

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートにより癌治療の有効性を増大させる方法であって、

1 つまたは複数の標準試料の染色強度または染色均一性と比較して C D 3 7 を発現する癌性試料の染色強度または染色均一性を識別する検出方法を利用して、対象の癌性試料中の C D 3 7 遺伝子または蛋白質の発現増加が検出された癌を有する対象に、抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートを投与することを含む、前記方法。

**【請求項 2】**

癌を抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートでの治療に対して感受性があると判定する方法であって、

( a ) 1 つまたは複数の標準試料の染色強度または染色均一性と比較して C D 3 7 を発現する癌性試料の染色強度または染色均一性を識別する検出方法の利用を含む、前記癌から得られた癌性試料中の C D 3 7 発現レベルを測定すること；

( b ) 前記癌性試料の C D 3 7 染色強度または染色均一性スコアを決定すること；および

( c ) ステップ ( b ) で決定された前記 C D 3 7 染色強度または染色均一性スコアを、少なくとも 1 つの標準試料中の C D 3 7 蛋白質発現を測定することにより決定された相対値に対して比較することであって、

前記少なくとも 1 つの標準試料が、抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートでの治療に感受性がない組織、細胞、または細胞ペレット試料であり、前記相対値よりも高い、ステップ ( b ) において決定された前記試料の C D 3 7 染色強度スコアが、前記癌を抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートでの治療に感受性があると判定すること

を含む、前記方法。

**【請求項 3】**

抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートに応答する可能性がある癌を判定する方法であって、

( a ) 前記癌の細胞を含む生物学的試料を、前記細胞表面の C D 3 7 蛋白質に結合する薬剤と接触させること；

( b ) ( a ) の前記生物学的試料の細胞表面の C D 3 7 蛋白質に結合する前記薬剤の結合を検出すること；

( c ) 1 つまたは複数の標準試料への比較に基づいて、ステップ ( b ) の前記結合にスコアを割り付けること；および

( d ) ステップ ( c ) における前記スコアを、標準組織または細胞のスコアと比較することであって、陰性もしくは C D 3 7 発現レベルが低い標準試料のスコアを超える前記癌 C D 3 7 レベルのスコア、または C D 3 7 発現レベルが高い標準試料のスコア以上となる前記癌 C D 3 7 レベルのスコアにより、前記癌を抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートに応答する可能性があるとして判定すること

を含む、前記方法。

**【請求項 4】**

癌を有する対象を、低用量の抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲート投与計画に応答する可能性があるとして判定する方法であって、

( a ) 前記癌の細胞を含む生物学的試料を、細胞表面の C D 3 7 蛋白質に結合する薬剤と接触させること；

( b ) ( a ) の前記生物学的試料への前記薬剤の結合を検出すること；

( c ) 1 つまたは複数の標準試料との比較に基づいて、ステップ ( b ) の前記結合にスコアを割り付けること；および

( d ) ステップ ( c ) における前記スコアを、標準組織または細胞のスコアと比較することであって、陰性もしくは C D 3 7 発現レベルの低い標準試料を超える前記癌 C D 3 7

10

20

30

40

50

レベルのスコア、またはＣＤ３７発現レベルの高い標準試料のスコア以上となる前記癌ＣＤ３７レベルのスコアが、前記癌を低用量の抗ＣＤ３７抗体または抗ＣＤ３７イムノコンジュゲートに応答する可能性がある」と判定することを含む、前記方法。

【請求項５】

癌を有する対象のための抗ＣＤ３７抗体または抗ＣＤ３７イムノコンジュゲートでの治療計画を最適化する方法であって、

- (a) 対象から得られた癌性試料のＣＤ３７発現レベルを検出すること；
  - (b) 前記癌性試料のＣＤ３７発現レベルを標準試料のＣＤ３７発現レベルと比較すること；
  - (c) 前記癌性試料のＣＤ３７染色強度スコアを決定すること；および
  - (d) 前記スコアが低ければ前記対象に高用量の抗ＣＤ３７抗体もしくは抗ＣＤ３７イムノコンジュゲートを投与し、または前記スコアが高ければ前記対象に低用量の抗ＣＤ３７抗体もしくは抗ＣＤ３７イムノコンジュゲートを投与すること
- を含む、前記方法。

【請求項６】

対象の癌性試料中の癌細胞の細胞表面ＣＤ３７発現を検出する方法であって、

- (a) ホルマリン固定パラフィン包埋された癌性試料を得ること；
  - (b) 前記試料を、細胞表面ＣＤ３７と特異的に結合する抗体と接触させること；
  - (c) １つまたは複数の標準試料の染色強度または染色均一性と比較してＣＤ３７発現試料の染色強度または染色均一性を識別し得る検出方法を利用して、前記癌性試料中の前記細胞表面ＣＤ３７への(b)の前記抗体の結合を測定すること；および
  - (d) 前記腫瘍の癌性試料中の細胞表面ＣＤ３７染色強度または染色均一性のレベルを１つまたは複数の標準試料と比較した後、ＣＤ発現スコアを前記ＣＤ３７に割り付けること
- を含む、前記方法。

【請求項７】

前記検出が、免疫組織化学的検査(IHC)によるものである、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。

【請求項８】

前記IHCが、異なるＣＤ３７発現レベルを識別し得る、校正されたIHC(calibrated IHC)である、請求項７に記載の方法。

【請求項９】

前記検出方法が、細胞表面のＣＤ３７発現レベルが低い、細胞表面のＣＤ３７発現レベルが中程度である、または細胞表面のＣＤ３７発現レベルが高い試料に関して、一定範囲の染色強度を生成する、請求項１～８のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１０】

前記検出方法が、標準試料と比較して、ＣＤ３７を発現する癌性試料の染色強度および染色均一性を識別する、請求項１～９のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１１】

前記癌性試料または生物学的試料が、免疫組織化学的検査による、ＣＤ３７発現についての２、３、または３＋の染色強度スコアを有する、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１２】

前記癌性試料または生物学的試料が、ホルマリン固定パラフィン包埋試料での免疫組織化学的検査による、ＣＤ３７発現についての２、３、または３＋の染色強度スコアを有する、請求項１１に記載の方法。

【請求項１３】

前記癌性試料または生物学的試料が、均質であるＣＤ発現の染色均一性を有する、請求項１０～１２のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 14】

前記癌性試料または生物学的試料が、CD37についての2、3、または3+の染色強度スコア、および不均質または均質である染色均一性を有する、請求項7～12のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 15】

前記免疫組織化学的検査が、用手法で実施される、請求項7～14のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 16】

前記免疫組織化学的検査が、自動化システムを利用して実施される、請求項7～14のいずれか1項に記載の方法。

10

## 【請求項 17】

前記標準試料が、陽性標準試料または陰性標準試料である、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 18】

前記標準試料が、細胞、細胞ペレット、または組織を含む、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 19】

前記検出が、細胞表面CD37に特異的に結合する抗体を用いてCD37発現を検出することを含む、請求項1～18のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 20】

前記抗体が、CT1である、請求項19に記載の方法。

20

## 【請求項 21】

前記抗体が、酵素、フルオロフォア、放射性標識、およびルミノフォアからなる群より選択される検出試薬を更に含む、請求項19または20に記載の方法。

## 【請求項 22】

前記検出試薬が、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム、ローダミン、および西洋ワサビペルオキシダーゼからなる群より選択される、請求項21に記載の方法。

## 【請求項 23】

前記抗体の濃度が、約1～10  $\mu\text{g/mL}$ である、請求項19～22のいずれか1項に記載の方法。

30

## 【請求項 24】

前記抗体の濃度が、約4～5  $\mu\text{g/mL}$ である、請求項23に記載の方法。

## 【請求項 25】

前記抗体の濃度が、約4～2  $\mu\text{g/mL}$ である、請求項24に記載の方法。

## 【請求項 26】

前記癌が、B細胞リンパ腫、NHL、前駆体B細胞リンパ芽球性白血病/リンパ腫、成熟B細胞新生物、B細胞慢性リンパ性白血病(CLL)/小リンパ球性リンパ腫(SLL)、B細胞性前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫(MCL)、低悪性度、中悪性度および高悪性度の濾胞性リンパ腫(FL)、皮膚濾胞中心リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、MALT型辺縁帯B細胞リンパ腫、結節型辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓型辺縁帯B細胞リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、パーキットリンパ腫(BL)、形質細胞腫、形質細胞性骨髄腫、移植後リンパ増殖性障害、ワルデンストレームマクログロブリン血症、ならびに未分化大細胞リンパ腫(ALCL)からなる群より選択される、請求項1～25のいずれか1項に記載の方法。

40

## 【請求項 27】

前記癌性試料または前記生物学的試料が、組織、血液、血漿、骨髄、またはリンパである、請求項1～26のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 28】

50



抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートと、容器と、前記抗体またはイムノコンジュゲートを用いてIHCによる測定での2、3、または3+レベルのCD37発現を特徴とする癌を治療し得ることを示した添付文書またはラベルと、を含む製造品。

【請求項29】

診断に用いられるネズミ抗CD37抗体と、治療に使用される抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートと、を含む診断薬および医薬品混合キット。

【請求項30】

前記診断抗体が、IHCによるCD37発現を検出することが可能である検出抗体である、請求項29に記載の診断薬および医薬品混合キット。

【請求項31】

細胞表面CD37に特異的に結合する検出抗体と、免疫組織化学検査(IHC)用の試薬と、1つまたは複数の規格標準試料と、を含む診断キットであって、前記規格標準試料が、細胞、細胞ペレット、またはホルマリン固定パラフィン包埋された組織試料を含み、前記1つまたは複数の規格標準試料が、非CD37発現、CD37発現レベルが低い、またはCD37発現レベルが高い細胞、細胞ペレット、または組織のものである、前記診断キット。

【請求項32】

前記IHCが、異なるCD37発現レベルを識別し得る校正されたIHCである、請求項28に記載の製造品または請求項30もしくは31に記載のキット。

【請求項33】

前記校正されたIHCが、細胞表面のCD37発現レベルが低い、細胞表面のCD37発現レベルが中程度である、または細胞表面のCD37発現レベルが高い試料について一定範囲の染色強度を生成する、請求項32に記載の製造品またはキット。

【請求項34】

前記IHCが、標準試料と比較して、CD37発現試料における染色強度および染色均一性を識別する、請求項28または30～33のいずれか1項に記載の製造品またはキット。

【請求項35】

前記IHCが、ホルマリン固定パラフィン包埋試料で実施される、請求項28または30～33のいずれか1項に記載の製造品またはキット。

【請求項36】

前記IHCが、用手法で実施される、請求項28または30～33のいずれか1項に記載の製造品またはキット。

【請求項37】

前記IHCが、自動化システムを利用して実施される、請求項28または30～33のいずれか1項に記載の製造品またはキット。

【請求項38】

前記CD37イムノコンジュゲートが、抗CD37抗体、リンカー、および細胞毒を含む、請求項28～30または32～37のいずれか1項に記載の製造品またはキット。

【請求項39】

前記抗CD37抗体が、キメラ、またはヒト化CD37-3、CD37-38またはCD37-50である、請求項38に記載の製造品またはキット。

【請求項40】

前記リンカーが、開裂性リンカー、非開裂性リンカー、親水性リンカー、およびジカルボン酸系リンカーからなる群より選択される、請求項38または39に記載の製造品またはキット。

【請求項41】

前記リンカーが、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(SPP)またはN-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホペンタノアート(スルホ-SPP); N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノア

10

20

30

40

50

ート ( S P D B ) または N - スクシンイミジル 4 - ( 2 - ピリジルジチオ ) - 2 - スルホ  
 ブタノアート ( スルホ - S P D B ) ; N - スクシンイミジル 4 - ( マレイミドメチル ) シ  
 クロヘキサンカルボキシラート ( S M C C ) ; N - スルホスクシンイミジル 4 - ( マレイ  
 ミドメチル ) シクロヘキサンカルボキシラート ( スルホ - S M C C ) ; N - スクシンイミ  
 ジル - 4 - ( ヨードアセチル ) - アミノベンゾアート ( S I A B ) ; および N - スクシン  
 イミジル - [ ( N - マレイミドプロピオンアミド ) - テトラエチレングリコール ] エステ  
 ル ( N H S - P E G 4 - マレイミド ) からなる群より選択される、請求項 4 0 に記載の製  
 造品またはキット。

【請求項 4 2】

前記リンカーが、N - スクシンイミジル 4 - ( マレイミドメチル ) シクロヘキサンカル  
 ボキシラート ( S M C C ) である、請求項 4 1 に記載の製造品またはキット。

10

【請求項 4 3】

前記細胞毒が、メイタンシノイド、メイタンシノイド類似体、ベンゾジアゼピン、タキ  
 ソイド、C C - 1 0 6 5、C C - 1 0 6 5 類似体、デュオカルマイシン、デュオカルマイ  
 シン類似体、カリケアマイシン、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、オーリスタチン、  
 トマイマイシン誘導体およびレプトマイシン誘導体または前記細胞毒のプロドラッグから  
 なる群より選択される、請求項 3 8 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の製造品またはキット。

【請求項 4 4】

前記細胞毒が、メイタンシノイドである、請求項 4 3 に記載の製造品またはキット。

【請求項 4 5】

前記メイタンシノイドが、N ( 2 ' ) - デアセチル - N ( 2 ' ) - ( 3 - メルカプト -  
 1 - オキソプロピル ) - メイタンシンまたは N ( 2 ' ) - デアセチル - N 2 - ( 4 - メル  
 カプト - 4 - メチル - 1 - オキソペンチル ) - メイタンシンである、請求項 4 4 に記載の  
 製造品またはキット。

20

【請求項 4 6】

前記メイタンシノイドが、N ( 2 ' ) - デアセチル - N ( 2 ' ) - ( 3 - メルカプト -  
 1 - オキソプロピル ) - メイタンシン ( D M 1 ) である、請求項 4 5 に記載の製造品また  
 はキット。

【請求項 4 7】

前記イムノコンジュゲートが、前記抗体 h u C D 3 7 - 3、前記リンカー S M C C、お  
 よび前記メイタンシノイド D M 1 を含む、請求項 3 8 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の製造  
 品またはキット。

30

【請求項 4 8】

1 つまたは複数の標準試料を更に含む、請求項 2 9 ~ 3 0 および 3 2 ~ 4 7 のいずれか  
 1 項に記載の診断薬および医薬品混合キット。

【請求項 4 9】

前記標準試料が、陽性標準試料または陰性標準試料である、請求項 4 8 に記載の診断薬  
 および医薬品混合キット。

【請求項 5 0】

前記標準試料が、細胞、細胞ペレット、または組織を含む、請求項 4 8 または 4 9 に記  
 載の診断薬および医薬品混合キット。

40

【請求項 5 1】

前記検出抗体が、酵素、フルオロフォア、放射性標識、およびルミノフォアからなる群  
 より選択される検出試薬を更に含む、請求項 3 0 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 5 2】

前記検出試薬が、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム、ローダミ  
 ン、および西洋ワサビペルオキシダーゼからなる群より選択される、請求項 5 1 に記載の  
 キット。

【請求項 5 3】

前記検出抗体の濃度が、約 1 ~ 1 0  $\mu$  g / m L である、請求項 3 0 ~ 3 7 または 5 1 ~

50

5 2 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 5 4】

前記検出抗体の濃度が、約 4 ~ 5  $\mu\text{g} / \text{mL}$  である、請求項 5 3 に記載のキット。

【請求項 5 5】

前記検出抗体の濃度が、約 4 . 2  $\mu\text{g} / \text{mL}$  である、請求項 5 4 に記載のキット。

【請求項 5 6】

前記 C D 3 7 発現レベルの低い対照試料が、ナマルバまたは R L 腫瘍細胞である、請求項 3 1 に記載のキット。

【請求項 5 7】

前記 C D 3 7 発現レベルの高い対照試料が、D a u d i 細胞株および R a m o s 細胞株、ならびに C D 3 7 を安定的にまたは一過性にトランスフェクトされた細胞株からなる群より選択される、請求項 3 1 に記載のキット。

10

【請求項 5 8】

C D 3 7 を安定的にまたは一過性にトランスフェクトされた前記細胞株が、3 0 0 - 1 9 / C D 3 7 である、請求項 5 7 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

発明の分野

本発明の分野は、一般に、ヒト C D 3 7 の過剰発現を特徴とする B 細胞疾患に対する治療有効性を増大させることに関する。より詳細には、本発明は、C D 3 7 アンタゴニスト、例えば C D 3 7 イムノコンジュゲートを用いた遺伝子発現アッセイにより測定すると B 細胞が C D 3 7 を発現する B 細胞疾患、例えば癌または自己免疫疾患に罹患し易い患者、またはその疾患と診断された患者のより有効な治療に関する。

20

【背景技術】

【0 0 0 2】

発明の背景

癌は、先進国の主な死亡原因の 1 つであり、1 0 0 万人を超える人が癌と診断されており、米国だけで 1 年あたり 5 0 万人が死亡している。全体として、3 人中 1 人を超える人が一生のうちに何らかの形態の癌を発症すると推定される。

30

【0 0 0 3】

G P 5 2 - 4 0、テトラスパニン - 2 6、または T S P A N 2 6 としても公知の白血病抗原 C D 3 7 (「C D 3 7」) は、テトラスパニンスーパーファミリーの膜貫通蛋白質である (M a e c k e r e t a l , 1 9 9 7 F A S E B J . 1 1 : 4 2 8 - 4 4 2 )。それは、前 B 細胞から末梢成熟 B 細胞段階までの間に B 細胞上で発現されるが、形質細胞への終末分化の際に存在しない 4 つの膜貫通ドメインを有する高グリコシル化蛋白質 (h e a v i l y g l y c o s y l a t e d p r o t e i n) である (L i n k e t a l . , 1 9 8 7 , J P a t h o l . 1 5 2 : 1 2 - 2 1 )。C D 3 7 抗原は、T 細胞、骨髄細胞および顆粒球上では弱い発現でしかない (S c h w a r t z - A l b i e z e t a l . 1 9 8 8 , J . I m m u n o l . , 1 4 0 ( 3 ) 9 0 5 - 9 1 4 )。しかし C D 3 7 は、非ホジキンリンパ腫 (N H L) および慢性リンパ性白血病 (C L L) などに見出されるような悪性 B 細胞上でも発現される (M o o r e e t a l . 1 9 8 6 , J I m m u n o l . 1 3 7 ( 9 ) : 3 0 1 3 - 8 )。この発現プロファイルは、C D 3 7 が B 細胞悪性腫瘍の有望な治療ターゲットとなることを示唆しており、現在、B 細胞悪性腫瘍のより効果的治療薬には、未だ適えられていない明白な医学的要望が存在する。

40

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0 0 0 4】

【非特許文献 1】M a e c k e r ら、F A S E B J . ( 1 9 9 7 ) 1 1 : 4 2 8 ~ 4 4

【非特許文献2】Linkら、J Pathol. (1987) 152: 12~21

【非特許文献3】Schwartz-Albiezら、J. Immunol., (1988) 140(3) 905~914

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

発明の概要

本発明は、癌におけるCD37の発現の動的範囲の発見と、CD37発現レベルが高い癌が抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートでの治療に対してより応答性があるという発見と、に基づく。本発明は有利には、治療剤、即ち抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートを高い発現レベルのCD37を有することが見出された患者に投与することにより、治療に応答する可能性が高い患者の治療を可能にする。

10

【課題を解決するための手段】

【0006】

一実施形態において、本発明は、1つまたは複数の標準試料の染色強度または染色均一性と比較してCD37を発現する癌性試料の染色強度または染色均一性を識別する検出方法を利用して、対象の癌性試料中にCD37遺伝子または蛋白質の発現増加が検出された癌を有する対象に、抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートを投与することを含む、抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートにより癌治療の有効性を増大させる方法を提供する。

20

【0007】

別の実施形態において、本発明は、(a) 1つまたは複数の標準試料の染色強度または染色均一性と比較してCD37を発現する癌性試料の染色強度または染色均一性を識別する検出方法の利用を含む、対象の癌から得られた癌性試料中のCD37発現レベルを測定すること；(b) 癌性試料のCD37染色強度または染色均一性スコアを決定すること；および(c) ステップ(b)で決定されたCD37染色強度または染色均一性スコアを、少なくとも1つの標準試料中のCD37タンパク質の発現を測定することにより決定された相対値に対して比較すること、を含む、癌を抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートでの治療に対して感受性の可能性があると判定する方法であって、少なくとも1つの標準試料が、抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートでの治療に感受性がない組織、細胞、または細胞ペレット試料であり、相対値よりも高い、ステップ(b)において決定された試料のCD37染色強度スコアにより、その癌が抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートを用いた治療に感受性があるとする、方法を提供する。

30

【0008】

別の実施形態において、本発明は、(a) 癌の細胞を含む生物学的試料を、細胞表面のCD37蛋白質に結合する薬剤と接触させること；(b) (a)の生物学的試料の細胞表面のCD37蛋白質に結合する薬剤の結合を検出すること；(c) 1つまたは複数の標準試料への比較に基づいて、ステップ(b)の結合にスコアを割り付けること；および(d) ステップ(c)におけるスコアを、標準組織または細胞のスコアと比較すること、を含む、抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートに応答する可能性がある癌を同定する方法であって、陰性もしくはCD37発現レベルが低い標準試料のスコアを超える癌CD37レベルのスコア、またはCD37発現レベルが高い標準試料のスコア以上となる癌CD37レベルのスコアにより、癌を抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートに応答する可能性があるとする、方法を提供する。

40

【0009】

別の実施形態において、本発明は、(a) 癌の細胞を含む生物学的試料を、細胞表面のCD37蛋白質に結合する薬剤と接触させること；(b) (a)の生物学的試料への前記薬剤の結合を検出すること；(c) 1つまたは複数の標準試料との比較に基づいて、ステップ(b)の結合にスコアを割り付けること；および(d) ステップ(c)におけるスコ

50

アを、標準組織または細胞のスコアと比較すること、を含む、癌を有する対象を、低用量の抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲート治療計画に応答する可能性がある」と判定する方法であって、陰性もしくは低いCD37発現の標準試料を超える癌CD37レベルのスコア、または高CD37発現の標準試料のスコア以上となる癌CD37レベルのスコアにより、その癌を低用量の抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートに「応答する可能性がある」と判定する、方法を提供する。

【0010】

別の実施形態において、本発明は、(a)対象から得られた癌性試料のCD発現レベルを検出すること；(b)癌性試料のCD37発現レベルを標準試料のCD37発現レベルと比較すること；(c)癌性試料のCD37染色強度スコアを決定すること；および(d)スコアが低ければ対象に高用量の抗CD37抗体もしくは抗CD37イムノコンジュゲートを投与し、またはスコアが高ければ対象に低用量の抗CD37抗体もしくは抗CD37イムノコンジュゲートを投与すること、を含む、癌を有する対象のための抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートでの治療計画を最適化する方法を提供する。

10

【0011】

別の実施形態において、本発明は、(a)ホルマリン固定パラフィン包埋された癌性試料を得ること；(b)癌性試料を、細胞表面CD37と特異的に結合する抗体と接触させること；(c)1つまたは複数の標準試料の染色強度または染色均一性と比較してCD37発現試料の染色強度または染色均一性を識別し得る検出方法を利用して、癌性試料中の細胞表面CD37への(b)の抗体の結合を測定すること；および(d)癌性試料中の細胞表面CD37の染色強度または染色均一性のレベルを1つまたは複数の標準試料と比較した後、CD発現スコアをCD37に割り付けること、を含む、対象の癌性試料中の癌細胞の細胞表面CD37発現を検出する方法を提供する。

20

【0012】

幾つかの実施形態において、検出は、免疫組織化学的検査(IHC)によるものである。IHCは、異なるCD37発現レベルを識別し得る、校正されたIHC(calibrated IHC)であってもよい。

【0013】

幾つかの実施形態において、検出方法は、細胞表面のCD37発現レベルが低い、細胞表面のCD37発現が中程度である、または細胞表面のCD37発現が高い試料に関して、一定範囲の染色強度を生み出す。

30

【0014】

幾つかの実施形態において、検出方法は、標準試料と比較して、CD37発現癌性試料の染色強度および染色均一性を識別する。

【0015】

幾つかの実施形態において、癌性試料または生物学的試料は、免疫組織化学的検査による、CD37発現について1よりも大きな染色強度スコアを有する。幾つかの実施形態において、癌性試料または生物学的試料は、免疫組織化学的検査による、CD37発現についての2、3、または3+の染色強度スコアを有する。幾つかの実施形態において、癌性試料または生物学的試料は、ホルマリン固定パラフィン包埋試料での免疫組織化学的検査により、CD37発現についての2、3、または3+の染色強度スコアを有する。幾つかの実施形態において、癌性試料または生物学的試料は、均質であるCD発現の染色均一性を有する。幾つかの実施形態において、癌性試料または生物学的試料は、CD37についての2、3、または3+の染色強度スコア、および不均質または均質である染色均一性を有する。

40

【0016】

幾つかの実施形態において、免疫組織化学的検査は、用手法で実施される。幾つかの実施形態において、免疫組織化学的検査は、自動化システムを利用して実施される。

【0017】

幾つかの実施形態において、標準試料は、陽性標準試料または陰性標準試料である。幾

50

つかの実施形態において、標準試料は、細胞、細胞ペレット、または組織を含む。

【0018】

幾つかの実施形態において、検出は、細胞表面CD37に特異的に結合する抗体を用いてCD37発現を検出することを含む。幾つかの実施形態において、抗体は、酵素、フルオロフォア、放射性標識、およびルミノフォアからなる群より選択される検出試薬を更に含む。幾つかの実施形態において、検出試薬は、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウムおよびローダミンからなる群より選択される。幾つかの実施形態において、抗体は、クローンCT1である。

【0019】

幾つかの実施形態において、抗体の濃度は、約1～約10 $\mu$ g/mLまたは約2.1～約8.4 $\mu$ g/mL、約4～約5 $\mu$ g/mL、または2.1、4.2、もしくは8.4 $\mu$ g/mLである。一実施形態において、抗体（例えば、クローンCT1）の濃度は、4.2 $\mu$ g/mLである。

【0020】

幾つかの実施形態において、癌は、B細胞リンパ腫、NHL、前駆体B細胞リンパ芽球性白血病/リンパ腫、成熟B細胞新生物、B細胞慢性リンパ性白血病（CLL）/小リンパ球性リンパ腫（SLL）、B細胞性前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫（MCL）、低悪性度、中悪性度および高悪性度の濾胞性リンパ腫（FL）、皮膚濾胞中心リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、MALT型辺縁帯B細胞リンパ腫、結節型辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓型辺縁帯B細胞リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、バーキットリンパ腫（BL）、形質細胞腫、形質細胞性骨髄腫、移植後リンパ増殖性障害、ワルデンストレーママクログロブリン血症、ならびに未分化大細胞リンパ腫（ALCL）からなる群より選択される。

【0021】

本発明は、抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートと、容器と、抗体またはイムノコンジュゲートを用いてIHCによる測定での2、3、または3+レベルでのCD37発現を特徴とする癌を治療し得ることを示した添付文書またはラベルと、を含む、製造品も提供する。

【0022】

本発明は、診断に用いられるネズミ抗CD37抗体と、治療に使用される抗CD37抗体または抗CD37イムノコンジュゲートと、を含む診断薬および医薬品混合キットも提供する。幾つかの実施形態において、診断抗体は、IHCによるCD37発現を検出することが可能である検出抗体である。

【0023】

また、本発明は、細胞表面CD37に特異的に結合し得る検出抗体と、免疫組織化学検査（IHC）用の試薬と、1つまたは複数の規格標準試料と、を含む診断キットを提供し、規格標準試料が、ホルマリン固定パラフィン包埋された細胞、細胞ペレット、または組織試料を含み、1つまたは複数の規格標準試料が、非CD37発現レベル、CD37発現レベルが低い、CD37発現レベルが中程度、またはCD37発現レベルが高い細胞、細胞ペレット、または組織から由来する。そのような標準試料の例は、本明細書においては実施例に記載される。

【0024】

幾つかの実施形態において、物品製造品またはキットは、IHCが、異なるCD37発現レベルを識別し得る較正されたIHCである製造品またはキットである。幾つかの実施形態において、較正IHCは、細胞表面のCD37発現レベルが低い、細胞表面のCD37発現レベルが中程度である、または細胞表面のCD37発現レベルが高い試料について一定範囲の染色強度を生成する。幾つかの実施形態において、IHCは、標準試料と比較して、CD37発現試料における染色強度と染色均一性を区別する。幾つかの実施形態において、IHCは、ホルマリン固定パラフィン包埋試料で実施される。IHCは、用手法で実施することも、または自動化システムを利用して実施することもできる。

## 【 0 0 2 5 】

幾つかの実施形態において、物品またはキットは、抗CD37抗体、リンカー、および細胞毒を含むCD37イムノコンジュゲートを含む。幾つかの実施形態において、抗CD37抗体は、キメラ、またはヒト化CD37-3、CD37-38またはCD37-50である。幾つかの実施形態において、抗CD37抗体は、SEQ ID NO: 56のポリペプチドおよびSEQ ID NO: 73のポリペプチドを含む抗体、SEQ ID NO: 57のポリペプチドおよびSEQ ID NO: 74のポリペプチドを含む抗体、SEQ ID NO: 58のポリペプチドおよびSEQ ID NO: 74のポリペプチドを含む抗体、SEQ ID NO: 62のポリペプチドおよびSEQ ID NO: 78のポリペプチドを含む抗体、SEQ ID NO: 63のポリペプチドおよびSEQ ID NO: 79のポリペプチドを含む抗体、ならびにSEQ ID NO: 65のポリペプチドおよびSEQ ID NO: 81のポリペプチドを含む抗体からなる群より選択される抗体である。

10

## 【 0 0 2 6 】

幾つかの実施形態において、リンカーは、開裂性リンカー、非開裂性リンカー、親水性リンカー、およびジカルボン酸系リンカーからなる群より選択される。幾つかの実施形態において、リンカーは、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(SPP)またはN-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホペンタノアート(スルホ-SPP); N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノアート(SPDB)またはN-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホブタノアート(スルホ-SPDB); N-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシラート(SMCC); N-スルホスクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシラート(スルホ-SMCC); N-スクシンイミジル-4-(ヨードアセチル)-アミノベンゾアート(SIAB); およびN-スクシンイミジル-[ (N-マレイミドプロピオンアミド)-テトラエチレングリコール ] エステル(NHS-PEG4-マレイミド)からなる群より選択される。幾つかの実施形態において、リンカーは、N-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシラート(SMCC)である。幾つかの実施形態において、細胞毒は、メイタンシノイド、メイタンシノイド類似体、ベンゾジアゼピン、タキソイド、CC-1065、CC-1065類似体、デュオカルマイシン、デュオカルマイシン類似体、カリケアマイシン、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、オーリスタチン、トマイマイシン誘導体およびレプトマイシン誘導体または細胞毒のプロドラッグからなる群より選択される。幾つかの実施形態において、細胞毒は、メイタンシノイドである。幾つかの実施形態において、メイタンシノイドは、N(2')-デアセチル-N(2')-(3-メルカプト-1-オキシプロピル)-メイタンシンまたはN(2')-デアセチル-N2-(4-メルカプト-4-メチル-1-オキシペンチル)-メイタンシンである。幾つかの実施形態において、メイタンシノイドは、N(2')-デアセチル-N(2')-(3-メルカプト-1-オキシプロピル)-メイタンシン(DM1)である。幾つかの実施形態において、イムノコンジュゲートは、抗体huCD37-3、SMCC、およびDM1を含む。

20

30

## 【 0 0 2 7 】

幾つかの実施形態において、診断薬および医薬品混合キットは、1つまたは複数の標準試料を更に含む。幾つかの実施形態において、標準試料は、陽性標準試料または陰性標準試料である。幾つかの実施形態において、標準試料は、細胞、細胞ペレット、または組織を含む。

40

## 【 0 0 2 8 】

幾つかの実施形態において、本明細書で提供されたキットで用いられる検出抗体は、酵素、フルオロフォア、放射性標識、およびルミノフォアからなる群より選択される検出試薬を更に含む。幾つかの実施形態において、検出試薬は、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム、およびローダミンからなる群より選択される。キット内の抗体の濃度は、約1~約10 µg/mLまたは約2.1~約8.4 µg/mL、約4~約5

50

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または2.1、4.2、もしくは8.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または4.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であってもよい。

【0029】

幾つかの実施形態において、キットは、CD37発現レベルの低い対照試料を含み、CD37発現レベルの低い対照試料は、ナマルバ細胞またはRL腫瘍細胞である。幾つかの実施形態において、キットは、CD37発現レベルの高い対照試料を含み、CD37発現レベルの高い対照試料は、Dauidi細胞、およびRamoss細胞株、ならびにCD37を安定的にまたは一過性にトランスフェクトされた細胞株からなる群より選択される。幾つかの実施形態において、CD37により安定的にまたは一過性にトランスフェクトされた細胞株は、300-19/CD37である。

10

【0030】

幾つかの実施形態において、抗CD37抗体またはイムノコンジュゲートは、全体として参照により本明細書に組み入れられる、国際公開された特許出願WO2011/112978号またはWO2012/135740号に記載された抗体またはイムノコンジュゲートである。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】非トランスフェクト300-19細胞（左）およびヒトCD37（huCD37）でトランスフェクトされた300-19細胞上のCD37の免疫組織化学的（IHC）染色を示す図である。

20

【図2】10倍（左）および40倍（右）の倍率でのヒト脾臓組織の白脾髄中のCD37のIHC染色を示す図である。

【図3】Dauidi細胞、Ramoss細胞、およびRL細胞のための最適化された用手法で得られたCD37についてのIHC染色結果を示す図である。定量的フローサイトメリーにより得られたCD37発現レベルが下の各画像に示される。

【図4】Dauidi細胞、Ramoss細胞、およびRL細胞を用いて、非染色試料（細線）と比較した、PE標識抗CD37抗体（太線）での染色後に得られたフローサイトメリーヒストグラムを示す図である。

【図5】最適化された用手法で得られたDauidi細胞、細胞上のCD37およびRL細胞上のCD20についてのIHC染色結果を示す図である。同様のCD37およびCD20抗原発現レベルの細胞は、同様の染色パターンを示す。

30

【図6】CD20についての染色スコアと比較した、リンパ腫試料について最適化された用手法で得られたCD37の染色スコアの概要を示す図である。

【図7】最適化された用手法を用いてCD37について染色されたNHL患者試料の代表的写真である。

【図8】SU-DHL-4異種移植片を担持する雌CB.17 SCIDマウスにおけるhuCD37-3-SMCC-DM1の抗腫瘍活性（腫瘍体積中央値、 $\text{mm}^3$ ）を示す図である。

【図9】DoHH2ヒト腫瘍異種移植片を担持するSCIDマウスにおけるhuCD37-3抗体、huCD37-3-SMCC-DM1および標準化学療法剤の抗腫瘍活性（腫瘍体積中央値、 $\text{mm}^3$ ）を示す図である。

40

【図10】DoHH2ヒト腫瘍異種移植片を担持するSCIDマウスにおけるhuCD37-3-SMCC-DM1の抗腫瘍活性（腫瘍体積中央値、 $\text{mm}^3$ ）。

【図11】JVM-3ヒト腫瘍異種移植片を担持するSCIDマウスにおけるhuCD37-3抗体、huCD37-3-SMCC-DM1、オフアツムマブ、およびベンダムスチンの抗腫瘍活性（腫瘍体積中央値、 $\text{mm}^3$ ）を示す図である。

【図12】JVM-3ヒト腫瘍異種移植片を担持するSCIDマウスにおけるhuCD37-3-SMCC-DM1の抗腫瘍活性（腫瘍体積中央値、 $\text{mm}^3$ ）を示す図である。

【図13】自動化染色法を利用した大細胞型リンパ腫（DLBCL）のスコア分布を示す図である

50



【図 1 4】自動化染色法を利用した濾胞性リンパ腫 (F L)、マントル細胞リンパ腫 (M C L)、M A L T 型辺縁帯 B 細胞リンパ腫、辺縁帯 B 細胞リンパ腫、未分類の (u n c l a s s i f i e d) 小細胞型リンパ腫、および未分類の非ホジキンリンパ腫 (N H L) をはじめとする小細胞型リンパ腫の試料のスコア分布を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0032】

発明の詳細な説明

本発明は、癌および自己免疫疾患などの B 細胞疾患を治療する方法、および C D 3 7 の過剰発現を特徴とする治療疾患への応答有効性または可能性を高める方法を提供する。本発明の方法は、癌における C D 3 7 の発現の動的範囲を検出する方法の発見と、C D 3 7 発現レベルの高い B 細胞が抗 C D 3 7 抗体または抗 C D 3 7 イムノコンジュゲートでの治療により応答性があるという発見と、に基づく。本発明の方法を実践するのに有用な 1 つまたは複数の試薬を含むキットが、更に提供される。

10

【0033】

I. 定義

本発明の理解を促すために、複数の用語および語句を、以下に定義する。

【0034】

本明細書で用いられる用語 C D 3 7 は、他に指示のない限り、任意の天然 C D 3 7 を指す。C D 3 7 は、G P 5 2 - 4 0、白血球抗原 C D 3 7、およびテトラスパニン - 2 6 と称される。用語「C D 3 7」は、プロセシングされていない「全長」の C D 3 7 および細胞中でのプロセシングにより生じる任意の形態の C D 3 7 を包含する。この用語は、C D 3 7 の天然由来の変異体、例えばスプライス変異体、対立遺伝子変異体、およびアイソフォームも包含する。本明細書に記載される C D 3 7 ポリペプチドは、種々の供給源、例えばヒト生物学的試料もしくは他の供給源から単離され得、または組換えもしくは合成方法により調製され得る。

20

【0035】

用語、C D 3 7 の「発現レベルの増大」または「発現レベルが高い」は、陰性もしくは発現レベルが低い標準対照と比較して、または同じ組織もしくは細胞型の正常もしくは非疾患試料と比較して、C D 3 7 の発現レベルが高い試料を指す。一実施例において、C D 3 7 発現は、定義されたスコアを示す校正対照と比較することにより、I H C により測定され、染色強度スコアまたは染色均一性スコアが与えられる (例えば、強度がレベル 3 の校正対照と同程度である場合には、3 という強度スコアが被験試料に与えられ、強度がレベル 2 の校正対照と同程度である場合には、2 という強度スコアが被験試料に与えられる)。例えば、免疫組織化学的検査によるスコアが 1、2、3 もしくは 3 + 以上、好ましくは 2、3 もしくは 3 + 以上である場合、C D 3 7 発現の増加を示す。不均質または均質な染色均一性も、C D 3 7 発現の増加の指標である。染色強度および染色均一性スコアは、単独で、または併用 (例えば、2 ホモ、2 ヘテロ、3 ホモ、3 ヘテロなど) で用いることができる。別の実施例において、C D 3 7 発現の増加は、対照値 (例えば、癌を有さない対象、または C D 3 7 値が高くない癌を有する対象の生物学的試料、組織、または細胞中の発現レベル) に対して少なくとも 2 倍、少なくとも 3 倍、または少なくとも 5 倍の検出増加により決定され得る。

30

40

【0036】

特定の腫瘍、組織、または細胞試料中の C D 3 7 の用語「過剰発現」は、同じ型もしくは起源の非疾患組織もしくは細胞中、または腫瘍もしくは癌の付近の他の細胞中に存在するレベルよりも高レベルで存在する C D 3 7 (C D 3 7 ポリペプチドまたはそのようなポリペプチドをコードする核酸) を指す。そのような過剰発現は、例えば突然変異、遺伝子増幅、転写増加、または翻訳増加により誘発され得る。

【0037】

「標準試料」は、被験試料から本発明の方法で得られる結果を相関させる、および比較するために用いることができる。標準試料は、細胞 (例えば、細胞株、細胞ペレット) ま

50

たは組織であってもよい。「標準試料」中のCD37レベルは、CD37の絶対もしくは相対量、数量範囲、最小および/もしくは最大量、平均量、ならびに/または中央量であってもよい。本発明の診断方法は、被験試料中のCD37の発現レベルと「基準値」との比較を必要とする。幾つかの実施形態において、基準値は、標準試料中のCD37の発現レベルである。基準値は、所定の値であってもよく、被験試料と並行して試験された標準試料（例えば、生物学的対照試料）から決定されてもよい。基準値は、中央値もしくは平均値などの単一カットオフ値、または信頼区間などの値の範囲であってもよい。基準値は、癌に罹患し易い個体、初期もしくは後期ステージの癌を有する個体、男性（雄個体）および/もしくは女性（雌個体）、または癌治療を受けている個体など、個体の様々なサブグループに対して設定することができる。陰性の標準試料または基準値、および陽性標準試料または基準値の例が、本明細書に記載される。

10

#### 【0038】

幾つかの実施形態において、標準試料は、健常組織、特に癌に罹患していない対応組織からの試料である。標準試料のこれらの型は、陰性対照試料または標準試料と称される。他の実施形態において、標準試料は、CD37を発現する腫瘍からの試料である。標準試料のこれらの型は、陽性対照試料と称される。陽性対照試料は、CD37発現レベルと相関する染色強度の型（ヘテロ対ホモ）および/または度合い（0、1、2、3、3+）の比較指標として用いることもできる。陽性対照比較試料は、校正標準試料とも称される。実施例に示される通り、低CD37または非CD37の標準は、赤脾髄（例えば、単球および赤血球）およびT細胞を含み、高CD37発現の標準は、白脾髄（例えば、Bリンパ球）を含む。細胞株については、模範的非発現体としては、300-19細胞が挙げられ、高発現体としては、Dauidi細胞、Ramoss細胞、およびRL細胞が挙げられる。別の陽性高CD37標準は、CD37で安定的にまたは一過性にトランスフェクトされた細胞株（例えば、300-19/CD37）である。特定の癌についてのCD37の適切な陽性および陰性標準レベルは、1または複数の適切な対象においてCD37レベルを測定することにより決定することができ、そのような標準レベルを、特別な対象集団に適合させてもよい（例えば、特定の年齢の対象から得た試料中のCD37レベルと、特定の年齢群の特定の疾患状態、表現型、またはそれらが欠如した状態の標準レベルとで、比較を実施し得るように、標準レベルを年齢別にさせてもよい）。そのような標準レベルは、生物学的試料中のCD37レベルを測定するために用いられる専門の技術（例えば、免疫アッセイなど）に適合させてもよく、その場合、CD37レベルが用いられる専門技術に基づいて異なり得る。

20

30

#### 【0039】

本明細書の用語「一次抗体」は、試料中の標的蛋白質抗原に特異的に結合する抗体を指す。一次抗体は一般に、免疫組織化学的（IHC）手順で用いられる最初の抗体である。一実施形態において、一次抗体は、IHC手順で用いられる唯一の抗体である。本明細書の用語「二次抗体」は、一次抗体に特異的に結合し、それにより一次抗体と次の試薬（存在する場合）の間に架橋を形成する抗体を指す。二次抗体は、一般に免疫組織化学的手順で用いられる二次抗体である。本明細書の用語「三次抗体」は、二次抗体に特異的に結合し、それにより二次抗体と次の試薬（存在する場合）の間に架橋を形成する抗体を指す。

40

#### 【0040】

本発明の「試料」は、特異的实施形態において生物学的起源、例えば真核生物のものである。好ましい実施形態において、試料は、ヒト試料であるが、動物試料が本発明の実務に用いられてもよい。本発明において使用される試料の非限定的な供給源としては、例えば、固形組織、生検吸引物、流動性抽出物、血液、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、皮膚の外部切片、呼吸管、腸管および泌尿生殖管、涙液、唾液、乳、腫瘍、臓器、細胞培養物および/または細胞培養成分が挙げられる。「癌性試料」は、癌性細胞を含む試料である。本発明は、入手し得る材料が少量である固形組織試料に有用である。方法は、非限定的に、異なる型の細胞または組織を比較すること、異なる発達段階を比較すること、ならびに疾患または異常の存在および/または型を検出または決定すること、をはじめとする、

50

CD37の発現の態様、または試料の状態を検査するために用いることができる。

【0041】

本明細書での目的では、組織試料の「切片」は、組織試料の単一部分または断片、例えば組織の薄片または組織試料から切断された細胞を指す。組織試料の複数の切片を採取して、本発明による分析に供してもよいことは、理解されよう。幾つかの例では、組織の選択された部分または切片は、均質な細胞集団を含む。他の例において、選択された部分は、組織の領域、例えば非限定的例として管腔を含む。選択された部分は、例えば細胞1つもしくは細胞2つのように小さくてもよく、または何千もの細胞を表すこともできる。ほとんどの例において、細胞の回収は重要であり、本発明が細胞成分の検出での使用について記載された場合、方法は、生物体の非細胞成分（例えば、非限定的例として血液中の可溶性成分）を検出するために用いられてもよい。

10

【0042】

「関連する」または「関連すること」は、いずれかの方法で、第一の分析の性能および/または結果を第二の分析の性能および/または結果と比較することを意味する。例えば第二の分析を実施する際に第一の分析の結果を使用してもよく、かつ/または第二の分析が実施されるべきかを決定するために第一の分析の結果を使用してもよく、かつ/または第一の分析の結果を第二の分析の結果と比較してもよい。一実施形態において、CD37の発現増加は、CD37を標的とする抗癌治療が有効となる可能性の上昇と関連する。

【0043】

用語「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域内の少なくとも1つの抗原認識部位を介して蛋白質、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、またはそれらの組み合わせなどの標的を認識してこれに特異的に結合する免疫グロブリン分子を意味する。本明細書で用いられる用語「抗体」は、抗体が所望の生物学的活性を示す限り、インタクトのポリクローナル抗体、インタクトのモノクローナル抗体、抗体断片（例えば、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、およびFv断片）、単鎖Fv(scFv)突然変異体、多重特異性抗体（例えば少なくとも2つのインタクト抗体から作製された二重特異性抗体）、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部分を含む融合蛋白質、および抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。抗体は、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、およびミューと呼ばれるその重鎖定常ドメインの同一性に基づいて、それぞれ免疫グロブリンの任意の5つの主要なクラス、即ちIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgM、またはそのサブクラス（アイソタイプ）（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2）のものであってもよい。異なるクラスの免疫グロブリンは、周知の異なるサブユニット構造および三次元配置を有する。抗体は、ネイキッドであっても、または毒素、放射性同位体などの他の分子にコンジュゲートされていてもよい。

20

30

【0044】

「ブロッキング」抗体または「アンタゴニスト」抗体は、それが結合する抗原、例えばCD37の生物学的活性を阻害または低減するものである。特定の実施形態において、ブロッキング抗体またはアンタゴニスト抗体は、抗原の生物学的活性を実質的または完全に阻害する。所望なら生物学的活性は、10%、20%、30%、50%、70%、80%、90%、95%、または100%低減される。

40

【0045】

用語「抗CD37抗体」または「CD37に結合する抗体」は、十分な親和性でCD37に結合することができるため、CD37を標的とした診断薬および/または治療薬として有用となる抗体を指す。無関係の非CD37蛋白質への抗CD37抗体の結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)による測定で、CD37への抗体の結合の約10%未満になる。特定の実施形態において、CD37に結合する抗体は、1μM、100nM、10nM、1nM、または0.1nMの解離定数(K<sub>d</sub>)を有する。抗CD37抗体の例は、当該技術分野で公知であり、参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第2011/0256153号に開示される。

50

## 【0046】

用語「抗体断片」は、インタクト抗体の一部を指し、インタクト抗体の抗原が決定する可変領域を指す。抗体断片の例としては、非限定的に、F a b、F a b'、F ( a b' ) 2、およびF v断片、抗体断片から形成された直鎖状抗体、単鎖抗体、および多重特異性抗体が挙げられる。

## 【0047】

「モノクローナル抗体」は、単一の抗原決定基またはエピトープの高度に特異的な認識および結合に關与する均質な抗体集団を指す。これは、典型的には異なる抗原決定基を対象とする異なる抗体を含む、ポリクローナル抗体とは対照的である。用語「モノクローナル抗体」は、インタクトで、かつ全長のモノクローナル抗体および抗体断片 ( F a b、F a b'、F ( a b' ) 2、F vなど)、単鎖 ( s c F v ) 突然変異体、抗体部分を含む融合蛋白質、および抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。更に「モノクローナル抗体」は、非限定的にハイブリドーマ、ファージ選択、組換え発現、およびトランスジェニック動物をはじめとする任意の複数の手法で作製されたそのような抗体を指す。

## 【0048】

用語「エピトープ」または「抗原決定基」は、本明細書では同義的に使用され、特定の抗体により認識され特異的に結合され得る抗原の部分の部分を指す。抗原が、ポリペプチドである場合、エピトープは、隣接アミノ酸および蛋白質の三次フォールディングにより近接する非隣接アミノ酸の両方から形成され得る。隣接アミノ酸から形成されるエピトープは、典型的には、蛋白質変性時に保持されるが、三次フォールディングにより形成されるエピトープは、典型的には蛋白質変性時に失われる。エピトープは、固有の空間的コンホメーション中に、典型的には少なくとも3個、より通常は少なくとも5または8 ~ 10個のアミノ酸を含む。

## 【0049】

「結合親和性」は、一般に分子 (例えば、抗体) の単一結合部位と、その結合相手 (例えば、抗原) との非共有結合性相互作用の総和の強度を指す。他に指示のない限り、本明細書で用いられる「結合親和性」は、結合対のメンバー (例えば、抗体および抗原) の間の1 : 1相互作用を反映する本来の結合親和性を指す。分子Xの、その相手Yに対する親和性は、一般的に解離定数 ( K d ) で表すことができる。親和性は、本明細書に記載された方法を含む当該技術分野で公知の一般的な方法により測定することができる。低親和性抗体は、一般的に抗原に緩やかに結合し、即座に解離する傾向があるが、高親和性抗体は、一般的により急速に抗原と結合し、より長く結合を保持する傾向がある。結合親和性を測定する種々の方法が、当該技術分野で公知であり、そのいずれも本発明の目的に使用され得る。特別な例示的实施形態を、以下に記載する。

## 【0050】

結合親和性を指すために本明細書で用いられる場合の「またはより良好な」は、分子とその結合相手とのより強い結合を指す。本明細書中で用いられる場合の「またはより良好な」は、より小さい数値の K d 値で表される、より強い結合を指す。例えば、「0 . 6 n Mまたはより良好な」抗原への親和性を有する抗体の場合、抗原に対する抗体の親和性は、< 0 . 6 n M、即ち、0 . 5 9 n M、0 . 5 8 n M、0 . 5 7 n Mなど、または0 . 6 n M未満の任意の値である。

## 【0051】

本明細書で用いられる語句「実質的に類似した」または「実質的に同じ」は、数値 (例えば、 K d 値) により測定される生物学的特性の文脈内で2つの数値 (一般に、一方は本発明の抗体に関連し、もう一方は標準 / 比較抗体に関連する) の差に生物学的および / または統計的有意性がほとんど、または全くないと当業者に見なされるような、2つの数値の間の十分に高い類似性を意味する。2つの値の差は、標準 / 比較抗体の値の関数として、約50 %未満、約40 %未満、約30 %未満、約20 %未満、または約10 %未満である。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 5 2 】

「単離された」ポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、天然には見出されない形態のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物である。単離されたポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、もはや天然に見出される形態ではない程度に精製されたそれらのものを包含する。幾つかの実施形態において、単離された抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、実質的に純粋である。

## 【 0 0 5 3 】

本明細書で用いられる「実質的に純粋」は、少なくとも 50 % 純粋な（即ち、混入物を含まない）、少なくとも 90 % 純粋な、少なくとも 95 % 純粋な、少なくとも 98 % 純粋な、または少なくとも 99 % 純粋な材料を指す。

10

## 【 0 0 5 4 】

本明細書で用いられる用語「イムノコンジュゲート」または「コンジュゲート」は、細胞結合剤（即ち、抗 CD37 抗体またはその断片）に連結した化合物またはその誘導体を指し、一般式：C - L - A（式中、C = 細胞毒、L = リンカー、A = 細胞結合剤または抗 CD37 抗体もしくは抗体断片）で定義される。イムノコンジュゲートは、逆順の一般式：A - L - C により定義することもできる。

## 【 0 0 5 5 】

「リンカー」とは、化合物、通常はメイタンシノイドなどの薬物を、抗 CD37 抗体またはその断片などの細胞結合剤に安定した共有結合で連結し得る任意の化学的部分である。リンカーは、化合物または抗体が活性を維持する条件で、酸誘導開裂、光誘導開裂、ペプチダーゼ誘導開裂、エステラーゼ誘導開裂、およびジスルフィド結合の開裂を受け易くすること、またはそれに実質的に抵抗性にすることができる。適切なリンカーは、当該技術分野で周知であり、例えばジスルフィド基、チオエーテル基、酸に不安定な基、光に不安定な基、ペプチダーゼに不安定な基、およびエステラーゼに不安定な基が挙げられる。リンカー、本明細書に記載され、かつ当該技術分野で公知の荷電リンカーおよびその親水性形態も包含する。

20

## 【 0 0 5 6 】

用語「癌」および「癌性」は、未制御の細胞成長により細胞集団が特徴づけられる、哺乳動物の生理学的状態を指す、または説明している。癌の例としては、非限定的に、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、および白血病が挙げられる。「癌」または「腫瘍形成性」疾患のより詳細な例としては、NHL、前駆体 B 細胞リンパ芽球性白血病 / リンパ腫および成熟 B 細胞新生物をはじめとする B 細胞リンパ腫、例えば B 細胞慢性リンパ性白血病（CLL） / 小リンパ球性リンパ腫（SLL）、B 細胞性前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫（MCL）、濾胞性リンパ腫（FL）、例えば低悪性度、中悪性度、および高悪性度の FL、皮膚濾胞中心リンパ腫、辺縁帯 B 細胞リンパ腫（MALT 型、節性および脾性）、ヘアリー細胞白血病、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）、パーキットリンパ腫（BL）、形質細胞腫、形質細胞性骨髓腫、移植後リンパ増殖性障害、ならびに未分化大細胞リンパ腫（ALCL）が挙げられる。

30

## 【 0 0 5 7 】

「腫瘍」および「新生物」は、良性（非癌性）、または前癌性病変をはじめとする悪性（癌性）のいずれかの、制御なき細胞成長または増殖により生じる任意の塊を指す。

40

## 【 0 0 5 8 】

用語「癌細胞」、「腫瘍細胞」、およびその文法的均等物は、腫瘍または前癌性病変に由来する細胞の全集団を指し、腫瘍細胞集団のバルクを含む非腫瘍形成性細胞、および腫瘍形成性幹細胞（癌幹細胞）の両方を包含する。本明細書で用いられる用語「腫瘍細胞」は、これらの腫瘍細胞を癌幹細胞と識別するために、再生および分化する能力を欠く腫瘍細胞のみを指す場合には「非腫瘍形成性」という用語で修飾される。

## 【 0 0 5 9 】

用語「対象」は、特定の治療のレシピエントとなる、非限定的にヒト、非ヒト霊長類、

50

げっ歯類をはじめとする任意の動物（例えば、哺乳動物）を指す。典型的には用語「対象」および「患者」は、ヒト対象に関連して本明細書中で同義的に使用される。

【0060】

1つまたは複数の更なる治療薬と「併用での」投与は、同時（並行した）投与および任意の順序での逐次投与を包含する。

【0061】

用語「医薬製剤」は、有効成分の生物学的活性を効果的にするような形態であり、配合剤が投与される対象に許容し得ないほど毒性となる追加の成分を含有しない調製物を指す。そのような配合剤は、滅菌されていてもよい。

【0062】

本明細書に開示される抗体の「有効量」は、具体的に述べられた目的を実施するのに十分な量である。「有効量」は、述べられた目的に関連して、経験的または日常的手法で決定され得る。

【0063】

用語「治療有効量」は、対象または哺乳動物における疾患または障害を「治療する」のに効果的な抗体または他の薬物の量を指す。癌の場合、薬物の治療有効量は、癌細胞の数を低減し得る、腫瘍のサイズを低減し得る、末梢臓器への癌細胞浸潤を阻害し得る（即ち、ある程度緩徐にする、または停止させる）、腫瘍の転移を阻害する（即ち、ある程度緩徐にする、または停止させる）、腫瘍の成長をある程度阻害する、および/または癌に関連する症状の1つ以上をある程度緩和することができる。「治療すること」の本明細書での定義を参照されたい。薬物が成長を防止し得る程度、および/または既存の癌細胞を死滅させ得る程度まで、薬物は、細胞増殖抑制性および/または細胞毒性であってもよい。「予防有効量」は、所望の予防的結果を実現するのに効果的な量、必要な投与量および期間を指す。必ずではないが典型的には、予防的用量は、疾患に先立ってまたは疾患の初期段階で対象に使用されるため、予防的有效量は、治療有効量よりも少ない。

【0064】

用語「好適に応答する」は、一般に対象において有益な状況を引き起こすことを指す。癌治療に関連して用語は、対象に治療効果を提供することを指す。癌における正の治療効果は、複数の方法で測定することができる（W. A. Weber, J. Nucl. Med. 50: 1S - 10S (2009) 参照）。例えば、腫瘍成長の阻害、分子マーカーの発現、血清マーカーの発現、および分子画像技術は全て、抗癌治療の治療有効性を評価するのに用いることができる。腫瘍成長の阻害に関連して、NCI標準に従って $T/C < 42\%$ は、抗腫瘍活性の最小レベルである。 $AT/C < 10\%$ は、高い抗腫瘍活性レベルと見なされる（ここで、 $T/C(\%) = \text{治療される腫瘍体積中央値} / \text{対照の腫瘍体積中央値} \times 100$ ）。進行のない生存（PFS）、疾患のない生存（DFS）、または全体的生存（OS）を利用して、抗癌治療薬の治療有効性を評価することもできる。

【0065】

PFS、DFS、およびOSは、新薬の認可に関する米国国立癌研究センターおよび食品医薬品局により設定された標準により測定することができる。Johnson et al, (2003) J. Clin. Oncol. 21(7): 1404 - 1411を参照されたい。腫瘍進行までの時間（YIP）とも称される「進行のない生存」（PFS）は、治療の間および治療後の、癌が成長しない期間を示す。進行のない生存は、患者が完全な応答または部分的応答を経験した時間の量、および患者が安定した疾患を経験した時間の量を含む。「疾患のない生存」（DFS）は、治療の間、および治療後の患者が疾患を有さない期間を指す。「全体的生存」（OS）は、ナীবまたは未治療の個体または患者と比較した、平均寿命の延長を指す。

【0066】

言語「標識」は、本明細書中で用いられる場合、「標識」抗体を作製するために抗体に直接的または間接的にコンジュゲートされる検出可能な化合物または組成物を指す。標識は、それ自体で検出可能であってもよく（例えば、放射性同位体標識または蛍光標識）、

10

20

30

40

50

または酵素標識の場合、検出可能な基質化合物または組成物の化学変化を触媒し得る。

【0067】

「化学療法剤」は、作用機序にかかわらず、癌の治療に有用な化学的化合物である。化学療法剤の分類としては、非限定的に、アルキル化剤、代謝拮抗物質、紡錘体毒植物アルカロイド、細胞毒性/抗腫瘍性抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、抗体、光増感剤およびキナーゼ阻害剤が挙げられる。化学療法剤は、「標的治療」および従来の化学療法において用いられる化合物を包含する。

【0068】

「治療すること」または「治療」または「治療する」または「軽減すること」または「軽減する」などの用語は、診断された病的状態または障害を治癒する、緩徐にする、症状を低減する、および/または進行を停止させる、治療的手段を指す。つまり治療が必要なものには、既に障害の診断がなされたもの、または障害を有することが疑われているものが含まれる。予防的または防止的手段は、標的とする病的状態または障害の発症を防止するおよび/または緩徐にする治療的手段を指す。つまり予防的または防止的手段が必要なものには、障害を起こし易いものおよび障害が防止されるべきものが含まれる。特定の実施形態において、患者が、以下の1つ以上を示す場合、対象は、本発明の方法により癌の「治療」が奏功している：癌細胞の数の減少もしくは完全に存在しないこと；腫瘍サイズの低減；末梢臓器への癌細胞浸潤、例えば軟組織および骨への癌の拡大の障害もしくは非存在；腫瘍転移の障害もしくは非存在；腫瘍成長の障害もしくは非存在；特定の癌に関連する1つまたは複数の症状の緩和；罹患率および致死率の低下；生活の質の改善；腫瘍の腫瘍形成性、腫瘍形成頻度、もしくは腫瘍形成能の低下；腫瘍中の癌幹細胞の数もしくは頻度の低下；腫瘍形成細胞の非腫瘍形成状態への分化；または幾つかの効果の組合せ。

【0069】

本開示および特許請求の範囲で用いられる単数形の「a」、「an」および「the」は、他に明確に示されない限り、複数の形態を包含する。

【0070】

実施形態が言語「含む」と共に本明細書に記載されているとしても、「～からなる」および/または「本質的に～からなる」の用語で記載された他の類似の実施形態も提供されることを、理解されたい。

【0071】

本明細書で「Aおよび/またはB」などの語句で用いられる用語「および/または」は、「AとB」の両方、「AまたはB」、「A」および「B」を包含するものとする。同様に「A、B、および/またはC」などの語句で用いられる用語「および/または」は、以下の実施形態のそれぞれを包含するものとする：A、BおよびC；A、BまたはC；AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A（単独）；B（単独）；ならびにC（単独）を包含するものとする。

【0072】

II. 生物学的試料

生物学的試料は、多くの場合、固定液で固定される。ホルマリン（ホルムアルデヒド）およびグルタルアルデヒドなどのアルデヒド固定液が、典型的に用いられる。アルコール浸漬などの他の固定技術（Battifora and Kopinski, J. Histochem. Cytochem. (1986) 34:1095）を利用して固定された試料も、適している。用いられる試料は、パラフィンに包埋されていてもよい。一実施形態において、試料は、ホルマリン固定と、パラフィン包埋の両方を施される（FFPE）。別の実施形態において、FFPEブロックは、ヘマトキシリンおよびエオジン染色された後、FFPEコア試料の特異的領域（複数可）を選択する分析のために1つまたは複数の部分を選択する。これらの微粒子標本から組織ブロックを調製する方法は、様々な予知因子の過去のIHC試験で用いられており、かつ/または当業者に周知である（例えば、Abbondanzo et al., Am J Clin Pathol. 1990 May; 93(5):698-702; Allred et al., Arch Sur

10

20

30

40

50

g . 1 9 9 0 J a n ; 1 2 5 ( 1 ) : 1 0 7 - 1 3 ) 。

【 0 0 7 3 】

簡潔に述べると、任意の無傷臓器または組織を、相当に小さな断片に切断して、様々な固定液（例えば、ホルマリン、アルコールなど）の中で、組織が「固定」されるまでの様々な期間、インキュベートしてもよい。試料は、身体から手術で摘出された事実上任意の無傷組織であってもよい。試料は、組織病理学的検査室で日常的に用いられる装置に適合する適度に小さな断片（複数可）に切断されてもよい。断片のサイズは、典型的には2、3ミリメートル～2、3センチメートルの範囲内である。生物学的試料は、流体抽出物、血液、血漿、血清、脊髄液、骨髓吸引物、骨髓生検、リンパ液、または脾臓調製物であってもよい。

10

【 0 0 7 4 】

### III . 検出抗体コンジュゲート

本発明は更に、少なくとも1種の薬剤に連結して検出抗体コンジュゲートを形成する、一般にはモノクローナルタイプのCD37への抗体を提供する。診断薬としての抗体分子の有効性を増大させるために、少なくとも1種の所望の分子または部分に連結または共有結合または複合体化することが、簡便である。そのような分子または部分は、非限定的に、少なくとも1種のレポーター分子であってもよい。レポーター分子は、アッセイを利用して検出され得る任意の部分として定義される。抗体にコンジュゲートされたレポーター分子の非限定的例としては、酵素、放射性標識、ハプテン、蛍光標識、ホスホレセント分子、化学発光分子、発色団、発光分子、光親和性分子、着色粒子および/またはリガンド、例えばビオチンが挙げられる。

20

【 0 0 7 5 】

十分な選択性、特異性または親和性の任意の抗体が、検出抗体コンジュゲートの主成分として用いられてもよい。そのような特性は、当業者に公知の従来の免疫学的スクリーニング法を利用して評価されてもよい。従来の抗原結合部位に加えて、抗体分子中の生物学的活性分子への結合部位には、抗原に結合し得る可変性ドメイン内に存在する部位が含まれる。加えて、可変性ドメインは、抗体自己結合に関与し（K a n g e t a l . , 1 9 8 8 ）、抗抗体により認識されるエпитープ（イディオトープ）を含む（K o h l e r e t a l . , 1 9 8 9 ）。

30

【 0 0 7 6 】

抗体コンジュゲートの特定の例は、抗体が検出可能な標識に連結されるそれらのコンジュゲートである。「検出可能な標識」は、特異的官能性、および/または化学的特性により検出され得る化合物および/または要素であり、所望なら、その使用により、付着した抗体を検出し、かつ/または更に定量することができる。

【 0 0 7 7 】

抗体に付着させる方法など多くの適切な造影剤が、当該技術分野で公知である（例えば、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,021,236号；同第4,938,948号、および同第4,472,509号を参照されたい）。用いられる造影部分は、例えば常磁性イオン；放射性同位体；蛍光色素；NMRで検出可能な物質；および/またはX線造影であってもよい。

40

【 0 0 7 8 】

コンジュゲートとしての使用で企図される模範的蛍光標識としては、例えば、A l e x a 3 5 0、A l e x a 4 3 0、A l e x a 4 8 8、AMCA、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665、BODIPY-FL、BODIPY-R6G、BODIPY-TMR、BODIPY-TRX、Cascade Blue、Cy3、Cy5、6-FAM、DyLight 488、フルオレセインイソチオシアナート（FITC）、緑色蛍光蛋白質（GFP）、HEX、6-JOE、Oregon Green 488、Oregon Green 500、Oregon Green 514、Pacific Blue、フィコエリトリン、REG、ローダミンググリーン、ローダミンレッド、テトラメチルローダミン（TMR）、Renographin、ROX、T

50



AMRA、TET、テトラメチルローダミン、テキサスレッド、およびこれらの標識の誘導体（即ち、イソチオシアナートまたはコンジュゲートのための他のリンカーで修飾されたハロゲン化類似体）が挙げられる。

#### 【0079】

本発明において企図される検出抗体コンジュゲートには、インビトロで使用されるものが含まれ、それには抗体が、発色基質と接触させると着色生成物を作製する二次結合リガンドおよび/または酵素（酵素タグ）に連結されている。適切な酵素の例としては、ウレアーゼ、アルカリホスファターゼ、（西洋ワサビ）ペルオキシダーゼ、および/またはグルコースオキシダーゼが挙げられる。好ましい二次結合リガンドは、ビオチンおよび/またはアビジンおよびストレプトアビジン化合物である。そのような標識の使用は、当業者に周知であり、例えば参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第3,817,837号；同第3,850,752号；同第3,939,350号；同第3,996,345号；同第4,277,437号；同第4,275,149号および同第4,366,241号に記載される。

#### 【0080】

アジド基を含む分子を用いて、低強度の紫外線により生成される反応性ニトレン中間体を介して蛋白質への共有結合を形成してもよい（Potter & Haley, 1983）。特に、プリンヌクレオチドの2-および8-アジド類似体は、粗細胞抽出物中のヌクレオチド結合蛋白質を同定するための部位特異性光プローブとして用いられてきた（Owens & Haley, 1987; Atherton et al., 1985）。2-および8-アジドヌクレオチドは、精製蛋白質のヌクレオチド結合ドメインをマッピングするのにも用いられており（Khatoon et al., 1989; King et al., 1989; および Dholakia et al., 1989）、抗体結合剤として用いられてもよい。

#### 【0081】

コンジュゲート部分への抗体の付着またはコンジュゲーションのための複数の方法が、当該技術分野で公知である。幾つかの付着方法は、例えば抗体に付着された、無水ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）などの有機キレート化剤；エチレントリアミン四酢酸；N-クロロ-p-トルエンスルホンアミド、および/またはテトラクロロ-3a-6a-ジフェニルグリコウリル-3を用いる金属キレート錯体の使用を必要とする（参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第4,472,509号および同第4,938,948号）。モノクローナル抗体は、グルタルアルデヒドまたはペリオダートなどのカップリング剤の存在下で酵素と反応させてもよい。フルオレセインマーカースとのコンジュゲートは、これらのカップリング剤の存在下で、またはイソチオシアナートとの反応により、調製される。米国特許第4,938,948号において、例えば乳房腫瘍の造影は、モノクローナル抗体を用いて実現され、検出可能な造影部分は、メチル-p-ヒドロキシベンゾイミダートまたはN-スクシンイミジル-3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオナートなどのリンカーを利用して抗体に結合される。

#### 【0082】

別の実施形態において、抗体結合部位を変化させない反応条件を利用して免疫グロブリンのFc領域中のスルフヒドリル基を選択的に導入することによる免疫グロブリンの誘導体化が、企図される。この方法論により作製される抗体コンジュゲートは、有効期限、特異性および感度の改善を示すことが開示されている（参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,196,066号）。Fc領域内の炭水化物残基にコンジュゲートされたエフェクターまたはレポーター分子の部位特異的付着も、文献に開示されている（O'Shannessy et al., 1987）。

#### 【0083】

本発明の別の実施形態において、免疫グロブリンは、トリチウムなどの核種で放射性標識されている。追加の実施形態において、ナノゴールド粒子（約0.5nm~40nmのサイズなど）および/またはQuantum Dots（カリフォルニア州ハイワード）

が、用いられる。

【0084】

IV．酵素および基質（クロマゲン（Chromagens））

例えば以下に示される模範的实施形態など、基質および指示薬の使用が、CD37の検出に企図される。

【0085】

西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）は、最初、過酸化水素と複合体を形成し、その後、過酸化水素を分解させて、水および酸素原子を生成する酵素である。多くの他の酵素と同様に、HRPおよび一部のHRP様活性は、過剰な基質により阻害され得る。HRPと過剰な過酸化水素とで形成された複合体は、触媒に不活性であり、電子供与体（例えば、発色物質）の非存在下で、可逆的に阻害される。それは、過酸化水素が過剰で、内在的HRP活性のクエンチングをもたらす電子供与体が存在しない。

10

【0086】

HRPは、アッセイシステムで用いられる場合には、定義された基質を活性化されたクロマゲンに変換して変色させるのに用いることができる。HRP酵素は、複数の方法により、抗体、蛋白質、ペプチド、ポリマー、または他の分子にコンジュゲートされてもよい。そのような方法は、当該技術分野で公知である。HRPと抗体との混和物を含む溶液にグルタルアルデヒドを添加すると、酵素よりも多くの互いにコンジュゲートされた抗体分子が得られる。2段階手順において、HRPは最初、二官能性試薬と反応する。第二段階で、活性化HRPのみが抗体と混和されて、かなり効率的な標識が得られ、重合はされない。HRPは、2段階グルタルアルデヒド手順を利用して、（ストレプト）アビジンにもコンジュゲートされる。この形態は、例えばLABおよびLSABを基質とする手順で用いられる。ビオチンは最初、ビオチニル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステルまたはビオチンヒドラジドに誘導体化された後、HRP酵素のアミノ基と反応し得るため、ビオチンとのコンジュゲーションも、2段階を必要とする。

20

【0087】

3,3'-ジアミノベンジジン（DAB）は、アルコールおよび他の有機溶媒に高度に不溶性の褐色最終生成物を生成するHRPなどの酵素の基質である。DABの酸化は、重合も誘発し、四酸化オスミウムと反応する能力を生じ、このため染色強度および電子密度を増加させる。重合されたDABの光学密度を増強するのに用いられる複数の金属および方法のうち、硫化銀と組み合わせた塩化金が、最も奏功するようである。

30

【0088】

3-アミノ-9-エチルカルバゾール（AEC）は、HRPなどの酵素の基質であり、酸化により、アルコールに可溶性であるローズレッド色の最終生成物を形成する。それゆえAECで処理された標本は、アルコールまたはアルコール性溶液（例えば、ハリスヘマトキシリン）に浸漬してはならない。代わりに、水性の対比染色剤および封入剤が、用いられなければならない。AECは、残念なことに更なる酸化を受け易く、過剰な光に暴露されると、強度が衰える。そのため暗所での貯蔵が、推奨される。

【0089】

4-クロロ-1-ナフトール（CN）は、青色の最終生成物として沈殿するHRPなどの酵素の基質である。CNは、アルコールおよび他の有機溶媒に可溶性であるため、標本は、脱水、アルコール対比染色剤への暴露、または有機溶媒を含む封入剤を用いたカバースリップを行うべきではない。DABとは異なり、CNは、沈殿の位置から拡散する傾向がある。

40

【0090】

p-フェニレンジアミン二塩酸塩／ピロカテコール（ハンカー・イエーツ（Hanker-Yates）試薬）は、アルコールおよび他の有機溶媒に不溶性の黒青色の反応生成物を与えるHRPなどの酵素の基質である。重合されたDABと同様に、この反応生成物は、オスミウム処理することができる。多様な結果は、イムノペルオキシダーゼ技術でハンカー・イエーツ試薬を用いて実現された。

50

## 【0091】

仔ウシ腸アルカリホスファターゼ (AP) (分子量 100 kD) は、P - O 結合を破壊することにより有機エステルからリン酸基を取り出して (加水分解による) 移動させ; 中間体の酵素 - 基質結合が、一時的に形成する。AP の主な金属活性化剤は、 $Mg^{++}$ 、 $Mn^{++}$ 、および  $Ca^{++}$  である。

## 【0092】

AP は、非標識アルカリホスファターゼ抗アルカリホスファターゼ (APAAP) 手順が発表されるまで、免疫組織化学で広範に用いられてはいなかった。この手順で用いられる可溶性免疫複合体は、およそ 560 kD の分子量を有する。PAAP 技術と比較した APAAP 手順の主たる利点は、内在性ペルオキシダーゼ活性が引き起こす干渉がないことである。PAAP 染色に対する内在性ペルオキシダーゼ活性の潜在的錯乱のために、APAAP 技術は、血液および骨髓塗抹標本への使用が推奨される。骨、腎臓、肝臓および一部の白血球細胞の内在性アルカリホスファターゼ活性は、1 mM レバミソールを基質溶液に添加することにより阻害することができるが、5 mM ではより効果的であることが見出された。レバミソールによる腸アルカリホスファターゼの阻害は十分ではない。

10

## 【0093】

免疫アルカリホスファターゼ染色法において、この酵素は、ナフトールリン酸エステル (基質) をフェノール化合物およびリン酸塩に加水分解する。フェノールは、無色のジアゾニウム塩 (発色物質) にカップリングして、不溶性の着色アゾ染料を生成する。基質と発色物質との複数の異なる組み合わせをうまく使用してきた。

20

## 【0094】

ナフトール AS - MX リン酸塩 AP 基質は、酸形態で、またはナトリウム塩として、用いることができる。発色基質 Fast Red TR および Fast Blue BB は、それぞれ鮮赤色または青色の最終生成物を生成する。両者ともアルコール性溶媒および他の有機溶媒に可溶性であり、そのため水性封入剤が、用いられなければならない。Fast Red TR は、細胞塗抹標本を染色する場合に好ましい。

## 【0095】

追加の模範的基質としては、ナフトール AS - BI リン酸、ナフトール AS - TR リン酸および 5 - ブロモ - 4 - クロロ - 3 - インドキシルリン酸 (BCIP) が挙げられる。他の可能な発色物質としては、例えばファーストレッド LB、ファーストガーネット GBC、ニトロブルーテトラゾリウム (NBT) およびインドニトロテトラゾリウムバイオレット (INT) が挙げられる。

30

## 【0096】

## V. 免疫検出法

更なる実施形態において、本発明は、本発明により企図される CD37 などの生物学的成分を結合、精製、除去、定量および / または他の方法で一般に検出するための免疫検出法に関係する。本発明により調製される抗体は、CD37 を検出するのに用いられてもよい。幾つかの免疫検出法としては、数例を挙げると、免疫組織化学的検査、フローサイトメトリー、酵素免疫測定法 (ELISA)、放射性免疫測定法 (RIA)、免疫放射定量測定法、蛍光免疫測定法、化学発光測定法、生物発光測定法、およびウエスタンブロット法が挙げられる。様々な有用な免疫検出法のステップは、例えば参照により本明細書に組み入れられる、Doolittle M H および Ben - Zeev O, Methods Mol Biol. 1999; 109: 215 - 37; Gulbis B and Galand P, Hum Pathol. 1993 Dec; 24(12): 1271 - 85; および De Jager R et al., Semin Nucl Med. 1993 Apr; 23(2): 165 - 79 などの科学文献に記載されている。

40

## 【0097】

一般に免疫結合法は、リガンド蛋白質、ポリペプチドおよび / またはペプチドを含むことが疑われる試料を得ること、ならびに場合により免疫複合体を形成させるのに効果的な条件下で、試料を本発明による第一の抗リガンド抗体と接触させること、を含む。

50

## 【0098】

抗原検出に関して、分析される生物学的試料は、流動性抽出物、血液、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、組織切片もしくは標本、ホモジナイズされた組織抽出物、生検吸引物、細胞、CD37含有組成物の分離および／もしくは精製された形態、または任意の生体液など、CD37を検出するのに望ましい任意の試料であってもよい。幾つかの実施形態において、血液、血漿、組織、またはリンパの試料または抽出物が、用いられる。

## 【0099】

選択された生物学的試料を、効果的条件下で、免疫複合体（一次免疫複合体）を形成させるのに十分な期間、抗体と接触させることとは、一般に、抗体組成物を試料に単に添加すること、および抗体が存在する任意のリガンド蛋白質抗原と免疫複合体を形成するのに、即ちそれに結合するのに十分長い期間、混合物をインキュベートすること、ある。この時間の後、組織切片、ELISAプレート、ドットプロットまたはウエスタンブロットなどの試料-抗体組成物は、一般に洗浄され、任意の非特異的結合抗体種を除去されて、一次免疫複体内に特異的に結合された抗体のみが検出可能になる。

## 【0100】

一般に免疫複合体形成の検出は、当該技術分野で周知であり、数多くのアプローチを適用することで実現され得る。これらの方法は、一般に放射性タグ、蛍光タグ、生物学的タグおよび酵素タグのいずれかなど、標識またはマーカーの検出に基づく。そのような標識の使用に関係する米国特許としては、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第3,817,837号；同第3,850,752号；同第3,939,350号；同第3,996,345号；同第4,277,437号；同第4,275,149号および同第4,366,241号が挙げられる。もちろん、当該技術分野で公知の通り、二次抗体および／またはビオチン／アビジンリガンド結合配列などの二次結合リガンドの使用による更なる利点を見出すこともできる。

## 【0101】

検出において用いられる抗リガンド抗体は、それ自体が検出可能な標識に連結されていてもよく、その場合、その後、この標識を単に検出し、それにより組成物中の一次免疫複合体の量を決定することができる。あるいは一次免疫複体内で結合するようになる第一の抗体は、抗体への結合親和性を有する第二の結合剤により検出されてもよい。これらの場合、第二の結合剤は、検出可能な標識に連結されてもよい。第二の結合剤は、多くの場合、それ自体が抗体であり、つまり「二次抗体」と呼ぶこともできる。一次免疫複合体は、二次免疫複合体を形成させるのに効果的な条件で十分な期間、標識された二次結合剤、または抗体と接触される。二次免疫複合体は、その後、一般に洗浄され、任意の非特異的結合の標識二次抗体またはリガンドを除去して、二次免疫複合体中の残留する標識が、その後、検出される。

## 【0102】

更なる方法には、2段階アプローチによる一次免疫複合体の検出が挙げられる。抗体への結合親和性を有する抗体などの第二の結合剤を用いて、先に記載された通り二次免疫複合体を形成する。洗浄の後、免疫複合体（三次免疫複合体）を形成させるのに効果的な条件で十分な時間、二次免疫複合体を、二次抗体への結合親和性を有する第三の結合剤または抗体と再度、接触させる。第三のリガンドまたは抗体は、検出可能な標識に連結され、このようにして形成された第三の免疫複合体の検出を可能にする。このシステムは、所望ならシグナル増幅をもたらしてもよい。

## 【0103】

別の実施形態において、ビオチン化モノクローナルまたはポリクローナル抗体を用いて、標的抗原（複数可）を検出し、その後、第二のステップの抗体を用いて、複合体化されたビオチンに付着されたビオチンを検出する。その方法では、試験される試料は最初、第一のステップの抗体を含む溶液中でインキュベートさせる。標的抗原が存在する場合、抗体の一部が抗原に結合して、ビオチン化抗体／抗原複合体を形成する。その後、抗体／抗原複合体は、ストレプトアビジン（またはアビジン）、ビオチン化DNA、および／また

は相補的ビオチン化DNAの逐次溶液中でインキュベートすることにより増幅され、各ステップで追加のビオチン部位が抗体/抗原複合体に付加される。増幅ステップは、増幅の適切なレベルに達するまで、繰り返し行われ、そのレベルに達した時点で、試料をビオチンに対する第二ステップの抗体を含む溶液中でインキュベートされる。この第二ステップの抗体は、例えば発色基質を利用した組織酵素学的検査により抗体/抗原複合体の存在を検出するために用いられ得る酵素などで、標識される。適切な増幅により、肉眼で見えるコンジュゲートが、生成され得る。

#### 【0104】

一実施形態において、免疫組織化学的検査(IHC)は、免疫学的検出に用いられる。IHCを利用して、試料中のCD37の検出が、プローブ、例えば抗CD37抗体を用いた試料の標的化により実現され得る。プローブは、検出可能な標識に直接的もしくは間接的に結合されることができ、または検出可能な標識に直接的もしくは間接的に連結する別のプローブにより検出することができる。

10

#### 【0105】

幾つかの実施形態において、IHC、例えば校正されたIHCは、蛋白質発現の異なるレベルを識別することができる。幾つかの実施形態において、IHCでは、細胞表面のCD37発現レベルが低い、細胞表面のCD37発現レベルが中程度である、または細胞表面のCD37発現レベルが高い試料の染色強度を識別することができる。

#### 【0106】

幾つかの実施形態において、IHCは、染色強度と染色均一性とを識別することができる。一実施形態において、CD37の免疫学的検出(免疫組織化学的検査による)は、強度および均一性の両方についてスコア付けされる(染色された細胞/膜のみの割合)。強度についてのCD37発現の比較スケールで、0は陰性、0~1は非常に弱い、1は弱い、1~2は弱い~中度、2は中度、2~3は中度~強い、3は強い、3+は非常に強い、に相関する。定量的にはスコア0は、染色が観察されないか、または膜の染色が腫瘍細胞の10%未満で観察されることを表す。スコア1は、ほのかな/かろうじて認知できる膜染色が、腫瘍細胞の10%を超えて検出されることを表す。細胞が、膜の一部のみで染色されている。スコア2については、中度の全膜染色が、腫瘍細胞の10%を超えて観察される。最後にスコア3は、強い全膜染色が、腫瘍細胞の10%を超えて観察されることを表す。CD37発現が0または1スコアの試料は、CD37を過剰発現していないと特徴づけることができるが、スコア2または3の試料は、CD37を過剰発現していると特徴づけることができる。CD37を過剰発現している試料は、細胞1個あたりに発現されるCD37分子の複製数または細胞1個あたりに結合された抗体(ABC)に対応する免疫組織化学的スコアにより評価することもでき、生化学的に決定することができる。CD37の細胞膜染色均一性%の比較スケールは、以下の通り相関する: 0は陰性、限局的は25%未満、不均質(ヘテロ)は25~75%、均質(ホモ)は75%を超えている。

20

30

#### 【0107】

IHCは、用手法で、または自動化システムを利用して(例えば、自動染色装置を用いて)実施することができる。つまりIHCは、細胞、細胞ペレット、組織、血液由来の調製物、血漿、血清、またはリンパ液で実施することができる。幾つかの実施形態において、試料は、固定された試料である。幾つかの実施形態において、試料は、パラフィン包埋試料である。幾つかの実施形態において、試料は、ホルマリン固定パラフィン包埋の試料である。

40

#### 【0108】

免疫検出の別の公知方法は、イムノPCR(ポリメラーゼ連鎖反応)法を活用している。PCR法は、抗体を放出する低pHまたは高塩濃度の緩衝液で洗浄されるDNA/ビオチン/ストレプトアビジン/抗体複合体を使用する。得られた洗浄溶液を用いて、その後、適当な対照と共に適切なプライマーを用いたPCRを実施する。特別な実施形態において、PCRのずば抜けた増幅能力および特異性を利用して、単一抗原分子を検出することができる。そのような検出は、リアルタイムで実施してもよい。例えば定量的リアルタイム

50

△PCRの利用が、企図される。

#### 【0109】

一実施形態において、フローサイトメトリーが、免疫学的検出に用いられる。つまり、例えば細胞1個に結合された抗体数(ABC)を、フローサイトメトリーを利用して評価することができる。細胞1個あたりに結合された抗CD37抗体の数が多ければ、高度のCD37発現レベル、および抗CD37抗体またはそのイムノコンジュゲートでの処理を受け易くなる可能性が高いことを示すことができる。

#### 【0110】

#### VI. 核酸ハイブリダイゼーション

In situハイブリダイゼーションは、一般にスライドに固定された細胞または組織切片で実施される。In situハイブリダイゼーションは、幾つかの従来法(例えば、Leitch et al. In Situ Hybridization: a practical guide, Oxford BIOS Scientific Publishers, Microscopy handbooks v. 27 (1994) 参照)により実施することができる。あるin situ手順では、蛍光染料(アルゴンイオンレーザーで励起した時に緑色蛍光を発するフルオレセインイソチオシアナート(FITC)など)が、細胞内の標的ヌクレオチド配列に相補的な核酸配列プローブを標識するために使用される。標的ヌクレオチド配列を含む各細胞は、標識プローブに結合して、使用される特異的蛍光色素の励起に適した波長の光源に細胞を暴露すると、蛍光シグナルを発生する。

#### 【0111】

様々な度合いのハイブリダイゼーションストリンジェンシーを、利用することができる。ハイブリダイゼーション条件が、よりストリンジェントになると、安定した二本鎖を形成および維持するように、プローブと標的の間に、より大きな度合いの相補性が必要となる。ストリンジェンシーは、温度を上昇させること、塩濃度を低下させること、またはホルムアミド濃度を上昇させることにより増大する。デキストラン硫酸の添加またはその濃度の上昇も、標識したプローブの効果的濃度を上昇させて、ハイブリダイゼーションの速度および最終的なシグナル強度を増大させる。ハイブリダイゼーションの後、一般的にハイブリダイゼーション溶液に見出されるものと同様の試薬を含有する溶液でスライドを洗浄するが、洗浄時間は必要なストリンジェンシーに応じて数分間から数時間まで様々である。より長時間の、またはよりストリンジェントな洗浄は、典型的には非特異的バックグラウンドを低下させるが、総合的な感度を減少させるリスクを含む。

#### 【0112】

核ハイブリダイゼーション分析に使用されるプローブは、RNAまたはDNAのオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのいずれかであってもよく、天然由来のヌクレオチドのみならず、例えばジゴキシゲニンdCTP、ビオチン、dcTP 7-アザグアノシン、アジドチミジン、イノシンまたはウリジンなどの類似体が含まれていてもよい。他の有用なプローブとしては、例えばペプチドプローブおよびその類似体、分枝状遺伝子DNA、ペプチドメティクス(peptidometics)、ペプチド核酸(PNA)、ならびに/または抗体が挙げられる。

#### 【0113】

プローブは、安定した特異的結合が標的核酸配列とプローブとの間に生じるように、該当する標的核酸配列と十分な相補性を有さなければならない。安定したハイブリダイゼーションに必要な相同性の度合いは、ハイブリダイゼーション媒体および/または洗浄媒体のストリンジェンシーに応じて様々である。好ましくは、完全に相同的なプローブが、本発明において使用されるが、より低い十分な相同性を示すプローブが本発明に使用され得ることは、当業者に即座に理解されよう(例えば、Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, (1989) 参照)。

## 【0114】

プローブはまた、非限定的に、*in situ*ハイブリダイゼーション、体細胞ハイブリッドパネル、または選別した染色体のスポットプロットによるマッピング、染色体連鎖解析をはじめとする複数の手段により作製および選択することができ；あるいはヒト細胞株もしくはヒト染色体を有する体細胞ハイブリッド、放射性体細胞ハイブリッド、染色体領域の顕微解剖、または固有の染色体座に特異的なPCRプライマーにより同定された酵母人工染色体(YAC)もしくは隣接したYACクローンのような他の適した手段から、クローニングおよび単離することができる。プローブは、プラスミド、ファージ、コスミド、YAC、細菌人工染色体(BAC)、ウィルスベクター、または任意の他の適切なベクターでクローニングされたゲノムDNA、cDNA、またはRNAであってもよい。プローブは、従来法によりクローニングまたは化学合成されてもよい。クローニングされた場合、単離されたプローブ核酸断片は、典型的にベクター、例えばファージ、pBR322、M13、またはSP6もしくはT7を含むベクターに挿入され、細菌宿主内でライブラリとしてクローニングされる(例えば、Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, (1989) 参照)。

10

## 【0115】

好ましくは、プローブは、例えばフルオロフォアで標識される。フルオロフォアの例としては、非限定的に、希土類キレート(ユーロピウムキレート)、テキサスレッド、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン(Lissamine)、ウンベリフェロン、フィコクリテリン(phycoerythrin)、フィコシアニン、または市販のフルオロフォア、例えばSPECTRUM ORANGE(商標)およびSPECTRUM GREEN(商標)、ならびに/または上記物質の任意の1つまたは複数の誘導体が挙げられる。アッセイに使用される複数のプローブは、1つを超える識別可能な蛍光または顔料色素で標識されていてもよい。これらの色の違いが、特異的なプローブのハイブリダイゼーション位置を判定する手段を提供する。更に、空間的に離れていないプローブは、2つの他の色素(例えば、明赤色+緑色=黄色)、顔料(例えば、青色+黄色=緑色)を混合して生じる異なる色の光もしくは顔料により、または一度に1色のみを通すフィルターセットを用いることにより、判定することができる。

20

30

## 【0116】

プローブは、当業者に公知の従来法を用いて、フルオロフォアで直接的または間接的に標識することができる。

## 【0117】

## V I I . 検出キットおよび組成物

同じく本発明により提供されるのが、本明細書に開示された本発明の実務において用いられるキットである。そのようなキットは、容器を含んでいてもよく、容器のそれぞれは、例えば既にマーカーに付着された1つまたは複数の結合剤(抗体)、または場合により結合剤を抗体もしくは核酸分子(およびマーカーそのもの)にカップリングさせる試薬；核酸分子の検出に用いられる、緩衝液、適切なヌクレオチド三リン酸(例えば、dATP、dCTP、dGTP、dTTP、dUTP、ATP、CTP、GTPおよびUTP)、逆転写酵素、DNAポリメラーゼ、RNAポリメラーゼ、および1つまたは複数の配列特異性もしくは縮重プライマーをはじめとし、この方法で用いられる様々な試薬(典型的には濃縮形態)のうちの1種以上；ならびに/または本発明の実務を支援するための単離(場合により顕微解剖による)のための試薬および機器を含んでいてもよい。本発明のリガンド検出法におけるキット成分を説明するラベルもしくは指示書、またはキット成分の使用説明書のセットも典型的には含まれるが、使用説明書は、キットまたはその成分の添付文書または包装に付随していてもよい。

40

## 【0118】

更なる実施形態において、本発明は、先に記載された免疫検出法により使用される免疫

50

検出キットに係る。抗体は、一般にCD37を検出するために用いられるため、抗体は、好ましくはキットに含まれる。免疫検出キットは、このため適切な容器手段に、CD37に結合する第一の抗体、および/または場合により免疫検出試薬、および/または更に場合によりCD37蛋白質、またはCD37蛋白質を含む細胞もしくは試料を含む。

【0119】

キットの免疫検出試薬は、所与の抗体に会合および/または結合された検出可能な標識をはじめとし、様々な形態のうちの任意の1つを呈していてもよい。第二の結合リガンドに会合および/または付着された検出可能な標識も、企図される。模範的な第二のリガンドは、第一の抗体への結合親和性を有する第二の抗体である。

【0120】

本発明のキット内で使用される更に適した免疫検出試薬としては、第一の抗体への結合親和性を有する二次抗体を、その第二の抗体への結合親和性を有する第三の抗体と共に含み、第三の抗体が検出可能な標識に連結されている、2成分試薬が挙げられる。先に述べられた通り、複数の模範的標識が、当該技術分野で公知であり、かつ/またはそのような標識の全てが、本発明に関連して適切に使用され得る。

【0121】

キットは、抗CD37イムノコンジュゲートおよび/または化学療法剤などの癌治療用の1つまたは複数の治療薬を更に含んでもよい。

【0122】

キットは、CD37検出試薬を含む、対象におけるCD37発現を測定するのに用いられるCD37検出試薬と、使用説明書と、を更に含んでもよい。一実施形態において、CD37検出試薬は、CD37結合ペプチド、蛋白質または分子プローブ(即ち、核酸)を含む。別の実施形態において、CD37検出試薬は、抗CD37抗体である。別の実施形態において、キットは、抗CD37抗体に結合する二次抗体を更に含む。一実施形態において、CD37特異性抗体は、2.1、4.2、および8.4 μg/mLの濃度で含まれる。別の実施形態において、抗体は、濃縮溶液中に含まれ、2.1、4.2、および8.4 μg/mLの最終濃度に達するように希釈する説明書を伴う。別の実施形態において、キットは、酵素、フルオロフォア、放射性標識、およびルミノフォアからなる群より選択される検出試薬を更に含む。別の実施形態において、検出試薬は、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、トリチウム、およびローダミンからなる群より選択される。

【0123】

キットは、CD37発現の検出およびスコア付けのための説明書も含むことができる。キットは、対照または標準試料も含むことができる。対照または標準試料の非限定的例としては、陰性正常組織(陰性対照)または腫瘍(陽性対照)試料から得られた細胞ペレットまたは組織培養細胞株が挙げられる。模範的陽性対照細胞株としては、Dauidi細胞、Ramos細胞、ナマルバが挙げられ、陰性対照としては、Colo205、およびCD37を発現する発現ベクターにより安定的にまたは一過性にトランスフェクトされた細胞株が挙げられる。

【0124】

VIII. CD37結合剤

CD37に結合する任意の抗体を、本発明の検出方法に用いることができる。本発明の方法において用いられ得る治療有効性抗CD37抗体の例は、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第2011/0256153号に見出すことができる。例えば抗CD37抗体は、マウス、キメラ、またはヒト化CD37-3、CD37-12、CD37-38、CD37-50、CD37-51、CD37-56、またはCD37-57であってもよい。CD37の全長アミノ酸配列は、当該技術分野で公知であり、SEQ ID NO: 1により表される通り、本明細書においても示される。CD37の検出のための特に有用な抗体は、マウスモノクローナル抗huCD37クローンCT1(Lica#NCL-CD37)である。治療有効性抗CD37抗体の例は、huCD37-3-SMCC-DM1である。SEQ ID NO: 57のポリペプチドは、huCD3

10

20

30

40

50



7-3の可変性ドメイン重鎖バージョン1.0に対応する。SEQ ID NO:58のポリペプチドは、huCD37-3の可変性ドメイン重鎖バージョン1.1に対応し、SEQ ID NO:74のポリペプチドは、huCD37-3の可変性ドメイン軽鎖にそれぞれ対応する。特定の実施形態において、CD37抗体は、組換えプラスミドDNA phuCD37-3LC(2010年3月18日にATCC(10801 University Boulevard, バージア州マナサス20110)に寄託されたATCC寄託番号PTA-10722)によりコードされた軽鎖を含み得る。特定の実施形態において、CD37抗体は、組換えプラスミドDNA phuCD37-3HCv.10(2010年3月18日にATCCに寄託された、ATCC寄託番号PTA-10723)によりコードされた重鎖を含み得る。特定の実施形態において、CD37抗体は、組換えプラスミドDNA phuCD37-3LC(PTA-10722)によりコードされた軽鎖と、組換えプラスミドDNA phuCD37-3HCv.1.0(PTA-10723)によりコードされた重鎖と、を含み得る。特定の実施形態において、CD37抗体は、組換えプラスミドDNA phuCD37-3LC(PTA-10722)によりコードされたVL-CDRと、組換えプラスミドDNA phuCD37-3HCv.1.0(PTA-10723)によりコードされたVH-CDRと、を含み得る。

10

#### 【0125】

本発明の治療法において有用なCD37イムノコンジュゲートの例を、以下に示す。

#### 【0126】

#### IX. CD37イムノコンジュゲート

20

本発明は、細胞毒(薬物)またはプロドラッグに連結またはコンジュゲートされた本明細書に開示の抗CD37抗体、抗体断片、機能的均等物、改善された抗体およびそれらの態様を含むコンジュゲート(本明細書ではイムノコンジュゲートとも称される)の有効性を増大させることである。模範的CD37抗体およびイムノコンジュゲートは、参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第2011/0256153号に見出され得る。本発明の特に効果的な治療用イムノコンジュゲートは、先に記載されたhuCD37-3抗体を含む。

#### 【0127】

適切な薬物またはプロドラッグは、当該技術分野で公知である。特定の実施形態において、薬物またはプロドラッグは、細胞毒性剤である。本発明の細胞毒性コンジュゲート中で使用される細胞毒性剤は、細胞死を生じさせる、または細胞死を誘導する、または何らかの手法で細胞生存力を低下させる、任意の化合物であってもよく、例えばメイタンシノイドおよびメイタンシノイド類似体、ベンゾジアゼピン、タキソイド、CC-1065およびCC-1065類似体、デュオカルマイシンおよびデュオカルマイシン類似体、エンジン、例えばカリチアマイシン、ドラスタチンおよびドラスタチン類似体、例えばアウリスタチン、トマイマイシン誘導体、レプトマイシン誘導体、メトトレキサート、シスプラチン、カルボプラチン、ダウノルビシン、ドキシソルビシン、ピンクリスチン、ピンブラスチン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ならびにモルホリノドキシソルビシンが挙げられる。特定の実施形態において、細胞毒性剤は、メイタンシノイドおよびメイタンシノイド類似体である。

30

40

#### 【0128】

薬物またはプロドラッグは、例えばジスルフィド結合を介してhuCD37-3などの抗CD37抗体またはその断片に連結することができる。リンカー分子または架橋剤は、抗CD37抗体またはその断片と反応し得る反応性化学基を含む。特定の実施形態において、細胞結合剤との反応のための反応性化学基は、N-スクシンイミジルエステルおよびN-スルホスクシンイミジルエステルである。加えてリンカー分子は、薬物と反応してジスルフィド結合を形成し得る反応性化学基、特定の実施形態においてジチオピリジル基を含む。特定の実施形態において、リンカー分子としては、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(SPDP)(例えば、Carlsson et al., Biochem. J., 173:723-737(1978)参照)、N-

50

スクシンイミジル 4 - ( 2 - ピリジルジチオ ) ブタノアート ( S P D B ) ( 例えば、米国特許第 4 , 5 6 3 , 3 0 4 号参照 )、N - スクシンイミジル 4 - ( 2 - ピリジルジチオ ) 2 - スルホブタノアート ( スルホ - S P D B ) ( 米国特許出願公開第 2 0 0 9 0 2 7 4 7 1 3 号 )、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 ) ( 例えば、C A S 登録番号 3 4 1 4 9 8 - 0 8 - 6 参照 )、2 - イミノチオラン、またはアセチルコハク酸無水物が挙げられる。

#### 【 0 1 2 9 】

非開裂性リンカーを含む抗体 - メイタンシノイドコンジュゲートが、調製され得る。そのような架橋剤は、当該技術分野で記載されており ( T h e r m o S c i e n t i f i c P i e r c e C r o s s l i n k i n g T e c h n i c a l H a n d b o o k および米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 1 6 9 9 3 3 号参照 )、非限定的に、N - スクシンイミジル 4 - ( マレイミドメチル ) シクロヘキサンカルボキシレート ( S M C C )、S M C C の「長鎖」類似体 ( L C - S M C C ) である N - 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 - ( 6 - アミドカプロアート )、- マレイミドウンデカン酸 N - スクシンイミジルエステル ( K M U A )、- マレイミドプロピオン酸 N - スクシンイミジルエステル ( B M P S )、- マレイミド酪酸 N - スクシンイミジルエステル ( G M B S )、- マレイミドカプロン酸 N - ヒドロキシスクシンイミドエステル ( E M C S )、m - マレイミドベンゾイル - N - ヒドロキシスクシンイミドエステル ( M B S )、N - - マレイミドアセトキシ - スクシンイミドエステル ( A M A S )、スクシンイミジル - 6 - ( - マレイミドプロピオンアミド ) ヘキサノアート ( S M P H )、N - スクシンイミジル 4 - ( p - マレイミドフェニル ) - ブチレート ( S M P B )、N - ( p - マレイミドフェニル ) イソシアネート ( P M P I )、N - スクシンイミジル - 4 - ( ヨードアセチル ) - アミノベンゾアート ( S I A B )、N - スクシンイミジルヨードアセタート ( S I A )、N - スクシンイミジルプロモアセタート ( S B A )、および N - スクシンイミジル 3 - ( プロモアセトアミド ) プロピオナート ( S B A P ) が挙げられる。特定の実施形態において、抗体は、1 ~ 10 の反応基を導入するために、文献に記載された通り、スクシンイミジル 4 - ( マレイミドメチル ) シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート ( S M C C )、スルホ - S M C C、マレイミドベンゾイル - N - ヒドロキシスクシンイミドエステル ( M B S )、スルホ - M B S またはスクシンイミジルヨードアセタートなどの架橋試薬で修飾される ( Y o s h i t a k e e t a l , E u r . J . B i o c h e m . , 1 0 1 : 3 9 5 - 3 9 9 ( 1 9 7 9 ) ; H a s h i d a e t a l , J . A p p l i e d B i o c h e m . , 5 6 - 6 3 ( 1 9 8 4 ) ; および L i u e t a l , B i o c h e m . , 1 8 : 6 9 0 - 6 9 7 ( 1 9 7 9 ) )。

#### 【 0 1 3 0 】

本発明は、細胞結合剤・細胞毒性剤コンジュゲート中の細胞結合剤に対する細胞毒性剤 ( 例えば、メイタンシノイド ) の平均モル比が約 1 ~ 約 10 である態様を包含する。用語「M A R」、「メイタンシノイド - A b 比」、「薬物負荷」、「D A R」、および「薬物 - A b 比」は、本明細書において、細胞毒性剤としてのメイタンシノイド化合物と、細胞結合剤としての抗体またはその断片と、を含むコンジュゲート中の細胞結合剤に対する細胞毒性剤の比を特徴づけるために用いることができる。つまり幾つかの実施形態において、M A R は、約 1 ~ 約 10、約 2 ~ 約 7、約 3 ~ 約 5、約 2 . 5 ~ 約 4 . 5 ( 例えば、約 2 . 5、約 2 . 6、約 2 . 7、約 2 . 8、約 2 . 9、約 3 . 0、約 3 . 1、約 3 . 3、約 3 . 4、約 3 . 5、約 3 . 6、約 3 . 7、約 3 . 8、約 3 . 9、約 4 . 0、約 4 . 1、約 4 . 2、約 4 . 3、約 4 . 4、約 4 . 5 )、約 3 . 0 ~ 約 4 . 0、約 3 . 2 ~ 約 4 . 2、約 4 . 5 ~ 約 5 . 5 ( 例えば、約 4 . 5、約 4 . 6、約 4 . 7、約 4 . 8、約 4 . 9、約 5 . 0、約 5 . 1、約 5 . 2、約 5 . 3、約 5 . 4、約 5 . 5 ) である。一態様において、細胞結合剤に付着され得る薬物分子の数は、平均で約 2 ~ 約 8 ( 例えば、1 . 9、2 . 0、2 . 1、2 . 2、2 . 3、2 . 4、2 . 5、2 . 6、2 . 7、2 . 8、2 . 9、3 . 0、3 . 1、3 . 2、3 . 3、3 . 4、3 . 5、3 . 6、3 . 7、3 . 8、3 . 9、4 . 0、4 . 1、4 . 2、4 . 3、4 . 4、4 . 5、4 . 6、4 . 7、4 . 8、4 . 9、5 .

0、5・1、5・2、5・3、5・4、5・5、5・6、5・7、5・8、5・9、6・0、6・1、6・2、6・3、6・4、6・5、6・6、6・7、6・8、6・9、7・0、7・1、7・2、7・3、7・4、7・5、7・6、7・7、7・8、7・9、8・0、8・1)であってもよい。特定の実施形態において、薬物は、 $N^2$  - デアセチル -  $N^2$  - (3 - メルカプト - 1 - オキシプロピル) - メイタンシン (DM1) または  $N^2$  - デアセチル -  $N^2$  - (4 - メルカプト - 4 - メチル - 1 - オキシペンチル) - メイタンシン (DM4) である。こうして特定の実施形態において、抗体 huCD37 - 3 は、DM1 または DM4 にコンジュゲートされる。

#### 【0131】

X・CD37 発現と治療有効性の相関

特定の実施形態において、本発明は、CD37 を標的とする抗癌治療に応答する可能性の高い対象を同定する方法を提供する。本発明は、一部として、CD37 発現レベルの上昇が CD37 を標的とする抗癌治療薬の有効性に相関するという発見と、B 細胞試料中の CD37 発現の動的範囲を検出する方法の発見と、に基づく。

#### 【0132】

異種移植片モデルを利用した患者試料の評価および *in vivo* 有効性への相関から、治療に応答する可能性の高い対象を選択するための発現解析の能力が実証される。IHC は、腫瘍細胞における CD37 発現のスコア：0 (発現なし) ~ 3 + (非常に高レベルの発現) を提供する。CD37 発現が 1、2、3、または 3 + (または 2、3 もしくは 3 +) とスコア付けされた試料は、CD37 イムノコンジュゲートの臨床関連用量で CD37 を標的とする抗癌治療に応答する可能性が高い (例えば、0.1 ~ 10 mg/kg 異種移植片、またはそれを超える CD37 イムノコンジュゲートの用量は、患者においておよそ 3.0 ~ 400 mg/m<sup>2</sup> となり得る)。つまり高い CD37 スコアを有する個体の同定は、臨床関連投与量に応答し得る個体の同定を支援する。以下により詳細に記載される通り、CD37 治療薬への感度は、2 以上、特にレベル 3 の CD37 スコアに相関し得る。更に、より均一なレベルの CD37 の発現を、CD37 発現と治療的利益との相関の指標として用いることもできる。つまり均質な染色均一性、または高い強度と不均質な染色均一性との組み合わせは、高いレベルでの CD37 発現を示し得る。例えば 2 ヘテロを超えるスコアは、CD37 治療薬での治療の患者選択基準として用いられ得る。

#### 【0133】

CD37 発現の分析は、低レベルの CD37 標的抗癌治療 (低用量治療) が抗腫瘍応答を誘発するのに効果的となり得る患者も同定する。当該技術分野で認識される通り、化合物は一般に、所望の治療応答を実現する最小投与量で投与される。これは、临床上の (多くの場合望ましくない) 副作用を誘発する治療薬の場合、特に重要である。CD37 発現レベルの高い対象を認識する能力は、CD37 標的治療薬の投与量の最小化を可能にし、こうして治療有効性を維持しながら可能な副作用を低減する。

#### 【0134】

XI・医薬組成物および治療法

CD37 結合剤 (抗体、イムノコンジュゲート、およびポリペプチドを含む) は、非限定的に癌の治療などの治療的投与法をはじめとし、種々の適用例において有用である。特定の実施形態において、薬剤は、腫瘍の成長を阻害すること、分化を誘導すること、腫瘍体積を減少させること、および / または腫瘍の腫瘍形成性を低下させることに有用である。使用方法は、*in vitro*、*ex vivo*、または *in vivo* 方法であってもよい。特定の実施形態において、CD37 結合剤または抗体またはイムノコンジュゲートまたはポリペプチドは、結合するヒト CD37 のアンタゴニストである。

#### 【0135】

特定の実施形態において、CD37 結合剤またはアンタゴニスト (例えば、huCD37 - 3 抗体またはイムノコンジュゲート) で治療される疾患は、癌である。特定の実施形態において、癌は、CD37 結合剤 (例えば、抗体) が結合する CD37 を発現する腫瘍により特徴づけられる。

10

20

30

40

50

## 【0136】

本発明は、治療有効量のCD37結合剤を対象（例えば、治療の必要がある対象）に投与することを含む、癌を治療する方法を提供する。特定の実施形態において、癌は、B細胞リンパ腫、NHLL、前駆体B細胞リンパ芽球性白血病/リンパ腫、成熟B細胞新生物、B細胞慢性リンパ性白血病（CLL）/小リンパ球性リンパ腫（SLL）、B細胞性前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫（MCL）、低悪性度、中悪性度および高悪性度の濾胞性リンパ腫（FL）、皮膚濾胞中心リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、MALT型辺縁帯B細胞リンパ腫、結節型辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓型辺縁帯B細胞リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、バーキットリンパ腫（BL）、形質細胞腫、形質細胞性骨髓腫、移植後リンパ増殖性障害、ワルデンストレームマクログロブリン血症、ならびに未分化大細胞リンパ腫（ALCL）からなる群より選択される。特定の実施形態において、対象は、ヒトである。

10

## 【0137】

本発明は、本明細書に記載された抗体または他の薬剤を使用して腫瘍の成長を阻害する方法を更に提供する。特定の実施形態において、腫瘍の成長を阻害する方法は、インビトロで細胞をCD37-結合剤（例えば、抗体）と接触させることを含む。例えば、CD37を発現する不死化細胞株または癌細胞株を培地で培養し、抗体または他の薬剤を添加して、腫瘍の成長を阻害する。幾つかの実施形態において、腫瘍細胞は、例えば組織生検、胸水、または血液試料などの患者試料から単離され、培地で培養されて、腫瘍の成長を阻害するCD37結合剤が添加される。

20

## 【0138】

幾つかの実施形態において、腫瘍成長を阻害する方法は、*in vivo*で腫瘍または腫瘍細胞をCD37結合剤（例えば、抗体）と接触させることを含む。特定の実施形態において、腫瘍または腫瘍細胞をCD37結合剤と接触させることは、動物モデルにおいて行われる。例えば、CD37結合剤は、免疫無防備状態のマウス（例えば、NOD/SCIDマウス）内で成長した1つまたは複数のCD37を発現する異種移植片に投与して、腫瘍の成長を阻害することができる。幾つかの実施形態において、CD37結合剤は、同時に、または腫瘍形成細胞を動物に導入した後、短期間のうちに投与されて、腫瘍成長を予防する。幾つかの実施形態において、CD37結合剤は、腫瘍形成細胞が特定のサイズに成長した後、治療薬として投与される。

30

## 【0139】

特定の実施形態において、腫瘍成長を阻害する方法は、治療有効量のCD37結合剤を対象に投与することを含む。特定の実施形態において、対象は、ヒトである。特定の実施形態において、対象は腫瘍を有するか、または腫瘍を摘出されている。

## 【0140】

つまり特定の実施形態において、本発明は、CD37-3抗体（例えば、キメラ、ヒト化、または完全にヒト）またはそのイムノコンジュゲートを用いて癌を治療する方法であって、癌が、本明細書に記載された方法を利用して、CD37発現の増加を同定されている、方法を提供する。特定の実施形態において、CD37-3イムノコンジュゲートは、huCD37-3-SMCC-DM1である。

40

## 【0141】

特定の実施形態において、配合剤は、本発明の精製された抗体または薬剤を薬学的に許容し得るビヒクル（例えば、担体、賦形剤）と組み合わせることにより、貯蔵および使用されるために調製される（Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Edition Mack Publishing, 2000）。適切な薬学的に許容し得るビヒクルとしては、非限定的に、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸などの非毒性緩衝液；塩化ナトリウムなどの塩；アスコルビン酸およびメチオニンをはじめとする抗酸化剤；防腐剤（例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザル

50

コニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベンなど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；m-クレゾール）；低分子量（例えば、約10未満のアミノ酸残基の）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどの蛋白質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、グルコース、マンノース、またはデキストリンなどの炭水化物；EDTAなどのキレート化剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、またはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn蛋白錯体）；およびTWEEEN（登録商標）またはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。

10

#### 【0142】

本発明の医薬組成物は、局所または全身治療のための任意の複数の方法で投与することができる。投与は、経皮パッチ、軟膏、ローション、クリーム、ゲル、滴剤、坐剤、スプレー、液体および粉末などの局部投与（腔および直腸送達をはじめとする粘膜などへ）；肺内投与（例えば、ネブライザーなどによる粉末またはエアロゾルの吸入または吹送、気管内、鼻内、表皮および経皮による）；経口投与；静脈内、動脈内、皮下、腹腔内もしくは筋肉内注射もしくは輸注をはじめとする非経口投与；または頭蓋内投与（例えば、髄腔内または脳室内）であってもよい。

#### 【0143】

本発明の抗体またはイムノコンジュゲートは、医薬混合製剤中に、または併用療法としての投与計画で、抗癌性を有する第二の化合物を併用することができる。医薬混合製剤または投与計画の第二の化合物は、好ましくは併用のADCへの補助活性を有するため、互いに有害な影響を及ぼさない。CD37結合剤および第二の抗がん剤を含む医薬組成物も、提供される。

20

#### 【0144】

疾患の治療に関して、本発明の抗体または薬剤の適切な投与量は、治療される疾患のタイプ、疾患の重症度および過程、疾患の応答性、抗体または薬剤の投与が治療目的または予防目的にかかわらず、過去の治療、患者の臨床歴などに依存し、全てが治療する医師の裁量による。抗体または薬剤は、一度に投与することができ、数日から数ヶ月間継続するもしくは一連の治療の間、投与することができ、または治療が実現されるか、もしくは疾患状態の退縮（例えば、腫瘍サイズの縮小）に達するまで投与することができる。最適な投与計画は、患者の体内の薬物蓄積量の測定量から計算することができ、個々の抗体または薬剤の相対的能力に応じて変動する。投与する医師は、最適な投与量、投与方法および繰り返し速度（repetition rates）を容易に決定することができる。特定の実施形態において、投与量は、0.01 μg ~ 100 mg / kg 体重であり、1日、1週間、1ヶ月または1年あたり1回以上与えることができる。特定の実施形態において、抗体または他のCD37結合剤は、1週間に1回、2週間ごとに1回、または3週間ごとに1回与えられる。特定の実施形態において、抗体またはCD37結合剤の投与量は、約0.1 mg ~ 約20 mg / kg 体重である。治療する医師は、体液または組織中で測定された薬物の滞留時間および濃度に基づき、投与の繰り返し速度を推定することができる。

30

40

#### 【0145】

併用療法は、「相乗作用」をもたらし、「相乗性」（即ち、有効成分を共に用いた場合に実現された作用が化合物を別個に用いて得られた作用の合計よりも大きいこと）を立証することができる。相乗作用は、有効成分が（1）混和された単一投与剤型で共配合されて、同時に投与もしくは送達された場合；（2）別個の配合剤として交互に、もしくは並行して送達された場合；または（3）他の投与計画により送達された場合に、実現され得る。交替療法で送達された場合、相乗作用は、例えば別のシリンジでの異なる注射により、化合物を逐次投与または送達された場合に達成され得る。一般に交替療法の間は、各有効成分の効果的な投与量が逐次、即ち連続して投与されるが、併用療法では、2種以上の

50

有効成分の効果的な投与量が共に投与される。

【0146】

本開示の実施形態は、本開示の特定の抗体の調製および本開示の抗体を用いる方法を詳細に記載した以下の非限定的実施例を参照することにより更に定義することができる。材料および方法の両方に加えられる多くの改良が、本開示の範囲を逸脱することなく実践され得ることは、当業者に認識されよう。

【実施例】

【0147】

本明細書に記載された実施例および実施形態が、例示目的に過ぎないこと、およびそれを考慮した様々な改良または変更が、当業者に示唆され、本願の主旨および範囲に含まれることは、理解されよう。

【0148】

実施例 1

細胞試料中のCD37の免疫組織化学的染色 - 手法

ホルマリン固定パラフィン包埋された細胞ペレットおよび組織を、以下の染色試薬および条件と共に被験試料として用いた。

【0149】

ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) された患者リンパ腫生検を、ネズミ抗CD37抗体クローンCT1 (muIgG1、Leica、Cat# NCL-CD37)、ネズミ抗CD20抗体クローンL26 (muIgG2a、Dako Cytomation、Cat# M0755) およびCoulterからの各アイソタイプ対照muIgG1およびmuIgG2a抗体で、以下の通り染色した。試料を含むスライドを、乾燥オープンにおいて60で30分間焼結させ、以下の溶媒：キシレン、無水EtOH、95% EtOHおよび水、に逐次浸漬することにより脱パラフィンおよび再水和した。Decloaker中pH9.5のBorgバッファー (Biocare Medical) において抗原回復させた後、スライドをPBS (Gibco) で洗浄し、切片を2%正常ウマ血清 (Vector Labs) およびアビジン-ビオチンブロック (4滴/mL、Vector Labs) 含有PBSで30分間ブロッキングした。一次抗体の検量線用溶液を調製するために、CD37被験物質およびCD37アイソタイプ対照物質を、それぞれ希釈液 [2%正常ウマ血清およびビオチン (4滴/mL) 含有PBS] で4.0 μg/mLに希釈した。CD20被験物質およびCD20アイソタイプ対照物質を、それぞれ希釈液で0.5 μg/mLに希釈した。スライドをPBSで洗浄し、被験物質 (抗CD37または抗CD20) または対照物質 (muIgG1またはmuIgG2a) と共に室温で60分間インキュベートした後、10 μg/mL ビオチン化ウマ抗マウスIgG (H+L) 二次抗体 (Vector Labs) と共に30分間インキュベートした。スライドをPBSで再度洗浄して、アビジン-ビオチンペルオキシダーゼ複合体 (Vector Labs) と共に40分間インキュベートして、結合した二次抗体を検出した。DAB (3,3'-ジアミノベンジジン四塩酸塩、Dako Cytomation) と共に5分間インキュベートして、カラー信号を得た。発色した組織切片を含むスライドを、ヘマトキシリン (Biocare Medical) を充填した容器に4分間浸漬することにより対比染色させた。スライドの過剰の染色液を洗浄した後、炭酸リチウム溶液 (0.135 M Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水性溶液、Sigma Aldrich) に急速浸漬して、青色の核染色を増強した。スライドを、それぞれ95%および100% EtOHでの2回のすすぎ洗いを行い、その後のそれぞれ1分間のキシレンでの4回の洗浄により脱水した。封入剤 (Richard Allan Scientific) を用いて、カバーガラスをスライドに載せた。

【0150】

FFPE試料は、表1に概要された通り、腫瘍マイクロアレイ、および3つの異なるCLL腫瘍のヒト組織ブロックから得た。

10

20

30

40

## 【表 1】

表 1. FFPE 被験試料

FFPE ヒト組織試料	説明	供給元
組織マイクロアレイ	39 例	Bi o m a x   C a t # L Y M 4 0 1
	48 例	Bi o m a x   C a t # L M 4 8 2
C L L	FFPE ブロック   3 個	A n a l y t i c a l   B i o c h e m i c a l   S e r v i c e s

## 【0151】

CD37 被験物質であるネズミ抗 CD37 抗体クローン CT1 を、huCD37 抗原への結合特異性を決定するために試験した。報告された IHC 染色法を利用して、300 - 19、および huCD37 細胞ペレットでトランスフェクトされた 300 - 19 (300 - 19 / huCD37) の FFPE 切片を染色して、CD37 について評価した。CD37 被験物質は、300 - 19 / huCD37 細胞を特異的に染色し、300 - 19 細胞における染色を回復しなかった (それぞれ 3 ホモおよび陰性; 図 1 参照)。これらの結果から、クローン CT1 が huCD37 抗原を特異的に標的とすることが、実証された (図 1)。ヒト正常脾臓の FFPE 切片も染色して、CD37 について評価した。図 2 に示された通り、白脾臓 (B リンパ球が豊富なリンパ濾胞を含む) は強い CD37 染色を示したが、赤脾臓 (単球および赤血球を含む) は、CD37 染色をほとんど、または全く示さなかった。

## 【0152】

各被験物質および対照物質と組織および細胞ペレットとの免疫反応性は、顧問の病理学者 David Dorfman 博士により決定された。試料を最初、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) からなる大細胞、またはマントル細胞リンパ腫 (MCL)、粘膜関連リンパ組織 (MALT)、濾胞性リンパ腫 (FL)、慢性リンパ性白血病 (CLL)、小リンパ球性白血病 (SLL) からなる小細胞、のいずれかに分類した。小細胞群を更に、各小細胞サブタイプに分類した。

## 【0153】

評価された各組織については、染色強度および染色均一性の説明を、報告した。染色強度スコアおよび均一性スケールを、表 2 に記載する。評価された各組織試料の最終報告スコアは、被験物質のスコアから各対照物質のスコアを差し引いたものである。各試料の ABC (細胞 1 個あたりの結合抗体) レベルは、染色スコアを校正された細胞ペレット対照と比較することにより推定した。

## 【表 2】

表 2. CD37 抗体クローン CT1 と FFPE 組織試料との免疫反応性を評価するために用いられた強度スコアおよび均一性スケール

強度 (染色量)		均一性 (染色細胞の数)	
0	陰性		
1	弱い	0	陰性
2	中度	限局性	< 25 %
3	強い	不均一 (ヘテロ)	25 ~ 75 %
3+	非常に強い	均一 (ホモ)	> 75 %

## 【0154】

腫瘍細胞株中の CD37 発現レベルは、抗 CD37 抗体 - PE コンジュゲートおよび QuantibRITE システム (BD Biosciences) を用いて決定した。複数の B 細胞悪性腫瘍細胞株が、試験に含まれた。信頼性のある ABC 値を得るために、抗体 - PE コンジュゲートを用いた結合実験は、飽和濃度 (全ての使用可能な結合部位がコンジュゲートに占有された濃度) で実施しなければならない。抗 CD37 抗体 - PE コンジュゲートのそのような濃度を決定するために、結合実験を様々な CD37 発現レベルの CD37 陽性細胞株のパネルで実施した。細胞を広い濃度範囲の PE コンジュゲートと共

に氷上で2時間インキュベートし、FACS緩衝液(1%BSAを含むPBS)で洗浄し、PBS中の1%ホルムアルデヒドで固定して、FACSCaliburフローサイトメーター(BD Biosciences)で分析した。コンジュゲートが全ての被験細胞株の細胞表面結合部位を飽和する濃度を、決定する。次の結合ABC実験において、PEコンジュゲートをその濃度で使用した。各試料を二重測定または三重測定で分析し、各細胞株について複数の独立した実験を実施した。

#### 【0155】

細胞1個あたりの結合抗体(ABC)値は、細胞を飽和濃度のフィコエリトリン(PE)標識抗CD37抗体(huCD37-PE)で染色することによるフローサイトメトリー法を利用して、陽性対照細胞株、Dauidi細胞、Ramos細胞およびRLのそれぞれでCD37について決定した。その後、フローサイトメトリーにより均一レベルのCD37および異なるABC値を発現するDauidi細胞、Ramos細胞、およびRL陽性対照細胞が、IHCにより様々なレベルの染色強度も示すように、免疫組織化学的染色条件をCD37について最適化した(図3および図4参照)。Dauidi細胞、およびRamos細胞は、均質な染色を高強度で示したが、RLの染色は強度がより低く、不均質なパターンであった。細胞ペレットから観察されたCD37染色強度の傾向は、報告されたABC値に対応し、360,000および120,000ABCより高いABC値は、55,000のABC値よりも強い染色をもたらした。染色の結果および各ABC値を、表3に列挙する。それぞれ同様のレベルのCD20およびCD37を発現する細胞ペレットでCD20およびCD37の染色スコアが同様になるように、CD20染色を最適化した(図5参照)。

#### 【表3】

表3. 細胞株でのCD37のABC値および各染色結果

細胞株	CD37	
	ABC	スコア
Dauidi細胞、	360,000	3ホモ
Ramos細胞	120,000	3ホモ
RL	55,000	3ヘテロ

#### 【0156】

評価された新生物細胞型のうち、B-NHLでは、CD37が主に発現された(表4)。免疫組織化学的測定により、様々なレベルでの均一なCD37発現が、FL、MALTリンパ腫、DLBCL、BL、およびMCLなどのサブタイプをはじめとするB細胞NHLにおいて実証された(図6参照)。図6において実証される通り、ほとんどのNHL試料が、IHCスコア2以上のCD37の発現を示す。これは、ABC値が55,000以上のDauidi細胞、Ramos細胞およびRLなどの対照細胞株ペレットの染色レベルに対応する。CD37について染色されたリンパ腫試料を示す代表的写真を、図7に示す。T細胞リンパ腫および多発性骨髄腫(MM)試料は、CD37またはCD20のいずれについても染色を示さなかった。

#### 【表4】

表4. 新生物細胞型におけるCD37およびCD20の染色結果の概要

新生物細胞型	染色された試料の数	1ヘテロ以上の試料の数	
		CD37	CD20
非ホジキンリンパ腫	56	49(88%)	53(95%)
ホジキンリンパ腫	12	1(8%)	1(8%)
T細胞リンパ腫	3	0	0
多発性骨髄腫	10	0	0

#### 【0157】

#### 実施例2



S U - D H L - 4 ( ヒト D L B C L ) 異種移植片を担持する雌 C B . 1 7 S C I D マウスにおける h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 の抗腫瘍活性

この試験において、C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 の抗腫瘍活性 ( 腫瘍体積中央値、 $\text{mm}^3$  ) を、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫モデルである皮下 S U - D H L - 4 腫瘍を担持する雌 S C I D マウスにおいて評価した。マウスを、体重により群に無作為化した (  $n = 10$  匹 / 群 ) 。治療は、無作為化の翌日であり、群は、P B S (  $200 \mu\text{L}$  / 注射 ) 投与対照群、h u C D 3 7 - 3 抗体投与群、および非開裂性 h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲート投与群とした。治療は、抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 の  $10 \text{ mg}$  蛋白質 /  $\text{kg}$  / 注射を単一静脈内ボラス投与として施された。治療は全て良好に耐容され、P B S 対照動物と同様に体重減少はなかった。P B S 対照動物 10 匹中 10 匹が腫瘍を発症し ( 腫瘍生着率  $100\%$  ) 、細胞接種後 37 日目の腫瘍体積中央値が  $1000 \text{ mm}^3$  に達した。腫瘍体積の中央値および平均値を、各治療群について計算した。加えて各治療について、各治療群の腫瘍体積中央値をビヒクル投与群の腫瘍体積中央値で割った値に対応する % T / C 値を計算した。% T / C 値が  $42\%$  以下の治療は活性と見なされ、% T / C 値が  $12\%$  以下の治療は、高活性と見なされる。

#### 【0158】

h u C D 3 7 - 3 抗体 (  $10 \text{ mg}$  /  $\text{kg}$  / 注射 ) の単回静脈内投与は、本試験において  $32\%$  T / C であり活性であったが、無腫瘍生存体 ( T F S ) はなかった。h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 (  $10 \text{ mg}$  /  $\text{kg}$  / 注射 ) は、% T / C が  $1\%$  で高活性であった。単回静脈内投与 (  $10 \text{ mg}$  /  $\text{kg}$  / 注射 ) としての h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 のみの抗腫瘍活性 ( 腫瘍体積中央値、 $\text{mm}^3$  ) を、図 8 に示す。

#### 【0159】

( 参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第 2011 / 0256153 号 ) の実施例 17 に概説される通り、雌皮下 S U - D H L - 4 腫瘍を担持する S C I D マウスにおける h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 を評価するために、追加試験を実施した。動物を体重により投与群に無作為に分けて、細胞接種後 15 日目に、 $10 \text{ g}$  /  $\text{kg}$  の h u C D 3 7 - 3 A b または h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 のいずれかを 1 回投与した。細胞接種後 38 日目の % T / C 値は、h u C D 3 7 - 3 または h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 でそれぞれ  $34\%$  または  $4\%$  に相当した。細胞接種後 74 日目に、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 治療は、10 匹中 8 匹の無腫瘍生存体をもたらした。T F S は、h u C D 3 7 - 3 抗体または P B S ビヒクル対照群では観察されなかった。h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートは、このモデルでの  $2.5$  または  $5 \text{ mg}$  /  $\text{kg}$  の単回投与でも強い有効性を示し、細胞接種後 37 日目の % T / C 値がそれぞれ  $18\%$  および  $6\%$  であった。それゆえ、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 は、 $10 \text{ mg}$  /  $\text{kg}$  を単回投与された S U - D H L - 4 モデルにおいて高活性であり、 $2.5 \text{ mg}$  /  $\text{kg}$  の単回投与では活性であった。

#### 【0160】

##### 実施例 3

ヒト濾胞性リンパ腫モデルである D o H H 2 異種移植片を担持する S C I D マウスにおける h u C D 3 7 抗体 h u C D 3 7 - 3 、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 および標準治療用化学療法剤の抗腫瘍能

この試験において、h u C D 3 7 - 3 抗体、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 、リツキシマブ ( 登録商標 ) 、および C V P ( シクロホスファミド、ビンクリスチンおよびブレドニゾン ) の抗腫瘍活性を、ヒト濾胞性リンパ腫モデルである D o H H 2 腫瘍を担持する雌 S C I D マウスにおいて検討した。腫瘍細胞接種後 11 日目に、マウス 81 匹を腫瘍体積により 9 群に無作為化した (  $n = 9$  匹 / 群 ) 。治療は、無作為化の翌日 ( 12 日目 ) に開始し、群には、P B S (  $200 \mu\text{L}$  / 注射 ) を投与された対照群と 10、5、または  $2.5 \text{ mg}$  /  $\text{kg}$  の h u C D 3 7 - 3 抗体または h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コ

10

20

30

40

50

ンジュゲートのいずれかを単回静脈内投与された6群と、2 mg / k g 静脈内リツキシマブ抗体投与を週2回×3で6回投与された1群と、0.2 mg / k g プレドニゾンの1日5回の経口投与と共に、40 mg / k g シクロホスファミドおよび0.5 mg / k g ビンクリスチンを単回静脈内投与された1群と、が含まれた。

#### 【0161】

10、5、および2.5 mg / k g の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートでの単回投与、ならびに2 mg / k g / 注射でのリツキシマブ抗体の週2回×3での治療は、良好に耐容され、P B S 対照動物と同様に体重減少はなかった。C V P での治療が毒性となり、1匹は、薬物による死亡に関連し、12%の平均体重減少となった(18日目が最低点)。この動物は、データ解析から除外した。

10

#### 【0162】

P B S 対照動物の9匹中9匹が腫瘍を発症し(腫瘍生着率100%)、細胞接種後19日目の腫瘍体積中央値が800 mm<sup>3</sup>に達した。腫瘍体積の中央値および平均値を、各投与群について計算した。2.5および5 mg / k g の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートでの単回静脈内投与、ならびにリツキシマブ(登録商標)抗体(2 mg / k g、週2回投与×3週)は、この試験では42% T / C を超えており不活性であった。10 mg / k g の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートでの単回静脈内投与は、それぞれ37%および16% T / C で活性であった。投与されたC V P の用量および計画での治療は、2% T / C で高活性であったが、この投与計画での耐容される用量を超えていた。D o H H 2 ヒト腫瘍異種移植片を担持するS C I D マウスにおけるh u C D 3 7 - 3 抗体、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1、および標準化学療法剤の抗腫瘍活性(腫瘍体積中央値、mm<sup>3</sup>)を、図9に示す。このモデルにおける単回静脈内投与(10 mg / k g / 注射)としてのh u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 のみの抗腫瘍活性(腫瘍体積中央値、mm<sup>3</sup>)を、図10に示す。

20

#### 【0163】

##### 実施例4

ヒトB細胞慢性リンパ性白血病(C L L)モデルであるJ V M - 3 異種移植片を担持するS C I D マウスにおける抗体h u C D 3 7 - 3、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1、および標準治療薬の抗腫瘍能

30

この試験において、h u C D 3 7 - 3 抗体、非開裂性コンジュゲートh u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1、および標準治療薬2種：C D 2 0 を標的とする抗体オファツムマブおよび化学療法剤のベンダムスチンの抗腫瘍活性を、B細胞慢性リンパ性白血病モデルにおいて、雌S C I D マウスに皮下移植されたJ V M - 3 (C D 3 7 + / C D 2 0 +)細胞を利用して評価した。腫瘍細胞接種後6日目に、マウス90匹を腫瘍体積により9群に無作為化された(n = 10匹/群)。治療は、無作為化の翌日に開始し、群には、P B S (200 μL / 注射)を投与された対照群、h u C D 3 7 - 3 抗体、非開裂性h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲート、オファツムマブ抗体およびベンダムスチンが含まれた。治療は、10、5、および2.5 mg / k g の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 の単回静脈内投与、5 mg / k g オファツムマブの週2回×3、ならびに50 mg / k g ベンダムスチンの単回投与として施された。

40

#### 【0164】

10、5、および2.5 mg / k g の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートでの単回投与、ならびに5 mg / k g / 注射のオファツムマブ抗体の週2回×3の治療は、良好に耐容され、P B S 対照動物と同様に体重減少はなかった。ベンダムスチンでの治療は耐容され、8%の平均体重減少となった(9日目が最低点)。P B S 対照動物の10匹中10匹が腫瘍を発症し(腫瘍生着率100%)、細胞接種後16日目の腫瘍体積中央値が500 mm<sup>3</sup>に達した。腫瘍体積の中央値および平均値を、各投与群について計算した。結果は、接種後の日数に対して、腫瘍体積中央値および腫瘍体積平均値をプロットした。標準治療薬オファツムマブ(5 mg / k g、週2回

50

× 3 ) およびペンダムスチン ( 5 0 m g / k g の静脈内単回投与 ) での治療は、この試験ではそれぞれ 3 9 % および 3 1 % T / C で活性であった。2 . 5 m g / k g の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートでの単回静脈内投与は、この試験では不活性であり、4 2 % T / C を超えていた。1 0 m g / k g の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートでの単回静脈内投与は、それぞれ 2 9 % および 2 6 % T / C で活性であり、中間の用量 ( 5 m g / k g 単回注射 ) の h u C D 3 7 - 3 抗体および h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 コンジュゲートでの治療は、それぞれ 3 1 % および 1 6 % T / C で活性であった。J V M - 3 ヒト異種移植片を担持する S C I D マウスにおける h u C D 3 7 - 3 抗体、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1、オフアツムマブおよびペンダムスチンの抗腫瘍活性 ( 腫瘍体積中央値、mm<sup>3</sup> ) を、図 1 1 に示す。このモデルにおける単回静脈内投与としての h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 のみの抗腫瘍活性 ( 腫瘍体積中央値、mm<sup>3</sup> ) を、図 1 2 に示す。

#### 【 0 1 6 5 】

##### 実施例 5

異種移植片モデルにおける単回静脈内投与 ( 1 0 m g / k g / 注射 ) としての h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 の抗腫瘍活性 ( 腫瘍体積中央値、mm<sup>3</sup> ) と、I H C 染色スコアとの相関

h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 の抗腫瘍効果を、実施例 2、3、および 4 に記載された 3 種のリンパ腫移植片モデルにおいて評価し、実施例 1 に記載された I H C により決定された各 C D 3 7 発現と相関させた。マウス異種移植片腫瘍モデルから調製された F F P E 試料を、実施例 1 に記載された用手法でのアッセイ方法を利用して C D 3 7 陽性について評価した。以下の細胞株から得られた F F P E マウス異種移植片組織は、以下の染色パターンを示した：S U - D H L - 4 は均質な染色パターンでレベル 3 強度を示し、D O H H - 2 は均質な染色パターンでレベル 2 および 3 強度を示し、J V M - 3 は不均質なパターンでレベル 2 および 3 強度を示した。腫瘍異種移植片の代表的な写真と、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 ( 1 0 m g / k g / 注射 ) の単回静脈内投与での各 i n v i v o 活性を、図 8、1 0 および 1 2 に示す。各異種移植片についての i n v i v o 活性および各 C D 3 7 染色スコアの概要を、表 5 に示す。評価された 3 種の異種移植片のうち、発現が最も高い ( 3 ホモ ) の腫瘍は、h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 での治療の際に最高の活性も示した。他の 2 種のモデルは、より低い発現およびより低い活性を示した。

#### 【表 5】

表 5. 異種移植片モデルにおける h u C D 3 7 - 3 - S M C C - D M 1 の i n v i v o 活性および各 C D 3 7 染色スコア

異種移植片モデル	単回静脈内投与での活性 ( 1 0 m g / k g / 注射 )	C D 3 7 I H C 染色スコア
S U - D H L - 4 ( ヒト D L B C L 由来 )	高活性	3 ホモ
D O H H - 2 ( ヒト F L 由来 )	活性	2 ~ 3 ホモ
J V M - 3 ( ヒト C L L 由来 )	活性	2 ~ 3 ヘテロ

#### 【 0 1 6 6 】

##### 実施例 6

ホルマリン固定パラフィン包埋 ( F F P E ) された試料における C D 3 7 の免疫組織化学的染色 - 自動化法

I H C 染色アッセイでは、被験物質としてのネズミ抗 C D 3 7 抗体クローン C T 1 ( L e i c a Cat # N C L - C D 3 7 ) およびネズミ I g G 1 アイソタイプ対照 ( L e i c a , Cat # M O P C 2 1 A B ) を用い、L e i c a Bond R X 自動染

色装置で実施した。試料を含むスライドを60℃で焼結した後、パラフィンワックスを除去した。その後、過剰のパラフィンワックスを、Dewax溶液(Leica)で除去した。pH6.0のBond Epitope Retrieval Solution 1(ER1, Leica)での抗原回復の後、切片を3~4%過酸化水素でブロックした。一次抗体の検量線作成用溶液を調製するために、CD37被験物質およびアイソタイプ対照物質を、それぞれ抗体希釈液で4.2 µg/mLに希釈した。スライドを被験物質(抗CD37)、または対照物質(muIgG1)と共にインキュベートした後、ポスト一次試薬(post primary reagent)(ウサギ抗マウスIgG、Leica)と共にインキュベートし、その後、ポリマー(ヤギ抗ウサギIgG、Leica)と共にインキュベートした。スライドは、DAB(3,3'-ジアミノベンジン四塩酸塩、Leica)とのインキュベーションにより発色して、カラー信号が得られた。発色組織切片を含むスライドを、ヘマトキシリン(Leica)で対比染色し、その後、過剰な染料を洗浄して、連続での95%および100%ETOH浸漬と、続くキシリンでの浸漬により脱水した。封入剤(Richard Allan Scientific)を用いて、スライドにカバースリップを載せた。

#### 【0167】

染色された試料は全て、評価してスコア付けした。対照試料を最初に評価して、その後、被験試料(組織マイクロアレイからの切片全体および個々のスコア)を評価した。評価された各腫瘍組織または細胞ペレットについて、染色された腫瘍細胞の染色強度および各特性の説明を、報告した。膜関連染色を、各試料について記録した。患者1名から二重測定でスコアを評価した場合、高い方のスコアのみを解析に含めた。スコアが細胞質の染色のみを示している場合、最終的なスコアをゼロ(0)と報告した。強度および均一性スコアを、各試料に表6に記載された通り与えた。染色強度および分布パターンは、対照IgG染色(非特異的)に相対的にスコア付けした。強度は0~3のスケール(0=染色なし、1=弱い、2=中度、および3=強い)でスコア付けし、分布は限局的(染色細胞が25%未満)、不均質(染色細胞が25~75%)、および均質(染色細胞が75%を超える)とスコア付けした。正常な組織では、強度および特性を計算する際には、定義された部分構造のみを評価した。

#### 【表6】

表6. 強度および均一性スケールからなるIHCスコアシステム

強度(染色量)		均一性(染色細胞の数)	
0	陰性	0	陰性
1	弱い	限局的	<25%
2	中度	不均質(ヘテロ)	25~75%
3	強い	均質(ホモ)	>75%

#### 【0168】

FFPE腫瘍試料は、腫瘍マイクロアレイおよびヒト組織ブロックから得られた。

#### 【0169】

細胞(腫瘍細胞またはトランスフェクト細胞)を、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)した。フローサイトメトリーにより非常に様々なCD37発現を呈することが示されたFFPE細胞ペレット試料(Daudi細胞、Ramos細胞、ナマルバ、およびColo205)、正常なヒト組織(脾臓および扁桃)、および非ホジキンリンパ腫組織試料を用いて、陽性対照および陰性対照を特徴づけ、特異性を分析した。

#### 【0170】

アッセイ条件を決定するために、被験物質および対照物質の希釈範囲を、適切なレベルの感度を示す条件を選択するために試験した。実験は、CD37-陽性細胞ペレット、正常なヒト組織、およびCD37陽性非ホジキンリンパ腫試料からなる組織マイクロアレイをはじめとするFFPE試料のパネルで実施した。各試料を、被験物質濃度(2.1、4.2、および8.4 µg/mL)または対照物質の系列希釈物で染色した。試料は全て、

専門医師会認定の病理学者により評価およびスコア付けされ、小細胞型（濾胞性リンパ腫〔FL〕、マントル細胞リンパ腫〔MCL〕、MALT型辺縁帯B細胞リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、未分類の小細胞型リンパ腫、未分類の非ホジキンリンパ腫〔NHL〕）、または大細胞型（DLBCL）のいずれかとして分類した。各希釈での相対的染色強度を、各試料について比較して、最適希釈を同定した。最適希釈の基準は、1）アイソタイプ対照で染色された試料においてバックグランド染色を起こさなかった希釈、2）被験物質で染色された陰性組織対照で染色を起こさなかった希釈、および、3）該当する適応症（例えば、DLBCL、FL、CLL）を表す被験試料のうち、様々なレベルの膜関連CD37発現の間で差異を認めた希釈、であった。4．2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  被験物質濃度が、実験により最適希釈と同定され、それゆえ、特に有用な濃度である。大細胞型リンパ腫試料の染色結果の概要を表7に示し、各濃度のスコア分布のグラフを図13に示す。小細胞型リンパ腫試料の染色結果の概要を表8に列挙し、各濃度のスコア分布のグラフを図14に示す。

【表7】

表7．大細胞型リンパ腫試料の染色分布

スコア	各染色分類における試料数		
	8.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$	4.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$	2.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$
3ホモ	82	51	4
2～3ホモ	9	18	8
2ホモ	24	29	53
2ヘテロ	0	2	0
1～2ホモ	9	13	22
1～2ヘテロ	0	1	4
1ホモ	5	11	12
1ヘテロ	0	2	4
0～1ホモ	0	0	7
0～1ヘテロ	0	0	4
1限局的	0	0	1
0	3	4	12
合計	135	135	135

【表8】

表8．3つの濃度での小細胞型リンパ腫試料の染色分布

	F L			M A L T			M C L			未分類の小細胞型			未分類のNHL		
	濃 度 ( μ g / m L )														
スコア	8.4	4.2	2.1	8.4	4.2	2.1	8.4	4.2	2.1	8.4	4.2	2.1	8.4	4.2	2.1
3ホモ	8	6	2	3	—	—	2	2	—	12	6	—	2	2	1
2～3ホモ	2	1	1	—	2	—	—	—	—	1	5	1	—	—	—
1～3ホモ	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2ホモ	1	3	1	2	3	1	—	—	—	1	3	9	1	1	1
2ヘテロ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
1～2ホモ	—	—	3	—	—	1	—	—	—	—	—	3	—	—	—
1～2ヘテロ	—	—	—	1	1	2	—	—	2	—	—	1	—	—	—
1ホモ	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1ヘテロ	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—
0～1ホモ	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1限局的	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	—	—	—	—	—	1	—	—	—	3	3	3	1	1	1
合計	11			6			2			17 / 17 / 18			4		

## 【 0 1 7 1 】

## 実施例 7

アッセイの動的範囲を特徴づける対照の同定および特徴づけ - 自動化染色法

品質対照：正常なヒト脾臓のマントル層および辺縁帯、ならびに扁桃の胚帯およびマントル層を、各アッセイにおける陽性対照として用いて、染色手順が予測通り実践されたことを検証した。正常なヒト扁桃の濾胞間域および正常なヒト脾臓の赤脾髄を、陰性対照として用いた。これらの対照は、最適化および妥当性検査の際にアッセイ検証対照として用いた。これらの結果は、選択された対照が一貫した結果を与えることを確認するため、そしてそれらがアッセイの動的範囲に及ぶことを確認するためにレビューした。品質対照の模範的染色スコアを4種の染色濃度（2.1、4.2、8.4および16.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）で表9に列挙するが、それらは、一次抗体の濃度が被験試料の染色結果に影響を及ぼすことを示している。

【表 9】

表 9.

対照試料	アイソタイプ対照 (16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) D7	CD37抗体			
		(1:20、16.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) D1	(1:40、8.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) D2	(1:80、4.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) D4	(1:160、2.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) D6
Daudi細胞、細胞ペレット	0	3ホモ	3ホモ	3ホモ	2ホモ
Ramos細胞ペレット	0	3ホモ	2ホモ	2ホモ	2ヘテロ
RL細胞ペレット	0	2ヘテロ	2ヘテロ	1～2ヘテロ	1限局的
ナマルバ細胞ペレット	0	2ヘテロ	2ヘテロ	2ヘテロ	1限局的
Colo205細胞ペレット	0	0	0	0	0
正常ヒト脾臓	MG=0	MG=3ホモ	MG=3ホモ	MG=2ホモ	MG=1～2ホモ
	MT/F=0	MT/F=3ホモ	MT/F=3ホモ	MT/F=3ホモ	MT/F=2ホモ
	RP=0	RP=0	RP=0	RP=0	RP=0
正常ヒト扁桃	GC=0	GC=3ホモ	GC=3ホモ	GC=3ホモ	GC=3ホモ
	MT=0	MT=3ホモ	MT=3ホモ	MT=3ホモ	MT=2ホモ
	IF=0	IF=0	IF=0	IF=0	IF=0
MG=辺縁帯；MT=マントル層；IF=濾胞間；F=濾胞；GC=胚中心；RP=赤脾髄					

## 【 0 1 7 2 】

## 実施例 8

## 自動化染色法の性能分析

このアッセイの意図する用途は、B細胞悪性腫瘍において、CD37を再現性良く適切な感度で特異的に検出して、膜関連CD37発現の様々なレベルおよび均一性（最適な動的範囲）を識別することである。それゆえ、特異性、再現性、および感度が、性能基準と

して考慮される。

【0173】

試験アッセイの特異性および感度は、組織マイクロアレイのパネルを染色および評価することにより特徴づけた。染色を観察して、陽性染色が腫瘍組織に一貫して局在化されていて、基質、血管、および正常臓器組織などの正常な隣接組織成分が予測通り陰性または陽性であることを確認した。B細胞悪性腫瘍の各サブタイプについて、組織マイクロアレイ間の染色スコアの分布を観察した。同様のスコア分布から、この方法が良好に遂行されていて、様々な固定およびプロセッシング条件の微小な変動に対して過度に反応しなかったことが示唆される。試験アッセイの正確さも、様々なレベルのCD37を発現する細胞ペレットからなるFFPE試料：Dauidi細胞、(CD37発現レベルが高い)、Ramos細胞(CD37発現レベルが中程度)、ナマルバ(CD37発現レベルが低い)、およびColo205(陰性)、を用いてアッセイの実施内および実施間再現性を評価することにより検討した。加えて、正常なヒト脾臓(2試料)、正常なヒト扁桃、および辺縁帯リンパ腫試料が含まれた。実施内再現性については、それぞれが各対照の切片を含むスライド9枚を、Leica Bond RXの無作為な位置に配置させた。実施間再現性については、同じ試料の切片を含むスライド3枚を、3つの異なる実施日に染色した。実施内および実施間の両方の再現性実験のスライド全てを評価して、再現性があることを見出した。

10

【0174】

実施例9

20

IHCによるCD37染色スコアはhuCD37-3-SMCC-DM1の活性と関連する

huCD37-3-SMCC-DM1の能力および特異性を、広範囲のCD37発現を有するCD37陽性細胞株に対比して分析する。CD37発現レベルを、実施例1に記載された通りフローサイトメトリーにより決定する。あるいはCD37発現レベルを、実施例1に記載された用手法での染色方法を利用してIHCにより決定するか、または実施例6~8に記載された自動化染色法を利用してIHCにより決定する。能力は、実施例2~4に記載された適切なin vivo異種移植片モデルを利用して評価する。huCD37-3-SMCC-DM1の投与を、10mg/kg、5mg/kgまたは2.5mg/kgなどの用量で静脈内に実施する。加えて、CD37発現レベルが低い適切なCD37陽性細胞、例えばナマルバなどを用いることができる。活性の特異性を検証するために、Colo205などのCD37陰性細胞株を実験に含めることができる。

30

【0175】

本明細書に引用された全ての発行物、特許、特許出願、インターネットサイト、およびアクセション番号/データベース配列(ポリヌクレオチドおよびポリヌクレオチド配列の両方を含む)は、個々の発行物、特許、特許出願、インターネットサイト、およびアクセション番号/データベース配列が参照により本明細書に組み入れられることを具体的かつ個別に示したのと同程度に、全ての目的で全体として参照により本明細書に組み入れられる。

配列

40

【表 10】

SEQ ID NO:1 - ヒト CD37

MSAQESCLSLIKYFLFVFNLFVFLGSLIFCFGIWILIDKTSFVSFVGLAFVPLQIWSKVLAI  
SGIFTMGIALLGCVGALKELRCLLGLYFGMLLLLFATQITLGILISTQRAQLERSLRDVVE  
KTIQKYGTINPEETA AAEESWDYVQFQLRCCGWHYPQDWFQVLILRGNGSEAHRVPCSC  
YNLSATNDSTILDKVILPQLSRLGHLARSRHSA DICA VPAESHIYREGCAQGLQKWLHN  
NLISIVGICLGVGLLELGFM TLSIFLCRNLDHVYNRLAYR

可変性重鎖CDRアミノ酸配列：

抗体	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
CD37-3	TSGVS (SEQ ID NO:4)	VIWGDGSTN (SEQ ID NO:5)	GGYSLAH (SEQ ID NO:6)
CD37-12	KYGMN (SEQ ID NO:7)	WINTNTGESR (SEQ ID NO:8)	GTVVAD (SEQ ID NO:9)
CD37-38	SGFGWH (SEQ ID NO:10)	YILYSGGTD (SEQ ID NO:11)	GYGYGAWFVY (SEQ ID NO:12)
CD37-50	SGFAWH (SEQ ID NO:13)	YILYSGSTV (SEQ ID NO:14)	GYGYGAWFAY (SEQ ID NO:15)
CD37-51	SGFAWH (SEQ ID NO:16)	YIHYSGSTN (SEQ ID NO:17)	GYYGFGAWFVY (SEQ ID NO:18)
CD37-56	SGFAWH (SEQ ID NO:19)	YIHYSGGTN (SEQ ID NO:20)	GYYGFGAWFAY (SEQ ID NO:21)
CD37-57	SGFAWH (SEQ ID NO:22)	YILYSGSTV (SEQ ID NO:23)	GYGYGAWFAY (SEQ ID NO:24)
コンセンサス	S G F [AまたはG] W H (SEQ ID NO:25)	Y I [LまたはH] Y S G [GまたはS] T [D, VまたはN] (SEQ ID NO:26)	G Y Y G [YまたはF] G A W F [VまたはA] Y (SEQ ID NO:27)

10

20

【表 11】

可変性軽鎖CDRアミノ酸配列

抗体	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
CD37-3	RASENIRSNLA (SEQ ID NO:28)	VATNLAD (SEQ ID NO:29)	QHYWGTTWT (SEQ ID NO:30)
CD37-12	RASQSVSTSSYSYLY (SEQ ID NO:31)	YASNLAS (SEQ ID NO:32)	QHSWEIPYT (SEQ ID NO:33)
CD37-38	SASSSVTYMH (SEQ ID NO:34)	DTSKLAS (SEQ ID NO:35)	QQWISNPPT (SEQ ID NO:36)
CD37-50	SATSSVTYMH (SEQ ID NO:37)	DTSKLPY (SEQ ID NO:38)	QQWSDNPPT (SEQ ID NO:39)
		ヒト化 DTSNLPY (SEQ ID NO:40)	
CD37-51	SATSSVTYMH (SEQ ID NO:41)	DTSKLAS (SEQ ID NO:42)	QQWSSNPPT (SEQ ID NO:43)
CD37-56	SASSSVTYMH (SEQ ID NO:44)	DTSKLAS (SEQ ID NO:45)	QQWISDPPT (SEQ ID NO:46)
		ヒト化 DISNLAS (SEQ ID NO:47)	
CD37-57	SATSSVTYMH (SEQ ID NO:48)	DTSKLAS (SEQ ID NO:49)	QQWSDNPPT (SEQ ID NO:50)
		ヒト化 DISNLAS (SEQ ID NO:51)	
コンセンサス	S A [TまたはS] S S V T Y M H (SEQ ID NO:52)	D T S [KまたはN] L [AまたはP] [SまたはY] (SEQ ID NO:53)	Q Q W [IまたはS] [SまたはD] [NまたはD] P P T (SEQ ID NO:54)

30

40



【表 1 2 - 1】

可変性重鎖アミノ酸配列：

抗体	VH アミノ酸配列 (SEQ ID NO)
muCD37-3	QVQVKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTSGVSWVRQPPGKGLEWLGVIW GDGSTNYHSALKSRLSIKKDHKSQVFLKLNLSLQTDATATYYCAKGGYSLA HWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:55)
chCD37-3	QVQVKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTSGVSWVRQPPGKGLEWLGVIW GDGSTNYHSALKSRLSIKKDHKSQVFLKLNLSLQTDATATYYCAKGGYSLA HWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:56)
huCD37-3v1.0	QVQVQESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTSGVSWVRQPPGKGLEWLGVIW GDGSTNYHPSLKSRLSIKKDHKSQVFLKLNLSLTAADTATYYCAKGGYSLA HWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:57)
huCD37-3v1.1	QVQVQESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTSGVSWVRQPPGKGLEWLGVIW GDGSTNYHSSLKSRLSIKKDHKSQVFLKLNLSLTAADTATYYCAKGGYSLA HWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:58)
muCD37-12	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTKYGMNWVKQAQGKGLKWMG WINTNTGESRNAEEFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCGRGT VADWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:59)
chCD37-12	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTKYGMNWVKQAQGKGLKWMG WINTNTGESRNAEEFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCGRGT VADWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:60)
muCD37-38	DVLOESGPDLVKPSQSLTCTVTGYSTSGFGWHWIRQFPGNKLEWMAY

10

【表 1 2 - 2】

	ILYSGGTDYNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLRLSSVTEDTATYYCARGYYGYG AWFVYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:61)
chCD37-38	QVQLQESGPDLVKPSQSLTCTVTGYSTSGFGWHWIRQFPGNKLEWMAY ILYSGGTDYNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLRLSSVTEDTATYYCARGYYGYG AWFVYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:62)
huCD37-38	QVQLQESGPGLVKPSQSLTCTVSGYSITSGFGWHWIRQFPGKLEWMAYI LYSGGTDYNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLRLSSVTAADTATYYCARGYYGYG AWFVYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:63)
muCD37-50	DVQLQESGPDLLKPSQSLTCTVTGYSTSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYI LYSGSTVYSPSLKSRLSITRDTSKNHFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGYG AWFAYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:64)
huCD37-50	QVQLQESGPGLLKPSQSLTCTVSGYSITSGFAWHWIRQHPGNKLEWMGYI ILYSGSTVYSPSLKSRLSITRDTSKNHFFLQLNSVTAADTATYYCARGYYGYG AWFAYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:65)
muCD37-51	DVQLQESGPDLLKPSQSLTCTVTGYSSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYI HYSGSTNYSPSLKSRLSITRDTSSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGFGA WVYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:66)
huCD37-51	EVQLVESGPGLKPGESLCTVSGYSISSGFAWHWIRQFPGKLEWMGYI HYSGSTNYSPSLQGRISITRDTSSINQFFLQLNSVTASDTATYYCARGYYGFGA WVYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:67)
muCD37-56	DVQLQESGPDLVKPSQSLTCTVTGYSTSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYI IHYSGGTNYNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGF GAWFAYWGQGTLPVSA (SEQ ID NO:68)
huCD37-56	QVQLQESGPGLVKPSQSLTCTVSGYSITSGFAWHWIRQFPGKLEWMGYI HYSGGTNYNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLQLNSVTAADTATYYCARGYYGF GAWFAYWGQGTLPVSA (SEQ ID NO:69)
muCD37-57	DVQLQESGPDLLKPSQSLTCTVTGYSTSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYI LYSGSTVYSPSLKSRLSITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGYG AWFAYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:70)
huCD37-57	QVQLQESGPGLLKPSQSLTCTVSGYSITSGFAWHWIRQFPGKLEWMGYI LYSGSTVYSPSLKSRLSITRDTSKNQFFLQLNSVTAADTATYYCARGYYGYG AWFAYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO:71)

20

30

40

【表 13 - 1】

可変性軽鎖アミノ酸配列：

抗体	VL アミノ酸配列 (SEQ ID NO)
muCD37-3	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIRSNLAWYQQKQKSPQLLVNVAT NLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYCQHYWGTTWTFGGGTK LEIKR (SEQ ID NO:72)
chCD37-3	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIRSNLAWYQQKQKSPQLLVNVAT NLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGTYYCQHYWGTTWTFGGGTK LEIKR (SEQ ID NO:73)
huCD37-3 (1.0および1.1)	DIQMTQSPSSLSVSVGERVTITCRASENIRSNLAWYQQKPGKSPKLLNVAT NLADGVPSRFSGSGSGTDYSLKINSLQPEDFGTYYCQHYWGTTWTFGGGTK LEIKR (SEQ ID NO:74)
muCD37-12	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYLYWFQQKPGQPPLLIK YASNLASGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKR (SEQ ID NO:75)
chCD37-12	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYLYWFQQKPGQPPLLIK YASNLASGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKR (SEQ ID NO:76)
muCD37-38	QIVLTQSPAISASPGEKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS

10

【表 13 - 2】

	KLASGVPARFSGGGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISNPPTFGGGTKL EIKR (SEQ ID NO:77)
chCD37-38	QIVLTQSPAISASPGEKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGGGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISNPPTFGGGTKL EIKR (SEQ ID NO:78)
huCD37-38	DIVLTQSPASMSASPGERVTMTCSASSSVTYMHWYQQKPGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISNPPTFGGGTKL EIKR (SEQ ID NO:79)
muCD37-50	QIVLTQSPAISASPGEKVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLPGVPPGRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGSGTKL EIKR (SEQ ID NO:80)
huCD37-50	EIVLTQSPATMSASPGERVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKPGQSPKRWIYDTS NLPYGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGQGTKL EIKR (SEQ ID NO:81)
muCD37-51	QIVLTQSPAISASPGEKVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISNMEAEDAATYYCQQWSSNPPTFGSGTKL EIKR (SEQ ID NO:82)
huCD37-51	EIVLTQSPATMSASPGERVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKPGQSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPPTFGQGTKL EIKR (SEQ ID NO:83)
muCD37-56	QIVLTQSPAFMSASPGDKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGGGSGTSYSLTISTMEAEDAATYYCQQWISDPPTFGGGTKL EIKR (SEQ ID NO:84)
huCD37-56	DIVLTQSPAFMSASPGEKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKPDQSPKRWIYDTS NLASGVPSRFSGGGSGTDYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISDPPTFGQGTKL EIKR (SEQ ID NO:85)
muCD37-57	QIVLTQSPAISASPGEKVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGSGTKL EIKR (SEQ ID NO:86)
huCD37-57	EIVLTQSPATMSASPGERVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKPGQSPRRWIYDTS NLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGQGTKL EIKR (SEQ ID NO:87)

20

30

40

【表 14 - 1】

全長重鎖アミノ酸配列：

抗体	全長重鎖アミノ酸配列 (SEQ ID NO)
muCD37-3	QVQVKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTTSVSWVRQPPGKGLEWLGVIW GDGSTNYHSALKSRLSIKKDHSSQVFLKLNSLQTDATYYCAKGGYSLA HWGQGTLLTVSAAKTAPSVYPLAPVCGDGTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWM SGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLT CMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO:88)
chCD37-3	QVQVKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTTSVSWVRQPPGKGLEWLGVIW GDGSTNYHSALKSRLSIKKDHSSQVFLKLNSLQTDATYYCAKGGYSLA HWGQGTLLTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ

【表 1 4 - 2】

	DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:89)	
huCD37-3v1.0	QVQVQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLTTSQVSWVRQPPGKLEWLGVIW GDGSTNYHPSLKSRLSIKKDHKSQVFLKLNSLTAADTATYYCAKGGYSLA HWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:90)	10
huCD37-3v1.1	QVQVQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLTTSQVSWVRQPPGKLEWLGVIW GDGSTNYHSSLSKRLSIKKDHKSQVFLKLNSLTAADTATYYCAKGGYSLA HWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:91)	
muCD37-12	QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASGYTFTKYGMNWVKQAQGKGLKWMG WINTNTGESRNAEEFKGRFAFSLTASATAYLQINNLYEDTATYFCGRGT VADWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSTVLGCLVKGYFPEPV TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMLSPITCV VVDVSEDDPFDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIHQD WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQV TLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO:92)	20
chCD37-12	QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASGYTFTKYGMNWVKQAQGKGLKWMG WINTNTGESRNAEEFKGRFAFSLTASATAYLQINNLYEDTATYFCGRGT VADWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:93)	30
muCD37-38	DVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSTSGFGWHWIRQFPGNKLEWMAY ILYSGGTDYNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLRLLSSVTIEDTATYYCARGYYGYG AWFVYWGQGTLLTVSAAKTTTPSVYPLAPGSAAQTNSMVTGLGCLVKGYFP EPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESPLYTLSSSVTVPSMRPSETVTCNVAH PASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCTV VDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWL NGKEFKCRVNSAFAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLT CMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPMNTNGSYFVYSKLVNQKSN WEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK (SEQ ID NO:94)	
chCD37-38	QVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSTSGFGWHWIRQFPGNKLEWMAY ILYSGGTDYNPSLKSRLSITRDTSKNQFFLRLLSSVTIEDTATYYCARGYYGYG AWFVYWGQGTLLTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT	40



【表 1 4 - 3】

	VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:95)	
huCD37-38	QVQLQESGPGLVKPSQSLSTCTVSGYSITSGFGWHWIRQFPGKGLEWMAYILYSGGTDYNPSLKSRIITRDTSKNQFFLRLLSSVTAADTATYYCARGYYGYGAWFVYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:96)	10
muCD37-50	DVQLQESGPDLLKPSQSLSTCTVTGYISITSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYILYSGSTVYSPSLKSRISITRDTSKNHFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGYGAWFAYWGQGLTVVSAAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO:97)	
huCD37-50	QVQLQESGPGLLKPSQSLSTCTVSGYSITSGFAWHWIRQHPGNKLEWMGYILYSGSTVYSPSLKSRISITRDTSKNHFFLQLNSVTAADTATYYCARGYYGYGAWFAYWGQGLTVVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:98)	20
muCD37-51	DVQLQESGPDLLKPSQSLSTCTVTGYISSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYIHYSGSTNYSPSLKSRISITRDSSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGFGAWFVYWGQGLTVTVSAAKTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO:99)	30
huCD37-51	EVQLVESGPEVLKPGESLSLTCTVSGYISSGFAWHWIRQFPGKGLEWMGYIHYSGSTNYSPSLQGRISITRDSSINQFFLQLNSVTASDTATYYCARGYYGFGAWFVYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:100)	
muCD37-56	DVQLQESGPDLVKPSQSLSTCTVTGYISITSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYIHYSGGTNYNPSLKSRSVITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGFGAWFAYWGQGLTVPVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESPLYTLSSSVTVPSSMRPSETVTCNVAHPASSTKVDDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTOPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDW	40

【表 1 4 - 4】

	LNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSL TCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNQKSN WEAGNTFTCSVLHEGLHNHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO:101)
huCD37-56	QVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVSGYSITSGFAWHWIRQFPGKGLEWMGYI HYSGGTNYNPSLKSRSVITRDTSKNQFFLQLNSVTAADTATYYCARGYYGF GAWFAYWGQGLTLPVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:102)
muCD37-57	DVQLQESGPDLLKPSQSLSLTCTVTGYSITSGFAWHWIRQFPGNKLEWMGYI LYSGSTVYSPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARGYYGYG AWFAYWGQGLTLPVSAAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSTVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGDGSYFMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFRTPGK (SEQ ID NO:103)
huCD37-57	QVQLQESGPGLLKPSQSLSLTCTVSGYSITSGFAWHWIRQFPGKGLEWMGYI LYSGSTVYSPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTAADTATYYCARGYYGYG AWFAYWGQGLTLPVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:104)

10

20

【表 1 5 - 1】

全長軽鎖アミノ酸配列

抗体	全長軽鎖アミノ酸配列 (SEQ ID NO)
muCD37-3	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIRSNLAWYQQKQKSPQLLVNVAT NLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYYCQHYWGTTWTFGGGK LEIKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPVKS FNRNEC (SEQ ID NO:105)
chCD37-3	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIRSNLAWYQQKQKSPQLLVNVAT NLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGTYYCQHYWGTTWTFGGGK LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCFLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO:106)
huCD37-3 (1. 0および1. 1)	DIQMTQSPSSLSVSVGERVTITCRASENIRSNLAWYQQKPGKSPKLLNVAT NLADGVPSRFSGSGSGTDYSLKINSLSQPEDFGTYYCQHYWGTTWTFGGGK LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCFLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO:107)
muCD37-12	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYLYWFQQKPGQPPKLLIK YASNLAGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE

30

40

【表 15 - 2】

	RQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRNEC (SEQ ID NO:108)
chCD37-12	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYLYWFQQKPGQPPLLIK YASNLAGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:109)
muCD37-38	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISNPPTFGGGTKL EIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQN GVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC (SEQ ID NO:110)
chCD37-38	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISNPPTFGGGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:111)
huCD37-38	DIVLTQSPASMSAPGERVTMTCSASSSVTYMHWYQQKPGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISNPPTFGGGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:112)
muCD37-50	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLPGVGPGRFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGSGTKL EIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQN GVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC (SEQ ID NO:113)
huCD37-50	EIVLTQSPATMSAPGERVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKPGQSPKRWIYDTS NLPGVGPGRFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGGQTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:114)
muCD37-51	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTYSYSLTISNMEAEDAATYYCQQWSSNPPTFGSGTKL EIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQN GVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC (SEQ ID NO:115)
huCD37-51	EIVLTQSPATMSAPGERVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKPGQSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPPTFGGQTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:116)
muCD37-56	QIVLTQSPAFMSAPGDKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTYSYSLTISTMEAEDAATYYCQQWISDPPTFGGGTKL EIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQN GVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC (SEQ ID NO:117)
huCD37-56	DIVLTQSPAFMSAPGEKVTMTCSASSSVTYMHWYQQKPDQSPKRWIYDTS NLASGVPSRFSGSGSGTDYSLTISSMEAEDAATYYCQQWISDPPTFGGQTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:118)
muCD37-57	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSATSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTS KLASGVPARFSGSGSGTYSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGSGTKL

10

20

30

40

【表 15 - 3】

	EIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQN GVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPVKS NRNEC (SEQ ID NO:119)
huCD37-57	EIVLTQSPATMSASPGERVMTICSATSSVTYMHWYQQKPGQSPRRWIYDTS NLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSDNPPTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:120)

【表 16 - 1】

可変性重鎖ポリヌクレオチド配列

抗体	VH ポリヌクレオチド配列 (SEQ ID NO)
muCD37-3	cagggtgcagggtgaaggagtcaggacctggcctgggtggcgccctcacagagcctgtccattacatgcactg tctcagggttctcattaaccacctctggtgtaagctgggttcgccagcctccaggaaagggtctggagtg gctgggagtaatatgggtgacgggagcacaaactatcattcagctctcaaatccagactgagcatcaag aaggatcactccaagagccaagtgttcttaaaactgaacagctgcacaaactgatgacacagccagctact actgtgccaaaggaggtactcgttgctcactggggccaaggagctctggtcacagtctctgca (SEQ ID NO:121)
chCD37-3	aagcttgccaccatggctgtcctggcactgctcctctgctggtgacatacccaagctgtgtcctatcacagggtcagggtg aaggagtcaggacctggcctggtggcgccctcacagagcctgtccattacatgcactgtctcagggttctcattaaccac ctctggtgtaagctgggttcgccagcctccaggaaagggtctggagtggtctgggagtaatatgggtgacgggagcac aaactatcattcagctctcaaatccagactgagcatcaagaaggatcactcgaagagccaagtgttcttaaaactgaacagt ctgcaaaactgatgacacagccagctactactgtgccaaaggaggtactcgttgctcactggggccaaggagctctgg tcacagctctcagcctctacgaaggccc (SEQ ID NO:122)
huCD37-3v1.0	aagcttgccaccatgggttgagctgcatattctgttctggtggccaccgccaccggtgtgcactcacaagtcgaagtc caagaatctgtccaggtctggtggcccttcacaaactctgagcatcactgtaccgtttctggttttagccttaccacctc tggtgtgagttgggtacgccaccaccggtaagggtctgaatggctgggtgtaactctgggtgatggttccacaact accatccttcctcaagtcctccttagcatcaaaaaggatcacagcaaaagtcaagtttctgaaactgaatagctgac agcagccgatacagccactactatttgcgaagggtggttatagtctgacactgggtcaagggtaccctcgttaccgt ctctcagctagtaacaaaggccc (SEQ ID NO:123)
huCD37-3v1.1	aagcttgccaccatgggtgagctgtatcattctgttctgggtggcgacagctactgggttcactccaaagtgcaggta caagagtcgggctggtggtgcaccaagccagaccctctctatcactgtaccgttagcgggttctctctgacaacc agtggagtgagttgggtgagggcagccaccaggaaggagctggagtggtctgggggtatttggggcgacggcagca caaaactatcattcagctttaaactcgttctgcatlaaaaaagaccatagtaaatctcaagtttctgaaactcaatgact gacagccgcagacactgtactgtattactgcgcaaaaggagatacagctctggtcactggggacaggggacccctggt gaccgtgcatcccatcaacaaaggccc (SEQ ID NO:124)
muCD37-12	cagatccagttggtgcagctctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcgaagatctcctgcaagg cttctgggtatccttcacaaagtatggaatgaactgggtgaagcaggctcaaggaaagggtttaaagtg gatgggctggataaacacacactgagagtgcaagaatgctgaagaattcaaggacggtttgccttc tcttggaaacctctgccagcactgctatttgcagatcaaacctcaaatatgaggacacggctacat atttctgtggaaggggcacggtagtagcggactggggccaaggcaccactctcacagtctctca (SEQ ID NO:125)
chCD37-12	aagcttgccaccatgggtggtcatgcataatcctcttctggtcgtactgctaccggtgtgcactcacagattcagctgg ttcaaaagtggccagagctgaaaagccaggggaacagtgaaaataagttgcaaggcatccgggtacactttcacaaa gtacggcatgaactgggtcagcagggcagggcaagggtcctcaaatggatgggttgatcaataccaactggcg agtctaggaatgctgaggagtttaaggccggttgccttcagcctggagacaagtgccagcacagcttacctgcaaatc aacaatctgaagatgaggatacagcaacctatttctggcgccgagcactgtcgttgacagctggggacaagggtacca ccttgacttatccagtgccagcactaaggccc (SEQ ID NO:126)
muCD37-38	gatgtgcagcttcaggagtcaggacctgacctgggtgaacctctcagtcacttcaactcactgcactg tcactggctactccatcaccagtggtttggctggcactggatccggcagtttcaggaaacaagctgga atggatggcctacactctacagtggtggcactgactacaaccatctctcaaaagtcgaatctctatc

10

20

30

40



【表 16 - 2】

	actcgagacacttccaagaaccagttcttctcggttgagttctgtgactactgaggacacagccacat attactgtgcaagaggctactatggttacggggcctggtttgttactggggccaagggactctgtgtac tctctctca (SEQ ID NO:127)
chCD37-38	aagcttgccaccatgggttgagctgcatcttcttctggtcgctactgcaactggagtcacacaggtccagctgc aggaatctggccctgacctggtaagccatctcagagcctctcctgacctgcaactgttacaggatactcaatcacatcag gctttggctggcactggatcagacaatttccgggaacaagtggatggcttactatctgtatagcgggggtaccg attacaatcttccctcaagagccgaatctctatcaccagggaatacaagcaagaaccaatttttccgctcagctctgtg actaccgaagataccgctacttactattgtgccaggggctactatggatagtgcatggctcgtctattggggccaggga accctgggtgactctgagcctcctctaccaagggccc (SEQ ID NO:128)
huCD37-38	aagcttgccaccatgggttgagctgcatcttcttctggtcgctactgcaactggagtcacacaggtccagctgc aagagtcgggtcctgggtctgtaaacccagccagtcctcagctcactgtactgtctgtgctactctattaccagtgg gtcggctggcattggattaggcagtttccggtaaggggctggagtgatggcatatctgtacagcggagggaacc gattacaaccaagtctgaagagcaggatcagcattaccgggacacaagcaaaaaccagtttttctcggctgtctagt gttacagctgcagacaccgctacttactattgtctcgggttactatggctatggggttgggttggatggggacaag gcactctgtgacgtgacagccctcaacaaggggccc (SEQ ID NO:129)
muCD37-50	gatgtgcagcttcaggagtcaggacctgacctgttgaacctctcagtcacttctactcactgcaactg tcaactggctactccatcaccagtgtgtttgctggcactggatccggcagttccaggaaacaaactgga atggatgggtctacatactacagtggttagcactgtctacagccatctctcaaaagtcgaatctctatc actcgagacacatccaagaaccacttctctcagttgaattctgtactactgaggacacagccacat attactgtgcaagagggtactatggttacggcgctggttgcctactggggccaagggactctgtgtcac tctctctca (SEQ ID NO:130)
huCD37-50	aagcttgccaccatgggttggtctgcataatcttctggttgctactgtaccggagtcacacaggtgcagctgc aggagtcggcccgccctgctcaagccttctcagagctgtgagctgactgttctggtcactacagcataaccaggc gtttcgttggtcactggatcagacagcctccggcaacaactggagtgatgggatacactgtactcaggctcaact gtctattccctcctgaaatcccgatcagttaccctgtgacacttctaagaaccatttttctcagctgaacagcgtt accgcagctgacactgcaacctactactgtgccggggatatttgatagcggagcttggtcgttactggggccaagg caccctcttaactgtgagtcgtctcaccacaaaggggccc (SEQ ID NO:2)
muCD37-51	gatgtgcagcttcaggagtcaggacctgacctgttgaacctctcagtcacttctactcactgcaactg tcaactggctactccatcaccagtgtgtttgctggcactggatccggcagttccaggaaacaaactgga atggatgggtctacatactacagtggttagcactaactacagccatctctcaaaagtcgaatctctatc actcgagacacatccaagaaccagttctctcagttgaattctgtactactgaggacacagccacat attactgtgcaagagggtactatggtttcggcgctggttgttactggggccaagggactctgtgtcac tctctctca (SEQ ID NO:131)
huCD37-51	Aagcttgccaccatgggttggtctgcataatcttctggttgctactgtaccggagtcacacaggtgcagctgc tggagtcggcccgagagtgctgaaacccggcgaatcactgtccctgactgtaccgtgtcagggtalagcagcagc ggctttgctggcactggattcggcagttccaggcaagggactggaatggatgggctacatccattacagtggtcaac caattacagccctagcctgcaggccgaatctctattaccagggtatgtctatfaaccagttttctcagcttaattcgt gactgcctctgacacagcaactactattgcggcgtggtactacgggttcggagcctggttgtatactgggggtcaggg caccctgtcactgtctcagccgctctaccaagggccc (SEQ ID NO:3)
muCD37-56	gatgtgcagcttcaggagtcaggacctgacctgttgaacctctcagtcacttctactcactgcaactg tcaactggctactccatcaccagtgtgtttgctggcactggatccggcagttccaggaaacaaactgga atggatgggtctacatactacagtggttgccactaactacaacccatctctcaaaagtcgaatctctatc actcgagacacatccaagaaccagttcttctcagttgaattctgtactactgaggacacagccacatattactgtgcaa gaggctactatggtttcggggcctggttgcctactggggccaagggactctgtgtccc tctctctca (SEQ ID NO:132)
huCD37-56	aagcttgccaccatgggttgagctgcaattatctgttctcgtcgccaccgcaaccggcgctcactcccaggtgcagct gcaagaaagcggggcagattggttaaaccttccagctctctgagcttactgtaccgtatctggatagatcacatct ggcttcgctggcattggattcgcagtttccggcaaggggcttgagtgatgggggtatattcttggaggtacca actacaaccttccctgaagagtcgagttcaattaccaggacacttcaagaaccaattcttttgcagcttaattcagtg accgctgccgacaccgctacttactactgcggcggggtactatgggttgggtcctgttcgctactggggccaggg gacctctgtcccgtgtctcctcctcacaaggggccc (SEQ ID NO:133)
muCD37-57	gatgtgcagcttcaggagtcaggacctgacctgttgaacctctcagtcacttctactcactgcaactg tcaactggctactccatcaccagtgtgtttgctggcactggatccggcagttccaggaaacaaactgga atggatgggtctacatactacagtggttagcactgtctacagccatctctcaaaagtcgaatctctatc

10

20

30

40

【表 1 6 - 3】

	actcgcagacacatccaagaaccagttctctcgcagttgaattctctgactactgaggacacagccacatattactgtgcaa gagggtactatgggtacggcgccctggttctactggggccaagggactctggctactgtctctgca (SEQ ID NO:134)
huCD37-57	aaacttgcaccatgggcgtggagctgcacatctctgttctgggtggccacagcaactggcggtcacagtcaagtccaactg caggagagcggcccccggactctgaaaccatctcagtcactcagctgacatgtactgtgagcggctacagcattacctc aggcttcgcttggcatggatcaggcagttccccggaaaaggctctggagtggatggggtacattctgtacagcggcagta cagtgtattcacctccttgaatctaggatatcaatcacacgtgatacaagcaaaaalcagttctctccagctgaactcc gtcaccgccgcagacacagcaacctattatgtgtctcgcggalactacggatatggcgcatgttgcctattggggcca ggggacactctgaccgtttcccccctctcacaaagggccc (SEQ ID NO:135)

【表 1 7 - 1】

可変性軽鎖ポリヌクレオチド配列

抗体	VL ポリヌクレオチド配列 (SEQ ID NO)
muCD37-3	gacatccagatgactcagtcctccagctccctttctgtatctgtgggagaaactgtcaccatcacatgtc gagcaagtgaagaattatcgcagtaatttagcatgtgatcagcagaacagggaatactcctcagctcct ggtaaatgttgcacaaacttagcagatgggtgtgccatcaagggtcagtgccagtggatcaggcacacg tattccctcaagatcaacagcctgcagctgaagattttgggacttattactgtcaacattatggggtg ctacgtggagcttcgggtggagaccaccaagctggaaatcaaacgt (SEQ ID NO:136)
chCD37-3	gaattcgccaccatgagtgtgccactcaggctcctgggtgtgctgtgctgtggcttacagatgccagatgtgacatccag atgactcagctcaccagctccctttctgtatctgtgggagaaactgtcaccatcacatgtcgagcaagtgaagaatttcgca gtaatttagcatgtgtatcagcagaaacagggaatactcctcagctcctggctcaatgttgcaacaacttagcagatgggt ggcatcaagggtcagtgccagtggtatcaggcacacagattccctcaagatcaacagcctgcagctgaagattttggga cttattactgtcaacattatggggtactacgtggagcttcgggtggagccaccaagctggaaatcaaacgtacg (SEQ ID NO:137)
huCD37-3 (1.0および1.1)	gaattcgccaccatgggtgtggtcctgcatactctgtttctcgtggccacagccaccgggtgtcactctgatatacaaatgac tcaaaagcccttcagtttgagcgtgaagtgtgggtgaacgcgttaacaatcacctgtagagctagtgaatacatccgcagta atctcgcagtgtaccacaacaaagccaggtgaagtcacctaagctcctcgtgaattgtgtctaccaacctcgtgatgggtgtgc cttcacgattctctgtgttcagggtccgggtaccgattatcacttaagatcaactcactccaaccagaagatttcggtacatatta ctgtcaacactactgggttacgacctggacattcgggtcaagggtactaagctggaaatcaagcgtacg (SEQ ID NO:138)
muCD37-12	gacattgtgctaacacagctcctcgtctccttagctgtatctctgtggggcagaggggccaccatctcatgca gggcccagccaaagtgtcagtaacatctagctatagtattgtactgggtccagcagaaaccaggagacgc acccaaaactcctcatcaagtatgcataccacttagcatctgggtgccctgccagggtcagtgccagtggtg tctgggacagacttcacctcaacatccatcctgtggaggaggaggatactgcaacatattactgtcaac acagtggagattccgtacacgttcggagggggaccacaaactggaataaaacgg (SEQ ID NO:139)
chCD37-12	gaattcgccaccatgggtgtggtcctgtataatcctgtttcgtgggtgccaccgctactggcgctcatagtgtattgtactact cagtcaccagccagctctggcagtgctcctgggcccagcgtgccaccatctcctcggcctccacagtcctgtgagcacta gctcttattcctatctctactgtgttcaacagaagccaggacagcccccctaagctgtgctgaatgaagtcgctccaaactcgc cagcgggtcccgctagattctctgtgttcgggtagcgggaactgttttcaacttgaacatccaccccggtgaggaaaggga taccgcacitactattgtcaacactcttgggagattccttacaccttggaggagggaacaaagctcgaattaaagcgtacg (SEQ ID NO:140)
muCD37-38	caaatgtttcacccagctcctcagcaatcatgtctcatctccaggggagaaggtccatgacctgca gtgccagctcaagtgtaacttcatgcactgggtaccagcagaagtcaggcacctcccccaaaagatggat ttatgacacatcaaaactgcctctggagtcctgctcgtcgttcagtgccggtgggtctgggacctttac tctctcaaatcagcagcatggaggctgaagatgctgccacttattactgccagcagtggtgattagtaacc caccacgttcggagggggaccacagctggaattaaacgg (SEQ ID NO:141)
chCD37-38	gaattcgccaccatgggtgtggtcctgtatcatcctgtttcctgtggccacagctacagggtgtcattctcagattgtgctgac ccaatcaccagctattatgtccgctagccccggcgagaagtgcacatgacatgtagcgtagctcctctgtgactacat gcatgtgtatcaacagaagtcagggtaccagtcaccaagcgttgatctacgacacatcaaaactggcctccggagtcctg ccaggttcagcggagggtgggtccggcaccagttattcactgaccattatcctatgtgaagctgaagatgctgctactatta ttgtcaacaatggatttctaaccctccacaccttgggtggcggaacaaagctggagatcaagcgtacg (SEQ ID NO:142)

10

20

30

40

【表 17 - 2】

huCD37-38	gaattcgccaccatgggatggctctgattattctgttcttggctgccactgctactggcgctcactctgacattgtgctcaca cagttctccagcctcaatgtctgcttccccgggtgagcgggtgaccatgacatgctctgccagttccctcgacatatatgc attggtatcagcaaaacccggtaacctctccaaaagatggatctacgacactcaagcttgcacagcggtctctgcca gattttccgggtctgggtctggcacttcaacagctgaccattagttccatggaagctgaagctgacgccacctattactgt cagcagtggtttcaaatctctctaccttcggcgccggaaccaactggagataaagcgtacg (SEQ ID NO:143)
muCD37-50	caaattgttctcaccagttctccagcaatcatgtctgcatctccaggggagaaggtcaccatgacctgca gtgccacctcaagtgtgacttacatgcactgggtaccagcagaagtcaggcacctccccaaaagatggattatgacaca tccaaactgcttatggagtccttggctgttctcagtggttagtggtctgggacctcttactctctcacaatcagcagcatgg aggctgaagatgctgccacttattactgccagcagtgagtgataacccaccacgttcggctcggggacaaagtggga aataaagcgg (SEQ ID NO:144)
huCD37-50	gaattcgccaccatgggttggctcatgattattctgttcttgggtgctaccgcaacaggagtacatagtgcagatgctctac ccaaagtctgctactatgtctgccagccaggagagcgtgtgacctgacttgcctgcaacctcaagtgtgacatacat gcattggtatcagcaaaagcctggcaatccccctaaaagggtgagctacgatacttcaatctgccatagcgtgtgcccgc aagggttctccggagtggtgagtggtgaccagttatagctgacctcagttcaatggaagcagaggtgacgcaacctatt attgtcagcagtggtccgataatccccctactttgttcagggtacaagctggagattaagcgtacg (SEQ ID NO:145)
muCD37-51	caaattgttctcaccagttctccagcaatcatgtctgcatctccaggggagaaggtcaccatgacctgca gtgccacctcaagtgtgacttacatgcactgggtaccagcagaagtcaggcacctccccaaaagatggattatgacaca tccaaactgcttatggagtccttggctgttctcagtggtgagtggtctgggacctcttactctctcacaatcagcagcatgg aggctgaagatgctgccacttattactgccagcagtgagtgataacccaccacgttcggctcggggacaaagtggga aataaagcgg (SEQ ID NO:146)
huCD37-51	gaattcgccaccatgggatggagctgtattattctgttcttgggtgctactgctactggcgctcattccgagatagctctac ccagagccccgcaacctgagtgctctccctggggagcagtgactatgactgttccgaccttctcagttacatatat gcattggtatcagcaaaacctggacagctctccaaagcgttgatttacgacctccaaacctggcttcaggagttctctgc taggttcagcggatctgggtctggcacaagttatctaccattagttccatggagccgaagatgccgctacttactac tgtcagcagtggtgagcagcaacccccctacattcggcgagggaactaagctggagatcaaacgtacg (SEQ ID NO:147)
muCD37-56	caaattgttctcaccagttctccagcaatcatgtctgcatctccaggggagaaggtcaccatgacctgca gtgccagttcaagtgttacttacatgcactgggtaccagcagaagtcaggcacctccccaaaagatggattatgacacat ccaaactggttctggagtccttgcctcagtggtgggtggtctgggacctcttac tctctcacaatcagcaccatggaggtgaagatgctgccacttattactgccagcagtggttagtgacc caccacgtctggaagggggacaaactggaataaaacgg (SEQ ID NO:148)
huCD37-56	gaattcgccaccatgggtggtctgtatctctgttcttgggtgcaaccgctactggggtcactctgatattgtctgac acagagtcagccttcagtggtcttctcccgagaaaaggtcacaatgacttggcagcttctctcctcgacatacatg cattggtaccagcagaagcctgaccagagtcctaaagagtggtatctatgatacaagcaatctggcttccggtgtccctc ccgctttcagcggcgggaagcgggaactgactatagccttaccatctcctcaatggaagccgaggacgctgtacatatt actgccagcaatggatcagcagacctctacttctggacagggaacaaaattggaattaagcgtacg (SEQ ID NO:149)
muCD37-57	caaattgttctcaccagttctccagcaatcatgtctgcatctccaggggagaaggtcaccatgacctgca gtgccacctcaagtgtgacttacatgcactgggtaccagcagaagtcaggcacctccccaaaagatggattatgacaca tccaaactggttctggagtccttgcctcagtggtgagtggtctgggacctcttactctctcacaatcagcagcatgg aggctgaagatgctgccacttattactgccagcagtgagtgataacccaccacgttcggctcggggacaaagtggga aataaagcgg (SEQ ID NO:150)
huCD37-57	gaattcgccaccatgggttggctctgtattatctgttcttgggtgcaaccgccacaggcggttactccgagatcgtgtga ctcagagccagccaccatgtccgttccccggggagagagtgacaatgacttgttccgacaaagtctgtaacctac atgcattggtaccagcaaaacccaggacagagtcctcgttggattatgatacttcaacctggcttcaggcgttctc cccgttttctggtagtggtctgggacttctatagccttaccataagctctatggaagccgaggacgccgtacatacta ctgccagcagtggtgataacccccccaccttcggcgagggaacaaaattggaatcaaacgtacg (SEQ ID NO:151)

10

20

30

40

【表 18 - 1】

全長重鎖ポリヌクレオチド配列

抗体	全長重鎖ポリヌクレオチド配列 (SEQ ID NO)
chCD37-3	<p>aagcttgccaccatggctgtcctggcactgtcctctgctggtgacatacccaagctgtgtctatcacagggtgacagggtg  aaggagtcaggacctggcctgggtggcgccctcacagagcctgtccattacatgcactgtctcagggttctcatfaccac  ctctggtgtaagctgggttgcagcctccaggaagggtctggagtggtcgggagtaatatgggtgacgggagcac  aaactatcattcagctctcaatccagactgagcatcaagaagatcactccaagagccaagttttctaaactgaacagt  ctgcaaaactgatgacacagccacgtactactgtgccaaaggaggtactcgttggctcactggggccaaggagctctgg  tcacagtctctgcagcctctacgaaggcccatcagtttcccttgggtccaagttctaaatccacaagcggtggaacag  ctgcacttgggatgctctgtaaaagattttccctgagcctgtgacagtgaagtggaatagcggagcattgactcaggtgt  gcacacttttccgctgtgttcagtcctccggctgtactcactgtccagtgtcgtaacgctccctctagcagcttgggaa  cccgacctaactgtgaacgtcaaccataaaccatccaacacaaagggtgataagaagggtgaaccaagagctgtga  taagacacatacatgccctcctgtctgcaccagagctcctcggaggtccatctgtgttctgtttcccccaaacccaag  gacactcttatgactctcgtactccagaggtcactgtgtgtgtgtcagctgagccatgaagatccaggttaattcaa  ctggtaactgtgagtgagtcgaggttcacaatgccaaagacaaagccagggaggaataataatctacatcgggta  gtgagcgtctgaccgtgtcctccaaagattggctcaatggaaaagagtacaagtgaagggttccaacaaggctcttcc  cgtctccattgagaaaactatctccaaagccaaggggcagccacgggaacccaggtgtatacattgccccatctaga  gacgagctgaccaagaaccaggtgagctcactgtctgtcgaagggttttaccctctgacattgctgtagagtgaggag  tctaaccggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctggacagcgacgggagctcttctctactcca  agttgactgtagacaagtctagatggcagcaaggaaacgttttccctgctcagtaatgcaggtctctgcacaatcacta  taccagaatacactgtcccttagcccaagggtgactcga (SEQ ID NO:152)</p>
huCD37-3v1.0	<p>aagcttgccaccatgggtgagctgcattattctgttctggtggccaccgccaccgggtgtgactcacaagccaagtc  caagaatctgggtccaggtctgtgtgccccttcccaactctgagcatcactgtaccgtttctgttttagccttaccactc  tggtgtgagttgggtacgccaaccacccggtaagggtctcgaatggctgggtgtaatctgggtgagtggtccacaat  accatcttccctcaagtcgcccttagcatcaaaaaggatcagcaaaagtcgaagtttctgaaactgaatagtctgac  agcagccgatacagccactactatggcgaagggtggttatagtcttgcacactgggggtcaagggtaccctctgtaccgt  ctctcagctagtaccgaaggcccatcagtttcccttgggtccaagttctaaatccacaagcggtggaacagctgcact  gggatgctctgttaagattatttccctgagcctgtgacagtgaagtggaatagcggagcattgactcaggtgtgcacac  tttcccgctgtgtgtcagtcctccggtctgtactcactgtccagtgtcgtaacgctccctctagcagcttgggaaccaga  cctacatctgaacgtcaaccataaaccatccaacacaaagggtgataagaagggtgaaccaagagctgtgataagac  acatacatgccctcctgtctgcaccagagctcctcggaggtccatctgtgttctgtttcccccaaacccaaggacact  cttatgatctctgtactccagaggtcactgtgtgtgtgtcagctgagccatgaagatcccgaggttaattcaactggtga  cgtgagtgagtgaggttcacaatgccaaagaccaagccagggaggaataataatctacatcgggtagtgtgagc  gttctgaccgtgtcctccaaagattggctcaatggaaaagagtacaagtgaagggttccaacaaggctcttcccgctcc  cattgagaaaactatctccaaagccaaggggcagccacgggaacccaggtgtatacattgccccatctagagacga  gctgaccaagaaccaggtgagctcactgtgtgtcgaagggttttaccctctgacattgctgtagagtgaggagctaac  ggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctggacagcgacgggagctcttctctactccaagttga  ctgtagacaagctagatggcagcaaggaaacgttttccctgctcagtaatgcaggtctctgcacaatcactataccc  agaaatcactgtcccttagcccaagggtgactcga (SEQ ID NO:153)</p>
huCD37-3v1.1	<p>aagcttgccaccatgggtgagctgtatcattctgttctggtggcgacagctactgggttccactcccaagtgacaggtga  caagagtcgggctggattggctgcaccaagccagaccctctctatcactgtaccgttagcgggttctcttgacaacc  agtggagtgtgtgggtgagggcagccaccaggaagggtgagtggtgggtgatttggggcagggcagca  caaactatcattcagctctaaatctcgtgtgtccattaaaaaagaccatagtaaatctcaagtttccctgaaactcaatagcct  gacagccgacagacatgtactgtattactgcgcaaggaggtatagctgtgctcactggggacaggggacccgtgt  gaccgtgtcaccgcatcaacaaggcccatcagtttcccttgggtccaagttctaaatccacaagcggtggaacag  ctgcacttgggatgctctgtaaaagattttccctgagcctgtgacagtgaagtggaatagcggagcattgactcaggtgt  gcacacttttccgctgtgttcagtcctccggctgtactcactgtccagtgtcgtaacgctccctctagcagcttgggaa  cccgacctaactgtgaacgtcaaccataaaccatccaacacaaagggtgataagaagggtgaaccaagagctgtga  taagacacatacatgccctcctgtctgcaccagagctcctcggaggtccatctgtgttctgtttcccccaaacccaag  gacactcttatgatctctgtactccagaggtcactgtgtgtgtgtcagctgagccatgaagatcccgaggttaattcaa  ctgttacgtggatggagtcgaggttcacaatgccaaagaccaagccagggaggaataataatctacatcgggta  gtgagcgttctgaccgtgtccaccaagattgggtcaatggaaaagagtacaagtgaagggttccaacaaggctcttcc  cgtctccattgagaaaactatctccaaagccaaggggcagccacgggaacccaggtgtatacattgccccatctaga  gacgagctgaccaagaaccaggtgagctcactgtgtgtcgaagggttttaccctctgacattgctgtagagtgaggag</p>

10

20

30

40



【表 18 - 2】

	tctaaggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctggacagcgacgggagcttctctactcca agttgactgtagacaagcttagatggcagcaaggaaacgtttctctgctcagtaalgcatgaggctctgcacaactacta taccagaaatcactgtcccttagccaggggtgactcga (SEQ ID NO:154)
chCD37-12	aagcttgccaccatgggggtgctcatgataatcctcttctggtcgtactgctaccggtgtgactcagaltcagctgg ttcaaatggcccagagctgaaaaagccaggggaaacagtgaaaataagttgcaaggcatccgggtacatttcacaaa gtacggcatgaactgggtcaagcagggccagggcaagggtcctaaatggatgggttgatcaataacacactggcg agtctaggatgctgaggagtttaaggccgggttgccttcagcctggagacaagtgccagcacagcttacctgcaaatc aacaatctgaagtatgaggatacagcaacctatttctggcgccgcgactgtcgttgacagctggggacaagggtacca ccttgactgtatccagtgccagcactaagggccatcagtttcccttggctccaagttctaaatccacaagcggtggaa cagctgcactgggtgctcgttaagattatctcctgagcctgtgacagtgagctggaatagcggagcattgactcag gtgtgcacacttttcccgctgtgttcagctcctccggtctgtactcactgtccagtgtcgaaccgtccctctagcagctgg gaaccagacctacatctgaacgtcaaccataaaccatcaacacaaagtggtgataagaagttgaaccaaagagctg tgataagacacatacatgcccctctgtcctgcaccagagctcctggaggtccatctgtgtcctgtttcccccaaaccc aaggacactcttatgatctctgtactccagaggtcacctgtgtgtgtcgtgagcgtgagccatgaagatcccgaggttaatt caactggtacgtggatggagtcgaggttcacaatgccaagaccagccagggaggagcaatataattctacatcgg gtagtggagctgtgaccgtgtccaccaagattggctcaatggaaaagtgacaagtgcaaggtgtccaacaaggtct tcccgtcccatgagaaaactatctcaaaagccaaagggcgaccacgggaaccccaggtgtatacattgccccatct agagacgagctgaccaagaaccaggtgagctcactgtctgtgcaaggggtttaccctctgacattgctgtagagtg gagcttaacggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctggacagcgacgggagcttctctact ccaagtgtactgtagacaagcttagatggcagcaaggaaacgttttctcctgctcagtaatgcataaggctctgcacaatc actatacccagaaatcactgtcccttagccaggggtgactcga (SEQ ID NO:155)
chCD37-38	aagcttgccaccatgggggtgagtgatcttctgttttgggtggccaccgccactggagtcattcccaagtgcaactcc aggaatctggccctgacctgggttaagccatctcagagcctctccctgacctgactgttacaggatactaatcacatcag gcttggctggcactggatcagacaatttccgggaacaagttggaatggatgggttaccattctgtatagcgggggtaccg attacaatcttccctcaagagccgaatctctatcaccagggatacagaagaaccaatttttctcgcctcagctctgtg actaccgaagataccgctacttactattgtgccaggggtactatggatagtgatggttcgtctattggggccagggga accctggtgactgtgagcgtgctctaccaagggccatcagtttcccttggctccaagttctaaatccacaagcggt ggaaacagctgcactgggatgctcgttaagattatctcctgagcctgtgacagtgagctggaatagcggagcattgact tcagggtgtgcacattttcccgctgtgttcagctcctccggtctgtactcactgtccagtgctgaaccgtccctctagcag cttgggaacccagacctacatctgaacgtcaaccataaacatccaacacaaagtggtgataagaaggtgaaccaaag agctgtgataagacacatacatgcccctctgtcctgcaccagagctcctggaggtccatctgtgtcctgtttccccca aaccaagagcactcttatgatctctgtactccagaggtcactgtgtgtgttcgacgtgagccatgaagatcccgagg ttaattcaactgtgtacgtggatggagtcgaggttcacaatgccaagaccagccaggggagagcaatataattctaca tatcgggtgtgagcgttctgacgtgtcctcaccagattggctcaatggaaaagtgacaagtgcaaggtgtccaacaa ggctcttcccgctcccatgagaaaactatctcaaaagccaaagggcgaccacgggaaccccaggtgtatacattgcc ccatctagagacgagctgaccaagaaccaggtgagctcactgtctgtgcaaggggtttaccctctgacattgtgtgag agtgggagcttaacggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctggacagcgacgggagcttctcc tctactccaagtgactgtagacaagcttagatggcagcaaggaaacgttttctcctgctcagtaatgcataaggctctgca caatcactatacccagaaatcactgtcccttagccaggggtgactcga (SEQ ID NO:156)
huCD37-38	aagcttgccaccatgggttgagctgcatcatttttctggtcgtactgcaactggagtcactcaggtccagctgc aagagtcgggtcctgggtgtgaaaccagccagtcctcagctcacctgtactgtctctggctactctattaccagtg gttcggctggcattggattagcagtttccggtaaggggctggatggatggcataatcctgtacagcggaggaaacc gattacaacccaagctgaagagcaggtacgattacccgggacacaaagcaaaaaccagttttctcctggctgtctagt gttacagctgcagacaccgctacttactattgtctcgggttactatggctatggggctgtgtttgtgtattggggacaag gcactctgtgaccgtgagcagcgcccaacaaagggcccatcagtttcccttggctccaagttctaaatccacaagcg gtggaaacagctgcactgggatgctcgttaagattatctcctgagcctgtgacagtgagctggaatagcggagcattg acttcaggtgtgcacattttcccgctgtgttcagctcctccggtctgtactcactgtccagtgctgaaccgtccctctagc agcttgggaacccagacctacatctgaacgtcaaccataaacatccaacacaaagtggtgataagaaggtgaaccaa agagctgtgataagacacatacatgcccctctgtcctgcaccagagctcctggaggtccatctgtgttctgtttcccc caaaccagagcactcttatgatctctgtactccagaggtcactgtgtgtgttcgacgtgagccatgaagatcccgag gtttaattcaactgtgtacgtggatggagtcgaggttcacaatgccaagaccagccaggggagagcaatataattctac catatcgggtagtgtgagcgttctgaccgtgtcctcaccagattggctcaatggaaaagtgacaagtgcaaggtgtccaac aaggctcttcccgctcccatgagaaaactatctcaaaagccaaagggcgaccacgggaaccccaggtgtatacattgc ccccatctagagacgactgaccaaaaccaggtgagctcactgtctgtgcaaggggtttaccctctgacattgtct

10

20

30

40

【表 18 - 3】

	agagtgggagtctaacggacagccagaaaacactacaagacaactccccagtgctggacagcgacggagcttct ccctactccaagttagctgtagacaagttagatggcagcaaggaaacgtttctctgctagtaatgcatgaggtctg cacaatcactataccagaaatcactgtcccttagcccaaggtgactcgag (SEQ ID NO:157)
huCD37-50	aagcttgccaccatggggtggtctgcataatcttttctggtgctactgctaccggagtcattcacaggtgcagctgc aggagtccggccccggctgctcaagccttctcagagtctgagtctgactgtactgtttctggctacagcataaccagcg gtttcgttggcactggatcagacagcatcccggaacaaactggagtggtatgggatacactgtactcaggctcaact gtctattccccctccctgaaatcccggtatcagattacccgtgacacttcaagaacctttttctgacgtgaaacagcggt accgacgtgacactgcaacctactactgtgccccgggataitattggatacggagcttggttcgttactggggccaagg caccctgtaactgtgagtgtgtctccaccaaggggcccatcagtttccccctggctccaagtttaaatccacaagcggt ggaacagctgcactgggatgctcgttaagattatttccctgagcctgtgacagtgcagctggaatagcggagcattgact tcaggtgtgcacacttttccgctgtgtgacgtctccggtctgactcactgtccagtgctgtaaccgtccctctagcag cttgggaaccagacctacatctgtaacgtcaaccataaacatccaacacaaagggtgataaagggtgaaacaaag agctgtgataagacacatacatgccccctgtctgctgacacagagctcctcggaggtccatctgtgttctgtttccccca aacccaaggacactcttatgatctctgactccagaggtcacctgtgtgtgtgacgtgagccatgaagatcccgagg ttaaatcaactgtgactgtggtgagtgaggttcacaaatgccaagaccaagcccaggaggaggaataataatttaca tatcgggtagttagcgttctgaccgtgtccaccaagattggctcaatggaagagtagaagtgcaaggtgtccaacaa ggctcttcccgtccattgagaaaactatctccaaagccaaggggcagccacgggaaccccaggtgtatacattgccc ccatctagagacgagctgaccaagaaccaggtgagctcactgtgtggtcaaggggtttacccttgcattgtctgtag agtgggagtgtaacggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctgacagcgacgggagcttctcc tctactccaagttgactgtagacaagcttagatggcagcaaggaaacgttttctctgctcagtaatgcatgaggtctgca caatcactataccagaaatcactgtcccttagcccaaggtgactcgag (SEQ ID NO:158)
huCD37-51	aagcttgccaccatggggtggtctgcatcatctgttctggtggcactgccactggcgtgcattcagaagttcagttggt ggagtcggccccagaagtgtgaaacccggcgaatcactgtccctgactgtaccgtgcaggttatagcatcagcagc ggcttctgctggcactggattcggcagtttcaggcaaggagctggaatggatgggctacatccattacagttggctaac caattacagccctagcctgagggccggaatctctattaccagggtatgtctattaacagttttctcagcttaattccgt gactgcctctgacacagcaacttactattgcgccgtggctactacgggtcggagcctggttatactggggtcaggg caccctgggtcactgtctagccgcccttaccaggcccatcagtttccccctggctccaagtttaaatccacaagcggt ggaacagctgcactgggatgctcgttaagattatttccctgagcctgtgacagtgcagctggaatagcggagcattgact tcaggtgtgcacacttttccgctgtgtgacgtctccggtctgactcactgtccagtgctgtaaccgtccctctagcag cttgggaaccagacctacatctgtaacgtcaaccataaacatccaacacaaagggtgataaagggtgaaacaaag agctgtgataagacacatacatgccccctgtctgctgacacagagctcctcggaggtccatctgtgttctgtttccccca aacccaaggacactcttatgatctctgactcagaggtcacctgtgtgtgtgacgtgagccatgaagatcccgagg ttaaatcaactgtgactgtggtgagtcaggttcacaaatgccaagaccaagcccaggaggaggaataataatttaca tatcgggtagttagcgttctgaccgtgtccaccaagattggctcaatggaagagtagaagtgcaaggtgtccaacaa ggctcttcccgtccattgagaaaactatctccaaagccaaggggcagccacgggaaccccaggtgtatacattgccc ccatctagagacgagctgaccaagaaccaggtgagctcactgtgtggtcaaggggtttacccttgcattgtctgtag agtgggagtgtaacggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctgacagcgacgggagcttctcc tctactccaagttgactgtagacaagcttagatggcagcaaggaaacgttttctctgctcagtaatgcatgaggtctgca caatcactataccagaaatcactgtcccttagcccaaggtgactcgag (SEQ ID NO:159)
huCD37-56	aagcttgccaccatggggtgagctgcattatctgttctcgtgccaccgcaaccggcgtccactcccaggtgcagct gcaagaaagcgggcccaggtggtgtaaaaccttccagctctgagcttactgtaccgtatctggatacagtatcacatct ggctcgcctggcattggattcggcagtttccggcaaggggcttgagtggatgggtatattcattattctggaggtacca actacaaccttccctgaagagtcgagctcaattaccaggacacttcaagaaccaatttttgcagcttaattcagtg accgtgcccagacccgctacttactactgcgccggggtactatgggttgggtgcctggttgcctactggggccaggg gacctgtgtgccgtgtctgctgctccaaaggggcccatcagtttccccctggctccaagtttaaatccacaagcggt tggacagctgcactgggatgctcgttaagattatttccctgagcctgtgacagtgcagctggaatagcggagcattgac ttcaggtgtgcacacttttccgctgtgtgacgtctccggtctgactcactgtccagtgctgtaaccgtccctctagcag cttgggaaccagacctacatctgtaacgtcaaccataaacatccaacacaaagggtgataaagggtgaaacaaag agctgtgataagacacatacatgccccctgtctgctgacacagagctcctcggaggtccatctgtgttctgtttccccca aacccaaggacactcttatgatctctgactccagaggtcacctgtgtgtgtgacgtgagccatgaagatcccgagg ttaaatcaactgtgactgtggtgagtcaggttcacaaatgccaagaccaagcccaggaggaggaataataatttaca tatcgggtagttagcgttctgaccgtgtccaccaagattggctcaatggaagagtagaagtgcaaggtgtccaacaa ggctcttcccgtccattgagaaaactatctccaaagccaaggggcagccacgggaaccccaggtgtatacattgccc ccatctagagacgagctgaccaagaaccaggtgagctcactgtgtggtcaaggggtttacccttgcattgtctgtag agtgggagtgtaacggacagccagaaaacaactacaagacaactccccagtgctgacagcgacgggagcttctcc tctactccaagttgactgtagacaagcttagatggcagcaaggaaacgttttctctgctcagtaatgcatgaggtctgca caatcactataccagaaatcactgtcccttagcccaaggtgactcgag (SEQ ID NO:160)

10

20

30

40

【表 18 - 4】

	agtgaggagttaacggacagccagaaacaactacaagacaactccccagtgctggacagcgacgggagettctcc tctactccaagttgactgtagacaagctagatggcagcaaggaaacgtttctcctgctcagtaatgcataggctctgca caatcactatacccaaaatcactctcccttaaccaggggactcga (SEQ ID NO:160)
huCD37-57	aaagttgccaccatgggtgagctgcatcattctgttctgggtggccacagcaactggcgttcacagtcaagccaactg caggagagcggccccggactctgaaccatctcagtcactcagctgacatgtactgtgagcggciacagcattacctc aggtctcgttggcattgcatcaggcaggtcccggaaggctgagtgagggtgacattctgtacagcggcgagta cagtgattaccctcctgaaatctaggatataatcacacgtgatacaagcaaaaatcagttctctccagctgaactcc gtcaccggcgacagacacagcaacctattattgtctcgggatactacggatagggcatgggtcgttctggggcca gggggacactgtgaccgtttccgcccctccacaaggcccacagtttccccctgggtccaaagtctaaatccacaag cgggtgaacagctgcactgggatgctcgttaaagatttccctgagcctgtgacagtgagctggaaatagcggagcat tgacttcagtggtgcacatttcccgctgtgttcagtcctccggctgtactcactgtccagtgctgaaccgtccctcta gcagcttgggaaccagacctacatctgtaacgtcaaccataaacccaacacaagggtggataagaagggtgaacc aaagagctgtgataagacacatacatgcccctcctgtcctgcaccagagctcctcggaggtccatctgtgtctgttccc cccaaacccaaggacactcttatgatctctgtaactccagaggtcacctgtgtgtgtgcagctgagccatgaagatccc gaggttaaatcaactggtacgtggatggagtcgaggttcacaatgccaaagccagggaggagcaatataatt ctacatacgggtagtgagcgttctgaccgtgctccaccaagattggctcaatggaaaagagtacaagtgcagggtgtcc aacaaggctcttcccgtcccattgagaaaactatctcacaaggccaggggcagccacgggaacccaggtgtatcat tgccccctctagagacgagctgaccaagaaccaggtgagtcactgtctgtgcaagggttttacccttctgacattg ctgtgagtgaggagctaaacggacagccagaaacaactacaagacaactccccagtgctgacagcgacgggagc ttcttctctactccaagtgactgtagacaagcttagatggcagcaaggaaacgttttctcctgctcagtaatgcatagggc ctgcacaatcactatacccaaaatcactctcccttaaccaggggactcga (SEQ ID NO:161)

10

【表 19 - 1】

全長軽鎖ポリヌクレオチド配列

20

抗体	全長軽鎖ポリヌクレオチド配列 (SEQ ID NO)
chCD37-3	gaattcggcaccatgagtggtgccactcaggtcctgggtgtgctgctgctgtggcttacagatgccagatgtgacatccag atgactcagtcctcagcctccctttctgtatctgtgggagaaactgtcaccatcacatgicgagcaagtgagaatattcgca gtaatttagcatggtatcagcagaacagggaaatctcctcagctcctggtaattgtgcaacaacttagcagatggtgt ggcatcaaggttcagtgagcagtgatcaggcacacagttatccctcaagatcaacagcctcagctgtaagatttggga cttattactgtcaacattattgggtactacgtggacgttcgggtgagggcaccaagctggaaatcaaacgtacgggtgctg caccatctgttctatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgctgtgtaataactcta tcccagagagggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggttaactccaggagagtgctcacagagc aggacagcaaggacagcaccctacagcctcagcagcaccctgacgtgagcaaggcagactacgagaacacacaagt ctacgcctgcgaagtcaccctcagggcctgagctcggcgtcacaagaggttcaacaggggagagtgtag (SEQ ID NO:162)
huCD37-3 (1.0および1.1)	gaattcggcaccatgggtgtgctgcatcattgtttctgtggccacagcaccgggtgtcactctgatatacaaatgac tcaaaagcccttcagtttgagcgttaagtgtgggtgaacgctgaacaatcacctgtagagctagtgaataatccgcagta atctcgcattgttaccacaaaagccaggtgaatcactaaagctcctcgtgaatgtgtacaaacctcgtgtggtgtgc cttcacgattctctgttcagggtccggtagcatttacttaagatcaactcactccaaccagaagatttgggtacatatta ctgtcaactactactgggtacgacctggacattcggtaaggtactaagctggaatcaagcgtacgggtgctgcaccat ctgtctcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgctgtgtaataactctatccca gagagggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggttaactccaggagagtgctcacagagcaggac agcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgtgagcaagcagactacgagaacacaaagctacgc ctgcgaagtccaccatcagggtcgtgctcggcgtcacaagagcttcaacaggggagagtgtag (SEQ ID NO:163)
chCD37-12	gaattcggcaccatgggtgtgctgtataatctgttctgtggccaccgctactggcgttcattagtgtatgtactcact cagtcaccagccagctcggcagtgctcctgggccagcgtgccaccatctcctgcccggcctcacagtcggtgagcacta gctcttattctatctctactgtttcaacagaagccagggacagccctaaagctgctgatcaagtacgctccaacctgc cagcggcgttcccgtatctctgttccggtagcgggaactgatttactttgaacatcccccgttgaggaagagga taccggcacttactattgtcaacactcttgggagattccttacaccttggaggaggaacaaagctgaaattaagcgtacg gtggctgcaccatctgttctatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgctgtgaa aactctatcccaaaaagccaaagtacatggaagggtgataacgccctccaatcgggttaactccagagagtgca

30

40



【表 19 - 2】

	cagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaaaca caaatgtctacgctgcaagtcacccatcaggcctgagctcgcccgacacaagagcttcaacaggggagagtgtta g (SEQ ID NO:164)
chCD37-38	gaattcgccaccatgggctggtcctgtatcctgtttctgctggccacagctacaggtgttcattctcagattgtgctgac ccaatcaccagctattatgtccgctagccccggcgagaaagtgaacatgacatgtagcgctagctcttctgtactacat gcatlgttatcaacagaagtcagggtaccagtcaccaagcgttgatctacgacacatccaaactggcctccggagtcctg ccaggttcagcggaggtgggtccggcaccagttattcactgaccatactctatggaagctgaagatgctgctacttatta ttgtcaacaatggatttcaacccccccaccttgggtggcggaacaaagctggagatcaagcgtacgggtggctgcacat ctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataactctatccca gagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagcaggac agcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgc ctgcgaagtcacccatcaggcctgagctcgcccgacacaagagcttcaacaggggagagtgttag (SEQ ID NO:165)
huCD37-38	gaattcgccaccatgggatggctcgtcattattctgttctggtcgccactgctactggcgttactctgacattgtgctcac cagtcctcagcctcaatgtctgcttccccgggtgagcgggtgacctgacatgctctgcaagtctcctgacatatatgc attgtatcagcaaaaacccggtacctctcaaaaagatggatctacgacattcaagcttgcacagcgcttctgcca gatttccgggtctgggtctggcacttcatacagctgacattagttccatggaagctgaagatgcagccacctattactgt cagcagtggaattcaaatcctcctaccttccggcggggaaccaaactggagataaagctacgggtggctgcacatctgt cttcatcttcccccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatccagaga ggccaaagtacagtggaaggtggataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagcaggacagca aggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgc gaagtcacccatcaggcctgagctcgcccgacacaagagcttcaacaggggagagtgttag (SEQ ID NO:166)
huCD37-50	gaattcgccaccatgggatggctcgtcattattctgttctggtgctaccgcaacaggagtacatagtgagatagctctac ccaaagtctgctactatgtctgccagcccaggagagcgtgtgacctgactgtctgcaacctcaagtgtagacatacat gcatlgttatcagcaaaagcctggccaatccccaaaaggtggatctacgatacttctaatctgccatacgggtgtgccgc aaggttctccggagtggtcagtggtgaccagttatgtctgacctcagttcaatggaagcagaggatgcagcaacctatt attgtcagcagtggtcagataatccccctacttttggtcagggtacaaagctggagattaaagctacgggtggctgcacat ctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatccca gagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagcaggac agcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgc ctgcgaagtcacccatcaggcctgagctcgcccgacacaagagcttcaacaggggagagtgttag (SEQ ID NO:167)
huCD37-51	gaattcgccaccatgggatggctcgtattattctgttctggtgctactgctactggcgtccattccagagatagctctac ccagagccccgcaaccatgagtgcttccccgggagcagtgactatgactgttccgccaacttctcagttacctatat gcatlgttatcagcaaaactggacagtcctcaaaagcgttgatttacgacacctccaactggcttcaggagttcctgc taggttcagcggatctgggtctggcacaagttattcactcaccattagttccatggaggccgaagatccgctacttactac tgtcagcagtgagcagcaacccccctacattcgggcagggaactaagctggagatcaaacgtacgggtggctgcacca tctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatccca gagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagcaggac agcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgc ctgcgaagtcacccatcaggcctgagctcgcccgacacaagagcttcaacaggggagagtgttag (SEQ ID NO:168)
huCD37-56	gaattcgccaccatgggctggtcctgtatcctgtttctggtggcaaccgctactggggttactctgattgtcctgac acagagtccagccttcagtgcttctccccggagaaaaggtcacaatgactgttcagcttccctccgtcacatacatg cattggtaccagcagaagcctgaccagagtcctaaaggttgatctatgatacaagcaatctggcttccggtgtccctc ccgctttcagcggcggaagcgggaactgactatagccttaccatctctcaatggaagccgaggacgctgctacatt actgccagcaatggatcagcgacctctacttccgacagggaacaaaatggaaattaagcgtacgggtggctgcacc atctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatccc agagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagcaggac cagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgc ctgcgaagtcacccatcaggcctgagctcgcccgacacaagagcttcaacaggggagagtgttag (SEQ ID NO:169)
huCD37-57	gaattcgccaccatgggctggtcctgtatcctgtttctggtggcaaccgctactggggttactctgattgtcctgac acagagtccagccttcagtgcttctccccggagaaaaggtcacaatgactgttcagcttccctccgtcacatacatg cattggtaccagcagaagcctgaccagagtcctaaaggttgatctatgatacaagcaatctggcttccggtgtccctc ccgctttcagcggcggaagcgggaactgactatagccttaccatctctcaatggaagccgaggacgctgctacatt actgccagcaatggatcagcgacctctacttccgacagggaacaaaatggaaattaagcgtacgggtggctgcacc atctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatccc agagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagcaggac cagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgc ctgcgaagtcacccatcaggcctgagctcgcccgacacaagagcttcaacaggggagagtgttag (SEQ ID NO:170)

10

20

30

40



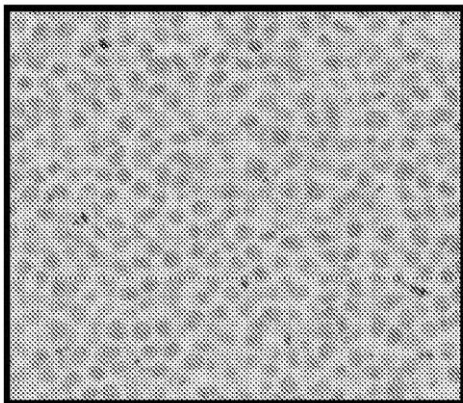
【表 19 - 3】

	ctcagagcccagccaccatgtccgctccccggggagagagtgacaatgactgttccgccacaagttctgtaacctac atgcattggtaccagcaaaaaccaggacagagtcgccgctgttgatttatgataacctaacctggcttcaggcgttctg cccgcttttctggtagtggatctgggacttctatagccttaccataagcttatggaagccgaggacgccgtacatacta ctgccagcagtgaggatgataacccccacctcgggcagggaaccaattggagatcaaacgtacgggtggctgcacc atctgtctcatcttccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatccc agagaggccaaagtacagtggagggtggataacgccctccaatcgggtaactccaggagagtgctcacagagcagga cagcaggacagcaccctacagcctcagcagcacccctgacgctgagcgaagcagactacgagaacacaaaagtctacg cctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcggccgtcacaagagcttcaacagggagagtgtag (SEQ ID NO:170)
--	---

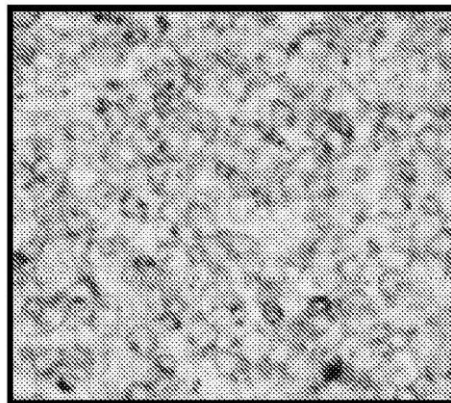
【図 1】

【図 1】

300-19細胞



300-19細胞、huCD37でトランスフェクトされた300-19細胞

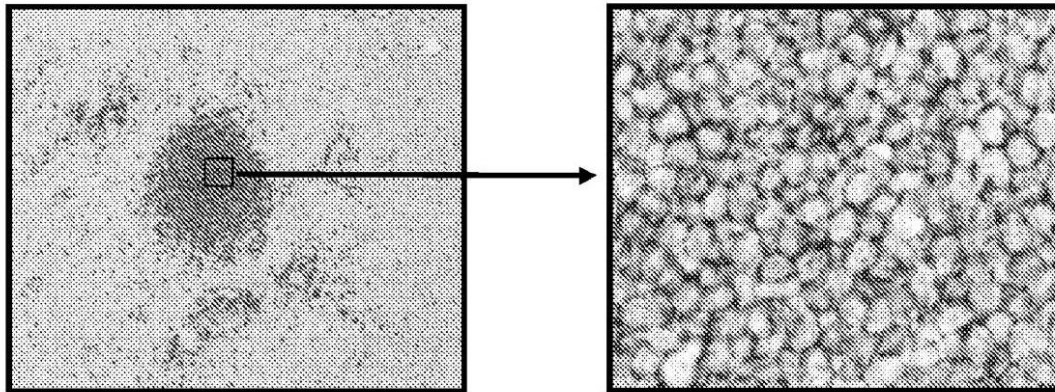


【図 2】

【図 2】

赤脾髄および白脾髄 (10倍)

白脾髄 (40倍)



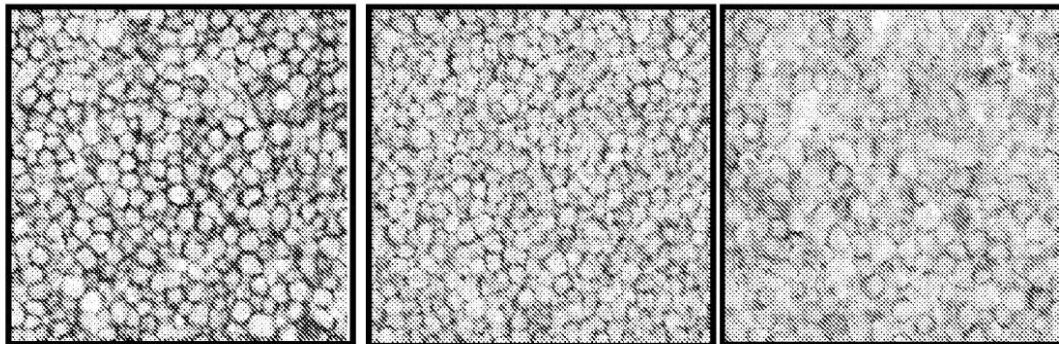
【図 3】

【図 3】

D a u d i 細胞 3 + ホモ

R a m o s 細胞 3 ホモ

R L 細胞 3 ヘテロ



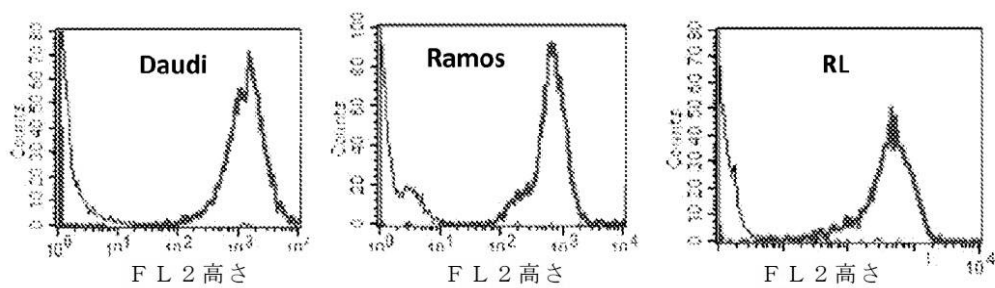
140,000 ABC

72,000 ABC

45,000 ABC

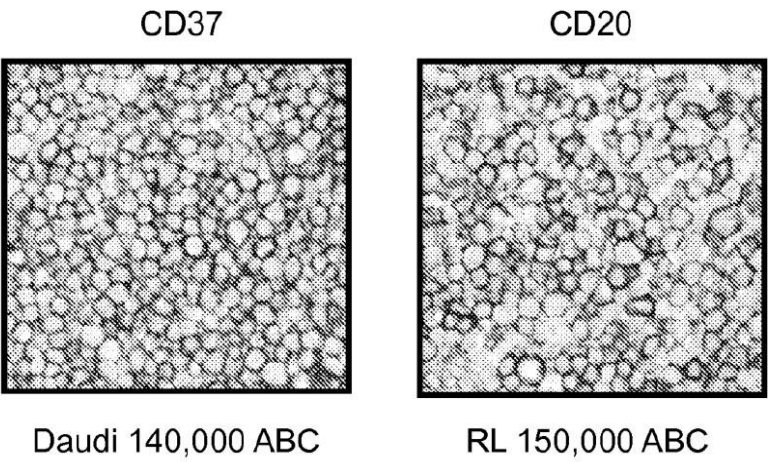
【図 4】

【図 4】



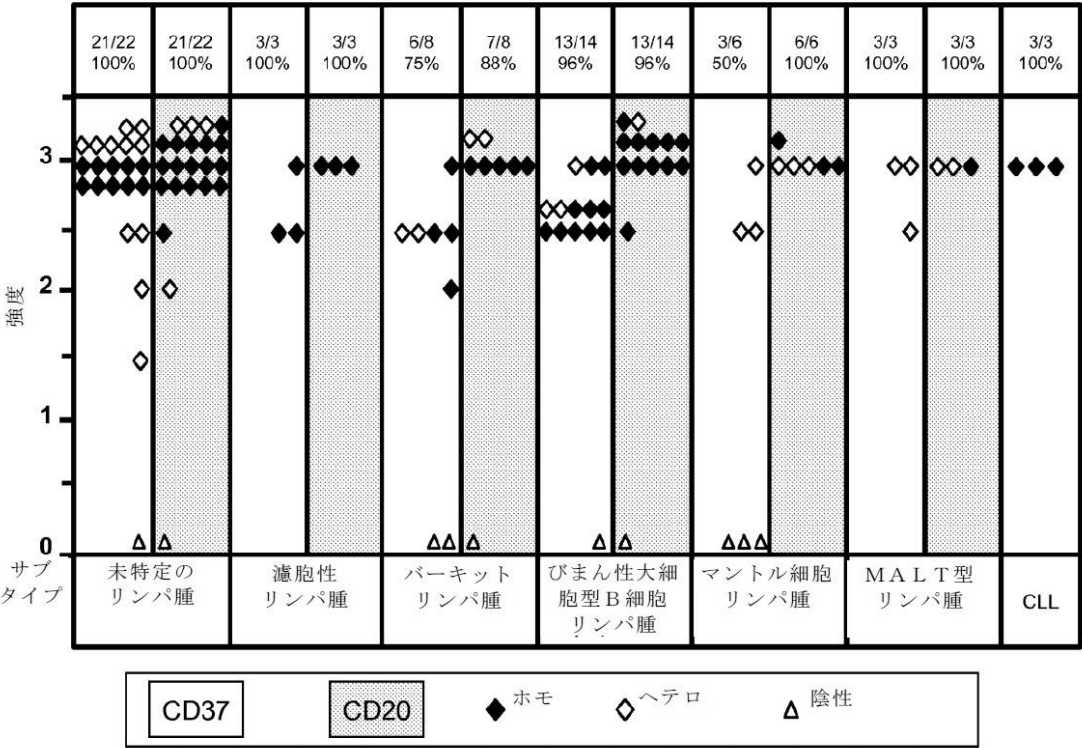
【 図 5 】

【 図 5 】



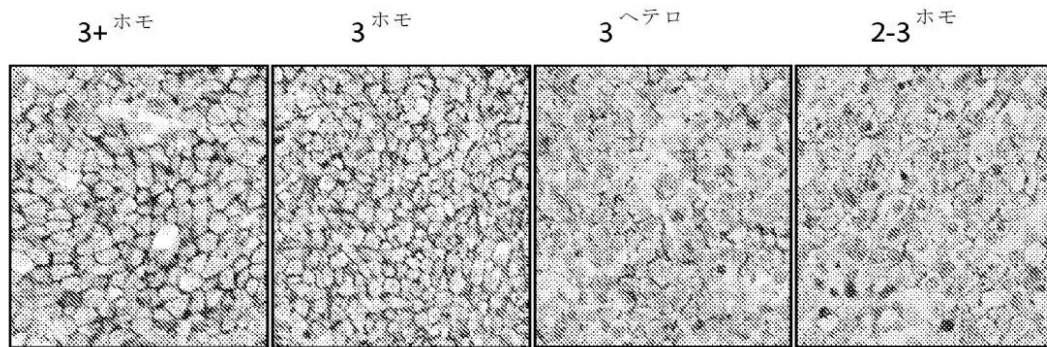
【 図 6 】

【 図 6 】



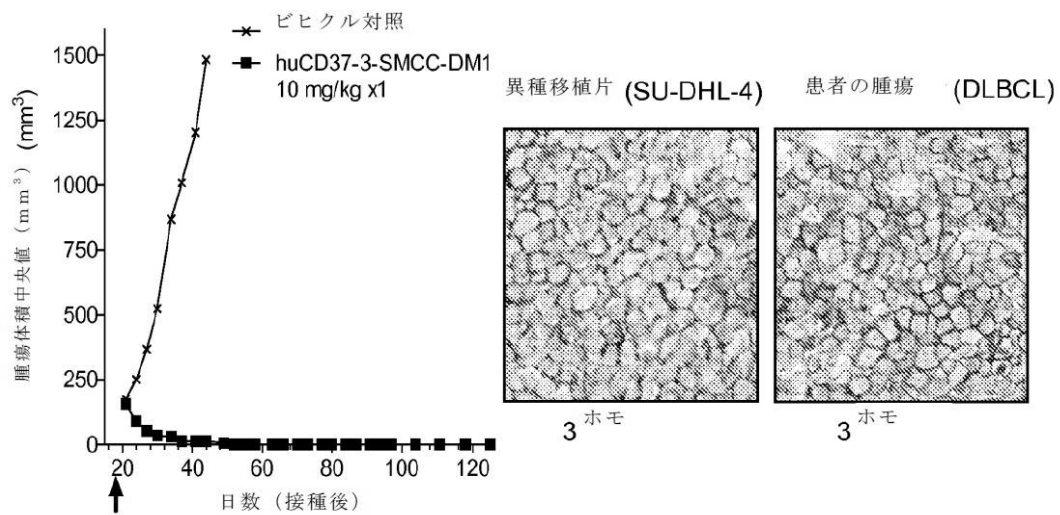
【図 7】

【図 7】



【図 8】

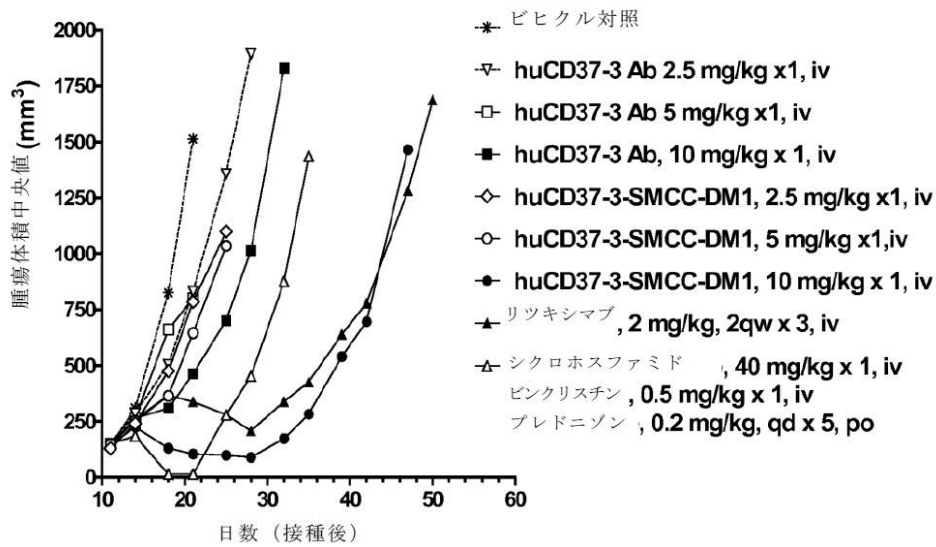
【図 8】



	用量	3 7 日目の % T / C	日数による T - C	PR	CR	TFS d125	コメント
対照	-	-	-	0/10	0/10	0/10	
huCD37-3- SMCC- DM1	10 mg/kg	1	31	10/10	8/10	6/10	高活性

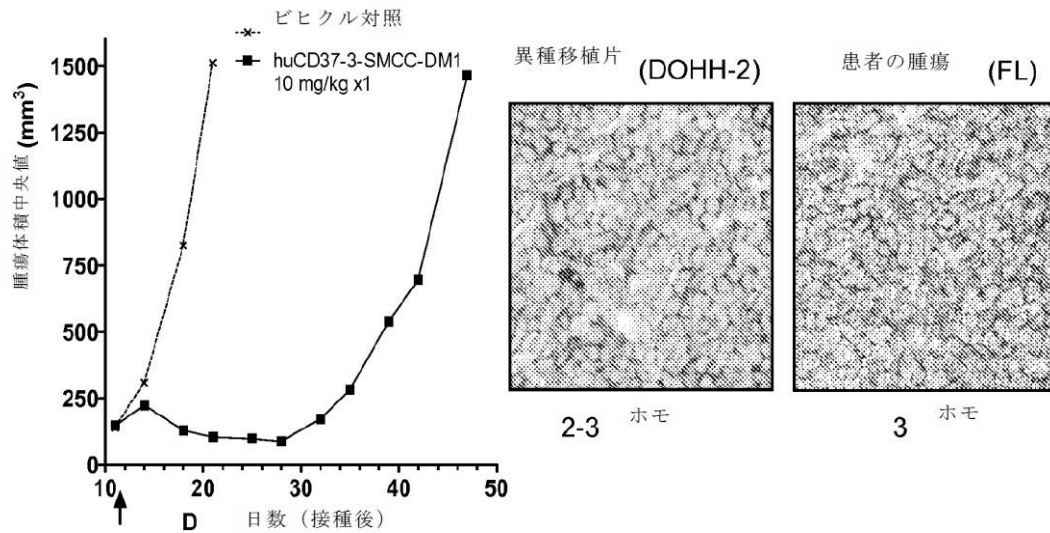
【図 9】

【図 9】



【図 10】

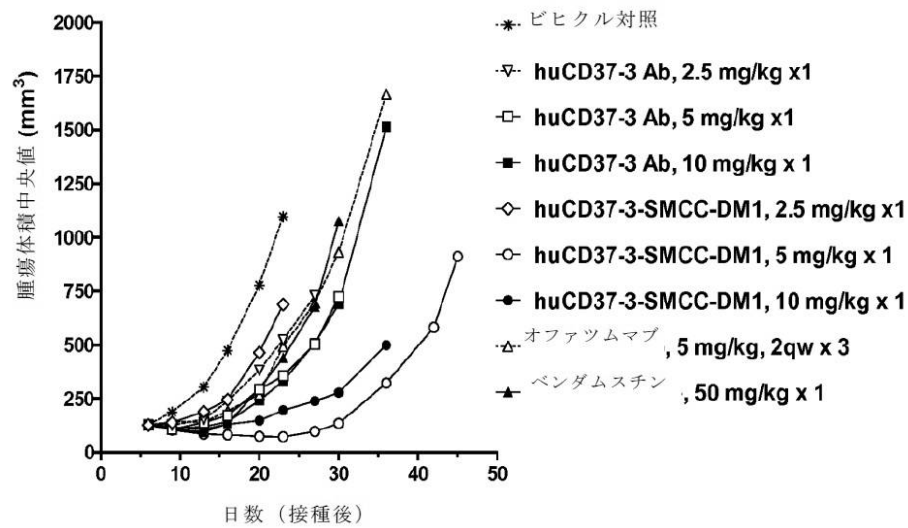
【図 10】



	用量	19日目の %T/C	日数による T-C	PR	CR	TFS d130	コメント
対照	-	-	-	0/9	0/9	0/9	
huCD37-3-SMCC-DM1	10 mg/kg	16	21	4/9	2/9	1/9	高活性

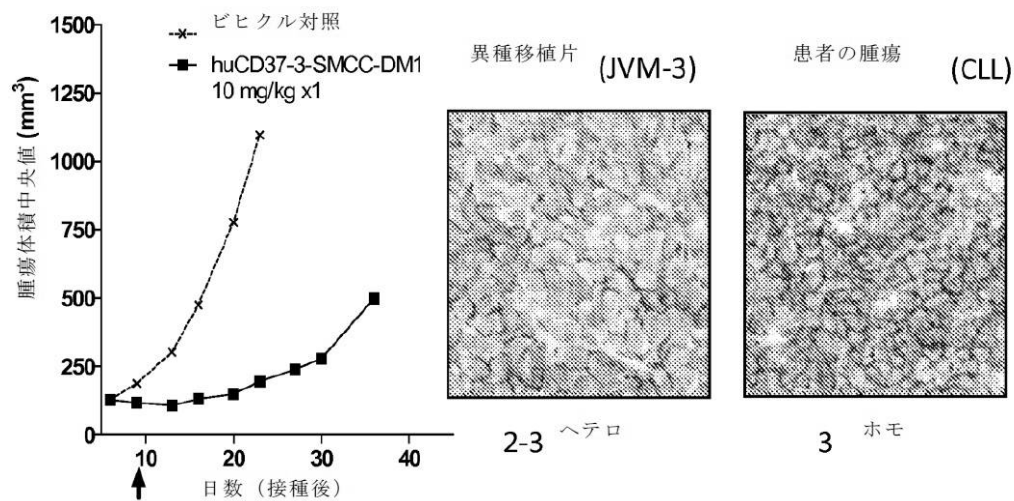
【図 1 1】

【図 1 1】



【図 1 2】

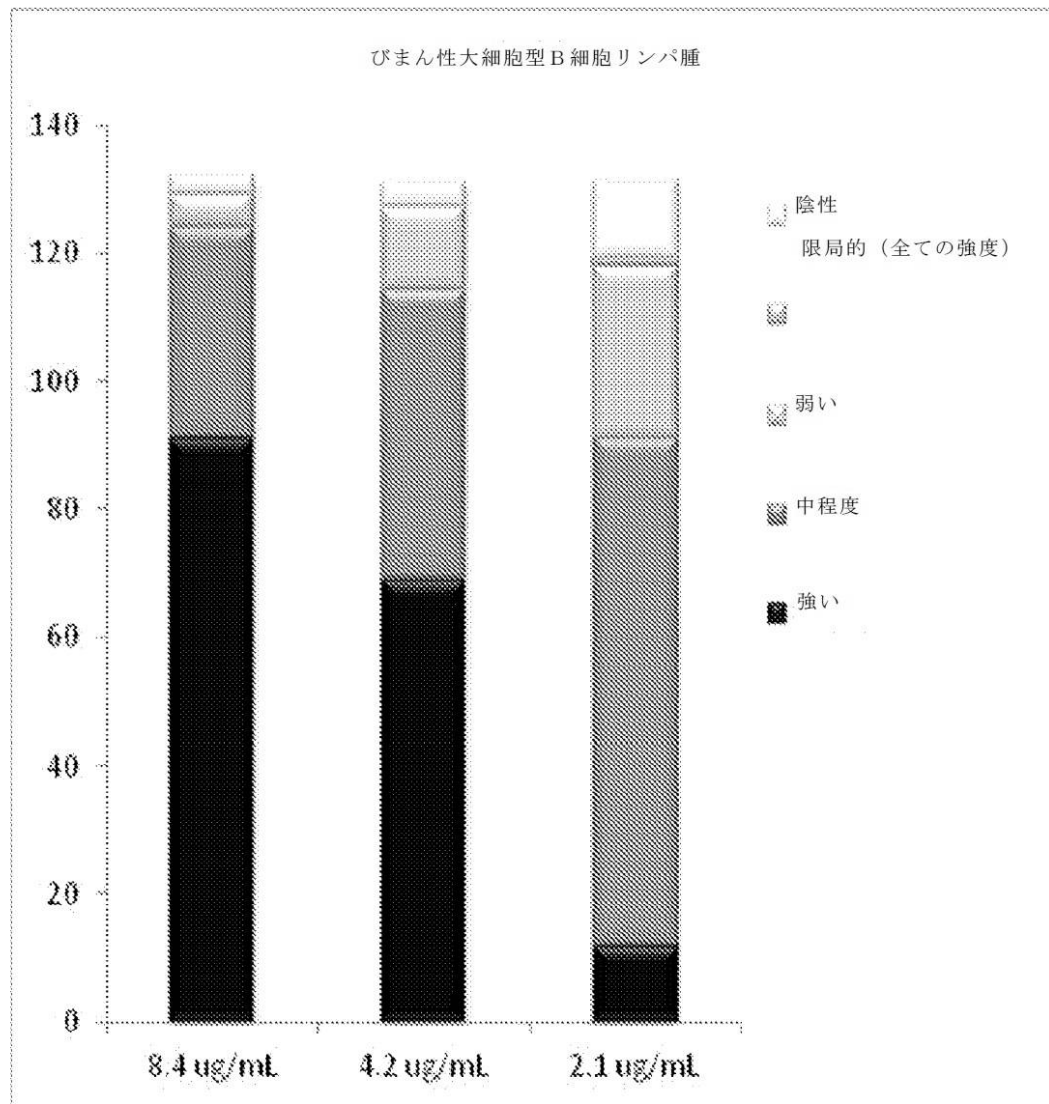
【図 1 2】



	用量	17日目の % T / C	日数による T - C	PR	CR	TFS d111	コメント
対照	-	-	-	0/10	0/10	0/10	
huCD37-3-SMCC-DM1	10 mg/kg	26	16.5	4/10	2/10	1/10	高活性

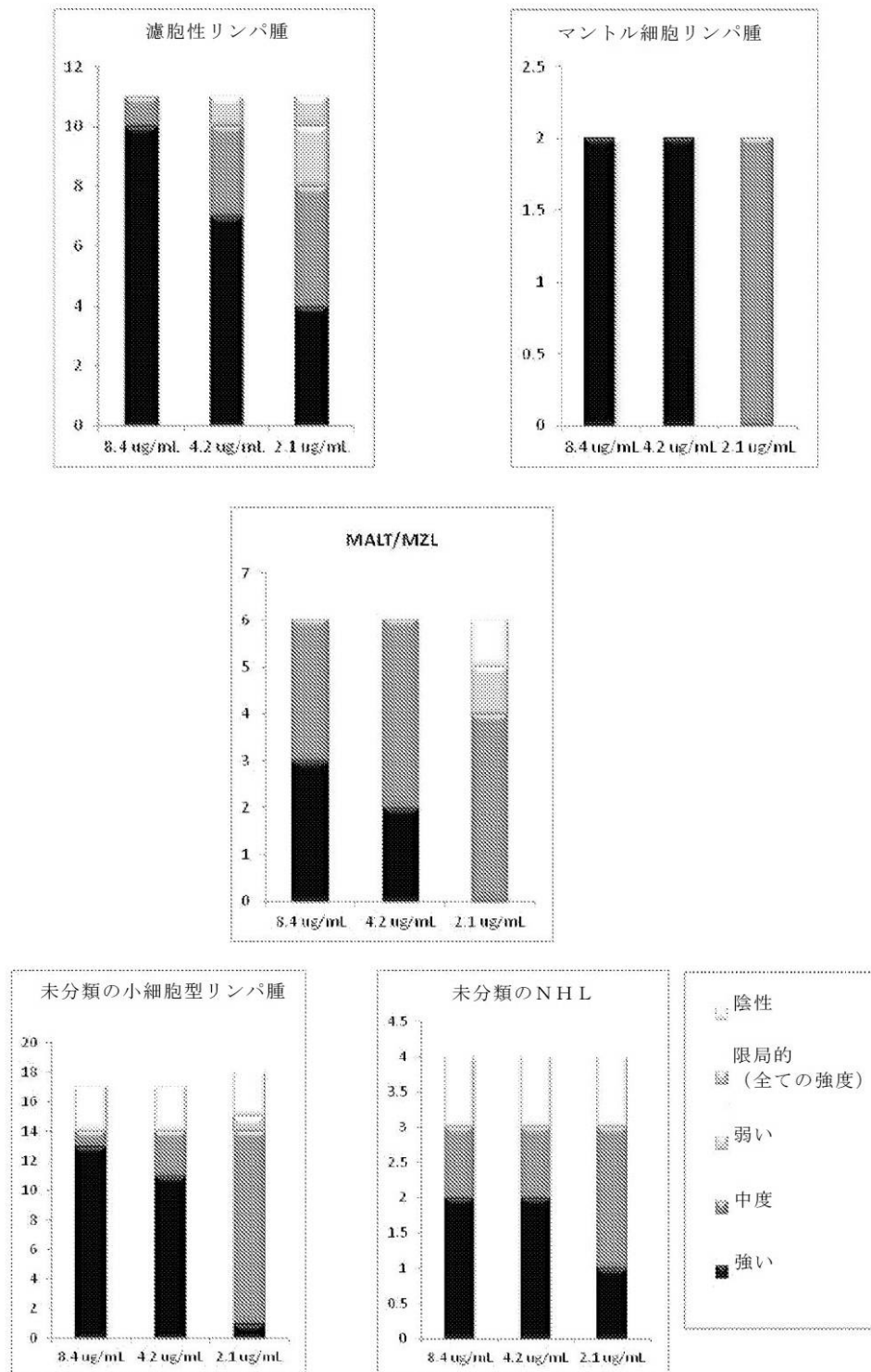
【図 13】

【図 13】



【図 1 4】

【図 1 4】



【配列表】

2015514716000001.app



## 【国際調査報告】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. PCT/US13/34646
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - G01N 33/53, 33/48, 33/58 (2013.01) USPC - 530/380, 389.7; 424/1.49 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8): C07K 16/28; C12P 21/08; G01N 33/53, 33/48, 33/58 (2013.01) USPC: 530/391.3, 386, 380, 389.7, 350; 424/1.53, 1.49, 1.11, 9.2 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MicroPatent (US-Granted, US-Applications, EP-A, EP-B, WO, JP, DE-G, DE-A, DE-T, DE-U, GB-A, FR-A); ScienceDirect; Pubmed; Google; Google Scholar; 'CD37,' 'CD37 antibody,' immunohistochemistry, 'IHC,' cancer, 'CD 37 expression,' 'CLL,' 'chronic lymphocytic leukemia,' 'B cell'		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	ZHAO, X et al. Targeting CD37-Positive Lymphoid Malignancies With A Novel Engineered Small Modular Immunopharmaceutical. Blood. 17 April 2007, Vol. 110, pp 2569-2577. DOI:10.1182/blood-2006-12-062927.	1 — 2-6, 7/1-6, 8/7/1-6
Y	US 2011/0256056 A1 (ALPER, O) October 20, 2011; abstract; figure 8; paragraphs [0078], [0223]-[0240]	2-5, 7/2-5, 8/7/2-5
Y	US 2012/0020983 A9 (BRAUN, J et al.) January 26, 2012; abstract; paragraph [0212]	4, 5, 7/4, 7/5, 8/7/4, 8/7/5
Y	WO 2009/085576 A2 (KEY, ME) July 9, 2009; abstract; page 15, lines 24-27; page 23, line 31 to page 24, line 1; page 43, lines 11-21	6, 7/1, 7/6, 8/7/1-6
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 August 2013 (23.08.2013)		Date of mailing of the international search report <b>16 SEP 2013</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

international application no.

PCT/US13/34646

**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:
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.: 9-27, 34-55  
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:

\*\*\*-Please See Supplemental Page-\*\*\*

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 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.:

Group I: Claims 1-6, 7/1-6, 8/7/1-6

**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

International application No.

PCT/US13/34646

-Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: Claims 1-6, 7/1-6 and 8/7/1-6 are directed toward a method for increasing the efficacy of cancer therapy with an anti-CD37 antibody, or anti-CD37 immunoconjugate, said method comprising administering to a subject having cancer an anti-CD37 antibody, or anti-CD37 immunoconjugate, wherein increased expression of CD37 gene or protein in a cancerous sample from said subject has been detected using a detection method that distinguishes between staining intensity or staining uniformity in a CD37 expressing cancerous sample as compared to staining intensity or staining uniformity in one or more reference samples.

Group II: Claims 28, 32/28 and 33/32/28 are directed toward an article of manufacture comprising an anti-CD37 antibody or an anti-CD37 immunoconjugate, a container, and a package insert or label indicating that the antibody or immunoconjugate can be used to treat a cancer characterized by the expression of CD37 at a level of 2, 3, or 3+ measured by IHC.

Group III: Claims 29, 30, 32/30 and 33/32/30 are directed toward a combination diagnostic and pharmaceutical kit comprising a murine anti-CD37 antibody for use in diagnosis and an anti-CD37 antibody or an anti-CD37 immunoconjugate for use in therapy.

Group IV: Claims 31, 32/31, 33/32/31 and 56-58 are directed toward a diagnostic kit comprising a detection antibody that specifically binds to cell surface CD37, a reagent for immunohistochemistry (IHC), and one or more standardized reference samples, wherein said standardized reference samples comprise cells, cell pellets, or formalin fixed paraffin embedded tissue samples, and wherein said one or more standardized reference samples are from non-CD37 expressing, low-CD37 expressing, or high CD37 expressing cells, cell pellets, or tissues.

The inventions listed as Groups I-IV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include a method for increasing the efficacy of cancer therapy with an anti-CD37 antibody, or anti-CD37 immunoconjugate, said method comprising administering to a subject having cancer an anti-CD37 antibody, or anti-CD37 immunoconjugate, wherein increased expression of CD37 gene or protein in a cancerous sample from said subject has been detected using a detection method that distinguishes between staining intensity or staining uniformity in a CD37 expressing cancerous sample as compared to staining intensity or staining uniformity in one or more reference samples, which are not present in Group II, Group II having special technical features including an article of manufacture comprising an anti-CD37 antibody or an anti-CD37 immunoconjugate, a container, and a package insert or label indicating that the antibody or immunoconjugate can be used to treat a cancer characterized by the expression of CD37 at a level of 2, 3, or 3+ measured by IHC, which are not present in Group III, Group III having special technical features including a combination diagnostic and pharmaceutical kit comprising a murine anti-CD37 antibody for use in diagnosis and an anti-CD37 antibody or an anti-CD37 immunoconjugate for use in therapy, which are not present in Group IV, Group IV having special technical features including a diagnostic kit comprising a detection antibody that specifically binds to cell surface CD37, a reagent for immunohistochemistry (IHC), and one or more standardized reference samples, wherein said standardized reference samples comprise cells, cell pellets, or formalin fixed paraffin embedded tissue samples, and wherein said one or more standardized reference samples are from non-CD37 expressing, low-CD37 expressing, or high CD37 expressing cells, cell pellets, or tissues.

Groups I-IV share the technical features including a diagnostic kit comprising an anti-CD37 antibody that specifically binds to cell surface CD37, to treat a cancer, implementing immunohistochemistry (IHC), and the use of one or more reference samples.

However, these shared technical features are previously disclosed by WO 2011/092295 A2 to Larsen, et al. (hereinafter 'Larsen'). Larsen discloses a diagnostic kit (page 18, lines 11-23) comprising an anti-CD37 antibody (Claim 12) that specifically binds to cell surface CD37 (abstract; Claim 12; an anti-CD37 antibody binds to a cell surface CD37), to treat a cancer (abstract), implementing immunohistochemistry (IHC) (page 8, lines 31-35), and the use of one or more reference samples (page 23, lines 17-18; page 31, lines 18-19).

Since none of the special technical features of the Groups I-IV inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Larsen reference, unity of invention is lacking.

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/537 (2006.01)</b>	A 6 1 K 47/16	
<b>A 6 1 K 47/42 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/537	
<b>G 0 1 N 33/574 (2006.01)</b>	A 6 1 K 47/42	
<b>G 0 1 N 33/48 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/574	A
<b>G 0 1 N 33/53 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/48	P
<b>C 0 7 K 16/28 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	Y
	C 0 7 K 16/28	Z N A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72) 発明者 キャリガン, クリスティーナ エヌ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02478, ベルモント, ダートマス ストリート 5  
3 エー

F ターム(参考) 2G045 AA26 CA26 CB02 DA36 FB03 FB07  
4C076 CC27 CC42 DD48 EE41 EE41N EE59 FF32 FF34  
4C085 AA13 AA14 AA24 AA25 CC31 EE01  
4C086 AA01 AA02 CB22 MA02 MA05 NA13 ZB26 ZB27  
4H045 DA75 EA50