

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-509564

(P2025-509564A)

(43)公表日 令和7年4月11日(2025.4.11)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	A Z N A 2 G 0 4 5
G 0 1 N 33/483 (2006.01)	G 0 1 N 33/483	C 4 C 0 7 6
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y 4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	4 H 0 4 5
審査請求 未請求	予備審査請求 未請求	(全61頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2024-554777(P2024-554777)
(86)(22)出願日 令和5年3月14日(2023.3.14)
(85)翻訳文提出日 令和6年10月30日(2024.10.30)
(86)国際出願番号 PCT/IB2023/052428
(87)国際公開番号 WO2023/175483
(87)国際公開日 令和5年9月21日(2023.9.21)
(31)優先権主張番号 63/320,629
(32)優先日 令和4年3月16日(2022.3.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域 AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人 502097090
アストラゼネカ ユーケー リミテッド
イギリス国 シービー 2 0 エーエー ケ
ンブリッジ, フランシス クリック ア
ヴェニュー 1, ケンブリッジ バイオメ
ディカル キャンパス
(71)出願人 307010166
第一三共株式会社
東京都中央区日本橋本町三丁目 5 番 1 号
(74)代理人 230104019
弁護士 大野 聖二
(74)代理人 100119183
弁護士 松任谷 優子
(74)代理人 100149076
弁護士 梅田 慎介
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗 T R O P 2 抗体-薬物コンジュゲート治療のためのスコアリング方法

(57)【要約】

癌患者が抗体薬物コンジュゲート (ADC) 療法にどのように応答するかを予測する方法は、組織試料中の各癌細胞の染色に対して統計的演算を行うことによって予測応答スコアをコンピュータ処理することを含む。ADCは、ADCペイロードと、癌細胞上のトロホブラスト抗原 2 (TROP 2) タンパク質を標的とするADC抗体とを含む。組織試料は、タンパク質に結合する診断抗体に連結された色素を使用して染色される。組織のデジタル画像内の癌細胞が検出される。統計的演算は、各癌細胞について、各癌細胞の膜中及び／又は細胞質中及び／又は隣接する癌細胞の膜中の色素の染色強度に基づいて行われる。ADC療法に対する癌患者の応答は、統計的演算の結果が様々な臨床的に導き出された閾値を超えるかどうかに基づいて予測される。

【選択図】 図 1 3

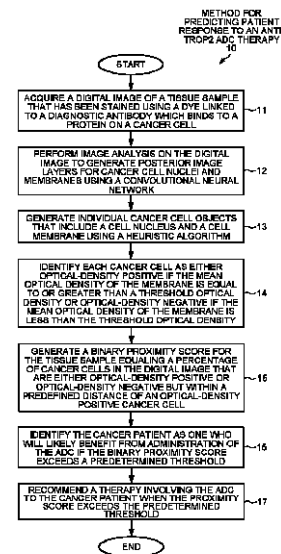


FIG. 13

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とする ADC 抗体とを含む ADC による処置のために癌患者を同定する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（TROP2）であり、

前記癌患者からの組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

各癌細胞について、前記癌細胞の膜中の前記色素による染色の平均光学密度を決定することと、

各癌細胞を、前記癌細胞の前記平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は前記癌細胞の前記平均光学密度が前記光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性のいずれかとして同定することと、

前記組織試料を、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定することと、

前記癌患者を、前記組織試料が近接陽性である場合、前記 ADC の投与から利益を得る可能性が高い患者として同定することとを含む、方法。

【請求項 2】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とする ADC 抗体とを含む ADC を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

各癌細胞について、前記癌細胞の膜中の前記色素による染色の平均光学密度を決定することと、

各癌細胞を、前記癌細胞の前記平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は前記癌細胞の前記平均光学密度が前記光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性のいずれかとして同定することと、

前記組織試料を、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定することと、

前記組織試料が近接陽性である場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に投与することとを含む、方法。

【請求項 3】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とする ADC 抗体とを含む ADC を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が近接陽性であると決定された場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に投与することを含み、ここで、前記組織試料を、前記組織試料中の癌細胞

10

20

30

40

50

の膜中の前記タンパク質に結合する診断抗体に連結された色素を使用して染色し、前記組織試料のデジタル画像内の各癌細胞について、前記膜中の前記色素による染色の平均光学密度を決定し、各癌細胞を、膜染色の前記平均光学密度が光学密度閾値以上である場合は光学密度陽性、又は膜染色の前記平均光学密度が前記光学密度閾値未満である場合は光学密度陰性のいずれかとして同定し、前記組織試料を、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定した、方法。

【請求項 4】

癌細胞の前記検出が、各癌細胞について、前記膜に属する画素を検出することを含む（又は含んだ）、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 5】

前記組織試料が近接陽性である場合、前記 A D C を含む療法を前記癌患者に推奨することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記光学密度閾値が、255 の最大光学密度を有するスケールで 23～27 の範囲内である（又はそうであった）、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記光学密度閾値が、255 の最大光学密度を有するスケールで 25 である（又はそうであった）、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記パーセンテージ閾値が 99%～99.99% の範囲内である（又はそうであった）、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 9】

前記パーセンテージ閾値が 99.97% である（又はそうであった）、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記光学密度閾値及び前記所定のパーセンテージ閾値が、前記 A D C で処置された訓練患者のコホートの応答と相関している（又は相関していた）、請求項 1～9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

各膜の染色強度を、前記膜の画素における褐色ジアミノベンジジン（D A B）シグナルの平均光学密度に基づいてコンピュータ処理する（又はコンピュータ処理した）、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 12】

前記色素が 3,3'-ジアミノベンジジン（D A B）である、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記 A D C がダトポタマブデルクステカン（D S - 1062）である、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記 A D C 抗体が h T I N A 1 - H 1 L 1 である、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 15】

前記 A D C 抗体がヒト化 I g G 1 モノクローナル抗体である、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

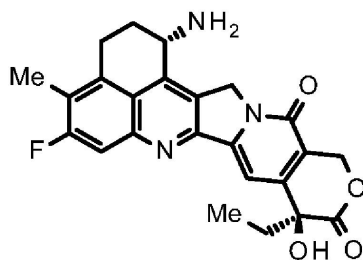
前記 A D C ペイロードがトポイソメラーゼ I 阻害剤である、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記トポイソメラーゼ I 阻害剤が以下の式：

50

【化 1】



10

で表される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記診断抗体が Abcam EPR 20043 である、請求項 1～17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、膀胱癌、前立腺癌、尿路上皮癌、消化管間質腫瘍、子宮頸部癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮内膜癌、腎臓癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性神経膠芽腫、肉腫、骨肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される癌を有する、請求項 1

20

【請求項 20】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、及び腎臓癌からなる群から選択される癌を有する、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記癌患者が乳癌を有する、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記癌患者が肺癌を有する、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

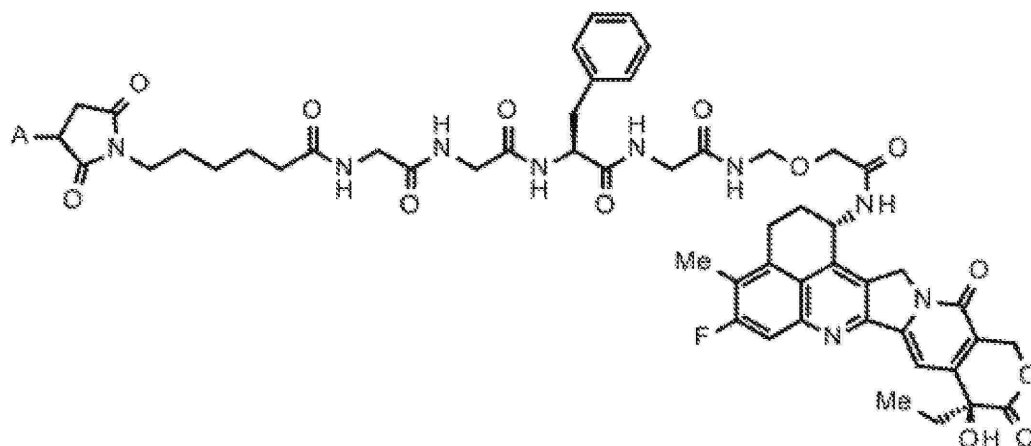
前記癌患者が非小細胞肺癌を有する、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 24】

前記 ADC が、チオエーテル結合を介して薬物－リンカーにコンジュゲートされた抗 TROP2 抗体であり、前記薬物－リンカーは、以下の式：

【化 2】



40

で表され、

式中、A は、前記抗 TROP2 抗体との接続位置を表す、請求項 1～12 及び 16～23 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 25】

前記ADCが、

配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖と、

配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号7で表されるアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖と

を含む抗TROP2抗体を含む、請求項1～12及び16～24のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 26】

前記ADCが、

配列番号9で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、

配列番号10で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域と、

を含む抗TROP2抗体を含む、請求項1～12及び16～24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

前記ADCが、

配列番号11で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、

配列番号2で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、

を含む抗TROP2抗体を含む、請求項1～12及び16～24のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 28】

前記ADCが、

配列番号1で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、

配列番号2で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、

を含む抗TROP2抗体を含む、請求項1～12及び16～24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とするADC抗体とを含むADCによる処置のために癌患者を同定する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原2（TROP2）であり、

30

前記癌患者からの組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

各癌細胞について、前記癌細胞の膜中の前記色素による染色の平均光学密度を決定することと、

40

各癌細胞について、前記癌細胞の細胞質中の前記色素による染色の平均光学密度を決定することと、

前記デジタル画像内の各癌細胞について正規化膜光学密度（nmOD）をコンピュータ処理することと、

各癌細胞を、前記癌細胞の前記nmODがnmOD閾値以下である場合にnmOD陽性として同定することと、

前記組織試料を、nmOD陽性である癌細胞のパーセンテージがnmODパーセンテージ閾値以上である場合にnmOD陽性として同定することと、

前記癌患者を、前記組織試料がnmOD陽性である場合、前記ADCの投与から利益を得る可能性が高い患者として同定することと

50

を含む、方法。

【請求項 30】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とする ADC 抗体とを含む ADC を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

各癌細胞について、前記癌細胞の膜中の前記色素による染色の平均光学密度を決定することと、

各癌細胞について、前記癌細胞の細胞質中の前記色素による染色の平均光学密度を決定することと、

前記デジタル画像内の各癌細胞について正規化膜光学密度（nmOD）をコンピュータ処理することと、

各癌細胞を、前記癌細胞の前記 nmOD が nmOD 閾値以下である場合に nmOD 陽性として同定することと、

前記組織試料を、nmOD 陽性である癌細胞のパーセンテージが nmOD パーセンテージ閾値以上である場合に nmOD 陽性として同定することと、

前記組織試料が nmOD 陽性である場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に投与すること

を含む、方法。

【請求項 31】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とする ADC 抗体とを含む ADC を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が正規化膜光学密度（nmOD）陽性であると決定された場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に投与することを含み、ここで、前記組織試料を、前記組織試料中の癌細胞の膜中及び細胞質中の前記タンパク質に結合する診断抗体を使用して染色し、前記組織試料のデジタル画像内の各癌細胞について、膜染色の平均光学密度及び細胞質染色の平均光学密度を決定し、前記デジタル画像内の各癌細胞について、正規化膜光学密度（nmOD）をコンピュータ処理し、前記デジタル画像内の各癌細胞を、前記癌細胞の前記正規化膜光学密度が nmOD 閾値以下である場合に nmOD 陽性として同定し、前記組織試料を、nmOD 陽性である癌細胞のパーセンテージが nmOD パーセンテージ閾値以上である場合に nmOD 陽性として同定した、方法。

【請求項 32】

癌細胞の前記検出が、各癌細胞について、前記膜に属する画素及び前記細胞質に属する画素を検出することを含む（又は含んだ）、請求項 29～31 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記組織試料が nmOD 陽性である場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に推奨することをさらに含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 34】

前記正規化膜閾値が 0.45～0.50 の範囲内である（又はそうであった）、請求項 29～33 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 35】

前記正規化膜閾値が 0.486 である（又はそうであった）、請求項 29～33 のい

10

20

30

40

50

れか一項に記載の方法。

【請求項 36】

前記パーセンテージ閾値が 3 % ～ 7 % の範囲内である（又はそうであった）、請求項 29 ～ 35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

前記パーセンテージ閾値が 5 % である（又はそうであった）、請求項 29 ～ 35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

癌細胞の前記検出が、各癌細胞について、各癌細胞について決定された細胞中心を使用して前記膜に属する画素を検出することを含む（又は含んだ）、請求項 29 ～ 37 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 39】

各膜の染色強度を、前記膜の画素内の褐色ジアミノベンジジン（DAB）シグナルの平均光学密度に基づいてコンピュータ処理し（又はコンピュータ処理した）、各細胞質の染色強度を、前記細胞質の画素内の前記褐色 DAB シグナルの前記平均光学密度に基づいてコンピュータ処理する、請求項 29 ～ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

前記色素が 3, 3' - ジアミノベンジジン（DAB）である、請求項 29 ～ 39 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

前記 ADC がダトポタマブデルクステカン（DS-1062）である、請求項 29 ～ 40 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 42】

前記 ADC 抗体が hTINA1-H1L1 である、請求項 29 ～ 40 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

前記 ADC 抗体がヒト化 IgG1 モノクローナル抗体である、請求項 29 ～ 40 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

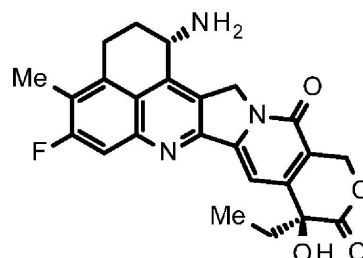
前記 ADC ペイロードがトポイソメラーゼ I 阻害剤である、請求項 29 ～ 40 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 45】

前記トポイソメラーゼ I 阻害剤が以下の式：

【化 3】



40

で表される、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記診断抗体が Abcam EPR 20043 である、請求項 29 ～ 45 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部癌、胆道癌、パジェット病、脾臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、膀胱癌、前立腺癌、尿路上皮癌、消化管間質腫瘍、子宮頸部癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮内膜癌、腎

50

臓癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性神経膠芽腫、肉腫、骨肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される癌を有する、請求項 29～46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、及び腎臓癌からなる群から選択される癌を有する、請求項 29～46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

前記癌患者が乳癌を有する、請求項 29～46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

前記癌患者が肺癌を有する、請求項 29～46 のいずれか一項に記載の方法。

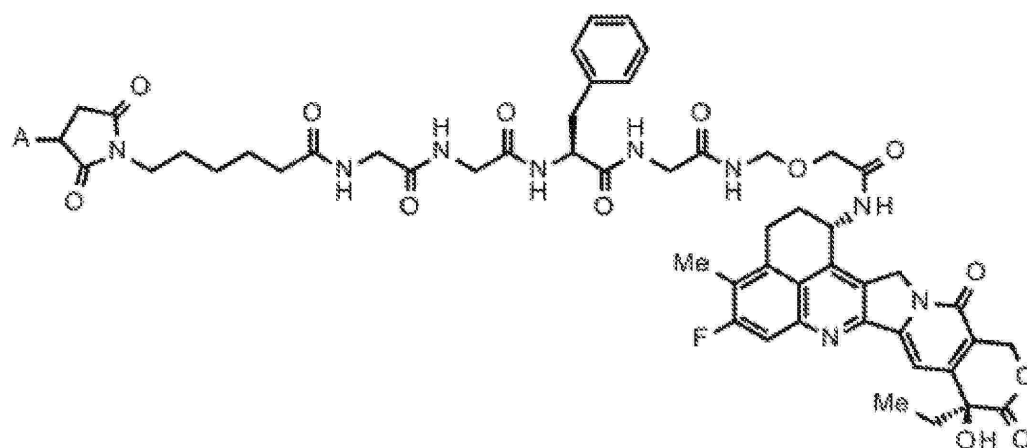
【請求項 51】

前記癌患者が非小細胞肺癌を有する、請求項 29～46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

前記 ADC が、チオエーテル結合を介して薬物－リンカーにコンジュゲートされた抗 TROP2 抗体であり、前記薬物－リンカーは、以下の式：

【化 4】



で表され、

式中、A は、前記抗 TROP2 抗体との接続位置を表す、請求項 29～40 及び 46～51 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 53】

前記 ADC が、

配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH1、配列番号 4 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH2、及び配列番号 5 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH3 を含む重鎖と、

配列番号 6 で表されるアミノ酸配列からなる CDR L1、配列番号 7 で表されるアミノ酸配列からなる CDR L2、及び配列番号 8 で表されるアミノ酸配列からなる CDR L3 を含む軽鎖と

を含む抗 TROP2 抗体を含む、請求項 29～40 及び 44～52 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 54】

前記 ADC が、

配列番号 9 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、

配列番号 10 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域と、

を含む抗 TROP2 抗体を含む、請求項 29～40 及び 44～52 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 55】

前記 A D C が、
配列番号 11 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、
配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、
を含む抗 T R O P 2 抗体を含む、請求項 29 ~ 40 及び 44 ~ 52 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 56】

前記 A D C が、
配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、
配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、
を含む抗 T R O P 2 抗体を含む、請求項 41 に記載の方法。

10

【請求項 57】

抗体薬物コンジュゲート（A D C）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とする A D C 抗体とを含む A D C による処置のために癌患者を同定する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（T R O P 2）であり、

前記癌患者からの組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

20

各癌細胞について、膜染色の平均光学密度及び細胞質染色の平均光学密度を決定することと、

前記デジタル画像内の各癌細胞について正規化膜光学密度（n m O D）をコンピュータ処理することと、

各癌細胞を、前記癌細胞の前記 n m O D が n m O D 閾値以下である場合に n m O D 陽性として同定することと、

前記組織試料を、n m O D 陽性である癌細胞のパーセンテージが n m O D パーセンテージ閾値以上である場合に n m O D 陽性として同定することと、

各癌細胞を、膜染色の前記平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は膜染色の前記平均光学密度が前記光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性のいずれかとして同定することと、

30

前記組織試料を、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定することと、

前記癌患者を、前記組織試料が n m O D 陽性及び近接陽性の両方である場合、前記 A D C の投与から利益を得る可能性が高い患者として同定することとを含む、方法。

【請求項 58】

抗体薬物コンジュゲート（A D C）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とする A D C 抗体とを含む A D C を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（T R O P 2）であり、前記方法は、

40

前記癌患者からの組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

各癌細胞について、膜染色の平均光学密度及び細胞質染色の平均光学密度を決定することと、

前記デジタル画像内の各癌細胞について正規化膜光学密度（n m O D）をコンピュータ

50

処理することと、

各癌細胞を、前記癌細胞の前記 nmOD が nmOD 閾値以下である場合に nmOD 陽性として同定することと、

前記組織試料を、nmOD 陽性である癌細胞のパーセンテージが nmOD パーセンテージ閾値以上である場合に nmOD 陽性として同定することと、

各癌細胞を、膜染色の前記平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は膜染色の前記平均光学密度が前記光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性のいずれかとして同定することと、

前記組織試料を、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定することと、

前記組織試料が nmOD 陽性及び近接陽性の両方である場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に投与することと

を含む、方法。

【請求項 59】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とする ADC 抗体とを含む ADC を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が正規化膜光学密度（nmOD）陽性であると決定され、前記組織試料が近接陽性であると決定された場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に投与することを含み、ここで、前記組織試料を、前記組織試料中の癌細胞の膜中及び細胞質中の前記タンパク質に結合する診断抗体を使用して染色し、前記組織試料のデジタル画像内の各癌細胞について、膜染色の平均光学密度及び細胞質染色の平均光学密度を決定し、前記デジタル画像内の各癌細胞について、正規化膜光学密度（nmOD）をコンピュータ処理し、前記デジタル画像内の各癌細胞を、前記癌細胞の前記正規化膜光学密度が nmOD 閾値以下である場合に nmOD 陽性として同定し、前記組織試料を、nmOD 陽性である癌細胞のパーセンテージが nmOD パーセンテージ閾値以上である場合に nmOD 陽性として同定し、各癌細胞を、膜染色の前記平均光学密度が光学密度閾値以上である場合は光学密度陽性、又は膜染色の前記平均光学密度が前記光学密度閾値未満である場合は光学密度陰性のいずれかとして同定し、前記組織試料を、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定した、方法。

【請求項 60】

前記組織試料が正規化膜陽性及び近接陽性の両方である場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に推奨することをさらに含む、請求項 57 に記載の方法。

【請求項 61】

前記正規化膜閾値が、0.45～0.50 の範囲内であり（又はそうであった）、正規化パーセンテージ閾値が、3%～7% の範囲内であり（又はそうであった）、前記光学密度閾値が、255 の最大光学密度を有するスケールで 23～27 の範囲内であり（又はそうであった）、前記近接パーセンテージ閾値が、90%～94% の範囲内である（又はそうであった）、請求項 57～60 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 62】

前記近接パーセンテージ閾値が 90%～99.99% の範囲内である（又はそうであった）、請求項 57～60 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 63】

前記正規化膜閾値が 0.486 であり（又はそうであった）、正規化パーセンテージ閾値が 5% であり（又はそうであった）、前記光学密度閾値が 255 の最大光学密度を有するスケールで 25 であり（又はそうであった）、前記近接パーセンテージ閾値が 92% である（又はそうであった）、請求項 57～60 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 4】

癌細胞の前記検出が、各癌細胞について、各癌細胞について決定された細胞中心を使用して細胞膜に属する画素を検出することを含む（又は含んだ）、請求項 5 7～6 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

膜染色の前記平均光学密度を、前記膜の画素内の褐色ジアミノベンジジン（D A B）シグナルの平均光学密度に基づいてコンピュータ処理し（又はコンピュータ処理した）、細胞質染色の前記平均光学密度を、前記細胞質の画素内の前記褐色 D A B シグナルの前記平均光学密度に基づいてコンピュータ処理する（又はコンピュータ処理した）、請求項 5 7～6 4 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 6 6】

前記色素が 3, 3'-ジアミノベンジジン（D A B）である、請求項 5 7～6 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記 A D C がダトポタマブデルクステカン（D S - 1 0 6 2）である、請求項 5 7～6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記 A D C 抗体が h T I N A 1 - H 1 L 1 である、請求項 5 7～6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記 A D C 抗体がヒト化 I g G 1 モノクローナル抗体である、請求項 5 7～6 6 のいずれか一項に記載の方法。

20

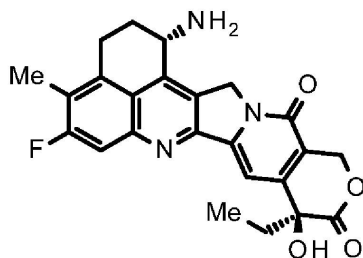
【請求項 7 0】

前記 A D C ペイロードがトポイソメラーゼ I 阻害剤である、請求項 5 7～6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 1】

前記トポイソメラーゼ I 阻害剤が以下の式：

【化 5】



30

で表される、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 2】

前記診断抗体が A b c a m E P R 2 0 0 4 3 である、請求項 5 7～7 1 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 7 3】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、膀胱癌、前立腺癌、尿路上皮癌、消化管間質腫瘍、子宮頸部癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮内膜癌、腎臓癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髓腫、多形性神経膠芽腫、肉腫、骨肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される癌を有する、請求項 5 7～7 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、及び腎臓癌からなる群から選択される癌を有する、請求項 5 7～7 2 のいずれか一項に記載の方法

50

。

【請求項 75】

前記癌患者が乳癌を有する、請求項 57～72 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 76】

前記癌患者が肺癌を有する、請求項 57～72 のいずれか一項に記載の方法。

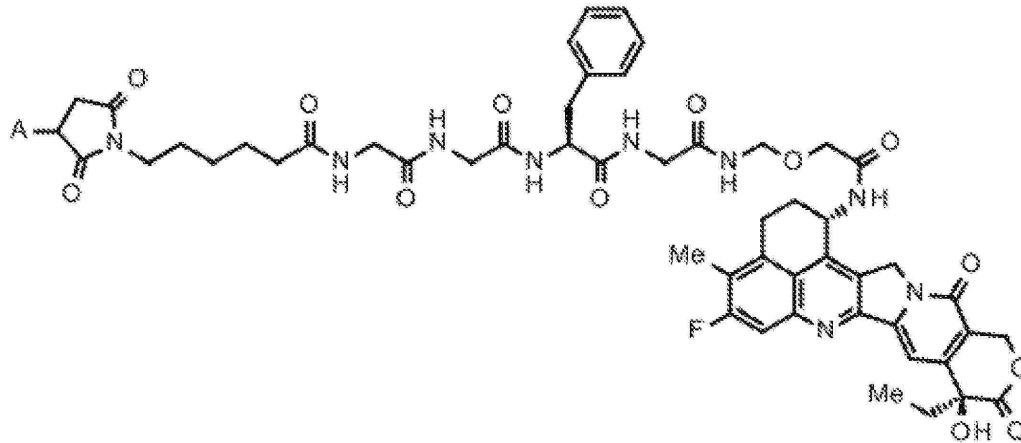
【請求項 77】

前記癌患者が非小細胞肺癌を有する、請求項 57～72 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 78】

前記 ADC が、チオエーテル結合を介して薬物－リンカーにコンジュゲートされた抗 TROP2 抗体であり、前記薬物－リンカーは、以下の式：

【化 6】



で表され、

式中、A は、前記抗 TROP2 抗体との接続位置を表す、

請求項 57～66 及び 72～77 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 79】

前記 ADC が、

配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH1、配列番号 4 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH2、及び配列番号 5 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH3 を含む重鎖と、

配列番号 6 で表されるアミノ酸配列からなる CDR L1、配列番号 7 で表されるアミノ酸配列からなる CDR L2、及び配列番号 8 で表されるアミノ酸配列からなる CDR L3 を含む軽鎖と

を含む抗 TROP2 抗体を含む、請求項 57～66 及び 70～77 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 80】

前記 ADC が、

配列番号 9 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、

配列番号 10 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域と、

を含む抗 TROP2 抗体を含む、請求項 57～66 及び 70～77 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 81】

前記 ADC が、

配列番号 11 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、

配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、

を含む抗 TROP2 抗体を含む、請求項 57～66 及び 70～77 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記 A D C が、
配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、
配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、
を含む抗 T R O P 2 抗体を含む、請求項 5 7 ~ 6 6 及び 7 0 ~ 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 3】

抗体薬物コンジュゲート（A D C）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とする A D C 抗体とを含む A D C に対する癌患者の応答を予測するための応答スコアを生成する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（T R O P 2）であり、

10

組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

各癌細胞について、前記癌細胞の膜中及び細胞質中の前記色素の染色強度に基づいて、且つ前記癌細胞に対して所定の距離より近い他の癌細胞の膜中及び細胞質中の前記色素の染色強度に基づいて、連続空間近接スコアをコンピュータ処理することと、

統計的演算を使用して前記組織試料の全ての連続空間近接スコアを集計することによって前記応答スコアを生成することとを含む、方法。

20

【請求項 8 4】

抗体薬物コンジュゲート（A D C）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とする A D C 抗体とを含む A D C を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（T R O P 2）であり、

組織試料を、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色することであって、前記診断抗体は、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する、染色することと、

30

前記組織試料のデジタル画像を取得することと、

前記デジタル画像内で癌細胞を検出することと、

各癌細胞について、前記癌細胞の膜中及び細胞質中の前記色素の染色強度に基づいて、且つ前記癌細胞に対して所定の距離より近い他の癌細胞の膜中及び細胞質中の前記色素の染色強度に基づいて、連続空間近接スコアをコンピュータ処理することと、

統計的演算を使用して前記組織試料の全ての連続空間近接スコアを集計することに基づいて、前記組織試料が近接陽性であるかどうかを同定することと、

前記組織試料が近接陽性である場合、前記 A D C を含む療法を前記癌患者に投与することと

を含む、方法。

40

【請求項 8 5】

抗体薬物コンジュゲート（A D C）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とする A D C 抗体とを含む A D C を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原 2（T R O P 2）であり、

前記癌患者からの組織試料が近接陽性として同定された場合、前記 A D C を含む療法を前記癌患者に投与することを含み、ここで、前記組織試料を、前記組織試料中の前記癌細胞上の前記タンパク質に結合する診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色し、前記組織試料のデジタル画像を取得し、前記癌細胞を前記デジタル画像内で検出し、前記デジタル画像内の各癌細胞について、前記癌細胞の膜中及び細胞質中の前記色素

50

の染色強度に基づいて、且つ前記癌細胞に対して所定の距離より近い他の癌細胞の膜中及び細胞質中の前記色素の染色強度に基づいて、連続空間近接スコアをコンピュータ処理し、統計的演算を使用して前記組織試料の全ての連続空間近接スコアを集計することに基づいて、前記組織試料を近接陽性として同定した、方法。

【請求項 8 6】

癌細胞の前記検出が、各癌細胞について、前記膜に属する画素及び前記細胞質に属する画素を検出することを含む（又は含んだ）、請求項 8 3～8 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 7】

各膜の前記染色強度を、前記膜の画素内の褐色ジアミノベンジジン（DAB）シグナルの平均光学密度に基づいてコンピュータ処理し（又はコンピュータ処理した）、各細胞質の前記染色強度を、前記細胞質の画素内の前記褐色 DAB シグナルの前記平均光学密度に基づいてコンピュータ処理する、請求項 8 3～8 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 8】

細胞 i についての前記連続空間近接スコアが、
 $|r_j - r_i| < d \{ a_{20} (|r_j - r_i|) \times ODM_j^2 + a_{11} (|r_j - r_i|) \times ODM_j \times ODC_j + a_{02} (|r_j - r_i|) \times ODC_j^2 + a_{00} (|r_j - r_i|) \}$ による全ての細胞 j の和として計算され、

式中、関数 a_{kl} は、各細胞 i に対する各細胞 j の距離 $|r_j - r_i|$ に依存し、 ODM_j は、細胞 j の膜における前記褐色 DAB シグナルの光学密度であり、 ODC_j は、細胞 j の細胞質における前記褐色 DAB シグナルの光学密度である、
 請求項 8 3～8 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記関数 a_{kl} は、前記細胞 i に対する前記細胞 j の前記距離 $|r_j - r_i|$ に、以下の関係：所定の定数係数 A_{00} 、 A_{10} 、 A_{01} 、 A_{11} 、 A_{20} 、 A_{02} による、 $a_{kl} (|r_j - r_i|) = A_{kl} \times \exp(-|r_j - r_i| / r_{norm})$ において依存する、請求項 8 8 に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記係数 A_{00} 、 A_{10} 、 A_{01} 、 A_{11} 、 A_{20} 、 A_{02} 、 d 及び r_{norm} が、訓練患者のコホートの治療応答との応答スコアの相関を最適化することによって決定される、請求項 8 9 に記載の方法。

【請求項 9 1】

全ての連続空間近接スコアの前記集計が、平均値を決定すること、中央値を決定すること、及び所定のパーセンテージを有する分位値を決定することからなる群から取得される（又は取得された）、請求項 8 3～8 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 2】

所定の閾値より高い応答スコアを有する患者が、前記 ADC を含む療法に推奨される、請求項 8 3 に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記 ADC がダトポタマブデルクステカン（DS-1062）である、請求項 8 3～9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記 ADC 抗体が hTINA1-H1L1 である、請求項 8 3～9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記 ADC ペイロードがトポイソメラーゼ I 阻害剤である、請求項 8 3～9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記診断抗体が Abcam EPR 20043 である、請求項 8 3～9 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 97】

前記色素が 3, 3'-ジアミノベンジン (DAB) である、請求項 83～96 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 98】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、膀胱癌、前立腺癌、尿路上皮癌、消化管間質腫瘍、子宮頸部癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮内膜癌、腎臓癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性神経膠芽腫、肉腫、骨肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される癌を有する、請求項 83～97 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 99】

前記癌患者が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、及び腎臓癌からなる群から選択される癌を有する、請求項 83～97 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 100】

前記癌患者が乳癌を有する、請求項 83～97 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 101】

前記癌患者が肺癌を有する、請求項 83～97 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 102】

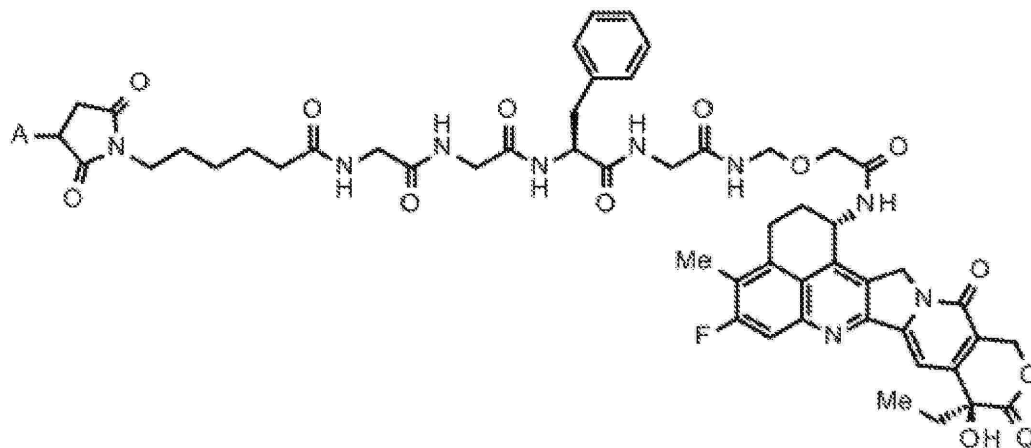
前記癌患者が非小細胞肺癌を有する、請求項 83～97 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 103】

前記 ADC が、チオエーテル結合を介して薬物-リンカーにコンジュゲートされた抗 TROP2 抗体であり、前記薬物-リンカーは、以下の式：

【化 7】



30

で表され、

式中、A は、前記抗 TROP2 抗体との接続位置を表す、請求項 83～92 及び 96～102 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 104】

前記 ADC が、

配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH1、配列番号 4 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH2、及び配列番号 5 で表されるアミノ酸配列からなる CDRH3 を含む重鎖と、

配列番号 6 で表されるアミノ酸配列からなる CDRL1、配列番号 7 で表されるアミノ酸配列からなる CDRL2、及び配列番号 8 で表されるアミノ酸配列からなる CDRL3 を含む軽鎖と

を含む抗 TROP2 抗体を含む、請求項 103 に記載の方法。

50

【請求項 105】

前記ADCが、
配列番号9で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、
配列番号10で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域と、
を含む抗TROP2抗体を含む、請求項103に記載の方法。

【請求項 106】

前記ADCが、
配列番号11で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、
配列番号2で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、
を含む抗TROP2抗体を含む、請求項103に記載の方法。

【請求項 107】

前記ADCが、
配列番号1で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、
配列番号2で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖と、
を含む抗TROP2抗体を含む、請求項103に記載の方法。

【請求項 108】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とするADC抗体とを含むADCを癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が近接陽性である場合、前記ADCを含む療法を前記癌患者に投与することを含む、方法。

【請求項 109】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とするADC抗体とを含むADCを癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が近接陽性であると決定された場合、前記ADCを含む療法を前記癌患者に投与することを含む、方法。

【請求項 110】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とするADC抗体とを含むADCを癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が正規化膜光学密度（nmOD）陽性である場合、前記ADCを含む療法を前記癌患者に投与することを含む、方法。

【請求項 111】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とするADC抗体とを含むADCを癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が正規化膜光学密度（nmOD）陽性であると決定された場合、前記ADCを含む療法を前記癌患者に投与することを含む、方法。

【請求項 112】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞上のタンパク質を標的とするADC抗体とを含むADCを癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデュースートロホブラスト抗原2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料がnmOD陽性及び近接陽性の両方である場合、前記ADCを含む療法を前記癌患者に投与することを含む、方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 1 3】

抗体薬物コンジュゲート（ADC）ペイロードと、癌細胞中のタンパク質を標的とする ADC 抗体とを含む ADC を癌患者に投与することを含む、癌を処置する方法であって、前記タンパク質はカルシウムシグナルトランスデューサートロポブラスト抗原 2（TROP2）であり、前記方法は、

前記癌患者からの組織試料が nmOD 陽性及び近接陽性の両方であると決定された場合、前記 ADC を含む療法を前記癌患者に投与することを含む、方法。

【請求項 1 1 4】

前記組織試料が近接陽性であるかどうか、統計的演算を使用して前記組織試料の全ての連続空間近接スコア（cSPS）又はバイナリ空間近接スコア（bSPS）を集計することに基づいて決定される、請求項 1 0 8、1 0 9、1 1 2 及び 1 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 2 2 年 3 月 1 6 日に提出された米国仮出願第 6 3 / 3 2 0 , 6 2 9 号明細書の優先権を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

電子書式で提出された配列表の参照

電子書式で提出された配列表（名称：TROP2__402__Seqlisting.xml；サイズ：19,496 バイト；及び作成日：2023 年 3 月 5 日）は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 3】

本発明は、リンカー構造を介して抗 TROP2 抗体にコンジュゲートされた薬物を有する抗体-薬物コンジュゲートを使用する治療に対して、癌患者がどのように応答するかを示すスコアを算出する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 4】

所与の処置に対する癌患者の応答可能性を評価することは、癌患者の治療レジメンを決定する際の必須のステップである。そのような評価は、癌患者からの組織試料の組織学的分析に基づく場合が多く、標準的な等級分けスキームを使用して癌を同定及び分類することを含む。免疫組織化学的（IHC）染色を使用して、タンパク質を発現しないマーカー陰性細胞から特定のタンパク質を発現するマーカー陽性細胞を識別することができる。IHC 染色は通常、タンパク質特異的抗体に連結された 1 つ以上の色素を含む複数の色素及び対比染色である別の色素を含む。一般的な対比染色は、DNA を標識し、したがって、核を染色するヘマトキシリンである。

【0 0 0 5】

タンパク質特異的染色又はバイオマーカーを使用して、所定の治療に対して応答を示す可能性が高い癌患者の組織の領域を同定することができる。例えば、上皮細胞を染色するバイオマーカーは、疑わしい腫瘍領域を同定するのに助けることができる。次いで、他のタンパク質特異的バイオマーカーを使用して、癌性組織内の細胞を特徴付ける。特定のバイオマーカーによって染色される細胞を同定し、定量化することができ、その後陽性染色された細胞及び陰性染色された細胞の数を示すスコアが、病理学者によって視覚的に推定され得る。次いで、このスコアは同じ方法で計算された他の癌患者のスコアと比較され得る。所与の癌処置に対するこれらの他の患者の応答が知られる場合、病理学者は、癌患者のために計算されたスコアの他の患者のスコアとの比較に基づいて、癌患者が所与の処置に対してどの程度応答するかを予測することができる。しかしながら、病理学者による視覚的評価は、ばらつき及び主観が入る傾向がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

1つの有望な癌処置は、抗体にコンジュゲートされた細胞傷害性を有する薬物を有する抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を含み、その抗原は癌細胞の表面上で発現される。ADCは、抗原に結合し、薬物を癌細胞に選択的に送達し、且つそれらの癌細胞内に薬物を蓄積し、それらを死滅させるために細胞内部移行を起こす。治療用TROP2抗体-薬物コンジュゲートを含む処置に対する癌患者の応答を示す再現性のある客観的スコアを生成するためのコンピュータベースの方法が求められている。

【課題を解決するための手段】

【0007】

癌患者が抗体薬物コンジュゲート(ADC)を含む治療にどのように応答することになるかを予測するための方法は、各癌細胞に関する単一細胞ADCスコアに基づく応答スコアをコンピュータ処理することを含む。ADCは、ADCペイロードと、各癌細胞上のタンパク質を標的とするADC抗体とを含む。組織試料は、組織試料において癌細胞上のタンパク質に結合する診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色される。組織試料のデジタル画像が取得される。デジタル画像に対して画像解析を行って、畳み込みニューラルネットワークを使用して癌細胞を検出する。各癌細胞について、単一細胞ADCスコアは、癌細胞の膜中及び／若しくは細胞質中、並びに／又は癌細胞に所定の距離より近い他の癌細胞の膜中及び細胞質中における色素の染色強度に基づいてコンピュータ処理される。統計的演算を使用して組織試料の全ての単一細胞ADCスコアを集計することによって、ADC療法に対する癌患者の応答を予測する応答スコアが生成される。応答スコアが所定の閾値より高い患者は、ADCを含む療法に推奨される。

【0008】

一実施形態では、ADCに対する癌患者の応答を予測する方法は、単一細胞ADCスコアをコンピュータ処理することを含む。癌患者の組織試料は、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色される。ADCは、ADCペイロードと、癌細胞上のトロポブラスト細胞表面抗原2(TROP2)タンパク質を標的とするADC抗体とを含む。診断抗体は、組織試料中の癌細胞上のTROP2タンパク質に結合する。組織試料のデジタル画像を取得し、画像解析を使用してデジタル画像内の癌細胞を検出する。各癌細胞について、膜中の色素の染色強度に基づいて単一細胞ADCスコアをコンピュータ処理する。単一細胞ADCスコアはまた、任意選択により、癌細胞の細胞質における色素の染色強度、並びに癌細胞に対して所定の距離より近い他の癌細胞の膜中及び細胞質中の色素の染色強度に基づいてもよい。各膜の染色強度は、膜の画素内の褐色ジアミノベンジン(DAB)シグナルの平均光学密度に基づいてコンピュータ処理され、各細胞質の染色強度は、細胞質の画素内の褐色DABシグナルの平均光学密度に基づいてコンピュータ処理される。ADCに対する癌患者の応答を示す、得られた定量的連続スコア(QCS)は、統計的演算を使用して組織試料の全ての単一細胞ADCスコアを集計することによって生成される。全ての単一細胞ADCスコアを集計は、平均を決定すること、中央値を決定すること、又は所定のパーセンテージで分位値を決定することによって行われる。別の態様では、全ての単一細胞ADCスコアを集計は、所定の閾値を使用する閾値演算を含む。所定の閾値よりも大きい単一細胞ADCスコアを有する全ての細胞は、単一細胞ADC陽性と標識される。集計は、単一細胞ADC陽性細胞の数を全癌細胞の数で除算することによって行われる。一例では、QCSスコアは連続空間近接スコアである。

【0009】

別の実施形態では、ADCによる処置のために癌患者を同定する方法は、癌患者の組織試料のバイナリ空間近接スコアを決定することを含む。ADCは、ADCペイロードと、癌細胞上のTROP2タンパク質を標的とするADC抗体とを含む。癌患者からの組織試料は、組織試料中の癌細胞上のTROP2タンパク質に結合する診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色される。組織試料のデジタル画像を取得し、畳み込みニューラルネットワークを使用してデジタル画像内の癌細胞を検出する。癌細胞がデジタ

10

20

30

40

50

ル画像内で検出される。各癌細胞について、細胞膜における色素による染色の平均光学密度が測定される。各癌細胞は、癌細胞の平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は癌細胞の平均光学密度が光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性のいずれかとして同定される。組織試料は、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定される。癌患者は、組織試料が近接陽性である場合、ADCの投与から利益を得る可能性が高い患者として同定される。組織試料が近接陽性である場合、ADCを含む療法が癌患者に推奨される。別の態様では、癌を処置する方法は、組織試料が近接陽性である場合、ADCを癌患者に投与することを含む。

10

【0010】

別の実施形態では、ADCで処置するための癌患者を同定する方法は、染色された癌細胞の細胞膜の正規化された染色を決定することを含む。ADCは、ADCペイロード及びADC抗体を含む。癌患者の組織試料は、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色される。診断抗体及びADC抗体の両方は、癌細胞上のTROP2タンパク質を標的とする。組織試料のデジタル画像が取得される。デジタル画像に対して画像解析を行って、畳み込みニューラルネットワークを使用して癌細胞を検出する。各癌細胞について、癌細胞の膜中の色素による染色の平均光学密度が測定され、癌細胞の細胞質における色素による染色の平均光学密度が測定される。デジタル画像における各癌細胞の正規化膜光学密度(nmOD)がコンピュータ処理され、これは、膜の染色の平均光学密度を膜の染色の平均光学密度+細胞質の染色の平均光学密度の和で割ったものに等しい。癌細胞のnmODがnmOD閾値以下である場合、各癌細胞はnmOD陽性として同定される。nmOD陽性である癌細胞のパーセンテージがnmODパーセンテージ閾値以上である場合、組織試料はnmOD陽性として同定される。癌患者は、組織試料がnmOD陽性である場合、ADCの投与から利益を得る可能性が高い患者として同定される。組織試料がnmOD陽性である場合、ADCを含む療法が癌患者に推奨される。別の態様では、癌を処置する方法は、組織試料がnmOD陽性である場合、癌患者にADCを投与することを含む。

20

【0011】

別の実施形態では、ADCで処置するための癌患者を同定する方法は、様々に染色された癌細胞の空間的近接と、染色された癌細胞の細胞膜の正規化された染色との両方に基づく。ADCは、ADCペイロード及びADC抗体を含む。癌患者の組織試料は、診断抗体に連結された色素を使用して免疫組織化学的に染色される。診断抗体及びADC抗体の両方は、癌細胞上のTROP2タンパク質を標的とする。組織試料のデジタル画像が取得される。デジタル画像に対して画像解析を行って、畳み込みニューラルネットワークを使用して癌細胞を検出する。各癌細胞について、膜染色の平均光学密度及び細胞質染色の平均光学密度が測定される。

30

【0012】

正規化膜光学密度(nmOD)がデジタル画像内の各癌細胞についてコンピュータ処理され、これは膜染色の平均光学密度を膜染色の平均光学密度+細胞質染色の平均光学密度の和で割ったものに等しい。癌細胞のnmODがnmOD閾値以下である場合、各癌細胞はnmOD陽性として同定される。nmOD陽性である癌細胞のパーセンテージがnmODパーセンテージ閾値以上である場合、組織試料はnmOD陽性として同定される。各癌細胞は、膜染色の平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は膜染色の平均光学密度が光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性のいずれかとして同定される。組織試料は、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定される。癌患者は、組織試料がnmOD陽性及び近接陽性の両方である場合、ADCの投与から利益を得る可能性が高い患者として同定される。組織試料がnmOD陽性及び近接陽性の両方である場合、ADCを含む療法が癌患者に推奨さ

40

50

れる。別の態様では、癌を処置する方法は、組織試料が n m O D 陽性及び近接陽性の両方である場合、癌患者に A D C を投与することを含む。

【0013】

他の実施形態及び利点は、下の詳細な説明において記載される。この概要は、本発明を定義するものではない。本発明は、特許請求の範囲によって定義される。

【0014】

添付の図面は、同様の符号が同様の構成要素を示す場合、本発明の実施形態を示す。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】抗 T R O P 2 抗体の重鎖のアミノ酸配列（配列番号1）を示す。

10

【図2】抗 T R O P 2 抗体の軽鎖のアミノ酸配列（配列番号2）を示す。

【図3】抗 T R O P 2 抗体の C D R H 1 のアミノ酸配列（配列番号3）を示す。

【図4】抗 T R O P 2 抗体の C D R H 2 のアミノ酸配列（配列番号4）を示す。

【図5】抗 T R O P 2 抗体の C D R H 3 のアミノ酸配列（配列番号5）を示す。

【図6】抗 T R O P 2 抗体の C D R L 1 のアミノ酸配列（配列番号6）を示す。

【図7】抗 T R O P 2 抗体の C D R L 2 のアミノ酸配列（配列番号7）を示す。

【図8】抗 T R O P 2 抗体の C D R L 3 のアミノ酸配列（配列番号8）を示す。

【図9】抗 T R O P 2 抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号9）を示す。

【図10】抗 T R O P 2 抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号10）を示す。

【図11】抗 T R O P 2 抗体の重鎖のアミノ酸配列（配列番号11）を示す。

20

【図12】4つの薬物－リンカー単位を有する抗 T R O P 2 抗体－薬物コンジュゲートであるダトボタマブデルクステカンを示す。

【図13】分析システムが癌患者からの組織のデジタル画像を分析し、癌患者が抗 T R O P 2 抗体－薬物コンジュゲートを含む治療にどのように応答する可能性が高いかを予測するステップのフローチャートである。

【図14】図13のステップ12の画像解析プロセスを示すデジタル画像を示す。

【図15】癌細胞の核オブジェクトが検出される画像解析ステップを示す。

【図16】核オブジェクトを使用して膜を検出する画像解析ステップを示す。

【図17】画像解析ソフトウェア環境における画像解析ステップの結果のスクリーンショットである。

30

【図18】隣接細胞への A D C ペイロードの取り込みを反映するための、細胞分離に基づく10個の例示的な細胞のバイナリ空間近接スコアの試料計算を示す。

【図19】抗 T R O P 2 A D C 療法が癌細胞を死滅させる機序を示す。

【図20】膜及び細胞質画素のグレー値を使用した画像解析からの染色強度の試料定量結果を示す。

【図21】図20の画像の膜及び細胞質中の例示的な定量的染色量を列挙する。

【図22】A D C ペイロードの隣接細胞への取り込みを反映するための、細胞分離に基づいて図21に示される3つの細胞の各々の連続空間近接スコアの計算を示す。

【図23】各癌細胞について連続空間近接スコアを計算する式を示す。

【図24】図13の方法の応答スコア（バイスタンダー__膜（平均 O D ）__バイナリ__ r 5 0 __カット25）と比較した、腫瘍成長／縮小に関して臨床試験の115名の患者に投与された A D C に対する応答を示すプロットである。プロットでは、患者は、進行性疾患（P D）、安定性疾患（S D）、部分奏効（P R）、又は評価不能（N E）を有すると示される。

40

【図25】図13の方法のバイナリ空間近接スコアを使用して Q C S 陽性患者及び Q C S 陰性患者に層別化した115名の患者の2つのグループの無増悪生存期間のカプラン・マイヤー曲線のグラフである。グラフは、Q C S 陽性患者及び Q C S 陰性患者の客観的奏効率（O R R）を示す。

【図26】図25のカプラン・マイヤー曲線の88名の b S P S 陽性患者及び27名の b S P S 陰性患者についての経時的な腫瘍縮小のスパイダープロットを示す。

50

【図 27】最大腫瘍成長から最大腫瘍縮小まで順序付けられた図 25 の 115 名の患者のうち 105 名の臨床応答を示すウォーターフォール棒グラフである。

【図 28】各癌細胞の正規化膜光学密度に基づいて、ADC に対する癌患者の応答を予測するための新規な方法のステップのフローチャートである。

【図 29】図 28 の方法の応答スコア（膜（平均 OD）／（膜（平均 OD）＋細胞質（膜 OD）） $\times$ q5）と比較した、腫瘍成長／縮小に関して 115 名の患者に投与した ADC に対する応答を示すプロットである。プロットは、患者を、進行性疾患（PD）、安定性疾患（SD）、部分奏効（PR）を有するか、又は評価不能（NE）として同定する。

【図 30】図 28 の方法の応答スコアを使用して QCS 陽性患者及び QCS 陰性患者に層別化した 115 名の患者の 2 つのグループの無増悪生存期間のカプラン・マイヤー曲線のグラフである。グラフは、QCS 陽性患者及び QCS 陰性患者の客観的奏効率（ORR）を示す。

【図 31】図 30 のカプラン・マイヤー曲線の 84 名の QCS 陽性患者及び 31 名の QCS 陰性患者についての経時的な腫瘍縮小のスパイダープロットを示す。

【図 32】最大腫瘍成長から最大腫瘍縮小まで順序付けられた図 30 の 115 名の患者のうち 105 名の臨床応答を示すウォーターフォール棒グラフである。

【図 33】バイナリ空間近接スコアと正規化膜光学密度スコアとの組み合わせに基づいて、ADC に対する癌患者の応答を予測するための新規な方法のステップのフローチャートである。

【図 34】図 33 の方法の応答スコアを使用して QCS 陽性患者及び QCS 陰性患者に層別化した 115 名の患者の 2 つのグループの無増悪生存期間のカプラン・マイヤー曲線のグラフである。グラフは、QCS 陽性患者及び QCS 陰性患者の客観的奏効率（ORR）を示す。

【図 35】図 34 のカプラン・マイヤー曲線の 80 名の QCS 陽性患者及び 35 名の QCS 陰性患者についての経時的な腫瘍縮小のスパイダープロットを示す。

【図 36】最大腫瘍成長から最大腫瘍縮小まで順序付けられた図 34 の 115 名の患者のうち 105 名の臨床応答を示すウォーターフォール棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本発明は、癌細胞上のカルシウムシグナルトランスデューサートロホブラスト抗原 2（TROP2）タンパク質を標的とする抗体-薬物コンジュゲート（ADC）を含む抗体薬物コンジュゲートに対する癌患者の応答を予測するための新規な方法に関し、ここで、応答は、TROP2 タンパク質も標的とする診断抗体に連結された色素による染色の測定された光学密度を使用した統計的演算に基づいて予測される。本発明の別の態様は、QCS スコアに基づいて ADC で処置するための癌患者を同定する方法に関する。本発明の別の態様は、ADC に対して所定の応答を示す癌患者を同定することに関する。本発明の別の態様は、統計的演算の 1 つを使用してコンピュータ処理された定量的連続スコア（QCS）に基づいて、ADC を含む療法を投与することによって癌患者を処置する方法に関する。

【0017】

第 1 の実施形態は、光学密度閾値を上回る染色の平均光学密度を有するか、又は光学密度閾値を下回る染色の平均光学密度を有するが、染色の平均光学密度が光学密度閾値を上回る細胞から所定の距離内に配置されている、患者の組織試料中の癌細胞のパーセンテージに等しいバイナリ空間近接スコアに基づいて、ADC の投与から利益を得る可能性が高い癌患者を同定することに関する。

【0018】

第 2 の実施形態は、膜染色の平均光学密度を膜染色の平均光学密度＋細胞質染色の平均光学密度の和で割ったものに等しい各癌細胞の正規化膜光学密度に基づいて、ADC の投与から利益を得る可能性が高い癌患者を同定することに関する。

【0019】

第3の実施形態は、正規化膜光学密度のバイナリ空間近接スコアの両方に基づいて、ADCの投与から利益を得る可能性が高い癌患者を同定することに関する。バイナリ空間近接スコアが近接パーセンテージ閾値を超え、正規化膜陽性である癌細胞のパーセンテージが正規化パーセンテージ閾値以上である場合、癌患者はADCから利益を得る可能性が高いと同定される。

【0020】

I. 定義

本発明の理解を促進するために、多数の用語及び表現が以下に定義される。「癌」という用語は、「腫瘍」という用語の意味と同じ意味を有するように使用される。本開示において、「TROP2」は、カルシウムシグナルトランスデューサートロホブラスト抗原2膜貫通タンパク質と同義である。本開示において、「TROP2タンパク質」は、TROP2と同じ意味で使用される。TROP2タンパク質の発現は、免疫組織化学（IHC）又は免疫蛍光（IF）などの当業者に周知の方法を使用して検出され得る。

【0021】

本発明において、「抗TROP2抗体」とは、TROP2に特異的に結合する抗体を意味する。抗TROP2抗体は、TROP2に結合する活性を有し、それによってTROP2発現細胞に内在化され、TROP2に結合する活性を示した後、抗体はTROP2発現細胞に移動する。抗TROP2抗体は、腫瘍細胞を標的とし、腫瘍細胞に結合し、腫瘍細胞内に内在化し、腫瘍細胞に対して殺細胞活性を示し、リンカーを介して抗腫瘍活性を有する薬物とコンジュゲートして抗体-薬物コンジュゲートを形成することができる。

【0022】

図1は、例示的な抗TROP2抗体の重鎖のアミノ酸配列（配列番号1）を示す。重鎖は、シグナル配列（1～19）、可変領域（20～140）、及び定常領域（141～470）を有する。

【0023】

図2は、例示的な抗TROP2抗体の軽鎖のアミノ酸配列（配列番号2）を示す。軽鎖は、シグナル配列（1～20）、可変領域（21～129）、及び定常領域（130～234）を有する。

【0024】

図3は、例示的な抗TROP2抗体のCDRH1のアミノ酸配列（配列番号3）を示し、図4は、例示的な抗TROP2抗体のCDRH2のアミノ酸配列（配列番号4）を示し、図5は、例示的な抗TROP2抗体のCDRH3のアミノ酸配列（配列番号5）を示す。

【0025】

図6は、例示的な抗TROP2抗体のCDRL1のアミノ酸配列（配列番号6）を示し、図7は、例示的な抗TROP2抗体のCDRL2（SAS）のアミノ酸配列（配列番号7）を示し、図8は、例示的な抗TROP2抗体のCDRL3のアミノ酸配列（配列番号8）を示す。

【0026】

図9は、例示的な抗TROP2抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号9）を示し、図10は、例示的な抗TROP2抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号10）を示す。図11は、例示的な抗TROP2抗体の別の重鎖のアミノ酸配列（配列番号11）を示す。

【0027】

本発明で使用される抗TROP2抗体-薬物コンジュゲートの抗TROP2抗体は、好ましくは、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるCDRH1（配列番号1のアミノ酸残基50～54からなるアミノ酸配列）、配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるCDRH2（配列番号1のアミノ酸残基69～85からなるアミノ酸配列）及び配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるCDRH3（配列番号1のアミノ酸残基118～129からなるアミノ酸配列）を含む重鎖と、配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるC

D R L 1（配列番号 2 のアミノ酸残基 4 4～5 4 からなるアミノ酸配列）、配列番号 7 で表されるアミノ酸配列からなる C D R L 2（配列番号 2 のアミノ酸残基 7 0～7 6 からなるアミノ酸配列）及び配列番号 8 で表されるアミノ酸配列からなる C D R L 3（配列番号 2 のアミノ酸残基 1 0 9～1 1 7 からなるアミノ酸配列）を含む軽鎖とを含む抗体であり、より好ましくは、配列番号 9 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域（配列番号 1 のアミノ酸残基 2 0～1 4 0 からなるアミノ酸配列）と、配列番号 1 0 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域（配列番号 2 のアミノ酸残基 2 1～1 2 9 からなるアミノ酸配列）とを含む抗体である。他の好ましい実施形態では、抗体は、配列番号 1 1 で表されるアミノ酸配列（配列番号 1 のアミノ酸残基 2 0～4 6 9 からなるアミノ酸配列）からなる重鎖と、配列番号 2 のアミノ酸残基 2 1～2 3 4 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖とを含む。他の実施形態では、抗体は、配列番号 1 のアミノ酸残基 2 0～4 7 0 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号 2 のアミノ酸残基 2 1～2 3 4 で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖とを含む。

10

【0028】

本発明において、「Q C S 陽性」（Q C S +）という用語は、抗 T R O P 2 A D C 療法に対する応答を示す可能性が高い癌を指す。「Q C S 陰性」（Q C S -）という用語は、抗 T R O P 2 A D C 療法に対する応答を示す可能性が低い癌を指す。頭字語 Q C S は、Q u a n t i t a t i v e C o n t i n u o u s S c o r e の略である。本発明の新規な予測方法の結果は、一般に、定量的連続スコアと呼ばれ、応答スコア、治療スコア又は予測される生存期間の指標であり得る。Q C S スコアは、患者について得られた単一細胞 A D C スコアの全てに対して統計的演算を行うことによって得られる。Q C S スコアに所定の閾値を適用することにより、「Q C S 陽性」患者と「Q C S 陰性」患者とを識別する。癌患者を Q C S 陽性グループ及び Q C S 陰性グループに層別化することにより、A D C を含む療法から利益を得る可能性が高い Q C S + 患者の同定が可能になる。

20

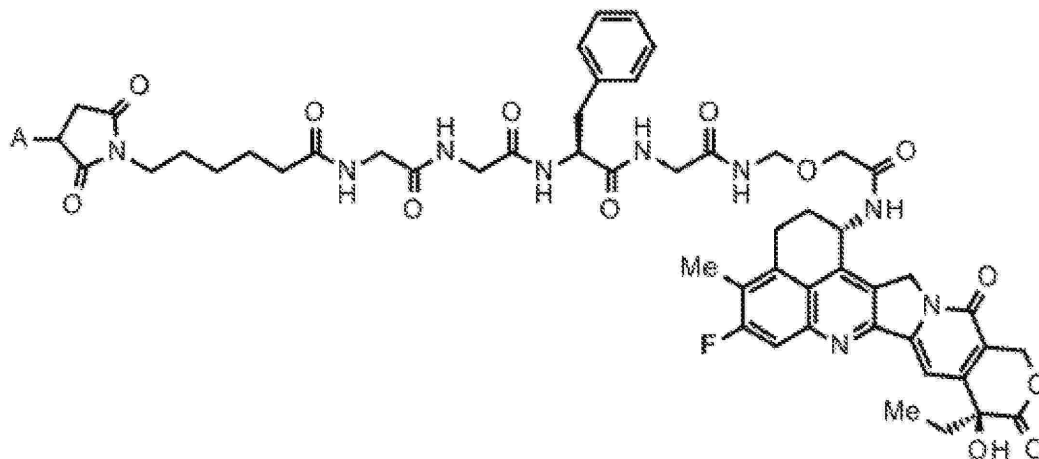
【0029】

I I . 抗 T R O P 2 抗体－薬物コンジュゲート。

本開示で使用される例示的な抗体－薬物コンジュゲートは、以下の式：

【式 1】

【化 1】



30

40

（式中、A は、抗体に対する接続位置を表す）で表される薬物－リンカーがチオエーテル結合を介して抗 T R O P 2 抗体にコンジュゲートされる抗体－薬物コンジュゲートである。

【0030】

本開示では、抗体－薬物コンジュゲート中のリンカー及び薬物からなる部分構造は、「薬物－リンカー」と呼ばれる。薬物－リンカーは、抗体中の鎖間ジスルフィド結合部位（重鎖間の 2 つの部位及び重鎖と軽鎖との間の 2 つの部位）に形成されるチオール基（換言

50

すると、システイン残基の硫黄原子）に連結される。

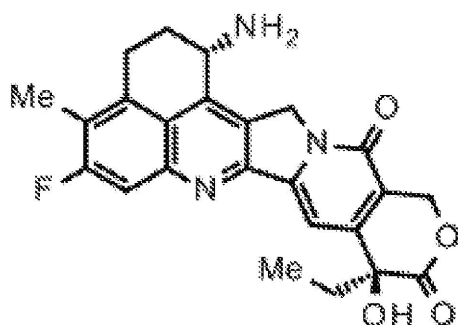
【0031】

本開示の薬物－リンカーは、エキサテカン（IUPAC名：（1S，9S）－1－アミノ－9－エチル－5－フルオロ－1，2，3，9，12，15－ヘキサヒドロ－9－ヒドロキシ－4－メチル－10H，13H－ベンゾ[デ]ピラノ[3'，4'：6，7]インドリジノ[1，2-b]キノリン－10，13－ジオン、（化学名：（1S，9S）－1－アミノ－9－エチル－5－フルオロ－2，3－ジヒドロ－9－ヒドロキシ－4－メチル－1H，12H－ベンゾ[デ]ピラノ[3'，4'：6，7]インドリジノ[1，2-b]キノリン－10，13（9H，15H）－ジオンとしても表される））を構成成分として含み、これは、トポイソメラーゼⅠ阻害剤である。エキサテカンは、抗腫瘍効果を有するカンプトテシン誘導体であり、以下の式：

10

【式2】

【化2】



20

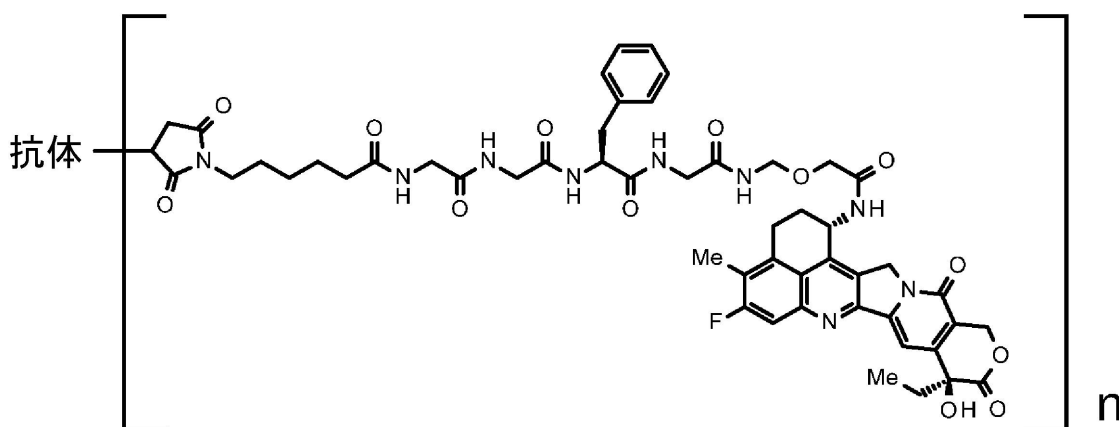
で表される。

【0032】

本開示で使用される例示的な抗TRO P 2抗体－薬物コンジュゲートはまた、以下の式：

【式3】

【化3】



30

40

で表され得る。

【0033】

ここで、薬物－リンカーは、チオエーテル結合を介して抗TRO P 2抗体（「抗体－」）にコンジュゲートされる。nの意味は、コンジュゲートされた薬物分子の平均数（DAR；薬物－抗体比）と呼ばれるものの意味と同じであり、抗体分子当たりコンジュゲートされる薬物－リンカーの単位の平均数を指す。

【0034】

図12は、「DL」と命名された4つの薬物－リンカー単位を有する抗TRO P 2抗体

50

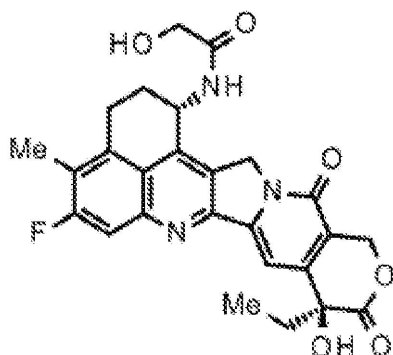
ー薬物コンジュゲートであるダトポタマブデルクステカン（D S - 1 0 6 2）を示す。図 1 2 に示されるダトポタマブデルクステカンの部分はヒト化抗 T R O P 2 I g G 1 m A b であり、I g G 1 は抗 T R O P 2 抗体のアイソタイプを示す。

【 0 0 3 5 】

癌細胞中に移行した後、本開示で使用される抗 T R O P 2 抗体ー薬物コンジュゲートは、リンカー部分で切断され、以下の式：

【式 4】

【化 4】



10

で表される。

20

【 0 0 3 6 】

上に示す化合物は、本発明で使用される好ましい抗 T R O P 2 抗体ー薬物コンジュゲートの抗腫瘍活性の主要な供給源であり、トポイソメラーゼ I 阻害作用を有する。

【 0 0 3 7 】

本発明で使用される抗 T R O P 2 抗体ー薬物コンジュゲートはまた、抗 T R O P 2 抗体ー薬物コンジュゲートが標的タンパク質 T R O P 2 を発現する癌細胞に内在化し、次いで、上記化合物は、標的タンパク質 T R O P 2 を発現しない隣接癌細胞に対しても抗腫瘍効果を発揮するバイスタンダー効果を有する。

【 0 0 3 8 】

III. 抗体ー薬物コンジュゲートにおける抗 T R O P 2 抗体。

30

本発明で使用される抗体ー薬物コンジュゲート中の抗 T R O P 2 抗体は、あらゆる種由来であり得、これは、好ましくは、ヒト、ラット、マウス、又はウサギ由来の抗体である。この抗体がヒト種以外の種から誘導される場合、これは、好ましくは、周知の技術を使用してキメラ化されるか又はヒト化される。本発明の抗体は、ポリクローナル抗体であってもよいし又はモノクローナル抗体であってもよく、好ましくはモノクローナル抗体である。

【 0 0 3 9 】

本発明で使用される抗体ー薬物コンジュゲート中の抗体は、好ましくは、癌細胞を標的と可能な特徴を有する抗体であり、好ましくは、例えば癌細胞を認識可能な特性、癌細胞に結合可能な特性、癌細胞中に内在化する特性及び／又は癌細胞に対する細胞破壊活性を有する抗体である。

40

【 0 0 4 0 】

癌細胞に対する抗体の結合活性は、フローサイトメトリーを使用して確認され得る。腫瘍細胞への抗体の内部移行は、（1）治療用抗体への二次抗体（蛍光標識されている）の結合を使用して、蛍光顕微鏡下で、細胞に取り込まれた抗体を可視化するアッセイ（Cell Death and Differentiation（2008）15, 751-761）、（2）治療用抗体への二次抗体（蛍光標識されている）の結合を使用して、細胞中の取り込まれた蛍光強度を測定するアッセイ（Molecular Biology of the Cell, Vol. 15, 5268-5282, December 2004）又は（3）治療用抗体への免疫毒素の結合を使用し、この毒素が細胞への取り

50

込み時に放出されて細胞成長を阻害する、M a b - Z A P アッセイ (B i o T e c h n i q u e s 28:162-165, January 2000) を使用して確認し得る。免疫毒素として、ジフテリア毒素の触媒ドメインとプロテインGとの組み換え複合タンパク質が使用され得る。

【0041】

本抗体の抗腫瘍活性は、細胞成長に対する阻害活性を測定することによってインビトロで確認され得る。例えば、抗体に対する標的タンパク質を過剰発現する癌細胞株を培養し、培養系に抗体を様々な濃度で添加して、病巣形成、コロニー形成及び球状体成長に対する阻害活性を測定する。例えば、標的タンパク質を高発現する癌細胞株を移植されたヌードマウスに抗体を投与し、癌細胞の変化を測定することにより、インビボで抗腫瘍活性が

10

【0042】

抗体-薬物コンジュゲート中でコンジュゲートされる化合物が抗腫瘍効果を発揮するので、抗体自体が抗腫瘍効果を有することは、好ましいが必須ではない。癌細胞に対して抗腫瘍化合物の細胞傷害活性を特異的に且つ選択的に発揮するという目的のために、本抗体は、癌細胞中に内在化して移行する特性を有するであろうことが重要であり、また好ましい。

【0043】

本発明で使用する抗体-薬物コンジュゲート中の抗体は、当技術分野で公知の手順によって得ることができる。例えば、本発明の抗体は、抗原性ポリペプチドで動物に免疫付与し、インビボで産生された抗体を回収して精製することを伴う、当技術分野で通常実施される方法を使用して得ることができる。この抗原の起源はヒトに限定されず、動物に対して、マウス、ラットなどの非ヒト動物に由来する抗原で免疫付与し得る。この場合は、得られた異種抗原に結合する抗体と、ヒト抗原との交差反応性を試験して、ヒト疾患に適用可能な抗体についてスクリーニングし得る。

20

【0044】

代替的に、当技術分野で既知の方法に従い、抗原に対する抗体を産生する抗体産生細胞を(例えば、Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p. 495-497; Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p. 365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)) に従って骨髓腫細胞と融合させて、ハイブリドーマを確立し、次いで、このハイブリドーマから、モノクローナル抗体が得ることができる。

30

【0045】

抗原は、抗原タンパク質をコードする遺伝子を産生させるように宿主細胞を遺伝子操作することによって得ることができる。具体的には、抗原遺伝子を発現させることのできるベクターを調製し、これを宿主細胞に導入してこの遺伝子が発現されるようにする。こうして発現される抗原を精製し得る。本抗体は、上記の遺伝子操作された抗原発現細胞又は抗原を発現する細胞株で動物に免疫付与方法によっても得ることができる。

【0046】

本発明で使用する抗体-薬物コンジュゲート中の抗体は、好ましくは、キメラ抗体又はヒト化抗体など、ヒトに対する異種抗原性を低下させることを目的とした人工的修飾によって得られた組み換え抗体であるか、又は好ましくはヒトに由来する抗体、即ちヒト抗体の遺伝子配列のみを有する抗体である。これらの抗体は、既知の方法を使用して作製され得る。

40

【0047】

キメラ抗体として、抗体の可変領域及び定常領域が異なる種由来である抗体、例えばマウス又はラット由来抗体の可変領域がヒト由来抗体の定常領域に連結されるキメラ抗体が例示され得る(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6851-6855, (1984))。

【0048】

50

ヒト化抗体としては、異種抗体の相補性決定領域（CDR）のみをヒト由来抗体に組み込むことによって得られる抗体（Nature（1986）321, pp. 522-525）と、CDR移植法により、異種抗体のフレームワークのアミノ酸残基の一部並びに異種抗体のCDR配列をヒト抗体に移植することによって得られる抗体（国際公開第90/07861号パンフレット）及び、遺伝子変換突然変異誘発ストラテジーを使用してヒト化した抗体（米国特許第5821337号明細書）が例示され得る。

【0049】

ヒト抗体としては、ヒト抗体の重鎖及び軽鎖の遺伝子を含むヒト染色体断片を有するヒト抗体産生マウスを使用することによって作製された抗体（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などを参照）が例示され得る。代替物として、ファージディスプレイにより得られた抗体、ヒト抗体ライブラリから選択された抗体（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などを参照）が例示され得る。

【0050】

本発明で使用される抗体-薬物コンジュゲート中の抗体において、抗体の修飾バリエーションも含まれる。修飾バリエーションは、本発明による抗体を化学的又は生物学的修飾に供することによって得られるバリエーションを指す。化学的な修飾バリエーションの例としては、アミノ酸骨格への化学部分の結合を含むバリエーション、N-結合又はO-結合炭水化物鎖への化学部分の結合を含むバリエーションなどが挙げられる。生物学的な修飾バリエーションの例としては、翻訳後修飾（例えば、N-結合若しくはO-結合グリコシル化、N末端若しくはC末端プロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化又はメチオニンの酸化）によって得られるバリエーション及び原核生物宿主細胞中で発現させることによってメチオニン残基がN末端に付加されるバリエーションが挙げられる。さらに、本発明による抗体又は抗原の検出又は単離を可能にするように標識化された抗体、例えば、酵素標識体、蛍光標識抗体及びアフィニティー標識抗体も修飾バリエーションの意味において含まれる。本開示による抗体のそのような修飾バリエーションは、抗体の安定性及び血液中保持の改善、その抗原性の低下、抗体又は抗原の検出又は単離などに有用である。

【0051】

さらに、本発明による抗体に連結されるグリカンの修飾（グリコシル化、脱フコシル化など）を調節することにより、抗体依存性の細胞傷害活性を増強させることが可能である。抗体のグリカンの修飾を調節するための技術として、国際公開第99/54342号パンフレット、国際公開第00/61739号パンフレット、国際公開第02/31140号パンフレット、国際公開第2007/133855号パンフレット、国際公開第2013/120066号パンフレットなどが知られている。しかしながら、この技術は、これらに限定されない。本発明による抗体では、グリカンの修飾が調節される抗体も含まれる。

【0052】

培養される哺乳動物細胞中で産生される抗体の重鎖のカルボキシル末端のリジン残基が

欠失していることが既知であり（*Journal of Chromatography A*, 705:129-134 (1995)）、培養される哺乳動物細胞中で産生される抗体の重鎖のカルボキシル末端で2個のアミノ酸残基（グリシン及びリシン）が欠失しており、このカルボキシル末端に新たに位置するプロリン残基がアミド化されていることも既知である（*Analytical Biochemistry*, 360:75-83 (2007)）。しかしながら、重鎖配列のそのような欠失及び修飾は、本抗体の抗原結合親和性及びエフェクター機能（補体活性化、抗体依存性細胞傷害性など）に影響を及ぼさない。したがって、本発明による抗体では、そのような修飾に供された抗体、及びこの抗体の機能的断片も含まれ、1つ又は2つのアミノ酸が重鎖のカルボキシル末端で欠失している欠失バリエント、欠失バリエントのアミド化により得られるバリエント（例えば、カルボキシル末端のプロリン残基がアミド化されている重鎖）なども含まれる。本発明による抗体の重鎖のカルボキシル末端に欠失がある欠失バリエントの種類は、抗原結合親和性及びエフェクター機能が保存されている限り、上記のバリエントに限定されない。本発明による抗体を構成する2本の重鎖は、完全長の重鎖と、上記で説明されている欠失バリエントとからなる群から選択される1種であってもよいし、又はこれらから選択される2種の組み合わせであってもよい。各欠失バリエントの量の比は、本発明による抗体を産生する培養哺乳動物細胞のタイプ及び培養条件の影響を受け得るが、本発明による抗体中の2本の重鎖の両方のカルボキシル末端で1個のアミノ酸残基が欠失している抗体が好ましくは例示され得る。

10

20

30

40

50

【0053】

本発明による抗体のアイソタイプとして、例えばIgG（IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）が例示され得る。好ましくは、IgG1又はIgG2が挙げられ得る。

【0054】

本発明において、「抗TROP2抗体」という用語は、TROP2（TACSTD2：腫瘍関連カルシウムシグナルトランスデューサー2；EGP-1）に特異的に結合する抗体を指し、好ましくは、TROP2への結合により、TROP2発現細胞において内部移行活性を有する。

【0055】

抗TROP2抗体の例としては、hTINA1-H1L1（国際公開第2015/098099号パンフレット）が挙げられる。

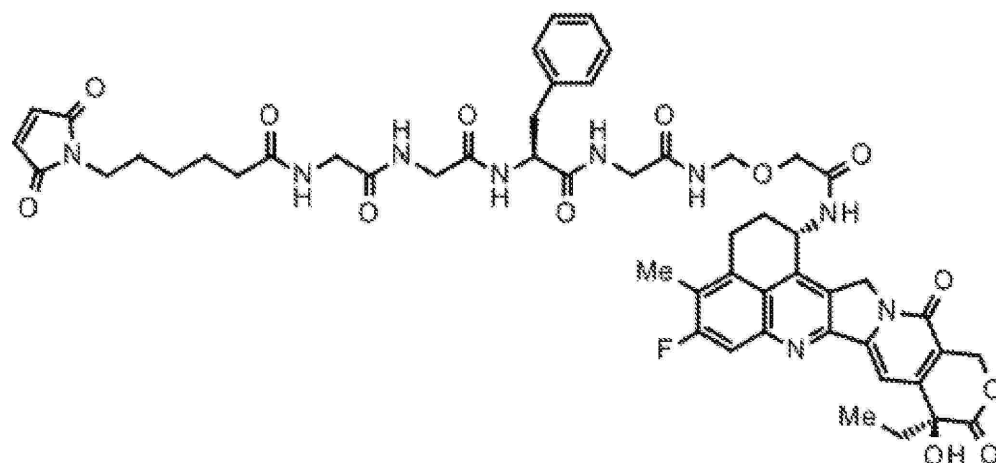
【0056】

IV．抗TROP2抗体－薬物コンジュゲートの製造。

本発明による抗体－薬物コンジュゲートの作製での使用のための薬物－リンカー中間体は、以下の式：

〔式5〕

〔化5〕



で表される。

【0057】

薬物－リンカー中間体は、化学名N－〔6－（2，5－ジオキソ－2，5－ジヒドロ－1H－ピロール－1－イル）ヘキサノイル〕グリシルグリシル－L－フェニルアラニル－N－〔（2－{〔（1S，9S）－9－エチル－5－フルオロ－9－ヒドロキシ－4－メチル－10，13－ジオキソ－2，3，9，10，13，15－ヘキサヒドロ－1H，12H－ベンゾ〔デ〕ピラノ〔3′，4′：6，7〕インドリジノ〔1，2－b〕キノリン－1－イル〕アミノ}－2－オキソエトキシ）メチル〕グリシンアミドとして表され得、国際公開第2014／057687号パンフレット、同第2015／098099号パンフレット、同第2015／115091号パンフレット、同第2015／155998号パンフレット、同第2019／044947号パンフレットなどでの記載を参照して作製され得る。

10

【0058】

本発明で使用される抗体－薬物コンジュゲートは、上記の薬物－リンカー中間体及びチオール基（代替的にスルフィドリル基と呼ばれる）を有する抗TRO P 2抗体を反応させることによって、作製され得る。

【0059】

スルフィドリル基を有する抗TRO P 2抗体は、当技術分野で周知の方法により得ることができる（Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp. 56－136, pp. 456－493, Academic Press（1996））。例えば、抗体内の鎖間ジスルフィドごとにトリス（2－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩（TCEP）などの還元剤0.3～3モル当量を使用し、エチレンジアミンテトラ酢酸（EDTA）などのキレート剤を含有する緩衝液中で抗体と反応させることにより、抗体内に部分的に又は完全に還元される鎖間ジスルフィドがあるスルフィドリル基を有する抗体が得ることができる。

20

【0060】

さらに、スルフィドリル基を有する抗体1つ当たり薬物－リンカー中間体2～20モル当量を使用することによって、1抗体分子当たり2～8個の薬物分子がコンジュゲートされる抗体－薬物コンジュゲートが作製され得る。

【0061】

作製された抗体－薬物コンジュゲートの1抗体分子当たりコンジュゲートされる薬物分子の平均数は、例えば、280nm及び370nmの2つの波長での抗体－薬物コンジュゲート及びコンジュゲート前駆体に対するUV吸収の測定に基づいて計算する方法（UV法）、又は抗体－薬物コンジュゲートを還元剤で処理することにより得られた断片に対するHPLC測定を通じた定量に基づいて計算する方法（HPLC法）により決定され得る。

30

【0062】

抗体と薬物－リンカー中間体との間のコンジュゲート及び抗体－薬物コンジュゲートの1抗体分子当たりコンジュゲートされる薬物分子の平均数の計算は、例えば国際公開第2015／098099号パンフレット及び同第2017／002776号パンフレット中の記載を参照して行われ得る。

40

【0063】

本発明において、「抗TRO P 2抗体－薬物コンジュゲート」という用語は、本発明による抗体－薬物コンジュゲート中の抗体が抗TRO P 2抗体であるような抗体－薬物コンジュゲートを指す。

【0064】

抗TRO P 2抗体は、好ましくは、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるCDRH1〔＝配列番号1のアミノ酸残基50～54からなるアミノ酸配列〕、配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるCDRH2〔＝配列番号1のアミノ酸残基69～85からなるアミノ酸配列〕、及び配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるCDRH3〔＝配列番号1のアミノ酸残基118～129からなるアミノ酸配列〕を含む重鎖と、配列番号6

50

で表されるアミノ酸配列からなるCDRL1 [=配列番号2のアミノ酸残基44～54からなるアミノ酸配列]、配列番号7で表されるアミノ酸配列からなるCDRL2 [=配列番号2のアミノ酸残基70～76からなるアミノ酸配列]、及び配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるCDRL3 [=配列番号2のアミノ酸残基109～117からなるアミノ酸配列]を含む軽鎖とを含む抗体であり、より好ましくは、配列番号9で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域 [=配列番号1のアミノ酸残基20～140からなるアミノ酸配列]を含む重鎖と、配列番号10で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域 [=配列番号2のアミノ酸残基21～129からなるアミノ酸配列]を含む軽鎖とを含む抗体であり、さらにより好ましくは、配列番号12で表されるアミノ酸配列 [=配列番号1のアミノ酸残基20～470からなるアミノ酸配列]からなる重鎖と、配列番号13で表されるアミノ酸配列 [=配列番号2のアミノ酸残基21～234]からなる軽鎖とを含む抗体、又は配列番号11で表されるアミノ酸配列 [=配列番号1のアミノ酸残基20～469からなるアミノ酸配列]からなる重鎖と、配列番号13で表されるアミノ酸配列 [=配列番号2のアミノ酸残基21～234からなるアミノ酸配列]からなる軽鎖とを含む抗体である。

10

【0065】

抗TROP2抗体-薬物コンジュゲートにおける1抗体分子当たりの薬物-リンカーコンジュゲートの平均単位数は、好ましくは2～8、より好ましくは3～5、さらに好ましくは3.5～4.5、さらにより好ましくは約4である。

20

【0066】

抗TROP2抗体-薬物コンジュゲートは、国際公開第2015/098099号パンフレット及び国際公開第2017/002776号パンフレットにおける記載を参照して作製され得る。

【0067】

好ましい実施形態では、抗TROP2抗体-薬物コンジュゲートはダトポタマブデルクステカン(DS-1062)である。

【0068】

V. 抗TROP2 ADCの治療的使用。

本開示の抗体-薬物コンジュゲートは、癌を処置するために使用され得、好ましくは、乳癌(トリプルネガティブ乳癌及びホルモン受容体(HR)-陽性、HER2-陰性乳癌を含む)、肺癌(小細胞肺癌及び非小細胞肺癌を含む)、結腸直腸癌(結腸及び直腸癌とも呼ばれ、結腸癌及び直腸癌を含む)、胃癌(胃腺癌とも呼ばれる)、食道癌、頭頸部癌(唾液腺癌及び咽頭癌を含む)、食道胃接合部腺癌、胆道癌(胆管癌を含む)、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、尿路上皮癌、前立腺癌、膀胱癌、消化管間質腫瘍、子宮頸部癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮体部癌腫、腎臓癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多形性神経膠芽腫、骨肉腫、肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される少なくとも1種の癌を処置するために使用され得、より好ましくは、乳癌(好ましくはトリプルネガティブ乳癌及びホルモン受容体(HR)-陽性、HER2-陰性乳癌)、肺癌(好ましくは非小細胞肺癌、アクシオナブルなゲノム変化がある非小細胞肺癌及びアクシオナブルなゲノム変化がない非小細胞肺癌を含み、アクシオナブルなゲノム変化は、EGFR、ALK、ROS1、NTRK、BRAF、RET及びMETエクソン14スキッピングを含む)、結腸直腸癌、胃癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、及び腎臓癌からなる群から選択される少なくとも1種の癌を処置するために使用され得る。さらに、本開示の抗体-薬物コンジュゲートは、好ましくは、相同組み換え(HR)依存的なDNA DSB修復活性を欠く癌又は相同組み換え(HR)依存的なDNA DSB修復活性を欠いていない癌を処置するために使用され得る。

30

40

【0069】

本開示の抗体-薬物コンジュゲートは、好ましくは哺乳動物に対して使用され得、より好ましくはヒトに対して使用され得る。

【0070】

50

本開示の抗体－薬物コンジュゲートの抗腫瘍効果は、例えば、試験動物に癌細胞が移植されるモデルを作製し、本開示の抗体－薬物コンジュゲートの適用による、腫瘍体積の減少、延命効果を測定することによって、確認され得る。

【0071】

さらに、本開示の抗体－薬物コンジュゲートの抗腫瘍効果は、Response Evaluation Criteria in Solid Tumor (RECIST) 評価法、WHOの評価方法、Macdonaldの評価方法、体重測定及び他の方法を用いて臨床試験で確認され得；完全奏効 (CR)、部分奏効 (PR)；進行疾患 (PD)、客観的奏効率 (ORR)、奏効期間 (DOR)、無進行生存率 (PFS) 及び全生存率 (OS) などの指標により決定され得る。

10

【0072】

本開示の抗体－薬物コンジュゲートは、癌細胞の成長を遅延させ、その成長を抑制し得、さらに癌細胞を死滅させ得る。これらの効果は、癌患者が、癌によって引き起こされる症状から解放されることを可能にし得るか、又は癌患者のQOLの改善を達成し得、癌患者の生命を持続させることによる治療効果を果たし得る。抗体－薬物コンジュゲートが癌細胞の死滅を達成しない場合でも、それは、癌細胞の成長を阻害又は制御することにより、より長期間の生存を達成すると同時に、癌患者の生活の質 (QOL) をより高め得る。

【0073】

本発明の抗体－薬物コンジュゲートは、患者への全身治療としての適用、さらには癌組織への局所適用による治療効果を発揮することが期待され得る。

20

【0074】

本開示の抗体－薬物コンジュゲートは、別の態様において、電離放射線又は他の化学療法剤を用いた癌治療の補助剤としての使用を提供する。例えば、癌の処置において、この処置は、処置を必要とする対象に、治療有効量の抗体－薬物コンジュゲートを、電離放射線又は他の化学療法剤と同時に又は逐次的に投与することを含み得る。

【0075】

本開示の抗体－薬物コンジュゲートは、外科手術と組み合わせた補助化学療法として使用され得る。本開示の抗体－薬物コンジュゲートを、外科手術前に腫瘍サイズを減少させる目的で投与し得る (術前アジュバント化学療法又はネオアジュバント療法と称される) か、又は外科手術後に腫瘍の再発を防止する目的で投与し得る (術後アジュバント化学療法又はアジュバント療法と称される)。

30

【0076】

さらなる態様では、本開示の抗体－薬物コンジュゲートは、相同組み換え (HR) 依存性DNA DSB修復活性が欠損している癌の処置のために使用され得る。HR依存性DNA DSB修復経路は、相同機序を介してDNAにおける二本鎖切断 (DSB) を修復し、連続したDNAヘリックスを再形成する (K. K. Khanna and S. P. Jackson, Nat. Genet. 27 (3): 247-254 (2001))。HR依存性DNA DSB修復経路の成分としては、ATM (NM_000051)、RAD51 (NM_002875)、RAD51L1 (NM_002877)、RAD51C (NM_002876)、RAD51L3 (NM_002878)、DMC1 (NM_007068)、XRCC2 (NM_005431)、XRCC3 (NM_005432)、RAD52 (NM_002879)、RAD54L (NM_003579)、RAD54B (NM_012415)、BRCA1 (NM_007295)、BRCA2 (NM_000059)、RAD50 (NM_005732)、MRE11A (NM_005590) 及びNBS1 (NM_002485) が挙げられるが限定されない。HR依存性DNA DSB修復経路に関与する他のタンパク質としては、EMSYなどの調節因子が挙げられる (Hughes-Davies, et al., Cell, 115, pp 523-535)。HR成分はまた、Wood, et al., Science, 291, 1284-1289 (2001) にも記載されている。HR依存性DNA DSB修復が欠損している癌は、正常細胞と比較して、その修復経路を通じてDNA DSBを修復する能力

40

50

が低下又は消失している1つ以上の癌細胞を含み得るか又はそれらからなり得、即ち、HR依存性DNA DSB修復経路の活性は、1つ以上の癌細胞において低下又は消失させられ得る。HR依存性DNA DSB修復経路の1つ以上の成分の活性は、HR依存性DNA DSB修復が欠損している癌を有する個体の1つ以上の癌細胞において消失させられ得る。HR依存性DNA DSB修復経路の成分は当技術分野において十分に特徴付けられており（例えば、Wood, et al., Science, 291, 1284-1289 (2001)を参照）、上記に列挙された成分を含む。

【0077】

いくつかの実施形態では、癌細胞はBRCA1及び／又はBRCA2欠損表現型を有し得、即ち、癌細胞において、BRCA1及び／又はBRCA2活性が低下又は消失している。この表現型を有する癌細胞は、BRCA1及び／又はBRCA2が欠損し得、即ち、BRCA1及び／又はBRCA2の発現及び／又は活性は、例えば、コード核酸における変異若しくは多型又は調節因子をコードする遺伝子（例えば、BRCA2調節因子をコードするEMSY遺伝子）における増幅、変異若しくは多型によって癌細胞において低下又は消失し得る（Hughes-Davies, et al., Cell, 115, 523-535）。BRCA1及びBRCA2は、その野生型対立遺伝子が、ヘテロ接合保因者の腫瘍において失われていることが多い既知の腫瘍抑制因子である（Jasin M., Oncogene, 21 (58), 8981-93 (2002); Tutt, et al., Trends Mol Med., 8 (12), 571-6, (2002)）。BRCA1及び／又はBRCA2の突然変異と乳癌との関連は、当技術分野において十分に特徴が調べられている（Radice, P. J., Exp Clin Cancer Res., 21 (3 Suppl), 9-12 (2002)）。BRCA2結合因子をコードするEMSY遺伝子の増幅も、乳癌及び卵巣癌と関連することが知られている。BRCA1及び／又はBRCA2における突然変異の保因者はまた、乳癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、血液癌、消化管癌及び肺癌を含むある特定の癌のリスクも高い。いくつかの実施形態では、個体は、BRCA1及び／又はBRCA2、又はその調節因子において、1つ以上の多様性（例えば突然変異及び多型）についてヘテロ接合性である。BRCA1及びBRCA2における多様性の検出は当技術分野で周知であり、例えば、欧州特許第699754号明細書、同第705903号明細書、Neuhausen, S. L. and Ostlander, E. A., Genet. Test, 1, 75-83 (1992); Chappnis, P. O. and Foulkes, W. O., Cancer Treat Res, 107, 29-59 (2002); Janatova M., et al., Neoplasma, 50 (4), 246-505 (2003); Jancarkova, N., Ceska Gynekol., 68 {1}, 11-6 (2003)）に記載されている。BRCA2結合因子EMSYの増幅の決定は、Hughes-Davies, et al., Cell, 115, 523-535）に記載されている。

【0078】

癌に関連する突然変異及び多型は、バリエント核酸配列の存在を検出することによって核酸レベルで、又はバリエント（即ち、突然変異体又は対立遺伝子バリエント）ポリペプチドの存在を検出することによりタンパク質レベルで、検出され得る。

【0079】

本開示の抗体-薬物コンジュゲートは、少なくとも1つの薬学的に適切な成分を含有する医薬組成物として投与され得る。薬学的に適切な成分は、本開示で使用される抗体-薬物コンジュゲートの投与量、投与濃度などに応じて、当技術分野で一般的に使用される処方添加剤などから適切に選択及び適用され得る。例えば、本開示で使用される抗体-薬物コンジュゲートは、ヒスチジン緩衝液などの緩衝液、スクロース又はトレハロースなどの賦形剤及びポリソルベート80又は20などの界面活性剤を含有する医薬組成物として投与され得る。本開示で使用される抗体-薬物コンジュゲートを含有する医薬生成物は、好ましくは注射剤として使用され得、より好ましくは水性注射剤又は凍結乾燥注射剤として使用され得、さらにより好ましくは凍結乾燥注射剤として使用され得る。

【0080】

本開示で使用する抗TRO P 2抗体-薬物コンジュゲートを含有する医薬生成物が水性注射剤である場合、これは、好ましくは好適な希釈剤で希釈され、続いて静脈内注入剤として与えられ得る。希釈剤について、デキストロース溶液、生理食塩水などが例示され得、デキストロース溶液が好ましくは例示され得、5%デキストロース溶液がより好ましくは例示され得る。本開示の医薬生成物が凍結乾燥注射剤である場合、これは好ましくは注射用の水中で溶解され得、続いて必要とされる量が適切な希釈剤で希釈され得、次いで、静脈内点滴として与えられ得る。希釈剤について、デキストロース溶液、生理食塩水などが挙げられ得、デキストロース溶液が好ましくは挙げられ得、5%デキストロース溶液がより好ましくは挙げられ得る。

10

【0081】

本開示の医薬生成物を投与するために使用され得る投与経路の例は、静脈内、皮内、皮下、筋肉内及び腹腔内経路を含み、好ましくは静脈内経路を含む。

【0082】

本開示で使用する抗TRO P 2抗体-薬物コンジュゲートは、1~180日の間隔で1回ヒトに投与され得、好ましくは週に1回、2週間に1回、3週間に1回又は4週間に1回投与され得、さらにより好ましくは3週間に1回投与され得る。また、本発明で 사용되는抗体-薬物コンジュゲートは、約0.001~100mg/kgの用量で投与され得、好ましくは0.8~12.4mg/kgの用量で投与され得る。例えば、抗TRO P 2抗体-薬物コンジュゲートは、0.27mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg、6.0mg/kg又は8.0mg/kgの用量で3週間に1回投与され得、好ましくは6.0mg/kgの用量で3週間に1回投与され得る。

20

【0083】

VI. 抗TRO P 2抗体-薬物コンジュゲートに対する患者応答を予測する方法。

図13は、分析システムが癌患者からの組織のデジタル画像を分析し、癌患者が抗TRO P 2抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を含む治療にどのように応答する可能性が高いかを予測する方法10のステップ11~17のフローチャートである。一実施形態では、ADCはダトポタマブデルクスステカン(DS-1062)である。一実施形態では、方法は、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、膀胱癌、前立腺癌、尿路上皮癌、消化管間質腫瘍、子宮頸部癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝臓癌、肝細胞癌、子宮内膜癌、腎臓癌、外陰癌、甲状腺癌、陰茎癌、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髓腫、多形性神経膠芽腫、肉腫、骨肉腫、及び黒色腫からなる群から選択される癌を有する患者のADCに対する応答を予測する。一実施形態では、方法は、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、非小細胞肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合部腺癌、胆道癌、パジェット病、膵臓癌、卵巣癌、子宮癌肉腫、膀胱癌、及び前立腺癌からなる群から選択される癌を有する患者のADCに対する応答を予測する。一実施形態では、方法は、乳癌患者のADCに対する応答を予測する。別の実施形態では、方法は、胃癌患者のADC応答を予測する。さらに別の実施形態では、方法は、肺癌患者のADC応答を予測する。

30

40

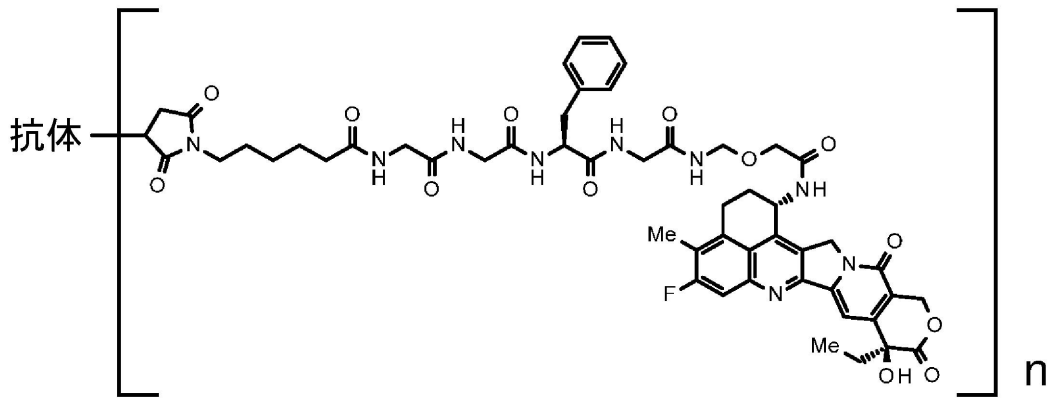
【0084】

第1のステップ11では、1つ以上のバイオマーカー又は染色を使用して染色された癌患者からの組織切片の高解像度デジタル画像が取得される。ADC療法の有効性を予測するために、ADC療法によって標的とされるものと同じタンパク質を標的とする付着した色素を有する診断抗体(例えば、診断バイオマーカー)が使用される。一実施形態では、スコアリングの対象となる抗TRO P 2 ADCは、チオエーテル結合を介して薬物-リンカーにコンジュゲートした抗TRO P 2抗体を含み、薬物-リンカーは次の式：

【式3】

50

【化 6】



10

(式中、「抗体-」は、抗TROP2抗体が連結している位置を表す)で表される。一実施形態では、スコアリングの対象となる抗TROP2 ADCは、ダトボタマブデルクステカン(DS-1062)である。したがって、様々な実施形態では、診断バイオマーカーはまた、TROP2タンパク質を標的とする。

【0085】

ステップ12では、事前に訓練された畳み込みニューラルネットワークは、3,3'-ジアミノベンジジン(DAB)などの色素に連結された診断抗体で染色された癌患者の組織のデジタル画像を処理する。癌細胞の膜中の色素の染色強度は、対応するセグメント化された膜オブジェクトに関連する全ての画素の色素の平均染色強度に基づいて決定される。さらに、単一の画素における色素の染色強度は、画素の赤色成分、緑色成分及び青色成分に基づいてコンピュータ処理される。画像解析処理の結果は、デジタル画像内の各画素について、画素が細胞核に属する確率及び画素が細胞膜に属する確率を表す2つの後方画像層である。

20

【0086】

ステップ13では、個々の癌細胞は、核及び膜の後方層のヒューリスティックな画像解析に基づいて検出される。細胞膜オブジェクトを含む癌細胞オブジェクトが生成される。

【0087】

ステップ14では、細胞膜中のDABの量に基づいて、各癌細胞が光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかとして同定される。DABの量は、膜の画素全てにおける褐色ジアミノベンジジン(DAB)シグナルの平均(中間)光学密度に基づく各膜の染色強度によって決定される。各癌細胞は、(i)癌細胞の平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は(ii)癌細胞の平均光学密度が光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性のいずれかとして同定される。一実施形態では、光学密度閾値は、最大光学密度255のスケールで23~27の範囲内である。例えば、光学密度閾値は25である。8ビットのRGBデータで表され得る最大光学密度は255である。膜のDAB染色で観察された最大光学密度は約220であった。

30

【0088】

ステップ15では、デジタル画像内の光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞のパーセンテージに等しい組織試料のデジタル画像についてのバイナリ近接スコアが生成される。一実施形態では、所定の距離は50ミクロンである。別の実施形態では、所定の距離は25ミクロンである。

40

【0089】

ステップ16では、近接スコアが所定のパーセンテージ閾値を超える場合、癌患者が抗TROP2 ADCの投与から利益を得る可能性が高い患者として同定される。一実施形態では、所定のパーセンテージ閾値は、95%~100%の範囲内である。例えば、所定のパーセンテージ閾値は、99.975%であり得る。いくつかの実施形態では、デジタル画像内の癌細胞の少なくとも95%が光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかである

50

が、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内に配置されている場合、即ち近接スコアが少なくとも95%である場合、患者はQCS陽性と呼ばれる。いくつかの実施形態では、近接スコアが少なくとも98%である場合、患者はQCS陽性である。いくつかの実施形態では、近接スコアが少なくとも99%である場合、患者はQCS陽性である。いくつかの実施形態では、近接スコアが少なくとも99.9%である場合、患者はQCS陽性である。

【0090】

ステップ14で使用される閾値光学密度、ステップ15で使用される所定の距離、及びステップ16で使用される所定のパーセンテージ閾値は、ADC療法に対する既知の応答を有する患者の訓練コホートを使用して最適化される。カプラン・マイヤー解析を使用して最低ログランクp値を見出すことによって最適化を行い、患者を腫瘍縮小及び腫瘍成長を有するグループに層別化する。無増悪生存期間（PFS）は、カプラン・マイヤー曲線にマッピングされるが、PFSは患者の生存期間に関連せず、むしろ腫瘍成長がない期間に関連する。患者スコアは、癌患者が抗TROPAADCを伴う療法にどのように応答するかを示す。

10

【0091】

ステップ17では、抗TROPAADCを含む療法は、スコアが所定のパーセンテージ閾値より大きい場合、スコア陽性患者に推奨される。

【0092】

VII. 予測及びスコアリング方法の例

A. 染色された組織の画像解析

20

ここで、染色された癌組織の特定の画像に関連して、図13の方法を説明する。

【0093】

ステップ11では、組織試料中の癌細胞上の関連タンパク質に結合する診断抗体に連結された色素を使用して、組織試料が免疫組織化学的に染色される。図14（左上画像）は、ステップ11で取得された染色組織の一部のデジタル画像18である。画像18は、色素に連結された抗TROPA診断抗体で免疫組織化学的に染色された癌患者からの組織を示す。この例では、診断抗体は、ウサギ抗ヒTROPAIgG1クローンとして再フォーマットされた抗TROPA生成クローンである。IgG1は、抗TROPA抗体のアイソタイプを示す。抗TROPA抗体は、3,3'-ジアミノベンジジン（DAB）染色が組織試料におけるタンパク質TROPAの位置を示すように膜タンパク質TROPAに結合する。

30

【0094】

ステップ12では、画像解析が、畳み込みニューラルネットワークを使用して癌細胞核及び膜の後方画像層を生成するためにデジタル画像18に対して実施される。画像解析を使用して、核、膜及び細胞質などの癌細胞及びそれらの構成成分を検出する。図14は、ステップ12の画像解析プロセスを示す。畳み込みニューラルネットワークは、デジタル画像18の各画素について、各画素が細胞の核（図14右上画像）又は膜（図14左下画像）のいずれかに属する確率を示す後層（グレー値画像）を生成する。高い確率は黒色で、低い確率は白色で示されている。右上の画像はまた、別の核中心からの成長を満たすまで核中心から外側に成長することによって細胞膜オブジェクトを生成するために最初に同定される核中心を示す。

40

【0095】

一実施形態では、畳み込みニューラルネットワークは、非常に小さい空間サイズ（1～16画素）を有するボトルネックの層に向けられる入力画像18からの一連の畳み込み層、及び入力画像18と同じサイズを有する後方層に向けられる一連の逆畳み込み層を含む。このネットワークアーキテクチャは、U-Netと呼ばれる。畳み込みニューラルネットワークの重みの訓練は、複数の訓練画像内の核及び膜の手動アノテーション層を生成し、次いで、生成された後方層が手動で生成されたアノテーション層に最も類似するようにネットワーク重みを最適化アルゴリズムによって調整することによって実行される。

【0096】

50

別の実施形態では、核及び膜のアノテーション層は、複数の訓練画像内で自動的に生成され、手動で補正される。上皮領域及び核中心は、それぞれ領域及び点として手動でアノテーションされる。各訓練画像について、膜分割は、アノテーション核中心によって播種され、アノテーション上皮領域の範囲によって制約された領域成長様アルゴリズム（例えば、ウォーターシェッドセグメンテーション）を適用することによって自動的に生成される。訓練画像が与えられると、核セグメンテーションは、プロブ検出アルゴリズム（例えば、最大安定極値領域MSE Rアルゴリズムによって）を適用し、アノテーション核中心を含む検出されたプロブのみを核として選択することによって自動的に生成される。自動的に生成された膜及び核のセグメンテーションは、視覚的に検討され、必要に応じて手動で修正される。補正ステップは、以下の方法：不正確にセグメント化された膜又は核を拒絶すること、正確にアノテーションされた膜又は核を明示的に受け入れること、又は膜又は核の形状を精密化することのうちの1つを含む。アノテーション膜又は核を有する各画像について、アノテーション層が作成される。一実施形態では、アノテーション層の各画素は、アノテーションオブジェクト（膜又は核）に属する場合、「1」が割り当てられ、そうでない場合、「0」が割り当てられる。別の実施形態では、アノテーション層の画素は、最も近いアノテーションオブジェクトまでの距離を表す。ネットワーク重みは、生成された後方層が自動的に生成された膜及び核アノテーション層に最も類似するように最適化アルゴリズムによって調整される。

10

【0097】

図15は、各々が細胞膜及び細胞質を含む個々の癌細胞オブジェクトが検出されるステップ13を示す。ヒューリスティック画像解析プロセスは、畳み込みニューラルネットワークによって生成された核後方層を使用して細胞核をセグメント化するために、ウォーターシェッドセグメンテーションを使用する。セグメンテーションは、核オブジェクトを生成する。各核オブジェクトには、固有の識別子（UID）が割り当てられる。個々に同定された核は、図15に暗いオブジェクトとして示されている（右下画像）。検出された核は、入力画像18（左上画像）及び核（右上画像）及び膜（左下画像）の後方層にもオーバーレイとして表示される。

20

【0098】

一実施形態では、ウォーターシェッドセグメンテーションは、所定の第1のサイズ閾値での核後方層の閾値化を含む。第1のサイズ閾値を超える全ての単一の接続された画素は、核オブジェクトに属するとみなされる。 $16\mu\text{m}^2$ 未満の面積を有する核オブジェクトは破棄される。各核オブジェクトにはUIDが割り当てられている。後続のステップでは、核オブジェクトは、追加された核後方画素が第2の所定の閾値よりも大きくなければならない、より小さい核後方に向かって成長される。

30

【0099】

図16は、膜の可能性のある層の外側に及び所定の膜層の後方の閾値に検出された細胞の境界画素の領域を成長させることによって区分化される膜オブジェクトの検出及び区分を示す。より厚い境界領域は膜オブジェクトになる。各膜オブジェクトには、関連する核オブジェクトのUIDと同じUIDが割り当てられる。

【0100】

膜と核の間の空間は、核のUIDを使用して細胞質に割り当てられる。各膜（図16左上画像参照）及び細胞質（図16左上画像参照）について、DAB染色の平均光学密度は、UIDと共にハードドライブ上のファイルにエクスポートされる。各細胞（核、細胞質及び膜を含むと定義される）について、スライド内の細胞の重心（x、y）の位置もエクスポートされる。ファイルは、ハードディスク、ソリッドステートディスク、又はコンピュータシステム内の専用RAMの一部に存在し得る。

40

【0101】

図17は、画像解析ソフト環境における画像解析の結果を示す。図17（左上画像）は、染色された組織のデジタル画像上のオーバーレイとしての核オブジェクト及び膜オブジェクトの区分を示す。図17（左下画像）は、デジタル画像の光学密度表示上のオーバー

50

レイとしての核オブジェクトの区分を示す。暗い光学密度画素は大量のDABに関連付けられ、明るい光学密度画素は少量のDABに関連付けられる。各画像画素のDAB光学密度は、茶色のDAB成分が独立した色になるように赤-緑-青色空間を変換し、その茶色の色成分の対数をとることによって、画像画素の赤-緑-青表現からコンピュータ処理される。図17（右上画像）は、セグメント化された画像の生成に使用される画像解析スク립トを示す。図17（右下画像）は、画像18内の全ての細胞膜オブジェクト及び細胞質オブジェクトについてエクスポートされた測定値を示す。

【0102】

B. 予測有効性スコアの計算

膜オブジェクト及び任意選択により細胞質オブジェクト内のDAB染色の光学密度に基づいて、デジタル画像18に示される組織試料について空間近接スコアが決定される。空間近接スコアはまた、単一細胞ADCスコアがコンピュータ処理されている癌細胞までの所定の距離よりも近い隣接する癌細胞の膜オブジェクト及び任意選択により細胞質オブジェクト中のDAB色素の染色強度に基づく。2つのタイプの空間近接スコアがある：バイナリ空間近接スコア（bSPS）及び連続空間近接スコア（cSPS）。空間的近接スコアは、ADC薬物のバイスタンダー活性の効果を推定する。バイスタンダー活性は、ADC薬物を内在化する細胞から放出されるADCペイロードの局所毒性を特徴とする。局所毒性の有効範囲は、バイナリ及び連続空間近接スコアにおける所定の距離パラメータとして表される。

【0103】

図18は、バイナリ空間近接スコア（bSPS）がどのように決定されるかの例を示す。バイナリ空間近接スコアは、（i）染色強度が光学密度閾値以上であるデジタル画像18内の癌細胞の数＋（ii）染色強度が光学密度閾値未満であるが、染色強度が光学密度閾値以上である少なくとも1つの癌細胞から所定の距離内に位置するデジタル画像内の癌細胞の数の和に等しいパーセンテージスコアであり、和をデジタル画像18内の癌細胞の総数で割ったものである。

【0104】

図18は、ステップ12～13の画像解析からの様々な光学密度の染色を有する10個の例示的な癌細胞（腫瘍細胞とも呼ばれる）を示す。図14～図16に示すヒューリスティック画像解析のステップは、癌細胞オブジェクト、細胞膜オブジェクト及び細胞質オブジェクトを含む画像オブジェクトへのセグメンテーションを得るために使用される。周囲に実線を付した丸は、褐色DAB染色の光学密度（標的タンパク質TROP2の量に相当）が所定の光学密度閾値以上である腫瘍細胞を表す。この例では、光学密度閾値は、255の光学密度の最大スケールから12である。図18の3つの癌細胞19～21は、光学密度陽性として分類される。破線の円周を有する円は、褐色DAB染色の光学密度が所定の光学密度閾値未満である腫瘍細胞を表す。7つの癌細胞22～28は、光学密度陰性として分類される。破線の円周を有するより濃い灰色の円は、少なくとも1つの光学密度陽性癌細胞から所定の距離内に位置する光学密度陰性癌細胞を表す。2つの癌細胞22～23は、光学密度陰性であるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にも配置されている。この例では、所定の距離は25ミクロンである。

【0105】

この例では、バイナリ空間近接スコアは、50%のパーセンテージスコアに等しく、これは、図18に示すように、光学密度陽性細胞から所定の距離内にある3つの光学密度陽性細胞と2つの光学密度陰性細胞の和として計算され、和を合計10個の癌細胞（ $[3 + 2] / 10 = 0.5$ ）で割ったものである。

【0106】

図18の概略的な画像内で、3つの癌細胞19～21は、標的タンパク質TROP2を多量に発現しており、ADC抗体（図19の効果1）に連結した細胞に入るADCペイロード（例えば、細胞毒素）によって死滅される可能性が非常に高い。2つの癌細胞22～23は、抗TROP2 ADCによって直接死滅されるのに十分な量の標的タンパク質T

10

20

30

40

50

R O P 2を発現していない。しかしながら、光学密度陽性細胞19～21の少なくとも1つが近接しているため、細胞19～21から放出された毒性ペイロードはまた、癌細胞22～23を死滅させる（図19の効果3）。残りの光学密度陰性癌細胞24～28は活性のままであり、最終的に患者の死を引き起こし得る薬物耐性機序の起源であり得る。

【0107】

図19は、抗TROP2 ADC療法が癌細胞を死滅させる機序を示す。第1のステップでは、ADC抗体は、標的タンパク質TROP2に結合し、細胞死をもたらし得る標的タンパク質の天然の機能を阻害する。第2のステップでは、ペイロード（例えば、I型トポイソメラーゼ阻害剤）は、細胞中に内部移行され、ペイロードの毒性によって細胞を死滅させる。このペイロードの取り込みは、膜上の標的タンパク質の量、並びに膜上及び細胞質内の標的タンパク質の量の差にも依存する。取り込み後、ペイロードは、細胞から周囲の組織に放出され得る。第3のステップでは、ペイロードは近くの細胞に入ることができ、それらを死滅させることもできる。組織内のペイロードの空間分布は受動拡散によって広がる。

10

【0108】

従来のIHCスコアリングは、ADC結合に起因する標的タンパク質の阻害の効果、及びADC抗体と共に癌細胞に入る細胞傷害性ペイロードの効果の両方を反映している。したがって、ADC療法に関する従来のスコア化は、細胞質における標的タンパク質の存在の重要性及び第1の死滅した癌細胞から放出された後に組織に拡散する細胞傷害性ペイロードの効果を反映しない。比較すると、新規な予測空間近接スコアは、隣接する癌細胞に対する細胞傷害性ペイロードの放出の影響を測定する。

20

【0109】

図20～図22は、連続空間近接スコアがどのように決定されるかの例を示す。連続空間近接スコアは所定の距離を適用するが、光密度陰性癌細胞は、光密度陽性癌細胞から所定の距離よりも遠くに配置されているにもかかわらず、依然としてある程度の重みがある。所定の距離を超えて配置された光学密度陰性癌細胞の重み付けは、ガウス又は線形のいずれかであり得る。図23に示す連続空間近接スコアの式は、ガウス重み付けを適用する。さらに、連続空間近接スコアのこの実施形態はまた、細胞質における染色を考慮に入れる。膜オブジェクト及び任意選択により細胞質オブジェクト内のDAB染色の光学密度に基づいて、デジタル画像18に示される組織試料の連続空間近接スコアがコンピュータ処理される。

30

【0110】

図20は、膜及び細胞質画素のグレー値を使用して概略図におけるステップ12～13の画像解析からの染色の光学密度の例示的な定量結果を示す。図14～図16に示すヒューリスティック画像解析のステップは、図20の細胞核、細胞膜及び細胞の細胞質への例示的なセグメンテーションを得るために使用される。図20の明るいグレー値は、高いDAB光学密度、したがって診断抗体によって標的とされる大量のタンパク質に関連する。暗いグレー値は、低いDAB光学密度に関連する。より明るい画素は、より高いDAB光学密度に対応する。

【0111】

40

図21は、図20の画像の膜上及び細胞質内の例示的な定量的染色量を列挙しており、これは図21の一部再現されている。第1、第2及び第3の細胞の膜からの褐色DAB信号の光学密度は、それぞれ0.949、0.369及び0.498である。この例では、光学密度は、255の最大染色のパーセンテージとして表される。第1、第2及び第3の細胞の細胞質からの褐色DABシグナルの光学密度は、それぞれ0.796、0.533及び0.369である。図21の概略的な画像内で、第1の癌細胞29は、標的タンパク質TROP2を多量に発現しており、ADC抗体（図19の効果1）に連結した細胞に入るADCペイロードによって死滅される可能性が非常に高い。第2の癌細胞30及び第3の癌細胞31は、抗TROP2 ADCによって直接死滅されるのに十分な量の標的タンパク質TROPを発現しない。しかしながら、第1の癌細胞29に対する第2の癌細胞3

50

0の近傍に起因して、第1の癌細胞から放出された毒性ペイロードは、第2の癌細胞30も死滅させる(図19の効果3)。第3の癌細胞31は活性のままであり、最終的に患者の死を引き起こし得る薬物耐性機序の起源であり得る。

【0112】

図13の方法のステップ14では、各癌細胞の平均光学密度が決定される。次いで、連続スコアのための方法10の修正において、単一細胞空間近接スコアが決定される。図22は、ADCペイロードの隣接細胞への取り込みを反映する細胞分離に基づいて図21に示される3つの細胞の各々に関する単一細胞空間近接スコアの計算を示し、指数関数重み係数を組み込んでいる。単一細胞スコアは、図22に示す式に基づいて計算することができる。式で使用される所定の距離は50ミクロンである。細胞膜(0.949、0.369及び0.498)及び細胞質(0.796、0.533及び0.369)からのDABシグナルについて図21に列挙した光学密度は、図22に示す計算への入力である。第1、第2及び第3の細胞29、30、31は、それぞれ0.145、0.012及び0.064の単一細胞スコアを有する。

【0113】

したがって、連続空間近接スコアは、DAB光学密度及び任意選択によりADCペイロード(例えば、細胞毒素)取り込みの推定を使用して細胞膜上の標的タンパク質の量の測定を組み込む。図21に示すように、第1の細胞に対するADCペイロード(例えば、細胞毒素)の取り込みは、その膜中及びその細胞質中の色素の量、並びに第1の細胞の近傍の第2の細胞の膜中及び細胞質中の色素の量の両方に依存する。より具体的には、近傍は、第1の癌細胞の周りに所定の半径を有する円板であってもよい。一実施形態では、第1の癌細胞についての連続空間近接スコアは、関連する癌細胞中心が所定の距離よりも第1の癌細胞中心に近い膜及び細胞質オブジェクトのDAB光学密度の数乗の距離加重和によって決定される。一実施形態では、図22の計算で使用されるように、所定の距離は50 μ mである。別の実施形態では、距離は20 μ mである。さらに別の実施形態では、距離の重み付けは、和において第1の癌細胞の中心から他の癌細胞の中心までの調整された負のユークリッド距離の指数関数をコンピュータ処理することを含む。別の実施形態では、和におけるべき乗は、0、1、及び2(定数、線形項、二乗)に限定される。

【0114】

図23は、連続空間近接スコアの形態で単一細胞ADCスコアを計算するための式の一実施形態を示す。式中の関数 a_{kl} は、細胞jから細胞iまでの距離 $|r_j - r_i|$ に依存する。 ODM_j は、細胞jの膜のDAB光学密度であり、 ODC_j は、細胞jの細胞質のDAB光学密度である。定数 A_{ij} 、 r_{norm} 及びdは、全てのタイプの癌について同じである。しかしながら、患者がADC療法に適格であるかどうかを決定するためのスコアの閾値は、異なる種類の癌に対して同じではない。

【0115】

連続空間近接スコアの図23の式は、単一細胞スコアが計算されている細胞から所定の距離を超えて配置された光学密度陰性癌細胞にガウス重み付けを適用する。別の実施形態では、所定の距離を超えて配置された光学密度陰性癌細胞に線形重み付けが与えられる。線形重み付けを適用する単一細胞連続空間近接スコアの式は、細胞jについて、

$|r_j - r_i| < d \{ \text{膜} O D_j \times (1 - |r_j - r_i| / d) \}$ による和j

【0116】

C. バイナリ空間近接スコアの検証。

様々なQCS予測応答スコアを、ダトボタマブデルクステカン(DS-1062)を用いた第I相臨床試験である患者試験(J101 NCT03401385)に基づいて検証した。J101患者試験のデータセットは、染色された組織画像(Abcm抗体クローンEPR 20043を使用)及び複数の癌タイプを有する患者の治療応答率を含む。予測応答スコアの最初の検証は、非小細胞肺癌(NSCLC)を有する115名の患者からのデータに基づいていた。応答スコアは病理学者のアノテーションを使用して訓練され、スコアリング方法の性能は、その一般化及び堅牢性を確実にするために未確認のデータ

で検証された。応答スコアを J 1 0 1 データに盲目的に適用した。光学密度 O D (褐色 D A B 染色強度のレベル)を検出された膜でコンピュータ処理して、無増悪生存期間 (P F S) 予測に関連する応答スコアの特徴を導き出した。応答スコアの特徴を、腫瘍成長 (又は腫瘍縮小) がない時間を最大化するように選択した。

【0117】

図 1 3 の方法は、バイナリ空間近接スコアである新規な Q C S 方法の第 1 の応答スコア特徴を含む。腫瘍成長のない時間 (無増悪生存時間) は、膜光学密度カットオフのパラメータが 2 5 であり、所定の距離が 5 0 ミクロンであることによって最大化された。したがって、1 1 5 名の N S C L C 患者のコホートを使用して、バイスタンダー__膜 (平均 O D) __バイナリ__r 5 0__カット 2 5 として示されるバイナリ空間近接スコアを検証した。

10

【0118】

方法 1 3 のステップ 1 5 では、光学密度 (O D) 陽性又は光学密度陰性であるが光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にあるデジタル画像内の癌細胞のパーセンテージに基づいて、組織試料についてバイナリ空間近接スコアが生成される。Q C S 方法のこの実施形態では、所定の距離は 2 5 ミクロンである。各癌細胞は、平均光学密度が光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、平均光学密度が光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性として同定される。この実施形態では、光学密度閾値は、2 5 5 の最大光学密度を有するスケールで 2 5 である。

【0119】

方法 1 3 のステップ 1 5 では、バイナリ空間近接スコアが所定の閾値を超える場合、癌患者が、A D C の投与から利益を得る可能性が高い (b S P S 陽性) 患者として同定される。この実施形態では、所定の閾値は 9 9 . 9 7 % である。所定の距離、光学密度閾値及び所定の閾値は、訓練コホートの 1 1 5 名の患者の応答と関連していた。

20

【0120】

図 2 4 は、所定の距離、光学密度閾値及び所定の閾値が抗 T R O P 2 A D C で処置された癌患者の組織試料の応答とどのように関連したかを示す。図 2 4 は、J 1 0 1 試験における 1 1 5 名の N S C L C 患者の実際の転帰間の相関を示す散布図である。患者の実際の応答は、進行性疾患 P D (丸印)、安定性疾患 S D (三角印)、部分奏効 P R (四角印)、及び評価不能 N E (菱形印) で示される。応答グループ間の 1 1 5 名の患者の分布は、P D = 2 1、S D = 6 0、P R = 2 0 及び N E = 1 4 であった。腫瘍が 3 0 % 未満だけ縮小し、3 0 % 未満だけ増加した患者は、安定性疾患を有すると考えられる。部分奏効 P R は、3 0 % ~ 1 0 0 % の腫瘍縮小として定義され、完全奏効 C R は、1 0 0 % の腫瘍縮小及び腫瘍の排除である。図 2 4 の散布図では、完全奏効は部分奏効に分類される。種々の投薬量の A D C を 1 1 5 名の患者に投与したが (4 m g / k g、6 m g / k g 及び 8 m g / k g)、種々の投薬量と種々の応答との相関は観察されなかった。図 2 4 は、腫瘍成長速度 (%) と予測応答スコアとの間の関係を示す：バイスタンダー__膜 (平均 O D) __バイナリ__r 5 0__カット 2 5 ((i) O D 陽性又は (i i) O D 陰性のいずれかであり、O D 陽性細胞から 5 0 ミクロン以内である癌細胞の割合)。0 より大きい X 軸値は、腫瘍が観察中にサイズが増加したことを意味し、0 未満の値は、腫瘍サイズが観察中に縮小したことを意味する。

30

40

【0121】

図 2 4 のベストフィットラインは、予測応答スコアバイスタンダー__膜 (平均 O D) __バイナリ__r 5 0__カット 2 5 と処置後の腫瘍サイズの変化との間に負の相関があったことを示す。ベストフィットラインのスピアマン相関 r h o は、R = - 0 . 2 8 である。したがって、より高い予測応答スコアに関連する腫瘍サイズのより大きな減少があった。

【0122】

図 2 5 は、バイナリ空間近接スコアを使用して層別化した、J 1 0 1 試験の 1 1 5 名の N S C L C 患者の 2 つのグループについての無増悪生存期間のカプラン・マイヤー曲線のグラフである。図 1 3 の方法を使用して、1 1 5 名の患者を Q C S 陽性患者と Q C S 陰性患者とに分けた。Q C S 特徴バイスタンダー__膜 (平均 O D) __バイナリ__r 5 0__カッ

50

ト 2 5 を使用して達成された 2 つのカプラン・マイヤー曲線間の層別化の質は、0 . 0 0 0 4 7 のログランク p 値によって示される。8 8 名の b S P S 陽性（Q C S 陽性）患者及び 2 7 名の b S P S 陰性（Q C S 陰性）患者がいた。8 8 名の b S P S 陽性患者のグループは、1 4 . 8 % の客観的奏効率 O R R 及び 5 . 1 5 ヶ月の平均無増悪生存期間（m P F S）を示した。2 7 名の b S P S 陰性患者のグループは、1 8 . 1 % の客観的奏効率及び 1 . 4 4 ヶ月の平均無増悪生存期間を示した。上段カプラン・マイヤー曲線は、より良好な生存転帰を有する 8 8 名の患者のグループ群を示し、これは、細胞の少なくとも 9 9 . 9 7 % が（i）少なくとも 2 5 の T R O P 2 染色の光学密度を示したか、又は（i i）2 5 の最小染色を示す細胞から 5 0 ミクロン以内に位置した患者に対応する。したがって、図 1 3 のスコアリング方法は、1 5 1 名の J 1 0 1 肺癌患者のうち 8 8 名が抗 T R O P 2 A D C 療法から利益を得る可能性が高いと同定した。

10

【0 1 2 3】

図 2 6 は、図 2 5 のカプラン・マイヤー曲線の 8 8 名の b S P S 陽性患者及び 2 7 名の b S P S 陰性患者のスパイダープロットを示す。スパイダープロットの各ドットは、示された期間後に患者の腫瘍が縮小又は成長したパーセンテージを示す。図 2 6 のスパイダープロットは、日単位の時間を示し、一方、無増悪生存期間は、図 2 5 のカプラン・マイヤー曲線において月単位で示される。例えば、図 2 5 の上段カプラン・マイヤー曲線上のほぼ 2 5 ヶ月の最後の点は、b S P S 陽性患者の下側スパイダープロットにおける約 7 5 0 日間の右下の点に対応する。b S P S 陽性患者の下側スパイダープロットのドットの分布の重みは 0 % 線を下回り、これは腫瘍が縮小した患者の重みを示している。一方、b S P S 陰性患者の上段スパイダープロットのドットの分布の重みは 0 % 線を超えており、これは腫瘍が成長した患者の重みを示している。

20

【0 1 2 4】

図 2 5 ~ 2 6 では、腫瘍が 3 0 % 以上縮小した患者は、抗 T R O P 2 A D C に対して陽性応答を有する（部分奏効 P R 患者及び完全奏効 C R 患者の両方を含む）と分類される。b S P S 陰性患者の上段スパイダープロットは、2 7 名の b S P S 陰性患者のうち 4 名のみが A D C に対して陽性応答を示したことを示す。（5 0 日後に一度だけ観察された - 3 0 % ラインより下のドットは、評価不能 N E であり、したがって陽性応答ではないとみなされた。）b S P S 陽性患者の下側スパイダープロットでは、A D C に対して陽性応答を示した患者に対応する - 3 0 % ラインより下に 1 6 ドット（N E ドット以外）が存在する。

30

【0 1 2 5】

図 2 7 は、最大の腫瘍成長から最大の腫瘍縮小まで順序付けられた J 1 0 1 試験における 1 1 5 名の N S C L C 患者のうち 1 0 5 名の臨床応答を示すウォーターフォール棒グラフである。腫瘍成長／縮小の結果は、評価不能（N E）患者 1 0 名については示されていない。実線の棒は、バイナリ空間近接スコアが 9 9 . 9 7 5 % 以上であった b S P S 陽性患者を示す。斜線ハッチングを有する棒は、バイナリ空間近接スコアが 9 9 . 9 7 5 % 未満である b S P S 陰性患者を示す。棒グラフは、Q C S 予測応答スコアバイスタンダー膜（平均 O D）__バイナリ__ r 5 0 __カット 2 5 が、A D C 処置後に腫瘍が縮小した患者の大部分を b S P S 陽性として同定し、A D C 処置後に腫瘍が成長した患者の大部分を b S P S 陰性として同定することを示す。

40

【0 1 2 6】

D. 正規化膜 O D スコアの検証

図 1 3 の新規な方法のバリエーションも、抗 T R O P 2 A D C ダトボタマブデルクステカン（D S - 1 0 6 2）を用いた 1 1 5 名の N S C L C 患者の患者試験（J 1 0 1 N C T 0 3 4 0 1 3 8 5）に基づいて検証した。図 2 8 は、抗 T R O P 2 A D C に対する癌患者の応答を予測する方法 3 2 のステップ 3 3 ~ 4 0 のフローチャートである。方法 3 2 は、図 1 3 の方法 1 0 の別の実施形態であり、各癌細胞の正規化膜光学密度に基づいて抗 T R O P 2 A D C を含む療法の有効性を予測する。正規化膜光学密度は、膜染色の平均光学密度を膜染色の平均光学密度 + 細胞質染色の平均光学密度の和で割ったものに等し

50

い。

【0127】

ステップ33では、ADC療法によって標的とされたものと同じタンパク質、この場合はTROP2タンパク質を標的とする診断抗体に連結された色素を使用して染色された癌患者からの組織切片のデジタル画像18が取得される。ステップ34では、画像解決をデジタル画像に対して行って、癌細胞、細胞膜及び細胞質オブジェクトの画像オブジェクトが生成される。ステップ35では、各癌細胞について、細胞膜における色素の染色の平均光学密度(OD)が測定される。ステップ36では、各癌細胞について、細胞質における色素の染色の平均光学密度(OD)が決定される。

【0128】

ステップ37では、デジタル画像内の各癌細胞の正規化膜光学密度がコンピュータ処理される。正規化膜光学密度は、膜の染色の平均光学密度を膜の染色の平均光学密度+細胞質の染色の平均光学密度の和で割ったものに等しい。ステップ38では、各癌細胞は、(i)癌細胞の正規化膜光学密度が正規化膜閾値以下である場合に正規化膜陽性、又は(ii)癌細胞の正規化膜光学密度が正規化膜閾値より大きい場合に正規化膜陰性のいずれかとして同定される。ステップ39では、正規化膜陽性として同定されたデジタル画像内の癌細胞のパーセンテージに基づいて、組織試料について予測応答スコアが生成される。予測応答スコアは、正規化膜陽性である癌細胞のパーセンテージがパーセンテージ閾値以上である場合に陽性であり、正規化膜陽性である癌細胞のパーセンテージがパーセンテージ閾値未満である場合に陰性である。ステップ40では、予測応答スコアが陽性である場合、癌患者は抗TROP2 ADCの投与から利益を得る可能性が高い患者として同定される。

【0129】

正規化膜閾値及びパーセンテージ閾値は、TROP2 ADCで処置された115名の訓練患者のコホートの応答と相関する。これらのパラメータは、臨床試験データに対して無増悪生存期間(PFS)分析を行うことによって決定される。腫瘍成長のない時間(無増悪生存時間)は、正規化膜閾値(OD/OD)のパラメータが0.486であり、パーセンテージ閾値が5%であることによって最大化された。したがって、115名のNSCLC患者のコホートを使用して、膜(平均OD)/(膜(平均OD)+細胞質(平均OD))_q5として示される予測応答スコアを検証した。

【0130】

図29は、正規化膜閾値及びパーセンテージ閾値が、抗TROP2 ADCで処置された癌患者の組織試料の応答とどのように相関したかを示す。図29は、J101試験における115名のNSCLC患者の実際の転帰間の相関を示す散布図である。患者の実際の応答は、進行性疾患PD(丸印)、安定性疾患SD(三角印)、部分奏効PR(四角印)、及び評価不能NE(菱形印)で示される。応答グループ間の115名の患者の分布は、PD=21、SD=60、PR=20及びNE=14であった。腫瘍が両方とも30%未満だけ縮小し、30%未満だけ増加した患者は、安定性疾患SDを有すると分類され、一方、腫瘍が30%~100%の間で縮小した患者は、部分奏効PRを示すとみなされる。図29の散布図において、腫瘍の消失(100%の縮小)による完全奏効CRを有する患者も、部分奏効PRを有すると分類される。

【0131】

図29は、腫瘍成長速度(%)と予測応答スコアとの間の関係を示す：膜(平均OD)/(膜(平均OD)+細胞質(平均OD))_q5(正規化膜OD)。0より大きいY軸値は、腫瘍が観察中にサイズが増加したことを意味し、0未満の値は、腫瘍サイズが観察中に縮小したことを意味する。図29のベストフィットラインは、予測応答スコア膜(平均OD)/(膜(平均OD)+細胞質(平均OD))_q5と処置後の腫瘍サイズの変化との間に正の相関があったことを示す。ベストフィットラインのスピアマン相関rhoは、R=0.14である。したがって、より低い予測応答スコアに関連する腫瘍サイズのより大きな減少があった。

【0132】

図30は、図28の方法32を使用して、J101試験の115名のNSCLC患者を84名のQCS陽性患者と31名のQCS陰性患者とに分ける無増悪生存期間のカプラン・マイヤーグラフである。QCS特徴膜（平均OD）／（膜（平均OD）＋細胞質（平均OD）） $\times$ 5を使用して達成された2つのカプラン・マイヤー曲線間の層別化の質は、0.00054のログランクp値によって示される。84名のQCS陽性患者のグループは、22.6%の客観的奏効率ORR及び5.45ヶ月の平均無増悪生存期間（mPFS）を示した。31名のQCS陰性患者のグループは、3.2%の客観的奏効率及び2.85ヶ月の平均無増悪生存期間を示した。上側カプラン・マイヤー曲線は、より良好な生存転帰を有する84名の患者のグループを示し、これは、癌細胞の少なくとも5%が0.486に等しいか又はそれ未満の正規化膜光学密度を示した患者に対応する。したがって、図28のスコアリング方法32は、151名のJ101肺癌患者のうち84名が抗TROP2 ADC療法から利益を得る可能性が高いと同定した。

10

【0133】

図31は、図30のカプラン・マイヤー曲線の84名のQCS陽性患者及び31名のQCS陰性患者のスパイダープロットを示す。スパイダープロットの各ドットは、示された期間後に患者の腫瘍が縮小又は成長したパーセンテージを示す。図31のスパイダープロットは、日単位の時間を示し、一方、無増悪生存期間は、図30のカプラン・マイヤー曲線において月単位で示される。例えば、図30の上段カプラン・マイヤー曲線上のほぼ25ヶ月の最後の点は、QCS陽性患者の下側スパイダープロットにおける約750日間の右下の点に対応する。QCS陽性患者についての下側スパイダープロットにおけるドットの分布の重みは、0%の腫瘍成長についての線より下であり、これは、方法32が主に腫瘍が縮小した患者を同定したことを示している。一方、QCS陰性患者についての上段スパイダープロットにおけるドットの分布の重みは0%ラインを上回っており、これは、方法32が主に腫瘍が成長した患者を同定したことを示している。

20

【0134】

図32は、最大の腫瘍成長から最大の腫瘍縮小まで順序付けられたJ101試験における115名のNSCLC患者のうち105名の臨床応答を示すウォーターフォール棒グラフである。腫瘍成長／縮小の結果は、評価不能（NE）患者10名については示されていない。実線の棒は、0.486以下の正規化膜OD特徴に対する応答スコアを有したQCS陽性患者を示す。斜線ハッチングを有する棒は、正規化膜OD特徴に対する応答スコアが0.486を上回ったQCS陰性患者を示す。棒グラフは、QCS特徴膜（平均OD）／（膜（平均OD）＋細胞質（平均OD）） $\times$ 5についての応答スコアが、ADC処置後に腫瘍が縮小した患者の大部分をQCS陽性として同定し、ADC処置後に腫瘍が成長した患者の大部分をQCS陰性として同定することを示す。

30

【0135】

E. 組み合わせたbSPS及び正規化膜ODスコアの検証

図33は、抗TROP2 ADCに対する癌患者の応答を予測する追加の方法41のステップ42～50のフローチャートである。方法41は、バイナリ空間近接スコアと正規化膜光学密度との組み合わせに基づいて、抗TROP2 ADCを含む療法の有効性を予測する。

40

【0136】

ステップ42では、ADC療法によって標的とされたものと同じタンパク質、この場合はTROP2タンパク質を標的とする診断抗体に連結された色素を使用して染色された癌患者からの組織切片のデジタル画像18が取得される。ステップ43では、画像解決をデジタル画像に対して行って、癌細胞、細胞膜及び細胞質オブジェクトの画像オブジェクトが生成される。ステップ44では、各癌細胞について、膜染色の平均光学密度（OD）及び細胞質染色の平均ODが決定される。ステップ45では、正規化膜光学密度がデジタル画像18内の各癌細胞についてコンピュータ処理され、これは膜染色の平均ODを膜染色の平均OD＋細胞質染色の平均ODの和で割ったものに等しい。ステップ46では、各癌

50

細胞は、(i) 癌細胞の正規化膜光学密度が正規化膜閾値以下である場合に正規化膜陽性、又は(ii) 癌細胞の正規化膜光学密度が正規化膜閾値より大きい場合に正規化膜陰性のいずれかとして同定される。ステップ47では、組織試料は、正規化陽性である癌細胞のパーセンテージが正規化パーセンテージ閾値以上である場合に正規化膜陽性として同定され、正規化陽性である癌細胞のパーセンテージが正規化パーセンテージ閾値未満である場合に正規化膜陰性として同定される。

【0137】

ステップ48では、各癌細胞は、膜染色の平均ODが光学密度閾値以上である場合に光学密度陽性、又は膜染色の平均ODが光学密度閾値未満である場合に光学密度陰性として同定される。ステップ49では、組織試料は、光学密度陽性又は光学密度陰性のいずれかであるが、光学密度陽性癌細胞から所定の距離内にある癌細胞の総パーセンテージが近接パーセンテージ閾値を超える場合に近接陽性として同定される。ステップ50では、組織試料が正規化膜陽性及び近接陽性の両方である場合、抗TROP2 ADCの投与から利益を得る可能性が高い癌患者として同定される。

【0138】

QCSスコアの最適パラメータは、臨床試験データに対して無増悪生存期間(PFS)分析を行うことによって決定した。正規化膜閾値、正規化パーセンテージ閾値、光学密度閾値及び近接パーセンテージ閾値は、TROP2 ADCで処置された115名の訓練患者のコホートの臨床応答と関連していた。したがって、115名のNSCLC患者のコホートを使用して、組み合わせたQCS特徴膜(平均OD) / (膜(平均OD) + 細胞質(平均OD)) $\times$ q5及びバイスタンダー膜(平均OD) $\times$ バイナリ $\times$ r50 $\times$ カット25からの予測応答スコアを検証した。

【0139】

図34は、図33の方法41を使用して、臨床試験の115名のNSCLC患者を80名のQCS陽性患者と35名のQCS陰性患者とに分ける無増悪生存期間のカプラン・マイヤーグラフである。bSPSと正規化膜ODとの組み合わせを使用して達成される2つのカプラン・マイヤー曲線間の層別化の質は、0.00011のログランクp値によって示される。80名のQCS陽性患者のグループは、23.7%の客観的奏効率ORR及び5.45ヶ月の平均無増悪生存期間(mPFS)を示した。35名のQCS陰性患者のグループは、0.03%の客観的奏効率及び2.85ヶ月の平均無増悪生存期間を示した。上側カプラン・マイヤー曲線は、より良好な生存転帰を有する80名の患者のグループを示し、これは、(i) それらの癌細胞の少なくとも5%が0.4864以下の正規化膜光学密度を示し、(ii) 細胞の少なくとも92%が少なくとも25の膜染色の光学密度を示すか、又は25の最小膜染色を示す細胞の50ミクロン以内に位置した患者に対応する。したがって、図33のスコアリング方法41は、151名のJ101肺癌患者のうち80名が抗TROP2 ADC療法から利益を得る可能性が高いと同定した。

【0140】

図33のスコアリング方法41は、ADC療法について80名の患者しか同定しなかったが、図13のbSPSスコアリング方法10は、151名のJ101患者のうち88名がADC療法から利益を得る可能性があると同定した。これは、組み合わされたbSPS及び正規化膜OD QCS特徴が個々の特徴よりも選択的であり、ADC療法から利益を得る可能性がより高い患者を同定することを示す。組み合わされたQCS特徴において使用される少なくとも92%の近接パーセンテージ閾値は、個々の正規化膜OD特徴において使用される少なくとも99.97%の所定の閾値よりも包括的であり、それにもかかわらず、35名のQCS陰性患者は、個々のバイナリ空間的近接特徴によってADC療法から除外された27名のQCS陰性患者のみと比較して、組み合わされたQCS特徴によってADC療法から除外されたことに留意されたい。したがって、患者のより高い割合が、bSPS及び正規化膜ODの組み合わされた特徴に基づくよりも、各個々のQCS特徴に基づくADCから利益を得る可能性が高いと同定される。

【0141】

図35は、図34のカプラン・マイヤー曲線の80名のQCS陽性患者及び35名のQCS陰性患者のスパイダープロットを示す。スパイダープロットの各ドットは、示された日数後に患者の腫瘍が成長又は縮小した割合を示す。スパイダープロットは、QCS陽性についての下部プロットにおける有意により多くのドットが0%の腫瘍成長についての線より下であるのに対して、QCS陰性患者についての上部プロットにおけるドットの分布が0%の線より上に重み付けされていることを示す。

【0142】

図36は、最大の腫瘍成長から最大の腫瘍縮小まで順序付けられたJ101試験における115名のNSCLC患者のうち105名の臨床応答を示すウォーターフォール棒グラフである。腫瘍の成長／縮小の結果は、評価不能(NE)患者10人については示されていない。実線の棒は、染色された組織試料が両方とも正規化膜ODスコアで正規化膜陽性であり、バイナリ空間近接スコアで近接陽性であったQCS陽性患者を示す。斜線ハッチングを有する棒は、染色された組織試料が正規化膜陽性及び近接陽性の両方ではなかったQCS陰性患者を示す。0%腫瘍成長の線より上の棒のほとんどは、QCS陰性患者を示す斜線ハッチングを有するが、0%腫瘍成長の線より下の棒のほとんどは、QCS陽性患者を示す実線の棒である。したがって、棒グラフは、bSPS及び正規化膜ODの組み合わせQCSの特徴により、ADC処置後に腫瘍が縮小した患者の大部分がQCS陽性として同定され、ADC処置後に腫瘍が成長した患者の大部分がQCS陰性として同定されることを示している。

【0143】

本発明は、教示的目的のためのある特定の実施形態と関連して記載されているが、本発明はそれらに限定されない。記載される実施形態の様々な変更形態、改作、及び様々な特徴の組み合わせは、特許請求の範囲に記載される本発明の範囲から逸脱することなく実践され得る。

【図面】

【図1】

【図2】

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVK
VSCKASGYTFTTAGMQWVRQAPGGGLEWMGWINTHSGV
PKYAEDFKGRVTISADTSTSTAYLQLSSLKSEDTAVYY
CARSGFGSSYWYFDVWGGTLTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGQGNVFSQSVMEALH
NHYTQKSLSLSPGK

(配列番号1:抗TROP2抗体
の重鎖のアミノ酸配列)

図1

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDR
VTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT
GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFAVYYCQQHYIT
PLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSLTLSKADYEKKHVVACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

(配列番号2:抗TROP2抗体
の軽鎖のアミノ酸配列)

図2

10

20

30

40

50

【 図 3 】

T A G M Q
(配列番号3:抗TROP2抗体
のCDRH1のアミノ酸配列)
図3

【 図 4 】

W I N T H S G V P K Y A E D F K G
(配列番号4:抗TROP2抗体
のCDRH2のアミノ酸配列)
図4

10

【 図 5 】

S G F G S S Y W Y F D V
(配列番号5:抗TROP2抗体
のCDRH3のアミノ酸配列)
図5

【 図 6 】

K A S Q D V S T A V A
(配列番号6:抗TROP2抗体
のCDRL1のアミノ酸配列)
図6

20

30

40

50

【 図 7 】

SASYRYT
(配列番号7:抗TROP2抗体
のCDRL2のアミノ酸配列)
図7

【 図 8 】

QQHYITPLT
(配列番号8:抗TROP2抗体
のCDRL3のアミノ酸配列)
図8

10

【 図 9 】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQWVR
QAPGGGLEWMGWINTHSGVPKYAEDFKGRVTISADTST
STAYLQLSSLKSEDTAVYYCARSGFGSSYWYFDVWGQG
TLVTVSS
(配列番号9:抗TROP2抗体の
重鎖可変領域のアミノ酸配列)
図9

【 図 1 0 】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDVSTAVAWYQQ
KPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGQGTKLEIKRT
(配列番号10:抗TROP2抗体
の軽鎖可変領域のアミノ酸配列)
図10

20

30

40

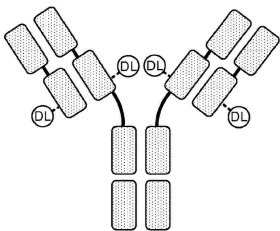
50

【図 1 1】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQWVR
QAPGGGLEWMGWINTHSGVPKYAEDFKGRVTISADTST
STAYLQLSSLKSEDTAVYYCARSGFGSSYWYFDVWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

(配列番号11:抗TROP2抗体
の重鎖のアミノ酸配列)
図11

【図 1 2】



(ヒト化抗TROP2 IgG1 mAb)
図12

【図 1 3】

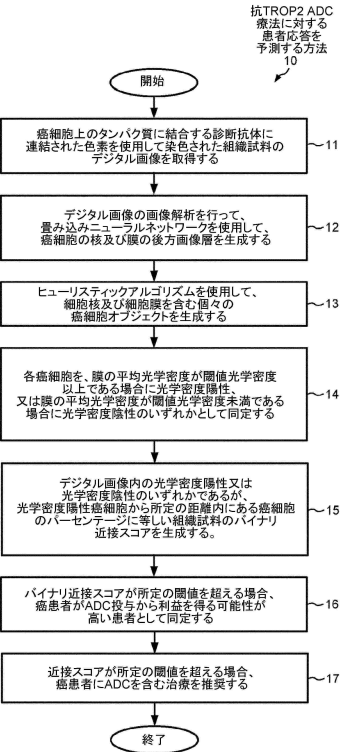


図13

【図 1 4】

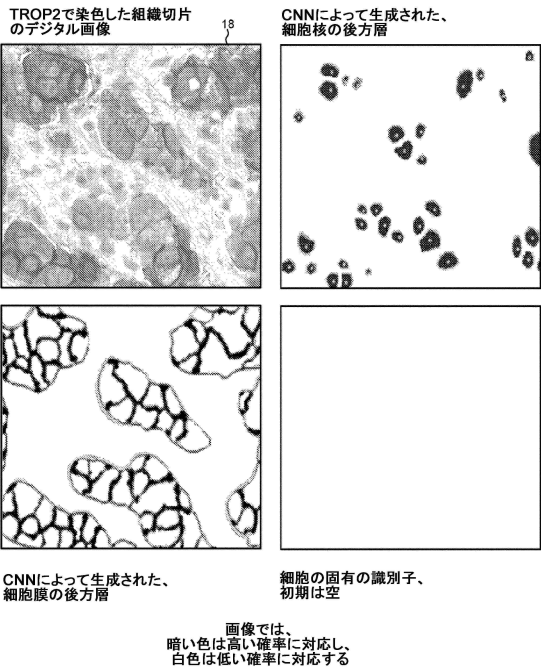
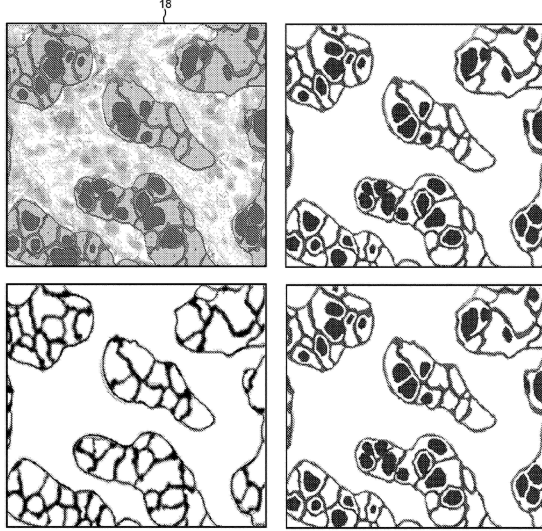


図14

【図 15】

細胞セグメンテーションが各核の領域成長により生じ、次の制限を伴う:
(1)膜後方で下向きに成長しないこと、
(2)細胞境界に対して最小のオブジェクト密度制約を使用すること

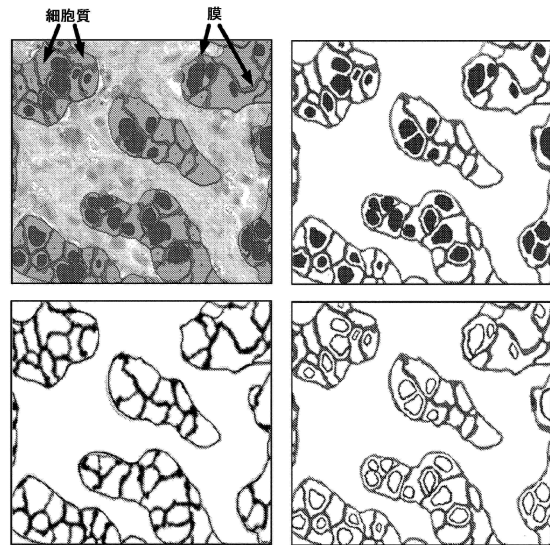


各膜オブジェクトの固有の識別子(UID)は、
関連付けられた核オブジェクトのものと
同一である。

図15

【圖 16】

細胞質及び膜のセグメンテーションが、細胞境界の画素を膜として同定し、次いで、膜後方>20%の画素に膜を領域成長させることにより生じる



核、細胞質及び膜の画素における
細胞の固有の識別子

图16

【図 17】

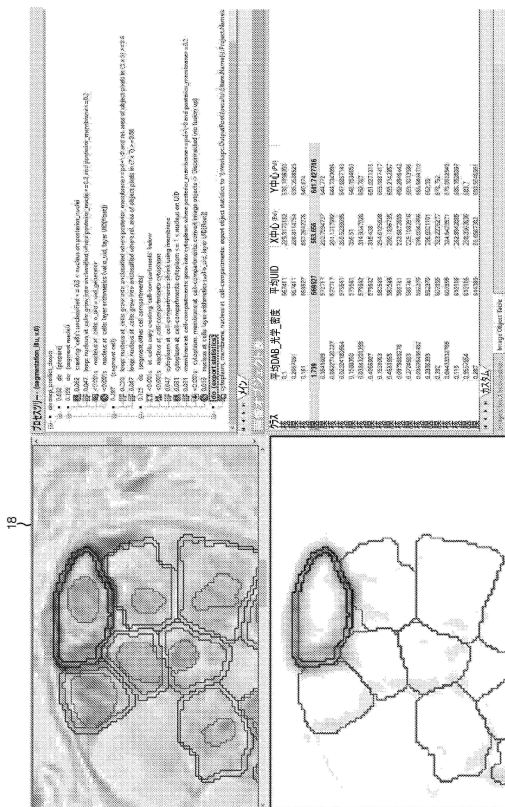
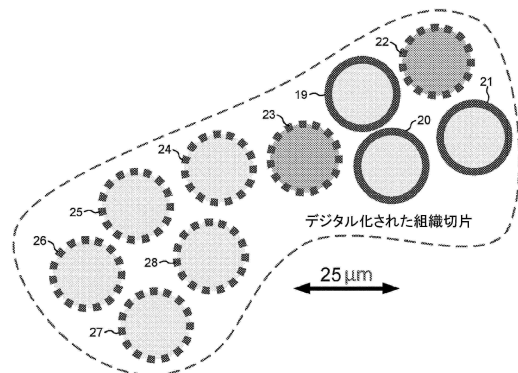


图 17

【圖 18】



- 
 膜素の光学密度の平均が最大スケール220の12以上である腫瘍細胞。
 - 
 膜素の光学密度の平均が12未満であり、膜素の光学密度の平均が約12以上である腫瘍細胞から25μm以内に細胞がある腫瘍細胞
 - 
 膜素の光学密度の平均が12未満である腫瘍細胞

$$\text{bSPS}(r, \text{閾値}) = \frac{(\text{単一細胞光学密度スコアを有する腫瘍細胞数} \geq \text{閾値}) + (\text{単一細胞光学密度スコア} < \text{閾値の両方を有し、単一細胞光学密度スコア} \geq \text{閾値を有する腫瘍細胞から半径} r \text{以内にある腫瘍細胞数})}{(\text{全腫瘍細胞の数})}$$

例えば、上で示されるのは

$$\text{bSPS}(r=25\mu\text{m}, \text{膜OD}_{\text{カット}}=12)=(3+2)/10=0.5=50\%$$

ADCバースタンドー活性を推定するための
バイナリ空間近接スコア(bSPS)

图18

【図 19】

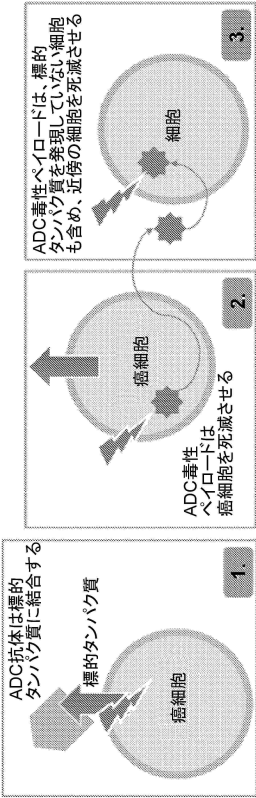


図19

【図 20】

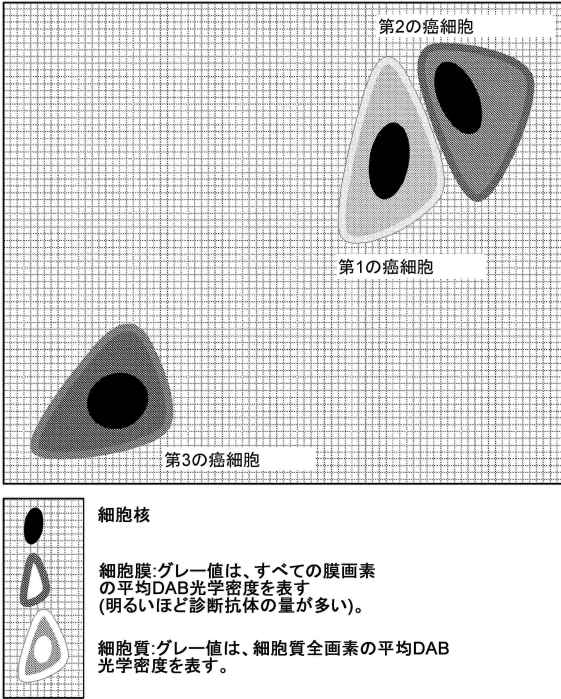


図20

【図 21】

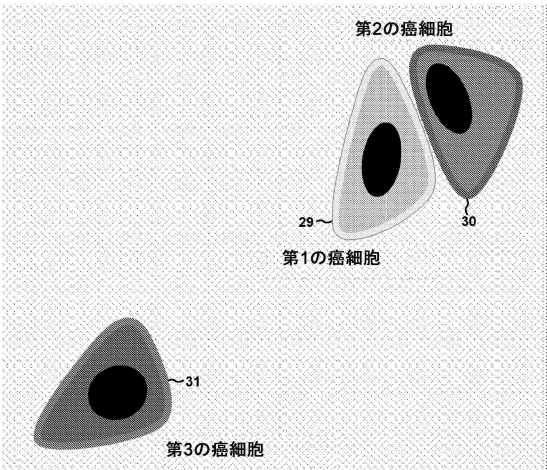


図21

【図 22】

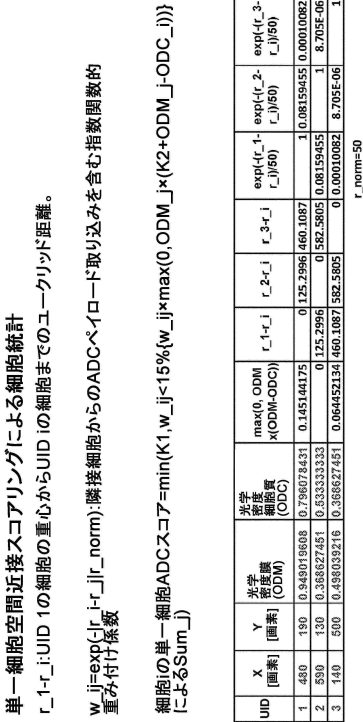


図22

10

20

30

40

50

【 図 2 3 】

各細胞について、癌細胞が機能障害を受けたり死滅したりする可能性を反映するスコアを生成する

単一細胞ADCスコア=細胞膜及び細胞質上の標的タンパク質の量のバイナリ組み合わせのこの細胞と隣接細胞との重み付けの和であり、重みは隣接細胞との細胞との距離に依存する。

スライド上の位置 r_i 及び平均膜(細胞質)光学密度値 $ODM_i(ODC_i)$ を有する細胞 i の数学

単一細胞スコア $=|r_i-r_j|<d\{a_{20}(|r_j-r_i|)\times ODM_j^2+a_{11}(|r_j-r_i|)\times ODM_j\times ODC_j+a_{02}(|r_j-r_i|)\times ODC_j^2+a_{00}(|r_j-r_i|)\}$ による和 j

ここで、関数 a_{ki} は、細胞 i に対する細胞 j の距離 $|r_j-r_i|$ に依存する、
例えば、 $a_{21}(|r_j-r_i|)=A_{21}\times\exp(-|r_j-r_i|/r_{norm})$ であり、 A_{ki} 及び r_{norm} の定数は、最適化された治療成功予測によって決定される。

図23

【 図 2 4 】

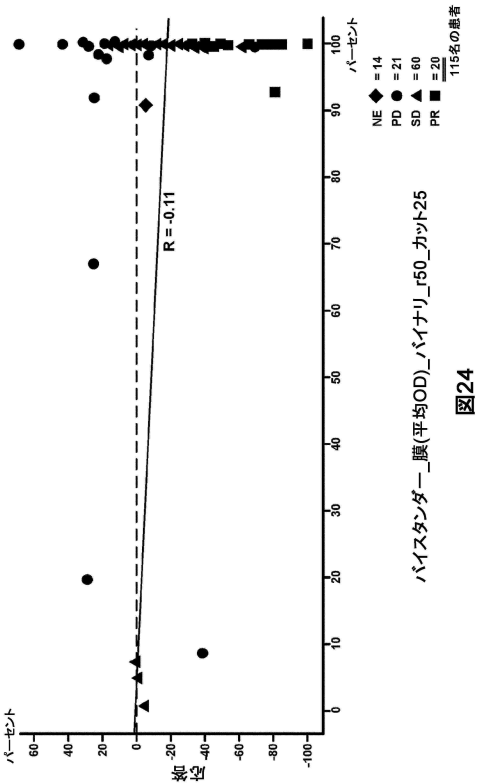


図24

【 図 2 5 】

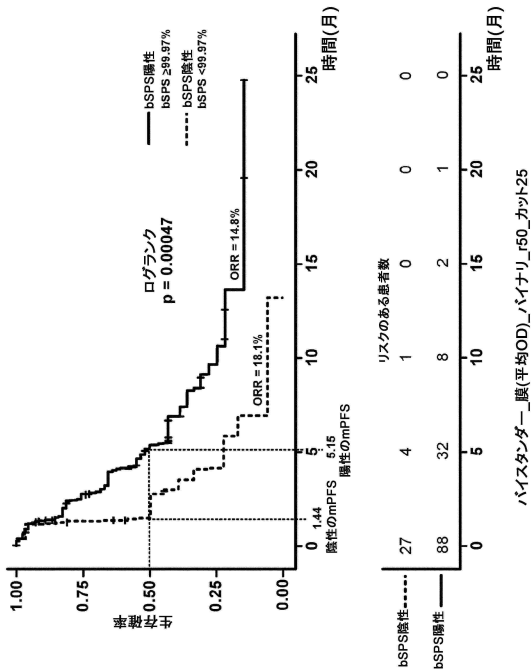


図25

【 図 2 6 】

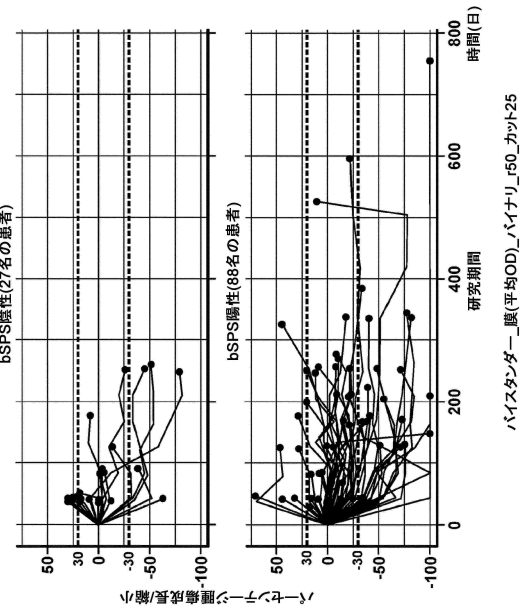


図26

10

20

30

40

50

【図 27】

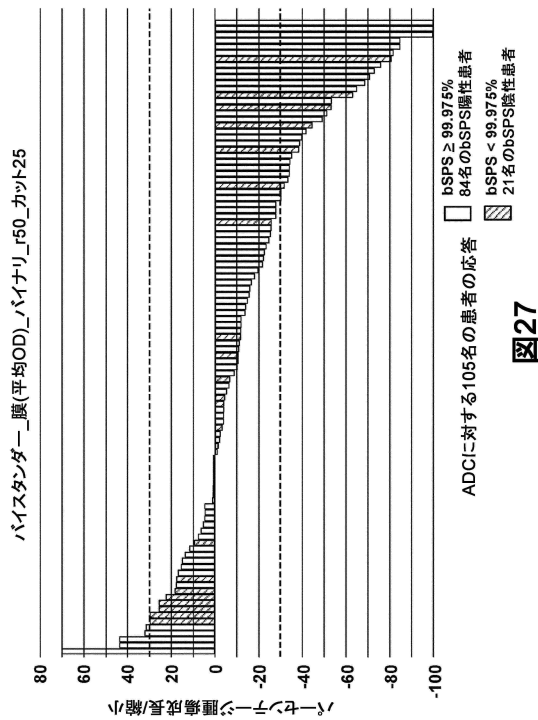


図27

【図 28】

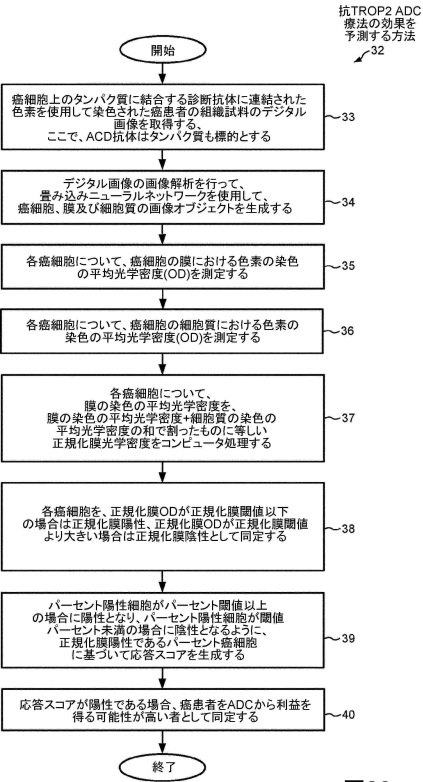


図28

【図 29】

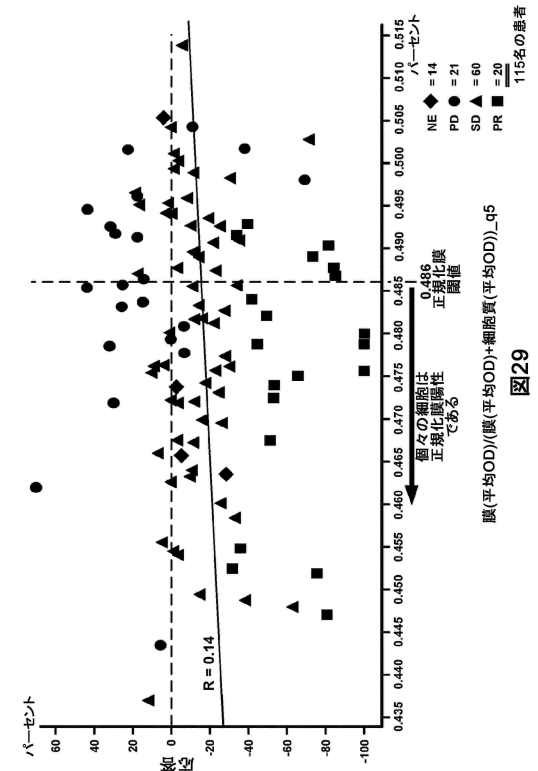


図29

【図 30】

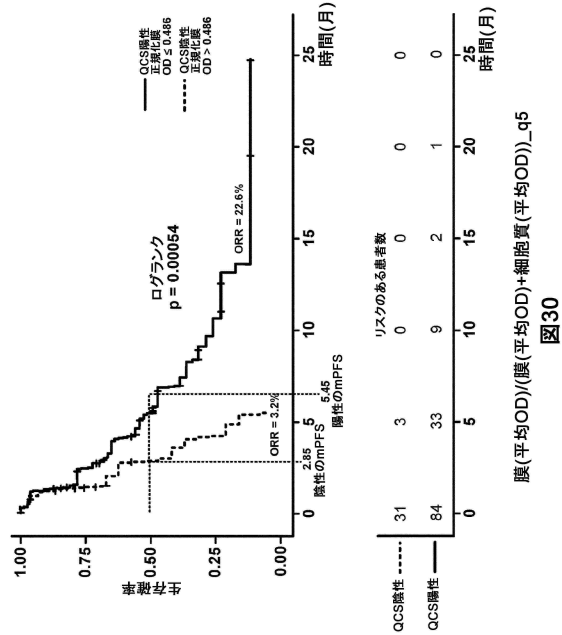
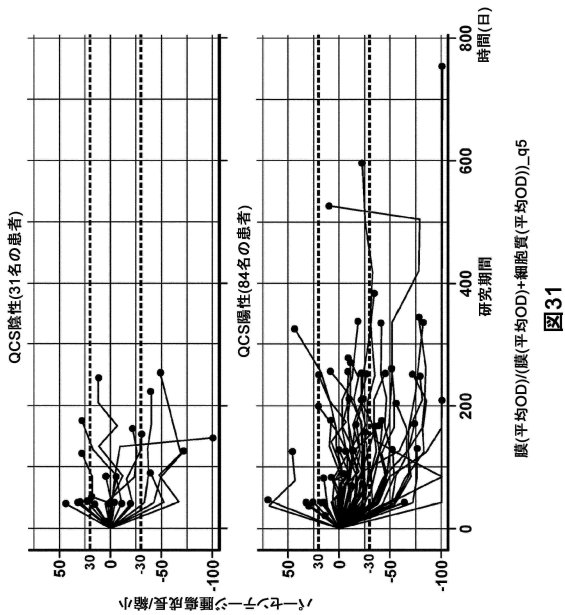
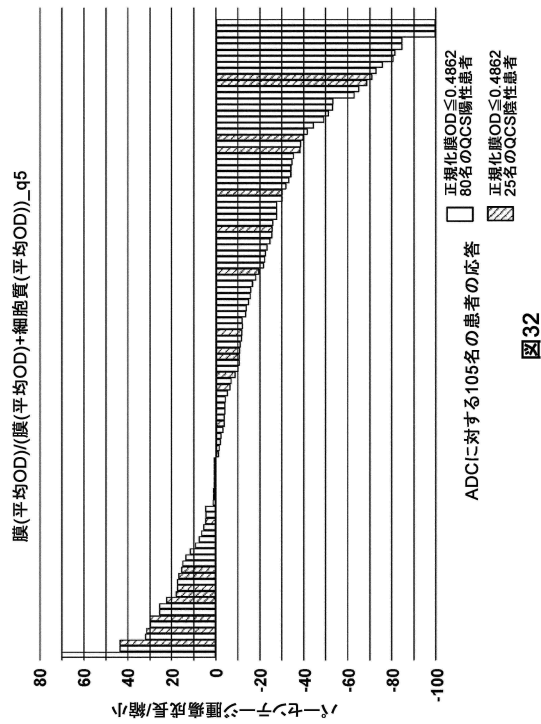


図30

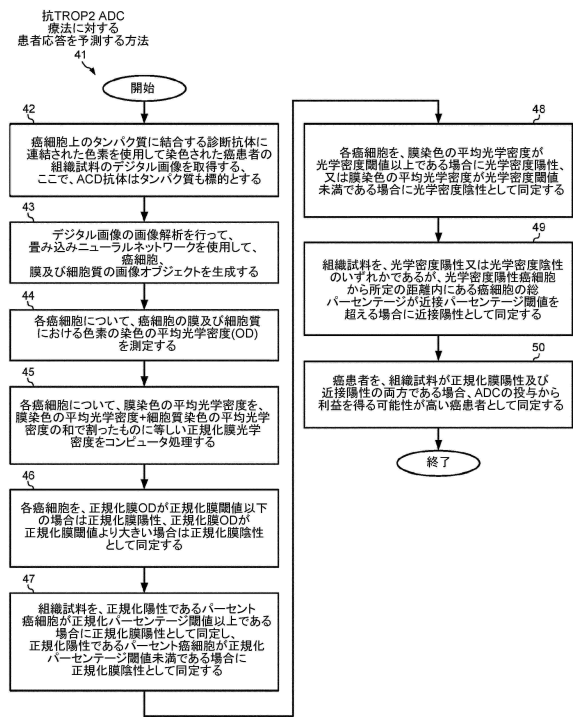
【図 3 1】



【図 3 2】



【図 3 3】



【図 3 4】

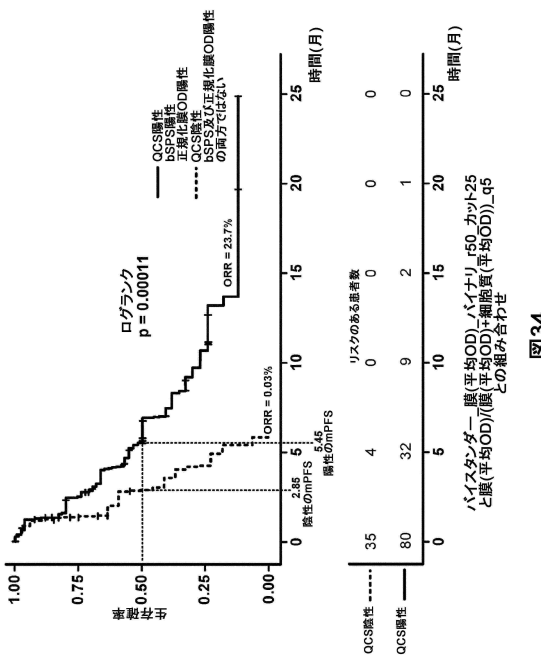


図33

図34

10

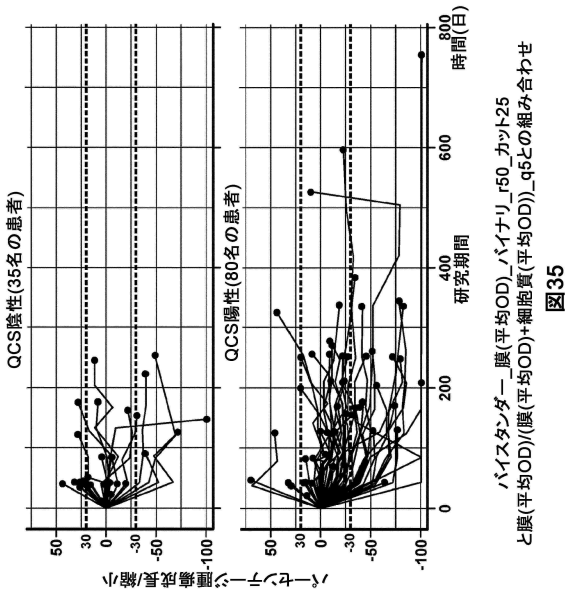
20

30

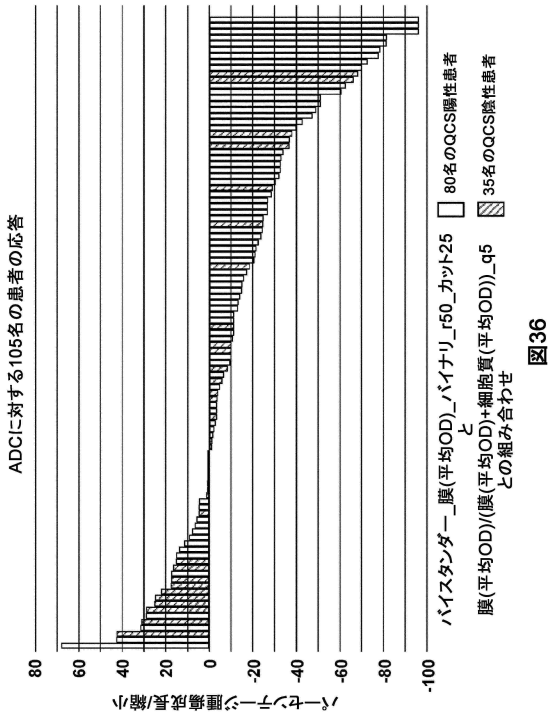
40

50

【図 3 5】



【図 3 6】



【配列表】

2025509564000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2023/052428

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N33/574

ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MAO YUAN ET AL: "The tumor-inhibitory effectiveness of a novel anti-Trop2 Fab conjugate in pancreatic cancer", ONCOTARGET, vol. 7, no. 17, 2016, pages 24810-24823, XP055963935, page 24819, left-hand column, paragraph 2 - paragraph 3 -----	1-114
Y	FEDERICO AMBROGI ET AL: "Trop-2 Is a Determinant of Breast Cancer Survival", PLOS ONE, vol. 9, no. 5, 2014, page e96993, XP055178432, page 9, last paragraph - page 10, paragraph 1 figure 3 ----- -/--	1-114

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

"S" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 June 2023

Date of mailing of the international search report

11/07/2023

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2

NL - 2280 HV Rijswijk

Tel. (+31-70) 340-2040,

Fax: (+31-70) 340-9016

Authorized officer

Gunster, Marco

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2023/052428

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2018/145023 A1 (NOVARTIS AG [CH]; BORDEAUX JENNIFER [US] ET AL.) 9 August 2018 (2018-08-09) claim 15 -----	1-114
Y	EP 3 088 419 A1 (DAIICHI SANKYO CO LTD [JP]; UNIV SAPPORO MEDICAL [JP]) 2 November 2016 (2016-11-02) claims 1-27 -----	1-114
A	GUERRA E ET AL: "Trop-2 induces ADAM10-mediated cleavage of E-cadherin and drives EMT-less metastasis in colon cancer", NEOPLASIA, vol. 23, no. 9, 2021, pages 898-911, XP055978367, the whole document -----	1-114
A	WO 2007/095749 A1 (ARIUS RES INC [CA]) 30 August 2007 (2007-08-30) claims 49-60 -----	25-28
A	DAVID M GOLDENBERG ET AL: "The emergence of trophoblast cell-surface antigen 2 (TROP-2) as a novel cancer target", ONCOTARGET, vol. 9, no. 48, 2018, pages 28989-29006, XP055699469, page 28999 - page 29000; figure 3 -----	1-114
A	WO 2015/088930 A1 (MERCK SHARP & DOHME [US]; PIERCE ROBERT H [US] ET AL.) 18 June 2015 (2015-06-18) claims 1-13 -----	1
A	WO 2017/139623 A1 (IMMUNOMEDICS INC [US]) 17 August 2017 (2017-08-17) paragraph [0340]; claims 1-49 -----	2
A	WO 2016/210108 A1 (IMMUNOMEDICS INC [US]) 29 December 2016 (2016-12-29) paragraph [0381] -----	29
A	WO 2013/171777 A2 (ALBERTI SAVERIO [IT]) 21 November 2013 (2013-11-21) claims 1, 3 -----	1-114

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2023/052428
Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)). ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2023/052428

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018145023 A1	09-08-2018	CN 110461342 A	15-11-2019
		EP 3576757 A1	11-12-2019
		ES 2885178 T3	13-12-2021
		JP 7162600 B2	28-10-2022
		JP 2020509351 A	26-03-2020
		JP 2023017777 A	07-02-2023
		US 2020049714 A1	13-02-2020
		WO 2018145023 A1	09-08-2018
EP 3088419 A1	02-11-2016	AU 2014371934 A1	07-07-2016
		AU 2020202305 A1	23-04-2020
		AU 2023200883 A1	16-03-2023
		BR 112016013704 A2	03-10-2017
		CA 2933666 A1	02-07-2015
		CN 105849126 A	10-08-2016
		CN 111228510 A	05-06-2020
		CY 1121246 T1	29-05-2020
		DK 3088419 T3	28-01-2019
		EP 3088419 A1	02-11-2016
		EP 3424955 A1	09-01-2019
		ES 2703903 T3	13-03-2019
		HR P20190056 T1	22-02-2019
		HU E042512 T2	29-07-2019
		IL 267618 A	29-08-2019
		IL 291446 A	01-05-2022
		JP 6130517 B2	17-05-2017
		JP 6449366 B2	09-01-2019
		JP 6832907 B2	24-02-2021
		JP 7030909 B2	07-03-2022
		JP 7259104 B2	17-04-2023
		JP 2017197523 A	02-11-2017
		JP 2019069951 A	09-05-2019
		JP 2020188801 A	26-11-2020
		JP 2022084608 A	07-06-2022
		JP 2023085465 A	20-06-2023
		JP WO2015098099 A1	23-03-2017
		KR 20160101915 A	26-08-2016
		KR 20190006087 A	16-01-2019
		KR 20200028047 A	13-03-2020
		KR 20210041105 A	14-04-2021
		KR 20210100207 A	13-08-2021
		KR 20220009500 A	24-01-2022
		KR 20220068269 A	25-05-2022
		KR 20220132020 A	29-09-2022
		KR 20230018530 A	07-02-2023
		KR 20230078820 A	02-06-2023
		LT 3088419 T	27-12-2018
		NZ 721213 A	23-12-2022
		PH 12016501233 A1	15-08-2016
		PH 12020551943 A1	07-06-2021
		PL 3088419 T3	29-03-2019
		PT 3088419 T	11-01-2019
		RU 2016130095 A	30-01-2018
		RU 2019134399 A	22-11-2019
		SG 10201902571V A	29-04-2019
		SG 11201605215Y A	30-08-2016
		SI 3088419 T1	31-01-2019
		TR 201900176 T4	21-02-2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2023/052428

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
		TW 201609151 A	16-03-2016	
		TW 201840340 A	16-11-2018	
		TW 202108181 A	01-03-2021	
		TW 202310879 A	16-03-2023	
		US 2016297890 A1	13-10-2016	
		US 2018094073 A1	05-04-2018	
		US 2019144559 A1	16-05-2019	
		US 2021238303 A1	05-08-2021	
		WO 2015098099 A1	02-07-2015	

WO 2007095749	A1	30-08-2007	AU 2007218961 A1	30-08-2007
			AU 2007218962 A1	30-08-2007
			CA 2643561 A1	30-08-2007
			CA 2643603 A1	30-08-2007
			CN 101426904 A	06-05-2009
			CN 101432422 A	13-05-2009
			EP 1996700 A1	03-12-2008
			EP 1996701 A1	03-12-2008
			JP 2009527230 A	30-07-2009
			JP 2009528995 A	13-08-2009
			US 2007202043 A1	30-08-2007
			US 2007202113 A1	30-08-2007
			US 2009142263 A1	04-06-2009
			US 2009191118 A1	30-07-2009
			WO 2007095748 A1	30-08-2007
			WO 2007095749 A1	30-08-2007

WO 2015088930	A1	18-06-2015	EP 3079772 A1	19-10-2016
			US 2016305947 A1	20-10-2016
			US 2019219585 A1	18-07-2019
			WO 2015088930 A1	18-06-2015

WO 2017139623	A1	17-08-2017	CA 3011372 A1	17-08-2017
			CN 108601841 A	28-09-2018
			CN 115969970 A	18-04-2023
			EP 3413914 A1	19-12-2018
			US 2017224837 A1	10-08-2017
			US 2019248917 A1	15-08-2019
			WO 2017139623 A1	17-08-2017

WO 2016210108	A1	29-12-2016	AU 2016281622 A1	09-11-2017
			CA 2983597 A1	29-12-2016
			CN 107735104 A	23-02-2018
			CN 114796500 A	29-07-2022
			CN 114796501 A	29-07-2022
			EP 3313443 A1	02-05-2018
			IL 256150 A	28-02-2018
			JP 6980980 B2	15-12-2021
			JP 2018520140 A	26-07-2018
			JP 2021185187 A	09-12-2021
			WO 2016210108 A1	29-12-2016

WO 2013171777	A2	21-11-2013	AU 2013261018 A1	04-12-2014
			CA 2873017 A1	21-11-2013
			CN 104395754 A	04-03-2015
			EP 2850433 A2	25-03-2015
			JP 2015524051 A	20-08-2015
			US 2021311061 A1	07-10-2021

Information on patent family members

PCT/IB2023/052428

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		WO 2013171777 A2	21-11-2013

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 P 35/02 (2006.01)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)
A 6 1 K 31/4745(2006.01)

A 6 1 K 39/395
A 6 1 P 35/02
C 0 7 K 16/28
C 1 2 N 15/13
A 6 1 K 31/4745

T

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

(74)代理人 100162503

弁理士 今野 智介

(74)代理人 100144794

弁理士 大木 信人

(74)代理人 100204582

弁理士 大栗 由美

(74)代理人 100155125

弁理士 池田 直俊

(72)発明者 スピッツミュラー, アンドレア

ドイツ連邦共和国 8 3 0 5 2 ブルックミュレ, タンネンヴェーク 1 2

(72)発明者 シュミット, ギュンター

ドイツ連邦共和国 8 0 9 9 9 ミュンヘン, ベーリングシュトラッセ 9 3

(72)発明者 トリルシュ, ニコラス

ドイツ連邦共和国 8 1 6 6 7 ミュンヘン, オルレアンシュトラッセ 3 1

(72)発明者 カピル, アンシュ

ドイツ連邦共和国 8 0 3 3 9 ミュンヘン, アスタラーシュトラッセ 1 0

F ターム (参考) 2G045 AA26 CB02 DA36 FA13 FA16 FA19 FB01 FB03 FB07

4C076 AA95 BB14 BB15 BB16 CC27 CC41 EE59

4C085 AA14 AA23 AA26 BB01 BB11 BB36 EE01 GG02 GG04 GG05
GG06

4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA13 ZB26

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA72 CA40 DA76 EA28 FA74