(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-535527
(P2022-535527A)
(43)公表日　令和4年8月9日(2022.8.9)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*38/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/02		４Ｃ０５０
Ａ６１Ｐ	*37/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/06		４Ｃ０５７
Ａ６１Ｋ	*47/68*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/68		４Ｃ０６５
Ａ６１Ｋ	*39/395*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｃ	４Ｃ０７２
Ａ６１Ｐ	*19/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｌ	４Ｃ０７６

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全246頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-571613(P2021-571613)
(86)(22)出願日　令和2年6月4日(2020.6.4)
(85)翻訳文提出日　令和4年1月24日(2022.1.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2020/036177
(87)国際公開番号　WO2020/247670
(87)国際公開日　令和2年12月10日(2020.12.10)
(31)優先権主張番号　62/857,232
(32)優先日　令和1年6月4日(2019.6.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/863,141
(32)優先日　令和1年6月18日(2019.6.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/882,310
最終頁に続く

(71)出願人　518445159
マジェンタ セラピューティクス インコーポレイテッド
ＭＡＧＥＮＴＡ ＴＨＥＲＡＰＥＵＴＩＣＳ， ＩＮＣ．
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３９ ケンブリッジ テクノロジー スクエア １００ フィフス フロア
(74)代理人　100147485
弁理士　杉村 憲司
(74)代理人　230118913
弁護士　杉村 光嗣
(74)代理人　100181847
弁理士　大島 かおり
(72)発明者　ジェフリー オー ジラード
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　自己免疫疾患を治療するための方法および組成物

(57)【要約】
抗CD45抗体薬物複合体（ADC）を用いた自己免疫疾患の治療に関する方法および組成物を開示している。本明細書には、自己造血幹細胞移植（autoHSCT）を改善するための方法および組成物が記載されている。本明細書では、自己免疫細胞を根絶するためにCD45を選択的に標的とする抗体および／または抗体薬物複合体（ADC）を含む、自己造血幹細胞移植の分野で知られている課題に対処するための方法および組成物が提供され、自己免疫疾患患者の潜在的な1回限りの治癒的治療としての自己造血幹細胞移植を可能にする。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者にリンカーを介して細胞毒と結合させて有効量の抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含む方法。
【請求項２】
造血幹細胞（HSC）移植を受けるために自己免疫疾患を有するヒト患者を条件付けする方法であって、自己免疫疾患を有するヒト患者に、リンカーを介して細胞毒素と結合した抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含む抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含む方法。
【請求項３】
自己免疫疾患が、炎症性関節炎（例えば、関節リウマチ）、自己免疫性脳炎、強皮症、多発性硬化症、1型糖尿病、または全身性硬化症である、請求項1または2に記載の方法。
【請求項４】
造血幹細胞（HSCs）を含む移植片を患者に投与することをさらに含む、請求項1‐3のいずれか1項に記載の方法。
【請求項５】
HSC移植が自家HSC移植（autoHSCT）である、請求項4に記載の方法。
【請求項６】
抗CD45 ADCが、患者がHSCを含む移植を受ける約3日前に患者に投与される、請求項4または5に記載の方法。
【請求項７】
抗CD45 ADCがヒト患者の血液から実質的に除去された後に、HSC移植が患者に投与される請求項4-6のいずれか1項に記載の方法。
【請求項８】
強皮症または多発性硬化症を有する患者を治療する方法であって、前記方法は、scGVHDが治療されるように、scGVHDを有する患者に抗CD45抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含み、抗CD45 ADCは、リンカーを介して細胞毒に結合した抗CD45抗体またはその断片を含む、方法。
【請求項９】
抗CD45 ADCが、単回投与または分割投与として患者に投与される、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１０】
患者が移植後に自己免疫疾患の治療を必要としない、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１１】
患者が多発性硬化症を有しており、患者は移植後にナタリズマブ、フマル酸ジメチル、またはフマル酸モノメチルによる治療を必要としない、請求項1-10のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１２】
患者は関節炎を有しており、患者は移植後にTNF阻害剤による治療を必要としない、請求項1-10のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１３】
TNF阻害剤が抗TNFα抗体である、請求項12に記載の方法。
【請求項１４】
患者が移植後少なくとも1年間寛解状態に入る、請求項1-13のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１５】
患者が移植後少なくとも2年間寛解状態に入る、請求項1-13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項１６】
患者が移植後少なくとも5年間寛解状態に入る、請求項1-13のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１７】
寛解が臨床的寛解である、請求項14-16のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１８】
寛解が生化学的寛解である、請求項14-16のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１９】
寛解が組織学的寛解である、請求項14-16のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２０】
抗CD45抗体がキメラ抗体またはヒト化抗体である、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２１】
抗CD45抗体がヒト抗体である、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２２】
抗CD45抗体が無傷である、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２３】
抗CD45抗体またはその抗原結合部分が、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、ポリクローナル抗体またはその抗原結合部分、二重特異性抗体またはその抗原結合部分、二重可変免疫グロブリンドメイン、単鎖Fv分子（scFv）、二重特異性抗体、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スカフォールド、Fv断片、Fab断片、F(ab')2分子、およびタンデム二重scFvからなる群から選択される、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２４】
抗CD45抗体が、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２５】
抗CD45抗体が、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプのFcドメインを含む、請求項24に記載の方法。
【請求項２６】
抗CD45抗体またはその抗原結合部分がFcドメインを含み、抗CD45抗体またはその抗原結合部分が、Fcドメインのシステイン残基を介して細胞毒に結合している、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２７】
システイン残基がFcドメインのアミノ酸置換を介して導入される、請求項26に記載の方法。
【請求項２８】
アミノ酸の置換がD265C（EU番号付け）である、請求項27に記載の方法。
【請求項２９】
前記細胞毒が、シュードモナス外毒素A、デブガニン、ジフテリア毒素、サポリン、メイタンシン、メイタンシノイド、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体からなる群から選択される、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項３０】
細胞毒がアウリスタチンである、請求項1-28のいずれか1項に記載の方法。
【請求項３１】
アウリスタチンがＭＭＡＥまたはＭＭＡＦである、請求項30に記載の方法。
【請求項３２】
細胞毒が、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベン

ゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体、またはインドリノベンゾジアゼピン擬二量体である、請求項1-28のいずれか1項に記載の方法。
【請求項３３】
細胞毒がRNAポリメラーゼ阻害剤である、請求項1-28のいずれか1項に記載の方法。
【請求項３４】
RNAポリメラーゼ阻害剤がアマトキシンである、請求項33に記載の方法。
【請求項３５】
アマトキシンが化学式（IA）で表され、
[化１]
ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、
R_AおよびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員環ヘテロシクロアルキル基を形成するよう結合し、
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、
R_4、R_5、R_6, およびR_7は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、
R_Cは-L-Zであり、
R_Dは、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニル、任意に置換されたC_2-C_6アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、
Lは、任意に置換されたC_1-C_6アルキレン、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキレン、任意に置換されたC_2-C_6アルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6アルキニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリレン、任意に置換されたヘテロアリレン、またはそれらの組み合わせであり、そして
Zは、L上に存在する反応性置換基と、抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的部位であり、
ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含んでいる、請求項34に記載の方法。
【請求項３６】
抗CD45 ADCが以下の式を有し、
[化２]
ここで、Abは、抗CD45抗体を表す、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法であって、
【請求項３７】
抗CD45 ADCが以下の式を有し、
[化３]
ここで、Abは、抗CD45抗体を表す、前述の請求項のいずれか1項に記載の方法。
【請求項３８】
RNAポリメラーゼ阻害剤がアマニチンである、請求項33に記載の方法。
【請求項３９】
自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者に、CD45を標的とする有効量の人工毒素体を投与することを含む方法。
【請求項４０】

人工毒素体が、CD45に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む、請求項39に記載の方法。
【請求項４１】
人工毒素体が、CD45に特異的に結合するscFvを含む、請求項39に記載の方法。
【請求項４２】
人工毒素体がタンパク質ベースの毒素を含む、請求項39-41のいずれか1項に記載の方法。
【請求項４３】
タンパク質ベースの毒素が、タンパク質合成阻害薬、例えば、リボソーム不活性化タンパク質である、請求項42に記載の方法。
【請求項４４】
タンパク質ベースの毒素が、志賀毒素、志賀様毒素Aサブユニット、サポリン、リジン、ならびにそれらの変異体、断片、および誘導体からなる群から選択される、請求項42または43に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【関連出願の相互参照】
【０００１】
本出願は、2019年6月4日に出願された米国仮出願第62/857,232号、2019年6月18日に出願された米国仮出願第62/863,141号、2019年8月2日に出願された米国仮出願第62,882,310号、2019年11月8日に出願された米国仮出願第62/933,279号、2019年12月6日に出願された米国仮出願第62/944,988号、2020年1月31日に出願された米国仮出願第62/968,870号、および2020年5月27日に出願された米国仮出願第63/030,860号の利益を主張するものであり、これらの各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれている。
【０００２】
配列表
本出願には、EFS-Webを介してASCII形式で提出された配列表が含まれており、その全体を参照により本明細書に組み込む。2020年6月4日に作成された当該ASCIIコピーは、M103034_2180WO_0511_2_SL.txtと名付けられ、サイズは83,868バイトである。
【技術分野】
【０００３】
本発明は、自己免疫疾患を治療する分野に関するものである。
【背景技術】
【０００４】
自家造血幹細胞移植（autoHSCT）は、自己免疫疾患の一部の患者において非常に有効な治療法である。autoHSCTは、再発した難治性および二次進行性の多発性硬化症のサブタイプの患者において、70～80％の無増悪生存期間で長期的な寛解（最長15年）を誘導することができ（Muraro 2017）、無作為化試験では標準治療薬よりも優れている（Burt 2019）。同様に、強皮症患者におけるautoHSCTの使用は、2つの無作為化試験で優れた成果を達成した（Tyndall 2014、Sullivan 2018）。これらの結果は、自己反応性の免疫細胞を根絶し、自己寛容な免疫系を再構築すること、すなわち免疫系リセットによって達成される。しかし、現在の条件付けプロトコルに関連する毒性のためもあり、適格な患者のごく一部しかautoHSCTを受けていない。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００５】
本明細書には、自家造血幹細胞移植（autoHSCT）を改善するための方法および組成物が記載されている。本明細書では、自己免疫細胞を根絶するためにCD45を選択的に標的とする抗体および／または抗体薬物複合体（ADC）を含む、autoHSCTの分野で知ら

れている課題に対処するための方法および組成物が提供され、自己免疫疾患患者の潜在的な1回限りの根治的治療としてのautoHSCTを可能にする。autoHSCTの前に条件付けを行うこの方法は、移植に適した自己免疫患者の数を増やし、現在の条件付けプロトコルに関連する副作用を大幅に軽減することができる。

【０００６】

したがって、一態様では、本発明は、自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法を提供し、この方法は、自己免疫疾患を有する患者に有効量の抗CD45抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む。別の態様では、本発明は、自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者に、有効量の抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含む抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含む方法を提供する。

【０００７】

別の態様では、本発明は、造血幹細胞（HSC）移植を受けるために自己免疫疾患を有するヒト患者を条件付けする方法であって、自己免疫疾患を有するヒト患者に、抗CD45抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む方法を提供する。別の態様では、本発明は、造血幹細胞（HSC）移植を受けるために自己免疫疾患を有するヒト患者を条件付けする方法であって、自己免疫疾患を有するヒト患者に、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含む抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含む方法を提供する。

【０００８】

いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、炎症性関節炎（例えば、関節リウマチ）、自己免疫性脳炎、強皮症、多発性硬化症、1型糖尿病、または全身性硬化症である。

【０００９】

一部の実施形態では、本方法は、造血幹細胞（HSC）を含む移植片を患者に投与することをさらに含む。特定の実施形態では、HSC移植は、自家HSC移植（autoHSCT）である。

【００１０】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは単回投与で患者に投与される。

【００１１】

いくつかの実施形態では、患者は、移植後に自己免疫疾患に対する治療（例えば、慢性的な治療）を必要としない。例えば、いくつかの実施形態では、患者は多発性硬化症を有しており、患者は移植後にナタリズマブ、フマル酸ジメチル、またはフマル酸モノメチルによる治療を必要としない。他の実施形態では、患者は関節炎を有しており、患者は移植後にTNF阻害剤（例えば、エタネルセプト、インフリキシマブ、アダリムマブ、セルトリズマブペゴル、またはゴリムマブなどの抗TNFα抗体）による治療を必要としない。

【００１２】

いくつかの実施形態では、患者は移植後少なくとも1年間寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、移植後少なくとも2年間寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、移植後少なくとも5年間寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1年、少なくとも2年、少なくとも3年、少なくとも4年、少なくとも5年、少なくとも6年、少なくとも7年、少なくとも8年、少なくとも9年、または少なくとも10年間、寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1-3年、少なくとも3-5年、少なくとも5-7年、少なくとも7-9年、または少なくとも8-10年間、寛解に入る。いくつかの実施形態では、寛解は臨床的寛解である。他の実施形態では、寛解は生化学的寛解である。さらにさらなる実施形態では、寛解は組織学的寛解である。

【００１３】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは、患者がHSCを含む移植を受ける約3日前に、患者に投与される。

【００１４】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCがヒト患者の血液から実質的に除去された後に、HSC移植が患者に投与される。

【００１５】
別の態様では、本明細書では、全身性硬化症としても知られる強皮症を有する患者を治療する方法であって、強皮症が治療されるように、強皮症を有する患者に抗CD45抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含み、抗CD45 ADCは、リンカーを介して細胞毒に結合した抗CD45抗体またはその断片を含む前記方法が提供される。
【００１６】
前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体はキメラ抗体またはヒト化抗体である。
【００１７】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体はヒト抗体である。
【００１８】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は無傷である。
【００１９】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、ポリクローナル抗体またはその抗原結合部分、二重特異性抗体またはその抗原結合部分、二重可変免疫グロブリンドメイン、単鎖Fv分子（scFv）、二重特異性抗体、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スカフォールド、Fv断片、Fab断片、F(ab')2分子、およびタンデム二重scFvからなる群から選択される。
【００２０】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する。特定の実施形態では、抗CD45抗体は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプのFcドメインを含む。
【００２１】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、Fcドメインを含み、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、Fcドメインのシステイン残基を介して細胞毒に結合している。特定の実施形態では、システイン残基は、Fcドメインのアミノ酸置換を介して導入される。特定の実施形態では、アミノ酸置換は、D265C（EU番号付け）である。
【００２２】
前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分は、細胞毒に結合している。いくつかの実施形態では、細胞毒は、シュードモナス外毒素A、デブガニン、ジフテリア毒素、サポリン、メイタンシン、メイタンシノイド、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体などからなる群から選択される。
【００２３】
一部の実施形態では、細胞毒はアウリスタチンである。特定の実施形態では、アウリスタチンはMMAEまたはMMAFである。
【００２４】
いくつかの実施形態では、細胞毒はピロロベンゾジアゼピンまたはピロロベンゾジアゼピン二量体である。
【００２５】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンである。
【００２６】
特定の実施形態では、アマトキシンは、化学式（IA）で表される。
[化１]
ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり；
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり；
R_A およびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5

員環ヘテロシクロアルキル基を形成するよう結合し；
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり；
R_4、R_5、R_6, およびR_7は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり；
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり；
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり；
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり；
R_Cは-L-Zであり；
R_Dは、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニル、任意に置換されたC_2-C_6アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；
Lは、任意に置換されたC_1-C_6アルキレン、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキレン、任意に置換されたC_2-C_6アルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6アルキニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、または任意に置換されたヘテロアリーレンであり；そして
Zは、L上に存在する反応性置換基と、抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的部位であり、
ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含んでいる。

【００２７】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは、以下の式を有する。

[化２]

ここで、Abは、抗CD45抗体を表す。

【００２８】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは、以下の式を有する。

[化３]

または

[化４]

ここで、Abは、抗CD45抗体を表す。

【００２９】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマニチンである。

【００３０】

また、自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者に、CD45を標的とする有効量の人工毒素体を投与することを含む方法も提供される。いくつかの実施形態では、人工毒素体は、CD45に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む。いくつかの実施形態では、人工毒素体は、CD45に特異的に結合するscFvを含む。いくつかの実施形態では、人工毒素体は、タンパク質ベースの毒素を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質ベースの毒素は、タンパク質合成阻害薬、例えば、リボソーム不活性化タンパク質である。いくつかの実施形態では、タンパク質ベースの毒素は、志賀毒素、志賀様毒素Aサブユニット、サポリン、リジン、ならびにそれらの変異体、断片、および誘導体からなる群から選択される。

【００３１】

前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、リンカーを介して細胞毒に結合している。

【００３２】

前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、二重特異性またはバイパラトピック抗体である。

【００３３】

前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、第2の治療薬と組み合わせて患者に投与される。いくつかの実施形態では、第2の治療薬は、抗体、またはその抗原結合部分を含む。

【図面の簡単な説明】

【００３４】

【図１】図1A-1Eは、抗CD45 ADCが先天性移植のためにマウスをうまく条件づけすることを実証する生体内での試験の結果を示している。図1Aは、C57BL/6（CD45.2）マウスに、移植の48時間前に抗マウスCD45-ADC（0.3、1、または3mg/kg）またはアイソタイプADC（3mg/kg）を単回静脈内投与して条件づけられた生体内での試験のデザインを示す模式図である。図1Bは、指示された時点（すなわち、0週目、4週目、8週目、12週目および16週目）における、各治療群のマウスの末梢血におけるドナーキメラ現象の割合を図示したものである。図1C-1Eは、指示された時点（すなわち、0週目、4週目、8週目、12週目および16週目）での各治療群のマウスにおけるドナーの骨髄系細胞（図1C）、B細胞（図1D）およびT細胞（図1E）の割合を図示したものである。

【図２】図2Aおよび図2Bは、抗CD45 ADCが生体内で増殖中のT細胞を優先的に殺傷することを示す生体内での細胞殺傷アッセイの結果を図示したものである。総T細胞数（図2A）または増殖中のT細胞の割合（Ki67+；図2B）を、表示したADC濃度（抗マウス抗CD45 ADCまたはアイソタイプADC）の関数として示している。

【図３】図3A-3Eは、強皮症を代表する硬化性皮膚移植片対宿主病（scGvDH）の生体内でのモデルにおいて、抗CD45-ADCが増殖中のT細胞を優先的に殺傷することを示す生体内での細胞枯渇アッセイの結果を図示したものである。図3Aは、Balb/c（CD45.1）マウスが、DBA/2（CD45.2）脾細胞の同種間の（Allo）細胞移植の前に、6.5GyのTBIで24時間条件付けされた生体内での試験のデザインを示す模式図である。宿主動物(CD45.1+)には、scGvHD開始後7日目に、抗マウスCD45-ADC、またはアイソタイプADCを単回静脈内投与(3mg/kg)で治療した(CD45.2+細胞)。図3Bおよび図3Cは、アイソタイプADCまたは抗CD45-ADCを投与したマウスから採取した脾臓（図3B）または末梢血（図3C）のフローサイトメトリー分析を示し、同種の細胞、T細胞、および増殖中のT細胞について分析したものである。図3Dおよび図3Eは、アイソタイプ-ADCまたは抗CD45-ADCを投与したマウスから採取した脾臓（図3D）または末梢血（図3E）中の同種のT細胞の数および割合（全T細胞および増殖中のKi-67+T細胞）を分析した結果を図示したものである。

【図４】図4A-4Dは、自家骨髄移植（BMT）がマウスの実験的自己免疫性脳炎（EAE）を改善することを示す生体内での試験の結果を図示したものである。動物はEAE誘導後8日目と13日目に9GyのTBIで条件付けされた。条件付けされたマウスには、TBI後24時間に10^7個のドナー細胞が移植された。図4Aは、指示された治療条件（BMTなし、BMT9日目、またはBMT14日目）におけるEAEの臨床スコアを誘導後の日数の関数として図示したものである。図4Bは、指示された治療群（PBS対照、BMT9日目、またはBMT14日目）のマウスを指示された時点（移植後4週目および移植後8週目）で採取した末梢血におけるドナーキメラ現象の割合を図示したものである。図4Cおよび図4Dは、対照（移植なし）と治療（BMT9日目）のマウスから採取した末梢血（図4C）およびリンパ節（図4D）における宿主細胞とドナー細胞の比較を図示したものである。

【図５】図5A-5Hは、実験的自己免疫脳炎（EAE）および多発性硬化症（MS）の文脈でCD45-ADCを使用した生体内でのおよび生体外での試験の結果を図示したものである。図5A-5Gは、CD45-ADCの投与により、自家造血幹細胞移植（autoHSCT）が可能となり、マウスの実験的自己免疫性脳炎（EAE）モデルの病理を実質的に減少させることを示す生体内での試験の結果を記載したものである。図5Aは、C57BL/6（「B6」）マウスに、0日目にフロイントコンプリートアジュバント（CFA）中のMOG_{35-55}ペプチド、0日目および1日目に百日咳毒素（PTX）を免疫化してEAEを発症させた試験デザインを示す模式図である。図5Bは、指示された治療群のレシピエントにおける全体のドナーキメラ現象、骨髄キメラ現象、およびT細胞キメラ現象の度合いを図示したものである。

図5Cおよび図5Dは、脾臓T細胞の相対数（図5C）および脾臓IL-1A＋T細胞（すなわち、脾臓IL-17A-産生エフェクター細胞）の相対数（図5D）を図示したものである。免疫化後5日目（図5E）または10日目（図5F）にCD45-ADC 3mg/kgで免疫化されたマウスの群を条件付け（「Tx」）した後、先天性骨髄移植（「BMT」；B6.SJLのBM細胞2x10^7個（CD45.1^+））を行った。すべての動物は、免疫化後5日目から毎日スコア化した。比較対象として、溶媒およびFTY-720-投与群を示した。図5Eおよび図5Fは、5日目（図5E）または10日目（図5F）にCD45-ADCによる治療を受けたマウスにおけるEAE臨床スコアの経時変化（免疫化後0日目から56日目まで）を図示したものである。図5Gは、5日目にCD45-ADCによる治療を受けたマウスにおける、免疫化後0日目から28日目までのEAE臨床スコアを図示したものであり、比較のために、裸のCD45 Ab（3mg/kg、単回投与）またはアイソタイプADCとBMTを併用したマウスで得られた結果も示している。図5Hは、MS患者と健康なドナーのPBMCをヒト抗CD45-ADCで媒介して殺傷することを比較した生体外での試験の結果を図示したものである。

【図６】図6A-6Iは、抗ヒトCD45-ADCが、生体外でのおよびヒト化NSGマウスにおいて、ヒトの初代およびカイノの造血細胞を強力に殺傷することを示す生体外でのおよび生体内での試験の結果を図示したものである。図6A-6Cは、ヒトPBMCの殺傷（図6A）、cyno PBMCの殺傷（図6B）、またはヒトCD34+ CD90+細胞の殺傷（図6Cおよび図6D）の度合いを、指示されたADC濃度（抗ヒト抗CD45 ADCまたはアイソタイプ-ADC）の関数として示す生体外での殺傷アッセイの結果を図示したものである。　対応するEC50値は、表4にまとめられている。　図6Eは、治療後0日目、7日目、または14日目に、PBS、アイソタイプ-ADC（3mg／kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg／kg、3mg／kg、または6mg／kg）で治療したマウスの末梢血中のヒト造血細胞（ヒトβ_2M＋細胞）の割合を図示したものである。図6Fおよび6Gは、PBS、アイソタイプADC（3mg／kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg／kg、3mg／kg、または6mg／kg）の投与から14日後のマウスの骨髄におけるヒトCD34＋細胞の割合（図6F）およびヒトCD34＋細胞の数（図6G）を図示したものである。図6Hおよび図6Iは、CD45 ADCを1mg/kg、2mg/kg、または3mg/kgで投与した同様の試験の結果を図示したものである。

【図７】図7A-7Hは、非ヒト霊長類（NHP）において、抗ヒトCD45-ADCの単回投与が良好な耐容性を示し、リンパ球およびHSCの枯渇をもたらすことを示す生体内での試験の結果を図示したものである。図7Aは、0.5mg/kg、1mg/kg、または2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した72時間後にNHPの末梢血から採取し、骨髄系細胞、T細胞、B細胞、またはリンパ球を分析した末梢血のフローサイトメトリー分析を図示したものである。図7Bは、0.5mg/kg、1mg/kg、または2mg/kgの抗CD45-ADCを投与してから3日後のNHPにおける末梢リンパ球のレベルを図示したものである。図7Cは、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した6日後のNHPの骨髄から採取し、造血幹細胞を分析した骨髄のフローサイトメトリー分析を図示したものである。図7Dは、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与してから6日後のNHPにおける白血球（WBC）、造血幹細胞、およびリンパ球のレベルを図示し、造血幹細胞について分析したものである。図7Eおよび図7Fは、NHPにおけるALT、ビリルビン、AST、および/またはALPのレベルを、CD45-ADCを2mg/kgで投与した後の日数の関数として図示したものである。図7Gは、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した後のNHPにおける末梢リンパ球のレベルを図示したものである。図7Hは、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した後のNHPにおけるCD34+CD90+CD45RA-HSCのレベルを図示したものである。

【図８】図8A-8Cは、マウスCD45-ADCで治療すると、静止しているT細胞が同種の反応を開始することができなくなることを示す生体内での試験の結果を図示したものである。移植後さまざまな時期に末梢血（d2およびd7）および脾臓（d7）から細胞を分離し、CTV染色強度（図8A）、移植後の日数に応じた末梢血中のT細胞の絶対数（図8B）、および移植後7日目の脾臓中のT細胞の絶対数（図8C）を評価した。

【図９】図9A-9Eは、関節リウマチ（プロテオグリカン誘発性関節炎）のマウスモデル

において、CD45-ADCによる治療的処置が、類遺伝子性のBMTによる免疫リセットを可能にし、疾患の進行を停止させることを示す生体内での試験の結果を図示したものである。 図9Aは試験デザインを示す模式図で、Balb/cマウス（CD45.2+）に組換えヒトコアG1アグリカン（60μgを2mgのDDAに溶解）を3回（試験日0、21、42）免疫化した。 図9Bは、移植後3週間の時点で、指示された治療群のレシピエントの末梢血における総ドナーキメラ現象、好中球キメラ現象、B細胞キメラ現象、およびT細胞キメラ現象の度合いをグラフ化したものである。 図9Cは、移植後3週間の時点で、指示された治療群の移植レシピエントの骨髄における総ドナーキメラ現象およびドナー造血幹細胞の程度をグラフ化したものである。 図9Dは、対照またはCD45-ADCで治療したマウスの画像である。 図9Eは、指示された治療群における最終免疫化後の日数の関数としての累積関節炎スコアをグラフ化したものである。

【図１０】図10A-10Fは、XenoGVHDの強皮症様モデルにおいて、抗ヒトCD45 ADCの単回投与による治療が、ヒトエフェクター細胞の除去および疾患の改善をもたらすことを示す生体内での試験の結果をグラフ化したものである。 図10Aは、治療後0日目、7日目、または14日目に、PBS、アイソタイプADC（3mg/kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg/kgまたは3mg/kg）で治療したマウスの末梢血中のヒト造血細胞（ヒトβ$_2$M+細胞）の割合をグラフ化したものである。 図10Bは、PBS、アイソタイプADC（3mg／kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg／kgまたは3mg／kg）で処置したマウスの骨髄におけるヒト造血細胞（ヒトβ$_2$M＋細胞）／大腿骨の数をグラフ化したものである。 図10Cは、PBS、アイソタイプADC（3 mg/kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1 mg/kgまたは3 mg/kg）を投与したマウスの骨髄中のヒトCD34+ CD38^{neg}細胞数/Emurをグラフ化したものである。 図10Dは、アイソタイプ-ADCまたは抗ヒトCD45標的ADCのいずれかで処理したマウスの処理前（ADC前）およびADC投与後14日目の画像を示す。 図10Eは、アイソタイプ-ADCまたは抗CD45 ADCで治療したマウスの、ADC投与後の日数の関数としての臨床的GVHDスコア（皮膚病変の大きさおよび提示に基づく）をグラフで表している。 図10Fは、抗ヒトCD45 ADCで処置した動物における、0日目、7日目、14日目、および62日目の末梢ヒトT細胞枯渇の程度をグラフで表したものである。

【図１１】図11Aおよび11Bは、I型糖尿病の養子移植モデルにおいて、CD45-ADCの単回投与および類遺伝子性の造血幹細胞の移植による治療が疾患予防につながることを示す生体内での試験の試験デザインおよび結果を示す図である。 図11Aは、RIP-OVAマウスへのOT-IおよびOT-IIの養子移植を示す図である。 図11Bは、指示された治療グループのマウスの糖尿病罹患率をグラフ化したものである。

【発明を実施するための形態】

【００３５】

本明細書では、治療薬として、例えば、自己免疫疾患の治療や移植のための条件付け剤として作用するのに有用な抗CD45抗体薬物複合体（ADC）に関する方法および組成物を開示する。したがって、本明細書に含まれる抗造血細胞抗体（抗CD45抗体）は、造血幹細胞治療に有用である。例えば、本明細書の抗体またはADCは、造血幹細胞を含む移植を受けるために患者を準備する、条件付け処置に有用である。そのような処置は、造血幹細胞移植の生着を促進する。本明細書に記載の方法によれば、CD45（例えば、造血細胞（例えば、造血幹細胞または成熟した免疫細胞（例えば、T細胞）によって発現されるCD45）を結合することができる抗CD45 ADC、抗体またはその抗原結合性断片を患者に投与することによって、患者を造血幹細胞移植療法のために条件付けすることができる。本明細書に記載されているように、抗CD45抗体は、抗体薬物複合体（ADC）を形成するように細胞毒に共有結合されてもよい。CD45を結合することができるADCを自己免疫疾患を有する患者に投与することで、造血幹細胞移植の生着を促進することができる。

【００３６】

以下のセクションでは、造血幹細胞移植の生着を促進するために、自己免疫疾患に罹患している患者などの患者に投与することができる抗CD45 ADCの説明、およびそのよう

な治療薬を患者に（例えば、造血幹細胞移植の前に）投与する方法を提供する。本明細書に記載の方法は、自己反応性免疫細胞（CD45+細胞）を根絶し、自己寛容な免疫系を再構築するための手段、すなわち、免疫系リセットを提供する。本明細書に記載の方法は、autoHSCTを受けるための条件付け療法を提供する。

【００３７】

定義

別段の記載がない限り、本明細書で使用されている以下の用語および語句は、以下の意味を持つことが意図されている。

【００３８】

本明細書では、「約」という用語は、記載されている値の上または下から5％以内の値を指す。

【００３９】

本明細書では、「同種の」という用語は、移植の文脈で使用される場合、ドナーから同じ種のレシピエントに移植される細胞（または組織、または臓器）を定義するために使用される。

【００４０】

本明細書では、「自家の」という用語は、ドナーとレシピエントが同じ対象者である細胞または移植片を指す。

【００４１】

本明細書では、「異種の」という用語は、ドナーとレシピエントの種が異なる細胞を指す。

【００４２】

本明細書では、「免疫細胞」という用語は、造血系由来で免疫反応に関与する細胞を含むことを意図しているが、これに限定されるものではない。免疫細胞には、T細胞およびナチュラルキラー（NK）細胞が含まれるが、これらに限定されるものではない。ナチュラルキラー細胞は、当技術分野でよく知られている。いくつかの実施形態では、ナチュラルキラー細胞は、NK-92細胞などの細胞株を含む。NK細胞株のさらなる例としては、NKG、YT、NK-YS、HANK-1、YTS細胞、およびNKL細胞が挙げられる。免疫細胞は、同種であっても、自家であってもよい。

【００４３】

本明細書では、「抗体」という用語は、特定の抗原に特異的に結合する、または免疫学的に反応する免疫グロブリン分子を指す。抗体には、所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、および抗体断片が含まれるが、これらに限定されない。

【００４４】

一般に抗体は、抗原結合領域を含む重鎖と軽鎖から構成されている。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではHCVRまたはVHと略す）および重鎖定常部から構成されている。重鎖定常部は、CH1、CH2、CH3の3つのドメインから構成されている。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではLCVRまたはVLと略す）と軽鎖定常部から構成される。軽鎖定常部は、1つのドメインCLで構成されている。VH、およびVL領域は、相補性の高い領域（CDR）と、より保存性の高い領域（FR）にさらに分かれている。各VHおよびVLは、3つのCDRと4つのFRから構成されており、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、以下の順序で配置され、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4である。いくつかの態様では、CDRはKabat、Chothia、AbM、Contact、またはIMGTに従って定義される。例えば、Dondelingerら、「Understanding the Significance and Implications of Antibody Numbering and Antigen-Binding Surface/Residue Definition」、Front.Immunol.9: 2278 (15ページ) (2018)を参照することにより、その全体が本明細書に組み込まれ　重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常部は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第1成分（Clq）を含む宿主組織または因子への免疫グロ

ブリンの結合を媒介することができる。

【００４５】

本明細書では、「二重特異性抗体」という用語は、モノクローナル、例えば脱免疫抗体やヒト化抗体など、同じ抗原上にあるか異なる抗原上にあるかの2つの異なるエピトープを結合することができる抗体を指すが、これらに限定されない。例えば、二重特異性抗体が結合する第1のエピトープは、CD45などの造血幹細胞が発現する第1の細胞表面抗原上に位置していてもよく、二重特異性抗体が結合する第2のエピトープは、第2の細胞表面抗原上に位置していてもよく、第1の細胞表面抗原と第2の細胞表面抗原は異なっている。いくつかの実施形態では、第2の細胞表面抗原は、造血幹細胞、造血前駆細胞、または成熟した造血細胞などの造血細胞によって発現されてもよい。いくつかの実施形態では、結合特異性は、同じ標的抗原上のユニークでオーバーラップしないエピトープに向けられることができる（すなわち、バイパラトープ抗体）。

【００４６】

本明細書では、「抗原結合性断片」という用語は、標的抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の１つまたは複数の部分を指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって行うことができる。 抗体の断片は、例えば、Fab、F(ab')2、scFv、二重特異性抗体、トリアボディ、アフィボディ、ナノボディ、アプタマー、またはドメイン抗体であることができる。 抗体の「抗原結合性断片」という用語に包含される結合断片の例としては、(i) VLドメイン、VHドメイン、CLドメイン、およびCH1ドメインからなる一価の断片であるFab断片、(ii) ヒンジ領域でジスルフィド結合した2つのFab断片を含む二価の断片であるF(ab')2断片、(iii) VHドメインおよびCH1ドメインからなるFd断片、（iv）抗体の片腕のVLドメインおよびVHドメインからなるFv断片、（v）VHドメインおよびVLドメインを含むdAb、（vi）VHドメインからなるdAb断片（例えば、Wardら、Nature 341:544-546、1989を参照）、（vii）VHドメインまたはVLドメインからなるdAb、（viii）孤立した相補性決定領域（CDR）、および（ix）任意に合成リンカーによって連結されていてもよい2つ以上（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つ）の孤立したCDRの組み合わせなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。さらに、Fv断片の2つのドメインであるVLおよびVHは、別々の遺伝子によってコードされているが、組換え法を用いて、VL領域とVH領域が対になって一価の分子を形成する単一のタンパク質鎖として作ることを可能にするリンカーによって連結させることができる（単鎖Fv（scFv）として知られている；例えば、Birdら、Science 242：423-426、1988およびHustonら、Proc.Natl. Acad.Sci. USA 85:5879-5883, 1988を参照）。これらの抗体断片は、当業者に知られている従来の技術を用いて得ることができ、断片は、無傷な抗体と同様の方法で有用性を求めて選別することができる。抗原結合性断片は、組換えDNA技術、無傷の免疫グロブリンの酵素的または化学的切断、あるいは特定の場合には、当技術分野で知られている化学的ペプチド合成手順によって製造することができる。

【００４７】

本明細書では、「無傷な」または「全長」抗体とは、ジスルフィド結合によって相互に連結された2つの重鎖（H）ポリペプチドと2つの軽鎖（L）ポリペプチドを有する抗体を指す。

【００４８】

本明細書では、「特異的に結合する」とは、抗体（またはADC）が、一般的にタンパク質ではなく、特定のタンパク質構造（エピトープ）を認識して結合する能力を指す。抗体がエピトープ「A」に特異的な場合、標識された「A」と抗体を含む反応において、エピトープAを含む分子（または遊離の非標識のA）が存在すると、抗体に結合する標識されたAの量が減少する。抗体がSEQ ID NO:「A」に特異的に結合する場合、抗体はSEQ ID NO:「A」の残基のすべてまたは一部（すなわち、一部）に結合することができる。例として、抗体が標識されたときに、対応する非標識の抗体によって標的から離れて競合することができる場合、抗体は標的に「特異的に結合」する。いくつかの実施形態では、

抗体が、標的に対するK_Dを有し、少なくとも約10^{-4}M、10^{-5}M、10^{-6}M、10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M、またはそれ以下（以下は、10^{-12}、例えば10^{-13}未満を意味する数）である場合、抗体は、標的、例えば、CD45などの造血幹細胞によって発現される抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、K_Dは、標準的なバイオレイヤー干渉法（BLI）に従って決定される。しかしながら、抗体は、配列が関連している2つ以上の抗原に特異的に結合することができることを理解されたい。例えば、いくつかの実施形態では、抗体は、抗原、例えば、CD45のヒトおよび非ヒト（例えば、マウスまたは非ヒト霊長類）のオルソログの両方に特異的に結合することができる。

【００４９】

いくつかの実施形態では、本明細書で使用される「CD45への特異的な結合」または「CD45に特異的に結合する」という用語は、CD45に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定される1.0×10^{-7}M以下の解離定数（K_D）を有する抗体またはを指す。いくつかの実施形態では、K_D（M）は、標準的なバイオレイヤー干渉法（BLI）に従って決定される。いくつかの実施形態では、K_{off}（1/s）は、標準的なバイオレイヤー干渉法（BLI）に従って決定される。しかしながら、抗体は、配列が関連している2つ以上の抗原に特異的に結合することができることを理解されたい。例えば、いくつかの実施形態では、抗体は、CD45のヒトおよび非ヒト（例えば、マウスまたは非ヒト霊長類）のオルソログの両方に特異的に結合することができる。したがって、本明細書で使用する場合、「ヒトCD45に特異的に結合する」抗体とは、ヒトCD45（および場合によっては１つまたは複数の非ヒト種からのCD45）に結合するが、非CD45タンパク質には実質的に結合しない抗体を指すことを意図している。好ましくは、抗体は、$1x10^{-7}$M以下のK_D、$5x10^{-8}$M以下のK_D、$3x10^{-8}$M以下のK_D、$1x10^{-8}$M以下のK_D、または$5x10^{-9}$M以下のK_DでヒトCD45に結合する。

【００５０】

本明細書では、「モノクローナル抗体」という用語は、単一のクローンに由来する抗体を指し、ハイブリドーマ技術によって生産された抗体に限定されない。本開示で有用なモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術、組換え技術、ファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む、当技術分野で知られている多種多様な技術を用いて調製することができる。

【００５１】

本明細書では、「キメラ」抗体とは、ラットやマウスの抗体などの非ヒト免疫グロブリンに由来する可変配列と、典型的にはヒト免疫グロブリンの鋳型から選ばれたヒト免疫グロブリン定常部とを有する抗体を指す。キメラ抗体を製造する方法は当技術分野で知られている。例えば、Morrison、1985、Science 229(4719):1202-7；Oiら、1986、BioTechniques 4:214-221；Gilliesら、1985、J. Immunol.Methods 125:191-202;米国特許第5,807,7,6,7号、第5,807,715号、第4,816,567号、および第4,816,397号を参照されたい。

【００５２】

本明細書では、「Fc領域」、「Fcドメイン」、および「Fcドメイン」という用語は、IgG分子のパパイン消化によって得られる結晶化可能な断片に相関する免疫グロブリン、例えばIgG分子の部分を指す。Fc領域は、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプであり得る。Fc領域は、ジスルフィド結合で結ばれた2本の重鎖（例えば、IgG分子）のC末端側の半分を構成している。Fc領域は抗原結合活性を持たないが、糖鎖部位と、補体やFcRn受容体（下記参照）などのFc受容体の結合部位を含む。例えば、Fcドメインは、第2定常部ドメインCH2（IgG1のEU 231-340位の残基）および第3定常部ドメインCH3（ヒトIgG1のEU 341-447位の残基）の全体を含む。本明細書では、Fcドメインは「下部ヒンジ領域」（IgG1のEU 233-239位の残基）を含む。

【００５３】

Fcとは、この領域を単独で指すこともあれば、抗体、抗体断片、またはFc融合タンパク質の文脈におけるこの領域を指すこともある。多型はFcドメインの多くの位置で観察されており、EUの270位、272位、312位、315位、356位、および358位などが挙げられるが、これらに限定されず、したがって、本出願で提示された配列と当該技術分野で知られている配列との間にわずかな違いが存在し得る。したがって、「野生型IgG Fcドメイン」または「WT IgG Fcドメイン」とは、天然に存在する任意のIgG Fc領域（すなわち、任意のアレル）を指す。ヒトIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4の重鎖の配列は、多くの配列データベース、例えば、Uniprotデータベース（www.uniprot.org）において、それぞれ受入番号P01857（IGHG1_HUMAN）、P01859（IGHG2_HUMAN）、P01860（IGHG3_HUMAN）、およびP01861（IGHG1_HUMAN）で見つけることができる。

【００５４】

本明細書では、「修飾Fc領域」または「変異型Fc領域」という用語は、Fcドメイン内の任意の位置に１つまたは複数のアミノ酸置換、欠失、挿入、または修飾が導入されたIgG Fcドメインを指す。特定の態様では、変異型IgG Fcドメインは、１つまたは複数のアミノ酸置換を含んでおり、その結果、１つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型Fcドメインと比較して、FcガンマRおよび／またはC1qに対する結合親和性が低下または消失している。さらに、Fc結合相互作用は、抗体依存性細胞傷害（ADCC）および補体依存性細胞傷害（CDC）を含むが、これらに限定されない様々なエフェクター機能および下流のシグナル伝達現象に不可欠である。したがって、特定の態様では、変異型Fcドメインを含む抗体（例えば、抗体、融合タンパク質、または複合体）は、同じアミノ酸配列を有するが、１つまたは複数のアミノ酸置換、欠失、挿入、または例えば、Fc領域の対応する位置に天然に存在するアミノ酸残基を含む未修飾のFc領域などの修飾を含まない対応する抗体と比較して、少なくとも１つまたは複数のFcリガンド（例えば、FcガンマR）に対する変化した結合親和性を示すことができる。

【００５５】

変異型Fcドメインは、それらを構成するアミノ酸の修飾に応じて定義される。Fc領域に関して本明細書で述べられているすべてのアミノ酸置換について、番号付けは常にKabatのようにEUインデックスに従っている。したがって、例えば、D265Cは、親Fcドメインに対して、EU 265位のアスパラギン酸（D）をシステイン（C）で置換したFc変異型である。置換の順序は任意であることに留意されたい。

【００５６】

本明細書では、「Fcガンマ受容体」または「FcガンマR」という用語は、IgG抗体のFc領域に結合し、FcガンマR遺伝子によってコードされるタンパク質のファミリーの任意のメンバーを指す。ヒトにおいて、このファミリーは、アイソフォームFcガンマRIa、FcガンマRIb、およびFcガンマRIcを含むFcガンマRI（CD64）；アイソフォームFcガンマRIIa（アロタイプH131およびR131を含む）、FcガンマRIIb（FcガンマRIIb-1およびFcガンマRIIb-2を含む）、およびFcガンマRIIcを含むFcガンマRII（CD32）；アイソフォームFcガンマRIIIa（アロタイプV158およびF158を含む）およびFcガンマRIIb（アロタイプFcガンマRIIIb-NA1およびFcガンマRIIIb-NA2を含む）を含むFcガンマRIII（CD16）、ならびに未発見のヒトFcガンマRまたはFcガンマRのアイソフォームまたはアロタイプを含むが、これらに限定されない。FcガンマRは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、およびサルを含むがこれらに限定されない、任意の生物からのものであり得る。マウスFcガンマRは、FcガンマRI（CD64）、FcガンマRII（CD32）、FcガンマRIII（CD16）、およびFcガンマRIII-2（CD16-2）、ならびに未発見のマウスFcガンマRまたはFcガンマRのアイソフォームもしくはアロタイプを含むが、これらに限定されない。

【００５７】

本明細書では、「エフェクター機能」とは、FcドメインとFc受容体との相互作用に起因する生化学的事象を指す。エフェクター機能には、ADCC、ADCP、およびCDCが含ま

れるが、これらに限定されない。本明細書で使用する「エフェクター細胞」とは、1つまたは複数のFc受容体を発現し、1つまたは複数のエフェクター機能を媒介する免疫系の細胞を意味する。エフェクター細胞としては、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好酸球、マスト細胞、血小板、B細胞、大顆粒リンパ球、ランゲルハンス細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、およびガンマデルタT細胞などが挙げられ、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、サルを含む任意の生物に由来することができるが、これらに限定されるものではない。

【００５８】

本明細書では、「サイレント」、「サイレンス」、または「サイレンシング」という用語は、本明細書に記載されている修飾Fc領域を有する抗体であって、未修飾のFc領域からなる同一の抗体のFcγRへの結合と比較して、Fcガンマ受容体（FcγR）への結合が減少しているもの（例えば、FcγRへの結合が、BLIなどによって測定される、未修飾のFc領域を含む同一の抗体のFcγRへの結合と比較して、少なくとも70％、少なくとも80％、少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも98％、少なくとも99％、または100％減少すること）を指す。いくつかの実施形態では、Fcサイレンス抗体は、FcγRへの検出可能な結合を有さない。修飾Fc領域を有する抗体のFcγRへの結合は、当技術分野で知られている様々な技術を用いて決定することができ、これらに限定されないが、例えば、平衡法（例えば、(ELISA); KinExA, Rathanaswami et al. Analytical Biochemistry, Vol. 373:52-60, 2008; または、ラジオイムノアッセイ(RIA))、または表面プラズモン共鳴アッセイまたは他のメカニズムのキネティクスベースのアッセイ（例えば、BIACORE.RTM.分析またはOCTET(R)分析（forteBIO））、および間接的な結合アッセイ、競合的な結合アッセイ蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えば、ゲルろ過）などの他の方法がある。これらの方法やその他の方法では、1つまたは複数の成分に標識を付けたり、これらに限定されないが、発色性標識、蛍光標識、発光標識、または同位体標識などの様々な検出方法を採用したりすることができる。Paul, W. E., ed., Fundamental Immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999) には、抗体と免疫原の相互作用に焦点を当てた、結合親和性とキネティックスの詳細な説明がある。競合的な結合アッセイの一例として、標識抗原を、増加する量の非標識抗原の存在下で目的の抗体とインキュベートし、標識抗原に結合した抗体を検出することからなるラジオイムノアッセイが挙げられる。特定の抗原に対する目的の抗体の親和性および結合オフレートは、スキャッチャードプロット分析によってデータから決定することができる。第二の抗体との競合は、ラジオイムノアッセイを用いて決定することもできる。この場合、抗原は、標識化合物に結合した目的の抗体と、増加する量の非標識第2抗体の存在下でインキュベートされる。

【００５９】

本明細書では、「非修飾Fc領域からなる同一の抗体」という用語は、記載されているアミノ酸置換（例えば、D265C、H435A）を欠いているが、その他の点では比較対象のFc修飾抗体と同じアミノ酸配列を有する抗体を指す。

【００６０】

「抗体依存性細胞傷害」、または「ADCC」とは、Fcドメインを持つポリペプチド、例えば抗体が、特定の細胞傷害性細胞（主にNK細胞、好中球、マクロファージ）に存在するFc受容体（FcR）に結合し、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原を持つ「標的細胞」に特異的に結合し、その後、細胞毒素で標的細胞を殺すことができる細胞傷害の一形態を指す。これにより、細胞傷害性エフェクター細胞が、抗原を持つ「標的細胞」に特異的に結合し、その後、細胞毒素で標的細胞を殺傷することが可能となる。(Hogarth et al., Nature review Drug Discovery 2012, 11:313) 抗体およびその断片に加えて、Fcドメインを含む他のポリペプチド、例えば、Fc融合タンパク質およびFc複合体タンパク質が、抗原を持つ標的細胞に特異的に結合する能力を有することで、細胞媒介性細胞毒性を発揮することができると考えられる。

【００６１】

簡単にするために、Fcドメインを含むポリペプチドの活性に起因する細胞媒介性細胞毒性は、本明細書ではADCC活性も指す。ADCCによる標的細胞の溶解を媒介する本開示の任意の特定のポリペプチドの能力は、アッセイされ得る。ADCC活性を評価するために、目的のポリペプチド（例えば、抗体）を免疫エフェクター細胞と組み合わせて標的細胞に添加し、標的細胞の細胞溶解をもたらす。細胞溶解は、一般的に、溶解した細胞から標識（放射性基質、蛍光色素、天然の細胞内タンパク質）が放出されることで検出される。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核球（PBMC）やナチュラルキラー（NK）細胞などが挙げられる。生体内でのADCCアッセイの具体例は、Bruggemannら, J. Exp.Med.166:1351(1987)；Wilkinsonら、J. Immunol.Methods 258:183 (2001); Patelら、J. Immunol.Methods 184:29 (1995)などがある。代替的に、または追加的に、目的の抗体のADCC活性は、生体内で、例えば、Clynesら、Proc. Natl. Acad.Sci. USA 95:652 (1998)に開示されているような動物モデルで評価することができる。

【００６２】

本明細書では、「条件」および「条件付け」という用語は、患者が移植（例えば、造血幹細胞を含む移植）を受けるために準備されるプロセスを指す。そのような手順は、造血幹細胞移植の生着を促進する（例えば、条件付け手順およびその後の造血幹細胞移植に続いて、患者から分離された血液サンプル内の生着可能な造血幹細胞の量の持続的な増加から推測されるように）。本明細書に記載の方法によれば、造血幹細胞によって発現されるCD45を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片を患者に投与することによって、患者を造血幹細胞移植療法のために条件付けすることができる。 本明細書に記載されているように、抗体は、薬物-抗体結合体を形成するように細胞毒素に共有結合されてもよい。 前述の抗原の１つまたは複数を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片を、造血幹細胞移植療法を必要とする患者に投与することで、例えば、内因性の造血幹細胞を選択的に枯渇させ、それによって外因性造血幹細胞移植によって満たされる空孔を形成することによって、造血幹細胞移植片の生着を促進することができる。

【００６３】

本明細書では、「有効量」または「治療上有効な量」という用語は、所望の結果を達成するのに十分な治療薬、例えば抗CD45 ADCの量、またはヒト患者の自己免疫疾患に効果をもたらす量を指す。

【００６４】

本明細書では、「半減期」という用語は、体内の抗体医薬品の血漿中濃度が、対象者、例えばヒトの対象者において1/2または50％減少するのに要する時間を指す。この50％の血清中濃度の減少は、循環している薬物の量を反映している。

【００６５】

本明細書では、「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列の免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常部を有する抗体を含むことを意図している。ヒト抗体は、ヒト生殖系列の免疫グロブリン配列によってコードされていないアミノ酸残基（例えば、生体外でのランダム変異または部位特異的変異、または遺伝子再構成中に、または生体内での体細胞突然変異によって導入された変異）を含んでもよい。ただし、本明細書では、「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳類種の生殖細胞系に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植された抗体を含むことを意図していない。ヒト抗体は、ヒト細胞内で（例えば、組換え発現により）、あるいはヒト以外の動物や、機能的に再編成されたヒト免疫グロブリン（重鎖および／または軽鎖など）遺伝子を発現することができる原核細胞または真核細胞により産生することができる。ヒト抗体が単鎖抗体である場合、天然のヒト抗体にはないリンカーペプチドを含むことができる。例えば、Fvは、重鎖の可変領域と軽鎖の可変領域とを連結する、2-約8個のグリシンまたは他のアミノ酸残基などのリンカーペプチドを含むことができる。このようなリンカーペプチドは、ヒト由来のものであると考えられる。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラ

リを用いたファージディスプレイ法など、当技術分野で知られている様々な方法で作製することができる。また、ヒト抗体は、機能的な内因性免疫グロブリンを発現できないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを用いて作製することもできる（例えば、PCT公開第WO 1998/24893、WO 1992/01047、WO 1996/34096、WO 1996/33735、米国特許第5,413,923号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,569,825号、第5,661,016号、第5,545,806号、第5,814,318号、第5,885,793号、第5,916,771号、および第5,939,598号を参照されたい）。

【００６６】

非ヒト（例えば、マウスやラット）抗体の「ヒト化」型は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小限の配列を含むキメラ免疫グロブリンである。一般的に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的なすべてを含み、CDR領域のすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FR領域のすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリンの配列のものである。また、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常部（Fc）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリン共通配列のものを含むことができる。抗体のヒト化の方法は当技術分野で知られている。例えば、Riechmannら、1988年、Nature 332:323-7；米国特許第5,530,101号；同第5,585,089号、同第5,693,761号、同第5,693,762号、および同第6,180,370号、 Queenらに対するEP239400；PCT公開WO 91/09967；米国特許第5,225,539号; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, Mol.Immunol., 28:489-498; Studnickaら, 1994, Prot.Eng.7:805-814; Roguskaら、1994、Proc.Natl. Acad.Sci.91:969-973；および米国特許第5,565,332号に記載されている。

【００６７】

また、本明細書に記載されているSEQ ID NOに記載されている配列の「保存的配列修飾」、すなわち、ヌクレオチド配列によってコードされる、またはアミノ酸配列を含む抗体の、抗原への結合を無効にしないヌクレオチドおよびアミノ酸配列修飾も提供される。このような保存的配列修飾には、保存的なヌクレオチドおよびアミノ酸の置換、ならびにヌクレオチドおよびアミノ酸の付加および欠失が含まれる。例えば、部位特異的変異誘発やPCRを介した変異誘発など、当技術分野で知られている標準的な技術によって、本明細書に記載のSEQ ID NOに修飾を導入することができる。保存的配列修飾には、保存的アミノ酸置換が含まれ、この場合、アミノ酸残基は、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷の極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、β分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）などを有するアミノ酸が含まれる。このように、抗CD73抗体において予測される非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーの別のアミノ酸残基で置換されることが好ましい。抗原結合を排除しないヌクレオチドおよびアミノ酸の保存的置換を特定する方法は、当技術分野でよく知られている（例えば、Brummellら、Biochem.32:1180-1187(1993)；Kobayashiら、Protein Eng.12(10):879-884(1999)；およびBurksら、Proc.Natl. Acad.Sci. USA 94:412-417 (1997)を参照されたい）。

【００６８】

本明細書では、造血幹細胞や前駆細胞が、自然に循環しているか、移植によって提供されるかに関わらず、組織を再配置する能力を指すために、「移植能」という用語を使用している。この用語は、細胞の組織へのホーミングや目的の組織内での細胞のコロニー化など、生着に至るまでのすべての事象を包含する。生着効率や生着率は、当業者に知られている臨床的に許容される任意のパラメータを用いて評価または定量化することができ、例えば、競合的再配置ユニット（CRU）の評価、幹細胞がホーミングした、コロニー形成

した、または生着した組織におけるマーカーの取り込みまたは発現、または疾患の進行、造血幹細胞および前駆細胞の生存、またはレシピエントの生存を介した対象の進行の評価を含むことができる。また、移植後の期間に末梢血中の白血球数を測定することによっても、移植の有無を判定することができる。また、骨髄液サンプル中のドナー細胞による骨髄細胞の回復を測定することによっても移植の有無を評価することができる。

【００６９】

本明細書では、「造血幹細胞」（「ＨＳＣ」）という用語は、自己再生能力を持ち、多様な系譜からなる成熟した血液細胞に分化する能力を持つ未成熟の血液細胞を指し、顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、血小板（例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球（例えば、ＮＫ細胞、Ｂ細胞、Ｔ細胞）などが含まれるが、これらに限定されるものではない。このような細胞は、$CD34^+$細胞を含んでもよい。$CD34^+$細胞は、ＣＤ３４細胞表面マーカーを発現する未熟な細胞である。ヒトの場合、ＣＤ３４+細胞は、上記で定義した幹細胞の特性を持つ細胞の亜集団を含むと考えられるが、マウスの場合、ＨＳＣはＣＤ３４-である。さらに、ＨＳＣは、長期再増殖性造血幹細胞（ＬＴ-ＨＳＣ）および短期再増殖性造血幹細胞（ＳＴ-ＨＳＣ）も指す。ＬＴ-ＨＳＣとＳＴ-ＨＳＣは、機能的な電位と、細胞表面マーカーの発現に基づいて、分化している。例えば、ヒトＨＳＣは、ＣＤ３４+、ＣＤ３８-、ＣＤ４５ＲＡ-、ＣＤ９０+、ＣＤ４９Ｆ+、およびｌｉｎ-（ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ７、ＣＤ８、ＣＤ１０、ＣＤ１１Ｂ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ５６、ＣＤ２３５Ａなどの成熟系マーカーが陰性）である。マウスでは、骨髄ＬＴ-ＨＳＣは、ＣＤ３４-、ＳＣＡ-１+、Ｃ-ｋｉｔ+、ＣＤ１３５-、Ｓｌａｍｆｌ/ＣＤ１５０+、ＣＤ４８-、ｌｉｎ-（Ｔｅｒ１１９、ＣＤ１１ｂ、Ｇｒ１、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、Ｂ２２０、ＩＬ７ｒａなどの成熟系マーカーが陰性）であるのに対し、ＳＴ-ＨＳＣは、ＣＤ３４+、ＳＣＡ-１+、Ｃ-ｋｉｔ+、ＣＤ１３５-、Ｓｌａｍｆｌ/ＣＤ１５０+、ｌｉｎ-（Ｔｅｒ１１９、ＣＤ１１ｂ、Ｇｒ１、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、Ｂ２２０、ＩＬ７ｒａなどの成熟系マーカーが陰性）である。また、ＳＴ-ＨＳＣはＬＴ-ＨＳＣに比べて、恒常的な条件下では静止状態が少なく、増殖性が高い。しかし、ＬＴ-ＨＳＣは自己再生能力が高く（すなわち、成人期まで生存し、連続してレシピエントに移植することができる）、ＳＴ-ＨＳＣは自己再生能力に限界がある（すなわち、限られた期間しか生存できず、連続して移植することができない）。これらのＨＳＣのいずれも、本明細書に記載の方法に使用することができる。ＳＴ-造血幹細胞は、非常に増殖性が高く、したがって、より迅速に分化した子孫を生み出すことができるので、特に有用である。

【００７０】

本明細書では、「造血幹細胞の機能的潜在能力」という用語は、造血幹細胞の機能的特性を指し、１）多能性（これは、顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、血小板（例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、リンパ球（例えば、ＮＫ細胞、Ｔ細胞、Ｂ細胞）を含むがこれらに限定されない複数の異なる血液系統に分化する能力を指す）２）自己再生能力（造血幹細胞が母細胞と同等の能力を持つ娘細胞を生み出す能力であり、さらにこの能力は個体の一生を通じて枯渇することなく繰り返し発生することを指す）、および３）造血幹細胞またはその子孫が移植を受けた患者に再導入され、造血幹細胞ニッチに帰巣し、生産的かつ持続的な造血を再確立する能力を指す。

【００７１】

本明細書では、「対象」および「患者」という用語は、本明細書に記載されているように、特定の病気や状態に対する治療を受けるヒトなどの生物を指す。

【００７２】

本明細書では、「レシピエント」という用語は、造血幹細胞の集団を含む移植などの、移植を受ける患者を指す。レシピエントに投与される移植細胞は、例えば、自家細胞、同一遺伝子の細胞、または同種細胞であってもよい。

【００７３】

本明細書で使用される「治療する」または「治療」とは、生存期間の延長、罹患率の低下、および/または代替治療様式の副産物である副作用の軽減など、任意の疾患の結果を改善することを指す。当技術分野で容易に理解されるように、疾患を完全に根絶することは好ましいが、治療行為の要件ではありません。有益なまたは所望の臨床結果には、本明細書に記載の抗体条件付け療法およびその後の造血幹細胞移植療法を受けた患者における外因性造血細胞の生着を促進することが含まれるが、これらに限定されない。追加の有益な結果には、条件付け療法およびそれに続く患者への外因性造血幹細胞移植の投与後に、造血幹細胞移植を必要とする患者における造血幹細胞の細胞数または相対濃度が増加することが含まれる。本明細書に記載された治療の有益な結果には、巨核球、血栓細胞、血小板、赤血球、マスト細胞、骨髄芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、Bリンパ球などの造血系細胞が、条件付け療法とそれに続く造血幹細胞移植療法などの造血系の1つまたは複数の細胞の細胞数または相対濃度の増加が含まれることもある。追加の有益な結果には、自己免疫細胞の集団（例えば、自己抗原と交差反応するT細胞受容体を発現するCD45+T細胞などのCD45+自己免疫リンパ球）など、疾患を引き起こす細胞集団の量の減少が含まれ得る。本発明の方法が障害の予防に向けられている限り、「予防する」という用語は、疾病状態が完全に阻止されることを必要としないことが理解される。むしろ、本明細書では、予防という用語は、本発明の化合物の投与が疾患の発症前に行われるような、障害に罹患しやすい集団を特定する当業者の能力を指す。この用語は、疾病状態が完全に回避されることを意味するものではない。

【００７４】

本明細書では、造血幹細胞の移植を「必要としている」患者には、本明細書に記載された自己免疫疾患を有する患者が含まれる。造血幹細胞は、一般に、1）顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、血栓細胞（例えば、巨核芽球、血小板を産生する巨核芽球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球（例えば、NK細胞、T細胞、B細胞）を含むがこれらに限定されない複数の異なる血液系統に分化する多能性、2）母細胞と同等の能力を持つ娘細胞を生み出すことができる、自己再生能力3）移植を受けた患者に再導入され、造血幹細胞のニッチに帰巣し、生産的かつ持続的な造血を再構築することができる能力を示す。造血幹細胞は、造血系の１つまたは複数の細胞タイプに欠陥のある、または欠乏している患者に投与して、欠陥のある、または欠乏している細胞集団を生体内で再構成することができる。いくつかの実施形態では、対象者は、関節リウマチ（マウスモデルにおけるプロテオグリカン誘発性関節炎（PGIA）に代表される）、自己免疫性脳炎、強皮性移植片対宿主病、強皮症、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、クローン病、1型糖尿病、または本明細書に記載の別の自己免疫性病態などの自己免疫性疾患を有する。いくつかの実施形態では、対象者は、キメラ抗原受容体T細胞（CART）療法を必要としている。いくつかの実施形態では、対象者は、代謝性貯蔵障害を患っているか、そうでなければ影響を受けている。対象者は、グリコーゲン貯蔵疾患、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ糖脂質症、メタクロマチック白質ジストロフィー、または本明細書に開示される治療および療法から利益を得ることができる任意の他の疾患もしくは障害からなる群から選択される代謝性障害を患っているか、そうでなければ影響を受けている可能性があり、これらに限定されないが、重症複合免疫不全症、ウィスコット-アルドリッチ症候群を含む。重症複合免疫不全症、ウィスコットアルドリッチ症候群、高免疫グロブリンM（IgM）症候群、チェディアック東病、遺伝性リンパ組織球症、骨粗鬆症、骨形成不全症、貯蔵病、大サラセミア、鎌状赤血球症、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、若年性関節リウマチ、およびそれらの疾患、または「Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease（非悪性疾患に対する骨髄移植）」（ASH Education Book, 1:319-338 (2000)に記載されており、その開示内容は、造血幹細胞移植療法の投与によって治療され得る病理に関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれる障害などが挙げられる。加えてまたは代替的

に、造血幹細胞移植を「必要とする」患者は、前述の病態の1つに罹患しているか、または罹患していないが、それにもかかわらず、巨核球、血栓細胞、血小板、赤血球、マスト細胞、マイオブラスト、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T-リンパ球、B-リンパ球などの造血系の1つまたは複数の内因性細胞が、（例えば、他の健康な人のレベルと比較して）減少したレベルを示す。当業者であれば、例えば、当業者に知られているフローサイトメトリーや蛍光標示式細胞分取器（FACS）法などの手順により、前記の細胞タイプの１つまたは複数、または他の血球タイプのレベルが、他の健康な対象に対して低下しているかどうかを容易に判断することができる。

【００７５】

本明細書では、「幹細胞障害」とは、対象者の標的組織を条件付けすることにより、および／または標的組織の内因性幹細胞集団を切除することにより（例えば、対象者の骨髄組織から内因性造血幹細胞または前駆細胞集団を切除することにより）、および／または対象者の標的組織に幹細胞を移植または生着させることにより、治療または治癒する可能性のあるあらゆる疾患、障害、または状態を広く指す。本明細書に記載の患者の条件付けおよび／または造血幹細胞移植法を用いて治療することができる追加の疾患には、遺伝性血液疾患（例えば、鎌状赤血球貧血）および強皮症、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、クローン病などの自己免疫疾患が含まれる。 本明細書に記載の条件付けおよび／または移植方法を用いて治療することができる追加の疾患には、骨髄異形成症候群が含まれる。いくつかの実施形態では、対象者は、代謝性貯蔵障害を患っているか、そうでなければ影響を受けている。例えば、対象者は、グリコーゲン貯蔵疾患、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ糖脂質症、メタクロマチック白質ジストロフィー、または本明細書に開示される治療および療法から利益を得ることができる任意の他の疾患もしくは障害からなる群から選択される代謝性障害を患っているか、またはそうでなければ影響を受けている可能性があり、これに限定されないが、重症複合免疫不全症、ウィスコット-アルドリッチ症候群、高免疫グロブリンM（IgM）症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、骨芽細胞症、骨形成不全症、貯蔵疾患、大サラセミア症、鎌状赤血球症全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、若年性関節リウマチ、および「Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease」ASH Education Book, 1:319-338 (2000)に記載されている疾患、または障害が含まれ、特に、造血幹細胞移植療法の投与によって治療され得る病態に関連するものであり、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００７６】

本明細書では、「ベクター」という用語は、プラスミド、DNAベクター、RNAベクター、ウイルス、または他の適切なレプリコンなどの核酸ベクターを含む。本明細書に記載の発現ベクターは、ポリヌクレオチド配列の他に、例えば、タンパク質の発現および／またはこれらのポリヌクレオチド配列の哺乳類細胞のゲノムへの組み込みに使用される追加の配列要素を含むことができる。本発明の抗体および抗体断片の発現に使用できる特定のベクターには、遺伝子の転写を指示するプロモーター領域およびエンハンサー領域などの制御配列を含むプラスミドが含まれる。また、抗体や抗体断片の発現に有用な他のベクターには、これらの遺伝子の翻訳速度を向上させたり、遺伝子転写の結果であるmRNAの安定性や核外輸送を改善させるポリヌクレオチド配列が含まれる。これらの配列要素は、発現ベクター上に担持された遺伝子の効率的な転写を指示するために、例えば、5'および3'非翻訳領域、およびポリアデニル化シグナルサイトを含むことができる。また、本明細書に記載の発現ベクターは、このようなベクターを含む細胞を選択するためのマーカーをコードするポリヌクレオチドを含んでいてもよい。適切なマーカーの例としては、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、およびヌルセオトリシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子が挙げられる。

【００７７】

本明細書では、「複合体」または「抗体薬物複合体」または「ADC」という用語は、

細胞毒素に連結された抗体を指す。ADCは、抗体またはその抗原結合性断片などの1つの分子の反応性官能基と、本明細書に記載されている細胞毒素などの別の分子の適切な反応性官能基が化学結合することによって形成される。複合体は、互いに結合した2つの分子の間、例えば、抗体と細胞毒の間にリンカーを含むことができる。複合体の形成に使用できるリンカーの例としては、ペプチド含有リンカー、例えば、D-アミノ酸などの自然発生または非自然発生のアミノ酸を含むリンカーが挙げられる。リンカーは、本明細書に記載されている、当技術分野で知られている様々な戦略を用いて調製することができる。その中の反応性成分に応じて、リンカーは、例えば、酵素的加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核的開裂、または有機金属的開裂によって切断することができる（例えば、Lerichеら、Bioorg.Med. Chem.、20:571-582、2012を参照されたい）。

【００７８】

本明細書では、「薬物対抗体比」または「DAR」とは、複合体の抗体に付着した、例えば、アマトキシンなどの薬物の数を指す。ADCのDARは1～8の範囲であるが、抗体上の結合部位の数に応じて、より高い負荷も可能である。特定の実施形態では、複合体は、1、2、3、4、5、6、7、または8のDARを有する。

【００７９】

本明細書では、「微小管結合剤」という用語は、細胞の有糸分裂および間期の細胞機能に必須である微小管ネットワークを破壊することによって作用する化合物を指す。微小管結合剤の例としては、本明細書に記載されているものや当技術分野で知られているものなどのメイタシン、メイタンシノイド、およびその誘導体、ビンブラスチン、ビンブラスチン硫酸、ビンクリスチン、ビンクリスチン硫酸、ビンデシン、およびビノレルビンなどのビンカアルカロイド、ドセタキセル、パクリタキセルなどのタキサン類；ディスコデルモリド、コヒチン、エポチロン、およびその誘導体などのマクロライド類、エポチロンBまたはその誘導体などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００８０】

本明細書では、「アマトキシン」という用語は、タマゴデングダケが産生するペプチドのアマトキシンファミリーのメンバー、またはその誘導体、例えば、RNAポリメラーゼIIの活性を阻害することができるその変異体または誘導体を指す。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシン類には、本明細書に記載の化合物、例えば、α-アマニチン、β-アマニチン、γ-アマニチン、ε-アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、またはプロアマヌリンが含まれる。 本明細書に記載されているように、アマトキシンは、例えば、リンカー部分（L）を介して、抗体またはその抗原結合性断片に結合されてもよい（したがって、ADCを形成する）。アマトキシンの例示的な結合方法およびそのようなプロセスに有用なリンカーを以下に記載する。組成物および方法に従って、抗体、または抗原結合断片に結合するのに有用な、例示的なリンカー含有アマトキシンも本明細書に記載されている。

【００８１】

本明細書で使用される用語「アシル」は、-C(=O)Rを指し、ここでRは、本明細書で定義されているように、水素（「アルデヒド」）、C1-C12アルキル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、C3-C7カルボシクリル、C6-C20アリール、5-10員ヘテロアリール、または5-10員ヘテロシクリルである。非限定的な例としては、ホルミル、アセチル、プロパノイル、ベンゾイル、およびアクリロイルが挙げられる。

【００８２】

本明細書では、「C1-C12アルキル」という用語は、1から12個の炭素原子を有する直鎖または分岐した飽和炭化水素を指す。代表的なC1-C12アルキル基としては、-メチル、-エチル、-n-プロピル、-n-ブチル、-n-ペンチル、および-n-ヘキシルが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、分枝状のC1-C12アルキルとしては、-イソプロピル、-sec-ブチル、-イソブチル、-tert-ブチル、-イソペンチル、および2-メチルブチルが挙げられるが、これらに限定されるものではない。C1-C12アルキル基は、無置換で

も置換されていてもよい。

【００８３】

本明細書では、「アルケニル」という用語は、少なくとも1つの不飽和の部位、すなわち炭素-炭素、sp2二重結合を有する通常、第二、または第三の炭素原子を含むC2-C12炭化水素を指す。例としては、エチレンまたはビニル、-アリール、-1-ブテニル、-2-ブテニル、-イソブチレン、-1-ペンテニル、-2-ペンテニル、-3-メチル-1-ブテニル、-2-メチル-2-ブテニル、-2，3-ジメチル-2-ブテニルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。アルケニル基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８４】

本明細書では、「アルキニル」という用語は、少なくとも1つの不飽和の部位、すなわち炭素-炭素、spの三重結合を持つ、通常、第二、または第三の炭素原子を含むC2-C12炭化水素のことを指す。例としては、アセチレン、プロパルギルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。アルキニル基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８５】

本明細書では、「アリール」という用語は、C6-C20の炭素環式芳香族基を指す。アリール基の例としては、フェニル、ナフチルおよびアントラセニルが挙げられるが、これらに限定されない。アリール基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８６】

本明細書では、「アリールアルキル」という用語は、炭素原子に結合した水素原子の1つ、典型的には末端またはsp3炭素原子がアリールラジカルで置換された非環式アルキルラジカルを指す。典型的なアリールアルキル基としては、ベンジル、2-フェニルエタン-1-イル、2-フェニルエテン-1-イル、ナフチルメチル、2-ナフチルエタン-1-イル、2-ナフチルエテン-1-イル、ナフトベンジル、2-ナフトフェニルエタン-1-イルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。アリールアルキル基は、6-20個の炭素原子からなり、例えば、アリールアルキル基のアルカニル基、アルケニル基またはアルキニル基を含むアルキル部位は、1-6個の炭素原子であり、アリール部位は、5-14個の炭素原子である。アルカリル基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８７】

本明細書では、「シクロアルキル」は、単環または二環式である飽和炭素環式ラジカルを指す。シクロアルキル基は、単環として3-7個の炭素原子を有する環、または二環式として7-12個の炭素原子を有する環を含む。単環のシクロアルキル基の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが挙げられる。シクロアルキル基は、無置換でも置換されていてもよい。

【００８８】

本明細書では、「シクロアルケニル」は、単環または二環式である不飽和炭素環式ラジカルを指す。シクロアルケニル基は、単環として3-6個の炭素原子を有する環、または二環式として7-12個の炭素原子を有する環を含む。単環のシクロアルケニル基の例としては、1-シクロペント-1-エニル、1-シクロペント-2-エニル、1-シクロペント-3-エニル、1-シクロヘキサ-1-エニル、1-シクロヘキサ-2-エニル、1-シクロヘキサ-3-エニルなどが挙げられる。シクロアルケニル基は、無置換でも置換されていてもよい。

【００８９】

本明細書では、「ヘテロアリールアルキル」とは、炭素原子に結合した水素原子の1つ、典型的には末端またはsp3炭素原子がヘテロアリールラジカルで置換された非環式アルキルラジカルを指す。典型的なヘテロアリールアルキル基としては、2-ベンズイミダゾリルメチル、2-フリルエチルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。ヘテロアリールアルキル基は、6-20個の炭素原子からなり、例えば、ヘテロアリールアルキル基のアルカニル基、アルケニル基またはアルキニル基を含むアルキル部位は、1-6個の炭素原子であり、ヘテロアリール部位は、5-14個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1-3個のヘテロ原子である。ヘテロアリールアルキル基のヘテロアリール部位は、3-7個の環員（2-6個の炭素原子）を有する単環、または7-10個の環員（4-

9個の炭素原子およびN、O、P、およびSから選択される1-3個のヘテロ原子）を有する二環式であってもよく、例えば、ビシクロ［4，5］、［5，5］、［5，6］、または［6，6］系である。

【００９０】

本明細書では、「ヘテロアリール」および「ヘテロシクロアルキル」は、それぞれ、1つまたは複数の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、および硫黄である芳香族または非芳香族の環系を指す。ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルラジカルは、2-20個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1-3個のヘテロ原子とからなる。ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルは、3-7個の環員（2-6個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1-3個のヘテロ原子）を有する単環であっても、7-10個の環員（4-9個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1-3個のヘテロ原子）を有する二環式であってもよく、例えば、ビシクロ［4，5］、［5，5］、［5，6］、または［6，6］系である。ヘテロアリールおよびヘテロシクロアルキルは、無置換または置換されていてもよい。

【００９１】

ヘテロアリール基およびヘテロシクロアルキル基については、Paquette, Leo A.;「Principles of Modern Heterocyclic Chemistry」(W. A. Benjamin, New York, 1968)の特に第1章、第3章、第4章、第6章、第7章、および第9章、「The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs"」(John Wiley & Sons, New York, 1950～現在)の特に第13巻、第14巻、第16巻、第19巻、第28巻、およびJ. Am.Chem.Soc. (1960) 82:5566を参照されたい。

【００９２】

ヘテロアリール基の例としては、ピリジル、チアゾリル、テトラヒドロチオフェニル、ピリミジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、テトラゾリル、ベンゾフラニル、チアナフタレニル、インドリル、インドレニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、イソオキサゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、インドリジニル、イソインドリル、3H-インドリル、1H-インダゾリル、プリニル、4H-キノリジニル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、プテリジニル、4aH-カルバゾリル、カルバゾリル、フェナントリジニル、アクリジニル、ピリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フラザニル、フェノキサジニル、イソクロマニル、クロマニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾイソオキサゾリル、およびイサチノイルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００９３】

ヘテロシクロアルキルの例としては、ジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル（ピペリジル）、テトラヒドロチオフェニル、ピペリジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、2-ピロリドニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビステトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、ピペラジニル、キヌクリジニル、モルホリニルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００９４】

限定されない例として、炭素結合ヘテロアリールおよびヘテロシクロアルキルは、ピリジンの2、3、4、5、または6位、ピリダジンの3、4、5、または6位、ピリミジンの2、4、5、または6位、ピラジンの2、3、5、または6位、フラン、テトラヒドロフラン、チオフラン、チオフェン、ピロール、またはテトラヒドロピロールの2、3、4、または5位、オキサゾール、イミダゾール、チアゾールの2、4、または5位、イソオキサゾール、ピラゾール、イソチアゾールの3、4、または5位、アジリジンの2、または3位、アゼチジンの2、3、または4位、キノリンの2、3、4、5、6、7、または8位、イソキノリンの1、3、4、5、6、7、または8位などに結合している。さらに典型的には、炭素結合複素環としては、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、5-ピリジル、6-ピリジル、3-ピリ

ダジニル、4-ピリダジニル、5-ピリダジニル、6-ピリダジニル、2-ピリミジニル、4-ピリミジニル、5-ピリミジニル、6-ピリミジニル、2-ピラジニル、3-ピラジニル、5-ピラジニル、6-ピラジニル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、または5-チアゾリルが挙げられる。

【００９５】

限定されない例として、窒素結合ヘテロアリールおよびヘテロシクロアルキルは、アジリジン、アゼチジン、ピロール、ピロリジン、2-ピロリン、3-ピロリン、イミダゾール、イミダゾリジン、2-イミダゾリンの1位、3-イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、2-ピラゾリン、3-ピラゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドール、インドリン、1H-インダゾール、イソインドールの2位、またはイソインドリン、モルホリンの4位、カルバゾールの9位、ベータ-カルボリンに結合している。さらに典型的には、窒素結合複素環としては、1-アジリジル、1-アゼテジル、1-ピロリル、1-イミダゾリル、1-ピラゾリル、および1-ピペリジニルなどが挙げられる。

【００９６】

本明細書で使用され、上記のアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、シクロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクリルなどのいずれかに適用される「置換」とは、１つまたは複数の水素原子がそれぞれ独立して置換基で置き換えられていることを意味する。典型的な置換基とては、これらに限定されないが、-X、-R、-OH、-OR、-SH、-SR、NH2、-NHR、-N（R）2、-N＋（R）3、-CX3、-CN、-OCN、-SCN、-NCO、-NCS、-NO、-NO2、-N3、-NC(=O)H、-NC(=O)R、-C(=O)H、-C(=O)R、-C(=O)NH2、-C(=O)N(R)2、-SO3-、-SO3H、-S(=O)2R、-OS(=O)2OR、-S(=O)2NH2、-S(=O)2N(R)2、-S(=O)R、-OP(=O)(OH)2、-OP(=O)(OR)2、-P(=O)(OR)2、-PO3、-PO3H2、-C(=O)X、-C(=S)R、-CO2H、-CO2R、-CO2-、-C(=S)OR、-C(=O)SR、-C(=S)SR、-C(=O)NH2、-C(=O)N(R)2、-C(=S)NH2、-C(=S)N(R)2、-C(=NH)NH2、および-C(=NR)N(R)2が挙げられ、ここで、各Xは、その都度、F、Cl、Br、およびIから独立して選択され、各Rは、その都度、C1-C12アルキル、C6-C20アリール、C3-C14ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール、保護基、およびプロドラッグ部位から独立して選択される。ある基が「任意に置換されている」と記載されている場合は、その基はその都度、独立して１つまたは複数の上記の置換基で置換されていることができる。

【００９７】

ある種のラジカルの命名規則は、文脈に応じてモノラジカルまたはジラジカルのいずれかを含むことができることを理解されたい。例えば、置換基が分子の残りの部分に2つの接着点を必要とする場合、その置換基はジラジカルであると理解される。例えば、2つの結合点を必要とするアルキルとして識別される置換基には、-CH2-、-CH2CH2-、-CH2CH(CH3)CH2-などのジラジカルが含まれる。他のラジカルの命名規則は、「アルキレン」、「アルケニレン」、「アリーレン」、「ヘテロシクロアルキレン」などのように、ラジカルがジラジカルであることを明確に示している。

【００９８】

置換基がジラジカルとして描かれている場合（すなわち、分子の残りの部分に2つの接着点を持っている場合）、別段の記載がない限り、置換基は任意の方向に付着できることを理解されたい。

【００９９】

「異性」とは、分子式は同一であるが、原子の結合順序や空間における原子の配置が異なる化合物を意味する。空間における原子の配置が異なる異性は「立体異性体」と呼ばれる。互いに鏡像ではない立体異性体は「ジアステレオ異性体」と呼ばれ、互いに重ね合わせることのできる鏡像ではない立体異性体は「鏡像異性体」、あるいは「光学異性体」と呼ばれることもある。

【０１００】

4つの非同一の置換基に結合した炭素原子は「キラル中心」と呼ばれる。「キラル異性

体」とは、少なくとも1つのキラル中心を持つ化合物を意味する。2つ以上のキラル中心を持つ化合物は、個々のジアステレオマーとして、または「ジアステレオマー混合物」と呼ばれる、ジアステレオマーの混合物として存在する可能性がある。1つのキラル中心が存在する場合、立体異性体はそのキラル中心の絶対配置（RまたはS）によって特徴付けられる。絶対配置とは、キラル中心に付着している置換基の空間における配置を指す。検討中のキラル中心に付着している置換基は、Cahn、Ingold、およびPrelogのSequence Ruleに基づいてランク付けされる。(Cahnら, Angew.Chem.Inter.Edit.1966, 5, 385; errata 511; Cahn et al., Angew.Chem.1966, 78, 413; Cahn and Ingold, J. Chem.Soc. 1951 (London), 612; Cahn et al., Experientia 1956, 12, 81; Cahn, J. Chem.Educ.1964, 41, 116）。逆のキラリティーを持つ個々の鏡像異性の形を同量含む混合物は「ラセミ混合物」と呼ばれる。

【０１０１】

本明細書および特許請求の範囲に開示されている化合物は、１つまたは複数の不斉中心を含んでいてもよく、それぞれの化合物の異なるジアステレオマーおよび／または鏡像異性体が存在してもよい。本明細書および特許請求の範囲における任意の化合物の記述は、別段の記載がない限り、すべての鏡像異性体、ジアステレオマー、およびそれらの混合物を含むことを意味する。さらに、本明細書および特許請求の範囲における任意の化合物の記述は、別段の記載がない限り、個々の鏡像異性体と、鏡像異性体のラセミまたはその他の混合物の両方を含むことを意味する。化合物の構造が特定の鏡像異性体として描かれている場合、本願の発明はその特定の鏡像異性体に限定されないことを理解されたい。したがって、本明細書では、本開示の構造式のそれぞれの鏡像異性体、光学異性体、およびジアステレオマーが企図されている。本明細書では、化合物の構造式は、場合によっては便宜上、特定の異性体を表しているが、本開示は、幾何学的異性体、非対称炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体などのすべての異性体を含み、すべての異性体が同じレベルの活性を有するとは限らないことが理解される。化合物は、異なる互変異性型で発生してもよい。本開示による化合物は、別段の記載がない限り、すべての互変異性型を含むことを意味する。化合物の構造が特定の互変異性体として描かれている場合、本願の発明はその特定の互変異性体に限定されないことを理解されたい。

【０１０２】

本明細書に記載されている任意の式の化合物には、化合物自体のほか、その塩、および該当する場合にはその溶媒和化合物が含まれる。塩は、例えば、アニオンと、本開示の化合物上の正電荷基（例えば、アミノ）との間で形成することができる。適切なアニオンとしては、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硫酸塩、重硫酸塩、スルファミン酸塩、硝酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、トリフルオロ酢酸塩、グルタミン酸塩、グルクロン酸塩、グルタル酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、トシル酸塩、サリチル酸塩、乳酸塩、ナフタレンスルホン酸塩、および酢酸塩（例えば、トリフルオロ酢酸塩）が挙げられる。用語「薬学的に許容されるアニオン」は、薬学的に許容される塩を形成するのに適したアニオンを指す。同様に、塩は、カチオンと、本開示の化合物上の負電荷基（例えば、カルボキシレート）との間で形成することもできる。適切なカチオンには、ナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオン、およびテトラメチルアンモニウムイオンなどのアンモニウムカチオンが含まれる。適切な置換アンモニウムイオンの例としては、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン、およびトロメタミン、ならびにリジンおよびアルギニンなどのアミノ酸に由来するものがある。また、本開示の化合物には、第４級窒素原子を含むそれらの塩も含まれる。

【０１０３】

好適な無機アニオンの例としては、以下の無機酸に由来するものが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、亜硫酸、硝酸、

亜硝酸塩、リン酸、亜リン酸がある。好適な有機アニオンの例としては、以下の有機酸に由来するものが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、2-アセトキシ安息香酸、酢酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、桂皮酸、クエン酸、エデト酸、エタンジスルホン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルヘプト酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフタレンカルボン酸、イセチオン酸、乳酸、ラクトビオン酸、ラウリン酸、マレイン酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ムチン酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、フェニルスルホン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、スルファニル酸、酒石酸、トルエンスルホン酸、吉草酸などがある。適切な高分子有機アニオンの例としては、以下の高分子酸に由来するものが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、タンニン酸、またはカルボキシメチルセルロースがある。

【０１０４】

さらに、本開示の化合物、例えば化合物の塩は、水和物または非水和物（無水物）のいずれかの形態で、または他の溶媒分子との溶媒和化合物として存在することができる。水和物の非限定的な例としては、一水和物、二水和物などが挙げられる。また、溶媒和化合物の非限定的な例としては、エタノール溶媒和化合物、アセトン溶媒和化合物などが挙げられる。「溶媒和化合物」とは、化学量論的量または非化学量論的量の溶媒を含む溶媒付加形態を意味する。化合物の中には、結晶性固体の状態で一定のモル比の溶媒分子を捕捉して、溶媒和化合物を形成する傾向があるものがある。溶媒が水の場合、形成される溶媒和化合物は水和物であり、溶媒がアルコールの場合、形成される溶媒和化合物はアルコール和物である。水和物とは、1分子以上の水と1分子の物質が結合してできるもので、水はH_2Oとしての分子状態を保っている。水和物は、例えば、一水和物、二水和物、三水和物などを指す。

【０１０５】

また、本明細書に開示されている式で表される化合物またはその塩には、結晶多形が存在していてもよい。任意の結晶形、結晶形混合物、またはその無水物もしくは水和物が、本開示の範囲に含まれることに留意されたい。

【０１０６】

抗CD45抗体

本発明は、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分の使用を含む。いくつかの実施形態は、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分からなる抗CD45 ADCの使用を含む。本発明は、抗CD45抗体および／またはADCが、（i）CD45+細胞を特徴とする自己免疫疾患を治療するため、および（ii）移植療法を必要とする患者における移植された造血幹細胞の生着を促進するための治療剤として使用できるという発見に一部基づいている。これらの治療活性は、例えば、抗CD45抗体またはADCがCD45を発現している内在性の細胞に結合することにより、内在性の自己免疫細胞が根絶されることによって引き起こされる。このようにして、移植された造血幹細胞は、自己免疫疾患に罹患しているヒトなどの患者に正常に移植される可能性があり、その結果、患者は自己寛容システムの再構築に向けて標的となる免疫の枯渇を得ることができる。

【０１０７】

CD45は、T細胞やB細胞の抗原受容体を介したシグナル伝達に不可欠な、造血細胞特異的な膜貫通型のタンパク質チロシンホスファターゼである。CD45には、大きな細胞外領域と、ホスファターゼを含む細胞質ドメインがある。CD45は、刺激の性質や関係する細胞の種類に応じて、正と負の両方の調節因子として働く可能性がある。CD45の遺伝子には多数の並べ替えが存在するが、ヒトでは6つのアイソフォームのみが伝統的に同定されている。そのアイソフォームとは、RA、RO、RB、RAB、RBC、RABCである（Hermiston et al. 2003 "CD45: a critical regulator of signaling thresholds in immune cells."Annu Rev Immunol.2:107-137.）。CD45RAはナイーブT細胞に、CD45ROは活性化T細胞やメモリーT細胞、いくつかのB細胞サブセット、活性化単球/マ

クロファージ、顆粒球に発現している。CD45RBは、末梢のB細胞、ナイーブT細胞、胸腺細胞、弱いながらもマクロファージ、樹状細胞に発現している。

【０１０８】

ヒトCD45（mRNA NCBI Reference Sequence:NM_080921.3, Protein NCBI Reference Sequence:NP_563578.2）を結合することができる抗体および抗原結合性断片は、アイソフォームCD45ROを結合することができるものを含み、造血幹細胞移植療法を必要とする患者における造血幹細胞移植片の生着を促進するなど、本明細書に開示される組成物および方法とともに使用することができる。CD45の複数のアイソフォームは、一次転写産物における34個のエクソンの代替スプライシングから生じる。 エクソン4、5、6、そして潜在的には7のスプライシングにより、複数のCD45のバリエーションが生じる。

【０１０９】

代替スプライシングにより、個々のエクソンまたはエクソンの組み合わせが、CD45タンパク質の様々なアイソフォームに発現する（例えば、CD45RA、CD45RAB、CD45RABC）。 対照的に、CD45ROはエクソン4-6の発現を欠き、エクソン1-3と7-34の組み合わせから生成される。 CD45ROはエクソン4-6の発現を欠き、エクソン7がタンパク質から除外され、エクソン1-3と8-34が一緒にスプライシングされるという証拠がある。 E3-8と名付けられたこのタンパク質は、mRNAレベルでは検出されているが、現在のところフローサイトメトリーでは同定されていない。

【０１１０】

CD45ROは現在、造血幹細胞に発現する唯一のCD45アイソフォームとして知られている。CD45RAとCD45RABCは検出されていないか、造血幹細胞の表現型から除外されている。マウスを用いた研究から、CD45RBは胎児の造血幹細胞に発現しているが、成体の骨髄造血幹細胞には存在しないという証拠がある。注目すべきは、CD45RCはアジア人集団の中でエクソン6に高い確率で多型が見られることである（CD45RCのエクソン6の多型は日本人集団の約25％に見られる）。この多型により、CD45ROが高発現し、CD45RA、CD45RB、CD45RCの発現量が減少する。さらに、CD45RA変異体（CD45RABやCD45RACなど）は、自己免疫疾患と関連するエクソン4の多型を示している。

【０１１１】

造血幹細胞にCD45ROが存在し、他の免疫細胞（T、Bリンパ球サブセットや様々な骨髄系細胞など）への発現が比較的限られていることから、CD45ROは造血幹細胞移植を必要とする患者の条件付け治療に特に適したターゲットとなる。CD45ROはエクソン4、5、6の発現を欠いているだけのため、免疫原として使用することで、汎CD45抗体やCD45RO特異的抗体のスクリーニングが可能になる。

【０１１２】

本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用できる抗CD45抗体には、抗CD45抗体、およびその抗原結合部分が含まれる。抗体の抗原結合部分は当技術分野でよく知られており、抗体の抗原結合領域に基づいて容易に構築することができる。例示的な実施形態では、本明細書に記載の条件付け方法と組み合わせて使用される抗CD45抗体は、モノクローナル抗体またはその抗原結合性断片、ポリクローナル抗体またはその抗原結合性断片、ヒト化抗体またはその抗原結合性断片、完全ヒト抗体またはその抗原結合性断片、キメラ抗体またはその抗原結合性断片、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片、二重可変免疫グロブリンドメイン、単鎖Fv分子（scFv）、二重特異性抗体、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スカフォールド、Fv断片、Fab断片、F(ab')2分子、またはタンデム2重scFvであることができる。本明細書に記載のADCまたは方法において全体または一部を使用することができる例示的な抗CD45抗体を以下に提供する。

【０１１３】

いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、BIOLEGEND(R) (San Diego, CA)から市販されているクローンHI30、またはそのヒト化変異体であるか、またはそのクローン

HI30に由来する。　抗体のヒト化は、当技術分野で知られている手順（例えば、下記の実施例7に記載されている）に従って、非ヒト抗体のフレームワーク残基および定常部残基を生殖系列ヒト抗体のものと置き換えることによって行うことができる。　本明細書に記載の方法と組み合わせて使用できる追加の抗CD45抗体としては、抗CD45抗体ab10558、EP322Y、MEM-28、ab10559、0.N.125,ABCAM(R)（Cambridge, MA）から市販されているF10-89-4、HIe-1、2B11、YTH24.5、PD7/26/16、F10-89-4、1B7、ab154885、B-A11、phosphor S1007、ab170444、EP350、Y321、GA90、D3/9、X1 6/99、LT45、およびそれらのヒト化変異体が挙げられる。　本明細書に記載されている患者の条件付け手順と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体には、SIGMA-ALDRICH(R)（St.Louis, MO）から市販されている抗CD45抗体HPA000440、およびそのヒト化変異体が含まれる。　本明細書に記載された患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができる追加の抗CD45抗体には、例えば、Matthewsら、Blood 78：1864-1874、1991に記載されているマウスモノクローナル抗体BC8、およびそのヒト化変異体が含まれ、その開示は、抗CD45抗体に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれる。　本明細書に記載された方法と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体には、モノクローナル抗体YAML568が含まれ、これは、例えば、Glattingら、J. Nucl.Med.8:1335-1341, 2006に記載されているモノクローナル抗体YAML568があり、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。　本明細書に記載されている患者の条件付け手順と組み合わせて使用することができる追加の抗CD45抗体には、モノクローナル抗体YTH54.12およびYTH25.4があり、これらは、例えば、Brennerら、Ann.N.Y. Acad.Sci. 996:80-88, 2003に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。　本明細書に記載の患者の条件付け方法で使用するための追加の抗CD45抗体には、UCHL1、2H4、SN130、MD4.3、MBI、およびMT2が含まれ、これらは、例えば、Brownら、Immunology 64:331-336、1998年に記載されており、その開示は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。　本明細書に記載の方法と組み合わせて使用することができる追加の抗CD45抗体には、American Type Culture Collection（ATCC）Accession No.RA3-6132、RA3-2C2、およびTIB122から生成および放出されたもの、ならびにモノクローナル抗体C363.16A、および13/2が含まれ、これらは、例えば、Johnsonら、J. Exp.Med.169:1179-1184, 1989に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。　本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体としては、モノクローナル抗体AHN-12.1、AHN-12、AHN-12.2、AHN-12.3、AHN-12.4、HLe-1、およびKC56(T200)が挙げられ、これらは、例えば、Harvathら、J. Immunol.146:949-957, 1991に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。

【０１１４】

本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができる追加の抗CD45抗体には、例えば、米国特許第7,265,212号（これは、例えば、他のクローンの中で、抗CD45抗体39E11、16C9、および1G10を記載している）；7,160,987号（これは、例えば、モノクローナル抗体6G3など、ATCC Accession No,7,160,987（例えば、モノクローナル抗体6G3のような、ATCC Accession No.HB-11873によって産生および放出された抗CD45抗体を記載している）、および6,099,838（例えば、抗CD45抗体MT3、ならびにATCC Accession No.HB220（MB23G2とも呼ばれる）およびHB223によって産生および放出された抗体を記載している）、ならびにUS 2004/0096901およびUS 2008/0003224（例えば、以下を記載している）がある。モノクローナル抗体17.1など、ATCC Accession No.PTA-7339によって製造およ

びリリースされた抗CD45抗体）があり、これらの各開示は、抗CD45抗体に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれる。

【０１１５】

本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体には、ATCC Accession No.MB4B4、MB23G2、14.8、GAP 8.3、74-9-3、I/24.D6、9.4、4B2、M1/9.3.4.HL.2、ならびにそれらのヒト化および／または親和性成熟された変異体から産生および放出された抗体が含まれる。 親和性成熟は、例えば、以下の実施例6に記載されているように、本明細書に記載された、または当技術分野で知られている生体外ディスプレイ技術を用いて、ファージディスプレイなどの方法で行うことができる。

【０１１６】

本明細書に記載の患者の条件付け方法と組み合わせて使用できる追加の抗CD45抗体には、抗CD45抗体T29/33があり、これは、例えば、Morikawa et al., Int.J. Hematol.54:495-504, 1991に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体に関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。

【０１１７】

特定の実施形態では、抗CD45抗体は、アパミスタマブ（別名90Y-BC8、Iomab-B、BC8；例えば、US20170326259、WO2017155937、およびOrozco et al.Blood.127.3（2016）：352-359.に記載されている）またはBC8-B10（例えば、Li et al. PloS one 13.10 (2018): e0205135.に記載されている）から選択され、これらの各々は参照により組み込まれる。他の抗CD45抗体は、例えば、WO2003/048327、WO2016/016442、US2017/0226209、US2016/0152733、US9,701,756；US2011/0076270、またはUS7,825,222に記載されており、これらの各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、アミノ酸配列RNGPHERYHLEVEAGNT（SEQ ID NO：38）からなる領域でヒトCD45に特異的に結合する。例えば、特定の実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、SEQ ID NO: 37（NP_002829.3に対応するCD45アイソフォームの断片）のアミノ酸残基486R、493Y、および502T、または他のヒトCD45アイソフォームの配列RNGPHERYHLEVEAGNT（SEQ ID NO: 38；太字の残基は結合部位を示す）からなる領域のそれに対応する残基で、ヒトCD45に特異的に結合する。 いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、ヒトCD45のフィブロネクチンドメイン（例えば、フィブロネクチンd4ドメイン）に特異的に結合する。

【０１１９】

いくつかの実施形態では、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、SEQ ID NO:37の残基486R、493Y、および502Tからなるヒト CD45のエピトープに特異的に結合し、また、カニクイザルおよび／またはアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２０】

いくつかの実施形態では、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列RNGPHERYHLEVEAGNT（SEQ ID NO：38）からなるヒトCD45のエピトープに特異的に結合し、また、カニクイザルやアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２１】

いくつかの実施形態において、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列CRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHK（SEQ ID NO：39）からなるヒトCD45のエピトープに特異的に結合し、カニクイザルやアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、SEQ ID NO.37の残基486R、493Y、および502Tからなるヒト CD45のエピトープに特異的

に結合する。RNGPHERYHLEVEAGNT（SEQ ID NO: 38）からなるペプチド中の少なくとも1つの追加アミノ酸、少なくとも2つの追加アミノ酸、少なくとも3つの追加アミノ酸、少なくとも4つの追加アミノ酸、または少なくとも5つの追加アミノ酸に結合し、ここで追加アミノ酸残基はSEQ ID NO: 37の残基486R、493Y、および502Tではなく、さらにカニクイザルおよびアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２３】

いくつかの実施形態では、本発明は、AbAのものに対応する結合領域、例えば、CDR、または可変領域を含む抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片を提供する。AbAの重鎖可変領域（VH）のアミノ酸配列は、SEQ ID NO：1に記載されている。 AbAのVH CDRドメインのアミノ酸配列は、SEQ ID NO：2（VH CDR1）；SEQ ID NO：3（VH CDR2）、およびSEQ ID NO：4（VH CDR3）に記載されている。AbAの軽鎖可変領域（VL）アミノ酸配列は、SEQ ID NO：5に記載されている。AbAのVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO：6（VL CDR1）；SEQ ID NO：7（VL CDR2）、およびSEQ ID NO：8（VL CDR3）に記載されている。 したがって、特定の実施形態では、本明細書で提供される抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、SEQ ID NO: 1に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 5に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域とを含む。 いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、SEQ ID NO：2、3、および4に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる重鎖と、SEQ ID NO：6、7、および8に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる軽鎖可変領域とを含んでいる。

【０１２４】

いくつかの実施形態では、本発明は、AbBのものに対応する結合領域、例えば、CDR、または可変領域を含む抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片を提供する。 AbBの重鎖可変領域（VH）のアミノ酸配列は、SEQ ID NO：9に記載されている。 AbBのVH CDRドメインのアミノ酸配列は、SEQ ID NO：10（VH CDR1）；SEQ ID NO：11（VH CDR2）、およびSEQ ID NO：12（VH CDR3）に記載されている。AbBの軽鎖可変領域（VL）アミノ酸配列は、SEQ ID NO:13に記載されている。 AbBのVL CDRドメインアミノ酸配列は、SEQ ID NO:14（VL CDR1）；SEQ ID NO:15（VL CDR2）、およびSEQ ID NO:16（VL CDR3）に記載されている。 したがって、特定の実施形態では、本明細書で提供される抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、SEQ ID NO: 9に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 13に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域とを含んでいる。 いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、SEQ ID NO：10、11、および12に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる重鎖と、SEQ ID NO：14、15、および16に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる軽鎖可変領域とを含んでいる。

【０１２５】

いくつかの実施形態では、本発明は、AbCのものに対応する結合領域、例えば、CDR、または可変領域を含む抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片を提供する。 AbCの重鎖可変領域（VH）のアミノ酸配列は、SEQ ID NO：17に記載されている（表6参照）。 AbCのVH CDRドメインのアミノ酸配列は、SEQ ID NO：18（VH CDR1）；SEQ ID NO：19（VH CDR2）、およびSEQ ID NO：20（VH CDR3）に記載されている。AbCの軽鎖可変領域（VL）のアミノ酸配列は、SEQ ID NO：21に記載されている。 AbCのVL CDRドメインのアミノ酸配列は、SEQ ID NO：22（VL CDR1）；SEQ ID NO：23（VL CDR2）、およびSEQ ID NO：24（VL CDR3）に記載されている。 したがって、特定の実施形態では、本明細書で提供される抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、SEQ ID NO: 17に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、SEQ ID NO: 21に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域とを含む。 いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、SEQ ID NO：18、19、および20に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む重鎖と、SEQ ID NO：22、23、および24に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む軽鎖可変領域とか

らなる。

【０１２６】

特定の実施形態では、抗体は、表6に記載されたHC可変ドメイン、または表6のHC可変領域の変異体からなる修飾重鎖（HC）可変領域からなり、この変異体は、（i）表6に記載されたHC可変ドメインと、1、2、3、4、または5個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、（ii）表6に記載されたHC可変ドメインと、最大で5、4、3、2、または1個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、(iii）表6に記載のHC可変ドメインと1-5、1-3、1-2、2-5または3-5個のアミノ酸置換、付加または欠失で異なり、および／または（iv）表6に記載のHC可変ドメインと少なくとも約75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％または99％同一のアミノ酸配列からなり、（i）-（iv）のいずれかにおいて、アミノ酸置換は保存的アミノ酸置換であっても非保存的アミノ酸置換であっても良いことを特徴とする。

【０１２７】

特定の実施形態では、抗体は、表6に記載されたLC可変ドメイン、またはその変異体からなる修飾軽鎖（LC）可変領域を含み、この変異体は、（i）表6に記載されたLC可変ドメインと、1、2、3、4、または5個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、（ii）表6に記載されたLC可変ドメインと、最大で5、4、3、2、または1個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、（iii）表6に記載されたLC可変ドメインと、1-5、1-3、1-2、2-5、または3-5個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、(iv）表6に記載のLC可変ドメインと1-5、1-3、1-2、2-5または3-5個のアミノ酸の置換、付加または欠失で異なり、および／または（iv）表6に記載のLC可変ドメインと少なくとも約75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％または99％同一のアミノ酸配列からなり、（i）-（iv）のいずれかにおいて、アミノ酸の置換は保存的アミノ酸置換または非保存的アミノ酸置換であってもよい。

【０１２８】

特定の実施形態では、抗CD45抗体は、抗体のCD45結合特異性（すなわち、AbA、AbB、またはAbCと同様の特異性）を保持しながら、CDRが保存的アミノ酸置換（または2、3、4、または5個のアミノ酸置換）を含む、本明細書の表6に記載されたCDRを含む。

【０１２９】

特定の実施形態では、抗CD45抗体は、AbA、AbB、AbC抗体、またはその抗原結合部分に基づいた脱免疫化抗体である。脱免疫化抗体とは、V領域がT細胞エピトープを欠くように選択されているか、またはT細胞エピトープを除去するように変更されており、それによって抗体が免疫原性を有する可能性を最小化または排除しているものである。特定の実施形態では、抗CD45抗体は、フレームワークドメインをT細胞エピトープがないように選択または設計することによって脱免疫化されている。このようなフレームワークドメインは、抗体配列中に存在すると、ヒト対象が抗CD45抗体に対してHAHA/HAMA反応を行うことを可能にし、その結果、ヒト対象に有害事象を引き起こす免疫介在性反応や治療効果の低下を引き起こす。本明細書に開示されている抗体（すなわち、本明細書に記載されているAbA、AbB、およびAbCの可変およびCDR配列）は、脱免疫化抗体が由来し得る親配列として機能し得る。

【０１３０】

追加の抗CD45抗体は、国際特許出願番号PCT/US2019/058973およびPCT/US2019/058971で提供されており、それぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれている。

【０１３１】

追加の抗CD45抗体およびその抗原結合部分は、本明細書に記載されている抗体を特定する方法（例えば、抗体ライブラリのハイスループットスクリーニング、ファージディスプレイ、計算モデルなど）を含むがこれに限定されない、技術的に認められた方法を用いて生成することができる。

【０１３２】
前述の各出版物の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれている。
【０１３３】
本明細書に記載され、本明細書に記載されたＡＤＣで使用される抗体またはその抗原結合性断片は、当技術分野で知られているように、半減期を増加させるもの、ＡＤＣＣを増加または減少させるものなど、抗体および／または断片の特性を変化させる修飾および／または突然変異を含んでいてもよい。
【０１３４】
いくつかの実施形態では、ＡＤＣは、ＣＤ４５に特異的に結合する二重特異性抗体またはその抗原結合部分と、追加の標的抗原とを含む。二重特異性結合剤を含むいくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分からなる抗原結合部分を含む、例えばハーフ抗体、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ'、ａ Ｆａｂ、ａ Ｆａｂ'、ｄｉ-ｓｃＦｖ、タンデムｄｉ-ｓｃＦｖ、ｔｒｉ-ｓｃＦｖ、タンデムｔｒｉ-ｓｃＦｖ、Ｆｖ、ジスルフィド結合Ｆｖ、ＤＡＲＴ、シングルドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、二重特異性抗体、タンデム二重特異性抗体、トリアボディ、タンデムトリアボディ、またはそれらの一部。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分は、脱免疫化された抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分である。　いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分は、キメラ抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分である。　他の実施形態では、抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分は、ヒト化抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分である。　他の実施形態では、抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分は、完全ヒト抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分である。　いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗ＣＤ４５結合剤、またはその一部は、抗ＣＤ４５二重特異性結合剤に組み込むことができる。　例えば、いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５二重特異性結合剤は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１の重鎖可変領域配列、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:５の軽鎖可変領域配列を含むことができる。　いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５二重特異性結合剤は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:２、３、および４に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:６、７、および８に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含むことができる。
【０１３５】
いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５二重特異性結合剤は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:９の重鎖可変領域配列、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１３の軽鎖可変領域配列を含むことができる。　いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５二重特異性結合剤は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１０、１１、および１２に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１４、１５、および１６に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含むことができる。　いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５二重特異性結合剤は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１７の重鎖可変領域配列、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:２１の軽鎖可変領域配列を含むことができる。　いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５二重特異性結合剤は、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:１８、１９、および２０に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３を含む重鎖可変領域と、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:２２、２３、および２４に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域とを含むことができる。
【０１３６】
当技術分野で知られている、または本明細書に記載されている方法を用いて同定された他の抗ＣＤ４５抗体または結合剤を、本明細書に記載されている二重特異性結合剤に追加または代替的に使用することができる。
【０１３７】
Ｆｃ-修飾抗体
本発明で使用される抗体および／またはＡＤＣは、特定の実施形態において、Ｆｃサイレンシングを可能にするＦｃ修飾（複数可）を有する抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分を含んでいてもよい。　本明細書のＦｃ修飾抗体またはＡＤＣは、内在性造血幹細胞の選択的な枯渇を可能にするだけでなく、外在性造血幹細胞の移植に対する細胞毒性効果を低

減し、それによって造血幹細胞移植の生着をさらに促進する。

【０１３８】

また、本明細書に記載されている抗体または結合断片は、半減期の増加、ＡＤＣＣの増加または減少など、抗体および／または断片の特性を変化させる修飾および／または突然変異を含んでいてもよい。

【０１３９】

いくつかの実施形態では、1つまたは複数の放射性標識アミノ酸を含む抗体が提供される。放射性標識抗体は、診断および治療の両方の目的で使用することができる（放射性標識分子への結合は、別の可能な特徴である）。ポリペプチドの標識の非限定的な例としては、3H、14C、15N、35S、90Y、99Tc、および125I、131I、186Reが挙げられるが、これらに限定されない。放射性同位元素で標識されたアミノ酸および関連するペプチド誘導体を調製する方法は、当技術分野で知られている（例えば、Junghansら、in Cancer Chemotherapy and Biotherapy 655-686（2nd edition, Chafner and Longo, eds., Lippincott Raven (1996)および米国特許第4,681,581号、米国特許第4,735,210号、米国特許第5,101,827号、第5,101,827号、米国特許第5,102,990号（米国RE35,500）米国特許第5,648,471号および第5,697,902号を参照されたい）。例えば、放射性同位元素をクロラミンT法で共役させてもよい。

【０１４０】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは、修飾されたFc領域を含む抗CD45抗体またはその結合断片からなり、前記修飾されたFc領域は、野生型Fc領域に対して少なくとも1つのアミノ酸修飾を含み、前記分子がFcガンマR（FcγR）に対する親和性または結合性が変化するようになっている。 Fc領域内の特定のアミノ酸位置は、FcγRと直接接触していることが結晶学的研究により知られている。 具体的には、アミノ酸234-239（ヒンジ領域）、アミノ酸265-269（B/Cループ）、アミノ酸297-299（C'/Eループ）、およびアミノ酸327-332（F/G）ループである。(Sondermannら、2000 Nature, 406: 267-273を参照されたい）。 本明細書に記載の抗体は、構造および結晶学的分析に基づいて、FcγRと直接接触する少なくとも1つの残基の修飾を含む変形Fc領域を含んでいてもよい。 いくつかの実施形態では、抗CD45抗体（またはその断片）のFc領域は、Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest、5th Ed.に記載されているようなEUインデックスに従ったアミノ酸265でのアミノ酸置換を含んでいる。Public Health Service, NH1, MD (1991)に記載されているEUインデックスに従って、アミノ酸265でのアミノ酸置換からなる。「KabatにおけるEUインデックス」とは、ヒトIgG1 EU抗体の番号付けを指す。 一部の実施形態では、Fc領域は、D265A変異を含んでいる。 一部の実施形態では、Fc領域は、D265C変異を含んでいる。いくつかの実施形態では、抗体（またはその断片）のFc領域は、KabatにおけるようなEUインデックスに従って、アミノ酸234でのアミノ酸置換を含んでいる。

【０１４１】

いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265、V205、H435、I253、および／またはH310のアミノ酸位置に変異を含んでいる。 例えば、これらの位置における具体的な変異には、D265C、V205C、H435A、I253A、および／またはH310Aが含まれる。

【０１４２】

いくつかの実施形態では、Fc領域は、L234A変異を含んでいる。 一部の実施形態では、抗CD45抗体（またはその断片）のFc領域は、KabatにおけるようなEUインデックスによるアミノ酸235でのアミノ酸置換を含んでいる。 いくつかの実施形態では、Fc領域は、L235A変異を含んでいる。 さらに別の実施形態では、Fc領域は、L234AおよびL235A変異からなる。 さらなる実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235Aの変異からなる。 さらに別の実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435Aの変異からなる。 さらなる実施形態では、Fc領域は、D265CおよびH435Aの変異からなる。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、本明細書の抗CD45抗体は、以下の修飾または修飾の組み合わせのいずれかを含むFc領域を含み、D265A、D265C、D265C／H435A、D265C／LALA、D265C／LALA／H435A、D265C／N297G、D265C／N297G／H435A、D265C（IgG2*）、D265C（IgG2）／H435A、D265C／N297Q／H435A、D265C／N297Q、EPLVLAdelG／H435A、N297A、N297G、またはN297Qである。

【０１４４】

修飾されたFc領域とFcガンマ受容体との間の結合または親和性は、当技術分野で知られている様々な技術を用いて決定することができるが、これらに限定されるものではなく、例えば、平衡法（例．(ELISA); KinExA, Rathanaswami et al. Analytical Biochemistry, Vol. 373:52-60, 2008;または、ラジオイムノアッセイ(RIA))、または表面プラズモン共鳴アッセイまたは他のメカニズムのキネティクスベースのアッセイ（例えば、BIACORE(R)分析またはOctet™分析（forteBIO）など）、間接的結合アッセイ、競合的な結合アッセイ蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動、クロマトグラフィー（ゲルろ過など）などの他の方法がある。 これらの方法やその他の方法では、1つまたは複数の成分に標識を付けたり、および/または発色性標識、蛍光標識、発光標識、同位体標識などの様々な検出方法を採用したりすることができるが、これらに限定されるものではない。Paul, W. E., ed., Fundamental Immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999) には、抗体と免疫原の相互作用に焦点を当てた、結合親和性と動力学の詳細な説明がある。競合結合法の一例として、標識抗原を、増加する量の非標識抗原の存在下で目的の抗体とインキュベートし、標識抗原に結合した抗体を検出することからなるラジオイムノアッセイがある。特定の抗原に対する目的の抗体の親和性および結合オフレートは、スキャッチャードプロット分析によってデータから決定することができる。第二の抗体との競合は、ラジオイムノアッセイを用いて決定することもできる。この場合、抗原は、標識化合物に結合した目的の抗体と、増加する量の非標識第2抗体の存在下でインキュベートされる。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFc修飾を有する抗体（例えばD265C、L234A、L235A、および／またはH435A）は、修飾されていないFc領域からなる同一の抗体のFcガンマ受容体への結合と比較して、Fcガンマ受容体への結合が、少なくとも70％減少、少なくとも80％減少、少なくとも90％減少、少なくとも95％減少、少なくとも98％減少、少なくとも99％減少、または100％減少する（例えば、バイオレイヤー干渉法（BLI）により評価される）。

【０１４６】

Fc領域とFcガンマ受容体との結合は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）や補体依存性細胞傷害（CDC）などの様々なエフェクター機能や下流のシグナル伝達現象に不可欠である。したがって、特定の態様では、修飾されたFc領域（例えば、L234A、L235A、および／またはD265Cの変異を含む）を含む抗体は、エフェクター機能が実質的に低下または消失している。 エフェクター機能は、当技術分野で知られている様々な方法を用いて、例えば、目的の抗体に反応する細胞応答（例えば、マスト細胞の脱顆粒やサイトカインの放出）を測定することによってアッセイすることができる。 例えば、当技術分野における標準的な方法を用いて、Fc修飾抗体を、例えば、ヒト末梢血単核球によるマスト細胞脱顆粒を誘発する能力またはサイトカイン放出を誘発する能力についてアッセイすることができる。

【０１４７】

したがって、いくつかの実施形態では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす変異を含んでいる（例えば、修飾されていないFc領域を有する抗体と比較して）。 半減期が短い抗体は、抗体が短命の治療薬として機能することが予想される特定の例、例えば、抗体を投与した後に造血幹細胞を投与する本明細書に記載の条件付けステップにおいて有利であると考えられる。 理想的には、抗体はHSCsの送達前に実質的にクリアされ、HSCsも一般的に標的抗原（例えば、CD45）を発現するが、内在性幹細胞とは異なり、抗CD4

5抗体の標的ではない。いくつかの実施形態では、Fc領域は、435位（KabatによるEUインデックス）の変異を含む。 いくつかの実施形態では、変異はH435A変異である。

【０１４８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載された抗CD45は、半減期が（例えば、ヒトにおいて）24時間以下、23時間以下、22時間以下、21時間以下、20時間以下、19時間以下、18時間以下、17時間以下、16時間以下、15時間以下、14時間以下、13時間以下、12時間以下、または11時間以下に等しい。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体は、半減期が（例えば、ヒトにおいて）1-5時間、5-10時間、10-15時間、15-20時間、または20-25時間である。

【０１５０】

いくつかの態様では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす2つ以上の変異を含み、抗体のエフェクター機能を低下させる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす変異と、FcγRと直接接触することができる少なくとも1つの残基の変異（例えば、構造的および結晶学的分析に基づくもの）とからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、H435A変異、L234A変異、およびL235A変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、H435A変異およびD265C変異からなる。 いくつかの実施形態では、Fc領域は、H435A変異、L234A変異、L235A変異、およびD265C変異からなる。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、抗体またはその抗原結合性断片のFcドメインのシステイン残基を介して細胞毒（例えば、アマトキシン）と結合している。 いくつかの実施形態では、システイン残基は、抗体またはその抗原結合性断片のFcドメインにおける突然変異によって導入される。 例えば、システイン残基は、Cys118、Cys239、およびCys265からなる群から選択されてもよい。 いくつかの実施形態では、抗CD45抗体（またはその断片）のFc領域は、KabatのようなEUインデックスに従ったアミノ酸265でのアミノ酸置換を含んでいる。 いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265C変異を含んでいる。 いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265CおよびH435Aの変異からなる。 いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235Aの変異からなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435Aの変異からなる。

【０１５２】

注目すべきは、Fcのアミノ酸の位置は、他に示されていない限り、EUの番号付けインデックスを参照している。

【０１５３】

前述の各出版物の開示内容は、Fc領域に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれている。 本明細書に記載された組成物および方法とともに使用することができる抗体および抗原結合性断片には、上述の抗体およびその抗原結合性断片、ならびに上述のそれらの非ヒト抗体および抗原結合性断片の変異体、および、例えば競合的な抗原結合アッセイによって評価されるように、上述のものと同じエピトープに結合する抗体または抗原結合性断片が含まれる。

【０１５４】

本明細書に記載されているFc修飾のいずれかを含むように抗体を設計する方法は、当技術分野でよく知られている。これらの方法には、抗体または少なくとも抗体の定常領域をコードする調製されたDNA分子の部位特異的（またはオリゴヌクレオチドを介する）変異誘発、PCR変異誘発、およびカセット変異誘発による調製が含まれるが、これらに限定されない。部位特異的な変異誘発は、当技術分野ではよく知られている（例えば、Carterら、Nucleic Acids Res.、13:4431-4443（1985）およびKunkelら、Proc. Natl. Acad.Sci. USA, 82:488 (1987)）。PCR突然変異誘発は、出発ポリペプチドのアミノ酸配列変異体を作るのにも適している。Higuchi, in PCR Protocols, pp.177-183 (Academic Press, 1990); and Vallette et al., Nuc.Acids Res.17:7

23-733(1989)を参照されたい。配列変異体を調製するための別の方法であるカセット変異誘発は、Wellsら、Gene、34:315-323(1985)に記載されている技術に基づいている。

【０１５５】

抗体を特定する方法

造血幹細胞によって発現されたCD45を結合することができる抗体、または抗体断片ライブラリのハイスループットスクリーニングのための方法は、自己免疫疾患の治療に有用な抗CD45抗体を同定し、本明細書に記載されているような造血幹細胞治療を必要とする患者（例えば、ヒト患者）を条件付けするために使用することができる。 そのような方法には、ファージディスプレイ、バクテリアディスプレイ、酵母ディスプレイ、哺乳類細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイ、mRNAディスプレイ、およびcDNAディスプレイなど、当技術分野で知られている生体外ディスプレイ技術が含まれる。

【０１５６】

生物学的に関連する分子に結合する抗体または抗原結合性断片を単離するためのファージディスプレイの使用については、例えば、Feliciら、Biotechnol.Annual Rev. 1:149-183, 1995; Katz, Annual Rev. Biophys.Biomol.Struct.26:27-45、1997；およびHoogenboomら、Immunotechnology 4:1-20、1998に記載されており、これらの各々の開示は、生体外ディスプレイ技術に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれる。 ランダム化されたコンビナトリアルペプチドライブラリーは、ポリペプチドを選択するために構築され、Kay, Perspect.Drug Discovery Des.2:251-268, 1995およびKayら, Mol.Divers.1:139-140, 1996に記載されており、それぞれの開示内容は、抗原結合分子の発見に関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。 多量体タンパク質などのタンパク質は、機能的な分子としてうまくファージディスプレイされてきた（例えば、EP 0349578；EP 4527839；およびEP 0589877、ならびにChiswellおよびMcCafferty、Trends Biotechnol.10:80-84 1992を参照されたい。これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のための生体外ディスプレイ技術の使用に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。） さらに、Fabおよびscfv断片などの機能的な抗体断片は、生体外ディスプレイ形式で発現されている（例えば、McCaffertyら、Nature 348:552-554、1990；Barbasら、Proc.Natl. Acad.Sci. USA 88:7978-7982, 1991; and Clackson et al., Nature 352:624-628, 1991を参照されたい。これらの開示は、抗原結合分子の発見のための生体外ディスプレイプラットフォームに関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれている）。 また、ヒト抗CD45抗体は、例えば、HuMAb-Mouse(R)やXenoMouse™で作製することもできる。これらの技術は、特に、造血幹細胞が発現するCD45を結合することができる抗体、抗体または断片を同定し、親和性を向上させるために使用することができ、造血幹細胞移植療法を必要とする患者（例えば、ヒト患者）の内因性造血幹細胞を枯渇させるために使用することができる。

【０１５７】

造血幹細胞や免疫細胞が発現する抗原（例えば、CD45）に結合することができる抗体を設計および同定するために、生体外でのディスプレイ技術に加えて、計算機モデリング技術を使用することができる。 例えば、当業者であれば、計算モデル技術を用いて、造血幹細胞や免疫細胞が発現する抗原（例えば、CD45）上の特定のエピトープ、例えば、抗原の細胞外エピトープに結合することができる分子について、抗体または抗体断片のライブラリをインシリコでスクリーニングすることができる。

【０１５８】

造血幹細胞によって発現されたCD45を結合することができ、例えば受容体媒介エンドサイトーシスによって細胞に取り込まれる抗体、または抗体断片を同定するために、追加の技術を用いることができる。 例えば、上述の生体外ディスプレイ技術は、CD45に結合し、その後内在化される抗体、または抗体断片をスクリーニングするために適応することができる。 ファージディスプレイは、このスクリーニングパラダイムと組み合わせて

使用することができるそのような技術の1つを表す。 造血幹細胞または免疫細胞によって内在化され得る抗CD45抗体または抗体断片を同定するために、当業者であれば、Williamsら、Leukemia 19:1432-1438、2005年に記載されているファージディスプレイ技術を使用することができ、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。 例えば、当技術分野で知られている変異誘発法を用いて、特に、抗体、抗体断片、例えばscFv断片、Fab断片、二重特異性抗体、トリアボディ、^{10}Fn3ドメインなどをコードする組換えファージライブラリ、またはランダム化アミノ酸カセットを含むリガンド（例えば、そのCDRまたは同等の領域、または抗体もしくは抗体断片の１つまたは複数、またはすべてにおいて）を作製することができる。 抗体または抗体断片のフレームワーク領域、ヒンジ、Fcドメイン、およびその他の領域は、例えば、ヒト生殖細胞系抗体配列またはヒト生殖細胞系抗体に対してわずかな変化しか示さない配列を有することにより、ヒトにおいて非免疫原性を示すように設計されてもよい。

【０１５９】

本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られているファージディスプレイ技術を使用して、ファージ粒子に共有結合したランダム化された抗体または抗体断片を含むファージライブラリを、例えばCD45とインキュベートすることができる。非特異的なタンパク質結合を示す抗体または抗体断片をコードするファージ、およびFcドメインに結合する抗体またはその断片をコードするファージを除去するために、ファージライブラリをブロック剤（例えば、乳タンパク質、ウシ血清アルブミン、および／またはIgGなど）と一緒にインキュベートした後、ファージライブラリを細胞の集団、例えば、CD45を発現している造血幹細胞などの細胞集団とインキュベートする。 ファージライブラリは、抗CD45抗体、または抗体断片が同族の細胞表面抗原に結合し、その後造血幹細胞に内在化されるのに十分な時間（例えば、4℃で30分から6時間、例えば4℃で1時間）、造血幹細胞とインキュベートすることができる。 CD45に対して十分な親和性を示さず、造血幹細胞への結合および造血幹細胞への内在化を可能にしない抗体または抗体断片を含むファージは、その後、例えば、pH2.8の冷（4℃）0.1Mグリシン緩衝液で細胞を洗浄することにより除去することができる。 造血幹細胞に取り込まれた抗体に結合したファージ、または抗体断片は、例えば、細胞を溶解し、細胞培養液から取り込まれたファージを回収することにより同定することができる。 次に、このファージは、例えば、当技術分野で知られている方法を用いて、2xYT培地中で回収されたファージと共に細菌細胞をインキュベートすることにより、細菌細胞中で増幅させることができる。 この培地から回収されたファージは、次に、例えば、ファージゲノム内に挿入された抗体または抗体断片をコードする遺伝子の核酸配列を決定することによって、特徴付けられる。 コード化された抗体または抗体断片は、その後、化学合成（例えば、scFv断片などの抗体断片）または組換え発現（例えば、完全長の抗体）によって、新規に調製することができる。

【０１６０】

調製した抗体、または抗体断片の内在化能力は、例えば、当技術分野で知られている放射性核種内在化アッセイを用いて評価することができる。 例えば、本明細書に記載されている、または当技術分野で知られている生体外ディスプレイ技術を用いて同定された抗CD45抗体、または抗体断片は、^{18}F、 ^{75}Br、 ^{77}Br、^{122}I、 ^{123}I、^{124}I、 ^{125}I、^{129}I、^{131}I、^{211} At、^{67}Ga 、^{111}In 、^{99} Tc 、^{169} Yb 、^{186} Re、 ^{64} Cu 、^{67}Cu、^{177} Lu、 ^{77} As 、^{72}As、^{86} Y、 ^{90}Y、^{89}Zr、^{212} Bi、 ^{213}Bi、または^{225}Acなどの放射性同位元素の組み込みによって機能化することができる。 例えば、^{18}F、^{75}Br、 ^{77} Br、 ^{122}I、 ^{123}I、^{124}I、 ^{125} I、^{129}I、^{131}I、^{211}Atなどの放射性ハロゲンは，親電性ハロゲン試薬を含むポリスチレンビーズなどのビーズを用いて、抗体または抗体断片に組み込むことができる（例えば，Iodination Beads，Thermo Fisher Scientific，Cambridge，MA）。 放射性標識された抗体、その断片、またはADCは、内在化を可能にするのに十分な時間（例えば、4℃で30分から6時間、例えば4℃で1時間）、造血幹細胞とインキュベートすることができる。 その後、細胞を洗浄して、内部化されていない抗体またはその断片を除去することができる（例え

ば、pH2.8の冷（４°Ｃ）0.1Mグリシン緩衝液を使用）。 内在化した抗体または抗体断片は、得られた造血幹細胞の放出放射線（例えば、γ線）を、回収した洗浄バッファーの放出放射線（例えば、γ線）と比較して検出することにより同定することができる。前述の内在化アッセイは、ADCの特性評価にも用いることができる。

【０１６１】

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されているような組換え方法および組成物を用いて製造することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体をコードする単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを構成するアミノ酸配列および／またはVHを構成するアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖および／または重鎖）をコードしてもよい。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む1つまたは複数のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施形態では、宿主細胞は（例えば、以下で形質転換された）(1）抗体のVLを構成するアミノ酸配列および抗体のVHを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のVLを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1ベクターおよび抗体のVHを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2ベクターを含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。いくつかの実施形態では、抗CLL-1抗体の製造方法が提供され、この方法は、上記のような抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に適した条件で培養すること、および任意に宿主細胞（または宿主細胞培養液）から抗体を回収することを含む。

【０１６２】

抗CD45抗体の組換え生産のために、例えば上記のような抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内でさらにクローニングおよび／または発現させるために1つまたは複数のベクターに挿入される。このような核酸は、従来の手順を用いて（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを用いて）容易に単離および配列決定することができる。

【０１６３】

抗体コード化ベクターのクローニングまたは発現に適した宿主細胞には、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化およびFcエフェクター機能が必要とされない場合には、細菌で生産されてもよい。バクテリアにおける抗体断片およびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許No. 5,648,237, 5,789,199, および 5,840,523を参照されたい。（また、大腸菌での抗体断片の発現については、Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol.248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp.245-254に記載されている)。発現後、抗体は可溶性画分としてバクテリアのセルペーストから単離され、さらに精製することができる。

【０１６４】

脊椎動物の細胞も宿主として使用することができる。例えば、懸濁液中で成長するように適応された哺乳類細胞株が有用である。有用な哺乳類宿主細胞株の他の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7）；ヒト胚性腎臓株（293または293細胞は、例えば、Grahamら、J. Gen Virol.36:59(1977)）；ベビーハムスター腎臓細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（TM4細胞は、例えば、Mather, Biol.Reprod.23：243-251（1980））；サル腎臓細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76）；ヒト子宮頸癌細胞（HELA）；イヌ腎臓細胞（MDCK）；バッファローラット肝臓細胞（BRL 3A）；ヒト肺細胞（W138）；ヒト肝臓細胞（Hep G2）；マウス乳腺腫瘍（MMT 060562）；TRI細胞（例えば、Ann,Matherら、Annals N.Y. Acad.Sci. 383:44-68 (1982)に記載されているTRI細胞；MRC 5細胞；およびFS4細胞がある。他の有用な哺乳類宿主細胞株としては、DHFR- CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（Urlaubら、Proc.Natl. Acad.Sci.USA 77:4216(1980)

）；およびY0、NS0、Sp2/0などの骨髄腫細胞株がある。抗体産生に適した特定の哺乳類宿主細胞株のレビューについては、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol.248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003)を参照のこと。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。

【０１６５】

特定の実施形態では、リガンドまたはその機能的に活性な断片などの抗原結合タンパク質（抗原ターゲティング部分）を、本明細書に記載された複合体または融合タンパク質で使用することができる。 例えば、幹細胞因子（SCF）は、CD117のリガンドであり、ここでSCFは、本明細書に開示される条件付け方法を達成するために、毒素に複合体または融合させることができる。

【０１６６】

特定の実施形態では、本明細書に開示された組成物および方法において、抗原ターゲティング部分として抗体模倣体が使用される。 抗体模倣物の例としては、アドネクチン、アフィボディ、アフリン、アフィマー、アフィチン、およびアルファボディ、およびアンチカリン、アプタマー、アルマジロリピートタンパク質ベースのスカフォールド、アトリマー、アビマー、DARpin、フィノマー、ノッティン、クニッツドメインペプチド、モノボディ、およびナノフィチンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１６７】

抗体医薬複合体（ADC）

本明細書に記載されている抗体またはその抗原結合性断片は、リンカーを介して細胞毒に結合（リンク）させることができる。 いくつかの実施形態では、細胞毒性分子は、本明細書に記載されているように、細胞内に取り込まれる抗体またはその抗原結合性断片に結合しており、抗体またはその断片の細胞内への取り込みに続いて、細胞毒素がその細胞内標的にアクセスし、造血細胞死を媒介するようになっている。

【０１６８】

細胞毒

本明細書に記載されている治療法に使用するために、様々な細胞毒をリンカーを介して抗CD45抗体に結合することができる。 特に、抗CD45 ADCは、細胞毒性部位（または細胞毒）に結合された（すなわち、リンカーによって共有結合された）抗CD45抗体（またはその抗原結合性断片）を含む。様々な実施形態では、細胞毒性部位は、複合体で結合しているときには細胞毒性が低下または全くないが、リンカーから切断された後に細胞毒性を再開する。様々な実施形態では、細胞毒性部位は、リンカーから切断されなくても細胞毒性を維持する。いくつかの実施形態では、細胞傷害性分子は、本明細書で開示されているように、細胞内に取り込まれる抗体またはその抗原結合性断片と結合しており、抗体またはその断片の細胞内への取り込みに続いて、細胞傷害性物質がその細胞内標的にアクセスし、例えば、T細胞死を媒介するようになっている。

【０１６９】

したがって、本発明のADCは、一般式Ab-（Z-L-D）$_n$であってもよく、

ここで、抗体またはその抗原結合性断片（Ab）が、化学的部位（Z）を介してリンカー（L）に結合（共有結合）し、細胞毒性部位（「薬剤」D）に結合している。

【０１７０】

したがって、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、整数nで示される数の薬物部位に結合されていてもよく、この整数nは、抗体あたりの平均的な細胞毒素の数を表し、例えば、約1から約20の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、nは1から4である。いくつかの実施形態では、nは1である。 結合反応からのADCの調製物における抗体あたりの平均的な薬物部分の数は、質量分析、ELISAアッセイ、およびHPLCなどの従来の手段によって特徴付けられてもよい。また、ADCの定量的な分布をnの観点から決定してもよい。場合によっては、逆相HPLCや電気泳動などの方法で、nがある値の均質な

ADCを、他の薬物を添加したADCから分離、精製、特性評価することができる。

【０１７１】

いくつかの抗CD45 ADCでは、抗体の付着部位の数によって制限されることがある。例えば、付着部がシステインチオールである場合、抗体は1つまたは数個のシステインチオール基しか持たないか、またはリンカーが付着することができる十分に反応性のあるチオール基を1つまたは数個しか持たない可能性がある。一般的に、抗体は、薬物部分に連結することができる多くの自由で反応性のあるシステインチオール基を含まず、主に、抗体のシステインチオール残基はジスルフィドブリッジとして存在する。特定の実施形態では、ジチオスレイトール（DTT）やトリカルボニルエチルホスフィン（TCEP）などの還元剤を用いて、部分的または全体的な還元条件下で抗体を還元し、反応性のシステインチオール基を生成することができる。特定の実施形態では、より高い薬物負荷（DAR）、例えばn〉5は、特定の抗体-薬物結合体の凝集、不溶性、毒性、または細胞透過性の喪失を引き起こす可能性がある。

【０１７２】

ある実施形態では、結合反応中に抗体に結合される薬剤部分の数は、理論上の最大値よりも少ない。抗体は、例えば、後述するように、薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬と反応しないリジン残基を含んでいてもよい。また、最も反応性の高いリジン基のみが、アミン反応性のリンカー試薬と反応する場合もある。特定の実施形態では、抗体を変性条件で処理して、リジンやシステインなどの反応性求核基を明らかにする。

【０１７３】

ADCのローディング（薬物／抗体比）は、様々な方法で制御することができるが、例えば以下のような方法があり、例えば、(i)抗体に対する薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬のモル過剰量の制限、(ii)結合反応の時間または温度の制限、(iii)システインチオール修飾のための還元条件の部分的または制限、(iv)リンカー-薬物結合の数および/または位置を制御するためにシステイン残基の数および位置が変更されるように、組換え技術によって抗体のアミノ酸配列を操作することである。

【０１７４】

本明細書に記載の組成物および方法で使用するのに適した細胞毒には、DNA挿入剤（例えば、アントラサイクリン）、有糸分裂紡錘体装置を破壊することができる薬剤（例えば、ビンカアルカロイド、メイタンシン、メイタンシノイド、およびその誘導体）、RNAポリメラーゼ阻害剤（例えば、α-アマニチンなどのアマトキシン、およびその誘導体）、およびタンパク質生合成を破壊することができる薬剤（例えば、rRNA N-グリコシダーゼ活性を示す薬剤）が含まれる。α-アマニチンなどのアマトキシンおよびその誘導体）、タンパク質生合成を撹乱することができる薬剤（例えば、サポリンやリジンA鎖などのrRNA N-グリコシダーゼ活性を示す薬剤）など、当業界で知られているものがある。

【０１７５】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、微小管結合剤（例えば、メイタンシンまたはメイタンシノイド）、アマトキシン、シュードモナス・エキソトキシンA、デブーガニン、ジフテリア毒素、サポリン、アウリスタチン、アンスラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらの変異体、または本明細書に記載されているか、または当該技術分野で知られている他の細胞毒性化合物である。

【０１７６】

いくつかの実施形態では、抗体-薬物複合体の細胞毒素は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンまたはその誘導体である。 いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗体-薬物複合体の細胞毒素は、アマトキシンまたはその誘導体であり、例えば、α-アマトキシン、β-アマトキシン、γ-アマトキシン、ε-アマトキシン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、プロアマヌリンまたはその誘導体である。

【０１７７】
本発明の組成物および方法に有用な抗CD45 ADCに使用できる細胞毒に関する追加の詳細を以下に記載する。
【０１７８】
アマトキシン類
いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンまたはその誘導体である。 いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗体薬物複合体の細胞毒素は、アマトキシンまたはその誘導体であり、例えば、α-アマトキシン、β-アマトキシン、γ-アマトキシン、ε-アマトキシン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、プロアマヌリンまたはその誘導体である。
【０１７９】
いくつかの実施形態では、抗体-薬物複合体の細胞毒素は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンまたはその誘導体である。
【０１８０】
いくつかの実施形態では、細胞毒素は、アマトキシンまたはその誘導体、例えば、α-アマニチン、β-アマニチン、γ-アマニチン、ε-アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンである。 天然に存在する様々なアマトキシンの構造は、式IIIおよび付随する表1で表され、例えば、Zanottiら、Int.J. Peptide Protein Res.30, 1987, 450-459に開示されている。
[化５]
【０１８１】
[表1]
【０１８２】
アマトキシンは、様々な種類のキノコ（例えば、Amanita phalloides、Galerina marginata、Lepiota brunneo-incarnata）から単離されるか、半合成または合成で調製される。このファミリーの一員であるα-アマニチンについては、Wieland, Int. J. Pept.Protein Res. 1983, 22(3):257-276に記載されている。 アマトキシンの誘導体は、天然に存在する化合物を化学的に修飾して得られる場合（「半合成」）と、完全に合成されたものから得られる場合がある。様々なアマトキシン誘導体の合成経路は、例えば、米国特許第9,676,702号や、Perrinら、J. Am.Chem.Soc.2018, 140, p. 6513-6517に記載されており、これらの各々は、アマトキシンを調製および誘導体化するための合成方法に関して、その全体が本明細書に参照として組み込まれている。
【０１８３】
アマトキシンまたはその誘導体の多くの位置は、連結部分L、ひいてはその抗体または抗原結合性断片を共有結合させる位置として機能することができる。 いくつかの実施形態では、本明細書で開示されるADCの細胞毒素は、式（IV）で表されるアマトキシンまたはその誘導体である。
[化６]
ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、
R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、
R_A およびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3はHまたはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、またはOR_Dであり、
R_9は、H、OH、またはOR_Dであり、

Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-Cアルキル$_6$）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである。

【０１８４】

例えば、一実施形態では、本明細書に記載されている組成物および方法に関連して有用なアマトキシン類には、式（IVA）による化合物が含まれ、

[化７]

ここで、R_4、R_5、X、およびR_8は、それぞれ上記で定義したとおりである。

【０１８５】

例えば、一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシン類には、以下の式（IVB）による化合物が含まれ、

[化８]

ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、
R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、
R_A およびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3はHまたはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、またはOR_Dであり、
R_9は、H、OH、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-Cアルキル$_6$）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである。

【０１８６】

一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシン類には、以下の式（IVC）による化合物も含まれ、

[化９]

ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、
R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、
R_A およびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3はHまたはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、またはOR_Dであり、

R_9は、H、OH、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-Cアルキル$_6$）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられる。

【０１８７】

本明細書に記載されているように、アマトキシンは、リンカー部分を介して、例えば、抗体またはその抗原結合性断片に結合することができる。 アマトキシンの結合の例示的な方法およびそのようなプロセスに有用なリンカーは、「化学的結合のためのリンカー」と題したセクション、および以下の表2に記載されている。 本明細書に記載の組成物および方法に従って、抗CD45抗体、または抗原結合性断片に結合するのに有用な例示的なリンカー含有アマトキシンは、本明細書に記載の構造式（I）、（IA）、（IB）、（II）、（IIA）、および（IIB）に示される。

【０１８８】

例えば、本明細書に記載されている抗体および抗原結合性断片は、式Ab-Z-L-Amで表される結合体を形成するように、アマトキシンに結合することができる。アマトキシンまたはその誘導体の多くの位置は、リンカーLを共有結合させる位置として機能し、したがって、抗体またはその抗原結合性断片となる。 いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（I）で表され、

[化１０]

ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_C
であり、
R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、
R_Cは-L-Zであり、
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-Cアルキル$_6$）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、。C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられ、
Lはリンカーであり、例えば、任意に置換されたアルキレン（例えば、C_1-C_6アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（C_1-C_6ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、C_2-C_6アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、C_2-C_6アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、C_2-C_6

ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ペプチド（例えば、ジペプチド）、-（Ｃ＝Ｏ）-、ジスルフィド、ヒドラゾン、-（$CH_2CH_2O_p$）-基（ここで、pは1-6の整数）、（（CH_2）$_m$Ｏ）$_n$（$CH_2$$_m$）-基（ここで、nおよび各mは、それぞれ独立して1、2、3、4、5、6、7、8、9、および10から選択される）、またはそれらの組み合わせであり、

そして、

Ｚは、Ｌに存在する反応性置換基と、標的抗原（例えば、ＣＤ45）に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基Z'との間のカップリング反応から形成される化学的部位である。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、Ａmは正確に1つのR_C置換基を含む。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片との結合の前に、L-Z'としてまとめて取られるリンカー反応性置換基は、構造を有し、

[化１１]

ここで、波線は、アマトキシン上の置換基に結合する点を示す。このリンカー反応性置換基L-Z'は、代替的にN-β-マレイミドプロピル-Val-Ala-para-aminobenzyl（ＢＭＰ-Val-Ala-PAB）と呼ばれることもある。リンカー末端の波線は、アマトキシンとの結合点を示す。

【０１９１】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に複合体した後、L-Z-Abとして一緒に取られ、構造を有し、

[化１２]

ここで、Sは、ＣＤ45抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基を表す硫黄原子である（例えば、システイン残基の-SH基から）。リンカー末端の波線は、アマトキシンとの結合点を示す。

【０１９２】

いくつかの実施形態では、共役物は、式Ｖ、ＶＡ、またはＶＢのいずれかで表され、

[化１３]

[化１４]

[化１５]

ここで、XはS、SOまたはSO_2、Abは抗体（例えば、抗ＣＤ45抗体）である。

【０１９３】

いくつかの実施形態では、Ａm-L-Z-Abは以下である。

[化１６]

【０１９４】

いくつかの実施形態では、Ａm-L-Z-Abは以下である。

[化１７]

【０１９５】

いくつかの実施形態では、Ａm-L-Z-Abは以下である。

[化１８]

【０１９６】

いくつかの実施形態では、Ａm-L-Z前駆体は以下であり、

[化１９]

ここで、マレイミドは、抗体のシステイン上のチオール基と反応する。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、Ａm-L-Z前駆体は以下であり、

[化２０]

ここで、マレイミドは、抗体のシステイン上のチオール基と反応する。

【０１９８】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）で表され、
[化２１]
ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_C
であり、
R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_D
であり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、
R_Cは-L-Zであり、
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-Cアルキル$_6$）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられ、
Lはリンカーであり、例えば、任意に置換されたアルキレン（例えば、C_1-C_6アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（C_1-C_6ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、C_2-C_6アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、C_2-C_6アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ペプチド、ジペプチド、-(C=O)-、またはそれらの組み合わせが挙げられ、
Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的部分であり、そして
ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含む。
【０１９９】
いくつかの実施形態では、L-Zは以下である。
[化２２]
【０２００】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IB）で表され、
[化２３]
ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_C
であり、
R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、
R_Cは-L-Zであり、
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-C_6アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられ、
Lはリンカーであり、例えば、任意に置換されたアルキレン（例えば、C_1-C_6アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（C_1-C_6ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、C_2-C_6アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、C_2-C_6アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ペプチド、ジペプチド、-（C=O）-、ジスルフィド、ヒドラゾン、pが1～6の整数である-（$CH_2CH_2O_p$）-基、nおよびmがそれぞれ独立して1、2、3、4、5、6、7、8、9、および10から選択される（（CH_2）$_m$O）$_n$（$CH_2$$_m$）-基、またはこれらの組み合わせが挙げられ、
Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基Z'との間のカップリング反応から形成される化学的部分であり、そして
ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含む。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、L-Z-Abは以下である。

[化２４]

【０２０２】

いくつかの実施形態では、R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、式の5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、

[化２５]

ここで、Yは-(C=O)-、-(C=S)-、-(C=NR_E)-、または-(C$R_E$$R_E$)-であり、そして
R_EおよびR_Eはそれぞれ独立して、任意に置換されたC_1-C_6アルキレン-R_C、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキレン-R_C、任意に置換されたC_2-Cアルケニレン-R_6C、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニレン-R_C、任意に置換されたC_2-Cアルキニレン-R_6C、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニレン-R、任意に置換されたCシクロアルキレン-R_C、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン-R_C、任意に置換されたアリーレン-R_C、または任意に置換されたヘテロアリーレン-R_Cである。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_C
であり、
R_AとR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子とともに結合して形成され、

[化２６]
R_3はHまたはR_Cであり、
R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、またはNHR_Cであり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_CおよびR_Dは、それぞれ上記で定義したとおりである。

【０２０４】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_C
であり、
R_AとR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子とともに結合して形成され、

[化２７]
R_3はHまたはR_Cであり、
R_4およびR_5は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、R、CまたはOR_Dであり、
R_6およびR_7はそれぞれHであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、またはNHR_Cであり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。

【０２０５】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、
R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、
R_AとR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子とともに結合して形成され、

[化２８]
R_3、R_4、R_6、およびRは、それぞれH_7であり、
R_5はOR_Cであり、
R_8はOHまたはNH_2であり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。　そのようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許出願公開第2016/0002298号に記載されており、その開示内容は参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０２０６】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1およびR_2は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
R_3はR_C
であり、
R_4、R_6、およびR_7は、それぞれHであり、
R_5は、H、OH、またはOC_1-C_6アルキルであり、
R_8はOHまたはNH_2
であり、
R_9はHまたはOHであり、

Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。 そのようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許出願公開第2014／0294865号に記載されており、その開示内容は参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０２０７】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1およびR_2は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
R_3、R_6、およびR_7は、それぞれHであり、
R_4およびR_5は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、またはR_Cであり、
R_8はOHまたはNH_2であり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。 そのようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されており、その開示内容は参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1およびR_2は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
R_3、R_6、およびR_7は、それぞれHであり、
R_4およびR_5は、それぞれ独立してHまたはOHであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、またはNHR_Cであり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。 このようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許第9,233,173号および第9,399,681号、ならびに米国2016/0089450号に記載されており、これらの各々の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは以下である。

[化２９]

【０２１０】

本明細書に記載の組成物および方法に従って、抗体またはその抗原結合性断片への結合に使用することができる追加のアマトキシンは、例えば、WO 2016/142049；WO 2016/071856；WO 2017/149077；WO 2018/115466；およびWO 2017/046658に記載されており、これらの開示内容はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（II）、式（IIA）、または式（IIB）で表され、

[化３０]

Xは、S、SO、またはSO_2であり、R_1は、H、またはリンカー上に存在する反応性置換基と抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成された化学的部位Zを介して抗体またはその抗原結合性断片に共有結合したリンカーであり、Rは、H、またはリンカー上に存在する反応性置換基と抗体またはその抗原結合性断片との間のカップリング反応から形成された化学的部位Zを介して抗体またはその抗原結合性断片に共有結合したリンカーであり、R_2はHまたはリンカー上に存在する反応性置換基と抗体、またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成された化学的部位Zを介して抗体またはその抗原結合性断片に共有結合したリンカーであり、ここで、R_1がHである場合、R_2はリンカーであり、Rが$_2$Hである場合、R_1はリンカーであることを特徴とする。

【０２１２】
いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片との結合の前に、L-Z'としてまとめて取られるリンカー反応性置換基は、以下の構造を有する。
[化３１]
【０２１３】
このリンカー反応性置換基は、代わりに1-n-ヘキシルマレイミドと呼ばれることもあり、これは非開裂性リンカーである。リンカー末端の波線は、アマトキシンへの結合点を示している。いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に複合体した後、L-Zとして一緒に取られ、以下の構造を有し、
[化３２]
ここで、Sは、CD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基を表す硫黄原子である（例えば、システイン残基の-SH基から）。
【０２１４】
いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは以下である。
[化３３]
【０２１５】
いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは以下である。
[化３４]
【０２１６】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、α-アマニチンである。いくつかの実施形態では、α-アマニチンは、リンカーLを介して抗体（例えば、抗CD45抗体）に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（C＝O）（CH_{2n}）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。
【０２１７】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_{2n})-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_{2n})-である。
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、CD45抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取り込まれ、以下のとおりである。
[化３５]
【０２１８】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、β-アマニチンである。いくつかの実施形態では、β-アマニチンは、リンカーLを介して抗CD45抗体）に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（C＝O）（CH_{2n}）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。
【０２１９】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_{2n})-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-（C＝O）（CH_{2n}）-である。
【０２２０】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、CD45抗体に複合体した

後に、L-Z-Abとして一緒に取り込まれる。
[化３６]
【０２２１】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、γ-アマニチンである。いくつかの実施形態では、γ-アマニチンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。
【０２２２】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-（C=O)(CH_{2n})-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-である。
【０２２３】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、L-Z-Abとして一緒に取られたCD45抗体に結合した後、以下のようになる。
[化３７]
【０２２４】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、ε-アマニチンである。いくつかの実施形態では、ε-アマニチンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。
【０２２５】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-（C=O)(CH_{2n})-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-である。
【０２２６】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。
[化３８]
【０２２７】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、アマニンである。いくつかの実施形態では、アマニンは、リンカーLを介して抗CD45抗体）に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。
【０２２８】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-（C=O)(CH_{2n})-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-である。

【０２２９】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。
[化３９]
【０２３０】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、アマニンアミドである。いくつかの実施形態では、アマニンアミドは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。
【０２３１】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_{2n})-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-である。
【０２３２】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。
[化４０]
【０２３３】
いくつかの実施形態では、細胞毒はアマヌリンである。いくつかの実施形態では、アマヌリンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-((C=O)(CH_2))単位を含み、ここで、nは1-6の整数である。
【０２３４】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_{2n}))-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_{2n}))-である。
【０２３５】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。
[化４１]
【０２３６】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、アマヌリン酸である。いくつかの実施形態では、アマヌリン酸は、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（Ｃ＝Ｏ）（CH_{2n}）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。
【０２３７】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_{2n})-単位を含み、nは2-6の整数であ

る。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-（C=O)(CH 2n）-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-（Ｃ＝Ｏ）（CH 2 n）-である。

【０２３８】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。

[化４２]

【０２３９】

いくつかの実施形態では、細胞毒はプロアマヌリンである。いくつかの実施形態では、プロアマヌリンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、-（Ｃ＝Ｏ）（CH 2n）-単位を含み、ここで、nは、1-6の整数である。

【０２４０】

いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH 2n）-単位を含み、nは2-6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Cit-Val-（C=O)(CH 2n）-である。いくつかの実施形態では、リンカーは、-PAB-Ala-Val-（Ｃ＝Ｏ）（CH 2 n）-である。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。

[化４３]

【０２４２】

アマトキシンの合成方法は、米国特許第9,676,702号に記載されており、その内容は参照として本明細書に組み込まれている。

【０２４３】

本明細書に記載されている組成物および方法で使用するための抗体、および抗原結合性断片は、当技術分野で知られているまたは本明細書に記載されている結合技術を使用して、α-アマニチンまたはその変異型などのアマトキシンに複合体することができる。 例えば、標的抗原を認識して結合する抗体、およびその抗原結合性断片（例えば、抗CD45抗体）は、US 2015/0218220に記載されているように、α-アマニチンまたはその変異体などのアマトキシンに複合体することができ、その開示は、例えば、α-アマニチンおよびその変異体などのアマトキシン、ならびに共有結合に使用することができる共有結合リンカーに関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２４４】

<u>アウリスタチン</u>

本明細書に記載された抗体およびその抗原結合性断片は、アウリスタチンである細胞毒素に結合させることができる（米国特許第5,635,483号；同第5,780,588号）。アウリスタチンは、微小管の力学、GTP加水分解、および核と細胞の分裂を妨害する抗分裂剤である（Woyke et al (2001) Antimicrob.Agents and Chemother.45(12):3580-3584）、抗がん作用（米国特許第5,663,149号）および抗真菌活性を有する（Pettit et al (1998) Antimicrob.Agents Chemother.42:2961-2965).(米国特許第5,635,483号；同5,780,588号）。アウリスタチン薬物部分は、ペプチド薬物部分のN（アミノ）末端またはC（カルボキシル）末端を介して抗体に結合してもよい（WO 02/088172）。

【０２４５】

例示的なアウリスタチンの実施形態には、Senterら、Proceedings of the Ameri

can Association for Cancer Research、Volume 45、Abstract Number 623、2004年3月28日発表に開示されている、N末端で連結されたモノメチルアウリスタチン薬物部位DEおよびDF（それぞれMMAEおよびMMAF）が含まれ、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２４６】

例示的なアウリスタチンの実施形態は、MMAEであり、波線は、抗体-リンカー複合体（-L-Z-Abまたは-L-Z′、本明細書に記載）のリンカーに共有結合する点を示している。

[化４４]

ここで、波線は、抗体-薬物または薬物-リンカー複合体（-L-Z-Abまたは-L-Z′、本明細書に記載）のリンカーに共有結合する点を示している。

【０２４７】

別の例示的なアウリスタチンの実施形態は、MMAFであり、

[化４５]

ここで、波線は、US 2005/0238649に開示されているように、抗体-リンカー複合体（-L-Z-Abまたは-L-Z′、本明細書に記載）のリンカーに共有結合する点を示している。

【０２４８】

米国特許第5,635,483号；米国特許第5,780,588号；Pettitら（1989）J Am.5,780,588号；Pettitら（1989）J. Am.Chem.Soc.Soc. 111:5463-5465；ペティットら（1998）Anti-Cancer Drug Design 13:243-277；ペティット、G.R.ら、Synthesis, 1996, 719-725；ペティットら（1996）J. Chem.Soc. Perkin Trans. 15:859-863；およびDronina（2003）Nat.Biotechnol.21(7):778-784の方法に従ってアウリスタチンを調製することができる。

【０２４９】

メイタンシノイド

本明細書に記載された抗体およびその抗原結合性断片は、微小管結合剤である細胞毒素に結合させることができる。 いくつかの実施形態では、微小管結合剤は、メイタンシン、メイタンシノイド、またはメイタンシノイドアナログである。メイタンシノイドは、微小管に結合し、チューブリンの重合を阻害することで作用する有糸分裂阻害剤である。メイタンシンは、東アフリカの低木であるメイテナス・セラータから初めて単離された（米国特許第3,896,111号）。その後、ある種の微生物もメイタンシノールやC-3メイタンシノールエステルなどのメイタンシノイドを生産することが発見された（米国特許第4,151,042号）。合成メイタンシノールならびにその誘導体および類縁体は、例えば、米国特許第4，151，042；4,137,230; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428;4,313,946;4,315,929;4,317,821;4,322,348;4,331,598;4,361,650;4,364,866;4,424,219;4,450,254;4,362,663;4,371,533号に開示されている。メイタンシノイド薬物部位は、以下の理由から、抗体薬物複合体における魅力的な薬物部位である。(i)発酵または化学修飾、発酵生成物の誘導体化によって比較的容易に調製できる、(ii)非ジスルフィドリンカーを介して抗体に結合させるのに適した官能基で誘導体化が可能である、(iii)血漿中で安定である、(iv)様々な腫瘍細胞株に対して有効である。

【０２５０】

適切なメイタンシノイドの例には、メイタンシノールのエステル、合成メイタンシノール、およびメイタンシノールのアナログと誘導体が含まれる。 本明細書に含まれるのは、メイタンシノイド、メイタンシノール、およびメイタンシノールのアナログ、および誘導体のように、微小管形成を阻害し、哺乳類細胞に対して高い毒性を有する任意の細胞毒である。

【０２５１】

好適なメイタンシノールエステルの例としては、修飾された芳香環を有するものや、他の位置に修飾を有するものが挙げられる。 そのような好適なメイタンシノイドは、米国

特許No.No.4,137,230; 4,151,042; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428;4,313,946; 4,315,929; 4,317,821; 4,322,348; 4,331,598; 4,361,650; 4,362,663; 4,364,866; 4,424,219 ;4,450,254; 4,322,348;4,362,663;4,371,533;5,208,020;5,416,064;5,475,092;5,585,499;5,846,545;6,333,410;7,276,497;7,473,796であり、これらの開示内容はメイタンシノイドおよびその誘導体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれている。

【０２５２】

いくつかの実施形態では、本開示の抗体-薬物複合体（ＡＤＣ）は、細胞毒性剤として、正式にはＮ２′-デアセチル-Ｎ２２′-（３-メルカプト-１-オキソプロピル）-メイタンシンと呼ばれるチオール含有メイタンシノイド（ＤＭ１）を利用するものである。 ＤＭ１は、以下の構造式VIで表される。

[化４６]

【０２５３】

別の実施形態では、本発明の複合体は、チオール含有メイタンシノイドＮ２′-デアセチル-Ｎ２２′（４-メチル-４-メルカプト-１-オキソペンチル）-メイタンシン（例えば、ＤＭ４）を細胞毒性剤として利用する。 ＤＭ４は、以下の構造式VIIで表される。

[化４７]

【０２５４】

立体障害のあるチオール結合を含む側鎖からなる別のメイタンシノイドは、下記の構造式VIIで表されるＮ２′-脱アセチル-Ｎ２′（４-メルカプト-１-オキソペンチル）メイタンシン（ＤＭ３と呼ぶ）である。

[化４８]

【０２５５】

米国特許第5,208,020号および第7,276,497号で教示されているメイタンシノイドの各々は、本開示の複合体に使用することもできる。第5,208,020号および第7,276,497号に記載されているメイタンシノイドは、本開示の複合体にも使用することができる。 この点に関して、5,208,020および7,276,497の開示内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２５６】

メイタンシノイド上の多くの位置は、連結部分、ひいてはその抗体または抗原結合性断片（-L-Z-Abまたは-L-Z′、本明細書に記載）を共有結合させる位置として機能することができる。 例えば、ヒドロキシル基を有するC-3位、ヒドロキシメチルで修飾されたC-14位、ヒドロキシで修飾されたC-15位、およびヒドロキシ基を有するC-20位がすべて有用であると予想される。 いくつかの実施形態では、C-3位がリンカー部分を共有結合させる位置として機能し、いくつかの特定の実施形態では、メイタンシノールのC-3位がリンク部分を共有結合させる位置として機能する。抗体-メイタンシノイド結合体を作るために当技術分野で知られている多くの連結基があり、例えば、米国特許第5,208,020号、同第5,208,020号、同第5,208,020号に開示されているものがある。例えば、米国特許第5,208,020号、同第6,441,163号、およびEP特許第0425235 B1号、Chariら、Cancer Research 52:127-131(1992)、および米国2005/0169933 A1に開示されているものがあり、これらの開示内容はここに参照として明示的に組み込まれる。追加の連結基は、本明細書に記載され、例示されている。

【０２５７】

本発明はまた、メイタンシノイドおよび複合体の様々な異性体および混合物を含む。本発明の特定の化合物および複合体は、様々な立体異性体、鏡像異性体、およびジアステレオマーの形態で存在し得る。 そのような抗体-メイタンシノイド複合体を製造するためのいくつかの記述は、米国特許第5,208,020号；同第5,208,020号第5,208,020号、第5,416,064号、第6,333,410号、第6,441,163号、第6,716,821号、および第7,368,565号に記載されており、それらの各々はその全体が本明細書に組み込まれてい

る。
【０２５８】
アントラサイクリン
他の実施形態では、本明細書に記載されている抗体およびその抗原結合性断片は、アントラサイクリン分子である細胞毒に結合させることができる。アントラサイクリンは、細胞毒性活性を示す抗生物質化合物である。研究によると、アントラサイクリンは、以下を含むいくつかの異なるメカニズムによって細胞を殺すように作用する可能性がある。1）薬剤分子が細胞のDNAに挿入され、DNA依存性の核酸合成を阻害する、2）薬剤がフリーラジカルを生成し、これが細胞の高分子と反応して細胞に損傷を与える、3）薬剤分子が細胞膜と相互作用する、などである。[例えば、C. Petersonらの「Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia」（Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy）、N.R. Bachurの「Free Radical Damage」（97-102ページ）などを参照されたい]。アントラサイクリン系抗生物質は、その細胞毒性のために、白血病、乳癌、肺癌、卵巣腺癌、肉腫などの多くの癌の治療に用いられてきた［例えば、P.H- Wiernik, in Anthracycline:Current Status And New Developments p11を参照されたい］。一般的に使用されるアントラサイクリンには、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシンおよびダウノマイシンが含まれる。 いくつかの実施形態では、細胞毒は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、およびイダルビシンからなる群から選択されるアントラサイクリンである。アントラサイクリンの代表例としては、ダウノルビシン（セルビジン；ベッドフォード・ラボラトリーズ社）、ドキソルビシン（アドリアマイシン(R)；ベッドフォード・ラボラトリーズ社；ドキソルビシン塩酸塩、ヒドロキシダウノルビシン、ルーベックス(R)とも呼ばれる）、エピルビシン（エレンス(R)；ファイザー社）、イダルビシン（イダマイシン(R)；ファイザー社）などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。
【０２５９】
アントラサイクリン類似体であるドキソルビシン（アドリアマイシン(R)）は、転写のためにDNAをほどく酵素であるトポイソメラーゼIIの挿入と進行抑制によってDNAと相互作用すると考えられている。ドキソルビシンは、トポイソメラーゼIIが複製のためにDNA鎖を切断した後、トポイソメラーゼII複合体を安定化させ、DNAの二重らせんが再封鎖されるのを防ぎ、それによって複製のプロセスを停止させる。ドキソルビシンおよびダウノルビシン（DAUNOMYCIN）は、プロトタイプの細胞毒性天然物アントラサイクリン系化学療法剤である（Sessa et al., (2007) Cardiovasc.Toxicol.7:75-79)。
【０２６０】
本明細書で使用するのに適したアントラサイクリンの非限定的な例として、PNU-159682（以下、「PNU」）がある。 PNUは、親ネモルビシンに対して3000倍以上の細胞毒性を示す（Quintieri et al.、Clinical Cancer Research 2005、11、1608-1617）。PNUは構造式で表される。
[化４９]
【０２６１】
PNUなどのアントラサイクリン系化合物の複数の位置が、リンカー部分を共有結合させる位置として機能することができ、その結果、本明細書に記載されているような二重特異性結合剤が得られる。 例えば、ヒドロキシメチルケトン側鎖の修飾によりリンカーを導入することができる。
【０２６２】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式で表されるPNU誘導体であり、
[化５０]
ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。
【０２６３】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式で表されるPNU誘導体であり、
[化５１]

ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。

【０２６４】

ベンゾジアゼピン系細胞毒性物質

本明細書に記載されている抗CD45抗体、およびその抗原結合性断片（例えば、二重特異性抗体およびバイパラトピック抗体を含む）は、本明細書に記載されているように、PBDまたはIGNなどのベンゾジアゼピン部位を含む細胞毒素に結合することができる。

【０２６５】

ピロロベンゾジアゼピン(PBD)

PBDは一般的な構造のものである。

[化５２]

【０２６６】

これらは、置換基の数、種類、位置、芳香族（A）環とピロロ（C）環の両方、およびC環の飽和度が異なる。ジアゼピンB環のN10-C11位には、イミン（N=C）、カルビノールアミン（NH-CH(OH)）、カルビノールアミンメチルエーテル（NH-CH(OMe)）のいずれかが存在する。 この位置は、DNAのアルキル化を担う求電子性部位である。既知の天然物PBDはすべて，C環からA環に向かって見たときに、キラルなC11a位に（S）-構成があり、右回りのねじれが生じている。これにより、B-form DNAのマイナーグルーブとの等重心性に適した3次元形状が得られ、結合部位にしっかりとフィットする（Kohn, In Antibiotics III.Springer-Verlag, New York, pp.3-11 (1975); Hurley and Needham-CanDevanter, Acc.Chem.Res., 19, 230-237 (1986)）。PBDはマイナーグルーブに付加物を形成する能力があるため、DNAのプロセシングを妨害することができ、その結果、抗腫瘍活性が得られる。

【０２６７】

これらの分子の生物学的活性は、柔軟なアルキレンリンカーを介して2つのPBDユニットをそのC8-ヒドロキシル官能性を介して結合することで増強できることが以前に開示されている（Bose, D. S., et al., J. Am.Chem.Soc., 114, 4939-4941 (1992); Thurston, D. E., et al., J. Org.Chem., 61, 8141-8147 (1996))に記載されている。PBD二量体は、パリンドローム型の5'-Pu-GATC-Py-3'鎖間架橋のような配列選択的なDNA損傷を形成すると考えられており（Smellie, M., et al., Biochemistry, 42, 8232-8239 (2003); Martin, C., et al., Biochemistry, 44, 4135-4147）、これが主にその生物学的活性の原因であると考えられている。有利な二量体のピロロベンゾジアゼピン化合物は、Gregsonら（Chem.Commun.1999, 797-798; 「化合物1」）、およびGregsonら（J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174; 「化合物4a」）によって記載されている。この化合物は、SG2000としても知られており、構造式で表される。

[化５３]

【０２６８】

一般的に、ピロリジンアルケン部分を修飾すると、連結部分を共有結合させるためのハンドルが得られ、その結果、抗体またはその抗原結合性断片（本明細書に記載されているように、それぞれ-L-Z'および-L-Z-Ab）を得ることができる。 あるいは、N10位にリンカーを結合させてもよい。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式で表されるピロロベンゾジアゼピン二量体であり、

[化５４]

ここで、nは2から5の整数である。この式でnが3である化合物は、DSB-120として知られている（Boseら、J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 4939-4941）。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式で表されるピロロベンゾジアゼピン二量体であり、

[化５５]
ここで、nは2～5の整数である。nが3であるこの式の化合物は、SJG-136として知られている（Gregsonら、J.Med.Chem.2001,44,737 - 748）。nが5であるこの式の化合物は、DRG-16として知られている（Gregsonら、Med.Chem.2004;47:1161-1174）。
【０２７１】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式で表されるピロロベンゾジアゼピン二量体であり、
[化５６]
ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示している。このPBDに基づくADCは、例えば、Sutherlandら、Blood 2013 122:1455-1463に開示されており、この文献はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０２７２】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式で表されるPBD二量体であり、
[化５７]
ここで、nは3または5であり、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。
【０２７３】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式（I）で表されるPBD二量体であり、
[化５８]
ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。
【０２７４】
インドリノベンゾジアゼピン(IGN)
いくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、インドリノベンゾジアゼピン（「IGN」）である細胞毒素またはIGNからなる細胞毒素に結合させることができる。いくつかの実施形態では、IGN細胞毒は、インドリノベンゾジアゼピン二量体またはインドリノベンゾジアゼピン擬二量体である。
【０２７５】
インドリノベンゾジアゼピン二量体は、癌細胞に対して生体外での高い活性（低pM範囲のIC_{50}値）を示す比較的新しい細胞毒素の一種である。IGN二量体は、PBD二量体SJG-136と同様に、DNAのマイナーグルーブに結合し、二量体に含まれる2つのイミン官能基を介してグアニン残基と共有結合し、DNAを架橋する。IGN二量体（IGN6：PBD部位のメチレン基をフェニル環に置換）は、SJG-136と比較して生体外での約10倍の効力を示したが、これはDNA IGNとのアダクト形成速度が速いためと考えられる（例えば、Millerら、「A New Class of Antibody-Drug Conjugates with Potent DNA Alkylating Activity」Mol.Cancer Ther.2016, 15(8), 1870-1878)。対照的に、IGN疑似二量体は、単一の反応性インドリノベンゾジアゼピンイミンからなり、二量体細胞毒素中の第2のインドリノベンゾジアゼピンは、還元（アミン）形態で存在する。したがって、IGN擬二量体は、二量体に含まれる単一のイミン部位を介してDNAをアルキル化し、DNAを架橋することはない。
【０２７６】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、式の構造を有するIGN疑似二量体であり、
[化５９]
ここで、波線はリンカーの取り付け位置を示している。
【０２７７】
いくつかの実施形態では、抗体に複合体する前の、反応性置換基Z'を含む、Cy-L-Z'としてまとめて取られる細胞毒リンカー複合体は、以下の構造を有する。
[化６０]
【０２７８】
この細胞毒リンカー結合体は、本明細書ではDGN549と呼ばれ、ADC IMGN632に存

在しており、これらはいずれも、例えば国際特許出願公開第WO2017004026号に開示されており、参照により本明細書に組み込まれている。

【０２７９】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、式の構造を有するインドリノベンゾジアゼピン擬二量体であり、

[化６１]

ここで、波線は、リンカーの付着点を示す。このIGN疑似二量体細胞毒素は、本明細書ではDGN462と呼ばれ、例えば米国特許出願公開第20170080102号に開示されており、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２８０】

いくつかの実施形態では、抗体に結合する前の、化学的部分Zを含む細胞毒リンカー複合体は、まとめてCy-L-Zと呼ばれ、構造を有し、

[化６２]

ここで、波線は、抗体（例えば、抗CD45抗体またはその断片）への付着点を示すものである。この細胞毒リンカー結合体は、例えば、以前に本明細書に参照として組み込まれた米国特許出願公開第20170080102号に開示されたADC IMGN779に存在する。

【０２８１】

<u>カリケアマイシン</u>

他の実施形態では、本明細書に記載されている抗体およびその抗原結合性断片は、エンジニー抗腫瘍性抗生物質である細胞毒（例えば、カリケアマイシン、オゾガマイシン）に結合させることができる。カリケアマイシンファミリーの抗生物質は、ピコモル以下の濃度で二本鎖DNAの切断を起こすことができる。カリケアマイシンファミリーの複合体の調製については、米国特許No.5,712,374号、5,714,586号、5,739,116号、5,767,285号、5,770,701号、5,770,710号、5,773,001号、および5,877,296号（いずれもAmerican Cyanamid Company）を参照されたい。使用することができるカリケアマイシンの構造類似体としては、例えば、Hinmanら、Cancer Research 53:3336-3342(1993)、Lodeら、Cancer Research 58:2925-2928(1998)、およびAmerican Cyanamidに対する前述の米国特許に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２８２】

例示的なカリケアマイシンは、γ_1と呼ばれ、本明細書では単にガンマと呼ばれ、以下の構造式を有する。

[化６３]

【０２８３】

いくつかの実施形態では、カリケアマイシンは、ガンマ-カリケアマイシン誘導体またはN-アセチルガンマ-カリケアマイシン誘導体である。使用することができるカリケアマイシンの構造類似体としては、例えば、Hinmanら、Cancer Research 53：3336-3342（1993）、Lodeら、Cancer Research 58：2925-2928（1998）、および前述の米国特許に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。カリケアマイシンは、適切なチオールと反応してジスルフィドを形成することができるメチルトリスルフィド部分を含み、同時に、リンカーを介して、カリケアマイシン誘導体を本明細書に記載されているような二重特異性結合剤に結合させるのに有用な官能基を導入している。カリケアマイシンファミリーの複合体の調製については、米国特許No.5,712,374号、5,714,586号、5,739,116号、5,767,285号、5,770,701号、5,770,710号、5,773,001号、および5,877,296号(いずれもAmerican Cyanamid Company)を参照されたい。使用することができるカリケアマイシンの構造類似体としては、例えば、Hinmanら、Cancer Research 53:3336-3342(1993)、Lodeら、Cancer Research 58:2925-2928(1998)、およびAmerican Cyanamidに対する前述の米国特許に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２８４】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているADCの細胞毒素は、以下の式で表されるカリキアミシンジスルフィド誘導体であり、

[化６４]

ここで、波線はリンカーの取り付け位置を示している。

【０２８５】

その他の細胞毒

他の実施形態では、本明細書に記載された抗体およびその抗原結合性断片は、本明細書に上で開示されたそれらの細胞毒以外の、またはそれらの細胞毒に加えて、細胞毒に結合することができる。本明細書に記載の組成物および方法で使用するのに適した追加の細胞毒素としては、限定されないが、5-エチニルウラシル、アビラテロン、アシルフルベーン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミフォスチン、アミノレブリン酸、アムルビシン、アムサクラインアナグレリド、アナストロゾール、アンドログラフォリド、血管新生阻害剤、アンタレリクス、抗背側形態形成蛋白質-1、抗アンドロゲン、前立腺癌、抗エストロゲン、アンチネオプラストン、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフィジコリングリシン酸塩、アポトーシス遺伝子調節剤、アポトーシス調節剤アプリン酸、アスラクライン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、バッカチンIII誘導体、バラノール、バティマスタット、BCR/ABLアンタゴニスト、ベンゾクロリン、ベンゾイルスタウロスポリン、βラクタム誘導体、β-アレチン、ベタクラマイシンB、ベツリン酸、bFGF阻害剤、ビカルタミド、ビサントレン、ビサジリジンスペルミン、ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレフレート、ブレオマイシンA2、ブレオマイシンB2、ブロピリミン、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カルシポトリオール、カルホスティンC、カンプトテシン誘導体（例えば、10-ヒドロキシ-カンプトテシン）、カペシタビン、カルボキサミド-アミノ-トリアゾール、カルボキサミド-トリアゾール、カルツェレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、カスタノスペルミン、セクロピンB、セトロレリクス、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミドシカプロスト、シスポルフィリン、クラドリビン、クロミフェンおよびその類縁体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンブレタスタチンA4、コンブレタスタチン類縁体、コナジェニン、クランベシジン816、クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタンスラキノン、シクロプラタム、サイペマイシン、シタラビンオコスフェート、細胞溶解因子、サイトスタチン、ダクリキシマブ、デシタビン、デヒドロジムニンB、2'デオキシコホルマイシン(DCF)デスロレリン、デキシホスファミド、デクスラゾキサン、デクスベラパミル、ジアジコン、ディデムニンB、ディドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ-5-アザシチジン、ジヒドロタキソール、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ディスコデルモリド、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドロキシフェン、ドロナビノール、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エデルフォシン、エドレコロマブ、エフロルニチン、エレメン、エミテフール、エポチロン、エピチロン、エプリステリド、エストラムスチンおよびその類縁体、エトポシド、エトポシド4'-リン酸塩（エトポフォスとも呼ばれる）、エキセメスタン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フルアステロン、フルダラビン、塩酸フロロダウノルニシン、フォルフェニメックス、ホルメスタン、フォストリエシン、フォテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタビン、ガニレリクス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、ヘプスルファム、ホモハリントニン（HHT）、ヒペリシン、イバンドロン酸、イドキシフェン、イドラマントン、イルモフォシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、イオベンガン、ヨードキソルビシン、イポメノール、イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、ジャスプラスノキド、カハライド F、ラメラリン-N トリアセテート、ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、レンチナン硫酸、レプトルスタチン、レト

ロゾール、親油性白金化合物、リソクリンアミド７、ロバプラチン、ロメトレキソール、ロニダミン、ロソキサントロン、ロキソリビン、ルルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リゾフィリン、マソプロコール、マスピン、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、メノガリール、メルバロン、メテリン、メチオニナーゼ、メトクロプラミド、ＭＩＦ阻害剤、ミフェプリストン、ミルテフォシン、ミリモスティム、ミトラシン、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシンおよびその類縁体、ミトナフィド、ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスティム、ミカペロキシドＢ、ミリアポロン、Ｎ-アセチルジナリン、Ｎ-置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレストリップ、ナパビン、ナフテルピン、ナートグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン、ネリドロン酸、ニルタミド、ニサマイシン、ニトラリン、オクトレオチド、オキセノン、オナプリストン、オンダンセトロン、オラシン、オルマプラチン、オキサリプラチン、オサウノマイシン、パクリタキセルおよびその類縁体、パラウアミン、パルミトイルラーヒゾキシン、パミドロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガーゼ、ペルデシン、ペントサンポリサルフェートナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、ペルフルブロン、ペルホスファミド、フェナジノマイシン、ピキバニール、ピラルビシン、ピリトレキシム、ポドフィロトキシン、ポルフィロマイシン、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ラルチトレキセド、リゾキシン、ログレチミド、ロヒツキン、ルビギノンＢ１、ルボキシル、サフィンゴル、サントピン、サルコフィトールＡ、サルグラモスチム、ソブゾキサン、ソナーミン、スパーフォシン酸、スピカマイシンＤ、スピラムスチン、スティピアミド、サルフィノシン、トールイムスチン、 テガフール、テモゾロミド、テニポシド、タリブラスチン、チオコラリン、チラパザミン、トポテカン、トップセンチン、トリシリビン、トリメトレキサート、ベラミン、ビノレルビン、ビンクサルチン、ボロゾール、ゼニプラチン、ジラコルビンなどがある。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、抗体、抗体断片、または他の抗原結合剤、例えば、幹細胞因子のようなリガンドが付着している細胞毒素は、タンパク質ベースの毒素である。 タンパク質ベースの毒素の例は、シガトキシンである。したがって、いくつかの実施形態では、抗体、抗体断片、または他の抗原結合剤、例えば、幹細胞因子などのリガンドが付着している細胞毒素は、志賀毒素、またはその変異体、断片、もしくは誘導体、例えば、志賀様毒素Ａサブユニット、ならびにその変異体、断片、および誘導体である。 いくつかの実施形態では、抗体、抗体断片、または他の抗原結合剤が結合している細胞毒素は、ＳＬＴ Ｉ、ＳＬＴ ＩＩ、ＳＬＴ ＩＩＶ、ＬＴトキシン、またはＣ３トキシンなどの志賀様毒素である。

【０２８７】

特定の実施形態では、細胞毒素は、タンパク質ベースの毒素と抗原結合タンパク質とからなる融合タンパク質の一部である。 例えば、特定の実施形態における融合タンパク質は、ｓｃＦｖなどの抗体断片と、タンパク質ベースの毒素、例えば、タンパク質合成阻害剤、例えば、リボソーム不活性化タンパク質、例えば、志賀毒素、志賀様毒素Ａサブユニット、サポリン、リジン、およびそれらの変異体、断片、および誘導体などを含む、人工毒素体である。

【０２８８】

リンカー

本明細書で使用される「リンカー」という用語は、式Ｉの抗ＣＤ４５抗体薬物複合体（ＡＤＣ）を共有結合で取り付ける共有結合または原子の鎖からなる２価の化学的部分を意味する。 適切なリンカーは２つの反応性末端を持ち、１つは抗体との結合用であり、もう１つは細胞毒との結合用である。リンカーの抗体結合反応性末端（反応性部位、Ｚ’）は、典型的には、抗体上のシステインチオール基またはリジンアミン基を介して抗体に結合できる部位であるので、典型的には、（マレイミドのような）二重結合や、クロロ、ブロモ、ヨード、またはＲ-スルファニル基のような離脱基などのチオール反応性基、またはカルボキシル基などのアミン反応性基である。一方、リンカーの抗体結合反応性末端は、典型的には、細胞毒上の塩基性アミンまたはカルボキシル基とのアミド結合の形成を通じて細

胞毒に結合することができる部位であり、従って典型的にはカルボキシル基または塩基性アミン基である。共役形態のリンカーを説明する際に「リンカー」という用語を使用する場合、リンカーおよび／または細胞毒の間、ならびにリンカーおよび／または抗体またはその抗原結合性断片の間で結合が形成されるため、反応性末端の一方または両方が存在しない（化学的部位Zに変換された反応性部位Z'など）、または不完全である（カルボン酸のカルボニルのみであるなど）ことになる。このような結合反応については、本明細書でさらに説明する。

【０２８９】

様々なリンカーを使用して、本明細書に記載されている抗体または抗体断片を細胞毒性分子に結合させることができる。 いくつかの実施形態では、リンカーは細胞内環境下で開裂可能であり、リンカーの開裂により細胞内環境下で抗体から薬物ユニットが放出されるようになっている。さらに他の実施形態では、リンカーユニットは開裂可能ではなく、薬物は、例えば、抗体の分解によって放出される。本発明のADCに有用なリンカーは、好ましくは、細胞外で安定であり、ADC分子の凝集を防ぎ、ADCを水性媒体に自由に溶解し、モノマーの状態に保つ。細胞内への輸送または送達の前に、ADCは好ましくは安定であり、無傷のままであり、すなわち、抗体は薬物部分に連結されたままである。リンカーは、標的細胞の外側では安定しており、細胞内ではある程度効果的な速度で切断される可能性がある。効果的なリンカーは(i)抗体の特異的な結合特性を維持し、(ii)結合体または薬物部分の細胞内送達を可能にし、(iii)結合体がその標的部位に送達または輸送されるまで、安定かつ無傷のまま、すなわち切断されずに残り、(iv)細胞毒性、細胞殺傷効果、または細胞毒性部分の静力学的効果を維持する。ADCの安定性は、質量分析、HPLC、分離・分析技術であるLC/MSなどの標準的な分析技術によって測定することができる。抗体と薬物部分を共有結合させるためには、リンカーが2つの反応性官能基を持つこと、すなわち反応的な意味での二価性が必要となる。ペプチド、核酸、薬物、毒素、抗体、ハプテン、レポーター基など、2つ以上の機能性または生物学的に活性な部位を結合させるのに有用な2価のリンカー試薬が知られており、その結果得られる結合体についての方法が記載されている（Hermanson, G. T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press:New York, p. 234-242）。

【０２９０】

適切な切断可能なリンカーとしては、例えば、酵素による加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核的切断、または有機金属的切断によって切断され得るものが挙げられる（例えば、Lericheら、Bioorg.Med.Chem., 20:571-582, 2012を参照されたい。この開示は、共有結合に適したリンカーに関するものとして、参照により本明細書に組み込まれている）。 適切な開裂可能なリンカーには、例えば、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドなどの化学的部位が含まれる。

【０２９１】

酸性条件下で加水分解可能なリンカーとしては、例えば、ヒドラゾン類、セミカルバゾン類、チオセミカルバゾン類、シス-アコニットアミド類、オルトエステル類、アセタール類、ケタール類などが挙げられる。(例えば、米国特許第5,122,368号；第5,824,805号；第5,622,929号；Dubowchik and Walker, 1999, Pharm.Therapeutics 83：67-123；Nevilleら、1989、Biol. Chem.264:14653-14661に記載されており、これらの各々の開示は、共有結合に適したリンカーに関するものとして、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。)このようなリンカーは、血液中のような中性のpH条件では比較的安定しているが、リソソームのおおよそのpHであるpH5.5または5.0以下では不安定である。

【０２９２】

還元条件下で切断可能なリンカーとしては、例えば、ジスルフィドが挙げられる。様々なジスルフィドリンカーが当技術分野で知られており、例えば、SATA（N-succinimidyl-S-acetylthioacetate）、SPDP（N-succinimidyl-3-（2-pyridyldithio）pro

pionate）を用いて形成することができるものが挙げられる。SPDB（N-スクシンイミジル-3-（2-ピリジルジチオ）ブチレート）、SMPT（N-スクシンイミジル-オキシカルボニル-α-メチル-α-（2-ピリジルジチオ）トルエン）、SPDBおよびSMPT（例えば、Thorpeら、1987、Cancer Res.47:5924-5931；Wawrzynczakら、In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer（C.W.Vogel編、Oxford U.Press、1987年）を参照されたい。また、米国特許第4,880,935号も参照されたい。これらのそれぞれの開示内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれており、特に共有結合に適したリンカーに関するものである。

【０２９３】

酵素による加水分解を受けやすいリンカーは、例えば、リソソームまたはエンドソームプロテアーゼなどの細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素によって切断されるペプチド含有リンカーであり得るが、これに限定されない。治療剤の細胞内タンパク質分解放出を使用することの1つの利点は、治療剤が複合体されると典型的に減衰され、複合体の血清安定性が典型的に高いことである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも2つのアミノ酸の長さ、または少なくとも3つのアミノ酸の長さである。例示的なアミノ酸リンカーには、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、またはペンタペプチドが含まれる。適切なペプチドの例としては、バリン、アラニン、シトルリン（Cit）、フェニルアラニン、リジン、ロイシン、グリシンなどのアミノ酸を含むものが挙げられる。アミノ酸リンカー成分を構成するアミノ酸残基には、天然に存在するもののほか、マイナーなアミノ酸や、シトルリンなどの非天然に存在するアミノ酸類似体が含まれる。例示的なジペプチドとしては、バリン-シトルリン（vcまたはval-cit）およびアラニン-フェニルアラニン（afまたはala-phe）が挙げられる。例示的なトリペプチドには、グリシン-バリン-シトルリン（gly-val-cit）およびグリシン-グリシン（gly-gly）が含まれる。 いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Cit、Ala-Val、またはPhe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg、またはTrp-Citのようなジペプチドを含む。Val-CitやPhe-Lysなどのジペプチドを含むリンカーは、例えば、米国特許第6,214,345号に開示されており、その開示内容は共有結合に適したリンカーに関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。

【０２９４】

本明細書に記載されている抗体または抗体断片を細胞毒性分子に結合させるのに適したリンカーには、1,6-脱離プロセスによって細胞毒性を放出することができるものが含まれる。この消去プロセスが可能な化学部位としては、p-アミノベンジル（PAB）基、6-マレイミドヘキサン酸、pH感受性の高い炭酸塩、およびJainら, Pharm.Res. 32:3526-3540, 2015に記載されており、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれており、特に共有結合に適したリンカーに関連するものである。

【０２９５】

いくつかの実施形態では、リンカーは、前述のPABまたはPABC（パラ-アミノベンジルオキシカルボニル）などの「自己免疫性」基を含み、これらは、例えば、Carlら、J. Med.Chem.(1981) 24:479-480; Chakravarty et al (1983) J. Med.Chem.26:638-644;US 6214345;US20030130189;US20030096743;US6759509;US20040052793;US6218519;US6835807;US6268488;US20040018194;WO98/13059;US20040052793;US6677435;US5621002;US20040121940;WO02004/032828)に開示されている。このプロセスが可能な他のこのような化学的部位（「自己免疫性リンカー」）としては、メチレンカルバメートや、アミノチアゾール、アミノイミダゾール、アミノピリミジンなどのヘテロアリール基が挙げられる。このようなヘテロ環自己免疫性基を含むリンカーは、例えば、米国特許公開第20160303254号および同第20150079114号、米国特許第7,754,681号；Hayら（1999）Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237; US 2005/0256030; de Groot et al (2001) J. Org.Chem.66:8815-8830；およびUS 7223837に開示されている。 いくつかの実施形態では、

ジペプチドを自己免疫性リンカーと組み合わせて使用する。

【０２９６】

本明細書での使用に適したリンカーは、さらに、C_1-C_6アルキレン、C_1-C_6ヘテロアルキレン、C_2-C_6アルケニレン、C_2-C_6ヘテロアルケニレン、C_2-C_6アルキニレン、C_2-C_6ヘテロアルキニレン、C_3-C_6シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびそれらの組み合わせから選択される１つまたは複数の基を含んでもよく、これらの基はそれぞれ任意に置換されていてもよい。このような基の非限定的な例としては、（CH_{2p}）、（CH_2CH_2O）$_p$、および-（C＝O）（CH_{2p}）-単位が挙げられ、pは、機会ごとに独立して選択される1-6の整数である。

【０２９７】

適切なリンカーは、溶解性を高める特性を持つ基を含んでいてもよい。例えば、（CH_2CH_2O）$_p$ユニット（ポリエチレングリコール、PEG）を含むリンカーは、アミノ残基、スルホン酸残基、ホスホン酸残基またはリン酸残基で置換されたアルキル鎖と同様に、溶解性を高めることができる。このような部位を含むリンカーは、例えば、米国特許第8,236,319号および同第9,504,756号に開示されており、共有結合に適したリンカーに関しては、それぞれの開示内容が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２９８】

適切なリンカーは、溶解性を高める特性を持つ基を含んでいてもよい。例えば、（CH_2CH_2O）$_p$ユニット（ポリエチレングリコール、PEG）を含むリンカーは、アミノ残基、スルホン酸残基、ホスホン酸残基またはリン酸残基で置換されたアルキル鎖と同様に、溶解性を高めることができる。　このような部位を含むリンカーは、例えば、米国特許第8,236,319号および同第9,504,756号に開示されており、共有結合に適したリンカーに関するこれらの開示内容は参照により本明細書に組み込まれている。さらなる溶解性向上基としては、例えば、構造を有するアシル基およびカルバモイルスルファミド基が挙げられる。

[化６５]

ここで、aは0または1であり、そして

R^{10}は、水素、C_1-C_{24}アルキル基、C_3-Cシクロアルキル$_{24}$基、C_1-C_{24}（ヘテロ）アリール基、C_1-C_{24}アルキル（ヘテロ）アリール基およびC_1-C_{24}（ヘテロ）アリールアルキル基からなる群から選択され、C_1-Cアルキル基$_{24}$、C_3-C_{24}シクロアルキル基、C_2-C_{24}（ヘテロ）アリール基がC_3-C_{24}アルキル（ヘテロ）アリール基およびC_3-C_{24}（ヘテロ）アリールアルキル基であり、これらの各基は、O、SおよびNR^{11}Rから選択される1つまたは複数のヘテロ原子によって任意に置換および／または任意に中断されていてもよく^{12}、ここでR^{11}およびR^{12}は、水素およびC_1-C_4アルキル基からなる群から独立して選択される。またはR^{10}が細胞毒素であり、細胞毒素がスペーサー部分を介してNに任意に接続されている。このような基を含むリンカーは、例えば、米国特許第9,636,421号および米国特許出願公開第2017/0298145号に記載されており、これらの開示内容は、細胞毒および抗体またはその抗原結合性断片への共有結合に適したリンカーに関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２９９】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、ジペプチド、p-アミノベンジル（PAB）基、複素環自己免疫基、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニルの１つまたは複数を含んでもよい。任意に置換されたC_2-C_6アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニル、任意に置換されたC_3-C_6シクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、任意に置換されたヘテロアリール、溶解性向上基、アシル、-（C=O）-、または-（$CH_2CH_2O_p$）-基であり、pは1-6の整数である。当業者であれば、列挙した基の１つまたは複数が、例えばC_1-C_6アルキレンなどの二価（ジラジカル）種の形で存在してもよいことを認識されたい。

【０３００】
いくつかの実施形態では、リンカーＬは、部分*-L_1L_2-**から構成されており、
L_1は存在しないか、-$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)$-、-$(CH_2)_mNR^{13}$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_{2m})$-であり、
[化６６]
L_2は存在しないか、-(CH_2)-、-$NR_m^{13}(CH_{2m})$-、-$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)$-、-$X_{m4}$, -$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)X_4$, -$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)$-、-$((CH_2)_mO_n)(CH_{2m})$-、-$((CH_2)_mO_n)(CH_2)_mX_3(CH_{2m})$-, -$NR^{13}((CH_2)_mO)_nX_3(CH_{2m})$-, -$NR^{13}((CH_2)_mO_n)(CH_2)_mX_3(CH_{2m})$-, -$X_1X_2C(=O)(CH_{2m})$-, -$(CH_{2m})(O(CH_{2m}))_n$-, -$(ch_2)_mnr^{13}(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mnr^{13}c(=o)(ch_2)_mX_3(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mnr^{13}c(=o)(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mc(=o)$-, -$(ch_2)_mnr^{13}(ch_2)_mc(=o)_2X_1c(=o)$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mc(=o)X_{21}c(=o)$-,-$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mX_3(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mnr^{13}c(=o)(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)$-, -$(ch_{m2})_mO_n)(ch_2)_mnr^{13}c(=o)(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_n$-, -$(CH_{2m})(O(CH_{2m}))_nc(=o)$-, -$(ch_2)_mnr^{13}(ch_2)_mc(=o)$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mnr^{13}c(=o)$-, -$(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nX_3(ch_2)$-, -$(ch_{m2})_mX_3((ch_2)_mo)(ch_{n2m})$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mc(=o)$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mo)(ch_{n2})_mX_3(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nnr^{13}c(=o)(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nC(=O)$-, -$(CH_2)_mX_3(CH_{2m})(O(CH_{2m}))_n$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mc(=o)$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nc(=o)$-, -$((ch_2)_mo)(ch_{n2})_mnr^{13}c(=o)(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mnr^{13}c(=o)(ch_2)_mnr^{13}c(=o)(ch_2)$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mc(=o)nr^{13}$-,-$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}$-, -$(ch_2)_mX_3$-, -$c(r^{13}{}_2)(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mc(r^{13})_2nr^{13}$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mnr^{13}$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mnr^{13}c(=o)nr^{13}$-,-$(ch_2)_mc(=o)X_2X_1c(=o)$-, -$c(r^{13}{}_2)(ch_2)_mnr^{13}c(=o)(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mc(r^{13})_2nr^{13}$-, -$c(r^{13}{}_2)(ch_2)_mX_3(ch_2)$-,-$(mch_2)_mX_3(ch_2)_mc(r^{13})_2nr^{13}$-, -$c(r^{13}{}_2)(ch_2)_moc(=o)nr^{13}(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mnr^{13}c(=o)o(ch_2)_mc(r^{13})_2nr^{13}$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mnr^{13}$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nnr^{13}$-, -$(ch_2)_mnr^{13}$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nNR^{13}$-, -$(CH_{2m})(O(CH_{2m}))_nnr^{13}$-, -$(ch_2ch_2o)(ch_{n2m})$-, -$(ch_{2m})(och_2ch_{2n};)$-$(ch_2)_mo(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_ms(=o_2)$-, -$(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_ms(=o)$-, -$(ch_{22})_mX_3(ch_2)_ms(=o)$-, -$(ch_{22})_mX_2X_1c(=o)$-, -$(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nc(=o)X_{21}c(=o)$-, -$(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_nX_2X_1c(=o)$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mX_2X_1c(=o)$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_{2m})(o(ch_2))_mnX_2Xc(_1=o)$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mnr^{13}c(=o)$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_2)_mc(=o)$-, -$(ch_2)_mX_3(ch_2)_mc(=o)nr^{13}(ch_{2m})(o(ch_{2m}))_cn(=o)$-, -$(ch_2)_mc(=o)X_2X_1c(=o)nr^{13}(ch_{2m})$-, -$(ch_2)_mX_3(o(ch_{2m}))_nC(=O)$-, -$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)((CH_2)_mO)(CH_{n2m})$-, -$(CH_{2m})(O(CH_{2m}))_nC(=O)NR^{13}(CH_{2m})$-、-$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)NR^{13}(CH_{2m})$-、または-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mNR^{13}C(=O)$-であり、
そこで
X_1は
[化６７]
X_2は
[化６８]
X_3は
[化６９]

そして
X_4は
[化７０]
そこで
R^{13}は、HおよびC $_1$-C_6アルキルから各場面で独立して選択され、
mは、1、2、3、4、5、6、7、8、9および10から各場面で独立して選択され、
nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13および14から各回ごとに独立して選択され、そして、
ここで、一重アスタリスク（＊）は細胞毒（例えば、アマトキシン）への付着点を示し、二重アスタリスク（＊＊）は反応性置換基Z'または化学部分Zへの付着点を示すが、L_1とL_2がともに存在しないという但し書きがある。
【０３０１】
いくつかの実施形態では、リンカーは、p-アミノベンジル基（PAB）を含む。 いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、細胞毒性薬剤とリンカー中のプロテアーゼ切断部位との間に配置されている。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルオキシカルボニル単位の一部である。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルアミド単位の一部である。
【０３０２】
いくつかの実施形態では、リンカーは、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABからなる。
【０３０３】
いくつかの実施形態では、リンカーは、
ペプチド、オリゴ糖、-（CH_2）-、-（$_pCH\ CH_{22}\ O_p$）-、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys（Ac）-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys（Ac）-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABのうちの1つまたは複数の組み合わせからなる。
【０３０４】
いくつかの実施形態では、リンカーは-(C=O)(CH_{2p})-単位を含み、pは1～6の整数である。
【０３０５】
ある具体的な実施形態では、リンカーは構造を構成しており、
[化７１]
ここで，波線は，細胞毒および反応性部分Z＇への付着点を示す。別の具体的な実施形態では、リンカーは、構造からなる。
[化７２]
ここで、波線は、細胞毒および反応性部分Z＇への付着点を示す。このようなPAB-ジペプチド-プロピオニルリンカーは、例えば、特許出願公開第WO2017／149077号に開示されており、この特許出願公開第WO2017／149077号は、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。 さらに、WO2017/149077に開示されている細胞毒素は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０３０６】
特定の実施形態では、ADCのリンカーは、マレイミドカプロイル-Val-Ala-para-aminobenzyl（mc-Val-Ala-PAB）である。
【０３０７】
特定の実施形態では、ADCのリンカーは、マレイミドカプロイル-Val-Cit-パラ-アミノベンジル（mc-vc-PAB）である。
【０３０８】
いくつかの実施形態では、リンカーは以下を含む。
[化７３]

【０３０９】
いくつかの実施形態では、リンカーは、ＭＣＣ（4-［N-マレイミドメチル］シクロヘキサン-1-カルボキシレート）からなる。
【０３１０】
本明細書に開示されている化学基、部位、および特徴のいずれか1つまたは複数を複数の方法で組み合わせて、本明細書に開示されているような抗体および細胞毒素の結合に有用なリンカーを形成してもよいことは、当業者には認識されるであろう。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なさらなるリンカーは、例えば、米国特許出願公開第2015／0218220号に記載されており、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０３１１】
いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、ジペプチド、p-アミノベンジル（ＰＡＢ）基、複素環自己免疫基、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニルの１つまたは複数を含んでもよい。任意に置換されたC_2-C_6アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニル、任意に置換されたC_3-Cシクロアル$_6$キル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、任意に置換されたヘテロアリール、溶解性向上基、アシル、-（C=O）-、または-（$CH_2CH_2O_p$）-基であり、pは1-6の整数である。当業者であれば、列挙した基の１つまたは複数が、例えばC_1-C_6アルキレンなどの二価（ジラジカル）種の形で存在してもよいことを認識されたい。
【０３１２】
いくつかの実施形態では、リンカーは、p-アミノベンジル基（ＰＡＢ）を含む。 いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、細胞毒性薬剤とリンカー中のプロテアーゼ切断部位との間に配置されている。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルオキシカルボニル単位の一部である。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルアミド単位の一部である。
【０３１３】
いくつかの実施形態では、リンカーは、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABからなる。
【０３１４】
いくつかの実施形態では、リンカーは、
ペプチド、オリゴ糖、-（CH_2）-、-（$_pCH_2CH_2O_p$）-、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys（Ac）-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys（Ac）-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PAB
のうちの1つまたは複数の組み合わせからなる。
【０３１５】
いくつかの実施形態では、リンカーは-(C=O)(CH_{2p})-単位を含み、pは1～6の整数である。
[化７４]
【０３１６】
ある具体的な実施形態では、リンカーは以下の構造からなり、
ここで、波線は、細胞毒および反応性部分Z'への付着点を示す。別の具体的な実施形態では，リンカーは以下の構造からなり、
[化７５]
ここで、波線は、細胞毒および反応性部分Z'への付着点を示す。このようなPAB-ジペプチド-プロピオニルリンカーは、例えば、特許出願公開第WO2017／149077号に開示されており、この特許出願公開第WO2017／149077号は、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。 さらに、WO2017/149077に開示されている細胞毒素

は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０３１７】

本明細書に開示されている化学基、部位、および特徴のいずれか1つまたは複数を複数の方法で組み合わせて、本明細書に開示されているような抗体および細胞毒素の結合に有用なリンカーを形成してもよいことは、当業者には認識されるであろう。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なさらなるリンカーは、例えば、米国特許出願公開第2015／0218220号に記載されており、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０３１８】

特定の実施形態では、リンカーの前駆体である中間体を、適切な条件下で薬物部分と反応させる。特定の実施形態では、薬物および／または中間体もしくはリンカーに反応性基が使用される。薬物と中間体の反応生成物、または誘導体化された薬物は、その後、適切な条件下で抗体または抗原結合性断片と反応させる。あるいは、リンカーまたは中間体をまず抗体または誘導体化された抗体と反応させた後、薬剤または誘導体化された薬剤と反応させてもよい。このような結合反応について、より詳しく説明する。

【０３１９】

抗体またはその抗原結合性断片にリンカーまたは薬物-リンカー結合体を共有結合させるには、多くの異なる反応が利用できる。抗体分子の適切な結合点としては、リジンのアミン基、グルタミン酸およびアスパラギン酸の遊離カルボン酸基、システインのスルフヒドリル基、および芳香族アミノ酸の様々な部位が挙げられる。例えば、カルボジイミド反応を利用して、化合物のカルボキシ基（またはアミノ基）と抗体部位のアミノ基（またはカルボキシ基）を結合させることで、非特異的な共有結合を行うことができる。さらに、ジアルデヒドやイミドエステルなどの二官能剤を用いて、化合物のアミノ基を抗体部位のアミノ基に結合させることもできる。また、薬物を結合剤に付着させる方法として、シッフ塩基反応を利用することができる。この方法では、グリコール基やヒドロキシ基を持つ薬剤を過ヨウ素酸で酸化してアルデヒドを生成し、これを結合剤と反応させる。結合剤のアミノ基との間にシッフ塩基が形成されて結合する。イソチオシアネートは、薬物を結合剤に共有結合させるためのカップリング剤としても使用できる。その他の技術は、当業者には既知であり、本開示の範囲内である。

【０３２０】

抗体や抗原結合性断片との結合に有用なリンカーとしては、以下の表2に示すようなカップリング反応によって形成される化学的部位Zを含むリンカーが挙げられるが、これらに限定されるものではない。波線は、抗体、抗原結合性断片、または細胞毒性分子への結合点を示している。

【０３２１】

[表2]

【０３２２】

当業者であれば、リンカーに結合した反応性置換基Z'と、抗体またはその抗原結合性断片上の反応性置換基が、化学的部分Zを生成するための共有結合反応に関与していることを認識し、反応性部分Z'を認識するであろう。したがって、本明細書に記載の方法と併せて有用な抗体-薬物結合体は、抗体またはその抗原結合性断片と、本明細書に記載のリンカーまたは細胞毒リンカー結合体との反応によって形成されてもよく、リンカーまたは細胞毒リンカー結合体は、抗体またはその抗原結合性断片上の反応性置換基と反応して化学部分Zを形成するのに適した反応性置換基Z'を含む。

【０３２３】

いくつかの実施形態では、Z'は、$-NR^{13}C(=O)CH=CH_2$、$-N_3$、-SH、$-S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-(CH_2)_2S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NR^{13}S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NR^{13}C(=O)CH_2R^{14}$、$-NR^{13}C(=O)CH_2Br$、$-NR^{13}C(=O)CH_2I$、$-NHC(=O)CHBr_2$、$-NHC(=O)CH_2I$、$-ONH_2$、$-C(O)NHNH_2$、$-CO_2H$、$-NH_2$、-NH(C=O)、-NC(=S)であり、

[化７６]

そこで

R^{13}は、HおよびC_1-C_6アルキルから各場面で独立して選択され、

R^{14}は、-S$(CH_2)_n$CHR^{15}NHC(=O)R^{13}であり、

R^{15}は、R^{13}または-C(=O)OR^{13}であり、

R^{16}は、H、C_1-Cアル$_6$キル、F、Cl、および-OHから各場面で独立して選択され、

R^{17}は、H、C_1-C_6アルキル、F、Cl、-NH_2、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-N（CH_3）$_2$、-CN、-NO_2、および-OHから各場面で独立して選択され、

R^{18}は、H、C_1-C_6アルキル、F、-C(=O)OHで置換されたベンジルオキシ、-C(=O)OHで置換されたベンジル、-C(=O)OHで置換されたC_1-C_4アルコキシ、および-C(=O)OHで置換されたC_1-Cアルキル$_4$から各場面で独立して選択され、

mは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、および10から各場面で独立して選択され、そして

nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13および14から各場面で独立して選択される。

【０３２４】

表2に示されているように、リンカーおよび抗体またはその抗原結合性断片上の好適な反応性置換基の例としては、求核剤／求電子剤の対（例えば、チオール／ハロアルキル対、アミン／カルボニル対、チオール／α、β-不飽和カルボニル対など）、ジエン／ジエノフィル対（アジド／アルキン対、またはジエン／α、β-不飽和カルボニル対など）などが挙げられる。化学部位Zを形成するための反応性置換基間のカップリング反応としては、限定されないが、チオールアルキル化、ヒドロキシルアルキル化、アミンアルキル化、アミンまたはヒドロキシルアミン縮合、ヒドラジン生成、アミド化、エステル化、ジスルフィド生成、環化付加（例えば、[4+2]Diels-Alder環化付加、[3+2]Huisgen環化付加など）、芳香族求核置換、芳香族求電子置換、および当技術分野で知られている、または本明細書に記載されている他の反応様式がある。好ましくは、リンカーは、抗体またはその抗原結合性断片上の求核性官能基と反応するための求電子性官能基を含む。

【０３２５】

本明細書で開示する抗体またはその抗原結合性断片に存在しうる反応性置換基には、限定されないが、(i)N-末端アミン基、(ii)側鎖アミン基、例えばリジン、(iii)側鎖チオール基、例えばシステイン、および(iv)抗体がグリコシル化されている場合には糖の水酸基またはアミノ基などの求核性基が含まれる。　本明細書で開示されている抗体またはその抗原結合性断片内に存在する可能性のある反応性置換基としては、セリン、スレオニン、チロシン残基のヒドロキシル基、リジン残基のアミノ基、アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル基、システイン残基のチオール基のほか、プロパルギル、アジド、ハロアリール（例えばフルオロアリール）、ハロヘテロアリール（例えばフルオロヘテロアリール）、ハロアルキル、および非天然アミノ酸のハロヘテロアルキル部位などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている抗体、またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基は、アミンまたはチオール部位である。特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、すなわちシステインブリッジを有する。抗体は、DTT（ジチオスレイトール）のような還元剤で処理することにより、リンカー試薬との結合に対して反応性を持たせることができる。各システインブリッジは、理論的には2つの反応性チオール求核基を形成することになる。さらに、リジンを2-イミノチオラン（Traut試薬）と反応させ、アミンをチオールに変換することで、抗体に求核性基を導入することができる。反応性チオール基は、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上のシステイン残基を導入することによって、抗体（またはその断片）に導入することができる（例えば、1つまたはそれ以上の非天然なシステインアミノ酸残基を含む変異抗体を調製する）。米国の特許第7,521,541号は、反応性システインアミノ酸の導入による抗体のエンジニアリングを教示している。

【０３２６】

いくつかの実施形態では、リンカーに結合した反応性部位Z′は、抗体上に存在する求電子性基と反応する求核性基である。抗体上の有用な求電子性基には、アルデヒドおよびケトンのカルボニル基が含まれるが、これらに限定されない。求核性基のヘテロ原子は、抗体上の求電子性基と反応して、抗体と共有結合を形成することができる。有用な求核性基としては、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、アリールヒドラジドなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３２７】

いくつかの実施形態では、Zは、アミンおよびチオール部位など、抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性求核性置換基と、反応性求電子性置換基Z′との間の反応の産物である。例えば，Z′は，マイケルアクセプター（例えば、マレイミド）、活性化エステル、電子不足のカルボニル化合物、アルデヒドなどである。

【０３２８】

例えば，ADCの合成に適したリンカーには，限定されるものではないが，マレイミド基やハロアルキル基などの反応性置換基Z′が含まれる。これらは、サクシニミジル4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサン-L-カルボキシレート（SMCC）、N-サクシニミジルヨードアセテート（SIA）、スルホ-SMCC、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシニミジルエステル（MBS）、スルホ-MBS、およびサクシニミジルヨードアセテートなどの試薬によってリンカーに結合されてもよく、特に、例えば、Liu et al,18:690-697, 1979に記載されており、その開示内容は化学結合のためのリンカーに関するものとして参照により本明細書に組み込まれている。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、リンカーLに結合した反応性置換基Z′は、マレイミド、アジド、またはアルキンである。マレイミド含有リンカーの例は、非開裂性のマレイミドカプロイルベースのリンカーであり、これは、アウリスタチンなどの微小管破壊剤の結合に特に有用である。このようなリンカーは、Doroninaら、Bioconjugate Chem.17:14-24, 2006に記載されており、その開示内容は、化学的結合のためのリンカーに関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、反応性置換基Z′は-(C=O)-または-NH(C=O)-であり、リンカーは、-(C=O)-または-NH(C=O)-基と抗体またはその抗原結合性断片のアミノ基との反応によって生じるアミドまたは尿素部分によって、それぞれ抗体またはその抗原結合性断片に結合することができるようになっている。

【０３３１】

いくつかの実施形態では、反応性置換基は、N-マレイミジル基、ハロゲン化N-アルキルアミド基、スルホニルオキシN-アルキルアミド基、カーボネート基、ハロゲン化スルホニル基、チオール基またはその誘導体、内部炭素-炭素三重結合からなるアルキニル基、（ヘット-ゼロ）シクロアルキニル基、ビシクロ[6.1.0]non-4-yn-9-yl基、内部炭素-炭素二重結合からなるアルケニル基、シクロアルケニル基、テトラジニル基、アジド基、ホスフィン基、ニトリルオキシド基、ニトロン基、ニトリルイミン基、ジアゾ基、ケトン基。(O-アルキル）ヒドロキシルアミノ基、ヒドラジン基、ハロゲン化N-マレイミジル基、1，1-ビス（スルホニルメチル）メチルカルボニル基またはその消去誘導体、ハロゲン化カルボニル基、またはアレンアミド基であり、これらの各基は任意に置換されていてもよい。いくつかの実施形態では、反応性置換基は、シクロアルケン基、シクロアルキン基、または任意に置換された（ヘテロ）シクロアルキニル基からなる。

【０３３２】

抗体またはその抗原結合性断片上の反応性残基との反応に適した反応性置換基Z′を含むアマトキシン-リンカー複合体の非限定的な例としては、限定されないが、7'C-（4-（6-（マレイミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（6-（6-

（マレイミド）ヘキサンアミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（4-（（マレイミド）メチル）シクロヘキサンカルボニル）ピペラジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（6-（4-（（マレイミド）メチル）シクロヘキサンカルボキサミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-(4-(2-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-（4-（2-（3-カルボキシプロパンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（2-ブロモアセトアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（3-（ピリジン-2-イルスルファニル）プロパンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（4-（マレイミド）ブタンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（マレイミド）アセチル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（3-（マレイミド）プロパノイル）ピペラジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（4-（マレイミド）ブタノイル）ピペラジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（4-（（マレイミド）メチル）シクロヘキサンカルボキサミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-(3-((4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)メチル)ピロリジン-1-イル)アマトキシン；7'C-(3-（（6-((4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-（4-（2-（4-（2-（アミノオキシ）アセトアミド）ブタンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（4-（2-（アミノオキシ）アセトアミド）ブタノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（6-（2-（アミノオキシ）アセトアミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-((4-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(6-(マレイミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；(R)-7'C-（（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）メチル）-アマトキシン；（S）-7'C-（（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）メチル）-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)-S-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)-S-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((4-((マレイミド

)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(3-カルボキシプロパンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(マレイミド)アセチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(3-(マレイミド)プロパノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(4-(マレイミド)ブタノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(2-(マレイミド)アセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)ブタンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(マレイミド)ヘキサンアミド)メチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)メチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-(2-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-(((2-(6-(マレイミド)-N-メチルヘキサンアミド)エチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン；7'C-(((4-(6-(マレイミド)-N-メチルヘキサンアミド)ブチル(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン；7'C-((2-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)アジリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((2-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)アジリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(6-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(1-(アミノオキシ)-2-オキソ-6,9,12,15-テトラオキサ-3-アザヘプタデカン-17-オイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)アセチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(3-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)プロパノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ブタノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(2-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)アセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ブタンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(20-(アミノオキシ)-4,19-ジオキソ-6,9,12,15-テトラオキサ-3,18-ジアザイコシル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-(((2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)-N-メチルヘキサンアミド)エチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン;7'C-(((4-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)-N-メチルヘキサンアミド)ブチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル)-S-メチル)-アマトキシン;7'C-((3-((6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(2-ブロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(2-ブロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(3-(ピリジン-2-イルスルファニル)プロパンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；6'O-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキシル)-アマトキシン；6'O-(5-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ペンチル)-アマトキシン；6'O-(2-((6-(マレイミド)ヘキシル)オキシ)-2-オキソエチル)-アマトキシン；6'O-((6-(マレイミド)ヘキシル)カルバモイル)-アマトキシン；6'O-((6-(4-((マレイミド)

メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキシル)カルバモイル)-アマトキシン；6'O-(6-(2-ブロモアセトアミド)ヘキシル)-アマトキシン；7'C-(4-(6-(アジド)ヘキサンアミド)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(ヘキサ-5-イノイルアミノ)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；6'O-（6-（6-（11，12-ジデヒドロ-5，6-ジヒドロ-ジベンズ［b，f］アゾシン-5-イル）-6-オキソヘキサンアミド）ヘキシル）-アマトキシン；6'O-（6-（ヘキサ-5-イノイルアミノ）ヘキシル）-アマトキシン；6'O-（6-（2-（アミノオキシ）アセチルアミド）ヘキシル）-アマトキシン；6'O-（（6-アミノオキシ）ヘキシル）-アマトキシン；および6'O-（6-（2-ヨードアセトアミド）ヘキシル）-アマトキシンが挙げられる。

【０３３３】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているようなアマトキシンは、以下の式を有するリンカー反応性部分-L-Z'に結合されている。

[化７７]

【０３３４】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているようなアマトキシンは、以下の式を有するリンカー反応性部分-L-Z'に結合されている。

[化７８]

【０３３５】

本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用な前述のリンカー部位およびアマトキシン-リンカー結合体は、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号および特許出願公開第WO2017/149077号に記載されており、その各々の開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０３３６】

本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用な前述のリンカー部位およびアマトキシン-リンカー結合体は、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号および特許出願公開第WO2017/149077号に記載されており、その各々の開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０３３７】

抗体・薬物複合体の調製

本明細書に開示されている式IのADCでは、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片が、本明細書に開示されているように、リンカーLおよび化学的部分Zを介して、1つまたは複数の細胞傷害性薬物部分（D）、例えば、抗体あたり約1-約20の薬物部分に結合させることができる。本開示のADCは、当業者に知られている有機化学反応、条件、および試薬を用いて、以下のようないくつかのルートで調製することができる。(1）抗体またはその抗原結合性断片の反応性置換基を二価のリンカー試薬と反応させて、本明細書に記載されているようにAb-Z-Lを形成し、その後、薬物部分Dと反応させる、または（2）薬物部分の反応性置換基を二価のリンカー試薬と反応させてD-L-Z'を形成し、その後、本明細書に記載されているように抗体またはその抗原結合性断片の反応性置換基と反応させる。ADCを調製するための追加の方法は、本明細書に記載されている。

【０３３８】

別の態様では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、1つまたは複数のスルフヒドリル基を導入するために化学的に修飾することができる1つまたは複数のリジン残基を有する。そして、ADCは、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介した結合によって形成される。リジンの修飾に使用できる試薬には、N-サクシニミジルS-アセチルチオアセテート（SATA）および2-イミノチオラン塩酸塩（Traut's Reagent）が含まれるが、これらに限定されない。

【０３３９】

別の態様では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、1つまたは複数のスルフヒドリル基を有するように化学的に修飾され得る1つまたは複数の炭水化物基を有することができる。そして、ADCは、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介した結合によって形成される。

【０３４０】

さらに別の態様では、抗CD45抗体は、酸化されてアルデヒド（-CHO）基を提供することができる1つまたは複数の炭水化物基を有することができる（例えば、Laguzzaら、J. Med.Chem.1989, 32(3), 548-55)。その後、本明細書で上述したように、対応するアルデヒドを介した結合によってADCが形成される。細胞毒の付着または結合のためのタンパク質の修飾のための他のプロトコルは、Coliganら、Current Protocols in Protein Science、第2巻、John Wiley & Sons (2002)に記載されており、これはその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０３４１】

リンカー-薬物部位を、抗体、免疫グロブリンまたはその断片などの細胞標的タンパク質に結合させる方法は、例えば、米国特許第5,208,020号、米国特許第6,441,163号、WO2005037992号、WO2005081711号、およびWO2006/034488号に記載されており、これらはすべてリンカー全体が参照により明示的に組み込まれている。

【０３４２】

代替的に、抗体と細胞毒からなる融合タンパク質を、例えば、組換え技術やペプチド合成によって作製してもよい。DNAの長さは、結合体の2つの部分をコードするそれぞれの領域が互いに隣接しているか、または結合体の所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって分離されていてもよい。

【０３４３】

治療の方法

CD45は、造血系および免疫系全体に広く発現している重要な細胞表面分子である。本明細書には、関節炎（またはプロテオグリカン誘発性関節炎（PGIA）に代表される疾患）、自己免疫性脳炎、強皮症性移植片対宿主病、多発性硬化症、または強皮症などの自己免疫疾患の患者の治療に使用できる抗CD45抗体および抗CD45 ADCが記載されている。 さらに、現在、移植後にこれらの細胞の多能性および造血機能が維持されるように、外因性造血幹細胞移植片の生着を促進するための組成物および方法が必要とされている。本明細書に開示された組成物は、この困難な問題に対する解決策をさらに提供する。

【０３４４】

したがって、本明細書に開示されているのは、関節リウマチ（マウスモデルにおけるPGIAに代表される）、自己免疫性脳炎、1型糖尿病、または強皮症性移植片対宿主病などの様々な自己免疫疾患を治療する方法である。 本明細書に記載の組成物および方法は、（i）自己免疫細胞の集団（例えば、自己反応性T細胞）などの病理を生じさせる細胞の集団を直接枯渇させ、および／または（ii）移植された細胞が帰巣できるニッチを提供することにより、移植された造血幹細胞の生着を促進するように、内因性の造血幹細胞の集団を枯渇させることができる。 前述の作用は、内在性疾患細胞や造血幹細胞が発現する抗原を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片を投与することによって達成することができる。 疾患を直接治療する場合には、この投与により、対象となる病態を引き起こす細胞の量を減少させることができる。 また、造血幹細胞移植療法の患者を準備する場合、内在性の造血幹細胞の集団を選択的に減少させることで、骨髄などの造血組織に空洞を作り、移植された外在性の造血幹細胞で満たすことができる。 本発明は、造血幹細胞によって発現されるCD45を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片が、患者に投与されて上記の活動の両方に影響を与えることができるという発見に一部基づいている。 造血幹細胞および／または自己免疫細胞によって発現される抗原（例えば、CD45）に結合するADC、抗体、またはその抗原結合性断片は、自己免疫疾患（例えば、関節リウマチ（マウスモデルにおけるPGIAに代表される）、自己免疫性脳炎、1型糖尿病、または強皮症）に罹患している患者に投与されて、自己免疫

細胞の集団を直接枯渇させることができる。また、前記薬剤は、造血幹細胞からなる移植を受けるために患者の状態を整え、移植された造血幹細胞の生存率および生着率を促進するために、造血幹細胞移植療法を必要とする患者に投与することができる。

【０３４５】

本明細書に記載されているように、造血幹細胞移植療法は、治療を必要とする対象者（例えば、自己免疫疾患または障害）に投与され、1つまたは複数の血液細胞タイプを増殖または再増殖させることができる。 造血幹細胞は、一般的に多能性を示し、その結果、顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、血小板（例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、リンパ球（例えば、NK細胞、B細胞、T細胞）を含むがこれらに限定されない、複数の異なる血液系統に分化することができる。 造血幹細胞は、さらに自己再生能力があり、母細胞と同等の能力を持つ娘細胞を生み出すことができる。また、移植を受けた患者に再び導入され、造血幹細胞のニッチに帰巣し、生産的で持続的な造血を再構築する能力も備えている。

【０３４６】

本明細書に記載の組成物および方法は、関節リウマチ（マウスモデルにおけるPGIAに代表される）、自己免疫性脳炎、1型糖尿病、または強皮症などの自己免疫疾患の治療に使用することができる。 例えば、抗体またはその抗原結合性断片は、CD45+免疫細胞を死滅させるように、自己免疫疾患に罹患しているヒト患者などの対象者に投与することができる。 例えば、CD45+免疫細胞は、自己抗原に特異的に結合して免疫反応を起こすT細胞受容体を発現するT細胞などの自己反応性リンパ球である可能性がある。 自己反応性の、CD45+を枯渇させることにより、本明細書に記載された組成物および方法は、本明細書に記載されたものなどの自己免疫性病態を治療するために使用することができる。 さらにまたは代替として、本明細書に記載の組成物および方法は、造血幹細胞移植療法の前に内在性造血幹細胞の集団を枯渇させることによって、自己免疫疾患を治療するために使用することができ、この場合、移植細胞は、内在性細胞枯渇ステップによって作成されたニッチに帰巣し、生産的な造血を確立することができる。 この場合、移植された細胞は、内在性の細胞を除去することで形成されたニッチに移動し、生産的な造血を行うことができる。

【０３４７】

いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはADCは、第2の治療薬と組み合わせて対象者に投与することができる。

【０３４８】

本明細書に記載の組成物および方法を用いて治療することができる自己免疫疾患としては、限定されないが、PGIA、自己免疫性脳炎、強皮症、乾癬、乾癬性関節炎、1型糖尿病（1型糖尿病）、関節リウマチ（RA）、ヒト全身性エリテマトーデス(SLE)、多発性硬化症(MS)、炎症性腸疾患(IBD)、リンパ球性大腸炎、急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、アジソン病、万能脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群(APS)再生不良性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳炎（AIED）、自己免疫性リンパ増殖症候群（ALPS）、自己免疫性卵巣炎、バロ病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、シャーガス病。慢性疲労免疫機能障害症候群（CFIDS）、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、クローン病、瘢痕性天疱瘡、セリアック汗疱-疱疹状皮膚炎、寒冷凝集素病、クレスト症候群、デゴス病、円板状エリテマトーデス、自律神経失調症、子宮内膜症。本態性混合性クリオグロブリン血症、線維筋痛症、グッドパスチャー症候群、グレーブ病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、汗腺膿瘍、特発性および/または急性血小板減少性紫斑病、特発性肺線維症、IgAニューロパシー、間質性膀胱炎、若年性皮膚炎、若年性皮膚炎など。間質性膀胱炎、若年性関節炎、川崎病、扁平苔癬、ライム病、メニエール病、混合結合組織病（MCTD）、重症筋無力症、神経筋緊張症、オプソクローヌスミオクローヌス症候群（OMS）、視神経炎、オード甲状腺炎、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発性軟骨炎、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性胆汁性肝硬変、結節性多発動脈炎、多腺

症候群、リウマチ性多発筋痛、原発性アガンマグロブリン血症、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、スティッフパーソン症候群、高安動脈炎、側頭動脈炎（「巨細胞性動脈炎」としても知られる）、潰瘍性大腸炎、膠原病性大腸炎、ぶどう膜炎、血管炎、白斑、外陰部痛症（「外陰部前庭炎」）、およびウェゲナー肉芽腫症が挙げられる。 特定の実施形態では、自己免疫疾患は、関節リウマチ（マウスモデルにおけるPGIAで表される）である。 特定の実施形態では、自己免疫疾患は、炎症性関節炎である。 炎症性関節炎の非限定的な例としては、関節リウマチ、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、若年性特発性関節炎、および全身性エリテマトーデスが挙げられる。他の実施形態では、自己免疫疾患は、自己免疫性脳炎である。 さらにさらなる実施形態では、自己免疫疾患は、強皮症性移植片対宿主病である。

【０３４９】

いくつかの実施形態では、移植は同種である。 いくつかの実施形態では、移植は自家移植である。

【０３５０】

いくつかの実施形態では、移植は、骨髄移植、末梢血移植、または臍帯血移植である。

【０３５１】

いくつかの実施形態では、移植は、造血細胞（例えば、造血幹細胞）を含む。

【０３５２】

本明細書に記載のいずれかの実施形態では、移植は、任意の固体臓器または皮膚移植であってもよい。いくつかの実施形態では、移植は、腎臓移植、心臓移植、肝臓移植、膵臓移植、肺移植、腸移植および皮膚移植からなる群から選択される。

【０３５３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法は、自己免疫疾患を有する患者に免疫リセットを引き起こすのに有効である。 いくつかのそのような実施形態では、本発明の方法に従って治療を受ける自己免疫疾患を有する患者は、移植後に自己免疫疾患に対する追加の治療（例えば、慢性的な治療）を必要としない。 例えば、いくつかの実施形態では、患者は多発性硬化症を有しており、患者は、本明細書の方法に従った抗CD45 ADCによる治療および移植の後に、ナタリズマブ、フマル酸ジメチル、またはフマル酸モノメチルによる治療を必要としない。 他の実施形態では、患者は関節炎を有し、患者は、本明細書の方法に従った抗CD45 ADCおよび移植による治療の後に、TNF阻害剤（例えば、エタネルセプト、インフリキシマブ、アダリムマブ、セルトリズマブペゴル、またはゴリムマブなどの抗TNFα抗体）による治療を必要としない。 特定の実施形態では、抗CD45 ADCの単回投与は、免疫リセットを達成するのに有効である。

【０３５４】

本明細書で提供される方法に従って治療を受けた自己免疫疾患を有する患者は、いくつかの実施形態では、臨床的寛解、生化学的寛解、または組織学的寛解などの寛解に入ることができる。 例えば、いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1年、少なくとも2年、少なくとも3年、少なくとも4年、少なくとも5年、少なくとも6年、少なくとも7年、少なくとも8年、少なくとも9年、または少なくとも10年、寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1-3年、少なくとも3-5年、少なくとも5-7年、少なくとも7-9年、または少なくとも8-10年の間、寛解に入る。

【０３５５】

投与経路と投薬

本明細書に記載の抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、様々な投与形態で患者（例えば、自己免疫疾患に罹患している、または造血幹細胞移植療法を必要としているヒト患者）に投与することができる。 例えば、本明細書に記載のADCは、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液などの水溶液の形態で、自己免疫疾患に罹患している、または造血幹細胞移植療法を必要としている患者に投与することができる。本明細書に記載の組成物および方法で使用するための薬学的に許容される賦形剤には、粘度調整剤が含まれる。 水溶液は、当技術分野で知られている技術を用いて滅菌してもよ

い。

【０３５６】

いくつかの実施形態は、対象者に抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を投与することを含む。 いくつかの実施形態は、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含むADCを対象者に投与することを含む。

【０３５７】

いくつかの実施形態は、抗CD45抗体（またはその抗原結合部分）と第2の治療薬の組み合わせを対象者に投与することを含む。 いくつかの実施形態は、抗CD45抗体（またはその抗原結合部分）を含むADCと第2の治療薬との組み合わせを対象者に投与することを含む。いくつかの実施形態は、CD45および第2の抗原を特異的に結合する二重特異性抗体、その抗原結合部分、またはADCを対象者に投与することを含む。 いくつかの態様は、抗CD45抗体（またはその抗原結合部分）またはADCと2つ以上の追加の治療薬との組み合わせを対象者に投与することを含む。

【０３５８】

抗CD45抗体またはその複合体（例えば、本明細書に記載のADC）を含む製剤処方は、そのような抗体またはADCを１つまたは複数の任意の医薬的に許容される担体（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980))と混合して、凍結乾燥製剤または水溶液の形で調製される。薬学的に許容される担体は、一般的に、採用される用量および濃度において、被検者に対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、その他の有機酸などの緩衝剤、アスコルビン酸、メチオニンなどの酸化防止剤、防腐剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド、ヘキサメトニウムクロライド、ベンザルコニウムクロライド、ベンゼトニウムクロライド、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-クレゾールなど）、低分子量（約10残基以下）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タンパク質；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；グルコース、マンノース、デキストリンなどの単糖類、二糖類、その他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、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-タンパク質錯体）および/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などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【０３５９】

本明細書に記載のADCは、経口、経皮、皮下、経鼻、静脈内、筋肉内、眼内、非経口など、さまざまな経路で投与することができる。最適な投与経路は、いずれの場合も投与する特定の抗体または抗原結合性断片、患者、製剤方法、投与方法（例えば、投与時間、投与経路）、患者の年齢、体重、性別、治療する疾患の重症度、患者の食生活、および／または患者の排泄率などによって異なる。

【０３６０】

本明細書に記載されている抗体またはその抗原結合性断片の有効量は、例えば、単回（例えばボーラス）投与、複数回投与、または連続投与ごとに約0.001-約100mg/kg体重の範囲で、または抗体またはその抗原結合性断片の最適な血清濃度（例えば0.0001-5000μg/mLの血清濃度）を達成することができる。 自己免疫疾患に罹患している、または造血幹細胞移植を受けるための準備として条件付け療法を受けている対象者（例えば、ヒト）に対して、1日、1週間、または1ヶ月に1回以上（例えば、2～10回）投与してもよい。

【０３６１】

特定の実施形態では、抗CD45抗体またはADCは、単回用量として患者に投与される。他の実施形態では、抗CD45抗体またはADCは、抗CD45抗体またはADCの用量が分割され、間隔を空けて対象者に投与される、分割投与法として患者に投与される。 例えば、

分割投与レジメンでは、抗CD45抗体またはADCの用量を2、3、4、5、6、7、8、9、または10の分画に分割することができ、各分画は間隔を空けて対象者に投与される。いくつかの実施形態では、1時間、3時間、6時間、9時間、12時間、15時間、18時間、21時間、24時間、36時間、48時間、72時間、96時間、120時間、1週間、1.5週間、2週間、2.5週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、または8週間の間隔を空ける。一実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体またはADCは、2つの分画が患者に投与される分割用量として患者に投与される。 一実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体またはADCは、分割用量として患者に投与され、その際、3つの分画が患者に投与される。

【0362】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される本明細書に記載の抗体またはADCの用量は、約0.001mg/kg～10mg/kg、約0.01mg/kg～9.5mg/kg、約0.1mg/kg～9mg/kg、約0.1mg/kg～8.5mg/kg、約0.1mg/kg～8mg/kg、約0.1mg/kg～7.5mg/kg、約0.1mg/kg～7mg/kg、約0.1mg/kg～6.5mg/kg、約0.1mg/kg～6mg/kg、約0.1mg/kg-5.5mg/kg、約0.1mg/kg-5mg/kg、約0.1mg/kg-4.5mg/kg、約0.1mg/kg-4mg/kg、約0.5mg/kg-3.5mg/kg、約0.5mg/kg-3mg/kg、約1mg/kg-10mg/kg、約1mg/kg-9mg/kg、約1mg/kg-8mg/kg、約1mg/kg-7mg/kg、約1mg/kg-6mg/kg、約1mg/kg-5mg/kg、約1mg/kg-4mg/kg、または約1mg/kg-3mg/kgである。

【0363】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約0.1mg/kg～約0.3mg/kgである。

【0364】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約0.15mg/kg～約0.3mg/kgである。

【0365】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約0.15mg/kg～約0.25mg/kgである。

【0366】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体または投与量は、約0.2mg/kg～約0.3mg/kgである。

【0367】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約0.25mg/kg～約0.3mg/kgである。

【0368】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約1mg/kg～約3mg/kgである。

【0369】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約0.1mg/kgである。

【0370】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約0.2mg/kgである。

【0371】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約0.3mg/kgである。

【0372】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約1mg/kgである。

【0373】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約2mg/kgである。

【０３７４】

いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはADCの用量は、約3mg/kgである。

【０３７５】

造血幹細胞移植の前に条件付け処置を行う場合、抗体またはその抗原結合性断片は、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進する時間に患者に投与することができ、例えば、1時間から1週間（例えば1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日）またはそれ以上前に、外因性造血幹細胞移植を行うことができる。

【０３７６】

本明細書で開示されている方法を用いて、当業者の医師であれば、造血幹細胞が発現するCD45を結合することができるADC、抗体またはその抗原結合性断片を、造血幹細胞移植療法を必要とするヒト患者に投与することができる。 この方法では、造血幹細胞移植片の生着を促進するために、外因性造血幹細胞移植片の投与に先立って、内因性造血幹細胞の集団を枯渇させることができる。 抗体は、本明細書に記載されている、または当技術分野で知られている細胞毒性分子などの毒素に共有結合していてもよい。 例えば、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、細胞毒素、例えば、シュードモナスエキソトキシンA、デブーガニン、ジフテリア毒素、アマトキシン、例えば、α-アマニチン、β-アマニチン、サポリン、メイタンシン、メイタンシノイド、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリキアミシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらの変異体などがある。 この結合は、本明細書に記載された、または当技術分野で既知の共有結合形成技術を用いて行うことができる。続いて、抗体、その抗原結合性断片、または薬物-抗体複合体は、患者への外因性造血幹細胞（自家、交配、または同種の造血幹細胞など）の移植に先立って、例えば静脈内投与によって患者に投与することができる。

【０３７７】

抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、造血幹細胞移植療法の前に、内在性の造血幹細胞の量を、例えば、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与することができる。造血幹細胞数の減少は、条件付け療法中に様々な間隔で患者から採取した血液サンプル中の特徴的な造血幹細胞表面抗原を発現する細胞のFACS分析など、当技術分野で知られている従来の技術を用いてモニターすることができる。 例えば、当業者の医師であれば、条件付け療法中の様々な時点で患者から血液サンプルを採取し、造血幹細胞マーカー抗原に結合する抗体を用いてサンプル中の造血幹細胞の相対的な濃度を解明するFACS分析を行うことにより、内因性造血幹細胞の減少の程度を判定することができる。 いくつかの実施形態によれば、抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCを用いた条件付け療法に応答して造血幹細胞の濃度が最小値に達した場合、医師は条件付け療法を終了し、造血幹細胞移植療法のために患者の準備を開始してもよい。

【０３７８】

抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、粘度調整剤などの1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液で患者に投与することができる。 水溶液は、本明細書に記載されている技術または当技術分野で知られている技術を用いて滅菌してもよい。 本発明の抗体、その抗原結合性断片、または薬物-抗体複合体は、患者に造血幹細胞移植片の投与を行う前に、例えば、0.001mg/kg～100mg/kgの用量で患者に投与することができる。 抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進する時間に患者に投与することができ、例えば、1時間から1週

間（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日）またはそれ以上前に、外因性造血幹細胞の移植を行うことができる。

【０３７９】

条件付け療法の終了後、患者は、条件付け療法を行ったのと同じ医師または別の医師などから、外因性造血幹細胞の点滴（例えば、点滴静注）を受けることができる。 医師は、例えば、1×10^3～1×10^9個の造血幹細胞／kgの投与量で、自家、交配、または同種の造血幹細胞の点滴を患者に投与してもよい。 医師は、例えば、造血幹細胞移植の生着をモニターすることができ、患者から血液サンプルを採取し、造血幹細胞または造血系の細胞（巨核球、血小板、赤血球、マスト細胞、骨髄芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、Bリンパ球など）の濃度が、移植後に増加するかどうかを判定する。この分析は、例えば、造血幹細胞移植療法後、1時間から6ヶ月、またはそれ以上の期間（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、13週間、14週間、15週間、16週間、17週間、18週間、19週間、20週間、21週間、22週間、23週間、24週間、またはそれ以上）に実施することができる。造血幹細胞または造血系の細胞の濃度が移植治療前の対応する細胞タイプの濃度と比較して、移植治療後に造血幹細胞または造血系細胞の濃度が増加（例えば、1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、100％、200％、500％、またはそれ以上）したという知見は、抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片、またはADCによる治療が、移植された造血幹細胞移植片の生着を促進することに成功したことを示す1つの指標となる。

【０３８０】

抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCの投与による造血幹細胞移植の生着は、様々な経験的な測定で明らかにすることができる。 例えば、移植された造血幹細胞の生着は、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片を投与した後および造血幹細胞移植を投与した後に、患者の骨髄内に存在する競合的再増殖ユニット（CRU）の量を評価することによって評価することができる。 さらに、ドナーの造血幹細胞を遺伝子導入し、その後、造血幹細胞がホーミングした、骨髄などの組織における対応するシグナルをモニタリングしたベクターに、蛍光、発色、または発光をもたらす化学反応を触媒する酵素などのレポーター遺伝子を組み込み、造血幹細胞移植の生着を観察することができる。 また、当技術分野で知られている蛍光標識細胞分取（FACS）分析方法によって決定されるように、例えば、造血幹細胞および前駆細胞の量および生存率を評価することによって、造血幹細胞の移植を観察することができる。 また、移植後の期間に末梢血中の白血球数を測定すること、および／または骨髄吸引サンプル中のドナー細胞による骨髄細胞の回復を測定することによっても、移植を決定することができる。

【実施例】

【０３８１】

以下の例は、本明細書に記載された組成物および方法がどのように使用され、作られ、評価されるかを当業者に提供するために提示されたものであり、本発明を純粋に例示することを意図しており、本発明者らがその発明とみなす範囲を限定することを意図していない。

【０３８２】

（実施例1）抗CD45 ADCは類遺伝子性移植のためのマウスを条件付けることに成功した

自家HSC移植に伴う課題を解決するために、CD45を標的とした抗体薬物複合体（ADC）が開発され、標的は、自己免疫疾患における自家移植に先立ち、骨髄とリンパの同時

除去を可能にした造血系全体に発現している。この戦略のモデルとして、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）を結合させた抗CD45抗体を含む抗マウスCD45-ADCを開発し、マウスに単回投与することで完全な骨髄破壊を達成した。

【０３８３】

C57BL/6（CD45.2）およびC57BL/6（CD45.1）マウスをJackson Laboratories社から購入した。 C57BL/6（CD45.2）マウスは、移植の48時間前に、抗マウスCD45-ADC（0.3、1、3 mg/kg）またはIsotype-ADC（PBDに結合したアイソタイプ対照mAb）（3 mg/kg）を単回静脈内投与して条件付けした（試験デザインの描写については、図1Aを参照されたい）。従来の条件付け陽性対照として、移植の24時間前に5GyのTBIを使用した。 条件付けされたマウスに、プールされたC57BL/6 CD45.1類遺伝子性のドナーから採取した2×10^7個の全骨髄細胞を移植し、16週間にわたってキメラ現象を評価した。 4週目、8週目、12週目、16週目に末梢血を採取し、フローサイトメトリーで評価した。

【０３８４】

図1Bに示すように、CD45-ADCを用いた条件付けでは、用量反応性ドナーのキメラ現象が観察された。 CD45-ADCを用いた条件付けでは、16週間の時間経過の中で、用量反応性ドナーの骨髄系、B細胞、T細胞が観察された（図1C-1E）。 これらの結果は、抗CD45-ADC(3mg/kg, iv, 単回用量)による条件付けが、類遺伝子性移植後の完全なドナーキメラ現象を可能にすることを示している。

【０３８５】

（実施例2）抗CD45-ADCは、生体外での増殖中のT細胞を優先的に殺傷する

マウスPBMCにプレート結合αCD3クローン145-2C11Cを培養し、マウスT細胞の生存と増殖を促進した。T細胞は、抗マウスCD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）またはアイソタイプ-ADCを用いて培養し、総T細胞数および増殖している（Ki67+）T細胞の割合を評価した。

【０３８６】

図2Aに示すように、抗マウスCD45-ADC（対Isotype-ADC）処理は、T細胞の数を実質的に減少させる。 図2Bに示すように、Isotype-ADCと比較して、抗マウスCD45-ADCの投与量を増加させると、増殖するT細胞（Ki67+）は用量反応性の減少があった。 これらの結果は、生体外での、抗マウスCD45-ADCが、循環しているネズミのT細胞を優先的に死滅させることを示している。

【０３８７】

（実施例3）抗CD45-ADCは、scGvDHの生体内でのモデルにおいて、増殖中のT細胞を優先的に死滅させる

次に、抗CD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を、全身性硬化症として知られる強皮症の移植片対宿主病（scGVHD）モデルで評価した。

【０３８８】

DBA/2およびBalb/c (CD45.1)マウスはJackson Laboratories社から購入した。Balb/c (CD45.1)マウスは、DBA/2 (CD45.2)の脾細胞を同種の養子細胞移入する24時間前に、6.5Gyの全身照射(TBI)で条件付けした（図3Aの試験デザインを参照されたい）。

【０３８９】

宿主動物（CD45.1+）には、scGvHD（CD45.2+細胞）の開始から7日後に、抗マウスCD45-ADC、またはアイソタイプ-ADCを単回静脈内投与（3mg/kg）した。動物は開始後12日目（ADC投与後5日目）に安楽死させた。組織（血液、脾臓）を、同種細胞、T細胞、および増殖T細胞について分析した（図3Bおよび図3C）。 図3Dおよび図3Eに示すように、脾臓または末梢血におけるCD45-ADC処理では、イソタイプ-ADCと比較して、より大きなT細胞の枯渇が観察された。 これらの結果から、CD45-ADCはIsotype-ADCと比較して、より多くの割合の増殖中の同種T細胞を選択的に枯渇させることが示された。

【０３９０】
（実施例4）全身照射（TBI）により可能となった、類遺伝子性の移植後のマウスEAE疾患の一過性の改善。
次に、自己免疫疾患のマウス実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデルを評価した。EAEモデルでは、全身照射（TBI）による条件付けが試された。
【０３９１】
実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデル：C57BL/6(CD45.2)マウスにMOG35-55ペプチドを完全フロイントアジュバントで誘導した後、MOG35-55投与4時間後、およびPTXの初回投与24時間後に百日咳毒素(PTX)を投与した。発病は誘導後9-12日頃であった。EAE導入後80日間、1日2回、動物をスコア化した。EAE臨床スコアリングスケール：1-尻尾；2-後肢の一部の麻痺；3-後肢の完全な麻痺；4-後肢の完全な麻痺と前肢の一部の麻痺；5-モリブンドバインド。動物は4の2連続スコアで安楽死させた。 組織（末梢血、リンパ節）の末端分析は、再発したEAEマウスのキメラと免疫成分を決定するために評価した。リンパ節細胞をPMS／イオノマイシン（50ng／mL）およびブレフェルジンA（1μg／mL）で刺激した（S）、または刺激しなかった（NS）ことにより、T細胞のキメラ現象（ドナー、宿主）およびIL-17産生を評価した。
【０３９２】
動物は、EAE誘導後8日目、13日目に9GyのTBIを行い、条件付けした。条件付けされたマウスには、TBI後24時間に10^7個のドナー細胞が移植された。このデータは、低い臨床スコアで移植が行われた場合、一過性の疾患改善または疾患進行の遅延の相関関係を示している（図4A）。また、データは移植後4週目には完全なドナーキメラ現象が達成され、8週目まで維持されたことも示した（図4B）。図4Cおよび図4Dは、対照マウス（移植なし）と治療マウス（BMT9日目）から採取した末梢血（図4C）およびリンパ節（図4D）中の宿主細胞とドナー細胞の比較を示している。 末梢血またはリンパ節中の全細胞およびドナーT細胞の90％以上を末端分析したところ、95％以上のドナーキメラ現象が観察された。IL-17は炎症性サイトカインであり、EAEの発症に重要な役割を果たしている。リンパ節に残った宿主IL-17産生CD4 T細胞は、病気の再発を促す可能性がある。
【０３９３】
要約すると、以上の結果から、EAEモデルでは、放射線照射（9Gy）による条件付けを行った後に、類遺伝子性の移植を行うことで、疾患の一過性の改善4が示された。
【０３９４】
（実施例5）CD45を標的としたADCの単回投与により、自己移植を安全に条件付けし、自己免疫疾患の複数のモデルにおいて疾患を改善する
。
以下の実施例では、自己移植のための抗CD45 ADCの単回投与の使用を説明しており、抗CD45 ADCは、自己免疫疾患の多数のマウスモデルにおける疾患を改善した。
【０３９５】
自己HSC移植に伴う課題に対処するため、CD45を選択的に標的とする抗体薬物複合体（ADC）を試験し、抗CD45 ADCが自己免疫細胞を根絶し、自己免疫疾患患者の1回限りの治癒可能な治療法として自己HSCTを可能にするかどうかを検討した。
【０３９６】
この手法をマウスでモデル化するために、マウスCD45を標的としたADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を、マウスの類遺伝子性移植のための単一の調整剤として作成した。 このマウスCD45 ADCは、マウスCD45のCD45.2アイソフォームを特異的に標的とし、エフェクター機能を排除し、リンカーペイロードを部位特異的に結合できるように設計されており、速やかにクリアされる。 このマウスツールADCのペイロードは強力で、分裂している細胞を優先的に殺傷する。この抗マウスCD45 ADCは、マウスの類遺伝子性移植モデルにおいて、単回のミ骨髄破壊用量の後にレシピエントを条件付けする能力を評価した。 さらにこのADCは、MOG誘発性実験的自己免疫脳炎（EAE：多発性

硬化症（ＭＳ）のマウスモデル）、プロテオグリカン誘発性関節炎（ＰＧＩＡ）、１型糖尿病、強皮症性移植片対宿主病（ｓｃＧＶＨＤ）など、複数の自己免疫疾患のマウスモデルにおいて、病原性宿主反応性細胞を除去し、レシピエントの免疫リセットを可能にする能力を評価した。

【０３９７】

マウスモデルでＥＡＥを誘発するために、Ｃ５７ＢＬ/６（ＣＤ４５.２+）マウスに完全フロイントアジュバント中のＭＯＧペプチドを誘導し、その後、百日咳毒素（ＰＴＸ）を投与した。免疫化したマウスは、免疫後５日目にＣＤ４５.１+の類遺伝子性の移植（Ｂ６.ＳＪＬドナー）のための条件付けを行い、条件付けから４８時間後に移植した。 試験デザインの模式図を図５Ａに示す。

【０３９８】

ツール抗マウスＣＤ４５-ＡＤＣを３ｍｇ/ｋｇ単回投与することで、レシピエントマウスの完全な骨髄破壊が達成され、完全なドナーキメラ現象が可能となった（類遺伝子性マウスの移植モデルでは、ＬＴ-ＨＳＣｓ（Ｌｉｎ-Ｋｉｔ+Ｓｃａ-１+ＣＤ１５０+ＣＤ４８-）の９９％以上の枯渇）。移植を受けていないマウスは、造血不全が予想されたため、投与から約１２日後に安楽死させた。 移植されたマウスは、類遺伝子性のＢＭＴで完全な生着を達成した（１６週目で９０％以上のキメラ現象）。特に、組織（骨髄、末梢血、脾臓、リンパ節）の末端分析では、ＣＤ４５-ＡＤＣによる条件付けで完全なドナーキメラ現象が可能になったことが示された（図５Ｂ）。 ＡＤＣの疾患修飾効果は、宿主の脾臓Ｔ細胞全般（図５Ｃ）、および脾臓のＩＬ-１７Ａ産生エフェクター細胞（図５Ｄ）の減少と関連していた。

【０３９９】

ＥＡＥでは、発症前にＣＤ４５-ＡＤＣを骨髄破壊用量で条件付けした後、類遺伝子性移植を行うことで、完全なドナーキメラ現象が得られ、疾患の発症が有意に遅延し（発症までの平均時間３８日）、全体的な疾患の重症度が低下し、疾患の発症率も低下した（３/１２、２５％）（図５Ｅおよび５Ｇ）。 一方、溶媒またはＣＤ４５抗体で処理した動物では、疾患の発症は導入後９-１２日程度であった（図５Ｅおよび５Ｇ）。

【０４００】

図５Ｅは、１ｍｇ/ｋｇのＣＤ４５-ＡＤＣで処理して２１日目に発症し、ピーク時の疾患スコアは２.１であり、３ｍｇ/ｋｇのＣＤ４５-ＡＤＣ+ＢＭＴで処理して４２日目に発症し、ピーク時の疾患スコアは０.７５であり、溶媒処理マウスでは１１日目に発症し、ピーク時の疾患スコアは３.１であった。 図５Ｇは、３ｍｇ/ｋｇ ＣＤ４５-ＡＤＣ + ＢＭＴによる治療に関して同様の所見を示し、さらにアイソタイプ-ＡＤＣまたは裸のＣＤ４５抗体による治療の効果を示す。 アイソタイプ-ＡＤＣで処理した動物では、ドナーキメリズムおよび疾患修飾に対する実質的な効果はあまり見られなかったが（疾患発症まで２８日、発症率５/１２（４０％））、この結果は、免疫モデルにおいて急速に分裂する細胞に対するマウスＡＤＣペイロードのプラットフォーム毒性が知られていることと一致している。 図５Ｇの各治療群におけるＥＡＥ発症までの平均時間および疾患発生率を表３にまとめた。

【０４０１】

[表３]

【０４０２】

活動性のＥＡＥにおいて、１０日目または１３日目に抗マウスＣＤ４５-ＡＤＣを３ｍｇ/ｋｇ投与した後、類遺伝子性移植を行うことにより、疾患活動性の進行が停止した（図５Ｆ、治療時の疾患スコアからの上昇は見られず、ピーク時の疾患スコアはそれぞれ０.７５および２.３であった）。 ＣＤ４５-ＡＤＣを１３日目に処置して類遺伝子性移植で観察された効果は、臨床的に検証された標準治療であるＦＴＹ-７２０（ジレニアと同等のＳ１Ｐ１アンタゴニストとして承認されている）を１３日目に投与することで得られた効果と同等であり、ＦＴＹ-７２０もピークスコア２.３で疾患を停止させた。

【０４０３】

今回の研究では、マウスに９ＧｙのＴＢＩを行い、９日目に類遺伝子性のＢＭＴを行った先行研究と比較して、疾患の対照が良好であった。 これらのデータは、ＣＤ４５-ＡＤＣを用い

た条件付けの後に同種移植を行うことで、免疫リセットに効果があり、EAEモデルの疾患が改善されることを示している。 特に、抗マウスCD45条件付けによる免疫リセットは、子孫移植を可能にし、EAE発症を遅らせ、EAE発症率を低下させ、生体内での疾患を媒介するエフェクターT細胞を死滅させた。 さらに、抗マウスCD45-ADC条件付けによるEAEの疾患修飾効果は、臨床的に有効な条件付け療法と同等の効果を示した。

【０４０４】

これらの前臨床データを活用するために、非ヒト霊長類（NHP）と交差反応する抗ヒトCD45 ADCが開発された。 ヒトを標的としたCD45 ADCは、すべてのヒトCD45アイソフォームに存在するエピトープを標的とする親和性成熟mAbを含み、NHPのCD45と交差反応し、静止期および循環期の細胞を効率的に死滅させるペイロードであるamatoxinと結合している。 このADCは、Fcを介したエフェクター機能を排除し、リンカーとペイロードを部位特異的に結合させ、迅速なクリアランスを可能にするように設計されている。 ヒト化NSG（hNSG）マウスおよびNHPを用いて、生体外でのおよび生体内での造血細胞および免疫細胞を枯渇させる能力を評価した。

【０４０５】

抗ヒトCD45-ADCは、ヒトBMのCD34+細胞（EC50 2.44 x 10^{-9} M）、正常なドナーの末梢性CD3+細胞（EC50 7.6 x 10^{-10} M）およびMS患者の末梢性CD3+細胞（EC50 1.5 x 10^{-10} M）を効率よく死滅させた（Fig.5H）。 さらに、抗ヒトCD45-ADCは、生体外において、ヒトおよびカニクイザルのPBMC（Fig.6Aおよび6B）、ヒトCD34+CD90+細胞（図6C）を強力に殺傷した。抗ヒトCD45-アマトキシンADCは、ヒトCD34+CD90+ヒト幹細胞を強力に殺傷する（図6D）。代表的な実験で得られたCD45-ADC媒介による殺傷のEC_{50}値を表4にまとめた。 これらの結果から、抗ヒトCD45-ADCは、生体外において、健常人およびMS患者のCD34+造血幹細胞および前駆細胞（HSPC）、CD3+ T細胞を含む、ヒトおよびカイノの初代造血細胞タイプを強力に殺傷することがわかった。

【０４０６】

hNSGにおける生体内では、CD45-ADCの単回投与は忍容性が高く、ヒト細胞の実質的な（95％以上の）枯渇をもたらした（実施例8も参照）。 CD45-ADCの単回投与により、ヒト化NSGマウスの末梢（図6E）および骨髄（図6F、6G、6H、6I）において、ヒト造血由来の細胞が用量依存的に枯渇した。

【０４０７】

[表4]

【０４０８】

NHPでは、抗ヒトCD45-ADCの単回投与により、末梢リンパ球が90％以上減少し（図7Aおよび7B）、造血幹細胞（HSC）が80％以上減少した（図7Cおよび7D）。 また、単回投与の抗ヒトCD45-ADCが免疫細胞の枯渇をもたらすことを示す図7G、および単回投与の抗ヒトCD45-ADCがCD34+CD90+CD45RA- HSCの枯渇をもたらすことを示す図7Hも参照されたい。 さらに、図7Eおよび7Fに示すように、アラニントランスアミナーゼ（ALT）、総ビリルビン（TBIL）、アルカリホスファターゼ（ALP）、およびアスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST）の臨床化学値は、抗ヒトCD45-ADCの単回投与がNHPにおいて良好な忍容性を示している。 また、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、アルブミン、血中尿素窒素（BUN）、クレアチニン、グルコース、プロトロンビン（PT）などの臨床化学値にも変化は認められなかった。

【０４０９】

これらの結果は、CD45-ADCの単回投与による標的免疫枯渇は、自己造血幹細胞移植に十分であり、免疫リセットと免疫寛容の再確立を可能にすることを示唆している。 ターゲットCD45-ADCは、自己造血幹細胞移植による免疫リセットの前に患者を条件付けするための、より安全で忍容性の高いアプローチであり、現在の条件付けプロトコルに伴う副作用を大幅に軽減する可能性がある。

【０４１０】

（実施例6）マウスCD45-ADCで処理すると、休眠中のT細胞が同種の反応を起こせなくなる

B6マウス（H-2^{b}）に溶媒、Isotype-ADC、またはCD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を投与した。 7日後、脾臓細胞を単離し、CellTrace Violetで標識し、ナイーブで免疫不全のNSG宿主（H-2 g^{7}, H-2^{d} ）に養子移植した。 移植後さまざまな時期に末梢血（d2およびd7）および脾臓（d7）から細胞を分離し、CTV染色強度（図8A）、移植後の日数に応じた末梢血中のT細胞の絶対数（図8B）、および移植後7日目の脾臓中のT細胞の絶対数（図8C）を評価した。

【０４１１】

図8A-8Cに示すように、未処理またはアイソタイプADC処理マウスのT細胞は、免疫不全の同種移植レシピエントに養子移植した後、増殖して蓄積するが、CD45-ADC処理マウスのT細胞は増殖できなかった。 これらの結果は、マウスのCD45-ADCを処理すると、休眠状態のT細胞が同種移植の反応を起こすことができなくなることを示している。

【０４１２】

これらの結果から、抗マウスツールCD45-ADCは、自己免疫疾患のマウスモデルにおいて、(a)生体内での増殖中の同種T細胞を休眠中のT細胞に比べて優先的に死滅させ（実施例3参照）、(b)残りのT細胞を同種反応を起こせないようにするという、二重の作用機序を持つことが明らかになった。 これらの結果から、CD45-ADCは、CD45^{+}エフェクター細胞の標的除去および中和を媒介することが立証された。

【０４１３】

（実施例7）抗マウスCD45-ADC条件付けおよびBMT後の免疫リセットは、関節リウマチのマウスモデルにおける疾患を改善する。

関節リウマチのマウスモデルであるマウスプロテオグリカン誘発関節炎(PGIA)において、骨髄移植前に抗マウスCD45-ADC(PBDに結合した抗CD45 mAb)による条件付けを評価した。 図9Aに示すように、Balb/cマウス（CD45.2+）に、組換えヒトコアG1アグリカン（2mg DDA中60μg）を3回免疫した（試験日0、21、42）。 最終免疫後11日目（試験53日目）に動物を処置し、条件付けした動物を48時間後にBalb/cのCD45.1+類遺伝子性のBMに移植した。 マウスTNFαに対する中和モノクローナル抗体で処置した動物は、試験日53日目から毎週500μg／マウスをIP投与した。

【０４１４】

図9Bおよび9Cに示すように、Isotype-ADCではなく、CD45-ADCを2mg/kgで処理することにより、移植後3週間で末梢血（図9B）および骨髄（図8C）における完全な類遺伝子性のドナーキメラ現象が可能となった。 GlanttとMikecz（Methods in Molecular Medicine, Vol.102 (17):313-338）によって開発されたモデルのための臨床スコアリングシステムを用いて、動物をスコアリングし、対照およびCD45-ADC処理した動物の例を図9Dに示した。 処置群の経時的なスコアを図9Eに示す。

【０４１５】

PGIAモデルでは、CD45-ADCとBMTによる治療介入（3回目のrd免疫後11日目）により、臨床的に有効なTNFα中和療法と同様に疾患の進行が停止した。 これらの結果から、CD45-ADCによる治療的介入は、関節リウマチのマウスモデルにおいて、先天性BMTによる免疫リセットを可能にし、疾患の進行を止めることができることが示された。

【０４１６】

（実施例8）抗ヒトCD45-ADCは、エフェクター細胞を排除し、xenoGVHDの強皮症様モデルにおける疾患を軽減する。

本研究では、抗ヒトCD45 ADC（アマトキシンに結合した抗CD45 mAb）を用いて、ヒト化NSG（hNSG）マウスの生体内での造血細胞および免疫細胞を枯渇させる能力を評価した。ヒトPBMCの養子移植後、皮膚病変を伴う慢性のxenoGVHDを発症したhNSGマウスに、アイソタイプADCまたは抗ヒトCD45を標的とするADCを単回投与した。抗ヒトCD45-ADCの単回投与は忍容性が高く、周辺部のヒト造血細胞（図10A）およびBMの前駆細胞（図10Bおよび10C）を除去した。選択した動物の画像で図10Dに示すよ

うに、治療後14日目にCD45-ADCを投与した動物では、皮膚病理の明確な解決と毛髪の再生が見られたが、isotype-ADCを投与した動物では改善が見られなかった。 皮膚病変の大きさと症状に基づく動物の臨床スコアを図10Eにまとめた。isotype-ADC処理群のトップスコアの動物は、その症状のために14日目に安楽死させなければならなかった。 さらに、抗ヒトCD45 ADCで処理した動物では、末梢のヒトT細胞の持続的な枯渇が達成された（図10F）。

【０４１７】

実施例5および図5Hに記載されているように、生体外でのCD45-ADCは、健康なドナー(EC50 7.6 x10^{-10}M)およびMS患者(EC50 1.5 x10 $^{-10}$M)からのヒト末梢CD3^{+}細胞を効率的に殺傷することを示した。本実施例では、生体内において、hNSGにCD45-ADCを単回投与しても忍容性が高く、リンパ球と造血幹細胞（HSCs）の両方を実質的に枯渇させることができることを示した。CD45-ADCを単回投与すると、Iso-ADCではなく、病気の原因となるT細胞が除去され、強皮症様の慢性xenoGVHDモデルの臨床症状が回復した。 以上の結果から、抗ヒトCD45 ADCを単回投与することにより、hNSGマウスの強皮症様XenoGVHDモデルにおいて、ヒトエフェクター細胞の排除と疾患の改善がもたらされることが示された。

【０４１８】

（実施例9）CD45-ADCの単回投与と類遺伝子性の造血幹細胞による治療は、I型糖尿病の養子移植モデルにおける疾患予防につながる。

CD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を単回投与した後に、類遺伝子性の造血幹細胞を移植する条件付けを、I型糖尿病の適応移入マウスモデルで評価した。

【０４１９】

RIP-OVA/OT-I/IIシステムを利用した本研究のデザインを、図11Aおよび表5にまとめた。 RIP-OVAマウスは、膵臓のβ-islet細胞にニワトリの卵白を発現させたB6マウスである。 中枢と末梢の寛容メカニズムが組み合わさり、適応免疫系がOVAを自己として認識するようになる。 OT-I (MHC I-restricted) とOT-II (MHC II restricted) は、OVAのエピトープを特異的に認識する2つのTCR Tg系統である。 これらはB6バックグラウンドで維持されている。

【０４２０】

OT-I および OT-II を RIP-OVA マウスに養子移植すると，β島細胞が破壊され，糖尿病が発症した． 糖尿病の発症は血糖値でモニターした（尾静脈Nick to test on strips; glucose 〉14.3 mmol/L）．マウスはこのモデルでは、CD8+ OT-I細胞の移入から5-12日後に糖尿病になった（250mg/dLを2回連続して測定、Drujont PLoS One 2014）。 養子移植後6日目にマウスの皮を剥いだ（n=4/治療）。 末梢血、脾臓、dLN、膵臓を対象にVβ5、Vα2のフローサイトメトリーを行い、移入細胞を測定した。 その後、マウス（n=6マウス／グループ）に、治療の2日後にB6 CD45.1の細胞を2×10^{7}個移植した。 体重、BCS、血糖値2x 週をエンドポイントとして測定した。

【０４２１】

[表5]

【０４２２】

RIP-OVAマウスに、溶媒対照、抗Thy1.2（500ug）、9GyのTBI、1mg/kgまたは3mg/kgのIsotype-ADC（Iso-PBD）、または1mg/kgまたは3mg/kgのCD45-ADC（CD45-PBD）のいずれかを投与した。 図11Bに示すように、溶媒投与マウスの糖尿病発症率は、移植後4週目まで約40％であった。 対照的に、1または3mg/kgのCD45-ADCによる治療後に糖尿病を発症したマウスは6匹中0匹であった。 これらの結果は、I型糖尿病の養子縁組モデルにおいて、CD45-ADCの単回投与と類遺伝子性の造血幹細胞の移植による治療が疾病予防につながることを示している。

[表6]

【０４２３】

その他の実施形態

本明細書中で言及されているすべての出版物、特許、および特許出願は、それぞれの独立した出版物または特許出願が参照により組み込まれることが明確かつ個別に示されている場合と同じ程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【０４２４】

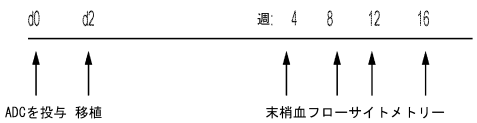
本発明をその具体的な実施形態に関連して説明してきたが、本発明はさらなる変更が可能であることが理解されよう。本出願は、一般的に本発明の原理に従った本発明のあらゆる変形、使用、または適応を対象とすることを意図しており、本発明が属する技術分野における既知のまたは慣習的な実施の範囲内にあり、本明細書に記載された本質的な特徴に適用することができる本発明からのあらゆる逸脱を含み、特許請求の範囲に従うものである。

【０４２５】

その他の実施形態は、特許請求の範囲内である。

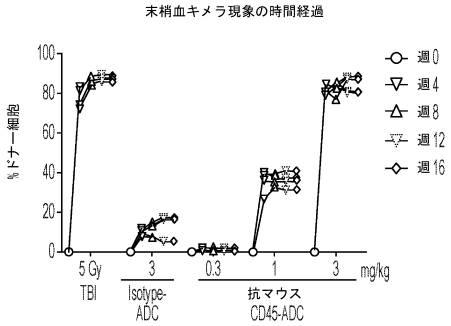
【図面】

【図１Ａ】



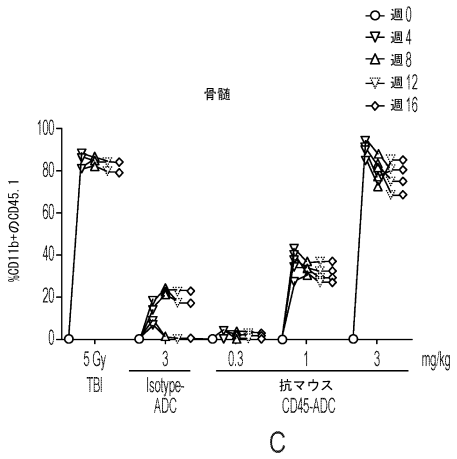
A

【図１Ｂ】



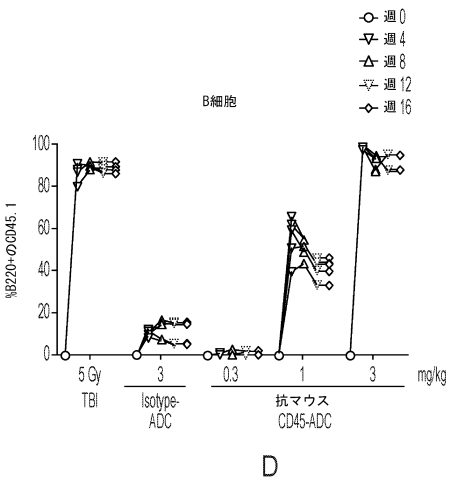
B

【図１Ｃ】



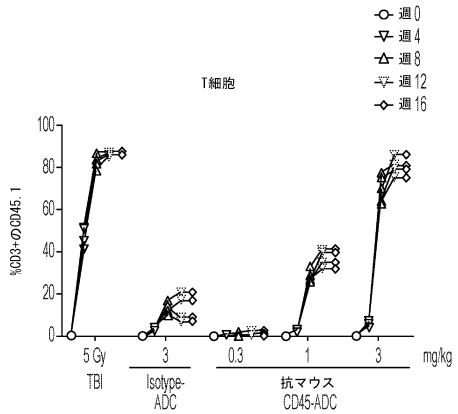
C

【図１Ｄ】



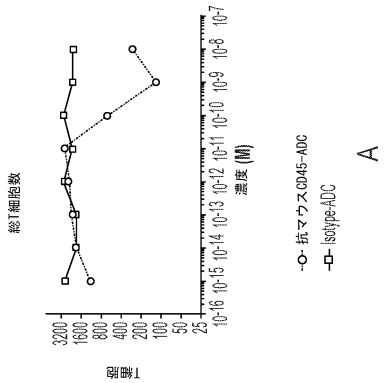
D

【図１Ｅ】



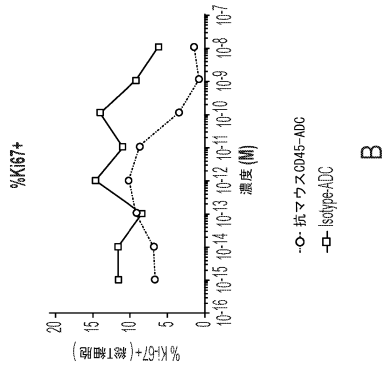
E

【図２Ａ】

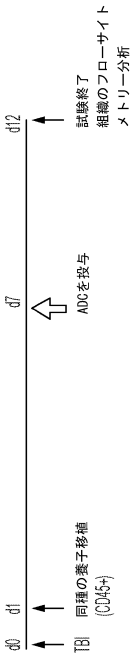


A

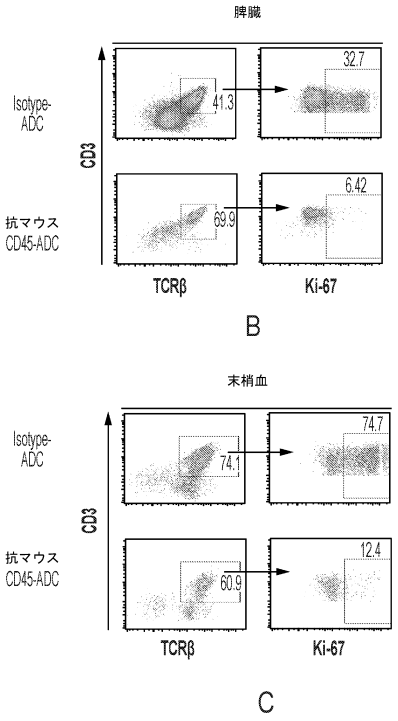
【図２Ｂ】



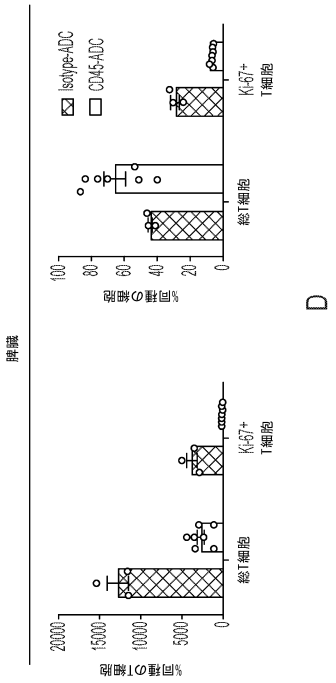
【図３－１】



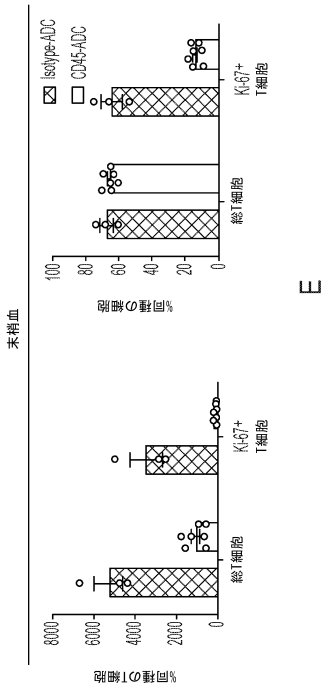
【図３－２】



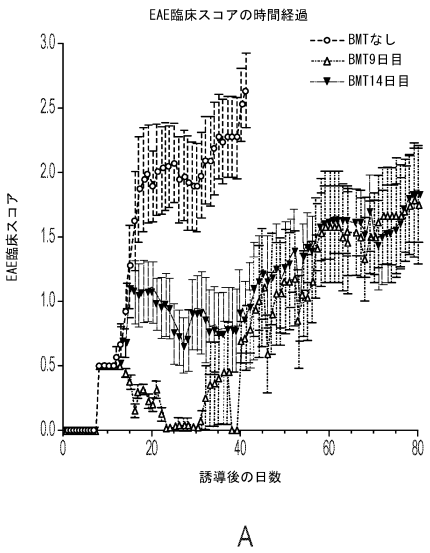
【図３－３】



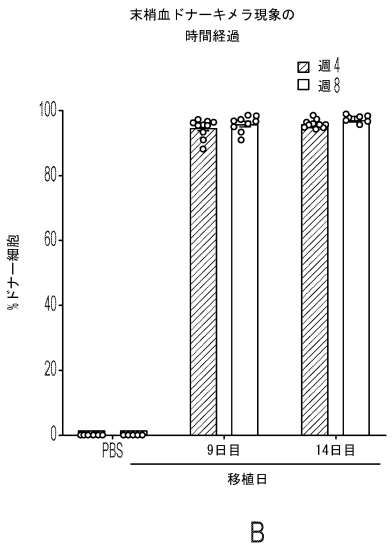
【図３－４】



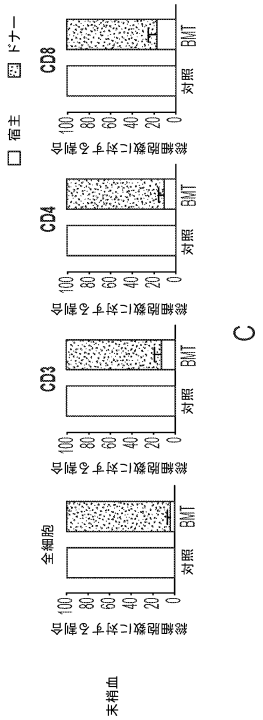
【図４Ａ】



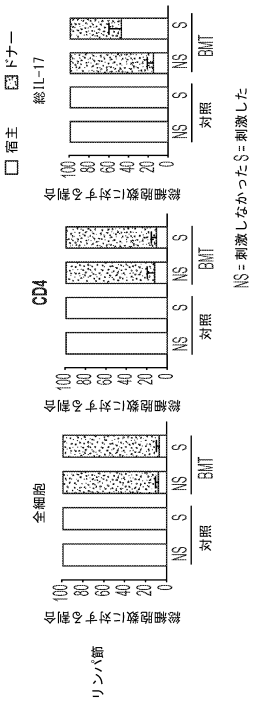
【図４Ｂ】



【図４Ｃ】



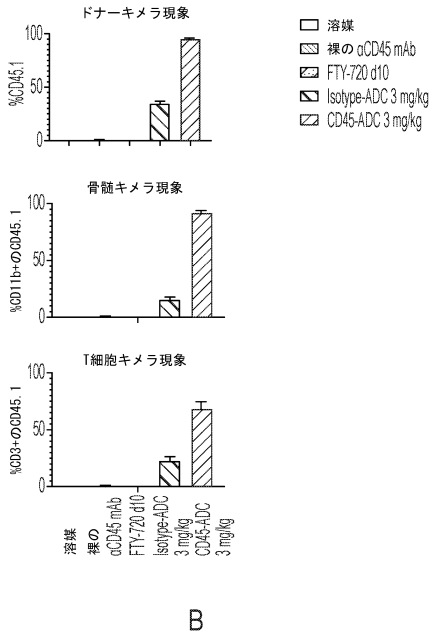
【図４Ｄ】



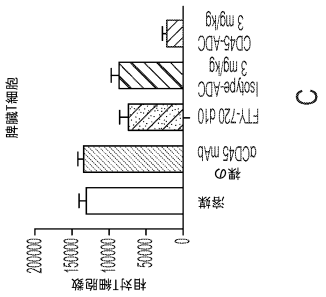
【図５Ａ】



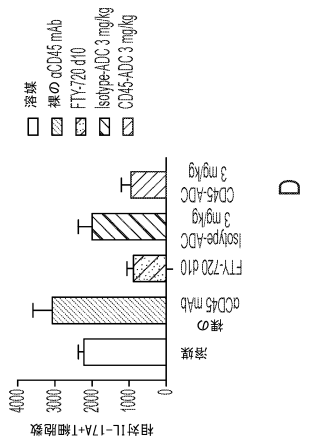
【図５Ｂ】



【図５Ｃ】

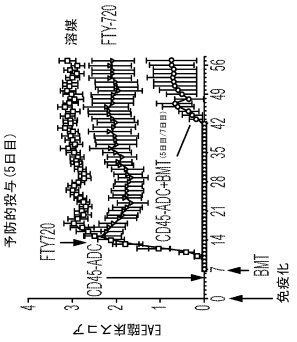


【図５Ｄ】



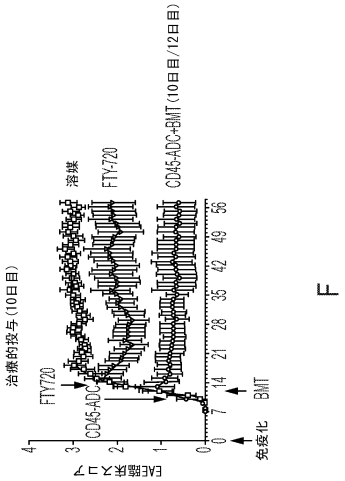
D

【図５Ｅ】



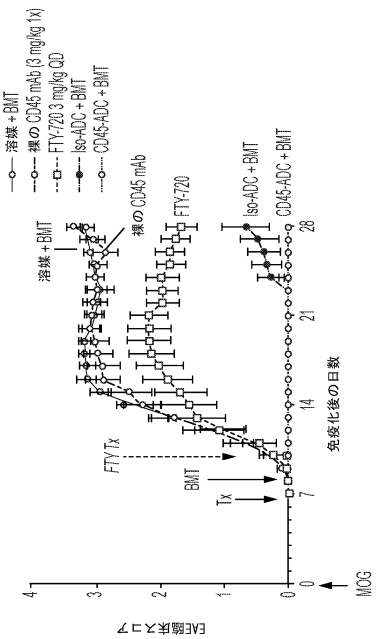
E

【図５Ｆ】



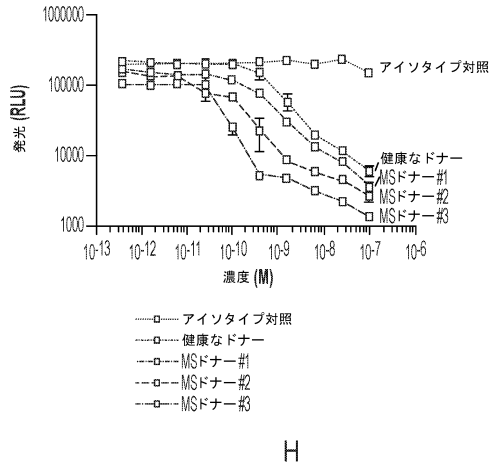
F

【図５Ｇ】

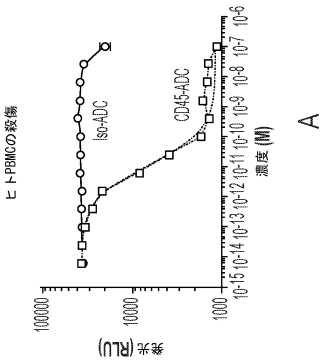


G

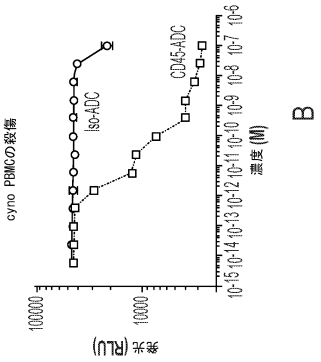
【図５Ｈ】



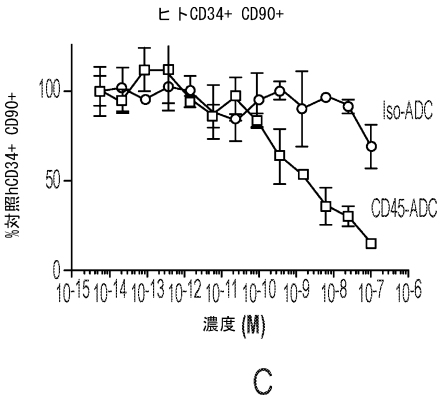
【図６Ａ】



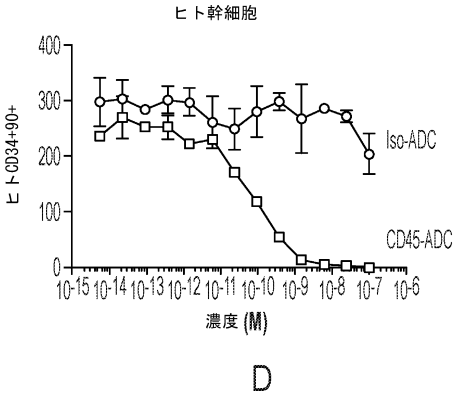
【図６Ｂ】



【図６Ｃ】

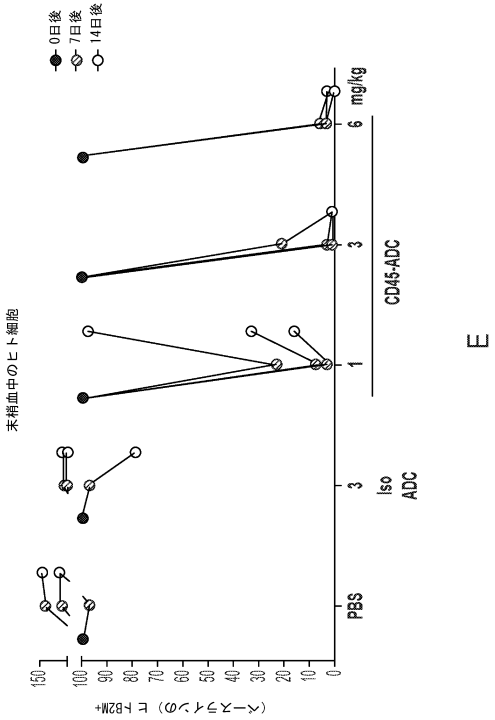


【図６Ｄ】



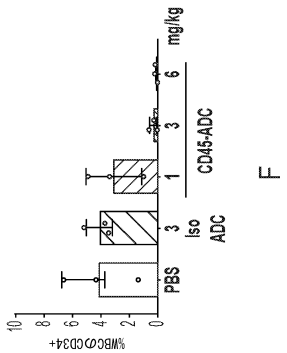
D

【図６Ｅ】



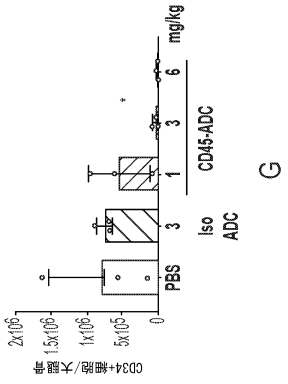
E

【図６Ｆ】



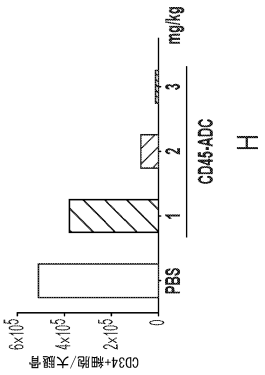
F

【図６Ｇ】

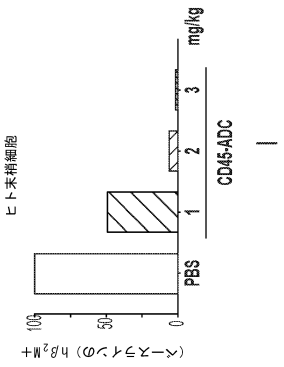


G

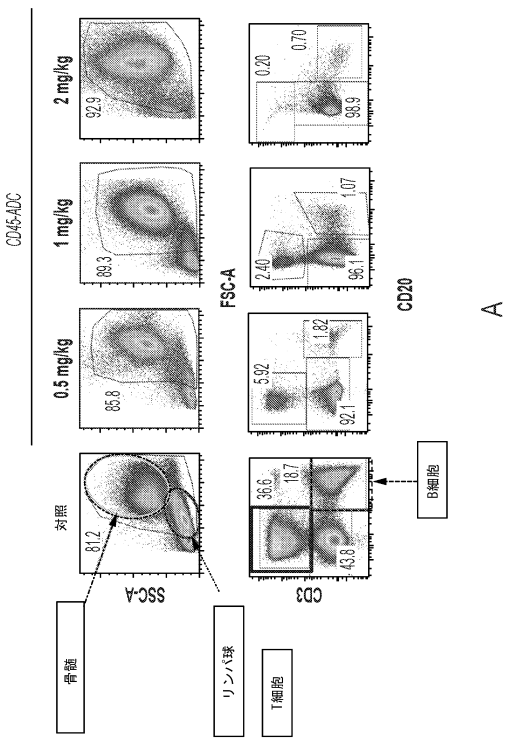
【図６Ｈ】



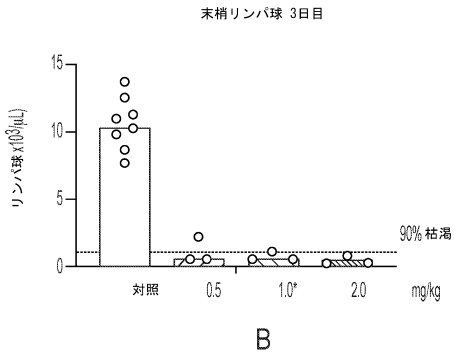
【図６Ｉ】



【図７Ａ】



【図７Ｂ】



【図７Ｃ】

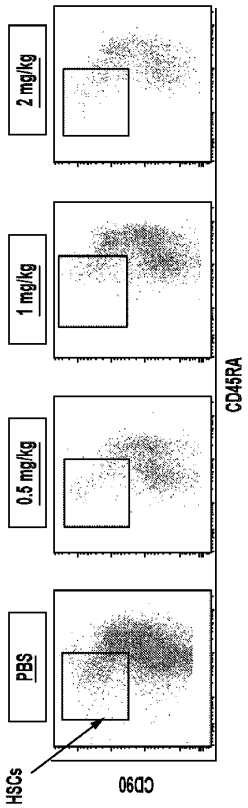
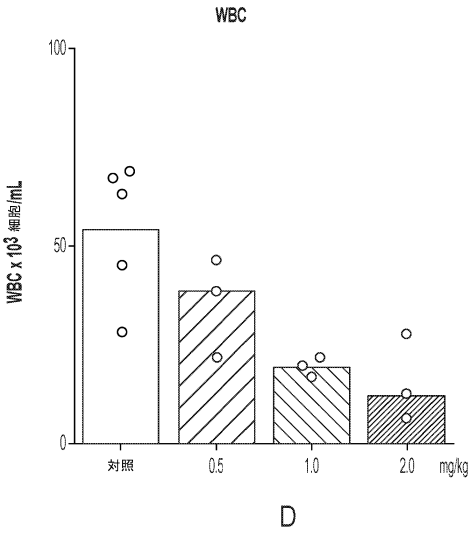
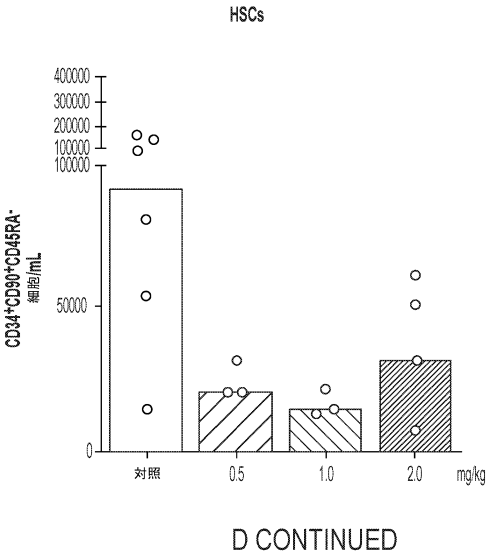


FIG. 7C

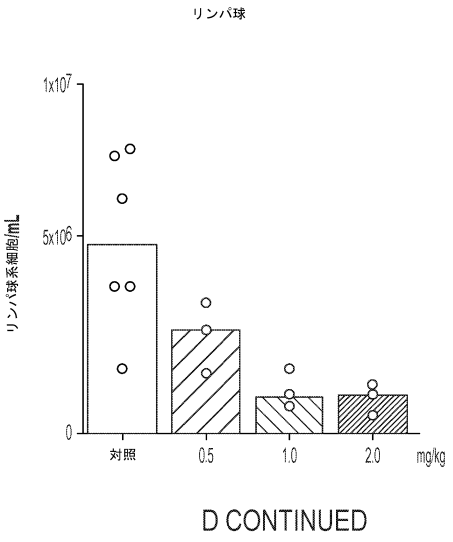
【図７Ｄ－１】



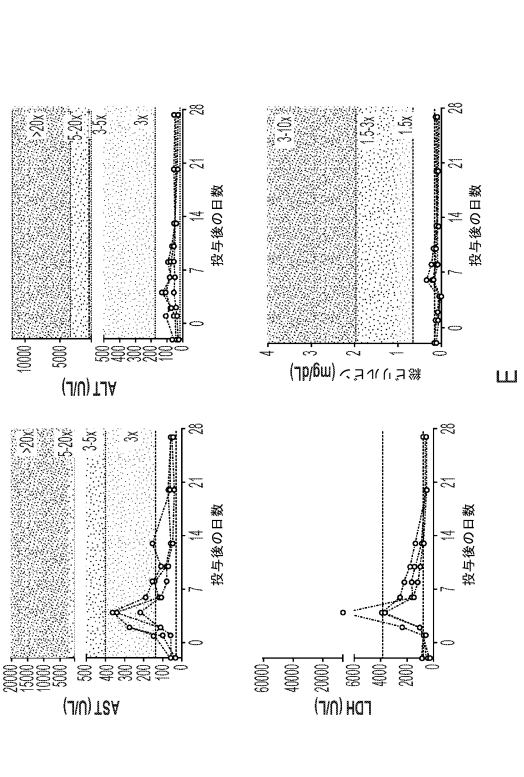
【図７Ｄ－２】



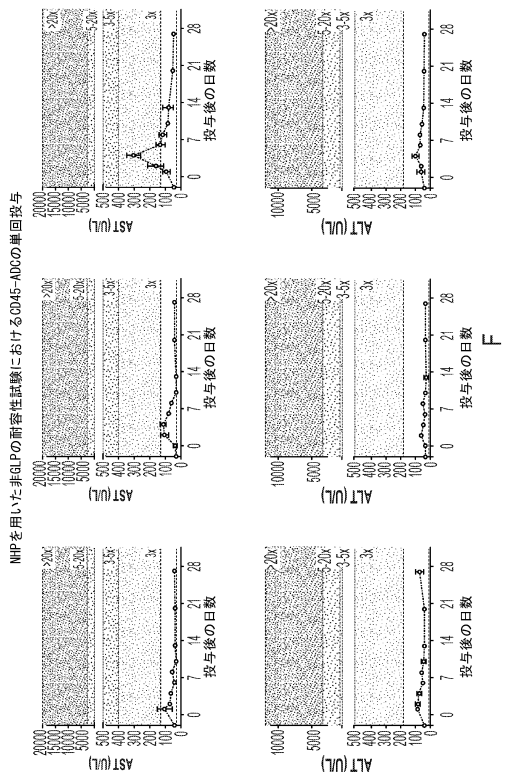
【図７Ｄ－３】



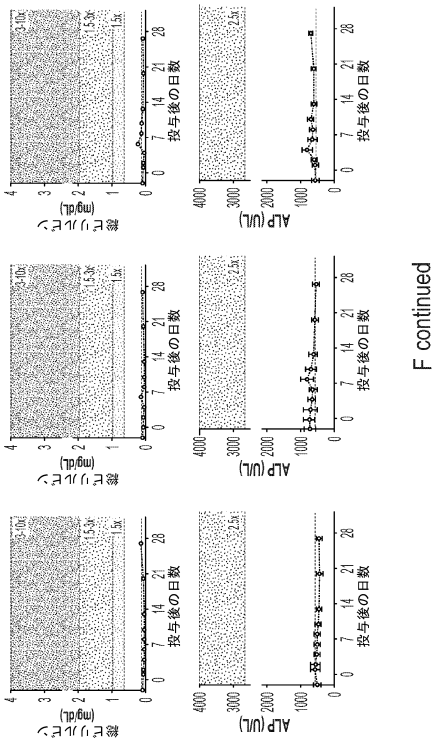
【図７Ｅ】



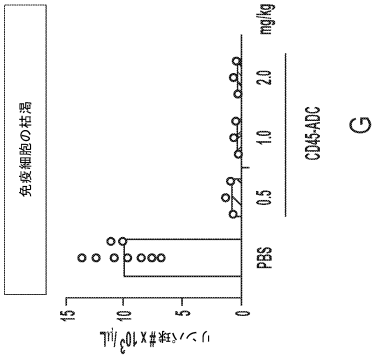
【図７Ｆ－１】



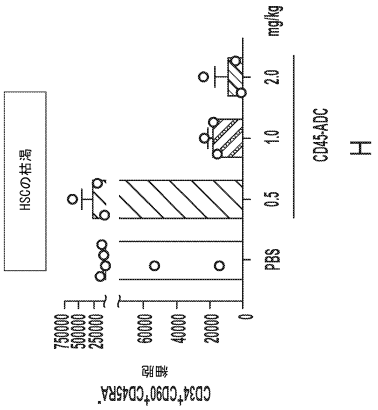
【図７Ｆ－２】



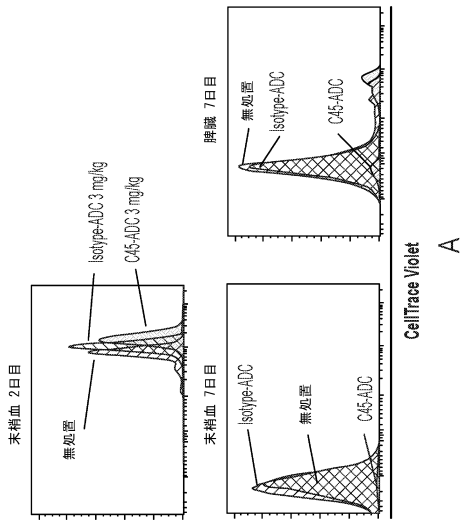
【図７Ｇ】



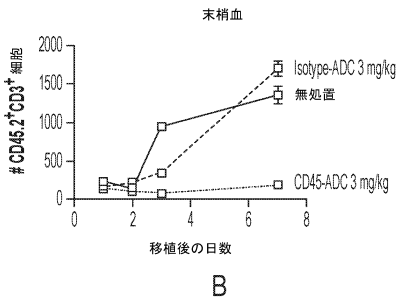
【図７Ｈ】



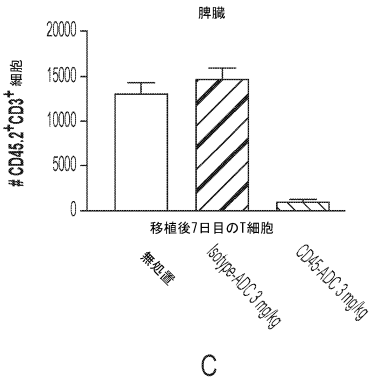
【図８Ａ】



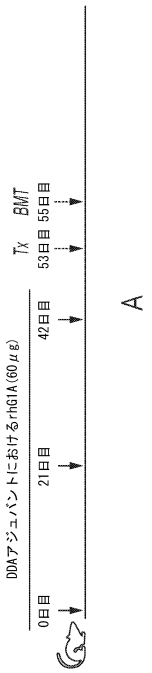
【図８Ｂ】



【図８Ｃ】

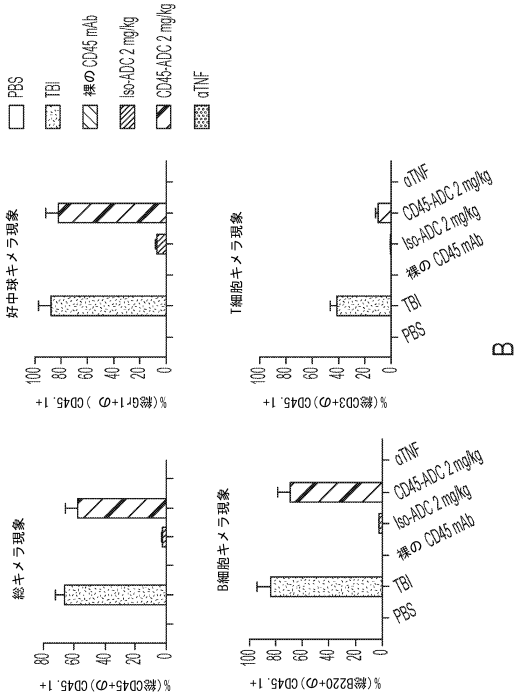


【図９Ａ】



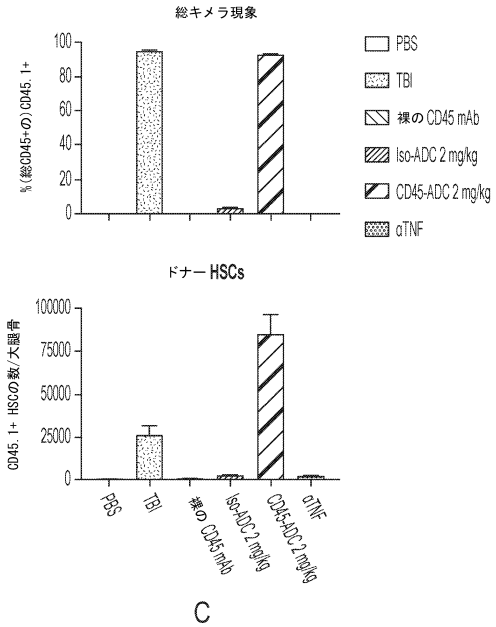
A

【図９Ｂ】



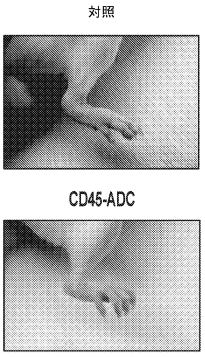
B

【図９Ｃ】



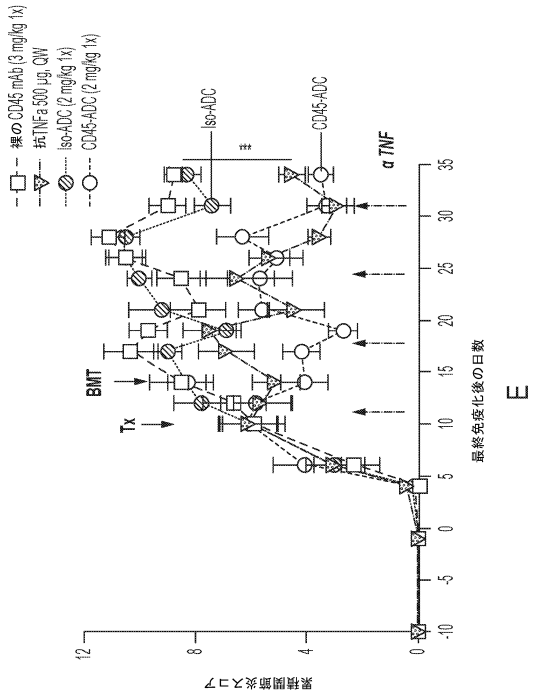
C

【図９Ｄ】

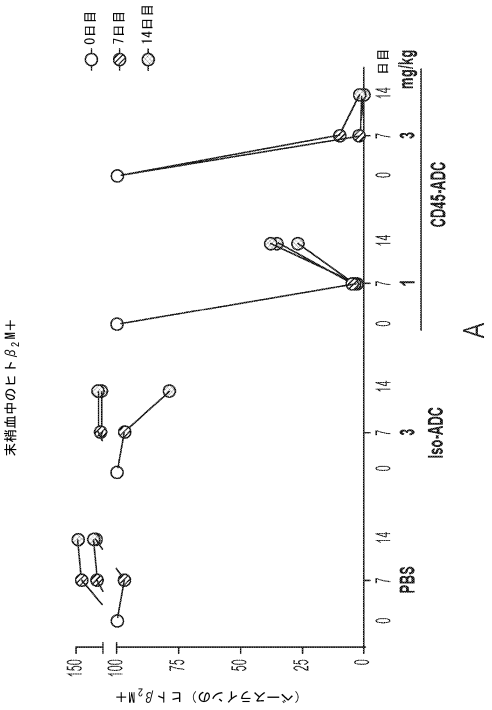


D

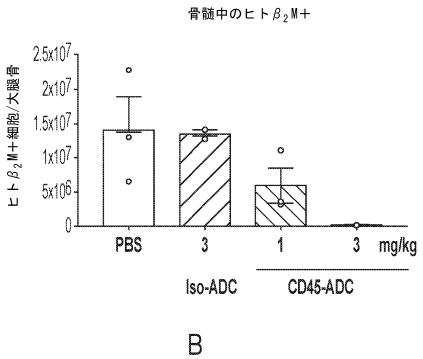
【図９Ｅ】



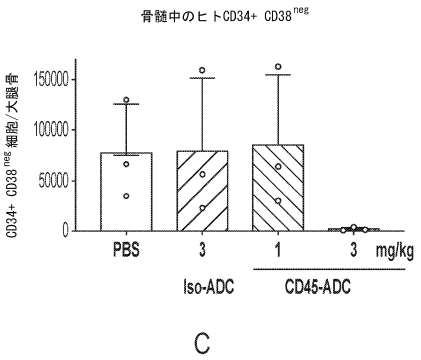
【図１０Ａ】



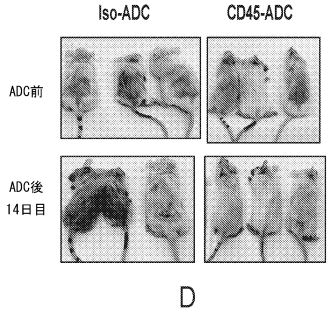
【図１０Ｂ】



【図１０Ｃ】

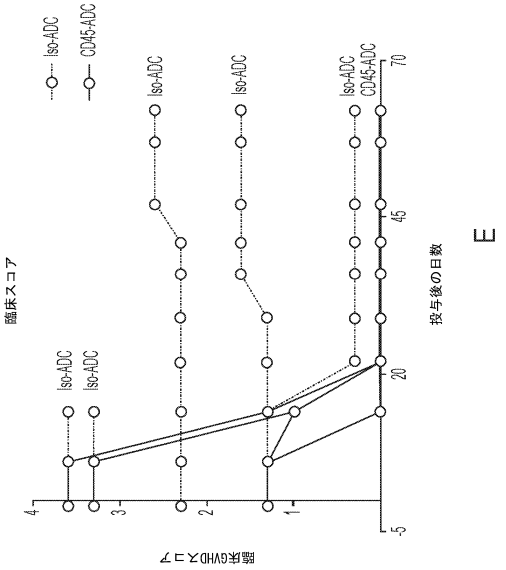


【図１０Ｄ】



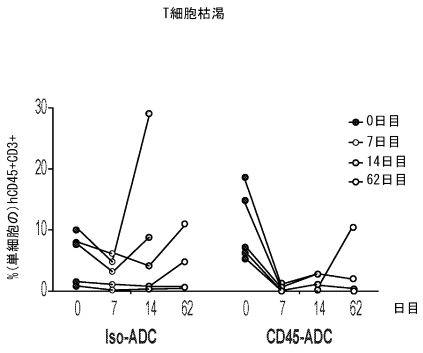
D

【図１０Ｅ】



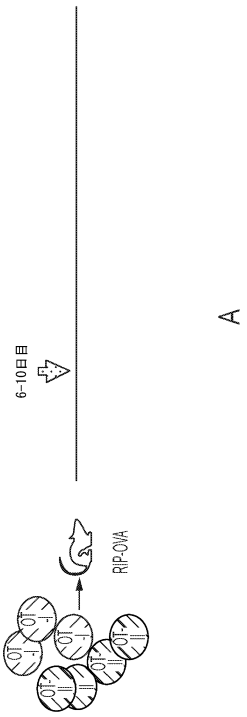
E

【図１０Ｆ】



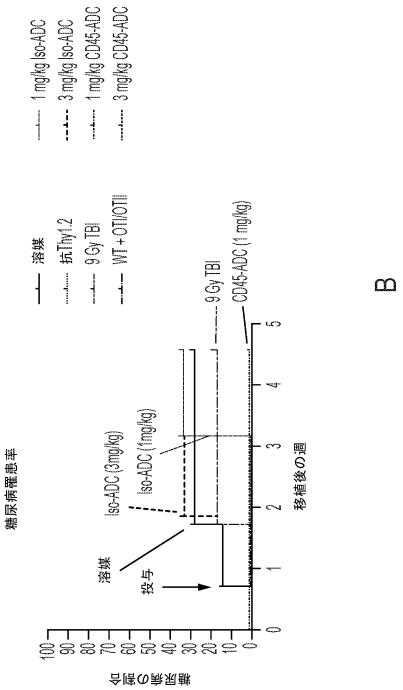
F

【図１１Ａ】



A

【図１１Ｂ】



【配列表】

2022535527000001.app

【誤訳訂正書】
【提出日】令和4年2月28日(2022.2.28)
【誤訳訂正１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】全文
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【発明の詳細な説明】
【関連出願の相互参照】
【０００１】
本出願は、2019年6月4日に出願された米国仮出願第62/857,232号、2019年6月18日に出願された米国仮出願第62/863,141号、2019年8月2日に出願された米国仮出願第62,882,310号、2019年11月8日に出願された米国仮出願第62/933,279号、2019年12月6日に出願された米国仮出願第62/944,988号、2020年1月31日に出願された米国仮出願第62/968,870号、および2020年5月27日に出願された米国仮出願第63/030,860号の利益を主張するものであり、これらの各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれている。
【０００２】
配列表
本出願には、EFS-Webを介してASCII形式で提出された配列表が含まれており、その全体を参照により本明細書に組み込む。2020年6月4日に作成された当該ASCIIコピーは、M103034_2180WO_0511_2_SL.txtと名付けられ、サイズは83,868バイトである。
【技術分野】
【０００３】
本発明は、自己免疫疾患を治療する分野に関するものである。
【背景技術】
【０００４】
自家造血幹細胞移植（autoHSCT）は、自己免疫疾患の一部の患者において非常に有効な治療法である。autoHSCTは、再発した難治性および二次進行性の多発性硬化症のサブタイプの患者において、70～80％の無増悪生存期間で長期的な寛解（最長15年）を誘導することができ（Muraro 2017）、無作為化試験では標準治療薬よりも優れている（Burt 2019）。同様に、強皮症患者におけるautoHSCTの使用は、2つの無作為化試験で優れた成果を達成した（Tyndall 2014、Sullivan 2018）。これらの結果は、自己反応性の免疫細胞を根絶し、自己寛容な免疫系を再構築すること、すなわち免疫系リセットによって達成される。しかし、現在の条件付けプロトコルに関連する毒性のためもあり、適格な患者のごく一部しかautoHSCTを受けていない。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００５】
本明細書には、自家造血幹細胞移植（autoHSCT）を改善するための方法および組成物が記載されている。本明細書では、自己免疫細胞を根絶するためにCD45を選択的に標的とする抗体および／または抗体薬物複合体（ADC）を含む、autoHSCTの分野で知られている課題に対処するための方法および組成物が提供され、自己免疫疾患患者の潜在的な1回限りの根治的治療としてのautoHSCTを可能にする。autoHSCTの前に条件付けを行うこの方法は、移植に適した自己免疫患者の数を増やし、現在の条件付けプロトコルに関連する副作用を大幅に軽減することができる。
【０００６】
したがって、一態様では、本発明は、自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法を提供し、この方法は、自己免疫疾患を有する患者に有効量の抗C

D45抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む。別の態様では、本発明は、自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者に、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含む抗体薬物複合体（ADC）の有効量を投与することを含む方法を提供する。

【０００７】

別の態様では、本発明は、造血幹細胞（HSC）移植を受けるために自己免疫疾患を有するヒト患者を条件付けする方法であって、自己免疫疾患を有するヒト患者に、抗CD45抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む方法を提供する。別の態様では、本発明は、造血幹細胞（HSC）移植を受けるために自己免疫疾患を有するヒト患者を条件付けする方法であって、自己免疫疾患を有するヒト患者に、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含む抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含む方法を提供する。

【０００８】

いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、炎症性関節炎（例えば、関節リウマチ）、自己免疫性脳炎、強皮症、多発性硬化症、1型糖尿病、または全身性硬化症である。

【０００９】

いくつかの実施形態では、本方法は、造血幹細胞（HSC）を含む移植片を患者に投与することをさらに含む。特定の実施形態では、HSC移植は、自家HSC移植（autoHSCT）である。

【００１０】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは単回投与で患者に投与される。

【００１１】

いくつかの実施形態では、患者は、移植後に自己免疫疾患に対する治療（例えば、慢性的な治療）を必要としない。例えば、いくつかの実施形態では、患者は多発性硬化症を有しており、患者は移植後にナタリズマブ、フマル酸ジメチル、またはフマル酸モノメチルによる治療を必要としない。他の実施形態では、患者は関節炎を有しており、患者は移植後にTNF阻害剤（例えば、エタネルセプト、インフリキシマブ、アダリムマブ、セルトリズマブペゴル、またはゴリムマブなどの抗TNFα抗体）による治療を必要としない。

【００１２】

いくつかの実施形態では、患者は移植後少なくとも1年間寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、移植後少なくとも2年間寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、移植後少なくとも5年間寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1年、少なくとも2年、少なくとも3年、少なくとも4年、少なくとも5年、少なくとも6年、少なくとも7年、少なくとも8年、少なくとも9年、または少なくとも10年間、寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1～3年、少なくとも3～5年、少なくとも5～7年、少なくとも7～9年、または少なくとも8～10年間、寛解に入る。いくつかの実施形態では、寛解は臨床的寛解である。他の実施形態では、寛解は生化学的寛解である。さらにさらなる実施形態では、寛解は組織学的寛解である。

【００１３】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは、患者がHSCを含む移植を受ける約3日前に、患者に投与される。

【００１４】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCがヒト患者の血液から実質的に除去された後に、HSC移植が患者に投与される。

【００１５】

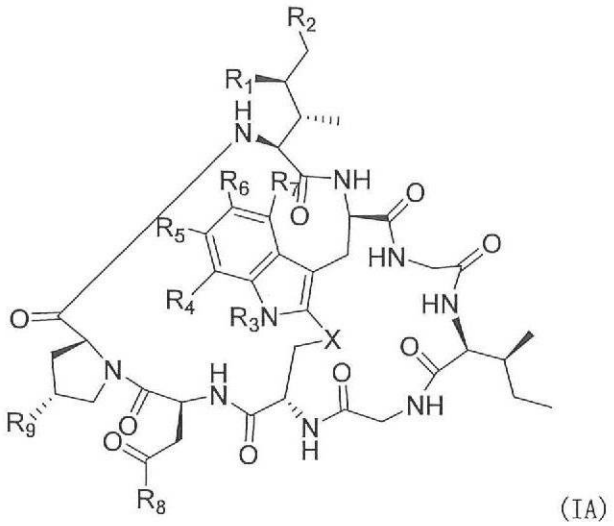
別の態様では、本明細書では、全身性硬化症としても知られる強皮症を有する患者を治療する方法であって、強皮症が治療されるように、強皮症を有する患者に抗CD45抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含み、抗CD45 ADCは、リンカーを介して細胞毒に結合した抗CD45抗体またはその断片を含む前記方法が提供される。

【００１６】

前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体はキメラ抗体またはヒ

ト化抗体である。
【００１７】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体はヒト抗体である。
【００１８】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は無傷である。
【００１９】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、ポリクローナル抗体またはその抗原結合部分、二重特異性抗体またはその抗原結合部分、二重可変免疫グロブリンドメイン、単鎖Fv分子（scFv）、二重特異性抗体、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スカフォールド、Fv断片、Fab断片、F(ab')2分子、およびタンデム二重scFvからなる群から選択される。
【００２０】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する。特定の実施形態では、抗CD45抗体は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプのFcドメインを含む。
【００２１】
いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、Fcドメインを含み、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、Fcドメインのシステイン残基を介して細胞毒に結合している。特定の実施形態では、システイン残基は、Fcドメインのアミノ酸置換を介して導入される。特定の実施形態では、アミノ酸置換は、D265C（EU番号付け）である。
【００２２】
前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分は、細胞毒に結合している。いくつかの実施形態では、細胞毒は、シュードモナス外毒素A、デブガニン、ジフテリア毒素、サポリン、メイタンシン、メイタンシノイド、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体などからなる群から選択される。
【００２３】
一部の実施形態では、細胞毒はアウリスタチンである。特定の実施形態では、アウリスタチンはＭＭＡＥまたはＭＭＡＦである。
【００２４】
いくつかの実施形態では、細胞毒はピロロベンゾジアゼピンまたはピロロベンゾジアゼピン二量体である。
【００２５】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンである。
【００２６】
特定の実施形態では、アマトキシンは、化学式（IA）で表される。

【化１】



(IA)

ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり；

R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり；

R_AおよびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員環ヘテロシクロアルキル基を形成するよう結合し；

R_3は、H、R_C、またはR_Dであり；

R_4、R_5、R_6，およびR_7は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり；

R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり；

R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり；

Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり；

R_Cは-L-Zであり；

R_Dは、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニル、任意に置換されたC_2-C_6アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり；

Lは、任意に置換されたC_1-C_6アルキレン、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキレン、任意に置換されたC_2-C_6アルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6アルキニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、または任意に置換されたヘテロアリーレンであり；そして

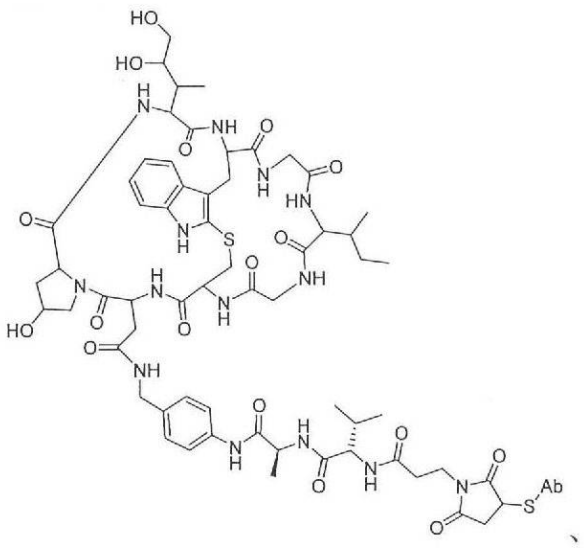
Zは、L上に存在する反応性置換基と、抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的部位であり、

ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含んでいる。

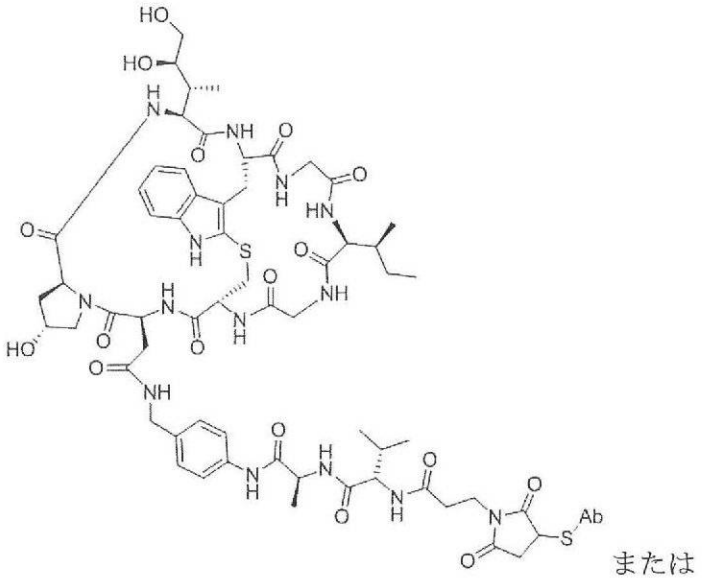
【００２７】

いくつかの実施形態では、抗CD45 ADCは、以下の式：

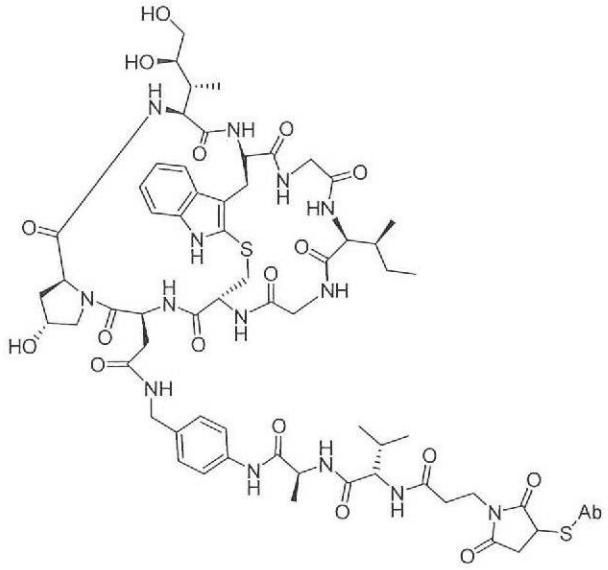
【化２－１】



【化２－２】



または



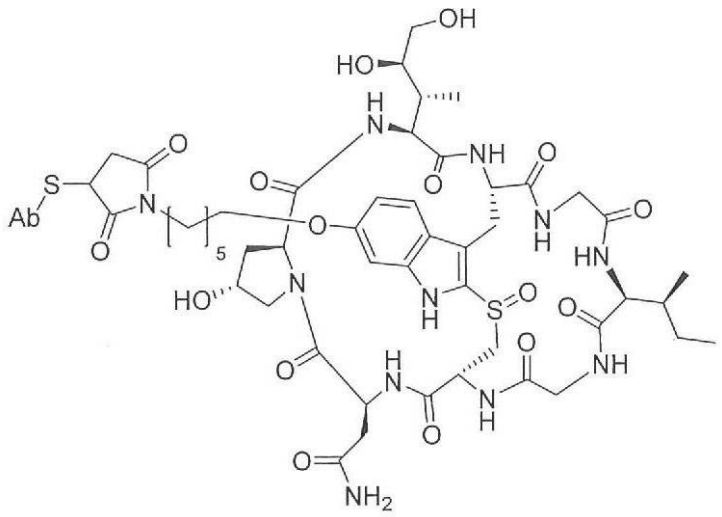
を有する。

ここで、Abは、抗ＣＤ４５抗体を表す。

【００２８】

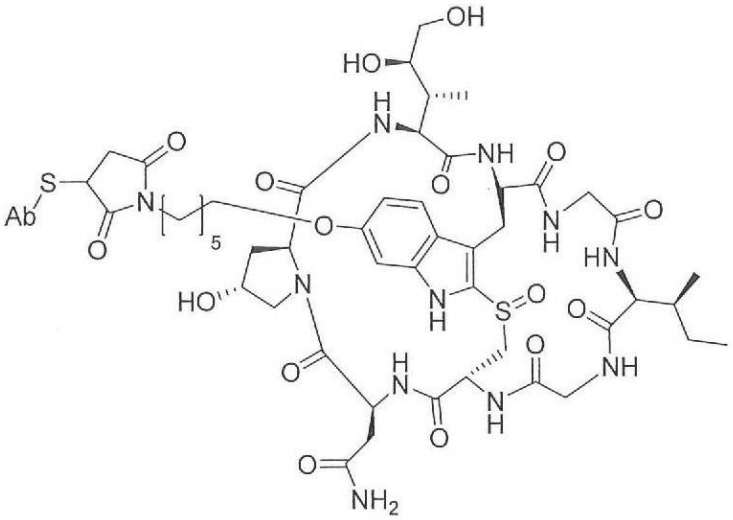
いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５ ＡＤＣは、以下の式：

【化３】



または

【化４】



を有する。

ここで、Abは、抗CD45抗体を表す。

【００２９】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマニチンである。

【００３０】

また、自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者に、CD45を標的とする有効量の人工毒素体を投与することを含む方法も提供される。いくつかの実施形態では、人工毒素体は、CD45に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む。いくつかの実施形態では、人工毒素体は、CD45に特異的に結合するscFvを含む。いくつかの実施形態では、人工毒素体は、タンパク質ベースの毒素を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質ベースの毒素は、タンパク質合成阻害薬、例えば、リボソーム不活性化タンパク質である。いくつかの実施形態では、タンパク質ベースの毒素は、志賀毒素、志賀様毒素Aサブユニット、サポリン、リシン、ならびにそれらの変異体、断片、および誘導体からなる群から選択される。

【００３１】
前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、リンカーを介して細胞毒に結合している。
【００３２】
前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、二重特異性またはバイパラトピック（biparatopic）抗体である。
【００３３】
前述のいずれかの態様のいくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、第2の治療薬と組み合わせて患者に投与される。いくつかの実施形態では、第2の治療薬は、抗体、またはその抗原結合部分を含む。
【図面の簡単な説明】
【００３４】
【図１】図1A-1Eは、抗CD45 ADCが類遺伝子性移植のためにマウスをうまく条件づけすることを実証する生体内での試験の結果を示している。図1Aは、C57BL/6（CD45.2）マウスに、移植の48時間前に抗マウスCD45-ADC（0.3、1、または3mg/kg）またはアイソタイプADC（3mg/kg）を単回静脈内投与して条件づけられた生体内での試験のデザインを示す模式図である。図1Bは、指示された時点（すなわち、0週目、4週目、8週目、12週目および16週目）における、各治療群のマウスの末梢血におけるドナーキメラ現象の割合を図示したものである。図1C-1Eは、指示された時点（すなわち、0週目、4週目、8週目、12週目および16週目）での各治療群のマウスにおけるドナーの骨髄系細胞（図1C）、B細胞（図1D）およびT細胞（図1E）の割合を図示したものである。
【図２】図2Aおよび図2Bは、抗CD45ADCが生体内で増殖中のT細胞を優先的に殺傷することを示す生体内での細胞殺傷アッセイの結果を図示したものである。総T細胞数（図2A）または増殖中のT細胞の割合（Ki67+；図2B）を、表示したADC濃度（抗マウス抗CD45 ADCまたはアイソタイプADC）の関数として示している。
【図３】図3A-3Eは、強皮症を代表する硬化性皮膚移植片対宿主病（scGvDH）の生体内でのモデルにおいて、抗CD45-ADCが増殖中のT細胞を優先的に殺傷することを示す生体内での細胞枯渇アッセイの結果を図示したものである。図3Aは、Balb/c（CD45.1）マウスが、DBA/2（CD45.2）脾細胞の同種間の（Allo）養子細胞移植の前に、6.5GyのTBIで24時間条件付けされた生体内での試験のデザインを示す模式図である。宿主動物(CD45.1+)には、scGvHD開始後7日目に、抗マウスCD45-ADC、またはアイソタイプADCを単回静脈内投与(3mg/kg)で治療した(CD45.2+細胞)。図3Bおよび図3Cは、アイソタイプADCまたは抗CD45-ADCを投与したマウスから採取した脾臓（図3B）または末梢血（図3C）のフローサイトメトリー分析を示し、同種の細胞、T細胞、および増殖中のT細胞について分析したものである。図3Dおよび図3Eは、アイソタイプ-ADCまたは抗CD45-ADCを投与したマウスから採取した脾臓（図3D）または末梢血（図3E）中の同種のT細胞の数および割合（全T細胞および増殖中のKi-67+T細胞）を分析した結果を図示したものである。
【図４】図4A-4Dは、自家骨髄移植（BMT）がマウスの実験的自己免疫性脳炎（EAE）を改善することを示す生体内での試験の結果を図示したものである。動物はEAE誘導後8日目と13日目に9GyのTBIで条件付けされた。条件付けされたマウスには、TBI後24時間に10^7個のドナー細胞が移植された。図4Aは、指示された治療条件（BMTなし、BMT9日目、またはBMT14日目）におけるEAEの臨床スコアを誘導後の日数の関数として図示したものである。図4Bは、指示された治療群（PBS対照、BMT9日目、またはBMT14日目）のマウスを指示された時点（移植後4週目および移植後8週目）で採取した末梢血におけるドナーキメラ現象の割合を図示したものである。図4Cおよび図4Dは、対照（移植なし）と治療（BMT9日目）のマウスから採取した末梢血（図4C）およびリンパ節（図4D）における宿主細胞とドナー細胞の比較を図示したものである。
【図５】図5A-5Hは、実験的自己免疫脳炎（EAE）および多発性硬化症（MS）の文脈で

CD45-ADCを使用した生体内でのおよび生体外での試験の結果を図示したものである。図5A-5Gは、CD45-ADCの投与により、自家造血幹細胞移植（autoHSCT）が可能となり、マウスの実験的自己免疫性脳炎（EAE）モデルの病理を実質的に減少させることを示す生体内での試験の結果を記載したものである。図5Aは、C57BL/6（「B6」）マウスに、0日目に完全フロイントアジュバント（CFA）中のMOG_{35-55}ペプチド、0日目および1日目に百日咳毒素（PTX）を免疫化してEAEを発症させた試験デザインを示す模式図である。図5Bは、指示された治療群の移植レシピエントにおける全体のドナーキメラ現象、骨髄キメラ現象、およびT細胞キメラ現象の度合いを図示したものである。図5Cおよび図5Dは、脾臓T細胞の相対数（図5C）および脾臓IL-1A＋T細胞（すなわち、脾臓IL-17A-産生エフェクター細胞）の相対数（図5D）を図示したものである。免疫化後5日目（図5E）または10日目（図5F）にCD45-ADC 3mg/kgで免疫化されたマウスの群を条件付け（「Tx」）した後、先天性骨髄移植（「BMT」；B6.SJLのBM細胞$2x10^7$個（$CD45.1^+$））を行った。すべての動物は、免疫化後5日目から毎日スコア化した。比較対象として、溶媒およびFTY-720-治療群を示した。図5Eおよび図5Fは、5日目（図5E）または10日目（図5F）にCD45-ADCによる治療を受けたマウスにおけるEAE臨床スコアの経時変化（免疫化後0日目から56日目まで）を図示したものである。図5Gは、5日目にCD45-ADCによる治療を受けたマウスにおける、免疫化後0日目から28日目までのEAE臨床スコアを図示したものであり、比較のために、裸のCD45 Ab（3mg/kg、単回投与）またはアイソタイプADCとBMTを併用したマウスで得られた結果も示している。図5Hは、MS患者と健康なドナーのPBMCをヒト抗CD45-ADCで媒介して殺傷することを比較した生体外での試験の結果を図示したものである。

【図６】図6A-6Iは、抗ヒトCD45-ADCが、生体外でのおよびヒト化NSGマウスにおいて、ヒトの初代およびcyno造血細胞を強力に殺傷することを示す生体外でのおよび生体内での試験の結果を図示したものである。図6A-6Cは、ヒトPBMCの殺傷（図6A）、cyno PBMCの殺傷（図6B）、またはヒトCD34+ CD90+細胞の殺傷（図6Cおよび図6D）の度合いを、指示されたADC濃度（抗ヒト抗CD45 ADCまたはアイソタイプ-ADC）の関数として示す生体外での殺傷アッセイの結果を図示したものである。対応するEC50値は、表4にまとめられている。図6Eは、治療後0日目、7日目、または14日目に、PBS、アイソタイプ-ADC（3mg／kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg／kg、3mg／kg、または6mg／kg）で治療したマウスの末梢血中のヒト造血細胞（ヒトβ_2M＋細胞）の割合を図示したものである。図6Fおよび6Gは、PBS、アイソタイプADC（3mg／kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg／kg、3mg／kg、または6mg／kg）の投与から14日後のマウスの骨髄におけるヒトCD34＋細胞の割合（図6F）およびヒトCD34＋細胞の数（図6G）を図示したものである。図6Hおよび図6Iは、CD45 ADCを1mg/kg、2mg/kg、または3mg/kgで投与した同様の試験の結果を図示したものである。

【図７】図7A-7Hは、非ヒト霊長類（NHP）において、抗ヒトCD45-ADCの単回投与が良好な耐容性を示し、リンパ球およびHSCの枯渇をもたらすことを示す生体内での試験の結果を図示したものである。図7Aは、0.5mg/kg、1mg/kg、または2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した72時間後にNHPの末梢血から採取し、骨髄系細胞、T細胞、B細胞、またはリンパ球を分析した末梢血のフローサイトメトリー分析を図示したものである。図7Bは、0.5mg/kg、1mg/kg、または2mg/kgの抗CD45-ADCを投与してから3日後のNHPにおける末梢リンパ球のレベルを図示したものである。図7Cは、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した6日後のNHPの骨髄から採取し、造血幹細胞を分析した骨髄のフローサイトメトリー分析を図示したものである。図7Dは、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与してから6日後のNHPにおける白血球（WBC）、造血幹細胞、およびリンパ球のレベルを図示し、造血幹細胞について分析したものである。図7Eおよび図7Fは、NHPにおけるALT、ビリルビン、AST、および/またはALPのレベルを、CD45-ADCを2mg/kgで投与した後の日数の関数として図示したものである。図7Gは、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した後のNHPにおける末梢リンパ球のレベルを図示したものである。図7Hは

、0.5mg/kg、1mg/kgまたは2mg/kgの抗CD45-ADCを投与した後のNHPにおけるCD34+CD90+CD45RA-HSCのレベルを図示したものである。
【図８】図8A-8Cは、マウスCD45-ADCで治療すると、静止しているT細胞が同種の反応を開始することができなくなることを示す生体内での試験の結果を図示したものである。移植後さまざまな時期に末梢血（d2およびd7）および脾臓（d7）から細胞を分離し、CTV染色強度（図8A）、移植後の日数に応じた末梢血中のT細胞の絶対数（図8B）、および移植後7日目の脾臓中のT細胞の絶対数（図8C）を評価した。
【図９】図9A-9Eは、関節リウマチ（プロテオグリカン誘発性関節炎）のマウスモデルにおいて、CD45-ADCによる治療的処置が、類遺伝子性のBMTによる免疫リセットを可能にし、疾患の進行を停止させることを示す生体内での試験の結果を図示したものである。図9Aは試験デザインを示す模式図で、Balb/cマウス（CD45.2+）に組換えヒトコアG1アグリカン（60μgを2mgのDDAに溶解）を3回（試験日0、21、42）免疫化した。図9Bは、移植後3週間の時点で、指示された治療群のレシピエントの末梢血における総ドナーキメラ現象、好中球キメラ現象、B細胞キメラ現象、およびT細胞キメラ現象の度合いをグラフ化したものである。図9Cは、移植後3週間の時点で、指示された治療群の移植レシピエントの骨髄における総ドナーキメラ現象およびドナー造血幹細胞の程度をグラフ化したものである。図9Dは、対照またはCD45-ADCで治療したマウスの画像である。図9Eは、指示された治療群における最終免疫化後の日数の関数としての累積関節炎スコアをグラフ化したものである。
【図１０】図10A～10Fは、XenoGVHDの強皮症様モデルにおいて、抗ヒトCD45 ADCの単回投与による治療が、ヒトエフェクター細胞の除去および疾患の改善をもたらすことを示す生体内での試験の結果をグラフ化したものである。図10Aは、治療後0日目、7日目、または14日目に、PBS、アイソタイプADC（3mg/kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg/kgまたは3mg/kg）で治療したマウスの末梢血中のヒト造血細胞（ヒトβ_2M+細胞）の割合をグラフ化したものである。図10Bは、PBS、アイソタイプADC（3mg／kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg／kgまたは3mg／kg）で処置したマウスの骨髄におけるヒト造血細胞（ヒトβ_2M＋細胞）／大腿骨の数をグラフ化したものである。図10Cは、PBS、アイソタイプADC（3mg/kg）、または抗ヒトCD45 ADC（1mg/kgまたは3mg/kg）を投与したマウスの骨髄中のヒトCD34+ CD38^{neg}細胞数/Emurをグラフ化したものである。図10Dは、アイソタイプ-ADCまたは抗ヒトCD45標的ADCのいずれかで処理したマウスの処理前（ADC前）およびADC投与後14日目の画像を示す。図10Eは、アイソタイプ-ADCまたは抗CD45 ADCで治療したマウスの、ADC投与後の日数の関数としての臨床的GVHDスコア（皮膚病変の大きさおよび提示に基づく）をグラフで表している。図10Fは、抗ヒトCD45 ADCで処置した動物における、0日目、7日目、14日目、および62日目の末梢ヒトT細胞枯渇の程度をグラフで表したものである。
【図１１】図11Aおよび11Bは、I型糖尿病の養子移植モデルにおいて、CD45-ADCの単回投与および類遺伝子性の造血幹細胞の移植による治療が疾患予防につながることを示す生体内での試験の試験デザインおよび結果を示す図である。図11Aは、RIP-OVAマウスへのOT-IおよびOT-IIの養子移植を示す図である。図11Bは、指示された治療グループのマウスの糖尿病罹患率をグラフ化したものである。
【発明を実施するための形態】
【００３５】
本明細書では、治療薬として、例えば、自己免疫疾患の治療や移植のための条件付け剤として作用するのに有用な抗CD45抗体薬物複合体（ADC）に関する方法および組成物を開示する。したがって、本明細書に含まれる抗造血細胞抗体（抗CD45抗体）は、造血幹細胞治療に有用である。例えば、本明細書の抗体またはADCは、造血幹細胞を含む移植を受けるために患者を準備する、条件付け処置に有用である。そのような処置は、造血幹細胞移植の生着を促進する。本明細書に記載の方法によれば、CD45（例えば、造血細胞（例えば、造血幹細胞または成熟した免疫細胞（例えば、T細胞）によって発現されるCD45）を結合することができる抗CD45 ADC、抗体またはその抗原結合性断片を患者に

投与することによって、患者を造血幹細胞移植療法のために条件付けすることができる。本明細書に記載されているように、抗CD45抗体は、抗体薬物複合体（ADC）を形成するように細胞毒に共有結合されてもよい。CD45を結合することができるADCを、自己免疫疾患を有する患者に投与することで、造血幹細胞移植の生着を促進することができる。

【００３６】

以下のセクションでは、造血幹細胞移植の生着を促進するために、自己免疫疾患に罹患している患者などの患者に投与することができる抗CD45 ADCの説明、およびそのような治療薬を患者に（例えば、造血幹細胞移植の前に）投与する方法を提供する。本明細書に記載の方法は、自己反応性免疫細胞（CD45+細胞）を根絶し、自己寛容な免疫系を再構築するための手段、すなわち、免疫系リセットを提供する。本明細書に記載の方法は、autoHSCTを受けるための条件付け療法を提供する。

【００３７】

定義

別段の記載がない限り、本明細書で使用されている以下の用語および語句は、以下の意味を持つことが意図されている。

【００３８】

本明細書では、「約」という用語は、記載されている値の上または下から5％以内の値を指す。

【００３９】

本明細書では、「同種の」という用語は、移植の文脈で使用される場合、ドナーから同じ種のレシピエントに移植される細胞（または組織、または臓器）を定義するために使用される。

【００４０】

本明細書では、「自家の」という用語は、ドナーとレシピエントが同じ対象者である細胞または移植片を指す。

【００４１】

本明細書では、「異種の」という用語は、ドナーとレシピエントの種が異なる細胞を指す。

【００４２】

本明細書では、「免疫細胞」という用語は、造血系由来で免疫反応に関与する細胞を含むことを意図しているが、これに限定されるものではない。免疫細胞には、T細胞およびナチュラルキラー（NK）細胞が含まれるが、これらに限定されるものではない。ナチュラルキラー細胞は、当技術分野でよく知られている。いくつかの実施形態では、ナチュラルキラー細胞は、NK-92細胞などの細胞株を含む。NK細胞株のさらなる例としては、NKG、YT、NK-YS、HANK-1、YTS細胞、およびNKL細胞が挙げられる。免疫細胞は、同種であっても、自家であってもよい。

【００４３】

本明細書では、「抗体」という用語は、特定の抗原に特異的に結合する、または免疫学的に反応する免疫グロブリン分子を指す。抗体には、所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、および抗体断片が含まれるが、これらに限定されない。

【００４４】

一般に抗体は、抗原結合領域を含む重鎖と軽鎖から構成されている。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではHCVRまたはVHと略す）および重鎖定常部から構成されている。重鎖定常部は、CH1、CH2、CH3の3つのドメインから構成されている。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではLCVRまたはVLと略す）と軽鎖定常部から構成される。軽鎖定常部は、1つのドメインCLで構成されている。VH、およびVL領域は、相補性の高い領域（CDR）と、より保存性の高い領域（FR）にさらに分かれている。各VHおよびVLは、3つのCDRと4つのFRから構成されており、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、以下の順序で配置され、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4である。

いくつかの態様では、CDRはKabat、Chothia、AbM、Contact、またはIMGTに従って定義される。例えば、Dondelingerら、「Understanding the Significance and Implications of Antibody Numbering and Antigen-Binding Surface/Residue Definition」、Front.Immunol.9: 2278 (15ページ) (2018)を参照することにより、その全体が本明細書に組み込まれ、重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常部は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第1成分（Clq）を含む宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。

【００４５】

本明細書では、「二重特異性抗体」という用語は、モノクローナル、例えば脱免疫抗体やヒト化抗体など、同じ抗原上にあるか異なる抗原上にあるかの2つの異なるエピトープを結合することができる抗体を指すが、これらに限定されない。例えば、二重特異性抗体が結合する第1のエピトープは、CD45などの造血幹細胞が発現する第1の細胞表面抗原上に位置していてもよく、二重特異性抗体が結合する第2のエピトープは、第2の細胞表面抗原上に位置していてもよく、第1の細胞表面抗原と第2の細胞表面抗原は異なっている。いくつかの実施形態では、第2の細胞表面抗原は、造血幹細胞、造血前駆細胞、または成熟した造血細胞などの造血細胞によって発現されてもよい。いくつかの実施形態では、結合特異性は、同じ標的抗原上のユニークでオーバーラップしないエピトープに向けられることができる（すなわち、バイパラトープ（biparatopic）抗体）。

【００４６】

本明細書では、「抗原結合性断片」という用語は、標的抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の１つまたは複数の部分を指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって行うことができる。抗体の断片は、例えば、Fab、F(ab')2、scFv、二重特異性抗体、トリアボディ、アフィボディ、ナノボディ、アプタマー、またはドメイン抗体であることができる。抗体の「抗原結合性断片」という用語に包含される結合断片の例としては、(i) VLドメイン、VHドメイン、CLドメイン、およびCH1ドメインからなる一価の断片であるFab断片、(ii) ヒンジ領域でジスルフィド結合した2つのFab断片を含む二価の断片であるF(ab')2断片、(iii) VHドメインおよびCH1ドメインからなるFd断片、（iv）抗体の片腕のVLドメインおよびVHドメインからなるFv断片、（v）VHドメインおよびVLドメインを含むdAb、（vi）VHドメインからなるdAb断片（例えば、Wardら、Nature 341:544-546、1989を参照）、（vii）VHドメインまたはVLドメインからなるdAb、（viii）孤立した相補性決定領域（CDR）、および（ix）任意に合成リンカーによって連結されていてもよい2つ以上（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つ）の孤立したCDRの組み合わせなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。さらに、Fv断片の2つのドメインであるVLおよびVHは、別々の遺伝子によってコードされているが、組換え法を用いて、VL領域とVH領域が対になって一価の分子を形成する単一のタンパク質鎖として作ることを可能にするリンカーによって連結させることができる（単鎖Fv（scFv）として知られている；例えば、Birdら、Science 242：423-426、1988およびHustonら、Proc.Natl. Acad.Sci. USA 85:5879-5883, 1988を参照）。これらの抗体断片は、当業者に知られている従来の技術を用いて得ることができ、断片は、無傷な抗体と同様の方法で有用性を求めて選別することができる。抗原結合性断片は、組換えDNA技術、無傷の免疫グロブリンの酵素的または化学的切断、あるいは特定の場合には、当技術分野で知られている化学的ペプチド合成手順によって製造することができる。

【００４７】

本明細書では、「無傷な」または「全長」抗体とは、ジスルフィド結合によって相互に連結された2つの重鎖（H）ポリペプチドと2つの軽鎖（L）ポリペプチドを有する抗体を指す。

【００４８】

本明細書では、「特異的に結合する」とは、抗体（またはADC）が、一般的にタンパ

ク質ではなく、特定のタンパク質構造（エピトープ）を認識して結合する能力を指す。抗体がエピトープ「A」に特異的な場合、標識された「A」と抗体を含む反応において、エピトープAを含む分子（または遊離の非標識のA）が存在すると、抗体に結合する標識されたAの量が減少する。抗体が配列番号「A」に特異的に結合する場合、抗体は配列番号「A」の残基のすべてまたは一部（すなわち、一部）に結合することができる。例として、抗体が標識されたときに、対応する非標識の抗体によって標的から離れて競合することができる場合、抗体は標的に「特異的に結合」する。いくつかの実施形態では、抗体が、標的に対するK_Dを有し、少なくとも約10^{-4}M、10^{-5}M、10^{-6}M、10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M、またはそれ以下（以下は、10^{-12}、例えば10^{-13}未満を意味する数）である場合、抗体は、標的、例えば、CD45などの造血幹細胞によって発現される抗原に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、K_Dは、標準的なバイオレイヤー干渉法（BLI）に従って決定される。しかしながら、抗体は、配列が関連している2つ以上の抗原に特異的に結合することができることを理解されたい。例えば、いくつかの実施形態では、抗体は、抗原、例えば、CD45のヒトおよび非ヒト（例えば、マウスまたは非ヒト霊長類）のオルソログの両方に特異的に結合することができる。

【００４９】

いくつかの実施形態では、本明細書で使用される「CD45への特異的な結合」または「CD45に特異的に結合する」という用語は、CD45に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定される1.0×10^{-7}M以下の解離定数（K_D）を有する抗体またはを指す。いくつかの実施形態では、K_D（M）は、標準的なバイオレイヤー干渉法（BLI）に従って決定される。いくつかの実施形態では、K_{off}（1/s）は、標準的なバイオレイヤー干渉法（BLI）に従って決定される。しかしながら、抗体は、配列が関連している2つ以上の抗原に特異的に結合することができることを理解されたい。例えば、いくつかの実施形態では、抗体は、CD45のヒトおよび非ヒト（例えば、マウスまたは非ヒト霊長類）のオルソログの両方に特異的に結合することができる。したがって、本明細書で使用する場合、「ヒトCD45に特異的に結合する」抗体とは、ヒトCD45（および場合によっては１つまたは複数の非ヒト種からのCD45）に結合するが、非CD45タンパク質には実質的に結合しない抗体を指すことを意図している。好ましくは、抗体は、$1x10^{-7}$M以下のK_D、$5x10^{-8}$M以下のK_D、$3x10^{-8}$M以下のK_D、$1x10^{-8}$M以下のK_D、または$5x10^{-9}$M以下のK_DでヒトCD45に結合する。

【００５０】

本明細書では、「モノクローナル抗体」という用語は、単一のクローンに由来する抗体を指し、ハイブリドーマ技術によって生産された抗体に限定されない。本開示で有用なモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術、組換え技術、ファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む、当技術分野で知られている多種多様な技術を用いて調製することができる。

【００５１】

本明細書では、「キメラ」抗体とは、ラットやマウスの抗体などの非ヒト免疫グロブリンに由来する可変配列と、典型的にはヒト免疫グロブリンの鋳型から選ばれたヒト免疫グロブリン定常部とを有する抗体を指す。キメラ抗体を製造する方法は当技術分野で知られている。例えば、Morrison、1985、Science 229(4719):1202-7；Oiら、1986、BioTechniques 4:214-221；Gilliesら、1985、J. Immunol.Methods 125:191-202;米国特許第5,807,7,6,7号、第5,807,715号、第4,816,567号、および第4,816,397号を参照されたい。

【００５２】

本明細書では、「Fc領域」、「Fcドメイン」、および「Fcドメイン」という用語は、IgG分子のパパイン消化によって得られる結晶化可能な断片に相関する免疫グロブリン、例えばIgG分子の部分を指す。Fc領域は、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプであり得る。Fc領域は、ジスルフィド結合で結ばれた2本

の重鎖（例えば、IgG分子）のC末端側の半分を構成している。Fc領域は抗原結合活性を持たないが、糖鎖部位と、補体やFcRn受容体（下記参照）などのFc受容体の結合部位を含む。例えば、Fcドメインは、第2定常部ドメインCH2（IgG1のEU 231-340位の残基）および第3定常部ドメインCH3（ヒトIgG1のEU 341-447位の残基）の全体を含む。本明細書では、Fcドメインは「下部ヒンジ領域」（IgG1のEU 233-239位の残基）を含む。

【００５３】

Fcとは、この領域を単独で指すこともあれば、抗体、抗体断片、またはFc融合タンパク質の文脈におけるこの領域を指すこともある。多型はFcドメインの多くの位置で観察されており、EUの270位、272位、312位、315位、356位、および358位などが挙げられるが、これらに限定されず、したがって、本出願で提示された配列と当該技術分野で知られている配列との間にわずかな違いが存在し得る。したがって、「野生型IgG Fcドメイン」または「WT IgG Fcドメイン」とは、天然に存在する任意のIgG Fc領域（すなわち、任意のアレル）を指す。ヒトIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4の重鎖の配列は、多くの配列データベース、例えば、Uniprotデータベース（www.uniprot.org）において、それぞれ受入番号P01857（IGHG1_HUMAN）、P01859（IGHG2_HUMAN）、P01860（IGHG3_HUMAN）、およびP01861（IGHG1_HUMAN）で見つけることができる。

【００５４】

本明細書では、「修飾Fc領域」または「変異型Fc領域」という用語は、Fcドメイン内の任意の位置に１つまたは複数のアミノ酸置換、欠失、挿入、または修飾が導入されたIgG Fcドメインを指す。特定の態様では、変異型IgG Fcドメインは、１つまたは複数のアミノ酸置換を含んでおり、その結果、１つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型Fcドメインと比較して、FcガンマRおよび／またはC1qに対する結合親和性が低下または消失している。さらに、Fc結合相互作用は、抗体依存性細胞傷害（ADCC）および補体依存性細胞傷害（CDC）を含むが、これらに限定されない様々なエフェクター機能および下流のシグナル伝達現象に不可欠である。したがって、特定の態様では、変異型Fcドメインを含む抗体（例えば、抗体、融合タンパク質、または複合体）は、同じアミノ酸配列を有するが、１つまたは複数のアミノ酸置換、欠失、挿入、または例えば、Fc領域の対応する位置に天然に存在するアミノ酸残基を含む未修飾のFc領域などの修飾を含まない対応する抗体と比較して、少なくとも１つまたは複数のFcリガンド（例えば、FcガンマR）に対する変化した結合親和性を示すことができる。

【００５５】

変異型Fcドメインは、それらを構成するアミノ酸の修飾に応じて定義される。Fc領域に関して本明細書で述べられているすべてのアミノ酸置換について、番号付けは常にKabatのようにEUインデックスに従っている。したがって、例えば、D265Cは、親Fcドメインに対して、EU 265位のアスパラギン酸（D）をシステイン（C）で置換したFc変異型である。置換の順序は任意であることに留意されたい。

【００５６】

本明細書では、「Fcガンマ受容体」または「FcガンマR」という用語は、IgG抗体のFc領域に結合し、FcガンマR遺伝子によってコードされるタンパク質のファミリーの任意のメンバーを指す。ヒトにおいて、このファミリーは、アイソフォームFcガンマRIa、FcガンマRIb、およびFcガンマRIcを含むFcガンマRI（CD64）；アイソフォームFcガンマRIIa（アロタイプH131およびR131を含む）、FcガンマRIIb（FcガンマRIIb-1およびFcガンマRIIb-2を含む）、およびFcガンマRIIcを含むFcガンマRII（CD32）；アイソフォームFcガンマRIIIa（アロタイプV158およびF158を含む）およびFcガンマRIIIb（アロタイプFcガンマRIIIb-NA1およびFcガンマRIIIb-NA2を含む）を含むFcガンマRIII（CD16）、ならびに未発見のヒトFcガンマRまたはFcガンマRのアイソフォームまたはアロタイプを含むが、これらに限定されない。FcガンマRは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、およびサルを含むがこれらに限定されない、任意の生物からのものであり得

る。マウスFcガンマRは、FcガンマRI（CD64）、FcガンマRII（CD32）、FcガンマRIII（CD16）、およびFcガンマRIII-2（CD16-2）、ならびに未発見のマウスFcガンマRまたはFcガンマRのアイソフォームもしくはアロタイプを含むが、これらに限定されない。

【００５７】

本明細書では、「エフェクター機能」とは、FcドメインとFc受容体との相互作用に起因する生化学的事象を指す。エフェクター機能には、ADCC、ADCP、およびCDCが含まれるが、これらに限定されない。本明細書で使用する「エフェクター細胞」とは、1つまたは複数のFc受容体を発現し、1つまたは複数のエフェクター機能を媒介する免疫系の細胞を意味する。エフェクター細胞としては、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好酸球、マスト細胞、血小板、B細胞、大顆粒リンパ球、ランゲルハンス細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、およびガンマデルタT細胞などが挙げられ、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、サルを含む任意の生物に由来することができるが、これらに限定されるものではない。

【００５８】

本明細書では、「サイレント」、「サイレンス」、または「サイレンシング」という用語は、本明細書に記載されている修飾Fc領域を有する抗体であって、未修飾のFc領域からなる同一の抗体のFcγRへの結合と比較して、Fcガンマ受容体（FcγR）への結合が減少しているもの（例えば、FcγRへの結合が、BLIなどによって測定される、未修飾のFc領域を含む同一の抗体のFcγRへの結合と比較して、少なくとも70％、少なくとも80％、少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも98％、少なくとも99％、または100％減少すること）を指す。いくつかの実施形態では、Fcサイレンス抗体は、FcγRへの検出可能な結合を有さない。修飾Fc領域を有する抗体のFcγRへの結合は、当技術分野で知られている様々な技術を用いて決定することができ、これらに限定されないが、例えば、平衡法（例えば、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA); KinExA, Rathanaswami et al. Analytical Biochemistry, Vol. 373:52-60, 2008; または、ラジオイムノアッセイ(RIA)または表面プラズモン共鳴アッセイまたは他のメカニズムのキネティクスベースのアッセイ（例えば、BIACORE.RTM.分析またはOCTET（登録商標）分析（forteBIO））、および間接的な結合アッセイ、競合的な結合アッセイ蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えば、ゲルろ過）などの他の方法がある。これらの方法やその他の方法では、1つまたは複数の成分に標識を付けたり、これらに限定されないが、発色性標識、蛍光標識、発光標識、または同位体標識などの様々な検出方法を採用したりすることができる。Paul, W. E., ed., Fundamental Immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999) には、抗体と免疫原の相互作用に焦点を当てた、結合親和性とキネティックスの詳細な説明がある。競合的な結合アッセイの一例として、標識抗原を、増加する量の非標識抗原の存在下で目的の抗体とインキュベートし、標識抗原に結合した抗体を検出することからなるラジオイムノアッセイが挙げられる。特定の抗原に対する目的の抗体の親和性および結合オフレートは、スキャッチャードプロット分析によってデータから決定することができる。第二の抗体との競合は、ラジオイムノアッセイを用いて決定することもできる。この場合、抗原は、標識化合物に結合した目的の抗体と、増加する量の非標識第2抗体の存在下でインキュベートされる。

【００５９】

本明細書では、「非修飾Fc領域からなる同一の抗体」という用語は、記載されているアミノ酸置換（例えば、D265C、H435A）を欠いているが、その他の点では比較対象のFc修飾抗体と同じアミノ酸配列を有する抗体を指す。

【００６０】

「抗体依存性細胞傷害」、または「ADCC」とは、Fcドメインを持つポリペプチド、例えば抗体が、特定の細胞傷害性細胞（主にNK細胞、好中球、マクロファージ）に存在するFc受容体（FcR）に結合し、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原を持つ「

標的細胞」に特異的に結合し、その後、細胞毒素で標的細胞を殺すことができる細胞傷害の一形態を指す。これにより、細胞傷害性エフェクター細胞が、抗原を持つ「標的細胞」に特異的に結合し、その後、細胞毒素で標的細胞を殺傷することが可能となる。(Hogarth et al., Nature review Drug Discovery 2012, 11:313) 抗体およびその断片に加えて、Fcドメインを含む他のポリペプチド、例えば、Fc融合タンパク質およびFc複合体タンパク質が、抗原を持つ標的細胞に特異的に結合する能力を有することで、細胞媒介性細胞毒性を発揮することができると考えられる。

【００６１】

簡単にするために、Fcドメインを含むポリペプチドの活性に起因する細胞媒介性細胞毒性は、本明細書ではADCC活性も指す。ADCCによる標的細胞の溶解を媒介する本開示の任意の特定のポリペプチドの能力は、アッセイされ得る。ADCC活性を評価するために、目的のポリペプチド（例えば、抗体）を免疫エフェクター細胞と組み合わせて標的細胞に添加し、標的細胞の細胞溶解をもたらす。細胞溶解は、一般的に、溶解した細胞から標識（放射性基質、蛍光色素、天然の細胞内タンパク質）が放出されることで検出される。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞としては、末梢血単核球（PBMC）やナチュラルキラー（NK）細胞などが挙げられる。生体内でのADCCアッセイの具体例は、Bruggemannら, J. Exp.Med.166:1351(1987)；Wilkinsonら、J. Immunol.Methods 258:183 (2001); Patelら、J. Immunol.Methods 184:29 (1995)などがある。代替的に、または追加的に、目的の抗体のADCC活性は、生体内で、例えば、Clynesら、Proc. Natl. Acad.Sci. USA 95:652 (1998)に開示されているような動物モデルで評価することができる。

【００６２】

本明細書では、「条件」および「条件付け」という用語は、患者が移植（例えば、造血幹細胞を含む移植）を受けるために準備されるプロセスを指す。そのような手順は、造血幹細胞移植の生着を促進する（例えば、条件付け手順およびその後の造血幹細胞移植に続いて、患者から分離された血液サンプル内の生着可能な造血幹細胞の量の持続的な増加から推測されるように）。本明細書に記載の方法によれば、造血幹細胞によって発現されるCD45を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片を患者に投与することによって、患者を造血幹細胞移植療法のために条件付けすることができる。本明細書に記載されているように、抗体は、薬物-抗体結合体を形成するように細胞毒素に共有結合されてもよい。前述の抗原の１つまたは複数を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片を、造血幹細胞移植療法を必要とする患者に投与することで、例えば、内因性の造血幹細胞を選択的に枯渇させ、それによって外因性造血幹細胞移植によって満たされる空孔を形成することによって、造血幹細胞移植片の生着を促進することができる。

【００６３】

本明細書では、「有効量」または「治療上有効な量」という用語は、所望の結果を達成するのに十分な治療薬、例えば抗CD45 ADCの量、またはヒト患者の自己免疫疾患に効果をもたらす量を指す。

【００６４】

本明細書では、「半減期」という用語は、体内の抗体医薬品の血漿中濃度が、対象者、例えばヒトの対象者において1/2または50％減少するのに要する時間を指す。この50％の血清中濃度の減少は、循環している薬物の量を反映している。

【００６５】

本明細書では、「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列の免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常部を有する抗体を含むことを意図している。ヒト抗体は、ヒト生殖系列の免疫グロブリン配列によってコードされていないアミノ酸残基（例えば、生体外でのランダム変異または部位特異的変異、または遺伝子再構成中に、または生体内での体細胞突然変異によって導入された変異）を含んでもよい。ただし、本明細書では、「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳類種の生殖細胞系に由来するCDR配列がヒ

トフレームワーク配列に移植された抗体を含むことを意図していない。ヒト抗体は、ヒト細胞内で（例えば、組換え発現により）、あるいはヒト以外の動物や、機能的に再編成されたヒト免疫グロブリン（重鎖および／または軽鎖など）遺伝子を発現することができる原核細胞または真核細胞により産生することができる。ヒト抗体が単鎖抗体である場合、天然のヒト抗体にはないリンカーペプチドを含むことができる。例えば、Fvは、重鎖の可変領域と軽鎖の可変領域とを連結する、2～約8個のグリシンまたは他のアミノ酸残基などのリンカーペプチドを含むことができる。このようなリンカーペプチドは、ヒト由来のものであると考えられる。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリを用いたファージディスプレイ法など、当技術分野で知られている様々な方法で作製することができる。また、ヒト抗体は、機能的な内因性免疫グロブリンを発現できないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを用いて作製することもできる（例えば、PCT公開第WO 1998/24893、WO 1992/01047、WO 1996/34096、WO 1996/33735、米国特許第5,413,923号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,569,825号、第5,661,016号、第5,545,806号、第5,814,318号、第5,885,793号、第5,916,771号、および第5,939,598号を参照されたい）。

【００６６】

非ヒト（例えば、マウスやラット）抗体の「ヒト化」型は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小限の配列を含むキメラ免疫グロブリンである。一般的に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的なすべてを含み、CDR領域のすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FR領域のすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリンの配列のものである。また、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常部（Fc）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリン共通配列のものを含むことができる。抗体のヒト化の方法は当技術分野で知られている。例えば、Riechmannら、1988年、Nature 332:323-7；米国特許第5,530,101号；同第5,585,089号、同第5,693,761号、同第5,693,762号、および同第6,180,370号、 Queenらに対するEP239400；PCT公開WO 91/09967；米国特許第5,225,539号; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, Mol.Immunol., 28:489-498; Studnickaら, 1994, Prot.Eng.7:805-814; Roguskaら、1994、Proc.Natl. Acad.Sci.91:969-973；および米国特許第5,565,332号に記載されている。

【００６７】

また、本明細書に記載されているSEQ ID NOに記載されている配列の「保存的配列修飾」、すなわち、ヌクレオチド配列によってコードされる、またはアミノ酸配列を含む抗体の、抗原への結合を無効にしないヌクレオチドおよびアミノ酸配列修飾も提供される。このような保存的配列修飾には、保存的なヌクレオチドおよびアミノ酸の置換、ならびにヌクレオチドおよびアミノ酸の付加および欠失が含まれる。例えば、部位特異的変異誘発やPCRを介した変異誘発など、当技術分野で知られている標準的な技術によって、本明細書に記載のSEQ ID NOに修飾を導入することができる。保存的配列修飾には、保存的アミノ酸置換が含まれ、この場合、アミノ酸残基は、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷の極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、β分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）などを有するアミノ酸が含まれる。このように、抗CD73抗体において予測される非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーの別のアミノ酸残基で置換されることが好ましい。抗原結合を排除しないヌクレオチドおよびアミノ酸の保存的置換を特定する方法は、当技術分野でよく知られている（例えば、Brummellら、Biochem.32:1180-1187(1993)；Kobayashiら、Protein Eng.12(10):879-884(1999)；お

およびBurksら、Proc.Natl. Acad.Sci. USA 94:412-417 (1997)を参照されたい)。

【００６８】

本明細書では、造血幹細胞や前駆細胞が、自然に循環しているか、移植によって提供されるかに関わらず、組織を再配置する能力を指すために、「移植能」という用語を使用している。この用語は、細胞の組織へのホーミングや目的の組織内での細胞のコロニー化など、生着に至るまでのすべての事象を包含する。生着効率や生着率は、当業者に知られている臨床的に許容される任意のパラメータを用いて評価または定量化することができ、例えば、競合的再配置ユニット（CRU）の評価、幹細胞がホーミングした、コロニー形成した、または生着した組織におけるマーカーの取り込みまたは発現、または疾患の進行、造血幹細胞および前駆細胞の生存、またはレシピエントの生存を介した対象の進行の評価を含むことができる。また、移植後の期間に末梢血中の白血球数を測定することによっても、移植の有無を判定することができる。また、骨髄液サンプル中のドナー細胞による骨髄細胞の回復を測定することによっても移植の有無を評価することができる。

【００６９】

本明細書では、「造血幹細胞」（「HSC」）という用語は、自己再生能力を持ち、多様な系譜からなる成熟した血液細胞に分化する能力を持つ未成熟の血液細胞を指し、顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、血小板（例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球（例えば、NK細胞、B細胞、T細胞）などが含まれるが、これらに限定されるものではない。このような細胞は、$CD34^+$細胞を含んでもよい。$CD34^+$細胞は、CD34細胞表面マーカーを発現する未熟な細胞である。ヒトの場合、CD34+細胞は、上記で定義した幹細胞の特性を持つ細胞の亜集団を含むと考えられるが、マウスの場合、HSCはCD34-である。さらに、HSCは、長期再増殖性造血幹細胞（LT-HSC）および短期再増殖性造血幹細胞（ST-HSC）も指す。LT-HSCとST-HSCは、機能的な電位と、細胞表面マーカーの発現に基づいて、分化している。例えば、ヒトHSCは、CD34+、CD38-、CD45RA-、CD90+、CD49F+、およびlin-（CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11B、CD19、CD20、CD56、CD235Aなどの成熟系マーカーが陰性）である。マウスでは、骨髄LT-HSCは、CD34-、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamfl/CD150+、CD48-、lin-（Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raなどの成熟系マーカーが陰性）であるのに対し、ST-HSCは、CD34+、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamfl/CD150+、lin-（Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7raなどの成熟系マーカーが陰性）である。また、ST-HSCはLT-HSCに比べて、恒常的な条件下では静止状態が少なく、増殖性が高い。しかし、LT-HSCは自己再生能力が高く（すなわち、成人期まで生存し、連続してレシピエントに移植することができる）、ST-HSCは自己再生能力に限界がある（すなわち、限られた期間しか生存できず、連続して移植することができない）。これらのHSCのいずれも、本明細書に記載の方法に使用することができる。ST-造血幹細胞は、非常に増殖性が高く、したがって、より迅速に分化した子孫を生み出すことができるので、特に有用である。

【００７０】

本明細書では、「造血幹細胞の機能的潜在能力」という用語は、造血幹細胞の機能的特性を指し、1）多能性（これは、顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、血小板（例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、リンパ球（例えば、NK細胞、T細胞、B細胞）を含むがこれらに限定されない複数の異なる血液系統に分化する能力を指す）2）自己再生能力（造血幹細胞が母細胞と同等の能力を持つ娘細胞を生み出す能力であり、さらにこの能力は個体の一生を通じて枯渇することなく繰り返し発生することを指す）、および3）造血幹細胞またはその子孫が移植を受けた患者に再導入され、造血幹細胞ニッチに帰巣し、生産的かつ持続的な造血を再確立する能力を指す。

【００７１】
本明細書では、「対象」および「患者」という用語は、本明細書に記載されているように、特定の病気や状態に対する治療を受けるヒトなどの生物を指す。
【００７２】
本明細書では、「レシピエント」という用語は、造血幹細胞の集団を含む移植などの、移植を受ける患者を指す。レシピエントに投与される移植細胞は、例えば、自家細胞、同一遺伝子の細胞、または同種細胞であってもよい。
【００７３】
本明細書で使用される「治療する」または「治療」とは、生存期間の延長、罹患率の低下、および/または代替治療様式の副産物である副作用の軽減など、任意の疾患の結果を改善することを指す。当技術分野で容易に理解されるように、疾患を完全に根絶することは好ましいが、治療行為の要件ではありません。有益なまたは所望の臨床結果には、本明細書に記載の抗体条件付け療法およびその後の造血幹細胞移植療法を受けた患者における外因性造血細胞の生着を促進することが含まれるが、これらに限定されない。追加の有益な結果には、条件付け療法およびそれに続く患者への外因性造血幹細胞移植の投与後に、造血幹細胞移植を必要とする患者における造血幹細胞の細胞数または相対濃度が増加することが含まれる。本明細書に記載された治療の有益な結果には、巨核球、血栓細胞、血小板、赤血球、マスト細胞、骨髄芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア細胞、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、Bリンパ球などの造血系細胞が、条件付け療法とそれに続く造血幹細胞移植療法などの造血系の1つまたは複数の細胞の細胞数または相対濃度の増加が含まれることもある。追加の有益な結果には、自己免疫細胞の集団（例えば、自己抗原と交差反応するT細胞受容体を発現するCD45+T細胞などのCD45+自己免疫リンパ球）など、疾患を引き起こす細胞集団の量の減少が含まれ得る。本発明の方法が障害の予防に向けられている限り、「予防する」という用語は、疾病状態が完全に阻止されることを必要としないことが理解される。むしろ、本明細書では、予防という用語は、本発明の化合物の投与が疾患の発症前に行われるような、障害に罹患しやすい集団を特定する当業者の能力を指す。この用語は、疾病状態が完全に回避されることを意味するものではない。
【００７４】
本明細書では、造血幹細胞の移植を「必要としている」患者には、本明細書に記載された自己免疫疾患を有する患者が含まれる。造血幹細胞は、一般に、1）顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、赤血球）、血栓細胞（例えば、巨核芽球、血小板を産生する巨核芽球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、およびリンパ球（例えば、NK細胞、T細胞、B細胞）を含むがこれらに限定されない複数の異なる血液系統に分化する多能性、2）母細胞と同等の能力を持つ娘細胞を生み出すことができる、自己再生能力3）移植を受けた患者に再導入され、造血幹細胞のニッチに帰巣し、生産的かつ持続的な造血を再構築することができる能力を示す。造血幹細胞は、造血系の１つまたは複数の細胞タイプに欠陥のある、または欠乏している患者に投与して、欠陥のある、または欠乏している細胞集団を生体内で再構成することができる。いくつかの実施形態では、対象者は、関節リウマチ（マウスモデルにおけるプロテオグリカン誘発性関節炎（PGIA）に代表される）、自己免疫性脳炎、強皮性移植片対宿主病、強皮症、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、クローン病、1型糖尿病、または本明細書に記載の別の自己免疫性病態などの自己免疫性疾患を有する。いくつかの実施形態では、対象者は、キメラ抗原受容体T細胞（CART）療法を必要としている。いくつかの実施形態では、対象者は、代謝性貯蔵障害を患っているか、そうでなければ影響を受けている。対象者は、グリコーゲン貯蔵疾患、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ糖脂質症、メタクロマチック白質ジストロフィー、または本明細書に開示される治療および療法から利益を得ることができる任意の他の疾患もしくは障害からなる群から選択される代謝性障害を患っているか、そうでなければ影響を受けている可能性があり、これらに限定されないが、重症複合免疫不全症、ウィス

コット-アルドリッチ症候群を含む。重症複合免疫不全症、ウィスコットアルドリッチ症候群、高免疫グロブリンM（IgM）症候群、チェディアック東病、遺伝性リンパ組織球症、骨粗鬆症、骨形成不全症、貯蔵病、大サラセミア、鎌状赤血球症、全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、若年性関節リウマチ、およびそれらの疾患、または「Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease（非悪性疾患に対する骨髄移植）」（ASH Education Book, 1:319-338 (2000)に記載されており、その開示内容は、造血幹細胞移植療法の投与によって治療され得る病理に関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれる障害などが挙げられる。加えてまたは代替的に、造血幹細胞移植を「必要とする」患者は、前述の病態の1つに罹患しているか、または罹患していないが、それにもかかわらず、巨核球、血栓細胞、血小板、赤血球、マスト細胞、マイオブラスト、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、T-リンパ球、B-リンパ球などの造血系の1つまたは複数の内因性細胞が、（例えば、他の健康な人のレベルと比較して）減少したレベルを示す。当業者であれば、例えば、当業者に知られているフローサイトメトリーや蛍光標示式細胞分取器（FACS）法などの手順により、前記の細胞タイプの１つまたは複数、または他の血球タイプのレベルが、他の健康な対象に対して低下しているかどうかを容易に判断することができる。

【００７５】

本明細書では、「幹細胞障害」とは、対象者の標的組織を条件付けすることにより、および／または標的組織の内因性幹細胞集団を切除することにより（例えば、対象者の骨髄組織から内因性造血幹細胞または前駆細胞集団を切除することにより）、および／または対象者の標的組織に幹細胞を移植または生着させることにより、治療または治癒する可能性のあるあらゆる疾患、障害、または状態を広く指す。本明細書に記載の患者の条件付けおよび／または造血幹細胞移植法を用いて治療することができる追加の疾患には、遺伝性血液疾患（例えば、鎌状赤血球貧血）および強皮症、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、クローン病などの自己免疫疾患が含まれる。 本明細書に記載の条件付けおよび／または移植方法を用いて治療することができる追加の疾患には、骨髄異形成症候群が含まれる。いくつかの実施形態では、対象者は、代謝性貯蔵障害を患っているか、そうでなければ影響を受けている。例えば、対象者は、グリコーゲン貯蔵疾患、ムコ多糖症、ゴーシェ病、ハーラー病、スフィンゴ糖脂質症、メタクロマチック白質ジストロフィー、または本明細書に開示される治療および療法から利益を得ることができる任意の他の疾患もしくは障害からなる群から選択される代謝性障害を患っているか、またはそうでなければ影響を受けている可能性があり、これに限定されないが、重症複合免疫不全症、ウィスコット-アルドリッチ症候群、高免疫グロブリンM（IgM）症候群、チェディアック-東病、遺伝性リンパ組織球症、骨芽細胞症、骨形成不全症、貯蔵疾患、大サラセミア症、鎌状赤血球症全身性硬化症、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、若年性関節リウマチ、および「Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease」ASH Education Book, 1:319-338 (2000)に記載されている疾患、または障害が含まれ、特に、造血幹細胞移植療法の投与によって治療され得る病態に関連するものであり、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００７６】

本明細書では、「ベクター」という用語は、プラスミド、DNAベクター、RNAベクター、ウイルス、または他の適切なレプリコンなどの核酸ベクターを含む。本明細書に記載の発現ベクターは、ポリヌクレオチド配列の他に、例えば、タンパク質の発現および／またはこれらのポリヌクレオチド配列の哺乳類細胞のゲノムへの組み込みに使用される追加の配列要素を含むことができる。本発明の抗体および抗体断片の発現に使用できる特定のベクターには、遺伝子の転写を指示するプロモーター領域およびエンハンサー領域などの制御配列を含むプラスミドが含まれる。また、抗体や抗体断片の発現に有用な他のベクターには、これらの遺伝子の翻訳速度を向上させたり、遺伝子転写の結果であるmRNAの安定性や核外輸送を改善させるポリヌクレオチド配列が含まれる。これらの配列要素は、

発現ベクター上に担持された遺伝子の効率的な転写を指示するために、例えば、5'および3'非翻訳領域、およびポリアデニル化シグナルサイトを含むことができる。また、本明細書に記載の発現ベクターは、このようなベクターを含む細胞を選択するためのマーカーをコードするポリヌクレオチドを含んでいてもよい。適切なマーカーの例としては、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、およびヌルセオトリシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子が挙げられる。

【００７７】

本明細書では、「複合体」または「抗体薬物複合体」または「ADC」という用語は、細胞毒素に連結された抗体を指す。ADCは、抗体またはその抗原結合性断片などの1つの分子の反応性官能基と、本明細書に記載されている細胞毒素などの別の分子の適切な反応性官能基が化学結合することによって形成される。複合体は、互いに結合した2つの分子の間、例えば、抗体と細胞毒の間にリンカーを含むことができる。複合体の形成に使用できるリンカーの例としては、ペプチド含有リンカー、例えば、D-アミノ酸などの自然発生または非自然発生のアミノ酸を含むリンカーが挙げられる。リンカーは、本明細書に記載されている、当技術分野で知られている様々な戦略を用いて調製することができる。その中の反応性成分に応じて、リンカーは、例えば、酵素的加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核的開裂、または有機金属的開裂によって切断することができる（例えば、Lerichеら、Bioorg.Med.Chem.、20:571-582、2012を参照されたい）。

【００７８】

本明細書では、「薬物対抗体比」または「DAR」とは、複合体の抗体に付着した、例えば、アマトキシンなどの薬物の数を指す。ADCのDARは1～8の範囲であるが、抗体上の結合部位の数に応じて、より高い負荷も可能である。特定の実施形態では、複合体は、1、2、3、4、5、6、7、または8のDARを有する。

【００７９】

本明細書では、「微小管結合剤」という用語は、細胞の有糸分裂および間期の細胞機能に必須である微小管ネットワークを破壊することによって作用する化合物を指す。微小管結合剤の例としては、本明細書に記載されているものや当技術分野で知られているものなどのメイタシン、メイタンシノイド、およびその誘導体、ビンブラスチン、ビンブラスチン硫酸、ビンクリスチン、ビンクリスチン硫酸、ビンデシン、およびビノレルビンなどのビンカアルカロイド、ドセタキセル、パクリタキセルなどのタキサン類；ディスコデルモリド、コヒチン、エポチロン、およびその誘導体などのマクロライド類、エポチロンBまたはその誘導体などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００８０】

本明細書では、「アマトキシン」という用語は、タマゴデングダケが産生するペプチドのアマトキシンファミリーのメンバー、またはその誘導体、例えば、RNAポリメラーゼIIの活性を阻害することができるその変異体または誘導体を指す。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシン類には、本明細書に記載の化合物、例えば、α-アマニチン、β-アマニチン、γ-アマニチン、ε-アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、またはプロアマヌリンが含まれる。本明細書に記載されているように、アマトキシンは、例えば、リンカー部分（L）を介して、抗体またはその抗原結合性断片に結合されてもよい（したがって、ADCを形成する）。アマトキシンの例示的な結合方法およびそのようなプロセスに有用なリンカーを以下に記載する。組成物および方法に従って、抗体、または抗原結合断片に結合するのに有用な、例示的なリンカー含有アマトキシンも本明細書に記載されている。

【００８１】

本明細書で使用される用語「アシル」は、-C(=O)Rを指し、ここでRは、本明細書で定義されているように、水素（「アルデヒド」）、C1-C12アルキル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、C3-C7カルボシクリル、C6-C20アリール、5-10員ヘテロアリール、または5-10員ヘテロシクリルである。非限定的な例としては、ホルミル、アセチ

ル、プロパノイル、ベンゾイル、およびアクリロイルが挙げられる。

【００８２】

本明細書では、「C1-C12アルキル」という用語は、1から12個の炭素原子を有する直鎖または分岐した飽和炭化水素を指す。代表的なC1-C12アルキル基としては、-メチル、-エチル、-n-プロピル、-n-ブチル、-n-ペンチル、および-n-ヘキシルが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、分枝状のC1-C12アルキルとしては、-イソプロピル、-sec-ブチル、-イソブチル、-tert-ブチル、-イソペンチル、および2-メチルブチルが挙げられるが、これらに限定されるものではない。C1-C12アルキル基は、無置換でも置換されていてもよい。

【００８３】

本明細書では、「アルケニル」という用語は、少なくとも1つの不飽和の部位、すなわち炭素-炭素、sp2二重結合を有する通常、第二、または第三の炭素原子を含むC2-C12炭化水素を指す。例としては、エチレンまたはビニル、-アリール、-1-ブテニル、-2-ブテニル、-イソブチレン、-1-ペンテニル、-2-ペンテニル、-3-メチル-1-ブテニル、-2-メチル-2-ブテニル、-2，3-ジメチル-2-ブテニルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。アルケニル基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８４】

本明細書では、「アルキニル」という用語は、少なくとも1つの不飽和の部位、すなわち炭素-炭素、spの三重結合を持つ、通常、第二、または第三の炭素原子を含むC2-C12炭化水素のことを指す。例としては、アセチレン、プロパルギルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。アルキニル基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８５】

本明細書では、「アリール」という用語は、C6-C20の炭素環式芳香族基を指す。アリール基の例としては、フェニル、ナフチルおよびアントラセニルが挙げられるが、これらに限定されない。アリール基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８６】

本明細書では、「アリールアルキル」という用語は、炭素原子に結合した水素原子の1つ、典型的には末端またはsp3炭素原子がアリールラジカルで置換された非環式アルキルラジカルを指す。典型的なアリールアルキル基としては、ベンジル、2-フェニルエタン-1-イル、2-フェニルエテン-1-イル、ナフチルメチル、2-ナフチルエタン-1-イル、2-ナフチルエテン-1-イル、ナフトベンジル、2-ナフトフェニルエタン-1-イルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。アリールアルキル基は、6～20個の炭素原子からなり、例えば、アリールアルキル基のアルカニル基、アルケニル基またはアルキニル基を含むアルキル部位は、1～6個の炭素原子であり、アリール部位は、5～14個の炭素原子である。アルカリル基は無置換でも置換されていてもよい。

【００８７】

本明細書では、「シクロアルキル」は、単環または二環式である飽和炭素環式ラジカルを指す。シクロアルキル基は、単環として3～7個の炭素原子を有する環、または二環式として7～12個の炭素原子を有する環を含む。単環のシクロアルキル基の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが挙げられる。シクロアルキル基は、無置換でも置換されていてもよい。

【００８８】

本明細書では、「シクロアルケニル」は、単環または二環式である不飽和炭素環式ラジカルを指す。シクロアルケニル基は、単環として3～6個の炭素原子を有する環、または二環式として7～12個の炭素原子を有する環を含む。単環のシクロアルケニル基の例としては、1-シクロペント-1-エニル、1-シクロペント-2-エニル、1-シクロペント-3-エニル、1-シクロヘキサ-1-エニル、1-シクロヘキサ-2-エニル、1-シクロヘキサ-3-エニルなどが挙げられる。シクロアルケニル基は、無置換でも置換されていてもよい。

【００８９】

本明細書では、「ヘテロアリールアルキル」とは、炭素原子に結合した水素原子の1つ、典型的には末端またはsp3炭素原子がヘテロアリールラジカルで置換された非環式アルキルラジカルを指す。典型的なヘテロアリールアルキル基としては、2-ベンズイミダゾリルメチル、2-フリルエチルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。ヘテロアリールアルキル基は、6～20個の炭素原子からなり、例えば、ヘテロアリールアルキル基のアルカニル基、アルケニル基またはアルキニル基を含むアルキル部位は、1～6個の炭素原子であり、ヘテロアリール部位は、5～14個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子である。ヘテロアリールアルキル基のヘテロアリール部位は、3～7個の環員（2～6個の炭素原子）を有する単環、または7～10個の環員（4～9個の炭素原子およびN、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子）を有する二環式であってもよく、例えば、ビシクロ［4，5］、［5，5］、［5，6］、または［6，6］系である。

【００９０】

本明細書では、「ヘテロアリール」および「ヘテロシクロアルキル」は、それぞれ、1つまたは複数の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、および硫黄である芳香族または非芳香族の環系を指す。ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルラジカルは、2～20個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子とからなる。ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルは、3～7個の環員（2～6個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子）を有する単環であっても、7～10個の環員（4～9個の炭素原子と、N、O、P、およびSから選択される1～3個のヘテロ原子）を有する二環式であってもよく、例えば、ビシクロ［4，5］、［5，5］、［5，6］、または［6，6］系である。ヘテロアリールおよびヘテロシクロアルキルは、無置換または置換されていてもよい。

【００９１】

ヘテロアリール基およびヘテロシクロアルキル基については、Paquette, Leo A.;「Principles of Modern Heterocyclic Chemistry」(W. A. Benjamin, New York, 1968)の特に第1章、第3章、第4章、第6章、第7章、および第9章、「The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs"」(John Wiley & Sons, New York, 1950～現在)の特に第13巻、第14巻、第16巻、第19巻、第28巻、およびJ. Am.Chem.Soc. (1960) 82:5566を参照されたい。

【００９２】

ヘテロアリール基の例としては、ピリジル、チアゾリル、テトラヒドロチオフェニル、ピリミジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、テトラゾリル、ベンゾフラニル、チアナフタレニル、インドリル、インドレニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、イソオキサゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、インドリジニル、イソインドリル、3H-インドリル、1H-インダゾリル、プリニル、4H-キノリジニル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、プテリジニル、4aH-カルバゾリル、カルバゾリル、フェナントリジニル、アクリジニル、ピリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フラザニル、フェノキサジニル、イソクロマニル、クロマニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾイソオキサゾリル、およびイサチノイルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００９３】

ヘテロシクロアルキルの例としては、ジヒドロピリジル、テトラヒドロピリジル（ピペリジル）、テトラヒドロチオフェニル、ピペリジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、2-ピロリドニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビステトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、ピペラジニル、キヌクリジニル、モルホリニルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００９４】

限定されない例として、炭素結合ヘテロアリールおよびヘテロシクロアルキルは、ピリジンの2、3、4、5、または6位、ピリダジンの3、4、5、または6位、ピリミジンの2、4、5、または6位、ピラジンの2、3、5、または6位、フラン、テトラヒドロフラン、チオフラン、チオフェン、ピロール、またはテトラヒドロピロールの2、3、4、または5位、オキサゾール、イミダゾール、チアゾールの2、4、または5位、イソオキサゾール、ピラゾール、イソチアゾールの3、4、または5位、アジリジンの2、または3位、アゼチジンの2、3、または4位、キノリンの2、3、4、5、6、7、または8位、イソキノリンの1、3、4、5、6、7、または8位などに結合している。さらに典型的には、炭素結合複素環としては、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、5-ピリジル、6-ピリジル、3-ピリダジニル、4-ピリダジニル、5-ピリダジニル、6-ピリダジニル、2-ピリミジニル、4-ピリミジニル、5-ピリミジニル、6-ピリミジニル、2-ピラジニル、3-ピラジニル、5-ピラジニル、6-ピラジニル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、または5-チアゾリルが挙げられる。

【００９５】

限定されない例として、窒素結合ヘテロアリールおよびヘテロシクロアルキルは、アジリジン、アゼチジン、ピロール、ピロリジン、2-ピロリン、3-ピロリン、イミダゾール、イミダゾリジン、2-イミダゾリンの1位、3-イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、2-ピラゾリン、3-ピラゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドール、インドリン、1H-インダゾール、イソインドールの2位、またはイソインドリン、モルホリンの4位、カルバゾールの9位、ベータ-カルボリンに結合している。さらに典型的には、窒素結合複素環としては、1-アジリジル、1-アゼテジル、1-ピロリル、1-イミダゾリル、1-ピラゾリル、および1-ピペリジニルなどが挙げられる。

【００９６】

本明細書で使用され、上記のアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、シクロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクリルなどのいずれかに適用される「置換」とは、１つまたは複数の水素原子がそれぞれ独立して置換基で置き換えられていることを意味する。典型的な置換基とては、これらに限定されないが、-X、-R、-OH、-OR、-SH、-SR、NH2、-NHR、-N（R）2、-N＋（R）3、-CX3、-CN、-OCN、-SCN、-NCO、-NCS、-NO、-NO2、-N3、-NC(=O)H、-NC(=O)R、-C(=O)H、-C(=O)R、-C(=O)NH2、-C(=O)N(R)2、-SO3-、-SO3H、-S(=O)2R、-OS(=O)2OR、-S(=O)2NH2、-S(=O)2N(R)2、-S(=O)R、-OP(=O)(OH)2、-OP(=O)(OR)2、-P(=O)(OR)2、-PO3、-PO3H2、-C(=O)X、-C(=S)R、-CO2H、-CO2R、-CO2-、-C(=S)OR、-C(=O)SR、-C(=S)SR、-C(=O)NH2、-C(=O)N(R)2、-C(=S)NH2、-C(=S)N(R)2、-C(=NH)NH2、および-C(=NR)N(R)2が挙げられ、ここで、各Xは、その都度、F、Cl、Br、およびIから独立して選択され、各Rは、その都度、C1-C12アルキル、C6-C20アリール、C3-C14ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール、保護基、およびプロドラッグ部位から独立して選択される。ある基が「任意に置換されている」と記載されている場合は、その基はその都度、独立して１つまたは複数の上記の置換基で置換されていることができる。

【００９７】

ある種のラジカルの命名規則は、文脈に応じてモノラジカルまたはジラジカルのいずれかを含むことができることを理解されたい。例えば、置換基が分子の残りの部分に2つの接着点を必要とする場合、その置換基はジラジカルであると理解される。例えば、2つの結合点を必要とするアルキルとして識別される置換基には、-CH2-、-CH2CH2-、-CH2CH(CH3)CH2-などのジラジカルが含まれる。他のラジカルの命名規則は、「アルキレン」、「アルケニレン」、「アリーレン」、「ヘテロシクロアルキレン」などのように、ラジカルがジラジカルであることを明確に示している。

【００９８】

置換基がジラジカルとして描かれている場合（すなわち、分子の残りの部分に2つの接着点を持っている場合）、別段の記載がない限り、置換基は任意の方向に付着できること

を理解されたい。

【００９９】

「異性」とは、分子式は同一であるが、原子の結合順序や空間における原子の配置が異なる化合物を意味する。空間における原子の配置が異なる異性は「立体異性体」と呼ばれる。互いに鏡像ではない立体異性体は「ジアステレオ異性体」と呼ばれ、互いに重ね合わせることのできる鏡像ではない立体異性体は「鏡像異性体」、あるいは「光学異性体」と呼ばれることもある。

【０１００】

4つの非同一の置換基に結合した炭素原子は「キラル中心」と呼ばれる。「キラル異性体」とは、少なくとも1つのキラル中心を持つ化合物を意味する。2つ以上のキラル中心を持つ化合物は、個々のジアステレオマーとして、または「ジアステレオマー混合物」と呼ばれる、ジアステレオマーの混合物として存在する可能性がある。1つのキラル中心が存在する場合、立体異性体はそのキラル中心の絶対配置（RまたはS）によって特徴付けられる。絶対配置とは、キラル中心に付着している置換基の空間における配置を指す。検討中のキラル中心に付着している置換基は、Cahn、Ingold、およびPrelogのSequence Ruleに基づいてランク付けされる。(Cahnら, Angew.Chem.Inter.Edit.1966, 5, 385; errata 511; Cahn et al., Angew.Chem.1966, 78, 413; Cahn and Ingold, J. Chem.Soc. 1951 (London), 612; Cahn et al., Experientia 1956, 12, 81; Cahn, J. Chem.Educ.1964, 41, 116）。逆のキラリティーを持つ個々の鏡像異性の形を同量含む混合物は「ラセミ混合物」と呼ばれる。

【０１０１】

本明細書および特許請求の範囲に開示されている化合物は、１つまたは複数の不斉中心を含んでいてもよく、それぞれの化合物の異なるジアステレオマーおよび／または鏡像異性体が存在してもよい。本明細書および特許請求の範囲における任意の化合物の記述は、別段の記載がない限り、すべての鏡像異性体、ジアステレオマー、およびそれらの混合物を含むことを意味する。さらに、本明細書および特許請求の範囲における任意の化合物の記述は、別段の記載がない限り、個々の鏡像異性体と、鏡像異性体のラセミまたはその他の混合物の両方を含むことを意味する。化合物の構造が特定の鏡像異性体として描かれている場合、本願の発明はその特定の鏡像異性体に限定されないことを理解されたい。したがって、本明細書では、本開示の構造式のそれぞれの鏡像異性体、光学異性体、およびジアステレオマーが企図されている。本明細書では、化合物の構造式は、場合によっては便宜上、特定の異性体を表しているが、本開示は、幾何学的異性体、非対称炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体などのすべての異性体を含み、すべての異性体が同じレベルの活性を有するとは限らないことが理解される。化合物は、異なる互変異性型で発生してもよい。本開示による化合物は、別段の記載がない限り、すべての互変異性型を含むことを意味する。化合物の構造が特定の互変異性体として描かれている場合、本願の発明はその特定の互変異性体に限定されないことを理解されたい。

【０１０２】

本明細書に記載されている任意の式の化合物には、化合物自体のほか、その塩、および該当する場合にはその溶媒和化合物が含まれる。塩は、例えば、アニオンと、本開示の化合物上の正電荷基（例えば、アミノ）との間で形成することができる。適切なアニオンとしては、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硫酸塩、重硫酸塩、スルファミン酸塩、硝酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、トリフルオロ酢酸塩、グルタミン酸塩、グルクロン酸塩、グルタル酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、トシル酸塩、サリチル酸塩、乳酸塩、ナフタレンスルホン酸塩、および酢酸塩（例えば、トリフルオロ酢酸塩）が挙げられる。用語「薬学的に許容されるアニオン」は、薬学的に許容される塩を形成するのに適したアニオンを指す。同様に、塩は、カチオンと、本開示の化合物上の負電荷基（例えば、カルボキシレート）との間で形成することもできる。適切なカチオンには、ナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオン、およびテトラメチルアンモニウムイオンなどのアンモニウムカチオンが

含まれる。適切な置換アンモニウムイオンの例としては、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン、およびトロメタミン、ならびにリシンおよびアルギニンなどのアミノ酸に由来するものがある。また、本開示の化合物には、第4級窒素原子を含むそれらの塩も含まれる。

【０１０３】

好適な無機アニオンの例としては、以下の無機酸に由来するものが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、亜硫酸、硝酸、亜硝酸塩、リン酸、亜リン酸がある。好適な有機アニオンの例としては、以下の有機酸に由来するものが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、2-アセトキシ安息香酸、酢酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、桂皮酸、クエン酸、エデト酸、エタンジスルホン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルヘプト酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフタレンカルボン酸、イセチオン酸、乳酸、ラクトビオン酸、ラウリン酸、マレイン酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ムチン酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、フェニルスルホン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、スルファニル酸、酒石酸、トルエンスルホン酸、吉草酸などがある。適切な高分子有機アニオンの例としては、以下の高分子酸に由来するものが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、タンニン酸、またはカルボキシメチルセルロースがある。

【０１０４】

さらに、本開示の化合物、例えば化合物の塩は、水和物または非水和物（無水物）のいずれかの形態で、または他の溶媒分子との溶媒和化合物として存在することができる。水和物の非限定的な例としては、一水和物、二水和物などが挙げられる。また、溶媒和化合物の非限定的な例としては、エタノール溶媒和化合物、アセトン溶媒和化合物などが挙げられる。「溶媒和化合物」とは、化学量論的量または非化学量論的量の溶媒を含む溶媒付加形態を意味する。化合物の中には、結晶性固体の状態で一定のモル比の溶媒分子を捕捉して、溶媒和化合物を形成する傾向があるものがある。溶媒が水の場合、形成される溶媒和化合物は水和物であり、溶媒がアルコールの場合、形成される溶媒和化合物はアルコール和物である。水和物とは、1分子以上の水と1分子の物質が結合してできるもので、水はH_2Oとしての分子状態を保っている。水和物は、例えば、一水和物、二水和物、三水和物などを指す。

【０１０５】

また、本明細書に開示されている式で表される化合物またはその塩には、結晶多形が存在していてもよい。任意の結晶形、結晶形混合物、またはその無水物もしくは水和物が、本開示の範囲に含まれることに留意されたい。

【０１０６】

抗CD45抗体

本発明は、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分の使用を含む。いくつかの実施形態は、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分からなる抗CD45 ADCの使用を含む。本発明は、抗CD45抗体および／またはADCが、（i）CD45+細胞を特徴とする自己免疫疾患を治療するため、および（ii）移植療法を必要とする患者における移植された造血幹細胞の生着を促進するための治療剤として使用できるという発見に一部基づいている。これらの治療活性は、例えば、抗CD45抗体またはADCがCD45を発現している内在性の細胞に結合することにより、内在性の自己免疫細胞が根絶されることによって引き起こされる。このようにして、移植された造血幹細胞は、自己免疫疾患に罹患しているヒトなどの患者に正常に移植される可能性があり、その結果、患者は自己寛容システムの再構築に向けて標的となる免疫の枯渇を得ることができる。

【０１０７】

CD45は、T細胞やB細胞の抗原受容体を介したシグナル伝達に不可欠な、造血細胞特異的な膜貫通型のタンパク質チロシンホスファターゼである。CD45には、大きな細胞外領域と、ホスファターゼを含む細胞質ドメインがある。CD45は、刺激の性質や関係する細胞の種類に応じて、正と負の両方の調節因子として働く可能性がある。CD45の遺伝子には多数の並べ替えが存在するが、ヒトでは6つのアイソフォームのみが伝統的に同定されている。そのアイソフォームとは、RA、RO、RB、RAB、RBC、RABCである（Hermiston et al. 2003 "CD45: a critical regulator of signaling thresholds in immune cells."Annu Rev Immunol.2:107-137.)。CD45RAはナイーブT細胞に、CD45ROは活性化T細胞やメモリーT細胞、いくつかのB細胞サブセット、活性化単球/マクロファージ、顆粒球に発現している。CD45RBは、末梢のB細胞、ナイーブT細胞、胸腺細胞、弱いながらもマクロファージ、樹状細胞に発現している。

【０１０８】

ヒトCD45（mRNA NCBI Reference Sequence:NM_080921.3, Protein NCBI Reference Sequence:NP_563578.2）を結合することができる抗体および抗原結合性断片は、アイソフォームCD45ROを結合することができるものを含み、造血幹細胞移植療法を必要とする患者における造血幹細胞移植片の生着を促進するなど、本明細書に開示される組成物および方法とともに使用することができる。CD45の複数のアイソフォームは、一次転写産物における34個のエクソンの代替スプライシングから生じる。エクソン4、5、6、そして潜在的には7のスプライシングにより、複数のCD45のバリエーションが生じる。

【０１０９】

代替スプライシングにより、個々のエクソンまたはエクソンの組み合わせが、CD45タンパク質の様々なアイソフォームに発現する（例えば、CD45RA、CD45RAB、CD45RABC）。対照的に、CD45ROはエクソン4-6の発現を欠き、エクソン1-3と7-34の組み合わせから生成される。CD45ROはエクソン4-6の発現を欠き、エクソン7がタンパク質から除外され、エクソン1-3と8-34が一緒にスプライシングされるという証拠がある。E3-8と名付けられたこのタンパク質は、mRNAレベルでは検出されているが、現在のところフローサイトメトリーでは同定されていない。

【０１１０】

CD45ROは現在、造血幹細胞に発現する唯一のCD45アイソフォームとして知られている。CD45RAとCD45RABCは検出されていないか、造血幹細胞の表現型から除外されている。マウスを用いた研究から、CD45RBは胎児の造血幹細胞に発現しているが、成体の骨髄造血幹細胞には存在しないという証拠がある。注目すべきは、CD45RCはアジア人集団の中でエクソン6に高い確率で多型が見られることである（CD45RCのエクソン6の多型は日本人集団の約25％に見られる）。この多型により、CD45ROが高発現し、CD45RA、CD45RB、CD45RCの発現量が減少する。さらに、CD45RA変異体（CD45RABやCD45RACなど）は、自己免疫疾患と関連するエクソン4の多型を示している。

【０１１１】

造血幹細胞にCD45ROが存在し、他の免疫細胞（T、Bリンパ球サブセットや様々な骨髄系細胞など）への発現が比較的限られていることから、CD45ROは造血幹細胞移植を必要とする患者の条件付け治療に特に適したターゲットとなる。CD45ROはエクソン4、5、6の発現を欠いているだけのため、免疫原として使用することで、汎CD45抗体やCD45RO特異的抗体のスクリーニングが可能になる。

【０１１２】

本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用できる抗CD45抗体には、抗CD45抗体、およびその抗原結合部分が含まれる。抗体の抗原結合部分は当技術分野でよく知られており、抗体の抗原結合領域に基づいて容易に構築することができる。例示的な実施形態では、本明細書に記載の条件付け方法と組み合わせて使用される抗CD45抗体は、モノクローナル抗体またはその抗原結合性断片、ポリクローナル抗体またはその抗原結合性断片、ヒト化抗体またはその抗原結合性断片、完全ヒト抗体またはその抗

原結合性断片、キメラ抗体またはその抗原結合性断片、二重特異性抗体またはその抗原結合性断片、二重可変免疫グロブリンドメイン、単鎖Fv分子（scFv）、二重特異性抗体、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スカフォールド、Fv断片、Fab断片、F(ab')2分子、またはタンデム2重scFvであることができる。本明細書に記載のADCまたは方法において全体または一部を使用することができる例示的な抗CD45抗体を以下に提供する。

【０１１３】

いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、BIOLEGEND（登録商標）(San Diego, CA)から市販されているクローンHI30、またはそのヒト化変異体であるか、またはそのクローンHI30に由来する。抗体のヒト化は、当技術分野で知られている手順（例えば、下記の実施例7に記載されている）に従って、非ヒト抗体のフレームワーク残基および定常部残基を生殖系列ヒト抗体のものと置き換えることによって行うことができる。本明細書に記載の方法と組み合わせて使用できる追加の抗CD45抗体としては、抗CD45抗体ab10558、EP322Y、MEM-28、ab10559、0.N.125,ABCAM（登録商標）（Cambridge, MA）から市販されているF10-89-4、HIe-1、2B11、YTH24.5、PD7/26/16、F10-89-4、1B7、ab154885、B-A11、phosphor S1007、ab170444、EP350、Y321、GA90、D3/9、X1 6/99、LT45、およびそれらのヒト化変異体が挙げられる。本明細書に記載されている患者の条件付け手順と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体には、SIGMA-ALDRICH（登録商標）（St.Louis, MO）から市販されている抗CD45抗体HPA000440、およびそのヒト化変異体が含まれる。本明細書に記載された患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができる追加の抗CD45抗体には、例えば、Matthewsら、Blood 78：1864-1874、1991に記載されているマウスモノクローナル抗体BC8、およびそのヒト化変異体が含まれ、その開示は、抗CD45抗体に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に記載された方法と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体には、モノクローナル抗体YAML568が含まれ、これは、例えば、Glattingら、J. Nucl.Med.8:1335-1341, 2006に記載されているモノクローナル抗体YAML568があり、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に記載されている患者の条件付け手順と組み合わせて使用することができる追加の抗CD45抗体には、モノクローナル抗体YTH54.12およびYTH25.4があり、これらは、例えば、Brennerら、Ann.N.Y. Acad.Sci. 996:80-88, 2003に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に記載の患者の条件付け方法で使用するための追加の抗CD45抗体には、UCHL1、2H4、SN130、MD4.3、MBI、およびMT2が含まれ、これらは、例えば、Brownら、Immunology 64:331-336、1998年に記載されており、その開示は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に記載の方法と組み合わせて使用することができる追加の抗CD45抗体には、American Type Culture Collection（ATCC）Accession No.RA3-6132、RA3-2C2、およびTIB122から生成および放出されたもの、ならびにモノクローナル抗体C363.16A、および13/2が含まれ、これらは、例えば、Johnsonら、J. Exp.Med.169:1179-1184, 1989に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体としては、モノクローナル抗体AHN-12.1、AHN-12、AHN-12.2、AHN-12.3、AHN-12.4、HLe-1、およびKC56(T200)が挙げられ、これらは、例えば、Harvathら、J. Immunol.146:949-957, 1991に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体、およびそのヒト化変異体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。

【０１１４】

本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができる追

加の抗CD45抗体には、例えば、米国特許第7,265,212号（これは、例えば、他のクローンの中で、抗CD45抗体39E11、16C9、および1G10を記載している）；7,160,987号（これは、例えば、モノクローナル抗体6G3など、ATCC Accession No,7,160,987（例えば、モノクローナル抗体6G3のような、ATCC受入番号HB-11873によって産生および放出された抗CD45抗体を記載している）、および6,099,838（例えば、抗CD45抗体MT3、ならびにATCC受入番号HB220（MB23G2とも呼ばれる）およびHB223によって産生および放出された抗体を記載している）、ならびにUS 2004/0096901およびUS 2008/0003224（例えば、以下を記載している）がある。モノクローナル抗体17.1など、ATCC受入番号PTA-7339によって製造およびリリースされた抗CD45抗体）があり、これらの各開示は、抗CD45抗体に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれる。

【０１１５】

本明細書に記載されている患者の条件付け方法と組み合わせて使用することができるさらなる抗CD45抗体には、ATCC受入番号MB4B4、MB23G2、14.8、GAP 8.3、74-9-3、I/24.D6、9.4、4B2、M1/9.3.4.HL.2、ならびにそれらのヒト化および／または親和性成熟された変異体から産生および放出された抗体が含まれる。親和性成熟は、例えば、以下の実施例6に記載されているように、本明細書に記載された、または当技術分野で知られている生体外ディスプレイ技術を用いて、ファージディスプレイなどの方法で行うことができる。

【０１１６】

本明細書に記載の患者の条件付け方法と組み合わせて使用できる追加の抗CD45抗体には、抗CD45抗体T29/33があり、これは、例えば、Morikawa et al., Int.J. Hematol.54:495-504, 1991に記載されており、その開示内容は、抗CD45抗体に関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。

【０１１７】

特定の実施形態では、抗CD45抗体は、アパミスタマブ（別名90Y-BC8、Iomab-B、BC8；例えば、US20170326259、WO2017155937、およびOrozco et al.Blood.127.3（2016）：352-359.に記載されている）またはBC8-B10（例えば、Li et al. PloS one 13.10 (2018): e0205135.に記載されている）から選択され、これらの各々は参照により組み込まれる。他の抗CD45抗体は、例えば、WO2003/048327、WO2016/016442、US2017/0226209、US2016/0152733、US9,701,756；US2011/0076270、またはUS7,825,222に記載されており、これらの各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、アミノ酸配列RNGPHERYHLEVEAGNT（配列番号38）からなる領域でヒトCD45に特異的に結合する。例えば、特定の実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号37（NP_002829.3に対応するCD45アイソフォームの断片）のアミノ酸残基486R、493Y、および502T、または他のヒトCD45アイソフォームの配列RNGPHERYHLEVEAGNT（配列番号38、太字の残基は結合部位を示す）からなる領域のそれに対応する残基で、ヒトCD45に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、ヒトCD45のフィブロネクチンドメイン（例えば、フィブロネクチンd4ドメイン）に特異的に結合する。

【０１１９】

いくつかの実施形態では、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、配列番号37の残基486R、493Y、および502Tからなるヒト CD45のエピトープに特異的に結合し、また、カニクイザルおよび／またはアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２０】

いくつかの実施形態では、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列RNGPHERYHLEVEAGNT（配列番号38）からなるヒトCD45のエピトープに特

異的に結合し、また、カニクイザルやアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２１】

いくつかの実施形態において、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、アミノ酸配列CRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHK（配列番号39）からなるヒトCD45のエピトープに特異的に結合し、カニクイザルやアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、単離された抗CD45抗体またはその抗原結合部分は、配列番号37の残基486R、493Y、および502Tからなるヒト CD45のエピトープに特異的に結合する。RNGPHERYHLEVEAGNT（配列番号38）からなるペプチド中の少なくとも1つの追加アミノ酸、少なくとも2つの追加アミノ酸、少なくとも3つの追加アミノ酸、少なくとも4つの追加アミノ酸、または少なくとも5つの追加アミノ酸に結合し、ここで追加アミノ酸残基は配列番号37の残基486R、493Y、および502Tではなく、さらにカニクイザルおよびアカゲザルのCD45にも結合する。

【０１２３】

いくつかの実施形態では、本発明は、AbAのものに対応する結合領域、例えば、CDR、または可変領域を含む抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片を提供する。AbAの重鎖可変領域（VH）のアミノ酸配列は、配列番号1に記載されている。AbAのVH CDRドメインのアミノ酸配列は、配列番号2（VH CDR1）；配列番号3（VH CDR2）、および配列番号4（VH CDR3）に記載されている。AbAの軽鎖可変領域（VL）アミノ酸配列は、配列番号5に記載されている。 AbAのVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号6（VL CDR1）；配列番号7（VL CDR2）、および配列番号8（VL CDR3）に記載されている。したがって、特定の実施形態では、本明細書で提供される抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、配列番号2、3、および4に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる重鎖と、配列番号6、7、および8に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる軽鎖可変領域とを含んでいる。

【０１２４】

いくつかの実施形態では、本発明は、AbBのものに対応する結合領域、例えば、CDR、または可変領域を含む抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片を提供する。AbBの重鎖可変領域（VH）のアミノ酸配列は、配列番号9に記載されている。AbBのVH CDRドメインのアミノ酸配列は、配列番号10（VH CDR1）；配列番号11（VH CDR2）、および配列番号12（VH CDR3）に記載されている。AbBの軽鎖可変領域（VL）アミノ酸配列は、配列番号13に記載されている。 AbBのVL CDRドメインアミノ酸配列は、配列番号14（VL CDR1）；配列番号15（VL CDR2）、および配列番号16（VL CDR3）に記載されている。したがって、特定の実施形態では、本明細書で提供される抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号9に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、配列番号13に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域とを含んでいる。いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、配列番号10、11、および12に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる重鎖と、配列番号14、15、および16に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3からなる軽鎖可変領域とを含んでいる。

【０１２５】

いくつかの実施形態では、本発明は、AbCのものに対応する結合領域、例えば、CDR、または可変領域を含む抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片を提供する。AbCの重鎖可変領域（VH）のアミノ酸配列は、配列番号17に記載されている（表6参照）。AbCのVH CDRドメインのアミノ酸配列は、配列番号18（VH CDR1）；配列番号19（VH CDR2）、および配列番号20（VH CDR3）に記載されている。AbCの軽鎖可変領域（VL）のアミノ酸配列は、配列番号21に記載されている。AbCのVL CDRドメインのアミ

ノ酸配列は、配列番号22（VL CDR1）；配列番号23（VL CDR2）、および配列番号24（VL CDR3）に記載されている。したがって、特定の実施形態では、本明細書で提供される抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号17に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域と、配列番号21に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態では、抗CD45抗体は、配列番号18、19、および20に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む重鎖と、配列番号22、23、および24に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む軽鎖可変領域とからなる。

【０１２６】

特定の実施形態では、抗体は、表6に記載されたHC可変ドメイン、または表6のHC可変領域の変異体からなる修飾重鎖（HC）可変領域からなり、この変異体は、（i）表6に記載されたHC可変ドメインと、1、2、3、4、または5個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、（ii）表6に記載されたHC可変ドメインと、最大で5、4、3、2、または1個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、(iii）表6に記載のHC可変ドメインと1～5、1～3、1～2、2～5または3～5個のアミノ酸置換、付加または欠失で異なり、および／または（iv）表6に記載のHC可変ドメインと少なくとも約75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％または99％同一のアミノ酸配列からなり、（i）～（iv）のいずれかにおいて、アミノ酸置換は保存的アミノ酸置換であっても非保存的アミノ酸置換であっても良いことを特徴とする。

【０１２７】

特定の実施形態では、抗体は、表6に記載されたLC可変ドメイン、またはその変異体からなる修飾軽鎖（LC）可変領域を含み、この変異体は、（i）表6に記載されたLC可変ドメインと、1、2、3、4、または5個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、（ii）表6に記載されたLC可変ドメインと、最大で5、4、3、2、または1個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、（iii）表6に記載されたLC可変ドメインと、1～5、1～3、1～2、2～5、または3～5個のアミノ酸の置換、追加、または欠失で異なり、(iv）表6に記載のLC可変ドメインと1～5、1～3、1～2、2～5または3～5個のアミノ酸の置換、付加または欠失で異なり、および／または（iv）表6に記載のLC可変ドメインと少なくとも約75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％または99％同一のアミノ酸配列からなり、（i）～（iv）のいずれかにおいて、アミノ酸の置換は保存的アミノ酸置換または非保存的アミノ酸置換であってもよい。

【０１２８】

特定の実施形態では、抗CD45抗体は、抗体のCD45結合特異性（すなわち、AbA、AbB、またはAbCと同様の特異性）を保持しながら、CDRが保存的アミノ酸置換（または2、3、4、または5個のアミノ酸置換）を含む、本明細書の表6に記載されたCDRを含む。

【０１２９】

特定の実施形態では、抗CD45抗体は、AbA、AbB、AbC抗体、またはその抗原結合部分に基づいた脱免疫化抗体である。脱免疫化抗体とは、V領域がT細胞エピトープを欠くように選択されているか、またはT細胞エピトープを除去するように変更されており、それによって抗体が免疫原性を有する可能性を最小化または排除しているものである。特定の実施形態では、抗CD45抗体は、フレームワークドメインをT細胞エピトープがないように選択または設計することによって脱免疫化されている。このようなフレームワークドメインは、抗体配列中に存在すると、ヒト対象が抗CD45抗体に対してHAHA/HAMA反応を行うことを可能にし、その結果、ヒト対象に有害事象を引き起こす免疫介在性反応や治療効果の低下を引き起こす。本明細書に開示されている抗体（すなわち、本明細書に記載されているAbA、AbB、およびAbCの可変およびCDR配列）は、脱免疫化抗体が由来し得る親配列として機能し得る。

【０１３０】

追加の抗CD45抗体は、国際特許出願番号PCT/US2019/058973およびPCT/US20

19/058971で提供されており、それぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれている。

【０１３１】

追加の抗CD45抗体およびその抗原結合部分は、本明細書に記載されている抗体を特定する方法（例えば、抗体ライブラリのハイスループットスクリーニング、ファージディスプレイ、計算モデルなど）を含むがこれに限定されない、技術的に認められた方法を用いて生成することができる。

【０１３２】

前述の各出版物の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれている。

【０１３３】

本明細書に記載され、本明細書に記載されたADCで使用される抗体またはその抗原結合性断片は、当技術分野で知られているように、半減期を増加させるもの、ADCCを増加または減少させるものなど、抗体および／または断片の特性を変化させる修飾および／または突然変異を含んでいてもよい。

【０１３４】

いくつかの実施形態では、ADCは、CD45に特異的に結合する二重特異性抗体またはその抗原結合部分と、追加の標的抗原とを含む。二重特異性結合剤を含むいくつかの実施形態では、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分からなる抗原結合部分を含む、例えばハーフ抗体、scFv、Fab、Fab'、a Fab、a Fab'、di-scFv、タンデムdi-scFv、tri-scFv、タンデムtri-scFv、Fv、ジスルフィド結合Fv、DART、シングルドメイン抗体（sdAb）、二重特異性抗体、タンデム二重特異性抗体、トリアボディ、タンデムトリアボディ、またはそれらの一部。いくつかの実施形態では、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分は、脱免疫化された抗CD45抗体、またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分は、キメラ抗CD45抗体、またはその抗原結合部分である。他の実施形態では、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分は、ヒト化抗CD45抗体、またはその抗原結合部分である。他の実施形態では、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分は、完全ヒト抗CD45抗体、またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD45結合剤、またはその一部は、抗CD45二重特異性結合剤に組み込むことができる。例えば、いくつかの実施形態では、抗CD45二重特異性結合剤は、配列番号1の重鎖可変領域配列、および配列番号5の軽鎖可変領域配列を含むことができる。いくつかの実施形態では、抗CD45二重特異性結合剤は、配列番号2、3、および4に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号6、7、および8に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むことができる。

【０１３５】

いくつかの実施形態では、抗CD45二重特異性結合剤は、配列番号9の重鎖可変領域配列、および配列番号13の軽鎖可変領域配列を含むことができる。いくつかの実施形態では、抗CD45二重特異性結合剤は、配列番号10、11、および12に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号14、15、および16に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むことができる。いくつかの実施形態では、抗CD45二重特異性結合剤は、配列番号17の重鎖可変領域配列、および配列番号21の軽鎖可変領域配列を含むことができる。いくつかの実施形態では、抗CD45二重特異性結合剤は、配列番号18、19、および20に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号22、23、および24に記載のアミノ酸配列からなるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むことができる。

【０１３６】

当技術分野で知られている、または本明細書に記載されている方法を用いて同定された他の抗CD45抗体または結合剤を、本明細書に記載されている二重特異性結合剤に追加または代替的に使用することができる。

【０１３７】
Ｆｃ-修飾抗体
本発明で使用される抗体および／またはＡＤＣは、特定の実施形態において、Ｆｃサイレンシングを可能にするＦｃ修飾（複数可）を有する抗ＣＤ４５抗体、またはその抗原結合部分を含んでいてもよい。本明細書のＦｃ修飾抗体またはＡＤＣは、内在性造血幹細胞の選択的な枯渇を可能にするだけでなく、外在性造血幹細胞の移植に対する細胞毒性効果を低減し、それによって造血幹細胞移植の生着をさらに促進する。
【０１３８】
また、本明細書に記載されている抗体または結合断片は、半減期の増加、ＡＤＣＣの増加または減少など、抗体および／または断片の特性を変化させる修飾および／または突然変異を含んでいてもよい。
【０１３９】
いくつかの実施形態では、１つまたは複数の放射性標識アミノ酸を含む抗体が提供される。放射性標識抗体は、診断および治療の両方の目的で使用することができる（放射性標識分子への結合は、別の可能な特徴である）。ポリペプチドの標識の非限定的な例としては、３Ｈ、１４Ｃ、１５Ｎ、３５Ｓ、９０Ｙ、９９Ｔｃ、および１２５Ｉ、１３１Ｉ、１８６Ｒｅが挙げられるが、これらに限定されない。放射性同位元素で標識されたアミノ酸および関連するペプチド誘導体を調製する方法は、当技術分野で知られている（例えば、Junghansら、in Cancer Chemotherapy and Biotherapy 655-686（2nd edition, Chafner and Longo, eds., Lippincott Raven (1996)および米国特許第4,681,581号、米国特許第4,735,210号、米国特許第5,101,827号、第5,101,827号、米国特許第5,102,990号（米国RE35,500）米国特許第5,648,471号および第5,697,902号を参照されたい）。例えば、放射性同位元素をクロラミンＴ法で共役させてもよい。
【０１４０】
いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５ ＡＤＣは、修飾されたＦｃ領域を含む抗ＣＤ４５抗体またはその結合断片からなり、前記修飾されたＦｃ領域は、野生型Ｆｃ領域に対して少なくとも１つのアミノ酸修飾を含み、前記分子がＦｃガンマＲ（ＦｃγＲ）に対する親和性または結合性が変化するようになっている。Ｆｃ領域内の特定のアミノ酸位置は、ＦｃγＲと直接接触していることが結晶学的研究により知られている。具体的には、アミノ酸２３４-２３９（ヒンジ領域）、アミノ酸２６５-２６９（Ｂ/Ｃループ）、アミノ酸２９７-２９９（Ｃ'/Ｅループ）、およびアミノ酸３２７-３３２（Ｆ/Ｇ）ループである。(Sondermannら、２０００ Nature, 406: ２６７-２７３を参照されたい）。本明細書に記載の抗体は、構造および結晶学的分析に基づいて、ＦｃγＲと直接接触する少なくとも１つの残基の修飾を含む変形Ｆｃ領域を含んでいてもよい。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５抗体（またはその断片）のＦｃ領域は、Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest、5th Ed.に記載されているようなＥＵインデックスに従ったアミノ酸２６５でのアミノ酸置換を含んでいる。Public Health Service, NH1, MD (1991)に記載されているＥＵインデックスに従って、アミノ酸２６５でのアミノ酸置換からなる。「KabatにおけるＥＵインデックス」とは、ヒトIgG1 EU抗体の番号付けを指す。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｄ２６５Ａ変異を含んでいる。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｄ２６５Ｃ変異を含んでいる。いくつかの実施形態では、抗体（またはその断片）のＦｃ領域は、KabatにおけるようなＥＵインデックスに従って、アミノ酸２３４でのアミノ酸置換を含んでいる。
【０１４１】
いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｄ２６５、Ｖ２０５、Ｈ４３５、Ｉ２５３、および／またはＨ３１０のアミノ酸位置に変異を含んでいる。例えば、これらの位置における具体的な変異には、Ｄ２６５Ｃ、Ｖ２０５Ｃ、Ｈ４３５Ａ、Ｉ２５３Ａ、および／またはＨ３１０Ａが含まれる。
【０１４２】
いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｌ２３４Ａ変異を含んでいる。一部の実施形態では、抗ＣＤ４５抗体（またはその断片）のＦｃ領域は、KabatにおけるようなＥＵインデックスによるアミノ酸２３５でのアミノ酸置換を含んでいる。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域

は、L235A変異を含んでいる。さらに別の実施形態では、Fc領域は、L234AおよびL235A変異からなる。さらなる実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235Aの変異からなる。さらに別の実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435Aの変異からなる。さらなる実施形態では、Fc領域は、D265CおよびH435Aの変異からなる。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、本明細書の抗CD45抗体は、以下の修飾または修飾の組み合わせのいずれかを含むFc領域を含み、D265A、D265C、D265C／H435A、D265C／LALA、D265C／LALA／H435A、D265C／N297G、D265C／N297G／H435A、D265C（IgG2*）、D265C（IgG2）／H435A、D265C／N297Q／H435A、D265C／N297Q、EPLVLAdelG／H435A、N297A、N297G、またはN297Qである。

【０１４４】

修飾されたFc領域とFcガンマ受容体との間の結合または親和性は、当技術分野で知られている様々な技術を用いて決定することができるが、これらに限定されるものではなく、例えば、平衡法（例．酵素結合免疫吸着検定法(ELISA); KinExA, Rathanaswami et al. Analytical Biochemistry, Vol. 373:52-60, 2008;または、ラジオイムノアッセイ(RIA))、または表面プラズモン共鳴アッセイまたは他のメカニズムのキネティクスベースのアッセイ（例えば、BIACORE（登録商標）分析またはOctetTM分析（forteBIO）など）、間接的結合アッセイ、競合的な結合アッセイ蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動、クロマトグラフィー（ゲルろ過など）などの他の方法がある。これらの方法やその他の方法では、1つまたは複数の成分に標識を付けたり、および/または発色性標識、蛍光標識、発光標識、同位体標識などの様々な検出方法を採用したりすることができるが、これらに限定されるものではない。Paul, W. E., ed., Fundamental Immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999) には、抗体と免疫原の相互作用に焦点を当てた、結合親和性と動力学の詳細な説明がある。競合結合法の一例として、標識抗原を、増加する量の非標識抗原の存在下で目的の抗体とインキュベートし、標識抗原に結合した抗体を検出することからなるラジオイムノアッセイがある。特定の抗原に対する目的の抗体の親和性および結合オフレートは、スキャッチャードプロット分析によってデータから決定することができる。第二の抗体との競合は、ラジオイムノアッセイを用いて決定することもできる。この場合、抗原は、標識化合物に結合した目的の抗体と、増加する量の非標識第2抗体の存在下でインキュベートされる。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFc修飾を有する抗体（例えばD265C、L234A、L235A、および／またはH435A）は、修飾されていないFc領域からなる同一の抗体のFcガンマ受容体への結合と比較して、Fcガンマ受容体への結合が、少なくとも70％減少、少なくとも80％減少、少なくとも90％減少、少なくとも95％減少、少なくとも98％減少、少なくとも99％減少、または100％減少する（例えば、バイオレイヤー干渉法（BLI）により評価される）。

【０１４６】

Fc領域とFcガンマ受容体との結合は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）や補体依存性細胞傷害（CDC）などの様々なエフェクター機能や下流のシグナル伝達現象に不可欠である。したがって、特定の態様では、修飾されたFc領域（例えば、L234A、L235A、および／またはD265Cの変異を含む）を含む抗体は、エフェクター機能が実質的に低下または消失している。エフェクター機能は、当技術分野で知られている様々な方法を用いて、例えば、目的の抗体に反応する細胞応答（例えば、マスト細胞の脱顆粒やサイトカインの放出）を測定することによってアッセイすることができる。例えば、当技術分野における標準的な方法を用いて、Fc修飾抗体を、例えば、ヒト末梢血単核球によるマスト細胞脱顆粒を誘発する能力またはサイトカイン放出を誘発する能力についてアッセイすることができる。

【０１４７】

したがって、いくつかの実施形態では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす変異を含んでいる（例えば、修飾されていないFc領域を有する抗体と比較して）。半減期が短い抗体は、抗体が短命の治療薬として機能することが予想される特定の例、例えば、抗体を投与した後に造血幹細胞を投与する本明細書に記載の条件付けステップにおいて有利であると考えられる。理想的には、抗体はHSCsの送達前に実質的にクリアされ、HSCsも一般的に標的抗原（例えば、CD45）を発現するが、内在性幹細胞とは異なり、抗CD45抗体の標的ではない。いくつかの実施形態では、Fc領域は、435位（KabatによるEUインデックス）の変異を含む。いくつかの実施形態では、変異はH435A変異である。

【０１４８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載された抗CD45は、半減期が（例えば、ヒトにおいて）24時間以下、23時間以下、22時間以下、21時間以下、20時間以下、19時間以下、18時間以下、17時間以下、16時間以下、15時間以下、14時間以下、13時間以下、12時間以下、または11時間以下に等しい。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体は、半減期が（例えば、ヒトにおいて）1～5時間、5～10時間、10～15時間、15～20時間、または20～25時間である。

【０１５０】

いくつかの態様では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす2つ以上の変異を含み、抗体のエフェクター機能を低下させる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、半減期の減少をもたらす変異と、FcγRと直接接触することができる少なくとも1つの残基の変異（例えば、構造的および結晶学的分析に基づくもの）とからなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、H435A変異、L234A変異、およびL235A変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、H435A変異およびD265C変異からなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、H435A変異、L234A変異、L235A変異、およびD265C変異からなる。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、抗体またはその抗原結合性断片のFcドメインのシステイン残基を介して細胞毒（例えば、アマトキシン）と結合している。いくつかの実施形態では、システイン残基は、抗体またはその抗原結合性断片のFcドメインにおける突然変異によって導入される。例えば、システイン残基は、Cys118、Cys239、およびCys265からなる群から選択されてもよい。いくつかの実施形態では、抗CD45抗体（またはその断片）のFc領域は、KabatのようなEUインデックスに従ったアミノ酸265でのアミノ酸置換を含んでいる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265C変異を含んでいる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265CおよびH435Aの変異からなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、およびL235Aの変異からなる。いくつかの実施形態では、Fc領域は、D265C、L234A、L235A、およびH435Aの変異からなる。

【０１５２】

注目すべきは、Fcのアミノ酸の位置は、他に示されていない限り、EUの番号付けインデックスを参照している。

【０１５３】

前述の各出版物の開示内容は、Fc領域に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれている。本明細書に記載された組成物および方法とともに使用することができる抗体および抗原結合性断片には、上述の抗体およびその抗原結合性断片、ならびに上述のそれらの非ヒト抗体および抗原結合性断片の変異体、および、例えば競合的な抗原結合アッセイによって評価されるように、上述のものと同じエピトープに結合する抗体または抗原結合性断片が含まれる。

【０１５４】

本明細書に記載されているFc修飾のいずれかを含むように抗体を設計する方法は、当技術分野でよく知られている。これらの方法には、抗体または少なくとも抗体の定常領域

をコードする調製されたDNA分子の部位特異的（またはオリゴヌクレオチドを介する）変異誘発、PCR変異誘発、およびカセット変異誘発による調製が含まれるが、これらに限定されない。部位特異的な変異誘発は、当技術分野ではよく知られている（例えば、Carterら、Nucleic Acids Res.、13:4431-4443（1985）およびKunkelら、Proc. Natl. Acad.Sci. USA, 82:488 (1987)）。PCR突然変異誘発は、出発ポリペプチドのアミノ酸配列変異体を作るのにも適している。Higuchi, in PCR Protocols, pp.177-183 (Academic Press, 1990); and Vallette et al., Nuc.Acids Res.17:723-733(1989)を参照されたい。配列変異体を調製するための別の方法であるカセット変異誘発は、Wellsら、Gene、34:315-323(1985)に記載されている技術に基づいている。

【０１５５】

抗体を特定する方法

造血幹細胞によって発現されたCD45を結合することができる抗体、または抗体断片ライブラリのハイスループットスクリーニングのための方法は、自己免疫疾患の治療に有用な抗CD45抗体を同定し、本明細書に記載されているような造血幹細胞治療を必要とする患者（例えば、ヒト患者）を条件付けするために使用することができる。そのような方法には、ファージディスプレイ、バクテリアディスプレイ、酵母ディスプレイ、哺乳類細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイ、mRNAディスプレイ、およびcDNAディスプレイなど、当技術分野で知られている生体外ディスプレイ技術が含まれる。

【０１５６】

生物学的に関連する分子に結合する抗体または抗原結合性断片を単離するためのファージディスプレイの使用については、例えば、Feliciら、Biotechnol.Annual Rev. 1:149-183, 1995; Katz, Annual Rev. Biophys.Biomol.Struct.26:27-45、1997；およびHoogenboomら、Immunotechnology 4:1-20、1998に記載されており、これらの各々の開示は、生体外ディスプレイ技術に関連するものとして参照により本明細書に組み込まれる。ランダム化されたコンビナトリアルペプチドライブラリーは、ポリペプチドを選択するために構築され、Kay, Perspect.Drug Discovery Des.2:251-268, 1995およびKayら, Mol.Divers.1:139-140, 1996に記載されており、それぞれの開示内容は、抗原結合分子の発見に関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。多量体タンパク質などのタンパク質は、機能的な分子としてうまくファージディスプレイされてきた（例えば、EP 0349578；EP 4527839；およびEP 0589877、ならびにChiswellおよびMcCafferty、Trends Biotechnol.10:80-84 1992を参照されたい。これらの各々の開示は、抗原結合分子の発見のための生体外ディスプレイ技術の使用に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。）さらに、FabおよびscFv断片などの機能的な抗体断片は、生体外ディスプレイ形式で発現されている（例えば、McCaffertyら、Nature 348:552-554、1990；Barbasら、Proc.Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982, 1991; and Clackson et al., Nature 352:624-628, 1991を参照されたい。これらの開示は、抗原結合分子の発見のための生体外ディスプレイプラットフォームに関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれている）。また、ヒト抗CD45抗体は、例えば、HuMAb-Mouse（登録商標）やXenoMouse（商標）で作製することもできる。これらの技術は、特に、造血幹細胞が発現するCD45を結合することができる抗体、抗体または断片を同定し、親和性を向上させるために使用することができ、造血幹細胞移植療法を必要とする患者（例えば、ヒト患者）の内因性造血幹細胞を枯渇させるために使用することができる。

【０１５７】

造血幹細胞や免疫細胞が発現する抗原（例えば、CD45）に結合することができる抗体を設計および同定するために、生体外でのディスプレイ技術に加えて、計算機モデリング技術を使用することができる。例えば、当業者であれば、計算モデル技術を用いて、造血幹細胞や免疫細胞が発現する抗原（例えば、CD45）上の特定のエピトープ、例えば、抗原の細胞外エピトープに結合することができる分子について、抗体または抗体断片のライ

ブラリをインシリコでスクリーニングすることができる。

【０１５８】

造血幹細胞によって発現されたCD45を結合することができ、例えば受容体媒介エンドサイトーシスによって細胞に取り込まれる抗体、または抗体断片を同定するために、追加の技術を用いることができる。例えば、上述の生体外ディスプレイ技術は、CD45に結合し、その後内在化される抗体、または抗体断片をスクリーニングするために適応することができる。ファージディスプレイは、このスクリーニングパラダイムと組み合わせて使用することができるそのような技術の1つを表す。造血幹細胞または免疫細胞によって内在化され得る抗CD45抗体または抗体断片を同定するために、当業者であれば、Williamsら、Leukemia 19:1432-1438、2005年に記載されているファージディスプレイ技術を使用することができ、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。例えば、当技術分野で知られている変異誘発法を用いて、特に、抗体、抗体断片、例えばscFv断片、Fab断片、二重特異性抗体、トリアボディ、^{10}Fn3ドメインなどをコードする組換えファージライブラリ、またはランダム化アミノ酸カセットを含むリガンド（例えば、そのCDRまたは同等の領域、または抗体もしくは抗体断片の１つまたは複数、またはすべてにおいて）を作製することができる。抗体または抗体断片のフレームワーク領域、ヒンジ、Fcドメイン、およびその他の領域は、例えば、ヒト生殖細胞系抗体配列またはヒト生殖細胞系抗体に対してわずかな変化しか示さない配列を有することにより、ヒトにおいて非免疫原性を示すように設計されてもよい。

【０１５９】

本明細書に記載されているか、または当技術分野で知られているファージディスプレイ技術を使用して、ファージ粒子に共有結合したランダム化された抗体または抗体断片を含むファージライブラリを、例えばCD45とインキュベートすることができる。非特異的なタンパク質結合を示す抗体または抗体断片をコードするファージ、およびFcドメインに結合する抗体またはその断片をコードするファージを除去するために、ファージライブラリをブロック剤（例えば、乳タンパク質、ウシ血清アルブミン、および／またはIgGなど）と一緒にインキュベートした後、ファージライブラリを細胞の集団、例えば、CD45を発現している造血幹細胞などの細胞集団とインキュベートする。ファージライブラリは、抗CD45抗体、または抗体断片が同族の細胞表面抗原に結合し、その後造血幹細胞に内在化されるのに十分な時間（例えば、4℃で30分から6時間、例えば4℃で1時間）、造血幹細胞とインキュベートすることができる。CD45に対して十分な親和性を示さず、造血幹細胞への結合および造血幹細胞への内在化を可能にしない抗体または抗体断片を含むファージは、その後、例えば、pH2.8の冷（4℃）0.1Mグリシン緩衝液で細胞を洗浄することにより除去することができる。造血幹細胞に取り込まれた抗体に結合したファージ、または抗体断片は、例えば、細胞を溶解し、細胞培養液から取り込まれたファージを回収することにより同定することができる。次に、このファージは、例えば、当技術分野で知られている方法を用いて、2xYT培地中で回収されたファージと共に細菌細胞をインキュベートすることにより、細菌細胞中で増幅させることができる。この培地から回収されたファージは、次に、例えば、ファージゲノム内に挿入された抗体または抗体断片をコードする遺伝子の核酸配列を決定することによって、特徴付けられる。コード化された抗体または抗体断片は、その後、化学合成（例えば、scFv断片などの抗体断片）または組換え発現（例えば、完全長の抗体）によって、新規に調製することができる。

【０１６０】

調製した抗体、または抗体断片の内在化能力は、例えば、当技術分野で知られている放射性核種内在化アッセイを用いて評価することができる。例えば、本明細書に記載されている、または当技術分野で知られている生体外ディスプレイ技術を用いて同定された抗CD45抗体、または抗体断片は、^{18}F、^{75}Br、^{77}Br、^{122}I、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{129}I、^{131}I、^{211}At、^{67}Ga、^{111}In、^{99}Tc、^{169}Yb、^{186}Re、^{64}Cu、^{67}Cu、^{177}Lu、^{77}As、^{72}As、^{86}Y、^{90}Y、^{89}Zr、^{212}Bi、^{213}Bi、または^{225}Acなどの放射性同位元素の組み込みによって機能化することができる。例えば、^{18}F、^{75}Br、 ^{77} B

r、122I、123I、124I、125 I、129I、131I、211Atなどの放射性ハロゲンは，親電性ハロゲン試薬を含むポリスチレンビーズなどのビーズを用いて、抗体または抗体断片に組み込むことができる（例えば，Iodination Beads，Thermo Fisher Scientific，Cambridge，MA）。放射性標識された抗体、その断片、またはADCは、内在化を可能にするのに十分な時間（例えば、4℃で30分から6時間、例えば4℃で1時間）、造血幹細胞とインキュベートすることができる。その後、細胞を洗浄して、内部化されていない抗体またはその断片を除去することができる（例えば、pH2.8の冷（4°C）0.1Mグリシン緩衝液を使用）。内在化した抗体または抗体断片は、得られた造血幹細胞の放出放射線（例えば、γ線）を、回収した洗浄バッファーの放出放射線（例えば、γ線）と比較して検出することにより同定することができる。前述の内在化アッセイは、ADCの特性評価にも用いることができる。

【０１６１】

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されているような組換え方法および組成物を用いて製造することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体をコードする単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを構成するアミノ酸配列および／またはVHを構成するアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖および／または重鎖）をコードしてもよい。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む1つまたは複数のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施形態では、宿主細胞は（例えば、以下で形質転換された）(1）抗体のVLを構成するアミノ酸配列および抗体のVHを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のVLを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1ベクターおよび抗体のVHを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2ベクターを含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。いくつかの実施形態では、抗CLL-1抗体の製造方法が提供され、この方法は、上記のような抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に適した条件で培養すること、および任意に宿主細胞（または宿主細胞培養液）から抗体を回収することを含む。

【０１６２】

抗CD45抗体の組換え生産のために、例えば上記のような抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内でさらにクローニングおよび／または発現させるために1つまたは複数のベクターに挿入される。このような核酸は、従来の手順を用いて（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを用いて）容易に単離および配列決定することができる。

【０１６３】

抗体コード化ベクターのクローニングまたは発現に適した宿主細胞には、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化およびFcエフェクター機能が必要とされない場合には、細菌で生産されてもよい。バクテリアにおける抗体断片およびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許No. 5,648,237, 5,789,199, および 5,840,523を参照されたい。（また、大腸菌での抗体断片の発現については、Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol.248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp.245-254に記載されている)。発現後、抗体は可溶性画分としてバクテリアのセルペーストから単離され、さらに精製することができる。

【０１６４】

脊椎動物の細胞も宿主として使用することができる。例えば、懸濁液中で成長するように適応された哺乳類細胞株が有用である。有用な哺乳類宿主細胞株の他の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7）；ヒト胚性腎臓株（293または293細胞は、例えば、Grahamら、J. Gen Virol.36:59(1977)）；ベビーハムスター腎臓細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（TM4細胞は、例えば、Mather, Biol.Reprod.23

：２４３-２５１（１９８０））；サル腎臓細胞（ＣＶ１）；アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ-７６）；ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ）；イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ）；バッファローラット肝臓細胞（ＢＲＬ ３Ａ）；ヒト肺細胞（Ｗ１３８）；ヒト肝臓細胞（Ｈｅｐ Ｇ２）；マウス乳腺腫瘍（ＭＭＴ ０６０５６２）；ＴＲＩ細胞（例えば、Ann,Matherら、Annals N.Y. Acad.Sci. 383:44-68 (1982)に記載されているＴＲＩ細胞；ＭＲＣ ５細胞；およびＦＳ４細胞がある。他の有用な哺乳類宿主細胞株としては、ＤＨＦＲ- ＣＨＯ細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Urlaubら、Proc.Natl. Acad.Sci.USA 77:4216(1980)）；およびＹ０、ＮＳ０、Ｓｐ２/０などの骨髄腫細胞株がある。抗体産生に適した特定の哺乳類宿主細胞株のレビューについては、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol.248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003)を参照のこと。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Ｙ０、ＮＳ０、Ｓｐ２０細胞）である。

【０１６５】

特定の実施形態では、リガンドまたはその機能的に活性な断片などの抗原結合タンパク質（抗原ターゲティング部分）を、本明細書に記載された複合体または融合タンパク質で使用することができる。例えば、幹細胞因子（ＳＣＦ）は、ＣＤ１１７のリガンドであり、ここでＳＣＦは、本明細書に開示される条件付け方法を達成するために、毒素に複合体または融合させることができる。

【０１６６】

特定の実施形態では、本明細書に開示された組成物および方法において、抗原ターゲティング部分として抗体模倣体が使用される。抗体模倣物の例としては、アドネクチン、アフィボディ、アフリン、アフィマー、アフィチン、およびアルファボディ、およびアンチカリン、アプタマー、アルマジロリピートタンパク質ベースのスカフォールド、アトリマー、アビマー、DARpin、フィノマー、ノッティン、クニッツドメインペプチド、モノボディ、およびナノフィチンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１６７】

抗体医薬複合体（ＡＤＣ）

本明細書に記載されている抗体またはその抗原結合性断片は、リンカーを介して細胞毒に結合（リンク）させることができる。いくつかの実施形態では、細胞毒性分子は、本明細書に記載されているように、細胞内に取り込まれる抗体またはその抗原結合性断片に結合しており、抗体またはその断片の細胞内への取り込みに続いて、細胞毒素がその細胞内標的にアクセスし、造血細胞死を媒介するようになっている。

【０１６８】

細胞毒

本明細書に記載されている治療法に使用するために、様々な細胞毒を、リンカーを介して抗ＣＤ４５抗体に結合することができる。特に、抗ＣＤ４５ ＡＤＣは、細胞毒性部位（または細胞毒）に結合された（すなわち、リンカーによって共有結合された）抗ＣＤ４５抗体（またはその抗原結合性断片）を含む。様々な実施形態では、細胞毒性部位は、複合体で結合しているときには細胞毒性が低下または全くないが、リンカーから切断された後に細胞毒性を再開する。様々な実施形態では、細胞毒性部位は、リンカーから切断されなくても細胞毒性を維持する。いくつかの実施形態では、細胞傷害性分子は、本明細書で開示されているように、細胞内に取り込まれる抗体またはその抗原結合性断片と結合しており、抗体またはその断片の細胞内への取り込みに続いて、細胞傷害性物質がその細胞内標的にアクセスし、例えば、Ｔ細胞死を媒介するようになっている。

【０１６９】

したがって、本発明のＡＤＣは、一般式Ab-（Z-L-D）$_n$であってもよく、

ここで、抗体またはその抗原結合性断片（Ａｂ）が、化学的部位（Ｚ）を介してリンカー（Ｌ）に結合（共有結合）し、細胞毒性部位（「薬剤」Ｄ）に結合している。

【０１７０】

したがって、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、整数nで示される数の薬物部位に結合されていてもよく、この整数nは、抗体あたりの平均的な細胞毒素の数を表し、例えば、約1から約20の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、nは1から4である。いくつかの実施形態では、nは1である。 結合反応からのADCの調製物における抗体あたりの平均的な薬物部分の数は、質量分析、ELISAアッセイ、およびHPLCなどの従来の手段によって特徴付けられてもよい。また、ADCの定量的な分布をnの観点から決定してもよい。場合によっては、逆相HPLCや電気泳動などの方法で、nがある値の均質なADCを、他の薬物を添加したADCから分離、精製、特性評価することができる。

【０１７１】

いくつかの抗CD45 ADCでは、抗体の付着部位の数によって制限されることがある。例えば、付着部がシステインチオールである場合、抗体は1つまたは数個のシステインチオール基しか持たないか、またはリンカーが付着することができる十分に反応性のあるチオール基を1つまたは数個しか持たない可能性がある。一般的に、抗体は、薬物部分に連結することができる多くの自由で反応性のあるシステインチオール基を含まず、主に、抗体のシステインチオール残基はジスルフィドブリッジとして存在する。特定の実施形態では、ジチオスレイトール（DTT）やトリカルボニルエチルホスフィン（TCEP）などの還元剤を用いて、部分的または全体的な還元条件下で抗体を還元し、反応性のシステインチオール基を生成することができる。特定の実施形態では、より高い薬物負荷（DAR）、例えばn〉5は、特定の抗体-薬物結合体の凝集、不溶性、毒性、または細胞透過性の喪失を引き起こす可能性がある。

【０１７２】

ある実施形態では、結合反応中に抗体に結合される薬剤部分の数は、理論上の最大値よりも少ない。抗体は、例えば、後述するように、薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬と反応しないリシン残基を含んでいてもよい。また、最も反応性の高いリシン基のみが、アミン反応性のリンカー試薬と反応する場合もある。特定の実施形態では、抗体を変性条件で処理して、リシンやシステインなどの反応性求核基を明らかにする。

【０１７３】

ADCのローディング（薬物／抗体比）は、様々な方法で制御することができるが、例えば以下のような方法があり、例えば、(i)抗体に対する薬物-リンカー中間体またはリンカー試薬のモル過剰量の制限、(ii)結合反応の時間または温度の制限、(iii)システインチオール修飾のための還元条件の部分的または制限、(iv)リンカー-薬物結合の数および/または位置を制御するためにシステイン残基の数および位置が変更されるように、組換え技術によって抗体のアミノ酸配列を操作することである。

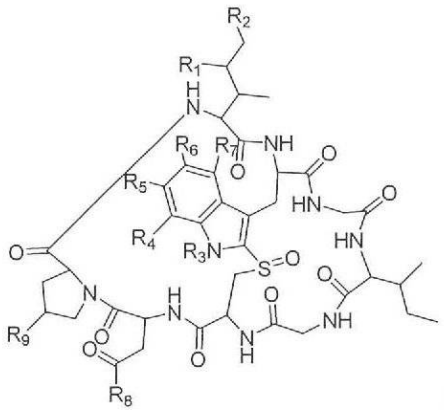
【０１７４】

本明細書に記載の組成物および方法で使用するのに適した細胞毒には、DNA挿入剤（例えば、アントラサイクリン）、有糸分裂紡錘体装置を破壊することができる薬剤（例えば、ビンカアルカロイド、メイタンシン、メイタンシノイド、およびその誘導体）、RNAポリメラーゼ阻害剤（例えば、α-アマニチンなどのアマトキシン、およびその誘導体）、およびタンパク質生合成を破壊することができる薬剤（例えば、rRNA N-グリコシダーゼ活性を示す薬剤）が含まれる。α-アマニチンなどのアマトキシンおよびその誘導体）、タンパク質生合成を撹乱することができる薬剤（例えば、サポリンやリシンA鎖などのrRNA N-グリコシダーゼ活性を示す薬剤）など、当業界で知られているものがある。

【０１７５】

いくつかの実施形態では、細胞毒素は、微小管結合剤（例えば、メイタンシンまたはメイタンシノイド）、アマトキシン、シュードモナス・エキソトキシンA、デブーガニン、ジフテリア毒素、サポリン、アウリスタチン、アンスラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらの変異体、または本明細書に記載されているか、または当該技術分野で知られている他の細胞毒性化合物である。

【０１７６】
いくつかの実施形態では、抗体-薬物複合体の細胞毒素は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンまたはその誘導体である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗体-薬物複合体の細胞毒素は、アマトキシンまたはその誘導体であり、例えば、α-アマトキシン、β-アマトキシン、γ-アマトキシン、ε-アマトキシン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、プロアマヌリンまたはその誘導体である。
【０１７７】
本発明の組成物および方法に有用な抗CD45 ADCに使用できる細胞毒に関する追加の詳細を以下に記載する。
【０１７８】
アマトキシン
いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンまたはその誘導体である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗体薬物複合体の細胞毒素は、アマトキシンまたはその誘導体であり、例えば、α-アマトキシン、β-アマトキシン、γ-アマトキシン、ε-アマトキシン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、プロアマヌリンまたはその誘導体である。
【０１７９】
いくつかの実施形態では、抗体-薬物複合体の細胞毒素は、RNAポリメラーゼ阻害剤である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ阻害剤は、アマトキシンまたはその誘導体である。
【０１８０】
いくつかの実施形態では、細胞毒素は、アマトキシンまたはその誘導体、例えば、α-アマニチン、β-アマニチン、γ-アマニチン、ε-アマニチン、アマニン、アマニンアミド、アマヌリン、アマヌリン酸、およびプロアマヌリンである。天然に存在する様々なアマトキシンの構造は、式IIIおよび付随する表1で表され、例えば、Zanottiら、Int.J. Peptide Protein Res.30, 1987, 450-459に開示されている。
【化５】



(III)

【０１８１】

【表１】

表1. 天然アマトキシンの構造表

名前	R_1	R_2	R_3, R_4	R_5	R_6, R_7	R_8	R_9
α-アマニチン	OH	OH	H	OH	H	NH_2	OH
β-アマニチン	OH	OH	H	OH	H	OH	OH
γ-アマニチン	OH	H	H	OH	H	NH_2	OH
ε-アマニチン	OH	H	H	OH	H	OH	OH
アマニン	OH	OH	H	H	H	OH	OH
アマニナミド	OH	OH	H	H	H	NH_2	OH
アマンヌリン	H	H	H	OH	H	NH_2	OH
アマンヌリン酸	H	H	H	OH	H	OH	OH
プロアマヌリン	H	H	H	OH	H	NH_2	H

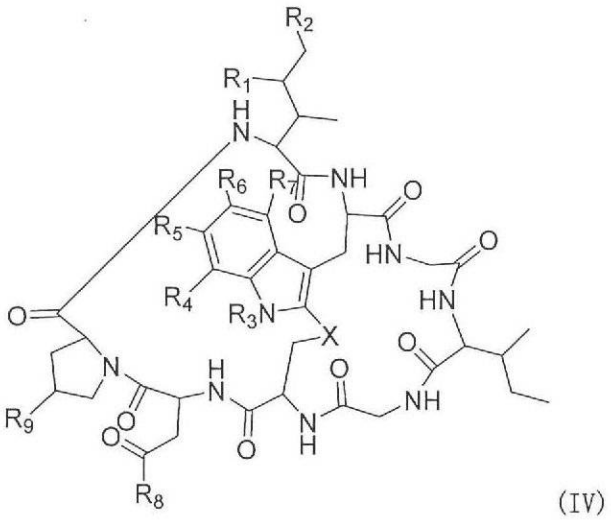
【０１８２】

アマトキシンは、様々な種類のキノコ（例えば、Amanita phalloides、Galerina marginata、Lepiota brunneo-incarnata）から単離されるか、半合成または合成で調製される。このファミリーの一員であるα-アマニチンについては、Wieland, Int. J. Pept.Protein Res. 1983, 22(3):257-276に記載されている。アマトキシンの誘導体は、天然に存在する化合物を化学的に修飾して得られる場合（「半合成」）と、完全に合成されたものから得られる場合がある。様々なアマトキシン誘導体の合成経路は、例えば、米国特許第9,676,702号や、Perrinら、J. Am.Chem.Soc.2018, 140, p.6513-6517に記載されており、これらの各々は、アマトキシンを調製および誘導体化するための合成方法に関して、その全体が本明細書に参照として組み込まれている。

【０１８３】

アマトキシンまたはその誘導体の多くの位置は、連結部分L、ひいてはその抗体または抗原結合性断片を共有結合させる位置として機能することができる。いくつかの実施形態では、本明細書で開示されるADCの細胞毒素は、式（IV）で表されるアマトキシンまたはその誘導体である。

【化６】



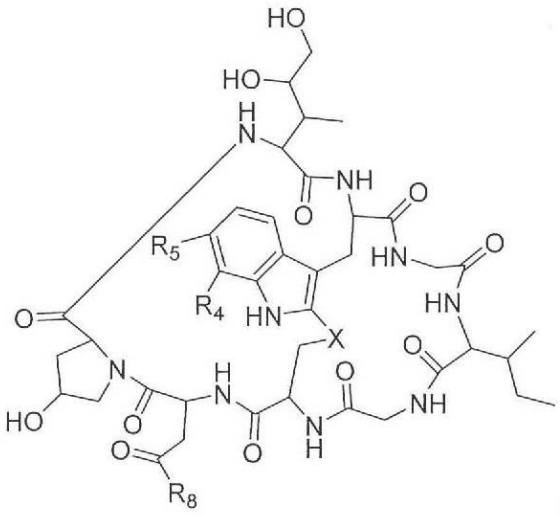
(IV)

ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、
R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、
R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3はHまたはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、またはOR_Dであり、
R_9は、H、OH、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-Cアルキル$_6$）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである。

【０１８４】

例えば、一実施形態では、本明細書に記載されている組成物および方法に関連して有用なアマトキシン類には、式（IVA）による化合物が含まれ、

【化７】



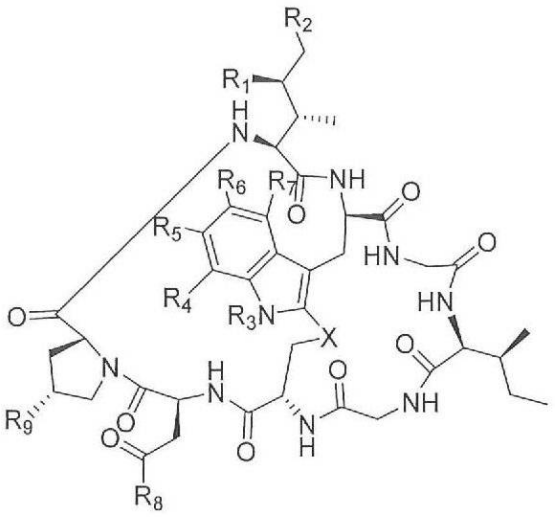
(IVA)

ここで、R_4、R_5、X、およびR_8は、それぞれ上記で定義したとおりである。

【０１８５】

例えば、一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシン類には、以下の式（IVB）による化合物が含まれ、

【化８】



(IVB)

ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、

R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、

R_A およびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3はHまたはR_Dであり、

R_4は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_5は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_6は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_7は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_8は、OH、NH_2、またはOR_Dであり、

R_9は、H、OH、またはOR_Dであり、

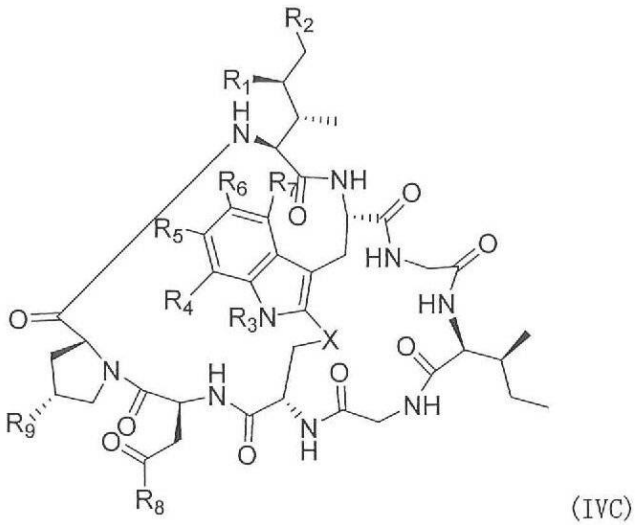
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして

R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-C_6アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールである。

【０１８６】

一実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なアマトキシン類には、以下の式（IVC）による化合物も含まれ、

【化９】



(IVC)

ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、

R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、

R_A およびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3はHまたはR_Dであり、

R_4は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_5は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_6は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_7は、H、OH、OR_D、またはR_Dであり、

R_8は、OH、NH_2、またはOR_Dであり、

R_9は、H、OH、またはOR_Dであり、

Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして

R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-C_6アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられる。

【０１８７】

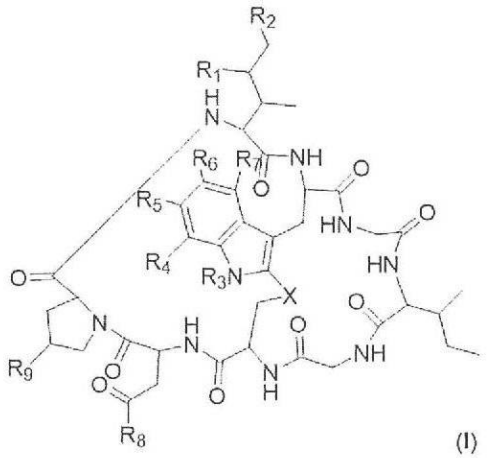
本明細書に記載されているように、アマトキシンは、リンカー部分を介して、例えば、抗体またはその抗原結合性断片に結合することができる。アマトキシンの結合の例示的な

方法およびそのようなプロセスに有用なリンカーは、「化学的結合のためのリンカー」と題したセクション、および以下の表2に記載されている。本明細書に記載の組成物および方法に従って、抗CD45抗体、または抗原結合性断片に結合するのに有用な例示的なリンカー含有アマトキシンは、本明細書に記載の構造式（I）、（IA）、（IB）、（II）、（IIA）、および（IIB）に示される。

【０１８８】

例えば、本明細書に記載されている抗体および抗原結合性断片は、式Ab-Z-L-Amで表される結合体を形成するように、アマトキシンに結合することができる。アマトキシンまたはその誘導体の多くの位置は、リンカーLを共有結合させる位置として機能し、したがって、抗体またはその抗原結合性断片となる。いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（I）で表され、

【化１０】



(I)

ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、

R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、

R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、

R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、

R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、

R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、

R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、

Xは、-S-、-S（O）-、または$-SO_2-$であり、

R_Cは-L-Zであり、

R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-C_6アルキル$_6$）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられ、

Lはリンカーであり、例えば、任意に置換されたアルキレン（例えば、C_1-C_6アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（C_1-C_6ヘテロアルキレン）、任意に置換さ

れたアルケニレン（例えば、C_2-C_6アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、C_2-C_6アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ペプチド（例えば、ジペプチド）、-（C＝O）-、ジスルフィド、ヒドラゾン、-$(CH_2CH_2O)_p$-基（ここで、pは1～6の整数）、-$((CH_2)_mO)_n(CH_2)_m$-基（ここで、nおよび各mは、それぞれ独立して1、2、3、4、5、6、7、8、9、および10から選択される）、またはそれらの組み合わせであり、

そして、

Zは、Lに存在する反応性置換基と、標的抗原（例えば、CD45）に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基Z'との間のカップリング反応から形成される化学的部位である。

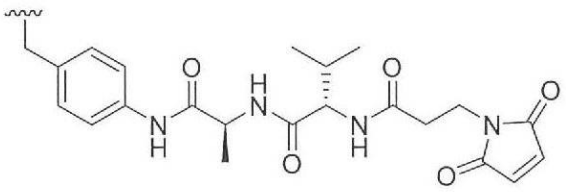
【０１８９】

いくつかの実施形態では、Amは正確に1つのR_C置換基を含む。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片との結合の前に、L-Z'としてまとめて取られるリンカー反応性置換基は、構造:

【化１１】



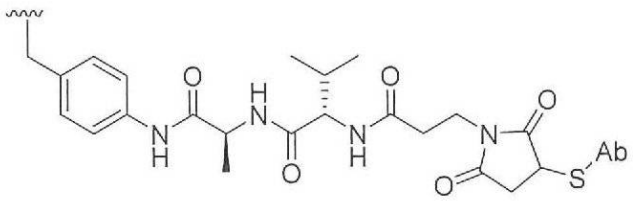
を有し、

ここで、波線は、アマトキシン上の置換基に結合する点を示す。このリンカー反応性置換基L-Z'は、代替的にN-β-マレイミドプロピル-Val-Ala-パラ-アミノベンジル（BMP-Val-Ala-PAB）と呼ばれることもある。リンカー末端の波線は、アマトキシンとの結合点を示す。

【０１９１】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に複合体した後、L-Z-Abとして一緒に取られ、構造:

【化１２】



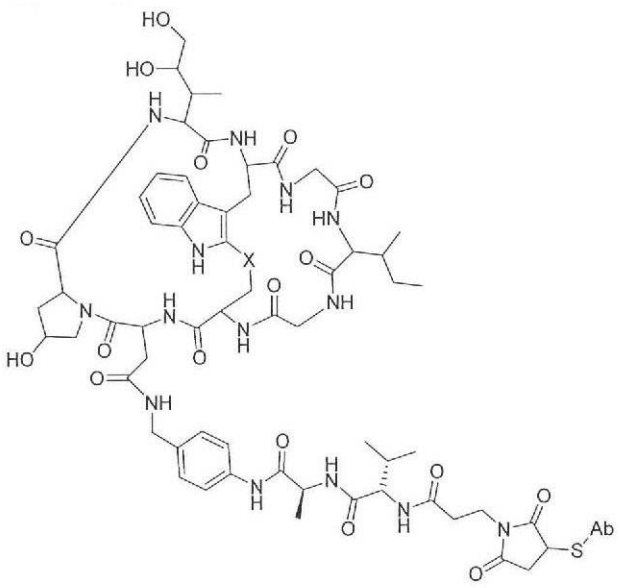
を有し、

ここで、Sは、CD45抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基を表す硫黄原子である（例えば、システイン残基の-SH基から）。リンカー末端の波線は、アマトキシンとの結合点を示す。

【０１９２】

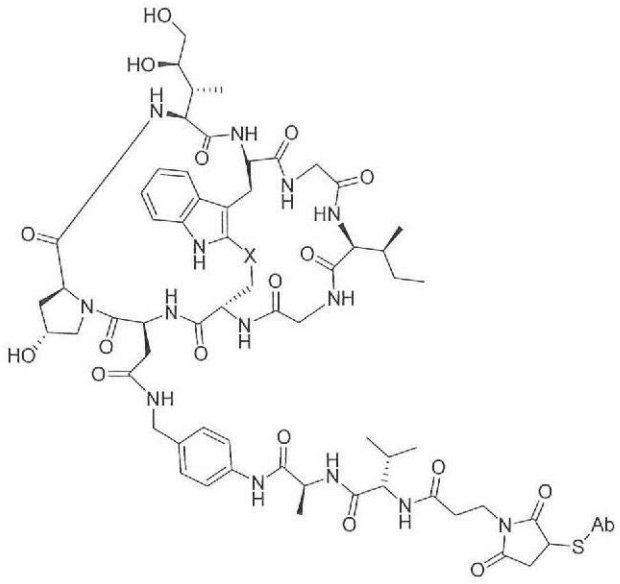
いくつかの実施形態では、共役物は、式V、VA、またはVBのいずれかで表され、

【化１３】



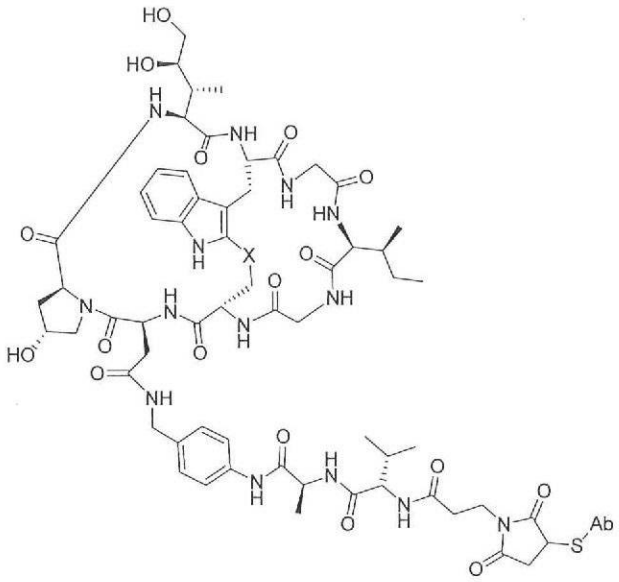
(V)

【化１４】



(VA)

【化１５】



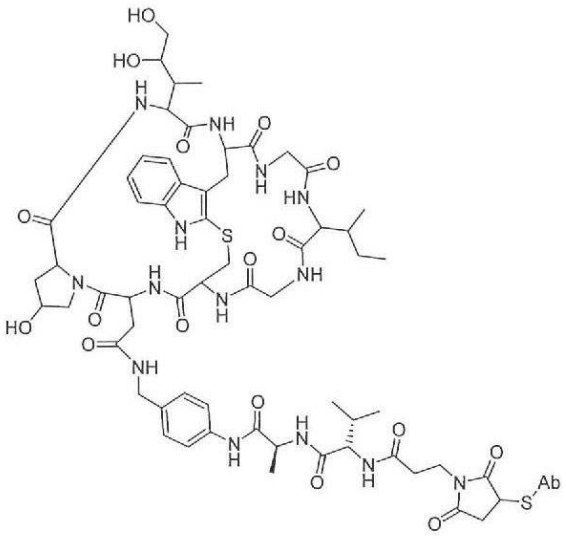
(VB)

ここで、XはS、SOまたはSO_2、Abは抗体（例えば、抗CD45抗体）である。

【０１９３】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは以下である。

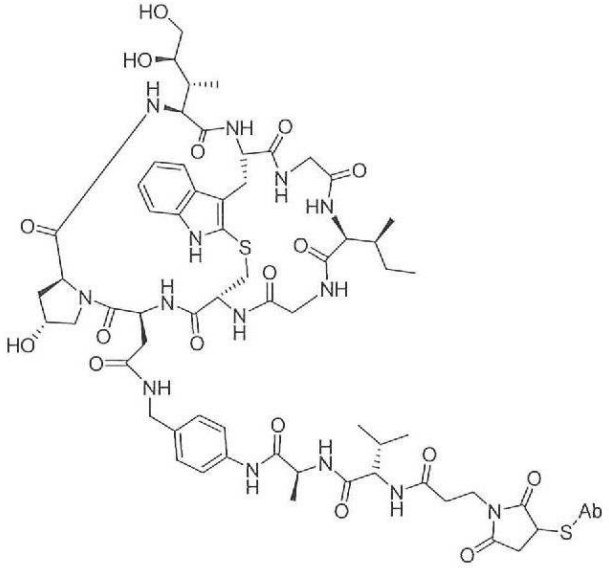
【化１６】



【０１９４】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは以下である。

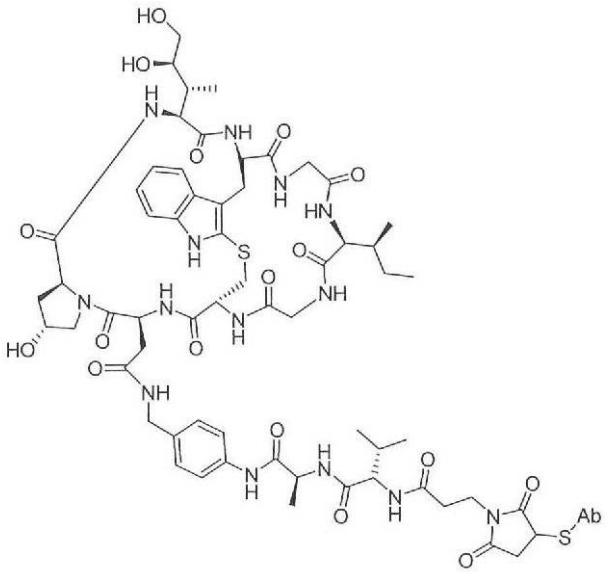
【化１７】



【０１９５】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは以下である。

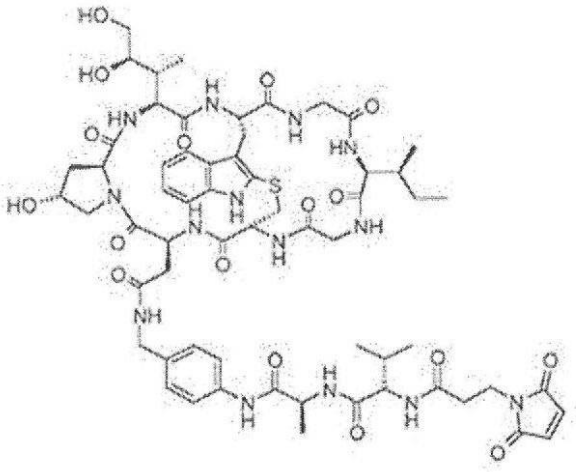
【化１８】



【０１９６】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z前駆体は以下であり、

【化１９】

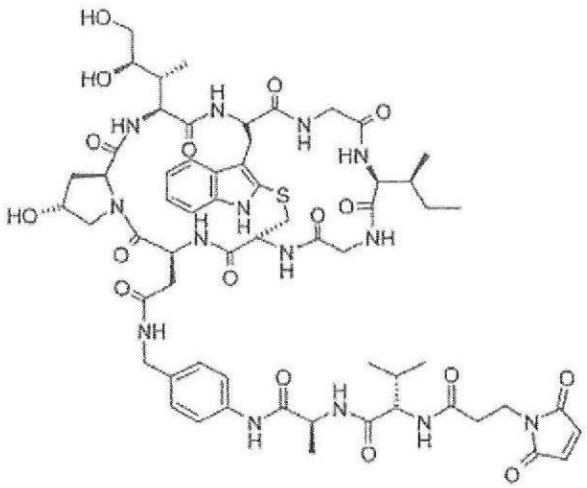


ここで、マレイミドは、抗体のシステイン上のチオール基と反応する。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z前駆体は以下であり、

【化２０】

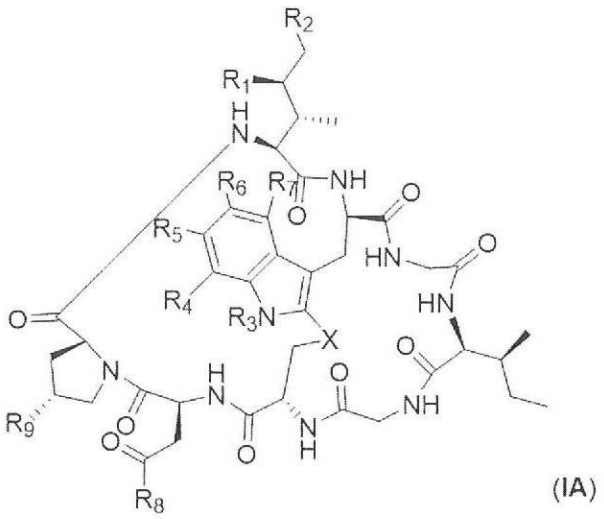


ここで、マレイミドは、抗体のシステイン上のチオール基と反応する。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）で表され、

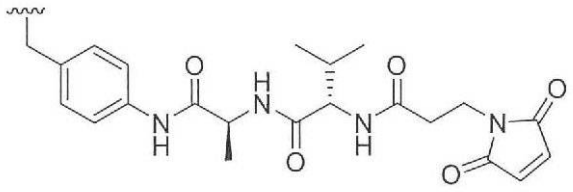
【化２１】



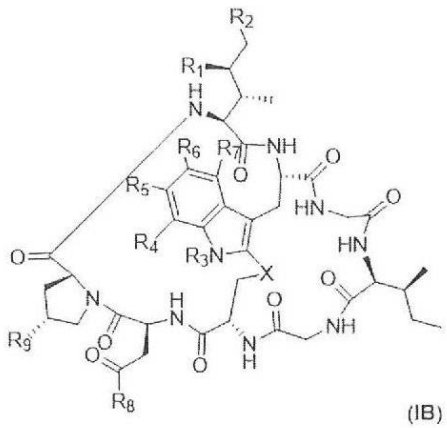
(IA)

ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、
R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、
R_Cは-L-Zであり、
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-C_6アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられ、
Lはリンカーであり、例えば、任意に置換されたアルキレン（例えば、C_1-C_6アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（C_1-C_6ヘテロアルキレン）、任意に置換されたアルケニレン（例えば、C_2-C_6アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、C_2-C_6アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ペプチド、ジペプチド、-(C=O)-、またはそれらの組み合わせが挙げられ、
Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的部分であり、そして
ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含む。

【０１９９】
いくつかの実施形態では、L-Zは以下である。
【化２２】



【０２００】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IB）で表され、
【化２３】



(IB)

ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、
R_AおよびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、
R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、
R_Cは-L-Zであり、
R_Dは、任意に置換されたアルキル（例えば、C_1-C_6アルキル）、任意に置換されたヘテロアルキル（例えば、C_1-C_6ヘテロアルキル）、任意に置換されたアルケニル（例えば、C_2-C_6アルケニル）、任意に置換されたヘテロアルケニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニル）、任意に置換されたアルキニル（例えば、C_2-C_6アルキニル）、任意に置換されたヘテロアルキニル（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニル）、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールなどが挙げられ、
Lはリンカーであり、例えば、任意に置換されたアルキレン（例えば、C_1-C_6アルキレン）、任意に置換されたヘテロアルキレン（C_1-C_6ヘテロアルキレン）、任意に置換さ

れたアルケニレン（例えば、C_2-C_6アルケニレン）、任意に置換されたヘテロアルケニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルケニレン）、任意に置換されたアルキニレン（例えば、C_2-C_6アルキニレン）、任意に置換されたヘテロアルキニレン（例えば、C_2-C_6ヘテロアルキニレン）、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリーレン、任意に置換されたヘテロアリーレン、ペプチド、ジペプチド、-（C=O）-、ジスルフィド、ヒドラゾン、pが1～6の整数である-$(CH_2CH_2O)_p$-基、nおよびmがそれぞれ独立して1、2、3、4、5、6、7、8、9、および10から選択される$((CH_2)_mO)_n(CH_2)_m$－基、またはこれらの組み合わせが挙げられ、

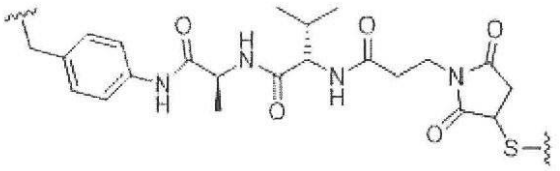
Zは、L上に存在する反応性置換基と、CD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基Z'との間のカップリング反応から形成される化学的部分であり、そして

ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含む。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、L-Z-Abは以下である。

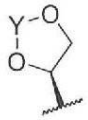
【化２４】



【０２０２】

いくつかの実施形態では、R_A およびR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子と一緒になって、式の5員のヘテロシクロアルキル基を形成し、

【化２５】



ここで、Yは-(C=O)-、-(C=S)-、-(C=NR$_E$)-、または-(CR$_E$R$_E$)-であり、そして

R_EおよびR_E はそれぞれ独立して、任意に置換されたC_1-C_6アルキレン-R_C、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキレン-R_C、任意に置換されたC_2-C_6アルケニレン-R_C、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニレン-R_C、任意に置換されたC_2-C_6アルキニレン-R_C、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニレン-R_C、任意に置換されたCシクロアルキレン-R_C、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン-R_C、任意に置換されたアリーレン-R_C、または任意に置換されたヘテロアリーレン-R_Cである。

【０２０３】

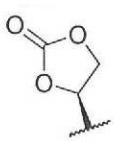
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、

ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、

R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、

R_A とR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子とともに結合して

【化２６】



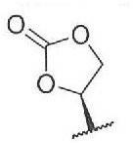
を形成し、

R_3はHまたはR_Cであり、
R_4は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_5は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_6は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_7は、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、またはNHR_Cであり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_CおよびR_Dは、それぞれ上記で定義したとおりである。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、
R_AとR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子とともに結合して

【化２７】

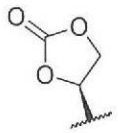


を形成し、
R_3はHまたはR_Cであり、
R_4およびR_5は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、R_C、またはOR_Dであり、
R_6およびR_7はそれぞれHであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、またはNHR_Cであり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1はH、OH、またはOR_Aであり、
R_2は、H、OH、またはOR_Bであり、
R_AとR_Bは、存在する場合、それらが結合している酸素原子とともに結合して

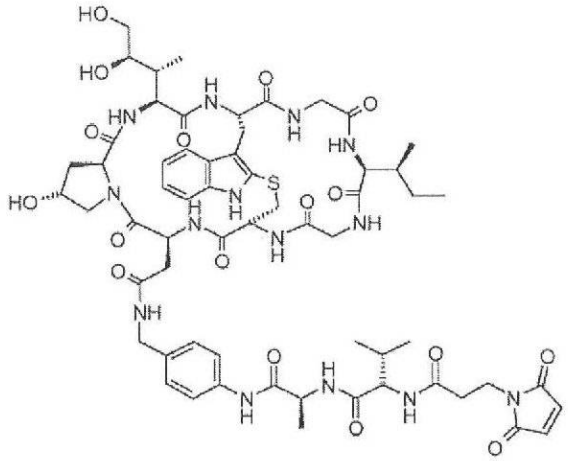
【化２８】



を形成し、
R_3、R_4、R_6、およびRは、それぞれH_7であり、
R_5はOR_Cであり、
R_8はOHまたはNH_2であり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。そのようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許出願公開第2016/0002298号に記載されており、その開示内容は参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０２０６】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1およびR_2は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
R_3はR_Cであり、
R_4、R_6、およびR_7は、それぞれHであり、
R_5は、H、OH、またはOC_1-C_6アルキルであり、
R_8はOHまたはNH_2であり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。そのようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許出願公開第2014／0294865号に記載されており、その開示内容は参照により全体が本明細書に組み込まれる。
【０２０７】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1およびR_2は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
R_3、R_6、およびR_7は、それぞれHであり、
R_4およびR_5は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、またはR_Cであり、
R_8はOHまたはNH_2であり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。そのようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号に記載されており、その開示内容は参照により全体が本明細書に組み込まれる。
【０２０８】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは、式（IA）または式（IB）で表され、
ここで、R_1およびR_2は、それぞれ独立して、HまたはOHであり、
R_3、R_6、およびR_7は、それぞれHであり、
R_4およびR_5は、それぞれ独立してHまたはOHであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、またはNHR_Cであり、
R_9はHまたはOHであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、そして
ここで、R_Cは上記で定義したとおりである。このようなアマトキシン複合体は、例えば、米国特許第9,233,173号および第9,399,681号、ならびに米国2016/0089450号に記載されており、これらの各々の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０２０９】
いくつかの実施形態では、Am-L-Zは以下である。

【化２９】



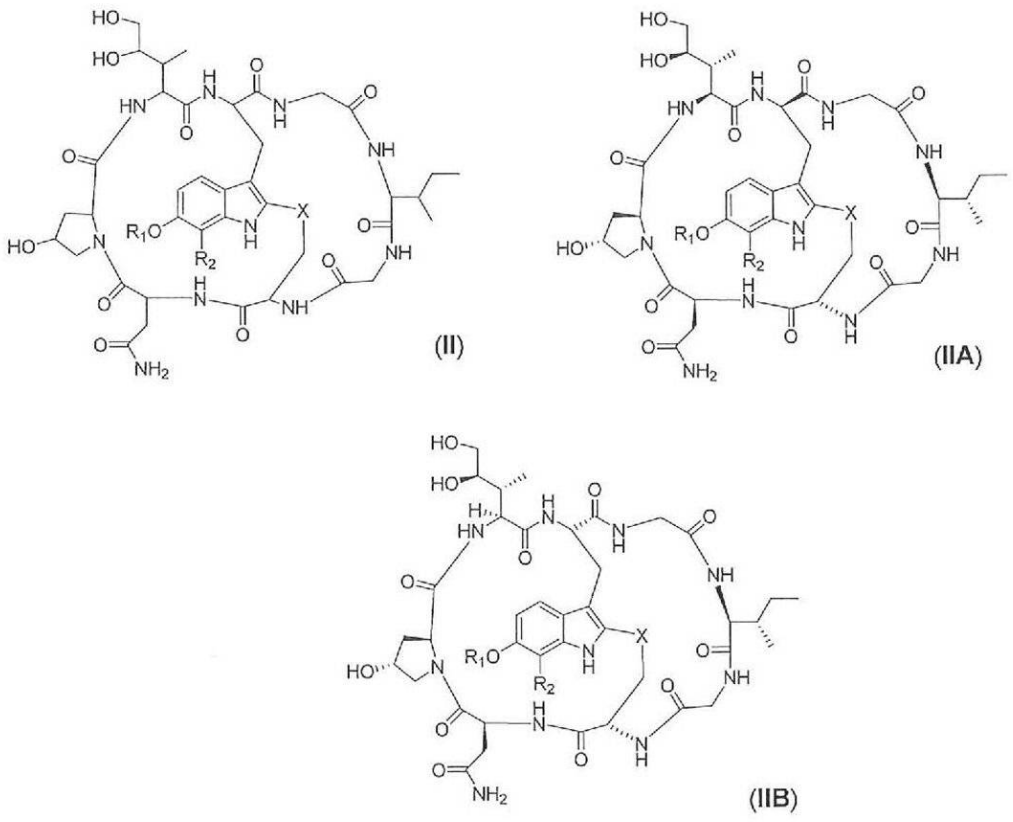
【０２１０】

本明細書に記載の組成物および方法に従って、抗体またはその抗原結合性断片への結合に使用することができる追加のアマトキシンは、例えば、ＷＯ ２０１６/１４２０４９；ＷＯ ２０１６/０７１８５６；ＷＯ ２０１７/１４９０７７；ＷＯ ２０１８/１１５４６６；およびＷＯ ２０１７/０４６６５８に記載されており、これらの開示内容はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、Ａｍ-Ｌ-Ｚは、式（ＩＩ）、式（ＩＩＡ）、または式（ＩＩＢ）で表され、

【化３０】



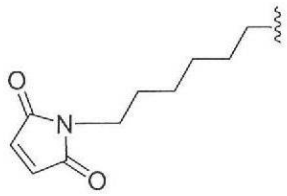
Ｘは、Ｓ、ＳＯ、またはＳＯで$_2$あり、Ｒ$_1$は、Ｈ、またはリンカー上に存在する反応性置

換基と抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成された化学的部位Zを介して抗体またはその抗原結合性断片に共有結合したリンカーであり、Rは、H、またはリンカー上に存在する反応性置換基と抗体またはその抗原結合性断片との間のカップリング反応から形成された化学的部位Zを介して抗体またはその抗原結合性断片に共有結合したリンカーであり、R_2はHまたはリンカー上に存在する反応性置換基と抗体、またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成された化学的部位Zを介して抗体またはその抗原結合性断片に共有結合したリンカーであり、ここで、R_1がHである場合、R_2はリンカーであり、Rが$_2$Hである場合、R_1はリンカーであることを特徴とする。

【０２１２】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片との結合の前に、L-Z'としてまとめて取られるリンカー反応性置換基は、以下の構造を有する。

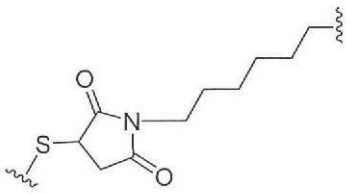
【化３１】



【０２１３】

このリンカー反応性置換基は、代わりに1-n-ヘキシルマレイミドと呼ばれることもあり、これは非開裂性リンカーである。リンカー末端の波線は、アマトキシンへの結合点を示している。いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に複合体した後、L-Zとして一緒に取られ、以下の構造を有し、

【化３２】

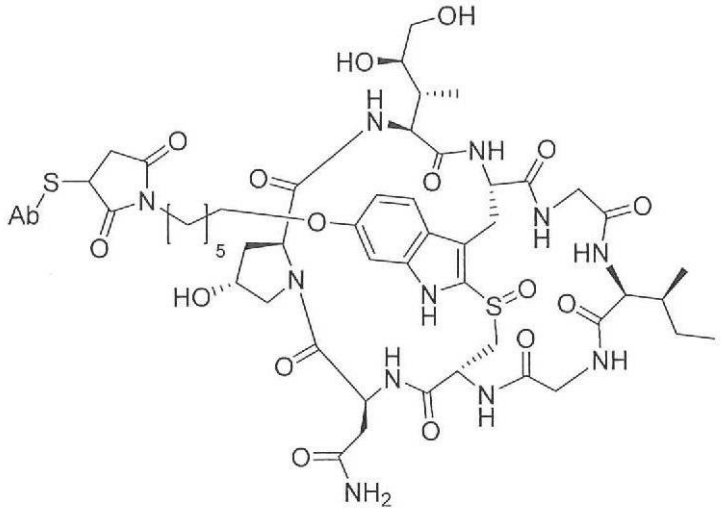


ここで、Sは、CD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基を表す硫黄原子である（例えば、システイン残基の-SH基から）。

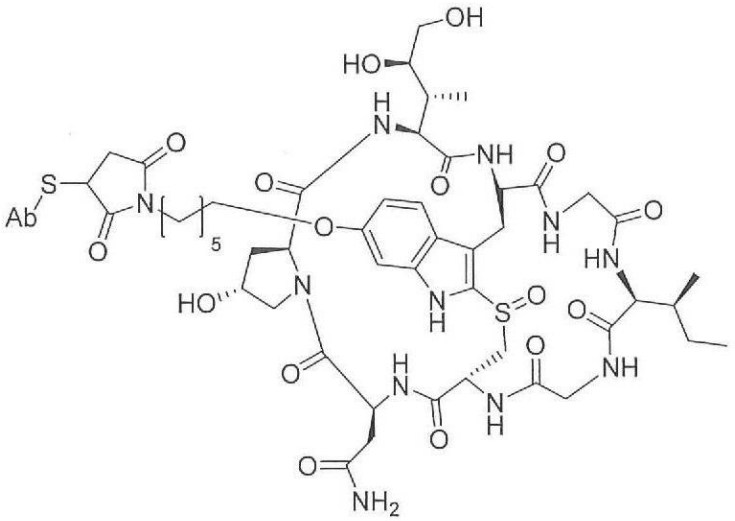
【０２１４】

いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは以下である。

【化３３】



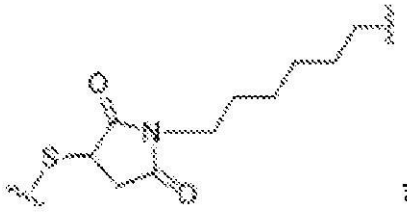
【０２１５】
いくつかの実施形態では、Am-L-Z-Abは以下である。
【化３４】



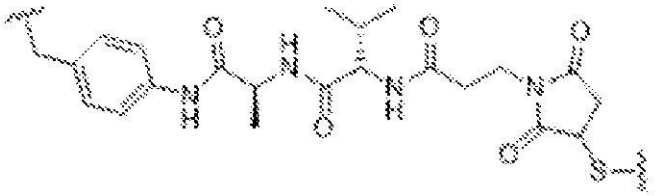
【０２１６】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、α-アマニチンである。いくつかの実施形態では、α-アマニチンは、リンカーLを介して抗体（例えば、抗CD45抗体）に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－$(C=O)(CH_2)_n$－単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。
【０２１７】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-$(CH_2)_n$－単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-$(C=O)(CH_2)_n$－である

。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)$_n$－である。いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、CD45抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取り込まれ、以下のとおりである。

【化３５】



または



【０２１８】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、β-アマニチンである。いくつかの実施形態では、β-アマニチンは、リンカーLを介して抗CD45抗体）に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－(C=O)(CH_2)$_n$－単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。

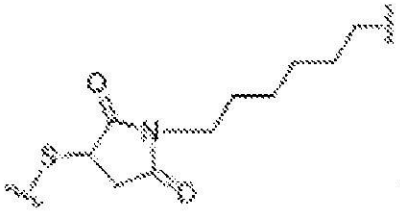
【０２１９】

いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_2)$_n$－単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)$_n$－である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)$_n$－である。

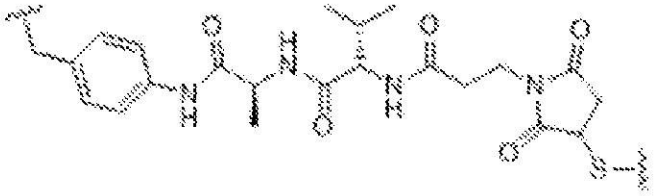
【０２２０】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、CD45抗体に複合体した後に、L-Z-Abとして一緒に取り込まれる。

【化３６】



または



【０２２１】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、γ-アマニチンである。いくつかの実施形態では、γ-アマニチンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）

を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－(C=O)$(CH_2)_n$－単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。

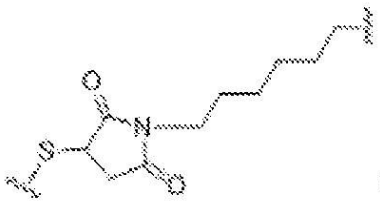
【０２２２】

いくつかの実施形態では、リンカーは、－$(CH_2)_n$－単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)$(CH_2)_n$)－である。

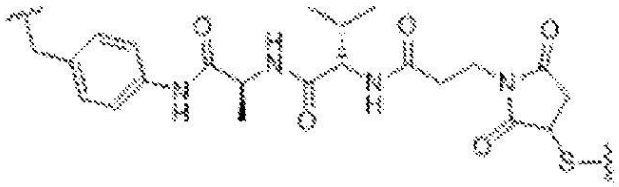
【０２２３】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、L-Z-Abとして一緒に取られたCD45抗体に結合した後、以下のようになる。

【化３７】



または



【０２２４】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、ε-アマニチンである。いくつかの実施形態では、ε-アマニチンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－(C=O)$(CH_2)_n$－単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。

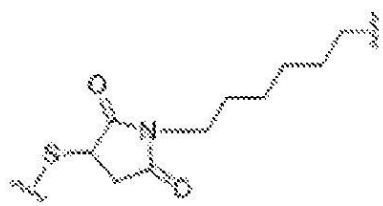
【０２２５】

いくつかの実施形態では、リンカーは、-$(CH_2)_n$－単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。

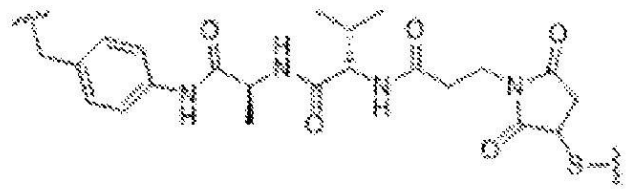
【０２２６】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。

【化３８】



または



【０２２７】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、アマニンである。いくつかの実施形態では、アマニンは、リンカーLを介して抗CD45抗体）に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－(C=O)$(CH_2)_n$－単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。

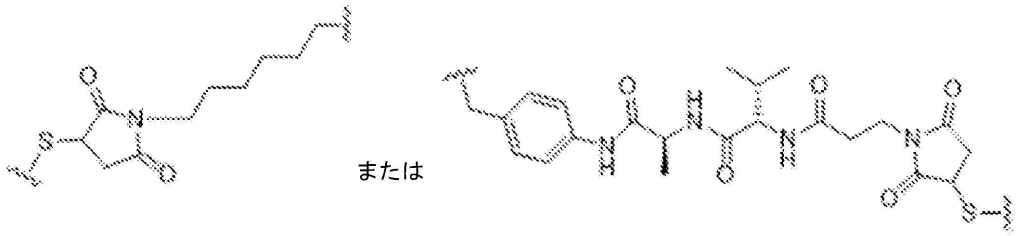
【０２２８】

いくつかの実施形態では、リンカーは、-$(CH_2)_n$－単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。

【化３９】



【０２３０】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、アマニンアミドである。いくつかの実施形態では、アマニンアミドは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－(C=O)$(CH_2)_n$－単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。

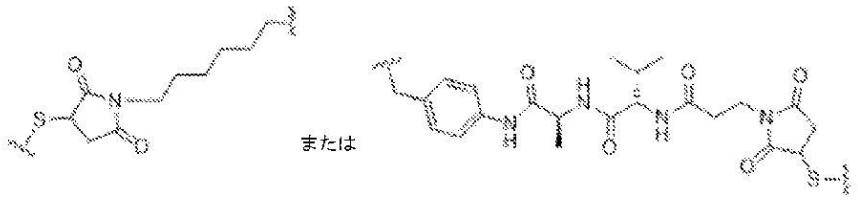
【０２３１】

いくつかの実施形態では、リンカーは、-$(CH_2)_n$－単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。

【０２３２】

いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。

【化４０】

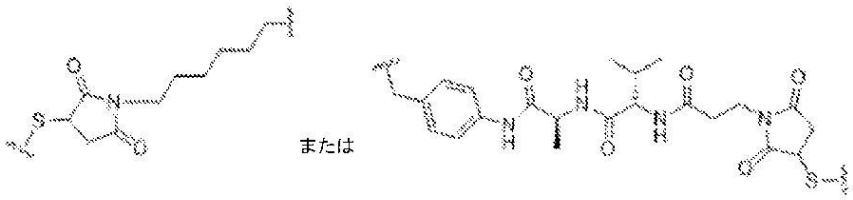


【０２３３】
いくつかの実施形態では、細胞毒はアマヌリンである。いくつかの実施形態では、アマヌリンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－((C=O)(CH_2)$_n$)－単位を含み、ここで、nは1～6の整数である。

【０２３４】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_2)$_n$ －単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)$_n$)－である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)$_n$)－である。

【０２３５】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。

【化４１】

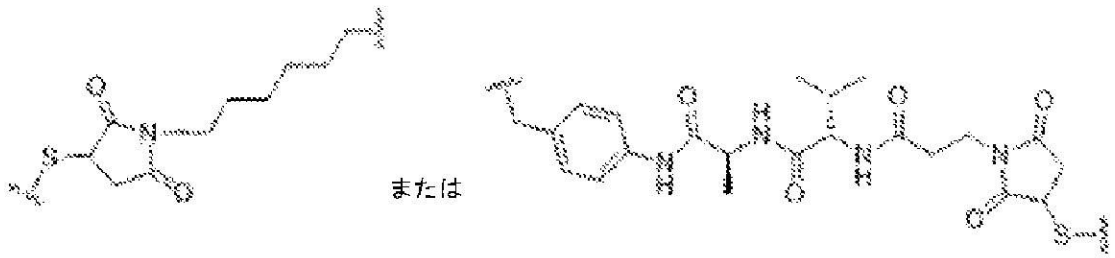


【０２３６】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、アマヌリン酸である。いくつかの実施形態では、アマヌリン酸は、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテルまたはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－(C=O)(CH_2)$_n$ －単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。

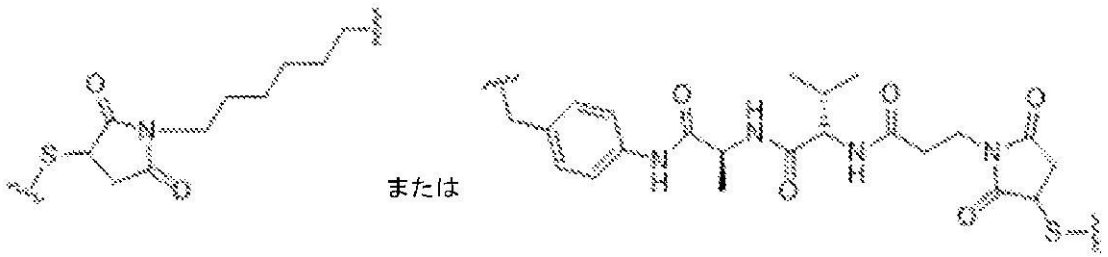
【０２３７】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-(CH_2)$_n$ －単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)$_n$ －である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)(CH2)n －である。

【０２３８】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。

【化４２】



【０２３９】
いくつかの実施形態では、細胞毒はプロアマヌリンである。いくつかの実施形態では、プロアマヌリンは、リンカーLを介して抗CD45抗体に結合している。 いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、パラアミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部位PAB-Cit-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、部分的なPAB-Ala-Valを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、－(C=O)$(CH_2)_n$－単位を含み、ここで、nは、1～6の整数である。
【０２４０】
いくつかの実施形態では、リンカーは、-$(CH_2)_n$－単位を含み、nは2～6の整数である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Cit-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。いくつかの実施形態では、リンカーは、－PAB-Ala-Val-(C=O)$(CH_2)_n$－である。
【０２４１】
いくつかの実施形態では、リンカーLおよび化学的部分Zは、抗体に結合した後、L-Z-Abとして一緒に取られる。
【化４３】



【０２４２】
アマトキシンの合成方法は、米国特許第9,676,702号に記載されており、その内容は参照として本明細書に組み込まれている。
【０２４３】
本明細書に記載されている組成物および方法で使用するための抗体、および抗原結合性断片は、当技術分野で知られているまたは本明細書に記載されている結合技術を使用して、α-アマニチンまたはその変異型などのアマトキシンに複合体することができる。例えば、標的抗原を認識して結合する抗体、およびその抗原結合性断片（例えば、抗CD45抗体）は、US 2015/0218220に記載されているように、α-アマニチンまたはその変異体などのアマトキシンに複合体することができ、その開示は、例えば、α-アマニチンお

よびその変異体などのアマトキシン、ならびに共有結合に使用することができる共有結合リンカーに関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２４４】

アウリスタチン

本明細書に記載された抗体およびその抗原結合性断片は、アウリスタチンである細胞毒素に結合させることができる（米国特許第5,635,483号；同第5,780,588号）。アウリスタチンは、微小管の力学、GTP加水分解、および核と細胞の分裂を妨害する抗分裂剤である（Woyke et al (2001) Antimicrob.Agents and Chemother.45(12):3580-3584）、抗がん作用（米国特許第5,663,149号）および抗真菌活性を有する（Pettit et al (1998) Antimicrob.Agents Chemother.42:2961-2965).(米国特許第5,635,483号；同5,780,588号）。アウリスタチン薬物部分は、ペプチド薬物部分のN（アミノ）末端またはC（カルボキシル）末端を介して抗体に結合してもよい（WO 02/088172）。

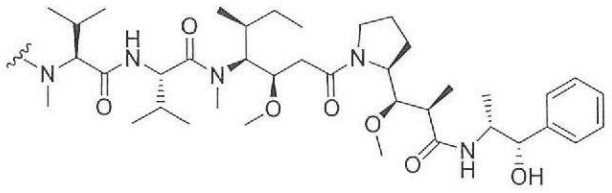
【０２４５】

例示的なアウリスタチンの実施形態には、Senterら、Proceedings of the American Association for Cancer Research、Volume 45、Abstract Number 623、2004年3月28日発表に開示されている、N末端で連結されたモノメチルアウリスタチン薬物部位DEおよびDF（それぞれMMAEおよびMMAF）が含まれ、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２４６】

例示的なアウリスタチンの実施形態は、MMAEであり、波線は、抗体-リンカー複合体（-L-Z-Abまたは-L-Z’、本明細書に記載）のリンカーに共有結合する点を示している。

【化４４】

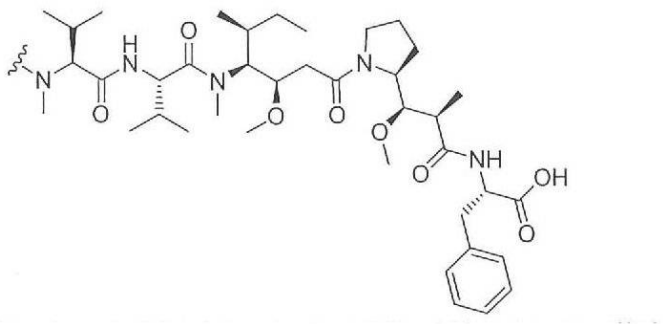


ここで、波線は、抗体-薬物または薬物-リンカー複合体（-L-Z-Abまたは-L-Z’、本明細書に記載）のリンカーに共有結合する点を示している。

【０２４７】

別の例示的なアウリスタチンの実施形態は、MMAFであり、

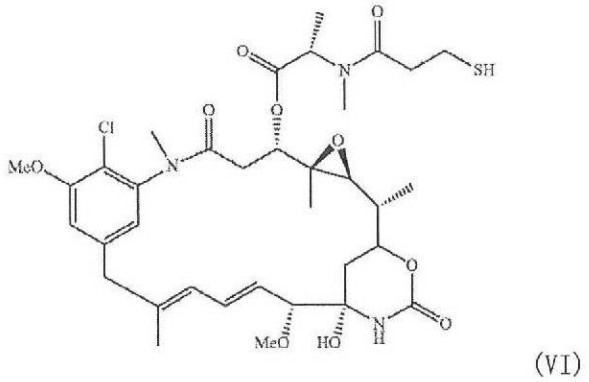
【化４５】



ここで、波線は、US 2005/0238649に開示されているように、抗体-リンカー複合体（-L-Z-Abまたは-L-Z’、本明細書に記載）のリンカーに共有結合する点を示している。

【０２４８】
米国特許第5,635,483号；米国特許第5,780,588号；Pettitら（1989）J Am.5,780,588号；Pettitら（1989）J. Am.Chem.Soc.Soc. 111:5463-5465；ペティットら（1998）Anti-Cancer Drug Design 13:243-277；ペティット、G.R.ら、Synthesis, 1996, 719-725；ペティットら（1996）J. Chem.Soc. Perkin Trans. 15:859-863；およびDronina（2003）Nat.Biotechnol.21(7):778-784の方法に従ってアウリスタチンを調製することができる。
【０２４９】
メイタンシノイド
本明細書に記載された抗体およびその抗原結合性断片は、微小管結合剤である細胞毒素に結合させることができる。いくつかの実施形態では、微小管結合剤は、メイタンシン、メイタンシノイド、またはメイタンシノイドアナログである。メイタンシノイドは、微小管に結合し、チューブリンの重合を阻害することで作用する有糸分裂阻害剤である。メイタンシンは、東アフリカの低木であるメイテナス・セラータから初めて単離された（米国特許第3,896,111号）。その後、ある種の微生物もメイタンシノールやC-3メイタンシノールエステルなどのメイタンシノイドを生産することが発見された（米国特許第4,151,042号）。合成メイタンシノールならびにその誘導体および類縁体は、例えば、米国特許第4，151，042；4,137,230; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428;4,313,946;4,315,929;4,317,821;4,322,348;4,331,598;4,361,650;4,364,866;4,424,219;4,450,254;4,362,663;4,371,533号に開示されている。メイタンシノイド薬物部位は、以下の理由から、抗体薬物複合体における魅力的な薬物部位である。(i)発酵または化学修飾、発酵生成物の誘導体化によって比較的容易に調製できる、(ii)非ジスルフィドリンカーを介して抗体に結合させるのに適した官能基で誘導体化が可能である、(iii)血漿中で安定である、(iv)様々な腫瘍細胞株に対して有効である。
【０２５０】
適切なメイタンシノイドの例には、メイタンシノールのエステル、合成メイタンシノール、およびメイタンシノールのアナログと誘導体が含まれる。本明細書に含まれるのは、メイタンシノイド、メイタンシノール、およびメイタンシノールのアナログ、および誘導体のように、微小管形成を阻害し、哺乳類細胞に対して高い毒性を有する任意の細胞毒である。
【０２５１】
好適なメイタンシノールエステルの例としては、修飾された芳香環を有するものや、他の位置に修飾を有するものが挙げられる。そのような好適なメイタンシノイドは、米国特許No.No.4,137,230; 4,151,042; 4,248,870; 4,256,746; 4,260,608; 4,265,814; 4,294,757; 4,307,016; 4,308,268; 4,308,269; 4,309,428;4,313,946; 4,315,929; 4,317,821; 4,322,348; 4,331,598; 4,361,650; 4,362,663; 4,364,866; 4,424,219 ;4,450,254; 4,322,348;4,362,663;4,371,533;5,208,020;5,416,064;5,475,092;5,585,499;5,846,545;6,333,410;7,276,497;7,473,796であり、これらの開示内容はメイタンシノイドおよびその誘導体に関するものとして、参照により本明細書に組み込まれている。
【０２５２】
いくつかの実施形態では、本開示の抗体-薬物複合体（ADC）は、細胞毒性剤として、正式にはN’-デアセチル-N2’-（3-メルカプト-1-オキソプロピル）-メイタンシンと呼ばれるチオール含有メイタンシノイド（DM1）を利用するものである。DM1は、以下の構造式VIで表される。

【化４６】

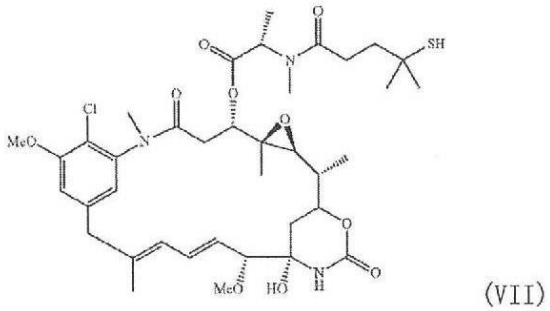


(VI)

【０２５３】

別の実施形態では、本発明の複合体は、チオール含有メイタンシノイドN’-デアセチル-N22’（4-メチル-4-メルカプト-1-オキソペンチル）-メイタンシン（例えば、ＤＭ４）を細胞毒性剤として利用する。ＤＭ４は、以下の構造式VIIで表される。

【化４７】

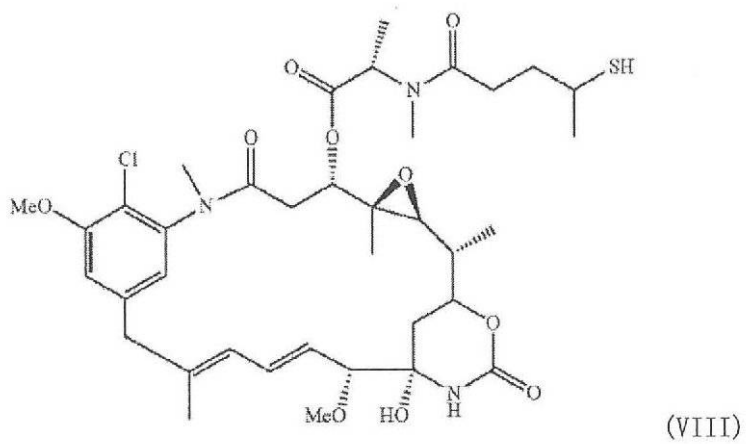


(VII)

【０２５４】

立体障害のあるチオール結合を含む側鎖からなる別のメイタンシノイドは、下記の構造式VIIで表されるN2’-脱アセチル-N2’（4-メルカプト-1-オキソペンチル）メイタンシン（ＤＭ３と呼ぶ）である。

【化４８】



(VIII)

【０２５５】
米国特許第5,208,020号および第7,276,497号で教示されているメイタンシノイドの各々は、本開示の複合体に使用することもできる。第5,208,020号および第7,276,497号に記載されているメイタンシノイドは、本開示の複合体にも使用することができる。この点に関して、5,208,020および7,276,497の開示内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０２５６】
メイタンシノイド上の多くの位置は、連結部分、ひいてはその抗体または抗原結合性断片（-L-Z-Abまたは-L-Z’、本明細書に記載）を共有結合させる位置として機能することができる。例えば、ヒドロキシル基を有するC-3位、ヒドロキシメチルで修飾されたC-14位、ヒドロキシで修飾されたC-15位、およびヒドロキシ基を有するC-20位がすべて有用であると予想される。いくつかの実施形態では、C-3位がリンカー部分を共有結合させる位置として機能し、いくつかの特定の実施形態では、メイタンシノールのC-3位がリンク部分を共有結合させる位置として機能する。抗体-メイタンシノイド結合体を作るために当技術分野で知られている多くの連結基があり、例えば、米国特許第5,208,020号、同第5,208,020号、同第5,208,020号に開示されているものがある。例えば、米国特許第5,208,020号、同第6,441,163号、およびEP特許第0425235 B1号、Chariら、Cancer Research 52:127-131(1992)、および米国2005/0169933 A1に開示されているものがあり、これらの開示内容はここに参照として明示的に組み込まれる。追加の連結基は、本明細書に記載され、例示されている。
【０２５７】
本発明はまた、メイタンシノイドおよび複合体の様々な異性体および混合物を含む。本発明の特定の化合物および複合体は、様々な立体異性体、鏡像異性体、およびジアステレオマーの形態で存在し得る。そのような抗体-メイタンシノイド複合体を製造するためのいくつかの記述は、米国特許第5,208,020号、同第5,208,020号第5,208,020号、第5,416,064号、第6,333,410号、第6,441,163号、第6,716,821号、および第7,368,565号に記載されており、それらの各々はその全体が本明細書に組み込まれている。
【０２５８】
アントラサイクリン
他の実施形態では、本明細書に記載されている抗体およびその抗原結合性断片は、アントラサイクリン分子である細胞毒に結合させることができる。アントラサイクリンは、細胞毒性活性を示す抗生物質化合物である。研究によると、アントラサイクリンは、以下を含むいくつかの異なるメカニズムによって細胞を殺すように作用する可能性がある。1）薬剤分子が細胞のDNAに挿入され、DNA依存性の核酸合成を阻害する、2）薬剤がフリーラジカルを生成し、これが細胞の高分子と反応して細胞に損傷を与える、3）薬剤分子が細胞膜と相互作用する、などである。[例えば、C. Petersonらの「Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia」（Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy）、N.R. Bachurの「Free Radical Damage」（97-102ページ）などを参照されたい]。アントラサイクリン系抗生物質は、その細胞毒性のために、白血病、乳癌、肺癌、卵巣腺癌、肉腫などの多くの癌の治療に用いられてきた［例えば、P.H- Wiernik, in Anthracycline:Current Status And New Developments p11を参照されたい］。一般的に使用されるアントラサイクリンには、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシンおよびダウノマイシンが含まれる。いくつかの実施形態では、細胞毒は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、およびイダルビシンからなる群から選択されるアントラサイクリンである。アントラサイクリンの代表例としては、ダウノルビシン（セルビジン；ベッドフォード・ラボラトリーズ社）、ドキソルビシン（アドリアマイシン（登録商標）；ベッドフォード・ラボラトリーズ社；ドキソルビシン塩酸塩、ヒドロキシダウノルビシン、ルーベックス（登録商標）とも呼ばれる）、エピルビシン（エレンス（登録商標）；ファイザー社）、イダルビシン（イダマイシン（登録商標）；ファイザー社）などが挙げられるが、これら

に限定されるものではない。

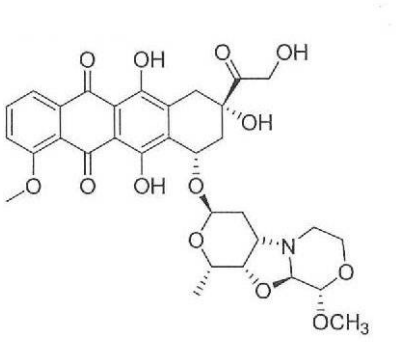
【０２５９】

アントラサイクリン類似体であるドキソルビシン（アドリアマイシン（登録商標））は、転写のためにDNAをほどく酵素であるトポイソメラーゼIIの挿入と進行抑制によってDNAと相互作用すると考えられている。ドキソルビシンは、トポイソメラーゼIIが複製のためにDNA鎖を切断した後、トポイソメラーゼII複合体を安定化させ、DNAの二重らせんが再封鎖されるのを防ぎ、それによって複製のプロセスを停止させる。ドキソルビシンおよびダウノルビシン（DAUNOMYCIN）は、プロトタイプの細胞毒性天然物アントラサイクリン系化学療法剤である（Sessa et al., (2007) Cardiovasc.Toxicol.7:75-79)。

【０２６０】

本明細書で使用するのに適したアントラサイクリンの非限定的な例として、PNU-159682（以下、「PNU」）がある。PNUは、親ネモルビシンに対して3000倍以上の細胞毒性を示す（Quintieri et al.、Clinical Cancer Research 2005、11、1608-1617）。PNUは構造式：

【化４９】



で表される。

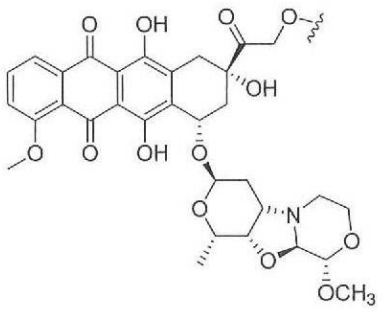
【０２６１】

PNUなどのアントラサイクリン系化合物の複数の位置が、リンカー部分を共有結合させる位置として機能することができ、その結果、本明細書に記載されているような二重特異性結合剤が得られる。例えば、ヒドロキシメチルケトン側鎖の修飾によりリンカーを導入することができる。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式：

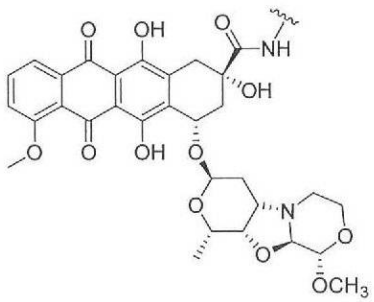
【化５０】



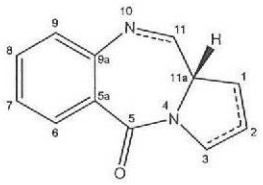
で表されるPNU誘導体であり、

ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。

【０２６３】
いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式：
【化５１】



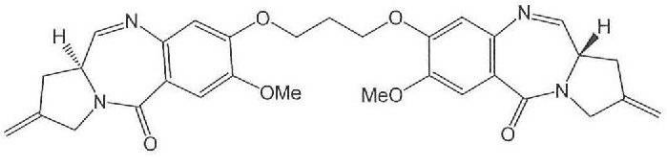
で表されるPNU誘導体であり、
ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。
【０２６４】
ベンゾジアゼピン系細胞毒性物質
本明細書に記載されている抗CD45抗体、およびその抗原結合性断片（例えば、二重特異性抗体およびバイパラトピック抗体を含む）は、本明細書に記載されているように、PBDまたはIGNなどのベンゾジアゼピン部位を含む細胞毒素に結合することができる。
【０２６５】
ピロロベンゾジアゼピン(PBD)
PBDは一般的な構造：
【化５２】



のものである。
【０２６６】
これらは、置換基の数、種類、位置、芳香族（A）環とピロロ（C）環の両方、およびC環の飽和度が異なる。ジアゼピンB環のN10-C11位には、イミン（N=C）、カルビノールアミン（NH-CH(OH)）、カルビノールアミンメチルエーテル（NH-CH(OMe)）のいずれかが存在する。この位置は、DNAのアルキル化を担う求電子性部位である。既知の天然物PBDはすべて，C環からA環に向かって見たときに、キラルなC11a位に（S）-構成があり、右回りのねじれが生じている。これにより、B-form DNAのマイナーグルーブとの等重心性に適した3次元形状が得られ、結合部位にしっかりとフィットする（Kohn, In Antibiotics III.Springer-Verlag, New York, pp.3-11 (1975); Hurley and Needham-CanDevanter, Acc.Chem.Res., 19, 230-237 (1986)）。PBDはマイナーグルーブに付加物を形成する能力があるため、DNAのプロセシングを妨害することができ、その結果、抗腫瘍活性が得られる。
【０２６７】
これらの分子の生物学的活性は、柔軟なアルキレンリンカーを介して2つのPBDユニットをそのC8-ヒドロキシル官能性を介して結合することで増強できることが以前に開示されている（Bose, D. S., et al., J. Am.Chem.Soc., 114, 4939-4941 (1992); T

hurston, D. E., et al., J. Org.Chem., 61, 8141-8147 (1996))に記載されている。PBD二量体は、パリンドローム型の5'-Pu-GATC-Py-3'鎖間架橋のような配列選択的なDNA損傷を形成すると考えられており（Smellie, M., et al., Biochemistry, 42, 8232-8239 (2003); Martin, C., et al., Biochemistry, 44, 4135-4147）、これが主にその生物学的活性の原因であると考えられている。有利な二量体のピロロベンゾジアゼピン化合物は、Gregsonら（Chem.Commun.1999, 797-798; 「化合物1」）、およびGregsonら（J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174; 「化合物4a」）によって記載されている。この化合物は、SG2000としても知られており、構造式：

【化５３】



で表される。

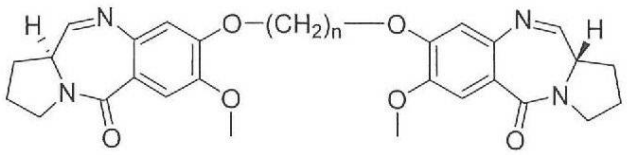
【０２６８】

一般的に、ピロリジンアルケン部分を修飾すると、連結部分を共有結合させるためのハンドルが得られ、その結果、抗体またはその抗原結合性断片（本明細書に記載されているように、それぞれ-L-Z'および-L-Z-Ab）を得ることができる。あるいは、N10位にリンカーを結合させてもよい。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式：

【化５４】



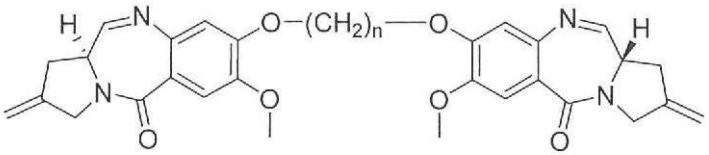
で表されるピロロベンゾジアゼピン二量体であり、

ここで、nは2から5の整数である。この式でnが3である化合物は、DSB-120として知られている（Boseら、J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 4939-4941）。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式：

【化５５】



で表されるピロロベンゾジアゼピン二量体であり、

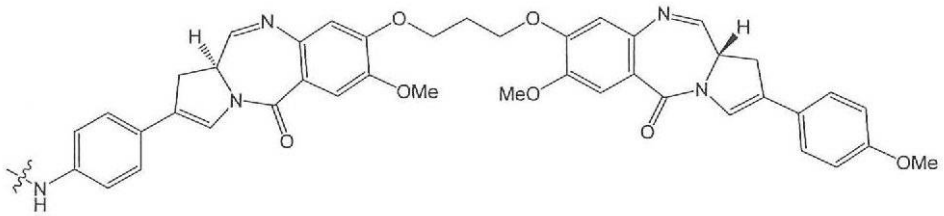
ここで、nは2～5の整数である。nが3であるこの式の化合物は、SJG-136として知ら

れている（Gregsonら、J.Med.Chem.2001,44,737 - 748）。nが5であるこの式の化合物は、DRG-16として知られている（Gregsonら、Med.Chem.2004;47:1161-1174）。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式：

【化５６】



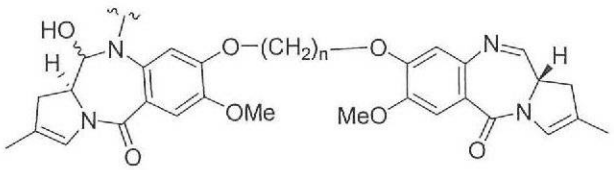
で表されるピロロベンゾジアゼピン二量体であり、

ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示している。このPBDに基づくADCは、例えば、Sutherlandら、Blood 2013 122:1455-1463に開示されており、この文献はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式：

【化５７】



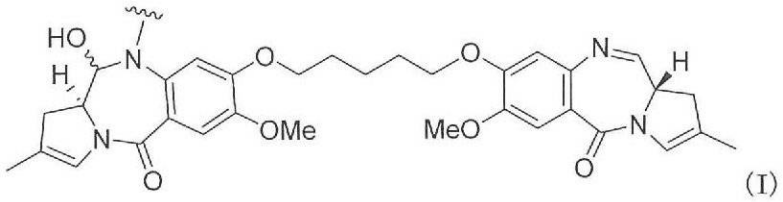
で表されるPBD二量体であり、

ここで、nは3または5であり、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。

【０２７３】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、構造式（I）：

【化５８】



で表されるPBD二量体であり、

ここで、波線は、本明細書に記載のADCのリンカーに共有結合する点を示す。

【０２７４】

インドリノベンゾジアゼピン(IGN)

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD45に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、インドリノベンゾジアゼピン（「IGN」）である細胞毒素またはIGNからなる

細胞毒素に結合させることができる。いくつかの実施形態では、IGN細胞毒は、インドリノベンゾジアゼピン二量体またはインドリノベンゾジアゼピン擬二量体である。

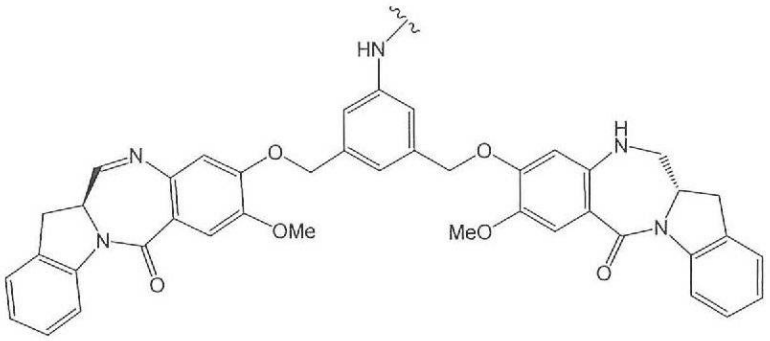
【０２７５】

インドリノベンゾジアゼピン二量体は、癌細胞に対して生体外での高い活性（低pM範囲のIC_{50}値）を示す比較的新しい細胞毒素の一種である。IGN二量体は、PBD二量体SJG-136と同様に、DNAのマイナーグルーブに結合し、二量体に含まれる2つのイミン官能基を介してグアニン残基と共有結合し、DNAを架橋する。IGN二量体（IGN6：PBD部位のメチレン基をフェニル環に置換）は、SJG-136と比較して生体外での約10倍の効力を示したが、これはDNA IGNとのアダクト形成速度が速いためと考えられる（例えば、Millerら、「A New Class of Antibody-Drug Conjugates with Potent DNA Alkylating Activity」Mol.Cancer Ther.2016, 15(8), 1870-1878)。対照的に、IGN疑似二量体は、単一の反応性インドリノベンゾジアゼピンイミンからなり、二量体細胞毒素中の第2のインドリノベンゾジアゼピンは、還元（アミン）形態で存在する。したがって、IGN擬二量体は、二量体に含まれる単一のイミン部位を介してDNAをアルキル化し、DNAを架橋することはない。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、式：

【化５９】



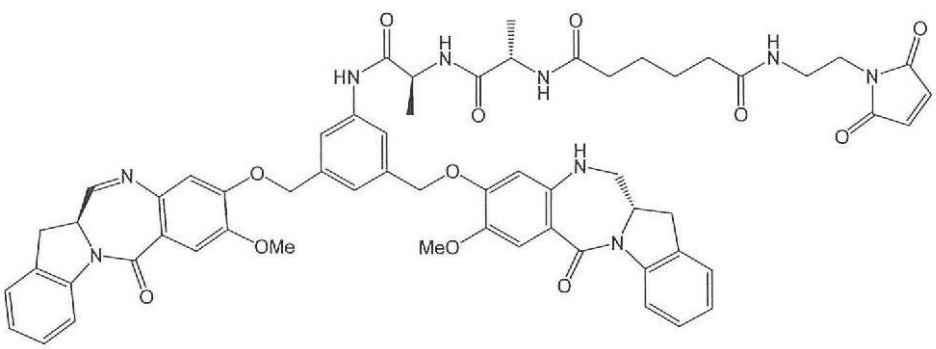
の構造を有するIGN疑似二量体であり、

ここで、波線はリンカーの取り付け位置を示している。

【０２７７】

いくつかの実施形態では、抗体に複合体する前の、反応性置換基Z'を含む、Cy-L-Z'としてまとめて取られる細胞毒リンカー複合体は、以下の構造を有する。

【化６０】



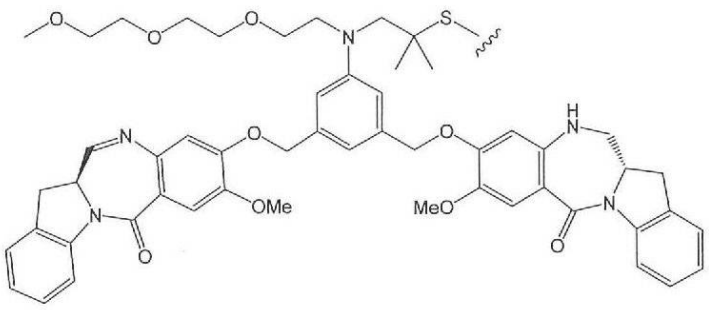
【０２７８】

この細胞毒リンカー結合体は、本明細書ではDGN549と呼ばれ、ADC IMGN632に存在しており、これらはいずれも、例えば国際特許出願公開第WO2017004026号に開示されており、参照により本明細書に組み込まれている。

【０２７９】

いくつかの実施形態では、細胞毒は、式：

【化６１】



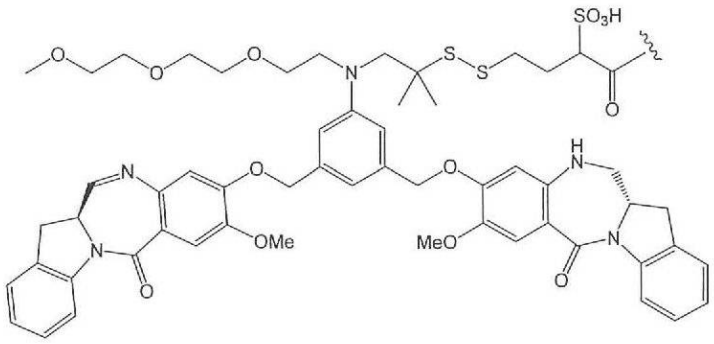
の構造を有するインドリノベンゾジアゼピン擬二量体であり、

ここで、波線は、リンカーの付着点を示す。このIGN疑似二量体細胞毒素は、本明細書ではDGN462と呼ばれ、例えば米国特許出願公開第20170080102号に開示されており、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２８０】

いくつかの実施形態では、抗体に結合する前の、化学的部分Zを含む細胞毒リンカー複合体は、まとめてCy-L-Zと呼ばれ、構造：

【化６２】



を有し、

ここで、波線は、抗体（例えば、抗CD45抗体またはその断片）への付着点を示すものである。この細胞毒リンカー結合体は、例えば、以前に本明細書に参照として組み込まれた米国特許出願公開第20170080102号に開示されたADC IMGN779に存在する。

【０２８１】

カリケアマイシン

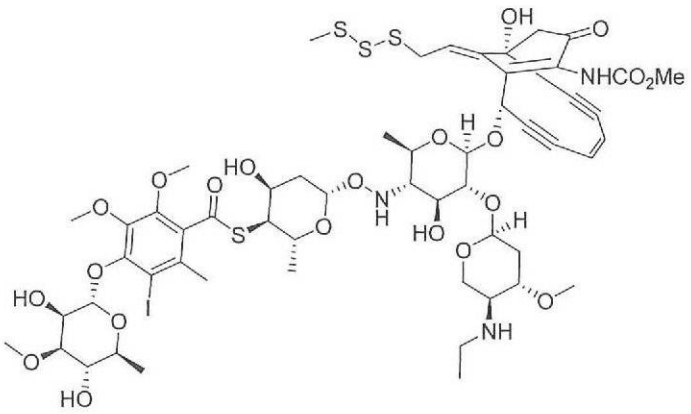
他の実施形態では、本明細書に記載されている抗体およびその抗原結合性断片は、エンジニー抗腫瘍性抗生物質である細胞毒（例えば、カリケアマイシン、オゾガマイシン）に結合させることができる。カリケアマイシンファミリーの抗生物質は、ピコモル以下の濃度で二本鎖DNAの切断を起こすことができる。カリケアマイシンファミリーの複合体の調製については、米国特許No.5,712,374号、5,714,586号、5,739,116号、5,767,285号、5,770,701号、5,770,710号、5,773,001号、および5,877,296号（いず

れもAmerican Cyanamid Company）を参照されたい。使用することができるカリケアマイシンの構造類似体としては、例えば、Hinmanら、Cancer Research 53:3336-3342(1993)、Lodeら、Cancer Research 58:2925-2928(1998)、およびAmerican Cyanamidに対する前述の米国特許に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２８２】

例示的なカリケアマイシンは、γ１と呼ばれ、本明細書では単にガンマと呼ばれ、以下の構造式：

【化６３】



を有する。

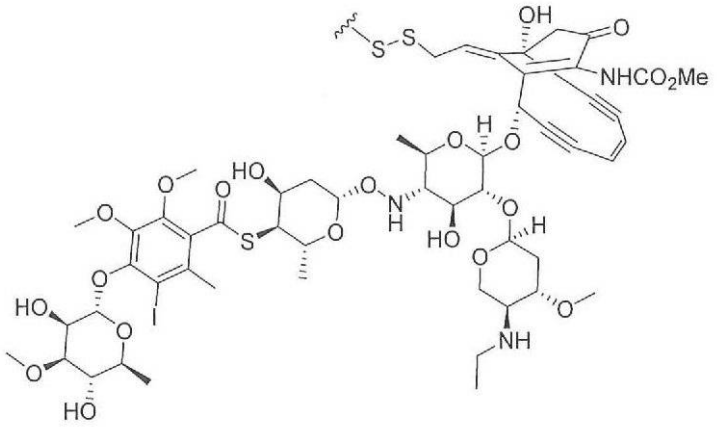
【０２８３】

いくつかの実施形態では、カリケアマイシンは、ガンマ-カリケアマイシン誘導体またはN-アセチルガンマ-カリケアマイシン誘導体である。使用することができるカリケアマイシンの構造類似体としては、例えば、Hinmanら、Cancer Research 53：3336-3342（1993）、Lodeら、Cancer Research 58：2925-2928（1998）、および前述の米国特許に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。カリケアマイシンは、適切なチオールと反応してジスルフィドを形成することができるメチルトリスルフィド部分を含み、同時に、リンカーを介して、カリケアマイシン誘導体を本明細書に記載されているような二重特異性結合剤に結合させるのに有用な官能基を導入している。カリケアマイシンファミリーの複合体の調製については、米国特許No.5,712,374号、5,714,586号、5,739,116号、5,767,285号、5,770,701号、5,770,710号、5,773,001号、および5,877,296号(いずれもAmerican Cyanamid Company)を参照されたい。使用することができるカリケアマイシンの構造類似体としては、例えば、Hinmanら、Cancer Research 53:3336-3342(1993)、Lodeら、Cancer Research 58:2925-2928(1998)、およびAmerican Cyanamidに対する前述の米国特許に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２８４】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているADCの細胞毒素は、以下の式：

【化６４】



で表されるカリキアミシンジスルフィド誘導体であり、
ここで、波線はリンカーの取り付け位置を示している。

【０２８５】

その他の細胞毒

他の実施形態では、本明細書に記載された抗体およびその抗原結合性断片は、本明細書に上で開示されたそれらの細胞毒以外の、またはそれらの細胞毒に加えて、細胞毒に結合することができる。本明細書に記載の組成物および方法で使用するのに適した追加の細胞毒素としては、限定されないが、5-エチニルウラシル、アビラテロン、アシルフルベーン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミフォスチン、アミノレブリン酸、アムルビシン、アムサクラインアナグレリド、アナストロゾール、アンドログラフォリド、血管新生阻害剤、アンタレリクス、抗背側形態形成蛋白質-1、抗アンドロゲン、前立腺癌、抗エストロゲン、アンチネオプラストン、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフィジコリングリシン酸塩、アポトーシス遺伝子調節剤、アポトーシス調節剤アプリン酸、アスラクライン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、バッカチンIII誘導体、バラノール、バティマスタット、BCR/ABLアンタゴニスト、ベンゾクロリン、ベンゾイルスタウロスポリン、βラクタム誘導体、β-アレチン、ベタクラマイシンB、ベツリン酸、bFGF阻害剤、ビカルタミド、ビサントレン、ビサジリジンスペルミン、ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレフレート、ブレオマイシンA2、ブレオマイシンB2、ブロピリミン、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カルシポトリオール、カルホスティンC、カンプトテシン誘導体（例えば、10-ヒドロキシ-カンプトテシン）、カペシタビン、カルボキサミド-アミノ-トリアゾール、カルボキサミド-トリアゾール、カルツェレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、カスタノスペルミン、セクロピンB、セトロレリクス、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミドシカプロスト、シスポルフィリン、クラドリビン、クロミフェンおよびその類縁体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンブレタスタチンA4、コンブレタスタチン類縁体、コナジェニン、クランベシジン816、クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタンスラキノン、シクロプラタム、サイペマイシン、シタラビンオコスフェート、細胞溶解因子、サイトスタチン、ダクリキシマブ、デシタビン、デヒドロジムニンB、2'デオキシコホルマイシン(DCF)デスロレリン、デキシホスファミド、デクスラゾキサン、デクスベラパミル、ジアジコン、ディデムニンB、ディドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ-5-アザシチジン、ジヒドロタキソール、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ディスコデルモリド、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジ

ン、ドロキシフェン、ドロナビノール、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エデルフォシン、エドレコロマブ、エフロルニチン、エレメン、エミテフール、エポチロン、エピチロン、エプリステリド、エストラムスチンおよびその類縁体、エトポシド、エトポシド4'-リン酸塩（エトポフォスとも呼ばれる）、エキセメスタン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フルアステロン、フルダラビン、塩酸フロロダウノルニシン、フォルフェニメックス、ホルメスタン、フォストリエシン、フォテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタビン、ガニレリクス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、ヘプスルファム、ホモハリントニン（HHT）、ヒペリシン、イバンドロン酸、イドキシフェン、イドラマントン、イルモフォシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、イオベンガン、ヨードキソルビシン、イポメノール、イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、ジャスプラスノキド、カハライド F、ラメラリン-N トリアセテート、ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、レンチナン硫酸、レプトルスタチン、レトロゾール、親油性白金化合物、リソクリンアミド 7、ロバプラチン、ロメトレキソール、ロニダミン、ロソキサントロン、ロキソリビン、ルルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リゾフィリン、マソプロコール、マスピン、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、メノガリール、メルバロン、メテリン、メチオニナーゼ、メトクロプラミド、MIF阻害剤、ミフェプリストン、ミルテフォシン、ミリモスティム、ミトラシン、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシンおよびその類縁体、ミトナフィド、ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスティム、ミカペロキシドB、ミリアポロン、N-アセチルジナリン、N-置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレストリップ、ナパビン、ナフテルピン、ナートグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン、ネリドロン酸、ニルタミド、ニサマイシン、ニトラリン、オクトレオチド、オキセノン、オナプリストン、オンダンセトロン、オラシン、オルマプラチン、オキサリプラチン、オサウノマイシン、パクリタキセルおよびその類縁体、パラウアミン、パルミトイルラーヒゾキシン、パミドロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガーゼ、ペルデシン、ペントサンポリサルフェートナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、ペルフルブロン、ペルホスファミド、フェナジノマイシン、ピキバニール、ピラルビシン、ピリトレキシム、ポドフィロトキシン、ポルフィロマイシン、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ラルチトレキセド、リゾキシン、ログレチミド、ロヒツキン、ルビギノンB1、ルボキシル、サフィンゴル、サントピン、サルコフィトールA、サルグラモスチム、ソブゾキサン、ソナーミン、スパーフォシン酸、スピカマイシンD、スピラムスチン、スティピアミド、サルフィノシン、トールイムスチン、 テガフール、テモゾロミド、テニポシド、タリブラスチン、チオコラリン、チラパザミン、トポテカン、トップセンチン、トリシリビン、トリメトレキサート、ベラミン、ビノレルビン、ビンクサルチン、ボロゾール、ゼニプラチン、ジラコルビンなどがある。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、抗体、抗体断片、または他の抗原結合剤、例えば、幹細胞因子のようなリガンドが付着している細胞毒素は、タンパク質ベースの毒素である。タンパク質ベースの毒素の例は、シガトキシンである。したがって、いくつかの実施形態では、抗体、抗体断片、または他の抗原結合剤、例えば、幹細胞因子などのリガンドが付着している細胞毒素は、志賀毒素、またはその変異体、断片、もしくは誘導体、例えば、志賀様毒素Aサブユニット、ならびにその変異体、断片、および誘導体である。いくつかの実施形態では、抗体、抗体断片、または他の抗原結合剤が結合している細胞毒素は、SLT I、SLT II、SLT IIV、LTトキシン、またはC3トキシンなどの志賀様毒素である。

【０２８７】

特定の実施形態では、細胞毒素は、タンパク質ベースの毒素と抗原結合タンパク質とからなる融合タンパク質の一部である。例えば、特定の実施形態における融合タンパク質は、scFvなどの抗体断片と、タンパク質ベースの毒素、例えば、タンパク質合成阻害剤、

例えば、リボソーム不活性化タンパク質、例えば、志賀毒素、志賀様毒素Aサブユニット、サポリン、リシン、およびそれらの変異体、断片、および誘導体などを含む、人工毒素体である。

【０２８８】

リンカー

本明細書で使用される「リンカー」という用語は、式Iの抗CD45抗体薬物複合体（ADC）を共有結合で取り付ける共有結合または原子の鎖からなる2価の化学的部分を意味する。適切なリンカーは2つの反応性末端を持ち、1つは抗体との結合用であり、もう1つは細胞毒との結合用である。リンカーの抗体結合反応性末端（反応性部位、Z’）は、典型的には、抗体上のシステインチオール基またはリシンアミン基を介して抗体に結合できる部位であるので、典型的には、（マレイミドのような）二重結合や、クロロ、ブロモ、ヨード、またはR-スルファニル基のような離脱基などのチオール反応性基、またはカルボキシル基などのアミン反応性基である。一方、リンカーの抗体結合反応性末端は、典型的には、細胞毒上の塩基性アミンまたはカルボキシル基とのアミド結合の形成を通じて細胞毒に結合することができる部位であり、従って典型的にはカルボキシル基または塩基性アミン基である。共役形態のリンカーを説明する際に「リンカー」という用語を使用する場合、リンカーおよび／または細胞毒の間、ならびにリンカーおよび／または抗体またはその抗原結合性断片の間で結合が形成されるため、反応性末端の一方または両方が存在しない（化学的部位Zに変換された反応性部位Z’など）、または不完全である（カルボン酸のカルボニルのみであるなど）ことになる。このような結合反応については、本明細書でさらに説明する。

【０２８９】

様々なリンカーを使用して、本明細書に記載されている抗体または抗体断片を細胞毒性分子に結合させることができる。いくつかの実施形態では、リンカーは細胞内環境下で開裂可能であり、リンカーの開裂により細胞内環境下で抗体から薬物ユニットが放出されるようになっている。さらに他の実施形態では、リンカーユニットは開裂可能ではなく、薬物は、例えば、抗体の分解によって放出される。本発明のADCに有用なリンカーは、好ましくは、細胞外で安定であり、ADC分子の凝集を防ぎ、ADCを水性媒体に自由に溶解し、モノマーの状態に保つ。細胞内への輸送または送達の前に、ADCは好ましくは安定であり、無傷のままであり、すなわち、抗体は薬物部分に連結されたままである。リンカーは、標的細胞の外側では安定しており、細胞内ではある程度効果的な速度で切断される可能性がある。効果的なリンカーは(i)抗体の特異的な結合特性を維持し、(ii)結合体または薬物部分の細胞内送達を可能にし、(iii)結合体がその標的部位に送達または輸送されるまで、安定かつ無傷のまま、すなわち切断されずに残り、(iv)細胞毒性、細胞殺傷効果、または細胞毒性部分の静力学的効果を維持する。ADCの安定性は、質量分析、HPLC、分離・分析技術であるLC/MSなどの標準的な分析技術によって測定することができる。抗体と薬物部分を共有結合させるためには、リンカーが2つの反応性官能基を持つこと、すなわち反応的な意味での二価性が必要となる。ペプチド、核酸、薬物、毒素、抗体、ハプテン、レポーター基など、2つ以上の機能性または生物学的に活性な部位を結合させるのに有用な2価のリンカー試薬が知られており、その結果得られる結合体についての方法が記載されている（Hermanson, G. T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press:New York, p. 234-242）。

【０２９０】

適切な切断可能なリンカーとしては、例えば、酵素による加水分解、光分解、酸性条件下での加水分解、塩基性条件下での加水分解、酸化、ジスルフィド還元、求核的切断、または有機金属的切断によって切断され得るものが挙げられる（例えば、Lerichеら、Bioorg.Med.Chem., 20:571-582, 2012を参照されたい。この開示は、共有結合に適したリンカーに関するものとして、参照により本明細書に組み込まれている）。適切な開裂可能なリンカーには、例えば、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、またはジペプチドなどの化学的部位が含まれる。

【０２９１】
酸性条件下で加水分解可能なリンカーとしては、例えば、ヒドラゾン類、セミカルバゾン類、チオセミカルバゾン類、シス-アコニットアミド類、オルトエステル類、アセタール類、ケタール類などが挙げられる。(例えば、米国特許第5,122,368号；第5,824,805号；第5,622,929号；Dubowchik and Walker, 1999, Pharm.Therapeutics 83：67-123；Nevilleら、1989、Biol. Chem.264:14653-14661に記載されており、これらの各々の開示は、共有結合に適したリンカーに関するものとして、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。)このようなリンカーは、血液中のような中性のpH条件では比較的安定しているが、リソソームのおおよそのpHであるpH5.5または5.0以下では不安定である。

【０２９２】
還元条件下で切断可能なリンカーとしては、例えば、ジスルフィドが挙げられる。様々なジスルフィドリンカーが当技術分野で知られており、例えば、SATA（N-succinimidyl-S-acetylthioacetate）、SPDP（N-succinimidyl-3-（2-pyridyldithio）propionate）を用いて形成することができるものが挙げられる。SPDB（N-スクシンイミジル-3-（2-ピリジルジチオ）ブチレート）、SMPT（N-スクシンイミジル-オキシカルボニル-α-メチル-α-（2-ピリジルジチオ）トルエン）、SPDBおよびSMPT（例えば、Thorpeら、1987、Cancer Res.47:5924-5931；Wawrzynczakら、In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer（C.W.Vogel編、Oxford U.Press、1987年）を参照されたい。また、米国特許第4,880,935号も参照されたい。これらのそれぞれの開示内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれており、特に共有結合に適したリンカーに関するものである。

【０２９３】
酵素による加水分解を受けやすいリンカーは、例えば、リソソームまたはエンドソームプロテアーゼなどの細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素によって切断されるペプチド含有リンカーであり得るが、これに限定されない。治療剤の細胞内タンパク質分解放出を使用することの1つの利点は、治療剤が複合体されると典型的に減衰され、複合体の血清安定性が典型的に高いことである。いくつかの実施形態では、ペプチジルリンカーは、少なくとも2つのアミノ酸の長さ、または少なくとも3つのアミノ酸の長さである。例示的なアミノ酸リンカーには、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、またはペンタペプチドが含まれる。適切なペプチドの例としては、バリン、アラニン、シトルリン（Cit）、フェニルアラニン、リシン、ロイシン、グリシンなどのアミノ酸を含むものが挙げられる。アミノ酸リンカー成分を構成するアミノ酸残基には、天然に存在するもののほか、マイナーなアミノ酸や、シトルリンなどの非天然に存在するアミノ酸類似体が含まれる。例示的なジペプチドとしては、バリン-シトルリン（vcまたはval-cit）およびアラニン-フェニルアラニン（afまたはala-phe）が挙げられる。例示的なトリペプチドには、グリシン-バリン-シトルリン（gly-val-cit）およびグリシン-グリシン（gly-gly）が含まれる。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-Cit、Ala-Val、またはPhe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg、またはTrp-Citのようなジペプチドを含む。Val-CitやPhe-Lysなどのジペプチドを含むリンカーは、例えば、米国特許第6,214,345号に開示されており、その開示内容は共有結合に適したリンカーに関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、リンカーは、Val-AlaおよびVal-Citから選択されるジペプチドを含む。

【０２９４】
本明細書に記載されている抗体または抗体断片を細胞毒性分子に結合させるのに適したリンカーには、1,6-脱離プロセスによって細胞毒性を放出することができるものが含まれる。この消去プロセスが可能な化学部位としては、p-アミノベンジル（PAB）基、6-マレイミドヘキサン酸、pH感受性の高い炭酸塩、およびJainら, Pharm.Res. 32:3526-3540, 2015に記載されており、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれており、特に共有結合に適したリンカーに関連するものである。

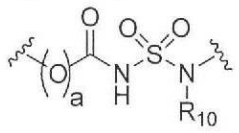
【０２９５】
いくつかの実施形態では、リンカーは、前述のPABまたはPABC（パラ-アミノベンジルオキシカルボニル）などの「自己免疫性」基を含み、これらは、例えば、Carlら、J. Med.Chem.(1981) 24:479-480; Chakravarty et al (1983) J. Med.Chem.26:638-644;US 6214345;US20030130189;US20030096743;US6759509;US20040052793;US6218519;US6835807;US6268488;US20040018194;WO98/13059;US20040052793;US6677435;US5621002;US20040121940;WO02004/032828)に開示されている。このプロセスが可能な他のこのような化学的部位（「自己免疫性リンカー」）としては、メチレンカルバメートや、アミノチアゾール、アミノイミダゾール、アミノピリミジンなどのヘテロアリール基が挙げられる。このようなヘテロ環自己免疫性基を含むリンカーは、例えば、米国特許公開第20160303254号および同第20150079114号、米国特許第7,754,681号；Hayら（1999）Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237; US 2005/0256030; de Groot et al (2001) J. Org.Chem.66:8815-8830；およびUS 7223837に開示されている。いくつかの実施形態では、ジペプチドを自己免疫性リンカーと組み合わせて使用する。

【０２９６】
本明細書での使用に適したリンカーは、さらに、C_1-C_6アルキレン、C_1-C_6ヘテロアルキレン、C_2-C_6アルケニレン、C_2-C_6ヘテロアルケニレン、C_2-C_6 アルキニレン、C_2-C_6 ヘテロアルキニレン、C_3-C_6 シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびそれらの組み合わせから選択される１つまたは複数の基を含んでもよく、これらの基はそれぞれ任意に置換されていてもよい。このような基の非限定的な例としては、$(CH_2)_p$、$(CH_2CH_2O)_p$、および－$(C=O)(CH_2)_p$ －単位が挙げられ、pは、機会ごとに独立して選択される1～6の整数である。

【０２９７】
適切なリンカーは、溶解性を高める特性を持つ基を含んでいてもよい。例えば、（CH_2CH_2O）$_p$ユニット（ポリエチレングリコール、PEG）を含むリンカーは、アミノ残基、スルホン酸残基、ホスホン酸残基またはリン酸残基で置換されたアルキル鎖と同様に、溶解性を高めることができる。このような部位を含むリンカーは、例えば、米国特許第8,236,319号および同第9,504,756号に開示されており、共有結合に適したリンカーに関しては、それぞれの開示内容が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２９８】
適切なリンカーは、溶解性を高める特性を持つ基を含んでいてもよい。例えば、（CH_2CH_2O）$_p$ユニット（ポリエチレングリコール、PEG）を含むリンカーは、アミノ残基、スルホン酸残基、ホスホン酸残基またはリン酸残基で置換されたアルキル鎖と同様に、溶解性を高めることができる。このような部位を含むリンカーは、例えば、米国特許第8,236,319号および同第9,504,756号に開示されており、共有結合に適したリンカーに関するこれらの開示内容は参照により本明細書に組み込まれている。さらなる溶解性向上基としては、例えば、構造：

【化６５】



を有するアシル基およびカルバモイルスルファミド基が挙げられる。
ここで、aは0または1であり、そして
R_{10}は、水素、C_1-C_{24}アルキル基、C_3-C_{24}シクロアルキル基、C_1-C_{24}（ヘテロ）アリール基、C_1-C_{24}アルキル（ヘテロ）アリール基およびC_1-C_{24}（ヘテロ）アリールアルキル基からなる群から選択され、C_1-C_{24}アルキル基、C_3-C_{24}シクロアルキル基、

C_2-C_{24}（ヘテロ）アリール基がC_3-C_{24}アルキル（ヘテロ）アリール基およびC_3-C_{24}（ヘテロ）アリールアルキル基であり、これらの各基は、O、SおよびNR^{11}R^{12}から選択される1つまたは複数のヘテロ原子によって任意に置換および／または任意に中断されていてもよく、ここでR^{11}およびR^{12}は、水素およびC_1-C_4アルキル基からなる群から独立して選択される。またはR^{10}が細胞毒素であり、細胞毒素がスペーサー部分を介してNに任意に接続されている。このような基を含むリンカーは、例えば、米国特許第9,636,421号および米国特許出願公開第2017/0298145号に記載されており、これらの開示内容は、細胞毒および抗体またはその抗原結合性断片への共有結合に適したリンカーに関連するものとして、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２９９】

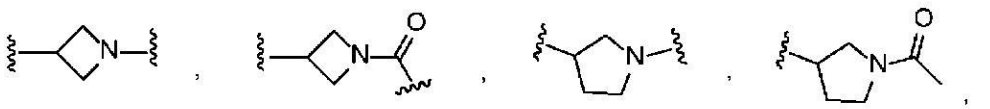
いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、ジペプチド、p-アミノベンジル（PAB）基、複素環自己免疫基、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6 ヘテロアルケニルの１つまたは複数を含んでもよい。任意に置換されたC_2-C_6 アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたC_3-C_6シクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、任意に置換されたヘテロアリール、溶解性向上基、アシル、-（C=O）-、または-$(CH_2CH_2O)_p$-基であり、pは1～6の整数である。当業者であれば、列挙した基の１つまたは複数が、例えばC_1-C_6アルキレンなどの二価（ジラジカル）種の形で存在してもよいことを認識されたい。

【０３００】

いくつかの実施形態では、リンカーLは、部分*-L_1L_2-**から構成されており、

L_1は存在しないか、$-(CH_2)_mNR^{13}C(=O)-$、$-(CH_2)_mNR^{13}-$、$-(CH_2)_mX_3(CH_2)_m-$、

【化６６】



;

であり、

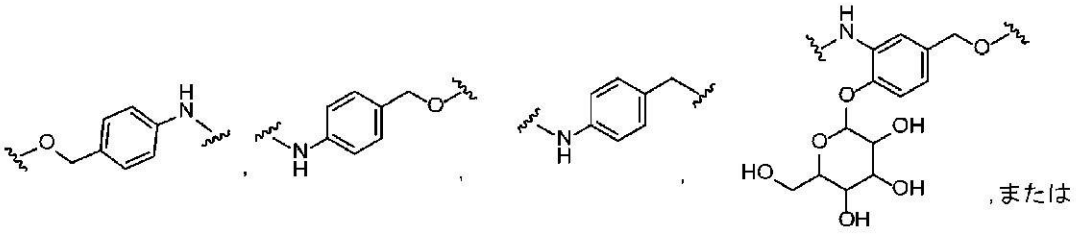
L_2は存在しないか、$-(CH_2)_m-$、$-NR^{13}(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_m-$、$-X_4$、$-(CH_2)_mNR^{13}C(=O)X_4$、$-(CH_2)_mNR^{13}C(=O)-$、$-((CH_2)_mO)_n(CH_2)_m-$、$-((CH_2)_mO)_n(CH_2)_mX_3(CH_2)_m-$、$-NR^{13}((CH_2)_mO)_nX_3(CH_2)_m-$、$-NR^{13}((CH_2)_mO)_n(CH_2)_mX_3(CH_2)_m-$、$-X_1X_2C(=O)(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_n-$、$-(CH_2)_mNR^{13}(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_mX_3(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mC(=O)-$、$-(CH_2)_mNR^{13}(CH_2)_mC(=O)X_2X_1C(=O)-$、$-(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(=O)X_2X_1C(=O)-$、$-(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mX_3(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mX_3(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mO)_n(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_m-$、$-(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_n-$、$-($

$CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nC(=O)$-、-$(CH_2)_mNR^{13}(CH_2)_mC(=O)$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mNR^{13}C(=O)$-、-$(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nX_3(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mX_3((CH_2)_mO)_n(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(=O)$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mO)_n(CH_2)_mX_3(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nNR^{13}C(=O)(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nC(=O)$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_n$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mC(=O)$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nC(=O)$-、-$((CH_2)_mO)_n(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)$ -$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(=O)NR^{13}$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}$-、-$(CH_2)_mX_3$-、-$C(R^{13})_2(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mC(R^{13})_2NR^{13}$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mNR^{13}$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mNR^{13}C(=O)NR^{13}$-、-$(CH_2)_mC(=O)X_2X_1C(=O)$-、-$C(R^{13})_2(CH_2)_mNR^{13}C(=O)(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mC(R^{13})_2NR^{13}$-、-$C(R^{13})_2(CH_2)_mX_3(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(R^{13})_2NR^{13}$-、-$C(R^{13})_2(CH_2)_mOC(=O)NR^{13}(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)O(CH_2)_mC(R^{13})_2NR^{13}$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mNR^{13}$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nNR^{13}$-、-$(CH_2)_mNR^{13}$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nNR^{13}$-、-$(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nNR^{13}$-、-$(CH_2CH_2O)_n(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_m(OCH_2CH_2)_n$;-$(CH_2)_mO(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mS(=O)_2$-、-$(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mS(=O)_2$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mS(=O)_2$-、-$(CH_2)_mX_2X_1C(=O)$-、-$(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nC(=O)X_2X_1C(=O)$-、-$(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nX_2X_1C(=O)$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mX_2X_1C(=O)$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nX_2X_1C(=O)$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mNR^{13}C(=O)$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_mC(=O)$-、-$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mC(=O)NR^{13}(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nC(=O)$-、-$(CH_2)_mC(=O)X_2X_1C(=O)NR^{13}(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mX_3(O(CH_2)_m)_nC(=O)$-、-$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)((CH_2)_mO)_n(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_m(O(CH_2)_m)_nC(=O)NR^{13}(CH_2)_m$-、-$(CH_2)_mNR^{13}C(=O)NR^{13}(CH_2)_m$- または -$(CH_2)_mX_3(CH_2)_mNR^{13}C(=O)$-;であり、

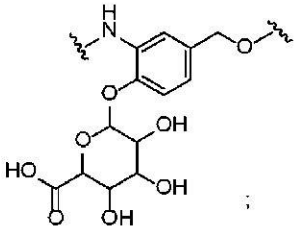
ここで

X_1は

【化６７】



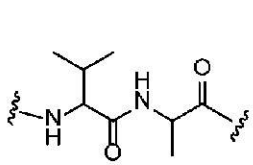
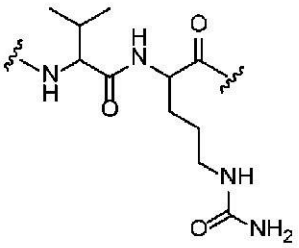
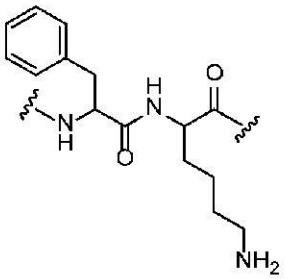
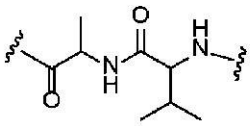
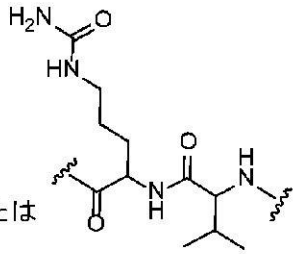
,または



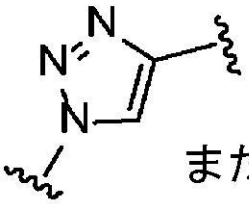
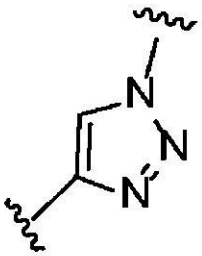
;

であり、

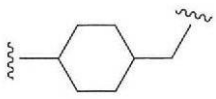
X_2は
【化６８】


、

、

、

、または

；

であり、
X_3は
【化６９】


または


であり、
X_4は
【化７０】



であり、
ここで、
R^{13}は、HおよびC_1-C_6アルキルからそれぞれ独立して選択され、
mは、1、2、3、4、5、6、7、8、9および10からそれぞれ独立して選択され、
nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13および14からそれぞれ独立して選択され、そして、

ここで、一重アスタリスク（＊）は細胞毒（例えば、アマトキシン）への結合点を示し、二重アスタリスク（＊＊）は反応性置換基Z'または化学部分Zへの結合点を示すが、L_1とL_2がともに存在しないという但し書きがある。

【０３０１】

いくつかの実施形態では、リンカーは、p-アミノベンジル基（PAB）を含む。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、細胞毒性薬剤とリンカー中のプロテアーゼ切断部位との間に配置されている。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルオキシカルボニル単位の一部である。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルアミド単位の一部である。

【０３０２】

いくつかの実施形態では、リンカーは、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABからなる。

【０３０３】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチド、オリゴ糖、-(CH2)p-、-(CH2CH2O)p-、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABのうちの1つまたは複数の組み合わせからなる。

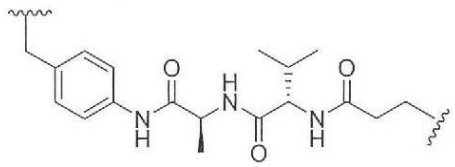
【０３０４】

いくつかの実施形態では、リンカーは-(C=O)$(CH_2)_p$-単位を含み、pは1～6の整数である。

【０３０５】

ある具体的な実施形態では、リンカーは構造：

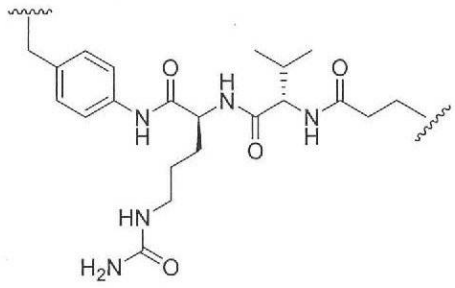
【化７１】



を構成しており、

ここで，波線は，細胞毒および反応性部分Z’への付着点を示す。別の具体的な実施形態では、リンカーは、構造：

【化７２】



からなる。

ここで、波線は、細胞毒および反応性部分Z’への付着点を示す。このようなPAB-ジペプチド-プロピオニルリンカーは、例えば、特許出願公開第WO2017／149077号に開示されており、この特許出願公開第WO2017／149077号は、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。さらに、WO2017/149077に開示されている細胞毒素は

、参照により本明細書に組み込まれる。

【０３０６】

特定の実施形態では、ＡＤＣのリンカーは、マレイミドカプロイル-Ｖａｌ-Ａｌａ-パラ-アミノベンジル（ｍｃ-Ｖａｌ-Ａｌａ-ＰＡＢ）である。

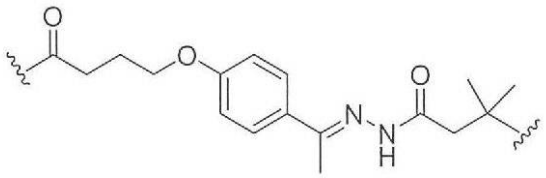
【０３０７】

特定の実施形態では、ＡＤＣのリンカーは、マレイミドカプロイル-Ｖａｌ-Ｃｉｔ-パラ-アミノベンジル（ｍｃ-ｖｃ-ＰＡＢ）である。

【０３０８】

いくつかの実施形態では、リンカーは以下を含む。

【化７３】



【０３０９】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ＭＣＣ（4-［Ｎ-マレイミドメチル］シクロヘキサン-1-カルボキシレート）からなる。

【０３１０】

本明細書に開示されている化学基、部位、および特徴のいずれか1つまたは複数を複数の方法で組み合わせて、本明細書に開示されているような抗体および細胞毒素の結合に有用なリンカーを形成してもよいことは、当業者には認識されるであろう。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なさらなるリンカーは、例えば、米国特許出願公開第2015／0218220号に記載されており、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０３１１】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ヒドラジン、ジスルフィド、チオエーテル、ジペプチド、p-アミノベンジル（ＰＡＢ）基、複素環自己免疫基、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6 ヘテロアルケニルの１つまたは複数を含んでもよい。任意に置換されたC_2-C_6 アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6 ヘテロアルキニル、任意に置換されたC_3-C_6シクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、任意に置換されたヘテロアリール、溶解性向上基、アシル、-（Ｃ=Ｏ）-、または-$(CH_2CH_2O)_p$-基であり、ｐは1～6の整数である。当業者であれば、列挙した基の１つまたは複数が、例えばC_1-C_6アルキレンなどの二価（ジラジカル）種の形で存在してもよいことを認識されたい。

【０３１２】

いくつかの実施形態では、リンカーは、p-アミノベンジル基（ＰＡＢ）を含む。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、細胞毒性薬剤とリンカー中のプロテアーゼ切断部位との間に配置されている。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルオキシカルボニル単位の一部である。いくつかの実施形態では、p-アミノベンジル基は、p-アミノベンジルアミド単位の一部である。

【０３１３】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ＰＡＢ、Ｖａｌ-Ｃｉｔ-ＰＡＢ、Ｖａｌ-Ａｌａ-ＰＡＢ、Ｖａｌ-Ｌｙｓ(Ａｃ)-ＰＡＢ、Ｐｈｅ-Ｌｙｓ-ＰＡＢ、Ｐｈｅ-Ｌｙｓ(Ａｃ)-ＰＡＢ、Ｄ-Ｖａｌ-Ｌｅｕ-Ｌｙｓ、Ｇｌｙ-Ｇｌｙ-Ａｒｇ、Ａｌａ-Ａｌａ-Ａｓｎ-ＰＡＢ、またはＡｌａ-ＰＡＢからなる。

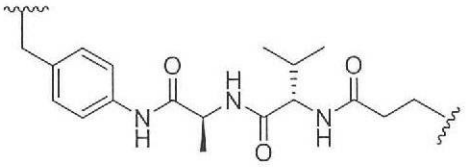
【０３１４】

いくつかの実施形態では、リンカーは、ペプチド、オリゴ糖、-$(CH_2)_p$-、-$(CH_2CH_2O)_p$-、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、またはAla-PABのうちの1つまたは複数の組み合わせからなる。

【０３１５】

いくつかの実施形態では、リンカーは-$(C=O)(CH_2)_p$-単位を含み、pは1～6の整数である。

【化７４】

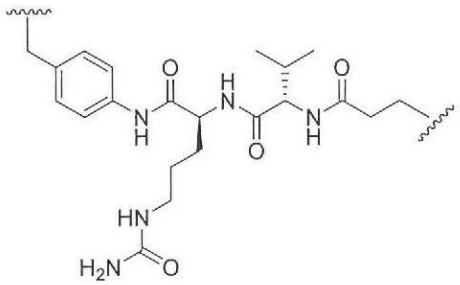


【０３１６】

ある具体的な実施形態では、リンカーは以下の構造からなり、

ここで、波線は、細胞毒および反応性部分Z’への付着点を示す。別の具体的な実施形態では，リンカーは以下の構造からなり、

【化７５】



ここで、波線は、細胞毒および反応性部分Z’への付着点を示す。このようなPAB-ジペプチド-プロピオニルリンカーは、例えば、特許出願公開第WO2017／149077号に開示されており、この特許出願公開第WO2017／149077号は、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。さらに、WO2017/149077に開示されている細胞毒素は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０３１７】

本明細書に開示されている化学基、部位、および特徴のいずれか1つまたは複数を複数の方法で組み合わせて、本明細書に開示されているような抗体および細胞毒素の結合に有用なリンカーを形成してもよいことは、当業者には認識されるであろう。本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用なさらなるリンカーは、例えば、米国特許出願公開第2015／0218220号に記載されており、その開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０３１８】

特定の実施形態では、リンカーの前駆体である中間体を、適切な条件下で薬物部分と反応させる。特定の実施形態では、薬物および／または中間体もしくはリンカーに反応性基が使用される。薬物と中間体の反応生成物、または誘導体化された薬物は、その後、適切な条件下で抗体または抗原結合性断片と反応させる。あるいは、リンカーまたは中間体をまず抗体または誘導体化された抗体と反応させた後、薬剤または誘導体化された薬剤と反

応させてもよい。このような結合反応について、より詳しく説明する。

【０３１９】

抗体またはその抗原結合性断片にリンカーまたは薬物-リンカー結合体を共有結合させるには、多くの異なる反応が利用できる。抗体分子の適切な結合点としては、リシンのアミン基、グルタミン酸およびアスパラギン酸の遊離カルボン酸基、システインのスルフヒドリル基、および芳香族アミノ酸の様々な部位が挙げられる。例えば、カルボジイミド反応を利用して、化合物のカルボキシ基（またはアミノ基）と抗体部位のアミノ基（またはカルボキシ基）を結合させることで、非特異的な共有結合を行うことができる。さらに、ジアルデヒドやイミドエステルなどの二官能剤を用いて、化合物のアミノ基を抗体部位のアミノ基に結合させることもできる。また、薬物を結合剤に付着させる方法として、シッフ塩基反応を利用することができる。この方法では、グリコール基やヒドロキシ基を持つ薬剤を過ヨウ素酸で酸化してアルデヒドを生成し、これを結合剤と反応させる。結合剤のアミノ基との間にシッフ塩基が形成されて結合する。イソチオシアネートは、薬物を結合剤に共有結合させるためのカップリング剤としても使用できる。その他の技術は、当業者には既知であり、本開示の範囲内である。

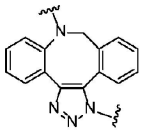
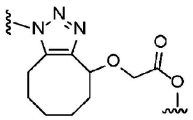
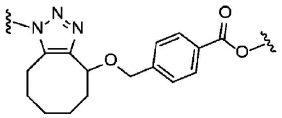
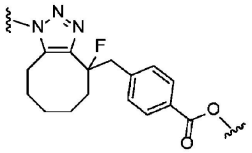
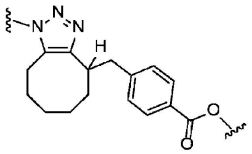
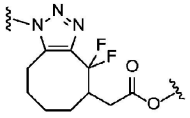
【０３２０】

抗体や抗原結合性断片との結合に有用なリンカーとしては、以下の表2に示すようなカップリング反応によって形成される化学的部位Zを含むリンカーが挙げられるが、これらに限定されるものではない。波線は、抗体、抗原結合性断片、または細胞毒性分子への結合点を示している。

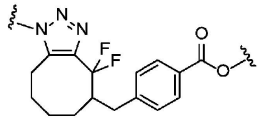
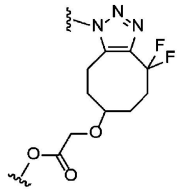
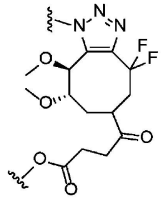
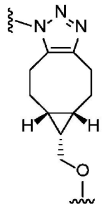
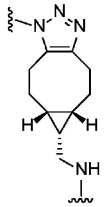
【０３２１】

【表２－１】

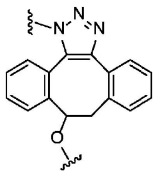
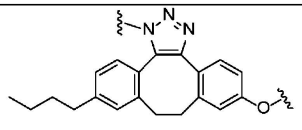
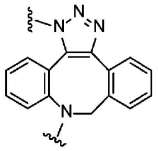
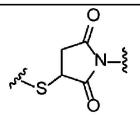
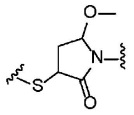
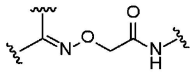
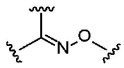
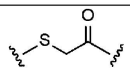
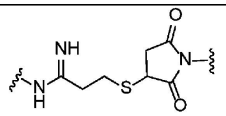
表2. 抗体–薬物複合体の形成におけるカップリング反応で形成される例示的な化学的部位Z

例示的なカップリング反応	カップリング反応で形成される化学的部位Z
[3+2] 環化付加	
[3+2] 環化付加	
[3+2] 環化付加、エステル化	
[3+2] 環化付加、エステル化	
[3+2] 環化付加、エステル化	
[3+2] 環化付加、エステル化	
[3+2] 環化付加、エステル化	

【表２－２】

[3+2] 環化付加、 エステル化	
[3+2] 環化付加、 エステル化	
[3+2] 環化付加、 エステル化	
[3+2] 環化付加、 エステル化	
[3+2] 環化付加、 エステル化	

【表２－３】

[3+2] 環化付加、 エステル化	
[3+2] 環化付加、 エーテル化	
[3+2] 環化付加	
マイケル付加	
マイケル付加	
イミン縮合 アミド化	
イミン縮合	
ジスルフィドの形成	
チオールアルキル化	
縮合 マイケル付加	

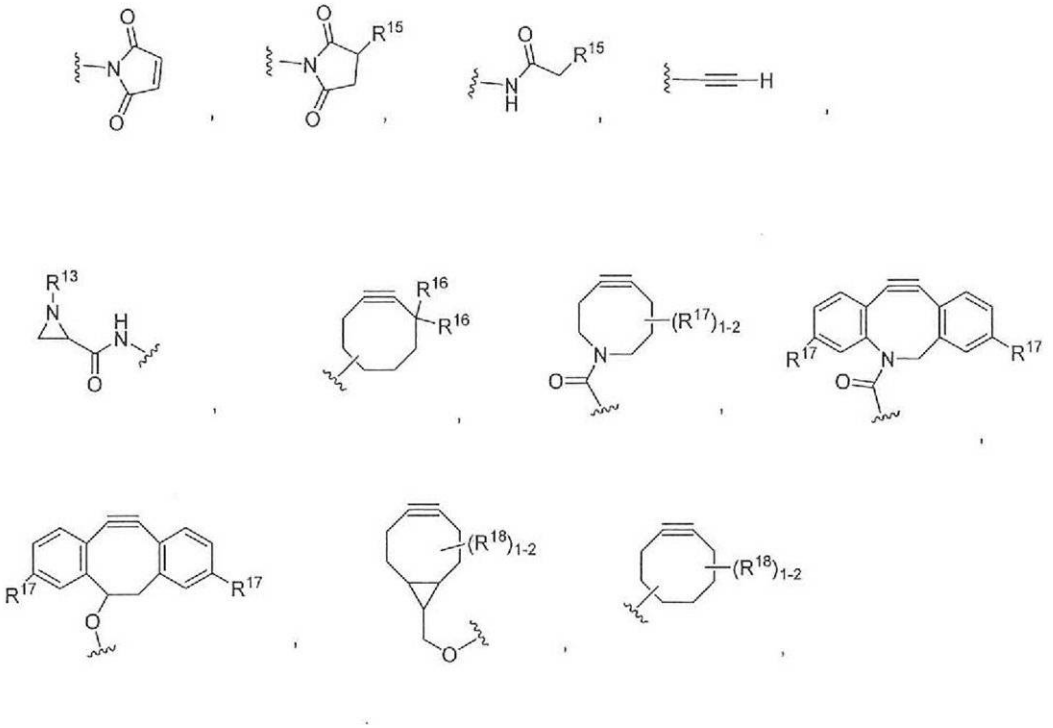
【０３２２】

当業者であれば、リンカーに結合した反応性置換基Ｚ’と、抗体またはその抗原結合性断片上の反応性置換基が、化学的部分Ｚを生成するための共有結合反応に関与していることを認識し、反応性部分Ｚ’を認識するであろう。したがって、本明細書に記載の方法と併せて有用な抗体-薬物結合体は、抗体またはその抗原結合性断片と、本明細書に記載のリンカーまたは細胞毒リンカー結合体との反応によって形成されてもよく、リンカーまたは細胞毒リンカー結合体は、抗体またはその抗原結合性断片上の反応性置換基と反応して化学部分Ｚを形成するのに適した反応性置換基Ｚ’を含む。

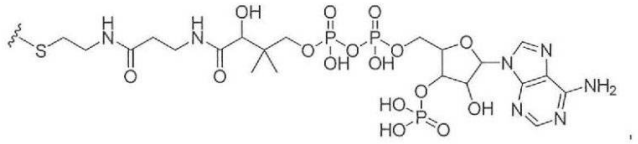
【０３２３】

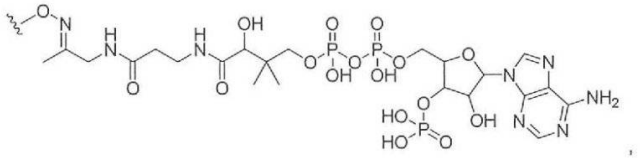
いくつかの実施形態では、Z'は、-$NR^{13}C(=O)CH=CH_2$、$-N_3$、-SH、$-S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-(CH_2)_2S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NR^{13}S(=O)_2(CH=CH_2)$、$-NR^{13}C(=O)CH_2R^{14}$、$-NR^{13}C(=O)CH_2Br$、$-NR^{13}C(=O)CH_2I$、$-NHC(=O)CH_2Br$、$-NHC(=O)CH_2I$、$-ONH_2$、$-C(O)NHNH_2$、$-CO_2H$、$-NH_2$、-NH(C=O)、-NC(=S)、

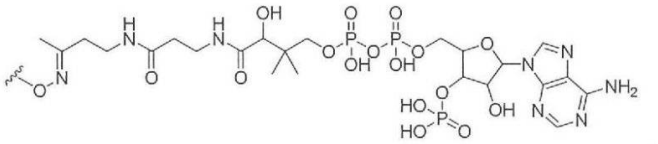
【化７６－１】

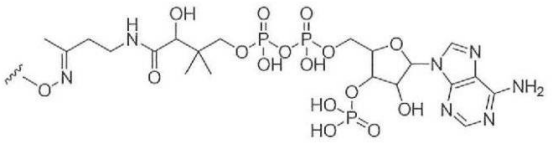


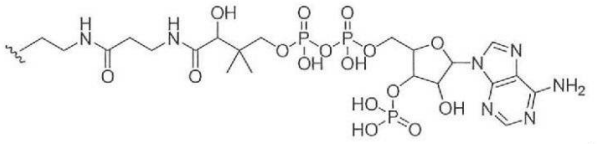
【化７６－２】

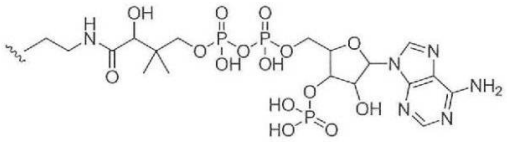


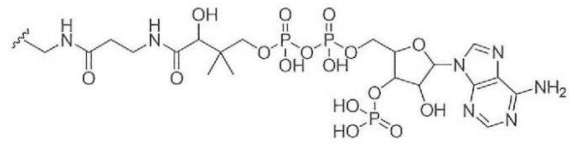




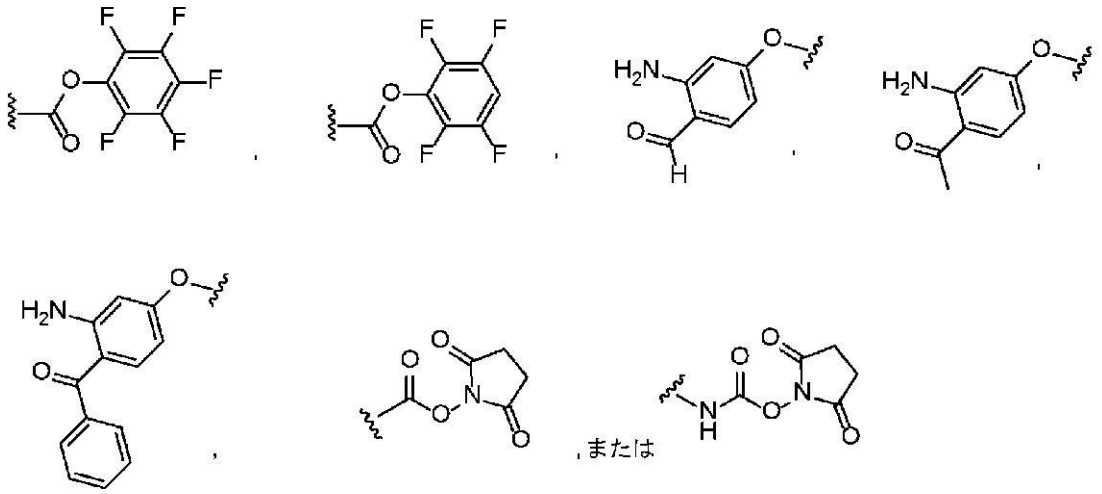








【化７７】



であり、

ここで

R^{13}は、HおよびC_1-C_6アルキルから各場面で独立して選択され、

R^{14}は、$-S(CH_2)_nCHR^{15}NHC(=O)R^{13}$であり、

R^{15}は、R^{13}または$-C(=O)OR^{13}$であり、

R^{16}は、H、C_1-C_6アルキル、F、Cl、および-OHから各場面で独立して選択され、

R^{17}は、H、C_1-C_6アルキル、F、Cl、$-NH_2$、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、$-N(CH_3)_2$、-CN、$-NO_2$、および-OHから各場面で独立して選択され、

R^{18}は、H、C_1-C_6アルキル、F、$-C(=O)OH$で置換されたベンジルオキシ、$-C(=O)OH$で置換されたベンジル、$-C(=O)OH$で置換されたC_1-C_4アルコキシ、および$-C(=O)OH$で置換されたC_1-C_4アルキルから各場面で独立して選択され、

mは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、および10から各場面で独立して選択され、そして

nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13および14から各場面で独立して選択される。

【０３２４】

表2に示されているように、リンカーおよび抗体またはその抗原結合性断片上の好適な反応性置換基の例としては、求核剤／求電子剤の対（例えば、チオール／ハロアルキル対、アミン／カルボニル対、チオール／α、β-不飽和カルボニル対など）、ジエン／ジエノフィル対（アジド／アルキン対、またはジエン／α、β-不飽和カルボニル対など）などが挙げられる。化学部位Zを形成するための反応性置換基間のカップリング反応としては、限定されないが、チオールアルキル化、ヒドロキシルアルキル化、アミンアルキル化、アミンまたはヒドロキシルアミン縮合、ヒドラジン生成、アミド化、エステル化、ジスルフィド生成、環化付加（例えば、[4+2]Diels-Alder環化付加、[3+2]Huisgen環化付加など）、芳香族求核置換、芳香族求電子置換、および当技術分野で知られている、または本明細書に記載されている他の反応様式がある。好ましくは、リンカーは、抗体またはその抗原結合性断片上の求核性官能基と反応するための求電子性官能基を含む。

【０３２５】

本明細書で開示する抗体またはその抗原結合性断片に存在しうる反応性置換基には、限定されないが、(i)N-末端アミン基、(ii)側鎖アミン基、例えばリシン、(iii)側鎖チオール基、例えばシステイン、および(iv)抗体がグリコシル化されている場合には糖の水酸基またはアミノ基などの求核性基が含まれる。本明細書で開示されている抗体またはその抗原結合性断片内に存在する可能性のある反応性置換基としては、セリン、スレオニン、チ

ロシン残基のヒドロキシル基、リシン残基のアミノ基、アスパラギン酸およびグルタミン酸残基のカルボキシル基、システイン残基のチオール基のほか、プロパルギル、アジド、ハロアリール（例えばフルオロアリール）、ハロヘテロアリール（例えばフルオロヘテロアリール）、ハロアルキル、および非天然アミノ酸のハロヘテロアルキル部位などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている抗体、またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基は、アミンまたはチオール部位である。特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、すなわちシステインブリッジを有する。抗体は、DTT（ジチオスレイトール）のような還元剤で処理することにより、リンカー試薬との結合に対して反応性を持たせることができる。各システインブリッジは、理論的には2つの反応性チオール求核基を形成することになる。さらに、リシンを2-イミノチオラン（Traut試薬）と反応させ、アミンをチオールに変換することで、抗体に求核性基を導入することができる。反応性チオール基は、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上のシステイン残基を導入することによって、抗体（またはその断片）に導入することができる（例えば、1つまたはそれ以上の非天然なシステインアミノ酸残基を含む変異抗体を調製する）。米国の特許第7,521,541号は、反応性システインアミノ酸の導入による抗体のエンジニアリングを教示している。

【０３２６】

いくつかの実施形態では、リンカーに結合した反応性部位Z’は、抗体上に存在する求電子性基と反応する求核性基である。抗体上の有用な求電子性基には、アルデヒドおよびケトンのカルボニル基が含まれるが、これらに限定されない。求核性基のヘテロ原子は、抗体上の求電子性基と反応して、抗体と共有結合を形成することができる。有用な求核性基としては、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、アリールヒドラジドなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３２７】

いくつかの実施形態では、Zは、アミンおよびチオール部位など、抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性求核性置換基と、反応性求電子性置換基Z’との間の反応の産物である。例えば，Z’は，マイケルアクセプター（例えば、マレイミド）、活性化エステル、電子不足のカルボニル化合物、アルデヒドなどである。

【０３２８】

例えば，ADCの合成に適したリンカーには，限定されるものではないが，マレイミド基やハロアルキル基などの反応性置換基Z’が含まれる。これらは、サクシニミジル4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサン-L-カルボキシレート（SMCC）、N-サクシニミジルヨードアセテート（SIA）、スルホ-SMCC、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシニミジルエステル（MBS）、スルホ-MBS、およびサクシニミジルヨードアセテートなどの試薬によってリンカーに結合されてもよく、特に、例えば、Liu et al,18:690-697, 1979に記載されており、その開示内容は化学結合のためのリンカーに関するものとして参照により本明細書に組み込まれている。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、リンカーLに結合した反応性置換基Z’は、マレイミド、アジド、またはアルキンである。マレイミド含有リンカーの例は、非開裂性のマレイミドカプロイルベースのリンカーであり、これは、アウリスタチンなどの微小管破壊剤の結合に特に有用である。このようなリンカーは、Doroninaら、Bioconjugate Chem.17:14-24, 2006に記載されており、その開示内容は、化学的結合のためのリンカーに関するものとして参照により本明細書に組み込まれる。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、反応性置換基Z’は-(C=O)-または-NH(C=O)-であり、リンカーは、-(C=O)-または-NH(C=O)-基と抗体またはその抗原結合性断片のアミノ基との反応によって生じるアミドまたは尿素部分によって、それぞれ抗体またはその抗原結合性断片に結合することができるようになっている。

【０３３１】
いくつかの実施形態では、反応性置換基は、N-マレイミジル基、ハロゲン化N-アルキルアミド基、スルホニルオキシN-アルキルアミド基、カーボネート基、ハロゲン化スルホニル基、チオール基またはその誘導体、内部炭素-炭素三重結合からなるアルキニル基、（het-ero）シクロアルキニル基、ビシクロ［6.1.0］non-4-yn-9-yl基、内部炭素-炭素二重結合からなるアルケニル基、シクロアルケニル基、テトラジニル基、アジド基、ホスフィン基、ニトリルオキシド基、ニトロン基、ニトリルイミン基、ジアゾ基、ケトン基。(O-アルキル）ヒドロキシルアミノ基、ヒドラジン基、ハロゲン化N-マレイミジル基、1，1-ビス（スルホニルメチル）メチルカルボニル基またはその消去誘導体、ハロゲン化カルボニル基、またはアレンアミド基であり、これらの各基は任意に置換されていてもよい。いくつかの実施形態では、反応性置換基は、シクロアルケン基、シクロアルキン基、または任意に置換された（ヘテロ）シクロアルキニル基からなる。
【０３３２】
抗体またはその抗原結合性断片上の反応性残基との反応に適した反応性置換基Z’を含むアマトキシン-リンカー複合体の非限定的な例としては、限定されないが、7'C-（4-（6-（マレイミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（6-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（4-（（マレイミド）メチル）シクロヘキサンカルボニル）ピペラジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（6-（4-（（マレイミド）メチル）シクロヘキサンカルボキサミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-(4-(2-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-（4-（2-（3-カルボキシプロパンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（2-ブロモアセトアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（3-（ピリジン-2-イルスルファニル）プロパンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（4-（マレイミド）ブタンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（2-（マレイミド）アセチル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（3-（マレイミド）プロパノイル）ピペラジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（4-（マレイミド）ブタノイル）ピペラジン-1-イル）アマトキシン；7'C-（4-（2-（6-（4-（（マレイミド）メチル）シクロヘキサンカルボキサミド）ヘキサンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-(3-((4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)メチル)ピロリジン-1-イル)アマトキシン；7'C-(3-（（6-((4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-（4-（2-（4-（2-（アミノオキシ）アセトアミド）ブタンアミド）エチル）ピペリジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（4-（2-（アミノオキシ）アセトアミド）ブタノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-（4-（6-（2-（アミノオキシ）アセトアミド）ヘキサノイル）ピペラジン-1-イル）-アマトキシン；7'C-((4-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(6-(マレイミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマ

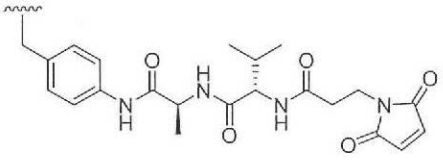
トキシン；(R)-7'C-（（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）メチル）-アマトキシン；（S）-7'C-（（3-（（6-（マレイミド）ヘキサンアミド）メチル）ピロリジン-1-イル）メチル）-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン； 7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)-S-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)-S-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(3-カルボキシプロパンアミド)エチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(6-(4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(マレイミド)アセチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(3-(マレイミド)プロパノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(4-(マレイミド)ブタノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(2-(マレイミド)アセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(4-(マレイミド)ブタンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(マレイミド)ヘキサンアミド)メチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((4-(マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)メチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-(2-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)アゼチジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-(((2-(6-(マレイミド)-N-メチルヘキサンアミド)エチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン；7'C-(((4-(6-(マレイミド)-N-メチルヘキサンアミド)ブチル(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン；7'C-((2-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)アジリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((2-(2-(6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)エチル)アジリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(6-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)ヘキサノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(1-(アミノオキシ)-2-オキソ-6,9,12,15-テトラオキサ-3-アザヘプタデカン-17-オイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)アセチル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(3-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)プロパノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ブタノイル)ピペラジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(2-(2-(アミノオキシ

)アセトアミド)アセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(4-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)ブタンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(20-(アミノオキシ)-4,19-ジオキソ-6,9,12,15-テトラオキサ-3,18-ジアザイコシル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-(((2-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)-N-メチルヘキサンアミド)エチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン;7'C-(((4-(6-(2-(アミノオキシ)アセトアミド)-N-メチルヘキサンアミド)ブチル)(メチル)アミノ)メチル)-アマトキシン；7'C-((3-((6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)メチル)ピロリジン-1-イル)-S-メチル)-アマトキシン;7'C-((3-((6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキサンアミド)-R-メチル)ピロリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン;7'C-((4-(2-(2-ブロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(2-ブロモアセトアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；7'C-((4-(2-(3-(ピリジン-2-イルジスルファニル（yldisulfanyl）)プロパンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)メチル)-アマトキシン；6'O-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)ヘキシル)-アマトキシン；6'O-(5-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ペンチル)-アマトキシン；6'O-(2-((6-(マレイミド)ヘキシル)オキシ)-2-オキソエチル)-アマトキシン；6'O-((6-(マレイミド)ヘキシル)カルバモイル)-アマトキシン；6'O-((6-(4-((マレイミド)メチル)シクロヘキサンカルボキサミド)ヘキシル)カルバモイル)-アマトキシン；6'O-(6-(2-ブロモアセトアミド)ヘキシル)-アマトキシン；7'C-(4-(6-(アジド)ヘキサンアミド)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(ヘキサ-5-イノイルアミノ（ynoylamino）)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；7'C-(4-(2-(6-(6-(マレイミド)ヘキサンアミド)エチル)ピペリジン-1-イル)-アマトキシン；6'O-（6-（6-（11，12-ジデヒドロ-5，6-ジヒドロ-ジベンズ［b，f］アゾシン-5-イル）-6-オキソヘキサンアミド）ヘキシル）-アマトキシン；6'O-（6-（ヘキサ-5-イノイルアミノ（ynoylamino））ヘキシル）-アマトキシン；6'O-（6-（2-（アミノオキシ）アセチルアミド）ヘキシル）-アマトキシン；6'O-（（6-アミノオキシ）ヘキシル）-アマトキシン；および6'O-（6-（2-ヨードアセトアミド）ヘキシル）-アマトキシンが挙げられる。

【０３３３】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているようなアマトキシンは、以下の式を有するリンカー反応性部分-L-Z’に結合されている。

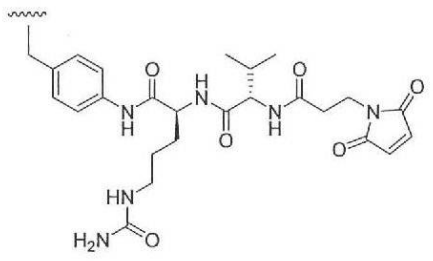
【化７８】



【０３３４】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されているようなアマトキシンは、以下の式を有するリンカー反応性部分-L-Z’に結合されている。

【化７９】



【０３３５】
本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用な前述のリンカー部位およびアマトキシン-リンカー結合体は、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号および特許出願公開第WO2017/149077号に記載されており、その各々の開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０３３６】
本明細書に記載の組成物および方法と併せて有用な前述のリンカー部位およびアマトキシン-リンカー結合体は、例えば、米国特許出願公開第2015/0218220号および特許出願公開第WO2017/149077号に記載されており、その各々の開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０３３７】
抗体・薬物複合体の調製
本明細書に開示されている式IのADCでは、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片が、本明細書に開示されているように、リンカーLおよび化学的部分Zを介して、1つまたは複数の細胞傷害性薬物部分（D）、例えば、抗体あたり約1～約20の薬物部分に結合させることができる。本開示のADCは、当業者に知られている有機化学反応、条件、および試薬を用いて、以下のようないくつかのルートで調製することができる。(1）抗体またはその抗原結合性断片の反応性置換基を二価のリンカー試薬と反応させて、本明細書に記載されているようにAb-Z-Lを形成し、その後、薬物部分Dと反応させる、または（2）薬物部分の反応性置換基を二価のリンカー試薬と反応させてD-L-Z’を形成し、その後、本明細書に記載されているように抗体またはその抗原結合性断片の反応性置換基と反応させる。ADCを調製するための追加の方法は、本明細書に記載されている。
【０３３８】
別の態様では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、1つまたは複数のスルフヒドリル基を導入するために化学的に修飾することができる1つまたは複数のリシン残基を有する。そして、ADCは、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介した結合によって形成される。リシンの修飾に使用できる試薬には、N-サクシニミジルS-アセチルチオアセテート（acetylthioacetate）（SATA）および2-イミノチオラン（iminothiolane）塩酸塩（Traut's Reagent）が含まれるが、これらに限定されない。
【０３３９】
別の態様では、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、1つまたは複数のスルフヒドリル基を有するように化学的に修飾され得る1つまたは複数の炭水化物基を有することができる。そして、ADCは、本明細書で上述したように、スルフヒドリル基の硫黄原子を介した結合によって形成される。
【０３４０】
さらに別の態様では、抗CD45抗体は、酸化されてアルデヒド（-CHO）基を提供することができる1つまたは複数の炭水化物基を有することができる（例えば、Laguzzaら、J. Med.Chem.1989, 32(3), 548-55)。その後、本明細書で上述したように、対応

するアルデヒドを介した結合によってADCが形成される。細胞毒の付着または結合のためのタンパク質の修飾のための他のプロトコルは、Coliganら、Current Protocols in Protein Science、第2巻、John Wiley & Sons (2002)に記載されており、これはその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０３４１】

リンカー-薬物部位を、抗体、免疫グロブリンまたはその断片などの細胞標的タンパク質に結合させる方法は、例えば、米国特許第5,208,020号、米国特許第6,441,163号、WO2005037992号、WO2005081711号、およびWO2006/034488号に記載されており、これらはすべてリンカー全体が参照により明示的に組み込まれている。

【０３４２】

代替的に、抗体と細胞毒からなる融合タンパク質を、例えば、組換え技術やペプチド合成によって作製してもよい。DNAの長さは、結合体の2つの部分をコードするそれぞれの領域が互いに隣接しているか、または結合体の所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域によって分離されていてもよい。

【０３４３】

治療の方法

CD45は、造血系および免疫系全体に広く発現している重要な細胞表面分子である。本明細書には、関節炎（またはプロテオグリカン誘発性関節炎（PGIA）に代表される疾患）、自己免疫性脳炎、強皮症性移植片対宿主病、多発性硬化症、または強皮症などの自己免疫疾患の患者の治療に使用できる抗CD45抗体および抗CD45 ADCが記載されている。さらに、現在、移植後にこれらの細胞の多能性および造血機能が維持されるように、外因性造血幹細胞移植片の生着を促進するための組成物および方法が必要とされている。本明細書に開示された組成物は、この困難な問題に対する解決策をさらに提供する。

【０３４４】

したがって、本明細書に開示されているのは、関節リウマチ（マウスモデルにおけるPGIAに代表される）、自己免疫性脳炎、1型糖尿病、または強皮症性移植片対宿主病などの様々な自己免疫疾患を治療する方法である。本明細書に記載の組成物および方法は、（i）自己免疫細胞の集団（例えば、自己反応性T細胞）などの病理を生じさせる細胞の集団を直接枯渇させ、および／または（ii）移植された細胞が帰巣できるニッチを提供することにより、移植された造血幹細胞の生着を促進するように、内因性の造血幹細胞の集団を枯渇させることができる。前述の作用は、内在性疾患細胞や造血幹細胞が発現する抗原を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片を投与することによって達成することができる。疾患を直接治療する場合には、この投与により、対象となる病態を引き起こす細胞の量を減少させることができる。また、造血幹細胞移植療法の患者を準備する場合、内在性の造血幹細胞の集団を選択的に減少させることで、骨髄などの造血組織に空洞を作り、移植された外在性の造血幹細胞で満たすことができる。本発明は、造血幹細胞によって発現されるCD45を結合することができるADC、抗体、またはその抗原結合性断片が、患者に投与されて上記の活動の両方に影響を与えることができるという発見に一部基づいている。造血幹細胞および／または自己免疫細胞によって発現される抗原（例えば、CD45）に結合するADC、抗体、またはその抗原結合性断片は、自己免疫疾患（例えば、関節リウマチ（マウスモデルにおけるPGIAに代表される）、自己免疫性脳炎、1型糖尿病、または強皮症）に罹患している患者に投与されて、自己免疫細胞の集団を直接枯渇させることができる。また、前記薬剤は、造血幹細胞からなる移植を受けるために患者の状態を整え、移植された造血幹細胞の生存率および生着率を促進するために、造血幹細胞移植療法を必要とする患者に投与することができる。

【０３４５】

本明細書に記載されているように、造血幹細胞移植療法は、治療を必要とする対象者（例えば、自己免疫疾患または障害）に投与され、1つまたは複数の血液細胞タイプを増殖または再増殖させることができる。造血幹細胞は、一般的に多能性を示し、その結果、顆粒球（例えば、前骨髄球、好中球、好酸球、好塩基球）、赤血球（例えば、網状赤血球、

赤血球）、血小板（例えば、巨核芽球、血小板産生巨核球、血小板）、単球（例えば、単球、マクロファージ）、樹状細胞、ミクログリア、破骨細胞、リンパ球（例えば、ＮＫ細胞、Ｂ細胞、Ｔ細胞）を含むがこれらに限定されない、複数の異なる血液系統に分化することができる。造血幹細胞は、さらに自己再生能力があり、母細胞と同等の能力を持つ娘細胞を生み出すことができる。また、移植を受けた患者に再び導入され、造血幹細胞のニッチに帰巣し、生産的で持続的な造血を再構築する能力も備えている。

【０３４６】

本明細書に記載の組成物および方法は、関節リウマチ（マウスモデルにおけるＰＧＩＡに代表される）、自己免疫性脳炎、１型糖尿病、または強皮症などの自己免疫疾患の治療に使用することができる。例えば、抗体またはその抗原結合性断片は、ＣＤ４５+免疫細胞を死滅させるように、自己免疫疾患に罹患しているヒト患者などの対象者に投与することができる。例えば、ＣＤ４５+免疫細胞は、自己抗原に特異的に結合して免疫反応を起こすＴ細胞受容体を発現するＴ細胞などの自己反応性リンパ球である可能性がある。自己反応性の、ＣＤ４５+を枯渇させることにより、本明細書に記載された組成物および方法は、本明細書に記載されたものなどの自己免疫性病態を治療するために使用することができる。さらにまたは代替として、本明細書に記載の組成物および方法は、造血幹細胞移植療法の前に内在性造血幹細胞の集団を枯渇させることによって、自己免疫疾患を治療するために使用することができ、この場合、移植細胞は、内在性細胞枯渇ステップによって作成されたニッチに帰巣し、生産的な造血を確立することができる。この場合、移植された細胞は、内在性の細胞を除去することで形成されたニッチに移動し、生産的な造血を行うことができる。

【０３４７】

いくつかの実施形態では、抗ＣＤ４５抗体またはＡＤＣは、第２の治療薬と組み合わせて対象者に投与することができる。

【０３４８】

本明細書に記載の組成物および方法を用いて治療することができる自己免疫疾患としては、限定されないが、ＰＧＩＡ、自己免疫性脳炎、強皮症、乾癬、乾癬性関節炎、１型糖尿病（１型糖尿病）、関節リウマチ（ＲＡ）、ヒト全身性エリテマトーデス(ＳＬＥ)、多発性硬化症(ＭＳ)、炎症性腸疾患(ＩＢＤ)、リンパ球性大腸炎、急性散在性脳脊髄炎(ＡＤＥＭ)、アジソン病、万能脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群(ＡＰＳ)再生不良性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳炎（ＡＩＥＤ）、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性卵巣炎、バロ病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、シャーガス病。慢性疲労免疫機能障害症候群（ＣＦＩＤＳ）、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、クローン病、瘢痕性天疱瘡、セリアック汗疱-疱疹状皮膚炎、寒冷凝集素病、クレスト症候群、デゴス病、円板状エリテマトーデス、自律神経失調症、子宮内膜症。本態性混合性クリオグロブリン血症、線維筋痛症、グッドパスチャー症候群、グレーブ病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、汗腺膿瘍、特発性および/または急性血小板減少性紫斑病、特発性肺線維症、ＩｇＡニューロパシー、間質性膀胱炎、若年性皮膚炎、若年性皮膚炎など。間質性膀胱炎、若年性関節炎、川崎病、扁平苔癬、ライム病、メニエール病、混合結合組織病（ＭＣＴＤ）、重症筋無力症、神経筋緊張症、オプソクローヌスミオクローヌス症候群（ＯＭＳ）、視神経炎、オード甲状腺炎、尋常性天疱瘡、悪性貧血、多発性軟骨炎、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性胆汁性肝硬変、結節性多発動脈炎、多腺症候群、リウマチ性多発筋痛、原発性アガンマグロブリン血症、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、スティッフパーソン症候群、高安動脈炎、側頭動脈炎（「巨細胞性動脈炎」としても知られる）、潰瘍性大腸炎、膠原病性大腸炎、ぶどう膜炎、血管炎、白斑、外陰部痛症（「外陰部前庭炎」）、およびウェゲナー肉芽腫症が挙げられる。特定の実施形態では、自己免疫疾患は、関節リウマチ（マウスモデルにおけるＰＧＩＡで表される）である。特定の実施形態では、自己免疫疾患は、炎症性関節炎である。炎症性関節炎の非限定的な例としては、関節リウマチ、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、若年性特発性関節炎、および全身性エリテマトーデスが挙

げられる。他の実施形態では、自己免疫疾患は、自己免疫性脳炎である。さらにさらなる実施形態では、自己免疫疾患は、強皮症性移植片対宿主病である。

【０３４９】

いくつかの実施形態では、移植は同種である。いくつかの実施形態では、移植は自家移植である。

【０３５０】

いくつかの実施形態では、移植は、骨髄移植、末梢血移植、または臍帯血移植である。

【０３５１】

いくつかの実施形態では、移植は、造血細胞（例えば、造血幹細胞）を含む。

【０３５２】

本明細書に記載のいずれかの実施形態では、移植は、任意の固体臓器または皮膚移植であってもよい。いくつかの実施形態では、移植は、腎臓移植、心臓移植、肝臓移植、膵臓移植、肺移植、腸移植および皮膚移植からなる群から選択される。

【０３５３】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物および方法は、自己免疫疾患を有する患者に免疫リセットを引き起こすのに有効である。いくつかのそのような実施形態では、本発明の方法に従って治療を受ける自己免疫疾患を有する患者は、移植後に自己免疫疾患に対する追加の治療（例えば、慢性的な治療）を必要としない。例えば、いくつかの実施形態では、患者は多発性硬化症を有しており、患者は、本明細書の方法に従った抗CD45 ADCによる治療および移植の後に、ナタリズマブ、フマル酸ジメチル、またはフマル酸モノメチルによる治療を必要としない。他の実施形態では、患者は関節炎を有し、患者は、本明細書の方法に従った抗CD45 ADCおよび移植による治療の後に、TNF阻害剤（例えば、エタネルセプト、インフリキシマブ、アダリムマブ、セルトリズマブペゴル、またはゴリムマブなどの抗TNFα抗体）による治療を必要としない。特定の実施形態では、抗CD45 ADCの単回投与は、免疫リセットを達成するのに有効である。

【０３５４】

本明細書で提供される方法に従って治療を受けた自己免疫疾患を有する患者は、いくつかの実施形態では、臨床的寛解、生化学的寛解、または組織学的寛解などの寛解に入ることができる。例えば、いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1年、少なくとも2年、少なくとも3年、少なくとも4年、少なくとも5年、少なくとも6年、少なくとも7年、少なくとも8年、少なくとも9年、または少なくとも10年、寛解に入る。いくつかの実施形態では、患者は、少なくとも1～3年、少なくとも3～5年、少なくとも5～7年、少なくとも7～9年、または少なくとも8～10年の間、寛解に入る。

【０３５５】

投与経路と投薬

本明細書に記載の抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、様々な投与形態で患者（例えば、自己免疫疾患に罹患している、または造血幹細胞移植療法を必要としているヒト患者）に投与することができる。例えば、本明細書に記載のADCは、１つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液などの水溶液の形態で、自己免疫疾患に罹患している、または造血幹細胞移植療法を必要としている患者に投与することができる。本明細書に記載の組成物および方法で使用するための薬学的に許容される賦形剤には、粘度調整剤が含まれる。水溶液は、当技術分野で知られている技術を用いて滅菌してもよい。

【０３５６】

いくつかの実施形態は、対象者に抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を投与することを含む。いくつかの実施形態は、抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含むADCを対象者に投与することを含む。

【０３５７】

いくつかの実施形態は、抗CD45抗体（またはその抗原結合部分）と第2の治療薬の組み合わせを対象者に投与することを含む。いくつかの実施形態は、抗CD45抗体（またはその抗原結合部分）を含むADCと第2の治療薬との組み合わせを対象者に投与することを

含む。いくつかの実施形態は、CD45および第2の抗原を特異的に結合する二重特異性抗体、その抗原結合部分、またはADCを対象者に投与することを含む。いくつかの態様は、抗CD45抗体（またはその抗原結合部分）またはADCと2つ以上の追加の治療薬との組み合わせを対象者に投与することを含む。

【０３５８】

抗CD45抗体またはその複合体（例えば、本明細書に記載のADC）を含む製剤処方は、そのような抗体またはADCを１つまたは複数の任意の医薬的に許容される担体（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980))と混合して、凍結乾燥製剤または水溶液の形で調製される。薬学的に許容される担体は、一般的に、採用される用量および濃度において、被検者に対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、その他の有機酸などの緩衝剤、アスコルビン酸、メチオニンなどの酸化防止剤、防腐剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド、ヘキサメトニウムクロライド、ベンザルコニウムクロライド、ベンゼトニウムクロライド、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-クレゾールなど）、低分子量（約10残基以下）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タンパク質；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、またはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、デキストリンなどの単糖類、二糖類、その他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、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-タンパク質錯体）および/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などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【０３５９】

本明細書に記載のADCは、経口、経皮、皮下、経鼻、静脈内、筋肉内、眼内、非経口など、さまざまな経路で投与することができる。最適な投与経路は、いずれの場合も投与する特定の抗体または抗原結合性断片、患者、製剤方法、投与方法（例えば、投与時間、投与経路）、患者の年齢、体重、性別、治療する疾患の重症度、患者の食生活、および／または患者の排泄率などによって異なる。

【０３６０】

本明細書に記載されている抗体またはその抗原結合性断片の有効量は、例えば、単回（例えばボーラス）投与、複数回投与、または連続投与ごとに約0.001～約100mg/kg体重の範囲で、または抗体またはその抗原結合性断片の最適な血清濃度（例えば0.0001～5000μg/mLの血清濃度）を達成することができる。自己免疫疾患に罹患している、または造血幹細胞移植を受けるための準備として条件付け療法を受けている対象者（例えば、ヒト）に対して、1日、1週間、または1ヶ月に1回以上（例えば、2～10回）投与してもよい。

【０３６１】

特定の実施形態では、抗CD45抗体またはADCは、単回用量として患者に投与される。他の実施形態では、抗CD45抗体またはADCは、抗CD45抗体またはADCの用量が分割され、間隔を空けて対象者に投与される、分割投与法として患者に投与される。例えば、分割投与レジメンでは、抗CD45抗体またはADCの用量を2、3、4、5、6、7、8、9、または10の分画に分割することができ、各分画は間隔を空けて対象者に投与される。いくつかの実施形態では、1時間、3時間、6時間、9時間、12時間、15時間、18時間、21時間、24時間、36時間、48時間、72時間、96時間、120時間、1週間、1.5週間、2週間、2.5週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、または8週間の間隔を空ける。一実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体またはADCは、2つの分画が患者に投与される分割用量として患者に投与される。一実施形態では、本明細書に記載の抗CD45抗体またはADCは、分割用量として患者に投与され、その際、3つの分画が患者に投与される。

【０３６２】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される本明細書に記載の抗体またはＡＤＣの用量は、約0.001ｍｇ/ｋｇ～１０ｍｇ/ｋｇ、約0.01ｍｇ/ｋｇ～9.5ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～9ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～8.5ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～８ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～7.5ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～７ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～6.5ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～６ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～5.5ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～５ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～4.5ｍｇ/ｋｇ、約0.1ｍｇ/ｋｇ～４ｍｇ/ｋｇ、約0.5ｍｇ/ｋｇ～3.5ｍｇ/ｋｇ、約0.5ｍｇ/ｋｇ～３ｍｇ/ｋｇ、約１ｍｇ/ｋｇ～１０ｍｇ/ｋｇ、約１ｍｇ/ｋｇ～９ｍｇ/ｋｇ、約１ｍｇ/ｋｇ～８ｍｇ/ｋｇ、約１ｍｇ/ｋｇ～７ｍｇ/ｋｇ、約１ｍｇ/ｋｇ～６ｍｇ/ｋｇ、約１ｍｇ/ｋｇ～５ｍｇ/ｋｇ、約１ｍｇ/ｋｇ～４ｍｇ/ｋｇ、または約１ｍｇ/ｋｇ～３ｍｇ/ｋｇである。

【０３６３】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.1ｍｇ/ｋｇ～約0.3ｍｇ/ｋｇである。

【０３６４】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.15ｍｇ/ｋｇ～約0.3ｍｇ/ｋｇである。

【０３６５】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.15ｍｇ/ｋｇ～約0.25ｍｇ/ｋｇである。

【０３６６】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.2ｍｇ/ｋｇ～約0.3ｍｇ/ｋｇである。

【０３６７】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.25ｍｇ/ｋｇ～約0.3ｍｇ/ｋｇである。

【０３６８】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約１ｍｇ/ｋｇ～約３ｍｇ/ｋｇである。

【０３６９】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.1ｍｇ/ｋｇである。

【０３７０】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.2ｍｇ/ｋｇである。

【０３７１】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約0.3ｍｇ/ｋｇである。

【０３７２】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約１ｍｇ/ｋｇである。

【０３７３】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約２ｍｇ/ｋｇである。

【０３７４】
いくつかの実施形態では、ヒト患者に投与される抗体またはＡＤＣの用量は、約３ｍｇ/ｋｇである。

【０３７５】
造血幹細胞移植の前に条件付け処置を行う場合、抗体またはその抗原結合性断片は、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進する時間に患者に投与することができ、例えば、１時間から１週間（例えば１時間、２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、９

時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日）またはそれ以上前に、外因性造血幹細胞移植を行うことができる。

【０３７６】

本明細書で開示されている方法を用いて、当業者の医師であれば、造血幹細胞が発現するCD45を結合することができるADC、抗体またはその抗原結合性断片を、造血幹細胞移植療法を必要とするヒト患者に投与することができる。この方法では、造血幹細胞移植片の生着を促進するために、外因性造血幹細胞移植片の投与に先立って、内因性造血幹細胞の集団を枯渇させることができる。抗体は、本明細書に記載されている、または当技術分野で知られている細胞毒性分子などの毒素に共有結合していてもよい。例えば、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片は、細胞毒素、例えば、シュードモナスエキソトキシンA、デブーガニン、ジフテリア毒素、アマトキシン、例えば、α-アマニチン、β-アマニチン、サポリン、メイタンシン、メイタンシノイド、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリキアミシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体、またはそれらの変異体などがある。この結合は、本明細書に記載された、または当技術分野で既知の共有結合形成技術を用いて行うことができる。続いて、抗体、その抗原結合性断片、または薬物-抗体複合体は、患者への外因性造血幹細胞（自家、交配、または同種の造血幹細胞など）の移植に先立って、例えば静脈内投与によって患者に投与することができる。

【０３７７】

抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、造血幹細胞移植療法の前に、内在性の造血幹細胞の量を、例えば、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、またはそれ以上減少させるのに十分な量で投与することができる。造血幹細胞数の減少は、条件付け療法中に様々な間隔で患者から採取した血液サンプル中の特徴的な造血幹細胞表面抗原を発現する細胞のFACS分析など、当技術分野で知られている従来の技術を用いてモニターすることができる。例えば、当業者の医師であれば、条件付け療法中の様々な時点で患者から血液サンプルを採取し、造血幹細胞マーカー抗原に結合する抗体を用いてサンプル中の造血幹細胞の相対的な濃度を解明するFACS分析を行うことにより、内因性造血幹細胞の減少の程度を判定することができる。いくつかの実施形態によれば、抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCを用いた条件付け療法に応答して造血幹細胞の濃度が最小値に達した場合、医師は条件付け療法を終了し、造血幹細胞移植療法のために患者の準備を開始してもよい。

【０３７８】

抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、粘度調整剤などの1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む水溶液で患者に投与することができる。水溶液は、本明細書に記載されている技術または当技術分野で知られている技術を用いて滅菌してもよい。本発明の抗体、その抗原結合性断片、または薬物-抗体複合体は、患者に造血幹細胞移植片の投与を行う前に、例えば、0.001mg/kg～100mg/kgの用量で患者に投与することができる。抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCは、外因性造血幹細胞の生着を最適に促進する時間に患者に投与することができ、例えば、1時間から1週間（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、または7日）またはそれ以上前に、外因性造血幹細胞の移植を行うことができる。

【０３７９】

条件付け療法の終了後、患者は、条件付け療法を行ったのと同じ医師または別の医師などから、外因性造血幹細胞の点滴（例えば、点滴静注）を受けることができる。医師は、例えば、1×10^3～1×10^9個の造血幹細胞／kgの投与量で、自家、交配、または同種の造血幹細胞の点滴を患者に投与してもよい。医師は、例えば、造血幹細胞移植の生着をモ

ニターすることができ、患者から血液サンプルを採取し、造血幹細胞または造血系の細胞（巨核球、血小板、赤血球、マスト細胞、骨髄芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、ミクログリア、顆粒球、単球、破骨細胞、抗原提示細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、Tリンパ球、Bリンパ球など）の濃度が、移植後に増加するかどうかを判定する。この分析は、例えば、造血幹細胞移植療法後、1時間から6ヶ月、またはそれ以上の期間（例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、13週間、14週間、15週間、16週間、17週間、18週間、19週間、20週間、21週間、22週間、23週間、24週間、またはそれ以上）に実施することができる。造血幹細胞または造血系の細胞の濃度が移植治療前の対応する細胞タイプの濃度と比較して、移植治療後に造血幹細胞または造血系細胞の濃度が増加（例えば、1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、100％、200％、500％、またはそれ以上）したという知見は、抗CD45抗体、またはその抗原結合性断片、またはADCによる治療が、移植された造血幹細胞移植片の生着を促進することに成功したことを示す1つの指標となる。

【０３８０】

抗CD45抗体、その抗原結合性断片、またはADCの投与による造血幹細胞移植の生着は、様々な経験的な測定で明らかにすることができる。例えば、移植された造血幹細胞の生着は、抗CD45抗体またはその抗原結合性断片を投与した後および造血幹細胞移植を投与した後に、患者の骨髄内に存在する競合的再増殖ユニット（CRU）の量を評価することによって評価することができる。さらに、ドナーの造血幹細胞を遺伝子導入し、その後、造血幹細胞がホーミングした、骨髄などの組織における対応するシグナルをモニタリングしたベクターに、蛍光、発色、または発光をもたらす化学反応を触媒する酵素などのレポーター遺伝子を組み込み、造血幹細胞移植の生着を観察することができる。また、当技術分野で知られている蛍光標識細胞分取（FACS）分析方法によって決定されるように、例えば、造血幹細胞および前駆細胞の量および生存率を評価することによって、造血幹細胞の移植を観察することができる。また、移植後の期間に末梢血中の白血球数を測定すること、および／または骨髄吸引サンプル中のドナー細胞による骨髄細胞の回復を測定することによっても、移植を決定することができる。

【実施例】

【０３８１】

以下の例は、本明細書に記載された組成物および方法がどのように使用され、作られ、評価されるかを当業者に提供するために提示されたものであり、本発明を純粋に例示することを意図しており、本発明者らがその発明とみなす範囲を限定することを意図していない。

【０３８２】

（実施例1）抗CD45 ADCは類遺伝子性移植のためのマウスを条件付けることに成功した

自家HSC移植に伴う課題を解決するために、CD45を標的とした抗体薬物複合体（ADC）が開発され、標的は、自己免疫疾患における自家移植に先立ち、骨髄とリンパの同時除去を可能にした造血系全体に発現している。この戦略のモデルとして、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）を結合させた抗CD45抗体を含む抗マウスCD45-ADCを開発し、マウスに単回投与することで完全な骨髄破壊を達成した。

【０３８３】

C57BL/6（CD45.2）およびC57BL/6（CD45.1）マウスをJackson Laboratories社から購入した。C57BL/6（CD45.2）マウスは、移植の48時間前に、抗マウスCD45-ADC（0.3、1、3 mg/kg）またはIsotype-ADC（PBDに結合したアイソタイプ対照mAb）（3 mg/kg）を単回静脈内投与して条件付けした（試験デザインの描写については、図1Aを参照されたい）。従来の条件付け陽性対照として、移植の24時間前に5Gy

のTBIを使用した。条件付けされたマウスに、プールされたC57BL/6 CD45.1類遺伝子性のドナーから採取した2×10^7個の全骨髄細胞を移植し、16週間にわたってキメラ現象を評価した。4週目、8週目、12週目、16週目に末梢血を採取し、フローサイトメトリーで評価した。

【0384】

図1Bに示すように、CD45-ADCを用いた条件付けでは、用量反応性ドナーのキメラ現象が観察された。CD45-ADCを用いた条件付けでは、16週間の時間経過の中で、用量反応性ドナーの骨髄系、B細胞、T細胞が観察された（図1C-1E）。これらの結果は、抗CD45-ADC(3mg/kg, iv, 単回用量)による条件付けが、類遺伝子性移植後の完全なドナーキメラ現象を可能にすることを示している。

【0385】

（実施例2）抗CD45-ADCは、生体外での増殖中のT細胞を優先的に殺傷する

マウスPBMCにプレート結合αCD3クローン145-2C11Cを培養し、マウスT細胞の生存と増殖を促進した。T細胞は、抗マウスCD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）またはアイソタイプ-ADCを用いて培養し、総T細胞数および増殖している（Ki67+）T細胞の割合を評価した。

【0386】

図2Aに示すように、抗マウスCD45-ADC（対Isotype-ADC）処理は、T細胞の数を実質的に減少させる。図2Bに示すように、Isotype-ADCと比較して、抗マウスCD45-ADCの投与量を増加させると、増殖するT細胞（Ki67+）は用量反応性の減少があった。これらの結果は、生体外での、抗マウスCD45-ADCが、循環しているネズミのT細胞を優先的に死滅させることを示している。

【0387】

（実施例3）抗CD45-ADCは、scGvDHの生体内でのモデルにおいて、増殖中のT細胞を優先的に死滅させる

次に、抗CD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を、全身性硬化症として知られる強皮症の移植片対宿主病（scGVHD）モデルで評価した。

【0388】

DBA/2およびBalb/c (CD45.1)マウスはJackson Laboratories社から購入した。Balb/c (CD45.1)マウスは、DBA/2 (CD45.2)の脾細胞を同種の養子細胞移入する24時間前に、6.5Gyの全身照射(TBI)で条件付けした（図3Aの試験デザインを参照されたい）。

【0389】

宿主動物（CD45.1+）には、scGvHD（CD45.2+細胞）の開始から7日後に、抗マウスCD45-ADC、またはアイソタイプ-ADCを単回静脈内投与（3mg/kg）した。動物は開始後12日目（ADC投与後5日目）に安楽死させた。組織（血液、脾臓）を、同種細胞、T細胞、および増殖T細胞について分析した（図3Bおよび図3C）。図3Dおよび図3Eに示すように、脾臓または末梢血におけるCD45-ADC処理では、イソタイプ-ADCと比較して、より大きなT細胞の枯渇が観察された。これらの結果から、CD45-ADCはIsotype-ADCと比較して、より多くの割合の増殖中の同種T細胞を選択的に枯渇させることが示された。

【0390】

（実施例4）全身照射（TBI）により可能となった、類遺伝子性の移植後のマウスEAE疾患の一過性の改善。

次に、自己免疫疾患のマウス実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデルを評価した。EAEモデルでは、全身照射（TBI）による条件付けが試された。

【0391】

実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）モデル：C57BL/6(CD45.2)マウスにMOG35-55ペプチドを完全フロイントアジュバントで誘導した後、MOG35-55投与4時間後、およびPTXの初回投与24時間後に百日咳毒素(PTX)を投与した。発病は誘導後9-12日頃

であった。EAE導入後80日間、1日2回、動物をスコア化した。EAE臨床スコアリングスケール：1-尻尾；2-後肢の一部の麻痺；3-後肢の完全な麻痺；4-後肢の完全な麻痺と前肢の一部の麻痺；5-モリブンド（moribund）バインド。動物は4の2連続スコアで安楽死させた。組織（末梢血、リンパ節）の末端分析は、再発したEAEマウスのキメラと免疫成分を決定するために評価した。リンパ節細胞をPMS／イオノマイシン（50ng／mL）およびブレフェルジンA（1μg／mL）で刺激した（S）、または刺激しなかった（NS）ことにより、T細胞のキメラ現象（ドナー、宿主）およびIL-17産生を評価した。

【0392】

動物は、EAE誘導後8日目、13日目に9GyのTBIを行い、条件付けした。条件付けされたマウスには、TBI後24時間に10^7個のドナー細胞が移植された。このデータは、低い臨床スコアで移植が行われた場合、一過性の疾患改善または疾患進行の遅延の相関関係を示している（図4A）。また、データは移植後4週目には完全なドナーキメラ現象が達成され、8週目まで維持されたことも示した（図4B）。図4Cおよび図4Dは、対照マウス（移植なし）と治療マウス（BMT9日目）から採取した末梢血（図4C）およびリンパ節（図4D）中の宿主細胞とドナー細胞の比較を示している。末梢血またはリンパ節中の全細胞およびドナーT細胞の90％以上を末端分析したところ、95％以上のドナーキメラ現象が観察された。IL-17は炎症性サイトカインであり、EAEの発症に重要な役割を果たしている。リンパ節に残った宿主IL-17産生CD4 T細胞は、病気の再発を促す可能性がある。

【0393】

要約すると、以上の結果から、EAEモデルでは、放射線照射（9Gy）による条件付けを行った後に、類遺伝子性の移植を行うことで、疾患の一過性の改善4が示された。

【0394】

（実施例5）CD45を標的としたADCの単回投与により、自己移植を安全に条件付けし、自己免疫疾患の複数のモデルにおいて疾患を改善する。

以下の実施例では、自己移植のための抗CD45 ADCの単回投与の使用を説明しており、抗CD45 ADCは、自己免疫疾患の多数のマウスモデルにおける疾患を改善した。

【0395】

自己HSC移植に伴う課題に対処するため、CD45を選択的に標的とする抗体薬物複合体（ADC）を試験し、抗CD45 ADCが自己免疫細胞を根絶し、自己免疫疾患患者の1回限りの治癒可能な治療法として自己HSCTを可能にするかどうかを検討した。

【0396】

この手法をマウスでモデル化するために、マウスCD45を標的としたADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を、マウスの類遺伝子性移植のための単一の調整剤として作成した。このマウスCD45 ADCは、マウスCD45のCD45.2アイソフォームを特異的に標的とし、エフェクター機能を排除し、リンカーペイロードを部位特異的に結合できるように設計されており、速やかにクリアされる。このマウスツールADCのペイロードは強力で、分裂している細胞を優先的に殺傷する。この抗マウスCD45 ADCは、マウスの類遺伝子性移植モデルにおいて、単回のミ骨髄破壊用量の後にレシピエントを条件付けする能力を評価した。さらにこのADCは、MOG誘発性実験的自己免疫脳炎（EAE：多発性硬化症（MS）のマウスモデル）、プロテオグリカン誘発性関節炎（PGIA）、1型糖尿病、強皮症性移植片対宿主病（scGVHD）など、複数の自己免疫疾患のマウスモデルにおいて、病原性宿主反応性細胞を除去し、レシピエントの免疫リセットを可能にする能力を評価した。

【0397】

マウスモデルでEAEを誘発するために、C57BL/6（CD45.2+）マウスに完全フロイントアジュバント中のMOGペプチドを誘導し、その後、百日咳毒素（PTX）を投与した。免疫化したマウスは、免疫後5日目にCD45.1+の類遺伝子性の移植（B6.SJLドナー）のための条件付けを行い、条件付けから48時間後に移植した。試験デザインの模式図を図5Aに示す。

【0398】

ツール抗マウスCD45-ADCを3mg/kg単回投与することで、レシピエントマウスの完全な骨髄破壊が達成され、完全なドナーキメラ現象が可能となった（類遺伝子性マウスの移植モデルでは、LT-HSCs（Lin-Kit+Sca-1+CD150+CD48-）の99%以上の枯渇）。移植を受けていないマウスは、造血不全が予想されたため、投与から約12日後に安楽死させた。移植されたマウスは、類遺伝子性のBMTで完全な生着を達成した（16週目で90%以上のキメラ現象）。特に、組織（骨髄、末梢血、脾臓、リンパ節）の末端分析では、CD45-ADCによる条件付けで完全なドナーキメラ現象が可能になったことが示された（図5B）。ADCの疾患修飾効果は、宿主の脾臓T細胞全般（図5C）、および脾臓のIL-17A産生エフェクター細胞（図5D）の減少と関連していた。

【０３９９】

EAEでは、発症前にCD45-ADCを骨髄破壊用量で条件付けした後、類遺伝子性移植を行うことで、完全なドナーキメラ現象が得られ、疾患の発症が有意に遅延し（発症までの平均時間38日）、全体的な疾患の重症度が低下し、疾患の発症率も低下した（3/12、25%）（図5Eおよび5G）。一方、溶媒またはCD45抗体で処理した動物では、疾患の発症は導入後9～12日程度であった（図5Eおよび5G）。

【０４００】

図5Eは、1mg/kgのCD45-ADCで処理して21日目に発症し、ピーク時の疾患スコアは2.1であり、3mg/kgのCD45-ADC+BMTで処理して42日目に発症し、ピーク時の疾患スコアは0.75であり、溶媒処理マウスでは11日目に発症し、ピーク時の疾患スコアは3.1であった。図5Gは、3mg/kg CD45-ADC + BMTによる治療に関して同様の所見を示し、さらにアイソタイプ-ADCまたは裸のCD45抗体による治療の効果を示す。アイソタイプ-ADCで処理した動物では、ドナーキメリズムおよび疾患修飾に対する実質的な効果はあまり見られなかったが（疾患発症まで28日、発症率5/12（40%））、この結果は、免疫モデルにおいて急速に分裂する細胞に対するマウスADCペイロードのプラットフォーム毒性が知られていることと一致している。図5Gの各治療群におけるEAE発症までの平均時間および疾患発生率を表3にまとめた。

【０４０１】

【表３】

表3:EAE発症までの平均時間

グループ	EAEの発症までの平均時間	発生率
溶媒 + BMT	11	100%
裸の CD45 mAb	11	100%
FTY-720	12	100%
アイソタイプ-ADC + BMT	28	42%
CD45-ADC + BMT	38	25%

【０４０２】

活動性のEAEにおいて、10日目または13日目に抗マウスCD45-ADCを3mg/kg投与した後、類遺伝子性移植を行うことにより、疾患活動性の進行が停止した（図5F、治療時の疾患スコアからの上昇は見られず、ピーク時の疾患スコアはそれぞれ0.75および2.3であった）。CD45-ADCを13日目に処置して類遺伝子性移植で観察された効果は、臨床的に検証された標準治療であるFTY-720（ジレニアと同等のS1P1アンタゴニストとして承認されている）を13日目に投与することで得られた効果と同等であり、FTY-720もピークスコア2.3で疾患を停止させた。

【０４０３】

今回の研究では、マウスに9GyのTBIを行い、9日目に類遺伝子性のBMTを行った先行研究と比較して、疾患の対照が良好であった。 これらのデータは、CD45-ADC条件付け

の後に類遺伝子性移植を行うことで、免疫リセットに効果があり、EAEモデルの疾患が改善されることを示している。特に、抗マウスCD45条件付けによる免疫リセットは、類遺伝子性移植を可能にし、EAE発症を遅らせ、EAE発症率を低下させ、生体内での疾患を媒介するエフェクターT細胞を死滅させた。さらに、抗マウスCD45-ADC条件付けによるEAEの疾患修飾効果は、臨床的に有効な条件付け療法と同等の効果を示した。

【０４０４】

これらの前臨床データを活用するために、非ヒト霊長類（NHP）と交差反応する抗ヒトCD45 ADCが生成された。ヒトを標的としたCD45 ADCは、すべてのヒトCD45アイソフォームに存在するエピトープを標的とする親和性成熟mAbを含み、NHPのCD45と交差反応し、静止期および循環期の細胞を効率的に死滅させるペイロードであるアマトキシンと結合している。このADCは、Fcを介したエフェクター機能を排除し、リンカーとペイロードを部位特異的に結合させ、迅速なクリアランスを可能にするように設計されている。ヒト化NSG（hNSG）マウスおよびNHPを用いて、生体外でのおよび生体内での造血細胞および免疫細胞を枯渇させる能力を評価した。

【０４０５】

抗ヒトCD45-ADCは、ヒトBMのCD34+細胞（EC50 2.44 x 10^{-9}M）、正常なドナー（EC50 7.6 x 10^{-10}M）およびMS患者（EC50 1.5 x 10^{-10} M）の末梢性CD3+細胞を効率よく死滅させた（図5H）。さらに、抗ヒトCD45-ADCは、生体外において、ヒトおよびカニクイザルのPBMC（図6Aおよび6B）、ヒトCD34+CD90+細胞（図6C）を強力に殺傷する。抗ヒトCD45-アマトキシンADCは、ヒトCD34+CD90+ヒト幹細胞を強力に殺傷する（図6D）。代表的な実験で得られたCD45-ADC媒介による殺傷のEC_{50}値を表4にまとめた。これらの結果から、抗ヒトCD45-ADCは、生体外において、健康なドナーおよびMS患者のCD34+造血幹細胞および前駆細胞（HSPC）、CD3+ T細胞を含む、ヒトおよびカイノの初代造血細胞タイプを強力に殺傷することがわかった。

【０４０６】

hNSGにおける生体内では、CD45-ADCの単回投与は忍容性が高く、ヒト細胞の実質的な（95%以上の）枯渇をもたらした（実施例8も参照）。CD45-ADCの単回投与により、ヒト化NSGマウスの末梢（図6E）および骨髄（図6F、6G、6H、6I）において、ヒト造血由来の細胞が用量依存的に枯渇した。

【０４０７】

【表４】

表4:抗ヒトCD45-ADCのEC50値

集団	**CD45-AM EC50**
ヒトPBMC	0.5 pM
Cyno PBMC	0.8 pM
$hCD34^{+}CD90^{+}$	254 pM

【０４０８】

NHPでは、抗ヒトCD45-ADCの単回投与により、末梢リンパ球が90%以上枯渇し（図7Aおよび7B）、造血幹細胞（HSC）が80%以上枯渇した（図7Cおよび7D）。また、抗ヒトCD45-ADCの単回投与が免疫細胞の枯渇をもたらすことを示す図7G、および抗ヒトCD45-ADCの単回投与がCD34+CD90+CD45RA- HSCの枯渇をもたらすことを示す図7Hも参照されたい。さらに、図7Eおよび7Fに示すように、アラニントランスアミナー

ゼ（ALT）、総ビリルビン（TBIL）、アルカリホスファターゼ（ALP）、およびアスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）の臨床化学値は、抗ヒトCD45-ADCの単回投与がNHPにおいて良好な忍容性を示している。また、ガンマ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、アルブミン、血中尿素窒素（BUN）、クレアチニン、グルコース、プロトロンビン（PT）などの臨床化学値にも変化は認められなかった。

【０４０９】

これらの結果は、CD45-ADCの1回処理による標的免疫枯渇は、autoHSCTに十分であり、免疫リセットと免疫寛容の再確立を可能にすることを示唆している。標的化されたCD45-ADCは、autoHSCTによる免疫リセットの前に患者を条件付けするための、より安全で良好な忍容性を示すアプローチであり、現在の条件付けプロトコルに伴う副作用を大幅に軽減する可能性がある。

【０４１０】

（実施例6）マウスCD45-ADCで処理すると、静止中のT細胞が同種の反応を起こせなくなる

B6マウス（H-2^{b}）に溶媒、Isotype-ADC、またはCD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を投与した。7日後、脾細胞を単離し、CellTrace Violetで標識し、未処理で免疫不全のNSG宿主（H-2 g^{7}, H-2^{d} ）に養子移植した。移植後さまざまな時期に末梢血（d2およびd7）および脾臓（d7）から細胞を分離し、CTV染色強度（図8A）、移植後の日数に応じた末梢血中のT細胞の絶対数（図8B）、および移植後7日目の脾臓中のT細胞の絶対数（図8C）を評価した。

【０４１１】

図8A-8Cに示すように、未処理またはアイソタイプADC処理マウスのT細胞は、免疫不全の同種移植レシピエントに養子移植した後、増殖して蓄積するが、CD45-ADC処理マウスのT細胞は増殖できなかった。これらの結果は、マウスのCD45-ADCを処理すると、休眠状態（静止状態）のT細胞が同種移植の反応を起こすことができなくなることを示している。

【０４１２】

これらの結果から、抗マウスツールCD45-ADCは、自己免疫疾患のマウスモデルにおいて、(a)生体内での増殖中の同種T細胞を静止中のT細胞に比べて優先的に死滅させ（実施例3参照）、(b)残りのT細胞に同種反応を起こせないようにするという、二重の作用機序を持つことが明らかになった。これらの結果から、CD45-ADCは、CD45^{+}エフェクター細胞の標的除去および中和を媒介することが立証された。

【０４１３】

（実施例7）抗マウスCD45-ADC条件付けおよびBMT後の免疫リセットは、関節リウマチのマウスモデルにおける疾患を改善する

関節リウマチのマウスモデルであるマウスプロテオグリカン誘発関節炎(PGIA)において、骨髄移植前に抗マウスCD45-ADC(PBDに結合した抗CD45 mAb)による条件付けを評価した。図9Aに示すように、Balb/cマウス（CD45.2+）に、組換えヒトコアG1アグリカン（2mg DDA中60μg）で3回免疫化した（試験0、21、42日目）。最終免疫後11日目（試験53日目）に動物を処置し、条件付けした動物を48時間後にBalb/cのCD45.1+類遺伝子性のBMに移植した。マウスTNFαに対する中和モノクローナル抗体で処置した動物は、試験日53日目から毎週500μg／マウスをIP投与した。

【０４１４】

図9Bおよび9Cに示すように、Isotype-ADCではなく、CD45-ADCの2mg/kgで処理することにより、移植後3週間で末梢血（図9B）および骨髄（図8C）における完全な類遺伝子性のドナーキメラ現象が可能となった。GlanttとMikecz（Methods in Molecular Medicine, Vol.102 (17):313-338）によって開発されたモデルのための臨床スコアリングシステムを用いて、動物をスコアリングし、対照およびCD45-ADC処理した動物の例を図9Dに示した。処置群の経時的なスコアを図9Eに示す。

【０４１５】

PGIAモデルでは、CD45-ADCとBMTによる治療介入（3回目の免疫後11日目）により、臨床的に有効なTNFα中和療法と同様に疾患の進行が停止した。これらの結果から、CD45-ADCによる治療的介入は、関節リウマチのマウスモデルにおいて、類遺伝子性のBMTによる免疫リセットを可能にし、疾患の進行を止めることができることが示された。

【０４１６】

（実施例8）抗ヒトCD45-ADCは、エフェクター細胞を排除し、xenoGVHDの強皮症様モデルにおける疾患を軽減する。

本研究では、抗ヒトCD45 ADC（アマトキシンに結合した抗CD45 mAb）を用いて、ヒト化NSG（hNSG）マウスの生体内での造血細胞および免疫細胞を枯渇させる能力を評価した。ヒトPBMCの養子移植後、皮膚病変を伴う慢性のxenoGVHDを発症したhNSGマウスに、アイソタイプADCまたは抗ヒトCD45を標的とするADCを単回投与した。抗ヒトCD45-ADCの単回投与は忍容性が高く、周辺部のヒト造血細胞（図10A）およびBMの前駆細胞（図10Bおよび10C）を除去した。選択した動物の画像で図10Dに示すように、治療後14日目にCD45-ADCを投与した動物では、皮膚病理の明確な解決と毛髪の再生が見られたが、isotype-ADCを投与した動物では改善が見られなかった。皮膚病変の大きさと症状に基づく動物の臨床スコアを図10Eにまとめた。isotype-ADC処理群のトップスコアの動物は、その症状のために14日目に安楽死させなければならなかった。さらに、抗ヒトCD45 ADCで処理した動物では、末梢のヒトT細胞の持続的な枯渇が達成された（図10F）。

【０４１７】

実施例5および図5Hに記載されているように、生体外でのCD45-ADCは、健康なドナー(EC50 7.6 x10^{-10} M)およびMS患者(EC50 1.5 x10 $^{-10}$M)からのヒト末梢CD3^{+}細胞を効率的に殺傷することを示した。本実施例では、生体内において、hNSGにCD45-ADCを単回投与しても忍容性が高く、リンパ球と造血幹細胞（HSCs）の両方を実質的に枯渇させることができることを示した。CD45-ADCを単回投与すると、Iso-ADCではなく、病気の原因となるT細胞が除去され、強皮症様の慢性xenoGVHDモデルの臨床症状が回復した。以上の結果から、抗ヒトCD45 ADCを単回投与することにより、hNSGマウスの強皮症様XenoGVHDモデルにおいて、ヒトエフェクター細胞の排除と疾患の改善がもたらされることが示された。

【０４１８】

（実施例9）CD45-ADCの単回投与と類遺伝子性の造血幹細胞による治療は、I型糖尿病の養子移植モデルにおける疾患予防につながる。

CD45-ADC（PBDに結合した抗CD45 mAb）を単回投与した後に、類遺伝子性のHSC移植する条件付けを、I型糖尿病の養子移植マウスモデルで評価した。

【０４１９】

RIP-OVA/OT-I/IIシステムを利用した本研究のデザインを、図11Aおよび表5にまとめた。RIP-OVAマウスは、膵臓のβ-islet細胞にニワトリの卵白を発現させたB6マウスである。中枢と末梢の寛容メカニズムが組み合わさり、適応免疫系がOVAを自己として認識するようになる。OT-I (MHC I-restricted) とOT-II (MHC II restricted) は、OVAのエピトープを特異的に認識する2つのTCR Tg系統である。これらはB6バックグラウンドで維持されている。

【０４２０】

OT-I および OT-II を RIP-OVA マウスに養子移植すると、β島細胞が破壊され、糖尿病が発症した。糖尿病の発症は血糖値でモニターした（尾静脈Nick to test on strips; glucose 〉 14.3 mmol/L）。マウスはこのモデルでは、CD8+ OT-I細胞の移入から5～12日後に糖尿病になった（250mg/dLを2回連続して測定、Drujont PLoS One 2014）。養子移植後6日目にマウスの皮を剥いだ（n=4/治療）。末梢血、脾臓、dLN、膵臓を対象にVβ5、Vα2のフローサイトメトリーを行い、移入細胞を測定した。その後、マウス（n=6マウス／グループ）に、治療の2日後にB6 CD45.1の細胞を2×1

07個移植した。体重、BCS、血糖値2x 週をエンドポイントとして測定した。

【０４２１】

【表５】

表5. 試験デザイン

マウス株	治療群	#	**CD8** 移植	**CD4** 移植	ピールオフ	移植 (2日後のtx)
RIP-mOVA	溶媒	10	OT-I 1.0 x 10^6 (実入力: 0.6 x 10^6)	OT-II 2 x 10^6 (実入力: 1.2 x 10^6)	n=4/グループ 養子移植後 6日目	-
	抗 Thy1.2 (500 ug)	10				-
	9 Gy TBI	10				2 x10^7 B6 CD45.1
	1 mg/kg アイソタイプ PBD	10				2 x10^7 B6 CD45.1
	3 mg/kg アイソタイプ PBD	10				2 x10^7 B6 CD45.1
	1 mg/kg CD45-PBD	10				2 x10^7 B6 CD45.1
	3 mg/kg CD45-PBD	10				2 x10^7 B6 CD45.1
C57Bl/6		6				-

【０４２２】

RIP-OVAマウスに、溶媒対照、抗Thy1.2（500ug）、9GyのTBI、1mg/kgまたは3mg/kgのIsotype-ADC（Iso-PBD）、または1mg/kgまたは3mg/kgのCD45-ADC（CD45-PBD）のいずれかを投与した。図11Bに示すように、溶媒投与マウスの糖尿病発症率は、移植後4週目まで約40％であった。対照的に、1または3mg/kgのCD45-ADCによる治療後に糖尿病を発症したマウスは6匹中0匹であった。これらの結果は、I型糖尿病の養子縁組モデルにおいて、CD45-ADCの単回投与と類遺伝子性の造血幹細胞の移植による治療が疾病予防につながることを示している。

【０４２３】

【表６－１】

表6:配列表

配列番号	説明	配列
1	AbA重鎖（HC）可変領域（下線部はCDR）	EVQLVESGGDRVQPGRSLTLSCVTSGFTFNNYWMTWIRQVPGKGLEWVASISSSGGSIYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRSEDTATYYCARDERWAGAMDAWGQGTSVTVSS
2	AbA HC CDR1	FTFNNYWMT
3	AbA HC CDR2	SISSSGGSIYYPDSVKG
4	AbA HC CDR3	ARDERWAGAMDA
5	AbA軽鎖（LC）可変領域（下線部はCDR）	DIQMTQSPPVLSASVGDRVTLSCKASQNINKNLDWYQQKHGEAPKLLIYETNNLQTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCYQHNSRFTFGSGTKLEIK
6	AbA LC CDR1	KASQNINKNLD
7	AbA LC CDR2	ETNNLQT
8	AbA LC CDR3	YQHNSRFT
9	AbB重鎖（HC）可変領域（下線部はCDR）	EVQLVESGGDLVQPGRSLKLSCIASGFTFTNFWMTWIRQVSGKGLEWVASISSSGGSIYYPDSVKDRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRSEDTATYYCVKLHYYSGGGDAWGQGTSVTVSS
10	AbB HC CDR1	FTFTNFWMT
11	AbB HC CDR2	SISSSGGSIYYPDSVKD
12	AbB HC CDR3	VKLHYYSGGGDA
13	AbB軽鎖（LC）可変領域（下線部はCDR）	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTINCKASQNINKYLDWYQQKHGEAPKLLIHYTNNLHTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCLQHSSRWTFGGGTKLELK
14	AbB LC CDR1	KASQNINKYLD
15	AbB LC CDR2	YTNNLHT
16	AbB LC CDR3	LQHSSRWT
17	AbC重鎖（HC）可変領域	EVQLVESGGDLVQPGRSLKLSCVASGFTFNNYWMTWIRQVPGKGLEWVASISSSGGSIYYPDSVKDRFTISRDNAKNTLFLQMNSLRSEDTATYYCARLYYYSGGGDAWGQGTSVTVSS
18	AbC HC CDR1	FTFNNYWMT
19	AbC HC CDR2	SISSSGGSIYYPDSVKD
20	AbC HC CDR3	ARLYYYSGGGDA
21	AbC軽鎖（LC）可変領域（下線部はCDR）	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTIICKASQDINKYLDWYQQKLGEAPKLLIYNTNNLHTGIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCLQHISRWTFGGGTKLELK
22	AbC LC CDR1	KASQDINKYLD
23	AbC LC CDR2	NTNNLHT
24	AbC LC CDR3	LQHISRWT
25	AbA LC可変DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCACCTGTGCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCCTTTCATGCAAGGCAAGTCAGAAT

【表６－２】

配列番号	説明	配列
		ATTAACAAAAATTTAGACTGGTATCAGCAGAAACATGGGGAA GCCCCTAAGCTCCTGATCTATGAGACAAATAATTTGCAAACG GGGATCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGA TTACACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATGTGGC AACTTACTACTGTTACCAGCACAACTCCAGATTCACTTTTGGC TCAGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
26	AbA HC可変DNA	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACAGGGTACAGCC TGGCAGGTCCCTGACACTCTCCTGTGTAACATCTGGATTCAC CTTTAACAACTATTGGATGACCTGGATCCGGCAAGTACCAGG GAAGGGCCTGGAGTGGGTCGCTTCTATTAGTTCCAGTGGCG GTAGCATATATTATCCCGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACCCTGTATCTGCAAATGA ACAGTCTGAGATCCGAGGACACGGCGACCTACTACTGCGCA AGAGACGAAAGATGGGCTGGCGCTATGGACGCCTGGGGGCA AGGGACCTCCGTCACCGTCTCCTCA
27	AbB LC可変DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCAACTGCAAGGCGAGTCAGAA CATTAATAAATATTTAGATTGGTATCAGCAGAAACATGGGGAG GCCCCTAAGCTCCTGATCCATTACACCAATAATTTGCACACAG GGATACCATCAAGGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATT ACACTTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAA CATATTTCTGTCTGCAACATTCCAGCAGGTGGACCTTCGGCG GAGGGACCAAGCTTGAGCTGAAA
28	AbB HC可変DNA	GGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCGCTAGCATTAGTTCTAGTGG AGGTAGCATATATTATCCCGACTCTGTGAAGGACCGATTCAC CATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACACTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGATCCGAGGACACGGCGACATACTACTGCG TTAAGCTTCACTACTATTCCGGAGGGGGTGATGCTTGGGGCC AAGGAACCTCCGTCACCGTCTCCTCA
29	AbC LC可変DNA	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCATCTGCAAGGCGAGTCAGGA CATTAACAAGTATTTAGACTGGTATCAGCAGAAATTGGGGGA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTACAATACAAATAATTTGCACACA GGGATACCATCAAGGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGAT TACACTTTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTCGCA ACATATTTTTGTCTGCAGCACATTAGCAGATGGACCTTCGGC GGAGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA
30	AbC HC可変DNA	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGATTTGGTACAGCC TGGCAGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGTTGCCTCTGGATTCAC CTTTAATAACTATTGGATGACATGGATTCGGCAAGTTCCAGG GAAGGGCCTGGAGTGGGTCGCTTCCATTAGTAGTAGTGGTG GTAGCATATATTATCCCGACTCTGTGAAGGATCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACACACTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGATCTGAGGACACGGCGACATACTACTGCGCGA GACTGTATTACTATTCTGGTGGTGGCGATGCGTGGGGCCAAG GAACCTCCGTCACCGTCTCCTCA
31	ヒトCD45RA アイソフォーム (Uniprot受入番号 P08575-8)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVP LSSDPLPTHTTAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPD SLDNASAFNTTDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCD EKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNL TECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKA DTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEH

【表６－３】

配列番号	説明	配列
		EYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGV ITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTK YVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTS DNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDF RVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLA FLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNV EPIHADILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFN QNKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKY IAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGNRNKCAEY WPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGR EVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHC SAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMV QVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLHNMKKRDPPSE PSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYN RVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDDSDSEEPSKYINASFIMSYW KPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEIC AQYWGEGKQTYGDIEVDLKDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSR TVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNK HHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKAL RKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQEDKIE FDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGP EHSVNGPASPALNQGS
32	ヒトCD45RO アイソフォーム (NCBI 受入番号 NP_563578.2)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTDAYLNASETTT LSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAK LNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTL ILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITY RFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIK TDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETE KDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMC HFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERY HLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDY PGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRS CNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGRLFL AEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQNKNRYVDILPYDYNRVELSEIN GDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQ KATVIVMVTRCEEGNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQH KRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLL LKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEAE NKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEV NLSELHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIG NQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSD DDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIF QRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEGKQTYGDIEVDLKDTDK SSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELIS MIQVVKQKLPQKNSSEGNKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALL NLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIAST YPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKL PEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS
33	ヒトCD45RB アイソフォーム (NCBI受入番号 XP_006711537.1)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGVSSVQTPHLP THADSQTPSAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDAYLNASE TTTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFT AKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPD KTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNI TYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASK IIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKE TEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAA MCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPH

【表６－４】

配列番号	説明	配列
		ERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHN GDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHK KRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEG RLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQNKNRYVDILPYDYNRVE LSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMI WEQKATVIVMVTRCEEGNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKI NQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPED PHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLEG LEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFG ETEVNLSELHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRT QHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSD ESSDDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDF WQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEGKQTYGDIEVDL KDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAE PKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGI FCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLY DVIASTYPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPL GAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS
34	ヒトCD45RAB アイソフォーム (NCBI受入番号 XP_006711535.1)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVP LSSDPLPTHTTAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPD SLDNASAFNTTGVSSVQTPHLPTHADSQTPSAGTDTQTFSGSA ANAKLNPTPGSNAISDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPSK PTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNE VHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQV EKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLE PEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAH QGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKP YTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSM TSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNC DFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAF LAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLM NVEPIHADILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKP FNQNKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPR KYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGNRNKCA EYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKAT GREVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVV HCSAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCL MVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLHNMKKRDPP SEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYD YNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDDSDSEEPSKYINASFIMS YWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQ EICAQYWGEGKQTYGDIEVDLKDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKD SRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEG NKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVV KALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQED KIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTE GPEHSVNGPASPALNQGS
35	ヒトCD45RBC アイソフォーム (NCBI 受入番号 XP_006711536.1)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGVSSVQTPHLP THADSQTPSAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDVPGERST ASTFPTDPVSPLTTTLSLAHHSSAALPARTSNTTITANTSDAYLN ASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKET KLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCT APDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCD TQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFT NASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTL CYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRN GSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDR

【表６－５】

配列番号	説明	配列
		NGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKA YFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIY DLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIA DEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQNKNRYVDILPYDYN RVELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDF WRMIWEQKATVIVMVTRCEEGNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGD VVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHG VPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDA MLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEY NQFGETEVNLSELHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYR SWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESE HDSDESSDDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETI GDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEGKQTYGDI EVDLKDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQ LPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNKHHKSTPLLIHCRDGSQ QTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQ FLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCV NPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGG S
36	ヒトCD45RABC アイソフォーム (NCBI受入番号 NP_002829.3)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVP LSSDPLPTHTTAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPD SLDNASAFNTTGVSSVQTPHLPTHADSQTPSAGTDTQTFSGSA ANAKLNPTPGSNAISDVPGERSTASTFPTDPVSPLTTTLSLAHHS SAALPARTSNTTITANTSDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTP SKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTN NEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCT QVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLE NLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSE AAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQN LKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMT VSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESH KNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKA LIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEK QLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEA RKPFNQNKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGFK EPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGNRN KCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKE KATGREVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGP IVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQR CLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLHNMKKRD PPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPY DYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDDSDSEEPSKYINASFIM SYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGD QEICAQYWGEGKQTYGDIEVDLKDTDKSSTYTLRVFELRHSKRK DSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSE GNKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQV VKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQE DKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSG TEGPEHSVNGPASPALNQGS
37	ヒトCD45RABC 抗原(ヒトCD45RABC アイソフォームの 断片)	QSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPTHTTAFSPASTFERENDF SETTTSLSPDNTSTQVSPDSLDNASAFNTTGVSSVQTPHLPTHA DSQTPSAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDVPGERSTAST FPTDPVSPLTTTLSLAHHSSAALPARTSNTTITANTSDAYLNASE TTTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFT AKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPD KTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNI TYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASK

【表６－６】

配列番号	説明	配列
		IIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKE TEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAA MCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPH ERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHN GDYPGEPFILHHSTSYNSK
38	CD45 断片	RNGPHERYHLEVEAGNT
39	CD45 断片	CRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHK

【０４２４】
その他の実施形態
本明細書中で言及されているすべての出版物、特許、および特許出願は、それぞれの独立した出版物または特許出願が参照により組み込まれることが明確かつ個別に示されている場合と同じ程度に、参照により本明細書に組み込まれる。
【０４２５】
本発明をその具体的な実施形態に関連して説明してきたが、本発明はさらなる変更が可能であることが理解されよう。本出願は、一般的に本発明の原理に従った本発明のあらゆる変形、使用、または適応を対象とすることを意図しており、本発明が属する技術分野における既知のまたは慣習的な実施の範囲内にあり、本明細書に記載された本質的な特徴に適用することができる本発明からのあらゆる逸脱を含み、特許請求の範囲に従うものである。
【０４２６】
その他の実施形態は、特許請求の範囲内である。
【誤訳訂正２】
【訂正対象書類名】特許請求の範囲
【訂正対象項目名】全文
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者にリンカーを介して細胞毒と結合させて有効量の抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含む抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含む、方法。
【請求項２】
造血幹細胞（HSC）移植を受けるために自己免疫疾患を有するヒト患者を条件付けする方法であって、自己免疫疾患を有するヒト患者に、リンカーを介して細胞毒素と結合した抗CD45抗体、またはその抗原結合部分を含む抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含む方法。
【請求項３】
自己免疫疾患が、炎症性関節炎（例えば、関節リウマチ）、自己免疫性脳炎、強皮症、多発性硬化症、1型糖尿病、または全身性硬化症である、請求項1または2に記載の方法。
【請求項４】
造血幹細胞（HSCs）を含む移植片を患者に投与することをさらに含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。
【請求項５】

HSC移植が自家HSC移植（autoHSCT）である、請求項4に記載の方法。
【請求項６】
抗CD45 ADCが、患者がHSCを含む移植を受ける約3日前に患者に投与される、請求項4または5に記載の方法。
【請求項７】
抗CD45 ADCがヒト患者の血液から実質的に除去された後に、HSC移植が患者に投与される請求項4～6のいずれか1項に記載の方法。
【請求項８】
強皮症または多発性硬化症を有する患者を治療する方法であって、前記方法は、scGVHDが治療されるように、scGVHDを有する患者に抗CD45抗体薬物複合体（ADC）を投与することを含み、抗CD45 ADCは、リンカーを介して細胞毒に結合した抗CD45抗体またはその断片を含む、方法。
【請求項９】
抗CD45 ADCが、単回投与または分割投与として患者に投与される、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１０】
患者が移植後に自己免疫疾患の治療を必要としない、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１１】
患者が多発性硬化症を有しており、患者は移植後にナタリズマブ、フマル酸ジメチル、またはフマル酸モノメチルによる治療を必要としない、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１２】
患者は関節炎を有しており、患者は移植後にTNF阻害剤による治療を必要としない、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１３】
TNF阻害剤が抗TNFα抗体である、請求項12に記載の方法。
【請求項１４】
患者が移植後少なくとも1年間寛解状態に入る、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１５】
患者が移植後少なくとも2年間寛解状態に入る、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１６】
患者が移植後少なくとも5年間寛解状態に入る、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１７】
寛解が臨床的寛解である、請求項14～16のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１８】
寛解が生化学的寛解である、請求項14～16のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１９】
寛解が組織学的寛解である、請求項14～16のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２０】
抗CD45抗体がキメラ抗体またはヒト化抗体である、請求項1～19のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２１】
抗CD45抗体がヒト抗体である、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２２】
抗CD45抗体が無傷である、請求項1～21のいずれか1項に記載の方法。
【請求項２３】

抗CD45抗体またはその抗原結合部分が、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、ポリクローナル抗体またはその抗原結合部分、二重特異性抗体またはその抗原結合部分、二重可変免疫グロブリンドメイン、単鎖Fv分子（scFv）、二重特異性抗体、トリアボディ、ナノボディ、抗体様タンパク質スカフォールド、Fv断片、Fab断片、F(ab')2分子、およびタンデム二重scFvからなる群から選択される、請求項1～22のいずれか1項に記載の方法。

【請求項２４】

抗CD45抗体が、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する、請求項1～23のいずれか1項に記載の方法。

【請求項２５】

抗CD45抗体が、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプのFcドメインを含む、請求項24に記載の方法。

【請求項２６】

抗CD45抗体またはその抗原結合部分がFcドメインを含み、抗CD45抗体またはその抗原結合部分が、Fcドメインのシステイン残基を介して細胞毒に結合している、請求項1～25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項２７】

システイン残基がFcドメインのアミノ酸置換を介して導入される、請求項26に記載の方法。

【請求項２８】

アミノ酸の置換がD265C（EU番号付け）である、請求項27に記載の方法。

【請求項２９】

細胞毒が、シュードモナス外毒素A、デブガニン、ジフテリア毒素、サポリン、メイタンシン、メイタンシノイド、アウリスタチン、アントラサイクリン、カリケアマイシン、イリノテカン、SN-38、デュオカルマイシン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体からなる群から選択される、請求項1～28のいずれか1項に記載の方法。

【請求項３０】

細胞毒がアウリスタチンである、請求項1～28のいずれか1項に記載の方法。

【請求項３１】

アウリスタチンがＭＭＡＥまたはＭＭＡＦである、請求項30に記載の方法。

【請求項３２】

細胞毒が、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、インドリノベンゾジアゼピン、インドリノベンゾジアゼピン二量体、またはインドリノベンゾジアゼピン擬二量体である、請求項1～28のいずれか1項に記載の方法。

【請求項３３】

細胞毒がRNAポリメラーゼ阻害剤である、請求項1～28のいずれか1項に記載の方法。

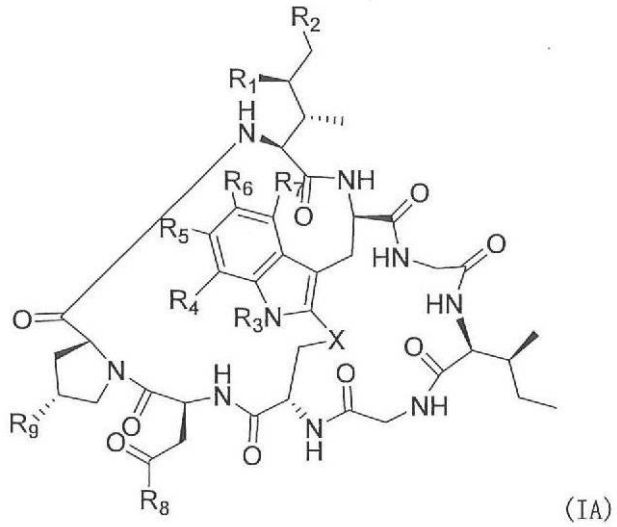
【請求項３４】

RNAポリメラーゼ阻害剤がアマトキシンである、請求項33に記載の方法。

【請求項３５】

アマトキシンが化学式（IA）で表され、

【化１】



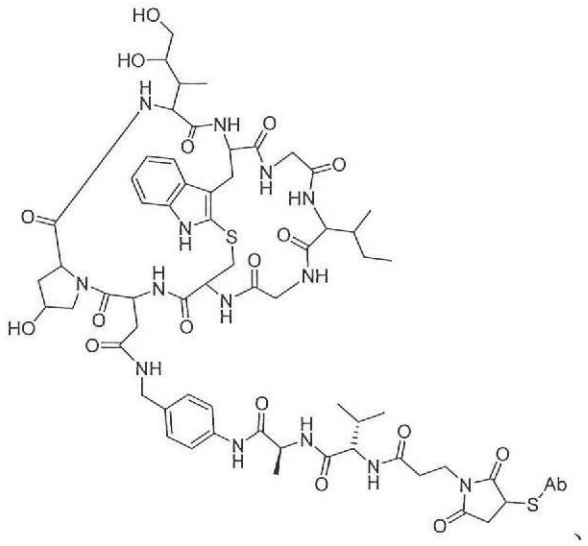
(IA)

ここで、R_1は、H、OH、OR_A、またはOR_Cであり、
R_2は、H、OH、OR_B、またはOR_Cであり、
R_AおよびR_Bは、それらが結合している酸素原子と一緒になって、任意に置換された5員環ヘテロシクロアルキル基を形成するよう結合し、
R_3は、H、R_C、またはR_Dであり、
R_4、R_5、R_6、およびR_7は、それぞれ独立して、H、OH、OR_C、OR_D、R_C、またはR_Dであり、
R_8は、OH、NH_2、OR_C、OR_D、NHR_C、またはNR_CR_Dであり、
R_9は、H、OH、OR_C、またはOR_Dであり、
Xは、-S-、-S（O）-、または-SO_2-であり、
R_Cは-L-Zであり、
R_Dは、任意に置換されたC_1-C_6アルキル、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキル、任意に置換されたC_2-C_6アルケニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニル、任意に置換されたC_2-C_6アルキニル、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニル、任意に置換されたシクロアルキル、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、任意に置換されたアリール、または任意に置換されたヘテロアリールであり、
Lは、任意に置換されたC_1-C_6アルキレン、任意に置換されたC_1-C_6ヘテロアルキレン、任意に置換されたC_2-C_6アルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルケニレン、任意に置換されたC_2-C_6アルキニレン、任意に置換されたC_2-C_6ヘテロアルキニレン、任意に置換されたシクロアルキレン、任意に置換されたヘテロシクロアルキレン、任意に置換されたアリレン、任意に置換されたヘテロアリレン、またはそれらの組み合わせであり、そして
Zは、L上に存在する反応性置換基と、抗体またはその抗原結合性断片内に存在する反応性置換基との間のカップリング反応から形成される化学的部位であり、
ここで、Amは正確に1つのR_C置換基を含んでいる、請求項34に記載の方法。

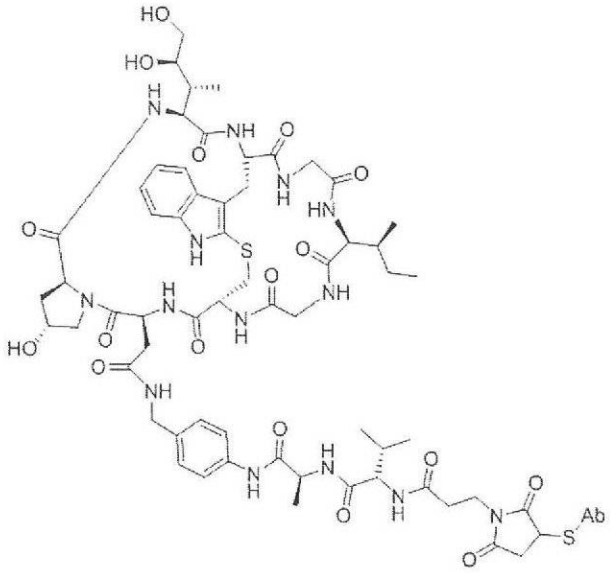
【請求項３６】

抗CD45 ADCが以下の式を有し、

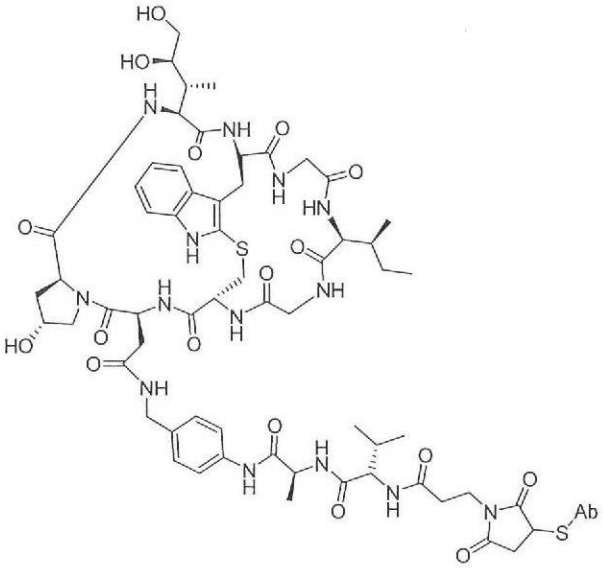
【化２－１】



【化２－２】



または

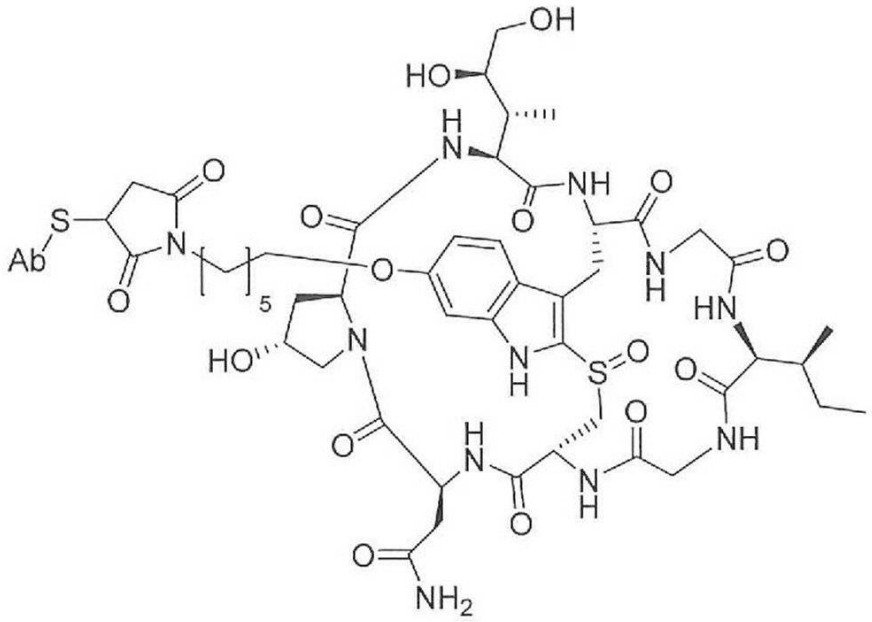


ここで、Abは、抗CD45抗体を表す、請求項1～35のいずれか1項に記載の方法であって、

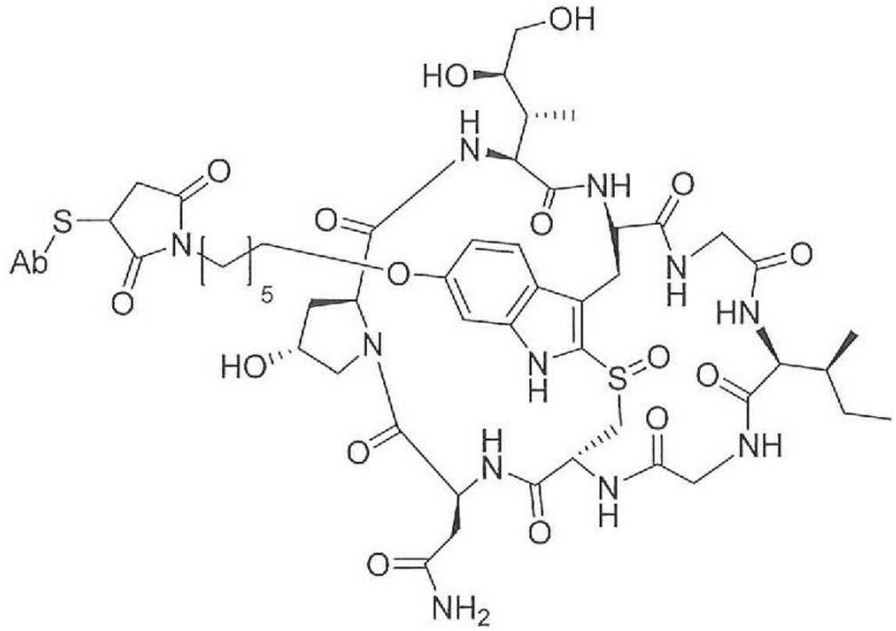
【請求項３７】

抗CD45 ADCが以下の式を有し、

【化３】



または



ここで、Abは、抗CD45抗体を表す、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

【請求項３８】

RNAポリメラーゼ阻害剤がアマニチンである、請求項33に記載の方法。

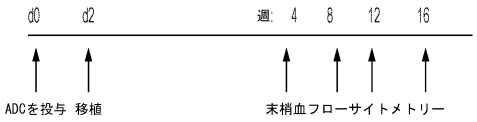
【請求項３９】

自己免疫疾患を有するヒト患者のCD45+細胞の集団を枯渇させる方法であって、自己免疫疾患を有する患者に、CD45を標的とする有効量の人工毒素体を投与することを含む、方法。

【請求項４０】

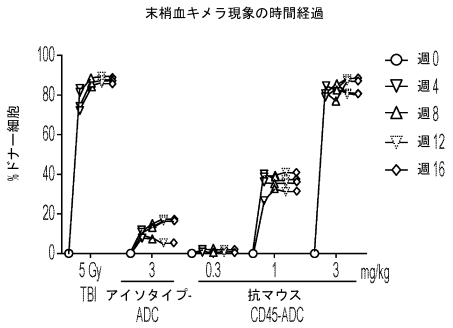
人工毒素体が、CD45に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む、請求

項39に記載の方法。
【請求項４１】
人工毒素体が、CD45に特異的に結合するscFvを含む、請求項39に記載の方法。
【請求項４２】
人工毒素体がタンパク質ベースの毒素を含む、請求項39～41のいずれか1項に記載の方法。
【請求項４３】
タンパク質ベースの毒素が、タンパク質合成阻害薬、例えば、リボソーム不活性化タンパク質である、請求項42に記載の方法。
【請求項４４】
タンパク質ベースの毒素が、志賀毒素、志賀様毒素Aサブユニット、サポリン、リシン、ならびにそれらの変異体、断片、および誘導体からなる群から選択される、請求項42または43に記載の方法。
【誤訳訂正３】
【訂正対象書類名】図面
【訂正対象項目名】全図
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【図面】
【図１Ａ】



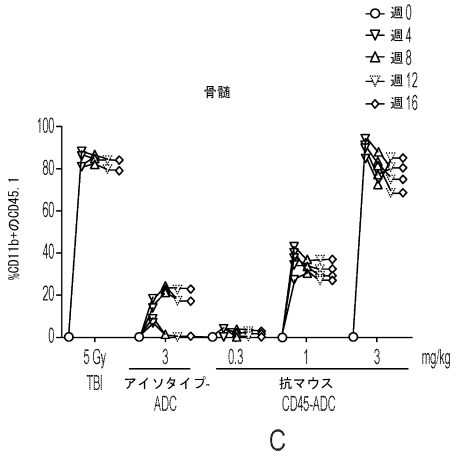
A

【図１Ｂ】



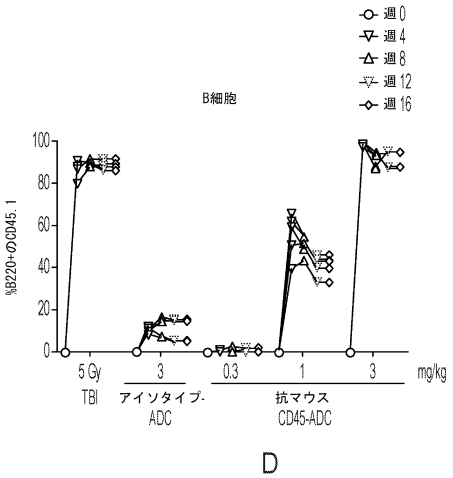
B

【図１Ｃ】



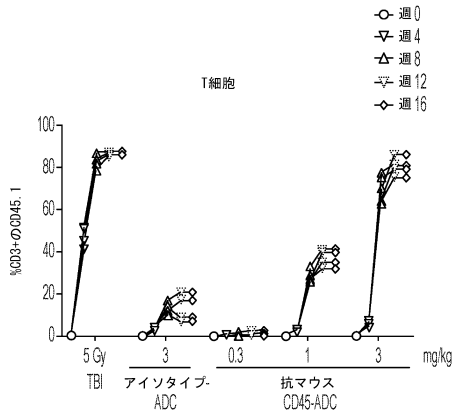
C

【図１Ｄ】



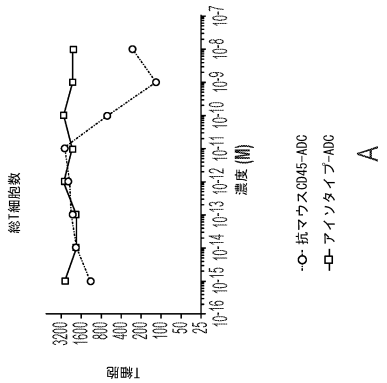
D

【図１Ｅ】



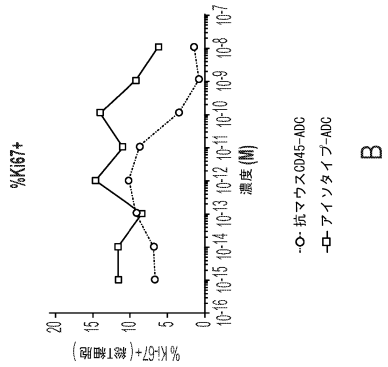
E

【図２Ａ】

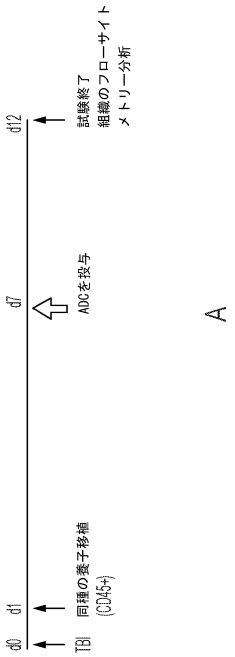


A

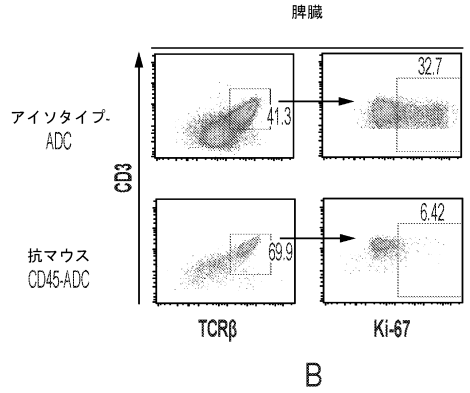
【図２Ｂ】



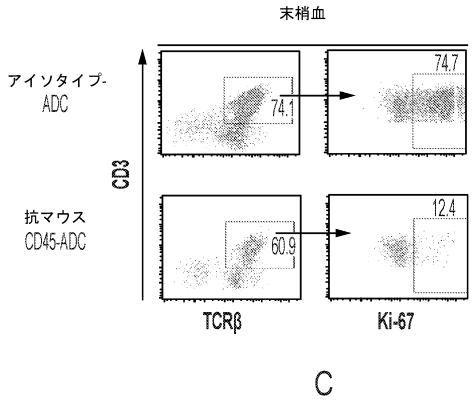
【図３Ａ】



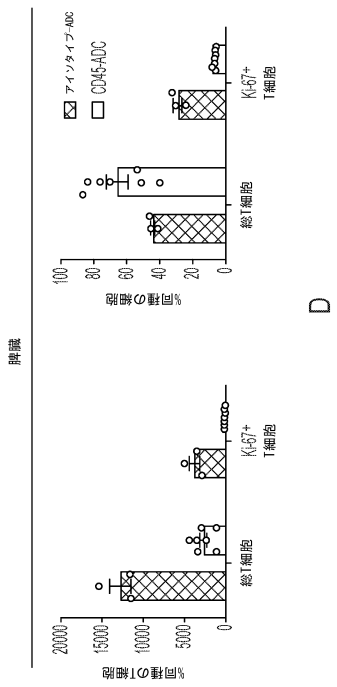
【図３Ｂ】



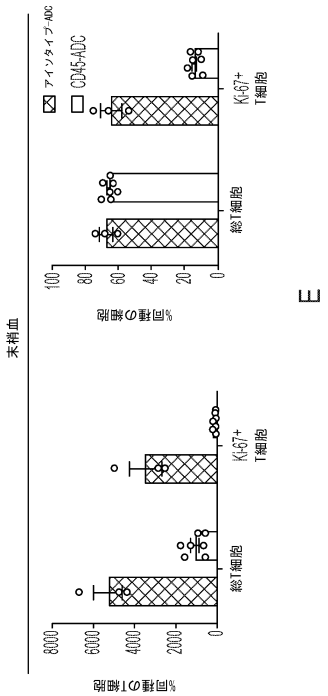
【図３Ｃ】



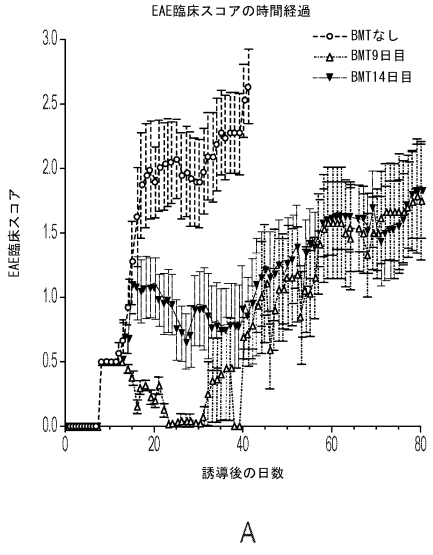
【図３Ｄ】



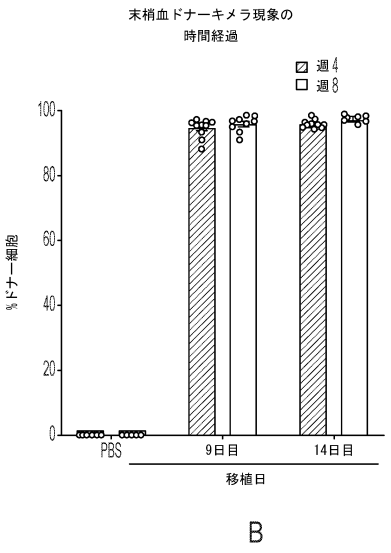
【図３Ｅ】



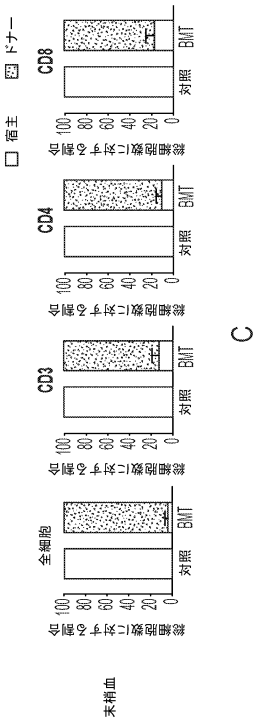
【図４Ａ】



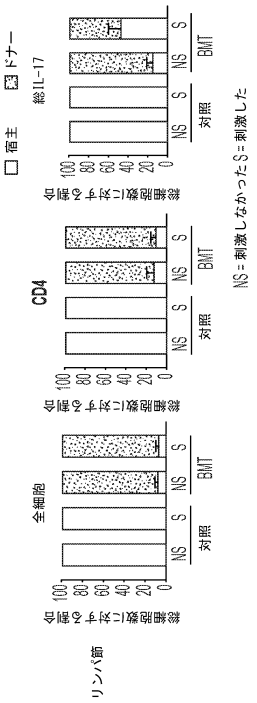
【図４Ｂ】



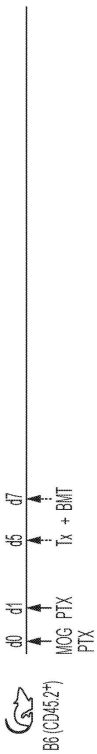
【図４Ｃ】



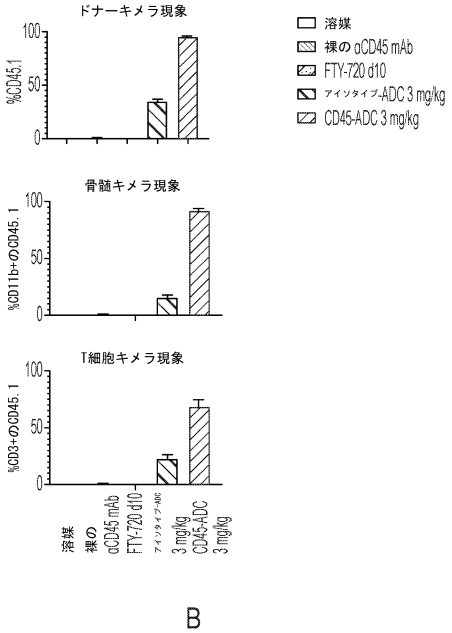
【図４Ｄ】



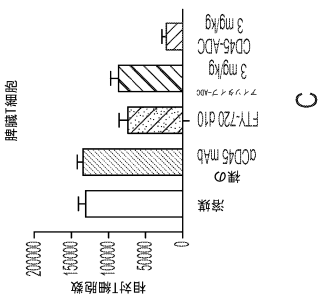
【図５Ａ】



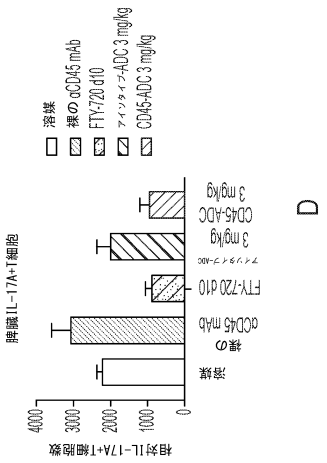
【図５Ｂ】



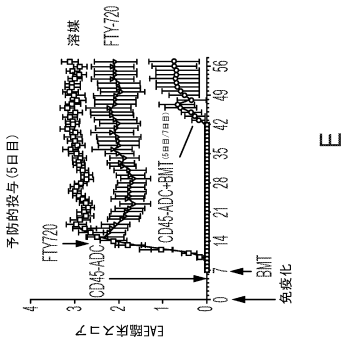
【図５Ｃ】



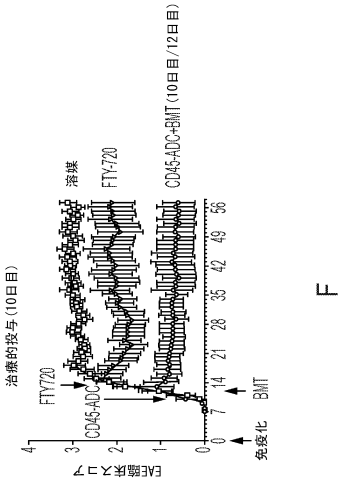
【図５Ｄ】



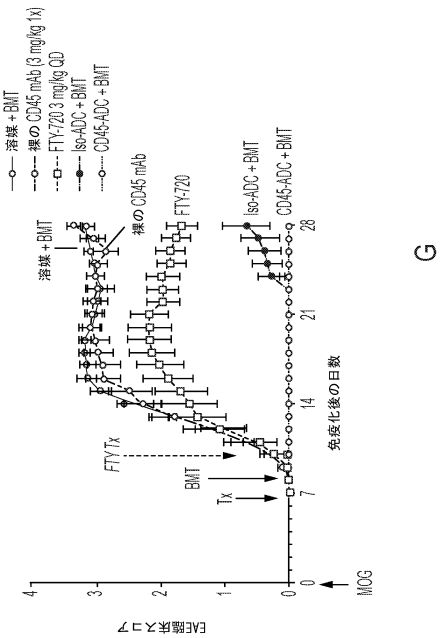
【図５Ｅ】



【図５Ｆ】

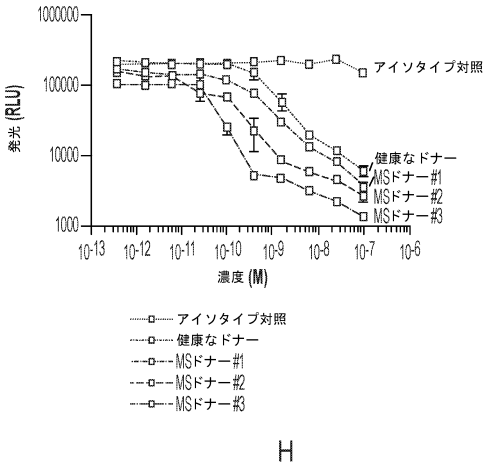


【図５Ｇ】



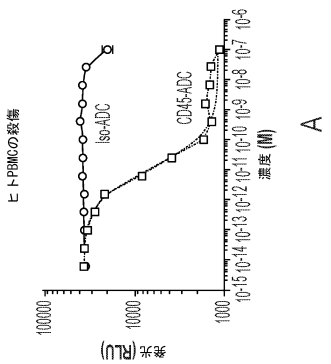
G

【図５Ｈ】



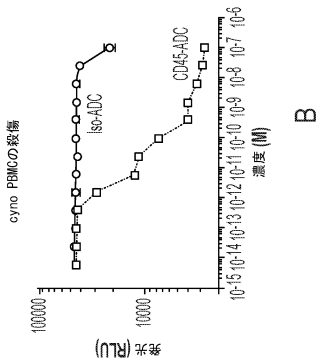
H

【図６Ａ】



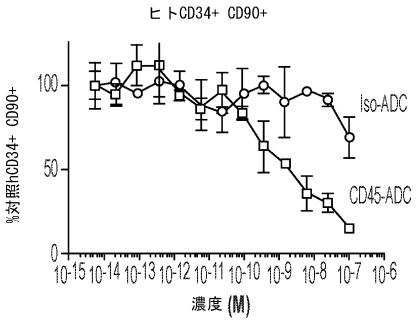
A

【図６Ｂ】



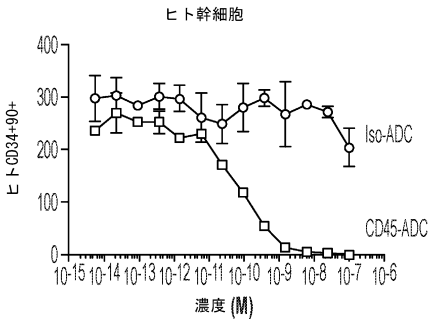
B

【図６Ｃ】



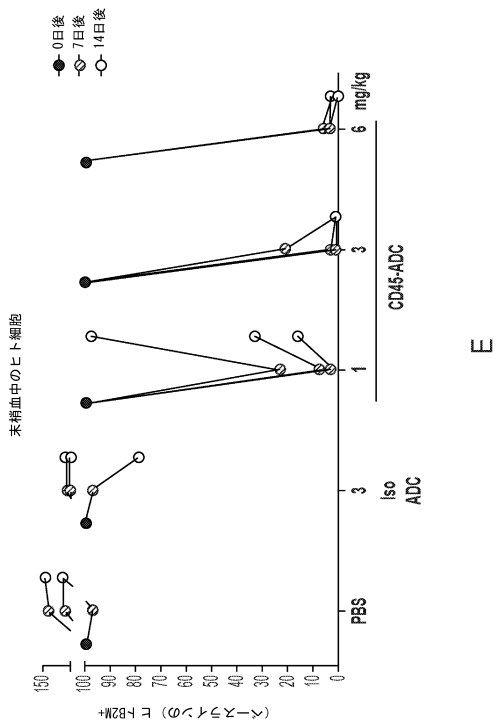
C

【図６Ｄ】



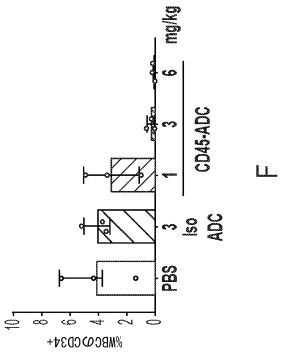
D

【図６Ｅ】



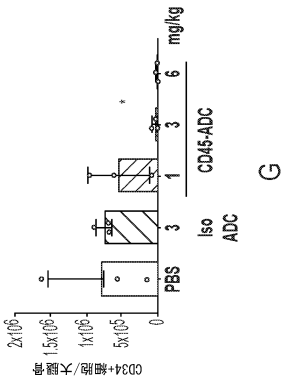
E

【図６Ｆ】



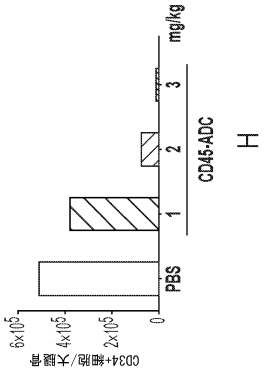
F

【図６Ｇ】



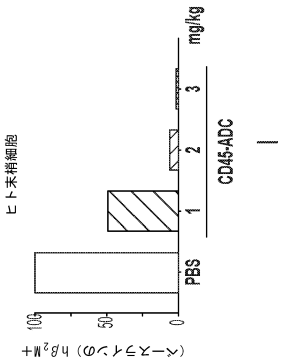
G

【図６Ｈ】



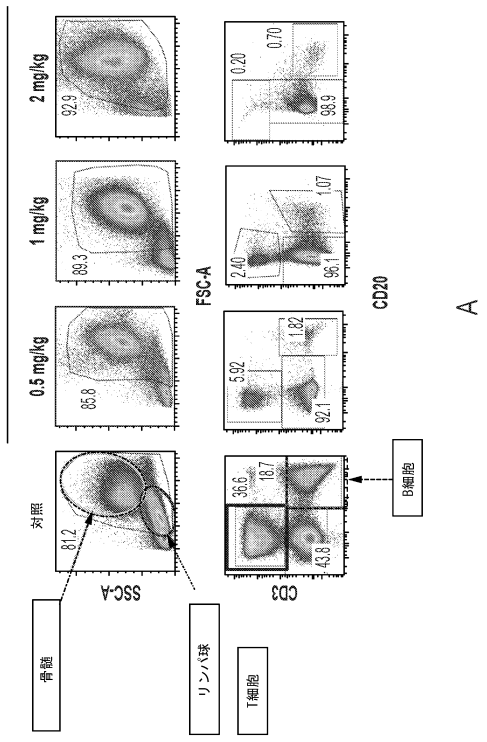
H

【図６Ｉ】



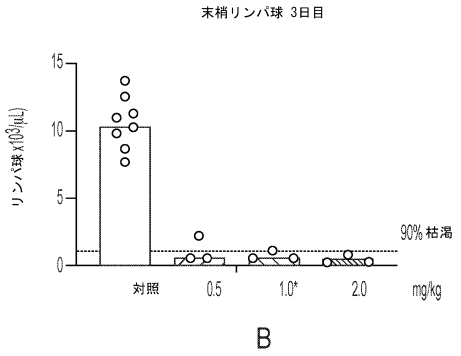
I

【図７Ａ】



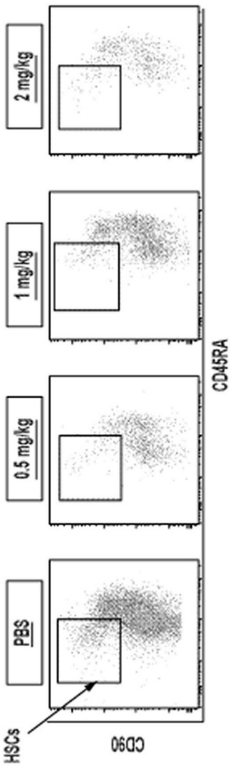
A

【図７Ｂ】

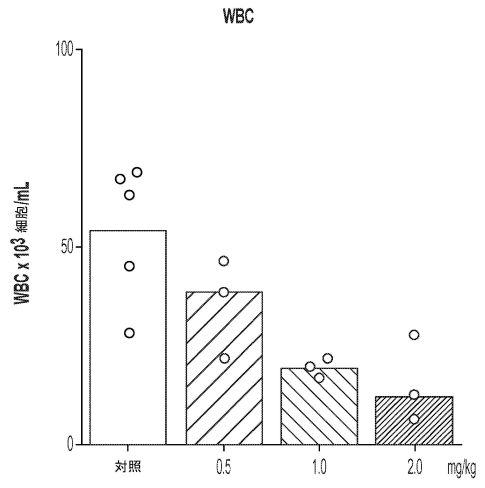


B

【図７Ｃ】

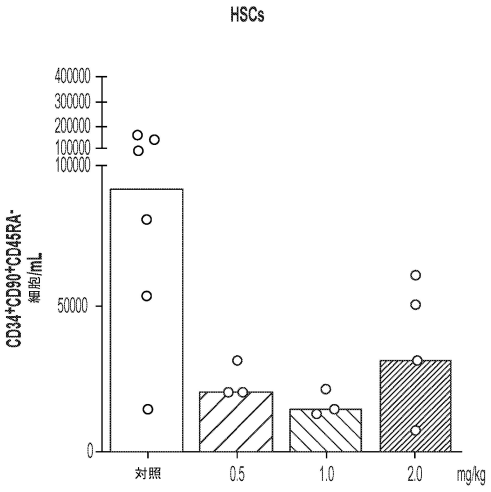


【図７Ｄ－１】



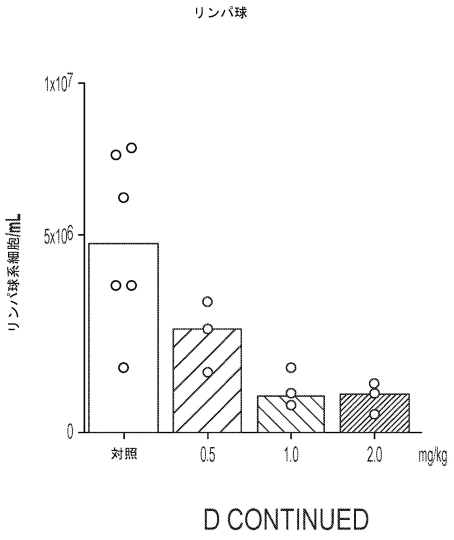
D

【図７Ｄ－２】



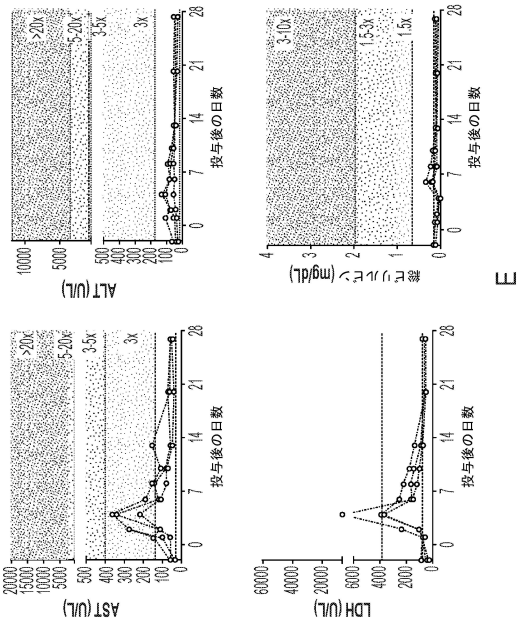
D CONTINUED

【図７Ｄ－３】



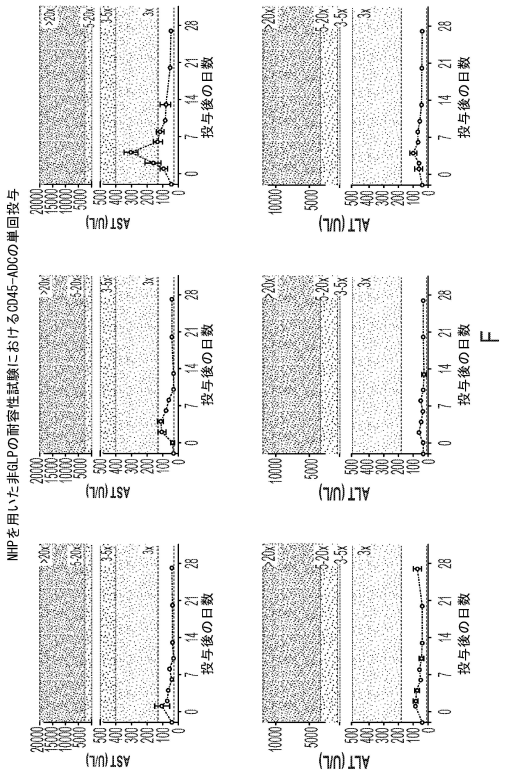
D CONTINUED

【図７Ｅ】



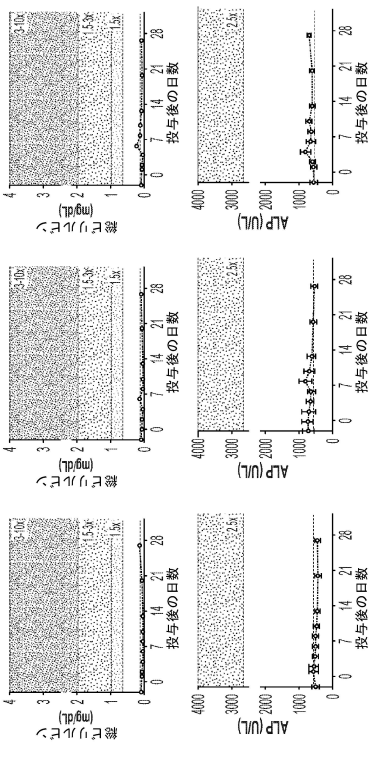
E

【図７Ｆ－１】



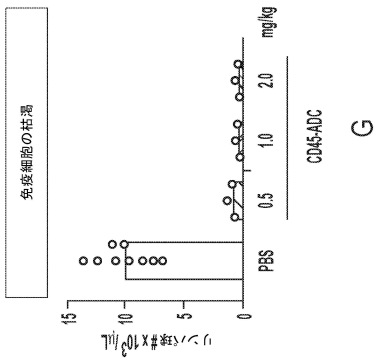
F

【図７Ｆ－２】

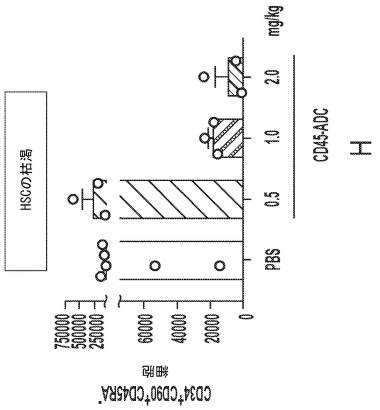


F continued

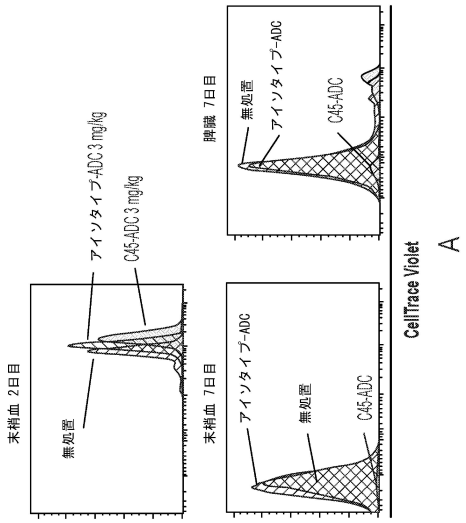
【図７Ｇ】



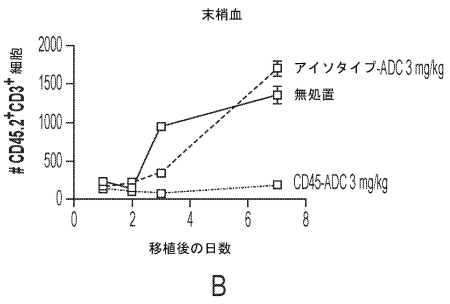
【図７Ｈ】



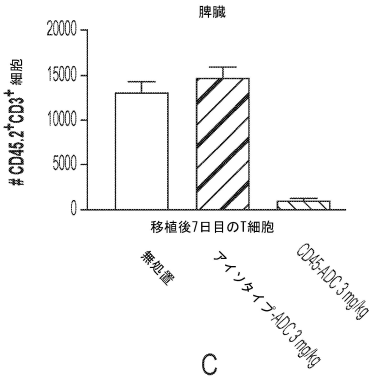
【図８Ａ】



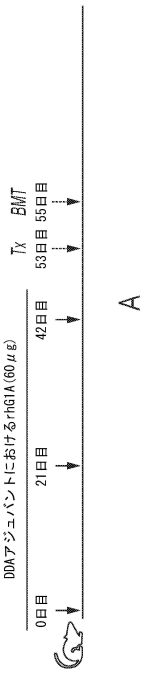
【図８Ｂ】



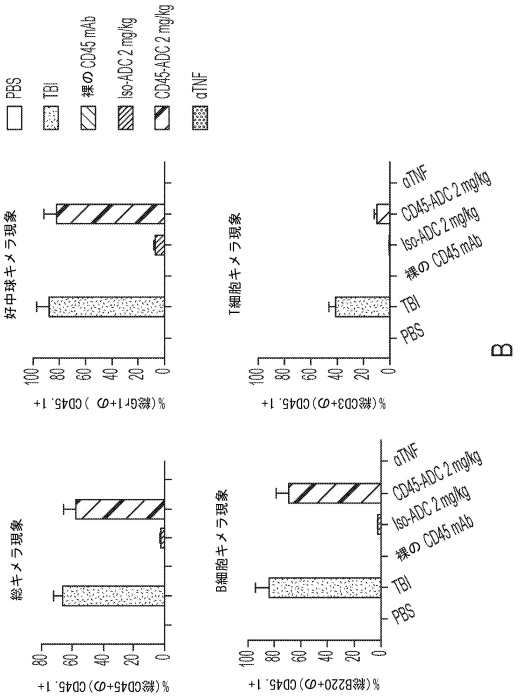
【図８Ｃ】



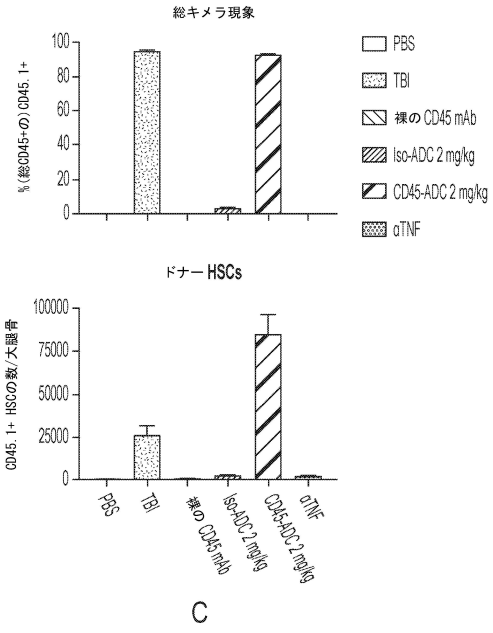
【図９Ａ】



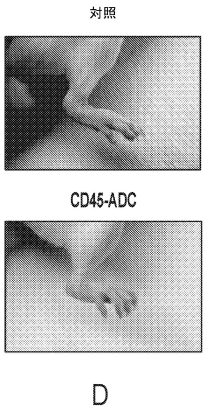
【図９Ｂ】



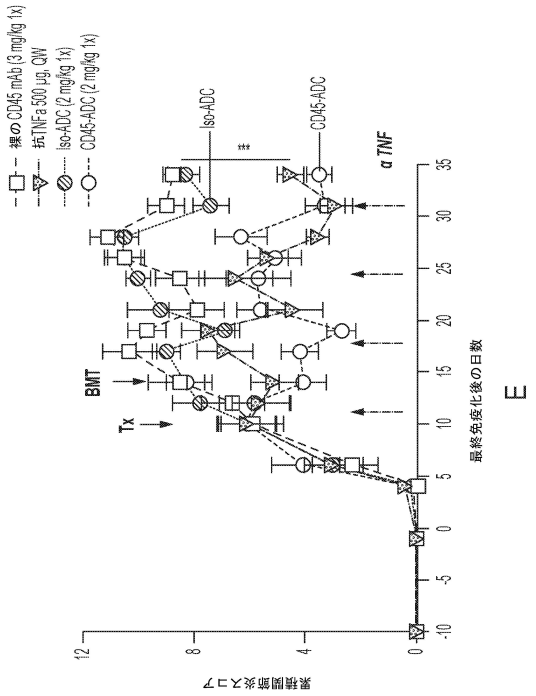
【図９Ｃ】



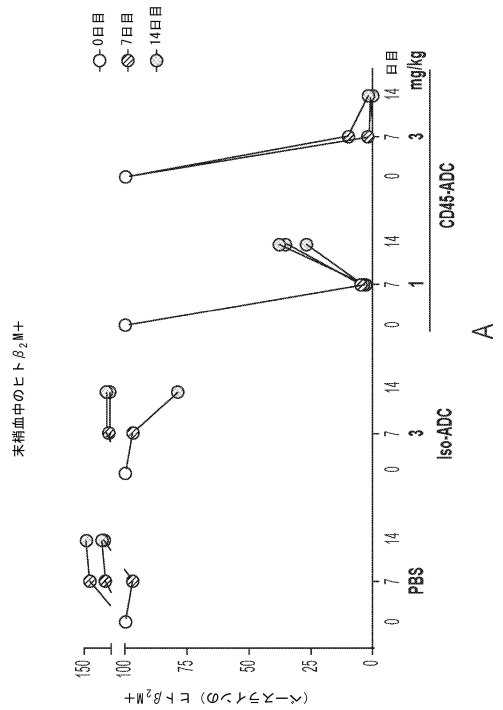
【図９Ｄ】



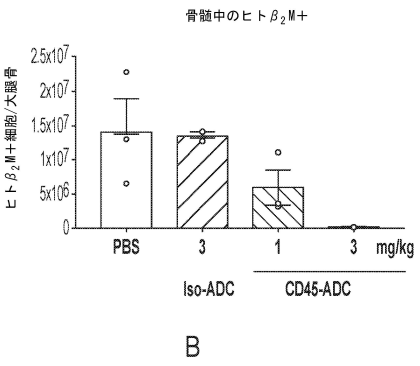
【図９Ｅ】



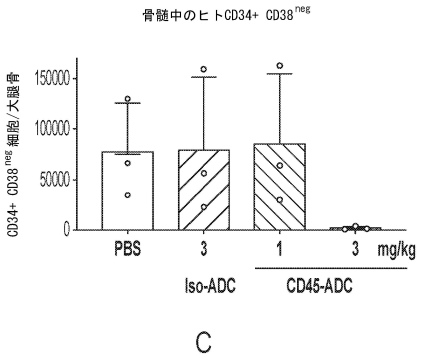
【図１０Ａ】



【図１０Ｂ】

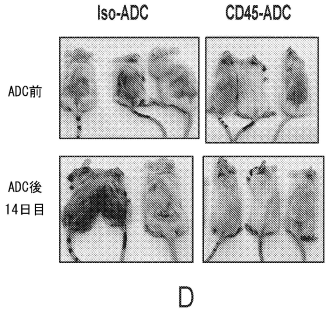


【図１０Ｃ】



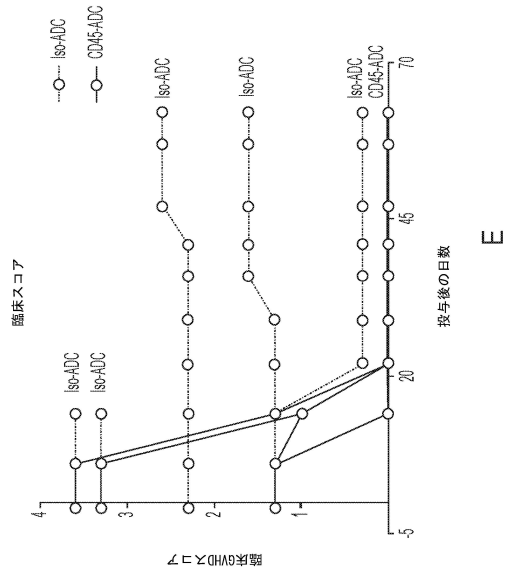
C

【図１０Ｄ】



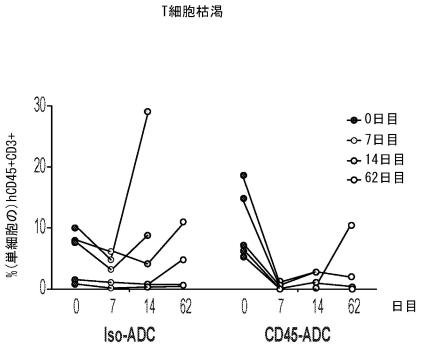
D

【図１０Ｅ】



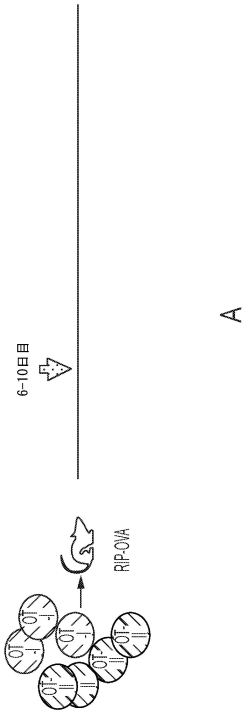
E

【図１０Ｆ】

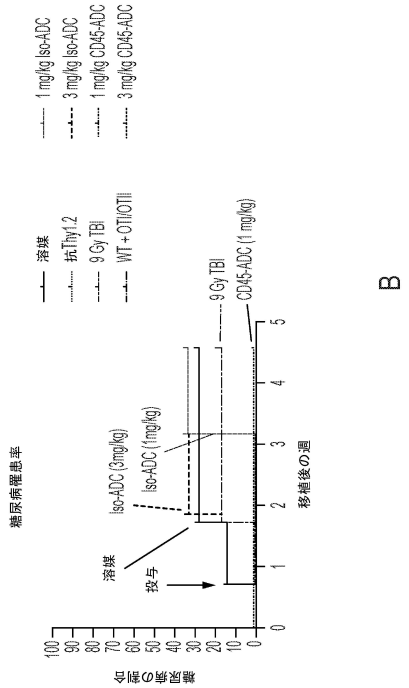


F

【図１１Ａ】


6-10日目
RIP-OVA
OT-I
OT-II
A

【図１１Ｂ】


1 mg/kg isc-ADC
3 mg/kg isc-ADC
1 mg/kg CD45-ADC
3 mg/kg CD45-ADC
溶媒
抗Thy1.2
9 Gy TBI
WT + OTI/OTII
9 Gy TBI
CD45-ADC (1 mg/kg)
isc-ADC (3mg/kg)
isc-ADC (1mg/kg)
溶媒
投与
糖尿病罹患率
糖尿病の割合
移植後の週
B

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/036177

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 39/395; A61K 47/68; A61P 37/02; A61P 37/06; C07K 16/28 (2020.01)
CPC - A61K 47/6817; A61K 2039/505; A61P 37/02; C07K 16/289; C07K 2317/73 (2020.08)

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)
see Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	WO 2017/219025 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS, INC.) 21 December 2017 (21.12.2017) entire document	1-3, 39-43 --- 8
Y	MARTIRES et al. "Sclerotic-type chronic GVHD of the skin: clinical risk factors, laboratory markers, and burden of disease," Blood, 26 July 2011 (26.07.2011), Vol. 118, Pgs. 4250-4257. entire document	8
A	US 2003/0232009 A1 (BABCOOK et al) 18 December 2003 (18.12.2003) entire document	1-3, 8, 39-43
A	US 2017/0226209 A1 (INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE) et al) 10 August 2017 (10.08.2017) entire document	1-3, 8, 39-43
A	US 2019/0153114 A1 (MAGENTA THERAPEUTICS, INC.) 23 May 2019 (23.05.2019) entire document	1-3, 8, 39-43
A	WO 2018/116178 A1 (NOVARTIS AG) 28 June 2018 (28.06.2018) entire document	1-3, 8, 39-43

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

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
12 August 2020	26 AUG 2020
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/036177

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.: 4-7, 9-38, 44
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.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	19/02		4C084
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	4C085
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	17/00		4C086
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P	25/00		4C087
A61K 35/28	*(2015.01)*	A61P	3/10		4H045
A61K 38/56	*(2006.01)*	A61K	35/28		
A61K 31/537	*(2006.01)*	A61K	38/56		
A61K 38/06	*(2006.01)*	A61K	31/537		
A61K 31/704	*(2006.01)*	A61K	38/06		
A61K 31/4745	*(2006.01)*	A61K	31/704		
A61K 31/407	*(2006.01)*	A61K	31/4745		
A61K 31/437	*(2006.01)*	A61K	31/407		
A61K 31/551	*(2006.01)*	A61K	31/437		
A61K 38/12	*(2006.01)*	A61K	31/551		
C07D 498/18	*(2006.01)*	A61K	38/12		
C07H 15/252	*(2006.01)*	C07D	498/18	311	
C07D 491/22	*(2006.01)*	C07H	15/252		
C07D 487/04	*(2006.01)*	C07D	491/22		
C07D 471/04	*(2006.01)*	C07D	487/04	137	
C07D 519/00	*(2006.01)*	C07D	471/04	104Z	
C12N 15/13	*(2006.01)*	C07D	519/00	311	
C07K 16/00	*(2006.01)*	C12N	15/13		ZNA
		C07K	16/00		

(32)優先日 令和1年8月2日(2019.8.2)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/933,279
(32)優先日 令和1年11月8日(2019.11.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/944,988
(32)優先日 令和1年12月6日(2019.12.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/968,870
(32)優先日 令和2年1月31日(2020.1.31)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 63/030,860
(32)優先日 令和2年5月27日(2020.5.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,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,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,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,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１４５１ ハーヴァード エア ロード ３４５ （ピーオー

ボックス ８３６）
(72)発明者 ジェニファー リン プロクター
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１５５ メッドフォード セイント フランシス ストリート ３６
(72)発明者 アンソニー ボイタノ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４６８ ニュートン イブリン ロード ２７
(72)発明者 マイケル クック
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３０ ボストン パーキンズ ドライブ ２４１ ビー２０１

Ｆターム（参考） 4C050 AA01 AA07 AA08 BB04 CC04 CC07 DD02 DD10 EE02 FF02 FF03 GG03 HH04
4C057 BB02 CC04 DD03 JJ50
4C065 AA04 AA19 BB04 CC09 DD02 EE02 HH01 HH09 JJ02 KK02 KK08 LL04 LL05 PP18
4C072 AA03 AA07 BB03 BB06 CC02 CC12 DD09 EE06 FF15 GG06 GG07 MM01 UU01
4C076 AA95 CC07 CC29 CC41 EE41 EE59 FF32 FF34
4C084 AA02 AA03 BA01 BA10 BA15 BA23 BA32 MA02 NA13 NA14 ZA01 ZA89 ZA96 ZB08 ZB15 ZC35
4C085 AA21 AA26 AA27 EE01 EE03
4C086 AA01 AA02 CB03 CB05 CB11 CB22 EA10 MA01 MA02 MA04 NA13 NA14 ZA01 ZA89 ZA96 ZB08 ZB15 ZC35
4C087 AA01 AA02 BB44 MA02 NA13 NA14 ZA01 ZA89 ZA96 ZB08 ZB15 ZC35
4H045 AA30 BA10 CA42 DA76 EA28 FA74