

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-89783

(P2019-89783A)

(43) 公開日 令和1年6月13日(2019.6.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/18 (2006.01)	C07K 16/18 ZNA	4B064
A61K 47/68 (2017.01)	A61K 47/68	4C076
A61K 31/437 (2006.01)	A61K 31/437	4C086
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00	4H045
A61P 35/02 (2006.01)	A61P 35/02	

審査請求 有 請求項の数 18 O L 外国語出願 (全 49 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-3501 (P2019-3501)	(71) 出願人	516205959 シントン・バイオファーマシューティカルズ・ビー・ブイ。 SYNTHON BIOPHARMACEUTICALS B. V. オランダ国、エヌエルー6545 シーエム・ナイメーヘン、マイクロベーク 22 Microweg 22, NL-6545 CM Nijmegen, Netherlands
(22) 出願日	平成31年1月11日 (2019.1.11)	(74) 代理人	100108855 弁理士 蔵田 昌俊
(62) 分割の表示	特願2016-568847 (P2016-568847) の分割	(74) 代理人	100103034 弁理士 野河 信久
原出願日	平成27年5月22日 (2015.5.22)		
(31) 優先権主張番号	14169493.5		
(32) 優先日	平成26年5月22日 (2014.5.22)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体へのリンカー薬物の部位特異的コンジュゲーションおよび得られるADC

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍、特に乳癌、胃癌、結腸直腸癌、尿路上皮癌、卵巣癌、子宮癌、肺癌、中皮腫、肝癌、膵癌、前立腺癌および白血病の治療等に対する薬剤としての使用に適する抗体 - 薬物コンジュゲート化合物の提供。

【解決手段】 リンカー薬物が、抗体の特定の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して前記抗体に部位特異的にコンジュゲートされている抗体 - 薬物コンジュゲート化合物、および、前記化合物および1つ以上の薬学的に許容できる賦形剤を含み、好ましくは凍結乾燥された粉末の形態である医薬組成物。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

リンカー薬物が、重鎖 40、41 および 89 (Kabat ナンバリングによる) ; ならびに軽鎖 40 および 41 (Kabat ナンバリングによる) から選択される抗体の 1 つ以上の位置で操作されたシステインを介して前記抗体に部位特異的にコンジュゲートされている抗体 - 薬物コンジュゲート化合物。

【請求項 2】

前記操作されたシステインが、前記抗体の Fab 部分にある重鎖 40 および 41 ならびに軽鎖 40 および 41 から選択される前記抗体の 1 つ以上の位置にある、請求項 1 に記載の化合物。

10

【請求項 3】

前記抗体の Fc 部分にある 375 位 (Eu ナンバリングによる) に操作されたシステインをさらに含む、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

前記リンカー薬物がデュオカルマイシン誘導体を含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 5】

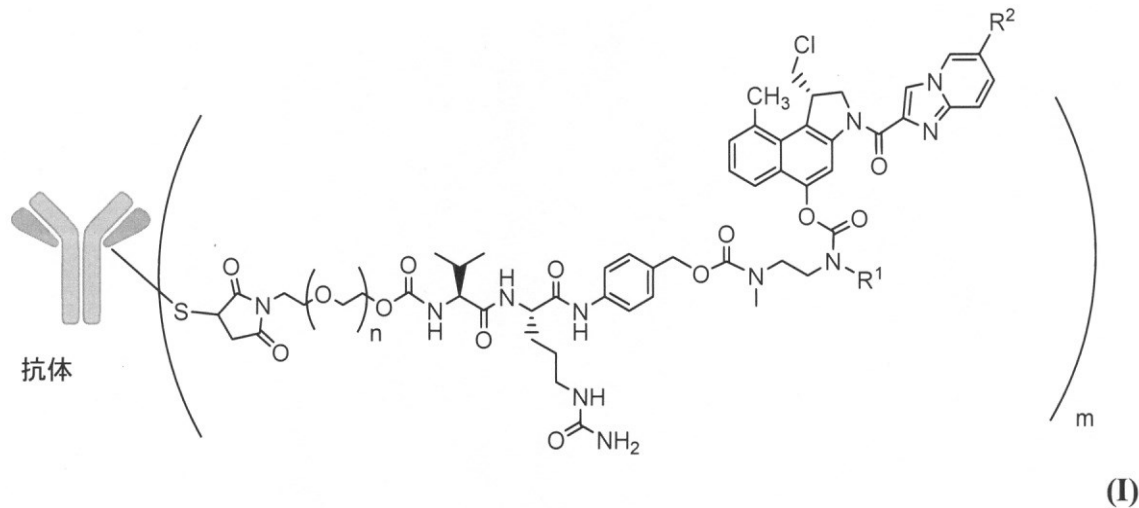
リンカー薬物が、重鎖 40、41 および 89 (Kabat ナンバリングによる) ; 重鎖 152、153、155、171、247、297、339、375 および 376 (Eu ナンバリングによる) ; ならびに軽鎖 40、41、165 および 168 (Kabat ナンバリングによる) から選択される前記抗体の 1 つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体またはその抗原結合断片に部位特異的にコンジュゲートされており、前記リンカー薬物が、デュオカルマイシン誘導体を含む抗体 - 薬物コンジュゲート化合物。

20

【請求項 6】

式 (I) の請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の化合物であって

【化 1】

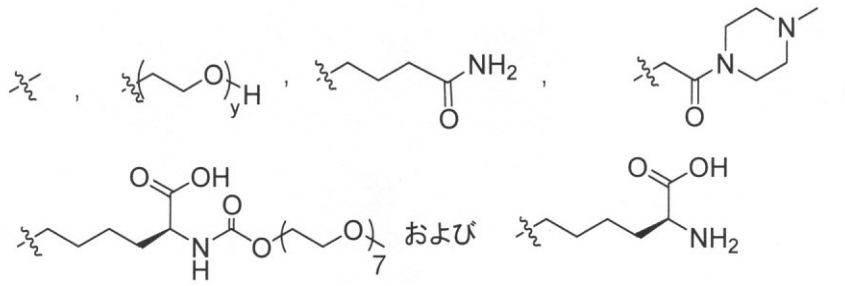


30

40

n が、0 ~ 3 であり、
m が、1 ~ 6 の平均 DAR を表し、
R¹ が、

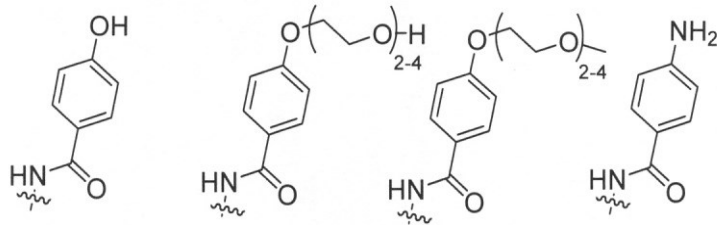
【化2】



から選択され、
 y が、1 ~ 16 であり、
 R² が、

10

【化3】



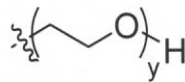
から選択される、化合物。

20

【請求項7】

n が、0 ~ 1 であり、
 m が 1 . 5 ~ 2 の平均 D A R を表し、
 R¹ が、

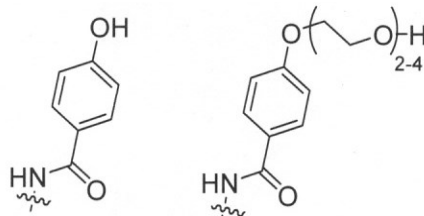
【化4】



であり、
 y が、1 ~ 4 であり、
 R² が、

30

【化5】



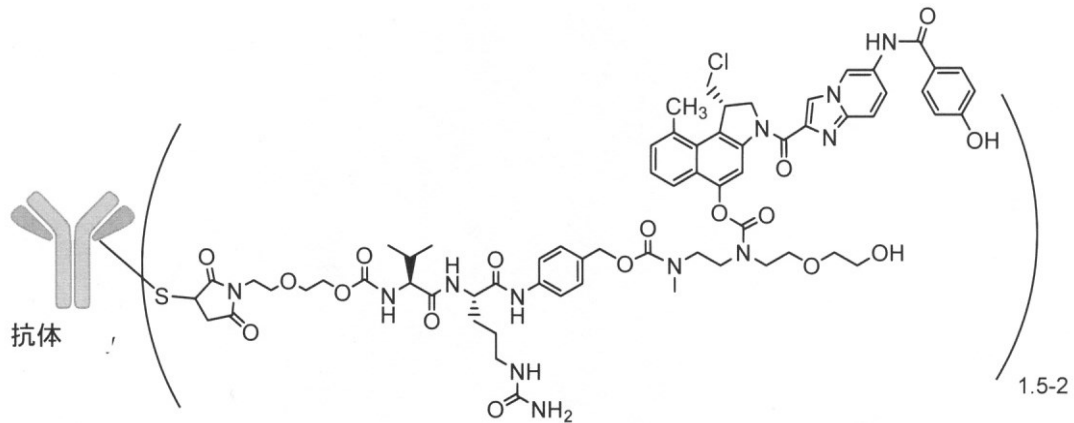
から選択される、請求項6に記載の化合物。

40

【請求項8】

式 (I I) の請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【化 6】



10

(II)

【請求項 9】

前記抗体が、腫瘍細胞の細胞膜内または上において発現される抗原標的に結合し、前記抗体が、前記標的に結合後に細胞により内部移行される、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 10】

前記抗体が、抗アネキシン A 1 抗体、抗 CD 1 1 5 抗体、抗 CD 1 2 3 抗体、抗 CLL - 1 抗体、抗 c - MET 抗体、抗 MUC 1 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 5 T 4 抗体または抗 TF 抗体である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の化合物。

20

【請求項 11】

前記抗体が、抗 PSMA モノクローナル抗体または抗 5 T 4 モノクローナル抗体である、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 12】

前記リンカー薬物が、前記抗 PSMA 抗体の重鎖可変領域の 4 1 位にコンジュゲートされ、好ましくは前記抗 PSMA 抗体の重鎖が配列番号 2 のアミノ酸配列を含み、前記抗 PSMA 抗体の軽鎖が配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の化合物。

【請求項 13】

前記リンカー薬物が、前記抗 5 T 4 抗体の重鎖可変領域の 4 1 位でコンジュゲートされ、好ましくは前記抗 5 T 4 抗体の重鎖が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、前記抗 5 T 4 抗体の軽鎖が、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の化合物。

30

【請求項 14】

請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の化合物および 1 つ以上の薬学的に許容できる賦形剤を含み、好ましくは凍結乾燥された粉末の形態である医薬組成物。

【請求項 15】

薬剤として使用するための、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の化合物または請求項 14 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

ヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍の治療に使用するための、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の化合物または請求項 14 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 17】

前記ヒト固形腫瘍が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、尿路上皮癌、卵巣癌、子宮癌、肺癌、中皮腫、肝癌、膵癌および前立腺癌からなる群から選択される、請求項 16 に記載の化合物または医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【発明の分野】

【0001】

本発明は、リンカー薬物が、操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジ

50

ュゲートされている抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC)、ならびにヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍、特に乳癌、胃癌、結腸直腸癌、尿路上皮癌、卵巣癌、子宮癌、肺癌、中皮腫、肝癌、膵癌、前立腺癌、および白血病の治療におけるその使用に関する。

【発明の背景】

【0002】

抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) は、伝統的な化学療法よりも治療指数が改善されている標的治療法の新たな種類である。(モノクローナル)抗体 (mAb)ならびに標的選択に加えて、薬物およびリンカーがADC開発の焦点となってきた。しかしながら、近年では、コンジュゲートの均質性の重要性が認識された。抗体への薬物結合の従来の方法は、不均質な混合物をもたらし、その混合物のいくつか個々の成分の *in vivo*での成績が、低いことがある。部位特異的薬物結合の新たな方法は、より均質なコンジュゲートをもたらし薬物結合の部位の制御ができるようになる。これら僅かな改善は、*in vivo*効力および/または *in vivo*安全性、ならびにそれによる治療指数に対して大きな効果を有し得る。抗体への部位特異的薬物コンジュゲーションの方法については、C. R. Behrens and B. Liu in mAbs, Vol. 6, Issue 1, 2014, pages 1 - 8に総合的に概説されている。

10

【0003】

従来ADCは、表面に露出しているリシンまたは鎖間ジスルフィド結合の還元によって生成される遊離システインのいずれかの側鎖を介して抗体にリンカー薬物をコンジュゲートすることにより一般に産生される。抗体は、多くのリシン残基およびシステインジスルフィド結合を含有するので、従来ADCは、解析特性評価ならびに製造に関して課題を示す不均質な混合物を一般に産生する。さらに、これら混合物の個々の成分は、薬物動態、効力および安全性プロファイルに関して異なる物理化学特性ならびに薬理を呈し、この方法を最適化するための合理的な手法を妨げる。

20

【0004】

抗体の化学的修飾に関するこれら2つの従来技術を使用して、現在FDA販売承認を持つ2つのADCを構築した。プレッツキシマブベドチン [Adcetris (商標)、SeaTtle Genetics] は、天然のシステイン側鎖チオールを修飾によって細胞毒性の高い薬物であるモノメチルオーリスタチンE (MMAE)にコンジュゲートされた抗CD30モノクローナル抗体からなる。製造は、溶媒に露出している鎖間ジスルフィドを部分還元し、その後マレイミド含有リンカー薬物によって得られるチオールを修飾することを含む。プレッツキシマブベドチンの場合、チオールは、マレイミド基 (mc、マレイミドカプロイル)と細胞毒性薬物 (MMAE)の間にカテプシンBプロテアーゼ切断部位 (vc、パリン - シトルリン)および自己分解型リンカー (PAB、パラアミノベンジルオキシカルボニル)を組み込んだmc - vc - PAB - MMAEで修飾された。システイン結合戦略により、還元したジスルフィド当たり最大2つの薬物が得られる。ほとんどのヒトIgG分子は、溶媒に露出しているジスルフィド結合を4つ有するため、抗体当たり0 ~ 8つの範囲の薬物が考えられる。抗体当たりの薬物の正確な数は、ジスルフィド還元の程度、続いて起こるコンジュゲーション反応に使用されるリンカー薬物のモル当量の数によって決定される。部分還元により、抗体当たり0、2、4、6または8つの薬物を持つ不均質な混合物が一般に得られるが、4つ全てのジスルフィド結合の完全な還元は、抗体当たり8つの薬物を持つ均質な構築物を与える。プレッツキシマブベドチンは、抗体当たり平均約4つの薬物を有する。

30

40

【0005】

現在FDA承認がある他のADCは、ado - トラスツズマブエムタンシン [T - DM1, Kadcylla (商標)、Roche / Genentech]であり、これはリシン側鎖アミンの修飾により細胞毒性薬物メイタンシンに抗HER2モノクローナル抗体トラスツズマブを結合させることにより構築された。メイタンシン (DM1)のこのバージョンは、マレイミドリンカーに結合できるチオールを含むように修飾された。一端にマレイミド、他端にN - ヒドロキシスクシンイミジル (NHS) エステルを持つ二官能性リンカ

50

ー [S M C C、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 - カルボン酸] を、リシンの 1 級アミン側鎖と反応させて安定なアミド結合を形成させる。次いで修飾したメイタンシン (D M 1) を、二官能性リンカーのマレイミド端へのコンジュゲーションにより抗体に結合させる。ブレンツキシマブベドチンに利用されているリンカーとは対照的に、このリンカーには (プロテアーゼ) 切断部位がなく、したがって、活性 D M 1 - リンカー - リシン代謝物を遊離させるには A D C の抗体部分のリソソームの分解を必要とする。その結合方法により、抗体当たり平均 3 . 5 個の薬物を持つ不均質なコンジュゲートの混合物を得た。上記のシステイン方法と比較して、天然のシステイン修飾方法を使用すると最大で 8 つの異なるシステイン残基しか修飾されないのに対して、20 ~ 40 個のリシン残基が修飾されることが判明したので、この戦略はより不均質な混合物を与えた。

10

【 0 0 0 6 】

近年では、A D C の薬理学的プロファイルを、抗体に操作した表面に露出しているシステイン残基を使用し、次いでリンカー薬物にコンジュゲートし、それにより定義した薬物対抗体比 (D A R) を持つ部位特異的にコンジュゲートされた A D C を得る部位特異的コンジュゲーション技術を適用することにより改善されえると報告された。従来のリシンおよびシステインコンジュゲーション方法を使用して形成される不均質な混合物と比較して、部位特異的にコンジュゲートした A D C は、少なくとも等価の *i n v i v o* 効力、P K の改善および治療濃度域の拡大を一般に実証した。

20

【 0 0 0 7 】

W O 2 0 0 6 / 0 3 4 4 8 8 に詳述されている通り、最初の部位特異的コンジュゲーション手法は、G e n e t e c h において高いチオール反応性を示す位置で部位特異的突然変異誘発法を使用してシステイン残基を導入することにより開発された。抗体におけるタンパク質修飾のこの慣行は、様々な天然のシステイン残基がすでに存在するので、より複雑になった。不適当な位置における追加のシステイン残基の導入により、鎖間ジスルフィド結合の不適当な形成、そのため抗体の不適当な折りたたみが生じる場合がある。変異させた抗体中の適切な位置に操作されたシステイン残基は、他のチオール、たとえばシステインまたはグルタチオンによりしばしばキャップされて、ジスルフィドを形成する。

【 0 0 0 8 】

変異体残基に対する薬物結合は、天然の鎖間および変異体ジスルフィドの両方を還元し、次いで穏やかな酸化剤、たとえば $C u S O_4$ またはデヒドロアスコルビン酸を使用して天然の鎖間システインを再酸化し、続いて遊離の変異体システインとリンカー薬物との標準的なコンジュゲーションにより達成された。最適条件下では、抗体当たり 2 つの薬物が、結合されることになる (1 つのシステインが、m A b の重鎖または軽鎖の中で操作されている場合)。操作されたシステイン方法は、部位特異的 A D C S G N - C D 3 3 A (S e a t t l e G e n e t i c s) を開発するのに適していることが証明され、その薬物は、急性骨髄性白血病 (A M L) の治療として第 1 相用量増加臨床試験、ならびにシタラビンおよびダウノルピシンを含めた標準的な化学療法と併用する第 1 b 相臨床試験に最近入った。薬物が、I g G 1 m A b h 2 H 1 2 (D A R 1 . 9 ; S u t h e r l a n d e t a l . B l o o d 2 0 1 3 ; 1 2 2 (8) : 1 4 5 5 - 1 4 6 3) の F c 部分にある重鎖 S 2 3 9 C 位に連結されるように、この A D C は、切断可能なジペプチドリンカー (すなわち、パリン - アラニン) および D N A 架橋、ピロロベンゾジアゼピン (P B D) 二量体を含む。

30

40

【 0 0 0 9 】

W O 2 0 0 6 / 0 3 4 4 8 8 において抗原結合の相互作用に関係せず既存の鎖間ジスルフィド結合から離れている特定の表面の接近しやすいパリン、アラニンおよびセリン残基を置換して、高いチオール反応性を持つ操作されたシステイン残基が得られるのに対して、N o v a r t i s の W O 2 0 1 4 / 1 2 4 3 1 6 は、抗体重鎖および軽鎖の定常領域にある表面の接近しやすい部位を同定することに特に重点を置き、そこでのシステイン残基の部位置換が、ペイロードの効果的なコンジュゲーションを可能にし、高い安定性のコン

50

ジュゲートを与える。

【0010】

操作されたシステインコンジュゲーション戦略に加えて、薬物の部位特異的結合の他の方法が開発された。Pfizerは、微生物のグルタミン転移酵素を使用して、抗体上の操作されたグルタミンにアミン含有薬物を結合させるコンジュゲーションの新たな技術を実証した。グルタミン転移酵素は、グルタミン側鎖のアシル基とリシン側鎖の1級アミンとのアミド結合形成を触媒する酵素である。

【0011】

酵素的コンジュゲーションに加えて、非天然のアミノ酸（特にAmbryxおよびSutro Biopharmaの技術）を使用して様々なタンパク質を部位特異的に修飾するための直交化学コンジュゲーション（orthogonal chemistry conjugation）も使用されてきた。特に、p-アセチルフェニル-アラニンおよびp-アジドメチル-L-フェニルアラニンは、20種の天然のアミノ酸側鎖のいずれにも見られないケトンならびにアジド官能基をそれぞれ含有するので、非天然のアミノ酸として選ばれた。これは、他のアミノ酸からの干渉なしにケトンCq、アジド基の特異的修飾を可能にさせる。この方法は、抗体当たり（そのような非天然のアミノ酸当たり）最大2つの薬物を持つADCを構築するためのさらなる経路を提供した。

【0012】

これまで開示された従来方法の全てにおいて、均一性および薬物動態特性を改善する目的で、表面/溶媒に露出している位置、高いチオール反応性を示す位置、ならびにモノクローナル抗体の特に定常領域の位置にリンカー薬物を部位特異的にコンジュゲートすることに重点が置かれた。上記従来のリシンおよびシステインコンジュゲーション方法は、FDAに認可された抗体-薬物コンジュゲートをもたらし、現在前臨床および臨床試験中の大多数のADCを構築するために使用されているが、許容できる抗原結合特性、in vivo効力、治療指数および/もしくは安定性を有するADCを得るためにADCの物理化学的、薬物動態学的、薬理学的ならびに/または毒性学的性質を（さらに）改善することを目的とした新たなコンジュゲーション戦略の必要性がなお存在する。

【発明の簡単な説明】

【0013】

本発明は、リンカー薬物が、前記抗体の1つ以上の特定の位置で、操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている抗体-薬物コンジュゲート（ADC）、ならびにヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍、特に乳癌、胃癌、結腸直腸癌、尿路上皮癌、卵巣癌、子宮癌、肺癌、中皮腫、肝癌、膵癌、前立腺癌、および白血病の治療におけるその使用に関する。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1A】抗体のFab部分における適切なリンカー薬物コンジュゲーション位置の同定。

【図1B】抗体のFab腔におけるデュオカルマイシンリンカー薬物vc-seco-DUBAの結合（複数のvc-seco-DUBA結合の重ね合せ）。

【図1C】抗体のFc部分における適切なリンカー薬物コンジュゲーション位置の同定。

【図1D】抗体のFc腔におけるデュオカルマイシンリンカー薬物vc-seco-DUBAの結合（複数のvc-seco-DUBA結合の重ね合せ）。

【図2A】各2mg/kgでの、媒体対照、比較用の操作されたシステイン抗PSMA（CHT120C）ADC（SYD1035）および操作されていない抗PSMA（野生型）wt ADC（SYD998）に対する操作されたシステイン抗PSMA（VHS41C）ADC（SYD1091）のin vivo効力。

【図2B】各10mg/kgでの、媒体対照、比較用の操作されたシステイン抗PSMA（CHT120C）ADC（SYD1035）および操作されていない抗PSMA wt ADC（SYD998）に対する操作されたシステイン抗PSMA（VHS41C

10

20

30

40

50

) ADC (SYD1091) の *in vivo* 効力。

【図3】各 10 mg / kg での、媒体対照、比較用の操作されたシステイン抗PSMA (CHT120C) ADC (SYD1035)、および操作されていない抗PSMA wt ADC (SYD998) に対する操作されたシステイン抗PSMA (VHS41C) ADC (SYD1091) の体重に対する効果。

【図4A】各 3 mg / kg での、媒体対照、および操作されていない抗5T4 wt H8 ADC (H8-vc-seco-DUBA) に対する操作されたシステイン抗5T4 (VHP41C) H8 ADC (H8-41C-vc-seco-DUBA) の *in vivo* 効力。

【図4B】各 10 mg / kg での、媒体対照、および操作されていない抗5T4 wt H8 ADC (H8-vc-seco-DUBA) に対する操作されたシステイン抗5T4 (VHP41C) H8 ADC (H8-41C-vc-seco-DUBA) の *in vivo* 効力。

【発明の詳細な説明】

【0015】

抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、小分子治療法の効力を抗体の標的化能力と組み合わせる抗癌治療法の新たな種類として浮上している。これら2つの成分を新たな単一の分子実体へと組み合わせることにより、細胞毒性が高い小分子薬物を標的癌組織に送達し、それによって小分子の潜在的な全身性毒性副作用を減少させながら効力を向上させることができる。

【0016】

抗体は、DNAを結合する(たとえばアントラサイクリン)、DNAをアルキル化もしくは架橋する(たとえばそれぞれデュオカルマイシンまたはピロロベンゾジアゼピン二量体)、DNA鎖切断を引き起こす(たとえばカリケアマイシン)または微小管を阻害する(たとえばマイタンシノイドおよびオーリスタチン)小分子を含めた様々な細胞毒性薬物にコンジュゲートされてきた。

【0017】

本発明は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物であって、リンカー薬物が、重鎖40、41、89(Kabatナンバリング)、152、153、155、171、247、297、339、375および376(Euナンバリング)、ならびに軽鎖40、41(Kabatナンバリング)、165および168(Euナンバリング)から選択される前記抗体の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている化合物に関する。

【0018】

一態様において、本発明は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物であって、リンカー薬物が、重鎖40、41、89、152、153、155、171、247、297、339および375ならびに軽鎖40、41および165から選択される前記抗体の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている化合物に関する。

【0019】

特に好ましい態様において、本発明は、抗体-薬物コンジュゲート化合物であって、リンカー薬物が、重鎖40、41および89(Kabatナンバリングによる)ならびに軽鎖40および41(Kabatナンバリングによる)から選択される前記抗体の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている化合物に関する。

【0020】

部位特異的ADCに関する初期の仕事の焦点は、リンカー薬物と優れた反応性を示し、同時に抗体間でジスルフィド結合を形成する(凝集をもたらす)または抗体構造を妨げる(いわゆるジスルフィド架橋シャフリング)危険性が低いコンジュゲーション位置を見出すことであつたので、コンジュゲーション部位と関連するコンジュゲートの疎水性に対す

10

20

30

40

50

る効果は、評価されてこなかった。加えて、抗体の可変領域の修飾は、抗原結合を部分的または完全に喪失する高いリスクに関連すると一般に考えられるので、焦点は、主に抗体の定常領域内に適切な部位を見つけることであった。

【0021】

しかしながら、本発明者らは、部位特異的ADCの疎水性特徴に影響することに重点を置いた。

【0022】

YASARAソフトウェアパッケージ(www.yasara.org、:Krieger et al. Proteins 2009; 77 Suppl 9: 114-122を参照のこと)を利用するin silico方法を使用して、リンカー薬物と抗体の強い相互作用の部位を同定した。適切な位置は、疎水性表面の最小の増加を示す。このように同定された相互作用部位の付近において、システインに変換するのに適切な残基(すなわち、十分な近接性)が、同定された。この手法では、いかなる制限も抗体の定常領域にはなく、抗原結合部位の付近にない場合には可変領域アミノ酸も考慮した。Fab部分の可変ドメイン内の位置が好ましいと判明した。

10

【0023】

様々な抗体のFabおよびFcモデルへのリンカー薬物の結合を、YASARAに実装された一般に使用されるVINAアルゴリズム(Trott O and Olson A J. J. Comput. Chem. 2010; 31: 455-461)でシミュレートした。使用される抗体FabおよびFcモデルは、X線構造からまたはYASARAを使用する相同性モデリングにより得られた。

20

【0024】

デュオカルマイシン型リンカー薬物、たとえばvc-seco-DUBA(すなわち、SYD980;そのADC化合物を、式IIに表す)は、全ての抗体構造に存在する腔における結合に対する選好が強いことが示された(抗体FabおよびFc部分について、それぞれ図1Bならびに1Dを参照のこと)。リンカー薬物結合に対する複数の適切なコンジュゲーション位置が、これらの腔内およびそれに近接して同定され、すなわちこれらの位置において操作されたシステインの近接性は優れていた(抗体FabおよびFc部分について、それぞれ図1Aならびに1Cを参照のこと)。

【0025】

本発明の文脈において、重鎖(HC)および軽鎖(LC)可変領域内の操作されたシステインのアミノ酸位置を指し示すためにKabab numberingを使用し、抗体の重鎖および軽鎖定常部内の位置を指し示すためにEun numberingを使用した。抗体の可変領域における配列変動を考えると、システインによって置換されることになる厳密なアミノ酸は、異なる抗体では異なることがあり得る。ほとんどの抗体、特にIgG抗体の場合、可変領域の重鎖(VH)において、通常40位にAまたはS、41位にPおよび89位にVがあり、可変領域の軽鎖(VL)において、通常40位にPおよび41位にGがある。定常領域の重鎖(CH1、CH2およびCH3)において、通常152位にE、153位にP、155位にT、171位にP、247位にP、297位にN、339位にA、375位にSおよび376位にDがあり、定常領域の軽鎖(CL)において、通常165位にEおよび168位にSがある。5つの軽鎖アイソタイプ定常領域(CL)において、通常165位にSおよび168位にSがある。

30

40

【0026】

表現「Kabab numbering」とは、Kabab, E. A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)において抗体の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインの編集に使用されるナンバリング方式のことを指す。このナンバリング方式を使用して、実際の直鎖アミノ酸配列は、可変ドメインのフレームワーク領域(FR)または相補性決定領域(CDR)の短縮も

50

しくはそれらへの挿入に対応する少ないもしくは追加のアミノ酸を含有していてもよい。残基のK a b a tナンバリングは、抗体の配列の相同性領域における「標準的な」K a b a tナンバリングされた配列との整列化により所与の抗体について決定されえる。

【0027】

表現「Euナンバリング」とは、Kabat, E. A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD., NIH publication no. 91-3242, pp. 662, 680, 689 (1991) にみられるEu指数のことを指す。「KabatにみられるEu指数」は、ヒトIgG 1 Eu抗体の残基ナンバリングのことを指す [Edelman, G. M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 63, 78-85 (1969)]。

10

【0028】

重鎖40、41および89位は可変領域に位置し、152、153、155、171、247、297、339、375および376位は抗体の定常領域に位置する。軽鎖40および41位は可変領域に位置し、165および168位は抗体の定常領域に位置する。

【0029】

重鎖40、41、89、152、153、155および171位ならびに軽鎖置40、41、165および168位はFab部分に位置し、重鎖247、297、339、375および376位は抗体のFc部分に位置する。

20

【0030】

本発明によると、用語「操作されたシステイン」は、抗体の重鎖または軽鎖内の非システインアミノ酸をシステインにより置きかえることを意味する。当業者に公知であるように、これはアミノ酸レベルで、またはたとえば部位特異的突然変異誘発法を使用することによりDNAレベルのいずれかで行うことができる。

【0031】

本発明者らは、本発明の部位特異的にコンジュゲートされているADC化合物が、リンカー薬物が抗体の天然の鎖間ジスルフィド結合を介してコンジュゲートされているADCと比較して、さらに本発明者らがこの特許出願において特に請求した先行技術に開示されている位置でリンカー薬物がコンジュゲートされている操作されたシステインADCと比較して、物理化学的、薬理学的および/または薬物動態学的特性の改善を示すことを驚くべきことに発見した。本発明によるADC化合物は、元の抗体と類似の結合特性、優れたin vivo効力、治療指数の増加および/または安定性の改善を有する。特に、ADC化合物は、異なる位置で部位特異的にコンジュゲートされているが類似のin vitro細胞毒性をなお示すADCよりも一般に疎水性でなく、カテプシンB切断の影響を受けず、したがって腫瘍(腫瘍微小環境)における他の細胞内または細胞外酵素/プロテアーゼの影響も受けない可能性が高いことが判明した。予想外なことに、本発明によるADCは、他の位置で部位特異的にコンジュゲートされたADCと比較して、腫瘍異種移植動物モデルにおいてin vivo効力の改善を示す。

30

【0032】

どんな原理に束縛されるものでもないが、本発明者らは、ここに請求されるようにリンカー薬物が抗体の特定の位置でコンジュゲートされる場合に、前記リンカー薬物が、抗体のCH1、VH、VLおよびCLドメインによって形成されるFab腔または抗体の2つのCH2ならびに2つのCH3ドメインによって形成されるFc腔のいずれかに嵌まることを発見した。IgG1抗体において、Fc腔の上部は、重鎖N297位に結合しているグリコシド/炭水化物によって形成される。その結果、リンカー薬物(一般に抗体より疎水性である)は、リンカー薬物が抗体の天然のジスルフィド結合を介してコンジュゲートされているADCと比較して疎水性がより小さく、リンカー薬物は現在請求されていない異なる位置で部位特異的にコンジュゲートされているADCと比較してほとんど疎水性でないので、抗体およびADCを囲む親水性水性環境から保護される。そこではリンカー薬

40

50

物が抗体の外側に押しやられており、すなわち抗体から離れた方向に向けられている。

【0033】

特定の一態様において、本発明は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物であって、リンカー薬物が、重鎖40、41、152、153、247、339および375ならびに軽鎖40、41および165から選択される前記抗体の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている化合物に関する。

【0034】

別の態様において、本発明は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物であって、リンカー薬物が、重鎖40、41、89、247、297および376ならびに軽鎖40および41から選択される前記抗体の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている化合物に関する。

10

【0035】

一態様において、本発明は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物であって、リンカー薬物が、前記抗体のFab部分にある重鎖40、41、89、152、153、155および171ならびに軽鎖40、41、165および168から選択される前記抗体の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている化合物に関する。

【0036】

別の態様において、本発明は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物であって、リンカー薬物が、前記抗体のFab部分にある重鎖40、41、152および153ならびに軽鎖40、41および165から選択される前記抗体の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体に部位特異的にコンジュゲートされている化合物に関する。

20

【0037】

抗体の可変部分の修飾は、抗原結合特性の部分的または完全な喪失をもたらし得るので、一般に避けられる。しかしながら、一般的な予想に反して、抗体の重鎖および軽鎖フレームワーク領域にある特定の残基は両方ともコンジュゲーションに適しており、リンカー薬物のコンジュゲーション後に抗原結合の(著しい)減少をもたらさないことが判明した。したがって、特に好ましい態様において、本発明は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物であって、前記操作されたシステインが、前記抗体のFab部分にある重鎖40、41および89ならびに軽鎖40および41から選択される前記抗体の1つ以上の位置にある化合物に関する。好ましくは、前記操作されたシステインは、重鎖40もしくは41位および/または軽鎖40もしくは41位、より好ましくは重鎖41位および/または軽鎖40もしくは41位、最も好ましくは重鎖41位である。文献から公知であるように、腫瘍微小環境における腫瘍関連プロテアーゼは、ヒンジ領域の下でFc定常ドメインを部分的に切断することができ、Fab部分におけるコンジュゲーションはFc部分におけるコンジュゲーションより好ましい。Fc定常ドメインの切断は、Fcコンジュゲートリンカー薬物を喪失させることになり、それは同様に*in vivo*でのADCの活性低下をもたらす可能性がある(Fan et al. Breast Cancer Res. 2012; 14: R116 and Brezsky et al. PNAS 2009; 106: 17864-17869)。さらに、Fab部分におけるこれらの位置に対するコンジュゲーションは、抗原結合断片の使用も可能にする。

30

40

【0038】

特定の一態様において、上記の好ましい態様の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物は、重鎖152、153、155、171、339および375ならびに軽鎖165および168から選択される抗体の1つ以上の位置に、追加の操作されたシステインをさらに含んでもよい。好ましくは前記さらなる操作されたシステインは、前記抗体のFc部分における重鎖375位である。

【0039】

本発明によると、1つ以上のシステイン残基を、従来の分子クローニング技術を使用することにより抗体に操作することができ、またはシステイン突然変異を保有する抗体の重

50

鎖もしくは軽鎖ドメインは、公知の（ペプチドまたはDNA）合成装置および手順を使用してそのように合成することができる。

【0040】

本発明によると、操作されたシステインのチオール基と反応することができる化学基、一般にマレイミドまたはハロアセチル基を有する場合には、ADCの当業者に公知の任意のリンカー薬物を使用して、抗体に部位特異的にコンジュゲーションさせることができる。適切なリンカー薬物は、細胞毒性薬としてデュオカルマイシン、カリケアマイシン、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）二量体、マイタンシノイドまたはオーリスタチン誘導体を含んでいてもよい。本発明による切断可能なまたは切断不可能ないずれかのリンカーを使用してよい。マイタンシノイド薬物の適切な例には、DM1およびDM4がある。オーリスタチン薬物の適切な例には、MMAEおよびMMAFがある。

10

【0041】

これらの略語は、当業者に周知である。当業者に公知の適切なリンカー薬物の例には、mc-vc-PAB-MMAE（mc-vc-MMAEおよびvc-MMAEとも略記される）、mc-MMAFおよびmc-vc-MMAFがある。好ましくは、使用されるリンカーは、切断可能なリンカー、たとえばパリン-シトルリン（vc）またはパリン-アラニン（VA）である。

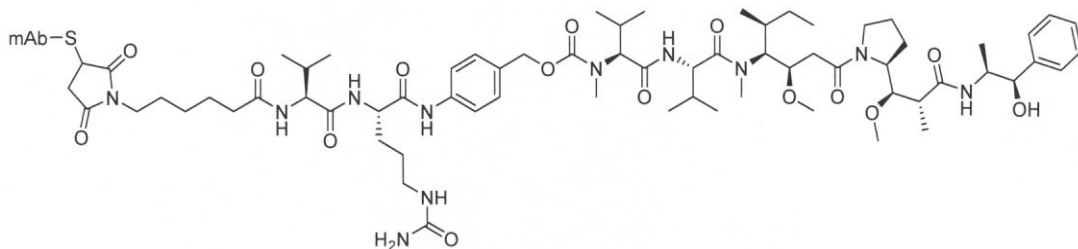
【0042】

vc-MMAE ADCおよびmc-MMAF ADCの一般的な分子構造を、以下に表す。

20

【0043】

【化1】



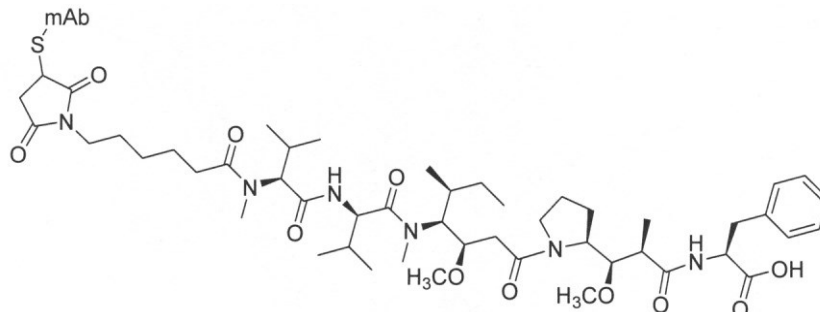
【0044】

mAbに連結されたvc-MMAEの分子構造

30

【0045】

【化2】



40

【0046】

mAbに連結されたmc-MMAFの分子構造

一態様において、本発明は、前記リンカー薬物がデュオカルマイシン誘導体を含むADC化合物に関する。

【0047】

ストレプトマイセス種の培養液から最初に単離されたデュオカルマイシンは、デュオカルマイシンA、デュオカルマイシンSAおよびCC-1065を含む抗腫瘍抗生物質ファミリーのメンバーである。申し立てによると、これらの非常に強力な薬剤は、副溝内のア

50

デニンの N 3 位置で配列選択的に DNA をアルキル化する能力から生物活性を得て、その活性は、アポトーシスの細胞死機構において停止する事象のカスケードを開始させる。

【 0 0 4 8 】

W O 2 0 1 1 / 1 3 3 0 3 9 は、C C - 1 0 6 5 のデュオカルマイシン誘導体を含む一連のリンカー薬物を開示する。本発明により使用される適切なリンカー - デュオカルマイシン誘導体については、1 8 2 ~ 1 9 7 頁に開示されている。これら多数のリンカー薬物の化学合成については、W O 2 0 1 1 / 1 3 3 0 3 9 の例 1 ~ 1 2 に記述されている。

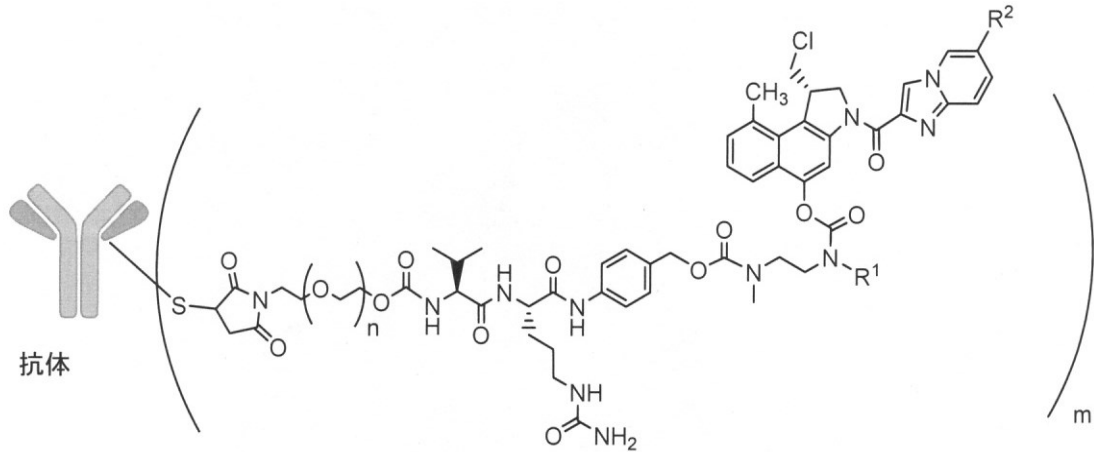
【 0 0 4 9 】

一態様において、本発明は、式 (I) の化合物に関し、

【 0 0 5 0 】

【 化 3 】

10



20

(I)

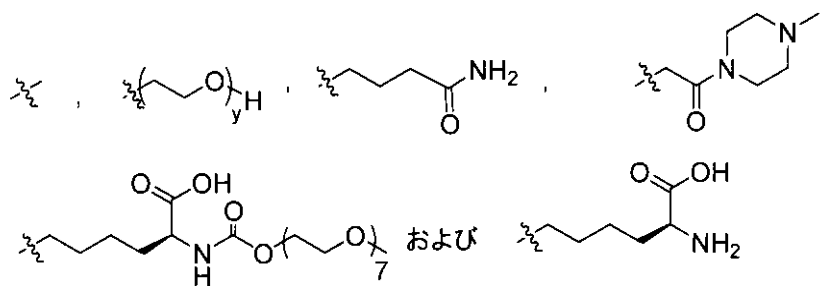
【 0 0 5 1 】

n は、0 ~ 3、好ましくは 0 ~ 1 であり、
m は、1 ~ 6、好ましくは 1 ~ 4 の平均 D A R を表し、
R¹ は、

【 0 0 5 2 】

【 化 4 】

30



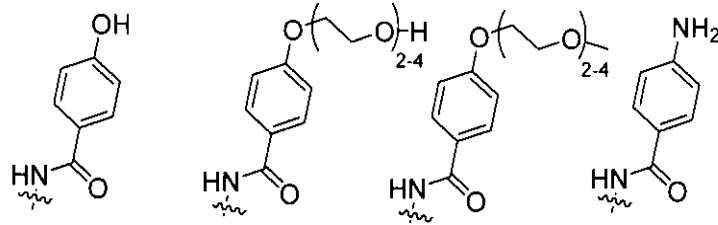
【 0 0 5 3 】

から選択され、
y は、1 ~ 1 6 であり、
R² は、

【 0 0 5 4 】

40

【化5】



【0055】

から選択される。

【0056】

本明細書に示される構造式において、 n は、0～3の整数を表し、一方、 m は、1～6の平均薬物対抗体比(DAR)を表す。当技術分野において周知であるように、DARおよび薬物搭載量分布は、たとえば、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)または逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)を使用することにより決定できる。HICは、平均DARを決定するのに特に適している。

【0057】

本発明による式(I)の化合物は、当業者に周知の方法および手順によって得ることができる。リンカー-薬物を部位特異的にコンジュゲートする適切な方法は、たとえば、抗体にリンカー-薬物vc-MMAEを(部分的に)搭載するための完成した還元戦略について記述しているWO2005/084390の例7および8、リンカー-薬物を含むマイタンシン(DM1)の部位特異的コンジュゲーションについて記述しているWO2006/034488の例11および12、ならびにmc-MMAFとのコンジュゲーションについて記述しているDoronina et al. Bioconjugate Chem. 17(2006):114-124に見ることができる。

【0058】

本発明の操作されたシステイン部位の2つ以上へのコンジュゲーションは、過度の凝集体を得ることなく、より高いDAR(特にDAR 4)を持つ疎水性薬物種類を含むADCの調製を可能にする。

【0059】

本発明の特定の態様によると、1もしくは2つの操作されたシステインを、それぞれ2もしくは4のDARを有するADC化合物を得るのに最適な反応条件下で抗体の重鎖および/または軽鎖に組み込むことができる。操作されたシステインを1つ導入する場合、そのシステインは、抗体のFabまたはFc部分のいずれかに位置することができる。HC 40、41、89、152もしくは153またはLC 40、41もしくは165、好ましくはHC 40、41もしくは89またはLC 40、41もしくは165、より好ましくはHC 40もしくは41またはLC 40もしくは41、さらにより好ましくはHC 41またはLC 40もしくは41、最も好ましくはHC 41位で抗体のFab部分に前記システインを導入することが好ましい。操作されたシステインを2つ導入する場合、これらの2つのシステインは、両方とも抗体のFabもしくはFc部分に位置することができ、あるいは好ましくは、一方は、Fab部分、好ましくはHC 40、41、152もしくは153またはLC 40、41もしくは165、より好ましくはHC 40もしくは41またはLC 40もしくは41、さらにより好ましくはHC 41またはLC 40もしくは41、最も好ましくはHC 41であることができ、他方は、抗体Fc部分、好ましくはHC 247、297、339もしくは375、より好ましくはHC 339もしくは375、最も好ましくはHC 375であることができる。操作されたシステインを2つ、抗体のFab部分に導入する場合、一方のシステイン残基は、重鎖に導入されていてもよく、他方のシステインは抗体、たとえばHC 40または41およびLC 40または41の軽鎖に導入される。加えて、操作されたシステインを2つ、抗体のFab部分に導入する場合、一方のシステイン残基は、本発明において同定された特定の位置のうちの一つ、たとえばHC 40もしくは41またはLC 40もしくは41に

10

20

30

40

50

導入されていてもよく、他方は、より高いDARおよびなお許容可能な疎水性をもたらす表面に露出している（すなわち、ここで請求されない）操作されたシステイン位置に位置していてもよい。

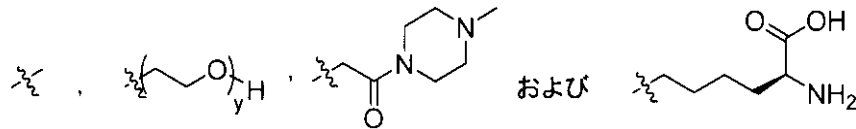
【0060】

特定の態様において、本発明は、先に開示した式(I)の化合物に関し、nは、0~1であり、mは、1~6、好ましくは1~4、より好ましくは1~2、最も好ましくは1.5~2の平均DARを表し、

R¹は、

【0061】

【化6】



10

【0062】

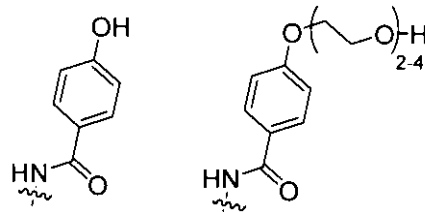
から選択され、

yは、1~16、好ましくは1~4であり、

R²は、

【0063】

【化7】



20

【0064】

から選択される。

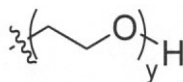
【0065】

特定の態様において、本発明は、先に開示した構造式(I)の化合物に関し、nは、0~1であり、mは1.5~2の平均DARを表し、

R¹は、

【0066】

【化8】



30

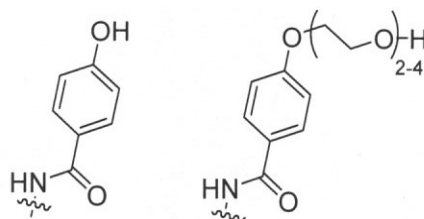
【0067】

であり、

yは1~4であり、R²は、

【0068】

【化9】



40

【0069】

から選択される。

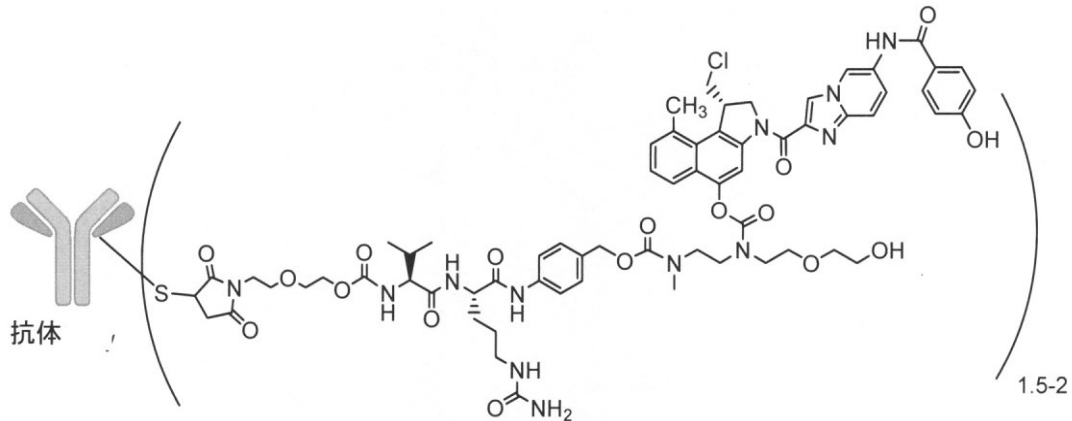
50

【 0 0 7 0 】

特に好ましい態様において、本発明は式 (I I) の化合物に関する。

【 0 0 7 1 】

【 化 1 0 】



(II)

【 0 0 7 2 】

本発明により、任意の抗体、特に治療活性を有する公知の任意の抗体もしくはADCの当業者に公知の任意の抗体、またはその任意の抗原結合断片を使用して、ここに請求される特定の抗体位置にリンカー薬物を部位特異的コンジュゲーションすることができる。前記抗体は、IgA、IgD、IgE、IgGまたはIgM抗体であることができる。前記抗体は、(カッパ)軽鎖または(ラムダ)軽鎖を有することができる。前記IgG抗体は、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4抗体であることができる。好ましくは、抗体は、腫瘍細胞の細胞膜内または上(たとえば、細胞表面)において発現される抗原標的に結合する、より好ましくは、抗体は、(抗原)標的への結合後に細胞により内部移行され、その後毒素が細胞内に放出される。好ましくは、抗体は、IgG抗体、より好ましくはIgG1抗体、最も好ましくは軽鎖を有するIgG1抗体である。好ましくは、IgG抗体は、抗体の重鎖のN297に結合した天然のグリコシド/炭水化物部分を保有する。

【 0 0 7 3 】

適切な抗体には、抗アネキシンA1抗体、抗CD19抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD33抗体、抗CD37抗体、抗CD38抗体、抗CD44抗体、抗CD47抗体、抗CD56抗体、抗CD70抗体、抗CD74抗体、抗CD79抗体、抗CD115抗体、抗CD123抗体、抗CD138抗体、抗CD203c抗体、抗CD303抗体、抗CEACAM抗体、抗CLL-1抗体、抗c-MET(または、抗HGFR)抗体、抗Cripto抗体、抗DLL3抗体、抗EGFR抗体、抗EPCAM抗体、抗EphA2抗体、抗EphB3抗体、抗ETBR抗体、抗FcRL5抗体、抗FOLR1抗体、抗GCC抗体、抗GPNMB抗体、抗Her2抗体、抗HMW-MAA抗体、抗インテグリン抗体、抗ルイスA様炭水化物抗体、抗ルイスY抗体、抗LIV1抗体、抗メソテリン抗体、抗MN抗体、抗MUC1抗体、抗MUC16抗体、抗Napi2b抗体、抗ネクチン-4抗体、抗PSMA抗体、抗SIRP抗体、抗SLC44A4抗体、抗STEAP-1抗体、抗5T4(または、抗TPBG、トロホプラスト糖タンパク質)抗体、抗Tag72抗体、抗TF(または、抗組織因子)抗体、抗TROP2抗体および抗VLA抗体がある。

【 0 0 7 4 】

好ましくは、抗体は抗アネキシンA1抗体、抗CD115抗体、抗CD123抗体、抗CLL-1抗体、抗c-MET抗体、抗MUC1抗体、抗PSMA抗体、抗5T4抗体または抗TF抗体である。より好ましくは、抗体は抗PSMA抗体または抗5T4抗体である。

【0075】

本発明によって使用しようとする抗体は、好ましくはモノクローナル抗体（mAb）であり、キメラ、ヒト化またはヒトmAbであることができる。本発明によると、より好ましくは、ヒト化またはヒトmAb、さらにより好ましくはヒト化もしくはヒトIgG抗体、最も好ましくはヒト化もしくはヒトIgG1 mAbが使用される。好ましくは、前記抗体は、（カッパ）軽鎖を有し、すなわち、ヒト化またはヒトIgG1 - 抗体である。

【0076】

ヒト化抗体において、可変領域にある抗原結合CDRは、ヒト以外の種、一般にマウス、ラットまたはウサギ抗体から得られる。これらのヒト以外のCDRは、可変領域のヒトフレームワーク（FR1、FR2、FR3およびFR4）内に配置され、ヒト定常領域と組み合わされる。ヒト抗体のように、これらのヒト化抗体は、Kabatナンバリング方式によってナンバリングすることができる。本発明は、ADC化合物に特に関し、前記操作されたシステインは、ヒト化抗体のヒトフレームワークにおけるVH40、VH41、VH89、VL40またはVL41（すなわち、VH40、VH41、VL40およびVL41は、FR2の中央にあり、VH89は、FR3にある）、より具体的にはVH40、VH41、VL40もしくはVL41、さらにより具体的にはVH41、VL40もしくはVL41、特にVH41から選択される位置にある。

10

【0077】

本発明によると、フレームワーク領域にあるこれら特定の残基は、リンカー薬物のコンジュゲーションとリンカー薬物のコンジュゲーション後に抗体の抗原結合特性を著しく減少させないことの両方に適している。さらに、これらの部位は、抗体だけでなくその任意の抗原結合断片にも適する。

20

【0078】

特定の一態様において、先に記述されるように本発明はADC化合物に関し、前記抗体は、抗アネキシンA1抗体、抗CD115抗体、抗CD123抗体、抗CLL-1抗体、抗c-MET抗体、抗MUC1抗体、抗PSMA抗体、抗5T4抗体もしくは抗TF抗体であり、前記リンカー薬物は、デュオカルマイシン誘導体、好ましくは式（I）または（II）によるADC化合物を含む。

30

【0079】

さらなる特定の態様において、先に記述されるように本発明はADC化合物に関し、前記抗体は、抗PSMA（モノクローナル）抗体もしくは抗5T4（モノクローナル）抗体であり、前記リンカー薬物は、デュオカルマイシン誘導体、好ましくは、式（I）または（II）によるADC化合物を含む。

【0080】

好ましい態様において、先に記述されるように本発明はADC化合物に関し、前記リンカー薬物は、デュオカルマイシン誘導体を含み、抗PSMA（モノクローナル）抗体または抗5T4（モノクローナル）抗体の重鎖可変領域の41位にコンジュゲートされ、最も好ましくは式（II）によるADC化合物である。適切な抗PSMA抗体は、WO98/03873（たとえば、例12）、WO02/098897（たとえば、図1-2）、WO2007/002222（たとえば、表1）およびWO2011/069019（たとえば、図2）に記述されている。適切な抗5T4抗体には、WO2006/031653に記述されるH8、およびWO2007/106744に記述されるA1およびA3抗体、ならびにこれら公知の抗体と同じエピトープに結合する任意の抗体がある。

40

【0081】

より好ましい態様において、抗PSMA抗体の重鎖は、配列番号2のアミノ酸配列を含み、抗PSMA抗体の軽鎖は配列番号5のアミノ酸配列を含む。より好ましくは、抗PSMA抗体の重鎖は、配列番号2および配列番号3のアミノ酸配列を含み、抗PSMA抗体の軽鎖は、配列番号5ならびに配列番号6のアミノ酸配列を含む。

50

【0082】

特に好ましい態様において、本発明は式(II)のADC化合物に関し、抗体は抗PSMA抗体であり、前記抗PSMA抗体の重鎖が、配列番号2のアミノ酸配列を含み、前記抗PSMA抗体の軽鎖が、配列番号5のアミノ酸配列を含む。より好ましくは、前記抗PSMA抗体の重鎖は、配列番号2および配列番号3のアミノ酸配列を含み、前記抗PSMA抗体の軽鎖は、配列番号5ならびに配列番号6のアミノ酸配列を含む。

【0083】

別のより好ましい態様において、抗5T4抗体の重鎖は、配列番号8のアミノ酸配列を含み、抗5T4抗体の軽鎖は、配列番号11のアミノ酸配列を含む。より好ましくは、抗5T4抗体の重鎖は、配列番号8および配列番号9のアミノ酸配列を含み、抗5T4抗体の軽鎖は、配列番号11および配列番号6のアミノ酸配列を含む。

10

【0084】

特に好ましい態様において、本発明は式(II)のADC化合物に関し、抗体は、抗5T4抗体であり、前記抗5T4抗体の重鎖は、配列番号8のアミノ酸配列を含み、前記抗5T4抗体の軽鎖は、配列番号11のアミノ酸配列を含む。より好ましくは、前記抗5T4抗体の重鎖は、配列番号8および配列番号9のアミノ酸配列を含み、前記抗5T4抗体の軽鎖は、配列番号11および配列番号6のアミノ酸配列を含む。

【0085】

本発明は、薬剤として使用する先に記述したADC化合物にさらに関する。

【0086】

一態様において、本発明は、ヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍の治療に使用する先に記述したADC化合物に関する。

20

【0087】

さらなる態様において、本発明は、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、尿路上皮癌(たとえば膀胱癌)、卵巣癌、子宮癌、肺癌(特に非小細胞肺癌および小細胞肺癌)、中皮腫(特に悪性胸膜中皮腫)、肝癌、膵癌および前立腺癌からなる群から選択されるヒト固形腫瘍の治療に使用する先に記述したADC化合物に関する。

【0088】

好ましい態様において、本発明は、先に記述したADC化合物、特に前立腺癌の治療に使用する抗PSMA(モノクローナル)抗体およびデュオカルマイシン誘導体リンカー薬物を含む化合物に関する。

30

【0089】

別の好ましい態様において、本発明は、先に記述したADC化合物、特に乳癌、胃癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肺癌[特に非小細胞肺癌(NSCLC)および小細胞肺癌(SCLC)]、ならびに悪性胸膜中皮腫からなる群から選択されるヒト固形腫瘍の治療に使用する抗5T4(モノクローナル)抗体およびデュオカルマイシン誘導体リンカー薬物を含む化合物に関する。

【0090】

なおさらなる態様において、本発明は、ヒト血液悪性腫瘍、特に急性リンパ性および骨髄性白血病(それぞれALLおよびAML)からなる群から選択される白血病の治療に使用する先に記述したADC化合物に関する。

40

【0091】

本発明は、先に記述したADC化合物および1つ以上の薬学的に許容できる賦形剤を含む医薬組成物にさらに関する。治療用タンパク質、たとえばモノクローナル抗体および(モノクローナル)抗体-薬物コンジュゲートの典型的な医薬製剤は、静脈内注入前に(水性)溶解(すなわち、再構成)を必要とする凍結乾燥ケーキ(凍結乾燥した粉末)、または使用前に解凍を必要とする凍結(水性)溶液の形態をとる。

【0092】

一般に、医薬組成物は凍結乾燥ケーキの形態で提供される。本発明による医薬組成物(凍結乾燥前)に含めるのに適切な薬学的に許容できる賦形剤には、緩衝液(たとえば水に

50

塩を含有するクエン酸塩、ヒスチジンまたはコハク酸塩)、凍結乾燥保護剤(たとえばスクロース、トレハロース)、張性調節剤(たとえば塩化ナトリウム)、界面活性剤(たとえばポリソルベート)および増量剤(たとえばマンニトール、グリシン)がある。冷凍乾燥タンパク質処方を使用する賦形剤は、凍結乾燥プロセスの間および貯蔵の間のタンパク質変性を防止する能力に対して選択される。たとえば、Kadcyla(商標)(Roche)の滅菌し、凍結乾燥した粉末の単回使用処方は、注射用の静菌または滅菌水(BWF IまたはSWFI)で再構成した際に、pH 5.0で20mg/mL ado-トラスツズマブエムタンシン、0.02%重量/体積ポリソルベート20、10mMコハク酸ナトリウムおよび6%重量/体積スクロースを含有する。

【0093】

本発明は、先に記述したヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍の治療のための先に記述した化合物または医薬組成物の使用にも関する。

【0094】

本発明は、先に記述したヒト固形腫瘍ならびに血液悪性腫瘍の治療のための、先に記述した化合物もしくは医薬組成物と治療抗体および/もしくは化学療法剤との連続してまたは同時に投与される組合せの使用にさらに関する。

【0095】

本発明の一態様において、治療抗体は、アデカツムマブ、アレムツズマブ、アマツキシマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、デノスマブ、エタラシズマブ、ファルレッツズマブ、ゲムツズマブ、ラベツズマブ、マパツムマブ、ミンレッツモマブ(minretumomab)、ニモツズマブ、ニボルマブ、オレゴボマブ、パニツムマブ、ペムツモマブ(pemtumomab)、ペルツズマブ、ラムシルマブ、シブロツズマブ(sibrotuzumab)、トラスツズマブ、またはボロキシマブであり、化学療法剤は、i)アルキル化剤、特にナイトロジェンマスタード、たとえばメクロレタミン、クロラムブシル、シクロホスファミド、イホスファミドおよびメルファラン、ニトロソ尿素、たとえばストレプトゾシン、カルムスチンおよびロムスチン、スルホン酸アルキル、たとえばブスルファン、トリアジン、たとえばダカルバジンおよびテモゾロマイド、エチレンイミン、たとえばチオテパおよびアルトレタミン、または白金製剤、たとえばシスプラチン、カルボプラチンおよびオキサリプラチン、ii)代謝拮抗薬、特に5-フルオロウラシル、6-メルカプトプリン、カペシタピン、シタラピン、フロクスウリジン、フルダラピン、ゲムシタピン、ヒドロキシウレア、メトトレキサートまたはベメトレキセド、iii)抗腫瘍抗生物質、特にダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、アクチノマイシンD、プレオマイシン、マイトマイシンCまたはミトキサントロン、iv)トポイソメラーゼ阻害剤、特にトポイソメラーゼI阻害剤、たとえばトポテカンおよびイリノテカン、またはトポイソメラーゼII阻害剤、たとえばエトポシド、テニポシドおよびミトキサントロン、v)分裂抑制因子、特にタクサン、たとえばパクリタキセル、カバジタキセルおよびドセタキセル、エボチロン、たとえばイキサベピロン、ピンカアルカロイド、たとえばピンブラスチン、ピンクリスチンおよびビノレルピン、またはエストラムスチン、vi)シグナル伝達カスケード阻害剤、特にmTOR(ラパマイシンの哺乳動物の標的)阻害剤、たとえばテムシロリムスおよびエベロリムス、またはチロシンキナーゼ阻害剤、たとえばゲフィチニブ、エルロチニブ、イマチニブ、パゾパニブ、セリチニブ、クリゾチニブ、ラパチニブおよびアフアチニブ、vii)コルチコステロイド、特にプレドニゾン、メチルプレドニゾンまたはデキサメタゾン、viii)ホルモン治療剤、特にアンドロジェン受容体変調剤、たとえばピカルタミド、エンザルタミドおよびアピラテロン酢酸エステル、抗エストロゲン、たとえばタモキシフェン、またはアロマターゼ阻害もしくはステロイド修飾剤、たとえばアナストロゾール、レトロゾール、フルベストラントおよびエクセメスタン、ix)PARP阻害剤、特にオラパリブ、またはx)別の化学療法薬、特にL-アスパラギナーゼまたはボルテゾミブである。当業者は、先に記述したヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍の治療に使用するのに適切な併用療法の選択に困難はないことになる。

【0096】

10

20

30

40

50

本発明の別の態様において、特にデュオカルマイシン誘導体リンカー薬物を含む抗 P S M A A D C 化合物の場合、治療抗体は、ベパシズマブ、デノスマブ、ペルツズマブまたはトラスツズマブであり、化学療法剤は、トポイソメラーゼ II 阻害剤、特にミトキサントロン、分裂抑制因子、特にタクサン、とりわけカバジタキセルもしくはドセタキセル、コルチコステロイド、特にプレドニゾン、またはホルモン治療剤、特にアンドロジェン受容体変調剤、とりわけエンザルタミドもしくはアピラテロン酢酸エステルである。

【0097】

本発明のさらに別の態様において、特にデュオカルマイシン誘導体リンカー薬物を含む抗 5 T 4 A D C 化合物の場合、治療抗体は、ベパシズマブ、セツキシマブ、ニボルマブもしくはラムシルマブであり、化学療法剤は、アルキル化剤、特に白金製剤、とりわけシスプラチンもしくはカルボプラチン、代謝拮抗薬、特にゲムシタピンもしくはペメトレキセド、トポイソメラーゼ II 阻害剤、特にエトポシド、分裂抑制因子、特にタクサンもしくはピンカアルカロイド、とりわけパクリタキセルもしくはドセタキセル、またはビンブラスチンもしくはビノレルピン、またはシグナル伝達カスケード阻害剤、特にチロシンキナーゼ阻害剤、とりわけエルロチニブ、セリチニブ、クリゾチニブもしくはアフアチニブである。

10

【0098】

本発明のさらなる態様において、特にデュオカルマイシン誘導体リンカー薬物を含む抗 5 T 4 A D C 化合物の場合、治療抗体は、ベパシズマブであり、化学療法剤は、アルキル化剤、特にナイトロジェンマスタード、白金製剤もしくはトリアジン、とりわけシクロホスファミド、イホスファミド、シスプラチンもしくはテモゾロマイド、抗腫瘍抗生物質、特にドキソルビシン、代謝拮抗薬、特にゲムシタピン、トポイソメラーゼ I もしくは II 阻害剤、特にトポテカン、イリノテカンもしくはエトポシド、または分裂抑制因子、特にタクサンもしくはピンカアルカロイド、とりわけパクリタキセルもしくはドセタキセル、もしくはピンクリスチンもしくはビノレルピンである。

20

【0099】

本発明のなおさらなる態様において、特にデュオカルマイシン誘導体リンカー薬物を含む抗 5 T 4 A D C 化合物の場合、治療抗体は、アマツキシマブであり、化学療法剤は、アルキル化剤、特に白金製剤、とりわけシスプラチンまたはカルボプラチン、代謝拮抗薬、特にゲムシタピンもしくはペメトレキセド、または分裂抑制因子、特にピンカアルカロイド、とりわけビノレルピンである。

30

【0100】

本発明による化合物の治療上有効な量は、約 0.01 ~ 約 15 mg / kg 体重の範囲、特に約 0.1 ~ 約 10 mg / kg 体重の範囲、とりわけ約 0.3 ~ 約 10 mg / kg 体重の範囲である。この後者の範囲は、A D C 化合物 20 ~ 800 mg の範囲のフラット用量 (flat dose) におよそ対応する。本発明の化合物は、毎週、隔週、3 週毎または毎月、たとえば最初の 12 週間を毎週次いで疾患が増悪するまで 3 週間毎に投与してもよい。別の治療計画は、疾患の重症度、患者の年齢、投与されている化合物および主治医により考慮される他のそのような因子に応じて使用されてもよい。

40

【0101】

[実施例]

操作されたシステイン (変異体) 抗体の一過性発現

1 a) c D N A の調製

重鎖に対する c D N A 配列は、リーダー配列 (配列番号 1)、抗 P S M A 抗体の重鎖可変領域 (配列番号 2、K a b a t ナンバリングで 41 位にシステイン残基を有する) およびヒト I g G 1 重鎖定常領域 (配列番号 3、連続したナンバリング、アラニン 118 で開始される E u ナンバリング) のアミノ酸配列から、その組み合わせたアミノ酸配列を、ヒト細胞 (H o m o s a p i e n s) における発現用に最適化した c D N A 配列 (配列番号 4) に逆翻訳することにより得た。

50

【0102】

同様に、軽鎖に対する cDNA 配列は、分泌シグナル（配列番号 1）、抗 P S M A 抗体の軽鎖可変領域（配列番号 5、K a b a t ナンバリング）およびヒト I g 軽鎖定常領域（配列番号 6、連続したナンバリング）のアミノ酸配列から、その組み合わせたアミノ酸配列を、ヒト細胞（H o m o s a p i e n s）における発現用に最適化した cDNA 配列（配列番号 7）に逆翻訳することにより得た。

【0103】

同様に、抗 5 T 4 抗体 H 8 - H C 4 1 の重鎖に対する cDNA 配列（配列番号 10）は、リーダー配列（配列番号 1）、H 8 抗体の重鎖可変領域（配列番号 8、連続したナンバリング、41 位にシステイン残基を有する）およびヒト I g G 1 重鎖定常領域（配列番号 9、連続したナンバリング、アラニン 118 で開始される E u ナンバリング）のアミノ酸配列から得た。

10

【0104】

H 8 抗体軽鎖に対する cDNA 配列（配列番号 12）は、リーダー配列（配列番号 1）、H 8 抗体の軽鎖可変領域（配列番号 11、K a b a t ナンバリング）およびヒト I g 軽鎖定常領域（配列番号 6、連続したナンバリング）のアミノ酸配列から得た。

【0105】

ナタリズマブの重鎖に対する cDNA 配列（配列番号 16）は、リーダー配列（配列番号 13）、ナタリズマブの重鎖可変領域（配列番号 14、K a b a t ナンバリング）およびヒト I g G 4 重鎖定常領域（配列番号 15、連続したナンバリング、アラニン 118 で開始される E u ナンバリング；225 位にプロリン残基および 375 位にシステイン残基を有する）のアミノ酸配列から得た。

20

【0106】

ナタリズマブ軽鎖に対する cDNA 配列（配列番号 19）は、リーダー配列（配列番号 17）、ナタリズマブの軽鎖可変領域（配列番号 18、K a b a t ナンバリング）およびヒト I g 軽鎖定常領域（配列番号 6、連続したナンバリング）のアミノ酸配列から得た。

【0107】

重鎖および軽鎖 cDNA 構築物は、商業的供給者（L i f e T e c h n o l o g i e s）により化学的に合成され、ならびにそこから入手した。リーダー配列の切断は、S i g n a l P プログラム（<http://www.cbs.dtu.dk/service/SIGNALP/>）を使用して予測した切断部位に対応させた。

30

【0108】

1 b) ベクター構築およびクローニング戦略

抗体鎖の発現用として、哺乳動物発現ベクター 0098 を、以下の通りに構築した。C M V : B G H p A 発現カセットを、p c D N A 3 . 1 (-) (L i f e T e c h n o l o g i e s) プラスミドから切り出し、同じ起源のベクター（完全な C M V : B G H p A 発現カセットをまだ含有する）に再挿入し、それによって C M V : B G H p A 発現カセットを重複させ、単一のプラスミドベクターから H C と L C の両方の c D N A の発現を可能にした。その後、I R E S - D H F R 断片をベクター p O p t i V E C - T O P O (L i f e T e c h n o l o g i e s) から単離し、C M V : B G H p A 発現カセットのうちの一方の C M V プロモータと B G H p A ポリアデニル化配列の間に挿入した。

40

【0109】

重鎖（H C）および軽鎖（L C）に対する cDNA を、S f i I 制限部位を使用してそれぞれ p M A - R Q ならびに p M A - T プラスミドベクター（L i f e T e c h n o l o g i e s）にライゲーションした。大腸菌（E . c o l i）K 12 に移入し、増殖させた後に、L C c D N A を、A s c I および H p a I 制限部位を使用して哺乳動物発現ベクター 0098 へ移した。得られたベクターを、B a m H I および N h e I 制限酵素で消化し、同じ制限酵素で消化した H C c D N A 断片とライゲーションした。H C と L C 発現カセット（それぞれ C M V : H C : B G H p A および C M V : L C - B G H p A）の両方を含有する最終的なベクターを、大腸菌 N E B 5 - 細胞（N E W E n g l a n d

50

B i o l a b s) に移し、増やした。

【 0 1 1 0 】

トランスフェクション用の最終的な抗体変異体発現ベクターの大規模産生を、M a x i またはM e g a p r e p キット (Q i a g e n) を使用して実行した。

【 0 1 1 1 】

2) 哺乳動物細胞における一過性発現

市販のE x p i 2 9 3 F細胞 (L i f e T e c h n o l o g i e s) を製造業者の説明書にしたがってE x p i F e c t a m i n e トランスフェクション剤 (L i f e T e c h n o l o g i e s) を使用して、上記1)の下で調製した抗体変異体発現ベクターで以下の通りトランスフェクトした：細胞 75×10^7 個を、E x p i 2 9 3 発現培地300 mLに播種した；抗体変異体発現ベクター300 μ gを、E x p i F e c t a m i n e トランスフェクション剤800 μ Lと混合し、細胞に添加した。トランスフェクションの1日後に、E n h a n c e r 1 1.5 mLおよびE n h a n c e r 2 1.5 mLを培養に添加した。トランスフェクションの6日後に、細胞培養上清を、4,000 gで15分間遠心分離することにより採取し、清澄な採取物をM F 7 5 フィルタ (N a l g e n e) によりろ過した。

10

【 0 1 1 2 】

3) 発現したタンパク質の精製

清澄な採取物を、S D S - P A G E 電気泳動を使用して発現レベルについて最初に確認した。産生が十分であると考えられたので、抗体を、A e k t a クロマトグラフィー機器 (G E H e a l t h c a r e) を使用して、市販のプロテインA樹脂 (M a b S e l e c t S u R e 、 G E H e a l t h c a r e) を使用して精製した。ベッド高20 cmのカラムを、25 mg / mL 充填樹脂を最大装填量で使用した。そのプロセスは、室温で実行した。

20

【 0 1 1 3 】

平衡化 (P B S p H 7 . 4) およびローディング後に、精製工程は、2回の洗浄工程 (それぞれP B S p H 7 . 4 およびN a A c p H 5) および溶出工程 (2 5 m M N a A c 、 p H 3) を利用し、その後新たなサイクルを開始する前に、それぞれ再生、すすぎおよび洗浄工程を続けた。溶出工程の間、標的タンパク質を、吸光度0.05 ~ 0.1 A U (セル厚み0.2 cm) で始まり、終わるピーク内で採集した。精製後に、タンパク質を - 2 0 ~ - 8 0 で保管した。

30

【 0 1 1 4 】

4) 濃縮およびA D C コンジュゲーション緩衝液への緩衝液交換

プロテインA溶出液を、必要に応じて、V i v a s p i n 遠心力装置 (5 または30 k D a 分画、V i v a p r o d u c t s) を使用して20 ~ 25 mg / mL に濃縮した。所望の濃度を得た後に、濃縮した溶液 (一般に25 mg / mL) を、P D 1 0 カラム (G E h e a l t h c a r e) および4.2 mM L - ヒスチジン + 50 mM トレハロース p H 6 . 0 緩衝液を使用して2回透析した。あるいは、プロテインA溶出液濃度がおよそ10 mg / mL であった場合、濃縮工程を利用せず、溶出液を4.2 mM L - ヒスチジン + 50 mM トレハロース p H 6 . 0 緩衝液に対してs n a k e s k i n 透析チューブ (10 k D a 分画、T h e r m o S c i e n t i f i c) を使用して直ちに3回透析した。現れた沈殿物をどれも、透析が完了した後に濾過により除去した。濃度を、N a n o d r o p またはキュベット紫外線分光光度計 (両方ともT h e r m o S c i e n t i f i c) のいずれかを使用して紫外線分光法により測定した。品質分析は、タンパク質が、> 95%の純度を有し、H P S E C により決定した通りごく微量の二量体または断片を含有していることを示した。操作されたシステイン変異体の等電点は、野生型と同一であった。

40

【 0 1 1 5 】

操作されたシステイン (V H 4 1 C 、 K a b a t ナンパリング) 抗P S M A 抗体の調製および精製に先に記述したものと同様 / 同一の手順を使用して、操作されたH 8 - H C

50

41 (VH 41C、Kabatナンバリング) および操作されたシステインナタリズマブ (CH 225P、375C、Kabatナンバリング) 抗体、また例の他の抗体を調製し、精製した。

【0116】

一般的な部位特異的コンジュゲーション手順

システイン操作した抗体 (4.2 mMヒスチジン、50 mMトレハロース、pH 6中に5 ~ 10 mg/ml) の溶液にEDTA (水に25 mM、4%体積/体積) を添加した。TRIS (水に1 M、pH 8) を使用してpHをおよそ7.4に調整し、その後TCEP (水に10 mM、20当量) を添加し、得られた混合物を室温で1 ~ 3時間インキュベートした。過剰なTCEPを、PD-10脱塩カラムまたは4.2 mMヒスチジン、50 mMトレハロース、pH 6を使用するVivaspin遠心濃縮器 (30 kDa分画、PES) のいずれかにより除去した。TRIS (水に1 M、pH 8) を使用して得られた抗体溶液のpHをおよそ7.4に上げ、その後デヒドロアスコルビン酸 (水中に10 mM、20当量) を添加し、得られた混合物を室温で1 ~ 2時間インキュベートした。DMA、続いてリンカー薬物溶液 (DMAに10 mM) を添加した。DMAの終濃度は、5 ~ 10%であった。得られた混合物を、遮光下で、室温で1 ~ 16時間インキュベートした。過剰なリンカー薬物を除去するために、活性炭を添加し、混合物を室温で1時間インキュベートした。炭を0.2 μm PESフィルタを使用して除去し、得られたADCを、Vivaspin遠心濃縮器 (30 kDa分画、PES) を使用して4.2 mMヒスチジン、50 mMトレハロース、pH 6中に製剤化した。最終的に、ADC溶液は、0.22 μmのPESフィルタを使用して濾過滅菌した。

10

20

【0117】

部分的に還元された内在性ジスルフィドを介するコンジュゲーションの一般的なコンジュゲーション手順 (wtコンジュゲーション)

抗体 (4.2 mMヒスチジン、50 mMトレハロース、pH 6中に5 ~ 10 mg/ml) の溶液に、EDTA (水に25 mM、4%体積/体積) を添加した。TRIS (水に1 M、pH 8) を使用してpHをおよそ7.4に調整し、その後TCEP (水に10 mM、抗体および所望のDARに応じて1 ~ 3当量) を添加し、得られた混合物を室温で1 ~ 3時間インキュベートした。DMA、続いてリンカー薬物溶液 (DMAに10 mM) を添加した。DMAの終濃度は、5 ~ 10%であった。得られた混合物を、遮光下で、室温で1 ~ 16時間インキュベートした。過剰なリンカー薬物を除去するために、活性炭を添加し、混合物を室温で1時間インキュベートした。炭を0.2 μm PESフィルタを使用して除去し、得られたADCを、Vivaspin遠心濃縮器 (30 kDa分画、PES) を使用して4.2 mMヒスチジン、50 mMトレハロース、pH 6中に製剤化した。最終的に、ADC溶液は、0.22 μmのPESフィルタを使用して濾過滅菌した。

30

【0118】

上記の一般的な手順を使用して、vc-seco-DUBA (SYD980; すなわち、WO2011/133039の209頁の例10にある化合物18b、n=1)、vc-MMAEおよびmc-MMAFリンカー薬物に基づいてシステイン操作したおよび野生型のADCを合成し、分析疎水性相互作用クロマトグラフィー (HIC)、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)、遮蔽疎水性相クロマトグラフィー (Shielded Hydrophobic Phase Chromatography) (SHPC)、RP-HPLCならびにLALエンドトキシン試験を使用して特徴づけた。

40

【0119】

分析HICの場合、サンプル (1 mg/ml) 5 ~ 10 μLを、TSKゲル-NPRカラム (4.6 mm ID x 3.5 cm L、Tosoh Bioscience、カタログ番号14947) に注入した。溶出方法は、緩衝液A (25 mMリン酸ナトリウム、1.5 M硫酸アンモニウム、pH 6.95) 100%から緩衝液B (25 mMリン酸ナトリウム、pH 6.95、20%イソプロパノール) 100%へ0.4 ml/分で20分間の直線勾配からなった。PDA-検出器およびEmpowerソフトウェアを備え

50

た Waters Acquity H - クラス UPLC システムを使用した。吸光度を 214 nm で測定し、ADC の保持時間を決定した。

【0120】

分析 HIC により明らかになった通り、wt コンジュゲートと対比してシステインを操作した異なる ADC の DAR 2 種について保持時間 (RT) に差異があった (表 1、2 および 3)。最も興味深いことに、Fab 腔もしくは Fc 腔の内側の特定の部位 (分子モデリングアルゴリズムにより予測した) におけるリンカー薬物のコンジュゲートが、部分的に還元した内在性ジスルフィドを介してコンジュゲートした ADC と比較して保持時間の (劇的な) 減少を引き起こすことから、本発明者らは、HIC データに基づいて、リンカー薬物を Fab または Fc 腔内の特定の部位にコンジュゲートした操作された ADC が、wt コンジュゲートより疎水性が低いという結論を導いた。さらにこの効果を定量化するために、用語、相対的疎水性を導入し、それを：

$(RT_{DAR2} - RT_{DAR0}) / (RT_{DAR2, wt-ADC} - RT_{DAR0, wt-ADC})$ と定義した。本質的には、相対的疎水性は、HIC データに基づいて wt コンジュゲートした相対物と対比して操作された ADC の疎水性を容易に比較できるようにする尺度である。データを、表 1、2 および 3 に要約した。

【0121】

表 1 事前に指定した分析 HIC カラムに対する vc - seco - DUBA ADC の相対的疎水性：

【0122】

10

20

【表 1】

ADC (vc-seco-DUBA)	Cys 突然変異		DAR	HMW (%) ²	RT _{DAR2}	RT _{DAR0}	相対的疎水性 ³
	HC	LC					
ADC-wt (SYD998) ¹	wt	wt	1.8	7.7	9.7	6.9	1.0
ADC-HC41 (SYD1091)	S41C	wt	1.7	1.4	8.5	6.8	0.6
ADC-HC120 (SYD1035) ⁶	T120C	wt	1.8	0.9	11.3	6.8	1.6
ADC-HC152	E152C	wt	1.5	1.2	8.5	6.5	0.7
ADC-HC153	P153C	wt	1.5	2.4	8.7	6.5	0.8
ADC-HC236 ⁶	G236C	wt	1.0	1.1	10.4	6.5	1.4
ADC-HC247	P247C	wt	1.3	1.3	9.2	7.3	0.7
ADC-HC339	A339C	wt	1.7	0.5	8.6	7.3	0.5
ADC-HC375	S375C	wt	1.8	1.0	7.5	6.6	0.3
ADC-HC376	D376C	wt	1.4	3.1	9.8	6.6	1.1
ADC-HC41-120 ⁷	S41C, T120C	wt	3.3	40.0	12.3	7.3	0.9
ADC-HC41-375	S41C, S375C	wt	3.0-4.3 ⁴	1.9	9.3 ⁵	7.3	0.4
ADC-LC40	wt	P40C	1.8	0.5	9.5	6.9	0.9
ADC-LC41	wt	G41C	1.8	0.6	8.7	6.9	0.6
ADC-LC109 ⁶	wt	T109C	1.0	-	12.4	7.2	1.9
ADC-LC154 ⁶	wt	L154C	1.7	6.4	12.4	6.8	2.0
ADC-LC157 ⁶	wt	G157C	1.1	-	12.5	7.1	1.9
ADC-LC165	wt	E165C	1.5	2.3	8.4	6.6	0.6
ADC-LC205 ⁶	wt	V205C	1.8	1.0	10.6	6.9	1.3
H8-wt ¹	wt	wt	2.0	4.4	9.9	6.4	1.0
H8-HC40	S40C	wt	1.7	1.2	8.8	6.2	0.7
H8-HC41	P41C	wt	1.7	0.4	7.4	6.2	0.3
ナタリズマブ-HC375	S375C ⁸	wt	1.7	26.0	7.8	6.8	0.4

10

20

30

40

【 0 1 2 3 】

1 ランダム - 非部位特異的 - 結合

2 H M W は高分子量種であり、形成された凝集体の量を反映している

3 $(RT_{DAR2} - RT_{DAR0}) / (RT_{DAR2, wt-ADC} - RT_{DAR0, wt-ADC})$ と定義した、R T は保持時間である

4 M S データに基づく

5 R T、w t D A R 4 種 = 1 2 . 2

6 外側に向いているシステイン残基にコンジュゲートされたリンカー薬物を持つ比較用 A D C

7 F a b 腔内にあるシステインの 1 つおよび外側に向いているシステイン残基の 1 つにコンジュゲートされたリンカー薬物を持つ A D C ; プロセスはまだ最適化されていない

8 また、I g G 4 の二量体化を防止するための 2 2 5 P 突然変異

表 2 事前に指定した分析 H I C カラムに対する v c - M M A E A D C の相対的疎水性 :

【 0 1 2 4 】

【表 2】

ADC (vc-MMAE)	Cys 突然変異		DAR	HMW (%) ¹	RT _{DAR2}	RT _{DAR0}	相対的疎水性 ²
	HC	LC					
ADC-wt	wt	wt	1.7	0.6	9.6	7.2	1.0
ADC-HC41	S41C	wt	1.8	0.5	8.1	7.2	0.4
ADC-LC40	wt	P40C	1.8	0.6	8.5	7.2	0.5
ADC-LC41	wt	G41C	1.9	0.9	8.4	7.3	0.5
H8-HC40	S40C	wt	1.7	1.4	8.1	6.5	ND ³

10

【0125】

¹ HMWは高分子量種であり、形成された凝集体の量を反映している

² $(RT_{DAR2} - RT_{DAR0}) / (RT_{DAR2, wt-ADC} - RT_{DAR0, wt-ADC})$ と定義した、RTは保持時間である

³ NDは、決定していない；野生型H8-vc-MMAEは調製しなかった

表3 事前に指定した分析HICカラムに対するmc-MMAF ADCの相対的疎水性：

【0126】

【表 3】

ADC (mc-MMAF)	Cys 突然変異		DAR	HMW (%) ¹	RT _{DAR2}	RT _{DAR0}	相対的疎水性 ²
	HC	LC					
ADC-wt	wt	wt	1.8	0.6	8.0	7.2	1.0
ADC-HC41	S41C	wt	1.8	0.5	7.4	7.2	0.3
ADC-LC40	wt	P40C	1.8	0.5	7.6	7.2	0.5
ADC-LC41	wt	G41C	1.8	0.6	7.5	7.3	0.3
H8-wt	wt	wt	4.2	0.4	7.2	6.2	1.0
H8-HC40	S40C	wt	1.4	1.2	6.9	6.5	0.4

20

【0127】

¹ HMWは高分子量種であり、形成された凝集体の量を反映している

² $(RT_{DAR2} - RT_{DAR0}) / (RT_{DAR2, wt-ADC} - RT_{DAR0, wt-ADC})$ と定義した、RTは保持時間である

細胞結合

抗PSMA ADC SYD998 (wt)、SYD1091 (HC41) および比較用SYD1035 (HC120) の3つは、PSMA発現LNCaP-C4.2細胞に対して野生型抗体と類似の等しい結合親和性を有し (EC_{50} 0.1 ~ 0.2 μ g/ml の範囲)、3つ全てのADCが、PSMA-陰性DU-145細胞に結合できなかった ($EC_{50} > 10 \mu$ g/ml)。

【0128】

抗5T4 ADC H8-wt およびH8-HC40の2つは、5T4発現MDA-MB-468細胞に対して野生型H8抗体と類似の等しい結合親和性を有し (EC_{50} 0.1 ~ 1.2 μ g/ml の範囲)、両方のADCが5T4-陰性SK-MEL-30細胞に結合できなかった ($EC_{50} > 10 \mu$ g/ml)。

40

【0129】

したがって、ADCの抗原結合特性は、結合したデュオカルマイシン誘導体リンカー薬物に影響を受けなかった。

【0130】

in vitro細胞毒性

PSMA発現LNCaP-C4.2細胞に対する部位特異的にコンジュゲートされてい

50

る抗PSMA ADCの効力は、従来通り連結した野生型ADC (SYD998) と類似していた (IC_{50} 0.1 ~ 0.5 nMの範囲、薬物当量に基づく、下記表4を参照のこと)。全てのADCがPSMA-陰性DU-145細胞に対して不活性だった (IC_{50} > 70 nM) ことは、PSMAによる腫瘍細胞の選択的致死を示した。

【0131】

結合しない2つの対照ADCは、評価した細胞系のそれぞれに対して抗PSMA ADCより少なくとも50倍弱かった。

【0132】

表4 PSMAを発現しているヒト腫瘍細胞における抗PSMA-vc-seco-DUBA ADCのin vitro細胞毒性

10

【0133】

【表4】

ADC (vc-seco-DUBA)	Cys 突然変異		PSMA-陽性細胞系 LNCaP-C4.2		
	HC	LC	IC ₅₀ (nM)	95% CI (nM) ¹	%効力 ²
ADC-wt (SYD998)	wt	wt	0.23	0.20 – 0.27	82
ADC-HC41 (SYD1091)	S41C	wt	0.25	0.21 – 0.28	78
ADC-HC120 (SYD1035)	T120C	wt	0.14	0.13 – 0.16	82
ADC-HC152	E152C	wt	0.44	0.36 – 0.55	78
ADC-HC153	P153C	wt	0.34	0.28 – 0.41	79
ADC-HC236	G236C	wt	0.22	0.19 – 0.26	76
ADC-HC247	P247C	wt	0.10	0.09 – 0.12	82
ADC-HC339	A339C	wt	0.12	0.11 – 0.13	83
ADC-HC375	S375C	wt	0.25	0.22 – 0.28	81
ADC-HC376	D376C	wt	0.20	0.18 – 0.22	82
ADC-LC40	wt	P40C	0.30	0.23 – 0.37	80
ADC-LC41	wt	G41C	0.31	0.25 – 0.38	80
ADC-LC154	wt	L154C	0.24	0.19 – 0.29	82
ADC-LC165	wt	E165C	0.51	0.40 – 0.65	79
ADC-LC205	wt	V205C	0.17	0.15 – 0.19	83
結合しない対照-wt	wt	wt	28.86	24.76 – 36.02	96
結合しない対照-HC41	P41C	wt	>100	n.a.	n.a.
遊離リンカー薬物			0.02	0.02 – 0.03	98

20

30

40

【0134】

¹ 95% CIは、95%信頼区間である

² パーセンテージ効力は、試験した最高濃度 (およそ100 nM) で得られ、各薬物またはADCに対して測定した発光を無処理細胞 (増殖培地だけ) の総平均値 (average mean) で割り100を掛けることにより算出した。

【0135】

抗PSMA抗体上のHC41、LC40およびLC41位へのvc-MMAEのコンジュゲーションは、PSMA陽性LNCaP-C4.2細胞においてこれらのシステイン部位に連結した抗PSMA-vc-seco-DUBAと類似の細胞毒性効力をもたらした (表4および5)。抗PSMA-vc-MMAE ADCは、PSMA陰性DU-145

50

細胞に対する活性を欠いた ($IC_{50} > 70 \text{ nM}$)。

【0136】

表5 PSMAを発現しているヒト腫瘍細胞における抗PSMA-vc-MMAE ADCのin vitro細胞毒性

【0137】

【表5】

ADC (vc-MMAE)	Cys 突然変異		PSMA-陽性細胞系 LNCaP-C4.2		
	HC	LC	IC ₅₀ (nM)	95% CI (nM) ¹	%効力 ²
ADC-wt	wt	wt	0.34	0.31 – 0.38	89
ADC-HC41	S41C	wt	0.39	0.35 – 0.43	91
ADC-LC40	wt	P40C	0.31	0.27 – 0.35	90
ADC-LC41	wt	G41C	0.33	0.29 – 0.37	90
結合しない 対照-wt	wt	wt	>100	n.a.	90
遊離リンカー 薬物			0.23	0.18 – 0.28	94

10

【0138】

¹ 95% CIは、95%信頼区間である

20

² パーセンテージ効力は、試験した最高濃度（およそ100 nM）で得られ、各薬物またはADCに対して測定した発光を無処理細胞（増殖培地だけ）の総平均値（average mean）で割り100を掛けることにより算出した。

【0139】

5T4発現MDA-MB-468細胞に対する操作した抗5T4 ADCの効力は、従来通り連結したADC H8-wtと等しかった ($IC_{50} 0.07 \sim 0.09 \text{ nM}$ 、表6)。抗5T4 ADCは、5T4-陰性SK-MEL-30細胞に対して不活性であった ($IC_{50} > 90 \text{ nM}$)。

【0140】

表6 5T4を発現しているヒト腫瘍細胞における抗5T4-vc-seco-DUBA ADCのin vitro細胞毒性

30

【0141】

【表6】

ADC (vc-seco-DUBA)	Cys 突然変異		vc-seco-DUBA 5T4-陽性細胞系 MDA-MB-468		
	HC	LC	IC ₅₀ (nM)	95% CI (nM) ¹	%効力 ²
H8-wt	wt	wt	0.09	0.08 – 0.10	91
H8-HC40	S40C	wt	0.07	0.07 – 0.08	88
H8-HC41	P41C	wt	0.07	0.06 – 0.08	88
結合しない対照- HC41	P41C	wt	40.18	34.24 – 47.16	85
遊離リンカー 薬物			0.02	0.01 – 0.02	94

40

【0142】

¹ 95% CIは、95%信頼区間である

² パーセンテージ効力は、試験した最高濃度（およそ100 nM）で得られ、各薬物またはADCに対して測定した発光を無処理細胞（増殖培地だけ）の総平均値（average mean）で割り100を掛けることにより算出した。

【0143】

50

これらのデータを合わせると、部位特異的コンジュゲーションについて試験したシステイン位置が、2つの異なるリンカー薬物を含むADCの腫瘍細胞致死効力に影響しなかったことが示される。さらに、異なる抗体のFab部分の可変領域におけるリンカー薬物の部位特異的連結が、一般に適用できる。

【0144】

カテプシンBによる酵素的切断

vc-seco-DUBA (SYD980) およびvc-MMAEを持つADCのリンカーに存在するバリン-シトルリン部分は、システインプロテアーゼ、たとえばカテプシンBにより切断することができ、その切断により、(seco-)DUBAまたはMMAE薬物は、腫瘍リソソーム内部で細胞内にもしくは細胞外の腫瘍微小環境にその後放出される。カテプシンBに対する感受性を評価するために、ADCを活性化カテプシンB (Calbiochem) で2分および4時間処理した。抗PSMA ADCから放出された薬物の細胞毒性活性を、PSMA-陰性DU-145細胞において測定した。抗5T4 ADCから放出された薬物の細胞毒性活性を、5T4-陰性SK-MEL-30細胞において測定した。37°Cでのプレインキュベーション工程の間に、1mg/mlの各ADCを、4mM DTTを含有する0.1M酢酸ナトリウムpH5中の5μg/mlカテプシンBと混合した(0.04単位/ウェル)。対照として、1mg/mlの各ADCを、培地(RPMI 1640、10%検定済みFBS)に直接希釈した。段階希釈を、これらのADC溶液から培地に作製した。それぞれの遊離毒素DUBAまたはMMAEの放出を測定するために、PSMA-陰性DU-145細胞(1,000個細胞/ウェル)および5T4-陰性SK-MEL-30細胞(2,000個細胞/ウェル)をADCと6日間培養し、6日後に細胞生存率を、CellTiter-Glo(商標)(CTG)アッセイキットを使用して測定した。

10

20

【0145】

PSMA-陰性DU-145細胞および5T4-陰性SK-MEL-30細胞に対する放出された薬物の効力の差異は、ADCから切断される薬物の量、それによるカテプシンBに対するバリン-シトルリン切断部位の近接性を反映する。表7に示す通り、活性化カテプシンBに4時間曝露した後、タンパク質分解性切断に対する感受性は、ADCの間で異なった(IC₅₀値を参照のこと)、一方ADCのいずれも、カテプシンBによる2分間の短時間の曝露後に切断されなかった(IC₅₀ > 10 nM、表においてデータ不掲載)。

30

【0146】

これらのデータを合わせると、コンジュゲーションの部位は、酵素的切断に対するリンカー薬物の近接性に影響を及ぼし、抗PSMA ADC ADC-HC41、ADC-HC152、ADC-HC339、ADC-HC375、ADC-LC41およびADC-LC165におけるvc-seco-DUBA (SYD980) リンカー薬物が、前記酵素による切断から最も保護されていることが示される。抗PSMA抗体のHC41およびLC41位置に対するvc-MMAEのコンジュゲーションにより、バリン-シトルリン切断部位と類似の保護が得られた(表7)。類似の傾向が、同じHC41位を介してvc-seco-DUBA (SYD980) にコンジュゲートした抗5T4抗体H8-HC41に対しても見られた。

40

【0147】

これらのデータは共に、特に41C位が、様々な抗体に対するリンカー-薬物の部位特異的コンジュゲーションに適する位置であることを示す。

【0148】

表7 カテプシンBにより切断された遊離薬物の細胞毒性

【0149】

【表 7 - 1】

ADC	Cys 突然変異		カテプシンBとの 4時間のプレインキュベーション		
	HC	LC	IC ₅₀ (nM)	95% CI (nM)	%効力
<i>vc-seco-DUBA</i> にコンジュゲートした抗PSMA抗体					
ADC-wt (SYD998)	wt	wt	0.70	0.62 - 0.79	97
ADC-HC41 (SYD1091)	S41C	wt	~ 5.00	n.a.	59
ADC-HC120 (SYD1035)	T120C	wt	0.38	0.34 - 0.42	96
ADC-HC152	E152C	wt	>10	n.a.	50
ADC-HC153	P153C	wt	0.76	0.69 - 0.84	98
ADC-HC236	G236C	wt	2.08	1.64 - 2.65	100
ADC-HC247	P247C	wt	2.01	1.69 - 2.39	99
ADC-HC339	A339C	wt	5.00	3.50 - 7.15	99
ADC-HC375	S375C	wt	>10	n.a.	45
ADC-HC376	D376C	wt	0.60	0.52 - 0.68	98
ADC-LC40	wt	P40C	2.11	1.91 - 2.34	96
ADC-LC41	wt	G41C	>10	n.a.	n.a.
ADC-LC154	wt	L154C	0.26	0.22 0.30	98
ADC-LC165	wt	E165C	>10	n.a.	50
ADC-LC205	wt	V205C	0.48	0.41 - 0.58	97
結合しない 対照-wt	wt	wt	0.32	0.28 - 0.35	97
結合しない 対照-HC41	P41C	wt	1.56	1.36 - 1.79	98
<i>vc-MMAE</i> にコンジュゲートした抗PSMA抗体					
ADC-wt	wt	wt	0.63	0.31 - 0.38	96
ADC-HC41	S41C	wt	2.28	2.11 - 2.46	97
ADC-LC40	wt	P40C	0.60	0.55 - 0.64	96
ADC-LC41	wt	G41C	4.28	3.65 - 5.02	96

【 0 1 5 0 】

【表 7 - 2】

ADC	Cys 突然変異		カテプシンBとの 4時間のプレインキュベーション		
	HC	LC	IC ₅₀ (nM)	95% CI (nM)	%効力
結合しない 対照-wt	wt	wt	0.64	0.57 - 0.72	97
<i>vc-seco-DUBA</i> にコンジュゲートした抗5T4抗体					
H8-wt	wt	wt	0.35*	0.30 - 0.40	98
H8-HC40	S40C	wt	0.98	0.83 - 1.15	93
H8-HC41	P41C	wt	1.27*	0.98 - 1.67	98
結合しない 対照-HC41	P41C	wt	1.86	1.42 - 2.45	85

【 0 1 5 1 】

* LNCaP - C4 . 2 を、5T4 - 陰性細胞系として使用した。

10

20

30

40

50

【0152】

腫瘍異種移植動物モデル

3つの抗PSMA ADCの*in vivo*効力を、LNCaP C4-2前立腺癌異種移植モデルにおいて評価した。LNCaP-C4.2細胞系は、親であるアンドロゲン依存的LNCaP-FGC異種移植細胞系の去勢誘導再発および再燃後のマウスにおいて連続的に増殖した異種移植から得られるヒト前立腺癌腫上皮細胞系である。

【0153】

腫瘍を、雄のCB17-SCIDマウスの右の側腹部にマトリゲル(50:50、体積:体積)を含有するRPMI 1640 200 μ L中のLNCaP C4.2細胞 1×10^7 個を注射することにより皮下誘導した。LNCaP-C4.2腫瘍細胞移植は、
-線源(1.44 Gy、⁶⁰Co、BioMep、Bretenieres、フランス)による全身照射の24~72時間後に実行した。腫瘍が、平均体積100~200 mm³に達したら、治療を開始した。マウスを、個々の腫瘍体積によって群にランダム化し、尾静脈に抗PSMA ADC(2または10 mg/kg)または媒体の単回静脈注射を投与した。腫瘍体積(図2)および体重(図3)の変化を、監視した。3つ全てのADCが、およそ1.8の平均DARを有した。

10

【0154】

図2Aは、2 mg/kgにおいて、比較用の操作されたシステイン抗PSMA ADC SYD1035が、天然の操作されていないシステインSYD998と比較して活性が低いことを実証している。しかしながら、本発明による操作されたシステインADCであるSYD1091の効力は、比較用のSYD1035より有意に優れており、天然の操作されていないSYD998より優れていた。図2Bに示す通り比較用SYD1035とSYD1091間の差異は、10 mg/kgにおいてなお一層顕著であった。図3に例示した通り、LNCaP C4.2腫瘍を持つマウスは悪液質を発症する。この体重の減少は、有効な治療の投与後にしばしば回復し、高感度の効力バイオマーカと考えられる。SYD1091による治療は、比較用のSYD1035または天然の操作されていないSYD998で見られるより非常に速く体重を回復させた(図3)。

20

【0155】

2つの抗5T4 ADC、すなわち天然のH8-vc-seco-DUBA(平均DAR 2.0)および操作されたシステイン(VH P41C)ADC H8-41C-vc-seco-DUBA(平均DAR 1.7)の*in vivo*効力を、PA-1卵巣癌異種移植モデルにおいて評価した。PA-1細胞系は、卵巣癌腫の女性から採集した腹水液から取った細胞から樹立された(Zeuthen J. et al. Int. J. Cancer 1980; 25(1): 19-32)。

30

【0156】

PA-1腫瘍を、雌のBalb/cヌードマウスの右側腹部にマトリゲル(50/50、体積/体積)を含有するRPMI 1640培地100 μ L中の細胞 1×10^7 個を注射することにより皮下誘導した。PA-1腫瘍細胞注射は、
-線源(2 Gy、⁶⁰Co、BioMep、Bretenieres、フランス)による全身照射の24~72時間後に実行した。腫瘍が、平均体積200~300 mm³に達したら、治療を開始した。マウスを、個々の腫瘍体積によって群にランダム化し、尾静脈に抗5T4 ADC(3または10 mg/kg)または媒体の単回静脈注射を投与し、腫瘍体積の変化を監視した(図4Aおよび4B)。両方のパリアントは、より高い用量10 mg/kgにおいて類似の効力を有した(図4B)が、3 mg/kgにおいて天然の操作されていない抗5T4 ADC、H8-vc-seco-DUBA(図4A)と比較した場合、操作されたシステイン抗5T4 ADC H8-41C-vc-seco-DUBAは、明らかにより活性であった。

40

【0157】

これらの所見を合わせると、*in vivo*で、本発明による部位特異的に操作されたシステインADCは、マウス腫瘍モデルにおいて効力に関して好ましい特性を示すことが

50

実証された。

配列番号 1 (H A V T 2 0 リーダー配列)

1 MACPGFLWAL VISTCLEFSM A

配列番号 2 (抗 P S M A 抗体 H C S 4 1 C)

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKI SCKTSGYTFT EYTIHWVKQA CGKGLEWIGN

51 INPNNGGTTY NQKFEDRATL TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAAGW

101 NFDYWGQGT VTVSS

配列番号 3 (ヒト I g G 1 抗体 H C 定常領域)

1 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV

51 HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP

101 KSCDKHTTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMI SRTP EVTCVVVDVS

151 HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK

201 EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC

251 LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW

301 QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

配列番号 4 (抗 P S M A 抗体 H C S 4 1 C c D N A)

1 ATGGCCTGTC CTGGATTTCT GTGGGCCCTC GTGATCAGCA CCTGTCTGGA ATTCAGCATG

61 GCCGAGGTGC AGCTGGTGCA GTCTGGCGCC GAAGTGAAGA AACCAGGCGC CAGCGTGAAG

121 ATCAGCTGCA AGACCAGCG CTACACCTTC ACCGAGTACA CCATCCACTG GGTCAAGCAG

181 GCCTGTGGCA AGGGCCTGGA ATGGATCGGC AACATCAACC CCAACAACGG CGGCACCACC

241 TACAACCAGA AGTTCGAGGA CCGGGCCACC CTGACCGTGG ACAAGAGCAC AAGCACCGCC

301 TACATGGAAC TGAGCAGCCT GCGGAGCGAG GACACCGCCG TGTACTATTG TGCCGCCGGA

361 TGGAACTTCG ACTACTGGGG CCAGGGCACC ACCGTGACAG TGTCTAGCGC CAGCACAAAG

421 GGCCCAGCG TGTTCCCTCT GGCCCCTAGC AGCAAGTCTA CCTCTGGCGG AACAGCCGCC

481 CTGGGCTGCC TCGTGAAGGA CTACTTTCCC GAGCCCCTGA CCGTGTCTCTG GAACTCTGGC

541 GCTCTGACAA GCGGCGTGCA CACCTTTCCA GCCGTGCTGC AGAGCAGCGG CCTGTACTCT

601 CTGAGCAGCG TCGTGACTGT GCCCAGCAGC AGCCTGGGCA CCCAGACCTA CATCTGCAAC

661 GTGAACCACA AGCCAGCAA CACCAAGGTG GACAAAAAGG TGGAACCCAA GAGCTGCGAC

721 AAGACCACA CCTGTCCCC TTGTCTGCC CCTGAACTGC TGGGCGGACC TTCCGTGTTC

781 CTGTTCCCC CAAAGCCCAA GGACACCCTG ATGATCAGCC GGACCCCCGA AGTGACCTGC

841 GTGGTGGTGG ATGTGTCCCA CGAGGACCCT GAAGTGAAGT TCAATTGGTA CGTGGACGGC

901 GTGGAAGTGC ACAACGCCAA GACCAAGCCC AGAGAGGAAC AGTACAACAG CACCTACCGG

961 GTGGTGTCCG TGCTGACAGT GCTGCACCAG GACTGGCTGA ACGGCAAAGA GTACAAGTGC

1021 AAGGTGTCCA ACAAGGCCCT GCCTGCCCCC ATCGAGAAAA CCATCAGCAA GGCCAAGGGC

1081 CAGCCCCGCG AACCCAGGT GTACACACTG CCTCCCAGCA GGGACGAGCT GACCAAGAAC

1141 CAGGTGTCCC TGACATGCCT CGTGAAAAGC TTCTACCCCT CCGATATCGC CGTGAATGG

1201 GAGAGCAACG GCCAGCCCGA GAACAATACT AAGACCACCC CCCCTGTGCT GGACAGCGAC

1261 GGCTCATTCT TCCTGTACAG CAAGCTGACT GTGGATAAGT CCCGGTGGCA GCAGGGCAAC

1321 GTGTTACAGCT GCAGCGTGAT GCACGAGGCC CTGCACAACC ACTACACCCA GAAAAGCCTG

1381 TCCCTGAGCC CCGGCAAG

配列番号 5 (抗 P S M A 抗体 L C)

1 DIVMTQSPSS LSASVGDRVIT TCKASQDVG TAVDWYQQKP GKAPKLLIYW

51 ASTRHTGVPD RFTGSGSGTD FTLTISSLQP EDFADYFCQQ YNSYPLTFGG

101 GTKLEIK

配列番号 6 (ヒト I g G 抗体 L C 定常領域)

1 RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG

51 NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLISKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK

101 SFNRGEC

配列番号 7 (抗 P S M A 抗体 L C c D N A)

1 ATGGCCTGTC CTGGATTTCT GTGGGCCCTC GTGATCAGCA CCTGTCTGGA ATTCAGCATG

10

20

30

40

50

61	GCCGACATCG	TGATGACCCA	GAGCCCCAGC	TCTCTGAGCG	CCAGCGTGGG	CGACAGAGTG	
121	ACCATCACAT	GCAAGGCCAG	CCAGGACGTG	GGCACCGCCG	TGGATTGGTA	TCAGCAGAAG	
181	CCTGGCAAGG	CCCCAAGCT	GCTGATCTAC	TGGGCCAGCA	CCAGACACAC	CGGCGTGCCC	
241	GATAGATTCA	CAGGCAGCGG	CTCCGGCACC	GACTTCACCC	TGACAATCAG	CAGCCTGCAG	
301	CCCGAGGACT	TCGCCGACTA	CTTCTGCCAG	CAGTACAACA	GCTACCCCT	GACCTTCGGC	
361	GGAGGCACCA	AGCTGGAAAT	CAAGCGGACA	GTGGCCGCTC	CCAGCGTGTT	CATCTTCCCA	
421	CCTAGCGACG	AGCAGCTGAA	GTCTGGCACC	GCCTCTGTCTG	TGTGCCTGCT	GAACAACCTC	
481	TACCCCGCG	AGGCCAAGGT	GCAGTGGAAG	GTGGACAATG	CCCTGCAGAG	CGGCAACAGC	
541	CAGGAAAGCG	TGACCGAGCA	GGACAGCAAG	GACTCCACCT	ACAGCCTGAG	CAGCACCTG	
601	ACCCTGAGCA	AGGCCGACTA	CGAGAAGCAC	AAGGTGTACG	CCTGCGAAGT	GACCCACCAG	10
661	GGCCTGTCTA	GCCCCGTGAC	CAAGAGCTTC	AACCGGGGCG	AGTGC		
配列番号 8 (H 8 H C P 4 1 C)							
1	QVQLVQSGAE	VKKPGASVKV	SCKASGYSFT	GYMHWVKQS	CGQGLEWIGR		
51	INPNNGVTLY	NQKFKDRVIM	TRDTSISTAY	MELSRLRSDD	TAVYYCARST		
101	MITNYVMYDW	GQGLTVTVSS					
配列番号 9 (ヒト I g G 1 抗体 H C 定常領域)							
1	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV		
51	HTFPAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKKVEP		
101	KSCDKHTTCP	PCPAPELLGG	PSVFLFPPKP	KDTLMI SRTP	EVTCVVVDVS		
151	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK		20
201	EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSREE	MTKNQVSLTC		
251	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTTPV	LDSDGSEFFLY	SKLTVDKSRW		
301	QQGNVFCFSV	MHEALHNHYT	QKSLSLSLSPGK				
配列番号 10 (H 8 H C P 4 1 C c D N A)							
1	ATGGCCTGTC	CTGGATTTCT	GTGGGCCCTC	GTGATCAGCA	CCTGTCTGGA	ATTCAGCATG	
61	GCCCAGGTGC	AGCTGGTGCA	GTCTGGCGCC	GAAGTGAAGA	AACCAGGCGC	CAGCGTGAAG	
121	GTGTCTGCA	AGGCCAGCGG	CTACAGCTTC	ACCGGCTACT	ACATGCACTG	GGTCAAGCAG	
181	AGCTGCGGCC	AGGGCCTGGA	ATGGATCGGC	AGAATCAACC	CCAACAACGG	CGTGACCCTG	
241	TACAACCAGA	AATTCAAGGA	CCGCGTGACC	ATGACCCGGG	ACACCAGCAT	CAGCACCGCC	
301	TACATGGAAC	TGAGCCGGCT	GAGAAGCGAC	GACACCGCCG	TGTACTACTG	CGCCCGGTCC	30
361	ACCATGATCA	CCAACTACGT	GATGGACTAC	TGGGGCCAGG	GCACCCTCGT	GACAGTGTCT	
421	AGCGCCAGCA	CAAAGGGCCC	CAGCGTGTTT	CCTCTGGCCC	CTAGCAGCAA	GAGCACATCT	
481	GGCGAACAG	CCGCCCTGGG	CTGCCTCGTG	AAGGATTACT	TCCCCGAGCC	CGTGACCGTG	
541	TCCTGGAATA	GCGGAGCCCT	GACAAGCGGC	GTGCACACCT	TTCCAGCCGT	GCTGCAGAGC	
601	AGCGGCCTGT	ACTCTCTGAG	CAGCGTCGTG	ACTGTGCCCA	GCAGCAGCCT	GGGCACCCAG	
661	ACCTACATCT	GCAACGTGAA	CCACAAGCCC	AGCAACACCA	AGGTGGACAA	GAAGGTGGAA	
721	CCCAAGAGCT	GCGACAAGAC	CCACACCTGT	CCCCCTTGTC	CTGCCCTGTA	ACTGCTGGGC	
781	GGACCTTCCG	TGTTCTGT	CCCCCAAAG	CCCAAGGACA	CCCTGATGAT	CAGCCGGACC	
841	CCCGAAGTGA	CCTGCGTGGT	GGTGGATGTG	TCCCACGAGG	ACCCTGAAGT	GAAGTTCAAT	
901	TGGTACGTGG	ACGGCGTGGA	AGTGCACAAC	GCCAAGACCA	AGCCCAGAGA	GGAACAGTAC	40
961	AACAGCACCT	ACCGGTGGT	GTCCGTGCTG	ACAGTGCTGC	ACCAGGACTG	GCTGAACGGC	
1021	AAAGAGTACA	AGTGCAAGGT	GTCCAACAAA	GCCCTGCCTG	CCCCATCGA	GAAAACCATC	
1081	AGCAAGGCCA	AGGGCCAGCC	CCGCGAACCC	CAGGTGTACA	CACTGCCTCC	CAGCCGGGAA	
1141	GAGATGACCA	AGAACCAGGT	GTCCCTGACA	TGCCTCGTGA	AAGGCTTCTA	CCCCTCCGAT	
1201	ATCGCCGTGG	AATGGGAGAG	CAACGGCCAG	CCCGAGAACA	ACTACAAGAC	CACCCCCCCT	
1261	GTGCTGGACA	GCGACGGCTC	ATTCTTCCTG	TACAGCAAGC	TGACCGTGGA	CAAGTCCCGG	
1321	TGGCAGCAGG	GCAACGTGTT	CAGCTGCAGC	GTGATGCACG	AGGCCCTGCA	CAACCACTAC	
1381	ACCCAGAAGT	CCCTGAGCCT	GAGCCCCGGC	AAA			
配列番号 11 (H 8 L C)							
1	DIVMTQSPDS	LAVSLGERAT	INCKASQSVS	NDVAWYQQKP	GQSPKLLI SY		50

51	TSSRYAGVPD	RFSGSGSGTD	FTLTISSLQA	EDVAVYFCQQ	DYNSPPTFGG	
101	GTKLEIK					
配列番号 1 2 (H 8 L C c D N A)						
1	ATGGCCTGTC	CTGGATTTCT	GTGGGCCCTC	GTGATCAGCA	CCTGTCTGGA	ATTCAGCATG
61	GCCGACATCG	TGATGACCCA	GAGCCCCGAT	AGCCTGGCCG	TGTCTCTGGG	AGAGAGAGCC
121	ACCATCAACT	GCAAAGCCAG	CCAGAGCGTG	TCCAACGACG	TGGCCTGGTA	TCAGCAGAAG
181	CCCGGCCAGA	GCCCTAAGCT	GCTGATCTCC	TACACCAGCA	GCAGATATGC	CGGCGTGCCC
241	GACAGATTTT	CCGGCAGCGG	CTCTGGCACC	GACTTCACCC	TGACAATCAG	CTCCCTGCAG
301	GCCGAGGACG	TGGCCGTGTA	CTTCTGTGAG	CAAGACTACA	ACAGCCCCCC	CACCTTCGGC
361	GGAGGCACCA	AGCTGGAAAT	CAAGCGGACA	GTGGCCGCTC	CCAGCGTGTT	CATCTTCCCA
421	CCTAGCGACG	AGCAGCTGAA	GTCCGGCACA	GCCTCTGTG	TGTGCCTGCT	GAACAACCTC
481	TACCCCCGCG	AGGCCAAGGT	GCAGTGGAAG	GTGGACAATG	CCCTGCAGAG	CGGCAACAGC
541	CAGAAAAGCG	TGACCGAGCA	GGACAGCAAG	GACTCCACCT	ACAGCCTGAG	CAGCACCTCG
601	ACCCTGAGCA	AGGCCGACTA	CGAGAAGCAC	AAGGTGTACG	CCTGCGAAGT	GACCCACCAG
661	GGAAGTACCA	GCCCTGTGAC	CAAGAGCTTC	AACCGGGGCG	AGTGC	
配列番号 1 3 (生殖細胞系リーダー配列)						
1	MDWTWRILFL	VAAATGAHS				
配列番号 1 4 (ナタリズムブHC)						
1	QVQLVQSGAE	VKKPGASVKV	SCKASGFNIK	DTYIHWVRQA	PGQRLEWMGR	
51	IDPANGYTKY	DPKFQGRVTI	TADTSASTAY	MELSSLRSED	TAVYYCAREG	
101	YYGNYGVYAM	DYWGQGLVLT	VSS			
配列番号 1 5 (ナタリズムブHC S 2 2 5 P、S 3 7 5 C)						
1	ASTKGPSVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	
51	HTFPAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTKT	YTCNVDHKPS	NTKVDKRVES	
101	KYGPCCPPCP	APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSDQED	
151	PEVQFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	
201	CKVSNKGLPS	SIEKTIISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK	NQVSLTCLVK	
251	GFYPCDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	
301	NVFSCVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSLGK			
配列番号 1 6 (ナタリズムブHC S 2 2 5 P、S 3 7 5 C c D N A)						
1	ATGGACTGGA	CCTGGCGCAT	CCTGTTTCTG	GTGGCCGCTG	CTACCGGCGC	TACTCCCAG
61	GTGCAGCTGG	TGCAGTCTGG	CGCCGAAAGT	AAGAAACCTG	GCGCCTCCGT	GAAGGTGTCC
121	TGCAAGGCCT	CCGGCTCAA	CATCAAGGAC	ACCTACATCC	ACTGGGTCCG	ACAGGCCCT
181	GGACAGCGGC	TGGAATGGAT	GGGCAGAATC	GACCCCGCCA	ACGGCTACAC	TAAGTACGAC
241	CCCAAGTTCC	AGGGCAGAGT	GACCATCACC	GCCGACACCT	CCGCCTCCAC	AGCCTACATG
301	GAAGTGTCC	CCCTGCGGAG	CGAGGACACC	GCCGTGTACT	ACTGCGCCAG	AGAGGGCTAC
361	TACGGCAACT	ACGGCGTGTA	CGCCATGGAC	TACTGGGGCC	AGGGCACCCCT	GGTCACCGTG
421	TCCTCCGCTT	CCACCAAGGG	CCCCTCCGTG	TTCCCTCTGG	CCCCTTGCTC	CCGGTCCACC
481	TCCGAGTCTA	CCGCCGCTCT	GGGCTGCCTG	GTCAAGGACT	ACTTCCCCGA	GCCCGTGACC
541	GTGTCCTGGA	ACTCTGGCGC	CCTGACCTCT	GCGGTGCACA	CCTTCCCTGC	TGTGCTGCAG
601	TCCTCCGGCC	TGTAATCCCT	GTCCCTCCGT	GTGACCGTGC	CCTCCAGCTC	CCTGGGCACC
661	AAGACCTACA	CCTGTAACGT	GGACCACAAG	CCCTCCAACA	CCAAGGTGGA	CAAGCGGGTG
721	GAATCTAAGT	ACGGCCCTCC	CTGCCCCCCC	TGCCCTGCCC	CTGAATTTCT	GGGCGGACCT
781	TCCGTGTTCC	TGTTCCCCCC	AAAGCCCAAG	GACACCCTGA	TGATCTCCCG	GACCCCGGAA
841	GTGACCTGCG	TGGTGGTGGA	CGTGTCCCAG	GAAGATCCCG	AGGTCCAGTT	CAATTGGTAC
901	GTGGACGGCG	TGGAAGTGCA	CAACGCCAAG	ACCAAGCCCA	GAGAGGAACA	GTTCAACTCC
961	ACCTACCGGG	TGGTGTCCGT	GCTGACCGTG	CTGCACCAGG	ACTGGCTGAA	CGGCAAAGAG
1021	TACAAGTGCA	AGGTGTCCAA	CAAGGGCCTG	CCCAGCTCCA	TCGAAAAGAC	CATCTCCAAG
1081	GCCAAGGGAC	AGCCTCGCGA	GCCCCAGGTG	TACACCCTGC	CTCCAAGCCA	GGAAGAGATG
1141	ACCAAGAACC	AGGTGTCCCT	GACCTGTCTG	GTCAAGGGCT	TCTACCCCTG	CGATATCGCC

1201 GTGGAATGGG AGTCCAACGG CCAGCCCGAG AACAACTACA AGACCACCCC CCCTGTGCTG
 1261 GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTGTACTCT CGGCTGACCG TGGACAAGTC CCGGTGGCAG
 1321 GAAGGCAACG TCTTCTCCTG CTCCGTGATG CACGAGGCC C TGCACAACCA CTACACCCAG
 1381 AAGTCCCTGT CCCTGAGCCT GGGCAAG

配列番号 17 (生殖細胞系リーダー配列)

1 MDMRVPAQLL GLLLLLWLRGA RC

配列番号 18 (ナタリズマブ LC)

1 DIQMTQSPSS LSASVGDVRT ITCKTSQDIN KYMAWYQQTP GKAPRLLIHY
 51 TSALQPGIPS RFSGSGSGRD YTFTISSLQP EDIATYYCLQ YDNLWTFGQG
 101 TKVEIK

配列番号 19 (ナタリズマブ LC cDNA)

1 ATGGACATGA GAGTGCCCGC CCAGCTGCTG GGACTGCTGC TGCTGTGGCT GAGAGGCGCC
 61 AGATGCGACA TCCAGATGAC CCAGTCCCCC TCCAGCCTGT CCGCCTCCGT GGGCGACAGA
 121 GTGACCATCA CATGCAAGAC CTCCCAGGAC ATCAACAAGT ACATGGCCTG GTATCAGCAG
 181 ACCCCCGGCA AGGCCCTCG GCTGCTGATC CACTACACCT CCGCTCTGCA GCCTGGCATC
 241 CCCTCCAGAT TCTCCGGCTC CGGCTCTGGC CGGGACTATA CCTTCACCAT CTCCAGTCTG
 301 CAGCCCGAGG ATATCGCCAC CTACTACTGC CTGCAGTACG ACAACCTGTG GACCTTCGGC
 361 CAGGGCACCA AGGTGGAAAT CAAGCGGACC GTGGCCGCTC CCTCCGTGTT CATCTTCCCA
 421 CCCTCCGACG AGCAGCTGAA GTCCGGCACC GCCTCCGTCG TGTGCCTGCT GAACAACCTC
 481 TACCCCGCG AGGCCAAGGT GCAGTGGAAG GTGGACAACG CCCTGCAGTC CGGCAACTCC
 541 CAGGAATCCG TCACCGAGCA GGA CTCCAAG GACAGCACCT ACTCCCTGTC TCCACCCTG
 601 ACCCTGTCCA AGGCCGACTA CGAGAAGCAC AAGGTGTACG CCTGCGAAGT GACCCACCAG
 661 GGCTGTCCA GCCCCGTGAC CAAGTCCTTC AACCGGGGCG AGTGC

10

20

【 図 1 A 】

図 1A

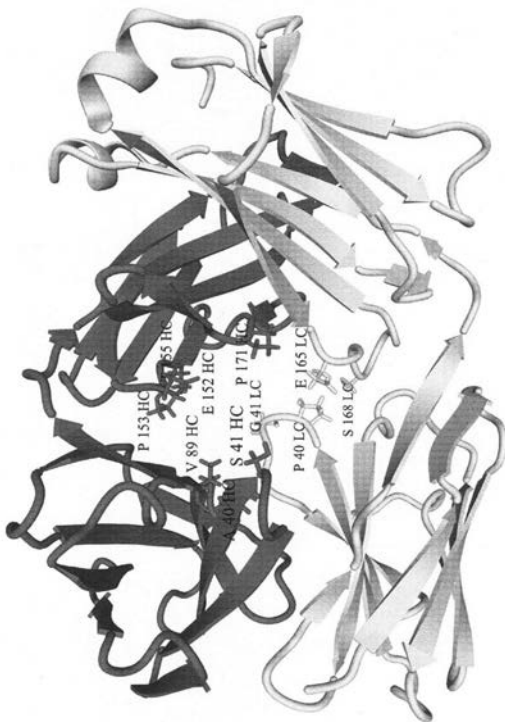


Figure 1A

【 図 1 B 】

図 1B

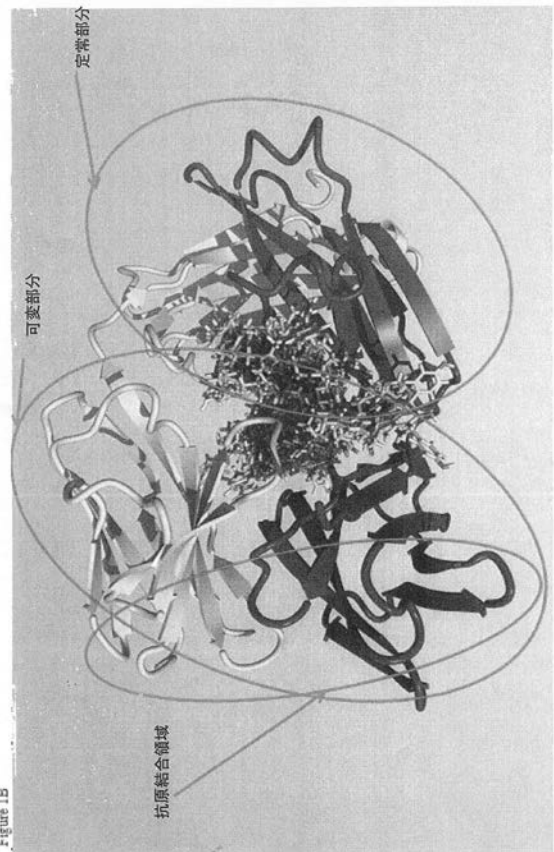
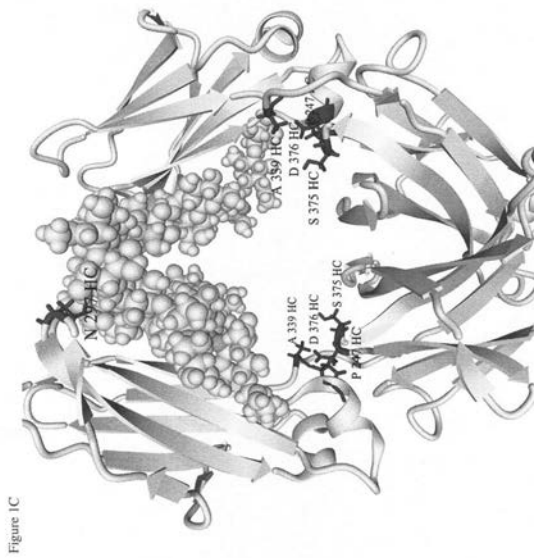


Figure 1B

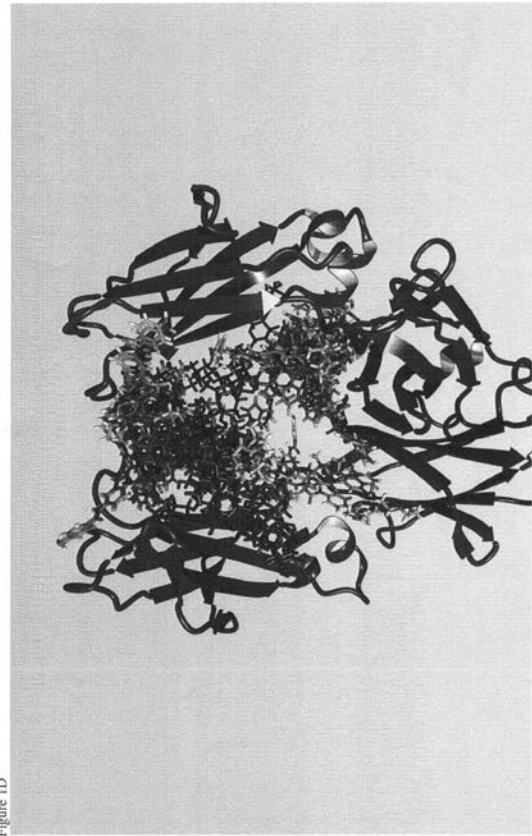
【 図 1 C 】

図1C



【 図 1 D 】

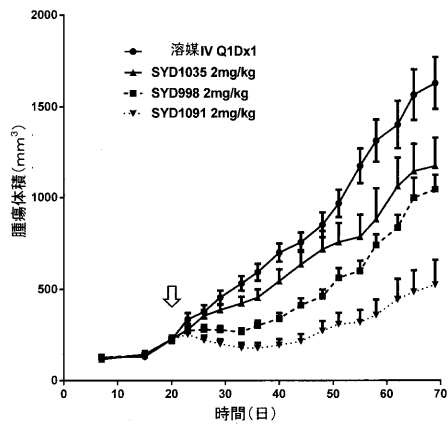
図1D



【 図 2 A 】

図2A

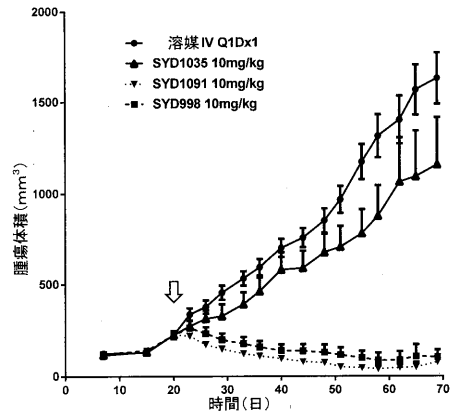
Figure 2A



【 図 2 B 】

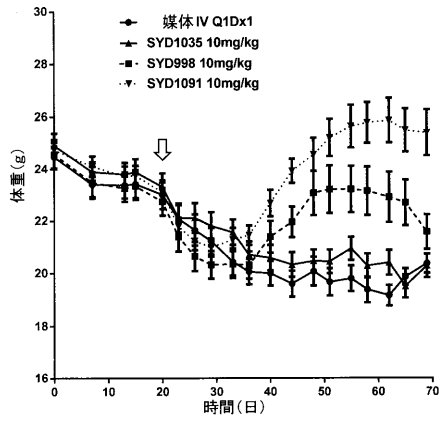
図2B

Figure 2B



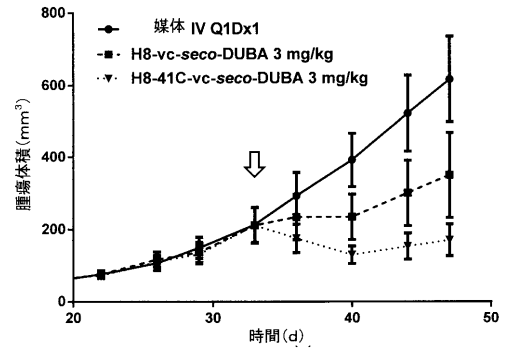
【 図 3 】

図3
Figure 3



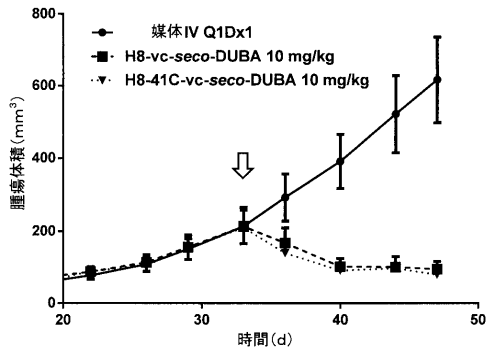
【 図 4 A 】

図4A
Figure 4A



【 図 4 B 】

図4B
Figure 4B



【配列表】

2019089783000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成31年2月8日(2019.2.8)

【手続補正1】

【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】

リンカー薬物が、K a b a tナンバリングによる重鎖41；ならびにK a b a tナンバリングによる軽鎖40および41から選択される抗体またはその抗原結合断片の1つ以上の位置で操作されたシステインを介して前記抗体またはその抗原結合断片に部位特異的にコンジュゲートされている抗体-薬物コンジュゲート化合物。

【請求項2】

前記抗体またはその抗原結合断片のFc部分にある、E uナンバリングによる375位に操作されたシステインをさらに含む、請求項1に記載の化合物。

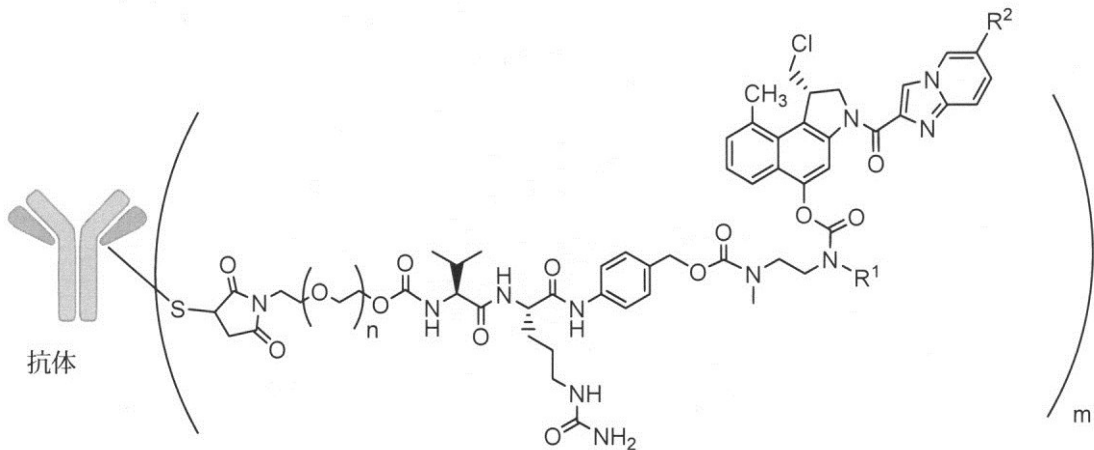
【請求項3】

前記リンカー薬物がデュオカルマイシン誘導体を含む、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項4】

式(I)の請求項1から3のいずれか一項に記載の化合物であって

【化1】



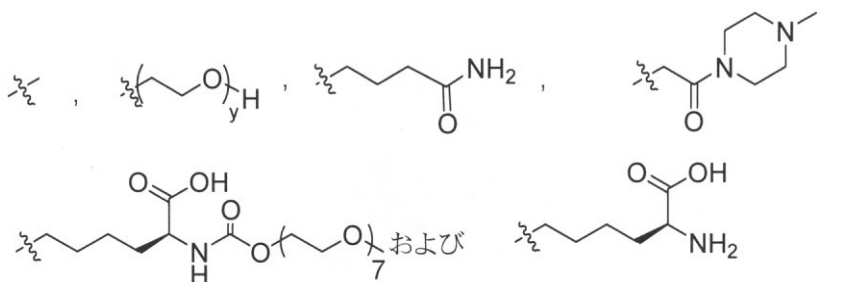
(I)

n が、0 ~ 3 であり、

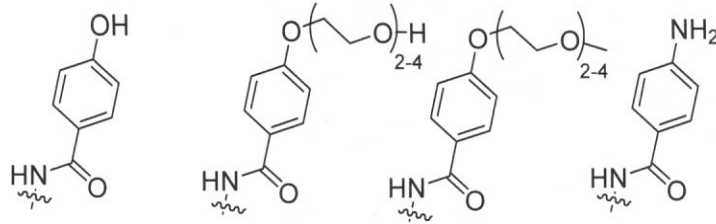
m が、1 ~ 6 の平均 D A R を表し、

R¹ が、

【化2】

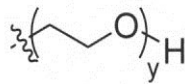


から選択され、
 y が、1 ~ 16 であり、
 R^2 が、
 【化3】

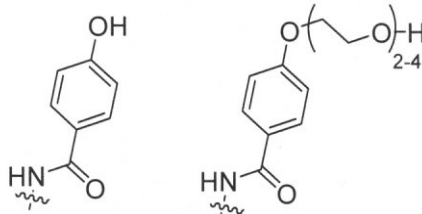


から選択される、化合物。
 【請求項5】

n が、0 ~ 1 であり、
 m が 1.5 ~ 2 の平均 D A R を表し、
 R^1 が、
 【化4】

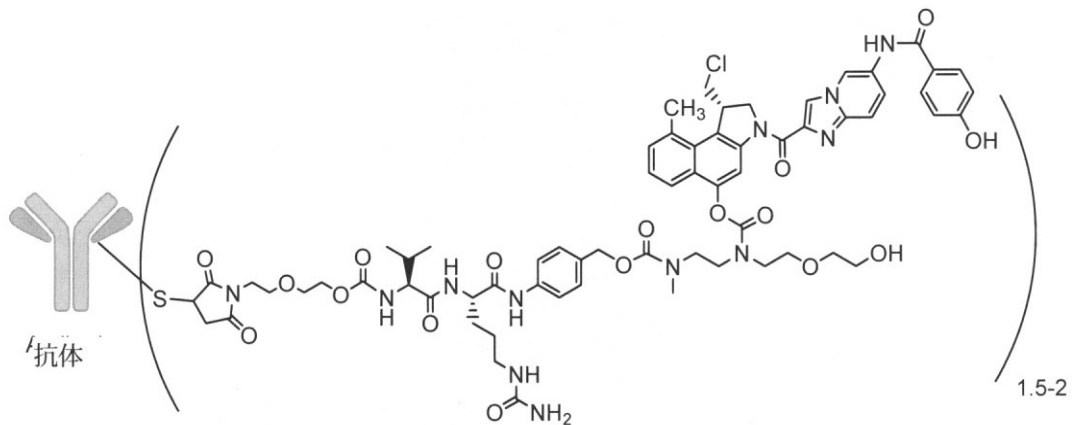


であり、
 y が、1 ~ 4 であり、
 R^2 が、
 【化5】



から選択される、請求項4に記載の化合物。

【請求項6】
 式(II)の請求項1から5のいずれか一項に記載の化合物。
 【化6】



(II)

【請求項7】

前記抗体またはその抗原結合断片が、腫瘍細胞の細胞膜内または上において発現される抗原標的に結合し、前記抗体またはその抗原結合断片が、前記標的に結合後に細胞により内部移行される、請求項1から6のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 8】

前記抗体が、抗アネキシン A 1 抗体、抗 C D 1 1 5 抗体、抗 C D 1 2 3 抗体、抗 C L L - 1 抗体、抗 c - M E T 抗体、抗 M U C 1 抗体、抗 P S M A 抗体、抗 5 T 4 抗体または抗 T F 抗体である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 9】

前記抗体が、抗 P S M A モノクローナル抗体または抗 5 T 4 モノクローナル抗体である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 10】

前記リンカー薬物が、前記抗 P S M A 抗体の重鎖可変領域の 4 1 位にコンジュゲートされる、請求項 9 に記載の化合物。

【請求項 11】

前記抗 P S M A 抗体の重鎖が配列番号 2 のアミノ酸配列を含み、前記抗 P S M A 抗体の軽鎖が配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 12】

前記リンカー薬物が、前記抗 5 T 4 抗体の重鎖可変領域の 4 1 位でコンジュゲートされる、請求項 9 に記載の化合物。

【請求項 13】

前記抗 5 T 4 抗体の重鎖が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、前記抗 5 T 4 抗体の軽鎖が、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む、請求項 12 に記載の化合物。

【請求項 14】

請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の化合物および 1 つ以上の薬学的に許容できる賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 15】

凍結乾燥された粉末の形態である請求項 14 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

薬剤として使用するための、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の化合物または請求項 14 または請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

ヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍の治療に使用するための、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の化合物または請求項 14 または請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

前記ヒト固形腫瘍が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、尿路上皮癌、卵巣癌、子宮癌、肺癌、中皮腫、肝癌、膵癌および前立腺癌からなる群から選択される、請求項 17 に記載の化合物または医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0157

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0157】

これらの所見を合わせると、*in vivo* で、本発明による部位特異的に操作されたシステイン A D C は、マウス腫瘍モデルにおいて効力に関して好ましい特性を示すことが実証された。

配列番号 1 (H A V T 2 0 リーダー配列)

1 MACPGFLWAL VISTCLEFSM A

配列番号 2 (抗 P S M A 抗体 H C S 4 1 C)

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKI SCKTSGYTFT EYTIHWVKQA CGKGLEWIGN

51 INPNNGGTTY NQKFEDRATL TVDKSTSTAY MELSSLRSSE TAVYYCAAGW

101 NFDYWGGQTT VTVSS

配列番号 3 (ヒト I g G 1 抗体 H C 定常領域)

1 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
 51 HTFPAVLQSS GLYLSLVVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP
 101 KSCDKHTTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMI SRTP EVTCVVVDVDS
 151 HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK
 201 EYKCKVSNKA LPAP I EKT I S KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC
 251 LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LQSDGSFFLY SKLTVDKSRW
 301 QQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

配列番号4 (抗PSMA抗体HC S41C cDNA)

1 ATGGCCTGTC CTGGATTTCT GTGGGCCCTC GTGATCAGCA CCTGTCTGGA ATTCAGCATG
 61 GCCGAGGTGC AGCTGGTGCA GTCTGGCGCC GAAGTGAAGA AACCAGGCGC CAGCGTGAAG
 121 ATCAGCTGCA AGACCAGCGG CTACACCTTC ACCGAGTACA CCATCCACTG GGTCAAGCAG
 181 GCCTGTGGCA AGGGCCTGGA ATGGATCGGC AACATCAACC CCAACAACGG CGGCACCACC
 241 TACAACCAGA AGTTCGAGGA CCGGGCCACC CTGACCGTGG ACAAGAGCAC AAGCACCGCC
 301 TACATGGAAC TGAGCAGCCT GCGGAGCGAG GACACCGCCG TGTACTATTG TGCCGCCGGA
 361 TGGAACTTCG ACTACTGGGG CCAGGGCACC ACCGTGACAG TGTCTAGCGC CAGCACAAAG
 421 GGCCCCAGCG TGTTCCCTCT GGCCCCTAGC AGCAAGTCTA CCTCTGGCGG AACAGCCGCC
 481 CTGGGCTGCC TCGTGAAGGA CTACTTTCCC GAGCCCGTGA CCGTGTCCCTG GAACTCTGGC
 541 GCTCTGACAA GCGGCGTGCA CACCTTTCCA GCCGTGCTGC AGAGCAGCGG CCTGTACTCT
 601 CTGAGCAGCG TCGTGAAGTGT GCCAGCAGC AGCCTGGGCA CCCAGACCTA CATCTGCAAC
 661 GTGAACCACA AGCCCAGCAA CACCAAGGTG GACAAAAAGG TGGAACCCAA GAGCTGCGAC
 721 AAGACCCACA CCTGTCCCCC TTGTCCCTGCC CCTGAACTGC TGGGCGGACC TTCCGTGTTC
 781 CTGTTCCCCC CAAAGCCCAA GGACACCCTG ATGATCAGCC GGACCCCCGA AGTGACCTGC
 841 GTGGTGGTGG ATGTGTCCCA CGAGGACCCCT GAAGTGAAGT TCAATTGGTA CGTGGACGGC
 901 GTGGAAGTGC ACAACGCCAA GACCAAGCCC AGAGAGGAAC AGTACAACAG CACCTACCGG
 961 GTGGTGTCCG TGCTGACAGT GCTGCACCAG GACTGGCTGA ACGGCAAAGA GTACAAGTGC
 1021 AAGGTGTCCA ACAAGGCCCT GCCTGCCCCC ATCGAGAAAA CCATCAGCAA GGCCAAGGGC
 1081 CAGCCCCGCG AACCCAGGT GTACACACTG CCTCCCAGCA GGGACGAGCT GACCAAGAAC
 1141 CAGGTGTCCC TGACATGCCT CGTGAAAAGC TTCTACCCCT CCGATATCGC CGTGGAAATGG
 1201 GAGAGCAACG GCCAGCCCGA GAACAACACTAC AAGACCACCC CCCCTGTGCT GGACAGCGAC
 1261 GGCTCATTCT TCCTGTACAG CAAGCTGACT GTGGATAAGT CCCGGTGGCA GCAGGGCAAC
 1321 GTGTTGAGCT GCAGCGTGAT GCACGAGGCC CTGCACAACC ACTACACCCA GAAAAGCCTG
 1381 TCCCTGAGCC CCGGCAAG

配列番号5 (抗PSMA抗体LC)

1 DIVMTQSPSS LSASVGDRTV ITCKASQDVG TAVDWYQQKP GKAPKLLIYW
 51 ASTRHTGVPD RFTGSGSGTD FTLTISSLQP EDFADYFCQQ YNSYPLTFGG
 101 GTKLEIK

配列番号6 (ヒトIgG抗体LC 定常領域)

1 RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
 51 NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLISKADYE KHKVYACEVT HQLLSSPVTK
 101 SFNRGEC

配列番号7 (抗PSMA抗体LC cDNA)

1 ATGGCTTGTC CTGGATTTCT GTGGGCCCTC GTGATCAGCA CCTGTCTGGA ATTCAGCATG
 61 GCCGACATCG TGATGACCCA GAGCCCAGC TCTCTGAGCG CCAGCGTGGG CGACAGAGTG
 121 ACCATCACAT GCAAGGCCAG CCAGGACGTG GGCACCGCCG TGGATTGGTA TCAGCAGAAG
 181 CCTGGCAAGG CCCCCAAGCT GCTGATCTAC TGGGCCAGCA CCAGACACAC CGGCGTGCCC
 241 GATAGATTCA CAGGCAGCGG CTCCGGCACC GACTTCACCC TGACAATCAG CAGCCTGCAG
 301 CCCGAGGACT TCGCCGACTA CTTCTGCCAG CAGTACAACA GCTACCCCT GACCTTCGGC
 361 GGAGGCACCA AGCTGGAAAT CAAGCGGACA GTGGCCGCTC CCAGCGTGTT CATCTTCCCA
 421 CCTAGCGACG AGCAGCTGAA GTCTGGCACC GCCTCTGTCTG TGTGCCTGCT GAACAACCTC
 481 TACCCCCGCG AGGCCAAGGT GCAGTGAAG GTGGACAATG CCCTGCAGAG CGGCAACAGC

541 CAGGAAAGCG TGACCGAGCA GGACAGCAAG GACTCCACCT ACAGCCTGAG CAGCACCTG
 601 ACCCTGAGCA AGGCCGACTA CGAGAAGCAC AAGGTGTACG CCTGCGAAGT GACCCACCAG
 661 GGCCTGTCTA GCCCCGTGAC CAAGAGCTTC AACCGGGGCG AGTGC

配列番号 8 (H 8 H C P 4 1 C)

1 QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT GYYMHWVKQS CGQGLEWIGR
 51 INPNNGVTLY NQKFKDRVIM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARST
 101 MITNYVMYDYM GQGTLLVTSS

配列番号 9 (ヒト Ig G 1 抗体 H C 定常領域)

1 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
 51 HTFPAVLQSS GLYSLSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEVEP
 101 KSCDKHTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMI SRTP EVTCVVVDVDS
 151 HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK
 201 EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC
 251 LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW
 301 QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

配列番号 10 (H 8 H C P 4 1 C c D N A)

1 ATGGCCTGTC CTGGATTTCT GTGGGCCCTC GTGATCAGCA CCTGTCTGGA ATTCAGCATG
 61 GCCCAGGTGC AGCTGGTGCA GTCTGGCGCC GAAGTGAAGA AACCCAGGCGC CAGCGTGAAG
 121 GTGTCCTGCA AGGCCAGCGG CTACAGCTTC ACCGGCTACT ACATGCACTG GGTCAAGCAG
 181 AGCTGCGGCC AGGGCCTGGA ATGGATCGGC AGAATCAACC CCAACAACGG CGTGACCTG
 241 TACAACCAGA AATTCAAGGA CCGCGTGACC ATGACCCGGG ACACCAGCAT CAGCACCGCC
 301 TACATGGAAC TGAGCCGGCT GAGAAGCGAC GACACCGCCG TGTACTACTG CGCCCGGTCC
 361 ACCATGATCA CCAACTACGT GATGGACTAC TGGGGCCAGG GCACCCTCGT GACAGTGTCT
 421 AGCGCCAGCA CAAAGGGCCC CAGCGTGTTT CCTCTGGCCC CTAGCAGCAA GAGCACATCT
 481 GCGGAACAG CCGCCCTGGG CTGCCTCGTG AAGGATTACT TCCCCGAGCC CGTGACCGTG
 541 TCCTGGAATA GCGGAGCCCT GACAAGCGGC GTGCACACCT TTCCAGCCGT GCTGCAGAGC
 601 AGCGGCCTGT ACTCTCTGAG CAGCGTCGTG ACTGTGCCCA GCAGCAGCCT GGGCACCCAG
 661 ACCTACATCT GCAACGTGAA CCACAAGCCC AGCAACACCA AGGTGGACAA GAAGGTGGAA
 721 CCCAAGAGCT GCGACAAGAC CCACACCTGT CCCCTTGTC CTGCCCTGA ACTGCTGGGC
 781 GGACCTTCCG TGTTCTGTG CCCCCAAAAG CCCAAGGACA CCCTGATGAT CAGCCGGACC
 841 CCCGAAGTGA CCTGCGTGGT GGTGGATGTG TCCCACGAGG ACCCTGAAGT GAAGTTCAAT
 901 TGGTACGTGG ACGGCGTGGA AGTGCACAAC GCCAAGACCA AGCCCAGAGA GGAACAGTAC
 961 AACAGCACCT ACCGGGTGGT GTCCGTGCTG ACAGTGCTGC ACCAGGACTG GCTGAACGGC
 1021 AAAGAGTACA AGTGCAAGGT GTCCAACAAA GCCCTGCCTG CCCCATCGA GAAAACCATC
 1081 AGCAAGGCCA AGGGCCAGCC CCGGAACCC CAGGTGTACA CACTGCCTCC CAGCCGGGAA
 1141 GAGATGACCA AGAACCAGGT GTCCCTGACA TGCTCTGTGA AAGGCTTCTA CCCCTCCGAT
 1201 ATCGCCGTGG AATGGGAGAG CAACGGCCAG CCCGAGAACA ACTACAAGAC CACCCCCCT
 1261 GTGCTGGACA GCGACGGCTC ATTCTTCTG TACAGCAAGC TGACCGTGGA CAAGTCCCGG
 1321 TGGCAGCAGG GCAACGTGTT CAGCTGCAGC GTGATGCACG AGGCCCTGCA CAACCACTAC
 1381 ACCAGAAGT CCCTGAGCCT GAGCCCCGGC AAA

配列番号 11 (H 8 L C)

1 DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKASQSVS NDVAWYQQKP GQSPKLLISY
 51 TSSRYAGVPD RFSGSGSGTD FTLTISSLQA EDVAVYFCQQ DYNSPPTFGG
 101 GTKLEIK

配列番号 12 (H 8 L C c D N A)

1 ATGGCCTGTC CTGGATTTCT GTGGGCCCTC GTGATCAGCA CCTGTCTGGA ATTCAGCATG
 61 GCCGACATCG TGATGACCCA GAGCCCCGAT AGCCTGGCCG TGTCTCTGGG AGAGAGAGCC
 121 ACCATCAACT GCAAGGCCAG CCAGAGCGTG TCCAACGACG TGGCCTGGTA TCAGCAGAAG
 181 CCCGGCCAGA GCCCTAAGCT GCTGATCTCC TACACCAGCA GCAGATATGC CGGCGTGCCC
 241 GACAGATTTT CCGGCAGCGG CTCTGGCACC GACTTCACCC TGACAATCAG CTCCCTGCAG

301 GCCGAGGACG TGGCCGTGTA CTTCTGTCAG CAAGACTACA ACAGCCCCC CACCTTCGGC
 361 GGAGGCACCA AGCTGGAAAT CAAGCGGACA GTGGCCGCTC CCAGCGTGTT CATCTTCCCA
 421 CCTAGCGACG AGCAGCTGAA GTCCGGCACA GCCTCTGTCG TGTGCCTGCT GAACAACCTC
 481 TACCCCGCG AGGCCAAGGT GCAGTGGAAG GTGGACAATG CCCTGCAGAG CGGCAACAGC
 541 CAGGAAAGCG TGACCGAGCA GGACAGCAAG GACTCCACCT ACAGCCTGAG CAGCACCTG
 601 ACCCTGAGCA AGGCCGACTA CGAGAAGCAC AAGGTGTACG CCTGCGAAGT GACCCACCAG
 661 GGA CTGAGCA GCCCTGTGAC CAAGAGCTTC AACCGGGGCG AGTGC

配列番号 1 3 (生殖細胞系リーダー配列)

1 MDWTWRILFL VAAATGAHS

配列番号 1 4 (ナタリズムブHC)

1 QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGFNIK DTYIHWVRQA PGQRLEWMGR
 51 IDPANGYTKY DPKFQGRVTI TADTSASTAY MELSSLRSED TAVYYCAREG
 101 YYGNYGVYAM DYWGQGTLLVT VSS

配列番号 1 5 (ナタリズムブHC S 2 2 5 P、S 3 7 5 C)

1 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
 51 HTFPAVLQSS GLYLSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES
 101 KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMI SRTPEVT CVVVDVSQED
 151 PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK
 201 CKVSNKGLPS SIEKISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK
 251 GFYPCDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG
 301 NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK

配列番号 1 6 (ナタリズムブHC S 2 2 5 P、S 3 7 5 C cDNA)

1 ATGGACTGGA CCTGGCGCAT CCTGTTTCTG GTGGCCGCTG CTACCGGCGC TCACTCCCAG
 61 GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG CGCCGAAGTG AAGAAACCTG GCGCCTCCGT GAAGGTGTCC
 121 TGCAAGGCCT CCGGCTTCAA CATCAAGGAC ACCTACATCC ACTGGGTCCG ACAGGCCCT
 181 GGACAGCGGC TGAATGGAT GGGCAGAATC GACCCCGCCA ACGGCTACAC TAAGTACGAC
 241 CCCAAGTTCC AGGGCAGAGT GACCATCACC GCCGACACCT CCGCCTCCAC AGCCTACATG
 301 GAACTGTCCT CCCTGCGGAG CGAGGACACC GCCGTGTACT ACTGCGCCAG AGAGGGCTAC
 361 TACGGCAACT ACGGCGTGTA CGCCATGGAC TACTGGGGCC AGGGCACCT GGTACCGTG
 421 TCCTCCGCTT CCACCAAGGG CCCCTCCGTG TTCCCTCTGG CCCCTTGCTC CCGGTCCACC
 481 TCCGAGTCTA CCGCCGCTCT GGGCTGCCTG GTCAAGGACT ACTTCCCCGA GCCCGTGACC
 541 GTGTCCGGA ACTCTGGCGC CCTGACCTCT GCGGTGCACA CCTTCCCTGC TGTGCTGCAG
 601 TCCTCCGGCC TGTA CTCCCT GTCCCTCCGTG GTGACCGTGC CCTCCAGCTC CCTGGGCACC
 661 AAGACCTACA CCTGTAACGT GGACCACAAG CCCTCCAACA CCAAGGTGGA CAAGCGGGTG
 721 GAATCTAAGT ACGGCCCTCC CTGCCCCCCC TGCCCTGCCC CTGAATTTCT GGGCGGACCT
 781 TCCGTGTTCC TGTTCCCCC AAAGCCCAAG GACACCCTGA TGATCTCCCG GACCCCGAA
 841 GTGACCTGCG TGGTGGTGGA CGTGTCCAG GAAGATCCCG AGGTCCAGTT CAATTGGTAC
 901 GTGGACGGCG TGAAGTGCA CAACGCCAAG ACCAAGCCCA GAGAGGAACA GTTCAACTCC
 961 ACCTACCGGG TGGTGTCCGT GCTGACCGTG CTGCACCAGG ACTGGCTGAA CGGCAAAGAG
 1021 TACAAGTGCA AGGTGTCCAA CAAGGGCCTG CCCAGCTCCA TCGAAAAGAC CATCTCCAAG
 1081 GCCAAGGGAC AGCTCGCGA GCCCAGGTG TACACCCTGC CTCCAAGCCA GGAAGAGATG
 1141 ACCAAGAACC AGGTGTCCCT GACCTGTCTG GTCAAGGGCT TCTACCCTG CGATATCGCC
 1201 GTGGAATGGG AGTCCAACGG CCAGCCCGAG AACAACTACA AGACCACCC CCCTGTGCTG
 1261 GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTGTACTCT CGGCTGACCG TGGACAAGTC CCGGTGGCAG
 1321 GAAGGCAACG TCTTCTCCTG CTCCGTGATG CACGAGGCC TGCACAACCA CTACACCAG
 1381 AAGTCCCTGT CCCTGAGCCT GGGCAAG

配列番号 1 7 (生殖細胞系リーダー配列)

1 MDMRVPAQLL GLLLLWLRGA RC

配列番号 1 8 (ナタリズムブLC)

1 DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCKTSQDIN KYMAWYQQTP GKAPRLLIHY

51 TSALQPGIPS RFSGSGSGRD YTFTISSLQP EDIATYYCLQ YDNLWTFGQG
101 TKVEIK

配列番号 19 (ナタリズマブ L C c D N A)

1 ATGGACATGA GAGTGCCCGC CCAGCTGCTG GACTGCTGC TGCTGTGGCT GAGAGGCGCC
61 AGATGCGACA TCCAGATGAC CCAGTCCCCC TCCAGCCTGT CCGCCTCCGT GGGCGACAGA
121 GTGACCATCA CATGCAAGAC CTCCCAGGAC ATCAACAAGT ACATGGCCTG GTATCAGCAG
181 ACCCCCGGCA AGGCCCTCG GCTGCTGATC CACTACACCT CCGCTCTGCA GCCTGGCATC
241 CCCTCCAGAT TCTCCGGCTC CGGCTCTGGC CGGGACTATA CCTTCACCAT CTCCAGTCTG
301 CAGCCCGAGG ATATCGCCAC CTACTACTGC CTGCAGTACG ACAACCTGTG GACCTTCGGC
361 CAGGGCACCA AGGTGAAAT CAAGCGGACC GTGGCCGCTC CCTCCGTGTT CATCTTCCCA
421 CCCTCCGACG AGCAGCTGAA GTCCGGCACC GCCTCCGTCG TGTGCCTGCT GAACAACCTC
481 TACCCCGCG AGGCCAAGGT GCAGTGAAG GTGGACAACG CCCTGCAGTC CGGCAACTCC
541 CAGGAATCCG TCACCGAGCA GGACTCCAAG GACAGCACCT ACTCCCTGTC TCCACCCTG
601 ACCCTGTCCA AGGCCACTA CGAGAAGCAC AAGGTGTACG CCTGCGAAGT GACCCACCAG
661 GGCCTGTCCA GCCCCGTGAC CAAGTCCTTC AACCGGGGCG AGTGC

以下に、当初の特許請求の範囲に記載していた発明を付記する。

[1]

リンカー薬物が、重鎖 40、41 および 89 (K a b a t ナンバリングによる) ; ならびに軽鎖 40 および 41 (K a b a t ナンバリングによる) から選択される抗体の 1 つ以上の位置で操作されたシステインを介して前記抗体に部位特異的にコンジュゲートされている抗体 - 薬物コンジュゲート化合物。

[2]

前記操作されたシステインが、前記抗体の F a b 部分にある重鎖 40 および 41 ならびに軽鎖 40 および 41 から選択される前記抗体の 1 つ以上の位置にある、 [1] に記載の化合物。

[3]

前記抗体の F c 部分にある 375 位 (E u ナンバリングによる) に操作されたシステインをさらに含む、 [1] または [2] に記載の化合物。

[4]

前記リンカー薬物がデュオカルマイシン誘導体を含む、 [1] から [3] のいずれかに記載の化合物。

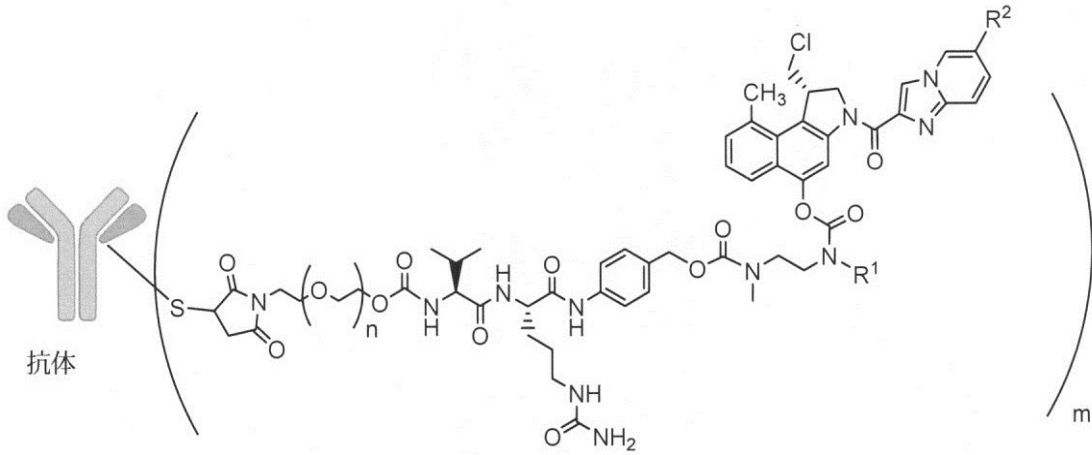
[5]

リンカー薬物が、重鎖 40、41 および 89 (K a b a t ナンバリングによる) ; 重鎖 152、153、155、171、247、297、339、375 および 376 (E u ナンバリングによる) ; ならびに軽鎖 40、41、165 および 168 (K a b a t ナンバリングによる) から選択される前記抗体の 1 つ以上の位置で操作されたシステインを介して抗体またはその抗原結合断片に部位特異的にコンジュゲートされており、前記リンカー薬物が、デュオカルマイシン誘導体を含む抗体 - 薬物コンジュゲート化合物。

[6]

式 (I) の [1] から [5] のいずれかに記載の化合物であって

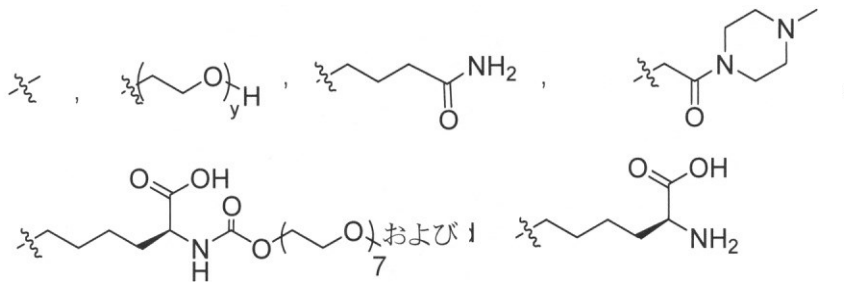
【化 1 1】



(I)

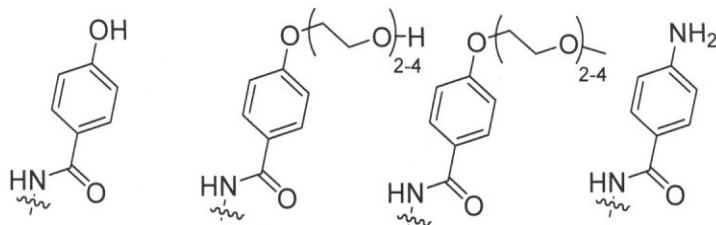
n が、0 ~ 3 であり、
m が、1 ~ 6 の平均 D A R を表し、
R¹ が、

【化 1 2】



から選択され、
y が、1 ~ 16 であり、
R² が、

【化 1 3】

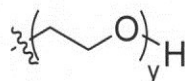


から選択される、化合物。

[7]

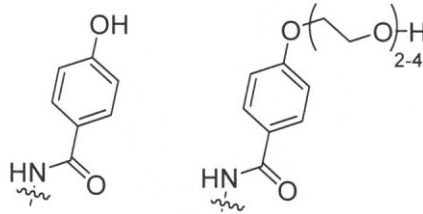
n が、0 ~ 1 であり、
m が 1 . 5 ~ 2 の平均 D A R を表し、
R¹ が、

【化 1 4】



であり、
y が、1 ~ 4 であり、
R² が、

【化 1 5】

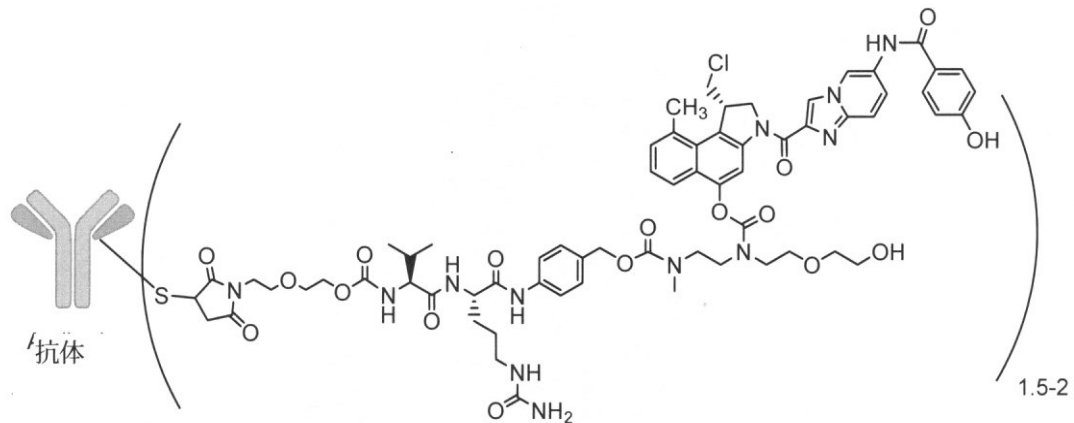


から選択される、[6]に記載の化合物。

[8]

式 (I I) の [1] から [7] のいずれかーに記載の化合物。

【化 1 6】



(II)

[9]

前記抗体が、腫瘍細胞の細胞膜内または上において発現される抗原標的に結合し、前記抗体が、前記標的に結合後に細胞により内部移行される、[1] から [8] のいずれかーに記載の化合物。

[1 0]

前記抗体が、抗アネキシン A 1 抗体、抗 C D 1 1 5 抗体、抗 C D 1 2 3 抗体、抗 C L L - 1 抗体、抗 c - M E T 抗体、抗 M U C 1 抗体、抗 P S M A 抗体、抗 5 T 4 抗体または抗 T F 抗体である、[1] から [9] のいずれかーに記載の化合物。

[1 1]

前記抗体が、抗 P S M A モノクローナル抗体または抗 5 T 4 モノクローナル抗体である、[1] から [1 0] のいずれかーに記載の化合物。

[1 2]

前記リンカー薬物が、前記抗 P S M A 抗体の重鎖可変領域の 4 1 位にコンジュゲートされ、好ましくは前記抗 P S M A 抗体の重鎖が配列番号 2 のアミノ酸配列を含み、前記抗 P S M A 抗体の軽鎖が配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、[1 1] に記載の化合物。

[1 3]

前記リンカー薬物が、前記抗 5 T 4 抗体の重鎖可変領域の 4 1 位でコンジュゲートされ、好ましくは前記抗 5 T 4 抗体の重鎖が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、前記抗 5 T 4 抗体の軽鎖が、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む、[1 1] に記載の化合物。

[1 4]

[1] から [1 3] のいずれかーに記載の化合物および 1 つ以上の薬学的に許容できる賦形剤を含み、好ましくは凍結乾燥された粉末の形態である医薬組成物。

[1 5]

薬剤として使用するための、[1] から [1 3] のいずれかーに記載の化合物または [

14] に記載の医薬組成物。

[16]

ヒト固形腫瘍および血液悪性腫瘍の治療に使用するための、 [1] から [13] のいずれかーに記載の化合物または [14] に記載の医薬組成物。

[17]

前記ヒト固形腫瘍が、乳癌、胃癌、結腸直腸癌、尿路上皮癌、卵巣癌、子宮癌、肺癌、中皮腫、肝癌、膵癌および前立腺癌からなる群から選択される、 [16] に記載の化合物または医薬組成物。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01) C 1 2 P 21/08

(74)代理人 100153051

弁理士 河野 直樹

(74)代理人 100179062

弁理士 井上 正

(74)代理人 100199565

弁理士 飯野 茂

(74)代理人 100162570

弁理士 金子 早苗

(72)発明者 ジェラルドゥス・ジョセフ・アンドレアス・アリアーンズ

オランダ国、エヌエル - 6 5 4 5 シーエム・ナイメーヘン、マイクロベーク 2 2、シントン・バ
 イオフーマシューティカルズ・ビー・ブイ・内

(72)発明者 ルディ・ジェラルドゥス・エリザベス・コーマンズ

オランダ国、エヌエル - 6 5 4 5 シーエム・ナイメーヘン、マイクロベーク 2 2、シントン・バ
 イオフーマシューティカルズ・ビー・ブイ・内

F ターム(参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01

4C076 AA30 AA95 CC27 EE59

4C086 AA01 AA02 AA03 CB05 GA17 MA01 MA02 MA04 MA05 MA44

NA05 NA13 ZB26 ZB27

4H045 AA11 AA30 BA10 BA50 BA72 DA76 EA28 FA52 FA72 FA74

【外国語明細書】

2019089783000001.pdf