

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-536834
(P2009-536834A)

(43) 公表日 平成21年10月22日(2009.10.22)

| (51) Int.Cl. | F 1 | | テーマコード (参考) |
|-------------------------|---------------|---------|-------------|
| C 12 Q 1/68 (2006.01) | C 12 Q 1/68 | Z N A A | 2 G 04 5 |
| C 12 N 15/09 (2006.01) | C 12 N 15/00 | A | 4 B 02 4 |
| A 61 P 35/00 (2006.01) | A 61 P 35/00 | | 4 B 06 3 |
| A 61 P 43/00 (2006.01) | A 61 P 43/00 | 1 1 1 | 4 C 08 4 |
| A 61 K 39/395 (2006.01) | A 61 K 39/395 | T | 4 C 08 5 |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 40 頁) 最終頁に続く

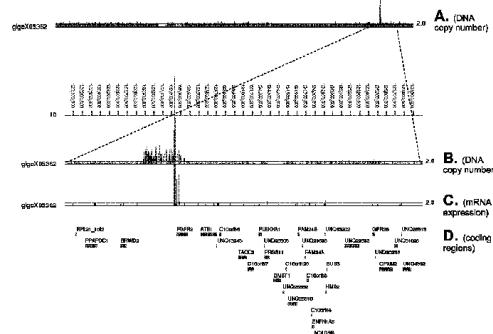
| | | | |
|---------------|------------------------------|----------|---|
| (21) 出願番号 | 特願2009-511179 (P2009-511179) | (71) 出願人 | 596168317 ジェネンテック・インコーポレーテッド GENENTECH, INC. アメリカ合衆国カリフォルニア・94080-4990・サウス・サン・フランシスコ・ディーエヌエー・ウェイ・1 |
| (86) (22) 出願日 | 平成19年5月11日 (2007.5.11) | (74) 代理人 | 100109726 弁理士 園田 吉隆 |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成21年1月9日 (2009.1.9) | (74) 代理人 | 100101199 弁理士 小林 義教 |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US2007/068737 | (72) 発明者 | チャント, ジョン アメリカ合衆国 カリフォルニア 94030, ミルブレー, トゥオルミ コート 1170 |
| (87) 国際公開番号 | W02007/134210 | | |
| (87) 国際公開日 | 平成19年11月22日 (2007.11.22) | | |
| (31) 優先権主張番号 | 60/799,772 | | |
| (32) 優先日 | 平成18年5月12日 (2006.5.12) | | |
| (33) 優先権主張国 | 米国(US) | | |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】癌の診断及び治療のための方法及び組成物

(57) 【要約】

F G F R 2 遺伝子の増幅又は過剰発現を伴う結腸直腸癌の診断と治療のための方法と組成物が提供される。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する方法であって、該哺乳動物の被験結腸直腸試料においてコントロール試料に対して F G F R 2 遺伝子が増幅されているかどうかを検出することを含み、 F G F R 2 遺伝子の増幅が該哺乳動物における結腸直腸癌の存在を示す方法。

【請求項 2】

F G F R 2 遺伝子が増幅されているかどうかの決定が、 F G F R 2 遺伝子のコピー数が少なくとも 5 倍増加しているかどうかを検出することを含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する方法であって、該哺乳動物の被験結腸直腸試料中における F G F R 2 遺伝子の発現を検出することを含み、コントロール試料に対して被験結腸直腸試料中における F G F R 2 遺伝子発現の高いレベルが、該哺乳動物における結腸直腸癌の存在を示す方法。

【請求項 4】

F G F R 2 遺伝子の発現の検出が、 F G F R 2 遺伝子からの m R N A 転写のレベルを決定することを含む請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

高レベルの F G F R 2 発現が、コントロール試料に対して被験結腸直腸試料中における F G F R 2 遺伝子からの m R N A 転写に少なくとも 5 倍の増加を含む請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

F G F R 2 遺伝子の発現の検出が、 F G F R 2 のレベルを決定することを含む請求項 3 に記載の方法。

【請求項 7】

F G F R 2 遺伝子の発現の検出が、被験結腸直腸試料を抗 F G F R 2 抗体に接触させ、被験結腸直腸試料中における F G F R 2 の発現レベルを、 F G F R 2 への抗 F G F R 2 抗体の結合を検出することにより決定することを含む請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

高レベルの F G F R 2 発現が F G F R 2 レベルの少なくとも 5 倍の増加を含む請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

結腸直腸癌細胞の増殖を阻害する方法であって、 F G F R 2 アンタゴニストに細胞をさらすことを含む方法。

【請求項 10】

F G F R 2 アンタゴニストが抗 F G F R 2 抗体である請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

抗 F G F R 2 抗体が F G F R 2 の細胞外ドメインに結合する請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

抗 F G F R 2 抗体が抗体断片である請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

抗 F G F R 2 抗体がキメラ又はヒト化抗体である請求項 10 に記載の方法。

【請求項 14】

抗 F G F R 2 抗体がヒト抗体である請求項 10 に記載の方法。

【請求項 15】

F G F R 2 アンタゴニストが、 F G F R 2 に結合する有機分子である請求項 9 に記載の方法。

【請求項 16】

F G F R 2 アンタゴニストが、 F G F R 2 に結合するオリゴペプチドである請求項 9 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

F G F R 2 アンタゴニストが F G F R 2 の可溶型である請求項 9 に記載の方法。

【請求項 18】

F G F R 2 アンタゴニストが、F G F R 2 をコードする核酸に結合しその発現を減少させる 10 - 30 ヌクレオチド長のアンチセンス核酸である請求項 9 に記載の方法。

【請求項 19】

結腸直腸癌細胞の増殖を阻害する方法であって、(a) 細胞障害性抗 F G F R 2 抗体又は(b) 抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体に細胞をさらすことを含む方法。

【請求項 20】

該方法が細胞障害性抗 F G F R 2 抗体に細胞をさらすことを含む請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

該方法が抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体に細胞をさらすことを含む請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

細胞障害剤がメイタンシノイド又はオーリスタチンである請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

F G F R 2 遺伝子の増幅又は過剰発現を伴う結腸直腸癌の治療方法であって、F G F R 2 アンタゴニストを含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む方法。

【請求項 24】

F G F R 2 アンタゴニストが抗 F G F R 2 抗体である請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

抗 F G F R 2 抗体が F G F R 2 の細胞外ドメインに結合する請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

抗 F G F R 2 抗体が抗体断片である請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】

抗 F G F R 2 抗体がキメラ又はヒト化抗体である請求項 24 に記載の方法。

【請求項 28】

抗 F G F R 2 抗体がヒト抗体である請求項 24 に記載の方法。

【請求項 29】

F G F R 2 アンタゴニストが、F G F R 2 に結合する有機分子である請求項 23 に記載の方法。

【請求項 30】

F G F R 2 アンタゴニストが、F G F R 2 に結合するオリゴペプチドである請求項 23 に記載の方法。

【請求項 31】

F G F R 2 アンタゴニストが F G F R 2 の可溶型である請求項 23 に記載の方法。

【請求項 32】

F G F R 2 アンタゴニストが、F G F R 2 をコードする核酸に結合しその発現を減少させる 10 - 30 ヌクレオチド長のアンチセンス核酸である請求項 23 に記載の方法。

【請求項 33】

結腸直腸癌の増幅又は過剰発現を伴う結腸直腸癌の治療方法であって、(a) 細胞障害性抗 F G F R 2 抗体又は(b) 抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む方法。

【請求項 34】

細胞障害性抗 F G F R 2 抗体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

10

20

30

40

50

抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 6】

細胞障害剤がメイタンシノイド又はオーリスタチンである請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

結腸直腸癌の個体が F G F R 2 又は F G F R 2 遺伝子を標的とする治療剤に応答するかどうかを決定する方法であって、 F G F R 2 遺伝子が結腸直腸癌において増幅されるかどうかを決定することを含み、 F G F R 2 遺伝子の増幅が、個体が治療剤に応答することを示す方法。

【請求項 3 8】

治療剤が (a) F G F R 2 抗体、 (b) 細胞障害性抗 F G F R 2 抗体、又は (c) 抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体である請求項 3 7 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

この出願は、開示の全体が出典明示によりここに援用される 2 0 0 6 年 5 月 1 2 日出願の米国仮出願第 6 0 / 7 9 9 7 7 2 号の優先権を主張する。

【0 0 0 2】

本発明は、遺伝子増幅を伴っている癌の診断及び治療のための方法及び組成物に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

癌は、増殖し、ある環境下で隣接組織に浸潤し、最終的に血液又はリンパ系を介して転移する正常な組織から誘導された異常な、又は腫瘍形成性の細胞の数の増加を特徴とする。遺伝子発現の変化は制御不能な細胞増殖及び脱分化に密接に関連しており、これは癌に共通する特徴である。ある種の癌はある種の遺伝子、例えばオンコジーンの過剰発現によって特徴付けられる。癌細胞における遺伝子過剰発現の良く知られたメカニズムは遺伝子増幅である。遺伝子増幅は、細胞の染色体において一又は複数の遺伝子の多重コピーが生成されるプロセスである。ある例では、該プロセスは、その遺伝子を含む染色体領域の計画性のない複製と、続く複製セグメントが染色体へ戻る組換えを含む (Alitalo等, Adv. Cancer Res. 47: 235-281 [1986])。ある場合には、遺伝子の過剰発現は、遺伝子増幅に相関する、つまり作製されるコピーの数に比例する。

【0 0 0 4】

ある種のプロトオンコジーン、例えば成長因子及び成長因子レセプターをコードするものの増幅及び/又は過剰発現は、様々なヒトの悪性腫瘍の原因に重要な役割を担っている。ある場合には、増幅及び/又は過剰発現は、癌のより悪性の形態に伴い、よって臨床的結果の手掛かりとして作用しうる (Schwab等, Genes Chromosome Cancer, 1 : 181-193 [1990] ; 上掲のAlitalo等)。例えば、上皮成長因子レセプター E G F R に関連した 1 8 5 - k d の膜貫通糖タンパク質レセプター (p 1 8 5 ^{H E R} 2 又は H E R 2) をコードするヒト e r b B 2 遺伝子 (h e r 2 又は c - e r b B - 2 としても知られている) は、ヒトの乳癌の約 2 5 % ~ 3 0 % で過剰発現されている (Slamon等, Science, 235:177-182[1987] ; Slamon等, Science, 244:707-712[1989])。e r b B 2 の過剰発現は、特に腋窩のリンパ節に関与する原発性疾患を持つ患者において、不完全な予後の前兆と考えられる (上掲のSlamon等, [1987] 及び [1989] ; Ravdin及びChamness, Gene, 159: 19-27 [1995] ; 及びHynes及びStern, Biochem Biophys Acta, 1198: 165-184 [1994])。e r b B 2 の過剰発現は、あるホルモン療法及び C M F (シクロホスファミド、メトトレキセート、及びフルオロウラシル) を含む化学治療薬に対する感受性及び/又は耐性とまた関連付けられていた (Baselga等, Oncology, 11 (3 Suppl 1): 43-48 [1997])。しかしながら、e r b B 2 を過剰発現する患者はタキサンでの治療に対して大きな応答を示している。同文献。

【0 0 0 5】

10

20

30

40

50

erbB2の過剰発現は標的の乳癌治療に対する基礎を提供した。組換えヒト化抗erbB2（抗HER2）モノクローナル抗体（ハーセブチンTM、Genentech社）は、erbB2を過剰発現する転移性乳癌の患者の治療に成功裡に使用されている。（Baselga等、J. Clin. Oncol., 14: 737-744[1996]）。

癌の診断及び治療における増幅遺伝子及びその遺伝子産物を標的とする組成物及び方法に対する絶えない必要性が存在する。

【0006】

結腸直腸癌の診断及び／又は治療に対する組成物及び方法に対する絶えない必要性がまた存在する。2000年には56000人を越える人々が結腸直腸癌で死亡した。Holen及びKemeny (2002) "Colorectal Cancer: Epidemiology and Treatment," Encyclopedia of Cancer, vol.2 (Elsevier Science, USA, p1-8を参照のこと。合衆国では毎年およそ110000の大腸癌と診断された新症例があり、これは癌全体のおよそ15%を占めている。同文献。合衆国では毎年およそ45000の直腸癌と診断された新症例があり、これは癌全体のおよそ30%を占めている。同文献。

10

ここに記載される発明は上述の必要性に合致し他の恩恵をもたらす。

【発明の概要】

【0007】

一態様では、FGFR2遺伝子の増幅及び／又は過剰発現を伴う結腸直腸癌の診断及び治療のために提供される。

20

一態様では、哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する方法であって、該哺乳動物の被験結腸直腸試料においてコントロール試料に対してFGFR2遺伝子が増幅されているかどうかを検出することを含み、FGFR2遺伝子の増幅が該哺乳動物における結腸直腸癌の存在を示す方法が提供される。一実施態様では、FGFR2遺伝子が増幅されているかどうかの決定が、FGFR2遺伝子のコピー数が少なくとも5倍増加しているかどうかを検出することを含む。

【0008】

他の態様では、哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する方法であって、該哺乳動物の被験結腸直腸試料中におけるFGFR2遺伝子の発現を検出することを含み、コントロール試料に対して被験結腸直腸試料中におけるFGFR2遺伝子発現の高いレベルが、該哺乳動物における結腸直腸癌の存在を示す方法が提供される。一実施態様では、FGFR2遺伝子の発現の検出が、FGFR2遺伝子からのmRNA転写のレベルを決定することを含む。一実施態様では、高レベルのFGFR2発現が、コントロール試料に対して被験結腸直腸試料中におけるFGFR2遺伝子からのmRNA転写に少なくとも5倍の増加を含む。一実施態様では、FGFR2遺伝子の発現の検出が、FGFR2のレベルを決定することを含む。一実施態様では、FGFR2遺伝子の発現の検出が、被験結腸直腸試料を抗FGFR2抗体に接触させ、被験結腸直腸試料中におけるFGFR2の発現レベルを、FGFR2への抗FGFR2抗体の結合を検出することにより決定することを含む。一実施態様では、高レベルのFGFR2発現がFGFR2レベルの少なくとも5倍の増加を含む。

30

【0009】

他の態様では、結腸直腸癌細胞の増殖を阻害する方法であって、FGFR2アンタゴニストに細胞をさらすことを含む方法が提供される。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが抗FGFR2抗体である。一実施態様では、抗FGFR2抗体がFGFR2の細胞外ドメインに結合する。一実施態様では、抗FGFR2抗体が抗体断片である。一実施態様では、抗FGFR2抗体がキメラ又はヒト化抗体である。一実施態様では、抗FGFR2抗体がヒト抗体である。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが、FGFR2に結合する有機分子である。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが、FGFR2に結合するオリゴペプチドである。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストがFGFR2の可溶型である。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが、FGFR2をコードする核酸に結合しその発現を減少させる10-30ヌクレオチド長のアンチセンス核酸

40

50

である。

【0010】

他の態様では、結腸直腸癌細胞の増殖を阻害する方法であって、(a)細胞障害性抗FGFR2抗体又は(b)抗FGFR2抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体に細胞をさらすことを含む方法が提供される。一実施態様では、該方法は細胞障害性抗FGFR2抗体に細胞をさらすことを含む。一実施態様では、該方法は抗FGFR2抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体に細胞をさらすことを含む。一実施態様では、細胞障害剤がメイタンシノイド又はオーリスタチンである。

【0011】

他の態様では、FGFR2遺伝子の増幅又は過剰発現を伴う結腸直腸癌の治療方法であって、FGFR2アンタゴニストを含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む方法が提供される。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが抗FGFR2抗体である。一実施態様では、抗FGFR2抗体がFGFR2の細胞外ドメインに結合する。一実施態様では、抗FGFR2抗体が抗体断片である。一実施態様では、抗FGFR2抗体がキメラ又はヒト化抗体である。一実施態様では、抗FGFR2抗体がヒト抗体である。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが、FGFR2に結合する有機分子である。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが、FGFR2に結合するオリゴペプチドである。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストがFGFR2の可溶型である。一実施態様では、FGFR2アンタゴニストが、FGFR2をコードする核酸に結合しその発現を減少させる10-30ヌクレオチド長のアンチセンス核酸である。

10

20

30

【0012】

他の態様では、FGFR2遺伝子の増幅又は過剰発現を伴う結腸直腸癌の治療方法であって、(a)細胞障害性抗FGFR2抗体又は(b)抗FGFR2抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む方法が提供される。一実施態様では、細胞障害性抗FGFR2抗体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む。一実施態様では、該方法は、抗FGFR2抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む。一実施態様では、細胞障害剤はメイタンシノイド又はオーリスタチンである。

【0013】

他の態様では、結腸直腸癌の個体がFGFR2又はFGFR2遺伝子を標的とする治療剤に応答するかどうかを決定する方法であって、FGFR2遺伝子が結腸直腸癌において増幅されるかどうかを決定することを含み、FGFR2遺伝子の増幅が、個体が治療剤に応答することを示す方法が提供される。一実施態様では、治療剤が(a)FGFR2抗体、(b)細胞障害性抗FGFR2抗体、又は(c)抗FGFR2抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体から選択される。

40

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】図1は特定の結腸直腸腫瘍試料中のFGFR2遺伝子のDNAコピー数及びmRNA発現の解析を示す。

【発明を実施するための形態】

【0015】

遺伝子増幅を伴う癌の診断と治療のための方法及び組成物が提供される。一実施態様では、本発明は、FGFR2遺伝子の増幅及び/又は過剰発現を伴う結腸直腸癌の治療のための方法及び組成物を提供する。

【0016】

I. 定義

「遺伝子増幅」及び「遺伝子複製」なる語句(及び「遺伝子の増幅」又は「遺伝子の複製」のような変形例)は交換可能に用いられ、遺伝子又は遺伝子断片の複数のコピーが特定の細胞又は細胞系で形成されるプロセスを意味する。複製された領域(増幅されたDN

50

Aのストレッチ)は、しばしば「アンプリコン」と呼ばれる。通常は、生成されるメッセンジャーRNA(mRNA)の量、つまり遺伝子発現レベルも、特定遺伝子の作成されたコピー数に比例して増加する。

ここで用いられる「FGFR2」なる用語は、特段の記載がない場合には、靈長類(例えばヒト及びサル)及び齧歯類(例えばマウス及びラット)のような哺乳動物を含む任意の脊椎動物源由来の任意の天然線維芽細胞増殖因子レセプター2を意味する。該用語は「完全長」の未加工FGFR2並びに細胞中のプロセシングから生じる任意の形態のFGFR2を包含する。該用語はまたFGFR2の少なくとも一つの生物学的活性を維持する天然FGFR2の断片又は変異体を包含する。

【0017】

10

「細胞増殖性疾患」及び「増殖性疾患」なる用語は、ある程度の異常な細胞増殖を伴う疾患を意味する。一実施態様では、細胞増殖性疾患は癌である。

ここで用いられる「腫瘍」は、悪性又は良性に関わらず、全ての腫瘍形成細胞成長及び増殖、及び全ての前癌性及び癌性細胞及び組織を意味する。「癌」、「癌性」、「細胞増殖性疾患」及び「腫瘍」なる用語はここに言及される場合は相互に排他的ではない。

【0018】

20

「癌」及び「癌性」なる用語は、典型的には調節されない細胞成長／増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか記述する。癌の例には、限定されるものではないが、細胞腫、リンパ腫(例えばホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫)、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれる。このような癌のより特定の例には、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、肺の扁平上皮細胞癌、腹膜の癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、神経膠腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、大腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝癌、白血病及び他のリンパ球増殖性疾患、及び様々なタイプの頭頸部癌が含まれる。

【0019】

「結腸直腸癌」なる用語は、大腸(盲腸から直腸までの大腸)及び直腸を含む大腸の任意の癌を意味する。

30

「新生物」又は「新生物細胞」なる用語は、対応する正常組織又は細胞よりもより速やかに増殖し、増殖を開始させた刺激の除去後も増殖を続ける異常な組織又は細胞を意味する。

「結腸直腸癌細胞」はインビオであれインビトロであれ大腸癌細胞又は結腸癌細胞を意味し、結腸直腸癌細胞から誘導された細胞株を包含する。

【0020】

ここで使用される場合、「治療」(及び「治療する」又は「治療している」のような変形例)は、治療されている個体又は細胞の自然の過程を変える試みでの臨床的介入を意味し、予防のため又は臨床病理の過程中に実施されうる。治療の所望の効果は、疾患の発生又は再発の防止、徵候の軽減、疾患の直接的又は間接的病理事象の減少、転移の防止、疾患進行速度の減少、疾患状態の寛解又は緩和、及び緩解又は改善された予後を含む。

40

「個体」は脊椎動物である。ある実施態様では、脊椎動物は哺乳動物である。哺乳動物には、限定されないが、家畜(例えばウシ)、スポーツ動物、ペット(例えばネコ、イヌ、及びウマ)、靈長類、マウス及びラットが含まれる。ある実施態様では、哺乳動物はヒトである。

【0021】

「有効量」は、所望される治療的又は予防的結果を達成するために、必要な時間、用量での有効な量を意味する。

本発明の物質／分子の「治療的有効量」は、例えば疾患状態、年齢、性別、個体の体重、及び個体において所望の応答を誘発する物質／分子の能力のような因子に従って変化しうる。治療的有効量は、物質／分子の任意の細胞毒性又は有害な効果よりも治療的に有益な効果が上回る量を包含する。「予防的に効果的な量」は、所望される予防的結果を達成

50

するために、必要な時間、用量での有効な量を意味する。典型的には、必ずしもではないが、予防的に効果的な量は治療的有効量よりも少ないのであろう。

【0022】

ここで用いられる「細胞障害性剤」なる用語は、細胞の機能を阻害又は抑制し、及び／又は細胞死又は破壊を生ずる物質を意味する。該用語は、放射性同位体（例えば、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 及び Lu の放射性同位体）、化学療法剤（例えばメトトレキセート、アドリアマイシン、ピンカアルカルイド類（ピンクリスチン、ピンプラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシリ、ダウノルビシン又は他の挿入剤、酵素及びその断片、例えば核溶解性酵素、抗生物質、及び毒素、例えばその断片及び／又は変異体を含む小分子毒素又は細菌、糸状菌、植物又は動物起源の酵素的に活性な毒素、そして下記に開示する様々な抗腫瘍又は抗癌剤を含むことが意図される。他の細胞障害性剤は以下に記載されている。「殺腫瘍性」剤は、腫瘍細胞の破壊を引き起こす。

10

「毒素」は細胞の成長又は増殖に対する有害な効果を有し得る任意の物質である。

【0023】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化合物である。化学療法剤の例には、チオテバ及びシトキサン(CYTOXAN)(登録商標)シクロホスファミドのようなアルキル化剤；ブルファン、インプロスルファン及びピポスルファンのようなスルホン酸アルキル類；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパのようなアジリジン類；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチローロメラミン(trimethylololomelamine)を含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；アセトゲニン類（特にプラタシン及びプラタシノン）；-9-テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、マリノール(MARINOL)(登録商標)）；-ラパコン；ラパコール；コルヒチン類；ベツリン酸；カンプトセシン（合成アナログトポテカン(HYCAMTIN(登録商標))、CPT-11（イリノテカン、CAMPTOSAR(登録商標)）、アセチルカンプトセシン、スコポレクチン(scopolectin)、及び9-アミノカンプトセシンを含む）；ブリオスタチン；カリスタチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成アナログを含む）；ポドフィロトキシン；ポドフィリン(podophyllinic)酸；テニポシド；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン(duocarmycin)（合成類似体、KW-2189及びCB1-TM1を含む）；エレトロビン(eleutherobin)；パンクラチスタチン(pancratistatin)；サルコディクチン(sarcodictyin)；スポンジスタチン；クロランブシリ、クロロナファジン(chlornaphazine)、チョロホスファミド(cholophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンビチン(novembichin)、フェネステリン(phenesterine)、プレドニムスチン(prednimustine)、トロフォスファミド(trofosfamide)、ウラシルマスターなどのナイトロジェンマスター；カルムスチン、クロロゾトシン(chlorozotocin)、フォテムスチン(fotemustine)、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチンなどのニトロソウレア類(nitrosoureas)；抗生物質、例えばエンジイン系抗生物質（例えばカリケアマイシン(calicheamicin)、特にカリケアマイシン1I及びカリケアマイシンI1（例えば、Agnew, Chem Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)参照）；ダイネミシンA(dynemicinA)を含むダイネミシン(dynemicin)；エスペラマイシン(esperamicin)；並びにネオカルチノスタチン発光団及び関連色素蛋白エンジイン抗生物質発光団）、アクラシノマイシン(aclacinomycins)、アクチノマイシン、オースラマイシン(authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン類(bleomycins)、カクチノマイシン(cactinomycin)、カラビシン(carabacin)、カルミノマイシン(carminomycin)、カルジノフィリン(carzinophilin)、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン(detorubicin)、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、アドリアマイシン(登録商標)ドキソルビシン(モルホリノ-ドキソルビシン、シアノモルフォリノ-ドキソルビシン、2-ピロリノ-ドキソルビシン及びデオキシド

20

30

40

50

キソルビシンを含む)、エビルビシン、エソルビシン(esorubicin)、イダルビシン、マセロマイシン(marcellomycin)、マイトイマイシンCなどのマイトイマイシン(mitomycins)、マイコフェノール酸(mycophenolic acid)、ノガラマイシン(nogalamycin)、オリボマイシン(olivomycins)、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン(porfirromycin)、ピューロマイシン、クエラマイシン(quelamycin)、ロドルビシン(rodrubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン(tubercidin)、ウベニメクス、ジノスタチン(zinostatin)、ゾルビシン(zorubicin);メトレキセート及び5-フルオロウラシル(5-FU)のような抗代謝産物;デノブテリン(denopterin)、メトレキセート、ブテロブテリン(pteropterin)、トリメトレキセート(trimetrexate)のような葉酸類似体;フルダラビン(fludarabine)、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンのようなプリン類似体;アンシタピン、アザシチジン(azacitidine)、6-アザウリジン(azaauridine)、カルモール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン(enocitabine)、フロキシウリジン(floxuridine)のようなピリミジン類似体;カルステロン(calusteron)、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン(testolactone)のようなアンドロゲン類;アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンのような抗副腎剤;フロリン酸(frolinic acid)のような葉酸リプレニッシャー(replenisher);アセグラトン;アルドホスファミドグリコシド;アミノレブリン酸;エニルウラシル(eniluracil);アムサクリン(amsacrine);ベストラブシル(bestrabucil);ビサントレン(bisantrene);エダトラキセート(edatraxate);デフォファミン(defofamine);デメコルシン(demecolcine);ジアジコン(diaziquone);エルフォルニチン(el fornithine);酢酸エリプチニウム(elliptinium acetate);エポチロン(epothilone);エトグルシド(etoglucid);硝酸ガリウム;ヒドロキシ尿素;レンチナン;ロニダミン(lonidamine);メイタンシン(maytansine)及びアンサマイトシン(ansamitocin)のようなメイタンシノイド(maytansinoid);ミトグアゾン(mitoguazone);ミトキサンtron;モピダモール(mopidamol);ニトラクリン(nitracrine);ペントスタチン;フェナメット(phenanmet);ピラルビシン;ロソキサンtron(Iosoxantrone);2-エチルヒドラジド;プロカルバジン;P S K(登録商標)多糖類複合体(JHS Natural Products, Eugene, OR);ラゾキサン(razoxane);リゾキシン(rhizoxin);シゾフィラン;スピロゲルマニウム(spirogermanium);テニュアゾン酸(tenuazonic acid);トリアジコン(triaziquine);2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン;トリコテセン(trichothecenes)(特にT-2トキシン、ベラキュリンA(verrucarin A)、ロリジンA及びアングイジン(anguidine));ウレタン;ビンデシン(ELD ISINE(登録商標)、FILDESIN(登録商標));ダカルバジン;マンノムスチン(mannomustine);ミトブロニトール;ミトラクトール(mitolactol);ピポブロマン(pipobroman);ガシトシン(gacytosine);アラビノシド(「Ara-C」);チオテバ;タキソイド類、例えばタキソール(登録商標)パクリタキセル(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ)、A B R A X A N ETMパクリタキセルの無クレモホア(Cremophor)アルブミン操作ナノ粒子製剤(American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, Illinois)、及びタキソテール(登録商標)ドキセタキセル(Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France);クロランブシル;ゲンシタピン(gemcitabine)(Gemzar(登録商標));6-チオグアニン;メルカプトプリン;シスプラチン及びカルボプラチンのようなプラチナアナログ;ビンプラスチン(VELBAN(登録商標));プラチナ;エトポシド(VP-16);イフォスファミド;ミトキサンtron;ビンクリスチン(ONCOVIN(登録商標));オキサリプラチン;ロイコボビン(levcovovin);ビノレルビン(NAVELBINE(登録商標));ノバントロン(novantrone);エダトレキセート;ダウノマイシン;アミノブテリン;イバンドロネート(ibandronate);トボイソメラーゼインヒビターR F S 2 0 0 0;ジフルオロメチルオルニチン(DMFO);レチノイン酸のようなレチノイド類;カペシタピン(XELODA(登録商標));上述したものの何れかの製薬的に許容可能な塩、酸又は誘導体;並びに上記のものの二以上の組合せ、例えばシクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、及びプレドニゾロンの併用療法の省略形のCHOP、及び5-FU及びロイコボビンと併用したオキサリプラチン(ELOXATINTM)での治療方法の省略形のFOLFOXが含まれる。

10

20

30

40

50

【0024】

この定義にまた含まれるものは、癌の増殖を促進しうるホルモンの効果を調節し、低減し、ブロックし、又は阻害し、しばしば全身性(systemic)又は身体全体(whole-body)の治療形態の抗ホルモン剤である。それらはホルモン自体でありうる。例には、抗エストロゲン及び選択的エストロゲンレセプター・モジュレーター(SERM)、例えばタモキシフェン(NOLVADEX(登録商標)タモキシフェンを含む)、EVISTA(登録商標)ラロキシフェン(raloxifene)、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン(trioxifene)、ケオキシフェン(keoxifene)、LY117018、オナプリストーン(onapristone)、及びFARESTON(登録商標)トレミフェン；抗プロゲステロン類；エストロゲンレセプター・ダウンレギュレーター(ERD)；卵巣を抑制し又はシャットダウンするように機能する薬剤、例えば黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)アゴニスト、例えばLUPRON(登録商標)及びELIGARD(登録商標)酢酸ロイプロリド、酢酸ゴセレリン、酢酸ブセレリン及びトリプテレリン(tripterelin)；他の抗アンドロゲン類、例えばフルタミド、ニルタミド及びビカルタミド；及び副腎におけるエストロゲン生産を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば4(5)-イミダゾール類、アミノグルテチミド、MEGASE(登録商標)酢酸メゲステロール、AROMASIN(登録商標)エキセメスタン、ホルメスタン、ファドゾール、RIVISOR(登録商標)ボロゾール、FEMARA(登録商標)レトロゾール、及びARIMIDEX(登録商標)アナストロゾールが含まれる。また、化学療法剤のかかる定義には、ビスホスホネート類、例えばクロドロネート(例えばBONEFOS(登録商標)又はOSTAC(登録商標))、DIDROOCAL(登録商標)エチロロネート、NE-58095、ZOMETA(登録商標)ゾレドロン酸/ゾレドロネート、FOSAMAX(登録商標)アレンドロネート、AREDIA(登録商標)パミドロネート、SKELID(登録商標)チルドロネート、又はACTONEL(登録商標)リセドロネート；並びにトロキサシタビン(1,3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類縁体)；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、例えばPKC-、Raf、H-Ras及び上皮増殖因子受容体(EGFR)のような異常な細胞増殖に関与するとされるシグナル伝達経路内の遺伝子発現を阻害するもの；ワクチン類、例えばTHE RATOPE(登録商標)ワクチン及び遺伝子療法ワクチン類、例えばALLOVECTIN(登録商標)ワクチン、LEUVECTIN(登録商標)ワクチン及びVAXID(登録商標)ワクチン；LURTOTECAN(登録商標)トポイソメラーゼ1阻害剤；ABARELIX(登録商標)r m RH；ラパチニブジトシレート(ErbB-2及びEGFR二重チロシンキナーゼ小分子阻害剤、GW572016としても知られている)；及び上記の何れかの製薬上許容しうる塩、酸又は誘導体も含まれる。

【0025】

ここで使用される場合、「増殖阻害剤」は、細胞(例えばFGFR2を発現する細胞)の増殖をインビトロ又はインビボの何れかで阻害する化合物又は組成物を意味する。よって、増殖阻害剤はS期における細胞(例えばFGFR2を発現する細胞)の割合を有意に低減するものでありうる。増殖阻害剤の例には、細胞周期の進行を(S期以外の位置において)ブロックする薬剤、例えばG1停止及びM期停止を誘導する薬剤が含まれる。伝統的なM期ブロッカーには、ピンカ類(ピンクリスチン及びピンプラスチン)、タキサン類及びトポイソメラーゼII阻害剤、例えばドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンが含まれる。G1を停止させる薬剤はまたS期停止にまで作用を派生せるものがあり、例えばDNAアルキル化剤、例えばタモキシフェン、プレドニソン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチニン、メトトレキセート、5-FU、フルオロウラシル、及びara-Cが挙げられる。更なる情報は、The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn及びIsrael編、第1章、表題「Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drug」、Murakami等、(WB Saunders: Philadelphia, 1995)の特に13頁に記載されている。タキサン類(パクリタキセル及びドセタキセル)は共にイチイの木から誘導される抗癌剤である。ヨーロッパ産イチイから誘導されたドセタキセル(TAXOTERE(登録商標)、Rhone-Poulenc Rorer)はパクリタキセル(TAXOL

10

20

30

40

50

(登録商標)、Bristol-Myers Squibb)の半合成類縁体である。パクリタキセル及びドセタキセルはチューブリン2量体からの微小管の組立てを促進し、脱重合を防止することにより微小管を安定化させ、これが細胞における有糸分裂の阻害を生じる。

【0026】

ここで使用される場合、「EGFR阻害剤」なる用語は、EGFRに結合し、又はEGFRと直接に相互作用等し、そのシグナル伝達活性を防止又は減少させる化合物を意味し、別名では「EGFRアンタゴニスト」と呼ばれる。かかる薬剤の例には、EGFRに結合する抗体及び小分子が含まれる。EGFRに結合する抗体の例には、Mab579(ATCC CRL HB8506)、Mab455(ATCC CRL HB8507)、Mab225(ATCC CRL 8508)、Mab528(ATCC CRL HB8509)(米国特許第4943533号、Mendelsohn等を参照)及びその変異体、例えばキメラ化225(C225またはセツキシマブ(Cetuximab)；ERBUTIX(登録商標))及び再構成ヒト225(H225)(WO96/40210, Imclone Systems社を参照)；II型変異体EGFRに結合する抗体(米国特許第5212290号)；米国特許第5891996号に記載のEGFRに結合するヒト化及びキメラ抗体；及びABX-EGF又はパニツムマブ(WO98/50433, Abgenix/Amgenを参照)(WO98/50433, Abgenixを参照)のようなEGFRに結合するヒト抗体；EMD55900(Stragliotto等 Eur. J. Cancer 32A:636-640(1996))；EMD7200(マツズマブ(matuzumab))EGFR結合に対してEGFとTGF- β の双方と競合するEGFRに対するヒト化EGFR抗体(EMD/Merck)；ヒトEGFR抗体，HuMax-EGFR(GenMab)；E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3及びE7.6.3として知られ米国特許第6235883号に記載される完全なヒト抗体；MDX-447(Medarex Inc.)；及びmAb806又はヒト化mAb806(Johns等, J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384(2004))が含まれる。抗EGFR抗体は細胞障害剤とコンジュゲートされ得、よって免疫複合体を生成する(例えばEP659439A2, Merck Patent GmbHを参照)。EGFRアンタゴニストには、低分子、例えば米国特許第5616582号、第5457105号、第5475001号、第5654307号、第5679683号、第6084095号、第6265410号、第6455534号、第6521620号、第6596726号、第6713484号、第5770599号、第6140332号、第5866572号、第6399602号、第63444459号、第6602863号、第6391874号、第6344455号、第5760041号、第6002008号、及び第5747498号、並びに次のPCT公報WO98/14451、WO98/50038、WO99/09016、及びWO99/24037に記載された化合物が含まれる。特定の低分子EGFRアンタゴニストには、OSI-774(CP-358774, エルロチニブ, TARCEVA(登録商標)Genentech/OSI Pharmaceuticals)；PD183805(CI1033, 2-プロペンアミド, N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]-6-キナゾリニル]・二塩酸塩, Pfizer Inc.)；ZD1839, ゲフィチニブ(gefitinib)(IRESSA(TM))4-(3'-クロロ-4'-フルオロアミニノ)-7-メトキシ-6-(3-モルホリノプロポキシ)キナゾリン,AstraZeneca)；ZM105180((6-アミノ-4-(3-メチルフェニル-アミノ)-キナゾリン,Zeneca)；BIBX-1382(N8-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-N2-(1-メチル-ピペリジン-4-イル)-ピリミド[5,4-d]ピリミジン-2,8-ジアミン,Boehringer Ingelheim)；PKI-166((R)-4-[4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-1H-ピロ口[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-フェノ-ル)；(R)-6-(4-ヒドロキシフェニル)-4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-7H-ピロ口[2,3-d]ピリミジン)；CL-387785(N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチナミド)；EK-B-569(N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブチナミド)(Wyeth)；AG1478(Pfizer)；AG1571(SU5271;Pfizer)；二重EGFR/HER2チロシンキナーゼ阻害剤、例えばラバチニブ(lapatinib)(TYKERB(R)), GS K572016又はN-[3-クロロ-4-[(3-フルオロフェニル)メトキシ]フェニル]6[5[[2メチルスルホニル])

10

20

30

40

50

エチル]アミノ]メチル]-2-フラニル]-4-キナゾリンアミン；Glaxo-SmithKline)が含まれる。

【0027】

「チロシンキナーゼ阻害剤」は、HERレセプターのようにチロシンキナーゼのチロシンキナーゼ活性を阻害する分子である。そのような阻害剤の例には、前の段落に記載したEGFR標的薬；低分子HER2チロシンキナーゼ阻害剤、例えば武田から入手可能なTAK165；CP-724714、ErbB2レセプターチロシンキナーゼの経口選択的阻害剤(Pfizer及びOSI)；二重HER阻害剤、例えばEGFRに優先的に結合するがHER2及びEGFR過剰発現細胞を阻害するEKB-569(Wyethから入手可能)；ラパチニブ(lapatinib)(GSK572016；Glaxo-SmithKlineから入手可能)、経口HER2及びEGFRチロシンキナーゼ阻害剤；PKI-166(Novartisから入手可能)；パン-HER(pan-HER)阻害剤、例えばカネルチニブ(canertinib)(CI-1033；Pharmacia：Raf-1阻害剤、例えばinhibitors Raf-1シグナル伝達を阻害するISIS Pharmaceuticalsから入手可能なアンチセンス剤ISIS-5132；非HER標的TK阻害剤、例えばメシル酸イマチニブ(GLEEVECTTM，Glaxo SmithKlineから入手可能)；多標的チロシンキナーゼ阻害剤、例えばスニチニブ(sunitinib)(SUTENT(登録商標)，Pfizerから入手可能)；VEGFレセプターチロシンキナーゼ阻害剤、例えばバタラニブ(vatalanib)(PTK787/ZK222584，Novartis/Schering AGから入手可能)；MAPK細胞外調節キナーゼI阻害剤CI-1040(Pharmaciaから入手可能)；PD153035、4-(3-クロロアニリノ)キナゾリン等のキナゾリン；ピリドピリミジン；ピリミドピリミジン；CGP59326、CGP60261、及びCGP62706等のピロピリミジン；ピラゾロピリミジン、4-(フェニルアミノ)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン、クルクミン(curcumin)(ジフェルロイルメタン、4,5-ビス(4-フルオロアニリノ)フタルイミド)、ニトロチオフェン部分を含むトリホスチン(typhostines)；PD-0183805(Warner-Lamber)；アンチセンス分子(例えば、HERコード化核酸に結合するもの)；キノキサリン(quinoxalines) (米国特許第5804396号)；トリホスチン(米国特許第5804396号)；ZD6474(AstraZeneca)；PTK-787(Novartis/Schering AG)；CI-1033(Pfizer)等のパン-ErbB(pan-ErbB)阻害剤；Affmitac(ISIS3521；Isis/Lilly)；メシル酸イマチニブ(GLEEVECTTM)；PKI166(Novartis)；GW2016(Glaxo SmithKline)；CI-1033(Pfizer)；EKB-569(Wyeth)；セマキシニブ(Semaxanib)(Pfizer)；ZD6474(AstraZeneca)；PTK-787(Novartis/Schering AG)；1NC-1C11(Imclone)；又は以下の特許刊行物の何れかに記載されているもの：米国特許第5804396号；WO1999/09016(American Cyanimid)；WO1998/43960(American Cyanimid)；WO1997/38983(Warner Lambert)；WO1999/06378(Warner Lambert)；WO1996/30347(Pfizer, Inc)；WO1996/33978(Zeneca)；WO1996/3397(Zeneca)；及びWO1996/33980(Zeneca)が含まれる。

【0028】

「アンタゴニスト」なる用語は最も広い意味で用いられ、FGFR2のようなポリペプチドの生物学的活性、又はその転写もしくは翻訳を部分的又は完全に阻止、阻害、又は中和する任意の分子を含む。好適なアンタゴニスト分子には、限定されないが、アンタゴニスト抗体、ポリペプチド断片、オリゴペプチド、有機分子(低分子を含む)、及びアンチセンス核酸が含まれる。

「抗体」(Abs)及び「免疫グロブリン」(IgG)は同様の構造的特徴を有する糖タンパク質を意味する。抗体は特定の抗原に対して結合特異性を示す一方、免疫グロブリンは、抗体と抗原特異性を欠く他の抗体様分子の双方を含む。後者の種類のポリペプチドは例えばリンパ系によって低レベルで、またミエローマによって増加したレベルで生産される。

「抗体」及び「免疫グロブリン」という用語は、最も広い意味で互換性をもって使用さ

10

20

30

40

50

れ、モノクローナル抗体（例えば全長及び無傷のモノクローナル抗体）、ポリクローナル抗体、一価抗体、多価抗体、多特異性抗体（例えば、所望の生物学的活性を示す限りにおいて二重特異性抗体）を含み、またある種の抗体断片（ここにより詳細に記載）もまた含む。抗体はキメラ、ヒト、ヒト化及び／又は親和性成熟でありうる。

【0029】

「抗 F G F R 2 抗体」又は「F G F R 2 に結合する抗体」なる用語は、抗体が F G F R 2 を標的とする点で診断及び／又は治療薬剤として有用であるように十分な親和性で F G F R 2 に結合することができる抗体を意味する。好ましくは、関連のない非 F G F R 2 タンパク質に対する抗 F G F R 2 抗体の結合の度合いは、例えば放射免疫アッセイ（RIA）によって測定して、F G F R 2 への抗体の結合の約 10 % 未満である。ある実施態様では、F G F R 2 に結合する抗体は、1 μM、100 nM、10 nM、1 nM、又は 0.1 nM の解離定数（Kd）を有している。ある実施態様では、抗 F G F R 2 抗体は、異なる種由来の F G F R 2 の間で保存されている F G F R 2 のエピトープに結合する。

「全長抗体」、「無傷抗体」及び「全抗体」なる用語は、以下に定義する抗体断片ではなく、その実質的に無傷の形態の抗体を意味するためにここでは交換可能に使用される。該用語は特に Fc 領域を含む重鎖を持つ抗体を意味する。

【0030】

「抗体断片」は無傷抗体の一部のみを含み、該部分は、無傷抗体に存在している場合にその部分に通常は付随する機能の少なくとも一つ、多くは殆ど又は全てを保持している。一実施態様では、抗体断片は、無傷抗体の抗原結合部位を含み、よって抗原に結合する能力を保持している。他の実施態様では、抗体断片、例えば Fc 領域を含むものは、無傷抗体に存在している場合に Fc 領域に通常は付隨する生物学的機能の少なくとも一つ、例えば FcRn 結合性、抗体半減期調節性、ADC C 機能及び補体結合性を保持している。一実施態様では、抗体断片は、無傷抗体と実質的に同様なインビボ半減期を有する一価抗体である。例えば、かかる抗体断片は、断片にインビボ安定性を付与することが可能な Fc 配列に結合した抗原結合アームを有しうる。

【0031】

抗体のパパイン消化は、「Fab」断片と呼ばれる二つの同一の抗原結合断片を生成し、その各々は単一の抗原結合部位、及び残基「Fc」断片を持ち、この名称は容易に結晶化する能力を反映している。ペプシン処理は F(ab')₂ 断片を生じ、それは二つの抗原結合部位を持ち、抗原を架橋することができる。

「Fv」は、完全な抗原結合部位を含む最小の抗体断片である。一実施態様では、二本鎖 Fv 種は、密接に非共有結合した一つの重鎖及び一つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。一本鎖 Fv (scFv) 種では、一つの重鎖及び一つの軽鎖可変ドメインを、軽鎖及び重鎖が二本鎖 Fv 種のものと類似した「二量体」構造で結合しうるように可動性ペプチドリンカーによって共有結合させることができる。各可変ドメインの 3 つの CDR が相互作用して VH - VL 二量体の表面に抗原結合部位を形成するのはこの形態においてである。集合的には、6 つの CDR が抗体に対する抗原結合特異性を与える。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は抗原に特異的な 3 つの CDR のみを含んでなる Fv の半分）でさえ、結合部位全体よりは低い親和性であるが、抗原を認識して結合する能力を有している。

【0032】

Fab 断片は、重鎖及び軽鎖可変ドメインを含み、軽鎖の定常ドメインと重鎖の第一の定常ドメイン（CH1）をまた含む。Fab' 断片は、抗体ヒンジ領域からの一又は複数のシステインを含む重鎖 CH1 ドメインのカルボキシ末端に幾つかの残基が付加されることにより Fab 断片と相違する。Fab'-SH は、定常ドメインのシステイン残基が遊離のチオール基を持つ Fab' に対するここでの標記である。F(ab')₂ 抗体断片は、元々は、間にヒンジシステインを有する Fab' 断片の対として生成された。抗体断片の他の化学的結合もまた知られている。

10

20

30

40

50

「一本鎖 Fv」又は「scFv」抗体断片は、抗体の VH 及び VL ドメインを含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。一般には、scFv ポリペプチドは、scFv が抗原結合にとって望ましい構造の形成を可能にするポリペプチドリンカーを VH 及び VL ドメイン間に更に含む。scFv の概説については、Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg 及び Moore 編, Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994) を参照のこと。

【0033】

「ダイアボディ」という用語は、二つの抗原結合部位を持つ小型の抗体断片を指し、その断片は同じポリペプチド鎖 (VH-VL) 内で軽鎖可変ドメイン (VL) に結合した重鎖可変ドメイン (VH) を含む。同じ鎖の二つのドメイン間に対形成するには短すぎるリンカーを用いることにより、ドメインは強制的に他の鎖の相補的ドメインと対形成されて二つの抗原結合部位を生成する。ダイアボディは二価又は二重特異的でありうる。ダイアボディは、例えば、EP 404097; WO 93/11161; 及び Hollinger 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993) により十分に記載されている。トリアボディ及びテトラボディはまた Hudson 等, (2003) Nat. Med. 9:129-134 に記載されている。

10

【0034】

ここで使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味し、すなわち、集団を構成する個々の抗体が、可能な突然変異、例えば少量存在しうる自然に生じる突然変異を除いて同一である。よって、「モノクローナル」という形容詞は、別個の抗体の混合物ではないとの抗体の特徴を示すものである。ある実施態様では、そのようなモノクローナル抗体は典型的には標的に結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、ここで、標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列からの单一標的結合ポリペプチド配列の選択を含む方法によって得られた。例えば、選択方法は、複数のクローニング、例えばハイブリドーマクローニング、ファージクローニング、又は組換え DNA クローニングのプールからの独特的のクローニングの選択であり得る。選択された標的結合配列は、例えば標的に対する親和性を改善するため、標的結合配列をヒト化するため、細胞培養におけるその生産を改善するため、インビオでのその免疫原性を低減させるため、多重特異的抗体を作り出す等々のために更に変異させることができ、変異された標的結合配列を含む抗体もまた本発明のモノクローナル抗体であることが理解されなければならない。典型的には異なる決定基 (エピトープ) に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは異なり、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。その特異性に加えて、モノクローナル抗体調製物は、それらが典型的には他の免疫グロブリンによっては汚染されていない点で有利である。

20

【0035】

「モノクローナル」との形容は、実質的に均一な抗体集団から得られたという抗体の性質を示し、特定の方法で抗体を生産しなければならないことを意味するものではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、例えばハイブリドーマ法 (例えば Kohler 等, Nature, 256:495 (1975); Harlow 等, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2版 1988); Hammerling 等, Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981))、組換え DNA 法 (例えば米国特許第 4 816567 号を参照)、ファージディスプレイ技術 (例えば Clackson 等, Nature, 352: 624-628 (1991); Marks 等, J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Sidhu 等, J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee 等, J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 及び Lee 等, J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004) を参照)、及びヒト免疫グロブリン座又はヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部又は全部を有する動物中においてヒト又はヒト様抗体を生産する技術 (例えば WO 98/24893; WO 96/34096; WO 96/33735; WO 91/10741; Jakobovits 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993); Jakobovits 等, Nature 362: 255-258 (1993); Bruggemann 等,

30

40

50

Year in Immunol. 7:33 (1993) ; 米国特許第 5 5 4 5 8 0 7 号 ; 第 5 5 4 5 8 0 6 号 ; 第 5 5 6 9 8 2 5 号 ; 第 5 6 2 5 1 2 6 号 ; 第 5 6 3 3 4 2 5 号 ; 第 5 6 6 1 0 1 6 号 ; Marks 等 Bio. Technology 10: 779-783 (1992) ; Lonberg 等, Nature 368: 856-859 (1994) ; Morrison, Nature 368: 812-813 (1994) ; Fishwild 等, Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996) ; Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996) 及び Lonberg 及び Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995) を参照) を含む様々な技術によって作製することができる。

【 0 0 3 6 】

ここで、モノクローナル抗体は、重鎖及び / 又は軽鎖の一部が特定の種から誘導されたか又は特定の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同である一方、鎖の残りの部分は他の種から誘導されたか又は特定の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同である「キメラ」抗体、並びにそれらが所望の生物学的活性を示す限り、そのような抗体の断片を特に含む (米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号 ; Morrison 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984))。

【 0 0 3 7 】

非ヒト (例えばマウス) 抗体の「ヒト化」型は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ抗体である。一実施態様では、ヒト化抗体は、レシピエントの高頻度可変領域の残基が、所望の特異性、親和性及び / 又は能力を有するマウス、ラット、ウサギ、又は非ヒト靈長類のような非ヒト種 (ドナー抗体) の高頻度可変領域の残基によって置換されたヒト免疫グロブリン (レシピエント抗体) である。ある場合には、ヒト免疫グロブリンの Fv フレームワーク領域 (FR) 残基が、対応する非ヒト残基によって置換される。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見出されない残基を含んでいてもよい。これらの変更は、抗体の性能を更に洗練させるために行なわれる。一般に、ヒト化抗体は、全てあるいは実質的に全ての高頻度可変ループが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、全てあるいは実質的に全ての FR がヒト免疫グロブリン配列のものである少なくとも一つ、典型的には二つの可変ドメインの実質的に全てを含むであろう。ヒト化抗体は、場合によっては、免疫グロブリン定常領域 (Fc)、典型的にはヒトの免疫グロブリンのものの少なくとも一部を含むであろう。更なる詳細については、Jones 等, Nature, 321:522-525 (1986) ; Riechmann 等, Nature, 332:323-329 (1988) ; 及び Presta, Curr. Op Struct. Biol., 2:593-596 (1992) を参照のこと。また次の概説論文とそこで引用された文献を参考のこと : Vaswani 及び Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998) ; Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995) ; Hurle 及び Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)。

【 0 0 3 8 】

「ヒト化抗体」は、ヒトによって生産された抗体のものに対応するアミノ酸配列を含むもの及び / 又はここに開示されたヒト抗体の作成技術の何れかを使用して作製されたものである。そのような技術は、ファージディスプレイライブラリーのようなヒト由来コンビナトリアルライブラリーのスクリーニング (Marks 等, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) 及び Hoogenboom 等, Nucl. Acids Res., 19: 4133-4137 (1991)) ; ヒトモノクローナル抗体の生産のためのヒトミエローマ及びマウス - ヒトヘテロミエローマ細胞株の使用 (例えば Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984) ; Brodeur 等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987) ; 及び Boerner 等, J. Immunol., 147: 86 (1991) を参照) ; 及び内因性免疫グロブリンの生産の不在下でヒト抗体の完全なレパートリーを生産することができるトランスジェニック動物 (例えばマウス) におけるモノクローナル抗体の生産 (例えば Jakobovits 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 2551 (1993) ; Jakobovits 等, Nature, 362: 255 (1993) ; Brugermann 等, Year in Immunol., 7: 33 (1993)) を含む。ヒト抗体のこの定義は非ヒト動物由来の抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に除外する。

【 0 0 3 9 】

「親和性成熟」抗体とは、その変異を有しない親抗体と比較し、抗原に対する抗体の親

10

20

30

40

50

和性に改良を生じせしめる一又は複数の変異をその一又は複数の C D R に持つものである。一実施態様では、親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモル又はピコモルの親和性を有する。親和性成熟抗体は、当該分野において知られている方法によって生産される。Marks等 Bio/Technology, 10:779-783(1992)は、V H 及び V L ドメインシャッフリングによる親和性成熟化について記載している。H V R 及び / 又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発は、Barbas等, Proc Nat Acad. Sci, USA 91: 3809-3813(1994); Schier等, Gene, 169:147-155(1995); Yelton等, J. Immunol., 155:1994-2004(1995); Jackson等, J. Immunol., 154(7):3310-9(1995); 及び Hawkins等, J. Mol. Biol., 226:889-896(1992)に記載されている。

【0040】

10

「阻止」抗体又は「アンタゴニスト」抗体は、それが結合する抗原の生物学的活性を阻害し又は減少させるものである。ある阻止抗体又はアンタゴニスト抗体は抗原の生物学的活性を部分的に又は完全に阻害する。

抗体「エフェクター機能」は抗体の F c 領域（天然配列 F c 領域又はアミノ酸配列変異体 F c 領域）に起因する生物学的活性を意味し、抗体アイソタイプと共に変わる。抗体エフェクター機能の例は、C 1 q 結合及び補体依存性細胞毒性；F c レセプター結合；抗体依存性細胞障害性（A D C C）；ファゴサイトーシス；細胞表面レセプター（例えば B 細胞レセプター）のダウンリギュレーション；及び B 細胞活性化を含む。

【0041】

20

「F c レセプター」又は「F c R」は、抗体の F c 領域に結合するレセプターを記述する。ある実施態様では、F c R は天然ヒト F c R である。ある実施態様では、F c R は、I g G 抗体（ガンマレセプター）と結合するもので、F c R I 、F c R I I 及び F c R I I I サブクラスのレセプターを含み、これらのレセプターの対立遺伝子変異体、選択的にスプライシングされた形態も含まれる。F c R I I I レセプターには、F c R I I A（「活性型レセプター」）及び F c R I I B（「阻害型レセプター」）が含まれ、これは、主としてその細胞質ドメインは異なるが、類似のアミノ酸配列を有するものである。活性型レセプター F c R I I A は、その細胞質ドメインにチロシン依存性免疫レセプター活性化モチーフ（immunoreceptor tyrosine-based activation motif; I T A M）を含んでいる。阻害型レセプター F c R I I B は、その細胞質ドメインにチロシン依存性免疫レセプター阻害性モチーフ（immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif; I T I M）を含んでいる（Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)を参照）。F c R は、Ravetch 及び Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991); Capel 等, Immunomethods 4:25-34 (1994); 及び de Haas 等, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995) に概説されている。将来的に同定されるものも含む他の F c R はここでの「F c R」なる用語に包含される。

30

【0042】

40

「F c レセプター」又は「F c R」なる用語には、母性 I g G s が胎児に受け継がれる要因（Guyer 等, J. Immunol. 117:587 (1976) Kim 等, J. Immunol. 24:249 (1994)) 及び免疫グロブリンのホメオスタシスの調節の要因となっている新生児性レセプター F c R n も含まれる。F c R n への結合を測定する方法は知られている。インビボでのヒト F c R n への結合及びヒト F c R n 高親和性結合ポリペプチドの血清半減期は、例えばヒト F c R n を発現するトランスジェニックマウス又は形質移入ヒト細胞株、又は F c 変異体ポリペプチドを投与された靈長類において、アッセイできる。

国際公開第 00 / 42072 号 (Presta) は F c R への結合が改善された又は減少した抗体変異体を記載している。該特許刊行物の内容は出典明示により特にここに援用される。また Shields 等 J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001) も参照のこと。

「ヒトエフェクター細胞」は、一又は複数の F c R を発現し、エフェクター機能をなす白血球である。ある実施態様では、該細胞は少なくとも F c R I I I を発現し、A D C C エフェクター機能をなす。A D C C を媒介するヒト白血球の例には、末梢血液単核細胞（P B M C）、ナチュラルキラー（N K）細胞、单球、細胞毒性 T 細胞及び好中球が含まれる。

50

れる。エフェクター細胞は天然源、例えば血液から単離できる。

【0043】

「抗体依存性細胞媒介性細胞障害性」又は「ADCC」とは、ある種の細胞障害細胞(例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞、好中球及びマクロファージ)上に存在するFcレセプター(FcR)と結合した免疫グロブリンにより、これらの細胞障害エフェクター細胞が抗原担持標的細胞に特異的に結合し、続いて細胞毒素により標的細胞を死滅させることを可能にする細胞毒性の形態を意味する。ADCCを媒介する一次細胞のNK細胞はFcRIIIのみを発現するのに対し、单球はFcRI、FcRII及びFcRIIを発現する。造血細胞でのFcRの発現は、Ravetch及びKinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92(1991)の464頁の表3に要約されている。対象の分子のADCC活性をアッセイするために、米国特許第5500362号又は同5821337号又はPrestaの米国特許第6737056号に記載されているようなインビトロADCCアッセイを実施することができる。このようなアッセイにおいて有用なエフェクター細胞には、末梢血液単核細胞(PBMC)及びナチュラルキラー細胞(NK細胞)が含まれる。別法として、もしくは付加的に、対象の分子のADCC活性は、例えば、Clynes等, (USA) 95:652-656 (1998)において開示されているような動物モデルにおいて、インビボで評価することができる。

10

【0044】

「補体依存性細胞障害」もしくは「CDC」は、補体の存在下で標的を溶解することを意味する。古典的な補体経路の活性化は補体系(C1q)の第1補体が、同族抗原と結合した(適切なサブクラスの)抗体に結合することにより開始される。補体の活性化を評価するために、CDCアッセイを、例えばGazzano-Santoro等, J. Immunol. Methods 202:163 (1996)に記載されているようにして、実施することができる。

20

変異されたFc領域アミノ酸配列を有しC1q結合能が増加又は減少したポリペプチド変異体は米国特許第6194551B1号及び国際公開第99/51642号に記載されている。その特許刊行物の内容はここに出典明示により特に援用される。またIdusogie等J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)を参照のこと。

10

【0045】

「Fc領域含有ポリペプチド」なる用語はFc領域を含む抗体又はイムノアドヘシンのようなポリペプチドを意味する。Fc領域のC末端リジン(EU番号付け系による残基447)を、例えばポリペプチドの精製中に、又はポリペプチドをコードする核酸を組換え操作することによって、取り除くことができる。従って、本発明に係るFc領域を有するポリペプチドを含有する組成物は、K477を持つポリペプチド、全てのK477が取り除かれたもの、真野はK447残基を持つポリペプチドと持たないものの混合物を含みうる。

30

「細胞障害性抗体」はエフェクター機能を示すことができ、及び/又はその抗原への結合時に細胞死を誘発することができる抗体である。

「免疫複合体」は一又は複数の細胞障害性剤にコンジュゲートされた抗体を意味する。

【0046】

ここで用いられる場合、「イムノアドヘシン」という用語は、免疫グロブリン定常ドメインのエフェクター機能と異種タンパク質(「アドヘシン」)の結合特異性を組み合わせた抗体様分子を指す。構造的には、イムノアドヘシンは、抗体の抗原認識及び結合部位以外の所望の結合特異性(つまり「異種性」である)を持つアミノ酸配列と免疫グロブリン定常ドメイン配列との融合物を含んでなる。イムノアドヘシン分子のアドヘシン部分は、典型的にはレセプター又はリガンドの結合部位を少なくとも含む近接アミノ酸配列である。イムノアドヘシンの免疫グロブリン定常ドメイン配列は、IgG-1、IgG-2、IgG-3、又はIgG-4サブタイプ、IgA(IgA-1及びIgA-2を含む)、IgE、IgD又はIgMなどの任意の免疫グロブリンから得ることができる。

40

「小分子」又は「小有機分子」はここでは約500ダルトン以下の分子量を有する有機分子として定義される。

50

【0047】

「F G F R 2 結合オリゴペプチド」又は「F G F R 2 に結合するオリゴペプチド」は、オリゴペプチドがF G F R 2 を標的とする点で診断及び／又は治療薬剤として有用であるように十分な親和性でF G F R 2 に結合することができるオリゴペプチドを意味する。ある実施態様では、関連のない非F G F R 2 タンパク質に対するF G F R 2 結合オリゴペプチドの結合の度合いは、例えば表面プラズモン共鳴法によって測定して、F G F R 2 結合オリゴペプチドのF G F R 2 への結合の約10%未満である。ある実施態様では、F G F R 2 結合オリゴペプチドは、1 μM、100 nM、10 nM、1 nM、又は0.1 nMの解離定数(Kd)を有している。

「F G F R 2 結合有機分子」又は「F G F R 2 に結合する有機分子」は、有機分子がF G F R 2 を標的とする点で診断及び／又は治療薬剤として有用であるように十分な親和性でF G F R 2 に結合するここに定義されたオリゴペプチド又は抗体以外の有機分子を意味する。ある実施態様では、関連のない非F G F R 2 タンパク質に対するF G F R 2 結合有機分子の結合の度合いは、例えば表面プラズモン共鳴法によって測定して、F G F R 2 結合有機分子のF G F R 2 への結合の約10%未満である。ある実施態様では、F G F R 2 結合有機分子は、1 μM、100 nM、10 nM、1 nM、又は0.1 nMの解離定数(Kd)を有している。

【0048】

標的ポリペプチドに結合する任意の分子の解離定数(Kd)は表面プラズモン共鳴法を使用して簡便に測定することができる。このようなアッセイは、~10応答単位(RU)で固定化標的ポリペプチドCM5チップと共に25にてBIAcore™-2000又はBIAcore™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)を用いることができる。簡単に言えば、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサー(CM5, BIAcore Inc.)を供給者の指示に従って、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDC)及びN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)を用いて活性化した。標的ポリペプチドを5 μl / 分の流量での注入前に10 mMの酢酸ナトリウム、pH 4.8で5 μg / ml (~0.2 μM)まで希釈して、およそ10応答単位(RU)の結合タンパク質を得た。標的ポリペプチドの注入後、1 Mのエタノールアミンを注入して未反応基をロックした。動態測定のために、2倍連續希釈の結合分子(0.78 nMから500 nM)を、およそ25 μl / 分の流量で25にてTween 20(PBST)を含むPBS中に注入する。結合速度(kon)及び解離速度(koff)を、結合及び解離センサーグラムを同時に当てはめて単純な一対一のラングミュア結合モデル(BIAcore Evaluation Software version 3.2)を用いて計算する。平衡解離定数(Kd)は比koff/konとして計算する。例えばChen, Y.等(1999) J. Mol Biol. 293:865-881を参照のこと。抗体のkon速度が上記の表面プラズモン共鳴法によって10⁶ M⁻¹ s⁻¹を超える場合は、kon速度は、例えば攪拌キュベットと共にストップフロー装備分光計(Aviv Instruments)又は8000シリーズSLM-Aminco分光計(ThermoSpectronic)のような分光計で測定して増加する濃度の抗原の存在下で、PBS、pH 7.2中の20 nM抗体(Fab型)の25での蛍光発光強度(励起=295 nm; 発光=340 nm、16 nmバンド-バス)の増加又は減少を測定する蛍光消光法を使用することによって決定することができる。

【0049】

「リポソーム」は、哺乳動物へ例えば薬物のような薬剤を送達するのに有用である様々なタイプの脂質、リン脂質及び／又は界面活性剤からなる小ベジクルである。リポソームの成分は、生体膜の脂質配置と同様に、二重層形成に一般的に配置されている。

ここで使用される場合「標識」なる語句は検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識はそれ自体が検出可能であり得(例えば放射性同位体標識又は蛍光標識)、又は酵素標識の場合には、検出可能な産物を生じる基質化合物又は組成物の化学的变化を触媒しうる。検出可能な標識となりうる放射性核種は例えばI-131、I-123、I-125、Y-90、Re-188、Re-186、At-211、Cu-67、Bi-212、及

10

20

30

40

50

び P d - 1 0 9 を含む。

「単離された」生物学的分子、例えば核酸、ポリペプチド、又は抗体は、その天然環境の少なくとも一成分から同定され、分離され、及び／又は回収されたものである。

【 0 0 5 0 】

I I . 発明の実施態様

遺伝子増幅を伴う癌の診断及び治療のための方法及び組成物が提供される。一態様では、結腸直腸癌の診断及び治療のための方法及び組成物が提供される。該方法及び組成物は、F G F R 2 遺伝子を含む染色体 1 0 の領域が特定の結腸直腸癌において増幅され、この増幅が F G F R 2 m R N A の発現増加と相關しているとの発見に部分的に基づいている。

F G F R 2 は、F G F R 1、F G F R 3、及び F G F R 4 をまた含むレセプタープロテインチロシンキナーゼの線維芽細胞増殖因子レセプター (F G F R) ファミリーのメンバーである。F G F R ファミリーの他のメンバーと同様に、F G F R 2 は N 末端細胞外リガンド結合ドメイン、單一の膜貫通ドメイン、及び C 末端細胞質ドメインを含む。細胞外リガンド結合ドメインは 3 つの免疫グロブリン (I g) 様ドメインを含み；X 線結晶学的研究によって決定したところ、第二及び第三 I g 様ドメインがリガンド結合に関与している。細胞質ドメインは触媒活性プロテインチロシンキナーゼコアを含む。概説については、例えば Eswarakumar 等 (2005) *Cytokine & Growth Factor Rev.* 16:139-149 を参照のこと。

ヒト F G F R 2 の完全長の未加工形態は配列番号 1 に示されている。該配列は次の特徴を含んでいる：

| 特徴 | アミノ酸残基 |
|-----------------------|---------------|
| シグナルペプチド | 1 - 2 1 |
| 予想細胞外ドメイン | 2 2 - 3 7 7 |
| 第一 I g 様ドメイン | 3 9 - 1 2 5 |
| 第二 I g 様ドメイン | 1 5 4 - 2 4 7 |
| 第三 I g 様ドメイン | 2 5 6 - 3 5 8 |
| 予想膜貫通ドメイン | 3 7 8 - 3 9 8 |
| 予想細胞質ドメイン | 3 9 9 - 8 2 1 |
| プロテインチロシン キナーゼドメイン | 4 8 1 - 7 7 0 |

【 0 0 5 1 】

F G F R 2 m R N A の選択的スプライシングにより様々なアイソフォームが生成される。主要なアイソフォームには、F G F R 2 b (科学文献では K G F R とも呼ばれる；配列番号 2 はヒト F G F R 2 b アイソフォームの代表例である) ；F G F R 2 c (科学文献では B E K 及び F G F R 2 とも呼ばれる；配列番号 1 はヒト F G F R 2 c アイソフォームの代表例である) ；及び第一 I g 様ドメインを欠く「K - S A M」と呼ばれるアイソフォームが含まれる。例えば Miki 等 (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:246-250、及び De II 等 (1992) *J. Biol. Chem.* 267:21225-21229 (FGFR2b) ; Dionne 等 (1990) *EMBOJ.* 9:2685-2692 (FGFR2c) ; 及び Hattori 等 (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:5983-5987 (K-SAM) を参照のこと。F G F R 2 b と F G F R 2 c の配列は、第三 I g 様ドメインの第二の半分にまたがる多岐にわたる 4 9 アミノ酸伸展を除いて、同一である。上掲の Miki を参考のこと。従って、配列番号 1 に対して上述された特徴はまた配列番号 2 にも当てはまる。F G F R 2 b と F G F R 2 c は、双方とも高親和性で線維芽細胞増殖因子 1 (F G F 1) に結合するが、異なったリガンド結合特異性を示す。Ornitz 等 (1996) *J. Biol. Chem.* 271:15292-15297 を参照のこと。

【 0 0 5 2 】

A . 診断及び検出の方法

一態様では、結腸直腸癌の診断方法が提供される。以下の実施例に記載されるように、染色体 1 0 の領域が増幅されている結腸直腸腫瘍が発見された。その増幅された領域内に存在している唯一の遺伝子は、図 1 に示されるように、F G F R 2 遺伝子である。(F G F R 2 遺伝子の染色体位置は 1 0 q 2 6 である。) よって、F G F R 2 又は F G F R 2 遺

10

20

30

40

50

伝子は結腸直腸癌の診断及び治療のための魅力のある標的である。

従って、一態様では、哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する方法であって、該哺乳動物の被験結腸直腸試料においてコントロール試料に対して F G F R 2 遺伝子が増幅されているかどうかを検出することを含み、F G F R 2 遺伝子の増幅が該哺乳動物における結腸直腸癌の存在を示す方法が提供される。ここで使用される場合、「検出する」なる用語は定量的又は定性的検出を包含する。「被験結腸直腸試料」は、癌性であっても又は癌性でなくともよい結腸直腸組織から取り出された生物学的試料、例えば癌性であることが疑われる結腸直腸細胞の試料又は結腸直腸細胞から取り出された全細胞抽出物又は分画細胞抽出物（例えば膜標本）である。「コントロール試料」は、（a）正常組織、例えば正常結腸直腸細胞又はそのような細胞から取り出された全細胞抽出物又は分画細胞抽出物（例えば膜標本）、又は（b）F G F R 2 遺伝子が増幅又は過剰発現されていないことが分かっている結腸直腸癌組織、又はそれから取り出された全細胞抽出物又は分画細胞抽出物から得られた生物学的試料である。F G F R 2 は遺伝子は、F G F R 2 遺伝子のコピー数が被験結腸直腸試料においてコントロール試料に対して少なくとも 3 倍、5 倍、7 倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、又は 50 倍増加していれば、「増幅した」と言われる。

【0053】

ある実施態様では、F G F R 2 遺伝子の増幅の検出は、当業者に知られているある種の技術を使用して達成される。例えば、比較ゲノムハイブリダイゼーションを用いて、染色体位置の関数として D N A 配列コピー数のマップをつくる。例えば Kallioniemi 等 (1992) Science 258:818-821 を参照のこと。F G F R 2 遺伝子の増幅は、例えば、F G F R 2 遺伝子に特異的なプローブを用いるサザンハイブリダイゼーションにより又はリアルタイム定量 P C R によって、検出することもできる。

ある実施態様では、F G F R 2 遺伝子の増幅の検出は、例えば F G F R 2 遺伝子にハイブリダイズするプローブを使用して、F G F R 2 遺伝子のコピー数を直接評価することによって達成される。ある実施態様では、F G F R 2 遺伝子の増幅の検出は、例えば、F G F R 2 遺伝子の外側にあるが F G F R 2 遺伝子と同時増幅される染色体領域のコピー数を評価することによって、F G F R 2 遺伝子のコピー数を間接的に評価することによって達成される。そのような領域を選択するための手引きは例えば図 1、パネル C に提供される。

【0054】

他の態様では、哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する方法であって、該哺乳動物の被験結腸直腸試料における F G F R 2 遺伝子の発現を検出することを含み、コントロール試料に対して被験結腸直腸試料における F G F R 2 遺伝子の高レベルの発現が該哺乳動物における結腸直腸癌の存在を示す方法が提供される。ある実施態様では、F G F R 2 遺伝子の発現は、F G F R 2 遺伝子からの m R N A の転写レベルを決定することにより検出される。m R N A の転写レベルは、定量的又は定性的に、当業者に知られた様々な方法によって決定することができる。m R N A の転写レベルはまた m R N A から生成された c D N A のレベルを検出することによって直接的に又は間接的に決定することもできる。R N A の転写レベルを決定するための例示的方法には、限定されるものではないが、リアルタイム定量 R T - P C R 及びハイブリダイゼーションベースアッセイで、マイクロアレイベースアッセイ及びノーザンプロットのようなフィルターベースアッセイを含むものが含まれる。ある実施態様では、「F G F R 2 遺伝子の高レベルの発現」は、F G F R 2 遺伝子からの m R N A 転写の少なくとも 3 倍、5 倍、7 倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、又は 50 倍の増加を意味する。

【0055】

他の実施態様では、F G F R 2 遺伝子の発現は、F G F R 2 のレベルを決定することにより検出される。F G F R 2 のレベルは、定量的又は定性的に、抗体ベース検出法を含む、当業者に知られたある種の方法によって決定することができる。一実施態様では、被験結腸直腸試料における F G F R 2 遺伝子の発現の検出は、被験結腸直腸試料を抗 F G F R

10

20

30

40

50

2抗体に接触させ、FGFR2への抗FGFR2抗体の結合を検出することによって被験結腸直腸試料中におけるFGFR2の発現のレベルを(定量的又は定性的に)決定することを含む。ある実施態様では、FGFR2への抗FGFR2抗体の結合は、限定するものではないが、蛍光標示式細胞分取、ウェスタンプロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA等々を含む当業者に知られた様々な方法によって検出することができる。ある実施態様では、「FGFR2遺伝子の高レベルの発現」は、FGFR2レベルの少なくとも3倍、5倍、7倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、又は50倍の増加を意味する。

【0056】

上記の方法の何れに対しても、「哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する」という記載された目的は非限定的なものであって、コントロール試料に対して結腸直腸の被験試料においてFGFR2遺伝子が高レベルで増幅されているか及び/又は発現されているかどうかを検出することによって、哺乳動物において存在する結腸直腸癌のタイプを分類することを包含する。FGFR2遺伝子が増幅されているか及び/又は発現されているか否かに基づいた結腸直腸癌の分類は、例えば、結腸直腸癌の個体が、FGFR2又はFGFR2遺伝子を標的とする治療剤に応答するかどうかを決定するために、よって、以下に更に記載されるように、結腸直腸癌の治療に対する最適な療法を選択するために有用である。例えば、結腸直腸癌の個体がFGFR2又はFGFR2遺伝子を標的とする治療剤に応答するかどうかを決定するための方法であって、FGFR2遺伝子が結腸直腸癌において増幅されているか及び/又は過剰発現されているかを(例えば上述の方法の何れかを使用して)決定することを含み、ここでFGFR2遺伝子の増幅及び/又は過剰発現が、該個体がその治療剤に応答することを示す方法が提供される。「FGFR2又はFGFR2遺伝子を標的とする治療剤」は、限定するものではないが、FGFR2アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は以下のパートBに記載した免疫複合体の任意のものを含み、当該分野で既に知られているかかる治療剤並びに後に開発されるものを含むFGFR2又はFGFR2遺伝子の発現及び/又は活性に影響を及ぼす任意の薬剤を意味する。

10

20

30

【0057】

B. 組成物及び薬学的製剤

結腸直腸癌を治療するための薬学的製剤が提供される。ある実施態様では、薬学的製剤は少なくとも一種のFGFR2アンタゴニスト、薬学的に許容可能な担体、及び場合によつては少なくとも一種の更なる治療剤を含有する。ある実施態様では、FGFR2アンタゴニストは、抗FGFR2抗体、オリゴペプチド、有機分子、可溶型FGFR2レセプター、又はアンチセンス核酸を含む。ある実施態様では、薬学的製剤は少なくとも一種の細胞障害性FGFR2抗体、薬学的に許容可能な担体、及び場合によつては少なくとも一種の更なる治療剤を含有する。ある実施態様では、薬学的製剤は少なくとも一種の免疫複合体を含み、該免疫複合体はFGFR2に結合する抗体と細胞障害性剤；薬学的に許容可能な担体；及び場合によつては少なくとも一種の更なる治療剤を含む。

40

【0058】

1. FGFR2アンタゴニスト

一態様では、FGFR2アンタゴニストは抗FGFR2抗体である。ある実施態様では、抗FGFR2抗体は「阻止(ブロッキング)抗体」、例えばFGFR2のそのリガンドとの相互作用を完全に又は部分的に阻止する抗体である。ある実施態様では、抗FGFR2抗体はFGFR2の細胞外ドメイン、例えば配列番号1又は配列番号2のアミノ酸22-377内又はそれとオーバーラップする領域に結合する。ある実施態様では、抗FGFR2抗体はFGFR2のリガンド結合ドメインの全て又は一部に結合し又は妨げ等する。FGFR2のリガンド結合ドメインはX線結晶学によって調べられ、配列番号1又は配列番号2のアミノ酸約154-247及びアミノ酸256-358それぞれの第二及び第三のIg様ドメインを含む。上のII部、及びPlotnikov等(2000)Cell 101:413-424を参照のこと。従つて、ある実施態様では、抗FGFR2抗体はFGFR2の第二又は第三のIg様ドメインの全て又は一部に結合し又は妨げ等する。

50

【0059】

本発明の様々な実施態様では、(以下の2部において検討されるアンタゴニスト抗FGFR2抗体及び細胞障害性抗FGFR2抗体を含む)抗FGFR2抗体はモノクローナル抗体である。様々な実施態様では、抗FGFR2抗体は抗体断片、例えばFab、Fab'-SH、Fv、scFv、又は(Fab')₂断片、又は単一ドメイン抗体(Domantis, Inc., Waltham, MA; 例えは米国特許第6248516B1号を参照)である。ある実施態様では、抗FGFR2抗体は二重特異性抗体(例えは国際公開第94/04690号及びSuresh等(1986)Methods in Enzymology 121:210を参照)である。ある実施態様では、抗FGFR2抗体はキメラ、ヒト化、又はヒト抗体である。

他の態様では、FGFR2アンタゴニストはFGFR2に結合するオリゴペプチドである。一実施態様では、オリゴペプチドはFGFR2の細胞外ドメインに結合する。一実施態様では、オリゴペプチドは、例えは第二及び/又は第三のIg様ドメインの全部又は一部に結合することによって、リガンド結合ドメインの領域に結合するか又は妨害等する。他の実施態様では、オリゴペプチドはFGFR2のプロテインチロシンキナーゼドメインに結合し、及び/又は」FGFR2のプロテインチロシンキナーゼドメインの活性を減少させる。

【0060】

上記オリゴペプチドは、既知のオリゴペプチド合成法を用いて化学的に合成することができ、あるいは組換え技術を用いて調製し精製することができる。そのようなオリゴペプチドは、通常は少なくとも約5のアミノ酸長であり、あるいは少なくとも約6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99又は100のアミノ酸長である。このようなオリゴペプチドは、よく知られた技術を用いて過度の実験をすることなしに同定することができる。この点において、ポリペプチド標的に特異的に結合する能力のあるオリゴペプチドについてオリゴペプチドライブラーをスクリーニングする技術は当該分野でよく知られていることを注記する(例えは、米国特許第5556762号、同第5750373号、同第4708871号、同第4833092号、同第5223409号、同第5403484号、同第5571689号、同第5663143号; PCT公開第WO84/03506号、及びWO84/03564号; Geysen等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984); Geysen等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:178-182 (1985); Geysen等, Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986); Geysen等, J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987); Schoofs等, J. Immunol., 140:611-616 (1988), Cwirla,S.E.等(1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378; Lowman,H.B.等 (1991) Biochemistry, 30:10832; Clackson,T.等 (1991) Nature, 352:624; Marks,J.D.等 (1991) J. Mol. Biol., 222:581; Kang,A.S.等 (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363、及びSmith, G.P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668参照)。ある実施態様では、オリゴペプチドは細胞障害剤にコンジュゲートされうる。

【0061】

また別の態様では、FGFR2アンタゴニストは、ここに記載されたオリゴペプチド又は抗体以外の、FGFR2に結合する有機分子である。有機分子は例えは小分子でありうる。ある実施態様では、有機分子はFGFR2の細胞外ドメインに結合する。かかる一実施態様では、有機分子は、例えは第二及び/又は第三のIg様ドメインの全部又は一部に結合することによって、リガンド結合ドメインの領域に結合するか又は妨害等する。他の実施態様では、有機分子はプロテインチロシンキナーゼドメインに結合し、及び/又は」FGFR2のプロテインチロシンキナーゼドメインの活性を減少させる。

10

20

30

40

50

F G F R 2 に結合する有機分子は、既知の方法（例えばP C T 公開第W O 0 0 / 0 0 8 2 3号及び第W O 0 0 / 3 9 5 8 5号を参照）を使用して同定し、化学的に合成してもよい。そのような有機分子は通常は約2 0 0 0 ダルトン未満のサイズであるか、あるいは約1 5 0 0 、7 5 0 、5 0 0 、2 5 0 又は2 0 0 ダルトン未満のサイズであり、このような有機分子は、よく知られた技術を用いて過度の実験をすることなしに同定することができる。この点において、ポリペプチド標的に特異的に結合する能力のある分子について有機分子ライブラリーをスクリーニングする技術は当該分野でよく知られていることを注記する（例えば、P C T 公開第W O 0 0 / 0 0 8 2 3号及びW O 0 0 / 3 9 5 8 5号を参照）。ある実施態様では、有機分子は細胞障害剤にコンジュゲートされうる。

【0 0 6 2】

F G F R 2 に結合し、F G F R 2 のプロテインチロシンキナーゼ活性を阻害するある種の小分子アンタゴニストは当該分野において知られている。そのような分子には、例えば1 -tert- ブチル -3 -[6 -(3 , 5 -ジメトキシ -フェニル) -2 -(4 -ジメチルアミノ -ブチルアミノ) -ピリド [2 , 3 -d] ピリミジン -7 -イル] -尿素（「P D 1 7 3 0 7 4」）（例えばMoffa等(2004) Mol. Cancer Res. 2:643-652を参照）；及び3 -[3 -(2 -カルボキシエチル) -4 -メチルピロール -2 -メチリデニル] -2 -インドリノン（「S U 5 4 0 2」Calbiochem）（例えばBernard-Pierrot (2004) Oncogene 23:9201-9211を参照）。インドリノン類はF G F R のレセプタープロテインチロシンキナーゼ活性を阻害することが知られている小分子のクラスである。Mohammadi等(1997) 276:9555-960を参照のこと。ある実施態様では、F G F R 2 アンタゴニストは、ここで定義されたようなチロシンキナーゼ阻害剤である。

【0 0 6 3】

また別の態様では、F G F R 2 アンタゴニストは、F G F R 2 の可溶型、つまり細胞膜に繫留されていないF G F R 2 の形態である。F G F R 2 のこのような可溶型はF G F R 2 リガンドへの結合について膜結合F G F R 2 と競合しうる。ある実施態様では、F G F R 2 の可溶型はF G F R 2 の細胞外ドメインの全て又はリガンド結合部分、例えば配列番号1又は配列番号2のアミノ酸2 2 - 3 7 7 を含んでなるポリペプチドの全て又はリガンド結合部分を含みうる。ある実施態様では、F G F R 2 の可溶型はF G F R 2 の一又は複数のリガンド結合ドメインの全て又はリガンド結合部分、例えば配列番号1又は配列番号2のアミノ酸1 5 4 - 2 4 7 及び / 又はアミノ酸2 5 6 - 3 6 8 を含んでなるポリペプチドの全て又はリガンド結合部分を含みうる。上記実施態様の何れにおいても、F G F R 2 の可溶型はプロテインチロシンキナーゼドメインを更に含んでいてもよいし含んでいなくともよい。

【0 0 6 4】

F G F R 2 の天然に生じる可溶型はKatoh等(1992) Proc. Natl Acad. Sci. USA 89:2960-2964に報告されている。そのような形態は、プロテインチロシンキナーゼドメインを有しているか又は欠いているF G F R 2 の分泌型を含んでいる。同文献。また、二つのオリゴペプチドは、リガンド結合に対してF G F R 2 (F G F R 2 b) の膜結合アイソフォームと効果的に競合することが示されている。Bottaro等(1993) J. Biol. Chem. 268:9180-9183。それらペプチドは、リガンド結合ドメインの一つ（第三の免疫グロブリン様ドメイン）の一部にまたがるそれぞれ2 0 及び2 5 アミノ酸の伸展に対応する。よって、F G F R 2 の可溶型も当業者の技量の範囲のものである。

【0 0 6 5】

更に別の態様では、F G F R 2 アンタゴニストはF G F R 2 遺伝子の発現を減少させる（つまり、F G F R 2 遺伝子の転写及び / 又はF G F R 2 m R N A の翻訳を低減させる）アンチセンス核酸である。ある実施態様では、アンチセンス核酸はF G F R 2 をコードする核酸（D N A 又はR N A ）に結合する。ある実施態様では、アンチセンス核酸は約1 0 - 3 0 ヌクレオチド長の（エンドポイント間の全てのポイントを含む）オリゴヌクレオチドである。ある実施態様では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、修飾された糖ホスホジエステル骨格（又はホスホロチオエート結合及び国際公開第9 1 / 0 6 6 2 9号に記載されたような結合を含む他の糖連鎖）を含み、ここで、かかる修飾された糖ホスホジエ

10

20

30

40

50

ステル骨格は内在性ヌクレアーゼに耐性がある。一実施態様では、アンチセンス核酸はオリゴデオキシリボヌクレオチドであり、これは F G F R 2 mRNA の分解及び / 又は転写又は翻訳の減少を生じる。F G F R 2 特異的アンチセンス核酸のある種の例は当業者に知られており、例えば次の刊行物に記載されている：Post等(1996) Development 122:310 7-3115 (翻訳開始部位と 2 つのアイソフォーム特異的ホスホロチオエートオリゴデオキシリボヌクレオチド (16mer 及び 19mer) にまたがるホスホロチオエートオリゴデオキシリボヌクレオチド (15mer) を記載)；Yamada等(1999) Glia 28:66-76 (翻訳開始部位に相補的なホスホロチオエートオリゴデオキシリボヌクレオチドを記載)；及び国際公開第 03/024987 号 (F G F R 2 mRNA の様々な領域を標的にするホスホロチオエートオリゴデオキシリボヌクレオチド (20mer) を記載)。

10

【0066】

ある実施態様では、アンチセンス核酸は、「RNA 干渉」（「RNAi」）によって標的核酸の発現を減少させる RNA である。RNAi の概説については、例えば Novina 等 (2004) Nature 430:161-164 を参照のこと。そのような RNA は例えば低分子干渉 RNA (siRNA) 及びマイクロ RNA から誘導される。siRNA は、例えば長さが約 18 - 26 ヌクレオチドの二本鎖オリゴリボヌクレオチドとして合成することができる。同文献。よって、F G F R 2 の発現を減少させ宇アンチセンス核酸もまた当業者の技量の範囲内である。

【0067】

2. 細胞障害性抗体

一態様では、細胞障害性抗体が提供される。ある実施態様では、細胞障害性抗体は抗 F G F R 2 抗体、例えば上に提供したものであり、これはエフェクター機能を奏し及び / 又は細胞死を誘導する。ある実施態様では、細胞障害性抗 F G F R 2 抗体は F G F R 2 の細胞外ドメイン、例えば配列番号 1 又は配列番号 2 のアミノ酸 22 - 377 内の領域に結合する。

20

【0068】

免疫複合体

免疫複合体、又は「抗体 - 薬剤コンジュゲート」は癌の治療における細胞障害剤の局所的送達に有用である。例えば Syrigos 等 (1999) Anticancer Research 19:605-614； Niculescu-Duvaz 等 (1997) Adv. Drug Del. Rev. 26:151-172；米国特許第 4975278 号を参考のこと。免疫複合体は腫瘍への薬剤部分の標的化送達を可能にする一方、非コンジュゲート細胞障害性薬剤の全身性投与により正常細胞並びに除去しようとする腫瘍細胞への毒性が容認できないレベルとなりうる。Baldwin 等, (1986) Lancet pp. (Mar. 15, 1986):603-05；Thorpe, (1985) 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」 Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications (A. Pinchera 編), pp. 475-506 を参考のこと。

30

一態様では、免疫複合体は、例えば上で提供されたもののような F G F R 2 (又はその細胞外ドメイン) に結合する抗体、及び細胞障害性薬剤、例えば化学療法剤、増殖阻害剤、毒素 (例えば酵素的に活性な細菌、真菌、植物、又は動物由来の毒素、又はその断片)、又は放射性同位体 (つまり放射性コンジュゲート) を含む。

40

【0069】

そのような免疫複合体の作製に有用な化学療法剤は上に記載した。使用可能な酵素活性毒素及びその断片には、ジフテリア A 鎮、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素 A 鎮 (シュードモナス・アエルギノーサ (Pseudomonas aeruginosa) 由来)、リシン A 鎮、アブリン A 鎮、モデシン (modeccin) A 鎮、アルファ-サルシン (sarcin)、アレウライツ・フォルディイ (Aleurites fordii) プロテイン、ジアンシン (dianthin) プロテイン、フィトラッカ・アメリカーナ (Phytolaca americana) プロテイン (PAPI、PAPII 及び PAP-S)、モモルディカ・キャランティア (momordica charantia) インヒビター、クルシン (curcin)、クロチン、サバオナリア (sapoanaria) オフィシナリスインヒビター、ゲロニン (gelonin)、マイトゲリン (mitogellin)、レストリクトシン (restrictocin)、フェノマイシン、エノマイシ

50

ン及びトリコセセンス(tricothecenes)が含まれる。例には、²¹² B i、¹³¹ I、¹³¹ I n、⁹⁰ Y、及び¹⁸⁶ R eが含まれる。

【0070】

抗体と細胞障害剤のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えばN-スクシンイミジル-3-(2-ビリジルジチオ)プロピオナート(S P D P)、イミノチオラン(I T)、イミドエステル類の二官能性誘導体(例えばジメチルアジピミダートH C L)、活性エステル類(例えば、スペリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド類(例えば、グルタルアルデヒド)、ビスマジド化合物(例えば、ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、ビス-ジアゾニウム誘導体(例えば、ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トリエン-2,6-ジイソシアネート)、及び二活性フッ素化合物(例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を使用して作製することができる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta等, Science 238:1098(1987)に記載されているようにして調製することができる。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレン-トリアミン五酢酸(M X - D T P A)は抗体に放射性ヌクレオチドをコンジュゲートするためのキレート剤の例である。国際公開第94/11026号を参照のこと。10

【0071】

メイタンシン及びメイタンシノイド

一実施態様では、免疫複合体は一又は複数のメイタンシノイド分子と結合した抗F G F R 2抗体を含んでなる。メイタンシノイドは、チューブリン重合を阻害することによって作用する分裂阻害剤である。メイタンシンは、最初、東アフリカシラブ*Maytenus serrata*から単離された(米国特許第3896111号)。その後、ある種の微生物がメイタンシノイド類、例えばメイタンシノール及びC-3メイタンシノールエステルを生成することが発見された(米国特許第4151042号)。合成メイタンシノール及びその誘導体及び類似体は、例えば米国特許第4137230号；同4248870号；同4256746号；同4260608号；同4265814号；同4294757号；同4307016号；同4308268号；同4308269号；同4309428号；同4313946号；同4315929号；同4317821号；同4322348号；同4331598号；同4361650号；同4364866号；同4424219号；同4450254号；同4362663号；及び同4371533号に開示されており、その開示は出典を明示してここに援用される。20

【0072】

治療指標を改善する試みで、メイタンシン及びメイタンシノイドは、腫瘍細胞表面上の抗原に結合する抗体に結合された。メイタンシノイドを含む免疫複合体及びそれらの治療用途は、例えば米国特許第5208020号、同5416064号、欧州特許第0425235B1号に開示されており、その開示は出典を明示してここに援用される。Liu等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 8618-8623(1996)には、ヒト結腸直腸癌に対するモノクローナル抗体C242に結合するD M 1と命名されたメイタンシノイドを含有する免疫複合体が記載されている。前記複合体は培養された大腸癌細胞に対して高い細胞障害性を有することが見出されており、インビボ腫瘍増殖アッセイにおいて抗腫瘍活性を示した。Chari等, Cancer Research, 52: 127-131(1992)には、メイタンシノイドが、ジスルフィド結合を介して、ヒト結腸癌株化細胞の抗原に結合するマウス抗体A7、又はHER-2/neuオンコジーンに結合する他のマウスモノクローナル抗体T A . 1に結合している免疫複合体が記載されている。T A . 1-メイタンシノイドコンジュゲートの細胞毒性はヒト乳癌株化細胞S K - B R - 3についてインビトロで試験され、細胞当たり 3×10^5 HER-2表面抗原を発現した。薬剤複合体により、遊離のメイタンシノイド剤に類似した細胞障害度が達成され、該細胞障害度は、抗体分子当たりのメイタンシノイド分子の数を増加させることにより増加させうる。A7-メイタンシノイドコンジュゲートはマウスにおいては低い全身性細胞障害を示した。30

【0073】

10

20

30

40

50

抗 F G F R 2 抗体-メイタンシノイドコンジュゲートは、抗体又はメイタンシノイド分子の何れの生物学的活性も有意には低減することなく、メイタンシノイド分子に抗 F G F R 2 抗体を化学的に結合させることにより、調製される。抗体当たり 1 分子の毒素さえ、裸抗体の使用に対して細胞毒性を高めることが予想されるが、抗体分子当たり、平均 3 - 4 のメイタンシノイド分子が結合したものは、抗体の機能又は溶解性に悪影響を与えることなく、標的細胞の細胞毒性を向上させる効力を示した。メイタンシノイドは当該分野でよく知られており、既知の技術で合成することも、天然源から単離することもできる。適切なメイタンシノイドは、例えば米国特許第 5 2 0 8 0 2 0 号、及び他の特許及び上述した非特許刊行物に開示されている。好ましいメイタンシノイドは、メイタンシノール、及び種々のメイタンシノールエステル等の、メイタンシノール分子の芳香環又は他の位置が修飾されたメイタンシノール類似体である。

例えば、米国特許第 5 2 0 8 0 2 0 号又は欧州特許第 0 4 2 5 2 3 5 B 1 号、及び Char i 等, Cancer Research, 52 : 127-131(1992) に開示されているもの等を含む、抗体-メイタンシノイドコンジュゲートを作製するために、当該分野で知られている多くの連結基がある。連結基には、上述の特許に開示されているようなジスルフィド基、チオエーテル基、酸不安定性基、光不安定性基、ペプチターゼ不安定性基、又はエステラーゼ不安定性基が含まれるが、ジスルフィド及びチオエーテル基が好ましい。

【 0 0 7 4 】

抗体とメイタンシノイドとのコンジュゲートは、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば N - スクシンイミジル - 3 -(2 - ピリジルジチオ) プロピオナート (S P D P) 、スクシンイミジル - 4 -(N - マレイミドメチル) シクロヘキサン - 1 - カルボキシラート、イミノチオラン (I T) 、イミドエステル類の二官能性誘導体 (例えばジメチルアジピミダート H C L) 、活性エステル類 (例えば、スペリン酸ジスクシンイミジル) 、アルデヒド類 (例えば、グルタルアルデヒド) 、ビス - アジド化合物 (例えば、ビス (p - アジドベンゾイル) ヘキサンジアミン) 、ビス - ジアゾニウム誘導体 (例えば、ビス - (p - ジアゾニウムベンゾイル) エチレンジアミン) 、ジイソシアネート (例えば、トルエン - 2,6 - ディイソシアネート) 、及びビス活性フッ素化合物 (例えば、1,5 - ジフルオロ - 2,4 - ジニトロベンゼン) を使用して作製することができる。N - スクシンイミジル - 4 -(2 - ピリジルジチオ) ペンタノアート (S P P) (Carlsson 等, Biochem. J. 173 : 723-737[1978]) 及び N - スクシンイミジル - 3 -(2 - ピリジルジチオ) プロピオナート (S P D P) を含むある種のカップリング剤はジスルフィド結合をもたらす。

リンカーは、結合の種類に応じて、様々な位置でメイタンシノイド分子に結合されうる。例えば、一般的なカップリング技術を使用してヒドロキシル基と反応させることによりエステル結合を形成することができる。該反応は、ヒドロキシル基を有する C - 3 位、ヒドロキシメチルで修飾された C - 1 4 位、ヒドロキシル基で修飾された C - 1 5 位、及びヒドロキシル基を有する C - 2 0 位で生じる。好ましい実施態様では、結合はメイタンシノール又はメイタンシノール類似体の C - 3 位で形成される。

【 0 0 7 5 】

オーリスタチン (auristatins) 及びドラスタチン

ある実施態様では、免疫複合体はドラスタチン又はドラスタチンペプチド性維持体又は誘導体、例えばオーリスタチン (米国特許第 5 6 3 5 4 8 3 号 ; 同第 5 7 8 0 5 8 8 号) にコンジュゲートした抗 F G F R 2 抗体を含んでなる。ドラスタチン及びオーリスタチンは微小管動態、G T P 加水分解、及び核及び細胞分裂を妨害し (Woyke 等 (2001) Antimicrob. Agents and Chemother. 45(12):3580-3584) 、抗癌 (米国特許第 5 6 6 3 1 4 9 号) 及び抗真菌活性 (Pettit 等 (1998) Antimicrob. Agents Chemother. 42:2961-2965) を有していることが知られている。ドラスタチン又はオーリスタチン薬剤部分はペプチド性薬剤部分の N (アミノ) 末端又は C (カルボキシル) 末端を介して抗体に結合されうる (国際公開第 0 2 / 0 8 8 1 7 2 号) 。

例示的なオーリスタチン実施態様は、その開示の全体が出典明示により明示的に援用される米国特許出願公開第 2 0 0 5 - 0 2 3 8 6 4 9 A 1 号 「 Monomethylvaline Compounds 」

Capable of Conjugation to Ligands」に開示されたN末端結合モノメチルオーリスタチン薬剤部分D E及びD Fを含む。

【0076】

典型的には、ペプチド系薬剤部分は、二以上のアミノ酸及び/又はペプチド断片の間にペプチド結合を形成することによって調製することができる。そのようなペプチド結合は、例えばペプチド化学の分野でよく知られている液相合成法(E. Schroder及びK. Lubke, "The Peptides", 1巻, pp 76-136, 1965, Academic Press)に従って調製することができる。オーリスタチン/ドラスタチン薬剤部分は、米国特許第5635483号;同第5780588号;Pettit等(1989)J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465;Pettit等(1998)Anti-Cancer Drug Design 13:243-277;Pettit, G.R.等Synthesis, 1996, 719-725;及びPettit等(1996)J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5:859-863の方法に従って調製することができる。その全体が出典明示によりここに援用されるDoronina(2003)Nat. Biotechnol. 21(7):778-784;米国特許出願公開第2005-0238649A1号(例えばリンカー、及びリンカーにコンジュゲートされるMMAE及びMMAFのようなモノメチルバリン化合物を調製する方法を開示)を参照のこと。10

【0077】

カリケアマイシン

対象の他の免疫複合体には、一又は複数のカリケアマイシン分子と結合した抗F G F R 2抗体が含まれる。抗生物質のカリケアマイシンファミリーはサブ-ピコモルの濃度で二重鎖DNA破壊を生じることができる。カリケアマイシンファミリーのコンジュゲートの調製については、米国特許第5712374号、同5714586号、同5739116号、同5767285号、同5770701号、同5770710号、同5773001号、同5877296号(全て、American Cyanamid Company)を参照のこと。使用可能なカリケアマイシンの構造類似体には、限定するものではないが、₁^I、₂^I、₃^I、N-アセチル-₁^I、PSAG及び₁^I(Hinman等, Cancer Research, 53:3336-3342(1993)、Lode等Cancer Research, 58:2925-2928(1998)及び上述したAmerican Cyanamidの米国特許)が含まれる。抗体が結合可能な他の抗腫瘍剤は、葉酸代謝拮抗薬であるQFAである。カリケアマイシン及びQFAは双方とも、細胞内に作用部位を有し、原形質膜を容易には通過しない。よって、抗体媒介性インターナリゼーションによるこれらの薬剤の細胞への取込により、細胞障害効果が大きく向上する。20

【0078】

他の細胞障害剤

抗F G F R 2抗体と結合可能な他の抗腫瘍剤には、BCNU、ストレプトゾイシン、ビンクリスチン及び5-フルオロウラシル、米国特許第5053394号、同5770710号に記載されており、集合的にLL-E33288複合体として知られている薬剤のファミリー、並びにエスペラマイシン(esperamicine)(米国特許第5877296号)が含まれる。

使用可能な酵素活性毒及びその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素A鎖(シュードモナス・アエルギノーサ(Pseudomonas aeruginosa))、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシン(modeccin)A鎖、アルファ-サルシン(sarcin)、アレウライツ・フォルディイ(Aleurites fordii)プロテイン、ジアンシン(dianthin)プロテイン、フィトラッカ・アメリカナ(Phytolaca americana)プロテイン(PAPI、PAPI I及びPAP-S)、モモルディカ・キャラントニア(momordica charantia)インヒビター、クルシン(curcin)、クロチン、サバオナリア(sapaponaria)オフィシナリスインヒビター、ゲロニン(gelonin)、マイトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコセセンス(trichothecenes)が含まれる。例えば、1993年10月28日公開の国際公開第93/21232号を参照のこと。40

他の態様では、免疫複合体は、抗F G F R 2抗体と核酸分解活性を有する化合物(例えばリボヌクレアーゼ又はDNAエンドヌクレアーゼ、例えばデオキシリボヌクレアーゼ;DNエース)を含みうる。

10

20

30

40

50

【0079】

腫瘍を選択的に破壊するため、免疫複合体は、抗FGFR2抗体と高放射性原子を含みうる。放射性コンジュゲートした抗FGFR2抗体を生成するために様々な放射性同位体が利用される。例には、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²及びLuの放射性同位体が含まれる。コンジュゲートが診断用に使用される場合、それはシンチグラフィー研究用の放射性原子、例えば^{109m}Tc又は¹²³I、又は核磁気共鳴(NMR)映像(磁気共鳴映像、MRIとしても知られている)用のスピニ標識、例えばヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン又は鉄を含みうる。

放射-又は他の標識は、既知の方法でコンジュゲートに導入される。例えば、ペプチドは生合成されるか、又は水素の代わりにフッ素-19を含む適切なアミノ酸前駆体を使用する化学的なアミノ酸合成により合成される。標識、例えば^{109m}Tc又は¹²³I、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸及びIn¹¹¹は、ペプチドのシステイン残基を介して結合されうる。イットリウム-90はリジン残基を介して結合されうる。IODOGEN法(Fraker等(1978)Biochem. Biophys. Res. Commun. 80:49-57)は、ヨウ素-123の導入に使用することができる。「Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy」(Chatal, CRC Press 1989)は他の方法を詳細に記載している。

抗体と一又は複数の低分子毒素、例えばカリケアマイシン、メイタンシノイド、トリコセン(trichothene)及びCC1065、及び毒素活性を有するこれら毒素の誘導体がまたここで考えられる。

【0080】

4. 更なる治療剤

薬学的製剤は、場合によっては少なくとも一つの更なる治療剤を(つまり、FGFR2アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は免疫複合体に加えて)含有してもよい。そのような更なる治療剤は以下のパートCに更に詳細に記載される。

【0081】

5. 薬学的製剤の調製

上記薬剤の何れかを含有する薬学的製剤は、所望される程度の純度を持つ抗体又は免疫複合体を、水溶液又は凍結乾燥もしくは他の乾燥製剤の形態で、任意成分の製薬上許容される担体、賦形剤又は安定化剤と混合することにより調製され保存される(Remington's Pharmaceutical Science 16版, Osol, A.編 (1980))。許容される担体、賦形剤、又は安定化剤は、用いられる用量及び濃度で受容者に非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、ヒスチジン及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；保存料(例えば塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム)；フェノール；ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール；低分子量(約10残基未満)ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリジン等のアミノ酸；グルコース、マンノース、又はデキストリンを含む单糖類、二糖類、及び他の炭水化物；EDTA等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体(例えば、Zn-タンパク質錯体)及び/又はトゥイーン(TWEENTM)、フルロニクス(PLURONICSTM)又はポリエチレングリコール(PEG)等の非イオン性界面活性剤を含む。インビボ投与に使用される薬学的製剤は一般に無菌である。これは滅菌濾過膜による濾過によって直ぐに達成される。

【0082】

薬剤は、例えばコアセルベーション法によって又は界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプ

10

20

30

40

50

セル及びポリ-(メチルメタクリレート)マイクロカプセルに、コロイド状薬物送達系(例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフィア、マイクロエマルション、ナノ粒子及びナノカプセル)又はマクロエマルションに捕捉することができる。このような技術はRemington's Pharmaceutical Sciences 16版, Osol, A. 編(1980)に開示されている。

【0083】

徐放性製剤を調製することができる。徐放性製剤の好適な例は、対象の薬剤を含む固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、該マトリクスは成形品、例えばフィルム、又はマイクロカプセルの形態である。除放性マトリクスの例は、ポリエステル、ヒドロゲル(例えば、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)又はポリ(ビニルアルコール))、ポリラクチド(米国特許第3773919号)、L-グルタミン酸と-L-エチル-L-グルタマートのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOTTM(乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リュープロリドからなる注射可能なミクロスフィア)等の分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、ポリ-(D)-3-ヒドロキシブチル酸を含む。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーは分子を100日に亘って放出することができるが、ある種のヒドロゲルはより短時間でタンパク質を放出する。カプセル化された薬剤が身体内に長時間残ると、それらは37の水分に露出されることにより変性又は凝集し、その結果、生物学的活性の低下、及び抗体の場合には、起こりうる免疫原性の変化をもたらす。合理的な方法は、関与する機構に依存して安定化について工夫することができる。例えば、凝集機序がチオ-ジスルフィド交換を通した分子間S-S結合形成であることが発見された場合、安定化はスルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結乾燥、水分含量の制御、適切な添加剤の付加、及び特異的ポリマー-マトリクス組成物の開発によって達成されうる。

【0084】

C. 治療法及び関連方法

F G F R 2 アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は免疫複合体を使用する治療方法が提供される。そのような方法には、別段の記載がない限り、インピトロ、エキソビボ、及びノ又はインピボ治療法が含まれる。

一態様では、本発明は、結腸直腸癌細胞の増殖を阻害する方法であつて、細胞を、1) F G F R 2 アンタゴニスト、2) 細胞障害性抗 F G F R 2 抗体、又は3) 抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体にさらすことを含む方法が提供される。ある実施態様では、結腸直腸癌細胞において F G F R 2 遺伝子が増幅され又は過剰発現される。ある実施態様では、結腸直腸癌細胞は、結腸直腸腫瘍、例えば F G F R 2 遺伝子が増幅され又は過剰発現される結腸直腸腫瘍から誘導される。ある実施態様では、結腸直腸癌細胞は次の細胞株の何れかであり得る: C 7 0、H T 2 9、L I M 1 8 6 3、S W 1 4 1 7、S W 4 0 3、S W 4 8 0、S W 6 2 0、S W 8 3 7、V A C O 4 A、D L D - I、G P 2 d、H C A 7、H C T - 1 5、H C T 1 1 6、L o V o、L S 1 7 4 T、L S 4 1 1、V A C O 5、V A C O 4 0 0、又はV A C O 4 2 9。「増殖阻害」は細胞増殖を少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又は100%減少させることを意味し、細胞死の誘発を含む。

【0085】

細胞増殖の阻害は当業者に知られた方法を使用して測定することができる。例えば、細胞増殖の測定のための簡便なアッセイはCellTiter-GloTM Luminescent Cell Viability Assayであり、これはPromega(Madison, WI)から商業的に入手できる。そのアッセイは、代謝的に活性な細胞の指標である存在するATPの定量に基づき培養物中の生存細胞数を決定する。Crouch等(1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88, 米国特許第6602677号を参照。該アッセイは96ウェル又は384ウェル形態で実施することができ、自動化高スループットスクリーニング(HTS)に受け入れられるものとなる。Cree等(1995) Anticancer Drugs 6:398-404を参照。該アッセイ手順は培養した細胞に単一の試薬(CellTiter-Glo(登録商標)試薬)を直接添加することを含む。これは、細胞溶解と、ルシフェラーゼ反応によって得られる発光シグナルの発生を生じる。発光シグナルは、存在するAT

10

20

30

40

50

Pの量に比例し、これは培養物中に存在する生存細胞の数に直接比例している。データはルミノメーター又はCCDカメラ画像処理装置によって記録することができる。発光出力は相対光単位(RLU)として表される。

【0086】

他の態様では、結腸直腸癌の治療方法であって、結腸直腸癌の個体に、1)抗FGFR2アンタゴニスト、2)細胞障害性抗FGFR2抗体、又は3)抗FGFR2抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含有する薬学的製剤の有効量を投与することを含む方法が提供される。ある実施態様では、結腸直腸癌にFGFR2遺伝子の増幅又は過剰発現が伴う。ある実施態様では、個体は結腸直腸癌に対する非ヒト動物モデルである。結腸直腸癌のマウスモデルは、Heijstek等(2005)Dig. Surg. 22: 16-25で詳細に検討されている。ある実施態様では、薬学的製剤の有効量は次のものの何れか一つを生じる：癌細胞数の減少又は癌細胞の除去；腫瘍サイズの減少；癌の軟部組織及び骨中への広がりを含む周囲器官中への癌細胞浸潤の完全な又は部分的な阻害；腫瘍増殖の完全な又は部分的な阻害；及び/又は癌に伴う一又は複数の徴候の完全な又は部分的な軽減；及び罹患率及び死亡率の減少。

10

【0087】

ある実施態様では、1)抗FGFR2アンタゴニスト、2)細胞障害性抗FGFR2抗体、又は3)抗FGFR2抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含有する薬学的製剤は、少なくとも一つの更なる治療剤及び/又はアジュバントと併用して投与される。ある実施態様では、治療剤は細胞障害剤、化学療法剤、又は増殖阻害剤である。かかる実施態様の一つでは、化学療法剤は結腸直腸癌の治療に使用される薬剤又は薬剤の組合せである。かかる薬剤には、限定されるものではないが、単独で又はロイコボリン又はレバミソールと併用されるフルオロウラシル(5FU)；エドロコロマブ(edrocolomab)；イリノテカン；オキサリプラチニン；ラルチトレキセド；及びフルオロピリミジン類が含まれる。

20

上に記したかかる併用療法は、(二以上の薬剤が同じ又は別個の製剤中に含まれる)併用投与、及びFGFR2アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は免疫複合体の投与が更なる治療剤及び/又はアジュバントの投与の前、同時、及び/又は後に続いて生じうる別個の投与を包含する。FGFR2アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は免疫複合体はまた放射線療法と併用して使用することもできる。

30

【0088】

FGFR2アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は免疫複合体(及び任意の更なる治療剤又はアジュバント)は、非経口的、皮下、腹膜内、肺内、鼻腔内、また必要であれば局所治療のため、病巣内投与を含む任意の好適な方法で投与されうる。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹膜内、又は皮下投与を含む。加えて、FGFR2アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は免疫複合体は、特にFGFR2アンタゴニスト、細胞障害性抗体、又は免疫複合体の用量を減少させたパルス注入によって好適に投与される。投薬は、部分的には投与が短期間か慢性的かによって、例えば注入、例えば静脈内又は皮下注射のような任意の経路によりうる。

FGFR2アンタゴニストがアンチセンス核酸である場合、アンチセンス核酸の投薬量及びインビボ投与のための手引きは、Khan等(2004)J. Drug Targeting 12:393-404に見出すことができる。

40

【0089】

治療剤が抗FGFR2抗体又はその免疫複合体である場合、(単独で又は化学療法剤のような他の更なる薬剤との併用で使用される場合)抗体又は免疫複合体の適切な投与量は、特定の抗体又は免疫複合体、病気の重症度及び過程、抗体又は免疫複合体を予防目的で投与するのか治療目的で投与するのか、過去の治療、患者の臨床歴及び抗体又は免疫複合体への応答性、治療に従事する医師の裁量に依存するであろう。抗体又は免疫複合体は一度に又は一連の処置にわたって患者に適切に投与される。疾患のタイプや重症度に応じて、例えば一又は複数の別個の投与又は連続注入の何れであれ、約1μg/kgから15mg/kg(例えば、約0.1mg/kg-10mg/kg)の抗体又は免疫複合体が患者へ

50

の最初の投与量の候補である。上述した因子に応じて、典型的な一日の投与量は約 1 μg / kg から 100 mg / kg あるいはそれ以上の範囲であるかも知れない。数日間又はそれ以上の繰り返し投与の場合、症状に応じて、病気の徴候の望ましい抑制が生じるまで治療を一般に維持する。抗体又は免疫複合体の投与量の一例は、約 0.05 mg / kg から約 10 mg / kg の範囲であろう。従って、約 0.5 mg / kg、2.0 mg / kg、4.0 mg / kg 又は 10 mg / kg の一又は複数の用量(又はその任意の組み合わせ)で、患者に投与されうる。かかる用量は、断続的に投与されうる(例えば、患者は、抗体又は免疫複合体の約 2 から約 20、例えば約 6 用量を受ける)。高い初負荷用量の後に一又は複数の低用量が投与されうる。例示的な投薬計画は、約 4 mg / kg の初負荷用量の後に、毎週約 2 mg / kg の抗体又は免疫複合体の維持用量を投与することを含む。しかしながら、他の投薬計画も有用であろう。

10

【0090】

I I I . 実施例

A . 試料

それぞれ異なった患者の試料からの 30 の新鮮な凍結結腸直腸腫瘍を分析用に選択した。各腫瘍試料は、病理学者の推定では、75%より多い新生細胞含量であった。各腫瘍から RNA と DNA の双方を標準的な方法によって抽出し精製した。

【0091】

B . DNA コピー数解析

GeneChip (登録商標)ヒトマッピング 500 K アレイセット (Affymetrix, Santa Clara, CA) を使用して、30 の結腸直腸腫瘍中の DNA コピー数変化を測定した。GeneChip (登録商標)ヒトマッピング 500 K アレイセットは 2 つのアレイ (250 K 「Sty I」アレイ及び 250 K 「Nsp I」アレイ) からなり、それぞれがおよそ 250000 SNP で、全体でおよそ 500000 SNP に特異的なプローブを含んでいる。SNP はゲノム全体に分布しており、よって DNA コピー数のゲノム全体の解析が可能になる。アレイセット中の各アレイは 650 万を超える特徴を含んでおり、各特徴は定まった配列の 25 bp のオリゴヌクレオチドの 100 万を超えるコピーからなる。

20

各腫瘍試料から、DNA を增幅させ、標識し、Affymetrix の標準的なプロトコルによって Sty 1 又は Nsp 1 で消化させ、得られた調製物を、GeneChip (登録商標)ヒトマッピング 500 K アレイセットの双方のアレイにハイブリダイズさせた。

30

マイクロアレイへのハイブリダイゼーションは、Affymetrix の標準的なプロトコルに従って検出し、各特徴に対する強度値を得た。強度値を正常なゲノム DNA の参考セットに対して正規化した。ついで、特徴をヒトゲノムに対してマッピングした。しかし、正規化された強度値は特定のゲノム座における DNA コピー数を反映させていた。

【0092】

C . 発現解析

GeneChip (登録商標)ヒトゲノム U133A 2.0 アレイ及び GeneChip (登録商標)ヒトゲノム U133 プラス 2.0 アレイ (Affymetrix, Santa Clara, CA) を用いて、30 の結腸直腸腫瘍の相対 mRNA 発現を測定した。精製した RNA 試料を逆転写し、増幅し、標識し、Affymetrix の標準的なプロトコルに従って処理等し、各特徴に対する強度値を得た。強度値を、全腫瘍試料にわたる特徴の強度中央値に対して正規化した。ついで、特徴をヒトゲノム中の対応するコード領域に対してマッピングした。しかし、正規化された強度値は各特徴に対する mRNA 発現レベルを反映しており、各特徴はゲノム中の特定の位置と相關していた。

40

【0093】

D . 解析と結果

30 の結腸直腸腫瘍試料の一つ (g1gcX05362 と標記) は図 1 に示したような遺伝子増幅と発現プロファイルを示した。その図のパネル A には、各特徴に対する DNA コピー数解析 (上のパート B) からの正規化された強度値が垂直な線として表されている

50

。垂直な線は、染色体 10 の長さを表すパネル A における水平軸に沿ってプロットされている。各垂直な線の高さは正規化された強度値を反映しており、これは染色体上のその位置における DNA コピー数の測定値である。シグナル強度のスパイクが染色体の右端近くに観察された。

パネル B は 1 2 1 0 0 0 0 0 0 ヌクレオチドから 1 2 6 0 0 0 0 0 0 ヌクレオチドの染色体 10 の右端の拡大を示す。パネル A について、DNA コピー数解析からの正規化された強度値は垂直な線として示している。染色体 10 のその領域内の正規化された強度値のクラスターは約 10 倍のコピー数増加を示した。

パネル C では、発現解析（上のパート C）からの正規化された強度値が垂直な線として示されている。水平軸はパネル B と同じ染色体領域を表している。よって、パネル C 中の垂直な線は、染色体領域内のコード化領域からの mRNA 発現の相対レベルを示している。各垂直な線の高さは各特徴に対する相対的 mRNA 発現レベルを反映している。

パネル D はパネル B 及び C に示された染色体 10 の領域にマッピングすることが知られている遺伝子のコード領域を示している。

【 0 0 9 4 】

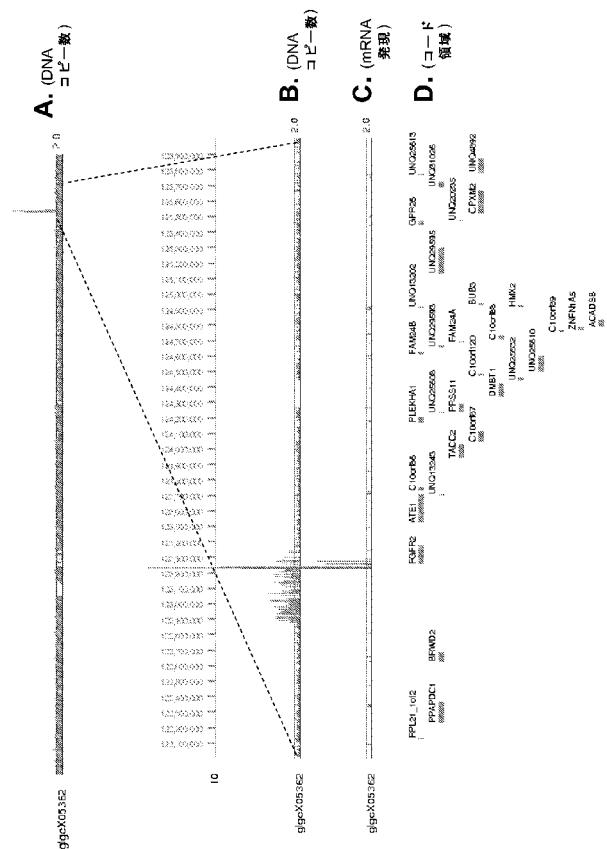
パネル B、C、及び D の比較は、遺伝子 F G F R 2 遺伝子一つのみが、パネル B で観察されたコピー数増加の領域内に存在していることを示している。F G F R 2 遺伝子の DNA コピー数の増加は、パネル C に示されるように、F G F R 2 転写物の顕著な過剰発現（少なくとも 10 - 40 倍の過剰発現）と相關している。

F G F R 2 遺伝子の高レベルの増幅は、その遺伝子のコピー数の増加が、コードされた増殖因子レセプターの過剰発現を引き起こし、それによって結腸直腸腫瘍細胞の成長及び増殖を促進することを示唆している。観察された F G F R 2 mRNA の過剰発現はその結論に一致している。

【 0 0 9 5 】

上記の発明は理解の明確化のために例示と実施例によってある程度詳細に記載したが、説明と実施例は発明の範囲を限定するものと解釈してはならない。ここで引用された全ての特許及び科学的文献の開示はその全体が出典明示によって明示的に援用される。

【図1】



【配列表】

2009536834000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成21年1月16日(2009.1.16)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 6 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 6 2】

F G F R 2 に結合し、F G F R 2 のプロテインチロシンキナーゼ活性を阻害するある種の小分子アンタゴニストは当該分野において知られている。そのような分子には、例えば 1-tert-ブチル-3-[6-(3,5-ジメトキシフェニル)-2-(4-ジメチルアミノ-ブチルアミノ)-ピリド[2,3-d]ピリミジン-7-イル]-尿素（「P D 1 7 3 0 7 4」）（例えばMofa等(2004) Mol. Cancer Res. 2:643-652を参照）；及び 3-[3-(2-カルボキシエチル)-4-メチルピロール-2-メチリデニル]-2-インドリノン（「S U 5 4 0 2」Calbiochem）（例えばBernard-Pierrot (2004) Oncogene 23:9201-9211を参照）。インドリノン類はF G F R のレセプター-プロテインチロシンキナーゼ活性を阻害することが知られている小分子のクラスである。Mohammadi等(1997) Science 276:955-960を参照のこと。ある実施態様では、F G F R 2 アンタゴニストは、ここで定義されたようなチロシンキナーゼ阻害剤である。

【手続補正2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

哺乳動物における結腸直腸癌の存在を診断する方法であって、該哺乳動物の被験結腸直腸試料においてコントロール試料に対して F G F R 2 遺伝子が増幅されているかどうかを検出することを含み、 F G F R 2 遺伝子の増幅が該哺乳動物における結腸直腸癌の存在を示す方法。

【請求項 2】

F G F R 2 遺伝子が増幅されているかどうかの決定が、 F G F R 2 遺伝子のコピー数が少なくとも 5 倍増加しているかどうかを検出することを含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

F G F R 2 遺伝子の増幅を伴う結腸直腸癌の治療方法であって、 F G F R 2 アンタゴニストを含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む方法。

【請求項 4】

F G F R 2 アンタゴニストが抗 F G F R 2 抗体である請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

抗 F G F R 2 抗体が F G F R 2 の細胞外ドメインに結合する請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

抗 F G F R 2 抗体が抗体断片である請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

抗 F G F R 2 抗体がキメラ又はヒト化抗体である請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】

抗 F G F R 2 抗体がヒト抗体である請求項 4 に記載の方法。

【請求項 9】

F G F R 2 アンタゴニストが、 F G F R 2 に結合する有機分子である請求項 3 に記載の方法。

【請求項 10】

F G F R 2 アンタゴニストが、 F G F R 2 に結合するオリゴペプチドである請求項 3 に記載の方法。

【請求項 11】

F G F R 2 アンタゴニストが F G F R 2 の可溶型である請求項 3 に記載の方法。

【請求項 12】

F G F R 2 アンタゴニストが、 F G F R 2 をコードする核酸に結合しその発現を減少させる 10 - 30 ヌクレオチド長のアンチセンス核酸である請求項 3 に記載の方法。

【請求項 13】

F G F R 2 遺伝子の増幅を伴う結腸直腸癌の治療方法であって、(a) 細胞障害性抗 F G F R 2 抗体又は(b) 抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む方法。

【請求項 14】

細胞障害性抗 F G F R 2 抗体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体を含む薬学的製剤の有効量を、結腸直腸癌の個体に投与することを含む請求項 13 に記載の方法。

【請求項 16】

細胞障害剤がメイタンシノイド又はオーリスタチンである請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

結腸直腸癌の個体が F G F R 2 又は F G F R 2 遺伝子を標的とする治療剤に応答するかどうかを決定する方法であって、 F G F R 2 遺伝子が結腸直腸癌において増幅されるかどうかを決定することを含み、 F G F R 2 遺伝子の増幅が、個体が治療剤に応答することを

示す方法。

【請求項 1 8】

治療剤が(a) F G F R 2 抗体、(b) 細胞障害性抗 F G F R 2 抗体、又は(c) 抗 F G F R 2 抗体と細胞障害剤を含んでなる免疫複合体である請求項1 7に記載の方法。

【国際調査報告】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No PCT/US2007/068737 | | | | | | | | | |
|---|---|--|-----------|--|-----------------------|---|--|-----|---|---|------|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68 | | | | | | | | | | | |
| 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) C12Q | | | | | | | | | | | |
| 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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search | | | | | | | | | | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">WATANABE M. ET AL: "Overexpression of keratinocyte growth factor in cancer cells and enterochromaffin cells in human colorectal cancer" PATHOLOGY INTERNATIONAL, vol. 50, no. 5, May 2002 (2002-05), pages 363-372, XP002461793 the whole document -----</td> <td style="padding: 2px;">1-8</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">MATSUKE A. ET AL: "Expression of fibroblast growth factor (FGF)-10 in human colorectal adenocarcinoma cells" JOURNAL OF NIPPON MEDICAL SCHOOL, vol. 68, no. 5, October 2002 (2002-10), pages 397-404, XP002461794 page 402, right-hand column - page 403, left-hand column; figure 1 ----- -/-</td> <td style="padding: 2px;">1-36</td> </tr> </tbody> </table> | | | Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | X | WATANABE M. ET AL: "Overexpression of keratinocyte growth factor in cancer cells and enterochromaffin cells in human colorectal cancer" PATHOLOGY INTERNATIONAL, vol. 50, no. 5, May 2002 (2002-05), pages 363-372, XP002461793 the whole document ----- | 1-8 | X | MATSUKE A. ET AL: "Expression of fibroblast growth factor (FGF)-10 in human colorectal adenocarcinoma cells" JOURNAL OF NIPPON MEDICAL SCHOOL, vol. 68, no. 5, October 2002 (2002-10), pages 397-404, XP002461794 page 402, right-hand column - page 403, left-hand column; figure 1 ----- -/- | 1-36 |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | | | | | | | | | |
| X | WATANABE M. ET AL: "Overexpression of keratinocyte growth factor in cancer cells and enterochromaffin cells in human colorectal cancer" PATHOLOGY INTERNATIONAL, vol. 50, no. 5, May 2002 (2002-05), pages 363-372, XP002461793 the whole document ----- | 1-8 | | | | | | | | | |
| X | MATSUKE A. ET AL: "Expression of fibroblast growth factor (FGF)-10 in human colorectal adenocarcinoma cells" JOURNAL OF NIPPON MEDICAL SCHOOL, vol. 68, no. 5, October 2002 (2002-10), pages 397-404, XP002461794 page 402, right-hand column - page 403, left-hand column; figure 1 ----- -/- | 1-36 | | | | | | | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. | | <input checked="" type="checkbox"/> 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 document but published on or after the International filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | | | | | | | | | | | |
| *T* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *Z* document member of the same patent family | | | | | | | | | | | |
| Date of the actual completion of the International search 12 December 2007 | Date of mailing of the International search report 14/01/2008 | | | | | | | | | | |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 661 epo nl Fax (+31-70) 340-3016 | Authorized officer Santagati, Fabio | | | | | | | | | | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| |
|---|
| International application No PCT/US2007/068737 |
|---|

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| P,X | WO 2006/110581 A (CHIRON CORP [US]; SAGRES DISCOVERY INC [US]; LAI ALBERT [US]; FANIDI A) 19 October 2006 (2006-10-19) paragraph [0115] _____ | 1-9 |
| A | WO 00/46343 A (YEDA RES & DEV [IL]; PROCHON BIOTECH LTD [IL]; YAYON AVNER [IL]; REZNI) 10 August 2000 (2000-08-10) the whole document _____ | 9-36 |
| A | WO 2005/115363 A (UNIV YALE [US]; ESWARAKUMAR VERARAGAVAN PALANI [US]; SCHLESSINGER JOSE) 8 December 2005 (2005-12-08) the whole document _____ | 9-36 |
| A | WO 99/44062 A (US HEALTH [US]; KALLIONIEMI OLLI [US]; KONONEN JUHA [US]; LEIGHTON STE) 2 September 1999 (1999-09-02) claim 88; figures 25,26 _____ | 1-9 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| |
|--|
| International application No. PCT/US2007/068737 |
|--|

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

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

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 9-36 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. Claims Nos.: because they relate to parts of the International application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

| |
|---|
| International application No PCT/US2007/068737 |
|---|

| Patent document cited in search report | | Publication date | | Patent family member(s) | | Publication date |
|--|---|------------------|----|-------------------------|------------|------------------|
| WO 2006110581 | A | 19-10-2006 | WO | 2006110585 A2 | | 19-10-2006 |
| WO 0046343 | A | 10-08-2000 | CA | 2360745 A1 | 10-08-2000 | |
| | | | EP | 1164838 A2 | 02-01-2002 | |
| | | | US | 2004014024 A1 | 22-01-2004 | |
| WO 2005115363 | A | 08-12-2005 | EP | 1773305 A2 | 18-04-2007 | |
| WO 9944062 | A | 02-09-1999 | AT | 347102 T | 15-12-2006 | |
| | | | AU | 756731 B2 | 23-01-2003 | |
| | | | AU | 2973599 A | 15-09-1999 | |
| | | | CA | 2318789 A1 | 02-09-1999 | |
| | | | DE | 69934222 T2 | 25-10-2007 | |
| | | | EP | 1066517 A1 | 10-01-2001 | |
| | | | JP | 2002505431 T | 19-02-2002 | |

フロントページの続き

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード(参考) |
|---------------------------|-----------------|------------|
| A 6 1 K 31/7088 (2006.01) | A 6 1 K 31/7088 | 4 C 0 8 6 |
| A 6 1 K 45/00 (2006.01) | A 6 1 K 45/00 | |
| A 6 1 K 31/5355 (2006.01) | A 6 1 K 31/5355 | |
| A 6 1 K 38/00 (2006.01) | A 6 1 K 37/02 | |
| A 6 1 K 48/00 (2006.01) | A 6 1 K 48/00 | |
| G 0 1 N 33/15 (2006.01) | G 0 1 N 33/15 | Z |
| G 0 1 N 33/50 (2006.01) | G 0 1 N 33/50 | Z |

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

- (72)発明者 ゲレロ , アンソニー エス .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 0 , サン フランシスコ , レキシントン ストリート 3 2 3
- (72)発明者 ハヴァティ , ピーター
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 0 , サン フランシスコ , アンダーソン ストリート 1 0 2
- (72)発明者 ホンチャエル , シンシア
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 2 2 , サン フランシスコ , 17番 アヴェニュー 1 2 4 3
- (72)発明者 ユング , ケニス
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 2 2 , サン フランシスコ , アパートメント 1 , 12番 アヴェニュー 1 5 0 0
- (72)発明者 ウー , トーマス
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 0 , サン フランシスコ , ネヴァダ ストリート 4 1

F ターム(参考) 2G045 AA29 AA40 BA11 BB20 CB01 CB17 DA14 FB03
4B024 AA01 AA12 BA63 CA12 DA03 HA14
4B063 QA19 QQ02 QQ53 QR36 QR72 QS34 QX01
4C084 AA13 AA17 CA62 NA14 ZB262
4C085 AA14 BB01 DD62 EE01
4C086 AA01 AA02 MA01 MA04 NA14 ZB26