

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-524421

(P2011-524421A)

(43) 公表日 平成23年9月1日 (2011. 9. 1)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06 (2006. 01)	A 6 1 K 45/06	4 C 0 8 4
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 M	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 Y	4 C 0 8 6
A 6 1 P 37/06 (2006. 01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 31/12 (2006. 01)	A 6 1 P 37/06	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2011-514736 (P2011-514736)	(71) 出願人	504039155
(86) (22) 出願日	平成21年6月16日 (2009. 6. 16)		イミュノジェン・インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日	平成23年1月12日 (2011. 1. 12)		アメリカ合衆国マサチューセッツ州024
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/047449		51, ウォルサム, ウィンター・ストリー
(87) 国際公開番号	W02010/008726		ト 830
(87) 国際公開日	平成22年1月21日 (2010. 1. 21)	(74) 代理人	100140109
(31) 優先権主張番号	61/061, 886		弁理士 小野 新次郎
(32) 優先日	平成20年6月16日 (2008. 6. 16)	(74) 代理人	100075270
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行
		(74) 代理人	100128750
			弁理士 廣瀬 しのぶ
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規の相乗効果

(57) 【要約】

本発明は、投与時に、予想外に強化された治療効果を及ぼす少なくとも1つの複合体および1つ以上の化学療法剤の組み合わせを包含する。組み合わせの治療有効性は、複合体単独または複合体を含まない薬物の1つ以上の投与を上回る。また、本発明は、少なくとも1つの複合体および化学療法剤の少なくとも1つ以上を含む組成物と、少なくとも1つの複合体および化学療法剤の少なくとも1つ以上を使用して癌を処置する方法とを対象とする。また、本発明は、1つ以上の化学療法剤および少なくとも1つの複合体の治療的に有効な量を投与することによって、癌細胞等の選択された細胞集団の成長を調節する方法も提供する。各事例において、このような組み合わせは、単独の抗癌剤よりも、治療相乗効果を有し、癌の処置における治療指数を改善する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも 1 つの化学療法剤および少なくとも 1 つの免疫複合体の相乗的組み合わせを含む医薬組成物であって、前記免疫複合体は、少なくとも 1 つの細胞結合剤および少なくとも 1 つの抗有糸分裂薬剤を含む、医薬組成物。

【請求項 2】

第 3 の薬剤をさらに含み、前記第 3 の薬剤は、コルチコステロイドである、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記化学療法剤は、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤もしくは血管新生阻害剤、DNA アルキル化剤、またはそれらのうちの 2 つ以上の混合物である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 4】

前記化学療法剤は、ラパマイシン、ベバシズマブ、ボルテゾミブ、サリドマイド、レナリドマイド、メルファラン、シクロホスファミド、またはそれらのうちの 2 つ以上の混合物である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記化学療法剤は、ボルテゾミブ、サリドマイド、レナリドマイド、メルファラン、またはそれらのうちの 2 つ以上の混合物である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記細胞結合剤は、前記標的細胞に結合する抗体、単鎖抗体、抗体フラグメント、前記標的細胞に結合するモノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体、もしくはモノクローナル抗体フラグメント、前記標的細胞に結合するキメラ抗体、キメラ抗体フラグメント、前記標的細胞に結合するドメイン抗体、ドメイン抗体フラグメント、リンホカイン、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロニー刺激因子、または栄養素輸送分子である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 7】

前記抗体は、表面再処理抗体、表面再処理単鎖抗体、またはその表面再処理抗体フラグメントである、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記抗体は、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体、またはそのモノクローナルフラグメントである、請求項 6 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 9】

前記抗体は、キメラ抗体、キメラ抗体フラグメント、ドメイン抗体、またはそのドメイン抗体フラグメントである、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体もしくは表面再処理抗体、ヒト化単鎖抗体、またはそのヒト化抗体フラグメントである、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記抗体は、My9-6、B4、C242、N901、DS6、EpCAM、EphA2、CD38、IGF-IR、CNT095、B-B4、トラスツマブ、ビバツマブ、シプロツマブ、ベルツマブ、またはリツキシマブである、請求項 10 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 12】

前記細胞結合剤は、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、微生物感染細胞、寄生虫感染細胞、自己免疫細胞、活性化細胞、骨髄性細胞、活性化 T 細胞、B 細胞、またはメラニン細胞から選択される標的細胞；IGF-IR、CanAg、EGFR、EphA2、MUC1、MUC16、VEGF、TF、MY9、抗 B4、EpCAM、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD11、CD11a、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD30、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、C

50

D79、CD105、CD138、EphA、EphB、EGFr、EGFRvIII、HER2/neu、HER3、メソテリン、クリプト、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリン、 $\alpha_v\beta_5$ インテグリン、 $\alpha_v\beta_6$ インテグリン、Apo2、またはC242抗原のうちの1つ以上を発現する細胞；およびインスリン成長因子受容体、上皮成長因子受容体、または葉酸受容体を発現する細胞に結合する、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項13】

前記増殖性疾患は、癌、自己免疫疾患、移植片拒絶、移植片対宿主病、ウイルス感染、および寄生虫感染から成る群から選択される、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項14】

前記癌は、乳癌細胞、前立腺癌細胞、卵巢癌細胞、結腸直腸癌細胞、多発性骨髄腫細胞、
、卵巢癌細胞、神経芽腫細胞、神経内分泌癌細胞、胃癌細胞、扁平上皮癌細胞、小細胞肺癌細胞、または精巣癌細胞から選択される、請求項13に記載の医薬組成物。

10

【請求項15】

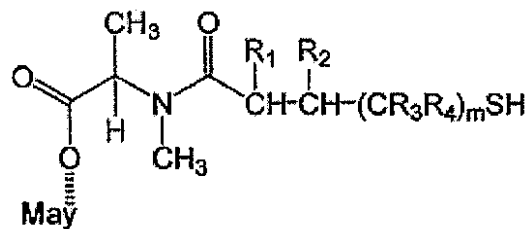
前記抗有糸分裂薬剤は、メイタンシノイド、CC-1065類似体、モルホリノドキソルピシン、タキサン、カリケアマイシン、オーリスタチン、ピロロベンゾジアゼピン2量体、siRNA、またはそれらの組み合わせ、および上記のうちのいずれかの医薬的に許容可能な塩、酸、または誘導体から選択される、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項16】

前記免疫複合体は、以下の式の少なくとも1つのメイタンシノイド化合物を含み、

【化1】

20



式中、

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 はH、 CH_3 または CH_2CH_3 であり、同一または異なってもよく； m は、0、1、2、または3であり； may は、メイタンシノイドである、
請求項1に記載の医薬組成物。

30

【請求項17】

(i) ボルテゾミブ、サリドマイド、レナリドマイド、メルファラン、シクロホスファミド、またはそれらのうちの2つ以上の混合物から成る群から選択される少なくとも1つの化学療法剤と、(ii) 乳癌細胞、前立腺癌細胞、卵巢癌細胞、結腸直腸癌細胞、多発性骨髄腫細胞、神経芽腫細胞、神経内分泌癌細胞、胃癌細胞、扁平上皮癌細胞、小細胞肺癌細胞、または精巣癌細胞により発現される抗原に結合するメイタンシノイドおよびヒト化モノクローナル抗体またはそのフラグメントを含む免疫複合体との相乗的組み合わせを含む医薬組成物。

【請求項18】

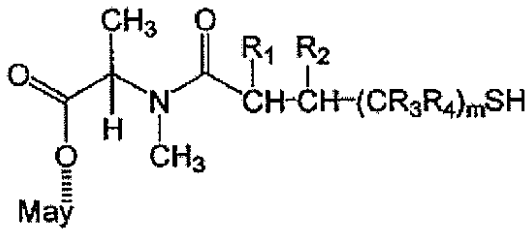
40

第3の薬剤をさらに含み、前記第3の薬剤は、コルチコステロイドである、請求項17に記載の組成物。

【請求項19】

前記メイタンシノイドは、以下の式の化合物であり、

【化 2】



式中、

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 は H、 CH_3 または CH_2CH_3 であり、同一または異なってもよく； m は、0、1、2、または 3 であり； $m a y$ は、メイタンシノイドである、請求項 15 に記載の医薬組成物。 10

【請求項 20】

前記コルチコステロイドは、デキサメタゾンまたはプレドニゾンから選択される、請求項 2 または 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

請求項 1 または 17 に定義された相乗的組成物；および医薬的に許容可能な担体を含む、医薬組成物。

【請求項 22】

選択された細胞集団の成長を処置または調節するための方法であって、請求項 1 または 17 に記載の組成物の治療的に有効な量を前記選択された細胞集団に投与するステップを含む、方法。 20

【請求項 23】

コルチコステロイドの治療的に有効な量を投与するステップをさらに含む、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記選択された細胞集団は、癌、自己免疫疾患、移植片拒絶、移植片対宿主病、ウイルス感染、および寄生虫感染から成る群から選択される細胞を含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 25】

前記癌は、乳癌細胞、前立腺癌細胞、卵巢癌細胞、結腸直腸癌細胞、多発性骨髄腫細胞、神経芽腫細胞、神経内分泌癌細胞、胃癌細胞、扁平上皮癌細胞、小細胞肺癌細胞、または精巣癌細胞のうちの 1 つ以上を含む、請求項 20 に記載の方法。 30

【請求項 26】

請求項 1 から 19 のうちの 1 つに記載の組成物と、医薬的に許容可能な担体とを含む薬物。

【請求項 27】

付加的にコルチコステロイドを含むことを特徴とする、請求項 1 または 17 に記載の薬物。

【請求項 28】

増殖性疾患の処置のための薬物の調製のための、請求項 1 から 19 のうちの 1 つに記載の組成物の使用。 40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

〔01〕 出願は、2008 年 6 月 16 日に米国仮出願第 61/061,886 号の便益を主張し、その開示の全体は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【0002】

技術分野

〔02〕 本発明は、抗癌組み合わせ、それを含む医薬組成物、および癌の処置におけるその使用に関する。具体的には、本発明は、コルチコステロイド（例えば、デキサメタゾン）の任意選択のさらなる添加を含む、少なくとも1つの細胞結合剤薬物複合体（例えば、免疫複合体）と、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ）、免疫調節剤／血管新生阻害剤（例えば、サリドマイドまたはレナリドマイド）、DNAアルキル化剤（例えば、メルファラン）から選択される1つ以上の化学療法剤とを含む組み合わせの投与が、単独の抗癌剤よりも、治療相乗効果を有するか、または癌の処置における治療指数を改善するという発見に基づく。また、本発明は、このような組み合わせの治療的に有効な量を投与することによって、癌細胞等の選択された細胞集団の成長を調節する方法も提供する。

10

【背景技術】

【0003】

〔03〕 前臨床的に、抗癌剤の組み合わせの効果は、細胞株に関して体外で、または異なる腫瘍モデルにより生体内で研究することができる。典型的には、異なる死滅機序を有し、すなわち、細胞において異なる標的を有する抗癌剤を組み合わせる。このような実験系では、独立した標的（相互に排他的な薬物）を含む2つの抗癌剤が、相加的、相乗的、または拮抗的のいずれかで作用することが認められた。ChouおよびTallalay (Adv. Enzyme Regul. 1984, 22:27-55)は、実験的発見を質的および量的に正確に説明することができる数学的方法を開発した。相互に排他的な薬物では、その数学的方法により、一般化等効果方程式が、任意の程度の効果に適用されることが示された（ChouおよびTallalayにおける52ページ参照）。等効果またはアイソログラムは、同程度の効果を有する2つの薬物の全ての用量組み合わせのグラフ表現であり、例えば、2つの細胞毒性薬の組み合わせは、20%または50%の細胞死滅等の同程度の細胞死滅に影響を及ぼす。方程式は、任意の程度の効果に有効であり、グラフ表現は、同一形状を有し（ChouおよびTallalayにおける54ページ、第1行）、これは、図11D（ChouおよびTallalayにおける5ページ）に提示される。アイソログラムにおいて、直線は、相加効果を示し、凹曲線（直線の下側の曲線）は、相乗効果を表わし、凸曲線（直線の上側の曲線）は、拮抗効果を表わす。また、これらの曲線によって、2つの相互に排他的な薬物の組み合わせが、全濃度領域において同種の効果を示し、その組み合わせが相加的、相乗的、または拮抗的のいずれかであることが示される。大部分の薬物組み合わせは、相加効果を示す。しかしながら、場合によっては、組み合わせは、相加効果を下回るまたは上回る効果を示す。これらの組み合わせは、それぞれ拮抗的または相乗的と呼ばれる。拮抗効果または相乗効果は、予測不可能であり、予期しないの実験的発見である。組み合わせは、その最適用量で使用する構成物質のうちの1つ以上よりも治療的に優れている場合に、治療相乗効果を明示する。T. H. Corbett et al., Cancer Treatment Reports, 66, 1187 (1982)を参照されたい。また、Tallarida RJ (J Pharmacol Exp Ther. 2001 Sep; 298 (3): 865-72)は、「明らかに類似する効果を生成する2つの薬物は、場合により、同時に使用すると、増大または減少した効果をもたらす。これらの事例を単純な相加作用と区別するために量的評価が必要とされる。」と言及している。

20

30

40

【0004】

〔04〕 拮抗効果または相乗効果の予測不可能性が、当業者に十分周知であることは、Knightら等によるいくつかの他の研究において実証されている。BMC Cancer 2004, 4:83を参照されたい。本研究では、著者は、乳癌、結腸直腸癌、食道癌および卵巣癌、原発部位不明の癌、皮膚およびブドウ膜黒色腫、非小細胞肺癌（NSCLC）、ならびに肉腫を含む多種多様の固形腫瘍に対する、ゲフィチニブ（イレッサとしても既知である）の作用を単独で、または異なる細胞毒性薬（シスプラチン、ゲムシタビン、オキサリプラチン、およびトレオスルファン）と組み合わせで測定した。

【0005】

50

〔05〕 著者は、単一薬剤のゲフィチニブに対する腫瘍について試験した時に認められた腫瘍成長阻害（TGI）の程度に不均一性が存在することを発見した。腫瘍の7%（6/86）において、著しい腫瘍成長阻害が認められたが、大部分が、より控えめな反応を示し、低度のTGIとなった。興味深いことに、ゲフィチニブは、異なる細胞毒性薬と組み合わせて使用する場合に、プラスとマイナスの両方の効果を有した。被検腫瘍の59%（45/76）において、ゲフィチニブの相加が現れ、細胞毒性薬または組み合わせの効果が促進された（これらのうち、11%（5/45）は、その指数 SUM について50%を上回って減少した）。腫瘍の38%（29/76）において、TGIは、ゲフィチニブと細胞毒性薬との組み合わせを使用した場合に、単独の細胞毒性薬に比べて減少した。残りの3%（2/76）において、変化は認められなかった。

10

【0006】

〔06〕 著者は、異なる細胞毒性薬（シスプラチン；ゲムシタビン；オキサリプラチン；トレオスルファンおよびトレオスルファン＋ゲムシタビン）と組み合わせたゲフィチニブが、両刀の剣であること、つまり、成長速度に対するその効果によって、いくつかの腫瘍は、併用細胞毒性化学療法に対してより耐性を有し、一方、サイトカイン媒介細胞生存（抗アポトーシス）機序に対するその効果は、他の個体からの腫瘍における同一の薬物に対する感受性を促進し得るという結論を下す。7ページの結論を参照されたく、また、Knight et al., BMC Cancer 2004, 4:83. の図3も参照されたい。

20

【0007】

〔07〕 したがって、本研究により、同一の目的に有用であることで知られている2つの化合物で、其の目的用に組み合わせられてあるが、同一の目的を必ずしも実行しない場合があることが証明される。

【0008】

〔08〕 しかしながら、活性薬剤の高度に有効な組み合わせ、すなわち、相乗混合物を発見することは、困難である。薬剤の潜在的な組み合わせの数が莫大であるため、セレンディピティは有効な手段ではない。例えば、5000個の潜在的な薬剤の比較的小さいパレットであっても何兆個の可能な5倍の組み合わせが存在する。また、機序の知識から潜在的な組み合わせを推測する他の通常の発見戦略も、生体の多くの生物学的評価項目が複数の経路によって影響を受けることから、その潜在性が制限される。これらの経路は、多くの場合不明であり、既知であっても、経路が相互作用して生物学的評価項目を生成する方式は、多くの場合不明である。

30

【0009】

〔09〕 以前、我々は、モノクローナル抗体に連結されるメイタンシノイド化合物を含むメイタンシノイド免疫複合体と、タキサン化合物、エポチロン化合物、白金化合物、エピポドフィロトキシシン化合物、およびカンプトテシン化合物のそれとの相乗組み合わせについて実証している。

【0010】

〔10〕 以前に実証された場合であっても、薬物の組み合わせの相乗使用によって、新しい相乗組み合わせを探索する必要性が除去されず、これは、相乗効果が予測不可能であるため、およびこれらが不測の実験的発見であるためである。例えば、高活性抗レトロウイルス療法（HAART）に関連した後天性免疫不全症候群（AIDS）の処置において、HIV-1ウイルスの逆転写酵素（RT）およびウイルスのプロテアーゼ（PR）の阻害剤のカクテル療法が、ウイルス複製の相乗阻害を示すことが考えられた。その後、興味深いことに、2種類のRT阻害剤内において相乗効果が認められ、すなわち、ヌクレオシドRT阻害剤（NRTI）は、PR阻害剤の非存在下において、非ヌクレオシドRT阻害剤（NNRTI）との相乗効果を示した。例えば、NRTI、AZT（ジドブジン）、およびNNRTI、ネビラピンは、組み合わせて投与される場合に相乗効果を示す（Basavapathruni A et al., J. Biol. Chem., Vol. 279, Issue 8, 6221-6224, February 20, 2004）。

40

50

したがって、相乗効果を示し、かつ癌等の衰弱性疾患の処置および予防に有効に使用され得る薬物組み合わせを発見する必要が依然として存在する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0011】

〔11〕 本発明は、以下本明細書において「複合体」と呼ばれる少なくとも1つの細胞結合剤薬物複合体（例えば、免疫複合体）と、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ）、免疫調節剤／血管新生阻害剤（例えば、サリドマイドまたはレナリドマイド）、およびDNAアルキル化剤（例えば、メルファラン）から選択される少なくとも1つの化学療法剤とを含み、任意選択によりコルチコステロイド（例えば、デキサメタゾン）とさらに組み合わせられる組み合わせの投与が、免疫複合体を単独で使用するよりも、または免疫複合体を添加せずに化学療法剤を単独で使用するか、もしくは別の化学療法剤と組み合わせ使用するよりも、治療相乗効果を有するか、または癌の処置における治療指数を改善するという発見に基づく。

10

【0012】

〔12〕 好適な実施形態では、複合体および化学療法剤は、デキサメタゾン等のコルチコステロイドと組み合わせ投与される。例えば、ヒト化抗体N901-メイタンシノイド複合体（huN901-DM1）等の免疫複合体は、サリドマイド／デキサメタゾン、レナリドマイド／デキサメタゾン、またはボルテゾミブ／デキサメタゾンと組み合わせ投与され、このような組み合わせは、免疫複合体を単独で使用するよりも、免疫複合体を添加せずに化学療法剤を単独で使用するか、または別の化学療法剤と組み合わせ使用するよりも、治療相乗効果を有するか、または癌の処置における治療指数を改善する。

20

【0013】

〔13〕 別の実施形態では、2つ以上の化学療法剤は、免疫複合体と組み合わせ使用される。例えば、ボルテゾミブおよびレナリドマイドは、デキサメタゾン等のコルチコステロイドの存在下または非存在下で、huN901-メイタンシノイド複合体と組み合わせ使用され、このような組み合わせは、免疫複合体を単独で使用するよりも、免疫複合体を添加せずに化学療法剤を単独で使用するか、または別の化学療法剤と組み合わせ使用するよりも、治療相乗効果を有するか、または癌の処置における治療指数を改善する。

【0014】

〔14〕 用語の「治療相乗効果」は、本明細書において使用する際、複合体および／または1つ以上の化学療法剤の組み合わせが追加的効果を上回る治療効果を有する複合体および1つ以上の化学療法剤の組み合わせを意味する。

30

【0015】

〔15〕 本発明の別の目的は、コルチコステロイド（例えば、デキサメタゾン）の任意選択のさらなる添加を含む、少なくとも1つの複合体（例えば、免疫複合体）および1つ以上の化学療法剤（例えば、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤／血管新生阻害剤、またはDNAアルキル化剤）の治療的に有効な量を患者に投与することによって、それを必要とする患者における癌を改善または処置する方法であって、その組み合わせが、免疫複合体を添加せずに抗癌剤を単独または組み合わせ使用するよりも、治療相乗効果を有するか、または癌の処置における治療指数を改善するようにする方法について説明する。

40

【0016】

〔16〕 さらに態様では、本発明は、任意選択により医薬的に許容可能な担体を含む、複合体（例えば、免疫複合体）および化学療法剤（例えば、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤／血管新生阻害剤、またはDNAアルキル化剤）のうちの1つ以上の有効量を含む医薬組成物を提供する。

【0017】

〔17〕 本発明は、癌または細胞の異常増殖により引き起こされる任意の疾患の処置において、同時、順次、または別々の投与による組み合わせ療法のための薬物の調製のために、コルチコステロイドの任意選択の添加を含む、複合体（例えば、免疫複合体）およ

50

び化学療法剤（例えば、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤／血管新生阻害剤、またはDNAアルキル化剤）の使用をまたさらに提供する。例えば、複合体および薬物は、薬剤毎の最適投与スケジュールを使用して、同一の日または異なる日に投与することができる。例えば、一実施形態では、2つの化合物を、10日以内に相互に投与することができ、別の実施形態では、5日以内に相互に投与することができ、さらに別の実施形態では、相互に24時間以内に投与することができ、または同時に投与することができる。代替として、huN901-DM1、化学療法剤、コルチコステロイド、または任意のそれらの組み合わせを、1日おき、隔日、週1回、または0日から7日の間の範囲（例えば、0、1、2、3、4、5、6、または7日目）もしくは0週から4週の間の範囲（例えば、0、1、2、3、または4週目、1週以上の間に追加され得る日を含む）の期間に投与することができる。場合によっては、化学療法剤を最初に投与し、その後、複合体を投与することが好適であり得る。例えば、ボルテゾミブを0日目に投与し、その後、huN901-DM1を3日目に投与する、薬物投与は、臨床状況を根拠に当業者により決定することができる。

10

【0018】

〔18〕 また、本発明は、コルチコステロイドの任意選択の添加を含む、少なくとも1つの複合体（例えば、免疫複合体）および1つ以上の化学療法剤（例えば、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤／血管新生阻害剤、またはDNAアルキル化剤）の治療的に有効な量を投与することによって、癌細胞等の選択された細胞集団の成長を調節する方法であって、その組み合わせが、免疫複合体を添加せずに抗癌剤を単独または組み合わせて使用するよりも、治療相乗効果を有するか、または癌の処置における治療指数を改善するようにする方法について説明する。複合体は、選択された細胞集団を死滅させるための細胞結合剤および少なくとも1つの治療剤を含むことができる。

20

【0019】

〔19〕 本発明のこれらの態様および他の態様について本明細書に詳述する。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1A】〔20〕図1Aは、Molp-8多発性骨髄腫異種移植片における、huN901-DM1のメルファランとの組み合わせを示す。

【図1B】図1Bは、データを示す表（表1）である。

30

【図2A】〔21〕図2Aは、Molp-8多発性骨髄腫異種移植片における、huN901-DM1のサリドマイドとの組み合わせを示す。

【図2B】図2Bは、データを示す表（表2）である。

【図3A】〔22〕図3Aは、OPM2多発性骨髄腫異種移植片における、huN901-DM1のボルテゾミブとの組み合わせを示す。

【図3B】図3Bは、データを示す表（表3）である。

【図4A】〔23〕図4Aは、大きいH929多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DM1のボルテゾミブ（低用量）との組み合わせを示す。

【図4B】図4Bは、データを示す表（表4a）である。

【図4C】〔24〕図4Cは、大きいH929多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DM1のボルテゾミブ（高用量）との組み合わせを示す。

40

【図4D】図4Dは、データを示す表（表4b）である。

【図5A】〔25〕図5Aは、OPM2多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DM1のレナリドマイドとの組み合わせを示す。

【図5B】図5Bは、データを示す表（表5）である。

【図6】〔26〕図6は、huN901-DM1とボルテゾミブとの抗腫瘍活性のスケジュール依存性を示す。

【図7A】〔27〕図7Aは、MOLP-8多発性骨髄腫異種移植片における、huN901-DM1のレナリドマイドとの低用量デキサメタゾンを加えた三重組み合わせを示す。

50

【図 7 B】図 7 B は、データを示す表（表 7 a）である。

【図 8 A】〔28〕図 8 A は、h u N 9 0 1 - D M 1 のレナリドマイドとの低用量デキサメタゾンを加えた 3 重組み合わせによる処置後の、M O L P - 8 多発性骨髄腫異種移植片におけるアポトーシスマーカー、カスパーゼー 3 の免疫組織化学的分析を示す。

【図 8 B】〔29〕図 8 B は、h u N 9 0 1 - D M 1 のレナリドマイドとの低用量デキサメタゾンを加えた 3 重組み合わせにより処置された M O L P - 8 多発性骨髄腫異種移植片における腫瘍細胞アポトーシスの統計的に顕著な相乗的増加を、別々のいずれかの療法による処置と比較して示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

10

〔30〕本発明は、コルチコステロイド（デキサメタゾン）の任意選択のさらなる添加を含む、少なくとも 1 つの複合体（例えば、免疫複合体）と、少なくとも 1 つの化学療法剤（例えば、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤／血管新生阻害剤、または D N A アルキル化剤）との投与が、単独の免疫複合体よりも、免疫複合体を添加せずに化学療法剤を単独で使用するか、もしくは別の化学療法剤と組み合わせて使用するよりも、治療相乗効果を有するか、または癌の処置における治療指数を改善するという予想外の発見に基づく。

【0022】

複合体

〔31〕本発明の複合体は、細胞結合剤に連結される選択された細胞集団を死滅させるための少なくとも 1 つの治療剤を含む。

20

【0023】

〔32〕選択された細胞集団を死滅させるための治療剤は、好ましくは、当技術分野において既知である抗有糸分裂薬剤であり、これは、チューブリン重合、ひいては微小管形成を阻害することによって細胞を死滅させる。例えば、メイタンシノイド、ビンカルカロイド、ドラスタチン、オーリスタチン、クリプトフィシン、ツブリシン、および／またはチューブリン重合を阻害することによって細胞を死滅させる任意の他の薬剤を含む、当技術分野において既知である任意の抗有糸分裂薬剤を、本発明において使用することができる。好ましくは、抗有糸分裂薬剤は、メイタンシノイドである。

【0024】

30

〔33〕細胞結合剤は、典型的にはおよび好ましくは、動物細胞（例えば、ヒト細胞）である細胞に結合する任意の適切な薬剤であることができる。細胞結合剤は、好ましくは、ペプチドまたはポリペプチドである。適切な細胞結合剤には、例えば、抗体（例えば、モノクローナル抗体およびそのフラグメント）、リンホカイン、ホルモン、成長因子、栄養素輸送分子（例えば、トランスフェリン）が含まれる。選択された細胞集団を死滅させるための治療剤および免疫複合体の一部になり得る細胞結合剤について、より詳細に後述する。

【0025】

メイタンシノイド

〔34〕本発明において使用され得るメイタンシノイドは、当技術分野において周知であり、既知の方法に従って天然源から単離され得るか、または既知の方法に従って合成的に調製され得る。

40

【0026】

〔35〕適切なメイタンシノイドの例として、メイタンシノールおよびメイタンシノール類似体が挙げられる。適切なメイタンシノール類似体の例として、修飾された芳香環を有するもの、および他の位置に修飾を有するものが挙げられる。

【0027】

〔36〕修飾された芳香環を有するメイタンシノールの適切な類似体の具体的な例として以下のものが挙げられる。

（1）C - 1 9 - デクロロ（米国特許第 4, 2 5 6, 7 4 6 号）（アンサミトシン P - 2

50

のL A H還元により調製される) ;

(2) C-20-ヒドロキシ(またはC-20-デメチル)+/-C-19-デクロロ(米国特許第4, 361, 650号および第4, 307, 016号)(ストレプトミセスまたはアクチノミセスを使用する脱メチル化もしくはL A Hを使用する脱塩素化により調製される) ; および

(3) C-20-デメトキシ、C-20-アシルオキシ(-O C O R)、+/-デクロロ(米国特許第4, 294, 757号)(塩化アシルを使用するアシル化により調製される)

[37] 他の位置に修飾を有するメイタンシノールの適切な類似体の具体的な例として、以下のものが挙げられる。

(1) C-9-SH(米国特許第4, 424, 219号)(メイタンシノールのH₂SまたはP₂S₅との反応により調製される) ;

(2) C-14-アルコキシメチル(デメトキシ/CH₂OR)(米国特許第4, 331, 598号) ;

(3) C-14-ヒドロキシメチルまたはアシルオキシメチル(CH₂OHまたはCH₂OAc)(米国特許第4, 450, 254号)(ノカルジアから調製される) ;

(4) C-15-ヒドロキシ/アシルオキシ(米国特許第4, 364, 866号)(ストレプトミセスによるメイタンシノールの転化により調製される) ;

(5) C-15-メトキシ(米国特許第4, 313, 946号および第4, 315, 929号)(トレウィアヌドロフローラより単離される) ;

(6) C-18-N-デメチル(米国特許第4, 362, 663号および第4, 322, 348号)(ストレプトミセスによるメイタンシノールの脱メチル化により調製される) ; および、

(7) 4, 5-デオキシ(米国特許第4, 371, 533号)(メイタンシノールの3塩化チタン/L A H還元により調製される)

[38] 本発明において有用なチオール含有メイタンシノイドの合成は、米国特許第5, 208, 020号、第5, 416, 064号、第6, 333, 410号、第7, 276, 497号、および第7, 301, 019号)において完全に開示される。

【0028】

[39] C3位、C14位、C15位、またはC20位においてチオール部分を含むメイタンシノイドは、全て有用であると考えられる。C3位が好ましく、メイタンシノールのC3位は特に好ましい。また、N-メチルーアラニン含有C3チオール部分メイタンシノイド、およびN-メチルーシステイン含有C3チオール部分メイタンシノイド、ならびに各々の類似体も好ましい。

【0029】

[40] 本発明において有用なN-メチルーアラニン含有C3チオール部分メイタンシノイド誘導体の具体的な例は、分子式M1、M2、M3、M6、およびM7によって表わされる。

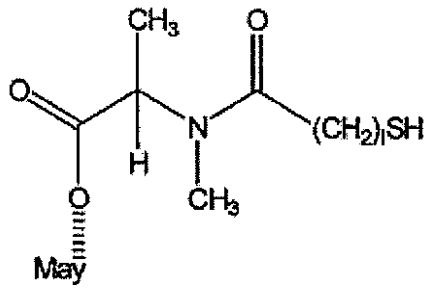
【0030】

10

20

30

【化 1】



M1

10

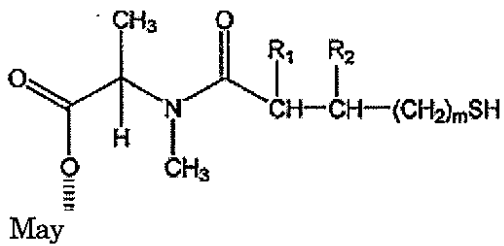
【0031】

式中、

l は、1 から 10 までの整数であり、
 may は、メイタンシノイドである。

【0032】

【化 2】



M2

20

【0033】

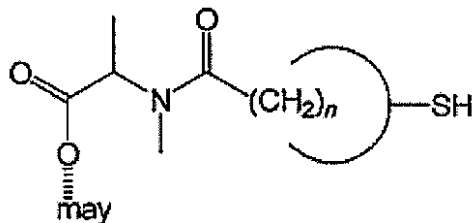
式中、

R₁ および R₂ は、H、CH₃、または CH₂CH₃ であり、同一または異なってもよく
 、
 m は、0、1、2、または 3 であり、
 may は、メイタンシノイドである。

30

【0034】

【化 3】



M3

40

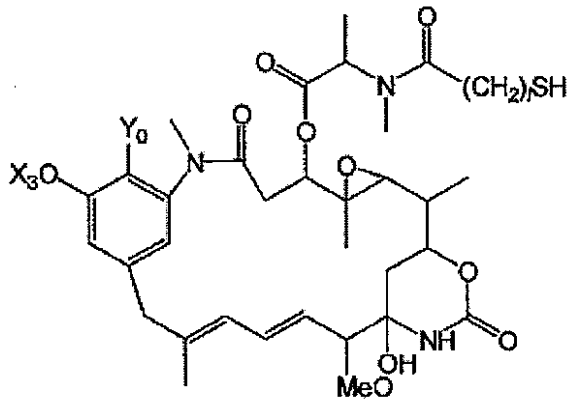
【0035】

式中、

n は、3 から 8 までの整数であり、
 may は、メイタンシノイドである。

【0036】

【化 4】



M6

10

【0037】

式中、

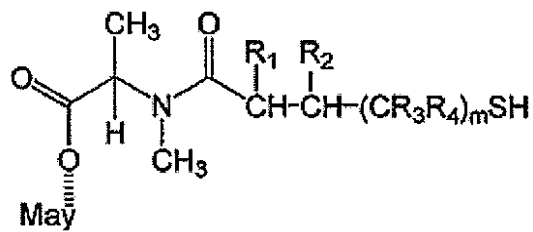
l は、1、2、または3であり、

Y₀ は、C₁またはHであり、X₃ は、HまたはCH₃である。

【0038】

【化 5】

20



M7

30

【0039】

式中、

R₁、R₂、R₃、R₄ は、H、CH₃またはCH₂CH₃であり、同一または異なってもよく、

m は、0、1、2、または3であり、

may は、メイタンシノイドである。

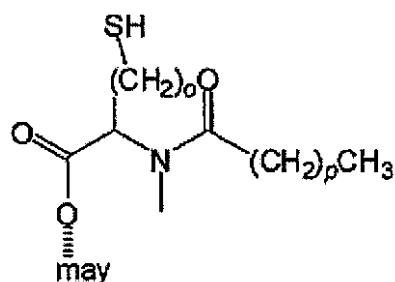
【0040】

[41] 本発明において有用なN-メチルーシステイン含有C3チオール部分メイタンシノイド誘導体の具体的な例は、分子式M4およびM5によって表わされる。

【0041】

40

【化 6】



M4

50

【0042】

式中、

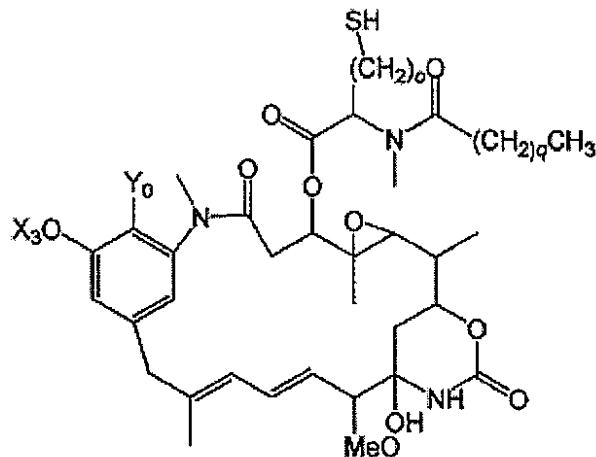
o は、1、2、または3であり、

p は、0から10の整数であり、

may は、メイタンシノイドである。

【0043】

【化7】



M5

【0044】

式中、

o は、1、2、または3であり、

q は、0から10までの整数であり、

Y₀ は、C1またはHであり、X₃ は、HまたはCH₃である。

【0045】

[42] 好適なメイタンシノイドは、米国特許第5,208,020号、第5,416,064号、第6,333,410号、第6,441,163号、第6,716,821号、第RE39,151号、および第7,276,497号に説明されるものである。

【0046】

[43] ビンカアルカロイド化合物（例えば、ビンクリスチン）、ドラスタチン化合物、およびクリプトフィシン化合物は、国際公開第WO01/24763に詳述される。オーリスタチンには、オーリスタチンE、オーリスタチンEB（AEB）、オーリスタチンEFP（AEFP）、モノメチルオーリスタチンE（MMAE）が含まれ、米国特許第5,635,483号、Int. J. Oncol. 15:367-72（1999）；Molecular Cancer Therapeutics, vol. 3, No. 8, pp. 921-932（2004）；米国出願第11/134826号、米国公開第20060074008号、第2006022925に説明される。ツブリシン化合物は、米国公開第20050249740号に説明される。この表題に列挙される薬剤の多くは、意向があれば、化学療法剤としても使用可能である。

【0047】

細胞結合剤

[44] 本発明において使用する細胞結合剤は、癌細胞上の標的抗原に特異的に結合するタンパク質（例えば、免疫グロブリンおよび非免疫グロブリンタンパク質）である。これらの細胞結合剤には、以下が含まれる。

ー以下を含む抗体：

ー表面再処理抗体（米国特許第5,639,641号）；

10

20

30

40

50

ーヒト化抗体または完全なヒト抗体（ヒト化抗体または完全なヒト抗体は、huMy9-6、huB4、huC242、huN901、DS6、CD38、IGF-IR、CNTO95、B-B4、トラスツズマブ、ビバツズマブ、シプロツツマブ、ペルツズマブ、およびリツキシマブから選択されるが、これらに限定されない（例えば、米国特許第5,639,641号、第5,665,357号、および第7,342,110号；米国仮特許出願第60/424,332号、国際特許出願第WO02/16,401号、米国特許公開第20060045877号、米国特許公開第20060127407号、米国特許公開第20050118183号、Pedersen et al., (1994) J. Mol. Biol. 235, 959-973, Roguska et al., (1994) Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol 91, 969-973, Colomer et al., Cancer Invest., 19:49-56 (2001), Heider et al., Eur. J. Cancer, 31A:2385-2391 (1995), Welt et al., J Clin. Oncol., 12:1193-1203 (1994)、およびMaloney et al., Blood, 90:2188-2195 (1997)を参照されたい）；および

ーFv、Fab、Fab、およびF(ab')₂等の抗体のエピトープ結合フラグメント（Parham, J Immunol. 131:2895-2902 (1983)；Spring et al., J Immunol. 113:470-478 (1974)；Nisonoff et al., Arch. Biochem. Biophys. 89:230-244 (1960)）。

【0048】

〔45〕 追加の細胞結合剤には、以下により例示化されるが、これらに限定されない他の細胞結合タンパク質およびポリペプチドを含む。

ーアンキリン反復タンパク質（DARPs；Zahnd et al., J Biol. Chem., 281, 46, 35167-35175, (2006)；Binz, H. K., Amstutz, P. & Pluckthun, A. (2005) Nature Biotechnology, 23, 1257-1268）または、例えば、米国特許公開第20070238667号；米国特許第7,101,675号；国際公開第WO/2007/147213号；および国際公開第WO/2007/062466に説明されるアンキリン様反復タンパク質もしくは合成ペプチド）；

ーインターフェロン（例えば、α、β、γ）；

ーIL-2、IL-3、IL-4、IL-6等のリンホカイン；

ーインスリン、TRH（甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン）、MSH（メラニン細胞刺激ホルモン）、アンドロゲンおよびエスゴロゲン等のステロイドホルモン、および

ーEGF、TGF-α、IGF-1、G-CSF、M-CSF、およびGM-CSF等の成長因子およびコロニー刺激因子（Burgess, Immunology Today 5:155-158 (1984)）。

【0049】

〔46〕 細胞結合剤が抗体（例えば、単鎖抗体、標的細胞に結合する抗体フラグメント、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体、またはそのモノクローナル抗体フラグメント、キメラ抗体、そのキメラ抗体フラグメント、ドメイン抗体、そのドメイン抗体フラグメント、表面再処理抗体、表面再処理単鎖抗体、またはその表面再処理抗体フラグメント、ヒト抗体またはそのヒト抗体フラグメント、ヒト化抗体または表面再処理抗体、ヒト化単鎖抗体、またはそのヒト化抗体フラグメント）である場合、細胞結合剤は、ポリペプチドである抗原に結合し、成長因子等の膜貫通分子（例えば、受容体）またはリガンドであり得る。例示的抗原には、レニン等の分子；ヒト成長ホルモンおよびウシ成長ホルモンを含む成長ホルモン；成長ホルモン放出因子；副甲状腺ホルモン；甲状腺刺激ホルモン；リポタンパク質；α-1-抗トリプシン；インスリンA鎖；インスリンB鎖；プロインスリン；卵胞刺激ホルモン；カルシトニン；黄体形成ホルモン；グルカゴン；vmc因

子、第IX因子、組織因子(TF)、およびフォンヴィレブランド因子等の凝固因子；タンパク質C等の抗凝固因子；心房性ナトリウム利尿因子；肺表面活性剤；ウロキナーゼまたはヒト尿または組織型プラスミノゲン活性化因子(t-PA)等のプラスミノゲン活性化因子；ボンベシン；トロニン；造血性成長因子；腫瘍壊死因子- α および β ；エンケファリナーゼ；RANTES（通常T細胞が発現および分泌する活性の調節）、ヒトマクロファージ炎症タンパク質(MIP-1- α)；ヒト血清アルブミン等の血清アルブミン；ミューラー阻害物質；リラキシンA鎖；リラキシンB鎖；プロリラキシン；マウスゴナドトロピン会合ペプチド； β -ラクタマーゼ等の微生物タンパク質、DNase；IgE；CTLA-4等の細胞傷害性Tリンパ球会合抗原(CTLA)；インヒビン；アクチビン；血管内皮成長因子(VEGF)；ホルモンまたは成長因子の受容体；タンパク質AまたはD；リウマチ因子；骨由来神経栄養因子(BDNF)、ニューロトロフィン-3、-4、-5、または-6(NT-3、NT-4、NT-5、またはNT-6)等の神経栄養因子、またはNGF- β 等の神経成長因子；血小板由来成長因子(PDGF)；aFGFおよびbFGF等の線維芽細胞成長因子；上皮成長因子(EGF)；TGF- α および、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、TGF- β 4、またはTGF- β 5を含むTGF- β 等の形質転換成長因子(TGF)；インスリン様成長因子IおよびII(IGF-IおよびIGF-II)；デス(1-3)-IGF-1(脳IGF-I)；インスリン様成長因子結合タンパク質；EpCAM、GD3、FLT3、PSMA、PSCA、MUC1、MUC16、STEAP、CEA、TENB2、EphA受容体、EphB受容体、葉酸受容体、FOLR1、メソテリン、クリプト、 $\alpha_v\beta_6$ 、インテグリン、VEGF、VEGFR、トランスフェリン受容体、IRTA1、IRTA2、IRTA3、IRTA4、IRTA5；CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD14、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD26、CD28、CD30、CD33、CD36、CD37、CD38、CD40、CD44、CD52、CD55、CD56、CD59、CD70、CD79、CD80、CD81、CD103、CD105、CD134、CD137、CD138、CD152等のCDタンパク質；エリスロポエチン；骨誘導因子；抗毒素；骨形成タンパク質(BMP)；インターフェロン- α 、- β 、および- γ 等のインターフェロン；例えば、M-CSF、GM-CSF、およびG-CSFのコロニー刺激因子(CSF)；例えば、IL-1からIL-10のインターロイキン(IL)；スーパーオキシドジスムターゼ；T細胞受容体；表面膜タンパク質；崩壊促進因子；例えば、HIVエンベロープの一部等のウイルス抗原；輸送タンパク質；ホーミング受容体；アドレシン；調節タンパク質；CD11a、CD11b、CD11c、CD18、ICAM、VLA-4、およびVCAM等のインテグリン；HER2、HER3、またはHER4受容体等の腫瘍会合抗原；ならびに上記に列挙したポリペプチド、抗体模倣体アドネクチン(米国出願第20070082365号)、または参照によりその全体が組み込まれる米国公開第20080171040号もしくは米国公開第20080305044号に開示される1つ以上の腫瘍会合抗原もしくは細胞表面受容体に結合する抗体のいずれかのフラグメントが含まれる。

【0050】

[47] 加えて、骨髄細胞に結合するGM-CSFは、急性骨髄性白血病由来の罹患細胞への細胞結合剤として使用することができる。活性化T細胞に結合するIL-2は、移植片拒絶の予防、移植片対宿主病の治療および予防、ならびに急性T細胞白血病の処置のために使用することができる。メラニン細胞に結合するMSHは、メラノーマの処置に使用することができる。葉酸は、卵巣および他の腫瘍上に発現される葉酸受容体を標的化するために使用することができる。上皮成長因子は、肺および頭頸部等の扁平上皮癌を標的化するために使用することができる。ソマトスタチンは、神経芽細胞腫および他の腫瘍の種類を標的化するために使用することができる。

【0051】

[48] 乳癌および精巣癌は、それぞれ細胞結合剤としてのエストロゲン(またはエストロゲン類似体)またはアンドロゲン(またはアンドロゲン類似体)により、成功裏に

標的化され得る。

【0052】

〔49〕 本発明が包含する抗体の好適な抗原には、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD14、CD18、CD19、CD20、CD21、CD22、CD25、CD26、CD28、CD30、CD33、CD36、CD37、CD38、CD40、CD44、CD52、CD55、CD56、CD70、CD79、CD80、CD81、CD103、CD105、CD134、CD137、CD138、およびCD152等のCDタンパク質；EGF受容体、HER2、HER3、またはHER4受容体等のErbb受容体群のメンバー；LFA-1、Mac1、p150.95、VLA-4、ICAM-1、VCAM、EPCAM、 $\alpha 4/\beta 7$ インテグリン、およびその α または β のいずれかのサブユニットを含む $\alpha v/\beta 3$ インテグリン（例えば、抗CD11a、抗CD18、または抗CD11b抗体）等の細胞接着分子；VEGF等の成長因子；組織因子（TF）；TGF- β ； α インターフェロン（ α -IFN）；IL-8等のインターロイキン；IgE；血液型抗原Apo2、死受容体；flk2/flt3受容体；肥満（OB）受容体；mpl受容体；CTLA-4；タンパク質C等が含まれる。本明細書において最も好適な標的物は、IGF-IR、CanAg、EphA2、MUC1、MUC16、VEGF、TF、CD19、CD20、CD22、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD138、CA6、Her2/neu、EPCAM、クリプト（ヒト乳癌細胞の大部分において上昇レベルで生成されるタンパク質）、ダルピン、 $\alpha v/\beta 3$ インテグリン、 $\alpha v/\beta 5$ インテグリン、 $\alpha v/\beta 6$ インテグリン、TGF- β 、CD11a、CD18、Apo2およびC242、または参照によりその全体が組み込まれる米国公開第20080171040号もしくは米国公開第20080305044号に開示される1つ以上の腫瘍会合抗原もしくは細胞表面受容体に結合する抗体である。

10

20

【0053】

〔50〕 また、本発明が包含する抗体の好適な抗原には、CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD34、CD37、CD38、CD46、CD56、およびCD138等のCDタンパク質；EGF受容体、HER2、HER3、またはHER4受容体等のErbb受容体群のメンバー；LFA-1、Mac1、p150.95、VLA-4、ICAM-1、VCAM、EPCAM、 $\alpha 4/\beta 7$ インテグリン、およびその α または β のいずれかのサブユニットを含む $\alpha v/\beta 3$ インテグリン（例えば、抗CD11a、抗CD18、または抗CD11b抗体）等の細胞接着分子；VEGF等の成長因子；組織因子（TF）；TGF- β ； α インターフェロン（ α -IFN）；IL-8等のインターロイキン；IgE；血液型抗原Apo2、死受容体；flk2/flt3受容体；肥満（OB）受容体；mpl受容体；CTLA-4；タンパク質C等も含まれる。本明細書において最も好適な標的物は、IGF-IR、CanAg、EGF-R、EphA2、MUC1、MUC16、VEGF、TF、CD19、CD20、CD22、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD138、CA6、Her2/neu、クリプト（ヒト乳癌細胞の大部分において上昇レベルで生成されるタンパク質）、 $\alpha v/\beta 3$ インテグリン、 $\alpha v/\beta 5$ インテグリン、TGF- β 、CD11a、CD18、Apo2、EPCAM、およびC242である。

30

40

【0054】

〔51〕 モノクローナル抗体法によって、モノクローナル抗体の形式で、特異的な細胞結合剤の生成が可能になる。特に当技術分野において周知の技法は、マウス、ラット、ハムスター、または任意の他の哺乳類を、無傷の標的細胞、標的細胞から単離された抗原、ウイルス全体、弱毒化したウイルス全体、およびウイルスコートタンパク質等のウイルスタンパク質などの対象の抗原により免疫化することによって生成されるモノクローナル抗体を作成する技法である。また、感作ヒト細胞を使用することもできる。モノクローナル抗体を作成する別の方法として、sFv（単鎖可変領域）、具体的にはヒトsFvのファージライブラリを使用することが挙げられる（例えば、Griffithsら、米国特

50

許第5, 885, 793; McCaffertyら、国際公開第WO92/01047; Limingら、国際公開第WO99/06587)。

【0055】

〔52〕 適切な細胞結合剤の選択は、標的化される特定の細胞集団に依存する選択事項であるが、一般に、適切なものが利用可能であるならば、モノクローナル抗体およびそのエピトープ結合フラグメントが好ましい。

【0056】

〔53〕 例えば、モノクローナル抗体My9は、急性骨髄性白血病(AML)細胞上に見られるCD33抗原に特異的なマウスのIgG_{2a}抗体であり(Roy et al. Blood 77:2404-2412 (1991))、かつAML患者の処置に使用することができる。同様に、モノクローナル抗体抗B4は、マウスのIgG₁であり、これはB細胞上のCD19抗原に結合し(Nadler et al, J Immunol. 131:244-250 (1983))、かつ標的細胞がB細胞または非ホジキン性リンパ腫もしくは慢性リンパ芽球性白血病等においてこの抗原を発現する罹患細胞である場合に使用することができる。抗体N901は、マウスモノクローナルIgG₁抗体であり、これは、小細胞肺癌細胞および神経内分泌源の他の腫瘍の細胞上に見られるCD56に結合し(Roy et al. J Nat. Cancer Inst. 88:1136-1145 (1996)); huC242は、CanAg抗原に結合する抗体であり; トラスツズマブは、HER2/neuに結合する抗体であり; 抗EGF受容体抗体は、EGF受容体に結合する。

10
20

【0057】

化学療法剤

〔54〕 本発明において使用され得る薬物は、化学療法剤を含む。「化学療法剤」は、癌の処置に有用である化合物である。化学療法剤の好適な例として、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤、血管新生阻害剤、アルキル化剤、またはそれらの組み合わせが挙げられる。

【0058】

プロテアソーム阻害剤

〔55〕 プロテアソーム阻害剤は、プロテアソーム、つまりタンパク質を分解する細胞複合体の作用を阻害する薬物である。本発明の一実施形態では、プロテアソーム阻害剤は、a) C末端エポキシ(エキスポキシ)ケトン構造を有するペプチド誘導体、β-ラクトーン誘導体、アクラシノマイシンA、ラクタシスチン、クラストラクタシステインを含む自然発生のプロテアソーム阻害剤; b) N-カルボベンゾキシー-L-ロイシニル-L-ロイシニル-L-ロイシナル(MG132またはZLLLとも呼ばれる)等の修飾されたペプチドアルデヒド、またはMG232のボロン酸誘導体、N-カルボベンゾキシー-Leu-Nva-H(MG115とも呼ばれる)、N-アセチル-L-ロイシニル-L-ロイシニル-L-ノルロイシナル(LLnLとも呼ばれる)、N-カルボベンゾキシー-Ile-Glu(OBut)-Ala-Leu-H(PS1とも呼ばれる)を含む合成プロテアソーム阻害剤; c) α、β-エポキシケトン構造、カルボベンゾキシー-L-ロイシニル-L-ロイシニル-L-ロイシン-ビニルスルホンまたは4-ヒドロキシ-5-ヨード-3-ニトロフェニルアセチル-L-ロイシニル-L-ロイシニル-L-ロイシン-ビニルスルホン(NLVS)等のビニルスルホンを含むペプチド; d) ピラジル-C(=O)NH(CHPh)CONH(CHイソブチル)B(OH)₂およびジペプチジルホウ酸誘導体等のグリオキサル酸またはホウ酸残基; e) ベンジルオキシカルボニル(Cbz)-Leu-Leu-boro-Leu-ピナコールエステル等のピナコールエステルを含む群から選択される。また、Am J Clin Pathol 116(5):637-646, 2001または米国出願第10/522706号(2003年7月31日出願)に説明されるプロテアソーム阻害剤も、本発明の構想内に包含される。好適な実施形態では、プロテアソーム阻害剤は、PS-341/ボルテゾミブ(VelcadeTM)である。

10

20

30

40

50

【0059】

免疫調節剤

〔56〕 「免疫調節薬物または薬剤」は、例えば、免疫系における細胞、例えば、T細胞、B細胞、マクロファージ、もしくは抗原提示細胞（APC）の細胞活性を刺激もしくは抑制することによって、または免疫系の外部の成分に作用して、免疫系、例えば、ホルモン、受容体作用薬もしくは拮抗薬、および神経伝達物質を刺激、抑制、または調節することによって、例えば、免疫系に直接的または間接的に作用する薬剤を意味し；免疫調節剤は、例えば、免疫抑制剤または免疫刺激剤であることができる。「抗炎症剤」は、例えば、炎症反応、すなわち、損傷に対する組織反応を処置する薬剤、例えば、免疫系、血管系、またはリンパ系を処置する薬剤を意味する。

10

【0060】

〔57〕 本発明における使用に適切な抗炎症または免疫調節の薬物または薬剤には、インターフェロン誘導体、例えば、ベタセロン、 β -インターフェロン；プロスタン誘導体、例えば、PCT/DE 93/0013に開示される化合物、例えば、イロプロスト、シカプロスト；グルココルチコイド、例えば、コルチゾール、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、デキサメタゾン；免疫抑制薬、例えば、シクロスポリンA、FK-506、メトキサレン、サリドマイド、スルファサラジン、アザチオプリン、メトトレキサート；リポキシゲナーゼ阻害剤、例えば、ジレウトン、MK-886、WY-50295、SC-45662、SC-41661A、BI-L-357；ロイコトリエン拮抗薬、例えば、DE 40091171、ドイツ特許出願第P 42 42 390. 2号；国際公開第WO 9201675に開示されている化合物；SC-41930；SC-50605；SC-51146；LY 255283（D. K. Herron et al., FASEB J. 2: Abstr. 4729, 1988）；LY 223982（D. M. Gapinski et al. J. Med. Chem. 33: 2798-2813, 1990）；例えば、J. Morris et al., Tetrahedron Lett. 29: 143-146, 1988、C. E. Burgos et al., Tetrahedron Lett. 30: 5081-5084, 1989；B. M. Taylor et al., Prostaglandins 42: 211-224, 1991に説明されるU-75302および類似体；米国特許第5, 019, 573号に開示される化合物；例えば、K. Kishikawa et al., Adv. Prostagl. Thrombox. Leukotriene Res. 21: 407-410, 1990；M. Konno et al., Adv. Prostagl. Thrombox. Leukotriene Res. 21: 411-414, 1990に説明される化合物；例えば、米国特許第4, 963, 583号に開示されるWF-11605および類似体；国際公開第WO 9118601号、国際公開第WO 9118879号；国際公開第WO 9118880号、国際公開第WO 9118883号に開示される化合物；抗炎症性物質、例えば、L. Noronha-Blab. et al., Gastroenterology 102 (Suppl.): A 672, 1992に説明されるNPC 16570、NPC 17923；R. M. Burch et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 88: 355-359, 1991；S. Pou et al., Biochem. Pharmacol. 45: 2123-2127, 1993に説明されるNPC 15669および類似体；ペプチド誘導体、例えば、ACTHおよび類似体；可溶性TNF-受容体；TNF-抗体；インターロイキン、他のサイトカイン、T細胞-タンパク質の可溶性受容体；インターロイキン、他のサイトカイン、およびT細胞-タンパク質の受容体に対する抗体が含まれるが、これらに限定されない。免疫調節剤のさらなる例として、メトトレキサート、レフルノミド、シクロホスファミド、シクロスポリンA、およびマクロライド抗生物質（例えば、FK506（タクロリムス））、メチルプレドニゾロン（MP）、コルチコステロイド、ステロイド、ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン（シロリムス）、ミゾリビン、デオキシスパガリン、ブレキナル、マロノニトリロアミド類（例えば、レフルナミド）、T細胞受容体調節剤、およびサイトカイン受容体調

20

30

40

50

節剤が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞受容体調節剤およびサイトカイン受容体調節剤の分類については、第3.1項を参照されたい。T細胞受容体調節剤の例として、抗T細胞受容体抗体（例えば、抗CD4モノクローナル抗体、抗CD3モノクローナル抗体、抗CD8モノクローナル抗体、抗CD40リガンドモノクローナル抗体、抗CD2モノクローナル抗体）およびCTLA4-免疫グロブリンが挙げられるが、これらに限定されない。サイトカイン受容体調節剤の例として、可溶性サイトカイン受容体（例えばTNF- α 受容体またはそのフラグメントの細胞外領域、IL-1 β 受容体またはそのフラグメントの細胞外領域、およびIL-6受容体またはそのフラグメントの細胞外領域）、サイトカインまたはそのフラグメント（例えば、インターロイキン（IL）-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-15、TNF- α 、インターフェロン（IFN）- α 、IFN- β 、IFN- γ 、およびGM-CSF）、抗サイトカイン受容体抗体（例えば、抗IL-2受容体抗体、抗IL-4受容体抗体、抗IL-6受容体抗体、抗IL-10受容体抗体、および抗IL-12受容体抗体）、抗サイトカイン抗体（例えば、抗IFN抗体、抗TNF- α 抗体、抗IL-1 β 抗体、抗IL-6抗体、および抗IL-12抗体）が挙げられるが、これらに限定されない。米国特許出願第11/454559号（2006年6月16日出願）に列挙される薬剤。好適な免疫調節薬物は、多発性骨髄腫、血液、血漿、または骨関連の癌の処置に有効であるものである。好適な実施形態では、免疫調節剤は、サリドマイド（Thalomid）およびレナリドマイド（Revlimid）から選択される。

10

20

【0061】

血管新生阻害剤

[58] 血管新生阻害剤には、米国特許出願第11/612744号（2006年12月19日出願）または第10/443254号（2003年5月22日出願）にさらに詳述される受容体チロシンキナーゼ阻害剤（RTKi）；血管新生抑制コルチゼン；MMP阻害剤；インテグリン阻害剤；PDGF拮抗薬；抗増殖剤；HIF-1阻害剤；線維芽細胞成長因子阻害剤；上皮成長因子阻害剤；TIMP阻害剤；インスリン様成長因子阻害剤；TNF阻害剤；アンチセンスオリゴヌクレオチド；抗VEGF抗体、VEGFトラップ、NSAID、ステロイド、siRNA等、および前述の薬剤のいずれかのプロドラックが含まれるが、これらに限定されない。本発明の組成物および方法に有用である他の薬剤には、抗VEGF抗体（すなわち、ベバシズマブまたはラニズマブ）；VEGFトラップ；siRNA分子、またはそれらの混合物であって、チロシンキナーゼ受容体のうちの少なくとも2つを標的とするもの；グルココルチコイド（すなわち、デキサメタゾン、フルオロメトロン、メドリゾン、ベタメタゾン、トリアムシノロン、リアムシノロンアセトニド、プレドニゾン、プレドニゾロン、ヒドロコルチゾン、リメキシロン、および医薬的に許容可能なそれらの塩、プレドニカルベート、デフラザコート、ハロメタゾン、チキソコルトール、プレドニリデン（21-ジエチルアミノアセタート）、プレドニバル、パラメタゾン、メチルプレドニゾロン、メプレドニゾン、マジプレドン、イソフルプレドン、ハロプレドンアセテート、ルシノニド、ホルモコータル、フルランドレノリド、フルプレドニゾロン、フルプレドニデンアセテート、フルペロロンアセテート、フルオコルトロン、フルオコルチンブチル、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、フルニソリド、フルメタゾン、フルドロコルチゾン、フルクロニド、エノキシロン、ジフルプレドナート、ジフルコルトロン、2-酢酸ジフロラゾン、デスオキシメタゾン（デスオキシメタゾン）、デソニド、デスシノロン、コルチバゾール、コルチコステロン、コーチゾン、クロプレドノール、クロコルトロン、クロベタゾン、クロベタゾール、クロロプレドニゾン、カフェストール、ブデソニド、ベクロメタゾン、アムシノニド、アロプレグナンアセトニド、アルクロメタゾン、21-アセトキシプレグネノロン、トラロニド、ジフロラゾンジアセテート、デアセチルコルチバゾール、RU-26988、ブデソニド、およびデアセチルコルチバゾールオキセタノン）；ナフトヒドロキノン抗生物質（すなわち、リファマイシン）；ならびにNSAID（すなわち、ネバフェナク、アンフェナク）が含まれる。好

30

40

50

適な実施形態では、血管新生阻害剤は、サリドマイド (Thalomid) およびレナリドマイド (Revlimid) から選択される。また、レナリドマイドおよびサリドマイド等の血管新生阻害剤の多くは、免疫調節剤としても作用し、つまり、作用の2重機序を有する。

【0062】

アルキル化剤

[59] アルキル化剤またはDNAアルキル化剤は、本明細書において使用する際、DNAに損傷を与えることによって機能する。DNA損傷は、任意の以下の機序のうちのいずれか1つによって達成され得る。第1の機序では、アルキル化剤は、アルキル基をDNA塩基に付着させる。この改変により、DNAは、アルキル化塩基を置換しようとして、修復酵素によってフラグメント化される。アルキル化剤がDNA損傷を引き起こす第2の機序は、架橋、つまり、DNAにおける原子間の結合の形成である。本過程において、2つの塩基は、2つのDNA結合部位を有するアルキル化剤によってまとめて連結される。架橋連結は、DNAが合成または転写するために分離することを防止する。アルキル化剤の作用の第3の機序によって、突然変異をもたらすヌクレオチドの誤対合が引き起こされる。

【0063】

[60] ナイトロジェンマスタード；エチレニミン；アルカンスルホン酸塩；トリアゼン；ピペラジン；およびニトロスレアスの6つの群のアルキル化剤が存在する。アルキル化剤の例として、チオテパおよびシクロホスファミド (CYTOXANTM)；ブスルファン、インプロスルファン、およびビボスルファン等のスルホン酸アルキル；ベンゾドール、カルボコン、カルムスチン、メツレドール、およびウレドール等のアジリジン；アルトレタミ、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド、およびトリメチローロメラミンを含むエチレンイミンおよびメチラメラミン；アセトゲニン（特に、ブラタシンおよびブラタシノン）；カンプトテシン（合成類似体トポテカンを含む）；プリオスタチン；カリスタチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシン、およびビゼレシンの合成類似体を含む）；クリプトフィシン（特に、クリプトフィシン1およびクリプトフィシン8）が挙げられる。好適なアルキル化剤は、メルファランおよびシクロホスファミドから選択される。

【0064】

コルチコステロイド

[61] コルチコステロイドは、コルチゾール、つまり副腎皮質（副腎の外層）において自然に生成されるホルモンに密接に関連する薬物である。コルチコステロイド薬物には、ベタメタゾン (Celestone)、ブデソニド (Entocort EC)、コーチゾン (Cortone)、デキサメタゾン (Decadron)、ヒドロコルチゾン (Cortef)、メチルプレドニゾロン (Medrol)、プレドニゾロン (Prelone)、プレドニゾン (Deltasone)、およびトリアムシノロン (Kenacort、Kenalog) が含まれる。好適なコルチコステロイドは、デキサメタゾン（デキサメタゾンリン酸ナトリウムおよびデキサメタゾンアセレート等を含むがこれらに限定されない誘導体を含む）である。コルチコステロイドは、経口投与、静脈注射または筋肉注射、皮膚への局部的塗布、直接注射（例えば、炎症関節へ）することができる。コルチコステロイドは、他の薬物と併用して使用することができ、短期使用および長期使用に処方される（例えば、パルス用量による投与、短時間で投与される用量、設定間隔での繰り返し）。コルチコステロイドの推奨用量は、例えば、0.5 mg/日から100 mg/日の範囲であってもよく、例えば、デキサメタゾンは、最初の4治療周期について、各28日周期の1日目から4日目、9日目から12日目、および17日目から20日目等の同じ日または異なる日に投与するために、0.5 mg/日から100 mg/日の間の範囲、より好ましくは、10 mg/日から80 mg/日の間の範囲、さらにより好ましくは、15 mg/日から70 mg/日の範囲、または最も好ましくは、20 mg/日から60 mg/日の範囲、次いで、28日毎の1日目から4日目に経口により40 mg/日で推奨され

得る。投与は、臨床所見および検査所見に基づいて、継続または修正することができる。例えば、用量は、最初に極めて多く、次いで、徐々に少なくなるか、もしくはその反対であり、または、推奨されるよりも多いもしくは少ない用量で開始してもよく、処置対象の哺乳類（例えば、ヒト）の体重に依存してもよい。

【0065】

〔62〕 薬物複合体は、生化学的方法によって調製され得る。薬物またはプロドラッグを抗体に連結するために、連結基を使用する。適切な連結基は、本技術分野において周知であり、ジスルフィド基、酸不安定基、光解離性基、ペプチターゼ解離性基、チオエーテル基、およびエステラーゼ解離性基を含む。好適な連結基は、ジスルフィド基およびチオエーテル基である。例えば、複合体は、適切に修飾された抗体と薬物またはプロドラッグとの間のジスルフィド交換反応を使用して、またはチオール含有薬剤と、マレイミド基を含有するように修飾された抗体との反応によって、構築され得る。代替として、薬物は、マレイミド基を含有し、抗体は、チオール部分を含有し得る。複合体の調製のための方法は、当技術分野において説明されている（米国特許第5,208,030号；第5,416,064号；第6,333,410号；第6,441,163号；第6,716,821号；第6,913,748号；第7,276,497号、および米国出願第2005/0169933号参照）。また、薬物分子は、血清アルブミン等の中間担体分子を介して、細胞結合剤にも連結され得る。

【0066】

〔63〕 本発明によると、細胞結合剤は、2官能性架橋試薬を細胞結合剤と反応させることによって修飾され、これによって、リンカー分子の細胞結合剤への共有結合がもたらされる。本明細書において使用する際、「2官能性架橋試薬」は、細胞結合剤を、本明細書に説明する薬物等の薬物に共有連結する任意の化学的部分である。本発明の好適な実施形態では、連結部分の一部分は、薬物によって提供される。この点において、薬物は、細胞結合剤を薬物に結合するのに使用される、より大きいリンカー分子の一部である連結部分を含む。例えば、メイタンシノイドDM1またはDM4を形成するために、メイタンシンのC3位におけるエステル測鎖は、米国特許第5,208,020号；第6,333,410号；第7,276,497号に説明するように、遊離スルフヒドリル基（SH）を有するように修飾される。メイタンシンのこのチオール化された形式は、修飾された細胞結合剤と反応して複合体を形成することができる。ゆえに、最終のリンカーは、2つの成分から組み立てられ、そのうちの1つは、架橋試薬によって提供され、他方は、DM1またはDM4からの側鎖によって提供される。

【0067】

〔64〕 リンカー試薬が治療、例えば、細胞毒性の保持、ならびに薬物および細胞結合剤のそれぞれの標的特徴用に提供する限り、任意の適切な2官能性架橋試薬を本発明に関連して使用することができる。好ましくは、リンカー分子は、薬物および細胞結合剤が相互に化学的に連結（例えば、共有連結）されるように、化学結合によって薬物を細胞結合剤に結合する（上述のように）。好ましくは、連結試薬は、開裂可能リンカーである。より好ましくは、リンカーは、温和な条件下で、すなわち、薬物の活性が影響されない細胞内における条件下で開裂される。適切な開裂可能リンカーの例として、ジスルフィドリンカー、酸不安定リンカー、光解離性リンカー、ペプチターゼ解離性リンカー、およびエステラーゼ解離性リンカーが挙げられる。ジスルフィド含有リンカーは、生理学的条件下で発生し得るジスルフィド交換により開裂可能なリンカーである。酸不安定リンカーは、酸性pHにおいて開裂可能なリンカーである。例えば、エンドソームおよびリソソーム等の一定の細胞内区画は、酸性pH（pH4～5）を有し、酸不安定リンカーの開裂に適切な条件を提供する。光解離性リンカーは、光にアクセス可能な体表および多くの体腔において有用である。さらに、赤外光は、組織を貫通することができる。ペプチターゼ解離性リンカーは、細胞内部または外部の一定のペプチドを開裂するために使用され得る（例えば、Trouet et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79:626-629 (1982)、およびUmemoto et al., Int. J.

Cancer, 43:677-684 (1989))。

【0068】

〔65〕好ましくは、薬物は、ジスルフィド結合またはチオエーテル結合を介して細胞結合剤に連結される。リンカー分子は、細胞結合剤と反応し得る反応化学基を含む。細胞結合剤との反応に好適な反応化学基は、N-サクシニミジルエステルおよびN-スルホサクシニミジルエステルである。加えて、リンカー分子は、反応化学基、好ましくは、薬物と反応してジスルフィド結合を形成し得るジチオピリジル基を含む。特に好適なリンカー分子には、例えば、N-サクシニミジル3-(2-ピリジルジチオ)プロピオン酸塩(SPDP)(例えば、Carlsson et al., Biochem. J., 173:723-737 (1978) 参照)、N-サクシニミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート(SPDB)(例えば、米国特許第4,563,304号参照)、N-サクシニミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート(SPP)(例えば、CAS登録番号341498-08-6参照)、および参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第6,913,748号に説明される他の反応架橋剤が含まれる。

10

【0069】

〔66〕開裂可能リンカーは、好ましくは、本発明の方法に使用されるが、非開裂可能リンカーを使用して、上述の複合体を生成することもできる。非開裂可能リンカーは、メイタンシノイド、ピンカアルカロイド、ドラスタチン、オーリスタチン、またはクリプトフィシン等の薬物を細胞結合剤に安定共有結合して連結することができる任意の化学的部分である。したがって、非開裂可能リンカーは、薬物または細胞結合剤が活性を保持する条件において、酸誘導開裂、光誘導開裂、ペプチターゼ誘導開裂、エステラーゼ誘導開裂、およびジスルフィド結合開裂に実質的に抵抗性を有する。

20

【0070】

〔67〕薬物と細胞結合剤との間の非開裂可能リンカーを形成する適切な架橋試薬は、当技術分野において周知である。非開裂可能リンカーの例として、細胞結合剤と反応するためのN-サクシニミジルエステルまたはN-スルホサクシニミジルエステル部分、ならびに薬物と反応するためのマレイミドベースまたはハロアセチルベースの部分を含むリンカーを含む。マレイミドベースの部分を含む架橋試薬には、N-サクシニミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボン酸メチル(SMCC)、SMCC(LC-SMCC)の「長鎖」類似体であるN-サクシニミジル-4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシ(6-カプロン酸アミド)、 κ -マレイミドウンデカン酸N-サクシニミジルエステル(KMUA)、 γ -マレイミド酪酸N-サクシニミジルエステル(GMBS)、 ϵ -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(EMCS)、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(MBS)、N-(α -マレイミドアセトキシ)-スクシンイミドエステル(AMAS)、サクシニミジル-6-(β -マレイミドプロピオンアミド)ヘキサン酸塩(SMPH)、N-サクシニミジル4-(p-マレイミドフェニル)-酪酸塩(SMPB)、およびN-(p-マレイミドフェニル)イソシアン酸塩(PMPI)が含まれる。ハロアセチルベースの部分を含む架橋試薬には、N-サクシニミジル-4-(ヨードアセチル)-アミノ安息香酸塩(SIAB)、N-サクシニミジルヨード酢酸(SIA)、N-サクシニミジルブロモ酢酸(SBA)、およびN-サクシニミジル3-(プロモアセトアミド)プロピオン酸塩(SBAP)が含まれる。

30

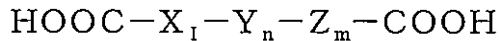
40

【0071】

〔68〕また、非開裂可能リンカーを形成する硫黄原子を欠く他の架橋試薬も、本発明の方法に使用することができる。このようなリンカーは、ジカルボキシ酸ベースの部分由来であることができる。適切なジカルボキシ酸ベースの部分には、一般式(IX)：

【0072】

【化 8】



(IX)

【0073】

の α 、 ω -ジカルボン酸が含まれるが、これらに限定されない。

〔69〕 式中、Xは、2から20個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル、アルケニル、またはアルキニル基である。Yは、3から10個の炭素原子を有するシクロアルキルまたはシクロアルケニル基である。Zは、6から10個の炭素原子を有する置換もしくは非置換芳香族基であるか、または置換もしくは非置換複素環基であり、この場合、ヘテロ原子は、N、O、またはSから選択され、l、m、およびnの各々は、1、m、およびnが全て同時にゼロでないと仮定すると、0または1である。

10

【0074】

〔70〕 本明細書に開示される非開裂可能リンカーの多くは、米国特許出願第10/960,602号に詳述されている。本発明において使用され得る他のリンカーは、荷電リンカーまたは親水性リンカーを含み、米国特許出願第12/433,604号および第12/433,668号のそれぞれにおいて説明される。

【0075】

〔71〕 代替として、米国特許第6,441,163 B1号に開示されるように、薬物は、まず、細胞結合剤との反応に適切な反応エステルを導入するように修飾され得る。活性化リンカー部分を含有するこれらのメイタンシノイドの細胞結合剤との反応によって、開裂可能または非開裂可能細胞結合剤メイタンシノイド複合体を生成する別の方法が提供される。

20

【0076】

〔72〕 本発明の免疫複合体および化学療法剤は、例えば、肺、血液、血漿、乳房、結腸、前立腺、腎臓、膵臓、脳、骨、卵巣、精巣、およびリンパ系器官の癌；全身性エリテマトーデス、リウマチ性関節炎、および多発性硬化症等の自己免疫疾患；腎移植拒絶反応、肝移植拒絶反応、肺移植拒絶反応、心移植拒絶反応、および骨髄移植拒絶反応等の移植片拒絶反応；移植片対宿主病；CMV感染症、HIV感染症、およびAIDS等のウイルス感染症；ならびに、ランブル鞭毛虫症、アメーバ症、住血吸虫症、およびその同等物の寄生体感染症等を含む、患者を処置するために、および／または選択された細胞集団の成長を調節するために、体外、生体内、および／または生体外で投与することができる。好ましくは、本発明の免疫複合体および化学療法剤は、例えば、血液、血漿、肺、乳房、結腸、前立腺、腎臓、膵臓、脳、骨、卵巣、精巣、およびリンパ系器官の癌を含む、患者における癌を処置するために、および／または癌細胞の成長を調節するために、体外、生体内、および／または生体外で投与することができ；好ましくは、癌細胞は、乳癌細胞、前立腺癌細胞、卵巣癌細胞、結腸直腸癌細胞、多発性骨髄腫細胞、卵巣癌細胞、神経芽腫細胞、神経内分泌癌細胞、胃癌細胞、扁平上皮癌細胞、小細胞肺癌細胞、または精巣癌細胞、あるいはそれらの組み合わせである。

30

40

【0077】

〔73〕 「選択された細胞集団の成長を調節すること」は、より多くの細胞を生成する為の分裂による、選択された多発性骨髄腫細胞集団（例えば、MOLP-8細胞、OPM2細胞、H929細胞、およびその同等物）の増殖を阻害すること；例えば、未処置細胞と比較して、細胞分裂の増加率を低下させること；選択された細胞集団を死滅させること；および／または、選択された細胞集団（癌細胞等）の転移を防止することを含む。選択された細胞集団の成長は、体外、生体内、または生体外において調節することができる。

【0078】

〔74〕 本発明の方法では、免疫複合体および化学療法剤は、体外、生体内、または

50

生体外において別々にまたは同じ組成物の成分として投与することができる。混合投与は、別々の製剤または単一の医薬製剤を使用する同時投与と、いずれかの順番での連続投与を含み、この場合、好ましくは、両方（または全ての）活性薬剤が同時にその生物学的活性を及ぼす時間が存在する。好ましくは、このような混合治療により、相乗治療効果もたらされる。投与され得る抗癌剤には、コルチコステロイドデキサメタゾンを併用する、メルファラン等のDNAアルキル化剤；ボルテゾミブ（Velcade）等のプロテアソーム阻害剤；ならびにサリドマイドおよびレナリドマイド（Revlimid）等の免疫調節剤または血管新生阻害剤が含まれる。したがって、例えば、抗体－メイタンシノイド複合体は、上記に列挙する化学療法剤のうちの1つだけ、または上記に列挙する2つ以上の化学療法剤の組み合わせと組み合わせられ得る。例えば、抗体－メイタンシノイド複合体は、添加デキサメタゾンを含んで、または含まずに、ボルテゾミブおよびレナリドマイドまたはサリドマイドと組み合わせられ得る。同様に、抗体－メイタンシノイド複合体は、添加デキサメタゾンを含んで、または含まずに、メルファランおよびボルテゾミブまたはレナリドマイドと組み合わせられ得る。各薬剤の投与順および用量は、個々の薬剤について認可された投与スケジュールを使用して当業者により容易に判断される（例えば、Physicians Desk Reference, (PDR) 2006は、サリドマイド（p 979～983）、Velcade（p 2102～2106）、およびメルファラン（p 976～979）の好適な処置用量および投与スケジュールについて開示するため、参照された）。

10

【0079】

20

〔75〕 免疫複合体および化学療法剤は、周知である適切な医薬的に許容可能な担体、希釈剤、および／または賦形剤とともに使用することができ、かつ当業者は臨床状況を根拠に判断することができる。適切な担体、希釈剤、および／または賦形剤の例として、（1）ダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水、pH約6.5、これは約1mg/ml～25mg/mlのヒト血清アルブミンを含有、（2）0.9%生理食塩水（0.9%w/v NaCl）、および（3）5%（w/v）デキストロースを含む。

【0080】

〔76〕 本明細書に説明する化合物および組成物は、適切な形式、好ましくは非経口投与、より好ましくは静脈投与することができる。非経口投与では、化合物または組成物は、水性または非水性の滅菌溶液、懸濁剤、または乳剤であることができる。プロピレングリコール、植物油、およびオレイン酸エチル等の注射可能な有機エステルを、溶剤またはビヒクルとして使用することができる。また、組成物は、アジュバント、乳化剤、または分散剤を含有することもできる。

30

【0081】

〔77〕 また、組成物は、滅菌水または他の注射可能な滅菌媒質中に溶解または分散され得る滅菌固形組成物の形状であることもできる。

〔78〕 本明細書に説明する化学療法剤および免疫複合体の「治療的に有効な量」は、選択された細胞集団の増殖の阻害および／または患者の疾患の治療のための投与計画を言及し、かつこれは、患者の年齢、体重、性別、食事、および健康状態、疾患の重症度、投与経路、ならびに使用する特定の化合物の活性、有効性、薬物動態学、および毒性プロファイル等の薬学的考察を含む多種多様の要因に従って選択される。また、「治療有効量」は、Physicians Desk Reference 2004等の標準的な医学書を参照して決定することができる。患者は、好ましくは動物であり、より好ましくは哺乳類であり、最も好ましくはヒトである。患者は、男性または女性であり、かつ幼児、小児、または成人であることができる。

40

【0082】

〔79〕 適切な免疫複合体投与プロトコルの例として、以下のものが挙げられる。免疫複合体は、約5日間のそれぞれの日の静脈内ボラスとして、または約5日間の連続注入としてのいずれかで、約5日間毎日投与することができる。

【0083】

50

〔80〕 代替として、これらは、6週間以上の間、週1回投与することができる。別の代替として、これらは、2週間または3週間毎に1回投与することができる。ボラス用量は、約5mlから約10mlのヒト血清アルブミンを添加可能な約50mlから約400mlの通常の生理食塩水中に入れて投与される。連続注入は、約25mlから約50mlのヒト血清アルブミンを添加可能な約250mlから約500mlの通常の生理食塩水中に入れて、24時間毎に投与される。投与量は、静脈内に1人につき約10pgから約1000mg/kg（約100ngから約10mg/kgの範囲）である。

【0084】

〔81〕 処置後約1週間から約4週間で、患者は2回目の処置を受けることができる。投与経路、賦形剤、希釈剤、投与量、および時間に関する具体的な臨床プロトコルは、臨床状況を根拠に当業者によって決定することができる。

【0085】

〔82〕 また、本発明は、1つ以上の免疫複合体および1つ以上の化学療法剤を含む、本発明の医薬化合物および／または組成物の1つ以上の成分が充填された1つ以上の容器を備える、医薬キットも提供する。また、このようなキットは、例えば、他の化合物および／または組成物、化合物および／または組成物を投与するためのデバイス、ならびに医薬品または生物学的製品の製造、使用、または販売を規制している政府当局により指定された様式の添付文書も含むことができる。

【0086】

〔83〕 癌治療およびその投与量、投与経路、および推奨使用は、当技術分野において既知であり、Physician's Desk Reference (PDR)等の文献に説明されている。PDRは、種々の癌の処置に使用されている薬剤の投与量を開示する。治療的に有効であるこれらの上述の化学療法剤の投与計画および投与量は、処置される特定の癌、疾患の程度、および当技術分野の医師に精通する他の要因に依存し、医師によって決定することができる。PDRの内容は、参照によりその全体が本明細書に明示的に組み込まれる。Physician's Desk Reference (PDR)の2006版は、サリドマイド (p 979~983)、Velcade (p 2102~2106)、およびメルファラン (p 976~979)の作用機序ならびに好適な処置用量および投与スケジュールについて開示する。PDRの内容は、参照によりその全体が本明細書に明示的に組み込まれる。当業者は、本発明の教示に従って使用され得る化学療法剤および複合体の投与計画および投与量を判断するために、以下のパラメータのうちの1つ以上を使用して、PDRを見直すことができる。

1. 総合索引

a) 製造者毎

b) 製品（会社または商標薬物名毎）

c) カテゴリ索引（例えば、「プロテアソーム阻害剤」、「DNAアルキル化剤」、「メルファラン」等）

d) ジェネリック／化学的索引（非商標の一般的な薬物名）

2. 薬物のカラー画像

3. FDAラベルと一致する製品情報

a) 化学的情報

b) 機能／作用

c) 適応および禁忌

d) 試験研究、副作用、警告

類似体および誘導体

〔84〕 細胞毒性薬または化学療法剤等の治療剤に関する当業者は、本明細書に説明するこのような薬剤の各々を、結果として生じる化合物が依然として出発化合物の特異性および／または活性を保持するように、修正してもよいことを容易に理解する。また、当業者は、これらの化合物の多くを、本明細書に説明する治療剤の代わり使用してもよいことも理解する。したがって、本明細書の治療剤は、本明細書に説明する化合物の類似体お

10

20

30

40

50

よび誘導体を含む。

【0087】

〔85〕 本明細書および以下の実施例において引用する全ての文献は、参照によりその全体が明示的に組み込まれる。

【実施例】

【0088】

〔86〕 次に、本発明について、非制限的な例を参照して説明する。別途記載のない限り、全ての割合および比率は、体積による。

〔87〕 ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞株をマウスに接種し、処置前にマウスを確立可能にした（約 100 mm^3 の平均腫瘍サイズ）。複合体投与は、DM1濃度に基づいて説明される。有効性は、対照に対する処置対象の腫瘍成長の $\%$ （ $\%T/C$ ）と、腫瘍倍增時間および処置による腫瘍成長遅延から決定される殺細胞数の対数（LC K ）との両方として報告される。42%未満のパーセントの T/C 値および／または0.5以上のLC K 値は、活性であると考えられ、10%未満のパーセントの T/C 値は、高度に活性であると考えられる（Bissery et al., Cancer Res, 51:4845-4852 (1991)）。

【0089】

実施例1. huN901-DM1およびメルファランによるヒト多発性骨髄腫（MOLP-8）異種移植片の組み合わせ療法の抗腫瘍効果

〔88〕 多発性骨髄腫の確立した皮下異種移植片モデルにおいて、huN901-DM1およびメルファランの組み合わせの抗腫瘍効果について評価した。Balb/cヌードマウス（20匹）に、MOLP-8ヒト多発性骨髄腫細胞（ 1×10^7 細胞／匹）を接種し、マウスの右肩に皮下注射した。腫瘍が約 150 mm^3 のサイズに到達した時に（腫瘍細胞接種後21日目）、マウスを4つの群にランダムに分割した（群毎に5匹）。第1の群のマウスを、huN901-DM1によって処置し（腫瘍細胞接種後22日目に、 $200\text{ }\mu\text{g/kg}$ のDM1用量の単回注射）、静脈内投与した。第2の群の動物を、メルファランによって処置し（腫瘍細胞接種後23日目に、 12 mg/kg の単回注射）、腹腔内投与した。第3の群のマウスは、群1および群2と同一の用量、スケジュール、および投与経路を使用して、huN901-DM1およびメルファランの組み合わせを受けた。対照群の動物は、群1および群2と同一のスケジュールおよび投与経路を使用して、リン酸緩衝食塩水（PBS）を受けた。1週間に2回腫瘍サイズを測定することによって、腫瘍成長を監視した。長さ $\times$ 幅 $\times$ 高さ $\times 1/2$ の公式で腫瘍サイズを計算した。

【0090】

〔89〕 腫瘍成長データを図1Aに示す。対照群の動物では、腫瘍は、約33日で 1000 mm^3 に成長した。単独のhuN901-DM1またはメルファランによる処置により、それぞれ11日および14日の腫瘍成長遅延がもたらされた。一方、メルファランおよびhuN901-DM1の組み合わせによる処置により、35日の腫瘍成長遅延がもたらされ、NCI標準にしたがって高度に活性であった（ $T/C = 4\%$ 、表1（図1B）参照）。

【0091】

〔90〕 組み合わせ処置の殺細胞数の対数（LC K ）は2.1であり、これは、個々の薬物のLC K 値の合計を上回り、相乗活性が示された。

実施例2. huN901-DM1およびサリドマイドによるヒト多発性骨髄腫（MOLP-8）異種移植片の組み合わせ療法の抗腫瘍効果

〔91〕 多発性骨髄腫の確立した皮下異種移植片モデルにおいて、huN901-DM1およびサリドマイドの組み合わせの抗腫瘍効果について評価した。SCIDマウス（36匹）に、MOLP-8ヒト多発性骨髄腫細胞（ 1×10^7 細胞／匹）を接種し、マウスの右肩に皮下注射した。腫瘍が約 150 mm^3 のサイズに到達した時に（腫瘍細胞接種後15日目）、マウスを6つの群にランダムに分割した（群毎に6匹）。2つの群のマウスを、それぞれ $100\text{ }\mu\text{g/kg}$ および $250\text{ }\mu\text{g/kg}$ のDM1用量で、単一薬剤のh

u N 9 0 1 - D M 1 によって処置し（腫瘍細胞接種後 1 6 日目および 2 3 日目に、1 q w × 2）、静脈内投与した。第 3 の群のマウスを、2 0 0 m g / k g の用量で、単一薬剤のサリドマイドによって処置し（腫瘍細胞接種後 1 6 日目、1 8 ~ 2 2 日目、および 2 5 ~ 2 9 日目に、合計 1 1 回の用量）、P B S 中の 1 % のカルボキシメチルセルロースの懸濁液として腹腔内投与した。2 つの群を、単一薬剤処置群に使用した同一の用量、スケジュール、および投与経路を使用して、h u N 9 0 1 - D M 1（1 0 0 μ g / k g または 2 5 0 μ g / k g）にサリドマイドを加えた組み合わせによって処置した。対照群の動物は、静脈内投与で P B S を受けた（1 q w × 2、腫瘍細胞接種後 1 6 日目および 2 3 日目）。1 週間に 2 回腫瘍サイズを測定することによって、腫瘍成長を監視した。長さ × 幅 × 高さ × 1 / 2 の公式で腫瘍サイズを計算した。

10

【0092】

[9 2] 腫瘍成長データを図 2 A に示す。h u N 9 0 1 - D M 1 にサリドマイドを加えた組み合わせは、M O L P - 8 異種移植片において活性であり、相乗活性に対して相加的であった（表 2（図 2 B））。単一薬剤として不活性であった用量での h u N 9 0 1 - D M 1 およびサリドマイドの組み合わせ（1 0 0 μ g / k g の h u N 9 0 1 - D M 1、2 0 0 m g / k g のサリドマイド）は、N C I 標準に従って活性であった（T / C = 2 6 % ; 表 2（図 2 B））。

[9 3] h u N 9 0 1 - D M 1（2 5 0 μ g / k g）にサリドマイド（2 0 0 m g / k g）を加えた組み合わせは、高度に活性な組み合わせをもたらした（T / C = 7 %）、殺細胞数の対数（L C K）は 1 . 0 であり、これは、個々の薬物用の L C K 値の合計を上回る。

20

【0093】

実施例 3. h u N 9 0 1 - D M 1 およびボルテゾミブによるヒト多発性骨髄腫（O P M 2）異種移植片の組み合わせ療法の抗腫瘍効果

[9 4] 多発性骨髄腫の確立した皮下異種移植片モデルにおいて、h u N 9 0 1 - D M 1 およびボルテゾミブ（V e l c a d e , M i l l e n n i u m P h a r m a c e u t i c a l s）の組み合わせの抗腫瘍効果について評価した。S C I D マウス（3 6 匹）に O P M 2 ヒト多発性骨髄腫細胞（1 × 1 0 ⁷ 細胞 / 匹）を接種し、マウスの右肩に皮下注射した。腫瘍が約 7 0 m m ³ のサイズに到達した時に（腫瘍細胞接種後 1 2 日目）、マウスを 6 つの群にランダムに分割した（群毎に 6 匹）。2 つの群のマウスを、それぞれ 1 0 0 μ g / k g および 2 0 0 μ g / k g の D M 1 用量で、単一薬剤の h u N 9 0 1 - D M 1 によって処置し（腫瘍細胞接種後 1 2 日目）、静脈内投与した。第 3 の群のマウスを、1 m g / k g の用量で、単一薬剤のボルテゾミブによって処置し（腫瘍細胞接種後 1 3 日目および 1 6 日目）、静脈内投与した。2 つの群を、単一薬剤処置群に使用した同一の用量、スケジュール、および投与経路を使用して、h u N 9 0 1 - D M 1（1 0 0 μ g / k g または 2 0 0 μ g / k g）にボルテゾミブを加えた組み合わせによって処置した。対照群の動物は、静脈内投与で P B S を受けた（腫瘍細胞接種後 1 2 日目）。1 週間に 2 回腫瘍サイズを測定することによって、腫瘍成長を監視した。長さ × 幅 × 高さ × 1 / 2 の公式で腫瘍サイズを計算した。

30

【0094】

[9 5] h u N 9 0 1 - D M 1 にボルテゾミブを加えた組み合わせは、O P M 2 異種移植片において高度に活性であり、両方の用量組み合わせについて相乗活性がもたらされた。h u N 9 0 1 - D M 1 単独による処置により、1 0 0 μ g / k g の用量と 2 0 0 μ g / k g の用量とのそれぞれについて、9 1 日目に腫瘍の無いマウスが 6 匹中 1 匹および 6 匹中 3 匹がもたらされた（表 3（図 3 B）参照）。この時点で、ボルテゾミブの単一薬剤群に腫瘍の無いマウスは存在しなかった。h u N 9 0 1 - D M 1 にボルテゾミブ（1 m g / k g）を加えた両方の組み合わせにより、6 匹のマウスのうち 6 匹に完全な腫瘍退縮がもたらされ、腫瘍測定の最終日である 9 1 日目までにマウスの腫瘍は無腫状態であった。腫瘍成長曲線を図 3 A に示す。

40

【0095】

50

〔96〕 huN901-DM1にボルテゾミブを加えた組み合わせは、相乗的である高度に活性な組み合わせをもたらした。

実施例4. huN901-DM1およびボルテゾミブによるヒト多発性骨髄腫（H929）の大きな腫瘍異種移植片の組み合わせ療法の抗腫瘍効果

〔97〕 多発性骨髄腫の確立した皮下異種移植片モデルにおいて、huN901-DM1およびボルテゾミブの組み合わせの抗腫瘍効果について評価した。SCIDマウス（54匹）にH929ヒト多発性骨髄腫細胞（ 1×10^7 細胞/匹）を接種し、マウスの右肩に皮下注射した。腫瘍が約 300 mm^3 のサイズに到達した時に（腫瘍細胞接種後34日目）、マウスを11つの群にランダムに分割した（群毎に6匹）。2つの群のマウスを、それぞれ $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ および $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ のDM1用量で、単一薬剤のhuN901-DM1によって処置し（腫瘍細胞接種後34日目）、静脈内投与した。2つの群のマウスを、 $0.5 \text{ mg}/\text{kg}$ の低用量および $1 \text{ mg}/\text{kg}$ の高用量で、単一薬剤のボルテゾミブによって処置し（腫瘍細胞接種後35日目および38日目）、静脈内投与した。単一薬剤処置群に使用した同一のスケジュールを使用して、huN901-DM1の各用量に低用量または高用量のボルテゾミブを加えた組み合わせによる、4つの組み合わせ群について評価した。対照群の動物は、静脈内投与でPBSを受けた（腫瘍細胞接種後34日目）。1週間に2回腫瘍サイズを測定することによって、腫瘍成長を監視した。長さ×幅×高さ× $1/2$ の公式で腫瘍サイズを計算した。

【0096】

〔98〕 H929腫瘍におけるhuN901-DM1と低用量ボルテゾミブとの組み合わせは、相乗的であった。単一薬剤として不活性であった用量でのhuN901-DM1およびボルテゾミブの組み合わせ（ $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ のhuN901-DM1、 $0.5 \text{ mg}/\text{kg}$ のボルテゾミブ）は、NCI標準に従って活性であった（ $T/C = 38\%$ ；表4a（図4B））。また、huN901-DM1（ $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）に $0.5 \text{ mg}/\text{kg}$ のボルテゾミブを加えた組み合わせも、活性組み合わせをもたらした（ $T/C = 17\%$ 、119日目の研究の終了時に6匹中1匹に腫瘍の無いマウス；図4A参照）。

〔99〕 H929腫瘍におけるhuN901-DM1と高用量ボルテゾミブとの組み合わせも、相乗的であった。高用量ボルテゾミブ（ $1.0 \text{ mg}/\text{kg}$ ）は、H929の大きい腫瘍モデルにおける単一薬剤として活性である（ $T/C = 11\%$ 、119日目に6匹中1匹に腫瘍の無いマウス；表4b（図4D）参照）。高用量ボルテゾミブと、 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ および $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ によるhuN901-DM1との組み合わせ処置は、高度に活性であり、それぞれ7%および0%である低い T/C 値によって示した；、後者の組み合わせは、119日目に6匹中5匹の腫瘍の無いマウスをもたらした（図4C参照）。huN901-DM1にボルテゾミブを加えた組み合わせにより、相乗的である高度に活性な組み合わせがもたらされた。

【0097】

実施例5. huN901-DM1およびレナリドマイドによるヒト多発性骨髄腫（OPM2）異種移植片の組み合わせ療法の抗腫瘍効果

〔100〕 多発性骨髄腫の確立した皮下異種移植片モデルにおいて、huN901-DM1およびレナリドマイドの組み合わせの抗腫瘍効果について評価した。SCIDマウス（20匹）にOPM2ヒト多発性骨髄腫細胞（ 1×10^7 細胞/匹）を接種し、マウスの右肩に皮下注射した。腫瘍が約 130 mm^3 のサイズに到達した時に（腫瘍細胞接種後16日目）、マウスを4つの群にランダムに分割した（群毎に5匹）。1つの群のマウスを、単一薬剤のhuN901-DM1により処理し（腫瘍細胞接種後16日目に、 $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）、静脈内投与した。第2の群のマウスを、単一薬剤のレナリドマイドにより処置し（ $100 \text{ mg}/\text{kg}$ 、腫瘍細胞接種後16～20、22～26日目）、腹腔内注射により1%のカルボキシチルセルロース/PBS中の懸濁液として投与した。単一薬剤処置群に使用した同一の用量、スケジュール、および投与経路を使用して、第3の群を、huN901-DM1にレナリドマイドを加えた組み合わせにより処置した。対照群の動物は、静脈内投与でPBSを受けた（腫瘍細胞接種後16日目）。1週間に2回腫瘍サイズ

を測定することによって、腫瘍成長を監視した。長さ×幅×高さ×1/2の公式で腫瘍サイズを計算した。

【0098】

[101] huN901-DM1 (200 μg/kg、16日目)の単回注射による処置は、OPM2多発性骨髄腫異種移植片に対して活性であり(T/C=26%、LCK=0.9;表5(図5B)参照);単一薬剤としてのレナリドマイド(100mg/kg、16~20日目、23~27日目)の活性は、同程度であった(T/C=28%、LCK=0.9)。huN901-DM1にレナリドマイドを加えた組み合わせは、高度に活性であり(T/C=1.4%、LCK=1.7)、研究の終了時に5匹中1匹の腫瘍の無いマウスがもたらされた;huN901-DM1またはレナリドマイド/デキサメタゾンのいずれかの処置群における腫瘍の無い生存は存在しなかった。この研究の結果により、組み合わせ処置が相乗的であることが示され、単一薬剤としての薬物を上回る活性が示される。腫瘍成長データを表5(図5Bおよび図5A)に示す。

10

【0099】

実施例6. huN901-DM1のボルテゾミブとの組み合わせの抗腫瘍効果のスケジュール依存性

[102] 多発性骨髄腫の確立した皮下異種移植片モデルにおいて、huN901-DM1およびボルテゾミブの組み合わせの抗腫瘍効果について評価した。本研究の目的は、組み合わせ療法に最適なスケジュールを決定することにあった。SCIDマウス(18匹)にOPM2ヒト多発性骨髄腫細胞(1×10⁷細胞/匹)を接種し、マウスの右肩に皮下注射した。腫瘍が約70mm³のサイズに到達した時に(腫瘍細胞接種後12日目)、マウスを3つの群にランダムに分割した(群毎に6匹)。まず、第1の群のマウスを、0日目および3日目に1mg/kgの用量のボルテゾミブにより処置し、その後、3日目に13mg/kgの用量のhuN901-DM1により処置した。代替スケジュールでは、第2の群のマウスを、まず、0日目に13mg/kgの用量のhuN901-DM1により処置し、その3日目後(3日目および6日目)に1mg/kgの用量のボルテゾミブにより処置した。対照群の動物は、静脈内投与でPBSを受けた(腫瘍細胞接種後12日目)。1週間に2回腫瘍サイズを測定することによって、腫瘍成長を監視した。長さ×幅×高さ×1/2の公式で腫瘍サイズを計算した。

20

【0100】

[103] 予想外に、huN901-DM1にボルテゾミブを加えた組み合わせは、ボルテゾミブを最初に投与した時にだけ、OPM2異種移植片において高度に活性であった(図6参照)。したがって、本スケジュールによって、完全な腫瘍の退縮がもたらされ、6匹中5匹のマウスが、120日目に腫瘍が無くなった。ボルテゾミブを2回目に投与した場合(すなわち、huN901-DM1の投与後)、処置により、軽度の腫瘍成長遅延だけがもたらされ、30日目であっても腫瘍の無い動物は存在しなかった。本データによって、ボルテゾミブおよび免疫複合体の組み合わせ療法において、投与スケジュールが決定的に重要であることが提案される。ボルテゾミブによる前処置が、免疫複合体huN901-DM1による死滅に対して腫瘍細胞を感作し得ることが考えられる。

30

【0101】

実施例7. huN901-DM1およびレナリドマイドに低用量デキサメタゾンを加えた、ヒト多発性骨髄腫(MOLP-8)異種移植片の3重組み合わせ療法の抗腫瘍効果

[104] 多発性骨髄腫の確立した皮下異種移植片モデルにおいて、huN901-DM1およびレナリドマイドに低用量デキサメタゾンを加えた3重組み合わせの抗腫瘍効果について評価した。SCIDマウスにMOLP-8ヒト多発性骨髄腫細胞(1.5×10⁷細胞/匹)を接種し、マウスの右肩に皮下注射した。腫瘍が約100mm³のサイズに到達した時に(腫瘍細胞接種後13日目)、24匹のマウスを4つの群にランダムに分割した(群毎に6匹)。処置は、接種後13日目に開始し、処置の1日目と示された。1つの群のマウスを、単一薬剤のhuN901-DM1で処置した(150 μg/kg、1日目および8日目に静脈内投与)。第2の群のマウスを、レナリドマイド/低用量デキサ

40

50

メタゾンの組み合わせで処置した（100mg/kgのレナリドマイド、1～5日目、8～12日目に腹腔内注射により1%のカルボキシチルセルロース/PBS中の懸濁液として投与；1.5mg/kgのデキサメタゾン、1日目および8日目に皮下注射により投与）。個々の処置群に使用した同一の用量、スケジュール、および投与経路を使用して、第3の群を、huN901-DM1にレナリドマイド/デキサメタゾンを加えた3重組み合わせにより処置した。対照群の動物は、静脈内投与でPBSを受けた（1日目および8日目）。1週間に2回腫瘍サイズを測定することによって、腫瘍成長を監視した。長さ×幅×高さ×1/2の公式で腫瘍サイズを計算した。

【0102】

[105] huN901-DM1（150μg/kg、qw×2）またはレナリドマイドにデキサメタゾンを加えた処置は、MOLP-8腫瘍に対して同等に活性であった（T/C=33%、LCK=0.5；表7（図7b）参照）。huN901-DM1/レナリドマイド/デキサメタゾンの3重組み合わせは、高度に活性であり（T/C=0%、LCK=1.4）、マウスの全て（6匹中6匹）に部分退縮が認められ、6匹中4匹のマウスに完全腫瘍退縮が認められ、それに比べ、huN901-DM1またはレナリドマイド/デキサメタゾンのいずれかの処置群では退縮は認められなかった。腫瘍成長データを表7（図7b）および図7Aに示す。

10

【0103】

[106] MOLP-8腫瘍を持ったマウスの衛星処置群（群毎に3匹）を、有効性研究と並行して処置して、3日目に殺し（処置の48時間後）、開裂カスパーゼ-3に対する抗体による免疫組織化学のために腫瘍を採取し、アポトーシスを評価した。huN901-DM1/レナリドマイド/デキサメタゾンの3重組み合わせにより処置したマウスからの腫瘍は、対照に対してカスパーゼ-3染色の著しい増加を示し、単一療法処置群は、基準値または基準値付近でアポトーシスレベルを有した（データを図8Aに示す）。3重組み合わせによるアポトーシスのこの急増は、腫瘍体積の任意の変化を抗腫瘍活性研究で検出する前に、処置段階早期に明白である。

20

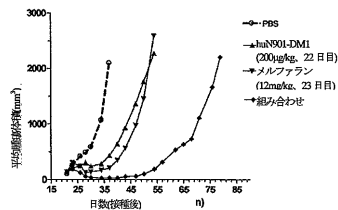
【0104】

[107] これらの研究の結果により、huN901-DM1/レナリドマイド/デキサメタゾンによる3重組み合わせ処置が、相乗的であることが示され、別々の療法としての薬剤を上回る抗腫瘍活性および腫瘍細胞アポトーシスの著しい増加が示された。

30

【図 1 A】

Mo1p-8多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DN1とメルファランとの組み合わせ。



【図 1 B】

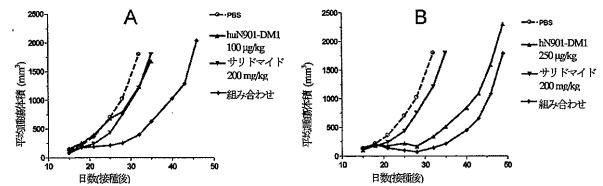
表1. Mo1p-8多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DN1のメルファランとの組み合わせ。

薬剤	注射当たりの投与量	用量スケジュール	T/C (%)	殺細胞数の対数	結論
huN901-DN1	200 µg/kg	qd × 1	27	0.6	活性
メルファラン	12 mg/kg	qd × 1	16	0.8	活性
組み合わせ			4	2.1	高度に活性、相乗的

【図 2 A】

Mo1p-8多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DN1のサリドマイドとの組み合わせ。

A. 100 µg/kgのhuN901-DN1に200 mg/kgのサリドマイドを加えた組み合わせ。 B. 250 µg/kgのhuN901-DN1に200 mg/kgのサリドマイドを加えた組み合わせ。



【図 2 B】

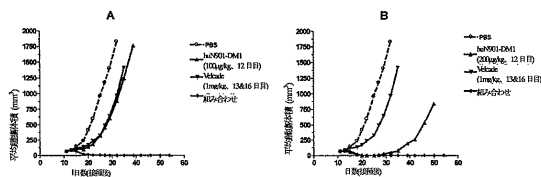
表2. Mo1p-8多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DN1のサリドマイドとの組み合わせ。

薬剤	注射当たりの投与量	用量スケジュール	T/C (%)	殺細胞数の対数	結論
HuN901-DN1	100 µg/kg	1qw × 2	80	0.0	不活性
サリドマイド	200 mg/kg	1 × 毎日 (合計 11 用量)	74	0.1	不活性
組み合わせ			26	0.7	活性、相乗的
HuN901-DN1	250 µg/kg	1qw × 2	17	0.8	活性
サリドマイド	200 mg/kg	1 × 毎日 (合計 11 用量)	74	0.1	不活性
組み合わせ			7	1.0	高度に活性、相乗的に対して相乗的

【図 3 A】

OPM2多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DN1のボルテゾミブとの組み合わせ。

A. 100 µg/kgのhuN901-DN1との組み合わせ。 B. 200 µg/kgのhuN901-DN1との組み合わせ。



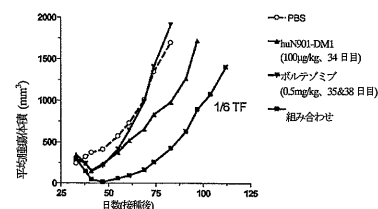
【図 3 B】

表3. OPM2多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DN1のボルテゾミブとの組み合わせ。

薬剤	注射当たりの投与量	用量スケジュール	T/C (%)	殺細胞数の対数	腫瘍の無い生存数 (91日目)	結論
HuN901-DN1	100 µg/kg	qd × 1	32.6	0.6	1/6	活性
ボルテゾミブ	1 mg/kg	2qw × 1	32.6	0.5	0/6	活性
組み合わせ			0.6		6/6	高度に活性、相乗的
HuN901-DN1	200 µg/kg	qd × 1	0.0	0.8	3/6	高度に活性
ボルテゾミブ	1 mg/kg	2qw × 1	32.6	0.5	0/6	活性
組み合わせ			0.0		6/6	高度に活性、相乗的

【図 4 A】

大きなH929多発性骨髄腫異種移植片におけるhuN901-DN1のボルテゾミブ(低用量)との組み合わせ (TF=腫瘍の無いマウス)。



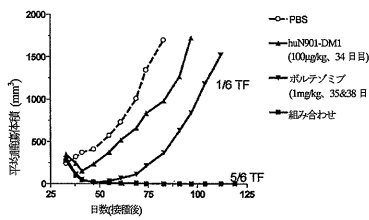
【図 4 B】

表4 a. 大きな腫瘍の多発性骨髄腫異種移植片H929におけるhuN901-DN1の低用量ボルテゾミブとの組み合わせ。

薬剤	注射当たりの投与量	用量スケジュール	T/C (%)	腫瘍の無い生存数 (119日目)	結論
HuN901-DN1	50 µg/kg	qd × 1	93	0/6	不活性
ボルテゾミブ	0.5 mg/kg	2qw × 1	100	0/6	不活性
組み合わせ			38	0/6	活性、相乗的
HuN901-DN1	100 µg/kg	qd × 1	67	0/6	不活性
ボルテゾミブ	0.5 mg/kg	2qw × 1	100	0/6	不活性
組み合わせ			17	1/6	活性、相乗的

【図 4 C】

大きなH929多発性骨髄腫異種移植片におけるh u N 9 0 1-DM1の低用量ボルテゾミブ（高用量）との組み合わせ（TF＝腫瘍の無いマウス）。



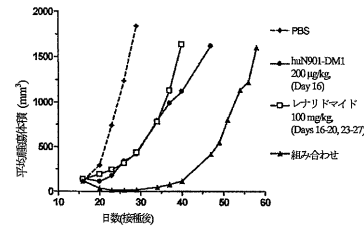
【図 4 D】

表 4 b. H 9 2 9 の大きな腫瘍の多発性骨髄腫異種移植片における h u N 9 0 1-DM1 の高用量ボルテゾミブとの組み合わせ。

薬剤	注射当たりの投与量	用量スケジュール	T/C(%)	腫瘍の無い生存数 (119日)	結論
HuN901-DM1	50 µg/kg	qd × 1	93	0/6	不活性
ボルテゾミブ	1.0 mg/kg	2qw × 1	11	1/6	活性
組み合わせ			7	2/6	高度に活性、相乗的
HuN901-DM1	100 µg/kg	qd × 1	67	0/6	不活性
ボルテゾミブ	1.0 mg/kg	2qw × 1	11	1/6	活性
組み合わせ			0	5/6	高度に活性、相乗的

【図 5 A】

OPM2多発性骨髄腫異種移植片におけるh u N 9 0 1-DM1のレナリドマイドとの組み合わせ



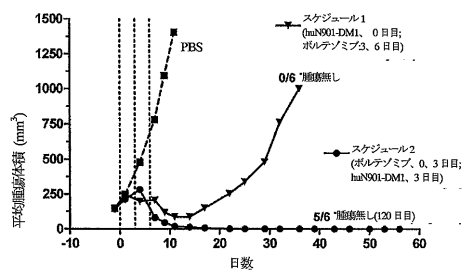
【図 5 B】

表 5. OPM2多発性骨髄腫異種移植片におけるh u N 9 0 1-DM1のレナリドマイドとの組み合わせ

薬剤	注射当たりの投与量	用量スケジュール	T/C(%)	殺細胞数の対数	腫瘍の無い生存数 (119日)	結論
HuN901-DM1	200 µg/kg	qd × 1	25.5	0.9	0/5	活性
レナリドマイド	100 mg/kg	qd × 5 × 2w	28	0.9	0/5	活性
組み合わせ			1.4	1.7	1/5	高度に活性、相乗的

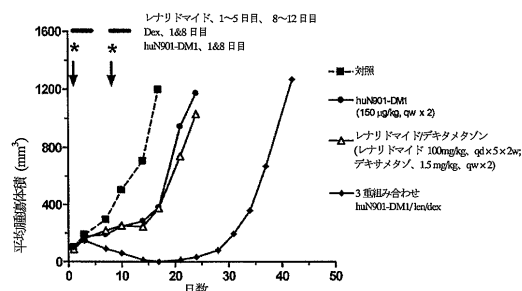
【図 6】

h u N 9 0 1-DM1 のボルテゾミブとの組み合わせの抗腫瘍効果のスケジュール依存性



【図 7 A】

MOLP-8多発性骨髄腫異種移植片における、低用量デキサメタゾンを加えた h u N 9 0 1-DM1 のレナリドマイドとの3重組み合わせ



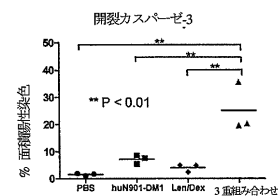
【図 7 B】

表 7. MOLP-8多発性骨髄腫異種移植片における、低用量デキサメタゾンを加えた h u N 9 0 1-DM1 のレナリドマイドとの3重組み合わせ

処置	薬剤	注射当たりの投与量	用量スケジュール	T/C (%)	殺細胞数の対数	退縮部分	完全	結論
単一薬剤 huN901-DM1	huN901-DM1	150 µg/kg	1qw × 2	33	0.5	0/6	0/6	活性
2つの薬剤組み合わせ len/dex	レナリドマイド デキサメタゾン	100 mg/kg 1.5 mg/kg	qd × 5 × 2w 1qw × 2	33	0.5	0/6	0/6	活性
3重薬剤組み合わせ huN901-DM1/len/dex				0	1.4	6/6	4/6	高度に活性

【図 8 B】

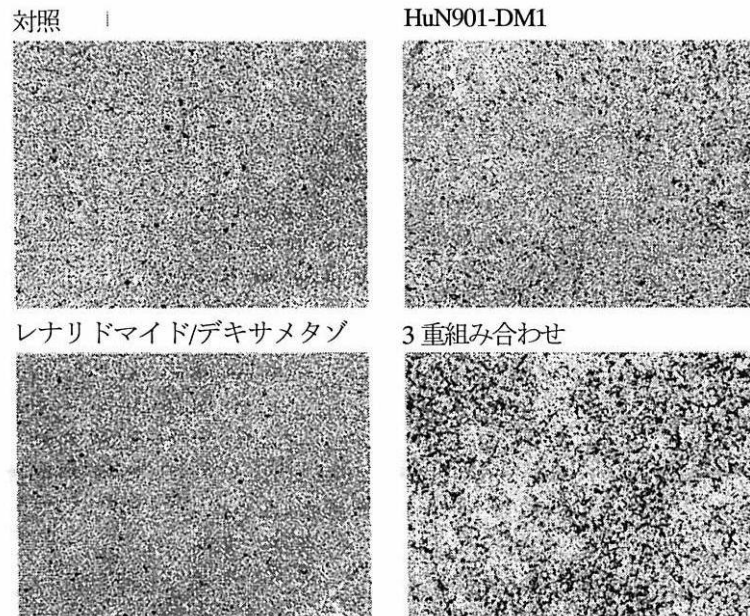
開裂カスパーゼ-3用の割合面積要請染色は、GraphPad Prism を使用する1方向ANOVA統計分析によって、Image J 画像分析ソフトウェアを使用して判断された。



【図 8 A】

低用量デキサメタゾンを加えた h u N 9 0 1 - D M 1 のレナリドマイドとの 3 重組み合わせは、M O L P - 8 多発性骨髄腫異種移植片において、腫瘍細胞アポトーシスの著しい増加をもたらす。

8 A. 処置後 4 8 時間に採取された M O L P - 8 異種移植片の免疫組織化学的染色を、開裂カスパーゼ 3 に対する抗体により実行した。



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 09/47449

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/38 (2009.01) USPC - 424/181.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC: 424/181.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 424/133.1, 178.1 (see search terms below) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST(USPT, PGPB, EPAB, JPAB); DialogPRO(Chemistry); Google Scholar Search terms: corticosteroid\$ and Immunoconjugate\$2 and maytansinoid, dexamethasone, prednisone, thalidomide, lenalidomide, melphalan, proteasome, immunomodulat\$5, angiogenic, antibod\$4, autoimmune, chemotherapeutic		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2005/0244413 A1 (Adolf et al.) 3 November 2005 (03.11.2005) para [0002], [0011]-[0012], [0028]-[0029], [0033], [0039], [0058], [0061], [0070], [0072]-[0073], [0082], [0128]	1, 4-5, 12, 15-16, 19 2-3, 6-11, 13-14, 17-18, 20-25, 27
Y	US 2007/0248604 A1 (Desnoyers et al.) 25 October 2007 (25.10.2007) para [0021], [0035], [0045]-[0048], [0055], [0062], [0064]-[0065], [0082], [0084], [0123], [0127], [0152], [0154], [0157], [0165], [0308], [0375]-[0376], [0378]	2-3, 6-11, 13-14, 17-18, 20-25, 27
Y	US 2004/02655307 A1 (Singh et al.) 30 December 2004 (30.12.2004) para [0026]	7
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* 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 12 December 2009 (12.12.2009)		Date of mailing of the international search report 23 DEC 2009
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: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 09/47449

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.: 26 and 28
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 33/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 K 31/537 (2006.01)	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/537	
A 6 1 K 31/573 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
	A 6 1 K 31/573	

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

(72)発明者 ルッツ, ロバート・ジェイ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01778, ウェイランド, オールド・コネクティカット・パス 218

(72)発明者 ホワイトマン, キャスリーン・アール
アメリカ合衆国マサチューセッツ州01887, ウィルミントン, ショーシーン・アベニュー 512

Fターム(参考) 4C084 AA20 NA05 NA13 ZB261 ZC751
4C085 AA21 AA37 BB31 EE03
4C086 AA01 AA02 CB22 DA10 MA03 MA05 NA05 ZB02 ZB08 ZB26
ZB33 ZB37 ZC75