



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0158641
(43) 공개일자 2023년11월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6851 (2017.08)
A61K 47/68037 (2023.08)
(21) 출원번호 10-2023-7038566(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년10월05일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2019-7011914
원출원일자(국제) 2017년10월05일
심사청구일자 2020년09월16일
(85) 번역문제출일자 2023년11월08일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2017/036215
(87) 국제공개번호 WO 2018/066626
국제공개일자 2018년04월12일
(30) 우선권주장
JP-P-2016-199341 2016년10월07일 일본(JP)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
다이이찌 산쿄 가부시키가이샤
일본 도쿄도 츄오구 니혼바시 혼쵸 3-5-1
(72) 발명자
지코 다카히로
일본 도쿄도 츄오구 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이
찌 산쿄 가부시키가이샤 나이
오기타니 유스케
일본 도쿄도 츄오구 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이
찌 산쿄 가부시키가이샤 나이
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리어나

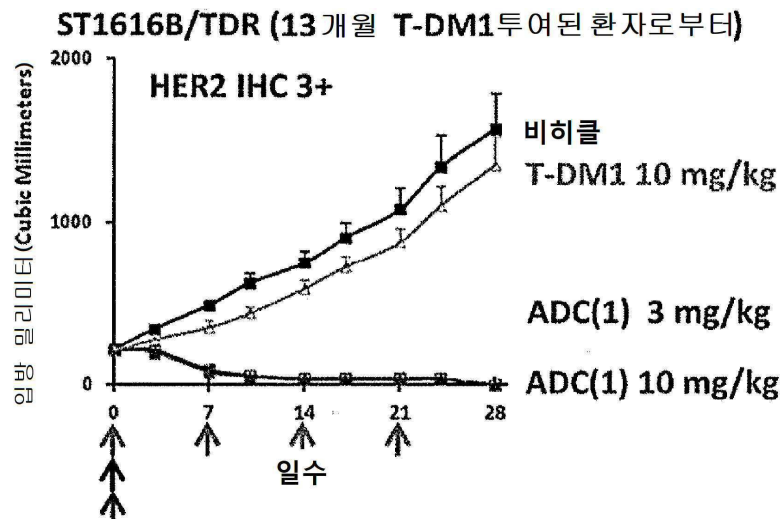
전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 항 HER2 항체-약물 콘주게이트 투여에 의한 내성암의 치료

(57) 요약

기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암에 대해 유효한 치료로서 식 : -(숙신이미드-3-일-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX) 로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트를 사용한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제 및 치료 방법을 제공한다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 47/6857 (2017.08)
A61K 47/6863 (2017.08)
A61K 47/6889 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/32 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)

(72) 발명자

요시하라 가즈타카

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
산쿄 가부시키키가이샤 나이

엔도 세이코

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
산쿄 가부시키키가이샤 나이

후지사키 요시히코

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
산쿄 가부시키키가이샤 나이

(30) 우선권주장

JP-P-2017-097589 2017년05월16일 일본(JP)
JP-P-2017-172814 2017년09월08일 일본(JP)

기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

기존의 항암약에 의한 치료력을 갖는 환자에게 투여하기 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

기존의 항암약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 이리노테칸, 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 플루오로우라실, 겐시타빈, 카페시타빈, 파클리탁셀, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 시클로포스파미드, 마이토마이신 C, 테가푸르·기메라실·오테라실 배합제, 세톡시맙, 파니투무맙, 베바시주맙, 라무시주맙, 레고라페닙, 트리플루리딘·티피라실 배합제, 제피티닙, 엘로티닙, 아파티닙, 메토틱렉사이트, 및 페메트렉세드로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 7

제 5 항에 있어서,

기존의 항암약이 트라스투주맙 엠탄신을 포함하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 8

제 5 항에 있어서,

기존의 항암약이 트라스투주맙을 포함하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 9

제 5 항에 있어서,

기존의 항암약이 이리노테칸을 포함하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 11

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 12

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 449 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 214 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 13

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 14

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 15

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 6.4 mg/kg 인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 16

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

항체-약물 콘주게이트가 3 주에 1 회의 간격으로 투여되는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 17

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

유방암, 위암, 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 위식도 접합부 선암, 담관암, 파제트병, 췌장암, 난소암, 자궁암 및 육종으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 18

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

유방암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 19

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

위암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 20

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

위암 및 위식도 접합부 선암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 21

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

대장암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 22

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

비소세포 폐암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 23

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

침샘암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 24

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

HER2 발현암이 HER2 과잉 발현의 암인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 25

제 24 항에 있어서,

HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 3+ 로 판정된 암인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 26

제 24 항에 있어서,

HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 양성으로 판정된 암인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 27

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

HER2 발현암이 HER2 저발현의 암인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 28

제 27 항에 있어서,

HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 음성으로 판정된 암인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 29

제 27 항에 있어서,

HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 1+ 로 판정된 암인, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 30

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

수술 불능 또는 재발암의 치료를 위한, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

청구항 31

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

약학적으로 허용되는 제제 성분을 함유하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제.

발명의 설명

기술 분야

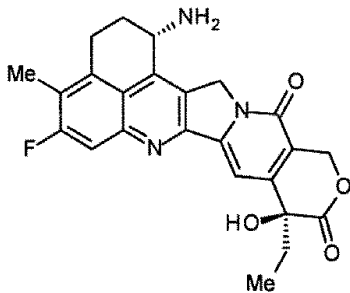
[0001] 본 발명은 항 HER2 항체와 엑사테칸을 링커 구조를 통해서 결합시킨 항체-약물 콘주게이트에 의한 약제 내성암 (이하, 간단히 「내성암」 이라고도 기재한다), 특히 내성을 획득한 암의 치료에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 암 세포 표면에 발현하고, 또한 세포에 내재화할 수 있는 항원에 결합하는 항체에, 세포 독성을 갖는 약물을 결합시킨 항체-약물 콘주게이트 (Antibody-Drug Conjugate ; ADC) 는, 암 세포에 선택적으로 약물을 송달할 수 있으므로, 암 세포 내에 약물을 축적시켜, 암 세포를 사멸시키는 것을 기대할 수 있다 (비특허문헌 1 ~ 3). ADC로서 예를 들어, 항 CD33 항체에 칼리키아미신을 결합시킨 Mylotarg (등록상표 ; INN : 켈투주맵 오조가미신) 가 급성 골수성 백혈병의 치료약으로서 인가되고 있었다. 또, 항 CD30 항체에 오리스타틴 E 를 결합시킨 Adcetris (등록상표 ; INN : 브렌톡시맵 베도틴) 가 호지킨 림프종과 미분화 대세포 림프종의 치료약으로서 인가되었다 (비특허문헌 4). 또한, 항 HER2 항체인 트라스투주맵에 링커 구조를 통해서 항종양성 약물인 메이탄시노이드 (DM1) 를 결합한 Kadcyla (등록상표 ; T-DM1 ; INN : 트라스투주맵 엠탄신 ; 비특허문헌 34) 도 인가되었다. 지금까지 인가된 ADC 에 함유되는 약물은, DNA 또는 튜불린을 표적으로 하고 있다.

[0003] 항종양성의 저분자 화합물로서 토포이소메라아제 I 를 저해하여 항종양 작용을 발현하는 화합물인 캄토테신 유도체가 알려져 있다. 그 중에 하기 식 :

[0004] [화합식 1]



[0005]

[0006] 으로 나타내는 항종양성 화합물 (엑사테칸, IUPAC 명 : (1S,9S)-1-아미노-9-에틸-5-플루오로-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-9-하이드록시-4-메틸-10H,13H-벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13-디온, (화학명 : (1S,9S)-1-아미노-9-에틸-5-플루오로-2,3-디하이드로-9-하이드록시-4-메틸-1H,12H-벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13(9H,15H)-디온으로서 나타낼 수도 있다)) 은, 수용성의 캄토테신 유도체이다 (특허문헌 1, 2). 이 화합물은, 현재 임상에서 사용되고 있는 이리노테칸과는 달리, 항종양 효과의 발현을 위해, 효소에 의한 활성화를 필요로 하지 않는다. 또, 이리노테칸의 약효 본체인 SN-38 이나, 동일하게 임상에서 사용되고 있는 토포테칸보다 강한 토포이소메라아제 I 저해 활성이 관찰되고, in vitro 에서 여러 가지 암 세포에 대해 보다 강한 살세포 활성이 관찰되었다. 특히 p-당단백질 (P-glycoprotein) 의 발현에 의해 SN-38 등에 내성을 나타내는 암 세포에 대해서도 효과가 관찰되었다. 또, 마우스의 인간 종양 피하 이식 모델에서도 강한 항종양 효과가 관찰되었지만, 임상 시험이 실시되었지만 출시에는 이르지 않았다 (비특허문헌 5 ~ 10). 엑사테칸이 ADC 의 약물로서 유효하게 작용하는지에 대해서는 분명하지 않았다.

[0007] DE-310 은, 생분해성의 카르복시메틸텍스트란폴리알코올 폴리머에 엑사테칸을, GGFG 펩티드 스페이서를 통해서 결합시킨 복합체이다 (특허문헌 3). 엑사테칸을 고분자 프로드러그화함으로써, 높은 혈중 체류성을 유지시키고, 또한 종양 신생 혈관의 투과성의 항진과 종양 조직 체류성을 이용하여, 수동적으로 종양 부위에 대한 지향성을 높인 것이다. DE-310 은, 효소에 의한 펩티드 스페이서의 절단에 의해, 활성 본체인 엑사테칸, 및 글리신이 아미노기에 결합하고 있는 엑사테칸이 지속적으로 유리되고, 그 결과 약물 동태가 개선된다. 비임상 시험에 있어서의 여러 가지 종양의 평가 모델에 있어서, DE-310 은, 여기에 포함되는 엑사테칸의 총량이 엑사테칸 단체의 투여시보다 감소하고 있음에도 불구하고, 단체의 투여시보다 보다 높은 유효성을 나타냈다. DE-310 에 관해서는 임상 시험이 실시되어 유효에도 확인되고, 활성 본체가 정상 조직보다 종양에 집적되는 것이 확인되었다는 보고가 있다. 한편, 종양에 대한 DE-310 및 활성 본체의 집적은 정상 조직에 대한 집적과 큰 차가 없어, 인간에서는 수동적인 타게팅은 볼 수 없었다는 보고도 있다 (비특허문헌 11 ~ 14). 결과적

으로 DE-310 도 출시에는 이르지 않아, 엑사테칸이 이와 같은 타게팅을 지향한 약물로서 유효하게 기능하는가에 대해서는 분명하지 않았다.

[0008] DE-310 의 관련 화합물로서, $-NH-(CH_2)_4-C(=O)-$ 로 나타내는 구조 부분을 $-GGFG-$ 스페이서와 엑사테칸 사이에 삽입하고, $-GGFG-NH-(CH_2)_4-C(=O)-$ 를 스페이서 구조로 하는 복합체도 알려져 있지만 (특허문헌 4), 동 복합체의 항종양 효과에 대해서는 전혀 알려지지 않았다.

[0009] HER2 는, 인간 상피 세포 증식 인자 수용체 2 형 관련 암 유전자로서 동정된 대표적인 증식 인자 수용체형의 암 유전자 산물의 하나이고, 분자량 185 kDa 의 티로신키나아제 도메인을 갖는 막 관통형 수용체 단백질이다 (비특허 문헌 15). HER2 의 DNA 서열 및 아미노산 서열은 공적 데이터베이스 상에 공개되어 있고, 예를 들어, M11730 (Genbank), NP_004439.2 (NCBI) 등의 엑세션 번호에 의해 참조할 수 있다.

[0010] HER2 (neu, ErbB-2) 는 EGFR (epidermal growth factor receptor : 상피 증식 인자 수용체) 패밀리의 하나이고, 호모다имер 혹은 다른 EGFR 수용체인 HER1 (EGFR, ErbB-1), HER3 (ErbB-3), HER4 (ErbB-4) 와의 헤테로다имер 형성 (비특허문헌 16 ~ 18) 에 의해 세포내 티로신 잔기가 자기 인산화되어 활성화됨으로써, 정상 세포 및 암 세포에 있어서 세포의 증식·분화·생존에 중요한 역할을 하고 있는 것이 알려져 있다 (비특허문헌 19, 20). HER2 는 유방암, 위암, 난소암 등 여러 가지 암종에 있어서 과잉 발현하고 있고 (비특허문헌 21 ~ 26), 유방암에 있어서는 부 (負) 의 예후 인자인 것이 보고되고 있다 (비특허문헌 27, 28).

[0011] 트라스투주맵은, 재조합 인간화 항 HER2 모노클로날 항체 (huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, 허셉틴 (등록상표)) 라고 칭해지는 마우스 항 HER2 항체 4D5 (비특허문헌 29, 특허문헌 5) 의 인간화 항체 (특허문헌 6) 이다. 트라스투주맵은, HER2 의 세포외 도메인 IV 에 특이적으로 결합하고, 항체 의존성 세포 장해 (ADCC) 유도나 HER2 로부터의 시그널 전달 저해를 통해서 항암 효과를 발휘한다 (비특허문헌 30, 31). 트라스투주맵은 HER2 를 과잉 발현한 종양에 대해 높은 효과를 나타내므로 (비특허문헌 32), HER2 를 과잉 발현하고 있는 전이성 유방암 환자에서의 치료약으로서, 미국에서 1999년, 일본에 있어서 2001년에 출시되었다.

[0012] 유방암에 있어서의 트라스투주맵의 치료 효과는 충분히 증명되어 있는 한편 (비특허문헌 33), 트라스투주맵에 응답하는 것은, 광범위한 종래의 항암 치료를 받은 HER2 를 과잉 발현한 유방암 환자의 약 15 % 라고 일컬어지며, 이 집단의 약 85 % 의 환자는 트라스투주맵 처치에 대해 응답하지 않거나, 응답이 빈약할 뿐이었다.

[0013] 따라서, 트라스투주맵에 대해 응답하지 않거나, 응답이 빈약한 HER2 를 과잉 발현하는 종양 또는 HER2 발현에 관련하는 장애를 앓고 있는 환자를 위해, HER2 발현에 관련하는 질병을 표적으로 하는 치료약의 필요성이 인식되어 있고, 트라스투주맵에 링커 구조를 통해서 항종양성 약물을 결합한 T-DM1 이나 HER2 의 세포외 도메인 II 를 표적으로 하여, 헤테로다имер 형성을 저해하도록 설계된 퍼투주맵 (퍼제타 (등록상표); 비특허문헌 35, 특허문헌 7) 이 개발되었다. 그러나, 응답성이나 활성의 강도, 그리고 적용 범위는 여전히 충분하지 않고, HER2 를 표적으로 하는 미충족 요구가 존재하고 있다

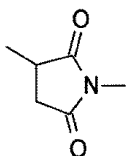
[0014] 항체-약물 콘주게이트로서, 항 HER2 항체와 엑사테칸을 구성 요소로 하는 항체-약물 콘주게이트가 알려져 있고, 특히 다음 구조의 것이 우수한 특성을 갖는 것이 분명해지고 있다 (특허문헌 8). 즉, 다음 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트이다.

[0015] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-CH_2CH_2CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-O-CH_2-C(=O)-(NH-DX)$

[0016] (식 중,

[0017] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-$ 은 다음 식 :

[0018] [화학식 2]

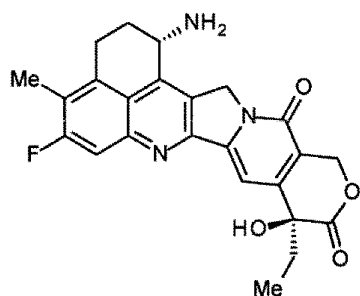


[0019]

[0020] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0021] -(NH-DX) 는 다음 식 :

[0022] [화학식 3]



[0023]

[0024] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타낸다.

[0025] 상기의 항 HER2 항체-약물 콘주게이트는, 항 HER2 항체 1 분자에 대해 다음 식으로 나타내는 약물-링커 구조 :

[0026] -(숙신이미드-3-일-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)

[0027] 를 결합시키고 있다. 이 약물-링커 구조는 항체의 사슬 사이의 디설파이드 결합 부위 (2 지점의 중사슬-중사슬 사이, 및 2 지점의 중사슬-경사슬 사이) 에, 티오에테르 결합을 통해서 최대 8 개 결합시킬 수 있다. 이 최대수에 가까운, 거의 8 개의 약물-링커 구조를 결합시킨 항 HER2 항체-약물 콘주게이트가 취득되고 있다.

이와 같은 항체 1 분자당의 약물 결합수가 많은 항체-약물 콘주게이트는, 매우 우수한 항암 작용을 발휘하는 것이 분명해지고 있다. 예를 들어, 담양 마우스를 사용한 전임상 연구에 있어서, 암 세포에서의 HER2 의 발현이 저발현이어도 살세포 활성을 갖는 것이 확인되고 있다 (특허문헌 8, 비특허문헌 36). 이와 같이 상기의 항 HER2 항체-약물 콘주게이트는, 우수한 항암약으로서 기대되고, 임상 시험이 진행 중이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0028] (특허문헌 0001) 일본 공개특허공보 평5-59061 호

(특허문헌 0002) 일본 공개특허공보 평8-337584 호

(특허문헌 0003) 국제 공개 제1997/46260 호

(특허문헌 0004) 국제 공개 제2000/25825 호

(특허문헌 0005) 미국 특허 제5677171 호

(특허문헌 0006) 미국 특허 제5821337 호

(특허문헌 0007) 국제 공개 제01/00244 호

(특허문헌 0008) 국제 공개 제2015/115091호

비특허문헌

[0029] (비특허문헌 0001) Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13.

(비특허문헌 0002) Alley, S. C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537.

(비특허문헌 0003) Damle N. K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-1452.

(비특허문헌 0004) Senter P. D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637.

(비특허문헌 0005) Kumazawa, E., Tohgo, A., Exp. Opin. Invest. Drugs (1998) 7, 625-632.

(비특허문헌 0006) Mitsui, I., et al., Jpn J. Cancer Res. (1995) 86, 776-782.

- (비특허문헌 0007) Takiguchi, S., et al., Jpn J. Cancer Res. (1997) 88, 760-769.
- (비특허문헌 0008) Joto, N. et al. Int J Cancer (1997) 72, 680-686.
- (비특허문헌 0009) Kumazawa, E. et al., Cancer Chemother. Pharmacol. (1998) 42, 210-220.
- (비특허문헌 0010) De Jager, R., et al., Ann N Y Acad Sci (2000) 922, 260-273.
- (비특허문헌 0011) Inoue, K. et al., Polymer Drugs in the Clinical Stage, Edited by Maeda et al. (2003) 145-153.
- (비특허문헌 0012) Kumazawa, E. et al., Cancer Sci (2004) 95, 168-175.
- (비특허문헌 0013) Soepenbergh, O. et al., Clinical Cancer Research, (2005) 11, 703-711.
- (비특허문헌 0014) Wenthe M. N. et al., Investigational New Drugs (2005) 23, 339-347.
- (비특허문헌 0015) Coussens L, et al., Science. 1985 ; 230 (4730) : 1132-1139.
- (비특허문헌 0016) Graus-Porta G, et al., EMBO J. 1997 ; 16 : 1647-1655.
- (비특허문헌 0017) Karnagaran D, et al., EMBO J. 1996 ; 15 : 254-264.
- (비특허문헌 0018) Sliwkowski MX, et al., J. Biom Chem. 1994 ; 269 : 14661-14665.
- (비특허문헌 0019) Di Fore PP, et al., Science. 1987 ; 237 : 178-182.
- (비특허문헌 0020) Hudziak RM, et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 ; 84 : 7159-7163.
- (비특허문헌 0021) Hardwick R, et al., Eur. J Surg Oncol. 1997 (23) : 30-35.
- (비특허문헌 0022) Korkaya H, et al., Oncogene. 2008 ; 27 (47) : 6120-6130.
- (비특허문헌 0023) Yano T, et al., Oncol Rep. 2006 ; 15 (1) : 65-71.
- (비특허문헌 0024) Slamon DJ, et al., Science. 1987 ; 235 : 177-182.
- (비특허문헌 0025) Gravalos C, et al., Ann Oncol 19 : 1523-1529, 2008.
- (비특허문헌 0026) Fukushima S et al., Mol Cell Biol 6 : 955-958, 1986.
- (비특허문헌 0027) Slamon DJ, et al. Science. 1989 ; 244 : 707-712.
- (비특허문헌 0028) Kaptain S et al., Diagn Mol Pathol 10 : 139-152, 2001.
- (비특허문헌 0029) Fendly. et al., Cancer Research 1990 (50) : 1550-1558.
- (비특허문헌 0030) Sliwkowski MX, et al., Semin Oncol. 1999 ; 26 (4,Suppl 12) : 60-70.
- (비특허문헌 0031) Hudis CA, et al., N Engl J Med. 357 : 39-51, 2007.
- (비특허문헌 0032) Vogel CL, et al., J Clin Oncol. 2002 ; 20 (3) : 719-726.
- (비특허문헌 0033) Baselga et al., J. Clin. Oncol. 14 : 737-744 (1996).
- (비특허문헌 0034) Howard A. et al., J Clin Oncol 29 : 398-405.
- (비특허문헌 0035) Adams CW, et al., Cancer Immunol Immunother. 2006 ; 6 : 717-727.
- (비특허문헌 0036) Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research, 2016, Oct 15 ; 22 (20) : 5097-5108, Epub 2016 Mar 29.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0030] 항암약은, 치료를 위한 투여가 계속되었을 경우, 일단은 효과가 관찰되고 있어도, 암 세포의 획득 내성 (이하,

본 발명에 있어서 「이차 내성」 이라고도 한다) 에 의해 치료 효과가 관찰되지 않게 되는 것이 알려져 있다.

예를 들어, HER2 발현암에 있어서는, 트라스투주맙 엠탄신에 의한 치료가 실시된 결과, 트라스투주맙 엠탄신에 대한 내성 또는 난치성을 획득한 암이 새롭게 생기는 것이 알려져 있다. 따라서, 이와 같은 내성을 획득한 암 (이하, 본 발명에 있어서 「이차 내성암」 이라고도 한다) 에 주효하는 새로운 치료 방법을 제공할 수 있는 약제가 요망된다. 본 발명은, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 의해 내성 또는 난치성을 획득한 HER2 발현암이어도 충분한 치료 효과가 관찰되는 치료제 및 치료 방법을 제공하는 것을 주된 과제로 한다.

[0031] 또, HER2 를 발현하고 있음에도 불구하고, 기존의 항 HER2 약에서는 당초부터 치료 효과가 관찰되지 않는 암 (바꿔 말하면, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이, 기존의 항 HER2 약에 대해 본래 지닌 내성 또는 난치성을 갖는 HER2 발현암) 이 알려져 있다. 그러한 HER2 발현암으로는, HER2 저발현의 암이나 유방암 및 위암 이외의 고형암 (예를 들어, 대장암, 비소세포 폐암 등) 을 들 수 있다. 본 발명은, 그러한 HER2 발현암이어도 충분한 치료 효과가 관찰되는 치료제 및 치료 방법을 제공하는 것도 주된 과제로 한다.

과제의 해결 수단

[0032] 본 발명자들은, 다음 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트 :

[0033] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX})$

[0034] 가, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암에 대해 우수한 항종양 효과를 나타내고, 또한 안전성도 우수한 것을 전임상 시험 및 임상 시험에 있어서 알아내었다. 이 항체-약물 콘주게이트에 의하면, 이차 내성암이어도 유효한 치료를 기대할 수 있다.

[0035] 즉, 본 발명은 이하의 [1] ~ [144] 를 제공한다.

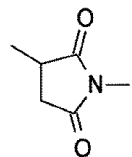
[0036] [1] 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트를 함유하는 것을 특징으로 하는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제 :

[0037] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX})$.

[0038] (식 중,

[0039] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-$ 은 다음 식 :

[0040] [화학식 4]

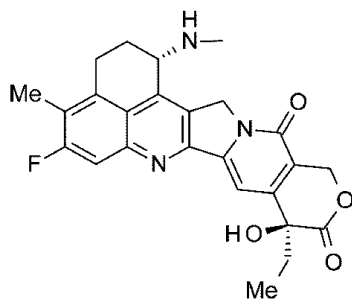


[0041]

[0042] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0043] $-(\text{NH-DX})$ 는 다음 식 :

[0044] [화학식 5]

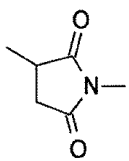


[0045]

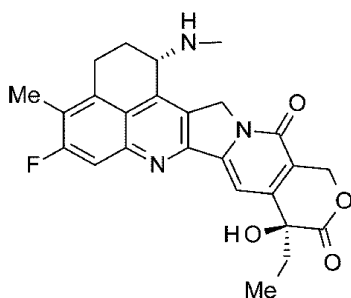
[0046] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타내고,

- [0047] -GGFG- 는, -Gly-Gly-Phe-Gly- 의 테트라펩티드 잔기를 나타낸다)
- [0048] [2] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 의해 획득된 내성 또는 난치성인, [1] 에 기재된 치료제.
- [0049] [3] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이 본래 지닌 내성 또는 난치성인, [1] 에 기재된 치료제.
- [0050] [4] 기존의 항 HER2 약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 및 라파티닙으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나인, [1] 내지 [3] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0051] [5] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙 엠탄신인, [1] 내지 [3] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0052] [6] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙인, [1] 내지 [3] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0053] [7] 기존의 항암약에 의한 치료력을 갖는 환자에게 투여하기 위한, [1] 내지 [6] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0054] [8] 기존의 항암약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 이리노테칸, 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 플루오로우라실, 겐시타빈, 카페시타빈, 파클리탁셀, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 시클로포스파미드, 마이토마이신 C, 테가푸르·기메라실·오테라실 배합제, 세톡시맙, 파니투무맙, 베바시주맙, 라무시루맙, 레고라페닙, 트리플루리딘·티피라실 배합제, 제피티닙, 엘로티닙, 아파티닙, 메토트렉사이트, 및 페메트렉세드로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는, [7] 에 기재된 치료제.
- [0055] [9] 기존의 항암약이 트라스투주맙 엠탄신을 포함하는, [7] 에 기재된 치료제.
- [0056] [10] 기존의 항암약이 트라스투주맙을 포함하는, [7] 에 기재된 치료제.
- [0057] [11] 기존의 항암약이 이리노테칸을 포함하는, [7] 에 기재된 치료제.
- [0058] [12] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인, [1] 내지 [11] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0059] [13] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인, [1] 내지 [11] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0060] [14] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 449 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 214 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [1] 내지 [13] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0061] [15] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [1] 내지 [13] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0062] [16] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인, [1] 내지 [15] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0063] [17] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 인, [1] 내지 [15] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0064] [18] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 6.4 mg/kg 인, [1] 내지 [15] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0065] [19] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 7.4 mg/kg 인, [1] 내지 [15] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0066] [20] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 8 mg/kg 인, [1] 내지 [15] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0067] [21] 항체-약물 콘주게이트가 3 주에 1 회의 간격으로 투여되는, [1] 내지 [20] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0068] [22] 유방암, 위암, 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 위식도 접합부 선암, 담관암, 췌장암, 난소암, 및 자궁암 육종으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위한, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0069] [23] 유방암의 치료를 위한, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료제.

- [0070] [24] 위암의 치료를 위한, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0071] [25] 위암 및 위식도 접합부 선암의 치료를 위한, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0072] [26] 대장암의 치료를 위한, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0073] [27] 비소세포 폐암의 치료를 위한, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0074] [28] 침샘암의 치료를 위한, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0075] [29] HER2 발현암이 HER2 과잉 발현의 암인, [1] 내지 [28] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0076] [30] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 3+ 로 판정된 암인, [29] 에 기재된 치료제.
- [0077] [31] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 양성으로 판정된 암인, [29] 에 기재된 치료제.
- [0078] [32] HER2 발현암이 HER2 저발현의 암인, [1] 내지 [28] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0079] [33] HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 음성으로 판정된 암인, [32] 에 기재된 치료제.
- [0080] [34] HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 1+ 로 판정된 암인, [32] 에 기재된 치료제.
- [0081] [35] 수술 불능 또는 재발암의 치료를 위한, [1] 내지 [34] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0082] [36] 약학적으로 허용되는 제제 성분을 함유하는, [1] 내지 [35] 중 어느 하나에 기재된 치료제.
- [0083] [37] 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트를, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함으로써, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암을 치료하는 방법 :
- [0084] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX})$.
- [0085] (식 중,
- [0086] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-$ 은 다음 식 :
- [0087] [화학식 6]



- [0088]
- [0089] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,
- [0090] $-(\text{NH-DX})$ 는 다음 식 :
- [0091] [화학식 7]



[0092]

- [0093] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타내고,
- [0094] -GGFG- 는, -Gly-Gly-Phe-Gly- 의 테트라펩티드 잔기를 나타낸다)
- [0095] [38] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 의해 획득된 내성 또는 난치성인, [37] 에 기재된 방법.
- [0096] [39] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이 본래 지닌 내성 또는 난치성인, [37] 에 기재된 방법.
- [0097] [40] 기존의 항 HER2 약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 및 라파티닙으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나인, [37] 내지 [39] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0098] [41] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙 엠탄신인, [37] 내지 [39] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0099] [42] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙인, [37] 내지 [39] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0100] [43] 기존의 항암약에 의한 치료력을 갖는 환자에게 실시하기 위한, [37] 내지 [42] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0101] [44] 기존의 항암약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 이리노테칸, 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 플루오로우라실, 겐시타빈, 카페시타빈, 파클리탁셀, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 시클로포스파미드, 마이토마이신 C, 테가푸르·기메라실·오테라실 배합제, 세톡시맙, 파니투무맙, 베바시주맙, 라무시루맙, 레고라페닙, 트리플루리딘·티피라실 배합제, 제피티닙, 엘로티닙, 아파티닙, 메토티렉사이트, 및 페메트렉세드로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는, [43] 에 기재된 방법.
- [0102] [45] 기존의 항암약이 트라스투주맙 엠탄신을 포함하는, [43] 에 기재된 방법.
- [0103] [46] 기존의 항암약이 트라스투주맙을 포함하는, [43] 에 기재된 방법.
- [0104] [47] 기존의 항암약이 이리노테칸을 포함하는, [43] 에 기재된 방법.
- [0105] [48] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인, [37] 내지 [47] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0106] [49] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인, [37] 내지 [47] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0107] [50] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 449 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 214 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [37] 내지 [49] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0108] [51] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [37] 내지 [49] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0109] [52] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인, [37] 내지 [51] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0110] [53] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 인, [37] 내지 [51] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0111] [54] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 6.4 mg/kg 인, [37] 내지 [51] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0112] [55] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 7.4 mg/kg 인, [37] 내지 [51] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0113] [56] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 8 mg/kg 인, [37] 내지 [51] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0114] [57] 항체-약물 콘주게이트를 3 주에 1 회의 간격으로 투여하는, [37] 내지 [56] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0115] [58] 유방암, 위암, 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 위식도 접합부 선암, 담관암, 파제트병, 췌장암, 난소암, 및 자궁암 육종으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위한, [37] 내지 [57] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0116] [59] 유방암의 치료를 위한, [37] 내지 [57] 중 어느 하나에 기재된 방법.

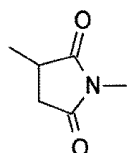
- [0117] [60] 위암의 치료를 위한, [37] 내지 [57] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0118] [61] 위암 및 위식도 접합부 선암의 치료를 위한, [37] 내지 [57] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0119] [62] 대장암의 치료를 위한, [37] 내지 [57] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0120] [63] 비소세포 폐암의 치료를 위한, [37] 내지 [57] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0121] [64] 침샘암의 치료를 위한, [37] 내지 [57] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0122] [65] HER2 발현암이 HER2 과잉 발현의 암인, [37] 내지 [64] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0123] [66] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 3+ 로 판정된 암인, [65] 에 기재된 방법.
- [0124] [67] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 양성으로 판정된 암인, [65] 에 기재된 방법.
- [0125] [68] HER2 발현암이 HER2 저발현의 암인, [37] 내지 [64] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0126] [69] HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 음성으로 판정된 암인, [68] 에 기재된 방법.
- [0127] [70] HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 1+ 로 판정된 암인, [68] 에 기재된 방법.
- [0128] [71] 수술 불능 또는 재발암의 치료를 위한, [37] 내지 [70] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0129] [72] 약학적으로 허용되는 제제 성분과 함께 항체-약물 콘주게이트를 투여하는, [37] 내지 [71] 중 어느 하나에 기재된 방법.
- [0130] [73] 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료약으로서의 사용을 위한, 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트 :

[0131] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX}).$

[0132] (식 중,

[0133] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-$ 은 다음 식 :

[0134] [화학식 8]

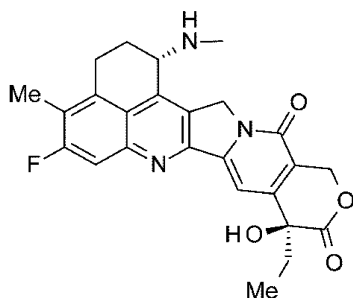


[0135]

[0136] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0137] $-(\text{NH-DX})$ 는 다음 식 :

[0138] [화학식 9]



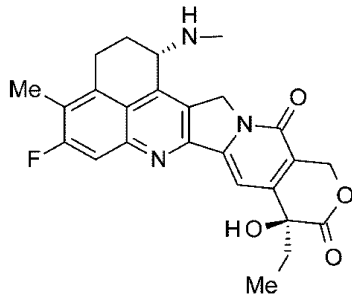
[0139]

[0140] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타내고,

- [0141] -GGFG- 는, -Gly-Gly-Phe-Gly- 의 테트라펩티드 잔기를 나타낸다)
- [0142] [74] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 의해 획득된 내성 또는 난치성인, [73] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0143] [75] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이 본래 지닌 내성 또는 난치성인, [73] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0144] [76] 기존의 항 HER2 약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 및 라파티닙으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나인, [73] 내지 [75] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0145] [77] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙 엠탄신인, [73] 내지 [75] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0146] [78] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙인, [73] 내지 [75] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0147] [79] 기존의 항암약에 의한 치료력을 갖는 환자에게 투여하기 위한, [73] 내지 [78] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0148] [80] 기존의 항암약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 이리노테칸, 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 플루오로우라실, 겐시타빈, 카페시타빈, 파클리탁셀, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 시클로포스파미드, 마이토마이신 C, 테가푸르 · 기메라실 · 오테라실 배합제, 세톡시맙, 파니투무맙, 베바시주맙, 라무시루맙, 레고라페닙, 트리플루리딘 · 티피라실 배합제, 제피티닙, 엘로티닙, 아파티닙, 메토크렉사이트, 및 페메트렉세드로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는, [79] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0149] [81] 기존의 항암약이 트라스투주맙 엠탄신을 포함하는, [79] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0150] [82] 기존의 항암약이 트라스투주맙을 포함하는, [79] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0151] [83] 기존의 항암약이 이리노테칸을 포함하는, [79] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0152] [84] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인, [73] 내지 [83] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0153] [85] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인, [73] 내지 [83] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0154] [86] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 449 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 214 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [73] 내지 [85] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0155] [87] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [73] 내지 [85] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0156] [88] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인, [73] 내지 [87] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0157] [89] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 인, [73] 내지 [87] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0158] [90] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 6.4 mg/kg 인, [73] 내지 [87] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0159] [91] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 7.4 mg/kg 인, [73] 내지 [87] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0160] [92] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 8 mg/kg 인, [73] 내지 [87] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.

- [0161] [93] 항체-약물 콘주게이트가 3 주에 1 회의 간격으로 투여되는, [73] 내지 [92] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0162] [94] 유방암, 위암, 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 위식도 접합부 선암, 담관암, 파제트병, 췌장암, 난소암, 및 자궁암 육종으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위한, [73] 내지 [93] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0163] [95] 유방암의 치료를 위한, [73] 내지 [93] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0164] [96] 위암의 치료를 위한, [73] 내지 [93] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0165] [97] 위암 및 위식도 접합부 선암의 치료를 위한, [73] 내지 [93] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0166] [98] 대장암의 치료를 위한, [73] 내지 [93] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0167] [99] 비소세포 폐암의 치료를 위한, [73] 내지 [93] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0168] [100] 침샘암의 치료를 위한, [73] 내지 [93] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0169] [101] HER2 발현암이 HER2 과잉 발현의 암인, [73] 내지 [100] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0170] [102] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 3+ 로 판정된 암인, [101] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0171] [103] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 양성으로 판정된 암인, [101] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0172] [104] HER2 발현암이 HER2 저발현의 암인, [73] 내지 [100] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0173] [105] HER2 저발현의 암이 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 음성으로 판정된 암인, [104] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0174] [106] HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 1+ 로 판정된 암인, [104] 에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0175] [107] 수술 불능 또는 재발암의 치료를 위한, [73] 내지 [106] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0176] [108] 약학적으로 허용되는 제제 성분과 함께 투여되는, [73] 내지 [107] 중 어느 하나에 기재된 항체-약물 콘주게이트.
- [0177] [109] 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암을 치료하기 위한 의약의 제조를 위한, 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트의 사용 :
- [0178] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX})$.
- [0179] (식 중,
- [0180] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-$ 은 다음 식 :
- [0181] [화학식 10]
-
- [0182]
- [0183] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,
- [0184] $-(\text{NH-DX})$ 는 다음 식 :

[0185] [화학식 11]



[0186]

[0187] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타내고,

[0188] -GGFG- 는, -Gly-Gly-Phe-Gly- 의 테트라펩티드 잔기를 나타낸다)

[0189] [110] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 의해 획득된 내성 또는 난치성인, [109] 에 기재된 사용.

[0190] [111] 내성 또는 난치성이, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이 본래 지닌 내성 또는 난치성인, [109] 에 기재된 사용.

[0191] [112] 기존의 항 HER2 약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 및 라파티닙으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나인, [109] 내지 [111] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0192] [113] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙 엠탄신인, [109] 내지 [111] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0193] [114] 기존의 항 HER2 약이 트라스투주맙인, [109] 내지 [111] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0194] [115] 기존의 항암약에 의한 치료력을 갖는 환자에게 투여하기 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [114] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0195] [116] 기존의 항암약이, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 이리노테칸, 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 플루오로우라실, 겐시타빈, 카페시타빈, 파클리탁셀, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 시클로포스파미드, 마이토마이신 C, 테가푸르·기메라실·오테라실 배합제, 세톡시맙, 파니투무맙, 베바시주맙, 라무시루맙, 레고라페닙, 트리플루리딘·티피라실 배합제, 제피티닙, 엘로티닙, 아파티닙, 메토크렉사이트, 및 페메트렉세드로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는, [115] 에 기재된 사용.

[0196] [117] 기존의 항암약이 트라스투주맙 엠탄신을 포함하는, [115] 에 기재된 사용.

[0197] [118] 기존의 항암약이 트라스투주맙을 포함하는, [115] 에 기재된 사용.

[0198] [119] 기존의 항암약이 이리노테칸을 포함하는, [115] 에 기재된 사용.

[0199] [120] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인, [109] 내지 [119] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0200] [121] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인, [109] 내지 [119] 중 어느 하나에 기재된 사용.

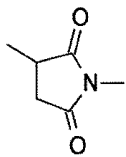
[0201] [122] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 449 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 214 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [109] 내지 [121] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0202] [123] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항 HER2 항체가, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 항체인, [109] 내지 [121] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0203] [124] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인, [109] 내지 [123] 중 어느 하나에 기재된 사용.

- [0204] [125] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg 인, [109] 내지 [123] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0205] [126] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 6.4 mg/kg 인, [109] 내지 [123] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0206] [127] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 7.4 mg/kg 인, [109] 내지 [123] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0207] [128] 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 8 mg/kg 인, [109] 내지 [123] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0208] [129] 항체-약물 콘주게이트가 3 주에 1 회의 간격으로 투여되는, [109] 내지 [128] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0209] [130] 유방암, 위암, 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 위식도 접합부 선암, 담관암, 파제트병, 췌장암, 난소암, 및 자궁암 육종으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [129] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0210] [131] 유방암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [129] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0211] [132] 위암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [129] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0212] [133] 위암 및 위식도 접합부 선암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [129] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0213] [134] 대장암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [129] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0214] [135] 비소세포 폐암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [129] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0215] [136] 침샘암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [129] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0216] [137] HER2 발현암이 HER2 과잉 발현의 암인, [109] 내지 [136] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0217] [138] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 3+ 로 판정된 암인, [137] 에 기재된 사용.
- [0218] [139] HER2 과잉 발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 양성으로 판정된 암인, [137] 에 기재된 사용.
- [0219] [140] HER2 발현암이 HER2 저발현의 암인, [109] 내지 [136] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0220] [141] HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 음성으로 판정된 암인, [140] 에 기재된 사용.
- [0221] [142] HER2 저발현의 암이, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 1+ 로 판정된 암인, [140] 에 기재된 사용.
- [0222] [143] 수술 불능 또는 재발암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한, [109] 내지 [142] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0223] [144] 의약이 약학적으로 허용되는 제제 성분을 포함하는, [109] 내지 [143] 중 어느 하나에 기재된 사용.
- [0224] 에 관한 것이다.
- [0225] 또, 본 발명은 이하와 같이 나타낼 수도 있다.
- [0226] [1] 내성암의 치료를 위한, 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트, 그 염, 또는 그들의 수화물의 사용.
- [0227] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH}-\text{DX})$
- [0228] (식 중,
- [0229] $-(\text{숙신이미드}-3\text{-일-N})-$ 은 다음 식 :

[0230] [화학식 12]

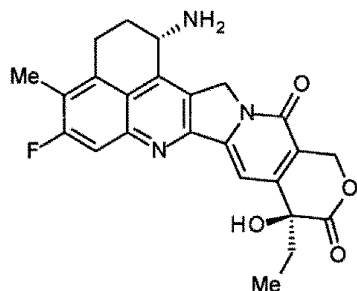


[0231]

[0232] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0233] -(NH-DX) 는 다음 식 :

[0234] [화학식 13]



[0235]

[0236] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타낸다)

[0237] [2] 내성암이 이차 내성암인 [1] 에 기재된 사용.

[0238] [3] 이차 내성이 항 HER2 항체를 포함하는 항체-약물 콘주게이트의 투여에 의한 이차 내성인 [2] 에 기재된 사용.

[0239] [4] 이차 내성이, 항 HER2 항체-약물 콘주게이트인 T-DM1 의 투여에 의해 획득된 이차 내성인 [2] 또는 [3] 에 기재된 사용.

[0240] [5] 이차 내성이 항 HER2 항체의 투여에 의한 이차 내성인 [2] 에 기재된 사용.

[0241] [6] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 2 내지 8 개의 범위인 [1] 내지 [5] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0242] [7] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 3 내지 8 개의 범위인 [1] 내지 [5] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0243] [8] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인 [1] 내지 [5] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0244] [9] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인 [1] 내지 [5] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0245] [10] 항체-약물 콘주게이트의 투여량이 0.8 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인 [1] 내지 [9] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0246] [11] 항체-약물 콘주게이트의 투여가 3 주에 1 회 실시되는 [1] 내지 [10] 중 어느 하나에 기재된 사용.

[0247] [12] 내성암이 폐암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 난소암, 췌암, 유방암, 방광암, 위암, 위장간질 종양, 자궁경부암, 식도암, 편평상피암, 복막암, 간암, 간세포암, 결장암, 직장암, 결장 직장암, 자궁 내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 외음부암, 갑상선암, 음경암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종, 또는 육종인 [1] 내지 [11] 중 어느 하나에 기재된 사용.

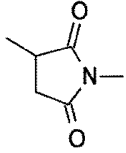
[0248] [13] 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트, 그 염, 또는 그들의 수화물을 활성 성분으로 하고, 약학적으로 허용되는 제제 성분을 함유하는 내성암의 치료용 의약 조성물.

[0249] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX})$

[0250] (식 중,

[0251] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-$ 은 다음 식 :

[0252] [화학식 14]

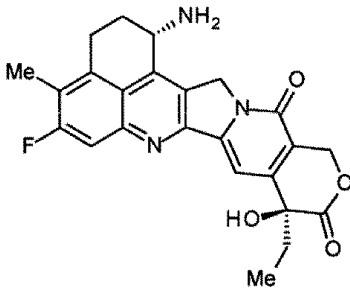


[0253]

[0254] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0255] $-(\text{NH-DX})$ 는 다음 식 :

[0256] [화학식 15]



[0257]

[0258] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타낸다)

[0259] [14] 내성암이 이차 내성암인 [13] 에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0260] [15] 이차 내성이 항 HER2 항체를 포함하는 항체-약물 콘주게이트의 투여에 의한 이차 내성인 [13] 에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0261] [16] 이차 내성이 항 HER2 항체-약물 콘주게이트인 T-DM1 투여에 의해 획득된 이차 내성인 [14] 또는 [15] 에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0262] [17] 이차 내성이 항 HER2 항체의 투여에 의한 이차 내성인 [14] 에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0263] [18] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 2 내지 8 개의 범위인 [13] 내지 [17] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0264] [19] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 3 내지 8 개의 범위인 [13] 내지 [17] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0265] [20] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인 [13] 내지 [17] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0266] [21] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인 [13] 내지 [17] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0267] [22] 항체-약물 콘주게이트의 투여량이 0.8 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인 [13] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0268] [23] 3 주에 1 회 투여되는 [13] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0269] [24] 내성암이 폐암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 난소암, 췌암, 유방암, 방광암, 위암, 위장간질 종양, 자궁경부암, 식도암, 편평상피암, 복막암, 간암, 간세포암, 결장암, 직장암, 결장 직장암, 자궁 내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 외음부암, 갑상선암, 음경암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종, 또는 육종인 [13]

내지 [23] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

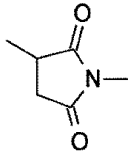
[0270] [25] 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트, 그 염, 또는 그들의 수화물을 투여하는 것을 특징으로 하는 내성암의 치료 방법.

[0271] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX})$

[0272] (식 중,

[0273] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-$ 은 다음 식 :

[0274] [화학식 16]

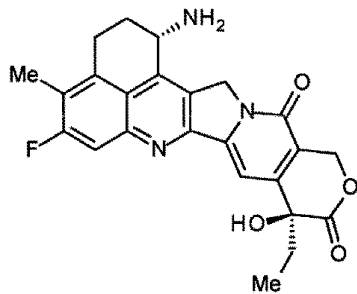


[0275]

[0276] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0277] $-(\text{NH-DX})$ 는 다음 식 :

[0278] [화학식 17]



[0279]

[0280] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타낸다)

[0281] [26] 내성암이 이차 내성암인 [25] 에 기재된 치료 방법.

[0282] [27] 이차 내성이 항 HER2 항체를 포함하는 항체-약물 콘주게이트의 투여에 의한 이차 내성인 [26] 에 기재된 치료 방법.

[0283] [28] 이차 내성이 항 HER2 항체-약물 콘주게이트인 T-DM1 투여에 의해 획득된 이차 내성인 [26] 또는 [27] 에 기재된 치료 방법.

[0284] [29] 이차 내성이 항 HER2 항체의 투여에 의한 이차 내성인 [26] 에 기재된 치료 방법.

[0285] [30] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 2 내지 8 개의 범위인 [25] 내지 [29] 중 어느 하나에 기재된 치료 방법.

[0286] [31] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 3 내지 8 개의 범위인 [25] 내지 [29] 중 어느 하나에 기재된 치료 방법.

[0287] [32] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인 [25] 내지 [29] 중 어느 하나에 기재된 치료 방법.

[0288] [33] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인 [25] 내지 [29] 중 어느 하나에 기재된 치료 방법.

[0289] [34] 항체-약물 콘주게이트의 투여량이 0.8 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인 [25] 내지 [33] 중 어느 하나에 기재된 치료 방법.

[0290] [35] 항체-약물 콘주게이트의 투여가 3 주에 1 회 실시되는 [25] 내지 [34] 중 어느 하나에 기재된 치료 방법.

[0291] [36] 내성암이 폐암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 난소암, 췌암, 유방암, 방광암, 위암, 위장간질 종양, 자궁경부암, 식도암, 편평상피암, 복막암, 간암, 간세포암, 결장암, 직장암, 결장 직장암, 자궁 내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 외음부암, 갑상선암, 음경암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종, 또는 육종인 [25] 내지 [35] 중 어느 하나에 기재된 치료 방법.

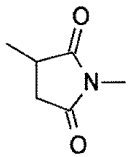
[0292] [37] 하기 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항체-약물 콘주게이트, 그 염, 또는 그들의 수화물을 활성 성분으로 하고, 약학적으로 허용되는 제제 성분을 함유하여, 항암약에 내성을 나타내는 암 환자에게 적용되는, 치료용 의약 조성물.

[0293] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{GGFG}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-(\text{NH-DX})$

[0294] (식 중,

[0295] $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-$ 은 다음 식 :

[0296] [화학식 18]

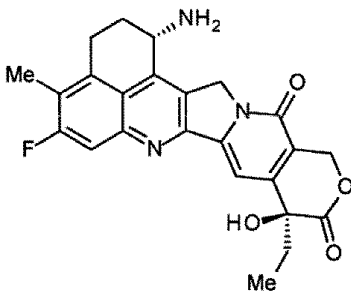


[0297]

[0298] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0299] $-(\text{NH-DX})$ 는 다음 식 :

[0300] [화학식 19]



[0301]

[0302] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기를 나타낸다)

[0303] [38] 항암약에 의한 치료력을 갖는 암 환자에게 적용되는 [37] 에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0304] [39] 다른 항암약으로 바꾸고, 혹은 다른 항암약에 조합하여 사용되는 [37] 또는 [38] 에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0305] [40] 항암약에 대한 내성이 이차 내성인 [37] 내지 [39] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0306] [41] 항암약이 항 HER2 항체를 포함하는 항체-약물 콘주게이트인 [37] 내지 [40] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0307] [42] 항암약이 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1) 인 [41] 에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0308] [43] 항암약이 항 HER2 항체인 [37] 내지 [40] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0309] [44] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 2 내지 8 개의 범위인 [37] 내지 [43] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0310] [45] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 3 내지 8 개의 범위인 [37] 내지 [43] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

[0311] [46] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7 내지 8 개의 범위인 [37] 내지 [43]

중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

- [0312] [47] 항체-약물 콘주게이트의 1 항체당 약물-링커 구조의 평균 결합수가 7.5 내지 8 개의 범위인 [37] 내지 [43] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.
- [0313] [48] 항체-약물 콘주게이트의 투여량이 0.8 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인 [37] 내지 [47] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.
- [0314] [49] 3 주에 1 회 투여되는 [37] 내지 [48] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.
- [0315] [50] 내성암이 폐암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 난소암, 췌암, 유방암, 방광암, 위암, 위장간질 종양, 자궁경부암, 식도암, 편평상피암, 복막암, 간암, 간세포암, 결장암, 직장암, 결장 직장암, 자궁 내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 외음부암, 갑상선암, 음경암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종, 또는 육종인 [37] 내지 [49] 중 어느 하나에 기재된 치료용 의약 조성물.

발명의 효과

- [0316] 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트를 함유하는 치료제는, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암에 대해 우수한 항종양 효과를 나타내고, 이차 내성암이어도 높은 항종양 효과를 나타낸다. 또, 안전성도 우수하므로, 유효한 치료 방법을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0317] 도 1 은, 인간화 항 HER2 모노클로날 항체 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 1) 을 나타낸다.
- 도 2 는, 인간화 항 HER2 모노클로날 항체 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 2) 을 나타낸다.
- 도 3 은, 항체-약물 콘주게이트 (1) 또는 T-DM1 에 의한, T-DM1 에 이차 내성화된 HER2 양성 인간 유방암 ST1616B/TDR 종양 피하 이식 누드 마우스에 대한 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 도면 중, 가로축은 첫 회 투여로부터의 일수, 세로축은 종양 체적을 나타낸다.
- 도 4 는, 항체-약물 콘주게이트 (1) 또는 T-DM1 에 의한, T-DM1 에 이차 내성화된 HER2 양성 인간 유방암 ST1360B/TDR 종양 피하 이식 누드 마우스에 대한 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 도면 중, 가로축은 첫 회 투여로부터의 일수, 세로축은 종양 체적을 나타낸다.
- 도 5 는, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 약물 동태를 나타내는 도면이다.
- 도 6 은, 항체-약물 콘주게이트 (1) 에 관한 임상 시험에 있어서의 안전성과 인용성을 나타내는 도면이다.
- 도 7 은, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 유효성에 대해, ORR (객관적 주효율) 및 DCR (병세 컨트롤률) 을 나타내는 도면이다.
- 도 8 은, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 유효성에 대해, 최대 종양 축소율 (%) 을 나타내는 도면이다.
- 도 9 는, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 유효성에 대해, 치료 기간 · 효과를 나타내는 도면이다.
- 도 10 은, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 유효성에 대해, 최대 종양 축소율 (%) 을 나타내는 도면이다.
- 도 11 은, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 유방암에 대한 유효성에 대해, 종양 축소율 (%) 의 시간 추이를 나타내는 도면이다.
- 도 12 는, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 위암에 대한 유효성에 대해, 종양 축소율 (%) 의 시간 추이를 나타내는 도면이다.
- 도 13 은, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 HER2 발현 고형암 (유방암 및 위암을 제외한다) 에 대한 유효성에 대해, 최대 종양 축소율 (%) 을 나타내는 도면이다. 도면 중, 「C」 는 대장암의 코호트를 나타내고, 「L」 은 비소세포 폐암의 코호트를 나타내고, 「S」 는 침샘암의 코호트를 나타내고, 「P」 는 파제트병의 코호트를 나타내고, 「Ch」 는 담관암의 코호트를 나타내고, 「E」 는 식도암의 코호트를 나타낸다.

또, 도면 중 「※」 는 치료가 진행 중인 것을 나타낸다.

도 14 는, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 임상 시험에 있어서의 HER2 발현 고형암 (유방암 및 위암을 제외한다) 에 대한 유효성에 대해, 중앙 축소율 (%) 의 시간 추이를 나타내는 도면이다. 도면 중, 「Colorectal」 은 대장암의 코호트를 나타내고, 「NSCLC」 는 비소세포 폐암의 코호트를 나타내고, 「Salivary」 는 침샘암의 코호트를 나타내고, 「Other」 은 그 밖의 암의 코호트를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

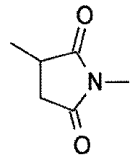
이하, 본 발명을 실시하기 위한 바람직한 형태에 대해 도면을 참조하면서 설명한다. 또한, 이하에 설명하는 실시형태는, 본 발명의 대표적인 실시형태의 일례를 나타낸 것이고, 이에 의해 본 발명의 범위가 좁게 해석되는 일은 없다.

본 발명에 있어서 사용되는 항체-약물 콘주게이트는, 다음 식으로 나타내는 링커 및 약물과, 항 HER2 항체가 결합한 항 HER2 항체-약물 콘주게이트이다.

-(숙신이미드-3-일-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-(NH-DX)

식 중, -(숙신이미드-3-일-N)- 은 다음 식 :

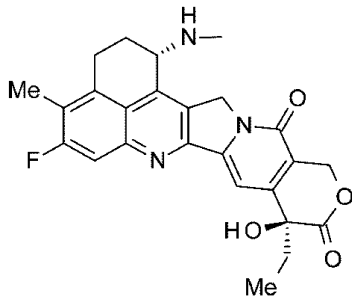
[화학식 20]



으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합한다.

-(NH-DX) 는 다음 식 :

[화학식 21]



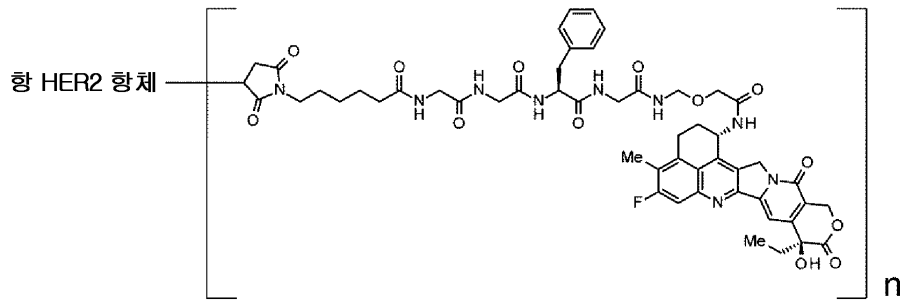
으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기이다.

또, -GGFG- 는, -Gly-Gly-Phe-Gly- 의 테트라펩티드 잔기를 나타낸다.

본 명세서에 있어서는, 항체-약물 콘주게이트 중 링커 및 약물로 이루어지는 부분 구조를 「약물-링커 구조」 라고 칭한다. 이 약물-링커 구조는, 항체의 사슬 사이의 디설파이드 결합 부위 (2 지점의 중사슬-중사슬 사이, 및 2 지점의 중사슬-경사슬 사이) 에 있어서 생성된 티올기 (바꿔 말하면, 시스테인 잔기의 황 원자) 에 결합하고 있다.

본 발명에 있어서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트는, 다음 식 :

[0332] [화학식 22]



[0333]

[0334] 으로 나타내는 구조로 나타낼 수도 있다.

[0335] 여기서, 약물-링커 구조는, 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고 있다. 또, n 은 이른바 DAR (Drug-to-Antibody Ratio) 와 동일한 의미이고, 항체 1 분자에 대한 약물의 결합수를 나타낸다. DAR 은 평균값, 즉, 평균 약물 결합수로서 특정되고, 표기되는 수치이다. 본 발명의 항체-약물 콘주게이트의 경우, n 은 2 내지 8 이면 되고, 바람직하게는 3 내지 8 이고, 보다 바람직하게는 7 내지 8 이고, 더욱 바람직하게는 7.5 내지 8 이고, n 은 약 8 인 것을 바람직하게 사용할 수 있다.

[0336] 이하에 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트에 대해 상세하게 설명한다.

[0337] [항체]

[0338] 본 발명에 있어서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트에 사용되는 항 HER2 항체는, 어느 종에서 유래해도 되지만, 바람직하게는, 인간, 래트, 마우스, 및 토끼를 예시할 수 있다. 항체가 인간 이외의 종에서 유래하는 경우에는, 주지된 기술을 사용하여, 키메라화 또는 인간화하는 것이 바람직하다. 본 발명의 항체는, 폴리클로날 항체이어도 되고, 모노클로날 항체이어도 되지만, 모노클로날 항체가 바람직하다.

[0339] 항 HER2 항체는 종양 세포를 표적으로 할 수 있는 항체이고, 즉 종양 세포를 인식할 수 있는 특성, 종양 세포에 결합할 수 있는 특성, 종양 세포 내에 도입되어 내재화되는 특성, 그리고 종양 세포에 대한 살세포 활성 등을 구비하고 있고, 항종양 활성을 갖는 화합물을, 링커를 통해서 결합시켜 항체-약물 콘주게이트로 할 수 있다.

[0340] 항체의 종양 세포에 대한 결합성은, 플로우 사이토메트리를 사용하여 확인할 수 있다. 종양 세포 내로의 항체의 도입은, (1) 치료 항체에 결합하는 이차 항체 (형광 표지) 를 사용하여 세포 내에 도입된 항체를 형광 현미경으로 가시화하는 어세이 (Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761), (2) 치료 항체에 결합하는 이차 항체 (형광 표지) 를 사용하여 세포 내에 도입된 형광량을 측정하는 어세이 (Molecular Biology of the Cell Vol. 15, 5268-5282, December 2004), 또는 (3) 치료 항체에 결합하는 이뮤노톡신을 사용하여, 세포 내에 도입되면 독소가 방출되어 세포 증식이 억제된다는 Mab-ZAP 어세이 (Bio Techniques 28 : 162-165, January 2000) 를 사용하여 확인할 수 있다. 이뮤노톡신으로는, 디프테리아 독소의 촉매 영역과 단백질 G 의 리컴비넨트 복합 단백질도 사용할 수 있다.

[0341] 항체의 항종양 활성은, in vitro 에서는, 세포의 증식의 억제 활성을 측정함으로써 확인할 수 있다. 예를 들어, 항체의 표적 단백질을 과잉 발현하고 있는 암 세포주를 배양하고, 배양계에 여러 가지 농도로 항체를 첨가하여, 포커스 형성, 콜로니 형성 및 스펜로이드 증식에 대한 억제 활성을 측정할 수 있다. in vivo 에서는, 예를 들어, 표적 단백질을 과발현하고 있는 종양 세포주를 이식한 누드 마우스에 항체를 투여하고, 암 세포의 변화를 측정함으로써, 항종양 활성을 확인할 수 있다.

[0342] 항체-약물 콘주게이트는 항종양 효과를 발휘하는 화합물을 결합시키고 있으므로, 항체 자체가 항종양 효과를 갖는 것은 바람직하지만, 필수는 아니다. 항종양성 화합물의 세포 장해성을 종양 세포에 있어서 특이적 · 선택적으로 발휘시키는 목적에서는, 항체가 내재화되어 종양 세포 내로 이행하는 성질이 있는 것이 중요하고, 바람직하다.

[0343] 항 HER2 항체는 공지된 수단에 의해 취득할 수 있다. 예를 들어, 이 분야에서 통상 실시되는 방법을 사용하여, 항원이 되는 폴리펩티드를 동물에 면역하고, 생체 내에 생성되는 항체를 채취, 정제함으로써 얻을 수 있다. 항원의 유래는 인간에 한정되지 않고, 마우스, 래트 등의 인간 이외의 동물에서 유래하는 항원을 동물에 면역할 수도 있다. 이 경우에는, 취득된 이중 항원에 결합하는 항체와 인간 항원의 교차성을 시험함으로써,

인간의 질환에 적용 가능한 항체를 선별할 수 있다.

- [0344] 또, 공지된 방법 (예를 들어, Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p.495-497 ; Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p.365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)) 에 따라, 항원에 대한 항체를 생성하는 항체 생성 세포와 미엘로마 세포를 융합시킴으로써 하이브리도마를 수립하여, 모노클로날 항체를 얻을 수도 있다.
- [0345] 또한, 항원은 항원 단백질을 코딩하는 유전자를 유전자 조작에 의해 숙주 세포에 산생시킴으로써 얻을 수 있다. 구체적으로는, 항원 유전자를 발현 가능한 벡터를 제조하고, 이것을 숙주 세포에 도입하여 그 유전자를 발현 시키고, 발현한 항원을 정제하면 된다. 상기의 유전자 조작에 의한 항원 발현 세포, 혹은 항원을 발현하고 있는 세포주를 동물에 면역하는 방법을 사용함으로써도 항체를 취득할 수 있다.
- [0346] 본 발명에서 사용할 수 있는 항 HER2 항체는, 특별히 제한은 없지만, 예를 들어, 이하의 특성을 갖는 것이 바람직하다.
- [0347] (1) 이하의 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 항 HER2 항체 ;
- [0348] (a) HER2 에 특이적으로 결합한다.
- [0349] (b) HER2 와 결합함으로써 HER2 발현 세포에 내재화되는 활성을 갖는다.
- [0350] (2) HER2 의 세포외 도메인에 결합하는 상기 (1) 에 기재된 항체.
- [0351] (3) 모노클로날 항체인 상기 (1) 또는 (2) 에 기재된 항체.
- [0352] (4) 항체 의존성 세포 상해 (ADCC) 활성 및/또는 보체 의존성 세포 상해 (CDC) 활성을 갖는 상기 (1) 내지 (3) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0353] (5) 마우스 모노클로날 항체, 키메라 모노클로날 항체, 또는 인간화 모노클로날 항체인, 상기 (1) 내지 (4) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0354] (6) 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 인간화 모노클로날 항체인 상기 (1) 내지 (5) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0355] (7) 중사슬 카르복실 말단의 리신 잔기가 결실되어 있는 상기 (1) 내지 (6) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0356] (8) 서열 번호 1 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 449 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 에 있어서 아미노산 번호 1 내지 214 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 상기 (7) 에 기재된 항체.
- [0357] (9) 상기 (1) 내지 (8) 중 어느 하나에 기재된 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 발현 벡터에 의해 형질 전환된 숙주 세포를 배양하는 공정 및 당해 공정에서 얻어진 배양물로부터 목적으로 하는 항체를 채취하는 공정을 포함하는 당해 항체의 제조 방법에 의해 얻어지는 항체.
- [0358] 이하에, 본 발명에 있어서 사용되는 항 HER2 항체에 대해 설명한다.
- [0359] 본 명세서에 있어서, 「암」 과 「종양」 은 동일한 의미로 사용하고 있다.
- [0360] 본 명세서에 있어서, 「유전자」 라는 단어에는, DNA 뿐만 아니라 그 mRNA, cDNA 및 그 cRNA 도 포함된다.
- [0361] 본 명세서에 있어서, 「폴리뉴클레오티드」 라는 단어는 핵산과 동일한 의미로 사용하고 있고, DNA, RNA, 프로브, 올리고 뉴클레오티드, 및 프라이머도 포함된다.
- [0362] 본 명세서에 있어서, 「폴리펩티드」 「단백질」 「단백」 은 구별하지 않고 사용하고 있다.
- [0363] 본 명세서에 있어서, 「세포」 에는, 동물 개체 내의 세포, 배양 세포도 포함하고 있다.
- [0364] 본 명세서에 있어서, 「HER2」 라는 단어는, HER2 단백질과 동일한 의미로 사용하고 있다.
- [0365] 본 명세서에 있어서, 항 HER2 항체란, 특별히 제한은 없지만, 퍼투주맵 (국제 공개 01/00245호), 트라스투주맵 (미국 특허 제5821337호) 등을 들 수 있지만, 트라스투주맵이 바람직하다. 단, HER2 에 특이적으로 결합하는, 보다 바람직하게는, HER2 와 결합함으로써 HER2 발현 세포에 내재화되는 활성을 갖는 항 HER2 항체이면 이것에 한정되지 않는다.

- [0366] 본 명세서에 있어서, 「트라스투주맵」은 HERCEPTIN (등록상표), huMAb4D5-8, rhuMAb4D5-8 이라고 불리는 경우도 있고, 서열 번호 1 (도 1)에 있어서 아미노산 번호 1 내지 449에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 2 (도 2)에 있어서 아미노산 번호 1 내지 214에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 인간화 항체이다.
- [0367] 본 명세서에 있어서, 「특이적으로 결합」이라는 단어는, 비특이적인 흡착이 아닌 결합을 의미한다. 결합이 특이적인지 여부의 판정 기준으로는, 예를 들어, 해리 정수 (定數) (이하, 「Kd」)를 들 수 있다. 바람직한 항체의 HER2 단백질에 대한 Kd 값은 1×10^{-5} M 이하, 5×10^{-6} M 이하, 2×10^{-6} M 이하, 또는 1×10^{-6} M 이하; 보다 바람직하게는 5×10^{-7} M 이하, 2×10^{-7} M 이하, 또는 1×10^{-7} M 이하; 보다 더 바람직하게는 5×10^{-8} M 이하, 2×10^{-8} M 이하, 또는 1×10^{-8} M 이하; 최적으로는 5×10^{-9} M 이하, 2×10^{-9} M 이하, 또는 1×10^{-9} M 이하이다. HER2 단백질과 항체의 결합은, Surface Plasmon Resonance 법, ELISA 법, RIA 법 등 공지된 방법을 사용하여 측정할 수 있다.
- [0368] 본 명세서에 있어서의 「CDR」이란, 상보성 결정 영역 (CDR: Complementarity determining region)을 의미한다. 항체 분자의 중사슬 및 경사슬에는 각각 3 지점의 CDR이 있는 것이 알려져 있다. CDR은, 초가변 영역 (hypervariable domain)이라고도 불리고, 항체의 중사슬 및 경사슬의 가변 영역 내에 있고, 일차 구조의 변이성이 특히 높은 부위이고, 중사슬 및 경사슬의 폴리펩티드 사슬의 일차 구조 상에 있어서, 각각 3 지점으로 분리되어 있다. 본 명세서에 있어서는, 항체의 CDR에 대해, 중사슬의 CDR을 중사슬 아미노산 서열의 아미노 말단측으로부터 CDRH1, CDRH2, CDRH3이라고 표기하고, 경사슬의 CDR을 경사슬 아미노산 서열의 아미노 말단측으로부터 CDRL1, CDRL2, CDRL3이라고 표기한다. 이들 부위는 입체 구조 상에서 서로 근접하여, 결합하는 항원에 대한 특이성을 결정하고 있다.
- [0369] 본 발명에 있어서, 「스트린젠트한 조건하에서 하이브리다이징한다」란, 시판되는 하이브리다이제이션 용액 ExpressHyb Hybridization Solution (클론텍사 제조) 중, 68℃에서 하이브리다이징하는 것, 또는 DNA를 고정시킨 필터를 사용하여 0.7 - 1.0 M의 NaCl 존재하, 68℃에서 하이브리다이제이션을 실시한 후, 0.1 - 2 배 농도의 SSC 용액 (1 배 농도 SSC란 150 mM NaCl, 15 mM 시트르산나트륨으로 이루어진다)을 사용하여, 68℃에서 세정함으로써 동정할 수 있는 조건 또는 그것과 동등한 조건으로 하이브리다이징하는 것을 말한다.
- [0370] 1. HER2
- [0371] HER2는 인간 상피 세포 증식 인자 수용체 2형 관련 암 유전자로서 동정된 대표적인 증식 인자 수용체형의 암 유전자 산물의 하나이고, 분자량 185 kDa의 티로신키나아제 도메인을 갖는 막 관통형 수용체 단백질이다. HER1 (EGFR, ErbB-1), HER2 (neu, ErbB-2), HER3 (ErbB-3), HER4 (ErbB-4)로 이루어지는 EGFR 패밀리의 하나이고, 호모 혹은 다른 EGFR인 HER1, HER3, 또는 HER4와의 헤테로다이머 형성에 의해 세포 내 티로신 잔기가 자기 인산화되어 활성화됨으로써, 정상 세포 및 종양 세포에 있어서 세포의 증식·분화·생존에 중요한 역할을 하는 것이 알려져 있다.
- [0372] 본 발명에서 사용하는 HER2 단백질은, 인간, 비인간 포유 동물 (랫트, 마우스 등)의 HER2 발현 세포로부터 직접 정제하여 사용하거나, 혹은 당해 세포의 세포막 획분을 조제하여 사용할 수 있고, 또, HER2를 in vitro에서 합성하거나, 혹은 유전자 조작에 의해 숙주 세포에 산생시킴으로써 얻을 수 있다. 유전자 조작에서는, 구체적으로는, HER2 cDNA를 발현 가능한 벡터에 삽입한 후, 전사와 번역에 필요한 효소, 기질 및 에너지 물질을 포함하는 용액 중에서 합성하거나, 혹은 다른 원핵 생물, 또는 진핵 생물의 숙주 세포를 형질 전환하여 HER2를 발현시킴으로써, 그 단백질을 얻을 수 있다. 또, 상기의 유전자 조작에 의한 HER2 발현 세포, 혹은 HER2를 발현하고 있는 세포주를 HER2 단백질로서 사용할 수도 있다.
- [0373] HER2의 DNA 서열 및 아미노산 서열은 공적 데이터베이스 상에 공개되어 있고, 예를 들어, M11730 (Genbank), NP_004439.2 (NCBI) 등의 액세스 번호에 의해 참조할 수 있다.
- [0374] 또, 상기 HER2의 아미노산 서열에 있어서, 1 또는 수 개의 아미노산이 치환, 결실 및/또는 부가된 아미노산 서열로 이루어지고, 당해 단백질과 동등한 생물 활성을 갖는 단백질도 HER2에 포함된다.
- [0375] 인간 HER2 단백질은, N 말단 22 아미노산 잔기로 이루어지는 시그널 서열, 630 아미노산 잔기로 이루어지는 세포외 도메인, 23 아미노산 잔기로 이루어지는 세포막 관통 도메인, 580 아미노산 잔기로 이루어지는 세포내 도메인으로 구성되어 있다.

- [0376] 2. 항 HER2 항체의 제조
- [0377] 본 발명의 HER2 에 대한 항체는, 예를 들어, 이 분야에서 통상 실시되는 방법에 따라, HER2 또는 HER2 의 아미노산 서열에서 선택되는 임의의 폴리펩티드를 동물에 면역하고, 생체 내에 생성되는 항체를 채취, 정제함으로써 얻을 수 있다. 항원이 되는 HER2 의 생물종은 인간에 한정되지 않고, 마우스, 래트 등의 인간 이외의 동물에서 유래하는 HER2, 래트 p185neu 등을 동물에 면역할 수도 있다. 이 경우에는, 취득된 이중 HER2 에 결합하는 항체와 인간 HER2 와의 교차성을 시험함으로써, 인간의 질환에 적용 가능한 항체를 선별할 수 있다.
- [0378] 또, 공지된 방법 (예를 들어, Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p.495-497 ; Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p.365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)) 에 따라, HER2 에 대한 항체를 생성하는 항체 생성 세포와 미엘로마 세포를 융합시킴으로써 하이브리도마를 수립하여, 모노클로날 항체를 얻을 수도 있다.
- [0379] 또한, 항원이 되는 HER2 는 HER2 유전자를 유전자 조작에 의해 숙주 세포에 발현시킴으로써 얻을 수 있다.
- [0380] 구체적으로는, HER2 유전자를 발현 가능한 벡터를 제조하고, 이것을 숙주 세포에 도입하여 그 유전자를 발현시키고, 발현한 HER2 를 정제하면 된다.
- [0381] 또, 상기의 유전자 조작에 의한 HER2 발현 세포, 혹은 HER2 를 발현하고 있는 세포주를 HER2 단백질로서 사용할 수도 있다. 항 HER2 항체는, 공지된 수단에 의해 취득할 수 있다. 이하, 구체적으로 HER2 에 대한 항체의 취득 방법을 설명한다.
- [0382] (1) 항원의 조제
- [0383] 항 HER2 항체를 제조하기 위한 항원으로는, HER2 또는 그 적어도 6 개가 연속된 부분 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드, 혹은 이들에 임의의 아미노산 서열이나 담체가 부가된 유도체를 들 수 있다.
- [0384] HER2 는, 인간의 종양 조직 혹은 종양 세포로부터 직접 정제하여 사용할 수 있고, 또, HER2 를 in vitro 에서 합성하거나, 혹은 유전자 조작에 의해 숙주 세포에 생성시킴으로써 얻을 수 있다.
- [0385] 유전자 조작에서는, 구체적으로는, HER2 의 cDNA 를 발현 가능한 벡터에 삽입한 후, 전사와 번역에 필요한 효소, 기질 및 에너지 물질을 포함하는 용액 중에서 합성하거나, 혹은 다른 원핵 생물 또는 진핵 생물의 숙주 세포를 형질 전환하여 HER2 를 발현시킴으로써 항원을 얻을 수 있다.
- [0386] 또, 막단백질인 HER2 의 세포외 영역과 항체의 정상 영역을 연결한 융합 단백질을 적절한 숙주·벡터계에 있어서 발현시킴으로써, 분비 단백질로서 항원을 얻을 수도 있다.
- [0387] HER2 의 cDNA 는, 예를 들어 HER2 의 cDNA 를 발현하고 있는 cDNA 라이브러리를 주형으로 하여, HER2 cDNA 를 특이적으로 증폭시키는 프라이머를 사용하여 폴리메라아제 연쇄 반응 (PCR ; Saiki, R. K., et al., Science (1988) 239, p.487-489 참조) 을 실시하는, 이른바 PCR 법에 의해 취득할 수 있다.
- [0388] 폴리펩티드의 인·비트로 (in vitro) 합성으로는, 예를 들어 로슈·다이아그노스틱스사 제조의 래피드 트랜슬레이션 시스템 (RTS) 을 들 수 있지만, 이것에 한정되지 않는다.
- [0389] 원핵 세포의 숙주로는, 예를 들어, 대장균 (Escherichia coli) 이나 고초균 (Bacillus subtilis) 등을 들 수 있다. 목적으로 하는 유전자를 이들 숙주 세포 내에서 형질 전환시키기 위해서는, 숙주과 적합할 수 있는 종 유래의 레플리콘 즉 복제 기점과, 조절 서열을 포함하고 있는 플라스미드 벡터로 숙주 세포를 형질 전환시킨다. 또, 벡터로는, 형질 전환 세포에 표현 형질 (표현형) 의 선택성을 부여할 수 있는 서열을 갖는 것이 바람직하다.
- [0390] 진핵 세포의 숙주 세포에는, 척추 동물, 곤충, 효모 등의 세포가 포함되고, 척추 동물 세포로는, 예를 들어, 원숭이의 세포인 COS 세포 (Gluzman, Y. Cell (1981) 23, p.175-182, ATCC CRL-1650 ; ATCC : American Type Culture Collection), 마우스 섬유아세포 NIH3T3 (ATCC No.CRL-1658) 이나 차이니즈·햄스터 난소 세포 (CHO 세포, ATCC CCL-61) 의 디하이드로 엽산 환원 효소 결손주 (Urlaub, G. and Chasin, L. A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, p.4126-4220) 등이 자주 사용되고 있지만, 이들에 한정되지 않는다.
- [0391] 상기와 같이 하여 얻어지는 형질 전환체는, 이 분야에서 통상 실시되는 방법에 따라 배양할 수 있고, 그 배양에 의해 세포내 또는 세포외에 목적으로 하는 폴리펩티드가 생성된다.
- [0392] 그 배양에 사용되는 배지로는, 채용한 숙주 세포에 따라 관용되는 각종 것을 적절히 선택할 수 있고, 대장균이면, 예를 들어, LB 배지에 필요에 따라, 암피실린 등의 항생 물질이나 IPMG 를 첨가하여 사용할 수 있다.

- [0393] 상기 배양에 의해, 형질 전환체의 세포내 또는 세포외에 생성되는 재조합 단백질은, 그 단백질의 물리적 성질이나 화학적 성질 등을 이용한 각종 공지된 분리 조작법에 의해 분리·정제할 수 있다.
- [0394] 그 방법으로는, 구체적으로는 예를 들어, 통상적인 단백질 침전제에 의한 처리, 한외 여과, 분자 체 크로마토그래피 (겔 여과), 흡착 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 어피니티 크로마토그래피 등의 각종 액체 크로마토그래피, 투석법, 이들의 조합 등을 예시할 수 있다.
- [0395] 또, 발현시키는 재조합 단백질에 6 잔기로 이루어지는 히스티딘 태그를 연결함으로써, 니켈 어피니티 칼럼으로 효율적으로 정제할 수 있다. 혹은, 발현시키는 재조합 단백질에 IgG 의 Fc 영역을 연결함으로써, 프로테인 A 칼럼으로 효율적으로 정제할 수 있다.
- [0396] 상기 방법을 조합함으로써 용이하게 고수율, 고순도로 목적으로 하는 폴리펩티드를 대량으로 제조할 수 있다.
- [0397] 상기에 서술한 형질 전환체 자체를 항원으로서 사용할 수도 있다. 또, HER2 를 발현하는 세포주를 항원으로서 사용할 수도 있다. 이와 같은 세포주로는, 인간 유방암주 SK-BR-3, BT-474, KPL-4, 또는 JIMT-1, 인간 위암주 NCI-N87, 및 인간 난소암주 SK-OV-3 을 들 수 있지만, HER2 를 발현하는 한, 이들 세포주에 한정되지 않는다.
- [0398] (2) 항 HER2 모노클로날 항체의 제조
- [0399] HER2 와 특이적으로 결합하는 항체의 예로서, HER2 와 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체를 들 수 있지만, 그 취득 방법은 이하에 기재하는 바와 같다.
- [0400] 모노클로날 항체의 제조에 있어서는, 일반적으로 하기와 같은 작업 공정이 필요하다.
- [0401] 즉,
- [0402] (a) 항원으로서 사용하는 생체 고분자의 정제, 또는 항원 발현 세포의 조제
- [0403] (b) 항원을 동물에 주사함으로써 면역시킨 후, 혈액을 채취하여 그 항체가를 검정하여 비장 적출의 시기를 결정하고 나서, 항체 산생 세포를 조제하는 공정
- [0404] (c) 골수종 세포 (이하 「미엘로마」 라고 한다) 의 조제
- [0405] (d) 항체 산생 세포와 미엘로마의 세포 융합
- [0406] (e) 목적으로 하는 항체를 산생하는 하이브리도마군의 선별
- [0407] (f) 단일 세포 클론으로의 분할 (클로닝)
- [0408] (g) 경우에 따라서는, 모노클로날 항체를 대량으로 제조하기 위한 하이브리도마의 배양, 또는 하이브리도마를 이식한 동물의 사육
- [0409] (h) 이와 같이 하여 제조된 모노클로날 항체의 생리 활성, 및 그 결합 특이성의 검토, 혹은 표지 시약으로서의 특성의 검정
- [0410] 등이다.
- [0411] 이하, 모노클로날 항체의 제조법을 상기 공정에 따라 상세히 서술하지만, 그 항체의 제조법은 이것에 제한되지 않고, 예를 들어 비세포 (脾細胞) 이외의 항체 산생 세포 및 미엘로마를 사용할 수도 있다.
- [0412] (a) 항원의 정제
- [0413] 항원으로는, 상기한 바와 같은 방법으로 조제한 HER2 또는 그 일부를 사용할 수 있다.
- [0414] 또, HER2 발현 재조합 체세포에 의해 조제한 막 획분, 또는 HER2 발현 재조합 체세포 자신, 또한 당업자에게 주지된 방법을 사용하여 화학 합성한 본 발명 관련 단백질의 부분 펩티드를 항원으로서 사용할 수도 있다.
- [0415] 또한 HER2 발현 세포주를 항원으로서 사용할 수도 있다.
- [0416] (b) 항체 산생 세포의 조제
- [0417] 공정 (a) 에서 얻어진 항원과, 프로인드의 완전 또는 불완전 아류반트, 혹은 칼리명반과 같은 보조제를 혼합하고, 면역원으로서 실험 동물에 면역시킨다. 이 밖에, 항원 발현 세포를 면역원으로서 실험 동물에 면역시키는 방법도 있다. 실험 동물은 공지된 하이브리도마 제조법에서 사용되는 동물을 지장없이 사용할 수 있다.

구체적으로는, 예를 들어 마우스, 래트, 염소, 양, 소, 말 등을 사용할 수 있다. 단, 적출한 항체 산생 세포와 융합시키는 미엘로마 세포의 입수 용이성 등의 관점에서, 마우스 또는 래트를 피면역 동물로 하는 것이 바람직하다.

- [0418] 또, 실제로 사용하는 마우스 및 래트의 계통에는 특별히 제한은 없고, 마우스의 경우에는, 예를 들어 각 계통 A, AKR, BALB/c, BDP, BA, CE, C3H, 57BL, C57BL, C57L, DBA, FL, HTH, HT1, LP, NZB, NZW, RF, R III, SJL, SWR, WB, 129 등을, 또 래트의 경우에는, 예를 들어, Wistar, Low, Lewis, Sprague, Dawley, ACI, BN, Fischer 등을 사용할 수 있다.
- [0419] 이들 마우스 및 래트는, 예를 들어, 닛폰 클레아 주식회사, 닛폰 찰스·리버 주식회사 등의 실험 동물 사육 판매 업자로부터 입수할 수 있다.
- [0420] 피면역 동물로는, 후술하는 미엘로마 세포와의 융합 적합성을 감안하면, 마우스에서는 BALB/c 계통이, 래트에서는 Wistar 및 Low 계통이 특히 바람직하다.
- [0421] 또, 항원의 인간과 마우스에서의 상동성을 고려하여, 자기 항체를 제거하는 생체 기구를 저하시킨 마우스, 즉 자기 면역 질환 마우스를 사용하는 것도 바람직하다.
- [0422] 또한, 이들 마우스 또는 래트의 면역시의 주령은, 바람직하게는 5 ~ 12 주령, 더욱 바람직하게는 6 ~ 8 주령이다.
- [0423] HER2 또는 이 재조합체에 의해 동물을 면역시키기 위해서는, 예를 들어, Weir, D. M., Handbook of Experimental Immunology Vol. I. II. III., Blackwell Scientific Publications, Oxford (1987); Kabat, E. A. and Mayer, M. M., Experimental Immunochemistry, Charles C Thomas Publisher Springfield, Illinois (1964) 등에 상세하게 기재되어 있는 공지된 방법을 사용할 수 있다.
- [0424] 이들 면역법 중, 본 발명에 있어서 바람직한 방법을 구체적으로 나타내면, 예를 들어 이하와 같다.
- [0425] 즉, 먼저, 항원인 막단백질 획득, 또는 항원을 발현시킨 세포를 동물의 피내 또는 복강 내에 투여한다. 단, 면역 효율을 높이기 위해서는 양자의 병용이 바람직하고, 전반은 피내 투여를 실시하고, 후반 또는 최종회만 복강내 투여를 실시하면, 특히 면역 효율을 높일 수 있다.
- [0426] 항원의 투여 스케줄은, 피면역 동물의 종류, 개체차 등에 따라 상이하지만, 일반적으로는, 항원 투여 횟수 3 ~ 6 회, 투여 간격 2 ~ 6 주간이 바람직하고, 투여 횟수 3 ~ 4 회, 투여 간격 2 ~ 4 주간이 더욱 바람직하다.
- [0427] 또, 항원의 투여량은, 동물의 종류, 개체차 등에 따라 상이하지만, 일반적으로는 0.05 ~ 5 mg, 바람직하게는 0.1 ~ 0.5 mg 정도로 한다.
- [0428] 추가 면역은, 이상과 같은 항원 투여의 1 ~ 6 주 후, 바람직하게는 1 ~ 4 주 후, 더욱 바람직하게는 1 ~ 3 주 후에 실시한다. 면역원이 세포인 경우에는, 1×10^6 내지 1×10^7 개의 세포를 사용한다.
- [0429] 또한, 추가 면역을 실시할 때의 항원 투여량은, 동물의 종류, 크기 등에 따라 상이하지만, 일반적으로, 예를 들어 마우스의 경우에는 0.05 ~ 5 mg, 바람직하게는 0.1 ~ 0.5 mg, 더욱 바람직하게는 0.1 ~ 0.2 mg 정도로 한다. 면역원이 세포인 경우에는, 1×10^6 내지 1×10^7 개의 세포를 사용한다.
- [0430] 상기 추가 면역으로부터 1 ~ 10 일 후, 바람직하게는 2 ~ 5 일 후, 더욱 바람직하게는 2 ~ 3 일 후에 피면역 동물로부터 항체 산생 세포를 포함하는 비장 세포 또는 림프구를 무균적으로 취출한다. 그 때에 항체가를 측정하고, 항체가가 충분히 높아진 동물을 항체 산생 세포의 공급원으로서 사용하면, 이후의 조작의 효율을 높일 수 있다.
- [0431] 여기서 사용되는 항체가의 측정법으로는, 예를 들어, RIA 법 또는 ELISA 법을 들 수 있지만 이들 방법에 제한되지 않는다. 본 발명에 있어서의 항체가의 측정은, 예를 들어 ELISA 법에 의하면, 이하에 기재하는 바와 같은 순서에 의해 실시할 수 있다.
- [0432] 먼저, 정제 또는 부분 정제한 항원을 ELISA 용 96 구멍 플레이트 등의 고상 표면에 흡착시키고, 또한 항원이 흡착되어 있지 않은 고상 표면을 항원과 관계없는 단백질, 예를 들어 소 혈청 알부민 (BSA) 에 의해 덮고, 그 표면을 세정 후, 제 1 항체로서 단계 희석시킨 시료 (예를 들어 마우스 혈청) 에 접촉시켜, 상기 항원에 시료 중의 항체를 결합시킨다.

- [0433] 또한 제 2 항체로서 효소 표지된 마우스 항체에 대한 항체를 첨가하여 마우스 항체에 결합시키고, 세정 후 그 효소의 기질을 첨가하여, 기질 분해에 기초하는 발색에 의한 흡광도의 변화 등을 측정함으로써, 항체가를 산출한다.
- [0434] 피면역 동물의 비장 세포 또는 림프구로부터의 항체 산생 세포의 분리는, 공지된 방법 (예를 들어, Kohler et al., Nature (1975) 256, p.495 ; Kohler et al., Eur. J. Immunol. (1977) 6, p.511 ; Milstein et al., Nature (1977), 266, p.550 ; Walsh, Nature, (1977) 266, p.495) 에 따라 실시할 수 있다. 예를 들어, 비장 세포의 경우에는, 비장을 세절하여 세포를 스테인리스 메시로 여과한 후, 이를 최소 필수 배지 (MEM) 에 부유시켜 항체 산생 세포를 분리하는 일반적 방법을 채용할 수 있다.
- [0435] (c) 골수종 세포 (이하, 「미엘로마」 라고 한다) 의 조제
- [0436] 세포 융합에 사용하는 미엘로마 세포에는 특별한 제한은 없고, 공지된 세포주로부터 적절히 선택하여 사용할 수 있다. 단, 융합 세포로부터 하이브리도마를 선택할 때의 편리성을 고려하여, 그 선택 수속이 확립되어 있는 HGPRT (Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase) 결손주를 사용하는 것이 바람직하다.
- [0437] 즉, 마우스 유래의 X63-Ag8 (X63), NS1-ANS/1 (NS1), P3X63-Ag8.U1 (P3U1), X63-Ag8.653 (X63.653), SP2/0-Ag14 (SP2/0), MPC11-45.6TG1.7 (45.6TG), FO, S149/5XXO, BU.1 등, 래트 유래의 210.RSY3.Ag.1.2.3 (Y3) 등, 인간 유래의 U266AR (SKO-007), GM1500·GTG-A12 (GM1500), UC729-6, LICR-LOW-HMy2 (HMy2), 8226AR/NIP4-1 (NP41) 등이다. 이들 HGPRT 결손주는 예를 들어, ATCC 등으로부터 입수할 수 있다.
- [0438] 이들 세포주는 적당한 배지, 예를 들어 8-아자구아닌 배지 (RPMI-1640 배지에 글루타민, 2-메르캅토에탄올, 젠타마이신, 및 소 태아 혈청 (이하 「FBS」 라고 한다) 을 첨가한 배지에 8-아자구아닌을 첨가한 배지), 이스코브 개변 돌베코 배지 (Iscoe's Modified Dulbecco's Medium ; 이하 「IMDM」 이라고 한다), 또는 돌베코 개변 이글 배지 (Dulbecco's Modified Eagle Medium ; 이하 「DMEM」 이라고 한다) 로 계대 배양하지만, 세포 융합의 3 내지 4 일 전에 정상 배지 (예를 들어, 10 % FCS 를 포함하는 ASF104 배지 (아지노모토 주식회사 제조)) 로 계대 배양하여, 융합 당일에 2×10^7 이상의 세포수를 확보해 둔다.
- [0439] (d) 세포 융합
- [0440] 항체 산생 세포와 미엘로마 세포의 융합은, 공지된 방법 (Weir, D. M., Handbook of Experimental Immunology Vol. I. II. III., Blackwell Scientific Publications, Oxford (1987) ; Kabat, E. A. and Mayer, M. M., Experimental Immunochemistry, Charles C Thomas Publisher Springfield, Illinois (1964) 등) 에 따라, 세포의 생존율을 극도로 저하시키지 않을 정도의 조건하에서 적절히 실시할 수 있다.
- [0441] 그와 같은 방법으로서 예를 들어, 폴리에틸렌글리콜 등의 고농도 폴리머 용액 중에서 항체 산생 세포와 미엘로마 세포를 혼합하는 화학적 방법, 전기적 자극을 이용하는 물리적 방법 등을 사용할 수 있다. 이 중, 상기 화학적 방법의 구체예를 나타내면 이하와 같다.
- [0442] 즉, 고농도 폴리머 용액으로서 폴리에틸렌글리콜을 사용하는 경우에는, 분자량 1500 ~ 6000, 바람직하게는 2000 ~ 4000 의 폴리에틸렌글리콜 용액 중에서, 30 ~ 40 °C, 바람직하게는 35 ~ 38 °C 의 온도에서 항체 산생 세포와 미엘로마 세포를 1 ~ 10 분간, 바람직하게는 5 ~ 8 분간 혼합한다.
- [0443] (e) 하이브리도마군의 선택
- [0444] 상기 세포 융합에 의해 얻어지는 하이브리도마의 선택 방법은 특별히 제한은 없지만, 통상 HAT (히포크산틴·아미노프테린·티미딘) 선택법 (Kohler et al., Nature (1975) 256, p.495 ; Milstein et al., Nature (1977) 266, p.550) 이 사용된다.
- [0445] 이 방법은, 아미노프테린에서 생존할 수 없는 HGPRT 결손주의 미엘로마 세포를 사용하여 하이브리도마를 얻는 경우에 유효하다. 즉, 미융합 세포 및 하이브리도마를 HAT 배지에서 배양함으로써, 아미노프테린에 대한 내성을 갖는 하이브리도마만을 선택적으로 잔존시키고, 또한 증식시킬 수 있다.
- [0446] (f) 단일 세포 클론으로의 분할 (클로닝)
- [0447] 하이브리도마의 클로닝법으로는, 예를 들어 메틸셀룰로오스법, 연 (軟) 아가로오스법, 한계 희석법 등의 공지된 방법을 사용할 수 있다 (예를 들어 Barbara, B. M. and Stanley, M. S. : Selected Methods in Cellular Immunology, W. H. Freeman and Company, San Francisco (1980) 참조). 이들 방법 중, 특히 메틸셀룰로오스

스법 등의 삼차원 배양법이 바람직하다. 예를 들어, 세포 융합에 의해 형성된 하이브리도마군을 ClonaCell-HY Selection Medium D (StemCell Technologies 사 제조 #03804) 등의 메틸셀룰로오스 배지에 현탁하여 배양하고, 형성된 하이브리도마 콜로니를 회수함으로써 모노클론 하이브리도마의 취득이 가능하다. 회수된 각 하이브리도마 콜로니를 배양하고, 얻어진 하이브리도마 배양 상청 중에 안정적으로 항체가가 관찰된 것을 HER2 모노클로날 항체 산생 하이브리도마주로서 선택한다.

[0448] (g) 하이브리도마의 배양에 의한 모노클로날 항체의 조제

[0449] 이와 같이 하여 선택된 하이브리도마는, 이것을 배양함으로써, 모노클로날 항체를 효율적으로 얻을 수 있지만, 배양에 앞서, 목적으로 하는 모노클로날 항체를 산생하는 하이브리도마를 스크리닝하는 것이 바람직하다.

[0450] 이 스크리닝에는 그 자체가 이미 알려진 방법을 채용할 수 있다.

[0451] 본 발명에 있어서의 항체가의 측정은, 예를 들어 상기 (b)의 항목에서 설명한 ELISA 법에 의해 실시할 수 있다.

[0452] 이상의 방법에 의해 얻은 하이브리도마는, 액체 질소 중 또는 -80°C 이하의 냉동고 중에 동결 상태로 보존할 수 있다.

[0453] 클로닝을 완료한 하이브리도마는, 배지를 HT 배지로부터 정상 배지로 바꾸어 배양된다.

[0454] 대량 배양은, 대형 배양병을 사용한 회전 배양, 혹은 스피너 배양으로 실시된다. 이 대량 배양에 있어서의 상청으로부터, 겔 여과 등, 당업자에게 주지된 방법을 사용하여 정제함으로써, 본 발명의 단백질에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체를 얻을 수 있다.

[0455] 또, 동 계통의 마우스 (예를 들어, 상기의 BALB/c), 혹은 Nu/Nu 마우스의 복강 내에 하이브리도마를 주사하고, 그 하이브리도마를 증식시킴으로써, 본 발명의 모노클로날 항체를 대량으로 포함하는 복수를 얻을 수 있다.

[0456] 복강 내에 투여하는 경우에는, 사전 (3 ~ 7 일 전)에 2,6,10,14-테트라메틸펜타데칸 (2,6,10,14-tetramethylpentadecane; 프리스탄) 등의 광물유를 투여하면, 보다 다량의 복수가 얻어진다.

[0457] 예를 들어, 하이브리도마와 동 계통의 마우스의 복강 내에 미리 면역 억제제를 주사하여, T 세포를 불활성화시킨 후, 20 일 후에 $10^6 \sim 10^7$ 개의 하이브리도마·클론 세포를, 혈청을 포함하지 않는 배지 중에 부유 (0.5 ml)시켜 복강 내에 투여하고, 통상 복부가 팽만해져, 복수가 고인 시점에서 마우스로부터 복수를 채취한다. 이 방법에 의해, 배양액 중에 비해 약 100 배 이상의 농도의 모노클로날 항체가 얻어진다.

[0458] 상기 방법에 의해 얻은 모노클로날 항체는, 예를 들어 Weir, D. M.: Handbook of Experimental Immunology, Vol. I, II, III, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1978)에 기재되어 있는 방법으로 정제할 수 있다.

[0459] 이렇게 하여 얻어지는 모노클로날 항체는, HER2에 대해 높은 항원 특이성을 갖는다. 본 발명의 모노클로날 항체로는, 특별히 제한은 없지만, 마우스 모노클로날 항체 4D5 (ATCC CRL 10463)를 들 수 있다.

[0460] (h) 모노클로날 항체의 검정

[0461] 이렇게 하여서 얻어진 모노클로날 항체의 아이소타입 및 서브클래스의 결정은 이하와 같이 실시할 수 있다.

[0462] 먼저, 동정법으로는 옥털로니 (Ouchterlony) 법, ELISA 법, 또는 RIA 법을 들 수 있다.

[0463] 옥털로니법은 간편하기는 하지만, 모노클로날 항체의 농도가 낮은 경우에는 농축 조작이 필요하다.

[0464] 한편, ELISA 법 또는 RIA 법을 사용한 경우에는, 배양 상청을 그대로 항원 흡착 고상과 반응시키고, 또한 제 2차 항체로서 각종 이뮤노글로블린 아이소타입, 서브클래스에 대응하는 항체를 사용함으로써, 모노클로날 항체의 아이소타입, 서브클래스를 동정하는 것이 가능하다.

[0465] 또, 더 간편한 방법으로서, 시판되는 동정용의 키트 (예를 들어, 마우스 타이퍼 키트; 바이오래드사 제조) 등을 이용할 수도 있다.

[0466] 또한 단백질의 정량은, 폴린 로리법, 및 280 nm에 있어서의 흡광도 ($1.4 (\text{OD}_{280}) = \text{이뮤노글로블린 } 1 \text{ mg/ml}$)로부터 산출하는 방법에 의해 실시할 수 있다.

[0467] 또한 (2)의 (a) 내지 (h)의 공정을 다시 실시하여 별도로 독립적으로 모노클로날 항체를 취득했을 경우에 있

어서도, (g)의 공정에서 얻어진 항 HER2 항체와 동등한 세포 상해 활성을 갖는 항체를 취득하는 것이 가능하다. 이와 같은 항체의 일례로서, (g)의 공정에서 얻어진 항 HER2 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 들 수 있다. 새롭게 제조된 모노클로날 항체가, 상기 항 HER2 항체가 결합하는 부분 펩티드 또는 부분 입체 구조에 결합하면, 그 모노클로날 항체가 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 판정할 수 있다. 또, 상기 항 HER2 항체의 HER2에 대한 결합에 대해 그 모노클로날 항체가 결합하는(즉, 그 모노클로날 항체가, 상기 항 HER2 항체와 HER2의 결합을 방해하는)것을 확인함으로써, 구체적인 에피토프의 서열 또는 구조가 결정되어 있지 않아도, 그 모노클로날 항체가 항 HER2 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 판정할 수 있다. 에피토프가 동일하다는 것이 확인되었을 경우, 그 모노클로날 항체가 상기 항 HER2 항체와 동등한 항원 결합능 또는 생물 활성을 가지고 있는 것이 강하게 기대된다.

[0468] (3) 그 밖의 항체

[0469] 본 발명의 항체에는, 상기 HER2에 대한 모노클로날 항체에 더하여, 인간에 대한 이중 항원성을 저하시키는 것 등을 목적으로 하여 인위적으로 개변한 유전자 재조합형 항체, 예를 들어, 키메라(Chimeric) 항체, 인간화(Humanized) 항체, 인간 항체 등도 포함된다. 이들 항체는, 이미 알려진 방법을 사용하여 제조할 수 있다.

[0470] 키메라 항체로는, 항체의 가변 영역과 정상 영역이 서로 이중인 항체, 예를 들어 마우스 또는 래트 유래 항체의 가변 영역을 인간 유래의 정상 영역에 접합한 키메라 항체를 들 수 있다(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 6851-6855, (1984) 참조). 본 발명의 키메라 항체로는, 특별히 제한은 없지만, 인간 IgG1 또는 IgG2의 중 사슬 정상 영역을 포함하는 키메라 항체 4D5를 들 수 있다.

[0471] 인간화 항체로는, 이중 항체의 상보성 결정 영역(CDR; complementarity determining region)만을 인간 유래의 항체에 삽입한 항체(Nature (1986) 321, p.522-525 참조), CDR 이식법에 의해, 이중 항체의 CDR의 서열에 더하여, 이중 항체의 일부의 프레임 워크의 아미노산 잔기도 인간 항체에 이식한 항체(국제 공개 제90/07861호), 유전자 변환 돌연변이 유발(gene conversion mutagenesis) 스트래티지를 사용하여 인간화된 항체(미국 특허 제5821337호)를 들 수 있다.

[0472] 또한, 본 명세서에 있어서의 「수 개」란, 1 내지 10 개, 1 내지 9 개, 1 내지 8 개, 1 내지 7 개, 1 내지 6 개, 1 내지 5 개, 1 내지 4 개, 1 내지 3 개, 또는 1 혹은 2 개를 의미한다.

[0473] 또, 본 명세서에 있어서의 아미노산의 치환으로는 보존적 아미노산 치환이 바람직하다. 보존적 아미노산 치환이란, 아미노산 측사슬에 관련이 있는 아미노산 그룹 내에서 생기는 치환이다. 바람직한 아미노산 그룹은 이하와 같다: 산성 그룹 = 아스파르트산, 글루탐산; 염기성 그룹 = 리신, 아르기닌, 히스티딘; 비극성 그룹 = 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판; 및 비대전극성 페밀리 = 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신. 다른 바람직한 아미노산 그룹은 다음과 같다: 지방족 하이드록시 그룹 = 세린 및 트레오닌; 아미드 함유 그룹 = 아스파라긴 및 글루타민; 지방족 그룹 = 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; 그리고 방향족 그룹 = 페닐알라닌, 트립토판 및 티로신. 이러한 아미노산 치환은 원래의 아미노산 서열을 갖는 물질의 특성을 저하시키지 않는 범위에서 실시하는 것이 바람직하다.

[0474] 상기의 중사슬 아미노산 서열 및 경사슬 아미노산 서열과 높은 상동성을 나타내는 서열을 조합함으로써, 상기의 각 항체와 동등한 생물 활성을 갖는 항체를 선택하는 것이 가능하다. 이 같은 상동성은, 일반적으로는 80% 이상의 상동성이고, 바람직하게는 90% 이상의 상동성이고, 보다 바람직하게는 95% 이상의 상동성이고, 가장 바람직하게는 99% 이상의 상동성이다. 또, 중사슬 또는 경사슬의 아미노산 서열에 1 내지 수 개의 아미노산 잔기가 치환, 결실 또는 부가된 아미노산 서열을 조합하는 것에 의해서도, 상기의 각 항체와 동등한 생물 활성을 갖는 항체를 선택하는 것이 가능하다. 또한, 본 명세서에 있어서의 「상동성」은 「동일성」과 동일한 의미로 사용하고 있다.

[0475] 2 종류의 아미노산 서열간의 상동성은, Blast algorithm version 2.2.2 (Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaeffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), 「Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs」, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402)의 디폴트 파라미터를 사용함으로써 결정할 수 있다. Blast algorithm은, 인터넷으로 www.ncbi.nlm.nih.gov/blast에 액세스함으로써 사용될 수 있다.

[0476] 본 발명의 항체로는, 또한 HER2에 결합하는 인간 항체를 들 수 있다. 항 HER2 인간 항체란, 인간 유래의 아미노산 서열만을 갖는 항 HER2 항체를 의미한다. 항 HER2 인간 항체는, 인간 항체의 중사슬과 경사슬의 유전자를 포함하는 인간 염색체 단편을 갖는 인간 항체 산생 마우스를 사용한 방법(Tomizuka, K. et al.,

Nature Genetics (1997) 16, p.133-143 ; Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, p.3447-3448 ; Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology : Basic and Applied Aspects vol. 10, p.69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999 ; Tomizuka, K. et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, p.722-727 등을 참조.) 에 의해 취득할 수 있다.

[0477] 이와 같은 인간 항체 산생 마우스는, 구체적으로는, 내재성 면역 글로블린 중사슬 및 경사슬의 유전자좌 (座) 가 파괴되고, 대신 효모 인공 염색체 (Yeast artificial chromosome, YAC) 벡터 등을 통해서 인간 면역 글로블린 중사슬 및 경사슬의 유전자좌가 도입된 유전자 재조합 동물로서, 녹아웃 동물 및 트랜스제닉 동물의 제조 및 이들 동물끼리를 교배시킴으로써 만들어 낼 수 있다.

[0478] 또, 유전자 재조합 기술에 의해, 그와 같은 인간 항체의 중사슬 및 경사슬의 각각을 코딩하는 cDNA, 바람직하게는 그 cDNA 를 포함하는 벡터에 의해 진핵 세포를 형질 전환하고, 유전자 재조합 인간 모노클로날 항체를 산생하는 형질 전환 세포를 배양함으로써, 이 항체를 배양 상청 중에서 얻을 수도 있다.

[0479] 여기서, 숙주로는 예를 들어 진핵 세포, 바람직하게는 CHO 세포, 림프구나 미엘로마 등의 포유 동물 세포를 사용할 수 있다.

[0480] 또, 인간 항체 라이브러리에서 선별한 파지 디스플레이 유래의 인간 항체를 취득하는 방법 (Wormstone, I. M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002) 43(7), p.2301-2308 ; Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1(2), p.189-203 ; Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology (2002) 109(3), p.427-431 등 참조.) 도 알려져 있다.

[0481] 예를 들어, 인간 항체의 가변 영역을 1 본쇄 항체 (scFv) 로서 파지 표면에 발현시키고, 항원에 결합하는 파지를 선택하는 파지 디스플레이법 (Nature Biotechnology (2005), 23, (9), p.1105-1116) 을 사용할 수 있다.

[0482] 항원에 결합함으로써 선택된 파지의 유전자를 해석함으로써, 항원에 결합하는 인간 항체의 가변 영역을 코딩하는 DNA 서열을 결정할 수 있다.

[0483] 항원에 결합하는 scFv 의 DNA 서열이 분명해지면, 당해 서열을 갖는 발현 벡터를 제조하고, 적당한 숙주에 도입하여 발현시킴으로써 인간 항체를 취득할 수 있다 (국제 공개 제92/01047호, 동 92/20791호, 동 93/06213호, 동 93/11236호, 동 93/19172호, 동 95/01438호, 동 95/15388호 ; Annu. Rev. Immunol (1994) 12, p.433-455 ; Nature Biotechnology (2005) 23(9), p.1105-1116).

[0484] 항체의 성질을 비교할 때의 다른 지표의 일례로는, 항체의 안정성을 들 수 있다. 시차 주사 칼로리메트리 (DSC) 는, 단백질 상대적 구조 안정성의 좋은 지표가 되는 열 변성 중점 (Tm) 을 재빠르게, 또 정확하게 측정할 수 있는 장치이다. DSC 를 사용하여 Tm 값을 측정하고, 그 값을 비교함으로써, 열 안정성의 차이를 비교할 수 있다. 항체의 보존 안정성은, 항체의 열 안정성과 어느 정도의 상관을 나타내는 것이 알려져 있으며 (Lori Burton, et. al., Pharmaceutical Development and Technology (2007) 12, p.265-273), 열 안정성을 지표로, 바람직한 항체를 선별할 수 있다. 항체를 선별하기 위한 다른 지표로는, 적절한 숙주 세포에 있어서의 수량 (收量) 이 높은 것, 및 수용액 중에서의 응집성이 낮은 것을 들 수 있다. 예를 들어 수량이 가장 높은 항체가 가장 높은 열 안정성을 나타낸다고는 할 수 없기 때문에, 이상에 서술한 지표에 기초하여 종합적으로 판단하여, 인간에 대한 투여에 가장 적합한 항체를 선별할 필요가 있다.

[0485] 본 발명에서 사용되는 항체에는 항체의 수식체도 포함된다. 당해 수식체란, 본 발명의 항체에 화학적 또는 생물학적인 수식이 실시되어 이루어지는 것을 의미한다. 화학적인 수식체에는, 아미노산 골격에 대한 화학 부분의 결합, N-결합 또는 O-결합 탄수화물 사슬에 대한 화학 부분의 결합을 갖는 화학 수식체 등이 포함된다. 생물학적인 수식체에는, 번역 후 수식 (예를 들어, N-결합 또는 O-결합형 당 사슬의 부가, N 말단 또는 C 말단의 프로세싱, 탈아미드화, 아스파르트산의 이성화, 메티오닌의 산화 등) 된 것, 원핵 생물 숙주 세포를 사용하여 발현시킴으로써 N 말단에 메티오닌 잔기가 부가된 것 등이 포함된다. 또, 본 발명의 항체 또는 항원의 검출 또는 단리를 가능하게 하기 위해서 표지된 것, 예를 들어, 효소 표지체, 형광 표지체, 어피티니 표지체도 이러한 수식체의 의미에 포함된다. 이와 같은 본 발명의 항체의 수식체는, 항체의 안정성 및 혈중 체류성의 개선, 항원성의 저감, 항체 또는 항원의 검출 또는 단리 등에 유용하다.

[0486] 또, 본 발명에 있어서 사용되는 항체에 결합하고 있는 당 사슬 수식을 조절하는 것 (글리코실화, 탈푸코오스화 등) 에 의해, 항체 의존성 세포 상해 활성을 증강시키는 것이 가능하다. 항체의 당 사슬 수식의 조절 기술로는, 국제 공개 제99/54342호, 동 00/61739호, 동 02/31140호 등이 알려져 있지만, 이들에 한정되는 것은 아니

다. 본 발명의 항체에는 당해 당 사슬 수식이 조절된 항체도 포함된다.

- [0487] 항체 유전자를 일단 단리한 후, 적당한 숙주에 도입하여 항체를 제조하는 경우에는, 적당한 숙주와 발현 벡터의 조합을 사용할 수 있다. 항체 유전자의 구체예로는, 본 명세서에 기재된 항체의 중사슬 서열을 코드하는 유전자, 및 경사슬 서열을 코드하는 유전자를 조합한 것을 들 수 있다. 숙주 세포를 형질 전환할 때에는, 중사슬 서열 유전자와 경사슬 서열 유전자는, 동일한 발현 벡터에 삽입되어 있는 것이 가능하고, 또 다른 발현 벡터에 삽입되어 있는 것도 가능하다.
- [0488] 진핵 세포를 숙주로서 사용하는 경우, 동물 세포, 식물 세포, 진핵 미생물을 사용할 수 있다. 특히 동물 세포로는, 포유류 세포, 예를 들어, 원숭이의 세포인 COS 세포 (Gluzman, Y. Cell (1981) 23, p.175-182, ATCC CRL-1650), 마우스 섬유아세포 NIH3T3 (ATCC No.CRL-1658) 이나 차이나이즈 · 햄스터 난소 세포 (CHO 세포, ATCC CCL-61) 의 디하이드로 엽산 환원 효소 결손주 (Urlaub, G. and Chasin, L. A. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1980) 77, p.4126-4220) 를 들 수 있다.
- [0489] 원핵 세포를 사용하는 경우에는, 예를 들어, 대장균, 고초균을 들 수 있다.
- [0490] 이들 세포에 목적으로 하는 항체 유전자를 형질 전환에 의해 도입하고, 형질 전환된 세포를 in vitro 에서 배양함으로써 항체가 얻어진다. 당해 배양에 있어서는 항체의 서열에 의해 수량이 상이한 경우가 있고, 동등한 결합 활성을 갖는 항체 중에서 수량을 지표로 의약으로서의 생산이 용이한 것을 선별하는 것이 가능하다. 따라서, 본 발명의 항체에는, 상기 형질 전환된 숙주 세포를 배양하는 공정, 및 당해 공정에서 얻어진 배양물로부터 목적으로 하는 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편을 채취하는 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 당해 항체의 제조 방법에 의해 얻어지는 항체도 포함된다.
- [0491] 또한, 포유류 배양 세포에서 생산되는 항체에서는, 그 중사슬의 카르복실 말단의 리신 잔기가 결실되는 것이 알려져 있고 (Journal of Chromatography A, 705 : 129-134 (1995)), 또, 동일하게 중사슬 카르복실 말단의 글리신, 리신의 2 아미노산 잔기가 결실되고, 새롭게 카르복실 말단에 위치하는 프롤린 잔기가 아미드화되는 것이 알려져 있다 (Analytical Biochemistry, 360 : 75-83 (2007)). 그러나, 이들 중사슬 서열의 결실 및 수식은, 항체의 항원 결합능 및 이펙터 기능 (보체의 활성화나 항체 의존성 세포 장애 작용 등) 에는 영향을 미치지 않는다. 따라서, 본 발명에 관련된 항체에는, 당해 수식을 받은 항체 및 당해 항체의 기능성 단편도 포함되고, 중사슬 카르복실 말단에 있어서 1 또는 2 의 아미노산이 결실된 결실체, 및 아미드화된 당해 결실체 (예를 들어, 카르복실 말단 부위의 프롤린 잔기가 아미드화된 중사슬) 등도 포함된다. 단, 항원 결합능 및 이펙터 기능이 유지되고 있는 한, 본 발명에 관련된 항체의 중사슬의 카르복실 말단의 결실체는 상기의 종류에 한정되지 않는다. 본 발명에 관련된 항체를 구성하는 2 개의 중사슬은, 완전 길이 및 상기의 결실체로 이루어지는 군에서 선택되는 중사슬 중 어느 1 종이어도 되고, 어느 2 종을 조합한 것이어도 된다. 각 결실체의 양비는 본 발명에 관련된 항체를 산생하는 포유류 배양 세포의 종류 및 배양 조건에 영향을 받을 수 있지만, 본 발명에 관련된 항체는, 바람직하게는 2 개의 중사슬의 쌍방에서 카르복실 말단의 하나의 아미노산 잔기가 결실되어 있는 것을 들 수 있다.
- [0492] 본 발명에 있어서 사용되는 항체의 아이소타입으로는, 예를 들어 IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) 등을 들 수 있지만, 바람직하게는 IgG1 또는 IgG2 를 들 수 있다.
- [0493] 항체의 생물 활성으로는, 일반적으로는 항원 결합 활성, 항원과 결합함으로써 그 항원을 발현하는 세포에 내재화되는 활성, 항원의 활성을 중화시키는 활성, 항원의 활성을 증강시키는 활성, 항체 의존성 세포 상해 (ADCC) 활성, 보체 의존성 세포 상해 (CDC) 활성 및 항체 의존성 세포 매개 식작용 (ADCP) 을 들 수 있지만, 본 발명에 관련된 항체가 갖는 생물 활성은, HER2 에 대한 결합 활성이고, 바람직하게는 HER2 와 결합함으로써 HER2 발현 세포에 내재화되는 활성이다. 또한 본 발명의 항체는, 세포 내재화 활성에 더하여, ADCC 활성, CDC 활성 및 /또는 ADCP 활성을 겸비하고 있어도 된다.
- [0494] 얻어진 항체는 균일해질까지 정제할 수 있다. 항체의 분리, 정제는 통상적인 단백질에서 사용되고 있는 분리, 정제 방법을 사용하면 된다. 예를 들어 칼럼 크로마토그래피, 필터 여과, 한외 여과, 염석, 투석, 조제용 폴리아크릴아미드 겔 전기 영동, 등전점 전기 영동 등을 적절히 선택, 조합하면, 항체를 분리, 정제할 수 있다 (Strategies for Protein Purification and Characterization : A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1996) ; Antibodies : A Laboratory Manual. Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)) 가 이들에 한정되는 것은 아니다.
- [0495] 크로마토그래피로는, 어피니티 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 겔 여과 크

로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 흡착 크로마토그래피 등을 들 수 있다.

[0496] 이들 크로마토그래피는, HPLC 나 FPLC 등의 액체 크로마토그래피를 사용하여 실시할 수 있다.

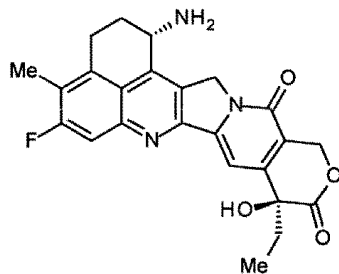
[0497] 어피니티 크로마토그래피에 사용하는 칼럼으로는, 프로테인 A 칼럼, 프로테인 G 칼럼을 들 수 있다. 예를 들어 프로테인 A 칼럼을 사용한 칼럼으로서, Hyper D, POROS, Sepharose F. F. (파마시아 주식회사) 등을 들 수 있다.

[0498] 또 항원을 고정화시킨 담체를 사용하여, 항원에 대한 결합성을 이용하여 항체를 정제할 수도 있다.

[0499] [항종양성 화합물]

[0500] 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트에 결합되어 있는 항종양성 화합물에 대해 서술한다. 이러한 항종양성 화합물은, 캠포테신 유도체인 엑사테칸 (IUPAC 명 : (1S,9S)-1-아미노-9-에틸-5-플루오로-1,2,3,9,12,15-헥사하이드로-9-하이드록시-4-메틸-10H,13H-벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13-디온, (화학명 : (1S,9S)-1-아미노-9-에틸-5-플루오로-2,3-디하이드로-9-하이드록시-4-메틸-1H,12H-벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-10,13(9H,15H)-디온으로서 나타낼 수도 있다)) 이다. 엑사테칸은, 다음 식 :

[0501] [화학식 23]



[0502]

[0503] 으로 나타내는 화합물이다.

[0504] 엑사테칸은 캠포테신 구조를 가지므로, 산성 수성 매체 중 (예를 들어 pH3 정도) 에서는 락톤 고리가 형성된 구조 (폐환체) 로 평형이 치우치고, 한편, 염기성 수성 매체 중 (예를 들어 pH10 정도) 에서는 락톤 고리가 개환된 구조 (개환체) 로 평형이 치우치는 것이 알려져 있다. 이와 같은 폐환 구조 및 개환 구조에 대응하는 엑사테칸 잔기를 도입한 항체-약물 콘주게이트는, 모두 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트의 범위에 포함되는 것은 말할 필요도 없다.

[0505] [링커 구조]

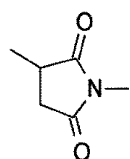
[0506] 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트에 있어서 항종양성 화합물을 항 HER2 항체에 결합시키는 링커 구조에 대해 서술한다. 당해 링커는, 다음 식 :

[0507] -(숙신이미드-3-일-N)-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(=O)-GGFG-NH-CH₂-O-CH₂-C(=O)-

[0508] (식 중,

[0509] -(숙신이미드-3-일-N)- 은 다음 식 :

[0510] [화학식 24]



[0511]

[0512] 으로 나타내는 구조이고, 이것의 3 위치에서 항 HER2 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고, 1 위치의 질소 원자 상에서 이것을 포함하는 링커 구조 내의 메틸렌기와 결합하고,

[0513] -GGFG- 는, -Gly-Gly-Phe-Gly- 의 테트라펩티드 잔기를 나타낸다)

[0514] 으로 나타낼 수 있다.

[0515] [종양 세포 내에서 방출되는 화합물]

[0516] 본 발명에 있어서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트는, 종양 세포 내로 이동한 후에는 링커 부분이 절단되고, 식 :

[0517] $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-C(=O)-(NH-DX)}$

[0518] 으로 나타내는 구조의 약물 유도체가 유리되어도 된다.

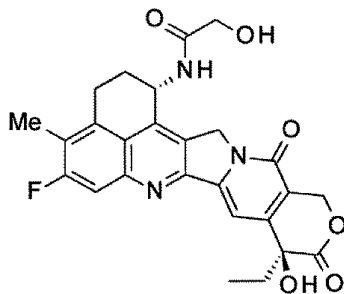
[0519] 상기 약물 유도체의 동 분자 내에 있는 아미달 구조는 불안정하기 때문에, 또한 자기 분해되어, 식 :

[0520] $\text{HO-CH}_2\text{-C(=O)-(NH-DX)}$

[0521] 으로 나타내는 화합물이 유리되는 것이 확인되고 있다.

[0522] 상기 화합물은, 다음 식 :

[0523] [화학식 25]



[0524]

[0525] 으로 나타낼 수 있다 (이하, 본 발명에 있어서, 「화합물 1」 이라고 부르는 경우도 있다).

[0526] 화합물 1 은, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트가 갖는 항종양 활성의 본체인 것으로 생각되고, 토포 이소메라아제 I 저해 작용을 갖는 것이 확인되고 있다 (Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research, 2016, Oct 15 ; 22(20) : 5097-5108, Epub 2016 Mar 29).

[0527] 또한, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트는, 바이스텐더 효과를 갖는 것도 알려져 있다 (Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046). 이 바이스텐더 효과는, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트가 HER2 발현 암 세포에 내재화된 후, 방출된 화합물 1 이, HER2 를 발현하고 있지 않은 근방의 암 세포에 대해서도 항종양 효과를 미침으로써 발휘된다.

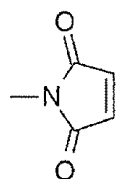
[0528] [제조 방법]

[0529] 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트는, 티올기 (또는 술폰히드릴기라고도 한다) 를 갖는 항 HER2 항체에, 다음의 화합물 (이하, 본 발명에 있어서 「화합물 2」 라고도 부른다) :

[0530] (말레이미드-N-일)- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C(=O)-GGFG-NH-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-C(=O)-(NH-DX)}$

[0531] (식 중, (말레이미드-N-일)- 은, 다음 식 :

[0532] [화학식 26]

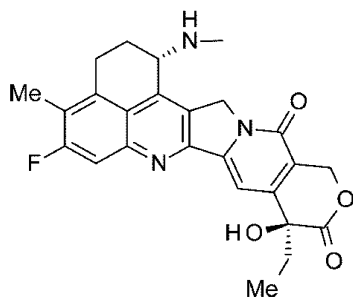


[0533]

[0534] 으로 나타내는 질소 원자가 결합 부위인 기이고,

[0535] -(NH-DX) 는, 다음 식 :

[0536] [화학식 27]



[0537]

[0538] 으로 나타내는 1 위치의 아미노기의 질소 원자가 결합 부위로 되어 있는 기이고,

[0539] -GGFG- 는, -Gly-Gly-Phe-Gly- 의 테트라펩티드 잔기를 나타낸다)

[0540] 을 반응시킴으로써 제조할 수 있다.

[0541] 화합물 2 는, 국제 공개 제2015/115091호의 실시예 26, 32, 및 33 에 기재된 제조 방법 등을 참고로 제조할 수 있다. 화합물 2 는, N-[6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[(2-((1S,9S)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-2,3,9,10,13,15-헥사하이드로-1H,12H-벤조[de]피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-1-일)아미노)-2-옥소에톡시)메틸]글리신아미드라는 화학명으로 나타낼 수 있다.

[0542] 술프히드릴기를 갖는 항 HER2 항체는, 당업자가 주지된 방법으로 얻을 수 있다 (Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp.56-136, pp.456-493, Academic Press (1996)). 예를 들어, 트리스(2-카르복시에틸)포스핀염산염 (TCEP) 등의 환원제를 항 HER2 항체에 작용시켜 항체 내 힌지부의 디설파이드 결합을 환원하여 술프히드릴기를 생성시키는 ; 등의 방법을 들 수 있지만 이들에 한정되지 않는다.

[0543] 구체적으로는, 환원제로서 TCEP 를, 항체 내 힌지부 디설파이드 1 개당에 대해 0.3 내지 3 몰 당량 사용하여, 킬레이트제를 포함하는 완충액 중에서, 항 HER2 항체와 반응시킴으로써, 항체 내 힌지부 디설파이드가 부분적 혹은 완전히 환원된 항 HER2 항체를 얻을 수 있다. 킬레이트제로는, 예를 들어 에틸렌디아민 4 아세트산 (EDTA) 이나 디에틸렌트리아민 5 아세트산 (DTPA) 등을 들 수 있다. 이들을 1 mM 내지 20 mM 의 농도로 사용하면 된다. 완충액으로는, 인산나트륨이나 붕산나트륨, 아세트산나트륨 용액 등을 사용할 수 있다. 구체적으로는, 항 HER2 항체를 4 °C 내지 37 °C 에서 1 내지 4 시간 TCEP 와 반응시킴으로써 부분적 혹은 완전히 환원된 술프히드릴기를 갖는 항 HER2 항체를 얻을 수 있다.

[0544] 여기서 술프히드릴기를 약물-링커 부분에 부가시키는 반응을 실시함으로써 티오에테르 결합에 의해 약물-링커 부분을 결합시킬 수 있다.

[0545] 술프히드릴기를 갖는 항 HER2 항체 1 개당, 2 내지 20 몰 당량의 화합물 2 를 사용하여, 항 HER2 항체 1 개당 2 개 내지 8 개의 약물이 결합한 항체-약물 콘주게이트 (1) 를 제조할 수 있다. 구체적으로는, 술프히드릴기를 갖는 항 HER2 항체를 포함하는 완충액에, 화합물 2 를 용해시킨 용액을 첨가하여 반응시키면 된다. 여기서, 완충액으로는, 아세트산나트륨 용액, 인산나트륨이나 붕산나트륨 등을 사용하면 된다. 반응시의 pH 는 5 내지 9 이고, 보다 바람직하게는 pH7 부근에서 반응시키면 된다. 화합물 2 를 용해시키는 용매로는, 디메틸설폭사이드 (DMSO), 디메틸포름아미드 (DMF), 디메틸아세트아미드 (DMA), N-메틸-2-피리돈 (NMP) 등의 유기 용매를 사용할 수 있다.

[0546] 화합물 2 를 용해시킨 유기 용매 용액을, 술프히드릴기를 갖는 항 HER2 항체를 포함하는 완충액에 1 내지 20 % v/v 를 첨가하여 반응시키면 된다. 반응 온도는, 0 내지 37 °C, 보다 바람직하게는 10 내지 25 °C 이고, 반응 시간은, 0.5 내지 2 시간이다. 반응은, 미반응의 화합물 2 의 반응성을 티올 함유 시약에 의해 실험시킴으로써 종료할 수 있다. 티올 함유 시약은 예를 들어, 시스테인 또는 N-아세틸-L-시스테인 (NAC) 이다. 보다 구체적으로는, NAC 를, 사용한 C 화합물 2 에 대해, 1 내지 2 몰 당량 첨가하고, 실온에서 10 내지 30 분 인큐베이트함으로써 반응을 종료할 수 있다.

[0547] 제조한 항체-약물 콘주게이트는, 이하의 공통 조작에 의해 농축, 버퍼 교환, 정제, 항체 농도, 및 항체 1 분자 당의 약물 평균 결합수의 측정을 실시하여, 항체-약물 콘주게이트의 동정을 실시할 수 있다.

- [0548] 공통 조작 A : 항체 또는 항체-약물 콘주게이트 수용액의 농축
- [0549] Amicon Ultra (50,000 MWCO, Millipore Co.) 의 용기 내에 항체 또는 항체-약물 콘주게이트 용액을 넣고, 원심기 (Allegra X-15R, Beckman Coulter, Inc.) 를 사용한 원심 조작 (2000 G 내지 3800 G 로 5 내지 20 분간 원심) 으로, 항체 또는 항체-약물 콘주게이트 용액을 농축하였다.
- [0550] 공통 조작 B : 항체의 농도 측정
- [0551] UV 측정기 (Nanodrop 1000, Thermo Fisher Scientific Inc.) 를 사용하여, 메이커 규정의 방법에 따라, 항체 농도의 측정을 실시하였다. 그 때, 항체마다 상이한 280 nm 흡광 계수 ($1.3 \text{ mlmg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 내지 $1.8 \text{ mlmg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) 를 사용하였다.
- [0552] 공통 조작 C-1 : 항체의 버퍼 교환
- [0553] Sephadex G-25 담체를 사용한 NAP-25 칼럼 (Cat.No.17-0852-02, GE Healthcare Japan Corporation) 을, 메이커 규정의 방법에 따라, 염화나트륨 (137 mM) 및 에틸렌디아민 4 아세트산 (EDTA, 5 mM) 을 포함하는 인산 완충액 (10 mM, pH6.0 ; 본 명세서에서 PBS6.0/EDTA 라고 칭한다) 으로 평형화시켰다. 이 NAP-25 칼럼 1 개에 대해, 항체 수용액 2.5 ml 를 올린 후, PBS6.0/EDTA 3.5 ml 로 용출시킨 획분 (3.5 ml) 을 분취하였다. 이 획분을 공통 조작 A 에 의해 농축하고, 공통 조작 B 를 사용하여 항체 농도의 측정을 실시한 후에, PBS6.0/EDTA 를 사용하여 10 mg/ml 로 항체 농도를 조정하였다.
- [0554] 공통 조작 C-2 : 항체의 버퍼 교환
- [0555] Sephadex G-25 담체를 사용한 NAP-25 칼럼 (Cat.No.17-0852-02, GE Healthcare Japan Corporation) 을, 메이커 규정의 방법에 따라, 염화나트륨 (50 mM) 및 EDTA (2 mM) 를 포함하는 인산 완충액 (50 mM, pH6.5 ; 본 명세서에서 PBS6.5/EDTA 라고 칭한다) 으로 평형화시켰다. 이 NAP-25 칼럼 1 개에 대해, 항체 수용액 2.5 ml 를 올린 후, PBS6.5/EDTA 3.5 ml 로 용출시킨 획분 (3.5 ml) 을 분취하였다. 이 획분을 공통 조작 A 에 의해 농축하고, 공통 조작 B 를 사용하여 항체 농도의 측정을 실시한 후에, PBS6.5/EDTA 를 사용하여 20 mg/ml 로 항체 농도를 조정하였다.
- [0556] 공통 조작 D : 항체-약물 콘주게이트의 정제
- [0557] 시판되는 인산 완충액 (PBS7.4, Cat.No.10010-023, Invitrogen), 염화나트륨 (137 mM) 을 포함하는 인산나트륨 완충액 (10 mM, pH6.0 ; 본 명세서에서 PBS6.0 이라고 칭한다) 또는 소르비톨 (5 %) 을 포함하는 아세트산 완충액 (10 mM, pH5.5 ; 본 명세서에서 ABS 라고 칭한다) 중 어느 완충액으로 NAP-25 칼럼을 평형화시켰다. 이 NAP-25 칼럼에, 항체-약물 콘주게이트 반응 수용액 (약 1.5 ml) 을 올리고, 메이커 규정의 양의 완충액으로 용출시킴으로써, 항체 획분을 분취하였다. 이 분취 획분을 다시 NAP-25 칼럼에 올리고, 완충액으로 용출시키는 겔 여과 정제 조작을 합계 2 내지 3 회 반복함으로써, 미결합의 약물 링커나 저분자 화합물 (트리스(2-카르복시에틸)포스핀염산염 (TCEP), N-아세틸-L-시스테인 (NAC), 디메틸술폭사이드) 을 제외한 항체-약물 콘주게이트를 얻었다.
- [0558] 공통 조작 E : 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도 및 항체 1 분자당 약물 평균 결합수의 측정 (1)
- [0559] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 결합 약물 농도는, 항체-약물 콘주게이트 수용액의 280 nm 및 370 nm 의 2 파장에 있어서의 UV 흡광도를 측정한 후에 하기의 계산을 실시함으로써, 산출할 수 있다.
- [0560] 어느 파장에 있어서의 전체 흡광도는 계 내에 존재하는 모든 흡수 화학종의 흡광도의 합과 동일하므로 (흡광도의 가성성), 항체와 약물의 콘주게이션 전후에 있어서, 항체 및 약물의 물 흡광 계수에 변화가 없다고 가정하면, 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도 및 약물 농도는, 하기의 관계식으로 나타낸다.
- [0561] $A_{280} = A_{D,280} + A_{A,280} = \varepsilon_{D,280}C_D + \varepsilon_{A,280}C_A$ 식 (I)
- [0562] $A_{370} = A_{D,370} + A_{A,370} = \varepsilon_{D,370}C_D + \varepsilon_{A,370}C_A$ 식 (II)
- [0563] 여기서, A_{280} 은 280 nm 에 있어서의 항체-약물 콘주게이트 수용액의 흡광도를 나타내고, A_{370} 은 370 nm 에 있어서의 항체-약물 콘주게이트 수용액의 흡광도를 나타내고, $A_{A,280}$ 은 280 nm 에 있어서의 항체의 흡광도를 나타내고, $A_{A,370}$ 은 370 nm 에 있어서의 항체의 흡광도를 나타내고, $A_{D,280}$ 은 280 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의

흡광도를 나타내고, $A_{D,370}$ 은 370 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의 흡광도를 나타내고, $\epsilon_{A,280}$ 은 280 nm 에 있어서의 항체의 몰 흡광 계수를 나타내고, $\epsilon_{A,370}$ 은 370 nm 에 있어서의 항체의 몰 흡광 계수를 나타내고, $\epsilon_{D,280}$ 은 280 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의 몰 흡광 계수를 나타내고, $\epsilon_{D,370}$ 은 370 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의 몰 흡광 계수를 나타내고, C_A 는 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도를 나타내고, C_D 는 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 약물 농도를 나타낸다.

[0564] 여기서, $\epsilon_{A,280}$, $\epsilon_{A,370}$, $\epsilon_{D,280}$, $\epsilon_{D,370}$ 은, 사전에 준비한 값 (계산 추정값 또는 화합물의 UV 측정으로부터 얻어진 실측값) 이 사용된다. 예를 들어, $\epsilon_{A,280}$ 은, 항체의 아미노산 서열로부터, 이미 알려진 계산 방법 (Protein Science, 1995, vol. 4, 2411-2423) 에 의해 추정할 수 있다. $\epsilon_{A,370}$ 은, 통상 제로이다. 제조예에 있어서, 트라스투주맙의 몰 흡광 계수는, $\epsilon_{A,280} = 215400$ (계산 추정값) 및 $\epsilon_{A,370} = 0$ 을 사용하였다.

$\epsilon_{D,280}$ 및 $\epsilon_{D,370}$ 은, 사용하는 콘주게이트 전구체를 어느 몰 농도에 용해시킨 용액의 흡광도를 측정함으로써, 램베르트·베르의 법칙 (흡광도 = 몰 농도 $\times$ 몰 흡광 계수 $\times$ 셀 광로 길이) 에 의해 얻을 수 있다. 제조예에 있어서의 약물 링커의 몰 흡광 계수는, 특별히 언급이 없는 한, $\epsilon_{D,280} = 5000$ (실측 평균값), $\epsilon_{D,370} = 19000$ (실측 평균값) 을 사용하였다. 항체-약물 콘주게이트 수용액의 A_{280} 및 A_{370} 을 측정하고, 이들 값을 식 (I) 및 (II) 에 대입하여 연립 방정식을 풀음으로써, C_A 및 C_D 를 구할 수 있다. 또한 C_D 를 C_A 로 나눔으로써 1 항체당 약물 평균 결합수를 구할 수 있다.

[0565] 공통 조작 F : 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항체 1 분자당 약물 평균 결합수의 측정 (2)

[0566] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수는, 전술한 공통 조작 E 에 더하여, 이하의 방법을 사용하는 고속 액체 크로마토그래피 (HPLC) 분석에 의해서도 구할 수 있다.

[0567] [F-1. HPLC 분석용 샘플의 조제 (항체-약물 콘주게이트의 환원)]

[0568] 항체-약물 콘주게이트 용액 (약 1 mg/ml, 60 μ l) 을 디티오프레이톨 (DTT) 수용액 (100 mM, 15 μ l) 과 혼합한다. 혼합물을 37 $^{\circ}$ C 에서 30 분 인큐베이션함으로써, 항체-약물 콘주게이트의 L 사슬 및 H 사슬 사이의 디설파이드 결합을 절단한 샘플을 HPLC 분석에 사용한다.

[0569] [F-2. HPLC 분석]

[0570] HPLC 분석을 하기의 측정 조건으로 실시한다.

[0571] HPLC 시스템 : Agilent 1290 HPLC 시스템 (Agilent Technologies)

[0572] 검출기 : 자외 흡광도계 (측정 파장 : 280 nm)

[0573] 칼럼 : PLRP-S (2.1 $\times$ 50 mm, 8 μ m, 1000 $\text{\AA}$; Agilent Technologies, P/N PL1912-1802)

[0574] 칼럼 온도 : 80 $^{\circ}$ C

[0575] 이동상 A : 0.04 % 트리플루오로아세트산 (TFA) 수용액

[0576] 이동상 B : 0.04 % TFA 를 포함하는 아세트니트릴 용액

[0577] 그래디언트 프로그램 : 29 % - 36 % (0 분 - 12.5 분), 36 % - 42 % (12.5 - 15 분), 42 % - 29 % (15 분 - 15.1 분), 29 % - 29 % (15.1 분 - 25 분)

[0578] 샘플 주입량 : 15 μ l

[0579] [F-3. 데이터 해석]

[0580] [F-3-1] 약물이 결합하고 있지 않은 항체의 L 사슬 (L_0) 및 H 사슬 (H_0) 에 대해, 약물의 결합한 L 사슬 (약물이 하나 결합한 L 사슬 : L_1) 및 H 사슬 (약물이 하나 결합한 H 사슬 : H_1 , 약물이 2 개 결합한 H 사슬 : H_2 , 약물이 3 개 결합한 H 사슬 : H_3) 은, 결합한 약물의 수에 비례하여 소수성이 증가하여 유지 시간이 커지므로, L_0 , L_1 , H_0 , H_1 , H_2 , H_3 의 순서로 용출된다. L_0 및 H_0 와의 유지 시간 비교에 의해 검출 피크를 L_0 , L_1 , H_0 , H_1 , H_2 , H_3 중 어느 것에 할당할 수 있다.

[0581] [F-3-2] 약물 링커에 UV 흡수가 있기 때문에, 약물 링커의 결합수에 따라, L 사슬, H 사슬 및 약물 링커의 물 흡광 계수를 사용하여 하기 식에 따라 피크 면적값의 보정을 실시한다.

수학식 1

$$\begin{aligned} \text{L 사슬 피크 면적 보정값 } (L_i) \\ &= \text{피크 면적} \\ &\times \frac{\text{L 사슬의 물 흡광 계수}}{\text{L 사슬의 물 흡광 계수} + \text{결합 약물수} \times \text{약물 링커의 물 흡광 계수}} \end{aligned}$$

[0582]

수학식 2

$$\begin{aligned} \text{H 사슬 피크 면적 보정값 } (H_i) \\ &= \text{피크 면적} \\ &\times \frac{\text{H 사슬의 물 흡광 계수}}{\text{H 사슬의 물 흡광 계수} + \text{결합 약물수} \times \text{약물 링커의 물 흡광 계수}} \end{aligned}$$

[0583]

[0584] 여기서, 각 항체에 있어서의 L 사슬 및 H 사슬의 물 흡광 계수 (280 nm) 는, 이미 알려진 계산 방법 (ProteinScience, 1995, vol. 4, 2411-2423) 에 의해, 각 항체의 L 사슬 및 H 사슬의 아미노산 서열로부터 추정되는 값을 사용할 수 있다. 트라스투주맙의 경우, 그 아미노산 서열에 따라, L 사슬의 물 흡광 계수로서 26150 을, H 사슬의 물 흡광 계수로서 81290 을 추정값으로서 사용하였다. 또, 약물 링커의 물 흡광 계수 (280 nm) 는, 각 약물 링커를 메르캅토에탄올 또는 N-아세틸시스테인으로 반응시키고, 말레이미드기를 숙신이미드티오에테르로 변환한 화합물의 실측의 물 흡광 계수 (280 nm) 를 사용하였다.

[0585] [F-3-3] 피크 면적 보정값 합계에 대한 각 사슬 피크 면적비 (%) 를 하기 식에 따라 계산한다.

수학식 3

$$\begin{aligned} \text{L 사슬 피크 면적비} &= \frac{A_{Li}}{A_{L0} + A_{L1}} \times 100 \\ \text{H 사슬 피크 면적비} &= \frac{A_{Hi}}{A_{H0} + A_{H1} + A_{H2} + A_{H3}} \times 100 \\ A_{Li}, A_{Hi} : L_i, H_i &\text{ 각각의 피크 면적 보정값} \end{aligned}$$

[0586]

[0587] [F-3-4] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항체 1 분자당 약물 평균 결합수를 하기 식에 따라 계산한다.

[0588] 약물 평균 결합수 = (L₀ 피크 면적비 x 0 + L₀ 피크 면적비 x 1 + H₀ 피크 면적비 x 0 + H₁ 피크 면적비 x 1 + H₂ 피크 면적비 x 2 + H₃ 피크 면적비 x 3)/100 x 2

[0589] 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트는, 대기 중에 방치하거나, 또는 재결정이나 정제 조작을 함으로써, 수분을 흡수하거나, 혹은 흡착수가 부착되는 등을 하여, 수화물이 되는 경우가 있고, 그와 같은 물을 포함하는 화합물 또는 염도 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트에 포함된다.

[0590] 또, 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트에는, 여러 가지 방사성 또는 비방사성 동위체로 라벨된 화합물도 포함된다. 본 발명의 항체-약물 콘주게이트를 구성하는 원자의 1 이상에, 원자 동위체를 비천연 비율로 함유할 수 있다. 원자 동위체로는, 예를 들어, 중수소 (²H), 트리튬 (³H), 요오드-125 (¹²⁵I), 또는 탄소-14 (¹⁴C) 등을 들 수 있다. 또, 본 발명 화합물은, 예를 들어, 트리튬 (³H), 요오드-125 (¹²⁵I), 또는 탄소-14 (¹⁴C) 등의 방사성 동위체로 방사성 표지될 수 있다. 방사성 표지된 화합물은, 치료 또는

예방제, 연구 시약, 예를 들어, 어세이 시약, 및 진단제, 예를 들어, 인비보 화상 진단제로서 유용하다. 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트의 모든 동위체 변이종은, 방사성인지의 여부에 상관없이, 본 발명의 범위에 포함된다.

[0591] [의약]

[0592] 본 발명의 치료제는, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트를 함유하는 것을 특징으로 한다. 또, 본 발명의 치료 방법은, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트를 환자에게 투여하는 것을 특징으로 한다. 이들은, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료제 및 치료 방법으로서 사용할 수 있다.

[0593] 본 발명에 있어서 「내성」 또는 「난치성」 이란, 항암제에 의한 치료에 대해 무응답인 성질을 나타내고, 「무응답성」, 「불응성」 이라고도 표현할 수 있고, 또, 무응답임으로써 종양의 증식을 방지할 수 없으므로, 「불내성」 이라고도 표현할 수 있다.

[0594] 본 발명의 「내성 또는 난치성」 은, 「기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 의해 획득된 내성 또는 난치성」 이어도 되고, 「기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이 본래 지닌 내성 또는 난치성」 이어도 된다.

[0595] 또한, 본 발명에 있어서 「HER2 발현암」 이란, 세포 표면에 HER2 단백을 발현하고 있는 암 세포를 포함하는 암 및/또는 종양인 것을 나타낸다.

[0596] 본 발명에 있어서 「기존의 항 HER2 약」 이란, 본 발명의 항체-약물 콘주게이트를 제외한, 임상에 있어서 사용되고 있는 HER2 를 표적으로 하는 약제인 것을 나타내고, 바람직하게는, 표준 치료에 있어서 사용되고 있는 항 HER2 약인 것을 나타낸다. 「기존의 항 HER2 약」 은, 상기의 요건을 만족시키는 것이면 특별히 한정은 없지만, 바람직하게는, 트라스투주맙 엠탄신 (Trastuzumab emtansine, T-DM1), 트라스투주맙 (Trastuzumab), 퍼투주맙 (Pertuzumab), 및 라파티닙 (Lapatinib) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나이고, 보다 바람직하게는, 트라스투주맙 엠탄신 또는 트라스투주맙이고, 더욱 더 바람직하게는 트라스투주맙 엠탄신이다.

[0597] 본 발명의 치료제 및 치료 방법은, 기존의 항암약에 의한 치료력을 갖는 환자에게 투여하기 위해, 바람직하게 사용할 수 있다.

[0598] 본 발명에 있어서 「기존의 항암약」 이란, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트를 제외한, 임상에 있어서 사용되고 있는 항암약인 것을 나타낸다. 「기존의 항암약」 은, 상기의 요건을 만족시키는 것이면 특별히 한정은 없지만, 바람직하게는, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 이리노테칸 (Irinotecan, CPT-11), 시스플라틴 (Cisplatin), 카르보플라틴 (Carboplatin), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin), 플루오로우라실 (Fluorouracil, 5-FU), 겐시타빈 (Gemcitabine), 카페시타빈 (Capecitabine), 파클리탁셀 (Paclitaxel), 도세탁셀 (Docetaxel), 독소루비신 (Doxorubicin), 에피루비신 (Epirubicin), 시클로포스파미드 (Cyclophosphamide), 마이토마이신 C (Mitomycin C), 테가푸르 (Tegafur) · 기메라실 (Gimeracil) · 오테라실 (Oteracil) 배합제, 세툽시맙 (Cetuximab), 파니투무맙 (Panitumumab), 베바시주맙 (Bevacizumab), 라무시루맙 (Ramucirumab), 레고라페닙 (Regorafenib), 트리플루리딘 (Trifluridine) · 티피라실 (Tipiracil) 배합제, 제피티닙 (Gefitinib), 엘로티닙 (Erlotinib), 아파티닙 (Afatinib), 메토티렉사이트 (Methotrexate), 및 페메트렉세드 (Pemetrexed) 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함한다.

[0599] 유방암의 치료의 경우에는, 「기존의 항암약」 은, 바람직하게는, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 플루오로우라실, 파클리탁셀, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 시클로포스파미드, 및 메토티렉사이트로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하고, 보다 바람직하게는, 트라스투주맙 엠탄신 또는 트라스투주맙을 포함하고, 더욱 더 바람직하게는, 트라스투주맙 엠탄신을 포함한다.

[0600] 위암의 치료의 경우에는, 「기존의 항암약」 은, 바람직하게는, 트라스투주맙, 이리노테칸, 시스플라틴, 플루오로우라실, 파클리탁셀, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 및 마이토마이신 C 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하고, 보다 바람직하게는, 트라스투주맙 및/또는 이리노테칸을 포함하고, 더욱 더 바람직하게는, 트라스투주맙을 포함한다.

[0601] 대장암의 치료의 경우에는, 「기존의 항암약」 은, 바람직하게는, 이리노테칸, 옥살리플라틴, 플루오로우라실, 세툽시맙, 파니투무맙, 베바시주맙, 라무시루맙, 레고라페닙, 및 트리플루리딘 · 티피라실 배합제로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하고, 보다 바람직하게는, 이리노테칸을 포함한다.

[0602] 비소세포 폐암의 치료의 경우에는, 「기존의 항암약」 은, 바람직하게는, 이리노테칸, 시스플라틴, 카르보플라

틴, 겐시타빈, 제피티닙, 엘로티닙, 아파티닙, 및 페메트렉세드로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함한다.

[0603] 본 발명의 치료제 및 치료 방법은, 바람직하게는, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 5.4 mg/kg (체중 1 kg 당 투여량이 5.4 mg 인 것을 나타낸다. 이하, 동일.) 내지 8 mg/kg 의 범위인 것을 특징으로 하고, 보다 바람직하게는, 5.4 mg/kg, 6.4 mg/kg, 7.4 mg/kg, 또는 8 mg/kg 이고, 더욱 더 바람직하게는, 5.4 mg/kg, 또는 6.4 mg/kg 이다.

[0604] 본 발명의 치료제 및 치료 방법은, 바람직하게는, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트가 3 주에 1 회의 간격으로 투여되는 것을 특징으로 한다.

[0605] 본 발명의 치료제 및 치료 방법은, 바람직하게는, 유방암, 위암 (위선암이라고 부르기도 한다), 대장암 (결장 직장암이라고 부르는 경우도 있고, 결장암 및 직장암을 포함한다), 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 위식도 접합부 선암, 담관암, 파제트병, 췌장암, 난소암, 및 자궁암 육종으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위해서 사용할 수 있고, 보다 바람직하게는, 유방암, 위암, 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 위식도 접합부 선암, 담관암, 및 파제트병으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위해서 사용할 수 있고, 더욱 더 바람직하게는, 유방암, 위암, 대장암, 또는 비소세포 폐암의 치료를 위해서 사용할 수 있다.

[0606] 또한, 유방암에 대해서는, 기존의 항 HER2 약인 트라스투주맙 엠탄신 및 트라스투주맙에 의한 치료가 관찰되고 있다. 또, 위암 및 위식도 접합부 선암에 대해서도, 기존의 항 HER2 약인 트라스투주맙에 의한 치료가 관찰되고 있다. 따라서, 본 발명의 치료제를 유방암, 위암, 및 위식도 접합부 선암으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위해서 사용하는 경우에는, 「내성 또는 난치성」 은, 바람직하게는, 「기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 의해 획득된 내성 또는 난치성」 이다.

[0607] 한편, 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 담관암, 파제트병, 췌장암, 난소암, 및 자궁암 육종에 대해서는, 기존의 항 HER2 약에 의한 유효한 치료 방법은 확립되어 있지 않다. 따라서, 본 발명의 치료제 및 치료 방법을 대장암, 비소세포 폐암, 식도암, 침샘암, 담관암, 파제트병, 췌장암, 난소암, 및 자궁암 육종으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 암의 치료를 위해서 사용하는 경우에는, 「내성 또는 난치성」 은, 바람직하게는, 「기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이 본래 지닌 내성 또는 난치성」 이다.

[0608] 본 발명의 치료제 및 치료 방법은, HER2 발현암이면, HER2 과잉 발현의 암이어도, HER2 저발현의 암이어도 사용할 수 있다.

[0609] 본 발명에 있어서 「HER2 과잉 발현의 암」 이란, 당업자에게 있어서 HER2 과잉 발현의 암이라고 인식되는 것이면 특별히 제한은 없지만, 바람직하게는, 면역 조직 화학법 (IHC) 에 의해 HER2 의 발현이 3+ 로 판정된 암, 또는 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법 (ISH) 에 의해 HER2 의 발현이 양성으로 판정된 암을 들 수 있다. 또한, 본 발명의 in situ 하이브리다이제이션법에는, 형광 in situ 하이브리다이제이션법 (FISH) 과, Dual Color in situ 하이브리다이제이션법 (DISH) 이 포함된다.

[0610] 본 발명에 있어서 「HER2 저발현의 암」 이란, 당업자에게 있어서 HER2 저발현의 암이라고 인식되는 것이면 특별히 제한은 없지만, 바람직하게는, 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 2+ 로 판정되고, 또한 in situ 하이브리다이제이션법에 의해 HER2 의 발현이 음성으로 판정된 암, 또는 면역 조직 화학법에 의해 HER2 의 발현이 1+ 로 판정된 암을 들 수 있다.

[0611] 면역 조직 화학법에 의한 HER2 발현도의 판정 방법이나, in situ 하이브리다이제이션법에 의한 HER2 발현의 양성 또는 음성의 판정 방법은, 당업자에게 있어서 인식되고 있는 것이면 특별히 제한은 없지만, 예를 들어, HER2 검사 가이드 유방암편 제 4 판 (유방암 HER2 검사 병리부회 작성) 을 들 수 있다.

[0612] 본 발명의 치료제 및 치료 방법은, 바람직하게는, 수술 불능 또는 재발암의 치료를 위해서 사용할 수 있다.

[0613] 본 발명의 치료제 및 치료 방법은, 약학적으로 허용되는 제제 성분을 함유하여 사용할 수 있다.

[0614] 본 발명의 치료제는, 바꿔 말하면, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트, 그 염, 또는 그들의 수화물을 활성 성분으로 하고, 약학적으로 허용되는 제제 성분을 함유하는 내성암의 치료용 의약 조성물로서 사용할 수도 있다.

- [0615] 본 발명의 치료용 의약 조성물은, 기존의 항암약에 내성을 나타내는 암 (즉 내성암), 특히 기존의 항암약에 대한 내성을 획득한 암 (즉 이차 내성암) 에 대해 우수한 항종양 활성을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 치료용 의약 조성물은, 암 환자 중, 기존의 항암약에 내성을 나타내는 환자군 (기존의 항암약에 의한 치료력을 갖는 환자) 에게 적용되어 현저한 항종양 효과를 발휘한다.
- [0616] 「기존의 항암약」 의 정의는, 전술한 바와 같지만, 바람직하게는 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1) 등의 항 HER2 항체를 포함하는 항체-약물 콘주게이트, 혹은 트라스투주맙, 또는 퍼투주맙 등의 항 HER2 항체 그 자체이다.
- [0617] 본 발명의 치료용 의약 조성물은, 이들 기존의 항암약 대신, 혹은 이들 기존의 항암약과 조합되어 암 환자에게 투여됨으로써, 이들 기존의 항암약에 내성을 획득한 암에 대해서도 높은 치료 효과를 나타낸다.
- [0618] 본 발명의 치료용 의약 조성물은, 바람직하게는, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트의 1 회당 투여량이 0.8 mg/kg 내지 8 mg/kg 의 범위인 것을 특징으로 하고, 보다 바람직하게는, 5.4 mg/kg, 6.4 mg/kg, 7.4 mg/kg, 또는 8 mg/kg 인 것을 특징으로 하고, 더욱 더 바람직하게는, 5.4 mg/kg, 또는 6.4 mg/kg 인 것을 특징으로 한다.
- [0619] 본 발명의 치료용 의약 조성물의 투여 간격은, 1 주에 1 회 (q1w), 2 주에 1 회 (q2w), 3 주에 1 회 (q3w), 또는 4 주에 1 회 (q4w) 이어도 되지만, 바람직하게는, 3 주에 1 회이다.
- [0620] 본 발명의 치료용 의약 조성물은, 바람직하게는, 내성암이 폐암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 난소암, 췌암, 유방암, 방광암, 위암, 위장간질 종양, 자궁경부암, 식도암, 편평상피암, 복막암, 간암, 간세포암, 결장암, 직장암, 결장 직장암, 자궁 내막암, 자궁암, 침샘암, 신장암, 외음부암, 갑상선암, 음경암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종, 또는 육종인 경우에 사용할 수 있고, 보다 바람직하게는, 내성암이 유방암, 위암, 대장암, 또는 비소세포 폐암인 경우에 사용할 수 있고, 더욱 더 바람직하게는, 내성암이 유방암, 또는 위암인 경우에 사용할 수 있다.
- [0621] 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물은, 암 세포의 성장을 느리게 하여, 증식을 억제하고, 나아가서는 암 세포를 파괴할 수 있다. 이들 작용에 의해, 암 환자에게 있어서, 암에 의한 증상으로부터의 해방이나, QOL 의 개선을 달성할 수 있고, 암 환자의 생명을 유지하여 치료 효과가 달성된다. 암 세포의 파괴에는 이르지 않는 경우에도, 암 세포의 증식의 억제나 컨트롤에 의해 암 환자에게 있어서 보다 높은 QOL 을 달성하면서 보다 장기의 생존을 달성시킬 수 있다.
- [0622] 이와 같은 약물 요법에 있어서의 약물 단독에서의 사용 외에, 아쥬반트 요법에 있어서 다른 요법과 조합하는 약제로서도 사용할 수 있고, 외과 수술이나, 방사선 요법, 호르몬 요법 등과 조합할 수 있다. 나아가서는 네오아쥬반트 요법에 있어서의 약물 요법의 약제로서 사용할 수도 있다.
- [0623] 이상과 같은 치료적 사용 외에, 미세한 전이 암 세포의 증식을 억제하고, 나아가서는 파괴한다는 예방 효과도 기대할 수 있다. 특히 원발성의 암 세포에 있어서 HER2 의 발현이 확인되었을 때에 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트를 투여함으로써 암 전이의 억제나, 예방 효과를 기대할 수 있다. 예를 들어, 전이 과정에서 체액 중에 있는 암 세포를 억제하여 파괴하는 효과나, 어느 조직에 착상한 직후의 미세한 암 세포에 대한 억제, 파괴 등의 효과를 기대할 수 있다. 따라서, 특히 외과적인 암의 제거 후에 있어서의 암 전이의 억제, 예방 효과를 기대할 수 있다.
- [0624] 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트는, 환자에 대해서는 전신 요법으로서 적용하는 것 외에, 암조직에 국소적으로 적용하여 치료 효과를 기대할 수 있다.
- [0625] 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물은, 포유 동물에 대해 바람직하게 투여할 수 있지만, 보다 바람직하게는 인간에게 투여할 수 있다.
- [0626] 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물은, 1 종 이상의 약학적으로 허용되는 제제 성분을 포함하여 투여될 수 있다. 약학적으로 허용되는 제제 성분은, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트의 투여량이나 투여 농도에 따라, 이 분야에 있어서 통상 사용되는 제제 첨가물 그 외로부터 적절히 선택하여 적용할 수 있다. 약학적으로 허용되는 제제 성분은, 대표적으로는, 1 종 이상의 약학적 캐리어 (예를 들어, 멸균한 액체) 를 포함한다. 여기서 액체에는, 예를 들어, 물 및 오일 (식유, 동물 기원, 식물 기원, 또는 합성 기원의 오일) 이 포함된다. 오일은, 예를 들어, 락카세유, 대두유, 광유, 참기름 등이어도 된다. 물은, 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물이 정맥내 투여되는 경우에, 보다 대표적인 캐리어이다. 식염수 용액, 그리고 텍스트로오스 수용액 및 글리세롤 수용액도 또한, 액체 캐리어로서, 특히, 주사용 용액을 위해서 사용될 수 있

다. 적절한 약학적 부형제는, 이 분야에서 공지된 것에서 적절히 선택할 수 있다. 약학적으로 허용되는 제제 성분은 또, 원한다면, 미량의 습윤제 혹은 유화제, 또는 pH 완충화제를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 제제 성분의 적절한 예는, E. W. Martin 에 의한 「Remington's Pharmaceutical Sciences」 에 기재된다. 그 처방은 투여의 양태에 대응한다.

[0627] 여러 가지 송달 시스템이 공지되어 있고, 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물을 투여하기 위해서 사용될 수 있다. 도입 방법으로는, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 및 피하의 경로를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다. 투여는, 예를 들어, 주입 또는 볼루스 주사에 의한 것일 수 있다. 특정한 바람직한 실시형태에 있어서, 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물의 투여는, 주입에 의한 것이다. 비경구적 투여는, 바람직한 투여 경로이다.

[0628] 대표적 실시형태에 있어서, 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물은, 인간에 대한 정맥내 투여에 적합한 조성물로서, 상습적 순서에 따라 처방된다. 대표적으로는, 정맥내 투여를 위한 조성물은, 멸균의 등장성의 수성 완충액 중의 용액이다. 필요한 경우, 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물은 또, 가용화제 및 주사 부위에서의 동통을 완화시키기 위한 국소 마취제 (예를 들어, 리그노카인) 를 포함할 수 있다. 일반적으로, 상기 성분은, 예를 들어, 활성제의 양을 나타내는 앰플 또는 사세 등에 밀봉하여 시일된 용기 중의 건조 동결 건조 분말 또는 무수의 농축물로서, 별개로, 또는 단위 제형 중에서 함께 혼합하여 중 어느 것으로 공급된다. 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물이 주입에 의해 투여되는 형태의 경우, 그것은, 예를 들어, 멸균의 제약 그레이드의 물 또는 식염수를 포함하는 주입 보틀로 투약될 수 있다. 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플은, 예를 들어, 상기 성분이 투여 전에 혼합될 수 있도록 제공될 수 있다.

[0629] 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물은, 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트만을 포함하는 의약 조성물이어도 되고, 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트 및 적어도 하나의 이 이외의 암 치료제를 포함하는 조성물이어도 된다. 본 발명에서 사용되는 항 HER2 항체-약물 콘주게이트는, 기존의 항암약과 함께 투여할 수도 있고, 이로써 항암 효과를 증강시킬 수 있다. 이와 같은 목적으로 사용되는 기존의 항암약은, 본 발명의 항체-약물 콘주게이트와 동시에, 따로따로, 혹은 연속해서 개체에 투여되어도 되고, 각각의 투여 간격을 바꾸어 투여해도 된다. 「기존의 항암약」의 정의는 전술한 바와 같다.

[0630] 본 발명의 치료제 및 치료용 의약 조성물은, 선택된 조성과 필요한 순도를 갖는 제제로서, 동결 건조 제제 혹은 액상 제제로서 제제화할 수 있다. 동결 건조 제제로서 제제화할 때에는, 이 분야에 있어서 사용되는 적당한 제제 첨가물이 포함되는 제제이어도 된다. 또 액제에 있어서도 동일하게 하여, 이 분야에 있어서 사용되는 각종 제제 첨가물을 포함하는 액상 제제로서 제제화할 수 있다.

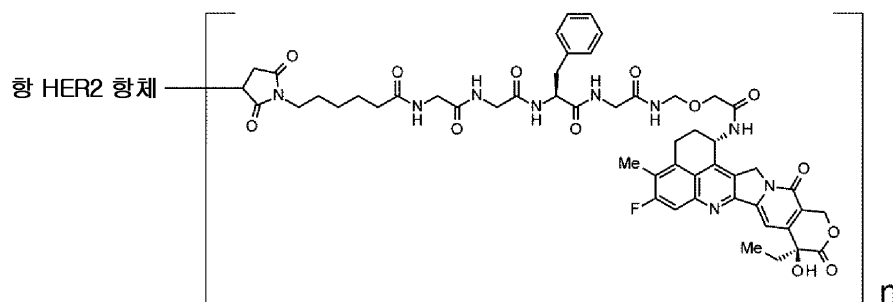
[0631] 실시예

[0632] 이하에 나타내는 예에 의해 본 발명을 구체적으로 설명하지만, 본 발명은 이들에 한정되는 것은 아니다. 또, 이들은 어떠한 의미에 있어서도 한정적으로 해석되는 것은 아니다.

[0633] [제조예 : 항체-약물 콘주게이트의 조제]

[0634] 특허문헌 8 (국제 공개 제2015/115091호) 에 기재된 제조 방법에 따라, 하기 식으로 나타내는 항체-약물 콘주게이트 (이하, 「항체-약물 콘주게이트 (1)」 또는 「ADC (1)」 이라고 칭한다) 를 제조하였다.

[0635] [화학적 28]



[0636] 여기서, 약물-링커 구조는, 항체와 티오에테르 결합에 의해 결합하고 있고, n 은 7 내지 8 의 범위이다.

- [0638] [평가예 1 : 항종양 시험]
- [0639] 마우스 : 6 - 12 주령의 암컷 면역 결손 Cr1 : Nu(Ncr)-Foxn1^{Nu} 마우스 (찰스 · 리버사) 를 실험에 제공하였다.
- [0640] 측정 · 계산식 : 종양의 장경 및 단경을 전자식 디지털 캘리퍼로 1 주에 2 회 측정하고, 종양 체적 (mm³) 을 계산하였다. 계산식을 이하에 나타낸다.
- [0641] 종양 체적 (mm³) = 0.52 × 장경 (mm) × [단경 (mm)]²
- [0642] 항체-약물 콘주게이트 (1) : DAR = 7.6 인 것을 사용하였다. 항체-약물 콘주게이트 (1) 를, 용매 (10 mM 히스티딘, 10 % 트레할로오스, 0.02 % 폴리솔베이트 20, pH 5.5) 로 희석시켰다. 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1) 은 생리 식염수로 희석시켰다. 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 희석액 또는 T-DM1 의 희석액을, 10 ml/kg 으로 마우스의 미정맥 내에 투여하였다.
- [0643] T-DM1 치료 후, 내성화된 HER2 양성 유방암 환자로로부터 적출한 종양을, 암컷 면역 결손 마우스에 이식함으로써, 복수회 계대 유지하였다. 그 후, 마우스에 T-DM1 을 지속 투여함으로써, T-DM1 에 높은 내성을 획득한 종양인 ST1616B/TDR 및 ST1360B/TDR 을 얻었다. ST1616B/TDR 은, T-DM1 을 13 개월간 계속 투여된 환자, ST1360B/TDR 은, T-DM1 을 3 개월간 계속 투여된 환자에게 유래하는 종양이다. 이들 종양은, 모두 HER2 과잉 발현 (면역 조직 화학 염색 (IHC) 에 의한 판정은 3+) 이다.
- [0644] 고형 종양의 종양편을 암컷 면역 결손 마우스의 체측부에 피하 이식하고, 종양 체적이 대략 200 mm³ 에 도달한 시점에서 무작위로 군 나누기를 실시하였다. 군 나누기일을 제 0 일로 하고, 항체-약물 콘주게이트 (1) 를 3 mg/kg 또는 10 mg/kg 의 용량으로 제 0 일에 미정맥 내 투여하였다. T-DM1 은 10 mg/kg 의 용량으로 제 0, 7, 14, 21 일에 미정맥 내 투여하였다. 컨트롤군으로서, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 희석에 사용한 용매만을 투여하는 군을 설정하였다.
- [0645] 결과를 도 3 또는 도 4 에 나타낸다. ST1616B/TDR 종양 및 ST1360B/TDR 종양에 대해, T-DM1 의 투여는 종양의 증식을 억제하지 않았다. 한편 항체-약물 콘주게이트 (1) 는 3 mg/kg 및 10 mg/kg 중 어느 투여에 있어서도 종양의 증식을 현저하게 억제하였다. 모든 약제 투여군에 있어서 마우스의 체중 감소는 관찰되지 않았다.
- [0646] 이상으로부터, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는 T-DM1 에 대해 내성을 획득한 종양 (즉 이차 내성암) 에 대해, 현저한 항종양 활성을 갖는 것이 분명해졌다. 또, 안전성도 우수한 것도 분명하다.
- [0647] [평가예 2 : 임상 시험]
- [0648] 항체-약물 콘주게이트는, 암 유전자 발현 종양 세포에 대해 효율적으로 또한 특이적인 약물 송달의 효과를 갖는 유망한 의약이다. 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 신규한 토포이소메라아제 I 저해약을 갖는 HER2 를 타깃으로 한 항체-약물 콘주게이트이다 (표 1). 임상 시험에 사용된 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 DAR 은 7 - 8 의 범위이고, 8 에 가까운 값이다. 전임상 데이터로부터 HER2 타깃팅이 매우 특이적인 것이 증명되었다. 전임상 모델에 있어서, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1) 보다 훨씬 광범위한 항종양 스펙트럼과 T-DM1 내성 및 HER2 저발현 종양에 대한 효과를 나타냈다.
- [0649] 용량 점증 파트 (Part 1) 시험 및 전개 용량 파트 (Part 2) 시험이, HER2 양성인 유방암, 위암, 나아가서는 이것 등과 상이한 HER2 발현 고형암에 대해, 하기와 같은 내용으로 단계 1 (Phase 1) 로 진행 중이다.

표 1

	ADC(1)	T-DM1
항체	항 HER2 모노클로날 항체	트라스투주맙 (Tmab)
약물	토포이소메라아제 I 저해약 (Dxd)	튜불린 저해약 (DM1)
DAR*	7-8	3.5

* DAR: 평균 약물 항체비 (Average drug-to-antibody Ratio)

[0650]

- [0651] 시험 계획 :
- [0652] 오픈 라벨, 단계 1 (Phase 1) 용량 점증 시험.
- [0653] EWOC 원칙에 따른 mCRM 법에 의해 최대 내용량 (MTD) 을 구한다.
- [0654] 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 인용할 수 없는 독성 또는 병태의 증악 (憎惡) 이 관찰될 때까지 3 주에 1 번 정맥내 투여.
- [0655] 용량 제한 독성 (DLT) 은, 사이클 1 (제 1 - 21 일) 에 있어서 구한다.
- [0656] 파트 1 시험 : 용량 점증 시험 (일본에 있어서 실시)
- [0657] 유방암 또는 위선암/위식도 접합부 선암
- [0658] 피험자수는 적어도 18 로 하고, 16 % 의 피험자 (즉 피험자의 1/6) 가 HER2 발현 (IHC 2+, 3+) 으로 상정한다.
- [0659] 파트 2 시험 : 용량 전개 시험 (일미에 있어서 실시)
- [0660] 파트 2a ; 피험자수 40, HER2 과잉 발현, T-DM1 치료력이 있는 유방암.
- [0661] 파트 2b ; 피험자수 40, HER2 과잉 발현, 트라스투주맙 치료력이 있는 위선암/위식도 접합부 선암.
- [0662] 파트 2c ; 피험자수 20, HER2 저발현, 유방암.
- [0663] 파트 2d ; 피험자수 20, 유방암 또는 위선암을 제외한 HER2 발현 고형암.
- [0664] 주목표 :
- [0665] 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 안전성과 인용성의 평가.
- [0666] 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 최대 내용량, 및 제 2 상 시험 추천 용량을 구한다.
- [0667] 이차 목표 및 탐사적 목표 :
- [0668] 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 약물 동태의 평가.
- [0669] 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 유효성의 평가.
- [0670] 객관적 주효율 (ORR ; 완전 주효 (CR) + 부분 주효 (PR)).
- [0671] 병세 컨트롤률 (DCR ; CR + PR + 안정 (SD)).
- [0672] 주효 기간, SD 기간, 응답 시간, 무증악 생존 기간.
- [0673] 항체-약물 콘주게이트 (1) 에 대한 인간 항인간화 항체의 평가.
- [0674] 시험 결과
- [0675] 파트 1 시험 : 용량 점증 시험 (일본에 있어서 실시)
- [0676] (1) 피험자의 해석
- [0677] 피험자의 상황은 표 2 에 나타낸 바와 같다.

표 2

피험자 상세		HER2 상황		
등록 피험자/처치 피험자	23/22	IHC		
연령 메디안 (범위)	66 (38-79)	0	1	(5%)
		1+	3	(14%)
		2+	3	(14%)
		3+	15	(68%)
기왕 화학 요법수	5 (1-11)	FISH		
		미증폭	2	(9%)
		증폭	2	(9%)
		미검사	18	(82%)
중앙 타입		기왕 화학 요법		
유방암	16 (73%)	항 HER2 요법	18	(82%)
위암	5 (23%)	트라스투주맵	18	(82%)
위식도 접합부 선암	1 (5%)	퍼투주맵	5	(23%)
		라파티닙	4	(18%)
		T-DM1	13	(59%)

[0678]

[0679]

(2) 약물 동태

[0680]

항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 0.8 mg/kg, 1.6 mg/kg, 3.2 mg/kg, 5.4 mg/kg, 6.4 mg/kg, 8 mg/kg 중 어느 투여량으로, 3 주에 1 번 (q3w) 투여되었다. 이것 등의 투여로부터 측정된 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 약물 동태를 도 5 에 나타냈다.

[0681]

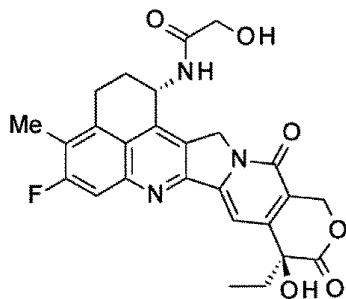
항체-약물 콘주게이트 (1) 의 노출은 3.2 mg/kg 이상의 용량으로 투여량비 이상으로 높고, $T_{1/2}$ 는 3.2 mg/kg 이상의 용량으로 연장되어 있다.

[0682]

도면에 「화합물 1」 로서 기재되어 있는 화합물의 $T_{1/2}$ 는 flip-flop 현상 때문에 항체-약물 콘주게이트 (1) 와 유사하다 (데이터 생략). 또한, 화합물 1 은 다음의 구조를 갖는다.

[0683]

[화합식 29]



[0684]

[0685]

사이클 1 에서의 항체-약물 콘주게이트 (1), 6.4 mg/kg 투여에 있어서의 C_{min} (10700 ng/ml) 의 중앙값은, 전임상에서의 활성 성분 농도 전체를 기초로 한 목표 노출 (4260 ng/ml) 을 초과하여, T-DM1 출시 용량의 3.6 mg/kg 과 거의 동일하였다. 또한, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 목표 투여량은 5.0 mg/kg 이었다.

[0686]

(3) 안전성과 인용성

[0687]

안전성과 인용성의 결과를 도 6 에 나타냈다.

[0688]

0.8 mg ~ 8 mg/kg 의 코호트에서는 MTD 에는 도달하지 않았다.

[0689]

어느 용량 레벨에 있어서도, 용량 제한 독성, 그레이드 4, 심독성에 이르지 않았다.

[0690]

가장 자주 관찰되는 유해 사상 (AEs) 은, 저부터 중 정도의 소화기, 및 혈액학적 사상이었다.

- [0691] 7 건의 그레이드 3 의 유해 사상 (저칼륨혈증 (1), 빈혈 (1), 호중구수 감소 (1), 림프구수 감소 (2), 알칼리포스파타아제 증가 (1), 담관염 (1)) 가 22 명의 피험자 중 4 명에서 발생하였다 (18 %).
- [0692] 사이클 2 이후에, 6.4 mg/kg (n = 4/6) 과 8.0 mg/kg (n = 2/3) 의 코호트에 있어서 6 명의 피험자가 유해 사상에 의해 투여량이 감량되었지만, 투여 중지에는 이르지 않았다.
- [0693] (4) 유효성
- [0694] 유효성을 도 7, 8, 9 에 나타냈다.
- [0695] 12 명의 T-DM1 기 (既) 치료예와 5 명의 HER2 저발현 피험자를 포함하는 20 명의 평가 가능 피험자에 있어서, ORR 35 % (7 PRs), DCR 90 % 가 달성되었다 (도 8, 9).
- [0696] 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, T-DM1 을 포함하는 표준 치료에 불응 또는 불내 (不耐) 가 된 유방암 환자에 있어서, ORR 42 %, DCR 92 % 를 달성하였다 (도 7). 또한, 전치료에 있어서의 T-DM1 의 치료 효과는 ORR 18 %, DCR 64 % 이고, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, T-DM1 에 의한 치료보다 고율로 주효하였다.
- [0697] PR (Partial Response) 을 달성한 증례 중 1 명은 등록시 IHC1+ 이었다 (도 8).
- [0698] PR 을 달성한 증례의 대부분은 5.4 mg/kg 이상의 용량이었다 (도 8, 9).
- [0699] 파트 2 시험 : 용량 전개 시험 (일미에 있어서 실시)
- [0700] (1) 피험자의 해석
- [0701] 파트 2 시험의 각 코호트에 있어서의 피험자수, 및 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 투여량은, 표 3 에 나타난 바와 같다. 어느 코호트도, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는 3 주에 1 회의 간격으로 투여되었다.

표 3

	피험자수	투여량	
파트 2a	43/100	5.4mg/kg 6.4mg/kg	HER2 과잉 발현 T-DM1 치료력이 있는 유방암
파트 2b	41/40	5.4mg/kg 6.4mg/kg	HER2 과잉 발현 트라스투주맙 치료력이 있는 위암
파트 2c	10/20	6.4mg/kg	HER2 저발현 유방암
파트 2d	25/20	6.4mg/kg	유방암 및 위암을 제외한 HER2 발현 고형암

- [0702]
- [0703] (2) 유효성
- [0704] (2-1)
- [0705] 파트 2 시험 전체에 있어서의 유효성에 대해, 도 10 에 최대 종양 축소율 (%) 을 나타냈다. 도면 중, 「유방암 HER2 양성」 는, HER2 과잉 발현의 유방암의 코호트를 나타내고, 「유방암 HER2 저」 는, HER2 저발현의 유방암의 코호트를 나타내고, 「위암 HER2 양성」 는, HER2 과잉 발현의 위암의 코호트를 나타내고, 「위암 HER2 저」 는, HER2 저발현의 위암의 코호트를 나타내고, 「기타」 는, 유방암 및 위암을 제외한 HER2 발현 고형암을 나타낸다. 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 어느 암종에 있어서도, 또, HER2 가 과잉 발현이어도 저발현이어도, 우수한 종양 축소 효과를 나타내는 것이 관명되었다.
- [0706] (2-2)
- [0707] 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 유방암에 대한 유효성에 대해, 도 11 에 종양 축소율 (%) 의 시간 추이를 나타냈다. 도면 중, 「유방암 HER2 양성」 는, HER2 과잉 발현의 유방암의 코호트를 나타내고, 「유방암 HER2 저」 는, HER2 저발현의 유방암의 코호트를 나타낸다. 또, 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 위암에 대한 유효성

에 대해, 도 12 에 중앙 축소율 (%) 의 시간 추이를 나타냈다. 도면 중, 「위암 HER2 양성」 는, HER2 과잉 발현의 위암의 코호트를 나타내고, 「위암 HER2 저」 는, HER2 저발현의 위암의 코호트를 나타낸다. 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 어느 암종에 있어서도, 또, HER2 가 과잉 발현이어도 저발현이어도, 우수한 중앙 축소 유지 효과를 나타내는 것이 판명되었다.

(2-3)

파트 2 시험에 있어서의 유효성에 대해, ORR (객관적 주효율) 및 DCR (병세 컨트롤률) 을 표 4 에 나타냈다.

항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 모든 코호트에 있어서, 높은 ORR 및 DCR 을 나타냈다. 특히, 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1) 에 의한 치료력이 있는 유방암 환자, 트라스투주맙 엠탄신과 퍼투주맙의 병용에 의한 치료력이 있는 유방암 환자, 및 이리노테칸 (CPT-11) 에 의한 치료력이 있는 위암 환자에 있어서, 높은 ORR 및 DCR 을 나타냈다.

표 4

	ORR (피험자수)	DCR (피험자수)
전체	40.2% (39/97)	91.8% (89/97)
유방암	42.2% (19/45)	97.8% (44/45)
유방암(T-DM1 치료력 있음)	45.7% (16/35)	100.0% (35/35)
유방암(T-DM1+퍼 투 주 맙 치료력 있음)	46.7% (14/30)	100.0% (30/30)
위암	44.4% (16/36)	88.9% (32/36)
위암 (CPT-11치료력 있음)	44.4% (8/18)	94.4% (17/18)

(2-4)

파트 2d 시험 (유방암 및 위암을 제외한 HER2 발현 고형암) 의 피험자에게는,

대장암 (11 명), 비소세포 폐암 (5 명), 침샘암 (4 명), 파제트병 (2 명), 식도암 (1 명), 및 담관암 (1 명) 의 환자가 포함되어 있다.

평가 가능한 환자 12 명에 있어서, ORR 33 %, DCR 91 % 를 달성하였다. 대장암에서는, 5 명 중 2 명이 PR 을 달성하였다. 침샘암에서는 4 명 중 2 명이 PR 을 달성하였다.

(2-5)

파트 2d 시험의 결과를 표 5 에 나타낸다. 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 평가 가능한 환자 22 명에 있어서, 파트 2d 시험 전체에서, ORR 31.8 %, DCR 81.8 % 를 달성하였다. 이 중, 대장암의 코호트에서는, ORR 20.0 %, DCR 80.0 % 를 달성하고, 비소세포 폐암의 코호트에서는, ORR 20.0 %, DCR 60.0 % 를 달성하고, 침샘암의 코호트에서는, ORR 75.0 %, DCR 100.0 % 를 달성하고, 그 밖의 암 (파제트병, 식도암, 및 담관암) 의 코호트에서는, ORR 33.3 %, DCR 100.0 % 를 달성하였다.

표 5

	ORR (시험자수)	DCR (시험자수)
파트 2d 시험 전체	31.8% (7/22)	81.8% (18/22)
대장암	20.0% (2/10)	80.0% (8/10)
비소 세포 폐암	20.0% (1/5)	60.0% (3/5)
타액선암	75.0% (3/4)	100.0% (4/4)
기타 (파제트병, 식도암, 및 담관암)	33.3% (1/3)	100.0% (3/3)

[0717]

[0718]

또, 파트 2d 시험에 있어서의 항체-약물 콘주게이트 (1) 의 유효성에 대해, 도 13 에 최대 종양 축소율 (%) 을 나타냈다 (도면 중, 「C」 는 대장암의 코호트를 나타내고, 「L」 은 비소세포 폐암의 코호트를 나타내고, 「S」 는 침샘암의 코호트를 나타내고, 「P」 는 파제트병의 코호트를 나타내고, 「Ch」 는 담관암의 코호트를 나타내고, 「E」 는 식도암의 코호트를 나타낸다. 도면 중 「※」 는 치료가 진행 중인 것을 나타낸다.).

[0719]

또한 도 14 에 종양 축소율 (%) 의 시간 추이를 나타냈다 (도면 중, 「Colorectal」 은 대장암의 코호트를 나타내고, 「NSCLC」 는 비소세포 폐암의 코호트를 나타내고, 「Salivary」 는 침샘암의 코호트를 나타내고, 「Other」 는 그 밖의 암의 코호트를 나타낸다).

[0720]

항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 어느 암종에 있어서도, 또, HER2 가 과잉 발현이어도 저발현이어도, 우수한 종양 축소 효과를 나타내는 것이 판명되었다.

[0721]

(3) 안전성과 인용성

[0722]

안전성과 인용성의 결과를 표 6 에 나타냈다. 가장 자주 관찰되는 유해 사상 (AEs) 은, 구역질, 식욕 감소, 구토와 같은 소화기계 독성이었다. 그러나, 그레이드 3 이상의 유해 사상은 적은 것이 판명되었다. 또, 혈소판수 감소, 호중구수 감소와 같은 골수 억제도 관찰되었지만, 이들에 대해서도 그레이드 3 이상의 유해 사상은 적은 것이 판명되었다.

표 6

	그레이드1 (%)	그레이드2 (%)	그레이드3 (%)	그레이드4 (%)	전체 (%)
혈소판수 감소	13.5	9.0	8.3	3.8	34.6
빈혈	3.0	12.0	14.3	1.5	30.8
호중구수 감소	0.8	9.8	12.0	3.0	25.6
백혈구수 감소	0.8	12.8	9.0	1.5	24.1
구역질	51.9	13.5	1.5	0.0	66.9
식욕 감소	33.8	20.3	3.8	0.0	57.9
구토	31.6	3.8	1.5	0.0	36.8
설사	19.5	5.3	0.8	0.0	25.6
변비	18.8	3.0	0.0	0.0	21.8
탈모	21.1	6.0	0.0	0.0	27.1
권태감	18.0	4.5	0.8	0.0	24.1

[0723]

[0724]

총괄

- [0725] 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 파트 1 시험 (용량 점증 시험) 에서는 MTD 에는 도달하지 않고, 높은 인용성을 나타냈다.
- [0726] 20 명의 평가 가능한 피험자 중, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 35 % 의 ORR 과 90 % 의 DCR 을 달성하였다.
- [0727] 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, T-DM1 기치료의 유방암 환자에 있어서, 전치료의 T-DM1 보다 높은 주효율을 나타냈다.
- [0728] 파트 2 시험 (용량 전개 시험) 에서는, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 5.4 mg/kg 및 6.4 mg/kg 의 투여량으로 3 주에 1 회의 간격으로 투여되었다. 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 어느 암종에 있어서도, 또, HER2 가 과잉 발현이어도 저발현이어도, 우수한 항종양 효과를 나타내는 것이 판명되었다. 또, 그레이드 3 이상의 유해 사상은 적은 것이 확인되고, 우수한 안전성을 나타내는 것이 판명되었다.
- [0729] 이상으로부터, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 항암약에 의한 전치료에 의해 내성을 획득한 암에 대해서도 우수한 항암 작용을 갖는 것이 나타났다. 이와 같은 전치료로는, 항 HER2 요법 (기존의 항 HER2 약에 의한 치료, 혹은 기존의 항 HER2 약과 이 이외의 항암약의 조합 등에 의한 치료) 을 들 수 있다. 항 HER2 요법으로서 트라스투주맙, 및 퍼투주맙 등의 항체의 투여, 혹은 항 HER2 항체-약물 콘주게이트인 T-DM1 의 투여 등을 들 수 있다. 이것 등의 전치료에 있어서 사용된 항 HER2 약은, 치료 대상이 되는 암이 HER2 양성 (즉 HER2 과잉 발현) 인 것이 투여 전의 검사에 의해 확인되고 있는 것이 필수이다. 따라서, HER2 가 인식되어 주효 한다는 작용기작의 점에서는 당해 암종에 대한 효과가 기대되어 투여가 실시되는 것이다. 그러나, 이것 등의 항 HER2 약의 투여가 계속된 후에 있어서는, 일단은 기대한 바와 같이 항암 작용이 확인되고 있어도, 어떠한 메커니즘에 의해 항암 작용이 확인되지 않게 되는 병태에 이르는 것이 관찰된다. 이와 같은 상황에 있어서, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 전치료의 항 HER2 약 투여의 효과가 관찰되지 않게 된 암 이어도 우수한 항암 작용이 확인되었던 것이다. 즉, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, 기존의 항 HER2 약이 전 치료로서 투여되어 내성을 획득한 암 (이차 내성암) 이어도 우수한 항암 작용을 나타내는 것이 확인되었다.
- [0730] 또, 항체-약물 콘주게이트 (1) 는, HER2 저발현의 암이나, 유방암 및 위암 이외의 고형암 (예를 들어, 대장암, 비소세포 폐암, 침샘암, 파제트병, 식도암, 및 담관암 등) 에 대해서도 우수한 치료 효과를 나타내는 것이 임상 시험에 있어서 실증되었다. 이것 등의 암은, HER2 를 발현하고 있음에도 불구하고, 기존의 항 HER2 약에서는 당초부터 치료 효과가 관찰되지 않은 암 (바꿔 말하면, 기존의 항 HER2 약에 의한 치료에 상관없이, 기존의 항 HER2 약에 대해 본래 지닌 내성 또는 난치성을 갖는 HER2 발현암) 이다.
- [0731] 이상에 의해, 본 발명에서 사용되는 항체-약물 콘주게이트를 함유하는 치료제 및 치료용 의약 조성물, 그리고 본 발명의 항체-약물 콘주게이트를 투여하는 것을 특징으로 하는 치료 방법은, 기존의 항 HER2 약에 대해 내성 또는 난치성의 HER2 발현암의 치료가 우수하다는 것이 나타났다.
- [0732] 서열표 프리텍스트
- [0733] 서열 번호 1 : 인간화 항 HER2 모노클로날 항체 중사슬의 아미노산 서열
- [0734] 서열 번호 2 : 인간화 항 HER2 모노클로날 항체 경사슬의 아미노산 서열

도면

도면1

서열 번호 1 : 인간화 항 HER2 모노클로날 항체 중사슬의 아미노산 서열

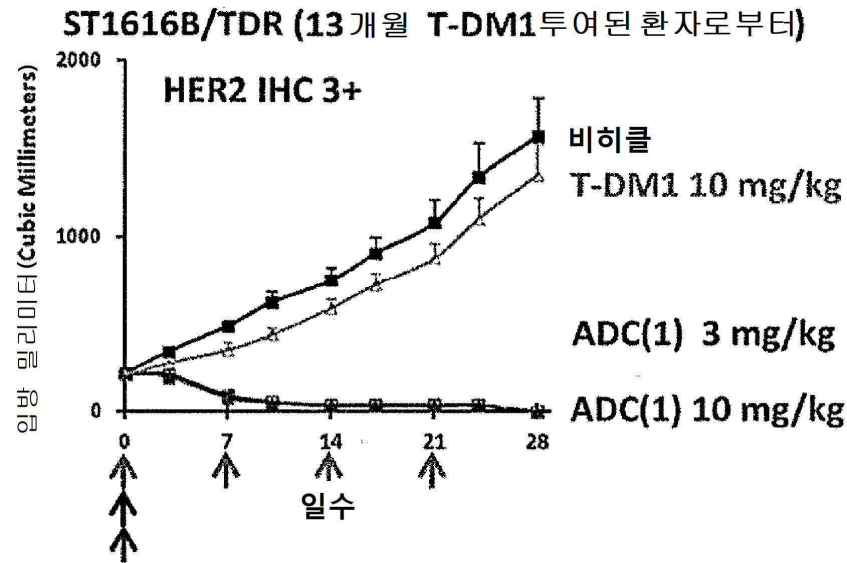
```
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFGNIKDTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSV
KGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV
FPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP
GK
```

도면2

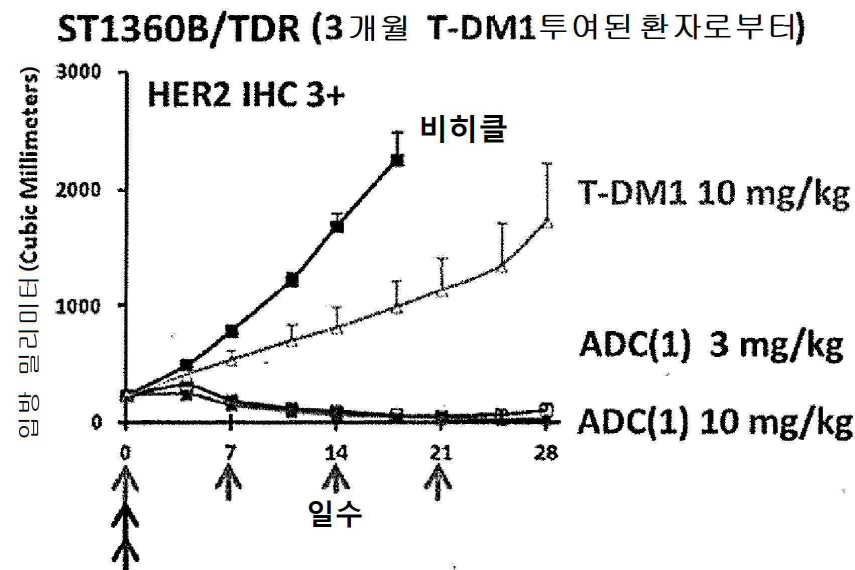
서열 번호 2 : 인간화 항 HER2 모노클로날 항체 경사슬의 아미노산 서열

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLLYSGVPSRFSG
SRSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

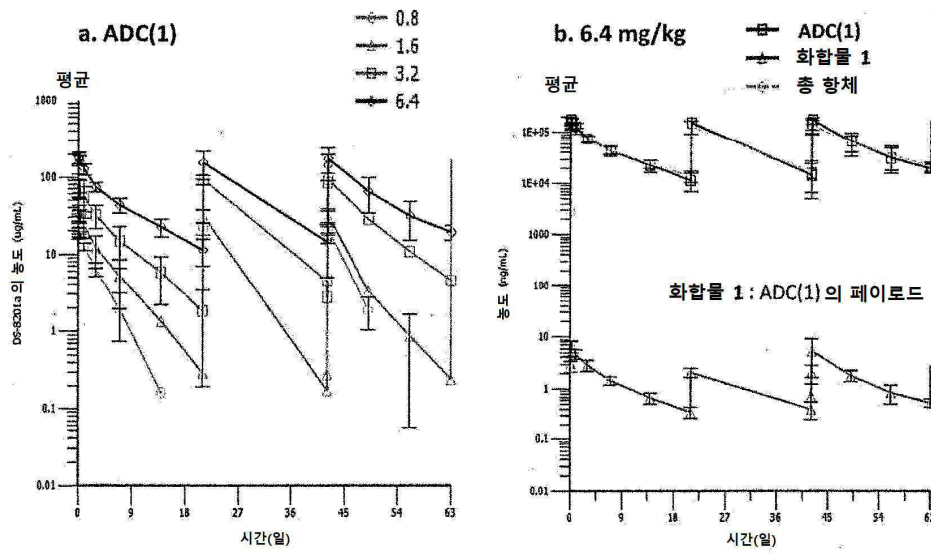
도면3



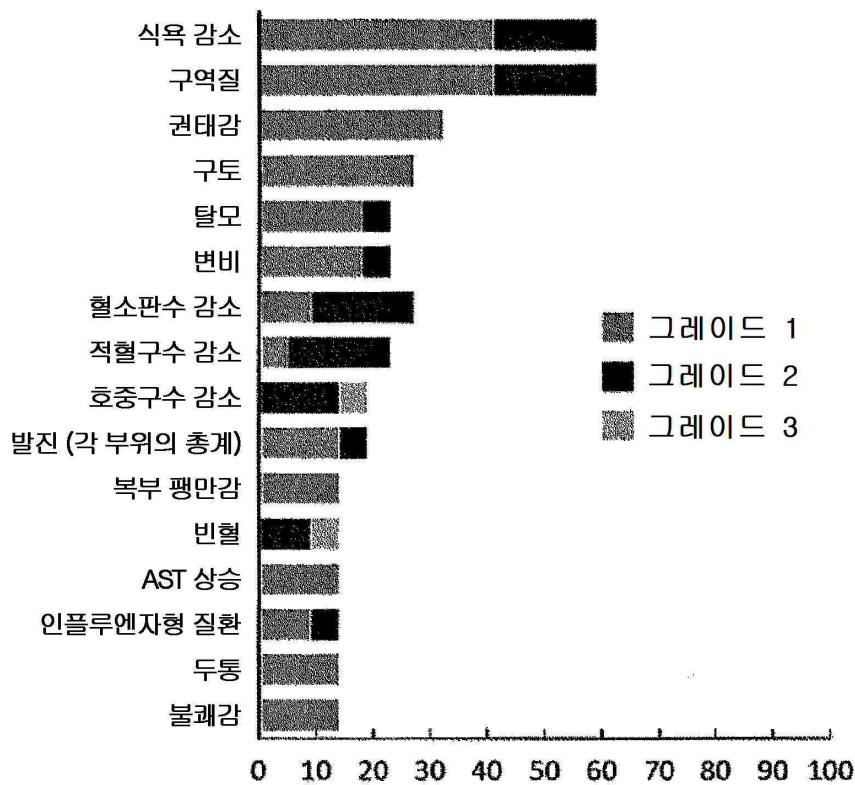
도면4



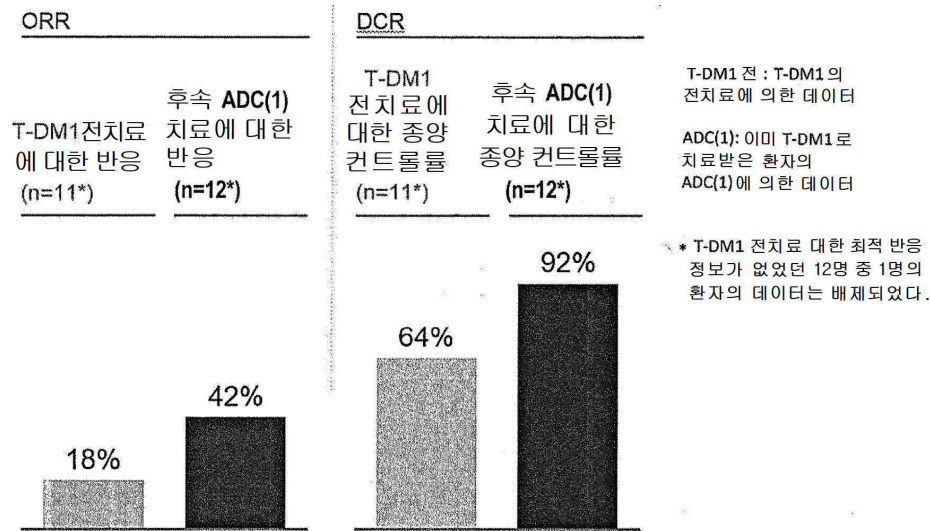
도면5



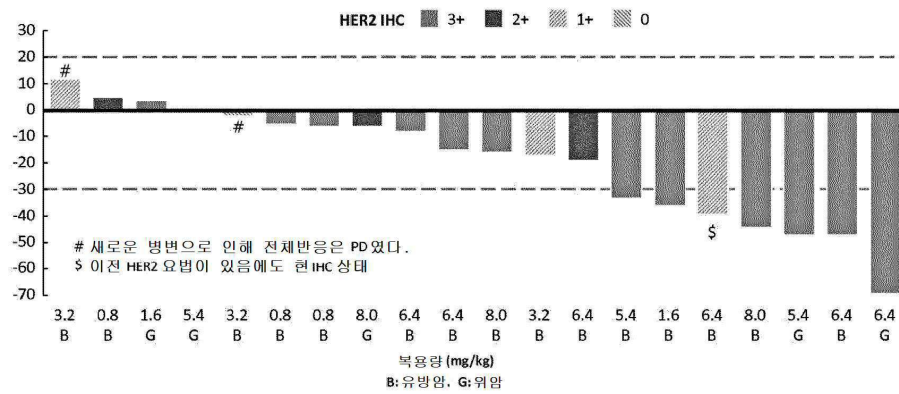
도면6



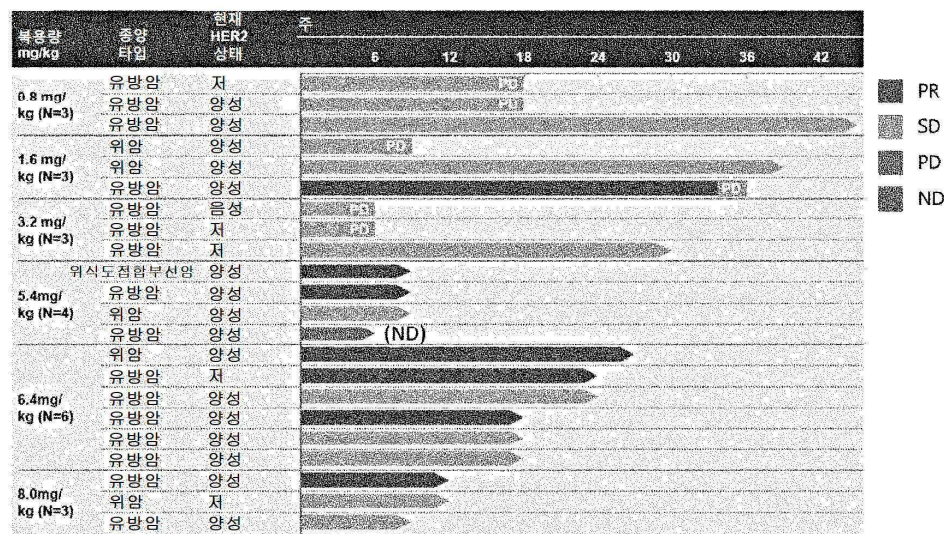
도면7



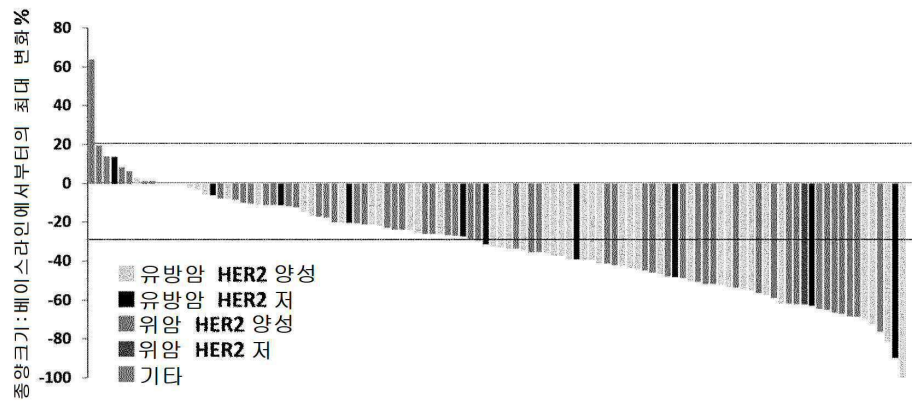
도면8



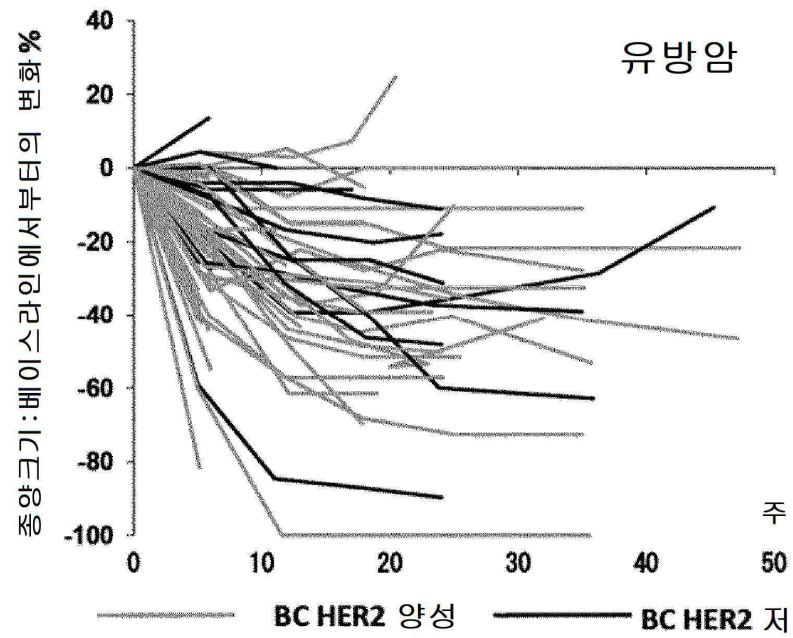
도면9



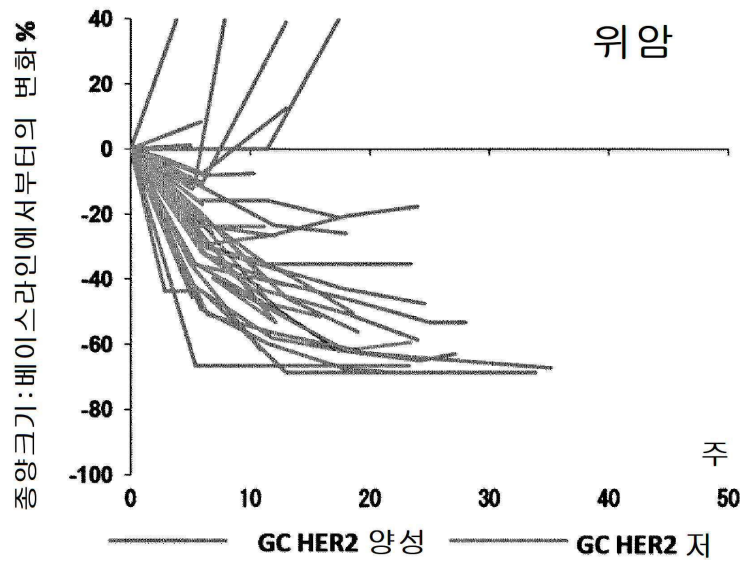
도면10



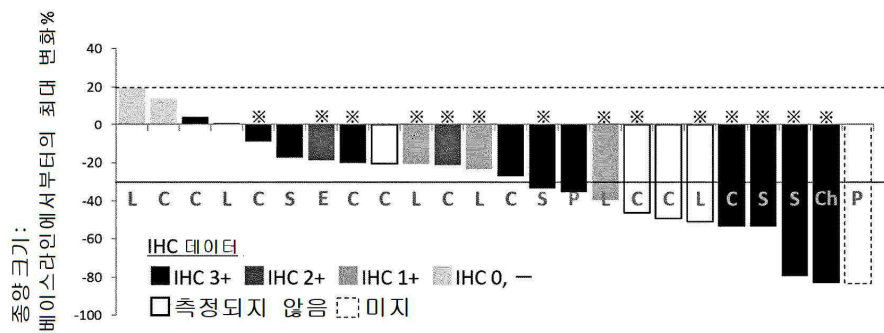
도면11



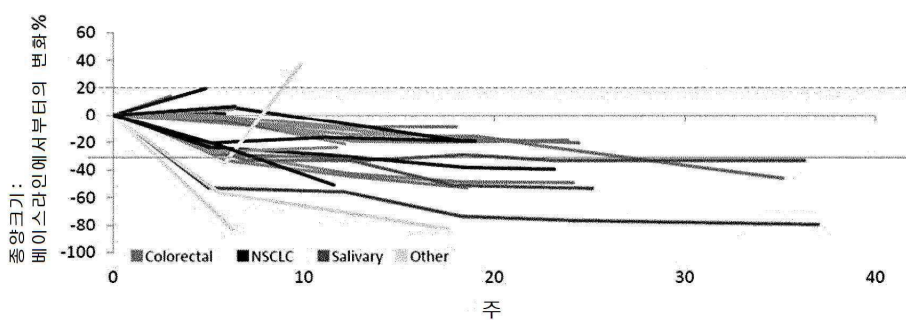
도면12



도면13



도면14



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Daiichi Sankyo Company, Limited

<120> TREATMENT FOR DRUG-RESISTANT CANCER USING ANTI-HER2 ANTIBODY-DRUG
CONJUGATE

<130> PD20-9018W0

<150> JP2016-199341
 <151> 2016-10-07
 <150> JP2017-097589
 <151> 2017-05-16
 <150> JP2017-172814
 <151> 2017-09-08
 <160> 12
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the heavy chain of Trastuzumab
 <400> 1
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 2
 <211> 214
 <212>
 > PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the light chain of Trastuzumab
 <400> 2
 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 Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 3

Asp Gly Gly Phe

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 4

Glu Gly Gly Phe

1

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 5

Gly Gly Phe Gly

1

<210> 6

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 6

Ser Gly Gly Phe

1

<210> 7

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 7

Lys Gly Gly Phe

1

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 8

Asp Gly Gly Phe Gly

1 5

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 9

Gly Gly Phe Gly Gly

1 5

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 10

Asp Asp Gly Gly Phe Gly

1 5

<210

> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 11

Lys Asp Gly Gly Phe Gly

1 5

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino acid sequence of Lp

<400> 12

Gly Gly Phe Gly Gly Gly Phe

1 5