベルは思春期に急上昇し、その後、閉経まで生殖生活を通じて徐々に低下する(Visser et al. *Reproduction* 2006; 131(1): 1-9)。一次卵胞(primary follicles)で開始されるAMH発現は、前胞状卵胞(pre-antral follicles)及び小さな胞状卵胞(small antral follicles)において最も強く、そして、その後排卵まで減少する。AMHは、黄体及び閉鎖卵胞(atretic follicles)において検出されなくなる。

30

【0003】

その効果を発揮するために、AMHはAMHR-IIと呼ばれる特定のII型受容体に結合し、それは、成長中の卵胞のGC中のAMHと共発現する(Baarends et al. *Endocrinology* 1995; 136(11): 4951-4962)。卵胞形成(folliculogenesis)の間、AMHは原始卵胞の最初のリクルートメント(recruitment)を阻害し、そして、FSHに対する成長中の卵胞の感受性を低下させる。AMHは実際、基本的に原始卵胞(primordial follicles)の枯渇率と成熟卵胞(maturing follicles)の選択のゲートキーパーとして機能し、AMHR-II及びI型受容体を通じたBMP様シグナル伝達経路を利用して、Smad 1/5/8を活性化する。加えて、AMHは現在、卵巣卵胞プール(ovarian follicle pool)のサイズの重要な臨床マーカーとして、且つ制御された卵巣過刺激に対する卵巣反応の予測因子として認識されている(Dewailly D et al. *Hum Reprod Update* 2014; 20(3): 370-385)。卵胞液中のAMH濃度は、肉芽腫細胞の増殖と逆相関するが、正常な生理機能は加齢とともに破壊され、そして、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic

40

50

ovarian syndrome)になる。

【0004】

ループAMH/AMHR-IIは事実、卵巣における卵胞形成に対するその直接的な調節作用によるだけでなく、GnRHニューロンのLH拍動性と分泌との活性化を伴う視床下部における間接的な経路を介して、PCOSの生理病理学において推進的な役割を果たしていると記載されている(Pigny P et al., J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(12): 5957-5962, Catteau-Jonard S et al., J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(11): 4456-4461, Dumont A et al., Reprod Biol Endocrinol 2015; 13: 137-146)。LHの拍動性の増加は、PCOSの多くの場合に重要な機能である(Cimino I et al., Nat. Commun. 2016; 7: 10055-10066)。

10

【0005】

PCOSは最も一般的な女性の生殖障害であり、世界中の生殖年齢の女性の10~18%に影響を及ぼす(Dewailly D. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2016; 37: 5-11)。該症候群は特に、過剰な卵巣及び/又は副腎のアンドロゲン分泌によって支えられている。PCOSを有する妊娠していない女性において、AMHの血清レベルは多嚢胞性卵巣(PCO: polycystic ovaries)のない女性よりも2~3倍高く、生殖機能障害の重症度はAMHレベルと正の相関があり(Dewailly D et al. Hum Reprod. 2011; 26(11): 3123-3129); Piouka et al. (Am J Physiol Endocrinol Metab. 2009; 296(2): E238-E243)、FSHに対する顆粒膜細胞(Granulosa cells)の感受性を低下させることにより、PCOSの女性において観察される卵胞性停止(follicular arrest)にAMHが関与しているという仮説を支持する(Pellat L et al., Fertil Steril 2011; 92(1): 240-245)。

20

【0006】

他の婦人科疾患において、AMH/AMHR-IIの二重発現が、例えば、子宮内膜症(Signorile PG et al., J Exp Clin Cancer Res 2014; 33(1): 46-54)において、並びに子宮の筋腫及び腺筋症(Kim SY, et al. Obstet Gynecol Sci 2018; 61(1): 127-134)において報告されている。

【0007】

癌の分野において、AMHRIIシグナリングの意味はより複雑である。上記されている通り、AMHRIIはTGFb受容体スーパーファミリーに属する。

30

【0008】

TGFbは、一般的に、正常細胞及び癌細胞における抗増殖応答(anti-proliferative responses)を誘発する。事実、TGFbR2及びSMAD4を不活性化する変異及び欠失は様々な腫瘍において見られ、且つ初期段階での多段階腫瘍形成(multistep tumorigenesis)の引き金の1つであると考えられている(Vogelstein et al., Science 2013; 339(6127): 1545-1558; Levy et al., Molec Cell Biol 2005; 25(18): 8108-8125)。

【0009】

一方、TGFb1は、周囲の正常な細胞と比較して、腫瘍細胞において高度に発現されている。この発現は、後の段階での、腫瘍細胞の移動、浸潤及び生存の増強、並びに微小環境における免疫抑制シグナルの伝達を通じて、腫瘍の進行と相関している(Morikawa et al., Cold Spring Harb. Perspect. 2016; 8(5): a021873; Luo et al., Transl. Oncol. 2019; 12(3): 475-484; Furler et al., Cancers 2018; 10(6), E199)。

40

【0010】

AMHRIIは、その一部について、幾つかのタイプの婦人科癌、例えば、漿液性(serous)、明細胞(clear cells)、類内膜、粘液性上皮癌、胚芽細胞腫、子宮内膜癌、平滑筋肉腫及び子宮内膜肉腫、において報告されている(Bakkum-Gamez JN et al., Gynecol. Oncol. 2008; 108(1): 141-148; Kim SM et al., Oncol Letter 2019; 17(1): 532-538) and cervical cancer (Taximaimaita R et al.,

50

Medicine 2018 ; 97(22) : e10793)。

【 0 0 1 1 】

AMH及びAMHR-IIは、細胞周期の阻害に関与し、且つ癌におけるアポトーシスを誘発するとして記載されている。従って、AMHは、癌の分野で、有機体を癌から保護する因子として知られている(M. Gowkielewicz et al.; Int. J. Mol. Sci. 2019 ; 20(6) : 1325)。このように、現在の研究のほとんどは、その受容体との相互作用は、関心のあるシグナル伝達経路をトリガーすることとして知られているので、癌におけるAMHの効果を促進、増加、又は改善すること、従って、その受容体との相互作用に向けられている。

【 0 0 1 2 】

その上、AMH及び/又はAMHR-IIの発現は、婦人科以外の様々な固形腫瘍において最近報告された。

【 0 0 1 3 】

事実、AMHの発現は、多くの固形腫瘍において、例えば、神経膠腫、肺癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、胃癌、膵臓癌、腎癌、尿路上皮癌、前立腺癌、精巣癌、乳癌、及びメラノーマにおいて、記載されていた(Human Protein Atlas)。

【 0 0 1 4 】

AMHR-IIはまた、様々なヒト癌細胞の表面で発現していることが示され、それは、特に、結腸癌、肺癌、肝細胞癌、精巣癌、膵臓癌、腎臓癌、乳癌、甲状腺癌、胃癌、副腎癌、膀胱癌及び前立腺癌を包含する(Barret et al., Proc Amer Soc Clin Onco 201, 37, Abst 774, 2018)。

【 0 0 1 5 】

本発明者等は、現在知られ且つ予想されていることとは反対に、AMHとその受容体AMHR-IIとの相互作用を阻害することにより、AMHR-II発現細胞の生存率が低下し、AMHR-IIと抗ミューラーホルモン(AMH: Anti-Mullerian Hormone)との間の相互作用から生じる疾病に対する新規な治療法を開拓したことを確認した。

【 0 0 1 6 】

その上、(他の選択肢の中でも抗体を使用して)AMHR-II経路に拮抗することが、AMHR-IIを発現する病変細胞に対する興味深く且つ有利な戦略として、特に抗PCOS、抗子宮内膜症；抗早期閉経として；並びに、抗癌剤、特に抗非婦人科腫瘍、としての治療戦略として示されるのはこれが初めてである。

【 0 0 1 7 】

従って、当技術分野において、上記された疾病の治療の為の更なるツールが必要である。より特には、AMHR-IIを発現する細胞、特にはAMHR-IIを発現する罹患細胞、を特異的に標的化することを可能にする新しいツールの必要性がある。特に、AMHとAMHR-IIとの間の相互作用によってトリガーされるシグナリング経路を特異的に防止及び/又は停止することを可能にする新規なツールが必要である。さらにより特には、AMHとAMHR-IIとの間の相互作用を特異的に防止及び/又は停止することを可能にする新規なツールが必要である。特に、AMH及び/又はAMHR-IIを発現する癌、特にはAMHR-IIを発現する癌、より特にはAMHR-IIを発現する非婦人科癌、の治療の為の新規なツールが必要である。

【 0 0 1 8 】

本発明は、これらの必要性に対応することができる新規なツールを提供する。

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 9 】

本発明の第1の観点は、AMHR-IIの細胞外ドメインに特異的に結合するアンタゴニスト抗体又はそのフラグメント、特に、AMHR-IIの細胞外ドメインに特異的に結合する競合的アンタゴニスト抗体に関する。

【 0 0 2 0 】

10

20

30

40

50

本発明者等は、AMHR-IIが様々な病状、特に上記された病状、例えばPCOS及び癌、において関心のある標的であることを実際に特定し且つ実証した。上記された通り、本発明者等は、AMHR-IIの活性化から始まるシグナル伝達経路のトリガー(triggering)を防ぐことが、多くの病状において非常に重要であることを特に特定した。

【0021】

特に、該アンタゴニスト抗体又はそのフラグメント、より特には、該競合的アンタゴニスト抗体又はそのフラグメントは、

(a) 重鎖、ここで、上記可変ドメインは、

配列ID番号：3として記載された配列を有するH-CDR1；

配列ID番号：4として記載された配列を有するH-CDR2；及び、

配列ID番号：5として記載された配列を有するH-CDR3；

10

並びに、

(b) 軽鎖、ここで、上記可変ドメインは、

配列ID番号：8として記載された配列を有するL-CDR1；

配列ID番号：9として記載された配列を有するL-CDR2；及び、

配列ID番号10として記載された配列を有するL-CDR3；

からなる群から選択される少なくともCDRを含む、

を含む。

【0022】

一つの実施態様において、本発明に従う抗体又はそのフラグメントは非免疫原性であり、特にFc受容体(FcγR抗体)に結合することができない。

20

【0023】

他の実施態様において、本発明に従う抗体は、配列ID番号：2として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する重鎖可変領域を含み：ここで、

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、

該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0024】

この実施態様に従うと、本発明に従う抗体の重鎖可変領域が、配列ID番号：2として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有することができ：

30

ここで、

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、

該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0025】

他の実施態様において、本発明に従う抗体は、配列ID番号：7として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する軽鎖可変領域を含み：ここで、

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、

該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

40

【0026】

この実施態様に従うと、本発明に従う抗体の軽鎖可変領域は、配列ID番号：7として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有することができ：

ここで、

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、

該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0027】

更なる実施態様において、本発明に従う抗体は、配列ID番号：1として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する重鎖を含み：ここで、

50

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；
該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0028】

特に、本発明に従う抗体の重鎖が、配列ID番号：1として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有することができ：ここで、

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；
該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0029】

他の実施態様において、本発明に従う抗体は、配列ID番号：6として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有する軽鎖を含み：ここで、

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；
該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、
該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0030】

特に、本発明に従う抗体の軽鎖は、配列ID番号：6として記載された配列と少なくとも90%、特に少なくとも95%、の同一性を有することができ：ここで、

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；
該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び、
該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0031】

より特には、本発明に従う抗体は、配列ID番号：1として記載された配列を有する重鎖と、配列ID番号：6として記載された配列を有する軽鎖とを含む。

【0032】

上述されている通り、本発明に従う抗体は、配列ID番号：1として記載された配列を有する重鎖と、配列ID番号：6として記載された配列を有する軽鎖とを含む抗体であることができ、そしてさらに、非免疫原性であるように変更されることができ、特にFc受容体(FcγR抗体)に結合しないように変更されることができる。

【0033】

特には、本発明の抗体又はそのフラグメントは、AMHR-IIの細胞外ドメインへの結合について、抗体又はそのフラグメントと、特には下記の配列に基づいて定義された抗体と、競合する抗体でありことができ、該抗体は、

(a) 重鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：3として記載された配列を有するH-CDR1；
配列ID番号：4として記載された配列を有するH-CDR2；及び、
配列ID番号：5として記載された配列を有するH-CDR3
を含む、

並びに、

(b) 軽鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：8として記載された配列を有するL-CDR1；
配列ID番号：9として記載された配列を有するL-CDR2；及び、
配列ID番号：10として記載された配列を有するL-CDR3

からなる群から選択される少なくともCDRを含む。

【0034】

更なる実施態様において、本発明に従う抗体の抗体のフラグメントが、Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、scFv、sc(Fv)₂及び二重特異性抗体からなる群から選択されることができる。

【0035】

本発明の別の目的は、本発明の抗体又はそのフラグメントをコードする核酸配列に関する

10

20

30

40

50

る。

【 0 0 3 6 】

本発明の更なる目的は、本発明に従う核酸配列を含むベクターである。

【 0 0 3 7 】

本発明の別の目的は、該核酸配列又は本発明のベクターを含む宿主細胞である。

【 0 0 3 8 】

本発明また、治療薬に連結された本発明に従う抗体又はそのフラグメントを含むイムノコンジュゲートに関する。

【 0 0 3 9 】

本発明の別の目的は、医薬的に許容される媒体中に、本発明の少なくとも1つの抗体又はそのフラグメント、又は本発明の少なくとも1つのイムノコンジュゲートを含む医薬組成物である。 10

【 0 0 4 0 】

本発明は更に、本発明の抗体又はそのフラグメント、本発明の細胞、本発明のイムノコンジュゲート、又は薬物としての使用の為の本発明の組成物に関する。

【 0 0 4 1 】

特に、本発明は、AMHR-IIと抗ミューラーホルモン(AMH)との相互作用から生じる疾病の予防及び/又は処置における使用の為、本発明の抗体又はそのフラグメント、本発明の細胞、本発明のイムノコンジュゲート、又は本発明の組成物に関連する。 20

【 0 0 4 2 】

一つの実施態様において、AMHR-IIと抗ミューラーホルモン(AMH)との相互作用から生じる疾病は、

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: Polycystic ovary syndrom);

子宮内膜症;

早発閉経、並びに

AMHR-IIの発現に関連付けられた癌、特に婦人科癌から選択される癌; 結腸癌; 肺癌; 肝細胞癌; 精巣癌; 膵臓癌; 腎臓癌; 乳癌; 甲状腺癌; 胃癌; 副腎癌; 膀胱癌、及び前立腺癌

からなる群から選択される。

【 0 0 4 3 】

上記の疾病は、特に多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: Polycystic ovary syndrome)であることができる。この疾病は、特にAMHR-IIの発現に関連付けられた癌であることができる。 30

【 0 0 4 4 】

特定に実施態様において、本発明の、上記抗体又はそのフラグメント、上記細胞、上記イムノコンジュゲート、又は上記組成物は、別の処置、特に別の抗癌処置、と組み合わせて使用される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 4 5 】

【 図 1 】 図1は、ヒトAMHR-II受容体、ラットAMHR-II受容体、及びヒトALK3受容体の細胞外ドメインに対する抗AMHR-II抗体の特異的結合を示す。縦軸: 450nmでの光学密度; 横軸: 抗体4A3の量($\mu\text{g}/\text{mL}$)。 40

【 図 2 】 図2は、COV434-WT (A)、及びCOV434-AMHR-IIでトランスフェクションされた細胞株 (B)の表面膜で発現されたAMHR-II受容体への4A3抗体の結合を示す。BD Accuri(商標) C6フローサイトメーター(BD Bioscience)(FL2-A設定)を使用して実行された。結合特異性は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でFACS分析によって決定された。(C) 異なる濃度での4A3抗体の結合曲線。縦軸: 平均蛍光強度(MFI: Mean Fluorescence Intensity)。横軸: 本発明の抗体4A3の濃度(M)。

【 図 3 】 図3は、COV434細胞株におけるSmad経路を検証する。BMP2は、COV434-WT及びCOV434-AMHR-IIでトランスフェクションされた細胞株の両方においてSmad 50

1リン酸化を誘発する。A) COV434-WT細胞株においてAMHによるSmad1リン酸化の刺激はない。B) COV434-AMHR-IIでトランスフェクションされた細胞株におけるAMHによるSmad1リン酸化の刺激。軸：HTRF比(665/620*10000)。横軸：左から右へ：25ng/mLのBMP2；ブランク(試薬なしで処理された細胞なし)；C-(陰性対照：試薬を含む細胞なし)；NT(処置なし)；1ng/mLで使用されるAMH(AMH_1ng/mL)。10ng/mLで使用されるAMH(AMH_10ng/mL)；100ng/mLで使用されるAMH(AMH_100ng/mL)；300ng/mLで使用されるAMH/mL(AMH_300ng/mL)。

【図4】図4は、100μg/mLでのAMHによって誘発されるSmad1リン酸化における、100μg/mLで使用された抗体4A3(本発明に従う)及びGM102(本発明外)のアンタゴニスト/阻害剤効果を示す。縦軸：Smad1リン酸化率(%)。横軸：左から右へ：Abなし(抗体なし)+AMH 100ng/mL；4A3(本発明の抗体)+AMH 100ng/mL；GM102(本発明外の抗体)+AMH 100ng/mL。

10

【図5】図5は、AMHによって誘発されるSmad1リン酸化における抗体4A3のアンタゴニスト/阻害剤効果を示す。A)1ng/mL、10ng/mL及び100ng/mLのAMHで得られたHTRF比と、各AMH濃度で、1μg/mL、10μg/mL及び100μg/mLの濃度での抗体4A3における競合効果。B)、C)、D)は、使用するAMHの濃度と4A3アンタゴニスト抗体の濃度とに依存したSmad1リン酸化のパーセンテージ(%)を表す。100ng/mLで使用されるAMH - AMH 100 (B)；10ng/mL - AMH 10 (C)又は1ng/mL - AMH 1 (D)。1ng/mL (4A3 1)、10ng/mL(4A3 10)、又は100ng/mL(4A3 100)で使用される4A3。Abなし：陰性対照。

20

【図6】図6は、SW620癌細胞(デュークスC型(Dukes' type C)、結腸直腸腺癌)の生存パーセンテージ(%)を示し、それは、A) AMHの非存在下において、又はB) 50ng/mLのAMHの存在下において、異なる濃度の抗体4A3 ((1、3、10、30又は90μg/mL)に、48時間暴露された場合に、それらの表面上にAMHR-IIを自然に発現する。陰性対照(Ctrl - 抗体なし)がまた表示される。

【図7】図7は、様々な濃度のアンタゴニスト4A3抗体又は中和3C23K抗体(5、10、20、40、70又は150μg/mL)に、96時間暴露された場合に、それらの表面上にAMHR-IIを自然に発現するLS411N癌細胞(デュークスB型、結腸直腸癌)の生存パーセンテージ(%)を示す。

【図8】図8は、結腸直腸腺癌の3つのFFPEブロックにおける受容体AMHR-II(図8A、図9B、図10B)及びリガンドAMH(図8B)の免疫組織学的検出を表す。図8C～図8Dはそれぞれ、AMHR-II及びAMHのIHC検出に関連付けられたアイソタイプ制御に対応する。

30

【図9】図9は、結腸直腸腺癌の3つのFFPEブロックにおける受容体AMHR-II(図9B)及びリガンドAMH(図9B)の免疫組織学的検出を表す。図9C～図9Dはそれぞれ、AMHR-II及びAMHのIHC検出に関連付けられたアイソタイプ制御に対応する。

【図10】図10は、結腸直腸腺癌の3つのFFPEブロックにおける受容体AMHR-II(図10B)及びリガンドAMH(図10B)の免疫組織学的検出を表す。図10C～図10Dはそれぞれ、AMHR-II及びAMHのIHC検出に関連付けられたアイソタイプ制御に対応する。

40

【発明を実施するための形態】

【0046】

上記された通り、本発明者等は、これまでに知られていることとは反対に、AMHR-IIの活性化によってトリガーされるシグナル伝達経路を罹患細胞において予防する為に、AMHR-IIを標的とすることが多くの疾病において非常に重要であると予想外に決定した。

【0047】

さらに、本発明者等は、AMHと競合するアンタゴニスト抗AMHR-II抗体を同定した。この抗体は特に、ヒトAMHR-IIに特異的である。

【0048】

従って、本明細書において、語「AMHR-II」は、抗ミューラーホルモンII型受容体、特

50

にヒト抗ミューラーホルモンII型受容体、を示す。AMH受容体(AMHR又はAMHR-II)は、TGF- β 関連タンパク質のII型受容体ファミリーに属する単一の膜貫通ドメイン(single transmembrane domain)を有するセリン/スレオニンキナーゼである。II型受容体はそれ自体でリガンドを結合するが、信号伝達の為にI型受容体の存在が必要である(Imbeaud et al. (1995, Nature Genet, Vol. 11: 382-388) cloned the human AMH type II receptor gene)。ヒトAMHR-IIの配列は、本明細書において配列ID番号: 11として記載されている(シグナルペプチドMLGSLGLWALLPTAVEA(配列ID番号: 12)を欠いている)。

【0049】

配列ID番号: 11は、下記のアミノ酸配列に対応する:

```
PPNRRTCVFFFEAPGVRGSKTLGELLDTGTLPRAIRCLYSRCCFGIWNLTQDRAQV
EMQGCRDSDEPGCESLHCDPSPRAHPSPGSTLFTCSCGTDFCNANYSHLPPPGSPGT
PGSQGPQAAPGESIWMALVLLGLFLLLLLLLLLGSIIALLQRKNYRVRGEPVPEPRPDS
GRDWSVELQELPELCFSQVIREGGHAVVWAGQLQGKLVAIKAFPPRSVAQFQAERA
LYELPGLQHDHIVRFITASRGGPGRLLSGPLLVLLELHPKGSLSCHYLTQYTSDWGSSL
RMALSLAQGLAFLHEERWQNGQYKPGIAHRDLSSQNVLIREDGSCAIGDLGLALVLP
GLTQPPAWTPTQPQGPAAIMEAGTQRYMAPELLDKTLDLQDWGMALRRADIYSLA
LLLWEILSRCPDLRPDSSPPPFQLAYEAELGNTPTSDELWALAVQERRRPYIPSTWR
CFATDPDGLRELLEDCWDADPEARLTAECVQQRALAAHPQESHPPFESCPRGCPP
LCPEDCTSIPTILPCRPPQRSACHFSVQGGPCSRNPQPACTLSPV
```

【0050】

語「抗AMHR-II抗体」は、AMHR-IIに対して向けられた抗体、特にAMHR-IIの細胞外ドメインに対して向けられた抗体、を云う。特に、語「抗ヒトAMHR-II抗体」は、ヒトAMHR-IIに対して向けられた抗体、特にヒトAMHR-IIの細胞外ドメインに対して向けられた抗体を云う。

【0051】

本発明に従うと、「抗体」または「免疫グロブリン」は同じ意味を有し、且つ本明細書において等しく使用されるであろう。本明細書において使用される語「抗体」は、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、抗原を免疫特異的に結合する抗原結合部位を含む分子、を云う。従って、語「抗体」は、抗体分子全体だけでなく、抗体の変異体(誘導体を包含する)をまた含む。天然抗体において、2本の重鎖が二硫化物結合によって互いに結合され、且つ各重鎖が二硫化物結合によって軽鎖に結合される。軽鎖には、ラムダ(λ)とカッパ(κ)の2種類がある。抗体分子の機能的活性を決定する5つの主要な重鎖クラス(又は、アイソタイプ)がある: IgM、IgD、IgG、IgA及びIgE。各鎖は、個別の配列ドメインを含む。軽鎖は、2つのドメイン、すなわち可変ドメイン(VL: variable domain)と定常ドメイン(CL: constant domain)、を包含する。重鎖は、4つのドメイン、すなわち可変ドメイン(VH)、並びに3つの定常ドメイン(CH1、CH2及びCH3、まとめてCHと呼ばれる)を包含する。軽鎖(VL)と重鎖(VH)の両方の可変領域が、抗原への結合認識と特異性を決定する。軽鎖(CL)と重鎖(CH)の定常領域ドメインは、重要な生物学的特性、例えば、抗体鎖の会合(association)、分泌、経胎盤移動性(trans-placental mobility)、補体結合、Fc受容体(FcR)への結合、の重要な生物学的特性を与える。Fvフラグメントは、免疫グロブリンのFabフラグメントのN末端部分であり、且つ1つの軽鎖と1つの重鎖との可変部分で構成される。抗体の特異性は、抗体結合部位と抗原決定基との間の構造的相補性にある。抗体結合部位は、主に超可変領域又は相補性決定領域(CDRs: complementarity determining regions)に由来する残基で構成される。時折、非超可変領域又はフレームワーク領域(FR)からの残基が、ドメイン構造全体に影響を与え、従って、結合部位に影響を与える。相補性決定領域、すなわちCDR(Complementarity Determining Regions)は、ネイティブ免疫グロブリン結合部位の天然Fv領域の結合親和性と特異性を一緒に定義するアミノ酸配列を云う。免疫グロブリンの軽鎖と重鎖とにはそれぞれ、3つのCDR、すなわちL-C

DR1、L-CDR2、L-CDR3、及びH-CDR1、H-CDR2、H-CDR3と呼ばれる、がある。それ故に、抗原結合部位は、重鎖及び軽鎖のV領域のそれぞれからのCDRセットを含む6つのCDRを包含する。フレームワーク領域(FRs)は、CDRの間に挿入されたアミノ酸配列を云う。

【0052】

従って、本明細書において、語「抗体」は、最も広い意味で使用され、且つ完全に組み立てられた抗体(fully assembled antibodies)、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)、AMHR-IIを結合することができる抗体フラグメント、及び上述のものが所望の生物学的活性を示す限り、該上述のものを含む組み換えペプチドを包含する。

10

【0053】

本発明に従う抗体フラグメントは特に、Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、scFv、sc(Fv)₂及び二重特異性抗体からなる群から選択されることができる。それらは、当技術分野において周知の方法に従って、組換えDNA技術によって、又は無傷の抗体(intact antibodies)の酵素的若しくは化学的切断によって生成されうる。

【0054】

サイズが小さい故に、これらの抗体フラグメントは、例えば、PCOSの生理病理学の主要な構成要素であるGnRHニューロンの視床下部レベルでAMHR-II受容体へのそれらの結合を通じて、非常に興味深いものであることができる。

【0055】

20

「一本鎖Fv」すなわち「scFv」抗体フラグメントは、抗体のVH及びVLドメインを含み、ここで、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖中に存在する。一般的に、Fvポリペプチドは、VHドメインとVLドメインとの間にポリペプチドリナーをさらに含み、それにより、scFvが抗原結合の為の所望の構造を形成することを可能にする。scFvのレビューについては、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照。

【0056】

語「二重特異性抗体」(diabodies)は、2つの抗原結合部位を有する小さな抗体フラグメントを云い、それらのフラグメントは、同じポリペプチド鎖(VH及びVL)内の軽鎖可変ドメイン(VL)に連結された重鎖可変ドメイン(VH)を含む。同じ鎖上の2つのドメイン間のペアリングを許可する為には短すぎるリンカーを使用することによって、ドメインは別の鎖の相補的なドメインとペアリングを強制され、2つの抗原結合部位を作成する。二重特異性抗体は例えば、欧州特許出願公開第EP404,097号明細書；国際公開第WO93/11161号パンフレット；及び、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993)においてより完全に説明されている。

30

【0057】

二重特異性抗体(Diabodies又はbi-specific antibodies)は、免疫グロブリンG(IgG)様分子及び非IgG様分子の2つのカテゴリーに大別されることができる。IgGのようなbsAbsは、Fc媒介性エフェクター機能、例えば、(ADCC: antibody-dependent cellular phagocytosis)、補体依存性細胞毒性(CDC: complement-dependent cytotoxicity)、(ADCP: antibody-dependent cellular phagocytosis)を保持する(Spiess et al., 2015, Mol Immunol., Vol. 67(2): 95-106)。bsAbsのFc領域は、精製を容易にし、且つ溶解性と安定性を向上させる。IgG様形式(IgG-like formats)の二重特異性抗体は通常、それらのより大きなサイズ、FcRnを介した再利用により、血清半減期が長くなる(Kontermann et al., 2015, Bispecific antibodies. Drug Discov Today Vol. 20(7): 838-47)。非IgG様bsAbはサイズが小さく、組織への高められた浸透をもたらす(Kontermann et al., 2015, Bispecific antibodies. Drug Discov Today Vol. 20(7): 838-47)。

40

【0058】

50

本発明に従うモノクローナル抗体は、特に、キメラ抗体(chimeric antibody)、ヒト化抗体(humanized antibody)、又はヒト抗体(human antibody)であり得る。

【0059】

本明細書において特定されるモノクローナル抗体は、特に「キメラ」抗AMHR-II抗体(免疫グロブリン)を包含し、ここで、重鎖及び/又は軽鎖の一部が、特定の種に由来する抗体における又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一又は相同であり、一方、1以上の鎖の残りの部分は、それらが所望の生物学的活性を示す限り、別の種に由来する抗体における又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体における対応する配列、並びにそのような抗体の断片と同一又は相同である(米国特許第4,816,567号明細書; 及び、Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855 (1984))。 10

【0060】

本明細書で特定されているモノクローナル抗体はまた、ヒト化抗AMHR-II抗体を包含する。非ヒト(例えば、マウス)抗体の「ヒト化された」(Humanized)形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小限の配列を含むキメラ抗体である。ほとんどの場合、ヒト化抗体はヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体(recipient antibody))であり、ここで、レシピエントの超可変領域(hypervariable region)からの残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)、例えば、マウス、ラット、ウサギ又は非ヒト霊長類、の超可変領域からの残基によって置き換えられる。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FR)残基が、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体において又はドナー抗体において見られない残基を含みうる。これらの変更は、抗体の性能をさらに向上させるために行われる。一般的に、ヒト化抗体は、実質的に少なくとも1つ、典型的には2つ、の可変ドメインを含み、ここで、超可変ループの全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのループに対応し、且つFR領域の全て又は実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のループである。ヒト化抗体は任意的に、免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンの部分、をまた含むであろう。詳細については、Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988); and Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992)を参照。ヒト化抗体は、CDRドメインをコードする核酸配列を取得し、そして、当技術分野において知られている技術に従ってヒト化抗体を構築することによって生成されることができる。慣用的な組換えDNA及び遺伝子トランスフェクション技術に基づいてヒト化抗体を産生するための方法は、当技術分野において周知である(例えば、Riechmann L. et al. 1988; Neuberger M. S. et al. 1985を参照)。抗体は、当技術分野で知られている様々な技術、例えば、CDR-グラフティング(欧州特許出願公開第EP 239,400号明細書; 国際公開WO91/09967号パンフレット; 米国特許公報第5,225,539号明細書; 米国特許公報第5,530,101号明細書; 及び、米国特許公報第5,585,089号明細書)、ベニアリング(veneering)又はリサーフェシング(resurfacing)(欧州特許出願公開第EP592,106号明細書; 欧州特許出願公開第EP519,596号明細書; Padlan E. A. (1991); Studnicka G. M. et al. (1994); Roguska M. A. et al. (1994))及びチェーンシャッフリング(chain shuffling)(米国特許公報第5,565,332号明細書)を包含する技術、を使用して、ヒト化されることができる。そのような抗体を調製する為の一般的な組換えDNA技術がまた知られている(欧州特許出願公開第EP125023号明細書及び国際公開WO96/02576号パンフレットを参照)。 20 30 40

【0061】

本明細書で特定されるモノクローナル抗AMHR-II抗体はさらに、抗AMHR-IIヒト抗体を包含する。「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有するもの、及び/又は本明細書に開示されているヒト抗体を作製する為の技術のいずれかを使用して作製されているものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特異的に除外する。ヒト抗体は、当技術分野において知 50

られている様々な技術を使用して生成されることができる。一つの実施態様において、該ヒト抗体は、ファージライブラリから選択され、ここで、そのファージライブラリはヒト抗体を発現する(Vaughan et al. *Nature Biotechnology* 14:309-314 (1996); Sheets et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95:6157-6162 (1998); Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581 (1991))。ヒト免疫グロブリン遺伝子座をトランスジェニック動物、例えば、内因性免疫グロブリン遺伝子が部分的に又は完全に不活性化されているマウス、に導入することによって、ヒト抗体がまた作製されることができる。挑戦に応じて、ヒトの抗体産生が観察され、それは、遺伝子の再配列、組み立て(assembly)、抗体レパートリー(antibody repertoire)を包含する、あらゆる観点においてヒトで見られるものとよく似ている。このアプローチは例えば、米国特許第5,059,059号明細書；米国特許第5,545,806号明細書；米国特許第5,569,825号明細書；米国特許第5,625,126号明細書；米国特許第5,633,425号明細書；米国特許第5,661,016号明細書、並びに、下記の科学出版物：Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368:856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-13 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14:845-51 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology* 14:826 (1996); Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995)。代替的には、ヒト抗体は、標的抗原に対して向けられた抗体を産生するヒトBリンパ球の不死亡(immortalization)を介して調製されうる(そのようなBリンパ球は、個体から回収されうるか、又はイン・ビトロ(in vitro)で免疫されている可能性がある)。例えば、Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., *J. Immunol.* 147 (1):86-95 (1991); 及び、米国特許第5,750,373号明細書を参照。

10

20

30

40

【0062】

本明細書において使用される語「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られた抗体を云い、すなわち、個々の抗体は、少量で存在しうる天然に発生するあるいは突然変異又は代替の翻訳後修飾を除いて同一である集団を構成する。異なる決定基(determinants)(エピトープ)に対して向けられている異なる抗体を典型的に包含する慣用的な(ポリクローナル)抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体は非常に特異的であり、ここで、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して向けられている。それらの特異性に加えて、該モノクローナル抗体は、それらが異なる特異性及び特徴を有する他の免疫グロブリンによって汚染されていない、均質な培養によって合成されるという点で有利である。例えば、本発明に従うモノクローナル抗体は、Kohler et al., *Nature* 256:495 (1975)によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製されうるか、又は組換えDNA法によって作製されうる(例えば、米国特許第4,816,567号を参照)。「モノクローナル抗体」はまた、例えば、Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)又はMarks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991)において記載された技術を使用して、ファージ抗体ライブラリーから単離されうる。

【0063】

本明細書において使用される場合、「抗体突然変異体」(antibody mutant)又は「抗体変異体」(antibody variant)は、種依存性抗体のアミノ酸残基の1以上が修飾されているところの該種依存性抗体のアミノ酸配列変異体を云う。そのような変異体は、必然的に、種依存性抗体と100%未満の配列同一性又は類似性を有するが、本発明に従う抗体のCDRと100%の配列同一性を有するCDRを維持し、本発明において、抗体は、

(a) 重鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：3として記載された配列を有するH-CDR1；

配列ID番号：4として記載された配列を有するH-CDR2；及び、

配列ID番号：5として記載された配列を有するH-CDR3；

50

を含む、
並びに、

(b) 軽鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：8として記載された配列を有するL-CDR1；

配列ID番号：9として記載された配列を有するL-CDR2；及び、

配列ID番号：10として記載された配列を有するL-CDR3

からなる群から選択される少なくともCDRを含む、

を含む。

【0064】

これらの配列は、下記に示されている。

配列ID番号：3(H-CDR1)：GFTFSNNAMN

配列ID番号：4(H-CDR2)：YISGSSRYIS

配列ID番号：5(H-CDR3)：SSDDYFGGGMDV

配列ID番号：8(L-CDR1)：AGTSSDVGGDNDVS

配列ID番号：9(L-CDR2)：YDSYRPS

配列ID番号：10(L-CDR3)：SSSTYYSTRV

【0065】

本明細書において言及されている配列に関する同一性又は類似性は、本明細書において、最大パーセントの配列同一性を達成する為に、配列を整列させ、そして必要に応じて、ギャップを導入した後に、同一(すなわち、同じ残基)又は類似(すなわち、共通の側鎖特性に基づく同じ基のアミノ酸残基、以下を参照)である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。可変ドメインの外側の抗体配列内へのN末端、C末端、又は内部の拡張、削除又は挿入のいずれも、配列の同一性又は類似性に影響を与えると解釈されてはならない。

【0066】

本発明に従う競合抗体は、抗ミューラーホルモン(AMH)と同じエピトープにおいてAMHR-IIの結合を競い合う抗体を意味する。

【0067】

「アンタゴニスト抗体」は、AMHR-IIの活性化を阻害することができる抗体分子、特にAMHR-IIに対するAMHの相互作用によって活性化される1以上のシグナル経路をトリガーすることを阻害することができる抗体分子、を意味する。

【0068】

本明細書において使用される「抗体重鎖」は、それらの天然に生じる立体配座(conformations)において全ての抗体分子中に存在する2つのタイプのポリペプチド鎖のうちの大きい方を云う。

【0069】

本明細書において使用される「抗体軽鎖」は、それらの天然に生じる立体配座において全ての抗体分子中に存在する2つのタイプのポリペプチド鎖のうちの小さい方を云い、κ及びλ軽鎖は、2つの主要な抗体軽鎖アイソタイプを云う。

【0070】

本明細書で使用される場合、語「相補性決定領域」、すなわち「CDR」(complementarity determining region)、は、特定の抗原を認識し且つ該特定の抗原に結合する抗体の2つの可変鎖(重鎖及び軽鎖)の一部を云う。該CDRは可変鎖の中で最も可変な部分であり、且つ抗体にその特異性を提供する。可変重(VH: variable heavy)鎖と可変軽(VL: variable light)鎖のそれぞれに3つのCDRがあり、従って、抗体分子ごとに合計6つのCDRがある。該CDRは主に、抗原のエピトープへの結合に関与する。各鎖のCDRは典型的に、CDR1、CDR2及びCDR3と云われ、N末端から順番に番号が付けられ、且つ典型的に、特定のCDRが配置されている鎖によってまた識別される。従って、VHCDR3は、それが見つけられた抗体の重鎖の可変ドメイン中に位置し、一方、VLCDR1は、それが見つけられた抗体の軽鎖の可変ドメインからのCDR1である。LHRを結合する抗

10

20

30

40

50

体は、特定のVH領域の配列及びVL領域の配列、従って、特定のCDR配列を有するであろう。異なる特異性(すなわち、異なる抗原の異なる結合部位)を持つ抗体は、異なるCDRを有する。抗体ごとに異なるのはCDRであるが、CDR内の限られた数のアミノ酸位置のみが抗原結合に直接関与している。該CDR内のこれらの位置は、特異性決定残基(SDRs: specificity determining residues)と呼ばれる。

【0071】

「フレームワーク領域」(Framework regions)(以下、FR)は、CDR残基以外のこれらの可変ドメイン残基である。各可変ドメインは典型的に、FR1、FR2、FR3及びFR4として識別される4つのFRを有する。

【0072】

語「処置」又は「治療」は、本発明に従う疾病、状態の症状を、治癒する(cure)、いやす(heal)、緩和する(alleviate)、和らげる(relieve)、改変する(alter)、治療する(remedy)、改善する(ameliorate)、向上させる(improve)、若しくは影響を与える(affect)こと、又は症状、合併症、病気の生化学的兆候の発症を予防若しくは遅延させる為に、又はさもなくば、統計的に有意な様式において、疾患、状態又は障害のさらなる発症を阻止又は阻害する。

【0073】

本発明に従うと、語「患者」又は「それを必要とする患者」は、本明細書において定義されている疾病、特に、AMHR-IIと抗ミューラーホルモン(AMH)との間の相互作用から生じる疾病、に罹患している、又は罹患する可能性が高いヒト若しくは非ヒト哺乳動物が意図されている。

【0074】

本明細書において、「予防する」とは、現象の発現のリスクを低減することを意味する。

【0075】

本発明に従う抗体は特に、治療有効量で使用される。本発明の抗体の「治療的に有効な量」とは、あらゆる医学的処置に適用可能な合理的な利益/リスク比で、考慮される疾病を処置する為に十分な量の抗体を意味する。同じことが、本発明に従う組成物及び/又は細胞に変異変異体を適用する。しかしながら、本発明の抗体、細胞及び組成物の毎日の総使用量は、健全な医学的判断の範囲内で主治医によって決定されることが理解されるであろう。特定の任意の患者に対する特定の治療上有効な用量レベルは、様々な因子、例えば、処置される障害及び障害の重症度；使用される特定の抗体の活性；使用される特定の組成物；使用される特定の細胞；患者の年齢、体重、一般的な健康状態、性別及び食事；投与時間、投与経路、及び使用された特定の抗体の排出速度；治療期間；使用される特定の抗体と組み合わせる又は同時に使用される薬物；医療分野で周知である同様の因子、を包含する様々な因子、に依存するであろう。例えば、所望の治療効果を達成する為に必要とされるレベルよりも低いレベルで化合物の用量を開始し、そして、所望の効果が達成されるまで用量を徐々に増加させることは、当技術分野において周知である。

【0076】

本明細書において使用される場合、2つのアミノ酸配列の間のパーセント同一性は、ALIGNプログラム内に組み込まれているE. Meyers and W. Miller (Comput. Appl. Biosci., 4:1 1-17, 1988)のアルゴリズムを使用して、PAM120重量残差テーブル、ギャップ長ペナルティの12、ギャップペナルティの4を使用し決定されることができる。加えて、2つのアミノ酸配列の間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ中のGAPプログラムに組み込まれているNeedlemanとWunsch(J. Mol. Biol., 48:444-453, 1970)アルゴリズム(<http://www.gcg.com>で入手可能)を使用して、Blossom 62マトリックス又はPAM250マトリックスのいずれか、並びに、16, 14, 12, 10, 8, 6又は4のギャップ重み及び1, 2, 3, 4, 5又は6の長さ重みを使用し決定されることができる。

【0077】

10

20

30

40

50

本発明に従う「非免疫原性」は、特定の実施態様において、本発明に従う抗体が、機能的免疫系を有する動物において、体液性又は細胞性免疫応答、好ましくはそれらの両方、を誘発することができないことを意味する。従って、本発明に従う抗体は、Fc受容体を結合することができない可能性がある。そのような抗体は、「Fcγアブレーション変異体」(Fcγ ablation variants)または「Fcノックアウト」(Fc knock out) (FcKO又はKO) 変異体と呼ばれることができる。事実、そのような変形は、1以上又は全てのFcγ受容体(例えば、FcγR1、FcγRIIa、FcγRIIb、FcγRIIIa等)へのFcドメインの通常の結合を取り除く為に修正される。そのような抗体変異体を得る為の方法は、例えば、Yamane-Ohnuki et al. (Biotechnol Bioeng 2004 ; 87(5) : 614-622) 及びSato et al. (Expert Opin Biol Ther 2006 ; 6(11) : 1161-1173)に示されているように、当技術分野において周知である。 10

【0078】

代わりに、有利な実施態様において、AMHR-IIに結合する為の本発明の抗体の能力のみ、及びAMHと競合してAMHR-IIに結合する為の本発明の抗体の能力のみ、且つAMHR-IIへのAMHの結合によって活性化される細胞シグナル伝達経路に拮抗する為の本発明の抗体の能力のみに、多くの能力が必要である。

【0079】

本明細書で使用される場合、「婦人科」癌は特に、卵巣癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、妊娠性絨毛疾患癌(gestational trophoblastic disease cancer)(絨毛癌)、子宮肉腫、膣癌、外陰部癌、及び卵管癌(Fallopian tube cancer)からなる群において選択される。 20

【0080】

AMHR-IIは、婦人科及び非婦人科の癌組織の細胞膜で、並びに本明細書において記載されている様々な非癌性疾患の組織の細胞膜で発現し、ここで、可変頻度は、考慮される癌/疾患に応じて異なる。実例として、AMHR-IIは、頭頸部癌に冒された患者に由来する腫瘍組織に由来する癌細胞よりも、結腸直腸癌に冒された患者に由来する腫瘍組織に由来する癌細胞によってより頻繁に発現される。これは、これら2種類の癌が、AMHR-IIを標的とする抗癌処置の為に適格であることを意味し、しかし、そのような抗癌処置は、頭頸部癌に冒された患者を処置する為にあまり関連しない。

【0081】

本明細書に記載されている任意の疾患は、本発明に従うAMHR-II結合抗体又はそのフラグメントによって処置されうる。但し、該疾患由来の疾患細胞は、それらの膜でAMHR-IIを発現し、従って、疾患細胞膜でのAMHR-IIタンパク質の存在が、当技術分野において周知の任意の方法に従って検出され又は決定されることができる。 30

【0082】

従って、本発明に従う抗体又はそのフラグメント、並びに本発明に従う細胞及び/又は組成物は、複数の異なる種類の疾患、特に異なる種類の腫瘍、を処置する為に有効であり、但し、AMHR-II標的タンパク質は疾患細胞膜で発現される。

【0083】

ところで、特に、標的結合分子からなる抗癌活性成分の分野において、例えば、標的結合抗体において、同じ有効成分が複数の異なる癌を処置する為に有効であるという状況は前例のないことではない。実例として、ペンブロリズマブと名付けられた抗PD1抗体は、様々な異なる種類の癌の処置において有用な有効成分として米国食品医薬品局(FDA : US Food and Drug Administration)によって認可されており、但し、該癌は、同じ生理学的特徴を共有する。同じことが、癌とは異なる本発明に従う疾患に関して当てはまる。 40

【0084】

従って、疾患に冒された個体は、該個体から以前に集められた疾患細胞によるAMHR-II膜発現が適切な方法によって検出され又はさもなければ決定される場合、本明細書において記載されたAMHR-II結合剤を用いて該疾患の為に処置されうる。 50

【0085】

幾つかの実施態様において、疾病細胞の細胞膜でのAMHR-IIの発現は、該疾病細胞が、所与の定量化可能なレベルで又は該定量化可能なレベルよりも高いレベルでAMHR-IIを発現することを包含する。

【0086】

従って、幾つかの実施態様に従うと、本発明の抗体又はそのフラグメントでの処置に対する本発明に従う疾病に冒された個体の応答性は、上記の個体から以前に集められたサンプルからの疾病細胞がそれらの膜でAMHR-IIを発現するかどうかを決定することによって評価されうる。

【0087】

幾つかの実施態様に従うと、本発明に従う抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物での処置に対する本発明に従う疾患に冒された個体の応答性は、上記の個体から以前に集められたサンプルからの疾病細胞がそれらの膜で、決定された閾値を超えてAMHR-IIを発現するかどうかを決定することによって評価されうる。

【0088】

発明に従う抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物での処置に対する本発明に従う疾患に冒された患者の応答性を決定する為の幾つかの実施態様において使用され得るAMHR-II膜発現レベルは、様々な技術で評価され得、それは、(i)疾病サンプルの膜でAMHR-IIを発現する該疾病サンプルに含まれる疾病の細胞のパーセンテージ、(ii)疾病細胞膜でのAMHR-IIタンパク質の平均数、並びに、(iii)試験された疾病細胞サンプル中に含まれる該疾病細胞のFACS AMHR-IIシグナルプロファイルを包含する。

【0089】

幾つかの実施態様に従うと、本発明に従う疾病に冒された個体について以前に集められた腫瘍サンプル中に含まれる疾病細胞は、膜性AMHR-IIが上記の疾病サンプル中に含まれる該疾病細胞の5%以上で検出される場合に、AMHR-IIを発現すると評価されうる。

【0090】

従って、幾つかの実施態様において、本発明に従う疾病に冒された個体は、上記の個体から以前に収集された疾病サンプル中に含まれる該疾病細胞の5%以上がそれらの膜でAMHR-IIを発現する場合に、本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物での処置に

【0091】

膜AMHR-IIタンパク質を発現する疾病細胞の頻度(例えば、パーセンテージ)、特に癌細胞の頻度、を決定する為の方法は、当技術分野において周知である(例えば、国際公開第WO2018/189379号パンフレットを参照)。

【0092】

幾つかの実施態様に従うと、本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物による疾病処置に対する本発明に従う疾患に冒された患者の応答性は、該患者から以前に集められた疾病サンプル中に含まれる疾病細胞の膜に存在するAMHR-IIタンパク質の平均数を決定することによって評価されうる。

【0093】

幾つかの実施態様において、患者から以前に集められた疾病サンプル中に含まれる疾病細胞によって発現される膜AMHR-IIタンパク質の平均数が10000のAMHR-IIタンパク質以上である場合に、本発明に従う疾病に冒された患者は、本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物による処置に対する応答性として分類されうる。

【0094】

疾病細胞膜で発現されるAMHR-IIタンパク質の数の評価は、(a)患者から以前に集められた疾病組織サンプルからの細胞を含むサンプルを、AMHR-IIタンパク質、例えば、蛍光標識された抗AMHR-II抗体、と特異的に結合する検出可能な化合物とインキュベートする工程、及び更に、(b)上記の検出可能な化合物の数、例えば、上記のサンプルから

10

20

30

40

50

の各試験細胞に結合した、蛍光的に標識化された抗AMHR-II抗体の数、を決定する工程、を含む慣用的な方法を使用することによって行われうる。疾病細胞膜で発現されるAMHR-IIタンパク質の数の評価は例えば、本明細書の実施例において示されているように、周知の蛍光活性化セルソーティング(FACS: Fluorescence Activated Cell Sorting)技術を使用することによって行われることができる。

【0095】

なお他の実施態様において、患者から以前に集められた疾病サンプル中に含まれる疾病細胞中のAMHR-II FACSプロファイルの分析により、疾病に冒された患者は、本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物による処置に対する応答性として分類されうる。

10

【0096】

これらのなお他の実施態様において、蛍光活性化セルソーティング(FACS)の方法において、(ii)アイソタイプの蛍光標識化抗体とインキュベーションされた疾病細胞から得られた平均蛍光強度(MFI)値に対する(i)抗AMHR-II蛍光標識化抗体とインキュベーションされた疾病細胞の平均蛍光強度(mean fluorescence intensity)の比が1.5以上である場合に、本発明に従う疾病に冒された患者は、本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物に従う処置に対する応答性として分類されうる。

【0097】

上記の平均蛍光強度比を決定する為に、アイソタイプ抗体と抗AMHR-II抗体との両方が、同じ蛍光剤、例えば、国際公開第WO2018/189379号パンフレットに示されているように、Thermo Fisher Scientific社によって商品化されたAlexa Fluor 488染料、で標識化される。

20

【0098】

幾つかの更なる実施態様において、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による処置に対する疾患個体の応答性は、(i)AMHR-II結合剤で処置される可能性のある疾病に由来する膜AMHR-II発現疾病細胞と、(ii)AMHR-II結合剤で処置されない可能性のある疾病に由来する膜AMHR-II発現疾患細胞とを区別することを可能にするAMHR-II発現スコアを計算することによって決定されうる。

【0099】

従って、本発明者等は、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による疾病処置に特に適格である、本明細書の疾病に冒された患者が、破壊されるべき関連する細胞標的からなることについて十分に高いレベルで細胞膜でAMHR-IIを発現する疾病を有する患者を包含すると決定した。

30

【0100】

次に、これらの更なる実施態様に従うと、本発明者等は、疾病患者からの疾病細胞サンプルにおいて測定された最小のAMHR-II発現レベルが、該患者が本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による処置に応答性であることを確認し得、従って、該患者は、本明細書に記載された抗体、細胞又は組成物によって処置されうる。

【0101】

従って、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による処置に対する、疾病に冒された個体の応答性がまた、該個体から以前に集められたサンプル中に含まれる疾病細胞によるAMHR-II発現レベルが、(i)膜性AMHR-IIを発現する疾病細胞の頻度、例えば、それらの膜でAMHR-IIを発現する腫瘍細胞のパーセンテージ、及び、(ii)該疾病細胞によるAMHR-II膜発現のレベル、例えば、1細胞当たりの膜性AMHR-IIタンパク質の平均数、の両方を決定することによって評価される場合に決定されうる。

40

【0102】

従って、これらの更なる実施態様の幾つかにおいて、本発明に従う疾病に冒された患者から以前に集められた疾病細胞のサンプルにおける、本発明の抗体若しくはそのフラグメ

50

ント、又は本発明の細胞若しくは組成物に対する、該患者の応答性は、(i)該サンプル中に含まれる疾病細胞が、それらの膜で最小の平均数のヒトAMHR-IIタンパク質を示すこと、及び、(ii)それらの膜でヒトAMHR-IIを発現する細胞の頻度、例えば、それらの膜でヒトAMHR-IIを発現する細胞のパーセンテージが、少なくとも閾値であること、を決定することによって評価されうる。

【0103】

従って、(i)本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による疾病処置に適格ではない疾病患者、すなわち、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による疾病処置に反応性でない疾病、と、(ii)本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による疾病処置に適格である疾病患者、すなわち、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物に従う疾病処置に反応性である疾病患者、とを区別することを可能にする特定のAMHR-II発現スコア値を決定する為にまた使用されうる更なる方法が本明細書にまた記載されている。

10

【0104】

本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物による処置に対する本発明による疾患に冒された個体の応答性を決定する上記の実施態様に従うと、膜状AMHR-II発現スコア(membranous AMHR-II expression score)は、本発明の細胞サンプルの所与の疾病について、(i)該疾病細胞サンプル中のAMHR-II発現細胞の頻度と、(ii)該AMHR-II発現細胞によるAMHR-II発現のレベルの両方を考慮することによって決定される。典型的には、所与の疾病細胞サンプルのAMHR-II発現スコアは、下記の式(1)によって決定されることができる：

20

$$E\text{-SCORE} = \text{FREQ} \times \text{AMHR-II_LEVEL},$$

ここで、

E-SCOREは、所与の疾病細胞サンプルについてのAMHR-II発現スコア値を意味し、

FREQは、膜AMHR-II発現が検出される上記癌細胞サンプル中に含まれる細胞の頻度を意味し、及び

AMHR-II_LEVELは、上記所与の疾病細胞サンプル中に含まれるAMHR-II-発現細胞によるAMHR-IIの発現レベルを意味する。

【0105】

例示的に、1.0のE-SCOREは、本発明の細胞サンプルに従って所与の癌について決定され、ここで、(i)該細胞の50%がAMHR-II(0.5のFREQ値)を発現し、且つ(ii)AMHR-II発現レベル(AMHR-II_LEVEL)が2である。

30

【0106】

特定の実施態様において、AMHR-II発現スコア(すなわち、E-SCORE)は、免疫組織学的方法によって決定される。これらの実施態様に従うと、AMHR-II膜発現は、AMHR-IIに特異的な検出可能な抗体を使用することによって、並びに、(i)該抗AMHR-II抗体がそれに結合しているところの細胞の頻度を決定することによって、及び(ii)膜発現AMHR-IIへのその結合後に該検出可能な抗AMHR-II抗体によって生成されるシグナルの強度を決定することによって、評価される。そのような方法において、AMHR-IIに特異的な上記の抗体は、例えば、本発明に従う抗体であることができる。

40

【0107】

従って、上記の方法の実施態様に従って、本明細書に記載された疾病に罹患した患者であって、本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物を用いて疾病に対して処置されうる該患者は好ましくは、AMHR-II発現スコアが1.0以上であることが決定されているものであり得、それは、AMHR-II発現スコアが1.5以上であるものが決定されているものを包含する。

【0108】

ただし、AMHR-IIの発現スコアが1.5以上のAMHR-IIを発現する疾病細胞は、様々な疾病、特に様々な癌、について、頻度は異なるけれども、測定されている。実例として、

50

本発明者等は、結腸腫瘍に由来する癌細胞が、頭頸部癌に由来する癌細胞よりも高い頻度で、AMHR-II陽性(すなわち、1.5以上のAMHR-IIスコアを有する)として分類されることを本明細書において示した。

【0109】

AMHR-II膜発現のレベルを決定する為に、細胞膜でのAMHR-IIの検出は、最も好ましくは、AMHR-IIに対して高い親和性且つ高い特異性を有する抗AMHR-IIモノクローナル抗体を使用することによって行われなければならない。

【0110】

更に、AMHR-IIスコアを決定するという観点からの免疫組織化学的方法によるAMHR-II発現の決定は、最も好ましくは、組織サンプルを適切な検出試薬(例えば、AMHR-IIに結合する為の55.3pMのKd値を有する高親和性抗AMHR-IIモノクローナル抗体、例えばモノクローナル3C23K抗体)と接触させる前に、該組織サンプルの注意深い前処理を伴う。サンプルの前処理は、細胞表面で発現されるAMHR-II分子の検出試薬に対する利用可能性を高めることを可能にする。実例として、染色法は、特定の工程の適切な組み合わせ、例えば、(i)マイクロ波源への暴露による高温脱ろう(temperature dewaxing)、及び(ii)AMHR-II結合性試薬、例えば、その後のストレプトタビジンとコンジュゲーションされた検出可能な試薬と複合体を形成しうるビオチン化された抗AMHR-II抗体、の結合によって生成されるシグナル(signal)を増幅する為の系を含む。前処理の脱ろう工程は、前の組織固定工程による検出信号の消滅効果(extinction effect)を逆転させる為に重要であるように思われる。本発明者等は、AMHR-IIの検出可能性が、上記の組織固定工程の為に使用されるホルマリンの作用に特に敏感であることを示した。

【0111】

本発明の文脈において、これは、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物が、頭頸部癌に冒された患者を処置するよりも、結腸癌に冒された患者を処置する為のより高い頻度を有する有用な治療薬であることを意味する。これはまた、本発明の抗体、又は本発明の細胞若しくは組成物が、頭頸部癌に冒された患者を治療するための適切な治療薬でありうるけれども、特定の患者が本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の細胞若しくは組成物を投与されるかを決定する為に、腫瘍由来の癌細胞のAMHR-II発現について、予め試験することが好ましいであろう。

【0112】

従って、本発明者等は、AMHR-IIを標的とするが、アンタゴニスト効果を有するだけでなく、AMHR-IIへの結合についてAMHと競合するところの本発明の抗体が、AMHR-IIと抗ミューラーホルモン(AMH)との相互作用から生じる疾病、特に本明細書において言及されている疾病、を予防又は処置する為の新規な治療ツールとして有用であることを本明細書内で示した。

【0113】

本発明のAMHR-II結合性抗体

前述されている通り、本発明の第1の目的は、AMHR-IIの細胞外ドメインに特異的に結合するアンタゴニスト抗体又はそのフラグメントである。

【0114】

特に、上記のアンタゴニスト抗体又はそのフラグメントは、競合的アンタゴニスト抗体である。

【0115】

より特には、本発明の競合的アンタゴニスト抗体は、

(a) 重鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：3として記載された配列を有するH-CDR1；

配列ID番号：4として記載された配列を有するH-CDR2；及び、

配列ID番号：5として記載された配列を有するH-CDR3；

を含む、

並びに、

(b) 軽鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：8として記載された配列を有するL-CDR1；

配列ID番号：9として記載された配列を有するL-CDR2；及び、

配列ID番号：10として記載された配列を有するL-CDR3

からなる群から選択される少なくともCDRを含む、

を含む。

【0116】

本発明に従う抗体の重鎖可変領域は特に、配列ID番号：2として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有し；

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

10

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0117】

配列ID番号：2は、下記のアミノ酸配列に対応する。

EVQLVESGGSLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNNAMNWVRQAPGKGLEWISYISGSSRY
ISYADFKVGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRSSDDYFGGGMVDWGR
GTLVTVSS

【0118】

より特には、本発明に従う抗体の重鎖可変領域は、配列ID番号：2として記載された配列と少なくとも90%の同一性を有することができ；

20

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0119】

特定に実施態様において、本発明に従う抗体の重鎖可変領域は、配列ID番号：2として記載された配列と、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を有することができ；

30

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0120】

より特定の実施態様において、本発明に従う抗体の重鎖可変領域は、配列ID番号：2として記載された配列を有する。

【0121】

特定に実施態様において、本発明に従う抗体の重鎖は、配列ID番号：1として記載された配列と少なくとも85%同一性を有し；

40

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0122】

配列ID番号：1は、下記のアミノ酸配列に対応する。

EVQLVESGGSLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNNAMNWVRQAPGKGLEWISYISGSSRY
ISYADFKVGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRSSDDYFGGGMVDWGR
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT

50

HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
【0123】

より特には、本発明に従う抗体の該重鎖は、配列ID番号：1として記載された配列と少なくとも90%同一性を有し：

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

10

、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0124】

より特には、本発明に従う抗体の該重鎖は、配列ID番号：1として記載された配列と、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を有することができ：

該H-CDR1は、配列ID番号：3として記載された配列と100%の同一性を有し；

該H-CDR2は、配列ID番号：4として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

20

、
該H-CDR3は、配列ID番号：5として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0125】

より特定の実施態様において、本発明に従う抗体の該重鎖は、配列ID番号：1として記載された配列を有する。

【0126】

本発明に従う抗体の軽鎖可変領域は特に、配列ID番号：7として記載された配列と少なくとも85%の同一性を有し：

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

30

、
該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0127】

配列ID番号：7は、下記のアミノ酸配列に対応する。

QSVLTQPASVSGSPGQSITISCAGTSSDVGGDNDVSWYQQHPGKAPKLMIIYDSYRP
SGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSSTYYSTRVFGGGTKLTVL

【0128】

より特には、本発明に従う抗体の軽鎖可変領域は、配列ID番号：7として記載された配列と少なくとも90%の同一性を有することができ：

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

40

、
該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0129】

特定の実施態様において、本発明に従う抗体の軽鎖可変領域は、配列ID番号：7として記載された配列と、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を有することができ：

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

50

、
該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0130】

より特定の実施態様において、本発明に従う抗体の軽鎖可変領域は、配列ID番号：7として記載された配列を有する。

【0131】

特定の実施態様において、本発明に従う抗体の軽鎖は、配列ID番号：6として記載された配列と少なくとも85%同一性を有し；

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

10

【0132】

配列ID番号：6は、下記のアミノ酸配列に対応する。

QSVLTQPASVSGSPGQSITISCAGTSSDVGGDNDVSWYQQHPGKAPKLMIIYYDSYRP
SGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSSTYYSTRVFGGGTKLTVLGQPKA
APSVTLFPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS
NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

【0133】

より特には、本発明に従う抗体の該軽鎖は、配列ID番号：6として記載された配列と少なくとも90%同一性を有し；

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

20

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0134】

より特には、本発明に従う抗体の該軽鎖は、配列ID番号：6として記載された配列と、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を有することができ；

該L-CDR1は、配列ID番号：8として記載された配列と100%の同一性を有し；

該L-CDR2は、配列ID番号：9として記載された配列と100%の同一性を有し；及び

30

該L-CDR3は、配列ID番号：10として記載された配列と100%の同一性を有する。

【0135】

より特定の実施態様において、本発明に従う抗体の該軽鎖は、配列ID番号：6として記載された配列を有する。

【0136】

本発明の一つの実施態様において、本発明に従う抗体の重鎖可変領域は、配列ID番号：2として記載された配列を有し、且つ該抗体の軽鎖可変領域は、配列ID番号：7として記載された配列を有する。

【0137】

特に、本発明に従う抗体は、該抗体が配列ID番号：1として記載された配列を有する重鎖と、配列ID番号：6として記載された配列を有する軽鎖とを含むようにすることができる。

40

【0138】

一つの実施態様において、本発明に従う抗体又はそのフラグメントは、非免疫原性である。特に、本発明に従う抗体又はそのフラグメントは、Fc受容体に結合することができない可能性がある。

【0139】

前述されている通り、本発明に従う抗体フラグメントは特に、Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、scFv、sc(Fv)₂及び二重特異性抗体からなる群から選択されることができ

50

る。

【0140】

本発明に従う抗体は、当技術分野において知られている任意の技術、例えば、化学的、生物学的、遺伝的又は酵素的技術のいずれか単独で又は組み合わせ、によって製造されることができるがこれらに限定されない。

【0141】

所望の配列のアミノ酸配列を知ることにより、当業者は、ポリペプチドを製造するための標準的な技術によって、該抗体を容易に製造することができる。例えば、周知の固相法を使用して、好ましくは市販のペプチド合成装置(例えば、Applied Biosystems, Foster City, Californiaによって製造されたペプチド合成装置)を使用して、且つ製造者の指示に従って合成されることができる。代替的には、本発明の抗体は、当技術分野において周知の組換えDNA技術によって合成されることができる。例えば、抗体は、抗体をコードするDNA配列を発現ベクター内に組み込み、そのようなベクターを、所望の抗体を発現する適切な真核生物又は原核生物内の宿主に導入した後、DNA発現産物として得ることができ、それから、後に周知の手法を使用してそれらは分離されることができる。

10

【0142】

その上、本発明に従う抗体又はそのフラグメントは、AMHR-IIの細胞外ドメインへの結合について、

(a) 重鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：3として記載された配列を有するH-CDR1；

配列ID番号：4として記載された配列を有するH-CDR2；及び、

配列ID番号：5として記載された配列を有するH-CDR3

を含む、

並びに、

(b) 軽鎖、ここで、該可変ドメインは、

配列ID番号：8として記載された配列を有するL-CDR1；

配列ID番号：9として記載された配列を有するL-CDR2；及び、

配列ID番号：10として記載された配列を有するL-CDR3

からなる群から選択される少なくともCDRを含む、

を含むとして定義されている抗体と、

特に、重鎖可変領域が配列ID番号：2として記載された配列を有し且つ軽鎖可変領域が配列ID番号：7として記載された配列を有するところの抗体と、

より特には、重鎖が配列ID番号：1として記載された配列を有し且つ軽鎖が配列ID番号：6として記載された配列を有するところの抗体と、競合するところの抗体又はそのフラグメントであることができる。

20

30

【0143】

核酸配列

従って、本発明の更なる目的は、本発明に従う抗体又はそのフラグメントをコードする核酸配列に関する。語「核酸」及び「核酸配列」は、本明細書において交換可能に使用される。

40

【0144】

典型的には、該核酸は、DNA又はRNA分子であり、それは、任意の適切なベクター、例えば、プラスミド、コスミド、エピソーム、人工染色体、ファー又はウイルスベクター、中に含まれうる。

【0145】

ベクター

語「ベクター」、語「クローニングベクター」及び語「発現ベクター」は、宿主を形質転換し、そして、導入された配列の発現(例えば、転写及び翻訳)を促進する為に、DNA又はRNA配列(例えば、外来遺伝子)が宿主細胞内に導入されることができる媒体を意味

50

する。

【0146】

従って、本発明の更なる目的は、本発明の核酸を含むベクターに関する。

【0147】

そのようなベクターは、対象への投与に応じて、上記の抗体の発現を引き起こすか又は指示する為に、調節要素、例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーター等、を含みうる。動物細胞についての発現ベクターにおいて使用されるプロモーター及びエンハンサーの例は、SV40の初期プロモーター及びエンハンサー(Mizukami T. et al. 1987)、モロニー(Moloney)マウス白血病ウイルスのLTRプロモーター及びエンハンサー(Kuwana Y et al. 1987)、プロモーター(Mason JO et al. 1985)、並びに免疫グロブリンH鎖等のエンハンサー(Mason JO et al. 1985)を包含する。

10

【0148】

ヒト抗体C領域をコードする遺伝子が挿入され、そして発現されることが出来る限り、動物細胞用の任意の発現ベクターが使用されることが出来る。適切なベクターの例は、pAGE107(Miyaji H et al. 1990)、pAGE103 (Mizukami T et al. 1987)、pHSG274 (Brady G et al. 1984)、pKCR (O'Hare K et al. 1981)、pSG1 beta d2-4-(Miyaji H et al. 1990)等を包含する。

【0149】

プラスミドの他の例は、複製の起点を含む複製プラスミド(replicating plasmids)、又は統合プラスミド、例えばpUC、pcDNA、pBR等、を包含する。

20

【0150】

ウイルスベクターの他の例は、アデノウイルス、レトロウイルス、ヘルペスウイルス及びAAVベクターを包含する。そのような組換えウイルスは、当技術分野において知られている技術によって、例えば、パッケージング細胞(packaging cells)をトランスフェクションすることによって、又はヘルパープラスミド若しくはウイルスによる一過性のトランスフェクションによって、生成されうる。ウイルスパッケージング細胞の典型的な例は、PA317細胞、PsiCRIP細胞、GPenv+細胞、293細胞等を包含する。そのような複製欠損組換えウイルスを産生する為の詳細なプロトコルは例えば、国際公開第WO95/14785号パンフレット、国際公開第WO96/22378号パンフレット、米国特許第US5,882,877号明細書、米国特許第US6,013,516号明細書、米国特許第US4,861,719号明細書、米国特許第US5,278,056号明細書、及び国際公開第WO94/19478号パンフレットにおいて見つけられうる。

30

【0151】

宿主細胞

本発明また、本発明に従う核酸及び/又はベクターによってトランスフェクションされている、感染されている、又は形質転換されている宿主細胞に関する。従って、本発明の更なる目的は、本発明の核酸配列又は本発明のベクターを含む宿主細胞に関する。

【0152】

語「形質転換」は、「外来」(foreign)(すなわち、外因性又は細胞外)遺伝子、DNA配列又はRNA配列の宿主細胞への導入を意味し、その結果、該宿主細胞は、導入された遺伝子又は配列を発現して、所望の物質、典型的には、導入された遺伝子又は配列によってコードされるタンパク質又は酵素、特に本発明の抗体又はそのフラグメント、を生成する。導入されたDNA又はRNAを受け取り、そして発現するところの宿主細胞が「形質転換」されている。

40

【0153】

本発明の核酸は、適切な発現系において、本発明の抗体又はそのフラグメントを生成する為に使用されうる。語「発現系」は、適合性ベクター(compatible vector)によって運ばれ、宿主細胞内に導入された外来DNA(foreign DNA)によってコードされたタンパク質の発現の為の、適切な条件下での宿主細胞及び適合性ベクターを意味する。

【0154】

50

一般的な発現系は、大腸菌(*E. coli*)宿主細胞及びプラスミドベクター、昆虫宿主細胞及びバキュロウイルス(*Baculovirus*)ベクター、並びに哺乳類宿主細胞及びベクターを包含する。宿主細胞の他の例は、原核細胞(例えば、細菌)及び真核細胞(例えば、酵母細胞、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞等)を包含するが、これらに限定されない。具体的な例は、大腸菌(*E. coli*)、クリベロマイセス(*Kluyveromyces*)酵母又はサッカロマイセス(*Saccharomyces*)酵母、哺乳動物細胞株(ベロ(*Vero*)細胞、CHO細胞、3T3細胞、COS細胞等)、並びに、初代哺乳動物細胞培養物若しくは確立された哺乳動物細胞培養物(例えば、リンパ芽球、線維芽細胞、胚細胞、上皮細胞、神経細胞、脂肪細胞等から生成される)を包含する。例は、マウスSP2/0-Ag14細胞(ATCC CRL1581)、マウスP3X63-Ag8.653細胞(ATCC CRL1580)、ジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子(*dihydrofolate reductase gene*)(以下「DHFR遺伝子」と呼ばれる)が欠損しているCHO細胞(Urlaub G et al.; 1980)、ラットYB2/3HL.P2.G11.16Ag.20細胞(ATCC CRL1662, 以下、「YB2/0細胞」と呼ばれる)等を包含する。

【0155】

イムノコンジュゲート(Immunoconjugates)

本発明の別の目的は、治療薬に連結された本発明の抗体又はそのフラグメントを含むイムノコンジュゲートに関する。

【0156】

本発明に従う抗体は、事実、細胞毒性剤(*cytotoxic agent*)、例えば、化学療法剤、毒素(例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素的に活性な毒素、若しくはそれらのフラグメント)、又は放射性同位体(すなわち、放射性コンジュゲート(*radio conjugate*))、にコンジュゲーションされることができる。そのような抗体コンジュゲートは、PCT出願 国際公開WO2017/025458号パンフレットに記載されているものを包含する。

【0157】

細胞毒性剤は、酵素的に活性な毒素を含む。使用されることができる酵素的に活性な毒素及びそのフラグメントは、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性フラグメント、エキソトキシンA鎖(緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)由来)、リシン(*ricin*)A鎖、アブリン(*abrin*)A鎖、モデシン(*modeccin*)A鎖、アルファサルシン(*alpha-sarcin*)、シナアブラギリ(*Aleurites fordii*)タンパク質、ジアンチン(*dianthin*)タンパク質、ヨウシュヤマゴボウ(*Phytolacca americana*)タンパク質(PAPI、PAPII、及びPAP-S)、ツルレイシ(*Momordica charantia*)阻害剤、クルシン(*curcin*)、クロチン(*croton*)、サボンソウ(*Saponaire officinalis*)阻害剤、ゲロニン(*gelonin*)、ミトゲリン(*mitogellin*)、レストリクトシン(*restrictocin*)、フェノマイシン(*phenomycin*)、エノマイシン(*enomycin*)、及びトリコテセン(*trichothecens*)を包含する。

【0158】

様々な放射性核種が、放射性コンジュゲート(*radioconjugate*)抗体の製造の為に利用可能である。

【0159】

抗体と細胞毒性剤とのコンジュゲーションは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤(*bifunctional protein coupling agents*)、例えばPCT国際出願 国際公開WO2017/025458号パンフレットに開示されている二官能性タンパク質カップリング剤、を使用して作製されることができる。

【0160】

本発明に従うイムノコンジュゲートは特に、抗体-薬物複合体(ADC: *antibody-drug conjugate*)でありうる。

【0161】

抗体薬物コンジュゲート(ADC)

別の観点において、本発明は、抗AMHR-II抗体薬物コンジュゲート、特に抗ヒト-AMHR-II抗体薬物コンジュゲート、より特には、抗ヒト-AMHR-IIモノクローナル抗体薬

物コンジュゲート、を提供する。

【0162】

本発明に従う抗AMHR-II抗体薬物コンジュゲートは、癌の処置において、特に本明細書において言及されている癌の処置、において使用されることを意図されている。

【0163】

本明細書において使用される「抗AMHR-II抗体薬物コンジュゲート」は、治療薬にコンジュゲーションされた本発明に従う抗AMHR-II抗体又はそのフラグメントを云う。

【0164】

そのような抗ヒトAMHR-II抗体薬物コンジュゲート(ADC)は、対象、特にAMHR-II発現性癌(AMHR-II-expressing cancer)の対照、に投与された場合に、典型的には単独で投与された場合だけでなく、他の治療薬と組み合わせて投与された場合でも、AMHR-II発現性細胞(AMHR-II-expressing cells)に対して臨床的に有益な効果をもたらす。

【0165】

典型的な実施態様において、本発明の抗体は、細胞毒性剤にコンジュゲーションされることができ、その結果、結果として得られる抗体薬物コンジュゲート(ADC)は、細胞によって取り込まれるか又は内在化された場合に、AMHR-II発現癌細胞に対して細胞毒性効果又は細胞分裂停止効果を発揮する。抗体への結合に特に適した部分(治療薬)は、化学療法剤、プロドラッグ転化酵素、放射性同位体若しくは化合物、又は毒素である。例えば、抗AMHR-II抗体又はそのフラグメントは、細胞毒性剤、例えば化学療法剤又は毒素(例えば、細胞分裂停止剤又は細胞殺傷剤(cytocidal agent)、例えば、アブリン、リシンA、緑膿菌外毒素(pseudomonas exotoxin)、又はジフテリア毒素)にコンジュゲーションされることができる。

【0166】

細胞毒性剤の有用なクラスは例えば、抗チューブリン剤、アウリスタチン(auristatin)s)、DNA副溝結合剤(minor groove binders)、DNA複製阻害剤、アルキル化剤(例えば、白金錯体、例えば、シス-白金錯体、単(白金)錯体、ビス(白金)錯体、及び三核白金錯体(tri-nuclear platinum complexes)、及びカルボプラチン)、アントラサイクリン、抗生物質、葉酸代謝拮抗剤、代謝抑制剤、化学増感剤、デュオカルマイシン、エトポシド、フッ素化ピリミジン、イオノフォア(ionophores)、レキシトロプシン、ニトロソ尿素、プラチノール、予備形成化合物(pre-forming compounds)、プリン代謝物、ピューロマイシン、放射線増感剤、ステロイド、タキサン、トポイソメラーゼ阻害剤、ピンカルカロイド等、を包含する。

【0167】

個々の細胞毒性剤は例えば、アンドロゲン、アントラマイシン(AMC)、アスパラギナーゼ、5-アザシチジン、アザチオプリン、ブレオマイシン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシミン、カンプトテシン、カルボプラチン、カルムスチン(BSNU)、CC-1065(Li et al., Cancer Res. 42: 999-1004, 1982)、クロランブシル、シスプラチン、コルヒチン、シクロホスファミド、シタラビン、シチジンアラビノシド、サイトカラシンB、ダカルバジン、ダクチノマイシン(以前のアクチノマイシン)、ダウノルピシン、デカルバジン、ドセタキセル、ドキソルピシン、エストロゲン、5-フルオロデオキシウリジン、リン酸エトポシド(etoposide phosphate)(VP-16)、5-フルオロウラシル、グラミシジンD、ヒドロキシ尿素、イダルビシン、イフォスファミド、イリノテカン、ロムスチン(CCNU)、メクロレタミン、メルファラン、6-メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトラマイシン、ミトマイシンC、ミトキサントロン、ニトロイミダゾール、パクリタキセル、プリカマイシン、プロカルバジン、ストレプトゾトシン、テノポシド(VM-26)、6-チオグアニン、チオTEPA、トポテカン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、及びビノレルピンを包含する。

【0168】

特に適切な細胞毒性剤は例えば、ドラスタチン(例えば、アウリスタチン(auristatin) E、AFP、MMAF、MMAE)、DNA副溝結合剤(例えば、エンジン及びレキシトロプシン(lexitropsins))、デュオカルマイシン、タキサン(例えば、パクリタキセル及びドセタキセル)、ピューロマイシン、ピンカアルカロイド、CC-1065、SN-38(7-エチル-10-ヒドロキシ-カンブトテイン)、トボテカン、モルホリノ-ドキソルピシン、リゾキシシン、シアノモルホリノ-ドキソルピシン、エキノマイシン、コンプレタスタチン、ネトロプシン、エポチロンA及びB、エストラムスチン、クリプトフィシン(cryptophysins)、セマドチン、マイタンシノイド(maytansinoids)、ディスコデルモリド(discodermolide)、エリユテロビン(eleutherobin)、及びミトキサントロン(mitoxantrone)を包含する。

10

【0169】

或る実施態様において、細胞毒性剤は、慣用的な化学療法剤、例えば、ドキソルピシン、パクリタキセル、メルファラン、ピンカアルカロイド、メトトレキサート、マイトマイシンC、又はエトポシド等、である。加えて、強力な剤(potent agents)、例えば、CC-1065類似体、カリケアマイシン、メイタンシン、ドラスタチン10の類似体、リゾキシシン、パリトキシシン、が抗HER3発現抗体に結合されることができる。

【0170】

特定の変形例において、細胞毒性剤又は細胞分裂停止剤は、アウリスタチンE(当技術分野において、ドラスタチン-10としても知られている)又はその誘導体である。典型的には、アウリスタチンE誘導体は例えば、アウリスタチンEとケト酸との間で形成されるエステルである。例えば、アウリスタチンEをパラアセチル安息香酸又はベンゾイル吉草酸と反応させて、それぞれAEBおよびAEVBを生成することができる。他の典型的なアウリスタチン誘導体は、AFP(ジメチルバリン-バリン-ドライソロイニン-ドラプロニン-フェニルアラニン-p-フェニレンジアミン)(dimethylvaline-valine-dolaisoleuine-dolaproine-phenylalanine-p-phenylenediamine)、MMAF(ドバリン-バリン-ドライソルウニン-ドラプロニン-フェニルアラニン)(dovaline-valine-dolaisoleuine-dolaproine-phenylalanine)、及びMAE(モノメチルオーリスタチンE)(monomethyl auristatin E)を包含する。アウリスタチンE及びその誘導体の合成及び構造は、米国特許出願公開第2003/0083263号明細書；国際公開WO2002/088172号パンフレット及び国際公開WO2004/010957号パンフレット；並びに、米国特許公報第6,884,869号明細書；米国特許公報第6,323,315号明細書；米国特許公報第6,239,104号明細書；米国特許公報第6,034,065号明細書；米国特許公報第5,780,588号明細書；米国特許公報第5,665,860号明細書；米国特許公報第5,663,149号明細書；米国特許公報第5,635,483；米国特許公報第5,599,902号明細書；米国特許公報第5,554,725号明細書；米国特許公報第5,530,097号明細書；米国特許公報第5,521,284号明細書；米国特許公報第5,504,191号明細書；米国特許公報第5,410,024；米国特許公報第5,138,036号明細書；米国特許公報第5,076,973号明細書；米国特許公報第4,986,988号明細書；米国特許公報第4,978,744号明細書；米国特許公報第4,879,278；米国特許公報第4,816,444号明細書；及び米国特許公報第4,486,414号明細書に記載されている。

20

30

40

【0171】

他の変形例において、細胞毒性剤はDNA副溝結合剤である(例えば、米国特許第6,130,237号を参照)。例えば、或る実施態様において、該副溝結合剤は、CBI化合物である。他の実施態様において、該副溝結合剤は、エンジン(例えば、カリケアマイシン)である。

【0172】

或る実施態様において、抗体薬物コンジュゲート(ADC)は、抗チューブリン剤を含む。抗チューブリン剤の例は、例えば、タキサン(例えば、タキソール(Taxol)(登録商標)(パクリタキセル)、タキソテル(Taxotere)(登録商標)(ドセタキセル))、T67(テュラリック(Tularik))、ピンカアルキロイド(vinca alkyls)(例えば、ピンクリスチン

50

、ビンブラスチン、ビンデシン、及びビノレルビン)、並びに、ドラスタチン(例えば、アウリスタチンE、AFP、MMAF、MMAE、AEB、AEVB)を包含する。他の抗チューブリン剤は例えば、バッカチン誘導体、タキサン類似体(例えば、エポチロンA及びB)、ノコダゾール、コルヒチン及びコルシミド(colcimid)、エストラムスチン、クリプトフィシン(cryptophysins)、セマドチン、メイタンシノイド(maytansinoid)、コンプレタスタチン、ディスコデルモリド、及びエリユテロピンを包含する。幾つかの実施態様において、細胞毒性剤は、抗チューブリン剤の別のグループであるメイタンシノイドである。例えば、特定の実施態様において、メイタンシノイドは、メイタンシン又はDM-1である(ImmunoGen, Inc.; Chari et al., Cancer Res. 52:127-131, 1992をまた参照)。

10

【0173】

他の実施態様において、細胞毒性剤は代謝拮抗剤である。該代謝拮抗剤は例えば、プリンアンタゴニスト(例えば、アゾチオプリン又はミコフェノール酸モフェチル)、ジヒドロ葉酸レダクターゼ阻害剤(例えば、メトトレキサート)、アシクロビル、ガンシクロビル(gancyclovir)、ジドブジン(zidovudine)、ピダラビン、リババリン、アジドチミジン、シチジン、アラビノシド、アマンタジン、ジデオキシウリジン、ヨードデオキシウリジン、ポスカルネット(poscarnet)、又はトリフルリジンである。

【0174】

他の実施態様において、抗AMHR-II抗体又はそのフラグメントは、プロドラッグ転化酵素にコンジュゲーションされる。該プロドラッグ転化酵素は、既知の方法を使用して、抗体に組換え的に融合されるか、又はそれに化学的に結合させることができる。例示的なプロ薬物変換酵素は、カルボキシペプチダーゼG2、β-グルクロニダーゼ、ペニシリン-V-アミダーゼ、ペニシリン-G-アミダーゼ、β-ラクタマーゼ、β-グルコシダーゼ、ニトロレダクターゼ、及びカルボキシペプチダーゼAである。

20

【0175】

治療剤をタンパク質、特に抗体又はそのフラグメント、にコンジュゲートさせる為の技術は十分に知られている(例えば、Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy" in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy (Reisfeld et al. eds., Alan R. Liss, Inc., 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery," in Controlled Drug Delivery (Robinson et al. eds., Marcel Dekker, Inc., 2nd ed. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review" in Monoclonal Antibodies '84: Biologic And Clinical Applications (Pinchera et al. eds., 1985); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy (Baldwin et al. eds., Academic Press, 1985); 並びに、Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58を参照。例えば、国際公開第WO89/12624号パンフレットをまた参照)。

30

【0176】

リンカー

典型的には、抗体薬物コンジュゲート化合物は、薬物ユニットと抗体ユニット(すなわち、そのフラグメントの抗体)との間にリンカーユニットを含む。幾つかの実施態様において、該リンカーは、細胞内環境下で切断可能であり、その結果、該リンカーの切断は、細胞内環境において、抗体又はそのフラグメントから薬物単位を放出する。更に他の実施態様において、該リンカーユニットは切断可能ではなく、及び、該薬物は、例えば抗体分解によって、放出される。

40

【0177】

幾つかの実施態様において、該リンカーは、細胞内環境(例えば、リゾソーム又はエンドソーム又はカベオレア(caveola)内)に存在する切断剤によって切断可能である。該

50

リンカーは例えば、リソソームプロテアーゼ又はエンドソームプロテアーゼを包含するがこれらに限定されない、細胞内ペプチダーゼ又はプロテアーゼ酵素によって切断されるペプチジルリンカーであることができる。幾つかの実施態様において、該ペプチジルリンカーは、少なくとも2つのアミノ酸長又は少なくとも3つのアミノ酸長である。切断剤は、カテプシンB及びD、並びにプラスミンを包含することができ、それらの全ては、ジペプチド薬物誘導体を加水分解して、標的細胞内に活性薬物の放出を結果として生じることが知られている(例えば、Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83: 67-123を参照)。

【0178】

最も典型的なものは、191P4D12-発現細胞中に存在する酵素によって切断可能なペプチジルリンカーである。そのようなリンカーの例は例えば、米国特許第5,059,059号明細書に記載されており、その全体及び全ての目的の為に参照によって本明細書内に組み込まれる。特定の実施態様において、細胞内プロテアーゼによって切断可能な該ペプチジルリンカーは、Val-Citリンカー又はPhe-Lysリンカーである(例えば、Val-Citリンカーを用いたドキソルビシンの合成を記載している米国特許第6,214,345号を参照)。治療剤の細胞内タンパク質分解放出を使用することの1つの利点は、薬剤がコンジュゲートされる場合に典型的には弱毒化され、そして、コンジュゲートの血清安定性が典型的に高いことである。

【0179】

他の実施態様において、切断可能なリンカーは、pH感受性であり、すなわち、或るpH値での加水分解に対して感受性である。

【0180】

典型的に、pH感受性リンカーは、酸性条件下で加水分解可能である。例えば、リソソーム中で加水分解可能である酸に不安定なリンカー(例えば、ヒドラゾン、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、シス-アコニットアミド(cis-aconitic amide)、オルトエステル、アセタール、ケタール等)が使用されることができ(例えば、米国特許第5,122,368号明細書；米国特許第5,824,805号明細書；米国特許第5,622,929号明細書；Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83: 67-123；Neville et al., 1989, Biol. Chem. 264: 14653-14661を参照)。そのようなリンカーは、中性のpH条件下、例えば血液中の条件下、で相対的に安定であるが、リソソームのおおよそのpHであるpH5.5未満又はpH5.0未満では不安定である。或る実施態様において、加水分解性リンカーは、チオエーテルリンカー(例えば、アシルヒドラゾン結合を介して治療剤に付着されたチオエーテル等)である(例えば、米国特許第5,622,929号明細書を参照)。

【0181】

さらに他の実施態様において、該リンカーは、還元条件下で切断可能である(例えば、ジスルフィドリンカー)。様々なジスルフィドリンカーが当技術分野において知られており、該ジスルフィドリンカーは例えば、SATA(N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート)(N-succinimidyl-S-acetylthioacetate)、SPDP(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート)(N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionate)、SPDB(N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチレート)(N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)butyrate)、及びSMPT(N-スクシンイミジル-オキシカルボニル-アルファ-メチル-アルファ-(2-ピリジル-ジチオ)トルエン)(N-succinimidyl-oxycarbonyl-alpha-methyl-alpha-(2-pyridyl-dithio)toluene)、SPDB並びにSMPTを包含する(例えば、Thorpe et al., 1987, Cancer Res. 47:5924-5931；Wawrzynczak et al., In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radiomimetry and Therapy of Cancer (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987を参照。米国特許第4,880,935号明細書をまた参照)。

【0182】

さらに他の特定の実施態様において、該リンカーは、マロネートリンカー(Johnson

10

20

30

40

50

et al., 1995, Anticancer Res. 15: 1387-93)、マレイミドベンゾイルリンカー(Lau et al., 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10): 1299-1304)、又は、3'-N-アミド類似体(Lau et al., 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10): 1305-12)である。

【0183】

さらに他の実施態様において、該リンカーユニットは切断可能でなく、及び薬物は抗体分解によって放出される。

【0184】

典型的に、該リンカーは、細胞外環境に対して実質的に感受性でない。本明細書において使用される場合、リンカーの文脈において、「細胞外環境に対して実質的に感受性でない」とは、抗体薬物コンジュゲート化合物のサンプル中のリンカーの、約20%以下、典型的には約15%以下、より典型的には約10%以下、さらにより典型的には約5%以下、約3%以下、又は約1%以下、が、抗体薬物コンジュゲート化合物が細胞外(例えば、血症中)に存在する場合に切断されることを意味する。リンカーが細胞外環境に実質的に感受性でないかどうかは、例えば、血漿と抗体薬物コンジュゲート化合物を所定の期間(例えば、2、4、8、16、又は24時間)インキュベーションし、そして次に、血漿中に存在する遊離薬物の量を定量化することによって決定されることができる。

【0185】

医薬組成物

本発明の別の目的は、医薬的に許容される媒体において、本発明の少なくとも1つの抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明の少なくとも1つのイムノコンジュゲートを含む医薬組成物である。

【0186】

事実、その投与のために、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、又は本発明のイムノコンジュゲートは好ましくは、医薬組成物として処方される。

【0187】

本発明の医薬組成物は、既知の方法に従って処方されて、医薬的に有用な組成物を調製することができ、それにより、治療用分子が、医薬的に許容される媒体と混合して一緒にされる。

【0188】

「医薬的に許容される媒体」とは、生物学系(biological system)、例えば細胞、細胞培養物、組織又は生物、と適合性のある非毒性物質を云う。特に、医薬組成物は、その投与がレシピエント患者によって許容されることができる場合、「医薬的に許容される媒体」を含むと言われる。滅菌リン酸緩衝生理食塩水は、製薬上許容される担体の一例である。他の適切な担体は当分野において周知である(例えば、Gennaro (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, 19th ed., 1995)を参照)。製剤は、バイアル表面等におけるタンパク質の損失を防ぐ為に、1以上の、添加剤、保存剤、可溶化剤、緩衝剤、アルブミンをさらに含む。

【0189】

本発明の医薬組成物の形態、投与経路、投与量及びレジメンは、当然に、処置されるべき状態、病気の重症度、患者の年齢、体重及び性別等に依存する。

【0190】

本発明の医薬組成物は、局所、経口、非経口、鼻腔内、静脈内、筋肉内、皮下又は眼内の投与等の為に処方されることができる。

【0191】

好ましくは、該医薬組成物は、注射されることができる製剤の為に薬学的に許容されるビヒクルを含む。これらは、特に等張性の滅菌の食塩水(リン酸ナトリウム若しくは二ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム若しくは塩化マグネシウム等、又はそのような塩の混合物)、又は乾燥された組成物、特に凍結乾燥された組成物、であり得、それは、添加に応じて、滅菌水又は生理食塩水の場合には、注射可能な溶液の

10

20

30

40

50

構成を可能にする。

【0192】

投与の為に使用される用量は、様々なパラメーターの関数として、特に、使用される投与様式の関数、関連する病状の関数、又は所望の処置期間の関数として適合させることができる。

【0193】

医薬組成物を調製する為に、有効量の抗体又はイムノコンジュゲートが、医薬的に許容される担体中に又は水性媒体中に溶解され又は分散させうる。

【0194】

注射可能な使用の為に適した医薬形態には、滅菌水性溶液又は分散液；ゴマ油、ピーナツ油又は水性プロピレングリコールを含む製剤；無菌の注射可能な溶液若しくは分散液の即時調製の為の無菌粉末、を包含する。全ての場合において、該形態は無菌でなければならない、且つ容易な、注射可能性が存在する程度まで流動性でなければならない。製造及び保管の条件下で安定されなければならない、且つ微生物、例えば細菌又は真菌、の汚染作用から保護されていないなければならない。

10

【0195】

遊離塩基又は医薬的に許容される塩としての活性化合物の溶液は、界面活性剤、例えばヒドロキシプロピルセルロース、と適切に混合された水中で調製されることができる。分散液はまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、及びそれらの混合物中、並びに油中、において調製されることができる。通常の保管及び使用の条件下では、これらの製剤には微生物の増殖を防ぐための防腐剤を含む。

20

【0196】

担体

本発明の抗体、そのフラグメント、又はイムノコンジュゲートは、中性又は塩の形態で組成物中に処方されることができる。医薬的に許容される塩は、酸付加塩(タンパク質の遊離アミノ基で形成される)を包含し、及びそれは、無機酸、例えば、塩酸若しくはリン酸、又は有機酸、例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸、で形成される。遊離カルボキシル基で形成される塩はまた、無機塩基、例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、又は第二水酸化第二鉄等、及び有機塩基、例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカイン等、から誘導されることができる。

30

【0197】

該媒体はまた、例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール等)、それらの適切な混合物、並びに野菜油を含む溶媒又は分散媒体であることができる。適切な流動性は、例えば、コーティング、例えばレシチン、の使用、分散の場合に必要な粒子サイズの維持、及び界面活性剤の使用によって維持されることができる。微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸；チメロサル等によってもたらされることができる。多くの場合、等張剤、例えば、糖又は塩化ナトリウムを含めることが好ましいであろう。注射可能な組成物の長期吸収は、吸収を遅らせる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンの組成物中の使用によってもたらされることができる。

40

【0198】

滅菌注射液は、必要な量の活性化合物を適切な溶媒に、必要に応じて上記に列挙した他の様々な成分とともに取り込み、その後、ろ過滅菌することによって調製される。一般的に、分散液は、様々な滅菌された有効成分を、基本的な分散媒及び上に列挙されたものからの必要な他の成分を含む滅菌ビヒクルに取り込むことによって調製される。注射可能な無菌の溶液を調製する為の無菌粉末の場合、好ましい調製方法は、真空乾燥及び凍結乾燥技術であり、それは、有効成分の粉末に加えて、以前に滅菌濾過されたその溶液から任意の追加の所望の成分を与える。

【0199】

50

直接注射用の為のより多くの、又は高濃度の溶液の調製がまた、本発明において企図されており、ここで、溶媒としてのDMSOの使用は、非常に迅速な浸透を結果として生じ、小さな腫瘍領域に高濃度の活性剤を送達することが想定されている。

【0200】

製剤化時に、溶液は、剤形と適合性のある様式で、治療的に有効であるような量で投与される。該製剤は、様々な剤形、例えば上記された注射可能な溶液のタイプ、で容易に投与されるが、薬物放出カプセル等がまた使用されることができる。

【0201】

例えば、水性溶液中での非経口投与の場合、該溶液が必要に応じて適切に緩衝化され、そして、液体希釈剤が最初に、十分な食塩水又はグルコースで等張にされる必要がある。これらの特定の水性溶液は、静脈内、筋肉内、皮下及び腹腔内の投与に特に適している。これに関連して、使用されることができる滅菌水性媒体は、本開示に照らして当業者に知られているであろう。例えば、1回の投与量が1mlの等張NaCl溶液中に溶解され、そして、1000mlの皮下溶解液に加えられるか、又は提案された注入部位に注入されることができる(例えば、“Remington's Pharmaceutical Sciences” 15th Edition, pages 1035-1038 and 1570-1580を参照)。投与量にある程度の変動が、処置される対象の状態に応じて必然的に発生する。いずれにせよ、投与についての責任者が個々の個体の為に適切な用量を決定する。

10

【0202】

本発明の抗体又はイムノコンジュゲートは、治療混合物内に処方されて、1投与当たり、約0.0001～約1.0ミリグラム、又は約0.001～約0.1ミリグラム、又は約0.1～約1.0ミリグラム、さらには約50ミリグラム、等を含むことができる。複数回による投与がまた与えられることができる。

20

【0203】

非経口投与、例えば、静脈内注射又は筋肉内注射、の為に処方された化合物に加えて、他の医薬的に許容される形態は例えば、経口投与の為に錠剤又は他の固形物；徐放性カプセル；及び、現在使用されている他の形態を包含する。

【0204】

或る実施態様において、リポソーム及び/又はナノ粒子の使用は、宿主細胞内への抗体の導入の為に企図される。リポソーム及び/又はナノ粒子の形成及び使用は、当業者に知られている。

30

【0205】

ナノカプセルは一般的に、安定し且つ再現可能な方法で化合物を閉じ込めることができる。細胞内ポリマーの過負荷(overloading)による副作用を回避する為に、このような超微粒子(約0.1µmにサイズ化)は一般的に、イン・ビボ(in vivo)で分解されることができるポリマーを使用して設計されている。これらの要件を満たす生分解性ポリアルキルシアノアクリレートナノ粒子は、本発明における使用の為に企図されており、そのような粒子は容易に作製されうる。

【0206】

リポソームは、水性媒体中に分散され、且つ自発的に多層同心二層ベシクル(multilamellar concentric bilayer vesicles)(多層ベシクル(MLVs: multilamellar vesicles)とも呼ばれる)を形成するところのリン脂質から形成される。MLVは一般的に25nm～4µmの直径を有する。MLVの超音波処理は、コアに水性溶液を含む、200～500の直径を有する小さな単層ベシクル(SUVs: small unilamellar vesicles)の形成を結果として生じる。リポソームの物理的特性は、pH、イオン強度、及び二価カチオンの存在に依存する。

40

【0207】

治療用途

本発明の別の目的は、薬物としての使用の為に、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、本発明の細胞、又は本発明の組成物に関する。

50

【0208】

特に、本発明の目的は、AMHR-IIと抗ミューラーホルモン(AMH)との相互作用から生じる疾病の予防及び/又は処置における使用の為に、本発明の抗体若しくはそのフラグメント、本発明の細胞、又は本発明の組成物に関する。

【0209】

本明細書に示されているように、

AMHR-IIとAMHとの間の相互作用によってトリガーされる1以上のシグナル伝達経路は、本明細書において考慮されている病状において疾病促進効果(pro-disease effect)をもたらす、特に、それらの表面にAMHR-IIを発現する癌において発癌促進効果(pro-oncogenic effect)をもたらす；並びに、

10

本発明に従う抗体又はそのフラグメントは、(i)AMHR-IIを特異的に認識し、(ii)AMHに関して競合的特性を有し、且つ(iii)上記で定義されたアンタゴニスト特性を有する故に、

本明細書中の他の箇所で既に開示されているように、本発明の、抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞及び組成物は、AMHR-IIとAMHとの間の相互作用から生じる任意の疾病を予防又は処置する為に使用されうる。

【0210】

特に、AMHR-IIとAMHとの間の相互作用から生じる該疾病は、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: Polycystic ovary syndrome)である可能性がある(Pierre A et al., J Clin Endocrin Metab 2017; 102(11): 3970-3978)。

20

【0211】

上記の疾病はまた、子宮内膜症(Signorile et al., J Exp Clin Cancer 2014; 33: 46: 1-9)又は早期閉経(Victoria et al., J Gynecol Hum Reprod 2019; 48: 19-24)であることができる。

【0212】

その上、上記の疾患は、AMHR-IIの発現に関連付けられた癌(すなわち、癌細胞がその表面においてAMHR-IIを発現する癌)から選択されることができる。

【0213】

そのような癌は、婦人科癌又は非婦人科癌であることができる。

【0214】

30

AMHR-IIの発現に関連付けられた上記の癌は特に、婦人科癌；結腸癌；肺癌；肝細胞癌；精巣癌；膵臓癌；腎臓癌；乳がん；甲状腺癌；胃癌；副腎がん；膀胱癌、及び前立腺癌からなる群から選択されることができる(Barret et al., Proc AACR Annual Meeting, 2018, Abst 774)。

【0215】

特定に実施態様において、上述されたAMHR-IIの発現に関連付けられた癌は非婦人科癌であり、特に、結腸癌；肺癌；肝細胞癌；精巣癌；膵臓癌；腎臓癌；乳がん；甲状腺癌；胃癌；副腎がん；膀胱癌、及び前立腺癌からなる群から選択される。

【0216】

幾つかの実施態様において、本発明に従う抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物での処置を行う前に、本発明に従う患者は、彼/彼女等の疾病細胞、特に彼/彼女等の癌細胞がそれらの表面でAMHR-IIを発現するかどうかを決定する為に試験される。

40

【0217】

使用される疾病細胞は一般的に、上記の患者から以前に集められた生検組織サンプルに由来する。

【0218】

幾つかの実施態様において、本発明に従う、抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物は、標的化された疾病に対する唯一の活性成分として、例えば唯一の抗癌活性成分として、使用される。

50

【0219】

幾つかの実施態様において、本発明に従う、抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物を用いて疾病を処置することがまた、上記の個体を、関心のある疾病に対する1つ以上の更なる処置、例えば1つ以上の更なる抗癌処置又は1つ以上の抗癌剤等、に付すことを含む。

【0220】

「抗癌処置」は例えば、放射線療法処置を含むことができる。

【0221】

「抗癌剤」は、高分子(DNA、RNA、タンパク質等)の生合成を妨害することができ、又は細胞増殖を阻害することができ、又はアポトーシス若しくは細胞毒性等による細胞死を引き起こしたりすることができる分子を云う。抗癌剤の中には、アルキル化剤、トポイソメラーゼ阻害剤及び挿入剤(intercalating agents)、抗代謝物、切断剤(cleaving agents)、チューブリンを妨害する剤(agents interfering with tubulin)、モノクローナル抗体が言及されうる。

【0222】

本発明に従う、抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物と組み合わせて使用されうる他の抗癌剤は、パクリタキセル、又は白金塩、例えば、オキサリプラチン、シスプラチン及びカルボプラチン、を包含する。

【0223】

抗癌剤はまた、白金塩、小分子、モノクローナル抗体、又は抗血管新生ペプチド体以外の化学療法剤から選択され得、ここで、これらの剤は、上述された本発明の目的とは異なる。

【0224】

白金塩以外の化学療法剤は、挿入剤(DNA複製及び転写の阻止)、例えば、アントラシクリン(ドキシソルビシン、ペグ化されたりポソームドキシソルビシン(pegylated liposomal doxorubicin))、トポイソメラーゼ阻害剤(カンプトテシン及びその誘導体：カレニテシン、トポテカン、イリノテカン)、又はさもなくば、SJG-136、ヒストンデアセチラーゼの阻害剤(ポリノスタット、ベリノスタット、バルプロン酸)、アルキル化剤(ベンダムスチン、グルホスファミド、テモゾロミド)；抗有糸分裂植物アルカロイド、例えば、タキサン(ドセタキセル、パクリタキセル)、ピンカアルカロイド(ビノレルビン)、エポチロン(ZK-エポチロン、イクサベピロン)、抗代謝物(ゲムシタビン、エラシタラビン、カペシタビン)、キネシン紡錘体タンパク質(KSP：kinesin spindle protein)阻害剤(ispinesib)、トラベクテジン、又はさもなくば、オンブラプリン(コンプレタスタチンA-4誘導体)を包含する。

【0225】

該小分子の中には、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP：poly(ADP-ribose) polymerase)阻害剤、オラパリブ、イニパリブ、ベリパリブ、ルカパリブ、CEP-9722、MK-4827、BMN-673、キナーゼ阻害剤、例えばチロシンキナーゼ阻害剤(TKI：tyrosine kinase inhibitors)、ただし、その中でも、抗VEGFR分子(ソラフェニブ、スニチニブ、セディラニブ、バンデタニブ、パゾパニブ、BIBF 1120、セマキサニブ、カボザンチニブ、モテサニブ)、抗HER2/EGFR分子(エルロチニブ、ゲフィチニブ、ラパチニブ)、抗PDGFR分子(イマチニブ、BIBF 1120)、抗FGFR分子(BIBF 1120)、オーロラキナーゼ/チロシンキナーゼ阻害剤(ENMD-2076)、Src/Ablキナーゼ阻害剤(サラカチニブ)、又は、また、ペリフォシン、テムシロリムス(mTOR阻害剤)、アルボシジブ(サイクリン依存性キナーゼ阻害剤)、ボラセルチブ(PLK1(ポロ様キナーゼ1(polo-like kinase 1))タンパク質の阻害剤)、LY2606368(チェックポイントキナーゼ1(chk 1)の阻害剤)、GDC-0449(ヘッジホッグ経路阻害剤)、ジボテンタン(ETA受容体のアンタゴニスト)、ボルテゾミブ、カルフィルゾミブ(プロテアソーム阻害剤)、サイトカイン、例えば、IL-12、IL-18、IL-21、INF-アルファ、INF-ガンマ、がある。

10

20

30

40

50

【0226】

抗体の中には、抗VEGF：ペバシズマブ、抗VEGFR：ラムシルマブ、抗HER2/EGFRs：トラスツズマブ、ベルツズマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、MGAH22、マツズマブ、抗PDGFRアルファ：IMC-3G3、抗葉酸受容体：ファールレッズマブ、抗CD27：CDX-1127、抗CD56：BB-10901、抗CD105：TRC105、抗CD276：MGA271、抗AGS-8：AGS-8M4、抗DRS：TRA-8、抗HB-EGF：KHK2866、抗メソテリン：アマツキシマブ、BAY 94-9343(免疫毒素)、カツマキソマブ(EpCAM/CD3二重特異性抗体)、抗IL2R：ダクリズマブ、抗IGF-1R：ガニツマブ、抗CTLA-4：イピリムマブ、抗PD1：ニボルマブ及びペンブロリズマブ、抗CD47：ワイスマン(Weissman)B6H12及びHu5F9、ノビムン(Novimmune)5A3M3、INHIBRX 2A1、フレイジャー(Frazier)VxP037-01LC1抗体、抗ルイス(Lewis)Y：Hu3S193、SGN-15(免疫毒素)、抗CAI25：オレゴボマブ、抗HGF：リロツムマブ、抗IL6：シルツキシマブ、抗TR2：ティガツズマブ、抗アルファ5ベータ1インテグリン：ボロシキシマブ、抗HB-EGF：KHK2866が言及されうる。抗血管新生ペプチドは、AMG386及びCVX-241から選択される。

【0227】

本発明に従う、抗体、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物、並びに標的疾患に対する追加の処置は、1つの且つ同じ医薬組成物内で一緒にされ得、又は同時に若しくは連続して投与されうる別個の医薬組成物の形態で使用されうる。特に、該製品は別々に、すなわち、同時に又は独立してのいずれかで、例えば時間差を伴って、投与されうる。

【0228】

本発明はまた、AMHR-IIと上で定義された抗ミューラーホルモン(AMH)との間の相互作用から生じる疾患を予防又は処置する為の医薬品の調製の為に、本発明に従う、抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物を使用することに関する。

【0229】

本発明はまた、AMHR-IIと上で定義された抗ミューラーホルモン(AMH)との間の相互作用から生じる疾患を予防又は処置する方法であって、それを必要とする個体に、本発明に従う抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物を投与する工程を含む、上記方法に関する。

【0230】

キット

最後に、本発明はまた、本発明の少なくとも1つの抗体、そのフラグメント、イムノコンジュゲート、細胞又は組成物を含むキットを提供する。これらの対象物(objects)のうちの少なくとも1つを含むキットは例えば、AMHR-II発現を検出における使用、又は治療若しくは診断アッセイにおける使用を見つけることができる。本発明のキットは、固体支持体、例えば、組織培養プレート又はビーズ(例えば、セファロースビーズ)、に結合された抗体を含むことができる。イン・ビトロ(in vitro)で、例えばELISA又はウエスタンブロットで、AMHR-IIの検出及び定量化の為の抗体を含むキットが提供されることができる。検出の為に有用であるそのような抗体は、標識、蛍光標識又は放射性標識、を備えられうる。

【0231】

本発明は、以下の実施例に、何ら限定されることなしにさらに説明される。

【0232】

実施例

【0233】

実施例1：AMHR-II受容体の細胞外ドメインへの抗AMHR-II抗体の結合

抗AMHR-II 4A3抗体の結合性能がELISAによって評価された。ELISAプレート(96ウェル, Maxisorp, Nunc)が、+4 で、一晚、1ウェル当たり100ngのヒトAMHR-II-ECD-Fc、ラットAMHR-II-ECD-Fc又はヒトALK3-ECD-Fc(R&D Systems)でコーティングされた。

【0234】

コーティングされたプレートがPBS-BSA 2%で、37℃で、1時間ブロックされ、そして、PBS-Tween20 0.05%で3回洗われた。抗AMHR-II 4A3抗体がPBST-BSA 1%で段階的に希釈され、そして、37℃で1時間インキュベーションされた。結合した抗AMHR-II 4A3は、1:10000に希釈された、HRP-コンジュゲーションされたF(ab')₂ヤギ抗ヒトF(ab')₂フラグメントスペシフィック(fragment specific)(Interchim)を添加することによって検出され、そして、37℃で1時間インキュベーションされた。顕色(Revelation)がTMB(Sigma)で行われ、そして、反応が、1NのH₂SO₄(容量:容量)を加えることによって停止された。吸収率が450nmで測定され、そして、結合データ曲線(binding data curves)が、GraphPad Prism 8ソフトウェアを使用して分析された。 10

【0235】

図1は、4A3抗体の結合曲線(binding curves)の例を示す。

【0236】

交差反応性が、ラットAMHR-II-ECD-FcとヒトALK3-ECD-Fc(陰性対照)とで検出されなかった。ヒトAMHR-IIについての4A3抗体のEC50は6nM(+/-2)であった。

【0237】

実施例2: トランスフェクトされた細胞株の表面でのAMHR-II受容体への抗AMHR-II抗体の結合

トランスフェクトされたCOV434 AMHR-II、及びCOV434 WT細胞株が、10%のFBS、ペニシリン100U/ml及びストレプトマイシン100µg/mlを添加されたDMEM/GlutaMax(Gibco)中で維持された。COV434 AMHR-IIトランスフェクトされた細胞株について、666µg/mlのジェネティシン(geneticin)が添加された。 20

【0238】

蛍光活性化セルソーティング(FACS: Fluorescent-activated cell sorting)分析の為に、 3×10^5 個の細胞が、10µg/mlの4A3抗体(図2A)を用いて又は4A3濃度の範囲(67nM~0.2pM, 図2B)を用いて、4℃で1時間、インキュベーションされた。洗浄後、フィコエリトリンをコンジュゲーションされた抗ヒトIgG抗体(Phycoerythrin-conjugated anti-human IgG antibody)(1:200, Interchim)が、4℃で1時間添加された。再懸濁された細胞のFACS分析は、BD Accuri(商標)C6フローサイトメーター(BD Bioscience)において行われた。結合親和性(Binding affinity)が、GraphPad Prism 8と「1サイト特異的結合(one-site specific binding)」適合式(fit equation)を使用して決定された。 30

【0239】

図2Aは、COV434 AMHR-IIトランスフェクトされた細胞株における4A3抗体の特異的結合を示す。非特異的結合が、COV434 WTにおいて検出されなかった。

【0240】

図2Bは、4A3濃度の範囲についての結合曲線(binding curve)の例を示す。見掛けのK_dは、 2.1 ± 0.5 nMであった。

【0241】

実施例3: COV434-AMHR-II細胞株中のAMHによって誘発されるSMAD1リン酸化の抗体4A3媒介阻害

Smad1リン酸化のレベルが、均一系時間分解蛍光(HTRF: Homogeneous Time Resolved Fluorescence)メソッドセルアッセイを使用して評価された。CisBioによって提供されるphospho-Smad1 Ser463/465キット(カタログ番号63ADK063PEG)が、COV434細胞株中のSmad1のリン酸化レベルを定量化する為に使用された。

【0242】

簡単に説明すると、25,000個の細胞が96ウェルプレートに、3つ分播種された。細胞がプレートに付着した後、培地が、0.2%の血清(SVF)を補充された赤色フェノールを含まないDMEM培地に交換された。一晩のインキュベーション後、アッセイ手順が、赤色 50

フェノールを含まない無血清培地において行われた。次に、細胞が、異なる成分AMH(Cter AMH, R&D Systems)、BMP2(R&D Systems)、又は異なる濃度のAMH/抗体4A3混合物を含む、又はそれらを含まない、総量100 µL/ウェルの培地でインキュベーションされた。細胞が37 °Cで1時間インキュベーションされ、そして次に、50 µL/ウェルの補充溶解バッファー中、室温で、45分間振とうしながら溶解された。各ライセートの16 µLの容量が96ウェルの少量の白いプレートに移され、2 µLの抗Smad1d2抗体と2 µLの抗Phospho-Smad1 クリプチン酸ユウロピウム/クリプチン酸テルビウム(Europium/Terbium cryptate)抗体との検出バッファー中で調製された混合物で最終容量を20 µL/ウェルにした。未処理の細胞溶解物、陰性対照、対照ライセート、及びブランクが、製造者の指示書に従って作成された。次に、該プレートが、時間分解蛍光モード(time-resolved fluorescence mode)で読み取られ、均一時間分解蛍光(HTRF: homogeneous time-resolved fluorescence)シグナル比が、下記の式に従って決定された: $HTRF \text{ 比} = 10.000 \times (Em665nm / Em620nm)$ 。データが、GraphPad Prism 8ソフトウェアを使用して分析され、そして、統計p値が、通常の一方向ANOVAテスト(ordinary one-way ANOVA test)を使用して決定された。

【0243】

図3Aは、AMHR-II受容体の発現を有しない(又は、継代培養の継代に応じて非常に低い)COV434-WTコヒーレントにおいてSmad1リン酸化の刺激が生じなかったことを示す。COV434細胞株は、Smad経路に結合されているBMPR2受容体を発現する。BMP2-BMPR2受容体のリガンドは、COV434細胞株におけるSmad経路の機能を検証する為の陽性対照として使用された。

【0244】

図3Bは、ヒトAMHR-II受容体を発現するCOV434トランスフェクトされた細胞株におけるAMHの特異的効果を示す。図3Aと異なり、Smad1リン酸化の用量応答は、AMH濃度を1 ng/mL、10 ng/mL、100 ng/mL及び300 ng/mLに増加させることで達成された。100 ng/mLは、Smad1のリン酸化を最大にする濃度であった。

【0245】

図4は、100 ng/mLでAMHを用いて得られたSmad1リン酸化のパーセンテージと、100 µg/mLで抗体4A3と抗体GM102との競合効果を示す。GM102は、Smad1のリン酸化における阻害効果を有しない。

【0246】

図5は、AMHによって誘発されるSmad1リン酸化における、本発明に従う抗体である4A3の存在の影響を示す。AMHが1 ng/mL、10 ng/mL又は100 ng/mLの濃度で存在するかどうかにかかわらず、4A3の用量応答効果が上記のリン酸化において観察される。図5Aは、AMHを1 ng/mL、10 ng/mL及び100 ng/mLで使用して得られたHTRF比と、各AMH濃度で1 µg/mL、10 µg/mL及び100 µg/mLの濃度での抗体4A3の競合効果を示す。図5B、図5C、図5Dは、AMHの濃度と、使用された4A3アンタゴニスト抗体の濃度とに依存したSmad1リン酸化の対応するパーセンテージを示す。

【0247】

これらの結果は、本発明の抗体が、競合能力を有するだけでなく、AMHR-IIに結合する場合にアンタゴニスト特性も有するという事実を示す。

【0248】

実施例4: 抗体4A3は、容量依存的な様式で、腫瘍細胞の生存を阻害する

細胞生存率アッセイは、製造者の推奨に従って、標準のMTTアッセイを使用して評価された。

【0249】

SW620結腸直腸癌細胞株が、1ウェル当たり15000細胞で96ウェルプレート上に播種された。5%のCO₂下、37 °Cで24時間後、細胞が、50 ng/mLでAMHの有る無しにかかわらず、4枚組プレートで段階的に希釈された4A3抗体濃度でインキュベーションされた(R&D Systems)。プレートが、5%のCO₂下、37 °Cで更に48時間インキュベシ

ンされた。代謝活性の測定による生細胞の定量化を可能にするMTT試薬が添加され、そして、プレートが光学密度590nmで読み取られた。データがGraphPad Prism 8ソフトウェアを使用して分析され、そして、統計p値が、通常の一方向ANOVAテスト(one-way ANOVA test)を使用して決定された。

【0250】

図6A及び図6Bは、50ng/mlで、AMHの存在下、4A3抗体によるSW620細胞生存率の用量依存的阻害を示す。

【0251】

これらの図は、本発明の抗体からの腫瘍細胞の生存の用量依存的阻害を示す。

【0252】

実施例5：LS411N結腸直腸癌細胞の生存におけるアンタゴニスト4A3抗体と中和3C23K抗体との比較。

LS411結腸直腸癌細胞株が、96ウェルプレート上に1ウェル当たり6000個の細胞で播種された。5%のCO₂下、37℃で24時間後、細胞が、100ng/mlでのAMH(R&D Systems)で3回、段階的に希釈された4A3抗体濃度でインキュベートされた。プレートが、37℃、5%のCO₂下でさらに96時間インキュベーションされた。細胞生存率アッセイ(Cell viability assay)が、製造者のプロトコルに従ってCell Titer Blueアッセイ(Promega)を使用して評価された。代謝活性の測定による生細胞の定量化を可能にするCellTiter Blue試薬が添加され、そして、最低2時間後に、それぞれ544nmと590nmの励起波長と発光波長とで、プレートが蛍光光度計で読み取られた。データがGraph Pad Prism 8ソフトウェアを使用して分析され、そして、統計p値が、通常の一方向ANOVAテスト(ordinary one-way ANOVA test)を使用して決定された。比較データが、4A3抗体の代わりに、(例えば、国際公開第WO2011/141653号パンフレットにおいて定義されているような当技術分野で知られている)3C23K抗体を使用することによって同様に得られた。

【0253】

図7は、AMHの存在下での4A3抗体によるLS411N細胞生存率の用量依存的阻害を約75µg/mlから示し、一方、3C23K抗体は細胞生存率に影響を有しなかった。

【0254】

実施例6：患者からの結腸直腸ヒト癌組織の免疫組織化学的研究。

患者からの結腸直腸腺癌の組織切片が、AMHR-II受容体の為に勝つリガンドAMH発現の為に分析された。

【0255】

AMHR-II受容体の発現は、mAb r3C23K(ウサギキメラ3C23K抗体)とDako/Agilent Autostainer Link 48を使用することによって検出された。陰性対照が、無関係なウサギのIgG1抗体とインキュベーションされたスライドで構成された。組織切片が脱パラフィンされ、そして、ターゲットの回収がpH9.0、90℃で、15分間行われた。次に、スライドがAutostainerにおいて免疫組織化学の為に、下記の工程で処理された：希釈されたウサギ抗AMHR-II一次抗体(2.5µg/ml)と、室温(RT)で、60分間インキュベーションされ、rabbitLinkerと、RTで、15分間インキュベーションされ、そして、EnvisionFlex検出キットを使用して、RT、20分で検出された。

【0256】

リガンドAMHの発現は、抗AMH mAbクローン5/6(GeneTex, GTX42794)及びLEICA Bond III Automatonを使用することによって検出された。陰性対照が、無関係なマウスのIgG1抗体とインキュベーションされたスライドで構成された。組織切片が脱パラフィンされ、そして、ターゲットの回収がpH6.0、100℃で、20分間行われた。次に、スライドがLEICA Bond III Automatonにおける免疫組織化学の為に、下記の工程で処理された：希釈されたウサギ抗AMH一次抗体(1/50希釈)と、RTで、30分間インキュベーションされ、ポスト一次バッファー(post-primary buffer)とポリマーバッファー(それぞれ、RTで8分間)、そして、ボンドポリマーリファ

イン検出(Bond Polymer Refine Detection)で検出された。

【 0 2 5 7 】

半定量的評価が、独立した病理学者によって行われ、染色強度(0, 1+, 2+, 3+)と、染色された腫瘍細胞のパーセンテージの両方が報告された。

【 0 2 5 8 】

図8～図10は、3つの結腸直腸腺癌におけるAMHR-II及びAMH染色の代表的な写真を示す。AMHR-II及びAMHアッセイの陰性対照は、腫瘍細胞における反応性がなかった。これらの3つの結腸直腸癌について、AMHR-IIとそのリガンドAMHの発現が、下記の表に示されている染色強度と標識化された腫瘍細胞の%で検出された。

【 0 2 5 9 】

10

【表 1】

サンプルID	組織学	AMHR-II 発現	AMH 発現	図番号
CRC-17A17897	結腸直腸腺癌	90% 2/3+	25% 2+	8
CRC-17A19702	結腸直腸腺癌	60% 2/3+	40% 2+	9
CRC-18A02837	結腸直腸腺癌	100% 1/2+	15% 2+	10

【 0 2 6 0 】

20

興味深いことに、AMHR-II発現について陽性であるところのこれらの3つの結腸直腸癌サンプルにおいて、リガンドAMHの存在がまた検出された。その上、高強度のAMHR-II染色を有する2つのCRCサンプル、すなわち、標識された腫瘍細胞の90%及び60%について2/3+でCRC17A17897及びCRC17A19702、について、AMHリガンドがまた、有意なレベルの2+強度染色で、並びに、標識化された腫瘍細胞のそれぞれ25%及び40%で、検出された。

【 0 2 6 1 】

これらの前例のない結果は、AMHR2とAMHとの間のオートクリンループ(autocrine loop)が結腸直腸癌の病態生理学に関与している可能性があることを強く示唆しており、それは、AMHのその受容体への影響に拮抗することができる癌における抗AMHR2抗体を開発する為の革新的な理論的根拠を提供する。

30

40

50

【 図 面 】
【 図 1 】

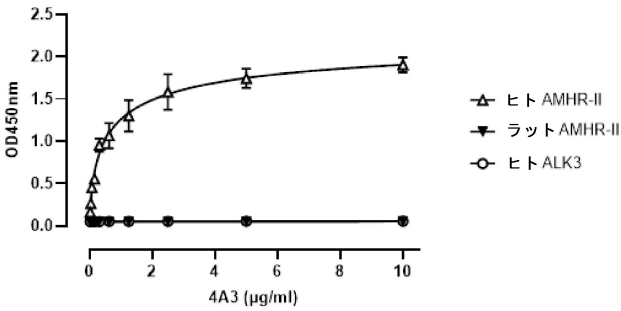


図 1

【 図 2 】

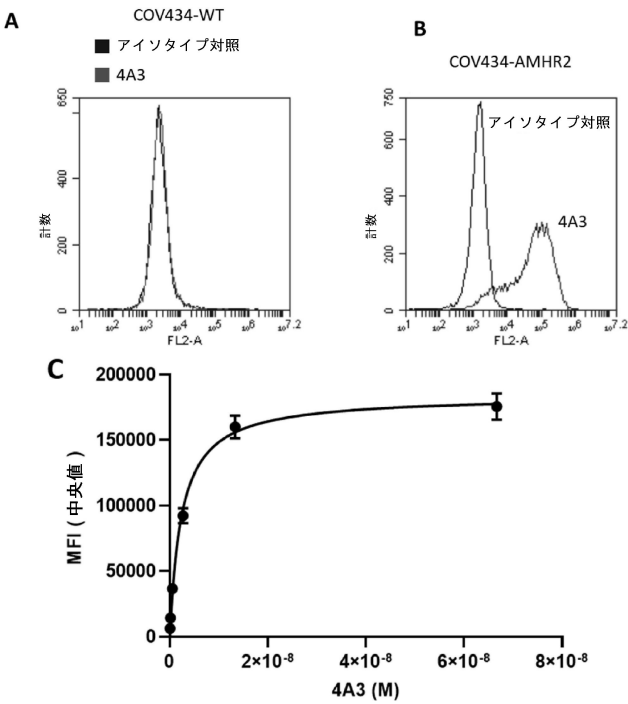


図 2

【 図 3 】

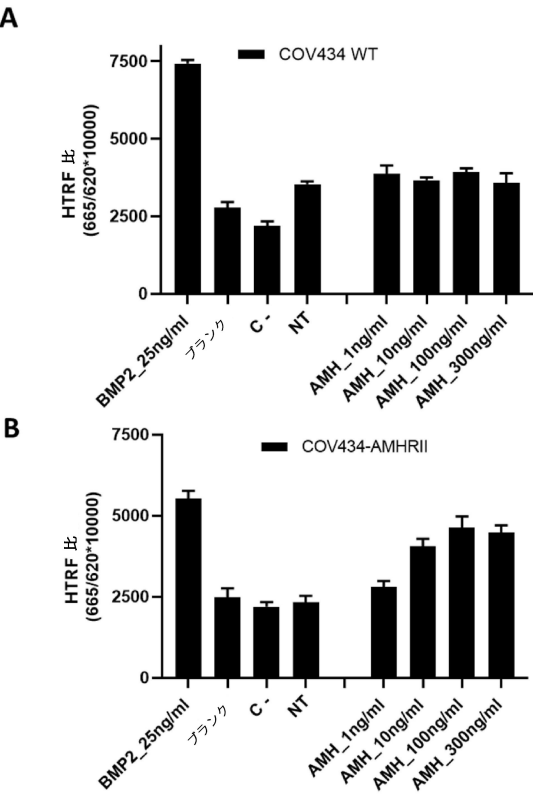


図 3

【 図 4 】

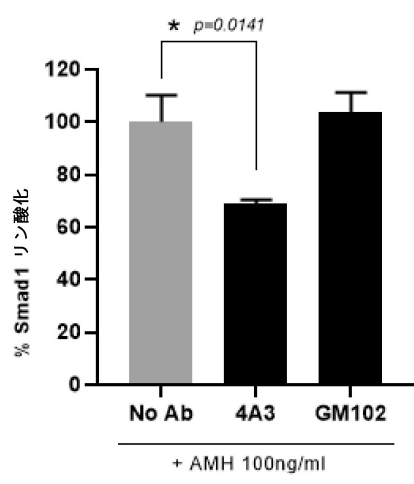


図 4

10

20

30

40

50

【 図 5 】

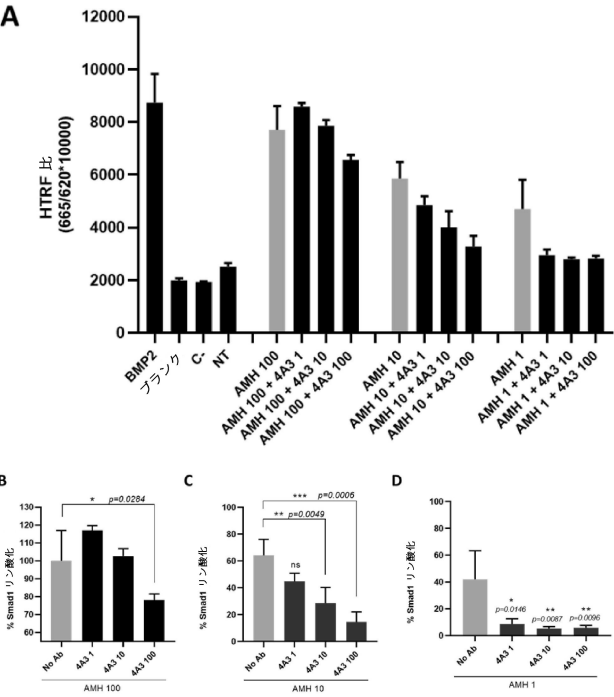


図 5

【 図 6 】

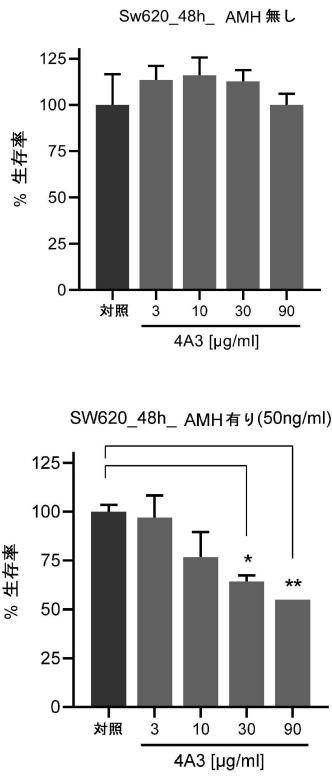


図 6

【 図 7 】

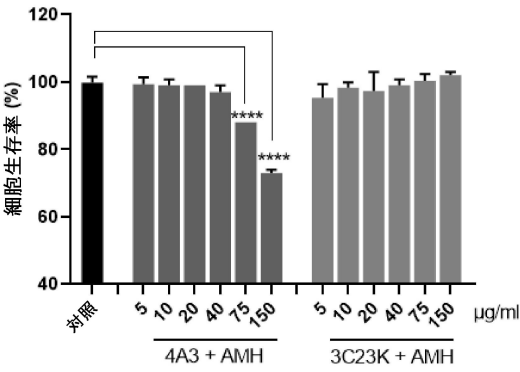


図 7

【 図 8 】

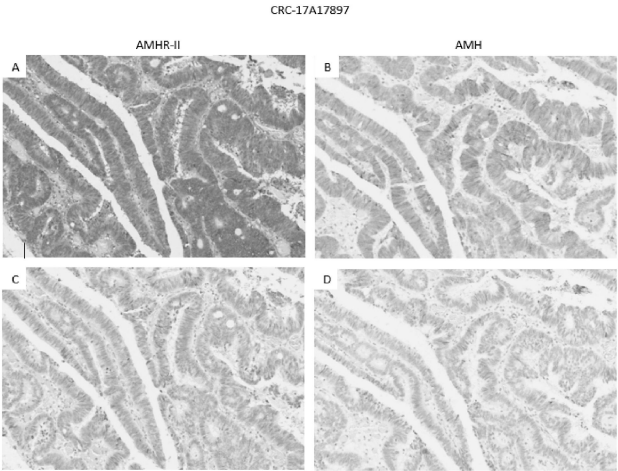


図 8

10

20

30

40

50

【 図 9 】

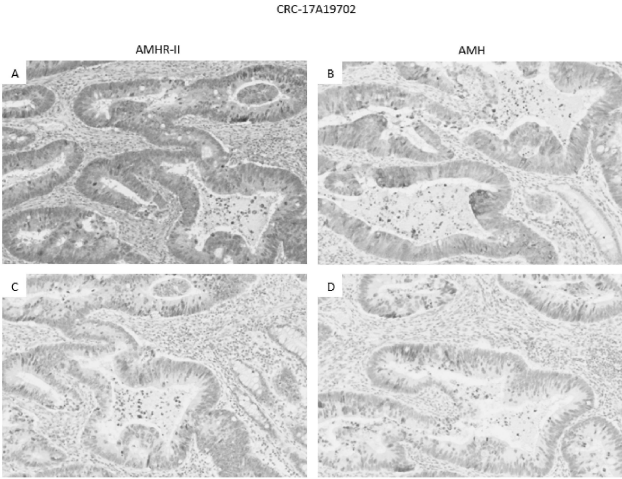


図 9

【 図 10 】

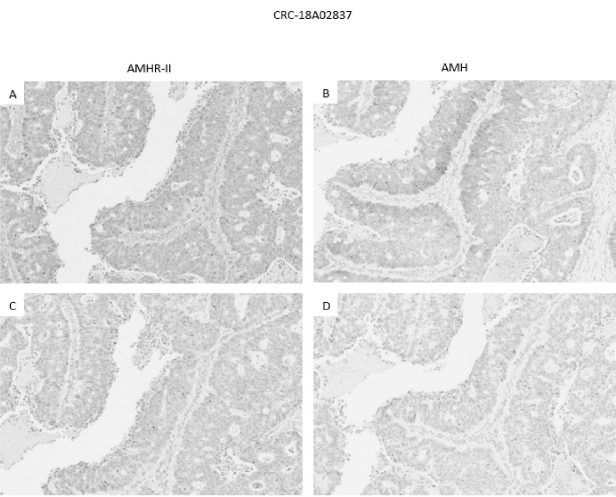


図 10

【 配 列 表 】

2022553665000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2020/079934

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61P35/00 A61P43/00 C07K16/28
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P C07K

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/025458 A1 (GAMAMABS PHARMA [FR]) 16 February 2017 (2017-02-16) cited in the application The whole document, in particular, the examples; figure 6; example 6	1-23
X	WO 2018/189379 A1 (GAMAMABS PHARMA [FR]; INST CURIE [FR]) 18 October 2018 (2018-10-18) cited in the application The whole document, in particular the examples and ADCs ----- -/--	1-23

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

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 January 2021

Date of mailing of the international search report

26/01/2021

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Chapman, Rob

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2020/079934

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/045202 A1 (INST NAT SANTE RECH MED [FR]; DI CLEMENTE NATHALIE [FR] ET AL.) 21 April 2011 (2011-04-21) The whole document, in particular the examples -----	1-23
X	EP 1 918 304 A1 (INST NAT SANTE RECH MED [FR]) 7 May 2008 (2008-05-07) The whole document, in particular, the examples -----	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2020/079934

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017025458 A1	16-02-2017	EP 3331569 A1 US 2017035903 A1 WO 2017025458 A1	13-06-2018 09-02-2017 16-02-2017
WO 2018189379 A1	18-10-2018	BR 112019021472 A2 CA 3058282 A1 CN 110891970 A EP 3609918 A1 JP 2020516668 A KR 20200014276 A US 2019367625 A1 WO 2018189379 A1	12-05-2020 18-10-2018 17-03-2020 19-02-2020 11-06-2020 10-02-2020 05-12-2019 18-10-2018
WO 2011045202 A1	21-04-2011	NONE	
EP 1918304 A1	07-05-2008	AT 502052 T CA 2667970 A1 CN 101573382 A CN 103396491 A DK 2097453 T3 EP 1918304 A1 EP 2097453 A2 ES 2363732 T3 JP 5903717 B2 JP 2010508810 A JP 2014076992 A JP 2016102109 A KR 20090101897 A KR 20150036812 A PL 2097453 T3 US 2010135996 A1 US 2013164300 A1 WO 2008053330 A2	15-04-2011 08-05-2008 04-11-2009 20-11-2013 27-06-2011 07-05-2008 09-09-2009 12-08-2011 13-04-2016 25-03-2010 01-05-2014 02-06-2016 29-09-2009 07-04-2015 30-09-2011 03-06-2010 27-06-2013 08-05-2008

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 0 7 K 16/46 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 15/12 (2006.01)
A 6 1 P 15/00 (2006.01)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)
A 6 1 K 35/12 (2015.01)
A 6 1 K 47/68 (2017.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 N 1/21
C 1 2 N 5/10
C 0 7 K 16/46
A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 P 43/00 1 2 1
A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 15/12
A 6 1 P 15/00
A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 35/12
A 6 1 K 47/68
A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 K 39/395 D
C 1 2 P 21/08

4 C 0 8 7
 4 H 0 4 5

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

, 1 リュ デ マロニエ

(72)発明者 バレット, ジャン - マルク

フランス国, 8 1 1 0 0 カストル, 5 リュ デュ トレゾール

(72)発明者 デゴヴェ, ステファン

フランス国, 9 3 5 0 0 パンタン, 2 1 リュ ジュール オフレ

F ターム (参考) 4B064 AG26 AG27 CA19 CC24 DA01

4B065 AA01X AA57X AA83X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA25
CA44

4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59

4C084 AA19 NA05 ZA811 ZA812 ZB261 ZB262 ZC421 ZC422 ZC751

4C085 AA13 AA14 BB41 BB43 BB44 EE01 EE03 GG02 GG03 GG04
GG08

4C087 AA01 AA02 BB64 BB65 CA04 CA12 NA05 NA14 ZA81 ZB26
ZC42 ZC75

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20 FA74